

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
DEPARTAMENTO DE ANTIBIÓTICOS  
PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA DE PRODUTOS BIOATIVOS

**QUÍMICA E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE *Manilkara huberi* (DUCKE)  
A. CHEV. (maçaranduba)**

Patrícia Bezerra Gomes

RECIFE -2006

Patrícia Bezerra Gomes

**QUÍMICA E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE  
*Manilkara huberi* (DUCKE) A. CHEV. (maçaranduba)**

DISSERTAÇÃO APRESENTADA AO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
BIOTECNOLOGIA DE PRODUTOS BIOATIVOS  
PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRE EM  
BIOTECNOLOGIA

Área de concentração: Química de Compostos  
Bioativos

Orientadora: Profa. Dra. Márcia Silva do Nascimento

Recife – 2006

**Gomes, Patrícia Bezerra**

**Química e atividade antimicrobiana de *Manilkara huberi* (Ducke) A. Chev. (maçaranduba) / Patrícia Bezerra Gomes. – Recife : O Autor, 2006.**

**129 folhas. : il., fig., tab.**

**Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCB. Biotecnologia de Produtos Bioativos, 2006.**

**Inclui bibliografia e anexos.**

**1. Biotecnologia de produtos bioativos – Química de produtos naturais. 2. Madeira de lei – *Manilkara huberi* (Ducke) A. Chev. (maçaranduba) – Química e atividade antimicrobiana. 3. Constituintes químicos – Isolamento e identificação – Espectrometria de massas. I. Título.**

**615.33  
615.32**

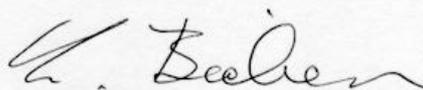
**CDU (2.ed.)  
CDD (22.ed.)**

**UFPE  
BC2006-023**

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO DE ANTIBIÓTICOS

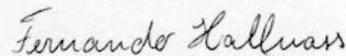
DISSERTAÇÃO DE Mestrado apresentada por *PATRÍCIA BEZERRA GOMES* ao **PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA DE PRODUTOS BIOATIVOS**, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Mestre em Biotecnologia.

DEFENDIDA PUBLICAMENTE EM 16 DE JANEIRO DE 2006 DIANTE DA BANCA EXAMINADORA:



Dr. LOTHAR WILHELM BIEBER

Departamento de Química Fundamental - UFPE

  
Dr. FERNANDO HALLWASS

Departamento de Química Fundamental - UFPE

  
Dra. NORMA BUARQUE DE GUSMÃO  
Departamento de Antibióticos - UFPE

*Dedico aos meus pais e meus irmãos pelo  
apoio, incentivo e amor*

## AGRADECIMENTOS

A **Deus**, pela graça de ter concluído o mestrado, pela força, coragem e proteção.

Ao **Glorioso São José**, por me proteger cada segundo da minha vida e por ter me ajudado nos momentos em que mais precisei.

Aos meus pais João Heleno e Maria Leônia e aos meus irmãos, pelo apoio, compreensão e incentivo em todos os momentos, principalmente quando se está longe de casa.

À Professora Dra Márcia Silva do Nascimento, pela valiosa orientação, oportunidade de aprendizagem e crescimento profissional; pela amizade, apoio, paciência e compreensão.

À Professora Dra. Norma Buarque Gusmão, pela co-orientação, colaboração, apoio e atenção.

À Ana Paula de Torres Valentim pela grande amizade desde a graduação, pela paciência comigo nos meus momentos de stress e por toda a ajuda como companheira de bancada.

Aos colegas do Laboratório de Química de Produtos Naturais pela colaboração, apoio, amizade e a todos do Departamento de Antibióticos que, de alguma forma, contribuíram para realização deste trabalho.

Ao CNPq pela bolsa concedida

# SUMÁRIO

<b>LISTA DE FIGURAS</b>	<b>i</b>
<b>LISTA DE TABELAS</b>	<b>ii</b>
<b>RESUMO</b>	<b>iii</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>iv</b>
<b>1- INTRODUÇÃO</b>	<b>1</b>
<b>2- OBJETIVOS</b>	<b>4</b>
2.1- Geral	4
2.2- Específicos	4
<b>3- REVISÃO DE LITERATURA</b>	<b>5</b>
3.1- Família Sapotaceae	5
3.1.1- Compostos encontrados na família Sapotaceae	6
3.2- Gênero <i>Manilkara</i>	8
3.3- <i>Manilkara huberi</i> (Ducke) A. Chev.	9
3.3.1- Descrição da árvore	9
3.3.2- Características da madeira	10
3.3.3- Região de ocorrência	11
3.3.4- Indicações de uso	12
3.3.5- Posição taxonômica de <i>Manilkara huberi</i>	12
3.4- Madeiras	12
3.4.1- Caracterização	12
3.4.2- Taxonomia	13
3.4.3- Estrutura anatômica	13
3.4.4- Composição química	15
3.5- Alelopatia	16
3.6- Determinação da sensibilidade dos microrganismos aos antimicrobianos	18
<b>4- MATERIAIS E MÉTODOS</b>	<b>21</b>
4.1- Material botânico	21
4.2- Abordagem fitoquímica	21
4.2.1- Alcalóides	21
4.2.2- Esteróides e terpenóides	22
4.2.3- Flavonóides	22

4.2.4- Saponinas	23
4.2.5- Taninos	23
4.3- Preparação dos extratos brutos	23
4.4- Atividade antimicrobiana	25
4.4.1- Microrganismos	25
4.4.2- Método de difusão em disco de papel	26
4.5- Métodos cromatográficos	29
4.6- Fracionamento do extrato cicloexano de <i>Manilkara huberi</i>	29
4.7- Métodos espectroscópicos	30
<b>5- RESULTADOS</b>	<b>31</b>
5.1- Atividade antimicrobiana frente aos microrganismos do DAUFPE	31
5.2- Atividade antimicrobiana frente aos isolados clínicos da ULAB	35
5.3- Abordagem fitoquímica	40
5.4- Rendimento do processo de obtenção dos extratos brutos de <i>M. huberi</i>	41
5.5- Rendimento do fracionamento cromatográfico do extrato cicloexano	41
5.6- Compostos químicos identificados no cerne de <i>M. huberi</i>	43
5.6.1- Identificação de ácidos e ésteres saturados por GC – MS	44
5.6.1.1- Identificação do composto MH <sub>1</sub>	44
5.6.1.2- Identificação do composto MH <sub>2</sub>	52
5.6.1.3- Identificação do composto MH <sub>3</sub>	58
5.6.1.4- Identificação do composto MH <sub>4</sub>	64
5.6.2- Identificação de ésteres benzílicos por GC – MS	71
5.6.2.1- Identificação do composto MH <sub>5</sub>	71
5.6.2.2- Identificação do composto MH <sub>6</sub>	78
5.6.2.3- Identificação do composto MH <sub>7</sub>	82
5.6.3- Identificação do composto MH <sub>8</sub>	86
5.6.4- Identificação do composto MH <sub>9</sub>	91
5.6.5- Identificação do composto MH <sub>10</sub>	96
5.6.6- Identificação do composto MH <sub>11</sub>	100
5.6.7- Identificação do composto MH <sub>12</sub>	105
<b>6- DISCUSSÃO</b>	<b>109</b>
<b>7- CONCLUSÃO</b>	<b>114</b>
<b>8- ANEXOS</b>	<b>116</b>
<b>9- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>119</b>

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Esqueleto dos triterpenos oleanano ( $R_1 = H$ ; $R_2 = CH_3$ ) e ursano ( $R_1 = CH_3$ ; $R_2 = H$ ).....	6
<b>Figura 2:</b> Esqueleto do triterpeno lupano .....	7
<b>Figura 3:</b> Esqueleto do alcalóide laburnina.....	7
<b>Figura 4:</b> Esqueleto do poliisopreno guta-percha .....	7
<b>Figura 5:</b> Estrutura da miricetina .....	8
<b>Figura 6:</b> Estrutura da quercetina .....	8
<b>Figura 7:</b> Estrutura do campferol .....	8
<b>Figura 8:</b> <i>Manilkara huberi</i> (Ducke) A. Chev.....	10
<b>Figura 9:</b> Tora de <i>Manilkara huberi</i> . .....	11
<b>Figura 10:</b> Distribuição geográfica de <i>Manilkara huberi</i> .....	11
<b>Figura 11:</b> Alburno e cerne em corte transversal.....	14
<b>Figura 12:</b> Obtenção dos extratos brutos de <i>Manilkara huberi</i> .....	24
<b>Figura 13:</b> Esquema do teste de atividade antimicrobiana.....	25
<b>Figura 14:</b> Atividade antimicrobiana dos extratos brutos frente à <i>Staphylococcus aureus</i> (DAUFPE 02) .....	33
<b>Figura 15:</b> Atividade antimicrobiana dos extratos brutos frente à <i>Bacillus subtilis</i> (DAUFPE 16) .....	33
<b>Figura 16:</b> Atividade antimicrobiana dos extratos brutos frente à <i>Mycobacterium smegmatis</i> (DAUFPE 71).....	34
<b>Figura 17:</b> Atividade antimicrobiana dos extratos brutos frente à <i>Candida albicans</i> (DAUFPE 1007) .....	34
<b>Figura 18:</b> Atividade antimicrobiana dos extratos brutos frente à <i>Enterococcus faecalis</i> (DAUFPE 138) .....	35
<b>Figura 19:</b> Atividade antimicrobiana dos extratos brutos frente à <i>Staphylococcus aureus</i> (ULAB 18304).....	37
<b>Figura 20:</b> Atividade antimicrobiana dos extratos brutos frente à <i>Staphylococcus epidermidis</i> (ULAB 14802) .....	37
<b>Figura 21:</b> Atividade antimicrobiana do extrato bruto em cicloexano frente aos microrganismos da Coleção de Culturas (DAUFPE).....	38

<b>Figura 22:</b> Atividade antimicrobiana do extrato bruto em cicloexano frente aos microrganismos da ULAB.....	38
<b>Figura 23:</b> Estrutura do composto MH <sub>1</sub> – ácido hexadecanóico .....	45
<b>Figura 24:</b> Espectro de massas do composto MH <sub>1</sub> .....	46
<b>Figura 25:</b> Comparação entre o espectro de massas do composto MH <sub>1</sub> (A) e a substância original (B).....	47
<b>Figura 26:</b> Principais fragmentos presentes no composto MH <sub>1</sub> .....	51
<b>Figura 27:</b> Estrutura do composto MH <sub>2</sub> – ácido dodecanóico.....	52
<b>Figura 28:</b> Espectro de massas do composto MH <sub>2</sub> .....	53
<b>Figura 29:</b> Comparação entre o espectro de massas do composto MH <sub>2</sub> (A) e a substância original (B).....	54
<b>Figura 30:</b> Principais fragmentos presentes no composto MH <sub>2</sub> .....	57
<b>Figura 31:</b> Estrutura do composto MH <sub>3</sub> – ácido decanóico.....	58
<b>Figura 32:</b> Espectro de massas do composto MH <sub>3</sub> .....	59
<b>Figura 33:</b> Comparação entre o espectro de massas do composto MH <sub>3</sub> (A) e a substância original (B).....	60
<b>Figura 34:</b> Principais fragmentos presentes no composto MH <sub>3</sub> .....	63
<b>Figura 35:</b> Estrutura do composto MH <sub>4</sub> - hexadecanoato de metila .....	64
<b>Figura 36:</b> Espectro de massas do composto MH <sub>4</sub> .....	65
<b>Figura 37:</b> Comparação entre o espectro de massas do composto MH <sub>4</sub> (A) e a substância original (B).....	66
<b>Figura 38:</b> Principais fragmentos presentes no composto MH <sub>4</sub> .....	70
<b>Figura 39:</b> Estrutura do composto MH <sub>5</sub> – hexanoato de benzila .....	72
<b>Figura 40:</b> Espectro de massas do composto MH <sub>5</sub> .....	73
<b>Figura 41:</b> Comparação entre o espectro de massas do composto MH <sub>5</sub> (A) e a substância original (B).....	74
<b>Figura 42:</b> Principais fragmentos presentes no composto MH <sub>5</sub> .....	77
<b>Figura 43:</b> Estrutura do composto MH <sub>6</sub> – benzoato de benzila .....	78
<b>Figura 44:</b> Espectro de massas do composto MH <sub>6</sub> .....	79
<b>Figura 45:</b> Comparação entre o espectro de massas do composto MH <sub>6</sub> (A) e a substância original (B).....	80
<b>Figura 46:</b> Principais fragmentos presentes no composto MH <sub>6</sub> .....	81
<b>Figura 47:</b> Estrutura do composto MH <sub>7</sub> – benzoato de 2-metilfenila .....	82
<b>Figura 48:</b> Espectro de massas do composto MH <sub>7</sub> .....	83

<b>Figura 49:</b> Comparação entre o espectro de massas do composto MH <sub>7</sub> (A) e a substância original (B).....	84
<b>Figura 50:</b> Principais fragmentos presentes no composto MH <sub>7</sub> .....	85
<b>Figura 51:</b> Estrutura do composto MH <sub>8</sub> – 2-fenil dodecano .....	86
<b>Figura 52:</b> Espectro de massas do composto MH <sub>8</sub> .....	87
<b>Figura 53:</b> Comparação entre o espectro de massas do composto MH <sub>8</sub> (A) e a substância original (B).....	88
<b>Figura 54:</b> Principais fragmentos presentes no composto MH <sub>8</sub> .....	90
<b>Figura 55:</b> Estrutura do composto MH <sub>9</sub> – 4-fenil dodecano .....	91
<b>Figura 56:</b> Espectro de massas do composto MH <sub>9</sub> .....	92
<b>Figura 57:</b> Comparação entre o espectro de massas do composto MH <sub>9</sub> (A) e a substância original (B).....	93
<b>Figura 58:</b> Principais fragmentos presentes no composto MH <sub>9</sub> .....	95
<b>Figura 59:</b> Estrutura do composto MH <sub>10</sub> - benzaldeído.....	96
<b>Figura 60:</b> Espectro de massas do composto MH <sub>10</sub> .....	97
<b>Figura 61:</b> Comparação entre o espectro de massas do composto MH <sub>10</sub> (A) e a substância original (B).....	98
<b>Figura 62:</b> Principais fragmentos presentes no composto MH <sub>10</sub> .....	99
<b>Figura 63:</b> Estrutura do composto MH <sub>11</sub> – 2,4-undecadienal	... 100
<b>Figura 64:</b> Espectro de massas do composto MH <sub>11</sub>	101
<b>Figura 65:</b> Comparação entre o espectro de massas do composto MH <sub>11</sub> (A) e a substância original (B)	102
<b>Figura 66:</b> Principais fragmentos presentes no composto MH <sub>11</sub>	104
<b>Figura 67:</b> Estrutura do composto MH <sub>12</sub> – álcool benzílico	105
<b>Figura 68:</b> Espectro de massas do composto MH <sub>12</sub>	106
<b>Figura 69:</b> Comparação entre o espectro de massas do composto MH <sub>12</sub> (A) e a substância original (B)	107
<b>Figura 70:</b> Principais fragmentos presentes no composto MH <sub>12</sub>	108

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Testes que identificam as classes de compostos presentes nas plantas.....	21
<b>Tabela 2:</b> Microrganismos utilizados nos testes de atividade antimicrobiana.....	26
<b>Tabela 3:</b> Resultado da atividade antimicrobiana dos extratos brutos de <i>Manilkara huberi</i> frente aos microrganismos do DAUFPE.....	32
<b>Tabela 4:</b> Resultado da atividade antimicrobiana dos extratos brutos de <i>Manilkara huberi</i> frente aos isolados clínicos da ULAB.....	36
<b>Tabela 5:</b> Resultado da abordagem fitoquímica do cerne de <i>Manilkara huberi</i> .....	40
<b>Tabela 6:</b> Rendimento dos extratos brutos de <i>Manilkara huberi</i> .....	41
<b>Tabela 7:</b> Rendimento do fracionamento do extrato ciclohexano.....	42
<b>Tabela 8:</b> Tempo de retenção e percentual dos compostos químicos identificados no cerne de <i>Manilkara huberi</i> .....	43
<b>Tabela 9:</b> Principais fragmentos presentes no espectro de massas do composto MH <sub>1</sub> com suas respectivas massas e intensidades relativas.....	48
<b>Tabela 10:</b> Principais fragmentos presentes no espectro de massas do composto MH <sub>2</sub> com suas respectivas massas e intensidades relativas.....	55
<b>Tabela 11:</b> Principais fragmentos presentes no espectro de massas do composto MH <sub>3</sub> com suas respectivas massas e intensidades relativas.....	61

<b>Tabela 12:</b> Principais fragmentos presentes no espectro de massas do composto $MH_4$ com suas respectivas massas e intensidades relativas.....	67
<b>Tabela 13:</b> Principais fragmentos presentes no espectro de massas do composto $MH_5$ com suas respectivas massas e intensidades relativas.....	75
<b>Tabela 14:</b> Principais fragmentos presentes no espectro de massas do composto $MH_6$ com suas respectivas massas e intensidades relativas.....	81
<b>Tabela 15:</b> Principais fragmentos presentes no espectro de massas do composto $MH_7$ com suas respectivas massas e intensidades relativas.....	85
<b>Tabela 16:</b> Principais fragmentos presentes no espectro de massas do composto $MH_8$ com suas respectivas massas e intensidades relativas.....	89
<b>Tabela 17:</b> Principais fragmentos presentes no espectro de massas do composto $MH_9$ com suas respectivas massas e intensidades relativas.....	94
<b>Tabela 18:</b> Principais fragmentos presentes no espectro de massas do composto $MH_{10}$ .....	99
<b>Tabela 19:</b> Principais fragmentos presentes no espectro de massas do composto $MH_{11}$ .....	103
<b>Tabela 20:</b> Principais fragmentos presentes no espectro de massas do composto $MH_{12}$ .....	108

## RESUMO

O Brasil abriga 55 mil espécies de plantas, aproximadamente um quarto de todas as espécies conhecidas. Destas, 10 mil podem ser medicinais, aromáticas ou apresentam outras utilizações. Dentre as plantas que compõem a rica flora brasileira, destacam-se as “madeiras de lei” que têm grande utilidade, devido sua resistência física, além disso, seus constituintes químicos podem funcionar como inseticidas botânicos ou serem utilizados na medicina por apresentarem atividade antimicrobiana. Dentre as madeiras de lei, pode-se destacar espécies do gênero *Manilkara*, pertencentes à família Sapotaceae e a fim de contribuir para o conhecimento fitoquímico desse gênero e obter novas substâncias biologicamente ativas, foi escolhida para este trabalho a espécie *Manilkara huberi* (Ducke) A. Chev. (maçaranduba) por não existirem trabalhos publicados com o cerne desta planta. O cerne triturado de *Manilkara huberi* foi submetido a extrações sucessivas com metanol, cicloexano e acetato de etila. Com esses extratos, foi realizado o ensaio da atividade antimicrobiana pelo método de difusão em disco de papel. O extrato mais ativo (cicloexano) foi submetido a fracionamento cromatográfico, as frações obtidas foram analisadas por cromatografia em camada delgada (CCD) e em seguida analisadas por cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (CG - MS). Os extratos cicloexano e acetato de etila apresentaram-se ativos contra bactérias Gram-positivas, álcool-ácido-resistente e contra a levedura testada. O extrato metanólico não foi ativo contra os microrganismos testados e nenhum dos extratos apresentou atividade antimicrobiana frente às bactérias Gram-negativas. O resultado da abordagem fitoquímica realizada para determinação das principais classes de compostos presentes na planta revelou a presença de saponinas, flavonóides, esteróides e triterpenóides. Foram identificados 12 compostos no cerne de *Manilkara huberi*: ácido hexadecanóico (composto MH<sub>1</sub>), ácido dodecanóico (MH<sub>2</sub>), ácido decanóico (MH<sub>3</sub>), hexadecanoato de metila (MH<sub>4</sub>), hexanoato de benzila (MH<sub>5</sub>), benzoato de benzila (MH<sub>6</sub>), benzoato de 2-metilfenila (MH<sub>7</sub>), 2-fenil dodecano (MH<sub>8</sub>), 4-fenil dodecano (MH<sub>9</sub>), benzaldeído (MH<sub>10</sub>), 2,4-undecadienal (MH<sub>11</sub>) e álcool benzílico (MH<sub>12</sub>).

## ABSTRACT

Brazil shelters fifty five thousand species of plants, approximately one quarter of all known species. About ten thousand from these could be medicinal, aromatical and useful. Amongst the plants that compose the rich Brazilian flora, one can highlight timbers, which have great utility because of it's physical resistance and moreover their chemical constituents which can function as botanical insecticidals or be used in medicine. Amongst timbers, the *Manilkara* genus, which belongs to the Sapotaceae family, can be cited. In order to contribute to the phytochemical knowledge of this genus and to obtain new biologicaly active agents, the species *Manilkara huberi* (Ducke) A. Chev (maçaranduba) was chosen for this work, as there are no work published on the heartwood of this plant. The phytochemical screening of the main compound classes present in the plant detected the presence of saponins, flavonoids, steroids and triterpenoids. The triturated heartwood of *Manilkara huberi* was submitted to successive extractions with methanol, ciclohexane and ethyl acetate. With these extracts, the antimicrobial activity assay was carried out using the paper disk diffusion method. The ciclohexane and ethyl acetate extracts were active against Gram-positive, acid-alcohol-resistant bacteria and against the yeast tested. The methanolic extract was not active against the tested microorganisms and none of the extracts presented antimicrobial activity against Gram-negative bacteria. The most active extract (ciclohexane) was submitted to chromatographic fractionative and the obtained fractions were analyzed by thin layer chromatography (TLC) and by gas chromatography connected to a mass spectrometer (GC - MS). Twelve compounds was identified: hexadecanoic acid (compound MH<sub>1</sub>), dodecanoic acid (MH<sub>2</sub>), decanoic acid (MH<sub>3</sub>), methyl hexadecanoate (MH<sub>4</sub>), benzyl hexanoate (MH<sub>5</sub>), benzyl benzoate (MH<sub>6</sub>), o-tolyl benzoate (MH<sub>7</sub>), 2-phenyl dodecane (MH<sub>8</sub>), 4-phenyl dodecane (MH<sub>9</sub>), benzaldehyde (MH<sub>10</sub>), 2,4-undecadienal (MH<sub>11</sub>) and benzyl alcohol (MH<sub>12</sub>).

# *INTRODUÇÃO*

## 1- INTRODUÇÃO

O Brasil possui uma área territorial extensa de 8,5 milhões de quilômetros quadrados e vários tipos de biomas (Mata Atlântica, Cerrado, Pantanal, Floresta Amazônica e Caatinga), apresentando uma grande diversidade de solos e climas que favorece a riqueza e diversidade de flora e fauna, distribuída nos diversos ecossistemas brasileiros (DIAS, 1995).

O Brasil abriga 55 mil espécies de plantas, aproximadamente um quarto de todas as espécies conhecidas no mundo. Destas, 10 mil podem ser medicinais, aromáticas ou podem apresentar outras utilizações (BARATA; QUEIROZ, 1995).

A Organização Mundial da Saúde estima que 80% da população mundial depende da medicina tradicional para suas necessidades básicas de saúde e que quase 85% da medicina tradicional envolve o uso de plantas medicinais, seus extratos vegetais e/ou seus princípios ativos (IUCN, 1993).

O interesse pelos produtos naturais tem origem em fatores comportamentais, biológicos, farmacológicos, biotecnológicos e químicos que produziram uma mudança na estratégia das empresas, que passaram a visar o mercado dos produtos originados de plantas. A literatura especializada tem mostrado que esta guinada em direção aos produtos naturais se inspira em grande medida nas florestas tropicais do Brasil, China e Índia. Esses países são considerados verdadeiros mananciais de moléculas bioativas (BARATA; QUEIROZ, 1995).

O uso de plantas medicinais é uma prática comum no país, a qual tem sido transmitida de geração em geração e é realizada por meio do extrativismo. Tem sua origem na cultura dos diversos grupos indígenas que habitavam o país, misturada, ainda, com as tradições de uso dos europeus e africanos que chegaram posteriormente e constitui a atual farmacopéia local, despertando grandes interesses nacionais e internacionais pelo potencial terapêutico e econômico que representa (SIMÕES *et al.*, 1998; BERG, 1993).

A utilização e comercialização de plantas medicinais têm sido estimuladas, em parte, pela crescente demanda da indústria por novas fontes naturais de medicamentos e, por outro lado, devido aos efeitos colaterais causados pelos fármacos sintéticos. Os medicamentos de origem vegetal, em muitos casos, representam o único tipo de fármaco, especialmente nos lugares mais isolados e distantes e como resposta aos problemas imediatos de saúde (BERG, 1993; DEFILIPPS, 2001).

O impacto da Química de Produtos Naturais no processo de desenvolvimento de novos fármacos nas últimas duas décadas é inquestionável: estima-se que cerca de 40% dos novos fármacos aprovados nesse período tenham a sua origem em algum produto natural e o número de novos produtos naturais com atividade biológica apresenta crescimento contínuo (HIRUMA-LIMA, 1998).

O uso terapêutico de produtos naturais, especialmente os derivados de plantas é devido aos altos custos de produção dos medicamentos sintéticos, a existência de estudos científicos para alguns produtos fitoterápicos comprovando sua eficácia clínica e segurança e a grande porcentagem da população mundial que não tem acesso aos medicamentos resultantes de síntese farmacológica (HIRUMA-LIMA, 1998).

Estes fatores somados ao limitado efeito dos medicamentos sintéticos em doenças crônicas têm estimulado a pesquisa de plantas medicinais como alternativa terapêutica com resultados bastante satisfatórios (HIRUMA-LIMA, 1998). Muitas plantas, freqüentemente, utilizadas por populações locais ainda não foram estudadas, nem seus princípios ativos foram identificados para validá-las como medicamentos ou para aproveitá-las economicamente (BERG, 1993).

Ainda assim, muitas plantas são utilizadas e comercializadas no mundo e o Brasil revela-se como um importante e potencial provedor de um recurso tão valioso como as plantas medicinais. Como exemplos de plantas valiosas do Brasil pode-se citar a casca d'anta (*Drimys brasiliensis*) com propriedades estomáticas, a quina (*Cinchona calisaya*) utilizada na cura da malária, a ipecacuanha (*Cephaelis ipecacuanha*) utilizada para tratar diarreias, disenteria amebiana, catarros crônicos, hemorragias e asma, a sapucainha (*Carpotroche*

*brasiliensis*) com efeitos antiinflamatórios comprovados cientificamente e o óleo extraído de suas sementes que é empregado no tratamento de lepra (CARRARA, 1995).

Dentre as árvores que compõem a rica flora brasileira, destacam-se as chamadas “madeiras de lei” que têm grande utilidade, devido sua resistência física. Diversas espécies mostraram-se adequadas para usos em construção leve (estruturas leves, assoalhos, tacos, divisórias, paredes etc.), enquanto outras podem ser empregadas na construção pesada (pontes, dormentes, pilares, carroceria de veículos etc.), na fabricação de embalagens (caixas e engradados), em móveis e obras gerais de carpintaria, marcenaria e acabamentos, para artigos esportivos, móveis artesanais e construção naval (INPA/CPPF, 1991; IBDF/LPF, 1981). Além desses usos, os constituintes químicos das madeiras de lei podem funcionar como inseticidas naturais ou apresentar atividade biológica, sendo conseqüentemente utilizados na medicina popular.

Dentre as madeiras de lei, pode-se destacar espécies do gênero *Manilkara*, pertencentes à família Sapotaceae e a fim de contribuir para o conhecimento fitoquímico desse gênero e obter novos agentes biologicamente ativos, foi escolhida a espécie *Manilkara huberi* (Ducke) A. Chev. por não existirem relatos científicos sobre o cerne desta planta.

# *OBJETIVOS*

## **2- OBJETIVOS**

### **2.1- Geral**

Contribuir para a química de produtos naturais na busca de constituintes químicos biologicamente ativos de madeiras de lei.

### **2.2- Específicos**

- Preparar os extratos brutos com os solventes orgânicos metanol, acetato de etila e cicloexano.
- Realizar testes de atividade antimicrobiana dos extratos brutos e dos seus constituintes isolados e purificados.
- Isolar os constituintes químicos dos extratos de *Manilkara huberi*.
- Identificar por espectrometria de massas os compostos purificados.

*REVISÃO  
DE  
LITERATURA*

### 3- REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1- Família Sapotaceae

A família Sapotaceae é constituída por plantas arbóreas e arbustivas com aproximadamente 52 gêneros e cerca de 1.100 espécies que ocorrem nas regiões neotropicais do mundo (MONTEIRO & ANDREATA, 2005). No Brasil ocorrem 11 gêneros: *Chromolucuma*, *Chrysophyllum*, *Diploon*, *Ecclinusa*, *Elaeoluma*, *Manilkara*, *Micropholis*, *Pouteria*, *Pradosia*, *Sarcaulus*, *Sideroxylon*, entre nativos e cultivados e cerca de 215 espécies. Aproximadamente 25% das árvores da Floresta Amazônica correspondem a espécies da família Sapotaceae (MONTEIRO & ANDREATA, 2005; KUKACHKA & MADISON, 1981).

A relação de espécies baseou-se no levantamento realizado com base na botânica e farmacologia, bem como bases de dados disponíveis. Do elenco estudado, 60 espécies são citadas por pelo menos uma aplicação, sendo que a maioria das espécies (42%) produz frutos comestíveis, por exemplo, *Chrysophyllum eximium*, *Ecclinusa guianensis*, *Manilkara dardanoi* e *Pouteria multiflora* que podem ser consumidos pelas comunidades locais (MONTEIRO & ANDREATA, 2005).

Os frutos produzidos por algumas espécies podem ser utilizados no preparo de bebidas, como por exemplo, os frutos de *Pouteria pariry* (popularmente conhecida como "frutão") ou usados na preparação de compotas (*Pouteria sapota*, popularmente conhecida como "sapota"). Além disso, alguns frutos são comercializados em mercados, como os conhecidos "sapoti" (*Manilkara zapota*), "massaranduba vermelha" (*Mimusops elata*) e o "abiu" (*Pouteria caimito*), entre outros (MONTEIRO & ANDREATA, 2005).

Com relação aos demais usos, o levantamento realizado indicou que as sapotáceas (28%) são fornecedoras de madeira de boa qualidade, por exemplo, a espécie *Chrysophyllum marginatum* usada para diferentes fins. As sapotáceas também são utilizadas na medicina popular (15%), no tratamento de diarreia, febre

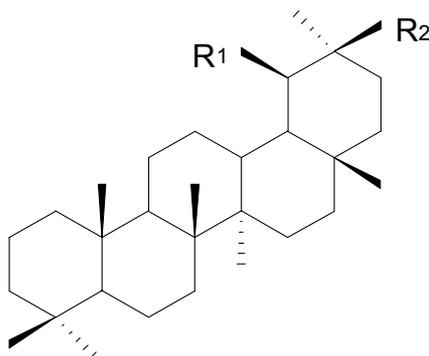
(*Chrysophyllum cainito*, "caimiteiro") e dores musculares (*Manilkara zapota*). O látex é empregado (10%) na produção de goma comercial e "balata" (*Manilkara bidentata*, "balata-verdadeira"). Há, ainda, outros usos (5%) menos freqüentes, como por exemplo, o de ornamentais (*Mimusops coriacea*, "abricoteiro-domato" e algumas espécies de *Chrysophyllum*), ou ainda como matéria-prima da especiaria canistel (*Pouteria macrophylla*) (MONTEIRO & ANDREATA, 2005).

Algumas espécies foram indicadas para todas as categorias de uso mais freqüentes, como por exemplo: *Manilkara huberi* ("massaranduba verdadeira") e *Micropholis rugosum* (MONTEIRO & ANDREATA, 2005).

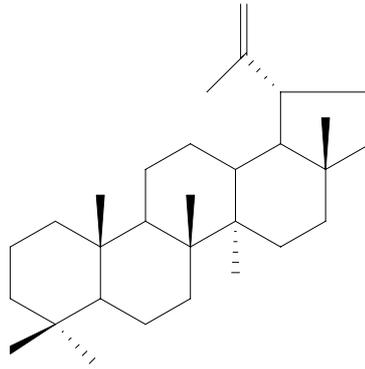
### 3.1.1- Compostos encontrados na família Sapotaceae

As seguintes classes de compostos são encontradas na família Sapotaceae:

a) Triterpenos – a família Sapotaceae é uma rica fonte de triterpenos pentacíclicos baseados nos núcleos do oleanano, ursano (Figura 1) e lupano (Figura 2) (PENNINGTON, 1991).

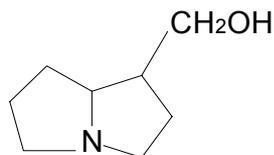


**Figura 1:** Esqueleto dos triterpenos oleanano ( $R_1 = H$ ,  $R_2 = CH_3$ ) e ursano ( $R_1 = CH_3$ ,  $R_2 = H$ )



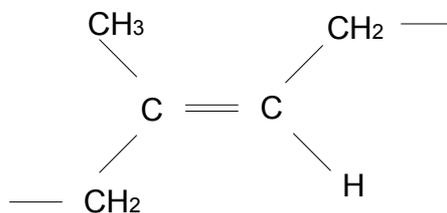
**Figura 2:** Esqueleto do triterpeno lupano

b) Alcalóides – a família Sapotaceae não produz alcalóides em grande escala. Há, entretanto, alguns registros de alcalóides pirrolizidínicos encontrados nos gêneros *Pouteria* e *Mimusops*, por exemplo, a laburnina (Figura 3) (PENNINGTON, 1991).



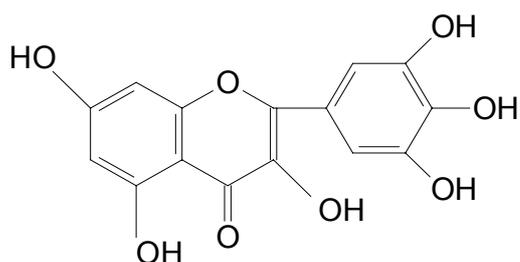
**Figura 3:** Esqueleto do alcalóide laburnina

c) Poliisoprenos – a família Sapotaceae é a maior fonte de alguns polímeros de isopreno, dentre eles, a guta-percha (Figura 4) (PENNINGTON, 1991).

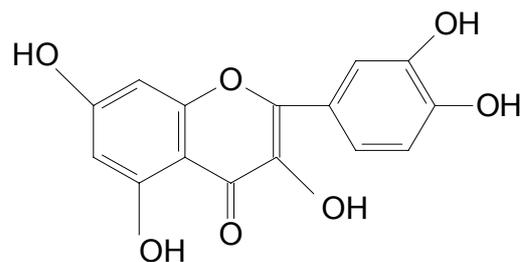


**Figura 4:** Esqueleto do poliisopreno guta-percha

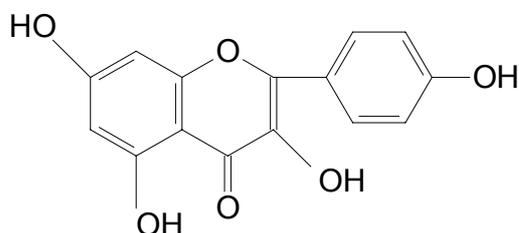
d) Compostos fenólicos – a análise fitoquímica de folhas revelou a presença de três flavonóis: miricetina, quercetina e campferol (Figuras 5, 6 e 7 respectivamente). Têm sido constatadas também a presença de taninos condensados e hidrolisáveis em espécies da família Sapotaceae (PENNINGTON, 1991).



**Figura 5:** Estrutura da miricetina  
quercetina



**Figura 6:** Estrutura da



**Figura 7:** Estrutura do campferol

### 3.2- Gênero *Manilkara*

O gênero *Manilkara* foi descrito por Adanson em 1763, entretanto, em 1753, já havia sido descrito por Linneaus como *Mimusops*.

Dubard, em 1915, descreveu a primeira espécie (origem asiática) atribuída ao gênero *Manilkara* denominada *Manilkara kauki* (L.) Dub. Os gêneros *Mimusops* e *Manilkara* foram alvos de muitas discussões devido as suas relativas

semelhanças, mas estabeleceu-se que as espécies americanas que eram atribuídas ao gênero *Mimusops* pertenceriam ao gênero *Manilkara* enquanto o gênero *Mimusops* restringiu-se a África e Ásia (KUKACHKA & MADISON, 1981).

*Manilkara* é, provavelmente, o mais importante gênero da família Sapotaceae, sendo maçaranduba o nome classicamente atribuído as suas espécies (CORREA, 1984; KUKACHKA & MADISON, 1981).

Na região Neotropical encontram-se 30 espécies do gênero *Manilkara*, sendo que a maioria está localizada na Amazônia brasileira. As madeiras desse grupo são muito valiosas no mercado por apresentarem alta densidade e uma grande resistência ao ataque de fungos apodrecedores de madeira e cupins (GOMES, 1998).

### **3.3- *Manilkara huberi* (Ducke) A. Chev.**

Dentre as espécies do gênero, *Manilkara huberi* é a mais conhecida. É a verdadeira maçaranduba. Outras variações do seu nome vulgar são: maçaranduba amarela, maçaranduba de leite, maçaranduba mansa, maçaranduba preta, maçaranduba verdadeira e paraju (EMBRAPA, 2004).

#### **3.3.1- Descrição da árvore**

Dentre as árvores da região Amazônica, a *Manilkara huberi* (Figura 8), é uma das que atingem maior porte, freqüentemente 30 a 40 m e algumas vezes até 50 m de altura, com diâmetro entre 60 e 120 cm, possui fuste reto, geralmente aproveitável desde a base (INPA, 1991).



**Figura 8:** *Manilkara huberi*

Fonte: <http://www.cdpara.pa.gov.br/faueflo/macarana.html>

### 3.3.2- Características da madeira

A madeira de *Manilkara huberi* apresenta cerne vermelho-arroxeadado, com tendência a se tornar vermelho-escuro com o tempo, distinto do alburno que é castanho-claro; apresenta textura fina e uniforme, brilho médio, grã usualmente direita, ou seja, seus elementos se dispõem paralelos ao eixo do tronco; o cheiro e o gosto são imperceptíveis (INPA, 1991).

É uma madeira muito pesada (densidade 1,04 g/cm<sup>3</sup>) que apresenta alta retratibilidade volumétrica, resistência mecânica de média a alta e possui alta durabilidade natural (INPA, 1991).

Nos ensaios em laboratório frente a fungos degradadores de madeiras, *Manilkara huberi* apresentou alta resistência a *Lenzites trabea*, *Pycnoporus sanguineus* e *Polyporus fumosus*. Em testes de laboratório, o cerne mostrou-se altamente resistente ao ataque de cupins *Nasutitermes* sp (INPA, 1991). A Figura 9 mostra uma tora de *Manilkara huberi*.



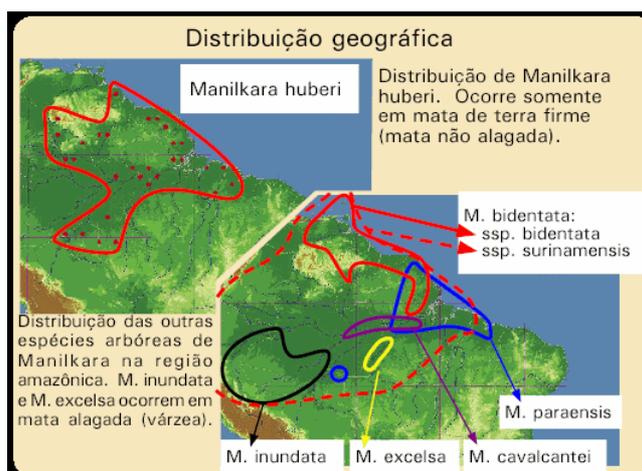
**Figura 9:** Tora de *Manilkara huberi*

Fonte:

<http://mapara.inpa.gov.br/madeira/bra/images.idc?IdMadeira=31>

### 3.3.3- Região de ocorrência

*Manilkara huberi* encontra-se na região Amazônica, principalmente na mata pluvial de terra firme, também ocorre no sul da Venezuela e Guianas (LORENZI, 1949). A Figura 10 mostra a distribuição geográfica de *Manilkara huberi*.



**Figura 10:** Distribuição geográfica de *Manilkara huberi*

Fonte:

[http://dendro.cnptia.embrapa.br/Agencia/AG01/arvore/AG01\\_73\\_309200411814.html](http://dendro.cnptia.embrapa.br/Agencia/AG01/arvore/AG01_73_309200411814.html)

### 3.3.4- Indicações de usos

A madeira de *Manilkara huberi* é indicada para construções civis externas como estruturas de pontes, moirões, postes, estacas, dormentes, partes internas em construção civil como molduras, tacos e tábuas de assoalho, vigas, ripas, barcos ou batentes de portas e janelas; obras hidráulicas, etc (INPA, 1991).

### 3.3.5- Posição taxonômica de *Manilkara huberi*

**Reino** Plantae

**Filo** Magnoliophyta

**Classe** Magnoliopsida

**Ordem** Ebenales

**Família** Sapotaceae

**Gênero** *Manilkara*

**Espécie** *Manilkara huberi*

## 3.4- Madeiras

### 3.4.1- Caracterização

Em termos genéricos, todas as madeiras possuem em comum as seguintes características:

a) O tronco da árvore possui os elementos constituintes com arranjos predominantemente verticais e simétricos na direção radial;

b) Os principais componentes da estrutura celular e a composição química das células são a celulose, carboidratos não celulósicos e lignina;

c) São anisotrópicas, isto é, possuem diferentes propriedades físicas quanto às variações dimensionais nas três direções espaciais (radial, tangencial e axial);

d) São higroscópicas, isto é, o teor de umidade varia de acordo com a umidade e temperatura atmosféricas;

e) São susceptíveis ao ataque de organismos xilófagos e também são inflamáveis, especialmente quando secas (PANSWIN & ZEEUW, 1970).

### **3.4.2- Taxonomia**

De modo muito resumido, quanto à taxonomia ou classificação botânica, as madeiras podem ser do grupo das Gimnospermas, usualmente chamadas de coníferas, resinosas, não porosas e do grupo das Angiospermas, usualmente chamadas de folhosas, porosas. Segundo Panshin & Zeeuw (1970), ambos os termos têm origem no grego e significam vegetais com sementes “nuas” para as Gimnospermas (*gimno* = nu; *sperma* = semente) e vegetais com sementes “encapsuladas” para as Angiospermas (*angio* = cápsula; *sperma* = semente).

As Angiospermas são vegetais superiores que, de modo geral, produzem flores, é um dos maiores grupos de plantas do mundo e é o que domina a flora terrestre, sendo composto por cerca de 344 famílias e mais de 200.000 espécies (JOLY, 1979).

### **3.4.3- Estrutura anatômica**

A madeira, quanto à estrutura anatômica macroscópica, é um organismo heterogêneo formado por um conjunto de células com propriedades específicas para desempenhar as funções vitais de crescimento, condução de água,

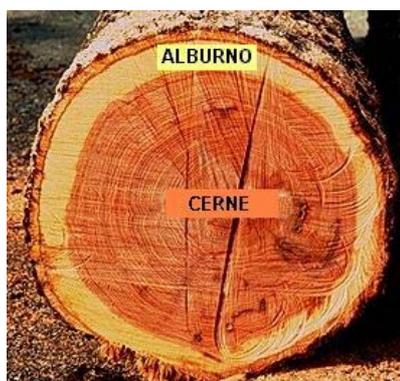
transformação, armazenamento, condução de substâncias nutritivas e sustentação do vegetal (PANSHIN & ZEEUW, 1970).

O cerne do tronco de uma árvore, geralmente, distingue-se por sua coloração mais escura. Esta coloração é devido à causa fisiológica, pois à medida que a madeira envelhece, suas células perdem suas funções vitais, sobrevivendo à deposição de taninos, gorduras, resinas, carboidratos e outras substâncias, fazendo com que possua uma constituição mais compacta, menos arejada e com menos substâncias nutritivas, conferindo-lhe maior resistência mecânica e ao ataque de organismos xilófagos (RICHTER & BURGER, 1978; LEPAGE *et al.*, 1986).

A resistência do cerne é conferida aos extrativos que se distribuem homogeneamente pela árvore, sendo maior nas partes externas do cerne e próximo à base da árvore, diminuindo em direção à medula e ao topo (CARBALLEIRA & MILANO, 1986).

O albarno é a parte ativa do tronco, sendo que suas células possuem grande quantidade de água e substâncias nutritivas, além de menor quantidade de impregnações enrijecedoras. Isto lhe confere menor resistência mecânica e também menor resistência biológica ao ataque de organismos xilófagos (RICHTER & BURGER, 1978; LEPAGE *et al.*, 1986).

Na Figura 11 encontra-se um corte transversal de uma madeira mostrando o albarno e cerne.



**Figura 11:** Albarno e cerne em corte transversal

Fonte:

[http://www.madeira.ufpr.br/UmbertoKlock/intrtecnologia/notasdeaula/caracteristicas\\_gerais.htm](http://www.madeira.ufpr.br/UmbertoKlock/intrtecnologia/notasdeaula/caracteristicas_gerais.htm)

#### 3.4.4- Composição química

Quanto à composição química, a madeira é um biopolímero tridimensional composto principalmente de celulose, hemicelulose e lignina. A celulose, o principal componente da madeira, quimicamente é definida como um carboidrato complexo, polissacarídeo, insolúvel em água e formado por grandes cadeias de moléculas de glicose. Estes polímeros formam a parede celular da madeira e são responsáveis pela maioria das suas propriedades físicas, químicas e mecânicas (LEPAGE *et al.*, 1986).

De forma simplificada pode-se dizer que a celulose forma um esqueleto imerso numa matriz de hemiceluloses e lignina, que é o material aglutinante. O menor elemento constituinte do esqueleto celulósico é considerado por muitos autores como sendo a fibrila elementar. Esta fibrila é formada por um feixe paralelo de 36 moléculas de celulose ligadas entre si por meio de pontes de hidrogênio. As fibrilas, também chamadas de micelas, são agregadas em unidades maiores chamadas microfibrilas, visíveis em microscópio eletrônico. As microfibrilas são combinadas em macrofibrilas e lamelas (paredes primária e secundária da célula). Moléculas desordenadas de celulose, bem como de lignina e hemiceluloses estão localizadas nos espaços entre as microfibrilas (EATON & HALE, 1993).

As hemiceluloses são consideradas amorfas, embora sejam aparentemente orientadas na mesma direção das microfibrilas de celulose (EATON & HALE, 1993).

A lignina é definida como um polímero tridimensional complexo, de elevado peso molecular, amorfo, que trabalha como material incrustante em torno das microfibrilas, conferindo rigidez às paredes celulares dos elementos anatômicos, tornando-as resistentes a solicitações mecânicas (EATON & HALE, 1993). Esses elementos constituem a parede celular de uma fibra, ou célula, de madeira (LEPAGE *et al.*, 1986).

Consideradas constituintes secundários, diversas substâncias podem ser extraídas da madeira por intermédio da água, de solventes orgânicos ou por volatilização, são os extrativos, que abrangem taninos, óleos, gomas, resinas, corantes, sais de ácidos orgânicos, compostos aromáticos,

depositados preponderantemente no cerne, conferindo-lhe coloração mais acentuada e maior densidade (HELLMEISTER, 1983).

Segundo Richter & Burger (1978), a presença de substâncias especiais nas células tais como sílica, alcalóides e taninos, normalmente de ocorrência mais acentuada no cerne dos troncos, aumenta a durabilidade natural da madeira devido à ação tóxica que freqüentemente apresentam sobre os agentes xilófagos. A sílica confere acentuada resistência natural às madeiras utilizadas em contato com a água do mar, que é considerada a condição de uso mais drástica e severa.

A composição química elementar da madeira varia pouco com a espécie, tanto é que se pode admitir que a madeira contenha: 49 a 50% de carbono; 6% de hidrogênio; 44% de oxigênio e 0,1 a 0,5% de nitrogênio (BRITO & BARRICHELO, 1981).

No entanto, as madeiras podem apresentar teores muito variáveis de materiais minerais (Ca, Mg, Na, K, Fe, Si, P, S, etc), os quais estão presentes em quantidades menos expressivas. Se a composição química elementar da madeira é sensivelmente constante, o mesmo não ocorre com seus constituintes químicos, que são bastante variáveis: lignina - 22 a 40%; celulose - 30 a 50%; pentosanas - 9 a 28%; mananas e galactanas - 0 a 12% e extrativos - 0,2 a 20% (BRITO & BARRICHELO, 1981).

### **3.5- Alelopatia**

A alelopatia é definida como qualquer efeito direto ou indireto, benéfico ou prejudicial, de uma planta ou de microrganismos sobre outra planta, mediante produção de compostos químicos que são liberados no ambiente (RICE, 1984).

Ao longo dos anos, tem-se comprovado que as plantas produzem substâncias químicas com propriedades alelopáticas que afetam ou não algumas espécies de plantas (especificidade). Tais substâncias são encontradas distribuídas em concentrações variadas nas diferentes partes da planta e durante o seu ciclo de vida (periodicidade) (CARVALHO, 1993).

Quando essas substâncias são liberadas em quantidades suficientes, causam efeitos alelopáticos que podem ser observados na germinação, no crescimento e/ou no desenvolvimento de plantas já estabelecidas e, ainda, no desenvolvimento de microrganismos (CARVALHO, 1993).

Os efeitos alelopáticos dependem dos aleloquímicos liberados no ambiente pelas plantas doadoras. Dessa forma, a alelopatia distingue-se da competição, pois essa envolve a redução ou a retirada de algum fator do ambiente, necessário à outra planta no mesmo ecossistema, tal como água, luz e nutrientes (RICE, 1984).

As substâncias alelopáticas liberadas por uma planta poderão afetar o crescimento, prejudicar o desenvolvimento normal e até mesmo inibir a germinação das sementes de outras espécies vegetais (SILVA, 1978). De acordo com Whittaker & Feeny (1971), os efeitos alelopáticos de uma planta são aceitos desde que sejam comprovados:

(a) que um inibidor químico efetivo esteja sendo produzido e ocorra numa concentração potencialmente efetiva no solo,

(b) que a inibição não seja por efeito de competição da planta por luz, água e nutrientes, nem por uma atividade animal.

Rice (1984) relata que, entre os agentes alelopáticos, existem mais de 300 compostos secundários vegetais e microbiológicos pertencentes a muitas classes de produtos químicos. Vários tipos de compostos orgânicos foram identificados como aleloquímicos, produzidos por microrganismos ou plantas superiores, podendo ser relacionados como principais os seguintes:

- Ácidos orgânicos solúveis em água, álcoois de cadeia reta, aldeídos e cetonas; ácidos cítrico, málico, acético e butírico; metanol, etanol e acetaldeído;
- Lactonas insaturadas simples;
- Ácidos graxos de cadeia longa e poliacetilenos;
- Naftoquinonas, antraquinonas e quinonas complexas;
- Fenóis simples, ácido benzóico e derivados;
- Ácido cinâmico e derivados;
- Cumarinas: escopoletina e umbeliferona;
- Flavonóides: quercitina, florizina e catequina;

- Taninos condensados e hidrolisáveis;
- Terpenóides e esteróides;
- Aminoácidos e polipeptídeos;
- Alcalóides e cianoidrinas: estriquinina, atropina, codeína, cocaína e amidalina;
- Sulfetos e glicosídeos;
- Purinas e nucleosídeos.

Nas plantas, as substâncias alelopáticas desempenham as mais diversas funções, sendo responsáveis pela prevenção da decomposição das sementes, interferem na sua dormência e influenciam as relações com outras plantas, com microrganismos, com insetos e até com animais superiores, incluindo o homem. Como exemplos, pode-se citar a resistência da cevada (*Hordeum vulgare*) ao pulgão (*Schizaphis graminium*) que é conferida aos fenóis e seus derivados e as lecitinas presentes nas sementes de muitas leguminosas que as tornam repelentes a algumas espécies de insetos (DURIGAN & ALMEIDA, 1993).

### **3.6- Determinação da sensibilidade dos microrganismos aos antimicrobianos**

O teste de suscetibilidade aos antimicrobianos é uma das provas mais importantes do laboratório de microbiologia clínica, pois avalia a vulnerabilidade dos microrganismos a diferentes agentes antimicrobianos (SEJAS *et al.*, 2003).

Para se prescrever um antimicrobiano é necessário determinar previamente se a amostra bacteriana responsável pela infecção é sensível ou resistente. Uma bactéria é considerada sensível a um antimicrobiano quando o seu crescimento é inibido, *in vitro*, por uma concentração, três ou mais vezes inferior àquela que o antimicrobiano atinge no sangue. Se a concentração inibitória *in vitro* é igual ou superior àquela que o antimicrobiano atinge no sangue, a bactéria é considerada resistente. A bactéria moderadamente resistente é aquela cujo crescimento é inibido por concentrações intermediárias (TRABULSI, 1999).

A sensibilidade dos microrganismos à ação das drogas antimicrobianas pode ser determinada *in vitro* por meio do antibiograma. O teste pode ser utilizado para a verificação do efeito bactericida ou bacteriostático, bem como para seleção das drogas que exercem estes efeitos (FAVA NETO, 1975).

A concentração inibitória dos antimicrobianos pode ser determinada direta ou indiretamente. A determinação direta é feita pelos chamados métodos de diluição e a indireta pelo método de difusão em placa (método de difusão em discos de papel) (TRABULSI, 1999).

O método de difusão em meio sólido, em placas de Petri, foi idealizado por Bauer e colaboradores em 1966, e desde então, é um dos métodos mais utilizados nos laboratórios de microbiologia no Brasil. É um método prático, de fácil execução e idealizado para bactérias de crescimento rápido. Os reagentes são relativamente econômicos, não há necessidade de equipamentos especiais, além de apresentar grande flexibilidade na escolha do número e tipo de antimicrobianos a serem testados (SEJAS *et al.*, 2003).

O princípio deste método baseia-se na difusão, através do meio de cultura sólido contendo os microrganismos teste, de um antimicrobiano impregnado em um disco de papel-filtro. A difusão do antimicrobiano leva à formação de um halo de inibição do crescimento bacteriano, cujo diâmetro é inversamente proporcional à concentração do antimicrobiano (SEJAS *et al.*, 2003).

Os resultados destes testes influenciam diretamente na escolha da terapêutica antimicrobiana e, por isso, a realização do teste sem controle adequado de qualidade poderá determinar o uso de um antimicrobiano inadequado, com conseqüente falha terapêutica e risco para o paciente (SEJAS *et al.*, 2003).

Vários fatores podem limitar ou falsear o resultado do teste. Assim, o meio de cultivo empregado deve ser apropriado, sem haver interferência dos seus componentes sobre a atividade da droga; o pH do meio de cultivo, a temperatura e a atmosfera de incubação devem ser adequados; o tamanho do inóculo; a concentração da droga deve ser padronizada; a difusão da substância e a solubilidade no meio de cultivo devem ser observadas; os discos devem ser de boa qualidade; o halo de inibição deve ser medido corretamente (TAVARES, 2001).

*MATERIAIS*  
*E*  
*MÉTODOS*

## 4- MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1- Material botânico

Foi utilizada a parte lenhosa (cerne) de *Manilkara huberi* (Ducke) A. Chev. proveniente do Pará e fornecida por madeireira na cidade de Recife (PE).

### 4.2- Abordagem fitoquímica

Com o cerne seco à temperatura ambiente e pulverizado foram analisadas as classes de compostos presentes através da metodologia descrita por COSTA em 1982. Na Tabela 1 encontram-se os testes que identificam as classes de compostos presentes na planta.

**Tabela 1:** Testes que identificam as classes de compostos presentes na planta

Classes de compostos	Testes
Alcalóides	Dragendorff, Mayer
Esteróides e terpenos	Liebermann-Burchard
Taninos	Cloreto férrico
Saponinas	Espuma
Flavonóides	Shinoda

#### 4.2.1- Alcalóides

Alcalóides foram investigados através de ensaios confirmativos específicos. A 1 g do cerne seco foram adicionados 10 mL de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) a 1%. A mistura foi aquecida em banho-maria a 100°C durante 2 min e,

logo em seguida, submetida à filtração. Alíquotas do filtrado foram usadas para determinação de alcalóides com os reagentes de Dragendorff e Mayer.

O teste de Dragendorff é considerado positivo com o surgimento de um precipitado vermelho alaranjado.

O teste de Mayer é positivo com o aparecimento de um precipitado de cor branca.

#### **4.2.2- Esteróides e terpenóides**

A presença de esteróides e triterpenóides foi avaliada pelo teste de Liebermann-Burchard. Adicionaram-se 3 mL de clorofórmio ( $\text{CHCl}_3$ ) a 1 g de cerne seco. Logo após, realizou-se filtração e adicionou-se ao filtrado 2 mL de anidrido acético, agitando vagarosamente. À solução obtida, foram acrescentadas 5 gotas de ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) concentrado pelas paredes do tubo. O aparecimento sucessivo de cores do rosa ao azul e verde caracteriza a presença de esteróides e terpenóides.

#### **4.2.3- Flavonóides**

Para avaliação da presença de flavonóides, foi realizado o teste de Shinoda que consistiu em acrescentar 5 mL de metanol ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ) a 1 g de cerne seco, em seguida filtrar e adicionar 1 mL de ácido clorídrico ( $\text{HCl}$ ) concentrado. Deixou-se a solução reagir com 1 cm de fita de magnésio. O teste é considerado positivo com o aparecimento de uma coloração rosa.

#### **4.2.4- Saponinas**

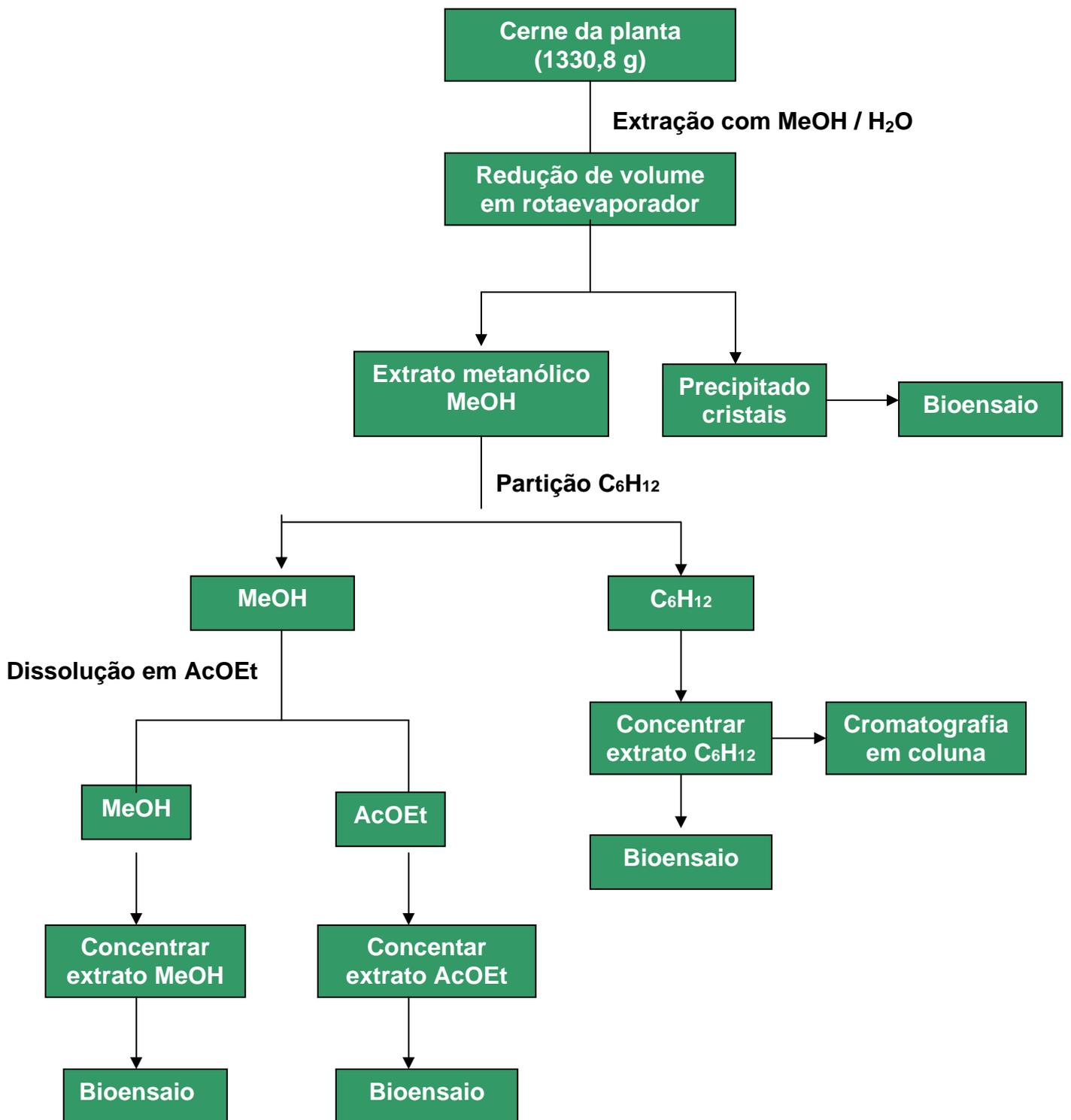
Foi utilizado o teste de espuma para verificar a presença de saponinas. Adicionaram-se 5 mL de água destilada a 1 g do cerne seco. Agitou-se vigorosamente por aproximadamente 5 minutos. A formação de espuma persistente por 30 minutos revela a presença de saponinas.

#### **4.2.5- Taninos**

Para determinar a presença de taninos foram adicionados 10 mL de água destilada ao cerne seco e em seguida esta solução foi filtrada. Ao filtrado foi adicionada uma solução de cloreto férrico ( $\text{FeCl}_3$ ) a 1%. O surgimento de uma coloração ou precipitado verde ou azul indica a reação positiva para taninos.

#### **4.3- Preparação dos extratos brutos**

O cerne seco (1330,8 g) de *Manilkara huberi* foi submetido a três extrações com metanol (90%) /  $\text{H}_2\text{O}$  (10%) durante treze dias agitando-se manualmente. A extração foi realizada à temperatura ambiente e utilizou-se cerca de seis litros de  $\text{MeOH} / \text{H}_2\text{O}$  em cada extração. Em seguida foi feita uma redução de volume em rotaevaporador originando um precipitado (cristais) o qual foi separado e submetido a bioensaio. O extrato hidroalcoólico foi particionado em cicloexano ( $\text{C}_6\text{H}_{12}$ ) e com o extrato metanólico foi realizada uma dissolução em acetato de etila ( $\text{AcOEt}$ ). Os solventes foram evaporados e os extratos concentrados em evaporador rotativo. O esquema para obtenção dos extratos brutos encontra-se na Figura 12.



**Figura 12:** Obtenção dos extratos brutos de *Manilkara huberi*

## **4.4- Atividade antimicrobiana**

### **4.4.1- Microrganismos**

Os microrganismos utilizados nos testes de atividade antimicrobiana foram cedidos pela Coleção de Culturas do Departamento de Antibióticos (DAUFPE) e pelo setor de bacteriologia da Unidade de Laboratório do Hospital das Clínicas de Pernambuco (ULAB). As bactérias e leveduras utilizadas estão descritas na Tabela 2.

Os microrganismos foram mantidos em ágar nutriente (AN) para as Gram-positivas e Gram-negativas, ágar glicose/extrato de levedura (GL) para o *Mycobacterium smegmatis* e ágar Sabouraud para a levedura, todos foram conservados a temperatura de 4°C. A composição dos meios de cultura está descrita no anexo 8.1.

**Tabela 2:** Microrganismos utilizados nos testes de atividade antimicrobiana

<b>Bactérias Gram-positivas</b>	<i>Staphylococcus aureus</i> (DAUFPE 02) <i>Bacillus subtilis</i> (DAUFPE 16) <i>Micrococcus luteus</i> (DAUFPE 100) <i>Enterococcus faecalis</i> (DAUFPE 138) <i>Pseudonocardia thermophyla</i> (DAUFPE 3517) <i>Staphylococcus aureus</i> (ULAB 18304) <i>Staphylococcus epidermidis</i> (ULAB 14802) <i>Staphylococcus saprophyticus</i> (ULAB 14828) <i>Micrococcus sp.</i> (ULAB 14719)
<b>Bactérias Gram-negativas</b>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (DAUFPE 416) <i>Escherichia coli</i> (DAUFPE 224) <i>Klebsiella pneumoniae</i> (DAUFPE 396) <i>Salmonella enteritidis</i> (DAUFPE 414) <i>Shigella sonnei</i> (DAUFPE 413) <i>Klebsiella pneumoniae</i> (ULAB 18319) <i>Proteus mirabilis</i> (ULAB 18310)
<b>Bactérias álcool-ácido resistentes</b>	<i>Mycobacterium smegmatis</i> (DAUFPE 71)
<b>Leveduras</b>	<i>Candida albicans</i> (DAUFPE 1007)

#### 4.4.2- Método de difusão em disco de papel

A atividade antimicrobiana foi determinada pelo método de difusão em disco de papel (BAUER *et al.*, 1966).

Cada extrato bruto (1g) foi solubilizado em quantidade suficiente de dimetilsulfóxido (DMSO) para preparação de soluções com concentrações de 100 mg/mL.

De cada microrganismo-teste foi obtido um inóculo com 24 horas de crescimento em meios ágar nutritivo (AN) para as bactérias Gram-positivas e negativas, ágar Sabouraud (SAB) para as leveduras e ágar glicose/extrato de levedura (GL) para a bactéria álcool-ácido-resistente. Em seguida, com os microrganismos crescidos, foi preparada uma suspensão de células, de cada microrganismo, em cloreto de sódio (NaCl 0,9%) até atingir uma turbidez equivalente ao tubo 0,5 da escala de McFarland (aproximadamente  $10^8$  UFC/mL) (KONEMAN, 1997).

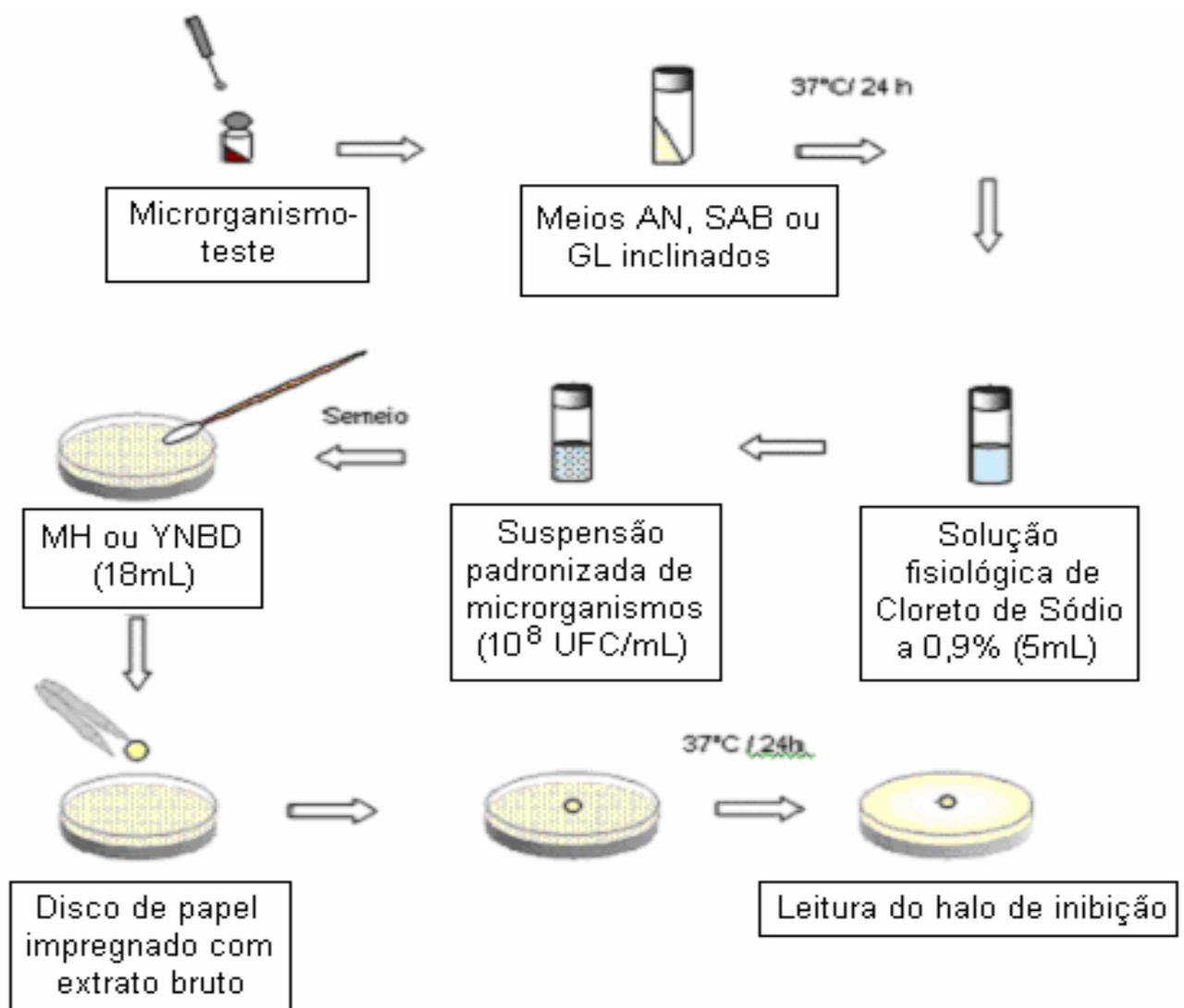
As suspensões foram transferidas para placas de Petri (90 mm  $\varnothing$ ) contendo os meios Yeast Nitrogen Base Dextrose (YNBD) para a levedura e Müller-Hinton (MH) para as bactérias. Este meio foi empregado dado sua comprovada eficiência, pois oferece condições nutritivas satisfatórias aos principais germes patogênicos, além de não bloquear ou interferir na ação dos antibióticos a serem testados (SILVA, 1989).

Sobre as placas de Petri, previamente preparadas, foram depositados discos de papel (6 mm  $\varnothing$ ), estéreis, impregnados com 20  $\mu$ L das soluções dos extratos brutos na concentração de 100 mg/mL.

As placas de Petri foram incubadas a 37°C durante 24h. Os resultados foram analisados através da mensuração dos halos de inibição ao redor dos discos, sendo expressos em milímetros (mm). Estes diâmetros variam de acordo com a velocidade de difusão do antimicrobiano (extratos) e a sensibilidade dos microrganismos.

Todo experimento foi realizado em duplicata para garantir maior segurança aos resultados. O valor final dos halos foi correspondente à média aritmética expressa em milímetros. Para o controle negativo (branco) foram utilizados discos de papel embebidos com dimetilsulfóxido (DMSO). A Figura 13 apresenta o desenho esquemático do teste de atividade antimicrobiana pelo método de difusão em disco de papel.

O setor de bacteriologia da Unidade de Laboratório do Hospital das Clínicas de Pernambuco (ULAB) procedeu à análise de antibiograma das amostras clínicas (anexo 8.2).



**Figura 13:** Esquema do teste de atividade antimicrobiana

#### **4.5- Métodos cromatográficos**

O fracionamento do extrato cicloexano foi realizado por cromatografia em coluna clássica. Foram utilizadas colunas de vidro com comprimentos e diâmetros variados, tendo-se como suporte sílica gel 60 Merck® (partícula 0,063 - 0,200 mm).

As frações obtidas na cromatografia em coluna foram analisadas em cromatografia em camada delgada (CCD) para verificação da pureza. Utilizaram-se placas prontas de polietileno POLYGRAM SIL G/UV<sup>254</sup>.

As placas de CCD foram reveladas sob radiação ultravioleta com comprimento de onda de 254 nm e com vapores de iodo (I<sub>2</sub>).

#### **4.6- Fracionamento do extrato cicloexano de *Manilkara huberi***

O fracionamento cromatográfico do extrato cicloexano (700 mg) em coluna de sílica gel foi realizado usando-se tolueno e acetato de etila no seguinte gradiente de polaridade:

- Tolueno 100%
- Tolueno / acetato de etila (95: 5)
- Tolueno / acetato de etila (90:10)
- Tolueno / acetato de etila (80:20)
- Tolueno / acetato de etila (50:50)
- Acetato de etila 100%

As frações obtidas foram analisadas por cromatografia em camada delgada e reunidas de acordo com seus R<sub>f</sub>'s (fator de retenção).

#### **4.7- Métodos espectroscópicos**

As frações F2, F5, F6, F7, F9, F13 e F16 foram analisadas por cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (GC - MS). O equipamento utilizado pertence à marca SHIMADZU QP5050, empregou-se uma coluna DB-5 de 30 m comprimento com 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 µm de espessura do filme. Utilizou-se o gás Hélio, a temperatura da coluna foi entre 60°C e 280°C e o solvente empregado foi diclorometano (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>).

*RESULTADOS*

*ATIVIDADE*

*ANTIMICROBIANA*

## 5- RESULTADOS

### 5.1- Atividade antimicrobiana frente aos microrganismos do DAUFPE

Dentre os microrganismos testados observou-se que as bactérias Gram-positivas *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus subtilis*, a bactéria álcool-ácido-resistente *Mycobacterium smegmatis* e a levedura *Candida albicans* foram sensíveis aos extratos cicloexano e acetato de etila de *Manilkara huberi*. O extrato metanólico não foi ativo contra nenhum dos microrganismos testados.

Os maiores halos de inibição foram observados em *Mycobacterium smegmatis*, 25 mm para os extratos cicloexano e 16 mm para acetato de etila.

Observou-se que os extratos brutos do cerne de *Manilkara huberi* apresentam atividade antimicrobiana apenas contra bactérias Gram-positivas, visto que nenhuma das bactérias Gram-negativas testadas teve seu crescimento inibido pelos extratos brutos desta planta.

Não foi observada atividade antimicrobiana dos cristais frente aos microrganismos testados.

Os resultados da atividade antimicrobiana pelo método de difusão em disco de papel dos extratos brutos do cerne de *Manilkara huberi* frente aos microrganismos cedidos pelo DAUFPE estão descritos na Tabela 3.

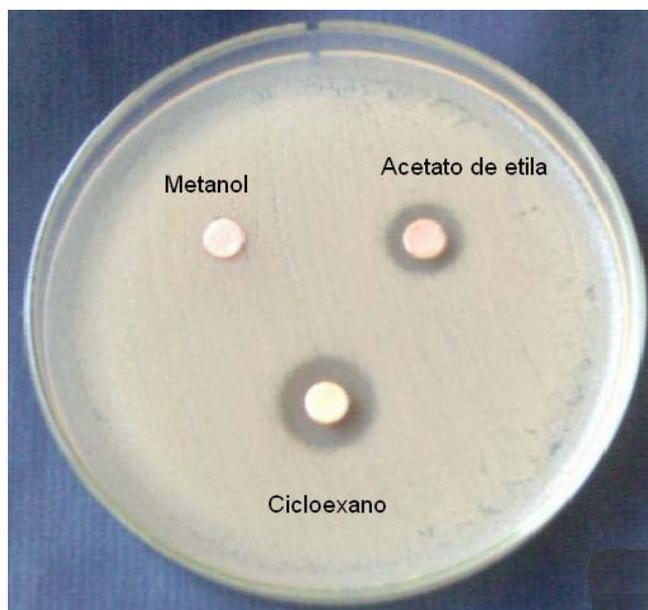
**Tabela 3:** Resultado da atividade antimicrobiana dos extratos brutos de *Manilkara huberi* frente aos microrganismos do DAUFPE

Microrganismos	Halo de inibição (mm)			
	Cristais	Extrato metanólico	Extrato cicloexano	Extrato acetato de etila
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	<b>18</b>	<b>12</b>
<i>Micrococcus luteus</i>	-	-	-	-
<i>Bacillus subtilis</i>	-	-	<b>13</b>	<b>12</b>
<i>Pseudonocardia thermophyla</i>	-	-	-	-
<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-	<b>12</b>	<b>13</b>
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-
<i>Salmonella enteritidis</i>	-	-	-	-
<i>Shigella sonnei</i>	-	-	-	-
<i>Mycobacterium smegmatis</i>	-	-	<b>25</b>	<b>16</b>
<i>Candida albicans</i>	-	-	<b>13</b>	-

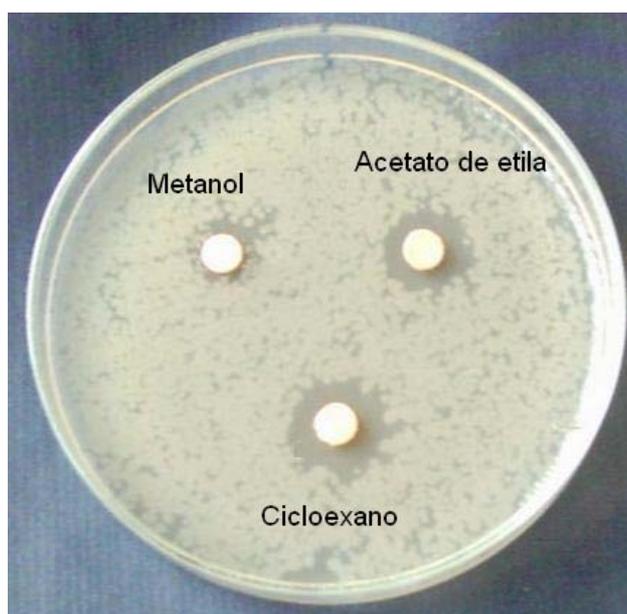
- ausência de inibição

Nas Figuras 14, 15, 16, 17 e 18 encontram-se a atividade antimicrobiana dos extratos brutos pelo método de difusão em disco de papel

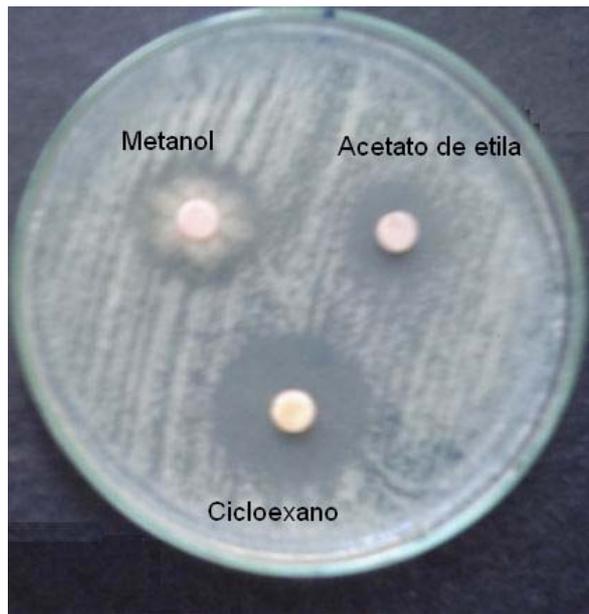
frente à *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Mycobacterium smegmatis*, *Candida albicans* e *Enterococcus faecalis* respectivamente, cedidos pelo DAUFPE.



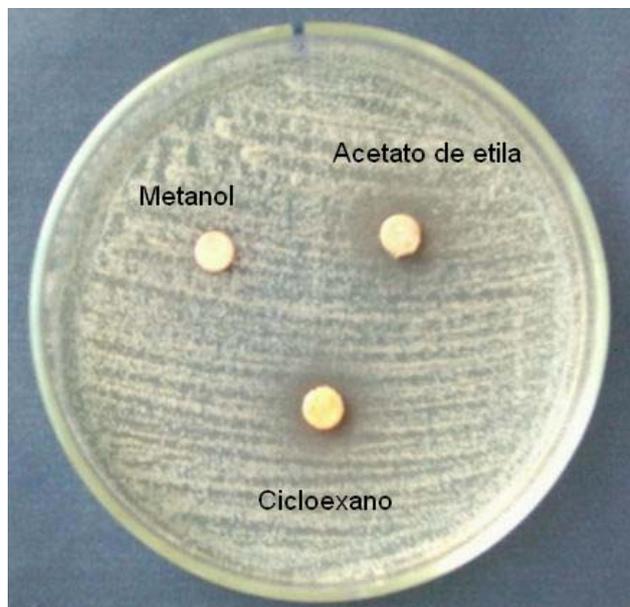
**Figura 14:** Atividade antimicrobiana dos extratos brutos frente à *Staphylococcus aureus* (DAUFPE 02)



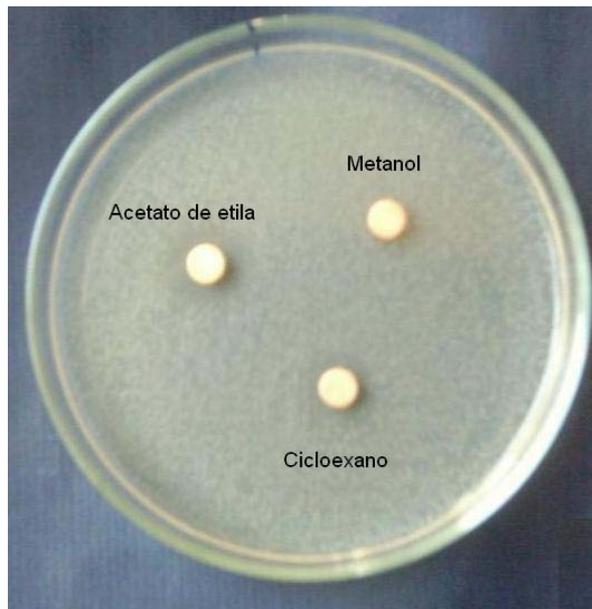
**Figura 15:** Atividade antimicrobiana dos extratos brutos frente à *Bacillus subtilis* (DAUFPE 16)



**Figura 16:** Atividade antimicrobiana dos extratos brutos frente à *Mycobacterium smegmatis* (DAUFPE 71)



**Figura 17:** Atividade antimicrobiana dos extratos brutos frente à *Candida albicans* (DAUFPE 1007)



**Figura 18:** Atividade antimicrobiana dos extratos brutos frente ao *Enterococcus faecalis* (DAUFPE 138)

## 5.2- Atividade antimicrobiana frente aos isolados clínicos da ULAB

Dentre os microrganismos testados pertencentes ao setor de bacteriologia da Unidade de Laboratório do Hospital das Clínicas de Pernambuco (ULAB) observou-se que as bactérias Gram-positivas *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *S. saprophyticus* foram sensíveis aos extratos cicloexano e acetato de etila de *Manilkara huberi*.

Os maiores halos de inibição foram observados frente ao *Staphylococcus epidermidis*, 14 mm para os extratos cicloexano e 11 mm para acetato de etila. *Micrococcus sp.* foi sensível apenas ao extrato em cicloexano, com formação de halo de inibição de 12 mm.

O extrato metanólico não foi ativo contra nenhum dos microrganismos testados e nenhum dos extratos testados foi ativo contra bactérias Gram-negativas.

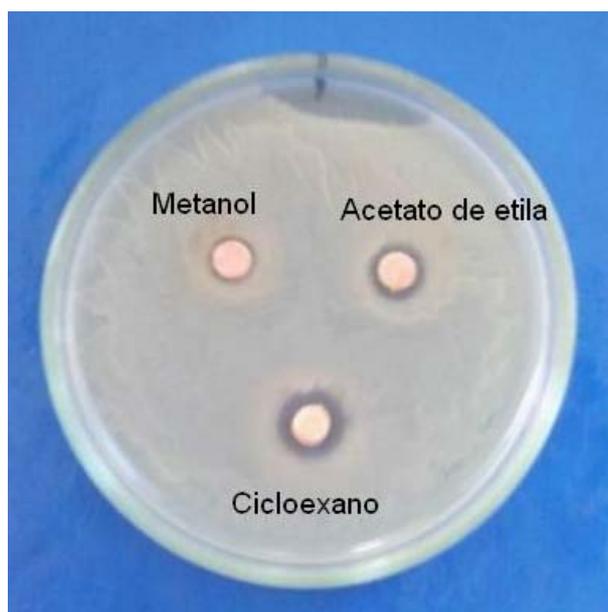
A Tabela 4 mostra os resultados da atividade antimicrobiana dos extratos brutos do cerne de *Manilkara huberi* frente aos microrganismos da ULAB.

**Tabela 4:** Resultado da atividade antimicrobiana dos extratos brutos de *Manilkara huberi* frente aos isolados clínicos da ULAB

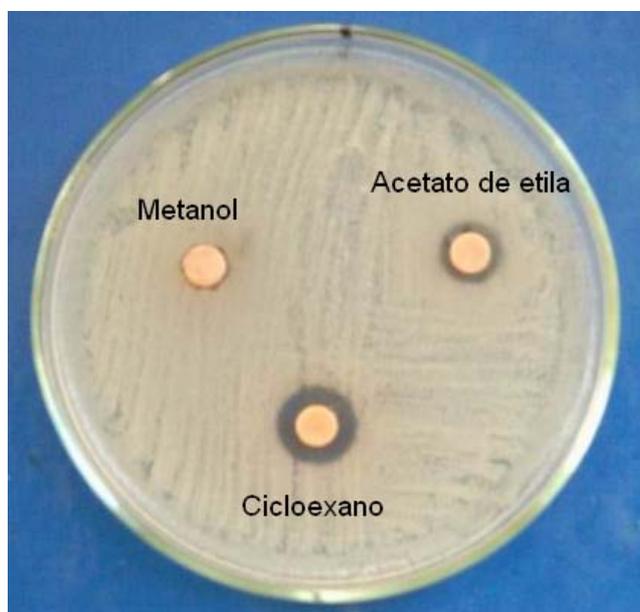
Microrganismos	Halos de inibição (mm)		
	Cicloexano	Acetato de etila	Metanol
<i>Staphylococcus aureus</i>	13	11	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	14	11	-
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	13	10	-
<i>Micrococcus sp.</i>	12	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	-
<i>Proteus mirabilis</i>	-	-	-

- ausência de inibição

Nas Figuras 19 e 20 encontram-se os testes de difusão em discos de papel mostrando a atividade antimicrobiana dos extratos brutos frente ao *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis* cedidos pela ULAB.

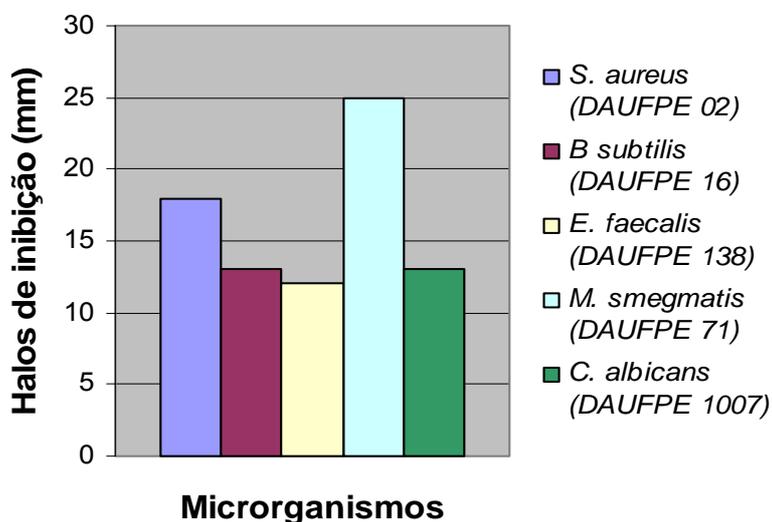


**Figura 19:** Atividade antimicrobiana dos extratos brutos frente ao *Staphylococcus aureus* (ULAB 18304)

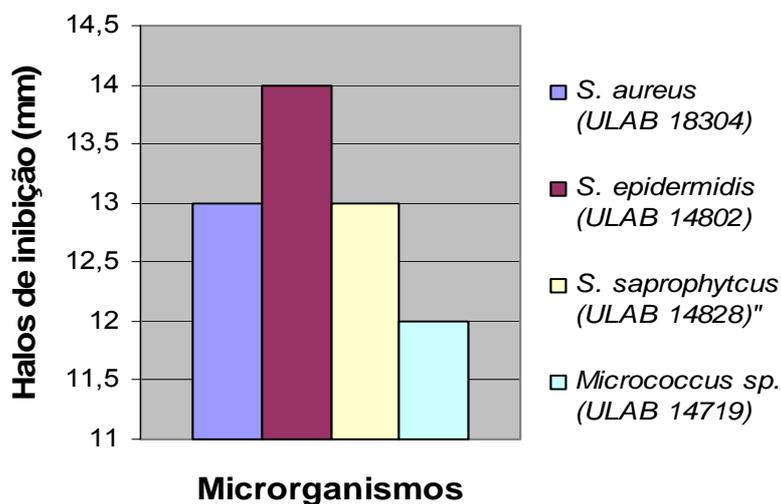


**Figura 20:** Atividade antimicrobiana dos extratos brutos frente ao *Staphylococcus epidermidis* (ULAB 14802)

O extrato bruto que demonstrou melhor atividade antimicrobiana frente aos microrganismos testados, tanto do DAUFPE quanto da ULAB, foi o extrato em cicloexano, com formação dos maiores halos de inibição (Figuras 21 e 22).



**Figura 21:** Atividade antimicrobiana do extrato bruto em cicloexano frente aos microrganismos da Coleção de Culturas (DAUFPE)



**Figura 22:** Atividade antimicrobiana do extrato bruto em cicloexano frente aos microrganismos da ULAB

Relatos sobre atividade antimicrobiana do gênero *Manilkara* não foram encontrados na literatura.

BHAT e colaboradores (1990) evidenciaram que, em relação à família Sapotaceae, os extratos da raiz e da casca de *Butyrospermum paradoxum*, árvore cujas folhas são usadas no tratamento de malária, são ativos contra vários microrganismos, dentre eles, *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans* confirmando os resultados obtidos pelos extratos de *Manilkara huberi* que também foram ativos contra esses dois microrganismos.

Os extratos da raiz e da casca de *Butyrospermum paradoxum* não inibiram o crescimento de *Klebsiella sp* e *Shigella sp* (ambas bactérias Gram-negativas) da mesma forma que os extratos de *Manilkara huberi* também não apresentaram atividade antimicrobiana frente a *Klebsiella pneumoniae* e *Shigella sonnei*. Por outro lado, *Butyrospermum paradoxum* mostrou-se eficaz contra algumas bactérias Gram-negativas, dentre elas, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*, ao contrário de *Manilkara huberi* que não apresentou atividade antimicrobiana contra esses dois microrganismos (OGUNWANDE, 2001).

Alves e colaboradores (2000) demonstraram que o extrato das folhas de *Pouteria torta*, espécie da família Sapotaceae, apresenta atividade antimicrobiana frente à *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*.

Os extratos das folhas de outras espécies da família Sapotaceae como *Chrysophyllum flexuosum*, *Chrysophyllum inornatum*, *Pouteria psamophila* e *Pouteria grandiflora*, mostraram-se inativas contra *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans* (AGRIPINO, 2004). Em *Manilkara huberi* os extratos brutos de cicloexano e acetato de etila também foram inativos frente à *Escherichia coli*, entretanto, apresentaram atividade antimicrobiana frente à *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans*.

*RESULTADOS*

*QUÍMICA*

### 5.3- Abordagem fitoquímica

A abordagem fitoquímica do cerne de *Manilkara huberi* revelou a presença de saponinas, flavonóides, esteróides e terpenóides. Não foi detectada a presença de alcalóides ou taninos no cerne desta planta (Tabela 5).

**Tabela 5:** Resultado da abordagem fitoquímica do cerne de *Manilkara huberi*

Classes de compostos	Testes	Resultados
Alcalóides	Dragendorff, Mayer	Negativo
Esteróides e terpenóides	Liebermann-Burchard	Positivo
Taninos	Cloreto férrico	Negativo
Saponinas	Espuma	Positivo
Flavonóides	Shinoda	Positivo

Assim como em *Manilkara huberi*, foram detectadas saponinas na madeira de outras espécies da família Sapotaceae como, por exemplo, em *Argania spinosa* (L.) Skeels, árvore comumente encontrada no sudoeste de Marrocos (CHARROUF & GUILLAUME, 1999). *Mimusops elengi* e *Mimusops hexandra* (Sapotaceae), árvores encontradas na Índia e usadas na medicina tradicional local (WATT, 1908), apresentam saponinas e terpenóides nos frutos (LAVAUD *et al.*, 1996). Saponinas também foram isoladas da casca de *Gambeya boukokoensis* (Sapotaceae), planta originária da África e usada no tratamento de infecções vaginais e esterilidade (WANDJI *et al.*, 2003).

Outras espécies do gênero *Manilkara*, como *Manilkara zapota*, dentre outros constituintes, apresenta saponinas em sua composição (MORTON, 1981; DUKE, 2000). As saponinas presentes nas sementes de *Manilkara zapota* são venenosas para insetos (ROBBERS, SPEEDIE, TYLER, 1996).

A presença de flavonóides pode ser observada em outras espécies do gênero *Manilkara*, como por exemplo, nas folhas de *Manilkara indica* (HARAGUCHI *et al.*, 2003) e na casca de *Manilkara hexandra* (SHAH, GOSWAMI, SANTINI, 2004).

Espécies do gênero *Pouteria* pertencentes à família Sapotaceae também apresentam flavonóides nos seus frutos (MA *et al.*, 2003).

Os terpenóides constituem uma das mais diversificadas classes de compostos químicos caracterizadas em todas as plantas e são responsáveis por uma grande diversidade de estruturas proporcionando um enorme potencial para as interações fisiológicas e ecológicas das plantas (SIQUEIRA *et al.*, 2003). Esteróides e terpenóides em algumas espécies da família Sapotaceae apresentam importância quimiotaxonômica (GUNASEKERA *et al.*, 1977).

#### **5.4- Rendimento do processo de obtenção dos extratos brutos de *Manilkara huberi***

Partindo-se de 1330,8 g do cerne da planta obtivemos os seguintes rendimentos (Tabela 6):

**Tabela 6:** Rendimento dos extratos brutos de *Manilkara huberi*

<b>Extrato bruto</b>	<b>Peso</b>	<b>Rendimento</b>
Cicloexano	1 g	0,07 %
Acetato de etila	6, 8 g	0,51 %
Metanol	7, 4 g	0,55 %

#### **5.5- Rendimento do fracionamento cromatográfico do extrato cicloexano**

Visto que o extrato cicloexano foi o mais ativo, apresentando os melhores resultados nos testes de atividade antimicrobiana, escolheu-se este extrato para realização de cromatografia em coluna clássica a fim de identificar os constituintes químicos ativos de *Manilkara huberi*.

Partindo-se de 700 mg de extrato cicloexano obtivemos um total de 45 frações que foram reunidas de acordo com seus Rf's em 20 frações principais (F1 – F20), cujos rendimentos estão descritos na Tabela 7.

**Tabela 7:** Rendimento do fracionamento do extrato cicloexano

Fração	Rendimento
F 1	2, 31 %
<b>F 2</b>	<b>2, 94 %</b>
F 3	1, 94 %
F 4	0, 65 %
<b>F 5</b>	<b>0, 81 %</b>
<b>F 6</b>	<b>0, 51 %</b>
<b>F 7</b>	<b>0, 48 %</b>
F 8	2, 17 %
<b>F 9</b>	<b>4, 25 %</b>
F 10	12, 1%
F 11	38, 71 %
F 12	10, 51 %
<b>F 13</b>	<b>51, 65 %</b>
F 14	13, 68 %
F 15	4, 24 %
<b>F 16</b>	<b>34, 21 %</b>
F 17	14, 18 %
F 18	19, 34 %
F 19	15, 38 %
F 20	8, 65 %

## 5.6- Compostos químicos identificados no cerne de *Manilkara huberi* (Ducke) A. Chev.

Do estudo fitoquímico do cerne de *Manilkara huberi* foram identificados 12 compostos (siglas MH<sub>1</sub> a MH<sub>12</sub>): MH<sub>1</sub> (ácido hexadecanóico), MH<sub>2</sub> (ácido dodecanóico), MH<sub>3</sub> (ácido decanóico), MH<sub>4</sub> (hexadecanoato de metila), MH<sub>5</sub> (hexanoato de benzila), MH<sub>6</sub> (benzoato de benzila), MH<sub>7</sub> (benzoato de 2-metilfenila), MH<sub>8</sub> (2-fenil-dodecano), MH<sub>9</sub> (4-fenil-dodecano), MH<sub>10</sub> (benzaldeído), MH<sub>11</sub> (2,4-undecadienal) e MH<sub>12</sub> (álcool benzílico).

Na Tabela 8 encontram-se todos os compostos, as frações no qual foram identificados, o percentual que cada um representa no cromatograma e seus respectivos tempos de retenção. Os compostos MH<sub>10</sub> (benzaldeído) e MH<sub>12</sub> (álcool benzílico) apresentaram os maiores percentuais.

**Tabela 8:** Frações, tempos de retenção e percentuais dos compostos químicos identificados no cerne de *Manilkara huberi*

Composto	Fração	Tempo de retenção (min)	% do total
Benzaldeído	F16	4, 438	28, 65
Álcool benzílico	F16	5, 455	35, 80
Ácido decanóico	F16	10, 226	10, 91
2,4-undecadienal	F13	10, 798	18, 83
Hexanoato de benzila	F16	12, 643	1, 85
Ácido dodecanóico	F16	12, 830	1, 43
4-fenil dodecano	F9	15, 125	0, 88
benzoato de 2-metilfenila	F7	15, 133	6, 05
Benzoato de benzila	F16	15, 451	7, 13
2-fenil dodecano	F16	15, 785	0, 87
Hexadecanoato de metila	F2	16, 990	7, 56
Ácido hexadecanóico	F16	17, 405	3, 06

*IDENTIFICAÇÃO DOS  
ÁCIDOS E ÉSTERES  
SATURADOS*

*COMPOSTO MH<sub>1</sub>*

*COMPOSTO MH<sub>2</sub>*

*COMPOSTO MH<sub>3</sub>*

*COMPOSTO MH<sub>4</sub>*

### 5.6.1- Identificação de ácidos e ésteres saturados por GC – MS

Em ácidos e ésteres saturados de cadeia longa, o espectro de massas é caracterizado por:

- a) Picos que resultam da quebra de cada ligação C–C, com retenção de carga pelo fragmento contendo oxigênio ( $m/z = 45, 59, 73, 87\dots$ ),
- b) Picos resultantes da quebra da cada ligação C–C, com retenção de carga pelo fragmento alquila ( $m/z = 29, 43, 57, 71, 85\dots$ ),
- c) Modelo hidrocarbônico de fragmentação do tipo  $C_nH_{2n-1}$  com picos em  $m/z = 55, 56, 69, 70$  etc.
- d) Um pico característico resultante de rearranjo de McLafferty em  $m/z = 60$  para os ácidos e em  $m/z = 74$  para o éster metílico de um ácido alifático não ramificado no carbono  $\alpha$  (SILVERSTEIN & WEBSTER, 2000).

#### 5.6.1.1- Identificação do composto MH<sub>1</sub>

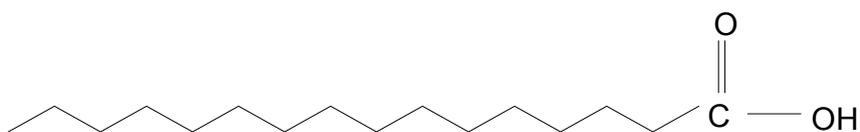
A estrutura do composto MH<sub>1</sub> encontra-se na Figura 23 e seu espectro de massas na Figura 24. Os fragmentos mais importantes para elucidação estrutural deste composto, além de suas massas e intensidades relativas estão descritos na Tabela 9.

Estes fragmentos e suas respectivas massas correspondem aos valores descritos para o ácido hexadecanóico ou ácido palmítico, que é um ácido graxo de cadeia longa, presente na biblioteca de espectros WILEY 229.LIB cuja fórmula molecular é  $C_{16}H_{32}O_2$ . Na Figura 25 encontra-se a comparação entre o espectro do composto MH<sub>1</sub> e o espectro da substância original. Os principais fragmentos observados no espectro de massas do composto MH<sub>1</sub> estão representados na Figura 26.

O pico do íon molecular do composto MH<sub>1</sub> apresenta-se em  $m/z = 256$  e o pico base em  $m/z = 73$ . Os picos em  $m/z = 87, 101, 115, 129, 143, 157, 171, 185, 199, 213$  e  $227$  formam uma seqüência de fragmentação caracterizada por aglomerados de picos afastados uns dos outros por 14 unidades de massa, correspondentes a perdas sucessivas de unidades  $CH_2$ .

O pico em  $m/z = 239$  é de baixa intensidade e representa a perda de uma hidroxila (OH). O pico em  $m/z = 97$  é originado da perda de uma molécula de  $H_2O$  do fragmento em  $m/z = 115$ . O pico em  $m/z = 85$  representa o fragmento alquila  $[C_6H_{13}]^+$ , o pico em  $m/z = 60$  é devido ao rearranjo de McLafferty descrito na Figura 26. O pico em  $m/z = 57$  é representado pelo fragmento alquila  $[C_4H_9]^+$  e os picos em  $m/z = 83$ ,  $69$  e  $55$  originam-se de fragmentações hidrocarbônicas do tipo  $C_nH_{2n-1}$  com  $n = 6$ ,  $5$  e  $4$  respectivamente. Uma clivagem  $\alpha$  à carbonila elimina a cadeia alquila originando o pico em  $m/z = 45$ .

Verificou-se a veracidade deste resultado confrontando os dados espectrais do composto  $MH_1$  com os dados da literatura do ácido hexadecanóico. O espectro de massas do composto  $MH_1$  apresentou um índice de similaridade (IS) de 94 % em relação ao espectro da substância original (ácido hexadecanóico).



**Figura 23:** Estrutura do composto  $MH_1$  – ácido hexadecanóico

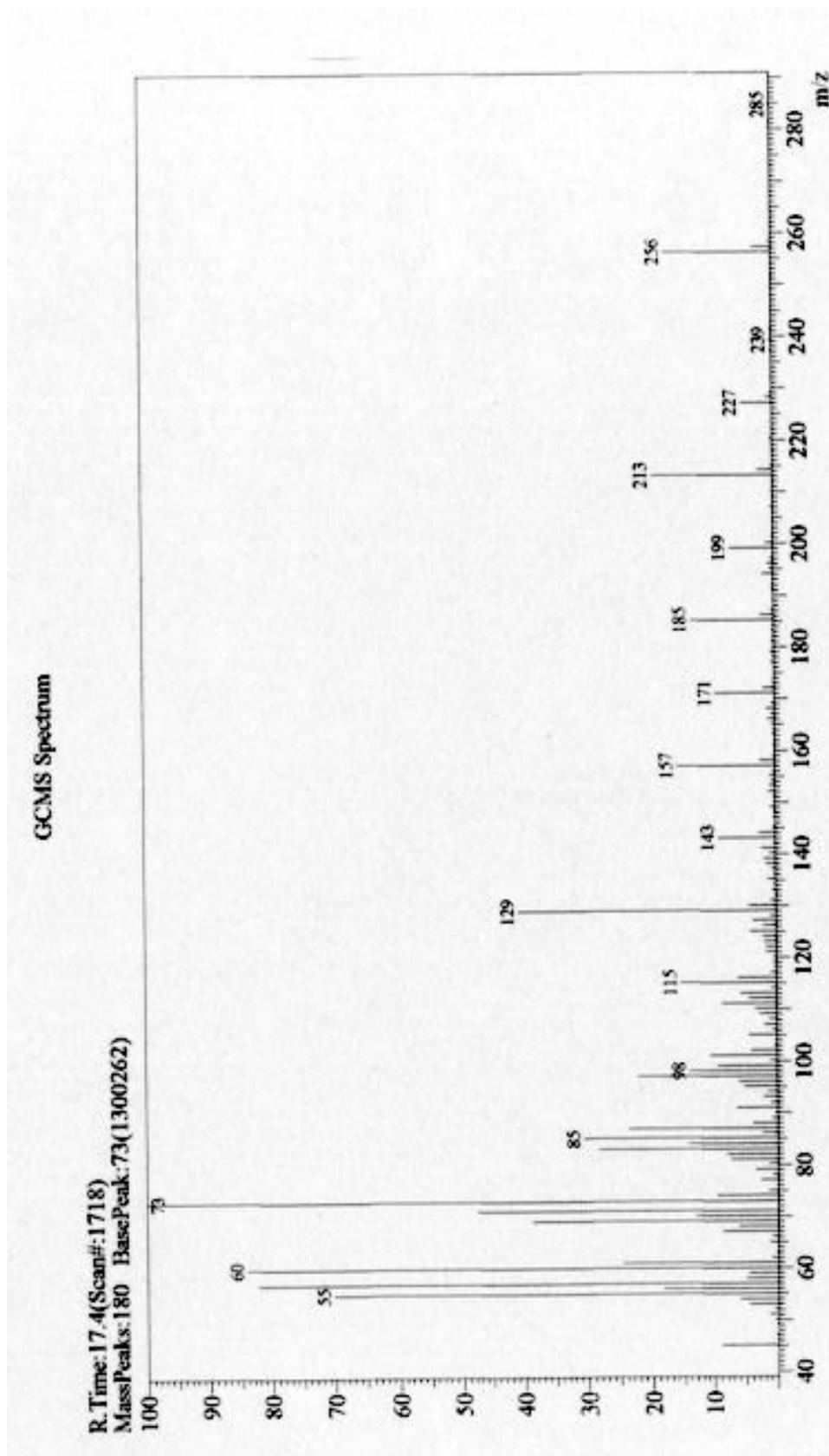
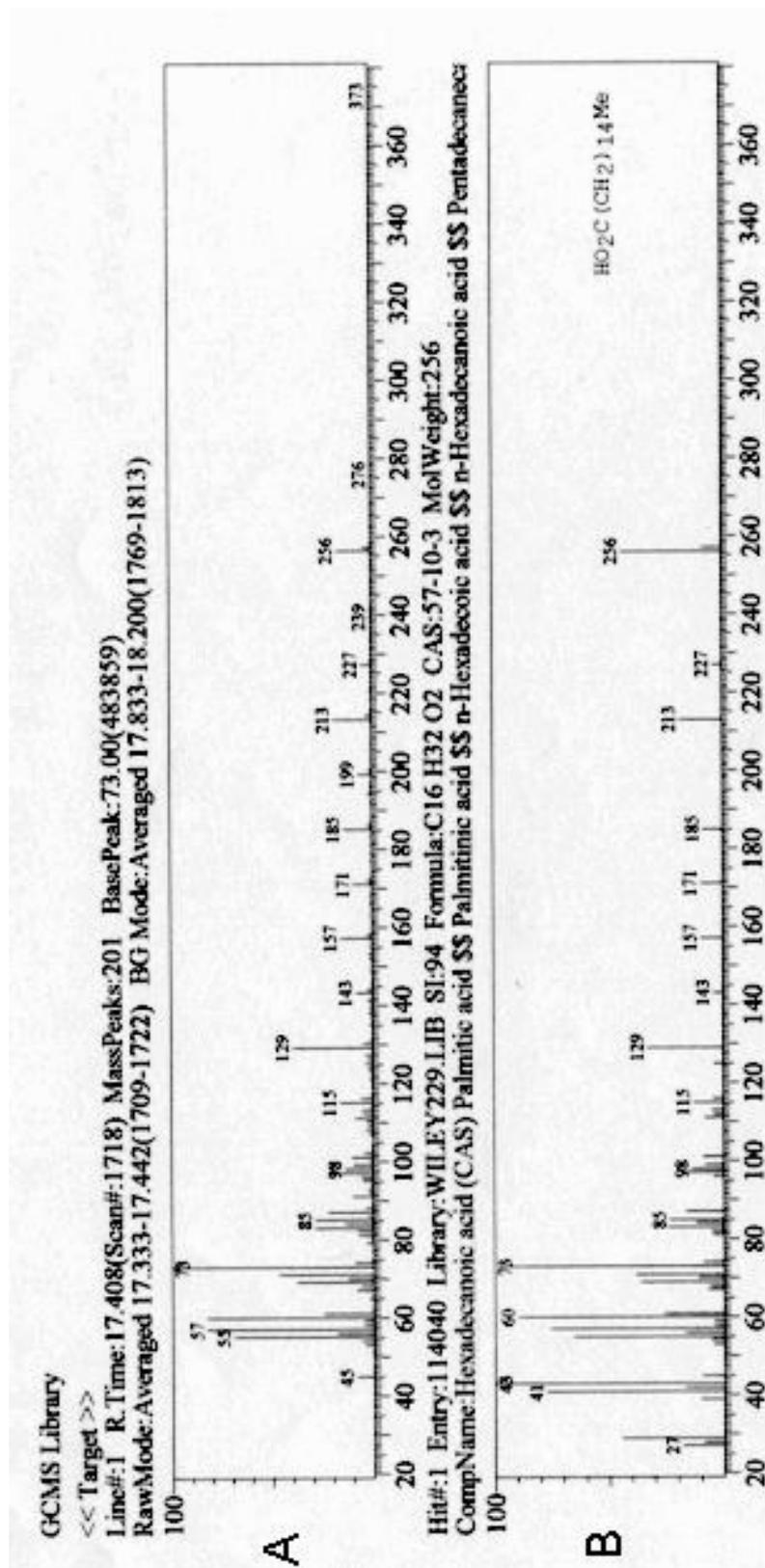


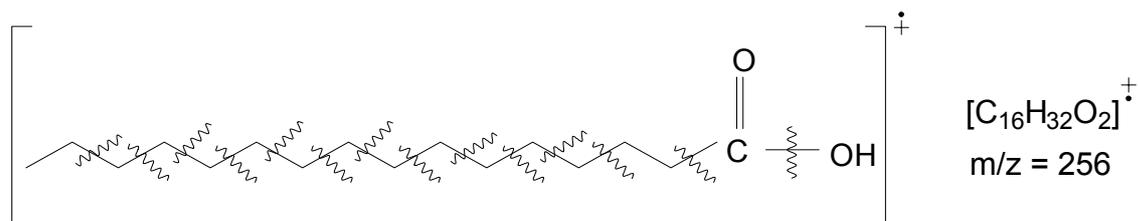
Figura 24: Espectro de massas do composto MH<sub>1</sub>



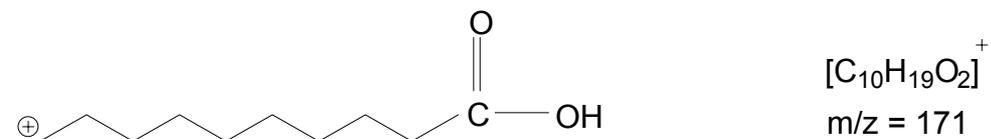
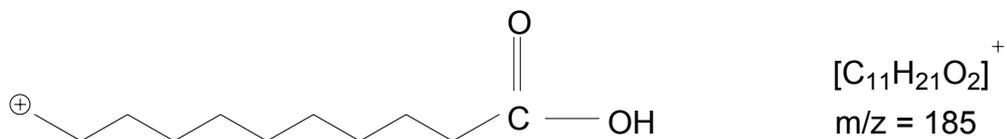
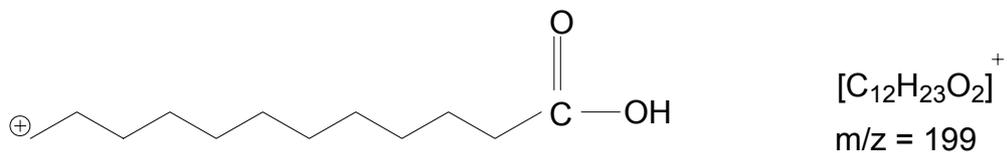
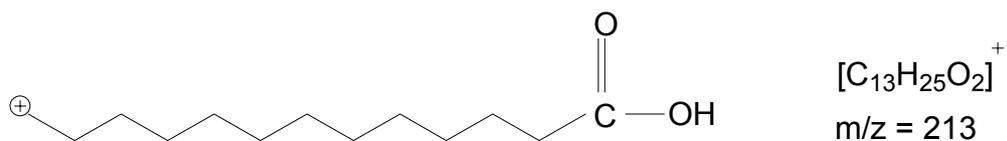
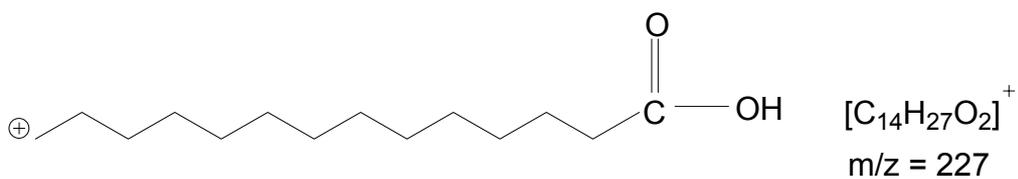
**Figura 25:** Comparação entre os espectros de massas do composto MH<sub>1</sub> (A) e a substância original (B)

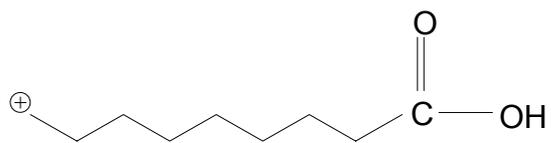
**Tabela 9:** Principais fragmentos presentes no espectro de massas do composto MH<sub>1</sub> com suas respectivas massas e intensidades relativas

Massa	Fragmento	Intensidade relativa %
256	[C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	16,90
239	[C <sub>16</sub> H <sub>31</sub> O] <sup>+</sup>	0,37
227	[C <sub>14</sub> H <sub>27</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	4,87
213	[C <sub>13</sub> H <sub>25</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	19,18
199	[C <sub>12</sub> H <sub>23</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	6,86
185	[C <sub>11</sub> H <sub>21</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	13,17
171	[C <sub>10</sub> H <sub>19</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	9,38
157	[C <sub>9</sub> H <sub>17</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	15,51
143	[C <sub>8</sub> H <sub>15</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	8,96
129	[C <sub>7</sub> H <sub>13</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	40,82
115	[C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	15,23
101	[C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	10,52
97	[C <sub>6</sub> H <sub>9</sub> O] <sup>+</sup>	21,95
87	[C <sub>4</sub> H <sub>7</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	23,45
85	[C <sub>6</sub> H <sub>13</sub> ] <sup>+</sup>	30,61
83	[C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> ] <sup>+</sup>	28,34
73	[C <sub>3</sub> H <sub>5</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	100
71	[C <sub>5</sub> H <sub>11</sub> ] <sup>+</sup>	47,76
69	[C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> ] <sup>+</sup>	38,88
60	[C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	84,24
57	[C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> ] <sup>+</sup>	82,51
55	[C <sub>4</sub> H <sub>7</sub> ] <sup>+</sup>	70,36
45	[CHO <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	8,96

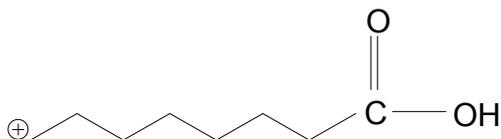


Composto MH<sub>1</sub> – ácido hexadecanóico

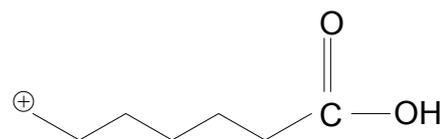




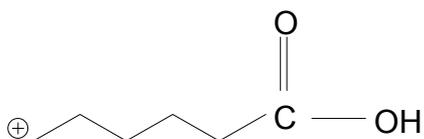
$[C_9H_{17}O_2]^+$   
 $m/z = 157$



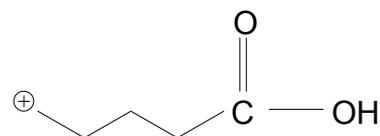
$[C_8H_{15}O_2]^+$   
 $m/z = 143$



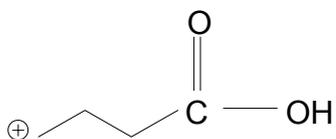
$[C_7H_{13}O_2]^+$   
 $m/z = 129$



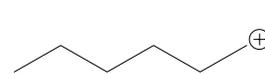
$[C_6H_{11}O_2]^+$   
 $m/z = 115$



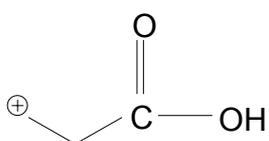
$[C_5H_9O_2]^+$   
 $m/z = 101$



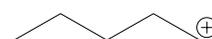
$[C_4H_7O_2]^+$   
 $m/z = 87$



$[C_6H_{13}]^+$   
 $m/z = 85$

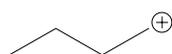
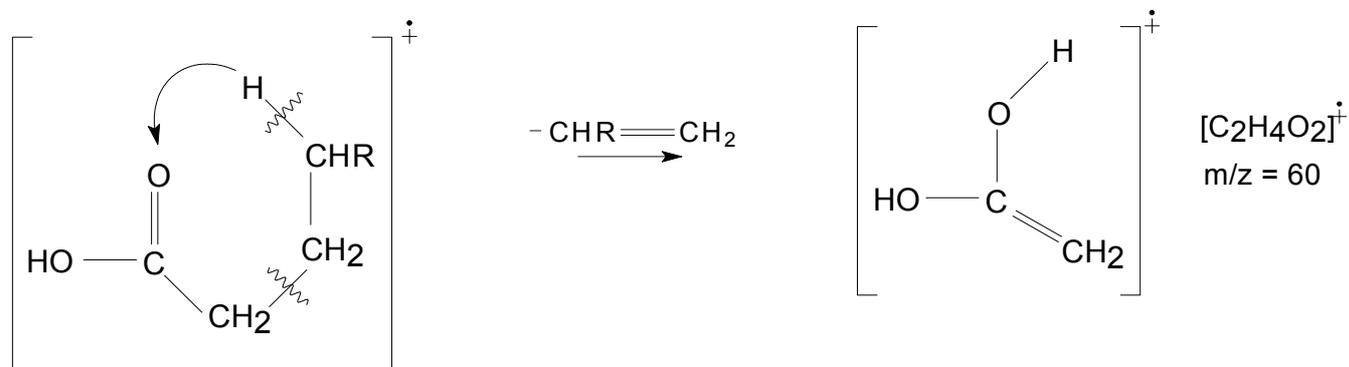


$[C_3H_5O_2]^+$   
 $m/z = 73$

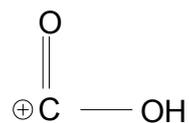


$[C_5H_{11}]^+$   
 $m/z = 71$

Rearranjo de McLafferty:



$[C_4H_9]^+$   
m/z = 57



$[CHO_2]^+$   
m/z = 45

**Figura 26:** Principais fragmentos presentes no composto  $MH_1$

### 5.6.1.2- Identificação do composto MH<sub>2</sub>

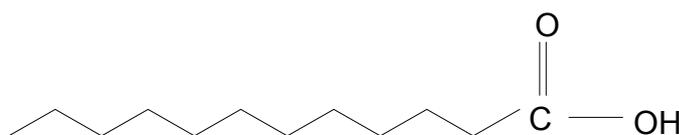
A estrutura do composto MH<sub>2</sub> encontra-se na Figura 27 e seu espectro de massas na Figura 28. Na Tabela 10 estão descritos os fragmentos mais importantes para elucidação estrutural deste composto, além de suas massas e intensidades relativas.

Estes fragmentos e suas respectivas massas correspondem aos valores descritos para o ácido dodecanóico ou ácido laúrico, que é um ácido de cadeia longa, presente na biblioteca de espectros WILEY 229.LIB cuja fórmula molecular é C<sub>12</sub>H<sub>24</sub>O<sub>2</sub>. Na Figura 29 encontra-se a comparação entre o espectro do composto MH<sub>2</sub> e o espectro da substância original. Os principais fragmentos observados no espectro de massas do composto MH<sub>2</sub> estão representados na Figura 30.

O pico do íon molecular do composto MH<sub>2</sub> apresenta-se em  $m/z = 200$  e o pico base em  $m/z = 73$ . A perda de uma hidroxila (OH) representa o pico de baixa intensidade em  $m/z = 183$ , os picos em  $m/z = 87, 101, 115, 129, 143, 157$  e  $171$  formam uma seqüência de fragmentação caracterizada por perdas sucessivas de CH<sub>2</sub> (14 unidades de massa).

A perda de uma molécula de H<sub>2</sub>O do fragmento em  $m/z = 115$  origina o pico em  $m/z = 97$ . O pico em  $m/z = 85$  representa o fragmento alquila [C<sub>6</sub>H<sub>13</sub>]<sup>+</sup>, o pico em  $m/z = 60$  é devido ao rearranjo de McLafferty (Figura 30) e o pico em  $m/z = 57$  representa o fragmento alquila [C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>]<sup>+</sup>. Os picos em  $m/z = 83, 69$  e  $55$  originam-se de fragmentações hidrocarbônicas do tipo C<sub>n</sub>H<sub>2n-1</sub> com  $n = 6, 5$  e  $4$  respectivamente. O pico em  $m/z = 45$  origina-se de uma clivagem  $\alpha$  à carbonila.

Verificou-se a veracidade deste resultado confrontando os dados espectrais do composto MH<sub>2</sub> com os dados da literatura do ácido dodecanóico. O espectro de massas do composto MH<sub>2</sub> apresentou um índice de similaridade de 96 % em relação ao espectro da substância original (ácido dodecanóico).



**Figura 27:** Estrutura do composto MH<sub>2</sub> – ácido dodecanóico

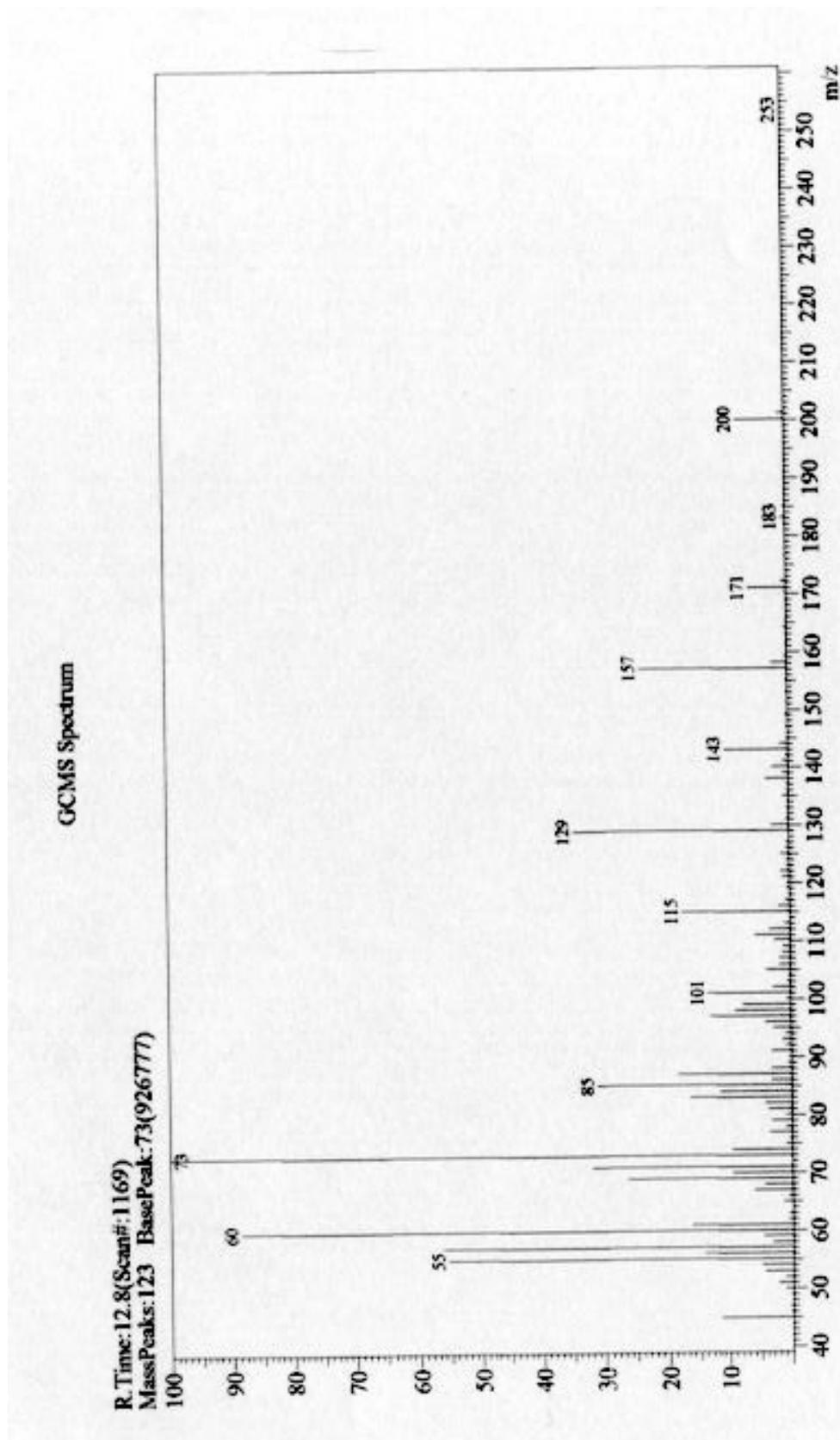
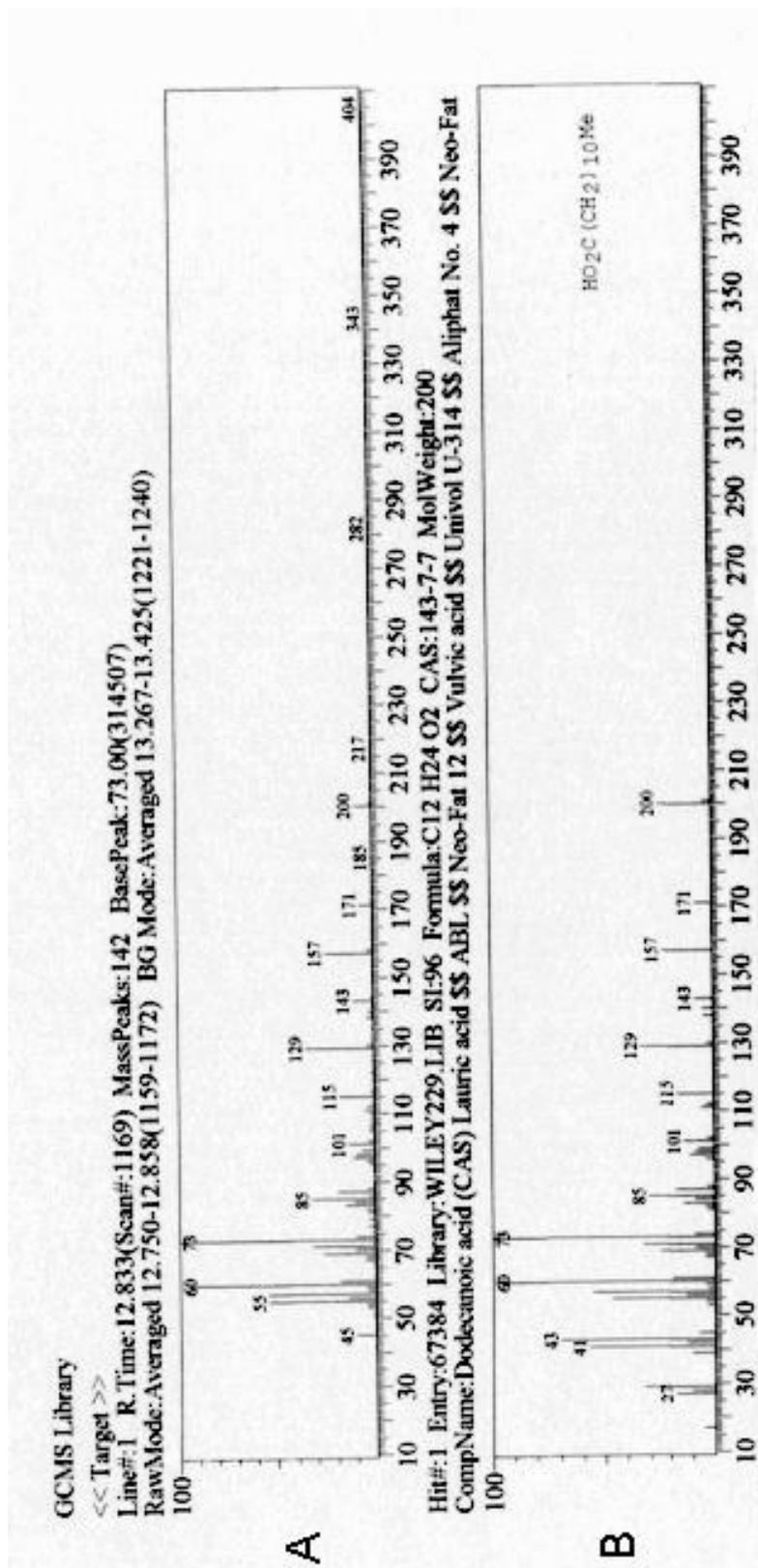


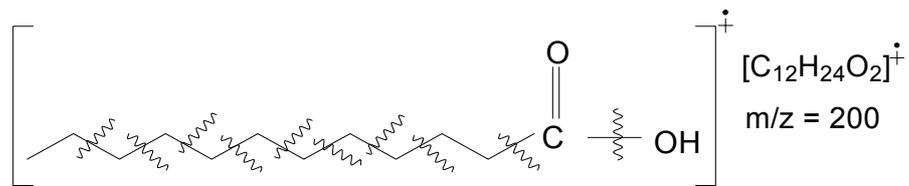
Figura 28: Espectro de massas do composto  $MH_2$



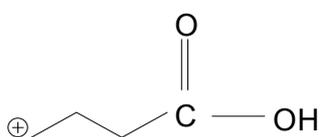
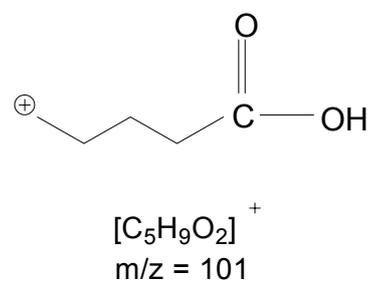
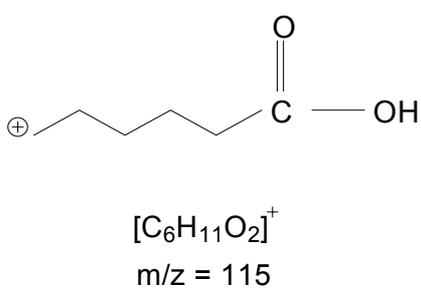
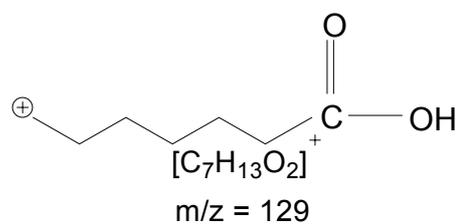
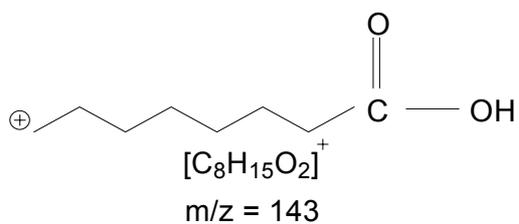
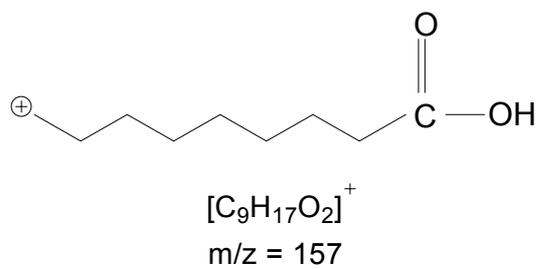
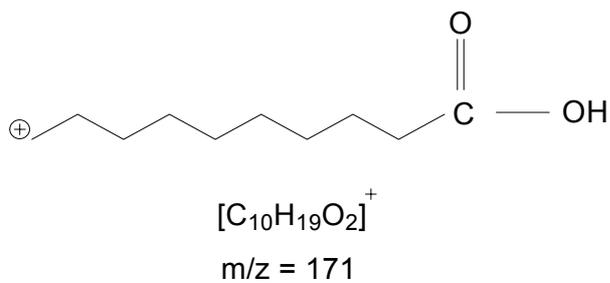
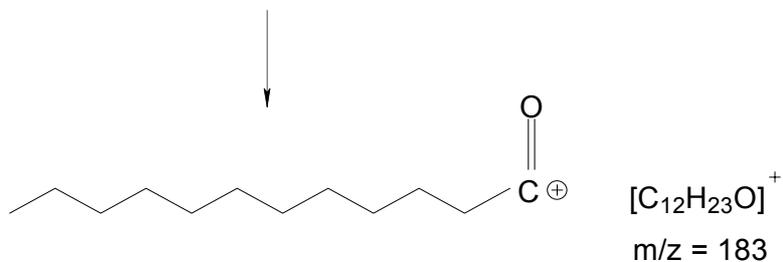
**Figura 29:** Comparação entre os espectros de massas do composto  $MH_2$  (A) e a substância original (B)

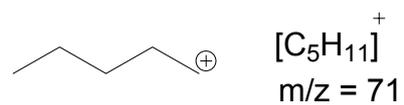
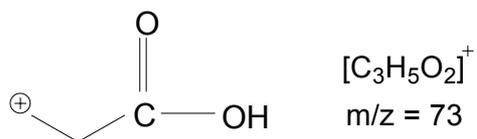
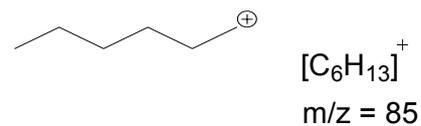
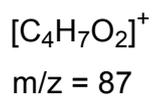
**Tabela 10:** Principais fragmentos presentes no espectro de massas do composto MH<sub>2</sub> com suas respectivas massas e intensidades relativas

Massa	Fragmento	Intensidade relativa %
200	[C <sub>12</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	7,82
183	[C <sub>12</sub> H <sub>23</sub> O] <sup>+</sup>	0,65
171	[C <sub>10</sub> H <sub>19</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	6,11
157	[C <sub>9</sub> H <sub>17</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	23,66
143	[C <sub>8</sub> H <sub>15</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	10,23
129	[C <sub>7</sub> H <sub>11</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	34,65
115	[C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	17,28
101	[C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	13,39
97	[C <sub>6</sub> H <sub>9</sub> O] <sup>+</sup>	12,95
87	[C <sub>4</sub> H <sub>7</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	18,27
85	[C <sub>6</sub> H <sub>13</sub> ] <sup>+</sup>	31,15
83	[C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> ] <sup>+</sup>	16,40
73	[C <sub>3</sub> H <sub>5</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	100
71	[C <sub>5</sub> H <sub>11</sub> ] <sup>+</sup>	32,02
69	[C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> ] <sup>+</sup>	26,48
60	[C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	88,70
57	[C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> ] <sup>+</sup>	56,24
55	[C <sub>4</sub> H <sub>7</sub> ] <sup>+</sup>	5,45
45	[CHO <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	11,43

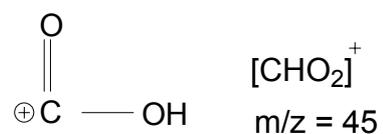
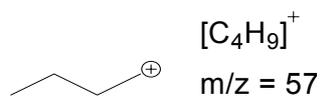
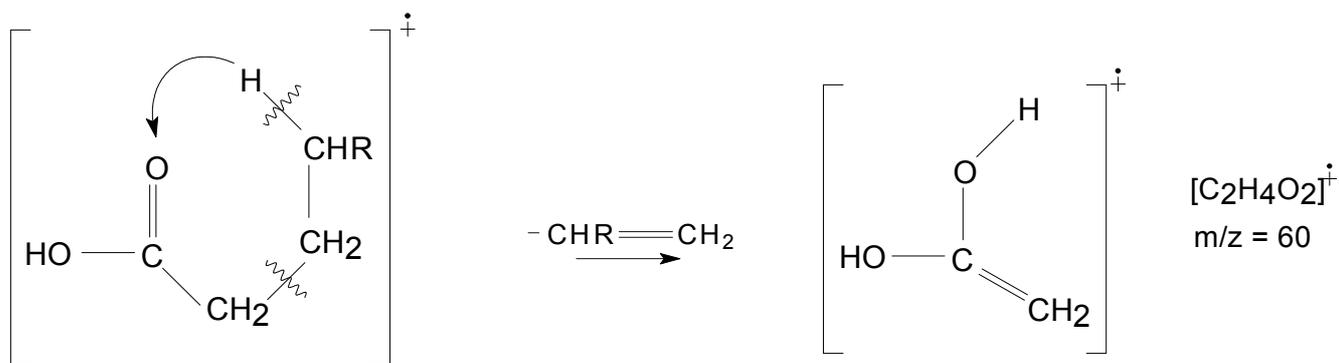


Composto MH<sub>2</sub> – ácido dodecanóico





Rearranjo de McLafferty:



**Figura 30:** Principais fragmentos presentes no composto  $MH_2$

### 5.6.1.3- Identificação do composto $MH_3$

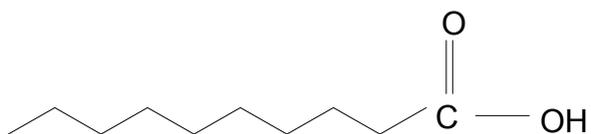
A estrutura do composto MH<sub>3</sub> encontra-se na Figura 31 e seu espectro de massas na Figura 32. Na Tabela 11 estão descritos os fragmentos mais importantes para elucidação estrutural deste composto, além de suas massas e intensidades relativas.

Estes fragmentos e suas respectivas massas correspondem aos valores descritos para o ácido decanóico ou ácido cáprico, presente na biblioteca de espectros WILEY 229.LIB cuja fórmula molecular é C<sub>10</sub>H<sub>20</sub>O<sub>2</sub>. A comparação entre o espectro do composto MH<sub>3</sub> e o espectro da substância original encontra-se na Figura 33. Os principais fragmentos observados para o composto MH<sub>3</sub> estão representados na Figura 34.

O pico base aparece em  $m/z = 60$  (rearranjo de McLafferty - Figura 34) e o pico em  $m/z = 45$  é representado pelo fragmento [CO<sub>2</sub>H]<sup>+</sup> resultante de uma clivagem  $\alpha$  à carbonila com eliminação do grupamento alquila.

Os picos em  $m/z = 57$  e  $71$  são representados pelos fragmentos alquila [C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>]<sup>+</sup> e [C<sub>5</sub>H<sub>11</sub>]<sup>+</sup>, enquanto o pico em  $m/z = 73$  é representado por um fragmento contendo oxigênio do tipo [C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>O<sub>2</sub>]<sup>+</sup>. Os picos em  $m/z = 55, 69$  e  $83$  originam-se de fragmentações hidrocarbônicas do tipo C<sub>n</sub>H<sub>2n-1</sub> com  $n = 4, 5$  e  $6$  respectivamente e os picos em  $m/z = 73, 87, 101, 115, 129$  e  $143$  são decorrentes de perdas sucessivas de CH<sub>2</sub>. O pico em  $m/z = 84$  é resultante de uma fragmentação do tipo C<sub>n</sub>H<sub>2n</sub> com  $n = 6$ .

Verificou-se a veracidade deste resultado confrontando os dados espectrais do composto MH<sub>3</sub> com os dados da literatura do ácido decanóico. O índice de similaridade entre o espectro de massas do composto MH<sub>3</sub> e o espectro da substância original (ácido decanóico) foi de 94 %.



**Figura 31:** Estrutura do composto MH<sub>3</sub> – ácido decanóico

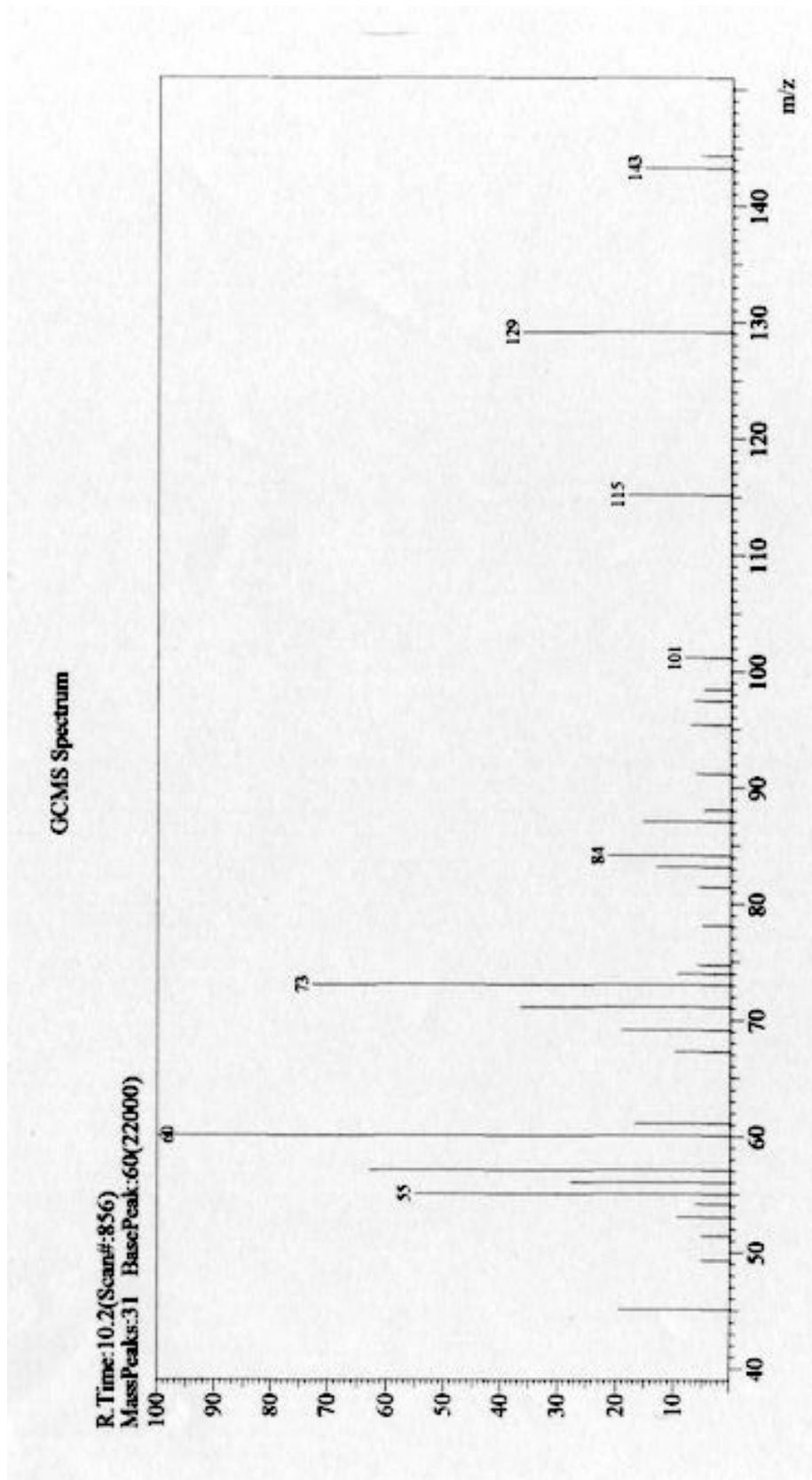
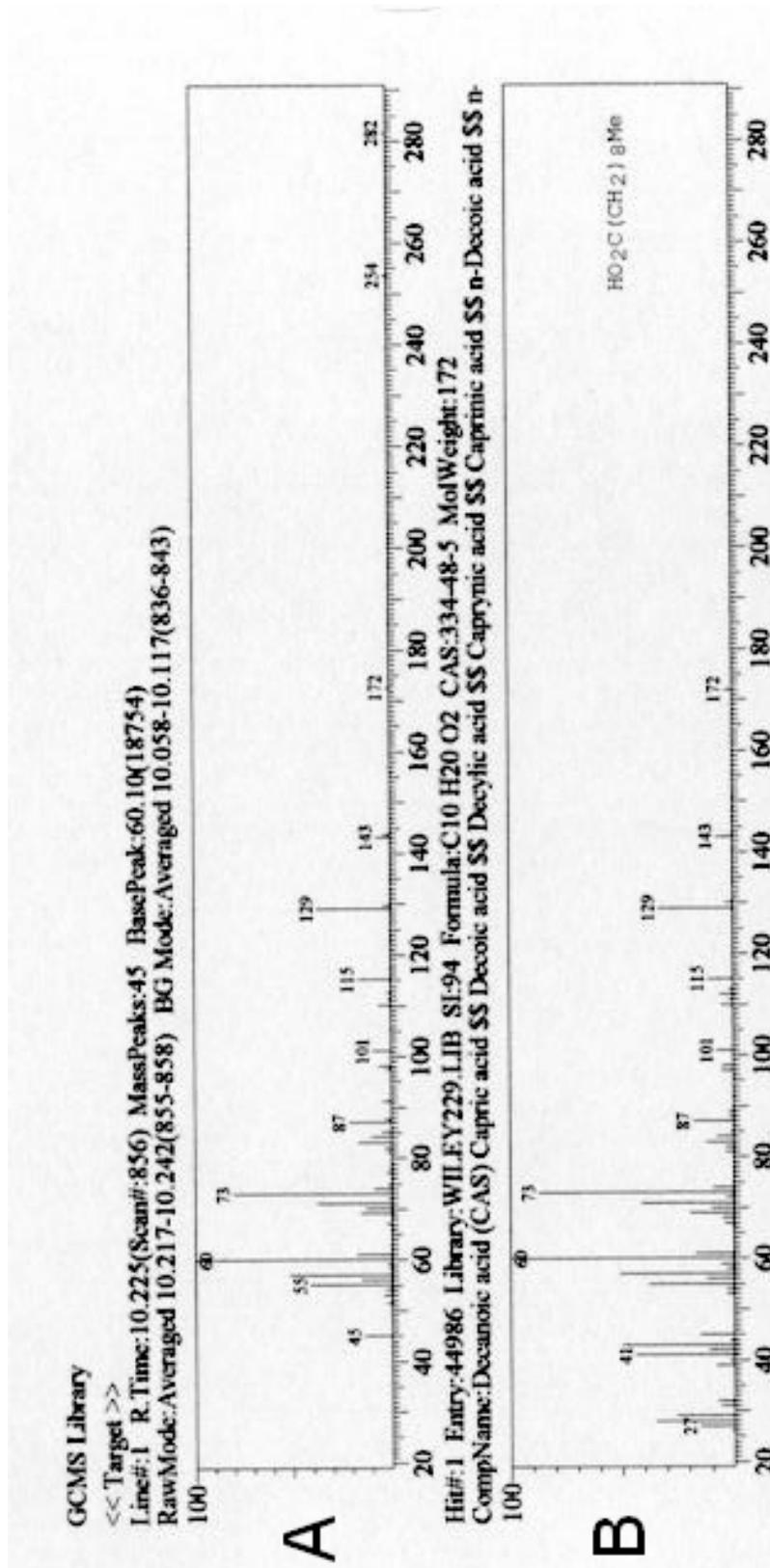


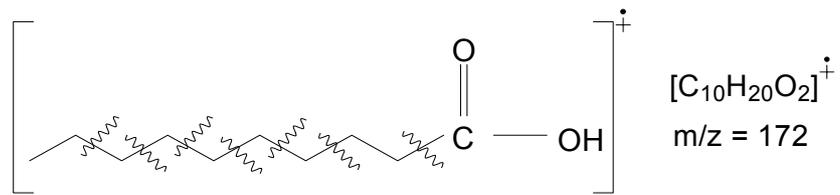
Figura 32: Espectro de massas do composto  $MH_3$



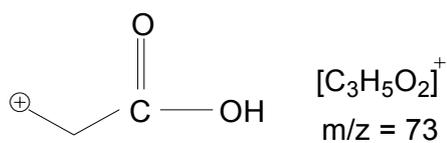
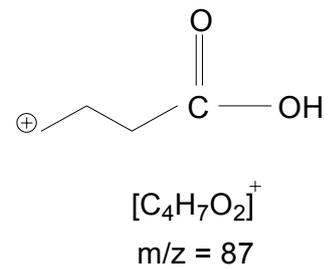
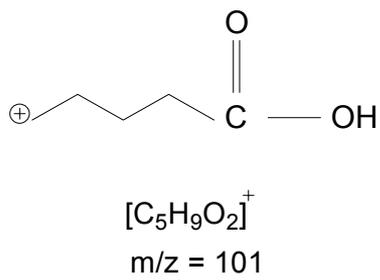
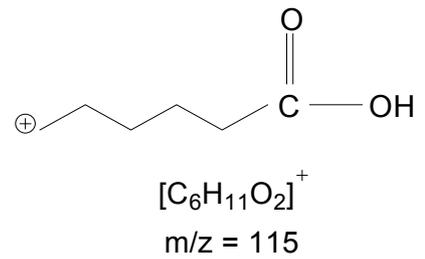
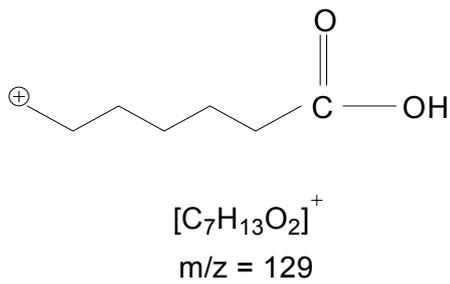
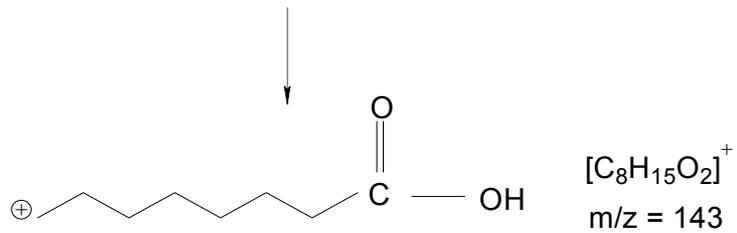
**Figura 33:** Comparação entre os espectros de massas do composto MH<sub>3</sub> (A) e a substância original (B)

**Tabela 11:** Principais fragmentos presentes no espectro de massas do composto MH<sub>3</sub> com suas respectivas massas e intensidades relativas

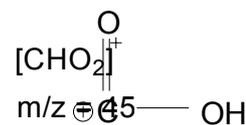
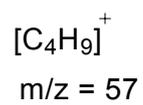
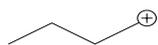
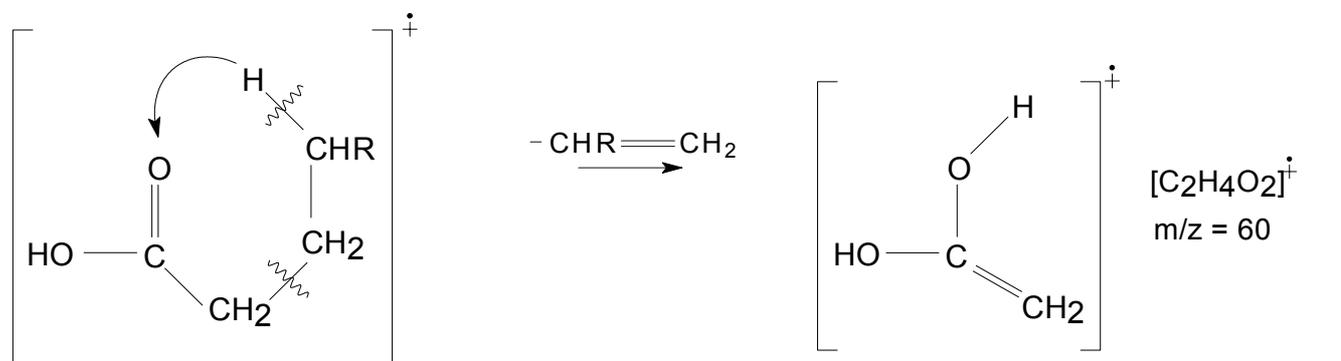
Massa	Fragmento	Intensidade relativa %
143	[C <sub>8</sub> H <sub>15</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	15,02
129	[C <sub>7</sub> H <sub>13</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	36,49
115	[C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	18,13
101	[C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	8,07
87	[C <sub>4</sub> H <sub>7</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	15,28
84	[C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> ] <sup>+</sup>	21,35
83	[C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> ] <sup>+</sup>	13,06
73	[C <sub>3</sub> H <sub>5</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	72,84
71	[C <sub>5</sub> H <sub>11</sub> ] <sup>+</sup>	36,71
69	[C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> ] <sup>+</sup>	19,07
60	[C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	100
57	[C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> ] <sup>+</sup>	62,93
55	[C <sub>4</sub> H <sub>7</sub> ] <sup>+</sup>	55,09
45	[CO <sub>2</sub> H] <sup>+</sup>	19,41



Composto MH<sub>3</sub> – ácido decanóico



Rearranjo de McLafferty:



**Figura 34:** Principais fragmentos presentes no composto  $MH_3$

#### 5.6.1.4- Identificação do composto MH<sub>4</sub>

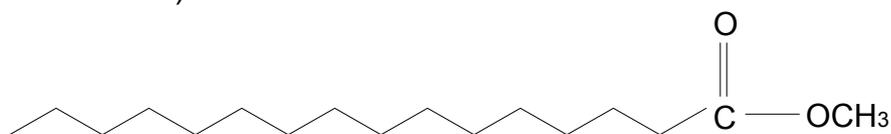
A estrutura do composto MH<sub>4</sub> encontra-se na Figura 35 e seu espectro de massas na Figura 36. Os fragmentos mais importantes para elucidação estrutural deste composto, além de suas massas e intensidades relativas estão descritos na Tabela 12.

Estes fragmentos e suas respectivas massas correspondem aos valores descritos para o hexadecanoato de metila (palmitato de metila) cuja fórmula molecular é C<sub>17</sub>H<sub>34</sub>O<sub>2</sub> presente na biblioteca de espectros WILEY 229.LIB. Na Figura 37 encontra-se a comparação entre o espectro do composto MH<sub>4</sub> e o espectro da substância original. Os principais fragmentos observados para o composto MH<sub>4</sub> estão representados na Figura 38.

O pico do íon molecular do composto MH<sub>4</sub> apresenta-se em  $m/z = 270$ . O pico mais característico é devido ao rearranjo de McLafferty (Figura 38), com quebra da ligação β em relação ao grupo C=O originando um pico intenso em  $m/z = 74$  (pico base). A quebra sucessiva das ligações C—C dá origem a íons alquila ( $m/z = 57, 71$  e  $85$ ) e a íons contendo oxigênio, C<sub>n</sub>H<sub>2n-1</sub>O<sub>2</sub><sup>+</sup> ( $m/z = 87, 101, 115, 129, 143, 157, 171, 185, 199, 213$  e  $227$ ). Aparecem, assim, aglomerados hidrocarbônicos em intervalos de 14 unidades de massa (CH<sub>2</sub>).

O pico em  $m/z = 239$  resulta da perda do grupo metoxila (OCH<sub>3</sub>) e o pico em  $m/z = 59$  é originado de uma clivagem α à carbonila com a perda da cadeia alquila originando o íon [C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>O<sub>2</sub>]<sup>+</sup>. Os picos em  $m/z = 55, 69$  e  $83$  originam-se de fragmentações hidrocarbônicas do tipo C<sub>n</sub>H<sub>2n-1</sub> com  $n = 4, 5$  e  $6$  respectivamente.

Verificou-se a veracidade deste resultado confrontando os dados espectrais do composto MH<sub>4</sub> com os dados da literatura do hexadecanoato de metila. O espectro de massas do composto MH<sub>4</sub> apresentou um índice de similaridade de 97 % em relação ao espectro da substância original (hexadecanoato de metila).



**Figura 35:** Estrutura do composto MH<sub>4</sub> – hexadecanoato de metila

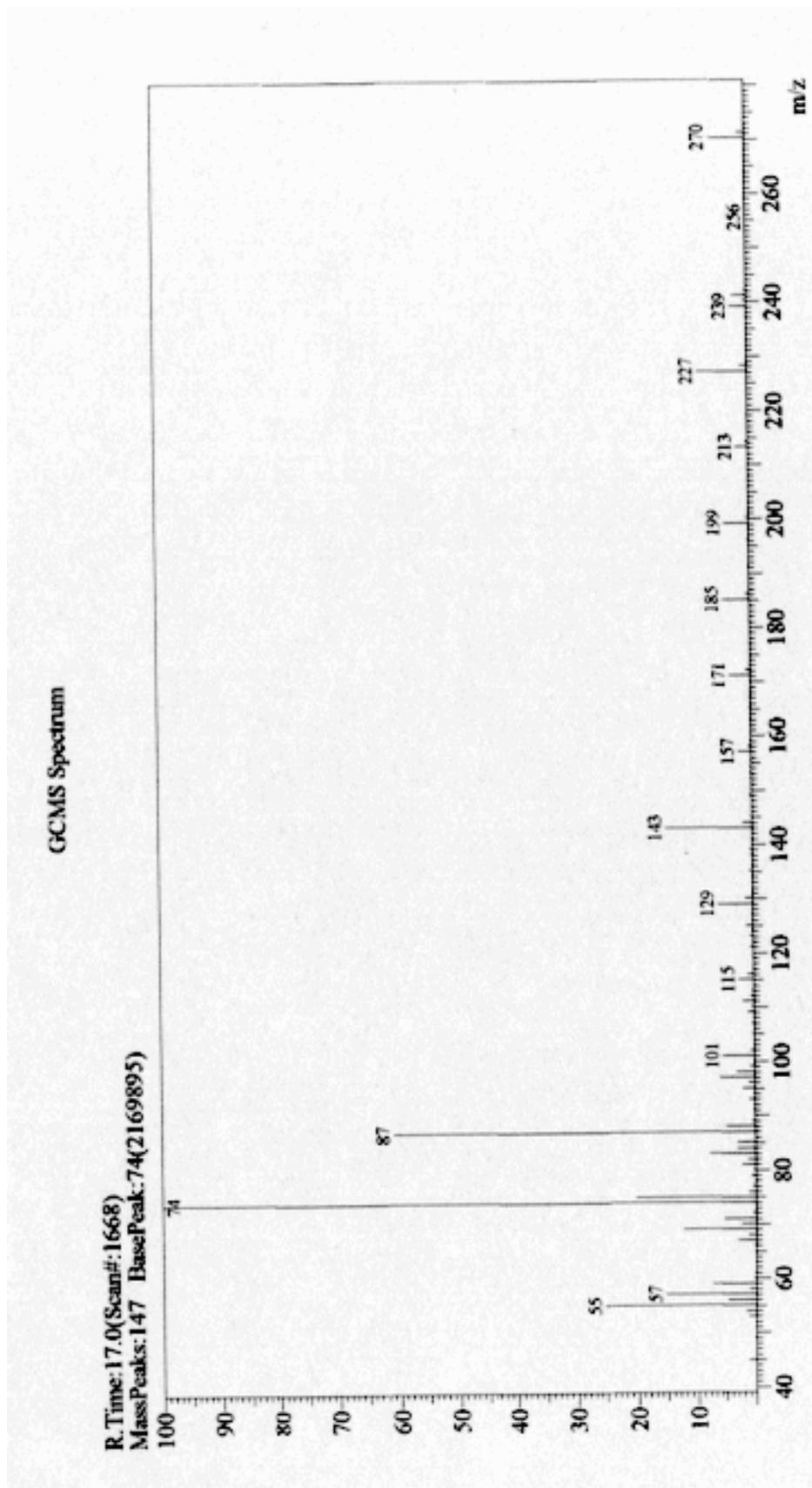


Figura 36: Espectro de massas do composto  $MH_4$

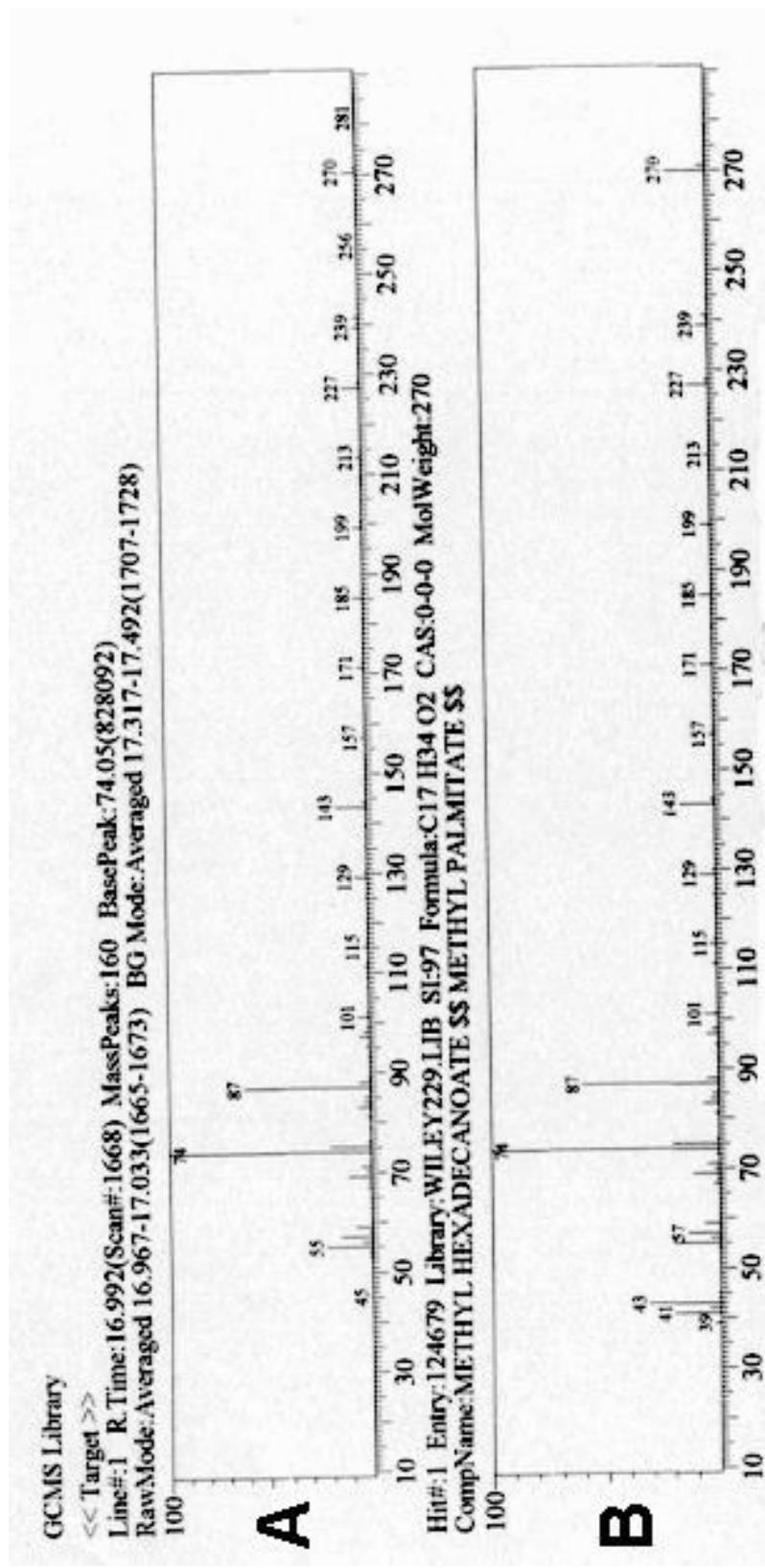
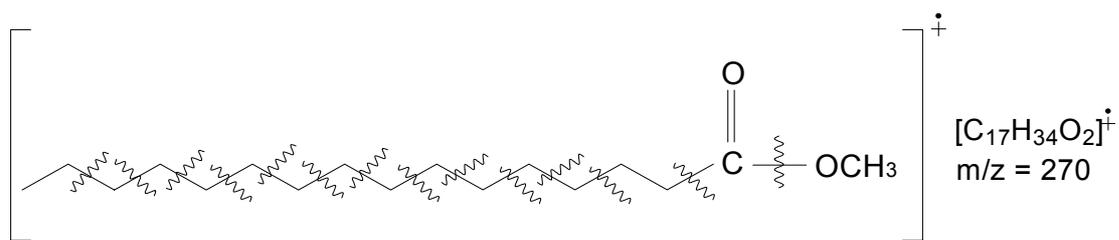


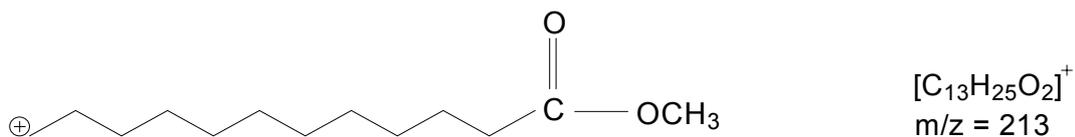
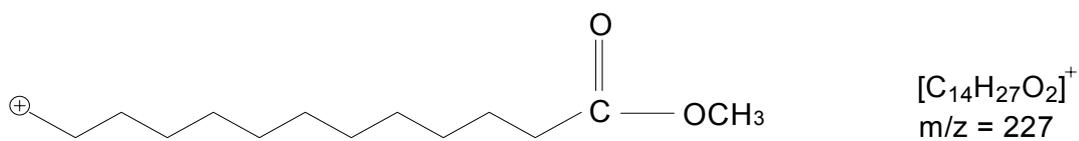
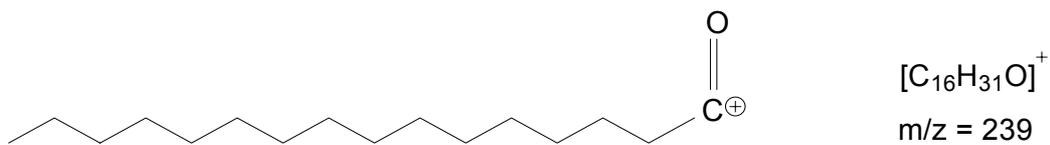
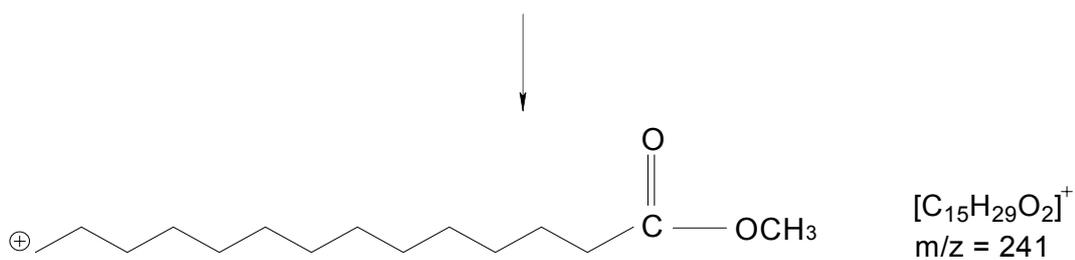
Figura 37: Comparação entre os espectros de massas do composto  $MH_4$  (A) e a substância original (B)

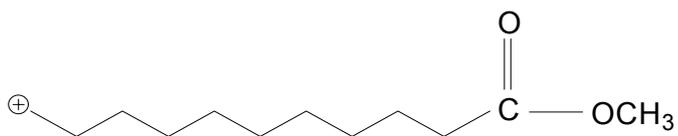
**Tabela 12:** Principais fragmentos presentes no espectro de massas do composto MH<sub>4</sub> com suas respectivas massas e intensidades relativas

Massa	Fragmento	Intensidade relativa %
270	[C <sub>17</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	5,85
241	[C <sub>15</sub> H <sub>29</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	2,35
239	[C <sub>16</sub> H <sub>31</sub> O] <sup>+</sup>	2,72
227	[C <sub>14</sub> H <sub>27</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	8,36
213	[C <sub>13</sub> H <sub>25</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	1,94
199	[C <sub>12</sub> H <sub>23</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	4,16
185	[C <sub>11</sub> H <sub>21</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	4,46
171	[C <sub>10</sub> H <sub>19</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	3,45
157	[C <sub>9</sub> H <sub>17</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	2,10
143	[C <sub>8</sub> H <sub>15</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	14,52
129	[C <sub>7</sub> H <sub>13</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	5,87
115	[C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	2,46
101	[C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	5,45
87	[C <sub>4</sub> H <sub>7</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	60,94
85	[C <sub>6</sub> H <sub>13</sub> ] <sup>+</sup>	2,98
83	[C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> ] <sup>+</sup>	7,80
74	[C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	100
71	[C <sub>5</sub> H <sub>11</sub> ] <sup>+</sup>	5,40
69	[C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> ] <sup>+</sup>	12,34
57	[C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> ] <sup>+</sup>	15,34
55	[C <sub>4</sub> H <sub>7</sub> ] <sup>+</sup>	25,28

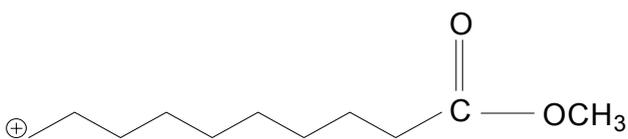


Composto MH<sub>4</sub> – hexadecanoato de metila

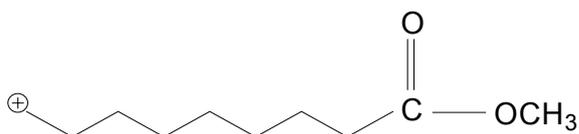




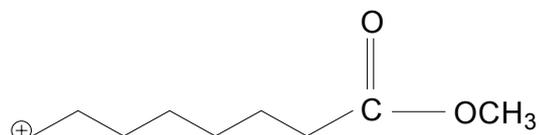
$[C_{12}H_{23}O_2]^+$   
 $m/z = 199$



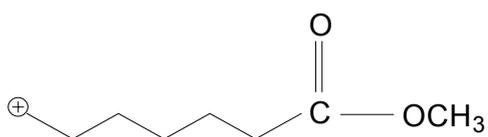
$[C_{11}H_{21}O_2]^+$   
 $m/z = 185$



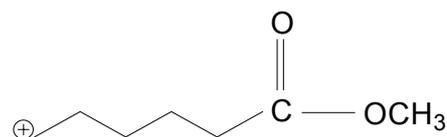
$[C_{10}H_{19}O_2]^+$   
 $m/z = 171$



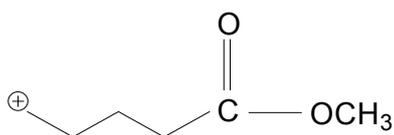
$[C_9H_{17}O_2]^+$   
 $m/z = 157$



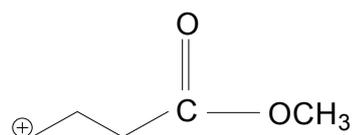
$[C_8H_{15}O_2]^+$   
 $m/z = 143$



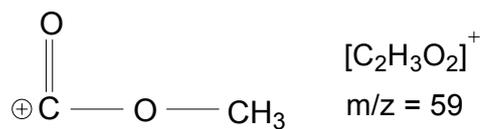
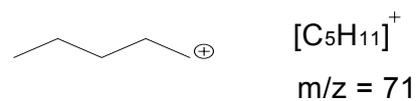
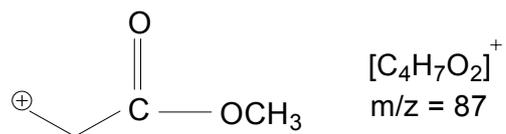
$[C_7H_{13}O_2]^+$   
 $m/z = 129$



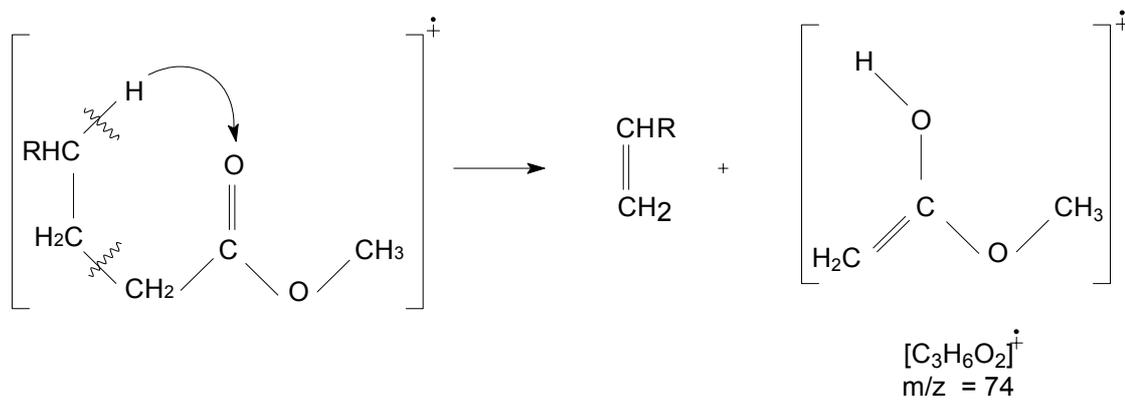
$[C_6H_{11}O_2]^+$   
 $m/z = 115$



$[C_5H_9O_2]^+$   
 $m/z = 101$



Rearranjo de McLafferty:



**Figura 38:** Principais fragmentos presentes no composto MH<sub>4</sub>

*IDENTIFICAÇÃO*  
*DOS*  
*ÉSTERES BENZÍLICOS*

*COMPOSTO MH<sub>5</sub>*

*COMPOSTO MH<sub>6</sub>*

*COMPOSTO MH<sub>7</sub>*

## 5.6.2- Identificação de ésteres benzílicos por GC – MS

Nos ésteres benzílicos o espectro de massas é caracterizado por:

a) Pico em  $m/z = 77$  (íon fenila) decorrente de uma clivagem benzílica observado nos compostos MH<sub>5</sub>, MH<sub>6</sub> e MH<sub>7</sub>,

b) Pico em  $m/z = 51$  decorrente da eliminação de uma molécula de acetileno (C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>) do fragmento em  $m/z = 77$  também observado nos compostos MH<sub>5</sub>, MH<sub>6</sub> e MH<sub>7</sub>,

c) Pico em  $m/z = 91$  observado nos compostos MH<sub>5</sub> e MH<sub>6</sub> resultante de uma clivagem  $\beta$  ao anel. Este fragmento em  $m/z = 91$  (íon tropílio) elimina uma molécula de acetileno (C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>) originando o pico em  $m/z = 65$  (cátion ciclopentadienílico).

### 5.6.2.1- Identificação do composto MH<sub>5</sub>

A estrutura do composto MH<sub>5</sub> encontra-se na Figura 39 e seu espectro de massas na Figura 40. Os fragmentos mais importantes para elucidação estrutural deste composto, além de suas massas e intensidades relativas estão descritos na Tabela 13.

Estes fragmentos e suas respectivas massas correspondem aos valores descritos para o hexanoato de benzila, presente na biblioteca de espectros WILEY 229.LIB cuja fórmula molecular é C<sub>13</sub>H<sub>18</sub>O<sub>2</sub>. Na Figura 41 encontra-se a comparação entre o espectro do composto MH<sub>5</sub> e o espectro da substância original. A Figura 42 mostra os principais fragmentos observados para o composto MH<sub>5</sub>.

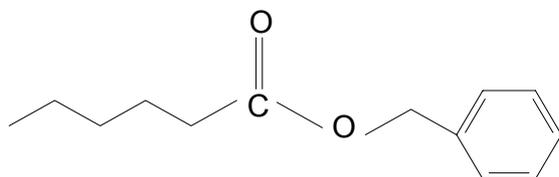
O pico do íon molecular do composto MH<sub>5</sub> apresenta-se em  $m/z = 206$ . O pico base em  $m/z = 91$  (íon tropílio) é resultante de uma clivagem  $\beta$  ao anel que perde uma molécula de acetileno (C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>) originando o cátion ciclopentadienílico ( $m/z = 65$ ).

Um pico intenso em  $m/z = 108$  é devido à perda de uma molécula neutra de ceteno, o pico em  $m/z = 107$  representa o fragmento [C<sub>7</sub>H<sub>7</sub>O]<sup>+</sup> e é resultante da perda de um hidrogênio a partir do pico em  $m/z = 108$ . A perda de uma molécula de CO a partir do pico em  $m/z = 107$  origina o pico em  $m/z = 79$ ,

os picos em  $m/z = 71$  e  $m/z = 99$  são resultantes de clivagem  $\alpha$  à carbonila.

Os picos em  $m/z = 69$  e  $m/z = 55$  originam-se de fragmentações hidrocarbônicas do tipo  $C_nH_{2n-1}$  com  $n = 5$  e  $4$  respectivamente. O pico em  $m/z = 51$  é decorrente da perda de uma molécula de  $C_2H_2$  a partir do íon fenila ( $m/z = 77$ ).

Verificou-se a veracidade deste resultado confrontando os dados espectrais do composto  $MH_5$  com os dados da literatura. O espectro de massas do composto  $MH_5$  apresentou um índice de similaridade de 91 % em relação ao espectro da substância original (hexanoato de benzila).



**Figura 39:** Estrutura do composto  $MH_5$  – hexanoato de benzila

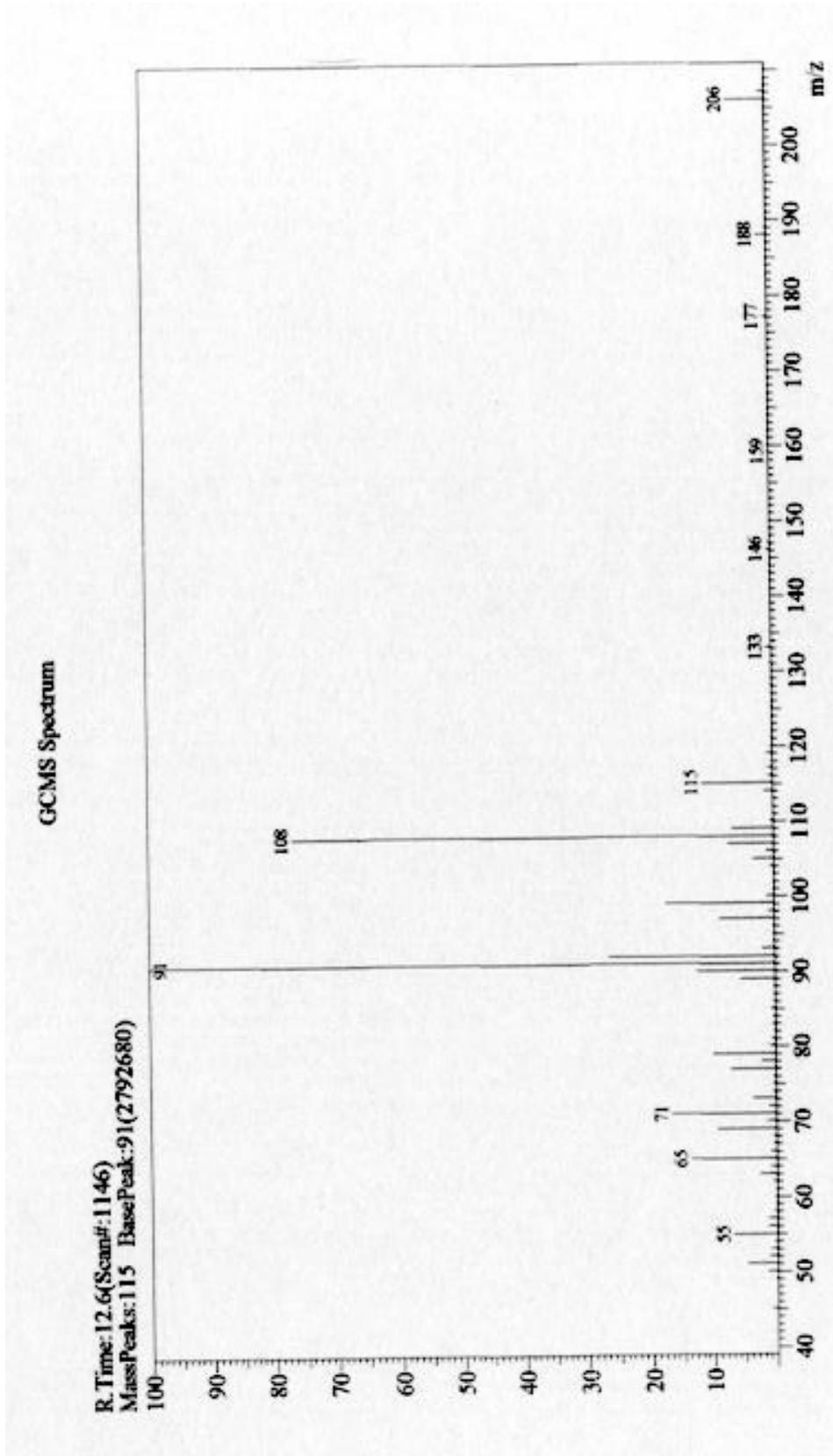


Figura 40: Espectro de massas do composto  $MH_5$

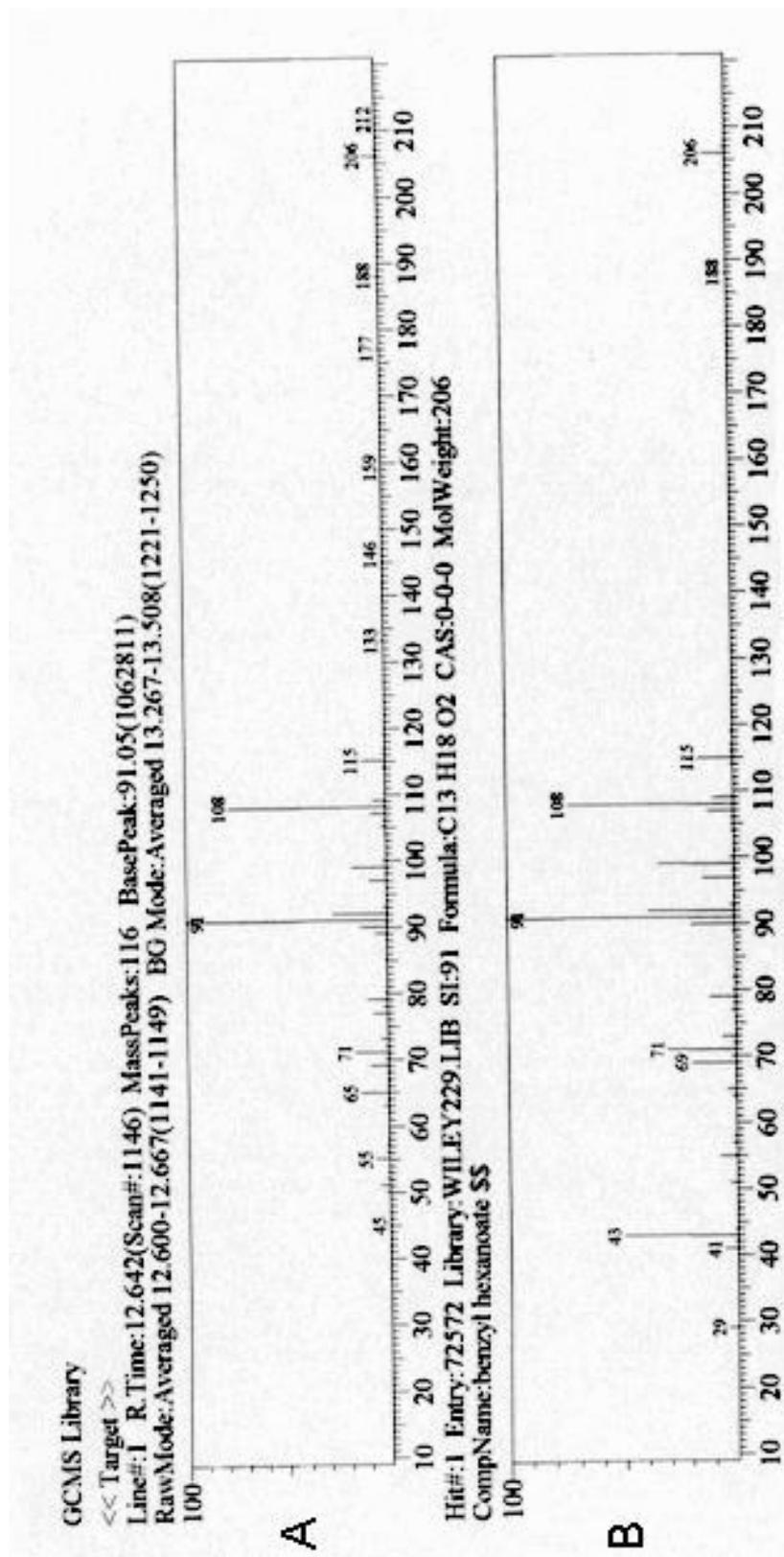
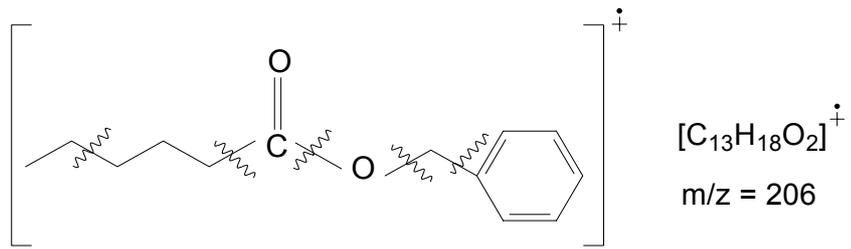


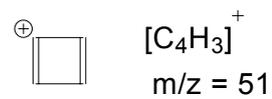
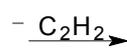
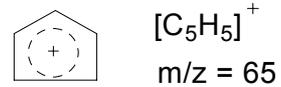
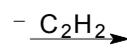
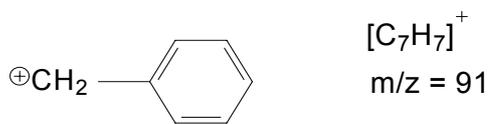
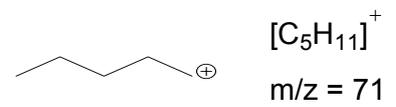
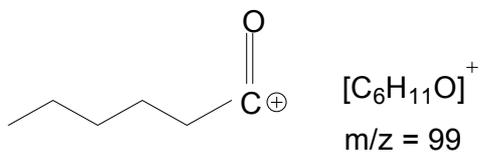
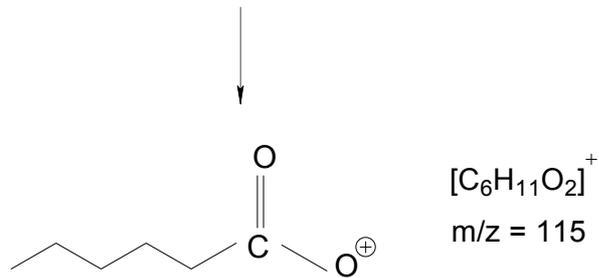
Figura 41: Comparação entre os espectros de massas do composto MH<sub>5</sub> (A) e a substância original (B)

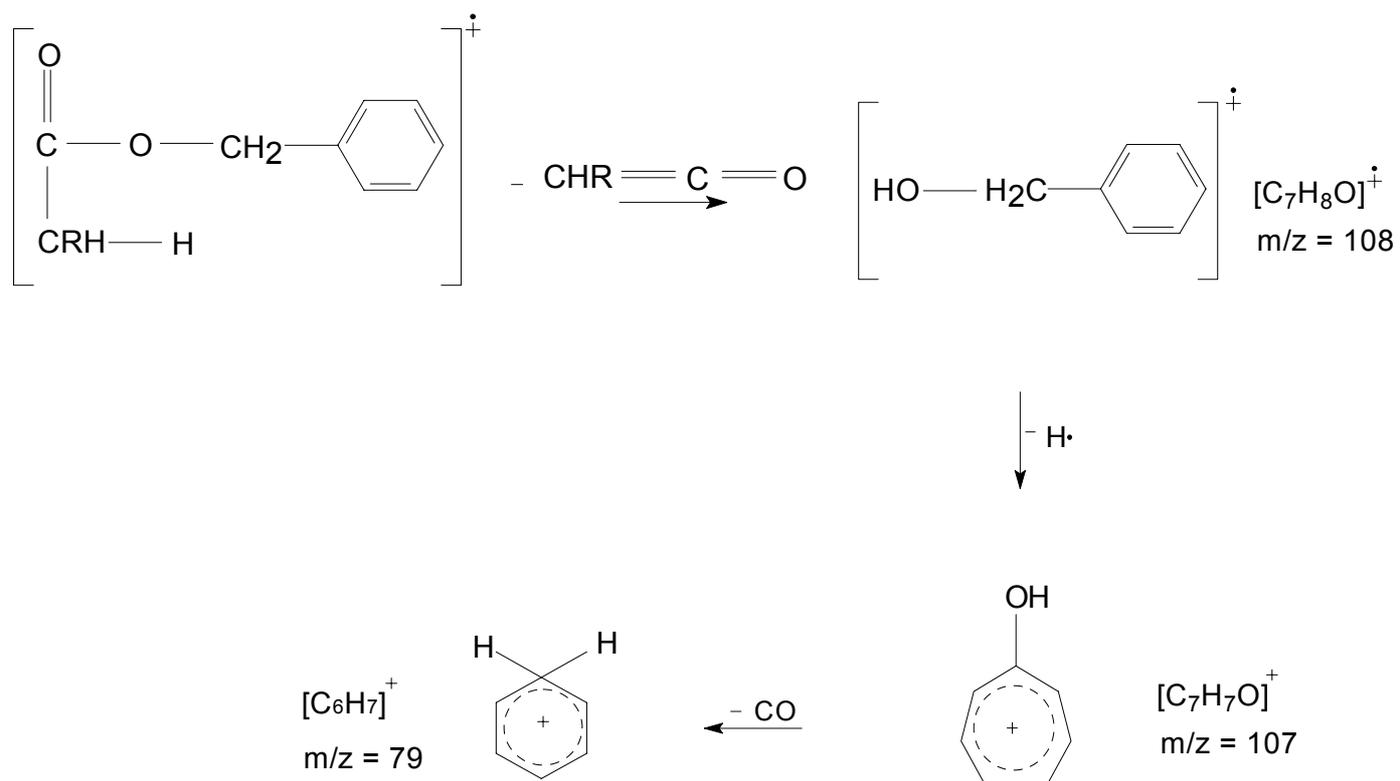
**Tabela 13:** Principais fragmentos presentes no espectro de massas do composto MH<sub>5</sub> com suas respectivas massas e intensidades relativas

Massa	Fragmento	Intensidade relativa %
206	[C <sub>13</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	6,25
115	[C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	11,37
108	[C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> O] <sup>+</sup>	76,95
107	[C <sub>7</sub> H <sub>7</sub> O] <sup>+</sup>	7,28
99	[C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> O] <sup>+</sup>	17,29
91	[C <sub>7</sub> H <sub>7</sub> ] <sup>+</sup>	100
79	[C <sub>6</sub> H <sub>7</sub> ] <sup>+</sup>	9,90
77	[C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ] <sup>+</sup>	7,16
71	[C <sub>5</sub> H <sub>11</sub> ] <sup>+</sup>	16,71
69	[C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> ] <sup>+</sup>	9,33
65	[C <sub>5</sub> H <sub>5</sub> ] <sup>+</sup>	13,69
55	[C <sub>4</sub> H <sub>7</sub> ] <sup>+</sup>	7,03
51	[C <sub>4</sub> H <sub>3</sub> ] <sup>+</sup>	4,77



Composto MH<sub>5</sub> – hexanoato de benzila





**Figura 42:** Principais fragmentos presentes no composto MH<sub>5</sub>

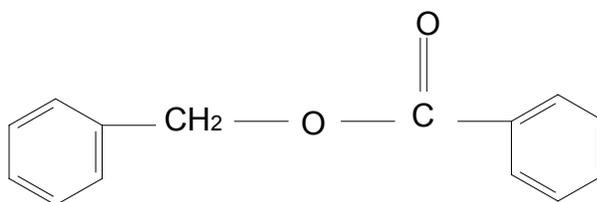
### 5.6.2.2- Identificação do composto MH<sub>6</sub>

A estrutura do composto MH<sub>6</sub> encontra-se na Figura 43 e seu espectro de massas na Figura 44. Os fragmentos mais importantes para elucidação estrutural deste composto, além de suas massas e intensidades relativas estão descritos na Tabela 14.

Estes fragmentos e suas respectivas massas correspondem aos valores descritos para o benzoato de benzila presente na biblioteca de espectros WILEY 229.LIB cuja fórmula molecular é C<sub>14</sub>H<sub>12</sub>O<sub>2</sub>. Na Figura 45 encontra-se a comparação entre o espectro do composto MH<sub>6</sub> e o espectro da substância original. Os fragmentos mais importantes observados para o composto MH<sub>6</sub> encontram-se na Figura 46.

O pico do íon molecular do composto MH<sub>6</sub> apresenta-se em  $m/z = 212$  e o pico base em  $m/z = 105$  resultante de uma clivagem  $\alpha$  à carbonila. O pico em  $m/z = 91$  originado de uma clivagem  $\beta$  ao anel representa o íon tropílio que ao perder uma molécula de acetileno (C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>) origina o pico em  $m/z = 65$ . O pico em  $m/z = 77$  é decorrente de uma clivagem à carbonila. A eliminação de uma molécula de acetileno a partir do fragmento em  $m/z = 77$  resulta no fragmento [C<sub>4</sub>H<sub>3</sub>]<sup>+</sup> em  $m/z = 51$ .

Verificou-se a veracidade deste resultado confrontando os dados espectrais do composto MH<sub>6</sub> com os dados da literatura do benzoato de benzila. O índice de similaridade entre o espectro de massas do composto MH<sub>6</sub> e o espectro da substância original (benzoato de benzila) foi de 97 %.



**Figura 43:** Estrutura do composto MH<sub>6</sub> – benzoato de benzila

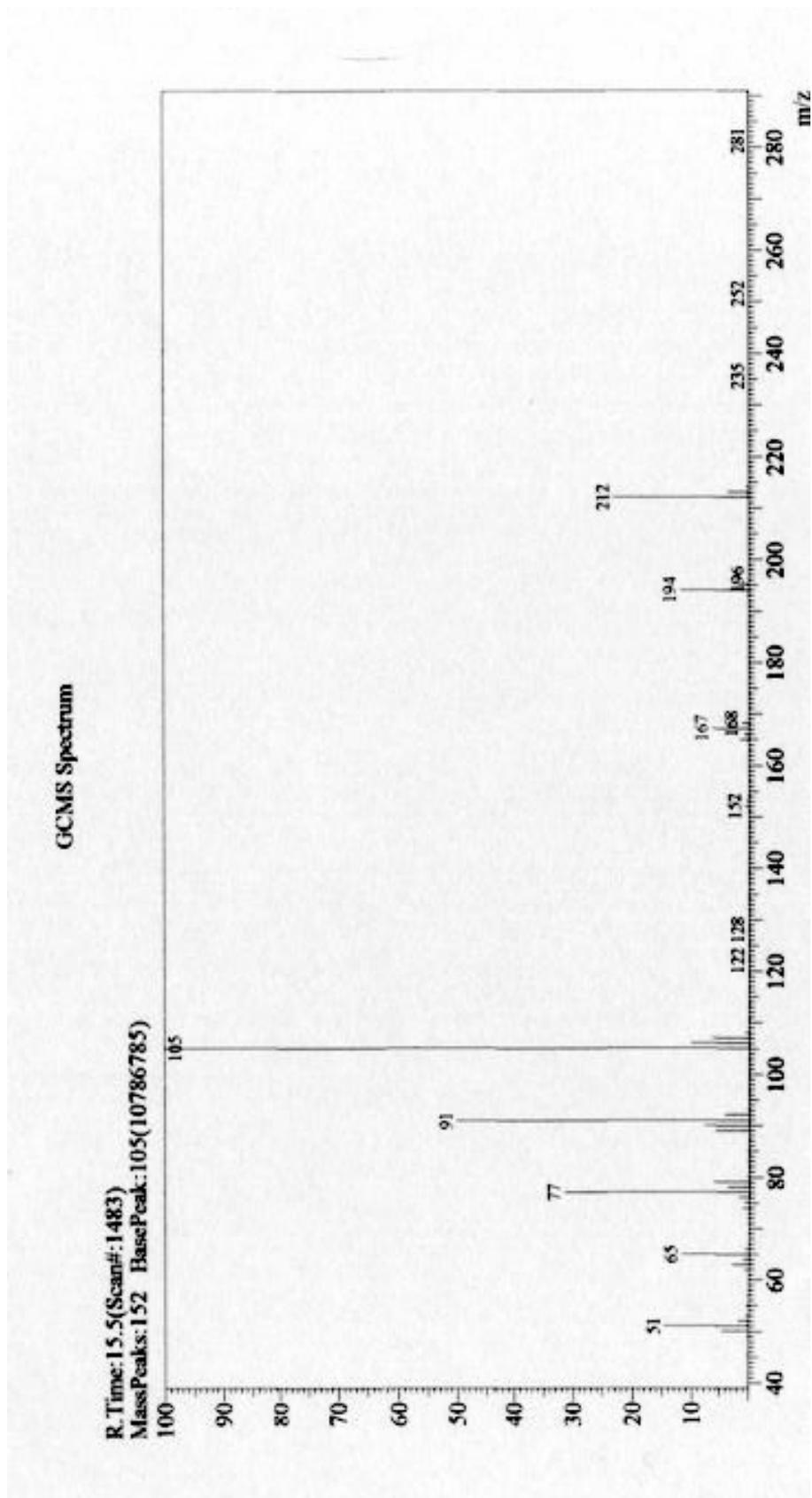
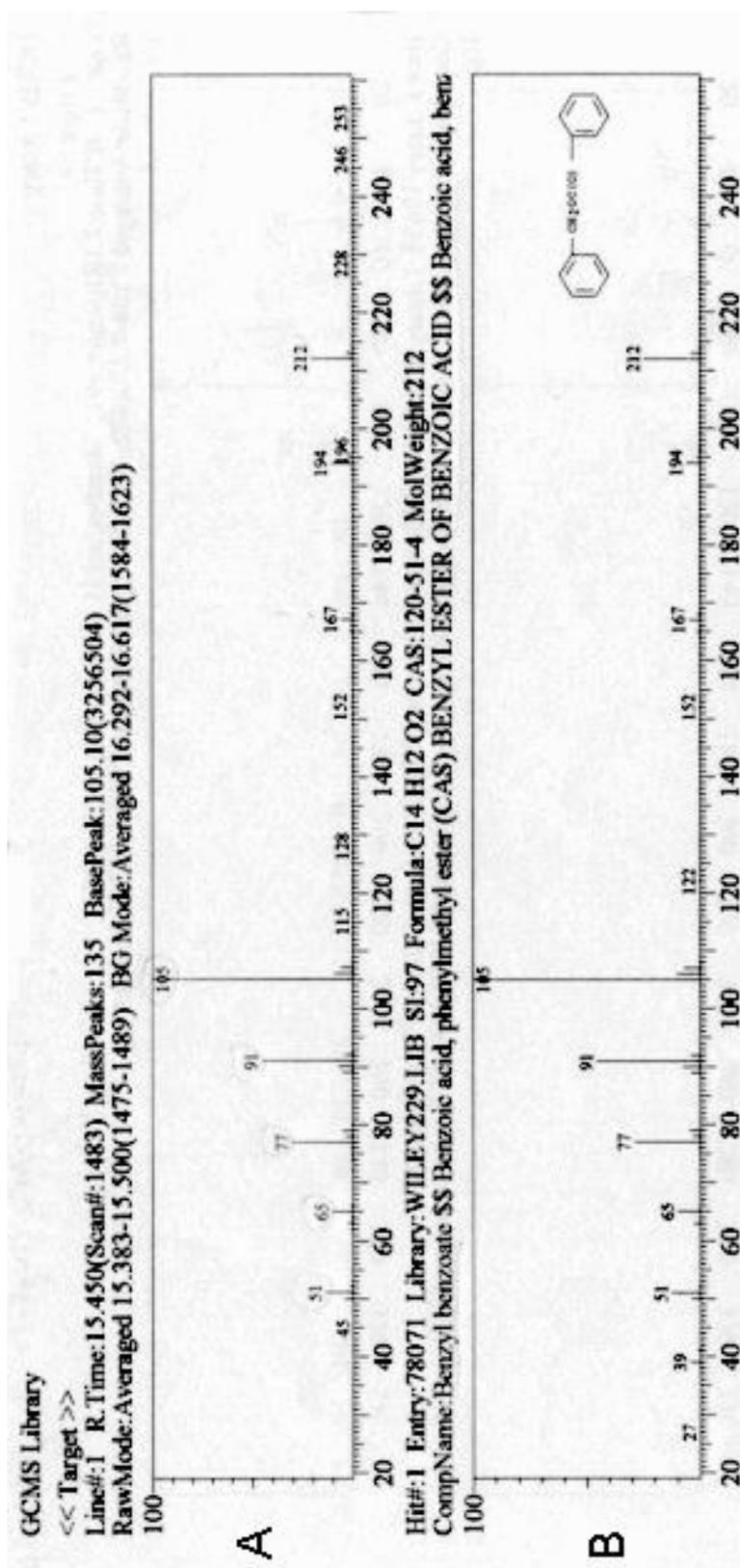


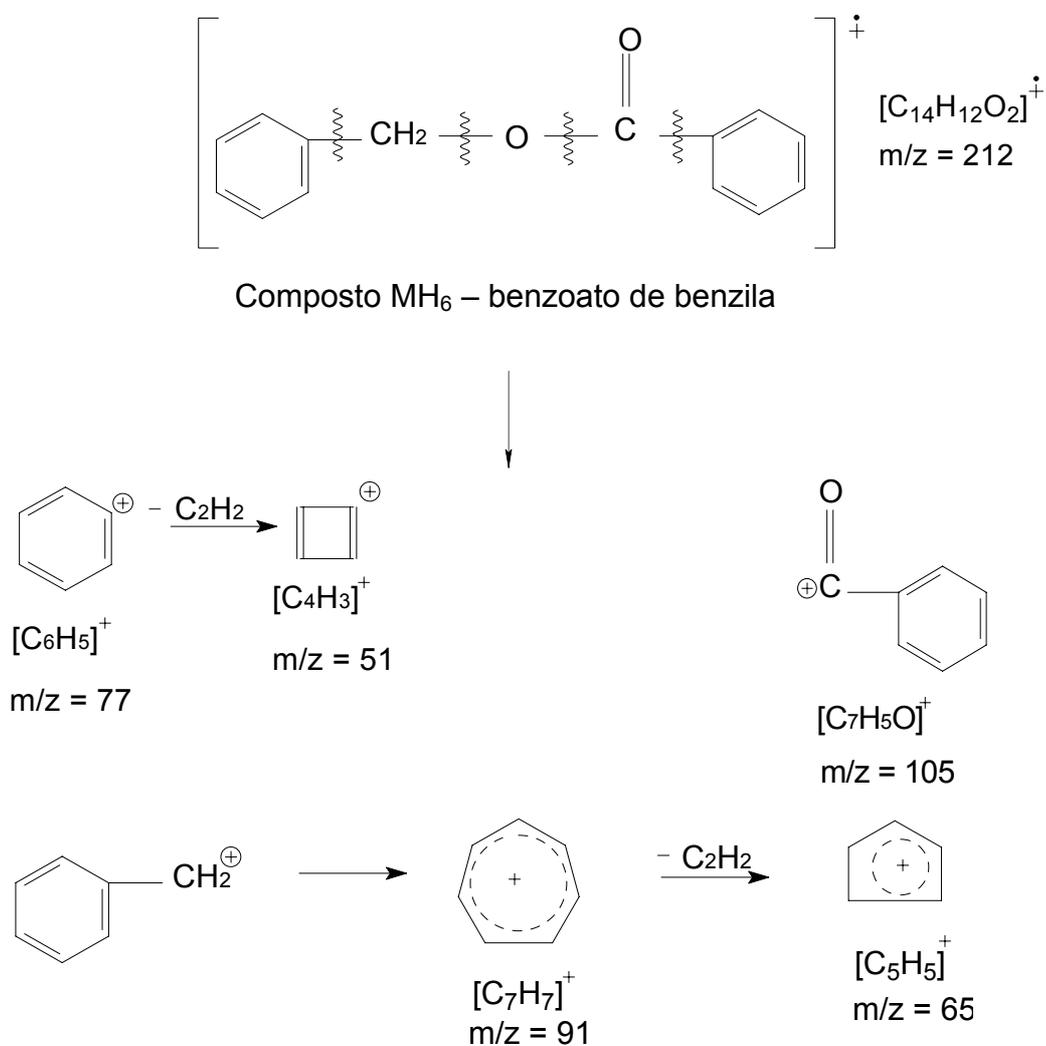
Figura 44: Espectro de massas do composto MH<sub>6</sub>



**Figura 45:** Comparação entre os espectros de massas do composto MH<sub>6</sub> (A) e a substância original (B)

**Tabela 14:** Principais fragmentos presentes no espectro de massas do composto MH<sub>6</sub> com suas respectivas massas e intensidades relativas

Massa	Fragmento	Intensidade relativa %
212	[C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	23,06
105	[C <sub>7</sub> H <sub>5</sub> O] <sup>+</sup>	100
91	[C <sub>7</sub> H <sub>7</sub> ] <sup>+</sup>	50,10
77	[C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ] <sup>+</sup>	31,61
65	[C <sub>5</sub> H <sub>5</sub> ] <sup>+</sup>	11,72
51	[C <sub>4</sub> H <sub>3</sub> ] <sup>+</sup>	14,64



**Figura 46:** Principais fragmentos presentes no composto MH<sub>6</sub>

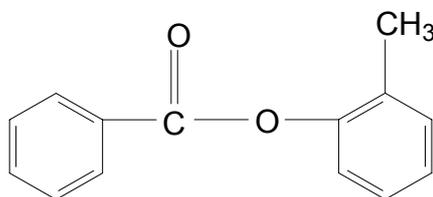
### 5.6.2.3- Identificação do composto MH<sub>7</sub>

A estrutura do composto MH<sub>7</sub> encontra-se na Figura 47 e seu espectro de massas na Figura 48. Os fragmentos mais importantes para elucidação estrutural deste composto, além de suas massas e intensidades relativas estão descritos na Tabela 15.

Estes fragmentos e suas respectivas massas correspondem aos valores descritos para o benzoato de 2-metilfenila presente na biblioteca de espectros WILEY 229.LIB cuja fórmula molecular é C<sub>14</sub>H<sub>12</sub>O<sub>2</sub>. Na Figura 49 encontra-se a comparação entre o espectro do composto MH<sub>7</sub> e o espectro da substância original. A Figura 50 mostra os principais fragmentos observados para o composto MH<sub>7</sub>.

O pico do íon molecular do composto MH<sub>7</sub> apresenta-se em  $m/z = 212$ , o pico base em  $m/z = 105$  e o pico em  $m/z = 77$  são decorrentes de clivagem  $\alpha$  à carbonila. A eliminação de uma molécula de acetileno (C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>) a partir do fragmento em  $m/z = 77$  resulta no fragmento [C<sub>4</sub>H<sub>3</sub>]<sup>+</sup> em  $m/z = 51$ .

Verificou-se a veracidade deste resultado confrontando os dados espectrais do composto MH<sub>7</sub> com os dados da literatura do benzoato de 2-metilfenila. O espectro de massas do composto MH<sub>9</sub> apresentou um índice de similaridade de 96 % em relação ao espectro da substância original (benzoato de 2-metilfenila).



**Figura 47:** Estrutura do composto MH<sub>7</sub> – benzoato de 2-metilfenila

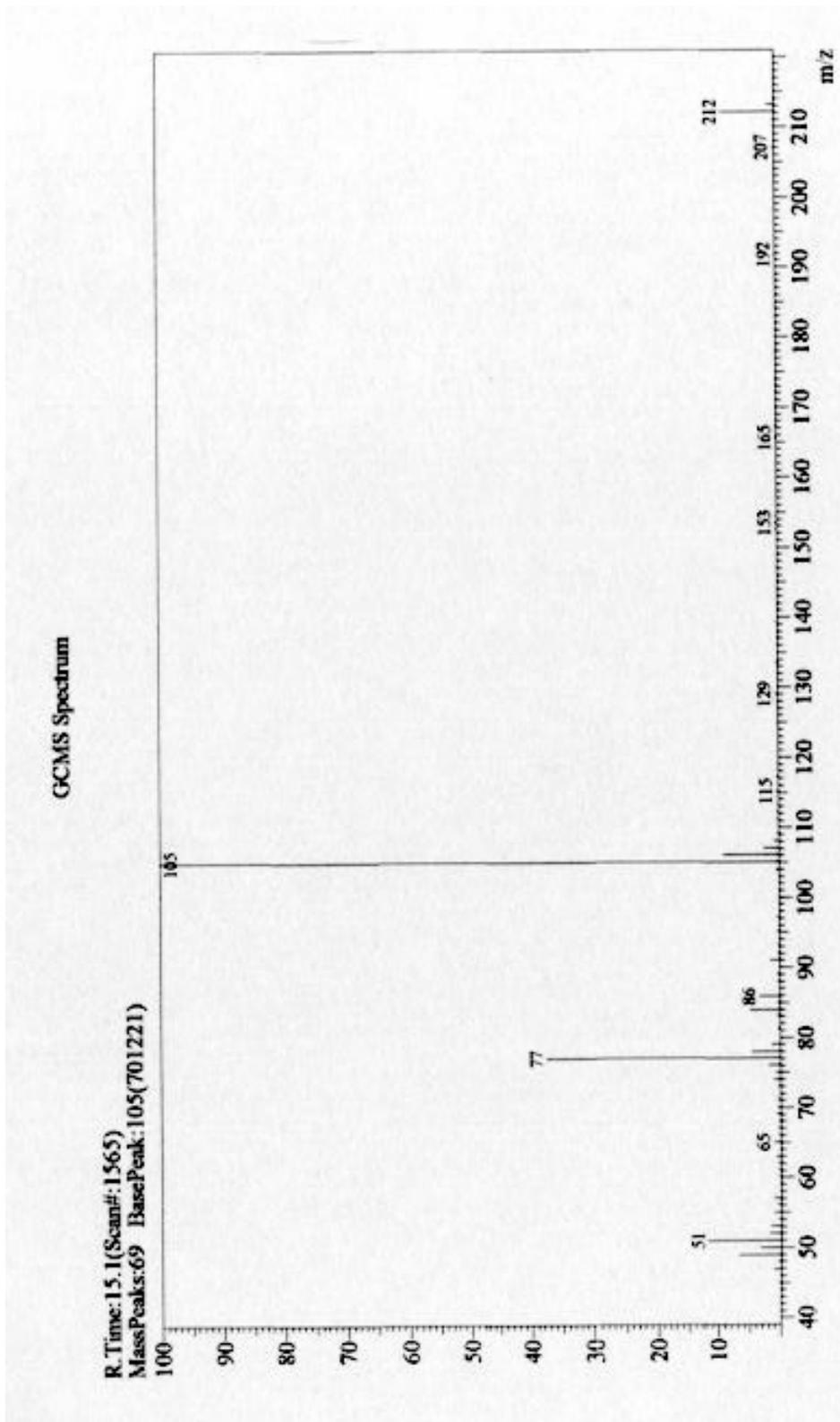
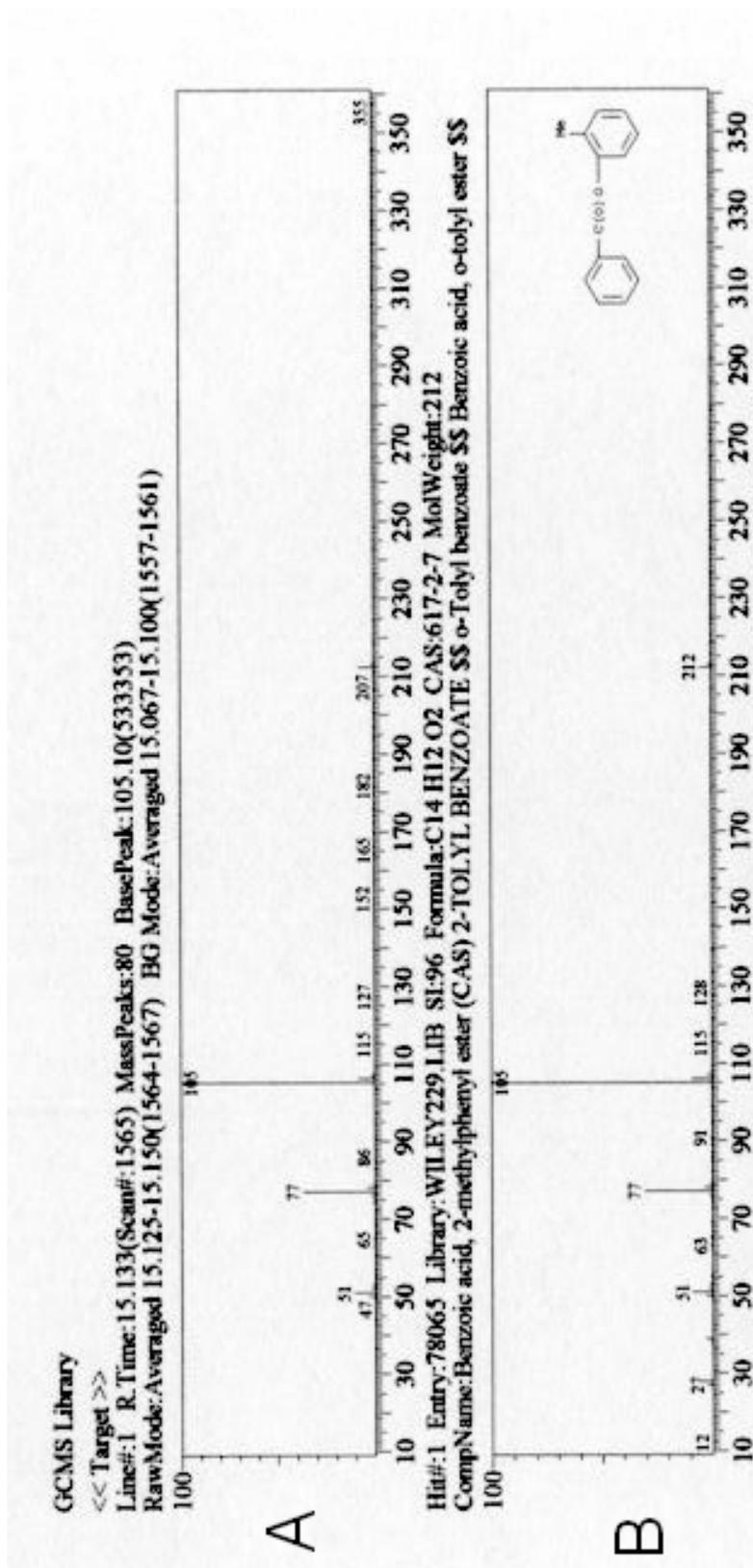


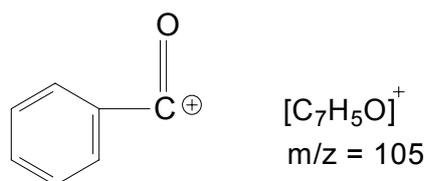
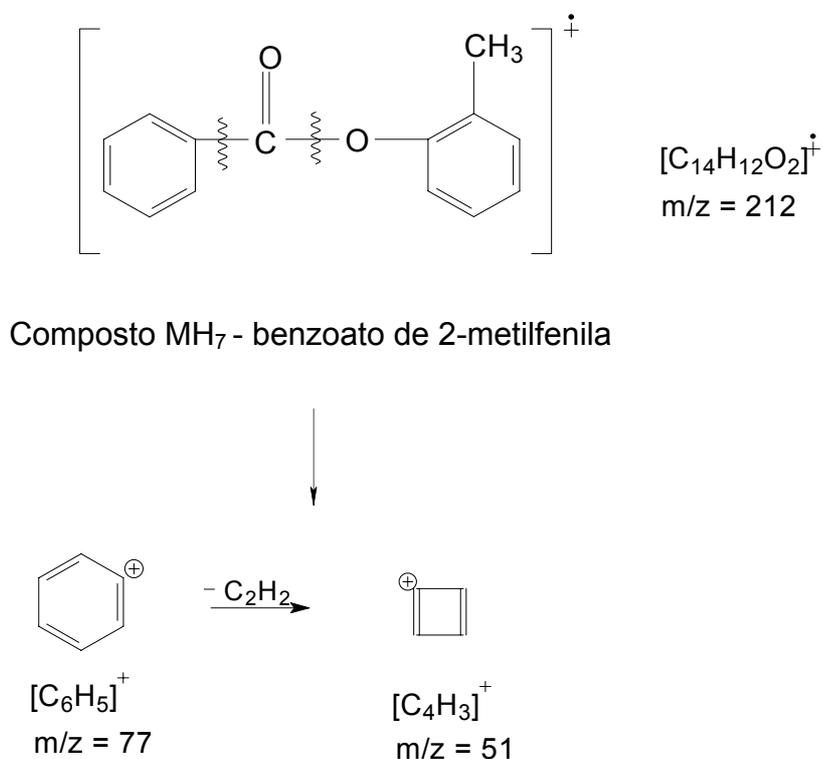
Figura 48: Espectro de massas do composto  $MH_7$



**Figura 49:** Comparação entre os espectros de massas do composto MH<sub>7</sub> (A) e a substância original (B)

**Tabela 15:** Principais fragmentos presentes no espectro de massas do composto MH<sub>7</sub> com suas respectivas massas e intensidades relativas

Massa	Fragmento	Intensidade relativa %
212	$[C_{14}H_{12}O_2]^+$	8,66
105	$[C_7H_5O]^+$	100
77	$[C_6H_5]^+$	37,67
51	$[C_4H_3]^+$	11,81



**Figura 50:** Principais fragmentos presentes no composto MH<sub>7</sub>

*IDENTIFICAÇÃO*  
*DOS*  
*ALQUILBENZENOS*

*COMPOSTO MH<sub>8</sub>*

*COMPOSTO MH<sub>9</sub>*

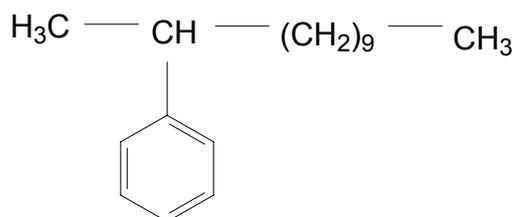
### 5.6.3- Identificação do composto MH<sub>8</sub>

A estrutura do composto MH<sub>8</sub> encontra-se na Figura 51 e seu espectro de massas na Figura 52. Os fragmentos mais importantes para elucidação estrutural deste composto, além de suas massas e intensidades relativas estão descritos na Tabela 16.

Estes fragmentos e suas respectivas massas correspondem aos valores descritos para o 2-fenil dodecano presente na biblioteca de espectros WILEY 229.LIB cuja fórmula molecular é C<sub>18</sub>H<sub>30</sub>. Na Figura 53 encontra-se a comparação entre o espectro do composto MH<sub>8</sub> e o espectro da substância original. Os principais fragmentos observados para o composto MH<sub>8</sub> estão representados na Figura 54.

O pico do íon molecular do composto MH<sub>8</sub> apresenta-se em  $m/z = 246$  e o pico base em  $m/z = 105$ . O pico em  $m/z = 91$  representa o íon tropílio que é formado através de rearranjo de McLafferty (Figura 54), o pico em  $m/z = 77$  representa o íon fenila [C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>]<sup>+</sup> e os picos em  $m/z = 119, 133, 147, 161, 175, 189, 203, 217$  e  $231$  apresentam intensidade mínima formando uma seqüência de fragmentação caracterizada por intervalos de 14 unidades de massa, ou seja, perdas sucessivas de CH<sub>2</sub>. O pico em  $m/z = 55$  é resultante de uma fragmentação hidrocarbônica do tipo C<sub>n</sub>H<sub>2n-1</sub> com  $n = 4$ .

Verificou-se a veracidade deste resultado confrontando os dados espectrais do composto MH<sub>8</sub> com os dados da literatura do 2-fenil dodecano. O espectro de massas do composto MH<sub>8</sub> apresentou um índice de similaridade de 96 % em relação ao espectro da substância original (2-fenil dodecano).



**Figura 51:** Estrutura do composto MH<sub>8</sub> – 2-fenil dodecano

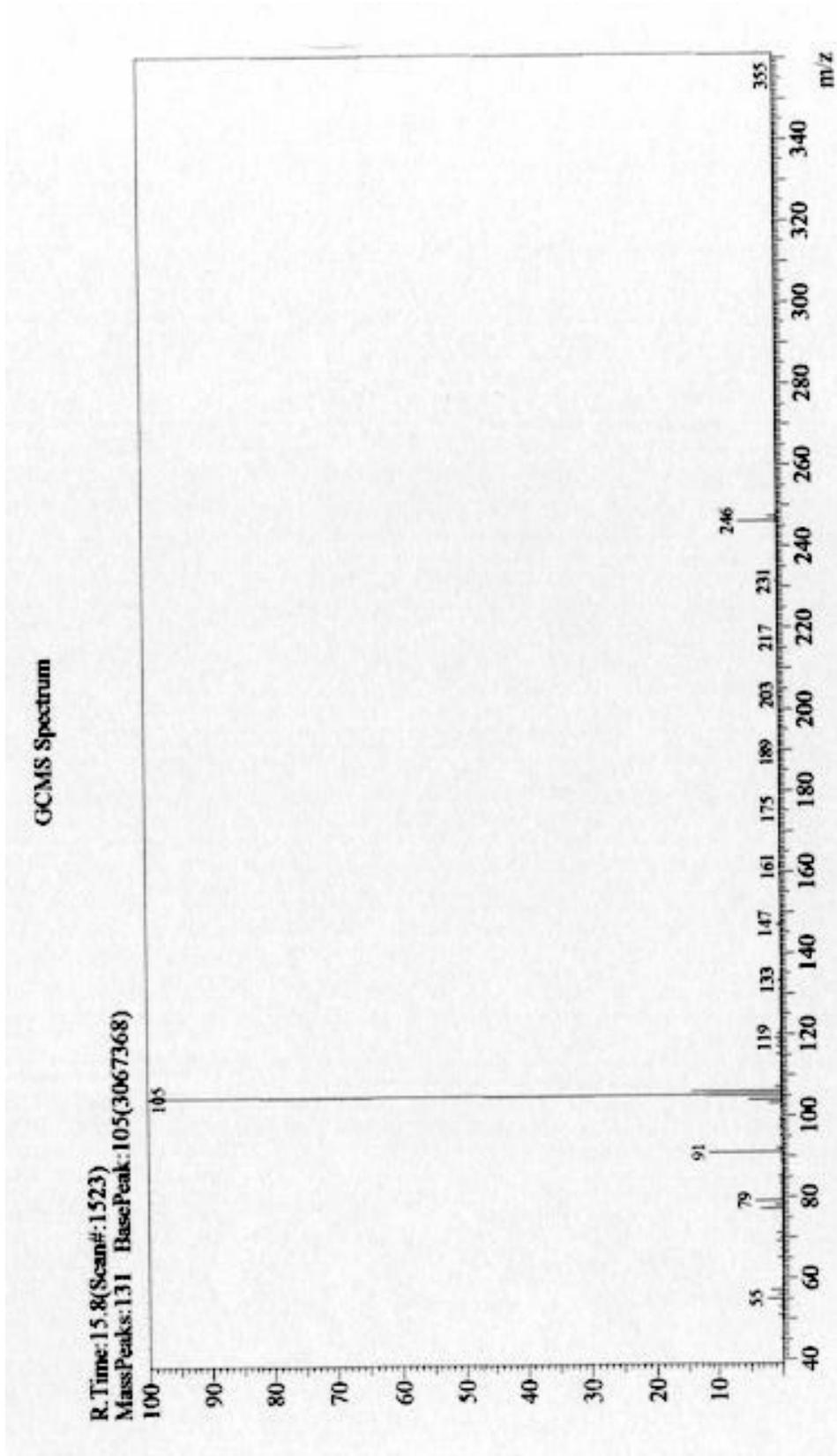


Figura 52: Espectro de massas do composto  $MH_8$

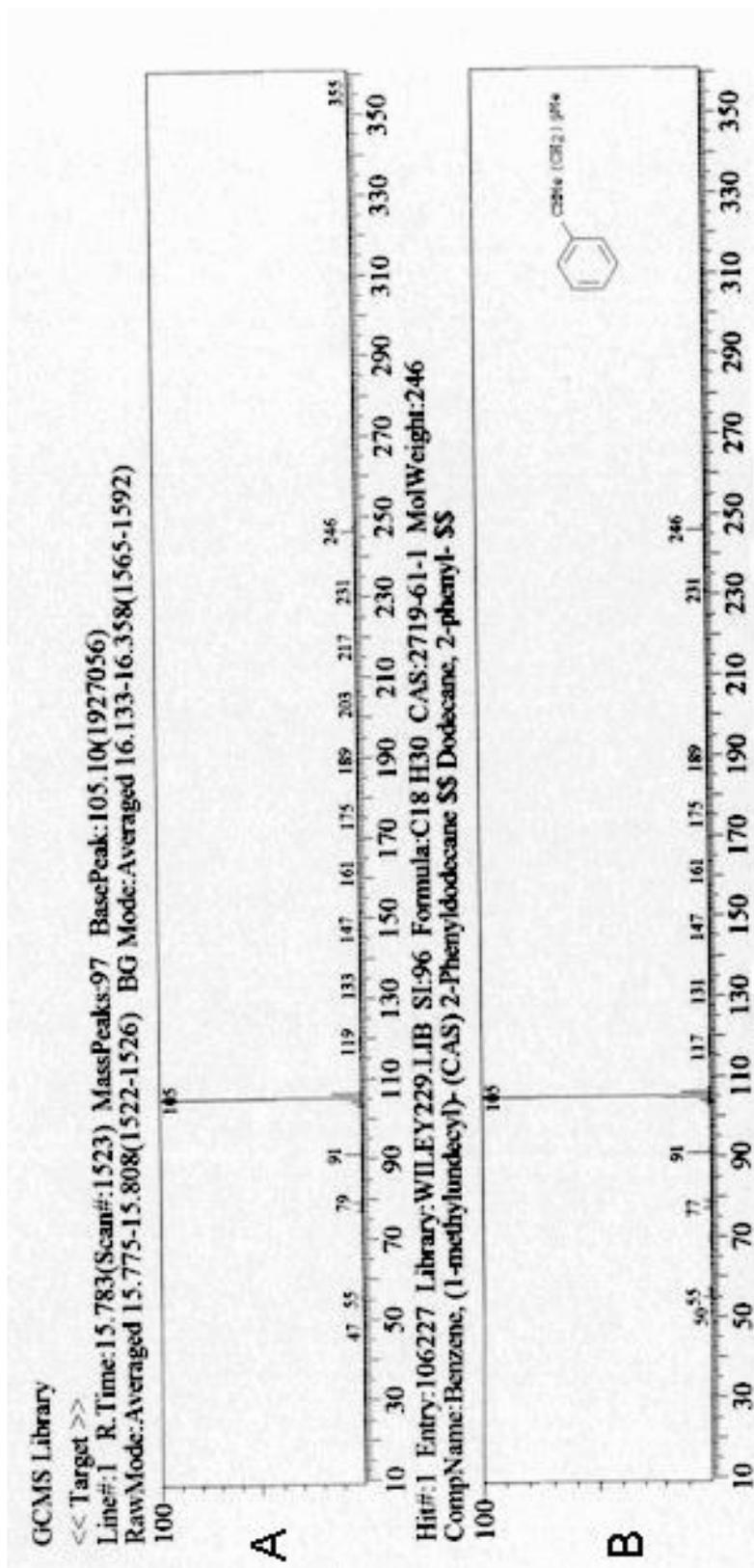
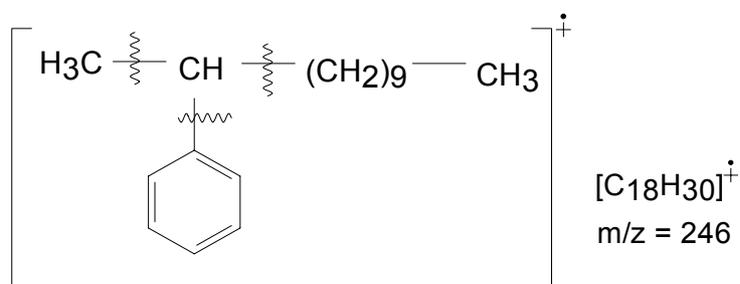


Figura 53: Comparação entre os espectros de massas do composto MH<sub>8</sub> (A) e a substância original (B)

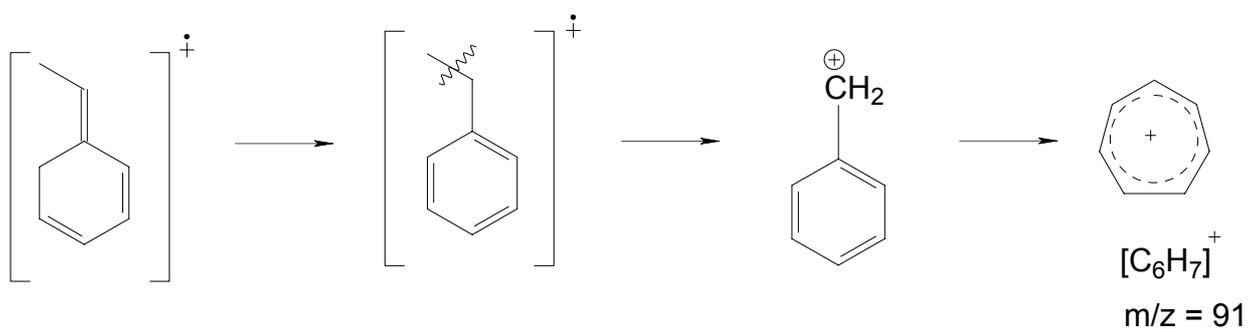
**Tabela 16:** Principais fragmentos presentes no espectro de massas do composto MH<sub>8</sub> com suas respectivas massas e intensidades relativas

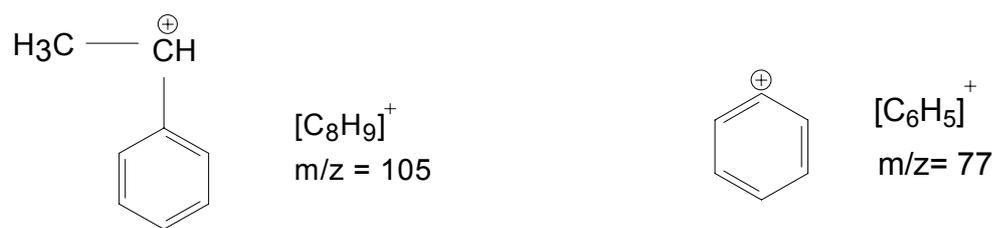
Massa	Fragmento	Intensidade relativa %
246	[C <sub>18</sub> H <sub>30</sub> ] <sup>+</sup>	6,13
105	[C <sub>8</sub> H <sub>9</sub> ] <sup>+</sup>	100
91	[C <sub>7</sub> H <sub>7</sub> ] <sup>+</sup>	11,55
77	[C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ] <sup>+</sup>	3,50
55	[C <sub>4</sub> H <sub>7</sub> ] <sup>+</sup>	2,53



Composto MH<sub>8</sub> – 2-fenil dodecano

Rearranjo de McLafferty ↓ - C<sub>10</sub>H<sub>20</sub>





**Figura 54:** Principais fragmentos presentes no composto  $\text{MH}_8$

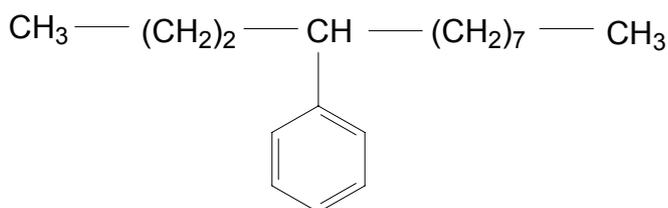
#### 5.6.4 Identificação do composto MH<sub>9</sub>

A estrutura do composto MH<sub>9</sub> encontra-se na Figura 55 e seu espectro de massas na Figura 56. Os fragmentos mais importantes para elucidação estrutural deste composto, além de suas massas e intensidades relativas estão descritos na Tabela 17.

A análise do espectro de massas do composto MH<sub>9</sub> indica que os picos observados e suas respectivas massas correspondem aos valores descritos para o 4-fenil dodecano presente na biblioteca de espectros WILEY 229.LIB cuja fórmula molecular é C<sub>18</sub>H<sub>30</sub>. Na Figura 57 encontra-se a comparação entre o espectro do composto MH<sub>9</sub> e o espectro da substância original. Os principais fragmentos observados para o composto MH<sub>9</sub> estão representados na Figura 58.

O pico do íon molecular do composto MH<sub>9</sub> apresenta-se em  $m/z = 246$  e o pico base em  $m/z = 91$ . O pico em  $m/z = 203$  origina-se pela perda do fragmento alquila [C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>]<sup>+</sup>, o pico em  $m/z = 77$  representa o íon fenila [C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>]<sup>+</sup>, os picos em  $m/z = 147$  e 161 são originados da perda de fragmentos alquilas. O pico em  $m/z = 133$  é decorrente da perda da cadeia lateral alquila C<sub>8</sub>H<sub>17</sub>. O pico em  $m/z = 91$  origina-se da perda de propeno (C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>) do fragmento em  $m/z = 133$  com uma conseqüente migração de hidrogênio e o pico em  $m/z = 105$  resulta da perda de etileno (C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>) também do fragmento em  $m/z = 133$ .

O pico em  $m/z = 57$  representa o fragmento alquila [C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>]<sup>+</sup> e o pico em  $m/z = 55$  é resultante de uma fragmentação hidrocarbônica do tipo C<sub>n</sub>H<sub>2n-1</sub> com n = 4. Verificou-se a veracidade deste resultado confrontando os dados espectrais do composto MH<sub>9</sub> com os dados da literatura do 4-fenil dodecano. O espectro de massas do composto MH<sub>9</sub> apresentou um índice de similaridade de 94 % em relação ao espectro da substância original (4-fenil dodecano).



**Figura 55:** Estrutura do composto MH<sub>9</sub> – 4-fenil-dodecano

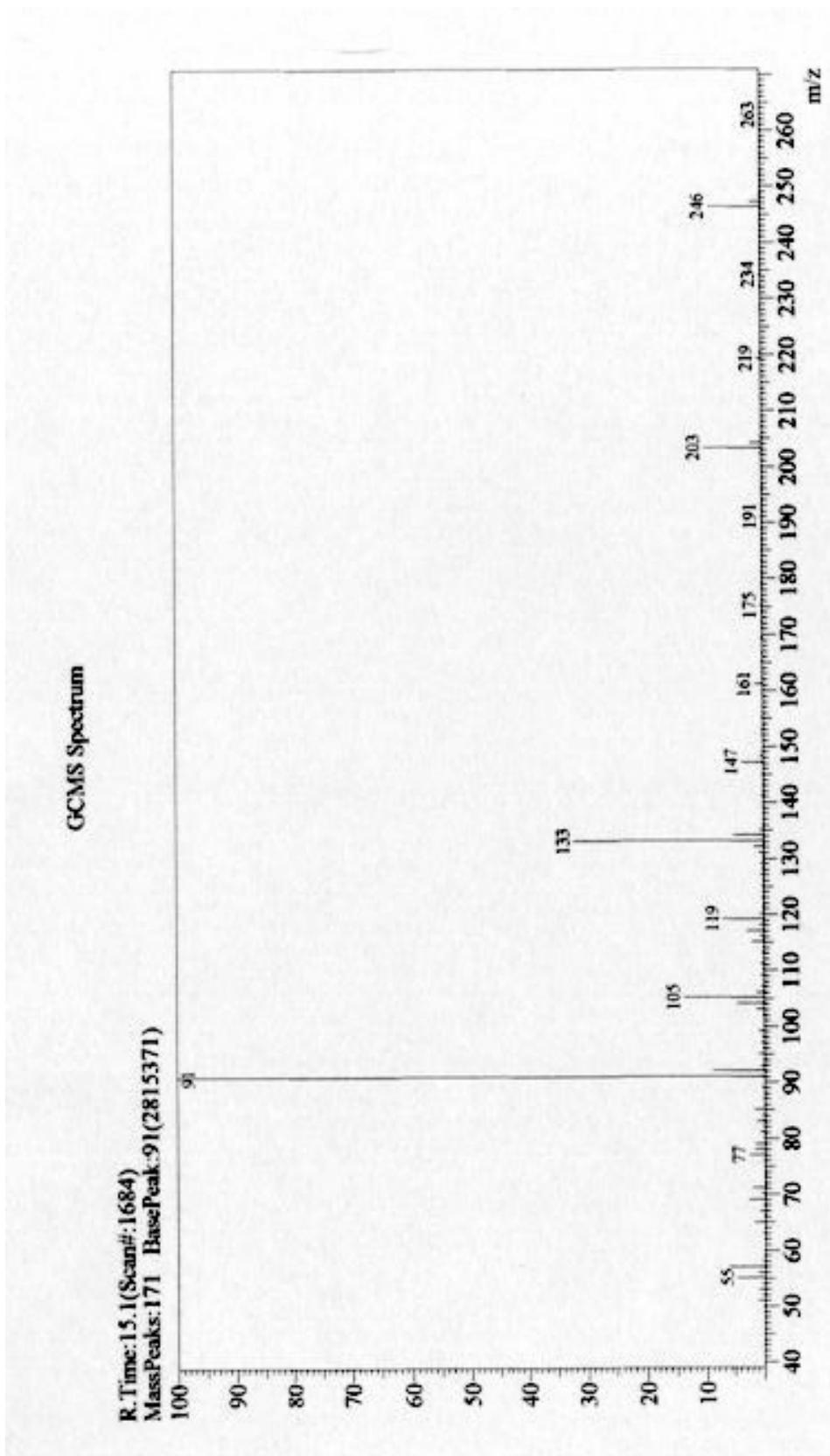
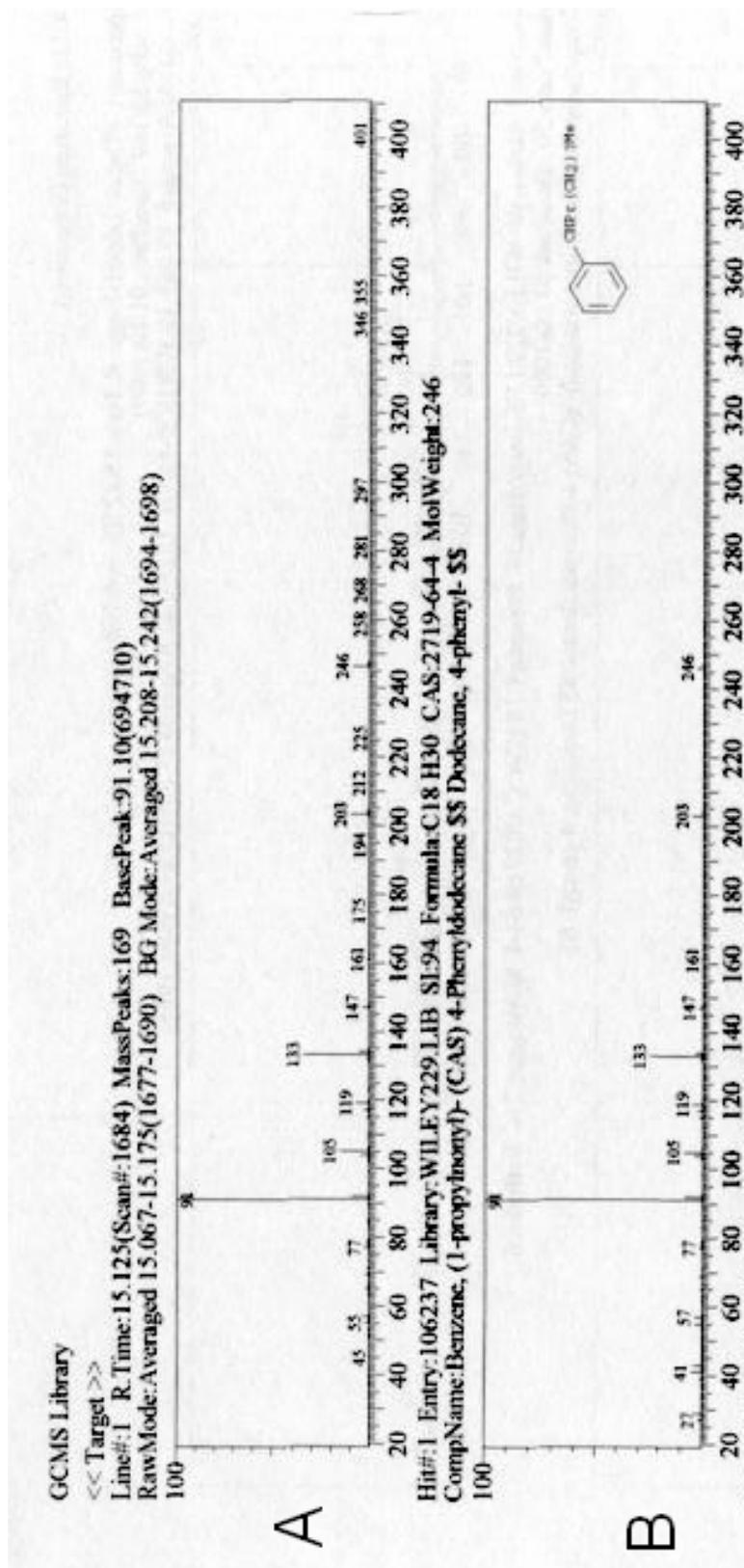


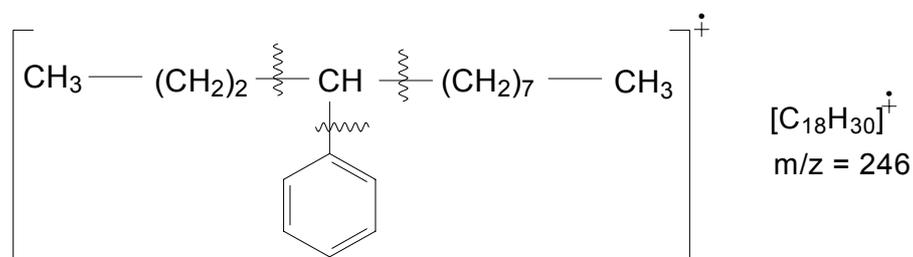
Figura 56: Espectro de massas do composto  $MH_9$



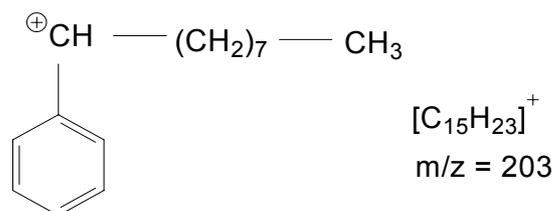
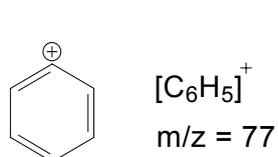
**Figura 57:** Comparação entre os espectros de massas do composto MH<sub>9</sub> (A) e a substância original (B)

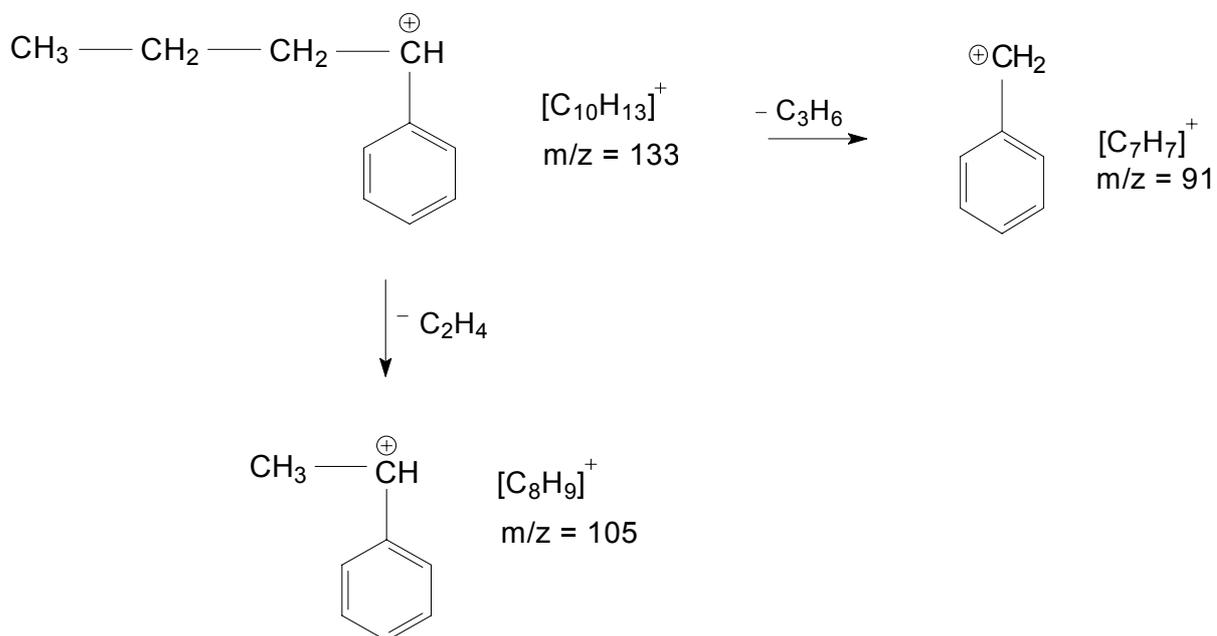
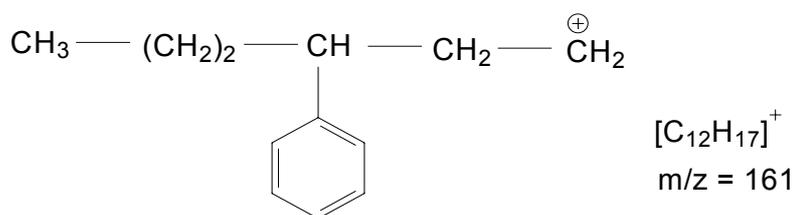
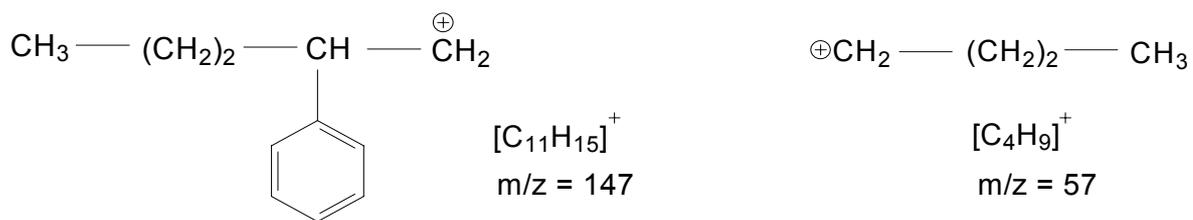
**Tabela 17:** Principais fragmentos presentes no espectro de massas do composto MH<sub>9</sub> com suas respectivas massas e intensidades relativas

Massa	Fragmento	Intensidade relativa %
246	[C <sub>18</sub> H <sub>30</sub> ] <sup>+</sup>	8,81
203	[C <sub>15</sub> H <sub>23</sub> ] <sup>+</sup>	9,74
161	[C <sub>12</sub> H <sub>17</sub> ] <sup>+</sup>	1,38
147	[C <sub>11</sub> H <sub>15</sub> ] <sup>+</sup>	3,60
133	[C <sub>10</sub> H <sub>13</sub> ] <sup>+</sup>	32,31
119	[C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> ] <sup>+</sup>	7,04
105	[C <sub>8</sub> H <sub>9</sub> ] <sup>+</sup>	13,60
91	[C <sub>7</sub> H <sub>7</sub> ] <sup>+</sup>	100
77	[C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ] <sup>+</sup>	2,66
57	[C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> ] <sup>+</sup>	6,37
55	[C <sub>4</sub> H <sub>7</sub> ] <sup>+</sup>	4,79



Composto MH<sub>9</sub> – 4-fenil dodecano





**Figura 58:** Principais fragmentos presentes no composto  $\text{MH}_9$

*IDENTIFICAÇÃO*  
*DOS*  
*ALDEÍDOS*

*COMPOSTO MH<sub>10</sub>*

*COMPOSTO MH<sub>11</sub>*

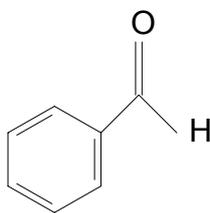
### 5.6.5- Identificação do composto MH<sub>10</sub>

A estrutura do composto MH<sub>10</sub> encontra-se na Figura 59 e seu espectro de massas na Figura 60. Os fragmentos mais importantes para a elucidação estrutural deste composto, além de suas massas e intensidades relativas estão descritos na Tabela 18.

Estes fragmentos e suas respectivas massas correspondem aos valores descritos para o benzaldeído presente na biblioteca de espectros WILEY 229.LIB cuja fórmula molecular é C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O. Na Figura 61 encontra-se a comparação entre o espectro do composto MH<sub>10</sub> e o espectro da substância original. A Figura 62 mostra os principais fragmentos observados para o composto MH<sub>10</sub>.

O pico do íon molecular do composto MH<sub>10</sub> apresenta-se em  $m/z = 106$ , o pico base apresenta-se em  $m/z = 105$  decorrente da perda de um hidrogênio o pico em  $m/z = 77$  é decorrente de uma clivagem  $\alpha$  à carbonila. A eliminação de uma molécula de acetileno (C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>) a partir do fragmento em  $m/z = 77$  resulta no fragmento [C<sub>4</sub>H<sub>3</sub>]<sup>+</sup> em  $m/z = 51$ .

Verificou-se a veracidade deste resultado confrontando os dados espectrais do composto MH<sub>10</sub> com os dados da literatura do benzaldeído. O espectro de massas do composto MH<sub>10</sub> apresentou um índice de similaridade de 97 % em relação ao espectro da substância original (benzaldeído).



**Figura 59:** Estrutura do composto MH<sub>10</sub> – benzaldeído

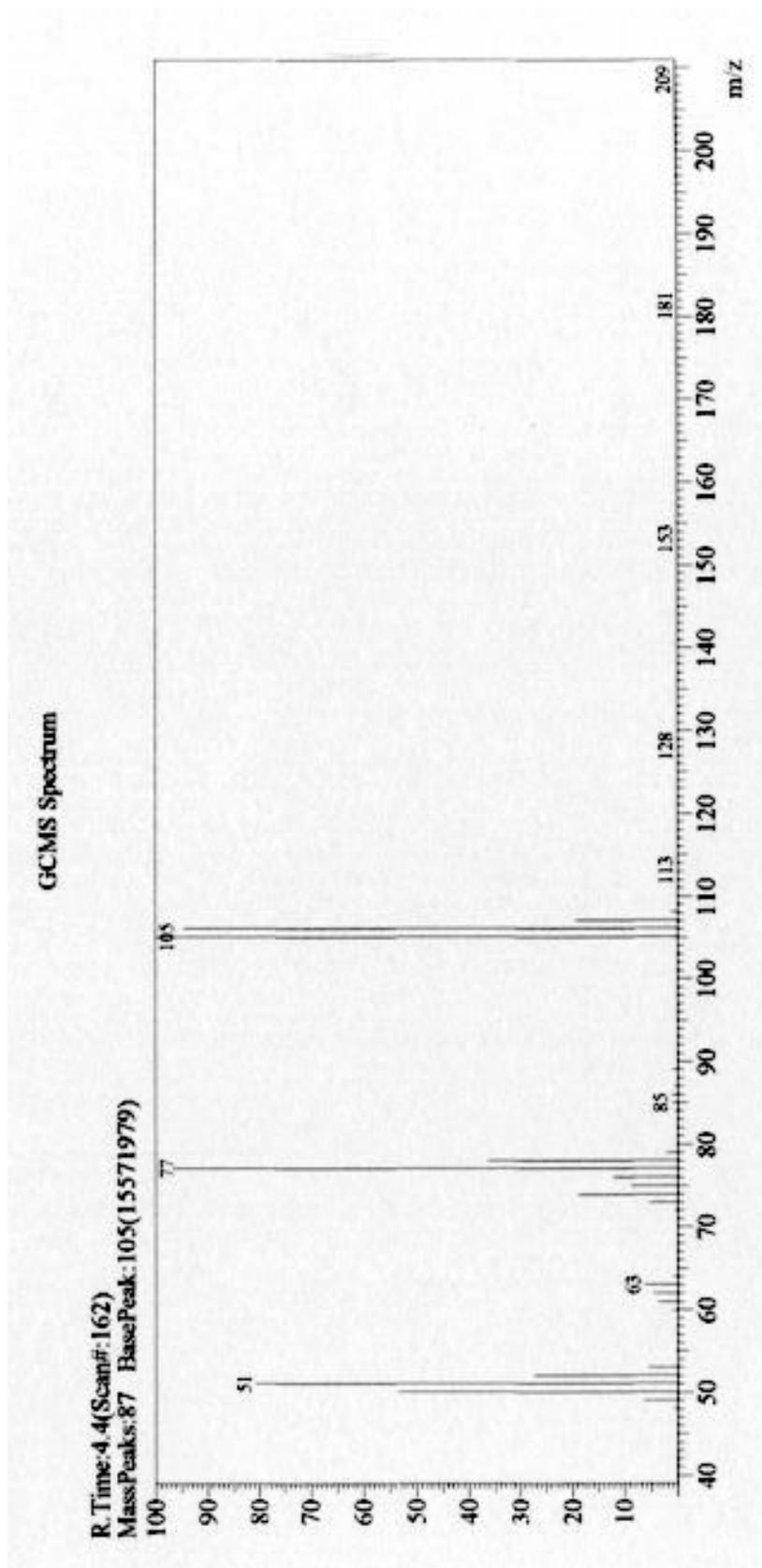
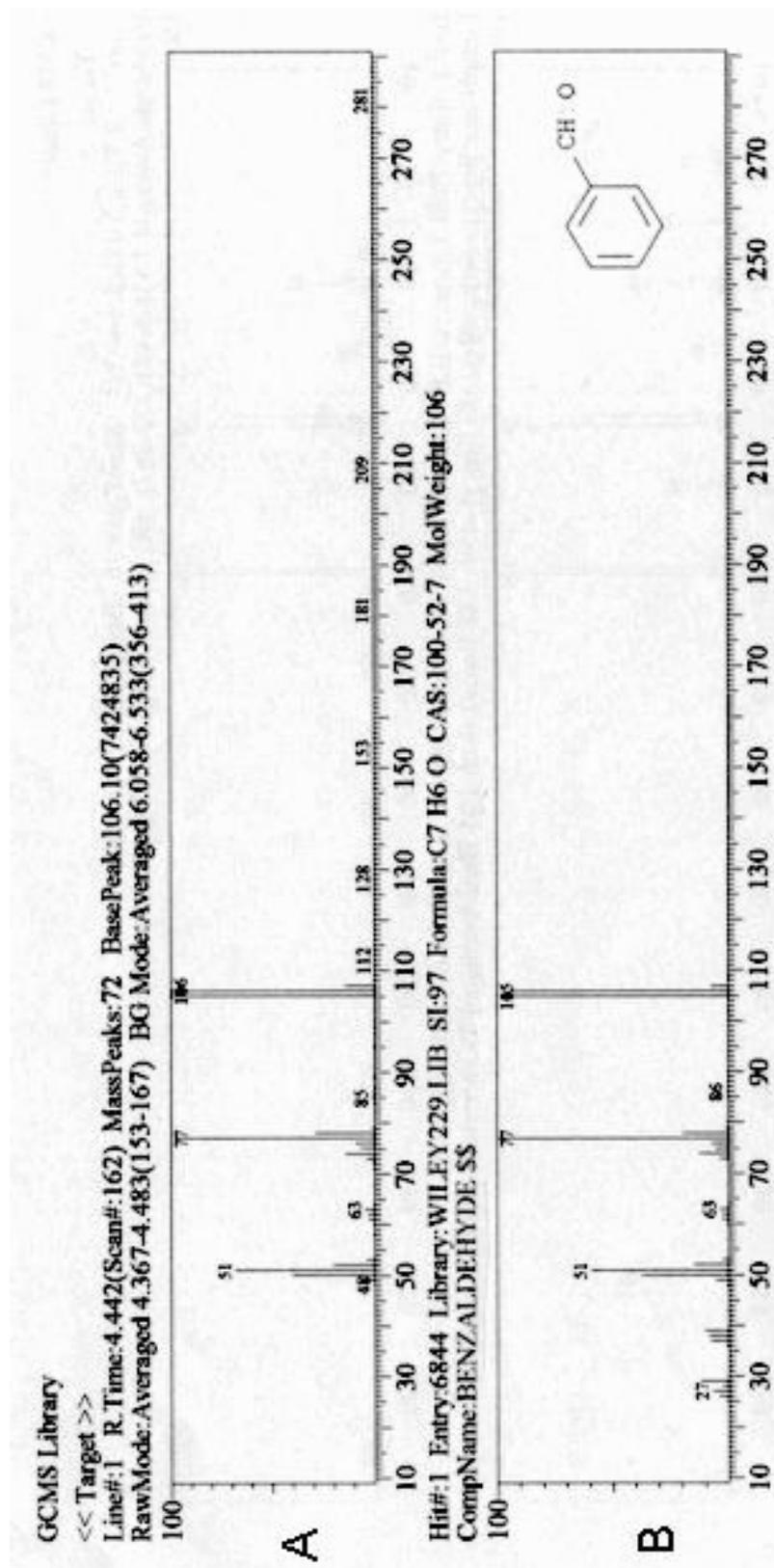


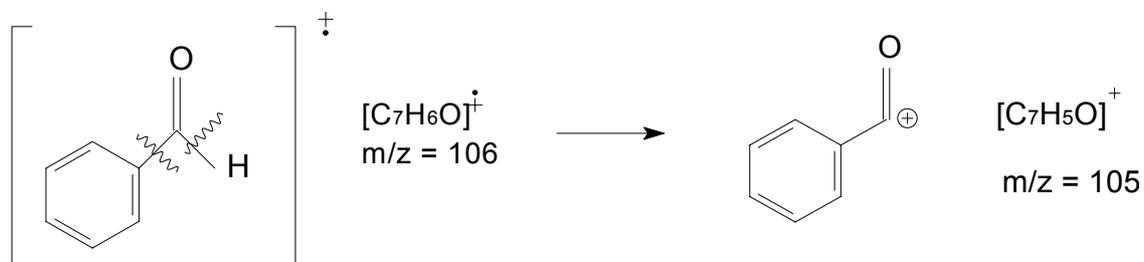
Figura 60: Espectro de massas do composto  $MH_{10}$



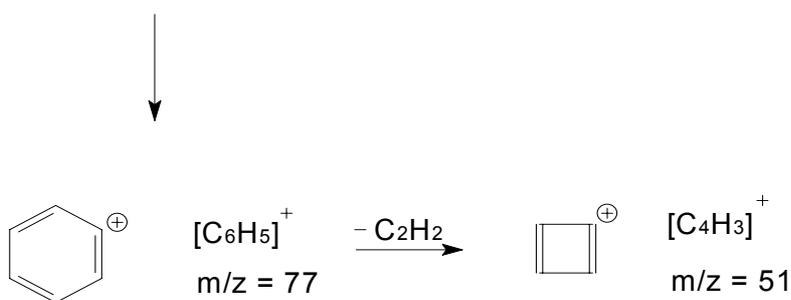
**Figura 61:** Comparação entre os espectros de massas do composto  $MH_{10}$  (A) e a substância original (B)

**Tabela 18:** Principais fragmentos presentes no espectro de massas do composto MH<sub>10</sub> com suas respectivas massas e intensidades relativas

Massa	Fragmento	Intensidade relativa %
106	[C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O] <sup>+</sup>	94,46
105	[C <sub>7</sub> H <sub>5</sub> O] <sup>+</sup>	100
77	[C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ] <sup>+</sup>	96,60
51	[C <sub>4</sub> H <sub>3</sub> ] <sup>+</sup>	80,82



Composto MH<sub>10</sub> – benzaldeído



**Figura 62:** Principais fragmentos presentes no composto MH<sub>10</sub>

### 5.6.6- Identificação do composto MH<sub>11</sub>

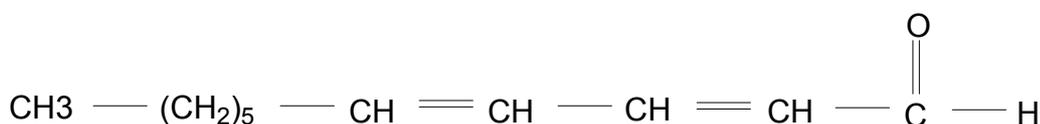
A estrutura do composto MH<sub>11</sub> encontra-se na Figura 63 e seu espectro de massas na Figura 64. Os fragmentos mais importantes para a elucidação estrutural deste composto, além de suas massas e intensidades relativas estão descritos na Tabela 19.

Estes fragmentos e suas respectivas massas correspondem aos valores descritos para o 2,4-undecadienal presente na biblioteca de espectros WILEY 229.LIB cuja fórmula molecular é C<sub>11</sub>H<sub>18</sub>O. Na Figura 65 encontra-se a comparação entre o espectro do composto MH<sub>11</sub> e o espectro da substância original. Os principais fragmentos observados para o composto MH<sub>11</sub> estão representados na Figura 66.

O pico do íon molecular do composto MH<sub>11</sub> apresenta-se em  $m/z = 166$  e o pico base em  $m/z = 81$ .

O pico em  $m/z = 137$  representa a perda do grupamento aldeído (CHO). Os picos em  $m/z = 81, 95, 109$  e  $123$  são decorrentes da eliminação de moléculas de CH<sub>2</sub> e o pico em  $m/z = 55$  representa o fragmento [C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>O]<sup>+</sup>.

Verificou-se a veracidade deste resultado confrontando os dados espectrais do composto MH<sub>11</sub> com os dados da literatura do 2,4-undecadienal. O espectro de massas do composto MH<sub>11</sub> apresentou um índice de similaridade de 94 % em relação ao espectro da substância original (2,4-undecadienal).



**Figura 63:** Estrutura do composto MH<sub>11</sub>- 2,4-undecadienal

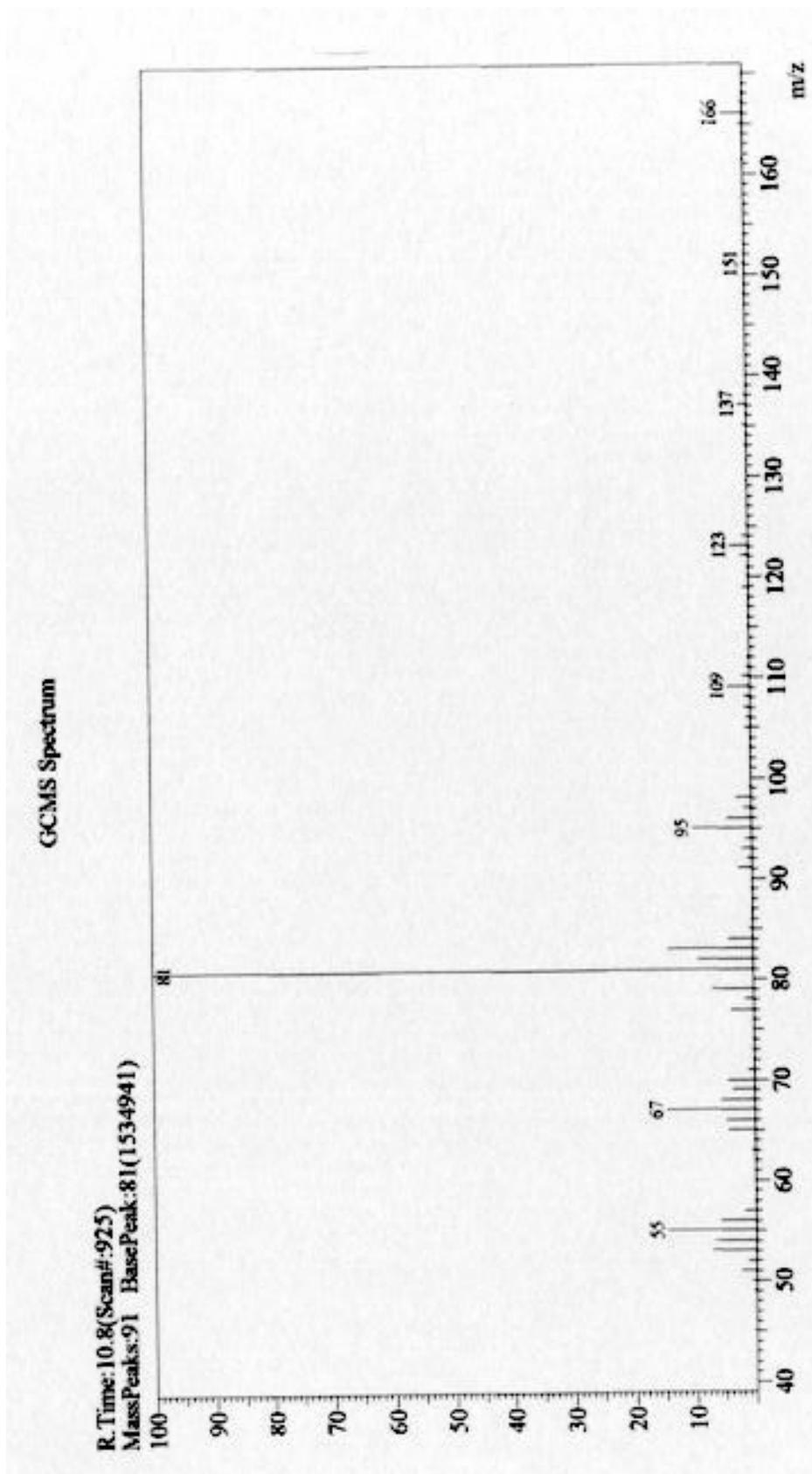


Figura 64: Espectro de massas do composto MH<sub>11</sub>

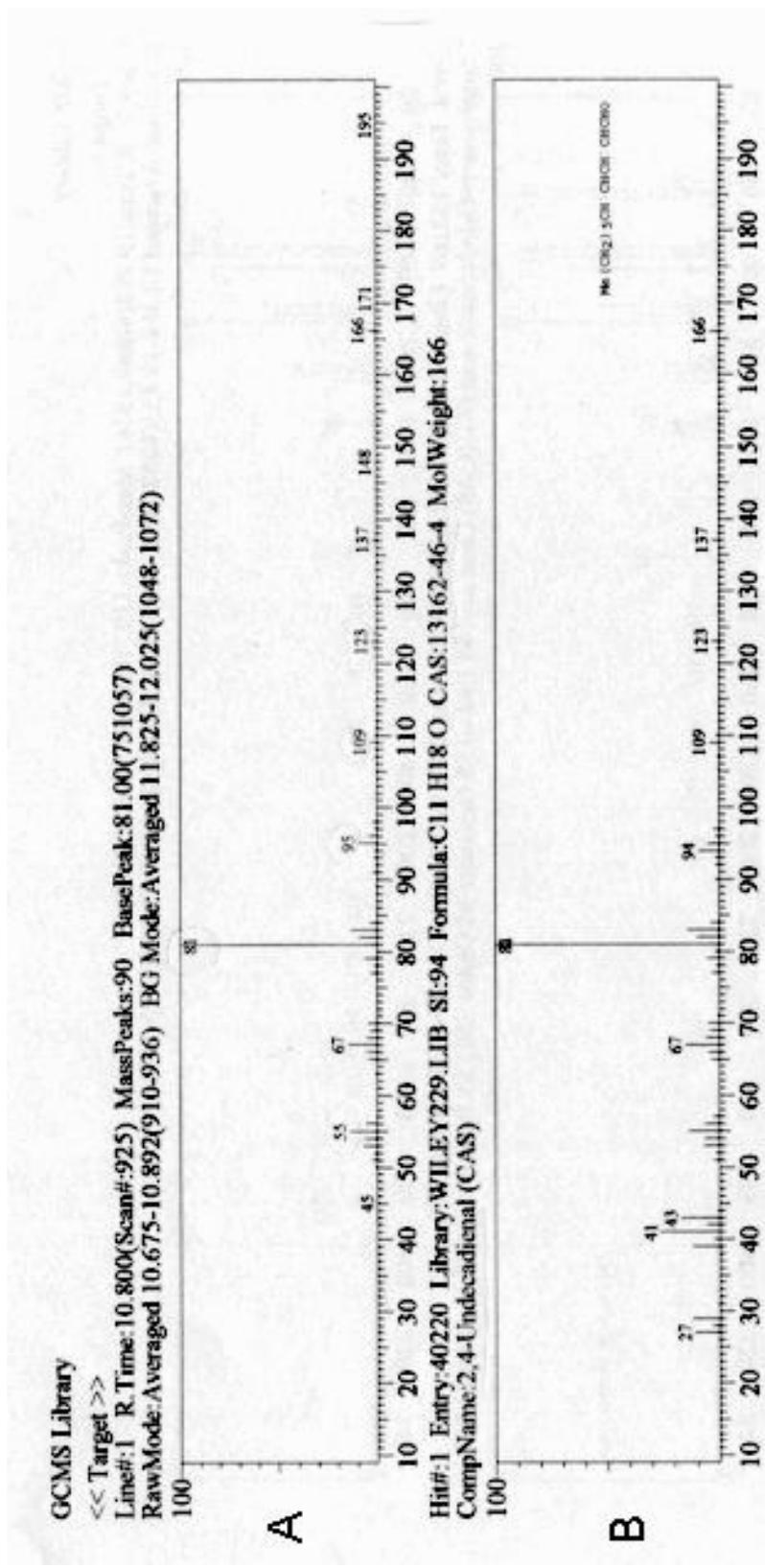
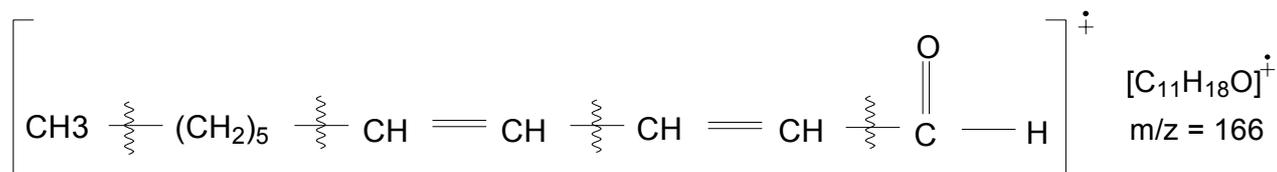


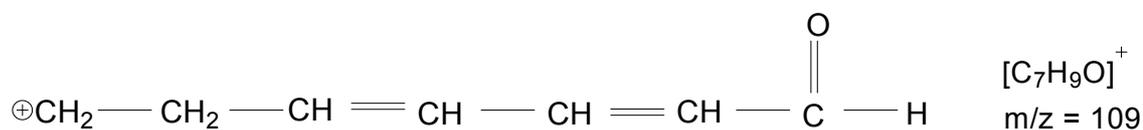
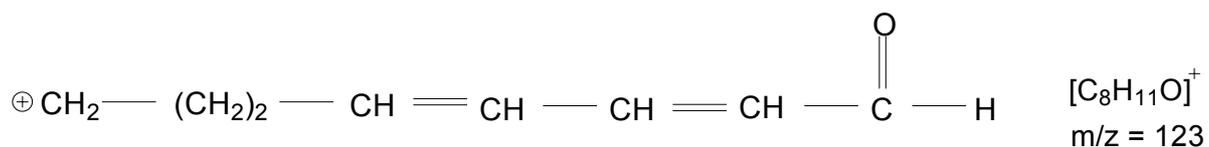
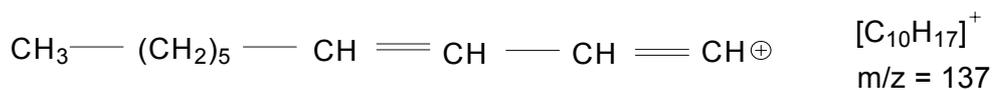
Figura 65: Comparação entre os espectros de massas do composto  $MH_{11}$  (A) e a substância original (B)

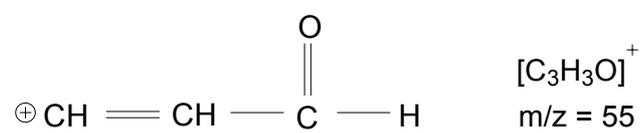
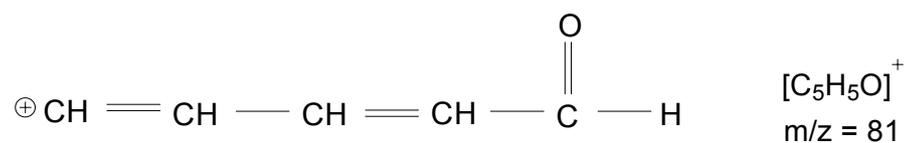
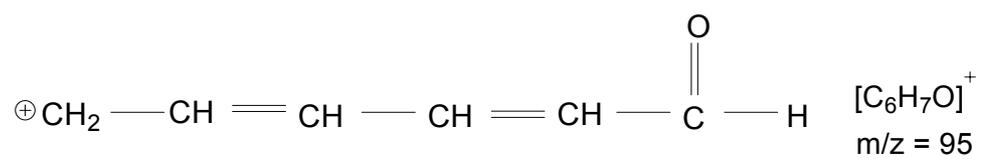
**Tabela 19:** Principais fragmentos presentes no espectro de massas do composto MH<sub>11</sub> com suas respectivas massas e intensidades relativas

Massa	Fragmento	Intensidade relativa %
166	[C <sub>11</sub> H <sub>18</sub> O] <sup>+</sup>	3,51
137	[C <sub>10</sub> H <sub>17</sub> ] <sup>+</sup>	1,40
123	[C <sub>8</sub> H <sub>11</sub> O] <sup>+</sup>	2,98
109	[C <sub>7</sub> H <sub>9</sub> O] <sup>+</sup>	3,60
95	[C <sub>6</sub> H <sub>7</sub> O] <sup>+</sup>	9,77
81	[C <sub>5</sub> H <sub>5</sub> O] <sup>+</sup>	100
67	[C <sub>5</sub> H <sub>7</sub> ] <sup>+</sup>	14,48
55	[C <sub>3</sub> H <sub>3</sub> O] <sup>+</sup>	14,61



Composto MH<sub>11</sub> – 2,4-undecadienal





**Figura 66:** Principais fragmentos presentes no composto MH<sub>11</sub>

*IDENTIFICAÇÃO*  
*DO*  
*ÁLCOOL*

*COMPOSTO MH<sub>12</sub>*

### 5.6.7- Identificação do composto MH<sub>12</sub>

A estrutura do composto MH<sub>12</sub> encontra-se na Figura 67 e seu espectro de massas na Figura 68. Os fragmentos mais importantes para a elucidação estrutural deste composto, além de suas massas e intensidades relativas estão descritos na Tabela 20.

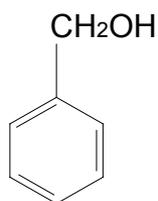
Estes fragmentos e suas respectivas massas correspondem aos valores descritos para o álcool benzílico (benzeno-metanol) presente na biblioteca de espectros WILEY 229.LIB, cuja fórmula molecular é C<sub>7</sub>H<sub>8</sub>O. Na Figura 69 encontra-se a comparação entre o espectro do composto MH<sub>12</sub> e o espectro da substância original. Os principais fragmentos observados para o composto MH<sub>12</sub> estão representados na Figura 70.

O espectro de massas do composto MH<sub>12</sub> apresenta o pico do íon molecular em  $m/z = 108$  e o pico base em  $m/z = 79$ .

Um pico benzílico de intensidade moderada, cuja massa é 91, ocorre em consequência da clivagem  $\beta$  ao anel, eliminando OH. Este pico em  $m/z = 91$  ao perder uma molécula de acetileno (C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>) origina o cátion ciclopentadienílico ( $m/z = 65$ ).

O fragmento em  $m/z = 107$  é decorrente da perda de um hidrogênio; a perda de CO deste fragmento origina o fragmento em  $m/z = 79$  que, posteriormente, elimina H<sub>2</sub> dando origem ao fragmento [C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>]<sup>+</sup> em  $m/z = 77$ . O pico em  $m/z = 51$  é decorrente da perda de uma molécula de C<sub>2</sub>H<sub>2</sub> a partir do fragmento em  $m/z = 77$ .

Verificou-se a veracidade deste resultado confrontando os dados espectrais do composto MH<sub>12</sub> com os dados da literatura do álcool benzílico. O espectro de massas do composto MH<sub>12</sub> apresentou um índice de similaridade de 97 % em relação ao espectro da substância original (álcool benzílico).



**Figura 67:** Estrutura do composto MH<sub>12</sub> – álcool benzílico

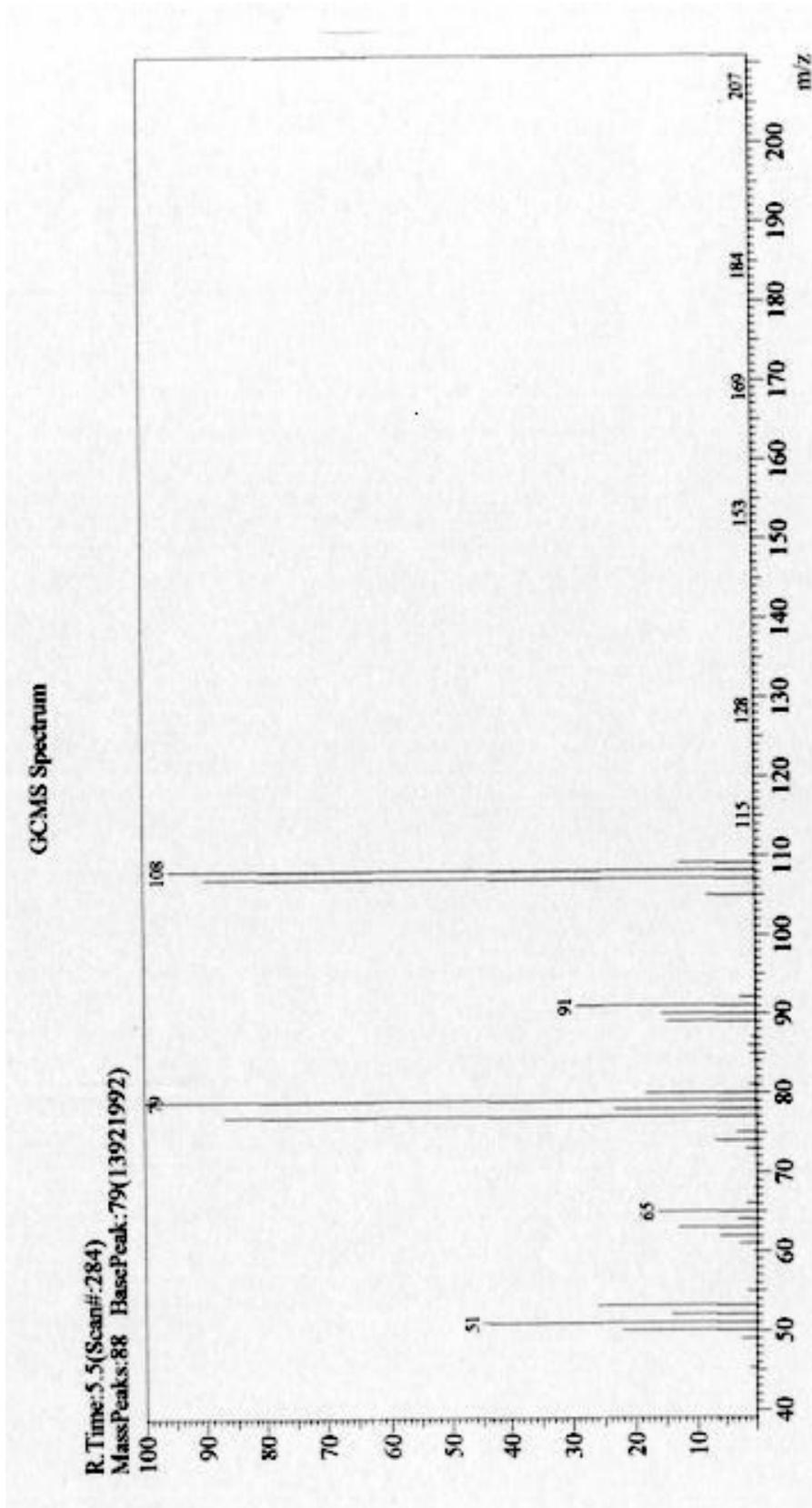
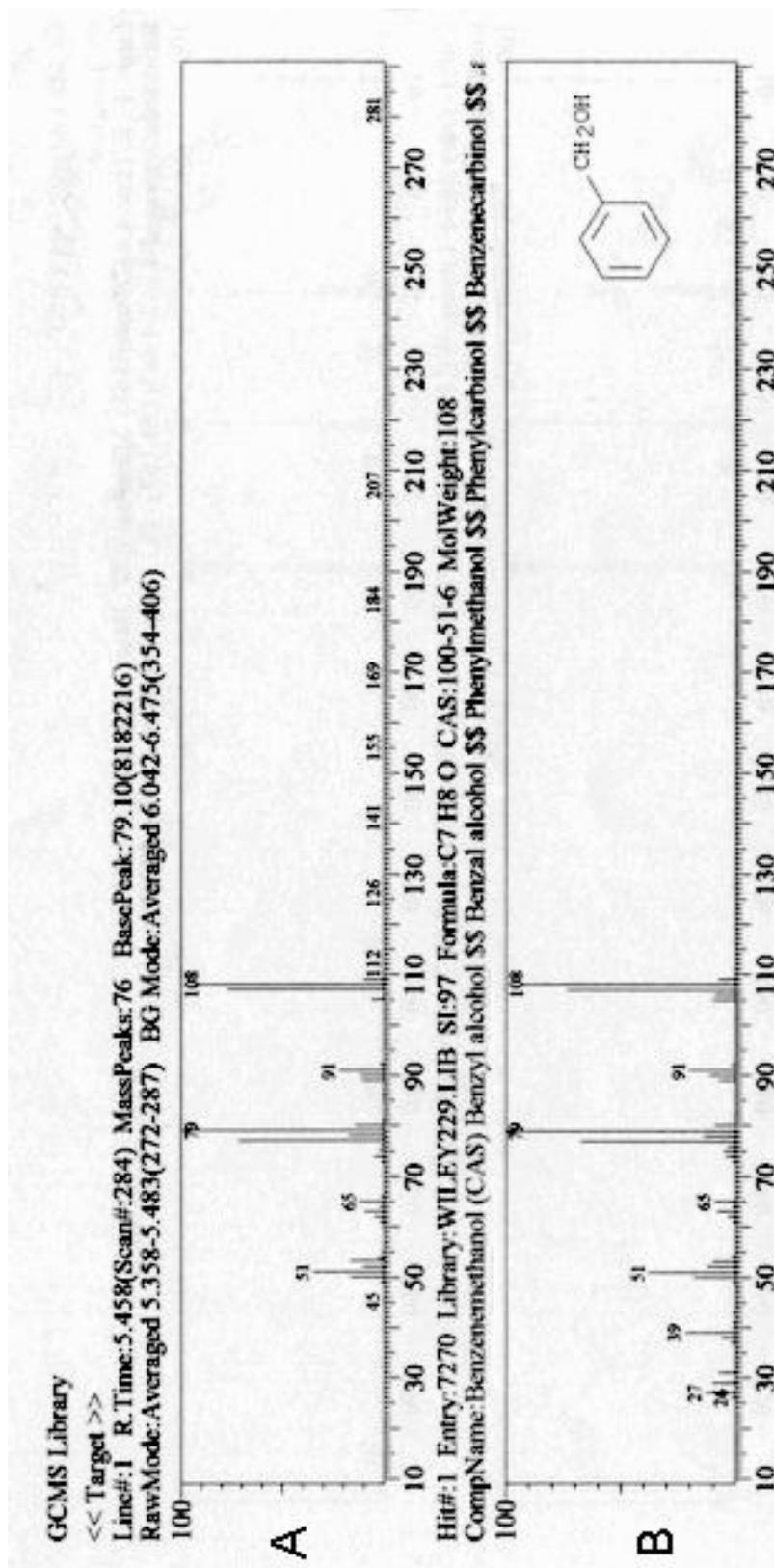


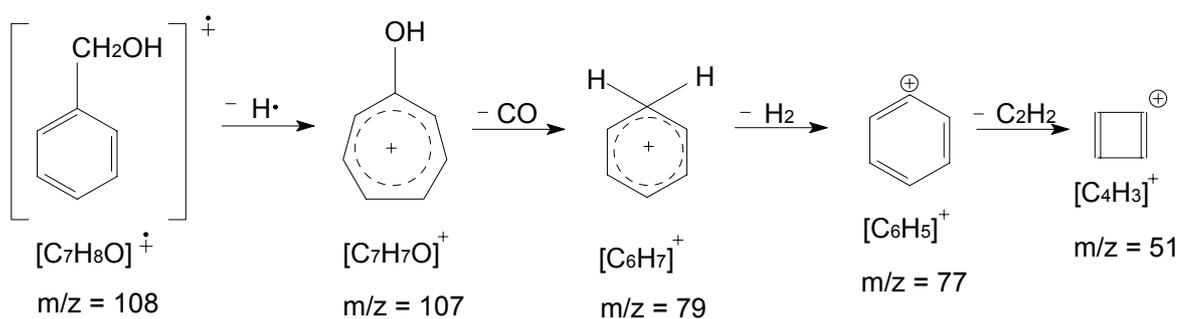
Figura 68: Espectro de massas do composto  $MH_{12}$



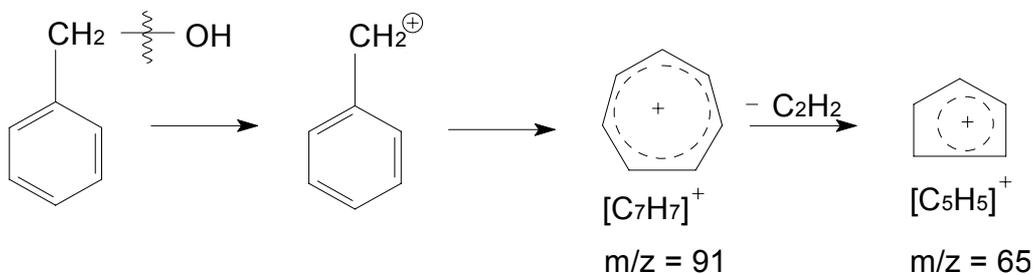
**Figura 69:** Comparação entre os espectros de massas do composto MH<sub>12</sub> (A) e a substância original (B)

**Tabela 20:** Principais fragmentos presentes no espectro de massas do composto MH<sub>12</sub> com suas respectivas massas e intensidades relativas

Massa	Fragmento	Intensidade relativa %
108	[C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> O] <sup>+</sup>	95,92
107	[C <sub>7</sub> H <sub>7</sub> O] <sup>+</sup>	90,02
91	[C <sub>7</sub> H <sub>7</sub> ] <sup>+</sup>	29,41
79	[C <sub>6</sub> H <sub>7</sub> ] <sup>+</sup>	100
77	[C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ] <sup>+</sup>	86,90
65	[C <sub>5</sub> H <sub>5</sub> ] <sup>+</sup>	16,11
51	[C <sub>4</sub> H <sub>3</sub> ] <sup>+</sup>	45,08



Composto MH<sub>12</sub> – álcool benzílico



**Figura 70:** Principais fragmentos presentes no composto MH<sub>12</sub>

# *DISCUSSÃO*

## 6- DISCUSSÃO

Os compostos identificados no cerne de *Manilkara huberi* são encontrados em outras plantas.

O **composto MH<sub>1</sub>** (ácido hexadecanóico ou ácido palmítico) identificado no cerne de *Manilkara huberi* é um dos ácidos graxos saturados mais comuns em lipídeos de folhas e em óleos de sementes (GURR & JAMES, 1971; HARBORNE & BAXTER 1993). Sua presença tem sido observada em espécies da família Sapotaceae, por exemplo, nos óleos da espécie *Argania spinosa*, árvore originária do Marrocos (REZANKA; REZANKOVÁ, 1999) e nas sementes da espécie *Madhuca butyracea*, árvore encontrada na Índia e no Nepal (BHATTACHARJEE *et al.*, 2002). A espécie *Butyrospermum parkii* pertencente à família Sapotaceae também apresenta ácido palmítico em sua composição (THOLSTRUP *et al.*, 1995).

McGaw e colaboradores (2002) relataram atividade antibacteriana de ácidos graxos presentes em plantas. O ácido palmítico é considerado o principal composto antibacteriano presente nos óleos essenciais das espécies *Diplotaxis harra* e *Erucaria microcarpa*, ambas pertencentes à família Cruciferae (HASHM & SALEH, 1999). Ele também é responsável pela atividade antibacteriana em espécies da família Sterculiaceae (REID *et al.*, 2005).

O **composto MH<sub>2</sub>** (ácido dodecanóico ou ácido láurico) também é um ácido graxo saturado amplamente distribuído em plantas e é o principal constituinte químico em algumas sementes (GURR & JAMES, 1971). Sua atividade antibacteriana tem sido constatada nas folhas de espécies da família Sterculiaceae (REID *et al.*, 2005).

O **composto MH<sub>3</sub>** (ácido decanóico ou ácido cáprico) é um dos constituintes químicos presente nos óleos essenciais da espécie *Hypericum linariodes* Bosse (família Hypericaceae) usada na medicina popular por apresentar atividade antidepressiva, antiviral e antimicrobiana (CAKIR *et al.*,

2005). A presença de ácido decanóico tem sido evidenciada em espécies da família Sapotaceae (GUNASEKERA *et al.*, 1977).

O **composto MH<sub>4</sub>** (hexadecanoato de metila ou palmitato de metila) é encontrado em espécies de própolis (família Salicaceae) (BANKOVA *et al.*, 1998) e nas sementes de *Satureja thymbra* e *Satureja cuneifolia* ambas pertencentes à família Lamiaceae (GOREN *et al.*, 2003). Sua presença não foi constatada em espécies da família Sapotaceae.

Com relação aos ésteres benzílicos há vários relatos na literatura sobre sua presença em plantas. O **composto MH<sub>5</sub>** (hexanoato de benzila) está presente nos óleos essenciais de espécies de *Lippia* (família Verbenaceae) que apresentam atividade antibacteriana (BASSOLE *et al.*, 2003). Não há relatos na literatura sobre a presença de hexanoato de benzila na família Sapotaceae.

O **composto MH<sub>6</sub>** (benzoato de benzila) foi isolado das raízes de *Cyathostemma argenteum* (família Annonaceae), planta originária da Malásia usada tradicionalmente no tratamento de câncer de mama (KHAMIS *et al.*, 2004). A espécie *Gymnadenia conopsea* (Orchidaceae) apresenta benzoato de benzila nas flores (HUBER *et al.*, 2005); as cascas das espécies *Uvaria versicolor* (Annonaceae) e *Tephrosia toxicaria* (Fabaceae) também apresentam benzoato de benzila como constituinte químico (AKENDENGUE *et al.*, 2003; JANG *et al.*, 2003), mas não há relatos na literatura sobre sua presença em espécies da família Sapotaceae.

Com relação ao **composto MH<sub>7</sub>** (benzoato de 2-metilfenila) não há relatos na literatura sobre sua ocorrência em plantas. Sua presença foi constatada em fontes naturais de origem marinha, tendo sido identificado na alga marrom *Padina pavonia* (L.) Gaill (KAMENARSKA *et al.*, 2002).

Os **compostos MH<sub>6</sub> e MH<sub>7</sub>** são derivados do ácido benzóico. Há vários trabalhos publicados sobre atividade antifúngica e antibacteriana de derivados do ácido benzóico. Pode-se citar os derivados do ácido benzóico isolados das

folhas de *Piper lanceaefolium*, *Piper aduncun* e *Piper crassinervium* (família Piperaceae) que apresentam atividade fungicida contra *Candida albicans*, *Cladosporium cladosporioides* e *Cladosporium sphaerospermum* (LOPEZ, MING, TOWERS, 2002; LAGO *et al.*, 2004). Os derivados do ácido benzóico isolados das folhas, flores, casca e raízes da espécie *Gomphrena celosioides* (família Amaranthaceae) apresentam atividade frente a *Staphylococcus aureus* e *Salmonella typhi* (MOURA *et al.*, 2004).

Não há relatos na literatura sobre a presença do **composto MH<sub>8</sub>** (2-fenil dodecano) em plantas. Este composto foi identificado pela primeira vez na espécie *Manilkara huberi* (Ducke) A. Chev. neste trabalho.

O **composto MH<sub>9</sub>** (4-fenil dodecano ou 4-propilnonil benzeno) foi identificado nos óleos essenciais da espécie *Capsicum annuum* (páprica vermelha) pertencente à família Solanaceae (KOC SIS *et al.*, 2002), mas na família Sapotaceae não há relatos sobre sua presença.

A presença de aldeídos tem sido relatada em várias espécies de plantas. O **composto MH<sub>10</sub>** (benzaldeído) foi extraído do óleo de amêndoas amargas da espécie *Prunus amygdalus* Batsch pertencente à família Rosaceae (BLUM & KÁBANA, 2004). Ele foi identificado também nas flores e nas folhas de espécies de *Gentiana* (família Gentianaceae) que apresentam compostos com atividade alelopática. Segundo Georgieva e colaboradores (2005) os aldeídos são considerados importantes aleloquímicos.

O benzaldeído pode ser atraente para alguns insetos e repelente para outros dependendo de sua concentração (COSSE & BAKER, 1998; BARGMANN *et al.*, 1993; NUTTLEY *et al.*, 2001). Além disso, ele pode funcionar como sinergista para alguns aleloquímicos (DENG *et al.*, 2004) e possuir atividade antitermítica (CHANG & CHENG, 2002).

A atividade antitermítica do benzaldeído, extraído dos óleos essenciais das folhas de *Cinnamomum osmophloeum* Kaneh (família Lauraceae), foi testada contra térmitas da espécie *Coptotermes formosanus* Shiraki. Estes

térmitas são os maiores responsáveis pela degradação de madeiras em países como Taiwan, Japão e algumas partes dos Estados Unidos. Na concentração de 5 mg/mL, o benzaldeído apresentou 100% de mortalidade dos térmitas após 1 dia de tratamento, enquanto que na concentração de 1 mg/mL, a mortalidade dos térmitas atingiu 48% após 7 dias de tratamento e 70% após 14 dias (CHANG & CHENG, 2002).

Além de atividade antitermítica, o benzaldeído apresenta atividade contra fungos degradadores de madeira, dentre eles, *Coriolus versicolor* e *Lenzites betulina* (WANG; CHEN; CHANG, 2004).

Visto que o benzaldeído apresentou atividade antitermítica e antifúngica em trabalhos realizados anteriormente, pode-se dizer que, provavelmente, este é o composto presente em *Manilkara huberi* responsável pela sua durabilidade, conferindo resistência a fungos degradadores de madeira e ao ataque de térmitas tornando-a uma madeira de lei.

O **composto MH<sub>11</sub>** (2,4-undecadienal) está presente nas folhas de *Nicotiana tabacum* pertencente à família Solanaceae (KAWASAKI *et al.*, 1998) que apresenta atividade antibacteriana (AKINPELU & OBUOTOR, 2000). Não há relatos sobre sua presença na família Sapotaceae.

O **composto MH<sub>12</sub>** (álcool benzílico) está presente na composição química de algumas espécies de propólis, como *Populus spp.* e *Salix spp.*, ambas pertencentes à família Salicaceae, que apresentam atividade contra bactérias Gram-positivas e atividade antifúngica (SILICI & KUTLUCA, 2005). Espécies de *Rhododendron* (família Ericaceae) originárias da Turquia apresentam álcool benzílico nas flores (TASDEMIR *et al.*, 2003). Há relatos na literatura sobre a ação fungicida e bactericida do álcool benzílico (CHEVALIER, CORRE, CRÉMIEUX, 1995). A presença de álcool benzílico não foi constatada em espécies pertencentes à família Sapotaceae.

Fazendo uma síntese dos resultados discutidos anteriormente podemos afirmar que os compostos MH<sub>1</sub>, MH<sub>2</sub> e MH<sub>3</sub> (ácidos graxos), MH<sub>6</sub> e

MH<sub>7</sub> (derivados do ácido benzóico), MH<sub>10</sub> e MH<sub>11</sub> (aldeídos) identificados no cerne de *Manilkara huberi* são considerados **aleloquímicos**.

Os compostos químicos liberados pelas plantas ou microrganismos no ambiente e que causam efeitos benéficos ou deletérios sobre outras plantas ou microrganismos são denominados de substâncias alelopáticas, produtos secundários, agentes aleloquímicos ou simplesmente aleloquímicos (CARVALHO, 1993). Dentre os compostos identificados como aleloquímicos destacam-se os ácidos graxos de cadeia longa, os derivados do ácido benzóico e aldeídos (RICE, 1984).

# *CONCLUSÃO*

## 7- CONCLUSÃO

- ❖ A abordagem fitoquímica do cerne de *Manilkara huberi* (Ducke) A. Chev. revelou a presença de saponinas, flavonóides, esteróides e terpenóides;
- ❖ Os extratos em cicloexano, acetato de etila e metanol apresentaram rendimentos de 0, 07%, 0, 51% e 0, 55% respectivamente;
- ❖ Os extratos em cicloexano e acetato de etila apresentaram atividade antimicrobiana frente às bactérias Gram-positivas, à bactéria álcool-ácido-resistente e a levedura testada;
- ❖ O extrato em cicloexano foi o mais ativo;
- ❖ Nenhum dos microrganismos testados teve seu crescimento inibido pelo extrato em metanol;
- ❖ Nenhum dos extratos obtidos foi ativo contra as bactérias Gram-negativas testadas;
- ❖ Este é o primeiro estudo sobre atividade antimicrobiana do cerne de *Manilkara huberi*;
- ❖ Foram identificados 12 compostos químicos no cerne de *Manilkara huberi*;
- ❖ Os compostos MH<sub>1</sub> (ácido hexadecanóico), MH<sub>2</sub> (ácido dodecanóico), MH<sub>3</sub> (ácido decanóico), MH<sub>6</sub> (benzoato de benzila), MH<sub>7</sub> (benzoato de 2-metilfenila), MH<sub>10</sub> (benzaldeído) e MH<sub>11</sub> (2,4-undecadienal) são considerados substâncias alelopáticas;

- ❖ O composto MH<sub>10</sub> (benzaldeído), provavelmente, é o composto responsável pela resistência da espécie *Manilkara huberi* (Ducke) A. Chev. (maçaranduba) ao ataque de fungos e cupins tornando-a uma madeira de lei.

*ANEXOS*

## 8- ANEXOS

### 8.1- Meios de cultura

#### **Sabouraud dextrose agar (SAB) (MÉLLO, 1988)**

Peptona.....10,0 g  
D(+) glicose.....40,0 g  
Agar .....15,0 g  
Água destilada.....1000 mL  
pH = 5,6

#### **Agar nutritivo (AN) (MÉLLO, 1988)**

Peptona.....10,0 g  
Extrato de Carne.....3,0 g  
NaCl.....5,0 g  
Água destilada.....1000 mL  
Agar.....15,0 g  
pH = 6,9 a 7,1

#### **Glicose extrato de levedura agar (GL) (MÉLLO, 1988)**

Peptona.....10,0 g  
Extrato de Carne.....3,0 g  
NaCl.....5,0 g  
Extrato de levedura.....10,0 g  
Glicose ou dextrose .....10,0 g  
Água destilada.....1000 mL  
Agar.....15,0 g  
pH = 6,9 a 7,1

### **Ágar Müller Hinton (MH)**

Infusão de carne.....2 g  
Caseína hidrolisada .....17,5 g  
Amido .....1,5 g  
Água destilada.....1000 mL  
Agar.....15 g

### **Solução 10x concentrada Yeast Nitrogen Base Dextrose (YNBD)**

YNB.....6,7 g  
Glicose.....5,0 g  
Água destilada.....100 mL

### **Meio YNBD**

Solução 10x YNB.....10 mL  
Água destilada.....100 mL

## 8.2- Perfis de suscetibilidade dos microrganismos-teste

<b>Antibióticos</b>	<b>Microrganismos</b>			
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
Amicacina	R	NT	S	S
Ampicilina	NT	R	NT	NT
Aztreonam	NT	NT	R	NT
Cefalotina	NT	NT	R	R
Cefepime	NT	NT	R	NT
Cefotaxima	NT	NT	R	R
Cefoxitina	S	NT	R	R
Ciprofloxacina	NT	S	S	S
Eritromicina	R	S	NT	NT
Gentamicina	S	R	S	S
Imipenem	NT	NT	S	NT
Meropenem	NT	NT	S	NT
Nitrofurantoína	S	S	R	R
Norfloxacina	S	NT	S	S
Oxacilina	S	R	NT	NT
Penicilina G	R	R	NT	NT
Tetraciclina	S	S	S	R
Trimetoprim/Sulfametoxazol	S	R	S	S
Tobramicina	NT	NT	S	S
Vancomicina	NT	S	NT	NT

NT - Não testado

R - Resistente

S – Sensível

*REFERÊNCIAS*  
*BIBLIOGRÁFICAS*

## 9- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRIPINO, D. G.; LIMA, M. E. L.; SILVA, M. R.; MEDA, C. I.; BOLZANI, V. S.; CORDEIRO, I.; YOUNG, M. C. M.; MORENO, P. R. H.; 2004. Screening of Brazilian Plants for Antimicrobial and DNA Damaging. Activities. **Biota Neotropical** 4 (2).
  
- AKENDENGUE, B., NGOU-MILAMA, E., BOUROBOU-BOUROBOU, H., ESSOUMA, J., ROBLOT, F., GLEYE, C., LAURENS, A., HOCQUEMILLER, R., LOISEAU, P., BORIES, C., 2003 Acaricidal activity of *Uvaria versicolor* and *Uvaria klaineana* (Annonaceae). **Phytother. Res.** 17 (4): 364 - 367.
  
- AKINPELU, D. A., OBUOTOR, E. M., 2000. Antibacterial activity of *Nicotiana tabacum* leaves. **Fitoterapia** 71 (2), 199-200.
  
- ALVES, T. M. A.; SILVA, A. F.; BRANDAO, M.; GRANDI, T. S. M.; SMANIA, E. F. A; JUNIOR, A. S.; ZANI, C. L. **Biological Screening of Brazilian Medicinal Plants**. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 95 (3): 367-373, May/Jun. 2000.
  
- BANKOVA, V. S., CHRISTOV, R. S., TEJERA, A. D., 1998. Lignans and other constituents propolis from the Canary Islands. **Phytochemistry** 49 (5), 1411-1415.
  
- BARATA, L. E. S.; QUEIROZ, S. R. R. **Contribuição Efetiva ou Potencial do PADCT para o Aproveitamento Econômico Sustentável da Biodiversidade**, estudo elaborado para o Programa de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (PADCT), Sub-Programa de Planejamento e Gestão em Ciência e Tecnologia (PGCT), do Ministério da Ciência e Tecnologia. Campinas, outubro de 1995.
  
- BARGMANN, C.I., HARTIEG, E., HORVITZ, H.R., 1993. Odorant selective genes and neurons mediate olfaction in *C. elegans*. **Cell** 74, 515 - 527.

- BASSOLE, I. H. N., OUATTARA, A. S., NEBIE, R., OUATTARA, C. A. T., KABORE, Z. I., TRAORE, S. A., 2003. Chemical composition and antibacterial activities of the essential oils of *Lippia chevalieri* and *Lippia multifora* from Burkina Faso. **Phytochemistry** 62, 209–212.
  
- BERG, M. E. V. D. (1993). **Plantas medicinais na Amazônia: contribuição ao seu conhecimento sistemático** / Maria Elisabeth van den Berg.- 2 ed. Rev. E aum.- Belém: Museu Paraense Emílio Goeldi.
  
- BHAT, R. B., ETERJERE, E. O., OLADIPO, V. T., 1990. **Econ. Bot.** 44 (3): 382.
  
- BHATTACHARJEE, A., GHOSH, S. K., GHOSH, D., GHOSH, S., MAITI, M. K., SEN, S. K., 2002. Identification of a heat-stable palmitoyl / oleoyl specific acyl-acyl carrier protein thioesterase in developing seeds of *Madhuca butyraceae*. **Plant Science** 163, 791-800.
  
- BLUM, L. E. B., KÁBANA, R. R., 2004. Effect of organic amendments on sclerotial germination, mycelial, growth, and *Sclerotium rolfsii* – induced diseases. **Fitopatol. Bras.** 29 (1), 66-74.
  
- BRITO, J. O.; BARRICHELO, L. E. G.,1981. **Considerações sobre a produção de carvão vegetal com madeiras da Amazônia** N.2, 25p (Série Técnica. IPEF).
  
- CAKIR, A., KORDALI, S., KILIC, H., KAYA, E., 2005. Antifungal properties of essential oil and crude extracts of *Hypericum linarioides* Bosse. **Biochemical Systematics and Ecology** 33, 245-256.
  
- CARBALLEIRA, L. G. A.; MILANO, S. Avaliação da durabilidade natural da madeira e de produtos usados na sua proteção. In: LEPAGE, E. S.; OLIVEIRA, A. M. F.; LELIS, A. T. de; CARBALLEIRA LOPEZ ,G. A.; CHIMELO, J. P.; OLIVEIRA, L. C. de S.; CAÑEDO, M. D.; CAVALCANTE, M. S.; IELO, P. K. Y.;

ZANATTO, P. A.; MILANO, S., 1986. **Manual de preservação de madeiras**. São Paulo: IPT – Divisão de Madeiras, 2, 473-521.

- CARRARA, D. (1995). Possangaba. **O pensamento médico popular**. Ribro Soft Editoria e Informática Ltda. RJ-Brasil.

- CARVALHO, S. I. C. **Caracterização dos efeitos alelopáticos de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu no estabelecimento das plantas de *Stylosanthes guianensis* var. *vulgaris* cv. Bandeirante**. 1993. 72 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

- CHANG, S. T., CHENG, S. S., 2002. Antitermitic activity of leaf essential oils and components from *Cinnamomum osmophleum*. **J. Agric. Food Chem.** 50, 1389-1392.

- CHARROUF, Z., GUILLAUME, D., 1999. Ethnoeconomical, ethnomedical, and phytochemical study of *Argania spinosa* (L.) Skeels. **Journal of Ethnopharmacology** 67, 7-14.

- CHEVALIER, J., CORRE, J., CRÉMIEUX, A., 1995. Evaluation of synergistic effects of three bactericidal agents associated in an antiseptic formulation. **Pharmaceutica Acta Helveticae** 70 (2), 155 -159.

- CORREA, M. P., **Dicionário das Plantas Úteis do Brasil** V, 6, 1984.

- COSSE, A.A., BAKER, T., 1998. Electrophysiologically and behaviourally active volatiles of bu.alo gourd root powder of corn rootworm beetles. **J. Chem. Ecol.** 25, 51 e 66.

- COSTA, A. F. **Farmacognosia**. V III, 2ª ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1982.

- DEFILIPPS, R. (2001). Conservation of Brazilian Medicinal Plants. In: Biological Conservation Newsletter. No. 193. January 2001. **Plant Conservation Unit**. Department of Botany. Smithsonian National Museum of Natural History.
  
- DENG, J.-Y., WEI, H.-Y., HUANG, Y.-P., DU, J.-W., 2004. Enhancement of attraction to sex pheromones of *Spodoptera exigua* by volatile compounds produced by host plants. **J. Chem. Ecol.** 30, 2037 - 2045.
  
- DIAS, T.A. (1995). **Medicinal plants in Brazil**. In: Newsletter-G-15 Gene Banks for Medicinal & Aromatic Plants n. 7/8, 4.
  
- DUKE, J. A., 2000. **Phytochemical and Ethnobotanical Databases**. USDA±ARS±NGRL, Beltsville Agricultural Research Center, MD, USA.
  
- DURIGAN, J. C.; ALMEIDA, F. S. **Noções sobre a alelopatia**. Jaboticabal: UNESP/FUNEP, 1993. 28 p. Boletim.
  
- EATON, R. A.; HALE, M. D. C. **Wood: decay, pests and protection**. London, Chapman & Hall, 1993.
  
- Embrapa Amazônia Oriental, 2004. **Espécies Arbóreas da Amazônia Nº 4: Maçaranduba, *Manilkara huberi***. Disponível no endereço: [http://dendro.cnptia.embrapa.br/Agencia1/AG01/arvore/AG01\\_87\\_1012200413\\_4418.html](http://dendro.cnptia.embrapa.br/Agencia1/AG01/arvore/AG01_87_1012200413_4418.html). Acesso em: 3 de agosto de 2005.
  
- FAVA NETTO C. Antibiógrama. In: Lacaz CS. **Antibióticos**. 3ª ed. São Paulo: Edgar Blucher: Edusp (Editora da Universidade de São Paulo), p. 221, 1975.
  
- GEORGIEVA, E., HANDJIEVA, N., POPOV, S., EVSTATIEVA, L., 2005. Comparative analysis of the volatiles from flowers and leaves of three *Gentiana* species. **Biochemical Systematics and Ecology** 33, 938-947.

- GOMES, J. I.; BRANDÃO, A.T. de O. **Contribuição ao estudo da biodegradação de algumas madeiras da Amazônia em contato com a água.** Boletim FCAP, 30, 65-75, 1998.
  
- GÖREN, A. C., BILSEL, G., ALTUN, M., SATIL, F., DIRMENCI, T., 2003. Fatty acid composition of seeds of *Satureja thymbra* and *S. cuneifolia*. **Z. Naturforsch. [C]** 58 (7-8): 501-4.
  
- GUNASEKERA, S. P., KUMAR, V., SULTANBAWA, M. U. S., BALASUBRAMANIAM, S., 1977. Triterpenoids and steroids of some Sapotaceae and their chemotaxonomic significance. **Phytochemistry** 16 (7), 923-926.
  
- GURR, M. I., JAMES, A. T., 1971. **Lipid Biochemistry: An Introduction**, second ed. Chapman and Hall, London, 18–84.
  
- HARAGUCHI, H., HAYASHI, R., ISHIZU, T., YAGI, A., 2003. A flavone from *Manilkara indica* as a specific inhibitor against aldose reductase *in vitro*. **Planta Med.** 69 (9): 853-5.
  
- HARBORNE, J. B., BAXTER, H., 1993. **Phytochemical Dictionary: A Handbook of Bioactive Compounds from Plants.** Taylor and Francis, London.
  
- HASHEM, F. A., SALEH, M. M., 1999. Antimicrobial components of some Cruciferae plants (*Diplotaxis harra* Forsk and *Erucaria microcarpa* Boiss). **Phytotherapy Research** 13, 329–332.
  
- HELLMEISTER, J. C. **Madeiras e suas características.** In: Encontro Brasileiro em Madeiras e em Estruturas de Madeira, 1, São Carlos, SP, Brasil, 1983. Anais. São Carlos, USP-EESC, v.1, 1-32.

- HIRUMA-LIMA, C. A. et al. ***Croton cajucara* Benth., uma planta da família Euphorbiaceae**. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas). Unicamp, Campinas, 1998
  
- HUBER, F. K., KAISER, R., SAUTER, W., SCHIESTL, F. P., 2005. Floral scent emission and pollinator attraction in two species of *Gymnadenia* (Orchidaceae). **Oecologia** 142 (4): 564-75. Epub 2004.
  
- IBDF/LPF. 1981. **Madeiras da Amazônia: Características e Utilização**, CNPq, Brasília 113 p.
  
- INPA/CPPF. 1991. **Catálogo de Madeiras da Amazônia - Características Tecnológicas**, Área da Hidrelétrica de Balbina. Vol I. INPA/CPPF, Manaus/AM, 163p.
  
- IUCN (1993). **Guidelines on the conservation of medicinal plants**. IUCN, WHO and WWF, Gland, Switzerland.
  
- JANG, D. S., PARK, E. L., KANG, Y. H., HAWTHORNE, M. E., VIGO, J. S., GRAHAM, J. G., CABIESES, F., FONG, H. H., MEHTA, R. G., PEZZUTO, J. M., KINGHORN, A. D., 2003. Potential cancer chemopreventive flavonoids from the stems of *Tephrosia toxicaria*. **J. Nat. Prod.** 66 (9): 1166-70.
  
- JOLY, A. B. **Botânica: Introdução à taxonomia vegetal**. 5. ed. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 1979. 777p.
  
- KAMENARSKA, Z., GASIC, M. J., ZLATOVIC, M., RASOVIC, A., SLADIC, D., KLJAJIC, Z., STEFANOV, K., SEIZOVA, K., NAJDENSKI, H., KUJUMGIEV, A., TSVETKOVA, L., POPOV, S., 2002. Chemical composition of the brown alga *Padina pavonia* (L.) Gaill. from the Adriatic Sea. **Botanica Marina** 45, 339-345.

- KAWASAKI, W., MATSUI, K., AKAKABE, Y., ITAI, N., KAJIWARA, T., 1998. Long-chain aldehyde-forming activity in tobacco leaves. **Phytochemistry** 49 (6), 1565-1568.
  
- KHAMIS, S., BIBBY, M. C., BROWN, J. E., COOPER, P. A., SCOWEN, I., WRIGHT, C. W., 2004. Phytochemistry and preliminary biological evaluation of *Cyathostemma argenteum*, a Malaysian plant used traditionally for the treatment of breast cancer. **Phytother. Res.** jul; 18 (7): 507-10.
  
- KOCSIS, N., AMTMANN, M., MEDNYÁNSZKY, Z., KORÁNY, K., 2002. GC-MS Investigation of the aroma compounds of hungarian red paprika (*Capsicum annuum*) cultivars. **Journal of Food Composition and Analysis** 15, 195-203.
  
- KONEMAN, E. W. **Diagnóstico Microbiológico** - texto y atlas color. 5ª ed. Buenos Aires. 1997.
  
- KUKACHKA, B. F., MADISON, W. **Wood Anatomy of the Neotropical Sapotaceae**, 1981.
  
- LAGO, J. H., RAMOS, C. S., CASANOVA, D. C., MORANDIM, A. A., BERGAMO, D. C., CAVALHEIRO, A. J., BOLZANI, V. S., FURLAN, M., GUIMARAES, E. F., YOUNG, M. C., KATO, M. J., 2004. Benzoic acid derivatives from *Piper* species and their fungitoxic activity against *Cladosporium cladosporioides* and *C. sphaerospermum*. **J. Nat. Prod.** nov; 67 (11): 1783-8.
  
- LAVAUD, C., MASSIOT, G., BECCHI, M., MISRA, G., NIGAM, S. K., 1996. Saponins from three species of *Mimusops*. **Phytochemistry** 41 (3), 887-893.
  
- LEPAGE, E. S.; OLIVEIRA, A. M. S.; LELIS, A. T.; LOPEZ, G. A. C.; CHIMELO, J. P.; OLIVEIRA, L. C. S.; CAÑEDO, M. D.; CAVALCANTE, M. S.; IELO, P. K. I.; ZANOTTO, P. A.; MILANO, S. **Manual de preservação de madeiras**. São Paulo: IPT. 2, 1986. 708.

- LOPEZ, A., MING, D. S., TOWERS, G. H., 2002. Antifungal activity of benzoic acid derivatives from *Piper lanceaefolium*. **J. Nat. Prod.** 65 (1): 62-4.
  
- LORENZI, H., **Árvores Brasileiras: Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas Nativas do Brasil** – 2ª ed., 02, 315. Ed. Plantarum, 1949.
  
- MA, J., LUO, X. D., PROTIVA, P., YANG, H., BASILE, M. J., WEINSTEIN, I. B., KENNELLY, E. J., 2004. Analysis of polyphenolic antioxidants from the fruits of three *pouteria* species by selected ion monitoring liquid chromatography-mass spectrometry. **J. Agric. Food Chem.** Sep 22; 52 (19): 5873-8.
  
- MCGAW, L. J., JÄGER, A. K., VAN STADEN, J., 2002. Antibacterial effects of fatty acids and related compounds from plants. **South African Journal of Botany** 68, 417–423.
  
- MÉLLO, B. R. **Catálogo da Coleção de Microrganismos**, v. 2. ed. Recife: Universitária, 1988.
  
- MONTEIRO, M. H. D. A. & ANDREATA, R. H. **Usos e Importância Econômica de Espécies da Família Sapotaceae no Brasil**. Disponível no endereço: <http://www.adaltech.com.br/evento/museugoeldi/resumoshtm/resumos/R0302-2.htm>. Acesso em: 6 de agosto de 2005.
  
- MORTON, J. F., 1981. **Atlas of medicinal plants of middle America: Bahamas to Yucatan**. Thomas, Springfield, MO, 1420 pp.
  
- MOURA, R. M., PEREIRA, P. S., JANUARIO, A. H., FRANCA, S. de C., DIAS, D. A., 2004. Antimicrobial screening and quantitative determination of benzoic acid derivative of *Gomphrena celosioides* by TLC-densitometry. **Chem. Pharm. Bull** (Tokyo) 52 (11): 1342-1344.

- NUTTLEY, W., HARBINDER, S., VAN der KOOL, D., 2001. Regulation of distinct attractive and aversive mechanisms mediating benzaldehyde chemotaxis in *Chenorhabditis elegans*. **Learn. Mem.** 8, 170 - 181.
  
- OGUNWANDE, I. A., BELLO, M. O., OLAWORE, O. N., MUILI, K. A., 2001. Phytochemical and antimicrobial studies on *Butyrospermum paradoxum*. **Fitoterapia** 72, 54-56.
  
- PANSIN, A. J.; ZEEUW, C. **Textbook of wood technology**. 3. ed., New York: Mcgraw-Hill, 1970 (1), 705.
  
- PENNINGTON, T. D. **The genera of Sapotaceae**, (1991) 51-53
  
- REID, K. A., JÄGER, A. K., VAN STADEN, J., 2001. Pharmacology and Phytochemical properties of *Dombeya rotundifolia*. **South African Journal of Botany** 67, 349–353.
  
- REZANKA, T., REZANKOVÁ, H., 1999. Characterization of fatty acids and triacylglycerols in vegetable oils by gas chromatography and statistical analysis. **Analytica Chimica Acta** 398, 253-261.
  
- RICE, E. L. **Allelopathy**. 2. ed. New York: Academic, 1984. 422 p.
  
- RICHTER, H. G.; BURGER, L. M. **Anatomia da madeira**. 2. ed. Curitiba: Universidade do Paraná – UFPR, 1978. 78p.
  
- ROBBERS, J. E., SPEEDIE, M. K., TYLER, V. E., 1996. **Pharmacognosy and Pharmacobiotechnology**. Williams and Wilkins, Maryland, 337 pp.
  
- SAHAH, M. B., GOSWAMI, S. S., SANTINI, D. D., 2004. **Phytotherapy Research** 18 (10), 814-818.

- SEJAS, L. M.; SILBERT, S.; REIS, A. O., SADER, H. S., 2003. Evaluation of the quality of the antimicrobial agents disks used in disk-diffusion tests commercially available in Brazil. **J. Bras. Patol. Med. Lab.** 39 (1), 27-35.
- SILICI, S., KUTLUCA, S., 2005. Chemical composition and antibacterial activity of propolis collected by three different races of honeybees in the same region. **Journal of Ethnopharmacology** 99, 69-73.
- SILVA, P. **Farmacologia**, 3ª edição, Editora Guanabara, p. 967, 1989.
- SILVA, Z. L. Alelopátia e defesa em plantas. **Boletim Geográfico**, Rio de Janeiro, 36, 258-259, 90-96, 1978.
- SILVERSTEIN, R. M., WEBSTER, F. X., 2000. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos** (2000), 6 ed.
- SIMÕES, C. M. O.; MENTZ, L. A.; SCHENKEL, E. P.; IRGANG, B. E. & STERHMANN, J. R. (1998). **Plantas da Medicina Popular no Rio Grande do Sul**. 5ª ed. Porto Alegre. Ed. Universidade, UFRGS. 173 p.
- SIQUEIRA, D. S., PEREIRA, A. S., AQUINO NETO, F. R., 2003. Determinação de compostos de massa molecular alta em folhas de plantas da Amazônia. **Química Nova** 26 (5), 633-640.
- TASDEMIR, D., DEMIRCI, B., DEMIRCI, F., DONMEZ, A. A, BASER, K. H, RUEDI, P., 2003. Analysis of the volatile components of five Turkish *Rhododendron* species by headspace solid-phase microextraction and GC-MS (HS-SPME-GC-MS). **Z Naturforsch [C]**. Nov-Dec; 58 (11-12): 797-803.
- TAVARES, W. **Manual de antibióticos e quimioterápicos antiinfeciosos**. 3ª ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2001.

- THOLSTRUP, T., MARCKMANN, P., VESSBY, B., SANDSTRÖM, B., 1995. Effect of fats high in individual saturated fatty acids on plasma lipoprotein[a] levels in young healthy men. **Journal of Lipid Research** 36, 1447-1452.
  
- TRABULSI, L.R.; THUM, F.A.; GOMPERTZ, O. F.; CANDEIAS, J. A. N.; **Microbiologia**, v.1, 3ª edição, p.111-112,1999.
  
- WANDJI, J., TILLEQUIN, F., MULHOLLAND, D. A., SHIRRI, J. C., TSABANG, N., SEGUIN, E., VERITE, P., LIBOT, F., FOMUM, Z. T., 2003. Pentacyclic triterpenoid and saponins from *Gambeya boukokoensis*. **Phytochemistry** 64 (4), 845-849.
  
- WANG, S. Y., CHEN, P. F., CHANG, S. T., 2005. Antifungal activities of essential oils and their constituents from indigenous cinnamon (*Cinnamomum osmophloeum*) leaves against wood decay fungi. **Bioresource Technology** 96, 813-818.
  
- WATT, G., 1908. **Dictionary of the Commercial Products of India**, 625-628, John Murray, London.
  
- WHITTAKER, R. H.; FEENY, P. P., 1971. Allelochemicals: chemical interaction between species. **Science**, [S.I.], 171, 3973, 757-770.