B I B L I O T E C A
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Universidade de São Paulo

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

**Avaliação da variação sazonal e atividade biológica dos óleos
voláteis em duas espécies de Annonaceae**

Rosilene Kinue Ito

Dissertação para obtenção do grau de
MESTRE

Orientador:

Prof. Dr. Paulo Roberto Hrihorowitsch Moreno

São Paulo
2008

(Nota da BCQ: Não foi possível capturar fielmente a imagem das figuras desta tese)

BIBLIOTECA
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Universidade de São Paulo

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

**Avaliação da variação sazonal e atividade biológica dos óleos
voláteis em duas espécies de Annonaceae**

Rosilene Kinue Ito

Dissertação para obtenção do grau de
MESTRE

Orientador:
Prof. Dr. Paulo Roberto Hrihorowitsch Moreno

São Paulo
2008
19288

DEDALUS - Acervo - CQ

30100014838

Ficha Catalográfica

Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP

I89a Ito, Rosilene Kinue
Avaliação da variação sazonal e atividade biológica dos óleos
voláteis em duas espécies de Annonaceae / Rosilene Kinue Ito. --
São Paulo, 2008.
100p.

Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas
da Universidade de São Paulo. Departamento de Farmácia.
Orientador: Moreno, Paulo Roberto Hrihorowitsch

1. Annonaceae : Farmacognosia 2. Óleos voláteis: Farmacologia
I. T. II. Moreno, Paulo Roberto Hrihorowitsch, orientador.

615.323115 CDD

BIBLIOTECA
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Universidade de São Paulo

Rosilene Kinue Ito

Avaliação da variação sazonal e atividade biológica dos óleos voláteis
em duas espécies de Annonaceae

Comissão Julgadora
da
Dissertação para obtenção do grau de Mestre

Prof. Dr. Paulo Roberto Hrihorowitsch. Moreno
orientador/presidente

Prof^a. Dra. Márcia Ortiz Mayo Marques

Prof^a. Dra. Elfriede Marianne Bacchi

São Paulo, outubro de 2008.

Dedico este trabalho aos meus pais, Kenkiti Ito e Maria Norico Nagatani Ito que sempre incentivaram e estimularam os meus estudos, aos meus irmãos, Irene e Nilson, pelo apoio e ao meu namorado Rogério pelo amor e companheirismo.

“A mente humana é simultaneamente a fonte e, se orientada de forma apropriada, a solução de todos os nossos problemas. Os que adquirem grande erudição, mas não têm bom coração correm o risco de serem atormentados por ansiedades e inquietações que resultam de desejos que não podem ser realizados.”

(Dalai Lama - “Uma ética para o novo milênio”)

AGRADECIMENTOS

Ao Deus pela força fornecida nos momentos de fraqueza, pela sabedoria nos momentos de dúvidas e as oportunidades dadas para o meu crescimento espiritual e intelectual.

Ao Professor Dr. Paulo Roberto H. Moreno, pela orientação, estímulo, apoio e amizade dedicados para a realização deste trabalho.

À Professora Dra. Maria Aparecida Nicoletti pela amizade e carinho desde a minha graduação, contribuindo para o meu desenvolvimento profissional e pessoal.

À Professora Dra. Inês Cordeiro pela identificação botânica das espécies deste estudo.

À Amanda pela amizade e companhia nos trabalhos de finais de semana e o auxílio para a realização das análises ao CG-EM.

À Ingrid pela companhia nos finais de semana e noites durante as extrações, em que “aromatizavam” o laboratório do Instituto de Química - USP e, principalmente pelas dicas que contribuíram no desenvolvimento deste trabalho.

À Ana Flávia por dividir seus conhecimentos na análise dos cromatogramas.

À Valéria e Sabrina pela convivência agradável durante o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Marcos Enoque pelo auxílio no desenvolvimento dos testes antimicrobianos.

Aos colegas de trabalho do Instituto de Botânica de São Paulo, Cynthia, Michele, Mary, Anderson, Fabiano, Ailton, Ludmila, D. Helena pelo auxílio e amizade prestados durante todo o período de coleta das espécies botânicas deste trabalho.

Aos Professores e Pós-graduando do Bloco 15 – Biofarmacognosia, FCF-USP, pela colaboração.

Aos amigos da Universidade Guarulhos, Profa. Simone, Prof. Luís Roberto, Prof. Joselmo, Prof. Elói Marcos, pelo auxílio e apoio.

Aos estagiários e alunos da Universidade Guarulhos que indiretamente participaram no desenvolvimento deste projeto.

À amiga Elisângela pela “luz” acendida nos momentos difíceis.

Aos meus familiares pela compreensão e apoio desde o início.

À Coordenação e Secretaria do Programa de Pós-Graduação em Fármacos e medicamentos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas pelo auxílio prestado.

Aos funcionários da Biblioteca do Conjunto das Químicas da Universidade de São Paulo, pela orientação, organização e atenção na busca de informações.

À FAPESP, pelo financiamento do projeto “Flora aromática da Mata Atlântica no Estado de São Paulo: composição química dos óleos voláteis e análise da atividade biológica”, ao qual este trabalho faz parte.

A todos, que de uma forma ou de outra, fizeram parte deste trabalho.

RESUMO

ITO, R. K.; MORENO, P. R. H. *Avaliação da variação sazonal e atividade biológica dos óleos voláteis em duas espécies de Annonaceae*. Dissertação para obtenção do grau de Mestre – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008. Endereço eletrônico: rosilenekito@yahoo.com.br.

Nesse estudo, foram avaliados os óleos voláteis de *Porcelia macrocarpa* (Warm) R. E. Fries e *Rollinia sericea* (R. E. Fries) R. E. Fries com relação a sua composição ao longo das estações anuais e sua atividade antimicrobiana e anticolinesterase. Entre os componentes majoritários foram identificados apenas sesquiterpenos em ambas as espécies, bicicloelemeno (7%), biciclogermacreno (10%), germacreno-D (15%) e espatulenol (15%) para a *P. macrocarpa* e, α -muurolol (5%), Z-nerolidol (6%), bicicloelemeno (7%), germacreno-D (10%), biciclogermacreno (10%), β -cariofileno (11%) e β -elemeno (12%) para *R. sericea*, não apresentando variação sazonal significativa. Os testes antimicrobianos foram realizados com bactérias Gram-positivas e negativas e com fungos filamentosos e leveduriformes. Os resultados indicaram que os óleos testados apresentam um melhor potencial antifúngico do que antibacteriano quando testado na dose de 3,125 μ L/mL e não apresentaram potencial para o desenvolvimento de novos fármacos para o tratamento da doença de Alzheimer.

Palavras-chaves: Annonaceae. Óleos voláteis. Variação sazonal. Atividade antimicrobiana. Atividade anticolinesterase.

ABSTRACT

ITO, R. K.; MORENO, P. R. H. *Evaluation of the seasonal variation and biological activity of volatile oils from two Annonaceae species*. Dissertation for obtaining of Master's degree – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008. E-mail: rosilenekito@yahoo.com.br.

In this study, the volatile oils from *Porcelia macrocarpa* (Warm) R.E.Fr. and *Rollinia sericea* (R.E.Fr.) R.E.Fr. were analyzed for the seasonal variation in their chemical composition and their antimicrobial and anticholinesterase activity. The major components consisted only of sesquiterpenes in both species, bicycloelemene (7%), bicyclogermacrene (10%), germacrene-D (15%) and sphaatulol (15%) to *P. macrocarpa* and, α -muurolol (5%), Z-nerolidol (6%), bicycloelemene (7%), germacrene-D (10%), bicyclogermacrene (10%), β -caryophyllene (11%) e β -elemene (12%) to *R. sericea* and no significant seasonal variation could be detected. The antimicrobial assays were performed with Gram-positive and negative bacteria, filamentous fungi and yeasts. The results indicated that the tested oils presented a better antifungal potential than antibacterial, when done test in the dose of 3,125 μ L/mL. These oils could also not be considered as potential targets for the development of new drugs for the Alzheimer's treatment.

Keywords: Annonaceae. Volatile oils. Seasonal variation. Antimicrobial activity, Anticholinesterase activity

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	18
1.1. Família Annonaceae.....	21
1.1.1. Gênero <i>Porcelia</i>	26
1.1.1.1. Constituintes químicos de <i>P. macrocarpa</i> (Warm.) R.E.Fr.....	28
1.1.2. Gênero <i>Rollinia</i>	31
1.1.2.1. Constituintes químicos de <i>Rollinia</i>	32
2. JUSTIFICATIVA.....	38
3. OBJETIVOS.....	40
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	42
4.1. Local de coleta do material vegetal.....	42
4.2. Identificação e preparo do material vegetal.....	42
4.3. Análise da variação sazonal do rendimento e da composição de óleo volátil das espécies de Annonaceae.....	43
4.4. Obtenção do óleo volátil.....	43
4.5. Análise química.....	44
4.6. Teste da atividade antimicrobiana.....	45
4.6.1. Método da microdiluição.....	45
4.6.1.1. Preparo do óleo volátil.....	45
4.6.1.2. Padronização das suspensões de microrganismos.....	45
4.6.1.3. Preparo das amostras.....	46
4.6.2. Determinação da atividade antifúngica pelo método da autobiografia.....	47
4.6.2.1. Preparo da suspensão de esporos.....	47
4.6.2.2. Preparo das amostras.....	48
4.7. Atividade inibidora de acetilcolinesterase.....	49
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	51
5.1. <i>P. macrocarpa</i> (Warm.) R.E.Fr.	51
5.1.1. Composição do óleo volátil.....	51
5.1.2. Análise do efeito da sazonalidade no rendimento e na composição do óleo volátil.....	63
5.2. <i>R. sericea</i> (R.E.Fr.) R.E.Fr.....	69
5.2.1. Composição do óleo volátil.....	69
5.2.2. Análise do efeito da sazonalidade no rendimento e na composição do	

óleo volátil.....	73
5.3. Testes antimicrobianos.....	78
5.4. Atividade inibidora de acetilcolinesterase.....	84
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	88
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	90
ANEXOS	

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Biossíntese de compostos terpênicos. Via clássica e a via alternativa.....	20
Figura 2	Distribuição geográfica de Annonaceae.....	22
Figura 3	<i>Porcelia macrocarpa</i> , PEFI-SP. A. Hábito. B. Detalhe do ramo. C. Detalhe da flor.....	27
Figura 4	<i>Rollinia sericea</i> , PEFI-SP. A. Hábito. B. Detalhe do ramo. C. Detalhe da flor.....	31
Figura 5	Biossíntese dos sesquiterpenos cíclicos.....	53
Figura 6	Comparação do rendimento médio de óleo volátil (mg/100 g de folhas) entre os três indivíduos de <i>P. macrocarpa</i> (A), em relação as temperaturas máximas e mínimas (B), precipitação mensal (C) e irradiação solar global (D) no período de março de 2006 a março de 2007.....	66
Figura 7	Variação da concentração média (%) entre os três indivíduos dos quatro constituintes químicos majoritários dos óleos voláteis extraídos das folhas de <i>P. macrocarpa</i> no período de março de 2006 a março de 2007.....	67
Figura 8	Exemplos representativos da composição química dos óleos voláteis de folhas do indivíduo um de <i>P. macrocarpa</i> nas quatro estações do ano através de seus cromatogramas a gás com detecção por ionização de chama.....	68
Figura 9	Comparação do rendimento médio de óleo volátil (mg/100 g de folhas) de <i>R. sericea</i> (A), em relação as temperaturas máximas e mínimas (B), precipitação mensal (C) e irradiação solar global (D) no período de março de 2006 a março de 2007.....	75
Figura 10	Variação da concentração (%) dos sete constituintes químicos majoritários dos óleos voláteis extraídos das folhas de <i>R. sericea</i> no período de março de 2006 a março de 2007.....	76
Figura 11	Exemplos representativos da composição química dos óleos voláteis de folhas de <i>R. sericea</i> nas quatro estações do ano através de seus cromatogramas a gás com detecção por ionização de chama.....	77

Figura 12	Atividade fungitóxica dos óleos voláteis de <i>P. macrocarpa</i> . Amostras (100 µg) aplicadas em placas de gel de sílica e reveladas frente a <i>C. cladosporioides</i> e <i>C. sphaerospermum</i> pelo método da autobiografia.....	82

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Constituintes químicos isolados de <i>P. macrocarpa</i>	29
Quadro 2	Componentes químicos isolados em espécies de <i>Rollinia</i>	33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Componentes químicos identificados por CG-EM dos óleos voláteis das folhas do indivíduo um de <i>P. macrocarpa</i> , com suas respectivas concentrações (%) durante o período de março de 2006 a março de 2007.....	54
Tabela 2	Componentes químicos identificados por CG-EM dos óleos voláteis das folhas do indivíduo dois de <i>P. macrocarpa</i> , com suas respectivas concentrações (%) durante o período de março de 2006 a março de 2007.....	57
Tabela 3	Componentes químicos identificados por CG-EM dos óleos voláteis das folhas do indivíduo três de <i>P. macrocarpa</i> , com suas respectivas concentrações (%) durante o período de março de 2006 a março de 2007.....	60
Tabela 4	Componentes químicos identificados por CG-EM dos óleos voláteis das folhas de <i>R. sericea</i> , com suas respectivas concentrações (%) durante o período de março de 2006 a março de 2007.....	71
Tabela 5	Resultados dos testes antimicrobiano em % de inibição de crescimento realizados com os óleos voláteis extraídos das folhas de <i>P. macrocarpa</i> e <i>R. sericea</i> de acordo com as estações anuais.....	81
Tabela 6	Resultado da atividade fungitóxica obtidas dos óleos voláteis (100 µg/mL) das folhas de <i>P. macrocarpa</i> e <i>R. sericea</i> no período de março de 2006 a março de 2007.....	83
Tabela 7	Resultado da atividade anticolinesterase dos óleos voláteis (200 µg/mL) das folhas de <i>P. macrocarpa</i> e <i>R. sericea</i> no período de março de 2006 a março de 2007.....	86

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

IPP	Difosfato de Isopentenila
MVA	Via do Mevalonato
DXP	5-Fosfato-1-Desóxi-Xilulose
MEP	Fosfato de Metileritritol
DMAPP	Difosfato de Dimetila
GPP	Difosfato de Geranila
FPP	Difosfato de Farnesila
PEFI	Parque Estadual Fontes do Ipiranga
ANOVA	Análise de Variância
CG-DIC	Cromatografia à gás acoplada ao detector de ionização em chama
CG-EM	Cromatografia à gás acoplada a espectrômetro de massas
DMSO	Dimetilsulfóxido
MeOH	Metanol
v/v	Proporção Volume por Volume
ATCC	American Type Culture collection
TSA	Ágar Triptose Soja
SDA	Ágar Sabouraud Dextrose
TSB	Caldo Triptose Soja
SDB	Caldo Sabouraud Dextrose
UFC	Unidade Formadora de Colônias
SPC	Micoteca do Instituto de Botânica de São Paulo
IAG-USP	Instituto Astronômico e Geofísico da Universidade de São Paulo

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

Os óleos voláteis são empregados atualmente em grande quantidade por suas ações terapêuticas, flavorizantes e aromatizantes, por exemplo, o cravo e o tomilho possuem propriedades anti-sépticas devido à alta concentração de fenóis, além de serem utilizados como condimento; o óleo de melissa, alecrim, menta e camomila têm sido muito utilizados pela medicina popular por apresentarem propriedades antiespasmódicas. Os constituintes de muitos óleos voláteis atuam como antimicrobianos, podendo ser empregados como conservantes em alimentos e cosméticos (DORMAN; DEANS, 2000; EVANS, 1989).

Os óleos voláteis são também denominados como óleos etéreos ou essenciais, devido a sua volatilidade e ao desenvolvimento de odor característico; geralmente, são formados por misturas de hidrocarbonetos terpênicos, alcoóis, aldeídos, cetonas, fenóis, cumarinas e compostos sulfurados (EVANS, 1989; SIMÕES; SPITZER, 2001). Esses compostos, em diferentes concentrações, são os que conferem sabor e principalmente o odor característico de cada vegetal. Em geral, os componentes dos óleos voláteis podem ser derivados fenilpropanoídicos, formados a partir da fenilalanina/tirosina, ou terpenoídicos. Este último grupo, mais freqüente nos óleos voláteis, se divide em monoterpenos (90%) e sesquiterpenos, conforme o número de unidades de isopreno em sua estrutura (SIMÕES; SPITZER, 2001).

Os terpenóides são substâncias cuja origem biossintética deriva de unidades do difosfato de isopentenila (IPP), formado pela rota clássica a partir do ácido mevalônico, denominada de via do mevalonato (MVA), ou, pela rota alternativa

a partir do 5-fosfato-1-desóxi-xilulose (DXP), também denominada de independente do MVA ou de fosfato de metileritritol (MEP) (ADAM; ZAPP, 1998). Os terpenos são sintetizados da condensação do IPP e seu isômero alílico DMAPP. A adição seqüencial cabeça-cauda de unidade IPP com DMPP forma o difosfato de geranila (GPP) e difosfato de farnesila (FPP). Esses dois componentes servem como precursores dos monoterpenos e sesquiterpenos, respectivamente (FIG. 1). Terpenos sintetases ou ciclases, catalizam as reações em que os esqueletos primários de terpenos são formados desses substratos (AHARONI *et al.*, 2006).

Figura 1. Biossíntese de compostos terpênicos. Via clássica e a via alternativa (OWEN; PEÑUELAS, 2005).

A atividade das enzimas que atuam na síntese de terpenos pode ser regulada indiretamente por fatores ambientais como temperatura, luz, umidade e altitude, e também pode ser estimulada por herbivoria. (AHARONI *et al.*, 2006; CHENG *et al.*, 2007; DUDAREVA *et al.*, 2003; MAHMOUD; CROTEAU, 2001; BROUN *et al.*, 2006; PHILLIPS; BOHLMANN; GERSHENZON, 2006).

Após biossintetizados, os óleos voláteis se depositam em estruturas secretoras especializadas, como os tricomas glandulares e canais secretores, dependendo da família botânica. Quando extraídos de diferentes órgãos de uma mesma espécie vegetal, podem apresentar composição química, caracteres físico-químicos e odores distintos, como foi observado para *Annona cherimolia* Mill., onde foram identificados diferentes constituintes majoritários nas diferentes partes da planta analisada: biciclogermacreno, *trans*-cariofileno e γ -amorfeno nas folhas; biciclogermacreno, α -terpinoleno e germacreno-D nas flores; β -pineno, α -terpinoleno e α -pineno nos frutos (RIOS *et al.*, 2003).

As principais famílias produtoras de óleos voláteis são Lamiaceae, Lauraceae, Piperaceae, Apiaceae, Rutaceae, Myrtaceae, Poaceae e Annonaceae (SIMÕES; SPITZER, 2001).

1.1. Família Annonaceae

A família Annonaceae pertence à ordem Magnoliales, sendo uma de suas maiores famílias nesta classe (JOLY, 1993). Possui distribuição predominantemente tropical (FIG. 2), compreendendo cerca de 130 gêneros e mais de 2220 espécies (MISSOURI BOTANICAL GARDEN, 2008). As espécies dessa família são economicamente importantes por seus frutos edulos e, recentemente, algumas delas tornaram-se importantes em pesquisas farmacêuticas por suas atividades antifúngica, bacteriostática e, especialmente, a capacidade citostática de alguns constituintes químicos nas folhas e cascas (BORIES *et al.*, 1991; COLOM; POPICH;

BARDON, 2007; DI STASI; HIRUMA-LIMA, 2002).

Figura 2. Distribuição geográfica de Annonaceae (HEYWOOD, 1993).

Na América há cerca de 40 gêneros e 740 espécies (LEBOEUF *et al.*, 1982), sendo que no Brasil, encontram-se 33 gêneros compreendendo cerca de 250 espécies em praticamente todas as formações naturais (SOUZA; LORENZI, 2005).

Podem ser arbustos, subarbustos ou lianas. Suas folhas são alternadas, dísticas, simples, sem estípulas com margem inteira. Suas inflorescências são cimosas, por vezes reduzidas a uma única flor. As flores são em geral bissexuadas e diclamídeas. O cálice, dialissépalo, é composto por três a quatro sépalas. A corola é formada por um a dois verticilos de três a quatro pétalas dialipétalas. Os estames, geralmente numerosos, apresentam filamentos curtos, espiralados ou raramente cíclicos, conectivos largos, usualmente expandidos, mais ou menos truncados acima das anteras que apresentam, algumas vezes, septos transversais. O gineceu dialicarpelar, comumente pluricarpelar, em geral com carpelos dispostos em espiral, ovário súpero, placentação ereta ou marginal e um óvulo ou numerosos. O fruto carnoso ou seco e indeiscente podendo ser apocárpico ou sincárpico (DUKE, 1962;

SOUZA; LORENZI, 2005).

Os gêneros de Annonaceae mais freqüentes no Brasil são:

- *Xylopia*: freqüente nas matas do litoral e nas diferentes fisionomias do cerrado. Em regiões no Norte do Brasil, algumas espécies são conhecidas como pimenta do sertão, pau de imbira, pindaíba, pandaúva, banana de macaco, entre outros (DI STASI; HIRUMA-LIMA, 2002).
- *Rollinia*: os frutos são conhecidos como araticum e biribá na região Amazônica (DI STASI; HIRUMA-LIMA, 2002).
- *Annona*: possui várias espécies selvagens conhecidas por cabeça-de-negro, pinha e outras, cultivadas pelos seus deliciosos frutos, em especial no Nordeste, tais como anona, ata, cherimólia, marolo, fruta de conde, pinha azeda, graviola, condessa (DI STASI; HIRUMA-LIMA, 2002; SOUZA; LORENZI, 2005).

Afora as espécies que produzem frutos comestíveis, que são objetos de comércio, algumas são empregadas na construção civil para confecção de caixas, canoas, embarcações, etc; além de serem utilizadas também no paisagismo (JOLY, 1993; LORENZI, 1992). Além dessas aplicações, algumas espécies têm sido empregadas na medicina popular com vários propósitos tais como analgésico, antiinflamatório e anti-reumático, por exemplo, *Guatteria macrocarpa* R.E.Fr. e *Xylopia frutescens* Aubl. (DI STASI; HIRUMA-LIMA, 2002); antiparasitário e antidiarréico como *Annona cherimolia* Mill. e *A. muricata* L. (BORIES *et al.*, 1991) e várias outras espécies de *Guatteria* são ainda empregadas como antitérmicas, contraceptivas e no tratamento de doenças urogenitais (FOURNIER *et al.*, 1997a; VON REIS; LIPP Jr., 1982).

Os constituintes químicos encontrados em Annonaceae, de acordo com

Leboeuf *et al.* (1982), foram divididos em dois grupos: alcaloídicos (isoquinolinas, berberinas, aporfinas, fenantrenos, indóis) e não-alcaloídicos. Entre os metabólitos secundários não-alcaloídicos foram identificados catequinas, proantocianidinas, taninos, flavonóides, terpenos (CAROLLO; HELLMANN; SIQUEIRA, 2005; CHAVES; LAGO; ROQUE, 2003; CHAVES; ROQUE; AYRES, 2004; FOURNIER *et al.*, 1997a, b; FOURNIER; LEBOEUF; CAVÉ, 1999; JIROVETZ; BUCHBAUER; NGASSOUM, 1998; SANTOS; SALATINO, 2000) e acetogeninas (FOURNIER FOURNIER; LEBOEUF; CAVÉ, 1999), para as quais se têm atribuído atividade antitumoral (BARNES; SCHANEBERA; SNEDEN, 1995; BETANCUR-GALVIS *et al.*, 1999; CHAVES; ROQUE, 1997a; MIKOLAJCZAK *et al.*, 1990).

A presença de alcalóides aporfínicos e acetogeninas em espécies de Annonaceae fez com que muitas pesquisas fossem voltadas para o isolamento e avaliação das atividades farmacológicas destes metabólitos, principalmente atividade citotóxica, inseticida, antitumoral, antimicrobiana e imunossupressora (BETANCUR-GALVIS *et al.*, 1999; MAHIOU *et al.*, 1994; MIKOLAJCZAK *et al.*, 1990; PAREDES *et al.*, 2001; RUPPRECHET; HUI; MCLAUGHLIN, 1990). Recentemente, foi relatada atividade antimalárica para os alcalóides totais de *Guatteria australis* St.Hil. (FISCHER *et al.*, 2004) e para o aporfínico, coridina, constituinte de *G. amplifolia* Triana & Planch. (WENINGER *et al.*, 2000).

Annonaceae também é reconhecida pela produção de óleos voláteis, porém poucos estudos são dedicados a essa classe de metabólitos. Contudo, pesquisas sobre os óleos voláteis têm uma importância econômica, principalmente em nível industrial, no ramo cosmético, farmacêutico e alimentício. Em uma pesquisa com frutos do gênero *Annona*, Pino *et al.* (1998) buscaram definir quais eram os principais componentes que contribuíam, por sua concentração e variedades, na alteração de

aroma e sabor que ocorrem durante o desenvolvimento, maturação, conservação e processamento industrial da fruta. Cada espécie estudada possui seu aroma típico, o qual consiste fundamentalmente de ésteres, compostos carbonílicos e álcoois, entre outros, definindo, neste caso, o seu uso como flavorizante. Muitas vezes os componentes minoritários são essenciais para o odor e o aroma, que podem ser alterados por sua ausência (ROBBERS; SPEEDIE; TYLER, 1997).

Os constituintes do óleo volátil podem ser empregados como marcadores quimiotaxonômicos. Em diversas famílias, estes constituintes têm sido utilizados na identificação de espécies, e, mais comumente, no estudo de variantes infra-específicas, na definição de diferenças genéticas entre populações e na análise de sua origem e dispersão (MERLE *et al.*, 2004). Como um exemplo, temos o espatulenol que foi considerado como marcador dos gêneros *Annona*, *Uvaria* e *Xylopia* (LIMA *et al.*, 2003; LIMA *et al.*, 2004). Por outro lado, a presença de monoterpenos, como careno, terpineno, borneol, *trans*-carneol e γ -cadinol, é raramente encontrado em óleos de Annonaceae e quando encontrados, possuem um rendimento inferior a 2% (FOURNIER *et al.*, 1997a, b).

Muitas espécies de Annonaceae são conhecidas como odoríferas devido à presença de uma quantidade significativa de compostos terpênicos, porém poucas substâncias voláteis têm sido estudadas se comparadas com os alcalóides e as acetogeninas.

1.1.1. Gênero *Porcelia*

Este gênero possui 18 espécies: *P. cinnamonema* Ruiz & Pav., *P. discolor* N.A.Murray, *P. grandiflora* Pers., *P. macrocarpa* (Warm.) R.E.Fr., *P. magnifructa* (Schery) R.E.Fr., *P. magnifructum* (Schery) R.E.Fr., *P. mediocris* N.A.Murray, *P. microcarpa* Donn.Sm., *P. nitidifolia* Ruiz & Pav., *P. parviflora* Pers., *P. pondemsa* Rusby, *P. ponderosa* Rusby, *P. pygmaea* Pers., *P. saffordiana* Rusby, *P. steinbachii* (Diels) R.E.Fr., *P. stenopetala* Donn.Sm., *P. triloba* Pers., *P. venezuelensis* Pittier (TRÓPICOS, 2008; IPNI, 2008)

Com exceção de *P. ponderosa*, que ocorre também no Acre, apenas a *P. macrocarpa* (FIG. 3) é tipicamente brasileira. Encontra-se distribuída na região sudeste, sendo também muito cultivada em São Paulo e Minas Gerais (MURRAY, 1993). Essa espécie possui como sinônimos *Uvaria macrocarpa* Warm. e *Porcelia goyazensis* R.E.Fr. (MISSOURI BOTANICAL GARDEN, 2008). Popularmente é conhecida como pindaíba, pindaíba do mato, pau de zinga, banana de macaco e banana do mato.

As espécies de *Porcelia* se apresentam como árvores de 10-25 metros de altura de ramos com folhas papiráceas, ovais a lanceolado-oblongas, glabras, sem glândulas translúcidas. Suas flores possuem tamanho mediano, são bissexuadas e se localizam na porção terminal ou oposta às folhas, freqüentemente são axilares com pedicelos articulados na base, sem brácteas e pequenas sépalas coriáceas. As pétalas são amarelas imbricadas quando em botões e finalmente se abrindo amplamente. As anteras apresentam septos transversais, pedicelo totalmente sem

brácteas e pétalas em forma de bolsa. Os frutos contêm de 3 a 12 sementes, são carnosos e indeiscentes, podendo ocorrer entre 2 a 12 por extremidade do ramo. (DUKE, 1962).

O período de floração ocorre de novembro a dezembro enquanto que a maturação dos frutos é de agosto a novembro (MURRAY, 1993).

Figura 3. *Porcelia macrocarpa*, PEFI-SP. A. Hábito. B. Detalhe do ramo. C. Detalhe da flor. (ITO, 2006).

1.1.1.1. Constituintes químicos de *P. macrocarpa* (Warm.) R.E.Fr.

Das espécies descritas para o gênero *Porcelia*, a única que teve sua composição química estudada foi *P. macrocarpa*. Entre as classes de componentes isolados nessa espécie podemos destacar acetogeninas, ácidos graxos, diterpenos, esteróides, sesquiterpenos e alcalóides (CHAVES; ROQUE, 1997a, b; CHAVES *et al.*, 2000; 2001; CHAVES; LAGO; ROQUE, 2003; CHAVES; ROQUE; AYRES, 2004) (QUADRO 1).

Quadro 1. Constituintes químicos isolados de *P. macrocarpa*.

Classe de metabólito	Parte do vegetal	Componente químico	Atividade farmacológica	Referência
Sesquiterpenos	folhas	➤ macrocarp-11(15)-en-8-ol		CHAVES; LAGO; ROQUE, 2003
		➤ α -cubebeno		
		➤ α -copaeno		
		➤ germacreno D		
		➤ biciclogermacreno		
		➤ γ -cadineno		
		➤ δ -cadineno		
		➤ espatulenol		
		➤ globulol		
Diterpenos	folhas	➤ <i>cis</i> -cubenol		CHAVES; LAGO; ROQUE, 2003
		➤ fitol		
Esteróides	folhas	➤ sitosta-5,25-dien-3 β -ol		CHAVES; LAGO; ROQUE, 2003 CHAVES; ROQUE; AYRES, 2004
		➤ sitosta-5,22,25-trien-3 β -ol		
		➤ estigmasta-4,25-dien-3-ona		
		➤ (22- <i>E</i>)-estigma-4,22,25-trien-3-ona		
Acetogeninas	sementes	➤ (2S,3R,4R)-3-hidróxi-4-metil-2-(9-n-eicos-1-enil) butanólido		CHAVES; ROQUE, 1997a
Alcalóides	caules	➤ 6-metoxicleistofofina	antifúngica	CHAVES <i>et al.</i> , 2001 LAGO <i>et al.</i> , 2007
		➤ 6,7-dimetoxicleistofofina		
		➤ 5-hidróxi-6-metoxicleistofofina		
		➤ 5-hidróxi-6,7-dimetoxicleistofofina		
Flavonóides	caules	➤ quercetin-5-O-glucósido-3-O-rutinósido-7-4'-dimetiléter		CHAVES; ROQUE; AYRES, 2004
		➤ 7,4'-dimetoxiquercetina		

Quadro 1: Constituintes químicos isolados de *P. macrocarpa* (continuação).

Classe de metabólito	Parte do vegetal	Componente químico	Atividade farmacológica	Referência
Amidas e lignamidas	caules	➤ liriiodendrina	agregante plaquetário antitumoral antifúngico	CHAVES; ROQUE, 1997b OKUYAMA et al., 1986.
		➤ 1,2-diidro-6,8-dimetoxi-7-hidróxi-1-(3,5-dimetóxi-4-hidroxifenil)- <i>N</i> ¹ , <i>N</i> ² -bis-[2-(hidroxifenil) etil]-2,3-naftaleno dicarboxamida		
		➤ 1,2-hidróxi-6,8-dimetóxi-7-hidróxi-1-(3,4-diidroxiifenil)- <i>N</i> ¹ , <i>N</i> ² -bis-[2-(hidroxifenil) etil]-2,3-naftaleno dicarboxamida		
		➤ <i>N-trans</i> feruloiltiramina		
		➤ <i>N-trans</i> -cafeoilitiramina		
		➤ <i>N-trans</i> -sinapolitiramina		
		➤ valina		
		➤ prolina		
		➤ alanina		
		➤ citrulina		
Aminoácido e carboidratos	caules	➤ glicina		CHAVES et al., 2000
		➤ ácido γ-aminobutírico		
		➤ 4-hidroxi prolina		

1.1.2. Gênero *Rollinia*

O gênero é constituído por cerca de 200 espécies (TRÓPICOS, 2008) distribuídas geralmente na América do Sul, com poucas espécies no México, Caribe e América Central (DUKE, 1962, LEBOEUF *et al.*, 1982).

As espécies desse gênero possuem hábito arbóreo ou arbustivo. Suas flores são usualmente agrupadas em inflorescências opostas às folhas, ou extra-axilares nos internódios com pequenas sépalas, valvares e possuem numerosos carpelos. As anteras não são septadas transversalmente, pétalas não caudadas. As pétalas externas são valvadas, monocárpicas, sésseis unidas por uma massa seca e carnuda, dando o aspecto de asas ou esporas (DUKE, 1962). (FIG. 4).

Figura 4. *Rollinia sericea*, PEFI-SP. A. Hábito. B. Detalhe do ramo. C. Detalhe da flor. (ITO, 2006).

1.1.2.1. Constituintes químicos de *Rollinia*.

As espécies de *Rollinia* têm despertado atenção para a investigação química devido às importantes atividades biológicas detectadas, tais como antineoplásica, citotóxica, antiplaquetária, inseticida, antimalárica, antimicrobiana (CAETANO; DADOUN, 1987; PETTIT *et al.*, 1987). A maioria dessas atividades farmacológicas foi atribuída à presença de alcalóides e acetogeninas, como pode ser visto no Quadro 2 (CHEN *et al.*, 1996; KUO *et al.*, 2001a; NASCIMENTO *et al.*, 2003; SHI *et al.*, 1996a, b, c).

R. sericea (R.E.Fr.) R.E.Fr. é uma espécie nativa ainda pouco estudada. Popularmente é conhecida como pinha da mata, cortiça ou corticeira. Alguns trabalhos descrevem a presença de acetogeninas bistetra-hidrofuranoídicas, isoladas das cascas do caule que apresentaram atividade citotóxica (BARNES; SCHANEBERG; SNEDEN, 1995), e alcalóides oxoaporfínicos, isolados da raiz (BRASH; SNEDEN, 1983).

Quadro 2: Componentes químicos isolados em espécies de *Rollinia*.

Classe de metabólito	Espécie	Constituinte químico	Parte do vegetal	Atividade farmacológica	Referência
Acetogeninas	<i>R. emarginata</i> Schtdl.	➤ roliniastatina I	cascas	herbicida	COLOM; POPICH; BARDON, 2007 FEVRIER <i>et al.</i> , 1999 RAYNAUD-LE GRANDIC <i>et al.</i> , 2004
		➤ silvaticina		antileishmaníose	
		➤ esquamocina		antiprotzoário	
		➤ rolidecina-B			
	<i>R. laurifolia</i> Schtdl.	➤ rolifolina	folhas		NASCIMENTO <i>et al.</i> , 2003 PIMENTA <i>et al.</i> , 2001 PIMENTA; NASCIMENTO; BOAVENTURA, 2005
		➤ anonina I			
		➤ rolilaurina			
		➤ uvariamicina I e II			
		➤ solamina			
		➤ gonieonenina			
		➤ laurifolina			
	<i>R. membranacea</i> Planch. & Triana	➤ rolimembrina	sementes	antitumoral	GONZALEZ <i>et al.</i> , 1997 SAHPAZ <i>et al.</i> , 1997
		➤ rolinona			
		➤ silvaticina			
		➤ diepoxirolina			
		➤ diepomuricanina A e B			
		➤ dieporeticanina I e II			

Quadro 2: Componentes químicos isolados em espécies de *Rollinia*. (continuação).

Classe de metabólito	Espécie	Constituinte químico	Parte do vegetal	Atividade farmacológica	Referência
Acetogeninas	<i>R. mucosa</i> Baill.	➤ Epomusenina A e B	frutos	agregação	CHAVEZ;
		➤ rolicosina	folhas	plaquetária	ACEVEDO;MATA,
		➤ rolimusina	sementes	antitumoral	1998, 1999
		➤ roliacocina			GU <i>et al.</i> , 1997
		➤ 20,23- <i>cis</i> -2,4- <i>trans</i> -bulatalicinona			LIAW <i>et al.</i> , 1999
		➤ 20,23- <i>cis</i> -2,4- <i>cis</i> -bulatalicinona			LIAW <i>et al.</i> , 2003
		➤ 12-hidroxibultacina A e B			SHI <i>et al.</i> , 1996a
		➤ membranacina			SHI <i>et al.</i> , 1996b
		➤ desacetiluvanicina			SHI <i>et al.</i> , 1996c
		➤ roliniastatina I			SHI <i>et al.</i> , 1997
		➤ bulatacina			SHI; MACDOUGAL;
		➤ esquamocina			MACLAUGHLIN, 1997
		➤ motrilina			
		➤ muricatetrocina			
		➤ jimenezina			
		➤ rolidicina A, B, C e D			
		➤ rolinecina A e B			
		➤ rolitacina I e II			
		➤ javoricina			
		➤ muconina			
		➤ mucoxina			
Alcalóides	<i>R. emarginata</i> Schtdl.	➤ liriodenina			COLOM <i>et al.</i> , 2007
			cascas	antimicrobiano	FEVRIER <i>et al.</i> , 1999
				anti-leishmaniose tripanocida antitumoral	LEBOEUF <i>et al.</i> , 1982

Quadro 2: Componentes químicos isolados em espécies de *Rollinia*. (continuação).

Classe de metabólito	Espécie	Constituinte químico	Parte do vegetal	Atividade farmacológica	Referência
Alcalóides	<i>R. mucosa</i> Baill.	➤ romucosina I	cascas	agregação	KUO <i>et al.</i> , 2001
		➤ romucosina A, B, C e D	frutos	plaquetária	KUO <i>et al.</i> , 2004
		➤ N-metoxilcarbonil-normuciferina	folhas	antitumoral	
		➤ tuduranina	sementes		
		➤ promucosina			
		➤ rolipirrol			
		➤ anonaina			
		➤ glaucina			
		➤ purpureina			
		➤ liriodenina			
		➤ oxoglaucina			
		➤ oxopurpureina			
		➤ berberina			
		➤ tetra-hidroberberina			
	<i>R. leptopetala</i> R.E.Fr.	➤ tetra-hidrojatrorrizina	caules		SETTE <i>et al.</i> , 2000
	<i>R. ulei</i> Diels	➤ anonaina ➤ normuciferina ➤ roemerina	caules cascas	inibidor da proteína tirosina fosfatase CD45	MISKI <i>et al.</i> , 1995

Quadro 2: Componentes químicos isolados em espécies de *Rollinia*. (continuação).

Classe de metabólito	Espécie	Constituinte químico	Parte do vegetal	Atividade farmacológica	Referência
Lignanas	<i>R. emarginata</i> Schltl.	➤ liriioresinol-B	cascas	antileichimanióse tripanocida	ESTRADA-REYES <i>et al.</i> , 2002
	<i>R. mucosa</i> Baill.	➤ (+)-epimembrina ➤ (+)-epieudesmina ➤ (+)-epimagnolina ➤ magnolina ➤ <i>epi</i> -iangambina ➤ iangambina ➤ dimetiléter pinioresinol ➤ eudesmina ➤ membrina	folhas frutos	antagonista do fator plaquetário	FIGUEIREDO <i>et al.</i> , 1999
Terpenos	<i>R. mucosa</i> Baill.	➤ α -pineno ➤ β -pineno ➤ β -cariofileno	frutos		PINO, 2000
Esteróides	<i>R. mucosa</i> Baill.	➤ palmitona ➤ β -sitosterol ➤ estigmasterol	cascas folhas sementes		CHEN <i>et al.</i> , 1996 SHI <i>et al.</i> , 1996a, b, c
Amidas	<i>R. mucosa</i> Baill.	➤ N-lignoceroiltriptamina ➤ N-palmitoiltriptamina ➤ N-estearoiltriptamina ➤ N-araquidoiltriptamina ➤ N-beenoiltriptamina ➤ N-tricosanoiltriptamina ➤ N-pentacosanoiltriptamina ➤ N-cerotoiltriptamina	sementes		CHAVEZ; ACEVEDO; MATA, 1999

JUSTIFICATIVA

2. JUSTIFICATIVA

Este trabalho faz parte do projeto “FLORA AROMÁTICA DA MATA ATLÂNTICA NO ESTADO DE SÃO PAULO: COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS ÓLEOS VOLÁTEIS E ANÁLISE DA ATIVIDADE BIOLÓGICA” que visa contribuir com o conhecimento da constituição química dos óleos voláteis presentes em espécies nativas da Mata Atlântica bem como verificar sua possível atividade farmacológica.

Como os óleos essenciais possuem um grande potencial farmacológico e econômico, estudos voltados para o aproveitamento das espécies produtoras são muito importantes. Contudo, a produção desses compostos é influenciada por um amplo número de fatores como: fenologia, condição climática, localização e, principalmente genético. Até o momento, a maioria desses estudos foi realizada em espécies herbáceas, sendo que nenhum estudo foi encontrado sobre a influência desses fatores na produção de óleos essenciais em Annonaceae.

Dessa forma, o desenvolvimento deste projeto permitirá um conhecimento mais aprofundado sobre o efeito da condição climática no metabolismo dos óleos voláteis em espécies desta família, podendo ainda fornecer subsídios para análises quimiotaxonômicas e ecofisiológicas futuras. Além disso, considerando-se a importância aromática e farmacológica dos óleos voláteis, a determinação de sua composição química nas espécies *P. macrocarpa* e *R. sericea*, nativas da Mata Atlântica, poderá contribuir para estudos posteriores de propagação *in vivo* e *in vitro* visando o manejo e a manutenção do germoplasma.

OBJETIVOS

3. OBJETIVOS

Em virtude da importância e a pouca informação sobre os óleos essenciais de Annonaceae, essa classe foi analisada nas espécies *Porcelia macrocarpa* (Warm.) R.E.Fr. e *Rollinia sericea* (R.E.Fr.) R.E.Fr. com seguintes objetivos:

- Realizar análise comparativa da composição dos óleos voláteis.
- Avaliar sua variação sazonal.
- Realizar testes de atividade antimicrobiana e inibidora da enzima acetilcolinesterase.

MATERIAL E MÉTODOS

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Local de coleta do material vegetal

As folhas das espécies vegetais, *P. macrocarpa* e *R. sericea*, foram coletadas no período de março de 2006 a março de 2007 no Parque Estadual Fontes do Ipiranga (PEFI). O parque possui uma área de aproximadamente 5,43 milhões de metros quadrados, caracterizando-se como o maior parque metropolitano do Estado de São Paulo. Os grandes maciços florestais preservados destacam-se por serem os últimos remanescentes da Mata Atlântica inseridos na metrópole. O PEFI é vizinho dos municípios de Diadema, São Caetano do Sul, São Bernardo do Campo e Santo André, e faz divisa com a Av. Abrão de Moraes e Ricardo Jafet, que dão continuidade à Rodovia dos Imigrantes, localizando-se próximo ao aeroporto de Congonhas e do metrô.

4.2. Identificação e preparo do material vegetal

As folhas coletadas foram secas à sombra em temperatura ambiente por uma semana, até obtenção de peso constante.

Para este estudo, foram utilizadas as espécies de Annonaceae que co-ocorrem no Instituto de Botânica de São Paulo, SP, com o auxílio da Dra. Inês

Cordeiro para a identificação e depósito da exsicata em herbário do próprio Instituto.

- *Porcelia macrocarpa* (Warm) R.E.Fr. (SP 76791)
- *Rollinia sericea* (R.E.Fr.) R.E.Fr. (SP 205698)

Para a análise comparativa da composição e rendimento de óleo volátil foram feitas coletas mensais no de março de 2006 a março de 2007, ao 16º dia de cada mês após as 14 horas.

4.3. Análise da variação sazonal do teor e da composição de óleo volátil das espécies de Annonaceae

Para o estudo, foram demarcados três exemplares de *P. macrocarpa*, e apenas um indivíduo de *R. sericea*, devido a não localização de outros espécimes no PEFI-SP.

Os resultados de rendimento do óleo volátil obtido foram expressos como média $\pm$ desvio padrão e analisados por meio de Análise de Variância (ANOVA), seguida do Teste de Tukey pelo programa WinSTAT (1999).

4.4. Obtenção do óleo volátil

O óleo volátil foi obtido a partir das folhas secas rasuradas, submetidas à

hidrodestilação em processo contínuo com aparelho do tipo de Clevenger, durante 4 horas. A quantificação foi realizada por peso do material extraído coletado do frasco florentino do aparelho de Clevenger (WHO, 1992).

4.5. Análise química

Para a análise, os óleos voláteis obtidos por hidrodestilação foram diluídos em acetona p.a., Merck, na razão de 10:1000 (V/V).

A seguir, foi injetado 1 µL da amostra diluída que foi quantificada por cromatografia a gás com detector de ionização de chamas (CG-DIC) em um cromatógrafo Varian (modelo CP 3380), com coluna DB-5 (30 m x 25 µm x 0,25 µm) e os componentes identificados por cromatografia à gás acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) em um cromatógrafo Agilent (série 6890) acoplado a um espectrômetro de massas com sistema quadrupolo (Agilent 5973 Network Mass Selective Detector) em uma coluna HP-5MS (30 m x 25 µm x 0,25 µm) utilizando-se a metodologia descrita por Adams (2007). O injetor (com divisão de fluxo - split/splitless) foi programado a 250 °C (razão de divisão 1:20) e a programação de temperatura foi de 40 a 240 °C a 3 °C/min, 240 °C por 10 min (tempo total de análise 80 min), utilizando hélio como gás de arraste a uma pressão de 80 Kpa e velocidade linear de 1 mL por minuto. Nitrogênio, ar sintético e hidrogênio foram utilizados como gases auxiliares, na razão de 1:1:10, respectivamente.

A identificação dos constituintes dos óleos voláteis estudados por CG-EM

foi baseada na comparação entre o índice de retenção de Kováts (KOVÁTS, 1958) e o espectro de massas, com amostras autênticas e dados retirados da literatura (ADAMS, 2007) e por comparação com espectros de massas registrados em bancos de dados do aparelho Wiley 275.

4.6. Teste da atividade antimicrobiana

4.6.1 Método da microdiluição

4.6.1.1. Preparo do óleo volátil

Os óleos voláteis concentrados foram misturados em proporções iguais conforme as estações do ano, e diluídos na proporção de 1:4 (óleo: DMSO/MeOH - 1:1 V/V) de modo que a concentração final no ensaio fosse 3,125 μ L de óleo/mL.

4.6.1.2. Padronização das soluções de microrganismos

Os óleos essenciais foram testados em modelos para bactéria Gram-positiva, *Staphylococcus aureus* subsp. *Aureus* (ATCC 6538), Gram-negativas,

Escherichia coli (ATCC 8739), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027) e dois fungos, um filamentoso *Aspegillus niger* (ATCC 16404) e um leveduriforme *Candida albicans* (ATCC 10231). Para cada ensaio, os microrganismos foram incubados em tubos inclinados Agar Triptose Soja (TSA, Difco) para bactérias a 37 °C e Ágar Sabouraud Dextrose (SDA, Difco) para os fungos a 25 °C por 24 h.

Ao final deste período, os microrganismos foram re-suspendidos com solução salina (0,85%) e submetidos à padronização através de diluição seriada, onde as diluições 10^4 , 10^5 e 10^6 foram plaqueadas em duplicata, utilizando meio TSA para bactérias e SDA para os fungos, em seguida incubados em estufa bacteriológica por 24 horas na temperatura de 35 °C bactérias e 48 horas na temperatura de 25 °C os fungos.

As soluções microbianas padronizadas posteriormente foram diluídas com solução salina e inoculadas em caldo triptose soja (TSB) e caldo Sabouraud Dextrose (SDB), de modo que a concentração final de microrganismos em cada poço da microplaca apresentasse um número de 200 a 400 UFC/200 µL.

4.6.1.3. Preparo das amostras

A distribuição das substâncias nas microplacas obedeceu a um padrão pré-estabelecido com a presença de branco (200 µL de meio TSB ou SDB sem microrganismos), controle negativo (190 µL de meio TSB e SDB inoculado com microrganismos acrescido de 10 µL de MeOH:DMSO - 50:50) e 190 µL de meio TSB

ou SDB inoculado com microrganismos acrescentando 10 µL dos óleos ou antibiótico (Controle positivo: 10 µL de cloranfenicol 1mg/mL para *S. aureus* e *E. coli* e amicacina 1mg/mL para *P. aeruginosa*, e 10 µL de nistatina 1 mg/mL para *C. albicans*). Para se obter um controle do número de colônias por poço, 200 µL do meio inoculado foi plaqueado em duplicata. As placas e microplacas foram incubadas em estufa bacteriológica por 24 horas na temperatura de 35 °C bactérias e 48 horas na temperatura de 25 °C levedura. Após o período de incubação, as microplacas foram lidas em espectrofotômetro de ELISA (SLT Spectra) em $\lambda=630\text{nm}$ (DEVIIENNE; RADDI, 2002; LENCZEWSKI; McGAVIN; VANDYKE, 1996; MATILA, 1987; SALIE; EAGLES; LENG, 1996; WILLINGER *et al.* 2000).

4.6.2. Determinação da atividade antifúngica pelo método da autobiografia

4.6.2.1. Preparo da suspensão de esporos

O fungo filamentoso e sapróbio *Cladosporium sphaerospermum* Penzig (SPC 1485) e o fungo filamentoso *Cladosporium cladosporioides* (Fresen) de Vries (SPC 140), armazenados na micoteca do Insituto de Botânica de São Paulo, foram utilizados como fungos reveladores nos bioensaios de detecção de substâncias fungitóxicas.

Para a obtenção das cepas, os fungos foram semeados com a ajuda de uma alça de platina na superfície do meio de cultura Agar Batata Dextrose (BDA, Difco) e incubados a 22 °C, no escuro, por 14 dias.

Para a obtenção de esporos, preparou-se uma solução de sais minerais e glicose na proporção de 6:1 com a qual se fez a extração dos esporos do fungo (HOMANS; FUCHS, 1970), com o auxílio de um pincel. A suspensão foi filtrada em um funil contendo gaze, e estocada à temperatura de -18 °C para posterior nebulização nas cromatografias em camada delgada.

4.6.2.2. Preparo das amostras

100 µg de óleo essencial diluído em 10 µL acetona foi aplicado em cromatoplasmas de gel de sílica e nebulizadas com a suspensão de esporos do fungo *Cladosporium cladosporioides* e/ou *Cladosporium sphaerospermum* ($> 2 \times 10^6$ esporos/mL) e incubadas em câmara úmida a 25 °C, no escuro, por 48 horas, segundo método de Homans e Fuchs (1970). Zonas de inibição claras são formadas contra um fundo escuro quando os compostos inibidores estão presentes. Define-se visualmente por atividade forte a inibição total do crescimento do fungo, moderada a inibição parcial do desenvolvimento deste, e fraca quando há pouca alteração no desenvolvimento.

A quantificação da atividade fungitóxica foi feita a partir de comparação com padrão de nistatina, cujo limite de detecção é de 1 µg.

4.7. Atividade inibidora de acetilcolinesterase

A atividade inibidora de acetilcolinesterase foi avaliada quantitativamente usando um leitor Elisa KC4 (BIOTEK), absorvância a 405 nm. Nas cavidades da placa, foram adicionados 25 µL de iodeto de acetiltiocolina (15 mM) (Sigma Chemical Co.), 125 µL de 5,5'-ditio-bis-(2-nitrobenzóico) (3 mM) (Sigma Chemical Co.) no tampão (C) (DTNB ou reagente de Elman), 50 µL do tampão (B), 25 µL da amostra de extrato diluída em MeOH e diluída 10 vezes no tampão (A) para obter uma concentração final de 200 µg/mL. A absorvância foi medida a 405 nm a cada 13 segundos por cinco vezes. Em seguida, foram adicionados 25 µL da enzima acetilcolinesterase (0,22 U/mL) (Sigma Chemical Co.) e a absorvância será medida novamente a cada 13 segundos por oito vezes. A velocidade das reações foi calculada utilizando-se o software Microplate Manager versão 4.0 (Bio Rad Laboratories). A porcentagem de inibição foi calculada através da comparação das velocidades das amostras em relação ao branco (10% de MeOH no tampão A) (RHEE *et al.*, 2001; TREVISAN *et al.*, 2003). O padrão utilizado foi a galantamina (1µg/mL).

Soluções tampão utilizados:

(A) Tris/HCl 50 mM, pH=8;

(B) Tris/HCl 50 mM, pH=8, com 0,1% de albumina sérica bovina fração V;

(C) Tris/HCl 50 mM, pH=8, com 0,1 M de NaCl e 0,02 M de MgCl₂.6H₂O).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. *Porcelia macrocarpa* (Warm.) R.E.Fr.

5.1.1. Composição do óleo volátil

Durante o período analisado, foi possível detectar pelo menos 57 substâncias no óleo volátil das folhas de *P. macrocarpa* entre os três indivíduos (TAB. 1, 2 e 3). Em todas as amostras analisadas, não foram identificados hidrocarbonetos monoterpênicos nem monoterpenos oxigenados dentre os constituintes dos óleos voláteis desta espécie. A presença de monoterpenos é mais rara em óleos de Annonaceae (FOURNIER *et al.*, 1997a). A análise quantitativa das amostras demonstrou a presença de quatro constituintes sesquiterpênicos majoritários, três hidrocarbonetos sesquiterpênicos, bicicloelemeno (1) (7%), biciclogermacreno (2) (10%), germacreno-D (3) (15%), e um sesquiterpeno oxigenado, espatulenol (4) (15%).

Anteriormente, foram isolados três sesquiterpenos do óleo volátil das folhas de *P. macrocarpa*, germacreno-D, biciclogermacreno e espatulenol, e outro, macrocarp-11(15)-en-8-ol, estava presente somente no extrato hexânico (CHAVES; LAGO; ROQUE, 2003). A proporção dentre os compostos majoritários no óleo volátil foi próxima àquela encontrada em nosso estudo, porém, prevalecendo o espatulenol como o constituinte principal do óleo bruto.

Os três constituintes majoritários, biciclogermacreno, germacreno-D e espatulenol, possuem sua origem biossintética comum. Esses compostos resultam dos processos de ciclização a partir do cátion *E,E*-farnesila que dá origem aos esqueletos dos germacranos, elemanos, guaianos, bourbonanos, aromadendranos e aristolanos (FIG. 5). Por outro lado, os constituintes minoritários com esqueletos dos cadinanos, muurolanos e cubebanos têm sua origem a partir do cátion *Z,E*-farnesila, indicando certa especificidade nas sesquiterpeno-ciclases presentes nessa espécie (DEWICK, 1997).

Figura 5. Biossíntese dos sesquiterpenos cíclicos (BELL; CHARLWOOD, 1980).

Outro constituinte majoritário encontrado nesse estudo, bicicloelemeno, não foi detectado por Chaves *et al.* (2003). Dos 57 constituintes detectados do óleo volátil, Chaves *et al.* (2003) identificaram apenas quatro deles por CG-EM, α -cubebeno, α -copaeno, γ -cadineno e δ -cadineno e um componente, por ressonância magnética nuclear de ^1H , globulol.

Tabela 1. Componentes identificados por CG-EM do óleo volátil das folhas do indivíduo um de *P. macrocarpa*, com suas respectivas concentrações durante março de 2006 a março de 2007.

Composição química	IK	Concentração (%)												
		Mar/06	Abr/06	Mai/06	Jun/06	Jul/06	Ago/06	Set/06	Out/06	Nov/06	Dez/06	Jan/07	Fev/07	Mar/07
2-pentil furano	990	0,53	0,79	-	0,42	-	0,47	0,54	0,42	1,73	1,24	0,76	1,12	0,86
n-nonanal	1101	0,49	0,74	-	0,47	-	0,64	0,60	-	-	0,59	-	-	-
2-Z-nonen-1-al	1159	0,66	0,80	-	0,96	-	0,82	0,89	0,54	0,55	0,64	-	-	-
δ-elemeno	1322	0,80	0,53	1,16	0,87	1,06	0,47	0,67	0,70	0,87	0,82	0,69	0,98	1,07
bicicloelemeno	1335	6,71	5,33	11,46	7,99	9,16	4,79	6,89	7,15	8,82	8,33	5,41	7,70	7,87
α-cubebeno	1349	1,30	0,99	1,00	0,84	1,25	0,83	0,91	0,87	0,77	0,77	1,09	1,26	1,24
α-copaeno	1371	4,10	2,96	3,63	2,68	4,51	2,66	3,20	3,90	3,19	3,14	3,85	4,48	4,34
dauceno	1378	0,96	0,78	0,75	0,86	1,60	0,85	1,51	0,46	0,55	-	0,62	-	-0,69
β-cubebeno	1384	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,41	-	-
β-elemeno	1387	3,60	2,73	4,01	3,34	4,19	2,40	3,11	3,89	3,46	3,15	1,53	4,11	4,03
NI ¹	1397	0,70	0,67	-	-	-	0,48	-	-	-	-	0,59	-	-
β-cedreno	1412	3,04	2,64	4,59	3,19	4,63	2,73	3,52	3,93	3,57	3,56	2,94	4,05	4,28
β-copaeno	1422	1,89	1,57	2,45	1,75	2,31	1,43	1,98	2,16	2,09	2,16	2,01	2,53	2,54
aromadendreno	1432	1,15	0,85	0,91	0,69	0,92	0,61	0,71	0,79	0,93	0,83	1,15	1,02	1,13
trans-cadina-1(6),4-dieno	1438	0,96	0,69	1,11	0,76	1,02	0,60	0,81	0,91	0,85	-	0,78	0,98	1,08
γ-muroleno	1447	3,00	1,87	1,93	1,62	1,89	1,34	1,47	1,37	1,28	1,25	1,27	1,63	1,69
amorfa-4,7(11)-dieno	1455	1,55	0,92	1,18	0,99	1,17	0,81	1,03	1,03	1,02	0,94	1,07	1,26	1,27
germacreno-D	1479	12,75	11,58	22,17	14,57	21,02	12,25	16,14	19,47	16,85	16,64	10,87	14,80	15,60
cis-β-guaieno	1483	1,62	1,45	-	0,94	-	0,82	0,84	-	1,24	1,12	1,15	1,34	-
biciclogermacreno	1494	9,29	7,62	14,92	10,55	12,39	7,01	9,53	10,33	11,61	11,42	8,21	10,83	10,97
γ-cadineno	1507	1,23	1,20	1,24	1,11	1,09	1,25	1,16	1,53	1,04	0,93	1,61	1,58	1,61
δ-cadineno	1519	2,17	2,10	1,96	1,76	2,47	1,84	1,98	2,42	2,44	2,11	3,05	3,19	3,01
trans-cadina-1,4-dieno	1531	0,48	0,37	-	0,39	-	0,53	-	-	-	-	-	-	-
α-calacoreno	1536	0,56	0,61	-	-	-	0,53	-	-	-	-	0,70	-	-

IK: índice de Kováts

NI: não identificado

NI¹: m/z-207 (M⁺), 202, 187, 173, 159 (100%), 145, 131, 117, 105, 96, 91, 81, 77, 69, 65, 55, 51, 41.

Tabela 1. Componentes identificados por CG-EM do óleo volátil das folhas do indivíduo um de *P. macrocarpa*, com suas respectivas concentrações durante março de 2006 a março de 2007 (continuação).

Composição química	IK	Concentração (%)												
		Mar/06	Abr/06	Mai/06	Jun/06	Jul/06	Ago/06	Set/06	Out/06	Nov/06	Dez/06	Jan/07	Fev/07	Mar/07
germacreno-B	1545	0,76	0,70	-	-	-	0,36	-	-	-	-	0,61	-	-
Ni ²	1553	0,71	0,66	-	0,64	-	0,78	-	-	-	-	0,87	-	-
Ni ³	1560	1,23	1,41	0,87	1,05	0,83	1,23	0,99	0,61	1,14	1,18	1,45	1,39	1,26
espatulenol	1580	20,83	26,34	12,30	22,14	15,02	26,63	22,29	10,81	12,48	12,55	14,16	13,75	12,73
globulol	1582	-	-	1,90	-	1,74	-	-	1,83	3,06	3,17	2,82	2,73	2,71
cubeban-11-ol	1587	1,30	1,55	1,19	1,65	0,96	1,60	1,80	1,21	1,96	2,11	1,87	1,73	1,60
Ni ⁴	1593	-	-	0,79	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
rosifoliol	1596	0,83	0,97	-	-	0,72	-	0,98	0,73	1,13	1,26	1,32	1,11	1,17
guaíol	1601	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
β-atlantol	1604	-	-	1,07	-	-	-	-	1,75	1,83	1,95	3,13	1,45	2,24
isolongifolan-7-α-ol	1606	1,47	1,8	-	1,62	1,12	2,15	1,93	-	-	-	-	-	-
junenol	1611	0,53	0,56	-	0,45	-	0,55	0,54	0,65	0,66	0,72	0,71	0,73	0,68
trans-isolongifolanona	1616	0,61	0,68	-	0,68	-	0,69	0,67	0,60	0,78	0,84	1,06	0,87	0,88
1-epi-cubanol	1622	0,67	0,94	-	0,72	0,54	0,93	0,84	0,58	0,76	0,81	1,12	0,84	0,83
α-murolol	1626	-	-	-	-	-	0,38	-	-	-	-	0,78	-	-
cubanol	1635	1,90	-	1,73	-	1,64	-	1,54	3,17	1,69	4,34	2,13	2,57	2,25
α-cadinol	1638	1,24	3,81	1,38	2,48	1,43	4,30	1,77	-	1,79	-	2,01	2,04	2,05
valerianol	1643	0,91	0,63	0,80	1,69	0,90	0,91	1,35	1,15	1,19	0,94	1,86	0,96	1,48
7-epi-α-eudesmol	1645	-	0,51	-	1,21	-	0,61	-	-	-	-	-	-	-
mustacona	1651	1,71	2,57	2,05	2,75	2,15	2,86	2,85	2,42	2,73	3,55	3,47	2,8	2,93

IK: índice de Kováts

Ni: não identificado

Ni²: m/z-281 (M⁺), 220, 204, 189, 177, 161 (100%), 147, 133, 119, 109, 93, 82, 69, 55, 43.

Ni³: m/z-220 (M⁺), 204, 189, 177, 161, 149, 133, 123 (100%), 119, 107, 96, 91, 81, 77, 67, 59, 55, 41.

Ni⁴: m/z-226 (M⁺), 220, 202, 187, 177, 169, 159, 154, 147, 141, 133, 105, 99, 91, 85, 79, 71, 65, 57 (100%), 51, 43.

Tabela 1. Componentes identificados por CG-EM do óleo volátil das folhas do indivíduo um de *P. macrocarpa*, com suas respectivas concentrações durante março de 2006 a março de 2007 (continuação).

Composição química	IK	Concentração (%)												
		Mar/06	Abr/06	Mai/06	Jun/06	Jul/06	Ago/06	Set/06	Out/06	Nov/06	Dez/06	Jan/07	Fev/07	Mar/07
NI ⁵	1657	0,39	0,64	-	0,51	-	0,73	0,60	0,51	-	-	0,77	-	-
NI ⁶	1660	0,52	0,44	-	0,66	-	0,67	0,57	0,68	0,62	0,82	0,81	1,04	0,90
eudesm-4(15),7-dien-1-β-ol	1664	0,66	0,94	0,58	0,99	0,82	1,20	0,89	0,65	0,65	0,76	0,84	1,03	0,84
germacrona	1669	0,68	0,75	-	0,72	0,56	0,80	0,67	0,71	-	0,54	-	0,79	-
ciperotundona	1673	0,90	1,73	0,84	1,08	0,84	1,62	1,63	2,01	1,67	1,61	3,17	1,28	2,16
amorfa-4,9-dien-2-ol	1679	-	0,49	-	0,41	-	0,59	0,58	0,55	-	-	0,70	-	-
amorfa-4-9-dien-14-al	1684	-	-	-	-	-	0,45	-	-	-	-	-	-	-
nootcatol	1694	-	-	-	-	-	0,75	-	0,49	-	-	-	-	-
NI ⁷	1730	-	-	-	-	-	0,40	-	0,43	-	-	0,54	-	-
NI ⁸	1756	-	-	-	-	-	0,54	-	0,49	-	-	0,55	-	-
NI ⁹	1764	-	-	-	-	-	0,49	-	0,45	-	-	0,73	-	-
NI ¹⁰	1771	-	-	-	-	-	0,37	-	-	-	-	0,6	-	-
Hidrocarbonetos sesquiterpênicos	57,92	47,49	74,47	54,90	70,68	44,11	55,46	60,91	60,58	57,17	50,02	61,74	61,04	61,04
Sesquiterpenos oxigenados	33,34	42,54	23,00	37,51	27,6	45,4	38,7	27,3	30,71	33,54	37,98	33,4	32,39	32,39
Outros	1,68	2,33	-	1,85	-	1,93	2,03	0,96	2,28	2,47	0,76	1,12	0,86	0,86
Não identificados	3,55	3,82	1,66	2,86	0,83	5,69	2,16	3,17	1,76	2,00	6,91	2,43	2,16	2,16
Total	96,49	96,18	99,13	97,12	99,11	97,13	98,35	92,34	95,33	95,18	95,67	98,69	96,45	96,45

IK: índice de Kováts

NI: não identificado

NI⁵: m/z-236 (M⁺), 220, 202, 187, 177 (100%), 159, 145, 138, 133, 123, 117, 105, 91, 81, 67, 55, 41.NI⁶: m/z-220 (M⁺), 206, 163 (100%), 145, 136, 121, 105, 93, 79, 67, 55, 41.NI⁷: m/z-236 (M⁺), 218, 203, 189, 175 (100%), 161, 147, 142, 133, 128, 123, 117, 112, 105, 97, 91, 79, 67, 55, 41.NI⁸: m/z-248 (M⁺), 220, 202, 189, 177, 159, 147, 133, 128, 119, 105, 91 (100%), 79, 67, 55, 41.NI⁹: m/z-247 (M⁺), 234, 220, 205, 193, 187, 177, 165, 159, 150 (100%), 145, 135, 129, 123, 117, 112, 107, 96, 91, 81, 67, 55, 41.NI¹⁰: m/z-281 (M⁺), 218, 203, 190, 185, 179, 173, 164, 157, 147, 142, 133, 128, 117, 105, 91 (100%), 79, 67, 55, 41.

Tabela 2. Componentes identificados por CG-EM do óleo volátil das folhas do indivíduo dois de *P. macrocarpa*, com suas respectivas concentrações durante março de 2006 a março de 2007.

Composição química	IK	Concentração (%)												
		Mar/06	Abr/06	Mai/06	Jun/06	Jul/06	Ago/06	Set/06	Out/06	Nov/06	Dez/06	Jan/07	Fev/07	Mar/07
2-pentil furano	990	0,74	-	-	-	-	-	0,92	0,65	1,45	1,07	0,96	0,93	0,74
n-nonanal	1101	0,42	0,44	-	-	-	-	0,47	-	-	-	-	-	0,42
2-Z-nonen-1-al	1159	0,46	0,44	-	0,65	-	0,59	0,72	-	-	-	-	-	0,46
δ-elemeno	1322	0,74	0,71	1,06	0,82	0,84	0,80	0,62	1,20	1,12	-	0,89	1,37	0,74
bicicloelemeno	1335	5,35	5,04	6,78	5,91	5,75	5,92	4,77	8,51	8,23	7,65	6,93	9,13	5,35
α-cubebeno	1349	1,13	0,98	1,12	1,12	1,21	1,11	0,98	1,02	1,28	-	1,09	1,15	1,13
α-copaeno	1371	3,81	3,29	3,62	3,64	4,11	3,75	3,27	4,10	4,45	3,21	3,99	4,15	3,81
dauceno	1378	0,69	0,57	0,95	1,15	1,17	1,16	0,94	-	0,89	-	0,63	0,57	0,69
β-cubebeno	1384	1,56	-	1,66	-	-	-	1,24	-	-	-	-	1,95	1,56
β-elemeno	1387	1,57	2,77	2,02	3,46	3,62	3,19	1,60	5,45	5,03	3,64	3,30	2,16	1,57
NI ¹	1397	0,44	0,49	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,44
β-cedreno	1412	3,15	2,57	4,08	3,67	3,35	3,68	2,66	4,31	4,51	3,76	3,22	4,24	3,15
β-copaeno	1422	2,05	1,78	2,52	2,27	2,14	2,30	1,69	2,75	2,99	2,55	2,30	2,79	2,05
aromadendreno	1432	0,92	0,85	1,01	0,86	1,09	0,98	0,98	1,06	1,33	-	1,48	-	0,92
trans-cadina-1(6),4-dieno	1438	0,84	0,71	1,14	0,93	0,89	0,96	0,69	1,19	1,25	-	0,90	1,23	0,84
γ-muroleno	1447	1,51	1,30	1,73	1,58	1,51	1,57	1,21	1,69	1,77	1,39	1,41	1,79	1,51
amorfa-4,7(11)-dieno	1455	1,08	0,99	1,25	1,15	1,27	1,19	1,10	1,51	1,51	0,99	1,25	1,51	1,08
germacreno-D	1479	12,51	9,30	14,19	13,56	12,87	13,58	9,75	16,41	17,34	14,82	12,49	16,11	12,51
cis-β-guaieno	1483	-	1,51	-	-	-	-	1,20	-	-	1,32	1,51	-	-
biciclogermacreno	1494	7,87	7,18	9,17	8,43	8,27	8,50	7,50	11,58	11,68	10,82	10,22	12,48	7,87
γ-cadineno	1507	1,45	1,47	1,76	1,61	1,68	1,61	1,58	1,53	1,46	1,11	1,36	1,36	1,45
δ-cadineno	1519	2,72	2,34	2,80	2,88	3,01	2,76	2,59	2,89	3,48	3,04	3,19	3,08	2,72
trans-cadina-1,4-dieno	1531	0,40	0,37	0,37	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,40
α-calacoreno	1536	0,59	0,66	0,44	0,52	0,64	0,56	0,81	-	-	-	-	-	0,59

IK: Índice de Kováts

NI: não identificado

NI¹: m/z-207 (M⁺), 202, 187, 173, 159 (100%), 145, 131, 117, 105, 96, 91, 81, 77, 69, 65, 55, 51, 41

Tabela 2. Componentes identificados por CG-EM do óleo volátil das folhas do indivíduo dois de *P. macrocarpa*, com suas respectivas concentrações durante março de 2006 a março de 2007 (continuação).

Composição química	IK	Concentração (%)												
		Mar/06	Abr/06	Mai/06	Jun/06	Jul/06	Ago/06	Set/06	Out/06	Nov/06	Dez/06	Jan/07	Fev/07	Mar/07
germacreno-B	1545	0,78	0,92	-	-	-	-	0,51	-	-	-	-	-	-
Ni ²	1553	0,74	0,66	0,70	0,78	0,62	0,77	0,81	-	-	-	-	-	0,49
Ni ³	1560	1,42	1,65	1,25	1,49	1,10	1,25	1,57	1,09	1,15	1,76	1,33	1,31	0,67
espatulenol	1580	14,49	19,70	11,00	15,67	17,24	15,38	16,60	10,96	8,34	12,69	14,94	10,24	11,39
globulol	1582	2,64	-	2,34	2,63	-	2,64	2,72	2,28	2,72	4,45	3,24	2,62	2,89
cubeban-11-ol	1587	1,68	2,07	1,78	2,03	1,66	2,12	2,16	1,56	1,86	2,91	1,99	1,87	1,99
Ni ⁴	1593	0,64	-	-	-	-	-	-	-	1,10	-	-	-	-
rosifolol	1596	1,19	1,32	1,15	1,23	1,03	1,29	1,27	1,01	-	1,86	1,45	1,23	-
β-atlantol	1604	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,31
junenol	1611	2,55	2,30	2,00	2,13	1,65	2,03	2,47	1,76	1,69	2,53	2,69	1,57	-
trans-isolongifolanona	1616	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1-epi-cubenol	1622	0,68	0,66	0,69	0,58	0,55	0,62	0,65	0,70	0,71	1,05	0,69	0,66	2,06
α-muurolol	1626	0,92	0,87	0,83	0,86	0,70	0,86	0,94	0,73	0,78	1,25	1,05	0,81	0,54
cubenol	1635	1,02	1,00	1,37	0,98	0,82	0,98	1,08	-	1,10	1,11	0,99	0,66	0,86
α-cadinol	1638	0,71	0,74	-	0,61	0,59	0,66	0,81	-	-	-	0,66	-	0,92
valerianol	1643	4,29	2,31	4,20	4,59	2,09	2,12	2,28	2,13	1,89	2,88	2,26	4,25	-
7-epi-α-eudesmol	1645	-	1,84	1,54	-	1,81	2,12	1,99	1,62	1,80	2,81	2,07	-	-
mustaona	1651	0,99	0,87	-	1,71	1,41	1,56	-	1,12	1,18	1,87	1,53	1,20	4,58

IK: índice de Kováts

NI: não identificado

Ni²: m/z-281 (M⁺), 220, 204, 189, 177, 161 (100%), 147, 133, 119, 109, 93, 82, 69, 55, 43.Ni³: m/z-220 (M⁺), 204, 189, 177, 161, 149, 133, 123 (100%), 119, 107, 96, 91, 81, 77, 67, 59, 55, 41.Ni⁴: m/z-226 (M⁺), 159, 99, 85, 220, 202, 187, 177, 169, 159, 154, 147, 141, 133, 105, 99, 91, 85, 79, 71, 65, 57 (100%), 51, 43.

Tabela 2. Componentes identificados por CG/MS do óleo volátil das folhas do indivíduo dois de *P. macrocarpa*, com suas respectivas concentrações durante março de 2006 a fevereiro de 2007 (continuação).

Composição química		IK	Concentração (%)												
			Mar/06	Abr/06	Mai/06	Jun/06	Jul/06	Ago/06	Set/06	Out/06	Nov/06	Dez/06	Jan/07	Fev/07	Mar/07
	Ni ⁵	1657	0,79	0,99	0,59	0,71	0,80	0,77	0,92	0,61	-	-	0,70	-	2,97
	Ni ⁶	1660	0,76	0,57	0,89	0,80	0,55	0,63	0,76	0,68	0,68	-	0,67	0,78	0,45
	eudesm-4(15),7-dien-1-β-ol	1664	1,10	1,43	0,96	1,39	1,35	1,33	1,25	0,82	-	1,07	0,77	0,84	0,87
	germacrona	1669	0,92	-	0,74	0,88	1,10	0,87	-	0,85	-	-	0,74	0,69	0,85
	ciperotundona	1673	1,77	2,94	1,47	1,45	1,33	1,53	3,25	1,54	1,26	2,01	1,75	0,90	0,54
	amorfa-4,9-dien-2-ol	1679	0,66	0,67	0,62	0,69	0,53	0,53	0,68	-	-	-	-	-	1,21
	amorfa-4-9-dien-14-al	1684	0,42	0,46	0,38	-	0,52	0,53	0,55	-	-	-	-	-	0,43
	nootcatol	1694	0,69	-	0,47	0,50	-	0,55	-	-	-	-	-	-	-
	Ni ⁷	1730	0,44	0,56	0,40	-	0,49	-	0,65	-	-	-	-	-	-
	Ni ⁸	1756	0,47	0,63	0,59	0,60	0,73	0,60	0,75	-	-	-	-	-	-
	Ni ⁹	1764	0,60	0,54	0,45	-	0,52	-	0,77	-	-	-	-	-	-
	Ni ¹⁰	1771	0,40	0,40	0,37	-	0,42	-	0,58	-	-	-	-	-	-
	Hydrocarbonetos sesquiterpênicos		50,72	45,31	57,67	53,56	53,42	53,62	45,69	65,2	68,32	54,3	56,16	65,07	61,16
	Sesquiterpenos oxigenados		40,52	42,7	34,50	40,94	36,78	40,71	43,53	29,7	25,88	42,82	40,15	29,92	31,91
	Outros		1,62	0,88	-	0,65	-	0,59	2,11	0,65	1,45	1,07	0,96	0,93	-
	Não identificados		6,70	6,49	5,24	4,38	5,23	4,02	6,81	2,38	2,93	1,76	2,70	2,09	4,58
	Total		99,56	95,38	97,41	99,53	95,43	98,94	98,14	97,93	98,58	99,95	99,97	98,01	97,65

IK: índice de Kováts

NI: não identificado

NI⁵: m/z-236 (M⁺), 220, 202, 187, 177 (100%), 159, 145, 138, 133, 123, 117, 105, 91, 81, 67, 55, 41.NI⁶: m/z-220 (M⁺), 206, 163 (100%), 145, 136, 121, 105, 93, 79, 67, 55, 41.NI⁷: m/z-236 (M⁺), 218, 203, 189, 175 (100%), 161, 147, 142, 133, 128, 123, 117, 112, 105, 97, 91, 79, 67, 55, 41.NI⁸: m/z-248 (M⁺), 220, 202, 189, 177, 159, 147, 133, 128, 119, 105, 91 (100%), 79, 67, 55, 41.NI⁹: m/z-247 (M⁺), 234, 220, 205, 193, 187, 177, 165, 159, 150 (100%), 145, 135, 129, 123, 117, 112, 107, 96, 91, 81, 67, 55, 41.NI¹⁰: m/z-281 (M⁺), 218, 203, 190, 185, 179, 173, 164, 157, 147, 142, 133, 128, 117, 105, 91 (100%), 79, 67, 55, 41.

Tabela 3. Componentes identificados por CG-EM do óleo volátil das folhas do indivíduo três de *P. macrocarpa*, com suas respectivas concentrações durante março de 2006 a março de 2007.

Composição química		IK	Concentração (%)												
			Mar/06	Abr/06	Mai/06	Jun/06	Jul/06	Ago/06	Set/06	Out/06	Nov/06	Dez/06	Jan/07	Fev/07	Mar/07
2-pentil furano		990	0,83	-	-	0,64	0,71	-	0,97	-	2,29	1,42	1,28	1,70	0,87
n-nonanal		1101	0,68	-	-	-	-	-	0,56	-	0,74	-	-	-	-
2-Z-nonen-1-al		1159	0,69	0,66	-	0,82	0,96	0,77	0,85	-	0,75	-	-	-	-
δ-elemeno		1322	0,68	0,95	0,87	0,93	0,74	0,91	0,79	-	0,99	0,97	0,94	1,00	1,08
bicicloelemeno		1335	5,35	7,14	6,82	6,22	5,29	7,12	6,00	5,69	7,49	8,11	7,20	7,63	8,13
α-cubebeno		1349	1,11	1,12	1,16	1,02	1,37	0,99	1,15	1,43	1,18	0,97	1,06	1,27	1,22
α-copaeno		1371	3,47	3,92	4,08	3,45	4,58	3,28	3,71	5,11	3,79	3,84	3,80	4,55	4,38
dauceno		1378	0,99	-	1,19	1,06	1,28	1,15	1,52	2,11	1,50	-	0,67	-	0,72
β-cubebeno		1384	1,26	1,57	1,73	1,69	1,62	1,36	1,49	1,59	1,44	1,56	-	-	2,04
β-elemeno		1387	1,84	1,6	2,26	2,00	2,04	2,05	1,93	2,63	3,29	2,42	3,87	3,88	2,04
Ni ¹		1397	0,56	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
β-cedreno		1412	3,49	3,72	3,90	3,75	3,72	4,79	4,04	3,37	4,46	3,72	3,97	4,13	4,33
β-copaeno		1422	2,41	2,43	2,48	2,31	2,43	2,91	2,57	2,1	2,84	2,62	2,61	2,77	2,60
aromadendreno		1432	0,97	0,92	1,02	0,93	1,21	0,8	1,02	1,29	1,10	1,05	1,14	1,29	1,15
trans-cadina-1(6),4-dieno		1438	0,88	0,89	1,00	0,96	1,00	1,21	1,06	-	1,10	-	1,05	1,11	1,09
γ-muroleno		1447	1,49	1,49	1,39	1,68	1,67	1,87	1,54	1,16	1,53	1,25	1,59	1,75	1,50
amorfa-4,7(11)-dieno		1455	-	0,71	0,74	1,25	1,35	-	0,70	1,04	0,86	-	1,24	1,28	0,84
germacreno-D		1479	12,74	13,86	14,02	12,55	12,85	16,86	14,14	12,29	15,95	14,20	15,50	16,42	15,23
cis-β-guaieno		1483	1,62	1,38	1,37	1,09	1,20	0,92	1,21	1,56	1,42	1,69	-	-	0,97
biciclogermacreno		1494	8,05	9,82	9,86	8,65	7,99	10,01	8,73	8,23	10,73	10,93	10,43	10,9	11,25
γ-cadineno		1507	1,52	1,51	1,86	1,72	1,75	1,68	1,71	1,86	1,35	1,36	1,52	1,38	1,58
δ-cadineno		1519	3,13	2,75	2,84	2,79	3,30	3,01	3,21	3,41	3,43	3,01	3,56	3,42	3,05
trans-cadina-1,4-dieno		1531	-	-	-	0,43	-	-	-	-	-	-	-	-	-
α-calacoreno		1536	0,83	-	0,70	0,64	0,68	-	0,67	-	-	-	-	-	-

IK: Índice de Kováts

NI: não identificado

NI¹: m/z-207 (M⁺), 202, 187, 173, 159 (100%), 145, 131, 117, 105, 96, 91, 81, 77, 69, 65, 55, 51, 41.

Tabela 3. Componentes identificados por CG-EM do óleo volátil das folhas do indivíduo três de *P. macrocarpa*, com suas respectivas concentrações durante março de 2006 a março de 2007 (continuação).

Composição química	IK	Concentração (%)												
		Mar/06	Abr/06	Mai/06	Jun/06	Jul/06	Ago/06	Set/06	Out/06	Nov/06	Dez/06	Jan/07	Fev/07	Mar/07
germacreno-B	1545	0,62	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1553	-	-	-	0,83	0,70	-	-	-	-	-	-	-	-
	1560	1,39	1,36	1,25	1,35	1,30	1,27	1,30	1,38	1,32	1,24	1,36	1,42	0,99
espatulenol	1580	15,34	17,54	16,61	15,5	15,62	15,15	14,43	20,22	10,92	15,55	12,36	11,46	13,31
	1582	2,55	2,73	2,47	2,64	2,49	2,93	2,56	2,89	3,04	3,71	3,02	2,86	2,58
cubeban-11-ol	1587	2,00	1,82	1,13	1,78	1,86	1,55	1,98	1,64	2,15	1,67	2,22	1,94	1,64
	1593	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
rosifolol	1596	0,92	1,34	1,21	1,34	1,16	1,46	1,29	1,23	1,21	1,54	1,37	1,23	1,18
guaíol	1601	0,91	-	-	0,58	-	-	0,63	-	-	0,98	-	-	0,72
β-atlantol	1604	0,84	0,78	0,78	0,63	0,52	-	0,58	-	-	1,19	2,37	1,74	0,84
isolongifolan-7-α-ol	1606	0,81	-	0,69	0,69	0,79	0,73	0,74	-	-	-	-	-	0,68
junenol	1611	0,78	0,65	-	0,62	0,64	-	0,67	-	0,69	-	0,81	0,75	-
trans-isolongifolanona	1616	0,98	0,89	0,9	0,88	0,74	0,92	0,88	0,97	0,70	1,15	0,98	0,85	0,84
1-epi-cubenol	1622	1,21	0,94	0,95	0,95	0,94	1,07	1,09	1,09	0,71	1,03	1,00	0,82	0,88
α-muurolol	1626	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
cubenol	1635	1,79	2,28	2,12	2,46	1,92	1,88	1,75	2,85	1,54	2,72	-	2,23	2,16
α-cadinol	1638	2,05	2,20	2,12	2,11	2,04	2,82	2,29	2,35	2,02	2,45	4,19	1,99	2,13
valerianol	1643	1,01	0,92	1,01	0,96	0,84	1,16	0,97	1,19	0,77	1,22	1,54	1,27	0,98
7-epi-α-eudesmol	1645	0,75	0,67	-	0,68	0,55	-	0,59	-	-	-	-	-	-
mustacona	1651	2,64	2,93	2,47	2,83	2,62	3,86	2,99	2,71	2,79	3,18	3,41	2,51	2,99
álcool-α-amil cinamila	1652	0,72	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

IK: índice de Kováts

NI: não identificado

Ni²: m/z-281 (M⁺), 220, 204, 189, 177, 161 (100%), 147, 133, 119, 109, 93, 82, 69, 55, 43.Ni³: m/z-220 (M⁺), 204, 189, 177, 161, 149, 133, 123 (100%), 119, 107, 96, 91, 81, 77, 67, 59, 55, 41.Ni⁴: m/z-226 (M⁺), 159, 99, 85, 220, 202, 187, 177, 169, 159, 154, 147, 141, 133, 105, 99, 91, 85, 79, 71, 65, 57 (100%), 51, 43.

Tabela 3. Componentes identificados por CG-EM do óleo volátil das folhas do indivíduo três de *P. macrocarpa*, com suas respectivas concentrações durante março de 2006 a março de 2007 (continuação).

Composição química	IK	Concentração (%)												
		Mar/06	Abr/06	Mai/06	Jun/06	Jul/06	Ago/06	Set/06	Out/06	Nov/06	Dez/06	Jan/07	Fev/07	Mar/07
	NI ⁵	0,84	0,85	0,83	0,71	0,75	-	0,63	-	-	-	-	-	-
	NI ⁶	-	-	0,72	0,75	0,47	-	0,61	-	-	0,97	0,75	0,79	0,90
	eudesm-4(15),7-dien-1-β-ol	0,76	1,19	1,04	1,34	1,19	1,26	1,05	1,25	-	-	0,69	0,86	0,87
	germacrona	0,91	0,89	1,05	0,93	1,05	-	0,70	1,30	-	-	-	-	0,69
	ciperotundona	2,79	-	1,83	1,35	1,36	1,50	1,48	2,20	1,51	2,29	2,49	1,00	1,51
	amorfa-4,9-dien-2-ol	0,55	1,90	-	0,51	0,57	0,74	0,62	-	-	-	-	-	-
	amorfa-4-9-dien-14-al	-	-	-	0,47	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	nootcatol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	NI ⁷	0,69	-	-	-	0,50	-	-	-	-	-	-	-	-
	NI ⁸	-	-	-	0,53	0,57	-	-	-	-	-	-	-	-
	NI ⁹	-	-	1,45	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Hidrocarbonetos sesquiterpênicos	52,45	55,78	59,29	55,12	56,07	60,92	57,19	54,87	64,45	57,7	60,15	62,78	63,20
	Sesquiterpenos oxigenados	39,59	39,67	36,38	39,25	36,9	37,03	37,29	41,89	28,05	38,68	36,45	31,51	34,00
	Outros	2,92	0,66	-	1,46	1,67	0,77	2,38	-	3,78	1,42	1,28	1,70	0,87
	Não identificados	3,48	2,21	4,25	4,17	4,29	1,27	2,54	1,38	1,32	2,21	2,11	2,21	1,89
	Total	98,44	98,32	99,92	100,0	98,93	99,99	99,40	98,14	97,60	100,0	99,99	98,20	99,96

IK: índice de Kováts

NI: não identificado

NI⁵: m/z-236 (M⁺), 220, 202, 187, 177 (100%), 159, 145, 138, 133, 123, 117, 105, 91, 81, 67, 55, 41.NI⁶: m/z-220 (M⁺), 206, 163 (100%), 145, 136, 121, 105, 93, 79, 67, 55, 41.NI⁷: m/z-236 (M⁺), 218, 203, 189, 175 (100%), 161, 147, 142, 133, 128, 123, 117, 112, 105, 97, 91, 79, 67, 55, 41.NI⁸: m/z-248 (M⁺), 220, 202, 189, 177, 159, 147, 133, 128, 119, 105, 91 (100%), 79, 67, 55, 41.NI⁹: m/z-247 (M⁺), 234, 220, 205, 193, 187, 177, 165, 159, 150 (100%), 145, 135, 129, 123, 117, 112, 107, 96, 91, 81, 67, 55, 41.

5.1.2. Análise do efeito da sazonalidade no rendimento e na composição do óleo volátil

A produção de óleo volátil manteve-se praticamente constante durante todo o período analisado, não apresentando variação significativa ($p < 0,05$) (FIG. 6A). As pequenas variações observadas seguiram os padrões de variação nos dados meteorológicos: temperatura média, precipitação média e irradiação solar global média (dados obtidos com IAG-USP para o período) (FIG. 6B-D). Em períodos que apresentaram diminuição de temperatura, precipitação e irradiação solar global, houve ligeiro aumento na produção de óleo volátil nas folhas de *P. macrocarpa*.

A média mais alta do rendimento de óleo volátil (140 mg/100 g de folhas) obtido foi no mês de maio de 2006, período em que os indivíduos analisados estavam em estágio vegetativo. Apesar de não significativo, foi observado um pequeno aumento na produção de óleos essenciais nos períodos férteis que, nos indivíduos em estudo, ocorreu entre setembro e dezembro de 2006 para a floração e a frutificação em fevereiro de 2007. Este ligeiro aumento na produção de componentes voláteis poderia estar relacionado com a função desses compostos em atrair polinizadores e dispersores de sementes (DUDAREVA; PICHERSKY, 2006), aumentando sua produção nas flores e frutos, assim, podendo interferir também no teor de óleo volátil nas folhas e demais partes do vegetal. O papel desses compostos foi demonstrado em um estudo químico dos constituintes voláteis em flores de espécies de Annonaceae da região Amazônica, onde os monoterpenos foram identificados como compostos majoritários nas flores de *Duguetia asterotricha*

(Diels) R.E.Fr. e eram importantes na atração de coleópteros das ordens Nitidulidae e Staphylinidae (JÜGERNS; WEBBER; GOTTSBERGER, 2000), que funcionavam como polinizadores dessa espécie.

Nestes períodos férteis, os hidrocarbonetos sesquiterpênicos majoritários, germacreno-D e biciclogermacreno, tiveram um pequeno aumento em sua concentração. Por outro lado, para o espatulenol, um sesquiterpeno oxigenado, teve uma diminuição na sua concentração. Nos períodos onde a planta se encontra no estágio vegetativo, entre março e abril de 2006, houve uma diminuição do rendimento e uma inversão na concentração entre os componentes majoritários, isto é, um aumento do teor de espatulenol e diminuição de germacreno-D e biciclogermacreno (FIG. 7). Esses compostos resultam do mesmo precursor, *E,E*-farnesila, as diferentes ciclizações dependem da especificidade da enzima envolvida, do ataque eletrofílico e de rearranjos da dupla ligação. Subseqüentes transformações de um esqueleto básico envolvem oxidações, reduções e isomerizações para a formação dos inúmeros sesquiterpenos cíclicos. (McGarvey, 1995), indicando um processo de evolução do vegetal para atender suas necessidades ecofisiológicas.

Embora alguns componentes não tenham sido detectados pelos parâmetros de integração empregados, todas as substâncias estavam presentes durante todo o período de análise, como pode ser visto nos cromatogramas representativos das quatro estações desse estudo (FIG. 8), onde foi observada apenas variação na intensidade relativa entre os constituintes dos óleos voláteis.

Em *P. macrocarpa*, nos finais das estações de outono e inverno observou-se uma tendência no aumento da concentração de espatulenol. Por outro lado,

estudos anteriores com *Artemisia campestris* indicaram um único período para o aumento no rendimento de sesquiterpenos oxigenados que foi observado nos meses de verão. (AKROUT *et al.*, 2003).

O quarto constituinte majoritário, o bicicloelemeno, manteve seu teor constante durante todo o período de estudo, não variando em função de época do ano e nem nos períodos férteis.

Figura 6. Comparação do rendimento médio de óleo volátil (mg/100 g de folhas) entre os três indivíduos de *P. macrocarpa* (A), em relação às temperaturas máximas e mínimas (B), precipitação mensal (C) e irradiação solar global (D) no período de março de 2006 a março de 2007.

Figura 7. Variação da concentração média (%) entre os três indivíduos dos quatro constituintes químicos majoritários do óleo volátil extraído das folhas de *P. macrocarpa* no período de março de 2006 a março de 2007.

Figura 8. Exemplos representativos da composição química dos óleos voláteis de folhas do indivíduo um de *P. macrocarpa* nas quatro estações do ano através de seus cromatogramas a gás com detecção por ionização de chama.

5.2. *Rollinia sericea* (R.E.Fr.) R.E.Fr.

5.2.1. Composição do óleo volátil

No óleo volátil das folhas de *R. sericea*, coletadas em março de 2006 a março de 2007, foram detectados 32 substâncias (TAB. 4). Dentre todos esses compostos, apenas dois hidrocarbonetos monoterpênicos, α -felandreno e *p*-cimeno, foram detectados no óleo volátil que juntos eram responsáveis por menos de 5% do total dos componentes. No mês de setembro de 2006, a concentração desses monoterpênicos foi inferior aos parâmetros utilizados para a integração do CG-DIC, embora sua presença pudesse ser observada no cromatograma. Os demais compostos tratavam-se de hidrocarbonetos sesquiterpênicos (71%) e sesquiterpenos oxigenados (31%). Dentre os compostos majoritários, cinco eram hidrocarbonetos, bicicloelemeno (**1**) (7%), biciclogermacreno (**2**) (10%), germacreno-D (**3**) (10%), β -cariofileno (**5**) (11%), e β -elemeno (**6**) (12%), e apenas dois eram oxigenados, α -muurolol (**7**) (5%) e *Z*-nerolidol (**8**) (6%).

Esses compostos majoritários resultam dos processos de ciclização a partir do cátion *Z,E* e *E,E*-farnesila (FIG. 5) indicando que no caso da *R. sericea*, as sesquiterpeno-ciclases atuaram sem especificidade na biossíntese dos constituintes do óleo volátil, ao contrário do que foi verificado na *P. macrocarpa* (DEWICK, 1997).

Pino (2000) identificou três componentes majoritários no óleo volátil dos frutos de *R. mucosa* (Jacq.) Baill, α -pineno, β -pineno e β -cariofileno. Estes componentes não foram detectados nas folhas de *R. sericea*, porém em algumas espécies de *Annona* (*A. ambotay*, *A. muricata* e *A. squamosa*) os sesquiterpenos β -elemeno, *E*-nerolidol e bicicloelemeno são encontrados como os compostos majoritários. Por outro lado, germacreno-D e biciclogermacreno são muito comuns para vários gêneros de Annonaceae, como *Annona*, *Artabotrys*, *Cananga*, *Uvaria* e *Xylopia* (FOURNIER; LEBOEUF; CAVÉ, 1999). Estes dois constituintes também foram detectados em elevada concentração em *P. macrocarpa*, sugerindo a prevalência da mesma rota biossintética dos sesquiterpenos para ambos os gêneros estudados neste trabalho.

Em Annonaceae, o espatulenol foi considerado como marcador dos gêneros *Annona*, *Uvaria*, *Xylopia*, *Guatteria*, *Duguetia* (LIMA *et al.*, 2003, 2004; MAIA *et al.*, 2005). Esse sesquiterpeno oxigenado também foi detectado no óleo volátil das folhas de *R. sericea*, contudo contribuindo com apenas 3,9% do total de componentes, em concentração muito abaixo daquela encontrada em *P. macrocarpa*, (15%).

Tabela 4. Componentes identificados por CG-EM do óleo volátil das folhas de *R. sericea*, com suas respectivas concentrações durante março de 2006 a março de 2007.

Composição química		IK	Concentração (%)												
			Mar/06	Abr/06	Mai/06	Jun/06	Jul/06	Ago/06	Set/06	Out/06	Nov/06	Dez/06	Jan/07	Fev/07	Mar/07
α-felandreno	1004	2,61	1,5	1,54	3,64	4,12	2,43	-	3,46	0,89	1,41	3,46	3,72	2,61	
	1022	1,95	1,43	1,4	2,19	3,76	1,74	-	2,28	-	1,4	4,22	2,62	1,95	
	1322	1,12	0,89	0,88	-	-	0,93	-	-	-	3,3	-	0,84	1,12	
	1335	8,21	6,58	5,99	7,59	6,39	6,88	8,68	7,11	7,85	5,58	6,74	6,32	8,21	
	1346	2,08	1,79	1,44	1,16	1,16	1,39	1,32	-	1,67	-	1,73	1,37	2,08	
	1370	1,76	1,54	1,26	-	0,95	1,1	-	-	1,41	-	1,38	1,14	1,76	
	1379	2,46	2,07	1,98	1,68	1,06	2,2	2,29	-	1,47	-	1,54	1,54	2,46	
	1391	13,59	10,56	9,8	14,86	10,43	11,42	15,73	14,37	14,25	9,23	10,9	10,3	13,59	
	1403	-	0,85	0,72	-	-	-	-	-	-	-	-	0,58	-	
	1418	12,78	10,92	9,55	12,54	9,43	10,58	15,5	11,79	17,03	8,93	11,09	9,83	12,78	
	1424	2,29	1,87	1,72	1,25	1,55	1,76	1,54	1,19	1,43	2,62	1,53	1,55	2,29	
	1433	-	0,86	0,74	-	-	-	-	-	-	-	-	0,58	-	
	1438	-	-	0,66	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,6	-
	α-humuleno	1449	4,09	3,44	3,33	3,41	3,14	3,49	3,91	3,21	4,07	-	3,54	3,3	4,09
	a/o-aromadreno	1455	2,27	2,04	1,79	1,65	1,32	1,46	1,82	1,49	2,01	1,88	1,46	1,7	2,27
	germacreno-D	1479	12,64	9,53	8,04	10,02	8,02	9	12,49	9,84	11,78	8,29	8,94	10,16	12,64
	β-selineno	1482	1,49	1,77	1,58	1,15	1,5	1,44	1,29	-	1,42	4,2	1,56	1,49	1,49
	biciclogermacreno	1494	11,59	9,97	8,97	10,79	9,52	9,95	12,42	10,48	11,67	13,01	10,01	9,14	11,59
γ-cadineno	1509	1,28	1,23	1,18	-	1,08	1,28	2,24	-	-	1,02	1,05	1,04	1,28	
δ-cadineno	1519	2,9	3	2,76	2,11	2,59	2,65	-	2,12	2,39	2,26	2,72	2,48	2,9	
nerolidol-Z	1567	5,42	4,02	5,19	9,34	5,66	4,72	6,87	9,62	5,33	8,23	4,85	5,94	5,42	
espatulenol	1574	1,94	3,4	3,72	3,41	4,31	3,54	3,13	4,11	3,21	1,86	4,08	3,68	1,94	
viridiflorol	1581	2,27	4,07	4,07	3,22	5,2	4,2	2,92	4,36	3,09	1,73	4,9	3,61	2,27	
cubeban-11-ol	1589	1,37	2,38	2,74	1,97	3,1	2,73	1,86	2,63	1,87	2,93	2,45	2,27	1,37	
IK: índice de Kováts															

IK: índice de Kováts

Tabela 4. Componentes identificados por CG-EM do óleo volátil das folhas de *R. sericea*, com suas respectivas concentrações durante março de 2006 a março de 2007 (continuação).

Composição química	IK	Concentração (%)											
		Mar/06	Abr/06	Mai/06	Jun/06	Jul/06	Ago/06	Sep/06	Out/06	Nov/06	Dez/06	Jan/07	Fev/07
rosifoliol	1596	-	1,27	1,52	1,22	1,76	1,53	-	1,51	1,02	1,53	1,34	1,54
1,10-di- <i>epi</i> -cubenol	1609	-	0,88	1,02	-	1,13	0,98	-	-	-	0,92	0,91	0,83
1- <i>epi</i> -cubenol	1615	-	0,78	0,8	-	1	-	-	-	-	-	-	0,69
<i>epi</i> - α -cadinol	1622	-	-	0,76	-	-	-	-	-	-	-	-	0,95
hinesol	1635	1,59	2,43	3,47	2,29	3,13	2,83	-	-	-	-	2,44	3,22
<i>epi</i> - α -muurolol	1642	2,28	0,88	1	-	1,12	0,99	2,05	3,57	2,34	3,58	0,91	0,89
α -muurolol	1652	-	5,14	5,3	4,5	6,31	5,51	3,93	6,85	3,79	6,61	5,35	4,44
eudesm-7(11)-em-4-ol	1666	-	0,81	0,76	-	-	-	-	-	-	-	-	0,96
Hidrocarbonetos monoterpênicos	4,56	2,93	2,93	2,94	5,83	7,88	4,17	0	5,74	0,89	2,81	7,68	6,34
Hidrocarbonetos sesquiterpênicos	80,55	68,91	68,91	62,39	68,21	58,14	65,53	79,23	61,6	78,45	60,32	64,19	62,47
Sesquiterpênicos oxigenados	14,87	26,06	26,06	30,35	25,95	32,72	27,03	20,76	32,65	20,65	27,39	27,23	29,02
Total	99,98	97,9	97,9	95,68	99,99	98,74	96,73	99,99	99,99	99,99	90,52	99,1	97,83

IK: índice de Kováts

5.2.2. Análise do efeito da sazonalidade no teor e na composição do óleo volátil

O rendimento médio em óleo volátil para o período de março de 2006 a março de 2007 (FIG. 9A) apresentou uma variação entre os meses. Observa-se um pequeno aumento do rendimento no período fértil que, no indivíduo em estudo, ocorreu entre agosto e novembro de 2006 para a floração. Não foi observada a formação de frutos durante esse período, o que pode explicar a diminuição do rendimento a partir de dezembro e nos meses seguintes.

As variações observadas nos dados meteorológicos influenciaram no rendimento de óleos voláteis nas folhas de *R. sericea*. Nos meses mais quentes, aumento de precipitação e irradiação solar, há uma tendência a diminuição na produção de óleos voláteis no indivíduo analisado.

A análise da variação da composição química foi focalizada nos sete compostos majoritários caracterizados no óleo volátil de *R. sericea* (TAB. 4). No período analisado, foi observada ausência de α -muurolol no mês de março de 2006 (FIG. 10), períodos em que deveria ocorrer a frutificação. Contudo, em julho, mês que antecede a floração, foi observado o mais baixo rendimento de óleo volátil e houve um aumento na concentração de α -muurolol, enquanto que os demais componentes majoritários tiveram ligeira diminuição na sua concentração (FIG. 10). Observa-se que a diminuição de germacreno D e biciclogermacreno ocorre simultaneamente, podendo estar relacionado à sua origem biossintética, desviando a rota para formação de sesquiterpenos oxigenados. Semelhante ao que ocorreu

com a *P. macrocarpa*, em períodos férteis houve diminuição de sesquiterpenos oxigenados e aumento de hidrocarbonetos sesquiterpênicos.

Cabe ressaltar que, como no caso anterior, embora alguns componentes não sejam detectados pelos parâmetros de integração empregados, todas as substâncias estavam presentes durante todo o período de análise, como pode ser visto nos cromatogramas representativos das quatro estações desse estudo (FIG.11), onde foi observada apenas variação na intensidade relativa entre os constituintes dos óleos voláteis.

Figura 9. Comparação do rendimento médio de óleo volátil (mg/100 g de folhas) de *R. sericea* (A), em relação às temperaturas máximas e mínimas (B), precipitação mensal (C) e irradiação solar global (D) no período de março de 2006 a março de 2007.

Figura 10: Variação da concentração (%) dos constituintes majoritários do óleo volátil extraído das folhas de *R. sericea* dos meses de março de 2006 a março de 2007.

5.3. Testes antimicrobianos

Para realização dos testes antimicrobianos em microplacas, foram utilizadas misturas dos óleos voláteis de acordo com as estações anuais entre março de 2006 a março de 2007. Esse procedimento foi adotado para obter a quantidade necessária de amostra para a realização do teste. No caso de *P. macrocarpa* foram utilizados apenas os óleos voláteis do indivíduo um.

Todas as amostras, tanto de *P. macrocarpa* como *R. sericea* foram capazes de inibir em aproximadamente 90% o crescimento da bactéria Gram-positiva, *S. aureus* (TAB. 5). Com relação às bactérias Gram-negativas, os óleos de *R. sericea* apresentaram baixa atividade contra *P. aeruginosa*, apenas cerca de 20% de inibição de crescimento durante todo o período analisado. Os óleos voláteis de *P. macrocarpa* apresentaram maior atividade, atingindo até 65% de inibição no outono, período em que a concentração média dos hidrocarbonetos sesquiterpênicos contribuiu com 60% da composição total do óleo, enquanto que os sesquiterpenos oxigenados contribuíram apenas com 33%. O aumento na razão de hidrocarbonetos sesquiterpênicos pode ter contribuído na ação antibacteriana frente aos organismos Gram-negativos uma vez que em *R. sericea* essa classe sempre apresentou baixa concentração em todo o período analisado. Com relação à *E. coli*, as amostras *R. sericea* não apresentaram atividade inibitória enquanto as de *P. macrocarpa* apresentaram atividade abaixo de 20%. Normalmente, a atividade antibacteriana de óleos voláteis é atribuída a presença compostos fenólicos, o que não ocorre nos óleos de *P. macrocarpa* e *R. sericea*. A resistência dos organismos Gram-negativos à ação dos óleos voláteis é devida à membrana de lipolissacarídeos

que restringe a difusão de compostos hidrofóbicos (BURT, 2004; DORMAN; DEANS, 2000; DUARTE *et al.*, 2007).

Os testes antifúngicos realizados pela técnica da bioautografia foram realizados com todas as amostras coletadas do indivíduo um de *P. macrocarpa* e *R. sericea* durante o período de desenvolvimento deste trabalho, em “spot” único. A atividade antifúngica de *P. macrocarpa* apresentou-se fraca contra *C. sphaerospermum* e *C. cladosporioides* (FIG. 12) em todo o período analisado. A pequena variação observada na concentração dos constituintes majoritários, durante o período analisado, não interferiu na atividade contra estes fungos filamentosos fitopatogênicos (TAB. 6). Por outro lado, os óleos de *R. sericea* não apresentaram atividade fungitóxica. Este resultado pode estar relacionado com a mudança na concentração relativa de seus constituintes, diminuição de sesquiterpenos oxigenados (25%) e aumento de hidrocarbonetos sesquiterpênicos (73%), pois nestas classes não são encontrados os compostos com maior atividade antifúngica (BURT, 2004). Os hidrocarbonetos monoterpênicos e sesquiterpênicos são pouco tóxicos e muitas vezes acabam estimulando a atividade microbiana quando comparados com os compostos oxigenados (WALLACE, 2004). Tem-se estabelecido que cerca de 60% dos óleos voláteis possuem propriedades antifúngicas e 35%, propriedades antibacterianas (BHAVANANI; BALLOW, 1992). Quanto aos fungos patogênicos testados, *A. niger* e *C. albicans*, os óleos de *P. macrocarpa* apresentaram melhor atividade antifúngica, variando entre 85 a 90% de inibição durante todo o período. A atividade antifúngica observada pode estar relacionada à presença de biciclogermacreno, o hidrocarboneto sesquiterpênico majoritário, o qual isoladamente apresentou forte atividade inibitória do crescimento de *C. sphaerospermum* (SILVA *et al.*, 2007). Os óleos voláteis de *R. sericea*

apresentaram uma atividade antifúngica mais baixa que os de *P. macrocarpa*, com as menores atividades observadas na primavera, com 50% e 38% de inibição para *A. niger* e *C. albicans*.

Os óleos voláteis de *R. sericea* e *P. macrocarpa* não apresentaram potencial para o desenvolvimento de novos agentes antimicrobianos devido à baixa atividade inibitória obtida apesar de alta concentração empregada no ensaio. Normalmente em programas de triagens na busca de novos agentes antimicrobianos a dose de corte é 100 µg/mL para inibição total do crescimento (DEVienne; RADDI, 2002; DORMAN; DEANS, 2000).

Tabela 5. Resultados dos testes antimicrobianos em % de inibição de crescimento realizados com óleos voláteis de *P. macrocarpa* e *R. sericea* de acordo com as estações anuais.

<i>Microorganismos</i>	% de inibição de crescimento							
	<i>P. macrocarpa</i>				<i>R. sericea</i>			
	<i>Primavera</i>	<i>Verão</i>	<i>Outono</i>	<i>Inverno</i>	<i>Primavera</i>	<i>Verão</i>	<i>Outono</i>	<i>Inverno</i>
<i>S.aureus</i>	80	71	88	83	100	98	80	88
<i>E.coli</i>	5	10	15	17	0	0	0	0
<i>P. aeruginosa</i>	20	40	65	41	21	18	15	18
<i>C. albicans</i>	86	90	91	87	38	73	58	64
<i>A. niger</i>	85	92	91	91	51	72	60	54

Figura12. Atividade fungitóxica do óleo volátil de *P. macrocarpa*. Amostras (100 µg) aplicadas em placa de sílica e reveladas frente a *C. sphaerospermum* e *C. cladosporioides*, respectivamente, com o método da autobiografia. *Legenda:* 1. março/06, 2. abril/06, 3. maio/06, 4. junho/06, 5. julho/06, 6. agosto/06, 7. setembro/06, 8. outubro/06, 9. novembro/06, 10. dezembro/06, 11. janeiro/07, 12. fevereiro/07, 13. março/07, N. nistatina.

Tabela 6. Resultados da atividade fungitóxica obtidas do óleo volátil (100µg/mL) de *P. macrocarpa* (indivíduo um) e *R. sericea* no período de março de 2006 a março de 2007.

Amostras	Potencial de inibição			
	<i>C. cladosporioides</i>		<i>C. sphaerospermum</i>	
	<i>P. macrocarpa</i>	<i>R. sericea.</i>	<i>P. macrocarpa</i>	<i>R. sericea.</i>
março/06	*	i	*	i
abril/06	*	i	*	i
maio/06	*	i	*	i
junho/06	*	i	*	i
julho/06	*	i	*	i
agosto/06	*	i	*	i
setembro/06	*	i	*	i
outubro/06	*	i	*	i
novembro/06	*	i	*	i
dezembro/06	*	i	*	i
janeiro/07	*	i	*	i
fevereiro/07	*	i	*	i
março/07	*	i	*	i
nistatina (1µg/mL)	**	**	**	**

Atividade fraca = *

Atividade forte = **

i = inativo

5.4. Atividade inibidora de acetilcolinesterase

A inibição da enzima acetilcolinesterase tem sido realizada para o tratamento de glaucoma e outras indicações oftalmológicas, na facilitação da motilidade gastrointestinal e vesical, aplicação na miastenia grave e, outra aplicação emergente, na doença de Alzheimer, sendo o único tratamento disponível com eficácia clinicamente significativa (TAYLOR, 1996).

A doença de Alzheimer é “definida como o envelhecimento prematuro do cérebro, geralmente começando em meados da vida adulta e progredindo rapidamente para a perda extrema das capacidades mentais” (GUYTON; HALL, 1996).

Pesquisas realizadas com plantas buscam tratamentos alternativos com menos efeitos colaterais e mais acessíveis à população, já que o custo do tratamento com medicamentos disponíveis no mercado é altamente elevado para a renda média da população brasileira. (TREVISAN; MACEDO, 2003).

A busca por novos fármacos para o tratamento dessa doença com menos efeitos colaterais como a galantamina, por exemplo, um alcalóide extraído de espécies de Amaryllidaceae (BORES *et al.*, 1996) demonstra a importância das pesquisas com outros metabólitos secundários com atividade anticolinesterase. Recentemente, hidrocarbonetos monoterpênicos bicíclicos e com a presença de um grupo metila alílico mostraram forte atividade anticolinesterase, enquanto que os mesmos compostos com grupos funcionais oxigenados tiveram sua atividade inibitória diminuída (MIYAZAWA; YAMAFUJI, 2005).

Os óleos voláteis de *P. macrocarpa* e *R. sericea* foram testados para determinar sua atividade inibitória da enzima acetilcolinesterase e apresentaram uma inibição menor que 25% da atividade dessa enzima (TAB. 7). Os resultados obtidos podem ser explicados pela ausência de hidrocarbonetos monoterpênicos bicíclicos (MIYAZAWA; YAMAFUJI, 2005). Alguns fatores como a lipofilicidade e a massa molecular influenciam no processo de inibição da acetilcolinesterase, seja por inibição competitiva ou não-competitiva (PERRY *et al.*, 2000; 2003). O sinergismo e/ou antagonismo entre os constituintes de óleo volátil influencia na atividade inibitória da acetilcolinesterase, como foi verificado no trabalho com *Salvia lavandulaefolia* Vahl., no qual a presença de diferentes concentrações de monoterpênos oxigenados, como alta concentração de 1,8-cineol e baixa de cânfora melhoram a atividade (SAVELEV; OKELLO; PERRY, 2003).

Assim, as amostras de *P. macrocarpa* e *R. sericea*, não apresentaram potencial para o desenvolvimento de novos fármacos para o tratamento da doença de Alzheimer devido à baixa atividade inibitória obtida na concentração empregada no ensaio (TREVISAN; MACEDO, 2003).

Tabela 7: Resultado da atividade anticolinesterase dos óleos voláteis (200 µg/mL) extraídos das folhas de *P. macrocarpa* (indivíduo um) e *R. sericea* no período de março de 2006 a março de 2007.

Amostras	% de inibição	
	<i>P. macrocarpa</i>	<i>R. sericea.</i>
março/06	25	12
abril/06	21	6
maio/06	17	9
junho/06	22	12
julho/06	11	9
agosto/06	19	13
setembro/06	23	11
outubro/06	13	16
novembro/06	25	13
dezembro/06	14	18
janeiro/07	13	14
fevereiro/07	18	14
março/07	23	20
galantamina (1 µg/mL)	70	70

CONSIDERAÇÕES FINAIS

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo indica que não há variação qualitativa e pequena variação quantitativa relativa entre os indivíduos, sem aparecimento de novos compostos entre os indivíduos da mesma espécie para *P. macrocarpa*.

A pequena variação do rendimento da produção de óleo volátil acompanhou os períodos de floração e frutificação do vegetal, sendo verificado o aumento não significativo nesses períodos.

Não se verificou variação de rendimento em função da temperatura, precipitação pluviométrica e irradiação solar global.

Entre os componentes majoritários identificados das espécies estudadas, não foi observada a presença de monoterpenos. Ambas as espécies apresentaram como componentes majoritários sesquiterpenos.

Nenhum destes óleos voláteis tem potencial para desenvolvimento de novos fármacos antimicrobianos e anticolinesterase, porém podem servir como potencializadores destas ações farmacológicas quando associados a outros óleos e/ou outros medicamentos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAM, K.; ZAPP, J. Biosynthesis of the isoprene units of chamomile sesquiterpenes. *Phytochemistry*, v.48, n.6, p.953-959, 1998.

ADAMS, R.P. *Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry*. 4.ed. Carol Stream: Allured Publishing, 2007. 804p.

AHARONI, A.; JONGSMA, M.A.; KIM, T.Y.; RI, M.B.; GIRI, A.P.; VERSTAPPEN, F.W.A.; SCHWAB, W.; BOUWMEEESTER, H.J. Metabolic engineering of terpenoid biosynthesis in plants. *Phytochemistry Reviews*, v.5, n.1, p.49-58, 2006.

AKROUT, A.A.; CHEMLI, R.; SIMMONDS, M.; KITE, G.; HAMMAMI, M.; CHREIF, I. Seasonal variation of the essential oil of *Artemisia campestris* L. *Journal of Essential Oil Research*, v.15, p.333-336, 2003.

APEL, M.A. *Óleos voláteis de espécies da subtribo Eugeniinae (Myrtaceae): composição química e atividades antimicrobiana e antiinflamatória*. Porto Alegre, 2001. 256p. Tese de Doutorado – Faculdade de Farmácia – Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

BARNES, J.N.; SCHANEBERG, B.T.; SNEDEN, A.T. Bistetrahydrofuranoid acetogenins from *Rollinia sericea*. *Planta Medica*, v.61, n.5, p.486-487, 1995.

BARROSO, G.M. *Sistemática de angiospermas do Brasil*. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1984. v.2, p.78.

BELL, A.; CHARLWOOD, B.V. *Secondary plant products*. New York: Springer-Verlag, 1980. *apud* APEL, M.A. *Óleos voláteis de espécie da subtribo Eugeniinae (Myrtaceae): composição química e atividade antimicrobiana e antiinflamatória*. Porto Alegre, 2001. 256p. Tese de Doutorado - Faculdade de Farmácia - Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

BETANCUR-GALVIS, L.A.; SAEZ, J.; GRANADOS, H.; SALAZAR, A.; OSSA, J.E. Antitumor and antiviral activity of Colombian medicinal plants extracts. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v.94, n.4, p.531-535, 1999.

BHAVANANI, S.M.; BALLOW, C.H. New agents for gram-positive bacteria. *Current Opinion in Microbiology*, v.13, p.528-534, 1992.

BONATO, P.S. Cromatografia gasosa. In: COLLINS, C.H.; BRAGA, G.U.L.; BONATO, P.S., orgs. *Fundamentos de cromatografia*. Campinas: Unicamp, 2006. p.251-262.

BORES, G.M.; HUGER, F.P.; PETKO, W.; MUTLIB, A.E.; CAMACHO, F.; RUSH, D.K.; SELK, D.E.; WOLF, V.; KOSLEY Jr., R.W.; DAVIS, L.; VARGAS, H.M. Pharmacological evaluation of novel Alzheimer's disease therapeutics: acetylcholinesterase inhibitors related to galanthamine. *Journal Pharmacology and*

Experimental Therapeutics, v.277, p.728-738, 1996.

BORIES, C.; LOUSEAU, P.; CORTES, D.; MYINT, S.H.; HOCQUEMILLER, R.; GAYRAL, P.; CAVÉ, A.; LAURENS, A. Antiparasitic activity of *Annona muricata* and *Annona cherimolia* seeds. *Planta Medica*, v.57, n.5, p.434-436, 1991.

BOYOM, F.F.; ZOLLO, P.H.A.; MENUT, C.; LAMATY, G.; BESSIÈRE, J.M. Aromatic plants of Tropical Central Africa. Part XXVII. Comparative study of the volatile constituents of five Annonaceae species growing in Cameroon. *Flavour and Fragrance Journal*, v.11, p.333-338, 1996.

BRASH, R.M.; SNEDEN, A.T. Oxoaporphine alkaloids from *Rollinia sericea*. *Journal of Natural Products*, v.46, n.3, p.437, 1983.

BROUN, P.; LIU, Y.; QUEEN, E.; SCHWARZ, Y.; ABENES, M.L.; LEIBMAN, M. Importance of transcription factors in the regulation of plant secondary metabolism and their relevance to the control of terpenoid accumulation. *Phytochemistry Reviews*, v.5, p.27-38, 2006.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: a review. *International Journal of Food Microbiology*, v.94, p.223-253, 2004.

CAETANO, L.C.; DADOUN, H. Pallidine and aporphininoid alkaloids from *Rollinia mucosa*. *Journal of Natural Products*, v.50, n.2, p.330, 1987.

CAROLLO, C.A.; HELLMANN, A.R.; SIQUEIRA, J.M. Sesquiterpenoids from the essential oil from leaves of *Duguetia furfuracea* (Annonaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, v.33, p.647-649, 2005.

CHAVES, M.H.; ROQUE, N.F. Acetogenins from *Porcelia macrocarpa*: stereochemical determination of 2-alkyl-3-hydroxy-4-methyl γ -lactones by ^{13}C NMR spectroscopy. *Phytochemistry*, v.44, n.3, p.523-528, 1997a.

CHAVES, M.H.; ROQUE, N.F. Amides and lignanamides from *Porcelia macrocarpa*. *Phytochemistry*, v.46, n.5, p.879-881, 1997b.

CHAVES, M.H.; FREITAS, A.; ROQUE, N.F.; CAVALEIRO, A.J. Separação e identificação de constituintes químicos polares dos galhos de *Porcelia macrocarpa*. *Química Nova*, v.23, n.3, p.1-8, 2000.

CHAVES, M.H.; SANTOS, L.A.; LAGO, J.H.G.; ROQUE, N.F. Alkaloids from *Porcelia macrocarpa*. *Journal of Natural Products*, v.64, p.240-242, 2001.

CHAVES, M.H.; LAGO, J.H.G.; ROQUE, N.F. Marcrocarpane, a new sesquiterpene skeleton from the leaves of *Porcelia macrocarpa*. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v.14, n.1, p.16-19, 2003.

CHAVES, M.H.; ROQUE, N.F.; AYRES, M.C.C. Steroids and flavonoids of *Porcelia macrocarpa*. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v.15, n.4, p.608-613, 2004.

CHAVEZ, D.; ACEVEDO, L.A.; MATA, R. Jimenezin, a novel annonaceous acetogenin from the seeds of *Rollinia mucosa* containing adjacent tetrahydrofuran-

tetrahydropyran ring systems. *Journal of Natural Products*, v.61, n.4, p.419-421, 1998.

CHAVEZ, D.; ACEVEDO, L.A.; MATA, R. Tryptamine derived amides and acetogenins from the seeds of *Rollinia mucosa*. *Journal of Natural Products*, v.62, n.8, p.1119-1122, 1999.

CHEN, Y.Y.; CHANG, F.R.; YEN, H.F.; WU, Y.C. Epomusenins A and B, two acetogenins from fruits of *Rollinia mucosa*. *Phytochemistry*, v.42, n.4, p.1081-1083, 1996.

CHENG, A.X.; LOU, Y.G.; MAO, Y.B.; LU, S.; WANG, L.J.; CHEN, X.Y. Plant terpenoids: biosynthesis and ecological functions. *Journal of Integrative Plant Biology*, v.49, n.2, p.179-186, 2007.

COLOM, O.A.; POPICH, S.; BARDON, A. Bioactive constituents from *Rollinia emarginata* (Annonaceae). *Natural Product Research, Part A: Structure and Synthesis*, v.21, n.3, p.254-259, 2007.

CRAVEIRO, A.A.; FERNANDES, A.G.; ANDRADE, C.H.S.; MATOS, F.J.A.; ALENCAR, J.W.; MACHADO, M.I.L. *Óleos essenciais de plantas do nordeste*. Fortaleza: UFC, 1981. 209p. (Coleção Ciência, 1).

DEVIENCE, K.F.; RADDI, M.S.G. Screening for antimicrobial activity of natural products using a microplate photometer. *Brazilian Journal of Microbiology*, v.33, p.166-168, 2002.

DEWICK, P.M. *Medicinal natural products: a biosynthetic approach*. Chichester, New York: Wiley, 1997. p.171-184.

DEWICK, P.M. *Medicinal natural products: a biosynthetic approach*. Chichester, New York: Wiley, 1997. p.152-194.

DI STASI, L.C.; HIRUMA-LIMA, C.A. *Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica*. 2.ed. São Paulo: UNESP, 2002. p.89-102.

DORMAN, H.J.D.; DEANS, S.G. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, v.88, p.308-316, 2000.

DORMAN, H.J.D.; DEANS, S.G. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, v.88, p.308-316, 2000.

DUARTE, M.C.T.; LEME, E.E.; DELARMELINA, C.; SOARES, A.A.; FIGUEIRA, G.M.; SATORATTO, A. Activity of essential oils from Brazilian medicinal plants on *Escherichia coli*. *Journal of Ethnopharmacology*, v.111, p.197-201, 2007.

DUDAREVA, N.; MARTIN, D.; KISH, C.M.; KOLOSOVA, N.; GORENSTEIN, N.; FÄLDT, J.; MILLER, B.; BOHLMANN, J. (E)- β -ocimene and myrcene synthase genes of floral scent biosynthesis in Snapdragon: function and expression of three terpene synthase genes of a new terpene synthase subfamily. *Plant Cell*, v.15, n.5, p.1227-1241, 2003.

DUDAREVA, N.; PICHERSKY, E., eds. *Biology of floral scent*. Boca Raton: CRC Press, Taylor & Francis, 2006. 346p.

DUKE, J.A. Flora of Panama. Part IV. Fascicle V. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, v.49, n.3/4, p.137-255, 1962.

ESTRADA-REYES, R.; ALVAREZ, C.A.L.; LOPEZ-RUBALCAVA, C.; ROCHA, L.; HEINZE, G.; MORENO, J.; MARTINEZ-VAZQUEZ, M. Lignans from leaves of *Rollinia mucosa*. *Zeitschrift fuer Naturforschung, C: Journal of Biosciences*, v.57, n.1/2, p.29-32, 2002.

EVANS, W.C. *Trease and Evan's pharmacognosy*. 13.ed. London, Philadelphia: Ballière Tindall, 1989. p.424-479.

FACH, A.; GREGEL, B.; SIMIONATTO, E.; SILVA, U.F.; ZANATTA, N.; MOREL, A.F.; LINARES, C.E.; ALVES, S.H. Chemical analysis and antigungal activity of the essential oil of *Calea clematidea*. *Planta Medica*, v.68, p.836-839, 2002.

FEVRIER, A.; FERREIRA, M.E.; FOURNET, A.; YALUFF, G.; INCHAUSTI, A.; ROJAS DE ARIAS, A.; HOCQUEMILLER, R.; WAECHTER, A.I. Acetogenins and other compounds from *Rollinia emarginata* and their antiprotozoal activities. *Planta Medica*, v.65, n.1, p.47-49, 1999.

FIGUEIREDO, S.F.L.; VIANA, V.R.C.; SIMÕES, C.; ALBARELLO, N.; TRUGO, L.C.; KAPLAN, M.A.C.; KRUL, W.R. Lignans from leaves, seedlings and micropropagated plants of *Rollinia mucosa* (Jacq.) Baill-Annonaceae. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, v.56, n.2, p.121-124, 1999.

FISCHER, D.C.H.; GUALDA, N.C.A.; BACHIEGA, D.; CARVALHO, C.S.; LUPO, F.N.; BONOTTO, S.V.; ALVES, M.O.; YOGI, A.; DI SANTI, S.M.; AVILA, P.E.; KIRCHGATTER, K.; HRIHOROWITSCH MORENO, P.R. *In vitro* screening for antiplasmodial activity of isoquinoline alkaloids from Brazilian plant species. *Acta Tropica*, v.92, n.3, p.261-266, 2004.

FOURNIER, G.; HADJIACHOONDI, A.; LEBOLUF, M.; CAVÉ, A. Essential oil of Annonaceae. Part VIII. Volatile constituents of the essential oils from three *Guatteria* species. *Journal of Essential Oil Research*, v.9, p.275-278, 1997a.

FOURNIER, G.; HADJIACHOONDI, A.; ROBLOT, F.; LEBOEUF, M.; CAVÉ, A. Essential oils of Annonaceae. Part VI. Volatile constituents of the essential oils from five *Arbutus* species. *Journal of Essential Oil Research*, v.9, p.145-149, 1997b.

FOURNIER, G.; LEBOEUF, M.; CAVÉ, A. Annonaceae essential oils: a review. *Journal of Essential Oil Research*, v.11, p.131-142, 1999.

GONZALEZ, A.G.; BERMEJO, J.; DIAZ, J.G.; ARANCIBIA, L.; DE PAZ, P.P. Humilenes and other constituents of *ferula-latipinna*. *Journal of Natural Products*, v.51, n.6, p.1140-1147, 1988.

GONZALEZ, M.C.; TORMO, J.R.; BERMEJO, A.; ZAFRA-POLO, M.C.; ESTORNELL, E.; CORTES, D. Rollimembrin, a novel acetogenin inhibitor of mammalian mitochondrial complex I. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, v.7,

n.9., p.1113-1118, 1997.

GU, Z.M.; ZHOU, D.; LEWIS, N.J.; WU, J.; SHI, G.; MCLAUGHLIN, J.L. Isolation of new bioactive annonaceous acetogenins from *Rollinia mucosa* guided by liquid chromatography/mass spectrometry. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, v.5, n.10, p.1911-1916, 1997.

GUYTON, A.C.; HALL, J.E. *Tratado de fisiologia médica*. 9.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997. p.691.

HEYWOOD, V.H., ed. *Flowering plants of the world*. London: B. T. Batsford, 1993. p.30-31.

HOMANS, A.L.; FUCHS, A. Direct bioautography on thin-layer chromatograms as a method for detecting fungitoxic substances. *Journal of Chromatography*, v.51, p.327-329, 1970.

INTERNATIONAL PLANT NAMES INDEX. *Plants names. Annonaceae. Porcelia*.

Disponível em:

<http://www.ipni.org/ipni/advPlantNameSearch.do?find family=annonaceae&find genus=porcelia&find species=&find infrafamily=&find infragenus=&find infraspecies=&find authorAbbrev=&find includePublicationAuthors=on&find includePublicationAuthors=off&find includeBasionymAuthors=on&find includeBasionymAuthors=off&find publicationTitle=&find isAPNIREcord=on&find isAPNIREcord=false&find isGCIREcord=on&find isGCIREcord=false&find isIKRecord=on&find isIKRecord=false&find rankToReturn=all&output format=normal&find sortByFamily=on&find sortByFamily=off&query type=by query&back page=plantsearch>. Acesso em: 19 jun. 2008.

INTERNACIONAL PLANT NAMES INDEX. *Plants names. Annonaceae. Rollinia*.

Disponível em:

<http://www.ipni.org/ipni/advPlantNameSearch.do?find family=Annonaceae&find genus=Rollinia&find species=&find infrafamily=&find infragenus=&find infraspecies=&find authorAbbrev=&find includePublicationAuthors=on&find includePublicationAuthors=off&find includeBasionymAuthors=on&find includeBasionymAuthors=off&find publicationTitle=&find isAPNIREcord=on&find isAPNIREcord=false&find isGCIREcord=on&find isGCIREcord=false&find isIKRecord=on&find isIKRecord=false&find rankToReturn=all&output format=normal&find sortByFamily=on&find sortByFamily=off&query type=by query&back page=plantsearch>. Acesso em: 19 jun. 2008.

JIROVETZ, L.; BUCHBAUER, G.; NGASSOUM, M.B. Essential oil compounds of the *Annona muricata* fresh fruit pulp from Cameroon. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.46, p.3719-3720, 1998.

JOLY, A.B. *Botânica: introdução à taxonomia vegetal*. 11.ed. São Paulo: Nacional, 1993. p.281, 286-288. (Biblioteca Universitária. Série 3, Ciências Puras, v.4).

JURGENS, A.; WEBBER, A.C.; GOTTSBERGER, G. Floral scent compounds of Amaonian Annonaceae species pollinated by small beetles and thrips. *Phytochemistry*, v.55, p.551-558, 2000.

KOVÁTS, E. Gas-chromatographische charakterisierung organischer verbindungen. *Helvetica Chimica Acta*, v.41, n.206, p.1915, 1932.

KUBOTA, K.Y.; OHARA, M.T. Determinação do valor de concentração mínima inibitória de drogas e extratos vegetais pelo método da diluição em meio líquido utilizando microplacas. In: SIMPÓSIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, 6, Riberão Preto, 1998. *Resumos*. Riberão Preto: USP, 1998. p.119, res. 7.25.

KUO, R.Y.; CHANG, F.R.; CHEN, C.Y.; TENG, C.M.; YEN, H.F.; WU, Y.C. Antiplatelet activity of *N*-methoxycarbonyl aporphines from *Rollinia mucosa*. *Phytochemistry*, v.57, n.3, p.421-425, 2001a.

KUO, R.Y.; CHANG, F.R.; WU, Y.C. A new propentdyopent derivative, rollipyrrole, from *Rollinia mucosa* Baill. *Tetrahedron Letters*, v.42, n.44, p.7907-7909, 2001b.

KUO, R.Y.; CHEN, C.Y.; LIN, A.S.; CHANG, F.R.; WU, Y.C. A new phenanthrene alkaloid, romucosine I, from *Rollinia mucosa* Baill. *Zeitschrift fuer Naturforschung, B: Chemical Sciences*, v.59, n.3, p.334-336, 2004.

LAGO, J.H.G.; CHAVES, M.H.; AYRES, M.C.C.; AGRIPINO, D.G.; YOUNG, M.C.M. Evaluation of antifungal and DNA-damaging activities of alkaloids from branches of *Pocelia macrocarpa*. *Planta Medica*, v.73, n.3, p.292-295, 2007.

LEBOEUF, M.; CAVÉ, A.; BHAUMIK, P.K.; MUKHERJEE, B.; MUKHERJEE, R. The phytochemistry of the Annonaceae. *Phytochemistry*, v.21, n.12, p.2783-2813, 1982.

LENCZEWSKI, M.E., MCGAVIN, S.T., VANDYKE, K. Comparison of automated and traditional minimum inhibitory concentration procedures for microbiological cosmetic preservatives. *Journal of AOAC International*, v.79, n.6, p.1294-1299, 1996.

LIAW, C.C.; CHANG, F.R.; CHEN, Y.Y.; CHIU, H.F.; WU, M.J.; WU, Y.C. New annonaceous acetogenins from *Rollinia mucosa*. *Journal of Natural Products*, v.62, n.12, p.1613-1617, 1999.

LIAW, C.C.; CHANG, F.R.; WU, M.J.; WU, Y.C. A novel constituent from *Rollinia mucosa*, rollicosin, and new approach to develop annonaceous acetogenins as potential antitumor agents. *Journal of Natural Products*, v.66, n.22, p.279-281, 2003.

LIMA, M.A.; FECHINE, I.M.; SILVA, M.S.; MAIA, J.G.S.; CUNHA, E.V.L.; BARBOSA FILHO, M. Alkaloids and volatile constituents from *Guatteria juruensis*. *Biochemical Systematics and Ecology*, v.31, p.423-425, 2003.

LIMA, A.M.; BARBOSA FILHO, J.M.; MERLIC, C.A.; DOROH, B.C.; MAIA, J.G.S.; SILVA, M.S.; CUNHA, E.V.L. Alkaloids and volatile constituents from *Guatteria poeppigiana*. *Biochemical Systematics and Ecology*, v.32, p.347-349, 2004.

LORENZI, H. *Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil*. Nova Odessa: Plantarum, 1992. v.2, p.13-20.

MAIA, J.G.S.; ANDRADE, E.H.A.; CARREIRA, L.M.M.; OLIVEIRA, J.; ARAÚJO, J.S. Essential oils of the Amazon *Guatteria* and *Guatteriopsis* species. *Flavour and Fragrance Journal*, v.20, p.478-480, 2005.

MCGARVEY D.J, CROTEAU, R. Terpenoid Metabolism. *The Plant Cell*, v.7, p.1015-

1026, 1995.

MAHIOU, V.; ROBLOT, F.; HOCQUEMILLER, R.; CAVÉ, A.; ROJAS DE ARIAS, A.; INCHAUSTI, A.; YALUFF, G.; FOURNIER, A.; ANGELO, A. New aporphine alkaloids from *Guatteria foliosa*. *Journal of Natural Products*, v.57, p.890-895, 1994.

MAHMOUD, S.S.; CROTEAU, R.B. Metabolic engineering of essential oil yield and composition in mint by altering expression of deoxyxylulose phosphate reductoisomerase and menthofuran synthase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v.98, p.8915-8920, 2001.

MARSTON, A.; KISSLING, J.; HOSTETTMANN, K. A rapid TLC Bioautographic Method for the Detection of Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase inhibitors in plants. *Phytochemical Analysis*, v.13, p.51-54, 2002.

MATILA, T. A modified Kelsey-Sykes method for testing disinfectants with 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride reduction as an indicator of bacterial growth. *Journal of Applied Bacteriology*, v.62, p.551-554, 1987.

MERLE, H.; MÓRON, M.; BLAZQUEZ, M.A.; BORJA, H. Taxonomical contribution of essential oils in Mandarin cultivars. *Biochemical Systematics and Ecology*, v.32, p.491-497, 2004.

MIKOLAJCZAK, K.J.; MADRIGAL, R.V.; RUPPRECHET, J.K.; HUI, Y.H.; LIU, Y.M.; SMITH, D.L.; MCLAUGHLIN, J.L. Sylvaticin: a new cytotoxic and insecticidal acetogenin from *Rollinia sylvatica* (Annonaceae). *Experientia*, v.46, n.3, p.324-326, 1990.

MISKI, M.; SHEN, X.; COOPER, R.; GILLUM, A.M.; FISHER, D.K.; MILLER, R.W.; HIGGINS, T.J. Aporphine alkaloids, CD45 protein tyrosine phosphatase inhibitors, from *Rollinia ulei*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, v.5, n.14, p.1519-1522, 1995.

MISSOURI BOTANICAL GARDEN. *Annonaceae. Magnoliales*. Disponível em: <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/orders/magnolialesweb.htm>. Acesso em: 19 jun. 2008.

MIYAZAWA, M.; YAMAFIJI, C. Inhibition of acetylcholinesterase activity by bicyclic monoterpenoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.53, p.1765-1768, 2005.

MURRAY, N.A. Revision of *Cymbopetalum* and *Porcelia* (Annonaceae). *Systematic Botany Monographs*, v.40, p.89-121, 1993.

NASCIMENTO, F.C.; BOAVENTURA, M.A.D.; ASSUNÇÃO, A.C.S.; PIMENTA, L.P.S. Acetogeninas de anonáceas isoladas de folhas de *Rollinia laurifolia*. *Química Nova*, v.26, n.3, p.319-322, 2003.

OKUYAMA, T.; SHIBATA, S.; HOSON, M.; KAWADA, T.; OSADA, H.; NOGUSHI, T. Effect of oriental plant drugs on platelet aggregation. III. Effect of Chinese drug "Xiebai" on human platelet aggregation. *Planta Medica*, v.52, p.171-174, 1986.

OWEN, S.M.; PEÑUELAS, J. Opportunistic emissions of volatile isoprenoids. *Trends in Plant Science*, v.10, n.9, p.420-426, 2005.

PAREDES, A.; HASEGAWA, M.; PRIETO, F.; MENDEZ, J.; RODRÍGUEZ, M.; RODRÍGUEZ ORTEGA, M. Biological activity of *Guattena cardoniana* fractions. *Journal of Ethnopharmacology*, v.78, p.129-132, 2001.

PERRY, N.S.L.; HOUGHTON, P.J.; THEOBALD, A.; JENNER, P.; PERRY, E.K. *In vitro* inhibition of human erythrocyte acetylcholinesterase by *Salvia lavandulaefolia* essential oil and constituents terpenes. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, v.52, p.895-902, 2000.

PERRY, N.S.L.; BOLLEN, C.; PERRY, E.K.; BALLARD, C. *Salvia* for dementia therapy: review of pharmacological activity and pilot tolerability clinical trial. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, v.75, n.3, p.652-659, 2003.

PETTIT, G.R.; CRAGG, G.M.; POLONSKY, J.; HERALD, D.L.; GOSWAMI, A.; SMITH, C.R.; MORETTI, C.; SCHMIDT, J.M.; WEISLEDER, D. Isolation and structure of rolliniastatin 1 from the South American tree *Rollinia mucosa*. *Canadian Journal of Chemistry*, v.65, n.6, p.1433-1435, 1987.

PHILLIPS, M.A.; BOHLMANN, J.; GERSHENZON, J. Molecular regulation of induced terpenoid biosynthesis in conifers. *Phytochemistry Reviews*, v.5, p.179-189, 2006.

PIMENTA, L.P.S.; CHAGAS DO NASCIMENTO, F.; ASSUNÇÃO, A.C.S.; OLIVEIRA, A.B.; BOAVENTURA, M.A.D. Laurifolin, a novel acetogenin from *Rollinia laurifolia* leaves. *Tetrahedron Letters*, v.42, n.48, p.8433-8434, 2001.

PIMENTA, L.P.S.; NASCIMENTO, F.C.; BOAVENTURA, M.A.D. Acetogenins from the leaves of *Rollinia laurifolia*. *Helvetica Chimica Acta*, v.88, n.12, p.3225-3231, 2005.

PINO, J.A.; ROSADO, A.; RONCAL, E.; MARBOT, R.; AGÜERO, J.; GONZÁLEZ, G. Estudio de los componentes responsables del aroma y sabor de frutas del genero *Annona*. *Alimentaria*, v.81, p.81-85, 1998.

PINO, J.A. Volatile components of *Rollinia mucosa* (Jacq.) Baill. *Journal of Essential Oil Research*, v.12, n.1, p.97-98, 2000.

PONTES, A.F.; BARBOSA, M.R.V.; MAAS, P.J.M. Flora paraibana: Annonaceae Juss. *Acta Botanica Brasilica*, v.18, n.2, p.281-293, 2004.

RAYNAUD-LE GRANDIC, S.; FOURNEAU, C.; LAURENS, A.; BORIES, C.; HOCQUEMILLER, R.; LOISEAU, P.M. *In vitro* antileishmanial activity of acetogenins from Annonaceae. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v.58, n.6/7, p.388-392, 2004.

RHEE, I.K.; MEENT, M.; INGGANINAN, K.; VERPOORTE, R. Screening for Acetylcholinesterase Inhibitors from Amaryllidaceae using Sílica Gel Thin-layer Chromatography in Combination with Bioactivity Staining. *Journal of Chromatography, A*, v.915, p.217-223, 2001.

RHEE, I.K.; MEENT, M.; INGGANINAN, K.; VERPOORTE, R. Screening for

acetylcholinesterase inhibitors from Amaryllidaceae using silica gel thin-layer chromatography in combination with bioactivity staining. *Journal of Chromatography, A*, v.915, p.217-223, 2001.

RIOS, M.Y.; CASTREJON, F.; ROBLEDO, N.; LEON, I.; ROJAS, G.; NAVARRO, V. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from *Annona cherimolia* (Annonaceae). *Revista de la Sociedad Química de México*, v.47, n.2, p.139-142, 2003.

ROBBERS, J.E.; SPEEDIE, M.K.; TYLER, V.E. *Farmacognosia e farmacobiotechnologia*. São Paulo: Premier, 1997. p.91-121.

RUPPRECHET, J.K.; HUI, Y.H.; MCLAUGHLIN, J.L. Annonaceous acetogenins: a review. *Journal of Natural Products*, v.53, n.2, p.237-278, 1990.

SAHPAZ, S.; HOCQUEMILLER, R.; CAVÉ, A.; SAEZ, J.; CORTES, D. Diepoxyrollin and diepomuricanin B: two new diwpoxyacetogenins from *Rollinia membranacea* seeds. *Journal of Natural Products*, v.60, n.2, p.199-201, 1997.

SALIE, F.; EAGLES, P.F.K.; LENG, H.M.J. Preliminary antimicrobial screening of four South African Asteraceae species. *Journal of Ethnopharmacology*, v.52, p.27-33, 1996.

SANDRA, P.; BICCHI, C., eds. *Capillary gas chromatography in essential oil analysis*. Heidelberg: Muethig, 1987. 435p. (Chromatographic methods).

SANTOS, D.Y.A.C.; SALATINO, M.L.F. Foliar flavonoids os Annonaceae from Brazil: taxonomic significance. *Phytochemistry*, v.55, p.567-573, 2000.

SAVELEV, S.; OKELLO, E.J.; PERRY, E.K. Butyryl- and Acetyl-cholinesterase inhibitory activities in essential oils of *Salvia* species and their constituents. *Phytotherapy Research*, v.18, p.315-324, 2004.

SETTE, I.M.F.; CUNHA, E.V.L.; BARBOSA-FILHO, J.M.; AGRA, M.F.; SILVA, M.S. The first tetrahydroprotoberberine alkaloid from the genus *Rollinia*. *Biochemical Systematics and Ecology*, v.28, n.4, p.393-394, 2000.

SHI, G.; GU, Z.M.; HE, K.; WOOD, K.V.; ZENG, L.; YE, Q.; MACDOUGAL, J.M.; MCLAUGHLIN, J.L. Applying Mosher's method to acetogenins bearing vicinal diols: the absolute configurations of muricatetrocin C and rollidecins A and B, new bioactive acetogenins from *Rollinia mucosa*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, v.4, n.8, p.1281-1286, 1996a.

SHI, G.; KOZLOWSKI, J.F.; SCHWEDLER, J.T.; WOOD, K.V.; MACDOUGAL, J.M.; MCLAUGHLIN, J.L. Muconin and mucxin: additional nonclassical bioactive acetogenins from *Rollinia mucosa*. *Journal of Organic Chemistry*, v.61, p.7988-7989, 1996b.

SHI, G.; YE, Q.; HE, K.; MCLAUGHLIN, J.L.; MACDOUGAL, J.M. Rollinecins A and B: two new bioactive annonaceous acetogenins from *Rollinia mucosa*. *Journal of Natural Products*, v.59, n.5, p.548-551, 1996c.

SHI, G.; HE, K.; LIU, X.; YE, Q.; MACDOUGAL, J.M.; MCLAUGHLIN, J.L. A novel application of Mosher's method to epimeric carbinols in acetogenins. Absolute configurations of 12-hydroxybutylatacins A and B, new acetogenins from *Rollinia mucosa*. *Natural Product Letters*, v.10, n.2, p.125-132, 1997a.

SHI, G.; MACDOUGAL, J.M.; MCLAUGHLIN, J.L. Bioactive annonaceous acetogenins from *Rollinia mucosa*. *Phytochemistry*, v.45, n.4, p.719-723, 1997b.

SILVA, J.A.C.; SILVA, M.F. Estudos florísticos no município de Presidente Figueiredo, Amazonas. Brasil – I. Famílias Annonaceae e Gnetaceae. *Acta Amazônica*, v.36, n.1, p.53-58, 2006.

SILVA, L.; ONIKI, G.H.; AGRIPINO, D.G.; MORENO, P.R.H.; YOUNG, C.M.; MAYWORM, M.A.S.; LADEIRA, A.M. Bicyclergmacreno, revesterol e atividade antifúngica em extratos de folhas de *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & Jarvis (Vitaceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.17, n.3, p.361-367, 2007.

SIMÕES, C.M.O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R., orgs. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 3.ed. Porto Alegre: UFRGS; Florianópolis: UFSC, 2001. cap.18, p.397-420.

SOUZA, V.C.; LORENZI, H. *Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II*. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2005. p.11, 82, 85.

SUFFREDINI, I.B.; BACCHI, E.M.; SAKUDA, T.M.K.; OHARA, M.T.; YOUNES, R.N.; VARELLA, A.D. Antibacterial activity of Apocynaceae extracts and MIC of *Tabernaemontana angulata* stem organic extract. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v.38, n.1, p.89-94, 2002.

TAYLOR, P. Agentes anticolinesterásicos. In: HARDMAN, J.G.; LIMBIRD, L.E.; MOLINOFF, P.B.; R.W.; GILMAN, G.A., eds. *Goodman & Gilman as bases farmacológicas da terapêutica*. 9.ed. Rio de Janeiro: McGraw Hill International, 1996. p.118-130.

TESKE, M.; TRENTINI, A. M. M. *Compêndio de fitoterapia*. 3.ed. Curitiba: Herbarium Laboratório Botânico, 1995. p.66-68.

TOYOTA, M.; KOYAMA, H.; MIZUTANI, M.; ASAKAWA, Y. (-)-ent-Spathulenol isolated from liverworts is a new artefact. *Phytochemistry*, v.41, n.5, p.1347-1350, 1996.

TREVISAN, M.T.S.; MACEDO, F.V.V.; VAN DE MEENT, M.; RHEE, I.K.; VERPOORTE, R. Seleção de plantas com atividade anticolinesterase para tratamento da doença de Alzheimer. *Química Nova*, v.26, n.3, p.301-304, 2003.

TREVISAN, M.T.S.; MACEDO, F.V.V. Seleção de plantas com atividade anticolinesterase para tratamento da doença de Alzheimer. *Química Nova*, v.26, n.3, p.301-304, 2003.

TROPICOS. *Pocelia*. Disponível em:

<http://www.tropicos.org/NameSearch.aspx?name=pocelia>. Acesso em: 19 jun. 2008.

TROPICOS. *Rollinia*. Disponível em:

<http://www.tropicos.org/NameSearch.aspx?name=rollinia>. Acesso em: 19 jun. 2008.

VON REIS, S.; LIPP Jr., F.J. *New plant sources for drugs and foods from the New York Botanical Garden Herbarium*. Cambridge, London: Harvard Univerty Press, 1982. p.69-73.

WALLACE, R.J. Antimicrobial properties of plant secondary metabolites. Symposium on "Plants as animal foods: a case of catch 22?". *Proceedings of the Nutrition Society*, v.63, p.621-629, 2004.

WENINGER, B.; ARAGON, R.; DEHARO, E.; BASTIDA, J.; CODINA, C.; LOBSTEIN, A.; ANTON, R. Antimalarial constituents from *Guatteria amplifolia*. *Pharmazie*, v.55, p.867-868, 2000.

WILLINGER, B.; APFALFER, P.; HIRSCHL, A.M.; MAKRISTATHIS, A.; ROTTER, M.; SEIBOLD, M. Susceptibility testing of *Candida* species: comparison of NCCLS microdilution method with Fungitest®. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, v.38, p.11-15, 2000.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Quality control methods for medicinal plant materials*. Genebra: WHO, 1992. 115p.

Library Search Report

Data File : C:\MSDCHEM\1\DATA\ROSILENE\PM1_0306.D Vial: 1
Acq On : 5 Nov 2007 11:01 Operator:
Sample : PM1_03/06 Inst : GC-MS
Misc : Multiplr: 1.00
Sample Amount: 0.00

MS Integration Params: autoint1.e
Method : C:\MSDCHEM\1\METHODS\ENVDEF.M (Chemstation Integrator)
Title :

Library Search Report - Chemstation Integrator

Unknown Spectrum based on Apex

Peak Number: 1 at 4.77 min Area: 23978501 Area % 0.47

The 3 best hits from each library.

Ref# CAS# Qual

C:\Database\Wiley275.L

1 3-Penten-2-one, 4-methyl- (CAS) ...	5697	000141-79-7	64
2 Cyclohexane, methyl- (CAS) \$\$ Me...	6094	000108-87-2	58
3 2-Pentene, 2,3-dimethyl- (CAS) \$...	6041	010574-37-5	58

C:\HPCH2205.L

1 27.44 Menthyl lactate<neo->	1082	000000-00-0	43
2 18.84 Tetrahydro jasmone<cis->	1955	071535-28-9	25
3 20.61 Tetrahydro jasmone<trans->	1956	071535-29-0	9

Library Search Report - Chemstation Integrator

Unknown Spectrum based on Apex

Peak Number: 2 at 11.39 min Area: 30240571 Area % 0.59

The 3 best hits from each library.

Ref# CAS# Qual

C:\Database\Wiley275.L

1 Furan, 2-pentyl- (CAS) \$\$ 2-Amyl...	26388	003777-69-3	83
2 Furan, 2-pentyl- (CAS) \$\$ 2-Amyl...	26386	003777-69-3	80
3 Furan, 2-pentyl- (CAS) \$\$ 2-Amyl...	26385	003777-69-3	78

C:\HPCH2205.L

1 7.34 Pentyl furan<2->	1961	003777-69-3	91
2 11.59 Octadienal<2E,4E->	2153	030361-28-5	4
3 16.24 Nonadienal<2E,4E->	1161	005910-87-2	4

Library Search Report - Chemstation Integrator

Unknown Spectrum based on Apex

Scan 923 (16.480 min): PM1_0306.D

Peak Number: 3 at 16.48 min Area: 24989176 Area % 0.49

The 3 best hits from each library.

Ref# CAS# Qual

C:\Database\Wiley275.L

1 Nonanal (CAS) \$\$ n-Nonanal \$\$ n-...	29789	000124-19-6	91
2 Nonanal (CAS) \$\$ n-Nonanal \$\$ n-...	29792	000124-19-6	91
3 NONANAL	29971	000000-00-0	87

C:\HPCH2205.L

1 11.51 Nonanal<n->	39	000124-19-6	91
2 29.22 Tridecanal	1513	010486-19-8	37
3 20.45 Undecanal	1523	000112-44-7	33

Library Search Report - Chemstation Integrator

Unknown Spectrum based on Apex

Peak Number: 4 at 19.02 min Area: 32423580 Area % 0.64

The 3 best hits from each library.

Ref# CAS# Qual

C:\Database\Wiley275.L

1 NONENAL	28151	002277-19-2	83
2 TRANS-2-NONENAL	28215	000000-00-0	72
3 2-Nonenal, (E)- (CAS) \$\$ trans-2...	27969	018829-56-6	72

C:\HPCH2205.L

1 13.40 Nonen-1-al<2Z->	1169	060784-31-8	91
2 13.94 Nonen-1-al<2E->	1168	018829-56-6	90
3 9.59 Octen-1-al<2E->	1938	002548-87-0	53

Library Search Report - Chemstation Integrator

Unknown Spectrum based on Apex

Peak Number: 5 at 26.52 min Area: 37501271 Area % 0.74

The 3 best hits from each library.

Ref# CAS# Qual

C:\Database\Wiley275.L

1 Bicycloelemene	89618	000000-00-0	98
2 bicyclogermacrene \$\$ Bicyclo[8.1...	89615	100762-46-7	91
3 .GAMMA.-ELEMENE \$\$ Cyclohexane, ...	89185	003242-08-8	83

C:\HPLC2205.L

1 28.83 Bicyclogermacrene	1359	024703-35-3	70
2 15.73 Terpineol<gamma->	1527	000586-81-2	38
3 27.04 Prenyl limonene<trans->	1348	135267-19-5	30

Library Search Report - Chemstation Integrator

Unknown Spectrum based on Apex

Peak Number: 6 at 27.05 min Area: 372015643 Area % 7.30

The 3 best hits from each library.

Ref# CAS# Qual

C:\Database\Wiley275.L

1 Bicycloelemene	89618	000000-00-0	98
2 .GAMMA.-ELEMENE \$\$ Cyclohexane, ...	89185	003242-08-8	91
3 artemisia triene \$\$ 2,5,5-trimet...	25342	018383-70-5	76

C:\HPCH2205.L

1 26.16 Isobazzanene	1868	088661-59-0	45
2 15.73 Terpineol<gamma->	1527	000586-81-2	42
3 28.96 Chamigrene<alpha->	391	019912-83-5	40

Library Search Report - Chemstation Integrator

Unknown Spectrum based on Apex

Peak Number: 7 at 27.50 min Area: 55996634 Area % 1.10

The 3 best hits from each library.

Ref# CAS# Qual

C:\Database\Wiley275.L

1 .ALPHA.-CUBEBENE	89680	017699-14-8	99
2 .alpha.-Cubebene \$\$ 1H-Cyclopent...	89537	017699-14-8	99
3 .alpha.-Cubebene \$\$ 1H-Cyclopent...	89536	017699-14-8	99

C:\HPCH2205.L

1 22.33 Cubebene<alpha->	826	017699-14-8	99
2 23.49 Copaene<alpha->	828	003856-25-5	87
3 27.60 Dauca-5,8-diene	1573	142928-08-3	83

Library Search Report - Chemstation Integrator

Unknown Spectrum based on Apex

Peak Number: 8 at 28.65 min Area: 211187916 Area % 4.14

The 3 best hits from each library. Ref# CAS# Qual

C:\Database\Wiley275.L

1 .alpha.-Copaene \$\$ Tricyclo[4.4....	89530	003856-25-5	99
2 .alpha.-Copaene \$\$ Tricyclo[4.4....	89533	003856-25-5	99
3 .ALPHA.-COPAENE	89789	000000-00-0	98

C:\HPCH2205.L

1 23.49 Copaene<alpha->	828	003856-25-5	99
2 22.33 Cubebene<alpha->	826	017699-14-8	78
3 27.60 Dauca-5,8-diene	1573	142928-08-3	64

Library Search Report - Chemstation Integrator

Unknown Spectrum based on Apex

Peak Number: 9 at 28.96 min Area: 44096197 Area % 0.86

The 3 best hits from each library.

Ref# CAS# Qual

C:\Database\Wiley275.L

1 .BETA. BOURBONENE	89648	005208-59-3	98
2 .beta.-Bourbonene \$\$ Cyclobuta[1...	89545	005208-59-3	96
3 .beta.-Bourbonene \$\$ Cyclobuta[1...	89548	005208-59-3	96

C:\HPCH2205.L

1 24.05 Bourbonene<beta->	653	005208-59-3	95
2 18.87 Ethyl chrysanthemumate<cis->	665	041641-26-3	32
3 31.32 Bourbonanone<1-nor->	319	013844-03-6	25

Library Search Report - Chemstation Integrator

Unknown Spectrum based on Apex

Peak Number: 10 at 29.24 min Area: 74742652 Area % 1.47

The 3 best hits from each library.

Ref# CAS# Qual

C:\Database\Wiley275.L

1	.beta.-cubebene	89691	013744-15-5	97
2	.beta.-Cubebene \$\$ 1H-Cyclopenta...	89544	013744-15-5	97
3	GERMACRENE-D	89649	023986-74-5	94

C:\HPCH2205.L

1	25.90 Copaene<beta->	1319	018252-44-3	95
2	24.04 Cubebene<beta->	468	013744-15-5	94
3	28.53 Muurola-4(14),5-diene<trans->	510	054324-03-7	91

Library Search Report - Chemstation Integrator

Unknown Spectrum based on Apex

Scan 1880 (29.346 min): PM1_0306.D

Peak Number: 11 at 29.35 min Area: 105475203 Area % 2.07

The 3 best hits from each library.

Ref# CAS# Qual

C:\Database\Wiley275.L

1 .BETA. ELEMENE	89661	000515-13-9	99
2 .beta.-elemene	89586	000515-13-9	96
3 .BETA.-ELEMENE	89681	000515-13-9	91

C:\HPCH2205.L

1 24.15 Elemene<beta->	309	000515-13-9	99
2 29.18 Germacrene A	744	028387-44-2	47
3 29.20 Bulnesene<alpha->	1244	003691-11-0	35

Library Search Report - Chemstation Integrator

Unknown Spectrum based on Apex

Peak Number: 12 at 29.83 min Area: 23802618 Area % 0.47

The 3 best hits from each library.

Ref# CAS# Qual

C:\Database\Wiley275.L

- 1 MIXTURE OF 1-ISOPROPYL-4,6-DIMET...
- 2 CYCLOISOLONGIFOLENE
- 3 DEHYDROAROMADENDRENE

87293	000483-77-2	90
87307	000000-00-0	49
87306	000000-00-0	46

C:\HPCH2205.L

- 1 20.96 Cycloisolongifolene<didehy...
- 2 29.88 Macrocarpene<ar->
- 3 32.49 Copaen-4-alpha-ol<beta->

536	074842-33-4	55
1923	847374-83-8	55
1228	126060-41-1	38

Library Search Report - Chemstation Integrator

Unknown Spectrum based on Apex

Peak Number: 13 at 30.42 min Area: 164252853 Area % 3.22

The 3 best hits from each library.

Ref#	CAS#	Qual

C:\Database\Wiley275.L

1 BICYCLO[4.4.0]DEC-1-EN, 2-ISOPRO...

89341 000000-00-0

91

2 germacrene d

89580 023986-74-5

91

C:\HPC\H2205.L

1 25.90 Copaene<beta->

1319 018252-44-3

90

2 24.04 Cubebene<beta->

468 013744-15-5

60

3 27.97 Amorpha-4,7(11)-diene

1899 486998-53-2

60

Library Search Report - Chemstation Integrator

Unknown Spectrum based on Apex

Peak Number: 14 at 30.82 min Area: 97847554 Area % 1.92

The 3 best hits from each library.

Ref# CAS# Qual

C:\Database\Wiley275.L

1 .beta.-cubebene	89691	013744-15-5	97
2 BICYCLO[4.4.0]DEC-1-EN, 2-ISOPRO...	89341	000000-00-0	93
3 .beta.-Cubebene \$\$ 1H-Cyclopenta...	89544	013744-15-5	92

C:\HPCH2205.L

1 25.90 Copaene<beta->	1319	018252-44-3	95
2 24.04 Cubebene<beta->	468	013744-15-5	83
3 28.53 Muurola-4(14),5-diene<trans->	510	054324-03-7	49

Library Search Report - Chemstation Integrator

Unknown Spectrum based on Apex

Peak Number: 15 at 31.19 min Area: 56674653 Area % 1.11

The 3 best hits from each library.

Ref# CAS# Qual

C:\Database\Wiley275.L

1	(+)-AROMADENDRENE	89770	000000-00-0	99
2	(+)-Aromadendrene \$\$ 1H-Cyclopro...	89470	000489-39-4	99
3	(+)-Aromadendrene \$\$ 1H-Cyclopro...	89471	000489-39-4	99

C:\HPCH2205.L

1	26.27 Aromadendrene	997	000489-39-4	99
2	27.07 Aromadendrene<allo->	467	025246-27-9	94
3	28.66 Valencene	1528	004630-07-3	93

Library Search Report - Chemstation Integrator

Unknown Spectrum based on Apex

Peak Number: 16 at 31.43 min Area: 39315929 Area % 0.77

The 3 best hits from each library.

Ref# CAS# Qual

C:\Database\Wiley275.L

1	GERMACRENE-D	89649	023986-74-5	97
2	GERMACRENE-D	89684	023986-74-5	94
3	GERMACRENE-D	89658	023986-74-5	93

C:\HPCH2205.L

1	28.15 Germacrene D	500	023986-74-5	94
2	27.91 Muurolene<gamma->	1342	030021-74-0	94
3	24.04 Cubebene<beta->	468	013744-15-5	93

Library Search Report - Chemstation Integrator

Unknown Spectrum based on Apex

Peak Number: 17 at 31.79 min Area: 157987276 Area % 3.10

The 3 best hits from each library.

Ref# CAS# Qual

C:\Database\Wiley275.L

1 .alpha.-amorphene \$\$ .ALPHA. AMO...	89415	023515-88-0	93
2 9,10-DEHYDRO-ISOLONGIFOLENE	87289	000000-00-0	90
3 GERMACRENE-D	89658	023986-74-5	80

C:\HPCH2205.L

1 29.88 Macrocarpene<ar->	1923	847374-83-8	52
2 28.15 Germacrene D	500	023986-74-5	51
3 27.97 Amorpha-4,7(11)-diene	1899	486998-53-2	48

Library Search Report - Chemstation Integrator

Unknown Spectrum based on Apex

Peak Number: 18 at 32.10 min Area: 63763597 Area % 1.25

The 3 best hits from each library.

Ref# CAS# Qual

C:\Database\Wiley275.L

1 Alloaromadendrene \$\$ 1H-Cyclopro...

89480 025246-27-9 97

2 ALLOAROMADENDRENE

89772 000000-00-0 97

3 (1.alpha.,4.alpha.,4a.beta.,5.al...

89738 024568-69-2 95

C:\HPCH2205.L

1 27.07 Aromadendrene<allo->

467 025246-27-9 98

2 27.33 Caryophyllene<9-epi-(E)->

1360 068832-35-9 93

3 28.91 Patchoulene<gamma->

1242 000508-55-4 93

Library Search Report - Chemstation Integrator

Unknown Spectrum based on Apex

Peak Number: 19 at 33.14 min Area: 706787517 Area % 13.86

The 3 best hits from each library.

Ref# CAS# Qual

C:\Database\Wiley275.L

1	GERMACRENE-D	89649	023986-74-5	99
2	germacrene d	89579	023986-74-5	98
3	GERMACRENE-D	89684	023986-74-5	98

C:\HPCH2205.L

1	28.15 Germacrene D	500	023986-74-5	98
2	24.04 Cubebene<beta->	468	013744-15-5	94
3	28.63 Amorphene<gamma->	1320	006980-46-7	53

Library Search Report - Chemstation Integrator

Unknown Spectrum based on Apex

Peak Number: 20 at 33.27 min Area: 73487008 Area % 1.44

The 3 best hits from each library.

Ref# CAS# Qual

C:\Database\Wiley275.L

1 .beta.-ionone	76613	000079-77-6	58
2 .BETA.-IONONE	76707	000000-00-0	42
3 trans-.beta.-ionone \$\$ 3-Buten-2...	76512	000079-77-6	42

C:\HPCH2205.L

1 31.70 Amorph-4-ene<1-alpha, 10-a...	1714	257293-86-0	45
2 32.73 Fokienol	1665	033440-00-5	30
3 30.94 Cadinene ether<cis->	342	151593-38-3	25

Library Search Report - Chemstation Integrator

Unknown Spectrum based on Apex

Peak Number: 21 at 33.74 min Area: 520794753 Area % 10.21

The 3 best hits from each library.

Ref# CAS# Qual

C:\Database\Wiley275.L

1 bicyclogermacrene \$\$ Bicyclo[8.1...

2 BICYCLOGERMACRENE

3 GERMACRENE B

89615 100762-46-7 99

89653 024703-35-3 94

89664 015423-57-1 91

C:\HPCH2205.L

1 28.83 Bicyclogermacrene

2 28.96 Chamigrene<alpha->

3 28.75 Alaskene<beta->

1359 024703-35-3 99

391 019912-83-5 58

823 099529-78-9 43

Unknown Spectrum based on Apex

Library Search Report - Chemstation Integrator

Unknown Spectrum based on Apex

Peak Number: 23 at 34.71 min Area: 114390809 Area % 2.24

The 3 best hits from each library.

Ref# CAS# Qual

C:\Database\Wiley275.L

1 .delta.-Cadinene \$\$ Naphthalene,...	89353	000483-76-1	99
2 .delta.-Cadinene \$\$ Naphthalene,...	89349	000483-76-1	99
3 .delta.-cadinene (armoise-Maroc)...	89582	000483-76-1	99

C:\HPCH2205.L

1 29.72 Cadinene<delta->	833	000483-76-1	93
2 26.64 Muurola-3,5-diene<cis->	514	157374-44-2	89
3 26.78 Muurola-3,5-diene<trans->	511	189165-77-3	70

Library Search Report - Chemstation Integrator

Unknown Spectrum based on Apex

Peak Number: 24 at 34.99 min Area: 20841569 Area % 0.41

The 3 best hits from each library.

Ref# CAS# Qual

C:\Database\Wiley275.L

- 1 Naphthalene, 1,2,3,4,4a,7-hexahy...
- 2 CADINA-1,4-DIENE
- 3 CADINA-1,4-DIENE

89391	016728-99-7	98
89672	000000-00-0	94
89671	000000-00-0	93

C:\HPCH2205.L

- 1 30.18 Cadina-1,4-diene<trans>
- 2 28.62 Cadina-1,4-diene<cis>
- 3 28.20 Himachala-1,4-diene<11- alp...

1315	038758-02-0	96
1317	029837-12-5	91
1863	000000-00-0	83

BIBLIOTECA

Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Universidade de São Paulo

Library Search Report - Chemstation Integrator

Unknown Spectrum based on Apex

Peak Number: 25 at 35.38 min Area: 26719263 Area % 0.52

The 3 best hits from each library.

Ref# CAS# Qual

C:\Database\Wiley275.L

1	CALACORENE \$\$ 1,1,6-trimethyl-1,...	57844	000000-00-0	72
2	Naphthalene, 1,2-dihydro-1,1,6-t...	57820	030364-38-6	72
3	1,4,5,8-Tetramethyl-1,4-dihydron...	85446	068185-75-1	64

C:\HPCH2205.L

1	30.62 Calacorene<alpha>	1344	021391-99-1	97
2	31.43 Calacorene<beta>	1345	050277-34-4	55
3	35.51 Calamenen-10-ol<trans>	1427	123931-36-2	12

Library Search Report - Chemstation Integrator

Unknown Spectrum based on Apex

Peak Number: 26 at 35.73 min Area: 20277708 Area % 0.40

The 3 best hits from each library.

Ref#	CAS#	Qual

C:\Database\Wiley275.L

1 CARYOPHYLLENE OXIDE	106030 001139-30-6	86

2	Germacrene B (CAS)	\$\$	1,5-Cyclod...	89206	015423-57-1	80

3	(-)-Caryophyllene oxide	\$\$	(-)-5...	105971	001139-30-6	78

C:\HPC\H2205.L

1	32.16	Caryophyllene oxide	834	001139-30-6	70

2	35.16	Gymnomitrol	1877	041410-53-1	60

3	34.42	Aromadendrene epoxide-<allo->	107 085760-81-2	60

Unknown Spectrum based on Apex

Peak Number: 27 at 36.00 min Area: 32324524 Area % 0.63

The 3 best hits from each library.

Ref# CAS# Qual

C:\Database\Wiley275.L

1 Eremophilene \$\$ Naphthalene, 1,2...	89361	010219-75-7	97
2 Aromadendrene	89476	000489-39-4	95
3 (+)-Aromadendrene \$\$ 1H-Cyclopro...	89471	000489-39-4	95

C:\HPCH2205.L

1 27.80 Gurjunene<gamma->	762	022567-17-5	96
2 32.58 Viridiflorol	5	000552-02-3	89
3 28.51 Guaiene<cis-beta->	758	000088-84-6	83

Library Search Report - Chemstation Integrator

Unknown Spectrum based on Apex

Peak Number: 28 at 36.28 min Area: 61739246 Area % 1.21

The 3 best hits from each library.

Ref# CAS# Qual

C:\Database\Wiley275.L

1 6,10,11,11-TETRAMETHYL-TRICYCLO[...]	89474	000489-39-4	95
2 .gamma.-Gurjunene \$\$ Azulene, 1,...	89274	022567-17-5	91
3 1,5-epoxysalvial-4(14)-ene	275780	000000-00-0	64

C:\HPCH2205.L

1 34.95 Thujopsanone<3->	562	025966-79-4	46
2 35.15 Intermedeol<neo->	841	005945-72-2	40
3 32.34 Thujopsan-2-alpha-ol	497	078392-83-3	38

Unknown Spectrum based on Apex

Peak Number: 29 at 37.05 min Area: 1068554394 Area % 20.96

The 3 best hits from each library.

	Ref#	CAS#	Qual
C:\Database\Wiley275.L			
1 Spathulenol \$\$ 1H-Cycloprop[el]az...	105942	006750-60-3	99
2 (+) spathulenol	105983	077171-55-2	98
3 SPATHULENOL	106028	006750-60-3	81
C:\HPCH2205.L			
1 31.96 Spathulenol	998	006750-60-3	99
2 40.15 Isovalencenol<(E)->	2173	022387-74-2	64
3 34.42 Aromadendrene epoxide-<allo->	107	085760-81-2	25

Unknown Spectrum based on Apex

Peak Number: 30 at 37.17 min Area: 112135220 Area % 2.20

The 3 best hits from each library.

Ref# CAS# Qual

C:\Database\Wiley275.L

1 (-)-Spathulenol (CAS) \$ 1H-Cycl...	105982	077171-55-2	94
2 Junipene \$ 1,4-Methanoazulene, ...	89311	000475-20-7	91
3 (1.alpha.,4.alpha.,4a.beta.,5.al...	89738	024568-69-2	91

C:\HPCH2205.L

1 27.80 Gurjunene<gamma->	762	022567-17-5	95
2 40.15 Isovalencenol<(E)->	2173	022387-74-2	86
3 28.03 Widdra-2,4(14)-diene	1922	847374-87-2	64

Library Search Report - Chemstation Integrator

Unknown Spectrum based on Apex

Peak Number: 31 at 37.36 min Area: 53204835 Area % 1.04

The 3 best hits from each library.

Ref# CAS# Qual

C:\Database\Wiley275.L

1 VIRIDIFLOROL	108486	000552-02-3	98
2 (+)-Aromadendrene \$\$ 1H-Cyclopro...	89471	000489-39-4	98
3 GAMMA-GURJUNENE	89782	000000-00-0	97

C:\HPCH2205.L

1 27.80 Gurjunene<gamma->	762	022567-17-5	99
2 32.58 Viridiflorol	5	000552-02-3	99
3 27.16 Aromadendrane<dehydro->	198	085048-01-7	83

Unknown Spectrum based on Apex

Peak Number: 32 at 37.71 min Area: 42058529 Area % 0.82

The 3 best hits from each library.

Ref# CAS# Qual

C:\Database\Wiley275.L

1 1H-Indene, 1-ethylideneoctahydro...	49570	056324-68-6	58
2 .beta.-Eudesmol \$\$ 2-Naphthalene...	108343	000473-15-4	55
3 Rosifolol	106026	000000-00-0	50

C:\HPCHE2205.L

1 32.89 Rosifolol	1595	063891-61-2	64
2 34.69 Agarospirol	544	001460-73-7	51
3 28.69 Indipone	839	169238-61-3	38

Unknown Spectrum based on Apex

Peak Number: 33 at 37.91 min Area: 23736590 Area % 0.47

The 3 best hits from each library.

Ref# CAS# Qual

C:\Database\Wiley275.L

1	nor-copaanone	91765	000000-00-0	64
2	3H-2-Benzopyran-3-one, 1,4-dieth...	91408	111395-92-7	49
3	2-Cyclohexen-1-one, 2,4,4-trimet...	91288	027185-77-9	46

C:\HPCH2205.L

1	24.19 Jasmone<E->	959	006261-18-3	35
2	32.70 Mayurone<cis-dihydro->	1860	007129-16-0	35
3	31.35 Longicamphenylone	1025	058560-59-1	30

Unknown Spectrum based on Apex

Ref#	CAS#	Qual

```

1 Spathulenol $$ 1H-Cycloprop[e]az...
2 (+) spathulenol
3 nor-copaanone

```

105942	006750-60-3	91
105983	077171-55-2	83
91765	000000-00-0	60

```

1 36.18 Germacra-4(15),5,10(14)-tr...
2 40.15 Isovalencenol<(E)->
3 31.96 Spathulenol

```

1718	081968-62-9	58
2173	022387-74-2	49
998	006750-60-3	46

Unknown Spectrum based on Apex

Peak Number: 35 at 38.26 min Area: 26040428 Area % 0.51

The 3 best hits from each library.

	Ref#	CAS#	Qual
C:\Database\Wiley275.L			
1 valerenol	106002	084249-42-3	78
2 Naphthalene, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-o...	89409	030021-74-0	78
3 EPIGLOBULOL	108380	000552-02-3	64
C:\HPCH2205.L			
1 33.61 Junenol	1641	000472-07-1	90
2 26.20 Guaiene<alpha->	831	003691-12-1	74
3 37.09 Mayurone	392	004677-90-1	52

Unknown Spectrum based on Apex

Peak Number: 36 at 38.45 min Area: 29821476 Area % 0.58

The 3 best hits from each library.

Ref# CAS# Qual

C:\Database\Wiley275.L

1 1,Z-5,E-7-Dodecatriene	49599	083085-83-0	55
2 1-.alpha.,9-.alpha.-Dimethyl-cis...	49321	077494-84-9	53
3 Ledene \$\$ 1H-Cycloprop[e]azulene...	89483	021747-46-6	51

C:\HPCH2205.L

1 33.17 Eudesmol<5-epi-7-epi-alpha->	543	446050-56-2	50
2 32.89 Rosifoliol	1595	063891-61-2	47
3 26.92 Patchoulene<alpha->	1241	000560-32-7	41

Library Search Report - Chemstation Integrator

Unknown Spectrum based on Apex

Peak Number: 37 at 38.66 min Area: 33253865 Area % 0.65

The 3 best hits from each library.

	Ref#	CAS#	Qual
C:\Database\Wiley275.L			
1 Naphthalene, 1,2,3,4,4a,7-hexahy...	89391	016728-99-7	96
2 CADINA-1,4-DIENE	89672	000000-00-0	70
3 .delta.-Cadinene \$\$ Naphthalene,...	89352	000483-76-1	64
C:\HPC2205.L			
1 33.95 Cubenol<1-epi->	255	019912-67-5	99
2 33.60 Cubenol<1,10-di-epi->	1440	073365-77-2	68
3 27.75 Neocallitropsene<alpha->	1871	090025-12-0	59

Library Search Report - Chemstation Integrator

Unknown Spectrum based on Apex

Peak Number: 38 at 39.11 min Area: 90925879 Area % 1.78

The 3 best hits from each library.

Ref# CAS# Qual

C:\Database\Wiley275.L

1 isospathulenol	105992	000000-00-0	94
2 (-)-Spathulenol (CAS) \$\$ 1H-Cycl...	105982	077171-55-2	81
3 (3S,4R,5S,6R,7S)-Aristol-9-en-3-...	105946	074075-09-5	42

C:\HPCH2205.L

1 36.18 Germacra-4(15),5,10(14)-tr...	1718	081968-62-9	45
2 27.96 Curcumene<ar->	1379	000644-30-4	45
3 39.15 Costol<beta->	1730	000515-20-8	30

Library Search Report - Chemstation Integrator

Unknown Spectrum based on Apex

Peak Number: 39 at 39.21 min Area: 70094606 Area % 1.37

The 3 best hits from each library.

Ref# CAS# Qual

C:\Database\Wiley275.L

1 .alpha.-cadinol	108443	000481-34-5	83
2 .alpha.-Elemene \$\$ Cyclohexene, ...	89176	005951-67-7	70
3 .delta.-Cadinene \$\$ Naphthalene, ...	89352	000483-76-1	70

C:\HPCH2205.L

1 34.46 Murrolol<epi-alpha> (=tau...	1324	019912-62-0	87
2 29.35 Cadinene<gamma>	832	039029-41-9	86
3 29.72 Cadinene<delta>	833	000483-76-1	70

Unknown Spectrum based on Apex

Peak Number: 40 at 39.37 min Area: 25493235 Area % 0.50

The 3 best hits from each library.

Ref# CAS# Qual

C:\Database\Wiley275.L

1 .alpha.-amorphene \$\$ .ALPHA. AMO...	89412	023515-88-0	89
2 Naphthalene, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-o...	89409	030021-74-0	83
3 .delta.-Cadinene \$\$ Naphthalene,...	89355	000483-76-1	83

C:\HPCH2205.L

1 30.14 Cuprenene<gamma>	1873	004895-23-2	95
2 27.91 Muurolene<gamma>	1342	030021-74-0	70
3 28.63 Amorphene<gamma>	1320	006980-46-7	70

Unknown Spectrum based on Apex

Peak Number: 41 at 39.48 min Area: 21116929 Area % 0.41

The 3 best hits from each library.

Ref# CAS# Qual

C:\Database\Wiley275.L

1 DEHYDROAROMADENDRENE	87306	000000-00-0	50
2 Benzene, trimethyl(1-methylethyl...	47592	033991-29-6	38
3 Tricyclo[3.2.1.0(2,7)]oct-3-ene,...	47684	062338-44-7	35

C:\HPCH2205.L

1 30.43 Copaen-11-ol<alpha>	1759	041370-56-3	38
2 36.27 Eudesma-4(15),7-dien-1-bet...	1428	119120-23-9	30
3 30.11 Calamenene<cis>	346	072937-55-4	25

Library Search Report - Chemstation Integrator

Unknown Spectrum based on Apex

Peak Number: 42 at 39.67 min Area: 69834562 Area % 1.37

The 3 best hits from each library.

Ref# CAS# Qual

C:\Database\Wiley275.L

1 .alpha.-cadinol	108441	000481-34-5	91
2 T-Cadinol \$\$ 1-Naphthalenol, 1,2...	108316	005937-11-1	89
3 T-Muuroiol \$\$ 1-Naphthalenol, 1,...	108318	019912-62-0	83

C:\HPCH2205.L

1 34.93 Cadinol<alpha>	1322	000481-34-5	99
2 34.46 Murrolol<epi-alpha> (=tau...	1324	019912-62-0	98
3 29.35 Cadinene<gamma>	832	039029-41-9	56

Unknown Spectrum based on Apex

Peak Number: 43 at 39.75 min Area: 20956693 Area % 0.41

The 3 best hits from each library.

Ref# CAS# Qual

C:\Database\Wiley275.L

1 .epsilon.-cadinene	89608	000000-00-0	47
2 (Z)-4-(2',4',4'-Trimethylbicyclo...	91667	079718-87-9	38
3 1-ETHYL-3-ISOPROPYLBENZENE	34369	000000-00-0	30

C:\HPCH2205.L

1 26.48 Prezizaene	1565	116498-31-8	23
2 17.47 Cumin aldehyde	1338	000122-03-2	16
3 34.41 Heptan-2-one<6-methyl-6-(3...	245	072247-00-8	16

Library Search Report - Chemstation Integrator

Unknown Spectrum based on Apex

Peak Number: 44 at 40.06 min Area: 26260257 Area % 0.52

The 3 best hits from each library.

Ref# CAS# Qual

C:\Database\Wiley275.L

1 3H-2-Benzopyran-3-one, 1,4-dieth...	91408	111395-92-7	86
2 8-Isopropyl-1-methylbicyclo[5.3....	91728	061050-80-4	78
3 3.alpha.-Methyl-5.beta.H-6.beta....	91687	086000-79-5	78

C:\HPCHEM2205.L

1 7.31 Mentha-2,8-diene<cis-meta->	1068	005208-51-5	22
2 7.18 Mentha-2,8-diene<trans-meta->	1067	005208-52-6	14
3 10.30 Mentha-3,8-diene<para->	587	000586-67-4	14

Unknown Spectrum based on Apex

Peak Number: 45 at 40.19 min Area: 33558494 Area % 0.66

The 3 best hits from each library.

Ref# CAS# Qual

C:\Database\Wiley275.L

1	1.ALPHA.,5,8-TRIMETHYL-TETRACYCL...	87171	058537-28-3	42
2	.alpha.-copaene-8-ol	105956	058569-25-8	38
3	Ethanone, 1-(1,3a,4,5,6,7-hexahy...	105481	055683-15-3	38

C:\HPCH2205.L

1	38.40 Costol<gamma>-	1729	065018-14-6	48
2	40.15 Isovalencenol<E>-	2173	022387-74-2	43
3	24.05 Isocomene<alpha>-	200	065372-78-3	38

Library Search Report - Chemstation Integrator

Unknown Spectrum based on Apex

Peak Number: 46 at 40.37 min Area: 36089603 Area % 0.71

The 3 best hits from each library.

Ref# CAS# Qual

C:\Database\Wiley275.L

1 Naphthalene, 1,2,3,4-tetrahydro-...	87295	000483-77-2	53
2 DEHYDROAROMADENDRENE	87306	000000-00-0	43
3 1,5,8-TRIMETHYL-TRICYCLO(5.3.1.0...	87166	058537-26-1	41

C:\HPCH2205.L

1 30.09 Vetivenene<gamma->	1555	028908-26-1	25
2 23.74 Anisole<para-but-(1E)-enyl->	1859	018657-09-5	25
3 29.69 Calamenene<trans->	345	073209-42-4	25

Unknown Spectrum based on Apex

Ref#	CAS#	Qual

1	(+)-OXO-.ALPHA.-YLANGENE	103788	000000-00-0	83
2	nor-copaanone	91765	000000-00-0	41
3	.alpha.-Guaiene \$\$ Azulene, 1,2,...	89281	003691-12-1	38

1	35.83	Mustakone	1842	001209-91-2	98
2	26.20	Guaiene<alpha->	831	003691-12-1	38
3	39.22	Muurolene<14-oxy-alpha->	927	135118-53-5	35

**ÓLEO VOLÁTIL DAS FOLHAS DE *Rollinia sericea*
COLETADO EM MARÇO DE 2006**

Library Search Report

Data File : C:\MSDCHEM\1\DATA\ROSILENE\RS 0306.D Vial: 5
Acq On : 14 Feb 2008 12:08 Operator:
Sample : RS 0306 Inst : CG-MS
Misc : Multiplr: 1.00
Sample Amount: 0.00

MS Integration Params: autoint1.e
Method : C:\MSDCHEM\1\METHODS\ENVDEF.M (Chemstation Integrator)
Title :

Library Search Report - Chemstation Integrator

Unknown Spectrum based on Apex

Peak Number: 1 at 11.82 min Area: 78202866 Area % 2.55

The 3 best hits from each library.

Ref# CAS# Qual

C:\Database\Wiley275.L

1	.ALPHA.-PHELLANDRENE \$\$ 2-METHYL...	25374	000099-83-2	95
2	.alpha.-phellandrene	25318	000099-83-2	94
3	l-Phellandrene \$\$ 1,3-Cyclohexad...	24998	000099-83-2	91

C:\HPCH2205.L

1	7.85 Phellandrene<alpha>	159	000099-83-2	95
2	8.03 Sylvestrene<iso>	1066	000499-03-6	50
3	5.53 Tricyclene	913	000508-32-7	38

Library Search Report - Chemstation Integrator

Unknown Spectrum based on Apex

Peak Number: 2 at 12.73 min Area: 58651187 Area % 1.91

The 3 best hits from each library.

Ref# CAS# Qual

C:\Database\Wiley275.L

1 Benzene, 1,2,4,5-tetramethyl- (C...	23400	000095-93-2	94
2 Benzene, 1-methyl-4-(1-methyleth...	23310	000099-87-6	94
3 PARA CYMENE	23459	000099-87-6	94

C:\HPCH2205.L

1 8.59 Cymene<ortho->	1529	000527-84-4	95
2 8.53 Cymene<para->	306	000099-87-6	95
3 5.83 Cyclopentene<3,5-dimethylen...	2091	000000-00-0	90

Library Search Report - Chemstation Integrator

Unknown Spectrum based on Apex

Scan 1668 (26.496 min): RS_0306.D

Peak Number: 3 at 26.50 min Area: 33848062 Area % 1.10

The 3 best hits from each library.

Ref# CAS# Qual

C:\Database\Wiley275.L

1	bicyclogermacrene \$\$ Bicyclo[8.1...	89615	100762-46-7	87
2	1,3-Dimethyl-2-cyano-3-piperidin...	24513	073657-68-8	59
3	2-(Bromomethyl)-1,3,3-trimethylc...	25405	000000-00-0	52

C:\HPC2205.L

1	26.16 Isobazzanene	1868	088661-59-0	50
2	28.96 Chamigrene<alpha->	391	019912-83-5	40
3	15.61 Cumenol<o->	1625	000088-69-7	35

Library Search Report - Chemstation Integrator

Unknown Spectrum based on Apex

Scan 1707 (27.020 min): RS_0306.D

Peak Number: 4 at 27.02 min Area: 246889790 Area % 8.06

The 3 best hits from each library.

Ref# CAS# Qual

C:\Database\Wiley275.L

1 Bicycloelemene	89618	000000-00-0	90
2 Cyclopentane, 2-methyl-1-methyle...	24975	056710-83-9	68
3 .ALPHA.-TERPINENE	25417	000000-00-0	60

C:\HPC2205.L

1 15.61 Cumenol<o->	1625	000088-69-7	43
2 15.73 Terpeneol<gamma->	1527	000586-81-2	38
3 29.31 Alaskene<alpha->	616	028400-12-6	37

Unknown Spectrum based on Apex

Scan 1741 (27.477 min): RS_0306.D

Peak Number: 5 at 27.48 min Area: 62247456 Area % 2.03

The 3 best hits from each library.

Ref# CAS# Qual

C:\Database\Wiley275.L

1	.alpha.-Cubebene \$\$ 1H-Cyclopent...	89536	017699-14-8	97
2	.alpha.-Cubebene \$\$ 1H-Cyclopent...	89537	017699-14-8	97
3	.ALPHA.-CUBEBENE	89680	017699-14-8	97

C:\HPC2205.L

1	22.33 Cubebene<alpha->	826	017699-14-8	96
2	23.49 Copaene<alpha->	828	003856-25-5	90
3	34.61 Muurolol<alpha-> (=Torreyol)	1321	019435-97-3	64

BIBLIOTECA
Faculdade de Ciências Farmacêutica
Universidade de São Paulo

Library Search Report - Chemstation Integrator

Unknown Spectrum based on Apex

Peak Number: 6 at 28.57 min Area: 54864375 Area % 1.79

The 3 best hits from each library.

Ref# CAS# Qual

C:\Database\Wiley275.L

1 .ALPHA.-COPAENE	89659	003856-25-5	98
2 .alpha.-Copaene \$\$ Tricyclo[4.4....	89533	003856-25-5	97
3 .alpha.-Copaene \$\$ Tricyclo[4.4....	89527	003856-25-5	96

C:\HPCH2205.L

1 23.49 Copaene<alpha->	828	003856-25-5	97
2 22.33 Cubebene<alpha->	826	017699-14-8	94
3 26.64 Muurolo-3,5-diene<cis->	514	157374-44-2	86

Library Search Report - Chemstation Integrator

Unknown Spectrum based on Apex

Peak Number: 7 at 29.00 min Area: 73312280 Area % 2.39

The 3 best hits from each library.

Ref# CAS# Qual

C:\Database\Wiley275.L

1 (-)-.beta.-Elemene \$\$ Cyclohexan...	89179	000515-13-9	83
2 (-)-.beta.-Elemene \$\$ Cyclohexan...	89180	000515-13-9	83
3 .BETA. ELEMENE	89661	000515-13-9	74

C:\HPCH2205.L

1 24.15 Elemene<beta->	309	000515-13-9	38
2 29.35 Cadinene<gamma->	832	039029-41-9	27
3 23.74 Daucene	363	016661-00-0	25

Library Search Report - Chemstation Integrator

Unknown Spectrum based on Apex

Peak Number: 8 at 29.48 min Area: 408377417 Area % 13.33

The 3 best hits from each library.

Ref# CAS# Qual

C:\Database\Wiley275.L

1 .BETA. ELEMENE	89661	000515-13-9	99
2 Spiro[5.5]undec-2-ene, 3,7,7-tri...	89708	015401-86-2	55
3 (-)-.beta.-Elemene \$\$ Cyclohexan...	89179	000515-13-9	52

C:\HPCH2205.L

1 24.15 Elemene<beta->	309	000515-13-9	91
2 28.37 Selinene<beta->	420	017066-67-0	72
3 27.80 Gurjunene<gamma->	762	022567-17-5	43

Unknown Spectrum based on Apex

Peak Number: 9 at 30.02 min Area: 24211068 Area % 0.79

The 3 best hits from each library.

Ref# CAS# Qual

C:\Database\Wiley275.L

1 (-)-.ALPHA.-GURJUNENE	89794	000000-00-0	99
2 .alpha.-Gurjunene \$\$ 1H-Cyclopro...	89465	000489-40-7	99
3 .alpha.-Gurjunene \$\$ 1H-Cyclopro...	89464	000489-40-7	98

C:\HPCH2205.L

1 25.00 Gurjunene<alpha->	764	000489-40-7	98
2 24.54 Cyperene	829	002387-78-2	86
3 27.18 Cadina-1(6),4-diene<cis->	1870	246522-85-0	70

Library Search Report - Chemstation Integrator

Unknown Spectrum based on Apex

Peak Number: 10 at 30.57 min Area: 380699535 Area % 12.43

The 3 best hits from each library. Ref# CAS# Qual

C:\Database\Wiley275.L

1 trans-Caryophyllene \$\$ Bicyclo[7...	89254	000087-44-5	91
2 (-)-Sinularene	89623	000000-00-0	83
3 VALENCENE	89662	004630-07-3	70

C:\HPCH2205.L

1 28.53 Muurola-4(14),5-diene<trans->	510	054324-03-7	55
2 25.95 Gurjunene<beta->	763	017334-55-3	38
3 26.68 Himachalene<alpha->	890	003853-83-6	38

Library Search Report - Chemstation Integrator

Unknown Spectrum based on Apex

Peak Number: 11 at 30.82 min Area: 66863956 Area % 2.18

The 3 best hits from each library.

Ref# CAS# Qual

C:\Database\Wiley275.L

1 .beta.-cubebene	89691	013744-15-5	95
2 EPI-BICYCLOSESQUIPHELLANDRENE \$\$...	89157	054324-03-7	94
3 BICYCLO[4.4.0]DEC-1-EN, 2-ISOPRO...	89341	000000-00-0	93

C:\HPCH2205.L

1 25.90 Copaene<beta>	1319	018252-44-3	97
2 27.77 Cadina-1(6),4-diene<trans>	1052	020085-11-4	72
3 27.18 Cadina-1(6),4-diene<cis>	1870	246522-85-0	59

Unknown Spectrum based on Apex

Scan 2034 (31.416 min): RS_0306.D

Peak Number: 12 at 31.42 min Area: 26289116 Area % 0.86

The 3 best hits from each library.

Ref# CAS# Qual

C:\Database\Wiley275.L

1	GERMACRENE-D	89649	023986-74-5	96
2	.beta.-cubebene	89691	013744-15-5	95
3	GERMACRENE-D	89684	023986-74-5	94

C:\HPCHE2205.L

1	24.04 Cubebene<beta->	468	013744-15-5	95
2	29.35 Cadinene<gamma->	832	039029-41-9	91
3	25.42 Cedrene<beta->	940	000546-28-1	86

Unknown Spectrum based on Apex

Peak Number: 13 at 31.82 min Area: 120497118 Area % 3.93

The 3 best hits from each library.

	Ref#	CAS#	Qual
C:\Database\Wiley275.L			
1 ALPHA.-HUMULENE \$\$ ALPHA-HUMULENE	89650	006753-98-6	95
2 4,7,10-Cycloundecatriene, 1,1,4,...	89796	000000-00-0	95
3 ALPHA.-HUMULENE \$\$ ALPHA-HUMULENE	89651	006753-98-6	94
C:\HPCH2205.L			
1 26.82 Humulene<alpha->	827	006753-98-6	97
2 5.12 Santolina Triene	226	002153-66-4	49
3 29.09 Bisabolene<(Z)-alpha->	1221	070332-15-9	47

Unknown Spectrum based on Apex

Peak Number: 14 at 32.09 min Area: 69105272 Area % 2.26

The 3 best hits from each library.

Ref# CAS# Qual

C:\Database\Wiley275.L

1 AROMADENDRENE	89682	000489-39-4	99
2 ALLOAROMADENDRENE	89772	000000-00-0	98
3 Alloaromadendrene \$\$ 1H-Cyclopro...	89480	025246-27-9	98

C:\HPCH2205.L

1 28.91 Patchoulene<gamma->	1242	000508-55-4	94
2 28.66 Valencene	1528	004630-07-3	91
3 27.18 Cadina-1(6),4-diene<cis->	1870	246522-85-0	83

Library Search Report - Chemstation Integrator

Unknown Spectrum based on Apex

Peak Number: 15 at 33.07 min Area: 377147703 Area % 12.31

The 3 best hits from each library.

Ref# CAS# Qual

C:\Database\Wiley275.L

1	GERMACRENE-D	89649	023986-74-5	97
2	GERMACRENE-D	89658	023986-74-5	97
3	GERMACRENE-D	89684	023986-74-5	97

C:\HPCH2205.L

1	28.15 Germacrene D	500	023986-74-5	97
2	24.04 Cubebene<beta->	468	013744-15-5	91
3	28.53 Muurola-4(14),5-diene<trans->	510	054324-03-7	90

Library Search Report - Chemstation Integrator

Unknown Spectrum based on Apex

Peak Number: 16 at 33.18 min Area: 43191348 Area % 1.41

The 3 best hits from each library.

Ref# CAS# Qual

C:\Database\Wiley275.L

1 .BETA.-SELINENE	89676	017066-67-0	99
2 .ALPHA.-GUAIENE	89767	000000-00-0	97
3 .beta.-Selinene \$\$ Naphthalene, ...	89380	017066-67-0	96

C:\HPCH2205.L

1 28.37 Selinene<beta->	420	017066-67-0	99
2 26.20 Guaiene<alpha->	831	003691-12-1	98
3 27.80 Gurjunene<gamma->	762	022567-17-5	97

Library Search Report - Chemstation Integrator

Unknown Spectrum based on Apex

Peak Number: 17 at 33.70 min Area: 345923062 Area % 11.29

The 3 best hits from each library.

Ref# CAS# Qual

C:\Database\Wiley275.L

1 bicyclogermacrene \$\$ Bicyclo[8.1...	89615	100762-46-7	95
2 bicyclogermacrene \$\$ Bicyclo[8.1...	89616	100762-46-7	94
3 BICYCLOGERMACRENE	89653	024703-35-3	91

C:\HPCH2205.L

1 28.83 Bicyclogermacrene	1359	024703-35-3	98
2 28.96 Chamigrene<alpha->	391	019912-83-5	52
3 26.08 Elemene<gamma->	742	029873-99-2	30

Library Search Report - Chemstation Integrator

Unknown Spectrum based on Apex

Peak Number: 18 at 34.27 min Area: 36959317 Area % 1.21

The 3 best hits from each library.

Ref# CAS# Qual

C:\Database\Wiley275.L

1 .gamma.-Cadinene \$\$ Naphthalene,...	89347	039029-41-9	95
2 .alpha.-amorphene \$\$ .ALPHA. AMO...	89416	023515-88-0	95
3 Naphthalene, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-o...	89407	030021-74-0	93

C:\HPCH2205.L

1 29.35 Cadinene<gamma->	832	039029-41-9	96
2 27.60 Dauca-5,8-diene	1573	142928-08-3	92
3 27.91 Muurolene<gamma->	1342	030021-74-0	86

Library Search Report - Chemstation Integrator

Unknown Spectrum based on Apex

Peak Number: 19 at 34.67 min Area: 86245162 Area % 2.82

The 3 best hits from each library.

Ref# CAS# Qual

C:\Database\Wiley275.L

1 .delta.-cadinene (armoise-Maroc)...

2 .DELTA.-CADINENE

3 .delta.-Cadinene \$\$ Naphthalene,...

89582 000483-76-1 98

89652 039029-41-9 98

89349 000483-76-1 96

C:\HPCH2205.L

1 29.72 Cadinene<delta->

2 27.77 Cadina-1(6),4-diene<trans->

3 26.64 Muurola-3,5-diene<cis->

833 000483-76-1 90

1052 020085-11-4 58

514 157374-44-2 58

Library Search Report - Chemstation Integrator

Unknown Spectrum based on Apex

Peak Number: 20 at 36.40 min Area: 162044835 Area % 5.29

The 3 best hits from each library.

	Ref#	CAS#	Qual
C:\Database\Wiley275.L			
1 1,6,10-Dodecatrien-3-ol, 3,7,11-...	108611	040716-66-3	91
2 NEROLIDOL	108483	007212-44-4	91
3 NEROLIDOL ISOMER	108169	000142-50-7	87
C:\HPCH2205.L			
1 30.09 Nerolidol<Z->	1140	000142-50-7	87
2 27.04 Prenyl limonene<trans->	1348	135267-19-5	30
3 30.03 Bisabolene<(E)-gamma->	357	053585-13-0	25

Library Search Report - Chemstation Integrator

Unknown Spectrum based on Apex

Scan 2428 (36.713 min): RS_0306.D

Peak Number: 21 at 36.71 min Area: 59817958 Area % 1.95

The 3 best hits from each library.

	Ref#	CAS#	Qual
C:\Database\Wiley275.L			
1 1-Fluoromethyl-3-nitronaphthalen...	90022	055831-01-1	38
2 (3S,4R,5S,6R,7S)-Aristol-9-en-3-...	105946	074075-09-5	22
3 1,8-ANHYDRO-CIS-.ALPHA.-COPAENE-...	87310	058569-26-9	18
C:\HPCH2205.L			
1 34.06 Muurola-4,10(14)-dien-1-be...	1716	257293-90-6	10
2 35.16 Ageratochromene	22	000644-06-4	9
3 39.64 Muurolene<14-hydroxy-alpha->	928	135118-51-3	9

Unknown Spectrum based on Apex

Peak Number: 22 at 36.95 min Area: 68564623 Area % 2.24

The 3 best hits from each library.

Ref# CAS# Qual

C:\Database\Wiley275.L

1 viridiflorol	108383	000552-02-3	94
2 VIRIDIFLOROL	108486	000552-02-3	90
3 .gamma.-Selinene \$\$ Naphthalene,...	89383	000515-17-3	86

C:\HPC2205.L

1 24.92 Longifolene	1027	000475-20-7	90
2 27.80 Gurjunene<gamma->	762	022567-17-5	70
3 30.66 Selina-3,7(11)-diene	133	006813-21-4	60

Unknown Spectrum based on Apex

Scan 2467 (37.237 min): RS_0306.D

The 3 best hits from each library.

Ref#	CAS#	Qual

C:\Database\Wiley275.L

1	viridiflorol	108383	000552-02-3	99
2	VIRIDIFLOROL	108486	000552-02-3	99
3	.gamma.-Selinene \$\$ Naphthalene,...	89383	000515-17-3	94

C:\HPC\H2205.L

1	27.80	Gurjunene<gamma->	762	022567-17-5	70
2	27.91	Murolene<gamma->	1342	030021-74-0	60
3	25.95	Gurjunene<beta->	763	017334-55-3	53

Library Search Report - Chemstation Integrator

Unknown Spectrum based on Apex

Peak Number: 24 at 37.64 min Area: 22273304 Area % 0.73

The 3 best hits from each library.

Ref# CAS# Qual

C:\Database\Wiley275.L

1 1H-Indene, 1-ethylideneoctahydro...	49570	056324-68-6	86
2 .beta.-Eudesmol \$\$ 2-Naphthalene...	108339	000473-15-4	60
3 Benzene, 1-(1,1-dimethylethyl)-4...	49282	005396-38-3	53

C:\HPCH2205.L

1 32.89 Rosifoliol	1595	063891-61-2	50
2 17.61 Carvacrol, methyl ether	1503	006379-73-3	38
3 28.69 Indipone	839	169238-61-3	35

Unknown Spectrum based on Apex

Peak Number: 25 at 39.11 min Area: 46290903 Area % 1.51

The 3 best hits from each library.

	Ref#	CAS#	Qual
C:\Database\Wiley275.L			
1 BICYCLO[4.4.0]DEC-1-EN, 2-ISOPRO...	89341	000000-00-0	94
2 .delta.-Cadinene \$\$ Naphthalene,...	89350	000483-76-1	93
3 .delta.-Cadinene \$\$ Naphthalene,...	89359	000483-76-1	93
C:\HPC2205.L			
1 27.60 Dauca-5,8-diene	1573	142928-08-3	81
2 23.49 Copaene<alpha->	828	003856-25-5	81
3 26.64 Muurola-3,5-diene<cis->	514	157374-44-2	81

Unknown Spectrum based on Apex

Scan 2642 (39.590 min): RS_0306.D

Peak Number: 26 at 39.59 min Area: 71828428 Area % 2.34

The 3 best hits from each library.

Ref# CAS# Qual

C:\Database\Wiley275.L

Rank	Compound	Ref#	CAS#	Qual
1	T-Muurololol \$1-Naphthalenol, 1,...	108318	019912-62-0	95
2	valencene 1	89600	046030-07-3	70
3	alpha.-cadinol	108443	000481-34-5	62

C:\HPCH2205.L

Rank	Compound	Ref#	CAS#	Qual
1	29.97 Zonarene	1051	041929-05-9	49
2	24.62 Sibirene	1853	014029-18-6	47
3	28.88 Epizonarene	515	041702-63-0	46