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

Estudo farmacognóstico comparativo de espécies medicinais de *Passiflora* L.:
P.alata Curtis; *P.caerulea* L.; *P.edulis* Sims. forma *flavicarpa* Degener; *P.incamata*
L. e *P.quadrangularis* L.

Vilma Marlene Maciel Mezo

Dissertação para obtenção do grau de
MESTRE

Orientador:

Profa. Dra. Edna Tomiko Myiake Kato

São Paulo
2005

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

DEDALUS - Acervo - CQ

30100011019

Ficha Catalográfica

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

Mezo, Vilma Marlene Maciel

M617e Estudo farmacognóstico comparativo de espécies medicinais
de *Passiflora* L. : *P. alata* Curtis, *P. caerulea* L., *P. edulis* Sims
forma *flavicarpa* Degener, *P. incarnata* L. e *P. quadrangularis*
L. / Vilma Marlene Maciel Mezo. -- São Paulo, 2005.
120p.

Dissertação (mestrado)- Faculdade de Ciências Farmacêuticas
da Universidade de São Paulo. Departamento de Farmácia.
Orientador: Kato, Edna Tomiko Myiake

1. *Passiflora* : Farmacognosia 2. Maracujá : Farmacognosia
I. T. II. Kato, Edna Tomiko Myiake, orientador.

615.323456 CDD

Vilma Marlene Maciel Mezo

Estudo farmacognóstico comparativo de espécies medicinais de *Passiflora* L.:
P.alata Curtis; *P.caerulea* L.; *P.edulis* Sims. forma *flavicarpa* Degener; *P.incamata*
L. e *P.quadrangularis* L.

Comissão Julgadora
da
Dissertação para obtenção do grau de Mestre

Profa. Dra. Edna Tomiko Myiake Kato
Orientador/ Presidente

Prof. Assoc. Fernando de Oliveira
1º Examinador

Profa. Dra. Ivana Barbosa Suffredini
2º Examinador

São Paulo, 1 de agosto de 2005

*"A neve e as tempestades matam as flores,
mas nada podem contra as sementes"*

"Nas trevas, vi Tua Luz!

No silêncio, ouvi Tua Voz!

Na solidão, senti Tua Presença!

Obrigada, Senhor, por cuidar de mim"

*Dedico este trabalho à memória de
meu pai e de meu irmão Sérgio que sempre
incentivaram meus estudos, e à minha mãe
e ao meu irmão Samuel pelo apoio nesta
jornada*

Agradeço

À Professora Doutora Edna Tomiko M. Kato por minha orientação, amizade e auxílio

Às Professoras Doutoras Dominique H.C. Fischer e Elfriede M. Bacchi pelo incentivo

Ao Professor Doutor Paulo Chanel D. Freitas pelo auxílio e por tornar o B 15 um local mais alegre

Ao Professor Doutor Vicente de Oliveira Ferro por sua gentileza

Ao Professor Doutor Fernando de Oliveira pelo incentivo e auxílio

Ao amigo Carlindo que me ensinou a sonhar mais alto

À amiga Sônia sempre alegre mesmo nos momento difíceis

À amiga Tatiana cuja inteligência e generosidade admiro

À amiga Helena do Instituto Adolfo Lutz que tanto me auxiliou na realização deste trabalho

À amiga Blanca do Instituto Adolfo Lutz que permitiu o uso de seu material e equipamento

Às amigas Andréa, Fabiana, Raquel, Elizângela e Tati e ao amigo André por compartilhar os bons e maus momentos

Aos Professores Doutores Berta Morretes, Maria Luiza e Antônio Salatino por demonstrar amor à profissão de ensinar

Aos Professores Doutores Altair e Primavera pela gentileza de ensinar o uso do fotomicroscópio

Ao técnico Roberto que se tornou professor e amigo

À Elizabeth da Secretaria por sempre se colocar à disposição

Ao Jorge e à Elaine, da Pós, pelo atendimento sempre gentil

Aos bibliotecários Ângelo, Leila e Adriana pelo auxílio

À Lúcia, Raquel e Doralice pela amizade

À Professora Doutora Sílvia Berlanga e à técnica Clarissa pelo uso dos equipamentos

À Sâmara e ao Claudemir da Micronal que tanto auxiliaram este trabalho permitindo usar seus equipamentos

À Doutora Laura Maria Molina Meletti do Instituto Agronômico de Campinas pelo auxílio na obtenção de material e pela gentileza na doação de seu livro

Ao Doutor Harri Lorenzi do Instituto Plantarum pelo auxílio na obtenção de material

À Doutora Maria Rita de Campos e ao Doutor Juliano Gomes Pádua, da Genética e Melhoramentos de Plantas da Esalq pelo envio de material

Ao CNPq pela bolsa concedida

ÍNDICE

	página
Lista de figuras	i
Resumo	iv
Abstract	v
1. Introdução	1
2. Revisão de literatura	3
2.1. Aspectos botânicos	4
2.1.1. Família Passifloraceae	4
2.1.2. Gênero <i>Passiflora</i>	7
2.2. Aspectos químicos	10
2.2.1. Flavonóides	11
2.2.2. Alcalóides	13
2.2.3. Glicosídeos cianogênicos	15
2.3. Aspectos farmacológicos e usos	26
2.4. Toxicidade	28
2.5. <i>Passiflora alata</i> Curtis	29
2.6. <i>Passiflora caerulea</i> L.	31
2.7. <i>Passiflora edulis</i> Sims. forma <i>flavicarpa</i> O. Degener	34
2.8. <i>Passiflora incarnata</i> L.	37
2.9. <i>Passiflora quadrangularis</i> L.	41
3. Objetivo	43
4. Material e métodos	43
4.1. Material vegetal	43
4.2. Estudo farmacobotânico	43
4.3. Análise cromatográfica	44
4.3.1. Preparo dos extratos	44
4.3.2. Análise cromatográfica em camada delgada	45
4.3.3. Análise cromatográfica em camada delgada de alta eficiência	46

4.4. Análise quantitativa da fração flavonoídica	47
4.4.1. Análise espectrofotométrica. Método 1.	47
4.4.2. Análise espectrofotométrica. Método 2.	48
4.4.3. Análise cromatográfica em camada delgada de alta eficiência	50
5. Resultados	52
5.1. Estudo farmacobotânico	52
5.1.1. <i>Passiflora alata</i> Curtis	52
5.1.2. <i>Passiflora caerulea</i> L.	60
5.1.3. <i>Passiflora edulis</i> Sims. forma <i>flavicarpa</i> O. Degener	66
5.1.4. <i>Passiflora incarnata</i> L.	73
5.1.5. <i>Passiflora quadrangularis</i> L.	80
5.2. Perfil cromatográfico	87
5.2.1. Análise cromatográfica em camada delgada	87
5.2.2. Análise cromatográfica em camada delgada de alta eficiência	86
5.3. Análise quantitativa da fração flavonoídica	95
5.3.1. Análise espectrofotométrica. Método 1.	95
5.3.2. Análise espectrofotométrica. Método 2.	95
5.3.3. Análise cromatográfica em camada delgada de alta eficiência	96
6. Discussão	97
6.1. Aspectos botânicos	97
6.2. Análise cromatográfica em camada delgada e camada delgada de alta eficiência	100
6.3. Análise quantitativa da fração flavonoídica	104
7. Conclusão	105
8. Referências bibliográficas	106

Lista de figuras

	página
Figura 1. Flavonóides C-glicosídeos e flavonas de <i>Passiflora</i> .	12
Figura 2. Flavonóis e flavonóides O-glicosídeos em <i>Passiflora</i>	13
Figura 3. Alcalóides encontrados em <i>Passiflora</i>	15
Figura 4. Glicosídeos cianogênicos encontrados em <i>Passiflora</i>	17
Figura 5. Substâncias encontradas em <i>Passiflora</i>	18
Figura 6. Substâncias isoladas e identificadas em <i>P. quadrangularis</i> .	19
Figura 7. <i>Passiflora alata</i> Curtis	29
Figura 8. <i>Passiflora caerulea</i> L.	31
Figura 9. <i>Passiflora edulis</i> Sims.f. <i>flavicarpa</i> O.Deg.	34
Figura 10. <i>Passiflora incarnata</i> L.	37
Figura 11. <i>Passiflora quadrangularis</i> L.	41
Figura 12. <i>Passiflora alata</i> Curtis: (a) folha inteira; (b) e (c) desenhos esquemáticos de glândulas peciolares e estípulas	53
Figura 13. <i>Passiflora alata</i> Curtis. Folha. Vista frontal: (a) face adaxial; (b) face abaxial. Secções transversais. (c)-(e) - nervura mediana: (c) desenho esquemático; (d) detalhe na face adaxial; (e) detalhe na face abaxial. (f) mesofilo dorsiventral.	55
Figura 14. <i>Passiflora alata</i> Curtis. Folha. Secções transversais da nervura mediana: (a) aspecto geral da distribuição dos feixes vasculares; (b) detalhe dos feixes vasculares; (c) detalhe das fibras perivasculares.	57
Figura 15. <i>Passiflora alata</i> Curtis. Folha. Secções transversais. (a)-(c) - Nervura lateral: (a) aspecto geral; (b) detalhe da região colenquimática da face adaxial; (c) detalhe do sistema vascular. (d)-(f) – pecíolo: (d) desenho esquemático; (e) detalhe da região colenquimática; (f) detalhe da distribuição dos feixes vasculares.	58
Figura 16. <i>Passiflora alata</i> Curtis. Caule. Secções transversais. (a) Detalhe evidenciando distribuição dos feixes vasculares. (b) detalhe da sequência de tecidos. (c) detalhe da região xilemática.	59
Figura 17. <i>Passiflora caerulea</i> L. (a-c) Diversidade de folhas encontradas em um único indivíduo. (d) Desenho esquemático destacando em (d') estípulas e em (d'') gavinha; (e) Desenho esquemático destacando glândulas dos bordos	

da lâmina foliar (e') e peciolares (e''). 61

Figura 18. *Passiflora caerulea* L. Lâmina foliar. Vista frontal. (a) Face adaxial, destacando espessamento em "contas de rosário". (b) Face abaxial com estômatos. (c-f) Secções transversais: (c) mesofilo dorsiventral, com parênquima paliçádico e lacunoso; (d) nervura mediana; (e) detalhe da nervura mediana com destaque ao sistema vascular; (f) detalhe da nervura mediana com estaque para o colênquima da face adaxial. 64

Figura 19. *Passiflora caerulea* L. Pecíolo. Secções transversais: (a) desenho esquemático; (b) distribuição dos feixes vasculares; (c) detalhe do feixe vascular da aresta. 65

Figura 20. *Passiflora caerulea* L. Caule. Secções transversais: (a) detalhe evidenciando arestas e tecido vascular; (b) detalhe com seqüência de tecidos em aresta; (c) detalhe com seqüência de tecidos em região entre arestas; (d) detalhe do tecido vascular. 65

Figura 21. *Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa*. Folha. (a) Folha inteira (Escala = 2cm). (b) Detalhe da margem (1 cm). (c) Desenho esquemático destacando em (c') estípula e em (c'') gavinha. (d) Desenho esquemático de (d') glândulas peciolares 67

Figura 22. *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg. Folha. Vista frontal: (a) Face adaxial; (b) Face abaxial. Secções transversais: (c) Detalhe do mesofilo dorsiventral; (d) Detalhe da nervura mediana mostrando tricomas tectores simples 70

Figura 23. *Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Deg. Nervura mediana. Secções transversais: (a) aspecto geral da nervura; (b) detalhe do colênquima (co) na aresta da face adaxial; (c) destaque à distribuição dos feixes vasculares; (d) detalhe evidenciando feixe vascular e drusa (seta) 71

Figura 24. *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg. Pecíolo. Secções transversais: (a) Desenho esquemático; (b) detalhe do colênquima (co) voltado para a face abaxial; (c) detalhe evidenciando distribuição dos feixes vasculares; (d) detalhe do feixe vascular da aresta. 72

Figura 25. *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg. Caule. Secções transversais: (a) Detalhe evidenciando seqüência de tecidos na região externa; (b) detalhe da calota fibrosa (fi) externa ao floema (fo); (c) detalhe mostrando o xilema (xi). 73

Figura 26. *Passiflora incarnata* L. Folha: (a) folha desidratada; (b) detalhe da margem; (c) desenho esquemático destacando em (c') estípula, em (c'') gavinha e em (d') glândulas peciolares. 74

Figura 27. *Passiflora incarnata* L. Lâmina foliar. (a-b) Vista frontal evidenciando estômatos nas faces adaxial (a) e abaxial (b). (c-h) Secções transversais: (c) mesofilo dorsiventral e (d-h) nervura. (d) e (e) tricomas tectores; (f) colênquima junto à face abaxial; (g) colênquima junto à face adaxial; (h) distribuição dos

feixes vasculares (40 μ m).	77
Figura 28. <i>Passiflora incarnata</i> L. Pecíolo. Secções transversais: (a) desenho esquemático; (b-c) detalhe com tricomas tectores; (d) distribuição dos feixes vasculares e fistula (fi); (e) detalhe da foto anterior destacando feixes vasculares; (f) detalhe de feixe vascular da região da ala.	78
Figura 29. <i>Passiflora incarnata</i> L. Caule. Secções transversais: (a) detalhe com seqüência de tecidos, destacando a região floemática (fl.) e (b) detalhe evidenciando a região xilemática	79
Figura 30. <i>Passiflora quadrangularis</i> L. Folha: (a) inteira; (b-c) desenhos esquemáticos destacando estípulas, gavinhas e glândulas peciulares	81
Figura 31. <i>Passiflora quadrangularis</i> L. Lâmina foliar. Vista frontal: (a) face adaxial; (b) face abaxial. Secções transversais: (c) mesofilo dorsiventral; (d-f) nervura mediana, (d) aresta da face adaxial; (e) aresta da face abaxial; (f) distribuição dos feixes vasculares, onde (x) = xilema e (f) = floema.	83
Figura 32. <i>Passiflora quadrangularis</i> L. Secções transversais. Pecíolo: (a) Desenho esquemático; (b) distribuição dos feixes vasculares; (c) aspecto da ala com destaque ao feixe vascular (seta).	84
Figura 33. <i>Passiflora quadrangularis</i> L. Caule. Secções transversais: (a) detalhe destacando grupo de fibras (f) externo ao floema (F); (b) destaque ao sistema vascular; (c) detalhe da região da ala; (d) grupo de fibras (f) externo ao floema.	86
Figura 34. Cromatograma em camada delgada. Sistema cromatográfico CCD1.	87
Figura 35. Cromatograma em camada delgada. Sistema cromatográfico CCD2.	88
Figura 36. Cromatograma em camada delgada de alta eficiência (HPTLC). Sistema cromatográfico HPTLC1.	89
Figura 37. Cromatograma em camada delgada de alta eficiência (HPTLC). Sistema cromatográfico HPTLC2.	90
Figura 38. Cromatograma em camada delgada de alta eficiência (HPTLC). Sistema cromatográfico HPTLC3.	91
Figura 39. Densitogramas comparativos das cinco espécies de <i>Passiflora</i>	92
Figura 40. Densitogramas comparativos entre <i>P.alata</i> e <i>P.quadrangularis</i>	93
Figura 41. Densitogramas comparativos entre <i>P.edulis</i> e <i>P.incarnata</i>	94
Figura 42. Densitograma de <i>P.caerulea</i>	94

RESUMO

O elevado índice de pessoas afetadas pela ansiedade tem levado os pesquisadores a buscarem novas alternativas de tratamento. A fitoterapia tem empregado medicamentos contendo algumas espécies de *Passiflora*, conhecidas popularmente como “maracujá”. As folhas de *P.alata* oficializadas na Farmacopéia Brasileira e os órgãos aéreos de *P.incarnata*, inscrita em farmacopéias estrangeiras, são matéria-prima para a elaboração de diversos medicamentos fitoterápicos. No entanto, as semelhanças morfológicas entre plantas medicinais deste gênero geram erros e falsificações. Considerando este fato, constitui objetivo desta dissertação, o estudo farmacognóstico comparativo de folhas de cinco espécies medicinais: *P.alata*, *P.caerulea*, *P.edulis*, *P.incarnata* e *P.quadrangularis*. Embora a forma das folhas de *P.alata* e de *P.quadrangularis* seja similar, observam-se caracteres diferenciais como o número de nervuras laterais e glândulas peciolares. *P.alata* apresenta dois pares de glândulas e *P.quadrangularis* possui três pares. *P.edulis* e *P.incarnata*, espécies semelhantes morfológicamente, diferenciam-se na análise microscópica pelo tipo e freqüência de tricomas; localização de estômatos. *P.edulis* caracteriza-se pela presença de tricomas tectores simples, pouco freqüentes e estômatos na face abaxial. *P.incarnata* exhibe tricomas pluricelulares freqüentes e estômatos em ambas as faces. *P.caerulea* diferencia-se facilmente das anteriores pela folha provida geralmente de 5 lobos longos e estreitos; acresce-se o parênquima paliádico que alcança até mais da metade da largura do mesofilo. Fotografias acompanham as descrições bem como as análises cromatográficas comparativas em camada delgada (CCD) e camada delgada de alta eficiência (HPTLC). O controle de qualidade das drogas vegetais é complementado com a quantificação da fração flavonoídica através de método espectrofotométrico e por HPTLC.

Abstract

The high number of people suffering from anxiety has led researchers to seek alternative kinds of treatment. Phytotherapy has used medicines containing a few species of *Passiflora*, popularly known in Portuguese as “maracujá”. *P. alata* leaves officially included in the Brazilian Pharmacopoeia and the aerial parts of *P. incarnata*, listed in foreign pharmacopoeia, are the raw materials to prepare several phytomedicines. However, the morphological similarities of medicinal plants of this kind may lead to errors and fraud. Bearing in mind this possibility, the purpose of this dissertation, is the comparative pharmacognostic study of leaves from five medicinal species – *P. alata*, *P. caerulea*, *P. edulis*, *P. incarnata* and *P. quadrangularis*. Although the shape of *P. alata* and *P. quadrangularis* leaves is similar, there are different characteristics such as number of side veins and petiolar glands. *P. alata* has two pairs of glands and *P. quadrangularis* has three pairs of glands. *P. edulis* and *P. incarnata*, which are species with similar structure, appear different in a microscopic analysis due to the types and frequency of their covering trichomes and stomata location. *P. edulis* typically has infrequent unicellular covering trichomes and stomata on its lower surface. *P. incarnata* has frequent pluricellular trichomes and stomata on both sides. *P. caerulea* can be easily distinguished from the aforementioned by its leaves, which are palmately divided in more than half their depth into five lobes; in addition to their palisade parenchyma, which extends to more than half their mesophyll width. Photomicrographs are enclosed with the descriptions, as well as thin layer chromatography and comparative high performance thin layer chromatography (HPTLC). Quality control of crude drugs is further completed with the amount of flavonoid fraction through spectrophotometry and HPTLC.

1. INTRODUÇÃO

A pesquisa de plantas medicinais, em crescente desenvolvimento, tem como um dos focos de interesse a busca por ansiolíticos. As constantes mudanças verificadas na sociedade, nos últimos séculos, exigiram do ser humano uma grande capacidade de adaptação. Quando o indivíduo não se adapta às condições impostas por seu meio ocorre uma desestabilização emocional, que gera ansiedade. Segundo a Organização Mundial de Saúde (2001), a ansiedade está entre os transtornos psiquiátricos mais freqüentes, que pode se tornar uma doença crônica, interferindo no desempenho social do indivíduo. Devido ao elevado índice de pessoas afetadas por este distúrbio, os pesquisadores buscam novas alternativas de tratamento, uma vez que os ansiolíticos consagrados apresentam reconhecidos efeitos adversos (Galenberg *et al.*, 1997; Andreatini *et al.*, 2001; Dhawan *et al.*, 2001a; OMS, 2001). Neste contexto, espécies vegetais, notadamente as pertencentes ao gênero *Passiflora* L. (Passifloraceae Juss. ex Roussel), cujo emprego na medicina remonta de 1867 (Freitas, 1985), têm sido avaliadas para esta finalidade. As passifloras já eram conhecidas e utilizadas pela população indígena das Américas e este conhecimento foi levado à Europa pelos conquistadores espanhóis, disseminando seu uso como sedativo, calmante e antiespasmódico (Lorenzi, Matos, 2002).

A primeira referência ao maracujá, no Brasil, ocorreu em 1587 no "Tratado Descritivo do Brasil" como "erva que dá fruto" (Ruggiero, 1987; Sousa, Meletti, 1997). Em nosso país, a denominação "maracujá" originou-se da expressão tupi-guarani "*mara cuia*", que significa "comida preparada na cuia", que descreve perfeitamente o uso da polpa de frutos de passifloras como alimento (Sacco, 1980; Burras, 1994; Sousa, Meletti, 1997). Além dos frutos, esta planta sempre chamou a atenção pela beleza de suas flores. Missionários do século XVII relacionaram os

componentes de suas flores como símbolos de cenas da Paixão de Cristo. Os filamentos da coroa foram interpretados como a coroa de espinhos, os estigmas como os pregos e as anteras lembravam as chagas. Deste fato, o gênero conhecido por *Granadilla* recebeu o nome *Passiflora* que, em latim, significa “*flor da paixão*”, denominação pela qual esta planta é conhecida em muitos países (Souza, Meletti, 1997).

O Brasil apresenta cerca de cento e cinquenta espécies de passifloras e é o maior produtor mundial de maracujá amarelo (*P.edulis* Sims. forma *flavicarpa*) para fins alimentícios (Sousa, Meletti, 1997; Brasil, 2004).

O estudo farmacológico de diversas passifloras, de modo geral, aponta a existência de atividades compatíveis com o uso popular (Aoyagi *et al.*, 1974; Vale, Leite, 1983; Akhondzadeh *et al.*, 2001; Dhawan *et al.*, 2001a). Alguns autores citam um alcalóide como seu princípio ativo (Pletscher, citado em Oga, 1984; Ruggiero, 1980). Outros pesquisadores relacionaram sua atividade sedativa com a fração flavonoídica (Dhawan *et al.*, 2003a); outros, com a fração alcaloídica associada à fração flavonoídica (Lutomsky, Wrocinski, 1960). Assim, nota-se a necessidade de maiores estudos científicos sobre o tema.

As folhas de *P. alata* oficializadas na Farmacopéia Brasileira 1ª edição (1929) e os órgãos aéreos de *P.incamata*, a espécie mais estudada no gênero, inscrita em diversas farmacopéias, como a Helvética (1971), Francesa (1980), British Herbal Pharmacopoeia (1983) e Deutsches Arzneibuch (1994), entre outros compêndios, são matéria-prima para a elaboração de medicamentos fitoterápicos.

As semelhanças morfológicas de folhas das espécies oficializadas em farmacopéias com outras plantas do gênero, como *P.caerulea*, *P.edulis* e *P.quadrangularis*, causam erros e/ou falsificações das drogas vegetais comercializadas. Segundo Bruneton (1999), *P. incamata* pode ser falsificada com os caules e folhas de *P. edulis* Sims.

forma *flavicarpa* Degener, além de *P.caerulea* L. No mercado paulista, encontra-se substituição de *P. alata* por outras espécies vegetais. A adulteração e a falsificação de matérias primas e medicamentos representam grave problema social que demonstra a despreocupação dos fraudadores com a saúde do ser humano. No Brasil, este fato remonta de vários anos, sendo tema de discussão até a atualidade. Embora a Lei 6.437, de 20 de agosto de 1977 e a Portaria 2.814, de 29 de maio de 1998 tratem das infrações e penalidades à legislação sanitária federal, o problema persiste. Para que a fitoterapia seja considerada alternativa terapêutica racional e científica deve seguir critérios de qualidade. Um dos parâmetros principais da qualidade das drogas vegetais é a correta identificação das plantas utilizadas.

Esta dissertação pretende ampliar o conhecimento morfo-anatômico e químico de cinco espécies de *Passiflora* que se destacam pelo emprego na medicina popular: *P. alata* Curtis, *P.caerulea* L., *P.edulis* Sims. forma *flavicarpa* Degener, *P.incamata* L. e *P.quadrangularis* L., fornecendo notadamente informações úteis na detecção de fraudes ou adulterações, permitindo assegurar a qualidade da matéria prima empregada na produção de medicamentos fitoterápicos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

A revisão de literatura foi subdividida nos itens seguintes: aspectos botânicos do gênero *Passiflora* e família Passifloraceae e, aspectos químicos e farmacológicos do gênero *Passiflora*. As cinco espécies tema desta dissertação foram tratadas em itens isolados, englobando os aspectos abordados para o gênero e a família.

2.1. Aspectos botânicos

2.1.1 Família Passifloraceae

A família Passifloraceae consiste de plantas originárias de regiões tropicais e subtropicais, compreendendo desde trepadeiras e subarbustos até pequenas árvores, sendo que as trepadeiras compõem a maioria (Metcalf, Chalk, 1950; Hutchinson, 1973; Sacco, 1980; Burras, 1994; Bernacci, 2003). Bernacci (2003) considera dezenove o número de gêneros e quinhentos e trinta o de espécies. Estas plantas, geralmente, exibem flores vistosas que atraem diversos tipos de polinizadores, tais como, abelhas, vespas, mariposas, borboletas, pássaros e morcegos. Suas folhas servem de alimento para as larvas de borboletas do gênero *Heliconius* (Judd *et al.*, 1999).

No Brasil ocorrem os gêneros *Mitostemma*, *Dilkea*, *Tetrastylis* e *Passiflora*. O gênero *Dilkea* é originário do Amazonas e Pará. *Tetrastylis* ocorre nos estados da Bahia, Minas Gerais e Rio de Janeiro. *Mitostemma* está presente nos estados de Mato Grosso, Rio de Janeiro e Rio Grande do Sul. *Passiflora* ocorre em todo o país (Sacco, 1980; Sousa, Meletti, 1997). Em São Paulo, ocorrem os gêneros *Tetrastylis* e *Passiflora* (Bernacci, 2003).

2.1.1.1 Morfologia da família

A família consiste, em sua maioria, de trepadeiras herbáceas ou lenhosas, que se fixam por meio de gavinhas, ou apresentam-se como subarbustos a árvores pequenas, hermafroditas, dióicas ou andromonóicas providas de ramos (sub)cilíndricos, raramente angulados ou achatados (Killip, 1938; Bernacci, 2003). As trepadeiras apresentam, freqüentemente, gavinhas longas e espiraladas (Krüssmann, 1985).

As folhas são alternas, glabras ou pubescentes, simples ou compostas (Souza, Meletti, 1997). Quando simples podem se apresentar inteiras, lobadas ou partidas e, com frequência, exibem pecíolos e estípulas (Hutchinson, 1973). A margem do limbo foliar é, normalmente, inteira, embora em diversas espécies seja denteada ou pectinada. As folhas são predominantemente trinérveas ou raramente pentanérveas. As nervuras alcançam a margem e, com frequência, terminam em mucro (Killip, 1938).

As estípulas, quando presentes, podem ser pequenas e decíduas ou foliáceas e persistentes (Hutchinson, 1973). Os pecíolos podem ou não conter glândulas (Barroso, 1978; Sacco, 1980). A presença ou ausência destas glândulas, sua forma, posição e número constituem importantes características de diferenciação entre espécies e grupos de espécies (Killip, 1938; Ruggiero, 1987).

As brácteas, de um modo geral, estão sempre presentes, exceto em algumas espécies de *Plectostemma* (Killip, 1938). As inflorescências, normalmente, são axilares, formando cimeiras, panículas, racemos, pseudoracemos ou fascículos (Sacco, 1980). As flores são heteroclamídeas, díclinas ou monóclinas, actinomorfas ou zigomorfas, muito vistosas, exibindo coloração branca, verde, vermelha, azul ou púrpura (Sacco, 1980; Joly, 1985; Sousa, Meletti, 1997; Judd *et al.*, 1999; Bernacci, 2003).

O cálice, de tamanho e coloração variável, apresenta forma tubular ou aplanada (Killip, 1938). As sépalas são carnosas, raro subcoriáceas, livres ou concrecidas na base, imbricadas e em número que varia de três a cinco. A forma das sépalas pode ser linear ou ovada e, geralmente, apresentam a mesma coloração do cálice (Killip, 1938; Sacco, 1980; Sousa, Meletti, 1997; Bhattacharyya, Johri, 1998).

As pétalas, algumas vezes podem estar ausentes; quando presentes, ocorrem em número que varia de três a oito e mostram

consistência membranácea. Geralmente, são imbricadas, livres ou concrecidas na base e alternas às sépalas, sendo menores que estas e de textura mais delicada. A coloração varia de branca a intensamente colorida (Killip, 1938; Hutchinson, 1973; Sacco, 1980; Bhattacharyya, Johri, 1998; Bernacci, 2003).

A corona vistosa é formada por filamentos dispostos em diversas séries, situadas entre a corola e o androceu (Hutchinson, 1973; Bhattacharyya, Johri, 1998; Judd *et al.*, 1999). Os aspectos funcionais dos componentes da corona foram estudados por Lindman, em 1906 (Endress, 1994). As duas séries mais internas da corona formam duas fimbrias, que circundam e cobrem o disco nectarífero. A posição destes componentes foi relacionada ao polinizador da espécie (Endress, 1994). Os estames em número de quatro, cinco ou mais, alternos às pétalas estão inseridos no hipanto ou podem formar um androginóforo (Hutchinson, 1973; Sacco, 1980; Bernacci, 2003). As anteras podem ser basifixas, dorsifixas ou versáteis, como em *Passiflora*. Apresentam dois lóculos de deiscência rimosa (Killip, 1938; Hutchinson, 1973; Sacco, 1980). O ovário é súpero, bi- a pentacarpelar, unilocular, séssil ou estipitado e contém grande número de óvulos de placentação parietal (Sacco, 1980; Joly, 1985; Judd *et al.*, 1999; Bernacci, 2003). Os estiletes podem estar dispostos livremente ou unidos somente pela base (Cronquist, 1981). O estigma apresenta-se capitado, clavado ou em forma de disco (Sacco, 1980; Joly, 1985).

O fruto é, com freqüência, uma cápsula ou uma baga, com sementes numerosas, comprimidas e ariladas, de testa óssea. O arilo, em forma de saco, é carnoso. O embrião é reto, bem desenvolvido e encontra-se embebido em endosperma oleoso (Barroso, 1978; Sacco, 1980; Cronquist, 1981; Joly, 1985; Bhattacharyya, Johri, 1998; Judd *et al.*, 1999; Bernacci, 2003).

2.1.1.2. Anatomia da família

A folha, geralmente, apresenta-se dorsiventral e, algumas vezes, isobilateral como em *Adenia*, *Paropsia*, *Passiflora* e *Tryphostemma*. Em *Mitostemma* são observadas células compactas na porção central do mesofilo (Metcalf, Chalk, 1950). Os cristais de oxalato de cálcio, isolados ou agrupados, ocorrem geralmente nos tecidos parenquimáticos (Cronquist, 1981).

O tipo mais comum de tricoma é o unicelular e unisseriado. Tricomas glandulares providos de pedicelos multisseriados ocorrem com menor frequência (Metcalf, Chalk, 1950; Bhattacharyya, Johri, 1998; Judd *et al.*, 1999). Os tricomas podem ser encontrados em todo o limbo foliar mas, freqüentemente, observam-se nas nervuras (Barroso, 1978).

A epiderme normalmente é uniestratificada. Em *Adenia* e *Passiflora* é papilosa na face abaxial (Metcalf, Chalk, 1950). A hipoderme ocorre em poucas espécies de *Abatia*. Com frequência, os estômatos restringem-se à face abaxial e, normalmente, são anomocíticos (Cronquist, 1981; Takhtajan, 1997).

As glândulas do pecíolo ou dos bordos do limbo foliar são pluricelulares e plurisseriados (Barroso, 1978).

2.1.2. Gênero *Passiflora*

O gênero *Passiflora* possui o maior número de espécies na família, cerca de quatrocentas, vinte delas restritas à Índia, China, sudeste asiático, Austrália, ilhas da Oceania e regiões vizinhas; o restante distribui-se dos Estados Unidos ao Chile e Argentina (Sacco, 1980; Bernacci, 2003).

O Brasil, com cerca de cento e vinte espécies, é um dos países com maior número de representantes nativos. Em São Paulo, ocorrem trinta e sete espécies nativas (Bernacci, 2003).

2.1.2.1. Morfologia do gênero

O gênero *Passiflora* mostra grande variação morfológica, não sendo fácil a sua distinção de outros gêneros da família. As espécies de *Passiflora* são hermafroditas ou andromonóicas. As folhas apresentam-se alternas, geralmente simples, inteiras, lobadas ou partidas, com nervação trinérvea ou pentanérvea e margem inteira ou serrada, às vezes glandular (Ruggiero, 1987, Bernacci, 2003). Os pecíolos exibem, com frequência, glândulas variáveis na forma e em número, que pode ser de dois a oito. As estípulas podem estar ausentes ou presentes em número de dois, sendo foliáceas e, algumas vezes, pinadas e glandulares. As gavinhas são laterais e indivisas, raramente ausentes (Ruggiero, 1987).

As flores são monóclinas, actinomorfas, ocorrendo isoladas ou aos pares nas axilas das folhas. Ocasionalmente, observam-se inflorescências em racemos, pseudoracemos ou fascículos. Apresentam pedicelo articulado abaixo da base do hipanto e exibem, normalmente, três brácteas alternas ou verticiladas, às vezes decíduas (Deginani, 2001, Bernacci, 2003). O cálice, urceolado, longo ou tubular, possui de quatro a cinco lobos estreitos, geralmente, coloridos internamente (Hutchinson, 1973). As sépalas, em número de cinco, são carnosas ou membranáceas, lineares a amplamente ovadas, persistentes e podem ser livres ou unidas na base (Hutchinson, 1973; Barroso, 1978; Sacco, 1980). As pétalas podem estar ausentes ou presentes em número de quatro a cinco. Quando presentes, encontram-se alternas às sépalas, com coloração destacada em relação a estas, de consistência que varia

de membranácea a carnosa e a pré-floração mostra-se imbricada (Killip, 1938; Hutchinson, 1973; Sacco, 1980; Deginani, 2001).

A coroa, característica da família, é bem desenvolvida em *Passiflora*, podendo ser simples ou dupla, compreendendo de uma a duas séries de numerosos filamentos de formas e colorações diversificadas (Deginani, 2001). O opérculo origina-se no interior ou abaixo da coroa e pode apresentar-se membranáceo, liso ou pregueado, inteiro, lacerado ou filamentoso (Killip, 1938; Sacco, 1980). O anel nectarífero situa-se na base do tubo do cálice, variando de arredondado a agudo (Sacco, 1980; Deginani, 2001). O límen, quando presente, é membranáceo ou camoso (Killip, 1938; Sacco, 1980; Deginani, 2001; Bernacci, 2003). O androceu é isostêmone com, geralmente, cinco estames monadelfos, cujos filetes encontram-se adnatos ao ginóforo e livres na parte superior (Killip, 1938; Hutchinson, 1973; Sacco, 1980). As anteras são lineares, ovadas ou oblongas, dorsifixas e versáteis (Killip, 1938; Sacco, 1980; Burras, 1994). Os grãos de pólen são bicelulares, grandes e são considerados primitivos, do ponto de vista filogenético (Deginani, 2001).

O ovário, globoso, ovóide ou fusiforme, é estipitado, súpero e unilocular. Encontra-se, geralmente, sobre um ginóforo alongado em muitas espécies e curto ou ausente em algumas outras (Killip, 1938; Sacco, 1980). Os óvulos numerosos estão presentes em três placentas parietais. Os estiletes, em número de três, apresentam estigmas capitados, orbiculares ou reniformes (Killip, 1938; Sacco, 1980).

O fruto, de polpa mucilaginosa, é geralmente uma baga globosa ou ovóide, sendo raramente fusiforme. As sementes, geralmente, de cor escura, são numerosas e comprimidas, mostrando arilo carnoso ou membranáceo (Killip, 1938; Sacco, 1980).

O caule é obtuso-quadrangular (Freitas, 1985), cilíndrico ou subcilíndrico (Sousa, Meletti, 1997).

2.1.2.2 Anatomia do gênero

Os tricomas, em *Passiflora*, são unicelulares ou unisseriados, podendo exibir extremidades em gancho. Entretanto, em algumas espécies, os tricomas são glandulares, apresentando cabeça esférica sobre pedicelo multisseriado. Projeções cuticulares são restritas a algumas espécies (Metcalf, Chalk, 1950).

Os pecíolos, em secções transversais, revelam um conjunto de feixes vasculares em forma de círculo, acompanhado por feixes menores nas alas. No caule, observa-se periciclo formado por feixes de fibras largamente espaçados. (Metcalf, Chalk, 1950; Freitas, 1985).

Freitas (1985) e Gattuso *et al.* (1996) descrevem mesofilo dorsiventral, caule com estrutura eustélica e drusas de oxalato de cálcio em espécies medicinais de *Passiflora*.

2.2. Aspectos químicos

As espécies do gênero *Passiflora* caracterizam-se pela presença de flavonóides C-glicosídeos, alcalóides de núcleo harmana e glicosídeos cianogênicos (Lutomski, Wrocinski, 1960; Ruggiero, 1987; Rehwald *et al.*, 1994). A atividade sedativa de *Passiflora* tem sido atribuída principalmente aos dois primeiros grupos de substâncias. Os flavonóides representam os compostos majoritários, enquanto que os alcalóides são encontrados como traços (Rehwald *et al.*, 1994; Raffaelli *et al.*, 1997; Dhawan *et al.*, 2004). Os glicosídeos cianogênicos ciclopentanóides de Passifloraceae possuem valor taxonômico (Spencer, Seigler, 1984).

Outros constituintes identificados em *Passiflora* são as α -pironas maltol (2-hidroxi-2-metil-4-pirona) e passifloricina, o poliacetileno

passicol, as cumarinas escopoletina e umbeliferona (Aoyagi et al, 1974; Chassagne, Crouzet, 1998; Ulubelen et al, 1982; Echeverri et al. (2001).

2.2.1. Flavonóides

Os flavonóides são quase sempre polifenóis de unidade básica de quinze carbonos, incluindo dois anéis aromáticos hidroxilados, ligados entre si por um fragmento de três carbonos. Nos flavonóides C-glicosídeos, os açúcares estão diretamente ligados ao núcleo aromático por uma ligação C-C, sendo encontrados nas posições 6 e/ou 8. Segundo Harborne (1988), aproximadamente um terço do total de fenólicos encontram-se nos tricomas. Nas folhas ocorrem como glicosídeos em vacúolos de células epidérmicas; com menor freqüência, encontram-se na cera epicuticular. Costa (1968) descreve estes compostos também nos parênquimas paliçádico e lacunoso. Aceita-se que os flavonóides em conjunto com outros polifenóis desempenhem papel na proteção contra a herbivoria. Beninger e Abou-Zaid (1997) relataram a redução do crescimento e aumento da mortalidade de larvas de mariposa (*Lymantria díspar*) quando se incorporam folhas de *Pinus*, contendo rutina e quercetina 3-glicosídeo, na sua dieta. Geralmente, apresentam atividade farmacológica e são de interesse quimiotaxonômico, sendo freqüentemente usados como “marcadores” na análise de medicamentos fitoterápicos (Oga et al., 1984; Freitas, 1985; Ruggiero, 1987; Moraes et al., 1997; Pereira et al., 2000).

A composição da fração flavonoídica de *Passiflora* é variável conforme a espécie (Ulubelen et al., 1982; Freitas, 1985; Moraes et al., 1995). Menghini e Mancini (1988) verificaram em *Passiflora* que o teor de flavonóides varia com o período vegetativo e o órgão vegetal utilizado. Em *P. incarnata* o maior teor em isovitexina foi encontrado nas folhas, nos estágios de pré-floração e floração.

A figura 1 apresenta algumas estruturas dos flavonóides C-glicosídeos e flavonas encontrados em *Passiflora*. Na figura 2 encontram-se os flavonóis e os flavonóides O-glicosídeos.

Ordem	Composto	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
1	Vitexina	H	H	Glc	H
2	Isovitexina	Glc	H	H	H
3	Orientina	H	H	Glc	OH
4	Isoorientina	Glc	H	H	OH
5	Chaftosídeo	Glc	H	Ara	H
6	Isochaftosídeo	Ara	H	Glc	H
7	Svertisina	Glc	CH ₃	H	H
8	Vicenina-2	Glc	H	Glc	H
9	Lucenina-2	Glc	H	Glc	OH
10	Saponarina	Glc	Glc	H	H
11	Isoscoparina-2"-O-β-glicopiranosídeo	O CH ₃	H	Soph	H
12	Apigenina-6-C-glicosil-8-β-α-ribofuranosídeo	H	H	Glc	Ribose
13	Luteolina-6-C-quinovosídeo	β-D-quinopiranosil	H	H	OH
14	Luteolina-6-C-fucosídeo	β-L-fucopiranosil	H	H	OH
15	Apigenina	H	H	H	H
16	Luteolina	H	H	H	OH
17	Crisina	H	H	H	H

Glc = glucosil Soph = soforosil Ara = α-L-arabinopiranosil

Figura 1. Flavonóides C-glicosídeos e flavonas de *Passiflora*.

Figura 2. Flavonóis e flavonóides O-glicosídeos detectados em *Passiflora*.

2.2.2. Alcalóides

Os alcalóides representam o grupo de substâncias com maior dificuldade definição pela heterogeneidade química, bioquímica e fisiológica. O termo é comumente aplicado a compostos nitrogenados, de origem vegetal que são fisiologicamente ativos (Bruneton, 1999). Estes compostos podem ser

encontrados em todas as partes de um vegetal, entretanto pode ocorrer acúmulo preferencial em alguns órgãos. Geralmente, este acúmulo ocorre em tecidos com crescimento ativo, células epidérmicas e hipodérmicas, bainhas vasculares e lactíferos. São sintetizados no retículo endoplasmático e concentram-se nos vacúolos (Simões et al., 2000). Sua função no vegetal ainda é incerta. O fato de serem tóxicos e, geralmente, amargos leva à suposição de proteção contra predadores. No entanto, outras hipóteses apontam-nos como produtos de detoxificação de substâncias nocivas originadas no metabolismo primário ou ainda como protetores da irradiação ultravioleta, visto que núcleos aromáticos são altamente absorventes desta radiação (Simões et al., 1999).

Os alcalóides harmana, harmina, harmalina, harmol e harmalol foram encontrados em espécies de *Passiflora*. Devido à sua baixa concentração somente o uso de técnicas precisas e sensíveis torna possível a detecção destes compostos (Slaytor, McFarlane, 1968; Rehwald et al., 1995). O teor de alcalóides também varia conforme o órgão vegetal. Lutomski e Malek (1976) avaliando a presença e o teor de alcalóides em diversos órgãos vegetais de *P. edulis* constataram a presença de alcalóides em todos os órgãos desta espécie, exceto nas raízes. Adicionalmente, verificaram maior concentração destes compostos nas folhas. *P. incarnata* apresentou harmana, harmina, harmol, harmalol e harmalina (Poethke et al., 1970b; Abourashed et al., 2003). *P. alata* foi estudada por Oga et al. (1984), que encontraram teor de 0,217 mg % de alcalóides no extrato seco das folhas.

Diversos autores relacionam a atividade farmacológica dos extratos de *Passiflora* à ação conjunta de seus componentes flavonoídicos e alcaloídicos (Oga et al., 1984; Freitas, 1985; Ruggiero, 1987).

A figura 3 apresenta os alcalóides encontrados em *Passiflora*.

Figura 3. Alcalóides encontrados em *Passiflora*

2.2.3 Glicosídeos Cianogênicos

Glicosídeos cianogênicos são substâncias presentes em certas plantas que, após hidrólise, fornecem ácido cianídrico (Harborne, 1988). Podem ocorrer em diversos órgãos vegetais sendo considerados uma

defesa química da planta contra, por exemplo, larvas de borboletas (Wheeler *et al.*, 2001).

Uma vez que os glicosídeos cianogênicos só ocorrem em algumas famílias relacionadas, são usados como marcadores taxonômicos. A sua presença em Passifloraceae posiciona esta família junto a Turneraceae, Malesherbiaceae, Achariaceae e certas espécies de Flacourtiaceae (Olafsdottir *et al.*, 1989).

Ginocardina, um glicosídeo cianogênico, que possui um anel 2,3-ciclopentenila e que só havia sido encontrado em espécies primitivas de Flacourtiaceae, foi isolado de *P. incarnata*, em 1984, por Spencer e Seigler. Com o crescente interesse taxonômico dos glicosídeos cianogênicos, muitas espécies de *Passiflora* têm sido estudadas quanto a este aspecto (Spencer e Seigler, 1984). Olafsdottir *et al.* (1989) demonstraram a diversidade no padrão dos glicosídeos cianogênicos, em *Passiflora*, que abrange desde os derivados de valina ou isoleucina até os ciclopentanóides.

A figura 4 apresenta as estruturas dos principais glicosídeos cianogênicos encontrados em *Passiflora*.

Ordem	Substância	R	R ₁	R ₂
(27)	Prunasina	H	H	OH
(28)	Sambunigrina	H	H	OH
(29)	Amigdalina	Glc	H	OH
(30)	Passiedulina	H	OH	H
Glc = β-D-glicopiranosil

Ordem	Substância	R	R ₁	
(31)	Sulfato de tetrafilina B	SO ₂ O ⁻	H	
(32)	Ginocardina	H	OH	

Figura 4. Glicosídeos cianogênicos encontrados em *Passiflora*.

Figura 5. Substâncias encontradas em *Passiflora*.

(36) R = H: (3E)-3,7-dimetil-3-octeno-1,2,6,7-tetraol

(37) R = H: ácido (2E)-2,6-dimetil-2,5-heptadienóico

(38) R = β -D-Glu: éster de (2E)-2,6-dimetil-2,5-heptadienóico β -D-glucopiranosil

(39) R = H: (5E)-2,6-dimetil-5,7-octadieno-2,3-diol

Figura 6. Compostos isolados e identificados em *P. quadrangularis*.

Na tabela 1 estão relacionados os diversos grupos de compostos e/ou substâncias encontradas em espécies de *Passiflora*.

Tabela 1. Substâncias isoladas e/ou detectadas em *Passiflora*

Espécie	Órgão	Substância	Referência
<i>P.adenopoda</i>	folha	linamarina♣, lotaustralina♣	Spencer et al. (1986)
		chaftosídeo♣, isochaftosídeo♣	Abourashed et al. (2003)
<i>P.alata</i>	folha	2"-xilossil-vitexina♣, vitexina♣, orientina♣	Ulubelen et al. (1982a)
	folha	orientina♣, isoorientina♣, isovitexina♣, vitexina♣, rutina♣, harmana♦	Freitas (1985)
	folha	vitexina♣ (traços), isovitexina♣	Muller et al. (2004)
	folha	isoorientina♣, isovitexina♣, 2"- O – ramnosil-vitexina♣, 2"- O – ramnosil-escoparina♣, 2"- O – ramnosil-orientina♣, quadrangulosídeo♥, ácido oleanólico-3-soforosídeo♥	Doyama et al. (2005)
<i>P.alato-caerulea</i>	folha	tetrafilina B♣, sulfato de epitetrafilina B ♣	Seigler et al. (1982)
<i>P.allantophylla</i>		harmana♦, harmina♦, vitexina♣, chaftosídeo♣, isochaftosídeo♣, isoorientina♣, orientina♣, isovitexina♣	Abourashed et al. (2002, 2003)
<i>P.ambigua</i>	folha	saponarina♣	Ulubelen et al. (1982a)
<i>P.ampullacea</i>		chaftosídeo♣, isochaftosídeo♣, isoorientina♣, orientina♣, isovitexina♣, vitexina♣	Abourashed et al. (2002, 2003))
<i>P.anfracta</i>		orientina♣, isoorientina♣	Abourashed et al. (2002)
<i>P. apetala</i>	folha	passibiflorina♣	Jaroszewski et al. (2002)
	caule		
<i>P.biflora</i>	folha	passibiflorina♣, epipassibiflorina♣	Spencer, Seigler (1985)
		isoorientina♣, isovitexina♣, vitexina♣	Abourashed et al. (2002, 2003)
	folha, caule	passibiflorina♣	Jaroszewski et al. (2002)

Espécie	Órgão	Substância	Referência
<i>P.bryonioides</i>	folha, raiz caule	harmana♦, saponaretina♣, vitexina♣, apigenina♣, canferol♣	Poethke <i>et al.</i> (1970a)
<i>P.caerulea</i>	folha	derivados de apigenina♣ e de luteolina♣	Tronchet (1978)
	folha	tetrafilina B♣, epitetrafilina B♣	Seigler <i>et al.</i> (1982)
		tetrafilina B♣	Jaroszewski, Fog (1989)
	folha, caule	crisina♣	Medina <i>et al.</i> (1990)
		isoorientina♣	Pastene <i>et al.</i> (1997)
		chaftosídeo♣, isochaftosídeo♣, vitexina♣, isoorientina♣, isovitexina♣	Abourashed <i>et al.</i> (2002, 2003)
<i>P.calcarata</i>		passiflorina▼	Bombardelli <i>et al.</i> (1975)
<i>P.capsularis</i>	folha, caule	passicapsina♣	Fischer <i>et al.</i> (1982)
<i>P.citrina</i>	folha caule	passicapsina♣	Jaroszewski <i>et al.</i> (2002)
<i>P.coactilis</i>		vitexina♣, isovitexina♣, orientina♣, escoporina♣	Escobar <i>et al.</i> (1983)
<i>P.coccinea</i>	folha	passicocina♣	Spencer, Seigler (1985)
<i>P.colinvauxii</i>	folha, caule	passibiflorina♣	Andersen <i>et al.</i> (1993)
		chaftosídeo♣, isochaftosídeo♣, isoorientina♣, orientina♣, isovitexina♣	Abourashed <i>et al.</i> (2002, 2003)
<i>P.coriacea</i>		isoorientina♣, vitexina♣, harmina♦	Abourashed <i>et al.</i> (2002, 2003)
	folha	deidaclina♣, tetrafilina A♣, tetrafilina B♣, epivolquenina♣, taractofilina♣	Olafsdottir <i>et al.</i> (1989)
<i>P.cuneata</i>	folha caule	passibiflorina♣	Jaroszewski <i>et al.</i> (2002)
		chaftosídeo♣, isochaftosídeo♣, orientina♣, isoorientina♣	Abourashed <i>et al.</i> (2002, 2003)
<i>P.cyanea</i>	folha	2"- xilosilvitexina♣	Ulubelen <i>et al.</i> (1981)

Espécie	Órgão	Substância	Referência
<i>P.discophora</i>		chaftosídeo♣, isochaftosídeo♣, isovitexina♣	Abourashed <i>et al.</i> (2002)
<i>P.edulis</i>	folha	passiflorina▼	Bombardelli <i>et al.</i> (1975)
		prunasina♣	Spencer, Seigler (1983)
	folha	orientina♣, isovitexina♣, vitexina♣, isovitexina♣, harmana♦	Freitas (1985)
		sambunigrina♣, amigdalina♣	Chassagne, Crouzet (1996)
		β-rutinosídeo-(R)- mandelonitrila -α-L-ramnopiranosil-β-D-glucopiranosídeo♣	Chassagne, Crouzet (1998)
	folha	6-C-chinovosídeo♣, 6-C-fucosídeo♣	Mareck <i>et al.</i> (1991)
	folha	vitexina♣, isovitexina♣, isoorientina♣, orientina♣	Petry <i>et al.</i> (2001)
		harmana♦, harmina♦, harmalina♦	Abourashed <i>et al.</i> (2003)
<i>P.edulis</i> var. <i>golden nugget</i>		chaftosídeo♣, isochaftosídeo♣, orientina♣, isovitexina♣, isoorientina♣	Abourashed <i>et al.</i> (2002, 2003)
<i>P.filipes</i>		chaftosídeo♣, isochaftosídeo♣, orientina♣, isovitexina♣, isoorientina♣	Abourashed <i>et al.</i> (2002, 2003)
<i>P.foetida</i>	folha	passiflorina▼	Echeverri, Suarez (2001)
	semente	tetrafilina A♣, tetrafilina B♣, sulfato de tetrafilina B ♣, deidaclina♣, volquenina♣,	Andersen <i>et al.</i> (1998)
		chaftosídeo♣, isochaftosídeo, isoorientina♣, isovitexina♣, orientina♣, vitexina♣	Abourashed <i>et al.</i> (2002, 2003)
<i>P.foetida</i> var. <i>hispida</i>	folha	flavonóides C-glicosídeos♣	Ulubelen <i>et al.</i> (1982b)
<i>P.foetida</i> var. <i>hibiscifolia</i>	folha	flavonóides C-glicosídeos♣	Ulubelen <i>et al.</i> (1982b)
		harmina♦	Abourashed <i>et al.</i> (2003)
<i>P.foetida</i> var. <i>gossipifolia</i>		harmol♦, harmana♦, harmalina♦, harmina♦	Abourashed <i>et al.</i> (2003)
<i>P.gilbertiana</i>		chaftosídeo♣, isochaftosídeo♣, isoorientina♣, orientina♣, isovitexina♣	Abourashed <i>et al.</i> (2002, 2003)
<i>P.guatemalensis</i>	folha, caule	passiguatemalina♣	Jaroszewski <i>et al.</i> (2002)
		harmalol♦, harmina♦, harmol♦, harmalina♦, harmana♦	Abourashed <i>et al.</i> (2003)
<i>P.gracilis</i>		chaftosídeo♣, isochaftosídeo♣, isovitexina♣, vitexina♣	Abourashed <i>et al.</i> (2002)

Espécie	Órgão	Substância	Referência
<i>P. herbertiana</i>	folha caule	deidaclina♣, epivolquenina♣, taractofilina♣, tetrafilina♣	Jaroszewski (2002)
<i>P. holosericea</i>		orientina♣, vitexina♣	Abourashed et al. (2002)
<i>P. hybrida</i>	folha	tetrafilina B♣	Jaroszewski, Fog (1989)
		harmalol♦, harmol♦, harmana♦, harmalina♦, harmina♦	Abourashed et al. (2003)
<i>P. incarnata</i>	folha, caule	saponarina♣, saponaretina♣, vitexina♣, homoorientina♣	Glottzbach, Rimpler (1968)
		harmana♦, harmalina♦, harmalol♦, harmina♦	Poethke et al. (1970a)
		apigenina♣, luteolina♣, quercetina♣, canferol♣	Gavasheli et al. (1974)
		maltol•	Aoyagi et al. (1974)
	folha	vitexina♣, isovitexina♣	Lutowski et al. (1960)
		ginocardina♣	Spencer, Seigler (1984)
		vitexina♣, isovitexina♣, orientina♣, isoorientina♣, harmana♦	Freitas (1985)
		vitexina♣, isovitexina♣	Pietta et al. (1989)
		chaftosídeo♣, isochaftosídeo♣, isovitexina♣, isoorientina♣, vicenina♣, isovitexin-2"-O-β- glucopiranosídeo♣, isoorientin-2"-O- β-glucopiranosídeo♣	Geiger, Markhan (1986)
		chaftosídeo♣, isochaftosídeo♣, isovitexina-2"-O-β- glucopiranosídeo♣, isoorientin-2"-O- β-glucopiranosídeo♣	Qimin et al. (1991)
		svertisina♣, isovitexina♣, isoorientina♣, chaftosídeo♣, isochaftosídeo♣	Rehwald et al. (1994)
		isoscoparin-2"-O-glucosídeo♣	Rhaman et al. (1997)
	folha	harmalol♦, harmol♦, harmana♦, harmalina♦, harmina♦, chaftosídeo♣, isochaftosídeo♣, isoorientina♣, orientina♣, isovitexina♣, vitexina♣	Abourashed et al. (2002, 2003)
<i>P. indecora</i>	folha caule	passibiflorina♣	Jaroszewski et al. (2002)
<i>P. laurifolia</i>		orientina♣, vitexina♣, harmalina♦, harmina♦	Abourashed et al. (2002, 2003)

Espécie	Órgão	Substância	Referência
<i>P.manicata</i>		isoorientina♣, orientina♣, isovitexina♣, vitexina♣, harmalina♦, harmina♦	Abourashed <i>et al.</i> (2002, 2003)
<i>P.menispermifolia</i>	folha	vitexina♣, orientina♣, luteolina-7-β-D- glicosídeo♣, esculetina♣	Ulubelen <i>et al.</i> (1981)
		harmana♦, harmalina♦	Abourashed <i>et al.</i> (2003)
<i>P.multiflora</i>		harmana♦, harmalina♦, harmina♦	Abourashed <i>et al.</i> (2003)
<i>P.oerstedii</i>	folha	2"-xylosilvitexina♣	Ulubelen <i>et al.</i> (1981)
<i>P.palmeri</i>	folha	isovitexina♣, isoscoparina♣, quercetina 7,3'-dimetileter♣, vitexina♣, quercetina♣, apigenina 7-glicosídeo♣, luteolina♣, isoorientina♣, vicenin-2, 6-metoxi-canferol♣	Ulubelen <i>et al.</i> (1984)
<i>P.pavonis</i>	folha	isoorientina 4'-β-D-glicosídeo♣ isovitexina♣, isoorientina♣, luteolina 7-β-D-glicosídeo♣	McCormick, Mabry (1981)
<i>P.pendens</i>	folha	linamarina, lotaustralina♣, linustatina♣, neolinustatina♣	Spencer <i>et al.</i> (1986)
<i>P.perfoliata</i>	folha	α-hidroxinitrila	Fischer <i>et al.</i> (1982)
		passibiflorina♣	Jaroszewski <i>et al.</i> (2002)
		harmana♦, harmalina♦, harmina♦, isovitexina♣	Abourashed <i>et al.</i> (2002, 2003)
<i>P.pittieri</i>	folha	isovitexina♣, vicenina♣, chaftosídeo♣, isochaftosídeo♣, 2"- xylosilvitexina♣, luteolina-7-O- glicosídeo♣	Ulubelen <i>et al.</i> (1982a)
<i>P.platiloba</i>		chaftosídeo♣, isochaftosídeo♣, isoorientina♣, orientina♣, isovitexina♣, vitexina♣	Abourashed <i>et al.</i> (2002, 2003)
<i>P.pulchella</i>	folha, caule	saponarina♣, saponaretina♣, vitexina♣, homoorientina♣	Glotzbach, Rimpler (1968)

Espécie	Órgão	Substância	Referência
<i>P. quadrangularis</i>	folha, caule	saponarina♣, saponaretina♣, vitexina♣	Glotzbach, Rimpler (1968)
	folha	vitexina♣, orientina♣, isovitexina♣, isoorientina♣, harmana♦	Freitas (1985)
	folha	Quadrangulosídeo♥	Orsini <i>et al.</i> (1986)
	fruto	(3E)-3,7-dimetil-3-octano-1,2,6,7-tetraol; ácido (2E)-2,6-dimetil-2,5-heptadienóico♥; (2E)-2,6-dimetil-2,5-heptadienóico β-D-glucopiranosil éster♥; (5E)-2,6-dimetil-5,7-octadieno-2,3-diol; (3E)-3,7-dimetil-3-octeno-1,2,6,7-tetrol♥	Osório <i>et al.</i> (2000)
	folha	tetrafilina B	Jaroszewski, Fog (1989)
<i>P. racemosa</i>		harmalina♦, harmina♦	Abourashed <i>et al.</i> (2003)
	folha	tetrafilina B♣	Jaroszewski, Fog (1989)
<i>P. rubra</i>		harmana♦, harmalina♦, harmina♦	Abourashed <i>et al.</i> (2003)
<i>P. sanguinolenta</i>	folha	isovitexina♣, luteolina♣, luteolina 7-O-galactosídeo♣, xilosilvitexina♣, apigenina♣, apigenina 7-O-glicosídeo♣	Ulubelen, Mabry (1983)
<i>P. serratifolia</i>		chaftosídeo♣, isochaftosídeo♣, isoorientina♣, orientina♣,	Abourashed <i>et al.</i> (2002, 2003)
	folha	vitexina♣, isovitexina♣, orientina♣, 2"-xilossilvitexina♣, 2"-xilossilisovitexina♣	Ulubelen, Mabry (1980)
<i>P. sexflora</i>	folha	lucenina♣, carlinosídeo♣, isoviolantina♣, chaftosídeo♣, vicenina♣, isochaftosídeo♣, orientina♣, isoorientina♣, vitexina♣, isosveriajaponina♣, luteolina♣, isosvertisina♣, svertiajaponina♣, luteolina-7-O-glicosídeo♣, aurona♣	McCormick, Mabry (1982)
		harmol♦, harmana♦, harmina♦, chaftosídeo♣, isochaftosídeo♣, isoorientina♣, isovitexina♣	Abourashed <i>et al.</i> (2002, 2003)
<i>P. talamancensis</i>	folha	passibiflorina♣, epipassibiflorina♣	Spencer, Seigler (1985)
<i>P. trifasciata</i>	folha	passit trifasciatina♣	Spencer, Seigler (1985)
			Olafsdottir <i>et al.</i> (1991)

Espécie	Órgão	Substância	Referência
<i>P. trinervia</i>	folha	vitexina♣, isovitexina♣, luteolina-7-O-galactosídeo♣, esculetina♣, isoorientina♣	Ulubelen, Mabry (1983)
<i>P. warmingii</i>	folha	linamarina♣	Fisher <i>et al.</i> (1982) Spencer <i>et al.</i> (1986)
	folha	epilotaustralina♣	Olafsdottir <i>et al.</i> (1989)

♣ Flavonóide, ♦ Alcalóide, ▲ Glicosídeo cianogênico, ♥ Monoterpeno, • α -Pirona
▼ Glicosídeo triterpênico

2.3. Aspectos farmacológicos e usos

Na medicina popular, algumas espécies de *Passiflora* apresentam diversos empregos. *P. laurifolia* L., em Trinidad, é usada no tratamento de palpitações cardíacas de origem nervosa (Raintree Nutrition, 1999). Nas ilhas Maurícius, a decocção das folhas de *P. suberosa* L. é empregada em banhos para tratar dermatites. Egg (1999), relata o uso popular de diversas espécies de *Passiflora* no Peru. Entre elas está *P. ligularis* Jussieu, cujos frutos são empregados contra febre amarela e como antihelmínticos, e as folhas, sob forma de tintura ou infusão, são usadas como febrífugas, estomacais e hemostáticas. *P. laurifolia* L., no mesmo estudo, apresenta uso das folhas contra febre amarela e no tratamento de diabetes, além de ser considerada antidiarreica e antihelmíntica. O cozimento da raiz de *P. mollissima* (HBK) Bailey é empregado contra distúrbios das vias urinárias, e as folhas e raízes são vermífugas (EGG, 1999).

O uso consagrado de *Passiflora* como sedativo e tranqüilizante na medicina popular é antigo. Em 1867, Phares (citado em Vale, Leite, 1983), destacou a propriedade sedativa da folha desta planta e, em 1904, Stapleton (citado em Vale, Leite, 1983), empregou o extrato de folhas para o tratamento clínico de insônia. Entretanto, ainda não foram

determinados os constituintes químicos responsáveis pelas propriedades farmacológicas, existindo controvérsia entre os pesquisadores (Aoyagi *et al.*, 1974; Vale, Leite, 1983; Petry *et al.*, 2000; Dhawan *et al.*; 2001a). Os compostos considerados ativos são os flavonóides, os alcalóides e um derivado de pirona, o maltol (Dhawan *et al.*, 2004).

Pletscher, em 1959 (citado em Oga, 1984), verificou a ação inibitória que os alcalóides harmina e harmalina exerciam na monoaminoxidase (MAO). A MAO é uma enzima que degrada a serotonina, neurotransmissor envolvido nos estados de ansiedade/depressão. Baixos níveis de serotonina são apontados como uma das causas da ansiedade e da depressão. A inibição da MAO eleva os níveis deste neurotransmissor no sistema nervoso central e, conseqüentemente, auxilia o tratamento da ansiedade (Ballone, 2001). O teor de alcalóides em *Passiflora* tem-se mostrado reduzido, da ordem de 0,1 ppm, fato que gera dúvidas de serem estes os constituintes responsáveis pela ação ansiolítica do maracujá (Rehwald *et al.*, 1994). Desta forma, o alvo das pesquisas sobre constituintes bioativos de *Passiflora* passou a ser os flavonóides.

O flavonóide crisina apresentou afinidade pelos receptores benzodiazepínicos centrais e periféricos no estudo realizado por Medina *et al.*(1990), em camundongos. Crisina e apigenina foram estudadas por Zanolli *et al.* (2000) em relação à sua ação sobre o sistema nervoso central. A propriedade ansiolítica de crisina foi relacionada a uma ativação do receptor benzodiazepínico. Embora o estudo não tenha proposto o mecanismo de ação da apigenina, relata que ambos flavonóides são igualmente potentes na redução locomotora de ratos, em doses maiores que 25 mg/kg.

Prabhakar *et al.* (1981) avaliando a ação farmacológica de vitexina, verificaram atividade antiinflamatória, antiespasmódica e hipotensora em diversos animais de laboratório.

Murcia *et al.* (2001) ressaltaram a importância do gênero *Passiflora* como fonte de flavonóides, tais como crisina, apigenina, quercetina, canferol, relacionados a atividades antioxidantes, imunomoduladoras, ansiolíticas e antitumorais. No estudo de Calderone *et al.* (2004) os flavonóides apigenina, luteolina e crisina apresentaram atividade vasodilatadora, *in vitro*.

Outras espécies, além das já reconhecidas como medicinais, têm sido consideradas promissoras fontes de fármacos. *P.tetrandra* Barks ex DC., por exemplo, possui atividade contra *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, e citotoxicidade para células leucêmicas (Nicolls *et al.*, 1973; Perry *et al.*, 1991).

2.4 Toxicidade

A toxicidade de espécies de *Passiflora* tem sido atribuída aos glicosídeos cianogênicos. *P.adenopoda* provoca intoxicação devido à presença desses compostos no pericarpo e arilo de frutos imaturos, bem como em caules primários, pecíolos, brácteas e estípulas (Saenz, Nassar, 1972). Sousa *et al.* (1991) atribuíram a toxicidade à aglicona cianogênica prunasina, presente em frutos imaturos de *Passiflora*. Também alertaram para o risco do uso de doses exageradamente altas do chá das folhas de *P.alata*, pois poderiam causar intoxicação cianídrica. Entretanto, segundo Morton (1987) estas substâncias são encontradas na polpa dos frutos, em todos os estágios de desenvolvimento, mas o teor é maior nos frutos muito jovens. Os frutos maduros empregados para consumo, segundo a autora, apresentam nível tão baixo destes compostos que não seriam mais significativos toxicologicamente.

2.5. *Passiflora alata* Curtis

Figura 7. Ramo florido de *Passiflora alata* Curtis (www.flora-toscana.de/.../Passiflora_alata_g.jpg)

Passiflora alata Curtis já foi atribuída a outros dois autores: Aiton e Dryander. O engano de autoria desta espécie originou-se com Killip (1938) que considerou a descrição feita por Dryander (1789) em Aiton's Hortus Kewensis. Entretanto, esta espécie foi, na verdade, descrita por Curtis, em 1788, no Botanical Magazine, e assim consideram que este autor deva prevalecer (Bernacci *et al.*, 2003). Como sinônimos constam *P. alata* Dryand, *P. alata* var. *latifolia* (DC) Mart., *P. latifolia* DC e *P. phoenicia* Lindl. (Missouri Botanical Garden, 2005).

Trepadeira robusta, provavelmente originária do Brasil, muito cultivada por suas flores vistosas e perfumadas (Fig. 7), apresenta fruto de polpa doce, de odor forte e agradável. Devido ao formato de seu fruto é conhecida como “maracujá-pera” (Sousa, Meletti, 1997).

Espécie heliófita e higrófila, comum nas capoeiras, borda e interior de florestas, cerrados e restingas litorâneas, ocorre no Equador, Peru, Paraguai e Argentina. No Brasil constam registros no Pará, da Bahia ao Rio Grande do Sul e no Centro-Oeste. É uma das espécies de

Passifloraceae de maior importância econômica pelo emprego dos frutos como alimento e pelo extrato das folhas utilizado em diversos medicamentos fitoterápicos (Bernacci, 2003). Na medicina popular, as folhas e frutos são empregados como calmante, diurético, antihipertensivo, antiasmático e para tratamento de hemorróida (Grandi *et al.*, 1989).

As folhas desta espécie foram inscritas na Farmacopéia Brasileira, nas duas primeiras edições. Freitas (1985) apresentou os aspectos morfo-anatômicos e determinou, por densitometria, o teor flavonoídico (44,8 µg/100mg) do extrato seco de suas folhas. Petry *et al.* (1998) relataram teor de 0,55 % (w/w) de flavonóides expressos em apigenina nos órgãos aéreos. Paris *et al.* (2002) obtiveram 1,90 % (w/w) de flavonóides totais, em apigenina, no extrato aquoso das folhas e verificaram a presença de saponinas.

Ulubelen *et al.* (1982a) relataram a presença de vitexina, 2"-xilossil-vitexina e orientina em extrato de folhas de *P.alata*. Freitas (1985) constatou a ocorrência de manchas coincidentes a orientina, isoorientina, isovitexina, vitexina, rutina e harmana na análise cromatográfica em camada delgada do extrato de suas folhas (Fig.1).

Oga *et al.* (1984) observaram que o extrato de folhas de *P. alata*, nas doses de 75 e 150 mg/kg, potencializou o sono induzido pelo pentobarbital em ratos, aumentou o tempo de latência na convulsão provocada por esticnina e diminuiu a atividade motora espontânea em ratos. Petry *et al.*, em 2001, comprovaram atividade ansiolítica do extrato hidroetanólico das folhas em animais de laboratório.

Doyama *et al.* (2005) avaliando os efeitos do extrato de folhas de *P.alata* em relação a parâmetros bioquímicos, em ratos, não observaram modificação significativa da concentração de lipoproteínas de baixa densidade (LDL), mas alteração do metabolismo lipídico, com aumento do nível de lipoproteínas de alta densidade (HDL), sem modificação da

concentração de colesterol total. No mesmo estudo, os autores isolaram e identificaram as saponinas triterpênicas, quadrangulosídeo e ácido oleanólico-3-soforosídeo e, os flavonóides 2"-O-ramnosil-vitexina, 2"-O-ramnosil-escoparina, 2"-O-ramnosil-orientina, isoorientina e isovitexina, empregando espectrometria de massas e ressonância magnética nuclear de próton e de carbono.

Quanto à toxicidade, Oga *et al.* (1984) verificaram que o extrato de suas folhas causou depressão profunda e morte, em doses acima de 400 mg/kg em camundongos. A DL50, nesta pesquisa, foi estimada em 456 mg/kg.

Giavina-Bianchi *et al.* (1997) alertaram para o risco de desenvolvimento de asma e rinite ocupacional em manipuladores de farmácia que trabalham com extratos de *P.alata*. Em seu estudo foi verificada sensibilização *in vivo* e *in vitro* causada pelos extratos desta planta.

2.6. *Passiflora caerulea* L.

Figura 8. *Passiflora caerulea* L. (www.plantimag.de/dat/0207225.html)

Passiflora caerulea, trepadeira glabra, desenvolve-se em borda e interior de matas (Fig. 8). É nativa da América do Sul, sendo encontrada no Paraguai, Uruguai e Argentina. No Brasil, ocorre nos estados de Ceará, Minas Gerais, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul (Sacco, 1980). Como sinônimos encontram-se *P. caerulea* var. *regnellii* Mast., *P. chinensis* hort. ex Mast., *P. loureirii* G.Don (Missouri Botanical Garden, 2005).

O “maracujá de flor azul” (do latim, *caerulea* = azul), muito cultivado como ornamental no sul do Brasil e norte da Argentina, tem seus órgãos aéreos empregados como ansiolítico, diurético e emenagogo na Argentina, Peru e Uruguai (Medina *et al.*, 1989; Gupta, 1995; Gattuso *et al.*, 1996; Pastene *et al.*, 1997). Na Argentina, a infusão da raiz é empregada como antihelmíntica e antiinflamatória. No Uruguai, utilizam-se os frutos ou infusões das folhas para tratar da icterícia, escorbuto e disenteria (Gupta, 1995). Esta espécie, cujas folhas foram caracterizadas morfo-anatomicamente por Gattuso *et al.* (1996), é citada como falsificação de *P. incarnata* pela Farmacopéia Européia (1996).

Harmana (Löhdefink, Kating, 1974), derivados de apigenina e de luteolina (Tronchet, 1978), crisina, orientina (Medina *et al.*, 1990; Pastene *et al.*, 1997), vitexina, isorientina, isovitexina, chaftosídeo, isochaftosídeo (Abourashed *et al.*, 2003), e glicosídeos cianogênicos tem sido identificados principalmente em folhas da espécie (Jaroszewski, Fog, 1989). Nos órgãos aéreos tem sido relatada a presença de neohesperidina, ácidos cafeico, clorogênico, *p*-cumárico e ferúlico e umbeliferona (Gupta, 1995).

Pastene (1997), empregando análise cromatográfica em camada delgada de alta eficiência (HPTLC), determinou o teor de flavonóides de 1,21%, expressos em isorientina, nesta espécie.

Poucos trabalhos referentes à sua atividade biológica são encontrados na literatura. Medina *et al.*, em 1990, isolaram e identificaram crisina. Verificaram a ligação deste flavonóide aos receptores benzodiazepínicos, *in vitro*, e administrando por via intracerebroventricular em camundongos, na dose de 50 mg/kg, observaram ação atividade anticonvulsivante e miorrelaxante.

Gupta (1995) relata ação antimicrobiana em *Aspergillus fumigatus*, *Epidermophyton floccosum*, *Microsporum cookei*, *M. canis*, *Streptomyces olivaceus* e *Candida albicans*. A infusão das folhas mostra atividade calmante, diminui a pressão arterial e ativa a respiração. Em doses elevadas provocam inicialmente vômitos e convulsões, podendo levar à morte. Essa informação contradiz o estudo de Alvarez *et al.* (1990) que administraram doses, do extrato dos órgãos aéreos de *P. caerulea*, 20 a 40 vezes superiores àquelas usadas em humanos, por via oral e parenteral em ratos. Os animais foram observados por 14 dias e não apresentaram reações de toxicidade.

Zacchino *et al.* (1997) avaliando a fração etanólica e a fração alcaloídica de folhas de *P. caerulea* em ratos, em doses três vezes superiores à utilizada na medicina popular Argentina, não verificaram qualquer efeito adverso. No ensaio de toxicidade crônica, ministrando o extrato etanólico diariamente, por via oral, em doses equivalentes às usadas por seres humanos, registraram alterações persistentes na atividade espontânea dos ratos após 30 dias. Somente a fração alcaloídica deste extrato causou alteração do comportamento dos animais.

2.7. *Passiflora edulis* Sims. forma *flavicarpa* O. Degener

Figura 9. Ramo florido de *Passiflora edulis* Sims.fo. *flavicarpa* O.Deg.
(www.cjb.unige.ch/)

Passiflora edulis é conhecida popularmente por maracujá-roxo, maracujá-azedo, maracujá-do-mato. A sua mutante, *P.edulis* L. forma *flavicarpa* Degener, denominada de maracujá-amarelo, diferencia-se do maracujá-roxo pelas folhas e flores ligeiramente maiores, flores mais pigmentadas, gavinhas avermelhadas e frutos mais atraentes, redondos a ovais, maiores e menos fragrantos (Fig. 8). Outra diferença entre as duas plantas é a época e hora da floração. *P. edulis* forma *flavicarpa* é diurna, enquanto a outra é parcialmente noturna ([www. ciat.cgiar.org](http://www.ciat.cgiar.org)).

Trepadeira, glabra até pubescente, ocorre em todo o Brasil, onde provavelmente é nativa, no Paraguai, norte da Argentina, Jamaica, algumas ilhas das Índias Ocidentais, na América Central, norte da Venezuela e Equador. Em São Paulo ocorre no sudeste do Estado (Bernacci, 2003).

Espécie heliófita e higrófila é comum na borda de matas, em florestas perturbadas, em florestas intactas, cerrados e escrube, em

solos bem drenados ou encharcados (Bernacci, 2003). Economicamente é a principal espécie de *Passiflora*, muito cultivada nas regiões Norte e Nordeste do Brasil para produção de frutos usados para obtenção de suco (Sacco, 1980; Sousa, Meletti, 1997). Como sinônimos constam *Passiflora edulis* var. *verrucifera* (Lindl.) Mast. e *Passiflora verrucifera* Lindl. (Missouri Botanical Garden, 2005).

Sob o aspecto fitoquímico, passiflorina (Bombardelli *et al.*, 1975), prunasina (Spencer, Seigler, 1983), orientina, vitexina, isovitexina (Freitas, 1985; Petry *et al.*, 2001), harmana, harmina, harmalina (Freitas, 1985; Abourashed *et al.*, 2003), sambunigrina, amigdalina (Chassagne, Crouzet, 1996), 6-C-chinovosídeo e 6-C-fucosídeo (Mareck *et al.*, 1991) foram detectados ou identificados nas folhas desta espécie. Nos frutos foi identificado o β -rutinosídeo-(R)-mandelonitrila- α -L-ramnopiranosil- β -D-glucopiranosídeo (Chassagne, Crouzet, 1998). Compostos sulfurados (Engel, Tressl, 1991), vários sesquiterpenos, cumarina, ácidos cafeico, clorogênico e *p*-cumárico, hesperidina, neohesperidina, quercetina, β -sitosterol, estigmasterol, prunasina, rutina, passicol (Nicolls *et al.*, 1973), umbeliferona, 1,3,4,5,6,7 hexahidro,7,7-dimetil-1-propan-2-onil isobenzofurano, diidroedulan I, edulan II, diidroedulan (Naf *et al.*, 1977, Gupta, 1995) também tem sido identificados na espécie.

Popularmente tem sido empregada para tratar sintomas de alcoolismo, ansiedade, insônia, enxaqueca, bronquite e asma. (Maluf *et al.*, 1991; Gupta, 1995). O decocto das folhas é usado como diurético (Almeida, 1993; Gupta, 1995). Gupta (1995) descreve o uso das folhas frescas no tratamento da hipertensão ou para induzir a diurese. As folhas, quando fragmentadas, podem ser aplicadas topicamente para auxiliar no tratamento de tumores hemorroidários (Almeida, 1993). No Peru, a infusão das folhas é empregada popularmente como sedativa e relaxante muscular (Egg, 1999).

Vale e Leite (1983) demonstraram a atividade depressora geral do sistema nervoso central, empregando extrato aquoso de folhas de *P.edulis* f. *flavicarpa*, preparado de forma semelhante ao chá utilizado popularmente. Administraram doses de 20 e 40 mg/Kg em camundongos. Resultados como redução da temperatura corporal, indução ao sono, potencialização da ação hipnótica do pentabarbital e de depressores como a morfina, foram obtidos neste ensaio. Atribuíram tais atividades a constituintes de natureza proteica.

Maluf *et al.* (1991) avaliaram os efeitos sedativos e hipnóticos do extrato de folhas de *P.edulis*, em voluntários e em animais (ratos e camundongos). Não verificaram efeitos sedativos e hipnóticos nos voluntários e nos animais, mas observaram ação depressora não específica sobre o sistema nervoso central. Estes mesmos autores pesquisaram a toxicidade do extrato das folhas em voluntários, utilizando um chá a 10% (p/v), semelhante ao usado popularmente. Observaram que quatro dos nove voluntários apresentaram, um dia após a ingestão, indícios de toxicidade no tecido pancreático. Outros voluntários mostraram alterações que sugeriam disfunção hepatobiliar e aumento no nível de ácido úrico.

Petry *et al.* (2001) realizaram um estudo comparativo da ação farmacológica de *P.alata* e *P.edulis*. A atividade ansiolítica de *P.edulis* foi observada nas doses de 50, 100 e 150 mg/Kg, enquanto que *P.alata* apresentou a mesma ação apenas nas doses de 100 e 150 mg/Kg.

Outras atividades tem sido avaliadas. O extrato etanólico da planta inteira não apresentou atividade antiviral contra o vírus de Cocksackie, herpes tipo I, sarampo, pólio tipo I (Vanden Berghe *et al.*, 1978). O extrato hidroalcoólico de folhas frescas, administrado em ratas por intubação gátrica evidenciou fraco efeito cronotrópico negativo (Ribeiro *et al.*, 1986) e atividade diurética (Ribeiro *et al.*, 1988).

2.8. *Passiflora incarnata* L.

Figura 10. *Passiflora incarnata* L.

(www.fp.bio.utk.edu/.../Plants.week/passionflower.htm)

Passiflora incarnata, dentre as cinco plantas escolhidas, é a mais estudada. Segundo Killip (1938), esta espécie decídua, nativa do sudoeste dos Estados Unidos, muito cultivada pela beleza das flores, é encontrada em campos, apreciando solos úmidos (Fig. 10). Como sinônimos constam: *Granadilla incarnata* (L.) Medik; *Passiflora incarnata* fo. *alba* Waterf.; *Passiflora incarnata* Ker.Gawl.; *Passiflora incarnata* var. *integriloba* D.C.; *Passiflora incarnata* var. *major* Sweet (Missouri Botanical Garden, 2005).

Suas propriedades sedativas tem sido descritas há muito tempo. Em 1867, pesquisadores americanos indicaram-na para o combate da insônia e das perturbações nervosas relacionadas à menopausa (Soulimani *et al.*, 1997). Em 1904, Stapleton descreve seu uso em

pacientes neurastênicos e histéricos (Ruggiero, 1987; Freitas, 1985; Maluf *et al.*, 1991).

Embora a composição química e o teor flavonoídico mostrem considerável variação em diversos estudos, observa-se que *P. incamata* contém C-glicosídeos de apigenina e de luteolina. Os flavonóides identificados em *P. incamata* foram apigenina, luteolina, quercetina, canferol (Gavasheli *et al.*, 1974), vitexina, isovitexina (Glotzbach, Rimpler, 1968; Lutomski *et al.*, 1981; Geiger, Markhan, 1986; Pietta *et al.*, 1986; Rehwald *et al.*, 1994; Abourashed *et al.*, 2003), orientina, isoorientina (Abourashed *et al.*, 2003), chaftosídeo, isochaftosídeo, svertisina (Rehwald *et al.*, 1994), vicensina-2, isovitexina-2"-O- β -glicopiranosídeo, isoorientina-2"-O- β -glicopiranosídeo (Geiger, Markhan, 1986; Qimin *et al.*, 1991), crisina (Zanoli *et al.*, 2000) e isoscoparina-2"-O-glicosídeo (Rhaman *et al.*, 1997). Menghini *et al.* (1993), em análise qualitativa dos flavonóides desta espécie, encontraram maior teor em isovitexina.

Os alcalóides identificados nesta espécie foram harmina, harmana, harmol, harmalina e harmalol (Poethke *et al.*, 1970a; Abourashed *et al.*, 2003). Alcalóides indólicos, como harmol, harmalol, harmana, podem ocorrer, conforme a origem e a maturidade da planta (Löhdefink, Kating, 1974; Brasseur, Angenot, 1984). Estes alcalóides, entretanto, não têm sido detectados em amostras comerciais (Rehwald *et al.*, 1995). A benzopirona maltol foi identificada por Aoyagi *et al.* em 1974. O glicosídeo cianogênico ginocardina foi isolado por Spencer e Seigler em 1984.

Lutomsky e Wrocinski, em 1960, avaliando essa espécie química e farmacologicamente, verificaram maior atividade sedativa do extrato contendo flavonóides e alcalóides.

Pletscher, em 1959 (Oga *et al.*, 1984), observou que os alcalóides harmina e harmalina, isolados de *P. incamata*, inibem a

monoaminoxidase e atuam como estimulante central. Aoyagi *et al.* (1974) atribuíram os efeitos depressores como sendo resultantes da presença de maltol em *P. incamata*. Segundo os autores, esta substância poderia mascarar o efeito estimulante dos alcalóides presentes. Neste ensaio, foi observado que o maltol potencializa o sono induzido por hexobarbital, apresenta ação anticonvulsivante e inibe a atividade motora espontânea em camundongos. Mas, Soulimani *et al.* (1997) estudaram o efeito conjunto de maltol-alcalóide e não verificaram alterações na ação ansiolítica.

Speroni e Minghetti (1988) estudaram um extrato hidroetanólico preparado com órgãos aéreos de *P. incamata*, em ratos. A dose administrada por via oral foi de 160 mg/kg e de 50 mg/kg por via intraperitoneal. Verificaram aumento do limiar de sensibilidade em ambas vias de administração e, observaram o prolongamento significativo do tempo de sono induzido por pentobarbital, alteração da atividade locomotora e ação anticonvulsivante na administração por via intraperitoneal. O extrato foi fracionado e as frações obtidas foram usadas nos mesmos estudos farmacológicos do extrato hidroetanólico. As frações lipofílica e hidrofílica mostraram-se ativas.

Soulimani *et al.* (1997) administraram extratos hidroalcoólicos e aquosos liofilizados de órgãos aéreos de *P. incamata*, em camundongos, por via intraperitoneal. Na dose de 400 mg/kg, verificaram atividade ansiolítica do extrato hidroalcoólico e sedativa para o extrato aquoso, empregando testes comportamentais que determinam ação sedativa e ansiolítica.

Em 2000, Zanolli *et al.* verificaram que crisina, flavonóide presente em *P. incamata*, administrada intraperitonealmente em ratos na dose de 1 mg/kg apresentava ação ansiolítica, e na dose de 25 mg/kg reduzia a atividade locomotora.

Em 2001, Akhondzadeh *et al.* organizaram um ensaio duplo cego, em 36 pacientes, comparando o extrato vegetal de *P. incarnata* com oxazepam e concluíram a eficácia deste extrato.

Dhawan *et al.* (2001a) relataram a presença de um derivado de benzoflavona numa fração metanólica do extrato de *P. incarnata*. Visto que este composto apresentou ação ansiolítica na dose de 10 mg/kg, em camundongos, os autores sugerem que este seja o componente ativo desta planta. O derivado de benzoflavona foi empregado pelos mesmos autores, em 2002, em um estudo de reversão de dependência a canabinóides. O composto mostrou-se eficaz na doses de 10 e 20 mg/Kg, em camundongos, via oral. Em 2003, verificaram atividade antiasmática do extrato metanólico de folhas desta espécie, em cobaias, na dose de 100 mg/kg.

Em 2002, Kapadia *et al.*, estudaram a propriedade antitumoral de trinta e duas plantas consideradas medicinais e observaram, *in vitro*, que *P. incarnata* apresentava esta ação utilizando extrato da planta inteira.

Parra *et al.* (2002) pesquisaram o potencial toxicogenético do extrato fluido desta espécie em ensaios *in vivo* e *in vitro*, e não observaram atividade mutagênica. As concentrações do extrato fluido de *P. incarnata* no teste *in vitro* foram de 0,162 a 1,296 mg/mL e de 0,607 a 5250,00 mg/kg para o teste com ratos. Speroni e Minghetti (1988) não observaram sinais de toxicidade aguda do extrato fluido, em camundongos, após administração intraperitoneal de doses maiores que 900 mg/kg.

Fischer *et al.* (2000) relataram um caso de paciente que apresentou sinais de toxicidade cardiovascular e gastrointestinal, provocados pela administração de dose terapêutica (500-1000 mg/dia) de um medicamento contendo extrato de *P. incarnata*. No entanto, devido à falta dos mesmos efeitos adversos deste produto em outros pacientes, concluiu-se, hipoteticamente, que o paciente poderia portar variação de um gene responsável por esta hipersensibilidade. Outras ocorrências

causadas por ingestão de comprimidos contendo extrato de *Passiflora* também foram relatadas por estes autores, que acreditam numa reação de hipersensibilidade individual.

2.9. *Passiflora quadrangularis* L.

Figura 11. *Passiflora quadrangularis* L.
(www.passiflora.it/quadrangularis.htm)

Passiflora quadrangularis (Fig. 11) é conhecida pelas denominações de “maracujá-açu” (ou assu) e “maracujá-melão”, que indicam a grande dimensão de seu fruto (Sousa, Meletti, 1997). Segundo Killip (1938), Masters separou *P. quadrangularis* de *P. macrocarpa*, porém existem dúvidas quanto a esta distinção. Sousa e Meletti (1997) consideram-nas uma mesma espécie. Como sinônimos constam: *Granadilla quadrangularis* (L.) Medik.; *Passiflora macrocarpa* Linden ex

Mast.; *Passiflora sulcata* Jacq.; *Passiflora tetragona* M.Roem. (Missouri Botanical Garden, 2005).

Trepadeira glabra, considerada nativa da Amazônia por Peckolt (citado em Sousa, Meletti, 1997), pode ser encontrada em toda América tropical. Nas Américas, seu plantio em escala doméstica, ocorre desde o México até o Rio Grande do Sul, mas o fruto adquire maior desenvolvimento nos climas quentes e úmidos (Sousa, Meletti, 1997). Seu fruto pode atingir de 15 a 30 cm de comprimento e pesar de 2 a 3 kg (Egg, 1999).

Poucos pesquisadores têm se dedicado a seu estudo. Foram detectados, por cromatografia em camada delgada, os flavonóides vitexina, isovitexina, orientina e isoorientina (Glotzbach, Rimpler, 1968; Freitas, 1985) e as saponinas saponarina e saponaretina (Glotzbach, Rimpler, 1968). Foram isolados e identificados no fruto os monoterpenos (3E)-3,7-dimetil-3-octano-1,2,6,7-tetraol; ácido (2E)-2,6-dimetil-2,5-heptadienóico; éster de (2E)-2,6-dimetil-2,5-heptadienóico β -D-glucopiranosil; (5E)-2,6-dimetil-5,7-octadieno-2,3-diol; (3E)-3,7-dimetil-3-octeno-1,2,6,7-tetrol (Osório *et al.*, 1999; Osório *et al.*, 2000), o glicosídeo cianogênico tetrafilina B (Jaroszewski, Fog, 1989) e o triterpenóide quadrangulosídeo nas folhas (Orsini *et al.*, 1986).

Segundo Duke (1987), apresenta ação antihelmíntica, diurética e emética. Também é empregada na medicina popular para insônia e ansiedade (Ruggiero, 1987). Egg (1999) relatou seu uso popular no Peru, como febrífuga, antihipertensiva e antitussígena. As flores e as folhas, em infusão, são empregadas como sedativas. No entanto, o autor ressalta que as folhas, raízes e flores são abortivas e os caules são tóxicos. Os frutos consumidos em grande quantidade podem ser soporíferos e de difícil digestão (Cáceres, 1999). Okamoto e Yoshikawa (1994) apontaram-na como fonte de potencial agente antihipertensivo.

3. OBJETIVO

O objetivo do presente trabalho foi realizar o estudo comparativo entre cinco espécies de *Passiflora*: *P.alata* Curtis, *P.caerulea* L., *P.edulis* Sims, *P.incamata* L.e *P.quadrangularis* L., por intermédio dos seguintes parâmetros:

1. Morfologia e anatomia de folhas e caules
2. Perfil cromatográfico em camada delgada (CCD) e em camada delgada de alta eficiência (HPTLC) dos extratos
3. Análise quantitativa da fração flavonoídica através de método espectrofotométrico e densitométrico (HPTLC)

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material vegetal

Folhas adultas de *Passiflora alata*, *P. caerulea*, *P.edulis*, *P.incamata* e *P.quadrangularis* empregadas no estudo foram coletadas nas seguintes localidades: Escola Superior de Agronomia Luiz de Queiroz (Piracicaba), Instituto Agrônomo de Campinas (Campinas), Instituto Plantarum (Nova Odessa) e Laboratório Centroflora (Botucatu). Exsicatas referência do material de estudo encontram-se depositadas no herbário do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo (*P.alata* – V.M.Mezo 01), no Instituto Plantarum (*P. edulis* – H.Lorenzi 2.223; *P. caerulea* – H.Lorenzi 2.458; *P incamata* – H.Lorenzi 2.500).

4.2 Estudo farmacobotânico

O estudo da morfologia externa da droga vegetal foi realizado através de observação à vista desarmada e/ou com lupa estereoscópica Willd® empregando método descrito por Dibbern *et al.* (1987). No estudo anatômico das folhas e dos caules foram utilizados materiais frescos e/ou fixados em F.A.A. 50 e conservados em etanol 70%. Cortes transversais no terço mediano inferior da lâmina foliar, da região mediana do pecíolo e cortes longitudinais das duas faces foram preparados (Oliveira, Akisue, 2000). Hematoxilina de Delafield (Johansen, 1940), floroglucina clorídrica (Sass, 1951) e sudan III (Sass, 1951) foram empregados para caracterizar celulose, lignina e substâncias lipófilas, respectivamente. A terminologia empregada nas descrições seguiu a utilizada por Rizzini (1961) e Raven *et al.* (2001).

A morfologia interna foi observada empregando-se microscópio de luz Olympus®, modelo CH-2, binocular. As fotomicrografias foram obtidas empregando-se fotomicroscópio Nikon®. Para cada aumento utilizado, fotografou-se a lâmina micrométrica que serviu de escala de referência para as cópias fotográficas.

4.3. Análise cromatográfica

4.3.1. Preparo dos extratos

Os extratos empregados na nas análises cromatográficas, foram preparados com folhas adultas de *P.alata*, *P.edulis*, *P.incarnata*, *P.quadrangularis* e *P.caerulea*, secas em estufa com circulação de ar a 40-45 °C, durante 72 horas. A moagem foi realizada em moinho de facas e martelos de marca Thomas®, com abertura de malha de 1,0 mm²

O material pulverizado (1,25 g), obtido de cada uma das cinco espécies de *Passiflora*, foi extraído, sob refluxo, com metanol, durante 15 minutos a 60 °C. A seguir, foi filtrado e o resíduo foi levado novamente a

refluxo. O processo foi repetido por três vezes e a solução obtida, concentrada em rotaevaporador até *secura*. Posteriormente, o resíduo foi retomado em 0,5 mL do solvente.

4.3.2. Análise cromatográfica em camada delgada (CCD)

Os sistemas cromatográficos descritos a seguir foram escolhidos, dentre os diversos ensaiados, para o estudo comparativo das cinco espécies.

4.3.2.1 Sistema cromatográfico CCD1

As análises foram realizadas em placas de silicagel 60G (0,30 mm), ativadas a 105-110 °C durante 1 hora. A fase móvel constituída de acetato de etila:ácido fórmico:água (9:1:1) foi mantida na cuba durante 1 hora. Em seguida, procedeu-se o desenvolvimento simples e ascendente, com percurso de 15 cm. Foram empregados como reativos de revelação NP (Natural products polyethylene glycol reagent) a 1 % (p/v) em metanol e PEG 400 (propilenoglicol) a 5 % (p/v) em etanol (Wagner, Bladt, 1996). A visualização foi realizada a UV a 366 nm. As soluções metanólicas de rutina a 0,1 %, ácido cafeico a 0,02% e vitexina a 0,1% foram utilizadas como padrões, sendo o volume de aplicação de 1 µL para padrões e amostras.

4.3.2.2 Sistema cromatográfico CCD2

As condições do sistema cromatográfico CCD1 foram empregadas no sistema CCD2, substituindo-se a fase móvel para acetato de etila:ácido fórmico:ácido acético:água (100:11:11:26) (Wagner, Bladt, 1996). Os padrões utilizados foram soluções metanólicas

de rutina a 0,1 %, ácido cafeico a 0,02%, vitexina a 0,1 % e orientina a 0,1%.

4.3.3. Análise cromatográfica em camada delgada de alta eficiência (HPTLC)

4.3.3.1. Sistema cromatográfico HPTLC1

As amostras e padrões foram aplicados em placas de sílica gel 60 F254 HPTLC Merck®, 20 x 10 cm, utilizando-se o equipamento TLC ATS3 "spotting devices" Camag®. As placas, previamente ativadas a 100 °C por 30 min, foram desenvolvidas em cubas "twin-trough" Camag®. As cubas foram mantidas com acetato de etila-ácido fórmico-água (82:9:9) (Pharmacopoeia Helvetica, 1990) durante 30 minutos. A largura das bandas aplicadas foi de 6 mm e a distância entre duas bandas, de 13 mm. O tempo de aplicação de cada banda foi de 150 nL/s e o tempo entre as aplicações, de 20 segundos. Após o desenvolvimento e secagem, as placas foram tratadas com os reagentes de visualização NP (Natural products polyethylene glycol reagent) a 1 % (p/v) em metanol e PEG 400 (propilenoglicol) a 5 % (p/v) em etanol. Após secagem por 30 minutos foram escaneadas por meio de Camag TLC Scanner 3®, controlado por software WinCATS ®.

4.3.3.2. Sistema cromatográfico HPTLC2

Foram empregadas as mesmas condições do sistema cromatográfico HPTLC1, substituindo-se a fase móvel por acetato de etila-ácido fórmico-água (45:5:5) (Pastene *et al.*, 1997).

4.3.3.3. Sistema cromatográfico HPTLC3

Foram empregadas as mesmas condições do sistema cromatográfico HPTLC1, substituindo-se a fase móvel por acetato de etila:metilcetona:ácido fórmico-isopropanol (80:5:5:5) e placa de sílica gel 60 HPTLC, Merck ®.

4.4. Análise quantitativa da fração flavonoídica

4.4.1. Análise espectrofotométrica. Método 1

A quantificação de flavonóides totais, expressos em apigenina, foi baseada no trabalho de Petry *et al.* (1998).

4.4.1.1. Preparo da solução amostra concentrada

A 1,25 g de cada uma das drogas vegetais, transferidos para balão de fundo redondo, foram adicionados 15 mL de metanol. A mistura foi aquecida em banho-maria, sob refluxo, por 30 minutos a 45-50 °C. A seguir, a mistura foi filtrada em algodão para balão volumétrico de 25 mL. Os resíduos foram novamente submetidos a refluxo por 10 minutos com 10 mL de metanol. A mistura obtida foi filtrada em algodão para o mesmo balão volumétrico utilizado na primeira filtração. Após resfriamento, o volume foi completado com metanol. As amostras foram preparadas em triplicata para cada espécie.

4.4.1.2. Preparo da solução amostra de leitura

Uma alíquota de 2 mL da solução amostra concentrada (item 4.4.1.1) foi acrescida de 0,5 mL de uma solução metanólica a 1 % de

cloreto de alumínio e completado o volume para 25 mL. Após 30 minutos procedeu-se à leitura. A análise foi realizada em triplicata.

4.4.1.3. Preparo da curva-padrão de apigenina

Uma solução metanólica foi preparada com 25,6 mg de apigenina Merck® (98 %) e 10 mL do solvente. Uma alíquota de 1 mL desta solução mãe foi transferida para balão volumétrico de 25 mL e completou-se o volume com metanol. A partir desta solução foram preparadas as soluções de padrão para construção da curva-padrão. Foram empregadas as seguintes concentrações: 0,004038 mg/mL, 0,008075 mg/mL, 0,001211 mg/mL, 0,016150 mg/mL e 0,020188 mg/mL.

4.4.1.4. Preparo do branco

1 mL de cada uma das amostras concentradas (item 4.4.1.1) foi diluída para 25 mL com metanol.

4.4.1.5. Leitura espectrofotométrica

As absorvâncias das soluções foram medidas em espectrofotômetro Hewlett Packard Vectra XM, em 397 nm, 30 minutos após a adição da solução de cloreto de alumínio.

4.4.1.6. Cálculo

$$\text{Teor de flavonóides} = \frac{\text{leitura amostra} \times \text{conc.padrão} \times \text{fator de diluição amostra}}{\text{Leitura padrão} \times \text{massa amostra}}$$

4.4.2. Análise espectrofotométrica. Método 2

A quantificação de flavonóides totais, expressos em rutina, foi baseada no trabalho de Santos e Blatt (1998).

4.4.2.1. Preparo da solução amostra de leitura

Uma alíquota de 2 mL de cada uma das soluções concentradas (item 4.4.1.1) foi acrescida de 0,5 mL de uma solução metanólica a 1 % de cloreto de alumínio e completado o volume para 25 mL. A leitura foi feita após 30 minutos da adição da solução de cloreto de alumínio. A análise foi efetuada em triplicata.

4.4.2.2. Preparo da curva-padrão de rutina

Uma solução metanólica foi preparada com 11,2 mg de padrão de rutina Merck® (90,53%) e diluindo-se para 10 mL. Uma alíquota de 1 mL desta solução mãe foi transferida para balão volumétrico de 25 mL e completou-se o volume com metanol. A partir desta solução foram preparadas as soluções de padrão para construção da curva-padrão. Foram empregadas as seguintes concentrações: 0,042730 mg/mL, 0,0854602 mg/mL, 0,012819 mg/mL, 0,017092 mg/mL e 0,021365 mg/mL.

4.4.2.3. Preparo do branco

Foram preparadas soluções metanólicas, contendo 1 mL de cada amostra concentrada (item 4.4.1.1), completando-se o volume para 25 mL.

4.4.2.4. Leitura espectrofotométrica

As absorvâncias das soluções foram medidas em espectrofotômetro Hewlett Packard Vectra XM, em 425 nm, 30 minutos após adição da solução de cloreto de alumínio.

4.4.2.5. Cálculo

$$\text{Teor de flavonóides} = \frac{\text{leitura amostra} \times \text{conc. padrão} \times \text{fator de diluição amostra}}{\text{Leitura padrão} \times \text{massa amostra}}$$

4.4.3. Análise cromatográfica em camada delgada de alta eficiência (HPTLC)

4.4.3.1. Preparo da solução amostra

Uma alíquota de 2 µL da solução de cada amostra concentrada (item 4.4.1.1) foi aplicada em placa de HPTLC.

4.4.3.2. Preparo da solução padrão de rutina

Uma solução metanólica foi preparada com 65,5 mg de padrão de rutina Merck® (90,53%). A partir desta solução foram preparadas as soluções para a construção da curva-padrão. Foram empregadas as seguintes concentrações: 0,2489 mg/mL, 0,4978 mg/mL, 0,7467 mg/mL, 0,9956 mg/mL e 1,2445 mg/ml. Uma alíquota de 2 µL foi aplicada em placa de HPTLC.

4.4.3.3. Sistema cromatográfico

As amostras e padrões foram aplicados em placas de sílica gel 60 F254 HPTLC Merck®, 20 x 10 cm, utilizando-se o equipamento TLC ATS3 “spotting devices” Camag®. As placas, previamente ativadas a 100 °C por 30 min, foram desenvolvidas em cubas “twin-trough” Camag®. As cubas foram mantidas com acetato de etila - ácido fórmico- água (6:1:1) durante 30 minutos. A largura das bandas aplicadas foi de 6 mm e a distância entre duas bandas, de 13 mm. O tempo de aplicação de cada banda foi de 150 nL/s e o tempo entre as aplicações, de 20 segundos. Após o desenvolvimento e secagem, as placas foram tratadas com os reagentes de visualização NP (Natural products polyethylene glycol reagent) a 1 % (p/v) em metanol e PEG 400 (propilenoglicol) a 5 % (p/v) em etanol. Após secagem por 1 hora foram escaneadas por meio de Camag TLC Scanner 3®, controlado por software WinCATS®. O comprimento de onda a ser empregado foi avaliado através de varredura das amostras, no intervalo de 200 a 400 nm. Para a análise quantitativa de flavonóides totais as áreas de todos os picos foram consideradas.

4.4.3.4. Avaliação densitométrica

As placas desenvolvidas com os extratos vegetais e padrão foram escaneadas empregando-se equipamento Camag TLC Scanner 3 e analisadas por densitômetro Camag Automatic controlado por software WinCATS. Os parâmetros de análise utilizados foram: modo varredura; $\lambda_{\text{excitação}}$ de 366 nm; $\lambda_{\text{emissão}}$ de 500 nm; largura da fenda de 0,04 mm; altura da fenda de 6 mm; sistema óptico otimizado.

As placas de HPTLC foram fotografadas empregando-se Câmera digital CAMAG com transluminador Reprostar 3/Vídeo Documentation System (Desaga).

5. RESULTADOS

5.1 Estudo farmacobotânico

5.1.1 *Passiflora alata* Curtis

5.1.1.1 Descrição macroscópica da folha e de caule de *P.alata*

As folhas são simples, inteiras, de contorno oval, glabras, de base ligeiramente cordada, ápice agudo ou acuminado (Fig.12). Apresentam-se discolores, sendo a coloração verde mais escura na face adaxial e mais clara na abaxial. São peninérveas com 6 a 8 nervuras laterais de cada lado da nervura mediana. O ângulo formado entre a nervura mediana e as nervuras laterais é de 40 a 60°. A consistência é membranácea. Medem de 11 a 15,5 cm de comprimento por 7 a 12,5 cm de largura. As margens são ligeiramente onduladas.

Os pecíolos canaletados apresentam-se torcidos na porção próxima ao caule. Medem de 4 a 6,5 cm de comprimento e portam glândulas sésseis, cujo número varia de duas a quatro, sendo na maioria das vezes duas glândulas junto ao limbo e duas na região mediana do pecíolo (Fig.12b). As estípulas são lineares e as gavinhas axilares (Fig.12c). O caule é quadrangular e provido de alas. As folhas desidratadas apresentam-se acastanhadas, inodoras, de consistência membranácea e de sabor amargo.

Figura 12. *Passiflora alata* Curtis: (a) folha inteira (escala = 1,4 cm); (b) e (c) desenhos esquemáticos; (b) glândulas peciolares; (c) estípulas (escala = 1 cm).

5.1.1.2 Descrição microscópica da folha e do caule de *P.alata*

▪ Lâmina foliar

Em vista frontal, as células epidérmicas exibem contorno poligonal e paredes proporcionalmente sinuosas na face abaxial (Fig.13a,b). A cutícula é lisa. A folha hipoestomática mostra estômatos com 2 a 4 células subsidiárias, predominando os paracíticos (Fig.13b).

A secção transversal da lâmina foliar permite observar na face adaxial, células epidérmicas, aproximadamente, retangulares, alongadas no sentido periclinal. Na face abaxial, essas células evidenciam comparativamente maior irregularidade, tanto em tamanho quanto na forma. Estômatos ocorrem no mesmo nível das demais células epidérmicas. O mesofilo dorsiventral apresenta, freqüentes vezes, camada única de células paliçádicas. Estas células apresentaram o

comprimento cerca de duas vezes maior que a largura. A espessura desta camada é cerca de 1/6 da largura do mesofilo. Por vezes, observa-se camada de células coletoras. O parênquima lacunoso apresenta cerca de seis camadas de células brachiformes (Fig.13f).

A região da nervura mediana mostra-se pronunciadamente biconvexa, evidenciando aspecto agudo na face abaxial (fig. 13c). A epiderme é formada por uma camada de células aproximadamente quadrangulares, com as paredes externas convexas. Na face abaxial, essas células apresentam-se proporcionalmente menores que as da face adaxial. Junto à face adaxial, o colênquima angular é formado de doze a quinze camadas (Fig.13d). Na face abaxial, o colênquima angular compõe-se de sete a nove camadas (Fig.13e).

O sistema vascular toma a forma arqueada, sendo um feixe maior oposto aos outros quatro ou cinco feixes menores (Fig.14a). Os feixes vasculares são colaterais (Fig.14b). Fibras perivasculares lignificadas são observadas nesta região (Fig.14c). Drusas de oxalato de cálcio ocorrem, principalmente, na nervura mediana, distribuídas no colênquima, parênquima fundamental e no floema. No mesofilo ocorrem notadamente no parênquima lacunoso.

A nervura lateral apresenta contorno convexo na face adaxial e careniforme na abaxial (Fig.15a). As células epidérmicas, em ambas faces, possuem tamanho e contorno variados. O colênquima sob as duas faces é bem desenvolvido, observando-se por vezes, até dez camadas células com espessamento nos ângulos (Fig. 15b). O sistema vascular apresenta-se em arco apostado a um pequeno feixe voltado para a face adaxial (Fig. 15c).

Figura 1.3 *Passiflora alata* Curtis. Lâmina foliar. Vista frontal: (a) Face adaxial (20 μ m) e (b) Face abaxial (20 μ m). Secções transversais. Nervura mediana: (c) desenho esquemático de nervura mediana (0,9 cm), (d) detalhe do colênquima da face adaxial (40 μ m); (e) detalhe da face abaxial (100 μ m). (f) Mesofilo dorsiventral (20 μ m).

▪ Pecíolo

O pecíolo, na região próxima ao limbo, apresenta contorno côncavo-convexo (Fig. 15d). À medida que seu diâmetro diminui, as alas mostram redução gradativa até desaparecerem e o pecíolo assume forma arredondada. As células epidérmicas são tabulares, às vezes, quadrangulares. A cutícula é lisa e espessa. Sob a epiderme, observam-se 3 a 9 camadas de colênquima angular (Fig. 15e). O sistema vascular apresenta-se disposto em círculo, formado por um feixe vascular maior voltado para as alas e oposto a cerca de doze feixes de tamanhos variados (Fig. 15f). No centro deste círculo encontram-se dois feixes voltados para o feixe maior, voltado para a face adaxial. Sob cada ala, observa-se um pequeno feixe vascular. Conforme o diâmetro do pecíolo é reduzido, os feixes das alas aproximam-se do círculo de feixes, praticamente fazendo parte deste. Drusas em grande número podem ser encontradas no parênquima fundamental e no parênquima do sistema vascular.

▪ Caule

O contorno do caule é quadrangular. A epiderme apresenta células de tamanho variável e contorno, aproximadamente, retangular alongadas no sentido periclinal. O colênquima é formado por três a seis camadas de células com espessamento angular. O parênquima cortical possui de quatro a oito camadas de células. Em cada ângulo do caule existe um grupo maior de feixes fibrosos e dois menores, em forma circular. Aposto ao floema observa-se calota fibrosa (Fig. 16a,b). A faixa cambial é evidente. Drusas são observadas no córtex e na medula (Fig. 16b,c).

Figura 14. *Passiflora alata* Curtis. Lâmina foliar. Secções transversais. Nervura mediana: Sistema vascular: (a) Aspecto geral da nervura mediana (100µm); (b) detalhe do sistema vascular (40µm); (c) detalhe evidenciando fibras perivasculares e drusas no floema (20 µm).

Figura 15. *Passiflora alata* Curtis. Lâmina foliar. Secções transversais. Nervura lateral: (a) aspecto geral da nervura lateral (100 μm); (b) detalhe da face adaxial (40 μm); (c) detalhe do sistema vascular (40 μm). Pecíolo: (d) desenho esquemático (0,9 cm); (e) detalhe do colênquima; (f) detalhe da distribuição dos feixes vasculares (40 μm).

Figura 16. *Passiflora alata* Curtis. Caule. Secções transversais: (a) Detalhe de um dos ângulos do caule (100 μm); (b) Detalhe da região entre arestas destacando calota fibrosa externa ao floema (40 μm); (c) Detalhe da região xilemática e medular (40 μm).

5.1.2 *Passiflora caerulea* L.

5.1.2.1 Descrição macroscópica de folha e caule de *P.caerulea*

As folhas são simples, glabras, palmatipartidas (Fig. 17c). As folhas dos ramos jovens, por vezes, apresentam-se tripartidas (Fig.17 a,b). Os lobos, freqüentemente, mostram contorno linear-oblongo e são estreitos; porém, algumas vezes, os lobos exibem maior largura, tendo o lobo central maior comprimento que os demais (Fig.17a-c). O ápice é mucronado. Apresentam consistência coriácea, margem lisa e base cordada. A coloração é verde escura na face adaxial e verde clara na abaxial. São palmatinérveas e medem 4 a 5,5 cm de comprimento por 7 a 8 cm de largura. Junto à região em que os lobos se unem existem duas pequenas glândulas, uma de cada lado do lobo (Fig. 17e).

Os pecíolos, ligeiramente torcidos (Fig. 17), medem de 2 a 3 cm de comprimento. Apresentam duas ou quatro glândulas pedunculadas localizadas junto ao limbo e na porção mediana do pecíolo (Fig. 17e). As estípulas mostram-se reniformes (Fig. 17 d). O caule é côncavo-convexo. As folhas transformadas em droga vegetal são inodoras, de coloração verde escura, membranáceas e de sabor amargo.

5.1.2.Descrição microscópica de folha e de caule de *P.caerulea*

▪ Lâmina foliar

Em vista frontal, as células epidérmicas, de ambas faces, apresentam contorno poligonal e espessamento tipo “contas de rosário”, notadamente na face adaxial (Fig. 18a,b). A folha é hipoestomática. Três a quatro células ladeiam as células estomáticas, com predomínio de estômatos anomocíticos (Fig.18 b). A cutícula é lisa.

A secção transversal evidencia alternância de células epidérmicas quadrangulares a retangulares, alongadas no sentido periclinal nas duas faces. No mesofilo dorsiventral destaca-se a espessura da camada paliádica (Fig. 18c). O parênquima paliádico, uniestratificado, é constituído por células com comprimento até dez vezes maior que a largura. Algumas vezes, este tecido ocupa mais da metade da espessura do mesofilo (Fig. 18c). O parênquima lacunoso apresenta de quatro a cinco camadas de células braciiformes. Raras drusas de oxalato de cálcio são observadas nesta região.

A nervura mediana, em secção transversal, apresenta-se aproximadamente biconvexa. A epiderme consiste de células quadrangulares, de paredes anticlinais externas ligeiramente convexas. Sob a epiderme da face adaxial, encontram-se cinco a oito camadas de colênquima (Fig. 18f). Junto à face abaxial, observam-se duas a três camadas do mesmo tecido.

O sistema vascular, disposto em arco aberto, é formado por dois a três feixes vasculares colaterais e, por vezes, observa-se um pequeno feixe vascular apostado ao arco e voltado para a face adaxial (Fig. 18d). Drusas de oxalato de cálcio evidenciam-se, principalmente, na região floemática e no parênquima fundamental. A nervura lateral apresenta estrutura semelhante à da nervura mediana.

▪ Pecíolo

As regiões proximal, mediana e distal, em que o pecíolo foi seccionado, apresentam-se semelhantes na disposição dos tecidos. As células epidérmicas, retangulares, alongadas no sentido periclinal, são revestidas por cutícula lisa. Sob a epiderme, encontram-se 3 a 4 camadas de células colenquimáticas com espessamento acentuado nas paredes periclinais.

Cinco a seis feixes vasculares pequenos e um destacadamente maior, voltado para a face adaxial, dispõem-se em círculo (Fig. 19a). Sob cada aresta no pecíolo, observa-se um pequeno feixe vascular (Fig. 19a). Drusas de oxalato de cálcio ocorrem no córtex, medula e junto aos feixes vasculares.

▪ Caule

Em secção transversal, o caule apresenta contorno pentangular. A epiderme compõe-se por células aproximadamente quadrangulares, com as paredes anticlinais externas ligeiramente convexas. O colênquima possui de duas a quatro camadas de células com espessamento predominantemente angular (Fig. 20a,b,c). O parênquima cortical apresenta de 2 a 6 camadas de células delimitando meatos. Os feixes vasculares colaterais dispõem-se em círculo, sendo maiores os que se situam nos ângulos do caule (Fig. 20a,d). Externo aos feixes observa-se calota fibrosa, notadamente desenvolvida nas arestas.

Figura 18. *Passiflora caerulea* L. Lâmina foliar. Vista frontal. (a) Face adaxial, destacando espessamento em "contas de rosário" (seta) (20 μ m). (b) Face abaxial com estômatos (20 μ m). (c-f) Secções transversais: (c) mesofilo dorsiventral, com parênquima paliçádico (pp) e lacunoso (pl) (40 μ m); (d) nervura mediana (100 μ m); (e) detalhe da nervura mediana com destaque ao sistema vascular (seta no xilema) (40 μ m); (f) detalhe da nervura mediana com estaque para o colênquima (co) da face adaxial (20 μ m).

Figura 19. *Passiflora caerulea* L. Pecíolo. Seções transversais: (a) desenho esquemático (Escala = 0,9 cm); (b) distribuição dos feixes vasculares (40 μ m); (c) detalhe do feixe vascular da aresta (10 μ m).

Figura 20. *Passiflora caerulea* L. Caule. Seções transversais: (a) detalhe evidenciando arestas e tecido vascular (100 μ m); (b) detalhe com sequência de tecidos em aresta (40 μ m); (c) detalhe com sequência de tecidos em região entre arestas (20 μ m); (d) detalhe do tecido vascular (seta no xilema) (10 μ m).

5.1.3 *Passiflora edulis* Sims. forma *flavicarpa* Degener

5.1.3.1 Descrição macroscópica de folha e de caule de *P.edulis* f. *flavicarpa*

As folhas apresentam-se simples e profundamente trilobadas. Por vezes, observam-se folhas inteiras. O ápice mostra-se acuminado e a base cordada. A margem é serrilhada e nos recortes dos bordos, sob lupa, podem-se observar pequenas glândulas. A superfície apresenta-se lisa, glabra e discolor, sendo verde mais escura na face adaxial e mais clara na abaxial. A nervação é trinérvea nas folhas trilobadas e peninérvea nas inteiras. O tamanho da folha varia de 11 a 17 cm de comprimento por 9 a 15 cm de largura. Gavinhas são observadas na região de inserção das folhas. Nas folhas transformadas em droga vegetal verifica-se consistência subcóriácea, aspecto amarrotado e coloração acastanhada (Fig. 21a-d).

O pecíolo mede, de 3 a 5 cm de comprimento e mostra-se torcido próximo ao caule. Junto ao limbo observa-se um par de glândulas sésseis (Fig. 21d). As estípulas são triangular subuladas (Fig. 21c). O caule tem contorno subcilíndrico.

Figura 21. *Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Deg. Folha: (a) folha desidratada (Escala = 2 cm); (b) Detalhe da margem (1 cm); (c-d) desenhos esquemáticos destacando (c') estípula e (c'') gavinha; (d) glândulas peciolares.

5.1.3.2 Descrição microscópica da folha e do caule de *P.edulis* f. *flavicarpa*

▪ Lâmina foliar

A folha é hipoestomática. A vista frontal da face adaxial (Fig. 22a), mostra células epidérmicas poligonais providas de paredes com espessamentos do tipo “contas de rosário”, revestidas por cutícula lisa. As células da face abaxial apresentam contorno comparativamente mais sinuoso. Duas a quatro células ladeiam o estômato (Fig. 22b).

Em secção transversal, a epiderme apresenta-se uniestratificada, constituída de células tabulares, alongadas no sentido periclinal e de tamanho variado. As células da face inferior são proporcionalmente menores. A cutícula é lisa.

O mesofilo é dorsiventral (Fig. 29a). O parênquima paliçádico apresenta-se em camada única, alcançando cerca de 1/3 da largura do mesofilo. Por vezes observa-se camada de células coletoras. O parênquima lacunoso possui de cinco a seis camadas de células com projeções curtas, delimitando pequenos espaços intercelulares. Estômatos são observados ao mesmo nível das demais células epidérmicas. Drusas de oxalato de cálcio acompanham os feixes vasculares.

A nervura mediana mostra-se biconvexa, pronunciadamente careniforme na face adaxial. As células epidérmicas da face adaxial apresentam-se, aproximadamente, quadrangulares, com as paredes externas convexas. As células da face oposta mostram formato semelhante, mas são comparativamente menores. Tricomas tectores unicelulares, cônicos, de paredes lignificadas são encontrados, principalmente, na face abaxial da nervura (Fig.29 b). Sob a epiderme, verifica-se um colênquima bem desenvolvido com cinco a seis camadas, provido de espessamento angular (Fig.30 a, 30 b).

O sistema vascular é formado por um conjunto de quatro a cinco feixes vasculares colaterais abertos, disposto em círculo (Fig. 28 c). Grande

número de drusas de oxalato de cálcio é observado, principalmente, na região floemática e no entorno.

A nervura lateral não difere da mediana (Fig. 29 c, 29 d).

▪ **Pecíolo**

As regiões proximal, mediana e distal do pecíolo não apresentaram diferenças significativas (Fig. 30 c). As células epidérmicas apresentam-se, aproximadamente, quadrangulares com as paredes periclinais externas convexas. Tricomas tectores unicelulares, cônicos e lignificados ocorrem com maior frequência nas alas da canaleta.

O sistema vascular é formado por quatro a cinco feixes vasculares menores, voltados para a face abaxial, e um feixe vascular maior, em oposição aos outros, assumindo o conjunto forma aproximadamente circular (Fig. 30 d). Em cada ala da canaleta observa-se um pequeno feixe vascular (Fig. 30 e). Drusas ocorrem, freqüentemente, na região floemática.

▪ **Caule**

A secção transversal do caule exhibe contorno cilíndrico. A epiderme é composta por células, aproximadamente, retangulares com tamanho variável. O colênquima é pouco desenvolvido e formado por três a cinco camadas de células espessadas nos ângulos. O parênquima cortical apresenta cinco a seis camadas de células de tamanhos e formas variadas. Observa-se periciclo fibroso descontínuo em forma de calota que acompanha os feixes vasculares (Fig. 31 a, 31b, 31 e). Os vasos do xilema estão dispostos em fileiras (Fig. 31 c, 31d).

Figura 22. *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg. Folha. Vista frontal: (a) Face adaxial (20 μm); (b) Face abaxial (20 μm). Seções transversais: (c) Detalhe do mesofilo dorsiventral (40 μm); (d) Detalhe da nervura mediana mostrando tricomas tectores simples (10 μm).

Figura 23. *Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Deg. Nervura mediana. Secções transversais: (a) aspecto geral da nervura (100 μ m); (b) detalhe do colênquima (co) na aresta da face adaxial (40 μ m); (c) destaque à distribuição dos feixes vasculares (40 μ m); (d) detalhe evidenciando feixe vascular e drusa (seta) (10 μ m).

Figura 24. *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg. Pecíolo. Secções transversais: (a) Desenho esquemático (Escala = 100 μm); (b) detalhe do colênquima (co) voltado para a face abaxial (20 μm); (c) detalhe evidenciando distribuição dos feixes vasculares (40 μm); (d) detalhe do feixe vascular da aresta (20 μm).

Figura 25. *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg. Caule. Secções transversais: (a) Detalhe evidenciando seqüência de tecidos na região externa (40 µm); (b) detalhe da calota fibrosa (fi) externa ao floema (fo) (20 µm); (c) detalhe mostrando o xilema (xi) (20 µm).

5.1.4 *Passiflora incarnata* L.

5.1.4.1 Descrição macroscópica da folha de *P. incarnata*

As folhas são simples, profundamente trilobadas e de consistência membranácea. O ápice é acuminado, a base cuneada e a margem serrilhada. A superfície é fosca e, sob lupa, principalmente as nervuras

mostram-se pubescentes. A coloração é verde mais escura na face adaxial e verde mais clara na adaxial. A nervação é trinérvea. Medem de 6-13 cm de comprimento por 7-15 cm de largura. Gavinhas ocorrem nas axilas das folhas (Fig. 26).

O pecíolo, levemente torcido, mede até 8 cm de comprimento. Possui um par de glândulas sésseis próximas ao limbo (Fig. 26d). As estípulas são setáceas (Fig. 26c'). O caule é cilíndrico. A droga vegetal apresenta coloração marrom esverdeada, é inodora e possui sabor amargo.

Figura 26. *Passiflora incarnata* L. Folha: (a) folha desidratada (Escala = 2cm); (b) detalhe da margem (1 cm); (c) desenho esquemático destacando em (c') estípula, em (c'') gavinha e em (d') glândulas peciolares (1 cm).

5.1.4.2 Descrição microscópica da folha e do caule de *P. incarnata*

▪ Lâmina foliar

Em vista frontal, as células epidérmicas de ambas faces mostram-se sinuosas, evidenciando-se comparativamente maior sinuosidade na face abaxial (Fig. 27a,b). A cutícula é lisa. A folha é anfiestomática, predominando os estômatos na face abaxial. Três a quatro células flanqueiam os estômatos (Fig. 27a,b).

Na secção transversal do terço mediano inferior da folha nota-se a presença de mesofilo dorsiventral (Fig. 27c). O parênquima paliçádico é formado por camada única de células, sendo o comprimento cerca de três vezes a largura. A camada paliçádica alcança de 1/3 a 1/2 da espessura do mesofilo. O parênquima lacunoso é composto por três a quatro camadas de células alongadas anticlinalmente. As células epidérmicas, em ambas as faces, são retangulares, alongadas no sentido periclinal.

Em secção transversal, a nervura mediana apresenta-se biconvexa. A epiderme está formada por células, aproximadamente, quadrangulares de paredes periclinais externas convexas. Tricomas tectores uni a pluricelulares unisseriados ocorrem em ambas faces, mas principalmente junto à carena (Fig. 27d,e,f). Apresentam na base estrias longitudinais. Sob a epiderme encontra-se colênquima angular, às vezes lamelar, formado por três a sete camadas de células (Fig. 27f,g). Drusas são observadas neste tecido.

O sistema vascular, distribuído em círculo, é constituído por três feixes vasculares colaterais. Drusas ocorrem junto aos feixes vasculares (Fig. 27 h). A nervura lateral apresenta estrutura semelhante à nervura mediana.

▪ Pecíolo

Não ocorrem diferenças significativas entre as regiões proximal, mediana e distal do pecíolo. A secção transversal do pecíolo é, aproximadamente, arredondada, com concavidade voltada à face adaxial (Fig. 28a). Nesta região observam-se numerosos tricomas tectores pluricelulares unisseriados (Fig. 28a, b, c).

A epiderme apresenta células quadrangulares. Sob a epiderme, encontra-se colênquima angular e, por vezes lamelar, formado por duas a seis camadas de células (Fig. 28c).

O sistema vascular compreende um feixe maior voltado para à face adaxial e oposto a outros cinco feixes menores, formando um círculo (Fig. 28a,d,e). Nas alas ocorrem, geralmente, dois feixes vasculares pequenos, sendo um deles proporcionalmente menor (Fig. 28a,f). Frequentemente, observa-se fístula (Fig. 28d, e).

▪ Caule

O caule, em secção transversal, apresenta contorno aproximadamente arredondado e estrutura eustélica. A epiderme está formada por células quadrangulares a retangulares e de tamanho variável. Tricomas tectores pluricelulares e unisseriados são encontrados nesta região. O colênquima, formado por 3 a 4 camadas de células, mostra espessamento angular. O parênquima cortical é composto por 4 a 5 camadas de células delimitando meatos. Externo ao floema observam-se calotas fibrosas. Feixes vasculares colaterais (fig. 29a,b) dispõem-se em círculo. Drusas são verificadas principalmente no floema.

Figura 27. *Passiflora incarnata* L. Lâmina foliar. (a-b) Vista frontal evidenciando estômatos nas faces adaxial (a) e abaxial (b) (20 μm). (c-h) Secções transversais: (c) mesófilo dorsiventral (40 μm) e (d-h) nervura. (d) e (e) tricomas tectores (10 e 40 μm); (f) colênquima junto à face abaxial (40 μm); (g) colênquima junto à face adaxial (40 μm); (h) distribuição dos feixes vasculares (40 μm).

Figura 28. *Passiflora incarnata* L. Pecíolo. Secções transversais: (a) desenho esquemático (0,9 cm); (b-c) detalhe com tricomas tectores (40 μ m); (d) distribuição dos feixes vasculares e fistula (fi) (100 μ m); (e) detalhe da foto anterior destacando feixes vasculares (40 μ m); (f) detalhe de feixe vascular da região da ala (20 μ m).

Figura 29. *Passiflora incarnata* L. Caule. Secções transversais: (a) detalhe com seqüência de tecidos, destacando a região floemática (fl.) (40 μ m) e (b) detalhe evidenciando a região xilemática (40 μ m)

5.1.5 *Passiflora quadrangularis* L.

5.1.5.1 Descrição macroscópica de folhas e de caules de *P. quadrangularis*

As folhas são glabras, simples, inteiras e de forma oval a oval oblonga, ápice acuminado, base arredondada a subcordada, nervação peninérvea e consistência membranácea. As nervuras laterais, em número de dez a doze de cada lado da nervura mediana, são evidentes e formam ângulo de 60 a 70° com esta (Fig. 30a). A coloração é verde escura na face adaxial e mais clara na abaxial. Medem de 10 a 20 cm de comprimento por 8 a 15 cm de largura.

O pecíolo torcido apresenta geralmente três pares de glândulas pedunculadas, sendo 1 par junto ao limbo, 1 par na região mediana e outro na porção distal do pecíolo (Fig.30c). As estípulas são ovaladas a oval-lanceoladas e as gavinhas observam-se na axila das folhas (Fig. 30b). O caule de contorno quadrangular com ângulos alados apresenta fístula.

Figura 30. *Passiflora quadrangularis* L. Folha: (a) inteira (escala = 2cm); (b-c) desenhos esquemáticos, destacando em (b) a estípula (b') e gavinha (b'') e, em (c) glândulas peciolares (seta). Escala = 0,9 cm.

5.1.5.2 Descrição microscópica de folhas e de caules de *P. quadrangularis*

▪ Lâmina foliar

Em vista frontal, as células epidérmicas apresentam-se sinuosas e recobertas por cutícula lisa (Fig. 31a, b). As folhas são hipoestomáticas. Os estômatos mostram de duas a quatro células anexas.

O terço mediano inferior da folha, em secção transversal, apresenta mesofilo dorsiventral (Fig. 31c). O parênquima paliádico é formado por camada única de células cujo comprimento equivale a cerca de duas vezes a largura. A espessura deste parênquima corresponde a 1/3-1/2 do mesofilo. O parênquima

lacunoso está composto por três a quatro camadas de células alongadas no sentido periclinal. As células epidérmicas são tabulares, alongadas no sentido periclinal e de tamanho irregular, nas duas faces.

A região da nervura mediana, em secção transversal, mostra-se pronunciadamente biconvexa (Fig. 31d,e). A epiderme é formada por células de tamanhos variáveis, aproximadamente, quadrangulares com as paredes periclinais externas convexas. Sob a epiderme, situa-se um colênquima angular, às vezes lamelar, formado por cerca de nove camadas (Fig. 31d).

O sistema vascular compõe-se de três a quatro feixes vasculares colaterais dispostos em arco; oposto ao arco observa-se um feixe voltado para a face adaxial (Fig.31f). Drusas, ocorrem principalmente na região perivascular.

A nervura lateral, em secção transversal, apresenta contorno biconvexo. A epiderme é formada por células, aproximadamente, retangulares, alongadas no sentido periclinal. O colênquima da face adaxial compõe-se de cinco a seis camadas de células com espessamento angular. Na face abaxial, o colênquima angular possui de três a seis camadas. Observa-se apenas um feixe vascular.

Figura 31. *Passiflora quadrangularis* L. Lâmina foliar. Vista frontal: (a) face adaxial (20 μm); (b) face abaxial (20 μm). Secções transversais: (c) mesofilo dorsiventral (40 μm); (d-f) nervura mediana, (d) aresta da face adaxial (40 μm); (e) aresta da face abaxial (100 μm); (f) distribuição dos feixes vasculares, onde (x) = xilema e (f) = floema (40 μm).

▪ Pecíolo

Não ocorrem diferenças significativas entre as regiões proximal, mediana e distal do pecíolo. A epiderme é composta por células tabulares revestidas por cutícula lisa. O colênquima angular é formado por duas a quatro camadas de células. Os quatro feixes vasculares dispõem-se em círculo (Fig. 32a,b). Em cada ala observa-se um pequeno feixe vascular (Fig. 32c).

Figura 32. *Passiflora quadrangularis* L. Secções transversais. Pecíolo: (a) Desenho esquemático (Escala = 0,1 cm); (b) distribuição dos feixes vasculares (100 μ m); (c) aspecto da ala com destaque ao feixe vascular (seta) (100 μ m).

▪ **Caule**

O caule, em secção transversal, apresenta contorno, aproximadamente, quadrangular com alas bem desenvolvidas. A epiderme é formada por células aproximadamente quadrangulares e de tamanho variável. O colênquima, pouco evidente, está formado por cerca de duas a três camadas de células com espessamento angular. O parênquima cortical exibe quatro a cinco camadas de células arredondadas delimitando meatos. As alas apresentam um grupo de fibras bem desenvolvido (Fig. 33c). Externo aos feixes vasculares colaterais observam-se grupos de fibras (Fig. 33a,c). O parênquima medular é bem desenvolvido (Fig. 31a,b). Drusas são encontradas por todo o parênquima.

Figura 33. *Passiflora quadrangularis* L. Caule. Secções transversais: (a) detalhe destacando grupo de fibras (f) externo ao floema (F) (40 μ m); (b) destaque ao sistema vascular (20 μ m); (c) detalhe da região da ala (40 μ m); (d) grupo de fibras (f) externo ao floema (10 μ m).

5.2 Perfil cromatográfico

5.2.1. Análise cromatográfica em camada delgada (CCD)

A análise empregando o sistema cromatográfico CCD1 (item 4.3.2.1) forneceu o resultado apresentado na figura 34.

Figura 34. Cromatograma em camada delgada. Sistema cromatográfico CCD1. Fase móvel: acetato de etila-ácido fórmico-água (9:1:1). Revelador: NP/PEG. **A** = *Passiflora alata*. **Q**= *P. quadrangularis*. **I**= *P. incarnata*. **E**= *P. edulis*. **C**= *P. caerulea*. **R**= rutina. **AC**=Ácido cafeico. **V**= vitexina.

A análise empregando o sistema cromatográfico CCD2 (item 4.3.2.2) forneceu o resultado apresentado na figura 35.

Figura 35. Cromatograma em camada delgada. Sistema cromatográfico CCD2. Fase móvel: acetato de etila-ácido fórmico-ácido acético-água (100:11:11:26). Revelador: NP/PEG. **A** = *Passiflora alata*. **Q**= *P.quadrangularis*. **I**= *P.incarnata*. **E**= *P.edulis*. **C**= *P.caerulea*. **R**= rutina. **O**=orientina. **V**= vitexina.

5.2.2. Análise cromatográfica em camada delgada de alta eficiência (HPTLC)

A análise empregando o sistema cromatográfico HPTLC1 (item 4.3.3.1) forneceu o resultado apresentado na figura 36.

Figura 36. Cromatograma em camada delgada de alta eficiência. Sistema cromatográfico HPTLC1. Fase móvel: acetato de etila – ácido fórmico – água (82:9:9). Placa HPTLC sílica gel 60 F254. Leitura em 366 nm após derivatização com NP/PEG. **A** = *Passiflora alata*. **Q**= *P.quadrangularis*. **I**= *P.incarnata*. **E**= *P.edulis*. **C**= *P.caerulea*. **R**= rutina. **AC**=ácido clorogênico.

A análise empregando o sistema cromatográfico HPTLC2 (item 4.3.3.2) forneceu o resultado apresentado na figura 37.

Figura 37. Cromatograma em camada delgada de alta eficiência. Sistema cromatográfico HPTLC2. Fase móvel: acetato de etila:ácido fórmico:água (45:5:5). Placa HPTLC sílica gel 60 F254. Leitura em 366 nm após derivatização com NP/PEG. **A** = *Passiflora alata*. **Q**= *P. quadrangularis*. **I**= *P. incarnata*. **E**= *P. edulis*. **C**= *P. caerulea*. **V**= vitexina. **AC**= ácido cafeico. **AP**= apigenina.

A análise empregando o sistema cromatográfico HPTLC3 (item 4.3.3.3) forneceu o resultado apresentado na figura 38.

Figura 38. Cromatograma em camada delgada de alta eficiência. Sistema cromatográfico HPTLC3. Fase móvel: metilcetona-acetato de etila-ácido fórmico-isopropanol (5:80:5:5) Placa HPTLC sílica gel 60 F254. Leitura em 366 nm após derivatização com NP/PEG. **A** = *Passiflora alata*. **Q**= *P. quadrangularis*. **I**= *P. incarnata*. **E**= *P. edulis*. **C**= *P. caerulea*. **AP**= apigenina. **ACI**= ácido clorogênico. **AC**= ácido cafeico. **N**= naringenina.

As figuras 39, 40 e 41 representam densitogramas das cinco passifloras.

A figura 40 representa densitogramas comparativos de *P. alata* e *P. quadrangularis*.

Figura 40. Densitogramas comparativos de *P. alata* e *P. quadrangularis*, empregando placa de sílica gel 60 F₂₅₄ e acetato de etila: ácido fórmico: água (82:9:9).

A figura 41 representa densitogramas comparativos de *P. edulis* e *P. incarnata* e a figura 42, o densitograma de *P. caerulea*.

Figura 41. Densitogramas comparativos de *Passiflora edulis* e *P. incarnata*, empregando placa de sílica gel 60 F₂₅₄ e acetato de etila: ácido fórmico: água (82:9:9).

Figura 42. Densitograma de *Passiflora caerulea* empregando placa de sílica gel 60 F₂₅₄ e acetato de etila: ácido fórmico: água (82:9:9).

5.3. Análise quantitativa da fração flavonoídica

5.3.1. Análise espectrofotométrica. Método 1.

A tabela 2 apresenta os teores de flavonóides totais expressos em apigenina, resultantes do método espectrofotométrico descrito no item 4.4.1. Os valores representam a média aritmética de três determinações.

Tabela 2. Análise espectrofotométrica. Teor de flavonóides em *Passiflora*

Espécie	Teor de flavonóides totais (%)
<i>P.alata</i>	0,62
<i>P.caerulea</i>	0,21
<i>P.edulis</i>	0,43
<i>P.incarmata</i>	0,45
<i>P.quadrangularis</i>	0,43

5.3.2. Análise espectrofotométrica. Método 2.

A tabela 3 apresenta os teores de flavonóides totais expressos em rutina, resultantes do método espectrofotométrico descrito no item 4.4.2. Os valores representam a média aritmética de três determinações.

Tabela 3 Análise espectrofotométrica. Teor de flavonóides em *Passiflora*.

Espécie	Teor de flavonóides totais (%)
<i>P.alata</i>	0,62
<i>P.caerulea</i>	0,22
<i>P.edulis</i>	0,41
<i>P.incamata</i>	0,43
<i>P.quadrangularis</i>	0,41

5.3.3. Análise cromatográfica em camada delgada de alta eficiência (HPTLC).

Na tabela 4 estão relacionados os teores de flavonóides totais, em *Passiflora*, empregando análise densitométrica (item 4.4.3). Os valores representam a média aritmética de três determinações.

Tabela 4. Análise cromatográfica em camada delgada de alta eficiência (HPTLC). Teor de flavonóides totais em *Passiflora*.

Espécie	Teor de flavonóides totais (%)
<i>P.alata</i>	1,18
<i>P.caerulea</i>	0,72
<i>P.edulis</i>	1,33
<i>P.incamata</i>	1,42
<i>P.quadrangularis</i>	1,34

6. Discussão

6.1 Aspectos botânicos

As folhas de *Passiflora* apresentam-se inteiras ou lobadas (Killip, 1938; Hutchinson, 1973; Barroso, 1978; Sacco, 1980; Bhattacharyya, Johri, 1998; Judd *et al.*, 1999). As espécies medicinais estudadas nesta dissertação podem ser diferenciadas quanto à subdivisão do limbo foliar: *P.edulis* (Fig. 21 a) e *P.incarnata* (Fig. 26 a) mostram-se geralmente trilobadas; *P.caerulea* varia de tri a pentapartidas (Fig. 17 a,b,c), enquanto *P.alata* (Fig. 12a) e *P.quadrangularis* (Fig. 30a) apresentam folhas inteiras. Por vezes, *P.edulis* pode apresentar folhas inteiras ou bilobadas, mas seu contorno difere daquele de *P.alata* e *P.quadrangularis*, por ser lanceolado e de margem serrilhada. Freitas (1985) salienta a heterofilia em *P.edulis*. *P.caerulea* é prontamente diferenciada das outras quatro espécies. Ainda que as folhas dos ramos jovens desta espécie possam apresentar três lobos, nos ramos bem desenvolvidos são pentapartidas (Fig. 17 a,b,c). O tamanho de suas folhas, bem como a forma dos lobos, também auxiliam na diferenciação, visto apresentar folhas menores e com lobos mais estreitos que *P.edulis* e *P.incarnata*. Embora *P.alata* e *P.quadrangularis* apresentem folhas inteiras e semelhantes sob o aspecto morfológico, pode-se diferenciá-las pelo número de nervuras laterais que em *P.quadrangularis* é de 10 a 12 de cada lado (Fig. 30 a), enquanto *P.alata* apresenta de 6 a 8 nervuras laterais (Fig. 12 a). O ângulo formado entre a nervura principal e as nervuras laterais em *P.quadrangularis* é de 60° a 70° e, em *P.alata*, é de 40° a 60°. Freitas (1985) também aponta estas características diferenciais.

Entre si, *P.edulis* e *P.incarnata* diferenciam-se quanto à margem, sendo nitidamente ondulada na primeira (Fig. 21a). Brausser e Angenot (1984) relatam o fato da folha de *P.edulis* possuir os dentes da margem

mais longos e com tendência a recurvarem-se em direção ao ápice. Com exceção à curvatura em direção ao ápice, que foi observada nas duas espécies (Fig. 21b, 26b), os dentes das folhas de *P.edulis* (Fig. 21b) mostraram-se mais espaçados que os de *P.incamata* (Fig. 26b). Deginani (2001) destaca, em *P.edulis*, as glândulas nas margens da lâmina foliar; neste estudo, foram constatadas estruturas semelhantes em *P.incamata*. Nota-se, ainda, que a face adaxial de *P.edulis* é brilhante e a de *P.incamata* fosca e pubescente quando observada sob lupa.

Para Killip (1938), a forma das estípulas constitui-se importante fator de diferenciação. *P.alata* possui estípulas linear-lanceoladas (Fig. 12c); em *P.quadrangularis* são ovais ou oval-lanceoladas (Fig. 30b); em *P.edulis* são lanceoladas (Fig. 21c); em *P.caerulea* mostram-se reniformes (Fig. 17d), e em *P.incamata*, oval-lanceoladas (Fig. 26c).

Deginani (2001) destaca que na maioria das espécies há presença de duas ou mais glândulas no pecíolo, sendo este aspecto importante para a diferenciação. *P.alata* é diferenciada de *P.quadrangularis* pelo número de glândulas peciolares, sendo que a primeira apresenta de um a dois pares (Fig. 12b) e a segunda, três (Fig. 30 a,c). Nota-se, ainda, que em *P.alata* as glândulas são sésseis e em *P.quadrangularis* são pedunculadas. *P.edulis* (Fig. 21d) e *P.incamata* (Fig. 26d) exibem apenas um par de glândulas peciolares sésseis. *P.caerulea* (Fig. 17e) apresenta de duas a quatro e pedunculadas.

Metcalf e Chalk (1950) mencionam folhas dorsiventrais em *Passiflora*, fato confirmado nos materiais em estudo (Fig. 13f, 18c, 22c, 27c, 31c). Freitas (1985) descreve este tipo de mesofilo para *P.alata*, *P.edulis*, *P.incamata* e *P.quadrangularis*; Gattuso *et al.* (1996) para *P. caerulea*.

A Farmacopéia Brasileira, nas 1ª e 2ª edições, menciona que o parênquima paliçádico de *P.alata* é composto por até 3 camadas de células. Observa-se que o parênquima paliçádico, em *P.alata*, é geralmente

constituído de apenas uma camada celular e, menos freqüentemente, por duas. Este fato é mencionado por Freitas (1985), que sugere uma correção da monografia farmacopeica. O parênquima paliçádico das outras quatro espécies é constituído por camada única.

As cinco espécies possuem drusas de oxalato de cálcio, característica apontada por Cronquist (1981) para o gênero. Freitas (1985) observa, ainda, que estas estão situadas por todo o parênquima lacunoso de *P.alata*, enquanto que em *P.quadrangularis* localizam-se, preferencialmente, nas bainhas que envolvem os feixes vasculares. De acordo com Brausser e Angenot (1984), *P.edulis* é mais rica em cristais de oxalato de cálcio que *P.incarnata*. Estas características foram confirmadas neste estudo.

As folhas de *P.alata*, *P.edulis*, *P.incarnata*, *P.quadrangularis* e *P.caerulea* são hipoestomáticas. *P.incarnata* difere dessas quatro espécies por ser anfiestomática com predominância de estômatos na face abaxial. A presença de células não diferenciadas flanqueando os estômatos é freqüente em *Passiflora* (Takhatajan, 1997; Bhattacharyya, Johri, 1998). Neste estudo observa-se predominância de estômatos paracíticos em *P.alata*, *P.edulis* e *P.quadrangularis*; de estômatos anomocíticos em *P.caerulea* e *P.incarnata*, fato que acresce dados para a diagnose (Fig. 13 a,b; 18 a,b; 22 a,b; 27 a,b; 31 a,b).

Metcalf e Chalk (1950), observam que o gênero *Passiflora* apresenta, freqüentemente, tricomas tectores simples e cônicos e, às vezes, em forma de gancho. Brausser e Angenot (1984) e Bisset (1994) apontam este aspecto para autenticação de *P.incarnata*, diferenciando-a de *P.edulis*. De fato, pode-se observar que *P.incarnata* exhibe, nas duas faces da lâmina foliar, tricomas tectores cônicos providos de uma a cinco células, com as células basais revestidas por cutícula finamente estriada. Por vezes, estes tricomas possuem ápice em gancho. Em *P.edulis* os tricomas

tectores simples, cônicos e curtos ocorrem ocasionalmente nas nervuras. As outras três espécies são glabras.

Os pecíolos, em secção transversal, igualmente podem ser diferenciados pela presença dos tricomas, descritos para a lâmina foliar, em *P.edulis* (Fig. 22d) e *P.incarnata* (Fig. 28b,c) e, por sua ausência em *P.alata*, *P.caerulea* e *P.quadrangularis*. Os caules de *P.alata* e *P.quadrangularis* mostram contorno quadrangular e arestas bem marcadas. Nestas regiões observam-se feixes vasculares de maior porte, encontrando-se em *P.quadrangularis*, as fibras dispostas em três calotas. O caule de *P.incarnata* apresenta-se cilíndrico, por vezes, penta-anguloso e provido de tricomas tectores semelhantes aos observados nas folhas. O caule de *P.edulis* mostra-se subcilíndrico e o de *P.caerulea*, pentangular.

6.2 Análise cromatográfica em camada delgada

O elevado número de espécies de *Passiflora*, a semelhança entre diversos exemplares do ponto de vista morfo-anatômico/químico e o problema de adulterações e falsificações verificados no mercado nacional justificam a procura por métodos de análise simples, rápidos e eficientes. Neste aspecto foram desenvolvidas análises cromatográficas em camada delgada (CCD) e camada delgada de alta eficiência (HPTLC) na obtenção de perfis cromatográficos que complementam a caracterização macro e microscópica das drogas vegetais mesmo quando se encontram na forma de pós.

A substância responsável pela atividade sedativa de *Passiflora* ainda não está definida, observando-se controvérsia entre os autores quanto ao grupo farmacologicamente ativo; se flavonóides, alcalóides e/ou outros compostos como o maltol (Speroni, Minghetti, 1988; Dhawan, 2004). Flavonóides foram selecionados como marcadores nas análises por

apresentarem-se em todas as amostras e pela disponibilidade de alguns padrões no mercado nacional. O método empregado no preparo dos extratos utilizados na análise cromatográfica, segundo Wagner e Bladt (1996), permite extrair flavonóides lipofílicos e hidrofílicos. Na seleção dos sistemas cromatográficos foram empregadas fases móveis descritas na literatura para análise desse grupo de substâncias (Freitas, 1985; Brasseur, Angenot, 1984; Wagner, Bladt, 1996; Pastene et al., 1997).

Sob luz UV 366 nm, os flavonóides exibem fluorescência amarela escura, verde ou azul. A fluorescência azul pode indicar presença de ácidos fenólicos como cafeico e clorogênico, ou cumarinas (Brasseur, Angenot, 1984; Wagner, Bladt, 1996). Nos cromatogramas destacaram-se manchas com deslocamento e coloração indicativas da presença de flavonóides e ácidos fenólicos. Embora os flavonóides orientina, isoorientina, vitexina e isovitexina ocorram em espécies de *Passiflora*, o alto custo e a disponibilidade no mercado restringem sua utilização como marcadores. Vitexina e orientina disponíveis em nosso laboratório em quantidades reduzidas foram empregadas durante a padronização do ensaio e constam apenas na análise documentada nas figuras 34, 35 e 37.

O sistema cromatográfico constituído pela mistura de acetato de etila:ácido fórmico:água (9:1:1) apresentou melhor separação na análise cromatográfica em camada delgada convencional (CCD). Neste sistema, *P.edulis* apresenta, caracteristicamente, duas manchas próximas, sendo uma verde-amarelada ($R_f = 0,6$) e a outra de forte coloração amarela ($R_f = 0,5$). Nesta mesma região, em *P.incarnata*, destacam-se duas manchas alaranjadas. Diferencia-se de *P.edulis* por exibir mancha alaranjada em $R_f = 0,2$. *P.alata* assemelha-se à *P.quadrangularis* quanto às manchas em R_f 0,2, 0,3, 0,5 e 0,6. Porém, em *P.quadrangularis*, as manchas mostram-se mais intensas. *P.caerulea* apresenta mancha verde amarelada em R_f 0,2 e amarela em R_f 0,3, sendo facilmente diferenciada das demais espécies. As

cinco amostras evidenciaram manchas amarelas com deslocamento semelhante à rutina, mas vitexina e ácido cafeico não foram observadas no cromatograma (Fig. 34).

A mistura de acetato de etila:ácido fórmico:ácido acético:água (100:11:11:26) (Fig. 35) permitiu observar que *P.alata* e *P.quadrangularis* apresentam perfil semelhante, diferenciando-se *P.quadrangularis*, por exibir mancha de coloração azulada intensa em Rf 0,8. Nota-se, ainda, que *P.alata*, *P.quadrangularis* possuem manchas alaranjadas em Rf 0,3 e *P.caerulea* em Rf 0,2; porém, ausentes em *P.incamata* e em *P.edulis*. No Rf 0,5, *P.alata*, *P.quadrangularis*, *P.incamata* e *P.edulis* exibem manchas alaranjadas, sendo a de *P.edulis* a mais intensa. As amostras apresentaram manchas em região compatível com a de rutina. Nas amostras as regiões correspondentes à vitexina e orientina não se observam manchas nítidas.

Os cromatogramas em camada delgada convencional permitiram diferenciar o extrato de *P. caerulea* dos demais. Os extratos de *P.alata* e *P.quadrangularis* apresentaram-se semelhantes diferenciando-se pela presença de mancha azul em Rf 0,8 (Fig. 35). Os extratos de *P.incamata* e *P.edulis* diferenciaram-se pela presença de manchas em Rf 0,1 e 0,2 no extrato de *P.incamata* (Fig. 34).

Os cromatogramas obtidos por HPTLC forneceram melhor resultado que os de cromatografia convencional. Em relação à CCD, a HPTLC apresenta como vantagens a precisão, menor tempo de análise e menores volumes de amostra e de fase móvel. A precisão decorre da aplicação automática que permite a padronização do tipo e do volume da aplicação. A técnica permite ainda realizar varredura de comprimento de onda, escolhendo-se aquele em que a amostra apresenta melhor resultado.

A figura 36 apresenta o cromatograma obtido por HPTLC com o sistema cromatográfico HPTLC1. *P.alata* e *P.quadrangularis* diferenciam-se pelas bandas azuis (Rf 0,15-0,20) e alaranjada no Rf 0,3 e pela banda azul

no Rf 0,9, apresentadas por *P.quadrangularis*; as demais manchas mostram comportamento semelhante. As figuras 37 e 38 evidenciam a semelhança das duas espécies, diferenciando-se basicamente pela mancha azul (Rf 0,9) em *P.quadrangularis*. *P.edulis* diferencia-se de *P.incamata* pelo número de bandas; cerca de 10 na primeira e 6 na segunda (Fig. 36). Em *P.incamata* observa-se seqüência de bandas alaranjada e verde intensa em Rf (0,15-0,2), ausentes em *P.edulis*. Os densitogramas da figura 41 demonstram mais claramente as diferenças entre os perfis cromatográficos destas duas espécies. O perfil cromatográfico de *P.caerulea* destaca-se pelas bandas azuis do Rf 0,1 e 0,4, que a diferenciam com facilidade das outras espécies. O perfil cromatográfico de *P.caerulea* apresentado na figura 36 e o densitograma da figura 42 demonstram esta diferenciação.

A figura 37 apresenta o perfil cromatográfico obtido por HPTLC, utilizando-se o sistema cromatográfico HPTLC2. Neste sistema, *P.alata* e *P.quadrangularis* diferenciam-se pela banda azul, em Rf 0,9 nesta última. *P.edulis* e *P.incamata* apresentaram como diferenciação a banda de Rf 0,5 azul em *P.edulis* e, verde em *P.incamata*. Em *P.incamata* destaca-se ainda uma banda verde em Rf 0,3, ausente na outra espécie. *P.caerulea* apresenta poucas bandas; uma banda verde em 0,3 e uma azul em Rf 0,5. Não foram observadas manchas equivalentes à vitexina, ácido cafeico e apigenina nos extratos.

Na figura 38, que representa o desenvolvimento com o sistema cromatográfico HPTLC3, destaca-se a banda amarela no Rf 0,3 de *P.incamata*, que a diferencia de *P.edulis*. Nesta região, *P.edulis* apresenta duas bandas tênues de cor azul. *P.quadrangularis* apresenta apenas a banda azul em Rf 0,9 como diferença de *P.alata*. *P.caerulea* exibe diversas bandas azuis, pouco definidas. Não foram detectadas bandas com deslocamento equivalente à apigenina, ácido clorogênico, ácido cafeico e

naringenina nos extratos. A figura 39 evidencia perfis por HPTLC dos cinco extratos. Neste sistema, com exceção dos extratos de *P.quadrangularis* e *P.alata* que mostram pequena diferença (Fig. 40), os demais perfis são distintos (Fig. 41 e 42).

6.3. Análise quantitativa da fração flavonoídica

As farmacopéias alemã (1994) e helvética (1971) adotam o método espectrofotométrico de quantificação de flavonóides empregando hidrólise ácida. Entretanto, Petry *et al.* (1998) e Pastene *et al.* (1997) relatam que este procedimento não é adequado para os flavonóides de *Passiflora*, visto que não garante a extração de flavonóides C-glicosídeos e ainda permite a isomerização de Wessely-Moser, podendo ocorrer mistura de 8-C-glicosídeos e de 6-C-glicosídeos. A farmacopéia francesa (1980) utiliza o método espectrofotométrico empregando complexação com cloreto de alumínio sem hidrólise ácida.

Petry *et al.* (1998) determinaram o teor de flavonóides em *P.alata*, empregando complexação com cloreto de alumínio, porém utilizando o comprimento de onda 397 nm que, segundo os autores, apresenta menor efeito interferente de substâncias lipofílicas. O padrão de apigenina foi escolhido devido ao máximo de absorção observado, após a adição de cloreto de alumínio, e pela semelhança do espectro com a de outros flavonóides presentes nestas plantas. Pelos motivos expostos seguiu-se este método para a quantificação dos flavonóides totais.

O segundo método empregado na quantificação seguiu o trabalho de Santos, Blatt (1998), expressando o teor em rutina. Pesquisadores brasileiros têm procurado ajustar as metodologias de quantificação de flavonóides de *Passiflora* utilizando padrões acessíveis (Santos, Blatt, 1998; Petry *et al.*, 1998).

Os dados fornecidos pelo método espectrofotométrico por complexação com cloreto de alumínio, tanto empregando os padrões de rotina como apigenina, apresentaram resultados próximos (Tabelas 2 e 3). *P.alata* apresentou o maior teor, *P.edulis* e *P.quadrangularis* assemelharam-se e *P.caerulea* teve o menor teor de flavonóides totais.

A terceira análise quantitativa de flavonóides de *Passiflora* empregou o método de cromatografia em camada delgada de alta eficiência (HPTLC). Esta técnica vem sendo utilizada na padronização de fitoterápicos (Pereira et al., 2004). O densitômetro quantifica a densidade ótica das bandas cromatográficas diretamente na placa, avaliando cada banda em relação aos pontos da curva-padrão. Tendo em vista que a rotina vem sendo utilizada como padrão preferencial em trabalhos recentes, foi empregada nesta análise. O método quantitativo por HPTLC apresentou teores mais elevados (Tabela 3) do que o método espectrofotométrico. No entanto, novamente, *P.alata* exibiu o teor mais alto, enquanto que *P.edulis* e *P.quadrangularis* mostraram teores próximos e *P.caerulea* apresentou o menor valor.

7. Conclusão

A observação macro e microscópica das cinco espécies de *Passiflora* apresenta elementos característicos do gênero, mas itens distintivos que orientam sua morfo-diagnose. Esses resultados associados aos perfis cromatográficos em camada delgada (CCD) e camada delgada de alta eficiência (HPTLC) evidenciam-se ferramentas úteis na diferenciação dessas espécies, oferecendo suporte na análise de drogas vegetais preparadas com folhas de *P.alata*, *P.caerulea*, *P.edulis*, *P.incarnata* e *P.quadrangularis* e *P.incarnata*.

8. Referências bibliográficas

- ABOURASHED, E.; VANDERPLANK, J.; KHAN, I.A. – High-speed extraction and HPLC fingerprint of medicinal plants. I – Application to *Passiflora* flavonoids. **Pharmac.Biol.**, Lisse, v. 40, n.2, p. 81-91, 2002.
- ABOURASHED, E.; VANDERPLANK, J.; KHAN, I.A. – High-speed extraction and HPLC fingerprint of medicinal plants. I – Application to Harman alkaloids of genus *Passiflora* – **Pharmac.Biol.** Lisse, v.41, n.2, p.100-106, 2003.
- AKHONDZADEH, S.; NAGHAVI, H.R.; VAZIRIAN, M.; SHAYEGANPOUR, A.; RASHIDI, H.; KHANI, M. – *Passionflower* in the treatment of generalized anxiety: a double-blind randomized controlled trial with oxazepam – **J.Clin.Pharm.Ther.**, Oxford, v. 26, n.5, p.363, 2001.
- ALMEIDA, E.R. – **Plantas Medicinais Brasileiras: conhecimentos populares e científicos**. São Paulo: Hemus Editora Ltda, 1993. p.341.
- ALVAREZ, R.; DEL ALAMO, R.; SALDIVIA, M.; DELL'ORSO, M.; RONDINA, R.V.D. – Ensayo de viabilidad de altas dosis de extractos de plantas medicinales argentinas em animales de laboratório – **Acta Farm.Bonaerense**, La Plata, v.9, n. 1, p.29-39, 1990.
- ADSERSEN, A.; BRIMER, L.; OLSEN, C.E.; JAROSZEWSKI, J.W. – Cyanogenesis of *Passiflora colinvauxii*, a species endemic to the Galapagos islands. – **Phytochemistry**, Amsterdam, v. 33, n.2, p. 365-367, 1993.
- ANDERSEN, L.; ADSERSEN, A.; JAROSZEWSKI, J.W. – Cyanogenesis of *Passiflora foetida* – **Phytochemistry**, Amsterdam, v.47, n.6, p. 1049-1050, 1998.
- ANDREATINI, R.; BOERNGEN-LACERDA R.; ZORZETTO FILHO D. - Tratamento farmacológico do transtorno de ansiedade generalizada: perspectivas futuras. **Rev.Bras.Psiquiatr.**, São Paulo, v. 23, n.4, p. 233-242, 2001.

As referências bibliográficas estão de acordo com a norma NBR 6023/2000 preconizada pela ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABTN), e as abreviaturas dos títulos dos periódicos seguem o CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE SOURCE INDEX (CASSI) 2004.

- AOYAGI, N.; KIMURA, R.; MURATA, T. – Studies on *P. incarnata* dry extract. I. Isolation of maltol and pharmacological action of maltol and ethyl maltol – **Chem.Pharm.Bull.**, Tokyo, v.22, n.5, p.1008-1013, 1974.
- BALONE, G.J. – Tratamento medicamentoso da ansiedade. Disponível em: www.psiqweb.med.br/trats/ansitrat.html. Acessado em 11.2003.
- BARROSO, G.M. – **Sistemática de Angiospermas do Brasil**. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos Editora S.A, 1978 . v.1, p. 194.
- BENINGER, C.W. ; ABOU-ZAID, M.M. - (1997) Flavonol glycosides from four pine species that inhibit early instar gypsy moth development. **Biochem. Syst. Ecol.**, v.25, p. 505-512, 1997.
- BERNACCI, L.C. - Passifloraceae. In: WANDERLEY, M.G.L.; SHEPHERD, G.J.; GIULIETTI, A.M.; MELHEM, T.S. **Flora fanerogâmica do estado de São Paulo**. São Paulo: FAPESP: RiMa, 2003, p. 247-274.
- BERNACCI, L.C.; MELETTI, L.M.M.; SOARES-SCOTT, M.D. – Maracujá-doce: o autor, a obra e a data de publicação de *Passiflora alata* (Passifloraceae) – **Rev.Bras.Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, n.2, 2003.
- BHATTACHARYYA, B.; JOHRI B.M. – **Flowering Plants: taxonomy and phylogeny**. New Dehli: Narosa Publishing House, 1998. p. 358-359.
- BISSET, E. (ed.) – **Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals – a handbook for practice on a scientific basis**. Stuttgart: Medpharm; Boca Raton: CRC Press, 1994. p. 363-365.
- BOMBARDELLI, E; BONATI, A.; GABETTA, B.; MARTINELLI, E.M.; MUSTICH, G.; DANIELI, B. – Passiflorine, a new glycoside from *Passiflora edulis* – **Phytochemistry**, Amsterdam, v. 14, p. 2661-2665, 1975.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância sanitária. Legislação. Portaria 2.814, de 29 de maio de 1998. Disponível em: www.anvisa.gov.br/legis. Acesso em 4/1/2005.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Legislação. Lei 6.437, de 20 de agosto de 1977. Disponível em www.anvisa.gov.br/legis. Acesso em 4/1/2005.

- BRASIL. Ministério da Integração Nacional. **Sistema de Informações Fruticultura Irrigada**. Disponível em: <http://www.irrigar.org.br/>. Acesso em: 29 ago. 2004.
- BRAUSSER, T.; ANGENOT L. – Contribution a l'étude pharmacognostique de la *passiflore*. **J.Pharm.Belg.**, Antwerp, v.39, n.1, p.15-22, 1984.
- BRITISH HERBAL PHARMACOPEIA** – Exeter: British Herbal Medicine Society, 1983, p. 154.
- BRUNETON, J. **Pharmacognosy, phytochemistry, medicinal plants**. 2. ed. Paris: Intercept, 1999. p. 333.
- BURRAS, J.K. (ed.) – **Manual of climbers and wall plants**. Portland: Royal Horticultural Society, 1994. p. 175-183.
- CALDERONE, V.; CHERICONI, S.; MARTINELLI, C.; TESTAI, L.; NARDI, A.; MORELLI, I.; BRESCHI, M.C.; MARTINOTTI, E. - Vasorelaxing effects of flavonoids: investigation on the possible involvement of potassium channels – **Naunyn Schmied.Arch.Pharmacol.** , v. 370, n. 4, p. 290-298, 2004.
- CÁCERES, A. - **Plantas de uso medicinal em Guatemala**. Guatemala: Editorial Universitária, 1999, p. 184.
- CARLINI, E.A. – Plants and the central nervous system – **Pharmacol.Biochem.Behavior**, Phoenix, v. 75, n. 3, p. 501-512, 2003.
- CHASSAGNE, D.; CROUZET, J.; BAYONOVE, C.L.; BRILLOUET, J.M.; BAUMES, R.L. – 6-O- α -1-arabinopyranosyl- β -D-glucopyranosides as aroma precursors from passion fruit – **Phytochemistry**, Amsterdam, v. 41, n.6, p. 1497-1500, 1996.
- CHASSAGNE, D.; CROUZET, J. – A cyanogenic glycoside from *Passiflora edulis* fruits. **Phytochemistry**, Amsterdam , v. 49, n.3, p.757-759, 1998.
- COSTA, A.F. **Farmacognosia**. 2 ed. Lisboa: Calouste Gulbenkian, 1978. v. 2, p. 633-635

- CRONQUIST, A. – **An integrated system of classification of flowering plants.**
New York: Columbia University Press, 1981. p. 412-415.
- DEGINANI, N.B. – Las especies argentines del género *Passiflora* (Passifloraceae)
– *Darwiniana*, San Isidro, v.39, n.1-2, p. 43-129, 2001.
- DEUTSCHEN ARZNEIBUCH** – 10^a ed. Frankfurt: Deutscher Apotheker Verlag,
1994,
- DHAWAN, K.; KUMAR, S.; SHARMA, A. – Anti-anxiety studies on extracts of
Passiflora incarnata Linneaus – **J.Ethnopharmacol.**, Amsterdam, v.28, p.165-
170, 2001a.
- DHAWAN, K.; KUMAR, S.; SHARMA, A. – Comparative biological activity study on
P.incarnata and *P.edulis* – **Fitoterapia**, Amsterdam, v.72, p. 698-702, 2001b.
- DHAWAN, K.; KUMAR, S. – Anxiolytic activity of aerial and underground parts of
P.incarnata – **Fitoterapia**, Amsterdam, v.72, p. 922-926, 2001c.
- DHAWAN, K.; KUMAR, S.; SHARMA, A. – Suppression of alcohol-cessation-
oriented hyper-anxiety by the benzoflavone moiety of *Passiflora incarnata*
Linneaus in mice – **J.Ethnopharmacol.**, Amsterdam, v.81, p. 239-244, 2002 a.
- DHAWAN, K.; KUMAR, S.; SHARMA, A. – Reversal of morphine tolerance and
dependence by *Passiflora incarnata* – a traditional medicine to combate
morphine action – **Pharmac. Biol.**, Lisse, v. 40, n.8, p. 576-580, 2002 b.
- DHAWAN, K.; KUMAR, S.; SHARMA, A. – Evaluation of central nervous system
effects of *Passiflora incarnata* in experimental animals – **Pharmac.Biol.**, Lisse,
v. 41, n.2, p. 87-91, 2003 a.
- DHAWAN, K.; KUMAR, S.; SHARMA, A.– Antiathsmatic activity of the methanol
extract of leaves of *Passiflora incarnata*. **Phytother.Res.**, Bognor Regis, v. 17,
p. 821-822, 2003 b.
- DHAWAN, K.; DHAWAN, S.; SHARMA, A. – *Passiflora*: a review update.
J.Ethnopharmacol., Amsterdam, v. 94, Issue I, p. 1-23, 2004.
- DIBBERN, M.; KELMANSKY, D.; ROMERO, E. Minimal sample for foliar
morphology. **Phytomorphology**, New Delhi, v.37, n.1, p.87-93, 1987.

- DOYAMA, J.T.; RODRIGUES, H.G.; NOVELLI, E.L.B.; CEREDA, E.; VILEGAS, W. – Chemical investigation and effects of the tea of *Passiflora alata* on biochemical parameters in rats – **J.Ethnopharmacol.**, Amsterdam, v. 96, n. 3, p. 371-374, 2005.
- DUKE, J.A. – **CRC Handbook of Medicinal Herbs**. Boca Raton: CRC Press, 1987. p. 347-348.
- ECHEVERRI, F.; ARANGO, V. QUIÑONES, W.; TORRES, F.; ESCOBAR, G.; ROSERO, Y.; ARCHBOLD, R. – Passifloricins, polyketides α -pyrones from *Passiflora foetida* resin. – **Phytochemistry**, Amsterdam, v. 56, p. 881-885, 2001.
- ECHEVERRI, F.; SUAREZ, G.E. – Flavonoids from *Passiflora foetida* and deterrant activity – **Rev.Latinoamericana Química**, Mexico, v. 20, p. 6-7, 1989.
- EGG, A.B. – **Diccionario Enciclopedico de plantas utiles del Peru**. Cusco: Centro de Estudios Regionales Andinos Bartolomé de Las Casas, 1999, p. 368-374.
- ENDRESS P.K. – **Diversity and evolutionary biology of tropical flowers**. Cambridge: Cambridge University Press, 1994, p.249-255.
- ENGEL, K.-H.; TRESSL,R. –Identification of new sulfur-containing volatiles in yellow passion fruits (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) - **J. Agric. Food Chem.**, v.39, n.12, p.2249-2252, 1991.
- ESCOBAR, L.K.; LIU, Y.; MABRY, T.J. - C-glycosylflavonoids from *P.coactilis* – **Phytochemistry**, Amsterdam, v. 22, n. 3, p. 796-797, 1983.
- EUROPEAN PHARMACOPOEIA** – 3 Ed.Strasbourg: Council of Europe, 1996.
- FARMACOPÉIA** Brasileira. 1.ed. *Imprenta* São Paulo: Companhia Editora Nacional, 1929. p. 574-575.
- FARMACOPÉIA** Brasileira. 2.ed. São Paulo: Ed. Ind. Gráfica Siqueira, 1959. p.561.

- FARMACOPÉIA** Brasileira. 4.ed. São Paulo: Ed. Ind. Gráfica Siqueira, fascículo 4, parte II, 1988.
- FISHER, F.C.; FUNG, S.Y.; LANKHORST, P.P. – Cyanogenesis in Passifloraceae – **J. Med. Plant Res.**, Stuttgart, v. 45, p. 42-45, 1982.
- FISCHER, A.; PURCELL, P.; LeCOUTEUR, D.G. – Toxicity of *Passiflora incarnata* L. – **J.Toxicol.Clin.Toxicol.**, New York, v. 38, p. 63-66, 2000.
- FREITAS, P.C.D. **Estudo farmacognóstico comparativo de espécies brasileiras do gênero *Passiflora* L.** São Paulo, 1985.133 p., Dissertação de Mestrado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo.
- GALENBERG, A.J.; BASSUK, E.L. SCHOONOVER, S.C. **The practitioner's guide to psychoactive drugs.** 4.ed. New York: Plenum Medical Book, 1997. p.178-202.
- GATTUSO, S.; DI SAPIO, O.; CARGO, J.M.C.; GATTUSO M. – *Passiflora caerulea* and its adulterator *Cucurbitella asperata*. **Fitoterapia**, Amsterdam, v.67, n.6, p. 535-544, 1996.
- GAVASHELI, N.M.; MONIAVA, I.I.; ERISTAVI, L.I. – Flavonoids from *Passiflora incarnata*. **Khim.Prior.Soedin.**, Tashkent, v.10, p. 95-96, 1974.
- GEIGER, H.; MARKHAN, K.R. – The C-glycosylflavone pattern of *Passiflora incarnata*. **Z.Naturforsch. C: J.Biosci.**, Tuebingen, v. 41, p. 949-950, 1986.
- GIAVINA-BIANCHI, P.F.; CASTRO, F.F.; MACHADO, M.L.; DUARTE, A.J. – Occupational respiratory allergic disease induced by *Passiflora alata* and *Rhamnus purshiana* – **Ann.Allergy.Asthma.Immunol.**, Arlington Heights, v. 79, p. 449-454, 1997.
- GLOTZBACH, B.; RIMPLER, H. – Die Flavonoide von *Passiflora incarnata* L., *Passiflora quadrangularis* L. und *Passiflora pulchella* H.B.K. - **Planta Med.**, Stuttgart, v. 16, n. 1, p. 1-7, 1968.
- GRANDI, T.S.M.; TRINDADE, J.A.; PINTO, M.J.F. - Plantas medicinais de Minas Gerais, Brasil, Brasil. **Acta Bot. Brasílica**, v. 3, n.2, suppl., p. 185-224, 1989.

- GUPTA, M.P. **270 Plantas medicinales iberoamericanas**. Bogotá: Ed. Presencia Ltda., p.422-426, 1995.
- HARBORNE, J.B. – **The Flavonoids: advances in research since 1980**. London: Chapman&Hall, 1988. p.499.
- HUTCHINSON J. – **The families of flowering plants: arranjed according to a new system based on their probable genera plantarum**". Oxford: At the Clarenton Press, 3 ed., 1973, p. 295-297.
- JAROSZEWSKI, J.W.; FOG, E. – Sulphate esters of cyclopentenoid cyanohydrin glycosides – **Phytochemistry**, Amsterdam, v.28, n.5, p.1527-1528, 1989.
- JAROSZEWSKI, J.W.; OLAFSDOTTIR, E.S.; WELLENDORPH, P.; CHRISTENSENA, J.; FRANZYJK, H.; SOMANADHAN, B.; BUDNIK, B.A.; JORGENSEN, L.B.; CLAUSEN, V.- Cyanohydrin glycosides of *Passiflora*: distribution pattern, a saturated cyclopentane derivative from *P.guatemalensis*, and formation of pseudocyanogenic α -hydroxyamides as isolation artifacts- **Phytochemistry**, Amsterdam, v.59, p. 501-511, 2002.
- JOHANSEN, D.A. **Plant microtechnique**. New York: McGraw-Hill, 1940. 523p.
- JOLY, A.B. – **Botânica: introdução à taxonomia vegetal**. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 1985. p. 480.
- JUDD, W.S.; CAMPBELL, C.S.; KELLOG, E.A.; STEVENS, P.F. – **Plant Systematics: a phylogenetic approach**. Sunderland: Sinauer Associates, 1999. p.278-280.
- KAPADIA, G.J.; AZUINE, M.A; TOKUDA, H.; HANG, E.; MUKAINAKA, T.; NISHINO, H.; SRIDHAR, R. - Inhibitory effect of herbal remedies on 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate-promoted Epstein-Barr virus early antigen activation – **Pharmacol.Res.**, Milan, v. 45, n.3, p. 213-219, 2002.
- KILLIP, E.P. – **American Species of Passifloraceae**. Chicago: Field Museum of Natural History, Botanical Series, 1938. v.19, 613 p.
- KRÜSSMANN, G. – **Manual of cultivated broadleaved trees & shrubs**. Portland: Timber Press, 1985, v.2, p. 357-359.

- LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. – **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2002. p. 371-373.
- LUTOMSKI, J.; WRONCISKY, T. - Pharmacodinamic properties of *P.incarната* preparations. The effect of alkaloid and flavonoid components on pharmacodinamic properties of the raw materials. **Biul.Inst.Roslin Lecznichych**, v. 6, n.2, p. 176-184, 1960.
- LUTOMSKI, J.; MALEK B.; STACHOWIAK Z. – Pharmakochemische Untersuchungen von Drogen der Gattung *Passiflora*. 1. Mitteilung: Eine neue Methode der chromatographischen Trennung und fluorometrisch-planimetrischen Bestimmung von Alkaloiden und Flavonoiden in Harmandrogen. **Planta Med.**, Stuttgart, v. 26, n.4, p.311-317, 1974.
- LUTOMSKI, J.; MALEK, B.; RYBACKA, L. – Pharmacochemical investigation of the raw materials from *Passiflora* genus – **Planta Med.**, Stuttgart, v.27, n.2, p.112-121, 1975.
- LUTOMSKI, J.; MALEK, B. – Phytochemical studies of drugs from *Passiflora edulis* Sims forma flavicarpa – **Herba Hungarica**, Budapest, v.15, n.2, p. 7-11, 1976.
- MALUF, E.; BARROS, M.T.; FROCHTENGARTEN, M.L.; BENTI, R.; LEITE, J.R. – Assessment of the hypnotic/sedative effects and toxicity of *P.edulis* aqueous extract in rodents and humans – **Phytother.Res.**, Bognor Regis, v.5, p. 262-266, 1991.
- MANICA, I. – **Maracujá - Fruticultura tropical**. São Paulo: Ed. Agronômica Ceres, 1981. p. 18-19-24.
- MARECK, U.; HERRMANN, K.; GALENSA, R.; WRAY, V. – The 6-C-chinovoside and 6-C-fucoside of luteolin from *P.edulis* – **Phytochemistry**, Amsterdam, v.30, n.10, p.3486-3487, 1991.
- MCCORMICK, S.; MABRY, T.J. – The flavonoids of *Passiflora pavonis* – **J.Nat.Prod.**, Columbus, v.44, p.623, 1981.

- McCORMICK, S.; MABRY, T.J. – The flavonoids of *Passiflora sexflora* – **J.Nat.Prod.**, Columbus, v.45, p. 782, 1982.
- MEDINA, J.H.; PEÑA, C.; DE STEIN, M.L.; WOLFMAN, C.; PALADÍN, A.C. – Benzodiazepine-like molecules, as well as other ligands for the brain benzodiazepine receptors, are relatively common constituents of plants – **Biochem.Biophys.Res.Comm.**, Orlando, v. 165, n.2, p. 547-553, 1989.
- MEDINA, J.H.; PALADINI, A.C.; WOLFMAN, C.; DE STEIN, M.L.; CALVO, D.; DIAZ, L.E.; PEÑA, C. – Chrysin (5,7- di-OH-flavone), a naturally occurring ligand for benzodiazepine receptors, with anticonvulsant properties – **Biochem. Pharmacol.**, Amsterdam, v.40, n.10, p. 2227-2231, 1990.
- MENGHINI, A.; MANCINI, L.A. – TLC determination of flavonoid accumulation in clonal populations of *P.incarinata* L.– **Pharmacol.Res.Comm.**, New York, v. 20 (suppl.5), p.113-116, 1988.
- METCALFE, C.R.; CHALK, L. – **Anatomy of the dicotyledons: leaves, stem, and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses**. Oxford: At the Clarendon Press, 1950. v.1, p. 674-680.
- MISSOURI BOTANICAL GARDEN – Disponível em: www.mobotmobot.org/cgi-bin/search. Acesso em 03.2005.
- MORAES, M.L.L.; VILLEGAS, J.H.Y.; LANÇAS, F.M. – Supercritical fluid extraction of glycosylated flavonoids from *Passiflora* leaves- **Phytochem.Anal.**, Chichester, v.8, n.5, p. 257-260, 1997.
- MORTON, J. – **Fruits of warm climates** – Disponível em: www.hort.purdue.edu, acessado em 11/11/2001.
- MÜLLER, S.D.; VASCONCELOS, S.B.; COELHO, M.; BIAVATTI, M.W. – LC and UV determination of flavonoids from *Passiflora alata* medicinal extracts and leaves – **J.Pharmac.Biochem.Anal.**, in press, 2004.
- MURCIA, M.A.; JIMENEZ, A.M.; MARTINEZ, T.M. – Evaluation of the antioxidant properties of Mediterranean and tropical fruits compared with common food additives.- **J.Food Prot.**, Ames, v. 64, p. 2037-2046, 2001.
- NÄF, F.; DECORZANT, R.; WILLHALM, B.; VELLUZ, A.; WINTER, M. – Structure and synthesis of two novel ionones identified in the purple passion fruit (*Passiflora edulis* Sims) - **Tetrahedron Lett.**, Oxford, v. 16, p. 1413-1416, 1977.

- NICOLLS, J.M.; BIRNER, J.; FORSELL, P. – Passicol, an antibacterial and antifungal agent produced by *Passiflora* plant species: qualitative and quantitative range of activity – **Antimicrob.Agents Chemother.** Washington, v. 3, p. 110-117, 1973.
- OGA, S.; FREITAS, P.C.D.; SILVA, A.C.G.; HANADA, S. – Pharmacological trials of crude extract of *P.alata* – **Planta Med.**, Stuttgart, v.50, n.4, p. 303-306, 1984.
- OKAMOTO, Y.; YOSHIZAWA, T. – Angiotensin-converting enzyme inhibitors and aldose reductase inhibitors containing *Passiflora quadrangularis* extracts or vitexin – Jpn.Kokai Tokkyo Koha. apud: DHAWAN, K.; KUMAR, S.; SHARMA, A. – *Passiflora*: a review update. **J.Ethnopharmacol.**, Amsterdam, v. 94, n. 1, p. 1-23, 2004.
- OLAFSDOTTIR, E.S.; ANDERSEN, J.V.; JAROSZEWSKI, J. – Cyanohydrin glycosides of Passifloraceae – **Phytochemistry**, Amsterdam, v.28, n.1, p. 127-132, 1989.
- OLAFSDOTTIR, E.S.; JAROSZEWSKI, J.; SEIGLER, O.S. – Cyanohydrin glycosides with unusual sugar residues: revised structure of *Passitrifasciatin* – **Phytochemistry**, Amsterdam, v. 30, n.3, p. 867- 869, 1991.
- OLIVEIRA F.; AKISUE, G. – **Fundamentos de farmacobotânica** – São Paulo: Atheneu, 2ª ed., 2000, 115 p.
- OMS: Disponível em: www.psiqueweb.med.br/acad/oms_1.html. Acessado em 11 de agosto de 2004.
- OSORIO, C.; DUQUE, C.; KOAMI, T.; FUJIMOTO, Y. –Stereochemistry of (3E)-3,7- dimethyl-3-octene-1,2,6,7-tetraol isolated from *Passiflora quadrangularis* – **Tetrahedron:Asymmetry**, Oxford, v.10, p. 4313-4319, 1999.
- OSORIO, C.; DUQUE, C.; FUJIMOTO, Y. – Oxygenated monoterpenoids from badea (*Passiflora quadrangularis*) fruit pulp – **Phytochemistry**, Amsterdam, v. 53, p. 97-101, 2000.
- ORSINI, F.; PELIZZONI, F.; VEROTTA, L. – Quadranguloside, a cycloartane triterpene glycoside from *Passiflora quadrangularis* – **Phytochemistry**, Amsterdam, v. 25, n.1, p.191-193, 1986.
- PARIS S.F.; PETRY R.D.; REGINATTO F.H.; GOSMANN G.; QUEVEDO J.; SALGUEIRO J.B.; KAPCZINSKI F.; ORTEGA G.G.; SCHENKEL E.P.-

- Pharmacochemical study of aqueous extracts of *Passiflora alata* Dryander and *Passiflora edulis* Sims – **ActaFarm.Bonaerense**, La Plata, v.21, n.1, p.5-8, 2002.
- PARRA A.V.; RUIZ A.R.; GONZÁLEZ A.V.; BADELL J.B.; LÓPEZ A.G.; FERRER J.P.; MICHELENA M.D. – *Passiflora incarnata* L. y *Senna alata* (L.) Roxo: Estudio toxicogenético que emplea 2 sistemas de ensayos a corto plazo – **Rev.Cubana Plant Med.**, Habana, v.7, n.1, p.27-31, 2002.
- PASTENE, E.; MONTES, M.; VEGA, M. – New HPTLC method for quantitative analysis of flavonoids of *Passiflora caerulea* L. – **J.PlanarChromatog. Mod TLC**, Budakalasz, v.10, n.4, p. 362-367, 1997.
- PEREIRA, C.A.M.; VILEGAS, J.H.Y. – Chemical and pharmacological constituents of *P.alata* and *P.edulis* and *P.incarnata* – **Rev.Bras.Plant.Med.**, Botucatu, v.3, n.1, p. 1-12, 2000.
- PEREIRA, C.A.M.; YARIWAKE, H.H.; LANÇAS, F.M.; WAUTERS, J-N.; TITS, M.; ANGENOT, L. A HPTLC densitometric determination of flavonoids from *Passiflora alata*, *P. edulis*, *P. incarnata* and *P.caerulea* and comparison with HPLC method. **Phytochem. Anal.**, v.15, p.241-248, 2004.
- PERRY, N.B.; ALBERTSON, G.D.; BLUNT, J.W.; COLE, A.L.; MUNRO, M.R.; WALKER, J.R. – 4-Hydroxy-2-cyclopentenone: an anti-Pseudomonas and cytotoxic component from *Passiflora tetrandra*. **Plant.Med.**, Stuttgart, v. 57, p. 129-131, 1991.
- PETRY, R.D.; DE SOUZA, K.C.B.; BASSANI, V.L.; PETROVICK, P.R.; GONZÁLEZ, O.G. – Doseamento do teor de flavonóides totais em extratos hidroalcoólicos de *Passiflora alata* Dryander (maracujá) – **Rev.Bras.Farm.**, Rio de Janeiro, v.79, n.1/2, p. 7-10, 1998.
- PETRY R.D.; REGINATTO F.; PARIS D.F.; GOSMANN G.; SALGUEIRO J.B.; QUEVEDO J.; KAPCZINSKI F.; ORTEGA G.G.; SCHENKEL E.P. – Comparative pharmacological study of hydroethanol extracts of *Passiflora alata* and *Passiflora edulis* leaves – **Phytother. Res.**, London, v.15, p.162-164, 2001.
- PHARMACOPOEA HELVETICA**, 6ª ed., Berne: Office Central Fédéral des Imprimeres et du Matériel, 1971, p.693.

- PHARMACOPÉE FRANÇAISE**, 8^a ed., Paris: Comissão Permanente de la Pharmacopée par l'ordre National des Pharmaciens, 1980, p. 772.
- PIETTA, P.G.; MAURI, P.L.; MANERA, E.; CEVA, P.L.; RAVA, A. – An improved HPLC determination of flavonoids in medicinal plant extracts—**Chromatographia**, Wiesbaden, v.27, n. 9/10, p. 509-512, 1989.
- POETHKE, V.W.; SCHWARZ, C.; GERLACH, H. – Substances of *Passiflora incarnata* L. (Constituents of *Passiflora bryonioides*). Alkaloids. **Planta Med.**, Stuttgart v. 18, p. 303-314, 1970 a.
- POETHKE, V.W.; SCHWARZ, C.; GERLACH, H. – Constituents of *Passiflora bryonioides* (passion flower). II. Flavone derivatives. **Planta Med.**, Stuttgart, v. 19, p. 177-178, 1970 b.
- PRABHAKAR, M.C.; BANO, H.; KUMAR, I.; SHAMSI, M.A.; KHAN, M.S.Y. – Pharmacological investigations on vitexin. **Planta Med.**, Stuttgart, v. 43, p. 396-403, 1981.
- QIMIN, L.; HEUVEL, V.D.; DE LORENZO, O.; CORTHOUT, J.; PIETERS, L.A.C.; VLIETINCK, A.J.; CLAEYS, M. – Mass spectral characterization of C-glycosidic flavonoids isolated from a medicine plant (*Passiflora incarnata*) – **J.Chromatog.**, Amsterdam, v.562, n.1/2, p. 435-436, 1991.
- QUERCIA, V.; TURCHETTO, L.; PIERINI, N.; CUOZZO, V.; PERCACCIO, G. – Identification and determination of vitexin and isovitexin in *Passiflora incarnata* extracts – **J.Chromatog.**, Amsterdam, v.161, p. 396-406, 1978.
- RAFFAELLI, A.; MONETI, G.; MERCATI, V.; TOJA, E. – Mass spectrometric characterization of flavonoids in extracts from *Passiflora incarnata* – **J. Chromatog.A**, Amsterdam, v. 777, n. 1; p. 223-231; 1997.
- RAHMAN, K.; KRENN, L.; KOPP, B.; SCHUBERT-ZSILAVECZ, M.; MAYER, K.K.; KUBELKA, W. – Isoscoparin-2"-O-glucoside from *Passiflora incarnata* – **Phytochemistry**, Amsterdam, v.45, n. 5, p.1093, 1997.
- RAINTREE NUTRITION. Disponível em www.rain-tree.com/maracuja.htm. Acessado em 11/11/2001.
- RAVEN, P.H.; EVERT, R.F.; EICHHORN, S.E. **Biologia vegetal**. 6 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. 906 p.

- REHWALD, A.; STICHER, O.; MEIER, B. – Trace analysis of Harman alkaloids in *Passiflora incarnata* by reversed-phase high performance liquid chromatography- **Phytochem.Anal.**, Bognor Regis, v.6, n.2, p.96-100, 1995.
- RENDLE, A.B. – **The classification of flowering plants**. Cambridge: At the University Press, Dicotyledons, v.2, 1952. p.211-213.
- RIZZINI C.T. – Sistematização terminológica da folha – **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, anos XXIII/XXIV, n. 35/36, p. 193-211, 1960/1961.
- RUGGIERO, C. – **Cultura do maracujazeiro**. Ribeirão Preto: Legis Summa, 1987. 250 p.
- SACCO, J.C. – **Passifloráceas** in Flora Ilustrada Catarinense – Planejada e editada por Reitz R.; Itajaí: Herbário Barbosa Rodriguez, 1980. 132p. (Flora ilustrada Catarinense, 84).
- SAENZ, J.A.; NASSAR, M. – Toxic effect of the fruit of *Passiflora adenopa* D.C. on humans: phytochemical determination. **Rev.Biol.Trop.**, Costa Rica, v. 20, p. 137-140, 1972.
- SANTOS, M.D.; BLATT, C.T.T. – Teor de flavonóides e fenóis totais em folhas de *Pyrostegia venusta* Miers de mata e de cerrado – **Rev.Bras.Bot.**, São Paulo, v.21, n. 2, 1998.
- SASS, J.E. **Botanical microtechnique**. Ames:Iowa State College Press, 1951. 391p.
- SEIGLER, D.S.; SPENCER, K.C.; STATLER, W.S.; CONN, E.E.; DUNN, J.E. – Tetraphyllin B and epitetraphyllin B sulphates: novel cyanogenic glucosides from *Passiflora caerulea* and *P.alato-caerulea* – **Phytochemistry**, Amsterdam, v.21, n.9, p. 2277-2285, 1982.
- SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. – **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre, Florianópolis: Ed.Universidade (UFRGS), 1999, p. 643.
- SLAYTOR, M.; MCFARLANE, I.J. – The biosynthesis and metabolism of Harman in *Passiflora edulis*. I – The biosynthesis of harman. **Phytochemistry**, Amsterdam, v.7, p. 605-611, 1968.

- SOULIMANI, R.; YOUNOS, C.; JARMOUNI, S.; BOUSTA, D.; MISSLIN, R.; MORTEN, F. – Behavioural effects of *P. incarnata* L. and its indole alkaloid and flavonoid derivatives and maltol in the mouse – **J.Ethnopharmacol.**, Amsterdam, v. 57, p.11-20, 1997.
- SOUSA, M.P.; MATOS, M.E.O.; MACHADO, M.I.L.; CRAVEIRO, A.A. – **Constituintes químicos de plantas medicinais** . Fortaleza: EUFC, 1991. p.147.
- SOUSA, J.S.I.; MELETTI, L.M.M. – **Maracujá: espécies, variedades, cultivo**. Piracicaba: FEALQ, 1997. 179 p. (Biblioteca de Ciências Agrárias Luiz de Queiroz, 3)
- SPENCER, K.C.; SEIGLER, D.S. – Gynocardin from *Passiflora* – **Planta Med.**, Stuttgart, v.51, p. 356-357, 1984.
- SPENCER, K.C.; SEIGLER, D.S. – Passibiflorin, epipassibiflorin and passitrifasciatin: cyclopentenoid cyanogenic glycosides from *Passiflora* – **Phytochemistry**, Amsterdam, v.24, n.5, p. 981-986, 1985.
- SPENCER, K.C.; SEIGLER, D.S.; NAHRSTEDT, A. – Linamarin, lotaustralin, linustatin and neolinustatin from *Passiflora* species – **Phytochemistry**, Amsterdam, v.25, n.3, p. 645-647, 1986.
- SPERONI, E.; MINGHETTI, A. - Neuropharmacological activity of extracts from *Passiflora incarnata* – **Planta Med.**, Stuttgart, v.17, fev., p.488-491, 1988.
- TAKHTAJAN, A. - **Diversity and classification of flowering plants**. New York: Columbia University Press, 1997, p.205-207.
- TRONCHET, J. – Flavonic make-up of the aerial organs (mature leaves in the vegetative and floral states, tendrils, perianth) of *Passiflora caerulea* L. In: **C.R.CONG.NATL.SOC.**, Savantes, Sect Sci, 1978, 103 (1), p. 225-233. *apud* Chem.Abstr., Columbus, v. 93, 1980, 146314x.
- ULUBELEN, A.; AYYILDIZ, H.; MABRY, T.J. – C-Glycosylflavonoids and other compounds from *Passiflora cyanea*, *P.oerstedii* and *P.menispermifolia* – **J.Nat. Prod.**, Columbus, v. 44, p. 368-369, 1981.

- ULUBELEN, A.; OKSUZ, S.; MABRY, T.J.; DELLAMONICA, G.; CHOPIN, J. C-glycosylflavonoids from *Passiflora pittieri*, *P.alata*, *P.ambigua* and *Adenia mannii* – **J.Nat.Prod.**, Columbus, v. 45, n.6, p. 783, 1982 a.
- ULUBELEN, A.; TOPCU, G.; MABRY, T.J.;DELLAMONICA, G.; CHOPIN, J. – C-Glycosylflavonoids from *Passiflora foetida* var. *hispida* and *P.foetida* var. *hibiscifolia*. **J.Nat.Prod.**, Columbus, v. 45, p. 103, 1982 b.
- VALE, N.B.; LEITE, J.R. – Efeitos psicofarmacológicos de preparações de *Passiflora edulis* (maracujá) – **Cien.Cult.**, São Paulo, v. 35, n.1, p. 11-24, 1983.
- WAGNER, M.; BLADT, S. – **Plant Drug Analysis – a thin layer chromatography atlas** – Berlin: Springer, 1996. 2. ed., p.384.
- WHEELER, H.C., BENNIGTON, C.C. Effects of light availability on herbivory and defense chemistry in *Passiflora incarnata* - **Florida-Scientist**, v. 64, n.4, p. 237-245, 2001.
- WOLFMAN, C.; VIOLA, H.; PALADINI, A.; DAJAS, F.; MEDINA, J.H. – Possible anxiolytic effects of chrysin, a central benzodiazepine receptor ligand isolated from *Passiflora caerulea*. **Pharmacol.Biochem.Behav.**, Phoenix, v. 47, p. 1-4, 1994.
- ZACCHINO, G.; RODRIGUEZ, P.; PENNACHIONI, S.; FLORES, S.; FURLAN, R. DUFFARD, E.A.M.;DUFFARD, R. - Preliminary toxicological study in rats of *Passiflora caerulea* extracts – **Fitoterapia**, Amsterdam, v. LXVIII, n. 3, 1997.
- ZANOLI, P.; AVALONE, R.; BARALDI, M.;– Behavioral characterization of the flavonoids apigenin and chrysin – **Fitoterapia**, Amsterdam, v.71, S117-S123, 2000.