



UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ
PRO-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO E INOVAÇÃO TECNOLÓGICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS NATURAIS DA AMAZÔNIA

Dipteryx odorata (Aubl.) Willd. E *Dipteryx magnifica* (Ducke)
Ducke (FABACEAE): CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA
QUANTO À PRESENÇA DE CUMARINA E ATIVIDADES
ANTIFÚNGICA E ANTIBACTERIANA

BRUNA CRISTINE MARTINS DE SOUSA

Santarém, Pará
Janeiro, 2017

BRUNA CRISTINE MARTINS DE SOUSA

Dipteryx odorata (Aubl.) Willd. E *Dipteryx magnifica* (Ducke) Ducke **(FABACEAE): CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA QUANTO À PRESENÇA DE CUMARINA E ATIVIDADES ANTIFÚNGICA E ANTIBACTERIANA**

ORIENTADOR: PROF. DR. LAURO EUCLIDES SOARES BARATA
CO-ORIENTADORA: PROFA. DRA. DENISE CASTRO LUSTOSA

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Oeste do Pará - UFOPA, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais, junto ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Recursos Naturais da Amazônia.

Área de concentração: Bioprospecção e Manejo de Recursos Naturais da Amazônia.

**Santarém, Pará
Janeiro, 2017**

Dipteryx odorata (Aubl.) Willd. E *Dipteryx magnifica* (Ducke) Ducke (FABACEAE): CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA QUANTO À PRESENÇA DE CUMARINA E ATIVIDADES ANTIFÚNGICA E ANTIBACTERIANA

Esta dissertação foi julgada adequada para obtenção do Título de Mestre em Ciências Ambientais, Área de concentração: Bioprospecção e Manejo de Recursos Naturais da Amazônia. Aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-graduação *Stricto Sensu* em Recursos Naturais da Amazônia, nível de mestrado, da Universidade Federal do Oeste do Pará – UFOPA, em 25 de Janeiro de 2017.

Prof. Dr. Troy Patrick Beldini (UFOPA)
Coordenador do PPGRNA

Apresentada à Comissão Examinadora, integrada pelos Professores:

Profa. Dra. Kelly Christina Ferreira Castro (UFOPA)
Examinador 1

Profa. Dra. Elaine Cristina Pacheco de Oliveira (UFOPA)
Examinador 2

Prof. Dr. Thiago Almeida Vieira (UFOPA)
Examinador 3

Prof. Dr. Lauro Euclides Soares Barata (UFOPA)
Orientador

Profa. Dra. Denise Castro Lustosa (UFOPA)
Co-orientadora

Santarém, Janeiro, 2017.

FICHA CATALOGRÁFICA

ERRATA

DEDICATÓRIA

*À Deus pelo grande milagre da vida,
aos meus pais pelo amor
incondicional e, aos meus familiares
e amigos pela força e confiança.*

AGRADECIMENTOS

À Deus pelo dom da vida e por me conceder a oportunidade de concluir este mestrado.

À minha família, agradeço imensamente por serem verdadeiros anjos-da-guarda. Vocês estão enraizados em meu coração e fazem parte do que eu sou hoje.

À minha mãe, Nizomar Martins Sousa, a mão que me guia, meu exemplo de força, fé, coragem e de dedicação. És parte fundamental na minha vida, amo-te demais.

Ao meu pai, Raimundo Augusto Costa de Sousa, por me proteger e dar o suporte que sempre preciso para continuar a caminhada.

Ao meu irmão, Augusto Bruno Martins de Sousa, pelo companheirismo que temos desde pequenos, pois nossa missão é a de nunca nos desamparmos.

Às minhas avós, Maria da Luz Costa de Sousa e Beata Caldas Martins (In Memoriam), que sempre me encheram de proteção divina, estiveram presentes e atentas ao que me faltava e com certeza seus desejos se unem no querer todas as felicidades do mundo para mim.

Aos meus avôs, Raimundo Costa (in Memoriam) e Francisco Caldas (in Memoriam), que estiveram presentes em minha vida até os dois anos de idade, mas que com absoluta certeza me guiam, me protegem e me acompanham até hoje, fazendo parte de mim, pois deixaram valiosos ensinamentos que foram transmitidos pelos meus pais, seus filhos.

Aos meus tios e primos que sempre me incentivaram com palavras de força para que eu perseverasse.

Ao meu orientador, Dr. Lauro Euclides Soares Barata, que esteve presente nos momentos importantes do desenvolvimento deste trabalho, dando todo o suporte necessário para sua conclusão. Sou grata pela atenção e por tudo que me foi ofertado de coração.

À minha co-orientadora, Dra. Denise Castro Lustosa, que sempre confiou no meu potencial, no meu trabalho, na minha capacidade de encontrar caminhos e solucionar problemas. Depois de cinco anos e três meses me conhece tão bem e sabe que sou grata por todos os momentos únicos e pela amizade.

Sou muito grata a vocês pela confiança, pela receptividade, pelo zelo, pelo incentivo, pela disponibilidade em me ajudar e principalmente pela amizade, tenham certeza de que vocês fazem parte da minha vida: Emanuel Santana de Oliveira (Seu Bolão), José Nildo Moraes da Rocha (Seu Juca), Maria Ilma Ferreira (Dona Ilma) e Rosa Maria Neves Lima Oliveira (Dona Rosa).

Para a construção da dissertação, agradeço em especial à professora Dra. Thaís Almeida e ao professor Dr. Domingo Cardoso pela deposição no herbário e identificação das espécies de estudo.

Ao professor Dr. Troy Beldini que auxiliou no processo de coleta do solo para identificação das condições da área de estudo.

Ao CPQBA, UNICAMP, em nome do professor Dr. Adilson Sartoratto, da Divisão de Química Orgânica e Farmacêutica, que realizou as análises cromatográficas. A Divisão de Microbiologia, em nome da professora Dra. Marta Duarte e da técnica Camila Delarmelina, pelo desenvolvimento do teste CIM, bem como a professora Dra. Vera Lúcia Garcia Rehder pela metodologia de dissolução do extrato que utilizo nos ensaios antifúngicos.

À grandiosa equipe do Laboratório de Pesquisa e Desenvolvimento de Produtos Naturais (P&DBio), da UFOPA, em nome da: professora Dra. Kelly Christina Ferreira Castro, Dra. Inês Machado, Dr. Michelly Arevalo, Me. Aline München, Katiane Araújo, Santana Castro, Maria Yasmin, Caroline Macedo e Maria Raira, pelo carinho, apoio e confiança.

À brilhante equipe do Laboratório de Fitopatologia, da UFOPA, em nome de: Rayssa Xavier, Bruna Vieira, Jéssica Carine, Geomarcos Paulino, Anselmo Araújo, Bruno Rodrigo e Leandro Shibutani, que me auxiliaram e foram fundamentais.

Aos meus amigos de curso, e a todos os amigos que estão comigo quando possível e necessário, em nome de: Ana Carla, Ivanny Fonseca, Elen Kercy, Leuzimar Santos, Brenna Carvalho, Arlison Castro, Everton Cavalcante, Amasa Carvalho, Andreia Neres, Monique Suzy, Odiná Larize, Erika Guimarães e Jhéssica Caetano.

E a todos os professores que tive oportunidade de conhecer e multiplicar o conhecimento. Sou muitíssimo grata pelos ensinamentos repassados com competência e dedicação.

EPÍGRAFE

*“Quão indecifrável é a natureza...
Sublime perfeição, grandeza divina, esplendor de emoção;
Magnífica complexidade, sopro de amor e gotas da mais pura fragilidade”.*

A autora

SOUSA, Bruna Cristine Martins de. *Dipteryx odorata* (Aubl.) Willd. e *Dipteryx magnifica* (Ducke) Ducke (**FABACEAE**): **caracterização fitoquímica quanto à presença de cumarina e atividades antifúngica e antibacteriana**. 2017. 109 p. Dissertação de Mestrado em Ciências Ambientais. Área de concentração: Bioprospecção e Manejo de Recursos Naturais da Amazônia - Programa de Pós-graduação em Recursos Naturais da Amazônia. Universidade Federal do Oeste do Pará – UFOPA, Santarém, 2017.

RESUMO

Dipteryx odorata (Aubl.) Willd. e *Dipteryx magnifica* (Ducke) Ducke pertencem a família Fabaceae e são árvores neotropicais originárias de países da América Central e América do Sul. Os frutos de *D. odorata* destacam-se quanto as potencialidades comerciais e fitoterápicas. As sementes há mais de um século são comercializadas por extrativistas da Amazônia e, historicamente, foram bastante procuradas para a extração de cumarina (principal composto ativo) para flavorizar tabacos de cachimbos. *Dipteryx magnifica*, carece de estudos que detalhem sua descrição botânica específica, composição química e atividades biológicas, pois estas informações não foram encontradas na literatura consultada. Neste sentido, este trabalho teve por objetivo avaliar o perfil químico dos extratos etanólicos das folhas, galhos e frutos (cascas, endocarpos e sementes) das espécies quanto à presença de cumarina simples e, sua atividade antimicrobiana sobre fungos patogênicos à hortaliças e bactérias patogênicas à humanos. As extrações foram realizadas no Laboratório de Pesquisa & Desenvolvimento de Produtos Naturais Bioativos (P&DBIO), da UFOPA, utilizando aparelho de Soxhlet e tendo como solvente etanol P.A. a 96 %. O período total das extrações foi de 8 h para cada procedimento e os extratos serão fracionados de acordo com as atividades biológicas apresentadas. As análises químicas foram realizadas na Divisão de Química Orgânica e Farmacêutica, no Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas (CPQBA), da UNICAMP, por Cromatografia em Camada Delgada (CCD) e por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massa (CG-EM). Os ensaios antifúngicos foram realizados no Laboratório de Fitopatologia, da UFOPA, no qual os extratos foram testados em cinco concentrações: 10%, 20%, 30%, 40% e 50%. Os controles consistiram no crescimento dos fungos apenas em meio de cultura batata-dextrose-ágar (controle negativo) e, em meio de cultura BDA com adição de cumarina (controle positivo). Como desafiantes teve-se: *Cercospora longissima* isolado de alface; três isolados de *Fusarium* spp. e *Sclerotium rolfsii* isolado do pimentão. Os experimentos foram em DIC, em esquema fatorial, com quatro repetições. Os resultados foram comparados pelo teste Skott-Knott a 5% de probabilidade. O ensaio microbiológico de CIM (Concentração Inibitória Mínima) foi realizado na Divisão de Microbiologia, CPQBA, da UNICAMP, segundo as recomendações do protocolo M7-A6 para bactérias (NCCLS, 2003). Os microrganismos utilizados no ensaio foram: *Burkholderia cepacia* (ATCC 25416); *Escherichia coli* (ATCC 11775); *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 13388) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538). Os extratos foram pesados e em seguida, cada

amostra foi diluída em caldo Mueller-Hinton, para uma concentração de 8 mg.mL⁻¹, contendo 10 % de DMSO (dimetilsulfóxido). As concentrações avaliadas foram: 2000; 1000; 500; 250; 125; 62,5; 31,25; 15,62; 7,81; 3,91 e 1,95 µg.mL⁻¹ e como controle, teve-se o antibiótico cloranfenicol - solução 0,5 mg.mL⁻¹. As bactérias contidas nas microplacas foram incubadas em estufa a 36±1°C por 24 h e após esse período foram depositados em todos os poços 50 µL de solução 0,1 % de cloreto de 2,3,5-trifenil-tetrazólio (CTT) e re-incubadas por um período de 3 h. Os maiores rendimentos foram obtidos nas cascas e nas sementes dos frutos das espécies. A 1,2-benzopirona foi isolada e identificada nos extratos das sementes de *D. odorata*, e nas cascas, nos endocarpos, e nas sementes de *D. magnifica*. E no que tange a ação antifúngica, constatou-se que a cumarina isolada apresentou melhor ação frente aos isolados obtidos de *Fusarium* spp., e que os extratos dos endocarpos de *D. odorata* e sementes de *D. magnifica*, proporcionaram as menores médias de crescimento micelial para os fitopatógenos testados. Quanto a atividade antibacteriana, os extratos de *D. odorata* e *D. magnifica* obtidos das folhas, galhos e sementes não apresentaram efeito bacteriostático ou bactericida para os patógenos avaliados. No entanto, os extratos das cascas e endocarpos das espécies apresentaram efeito bacteriostático para *E. coli* na maior concentração testada. *Staphylococcus aureus* também foi sensível à ação do extrato das cascas de *D. magnifica*, na concentração de 2,0 mg.mL⁻¹; sensibilidade confirmada após realização do teste de CBM (Concentração Bactericida Mínima). As espécies em estudo mostraram-se promissoras quanto à utilização dos seus frutos, tanto para obtenção de cumarina, como para o controle alternativo dos fitopatógenos específicos e ação antibacteriana. Os extratos das cascas, endocarpos e sementes de *D. odorata* e *D. magnifica* serão fracionados, analisados quimicamente por CCD e CG-EM, e ensaiados frente aos fungos e bactérias sensibilizadas.

Palavras-chaves: *Dipteryx odorata*, *Dipteryx magnifica*, extratos vegetais, atividade antimicrobiana.

SOUSA, Bruna Cristine Martins de. *Dipteryx odorata* (Aubl.) Willd. e *Dipteryx magnifica* (Ducke) Ducke (**FABACEAE**): **caracterização fitoquímica quanto à presença de cumarina e atividades antifúngica e antibacteriana**. 2017. 109 p. Dissertação de Mestrado em Ciências Ambientais. Área de concentração: Bioprospecção e Manejo de Recursos Naturais da Amazônia - Programa de Pós-graduação em Recursos Naturais da Amazônia. Universidade Federal do Oeste do Pará – UFOPA, Santarém, 2017.

ABSTRACT

Dipteryx odorata (Aubl.) Willd. and *Dipteryx magnifica* (Ducke) Ducke belong to the Fabaceae family and are Neotropical trees originating in Central and South American countries. The fruits of *D. odorata* stand out in terms of commercial and phytotherapeutic potentials. The seeds for more than a century are commercialized by extractivists from the Amazon and, historically, they have been highly sought after for the extraction of coumarin (main active compound) to flavor tobacco pipes. *Dipteryx magnifica*, it lacks studies that detail its specific botanical description, chemical composition and biological activities, because this information was not found in the consulted literature. In this sense, the objective of this work was to evaluate the chemical profile of the ethanolic extracts of leaves, branches and fruits (bark, endocarp and seeds) of the species in relation to the presence of coumarin simple and its antimicrobial activity on fungi pathogenic to vegetables and bacteria pathogenic to humans. The extractions were carried out at the Laboratório de Pesquisa & Desenvolvimento de Produtos Naturais Bioativos (P&DBIO), UFOPA, using Soxhlet apparatus and having 96% P.A. ethanol. The total extraction period was 8 h for each procedure and the extracts were fractionated according to the biological activities presented. The chemical analyzes were carried out in the Divisão de Química Orgânica e Farmacêutica, no Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas (CPQBA), UNICAMP, by Thin Layer Chromatography (TLC) and by Gas Chromatography coupled to Mass Spectrometry (GC-MS). The antifungal tests were carried out at the Laboratório de Fitopatologia, UFOPA, in which the extracts were tested in five concentrations: 10%, 20%, 30%, 40% and 50%. Controls consisted of fungus growth only in potato-dextrose-agar medium (negative control) and in PDA culture medium with coumarin addition (positive control). As challengers we had: *Cercospora longissima* isolated from lettuce; three isolates of *Fusarium* spp. and *Sclerotium rolfsii* isolated from chili. The experiments were in DIC, in a factorial scheme, with four replications. The results were compared by the Skott-Knott test at 5% probability. Microbiological testing of MIC (Minimum Inhibitory Concentration) was performed at the Divisão de Microbiologia, CPQBA, UNICAMP, according to the recommendations of the M7-A6 protocol for bacteria (NCCLS, 2003). The microorganisms used in the assay were: *Burkholderia cepacia* (ATCC 25416); *Escherichia coli* (ATCC 11775); *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 13388) and *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538). The extracts were weighed and then each sample was diluted in Mueller-Hinton broth to a concentration of 8 mg.mL⁻¹, containing 10% DMSO (dimethylsulfoxide). The concentrations evaluated were: 2000; 1000; 500; 250; 125; 62.5; 31.25; 15.62; 7.81; 3.91 and 1.95 µg.mL⁻¹ and as a control the antibiotic chloramphenicol - 0.5 mg.mL⁻¹ solution was used. The bacteria contained in

the microplates were incubated in a greenhouse at $36\pm 1^{\circ}\text{C}$ for 24 h and after that time 50 μL of 0.1% solution of 2,3,5-triphenyl-tetrazolium chloride (TTC) And re-incubated for a period of 3 h. The highest yields were obtained on the bark and seeds of the fruits of the species. 1,2-Benzopyrone was isolated and identified in the extracts of the seeds of *D. odorata*, and in the shells, in the endocarps, and in the seeds of *D. magnifica*. As for the antifungal action, it was verified that the coumarin isolated presented better action against the isolates obtained from *Fusarium* spp., and that the extracts of the endocarps of *D. odorata* and seeds of *D. magnifica*, provided the lowest growth averages for the phytopathogens tested. As for the antibacterial activity, extracts of *D. odorata* and *D. magnifica* obtained from the leaves, branches and seeds did not present bacteriostatic or bactericidal effect for the evaluated pathogens. However, the extracts of the shells and endocarps of the species presented bacteriostatic effect for *E. coli* in the highest concentration tested. *Staphylococcus aureus* was also sensitive to the action of *D. magnifica* bark extract at the concentration of 2.0 mg.mL⁻¹; Confirmed sensitivity after the CBM test (Minimum Bactericidal Concentration). The species under study were promising for the use of their fruits, both for obtaining coumarin, and for alternative control of specific phytopathogens and antibacterial action. The extracts of the shells, endocarps and seeds of *D. odorata* and *D. magnifica* will be fractionated, chemically analyzed by TLC and GC-MS, and tested against fungi and sensitized bacteria.

Keywords: *Dipteryx odorata*, *Dipteryx magnifica*, plant extracts, antimicrobial activity.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	xiii
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	xiv
1. INTRODUÇÃO GERAL E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	1
1.1 <i>Dipteryx odorata</i> (Aubl.) Willd.....	3
1.2 <i>Dipteryx magnifica</i> (Ducke) Ducke.....	6
1.3 Importância Econômica.....	7
1.4 Cumarinas.....	10
1.5 Rota Biosintética.....	11
1.6 Cumarinas e Atividades Biológicas.....	12
2. OBJETIVOS.....	16
2.1 Objetivo Geral.....	16
2.2 Objetivos Específicos.....	16
CAPÍTULO I.....	17
CAPÍTULO II.....	43
3. CONCLUSÕES.....	59
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	61
ANEXOS.....	66
APÊNDICES.....	81

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** **A.** Cumaruzeiro (*Dipteryx odorata*). **B.** Tronco cilíndrico de aspecto fibroso atenuado **C.** Galhos apresentando exsudado avermelhado. **D.** Ramo com folíolos levemente alternos e presença de gema axilar alongada na base. **E.** Inflorescência do tipo panícula. **FOTO:** Bruna Sousa..... 4
- Figura 2:** **A.** Frutos verdes de cumaru (*Dipteryx odorata*). **B.** Representação das regiões do fruto de cumaru (epicarpo e mesocarpo; endocarpo lenhoso e semente). **FOTO:** Bruna Sousa..... 5
- Figura 3:** **A.** Cumaru rosa (*Dipteryx magnifica*). **B.** Tronco cilíndrico. **C.** Galhos com ausência de exsudado avermelhado. **D.** Folhas compostas, folíolos ovais e alternos. **E.** Inflorescência do tipo panícula terminal apresentando flores na coloração rosada. **FOTO:** Bruna Sousa..... 6
- Figura 4:** **A.** Frutos verdes de cumaru rosa (*Dipteryx magnifica*). **B.** Representação das regiões do fruto de cumaru rosa (epicarpo e mesocarpo; endocarpo lenhoso e semente). **FOTO:** Bruna Sousa..... 7
- Figura 5:** **A.** Dicumarol. **B.** Varfarina. **FONTE:** http://www.akademiliv.se/wp-content/uploads/2015/01/kemiska_struktur_6001.jpg..... 10
- Figura 6:** **A.** alfa-pirona. **B.** benzo- α -pirona. **C.** benzo- γ -pirona. **FONTE:** MIRANDA (2001)..... 10
- Figura 7:** **A.** Umbeliferona. **B.** Esculetina. **C.** Escopoletina. **FONTE:** MIRANDA (2001)..... 10
- Figura 8:** Rota Biosintética da Cumarina. **FONTE:** MIRANDA (2001)..... 11
- Figura 9:** Formas *trans* e *cis* do ácido cinâmico. **FONTE:** MIRANDA (2001)..... 12
- Figura 10:** Estruturas *trans* e *cis* glicosiladas. **FONTE:** MIRANDA (2001)..... 12
- Figura 11:** **A.** Ostol. **B.** Aurapteno. **FONTE:** FREITAS et al. (2003)..... 13
- Figura 12:** Oxypeucedanin. **FONTE:** KANG et al. (2009)..... 13
- Figura 13:** **A.** Esculetina. **B.** Quercetina. **FONTE:** SILVEIRA (2009)..... 14
- Figura 14:** **A.** Esculetina. **B.** Escoparona. **C.** 4-metilumbeliferona. **FONTE:** www.sigmaaldrich.com..... 14
- Figura 15:** **A.** 6,7-metilenodioxycumarina. **B.** 4-metilcumarina. **FONTE:** VIANNA (2011)..... 15

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

APG - *Angiosperm Phylogeny Group*

Assistat - Software de Assistência Estatística

BDA - Batata-Dextrose-Ágar

C - Celsius

CBM - Concentração Bactericida Mínima

CCD - Cromatografia de Camada Delgada

CG-EM - Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massa

CIM - Concentração Inibitória Mínima

cm - centímetro

C.min⁻¹ - Celsius por minuto

CPQBA - Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas

CTT - cloreto de 2,3,5-trifenil-tetrazólio

DAP - Diâmetro à Altura do Peito

DIC - Delineamento Inteiramente Casualizado

DMSO - Dimetilsulfóxido

DO - Densidade óptica

DPPH - 2,2-difenil-1-picrilhidrazil.

g.cm⁻³ - gramas por centímetros

HIV - *Human Immunodeficiency Virus*

LSF - Laboratório de Sementes Florestais

m - metro

mg.mL⁻¹ - miligramas por mililitros

µg.mL⁻¹ - microgramas por mililitros

mL - mililitros

mL.min⁻¹ - mililitros por minuto

µL - microlitros

µm - micrômetros

NCCLS - *National Committee for Clinical Laboratory Standards*

NIST - *National Institute of Standards and Technology*

nm - nanômetros

PVP - Polivinilpirrolidona

p/v - Percentual de massa por volume

P&DBIO - Laboratório de Pesquisa & Desenvolvimento de Produtos Naturais Bioativos

t - tonelada

u.m.a - Unidade de massa atômica

UFC.mL⁻¹ - Unidade formadora de colônia por mililitro

UFOPA - Universidade Federal do Oeste do Pará

UV - ultravioleta

1. INTRODUÇÃO GERAL E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O gênero *Dipteryx* de acordo com APG - *Angiosperm Phylogeny Group* III (2009), encontra-se no clado das Rosideas, subclado Fabídeas, ordem Fabales, família Fabaceae (Leguminosae) e subfamília Faboideae (Papilionoideae) (SOUZA & LORENZI, 2012). É constituído pelas espécies *Dipteryx alata* Vogel, *Dipteryx lacunifera* Ducke, *Dipteryx magnifica* (Ducke) Ducke, *Dipteryx micrantha* Harms, *Dipteryx odorata* (Aubl.) Willd., *Dipteryx oleifera* Benth., *Dipteryx polyphylla* Huber, *Dipteryx punctata* (S. F. Blake) Amshoff e *Dipteryx rosea* Benth. (THE PLANT LIST, 2010).

A espécie *Dipteryx odorata*, conhecida vulgarmente no Brasil como cumaru, cumaru-ferro, cumaru-verdadeiro, cumaru-roxo, cumbari e serrapia (CARVALHO, 2009), tem como sinônimos botânicos, *Coumarouna odorata* Aubl., *Coumarouna tetraphylla* (Benth.) Aubl. e *Dipteryx tetraphylla* Benth. (THE PLANT LIST, 2010). Ocorre na Bolívia, no Peru, na Colômbia, na Venezuela, na Guiana, na Guiana Francesa e em Honduras (CARVALHO, 2009). E no Brasil, é originária das regiões setentrionais do Amazonas e se encontra em quase todas as matas de terra firme do Pará (PESCE, 2009); também ocorre nos estados do Acre, Rondônia, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Goiás e Maranhão (CARVALHO, 2009).

Os frutos de *D. odorata* destacam-se quanto as potencialidades comerciais e fitoterápicas. As sementes há mais de um século são comercializadas por extrativistas da Amazônia (SILVA et al., 2010) e, historicamente, foram bastante procuradas para a extração de cumarina (principal composto ativo) para flavorizar tabacos na indústria de fumo e nas fábricas de perfumes (PESCE, 2009; ZOGHBI et al., 2000).

Na medicina popular, o extrato aquoso da casca do cumaru é utilizado como antiespasmódico e geralmente tônico (CARVALHO, 2009; PESCE, 2009; RIOS et al., 2011). E partir do cozimento das sementes, obtém-se um fortificante que age como eficiente moderador dos batimentos cardíacos e respiratórios (CARVALHO, 2009; LE COINTE, 1947; LOUREIRO et al., 1979), apresentando ainda efeito anestésico e, propriedades diaforéticas (estimula a transpiração) e emenagogas (restabelece o fluxo menstrual), quando em doses elevadas (CARVALHO, 2009; PASTORE & BORGES, 1998; PRANCE & SILVA, 1975). No entanto, o óleo pode ser fatal em largas doses,

pois a cumarina é uma toxina tanto dérmica quanto oral, sendo extremamente irritante e podendo, após uso prolongado, causar erupções (ARAÚJO et al., 2004).

Segundo o Decreto nº 55.871, de 26 de Março de 1965, referente às normas reguladoras do emprego de aditivos para alimentos, permanece proibida, aos flavorizantes, a adição de cumarina e outras substâncias prejudiciais à saúde (BRASIL, 1965). E segundo Resolução nº 104, de 14 de maio de 1999, a cumarina é permitida no produto alimentício quando no estado natural, logo após a adição de aromas preparados a partir de matérias-primas naturais, na concentração máxima de 2 mg para alimentos e 2 mg para bebidas (BRASIL, 1999).

Dipteryx magnifica, carece de estudos que detalhem sua descrição botânica específica, composição química e atividades biológicas, pois estas informações não estão documentadas. No entanto, de acordo com base de dados botânicos The Plant List (2010), esta espécie é nativa do Brasil (Amazonas e Pará) e Venezuela, tem como sinônimos botânicos, *Coumarouna magnifica* Ducke e *Taralea casiquiarensis* Pittier, sendo conhecida popularmente como cumaru rosa.

Nesse sentido, o presente estudo teve por objetivo avaliar o perfil químico de extratos etanólicos de *D. odorata* e *D. magnifica* e sua atividade antimicrobiana sobre bactérias patogênicas à humanos e fungos patogênicos à hortaliças.

1.1 *Dipteryx odorata* (Aubl.) Willd.

O nome genérico *Dipteryx* deve-se ao fato da flor apresentar duas asas; o epíteto específico *odorata* é devido ao cheiro forte de cumarina e, Aubl. e Willd. referem-se aos identificadores da espécie Jean Baptiste Fusée Aublet (1720-1778) e Carl Ludwig von Willdenow (1765-1812), respectivamente (CARVALHO, 2009).

Dipteryx odorata, o “cumaru”, possui diversas designações como: cumaru-amarelo, cumaru-roxo, cumaru-do-Amazonas, kumbaru, paru, muirapaye (Brasil); cumara, cuamara (Guiana); sarrapia (Colômbia); guayae, faux, fevetonka, faux gaiac (Guiana Francesa); angustura, serrapia, yape (Venezuela); ebo (Costa Rica, Panamá e Honduras) (SAMPAIO, 1993).

É uma árvore frondosa que pode ultrapassar 30 m de altura em mata primária, embora em formações secundárias ou cultivadas possa atingir menor tamanho (LORENZI, 1998; LOUREIRO et al., 1979; REVILLA, 2000; SAMPAIO, 1993) (Figura 1A). As árvores maiores atingem dimensões próximas a 40 m de altura e 150 cm de DAP (diâmetro à altura do peito, medido a 1,30 m do solo) na idade adulta (CARVALHO, 2009). É tida como uma excelente árvore para reflorestamento devido à rápida germinação (emergência inicia de 3 a 8 semanas após a semeadura), frutificação precoce (aos 4 anos de idade) e, ser propícia para o plantio tanto em pleno sol, quanto em sombra parcial (CARVALHO, 2009; SAMPAIO, 1993).

Possui uma madeira pesada, de tronco cilíndrico (Figura 1B) com presença de sapopemas de até 1 m de altura (SAMPAIO, 1993), geralmente apresenta alborno na coloração cinza-amarelado e cerne castanho-avermelhado ou amarelo-rosado, anéis de crescimento distintos, grã revessa, textura média a fina, brilho ausente e cheiro imperceptível (CARVALHO, 2009). Os galhos apresentam crescimento ascendente, com exsudado avermelhado (Figura 1C).

As folhas são compostas, alternas; os folíolos são levemente alternos, elípticos-oblongos, frequentemente assimétricos, apresentando nervura primária lateralizada, ápice acuminado, base arredondada, margem inteira. O raque é alado, com ápice projetado além dos folíolos e verifica-se a presença de gema axilar alongada na base (Figura 1D); o conjunto pode atingir 20 cm de comprimento por 8 cm de largura. A floração anual ocorre durante o final da estação seca (setembro-outubro em Manaus,

outubro-novembro em Belém), com variações que dependem da chuva (ALENCAR et al., 1979). As inflorescências do cumaru são do tipo panículas terminais e recobrem toda a copa (Figura 1E). As flores são hermafroditas, zigomorfas e exalam uma fragrância forte, agradável e adocicada (CARVALHO, 2009; DUCKE, 1948; LOUREIRO et al., 1979; PESCE, 2009; PRANCE & SILVA, 1975); apresentam corola vexilar na qual a pétala maior, denominada estandarte, possui coloração esbranquiçada e recobre as outras pétalas rosadas-esbranquiçadas.



Figura 1 – A. Cumaruzeiro (*Dipteryx odorata*). B. Tronco cilíndrico de aspecto fibroso atenuado. C. Galhos apresentando exsudado avermelhado. D. Ramo com folíolos levemente alternos e presença de gema axilar alongada na base. E. Inflorescência do tipo panícula. FOTO: Bruna Sousa.

Nove meses após o período de floração, ocorre a época de amadurecimento e secagem (frutificação), de maio-julho em Manaus e de junho-agosto em Belém (ALENCAR et al., 1979). Os frutos do tipo drupa, oblongo-ovais, 5-7 cm de comprimento (LE COINTE, 1947), apresentam coloração verde-amarelada quando maduros (PRANCE & SILVA, 1975) (Figura 2A); o mesocarpo carnudo é muito

procurado pelos morcegos, que também podem ser considerados agentes de dispersão para esta espécie; o endocarpo lenhoso apresenta duas valvas soldadas intimamente e, somente quando o mesocarpo é decomposto, as duas valvas podem vir a liberar a única semente (PESCE, 2009), não comestível (amarga) (LE COINTE, 1947). Esta semente com 2,5-3 cm de comprimento é coberta por uma película lisa e dura, de cor roxo-escura, oleosa e aromática (devido à presença de cumarina) (Figura 2B) (DUCKE, 1948; LOUREIRO et al., 1979; PRANCE & SILVA, 1975).

Os frutos são coletados ao redor da árvore e separados manualmente o mesocarpo, o endocarpo e a semente (DUCKE, 1948; LOUREIRO et al., 1979; SUDAM, 1979). Trinta a quarenta por cento do peso seco das sementes é composto de um óleo amarelo-claro, perfumado, que se oxida rapidamente em contato com o ar (ARAÚJO et al., 2004; CARVALHO, 2009; LE COINTE, 1947).



Figura 2 – A. Frutos verdes de cumaru (*Dipteryx odorata*). **B.** Representação das regiões do fruto de cumaru (epicarpo e mesocarpo; endocarpo lenhoso e semente). **FOTO:** Bruna Sousa.

1.2 *Dipteryx magnifica* (Ducke) Ducke

Conhecida popularmente como cumaru rosa, *Dipteryx magnifica* em formações secundárias ou cultivadas pode atingir em média 6 m de altura (Figura 3A). Possui tronco cilíndrico (Figura 3B), com galhos apresentando pecíolos persistentes e ausência de exsudato avermelhado (Figura 3C). As folhas são compostas; os folíolos são ovais, alternos (Figura 3D), com nervura primária lateralizada e secundária broquidódroma, ápice acuminado, base arredondada, margem inteira, coriácea. O raque é alado e coriáceo, com presença de gema axilar. As inflorescências do tipo panículas terminais apresentam flores odoríferas na coloração rosada (Figura 3E). Os frutos são do tipo drupa, oblongo-ovais (Figura 4) (HERBÁRIO: HSTM 000557, 2015).

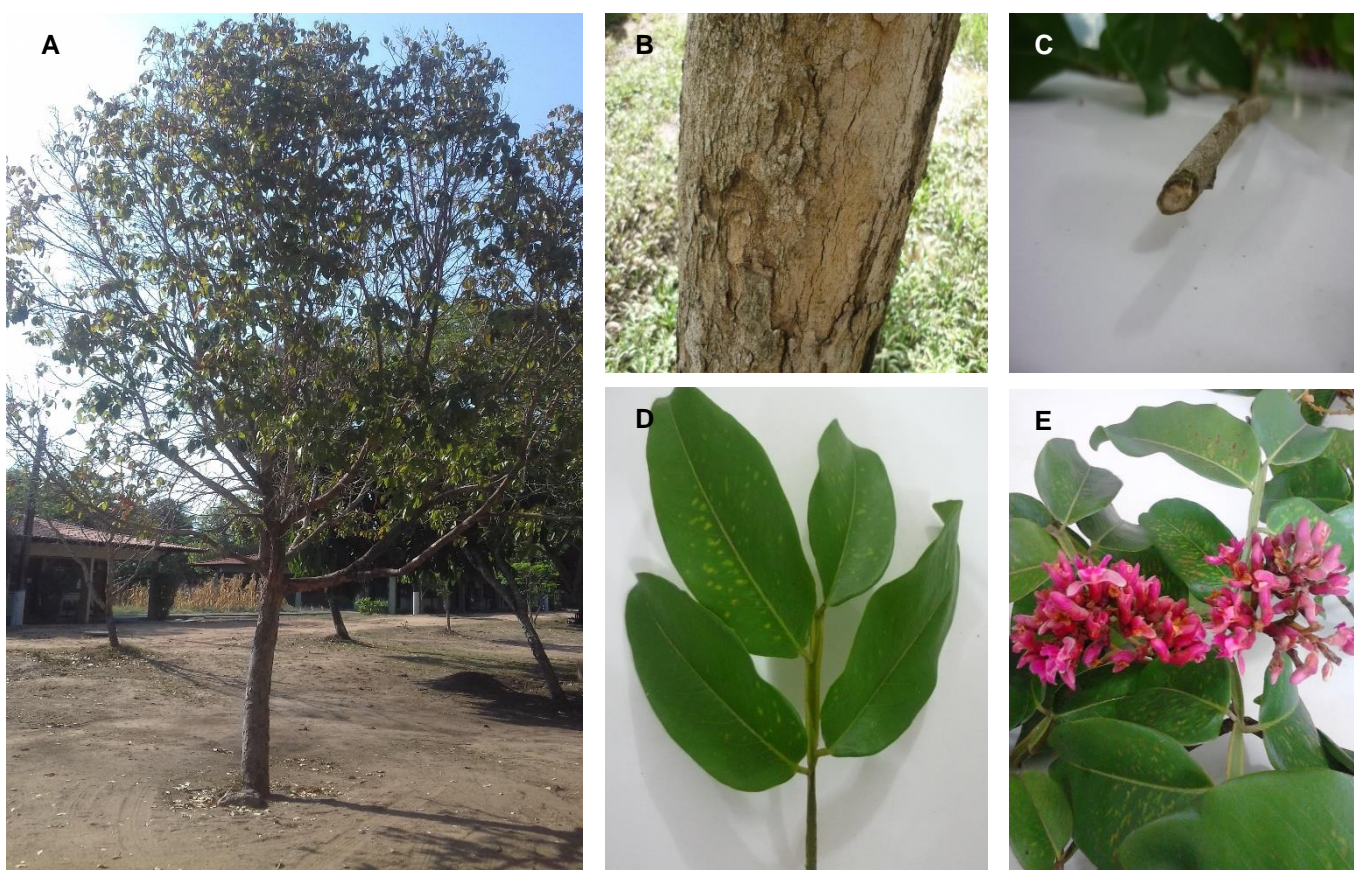


Figura 3 – A. Cumaru rosa (*Dipteryx magnifica*). **B.** Tronco cilíndrico. **C.** Galhos com ausência de exsudato avermelhado. **D.** Folhas compostas, folíolos ovais e alternos. **E.** Inflorescência do tipo panícula terminal apresentando flores na coloração rosada. **FOTO:** Bruna Sousa.



Figura 4 – A. Frutos verdes de cumaru rosa (*Dipteryx magnifica*). **B.** Representação das regiões do fruto de cumaru rosa (epicarpo e mesocarpo; endocarpo lenhoso e semente).
FOTO: Bruna Sousa.

1.3 Importância Econômica

Dipteryx odorata possui madeira densa a muito densa ($0,95 \text{ g.cm}^{-3}$ a $1,19 \text{ g.cm}^{-3}$), pesada, de boa qualidade e imputrescível, pois é resistente a fungos, insetos e brocas marinhas (CARVALHO, 2009). É amplamente utilizada na indústria de construção naval (LE COINTE, 1947; PESCE, 2009), para a fabricação de buchas de eixo para hélice, bem como para a fabricação de canoas (PRANCE & SILVA, 1975); em construções ferroviárias é utilizada na fabricação de vagões de passageiros (SAMPAIO, 2000); na indústria de implementos agrícolas é matéria-prima para a produção de carroças e carrocerias (ZOGHBI et al., 2000), eixos de moinhos e mancais (LE COINTE, 1947); em construção civil é utilizável na fabricação de vigas, caibros, estacas, esteios, moirões, tábuas para assoalhos (LORENZI, 1998), dormentes - pela durabilidade que varia de 10 a 22 anos em solos bem drenados (CARVALHO, 2009; SAMPAIO, 2000) e por não rachar quando exposta ao sol (LORENZI & MATOS, 2002; SUDAM, 1979) e, pode ser usada ainda em artigos laminados de marcenaria, na fabricação de torneados, cabos de ferramentas, molduras, móveis, tonéis e outros (CARVALHO, 2009; SAMPAIO, 2000; VARELA & FAÇANHA, 1987).

Os frutos de *D. odorata* também destacam-se quanto as potencialidades comerciais. Conhecida na Europa por *fava tonka*, as sementes há mais um século são

comercializadas por extrativistas da Amazônia, a principal região produtora (PESCE, 2009; SILVA et al., 2010).

Para prepará-las convenientemente e se obter uma boa cotação de preços, é aconselhável que elas sequem à sombra e sejam cristalizadas. São classificadas conforme a proveniência e tamanho em: de 1ª qualidade, favas da Venezuela, conhecidas por *angustura*, as maiores de todas e melhor pagas; de 2ª qualidade, as de origem das Guianas, chamadas de *surinam*, porém menores que as de *angustura*; e as de 3ª qualidade, as favas do Pará, preparadas com menor cuidado e, às vezes, misturadas as amarelas com as pretas, mal cristalizadas (PESCE, 2009).

Na dinâmica de mercado das sementes de cumaru ocorreram declínios e ápices. Os principais declínios foram em 1940, devido ao desenvolvimento da cumarina sintética e, em 1985, devido em parte à manufatura da semente, no qual foram desenvolvidos métodos para a exportação da própria cumarina (ARAÚJO et al., 2004; PESCE, 2009).

Segundo IBGE (2006), em 2005 foram comercializadas 110 toneladas de sementes de cumaru, gerando uma renda de R\$ 440 mil. Dados indicaram que no Pará foram comercializados 95 toneladas de sementes, correspondendo a uma renda de R\$ 744 mil (IBGE, 2010). O coletor das sementes vende ao preço de R\$ 3,03 a R\$ 6,74 o quilo, o comerciante repassa ao preço de R\$ 13,48 a R\$ 16,84 o quilo ao exportador e, as sementes cristalizadas chegam a custar cerca de R\$ 33,69 o quilo (PASTORE & BORGES, 1998). O preço do quilo da amêndoa continua variando de R\$ 3,00 para os extrativistas até R\$ 18,00 para as empresas atacadistas. E os principais países importadores das sementes de cumaru são o Japão, a França, a Alemanha e a China (IBGE, 2010; SILVA et al., 2010).

Em 2012, o Brasil produziu 93 toneladas (t) de sementes de cumaru, totalizando R\$ 852.000,00. Os estados responsáveis por essa produção foram o Pará, com 96,8% (90 t), e o Amazonas com 3 t (IBGE, 2012). Essa produção no Pará estava distribuída pelos municípios de Alenquer (maior produção), Altamira, Curuá, Óbidos, Oriximiná e Santarém (IBGE, 2014). Alenquer e Óbidos destacam-se por comercializar grandes volumes de sementes para mercado interno e externo (GONÇALVES, 2001).

Possuindo um perfume peculiar que lembra o da baunilha e o *foin coupé*, historicamente, a semente de *D. odorata* foi bastante procurada para a extração de cumarina (principal composto ativo) para flavorizar tabacos de cachimbos (OHANA, 1998; PESCE, 2009). A cumarina também é largamente utilizada na indústria de

perfumaria e cosméticos como fixadora de essências (CARVALHO, 2009; LE COINTE, 1947; LOUREIRO et al., 1979; SILVA et al., 2010). Alguns exemplos de perfumes reconhecidos que utilizam a cumarina ou o extrativo de cumaru são: “Dune” de Christian Dior®, Armand Basi e umas das fragrâncias da AVON chamada “Luz dos Olhos Teus” (ARAÚJO et al., 2007). E atualmente foi lançado pela NATURA, o desodorante colônia, Frescor Ekos Cumaru (NATURA, 2016).

Na indústria alimentícia, as sementes ganharam espaço através da preparação de alguns licores, whisky e vermute, além da cumarina ter sido utilizada para aromatizar doces como sucessora da baunilha (OHANA, 1998; PESCE, 2009). No entanto, o Decreto nº 55.871, de 26 de Março de 1965, que dispõe sobre as normas técnicas especiais reguladoras do emprego de aditivos químicos a alimentos, definiu que é proibido aos flavorizantes a adição de cumarina por ser considerada uma substância prejudicial à saúde, sendo sua utilização em alimentos considerada adulteração do produto (BRASIL, 1965).

Na medicina popular, o extrato aquoso da casca do fruto de cumaru é utilizado como antiespasmódico e geralmente tônico (CARVALHO, 2009; PESCE, 2009; VIANA et al., 2011), no combate a tosse, gripes e problemas pulmonares. A partir do cozimento dos frutos e das sementes, obtém-se um tipo de fortificante que age como um eficiente moderador dos batimentos cardíacos e respiratórios (CARVALHO, 2009; LE COINTE, 1947; LOUREIRO et al., 1979), atua sobre o sistema nervoso cérebro-espinal em razão do seu efeito anestésico, combate vermes, incluindo amebíase e, apresenta propriedades diaforéticas (estimula transpiração) e emenagogas (restabelece o fluxo menstrual), quando em doses elevadas (CARVALHO, 2009; PASTORE & BORGES, 1998; PRANCE & SILVA, 1975). O óleo extraído da semente pode ser usado para otalgias (dor de ouvido) (REVILLA, 2002), cefaléia, como fortificante do couro cabeludo, além de ser aplicado diretamente em ulcerações da boca (CARVALHO, 2009; VIEIRA, 1992).

Na indústria farmacêutica, a cumarina além de ser utilizada para disfarçar odores desagradáveis, também encontra-se em preparações de drogas especialmente anticoagulantes como o bis-hidroxycumarina (dicumarol) e varfarina. O dicumarol age como antagonista (bloqueador) da vitamina K, fator dependente de coagulação. E a varfarina é um fármaco usado na prevenção das trombozes. Ambos são amplamente empregados como raticidas (Figura 5) (ARAÚJO et al., 2004; CARVALHO, 2009).

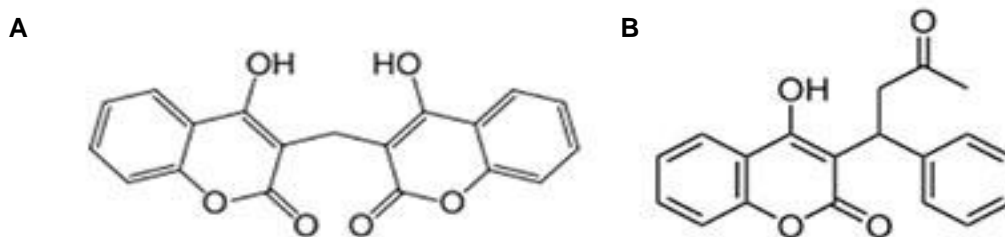


Figura 5 – **A.** Dicumarol. **B.** Varfarina. **FONTE:** http://www.akademiliv.se/wp-content/uploads/2015/01/kemiska_strukturer_6001.jpg.

1.4 Cumarinas

Cumarinas são benzo-derivados da pirona, de ocorrência natural ou sintética, classificadas como: benzo- α -pironas (Figura 6B), e benzo- γ -pironas que são comumente conhecidas por cromonas (Figura 6C) (MIRANDA, 2001).

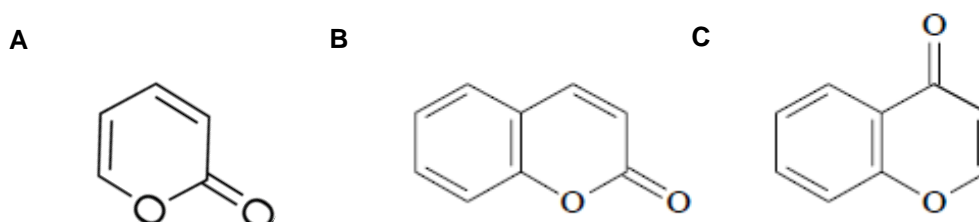


Figura 6 – **A.** alfa-pirona. **B.** benzo- α -pirona. **C.** benzo- γ -pirona. **FONTE:** MIRANDA

As cumarinas tem como representante mais simples a 1,2-benzopirona que foi isolada pela primeira vez por Vogel, em 1820, de frutos de *D. odorata* (CORRÊA, 2014; SULLIVAN, 1982). As propriedades farmacológicas e bioquímicas, e as aplicações terapêuticas de cumarinas simples, dependem do padrão de substituição (HOULT & PAYÁ, 1996). Mais de 300 cumarinas foram identificadas a partir de fontes naturais, em especial plantas verdes. As mais comuns na natureza são a umbeliferona, a esculetina e a escopoletina (Figura 7).

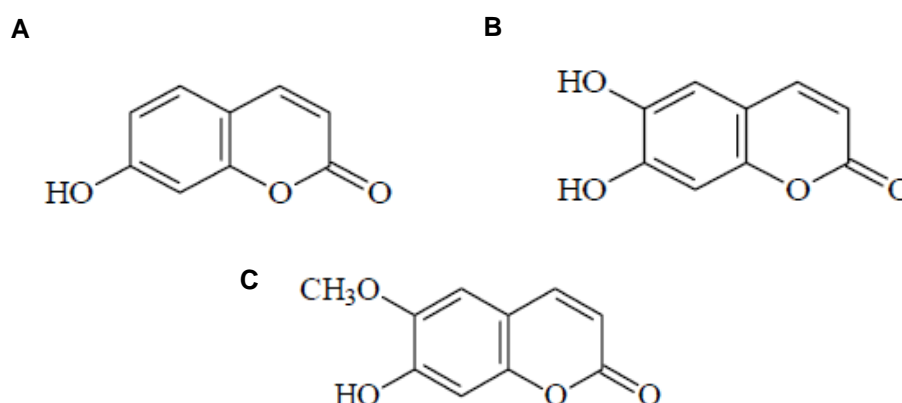


Figura 7 – **A.** Umbeliferona. **B.** Esculetina. **C.** Escopoletina. **FONTE:** MIRANDA (2001).

1.5 Rota Biosintética

Tendo como principal rota biogenética a via chiquimato (CHON et al., 2003), as cumarinas, na sua biossíntese, derivam do esqueleto fenilacrílico do ácido cinâmico via ortohidroxilação (a), *trans-cis* isomerização da dupla ligação da cadeia lateral (b) e (c), e lactonização (d) (Figura 8). Esta rota biosintética é seguida por todas as cumarinas, especialmente aquelas oxigenadas na posição 7 (MIRANDA, 2001).

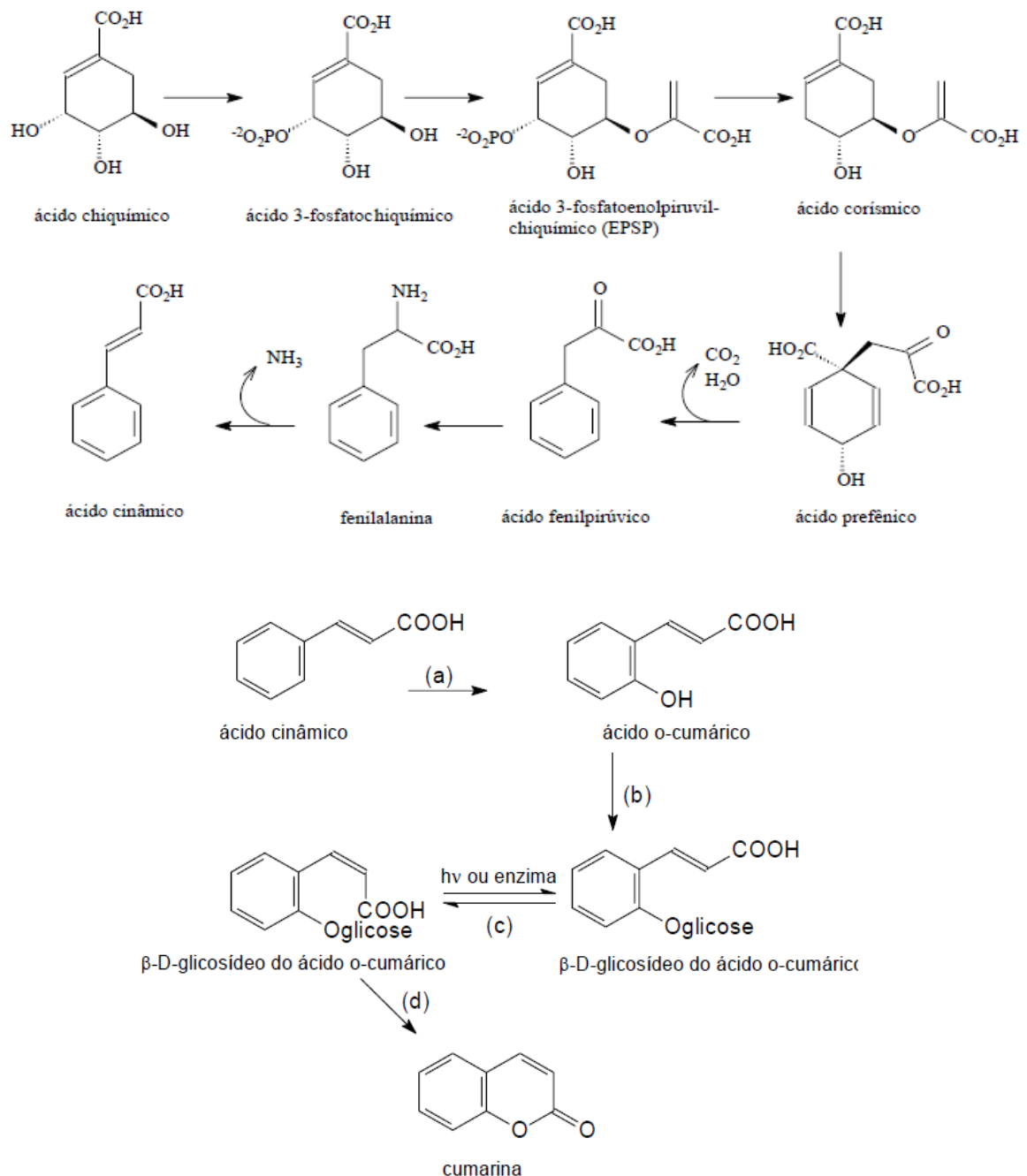


Figura 8 – Rota Biosintética da Cumarina. **FONTE:** MIRANDA (2001).

Durante processo a forma *trans* é estável e não se cicliza. Portanto, deverá existir algum tipo de isomerização na qual a enzima isomerase estará envolvida (Figura 9). A forma *cis* sendo muito instável, tende então a conversão em *trans* com o auxílio, por exemplo, da glicose (Figura 10) (MIRANDA, 2001).

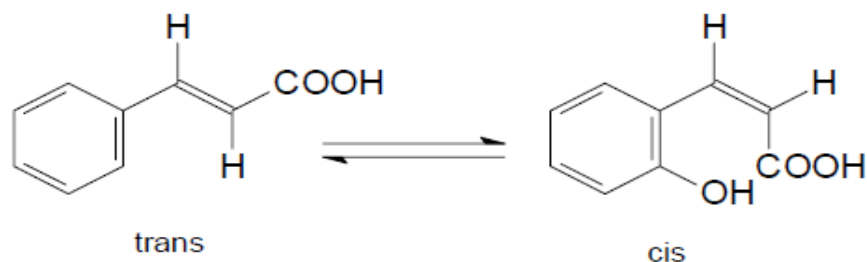


Figura 9 – Formas *trans* e *cis* do ácido cinâmico. **FONTE:** MIRANDA (2001).

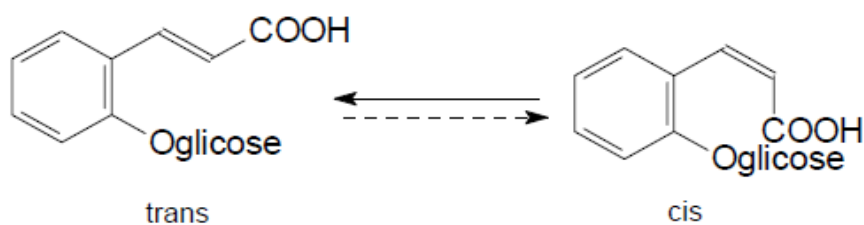


Figura 10 – Estruturas *trans* e *cis* glicosiladas. **FONTE:** MIRANDA (2001).

1.6 Cumarinas e Atividades Biológicas

A cumarina é conhecida por ser um forte inibidor da germinação de sementes e crescimento de raízes. É uma substância modulada pela luz, capaz de reduzir a taxa de respiração e fotossíntese por inibir o sistema de transporte de elétrons. Apresenta um efeito ambíguo (indução e inibição) sobre o crescimento, dependendo da espécie e da concentração (ABENAVOLI et al., 2003).

Entre as cumarinas isoladas, as mais estudadas são o ostol e o aurapteno. O ostol pode ser utilizado como anticancerígeno (FUJIOKA et al., 1999), para a prevenção de hepatite (OKAMOTO et al., 2003), entre outros (Figura 11A). O aurapteno é um composto que apresenta atividade antiagregante plaquetária (CHEN et al., 1995), e uma elevada atividade antimicrobiana (ALMAHY & ALAGIMI, 2012) (Figura 11B).

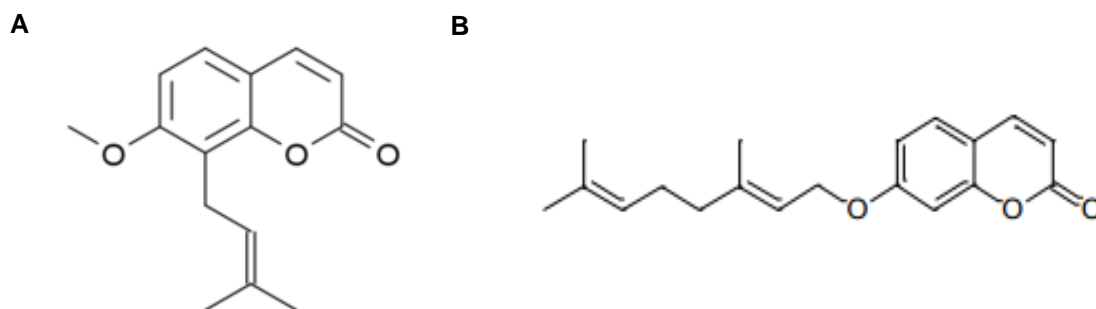


Figura 11 – A. Ostol. B. Aurapteno. FONTE: www.studyblue.com.

Kang et al. (2009), investigando a eficácia do composto de cumarina, oxypeucedanin (Figura 12), contra linhagens celulares de câncer de próstata DU145, sugeriram um efeito anticancerígeno novo para oxypeucedanin, mediado através da indução de parada do ciclo celular G2-M e apoptose destas células.

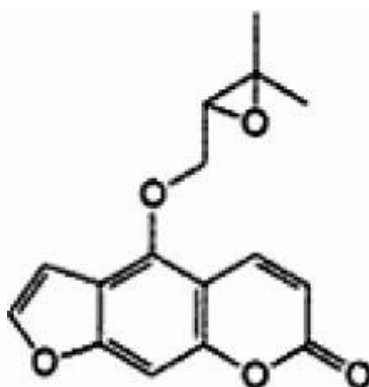


Figura 12 – Oxypeucedanin. FONTE: KANG et al. (2009).

A atividade antioxidante de cumarinas realizada pelo método fotocolorimétrico do radical livre estável DPPH foi sugerida em alguns estudos como o de Silveira (2009), que através de extratos etanólicos totais das flores e dos caules/folhas de *Bidens segetum* Martius ex Colla e das partes aéreas de *Pterocaulon alopecuroides* (Lam.) D. C., verificou que cumarinas 6,7-diidroxiladas e flavonoides hidroxilados nos anéis A e B, com ligação dupla nas posições 2,3 e grupo hidroxila na posição 3 do anel C são os principais responsáveis pela atividade dos extratos testados.

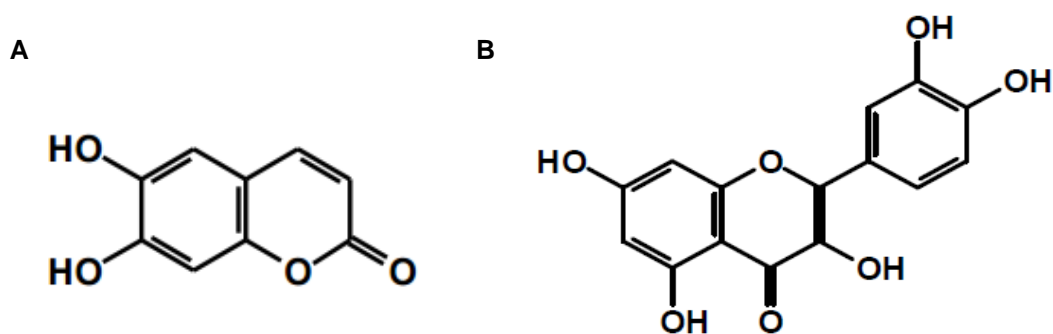


Figura 13 – A. Esculetina. **B.** Quercetina. **FONTE:** SILVEIRA (2009).

Bilgin et al. (2011), avaliando as possíveis propriedades citoprotetoras de cumarina (1,2-benzopirona) e alguns de seus derivados, como esculetina (6,7-diidroxicumarina), escoparona (6,7-dimetoxicumarina) e 4-metilumbeliferona (7-hidroxi-4-metilcumarina), contra tetracloreto de carbono (CCl_4), obtiveram resultados que indicam que as estruturas químicas de cumarinas desempenham um papel importante na prevenção da toxicidade hepática.

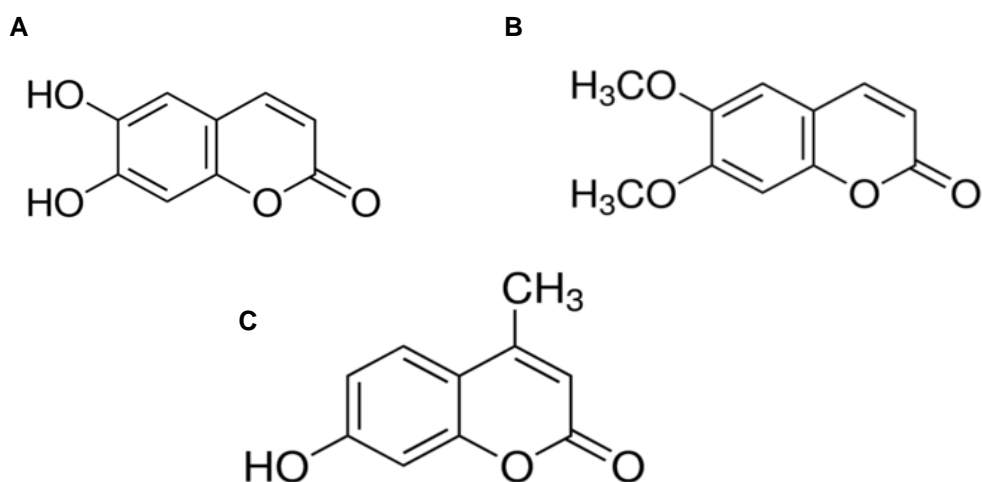


Figura 14 – A. Esculetina. **B.** Escoparona. **C.** 4-metilumbeliferona. **FONTE:** www.sigmaaldrich.com.

Rehman et al. (2005), analisando atividade antibacteriana, complexaram derivados cumarínicos com metais de transição [cobalto (II), cobre (II), níquel (II) e zinco (II)], testaram frente à *Bacillus cereus*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Escherichia*

coli, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae*, *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus pyogenes*, e obtiveram bons resultados para os compostos complexados.

Derivados cumarínicos também foram avaliados quanto a atividade antifúngica. Algumas espécies do gênero *Pterocaulon*, por exemplo, foram investigadas contra *Sporotrix schenckii*, bem como de 6,7-metilenodioxicumarinas isoladas e 4-metilcumarinas obtidas por síntese, correlacionando-as as atividades antioxidante e citotóxica. Os resultados foram promissores, apontando os extratos metanólicos deste gênero ativos frente às cepas do fungo (VIANNA, 2011).

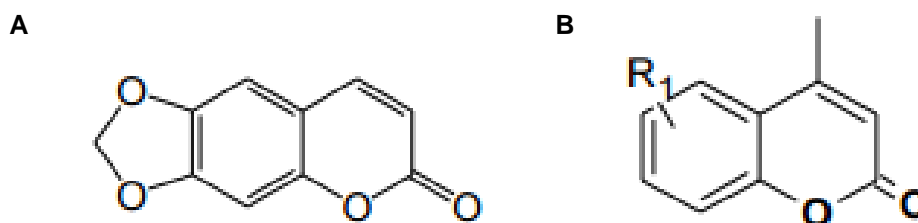


Figura 15 – A. 6,7-metilenodioxicumarina. **B.** 4-metilcumarina. **FONTE:** VIANNA (2011).

Outros estudos foram realizados e inferem que derivados cumarínicos podem ter efeitos analgésico (KALKHAMBKAR et al., 2008), anticonvulsivante (AMIN et al., 2008), antitrombótico, anticoagulante e antiespasmódico (KUSTER & ROCHA, 2001), ser inibidor de HIV (ZHAO et al., 1997), inibidor de monoamina oxidase (HOSSAIN et al., 1996; RENDENBACH-MULLER et al., 1994), e apresentar atividade leishmanicida ao produzir alterações morfológicas e ultra-estruturais em formas promastigotas (BRENZAN et al., 2012).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar o perfil químico de extratos etanólicos de *Dipteryx odorata* e *Dipteryx magnifica* quanto à presença de cumarina simples em folhas, galhos e frutos, e sua atividade antimicrobiana sobre fungos patogênicos à hortaliças e bactérias patogênicas à humanos.

2.2 Objetivos específicos

Avaliar o rendimento dos extratos etanólicos obtidos das folhas, galhos e frutos (cascas = epicarpo + mesocarpo; endocarpos e sementes), das duas espécies em estudo;

Caracterizar o perfil químico dos extratos quanto à presença de cumarina simples por Cromatografia em Camada Delgada (CCD) e por Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectrometria de Massa (CG-EM);

Isolar a cumarina simples das sementes de cumaru por protocolos específicos para utilização como padrão nos ensaios microbiológicos;

Realizar análises químicas por CCD e CG-EM da cumarina isolada;

Avaliar o efeito fungistático e fungicida dos extratos etanólicos sobre o crescimento micelial de fitopatógenos desafiante;

Avaliar o efeito bacteriostático e bactericida dos extratos etanólicos sobre o crescimento de patógenos desafiante.

CAPÍTULO I

Extratos de *Dipteryx odorata* (Aubl.) Willd. e *Dipteryx magnifica* (Ducke) Ducke no controle de fitopatógenos¹

Bruna Cristine Martins de SOUSA
Aline Aparecida München KASPER
Katiane Araújo LOURIDO
Denise Castro LUSTOSA
Thais Elias ALMEIDA
Santana Pinto de CASTRO
Domingos Benício Oliveira Silva CARDOSO
Adilson SARTORATTO
Lauro Euclides Soares BARATA

¹ Este artigo será submetido à Revista Brasileira de Plantas Mediciniais. <http://www.scielo.br/revistas/rbpm/pinstruc.htm>. ISSN 15160572, *Versão impressa* e ISSN 1983084X, *Versão online*.

Extratos de *Dipteryx odorata* (Aubl.) Willd. e *Dipteryx magnifica* (Ducke) Ducke no controle de fitopatógenos

SOUSA, B.C.M.^{1*}; KASPER, A.A.M.¹; LOURIDO, K.A.¹; LUSTOSA, D.C.²; ALMEIDA, T.E.²; CASTRO, S.P.²; CARDOSO, D.B.O.S.³; SARTORATTO, A.⁴; BARATA, L.E.S.⁵

¹Universidade Federal do Oeste do Pará (UFOPA)/Programa de Pós-graduação em Recursos Naturais da Amazônia (PPGRNA). Avenida Mendonça Furtado, nº 2440. CEP 68040-050. Santarém, PA. bruna0909martins@hotmail.com*.

²Universidade Federal do Oeste do Pará (UFOPA)/Instituto de Biodiversidade e Florestas (IBEF), Instituto de Ciências da Educação (ICED) e Instituto de Saúde Coletiva (ISCO). Avenida Vera Paz, s/n. Bairro Salé. CEP 68040-040. Santarém, PA.

³Universidade Federal da Bahia (UFBA)/Departamento de Botânica.

⁴Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP)/Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas (CPQBA), Divisão de Química Orgânica e Farmacêutica.

⁵Orientador e Assessor de Relações Nacionais e Internacionais, ARNI, UFOPA. Santarém-PA.

RESUMO: Pertencentes a família Fabaceae, *Dipteryx odorata* e *Dipteryx magnifica* são árvores neotropicais originárias de países da América Central e América do Sul. A espécie *D. odorata*, conhecida no Brasil como cumaru, destaca-se pelas potencialidades comerciais e fitoterápicas. Já *D. magnifica*, necessita de estudos que relatem sua descrição botânica, composição química e atividades biológicas. Neste sentido, objetivou-se caracterizar o perfil químico quanto à presença de cumarina simples nos extratos etanólicos das folhas, galhos e frutos (cascas, endocarpos e sementes) das espécies descritas, e avaliar o efeito antifúngico desses extratos sobre fungos patogênicos à hortaliças. Os extratos foram obtidos utilizando aparelho de Soxhlet e tendo como solvente álcool etílico 96%. As análises químicas foram realizadas por Cromatografia em Camada Delgada (CCD) e por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massa (CG-EM). Os ensaios biológicos consistiram dos extratos diluídos em meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA) para obtenção das concentrações de: 10%, 20%, 30%, 40% e 50% (p/v). Como controle negativo, os fungos cresceram apenas em BDA e como positivo, a cumarina simples foi adicionada ao meio de cultura. Utilizou-se *Cercospora longissima*, três isolados de *Fusarium* spp. e *Sclerotium rolfsii* como desafiantes. E os resultados foram comparados pelo teste Skott-Knott a 5% de probabilidade. Os maiores rendimentos foram obtidos nas cascas e nas sementes dos frutos das espécies. A 1,2-benzopirona foi isolada e identificada nos extratos das sementes de *D. odorata*, e nas cascas, nos endocarpos, e nas sementes de *D. magnifica*. E no que tange a ação antifúngica, constatou-se que a cumarina isolada apresentou melhor ação frente aos isolados obtidos de *Fusarium* spp., e que os extratos dos endocarpos de *D. odorata* e sementes de *D. magnifica*, proporcionaram as menores médias de crescimento micelial para os fitopatógenos testados. As espécies em estudo mostraram-se promissoras quanto à utilização dos seus frutos, tanto para obtenção de cumarina, como para o controle alternativo dos fitopatógenos específicos.

Palavras-chave: *Dipteryx odorata*, *Dipteryx magnifica*, extratos etanólicos, fitopatógenos, controle alternativo.

ABSTRACT: Extracts of *Dipteryx odorata* (Aubl.) Willd and *Dipteryx magnifica* (Ducke) Ducke in the control of phytopathogens. It belongs to the family Fabaceae, *Dipteryx odorata* and *Dipteryx magnifica* are neotropical trees originating in countries of Central and South America. The species *D. odorata*, known in Brazil as cumaru, stands out for the commercial and phytotherapeutic potentialities. Already *D. magnifica*, it needs studies that report its botanical description, chemical composition and biological activities. The objective of this study was to characterize the chemical profile of coumarin in the extracts of leaves, branches and fruits (bark, endocarp and seeds) of the species described, and to evaluate the antifungal effect of these extracts on fungi pathogenic to vegetables. The extracts were obtained using Soxhlet apparatus and having as solvent 96% ethyl alcohol. The chemical analyzes were performed by Thin Layer Chromatography (TLC) and by Gas Chromatography coupled to Mass Spectrometry (GC-MS). The biological assays consisted of extracts diluted in potato-dextrose-agar (PDA) medium to obtain concentrations of: 10%, 20%, 30%, 40% and 50% (w/v). As a negative control, fungi grew only in PDA and as a positive, single coumarin was added to the culture medium. It was used *Cercospora longissima*, three isolates of *Fusarium* spp. and *Sclerotium rolfsii* as challengers. And the results were compared by the Skott-Knott test at 5% probability. The highest yields were obtained on the bark and seeds of the fruits of the species. 1,2-Benzopyrone was isolated and identified in the extracts of *D. odorata* seeds, and in the shells, in the endocarps, and in the seeds of *D. magnifica*. As for the antifungal action, it was verified that the isolated coumarin presented better action against the isolates obtained from *Fusarium* spp., and the extracts of the species showed different actions when compared. The species studied were promising for the use of their fruits, both for obtaining coumarin, and for the alternative control of the specific phytopathogens.

Keywords: *Dipteryx odorata*, *Dipteryx magnifica*, ethanol extracts, phytopathogens, alternative control.

INTRODUÇÃO

Dipteryx odorata e *Dipteryx magnifica* de acordo com APG - Angiosperm Phylogeny Group III (2009), encontram-se no clado das Rosídeas, subclado Fabídeas, ordem Fabales, família Fabaceae (Leguminosae) e subfamília Faboideae (Papilionoideae) (SOUZA & LORENZI, 2012).

A espécie *Dipteryx odorata* é conhecida vulgarmente no Brasil como cumaru, cumaru-ferro, cumaru-verdadeiro, cumaru-roxo, cumbari e serrapia, e seu nome comercial internacional é *tonka bean* (CARVALHO, 2009). Ocorre na Bolívia, no Peru,

na Colômbia, na Venezuela, na Guiana, na Guiana Francesa e em Honduras (CARVALHO, 2009). E no Brasil, é originária das regiões setentrionais do Amazonas e se encontra em quase todas as matas de terra firme do Pará (PESCE, 2009); também ocorre nos estados do Acre, Rondônia, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Goiás e Maranhão (CARVALHO, 2009).

Os frutos de *D. odorata* destacam-se quanto as potencialidades comerciais e fitoterápicas. As sementes há mais de um século são comercializadas por extrativistas da Amazônia (SILVA et al., 2010) e, historicamente, foram bastante procuradas para a extração de cumarina (principal composto ativo) para flavorizar tabacos na indústria de fumo e nas fábricas de perfumes (PESCE, 2009; ZOGHBI et al., 2000).

Dipteryx magnifica, carece de estudos que detalhem sua descrição botânica específica, composição química e atividades biológicas, pois estas informações não foram encontradas na literatura consultada. Porém, de acordo com a base de dados botânicos The Plant List (2010), esta espécie é nativa do Brasil (Amazonas e Pará) e Venezuela, tem como sinônimos botânicos, *Coumarouna magnifica* Ducke e *Taralea casiquiarensis* Pittier, sendo conhecida popularmente como cumaru rosa.

Diante do exposto, e tendo em vista a busca por métodos alternativos de controle de doenças que causem menos impacto ao meio ambiente, que possuam potencial fungicida ou fungistático agregado à química de produtos naturais, e que auxiliem na indução de resistência às plantas. O presente estudo teve por objetivo avaliar o perfil químico quanto à presença de cumarina simples nos extratos etanólicos de *D. odorata* e *D. magnifica* e, sua atividade antimicrobiana sobre fungos patogênicos à hortaliças.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os materiais vegetais de *Dipteryx odorata* (Aubl.) Willd. e *Dipteryx magnifica* (Ducke) Ducke (Fabaceae) foram coletados na unidade Tapajós, da Universidade Federal do Oeste do Pará (UFOPA), município de Santarém, PA, em fevereiro e julho de 2015, (folhas/galhos e, frutos verdes, respectivamente), sob as seguintes coordenadas: *D. odorata* - 2°25'11" S, 54°44'29" W. Altitude: 18 m e, *D. magnifica* - 2°25'11" S, 54°44'29" W. Altitude: 18 m.

As amostras de ramos e frutos frescos de cumaru e cumaru rosa foram levadas ao Laboratório de Sementes Florestais (LSF), da UFOPA, para processamento, análise morfológica e montagem de prensas para exsiccatas. Os espécimes testemunhos encontram-se depositados no Herbário da Universidade Federal do Oeste do Pará, sob os números de registro (tombo): HSTM 000556 (*D. odorata*) e HSTM 000557 (*D. magnifica*).

Para obtenção dos extratos das folhas, galhos e frutos, os materiais foram pesados, acondicionados, separadamente, em sacolas de papel ou em bandejas (frutos, separados em cascas = epicarpo + mesocarpo; endocarpos e sementes) e, colocados em estufa a 45°C, com circulação forçada de ar por 120 h. Após esse período, foram novamente pesados, para obtenção da massa seca e, triturados.

As extrações etanólicas das folhas, galhos e frutos foram realizadas no Laboratório de Pesquisa & Desenvolvimento de Produtos Naturais Bioativos (P&DBIO), da UFOPA, segundo metodologia adaptada de Taube Jr. et al. (2014).

Para obtenção dos extratos brutos, os procedimentos ocorreram em triplicata utilizando aparelho de Soxhlet e tendo como solvente álcool etílico P.A a 96%. Para

folhas, galhos e endocarpos foram pesados 40 g, para cascas 22 g e para sementes 8 g. O período total das extrações foi de 8 h para cada procedimento.

As soluções etanólicas obtidas após extração foram evaporadas em evaporador rotativo para a eliminação do solvente e obtenção dos extratos. Estes foram armazenados em recipientes de vidro esterilizados, passaram por um processo final de secagem em dessecador por 24 h e foram pesados para obtenção dos rendimentos, calculados pela fórmula: $[\text{Massa do extrato (g)}/\text{Massa do material seco (g)}] \times 100$.

Os rendimentos obtidos foram analisados pelo programa estatístico Assistat 7.7 beta e, suas médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade (SILVA, 2013).

A cumarina usada como padrão nos testes foi isolada a partir de extração hexânica à frio, em triplicata, de sementes de cumaru comercializadas em Santarém, Pará.

Segundo metodologia adaptada de Taube Jr. et al. (2014), o óleo obtido foi submetido ao processo de cristalização pela adição de hexano, aquecimento dessa solução a 60°C e volatilização do solvente a temperatura ambiente. Em seguida, as impurezas (óleo) foram removidas por lavagem com hexano e filtração a vácuo em Funil de Buchner, e obtidos os cristais de cumarina. Verificou-se a pureza da substância isolada através do Ponto de Fusão, CCD e CG-EM.

O perfil químico quanto à presença de cumarina simples nos extratos também foi analisado por CCD, no Laboratório de Pesquisa & Desenvolvimento de Produtos Naturais Bioativos (P&DBio), e por CG-EM, na Divisão de Química Orgânica e Farmacêutica, no Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas (CPQBA), da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).

Para Cromatografia em Camada Delgada (CCD) foram utilizadas placas de alumínio (10 x 10 cm) e sílica 60 com indicador fluorescente em espessura da camada de 0,20 mm. A cada amostra pesada (20 mg), foi adicionado 1 mL de álcool etílico, homogeneizado, e aplicadas alíquotas de 10 µL de seus volumes sobre a placa cromatográfica, à distâncias de 1,5 cm cada. O padrão de cumarina (1,2-benzopirona) foi pesado à 10 mg, adicionado 1 mL de álcool metílico e aplicada alíquotas de 10 µL de seu volume sobre as placas cromatográficas como descrito em Wagner & Blatt (2001).

Foram realizados dois sistemas, o primeiro para a avaliação do isolamento da cumarina simples e o último para a verificação da presença da mesma nas amostras de ambas as espécies. O primeiro sistema consistiu de placas eluídas utilizando uma mistura contendo hexano: acetato de etila (80:20) e, o segundo sistema foi de placas eluídas utilizando uma mistura de solventes contendo tolueno: éter etílico (1:1). Posteriormente, essas placas foram secas e reveladas com anisaldeído e hidróxido de potássio (KOH) a 5%, respectivamente. Foram calculados os Fatores de Retenção (R_f), quando possível, pela fórmula: $R_f = h/H$. Onde: h = Altura da amostra a partir do ponto de aplicação. H = Altura máxima da fase móvel (TAUBE Jr. et al., 2014).

Para a Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massa (CG-EM), utilizou-se cromatógrafo HP-6890, coluna capilar de HP-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm) e detector operando a 70 eV, varredura linear no intervalo de 30 a 500 u.m.a. As condições cromatográficas: temperatura do injetor 250°C e do detector 300°C, hélio como gás de arraste (1,0 mL.min⁻¹); programação de temperatura 80°C a 280°C a uma taxa de 5°C.min⁻¹ e injeção de 1 µL dos óleos e extratos. Os compostos foram identificados por comparação com a biblioteca NIST05.

Os ensaios biológicos foram realizados no Laboratório de Fitopatologia, da UFOPA. Os desafiantes fúngicos: *Cercospora longissima* isolado de alface, *Fusarium* sp. isolado da alface, *Fusarium* sp. isolado da couve, *Fusarium* sp. isolado do jerimum e *Sclerotium rolfsii* isolado do pimentão, foram isolados de folhas e frutos de hortaliças apresentando sintomas e/ou sinais de doença. De cada espécie foram obtidas as colônias axênicas e preparadas placas para utilização nos experimentos. As mesmas encontram-se armazenadas na micoteca do laboratório.

Para cada extrato, preparou-se uma solução contendo extrato bruto e água destilada e esterilizada, na proporção de 1:1, e foram adicionados Polivinilpirrolidona (PVP), na concentração 1:4 (extrato: PVP). Após as diluições, essas soluções foram adicionadas em meio BDA (Batata-Dextrose-Ágar), fundente (aproximadamente 45°C), para obtenção das concentrações: 10; 20; 30; 40 e 50 %. Os tratamentos controles consistiram do meio sem adição dos extratos, e do padrão de 1,2-benzopirona que foi pesado (10 mg), diluído em 1 mL de álcool metílico e uma alíquota de 300 µL de seu volume, adicionada ao meio BDA (concentração de 1:1000).

Após a adição dos extratos e padrão, os meios foram homogeneizados e vertidos em placas de Petri, onde depositou-se, centralmente, um disco de meio (0,4 cm) contendo as estruturas fúngicas. Os desafiantes foram incubados a 25°C, sob fotoperíodo de 12 h. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial, com quatro repetições. As avaliações foram realizadas medindo-se o diâmetro médio da colônia, diariamente, até as testemunhas ocuparem as placas. Os dados obtidos nos ensaios foram analisados pelo programa estatístico Assistat 7.7 beta e, suas médias comparadas pelo teste Skott-Knott a 5% de probabilidade (SILVA, 2013).

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Quando calculados e analisados os rendimentos dos extratos, verificou-se que houve diferença estatística significativa para os fatores isolados, bem como para a interação entre eles. Tanto para *D. odorata*, quanto para *D. magnifica*, os maiores rendimentos foram obtidos nas cascas e nas sementes dos frutos, seguidos dos extratos das folhas e dos galhos que não diferiram estatisticamente entre si. O rendimento médio do extrato dos endocarpos de *D. odorata* (13,72%), diferiu estatisticamente das demais partes dessa planta, já o rendimento do extrato dos endocarpos de *D. magnifica* (15,49%), não diferiu apenas do extrato das folhas dessa espécie (Tabela 1).

Lima et al. (2014), objetivando extrair e quantificar compostos bioativos da semente do cumaru por meio de extração convencional (Soxhlet) e supercrítica, verificaram que as extrações por Soxhlet através de etanol resultaram num rendimento de 46,5%. Altos valores de rendimentos obtidos por Soxhlet também foram encontrados por Benelli et al. (2010), que atribuíram este comportamento, provavelmente, à recirculação de solvente e interações soluto-solvente.

TABELA 1. Rendimento médio dos extratos etanólicos obtidos de diferentes partes de *Dipteryx odorata* e *Dipteryx magnifica*.

Material Vegetal	Rendimento Médio (%)	
	<i>Dipteryx odorata</i>	<i>Dipteryx magnifica</i>
Folha	26,36 b	20,87 bc
Galho	26,88 b	26,88 b
Casca	44,15 a	54,21 a
Endocarpo	13,72 c	15,49 c
Semente	48,89 a	44,52 a
CV (%)	10,94	12,26

*Médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < .01$).

Quanto às amostras obtidas pelo processo de cristalização, constatou-se por CCD o isolamento da cumarina simples nas aplicações 2, 4 e 6 (Figura 1A), devido a intensidade, coloração e igual fator de retenção (0,52), quando comparadas com o padrão. Para os óleos, além da cumarina indicada nas aplicações 3, 5 e 7 (Figura 1A), a placa revelada expôs manchas de coloração azulada (Figura 1B, aplicações 3, 5 e 7), sugerindo a presença de ácidos graxos. Essa revelação também demonstrou que os isolados de 1,2-benzopirona não encontram-se contaminados por ácidos graxos (Figura 1B, aplicações 2, 4 e 6).

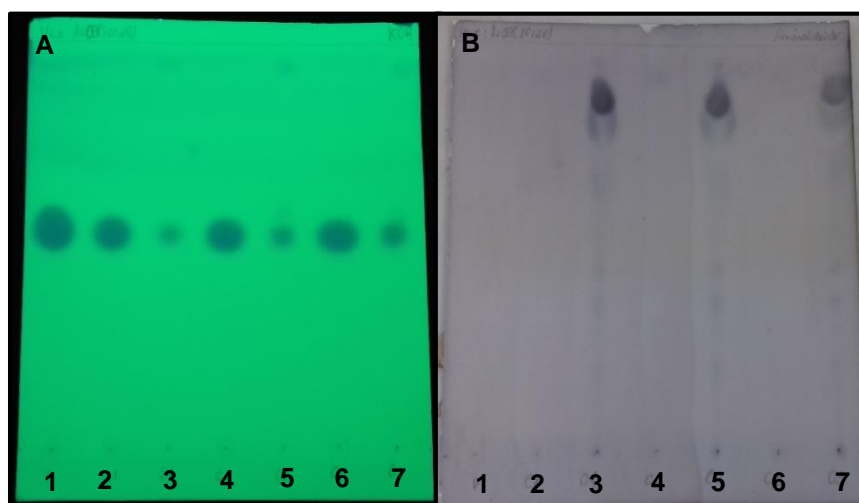


FIGURA 1: Placa de CCD eluída em mistura de hexano: acetato de etila (80:20). **A.** Cumaru (*Dipteryx* sp.) visualizada no comprimento de onda de 254 nm. **B.** Cumaru (*Dipteryx* sp.) revelada com anisaldeído. 1 = Padrão (1,2-benzopirona); 2 = Cumarina isolada R1; 3 = Óleo R1; 4 = Cumarina isolada R2; 5 = Óleo R2; 6 = Cumarina isolada R3; 7 = Óleo R3. **FOTO:** Bruna Sousa.

Segundo Bentes et al. (1981), a composição de ácidos graxos no óleo de cumaru é bastante expressiva, sendo 6,6% de ácido palmítico, 4,5% de ácido esteárico, 47,3% de ácido oleico, 21,6% de ácido linoleico, 5,5% de ácido linolênico, 6,2% de ácido araquídico, 4,3% de ácido beênico e 3,9% de ácido lignocérico.

Quando investigada a presença da cumarina simples nas amostras dos extratos de ambas espécies, a CCD revelada e visualizada no comprimento de onda de 365 nm indicou a 1,2-benzopirona nas sementes de *D. odorata* (Fator de Retenção

de 0,6) e, nas sementes, nos endocarpos e nas cascas de *D. magnifica* (Fator de Retenção de 0,6). Fluorescência esverdeada devido a abertura do anel lactônico (Figuras 2C e 2D).

Os resultados evidenciam que a 1,2-benzopirona não se encontra em todas as partes das plantas em estudo. Ojala (2001), infere que as cumarinas são sintetizadas, principalmente, nas folhas, mas ocorrem em níveis mais altos como nas frutas, seguindo pelas raízes e caules. E que mudanças sazonais e condições ambientais podem afetar a ocorrência das mesmas em várias partes da planta.

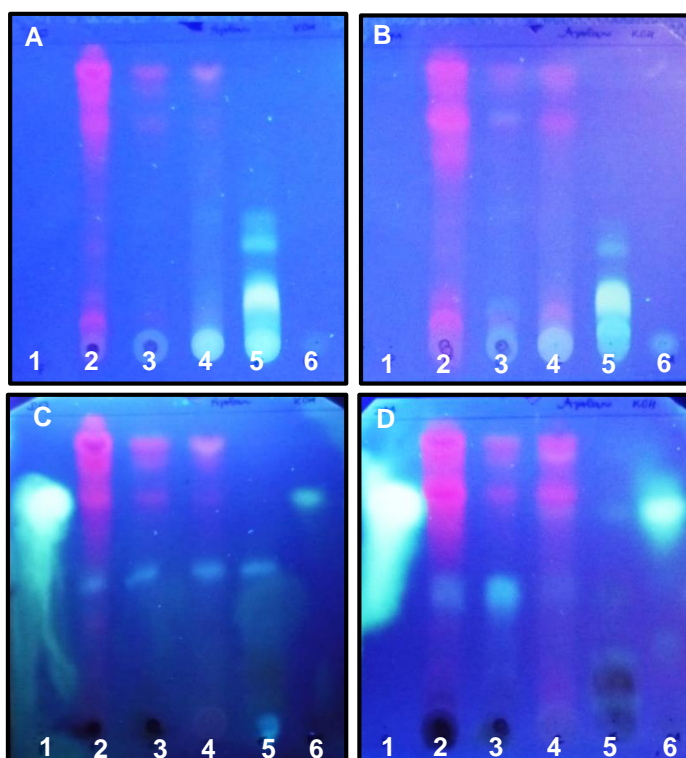


FIGURA 2: Placas de CCD eluídas em tolueno: éter etílico (1:1). **A e B.** Cumaru (*Dipteryx odorata*) e cumaru rosa (*Dipteryx Magnifica*), visualizadas no comprimento de onda de 365 nm. **C e D.** Cumaru (*Dipteryx odorata*) e cumaru rosa (*Dipteryx Magnifica*), reveladas com KOH a 5%. 1 = Padrão (1,2-benzopirona); 2 = Extrato das folhas; 3 = Extrato dos galhos; 4 = Extrato das cascas; 5 = Extrato dos endocarpos; 6 = Extrato das sementes. **FOTO:** Bruna Sousa.

Sabendo-se que a cumarina simples possui peso molecular de 146,15 g.mol⁻¹, ponto de fusão entre 68-70°C, ponto de ebulição de 303°C e densidade de 0,94 (EGAN et al., 1990); as análises por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria

de Massa confirmaram o isolamento da cumarina simples, com porcentagem relativa de 100% e tempo de retenção de 13,9 min. e, demonstraram variações quanto a composição química dos extratos de *Dipteryx odorata* e *Dipteryx magnifica*.

Quanto aos 46 compostos encontrados nos extratos de *Dipteryx odorata*, tem-se que o extrato das folhas apresentou dois constituintes majoritários, de peso molecular 426 e 424 g.mol⁻¹, e porcentagem relativa de 65,3% e 15,7%, respectivamente. Porém, não foram possíveis as caracterizações através de seus espectros de massas e por comparação com a biblioteca NIST05 (Tabela 1). Lorenzi & Matos (2002), observaram nas folhas de cumaru a presença dos ácidos *o*-cumárico, gentsico, melilótico, salicílico, ferulico, *p*-cumárico, *p*-hidroxibenzoico, livres ou glicosilados.

O extrato dos galhos de *D. odorata* apresentou o Taraxasterol como constituinte majoritário (63,9%) (Tabela 2), e segundo Sharma & Zafar (2015), o taraxasterol é um composto importante, pois possui ações antitumorais. Yamai et al. (2009), inferem que os triterpenos são conhecidos por aumentar os efeitos inibidores das drogas anticâncer. E estudos como os de Singh et al. (2002), enfatizam que triterpenoides, como o taraxasterol, possuem propriedades antimicrobianas em potencial.

Lorenzi & Matos (2002), apontam que na madeira foi observada presença de isoflavona, retusina e vários de seus derivados, odoratina e dipterixina, enquanto que na casca do caule foram encontradas outras isoflavonas, além da odoratina, os triterpenoides lupeol e betulina, mais uma mistura de ácidos graxos metilados.

Para os extratos obtidos das cascas dos frutos de *D. odorata*, verificou-se a presença do espatulenol, do óxido de cariofileno, do α -cariofileno, do phenanthro[3,2]furan-4-methanol-1,2,3,4,4a,5,6,6a,7,11,11a,11b, dodecahydro-4,7,11-trimethyl, além do germacreno D (Tabela 2).

O extrato dos endocarpos de *D. odorata* apresentou maior riqueza de substâncias e valores relativos bem distribuídos. Seis substâncias ainda não citadas foram encontradas, o aromadendreno, o β -cubebeno, o cariofileno, o δ -cadineno, o δ -muuroleno e o copaeno. O α -cariofileno e o Phenanthro[3,2]furan-4-methanol-1,2,3,4,4a,5,6,6a,7,11,11a,11b, dodecahydro-4,7,11-trimethyl ainda foram detectados, porém, o espatulenol, germacreno D e óxido de cariofileno foram identificados apenas nas cascas do fruto dessa espécie (Tabela 2).

Para os extratos das sementes de *D. odorata*, verificou-se a presença da cumarina simples, confirmando o encontrado na CCD. E segundo Sampaio (2000), as sementes de *D. odorata* são constituídas de 30 a 40% (peso seco) de um óleo amarelo-claro, perfumado, que é oxidado rapidamente quando em contato com o ar. Esse óleo é similar ao de outras leguminosas, como o amendoim, exceto por conter ácido linolênico e traços de óleos com alto peso molecular, como o beenico e lignocerico (Tabela 2).

TABELA 2. Constituintes químicos dos extratos etanólicos obtidos de *Dipteryx odorata*.

TR (min.)	Substâncias Identificadas									
	Folhas		Galhos		Cascas		Endocarpos		Sementes	
	M	%	M	%	M	%	M	%	M	%
11,94	-	-	-	-	-	-	Copaeno	0,9	-	-
12,17	-	-	-	-	-	-	-	-	148	2,3
12,30	-	-	-	-	-	-	189	1,1	-	-
13,00	-	-	-	-	189	1,4	Cariofileno	1,6	-	-
13,51	-	-	-	-	-	-	-	-	2H-1- Benzopyran- 2-one (cumarina)	87,3
13,81	-	-	-	-	α -cariofileno	4,0	α -cariofileno	3,9	-	-
14,32	-	-	-	-	-	-	δ -muuroleno	1,0	-	-
14,46	-	-	-	-	Germacreno D	1,5	β -cubebeno	2,3	-	-
15,41	-	-	-	-	-	-	δ -cadineno	1,3	-	-
16,71	-	-	205	5,0	-	-	-	-	-	-
16,72	-	-	-	-	Espatulenol	14,0	Aromadendreno	9,2	-	-

16,84	-	-	-	-	Óxido de cariofileno	4,6	205	2,5	-	-
17,43	-	-	-	-	220	7,5	220	4,0	-	-
17,73	-	-	-	-	-	-	-	-	182	10,4
18,06	-	-	-	-	-	-	220	1,0	-	-
18,42	-	-	-	-	220	1,8	220	1,6	-	-
19,84	-	-	129	2,7	-	-	220	0,7	-	-
19,86	151	10,4	-	-	-	-	-	-	-	-
19,90	179	2,4	-	-	-	-	-	-	-	-
19,98	182	1,4	-	-	-	-	-	-	-	-
20,23	-	-	-	-	238	1,5	-	-	-	-
20,45	180	4,8	-	-	-	-	-	-	-	-
20,84	-	-	-	-	218	2,4	-	-	-	-
22,30	-	-	-	-	-	-	234	2,1	-	-
22,31	-	-	-	-	234	3,2	-	-	-	-
22,73	-	-	-	-	220	1,7	220	1,5	-	-
23,67	-	-	-	-	218	1,8	218	1,2	-	-
24,23	-	-	-	-	-	-	218	1,2	-	-
24,29	-	-	-	-	236	2,0	-	-	-	-
34,39	-	-	-	-	Phenanthro[3,2]furan-4-methanol-1,2,3,4,4a,5,6,6a,7,11,11a,11b, dodecahydro-4,7,11-trimethyl	2,3	Phenanthro[3,2]furan-4-methanol-1,2,3,4,4a,5,6,6a,7,11,11a,11b, dodecahydro-4,7,11-trimethyl	2,7	-	-
36,31	-	-	-	-	341	2,0	331	1,4	-	-
37,52	-	-	-	-	374	2,8	374	3,5	-	-
38,15	-	-	-	-	-	-	429	1,3	-	-
39,60	-	-	405	16,7	-	-	-	-	-	-
39,62	-	-	-	-	429	21,4	-	-	-	-
39,63	-	-	-	-	-	-	400	31,6	-	-
40,00	-	-	-	-	402	5,0	-	-	-	-
40,01	-	-	-	-	-	-	429	6,9	-	-
41,33	-	-	-	-	-	-	405	2,4	-	-
41,70	-	-	-	-	400	6,0	-	-	-	-
41,71	-	-	-	-	-	-	429	7,3	-	-
42,58	-	-	405	11,7	-	-	-	-	-	-
42,77	-	-	-	-	429	5,1	429	5,8	-	-
48,75	424	15,7	-	-	-	-	-	-	-	-
49,38	426	65,3	-	-	-	-	-	-	-	-
49,39	-	-	Taraxasterol	63,9	426	8,0	-	-	-	-
Total		100		100		100		100		100

*TR = Tempo de Retenção; M = Espectro de Massa; % = Porcentagem Relativa.

Quanto aos 52 compostos encontrados nos extratos de *Dipteryx magnifica*, verificou-se que para o extrato das folhas, um dos dois constituintes majoritários foi o

Taraxasterol (51,9%) (Tabela 3). O Taraxasterol também foi encontrado no extrato dos galhos de *D. magnifica*, sendo menor a porcentagem relativa comparada com *D. odorata* (Tabela 2 e Tabela 3).

Zoghbi et al. (2000), estudando o cumaru identificaram a presença de algumas substâncias como: 0,4% de heptanal; 0,6% de α -pineno; 0,2% de sabineno; 0,2% álcool benzílico; 0,5% (E)- β -Ocimeno; 0,2% de octanol; 0,1% de *trans*-óxido de linalol (furanóide); 2,6% de nonanal; 0,3% de acetato de benzila; 0,1% de salicilato de metila; 0,1% de (E)-2-decenal; 0,2% de ácido nonanoico; 0,1% de (E,Z)-2,4-decadienal; 0,1% de δ -elemeno; 0,3% de α -cubebeno; 1% de α -copaeno; 1,3% de β -elemeno; 0,5% de β -cariofileno; 0,3% de β -gurjuneno; 0,7% de (E)- β -farneseno; 31,1% de germacreno D; 13% de biciclogermacreno; 0,4% de germacreno A; 1,4% de δ -cadineno; 11,3% de espatulenol; 1,3% de globulol; 0,7% de cubenol; 1,4% de α -muurolol; 3,9% de α -cadinol; 0,4% de cis-14-muurol-5-en-4-ona; 2,6% n.i.; 1,6% de (E,E) farnesol; 2,1% n.i.; 1,4% n.i.; 0,4% n.i.; 1,2% n.i.; 1,6% de ácido palmítico e 0,8% n.i.

E alguns dos constituintes descritos acima também foram encontrados nos extratos das cascas dos frutos de *D. magnifica*: o espatulenol e o isômero α -cadineno. Verificou-se também a presença do éster etílico do ácido oleico, do phenanthro[3,2]furan-4-methanol-1,2,3,4,4a,5,6,6a,7,11,11a,11b, dodecahydro-4,7,11-trimethyl, do ácido hexanodióico, bis (2-etil-hexil) éster, e do éster etílico do ácido hexadecanóico, além da cumarina simples como sinalizada na CCD (Tabela 3).

Nesse estudo, também foi comprovada a presença da cumarina simples como indicada na CCD para os extratos dos endocarpos e sementes. E para o extrato das sementes, além da 1,2-benzopirona, o extrato de *D. magnifica* apresentou a 3,4-Dihidrocumarina, com porcentagem relativa de 25,2% (Tabela 3).

A cumarina simples e a 3,4-Dihidrocumarina são metabólitos empregados em condimentos, bebidas, gelatinas, pudins, perfumes e cosméticos, e segundo Cowan (1999), diversos derivados cumarínicos hidroxilados podem apresentar atividade antifúngica.

TABELA 3. Constituintes químicos dos extratos etanólicos de *Dipteryx magnifica*.

TR (min.)	Substâncias Identificadas									
	Folhas		Galhos		Casca		Endocarpos		Sementes	
	M	%	M	%	M	%	M	%	M	%
12,16	-	-	-	-	-	-	-	-	2H-1-Benzopyran-2-one,3,4-dihydro (3,4-Dihidrocumarina)	25,2
13,47	-	-	-	-	-	-	-	-	2H-1-Benzopyran-2-one (cumarina)	43,0
13,53	-	-	-	-	2H-1-Benzopiran-2-ona (cumarina)	2,8	2H-1-Benzopiran-2-ona (cumarina)	8,6	-	-
13,75	-	-	-	-	-	-	161	1,0	-	-
15,42	-	-	-	-	δ-cadineno	1,2	-	-	-	-
16,39	-	-	-	-	235	1,5	-	-	-	-
16,72	-	-	-	-	-	-	205	1,1	-	-
16,73	-	-	-	-	Espatulenol	14,6	-	-	-	-
16,85	-	-	-	-	205	2,4	-	-	-	-
17,79	-	-	-	-	-	-	-	-	182	21,9
18,43	-	-	-	-	220	2,5	-	-	-	-
18,49	-	-	-	-	-	-	-	-	231	0,4
19,14	-	-	-	-	220	1,7	-	-	-	-
19,61	-	-	-	-	220	0,6	-	-	-	-
19,84	-	-	-	-	220	1,4	-	-	-	-
19,91	-	-	-	-	220	0,8	-	-	-	-
20,24	-	-	-	-	207	5,5	-	-	-	-
20,27	179	2,8	-	-	-	-	-	-	-	-
20,37	-	-	-	-	177	9,9	-	-	-	-
20,51	-	-	-	-	-	-	-	-	182	3,3
20,54	-	-	-	-	-	-	-	-	182	0,3
20,68	-	-	161	49,0	-	-	-	-	-	-
20,69	-	-	-	-	-	-	-	-	167	0,9
20,86	-	-	-	-	193	2,2	-	-	-	-

20,93	179	4,3	-	-	-	-	-	-	-	-
20,98	-	-	179	35,9	-	-	-	-	-	-
21,01	179	0,8	-	-	-	-	-	-	-	-
21,08	159	2,1	-	-	-	-	-	-	-	-
21,09	-	-	-	-	-	-	182	57,7	-	-
21,39	-	-	-	-	-	-	207	31,6	-	-
22,31	-	-	-	-	219	3,2	-	-	-	-
22,74	-	-	-	-	220	2,7	-	-	-	-
23,68	-	-	-	-	221	2,1	-	-	-	-
24,24	-	-	-	-	218	1,8	-	-	-	-
25,23	-	-	-	-	Éster etílico do Ácido hexadecanóico	1,7	-	-	-	-
27,45	207	9,1	-	-	-	-	-	-	-	-
28,41	-	-	-	-	Éster etílico do Ácido oleico (Etil Oleato)	9,4	-	-	-	-
28,52	-	-	-	-	281	1,4	-	-	-	-
31,32	-	-	-	-	310	1,7	-	-	-	-
31,33	-	-	-	-	-	-	-	-	310	2,2
32,29	-	-	-	-	-	-	-	-	259	2,8
32,30	-	-	-	-	Ácido hexanodióico, bis (2-etil-hexil) éster	2,7	-	-	-	-
32,92	-	-	-	-	300	4,1	-	-	-	-
34,41	-	-	-	-	Phenanthro[3,2]furan-4- methanol- 1,2,3,4,4a,5,6,6 a,7,11,11a,11b, dodecahydro- 4,7,11-trimethyl	5,7	-	-	-	-
34,53	-	-	-	-	298	1,5	-	-	-	-
38,50	-	-	-	-	361	4,4	-	-	-	-
39,64	-	-	-	-	429	3,7	-	-	-	-
40,01	-	-	-	-	360	1,9	-	-	-	-
40,27	-	-	-	-	429	2,0	-	-	-	-
41,00	-	-	-	-	405	2,9	-	-	-	-
48,76	551	29,0	-	-	-	-	-	-	-	-
49,39	Taraxasterol	51,9	Taraxasterol	15,1	-	-	-	-	-	-
Total		100		100		100		100		100

*TR = Tempo de Retenção; M = Espectro de Massa; % = Porcentagem Relativa.

No que se refere à utilização dos extratos de *D. odorata* no controle alternativo de fitopatógenos, houve diferença significativa tanto para os fatores isolados, quanto para a interação entre eles.

Quando se analisou o crescimento micelial dos fitopatógenos em função dos extratos e concentrações, verificou-se que o extrato obtido das folhas de *D. odorata* proporcionou maior redução no crescimento micelial para *Fusarium* sp. isolado da alface nas concentrações de 40% e 50%. *Cercospora longíssima* teve seu crescimento micelial reduzido em todas as concentrações comparando com a testemunha e cumarina, sendo a menor média encontrada na concentração de 30%, com 2,7 cm de diâmetro, representando 30,8% de inibição. *Fusarium* sp. isolado da couve obteve resultados médios que não diferiram estatisticamente da sua testemunha e foram maiores que a média encontrada para a cumarina, e *Fusarium* sp. isolado do jerimum teve seu crescimento acelerado quando avaliado nas concentrações de teste. A cumarina foi mais ativa para ambos os fitopatógenos nesse caso (Tabela 4).

Para o extrato dos galhos, verificou-se que todas as concentrações foram eficientes na redução micelial do *Fusarium* sp. isolado da alface em comparação com a testemunha e cumarina. *Fusarium* sp. isolado do jerimum também teve suas médias reduzidas em todas as concentrações em teste, porém, elas não diferiram dos resultados obtidos pela cumarina. As melhores concentrações para *Fusarium* sp. isolado da couve foram as de 40% e 50%, e para *C. longíssima* a concentração de 30%, proporcionando uma redução micelial de 7,7% em comparação com os controles (Tabela 4).

O extrato obtido das cascas de cumaru foi eficiente para o isolado de *Fusarium* sp. da couve nas concentrações de 20%, 30%, 40% e 50%, sendo que para essa última concentração as porcentagens de inibição foram de 26,6% em relação à testemunha e 20,5% em relação à cumarina. Para *Fusarium* spp. isolado da alface e do jerimum suas médias de crescimento não diferiram das testemunhas ou cumarina.

E para *C. longíssima* também ocorreu uma aceleração no crescimento, sendo que as médias não diferiram estatisticamente entre as concentrações testadas (Tabela 4).

Para o extrato obtido dos endocarpos, todas as concentrações foram eficientes em comparação com a testemunha e cumarina para os isolados de *Fusarium* spp. e *C. longíssima*, sendo os menores diâmetros obtidos nas concentrações de 40% e 50%. A concentração de 40% para o *Fusarium* sp. isolado do jerimum apresentou inibição de 64,6% em relação à testemunha e 58,5% em relação à cumarina (Tabela 4).

Como expresso nas análises químicas, seis substâncias diferenciadas foram identificadas nos endocarpos de *D. odorata*: o aromadendreno, o β -cubebeno, o cariofileno, o δ -cadineno, o δ -muuroleno e o copaeno. Essas substâncias são sesquiterpenos e assim como os monoterpenos, muitas podem atuar como compostos antimicrobianos (fitoalexinas) e antiherbivoria (CROTEAU et al., 2000). Fazendo com que o resultado obtido seja promissor, tendo em vista que *Fusarium solani*, por exemplo, sobrevive em restos culturais, solo, tubérculos e sementes infectadas durante vários anos; e que toneladas de resíduos da exploração das sementes de cumaru são geradas e não possuem um aproveitamento adequado.

O extrato obtido das sementes de cumaru proporcionou maior sensibilidade para *Fusarium* spp. isolado da alface e da couve, e para *C. longíssima*, nas concentrações de 40% e 50%, sendo que para o isolado da couve, a concentração de 10% também foi ativa. *Fusarium* sp. isolado do jerimum também teve seu crescimento estimulado por esse extrato (Tabela 4).

Sclerotium rolfsii obteve resultados que diferiram da sua testemunha e cumarina apenas nas concentrações de 20% e 30% para o extrato das folhas e, nas

concentrações de 10%, 20%, 30% e 40% para o extrato das sementes de *D. odorata* (Tabela 4).

TABELA 4. Atividade antifúngica dos extratos etanólicos de *D. odorata*, em diferentes concentrações sobre os fitopatógenos avaliados.

Diâmetro Médio das Colônias dos Desafiantes (cm)						
Extratos	Concentrações (%)	<i>Cercospora longissima</i> (alface)	<i>Fusarium</i> sp. (alface)	<i>Fusarium</i> sp. (couve)	<i>Fusarium</i> sp. (jerimum)	<i>Sclerotium rolfsii</i> (pimentão)
Testemunha	0,0	3,9 bD	7,5 aB	7,9 aA	4,8 cC	8,1 aA
Cumarina	1µL/mL	3,9 bC	6,9 bB	7,3 bB	4,1 dC	8,0 aA
	10	3,5 cD	7,4 aB	8,2 aA	5,5 bC	8,3 aA
	20	3,4 cD	7,5 aA	7,9 aA	5,4 bC	7,0 bB
	30	2,7 eE	7,5 aB	8,1 aA	5,7 aD	6,8 bC
	40	3,0 dC	6,1 cB	7,9 aA	5,9 aB	7,9 aA
	50	3,1 dD	5,8 cC	8,2 aA	5,8 aC	7,7 aB
Galhos	10	3,9 bD	5,8 cC	7,3 bB	4,2 dD	8,0 aA
	20	3,7 bD	5,9 cC	7,6 aB	4,1 dD	8,2 aA
	30	3,6 cE	5,6 cC	7,1 bB	4,1 dD	8,1 aA
	40	3,8 bD	5,9 cC	6,8 cB	4,1 dD	8,3 aA
	50	3,8 bD	6,1 cC	6,8 cB	4,1 dD	7,8 aA
Casca	10	4,9 aC	8,0 aA	7,0 bB	4,8 cC	8,2 aA
	20	5,3 aC	6,6 bB	6,6 cB	4,5 cD	8,3 aA
	30	5,2 aD	7,8 aB	6,5 cC	4,4 dE	8,3 aA
	40	5,2 aC	6,4 bB	6,4 cB	4,0 dD	8,3 aA
	50	4,8 aD	6,6 bB	5,8 dC	3,9 dE	8,3 aA
Endocarpos	10	3,2 dC	6,7 bB	6,7 cB	3,5 eC	8,3 aA
	20	2,8 eC	5,3 dB	5,3 eB	2,9 fC	8,3 aA
	30	2,5 eC	5,1 dB	4,7 fB	2,4 gC	8,3 aA
	40	2,4 eC	3,5 eB	3,5 gB	1,7 hD	8,3 aA
	50	2,4 eC	3,4 eB	3,2 gB	2,1 hC	8,3 aA
Sementes	10	3,5 cD	7,6 aA	6,0 dB	5,5 bC	5,3 dC
	20	3,5 cE	7,2 aB	8,1 aA	5,4 bD	6,1 cC
	30	3,5 cC	7,2 aA	7,2 bA	5,2 bB	6,9 bA
	40	2,9 dD	5,0 dC	6,1 dB	5,3 bC	7,0 bA
	50	3,0 dD	5,4 dB	5,8 dB	4,9 bC	7,6 aA
CV%						5,31

*Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas colunas e pelas mesmas letras maiúsculas nas linhas não diferem entre si pelo teste de Skott-Knott a 5% de probabilidade.

Os resultados para *D. magnifica* também foram significativos tanto para os fatores isolados, bem como para a interação entre eles.

Para a interação fitopatógenos em função dos extratos e concentrações de *D. magnifica*, verificou-se que a cumarina isolada diferiu estatisticamente em relação à testemunha para os três isolados de *Fusarium spp.*, o mesmo ocorreu em *D. odorata* (Tabela 5).

Quando observados os extratos que foram capazes de acelerar o crescimento micelial dos fitopatógenos, obtivemos que o extrato das folhas e das sementes de cumaru rosa apresentaram essa ação para *Fusarium sp.* do jerimum e o extrato das cascas para a maioria das concentrações do isolado de *Fusarium sp.* da alface e para todas as concentrações de *C. longíssima* e *S. rolfsii* (pimentão). *S. rolfsii* também foi induzido pelo extrato dos endocarpos (Tabela 5).

Essa ação pode ser explicada em função de vários fatores influenciarem nos princípios ativos das plantas, como fator genético, condições de cultivo, colheita e processamento do material (CASTRO et al., 2001), além dos fitopatógenos estudados serem diferentes.

Quanto as melhores atividades dos extratos, constatou-se que para as folhas, *Fusarium sp.* da alface teve seu menor diâmetro na concentração de 40%, *Fusarium sp.* da couve para a concentração de 20%, sendo que essa também foi efetiva para *S. rolfsii* que não diferiu da concentração de 30%, e todas as concentrações desse extrato foram eficientes para *C. longíssima*, sendo a concentração de 50% a de menor diâmetro médio, representando 30,8% de redução em relação à testemunha e cumarina (Tabela 5).

Para os galhos, as médias obtidas pelos isolados de *C. longíssima* e *S. rolfsii* não diferiram estatisticamente das testemunhas e cumarina, *Fusarium sp.* do jerimum

obteve médias que não diferiram apenas da cumarina. As melhores reduções para esse extrato foram obtidas nas concentrações de 30% e 40% para *Fusarium sp.* da alface e 40% e 50% para *Fusarium sp.* da couve, que não diferiram entre si (Tabela 5).

Para as cascas, *Fusarium sp.* da couve obteve diâmetros médios que não diferiram das testemunhas ou cumarina e *Fusarium sp.* do jerimum também, com exceção para esse último da concentração de 20% que obteve média maior, 5,2 cm (Tabela 5).

O extrato dos endocarpos de cumaru rosa foi mais eficiente na concentração de 40% para os isolados de *Fusarium spp.*, e para *C. longíssima*, as concentrações de 20%, 30% e 40% foram mais eficazes (Tabela 5).

Para as sementes, os diâmetros médios obtidos nas concentrações de *Fusarium sp.* da alface não diferiram dos encontrados para a cumarina isolada, com exceção da concentração de 10%. Essa concentração foi efetiva para *Fusarium sp.* da couve reduzindo diâmetro em 59,5% em relação à testemunha e 56,2% em relação à cumarina. Para *C. longíssima* e *S. rolfsii*, as melhores concentrações foram as de 30% e 40%, respectivamente, sendo 46,1% a redução em relação às testemunhas e cumarina para *C. longíssima* e 18,5% para testemunha e 17,5% para cumarina em *S. rolfsii* (Tabela 5).

Esses resultados demonstram que cuidados durante a colheita como época do ano, hora do dia, estágio de desenvolvimento, escolha da parte botânica e processamento do material devem ser levados em consideração para não influenciar no potencial fungistático ou fungicida das substâncias (GARCIA et al., 2012).

TABELA 5. Atividade antifúngica dos extratos etanólicos de *D. magnifica*, em diferentes concentrações sobre os fitopatógenos avaliados.

Diâmetro Médio das Colônias dos Desafiante (cm)						
Extratos	Concentrações (%)	<i>Cercospora longissima</i> (alface)	<i>Fusarium</i> sp. (alface)	<i>Fusarium</i> sp. (couve)	<i>Fusarium</i> sp. (jerimum)	<i>Sclerotium rolfsii</i> (pimentão)
Testemunha	0,0	3,9 eD	7,5 bB	7,9 aA	4,8 cC	8,1 bA
Cumarina	1µL/mL	3,9 eD	6,9 cC	7,3 bB	4,1 dD	8,0 bA
Folhas	10	3,1 fD	7,4 bB	7,8 aB	5,5 aC	8,3 aA
	20	3,1 fE	7,3 bB	6,4 dC	5,2 bD	8,1 bA
	30	2,9 fD	4,2 fC	8,2 aA	5,5 aB	8,1 bA
	40	3,2 fC	3,1 gC	8,2 aA	5,9 aB	8,3 aA
	50	2,7 fE	4,0 fD	6,7 cB	5,6 aC	8,3 aA
Galhos	10	3,9 eD	6,2 dC	7,4 bB	4,1 dD	8,0 bA
	20	3,8 eD	6,0 dC	7,5 bB	4,1 dD	8,1 bA
	30	3,8 eD	5,7 eC	6,8 cB	3,9 dD	8,1 bA
	40	3,9 eD	5,6 eC	6,6 dB	4,2 dD	7,9 bA
	50	3,8 eD	5,8 dC	6,5 dB	4,0 dD	8,0 bA
Casca	10	5,6 bB	8,2 aA	7,9 aA	5,1 cC	8,3 aA
	20	5,5 bB	8,3 aA	8,2 aA	5,2 bB	8,3 aA
	30	6,1 aC	7,3 bB	7,5 bB	4,2 dD	8,3 aA
	40	5,5 bB	8,2 aA	8,0 aA	4,7 cC	8,3 aA
	50	5,2 cC	7,3 bB	8,1 aA	4,5 dD	8,3 aA
Endocarpos	10	3,4 eC	8,0 aA	8,0 aA	4,2 dB	8,3 aA
	20	3,3 fE	7,1 cC	7,5 bB	4,1 dD	8,3 aA
	30	3,0 fD	6,0 dB	6,4 dB	3,9 dC	8,3 aA
	40	3,2 fC	5,4 eB	5,6 eB	2,7 eD	8,3 aA
	50	3,7 eE	7,1 cC	7,6 bB	4,0 dD	8,3 aA
Sementes	10	2,4 gE	8,3 aA	3,2 hD	4,9 cC	7,7 bB
	20	3,0 fE	6,9 cB	5,1 fD	5,5 aC	7,5 cA
	30	2,1 gD	6,6 cB	6,4 dB	5,0 cC	7,0 dA
	40	4,5 dC	6,9 cA	7,0 cA	5,5 aB	6,6 eA
	50	4,1 eD	6,9 cA	4,5 gC	5,3 bB	7,0 dA
CV%						4,30

*Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas colunas e pelas mesmas letras maiúsculas nas linhas não diferem entre si pelo teste de Skott-Knott a 5% de probabilidade.

CONCLUSÕES

Os maiores rendimentos das extrações de *D. odorata* e *D. magnifica* foram obtidos para as cascas e sementes dos frutos;

A cumarina simples foi isolada e sua presença foi identificada nos extratos das sementes de *D. odorata*, e nas sementes, nos endocarpos e nas cascas de *D. magnifica*;

No que se refere ao controle alternativo de fitopatógenos, verificou-se que a cumarina isolada apresentou melhores resultados frente aos isolados de *Fusarium* spp.;

A concentração de 50% foi a mais efetiva quando avaliados os resultados médios obtidos pelos fitopatógenos;

E as espécies em estudo mostraram-se promissoras quanto à utilização dos seus frutos;

O extrato dos galhos e endocarpos de *D. odorata* foram os que se destacaram nas reduções de crescimento micelial para os isolados de *Fusarium* spp. e para *C. longíssima*;

Fusarium sp. (jerimum) demonstrou maior sensibilidade à ação do extrato dos endocarpos de *D. magnifica*, e *Fusarium* sp. (couve) e *S. rolfsii* (pimentão) obtiveram suas maiores reduções de crescimento micelial quando submetidos ao extrato obtido das sementes dessa espécie.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BENELLI, P. et al. Bioactive extracts of orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck) pomace obtained by SFE and low pressure techniques: mathematical modeling and extract composition. **The Journal of Supercritical Fluids**, v.55, n.1, p.132-141, 2010.

BENTES, M.H. da S.; SERRUYA, H.; ROCHA FILHO, G.N. Análise dos óleos das amêndoas de duas leguminosas. II. Cumaru (*Coumarouna odorata* Aubl.) e olho de boi (*Mucuna altissima*). In: ENCONTRO DE PROFISSIONAIS DE QUÍMICA DA AMAZÔNIA, 1. e 2., 1980 e 1981, Belém e São Luís. **Anais...** Belém: CRQ-6, 1981. p.95-101.

CARVALHO, P.E.R. Cumaru-ferro *Dipteryx odorata*. **Comunicado técnico Embrapa**, n. 225, ISSN 1517-5030, 2009.

CASTRO, H.G. de; FERREIRA, F.A.; SILVA, D.J.H. da; MOSQUIM, P.R. **Contribuição ao estudo das plantas medicinais**: metabólitos secundários. Viçosa, MG, 2001, 101p.

COWAN, M.M. Plant Products as Antimicrobial Agents. **Clinical Microbiology Reviews**, v.12, n.4, p.564-582, 1999.

CROTEAU, R, KUTCHAN, T.M; LEWIS, N.G. Natural Products (Secondary Metabolites). In: BUCHANAN, B; GRUISSEM, W; JONES, R. (Ed.). **Biochemistry & Molecular Biology of Plants**. Rockville: Courier Companies, Inc., 2000. p.1250-318.

EGAN, D.A. et al. The Pharmacology, Metabolism, Analysis, and Applications of coumarin and coumarin-related compounds. **Drug Metabolism Review**, v.22, p.503-529, 1990.

GARCIA, R.A. et al. **Atividade antifúngica de óleo e extratos vegetais sobre *Sclerotinia sclerotiorum***. **Bioscience Journal**, v.28, n.1, p.48-57, 2012.

LIMA, J. de C. et al. Extração supercrítica com utilização de modificadores e caracterização a partir da semente de cumaru (*Dipteryx odorata*). In: XX CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA, 2014, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis, Santa Catarina, 2014.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil**: nativas e exóticas. Nova Odessa: Plantarum, 2002. 512p.

NIST05 - **MS Library and MS Search Program**. v.2. Scientific Instrument Services, Inc. Version SEE REVISION NOTICE, 2005.

OJALA, T. **Biological Screening of Plant Coumarins**. 2001. 62p. Dissertação (Mestrado - Área de Concentração em Farmacologia) - Departamento de Farmacognosia, Universidade do Helsinki, Finlândia.

PESCE, C. **Oleaginosas da Amazônia**. 2. ed., rev. e atual. Belém: Museu Paraense Emílio Goeldi, Núcleo de Estudos Agrários e Desenvolvimento Rural, 2009. 334p.: il. 1. Ed. em 1941.

SAMPAIO, P. de T.B. Cumaru (*Dipteryx odorata*). In: CLAY, J.W.; SAMPAIO, P.T.B.; CLEMENT, C.R. **Biodiversidade amazônica**: exemplos e estratégias de utilização. Manaus: Programa de Desenvolvimento Empresarial e Tecnológico, 2000. p.281-287.

SILVA, T.M. et al. O mercado de amêndoas de *Dipteryx odorata* (Cumaru) no Estado do Pará. **FLORESTA**, v.40, n.3, p.603-614, 2010.

SILVA, F.A.S. **ASSISTAT Versão 7.7 beta**. Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, Paraíba, 2013. Disponível em: <<http://www.assistat.com>> (Atualizado: 11 nov. 2013).

SINGH, B.; SAHU, P.M.; SHARMA, M.K. Anti-inflamatórias e antimicrobianas atividades de triterpenóides de *Stribolanthes callosus* Nees. **Fitoterápico**, v.9, p.355-359, 2002.

SOUZA, V.C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática**: guia ilustrado para identificação de famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG III. 2. ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2012. 768p.

TAUBE Jr., P.S.; CASTRO, K.C.F.; BARATA, L.E.S. **Experimentos de Química**. Santarém: UFOPA, 2014. 242p.

THE PLANT LIST. **A working list of all plant species**. 2010. Disponível em: <<http://www.theplantlist.org>>. Acesso em: 30 nov. 2016.

WAGNER, H.; BLADT, S. **Plant drug analysis**: a thin layer chromatography atlas. 2. ed. Berlin: Springer, 2001. 384p.

YAMAI, H.; SAWADA, N.; YOSHIDA, K.; SEIKE, J.; TAKIZAWA, H.; KENZAKI, K. et al. Triterpenos aumentar os efeitos inibidores das drogas anti-cancro no crescimento de células de carcinoma esofágico humanos *in vitro* e suprimir a metástase experimental *in vivo*. **International Journal of Cancer**, v. 125, p.952-960, 2009.

SHARMA, K.; ZAFAR, R. Ocorrência de taraxerol e taraxasterol em plantas medicinais. **Farmacognosia Avaliações**, v.9, n.17, p.19-23, 2015.

ZOGHBI, M. das G.B.; ANDRADE, E.H. de; MAIA, J.G.S. **Aroma de flores da Amazônia**. Belém: Museu Paraense Emilio Goeldi, 2000. 240p.

CAPÍTULO II

Determinação, *in vitro*, da atividade antibacteriana de extratos etanólicos de *Dipteryx odorata* (Aubl.) Willd. e *Dipteryx magnifica* (Ducke) Ducke ²

Bruna Cristine Martins de SOUSA
Aline Aparecida München KASPER
Denise Castro LUSTOSA
Santana Pinto de CASTRO
Camila DELERMELINA
Marta Cristina Teixeira DUARTE
Adilson SARTORATTO
Lauro Euclides Soares BARATA

² Este artigo será submetido à Revista Brasileira de Plantas Mediciniais. <http://www.scielo.br/revistas/rbpm/pinstruc.htm>. ISSN 15160572, *Versão impressa* e ISSN 1983084X, *Versão online*.

Determinação, *in vitro*, da atividade antibacteriana de extratos etanólicos de *Dipteryx odorata* (Aubl.) Willd. e *Dipteryx magnifica* (Ducke) Ducke

SOUSA, B.C.M.^{1*}; KASPER, A.A.M.¹; LUSTOSA, D.C.²; CASTRO, S.P.²; DELERMELINA, C.³; DUARTE, M.C.T.³; SARTORATTO, A.⁴; BARATA, L.E.S.⁵

¹Universidade Federal do Oeste do Pará (UFOPA)/Programa de Pós-graduação em Recursos Naturais da Amazônia (PPGRNA). Avenida Mendonça Furtado, nº 2440. CEP 68040-050. Santarém, PA. bruna0909martins@hotmail.com*.

²Universidade Federal do Oeste do Pará (UFOPA)/Instituto de Biodiversidade e Florestas (IBEF), Instituto de Saúde Coletiva (ISCO). Avenida Vera Paz, s/n. Bairro Salé. CEP 68040-040. Santarém, PA.

³Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP)/Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas (CPQBA), Divisão de Microbiologia.

⁴Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP)/Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas (CPQBA), Divisão de Química Orgânica e Farmacêutica.

⁵Orientador e Assessor de Relações Nacionais e Internacionais, ARNI, UFOPA, Santarém-PA.

RESUMO: *Dipteryx odorata* é uma árvore frondosa que pode ultrapassar 30 m de altura em mata primária; suas sementes, conhecidas na Europa por *fava tonka*, há mais um século são comercializadas por extrativistas da Amazônia, a principal região produtora. *Dipteryx magnifica*, conhecida popularmente como cumaru rosa, carece de estudos quanto a sua composição química e atividades biológicas. Neste trabalho, objetivou-se avaliar o efeito antibacteriano de extratos etanólicos das folhas, galhos e frutos (cascas, endocarpos e sementes) das espécies descritas sobre patógenos humanos. Os extratos foram obtidos utilizando aparelho de Soxhlet e tendo como solvente etanol P.A. a 96%. Cada procedimento de extração durou em média 8 h. O perfil químico dos extratos foi analisado por Cromatografia em Camada Delgada (CCD). O ensaio microbiológico dos extratos brutos por CIM (Concentração Inibitória Mínima) foi realizado segundo as recomendações do protocolo M7-A6 para bactérias. Os microrganismos utilizados no ensaio foram: *Burkholderia cepacia* (ATCC 25416); *Escherichia coli* (ATCC 11775); *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 13388) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538). Os extratos foram pesados e em seguida, cada amostra foi diluída em meio de cultura Mueller-Hinton, para uma concentração de 8 mg.mL⁻¹, contendo 10 % de DMSO (dimetilsulfóxido). As concentrações avaliadas foram: 2000; 1000; 500; 250; 125; 62,5; 31,25; 15,62; 7,81; 3,91 e 1,95 µg.mL⁻¹ e como controle, o antibiótico cloranfenicol - solução 0,5 mg.mL⁻¹. As bactérias contidas nas microplacas foram incubadas em estufa a 36±1°C por 24 h e após esse período foram depositados em todos os poços 50 µL de solução 0,1 % de cloreto de 2,3,5-trifenil-tetrazólio (CTT) e re-incubadas por um período de 3 h. Verificou-se que os extratos das cascas e endocarpos das espécies em estudo apresentaram efeito bacteriostático para *E. coli* na maior concentração testada. E *Staphylococcus aureus* também foi sensível à ação do extrato das cascas de *D. magnifica*. Os extratos obtidos dos frutos das espécies destacaram-se quando comparados com as outras partes das plantas, e serão fracionados, obtidos os rendimentos e analisados quimicamente por CCD e CG-EM. Testes de CIM das frações também serão realizados frente às bactérias sensibilizadas.

Palavras-chave: cumaru, atividade antibacteriana, extratos etanólicos.

ABSTRACT: Determination, *in vitro*, of the antibacterial activity of ethanolic extracts of *Dipteryx odorata* (Aubl.) Willd. and *Dipteryx magnifica* (Ducke) Ducke. *Dipteryx odorata* is a leafy tree that can exceed 30 m high in primary forest; its seeds, known in Europe by *fava tonka*, have been marketed for more than a century by extractivists from the Amazon, the main producing region. *Dipteryx magnifica*, popularly known as cumaru rosa, lacks studies on its chemical composition and biological activities. The objective of this work was to evaluate the antibacterial effect of ethanolic extracts of leaves, branches and fruits (bark, endocarp and seeds) of the described species on human pathogens. The extracts were obtained using Soxhlet apparatus and having as solvent 96% P.A. ethanol. Each extraction procedure lasted on average 8 h. The chemical profile of the extracts was analyzed by Thin Layer Chromatography (TLC). Microbiological testing of crude extracts by MIC (Minimum Inhibitory Concentration) was performed according to the recommendations of the M7-A6 protocol for bacteria. The microorganisms used in the assay were: *Burkholderia cepacia* (ATCC 25416); *Escherichia coli* (ATCC 11775); *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 13388) and *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538). The extracts were weighed and then each sample was diluted in Mueller-Hinton culture medium to a concentration of 8 mg.mL⁻¹, containing 10% DMSO (dimethylsulfoxide). The concentrations evaluated were: 2000; 1000; 500; 250; 125; 62.5; 31.25; 15.62; 7.81; 3.91 and 1.95 µg.mL⁻¹ and as a control, the antibiotic chloramphenicol - 0.5 mg.mL⁻¹ solution. The bacteria contained in the microplates were incubated in a greenhouse at 36±1°C for 24 h and after that time 50 µL of 0.1% solution of 2,3,5-triphenyl-tetrazolium chloride (CTT) And re-incubated for a period of 3 h. It was verified that the extracts of the shells and endocarps of the species under study presented bacteriostatic effect for *E. coli* in the highest concentration tested. *Staphylococcus aureus* was also sensitive to the action of *D. magnifica* bark extract. The extracts obtained from fruits of the species stood out when compared to the other parts of the plants, and will be fractionated, the yields obtained and chemically analyzed by TLC and CG-MS. MIC tests of the fractions will also be performed against the sensitized bacteria.

Keywords: cumaru, antibacterial activity, ethanolic extracts.

INTRODUÇÃO

Dipteryx odorata conhecida popularmente pelo nome de “cumaru”, possui diversas designações como: cumaru-amarelo, cumaru-roxo, cumaru-do-Amazonas, kumbaru, paru, muirapaye (Brasil); cumara, cuamara (Guiana); sarrapia (Colômbia); guayae, faux, fevetonka, faux gaiac (Guiana Francesa); angustura, serrapia, yape (Venezuela); ebo (Costa Rica, Panamá e Honduras) (SAMPAIO, 1993).

O nome genérico *Dipteryx* deve-se ao fato de a flor apresentar duas asas; o epíteto específico *odorata* é devido ao cheiro forte de cumarina e, Aubl. e Willd. referem-se aos identificadores da espécie Jean Baptiste Fusée Aublet (1720-1778) e Carl Ludwig von Willdenow (1765-1812), respectivamente (CARVALHO, 2009).

Essa espécie tem como sinônimos botânicos: *Coumarouna odorata* Aubl., *Coumarouna tetraphylla* (Benth.) Aubl. e *Dipteryx tetraphylla* Benth. (THE PLANT LIST, 2010). E seus frutos destacam-se quanto as potencialidades comerciais e fitoterápicas. As sementes possuem um perfume peculiar que lembra o da baunilha e o *foin coupé* e, historicamente, foram bastante procuradas para a extração de cumarina (principal composto ativo) para flavorizar tabacos de cachimbos (OHANA, 1998; PESCE, 2009).

As cumarinas têm como representante mais simples a 1,2-benzopirona, mas apresentam uma diversidade estrutural significativa que pode influenciar a sua atividade biológica (HOULT & PAYÁ, 1996). Atualmente, a cumarina é largamente utilizada na indústria de perfumaria e cosméticos como fixadora de essências.

Dipteryx magnifica, o cumaru rosa, carece de estudos que detalhem sua descrição botânica específica, composição química e atividades biológicas, pois estas informações não foram encontradas na literatura consultada. Porém, sabe-se que essa espécie é nativa do Brasil (Amazonas e Pará) e Venezuela, e tem como sinônimos botânicos, *Coumarouna magnifica* Ducke e *Taralea casiquiarensis* Pittier (THE PLANT LIST, 2010).

Nesse sentido, pesquisas científicas com plantas medicinais tem destacado estudos fitoquímicos guiados por bioensaios, sejam *in vivo* ou *in vitro* (CALIXTO & YUNES, 2001). E na busca por substâncias que apresentem atividade biológica, esse estudo teve por objetivo caracterizar o perfil químico dos extratos etanólicos de *D.*

odorata e *D. magnifica* e avaliar suas atividades sobre bactérias patogênicas à humanos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Amostras vegetais de *Dipteryx odorata* (Aubl.) Willd. e *Dipteryx magnifica* (Ducke) Ducke (Fabaceae) foram coletadas na unidade Tapajós, da Universidade Federal do Oeste do Pará (UFOPA), município de Santarém, PA, em fevereiro e julho de 2015, (folhas/galhos e, frutos verdes, respectivamente), sob as coordenadas: *D. odorata* - 2°25'11" S, 54°44'29" W. Altitude: 18 m e, *D. magnifica* - 2°25'11" S, 54°44'29" W. Altitude: 18 m.

Ramos e frutos frescos foram levados ao Laboratório de Sementes Florestais (LSF), da UFOPA, para processamento, análise morfológica e montagem de prensas para exsiccatas. Os espécimes testemunhos encontram-se depositados no Herbário da Universidade Federal do Oeste do Pará, sob os números de tombo: HSTM 000556 (*D. odorata*) e HSTM 000557 (*D. magnifica*).

Para obtenção dos extratos das folhas, galhos e frutos, os materiais foram pesados, acondicionados, separadamente, em sacolas de papel ou em bandejas (frutos, separados em cascas = epicarpo + mesocarpo; endocarpos e sementes) e, colocados em estufa a 45°C, com circulação forçada de ar por 120 h. Após esse período, foram novamente pesados, para obtenção da massa seca e, triturados.

As extrações etanólicas das folhas, galhos e frutos foram realizadas no Laboratório de Pesquisa & Desenvolvimento de Produtos Naturais Bioativos (P&DBIO), da UFOPA, segundo metodologia adaptada de Taube Jr. et al. (2014).

Para obtenção dos extratos brutos, os procedimentos ocorreram em triplicata utilizando aparelho de Soxhlet e tendo como solvente etanol P.A a 96 %. Para folhas, galhos e endocarpos foram pesados 40 g, para cascas 22 g e para sementes 8 g. O período total das extrações foi de 8 h para cada procedimento.

As soluções etanólicas obtidas após extração foram evaporadas em evaporador rotativo para a eliminação do solvente e obtenção dos extratos. Estes foram armazenados em recipientes de vidro esterilizados, passaram por um processo final de secagem em dessecador por 24 h e foram pesados para obtenção dos rendimentos.

A averiguação do perfil químico dos extratos brutos foi realizada na Divisão de Química Orgânica e Farmacêutica, no Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas (CPQBA), da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).

Para realização da análise por Cromatografia em Camada Delgada (CCD) foram utilizadas placas de alumínio (7,5 x 10 cm) e sílica 60 com indicador fluorescente em espessura da camada de 0,20 mm. A cada amostra pesada (20 mg), foi adicionado 1 mL de álcool etílico, homogeneizado, e aplicadas alíquotas de 10 µL de seus volumes sobre a placa cromatográfica, à distâncias de 0,5 cm cada. O padrão de cumarina (1,2-benzopirona) foi pesado à 10 mg, adicionado 1 mL de álcool metílico e aplicada alíquotas de 10 µL de seu volume sobre as placas cromatográficas como descrito em Wagner & Bladt (2001).

Foram realizados três sistemas para a verificação das principais classes de compostos nas amostras de ambas espécies. O primeiro sistema foi de placas eluídas utilizando uma mistura contendo diclorometano: hexano (80:20) e, o segundo sistema foi de placas utilizando uma mistura de solventes contendo hexano: acetato de etila (60:40), posteriormente, essas placas foram secas e reveladas com anisaldeído.

O terceiro sistema foi de placas eluidas utilizando uma mistura de solventes contendo acetato de etila: ácido fórmico: ácido acético: água (100:11:11:26), até a frente do solvente atingir 9,5 cm e, posteriormente, foram secas e reveladas com uma solução metanólica de 1 % de Np. 2-aminoetil-difenil-borinato (p/v), revelador para flavonoides descrito em Wagner e Bladt (2001).

Foram calculados os Fatores de Retenção (Rf), quando possível, pela fórmula: $Rf = h/H$. Onde: h = Altura da amostra a partir do ponto de aplicação. H = Altura máxima da fase móvel (TAUBE Jr. et al., 2014).

O ensaio microbiológico dos extratos brutos foi realizado na Divisão de Microbiologia, no Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas (CPQBA), da Universidade Estadual de Campinas (Unicamp), segundo as recomendações do protocolo M7-A6 para bactérias (NCCLS, 2003).

Os microrganismos utilizados no ensaio foram: *Burkholderia cepacia* (ATCC 25416); *Escherichia coli* (ATCC 11775); *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 13388) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538).

Foram pesados 50 mg de todos os extratos obtidos das duas espécies em estudo. Em seguida, cada amostra foi diluída em meio de cultura Mueller-Hinton, para uma concentração de 8 mg.mL⁻¹, contendo 10 % de DMSO (dimetilsulfóxido). Esta concentração correspondeu a 2 mg.mL⁻¹ no primeiro compartimento da microplaca de Elisa.

Para o preparo dos inóculos, culturas bacterianas com 24 h foram transferidas para tubos de ensaio contendo 4 mL de solução salina (0,85%) estéril e homogeneizadas em vortex. Foram retiradas alíquotas de 2 mL desta suspensão para leitura em espectrofotômetro (Genesys 10S UV - VIS), comparando a turbidez com a escala Mc Farland (0,5), equivalente a uma absorbância de 0,08 a 0,10 a 625 nm e

$1,5 \times 10^8$ UFC.mL⁻¹. Aos 2 mL restantes, foram adicionadas as mesmas quantidades de solução salina utilizada no ajuste em espectrofotômetro.

A partir das soluções padronizadas, procedeu-se a diluição seriada de forma a se obter a concentração de $1,5 \times 10^6$ UFC.mL⁻¹, na qual para cada 1mL, adicionou-se 0,5 mL de meio de cultura (Caldo Mueller-Hinton), estabelecendo-se uma concentração de 1×10^6 UFC.mL⁻¹ ou $1 \times 10^5/100$ µL ao final do processo. Nos poços das microplacas esta concentração resultou em 5×10^5 UFC.mL⁻¹.

Após diluição dos extratos e padronização dos inóculos, preparou-se a microplaca estéril depositando inicialmente 150 µL de Caldo Mueller-Hinton nos 8 orifícios ou poços da coluna 1, seguido de 100 µL de Caldo Mueller-Hinton nos 88 orifícios ou poços (8 linhas A-H/2-12 colunas). Em seguida, na primeira coluna foram depositados, em duplicata, 50 µL dos extratos diluídos (controle de esterilidade das amostras) e, na segunda coluna depositados 100 µL destes extratos. O conteúdo dos orifícios da segunda coluna foi homogeneizado com o meio e 100 µL transferidos para os orifícios da coluna seguinte, repetindo-se o procedimento até a coluna 12, sendo que os 100 µL finais foram desprezados.

As concentrações avaliadas foram: 2000; 1000; 500; 250; 125; 62,5; 31,25; 15,62; 7,81; 3,91 e 1,95 µg.mL⁻¹ e como controle, o antibiótico cloranfenicol - solução 0,5 mg.mL⁻¹. Posteriormente, da coluna 2 a 12 foram adicionados 100 µL do inóculo padronizado, sendo as placas seladas com *parafilm*.

As bactérias contidas nas microplacas foram incubadas em estufa a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 h e após esse período foram depositados em todos os poços 50 µL de solução 0,1 % de cloreto de 2,3,5-trifenil-tetrazólio (CTT) e re-incubadas por um período de 3 h.

A CIM foi definida como a menor concentração das amostras capaz de impedir o aparecimento de coloração vermelha, conferida ao meio quando as células apresentam atividade respiratória. Após o teste de CIM foi realizado o teste de Concentração Bactericida Mínima (CBM), determinando a ação bactericida ou bacteriostática dos extratos.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Quanto a caracterização química dos extratos, verificou-se para o primeiro sistema, a presença da cumarina simples em azul, nas sementes de *D. odorata* (Fator de Retenção de 0,69) e, nas cascas, nos endocarpos e nas sementes de *D. magnifica* (Fator de Retenção de 0,80), comprimento de onda de 254 nm (Figuras 1A e 1B).

Quando relevadas com anisaldeído, verificou-se a presença de manchas de coloração lilás e avermelhada nas cascas e endocarpos de *D. odorata*, sugerindo a presença de terpenóides. Também foram observadas em ambas espécies, a presença de manchas de coloração azul, com maiores intensidades nas folhas, galhos e cascas, estas podem representar a presença dos ácidos graxos nas amostras (Figuras 1E e 1F).

Lorenzi & Matos (2002), inferem que o cumaru contém uma mistura de álcoois, compostos carbonílicos e hidrocarbonetos, dos quais um é o 2-undecilfurano, que pode ser usado como indicador da presença de cumaru em produtos alimentícios.

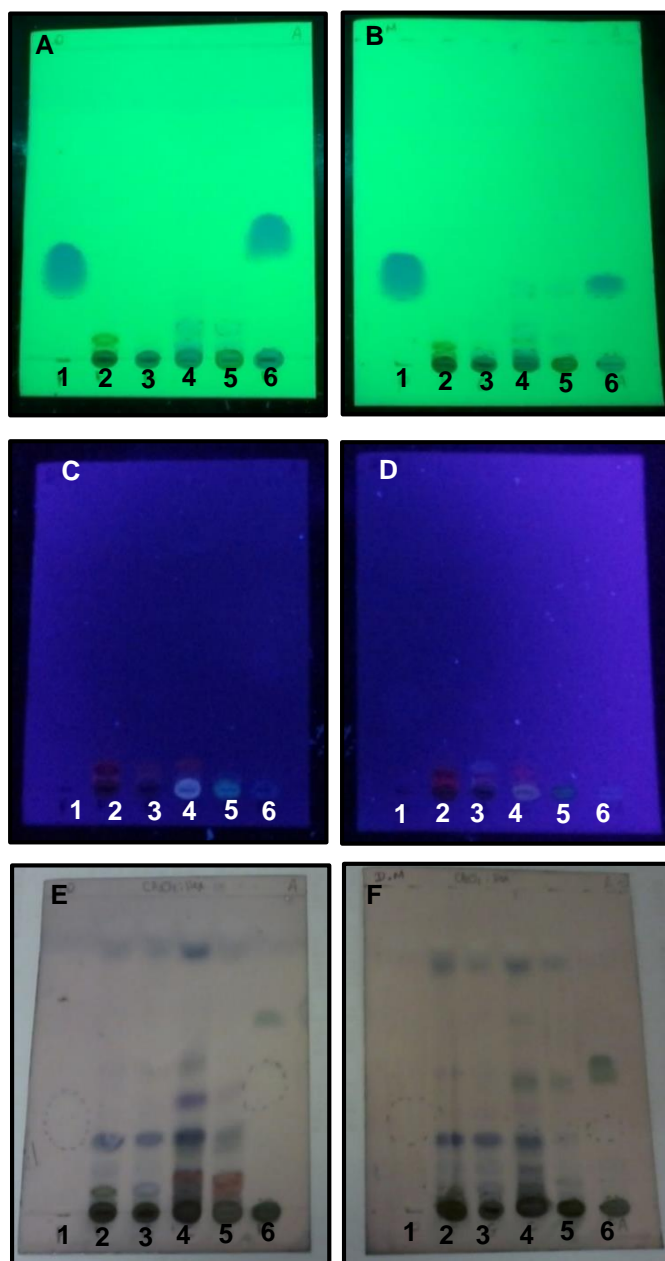


FIGURA 1: Placas de CCD eluídas em diclorometano: hexano (80:20). **A e B.** Cumaru (*Dipteryx odorata*) e cumaru rosa (*Dipteryx Magnifica*), visualizadas no comprimento de onda de 254 nm. **C e D.** Cumaru (*Dipteryx odorata*) e cumaru rosa (*Dipteryx Magnifica*), visualizadas no comprimento de onda de 365 nm. **E e F.** Cumaru (*Dipteryx odorata*) e cumaru rosa (*Dipteryx Magnifica*), reveladas com anisaldeído. 1 = Padrão (1,2-benzopirona); 2 = Extrato das folhas; 3 = Extrato dos galhos; 4 = Extrato das cascas; 5 = Extrato dos endocarpos; 6 = Extrato das sementes. **FOTO:** Bruna Sousa.

As placas cromatográficas do segundo sistema confirmaram a presença da 1,2-benzopirona nas sementes das espécies (Fator de Retenção para *D. odorata* de 0,64 e para *D. magnifica* de 0,62) (Figuras 2A e 2B). E após a revelação com anisaldeído,

foram confirmadas a presença de terpenóides e ácidos graxos. Também foram observadas manchas em amarelo mais intensificadas nos extratos das folhas, e mais discretas nos extratos dos galhos e endocarpos das espécies, essa coloração é um indicativo da presença de flavonoides (Figuras 2E e 2F).

Segundo Di Stasi & Hiruma-Lima (2002), do cumaru foram isolados os compostos: benzopiranoídes (umbeliferona e benzopiranoína), flavonoides (dipterixina, odoratina, retusina), isoflavonoides e terpenoides (19-vouacapanol, ácido voucapenico e voucapana), além do ácido melilótico, o melilotato de etila, cumarinas e constituintes voláteis, corroborando com as classes de compostos identificadas por CCD.

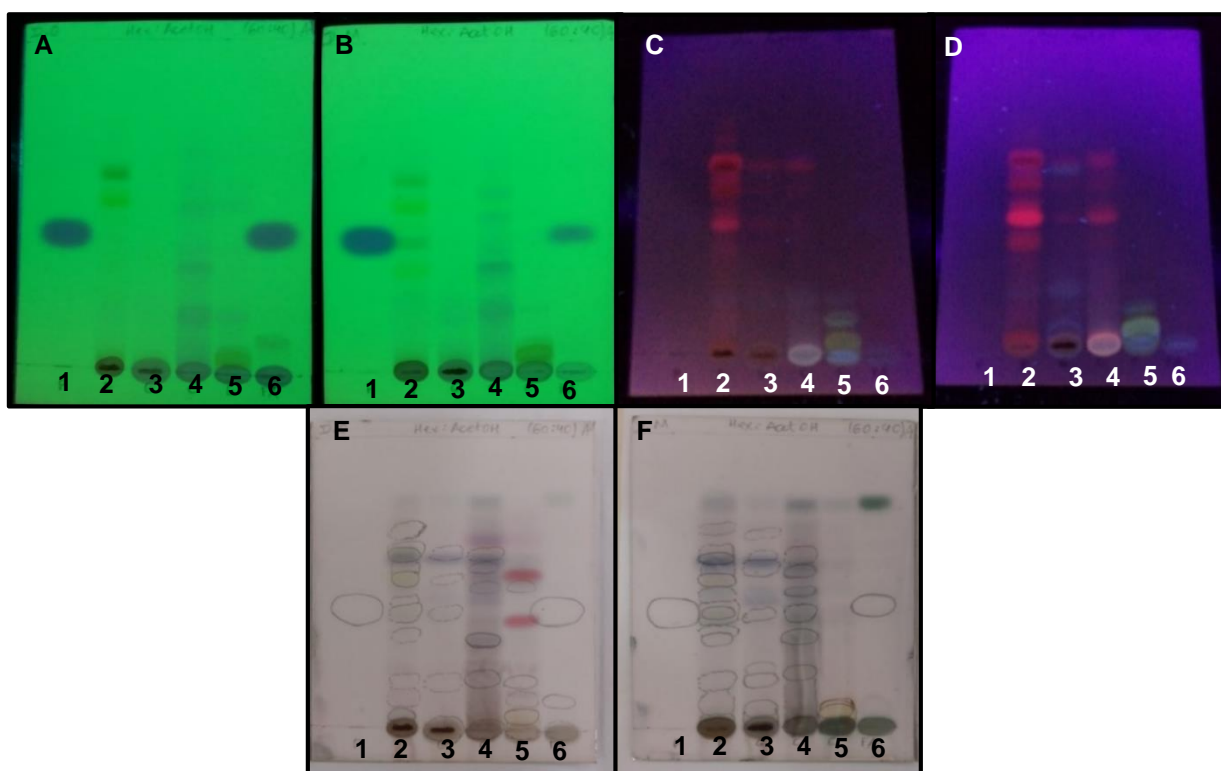


FIGURA 2: Placas de CCD eluídas em hexano: acetato de etila (60:40). **A e B.** Cumaru (*Dipteryx odorata*) e cumaru rosa (*Dipteryx Magnifica*), visualizadas no comprimento de onda de 254 nm. **C e D.** Cumaru (*Dipteryx odorata*) e cumaru rosa (*Dipteryx Magnifica*), visualizadas no comprimento de onda de 365 nm. **E e F.** Cumaru (*Dipteryx odorata*) e cumaru rosa (*Dipteryx Magnifica*), reveladas com anisaldeído. 1 = Padrão (1,2-benzopirona); 2 = Extrato das folhas; 3 = Extrato dos galhos; 4 = Extrato das cascas; 5 = Extrato dos endocarpos; 6 = Extrato das sementes. **FOTO:** Bruna Sousa.

O terceiro sistema demonstrou muita afinidade com as substâncias presentes nas partes das plantas, arrastando-as até a linha de chegada da fase móvel. Ainda

assim, pode-se verificar a presença da cumarina simples nas sementes de ambas as espécies (Figuras 3A e 3B).

Após reveladas, as placas confirmaram a presença de flavonoides para os extratos das folhas, galhos e endocarpos das espécies, aplicações 2, 3 e 5 (Figuras 3C e 3D), além de indicar a presença de cumarina glicosídeos, principalmente em *D. odorata* (coloração azul esverdeada).

Ojala (2001), infere que as cumarinas são sintetizadas, principalmente, nas folhas, mas ocorrem em níveis mais altos como nas frutas, seguindo pelas raízes e caules. E que mudanças sazonais e condições ambientais podem afetar a ocorrência das mesmas em várias partes da planta.

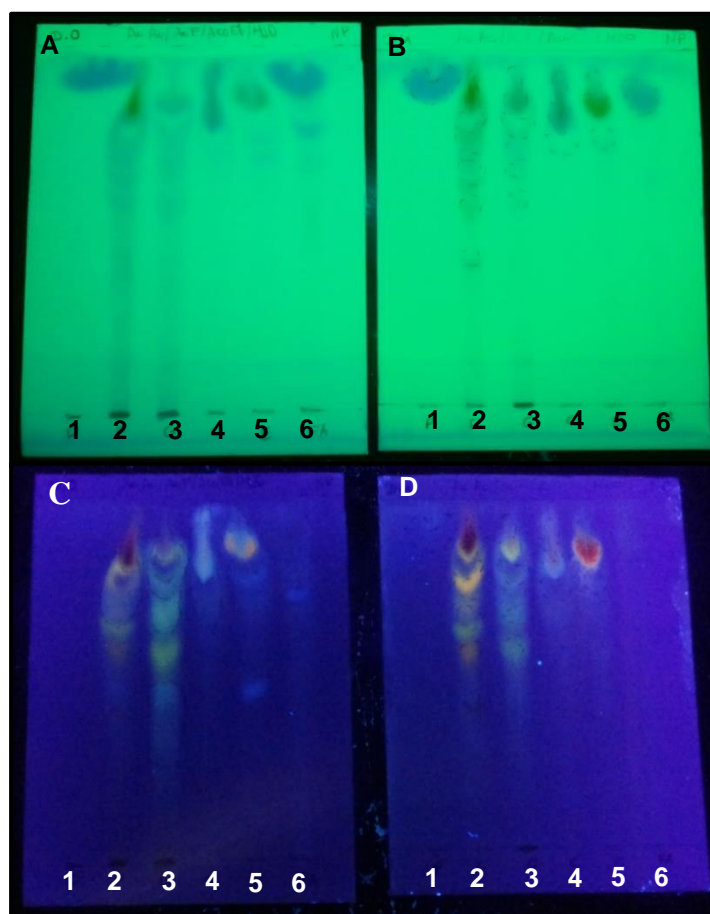


FIGURA 3: Placas de CCD eluídas em mistura de acetato de etila: ácido fórmico: ácido acético: água (100:11:11:26). **A e B.** Cumarina (*Dipteryx odorata*) e cumarina rosa (*Dipteryx Magnifica*), visualizadas no comprimento de onda de 254 nm. **C e D.** Cumarina (*Dipteryx odorata*) e cumarina rosa (*Dipteryx Magnifica*), reveladas e visualizada no comprimento de onda de 365 nm. 1 = Padrão (1,2-benzopirona); 2 = Extrato das folhas; 3 = Extrato dos galhos; 4 = Extrato das cascas; 5 = Extrato dos endocarpos; 6 = Extrato das sementes. **FOTO:** Bruna Sousa.

<i>Dipteryx magnifica</i>	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM
Folhas	*	*	*	*	*	*	*	*
Galhos	*	*	*	*	*	*	*	*
Cascas	*	*	2000	*	*	*	2000	*
Endocarpos	*	*	2000	*	*	*	*	*
Sementes	*	*	*	*	*	*	*	*

*Concentração Inibitória Mínima >2000.

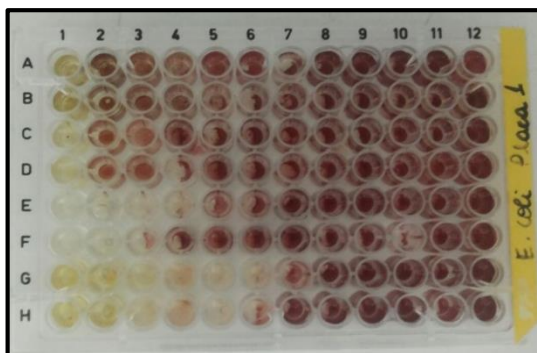


FIGURA 4: Placa de Elisa para o crescimento de *E. coli* sob ação dos extratos das cascas (E e F) e endocarpos (G e H) de cumaru (*Dipteryx odorata*).

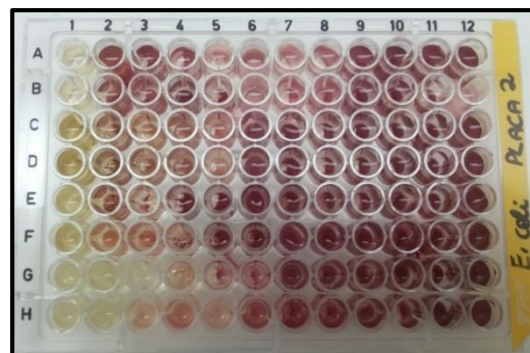


FIGURA 5: Placa de Elisa para o crescimento de *E. coli* sob ação do extrato das cascas (G e H) de cumaru rosa (*Dipteryx magnifica*).

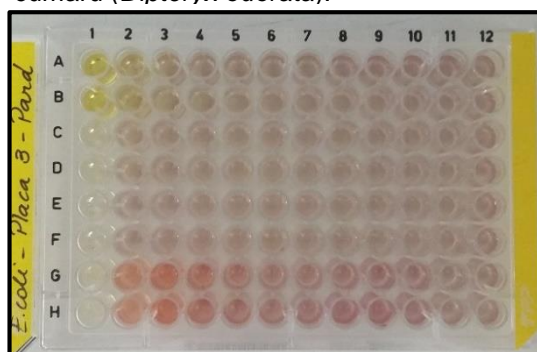


FIGURA 6: Placa de Elisa para o crescimento de *E. coli* sob ação do extrato dos endocarpos (A e B) de cumaru rosa (*Dipteryx magnifica*).

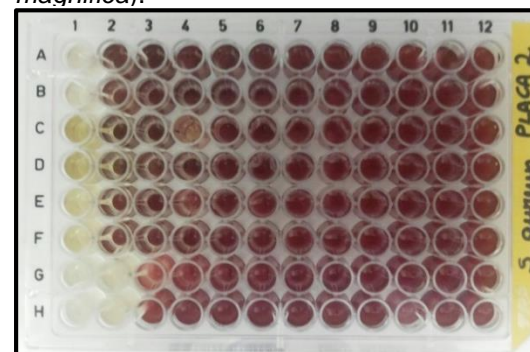


FIGURA 7: Placa de Elisa para o crescimento de *S. aureus* sob ação do extrato das cascas (G e H) de cumaru rosa (*Dipteryx magnifica*).

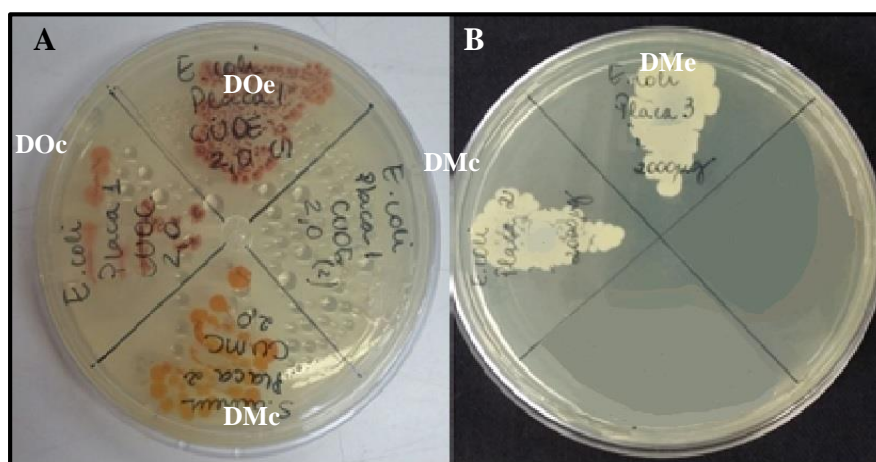


FIGURA 8: Teste de Concentração Bactericida Mínima (CBM). **A.** Crescimento de *E. coli* sob ação da concentração de 2000 µg.mL⁻¹, dos extratos das cascas (DOc) e endocarpos (DOe) de cumaru (*Dipteryx odorata*), e crescimento de *S. aureus* sob ação da concentração de 2000 µg.mL⁻¹, do extrato das cascas (DMc) de cumaru rosa (*Dipteryx magnifica*). **B.** Crescimento de *E. coli* sob ação da concentração de 2000 µg.mL⁻¹, dos extratos das cascas (DMc) e endocarpos (DMe) de cumaru rosa (*Dipteryx magnifica*). **FOTO:** Camila Delarmelina.

CONCLUSÕES

Verificou-se a presença da cumarina simples nos extratos das sementes de *D. odorata*, e nas cascas, endocarpos e sementes de *D. magnifica*;

Os extratos das cascas e endocarpos de *D. odorata* apresentaram maior indicativo de terpenóides;

Ácidos graxos encontram-se presentes em ambas espécies, principalmente nas folhas, galhos e cascas;

Observa-se a presença de flavonoides nas folhas, galhos e endocarpos das espécies;

Os extratos obtidos dos frutos das espécies destacaram-se quando comparados com as outras partes das plantas;

Os extratos de *D. odorata* e *D. magnifica*, obtidos das folhas, galhos e sementes não apresentaram efeito bacteriostático ou bactericida para os patógenos avaliados;

E. coli, na maior concentração testada, foi sensibilizada pelos extratos das cascas e endocarpos das espécies apresentando efeito bacteriostático;

Staphylococcus aureus também foi sensível à ação do extrato das cascas de *D. magnifica*, na concentração de 2,0 mg.mL⁻¹.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMARAL R.R. DO, ARCENIO NETO, F., CARVALHO, E.S., TEIXEIRA, L.A., ARAÚJO, G.L. DE, SHARAPIN, N., et al. Avaliação da atividade IMAO e antibacteriana de extratos de *Mikania glomerata* Sprengel. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.13, n.1, p.24-27, 2003.

CALIXTO, J.B.; YUNES, R.A. (Orgs.). **Plantas Medicinais**: sob a ótica da química medicinal moderna. Chapecó: Argos, 2001. 713p.

CARVALHO, P.E.R. Cumaru-ferro *Dipteryx odorata*. **Comunicado técnico Embrapa**, n. 225, ISSN 1517-5030, 2009.

DI STASI, L.C.; HIRUMA-LIMA, C.A. **Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica**. 2.ed. São Paulo: UNESP, 2002. 604p.

DUARTE, M.C.T., LEME, E.E., DELARMELENA, C., SOARES, A.A., FIGUEIRA, G.M., SARTORATTO, A. Activity of essential oils from Brazilian medicinal plants on *Escherichia coli*. **Journal of Ethnopharmacology**, v.111, n.2, p.197-201, 2007.

HOLETZ, F.B., PESSINI, G.L., SANCHES, N.R., CORTEZ, D.A., NAKAMURA, C.V., FILHO, B.P. Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.97, n.7, p.1027-1031, 2002.

HOULT, J. R; PAYÁ, M. Pharmacological and biochemical actions of simple coumarins: natural products with therapeutic potential. **General Pharmacology**, v.27, n.4, p.13-22, 1996.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Plantarum, 2002. 512p.

NCCLS. **Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; approved standard**-Sixth Edition. NCCLS document M7-A6 (ISBN 1-56238-486-4). NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 United States of America, 2003.

OHANA, D.T.; **Anatomia de sementes e plântulas de *Dipteryx odorata* (Aubl.) Will. (Fabacea), como contribuição ao estudo farmacognóstico de plantas da região amazônica**. 1998. Dissertação (Pós-graduação em Botânica) - Instituto de Pesquisas da Amazônia - INPA/Universidade do Amazonas - UA, Manaus, Amazonas.

OJALA, T. **Biological Screening of Plant Coumarins**. 2001. 62p. Dissertação (Mestrado - Área de Concentração em Farmacologia) - Departamento de Farmacognosia, Universidade do Helsinki, Finlândia.

PESCE, C. **Oleaginosas da Amazônia**. 2. ed., rev. e atual. Belém: Museu Paraense Emílio Goeldi, Núcleo de Estudos Agrários e Desenvolvimento Rural, 2009. 334p.: il. 1. Ed. em 1941.

SAMPAIO, P. de T.B. Cumaru (*Dipteryx odorata*, Leg. Papilionideae). In: CLAY, J.W.; CLEMENT, C.R. **Selected species and strategies to enhance income generation from Amazonian Forests**. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy, May 1993. p.196-201. Disponível em: <<http://www.fao.org/3/a-v0784e.pdf>>. Acesso em: 02 Jan. 2016.

SOUZA, S. M. **Atividade antibacteriana de cumarinas naturais e derivados**. 2005. 94p. Dissertação (Pós-Graduação em Biotecnologia) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Santa Catarina.

TAUBE Jr., P.S.; CASTRO, K.C.F.; BARATA, L.E.S. **Experimentos de Química**. Santarém: UFOPA, 2014. 242p.

THE PLANT LIST. **A working list of all plant species**. 2010. Disponível em: <<http://www.theplantlist.org>>. Acesso em: 30 nov. 2016.

WAGNER, H.; BLADT, S. **Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas**. 2. ed. Berlin: Springer, 2001. 384p.

3. CONCLUSÕES

Os maiores rendimentos das extrações de *D. odorata* e *D. magnifica* foram obtidos para as cascas e sementes dos frutos;

A cumarina simples foi isolada e sua presença foi identificada nos extratos das sementes de *D. odorata*, e nas sementes, nos endocarpos e nas cascas de *D. magnifica*;

Por Cromatografia em Camada Delgada (CCD), verificou-se que os extratos das cascas e endocarpos de *D. odorata* apresentaram maior indicativo de terpenóides;

Ácidos graxos encontram-se presentes em ambas espécies, principalmente nas folhas, galhos e cascas;

E observa-se a presença de flavonoides nas folhas, galhos e endocarpos das espécies;

Por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massa (CG-EM), identificou-se nas folhas de *D. magnifica*, o taraxasterol. E essa substância também foi encontrada nos galhos de ambas espécies;

Nos extratos das cascas de *D. odorata* e *D. magnifica*, dois constituintes foram similares, o espatulenol e o phenanthro[3,2]furan-4-methanol-1,2,3,4,4a,5,6,6a,7,11,11a,11b, dodecahydro-4,7,11-trimethyl;

Nos endocarpos *D. odorata* foram identificados compostos mais variados, enquanto que para o extrato de *D. magnifica* foi comprovada a presença da cumarina simples;

Além da 1,2-benzopirona, o extrato das sementes de *D. magnifica* apresentou a 3,4-Dihidrocumarina;

Nas atividades biológicas, os extratos obtidos dos frutos das espécies destacaram-se quando comparados com as outras partes das plantas estudadas;

No que se refere ao controle alternativo de fitopatógenos, verificou-se que a cumarina isolada apresentou melhores resultados frente aos isolados de *Fusarium* spp.;

A concentração de 50% foi a mais efetiva quando avaliados os resultados médios obtidos pelos fitopatógenos;

O extrato dos galhos e endocarpos de *D. odorata* foram os que se destacaram nas reduções de crescimento micelial para os isolados de *Fusarium* spp. e para *C. longíssima*;

S. rolfsii foi o fitopatógeno mais resistente à ação dos extratos de *D. odorata*, reduzindo seu diâmetro apenas para os extratos das folhas e sementes;

Para *D. magnifica*, o extrato mais eficiente na inibição do crescimento micelial do *Fusarium* sp. isolado da alface e *Cercospora longíssima* foi o obtido das folhas;

Fusarium sp. (jerimum) demonstrou maior sensibilidade à ação do extrato dos endocarpos de *D. magnifica*, e *Fusarium* sp. (couve) e *S. rolfsii* (pimentão) obtiveram suas maiores reduções de crescimento micelial quando submetidos ao extrato obtido das sementes dessa espécie.

No que se refere a atividade antibacteriana, os extratos de *D. odorata* e *D. magnifica*, obtidos das folhas, galhos e sementes não apresentaram efeito bacteriostático ou bactericida para os patógenos avaliados;

E. coli, na maior concentração testada, foi sensibilizada pelos extratos das cascas e endocarpos das espécies apresentando efeito bacteriostático;

Staphylococcus aureus também foi sensível à ação do extrato das cascas de *D. magnifica*, na concentração de 2,0 mg.mL⁻¹.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABENAVOLI, M. R. et al. Coumarin inhibits the growth of carrot (*Daucus carota* L. cv. Saint Valery) cell in suspension culture. **Journal of Plant Physiology**, v. 160, n. 3, p. 227-237, abr. 2003.

ALENCAR, J. C.; ALMEIDA, R. A.; FERNANDES, N. P. Fenologia de espécies florestais em Floresta Tropical Úmida de Terra Firme na Amazônia Central. **Acta Amazônica**, v. 9, n. 1, p. 163-198, 1979.

ALMAHY, H. A.; ALAGIMI, A. A. Coumarins from the roots of *Cleome viscosa* (L.) antimicrobial and cytotoxic studies. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 5, n. 2, p. 241-244, abr. 2012.

AMIN, K. M. et al. Synthesis and preliminary evaluation of some substituted coumarins as anticonvulsant agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 16, n. 10, p. 5377-5388, maio 2008.

ARAÚJO, V. F. et al. **Sistema de extração de sementes de Cumarú**. Universidade de Brasília - UnB. Instituto de Química, Laboratório de Tecnologia Química - LATEQ. Brasília, Distrito Federal, 2004.

ARAÚJO, V. F. et al. **Plantas da Amazônia para Produção Cosmética**. Universidade de Brasília - UnB. Instituto de Química, Laboratório de Tecnologia Química - LATEQ. Brasília, Distrito Federal, 2007.

BILGIN, H. M. et al. Protective effects of coumarin and coumarin derivatives against carbon tetrachloride-induced acute hepatotoxicity in rats. **Experimental and Toxicologic Pathology**, v. 63, n. 4, p. 325-330, maio 2011.

BRENZAN, B. et al. Effects of (-) mammea A/BB isolated from *Calophyllum brasiliense* leaves and derivatives on mitochondrial membrane of *Leishmania amazonensis*. **Phytomedicine**, v. 19, n. 3-4, p. 223-230, fev. 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Decreto nº 55.871, de 26 de março de 1965. Modifica o Decreto nº 50.040, de 24 de janeiro de 1961, referente a normas reguladoras do emprego de aditivos para alimentos, alterado pelo Decreto nº 691, de 13 de março de 1962. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, Distrito Federal, 26 mar. 1965.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 104, de 14 de maio de 1999. Aprova o Regulamento Técnico sobre Aditivos Aromatizantes/Aromas. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, Distrito Federal, 14 maio 1999.

CARVALHO, P. E. R. Cumarú-ferro *Dipteryx odorata*. **Comunicado técnico Embrapa**, n. 225, ISSN 1517-5030, 2009.

CHEN, I. S. et al. Coumarins and anti-platelet aggregation constituents from *Zanthoxylum schinifolium*. **Phytochemistry**, v. 39, n. 5, p. 1091-1097, jul. 1995.

CHON, S. U.; KIM, Y. M.; LEE, J. C. Herbicidal potential and quantification of causative allelochemicals from several Compositae weeds. **Weed Research**, v. 43, n. 6, p. 444-450, nov. 2003.

CORRÊA, A. J. C. **Análise comparativa de atividades antimicrobiana e citotóxica de extratos brutos e frações do rizoma de *Alpinia zerumbet* (PERS.) B.L. BURTT. & R.M. SM. com três cumarinas sintéticas**. 2014. 87 f. Dissertação (Pós-graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, 2014.

DUCKE, A. As espécies brasileiras do gênero "*Coumarouna*" Aubl. ou "*Dipteryx*" Schreb. (Família "leguminosae papilionata Dalbergieae"). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 20, n. 1, p. 39-56, 1948.

FUJIOKA, T. et al. Antiproliferative constituents from umbelliferae plants. V. A new furanocoumarin and faltarindiol furanocoumarin ethers from the root of *Angelica japonica*. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v. 47, n. 1, p. 96-100, jan. 1999.

GONÇALVES, V. A. **Levantamento de Mercado de Produtos Florestais Não Madeireiros: Floresta Nacional do Tapajós**. Santarém: IBAMA, ProManejo, 2001. 65 p.

HOSSAIN, C. F. et al. A new series of coumarin derivatives having monoamine oxidase inhibitory activity from *Monascus anka*. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v. 44, n. 8, p. 1535-1539, ago. 1996.

HOULT, J. R; PAYÁ, M. Pharmacological and biochemical actions of simple coumarins: natural products with therapeutic potential. **General Pharmacology**, v. 27, n. 4, p. 13-22, jun. 1996.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Produção da Extração Vegetal e da Silvicultura, Rio de Janeiro, v. 21, 2006.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Produção da Extração Vegetal e da Silvicultura, Rio de Janeiro, v. 25, 2010.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Produção da Extração Vegetal e da Silvicultura, Rio de Janeiro, v. 27, 2012.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Quantidade produzida na extração vegetal, Rio de Janeiro, 2014. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/listabl.asp?c=289&z=p&o=27>> Acesso em: 15 dez. 2016.

KALKHAMBKAR, R.G. et al. Synthesis and biological activities of some new fluorinated coumarins and 1-aza coumarins. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 43, n. 10, p. 2178-2188, out. 2008.

KANG, T. J. et al. Anti-tumor activity of oxypeucedanin from *Ostericum koreanum* against human prostate carcinoma Du145 cells. **Acta Oncologica**, v. 48, n. 6, p. 895-900, 2009.

KUSTER, R. M.; ROCHA, L. M. Cumarinas, cromonas e xantonas. In: SIMÕES, C. M. O et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Universidade Federal do Rio Grande do Sul/Universidade Federal de Santa Catarina, 2001. cap. 21, p. 461-479.

LE COINTE, P. **Amazônia Brasileira III - Árvores e Plantas Úteis (indígenas e aclimatadas)**. 2. ed. Rio de Janeiro: Editora Brasileira, 1947. 506 p.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. v. 2. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 1998. 352 p.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Plantarum, 2002. 512 p.

LOUREIRO, A. A.; SILVA, M. F. DA; ALENCAR, J. C. **Essências madeireiras da Amazônia**. v. 2. Manaus: INPA, 1979. 187 p.

MIRANDA, J. A. **Caracterização fotofísica de derivados de cumarinas**. 2001. 160 f. Dissertação (Pós-graduação em Química) - Universidade de Uberlândia, Uberlândia, Minas Gerais, 2001.

NATURA. **Ekos Cumaru: perfuma o corpo**. 2016. Disponível em: <<http://www.natura.com.br/ekos/cumaru>>. Acesso em: 25 Out. 2016.

OHANA, D. T.; **Anatomia de sementes e plântulas de *Dipteryx odorata* (Aubl.) Will. (Fabacea), como contribuição ao estudo farmacognóstico de plantas da região amazônica**. 1998. Dissertação (Pós-graduação em Botânica) - Instituto de Pesquisas da Amazônia - INPA/Universidade do Amazonas - UA, Manaus, Amazonas, 1998.

OKAMOTO, T. et al. Osthole prevents anti-Fas antibody-induced hepatitis in mice by affecting the caspase-3-mediated apoptotic pathway. **Biochemical Pharmacology**, v. 65, n. 4, p. 677-681, fev. 2003.

PASTORE, J. F.; BORGES, V. L.; **Produtos Florestais Não-Madeireiros - Processamento, coleta e comercialização**. Projeto ITTO PD 143/91. LATEQ - IQ - UnB. Brasília, Distrito Federal, 1998.

PESCE, C. **Oleaginosas da Amazônia**. 2. ed., rev. e atual. Belém: Museu Paraense Emílio Goeldi, Núcleo de Estudos Agrários e Desenvolvimento Rural, 2009. 334 p.: il. 1. ed. em 1941.

PRANCE, G. T.; SILVA, M. F. **Árvores de Manaus**. Manaus: INPA, 1975. 312 p.

REHMAN, S. U. et al. In-vitro antibacterial, antifungal and cytotoxic activities of some coumarins and their metal complexes. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, v. 20, n. 4, p. 333-340, ago. 2005.

RENDENBACH-MULLER, B. et al. Synthesis of coumarins as subtype-selective inhibitors of monoamine oxidase. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 4, n. 10, p. 1195-1198, maio 1994.

REVILLA, J. **Plantas da Amazônia**: oportunidades econômicas e sustentáveis. SEBRAE/AM. 1. ed. Manaus: Programa de Desenvolvimento Empresarial e Tecnológico, 2000. 405 p.

REVILLA, J. **Apontamentos para a cosmética amazônica**. Manaus: INPA, 2002. 532 p.

RIOS, M. N. da S. et al. **Plantas da Amazônia**: 450 espécies de uso geral. Brasília: Universidade de Brasília, Biblioteca Central, 2011. 3140 p.

SAMPAIO, P. de T. B. Cumaru (*Dipteryx odorata*, Leg. Papilionideae). In: CLAY, J. W.; CLEMENT, C. R. **Selected species and strategies to enhance income generation from Amazonian Forests**. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy, May 1993. p. 196-201. Disponível em: <<http://www.fao.org/3/a-v0784e.pdf>>. Acesso em: 20 Out. 2016.

SAMPAIO, P. de T.B. Cumaru (*Dipteryx odorata*). In: CLAY, J.W.; SAMPAIO, P.T.B.; CLEMENT, C.R. **Biodiversidade amazônica**: exemplos e estratégias de utilização. Manaus: Programa de Desenvolvimento Empresarial e Tecnológico, 2000. p. 281-287.

SILVA, T. M. et al. O mercado de amêndoas de *Dipteryx odorata* (Cumaru) no Estado do Pará. **FLORESTA**, v. 40, n. 3, p. 603-614, jul./set. 2010.

SILVEIRA, C. S. **Estudo Químico e Farmacológico de *Bidens segetum* Martius ex Colla e *Pterocaulon alopecuroides* (Lamark) De Candolle**. 2009. 231 f. Tese de Doutorado (Pós-graduação em Química de Produtos Naturais) - Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, Rio de Janeiro, 2009.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação de famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG III**. 2. ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2012. 768 p.

SUDAM. **Características silviculturais de espécies nativas e exóticas dos plantios do Centro de Tecnologia Madeireira - Estação Experimental de Curua-Una**. Belém: Superintendência de Desenvolvimento da Amazônia, 1979. 351 p.

SULLIVAN, G. Occurrence of umbelliferone in the seeds of *Dipteryx odorata* (Aubl.) Willd. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 30, n. 3, p. 609-610, maio 1982.

THE PLANT LIST. **A working list of all plant species**. 2010. Disponível em: <<http://www.theplantlist.org>>. Acesso em: 20 Out. 2016.

VARELA, V. P.; FAÇANHA, J. G. V. Secagem de sementes de cumaru: influência sobre a germinação e vigor. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 22, n. 9/10, p. 959-963, 1987.

VIANNA, D. da R. **Avaliação in vitro da atividade antifúngica e citotóxica de cumarinas naturais e sintéticas**. 2011. 146 f. Tese (Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, 2011.

VIEIRA, L.S. **Fitoterapia da Amazônia**: manual de plantas medicinais (a farmacia de Deus). 2.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1992. 347 p.

ZHAO, H. et al. Coumarin-based inhibitors of HIV integrase. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 40, n. 2, p. 242-249, jan. 1997.

ZOGHBI, M. das G.B.; ANDRADE, E.H. de; MAIA, J.G.S. **Aroma de flores da Amazônia**. Belém: Museu Paraense Emilio Goeldi, 2000. 240 p.

ANEXOS:

ANEXO A – Inflorescências de *Dipteryx odorata* e *Dipteryx magnifica*.

ANEXO B – Registro de identificação botânica das espécies.

ANEXO C – Resultado da análise de solo realizadas pela Embrapa Amazônia Oriental.

ANEXO D – Resultado da análise de micronutrientes do solo realizada pela Embrapa Amazônia Oriental.

ANEXO E – Cromatograma do extrato das folhas de *D. odorata*.

ANEXO F – Cromatograma do extrato das folhas de *D. magnifica*.

ANEXO G – Cromatograma do extrato dos galhos de *D. odorata*.

ANEXO H – Cromatograma do extrato dos galhos de *D. magnifica*.

ANEXO I – Substância identificada nos extratos dos galhos de *D. odorata* e *D. magnifica*.

ANEXO J – Cromatograma do extrato das cascas de *D. odorata*.

ANEXO K – Cromatograma do extrato das cascas de *D. magnifica*.

ANEXO L – Substâncias identificadas no extrato das cascas de *D. odorata*.

ANEXO M – Substâncias identificadas no extrato das cascas de *D. magnifica*.

ANEXO N – Cromatograma do extrato dos endocarpos de *D. odorata*.

ANEXO O – Cromatograma do extrato dos endocarpos de *D. magnifica*.

ANEXO P – Substâncias identificadas no extrato dos endocarpos de *D. odorata*.

ANEXO Q – Substâncias identificadas no extrato dos endocarpos de *D. magnifica*.

ANEXO R – Cromatograma do extrato das sementes de *D. odorata*.

ANEXO S – Cromatograma do extrato das sementes de *D. magnifica*.

ANEXO T – Substâncias identificadas no extrato das sementes de *D. odorata*.

ANEXO U – Substâncias identificadas no extrato das sementes de *D. magnifica*.

ANEXO V – Normas da Revista.

ANEXO A – Inflorescências de *Dipteryx odorata* e *Dipteryx magnifica*.

ANEXO B – Registro de identificação botânica das espécies.

Herbário HSTM	Nº 000556	Herbário HSTM	Nº 000557
Família: FABACEAE		Família: FABACEAE	
Espécie: <i>Dipteryx odorata</i> (Aubl.) Willd.		Espécie: <i>Dipteryx magnifica</i> (Ducke) Ducke	
Det.: Cardoso, D.B.O.S.	Data: 14 maio 2015	Det.: Cardoso, D.B.O.S.	Data: 14 maio 2015
Localidade: Brasil, Pará, Santarém, UFOPA (Campus Tapajós).		Localidade: Brasil, Pará, Santarém, UFOPA (Campus Tapajós).	
Coordenadas: 2°25'11" S, 54°44'29" W	Altitude: 18m	Coordenadas: 2°25'11" S, 54°44'29" W	Altitude: 18m
Coletor: SOUSA, B.C.M (Morfotipo 1)	Data: 25 fevereiro 2015	Coletor: SOUSA, B.C.M (Morfotipo 2)	Data: 25 fevereiro 2015
Notas: Árvore, 10m de altura. Inflorescência "cima umbeliforme" branca (pétalas modificadas, na cor rosada, recobrimdo o gineceu e androceu), flores odoríferas. Folha compostas paripenadas, alongadas e algumas ovais, opostas, com nervura primária lateralizada e secundária broquidódroma, ápice acuminado, base arredondada, margem inteira, coreácea. Pecíolo alado e coriácea , presença de gema apical alongada. Caule com bases de pecíolos persistentes. Apresentando exsudato avermelhado.		Notas: Árvore, 6m de altura. Inflorescência "cima umbeliforme" rosada, flores odoríferas. Folhas compostas paripenadas, ovais, alternas, com nervura primária lateralizada e secundária broquidódroma, ápice acuminado, base arredondada, margem inteira, coreácea e apresentando sistema de doenças. Pecíolo alado e coriácea , presença de gema apical. Caule com base de pecíolos persistentes. Ausência de exsudato.	

ANEXO C – Resultado da análise de solo realizadas pela Embrapa Amazônia Oriental.

Embrapa
Amazônia Oriental

LABORATÓRIO DE SOLOS
RESULTADOS DE ANÁLISE DE SOLOS

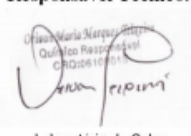
INTERESSADO:
Nome: BRUNA CRISTINE MARTINS DE SOUSA
Endereço: Rua Vera Paz, s/n° **Bairro:** Salé
CEP: 68035-110 **Cidade:** Santarém **UF:** Pará
Fone: (93) 3523.2629 / (93) 99142.7414
E-mail: bruna0909martins@hotmail.com / alda.mileo@embapa.br

DADOS DA AMOSTRA:
Propriedade:
Município: Santarém **UF:** Pará
Data da Entrada: 03/05/2016 **Data da Emissão:** 25/05/2016

RESULTADO DE ANÁLISE DE SOLO

Amostra	Prof.	MO	N	pH	P	K	Na	Ca	Ca+Mg	Al	H+Al	
Protocolo	Identificação	cm	g/kg	% água	-----mg/dm ³ -----			-----cmol/dm ³ -----				
2869	D.O UFOPA pBDBio	10-20	4,20	0,05	5,6	14	20	58	1,0	1,9	0,4	4,46
2870	D.M UFOPA pBDBio	10-20	9,57	0,09	6,7	11	27	71	6,4	7,7	0,1	1,65
2871	D.O UFOPA pBDBio	0-10	16,81	0,07	7,2	13	15	58	3,9	4,9	0,1	0,66
2872	D.M UFOPA pBDBio	0-10	9,11	0,06	6,3	13	22	54	2,7	3,7	0,1	2,31

Responsável Técnico:


Laboratório de Solos
Embrapa Amazônia Oriental

ANEXO D – Resultado da análise de micronutrientes do solo realizada pela Embrapa Amazônia Oriental.

Embrapa
Amazônia Oriental

LABORATÓRIO DE SOLOS
RESULTADOS DE ANÁLISE DE SOLOS

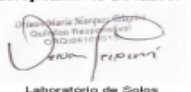
INTERESSADO:
Nome: BRUNA CRISTINE MARTINS DE SOUSA
Endereço: Rua Vera Paz, s/n° **Bairro:** Salé
CEP: 68035-110 **Cidade:** Santarém **UF:** Pará
Fone: (93) 3523.2629 / (93) 99142.7414
E-mail: bruna0909martins@hotmail.com / alda.mileo@embapa.br

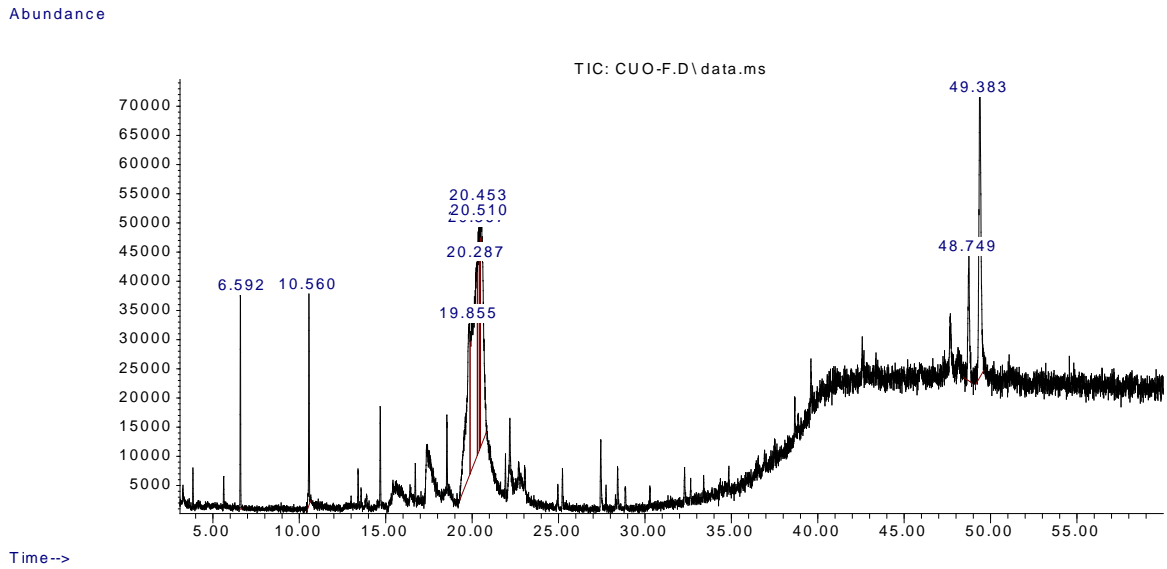
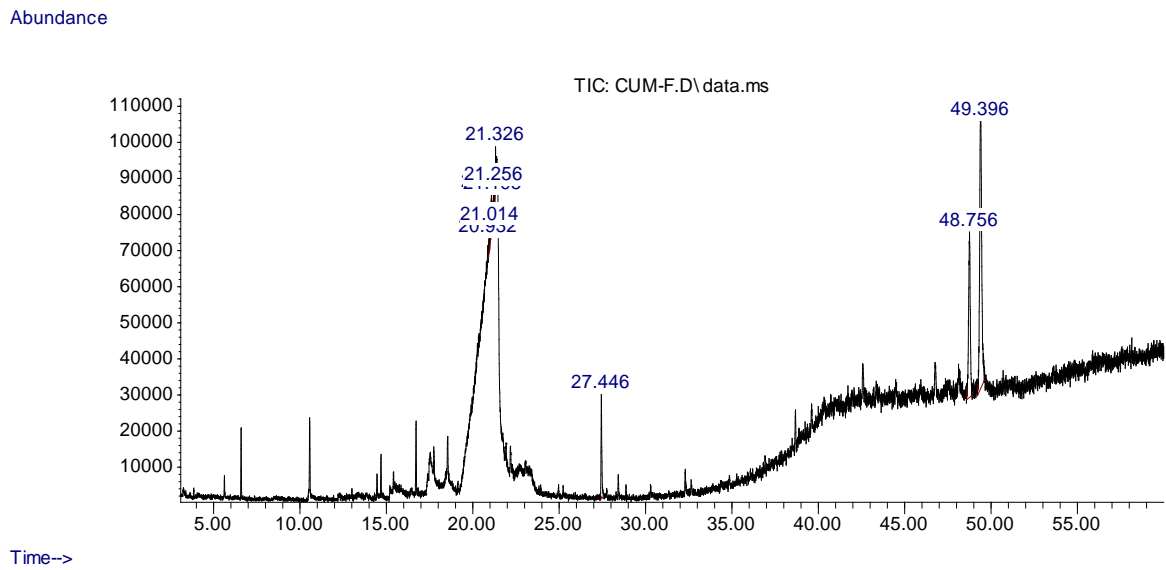
DADOS DA AMOSTRA:
Propriedade:
Município: Santarém **UF:** Pará
Data da Entrada: 03/05/2016 **Data da Emissão:** 25/05/2016

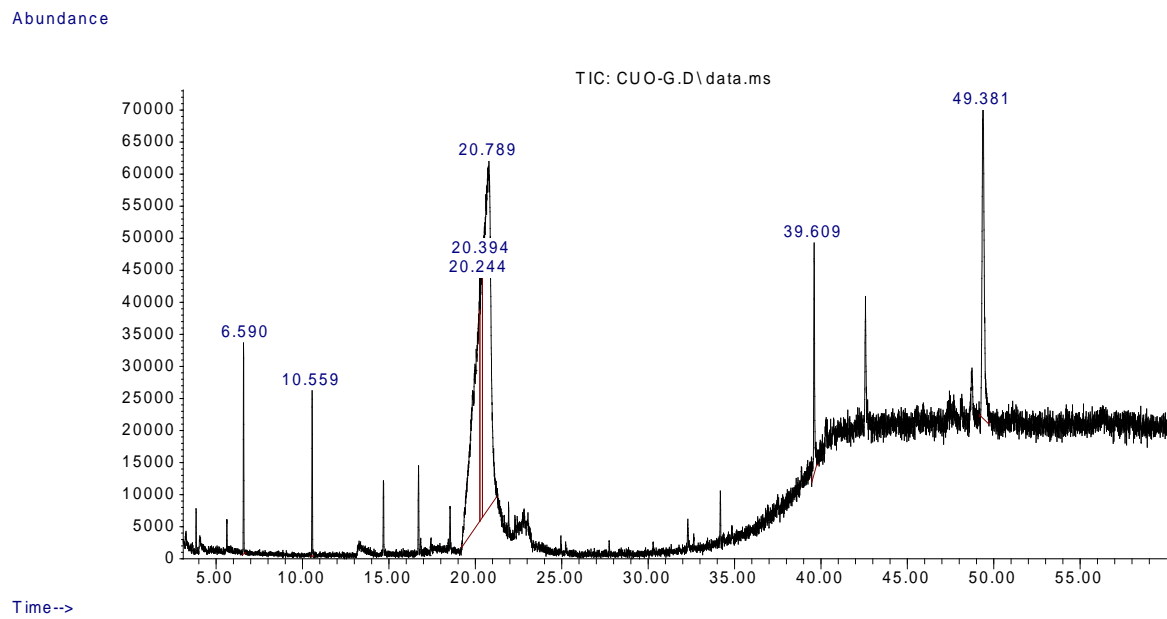
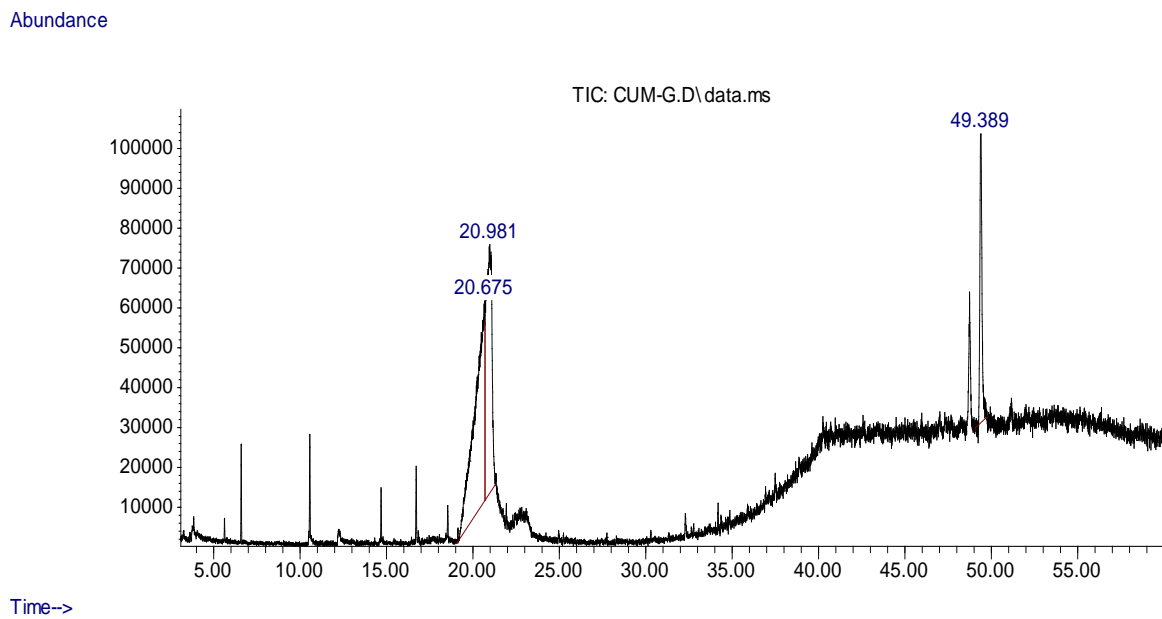
RESULTADOS DE ANÁLISE DE MICRONUTRIENTES

Protocolo	Identificação remetente	Cu	Mn	Fe	Zn
		-----mg/kg-----			
2869	D.O UFOPA pBDBio	0,18	1,95	133,33	1,13
2870	D.M UFOPA pBDBio	0,50	12,38	165,07	5,00
2871	D.O UFOPA pBDBio	1,02	5,99	125,65	3,47
2872	D.M UFOPA pBDBio	11,48	3,51	69,20	2,58

Responsável Técnico:

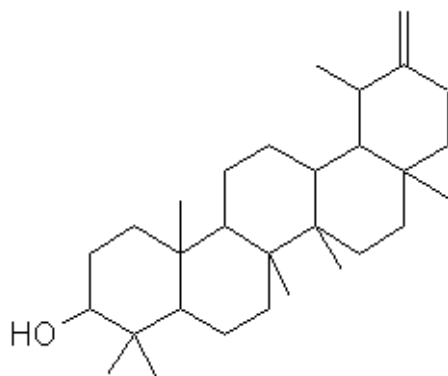

Laboratório de Solos
Embrapa Amazônia Oriental

ANEXO E – Cromatograma do extrato das folhas de *D. odorata*.ANEXO F – Cromatograma do extrato das folhas de *D. magnifica*.

ANEXO G – Cromatograma do extrato dos galhos de *D. odorata*.ANEXO H – Cromatograma do extrato dos galhos de *D. magnifica*.

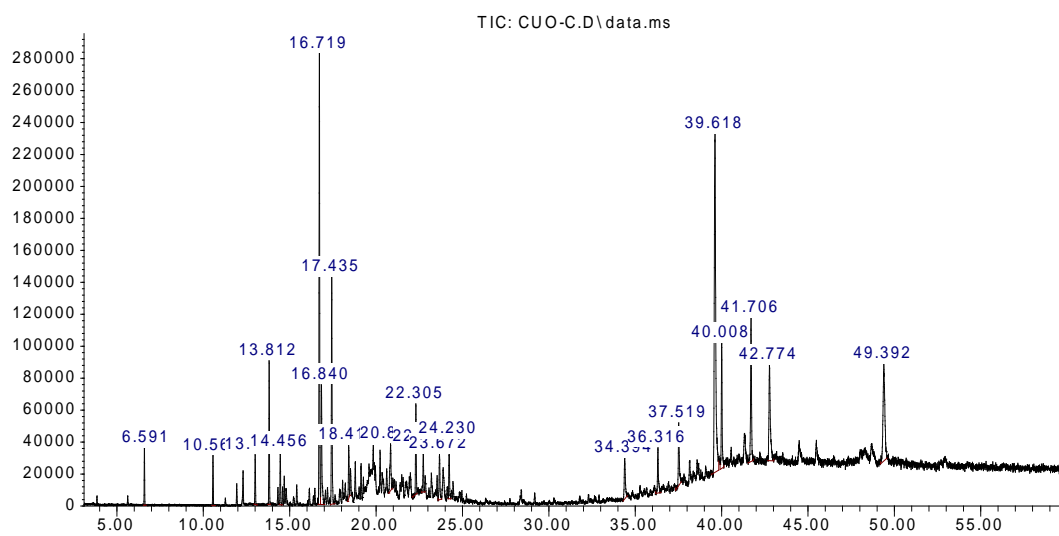
ANEXO I – Substância identificada nos extratos dos galhos de *D. odorata* e *D. magnifica*.

Taraxasterol

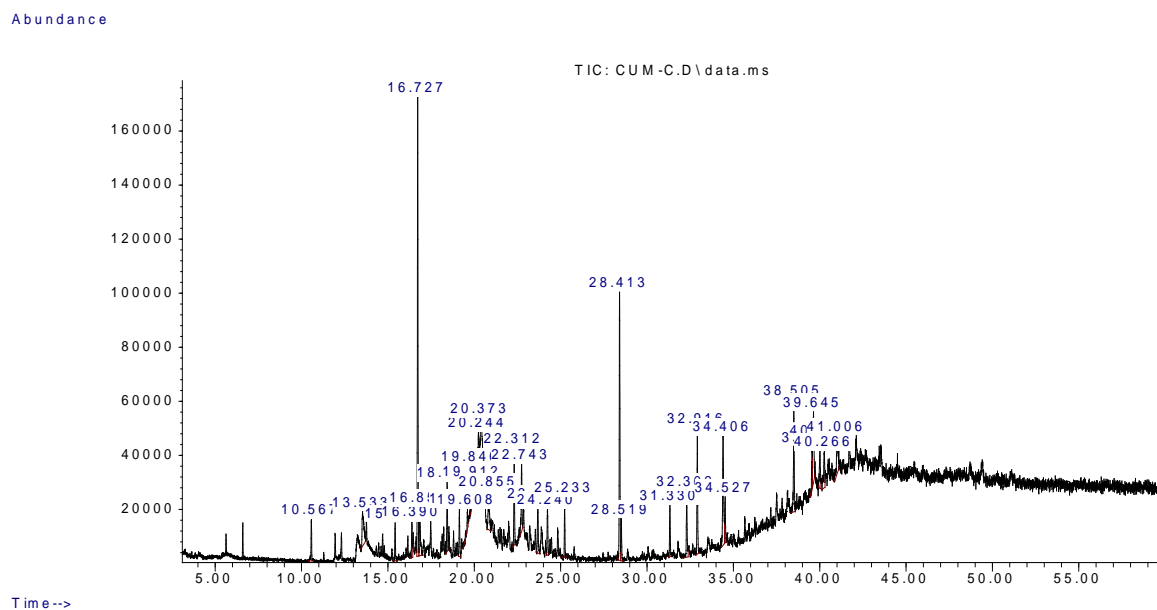
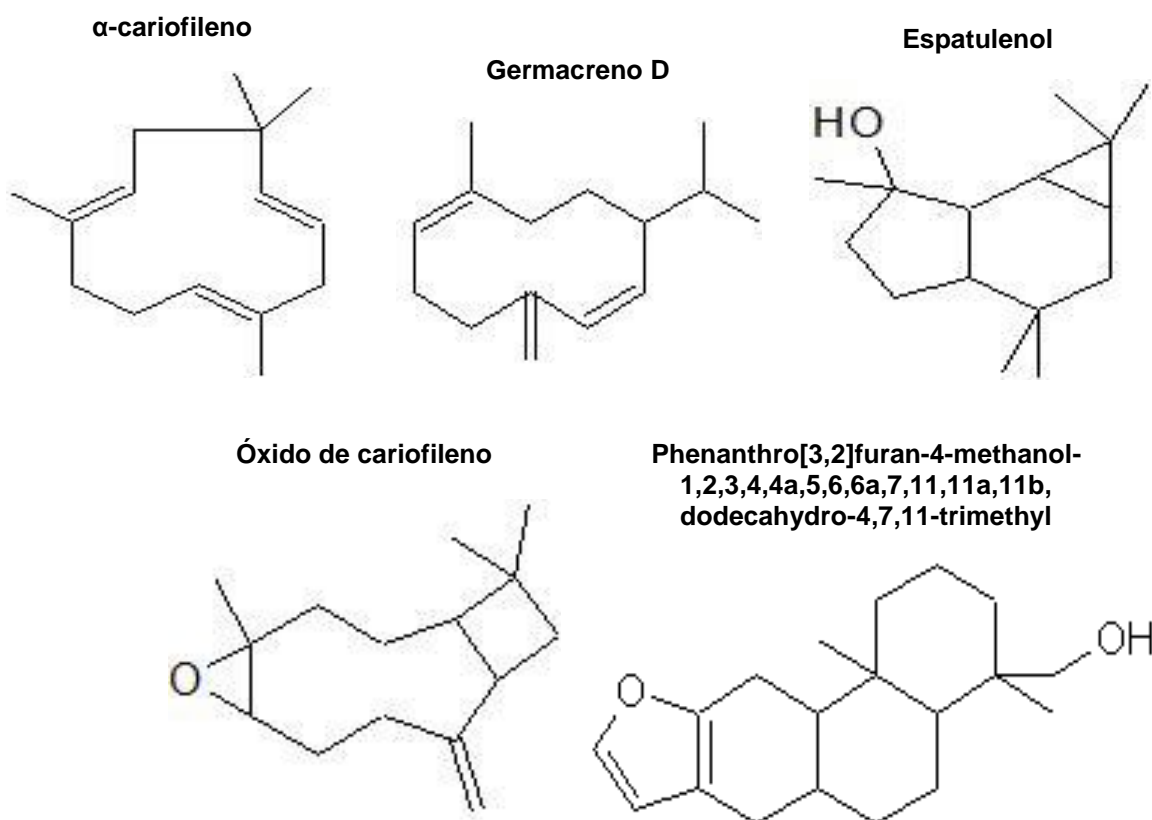


ANEXO J – Cromatograma do extrato das cascas de *D. odorata*.

Abundance

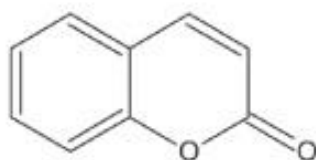
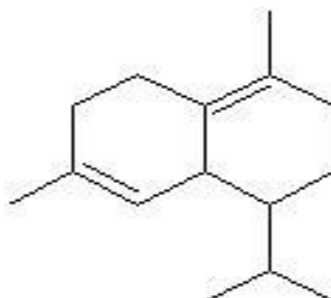


Time-->

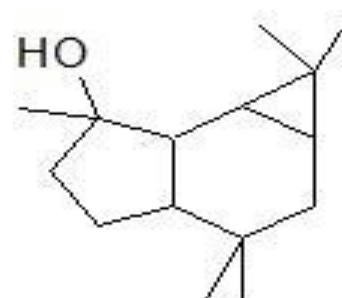
ANEXO K – Cromatograma do extrato das cascas de *D. magnifica*.ANEXO L – Substâncias identificadas no extrato das cascas de *D. odorata*.

ANEXO M – Substâncias identificadas no extrato das cascas de *D. magnifica*.

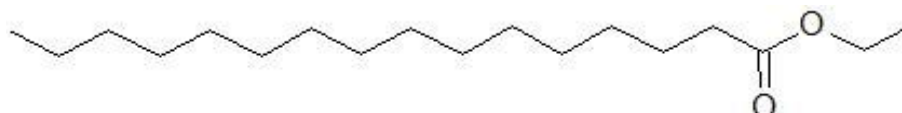
Cumarina

 δ -cadineno

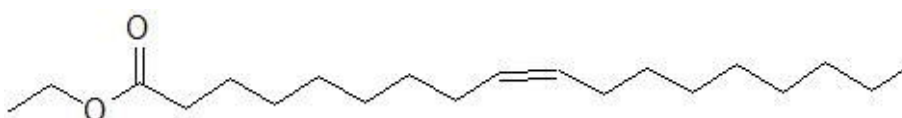
Espatuleno



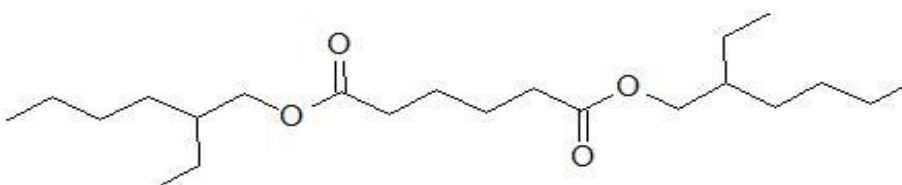
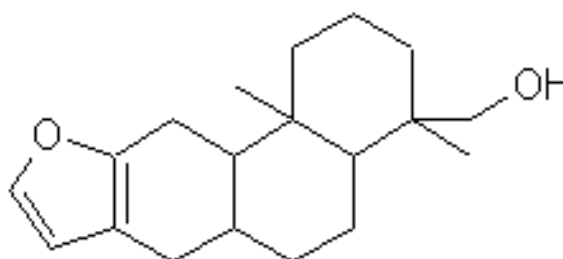
Éster etílico do ácido hexadecanóico



Éster etílico do ácido oleico

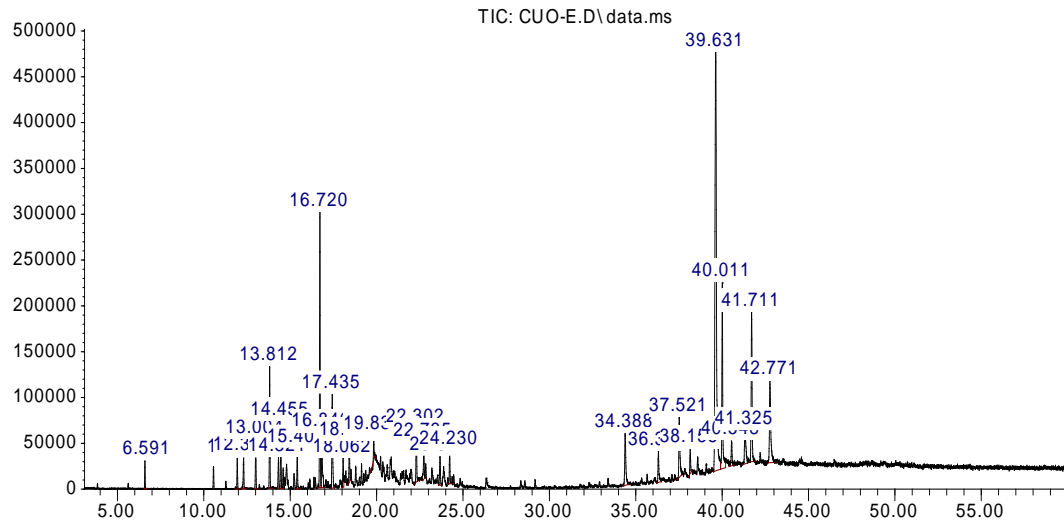


Ácido hexanodióico, bis (2-etil-hexil) éster

Phenanthro[3,2]furan-4-methanol-
1,2,3,4,4a,5,6,6a,7,11,11a,11b,
dodecahydro-4,7,11-trimethyl

ANEXO N – Cromatograma do extrato dos endocarpos de *D. odorata*.

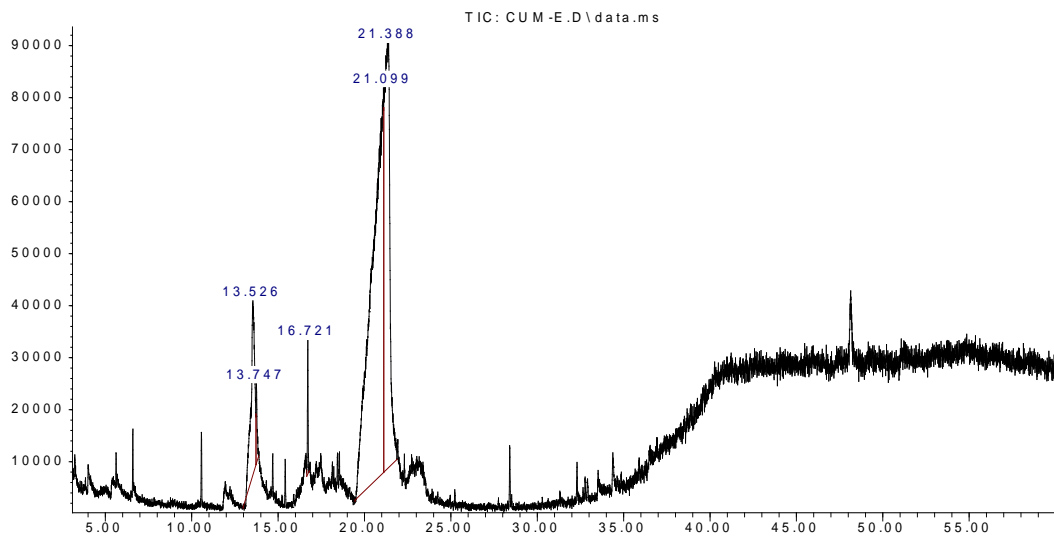
Abundance



Time-->

ANEXO O – Cromatograma do extrato dos endocarpos de *D. magnifica*.

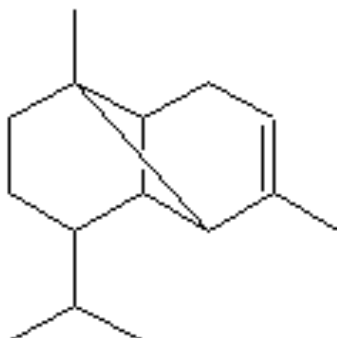
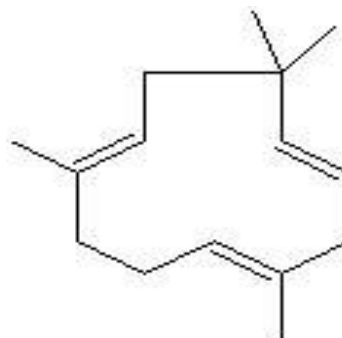
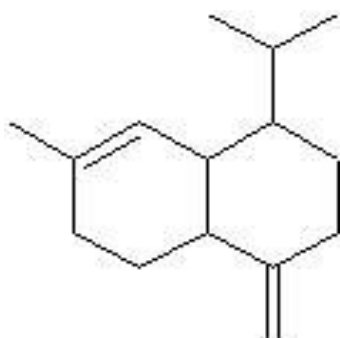
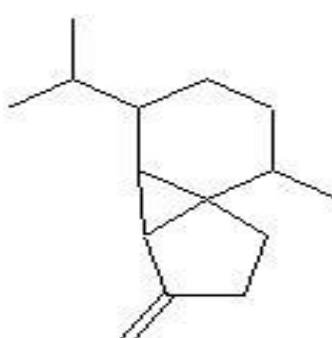
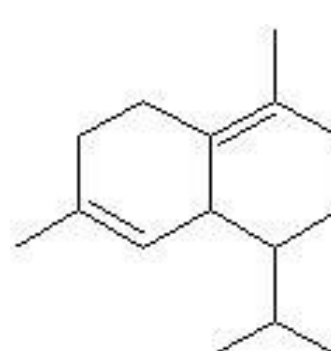
Abundance



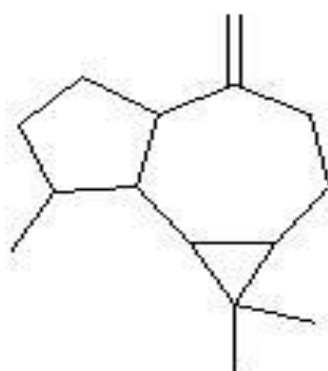
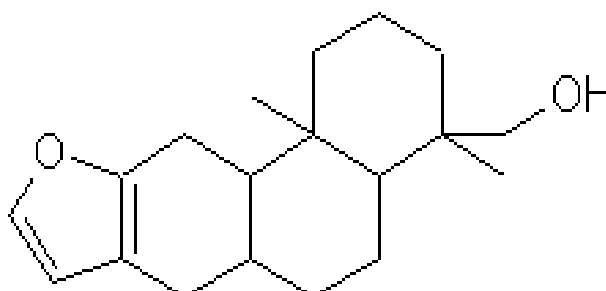
Time-->

ANEXO P – Substâncias identificadas no extrato dos endocarpos de *D. odorata*.

Copaeno

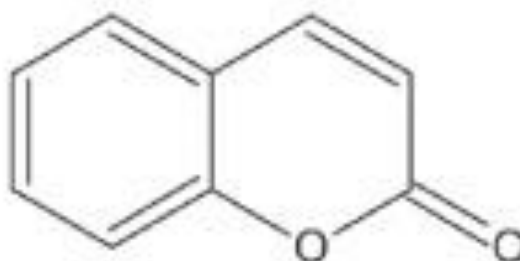
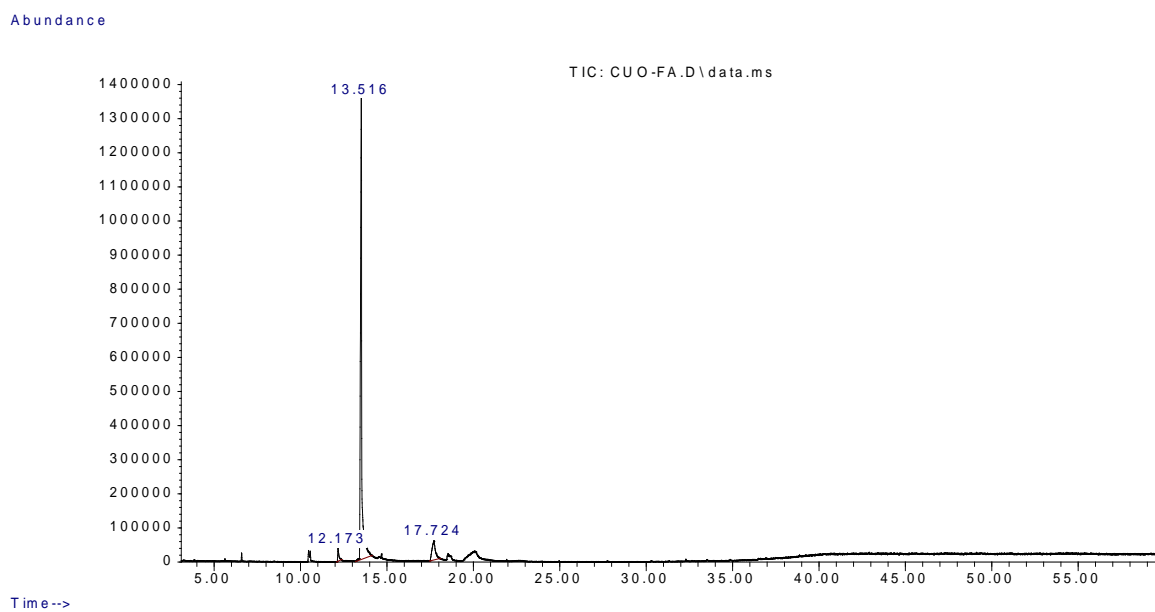
 α -cariofileno δ -muuroлено β -cubebeno δ -cadineno

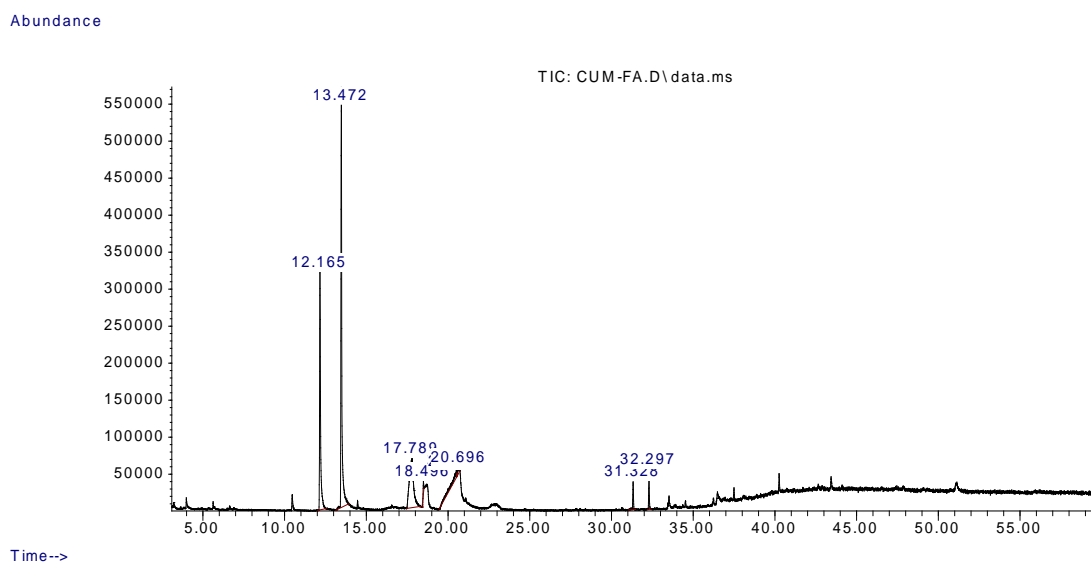
Aromadendreno

Phenanthro[3,2]furan-4-methanol-
1,2,3,4,4a,5,6,6a,7,11,11a,11b, dodecahydro-
4,7,11-trimethyl

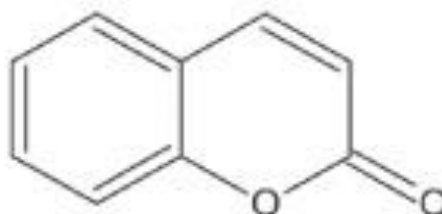
ANEXO Q – Substâncias identificadas no extrato dos endocarpos de *D. magnifica*.

Cumarina

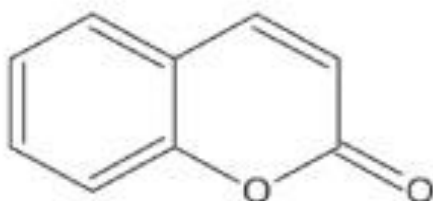
ANEXO R – Cromatograma do extrato das sementes de *D. odorata*.

ANEXO S – Cromatograma do extrato das sementes de *D. magnifica*.ANEXO T – Substâncias identificadas no extrato das sementes de *D. odorata*.

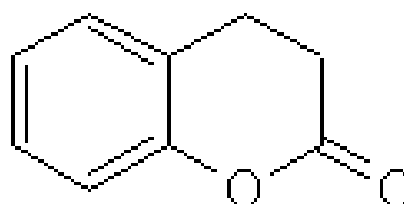
Cumarina

ANEXO U – Substâncias identificadas no extrato das sementes de *D. magnifica*.

Cumarina



Dihidrocumarina



ANEXO V– Normas da Revista.

Rev. Bras. Plantas Med.

<http://www.scielo.br/revistas/rbpm/pinstruc.htm>

ISSN 15160572

Versão impressa

ISSN 1983084X

Versão online

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

Escopo e política

A Revista Brasileira de Plantas Mediciniais RBPM é publicação trimestral, exclusivamente eletrônica a partir de 2012, e destina-se à divulgação de trabalhos científicos originais, revisões bibliográficas, e notas prévias, que deverão ser inéditos e contemplar as grandes áreas relativas ao estudo de plantas medicinais. Manuscritos que envolvam ensaios clínicos deverão vir acompanhados de autorização da Comissão de Ética pertinente para realização da pesquisa. Os artigos podem ser redigidos em português, inglês ou espanhol, sendo obrigatória a apresentação do resumo em português e em inglês, independentemente do idioma utilizado. Os artigos devem ser enviados por e-mail: rbpm.sbp@gmail.com, com letra Arial 12, espaço duplo, margens de 2 cm, em "Word for Windows". Os artigos, em qualquer modalidade, não devem exceder 20 páginas. No e-mail, enviar telefone para eventuais contatos urgentes. Para a publicação, os artigos aprovados submetidos à RBPM a partir de 1º de Abril de 2013 (inclusive), terão custo de tramite de 300 reais (trezentos reais) a ser efetivado pelos autores/responsáveis somente na ocasião do recebimento da carta de aceitação do artigo, quando receberão o respectivo boleto e instruções para o pagamento.

Forma e preparação de manuscritos

REVISÕES BIBLIOGRÁFICAS E NOTAS PRÉVIAS

Revisões e Notas prévias deverão ser organizadas basicamente em: Título, Autores, Resumo, Palavras-chave, Abstract, Key Words, Texto, Agradecimento (se houver) e Referência Bibliográfica. Atenção especial deve ser dada aos artigos de Revisão evitando a citação Ipsi-litteris de textos, que configura plágio por lei.

ARTIGO CIENTÍFICO

Os artigos deverão ser organizados em:

TÍTULO: Deverá ser claro e conciso, escrito apenas com a inicial maiúscula, negrito, centralizado, na parte superior da página. Se houver subtítulo, deverá ser em seguida ao título, em minúscula, podendo ser precedido de um número de ordem em algarismo romano. Os nomes comuns das plantas medicinais devem ser seguidos pelo nome científico (binômio latino e autor) entre parênteses.

AUTORES: Começar pelo último sobrenome dos autores por extenso (nomes intermediários somente iniciais, sem espaço entre elas) em letras maiúsculas, 2 linhas abaixo do título. Após o nome de cada autor deverá ser colocado um número sobrescrito que deverá corresponder ao endereço: instituição, endereço da instituição (rua e número ou Caixa Postal, cidade, sigla do estado, CEP, e-mail). Indicar o autor que deverá receber a correspondência. Os autores devem ser separados com ponto e vírgula.

RESUMO: Deverá constar da mesma página onde estão o título e os autores, duas linhas abaixo dos autores. O resumo deverá ser escrito em um único parágrafo,

contendo objetivo, resumo do material e método, principais resultados e conclusão. Não deverá apresentar citação bibliográfica.

Palavras-chave: Deverão ser colocadas uma linha abaixo do resumo, na margem esquerda, podendo constar até cinco palavras.

ABSTRACT: Apresentar o título e resumo em inglês, no mesmo formato do redigido em português, com exceção do título, apenas com a inicial em maiúscula, que virá após a palavra ABSTRACT.

Key words: Abaixo do Abstract deverão ser colocadas as palavras-chave em inglês, podendo constar até cinco palavras.

INTRODUÇÃO: Na introdução deverá constar breve revisão de literatura e os objetivos do trabalho. As citações de autores no texto deverão ser feitas de acordo com os seguintes exemplos: Silva (1996); Pereira & Antunes (1985); (Souza & Silva, 1986) ou quando houver mais de dois autores Santos et al. (1996).

MATERIAL E MÉTODO (CASUÍSTICA): Deverá ser feita apresentação completa das técnicas originais empregadas ou com referências de trabalhos anteriores que as descrevam. As análises estatísticas deverão ser igualmente referenciadas. Na metodologia deverão constar os seguintes dados da espécie estudada: nome popular; nome científico com autor e indicação da família botânica; nome do botânico responsável pela identificação taxonômica; nome do herbário onde a exsicata está depositada, e o respectivo número (Voucher Number); época e local de coleta, bem como, a parte da planta utilizada.

RESULTADO E DISCUSSÃO: Poderão ser apresentados separados, ou como um só capítulo, contendo a conclusão sumarizada no final.

AGRADECIMENTO: deverá ser colocado neste capítulo (quando houver).

REFERÊNCIA: As referências devem seguir as normas da ABNT 6023 e de acordo com os exemplos:

Periódicos:

AUTOR(ES) separados por ponto e vírgula, sem espaço entre as iniciais. Título do artigo. Nome da Revista, por extenso, volume, número, página inicial, página final, ano.

KAWAGISHI, H. et al. Fractionation and antitumor activity of the waterinsoluble residue of *Agaricus blazei* fruiting bodies. *Carbohydrate Research*, v.186, n.2, p.26773, 1989.

Livros:

AUTOR. Título do livro. Edição. Local de publicação: Editora, Ano.Total de páginas.

MURRIA, R.D.H.; MÉNDEZ, J.; BROWN, S.A. *The natural coumarins: occurrence, chemistry and biochemistry*. 3.ed. Chinchester: John Wiley & Sons, 1982. 702p.

Capítulos de livros:

AUTOR(ES) DO CAPÍTULO. Título do Capítulo. In: AUTOR (ES) do LIVRO. Título do livro: subtítulo. Edição. Local de Publicação: Editora, ano, página inicial, página final.

HUFFAKER, R.C. Protein metabolism. In: STEWARD, F.C. (Ed.). *Plant physiology: a treatise*. Orlando: Academic Press, 1983. p.26733.

Tese ou Dissertação:

AUTOR. Título em destaque: subtítulo. Ano. Total de páginas. Categoria (grau e área de concentração) Instituição, Universidade, Local.

OLIVEIRA, A.F.M. *Caracterização de Acanthaceae medicinais conhecidas como anador no nordeste do Brasil*. 1995. 125p.

Dissertação (Mestrado Área de Concentração em Botânica) Departamento de Botânica, Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

Trabalho de Evento:

AUTOR(ES). Título do trabalho. In: Nome do evento em caixa alta, número, ano, local. Tipo de publicação em destaque... Local: Editora, ano. Página inicial, página final.

VIEIRA, R.F.; MARTINS, M.V.M. Estudos etnobotânicos de espécies medicinais de uso popular no Cerrado. In: INTERNATIONAL SAVANNA SYMPOSIUM, 3., 1996, Brasília. Proceedings... Brasília: Embrapa, 1996. p.16971.

Publicação Eletrônica:

AUTOR(ES). Título do artigo. Título do periódico em destaque, volume, número, página inicial, página final, ano. Local: editora, ano.

Páginas. Disponível em: <<http://www.....>>. Acesso em: dia mês (abreviado) ano.

PEREIRA, R.S. et al. Atividade antibacteriana de óleos essenciais em cepas isoladas de infecção urinária. Revista de Saúde Pública, v.38, n.2, p.3268, 2004. Disponível em: <http://www.scielo.br>. Acesso em: 18 abr. 2005.

Não citar resumos e relatórios de pesquisa, a não ser que a informação seja muito importante e não tenha sido publicada de outra forma. Comunicações pessoais devem ser colocadas no rodapé da página onde aparecem no texto e evitadas se possível. Devem ser também evitadas citações do tipo: Almeida (1994) citado por Souza (1997).

TABELAS: Devem ser inseridas no texto, com letra do tipo Arial 10, espaço simples. A palavra TABELA (Arial 12) deve ser em letras maiúsculas, seguidas por algarismo arábico; já quando citadas no texto devem ser em letras minúsculas (Tabela).

FIGURAS: As ilustrações (gráficos, fotográficas, desenhos, mapas) devem ser em letras maiúsculas seguidas por algarismo arábico, Arial 12, e inseridas no texto. Quando citadas no texto devem ser em letras minúsculas (Figura). As legendas e eixos devem ser em Arial 10, enviadas em arquivos separados, com resolução 300 DPI, 800x600, com extensão JPG ou TIFF, para impressão de publicação.

Processo de avaliação: Os manuscritos são analisados por, pelo menos, dois pareceristas, segundo um roteiro de análise baseado principalmente no conteúdo científico. Os pareceristas recomendarão a aceitação com ou sem necessidade de retornar; recusa, ou sugerir reformulações, e que, neste caso, o artigo reformulado retornará ao parecerista até que a avaliação seja concluída. Quando no mínimo 2 pareceristas aprovarem, sem necessidade de retornar, o artigo estará pronto para ser publicado e o autor receberá a carta de aceite bem como as instruções para pagamento dos custos de tramite (R\$300 reais)*. Os nomes dos pareceristas permanecerão em sigilo, omitindo-se também perante estes os nomes dos autores. *Somente os artigos aprovados que foram submetidos a partir de 1º de abril de 2013 terão custo para publicação.

Direitos autorais: Ao encaminhar um manuscrito para a RBPM os autores devem estar cientes de que, se aprovado para publicação, o copyright do artigo, incluindo os direitos de reprodução em todas as mídias e formatos, deverá ser concedido exclusivamente para as Memórias.

ATENÇÃO: Artigos que não estiverem de acordo com essas normas serão devolvidos. Observação: São de exclusiva responsabilidade dos autores as opiniões e conceitos emitidos nos trabalhos. Contudo, reserva-se ao Conselho Editorial, o direito de sugerir ou solicitar modificações que julgarem necessárias.

Envio de manuscritos

Os artigos devem ser enviados por e-mail: rbpm.sbp@gmail.com

Todo o conteúdo do periódico, exceto onde está identificado, está licenciado sob uma Licença Creative Commons.

CPQBA, UNICAMP, Divisão de Agrotecnologia. CPQBA 13.148218. PauliniaSP. Brasil. Tel.: (55 19) 21392891. Fax: (55 19) 21392852. rbpm.sbp@gmail.com.

APÊNDICES:

APÊNDICE A – Triagem do material vegetal de *D. odorata* e *D. magnifica*.

APÊNDICE B – Extração via Soxhlet no Laboratório P&DBio.

APÊNDICE C – Isolamento dos objetos de estudo.

APÊNDICE D – Coleta de solo para análise.

APÊNDICE E – Cromatografia em Camada Delgada (CCD).

APÊNDICE F – Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massa (CG-EM).

APÊNDICE G – Cristalização e Recristalização da cumarina.

APÊNDICE H – Atividade antifúngica.

APÊNDICE I – Atividade Antibacteriana.

APÊNDICE J – Fracionamento dos extratos das cascas de *D. odorata* e *D. magnifica*.

APÊNDICE A – Triagem do material vegetal de *D. odorata* e *D. magnifica*.



APÊNDICE B – Extração via Soxhlet no Laboratório P&DBio.



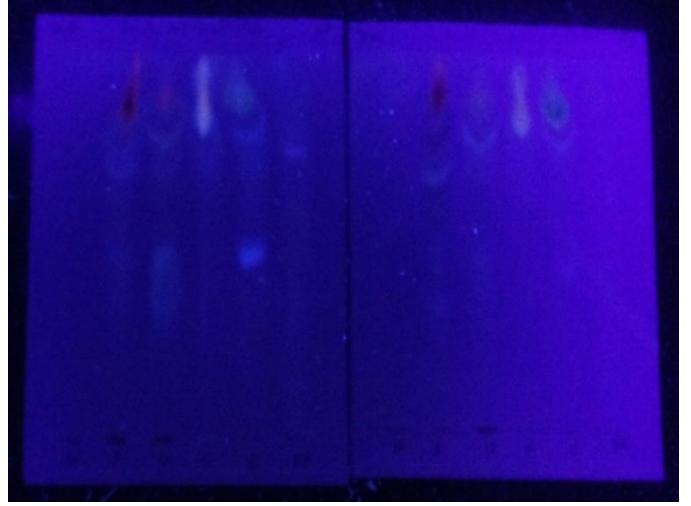
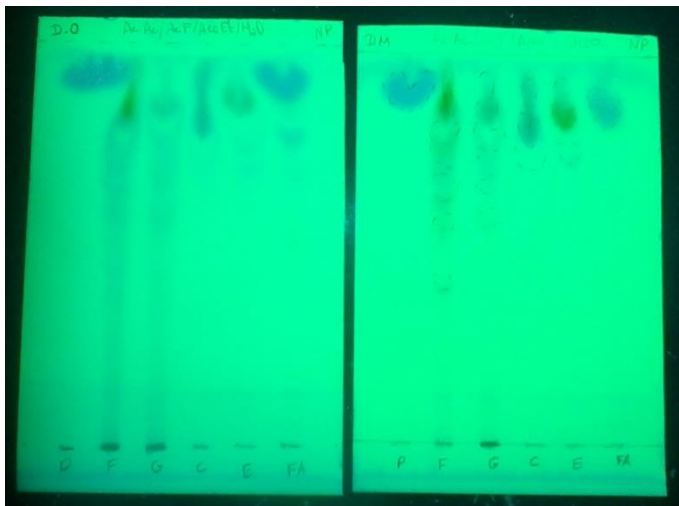
APÊNDICE C – Isolamento dos objetos de estudo.



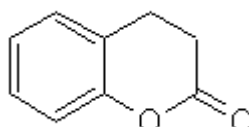
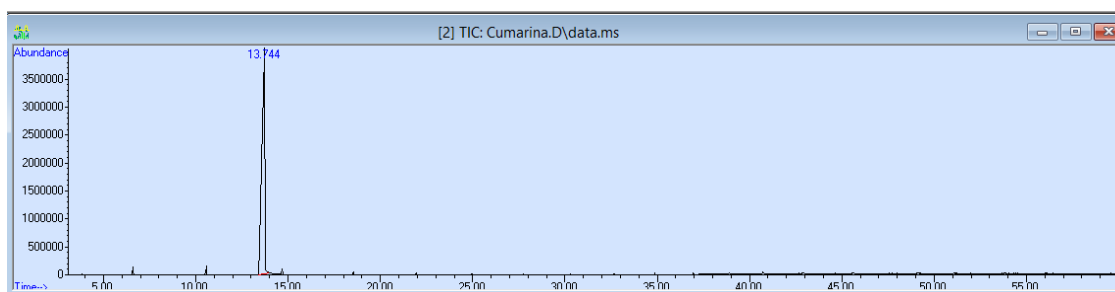
APÊNDICE D – Coleta de solo para análise.



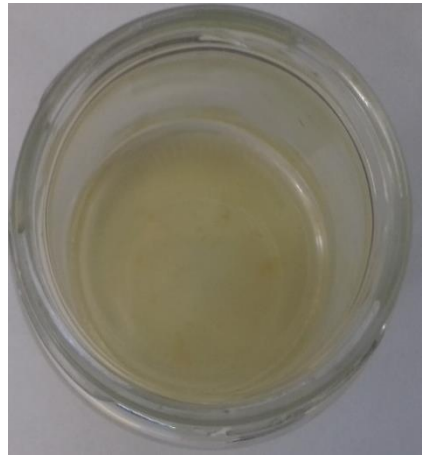
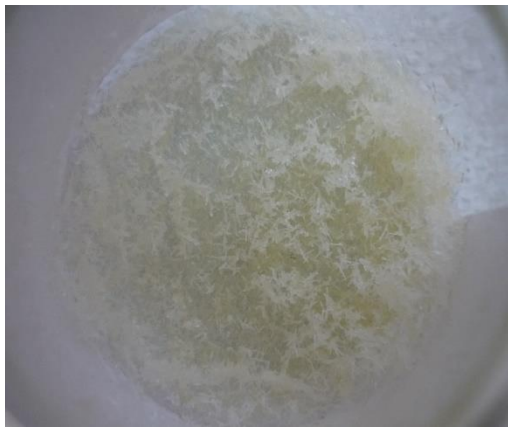
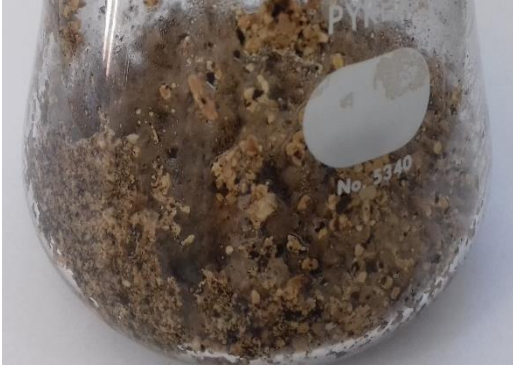
APÊNDICE E – Cromatografia em Camada Delgada (CCD).



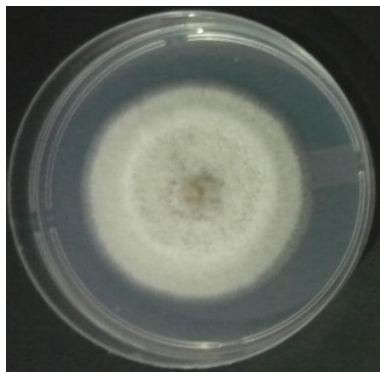
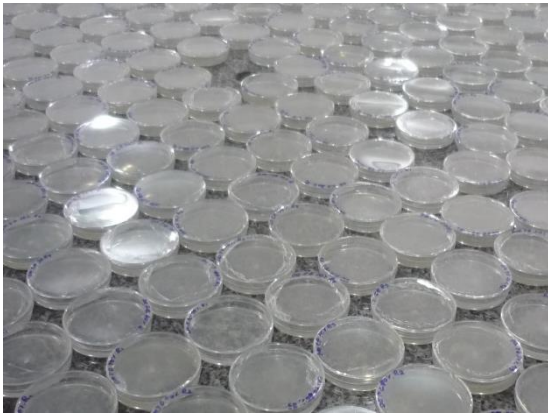
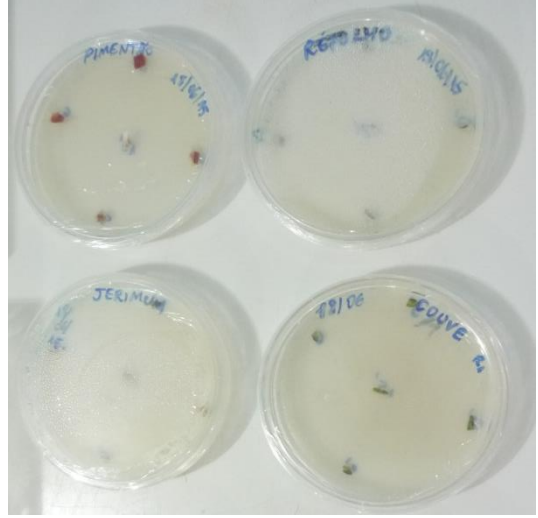
APÊNDICE F – Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massa (CG-EM).



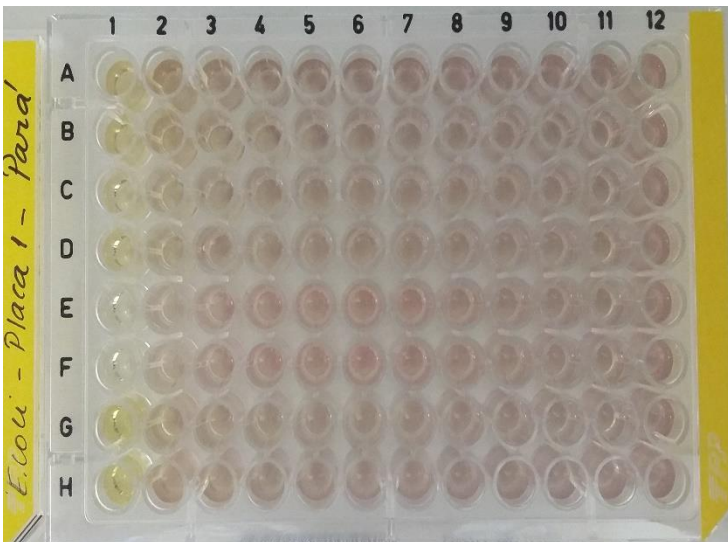
APÊNDICE G – Cristalização e Recristalização da cumarina.

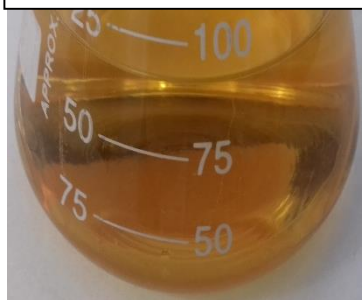


APÊNDICE H – Atividade antifúngica.



APÊNDICE I – Atividade Antibacteriana.



APÊNDICE J – Fracionamento dos extratos das cascas de *D. odorata* e *D. magnifica*.**Fração Hexânica****Fração
Diclorometânica****Fração de Acetato
de Etila****Fração Etanólica**