



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
CURSO DE FARMÁCIA

Beatriz Bueno Marcolino

**Análise da composição química e propriedades biológicas das folhas  
de *Varronia monosperma* Jacq. (CORDIACEAE)**

Florianópolis

2021

Beatriz Bueno Marcolino

**Análise da composição química e propriedades biológicas das folhas  
de *Varronia monosperma* Jacq. (CORDIACEAE)**

Trabalho de Conclusão do Curso de  
Graduação em Farmácia do Centro de  
Ciências da Saúde de Universidade  
Federal de Santa Catarina como requisito  
para a obtenção do título de Bacharel em  
Farmácia

Orientador: Profa. Dra. Christiane Meyre  
da Silva Bittencourt

Florianópolis

2021

Dedico esse trabalho à minha querida avó Alvina, que sei que se orgulha de mim onde quer que esteja.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus, por ter me concedido a oportunidade de cursar a Universidade dos meus sonhos, por me guiar durante toda a trajetória e sempre iluminar meu caminho

Aos meus pais, por serem a minha fortaleza, por todo amor, apoio, confiança, conselhos prestados durante toda a minha vida. Essa conquista não é só minha, é nossa.

Aos meus queridos amigos, que estiveram comigo ao longo da graduação, nos grupos de trabalhos, estágios, pesquisas. A minha amiga Nicolay, que foi minha mentora em química muitas vezes. Ao meu namorado Matheus, por ter me apoiado de todas as formas possíveis e estar presente nessa reta final. E a minha amiga Gisieli, por ser basicamente a minha dupla de reflexões sobre o TCC.

A minha orientadora Prof<sup>a</sup> Dra Christiane, por ter me dado a chance de trabalhar nessa área maravilhosa, por ter me apresentado o mundo da pesquisa, por todo conhecimento passado ao longo desses anos e pela orientação nesta reta final.

Aos colegas de laboratório que me auxiliaram no desenvolvimento da pesquisa.

Por fim, agradeço a todos que de alguma forma cruzaram o meu caminho e deixaram uma palavra de apoio ou simplesmente ouviram.

## RESUMO

O gênero *Varronia* é um dos mais importantes da família Cordiaceae, com ampla distribuição nas regiões tropicais e temperadas. Esta família caracteriza-se por apresentar em sua composição uma variedade de metabólitos secundários, tais como terpenos, glicosídeos, alcaloides e compostos fenólicos. São utilizadas no tratamento de muitas patologias, e tem-se evidenciado propriedades antimicrobianas, anti-nociceptiva, anti-inflamatória, antioxidante e hepatoprotetora. Considerando as provas científicas evidenciadas para a espécie *V. curassavica*, conhecida popularmente como erva-baleeira, com desenvolvimento de um fitoterápico de uso tópico, este trabalho objetivou a obtenção do óleo essencial das folhas de *V. monosperma*, por arraste a vapor d'água, a caracterização do óleo por cromatografia gasosa acoplada a espectro de massas (CG-EM) com comparação com biblioteca Nist 2.0 e, avaliação do potencial antimicrobiano dos óleos obtidos das distintas épocas do ano (primavera, verão, outono e inverno) para *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Candida albicans*. A obtenção dos óleos essenciais ocorreu com o auxílio do aparato Clevenger com tempo de extração de 3h, tendo como líquido extrator a água. A caracterização dos óleos essenciais ocorreu com o cromatógrafo gasoso (CG-EM) (Perkin Elmer: amostrador *headspace* 40/110 Trap). Para a realização da investigação da atividade antimicrobiana utilizou-se o ensaio de concentração inibitória mínima (CIM). O óleo essencial obtido através das folhas secas (verão) caracterizado por CG-EM, evidenciou a presença de 24 compostos, sendo os majoritários o  $\beta$ -cariofileno (19%), germacreno D (17%) e ylangeno (11%). A composição química do óleo foi comparada com a literatura e tratam-se de compostos de natureza sesquiterpênica, alguns destes presentes em outras espécies deste gênero e apresentaram atividade biológica frente a diversas patologias, destacando-se a atividade antimicrobiana, e ação imunomoduladora. Ao se comparar o óleo essencial obtido da *V. curassavica* em relação à *V. monosperma* observou-se semelhanças no que se refere a presença de  $\beta$ -cariofileno, humuleno e  $\alpha$ -copaeno, porém algumas substâncias são exclusivas de cada espécie em significativa quantidade. No presente estudo não foi evidenciada atividade antimicrobiana para os microrganismos testados, com exceção da amostra coletada no verão, porém com baixa atividade para a bactéria gram positiva *S. aureus*. Pretende-se dar continuidade aos estudos no que se refere a complementação da caracterização química dos óleos em função da sazonalidade e investigar o potencial anti-inflamatório, considerando seu uso pela população do município de Florianópolis.

**Palavras-chave:** Cordiaceae; *Varronia polycephala*; trinca-trinca; óleo essencial.

## ABSTRACT

The *Varronia* genus is one of the important ones in the Cordiaceae family with wide distribution in tropical and temperate regions. This family is characterized by having in its composition a variety of secondary metabolites, such as terpenes, glycosides, alkaloids and phenolic compounds. They are used in the treatment of many pathologies, and antimicrobial, anti-nociceptive, anti-inflammatory, antioxidant and hepatoprotective properties have been shown. Considering scientific examinations evidenced for a species *V. curassavica*, popularly known as “erva -baleeira”, with the development of a topical herbal medicine, this work aimed to obtain the essential oil from the leaves of *V. monosperma*, by dragging with water vapor, the characterization of the oil by gas chromatography coupled to mass spectrum (GC-MS) with comparison with the Nist 2.0 library and evaluation of the antimicrobial potential of chosen oils from different times of the year (spring, summer, autumn and winter) for *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Candida albicans*. The composition of essential oils occurs with the aid of the Clevenger apparatus with an extraction time of 3 hours, using water as the extracting liquid. A characterization of the essential oils took place with a gas chromatograph GC-MS (Perkin Elmer: 40/110 Trap headspace sampler). To carry out the investigation of antimicrobial activity, the minimum inhibitory concentration (MIC) assay is used. The essential oil extracted from dry leaves (summer) chosen by GC-EM, showed the presence of .24 compounds, the majority being  $\beta$ -caryophyllene (19%), germacrene D (17%) and ylangene (11%). The chemical composition of the oil was compared with the literature and they are compounds of sesquiterpenic nature, some of these present in other species of this genus showed biological activity against several pathologies, highlighting the antimicrobial activity and immunomodulatory action. When comparing the essential oil obtained from *V. curassavica* in relation to *V. monosperma*, similarities were observed regarding the presence of  $\beta$ -caryophyllene, humulene and  $\alpha$ -copaene, but some substances are unique to each species in a significant amount. In the present study, antimicrobial activity was not evidenced for the tested microorganisms, with the exception of the sample collected in the summer, but with low activity for the gram positive bacteria, *S. aureus*. It is intended to continue the studies regarding the complementation of the chemical characterization of oils as a function of seasonality and investigate the anti-inflammatory potential, considering it used by population of Florianopolis.

**Keywords:** Cordiaceae; *Varronia polycephala*; trinca-trinca; essential oil.

## SUMÁRIO

<b>1.INTRODUÇÃO.....</b>	<b>8</b>
<b>2.OBJETIVOS.....</b>	<b>11</b>
2.1OBJETIVO GERAL.....	11
2.2OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	11
<b>3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>12</b>
3.1 FARMÍLIA CORDIACEAE E GÊNERO VARRONIA.....	12
3.2 GÊNERO VARRONIA: POTENCIAL QUÍMICO E BIOLÓGICO.....	13
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>17</b>
4.1 MATERIAL VEGETAL.....	17
4.2 AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS MICROMORFOLÓGICAS...17	
4.3 OBTENÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL.....	18
4.4 CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL.....	18
4.5 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA .....	19
<b>4.5.1 Material microbiológico.....</b>	<b>19</b>
<b>4.5.2. Ensaio antimicrobiano.....</b>	<b>19</b>
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>20</b>
5.1 CARACTERIZAÇÃO BOTÂNICA .....	20
5.2 OBTENÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL .....	23
5.3 AVALIAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL POR CG/EM.....	24
5.4 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA.....	30
<b>6.CONCLUSÃO.....</b>	<b>34</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Os produtos naturais apresentam-se como um grande recurso de substâncias com diversidade funcional química ilimitada e com potencial terapêutico excepcional. O potencial clínico desta rica fonte de substâncias pode ser evidenciado pelas grandes contribuições na terapêutica como modelos estruturais para o desenvolvimento de novas moléculas com eficácia e tolerabilidade ou mesmo seu uso *in natura* (NEWMAN; CRAGG, 2020).

Análise realizada por Newman e Cragg (2016) entre 1981-2014, sobre estudos conduzidos com produtos naturais, demonstrou que estes desempenham um papel relevante na descoberta de novos fármacos. De todos os fármacos aprovados neste período, 46,71% são de origem natural, derivados ou mimetizam a estrutura de um metabólito secundário oriundo de plantas superiores. Embora a atualização dos dados por Newman e Cragg (2020) tragam que o número de grupos ativos trabalhando em produtos naturais tenha decaído na indústria farmacêutica, isso se deve ao cessamento do financiamento em países desenvolvidos, entretanto a influência das estruturas de produtos naturais não diminuiu materialmente em relação à aprovação de novos medicamentos. Produtos naturais ainda são a melhor opção para a busca de novas substâncias bioativas, e quando em conjunto com a química sintética e avaliações biológicas, oferecem a oportunidade da descoberta de novas estruturas que podem levar a agentes eficazes em uma variedade de doenças (NEWMAN; CRAGG, 2020). A razão da descoberta e sucesso de substâncias na área de câncer a partir de produtos naturais, em relação à produtos sintéticos, atinge 60% reforçando, desta forma, a importância de estudos conduzidos nesta área e estimula estudos em outras áreas da medicina (KHAN, 2018; DUTTA *et al.*, 2019).

A busca por alívio e cura de doenças através da ingestão de ervas provavelmente tenha sido umas das primeiras formas de utilização dos produtos naturais, informações estas que contribuem de forma relevante para a divulgação das propriedades terapêuticas estimulando as pesquisas na área da fitoquímica (LAHLOU, 2013; ATANASOV *et al.*, 2015). De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), 80% da população busca tratamentos tradicionais baseado no uso de plantas para tratamento de doenças e desta forma reforça e incentiva estudos científicos que

possam identificar as substâncias (fitoconstituintes) e seu potencial biológico, contribuindo desta forma para a validação de seu uso medicinal (EKIERT *et al.*, 2020)

O Brasil destaca-se pela predominância da biodiversidade mundial hospedando 20-22% das espécies vegetais relatadas mundialmente (DUTRA *et al.*, 2016) e estimula os centros de pesquisa à investigação fitoquímica, de espécies vegetais com histórico de uso medicinal, uma vez que somente pequena parcela deste arsenal biológico tem sido submetida à avaliação química e biológica (NEWMAN; CRAGG, 2020). A investigação fitoquímica e biológica em conjunto podem contribuir para a descobertas de novos tratamentos em áreas da medicina onde observam-se falhas e necessidade de complementações.

Dentre os principais problemas de saúde do mundo e que necessitam de complementação terapêutica estão os processos infecciosos e inflamatórios (OLAJIDE; SARKER, 2020). Como mencionado por Olajide e Sarker (2020) a inflamação crônica se caracteriza pela repetição e a não resolução, dessa forma, a busca de tratamentos naturais evita consequências a longo prazo de tratamentos medicamentosos.

O uso disseminado de antibióticos propiciou o que se chama de “era pós-antibiótica” (OMS, 2014). Muitas bactérias desenvolveram mecanismo de resistência aos tratamentos existentes, levando a falhas na efetividade dos tratamentos e revelando a necessidade de novos antibióticos para uso clínica. Neste contexto, a busca por novos antimicrobianos a partir de produtos naturais justifica-se principalmente considerando que produtos naturais apresentam uma variedade de grupos funcionais e muitas classes químicas tem revelado seu potencial antimicrobiano e contribuído para o direcionamento no desenvolvimento de fármacos nesta área (DAI *et al.*, 2020).

O Horto Didático de Plantas Medicinais do HU/CCS conta com aproximadamente 250 espécies vegetais de uso da população de Florianópolis e, tem contribuído desde 1999 para a formação acadêmica de estudantes dos cursos de farmácia, enfermagem e medicina e, oferecido formação sobre o uso seguro e correto de plantas à comunidade em geral e profissionais de saúde. Uma das espécies observadas neste local e de amplo uso medicinal é a *Varronia monosperma*, conhecida popularmente como “trinca-trinca, a qual vem sendo utilizada pela

população como antimicrobiano e anti-inflamatória, apesar de não se observarem, em literatura especializada, investigações que justifiquem seu uso de maneira racional e seguro (SOUZA, 2004).

Diante da ausência de estudos químicos e biológicos que comprovem o uso seguro de *V. monosperma*, e da constatação do potencial biológico e comercial de outra espécie do gênero *Varronia*, *V. curassavica* (*Cordia verbenácea*), com o desenvolvimento do fitoterápico Acheflan® a partir do óleo essencial desta espécie vegetal, elegeu-se esta planta como alvo para pesquisas a serem conduzidas para o presente trabalho de conclusão de curso.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Analisar a composição química do óleo essencial das folhas de *Varronia monosperma* utilizando técnicas cromatográficas e avaliar a influência da sazonalidade nos componentes voláteis e potencial antimicrobiano.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Coletar as partes aéreas de *V. monosperma* nas distintas épocas do ano (primavera, verão, outono e inverno).
- Avaliar as características micromorfológicas de *V. monosperma* e *V. curassavica* por microscopia de luz.
- Obter o óleo essencial de *V. Monosperma*, coletada nas distintas épocas do ano, por destilação por arraste de vapor d'água em aparato de Clevenger;
- Avaliar o rendimento e perfil cromatográfico por cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (CG-EM) do óleo essencial obtido no verão.
- Avaliar a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais obtidos através da determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM).

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 FAMÍLIA CORDIACEAE E O GÊNERO VARRONIA

Composta por ervas, arbustos e subarbustos em sua grande maioria, a família Cordiaceae é composta por 134 gêneros e 2.650 espécies vegetais, sendo no Brasil representada por 9 gêneros e 125 espécies (OLIVEIRA, 2019). A família Cordiaceae é conhecida pela representação de espécies ornamentais como espécies do gênero *Myosotis* L., *Cynaglossum* sp., o falso-miosótis e algumas espécies do gênero *Helotiopium* L., outras espécies se destacam pelo seu uso medicinal como o confrei (*Symphytum officinale* L.), o borago (*Borago officinalis* L) e a erva-baleeira, *Varronia curassavica* (sinonímia: *Cordia verbenaceae*) (MILLER, GOTTSCHLING, 2007). Dentre os principais gêneros de interesse medicinal e de ampla expansão destacam-se o gênero *Cordia* e *Varronia*.

Devido a extrema diversidade do gênero *Cordia* muitas publicações destoam sobre quantas e quais espécies pertencem a este gênero (MILLER; GOTTSCHLING, 2007). Segundo Miller (2013) o gênero *Cordia* possui aproximadamente 230 espécies, distribuídas em regiões tropicais e subtropicais, já o gênero *Varronia*, conta com aproximadamente 125 espécies de ocorrência em regiões tropicais e temperadas; no Brasil registram-se 34 espécies pertencentes ao gênero *Varronia* distribuídas na Floresta Amazônica, Mata Atlântica, Cerrado e Caatinga (STAPF, 2015)

Até o século 20, a maioria dos autores tratavam *Varronia* como inclusa no gênero *Cordia*, porém as diferentes características morfológicas entre os dois gêneros deixaram autores insatisfeitos com a junção. Miller e Gostchiling (2007) através de estudos moleculares e estruturais revelaram a ocorrência de diferenças entre as espécies vegetais e a segregação do gênero *Cordia* e *Varronia*. Plantas pertencentes ao gênero *Cordia* se apresentam na forma de árvores de caule múltiplo, margem da folha serrilhada, inflorescências capitato condensado ou espicato, nervação craspedrodo, enquanto as espécies de *Varronia* são quase exclusivamente arbustos multi-caules, apresentam margem das folhas visivelmente serrilhadas, com partes aéreas facultativamente acima do solo.

Apesar da diferenciação relatada por Miller e Gostchiling (2007) observam-se ainda, em inúmeras publicações, divergências de nomenclatura. Pesquisa realizada utilizando a base de dados *Sciencedirect*, com o filtro de ano de publicação de 2015-2021 e palavra-chave *Cordia* revelou 809 estudos, e com a palavra-chave *Varronia* 32 resultados. Muitos estudos com *Cordia verbenacea* destacam sua sinonímia à *V. curassavica*, assim como para a espécie *V. monosperma* encontram-se como sinonímias *Cordia polycephala* (Lam.) I.M Johnston e *Cordia monosperma* (Jacq.) Roem & Schult.

Certamente, a espécie mais conhecida do gênero *Varronia* é a *V. curassavica* (*Cordia verbenacea*) para qual foi observado efeito anti-inflamatório para o óleo essencial devido principalmente à presença de dois sesquiterpenos,  $\alpha$ -humuleno e trans- cariofileno, e cuja descoberta culminou no desenvolvimento do produto tópico Acheflan® (GOMES *et al.*, 2019). Diante da ampla divulgação da eficácia deste produto a população começou a buscar na natureza a espécie medicinal e nesta busca começou a utilizar a espécie *V. monosperma* em substituição e observando resultados positivos. A espécie vegetal *V. monosperma* vem sendo empregada pela população de Florianópolis como anti-inflamatória em processos inflamatórios de garganta, problemas renais e bexiga, além do uso externo para lavagem de ferimentos, pela ação antimicrobiana (MARQUES, 2010). Diante da observação da ausência de estudos que validem seu uso medicinal elegeu-se esta planta como alvo da presente pesquisa.

### 3.2 O GÊNERO VARRONIA: POTENCIAL QUÍMICO E BIOLÓGICO

Dos 26 estudos que relatam investigação química e biológica observados, consultando as bases de dados científicas como Sciencedirec, PUBMED e Scielo usando como palavra-chave *Varronia*, 65% referem-se à espécie *V. curassavica*.

A espécie *V. curassavica* (*Cordia verbenacea*) tem sido alvo de extensas pesquisas científicas impulsionado pela descoberta da efetividade em processos inflamatórios do seu óleo essencial quando de uso tópico do produto Acheflan. Dentre as classes químicas observadas para esta espécie destacam-se terpenos,

glicosídeos, alcaloides e compostos fenólicos: cumarinas, flavonoides e taninos. As principais substâncias encontradas no óleo essencial de *V. curassavica* foram:  $\alpha$ -pineno, sabineno,  $\beta$ -felandreno,  $\delta$ -elemeno,  $\gamma$ -elemeno,  $\beta$ -cariofileno,  $\gamma$ -cariofileno e germacreno D (MATIAS et al., 2016a).

Passos *et al.* (2007) e Sertié *et al.* (2005) descrevem que a presença de sesquiterpenos e da substância trans-cariofileno contribuem para atividade anti-inflamatória quando avaliado no modelo experimental de edema de pata de camundongos, nas doses de 300 e 600 mg/kg.

Estudos conduzidos por Carvalho *et al.* (2004) revelaram também atividade antimicrobiana para o óleo essencial de *V. curassavica*, apresentando inibição de 80% das bactérias Gram positivas testadas. Também conforme relatado por MICHELIN *et al.*, 2009, ao observar o halo de inibição provocado pelo óleo essencial de *V. curassavica*, mesmo o menor halo ainda representa um grande potencial inibitório se comparado com os valores de concentração inibitória mínima.

Monoterpenos oxigenados, presentes em plantas, exibem atividade antimicrobiana contra um considerável número de bactérias Gram positivas e Gram negativas (BADAWY et al., 2019; MATIAS et al., 2016a). No estudo realizado por Matias (2016), a avaliação do potencial antimicrobiano demonstrou que o óleo apresenta poder de sinergismo significativo, reduzindo a CIM do antimicrobiano padrão testado (Gentamicina). O óleo essencial de *V. curassavica* apresentou grande quantidade de monoterpenos oxigenados possivelmente os responsáveis pela atividade modulatória antimicrobiana apresentada.

Apesar de observar um maior número de investigações conduzidas com a espécie *V. curassavica* outras espécies tem ganhado notoriedade nos últimos anos, como a *V. dardanii* para qual evidenciou-se atividade espamolítica não seletiva quando avaliada em ratos, sugerindo que os flavonóides observados por UPLC-ESI-HRMS, presentes no extrato etanólico tenham contribuição para esta atividade (CARLOS *et al.*, 2020).

Estudo conduzido por Lopes *et al.* (2019) avaliou a segurança da administração oral do extrato alcóolico de *V. multispicata* e sua efetividade no tratamento nociceptivo e anti-inflamatório em ratos. Os resultados apresentaram baixa toxicidade na administração oral, presença da atividade anti-nociceptiva e anti-

inflamatória e adicional atividade antioxidante e hepatoprotetora. A investigação fitoquímica evidenciou a presença dos flavonoides quercetina e kaempferol.

Apesar do regular uso medicinal de *V. monosperma* como tratamento para hemorroidas por banho de assento, tratamento de doenças urinárias e estomacais (DEMÉTRIO et al., 2020) não se observam estudos científicos conduzidos com esta espécie vegetal. Diante do exposto a presente pesquisa visa avaliar a composição química e potencial biológico de *V. monosperma* e a influência da sazonalidade nos componentes voláteis. Não existem muitas publicações que trazem informação química sobre *V. monosperma*, baseamos a pesquisa na comparação com as informações encontradas sobre a maior representante farmacológica do gênero, *V. curassavica*.

Como pode ser observado na figura 1, ambas espécies apresentam semelhanças em sua morfologia. Para diferenciá-las é necessário um olhar crítico e analisar também outras características como odor das folhas, textura e tamanho. A principal diferença entre as duas espécies está nas inflorescências, apesar de similares, a localização entre as espécies é distinta. As inflorescências de *V. monosperma* apresentam-se ao fim dos ramos secundárias que brotam de todo ramo principal. Já *V. curassavica*, apresenta inflorescências que surgem nas extremidades dos ramos em forma de espigas arqueadas para baixo, com flores de coloração branca a amarelada, de tamanho pequeno com ovário subglobuloso (OLIVEIRA, 2019).

Apesar do relatado por Oliveira (2019), foi observado durante as coletas, que a planta *V. monosperma* não apresentava inflorescências durante as estações da primavera e verão, tornando assim mais difícil para a população diferenciá-las. Ambas as plantas apresentam caráter arbustivo, com folhas simples, alternadas, coriáceas, lanceoladas e com aspecto áspero. As folhas de *V. curassavica* são ligeiramente maiores que as folhas de *V. monosperma*, e a presença de ramos secundários partindo do galho principal é o que as diferencia, tal conformação não é observada em *V. curassavica*.

**Figura 1.** Comparação entre a morfoanatomia de *Varronia monosperma*, à esquerda e *Varronia curassavica*, à direita.



**Fonte:** O autor (2021).

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 MATERIAL VEGETAL

Espécimes de *Varronia monosperma* Jacq. foram coletadas no Horto didático de plantas medicinais do HU/CCS (27°35'50.6"S 48°31'00.1"W). As partes aéreas de *V. monosperma* coletadas ao final das distintas estações do ano (primavera, verão, outono e inverno) foram submetidas a secagem a temperatura ambiente por 7 dias e em seguida separadas em folhas, caules e inflorescência para obtenção de óleo essencial, conforme descrito no item 4.3.

### 4.2 AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS MICROMORFOLÓGICAS

Para dar início a referida pesquisa, inicialmente realizou-se análise das características micromorfológicas da espécime de *V. monosperma* cultivada no Horto didático de plantas medicinais do HU/CCS, as partes aéreas foram coletadas no final do inverno de 2020.

Foram realizadas secções da porção mediana das lâminas foliares de *V. monosperma* a mão livre, contemplando a nervura central. Estas foram submetidas a submersão em hipoclorito de sódio puro por 5 minutos para clarificação, e posteriormente em água deionizada. A observação das estruturas foi realizada através de microscopia de luz sob aumento de 100 e 400 vezes.

Considerando que a planta em estudo vem sendo empregada pela população local em substituição à planta *V. curassavica* e pela semelhança macroscópica de ambas se realizou uma análise comparativa entre as estruturas microscópicas e macroscópicas de *V. monosperma* e *V. curassavica* a fim de observar possível semelhança.

### 4.3 OBTENÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL

Para a obtenção dos óleos essenciais a partir das folhas secas de *V. monosperma*, coletadas nas distintas épocas do ano, foi utilizado o método de hidrodestilação por Clevenger durante 3 horas, após sucessivas extrações utilizando diferentes tempo, observou-se que o maior rendimento ocorria com 3 horas de extração. Segundo Matias (2016), o melhor período para extração dos compostos voláteis de espécies de *Varronia* ocorre em 2h30. Após retirada do óleo do compartimento de extração os respectivos óleos essenciais foram armazenados em congelador, em vials, e protegidos da luz.

### 4.4 CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL

O óleo essencial coletado ao final da estação de verão foi submetido a análise cromatográfica utilizando cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM) e os espectros de massas obtidos foram comparados com os padrões disponibilizados pela biblioteca Nist 2.0. As condições de análise empregadas para a análise cromatográfica foram: temperatura do injetor de 250°C; programa de temperatura de 80°C até 200°C em 10°C/min; 200°C até 300°C em 15°C/min; tendo as demais condições iguais às do CG-FID.

50 µL de óleo essencial de *V. monosperma* foram diluídos em éter dietílico a 1% v/v, sendo injetado 0,5 µL dessa solução no modo split (50mL/min) no cromatógrafo a gás Clarus 680 com injetor automático, coluna capilar Elite-5mS (30 m × 0,25 mm × 0,25 µm) e gás carreador He (fluxo de 1,0mL/min). Rampa de T: 80°C (4') até 110°C a 2°C/min, 110°C (1'), seguindo até 130°C a 5°C/min, 130°C (1'), finalizando em 250°C a 15°C/min; T injetor 250oC em modo split (50 mL/min). Os compostos separados foram identificados em espectrômetro de massas Clarus SQ8, acoplado ao CG, o qual foi operado selecionando solvent-delay 4'; modo de ionização por ionização eletrônica (IE) a 70 eV, T fonte 180oC e T linha de transferência 220oC, detector do tipo quadrupolo com faixa de scan 45 a 500 Da. As condições do aparelho e a metodologia empregada foi desenvolvida na presente pesquisa por método de tentativa, avaliando quais parâmetros entregariam um melhor cromatograma. A

identificação dos compostos foi realizada com o auxílio da biblioteca NIST-MS (2010, versão 2.0), comparando com a similaridade no padrão de fragmentação das estruturas de referência.

## 4.5 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

### 4.5.1 Material microbiológico

Para a triagem de avaliação de atividade antimicrobiana foram empregados microrganismos (cepas padrões), como bactérias: *Escherichia coli* (ATCC 11775) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538P) e a levedura *Candida albicans* (ATCC10231).

### 4.5.2 Ensaio antimicrobiano

Os óleos essenciais de *V. monosperma* foram avaliados em relação ao potencial antimicrobiano utilizando o método de diluição com a identificação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) para bactérias e fungo. Os valores de concentração inibitória mínima (CIM) foram determinados através do método de diluição dos óleos essenciais em ágar empregando a metodologia descrita por CLSI com modificações (CLSI, 2009). Para cada micro-organismo foram preparados séries de 10 tubos em diferentes concentrações (1000 a 2 µg) de cada amostra e a cada tubo foi adicionado 1 mL de meio agar Mueller-Hinton para as bactérias e ágar Sabouraud dextrosado para os fungos. Após a solidificação dos meios de cultura, os micro-organismos foram inoculados nas séries com alçada calibrada (1 µL), correspondendo a  $1-5 \times 10^5$  células, para as bactérias;  $1-5 \times 10^{-5}$  células para as leveduras;  $1,5 \times 10^{-4}$  conídios, para os fungos filamentosos, como descrito por CLSI (2009), Espinel-Ingroff e Pfaller (1995) e Llop et al. (2000), respectivamente. As culturas foram incubadas a 35°C por 18 a 24 horas para as bactérias, 30°C por 24 a 48 horas para o fungo leveduriforme. Após a incubação, foram realizadas leituras da CIM através da verificação visual do crescimento microbiano. Os ensaios foram

realizados em triplicata e sob coordenação do Prof. Dr. Alexandre Bella Cruz, Curso de farmácia, UNIVALI, Itajaí-SC, mediante parceria já estabelecida.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Par dar início ao estudo com a espécie vegetal *Varronia monosperma* (sinonímia: *V. polycephala* Lam. e *Cordia monosperma* Roem and Schult.), conhecida como “baleeira-preta” e “trinca-trinca” (Cordiaceae) realizou-se pesquisa consultando bases de dados científicos como “Pubmed” e “Sciencedirect”, utilizando como palavras-chave: nome científico e as sinonímias. A pesquisa revelou o ineditismo do tema uma vez que foi observado somente um artigo publicado envolvendo investigação biológica com análise da propriedade antimicrobiana pelo método de difusão em ágar (SOUZA et al., 2004). Neste estudo foram utilizados os microorganismos *S. aureus* (ATCC 6538P), *S. epidermidis* (ATCC 12228), *Micrococcus luteus* (ATCC 9341), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Candida albicans* (ATCC 10231). O extrato metanólico de *V. monosperma* apresentou sensibilidade com halo de 16.1–20 mm apenas para *Bacillus subtilis* e *Saccharomyces cerevisiae*.

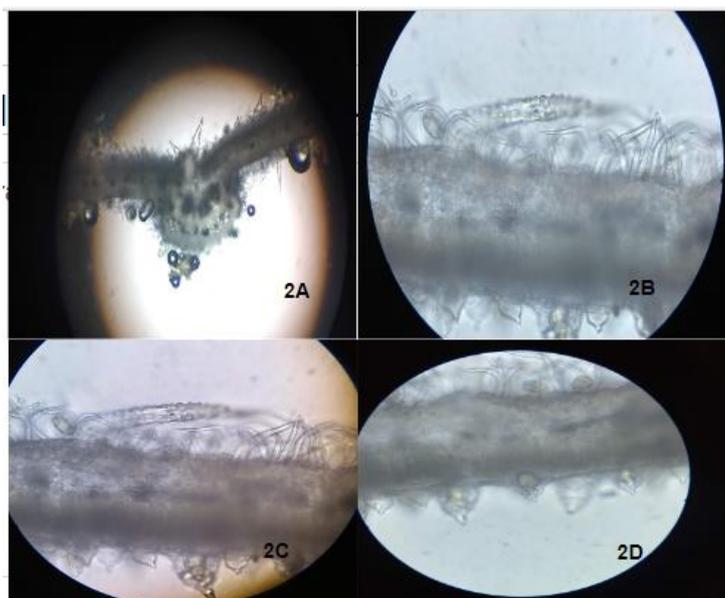
Diante da constatação da inexistência de informações sobre a composição química da espécie vegetal em estudo para dar início a investigação fitoquímica inicialmente optou-se por realizar uma análise botânica para avaliar as características microscópicas e desta forma, confirmar sua identificação comparando com as informações fornecidas por Demétrio (2017), bem como complementa-las, além de comparar com as características microscópicas observadas para *V. curassavica*.

### 5.1 CARACTERIZAÇÃO BOTÂNICA

Conforme apresentado na figura 2, em vista frontal, face adaxial observa-se a presença de tricomas não glandulares com cristólitos. Em face abaxial, observou-se outros 2 padrões de tricomas não glandulares (TNG) alongados de diferentes dimensões e em grande quantidade, e de base cilíndrica e verrucosos (pequenas projeções predominantes nas células medianas e terminais). Não foi observado presença de tricomas glandulares e estômatos porém, de acordo com Demétrio (2017), a *V. monosperma* é hipoestomática. O mesofilo apresentou-se dorsiventral composto por parênquima paliçádico com uma camada de células, seguido de parênquima

lacunoso composto por camada de 3- 4 células. Epiderme unisseriada, com cutícula fina; a nervura central apresenta-se côncava na face abaxial e convexa na adaxial, com projeções menos pronunciadas que *V. curassavica*. O feixe vascular é colateral.

**Figura 2.** Foto das características microscópicas observadas para a espécie vegetal *V. monosperma*.

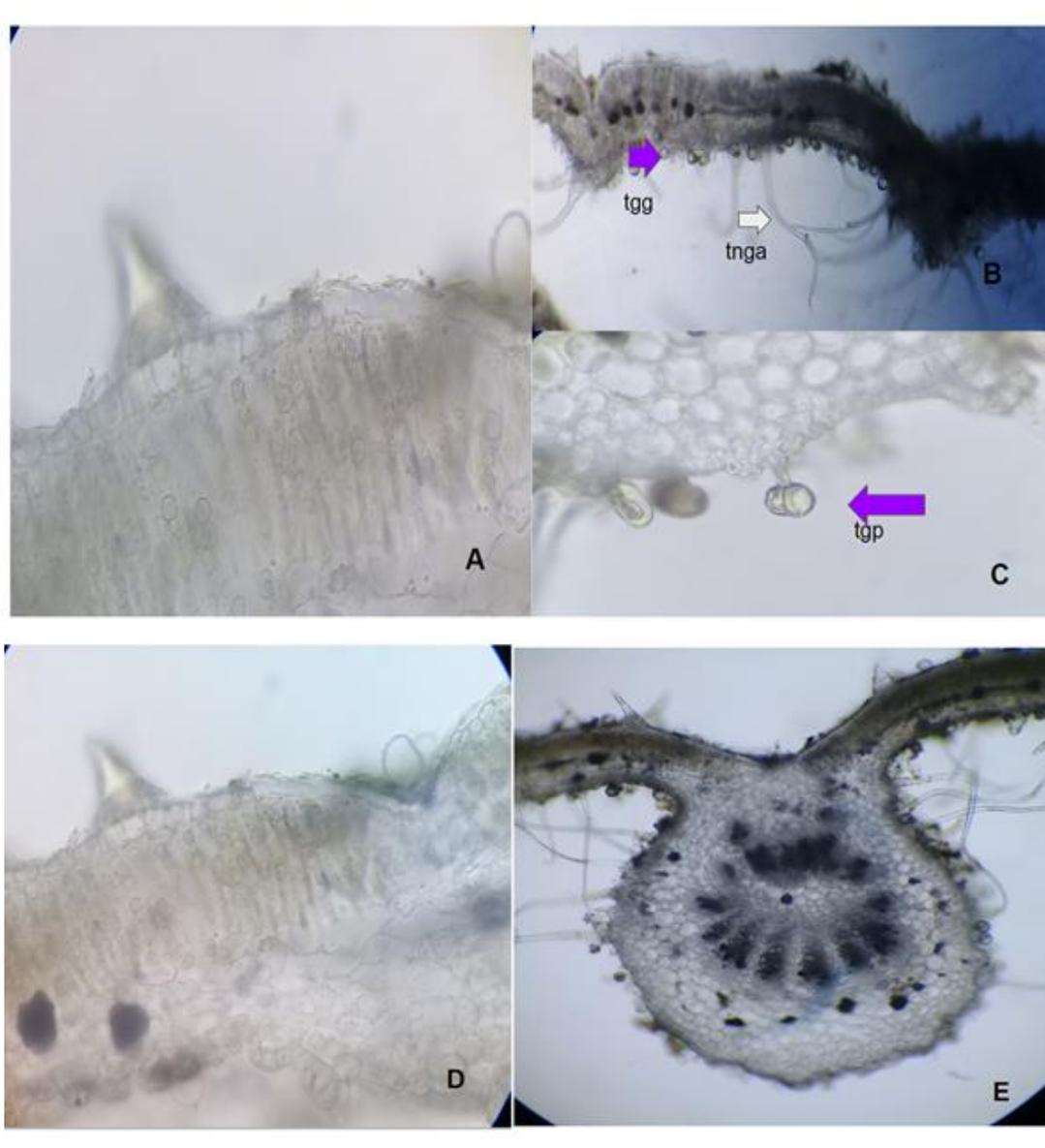


NOTA: 2A- nervura central; 2B- TNG verrucosos; 2C e 2D- TNG adaxial e TG com cistololitos abaxial.

A análise microscópica realizada com a espécie vegetal *V. curassavica*, revelou em vista frontal, na face adaxial tricomas não glandulares curtos e com cistólitos (Figura 2-A) em grande densidade. Na face abaxial observam-se TNG alongados, numerosos, com diferentes dimensões (Figura 2-B), também em grande densidade. Tricomas glandulares se apresentam numerosos na face abaxial, em três padrões: pedunculados – pé com 2 a 4 células, cabeça globular (Figura 2-B) e reniformes. Não foi possível observar densidade de estômatos, devido a presença de numerosos tricomas não glandulares. O mesofilo apresentou-se dorsiventral composto por parênquima paliçádico com uma camada de células, seguido de parênquima lacunoso composto por camada de 3- 5 células. A epiderme apresentou-se unisseriada, não sendo possível observar presença de cutícula. A nervura central apresentou-se côncava na face

abaxial e convexa na face adaxial, com projeções proeminentes e bem destacadas (Figura 2-A).

**Figura 3.** Foto das características microscópicas observadas para a espécie vegetal *V. curassavica*.



NOTA: A-TNG com cistólito, face adaxial, aumento de 40x. B-Tricoma glandular cabeça globular (tgg). TNG alongado (tnga), face abaxial, aumento 10x. C-Tricoma glandular pedunculado (tgp). D- mesofilo paliçádico em vista adaxial e lacunoso abaxial ( 400x). E- Nervura central, tnga, tgg (100x).

Para a diferenciação microscópica das duas espécies pode-se observar a nervura central de *V. monosperma* menos pronunciada que a de *V. curassavica* que se apresenta globosa e proeminente. Também a presença dos tricomas não glandulares de *V. curassavica* são de formato alongado com característica filamentosa em comparação com *V. monosperma* que possui maior densidade de TNG porém mais curtos. Os tricomas não glandulares verrucosos de base cilíndrica foram observados apenas na *V. monosperma*.

Demetrio (2017) já havia observado tais padrões para *V. monosperma*, portanto, pudemos complementar as análises comparando com a morfoanatomia de *V. curassavica*.

## 5.2 OBTENÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL

Diante das múltiplas aplicações dos óleos essenciais, seja na indústria farmacêutica, na cosmetologia ou mesmo no ramo alimentício, elegeu-se como objetivo específico do presente estudo avaliar a composição química do óleo essencial extraído das partes aéreas de *V. monosperma*, bem como, investigar se a estação do ano propicia alterações na composição química desta espécie vegetal e que possa influenciar sua propriedade antimicrobiana (AZIZ et al., 2018).

A extração do óleo essencial realizada com as folhas secas de *V. monosperma* coletadas nas quatro estações do ano (primavera, verão, outono e inverno) apresentou um rendimento médio de 0,329% com relação às folhas secas, conforme apresentado na tabela 1. Após a obtenção do óleo essencial, o mesmo foi acondicionado em vials, e armazenado sob refrigeração.

**Tabela 1.** Rendimento dos óleos essenciais de *V. monosperma* nas quatro estações do ano com relação às folhas seca.

<b>Estação</b>	<b>Rendimento (%)</b>
Primavera	0,312
Verão	0,301
Outono	0,359
Inverno	0,345

Estudos demonstram que o rendimento do óleo essencial extraído das plantas secas do gênero *Varronia* apresentam em média um rendimento inferior a 0,5%. Com relação a espécie *V. curassavica*, amplamente investigada, Matias et al. (2016) demonstraram maior rendimento do óleo essencial com relação à planta seca no período entre os meses de agosto a outubro (inverno e primavera no Hemisfério Sul), variando de 0,336% - 0,366%, valores próximos aos observados para a espécie em estudo, porém no presente estudo não foram observadas diferenças nas distintas estações do ano.

### 5.3 ANÁLISE DO ÓLEO ESSENCIAL POR CG/EM

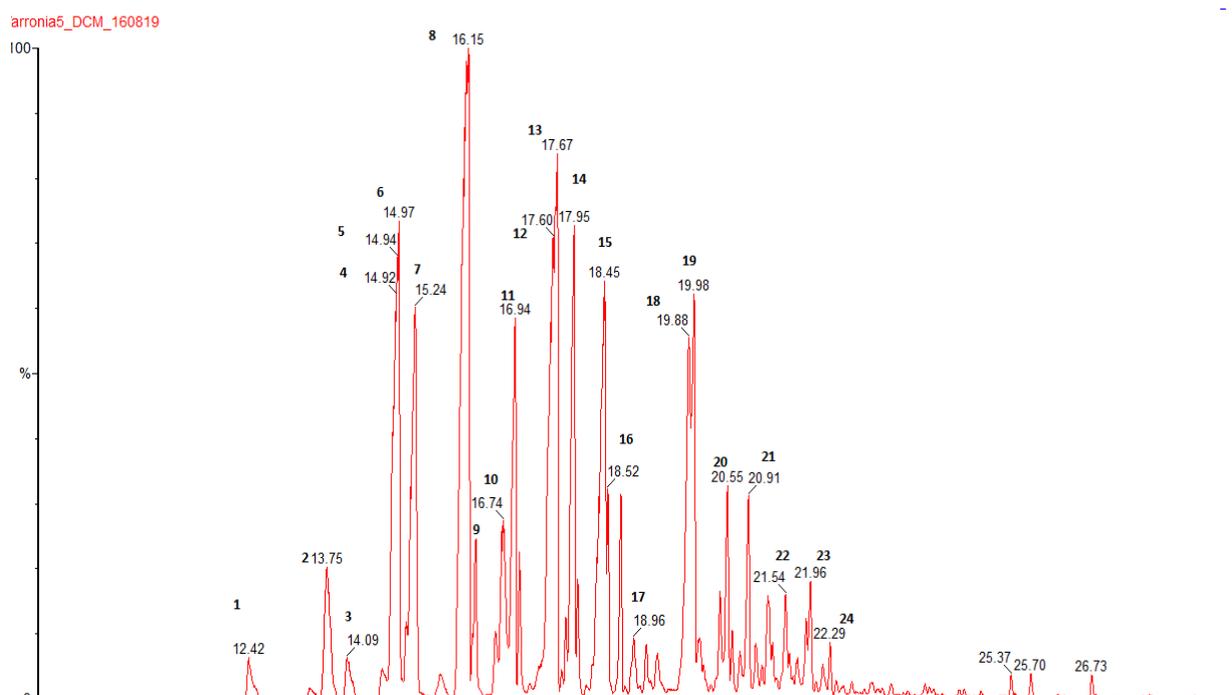
O estudo cromatográfico realizado inicialmente com o óleo essencial das folhas de *V. monosperma* coletadas no final do mês de março (verão) através da cromatografia gasosa acoplada a espectro de massas (CG/EM), possibilitou a caracterização deste, onde foram identificados 24 constituintes, sendo os majoritários os compostos referentes aos picos 6, 13 e 8 como mostra o cromatograma na figura 4.

Os espectros de massas destes compostos foram comparados com os dados presentes na biblioteca Nist 2.0. Esta comparação possibilitou a identificação dos compostos majoritários com concentração média relativa o  $\beta$ -cariofileno (19%), germacreno D (17%) e ylangeno (11%), referentes aos picos 8, 13 e 6, respectivamente. Os sesquiterpenos cariofileno e  $\alpha$ -humuleno, observado nesta espécie vegetal com

5,48%, estão presentes no óleo essencial da planta erva baleeira (*V. curassavica*), matéria-prima presente no fitoterápico Acheflan® da empresa farmacêutica Aché, comercializada como anti-inflamatório.

A completa composição química do óleo essencial de *V. monosperma* (verão), através dos compostos identificados pode ser observada através da tabela 2. Picos de menor intensidade foram desconsiderados, a presença de isômeros dos compostos fez com que dos 24 constituintes presentes no cromatograma, fossem identificados 14 compostos, utilizando comparação com a biblioteca Nist 2.0, e seus isômeros.

**Figura 4.** Cromatograma do óleo essencial de *Varronia monosperma* (verão).



A porcentagem relativa média dos componentes voláteis está apresentada na tabela 2. A avaliação da porcentagem relativa média foi realizada com o cálculo da área dos picos identificados no cromatograma, não foram identificados os compostos voláteis que estavam presente na amostra em quantidades traço e que atingiram no máximo 1% da área relativa.

**Tabela 2.** Composição química do óleo essencial de *V. monosperma* analisado por CG-EM.

<b>Substância (pico identificado)</b>	<b>Porcentagem (%)</b>
Ciclohexano, 1-etenil-1-metil-2-(1-metiletenil)-4-(1-metiletilideno) (2)	3
<b>Ylangeno (6)</b>	<b>11</b>
Azuleno (7)	8
<b><math>\beta</math>-Cariofilleno (8)</b>	<b>19</b>
$\beta$ -Cubebeno (9)	2
Humuleno (10)	5
<b>Germacreno D (13)</b>	<b>17</b>
Naftaleno (15)	10
(-)-Espatuleno (17)	7
Óxido de cariofileno (19)	5
Epiglobulol (20)	2
Ácido 2,4-bis[(trimetilsilil)oxi]-, trimeilsilil ester benzóico	2
Epóxido de isoaromadendreno (21)	1

No espectro de massas do composto cariofileno (Figura 5) é possível identificar que o fragmento de peso molecular 92,9259 g/mol representa o pico base desta estrutura, ou seja, o pico de maior intensidade do espectro. O fragmento de peso molecular 93 g/mol provavelmente refere-se ao íon  $C_7H_9^+$  característico da classe dos terpenos e sesquiterpenos, formado através da isomerização provocada pelo aumento da conjugação, seguida por clivagem alifática. O fragmento chamado

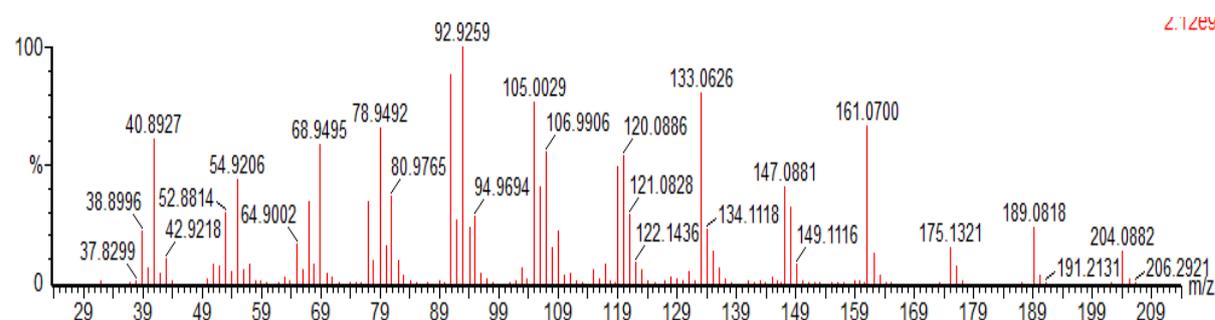
de íon molecular refere-se ao pico que determina o peso molecular final da estrutura deste sesquiterpeno, que neste caso é de 204,36 g/mol.

A intensidade dos demais fragmentos aparecem como frações do pico base. A estrutura deste sesquiterpeno apresenta duplas ligações, estas por sua vez favorecem a quebra alílica, dando origem ao íon carbônico alílico que é estabilizado por ressonância. A estrutura química deste composto pode ser observada na figura 6.

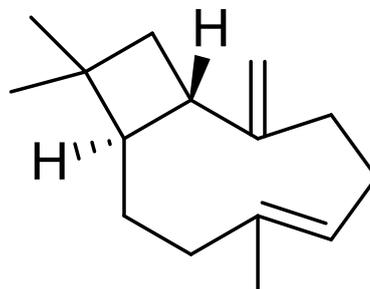
O  $\beta$ -cariofileno é sesquiterpeno bicíclico (Figura 6) que tem sido detectado em uma grande variedade de óleos essenciais de espécies vegetais. Apresenta forte odor e é comumente relacionado às plantas aromáticas. Tem sido evidenciado suas propriedades biológicas em diversos óleos essenciais, tais atividades como: agonista canabinóide, inibidor de neutrófilos, cardioprotetor, hepatoprotetor, anti-inflamatório. (SHARMA et al., 2016). Estudos experimentais recentes mostram a capacidade do  $\beta$ -cariofileno m reduzir mediadores inflamatórios importantes tais como o Fator de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ ), interleucina 1- $\beta$  (IL-6), fator nuclear kappa-luz e potencializador de cadeia de células B ativadas (NF- K $\beta$ ) (SCANDIFFIO *et al.*, 2020).

O  $\beta$ - carifileno, isolado e purificado do óleo essencial de *V. curassavica*, apresentou atividade anti-inflamatória marcante e inibiu o edema de pata de camundongos, diminuindo significativamente o TNF - $\alpha$  (PASSOS et al., 2007).

**Figura 5.** Espectro de massas do composto cariofileno.



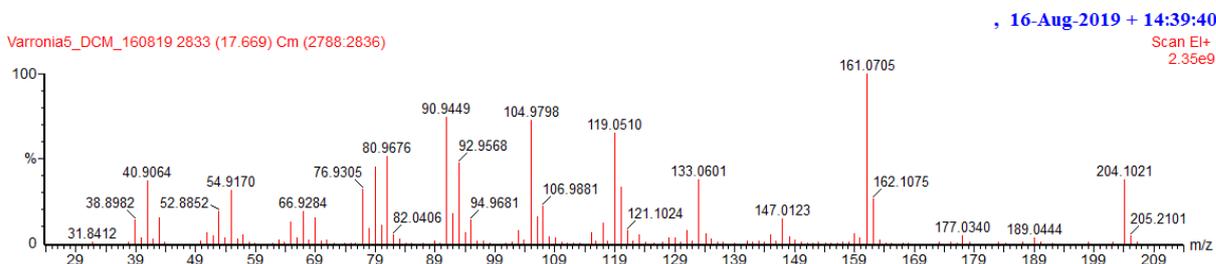
**Figura 6** - Estrutura química do composto cariofileno.



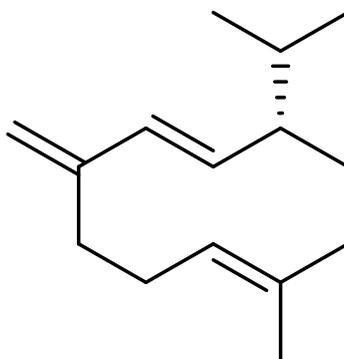
No espectro de massas do composto germacreno D, representado na figura 7, é possível identificar que o fragmento de peso molecular 161,0705 g/mol representa o pico base desta estrutura, ou seja, o pico de maior intensidade do espectro. O fragmento de peso molecular 161 g/mol provavelmente refere-se ao íon  $C_{12}H_{17}^+$ . O sesquiterpeno germacreno D está presente em várias espécies de plantas, fungos, bactérias.

Estudo recente realizado com germacreno D isolado do óleo essencial de *Hypericum perforatum*, apresentou inibição da mobilização de  $CA^{2+}$ , responsável por um dos processos da recrutamento de neutrófilos, caracterizando assim a atividade imunomoduladora (SCHEPETKIN et al., 2020).

**Figura 7.** Espectro de massas do composto germacreno D.

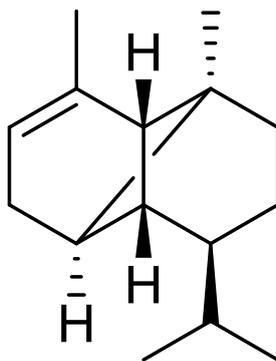


**Figura 8** - Estrutura química do composto germacreno D.

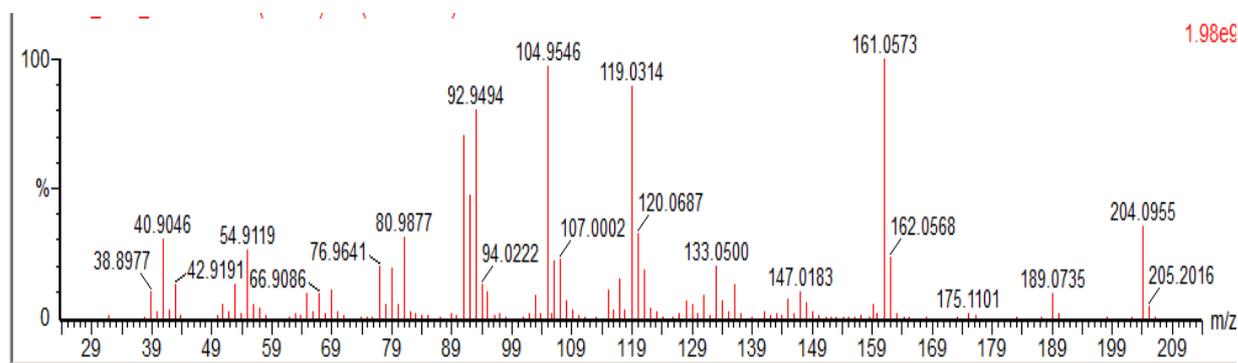


O ylangeno é um sesquiterpenóide (Figura 9), comum em organismos marinhos, fungos e plantas. No espectro apresentado na figura 10, o pico base é 161,0573g/mol, que refere-se a quebra do íon  $C_8H_9^+$ . Pode-se observar que espectro de massas do ylangeno também revela o fragmento em 93 g/mol, que provavelmente refere-se ao íon  $C_7H_9^+$  característico dos terpenos e sesquiterpenos.

**Figura 9.** Estrutura química do composto ylangeno.



**Figura 10.** Espectro de massa do composto ylangeno.



Com base na literatura, e como mostra o quadro 1 realizou-se uma busca sobre a composição dos óleos essenciais de outras espécies do gênero *Varronia* para que se pudesse traçar um paralelo entre as suas atividades biológicas.

Conforme citado anteriormente, não existem muitos estudos sobre outras espécies de *Varronia*, e utilizando o filtro para a busca de composição química do óleo essencial, apenas 2 espécies foram encontradas, sendo uma delas a *V. curassavica*.

Como pode-se observar, os constituintes terpênicos são comuns nos óleos essenciais desse gênero assim como a classe dos fenilpropanoides, muito destes compostos presentes no óleo essencial apresentam atividade biológica frente a diversas patologia, atividades como anti-inflamatória e antimicrobiana sendo as principais observadas, mas recentemente estudos correlacionam a presença do  $\beta$ -cariofileno no óleo essencial com atividade agonista canabinóide e inibidora do recrutamento de neutrófilos e mediadores pró- inflamatórios (SCANDIFFIO et al., 2020).

Também pode-se observar que o  $\alpha$ -pineno é o composto majoritário do óleo essencial de *V. curassavica*, e o mesmo não caracterizado no óleo de *V. monosperma*. Estudos revelam atividade antimicrobiana para enantiômeros positivos, mostrando também atividade inibitória contra a formação de biofilme de *C. albicans*. (SILVA, 2012).

**Quadro 1.** Composição química do óleo essencial de diferentes espécies do gênero *Varronia* e atividade biológica.

Espécie vegetal	Composição química (%)	Atividade biológica	Referência
<i>V. curassavica</i>	$\alpha$ -pineno(50%), $\beta$ -elemeno (3,24%), (E) cariofileno (12%) 9-epi-(E)-cariofileno (4%), $\delta$ -elemeno (6%)	anti-inflamatória antimicrobiana agonista canabinóide	(MARQUES et al., 2019a) (PASSOS et al., 2007) (SCHEPETKIN et al., 2020)
<i>V. dardanii</i>	D-limoneno (27,49%), linalol (10,54%), 1,8 cineol (13,23%), $\alpha$ -terpinol	Antifúngico ( <i>Furasium solani</i> ) Inseticida ( <i>Aedes aegypti</i> )	(DUARTE, 2015)

#### 5.4 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

A sensibilidade dos micro-organismos aos antimicrobianos é representada pela concentração inibitória mínima (CIM), que corresponde à menor concentração do antimicrobiano capaz de inibir o desenvolvimento visível do micro-organismo avaliado (MURRAY, ROSENTHAL, PFALLER, 2009).

A atividade antimicrobiana de óleos essenciais pode variar em função de fatores externos como a variação sazonal. As estações do ano se caracterizam por variações na temperatura, luminosidade, índice pluviométrico e radiação solar e estas alterações podem ocasionar mudanças nos fitoconstituintes ou mesmo na concentração dos mesmos repercutindo em atividades biológicas diferenciadas.

Conforme citado anteriormente, grande parte dos estudos realizados sobre o gênero *Varronia* concentram-se na *V. curassavica*, sobre esta espécie tem-se que a concentração do óleo essencial varia entre estações, o composto mais abundante em todas as estações foi o  $\alpha$ - pineno, e também como a análise tratou de acessos em localizações diferentes, alguns compostos são exclusivos de acessos. (MARQUES et al., 2019b)

O óleo essencial de *V. curassavica* é composto principalmente por mono e sesquiterpenos, dentre eles  $\alpha$ -pineno e  $\beta$ -cariofileno. O óleo essencial apresentou

principalmente atividade antimicrobiana contra bactérias Gram-positivas (88% das cepas testadas foram inibidas). As cepas gram-negativas continham *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae* e *Proteus mirabilis* (DE CARVALHO et al., 2004).

Os óleos essenciais das distintas épocas do ano (primavera, verão, outono e inverno) de *V. monosperma*, não apresentaram atividade até 2,5% (25.000 ppm) para os mesmos micro-organismos, sendo inativos para estes micro-organismos (Tabela 3). Apenas a amostra coletada no final do verão apresentou atividade na concentração máxima de 2,5%. Portanto, para que possamos realizar a interpretação adequada sobre o composto responsável pela atividade antimicrobiana no verão, faz-se necessário realizar futuramente uma análise do perfil cromatográfico e análise comparativa entre as distintas amostras de sazonalidade.

Conforme já relatado, Carvalho e colaboradores (2004) realizaram investigação antimicrobiana por diluição em ágar com o extrato metanólico das folhas de *V. monosperma* evidenciando potencial antimicrobiano para *Bacillus subtilis* e *Saccharomyces cerevisiae*. O presente estudo utilizou como amostra os óleos essenciais, os quais são constituídos de componentes apolares diferenciando-se da composição química dos compostos que integram o extrato metanólico.

*V. curassavica* teve sua atividade antimicrobiana associada a grande quantidade de monoterpenos, utilizados nos testes in vitro, que de acordo com a literatura possuem atividade antimicrobiana (MATIAS et al., 2016b).  $\alpha$ - pineno, composto majoritário de *V. curassavica*, também apresentou estudos que o associassem a atividade antimicrobiana (SILVA et al., 2012). Dos compostos responsáveis pela atividade antimicrobiana de *V. curassavica*, apenas o  $\beta$ - cariofileno está presente em *V. monosperma*, fato que pode ter sido responsável pela baixa atividade antimicrobiana.

**Tabela 3.** Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de *V. monosperma*, nas diferentes estações do ano.

Amostra	Concentração Inibitória Mínima ( $\mu\text{g/mL}$ )		
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>
OE PRIMAVERA	>2,5	>2,5	>2,5
OE VERÃO	2,5	>2,5	>2,5
OE OUTONO	>2,5	>2,5	>2,5
OE INVERNO	>2,5	>2,5	>2,5

NOTA: A CIM foi expressa em percentual.

Pode-se observar a semelhança entre a composição química de *V. monosperma* e *V. curassavica*, tão quanto a semelhança na morfologia, no entanto algumas diferenças na composição fizeram com que não apresentasse atividade antimicrobiana. Compostos encontrados em *V. monosperma* apresentam grande potencial biológico, como o  $\beta$ -cariofileno e o Germacreno D, destacando a importância da continuidade das pesquisas sobre o óleo essencial da planta.

## 6 CONCLUSÃO

A análise microscópica realizada com *V. monosperma* e *V. curassavica* possibilitou a observação de características morfológicas similares entre as espécies bem como as suas distinções na nervura central e densidade de tricomas que apresentou-se mais proeminente em *V. monosperma*.

O estudo cromatográfico realizado com os óleos essenciais das folhas secas de *Varronia monosperma* através da cromatografia gasosa acoplada a espectro de massas (CG/EM), possibilitou a caracterização deste, onde foram identificados 24 compostos, sendo os majoritários  $\beta$ -cariofileno, D-germacreno e ylangeno.

O rendimento observados para as amostras avaliadas revelaram um rendimento médio de 0,329%. A comparação do perfil cromatográfico entre as amostras coletadas nas distintas épocas do ano não puderam ser realizada devido a problemas no cromatógrafo gasoso.

A investigação antimicrobiana realizada com os óleos essenciais das distintas épocas do ano, frente a cepa de *S. aureus*, *E. coli* e *Candida albicans*, não revelou potencial antimicrobiano, com exceção da amostra coletada no verão.

Considerando as similaridades morfológicas entre as espécies *V. monosperma* e *V. curassavica*, e diferenciação entre o perfil químico dos respectivos óleos essenciais faz-se necessário a continuidade da pesquisa, para complementar a composição química e explorar o potencial anti-inflamatório de *V. monosperma* e também seu potencial como agonista canabinóide relacionado ao  $\beta$ -cariofileno.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ATANASOV, A. G. et al. Discovery and resupply of pharmacologically active plant-derived natural products: A review. **Biotechnology Advances** v. 33, p. 1582-1614, 2015.
- BADAWY, M. E. I. et al. Antimicrobial and antioxidant activities of hydrocarbon and oxygenated monoterpenes against some foodborne pathogens through in vitro and in silico studies. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 158, p. 185–200, 1 jul. 2019.
- CARLOS, C. A. et al. Flavonoids from *Varronia dardani* (Taroda) J.S. Mill (cordiaceae) and the evaluation of spasmolytic activity of its crude ethanolic extract. **Natural Product Research**, 2020.
- DAI, J. et al. Recent progress of antibacterial natural products: Future antibiotics candidates. **Bioorganic Chemistry**, v. 101, 2020.
- DE CARVALHO, P. M. et al. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Cordia verbenacea* D.C. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 95, n. 2–3, p. 297–301, 1 dez. 2004.
- DEMÉTRIO, A. M. et al. Leaf anatomy of *Varronia polycephala* Lam. (Cordiaceae). **Flora: Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, v. 271, p. 151677, 1 out. 2020.
- DUARTE, B. ESTUDO QUÍMICO E BIOLÓGICO DA *Varronia dardani* (Taroda) J.S. Mill (BORAGINACEAE) MOSSORÓ – RN 2015. 2015.
- GOMES, M. V. DA S. et al. Development and validation of a quantification method for  $\alpha$ -humulene and trans-caryophyllene in *Cordia verbenacea* by high performance liquid chromatography. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 29, n. 2, p. 182–190, 1 mar. 2019.
- LOPES, K. et al. Chemical composition, toxicity, antinociceptive, and anti-inflammatory activity of dry aqueous extract of *varronia multispicata* (Cham.) borhidi (Cordiaceae) Leaves. **Frontiers in Pharmacology**, v. 10, n. November, p. 1–15, 2019.
- MARQUES, A. P. S. et al. Industrial Crops & Products Chemical composition of essential oil from *Varronia curassavica* Jacq. accessions in different seasons of the year. **Industrial Crops & Products**, v. 140, n. March, p. 111656, 2019a.
- MARQUES, A. P. S. et al. Chemical composition of essential oil from *Varronia curassavica* Jacq. accessions in different seasons of the year. **Industrial Crops and Products**, v. 140, n. August, p. 111656, 2019b.
- MATIAS, E. F. F. et al. The genus *Cordia*: Botanists, ethno, chemical and pharmacological aspects. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 25, n. 5, p. 542–552, 2015.
- MATIAS, E. F. F. et al. Seasonal variation, chemical composition and biological activity of the essential oil of *Cordia verbenacea* DC (Boraginaceae) and the sabinene. **Industrial Crops and Products**, v. 87, p. 45–53, 1 set. 2016a.
- MATIAS, E. F. F. et al. Seasonal variation, chemical composition and biological activity of the essential oil of *Cordia verbenacea* DC (Boraginaceae) and the sabinene. **Industrial Crops and Products**, v. 87, p. 45–53, 1 set. 2016b.
- MICHIELIN, E. M. Z. et al. Chemical composition and antibacterial activity of *Cordia verbenacea* extracts obtained by different methods. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 24, p. 6615–6623, 1 dez. 2009.
- MILLER, J. S.; GOTTSCHLING, M. Generic classification in the Cordiaceae (Boraginales): Resurrection of the genus *Varronia* P. Br. **Taxon**, v. 56, n. 1, p. 163–169, 2007.
- MURRAY, P. R.; ROSENTHAL, K. S.; PFALLER, M. A. *Microbiologia medica*. 6. ed. Rio de Janeiro (RJ): ELSEVIER, 2009, c2010. x,948p. ISBN 9788535234466. Número de Chamada: 576.8 M982m 6. ed.
- NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019. **Journal of Natural Products**, v. 83, n. 3, p.

770–803, 2020.

OLAJIDE, O. A.; SARKER, S. D. **Anti-inflammatory natural products**. 1. ed. [s.l.] Elsevier Inc., 2020. v. 55

OLIVEIRA, B. M. S. DE. **CARACTERIZAÇÃO, SAZONALIDADE E ATIVIDADE INSETICIDA DE ACESSOS DE *Varronia curassavica* Jacq.** [s.l.: s.n.].

PASSOS, G. F. et al. Anti-inflammatory and anti-allergic properties of the essential oil and active compounds from *Cordia verbenacea*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 110, n. 2, p. 323–333, 21 mar. 2007.

SCANDIFFIO, R. et al. **Protective effects of (E)- $\beta$ -caryophyllene (bcp) in chronic inflammation** **Nutrients** Multidisciplinary Digital Publishing Institute, , 26 out. 2020. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2072-6643/12/11/3273/htm>>. Acesso em: 10 set. 2021

SCHEPETKIN, I. A. et al. Chemical composition and immunomodulatory activity of *hypericum perforatum* essential oils. **Biomolecules**, v. 10, n. 6, p. 1–20, 2020.

SHARMA, C. et al. Polypharmacological Properties and Therapeutic Potential of  $\beta$ -Caryophyllene: A Dietary Phytocannabinoid of Pharmaceutical Promise. **Current Pharmaceutical Design**, v. 22, n. 21, p. 3237–3264, 15 mar. 2016.

SILVA. **Biological activities of alfa- pinene and Beta- pinene Enantiomers** **Molecules** Molecules, , jun. 2012. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22634841/>>. Acesso em: 10 set. 2021

RANGA, N. T.; MELO, J.I.; SILVA, L. C. Boraginaceae. In: Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo. **Instituto de Botânica**, São Paulo, 2012. 7: 117-142.

ROTONDI, SOUZA. et al. Ethnopharmacological studies of antimicrobial remedies in the south of Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 90, p. 135-143, 2004.