

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
BRUNO LEITE SAMPAIO

**INFLUÊNCIA DOS FATORES AMBIENTAIS SOBRE A CONCENTRAÇÃO
DE COMPOSTOS FENÓLICOS NAS FOLHAS E NA CASCA DO CAULE
DE *Lafoensia pacari* A. St.-Hil. (LYTHRACEAE)**

Goiânia
2010

BRUNO LEITE SAMPAIO

**INFLUÊNCIA DOS FATORES AMBIENTAIS SOBRE A CONCENTRAÇÃO
DE COMPOSTOS FENÓLICOS NAS FOLHAS E NA CASCA DO CAULE
DE *Lafoensia pacari* A. St.-Hil. (LYTHRACEAE)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Goiás, como requisito parcial para a obtenção do Título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Área de concentração: Fármacos e medicamentos
Orientador: Prof^o. Dr. José Realino de Paula

**Goiânia
2010**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
GPT/BC/UFG**

S192i Sampaio, Bruno Leite.
Influência dos fatores ambientais sobre a concentração de compostos fenólicos nas folhas e na casca do caule de *Lafoensia pacari* A. St.-Hil. (Lythraceae) [manuscrito] / Bruno Leite Sampaio. - 2010.
70 f. : il., figs, tabs.

Orientador: Prof. Dr. José Realino de Paula.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Goiás, Faculdade de Farmácia, 2010.

Bibliografia.

Inclui lista de figuras e abreviaturas.

Apêndices.

1. *Lafoensia pacari* 2. Compostos fenólicos 3. Nutrientes minerais 4. Análise multivariada I. Título.

CDU: 582.916.21

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, sem O qual nenhuma conquista seria possível em minha vida e que sempre me manteve firme, mesmo quando as minhas forças estavam por se esgotar.

Ao meu orientador, o Prof. Dr. José Realino de Paula, que aceitou me orientar mesmo sem me conhecer bem, com quem eu aprendi tanto que nenhuma palavra que eu diga será retribuição suficiente por isso, e que considero hoje como um grande amigo.

Aos professores Dr. Edemilson Cardoso da Conceição, Dra. Maria Teresa de Freitas Bara e Dra. Leonice Manrique F. Tresvenzol pelo apoio e auxílio nas dificuldades e dúvidas que surgiram ao longo de todo esse período de trabalho, a todos vocês meu muito obrigado por toda a ajuda prestada.

Aos meus colegas de laboratório, Renê, Frederico, Stone, Fabyola, Anny, Leonardo, João Paulo, Guizelle, Ezequiane, a Dra. Patrícia Abrão e todos os outros que não citei aqui, mas que não foram menos importantes na minha caminhada, meus sinceros agradecimentos, pois foi a companhia, alegria e solidariedade de todos vocês que sempre me ajudou a passar por todos os desafios deste trabalho com um sorriso no rosto.

Ao Prof. Dr. Pedro Henrique Ferri que tão gentilmente aceitou nos auxiliar na parte estatística do trabalho e sem o qual não conseguiríamos terminar nosso estudo, fica aqui o meu agradecimento.

Ao Prof. Dr. Élon Alves da Costa “Xico”, a quem devo muito, pois depois de freqüentar suas aulas mudei minha visão acerca do papel do pesquisador, aprendendo a interpretar o mundo da pesquisa científica com um maior senso crítico.

Por fim, gostaria de agradecer as pessoas mais importantes da minha vida, minha família, pois foi graças a eles que eu pude chegar até aqui, e sem os quais nada disso teria algum valor, por isso fica meu agradecimento eterno aos meus pais Joldecy Sampaio e Hilda Amada Leite Sampaio, e ao meu irmão Bleno Leite Sampaio, a vocês, muito obrigado.

Dedico este trabalho, aos meus pais, meu irmão, familiares, amigos e colegas, pessoas estas que sempre me apoiaram em todos os momentos e sem as quais não teria chegado até o fim desta longa jornada.

Bruno Leite Sampaio

Resumo

No Brasil, o cerrado se destaca por deter de 20 a 50% das espécies vegetais do país, contribuindo para a pesquisa de produtos naturais. Dentre as plantas medicinais do cerrado, *Lafoensia pacari* A. St.-Hil., conhecida como dedaleiro ou pacari, é amplamente utilizada como antipirético, cicatrizante, anti-inflamatório, antidiarréico, no tratamento de gastrite e câncer. Estudos indicam que extratos de *L. pacari* apresentam atividade antioxidante, antiinflamatória, analgésica, antimicrobiana e antidispéptica. Dentre os grupos de metabólitos identificados em folhas e casca do caule de *L. pacari*, destacam-se os polifenóis, como taninos e flavonóides, relacionados às suas atividades farmacológicas. Devido à importância farmacológica de *L. pacari*, há necessidade de estudos que possam contribuir para a padronização das partes da planta como matéria-prima vegetal. Estudos acerca da influência de fatores ambientais sobre a produção dos principais grupos de metabólitos secundários do pacari são importantes, pois contribuem com dados para o cultivo e coleta, e para estabelecer parâmetros quantitativos dos metabólitos da droga vegetal. Este trabalho teve como objetivo avaliar a influência de fatores ambientais como temperatura, precipitação, nutrientes minerais do solo e dos tecidos vegetais, sobre concentração dos principais metabólitos secundários das folhas e da casca do caule do pacari. Através de métodos espectrofotométricos foram determinados os teores de fenóis totais, taninos por precipitação de proteínas, taninos hidrolisáveis, flavonóides totais e ácido elágico nas folhas e casca do caule de *L. pacari*, assim como os níveis de nutrientes minerais nestes tecidos durante o período de um ano em cinco localidades, com coletas trimestrais. Foi realizada a análise de fertilidade para os solos de cada localidade de coleta segundo procedimento padronizado pela EMBRAPA. Os dados obtidos foram analisados através de Análise de Redundância Canônica e Análise de Agrupamento Hierárquico. Os resultados obtidos, após a análise estatística, demonstraram que para as folhas de *L. pacari* existe influência da sazonalidade, com a temperatura e os micronutrientes foliares (Cu, Fe, Mn, Zn) sendo os principais fatores de influência do ambiente e que para a casca do caule de *L. pacari* o local (região) em que o espécime se encontra é o principal fator de variação nos teores de compostos fenólicos, com a fertilidade do solo exercendo maior influência sobre a casca do caule. Este estudo sugere que para *L. pacari*, fatores climáticos, estado nutricional do tecido vegetal e às condições de solo exercem influência sobre os teores de compostos fenólicos encontrados nos tecidos vegetais analisados desta planta.

Palavras-chaves: Taninos. Flavonóides. Ácido elágico. Nutrientes minerais. Sazonalidade.

Abstract

In Brazil, the cerrado is holding out for 20 to 50% of plant species in the country, contributing to research on natural products. Among the medicinal plants of the cerrado, *Lafoensia pacari* A. St.-Hil., known as dedaleiro or pacari is widely used as an antipyretic, healing, anti-inflammatory, antidiarrheal, in gastritis and cancer. Studies have shown that extracts of *L. pacari* has antioxidant, anti-inflammatory, analgesic, antimicrobial and antidyspeptic activities. Among the groups of metabolites identified in *L. pacari*, stand out polyphenols, such as tannins and flavonoids, related to the its pharmacological activities. Due to the pharmacological importance of *L. pacari*, there is need for studies that may contribute to the standardization of plant parts as plant drug. Studies on the influence of environmental factors on production of the major groups of secondary metabolites of pacari are important because they contribute data to the cultivation and harvest, and to establish quantitative parameters of the plant drug metabolites. This study aimed to evaluate the influence of environmental factors like temperature, precipitation, mineral nutrients from soil and plant tissues on the concentration of secondary compounds in the leaves and bark of pacari. By spectrophotometric methods were determined levels of total phenols, tannins by protein precipitation, hydrolysable tannins, total flavonoids and ellagic acid in leaves and stem bark of *L. pacari*, as well as levels of nutrients in these tissues during the period of one year in five localities, with collections quarterly. Analysis was performed for the soil fertility of each collection site was the second standard procedure by EMBRAPA. The data were analyzed using Canonical Redundancy Analysis and Hierarchical Cluster Analysis. The results, after statistical analysis, showed that the leaves of *L. pacari* there is a influence of seasonality, with the temperature and leaf micronutrients (Cu, Fe, Mn, Zn) being the main factors of influence by environment and for the stem bark of *L. pacari* the location (region) where the specimen is collected is the main factor of variation in phenolic compounds, with soil fertility exerting greater influence on the stem bark. This study showed that for *L. pacari* climatic factors, nutritional status of plant tissue and soil conditions, exert influence on the phenolic compounds found in plant tissues analyzed from this plant.

Keywords: Tannins. Flavonoids. Ellagic acid. Mineral nutrients. Seasonality.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	4
1.1	O BIOMA CERRADO.....	6
1.2	<i>Lafoensia pacari</i> A. St.-Hil.	8
1.3	METABOLISMO SECUNDÁRIO E A INFLUÊNCIA DOS FATORES AMBIENTAL	10
2	OBJETIVOS	15
2.1	OBJETIVO GERAL.....	15
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
3	MATERIAIS E MÉTODOS	16
3.1	COLETA E PREPARAÇÃO DO MATERIAL VEGETAL	16
3.2	MÉTODOS DE DOSEAMENTO.....	16
3.2.1	Doseamento de fenóis totais.....	16
3.2.2	Doseamento de taninos por precipitação de proteínas	17
3.2.3	Doseamento de taninos hidrolisáveis	19
3.2.4	Doseamento de ácido elágico	20
3.2.5	Doseamento de flavonóides totais	21
3.3	ANÁLISE QUÍMICA DE TECIDO VEGETAL E DO SOLO	22
3.4	COLETA DOS DADOS CLIMÁTICOS	23
3.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	23
4	RESULTADOS	24
4.1	DADOS AMBIENTAIS.....	24
4.1.1	Dados climáticos	24
4.1.2	Análise química do solo	26
4.1.3	Análise química de tecido vegetal.....	30
4.2	DADOS QUÍMICO-ORGÂNICOS	33
4.2.1	Teores de compostos fenólicos.....	33
4.3	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	35
4.3.1	Folhas	35
4.3.2	Casca do caule	41
5	DISCUSSÃO	48
5.1	FOLHAS DE <i>L. pacari</i>	48
5.2	CASCA DO CAULE DE <i>L. pacari</i>	53

6	CONCLUSÃO	57
	REFERÊNCIAS	58
	APÊNDICES	63

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Espécime de <i>Lafoensia pacari</i> A. St.-Hil., com flores em detalhe.....	8
Figura 2	Exemplo de composto fenólico (ácido 4-hidroxibenzóico).....	10
Figura 3a	Ácido Gálico	11
Figura 3b	Ácido Elágico.....	11
Figura 3c	Quercetina	11
Figura 4	Esquema da biossíntese dos compostos fenólicos em plantas	11
Figura 5	Esquema de formação do ácido elágico a partir da hidrólise dos elagitaninos	12
Figura 6	Dados climáticos – precipitação diária média	24
Figura 7	Dados climáticos – temperatura diária média	25
Figura 8	Concentrações dos micronutrientes nos solos das localidades de coleta.....	27
Figura 9	Concentrações dos macronutrientes nos solos das localidades de coleta	28
Figura 10	Concentrações dos índices de fertilidade (H+Al, Al, CTC) dos solos das localidades de coleta.....	28
Figura 11	Concentrações dos índices de fertilidade (M.O., m, V, Ca/CTC, Mg/CTC, K/CTC) dos solos das localidades de coleta.....	29
Figura 12	Demais índices da análise química de solos (pH, Ca/Mg, Mg/K, Ca/K) para os solos das localidades de coleta	29
Figura 13	Média das concentrações de macronutrientes nas folhas de <i>L. pacari</i>	31
Figura 14	Média das concentrações de macronutrientes na casca do caule de <i>L. pacari</i>	31
Figura 15	Média das concentrações de micronutrientes nas folhas de <i>L. pacari</i>	32
Figura 16	Média das concentrações de micronutrientes na casca do caule de <i>L. pacari</i> .	32
Figura 17	Teores médios de compostos fenólicos nas folhas de <i>L. pacari</i>	34
Figura 18	Teores médios de compostos fenólicos na casca do caule de <i>L. pacari</i>	35
Quadro 1	Sumário do teste de Monte Carlo (999 permutações em modelo reduzido) para a Análise de Redundância Canônica (RDA) (folhas).....	37
Quadro 2	Sumário do Teste de Monte-Carlo (999 permutações em modelo reduzido) para determinação da significância do primeiro autovalor (RDA-1) (folhas).....	38
Quadro 3	Sumário da análise de Discriminante dos biótipos de <i>L. pacari</i> (folhas)	39
Figura 19	Dendograma representando os agrupamentos hierárquicos das amostras de folhas de <i>L. pacari</i>	40
Figura 20	Tendência de distribuição dos dados climáticos, nutrientes minerais do solo e foliares, dos teores de compostos fenólicos e das amostras (organizadas por	

	localidade e época de coleta), em relação aos dois primeiros eixos da RDA (RDA-1 e RDA-2) (folhas).....	41
Quadro 4	Sumário do teste de Monte Carlo (999 permutações em modelo reduzido) para a Análise de Redundância Canônica (RDA)	43
Quadro 5	Sumário do Teste de Monte-Carlo (999 permutações em modelo reduzido) para determinação da significância do primeiro autovalor (RDA-1)	45
Quadro 6	Sumário da análise de Discriminante dos biótipos de <i>L. pacari</i> (casca do caule)	46
Figura 21	Dendograma representando os agrupamentos hierárquicos das amostras de cascas do caule de <i>L. pacari</i>	46
Figura 22	Tendência de distribuição para a casca do caule de <i>L. pacari</i> dos dados climáticos, nutrientes minerais do solo e da casca, dos teores de compostos fenólicos e das amostras (organizadas por localidade e época de coleta), em relação aos dois primeiros eixos da RDA (RDA-1 e RDA-2) (casca do caule)....	47

LISTA DE ABREVIATURAS

AE – ácido elágico;
Al – alumínio;
Ca – cálcio;
Cac – cálcio na casca do caule;
Caf – cálcio foliar;
Ce – Concentração do extrato;
Cpa – Concentração do padrão equivalente na amostra;
CTC – Capacidade de Troca Catiônica efetiva.
Cu – cobre;
Cuc – cobre na casca do caule;
Cuf – cobre foliar;
DCA – Análise de Correspondência Destendenciada;
Fe – ferro;
Fec – ferro na casca do caule;
FeCl₃ – cloreto férrico;
Fef – ferro foliar;
FT – fenóis totais;
FvT – flavonóides totais;
H+Al – potencial de acidez;
H₂SO₄ – ácido sulfúrico;
HCA – Análise de Agrupamento Hierárquico;
HCl – ácido clorídrico;
K – potássio;
Kc – potássio na casca do caule;
Kf – potássio foliar;
KIO₃ – iodato de potássio;
LSS – lauril sulfato de sódio;
m – saturação por alumínio;
M.O. – matéria orgânica;
Mg – magnésio;
Mgc – magnésio na casca do caule;
Mgf – magnésio foliar;

Mn – manganês;
Mnc – manganês na casca do caule;
Mnf – manganês foliar;
N – nitrogênio;
NaNO₂ – nitrito de sódio;
NaOH – hidróxido de sódio;
Nc – nitrogênio na casca do caule;
Nf – nitrogênio foliar;
P – fósforo;
Pc – fósforo na casca do caule;
Pes – Peso do extrato seco;
Pf – fósforo foliar;
Pmv – Peso do material vegetal;
Prec – precipitação;
qsp – quantidade suficiente para
RDA – Análise de Redundância Canônica;
rpm – rotações por minutos;
Sc – enxofre na casca do caule;
Sf – enxofre foliar;
Temp – temperatura;
TH – taninos hidrolisáveis;
TPP – taninos por precipitação de proteínas;
V – saturação por bases;
Zn – zinco;
Znc – zinco na casca do caule;
Znf – zinco foliar;

1. INTRODUÇÃO

Historicamente, o homem utiliza recursos naturais como os vegetais, para diversos fins, principalmente alimentício e medicinal (VILA VERDE et al., 2003). O conhecimento sobre plantas medicinais simboliza muitas vezes o único recurso terapêutico de muitas comunidades e grupos étnicos, sendo o uso de plantas no tratamento e na cura de enfermidades tão antigo quanto à espécie humana. (MACIEL et al., 2002).

Até o século XIX, os recursos terapêuticos eram constituídos predominantemente por partes de plantas e extratos vegetais, porém, no início do século passado, esses recursos começaram a ser estudados com os instrumentos científicos da época e se estabeleceu paulatinamente a tendência de utilização das substâncias ativas isoladas, os chamados “princípios ativos”. Contudo, a importância das plantas para o homem, medida pela intensidade de seu uso, tem assumido, nos diversos estágios de desenvolvimento da sociedade, altos e baixos, sendo que nos dias de hoje representa uma das alternativas entre as diferentes formas de insumos necessários à existência humana, tendo como principal vantagem o fato de ser uma fonte renovável e, em grande parte, controlável pelo homem. Dentro deste contexto destaca-se a importância das plantas para obtenção e desenvolvimento de medicamentos (SCHENKEL et al., 2004).

O Brasil é o país com maior diversidade genética vegetal do mundo, contando com mais de 55.000 espécies catalogadas de um total estimado entre 350.000 e 550.000 (GUERRA e NODARI, 2004), isso implica em um enorme potencial do país para pesquisa e desenvolvimento de novos medicamentos fitoterápicos, assim como novas moléculas obtidas de produtos naturais.

Apesar do enorme potencial biológico do Brasil, a maior parte das espécies medicinais cultivadas no país, tanto para uso doméstico quanto para produção de fitoterápicos, são espécies exóticas, domesticadas em seus ecossistemas naturais e trazidas para o país durante o processo de colonização. Porém, nos últimos anos, devido ao largo emprego de espécies nativas pela população, a necessidade de descoberta de novos fármacos e pela fitoterapia constituir uma opção terapêutica eficaz, vários autores têm apontado a importância dos estudos químicos e farmacológicos em espécies tropicais, como as encontradas no Brasil, pela intensa produção de metabólitos secundários nas espécies desses ecossistemas (REIS et al., 2004).

Outro fator que também está relacionado com o potencial do Brasil na pesquisa de espécies medicinais é o fato de que, em nível nacional, apenas 20% da população é

responsável por 63% do consumo de especialidades farmacêuticas, sendo que o restante encontra nos produtos de origem natural, especialmente nas plantas medicinais, a principal ou única fonte de recursos terapêuticos (REIS et al., 2004), ou seja, desenvolvimento de novos medicamentos a partir de espécies nativas do país apresenta-se como uma alternativa viável para aumentar o acesso da população mais carente aos recursos terapêuticos, além do fato de que o conhecimento popular acerca da utilização medicinal de espécies nativas pode ser um importante ponto de partida para o estudo relacionado a seus potenciais terapêuticos.

Nessa constante interação homem-ambiente, a necessidade tornou-se um fator relevante no delineamento da utilização popular regional de plantas, uma vez que esta vem oferecendo uma contribuição cada vez maior as ciências do homem, devido a uma gama de conhecimentos e práticas médicas de caráter empírico, influenciadas pelo contexto sócio-cultural, econômico e físico, no qual encontram-se inseridos. Com isso, a abordagem etnofarmacológica, ou seja, o estudo das plantas medicinais a partir de seu emprego por uma dada população, constitui um aparato útil na elaboração de estudos farmacológicos e fitoquímicos, por já serem utilizadas por muito tempo (VILA VERDE et al., 2003).

O Brasil, como um dos países detentores de uma megadiversidade (GUERRA e NODARI, 2004), apresenta um complexo conjunto de biomas, que incluem desde a floresta amazônica, o pantanal, a mata atlântica, a caatinga, o cerrado, entre outros. Devido ao fato de apresentar vários biomas diferentes, com características peculiares a cada um, a inter-relação entre as populações que vivem nesses diversos biomas e a utilização dos recursos disponíveis neles, inclusive para fins terapêuticos, representa um poderoso suporte para a pesquisa científica, tendo em vista a grande quantidade de informações que podem ser obtidas deste conhecimento popular.

O Cerrado destaca-se dentre os biomas brasileiros, pois apresenta uma rica biodiversidade, entretanto se encontra altamente ameaçado pela ocupação humana e a expansão da fronteira agrícola (BRASIL, 2010), e a pesquisa e desenvolvimento de produtos, como fitoterápicos, a partir de plantas nativas do Cerrado, apresenta-se como uma alternativa interessante de conservação e desenvolvimento econômico sustentável da região.

Uma planta nativa do Cerrado e que apresenta potencial para desenvolvimento de novos produtos na área farmacêutica é a *Lafoensia pacari* A. St.-Hil., conhecida como dedaleiro ou pacari (MUNDO e DUARTE, 2007), utilizada popularmente como antipirético (MUNDO e DUARTE, 2007), anti-inflamatório (ROGÉRIO, 2006) e no tratamento de gastrite, úlcera (NUNES, 2003) e câncer (SÓLON, 2000). Alguns estudos realizados com extratos obtidos das folhas e casca do caule de *L. pacari* indicam atividade antimicrobiana

(LIMA et al., 2006; PORFÍRIO et al., 2009; SILVA Jr et al., 2010) anti-inflamatória (ROGÉRIO, 2006), antinoceptiva (GUIMARÃES, 2008), antidepressora (GALDINO et al., 2009) e antidispéptica (MENEZES, 2006), enquanto que estudos fitoquímicos revelaram a presença de taninos (SÓLON, 2000), flavonóides (SANTOS et al., 2000), saponinas, terpenos, derivados antraquinônicos e cumarinas (SAMPAIO e LEÃO, 2007) neste vegetal, com destaque para os compostos fenólicos, uma vez que alguns trabalhos encontrados na literatura correlacionam as atividades biológicas apresentadas pelos extratos de *L. pacari* com a presença de alguns grupos de compostos fenólicos, principalmente os taninos e os flavonóides, sendo o ácido elágico seu principal metabólito fenólico.

Considerando-se o potencial de *L. pacari* para o desenvolvimento de um novo medicamento fitoterápico, torna-se importante a realização de estudos que contribuam para a domesticação e cultivo desta planta e que estabeleçam parâmetros de qualidade para a droga vegetal, tais como os que visem conhecer a influência dos fatores ambientais (sazonalidade, solo, clima e nutrição mineral) sobre a concentração de compostos fenólicos, uma vez que é atribuído a estes compostos, grande parte das atividades biológicas de *L. pacari*, e como são compostos oriundos do metabolismo secundário do vegetal, sua produção e concentração nos diferentes tecidos vegetais são influenciadas pelos fatores do ambiente no qual a planta se encontra (GOBBO-NETO E LOPES, 2007).

Com base nas informações já apresentadas e tendo em vista a carência de informações sobre a influência dos fatores ambientais sobre a produção de metabólitos secundários de *L. pacari* A. St.-Hil., propôs-se a realização do presente trabalho, visando obter novas informações que contribuam para padronização das folhas e casca do caule desta planta como matéria-prima vegetal, contribuindo para o possível desenvolvimento de um medicamento fitoterápico, e também para estudos acerca do cultivo e colheita adequada desta planta.

1.1. O BIOMA CERRADO

Dentre os biomas citados pode-se destacar o bioma cerrado cuja biodiversidade é bastante expressiva e conspícua. Dados reunidos de vários autores sugerem que, dependendo do grupo taxonômico considerado, a porcentagem de espécies brasileiras que ocorrem no cerrado pode representar algo entre 20 e 50% do total encontrado no país (MACHADO et al., 2004).

O cerrado brasileiro localiza-se predominantemente no Planalto Central do Brasil, abrangendo os estados de Goiás, Mato Grosso, Tocantins, Roraima, Maranhão, Piauí, Bahia, Minas Gerais, Mato Grosso do Sul, São Paulo e Distrito Federal (DIAS, 1992). Este bioma é o segundo maior em área, sendo superado apenas pela floresta amazônica (RIBEIRO e WALTER, 1998). Ocupava originalmente cerca de dois milhões de km², estendendo-se entre 3 e 24° de latitude sul e 41 e 63° de longitude oeste, representando 22% do território brasileiro (MACEDO, 1995), entretanto, o bioma já perdeu 47,84% de sua cobertura de vegetação até 2008. A área desmatada até 2002 foi de 890.636 km², e, entre 2002 e 2008 esse valor foi acrescido de 85.074 km² (BRASIL, 2010)

Tendo em vista a vasta diversidade biológica do cerrado brasileiro, o mesmo apresenta um grande potencial como fonte de novos produtos naturais, incluindo novas moléculas com atividade terapêutica e novos medicamentos fitoterápicos, uma vez que muitas espécies vegetais nativas deste bioma são popularmente utilizadas para o tratamento de diversas enfermidades, como afecções dos rins, reumatismo, diabetes, má circulação do sangue, arteriosclerose, depurativo do sangue, inflamações, sífilis, colesterol alto, hemorragias, hemorróidas, dores estomacais, cicatrização, paralisias, dores lombares, úlceras, afecções do aparelho respiratório, hematomas, contusões, pancadas, anestesia, moléstias do fígado, doenças venéreas, afecções do aparelho urinário, diarreias, febres, regulador menstrual, afecções da pele e vermes. Dentre as espécies utilizadas podem-se citar algumas como: *Caryocar brasiliense* Cambess. (pequi), *Croton antisyphiliticus* Mart. (canela-de-perdiz), *Dorstenia brasiliensis* Lam. (carapiá), *Heteropteris anceps* Ndz. (guiné-do-campo), *Jacaranda decurrens* Cham. (carobinha), *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (barbatimão) e *Vernonia polyanthes* Less. (assapeixe) (RODRIGUES e CARVALHO, 2001).

Por ser o Bioma Cerrado um complexo vegetacional que detém grande diversidade biológica, que ocupa extensa área territorial nas regiões centrais do nosso país, e com maior concentração populacional (RODRIGUES e CARVALHO, 2001), é que se justifica a importância deste para o estudo de espécies vegetais com potencial terapêutico tanto para o desenvolvimento de novos medicamentos fitoterápicos, quanto para a busca de novas entidades químicas com fins medicinais.

Entretanto, para o desenvolvimento de novos medicamentos a partir de plantas medicinais é necessária uma série de estudos multidisciplinares, que incluem além da etnobotânica e etnofarmacologia, outras ciências que incluem a química, a farmacologia, a botânica, agronomia e tecnologia farmacêutica (PINTO et al., 2002), por isso, o desenvolvimento de um novo fitoterápico abrange vários estudos e pesquisas desde a

utilização popular das plantas medicinais, estudos botânicos, obtenção de extratos, avaliação de atividades farmacológicas e/ou antimicrobianas, estudos fitoquímicos, analíticos, agrônômicos para fins de cultivo, e farmacotécnicos. Com isso, percebe-se a importância da interação entre essas diversas áreas do conhecimento a fim de se produzir um novo medicamento fitoterápico ou uma nova entidade química isolada de produtos naturais.

Dentro do contexto já apresentado, o cerrado brasileiro é fonte de várias espécies vegetais com propriedades medicinais, das quais, algumas já apresentam vários estudos sobre utilização medicinal popular, atividades biológicas, constituição química, entre outros, e que demonstram o potencial destas plantas para a produção de novos medicamentos fitoterápicos.

1.2. *Lafoensia pacari* A. St.-Hil.

A espécie botânica *Lafoensia pacari* A. St.-Hil. (Figura 1) é uma planta de porte arbóreo pertencente a família Lythraceae, que compreende cerca de 22 gêneros com ampla distribuição nos trópicos e subtropicais de todo o mundo (JOLY, 2002). É conhecida popularmente como dedaleiro, didal, mangabeira-brava ou pacari no Brasil (MUNDO e DUARTE, 2007) e como morosyvó no Paraguai (SÓLON, 2000). É utilizada pela população brasileira como antipirético, cicatrizante, tônico (MUNDO e DUARTE, 2007), para tratar dores na coluna, gastrite, úlcera (NUNES et al., 2003), antidiarréico (COELHO et al., 2005) e também no Paraguai é utilizada para o tratamento de câncer (SÓLON et al., 2000).



Figura 1 – Espécime de *Lafoensia pacari* A. St.-Hil., com flores em detalhe.

Muitos estudos já foram realizados com o pacari buscando validar suas atividades terapêuticas e determinar sua constituição química, como por exemplo, os estudos realizados por Sólón et al. (2000) que sugerem uma atividade antioxidante do extrato metanólico da casca do caule e também determinaram através de métodos cromatográficos (cromatografia líquida de alta eficiência) que o ácido elágico está presente nas cascas e é o principal responsável pela potente atividade antioxidante do extrato analisado e suas frações, Rogério et al. (2003) demonstrou que o extrato aquoso da casca do caule inibi a liberação de interleucina 5 (IL-5) em modelo de toxocaríase induzida em camundongos sem apresentar atividade antiparasitária, Rogério (2006) determinou que o extrato aquoso da casca do caule do pacari apresenta atividade antiinflamatória, antinoceptiva e antiedematogênica em modelo murino, comparando com padrão de ácido elágico, propondo assim, que este composto pode ser o responsável, também, pelas atividades farmacológicas comprovadas no estudo, Menezes (2006) demonstrou que o extrato metanólico da casca do caule do pacari não apresenta atividade na erradicação de *Helicobacter pylori* em estudo clínico randomizado duplo cego, porém, este mesmo estudo mostrou que o tratamento com este mesmo extrato foi capaz de diminuir a sintomatologia dispéptica de grande parte dos pacientes tratados.

Em estudo realizado por Lima et al. (2006) o extrato etanólico das folhas de *L. pacari* mostrou valores de concentração inibitória mínima (CIM) na faixa entre 312,5 a 2500 µg/mL, 250 µg/mL, 625 µg/mL, e 1250 µg/mL, respectivamente, frente oito diferentes variedades de *Staphylococcus aureus* Gram-positivas, *Proteus mirabilis* Gram-negativas e os bacilos acido-resistentes *Mycobacterium phlei*, *M. fortuitum* e *M. smegmatis*. O extrato etanólico do caule de *L. pacari* apresentou valores de CIM de 625 µg/mL contra *S. aureus*.

Guimarães (2008) demonstrou que o extrato etanólico das folhas de *L. pacari* apresenta atividade antiinflamatória e analgésica, assim como o extrato da casca do caule, descartando-se a possibilidade da atividade antinoceptiva estar relacionada a efeitos no sistema nervoso central, tais como ação ansiolítica, depressora ou miorrelaxante.

Galdino et al. (2009) demonstraram que o extrato etanólico da casca do caule de *L. pacari* e a fração clorofórmica obtida deste extrato apresentam atividade tipo-antidepressiva em camundongos, mostrando um efeito sobre o sistema nervoso central (SNC) para o extrato obtido da casca do caule. Nesse mesmo trabalho, foi confirmada a presença de ácido elágico tanto no extrato etanólico bruto quanto na fração clorofórmica, além da presença de flavonóides em ambas as amostras, e de saponinas no extrato etanólico da casca do caule. Santos et al. (2000) realizaram o isolamento de flavonóides foliares de *L. pacari*, isolando uma série de heterosídeos, como 3-O-glucosídeos de kaempferol e quercetina

(galactosídeo, glucosídeo, glucosil-xilosídeo) e também 3-O-glucosil-glucosídeos de kaempferol e quercetina.

Os principais constituintes químicos descritos para *L. pacari* pertencem, na sua maioria, a classe dos compostos fenólicos, tais como os taninos e os flavonóides, destacando-se o ácido élgico, um polifenol que pode ser encontrado livre ou conjugado com açúcares, formando assim um grupo de taninos hidrolisáveis chamado de elagitaninos (SANTOS; MELLO, 2004), e ao qual é atribuída grande parte das atividades biológicas do pacari, como atividades antioxidante e antiinflamatória e para o tratamento de câncer. Além dos compostos fenólicos, Sólón et al. (2000) e Galdino et al. (2009) descreveram a presença de saponinas em extratos obtidos da casca do caule de *L. pacari* e Sampaio e Leão (2007) descreveram a presença de saponinas também nas folhas desta planta.

1.3. METABOLISMO SECUNDÁRIO E A INFLUÊNCIA DOS FATORES AMBIENTAIS

Os compostos fenólicos pertencem a uma classe de compostos que inclui uma grande diversidade de estruturas, simples e complexas, que possuem pelo menos um anel aromático no qual, ao menos, um hidrogênio é substituído por um grupamento hidroxila. Estão amplamente distribuídos no reino vegetal e nos microrganismos, fazendo também parte do metabolismo animal (CARVALHO et al., 2004).

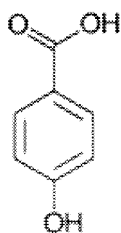


Figura 2 – Exemplo de composto fenólico (ácido 4-hidroxibenzóico)

Compostos fenólicos podem ser divididos quanto à ocorrência destes no reino vegetal em: compostos fenólicos amplamente distribuídos, como os derivados de ácidos benzóicos e de ácidos cinâmicos, cumarinas, flavonóides e derivados de polimerização (taninos e ligninas); ou compostos fenólicos de distribuição restrita, compreendendo as demais classes de substâncias fenólicas (CARVALHO et al., 2004).

Os compostos fenólicos são originados do metabolismo secundário das plantas, sendo essenciais para o seu crescimento e reprodução, além disso, se formam em condições de estresse como, infecções, ferimentos, radiações UV, dentre outros (ANGELO e JORGE,

2007). Os compostos fenólicos podem ser formados através de duas rotas biogênicas: pela via do ácido chiquímico a partir de carboidratos, ou pela via do acetato-polimalato que inicia com acetil-coenzima A e malonil-coenzima; sendo que a origem biogênica determina o padrão de substituição do composto fenólico, assim, pela via do ácido chiquímico obtém-se compostos fenólicos com grupos hidroxilas em posição *orto*, e pela via do acetato-polimalato origina-se compostos com grupos hidroxilas dispostos em *meta*, como por exemplo, os flavonóides (CARVALHO et al., 2004).

Dentro os compostos fenólicos encontrados em *L. pacari*, os derivados do ácido benzóico, como o ácido gálico e seu produto de dimerização (ácido hexa-hidróxi-difênico) e derivados, especialmente o ácido elágico, ocorrem em grande quantidade, principalmente na forma de taninos hidrolisáveis, assim como polifenóis derivados da via do acetato-polimalato, principalmente os flavonóides e seus heterosídeos além dos taninos condensados.

Os taninos hidrolisáveis originam-se pela via do ácido gálico, um ácido hidroxibenzóico, sendo que o metabolismo deste ácido apresenta uma importância significativa em muitos vegetais (HASLAM, 1998).

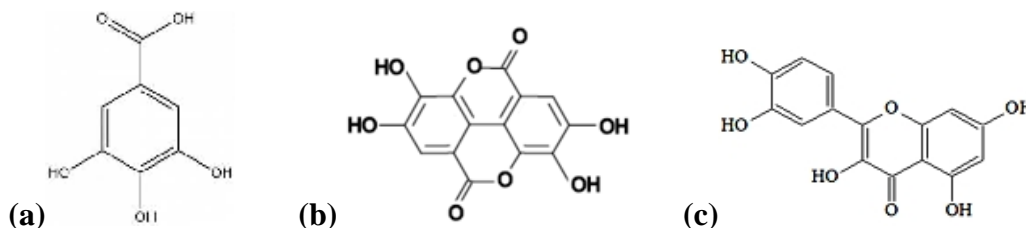


Figura 3 – a: Ácido Gálico; b: Ácido Elágico; e c: Quercetina.

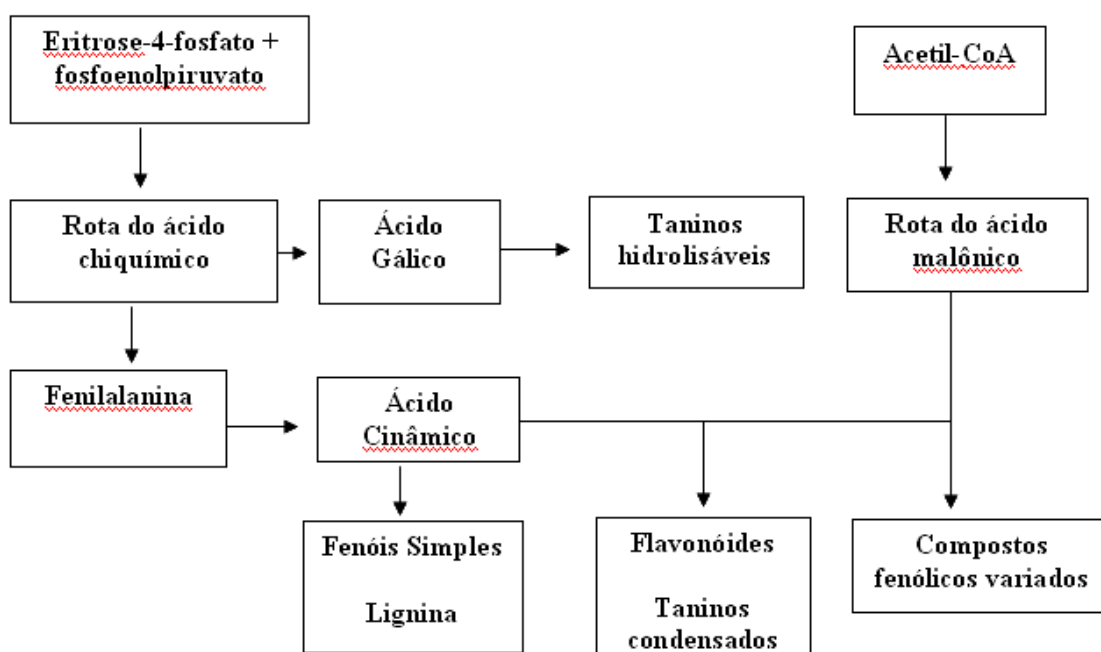


Figura 4 – Esquema da biossíntese dos compostos fenólicos em plantas. (Fonte: TAIZ e ZEIGER, 2004)

Os taninos hidrolisáveis encontrados em *L. pacari* pertencem à classe dos elagitaninos, estes são hexa-hidróxi-difenoil ésteres originados da via do ácido gálico (HASLAM, 1998), apresentando um ou dois resíduos do tipo hexa-hidroxi-difenoil-D-glicose de configuração (*R*) ou (*S*), os quais são obtidos pelo acoplamento oxidativo C-C entre dois resíduos de ácido gálico. Após hidrólise ácida das ligações éster, ocorre liberação do ácido difênico, que se rearranja espontaneamente para o ácido elágico (Figura 5) (SANTOS e MELLO, 2004).

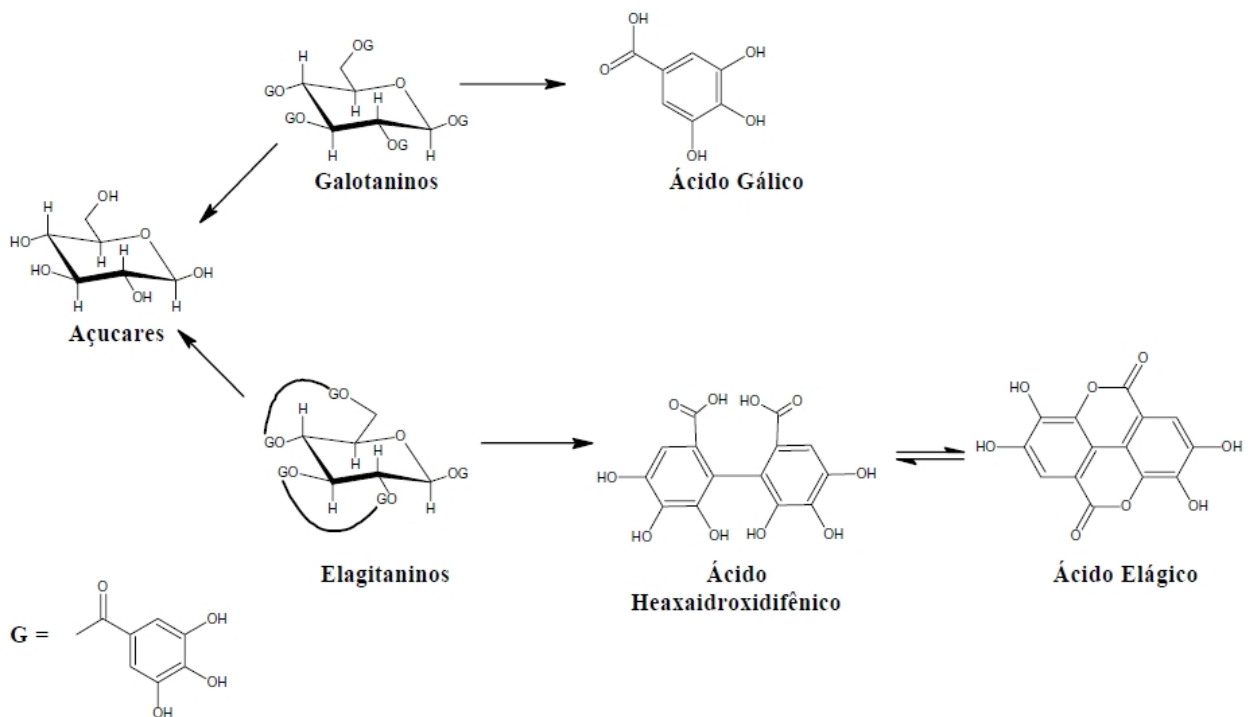


Figura 5 – Esquema de formação do ácido elágico a partir da hidrólise dos elagitaninos. (Fonte: QUEIROZ et al., 2002)

Tendo em vista a complexidade do metabolismo envolvido na biossíntese dos compostos fenólicos presentes em *L. pacari* e sendo, de acordo com a literatura, estes compostos os responsáveis pelas atividades biológicas atribuídas aos extratos desta planta, especialmente os taninos e o ácido elágico, e sabendo-se que os metabólitos secundários representam uma interface entre o vegetal e o meio ambiente, torna-se interessante buscar entender a relação entre os fatores ambientais e a produção de compostos fenólicos em *L. pacari*, principalmente no que tange as concentrações de fenóis nos diferentes tecidos vegetais, em espécimes encontrados em diferentes ambientes e épocas distintas, a fim de sugerir hipóteses que possam explicar a relação entre *L. pacari* e os fatores ambientais.

O estudo sobre a influência dos fatores ambientais sobre o metabolismo secundário pode indicar quais desses fatores exercem maior influência sobre a produção de metabólitos secundários, especialmente os fenólicos, tais como fatores sazonais (temperatura e precipitação), composição mineral do solo (fertilidade do solo), das folhas e da casca do caule, entre outros, e, também, é muito importante quando se trata de plantas medicinais, uma vez que os metabólitos secundários (responsáveis pelos efeitos farmacológicos do vegetal) representam uma interface química entre as plantas e o ambiente circundante, e assim, sua síntese é frequentemente afetada por fatores ambientais (GOBBO-NETO e LOPES, 2007).

Monteiro et al. (2005), em artigo de revisão sobre taninos, diz que os estudos ecológicos com plantas medicinais, curiosamente são escassos, principalmente associando o teor de taninos com variáveis ambientais, pois segundo o mesmo autor alguns estudos sobre variações do teor de taninos mostram que há diferenças quando as plantas são coletadas e analisadas em períodos distintos.

Os taninos são um grupo de metabólitos secundários que ocorrem em grande número de espécies de vegetais superiores (SANTOS e MELLO, 2004), e que parece sofrer grande influência de fatores ambientais tanto do ponto de vista quantitativo quanto qualitativo, uma vez que fatores como sazonalidade (época do ano), ataque de herbívoros, poluição atmosférica (MONTEIRO et al., 2005), disponibilidade hídrica, e nutrientes (macro e micronutrientes) (GOBBO-NETO e LOPES, 2007) parecem afetar diretamente a composição química de taninos encontrados em um vegetal (provavelmente devido a influência diferenciada sobre as rotas metabólicas das diferentes classes de taninos) e também o teor de taninos encontrados nos vegetais, o que pode ser justificado pelo fato da produção destes compostos estar relacionada a um tipo de reposta química do vegetal ao meio ambiente.

Os flavonóides são outro grupo de compostos fenólicos que sofrem influência dos fatores ambientais em relação a seus teores nos tecidos vegetais, um exemplo é que estes são acumulados principalmente em tecidos superficiais (tais como epiderme, subepiderme, pêlos, cutícula e material epicuticular) e utilizados pela planta como filtros UV, pois absorvem radiação UV-B sem alterar a radiação fotossinteticamente ativa e o aumento na produção de tais metabólitos, que funcionam como protetores solares para a planta, é controlado por enzimas da rota biossintética dos fenilpropanóides (fenilalanina amônia-liase e chalcona sintase, entre outras), as quais podem ter sua expressão gênica induzida pela luz (GOBBO-NETO e LOPES, 2007).

A partir de todas as informações já descritas acerca de *Lafoensia pacari*, tanto sobre suas propriedades farmacológicas quanto a sua fitoquímica, pode-se justificar a

realização de estudos que visem padronizar esta planta como matéria-prima vegetal, e assim possibilitar o desenvolvimento de um novo medicamento fitoterápico a partir do pacari ou até mesmo a obtenção de moléculas isoladas a partir desta planta. Nesse contexto, o estudo dos fatores que influenciam a produção dos metabólitos secundários de *L. pacari*, com foco naqueles que se acreditam estarem relacionados à suas propriedades farmacológicas, torna-se relevante, uma vez que não há, para essa espécie, estudos que relacionem a influência de fatores ambientais como sazonalidade, temperatura, nutrientes do solo, disponibilidade hídrica e exposição à luz ultravioleta sobre a síntese dos metabólitos secundários do pacari. Tal estudo pode contribuir ainda com dados para estudos de cultivo, época de colheita adequada e para estabelecer parâmetros quantitativos para eventuais grupos de substâncias que sirvam como marcadores.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O presente trabalho teve como objetivo estudar a influência de fatores ambientais, tais como sazonalidade, temperatura, disponibilidade hídrica e composição química do solo na concentração dos compostos fenólicos (fenóis totais, taninos por precipitação de proteínas, taninos hidrolisáveis, ácido elágico e flavonóides totais) presentes nas folhas e na casca do caule de *Lafoensia pacari* A. St.-Hil.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar a quantificação dos seguintes grupos de metabólitos secundários: fenóis totais, taninos por precipitação de proteínas, taninos hidrolisáveis, ácido elágico e flavonóides totais; nas folhas e na casca do caule de exemplares de *L. pacari* coletados, cada um, em cinco diferentes localidades;
- Quantificar os nutrientes minerais presentes no solo, nas folhas e na casca do caule de cada exemplar;
- Realizar coletas trimestrais, durante o período de um ano, para observar os efeitos da sazonalidade;
- Analisar os dados climáticos de cada localidade de coleta, a fim de obter informações como temperatura média mensal e precipitação média mensal nas épocas de coleta;
- Através de Análise Estatística Multivariada, determinar a correlação entre as variáveis ambientais observadas e a concentração de substâncias fenólicas (variáveis químico-orgânicas) em *L. pacari*, em um período de 12 meses.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 COLETA E PREPARAÇÃO DO MATERIAL VEGETAL

O material vegetal foi coletado trimestralmente, a partir de cinco exemplares da planta, localizados, cada um, nos respectivos municípios do estado de Goiás: Pires do Rio (17°13'03,0"S; 48°18'49,5"W; 832m) Urutaí (17°22'04,4"S; 48°12'19,6"W; 848m), Bela Vista de Goiás (16°58'48,3"S; 48°56'06,8"W; 840m), Anápolis (16°22'40,4"S; 48°56'35,5"W, 912m) e Nova América (15°00'16,7"S; 49°58'40,9"W; 701m); no período de abril de 2009 a abril de 2010, totalizando 12 meses. Os exemplares de *Lafoensia pacari* A. St.-Hil. são espécimes nativos do cerrado, sendo que as coletas trimestrais foram realizadas sempre em um mesmo exemplar para cada localidade. As amostras foram identificadas pelo Prof. Dr. Heleno D. Ferreira do Departamento de Biologia Geral/UFG. Foram depositadas cinco exsiccatas, uma para cada exemplar, no herbário da UFG, sob os números: 43.182 (Urutaí), 43.183 (Pires do Rio), 43.184 (Bela Vista de Goiás), 43.185 (Anápolis) e 43.186 (Nova América). Foi também, realizada amostragem do solo de cada exemplar utilizado no estudo, seguindo protocolo padronizado pelo Laboratório de Análise de Solos e Foliar, da Escola de Agronomia da Universidade Federal de Goiás (LASF-EA/UFG), destinada à análise dos nutrientes do solo.

O material botânico coletado foi seco em estufa com circulação de ar, sob temperatura de 40°C, sendo dividido em dois grupos para cada exemplar coletado: folhas e casca do caule. Após o término do processo de secagem, o material foi pulverizado em moinho de facas com tamis número 100 (150µm) e o pó obtido para cada amostra foi acondicionado em sacos plásticos devidamente identificados e armazenado em local arejado e protegido da luz.

3.2 MÉTODOS DE DOSEAMENTO

3.2.1 Doseamento de Fenóis Totais (FT)

Para o doseamento de fenóis totais presentes nas folhas e na casca do caule de *L. pacari* foi utilizado o método de Hagerman e Butler (MOLE e WATERMAN, 1987a).

Preparo das amostras: Pesou-se 0,75 g da amostra (material vegetal pulverizado), transferiu-se para um erlenmeyer de 250 mL e adicionou-se 150 mL de água destilada.

Aqueceu-se até fervura e manteve-se em banho-maria entre 80 e 90°C por 30 minutos. Resfriou-se em água corrente, transferiu-se o conteúdo do erlenmeyer para um balão volumétrico de 250 mL e completou-se o volume com água destilada. Deixou-se decantar o sedimento e filtrou-se através de papel de filtro qualitativo. Desprezou-se os primeiros 50 mL do filtrado. Cada amostra foi preparada em triplicata.

Branco: Em um tubo de ensaio adicionou-se 2 mL de solução de LSS/Trietanolamina, 1 mL de solução de FeCl_3 e 1 mL de água destilada.

Preparação da Curva Padrão: Pesou-se 100 mg de ácido tânico e transferiu-se para um balão volumétrico de 100 mL, completando-se o volume com 40 mL de metanol a 50% (v/v) e o restante com água destilada. Retiraram-se alíquotas de 150 μL , 200 μL , 250 μL , 300 μL e 350 μL desta solução, transferiu-se para tubos de ensaio contendo 2 mL de solução de LSS/Trietanolamina e 1 mL de solução de FeCl_3 , e completou-se o volume para 4 mL com água destilada. Cada ponto da curva foi preparado em triplicata. Deixou-se em repouso por 15 minutos e fez-se a leitura da absorbância em 510 nm. Fez-se a Curva de Padrão da Absorbância x Concentração.

Doseamento de Fenóis Totais: Adicionou-se em tubos de ensaio, devidamente identificados, 2 mL de solução de LSS/Trietanolamina e 1 mL de solução de FeCl_3 . Adicionou-se em cada tubo, já identificado, 1 mL da respectiva amostra. Deixou-se em repouso por 15 minutos e fez-se a leitura da absorbância em 510 nm.

Preparo da Solução de LSS/Trietanolamina: Solução contendo lauril sulfato de sódio (LSS) 1% (p/v), trietanolamina 5% (v/v) e isopropanol 20% (v/v). Completou-se o volume da solução para 1 L com água destilada.

Preparo da Solução de FeCl_3 (solução cromogênica): Dissolveu-se 1,62g de FeCl_3 em 1 L de solução de ácido clorídrico (HCl) 0,001M. Preparou-se a solução de HCl 0,001M a partir de uma solução estoque de HCl 0,1M. Retirou-se 10mL da solução de HCl 0,1M e diluiu-se para 1 L com água destilada em balão volumétrico. Dissolveu-se 1,62 g de FeCl_3 em 1 L de solução de HCl 0,001M (solução cromogênica).

3.2.2 Doseamento de Taninos por Precipitação de Proteínas (TPP)

Para o doseamento de taninos por precipitação de proteínas presentes nas folhas e na casca do caule de *L. pacari* foi utilizado o método de Hagerman e Butler (MOLE e WATERMAN, 1987b). Para esta técnica, utilizou-se uma solução de 1 mg/mL de albumina sérica bovina em solução tampão de acetato de sódio 0,2M (pH 4,9) contendo 0,17M de

cloreto de sódio para precipitar os taninos em solução. Utilizou-se a solução detergente de LSS/Trietanolamina para separar os taninos da proteína no precipitado, e a solução de FeCl_3 foi utilizada como solução cromogênica.

Preparo das amostras: O processo de preparo das amostras foi o mesmo descrito no item 3.2.1 para fenóis totais.

Branco: Em um tubo de ensaio adicionou-se 4 mL de solução de LSS/Trietanolamina e 1 mL do reagente de FeCl_3 .

Preparação da Curva Padrão: Pesou-se 100 mg de ácido tânico e transferiu-se para um balão volumétrico de 100 mL, completando-se o volume com 40 mL de metanol 50% e o restante com água destilada. Retiraram-se alíquotas de 100 μL , 200 μL , 300 μL , 400 μL e 500 μL , e completou-se para 1 mL com água destilada em tubos de ensaio devidamente identificados. Adicionou-se 2 mL da solução de albumina, aguardou-se por 15 minutos e centrifugou-se a 3000 r.p.m. por 15 minutos. Após a centrifugação, desprezou-se o sobrenadante e dissolveu-se o precipitado com 4 mL de solução de LSS/Trietanolamina. Adicionou-se 1 mL da solução de FeCl_3 e após 15 minutos efetuou-se a leitura das absorvâncias em 510 nm. Construir uma Curva Padrão Absorbância x Concentração. Preparar cada ponto da curva em triplicata.

Doseamento de Taninos por Precipitação de Proteínas: Adicionou-se em tubos de ensaio, devidamente identificados, 1 mL da respectiva amostra e 2 mL de solução de albumina. Misturou-se o conteúdo dos tubos, ficando em repouso por 15 minutos e depois centrifugou-se a 3000 r.p.m. por 15 minutos. Cada amostra foi preparada em triplicata. Após a centrifugação, desprezou-se o sobrenadante, dissolveu-se o precipitado com 4 mL de solução de LSS/Trietanolamina, adicionou-se 1 mL da solução de FeCl_3 , misturou-se o conteúdo dos tubos e que ficaram em repouso por 15 minutos. Efetuou-se a leitura da absorvância em 510 nm, no espectrofotômetro.

Preparo da Solução de Albumina Sérica Bovina a 1 mg/mL em tampão acetato de sódio 0,2M (pH4,9): Para preparar 1 L da solução tampão adicionou-se 11,44 mL de ácido acético glacial (0,2M), 22,15 g de acetato de sódio (0,27M) e 9,945 g de cloreto de sódio (0,17M) em um balão volumétrico de 1 L, e completou-se o volume com água destilada qsp. Acertou-se o pH da solução tampão para 4,9 com auxílio de solução aquosa de hidróxido de sódio (NaOH) 1M ou ácido acético 1M. Após acertar o pH da solução tampão, dissolveu-se 1mg de albumina sérica bovina (BSA) para cada mL (mililitro) de solução tampão acetato de sódio 0,2M (pH 4,9). Armazenar esta solução em geladeira.

3.2.3 Doseamento de Taninos Hidrolisáveis (TH)

Para o doseamento de taninos hidrolisáveis nas folhas e na casca de *L. pacari* foi utilizado o método do iodato de potássio (WILLIS e ALLEN, 1998).

Preparo das amostras: Pesou-se 0,5 g da amostra (material vegetal pulverizado), transferiu-se para um erlenmeyer de 250 mL, adicionou-se 20 mL de uma solução de acetona:água (7:3 v/v) e vedou-se bem o erlenmeyer com papel filme. Levou-se o erlenmeyer para mesa agitadora e deixou sob agitação a 60 r.p.m. por uma hora. Após esse tempo, deixou-se decantar o resíduo e filtrou-se através de papel de filtro. Adicionou-se outra alíquota de 20 mL do solvente ao resíduo contido no erlenmeyer e procedeu-se da mesma forma, juntando o segundo filtrado ao primeiro. O processo foi repetido até completar três vezes. Após realizar a extração, levou-se o filtrado para evaporar a acetona em evaporador rotativo, com temperatura máxima de 40°C. O extrato aquoso resultante foi extraído com três alíquotas de 30 mL de éter etílico em funil de separação, desprezando a camada etérea. O extrato aquoso livre de graxas e clorofila (após a extração como éter etílico) foi congelado em frasco adequado e liofilizado. Após a liofilização do extrato, calculou-se o rendimento do mesmo. Realizou-se em triplicata.

Branco: Em um tubo de ensaio adicionou-se 5 mL de solução de KIO_3 a 2,5% (p/v) e 1 mL de água destilada.

Curva Padrão: Em tubos, devidamente identificados, colocou-se 5 mL de solução de KIO_3 a 2,5% (p/v) e deixou-se em banho de água a 25°C por 10 minutos. Pesou-se 100 mg de ácido tânico e transferiu-se para um balão volumétrico de 100 mL, completando-se o volume com 40 mL de metanol a 50% e o restante com água destilada. Retirar alíquotas de 300 μL , 400 μL , 500 μL , 600 μL , 700 μL e 800 μL , transferiu-se para os tubos contendo a solução de KIO_3 a 2,5% (p/v) que estavam no banho de água e completou-se o volume final dos tubos para 6mL. Deixou-se no banho por mais 5 minutos e após esse tempo efetuou-se a leitura das absorvâncias em 550nm em espectrofotômetro. Preparou-se cada ponto da curva em triplicata. Construiu-se a Curva de Calibração Padrão Absorvância x Concentração.

Doseamento de Taninos Hidrolisáveis: Colocou-se em tubos de ensaio, devidamente identificados, 5 mL de solução de KIO_3 a 2,5% (p/v) e deixou-se em banho de água a 25°C por 10 minutos. Após esse tempo, adicionou-se 1ml da respectiva amostra em cada tubo, misturou-se e colocou no banho novamente. Deixou-se no banho por 5 minutos e depois se efetuou a leitura da absorvância em 550 nm, em espectrofotômetro. Cada amostra foi preparada em triplicata.

Cálculo do teor de taninos hidrolisáveis:

$$\text{Teor (\%)} = (((C_{pa}/C_e) \times P_{es})/P_{mv}) \times 100$$

Onde:

C_{pa} = Concentração do padrão equivalente na amostra;

C_e = Concentração do extrato;

P_{es} = Peso do extrato seco;

P_{mv} = Peso do material vegetal.

Preparo da solução de KIO_3 a 2,5% (p/v): Pesou-se 2,5 g de iodato de potássio (KIO_3), transferiu-se para balão volumétrico de 100 mL e completou-se o volume com água destilada qsp.

3.2.4 Doseamento de Ácido Elágico (AE)

Para o doseamento de ácido elágico nas folhas e nas cascas do caule de *L. pacari* foi utilizado o método descrito por Wilson e Hagerman (1990) adaptado.

Preparo das amostras: Para a hidrólise, as amostras (20 mg de material vegetal pulverizado) foram colocadas em frascos com tampa, devidamente identificados, junto com uma solução de H_2SO_4 2N (10 mg de amostra/mL de ácido), os frascos foram congelados e depois foi feito vácuo dentro dos mesmos, estes foram então selados e deixados por um período de 20 horas em repouso a uma temperatura de 100°C em estufa. Após a hidrólise, os frascos contendo as amostras foram arrefecidos até temperatura ambiente, abertos, e resfriados em banho de gelo por 10 minutos. As amostras então foram filtradas a vácuo e o resíduo foi lavado com uma solução de lavagem gelada [Acetona/água/HCl concentrado (70/30/1 v/v/v)] e depois seco ao ar livre. Depois de seco, tanto resíduo quanto papel de filtro foram transferidos para um béquer e extraídos com 10 mL de piridina. Posteriormente, as amostras em piridina foram filtradas novamente através de lã de vidro em um funil analítico. O filtrado foi utilizado para o doseamento de ácido elágico. Todas as amostras foram preparadas em triplicata.

Branco: Para o preparo do branco, adicionou-se 2 mL de piridina em um tubo de ensaio, posteriormente adicionou-se 0,1 mL de HCl concentrado e misturou. Aqueceu-se esta mistura até a temperatura de 30°C. Após atingir a temperatura adequada, adicionou-se 0,1 mL da solução de $NaNO_2$ a 1% (p/v) (solução cromogênica) e misturou.

Curva Padrão: Pesou-se 10 mg de ácido elágico (hidrato de ácido elágico 97% - Alfa Aesar) e transferiu-se para um balão volumétrico de 100 mL, completando-se o volume com piridina. Retiraram-se alíquotas de 100 µL, 200 µL, 300 µL, 400 µL e 500 µL da solução inicial, transferiu-se para tubos de ensaio devidamente identificados, e completou-se o volume para 2 mL em cada tubo com piridina. Adicionou-se 0,1 mL de HCl concentrado em cada tubo, misturou-se e aqueceu até temperatura de 30°C. Após os tubos atingirem a temperatura adequada, adicionou-se 0,1 mL de solução de NaNO₂ a 1% (p/v) em cada tubo, deixou-se repousar por 36 minutos e efetuou-se a leitura da absorbância em 538 nm. Cada ponto da curva foi preparado em triplicata. Fez-se a Curva Padrão absorbância x concentração.

Doseamento de Ácido Elágico: Em tubos de ensaio, devidamente identificados, transferiu-se 2mL das respectivas amostras, adicionar 0,1 mL de HCl concentrado, misturou-se e aqueceu até temperatura de 30°C. Após atingir a temperatura adequada, adicionou-se 0,1 mL de solução de NaNO₂ a 1% (p/v), misturou-se e deixou em repouso por 36 minutos. Após o tempo de repouso, efetuou-se a leitura da absorbância em 538 nm.

Preparo da Solução de NaNO₂ a 1% (p/v) (solução cromogênica): Pesou-se 1 g de NaNO₂, transferiu-se para um balão volumétrico de 100 mL e completou-se o volume com água destilada.

3.2.5 Doseamento de Flavonóides Totais (FvT)

Para o doseamento de flavonóides totais nas folhas e na casca de *L. pacari* foi utilizado o método espectrofotométrico descrito por Rolim et al. (2005) adaptado.

Preparo das amostras: Pesou-se 0,25 g da amostra (material vegetal pulverizado) e transferiu-se para um balão esmerilhado de 125 mL. Adicionou-se 50 mL da solução de metanol:ácido acético 0,02M (99:1), aqueceu-se em banho-maria sob refluxo entre 90-100°C por 40 minutos e filtrou-se. Todas as amostras forma preparadas em triplicata.

Branco: O branco foi preparado com a mistura de metanol:ácido acético 0,02M.

Curva Padrão: Pesou-se 10 mg de rutina e transferiu-se para um balão volumétrico de 100 mL, completando o volume com a solução de metanol:ácido acético 0,02M (99:1). Retiraram-se alíquotas de 100 µL, 200 µL, 300 µL, 400 µL e 500 µL, transferiu-se para tubos de ensaio, devidamente identificados, e completou-se o volume para 2 mL com a solução de metanol:ácido acético 0,02M (99:1 v/v). Efetuou-se a leitura da absorbância em 361 nm. Fez-se a Curva de Calibração Padrão absorbância x concentração. Cada ponto da curva foi preparado em triplicata.

Doseamento de Flavonóides Totais: Em tubos de ensaio, devidamente identificados, adicionou-se 2 mL das respectivas amostras e efetuou-se a leitura da absorbância em 361nm.

Preparo da solução de Ácido Acético 0,02M: Transferiu-se 0,57 mL de ácido acético glacial P.A. para um balão volumétrico de 500 mL e completou-se o volume com água destilada.

Preparo da solução de Metanol:Ácido Acético 0,02M (99:1 v/v): Em um balão de 1 L, adicionou-se 10 mL da solução de ácido acético 0,02M e completou-se o volume com metanol.

3.3 ANÁLISE QUÍMICA DE TECIDO VEGETAL E DO SOLO

A análise química de tecido vegetal e do solo foi realizada no Laboratório de Análise de Solos e Foliar, da Escola de Agronomia da Universidade Federal de Goiás (LASF-EA/UFG), seguindo procedimento padronizado no mesmo.

Para a análise de tecido vegetal, pesou-se uma massa de 15 g de material vegetal seco e pulverizado para cada amostra e acondicionou-se em sacos plásticos, devidamente identificados. Essas amostras foram encaminhadas para análise foliar no Laboratório de Análise de Solos e Foliar, da Escola de Agronomia da Universidade Federal de Goiás (LASF-EA/UFG).

Para a análise dos nutrientes do solo, foram coletadas amostras em uma profundidade de 0-20 cm em quatro locais em volta de cada espécime de *L. pacari*, posteriormente homogêneas e secas ao ar livre. Pesou-se uma massa de 500 g de solo para cada amostra e acondicionou-se em sacos plásticos devidamente identificados. As amostras foram encaminhadas para análise dos nutrientes do solo no Laboratório de Análise de Solos e Foliar, da Escola de Agronomia da Universidade Federal de Goiás (LASF-EA/UFG) seguindo procedimento descrito por Silva (1999). O pH foi determinado em um volume de água-solo na razão 1:1. Ca, Mg e Al foram extraídos com KCl 1mol/L, e fósforo (P), potássio (K), zinco (Zn), cobre (Cu), ferro (Fe), manganês (Mn) foram extraídos com solução de Mehlich. A matéria orgânica (M.O.), capacidade de troca catiônica (CTC), potencial de acidez (H+Al), saturação por bases (V), saturação de Al (m), e textura do solo foram determinadas através da aplicação de métodos habituais (SILVA, 1999).

3.4 COLETA DOS DADOS CLIMÁTICOS

Os dados climáticos mensais (temperatura diária média e precipitação diária média) do período do estudo foram coletados no site oficial do Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais - INPE.

3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos experimentalmente passaram por pré-tratamento antes da análise estatística. As variáveis químico-orgânicas (metabólitos), matéria orgânica (M.O.), saturação por alumínio (m) e saturação por bases (V) (expressas em %) foram transformadas pelo $\arcseno(x/100)^{1/2}$, e as demais variáveis ambientais (solo/análise foliar/climáticas), com exceção do pH, foram transformadas pelo $\log(x+1)$.

Os programas estatísticos utilizados foram o Canoco for Windows Version 4.5 em associação com o CanoDraw for Windows 4.1, o SYSTAT 10 e o STATISTICA 7.

A Análise de Correspondência Destendenciada (DCA) foi utilizada para estabelecer a medida do gradiente ambiental. A Análise de Redundância Canônica (RDA) foi utilizada para avaliação da inflação da variável e da correlação metabólitos \times ambiente, e posteriormente utilizada para selecionar as variáveis ambientais relevantes. A Análise de Agrupamento Hierárquico (HCA) foi feita para estudar as similaridades das amostras nas bases da distribuição dos constituintes. Os agrupamentos hierárquicos foram formados de acordo com o Método de Variância Mínima de Ward (WARD, 1963).

A Análise de Discriminante Canônico (CDA) foi utilizada para propor a classificação de grupos, e o percentual de classificação correta foi determinado pelo teste de Jaccknife.

A significância para a Análise de Redundância Canônica foi determinada pelo teste de Monte Carlo (com 999 permutações sob modelo reduzido). Valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos.

6. CONCLUSÃO

- Este estudo sugere haver uma forte influência dos fatores ambientais sobre a produção de compostos fenólicos em *Lafoensia pacari* St.-Hil.;
- As folhas e a casca do caule de *L. pacari* se comportam de forma diferente frente às mudanças nos fatores ambientais;
- Para as folhas de *L. pacari* parece existir uma grande influência da sazonalidade sobre a produção de compostos fenólicos, com a temperatura e os micronutrientes foliares (Cuf, Fef, Mnf, Znf) sendo os principais fatores de influência do ambiente sobre este tecido vegetal;
- Para a casca do caule de *L. pacari* o local (região) em que o espécime se encontra parece ser o principal fator de variação nos teores de compostos fenólicos, com os parâmetros de fertilidade do solo (macro e micronutrientes, CTC, M.O.) exercendo maior influência sobre a produção de compostos fenólicos na casca do caule;
- Apesar do comportamento distinto de folhas e casca do caule frente à influência dos fatores ambientais, parece haver certa relação entre a produção de compostos fenólicos e os diferentes tecidos vegetais em *L. pacari*, principalmente com a raiz, o que sugere um estudo posterior analisando também este tecido da planta;
- Com base nos dados obtidos neste estudo, pode-se observar que a casca do caule de *L. pacari* apresenta melhores características para ser utilizada como matéria-prima no desenvolvimento de um novo medicamento fitoterápico, uma vez que apresentou pequena variação sazonal nos níveis de compostos fenólicos ao longo do período de estudo, o que significa uma droga vegetal com pequena variação nos teores de marcadores ao longo do ano;
- Já as folhas de *L. pacari*, apresentam-se com melhores características para serem utilizadas como matéria-prima na obtenção e produção do ácido elágico, uma vez que neste tecido foram encontrados os níveis mais altos dessa substância, com valores de até 10% em relação ao peso seco da droga vegetal em certos meses do ano.

REFERÊNCIAS

ALBERT, A.; SAREEDENCHAI, V.; HELLER, W.; SEIDLITZ, H. K.; ZIDORN, C. Temperature is the key to altitudinal variation of phenolics in *Arnica montana* L. cv. ARBO. *Oecologia*, v. 160, n. 01, p. 1-8, 2009.

ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos: uma breve revisão. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, v. 66, n. 01, p. 232-240, 2007.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Brasil. *Medicamentos: Medicamentos fitoterápicos – definição. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/medicamentos/fitoterapicos/definicao.htm>>. Acesso em: 09 de jun. 2009.*

BRASIL. Plano de ação para prevenção e controle do desmatamento e das queimadas no cerrado: conservação e desenvolvimento. Brasília. Setembro de 2010.

CARVALHO, J. C. T.; GOSMANN, G.; SCHENKEL, E. P. Compostos fenólicos simples e heterosídicos. In: SIMÕES, C. M. O. et al.. (Org.). *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 5.Ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 2004. p. 519-535.

CHAPIN III, F. S.; BLOOM, A. J.; FIELD, C. B., WARING, R. H. Plant responses to multiple environment al factors: physiological ecology provides tools for studying how interacting environmental resources control plant growth. *BioScience*. v. 37, nº 1, Ed. American Institute of Biological Sciences. p. 49-57, 1987.

COELHO, F. B. R.; DAL BELO, C. A.; LOLIS, S. F.; SANTOS, M. G. Levantamento etnofarmacológico realizado na comunidade Mumbuca localizada na comunidade do Jalapão - TO. *Revista Eletrônica de Farmácia*, Goiânia, suplemento v. 2, p. 52-55, 2005.

DIAS, B. F. S. Cerrado: uma caracterização. In: DIAS, B. F. S.(coord) *Alternativas de desenvolvimento dos cerrados: manejo e conservação dos recursos naturais renováveis*. Brasília: FURNATURA/IBAMA, 1992. p.11-25.

GALDINO, P. M.; NASCIMENTO, M. V. M.; SAMPAIO, B. L.; FERREIRA, R. N.; PAULA, J. R.; COSTA, E. A. Antidepressant-like effect of *Lafoensia pacari* A. St.-Hil. ethanolic extract and fractions in mice. *Journal of Ethnopharmacology*. v. 128, n.03, p. 581-585, 2009.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Química Nova*, v.30, n.02, p. 374-381, 2007.

GROSS, G. G. From lignins to tannins: forty years of enzyme studies on the biosynthesis of phenolic compounds. *Phytochemistry*, v. 69, p. 3018-3031, 2008.

GUERRA, M. P.; NODARI, R. O. Biodiversidade: Aspectos biológicos, geográficos, legais e éticos. In: SIMÕES, C. M. O. et al.. (Org.). *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 5.Ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 2004. p. 12-28.

GUIMARÃES, H. A. Avaliação farmacológica do extrato etanólico das folhas de *Lafoensia pacari* A. St.-Hil. (PACARI) quanto ao seu potencial analgésico e anti-inflamatório. 2008. 79f. Dissertação (Mestrado em Biologia). Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Goiás. Goiânia, 2008.

HARTWIG, I. et al.; Mecanismos associados à tolerância ao alumínio em plantas. *Semina: ciências agrárias*. v. 28, nº 2, p. 219-228, abr./jun. 2007.

HASLAM, E. *Practical polyphenolics: from structure to molecular recognition and physiological action*. 1 ed. Cambridge: Editora Cambridge University Press, 1998.

JIN, C. W.; YOU, G. Y.; HE, Y. F.; TANG, C.; WU, P.; ZHENG, S. J. Iron deficiency-induced secretion of phenolics facilitates the reutilization of root apoplastic iron in red clover. *Plant Physiology*, v. 144, p. 278-285, 2007.

JOLY, A. B. *Botânica: introdução à taxonomia vegetal*. 13 ed. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 2002. 599p.

KIRKBY, E. A.; RÖMHELD, V.; Micronutrients in plant physiology: functions, uptake and mobility. *The International Fertiliser Society Proceedings*. York: Ed. The International Fertiliser Society, Proceeding 543, 2004. 52p.

KOVÁČIK, J.; KLEJDUS, B. Dynamics of phenolic acids and lignin accumulation in metal-treated *Matricaria chamomilla* roots. *Plant Cell Reports*, v. 27, n. 3, p. 605-615, 2008.

KOVÁČIK, J.; KLEJDUS, B.; HEDBAVNY, J.; ŠTORK, F.; BAČKOR, M. Comparison of cadmium and copper effect on phenolic metabolism, mineral nutrients and stress-related parameters in *Matricaria chamomilla* plants. *Plant Soil*, v. 320, p. 231-242, 2009.

LIMA, M. R. F. de; XIMENEZ, E. C. P. A.; LUNA, J. S.; SANT'ANA, A. E. G. The antibiotic activity of some Brazilian medicinal plants. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, João Pessoa, v. 16, n. 3, p. 300-306, julho 2006.

LOPES, A. S.; GUILHERME, L. A. G. Solos sob cerrado: manejo da fertilidade para a produção agropecuária. São Paulo, ANDA, 1994 (2ª edição). 62p. (boletim técnico, 5).

LOPES, A. S.; GUILHERME, L. A. G. Interpretação de análise de solo: conceitos e aplicações. São Paulo, ANDA, 2004, 50p. (boletim técnico, 2).

MACEDO, J. *Prospectives for the rational use of the Brazilian Cerrados for food production*. Planaltina: EMBRAPA – CPAC, 1995 19 p.

MACHADO, R. B.; NETO, N. B. R.; PEREIRA, P. G.; CALDAS, E.; GONÇALVES, D. A.; SANTOS, N. S.; TABOR, K.; STEININGER, M. Estimativas de perda da área do Cerrado brasileiro. Relatório técnico não publicado. Conservação Internacional, Brasília, 2004.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; VEIGA Jr., V. F.; GRYNBERG, N. F.; ECHEVARRIA, A. Plantas medicinais: A necessidade de estudos multidisciplinares. *Química Nova*, v.25, n.03, p. 429-438, 2002.

MAKOI, J. H. J. R.; NDAKIDEMI, P. A. Biological, ecological and agronomic significance of plant phenolic compounds in rhizosphere of the symbiotic legumes. *African Journal of Biotechnology*, v. 06. n. 12, p. 1358-1368, 2007.

MARSCHNER, H. *Mineral Nutrition of Higher Plants*. 2 Ed.; Londres: Editora Academic Press., 1997. 889p.

MENEZES, V. M. Avaliação do uso terapêutico do extrato de *Lafoensia pacari* St. Hil. Mangava-Brava na erradicação do *Helicobacter pylori*: Ensaio clínico randomizado duplo cego. 2006. 73 f. Tese (Doutorado em Medicina Interna e Terapêutica). Escola Paulista de Medicina da Universidade Federal de São Paulo. São Paulo, 2006.

MONTEIRO, J. M.; ALBUQUERQUE, U. P.; ARAÚJO, E. L.; AMORIM, E. L. C. Taninos: Uma abordagem da química à ecologia. *Química Nova*, v.28, n.5, p. 892-896, 2005.

MUNDO, S. R.; DUARTE, M. R. Morfoanatomia foliar e caulinar de dedaleiro: *Lafoensia pacari* A. St.-Hil. (Lythraceae). *Latin American Journal of Pharmacy*, v.26, n.04, p. 522-529, 2007.

NUNES, G. P; SILVA, M. F.; RESENDE, U. M.; SIQUEIRA, J. M. Plantas medicinais comercializadas por raizeiros no centro de Campo Grande, Mato Grosso do Sul. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 13, n. 02, p. 83-92, 2003.

PADDA, M. S.; PICHA, D. H. Effect of low temperature storage on phenolic composition and antioxidant activity of sweetpotatoes. *Postharvest Biology and Technology*, v. 47, p. 176-180, 2008.

PINTO, A. C.; SILVA, D. H. S.; BOLZANI, V. S.; LOPES, N. P.; EPIFÂNIO, R. A. Produtos Naturais: atualidade, desafios e perspectivas. *Química Nova*, v.25, supl.01, p. 45-61, 2002.

POFÍRIO, Z.; MELO-FILHO, G. C.; ALVINO, V.; LIMA, M. R. F.; SANT'ANA, A. E. G. Atividade antimicrobiana de extratos hidroalcoólicos de *Lafoensia pacari* A. St.-Hil., Lythraceae, frente a bactérias multirresistentes de origem hospitalar. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 19, n. 03, p. 785-789, 2009.

QUEIROZ, C. R. A. A.; MORAIS, S. A. L.; NASCIMENTO, E. A. Caracterização dos taninos da aroeira-preta (*Myracrodruon urundeuva*). *Revista Árvore*. Viçosa, v. 26, n. 4, p. 485-492, 2002.

REIS, M. S.; MARIOT, A.; STEENBOCK, W. Diversidade e domesticação de plantas medicinais. In: SIMÕES, C. M. O. et al.. (Org.). *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 5.Ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 2004. p. 45-74.

RIBEIRO, J. F.; WALTER, B. M. T. Fitofisionomias do bioma cerrado. In: SANO, S. M. ; ALMEIDA, S. P. *Cerrado: ambiente e flora*. Planaltina: EMBRAPA – CPAC, 1998. p. 89 – 166.

RODRIGUES, V. E. G.; CARVALHO, D. A. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais no domínio do cerrado na região do Alto Rio Grande – Minas Gerais. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, n.1, p. 102-123, jan./fev. 2001.

ROGÉRIO, A. P. Estudo da atividade antiinflamatória, analgésica, anti-edematogênica e antipirética do extrato de *Lafoensia pacari* e do ácido elágico. 2006. 186 f. Tese (Doutorado em Biociências Aplicadas à Farmácia). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto, 2006.

ROGÉRIO, A. P.; SÁ-NUNES, A.; ALBUQUERQUE, D. A.; ANÍBAL, F. F.; MEDEIROS, A. I.; MACHADO, E. R.; SOUZA, A. O.; PRADO Jr., J. C.; FACCIOLI, L. H. *Lafoensia pacari* extract inhibits IL-5 production in toxocariasis. *Parasite Immunology*, v.25, p. 393-400, 2003.

ROLIM, A.; MACIEL, C. P. M.; KANEKO, T. M.; CONSIGLIERI, V. O.; SALGADO-SANTOS, I. M. N.; VELASCO, M. V. R. Validation assay for total flavonoids, as rutin equivalents, from *Trichilia catigua* Adr. Juss. (Meliaceae) and *Ptychopetalum olacoides* Bentham (Olacaceae) Commercial Extract. *Journal of AOAC International*, v. 88, n.04, p. 1015-1019, 2005.

SAMPAIO, B. L.; LEÃO, D. T. Estudo farmacognóstico de *Lafoensia pacari* St.-Hil. (Lythraceae). 2007. 45f. Trabalho de Conclusão de Curso de graduação (Bacharelado em Farmácia). Curso de Farmácia da Universidade Estadual de Goiás – Unidade de Ciências Exatas e Tecnológicas. Anápolis, 2007.

SANTOS, R. I.; Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. In: SIMÕES, C. M. O. et al.. (Org.). *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 5.Ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 2004. p. 403-434.

SANTOS, D. Y. A. C.; SALATINO, M. L. F.; SALATINO, A. Foliar flavonoids of *Lafoensia* (Lythraceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, v.28, p. 487-488, 2000.

SANTOS, S. C.; MELLO, J. C. P. Taninos. In: SIMÕES, C. M. O. et al.. (Org.). *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 5.Ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 2004. p. 615-656.

SILVA, S. C.; *Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes*. 1 Ed. Brasília: Embrapa, 1999.

SILVA JR, I. F.; RAIMONDI, M.; ZACCHINO, S.; FILHO, V. C.; NOLDIN, V. F.; RAO, V S.; LIMA, J. C. S.; MARTINS, D. T. O. Evaluation of the antifungal activity and mode of action of *Lafoensia pacari* A. St.-Hil., Lythraceae, stem-bark extracts, fractions and ellagic acid. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 20, n. 3, p. 422-428, 2010.

SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; PETROVICK, P. R. Produtos de origem vegetal e o desenvolvimento de medicamentos. In: SIMÕES, C. M. O. et al.. (Org.). *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 5.Ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 2004. p. 371-400.

SÓLON, S.; LOPES, L.; SOUSA Jr., P. T.; SCHMEDA-HIRSCHMANN, G. Free radical scavenging activity of *Lafoensia pacari*. *Journal of Ethnopharmacology*, v.72, p. 173-178, 2000.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; *Fisiologia vegetal*. Tradutores: SANTARÉM, E. R. et al.; 3 Ed. Porto Alegre: Editora Artmed, 2004. 719p.

VILA VERDE, G. M.; PAULA, J. R.; CANEIRO, D. M. Levantamento etnobotânico das plantas medicinais do cerrado utilizadas pela população de Mossâmedes (GO). *Revista Brasileira de Farmacognosia*. v.13, supl., p. 64-66, 2003.

WARD, J. H. Hierarchical grouping to optimize an objective function. *Journal of the American Statistical Association*, v.58, p. 66-103, 1963.

WATERMAN, P. G.; MOLE, S. A critical analysis of techniques for measuring tannins in ecological studies I: techniques for chemically defining tannins. *Oecologia*, v.72, p. 137-147, 1987a.

WATERMAN, P. G.; MOLE, S. A critical analysis of techniques for measuring tannins in ecological studies II: techniques for chemically defining tannins. *Oecologia*, v.72, p. 148-156, 1987b.

WATERMAN, P. G.; MOLE, S. *Methods in ecology: analysis of phenolic plant metabolites*. 1 ed. Oxford: Editora Blackwell Scientific Publications, 1994.

WILLIS, R. B.; ALLEN, P. R. Improved method for measuring hydrolysable tannins using potassium iodate. *Analyst*, v. 123, p. 435-439, 1998.

WILSON, T. C.; HAGERMAN, A. E. Quantitative determination of ellagic acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.38, p. 1678-1683, 1990.

YAMADA, T.; Resistência de plantas às pragas e doenças: pode ser afetada pelo manejo da cultura? *Informações agronômicas*. nº 108, p. 1-7, dez. 2004.