



**UNIVALI**

UNIVERSIDADE DO VALE DO ITAJAÍ

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

CHRISTIANE REGINA PAMPLONA

PERFIL FITOQUÍMICO E BIOLÓGICO DE DIFERENTES PARTES DA  
Curcuma zedoaria (Christm.) Roscoe, (ZINGIBERACEAE) EM  
RELAÇÃO À VARIAÇÃO SAZONAL

Itajaí - 2006

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

UNIVERSIDADE DO VALE DO ITAJAÍ  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE MESTRADO ACADÊMICO EM CIÊNCIAS  
FARMACÊUTICAS  
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM PRODUTOS NATURAIS E  
SUBSTÂNCIAS SINTÉTICAS BIOATIVAS

CHRISTIANE REGINA PAMPLONA

PERFIL FITOQUÍMICO E BIOLÓGICO DE DIFERENTES PARTES DA  
Curcuma zedoaria (Christm.) Roscoe, (ZINGIBERACEAE) EM  
RELAÇÃO À VARIAÇÃO SAZONAL

Dissertação submetida à Universidade do Vale do Itajaí como parte dos requisitos para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Rivaldo Niero  
Co-orientador: Prof. Dr. Valdir Cechinel Filho

Itajaí, Março 2006.

## Dedicatória

Este trabalho é dedicado especialmente ao meu esposo Aglicério, aos meus pais Cezário e Regina e aos meus filhos Johann e Cristiano, que com esforços incansáveis e incentivos fizeram que chegasse a este momento.

## AGRADECIMENTOS

Agradecer torna-se uma tarefa difícil porque se corre o risco de omitir nomes de pessoas que de uma forma ou de outra contribuíram para a realização deste trabalho. Porém, não poderia deixar de expressar meus agradecimentos a:

- Deus por esta oportunidade que me proporcionou nesta vida;
- A paciência do professor Rivaldo Niero, na orientação deste trabalho, pela amizade, incentivo, apoio;
- Ao professor Valdir Cechinel Filho, pelas orientações e apoio no decorrer do trabalho;
- A profesora Tania Mari Bellé Bresolin pelo incentivo e sugestões que vieram enriquecer este trabalho;
- Ao Prof. Clóvis Antonio Rodrigues por incentivo e orientações;
- A professora Marina e professora Márcia Maria de Souza pela ajuda na parte experimental;
- Ao Prof. Dr. Franco Delle Monache, da Universidade de Sacro Cuore (Roma), pelo apoio e dedicação na parte espectroscópica;
- Ao Prof. René Ferreira pelo fornecimento de amostras e identificação da *Curcuma zedoaria* para realização do estudo.
- A Rosélia, nossa secretária da coordenadoria do curso, que mais do que isto sempre foi uma grande amiga;
- Aos professores e colegas da turma de mestrado que me acompanharam neste estágio;
- Pelas alunas de iniciação científica Gabriela e Isabela;
- Ao meu querido esposo Aglicério e meus filhos Johann e Cristiano pela compreensão da minha ausência em muitos momentos
- Aos meus pais, Cezário e Regina pelo incentivo constante e ajuda incansável.

PERFIL FITOQUÍMICO E BIOLÓGICO DE DIFERENTES PARTES DA  
*Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe, (ZINGIBERACEAE) EM  
RELAÇÃO À VARIAÇÃO SAZONAL  
Christiane Regina Pamplona  
Março/2006

Orientador: Rivaldo Niero, Dr.

Área de Concentração: Avaliação Fitoquímica, Atividade Biológica e Controle de Qualidade de Plantas Medicinais

Número de Páginas: 77.

*Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe., Zingiberaceae, popularmente conhecida como “zedoaria” ou “gajitsu” é empregada em alguns países, incluindo o Brasil, no tratamento de diferentes distúrbios incluindo câncer cervical, hepatite, inflamações, processos dolorosos, entre outros. Esta bem documentado que os principais princípios ativos são especialmente sesquiterpenos. Por outro lado, a literatura reporta em geral, estudos relacionados com *zedoaria* encontrada em países asiáticos e pouco é conhecido sobre as plantas que crescem no Brasil. Recentemente foi verificado que o curcumenol, um sesquiterpeno isolado dos rizomas, exibiu potente ação antinociceptiva quando analisado em alguns modelos farmacológicos de dor em camundongos. O presente trabalho descreve a variação sazonal em relação a presença do curcumenol e deidrocurdiona obtidos da *C. zedoaria*, bem como a análise biológica das diferentes partes (raízes, rizoma mãe e rizoma rugoso). A análise quantitativa foi realizada através de cromatografia gasosa de alta resolução (CGAR), usando-se padrão externo como método de determinação. A ação analgésica foi verificada através do teste das contorções abdominais e a possível propriedade antifúngica pelo método de diluição em ágar. Os resultados mostraram que ambos os terpenóides estão presentes em todas as partes da planta. No entanto, *C. zedoaria* mostrou cerca de três vezes mais terpenóides nos rizomas mãe coletado no outono do que em outras partes e estações estudadas com concentrações de 33,1 e 25,0 mg /100 g de planta fresca para o curcumenol e deidrocurdiona, respectivamente. Os resultados farmacológicos indicaram que a planta coletada no outono e no inverno apresentam atividade antinociceptiva mais pronunciada no teste das contorções abdominais a 10 mg/kg, i.p causando inibições de 91,1 e 93,4% para o rizoma mãe e 80,8 e 92,1% para o rizoma rugoso, respectivamente. Por outro lado, o rizoma rugoso e as raízes também apresentaram atividade quando coletadas na primavera, sugerindo que outros compostos com potencial farmacológico estão presentes nestas partes da planta. Quando testados contra diferentes fungos patogênicos, todos os extratos foram inativos até uma concentração de 250 ug/ml.

Palavras-chave: *Curcuma zedoaria*, variação sazonal, deidrocurdiona, curcumenol.

PHYTOCHEMICAL AND BIOLOGICAL PROFILE OF DIFFERENT  
PARTS OF *Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe,  
(ZINGIBERACEAE) IN RELATION TO SEASONAL VARIATION

Christiane Regina Pamplona

March/2006

Supervisor: Rivaldo Niero, Dr.

Area of Concentration : Phytochemical Evaluation, Biological Activity and Quality Control of Medicinal Plants.

Number of Pages: 77.

*Curcuma zedoaria* R. Br., Zingiberaceae, popularly known as "zedoary" or "gajitsu", is used in some countries, including Brazil, to treat different diseases, such as cervical cancer, hepatitis, inflammation and pain, among others. As is well-documented, its main active principles are sesquiterpenoids. However, the literature reports, in general, studies focusing on *C. zedoaria* produced in Asiatic countries, and little is known about the plant grown in Brazil. It has recently been observed that curcumenol, a sesquiterpene isolated from the rhizomes of this plant, exhibited significant and potent antinociceptive action when evaluated in some pharmacological models of pain in mice. The present work describes the seasonal variation in relation to the presence of curcumenol and dehydrocurdione, another active compound from *C. zedoaria*, as well as the biological analysis of its different parts (roots, mother rhizome, and rugous rhizome). The quantitative analysis was carried out by High Resolution Gas Chromatography (HRGC), using the external standard as the method of determination. The analgesic action was determined using the writhing test and the possible antifungal properties were determined by the dilution method. The results show that both terpenoids are present in all parts of the plant. However, *C. zedoaria* showed about three times more terpenoids in the mother rhizome collected during the autumn than in other parts and seasons studied, with concentrations of 33.1 and 25.0 mg/100g of fresh plant to curcumenol and dehydrocurdione, respectively. The pharmacological results indicate that the plant collected in autumn and winter exhibited the most pronounced antinociceptive activity against the writhing test (10 mg/kg, i.p.), causing inhibition of 91.1 and 93.4 % for the mother rhizome and 80.8 and 92.1 % for the rugous rhizome, respectively. On the other hand, the rugous rhizome and roots also exhibited antinociceptive activity when collected in spring, suggesting that other compounds with pharmacological potential are also present in these parts of the plant. When tested against different pathogenic fungi, all the extracts were inactive up to a concentration of 250 ug/ml.

Key words: *Curcuma zedoaria*, seasonal variation, dehydrocurdione, curcumenol.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Procedimento geral para obtenção de compostos biologicamente ativos.....	21
Figura 2	Esquema dos componentes básicos de um cromatógrafo gasoso.....	27
Figura 3	Fotos das diferentes partes (a) folha; (b) rizoma mãe; (c) rizoma rugoso; (d) rizoma liso; (e) raiz.....	30
Figura 4	Esquema de preparo de amostras para análise fitoquímica e biológica.....	42
Figura 5	Espectro de RMN $^1\text{H}$ 300MHz do composto CZ 20-23 em ( $\text{CDCl}_3$ ).....	47
Figura 6	Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ / APT do composto CZ 20-23 em $\text{CDCl}_3$ na região entre 5 e 60 ppm.....	47
Figura 7	Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ / APT do composto CZ 20-23 em $\text{CDCl}_3$ na região entre 120 e 190 ppm.....	48
Figura 8	Rendimento total de extrato obtido de diferentes partes de <i>C. zedoaria</i> em diferentes estações do ano.....	49
Figura 9	Somatória do rendimento de todos os extratos DCM em 100g de <i>C. zedoaria</i> nas diferentes estações.....	50
Figura 10	Somatória do rendimento de todos os extratos DCM em 100g de <i>C. zedoaria</i> nas diferentes partes da planta.....	50
Figura 11	Curva de calibração do curcumenol com concentração entre 0,03 – 0,93 mg/mL.....	51
Figura 12	Curva de calibração do deidrocurdiona com concentração entre 0,021 – 0,75 mg/mL.....	51
Figura 13	Concentração de curcumenol nas diferentes partes de <i>C. zedoaria</i> mg/100g de planta fresca nas diferentes estações do ano.....	54
Figura 14	Concentração total de curcumenol em mg/100g de planta fresca nas diferentes partes de <i>C. zedoaria</i> .....	54
Figura 15	Concentração total de curcumenol em mg/100g de planta fresca nas diferentes estações do ano.....	54

Figura 16	Concentração de deidrocurdiona nas diferentes partes de <i>C. zedoaria</i> em mg/100g de planta fresca nas diferentes estações do ano.....	55
Figura 17	Concentração total em mg/100g de planta fresca de deidrocurdiona nas diferentes partes de <i>C. zedoaria</i> .....	56
Figura 18	Concentração total em mg/100g de planta fresca de deidrocurdiona nas diferentes estações do ano de <i>C. zedoaria</i> .....	56
Figura 19	Efeito do extrato de DCM obtido do rizoma mãe em diferentes estações do ano (10 mg/kg; i.p.) no modelo de contorções abdominais induzidas pelo ácido acético. Asteriscos indicam diferenças significantes.....	58
Figura 20	Efeito do extrato de DCM obtido das rizoma rugoso em diferentes estações do ano (10 mg/kg; i.p.) no modelo de contorções abdominais induzidas pelo ácido acético. Asteriscos indicam diferenças significantes.....	59
Figura 21	Efeito do extrato de DCM obtido das raízes em diferentes estações do ano (10 mg/kg; i.p.) no modelo de contorções abdominais induzidas pelo ácido acético. Asteriscos indicam diferenças significantes.....	60

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 Áreas médias e concentração em mg/mL do padrão curcumenol..... 52
- Tabela 2 Áreas médias e concentração em mg/mL do padrão deidrocurdiona 53
- Tabela 3 Atividade antifúngica através do método da Concentração Inibitória  
Mínima (CIM em  $\mu\text{g/mL}$ ) dos extratos obtidos das diferentes partes  
de *C. zedoaria* em diferentes estações do ano..... 61

## LISTA DE ABREVIATURAS

AE	Acetato de etila
CC	Cromatografia em coluna
CCD	Cromatografia em camada delgada
CGAR	Cromatografia Gasosa Alta Resolução
CGAR-MS	Cromatografia gasosa acoplado ao Espectro de Massa
CIM	Concentração Inibitória Mínima
Co-CCD	Cromatografia em camada delgada em conjunto com amostra padrão
DCM	Diclorometano
DMSO	Dimetilsulfóxido
HEX	Hexano
<i>i. p.</i>	Intra peritonal
IC 50	Concentração inibitória de 50%
iNOS	Inibidor da Óxido Nítrico Sintetase
PGE <sub>2</sub>	Prostaglandina E2
PGF <sub>2</sub>	Prostaglandina F <sub>2</sub>
v.o.	Via oral

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO .....	13
2 OBJETIVOS.....	15
2.1 Objetivo Geral: .....	15
2.2 Objetivos Específicos: .....	15
3 REVISÃO DA LITERATURA .....	16
3.1 Histórico: .....	16
3.2 Aspectos mercadológicos de produtos de origem natural:.....	17
3.3 Plantas como fonte de matéria prima farmacêutica: .....	18
3.4 Conceitos e legislação:.....	19
3.5 Procedimentos utilizados para obtenção de compostos bioativos: ..	20
3.6 Controle de qualidade:.....	23
3.6.1 Cromatografia aplicada ao controle de qualidade: .....	25
3.7 Família Zingiberaceae: .....	28
3.8 Gênero Curcuma: .....	28
3.8.1 Curcuma zedoaria: .....	29
3.8.2 Curcuma amada: .....	35
3.8.3 Curcuma aromatica:.....	35
3.8.4 Curcuma caesia:.....	36
3.8.5 Curcuma comosa: .....	36
3.8.6 Curcuma malabarica:.....	37
3.8.7 Curcuma phaeocaulis: .....	37
3.8.8 Curcuma xanthorrhiza: .....	37
3.8.9 Curcuma longa: .....	38
4 MATERIAL E MÉTODOS .....	41
4.1 Análise fitoquímica de Curcuma zedoaria: .....	41
4.1.1 Material vegetal: .....	41
4.1.2 Preparo do extrato: .....	41
4.1.3 Isolamento e elucidação estrutural dos compostos:.....	42
4.1.4 Cromatografia gasosa: .....	43
4.1.5 Curva de calibração com padrão externo:.....	43

4.1.6 Limite de detecção: .....	44
4.1.7 Limite de quantificação: .....	44
4.2 Atividade biológica:.....	44
4.2.1 Atividade antinociceptiva: .....	44
4.2.2 Atividade antifúngica:.....	45
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	46
5.1 Estudo fitoquímico: .....	46
5.2 Análise biológica: .....	46

A busca e utilização de produtos naturais na promoção da saúde, é uma prática muito antiga atestada em vários registros através da história humana, o que nos leva a considerar a importância desta prática (KINGHORN, 2002; KOHEN; CARTER, 2005).

A grande quantidade de informações sobre o uso de produtos naturais, principalmente as plantas como medicamento em todos os lugares do mundo, leva à necessidade de se desenvolver métodos que facilitem a enorme tarefa de avaliar cientificamente o valor terapêutico das espécies vegetais com possíveis indicações (MONTANARI; BOLZANI, 2001; SIMÕES; SCHENKEL, 2001).

Geralmente, a primeira e principal estratégia na investigação de plantas medicinais é a abordagem etnofarmacológica que consiste na busca de informações junto a consumidores que fazem uso medicinal da flora direto da natureza. Os passos seguintes são os estudos químicos, farmacológicos e toxicológicos realizados em laboratórios especializados (MIGUEL; MIGUEL, 2000; NIERO et al, 2003; GILANI; RAHMAN, 2005).

Atualmente estima-se que aproximadamente 28% dos fármacos empregados nos países industrializados foram obtidos do isolamento e/ou síntese de substâncias que tiveram sua origem em matérias-primas de produtos naturais (NEWMAN; CRAGG; SNADER, 2003).

Avaliando-se os fatores que afetam na obtenção de novos fármacos derivados de produtos naturais, observa-se que um dos principais aspectos que distingue os produtos de origem natural dos sintéticos é a diversidade de estruturas moleculares, o que gera a necessidade de um controle de qualidade eficaz (YUNES; PEDROSA; CECHINEL FILHO, 2001; LESNEY, 2004; DI STASI, 2005).

Além deste fator, podemos citar outras dificuldades encontradas para se realizar uma produção padronizada de medicamentos a partir de produtos naturais, que são: a falta de identificação botânica, a composição química sem uniformidade, presença de contaminantes. Podemos destacar ainda que os princípios ativos existentes nas plantas, seja ela terapêutica ou tóxica, podem estar espalhados por toda planta, ou ainda concentrarem-se em algum órgão dela e ainda ser afetado por fatores ambientais como a fertilidade e umidade do solo, pH, temperatura, altitude e estações climáticas, que afetam decisivamente a expressão de determinados

princípios ativos (SILVA JR.; VIZZOTTO, 1996; CECHINEL FILHO; YUNES, 1998; BRESCIANI; CECHINEL FILLHO; YUNES, 2000; BRESCIANI et al, 2004; CASTRO et al, 2004).

Todas estas questões demonstram a necessidade de se estabelecer métodos que melhorem e verifiquem a qualidade desde o cultivo da planta, de onde se retira a matéria-prima, até o produto acabado. Desta forma, observou-se na Curcuma zedoaria, uma perspectiva de avaliação dos fitoconstituintes com atividade biológica presentes em diferentes partes coletadas em estações climáticas distintas nas plantas cultivadas na região de Ilhota, SC. Este fato fundamenta-se no importante perfil fitoquímico e farmacológico encontrado em estudos anteriores realizados em nossos laboratórios com esta espécie (NAVARRO et al, 2002).

Diante do exposto, este trabalho pretende viabilizar parâmetros que permitam realizar um controle quantitativo de dois fitoconstituintes ativos considerando seu promissor efeito antinociceptivo, antifúngico e possível uso como futuro fitoterápico.

- Quantificar por Cromatografia Gasosa de Alta Resolução dois fitoconstituintes, curcumenol e deidrocurdiona, na planta Curcuma zedoaria, tendo como variáveis as diferentes partes (rizoma mãe, rizoma rugoso e raiz) coletadas em diferentes estações (outono, inverno, primavera, verão) e avaliar a atividade biológica dos extratos diclorometano obtidos.
- Isolar e purificar os fitoconstituintes utilizados como padrão de referência através de procedimentos cromatográficos usuais (CC e CCD);
- Quantificar os compostos isolados nas diferentes partes e estações do ano, através de cromatografia gasosa de alta resolução, utilizando o método de curva de calibração com padrão externo de referência;
- Avaliar a atividade antinociceptiva dos extratos de diclorometano no modelo de dor induzida pelo ácido acético em camundongos;
- Analisar os possíveis efeitos antifúngicos dos extratos de diclorometano em modelos in vitro, contra distintos fungos patogênicos.

Desde a pré-história o homem teve nos vegetais uma fonte de tratamento que necessitava para combater as doenças e para manter uma vida saudável. Velhos textos babilônicos e egípcios já faziam referência a determinados vegetais, ligados à Medicina, a rituais religiosos, condição esta que ainda hoje ocorre em várias seitas e cultos. A Bíblia, tanto no Antigo como no Novo Testamento, faz referência às plantas curativas, como o aloés, o benjoim, a mirra e a vários bálsamos. Uma das primeiras descrições sobre plantas medicinais feitas pelo homem foi o papiro de Ebers, onde são citadas mais ou menos 100 doenças e é descrito um grande número de drogas de natureza animal e vegetal (FABRICANT; FARNSWORTH, 2001; PINTO et al., 2002).

Durante o período anterior a era cristã, que ficou conhecido como civilização grega, vários filósofos podem ser destacados por suas obras sobre história natural. Dentre esses, sobressaem-se Hipócrates, considerado o pai da Medicina moderna, que se caracterizou por tomar a natureza como guia na escolha dos remédios (*Natura medicatrix*) e Teofrasto (372 aC), discípulo de Aristóteles reconhecido como pai da botânica, que escreveu vários livros sobre a história das plantas. É seu o registro da utilização da espécie botânica *Papaver somniferum*, planta cujo princípio ativo é a morfina (PHILLIPSON, 2001).

Na Idade Moderna a relação entre a Medicina e a Química permitiu o desenvolvimento maior do conhecimento dos produtos naturais. Nesta época, os químicos que estudavam as plantas medicinais, cujos recursos ainda eram extremamente limitados, se dedicavam especialmente, a isolar e determinar a estrutura de compostos ativos de plantas, já conhecidas e experimentadas pelo uso popular ao longo do tempo e, geralmente, incorporadas nas farmacopéias da época. As plantas eram de uma importância fundamental na área médica, sendo uma referência a publicação do tratado de Química Orgânica aplicada à Fisiologia e Patologia por Justus Von Liebig (YUNES; CECHINEL FILHO, 2001; MONTANARI; BOLZANI, 2001).

Logo em seguida o que se observou, foi um declínio na busca de produtos de origem natural devido o aparecimento de novos fármacos de origem sintética. O marco inicial pôde ser caracterizado com a síntese do ácido acetilsalicílico, realizada

por Kolbe em 1897 inspirado na salicilina, tida como substância ativa da planta *Salix alba* L.. A partir deste momento a consolidação do paradigma ocidental da terapêutica, onde o fármaco é uma molécula pura geralmente oriunda de síntese, cujo modelo foi a aspirina. Entretanto, o processo de descobrimento de fármacos, através de síntese orgânica ao acaso, mostrou uma série de problemas como: o screening ao acaso, exigindo um grande número de amostras além do custo associado ao tempo (YUNES; PEDROSA; CECHINEL FILHO, 2001).

Neste contexto, na década de oitenta do século passado, com o desenvolvimento da química e sabendo da grande diversidade existente no planeta e, ressaltando que apenas uma pequena porcentagem foi estudada (cerca de 15%) voltou-se o interesse novamente para os produtos de origem natural. Desta forma, observa-se nos últimos anos um grande avanço científico envolvendo os estudos químicos e farmacológicos de plantas medicinais visando obter novos compostos com propriedades terapêuticas. O isolamento de substâncias é ainda uma das mais importantes ferramentas de obtenção de medicamentos empregados na clínica médica (KINGHORN, 2002; NIERO et al., 2003).

O Brasil, com a grandeza de seu litoral, de sua flora e, sendo o detentor da maior floresta tropical úmida do planeta, não pode abdicar de sua vocação para os produtos naturais. Entre os primeiros médicos portugueses que vieram para o Brasil podemos destacar o médico português Bernardino Antonio Gomes, que em Lisboa isolou a cinchonina das cascas da quina. No Brasil fez valiosas observações botânico-médicas sobre plantas locais que lhe conferiram grande notoriedade. Atualmente na área do estudo dos produtos naturais, se observa um desenvolvimento, ainda que tímido, tendo como um dos maiores incentivos o valor potencial da biodiversidade nacional, tornando-se um tema recorrente na ciência brasileira. Nos últimos 25 anos a evolução científica da química de produtos naturais no Brasil teve um marco histórico na fitoquímica clássica (isolamento e determinação estrutural), implantada e estruturada por inúmeros pesquisadores de excelência (PINTO et al., 2002; CALIXTO, 2005).

A Europa desenvolveu uma longa tradição no campo das plantas medicinais, devido ao fato de ter a mais completa documentação sobre o uso das plantas no tratamento de doenças. A utilização de fitoterápicos se dá principalmente em países

que tem acesso ao que há de mais moderno no setor farmacêutico como Alemanha, França, Itália e Suíça. Os dados econômicos demonstram que cinquenta por cento das vendas mundiais de remédios fitoterápicos acontecem na Europa, com um volume de vendas a varejo que ascende a US\$ 6 bilhões/ano. A União Européia por ter desenvolvido um mercado de fitoterápicos com melhores critérios para registro e controle de qualidade, apresenta um consumo por cada habitante em média de US\$ 17,4/ano, sendo que dentro da Europa, a Alemanha lidera o consumo, com vendas anuais de US\$ 2,5 bilhões e despesas por indivíduos de US\$ 37. Os fitoterápicos mais freqüentemente prescritos na Alemanha são o Gingko biloba, a Castanha da Índia, o Crataegus e a Erva de São João (*Hypericum perforatum*) (MARTINS, 2003; VEIGA JR.; PINTO; MACIEL, 2005).

Segundo dados da Organização Mundial de Saúde 80% da população ou 4 bilhões de habitantes no mundo recorreram a medicina tradicional em relação a atenção primária de saúde, principalmente de espécies nativas de seus próprios países (SCHIMIDT, 2000; DI STASI, 2005).

No Brasil, seguindo a tendência mundial, segundo a Associação Brasileira da Indústria de Fitoterápicos (ABIFITO), esse segmento movimentou cerca de US\$ 500 milhões no ano de 2001. Em maio de 2003, secretários de saúde e representantes de faculdades de Medicina de São Paulo se reuniram no I Congresso Brasileiro de Fitomedicina, promovido pela Sociedade Brasileira de Fitomedicina (SOBRAFITO) o que denota a preocupação e o interesse da classe médica em regularizar o consumo e a valorização da fitoterapia como terapia com eficácia comprovada (MARTINS, 2003).

A natureza de forma geral tem produzido a maioria das substâncias orgânicas conhecidas. Entretanto, é o Reino Vegetal que tem contribuído de forma mais significativa para o fornecimento de substâncias úteis ao tratamento de doenças que acometem os seres humanos. A fantástica variedade e complexidade de metabólitos especiais biossintetizados pelas plantas teriam se formado e evoluído como mecanismo de defesa desses vegetais às condições ambientais ricas em microorganismos, insetos, animais e também às condições de adaptação e regulação (MONTANARI; BOLZANI, 2001).

A descoberta de substâncias ativas presentes nas plantas medicinais tornou-se o fundamento de grande parcela do arsenal terapêutico. Entre os diversos exemplos de substâncias oriundas de plantas e de importância atualmente, podemos mencionar a forskolina, obtida de *Coleus barbatus*, que apresenta promissores efeitos contra hipertensão, glaucoma, asma e certos tumores. A artemisina, presente em *Artemisia annua*, que exerce potente atividade antimalárica e o diterpeno anticancerígeno taxol, isolado de plantas do gênero *Taxus*, que possui sua síntese em escala industrial e é utilizado no tratamento de câncer nos ovários e pulmões (NEWMAN; CRAGG; SNADER, 2003).

Desta forma, podemos afirmar que apesar do desenvolvimento nas áreas de síntese orgânica, microbiologia industrial e biologia molecular, uma grande parte dos fármacos continuam sendo obtidos a partir de matérias primas de origem vegetal, seja pela dificuldade em obter sinteticamente moléculas com a mesma estereoquímica, ou pela inviabilidade econômica, no caso de substâncias para as quais a síntese total já foi desenvolvida em laboratório, como o caso do paclitaxel (SIMÕES; SCHENKEL, 2001)

Além disto, muitas substâncias obtidas de fontes naturais tornaram-se modelos para o desenvolvimento de medicamentos sintéticos modernos, tais como procaína, cloroquina, vimblastina, vincristina, podofilotoxina e os análogos etoposídeo e teniposídeo e mais recentemente a camptotecina e derivados (KINGHORN, 2002; OLIVEIRA; BRAGA, 2003).

Os resultados aqui descritos comprovam que o emprego de produtos naturais na síntese de substâncias de interesse farmacêutico compreende uma estratégia útil para se obterem novos compostos bioativos, desde que o planejamento molecular seja adequadamente realizado, respeitando as características estruturais farmacofóricas das classes terapêuticas eleitas. Representando uma atraente alternativa para a descoberta de novos protótipos, que otimizados, viabilizarão a identificação de novas e atraentes entidades químicas bioativas (BLOCK et al., 1998; CRAGG; NEWMAN, 2005).

A OMS define planta medicinal como sendo “todo e qualquer vegetal que possui, em um ou mais órgãos, substâncias que podem ser utilizadas com fins terapêuticos ou que seja precursores de fármacos semi-sintéticos”. O Estado

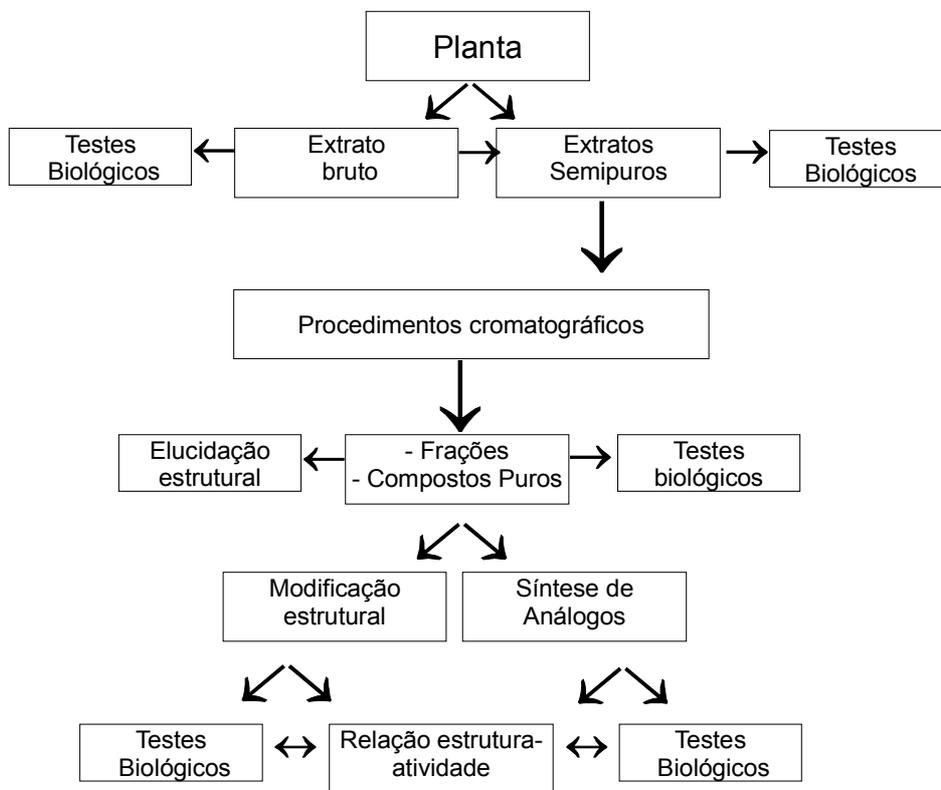
brasileiro observando o aumento do consumo de fitoterápicos pela população e o desenvolvimento de empresas voltadas para a demanda do consumo destes produtos, procurou estabelecer uma legislação específica para esta área produzindo e publicando através da Anvisa (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) a Portaria 6/SVS de 31/1/1995. A portaria 6/SVS/95 determinou em sua ementa as definições utilizadas na área de fitomedicamentos e também como uma empresa deveria se estruturar e realizar sua produção, além de especificar prazos para a realização de estudos de eficácia e toxicidade para os produtos já existentes no mercado. Neste sentido, buscou-se a implantação desta legislação com o objetivo de estabelecer bases para uma maior aceitação e credibilidade dos produtos fitoterápicos junto ao consumidor e a classe prescritora (VEIGA JR; PINTO; MACIEL, 2005).

A legislação de fitoterápicos foi atualizada pela resolução RDC 48 de 2004 que trás a definição de fitoterápico como “todo medicamento obtido empregando-se exclusivamente matérias-primas ativas vegetais. É caracterizado pelo conhecimento da eficácia e dos riscos de seu uso, assim como pela reprodutibilidade e constância de sua qualidade. Sua eficácia e segurança é validada através de levantamentos etnofarmacológicos de utilização, documentações tecnocientíficas em publicações ou ensaios clínicos fase 3. Não se considera medicamento fitoterápico aquele que, na sua composição, inclua substâncias ativas isoladas, de qualquer origem, nem as associações destas com extratos vegetais. “

O conhecimento popular tem oferecido informações valiosas e se constitui no mais importante critério de escolha para o estudo fitoquímico de plantas, que poderão vir a ser utilizadas como novos medicamentos. A literatura mostra que é muito mais provável encontrar atividade biológica em plantas orientadas pela etnomedicina do que escolhidas ao acaso (PINTO et al., 2002).

A análise de substâncias ativas é algo complexo e demorado sendo necessária a colaboração entre químicos e farmacólogos para análise de extratos. Neste sentido, torna-se indispensável a análise da potência das frações e das substâncias puras em relação à sua concentração. O fundamento básico deste procedimento consiste no fato de que toda substância, independente de sua proporção na planta, conhecida ou não, pode ser um princípio ativo (YUNES;

CECHINEL FILHO, 2001). Um procedimento geral para a obtenção de compostos biologicamente ativos encontra-se no fluxograma da Figura 1.



. Procedimento geral para obtenção de compostos biologicamente ativos (CECHINEL FILHO & YUNES, 1998; 2001).

No desenvolvimento de uma pesquisa de plantas medicinais a coleta é um passo muito importante. Com a escolha da planta definida o local de coleta estabelecido, o levantamento bibliográfico efetuado e o projeto de pesquisa elaborado, parte-se para a coleta. A coleta, portanto deve constar de duas etapas: uma coleta prévia para a identificação botânica da espécie e a coleta definitiva quando se tratar de grande quantidade de material destinada para o estudo fitoquímico e/ou farmacológico (MACIEL et al., 2002).

O estudo fitoquímico consiste em várias etapas: a primeira é o manuseio da planta para definir o material botânico a ser estudado, ou seja, qual parte da planta deve estudada (caule, folhas, raízes, rizomas, flores, frutos, cascas, caule, galhos) e a quantidade de material utilizada no estudo; em segundo lugar a determinação do melhor método de extração sendo que o principal método utilizado é a maceração, seguida pelo processo de partição líquido-líquido com solventes de polaridades crescentes, e terceiro a escolha da metodologia de análise através de

procedimentos cromatográficos e espectroscópicos. A identificação dos compostos orgânicos deve ser feita através das seguintes análises espectroscópicas: 1) Espectroscopia na região do Infravermelho (IV) – o espectro IV é interpretado em termos de presença ou ausência de grupos funcionais; 2) Espectroscopia na região do ultravioleta (UV) – o espectro de UV define a presença de compostos que possuem dupla conjugação; 3) Espectrometria de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN  $^1\text{H}$ ) e de carbono-13 (RMN  $^{13}\text{C}$ ) determina a natureza e o ambiente químico de hidrogênios e carbonos, respectivamente. É a técnica mais importante para investigação da estrutura molecular; 4) espectrometria de massa (EM) – fornece dados sobre o peso e a fórmula molecular e possibilita ainda a identificação de fragmentos característicos da molécula (DELLE MONACHE, 2001; MACIEL et al., 2002).

Por outro lado, no estudo da atividade biológica de extratos vegetais é importante a seleção de bioensaios para a detecção do efeito específico. Os sistemas de ensaio no estudo de plantas medicinais devem ser simples, sensíveis e reprodutíveis, devido ao grande número de amostras, que normalmente ocorre, buscando-se modelos experimentais também rápidos, de baixo custo e com mecanismos específicos previamente definidos. Os principais modelos experimentais utilizados são: atividade antifúngica e antibacteriana (método de difusão em ágar, método da concentração inibitória mínima); atividade analgésica (modelo de contorções abdominais utilizando ácido acético em camundongos, modelo de dor induzida pela formalina, modelo da placa quente); atividade antiinflamatória (modelo de edema de pata, em ratos). Um procedimento utilizado como forma preliminar no estudo de extratos e metabólitos é o ensaio de letalidade de organismos simples, como o micro-crustáceo marinho *Artemia salina* Leach, que permite a avaliação toxicológica geral (DE SOUZA et al., 1998; CECHINEL FILHO; YUNES, 2001).

Uma das últimas etapas é a etapa clínica, realizada na espécie humana, que está dividida em 4 fases seqüenciais realizadas apenas se existirem indicações seguras de que os benefícios do uso medicinal do novo produto suplantam os riscos de uma possível ação tóxica (MIGUEL; MIGUEL, 2000).

A introdução das novas tecnologias tornou a química medicinal mais ampla em sua concepção, ampliando seu caráter interdisciplinar. Métodos computacionais modernos permitem que se determinem quali - e quantitativamente as diferentes contribuições das distintas sub-unidades estruturais dos fármacos, tanto aquelas de

natureza eletrônica como estérica, quando de seu reconhecimento molecular pelos sítios receptores. Ademais, fatores farmacocinéticos e toxicofóricos das substâncias candidatas a novos fármacos podem ser simuladas virtualmente através de ferramentas computacionais modernas, especialmente através da química computacional que permite estudos de modelagem e dinâmica molecular. Desta forma, podem se planejar, virtualmente, candidatos a novos ligantes de determinados sítios receptores, em três dimensões (3D), através da construção de mapas farmacofóricos (BARREIRO, FRAGA; 2001)

A pesquisa por novas entidades químicas bioativas (bioNCEs) pelos laboratórios de pesquisa industriais tem utilizado novas técnicas, como o uso da química combinatória, para se obter maior número de substâncias onde paralelamente ocorreu o desenvolvimento de métodos de “screening” biológicos automatizados (“high throughputscrening”– HTS), que passaram a permitir a avaliação in vitro de milhares de substâncias por experimento. Sendo uma destas técnicas a pesquisa genética onde ocorre o isolamento e a purificação de muitas enzimas, receptores diretamente associados a processos patológicos, representando autênticos alvos-moleculares para novos fármacos (VEIGAS JR, BOLZANI, BARREIRO; 2006)

Entende-se por qualidade o conjunto de critérios que caracterizam a matéria-prima para o uso ao qual se destina. A partir do estabelecimento de parâmetros de qualidade para a matéria-prima, e considerando-se um planejamento adequado e um controle de processo de produção do medicamento, a qualidade do produto final estará grande parte, assegurada.

Os fatores críticos para o emprego clínico dos medicamentos fitoterápicos envolvem, especialmente, dificuldades de controle de qualidade e da estabilidade desses produtos. Sabe-se que algumas plantas podem possuir centenas de constituintes, alguns deles presentes em concentrações mínimas. É também bem estabelecido que alguns componentes presentes nas plantas são sensíveis a altas temperaturas, requerendo, portanto métodos adequados de preparo dos extratos. Além disso, existem nas plantas muitos sistemas enzimáticos próprios que, mesmo depois da coleta das mesmas, podem continuar ativos e degradar os princípios

ativos, afetando a qualidade e a eficácia dos medicamentos fitoterápicos (KOHEN, 2005)

Todavia, com avanços ocorridos nos procedimentos analíticos que permitem o isolamento e a caracterização de metabólitos secundários de plantas, é atualmente possível estabelecer critérios para padronizar e manter, adequadamente o controle de qualidade. Muitas indústrias estão utilizando técnicas como a cromatografia líquida de alta pressão (CLAE), cromatografia de camada delgada (CCD), espectrometria de massas, ressonância magnética nuclear, espectrometria de ultravioleta e infravermelho, usadas isoladamente ou em combinação, para estabelecer critérios analíticos visando o controle de qualidade e a padronização principalmente dos medicamentos fitoterápicos (YUNES, PEDROSA; CECHINEL FILHO, 2001).

Em uma época em que as exigências de segurança, eficácia e qualidade, são estabelecidas pelas agências reguladoras de medicamentos, torna-se mais difícil a permanência ou entrada no mercado desses produtos. Neste sentido, estudos científicos objetivando a obtenção de matérias primas controladas, e o desenvolvimento de uma tecnologia apropriada para a obtenção de extratos vegetais se tornaram uma luta diária nas instituições e empresas deste ramo (SIMÕES; SCHENKEL, 2001)

Dentro desta ótica, alguns parâmetros podem ser seguidos, no sentido de obtermos um método de análise quali/quantitativa experimental eficaz. Assim os parâmetros podem ser seguidos de acordo com a Resolução n. 899 de maio de 2003 são:

Seletividade: a capacidade de avaliar, de forma inequívoca, as substâncias em exame na presença de componentes que podem interferir com a sua determinação em uma amostra complexa. A seletividade avalia o grau de interferência de espécies como outro ingrediente ativo, excipientes, impurezas e produtos de degradação, bem como outros compostos de propriedades similares que possam estar, porventura, presentes. A seletividade garante que o pico de resposta seja exclusivamente do composto de interesse;

Linearidade: Corresponde à capacidade do método em fornecer resultados diretamente proporcionais à concentração da substância em exame, dentro de uma determinada faixa de aplicação. A correlação entre o sinal medido (área ou altura do

pico) e a massa ou concentração da espécie a ser quantificada na maior parte dos casos necessita de uma relação matemática chamada de curva analítica;

Precisão: representa a dispersão de resultados entre ensaios independentes, repetidos de uma mesma amostra, amostras semelhantes ou padrões, sob condições definidas. A precisão é avaliada pelo desvio padrão absoluto ( $\sigma$ ), que utiliza um número significativo de medições. Na prática, em validação de métodos, o número de determinações é geralmente pequeno e o que se calcula é a estimativa do desvio padrão absoluto (s);

Limite de detecção: representa a menor concentração da substância em exame que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada, utilizando um determinado procedimento experimental, podendo se utilizar método visual para se determinar este parâmetro. Além dos métodos colocados acima podemos citar outros parâmetros utilizados para validar um método que são: reprodutibilidade, exatidão, limite de quantificação, robustez, etc.

### **3.6.1 Cromatografia aplicada ao controle de qualidade**

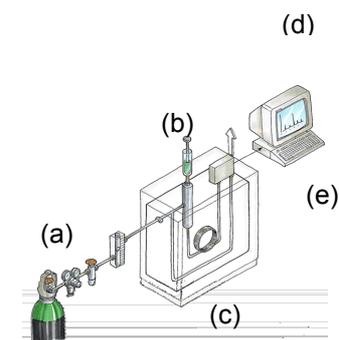
Atualmente os métodos cromatográficos são os procedimentos de separação e isolamento mais amplamente utilizados no estudo de produtos naturais. Servem para fins de identificação e análise de misturas e isolamento de substâncias (CECHINEL FILHO; YUNES, 1998; CATAPAN et al., 2000).

Por definição podemos colocar que cromatografia é um método físico-químico de separação dos componentes de uma mistura realizada através da distribuição destes componentes entre duas fases que estão em contato íntimo. Durante a passagem da fase móvel sobre a fase estacionária os componentes da mistura são distribuídos entre as duas fases de tal forma que cada um dos componentes é seletivamente retido pela fase estacionária, resultando em migração diferenciada destes compostos (COLLINS; BRAGA; BONATO, 1995).

As técnicas cromatográficas se destacam na química analítica pela capacidade de realizarem análises qualitativas e quantitativas em amostras ambientais, farmacêuticas, biológicas e em alimentos. Podemos citar os seguintes métodos cromatográficos utilizados atualmente: cromatografia em camada delgada (CCD), cromatografia de adsorção, cromatografia por afinidade, cromatografia gasosa (CG) e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (RIBANI et al., 2004).

Devido a versatilidade e facilidade no preparo um dos principais métodos utilizados é o da cromatografia em camada delgada (CCD), que consiste na separação de uma mistura através da migração diferencial sobre uma camada delgada de adsorvente retido em uma superfície plana. Na fitoquímica é útil na caracterização de extratos brutos e para avaliar o resultado de um processo de separação (COLLINS; BRAGA; BONATO, 1995).

Outro método de cromatografia de adsorção, geralmente empregada é a cromatografia em coluna aberta (CC), usando-se sílica gel como fase estacionária. Com fins preparativos o objetivo é gerar uma separação de componentes de uma mistura com base na afinidade destes com o solvente eluído e a fase estacionária.



Esquema dos componentes básicos de um cromatograma gasoso. a – cilindros de gás; b – injetores, c – coluna, d – detectores, e – registrador.

A cromatografia a gás, principalmente à acoplada a espectroscopia de massas, tem enorme potencialidade devido à sua eficiência, alto poder de resolução, onde se detectam compostos em escala nano a picogramas ( $10^{-9}$  -  $10^{-12}$  g), facilidade na realização das análises, baixo custo e possibilidade de analisar misturas voláteis de alta complexidade, como: açúcares, gorduras, inseticidas residuais, óleos essenciais, etc (VILEGAS; LANÇAS, 1994; DEGANI; CASS; VIEIRA, 1998).

A aplicação deste método tem se tornado muito abrangente, entre elas podemos citar seu uso na avaliação da constância e homogeneidade de compostos em frutíferas (JANZANNTTI; FRANCO; LANÇAS, 2000; FRANCO; LANÇAS, 2004; RODRIGUES et al., 2005), determinação de métodos de quantificação para controle de qualidade de óleos como o óleo de copaíba, óleo de canela (KOKETSU et al, 1997; TAPPIN, 2004), controle de qualidade de novos compostos com atividade biológica (CORDEIRO; VILEGAS; LANÇAS, 1999; DUSCHATZKY et al., 2005).

A quantificação de terpenos obtidos de extratos brutos ou pré-fracionados pode ser realizada através da utilização de cromatografia gasosa de alta resolução (CGAR) tendo padrões autênticos como referência (PATITUCCI et al., 1995).

Existem muitos trabalhos na literatura sobre a composição do óleo volátil presente na plantas do gênero *Curcuma*, principalmente a cultivada na Índia. Entretanto poucos trabalhos foram desenvolvidos até o momento com relação aos compostos voláteis da *Curcuma* brasileira. Desta forma, evidenciamos a importância deste trabalho por esta planta ter um potencial biológico significativo no tratamento da dor e inflamação (NAVARRO et al, 2002).

A família Zingiberaceae é a maior família da ordem Scitamineae pertencente a classe das Monocotiledoneae. Tendo uma ampla dispersão nos trópicos e subtropicais de todo mundo, contendo 49 gêneros com 1500 espécies, sendo que o maior centro de dispersão encontra-se na Ásia tropical. Representada por plantas herbáceas perenes, aromáticas, geralmente com rizomas dos quais nascem caules aéreos, que transportam folhas com larga bainha na base e que envolve o caule (VIMALA; NORHANOM; YADAV, 1999; SCHIMIDT, 2000).

Uma das plantas mais conhecidas deste gênero é o Gengibre (*Zingiber officinalis*), uma especiaria já utilizada a mais de dois mil anos que chegou a ser considerado o mais importante condimento na Ásia. Sob sua epiderme ou casca, encontra-se um tecido constituído por numerosas glândulas de óleo resinosas onde se encerra a maior parte do princípio ativo que a planta contém (PENNA et al, 2003)

### ***Curcuma***

O gênero *Curcuma* pertence à família Zingiberaceae e possui mais de 70 espécies. Sendo um gênero endêmico das regiões Indo-Malaias, onde são cultivadas suas espécies e utilizada terapeuticamente pela população, principalmente na Índia, China e Indonésia (NETTO JR., 1999; CAO et al., 2001; NICOLETTE, 2002; MATA et al., 2004; MURNIGSIH et al., 2005).

As plantas, deste gênero, são grandes herbáceas aromáticas, possuindo folhas grandes oblongo-lanceoladas e oblíquo-nervadas, o limbo se reúne na base formando um pseudocaulo. Possuem flores dispostas em espiga contendo brácteas côncavas e tubérculos taxonomicamente denominados rizomas. O rizoma principal ou central é arredondado, com ramificações laterais compridas também tuberizadas (KATO; FISHER, 1996; CECÍLIO FILHO et al., 2000; SCHIMDT, 2000; CECÍLIO FILHO et al., 2004).

O fato dos rizomas deste gênero serem utilizados de forma popular e tradicionalmente em diversas patologias despertou o interesse para sua investigação, sendo que alguns autores relacionam parte da sua atividade à presença de óleos essenciais representando em média de 3 – 5% de sua

composição. Estes óleos possuem em sua constituição principalmente terpenóides na forma de cetonas sesquiterpênicas e diarilheptanóides (NETTO JR., 1999; HONG et al., 2002; SASAKI et al., 2003; MATA et al., 2004).

Dentro da grande variedade de espécies deste gênero podemos dar destaque a algumas já estudadas até o momento como:

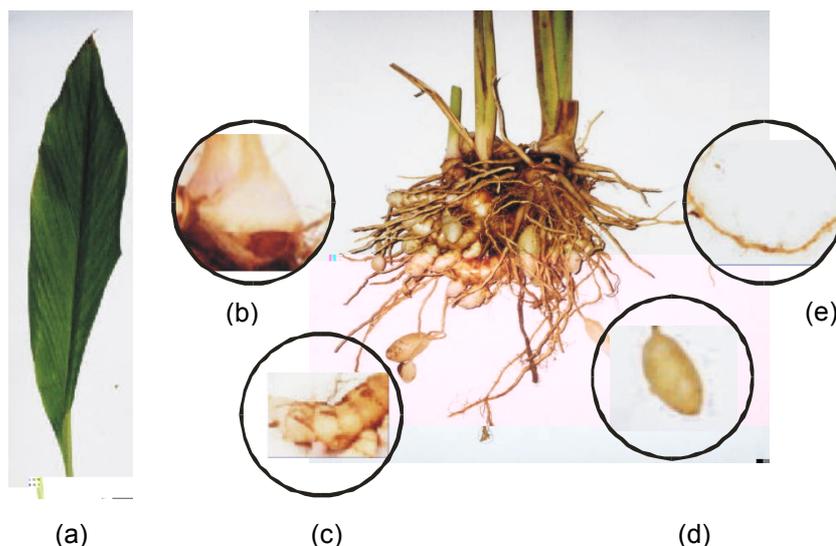
### **3.8.1 *Curcuma zedoaria***

A *Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe é conhecida popularmente por zedoária ou “gajitsu”, sendo uma planta herbácea, aromática e perene de ocorrência espontânea na Índia, Celião e Indochina. Introduzida no Brasil vem sendo cultivada no sentido de se avaliar a manutenção de sua composição e utilização (TESKE; TRENTINI, 2001; NAVARRO et al., 2002; PEREIRA et al., 2004).

As partes vegetais empregadas com fins terapêuticos são os rizomas, ricos em terpenóides, sendo bastante conhecida na medicina popular e tradicional como expectorante, demulcente, diurético, rubefaciente, estimulante do processo de digestão, colagogo, hepatoprotetor, no tratamento da gastrite e como profilático na odontologia (RANA; AVADHOOT, 1992; SANDRINI et al., 1997; MELLO; AMARAL; MELO, 2000; NICOLETTI, 2002; APPEL; REUS, 2003; BATISTIC; NICOLETTI, AURICCHIO, 2004).

Externamente a planta apresenta folhas grandes, pecíolo tão comprido como o limbo, oblíquo-lanceoladas reunidas na base; flores pequenas, dispostas em espigas compridas e com brácteas côncavas verde-pálidas; as superiores também com uma mancha rósea. Os tubérculos ou rizomas, em uma descrição macroscópica o parênquima demonstrou a presença de grãos de amido oval-elíptico e células oleíferas (KATO; FISCHER, 1996).

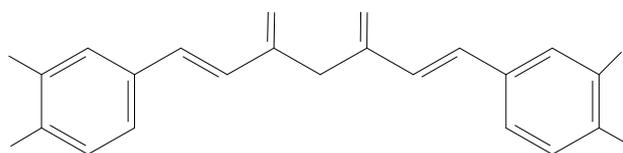
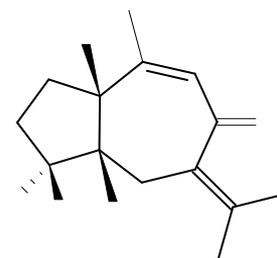
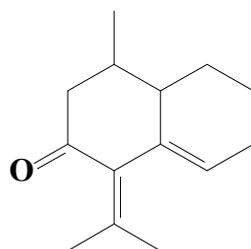
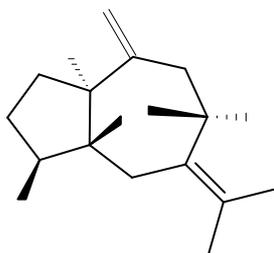
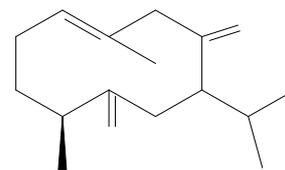
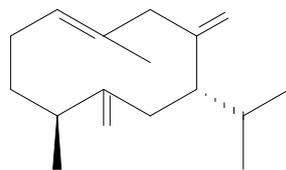
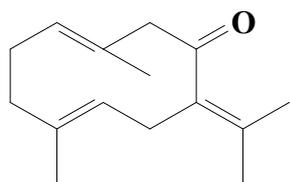
Possui um rizoma principal ou central, arredondado ou ovóide (b), com ramificações secundárias laterais (c), compridas tuberizadas (d) ou não. Estes crescem agrupados no solo, organizados numa estrutura normalmente denominada “mão”, onde os rizomas menores, “dedos”, agrupam-se ao redor de um maior chamado “pião”. Partindo desta estrutura surgem raízes (e), denominadas raízes adventícias (CECÍLIO FILHO et al., 2000). Uma foto ilustrativa encontra-se na figura 3.



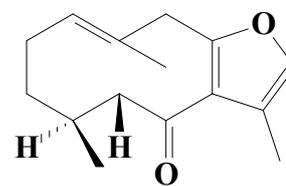
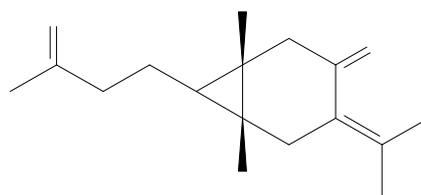
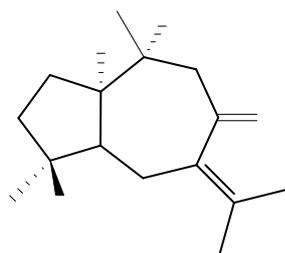
. Fotos das diferentes partes (a) folha; (b) rizoma mãe; (c) rizoma rugoso; (d) rizoma liso; (e) raiz.

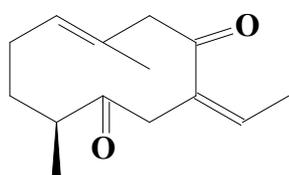
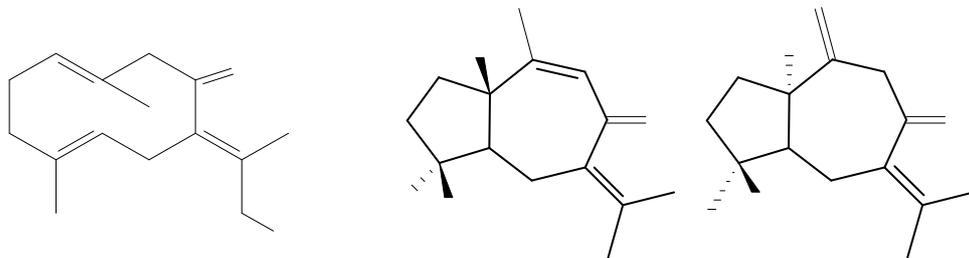
Inúmeros trabalhos sobre a composição química e atividade biológica são encontrados na literatura, no entanto a quantificação destas substâncias é bastante carente. Através da análise por CG/MS dos extratos obtidos das folhas, de origem indiana, demonstrou-se a presença de vinte e três compostos sendo 75% proveniente da fração oleosa. Os principais constituintes obtidos foram: mono e sesquiterpenos, monoterpenos acetilados (2,3%), monoterpenos oxigenados (26%), sesquiterpeno acetilados (38%), sesquiterpenos oxigenados (13,5%).  $\alpha$ -Terpinil acetato (8,4%), isoborneol (7%), deidrocurdiona (9%) e selina-4 (15), 7-dien-8-ona (9,4%) (SAKUI et al., 1992; MA; YU; HAN, 1995).

Da mesma forma extratos metanólicos obtidos dos rizomas da *C. zedoaria* apresentaram uma série de compostos entre eles podemos destacar a germancra ( ), curdiona ( ), neocurdiona ( ), procurcumenol ( ), ar-tumerona ( ),  $\beta$ -tumerona, curcumin-(1,7-bis(4-hidroxifenil)-1,4,6,heptatrien-3-ona, e epiprocurcumenol ( ), nos extratos etanólicos curcumina ( ), demetoxicurcumina ( ) e bisdemetoxicurcumina ( ), nos extratos acetato de etila pode-se isolar os composto 1,7-bis-(4-hidroxifenil)-1,4,6-heptatrien-3-ona, zedoarondiol ( ), curcumenona ( ), zederona ( ), furanodieno, 13-hidroxigermacrano ( ), aerugidiol ( ), isocurcumenol ( ), curcumenol ( ) e deidrocurdiona (1 ), estando os dois últimos compostos também presentes no extrato diclorometano (HIKINO; AGATSUMA, TAKEMOTO, 1968, SHIOBARA, et al., 1985, JANG; SOH; RYU, 2001, JANG, et al., 2004; MORIKAWA et al., 2002, MATSUDA et al., 2004).



7 - R = OCH<sub>3</sub>, R' = OCH<sub>3</sub>  
 8 - R = OCH<sub>3</sub>, R' = H  
 9 - R = H, R' = H





cancerígenas de ovário humano, na dose de 4,4; 3,8 e 3,1  $\mu\text{g/mL}$  respectivamente (SYU et al., 1998).

A administração oral do extrato acetona/água 80%, obtido da maceração em assim como dos compostos isolados (germacrona, furanodieno, curdiona, neocurdiona, deidrocurdiona, 13-hidroxigermacrona, curcumenol, isorcurcumenol, aerugidiol, curcumenona) demonstraram efeito hepatoprotetor por inibirem os níveis de alanina aminotransaminase e aspartato aminotransaminase na dose de 12,5 – 50 mg/kg. Além desta atividade, os fitoconstituintes apresentaram potente efeito contra o fator de necrose tumoral, quando administrado na mesma concentração (MORIKAWA et al., 2002).

Por outro lado, o extrato metanólico obtido da raiz mostrou ser ativo na inibição da produção de prostaglandina  $E_2$  ( $\text{PGE}_2$ ) e os compostos foram ativos,  $\alpha$ -turmerona e  $\beta$ -turmerona, nas doses de 7,3 e 24,0  $\mu\text{M}$ , respectivamente. Em outro estudo, estes fitoconstituintes apresentaram potente ação supressora da proteína COX-2, sendo a concentração inibitória estabelecida em 1,6  $\mu\text{g/mL}$  e 3,2  $\mu\text{g/mL}$  respectivamente, além da importante atividade inibitória da óxido nítrico sintetase nas doses de 4,6  $\mu\text{g/mL}$  e 3,2  $\mu\text{g/mL}$ . Estes resultados sugerem que estes compostos podem se tornar alvo de estudos posteriores para se obter atividade preventiva do câncer e como antiinflamatório justificando o uso desta planta contra males estomacais, coagulação sanguínea e proteção hepática (HONG et al., 2002; LEE et al., 2002).

Estudos, realizados em nossos laboratórios, sobre a análise fitoquímica dos caules e rizomas da *C. zedoaria* encontrada no Brasil mostraram a presença de um componente majoritário identificado como curcumenol ( ). Este composto apresentou importante atividade analgésica (dose-dependente) quando avaliado em diferentes modelos de dor em camundongos, incluindo contorções abdominais induzidas pelo ácido acético, formalina e capsaicina. O curcumenol foi várias vezes mais potente do que outros medicamentos de referência quando avaliadas nos mesmos modelos experimentais. Os valores  $\text{IC}_{50}$  calculados foram de 22,0; 29,0 e 12,0  $\mu\text{mol/Kg}$ , i.p., respectivamente. A análise fitoquímica também indicou que a composição química desta espécie presente no Brasil é similar àquela existente em outros países. Estes resultados confirmaram e justificaram o uso popular desta planta no tratamento de processos dolorosos (NAVARRO et al., 2002).

Outras atividades biológicas apresentadas por esta espécie foram como vasodilatador podendo ser utilizado como agente redutor da agregação plaquetária sanguínea e como agentes hipocolesteromiantes por inibir a enzima HMG-Co A (3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A) esta atividade pôde ser verificada através do método de inibição do mevalonato (LIU et al., 2002; SASAKI et al., 2002).

A aplicação tópica da planta na terapêutica antifúngica foi demonstrada frente aos microrganismos *Cândida albicans*, *Tricophyton mentagrophytes* e *Aspergillus niger* com resultados satisfatórios, podendo ser utilizad

Embora tenham inúmeros trabalhos sobre esta espécie, o estudo para se verificar a produção sazonal dos fitoconstituintes curcumenol ( ) e deidrocurdiona ( ) está sendo realizado pela primeira vez.

### ***Curcuma amada***

*Curcuma amada*, também conhecida como mangoginger possui os rizomas característicos de seu gênero com odor de manga fresca, sendo utilizada como flavorizante em alimentos. Os constituintes ativos dos rizomas são compostos fenólicos conhecidos como curcumenóides. As principais aplicações estudadas são como antioxidante, antimicrobiano, antiinflamatório, anticâncer, hepatoprotetor, antialérgico, antitumor, antiespasmódico e anti-HIV. Através do método de difusão em ágar, extratos de *C. amada* apresentaram atividade antibacteriana significativa contra bactérias Gram negativas *Escherichia coli* e Gram positivas *Bacillus subtilis* (CHANDARANA; BALUJA; CHANDA, 2005).

Tradicionalmente usada como carminativa e estomáquica, apresenta também referências de sua utilização como estimulante do SNC, hipocolesteremiante efetivo em coelhos, além de demonstrar atividade antifúngica contra o *Aspergillus niger* e *Trichophyta rubrum*. O uso de extratos etanólicos demonstraram atividade antiinflamatória em processos crônicos, quando avaliados em modelos de edema de pata de ratos (MUJUNDAR et al., 2000).

Os extratos metanólicos demonstraram através de métodos espectroscópicos na sua composição a presença do fitoconstituente curcumina um composto que provavelmente lhe confere atividade antioxidante (CHIRANGINI; SHAMA; SINHA, 2004).

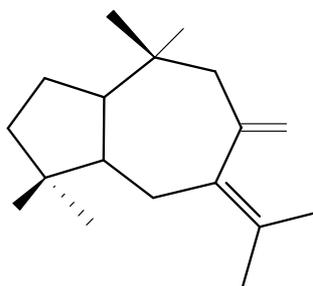
Outros fitoconstituintes isolados desta espécie são curcumanggosido, labda-8, 12-dieno-15, 16-dial, calcaratina A, scopoletina, 1,7-bis (4-hidroxifenil)-1,4,6-heptatrien-3-ona, ácido p-hidrocinâmico, zerumina B, demetoxicurcumina e bisdemetoxicurcumina, sendo que os três últimos apresentam pronunciada atividade citotóxica e antitumoral (ABAS et al., 2005).

### ***Curcuma aromatica***

Utilizada popularmente no Japão e China com atividade colagoga, digestiva e como estimulante da circulação, é alvo de estudos moleculares devido a dificuldade de identificação botânica, resultante da similaridade das espécies (CAO et al, 2001).

Possui como composto majoritário o demetoxicurcumina, sendo que este demonstrou atividade quimiopreventiva através do mecanismo de inibição da metilproteinase-9, enzima envolvida no início da angiogênese (KIM et al, 2002).

A partir da fração de clorofórmio dos rizomas frescos foi isolado e identificado por métodos espectroscópicos os sesquiterpenos germacrona, curdiona, neocurdiona, deidrocurdiona, isoprocurcumenol, zedoarondiol, metilzedoarondiol ( ), curcumenona, (4S,5S)- germacrona 4,5-epóxido, isozedoarondiol (MASANORI et al, 1987, KUROYANAGI, et al, 1987).



Nesta espécie também foi detectada a presença do curcumenol ( ) o qual demonstrou importante atividade antiinflamatória (YANG; CHEN, 1980; LI, 1985).

Estudos realizados com extratos etanólicos demonstraram resultados positivos como repelente na concentração de 25% contra o *Aedes togoi* (vetor da filariose), em voluntários humanos, sem causar irritação (PITASAWAT et al., 2003).

### ***Curcuma caesia***

Esta espécie é utilizada popularmente como carminativo, no tratamento de enxaquecas e dores reumáticas. Estudos recentes demonstraram um rendimento de 0,8% de óleos presentes nas folhas, sendo os compostos majoritários: 8-cineol (27%), canfor (16,8%), boniel (8,7%), alfa-terpineol (5,2%) e beta-pineno (6,3%) (BEHURA; SRIVASAVA, 2004).

### ***Curcuma comosa***

Utilizada pela população como estimulante na liberação da bile e no tratamento de processos inflamatórios. Em estudo realizado com extrato metanólico promoveu a ação nematocidal quando testado contra o nematóide *Caenorhabditis elegans*, enquanto que extratos hexano demonstraram atividade hepatoprotetora (JURGENS et al., 1994; PIYACHATURAWAT et al., 2004).

Da mesma forma, administrações intragástricas de extrato acetato de etila dos rizomas reduziram de forma significativa os níveis de colesterol e triglicerídeos em testes realizados com animais. O mecanismo proposto baseia-se essencialmente no fato do extrato elevar os níveis de HDL no plasma favorecendo a excreção do LDL através da bile. Os resultados sugerem que *C. comosa* possui atividade hipocolesterolemica por acelerar a mobilização de lipídeos dos tecidos extrahepáticos, favorecendo a liberação do colesterol via bile para excreção (PIYACHATURAWAT et al., 1997; 1999).

### ***Curcuma malabarica***

A atividade antimicrobiana de extratos desta espécie obtidos de tubérculos foram testados contra bactérias e fungos através do método de difusão em ágar, apresentando resultados significativos nas concentrações de 0,01 a 0,94 mg/mL, destacando-se a inibição do desenvolvimento da bactéria Gram positiva *Staphylococcus aureus* (WILSON et al., 2005).

### ***Curcuma phaeocaulis***

A *C. phaeocaulis* apresenta as características do seu gênero quanto a estrutura, sendo característica desta espécie a coloração azulada dos tubérculos. Estudos realizados demonstraram atividade hemostática, por prolongar o tempo de coagulação sanguínea e inibir a agregação plaquetária (LI et al., 1998).

Em outro estudo realizado para se avaliar o aprendizado, memória e envelhecimento os dados obtidos demonstraram uma redução da peroxidação lipídica quando comparado ao grupo controle (MAO; XIE; LU, 2000).

### ***Curcuma xanthorrhiza***

*Curcuma xanthorrhiza* popularmente conhecida como rizoma de Java é cultivada e utilizada na medicina popular na Índia, parte do sul de China, África e sudeste Asiático. As principais indicações terapêuticas são como colágeno, analgésico, antipirético, hepatoprotetor, antiinflamatório, em constipação, diabetes e como tônico geral (CHOI et al., 2005).

A partir de extratos obtidos dos rizomas, macerados em hexano, conseguiu-se isolar e identificar os compostos germancra, curzerenona, cinamaldeído, trans-

trans-1,7-difenil-1,3-heptadien-4-ona (alnustone), trans-1,7-difenil-1-hepten-5-ol e trans, trans-1,7-difenil-1,3-heptadieno-5-ol. Os três últimos compostos apresentaram atividade anti-inflamatória significativa quando testados em ratos, utilizando o método de edema de pata induzido por carragenina (CLAESON et al., 1996).

O composto majoritário, aproximadamente 65%, do óleo essencial foi identificado como alfa-curcumeno. Frações hexano, contendo este fitoconstituínte, reduziram a concentração dos triglicerídeos hepáticos por evitarem a síntese de ácidos graxos em culturas primárias hepáticas de ratos. Outros compostos isolados foram o curcumina, demetoxicurcumina e bisdemetoxicurcumina (YASNI et al., 1994; LECHTENBERG, QUANDT; NAHRSTEDT, 2004).

Um composto isolado dos rizomas que vem apresentando atividade clínica é o xantorrizol por inibir significativamente o COX-2 ( $IC_{50} = 0,2 \mu\text{g/mL}$ ) e a atividade do iNOS ( $IC_{50} = 1,0 \text{ g/mL}$ ), desta forma atuando sobre a prostaglandina  $PGE_3$  e na produção de óxido nítrico, respectivamente (LEE et al., 2002).

Outros estudos citam sua utilização no controle do desenvolvimento de microorganismos orais como potente agente redutor do *Streptococcus mutans* (HWANG; SHIM; PYUN, 2000).

O xantorrizol também demonstrou atividade anti-metástica quando usado em modelos animais por inibir drasticamente a formação do nódulo tumoral nos tecidos pulmonares e intra-abdominais. O mecanismo proposto consiste no fato deste composto reduzir os níveis de COX-2, MMP-9 e evitar a fosforilação extracelular do sinal que ativa esta quinase (CHOI et al., 2005)

### ***Curcuma longa***

*Curcuma longa*, conhecida popularmente como “açafrão da Índia”, é a espécie mais estudada deste gênero, extensamente cultivada na China, Índia, Indonésia, Tailândia e regiões tropicais, inclusive no sudeste da África. Foi introduzida no Brasil nos tempos coloniais, sendo mencionada sua monografia na Farmacopéia Brasileira segunda edição (NETTO JR., 1999).

Planta herbácea que apresenta as características gerais do gênero, possuindo odor semelhante ao da pimenta, sabor amargo, coloração amarelada, devido principalmente à presença da curcumina. Largamente utilizado como condimento na culinária e como corante na indústria de alimentos, é um dos

principais componentes da tradicional bebida “curry” (PINO et al., 2003; CECÍLIO FILHO et al., 2004; LANTZ et al., 2005).

Utilizada tradicionalmente na forma oral como anti-inflamatório, agente antiflatulento, estomáquico, tônico, hepatoprotetor, purificador do sangue, e topicamente em conjuntivites, infecções, câncer de pele, contusões, artrites, hemorróidas e eczemas (ARAÚJO; LEON, 2001; CHANDARANA; BALUJA; CHANDA, 2005).

Os rizomas apresentam em sua composição aproximadamente 6,0% de óleos constituídos principalmente por monoterpenos e sesquiterpenos, sendo o principal constituinte a ar-turmerona (59%), seguido pelo zingibereno (25%) (

aterogênicas do colesterol, propõe um mecanismo de ação efetivo para manutenção da homeostasia e redução do progresso de doenças cardiovasculares (ZAID; HUSSAIN; FAHIM, 2005).

Em outro estudo, procurou-se estabelecer o potencial de proteção cardíaca gerado pela administração de *C. longa*. A administração diária em camundongos de 100 mg/kg durante trinta dias demonstrou reduzir os danos isquêmicos gerados no miocárdio. Esta ação foi resultado da supressão do stress oxidativo, devido a atividade antioxidante e a melhora da função ventricular, confirmado através de exames histológicos cardíacos dos animais tratados (MOHANTY et al., 2004).

O efeito contraceptivo da *C. longa* pode ser verificado através da administração oral de extratos hidro-alcóolicos 70%, em ratos, na concentração de 500 mg/kg, uma dose ao dia durante 60 dias. Como resultado pode-se observar uma redução da motilidade e da densidade do líquido seminal. Desta forma concluíram que o extrato afetou a síntese androgênica inibindo a função das células de Leydig ou a função pituitária hipotálamo evitando a espermatogênese (ASHOK, 2004).

O fitoconstituente curcumina isolado desta espécie, demonstrou atividade anti-inflamatória por inibir um grande número de substâncias envolvidas no processo inflamatório como a fosfolipase, lipooxigenase, ciclooxigenase 2, leucotrienos, tromboxanos, prostaglandinas, óxido nítrico, colagenase, elastase, hialuronidase, fator de necrose tumoral (TNF), interleucina-12 (IL-12) (CHAINANI, 2003).

O ar-turmerona, isolado dos rizomas, foi efetivo como agente inibidor da agregação plaquetária induzida pelo colágeno na concentração de 14,4  $\mu\text{M}$  e pelo ácido aracdônico na concentração de 43,6  $\mu\text{M}$ , demonstrando ser o seu mecanismo de ação o mesmo do ácido acetil salicílico (LEE, 2005).

Frações, do extrato hexano, obtidas da *C. longa* apresentaram como constituintes químicos majoritários tumerona e curlona. Estas frações quanto testadas demonstraram atividade antifúngica contra *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus*, *Fusarium* (JAVAPRAKASHA et al., 2001).

Frações contendo curcuminóides e sesquiterpenos, obtidos de extratos alcoólicos e hexano reduziram os níveis de açúcar sanguíneo em camundongos de forma significativa nas concentrações de 0,1 – 1,0 %, indicando que a associação destes compostos apresenta efeito hipoglicemiante na diabetes tipo II, sendo um mecanismo de ação proposto via ativação do fator de transcrição PPAR-gama (Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma) (NISHIYAMA et al., 2005).

## ***Curcuma zedoaria***

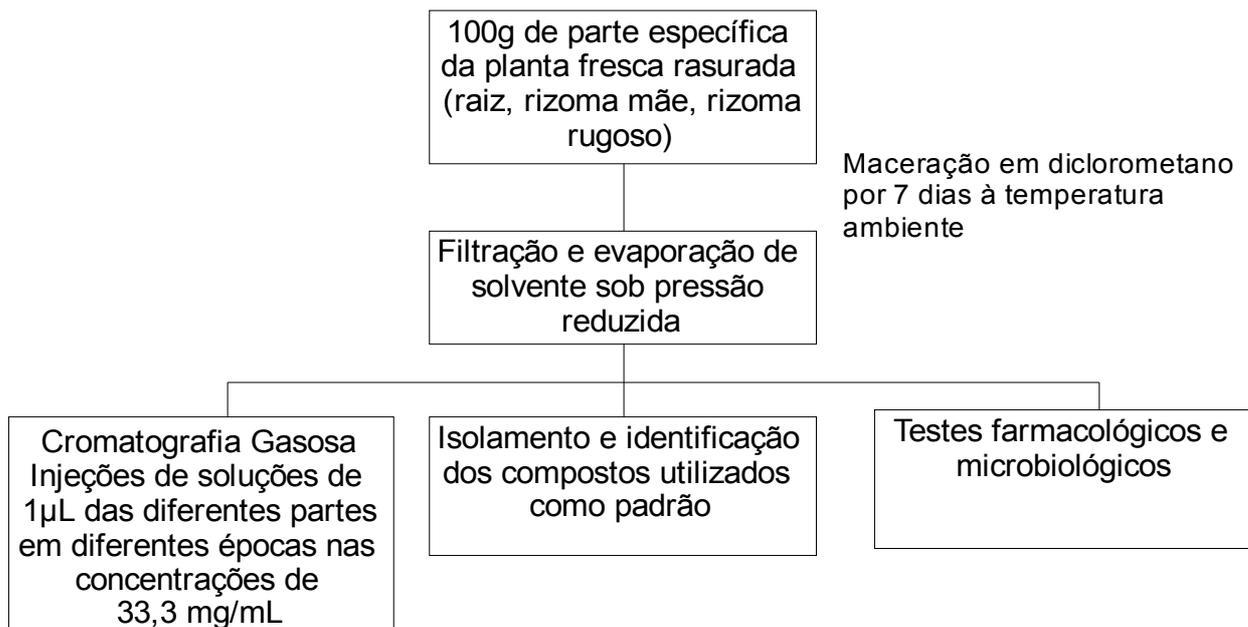
### **4.1.1 Material vegetal**

Considerando os objetivos propostos de se determinar a melhor parte da planta a ser utilizada, para se obter uma maior concentração de fitoconstituíntes, e a estação do ano mais propícia para a coleta, foram realizadas quatro coletas (maio/2001, julho/2001, outubro/2001, janeiro/2002). O material vegetal coletado foi fracionado nas três partes: raiz, rizoma mãe e rizoma rugoso. As coletas foram realizadas no município de Ilhota, Santa Catarina no sob a orientação do professor e MSc. Renê Artur Ferreira. A exsicata encontra-se no herbário Barbosa Rodriguez – Itajaí – Santa Catarina sob N<sup>o</sup> VC Filho 023.

### **4.1.2 Preparo do extrato**

Os extratos foram obtidos através do processo de maceração tendo como solvente diclorometano, considerando que em trabalhos anteriores apresentaram perfis químicos e farmacológicos importantes no que se refere a ação antinociceptiva (CALIXTO et al., 2000; SCHIMIDT, 2000).

As diferentes partes da planta foram pesadas (100g de cada), trituradas frescas e deixadas por 7 (sete) dias em maceração em diclorometano. Após este período, os extratos obtidos foram filtrados, e o solvente totalmente eliminado em um evaporador rotatório sob pressão reduzida. Os rendimentos finais foram calculados após alcançar massa constante. As amostras obtidas foram acondicionadas em dessecador, contendo sílica ativada e na sequência submetidas aos ensaios de atividade biológica, isolamento, identificação e quantificação dos compostos, conforme mostra a figura 4.



. Esquema de preparo de amostras para análise fitoquímica e biológica.

#### **4.1.3 Isolamento e elucidação estrutural dos compostos**

Com o objetivo de realizar a separação dos compostos para quantificação, sucessivas colunas cromatográficas (CC) foram realizadas a partir de um extrato obtido do rizoma mãe. As CC foram empacotadas sílica gel 60 (70 - 230 mesh) Merck e eluídas com um sistema de solvente polaridade crescente (hexano/acetona) onde as frações foram coletadas em frascos de 30 mL. O diâmetro e a altura das colunas foram variados, sendo proporcional a quantidade de material a ser adsorvido (aproximadamente a razão 0,1 g de material a ser adsorvido / 10 g de sílica).

A cromatografia em camada delgada (CCD), para evidenciar a presença dos compostos de interesse, foi utilizada como monitoramento das frações. O revelador utilizado foi uma solução de anisaldeído sulfúrico a 0,1%, seguido de aquecimento das placas a temperatura de aproximadamente 100°C.

Após a realização da eluição e revelação das placas, as frações que obtiveram perfis semelhantes foram reunidas e caracterizadas através de Co-CCD e dados espectroscópicos, em comparação com padrões autênticos.

A elucidação e caracterização química foram realizadas através de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ ) em um espectrofotômetro VARIAN GEMINI 300 pelo professor Dr. Franco Delle Monache,

em Roma na Itália. Utilizou-se como referência interna o tetra metilsilano (TMS) ou o próprio solvente deuterado.

#### **4.1.4 Cromatografia gasosa**

10,0 mg de cada extrato foram dissolvidos em 0,3 mL de acetona (concentração 33,3 mg/mL) e 1 µL de amostra foi injetado manualmente em triplicata, com ao auxílio de uma micro seringa tipo Hamilton (VILEGAS et al., 1994). O equipamento utilizado foi um cromatógrafo Shimadzu, modelo CG 14B, provido de Detector de Ionização de Chama (DIC) e equipado com uma coluna capilar J & W (DB<sub>1</sub>) com um diâmetro interno de 0,25 mm, comprimento 30 m, espessura do filme de dimetilpolioxano de 0,249 mm .

A programação que possibilitou a melhor resolução cromatográfica dos picos de interesse foi na seguinte condição de análise:

- Temperatura inicial da coluna: 100°C com rampa de aquecimento de 10°C/min;
- Temperatura final da coluna: 300°C;
- Temperatura do detector: 300°C;
- Temperatura do injetor: 290°C;
- Divisão de fluxo: split 1:30.
- Programação de tempo: tempo inicial 2 minutos e isoterma final de 20 minutos.
- Gás de arraste: hidrogênio (1 ml/min).
- O processamento de conversão de dados analógicos para digital foi realizado através do software Microquímica.

#### **4.1.5 Curvas de calibração com padrão externo**

Existem vários métodos para quantificar as substâncias numa amostra. Como exemplo, cabe ressaltar o método da calibração externa, utilizada neste experimento. Este método consiste em comparar a área da substância a ser quantificado na amostra com as áreas obtidas desta mesma substância em soluções padrão de concentrações conhecidas. Prepararam-se várias soluções das substâncias a serem quantificadas nas concentrações de 0,03 a 0,93 mg/mL para o curcumenol e 0,021 a 0,75 mg/mL para a deidrocurdiona. Para obter o cromatograma correspondente a cada uma delas realizou-se um gráfico relacionando as áreas obtidas com as concentrações (COLLINS; BRAGA, 1995).

Cada curva foi construída com a média de três valores das áreas encontrando para cada concentração de curcumenol ( ) e deidrocurdiona ( ). Assim, com o auxílio do software Grapher plotou-se um gráfico da área média do pico versus concentrações dos constituintes nas respectivas soluções padrões. A linearidade foi determinada através de regressão linear onde se determina o coeficiente de correlação (r), levando-se em consideração que um coeficiente de correlação acima de 0,9 é considerado como evidência de um ajuste ideal para a linha de regressão (PAPPA et al., 2002).

Todas as amostras foram cromatografadas em diferentes condições experimentais até apresentar o melhor perfil cromatográfico, utilizando acetona como solvente.

#### **4.1.6 Limite de detecção**

O limite de detecção (LD) representa a menor concentração do composto de interesse que pode ser detectada, porém não necessariamente medida. Foi utilizado o método da relação sinal-ruído (RIBANI et al., 2004).

Amostras dos padrões contendo baixa concentração foram obtidas a partir de diluições sucessivas e, posteriormente injetadas no cromatógrafo até a relação sinal – ruído de 3:1.

#### **4.1.7 Limite de quantificação**

O limite de quantificação (LQ) representa a menor concentração do composto que pode ser medido utilizando um determinado procedimento experimental. Neste trabalho, foi determinado através da escolha de uma concentração que se diferencia da linha base e que apresente reprodutibilidade na resposta (RIBANI et al., 2004).

#### **4.2.1 Atividade antinociceptiva**

Para avaliar a atividade antinociceptiva utilizou-se o modelo experimental das contorções abdominais induzidas pela injeção intraperitoneal de ácido acético a 0,6%.

Na realização do experimento foram utilizados camundongos machos (25 – 30 g) que permaneceram sob temperatura e iluminação controladas, com ração e

água a vontade. Os animais foram pré-tratados com diferentes extratos na concentração de 10 mg/kg., i.p., 30 minutos antes da injeção de ácido acético. O grupo controle recebeu volume semelhante de NaCl 10 mL/Kg. Todos os experimentos foram realizados à 20 - 22°C. As contorções abdominais foram quantificadas durante 20 minutos. A atividade analgésica foi determinada tomando-se como base a inibição do número das contorções abdominais em relação ao grupo controle (COLLIER et al., 1968; DE SOUZA, et al., 1998; NIERO et al., 1999).

#### **4.2.2 Atividade antifúngica**

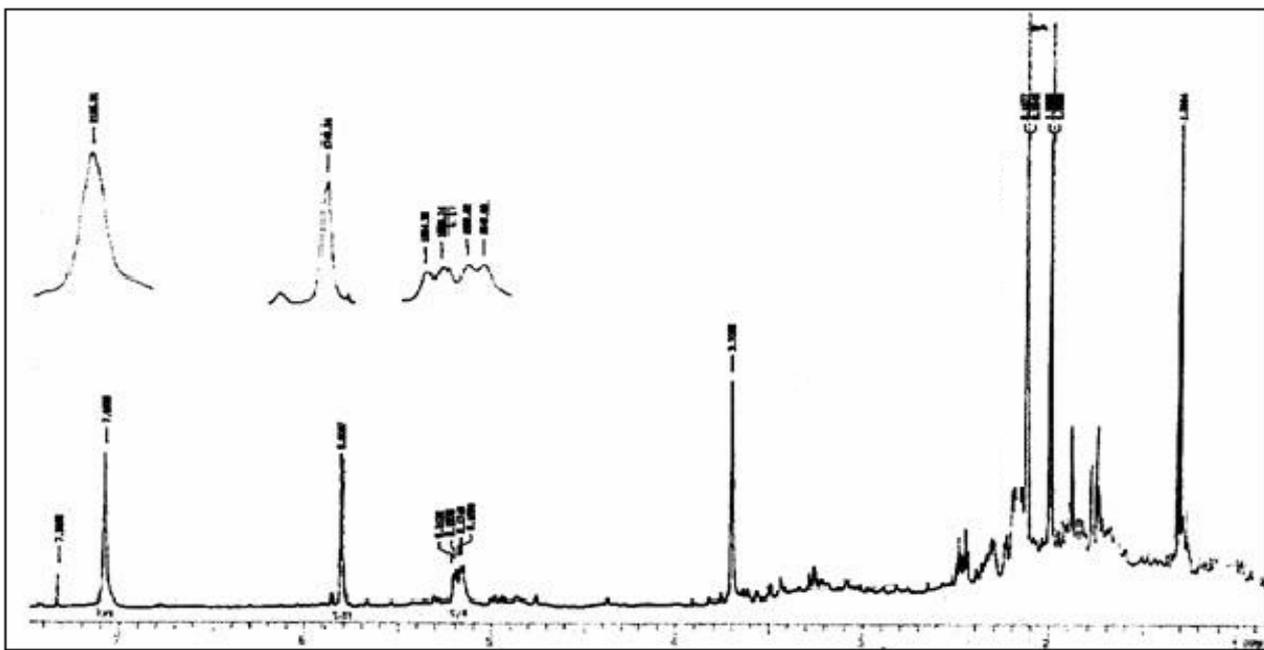
A atividade antifúngica foi realizada na Universidade Nacional (Rosário, Argentina) pela Prof<sup>ra</sup>. Dra. Suzana Zacchino. Os ensaios foram realizados conforme descrito por Sartori e cols. (2003). As amostras foram preparadas em DMSO já que não produzem inibição dos cultivos quando utilizados em concentrações de 2%. No método de diluição em ágar, as amostras foram homogeneizadas em concentrações 250 a 1000 µg/mL no meio de cultivo, o qual se inocularam os microrganismos. Este método quantitativo é utilizado para determinação da concentração inibitória mínima (CIM). A CIM foi considerada como sendo a menor concentração do extrato de *C. zedoaria* que inibiu o crescimento visível dos microrganismos ensaiados após incubação. Para cada fungo testado, um tubo contendo somente o meio de cultura e um tubo contendo 30 µg/mL de cetoconazol, foram utilizados como controles positivo e negativo respectivamente. Após solidificação do meio de cultivo, foram inoculados os fungos sobre a superfície do ágar. Os tubos foram incubados à 28°C por 24, 48 e 72 horas. A leitura foi baseada na observação visual do crescimento ou não dos fungos estudados.

Embora estudos anteriores relativos às ações biológicas e análise fitoquímica da *C. zedoaria* tenham sido reportados, a análise quali/quantitativa sazonal em diferentes partes está sendo demonstrada pela primeira vez.

Considerando dados obtidos de estudos, onde foi demonstrado que o extrato de diclorometano obtido dos rizomas apresentavam curcumenol ( ) e deidrocurdiona ( ) em quantidades razoáveis, este foi selecionado para fracionamento, no intuito de separar além destes padrões, algum outro composto que pudesse servir de marcador químico num possível controle de qualidade rápido e eficiente (YOSHIOKA et al., 1998; NAVARRO et al., 2002).

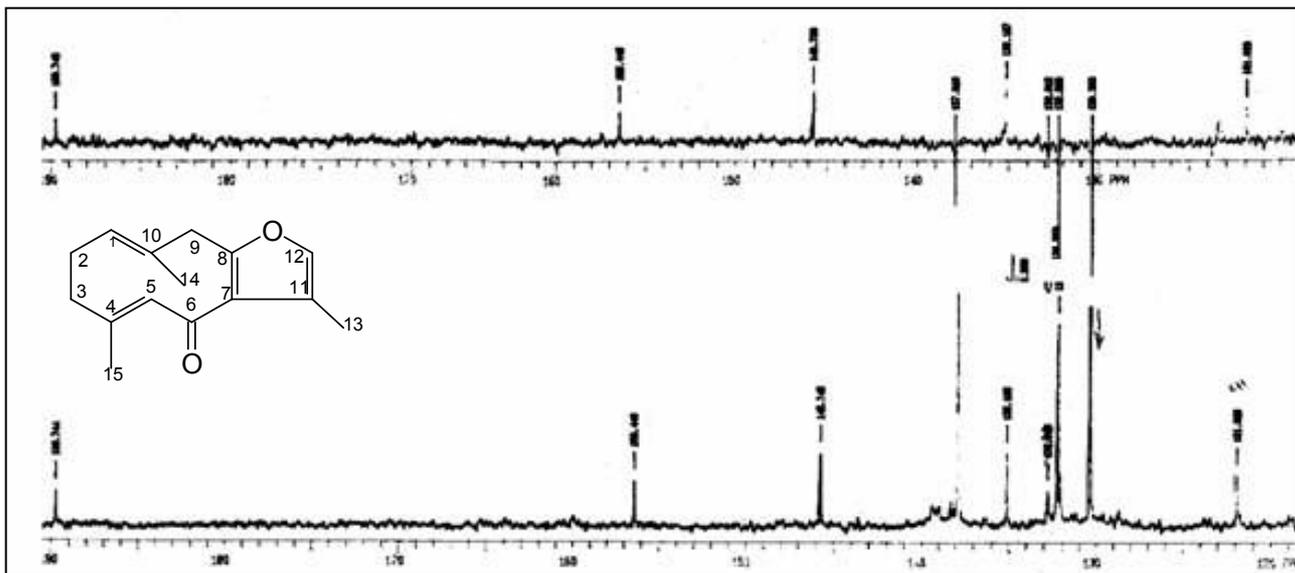
O extrato submetido ao processo de fracionamento em coluna, obteve as frações 7 - 12 (7 mg), 14 - 17 (10 mg), sendo que estas se apresentaram na forma de cristais incolores. Após análise por CCD e Co-CCD com uma amostra padrão e utilizando anisaldeído sulfúrico como revelador específico foi observado que se tratava de deidrocurdiona e curcumenol, respectivamente.

Da mesma forma, a fração 20 - 23 (14 mg) denominada (CZ 20 - 23), se apresentou na forma de um óleo amarelo a qual foi submetida à análise espectroscópica de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio e Carbono 13 (RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ ). O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Figura 5), mostra três sinais em  $\delta$  1,30, 1,93 e 2,13 característicos de grupos metilas e atribuídos ao H-14, H-13 e H-15, respectivamente. Quatro sinais na forma de singletos em  $\delta$  7,0; 5,80; 3,69 e 2,17 atribuídos aos hidrogênios H-5; H-12; H-1 e H-9, respectivamente. Um duplo dublete em  $\delta$  5,15 e 5,21 relacionados aos hidrogênios H-2 e H-3. Analisando o espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (Figuras 6 e 7), observa-se um sinal em  $\delta$  189,70 típico de carbono carbonílico de cetonas, atribuído ao carbono C-6. Outros sinais em 145,70 ppm (C-4);  $\delta$  156,44 (C-8);  $\delta$  137,90 (C-12);  $\delta$  130,38 (C-1);  $\delta$  121,90 (C-11), atribuídos aos respectivos carbonos. Três sinais em  $\delta$  9,40; 15,58 e 18,81 ppm atribuídos às metilas C-13; C-14 e C-15 respectivamente.



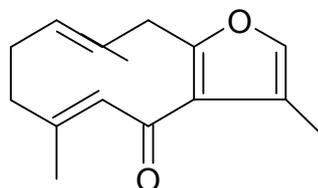
Espectro de RMN  $^1\text{H}$  300 MHz do composto CZ 20 - 23 em ( $\text{CDCl}_3$ ).

Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  / APsdo composto Cz 20



. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  / APT do composto CZ 20-23 em  $\text{CDCl}_3$  na região entre 120 e 190 ppm.

Estes dados estão de acordo com aqueles reportados por Kuroyanagi e Cols. (1987) e Dekebo e Cols. (2001), no estudo realizado com a planta *Commiphora sphaerocarpa*, como sendo uma furanodienona denominada (1E,4E)-8,12-Epoxigermacra-1(10),4,7,11-tetraen-6-ona ( ).



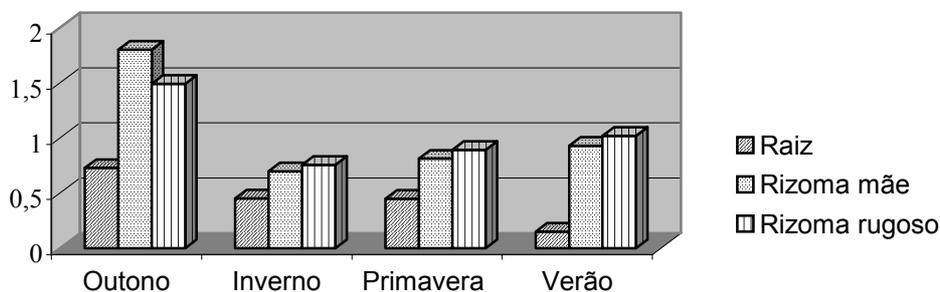
No intuito de encontrar a melhor estação do ano e parte da planta em que a produção seria máxima dos fitoconstituintes, uma análise quantitativa através de cromatografia gasosa foi realizada (BLOCK et al., 1998; BRESCIANI et al., 2000, 2004).

Primeiramente os resultados se mostram muito promissores no que diz respeito ao rendimento em massa dos diferentes extratos. Como pode ser observado no apêndice A e figura 8 a 10. A estação que obteve melhor rendimento foi o outono, em todas as partes, sendo que em praticamente todas as estações o rizoma rugoso apresentou os maiores resultados, exceto no outono onde o rizoma mãe se destacou (1,8g).

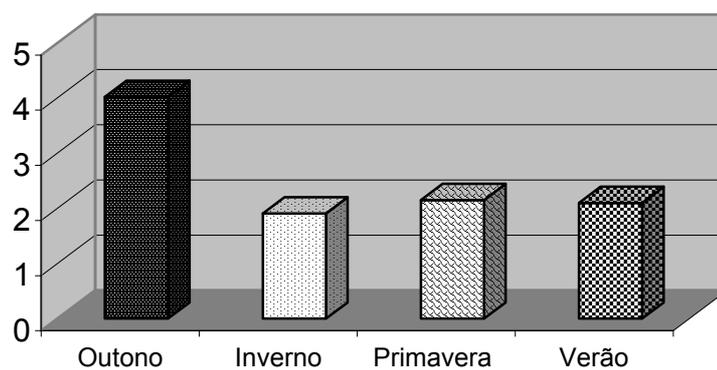
Ao realizarmos a somatória dos valores de rendimento obtidos durante o ano observamos claramente que o outono (figura 9) apresenta o maior rendimento

(4,02g) com um decréscimo no inverno (1,89g) e tornando a aumentar novamente e se manter estável na primavera (2,14g) e verão (2,09g). A tendência do gráfico demonstra que os extratos obtidos estão em menor proporção em estações com baixo fotoperíodo, no caso o inverno, onde ocorrem dias curtos e noites longas, enquanto que a maior produção está correlacionada com estações que apresentam diferenças menos nítidas na duração dos dias e noite como a primavera e outono. Esta variação pode ser atribuída a fatores bióticos (intensidade da luz) e climáticos (temperatura) relacionados a estação (YARIWAKE et al., 2005).

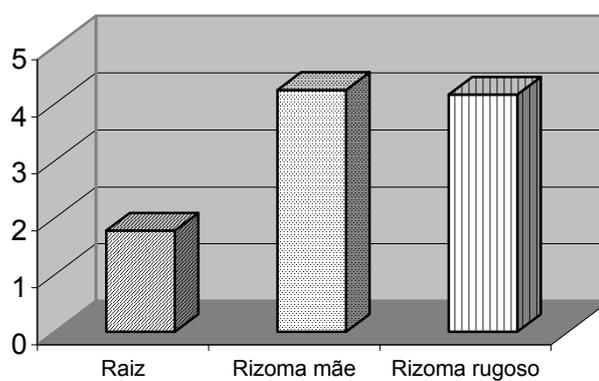
Em relação as partes da planta (figura 10), o rizoma mãe (4,22 g) e o rizoma rugoso (4,15 g) apresentaram praticamente o mesmo rendimento de massa, sendo que para as raízes o valor foi praticamente a metade (1,77 g). Estes dados confirmam o que Oliveira e Cols. (1991) afirmam, ou seja, que raízes, rizomas e tuberas devem ser coletados geralmente na primavera ou outono, estando as plantas bem desenvolvidas e antes da floração, sendo indicado preferencialmente a coleta no outono, pois nesta época os processos vegetativos entram em fase estacionária.



. Rendimento total de extrato obtido de diferentes partes de *C. zedoaria* em diferentes estações do ano.



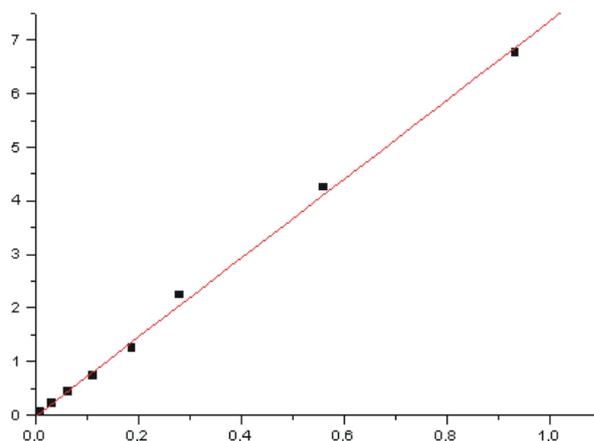
. Somatória do rendimento de todos os extratos DCM em 100g de *C. zedoaria* nas diferentes estações do ano.



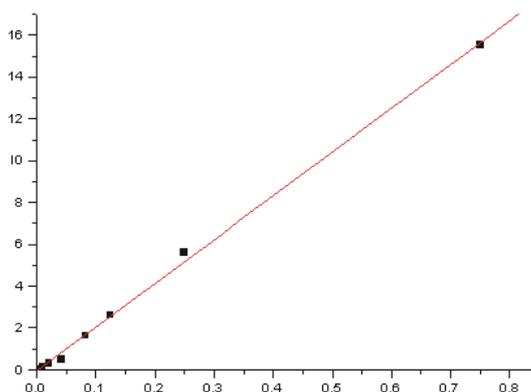
. Somatória do rendimento de todos os extratos DCM em 100g de *C. zedoaria* nas diferentes partes da planta.

A multiplicidade dos constituintes químicos das plantas, a ocorrência de pequenas quantidades de compostos interessantes con

Neste sentido a determinação quantitativa utilizando padrão externo de referência mostrou-se uma ferramenta importante. Neste trabalho, como pode ser observado nas figuras 11 e 12 e apêndices B e C, ambas as curvas apresentam boa linearidade e precisão com coeficientes de correlação de 0,999, desvio padrão entre 01 - 02 e valores de  $p < 0,0001$  (LEITE, 1998).



Curva de calibração do curcumenol com concentrações entre 0,03 – 0,93 mg/mL.



Curva de calibração da deidrocurdiona com concentrações entre 0,021 0,75 mg/mL.

Da mesma forma, o limite de detecção encontrado tanto para a deidrocurdiona como para o curcumenol foi de aproximadamente 0,0103 mg/mL. Quanto ao limite de quantificação (LQ), os valores encontrados foram de 0,03 e 0,021 mg/mL para o curcumenol e deidrocurdiona, respectivamente.

Nas tabelas 1 e 2 encontram-se os valores médios das áreas dos picos e as concentrações referentes ao curcumenol e deidrocurdiona, respectivamente. Nestas tabelas, observa-se que tanto nas raízes quanto no rizoma mãe, o outono e o inverno são as estações que mais produzem ambos os constituintes analisados. No caso do curcumenol, os valores de área encontrados foram de 5,30 e 4,51 e concentrações de 0,721 e 0,613 mg/mL, respectivamente. É importante observar que embora as raízes tenham um rendimento de massa relativamente baixo, o rendimento do curcumenol em mg/mL é maior do que nos rizomas mãe e rugoso. Por outro lado, as concentrações de deidrocurdiona seguem a mesma ordem, porém em menores concentrações, com valores de 0,391 e 0,465 mg/mL para a coleta no outono das raízes e rizoma mãe, respectivamente (Tabela 2).

. Áreas médias e concentração em mg/mL do padrão curcumenol.

Amostra	Área média	Concentração (mg/mL)
1 RA	5,30 ± 0,14	0,721
2 RA	4,90 ± 0,15	0,666
3 RA	4,80 ± 0,12	0,653
4 RA	2,50 ± 0,10	0,341
1 RM	4,51 ± 0,12	0,613
2 RM	3,20 ± 0,08	0,436
3 RM	1,80 ± 0,05	0,246
4 RM	1,58 ± 0,01	0,217
1 RR	1,71 ± 0,03	0,233
2 RR	1,22 ± 0,03	0,168
3 RR	0,55 ± 0,04	0,076
4 RR	0,53 ± 0,03	0,074

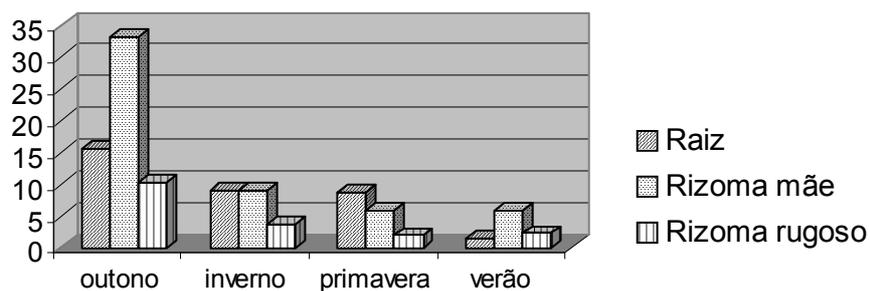
1 = outono; 2 = inverno; 3 = primavera; 4 = verão; RA = raiz ; RM = rizoma mãe; RR = rizoma rugoso.

. Áreas médias e concentração em mg/mL do padrão deidrocurdiona.

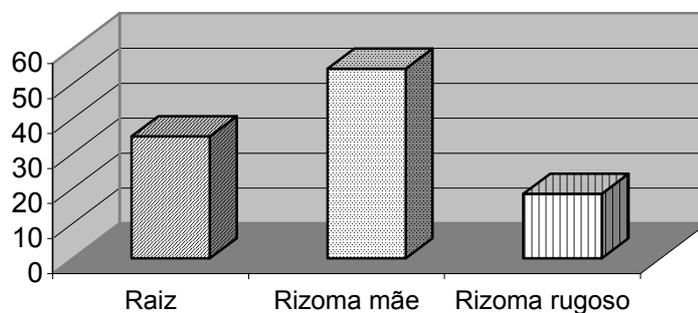
Amostra	Área média	Concentração (mg/mL)
1 RA	8,12 ± 0,27	0,391
2 RA	4,80 ± 0,15	0,232
3 RA	6,78 ± 0,06	0,327
4 RA	7,50 ± 0,10	0,361
1 RM	9,67 ± 0,25	0,465
2 RM	9,38 ± 0,17	0,451
3 RM	5,20 ± 0,15	0,251
4 RM	5,52 ± 0,14	0,266
1 RR	3,10 ± 0,03	0,150
2 RR	2,70 ± 0,08	0,132
3 RR	1,15 ± 0,06	0,058
4 RR	1,02 ± 0,03	0,051

1 = outono; 2 = inverno; 3 = primavera; 4 = verão; RA = raiz ; RM = rizoma mãe; RR = rizoma rugoso.

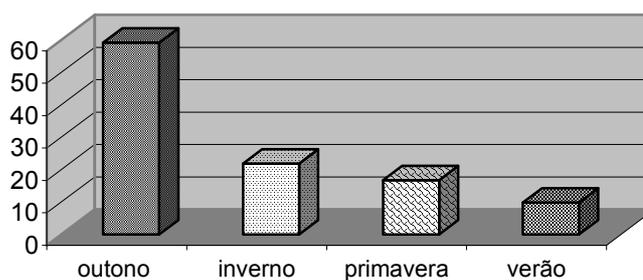
Ao se analisar as concentrações dos constituintes em função das massas obtidas nos extratos vegetais, nas diferentes partes e épocas de coleta, a relação massa do princípio ativo pela massa de planta estudada prevalece. Como pode ser observado no apêndice D e figura 13, a coleta do outono dos rizomas mãe apresenta cerca de duas vezes mais curcumenol do que nas raízes e três vezes o valor encontrado para o rizoma rugoso com valores de 33,1, 15,7 e 10,4 mg/100g de planta fresca, respectivamente. Estes valores sofrem um declínio na seqüência de estações coletadas (inverno, primavera e verão). As figuras 14 e 15 mostram também que além do rizoma mãe possuir a maior concentração de curcumenol, o outono passa a ser a melhor época de coleta. Além disso, as coletas de todas as partes estudadas no outono demonstraram uma concentração de curcumenol de 59,2 mg, podendo ser uma alternativa de rendimento e comercialização. O apêndice D mostra também a inviabilidade das coletas principalmente no verão.



Concentração de curcumenol nas diferentes partes de *C. zedoaria* mg/100g de planta fresca nas diferentes estações do ano.



Concentração total de curcumenol em mg/100g de planta fresca nas diferentes partes de *C. zedoaria*.



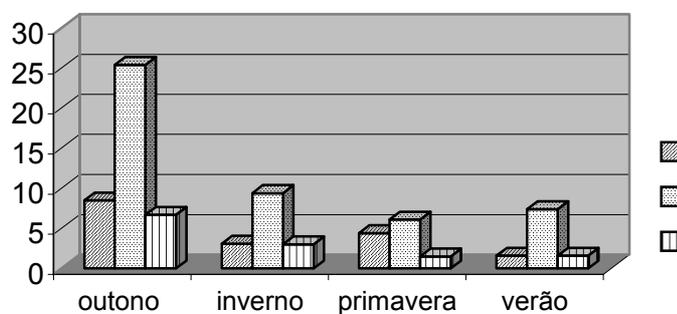
Concentração total de curcumenol em mg/100g de planta fresca nas diferentes estações do ano.

Uma análise similar com a deidrocurdiona pode ser observada no apêndice E e nas figuras 16 – 18, onde as estações seguem a mesma seqüência encontrada para o curcumenol, com uma maior concentração no outono tendo um declínio no inverno, primavera e verão. Em relação as partes da planta coletada, observa-se

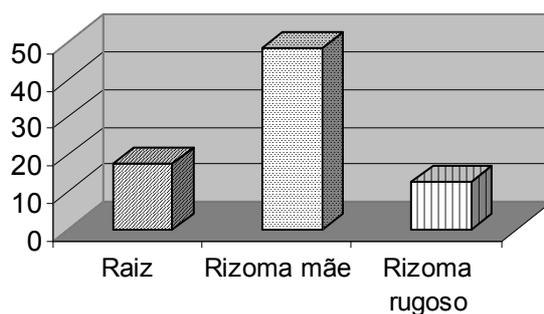
uma redução na concentração de cerca de duas vezes quando comparado ao curcumenol com valores de 8,50; 25,40 e 6,70 mg/100g de planta fresca, respectivamente.

No apêndice E e figura 16, pode-se observar que a concentração de deidrocurdiona presente no rizoma mãe no outono foi praticamente três vezes superior levando-se em consideração tanto a parte da planta como a época de coleta. Realizando a somatória das concentrações de deidrocurdiona os dados obtidos no rizoma mãe (figura 17), assim como no curcumenol, se destacam nesta parte da planta com um rendimento aproximadamente três vezes superior.

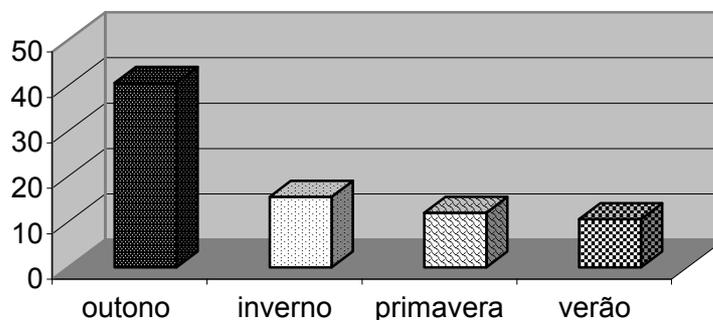
No outono (figura 18), a somatória demonstrou um rendimento praticamente quatro vezes superior às outras estações climáticas. Desta forma, nossos resultados mostram que a coleta de todas as partes no outono passa a ser viável economicamente também para a deidrocurdiona com uma concentração de 40,6 mg/100g de planta fresca. Isto nos chama a atenção novamente, confirmando o quanto é importante a época de coleta pois tende a refletir diretamente não só na massa de extratos mas também na constituição química dos metabólitos secundários.



Concentração de deidrocurdiona nas diferentes partes de *C. zedoaria* em mg/100g de planta fresca nas diferentes estações do ano.



Concentração total em mg/100g de planta fresca de deidrocurdiona nas diferentes partes de *C. zedoaria*.



Concentração total em mg/100g de planta fresca de deidrocurdiona nas diferentes estações do ano na *C. zedoaria*.

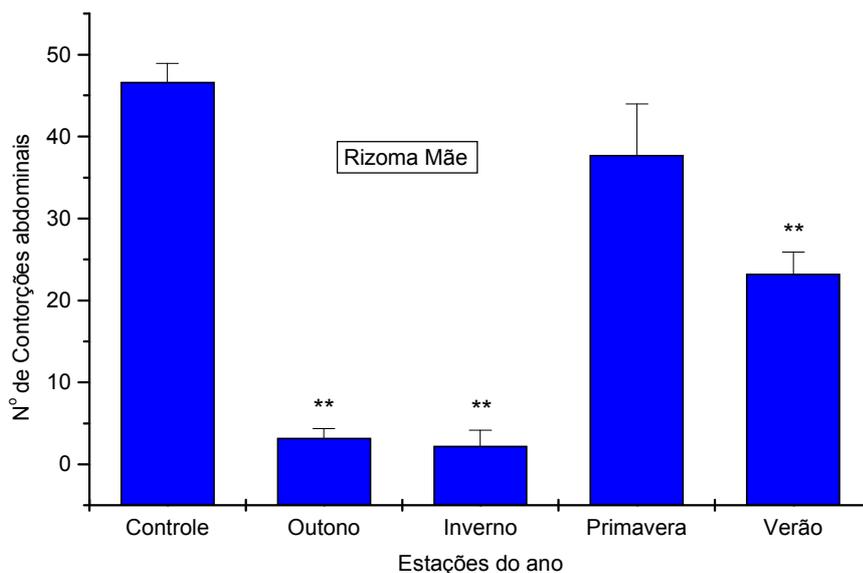
### 5.2.1 Atividade antinociceptiva

Diversas são as estratégias de planejamento de fármacos disponíveis, sendo uma delas baseada no mecanismo de ação farmacológico pretendido, também denominado de abordagem fisiológica. Uma vez comprovada a atividade farmacológica por meio de protocolos farmacológicos *in vivo*, tem-se a possibilidade de um candidato a novo fármaco. O modelo utilizado foi o das contorções abdominais induzidas pelo ácido acético a 0,6%, *i.p.*, que é largamente utilizado para a avaliação da atividade antinociceptiva periférica. Embora considerado inespecífico devido ser susceptível a outros agentes medicinais, como alguns anti-histamínicos e anticolinérgicos, é comumente empregado para a análise/triagem de compostos de origem natural ou sintética (DE SOUZA et al., 1998; CALIXTO, 2000). Além disso, é muito sensível e capaz de detectar efeitos antinociceptivos em doses

que demonstram serem inativas em outros métodos experimentais . Na resposta da contração abdominal postula-se que os receptores peritoneais locais estão associados com prostanóides em geral, por exemplo, o aumento dos níveis de PGE<sub>2</sub> e PGF<sub>2α</sub> em fluídos peritoneais, como também produtos da lipooxigenase. Então os resultados deste método sugerem que a ação destes compostos podem estar associadas em parte a ciclooxigenase e/ou a lipooxigenase (VONGTAU; ABBAH; NGAZAL, 2004).

Neste sentido, procurou-se neste trabalho fazer uma análise preliminar na tentativa e relacionar a atividade analgésica com a quantidade dos princípios ativos existentes nas diferentes partes e época de coleta. Como pode ser observado na figura 19, os extratos obtidos do rizoma mãe coletados no outono e inverno, causaram inibição significativa no número de contorções induzidas pelo ác. acético a 10 mg/kg, com inibições de 91,1 e 93,4%, respectivamente. Por outro lado, o extrato oriundo da planta coletada na primavera inibiu apenas 11,1 % e apresentando um aumento na ação antinociceptiva na coleta feita no verão com inibição de 44,4%. Se compararmos com alguns fármacos usados clinicamente, como a aspirina (35%) e o paracetamol (38%), observa-se que a as coletas realizadas no outono e inverno foram cerca de três vezes mais ativas. Estes resultados reforçam e confirmam a relação entre atividade e quantidade dos componentes avaliados.

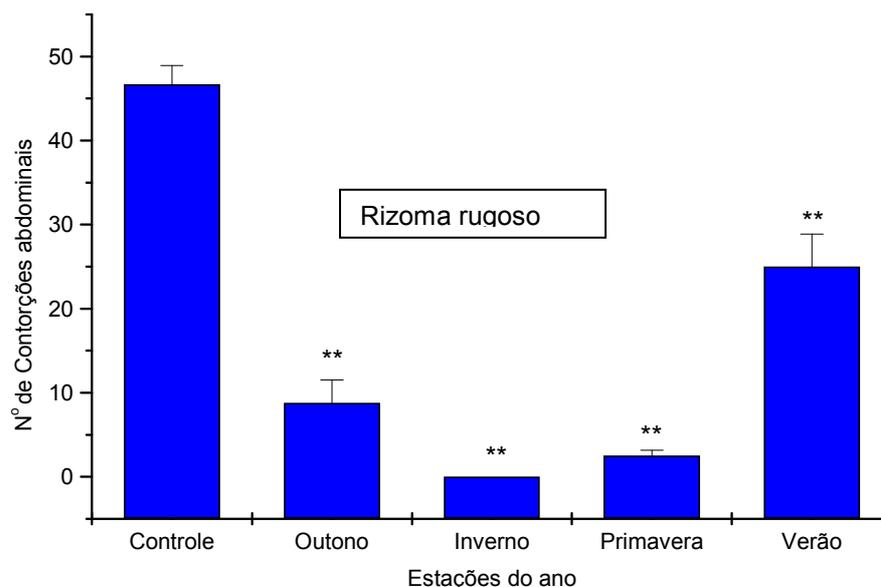
Em estudos anteriores realizados por Navarro e Cols. (2002), o fitoconstituente curcumenol apresentou uma inibição das contorções de 64%, a deidrocurdiona 46%, comparando estes dados com a atividade observada no rizoma mãe se verifica que a inibição no verão é semelhante a atividade do segundo fitoconstituente, porém uma inibição mais acentuada no outono e inverno leva a se considerar que seja decorrente de outros fitoconstituintes produzidos pela planta nestas estações.



. Efeito do extrato de DCM obtido do rizoma mãe em diferentes estações do ano (10 mg/kg; i.p.) no modelo de contorções abdominais induzidas pelo ácido acético. Asteriscos indicam diferenças significantes (\*\*  $p < 0,05$ ) quando comparadas com o grupo controle, utilizando-se ANOVA seguida do teste Dunnet.

A figura 20 mostra o potencial analgésico do extrato obtido dos rizomas rugoso. Como pode ser observado, este extrato mostrou um perfil farmacológico semelhante ao encontrado para o rizoma mãe com inibições de 80,8 e 92,1% para o outono e inverno respectivamente. Por outro lado, observa-se uma mudança no perfil quando se analisa a coleta referente a primavera, no qual mostra um efeito analgésico significativo com valor de inibição de 89,3%.

De forma semelhante ao rizoma mãe o rizoma rugoso apresentou valores superiores na inibição das contorções quando comparado aos valores obtidos dos fitoconstituintes isolados, sendo que no verão novamente a atividade foi similar ao fitoconstituente deidrocurdiona. Comparando-se novamente com a aspirina (35%) e o paracetamol (38%), observa-se que este extrato foi cerca de duas vezes mais eficaz. Isto leva a sugerir que, nesta estação, esta parte da planta provavelmente biosintetize outras substâncias com maior potencial analgésico do que os constituintes estudados, abrindo novas perspectivas de futuros estudos nesta direção.

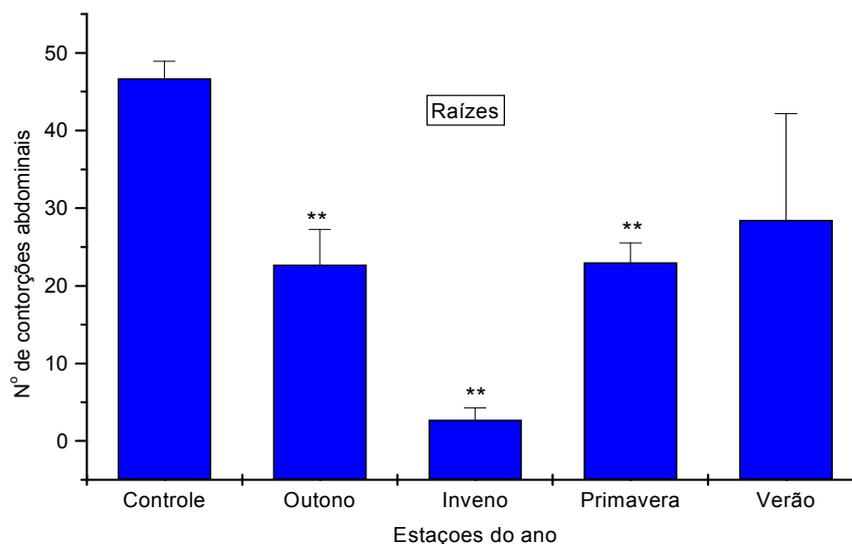


. Efeito do extrato de DCM obtido do rizoma ruçoso em diferentes estações do ano (10 mg/kg; i.p.) no modelo de contorções abdominais induzidas pelo ácido acético. Asteriscos indicam diferenças significantes (\*\*  $p < 0,05$ ) quando comparadas com o grupo controle, utilizando-se ANOVA seguida do teste Dunnett.

Na figura 21 estão indicados os resultados obtidos com o extrato das raízes. Como pode ser observado, a coleta do inverno mostram melhor perfil farmacológico com inibições de 89,3. Considerando que os compostos quantificados neste trabalho encontram-se em maiores quantidades no outono, outros constituintes presentes e ainda não identificados, principalmente no inverno e primavera devem ser os responsáveis pelos efeitos observados.

Ao observarmos que as estações do outono e primavera obtiveram um perfil semelhante entre si e também em relação ao fitoconstituente deidrocurdiona, porém em relação ao inverno a atividade desta foi praticamente o dobro quando comparada a estas duas. Demonstrando desta forma a provável presença de outros biotivos produzidos pela planta nesta estação.

Ao compararmos com os medicamentos de referência, a aspirina (35%) e o paracetamol (38%), observamos uma relação semelhante as outras partes da planta.



Efeito do extrato de DCM obtido das raízes em diferentes estações do ano (10 mg/kg; i.p.) no modelo de contorções abdominais induzidas pelo ácido acético. Asteriscos indicam diferenças significantes (\*\*  $p < 0,05$ ) quando comparadas com o grupo controle, utilizando-se ANOVA seguida do teste Dunnet.

### 5.2.2

Dando continuidade à procura de substâncias com potencial antifúngico, um screening preliminar em cooperação com um programa de pesquisa vinculado ao Cytel (Ciência e Tecnologia para el Desarrollo), foi realizado com os diferentes extratos de diclorometano obtidos das diferentes partes em todas as estações do ano. Neste ensaio, extratos com valores de Concentrações Inibitórias Mínimas maiores que 250  $\mu\text{g/mL}$  foram considerados inativos. Observando-se a tabela 3, todas as partes se mostraram inativas frente aos microorganismos testados. Isto não descarta a possibilidade da planta apresentar outros compostos bioativos, mais polares, uma vez que as extrações foram feitas em diclorometano.

Podemos sugerir, desta forma, que compostos nesta faixa de polaridade (compostos de baixa polaridade) são inativos neste método. Por outro lado, esta espécie deve conter compostos com um maior grau de polaridade, os quais permaneceram no material vegetal em função do processo de extração. Tal fato pode ser complementado por outros dados, podemos citar um trabalho realizado com o extrato etanólico onde um composto denominado etil-p-metoxicinamato apresentou ação contra determinados tipos de fungos como *Trichophyton rubrum*, *Aspergillus niger* e *Saccharomyces cerevisiae* (GUPTA et al., 1976).

Outro estudo, que faz referência a atividade antifúngica com extratos polares, desenvolvido por Nicolette (2002) utilizando extratos fluídos obtidos da *C. zedoaria* conseguiu-se verificar atividade frente aos fungos *Candida albicans*, *Trichophyton mentagrophytes* e *Aspergillus niger*. Wilson e cols. (2005) realizaram uma comparação entre os diferentes extratos polares e apolares confirmando os valores obtidos neste trabalho referente ao fungo *Cândida albicans*, ou seja, sem atividade nos extratos apolares.

Atividade antifúngica através do método da Concentração Inibitória Mínima (CIM em  $\mu\text{g/mL}$ ) dos extratos obtidos das diferentes partes de *C. zedoaria* em diferentes estações do ano.

*	Ca	Ct	Sc	Cn	A f	Afl	An	Mg	Tr	Tm
1 RA	>250	>250	>250	NT	>250	>250	>250	>250	>250	>250
2 RA	>250	>250	>250	NT	>250	>250	>250	>250	>250	>250
3 RA	>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250
4 RA	>250	>250	>250	NT	>250	>250	>250	>250	>250	>250
1 RM	>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250
2 RM	>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250	NT	NT	NT
3 RM	>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250
4 RM	>250	>250	>250	NT	>250	>250	>250	>250	>250	>250
1 RR	>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250
2 RR	>250	>250	>250	NT	>250	>250	>250	>250	>250	>250
3 RR	>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250
4 RR	>250	>250	>250	NT	>250	>250	>250	>250	>250	>250

\* 1= outono; 2 = inverno; 3 = primavera; 4 = verão; RA = raiz ; RM = rizoma mãe; RR = rizoma rugoso; Ca = *Candida albicans*; Ct = *Candida tropicalis*, Sc = *Saccharomyces cerevisiae*, Cn = *Cryptococcus neoformans*, Af = *Aspergillus fumigatus*, Afl = *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, Mg = *Microsporum gypseum*, Tr = *Trichophyton rubrum*, Tm = *Trichophyton mentagrophytes*; NT = não testados.

Os resultados obtidos no presente estudo permitiram concluir que:

- Através de técnicas espectroscópicas e cromatográficas convencionais foi possível isolar e identificar, além dos padrões (curcumenol e deidrocurdiona), um outro composto dos rizomas de *C. zedoaria* que poderá vir a se tornar um composto com atividade biológica;
- A análise quantitativa mostrou que tanto o curcumenol quanto a deidrocurdiona estão presente em maior concentração nos rizomas mãe e no outono nas concentrações de 33,1 mg/100 g e 25,4 mg/100 g respectivamente;
- Os perfis antinociceptivo dos extratos sugerem que outros compostos com atividade possam estar presentes, principalmente no inverno e primavera;
- Embora os extratos tenham revelado importante efeito analgésico e os extratos etanólicos terem apresentado efeito antifúngico, os extratos de diclorometano foram inativos contra diferentes tipos de fungos testados;
- Sugere-se a continuidade dos estudos no sentido de isolar, quantificar, produzir derivados por síntese, a partir dos compostos responsáveis pelos efeitos encontrados, principalmente do inverno.

ABAS, F.; LAJIS, N. H.; SHAARI, K.; ISRAF, D. A.; STANSLAS, J.; YUSUF, U. K.; RAO, S. M. A labdane diterpene glucoside from the rhizomes of *Curcuma mangga*.  
 , v. 7, n. 68, p. 1090 - 1093, 2005.

APPEL, G.; REUS, M. São Paulo: RCN Editora, 2003. 142 – 143 p.

ARAÚJO, C. A. C.; LEON, L. L. Biological activities of *Curcuma longa* L.  
 v. 5, n. 96, p. 723 - 738, 2001.

ASHOK, P. Contraceptive effect of *Curcuma longa* (L.) in male albino rat asian.  
 , v. 6, n. 1, p. 71 – 74, 2004.

BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M  
 1a ed., Porto Alegre, Ed. Artmed, 2001.

BATISTIC, M. A.; NICOLETTI, M. A.; AURICCHIO, M. T. Análise cromatográfica em camada delgada comparativa de extratos *Curcuma zedoaria* (Christim.) Roscoe.  
 , n. 63, v. 1, p. 139 – 142, 2004.

BEHURA, S.; SRIVASAVA, V. K. Essential Oils of leaves of *Curcuma* species,  
 , mar/abr 2004. Disponível em: <<http://www.findarticles.com>>. acesso em: 16 out. 2005.

BLOCK, L. C.; SCHEIDT, C.; QUINTÃO, N. L. M.; SANTOS, A. R. S.; CECHINEL FILHO, V. Phytochemical and pharmacological analysis of different parts of *Wedelia paludosa* DC (Compositae).  
 p.716 - 718, 1998.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 48 de 16 de março de 2004. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. Disponível em : <<http://www.anvisa.com>>. acesso em: 03 nov. 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução RE nº 899 de maio de 2003. Determina a publicação do guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. Disponível em : <<http://www.anvisa.com>>. acesso em: 03 nov. 2005.

BRESCIANI, L. F.V.; CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R. A. Comparative study of different parts of *Wedelia paludosa* by gas chromatography. , v. 14, n. 4, p. 247 - 254, 2000

BRESCIANI, L. F.; YUNES, R. A.; BURGER, C.; DE OLIVEIRA, L. E.; BOF, F. L.; CECHINEL FILHO, V. Seasonal variation of kaurenolic acid, a hypoglycemic diterpene present in *Wedelia paludosa* (*Acmela brasiliensis*) (Asteraceae).  
 , v. 59, n. 3 - 4, p. 229 -232, 2004.

CALIXTO, J. B.; BEIRITH, A.; FERREIRA, J.; SANTOS, A. R.; CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R.A. Naturally occurring antinociceptive substances from plants. *Journal of Medicinal Food*, v. 6, n. 14, p. 401 - 418, 2000.

CALIXTO, J. B. Twenty-five years of research on medicinal plants in Latin América a personal view. *Journal of Medicinal Food*, n. 100, p. 131 – 134, 2005.

CAO, H.; SASAKI, Y.; FUSHIMI, H.; KOMATSU, K. Molecular analysis of medicinally-used chinese and japanese Curcuma based on 18S rRNA gene and trnK gene sequences. *Journal of Medicinal Food*, v. 24, n. 12, p. 1389 – 1394, 2001.

CASTRO, H. G.; OLIVEIRA, L. O.; BARBOSA, L. C. A.; FERREIRA, F. A.; SILVA, D. J. H.; MOSQUIM, P. R.; NASCIMENTO, E. A. Teor e composição do óleo essencial de cinco acessos de mentrasto. *Journal of Medicinal Food*, v. 27, n.1, p. 55 – 57, 2004.

CATAPAN, E.; OTUKI, M. F.; VIANA, A. M.; YUNES, R. A.; BRESCIANI, L. F.; FERREIRA, J.; SANTOS, A. R., CALIXTO, J. B.; CECHINEL-FILHO, V. Pharmacological activity and chemical composition of callus culture extracts from selected species of Phyllanthus. *Journal of Medicinal Food*, v. 5, n.12, p. 945 - 946, 2000.

CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R. A. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. *Journal of Medicinal Food*, v. 21, n. 1, p. 99 - 105, 1998.

CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R. A. Estudo químico de plantas medicinais orientado para a análise biológica. Obtenção, determinação e modificação estrutural de compostos bioativos. In: CALIXTO, J. B.; YUNES, R. A. *Journal of Medicinal Food*. Chapecó: Ed. Argos, 2001. p.47 - 75, 2001.

CECÍLIO FILHO, A. B.; SOUZA, R. J.; BRAZ, L. T.; TAVARES, M. Curcuma: planta medicinal, condimentar e de outros usos potenciais. *Journal of Medicinal Food*, v. 30, n. 1, p.171 - 175, 2000.

CECÍLIO FILHO, A. B.; SOUZA, R. J.; FAQUIM, V.; CARVALHO, C. M. Época e densidade de plantio na produção de Curcuma. *Journal of Medicinal Food*, v. 34, n. 4, p. 1021 – 1026, 2004.

CHAINANI, W. N. Safety and anti-inflammatory activity of curcumin: a component of tumeric (Curcuma longa) *Journal of Medicinal Food*, v. 9 n. 1, p. 161 - 168, 2003.

CHANDARANA, H.; BALUJA, S.; CHANDA, S. V. Comparison of antibacterial activities of selected species of Zingiberaceae family and some synthetic compounds. *Journal of Medicinal Food*, n. 29, p. 83 – 97, 2005.

CHIRANGINI, P.; SHAMA, G. J.; SINHA, S. K. Sulfur free radical reactivity with curcumin as reference for evaluating antioxidant properties of medicinal zingiberales. *Journal of Medicinal Food*, v. 23, n. 3, p. 227 - 236, 2004.

CHOI, M. A.; KIM, S. H.; CHUNG, W. Y.; HWANG, J. K.; PARK, K. K. Xanthorrhizol, a natural sesquiterpenoid from *Curcuma xanthorrhiza*, has an anti-metastatic potential in experimental mouse lung metastasis model.

, v. 326, n. 1, p. 210 - 217, 2005.

CLAESON, P.; PONGPRAYOON, U.; SEMATONG, T.; TUCHINADA, P.; REUTRAKUL, V.; SOONTORNSARATUNE, P.; TAYLOR, W. C. Non-phenolic linear diarylheptanoids from *Curcuma xanthorrhiza*: a novel type of topical anti-inflammatory agents: structure-activity relationship.

, v. 62, n.3, p. 236 - 240, 1996.

COLLIER, H. D. J.; DINNIN, L. C.; JOHNSON, C. A.; SCHENEIDER, C. The abdominal constriction response and its suppression by analgesic drugs in the mouse.

., v. 32, p. 295 - 310, 1968.

COLLINS, C.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S.

6. ed., São Paulo: Editora da Unicamp, 1995, 279 p.

CORDEIRO, P. J. M.; VILEGAS, J. H. Y.; LANÇAS, F. M. HRGC-MS Analysis of terpenoids *Mytenus ilicifolia* and *Maytenus aquifolium* ("Espinheira Santa").

v. 10, n. 6, p. 523 - 526, 1999.

CRAGG, G. M.; NEWMAN, D. J.; Plants as a source of anti-cancer agents.

, n.100, p. 72 – 79, 2005.

DE SOUZA, M. M.; DE JESUS, R. A. P.; CECHINEL FILHO, V.; SCHELEMPER, V. Analgesic profile of hydroalcoholic extract obtained from *Marrubium vulgare*.

, v. 5, p. 103 – 107, 1998.

DEGANI, A. L. G.; CASS, Q. B.; VIEIRA, P. C. Cromatografia: um breve ensaio.

, n. 7, 1998.

DEKEBO, A.; DAGNE, E.; STERNER, O. Furanosesquiterpenes from *Commiphora sphaerocarpa* and related adulterants of true myrrh.

, n. 73, p. 48 – 55, 2001.

DELLE MONACHE, F. Determinação estrutural de produtos naturais através da técnica de Ressonância Magnética Nuclear. In: CALIXTO, J. B.; YUNES, R. A.

. Chapecó: Ed.

Argos, 2001. p. 101 - 146, 2001.

DI STASI, L. C. An integrated approach to identification and conservation of medicinal plants in the tropical forest – a Brazilian experience.

., v. 3, n. 2, p. 199 – 205, 2005.

FABRICANT, D. S.; FARNSWORTH, N. R. The value of plants used in traditional medicine for drug discovery. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 109, sup. 1, 2001.

FERREIRA, L. A. F.; HENRIQUES, O. B.; ANDREONI, A. A. S.; VITAL, G. R. F.; CAMPOS, M. M. C.; HABERMEHL, G. G.; MORAES, V. L. G. M. Antivenom and biological effects of ar-turmerone isolated from *Curcuma longa* (Zingiberaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, v. 30, p.1211 - 1218, 1992.

FICKER, C. E.; SMITH, M. L.; SUSIARTI, S.; LEAMAN, D. J.; IRAWATI, C.; ARNASON, J. T. Inhibition of human pathogenic fungi by members of Zingiberaceae used by the Kenyah (Indonesian Borneo). *Journal of Ethnopharmacology*, v. 85, n. 2 - 3, p., 289 - 293, 2003.

FRANCO, M. R. B.; LANÇAS, R. F. M. Compostos voláteis de três cultivares de manga (*Mangifera indica* L.). *Journal of Ethnopharmacology*, v. 24, n. 2, p. 165 - 169, 2004.

GILANI, A. H.; ATTA-ur-RAHAMAN Trends in ethnopharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 100, p. 43 - 49, 2005.

GIRI, R. K.; RAJAGOPAL, V.; KALRA, V. K. Curcumin, the active constituent of turmeric, inhibits amyloid peptide-induced cytochemokine gene expression and CCR5-mediated chemotaxis of THP-1 monocytes by modulating early growth response-1 transcription factor. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 91, n. 5, p.1199 - 1210, 2004.

GOTO, H.; SASAKI, Y.; FUSHIMI, H.; SHIBAHARA, N.; SHIMADA, Y.; KOMATSU, K. Effect of curcuma herbs on vasomotion and hemorheology in spontaneously hypertensive rat. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 33, n. 3, p. 449 - 457, 2005.

GUPTA, S. K.; BANERJEE, A. B.; ACHARI, B. Isolation of ethyl p-methoxycinnamate, the major antifungal principle of *Curcuma zedoaria*. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 39, n. 4, p. 218 - 222, 1976.

HIKINO, H.; AGATSUMA, K.; TAKEMOTO, T. Sesquiterpenoids structure of isocurcumenol. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 17, p. 959 - 960, 1968.

HONG, C. H.; NOH, M. S.; LEE, W. Y.; LEE, S. K. Inhibitory effects of natural sesquiterpenoids isolated from the rhizomes of *Curcuma zedoaria* on prostaglandin E<sub>2</sub> and nitric oxide production. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 68, p. 545 - 547, 2002.

HONG, C. H.; HUR, S. K.; OH, O. J.; KIM, S. S., NAM, K. A.; LEE, S. K. Evaluation of natural products on inhibition of inducible cyclooxygenase (COX-2) and nitric oxide synthase (iNOS) in cultured mouse macrophage cells. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 83, n.1 - 2, p.153 - 159, 2002.

HWANG, J. K.; SHIM, J. S.; PYUN, Y. R. Antibacterial activity of xanthorrhizol from *Curcuma xanthorrhiza* against oral pathogens. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 7, n.13, p. 321 - 323, 2000.

JANG, M. K.; SOHN, D. H.; RYU, J. A. Curcuminoid and sesquiterpenes as inhibitors of macrophage TNF- $\alpha$  release from *Curcuma zedoaria*. , v. 67, p. 550 - 552, 2001.

JANG, M. K.; LEE, H. J.; KIM, J. S.; RYU, J. H. A curcuminoid and two sesquiterpenoids from *Curcuma zedoaria* as inhibitors of nitric oxide synthesis in activated macrophages. , v. 27, n.12, p.1220 - 1225, 2004.

JANZANNTTI, N. S.; FRANCO, M. R. B.; LANÇAS, F. M. Identificação de compostos voláteis de maçãs (*Malus domestica*) cultivada Fuji, por cromatografia gasosa espectrometria de massas. v. 20, n. 2, p. 523 - 528, 2000.

JAVAPRAKASHA, G. K.; NEGI, P. S.; ANANDHARAMAKRISHNAN, C.; SAKARIAH, K. K. Chemical composition of turmeric oil - a byproduct from turmeric oleoresin industry and its inhibitory activity against different fungi. v. 56, n. 1 - 2, p. 40 - 44, 2001.

JURGENS, T. M.; FRANZIER, E. G.; SCHAEFFER, J. M.; JONES, T. E.; ZINK, D. L.; BORRIS, R. P.; NANAKOM, W.; BECK, H. T.; BALICK, M. J. Novel nematocidal agents from *Curcuma comosa*. , v. 57, n. 2, p. 230 - 235, 1994.

KATO, E. T. M.; FISCHER, D. C. H. Estudo morfo-Histológico e cromatográfico em camada delgada comparativo de raízes e de rizomas de *Curcuma zedoaria* (Bergius) Roscoe – droga, óleo essencial e extrato fluido. v. 4, n. 2, p. 9 - 26, 1996.

KIM, K. I.; SHIN, K. S.; JUN, W. J.; HONG, B. S.; SHIN, D. H.; CHO, H. Y.; CHANG, H. I.; YOO, S. M.; YANG, H. C. Effects of polysaccharides from rhizomes of *Curcuma zedoaria* on macrophage functions. , v. 65, n. 11, p. 2369 - 2377, 2001.

KIM, J. H.; SHIM, J. S.; LEE, S.; KIM, K.; YOUNG, S. R.; CHEOL, H. C.; KWOM, H. J. Microarray-based analysis of anti-angiogenic activity of demethoxycurcumin on human umbilical vein endothelial cells: crucial involvement of the down-regulation of matrix metalloproteinase. n. 93, p. 1378 - 1385, 2002.

KINGHORN, A. D. The role of pharmacognosy in modern medicine. , v. 3, n. 2, p. 415 - 419, 2002.

KOHEN, F. E.; CARTER, G. T. The evolving role of natural products in drugs

LAI, E. Y.; CHYAU, C. C.; MAU, J. L.; CHEN, C. C.; LAI, Y. J.; SHIH, C. F.; LIN, L. L. Antimicrobial activity and cytotoxicity of the essential oil of *Curcuma zedoaria*. *J. Pharm. Biomed. Sci.*, v. 32, n. 2, p.281 - 290, 2004.

LANÇAS, F. *Acta Farm. Biotrop.* São Carlos: Acta, 1993. 254 p.

LANTZ, R. C.; CHEN, G. J.; SOLYOM, A. M.; JOLAD, S. D.; TIMMERMANN, B. N. The effect of turmeric extracts on inflammatory mediator production. *J. Pharm. Biomed. Sci.* v.12, n. 6 - 7, p. 445 - 452, 2005.

LECHTENBERG, M.; QUANDT, B.; NAHRSTEDT, A. Quantitative determination of curcuminoids in *Curcuma* rhizomes and rapid differentiation of *Curcuma domestica* Val. and *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. by capillary electrophoresis. *J. Pharm. Biomed. Sci.* v. 15, n. 3, p.152 - 158, 2004.

LEE, S. K.; HONG, C. H.; HUH, S. K.; KIM, S. S.; OH, O. J.; MIN, H. Y.; PARK, K. K.; CHUNG, W. Y.; HWANG, J. K. Suppressive effect of natural sesquiterpenoids on inducible cyclooxygenase (COX-2) and nitric oxide synthase (iNOS) activity in mouse macrophage cells. *J. Pharm. Biomed. Sci.* v. 21, n. 2, p.141 – 148, 2002.

LEE, H. S. Antiplatelet property of *Curcuma longa* L. rhizome-derived ar-turmerone. *J. Pharm. Biomed. Sci.* 2005. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/journal/09608524>. acesso em: 16 nov. 2005.

LEITE, F. *Química Medicinal*. 3 ed., Campinas: Editora Átomo, 1998, 224p.

LESNEY, M. Natural products from plants remain at the core of modern medicinal chemistry. *J. Pharm. Biomed. Sci.*, n. 27, 2004.

LI, C. Z. Anti-inflammatory effect of the volatile oil from *Curcuma aromatica*. *J. Pharm. Biomed. Sci.* v. 10, n. 3, p. 38 - 40, 1985.

LI, L.; HAN, C.; CUI, S.; QIU, D.; PIAO, K.; XUAN, F. Effects of *Curcuma phaeocaulis* on learning and memory and lipid peroxide in mice. *J. Pharm. Biomed. Sci.*, v. 21, n.10, p. 522 - 523, 1998.

LIU, J. C.; CHAN, P.; HSU, F. L.; CHEN, Y. J.; HSIEH, M. H.; LO, M. Y.; LIN, J. Y. The in vitro inhibitory effects of crude extracts of traditional Chinese herbs on 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase on Vero cells. *J. Pharm. Biomed. Sci.*, v. 30, n. 4, p. 629, 2002.

MA, X.; YU, X.; HAN, J. Application of off-line supercritical fluid extraction-gas chromatography for the investigation of chemical constituents in *Curcuma zedoaria*. *J. Pharm. Biomed. Sci.*, v. 6, p. 292 - 296, 1995.

MACIEL, M. A.; PINTO, A. C.; VEIGA JR., V. F.; GRYNBERG, N. F.; ECHEVARRIA, A. Plantas medicinais: A necessidade de estudos multidisciplinares. *J. Pharm. Biomed. Sci.*, v. 25, n. 3, p. 429 - 438, 2002.

MANZAN, A. C.; TONIOLO, F. S.; BREDOW, E.; POVH, N. P. Extraction of essential oil and pigments from *Curcuma longa* (L) by steam distillation and extraction with volatile solvents. *Journal of Natural Products*, v. 51, n. 23, p. 6802 - 6807, 2003.

MAO, C.; XIE, H.; LU, T. Studies on antiplatelet aggregation and anticoagulant action of *Curcuma phaeocaulis*. *Journal of Natural Products*, n. 23, v. 4, p. 212 - 213, 2000.

MARTINS, S. Remédios da natureza. *Journal of Natural Products*, n. 44, p. 34 - 36, 2003.

MASARONI, K.; UENO, A.; UJIE, K.; SATO, S. Structures of sesquiterpenes from *Curcuma aromatica*, (Salisb). *Journal of Natural Products*, v. 35, n. 1, 1987.

MATA, A. R.; NELSON, D. L.; AFONSO, R. J. C. F.; GLORIA, M. B. A.; JUNQUEIRA, R. G. J. Identificação de compostos voláteis da curcuma empregando microextração por fase sólida e cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas. *Journal of Natural Products*, v. 24, n.1, p. 151 - 157, 2004.

MATSUDA, H.; TEWTRAKUL, S.; MORIKAWA, T.; NAKAMURA, A.; YOSHIKAWA, M. Anti-allergic principles from Thai zedoary: structural requirements of curcuminoids for inhibition of degranulation and effect on the release of TNF-alpha and IL-4 in RBL-2H3 cells. *Journal of Natural Products*, v.12, n. 22, p. 5891 - 5898, 2004.

MELLO, M. O.; AMARAL, A. F. C.; MELO, M. Quantificação da micropropagação de *Curcuma zedoaria* ROSCOE. *Journal of Natural Products*, v. 57, n. 4, p. 703 - 707, 2000.

MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G. *Curcuma longa*. São Paulo: Robe Editorial, 2000, 116 p.

MOHANTY, I.; SINGH, A. D.; DINDA, A.; JOSHI, S.; TALWAR, K. K.; GUPTA, S. K. Protective effects of *Curcuma longa* on ischemia-reperfusion induced myocardial injuries and their mechanisms. *Journal of Natural Products*, v. 75, n.14, p.1701 - 1711, 2004.

MONTANARI, C. A.; BOLZANI, V. S. Planejamento racional de fármacos baseado em produtos naturais. *Journal of Natural Products*, v. 24, n.1, p.105 - 111, 2001.

MORIKAWA, T.; MATSUDA, H.; NINOMIYA, K.; YOSHIKAWA, M. Medicinal foodstuffs XXIX. Potent protective effects of sesquiterpenes and Curcumin from *Zedoariae* rizoma on liver injury induced by D-Galactosamine/Lipopolysaccharide or tumor necrosis factor- $\alpha$ . *Journal of Natural Products*, v. 25, n. 5, p. 627 - 631, 2002.

MUJUMDAR, A. M.; NAIK, D. G.; DANDGE, C. N.; PUNTAMBEKAR, H. M. Antiinflammatory activity of *Curcuma amada* (Roxb.) in albino rats. *Journal of Natural Products*, n. 32, p. 375 - 377, 2000.

MURNIGSIH, T.; SUBEKI, M. H.; TAKAHASHI, K.; YAMASAKI, M.; YAMATO, O.; MAEDE, Y.; KATAKURA, K.; SUZUKI, M.; KOBAYASHI, S.; CHAIRUL, Y. T. Evaluation of the inhibitory activities of the extracts of Indonesian traditional medicinal plants against *Plasmodium falciparum* and *Babesia gibsoni*. *Journal of Natural Products*, v. 67, n. 8, p. 829 - 831, 2005.

NAVARRO, D. F.; SOUZA, M. M.; NETO, R. A.; GOLIN, V.; NIERO, R.; YUNES, R. A.; MONACHE, F. D.; CECHINEL FILHO, V. Phytochemical analysis and analgesic properties of *Curcuma zedoaria* grown in Brazil. *Journal of Medicinal Food*, v. 9, n. 5, p. 427 - 432, 2002.

NETTO JR., N. L. *Cúrcuma*. *Journal of Medicinal Food*, n. 52, p. 51 - 55, 1999.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M.; SNADER, K. M. Natural products as sources of new drugs over the period 1981 – 2002. *Journal of Medicinal Food*, n. 66, p. 1022 – 103, 2003.

NICOLETTI, M. A. FITOTERAPIA: *Curcuma zedoaria* (Christm.) ROSCOE, Uma possibilidade terapêutica como antifúngico de uso tópico. *Journal of Medicinal Food*, v. 14, n. 9/10, 2002.

NIERO, R.; CECHINEL FILHO, V.; SOUZA, M. M.; MONTANARI, J. L.; YUNES, R. A.; DELLE MONACHE, F. Antinociceptive activity of Niga-ichigoside F1 from *Rubus imperialis*. *Journal of Medicinal Food*, v. 62, p. 1145 - 1146, 1999.

NIERO, R.; MALHEIROS, A.; BITTENCOURT, C. M. S.; BIAVATTI, M. W.; LEITE, S. N.; CECHINEL FILHO, V. Aspectos químicos e biológicos de plantas medicinais e considerações sobre fitoterápicos In: CECHINEL FILHO, V.; BRESOLIN, T. M. B. *Plantas Medicinais e Fitoterápicos*. Itajaí: Editora da UNIVALI, p. 9, 2003.

NISHIYAMA, T.; MAE, T.; KISHIDA, H.; TSUKAGAWA, M.; MIMAKI, Y.; KURODA, M.; SASHIDA, Y.; TAKAHASHI, K.; KAWADA, T.; NAKAGAWA, K.; KITAHARA, M.; Curcuminoids and sesquiterpenoids in turmeric (*Curcuma longa* L.) suppress an increase in blood glucose level in type 2 diabetic KK-Ay mice. *Journal of Medicinal Food*, v. 53, n. 4, p. 959 - 963, 2005.

OLIVEIRA, B.; BRAGA, F. C. Produtos naturais bioativos de plantas brasileiras e sua contribuição para o desenvolvimento da química medicinal. *Journal of Medicinal Food*, v. 1, p. 49 – 58, 2003.

OLIVEIRA, F., AKISUE, G.; AKISUE, M. K. *Plantas Medicinais e Fitoterápicos*. São Paulo: Atheneu 2001. 5 – 21 p.

PAPPA, H.; FARRU, R.; PALACIOS, M.; PIZZORNO, M. T. A new HPLC method to determine donepezil hydrochloride in tablets. *Journal of Medicinal Food*, v. 27, p. 177-182, 2002.

PATITUCI, M. L.; VEIGA JR., V. F.; PINTO, A.; ZOGHBI, M. G. B.; SILVA, J. R. A. Utilização de cromatografia gasosa de alta resolução na detecção de classe de terpenos em extratos brutos vegetais. *Journal of Medicinal Food*, v. 18, n. 3, p. 262 - 266, 1995.

PENNA, S. C.; MEDEIROS, M. V.; AIMBIRE, F. S.; FARIA-NETO, H. C.; SERTIÉ, J. A.; LOPES-MARTINS, R. A. Anti-inflammatory effect of the hydroalcoholic extract of *Zingiber officinale* rhizomes on rat paw and skin edema. *Journal of Medicinal Food*, v. 10, n. 5, p. 381 - 385, 2003.

PEREIRA, A. V.; FARAGO, P. V.; PEREIRA, M. F. P.; BRITO, F. S.; SCARANELLO, V. F. L. Análises de soluções aquosas magistrais de *Curcuma zedoaria* (ROSCOE) BERGIUS. , v. 10, n. 2, p. 39 – 47, 2004.

PHILLIPSON, J. D. Phytochemistry and medicinal plants. , v. 56, p. 237 - 243, 2001.

PINO, J.; MARBOT, R.; PALAU, E.; RONCAL, E. Essencial oil constituents cuban turmeric rhizomes. , v. 31, n.1, 2003.

PINTO, A. C.; SILVA, D. H. S.; BOLZANI, V. S.; LOPES, N. P.; EPIFANIO, R. A. Produtos naturais: atualidades, desafios e perspectivas. , v. 25, supl. 1, p. 45 - 61, 2002.

PITASAWAT, B.; CHOCHOTE, W.; TUETUN, B.; TIPPAWANGKOSOL, P.; KANJANAPOTHI, D.; JITPAKDI, A., RIVONG, D. Repellency of aromatic turmeric *Curcuma aromatica* under laboratory and field conditions. , v. 28, n. 2, p. 234 - 240, 2003.

PIYACHATURAWAT, P.; TERATTAGOLPISAL, N.; TOSKULKAO, C.; SUKSAMRARN, A. Hypolipidemic effect of *Curcuma comosa* in mice. , v. 22, n. 5, p. 233 - 241, 1997.

PIYACHATURAWAT, P.; CHAROENPIBOONSIN, J.; TOSKULKAO, C.; SUKSAMRARN, A.; Reduction of plasma cholesterol by *Curcuma comosa* extract in hypercholesterolaemic hamsters. , n. 66, v. 2, p.199 - 204, 1999.

PIYACHATURAWAT, P.; VERACGAYAPHORN, J.; CHUNCHARUNEE, A.; SUKSAMRARN, A. Protection of centrilobular necrosis by *Curcuma comosa*: a study of CCl<sub>4</sub>-induced hepatotoxicity in mice. , v. 7, n. 2, p. 41 - 51, 2004.

RANA, A. C.; AVADHOOT, Y. Experimental evaluation of hepatoprotective activity of *Gymnema sylvestre* and *Curcuma zedoaria*. , v. 63, p. 60 - 63, 1992.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, C. S. F.; MELO, L. F. C. M. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. , v. 27, n. 5, p. 771 – 708, 2004.

RODRIGUES, A. C.; HERTER, F. G.; VERÍSSIMO, V.; CHAVARRIA, G.; GARDIN, J. P. P.; CAMPOS, A. D. Determinação por cromatografia gasosa de açúcares em frutíferas de clima temperado. , v. 27, n. 1, p. 174 - 174, 2005.

SANDRINI, J. C.; NAVARRO, F. D.; ROCHA, J. C. F.; RIBEIRO, P. G.; JUNIOR, V. A. K. Efeitos do extrato de *Curcuma zedoaria* sobre placa dental e gengivite em humanos – avaliação clínica. , v. 6, p. 3 - 7, 1997.

SARTORI, M. R. K.; PRETTO, J. B.; BELLA CRUZ, A.; BRESCIANI, L. F. V.; YUNES, R. A.; SORTINO, M.; ZACCHINO, S. A.; CECHINEL FILHO, V. Antifungal activity of fractions and two pure compounds of flowers from *Wedelia paludosa* (*Acmela brasiliensis*) (Asteraceae). , v. 58, p. 567 - 569, 2003.

SASAKI, Y.; FUSHIMI, H.; CAO, H.; CAI, S. Q.; KOMATSU, K. Sequence analysis of Chinese and Japanese *Curcuma* drugs on the 18S rRNA gene and *trnK* gene and the application of amplification-refractory mutation system analysis for their authentication. , v. 25, n. 12, p. 593 -599, 2002.

SASAKI, Y.; GOTO, H.; TOHDA, C.; HATANAKA, F.; SHIBAHARA, N.; SHIMADA, Y.; TERASAWA, K.; KOMATSU, K. Effects of *Curcuma* drugs on vasomotion in isolated rat aorta. , v. 26, p. 1135-1143, 2003.

SAKUI, N.; KUROYANAGI, M.; ISHITOBI, Y.; SATO, M.; BUENO, A. Biotransformation of sesquiterpenes by cultured cells of *Curcuma zedoaria*. , v. 31, p.143 -147, 1992.

SCHIMIDT, D. F. N. ***Curcuma zedoaria***. 2000. 109f. Dissertação (mestrado) Curso de Pós Graduação em Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2000.

SHIOBARA, Y.; ASAKAWA, Y.; KODAMA, M.; YADUDA, K.; TAKEMOTO, T. Curcumenone, curcumanolide A and curcumanolide B, three sesquiterpenoids from *Curcuma zedoaria*. , v. 11, p. 2629 - 2633, 1985.

SILVA JR, A. A.; VIZZOTTO, V. J. Plantas medicinais, aromáticas e fitoprotetoras. , v. 9, n. 1 , p.5 – 8, 1996.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P. A pesquisa e a produção brasileira de medicamentos a partir de plantas medicinais. , p. 24 - 27, 2001.

SYU, W.; SHEN, C.; DON, M.; OU, J.; LEE, F.; SUN, C. Cytotoxicity of curcuminoids and some novel compounds from *Curcuma zedoaria*. , v. 61, n.12, p.1531 - 1534, 1998.

TAPPIN, M. R. R.; PEREIRA, J. F. G.; LIMA, A. L.; SIANI, A. C., MAZZEI, J. L.; RAMOS, M. F. S. Análise química quantitativa para padronização do óleo de copaíba por cromatografia em fase gasosa de alta resolução. v. 27, n. 2, p. 236 - 240, 2004.

TESKE, M.; TRENTINI, A. M. M. . Curitiba: Ed. Herbarium, 2001, 291 – 292 p.

VEIGA JR, V. F.; PINTO, A.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura? , v. 28, n. 3. p. 519 – 528, 2005.

VIEGAS JR, C.; BOLZANI, V. S.; BARREIRO, E. J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. , v. 29, n. 2, p. 326 - 337, 2006

VILEGAS, J. H. Y.; LANÇAS, F. M. High resolution gas chromatography analysis of "Espinheira santa" *Maytenus ilicifolia* and *M. aquifolium*. Analysis of crude drug adulterations. , v. 8, p. 241 - 244, 1994.

VIMALA, S.; NORHANOM, S. V.; YADAV, M. Anti-tumour activity in Malaysian Ginger rhizobia used in traditional medicine. , v. 80, p.110 - 116, 1999.

VONGTAU, H. O.; ABBAH, J.; NGAZAL, I. E. Antinociceptive and anti-inflammatory activities of the methanolic extract of *Parinari polyandra* stem bark in rats and mice. , v. 90, p.115 - 121, 2004.

ZAHID, A. M.; HUSSAIN, M. E.; FAHIM, M., Antiatherosclerotic effects of dietary supplementations of garlic and turmeric: Restoration of endothelial function in rats. v. 77, n. 8, p. 837 - 857, 2005.

YANG, S. D.; CHEN, Y. H. The determination of curcumenol in the volatile oil of *Curcuma aromatica* by phloroglucinol spectrophotometry. , v. 15, n. 4, p. 228 - 233, 1980.

YANG, F. Q.; LI, S. P.; CHEN, Y.; LAO, S. C.; WANG, Y. T.; DONG, T. T.; TSIM, K.W. Identification and quantitation of eleven sesquiterpenes in three species of *Curcuma* rhizomes by pressurized liquid extraction and gas chromatography-mass spectrometry. , v. 39, n. 3 - 4, p. 552 - 558 2005.

YARIWARE, H. J.; LANÇAS, F. M.; CAPPELARO, E. A.; VASCONCELOS, E. C.; TIBERTI, L. A.; PEREIRA, A. M. S.; FRANCA, S. C. Variabilidade sazonal de constituintes químicos (triterpenos, flavonóides e polifenóis) das folhas de *Maytenus aquifolium* Mart. (Celastraceae). , v. 15, n. 2, p. 162 - 168, 2005.

YASNI, S.; IMAIZUMI, K.; SIN, K.; SUGANO, M.; NONAKA, G.; SIDIK Identification of an active principle in essential oils and hexane-soluble fractions of *Curcuma xanthorrhiza* (ROXB.) showing triglyceride-lowering action in rats. , v. 32, n. 3, p. 273 -278, 1994.

YOSHIOKA, T.; GUJII, E.; ENDO, M.; WADA, K.; TOKUNAGA, Y.; SHIBA, N.; HOSHO, H.; SHIBUYA, H.; MURAKI, T. Antiinflammatory potency of dehydrocurdione, a zedoary-derived sesquiterpenes. , p. 476 - 481, 1998.

YUNES, R. A.; CECHINEL FILHO, V. Breve análise histórica da química de plantas medicinais sua importância na atual concepção de fármaco segundo os paradigmas ocidental e oriental. In. . Chapecó: ARGOS, 2001, p. 17 - 44.

YUNES, R. A.; PEDROSA, R. C.; CECHINEL FILHO, V. Fármacos e fitoterápicos: A necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. , v. 24, n. 1, p.147 - 152, 2001.

WILSON, B.; AGRAHAM, G.; MANJU, V. S.; MATHEW, M.; VILMALA, B.; SUNDARESAN, S.; NAMBISAN, B. Antimicrobial activity of *Curcuma zedoaria* and *Curcuma malabarica* tubers. v. 99, n.1, p.147 - 151, 2005.

Rendimento bruto obtido de diferentes partes de *C. zedoaria* em diferentes estações do ano (g/100g de planta).

Partes estudadas	Outono	Inverno	Primavera	Verão	Total das partes
Raiz	0,73	0,45	0,44	0,15	1,77
Rizoma mãe	1,80	0,69	0,81	0,92	4,22
Rizoma rugoso	1,49	0,75	0,89	1,02	4,15
Total das estações	4,02	1,89	2,14	2,09	

Parâmetros matemáticos da curva de calibração do curcumenol.

Regressão linear ( $y = A + B.x$ )			
Parâmetro		Valor	Erro
A		-0,014	0,048
B		7,374	0,125
r	d	h	$\rho$
0,999		0	< 0,0001
0,111			

. Parâmetros matemáticos da curva de calibração da deidrocurdiona.

Regressão linear ( $y = A + B.x$ )			
Parâmetro		Valor	Erro
A		-0,06127	0,09931
B		20,9472	0,34946
r	d	h	$\rho$
0,99917		8	< 0,0001
0,2324			

Concentração de curcumenol nas diferentes partes em diferentes estações do ano em mg/100g de planta fresca.

Estações	Outono	Inverno	Primavera	Verão	Total das partes
Partes estudadas	Concentração em mg/100g de planta fresca				
Raiz	15,7	9,00	8,70	1,50	34,90
Rizoma mãe	33,1	9,10	6,00	6,00	54,20
Rizoma rugoso	10,4	3,80	2,00	2,30	18,50
Total das estações	59,2	21,90	16,70	9,80	

. Concentração de deidrocurdiona nas diferentes partes em diferentes estações do ano em mg/100g de planta fresca.

Partes estudadas	Outono	Inverno	Primavera	Verão	Total das partes
	Concentração em mg/100g de planta fresca				
Raiz	8,50	3,10	4,40	1,60	17,60
Rizoma mãe	25,40	9,40	6,10	7,40	48,30
Rizoma rugoso	6,70	3,00	1,50	1,60	12,80
Total das estações	40,60	15,50	12,00	10,60	

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)