

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Dissertação de Mestrado

**PERFIL QUÍMICO E ATIVIDADE BIOLÓGICA DOS ÓLEOS
ESSENCIAIS DE *Begonia reniformis* Dryander (BEGONIA-
CEAE)**

Anne Gabrielle Marques da Silva

Recife

Julho/2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE
Biblioteca Central, Recife-PE, Brasil

S586p Silva, Anne Gabrielle Marques da
Perfil químico e atividade biológica dos óleos essenciais de
Begonia reniformis Dryander (Begoniaceae) / Anne Gabrielle
Marques da Silva. – 2017.
46 f. : il.

Orientador: Clécio Souza Ramos.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural de
Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Química, Recife,
BR-PE, 2017.

Inclui referências.

1. Produtos naturais 2. Begonia 3. Óleos essenciais 4. Vegetal
5. Microorganismos I. Ramos, Clécio Souza, orient. II. Título

CDD 540

Anne Gabrielle Marques da Silva*

**PERFIL QUÍMICO E ATIVIDADE BIOLÓGICA DOS ÓLEOS
ESSENCIAIS DE *Begonia reniformis* Dryander (BEGONIA-
CEAE)**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Química pela referida Universidade.

Orientador: Prof^o Dr. Clécio Souza Ramos

*Bolsista CAPES

Recife

Julho/2017

Anne Gabrielle Marques da Silva*

**PERFIL QUÍMICO E ATIVIDADE BIOLÓGICA DOS ÓLEOS
ESSENCIAIS DE *Begonia reniformis* Dryander (BEGONIA-
CEAE)**

Dissertação avaliada e aprovada pela banca em

27 de julho de 2017

Prof° Dr. Clécio Souza Ramos (DQ/UFRPE)
orientador

Prof° Dr. Cláudio Augusto Gomes da Câmara (DQ/UFRPE)
1º examinador

Prof° Dr. Jucleiton José Rufino de Freitas (DCR – UFRPE/UAST)
2º examinador

Prof° Dr. Marcílio Martins de Moraes (DQ/UFRPE)
suplente

Prof° Dr. João Rufino de Freitas Filho (DQ/UFRPE)
suplente

Dedico este trabalho aos meus pais e familiares, pela educação que me deram, e amigos, em especial a Alvremond Franklin, por me ensinar a superar as dificuldades da vida com fé, perseverança e alegria de viver, além de ser o homem que eu mais amei conhecer em toda a vida.

AGRADECIMENTOS

A Deus que me motivou a escrever este presente trabalho e consequentemente receber meu título de mestra. Agradeço a Ele por eu ter fé Nele e pela esperança de conquista. Louvado seja Ele que criou o céu e a Terra.

Ao Nosso Senhor e Salvador Jesus Cristo, Filho Unigênito de Deus, que ensinou as pessoas a amar, curou doentes, libertou cativos, expulsou demônios e enfrentou o chefe deles no deserto, e, por causa dos nossos pecados, foi condenado, morto e ressuscitado.

Ao Divino Espírito Santo pelos sete dons.

A Maria, mãe do Nosso Salvador, que o ensinou a ser obediente enquanto Ele teve vida na Terra.

Aos meus pais, Milton e Eliane, que convivem comigo me ensinando e aconselhando, apesar de estarem errados em alguns detalhes.

Às minhas avós queridas, que não estão mais entre nós, Elvira, por ter me criado e participado mais da minha vida e Josefa Francisca pelo fato de, apesar de não conviver muito comigo, ter cuidado de mim quando possível.

Aos meus demais familiares, que, apesar de não conviverem comigo, torceram por mim durante todo esse tempo

Ao Prof. Dr. Clécio Souza Ramos pela orientação que me deu durante a pesquisa científica que culminou neste presente trabalho, pelas dúvidas sobre ela, outros assuntos relacionados à Química Orgânica e este trabalho. Também agradeço a ele pelos conselhos de pai que me deu.

Aos três membros da banca

A Susy Andrade que me incluiu na lista de cadastrados no CENAPESQ – UFRPE.

Aos meus amigos que fiz na infância: Rafaella, Nilson, Datiane, Marília, entre outros pelas brincadeiras, momentos festivos e outros sérios que passei, e às pro-

fessoras Glauce, Derinéa, Déa, Adriana e Auzení, pelos ensinamentos dados em sala de aula e conselhos que toda criança ouve na escola.

Aos amigos que fiz no colégio durante a adolescência: Marcela, Cibelle, Vanessa Lima, Jairo, Pollyana, Samuel, Nina, Marília Dias, Cintia, Vanessa Andrade, Aniery, Joana, Kássia, Larissa, Ítalo, Dinha (da cantina) entre outros, e aos professores Ledevande, Bruno, Aída, Alexandrina, Gonzaga, entre outros, pela convivência, pelas brincadeiras que me alegraram, por mais lições que aprendi que me fizeram ser uma aluna esforçada e por me acordarem durante as aulas (dorminhoca, quase repeti de ano).

Aos meus amigos de graduação (UFRPE): Moara, Tamires, Evyson, Paulo, Priscilla, Queila, Talita, Camila Soledade, Camilla, Dmisticles, Imerson, Karol, Taciana, Elton, Aline, Carlos Oliveira, Fernanda Cabral, Fernanda do Vale entre outros, pelo convívio, apesar das dificuldades que tive nos trabalhos de grupo, pelos momentos de descontração e pelas piadas que ouvi que me alegraram, e aos professores Prof^a. Dra. Flávia Guinhos, Prof. Dr. André Lavorante, Prof. Dr. Luciano de Azevedo, Prof^a. Dra. Kátia Freitas, Prof. Ms. Manoel “Taperoá” de Farias, entre outros, pelos ensinamentos, que me fizeram ser uma aluna esforçada e às vezes dedicada (só não fui jubilada porque faltava um ano e meio).

Aos meus amigos e colegas de pós-graduação e laboratório: Marcílio Fontes, Aldiceia, Renê, Carolina, Prof. Dr. Claudio Câmara, Cláudio Dantas, Jadson, Aqueline, Prof. Dr. João Rufino, Patrícia, Maria Rita, Mauricélia, Nayara, John, Cláudia, Carla, Eduardo, Betinho, Leonardo Alexandre, Milena, Marcílio Martins, Gisele, entre outros pela convivência, ajuda e por mais momentos de descontração, em especial, o passeio com o pessoal do laboratório que foi inesquecível.

Ao Dr. João Cabral Cavalcanti por cuidar da minha saúde.

Aos meus padrinhos de batismo, Emerson e Dulcinéa, e madrinha de Crisma, Mariangela, pela torcida e por acreditar que com Cristo os problemas se resolvem, além dos conselhos cristãos.

Aos meus amigos e irmãos em Cristo da Paróquia Nossa Senhora da Conceição do bairro da Mangueira, em Recife (PE).

Aos meus amigos e irmãos jovens do Encontro de Jovens com Cristo da mesma paróquia.

À CAPES pelo apoio financeiro.

“O Senhor é o meu Pastor e nada me faltará. Ele me faz descansar em pastos verdejantes e me conduz sobre águas tranquilas. Restaura minha alma e me guia pelos caminhos da justiça por Teu nome. Ainda que eu ande pelo vale da sombra da morte não temerei mal algum pois estás comigo; Teu bastão e Teu cajado me deixam seguro”

RESUMO

Há aproximadamente 1500 espécies de *Begonia* espalhadas pelo mundo, sendo cerca de 215 encontradas no Brasil, com ocorrência nos estados do Nordeste, Sudeste, Sul e no Distrito Federal. As espécies do gênero *Begonia* são plantas ornamentais de algum valor econômico. Para o nosso conhecimento não há estudos químicos e biológicos com os óleos essenciais de espécies de *Begonia*, sendo este o primeiro estudo sobre a composição química e atividade antimicrobiana para *Begonia reniformis*. Foram obtidos os óleos essenciais das folhas e caules de *B. reniformis* por hidrodestilação. Os óleos obtidos apresentaram rendimentos de 0,03% e 0,01% para folhas e caules, respectivamente. Foram identificados 21 compostos no óleo das folhas, sendo 84,8% do total e 17 no óleo do caule, sendo 97,2%. Os compostos majoritários identificados foram os sesquiterpenos β -vestipireno e silfiperfol-4,7(14)-diene para o óleo das folhas e os sesquiterpenos cubenol, junenol, δ -amorfeno e *cis*-cadina-1(6),4-dieno para o óleo do caule. Dois sesquiterpenos apenas foram identificados em ambos os óleos. O óleo essencial das folhas foi testado contra bactérias e fungos. O padrão para a atividade antibacteriana foi o metronidazol através do meio Mueller Hinton líquido utilizando diclorometano. Foram utilizadas bactérias gram-positivas *Staphylococcus aureus* (02) e *Bacillus subtilis* (86) e gram-negativas *Escherichia coli* (224) e *Pseudomonas aeruginosa* (416). Os resultados mostraram que para o *S. aureus* e para o *E. coli* a concentração mínima inibitória (CMI) do óleo das folhas foi maior do que 2500 $\mu\text{g/mL}$ e para o *B. subtilis* e o *P. aeruginosa* a CMI foi de 625 $\mu\text{g/mL}$. Foram também testados o óleo contra fungos *Candida albicans* (1007) e o *Candida utilis* (1009), que apresentou uma CMI maior do que 2500 $\mu\text{g/mL}$ para ambos os fungos.

Palavras-chave: Produtos Naturais, *Begonia*, óleos essenciais, vegetal, microorganismos

ABSTRACT

There are about 1500 species of *Begonia* distributed throughout the world, with about 215 found in Brazil, occurring the Northeast, Southeast and South states and in the Federal District. The species of *Begonia* are ornamental plants with economic valor. For our knowledge, there are no chemical and biological studies with essential oils of *Begonia* species, and this was the first study on the chemical composition and antimicrobial activity for *Begonia reniformis*. The essential oils were extracted from the leaves and stems of *B. reniformis* using a modified Clevenger apparatus. The obtained oil showed a yield of 0.03% and 0.01% for leaves and stems, respectively. 21 compounds were identified in the leaves oil, which is 84.8% of total and 17 in the stems oil, which is 97.2% of total. The major compounds identified were the sesquiterpenes β -vestipirene and silphiperfol-4,7(14)-diene for the leaf oil and the sesquiterpenes cubenol, junenol, δ -amorfene e *cis*-cadin-1(6),4-diene for the stem oil. Only two sesquiterpenes were identified in both oils. The essential oil of the leaves was tested against bacteria and fungi. The metronidazole was used as positive controller for antibacterial activity in a Mueller Hinton liquid medium on dichloromethane. It were used the Gram-positive bacteria *Staphylococcus aureus* (02) and *Bacillus subtilis* (86) and gram-negative *Escherichia coli* (224) and *Pseudomonas aeruginosa* (416) for evaluation of activity oil. The results showed that for *S. aureus* and for *E. coli* the minimum inhibitory concentration (MIC) for the leaves oil was higher than 2500 $\mu\text{g} / \text{mL}$ and for *B. subtilis* and *P. aeruginosa* the MIC was 625 $\mu\text{g} / \text{mL}$. The oil showed not activity against the fungi *Candida albicans* (1007) and *Candida utilis* (1009), in the concentration of 2500 $\mu\text{g} / \text{mL}$.

Keywords: Natural products, *Begonia*, essential oils, vegetal, microorganisms

SUMÁRIO

Resumo.....	IX
Abstract.....	X
Lista de figuras.....	XII
Lista de abreviaturas e siglas.....	XIII
Lista de tabelas.....	XIV
1. Introdução.....	15
1.1. <i>Begonia reniformis</i>	15
2. Fundamentação teórica.....	17
2.1. Begoniaceae na flora brasileira.....	19
2.2. Descrição de <i>Begonia reniformis</i>	20
2.3. A química e o potencial biológico de espécies de <i>Begonia</i>	21
3. Objetivos.....	25
3.1. Geral.....	25
3.2. Específicos.....	25
4. Metodologia.....	26
4.1. Material botânico.....	26
4.1.1. Coleta e identificação do material botânico.....	26
4.1.2. Obtenção do óleo essencial das folhas de <i>B. reniformis</i>	26
4.1.3. Obtenção do óleo essencial do caule de <i>B. reniformis</i>	26
4.2. Identificação dos constituintes químicos dos óleos essenciais de <i>B. reniformis</i>	27
4.3. Atividade antimicrobiana.....	28
4.3.1. Atividade fungicida.....	30
5. Resultados e discussão.....	31
5.1. Óleo essencial das folhas de <i>B. reniformis</i>	31
5.2. Óleo essencial dos caules de <i>B. reniformis</i>	33
5.3. Atividade antimicrobiana.....	36
6. Conclusão.....	38
7. Referências bibliográficas.....	39

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Espécie de <i>Begonia reniformis</i> adulta e sua taxonomia.....	21
Figura 2: Estruturas químicas de metabólitos isolados das folhas de <i>Begonia malabarica</i> Lam.....	22
Figura 3: Estruturas químicas de metabólitos isolados das folhas de <i>Begonia picta</i>	23
Figura 4: Ilustração do bioensaio para determinação da CMI em atividade antimicrobiana.....	29
Figura 5: Cromatograma do óleo essencial das folhas de <i>B. reniformis</i> via CG-EM.....	31
Figura 6: Estruturas químicas dos principais constituintes identificados no óleo essencial obtido das folhas de <i>B. reniformis</i>	33
Figura 7: Cromatograma do óleo essencial dos caules de <i>B. reniformis</i> via CG-EM.....	34
Figura 8: Estruturas químicas dos principais constituintes identificados no óleo essencial obtido dos caules de <i>B. reniformis</i>	36

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CG-EM – Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas

CMI – Concentração mínima inibitória

DCM – Diclorometano

IC50 – Média da inibição de um composto

IK – Índice de retenção de Kovatz

m/z – Razão entre a massa do íon e a carga formal

p.V – Concentração peso/volume

sp. – Uma espécie

spp. – Várias espécies

TR – Tempo de retenção

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Metabólitos secundários isolados de espécies de <i>Begonia</i>	24
Tabela 2: Composição química do óleo essencial obtido das folhas de <i>B. reniformis</i>	32
Tabela 3: Composição química do óleo essencial obtido dos caules de <i>B. reniformis</i>	35
Tabela 4: Valores das CMI's do óleo essencial das folhas de <i>B. reniformis</i> para bactérias e fungos.....	37

1. INTRODUÇÃO

O gênero *Begonia* compreende cerca de 1500 espécies, sendo cerca de 215 encontradas no Brasil, mais precisamente na Floresta Tropical. Pertence à família Begoniaceae, cuja a sua composição química é pouca estudada. A cucurbitacina, um triterpeno altamente oxigenado com esqueleto incomum, é um dos compostos presentes em algumas espécies dessa família (VALENTE, 2004).

Estudos sobre a taxonomia do gênero iniciaram em 1690, quando Charles Plumier descreveu seis espécies. Anos mais tarde, Dryander descreveu novas espécies; estudos posteriores de outros autores propuseram uma descrição de mais espécies existentes. Warburg, em 1894, fez uma revisão de Begoniaceae e pela primeira vez agrupou as seções de *Begonia* pela distribuição das espécies pelos continentes. Acrescentou novas espécies e outros autores fizeram estudos posteriores a respeito do gênero e da família (KOLLMANN, 2012).

A respeito do gênero na flora brasileira, o primeiro a relatar estudos botânicos sobre as espécies de *Begonia* foi Vellozo (1831, apud. KOLLMANN, 2012), em que mencionou 22 espécies da Flora Fluminensis. Outros autores, em lugares distintos, deram sequência ao estudo de *Begonia* no país.

1.1. *Begonia reniformis*

Essa espécie faz parte da flora brasileira e é encontrada nos estados do Sul, do Nordeste brasileiro e no Distrito Federal. Cresce em rocha ao sol ou meia sombra.

Pertence ao gênero *Begonia*, com espécies encontradas na América Latina. A flor do macho vive com a fêmea na planta, porém separadas, e com mais de vinte estames em uma só planta. O macho possui principalmente quatro pétalas e a fêmea possui entre quatro e nove pétalas desiguais. Cresce em talo e possui folhas em formato de rim, daí o nome científico *Begonia reniformis* (ROJAS et al., 2006, KOLLMANN, 2012).

Espécimes de *B. reniformis* contém hastes de aproximadamente 1 metro de altura carnudas; possui petíolas reniformes; suas folhas possuem seio profundo, ligeiramente desigual, com dentes parecidos com os de um serrote, opacas e com marcações tais como veias, ficando imersas na superfície mais alta, verdes dos dois lados, mas pálidas do lado de baixo e seu diâmetro chega a medir um palmo (CURTIS, 1833).

Os pedúnculos medem entre 15 e 20 cm de comprimento e as flores são pequenas e brancas, ligeiramente peludas. A corola do macho possui quatro pétalas desiguais, sendo duas delas em formato de coração ou orbiculares e as outras duas menores e retangulares, e a corola da fêmea possui pétalas muito pequenas (CURTIS, 1833).

Essa espécie diferencia da *B. callosa* pelo fato de a última possuir calos no ápice do pecíolo e por florescer no verão, enquanto que a *B. reniformis* floresce no inverno, porém são semelhantes no porte arbustivo, estípulas ovadas, folhas lobadas e por nascerem muitas flores brancas (KOLLMANN, 2012).

Estudos químicos e biológicos com espécies de *Begonia* são poucos relatados, apesar de suas espécies serem conhecidas como plantas ornamentais. Vários alcaloides, flavonoides, esteroides e triterpenoides foram identificados nessas espécies, assim como atividades contra bactérias e fungos tiveram números expressivos. Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo de determinar o perfil químico dos óleos essenciais de *B. reniformis* bem como avaliar a atividade biológica dos mesmos com as bactérias *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* e os fungos *Candida albicans* e *Candida utilis*

O fato de o estudo do perfil químico dos óleos e da atividade antimicrobiana de *B. reniformis* ser investigado justifica por esse ser algo inédito, já que não há registro de estudos com a composição química e atividade biológica de óleos essenciais dos tecidos de *B. reniformis*.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

A família Begoniaceae compreende dois gêneros: *Hillebrandia*, que ocorre no Havaí e *Begonia*, que compreende aproximadamente 1.500 espécies dividida em 63 seções, distribuídas em regiões tropicais, com exceção da Austrália, sendo o sexto gênero em número de espécies de Angiospermae. Estudos mostraram que esse gênero, de ocorrência africana, possui origem na pós-Gondwana, há milhares de anos antes de Cristo, tendo dispersão independente em duas linhas para América e Ásia, de acordo com análises filogenéticas (DOORENBOS *et al.*, 1998; JACQUES, 2002; CLEMENT *et al.*, 2004; TEBBITT, 2005; GOODALL-COPESTAKE *et al.*, 2009).

A família possui um posicionamento taxonômico bastante discutido; a posição em Cucurbitales foi aceita por Dahlgren *et al.* (1980) e que de acordo com análises filogenéticas baseadas em características moleculares ela foi posicionada em Cucurbitales (CHASE *et al.* 1993; APG, 1998; APG II, 2003; APG III, 2009).

Há aproximadamente 213 espécies de *Begonia* pelo Brasil dividido em 13 seções, com ampla ocorrência territorial, porém mais abundante na Mata Atlântica, onde são encontradas em todas as formações vegetais, exceto em mangue (SMITH *et al.*, 1986; DOORENBOS *et al.*, 1998; GOLDING & WASSHAUSEN, 2002; JACQUES, 2015; DUARTE, 1961).

A beleza de suas folhas e flores das espécies de *Begonia* tem sido um atrativo para a reprodução e hibridização destas, chegando a existir mais de 100.000 espécies híbridas e cultivadas movimentando milhões de dólares ao redor do mundo (KIEW, 2005).

Charles Plumier, em 1690, descreveu seis espécies de *Begonia*, cujo nome foi dado em homenagem a Michel Begon, governador das Antilhas francesas, e foi oficialmente reconhecido por Tournefort em 1700. Linnaeus (1753) nunca tinha observado essas espécies fazendo-o achar duvidoso e reduzir seis espécies descritas por Plumier a uma, *Begonia obliqua* L., a espécie típica do gênero (ROSE, 2002).

Dryander (1791), o primeiro monógrafo do gênero, descreveu 21 novas espécies de *Begonia* e mencionou outras nove espécies com a taxonomia não definida, aumentando gradualmente o número de registro de *Begonia*. STEUDEL (1840-1841) listou 140 espécies e sinonimizou 36. Robert Brown, em 1818, afirma que “o extenso gênero *Begonia* precisaria ter a classificação botânica revista no intuito agrupar suas espécies em novo gênero”. Lindley, em 1846, separou três grupos, sendo *Begonia* o grupo com uma placenta em cada lóculo. GAUDICHAUD-BEAUPRED (1851) propôs outro gênero ignorado por Lindley, com uma espécie da Ilha da Reunião.

KLOTZSCH (1854, 1855 a, b), de acordo com uma sua revisão detalhada classificou as espécies em 37 gêneros e acatou as classificações de Lindley e Gaudichaud-Beaupred. DE CANDOLLE (1859) propôs sinonímias e considerou vários deles como seções. Anos mais tarde publicou o *Prodomus Systemis Naturalis Regni Vegetalis* com o gênero *Begonia* tendo 323 espécies divididas em 61 seções, sendo 34 delas correspondentes aos gêneros de Klotzsch.

WARBURG (1894) revisou Begoniaceae e pela primeira vez agrupou as seções de *Begonia* pela distribuição das espécies nos continentes. Considerou 58 seções, das quais, 31 das Américas e três de geografia duvidosa; rejeitou 17 de De Candolle e acrescentou seis novas. IRMSCHER (1925) fez uma nova revisão, seguindo o trabalho de Warburg, adicionando novas espécies descritas de diversos continentes, sendo 760 o número de espécies relatadas.

BARBLEY (1972) classificou as espécies de *Begonia* baseado nas seções de De Candolle e outros autores que deram sequência ao estudo. BARBLEY e BARANOV (1972) atribuíram determinados tipos de espécies a uma seção de *Begonia*, publicando um rol de todas as seções, com base em Irmscher, e designando o lectótipo quando ausente

SMITH *et al.* (1986) publicaram o último trabalho sobre Begoniaceae incluindo chave para todas as espécies, referência bibliográfica do tipo com foto. Golding e WASSHAUSEN (2002) publicaram uma segunda parte do trabalho, com errata da primeira, sinonimizando a adição de novas espécies. Não há referência às seções

nos dois trabalhos. Já DOORENBOS *et al.* (1998) foi o último a tratar das seções da família, fazendo uma revisão das opiniões anteriores.

2.1. Begoniaceae na flora brasileira

A primeira referência bibliográfica a respeito dessa família no Brasil, citada por KOLLMANN (2012) foi a de VELLOZO (1831), na Flora Fluminensis, em que mencionou 22 espécies, com descrições sucintas e com poucas informações taxonômicas.

DE CANDOLLE (1861), na Flora Brasiliensis descreveu as espécies brasileiras conhecidas na época e dividiu-as em seções. BRADE (1943, 1944, 1945a, 1945b, 1948, 1950, 1952, 1954, 1957a, 1958a, 1958b, 1971) descreveu diversas espécies brasileiras e estudou as espécies do Itatiaia, no Estado do Rio de Janeiro, descobrindo sete espécies novas, totalizando 20 identificadas.

PEREIRA (1959) estudou as espécies de *Begonia* na Flora da Cidade do Rio de Janeiro com chave, descrição e ilustração, totalizando 21 espécies.

BRADE (1961) publica a respeito do porte das espécies de *Begonia* brasileiras e de onde ocorrem, como uma das primeiras publicações sobre a ecologia do gênero no país. DUARTE (1961) publica a respeito da ecologia das espécies no Rio fazendo considerações a respeito do comportamento e dispersão de algumas espécies no antigo Estado da Guanabara.

SMITH & SMITH (1971) tratou das espécies de *Begonia* para a Flora do Estado de Santa Catarina, mencionando 35 espécies nativas e duas exóticas.

JACQUES (1996) fez o levantamento de Begoniaceae em uma reserva ecológica no Estado do Rio de Janeiro e encontrou 20 das aproximadamente 60 espécies existentes. SMITH & WASSHAUSEN (1999) descobriram dez novos táxons da família no Brasil. SILVA E MAMEDE (2001) encontraram na Serra do Mar, Estado de São Paulo, 39 espécies, sendo duas novas. JACQUES (2002) estudou a taxonomia das espécies brasileiras de *Begonia*, tratando de 52 espécies, sendo duas novas. JACQUES (2008) tratou uma nova espécie no Estado do Rio de Janeiro. FELICIANO (2009) estudou 31 espécies na Flora de Minas Gerais. COUTO DOS SANTOS

(2010) estudou o habitat das espécies de *Begonia* em uma reserva ecológica em Cachoeiras de Macacu, Rio de Janeiro.

KOLLMANN & PEIXOTO (2014) trataram de três espécies de *Begonia* no Estado do Espírito Santo e uma na Bahia.

2.2. Descrição de *Begonia reniformis*

É uma planta subarborescente, ereta, que mede até 3m de altura, glabra a pilosa, com tricomas simples. Seus caules são arredondados a sulcados, tendo uma cor que tende a marrom, também glabros a pilosos, com entrenós medindo até 12cm de comprimento. No que diz respeito às folhas, seus pecíolos medem até 19cm de comprimento, verdes a avermelhados, glabros a pilosos, as lâminas medem entre 7 e 38 cm por 7,5 a 27cm, verdes, inteiras a lobadas, com até 8 lobos, com ápice agudo, base subcordada, suas margens são dentadas ou denticuladas ou crenada, ciliada, com até 8 nervuras na base, também glabras a pilosas. No que diz respeito às flores do macho, suas pétalas medem até 0,6 x 0,3cm, brancas a alvo-rosadas, côncavas, elípticas a oblanceoladas, com ápice agudo e glabras, e as flores da fêmea medem até 6,5 x 4mm, brancas, elípticas a falcadas, com ápice agudo e glabras também. O ovário da flor fêmea possui placentas inteiras. As sementes medem 0,3 x 0,15mm e são oblongas (KOLLMANN, 2012).

Ordem: Cucurbitales
Família: Begoniaceae
Gênero: *Begonia*

Sinônimos

Begonia elatior
Begonia grandis
Begonia huberi
Begonia inermis
Begonia longipes
Begonia longipes var. *laticordata*
Begonia palmifolia
Begonia truncata
Begonia vitifolia
Begonia vitifolia var. *bahiensis*



Figura 1: Espécie de *Begonia reniformis* adulta e sua taxonomia (Foto CSR).

2.3. A química e o potencial biológico de espécies de *Begonia*

A química e potencial biológico de espécies de *Begonia* é pouca explorada com raros estudos disponíveis na literatura. Uma investigação da fitoquímica de vários extratos das folhas de *Begonia malabarica* Lam. resultou no isolamento e identificação dos seguintes compostos friedelina, epi-friedelinol, β -sitosterol, luteolina, quercetina e β -sitosterol-3 - β -D-glucopiranosídeo (Figura 2) (RAMESH *et al.*, 2002).

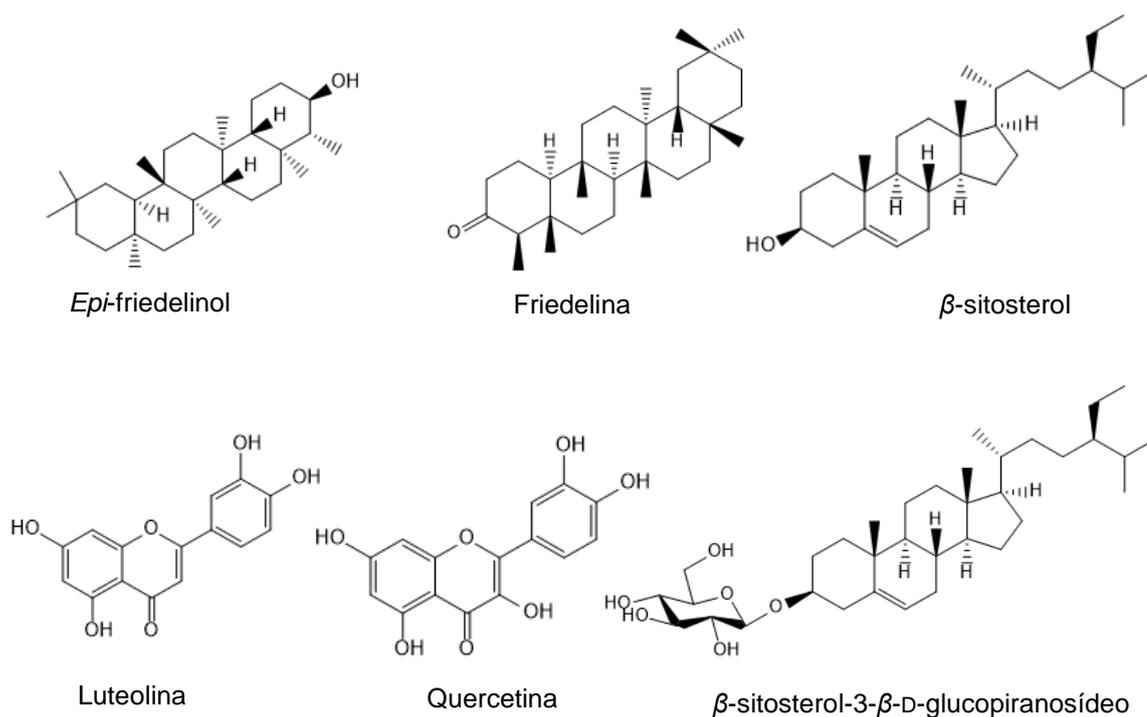


Figura 2: Estruturas químicas de metabólitos isolados das folhas de *Begonia malabarica* Lam.

Os extratos aquoso, metanólico e clorofórmico das folhas de *Begonia malabarica* apresentaram atividade antimicrobiana contra as bactérias *Aeromonas hydrophila*, *Chromobacterium violaceum*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Bacillus subtilis* e *Staphylococcus aureus*, com halo de inibição que variaram de 12 a 18 mm, na concentração de 1,5 mg/mL (RAMESH *et al.*, 2002).

Os compostos vitexina, *iso*-vitexina, orientina, *iso*-orientina e 1,3-ihidroxi-6,7-dimetoxixantona foram isolados a partir da planta inteira de *Begonia picta* (Figura 3). Os compostos orientina e o *iso*-orientina mostraram potente atividade antioxidante com valores de IC_{50} 54,0 e 53,4 μ M, respectivamente, quando comparado com o controle positivo trolox que apresentou o valor de IC_{50} 96.1 μ M (JOSHI *et al.*, 2015).

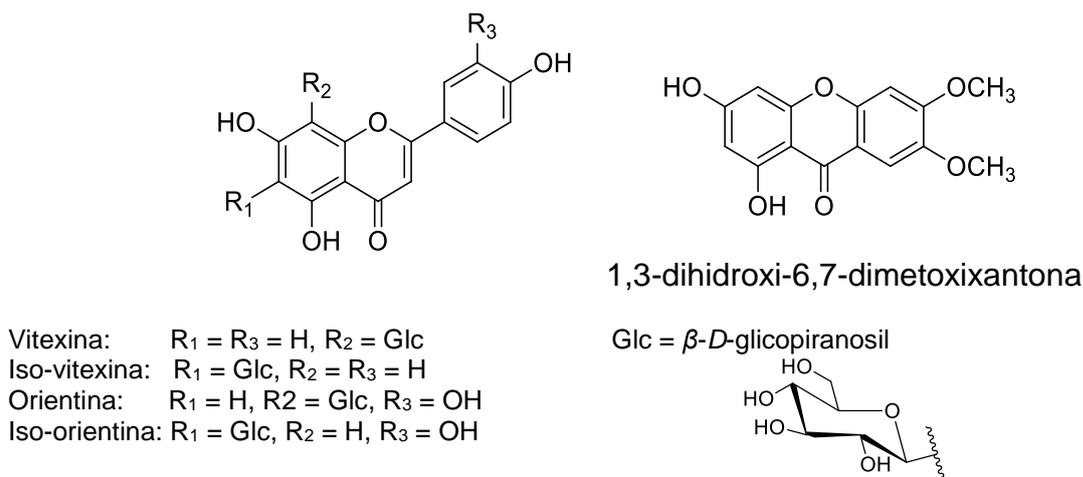


Figura 3: Estruturas químicas de metabólitos isolados das folhas de *Begonia picta*

As raízes de *B. picta* no Nepal são usadas na medicina tradicional para curar problemas de estômago, enquanto as folhas são usadas como um remédio para cólica e disenteria (QUAMAR *et al.*, 2013). A espécie também é usada para aliviar a dor de cabeça, e no tratamento de conjuntivite e úlcera péptica, sendo que as folhas trituradas são utilizadas como uma cataplasma para cicatrização de feridas de mamilos (WATANABE *et al.*, 2014)

Em outros estudos fitoquímicos, diferentes classes de antocianinas foram isoladas a partir dos extratos das flores em espécies *Begonia sp*, enquanto diversos esteroides e flavonoides foram isolados das espécies de *B. evansiana* e *B. malabarica* (NADINE e MAURICE, 1995; ZHANGAND e CHEN, 1997; RAMESH *et al.*, 2002).

Apesar dos estudos limitados da química de espécies de *Begonia*, os poucos relatos disponíveis aponta os flavonoides e esteroides como metabólitos quimiotaxonômico para o gênero (tabela 1). Em relação a estudos sobre a química de óleos essenciais de espécies de *Begonia*, para o nosso conhecimento não há relatos, sendo este presente trabalho o primeiro a descrever a composição química do óleo de uma espécie de *Begonia*.

Tabela 1: Metabólitos secundários isolados de espécies de *Begonia* (ZUBAIR *et al.*, 2016).

Compostos químicos	
<i>Begonia nantoensis</i>	<i>Begonia heracliofera</i>
Ácido indole-3-carboxílico	Di-hidrocurbitacina D
Ácido <i>p</i> -coumárico	Di-hidrocurbitacina F
Ácido benzóico	Cucurbitacina B
Ácido nicotínico	Cucurbitacina D
Ácido Caféico	<i>O</i> - β -glucopiranosil-cucurbitacina B
Ácido 4-Hidroxibenzóico	<i>O</i> - β -glucopiranosil-cucurbitacina D
Ácido 4-Hidroxibenzaldeído	
Ácido 3,4-Dihidroxibenzóico	<i>Begonia malabarica</i>
Ácido Vanílico	Quercetina
Vanilina	Luteolina
β -sitosterol	Friedelina
Estigmasterol	<i>Epi</i> -friedelinol
Cucurbitacina B	<i>Begonia cheimantha</i>
Cucurbitacina E	Gibberellina A
Cucurbitacina F	Gibberelina A
Cucurbitacina I	3- <i>O</i> - β -D-glucopiranosideo- β -sitosterol
Luteina	Gibberellina
Begonanlina	Gibberellina A
Ácido eudesmico	Gibberellina A19
Sitostenon	Gibberellina A20
Metilparabeno	<i>Begonia glabra</i>
Vanilato de Metila	Pachipodol
Ácido piperonílico	Ternatina
Ácido protocatechuico	<i>Begonia glacophylla</i>
(-)-Auranamida	Reinoutrina
<i>S-N</i> -(1-Hidroximetil-2-feniletíl)-benzamida	<i>Begonia sp</i>
1,2,4-Trihidroxibenzeno	Pelargonidina 3-sambubiosido
Dihidrocurbitacina B	<i>Begonia spp</i>
Dihidrocurbitacina E	Cianidina 3-(2G-xilosilrutinosido)
Dihidrocurbitacina I	Pelargonidina 3-(2G-xilosilrutinosido)
	Cianidina 3-(6"- <i>p</i> -
	Coumarilsambubiosido)
	Cianidina 3-(6"-(<i>Z</i>)- <i>p</i> -
	coumarilsoforosido)
	<i>Begonia rex</i>
	Sambicianina

3. OBJETIVOS

3.1. Geral

Determinar o perfil químico e atividade antimicrobiana dos óleos essenciais das folhas e caule de *Begonia reniformis*.

3.2. Específicos

- Obter óleos essenciais da espécie *B. reniformis* por hidrodestilação;
- Identificar os constituintes químicos dos óleos essenciais da espécie *B. reniformis* por análises de CG-EM;
- Avaliar o potencial antibacteriano dos óleos essenciais da espécie *B. reniformis* contra as bactérias gram-positivas (*S. aureus* e *B. subtilis*) e gram-negativas (*E. coli* e *P. aeruginosa*);
- Avaliar o potencial antifúngico dos óleos essenciais das folhas da espécie *B. reniformis* contra os fungos *C. albicans* e *C. utilis*.

4. METODOLOGIA

4.1. Material botânico

4.1.1. Coleta e identificação do material botânico

As folhas da espécie *B. reniformis* foram coletadas em agosto de 2016 no período da manhã no Campus da Universidade Federal Rural de Pernambuco, localizado na cidade de Recife – PE. A identificação da espécie foi realizada pela curadora R. Pereira do Instituto Agronômico de Pernambuco – IPA e a exsicata preparada e depositada no Herbário Dárdano de Andrade Lima (IPA), sob o número 90664 (*Begonia reniformis* Dryander).

4.1.2. Obtenção do óleo essencial das folhas de *B. reniformis*

O óleo essencial das folhas de *B. reniformis* foi obtido partindo de 1,3 Kg do material fresco triturado em água, em seguida o material triturado foi submetido à hidrodestilação em aparelho Clevenger modificado por 2 horas. Devido à diferença de densidade, os óleos foram separados do hidrolato com uso de funil de separação e, em seguida, extraídos com diclorometano (3x 30 mL). Os óleos foram secos com sulfato de sódio anidro, rotaevaporados, e armazenados a ± 5 °C em frascos de vidros vedados. O rendimento do óleo foi calculado baseado na massa de óleo obtida e a massa de material vegetal utilizado na extração (% m/m).

4.1.3. Obtenção do óleo essencial do caule de *B. reniformis*

Foram coletados 1,8 kg de caule de *B. reniformis* no campus da UFRPE, no bairro de Dois Irmãos, em Recife, no mês de maio de 2017 no período da manhã. Para a extração do óleo essencial foi necessário triturar o material botânico com água. Em seguida, o material triturado foi submetido à hidrodestilação utilizando um

aparelho de Clevenger modificado, desligando o aparelho mais de duas horas depois. Terminado o processo de hidrodestilação, foram utilizados volumes iguais de diclorometano para separar as fases e começar o processo de filtração. Os hidrolatos obtidos das extrações foram lavados com diclorometano e filtrados três vezes em quantidades de 20 ml cada. Em seguida, o material foi seco com sulfato de sódio anidro e em seguida foi rotaevaporado.

4.2. Identificação dos constituintes químicos dos óleos essenciais de *B. reniformis*

Para a identificação química, o óleo essencial das folhas e caules de *B. reniformis* foi analisado por dois equipamentos CG-EM (Varian 431-GC acoplado ao espectrômetro Varian 220-MS, com injetor Varian CP-8410) com uma coluna Phenomenex ZB5-MS 30m x 0,25 μ m para as folhas e PerkinElmer Clarus 580 acoplado a um espectrômetro PerkinElmer Clarus SQ8S, coluna PerkinElmer Elite 5MS 30m x 0,25mm com injeção manual para o caule. 1 μ L do óleo das folhas na concentração de 2,8mg/mL em hexano foi injetado no CG-EM em split de 1:20 e 1,4mg de óleo de caule diluído em 1mL de hexano foi injetado no CG-EM em Split de 1:21. Posteriormente, injetou-se 1 μ L em splits da mistura de padrões de hidrocarbonetos C9-C34. A temperatura do CG utilizado para identificar o óleo das folhas foi mantida em 60°C por 3min, depois aumentada na razão de 2,5°C/min até 240°C e mantida por 10min nesta temperatura e o CG utilizado para o caule teve variação de temperatura entre 60°C e 240°C na taxa de 3°C/min. O fluxo de hélio foi mantido em pressão constante de 100kPa. A interface do EM foi definida em 200°C e os espectros de massa foram registrados em 70eV (em modo EI) com uma velocidade de escaneamento de 0.5scan-s e m/z 20-350. Os índices de retenção foram obtidos pela injeção do óleo e de uma mistura de hidrocarbonetos lineares C7-C27 e calculados de acordo com a equação de (VAN DEN DOOL e KRATZ, 1963). A partir da análise dos tempos de retenção dos compostos presentes na amostra do óleo essencial, dos padrões de hidrocarboneto e dos compostos presentes na combinação do óleo essencial com a mistura de padrões foi calculado o índice de retenção para cada componente do óleo, segundo a equação de Kratz (equação 1) (ADAMS, 2007)

$$IR = 100.i. \frac{(trx - trha)}{(trhd - trha)} + 100.N$$

Onde:

IR: índice de retenção de Kratz

i: diferença do número de carbonos do hidrocarboneto que elui depois da amostra com o hidrocarboneto que elui antes

trx: tempo de retenção do composto

trha: tempo de retenção do hidrocarboneto que elui antes da amostra

trhd: tempo de retenção do hidrocarboneto que elui depois da amostra

N: número de carbonos do hidrocarboneto que elui antes da amostra

A identificação dos constituintes dos óleos essenciais foi realizada com base na comparação dos índices de retenção seguida pela comparação computadorizada do espectro de massa obtido com aqueles contidos na biblioteca de espectro de massas do NIST do banco de dados CG-EM (ADAMS, 2007). Bem como pela comparação direta das sugestões das massas disponíveis na biblioteca do computador (Wiley, com 250.000 compostos), contemplando apenas as similaridades entre os fragmentogramas.

4.3. Atividade Antimicrobiana

Para a atividade antibacteriana o padrão foi o metronidazol, tendo como solvente o diclorometano (DCM), através do meio Mueller Hinton líquido. As bactérias gram-positivas utilizadas na atividade foram *Staphylococcus aureus* (02) e *Bacillus subtilis* (86). As gram-negativas utilizadas foram *Escherichia coli* (224) e *Pseudomonas aeruginosa* (416).

O teste de concentração mínima inibitória (CMI) foi realizado utilizando a técnica de microdiluição, em multiplacas com 96 poços conforme o Clinicaland Laboratories Standards Institute – 2010. Cada multiplaca foi padronizada conforme a figura 4

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	$\mu\text{g}/\mu\text{L}$
A	●	●	●	●	○	●	●	●	○	●	●	●	2500
B	●	●	●	●	○	●	●	●	○	●	●	●	1250
C	●	●	●	●	○	●	●	●	○	●	●	●	625
D	●	●	●	●	○	●	●	●	○	●	●	●	312.5
E	●	●	●	●	○	●	●	●	○	●	●	●	156.2
F	●	●	●	●	○	●	●	●	○	●	●	●	78.1
G	●	●	●	●	○	●	●	●	○	●	●	●	39.0
H	●	●	●	●	○	●	●	●	○	●	●	●	19.5
	M	S	MI	P		A1				A2			

M= Meio, S= Solvente+Meio, MI= Microrganismo+Meio, P= Padrão+Meio, Amostra 1, Amostra 2.

Figura 4: Ilustração do bioensaio para determinação da CMI em atividade antimicrobiana.

As multiplacas foram preparadas de acordo com o organismo a ser testado. Nos poços da solução teste (Linha A, Colunas 6, 7, 8 e 10, 11, 12), foram distribuídos 175 μL de meio líquido e adicionados 25 μL da solução estoque (Amostra), totalizando nesta primeira linha 200 μL . Nas demais linhas (B, C, D, E, F, G e H, Colunas 6, 7, 8 e 10, 11, 12), colocou-se 100 μL de meio. Na coluna 2 - Solvente (S), além dos 75 μL de meio, foram acrescentados 25 μL de solvente. Na coluna 3 - Microrganismos (MI) foram distribuídos 100 μL de meio e acrescentados 10 μL dos inóculos microbianos padronizados. Por final, na coluna 4 - Padrão (P) foram colocados 97,5 μL de meio e acrescentados 2,5 μL da solução Padrão.

Terminado a etapa anterior se iniciou o processo de microdiluição seriada, em que foram retirados com uma micropipeta 100 μL da Linha A - Colunas 6, 7, 8 e 10, 11, 12, e depositados na Linha B (Colunas 6, 7, 8 e 10, 11, 12), sendo misturados e retirados 100 μL desta linha, seguindo este processo sucessivamente até a Linha H, obtendo-se concentrações decrescentes que variam de 2500 até 19,5 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$. Após a diluição das amostras, adicionou-se 10 μL dos inóculos microbianos padronizados, exceto nos poços da Coluna 1 - Meio (M), Coluna 2 - Solvente (S)

e Coluna 4 – Padrão (P). As microplacas serão cultivadas em estufas distintas: a 37°C por 18 a 24 horas para as bactérias.

Após o período de cultivo, as microplacas foram reveladas com uma solução indicadora de Resazurina sódica, em água destilada estéril, na concentração de 0,01% (p,V), do qual 10µL foram adicionados em cada poço das microplacas nos testes antimicrobianos. No decorrer de 2 (duas) horas foram incubadas ao abrigo da luz para que ocorra a mudança de coloração nos poços. O teste de CMI define como a menor concentração de um produto testado é capaz de inibir o crescimento de microrganismos, evidenciado pela cor azul inalterada.

4.3.1. Atividade fungicida

Para a atividade fungicida o padrão utilizado foi o fluconazol, tendo como solvente o DCM através do meio Sabourand líquido. Os fungos utilizados para esta atividade foram *Cândida albicans* (1007) e *Candida utilis* (1009). O mesmo procedimento para o teste de CMI realizado para as bactérias foi feito para estes fungos, mas as multiplacas com os fungos foram cultivadas a 30°C por 48 a 72 horas.

Para os fungos, além da revelação das microplacas, também foi utilizado o método de turbidez para a determinação do crescimento ou inibição das linhagens fúngicas.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Óleo essencial das folhas de *B. reniformis*

De 1,3 kg de folhas de *B. reniformis* foram obtidos 410 mg de óleo essencial com um rendimento de 0,03%, baseado na massa das folhas frescas. O perfil químico do óleo essencial das folhas de *B. reniformis* obtido por CG-EM apresentou dois picos majoritários em 22,2 e 28,1 min com concentrações relativas de 15,7 e 21,0 %, respectivamente (Figura 5).

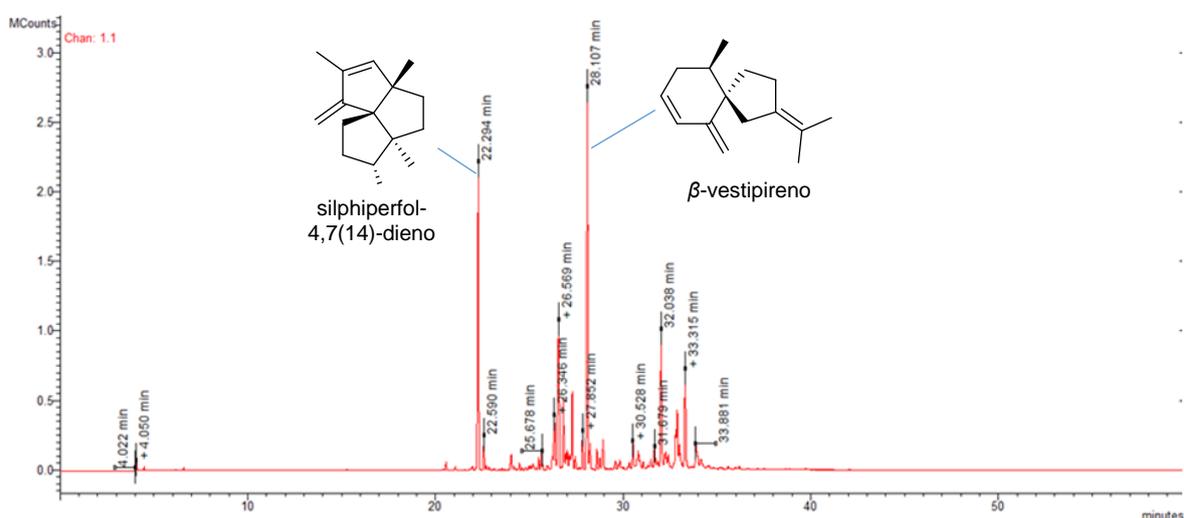


Figura 5: Cromatograma do óleo essencial das folhas de *B. reniformis* via CG-EM.

Os picos majoritários em TR 22,2 e 28,1min foram identificados como sendo os sesquiterpenos silphiperfol-4,7(14)-diene e β -vestipireno, respectivamente. No total foram identificados 21 compostos, representando 84,8% do óleo analisado (tabela 2), como os compostos *cis*-cadina-1(6),4-dieno (7,1%), ishwarano (3,9%), guaiol (8,0%), *cis*-muurola-3,5-dieno (3,5%), *trans*-muurola-3,5-dieno (3,7%), dauca-5,8-dieno (4,3%) e β -atlantol (2,9%) (Figura 6).

Para o nosso conhecimento, não há relatos sobre o óleo essencial de espécies da família Begoniaceae que inclui os gêneros *Begonia* e *Hillebrandia*. O principal composto de óleo essencial a partir de folhas de *B. reniformis*, o sesquiterpeno β -vetispireno foi previamente relatado nos óleos essenciais das raízes de *Vetiveria zizanioides* (Poaceae) (CHAMPAGNAT et al., 2006) e sua ocorrência em outras es-

pécies de plantas é rara. O segundo maior composto de óleo foi relatado em cerca de quinze espécies de plantas, como *Remirea maritima* (Cyperaceae), *Piper amalago* (Piperaceae), *Artemisia vulgaris* (Asteraceae), *Clinopodium vulgare* (Labiatae) e *Lomatium rigidum* (Apiaceae) (MOTA et al. , 2013; RABELO et al., 2014; SUJATHA et al., 2013; MORTEZA-SEMNANI et al., 2009; BEAUCHAMP et al., 2004).

Tabela 2: Composição química do óleo essencial obtido das folhas de *B. reniformis*

Compostos ^a	T (min)	IR ^b	IR ^c	% Relativa
1. Silfiperfol-4,7(14) -dieno	22,2	1354	1360	15,7
2. Ciclosativeno	22,5	1361	1369	1,5
3. Isobazaneno	25,6	1432	1436	1,0
4. <i>cis</i> -Muuroala-3,5-dieno	26,3	1448	1450	3,5
5. <i>trans</i> -Muuroala-3,5-dieno	26,5	1454	1453	3,7
6. <i>cis</i> -Cadina-1(6),4-dieno	26,5	1454	1463	7,1
7. Ishwarano	26,8	1460	1466	3,9
8. <i>cis</i> -Muuroala-4(14),5-dieno	27,0	1465	1466	1,0
9. Dauca-5,8-dieno	27,2	1471	1472	4,3
10. <i>trans</i> -cadina-1(6),4-dieno	27,8	1484	1476	2,0
11. β -Vestipireno	28,1	1490	1493	21,0
12. Muuroala-4(14),5-dieno	28,2	1493	1493	1,2
13. Epizonareno	28,6	1502	1501	1,0
14. Acetato de vanilina	28,9	1510	1525	1,8
15. Raspberricetona	30,5	1549	1547	1,3
16. β -Copaen-4- α -ol	31,7	1578	1590	1,1
17. Guaiol	32,0	1587	1600	8,0
18. Carotol	32,2	1593	1594	1,2
19. β - Atlantol	32,8	1608	1608	2,9
20. 1,10-di-epi-cubenol	32,9	1611	1619	1,0
21. <i>cis</i> -cadin-4-en-7-ol	33,8	1634	1636	0,6
				total 84,8 %

^aConstituintes listados em ordem de eluição numa coluna apolar DB-5; ^bÍndices de retenção calculados através dos tempos de retenção em relação aos da série de *n*-alcanos (C₉-C₁₉), em uma coluna Phenomenex ZB5-MS 30 m x 0,25 μ ; ^c Valores de referências do Adams (2007).

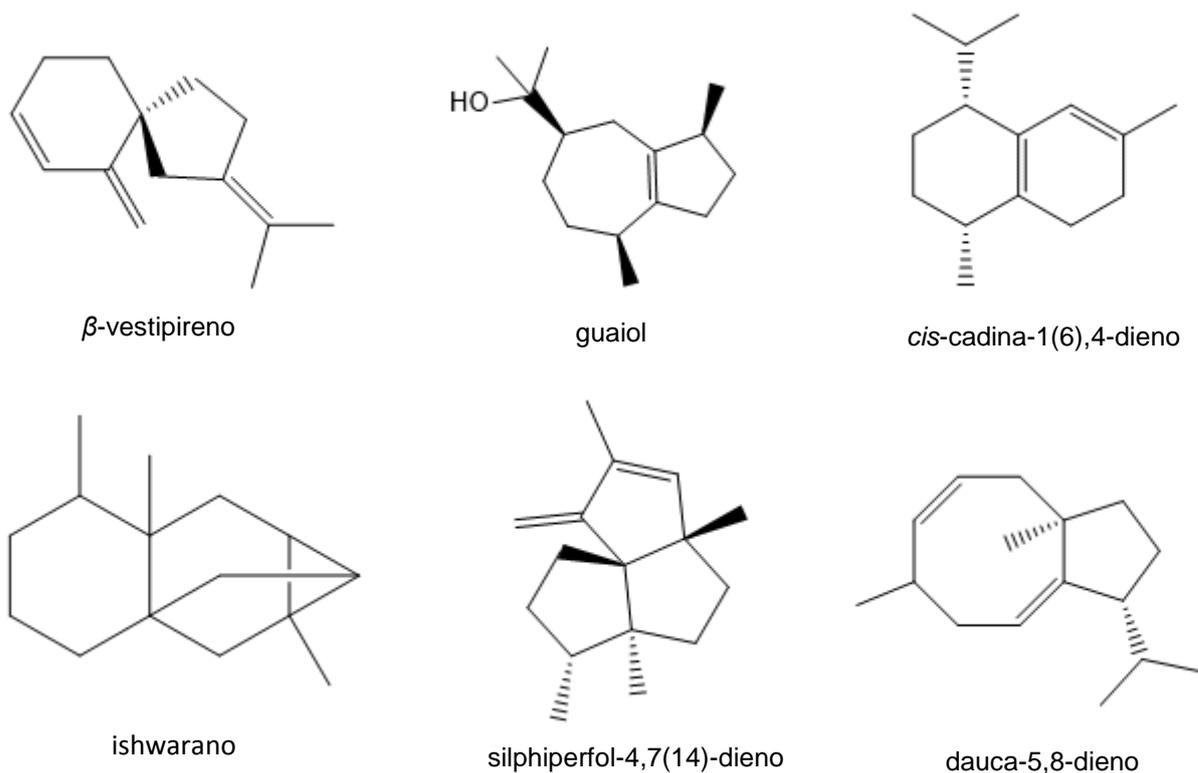


Figura 6: Estruturas químicas dos principais constituintes identificados no óleo essencial obtido das folhas de *B. reniformis*

5.2. Óleo essencial dos caules de *B. reniformis*

O óleo essencial dos caules *B. reniformis* foi obtido por hidrodestilação com rendimento de 0,01 %, sendo utilizados 1,8 Kg de material fresco para extração. O óleo foi analisado por CG-EM e seu perfil químico apresentou picos majoritários com tempos de retenções em 21,1, 28,6, 32,7, e 34,0 min, que foram identificados com sendo os constituintes *cis*-cadina1(6),4-dieno (11,8 %), δ -amorfeno (8,3 %), junenol (8,6 %) e cubenol (14,4 %), respectivamente (Figura 7). Apenas, os sesquiterpenos *cis*-Muurolo-3,5-dieno e *cis*-Cadina1(6),4-dieno foram identificados nos óleos essenciais das folhas e dos caules.

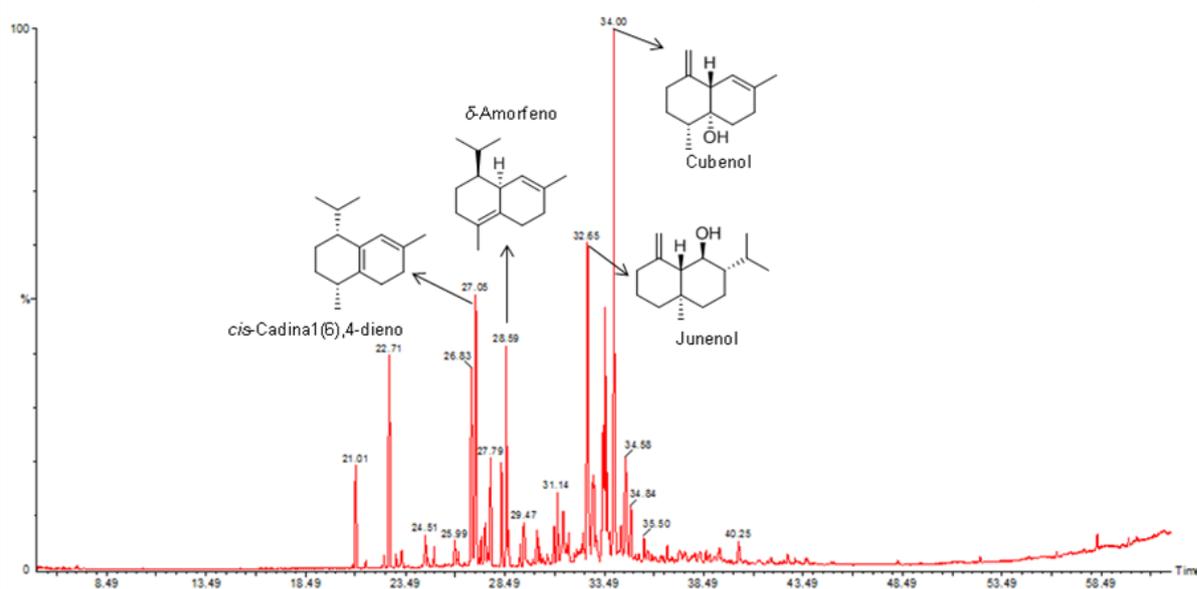


Figura 7: Cromatograma do óleo essencial dos caules de *B. reniformis* via CG-EM.

No total foram identificados dezessete compostos que corresponderam a 97,2 % da composição do óleo, sendo todos sesquiterpenos, exceto o mefranal que corresponde a um aldeído aromático (Tabela 3 e Figura 8).

Tabela 3: Composição química do óleo essencial obtido dos caules de *B. reniformis*

Compostos ^a	T (min)	IR ^b	IR ^c	% Relativa
1. δ -elemeno	21,0	1325	1335	5,0
2. α -lilangeno	22,7	1364	1375	7,7
3. β -Longipineno	24,5	1405	1400	0,7
4. Mefranal	26,0	1440	1425	1,7
5. <i>cis</i> -Muurolo-3,5-dieno	26,8	1458	1448	6,3
6. <i>cis</i> -Cadina1(6),4-dieno	27,1	1466	1461	11,8
7. α -Muuroleno	27,8	1483	1500	4,7
8. <i>trans</i> -Muurolo-4(14),5-dieno	28,3	1496	1493	4,4
9. δ -Amorfeno	28,6	1502	1511	8,3
10. (<i>E</i>)-iso- γ -bisaboleno	30,1	1540	1529	0,6
11. <i>epi</i> -Longipinanol	31,1	1565	1563	5,9
12. Dimetil-ionona	31,4	1572	1565	2,0
13. Junenol	32,7	1602	1618	8,6
14. Muurolo-4,10(14)-dien-1- β -ol	33,5	1623	1630	6,6
15. α -Muurololol	33,6	1638	1644	6,3
16. Cubenol	34,0	1637	1645	14,4
17. 3-Tujopsanona	34,6	1652	1654	2,2
				Total 97,2 %

^aConstituintes listados em ordem de eluição numa coluna apolar DB-5; ^bÍndices de retenção calculados através dos tempos de retenção em relação aos da série de *n*-alcanos (C₉-C₁₉), em uma coluna Phenomenex ZB5-MS 30 m x 0,25 μ ; ^c Valores de referências do Adams (2007).

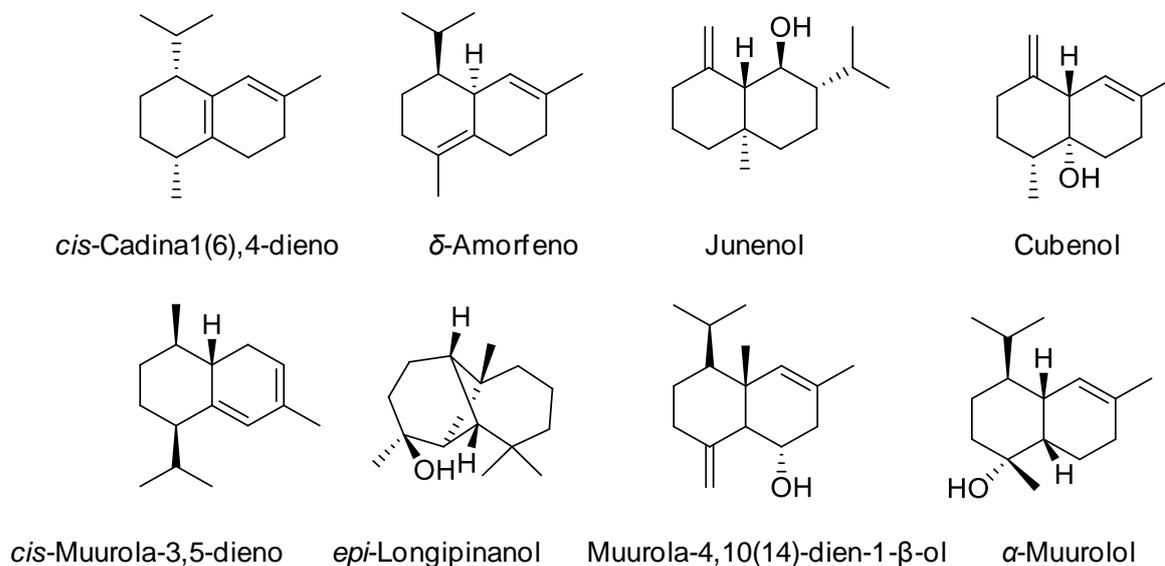


Figura 8: Estruturas químicas dos principais constituintes identificados no óleo essencial obtido dos caules de *B. reniformis*

5.3. Atividade antimicrobiana

Na tabela 4 estão apresentados os valores das concentrações mínimas inibitórias (CMI) do óleo essencial das folhas de *B. reniformis* para bactérias e fungos.

Para a atividade bacteriana com as espécies *S. aureus* (02) e *E. coli* (224) os resultados comprovaram que a concentração mínima inibitória (CMI) foi maior do que 2500 $\mu\text{g/mL}$, sendo o óleo ativo frente as bactérias *P. aeruginosa* e *B. subtilis* com CMI de 625 $\mu\text{g/mL}$ para ambas as bactérias. Para os fungos a CMI foi maior do que 2500 $\mu\text{g/mL}$. As CMIs maiores do que 2500 $\mu\text{g/mL}$ não são satisfatórias pelo fato de o óleo não inibir o crescimento das bactérias e dos fungos cultivados nessa concentração.

Tabela 4: Valores das CMI's do óleo essencial das folhas de *B. reniformis* para bactérias e fungos

Bactérias	
Gram-positivas	
<i>Staphylococcus aureus</i> (02)	>2500µg/mL
<i>Bacillus subtilis</i> (86)	625µg/mL
Gram-negativas	
<i>Escherichia coli</i> (224)	>2500µg/mL
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (416)	625µg/mL
Fungos	
<i>Candida albicans</i> (1007)	>2500µg/mL
<i>Candida utilis</i> (1009)	>2500µg/mL

6. CONCLUSÃO

O primeiro estudo sobre a composição química do óleo essencial para uma espécie de *Begonia* mostrou que os óleos essenciais das folhas e caules de *B. reniformis* são constituídos basicamente de sesquiterpenos. No óleo das folhas, vinte e um compostos foram identificados, sendo que os sesquiterpenos silfiperfol-4,7 (14) dienos e β -vetispireno foram os majoritários, enquanto, que no óleo dos caules foram identificados dezessete compostos, sendo os constituintes *cis*-cadinol, δ -amorfenol, junenol e cubenol.

O óleo essencial das folhas foi ativo contra bactérias *B. subtilis* e *P. aeruginosa* com concentrações mínimas inibitórias de 625 $\mu\text{g} / \text{mL}$ para cada uma das duas bactérias.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Illustrated Glossary of Organic Chemistry:
http://www.chem.ucla.edu/~harding/IGOC/M/m_to_z.html acessado em 19 jul. 2017

Porcentagem: <http://w2.fop.unicamp.br/calculos/Porcentagem.html> acessado em 19 jul. 2017

Wikipédia in *EC50* – *Wikipédia, a enciclopédia livre*:
<https://pt.wikipedia.org/wiki/EC50> acessado em 19 jul. 2017

Wikipédia in *Nomenclatura binomial* – *Wikipédia, a enciclopédia livre*:
https://pt.wikipedia.org/wiki/Nomenclatura_binomial acessado em 19 jul. 2017

ADAMS, R.P. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy. Iinois: Allured Publishing Corporation, 2007. 804p.

A.P.G. The Angiosperm Phylogeny Group. An ordinal classification for the families of flowering plants. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 85(4): 531-553, 1998.

A.P.G. II. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. *Botanical Journal of Linnean Society* 141: 399-436, 2003.

A.P.G. III. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of Linnean Society* 161: 105-121, 2009.

BARKLEY, F. A. Key to the sections of the Begoniaceae. *The Bup-tonian* 1(3): 1-7, 1972.

BARKLEY, F. A.; BARANOV, A. The section of the Begoniaceae. *The Bup-tonian* 1(1): 1-8, 1972.

BEAUCHAMP, P. S., DESCALZO, J. T. DEV, B. C., DEV, V, NGUYEN, C. V., MIDLAND, S. L., SIMS, J. J., THAM, F. S. *California lomatiums, part IV: composition of*

the essential oils of Lomatium rigidum (M. E. Jones) jepson. Structures of two new funebrene epimers and a tridecatriene. Journal of Essential Oil Research, 16, 571-578 (2004).

BRADE, A. C. Begônias novas do Brasil; *Arquivos do Serviço Florestal* 2(1): 21-24, 1943.

BRADE, A. C. Begoniaceae do Herbário do Museu Nacional do Rio de Janeiro. *Boletim do Museu Nacional do Rio de Janeiro, Botânica* 1: 1-16, 1944.

BRADE, A. C. Begônias novas do Brasil, III. *Rodriguésia* 9(18-19): 17-22, 1945a.

BRADE, A. C. Begônias novas do Brasil, IV. *Rodriguésia* 9(18-19): 23-33, 1945b.

BRADE, A. C. Begônias novas do Brasil, V. *Arquivos do Jardim Botânico do Rio de Janeiro* 8: 227-238, 1948.

BRADE, A. C. Begônias novas do Brasil, VI, Begônias novas do Estado do Espírito Santo. *Arquivos do Jardim Botânico do Rio de Janeiro* 10: 131-139, 1950. 233

BRADE, A. C. Begoniaceae novae ex Herbario Musei Bot. Stockolm. *Arquivos do Jardim Botânico do Rio de Janeiro* 12: 7-13, 1952.

BRADE, A. C. Begônias novas do Brasil, VII; *Arquivos do Jardim Botânico do Rio de Janeiro* 13: 71-91, 1954.

BRADE, A. C. Begônias novas do Brasil, VIII; *Arquivos do Jardim Botânico do Rio de Janeiro* 15: 31-39, 1957a.

BRADE A. C. Três espécies novas da Flora do Brasil colhidas por Moysés Kuhlmann. *Arquivos do Jardim Botânico do Estado de São Paulo* n. ser. 3(4): 209- 215, 1958a.

BRADE A. C. Begônias novas do Brasil, IX. Begônias novas do Estado de Santa Catarina. *Sellowia* 9:23-26, 1958b.

BRADE, A. C. O porte das Begonias Brasileiras e os ambientes onde ocorrem. *Arquivos do Jardim Botânico do Rio de Janeiro* 17: 51-55, 1961.

BRADE A. C. Uma espécie nova do gênero *Begonia* do Estado da Bahia e sinopse das espécies brasileiras publicadas nos anos de 1944 a 1958. *Bradea* 1(6): 37-44, 1971.

CHAMPAGNAT, P., FIGUEREDO, G., CHALCHAT, J. C. *A study on the composition of commercial Vetiveria zizanioides oils from different geographical origins.* Journal of Essential Oil Research (2006), 18, (4), 416-422.

CHASE, M. W.; SOLTIS, D. E.; OLMSTEAD, R. G.; MORGAN, D.; LES, D. H.; MISHLER, B. D.; DUVALL, M. R.; PRICE, R. A.; HILLS, H. G.; QIU, Y.-L.; KRON, K. A.; RETTIG, J. H.; CONTI, E.; PALMER, J. D.; MANHART, J. R.; SYTSMA, K. J.; MICHAELS, H. J.; KRESS, W. J.; KARO, K. G.; CLARK, W. D.; HEDREN, M.; GAUT, B. S.; JANSEN, R. K.; KIM, K.-J.; WIMPEE, C.; SMITH, J. F.; FURNIER, G. R.; STRAUSS, S. H.; XIANG, Q-Y.; PLUNKETT, G. M.; SOLTIS, P. S.; SWENSEN, S. M.; WILLIAMS, S. E.; GADEK, P. A.; QUINN, C. J.; EGUIARTE, L. E.; GOLEMBERG, E.; LEARN, G. H. Jr.; GRAHAM, S. W.; BARRET, S. C. H.; DAYANANDAM, S.; ALBERT, V. A. Phylogenetics of seed plants: an analysis of nucleotide sequences from the plastid gene *rbcl*. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 80(3): 528-577, 1993.

CLEMENT, W. L.; TEBBITT, M. C.; FORREST, L. L.; BLAIR, J. E.; BROUILLET, L.; ERIKSSON, T.; SWENSEN, S. M. Phylogenetic position and biogeography of *Hillebrandia sandwicensis* (Begoniaceae): a rare Hawaiian relict. *American Journal of Botany* 91: 905-917, 2004.

CONDE, E. C. S.; CRUZ, J. Z.; ACOSTA, O. C.; ARTIGAS, R. C. Evaluación espacial y temporal de la vegetación de la Sierra Madrigal, Tabasco, México (1973-2003). *Investigaciones geográficas*. 54, 2004.

COUTO dos SANTOS, A. V. *Padrões de habitats das espécies de Begonia (Begoniaceae) na Reserva Ecológica de Guapiaçu, Cachoeiras de Macacu, RJ, Brasil.* Monografia de Curso de Graduação em Engenharia Florestal. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Brasil. 2010.

CURTIS, W. e SIMS, J. ;*Curtis' Botanical Magazine or Flower Garden Displayed* .vol. VII. Londres: Edward Couchman, 1833.

DAHLGREN, R. M. T., CLIFFORD, H. T.; YOE, P. F. A revised system of classification of the angiosperm. *Botanical Journal of Linnaeus Society* 80: 91-124, 1980.

DE CANDOLLE, A. Mémoire sur la famille du Begoniacées. *Annales des Sciences Naturelles Botanique*, Sér. 4, 11: 93-149, 1859.

DE CANDOLLE, A. Begoniaceae. In C. F. P. Martius (ed.), *Flora Brasiliensis*. Typographia Regia. Monachii, v. 4(1): 337-396, est. 91-101, 1861.

DOORENBOS, J.; SOSEF, S. M.; DE WILDE, J. J. F. E. The sections of *Begonia*. Studies in Begoniaceae VI. *Wageningen Agricultural University Papers* 98-2: 1-266, 1998.

DRYANDER, J. Observations on the genus begonia. *Transactions of Linnean Society* 1: 155-173, 1791.

DUARTE, A. P. Considerações acerca do comportamento e dispersão de algumas espécies de Begônias do Estado da Guanabara. *Arquivos do Jardim Botânico do Rio de Janeiro* 17: 57-105, 1961.

FELICIANO, C. D. *Flora de Minas Gerais - Begoniaceae*. Dissertação de Mestrado. Instituto de Biociência da Universidade de São Paulo. Departamento de Botânica. 2009.

GAUDICHAUD-BEAUPRET, C. *Voyage autour du monde exécuté pendant les années 1836 et 1837 sur la corvette La Bonite commandée par Vaillant*. Histoire naturelle. Botanique (Arthus Bertrand, Paris, 1844-1846), 1851.

GOLDING; J.; WASSHAUSEN, D. C. *Begoniaceae, Edition 2, Part I: Annotated Species List, Part II: Illustrated Key, Abridgement and supplement*. Contributions from the United States National Herbarium 43:1-289, 2002.

GOODAL-COPESTAKE, W .P.; HARRIS, D. J.; HOLLINGSWORTH, P. M. The origin of a mega-diverse genus: dating *Begonia* (Begoniaceae) using alternative calibration and relaxed clock methods. *Botanical Journal of the Linnean Society* 159: 363-380, 2009.

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

IRMSCHER, E. Begoniaceae. In: Engler, A & Prantl., K. (eds.) *Die natürlichen Pflanzenfamilien* 2ed. V.21, 548-588 p, 1925.

JACQUES, E. L. Begoniaceae In: (Lima, M.P.M. & Guedes-Bruni, R. orgs). *Reserva Ecológica de Macaé de Cima, Nova Friburgo-RJ: Aspectos Florísticos das Espécies Vasculares*. Rio de Janeiro, Jardim Botânico do Rio de Janeiro, v.2: 93-103, 1996.

JACQUES, E. L. *Estudos taxômicos das espécies brasileiras do gênero Begonia L. (Begoniaceae) com placenta partida*. Tese de doutorado – Instituto de Biociência da Universidade de São Paulo. 2002.

JACQUES, E. L. *Begonia lunaris* E.L.Jacques (Begoniaceae), uma nova espécie para o Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Rodriguésia* 59(1): 259-263, 2008.

JACQUES, E.L. 2015 Begoniaceae in *Lista de Espécies da Flora do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB5562>. acessado em 03 mai. 2017

JOSHI, K. R. DEVKOTA, H. P., NAKAMURA, T. WATANABE, T. YAHARA, S. Chemical Constituents and their PPH Radical Scavenging Activity of Nepalese Crude Drug *Begonia picta* *Rec. Nat. Prod.* 9:3 446-450, 2015.

KIEW, R. *Begonias of Peninsular Malaysia*. Natural History Publications (Borneo) Sdn. Bhd. & Singapore Botanic Gardens. 2005, 308p.

KLOTZSCH, J. F. [sem título]. *Bericht über die zur Bekanntmachunggeeigneten Verhandlungen der Königl. Preuss. Akademie der Wissenschaften zu Berlin* 1854: 119-128, 1854.

KLOTZSCH, J. F. Begoniaceen – *Gattungen und Arten*. Berlin, Nicolaischen Buchhandlungen. 1855a, 135 p.

KLOTZSCH, J. F. Begoniaceen – Gattungen und Arten. *Abhandlungen der Königl. Akademie der Wissenschaften zu Berlin* pp. 121-255, 1855b.

KOLLMANN, L. J. C. *Diversidade, biogeografia e conservação das Begoniaceae do Estado do Espírito Santo, Brasil*. Dissertação de mestrado em Biodiversidade Tropical, São Mateus, UFES, 2012.

KOLLMANN, L. J. C. e PEIXOTO, A. L. Notas sobre a distribuição e registro de ampliação de áreas de ocorrência de quatro espécies de *Begonia* da floresta atlântica brasileira. *Rodriguésia*, vol.65 no.1 Rio de Janeiro Jan./Mar. 2014.

LINNAEUS, C. Begoniaceae. In: *Species plantarum*. V. 2, 1056. 1753.

MORTEZA-SEMNANI, K. I., SAEEDI, M., AKBARZADEH, M. *The essential oil composition of Clinopodium vulgare L.* Journal of Essential Oil Research, 21, 31-32, (2009).

MOTA, J. S., DAIANE, S. S., BOONE, C. V., CARDOSO, C. A. L., CARAMAO, E. B. *Identification of the Volatile Compounds of Leaf, Flower, Root and Stem Oils of Piper amalago (Piperaceae)*. Journal of Essential Oil-Bearing Plants, 16, 11-1 (2013).

MOTTRAM, R. Charles Plumier, the King's Botanist - his life and work. With a facsimile of the original cactus plates and text from *Botanicon Americanum* (1689-1697), *Bradleya*, 20/2002 p. 80.

NADINE, C. MAURICE, J. Acylated anthocyanins from flowers of *Begonia*, *Phytochemistry* 40, 275-277, 1995.

PEREIRA, E. Flora da cidade do Rio de Janeiro familia Begoniaceae Bonpl. *Rodriguésia*, 33/34: 203-227 il, 1959.

QUAMAR M.F. BERA, S.K. Ethno-medico-botanical studies of plant resources of Hoshangabad district, Madhya Pradesh, India: Retrospect and prospects, *J. Plant Sci. Res.* 1, 1-11, 2014.

RABELO, A. S., SERAFINI, M. R., RABELO, T. K., et al. *Chemical composition, antinociceptive, anti-inflammatory and redox properties in vitro of the essential oil from Remirea maritime Aubl. (Cyperaceae)*. BMC Bioinformatics, 15, 1-514 (2014).

- RAMESH, N. M.B. VISWANATHAN, A. SARASWATHY, K. BALAKRISHNA, P. BRINDHA, Phytochemical and antimicrobial studies of *Begonia malabarica*, *Journal Ethnopharmacol.* 79,129–132, 2002.
- ROJAS, C. B; CARDOZO L., A; HERNÁNDEZ Ch, L; LAPP, M; RODRÍGUEZ, H; RUIZ Z, T; TORRECILLA, P. *Botánica Sistemática: fundamentos para su estudio*. Maracay: Universidad Central de Venezuela, 2006.
- ROSE, P. *Histoire: De la découverte à la dédicace botanique*. Conservatoire du Begonia – Publication interne. <http://www.begonia.rochefort.fr/default.htm>. Acessado em 03 mai. 2017
- SILVA, S. J. G.; MAMEDE, M. C. H. Begoniaceae da Mata Atlântica da Serra do Mar do Estado de São Paulo, Brasil. *Boletim do Instituto de Botânica* 15: 1-61, 2001.
- SMITH, L. B., SCHUBERT, B. G. Revisión de las Especies Argentinas del Género Begonia. *Darwiniana*. T. 5, 78-117, 1941.
- SMITH, L. B.; SMITH, R. C. Begoniáceas. In: Reitz, R, ed. *Flora Illustrada Catarinensis*. Itajaí, Herbário Barbosa Rodrigues, BEGO: 1971, 128p.
- SMITH, L. B.; WASSHAUSEN, D. C.; GOLDING, J.; KAREGEANNES, C. E. Begoniaceae. Part I: Illustrated key. Part II: Annotated species list. *Smithsonian Contributions to Botany* 60: 1-584, 1986.
- SMITH, S. F.; WASSHAUSEN, D. C. New Taxa in *Begonia* (Begoniaceae) from Brazil. *Selbyana* 20(1): 16-29, 1999.
- STEUDEL, E. G. Von. *Nomenclator Botanicus* [...]. Editio secunda. Pars II. 1840-1841, 810p.
- SUJATHA, G., ZDRAVKOVIC-KORAC, S., CALIC, D., FLAMINI, G., RANJITHA KUMARI, B. D. *High-efficiency Agrobacterium rhizogenes-mediated genetic transformation in Artemisia vulgaris: Hairy root production and essential oil analysis*. *Industrial Crops and Products*, 44, 643-652 (2013).
- TEBBITT, M. *Begonias: cultivation, identification, and natural history*. Timber Press, Inc. Portland, Oregon, U.S.A. 2005, 272p.

VALENTE, L. M. M. Cucurbitacinas e suas principais características estruturais. *Química Nova*. 27, 944-948, 2004.

VAN DEN DOOL, H. ; KRATZ, P.D.J. *J. Chromatogr*, v. 11, p. 463, 1963.

VELLOZO, J. M. C. *Flora Fluminensis*. V. 10, t. 33-54, 1831.

WARBURG, O. Begoniaceae in: A.Engler & K. Prantl, eds. *Die natürlichen pflanzenfamilien*. Leipzig: Wilhelm Engelmann, v. 3, n.6a, pp. 121-150, 1894.

WATANABE, T. RAJBHANDARI, K. R. MALLA, K. J. DEVKOTAAND, H. P. YAHARA, S. (2013). A Handbook of Medicinal Plants of Nepal Supplementl. Ayurseed Life Environmental Institute, Kanagawa, pp. 38-39.

ZHANGAND, J. CHEN, Y. Studies on the chemical constituents of *Begonia evansiana* Andr. *Chin J. Chin. Mater. Med.* 22, 295-296, 1997.

ZUBAIR, M. S. ANAM, S., KHUMAIDI, A. SUSANTO, HIDAYAT, Y. RIDHAY, M. A. Molecular Docking Approach to Identify Potential Anticancer Compounds from *Begonia* (*Begonia sp*). *AIP Conference Proceedings* 1755, 2016.

VAN DEN DOOL, H. ; KRATZ, P.D.J. *J. Chromatogr*, v. 11, p. 463, 1963.