



Estudo Anatômico e Prospecção Fitoquímica de Folhas de *Eucalyptus benthamii* Maiden et Cabbage

Patrícia M. DÖLL-BOSCARDIN¹, Paulo V. FARAGO^{*2}, Tomoe NAKASHIMA¹,
Paulo E.T. dos SANTOS³ & Josiane de F.P. de PAULA²

¹ Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Paraná,
Av. Pref. Lothário Meissner, 632, Curitiba, Paraná, 80210-170, Brasil

² Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual de Ponta Grossa,
Av. Carlos Cavalcanti, 4748, Ponta Grossa, Paraná, 84030-900, Brasil

³ Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Florestas,
Estrada da Ribeira, km 111, Colombo, Paraná, Caixa Postal 319, 83411-000, Brasil

RESUMO. O óleo essencial das folhas de *Eucalyptus benthamii* Maiden et Cabbage, espécie de elevada resistência ao frio, contém α -pineno como constituinte majoritário. Este trabalho avaliou a anatomia foliar de *E. benthamii* e realizou um *screening* fitoquímico para investigar a presença de outros metabólitos secundários nas folhas desse táxon. A partir do material botânico fixado, foram conduzidas as análises anatômicas, utilizando os métodos usuais de microscopia fotônica e eletrônica. O *screening* fitoquímico foi desenvolvido por meio de reações específicas para triterpenos/esteróides, alcalóides, antraquinonas, cumarinas, flavonóides, saponinas e taninos. A anatomia foliar evidenciou estômatos anomocíticos em ambas as faces do limbo foliar, mesofilo heterogêneo simétrico isobilateral, nervura mediana plano-convexa e sistema vascular do tipo bicolateral em arco aberto. Também foram visualizados idioblastos contendo cristais de oxalato de cálcio, cavidades secretoras com conteúdo lipofílico e súber cicatricial. O estudo fitoquímico revelou a presença de triterpenos e/ou esteróides, glicosídeos flavônicos, glicosídeos saponínicos e taninos.

SUMMARY. "Anatomical Study and Phytochemical Screening of Leaves from *Eucalyptus benthamii* Maiden et Cabbage". *Eucalyptus benthamii* Maiden et Cabbage is a species with remarkable cold tolerance. Its essential oil showed α -pinene as the major constituent. The aim of this paper was to evaluate the anatomy of leaves from *E. benthamii*. Also a phytochemical screening of others secondary metabolites was investigated. The anatomical analyses of previously fixed leaves from *E. benthamii* were performed by the usual light and scanning microtechniques. Phytochemical study was carried out by qualitative reactions for triterpenes/steroids, alkaloids, anthraquinones, coumarins, flavonoids, saponins and tannins. Anomocytic stomata were observed on both surfaces of leaves from *E. benthamii*. Foliar blade showed a heterogeneous and symmetrical mesophyll as isobilateral arrange. The midrib showed plain-convex cross-section and was traversed by a bicollateral vascular bundle in open arc. Idioblasts with calcium oxalate prisms, secretory cavities with oil content and lenticel-like structures were also reported. The phytochemical screening revealed triterpenes/steroids, flavonoid glycosides, saponin glycosides and tannins.

INTRODUÇÃO

O gênero *Eucalyptus* L'Her. compreende mais de 600 espécies, sendo a maior parte endêmica do continente australiano¹. O cultivo comercial dessas espécies arbóreas tem ganhado importante destaque na economia do Brasil, em decorrência da multiplicidade de seus usos e da significativa área de florestas introduzidas no território nacional². As propriedades medicinais e aromáticas de espécimes de *Eucalyptus* estão, normalmente, associadas aos seus componentes

voláteis³. As substâncias majoritárias do óleo volátil desses taxa são os monoterpenos e os sesquiterpenos, sendo que esse grupo de princípios ativos está presente nas folhas, em pequenas cavidades secretoras, ou glândulas globulares⁴.

Diversas investigações têm sido conduzidas com representantes de *Eucalyptus*, visando à pesquisa de atividades biológicas e a avaliação do potencial medicinal. Nesse contexto, trabalhos envolvendo o uso do óleo essencial contra

PALAVRAS-CHAVE: Anatomia foliar, Estudo fitoquímico, *Eucalyptus benthamii*, Myrtaceae.

KEY WORDS: Anatomical study, *Eucalyptus benthamii*, Myrtaceae, Phytochemical screening.

* Autor a quem a correspondência deve ser enviada: E-mail: pvfarago@gmail.com

diferentes agentes biológicos, como bactérias, fungos, vírus, larvas e insetos, têm sido conduzidos⁵⁻⁸.

Eucalyptus benthamii Maiden et Cambage é uma das espécies mais empregadas para reflorestamentos no sul do Brasil, demonstrando crescimento acelerado e resistência elevada ao frio⁹. Entretanto, abordagens de caráter anatômico e investigações fitoquímicas são insuficientes e limitadas, a partir de *E. benthamii*. Em pesquisa realizada por Silva *et al.*¹⁰, foi verificada a presença do hidrocarboneto terpenico α -pineno, como constituinte majoritário do óleo essencial desse táxon. Esse terpeno tem sido relacionado à atividade antibacteriana¹¹ e inseticida, bem como ao uso industrial para obtenção da cânfora e produção de perfumes¹².

Considerando a restrição de informações científicas acerca dessa espécie de eucalipto, com potencial medicinal pelo teor elevado de α -pineno em seu óleo essencial, o objetivo do presente estudo foi avaliar a organização anatômica das folhas de *E. benthamii*. E, ainda, visou a realização de um *screening* fitoquímico para investigar os outros metabólitos secundários presentes no material foliar desse táxon.

MATERIAIS E MÉTODOS

Estudo botânico

As folhas de *E. benthamii* foram coletadas de espécimes localizados na Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa Florestas), no município de Colombo (latitude 25° 20' S, longitude 49° 14' W e altitude de 920 m), estado do Paraná, durante o outono (junho de 2008). A excisada foi depositada no Herbário da Universidade Federal do Paraná (UPCB 59440), após a determinação botânica pelo taxonomista O. A. Guimarães.

A fixação das folhas foi realizada com F.A.A. 70¹³, sendo posteriormente armazenadas em álcool etílico 70% (V/V). Para a preparação das lâminas permanentes, o material foi desidratado em série etanólica crescente e diafanizado em xilol. A infiltração foi feita em parafina¹³, em estufa a 60 °C. As secções transversais da porção central e mediana do limbo foliar e do pecíolo foram obtidas a partir dos blocos parafinados, em micrótomo de rotação Leica RM 2025, com 10 e 12 μ m de espessura. As secções foram hidratadas, distendidas nas lâminas e secas em mesa térmica a 40 °C. Para a coloração foi empregado o azul de toluidina 0,05%¹⁴ e azul de astra 0,5% mais fucsina básica 0,0125%^{15,16}. Como meio de montagem foi usado o bálsamo do

Canadá sintético. Para a montagem das lâminas semipermanentes, foi utilizado o método de Berlyn & Miksche¹⁷. Além de secções transversais da porção central e mediana do limbo foliar e do pecíolo, foram realizadas secções paradérmicas da face adaxial e da face abaxial das folhas. As secções foram feitas à mão livre com posterior coloração com azul de toluidina 0,05% e fucsina básica 0,0125 % mais azul de astra 1%¹⁸. Para a montagem das lâminas, foi utilizada a glicerina 50% (V/V) em água purificada, sendo a lutagem realizada com esmalte de unha incolor.

Os registros fotográficos foram obtidos por meio do Fotomicroscópio Olympus CX31, sendo que as escalas micrométricas foram fotografadas e ampliadas nas mesmas condições ópticas.

Para a análise ultra-estrutural das superfícies abaxial e adaxial da lâmina foliar, as amostras foram fixadas em F.A.A. 70 e desidratadas em série etanólica crescente¹⁹. Após a montagem em suporte metálico, os fragmentos da região mediana das folhas foram submetidos à metalização com ouro em aparelho Shimadzu IC-50. As eletromicrografias foram realizadas em microscópio eletrônico de varredura Shimadzu SSX-550 Superscan (15 kV). O registro das imagens ocorreu pela utilização do software específico.

Estudo fitoquímico

O extrato hidroalcoólico foi obtido por maceração²⁰, a partir de 40 g de folhas de *E. benthamii*, previamente dessecadas em temperatura ambiente, utilizando o álcool etílico 70% (V/V) como líquido extrator para compor o volume final de 200 mL. O extrato aquoso foi elaborado nas mesmas condições descritas, sendo que, neste caso, a água destilada foi empregada como solvente. De forma complementar, o extrato hidroalcoólico bruto foi concentrado a um terço do volume inicial, em evaporador rotatório Quimis Q344. Esse material foi submetido ao fracionamento, por extração sequencial com solventes de polaridade crescente: hexano, diclorometano e acetato de etila. As frações obtidas, inclusive a hidroalcoólica remanescente, foram avaliadas por meio da triagem fitoquímica.

O *screening* fitoquímico foi desenvolvido para as quatro frações provenientes do extrato hidroalcoólico bruto e também, para o extrato aquoso. Os grupos de metabólitos secundários foram avaliados por meio de reações específicas para triterpenos/esteróides, alcalóides, antraquinonas, cumarinas, flavonóides, saponinas e taninos, considerando os métodos clássicos da lite-

ratura ²¹⁻²⁵. A intensidade de cor e/ou o aparecimento de precipitado na realização das reações foram interpretados como respostas a esses ensaios qualitativos desenvolvidos.

RESULTADOS

Estudo botânico

As folhas de *E. benthamii* revelaram, em vista frontal, estômatos anomocíticos em ambas as faces, sem a presença de tricomas. Células epidérmicas com paredes anticlinais de formato poliédrico foram visualizadas por meio de secções paradérmicas da face adaxial e da face abaxial. Além disso, foram verificadas áreas circulares e concêntricas, escuras e salientes, constituídas por células suberosas (Fig. 1). Por MEV, a cutícula apresentou uma ornamentação característica, com aspecto ondulado e sinuoso (Figs. 2 e 3).

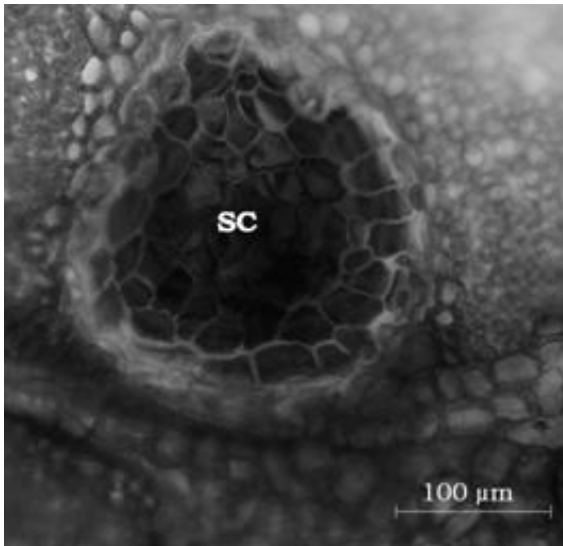


Figura 1. Secção paradérmica da folha de *E. benthamii* com destaque para o súber cicatricial (SC).

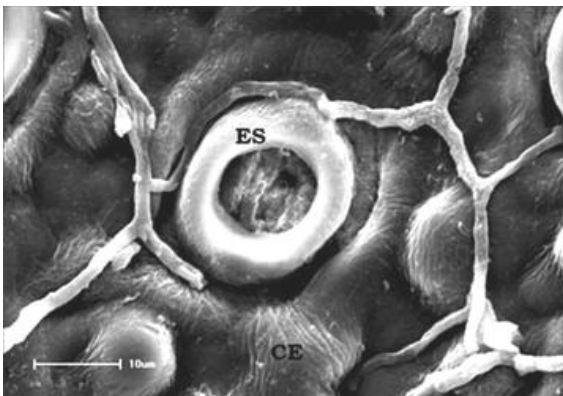


Figura 2. Eletromicrografia da superfície abaxial da folha de *E. benthamii* (MEV 1500 X), evidenciando cera epicuticular (CE) e estômato (ES).

A análise fotônica das secções transversais da lâmina foliar de *E. benthamii* permitiu constatar que os estômatos se localizavam no mesmo nível da epiderme. A presença de células epidérmicas uniestratificadas (Fig. 4), recobertas por uma cutícula lenticular, comparativamente mais delgada, foi visualizada em ambas as faces.

O mesofilo (Fig. 4) foi classificado como heterogêneo simétrico isobilateral, sendo composto por parênquima clorofiliano paliçádico e parênquima clorofiliano esponjoso. O parênquima clorofiliano paliçádico apresentou células dispostas de um a três estratos junto à face adaxial e à face abaxial. No parênquima clorofiliano esponjoso, foram observados de um a quatro estratos celulares. Distribuídos na região mediana do mesofilo, foram notados feixes vasculares colaterais, de médio e pequeno porte. Células idioblásticas, contendo cristais de oxalato de cálcio, foram verificadas nas proximidades desses feixes vasculares. Ainda no mesofilo, foram constatadas cavidades secretoras, com conteúdo de caráter lipofílico e/ou mucilaginoso, direcionadas a epiderme de forma indistinta. Junto à face adaxial foram evidenciadas células subero-

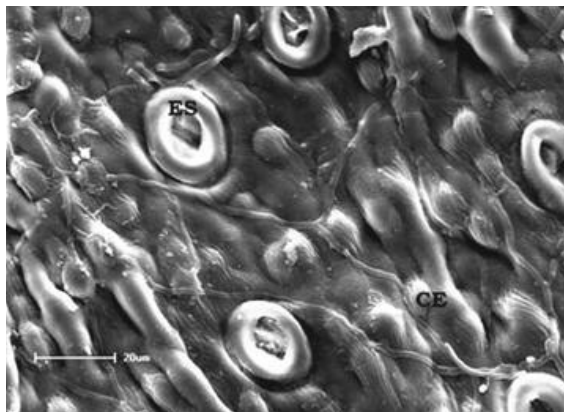


Figura 3. Eletromicrografia da superfície adaxial da folha de *E. benthamii* (MEV 700 X), mostrando cera epicuticular (CE) e estômato (ES).

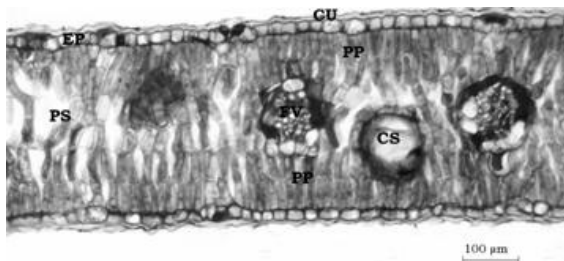


Figura 4. Secção transversal da folha de *E. benthamii*, expondo o aspecto geral do mesofilo, com destaque para cavidade secretora (CS), cutícula (CU), epiderme (EP), feixe vascular (FV), parênquima esponjoso (PS) e parênquima paliçádico (PP).

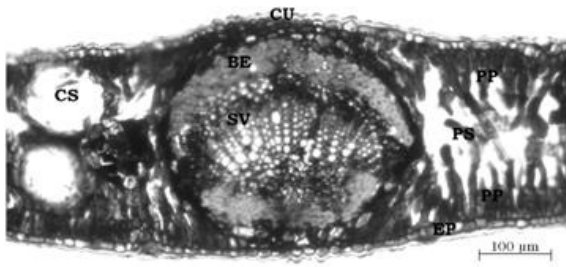


Figura 5. Secção transversal da nervura mediana da folha de *E. benthamii*, indicando bainha esclerenquimática (BE), cavidade secretora (CS), cutícula (CU), epiderme (EP), parênquima esponjoso (PS), parênquima paliçádico (PP) e sistema vascular (SV).

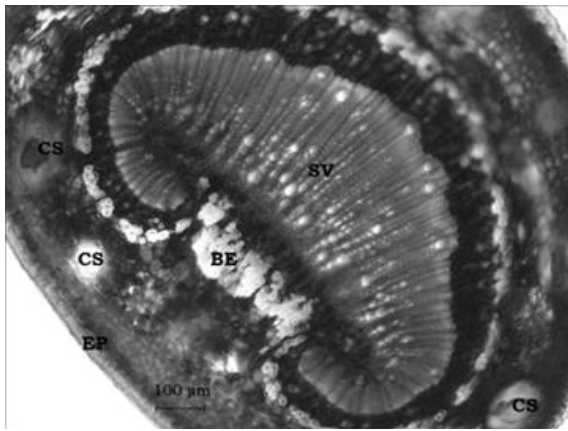


Figura 6. Secção transversal do pecíolo de *E. benthamii*, demonstrando bainha esclerenquimática (BE), cavidades secretoras (CS), epiderme (EP) e sistema vascular (SV).

sas, dispostas em camadas concêntricas e achatadas, compondo o súber cicatricial.

A nervura mediana (Fig. 5) demonstrou contorno plano-convexo. As células epidérmicas uniestratificadas foram guarnecidas por cutícula de aspecto lenticular e espessamento mais delgado que o das células epidérmicas. As regiões de colênquima e parênquima fundamental revelaram aspecto inconspícuo, sendo que as poucas células parenquimáticas mostraram a presença de cristais de oxalato de cálcio. A bainha apresentou aspecto bem pronunciado, sendo composta de três a cinco estratos de fibras esclerenquimáticas, circundando a região mediana de forma descontínua. O sistema vascular foi classificado como do tipo biclateral em arco aberto. Em algumas secções, foram notados feixes vasculares acessórios, do tipo colateral, com tendência a biclateralidade. O parênquima foi composto por células aproximadamente isodiamétricas, sendo que também foram verificados

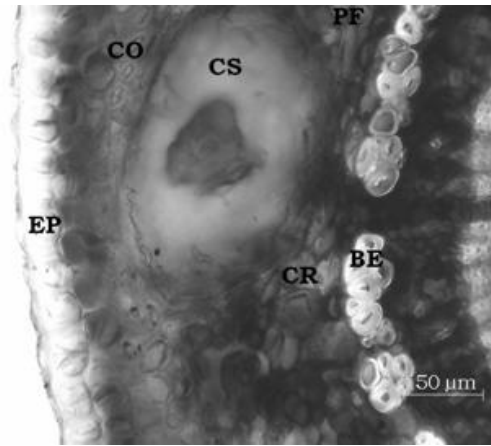


Figura 7. Secção transversal do pecíolo de *E. benthamii*, revelando bainha esclerenquimática (BE), cavidade secretora (CS), colênquima (CO), cristais de oxalato de cálcio (CR), epiderme (EP) e parênquima fundamental (PF).

nessa região idioblastos contendo cristais de oxalato de cálcio.

Em secção transversal, a região mediana do pecíolo (Fig. 6) apresentou a superfície adaxial convexa e a abaxial reta, assumindo um formato plano-convexo. A epiderme dessa região foi descrita como uniestratificada, com cutícula de características semelhantes às observadas nas outras regiões da lâmina foliar. Foram verificadas, subjacentemente à epiderme, uma a duas camadas de células idioblásticas descontínuas e de conteúdo mucilaginoso. Na sequência, foi possível constatar a presença de quatro a seis camadas de colênquima do tipo angular. A região de parênquima (Fig. 7), constituído por seis a oito camadas de células aproximadamente isodiamétricas, expôs também células contendo grânulos de amido e alguns idioblastos com cristais de oxalato de cálcio (Fig. 8). As cavidades secretoras, de características idênticas às evidenciadas no mesófilo, foram visualizadas próximas a epiderme, o que tornou restrita a área de colênquima e de parênquima cortical nessa região. Células idioblásticas contendo mucilagens foram reveladas na região de parênquima cortical. Ao redor do sistema vascular, foi observada uma bainha esclerenquimática composta por feixes de fibras congregadas de forma descontínua. O sistema vascular foi classificado como biclateral em arco aberto, sem a presença de parênquima medular. Algumas secções de pecíolo apresentaram dois feixes vasculares acessórios e de menor tamanho, imediatos ao feixe vascular central, e direcionados a região

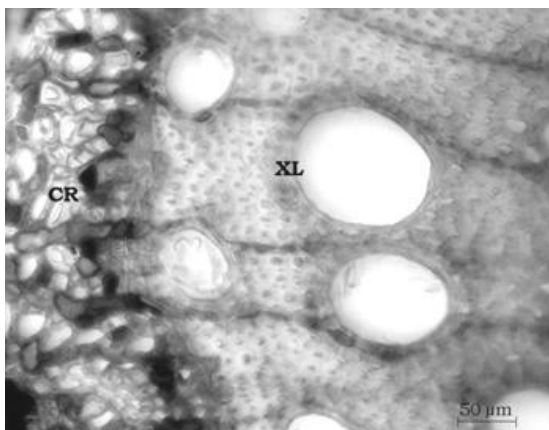


Figura 8. Secção transversal do pecíolo de *E. benthamii*, destacando cristais de oxalato de cálcio (CR) e xilema (XL).

proximal da folha. Não foram verificados canais secretores adjacentes ao sistema vascular.

Estudo fitoquímico

As frações apolares, submetidas à reação de Liebermann-Burchard para esteróides e/ou triterpenos²³, demonstraram resultado positivo, apresentando uma coloração rosada. Para a pesquisa de alcalóides, todas as frações do extrato hidroetanólico não indicaram a formação de precipitados característicos²⁴. A reação de Bornträger para glicosídeos antraquinônicos²⁴ não revelou a formação da coloração avermelhada que assinala a presença desse metabólito.

Para cumarinas, não foi observado o desenvolvimento de fluorescência na câmara de ultravioleta (365 nm)²⁵, a partir das frações estudadas. A presença de glicosídeos flavônicos foi determinada pelas reações características^{22,23}. A formação de espuma nas frações acetato de etila e hidroalcoólica indicou a presença de glicosídeos saponínicos²¹. Os ensaios qualitativos com cloridrato de emetina, gelatina, sais de ferro III, sulfato de ferro amoniacal, cianeto de potássio, ácido nítrico, dicromato de potássio e formol clorídrico²¹ comprovaram a presença de taninos nas folhas de *E. benthamii*.

DISCUSSÃO

Estudo botânico

Espécies ricas em óleos voláteis são abundantes entre as Magnoliopsida (dicotiledôneas de Angiospermae), como Asteraceae, Apiaceae, Lamiaceae, Lauraceae, Myrtaceae, Piperaceae e Rutaceae^{21,26}. Particularmente, os representantes do gênero *Eucalyptus*, bem como os demais gêneros da família Myrtaceae, apresentam folhas

com pontuações, em função da presença de glândulas oleíferas ou cavidades secretoras²⁷. Da mesma forma, a espécie *E. benthamii* apresentou quantidade considerável dessas cavidades secretoras, distribuídas sobretudo próximas a epiderme, o que restringiu as áreas de colênquima e parênquima fundamental localizadas no pecíolo e na nervura mediana. Johnson verificou a presença de elevado número de cavidades secretoras no *Eucalyptus globulus* Labill., as quais quase sempre apresentavam conteúdo oleífero²⁸. Para Metcalfe & Chalk²⁹, a presença de cavidades secretoras é uma característica típica da família Myrtaceae, sendo que essas são, geralmente, de origem esquizolisígena.

A morfologia da cera epicuticular é especialmente útil para o gênero *Eucalyptus*, permitindo a classificação desse gênero taxonomicamente complexo³⁰. A espécie *E. polyanthemus* Schauer apresenta, na maior parte de sua lâmina foliar, cera epicuticular na forma de placas ou escamas, no entanto, próximo a nervura principal foi verificada uma ornamentação do tipo tubular³⁰. De modo particular, na espécie *E. benthamii* foi demonstrado um aspecto ondulado e sinuoso nas duas faces, com a presença de finas estriações, quando da avaliação da cera epicuticular.

Os estômatos apresentados por *E. benthamii* foram classificados como anomocíticos, distribuídos em ambas as faces da lâmina foliar. A família Myrtaceae geralmente revela estômatos anomocíticos ou paracíticos, localizados tanto na face abaxial, quanto na face adaxial das folhas^{29,31}. Alves e colaboradores encontraram estômatos paracíticos na anatomia foliar da espécie *Eugenia uniflora* L.³², enquanto que para a espécie *Eugenia brasiliensis* Lam., foram visualizados estômatos do tipo anomocíticos³³. Dessa forma, o tipo de estômato encontrado em *E. benthamii* concorda com a maioria das espécies de Myrtaceae, para as quais foram evidenciados estômatos anomocíticos.

Segundo Metcalfe & Chalk²⁹, o mesofilo das Myrtaceae são frequentemente isobilaterais. Espécies de *Eucalyptus* e *Eugenia* L., que possuem folhas verticais e horizontais, podem algumas vezes exibir estrutura isobilateral no início, mas com tendência a se tornarem dorsiventrais no decorrer de seu desenvolvimento. A partir da análise da secção transversal da lâmina foliar da espécie *Psidium cattleianum* Sabine³⁴, Batista da Silva verificou um arranjo dorsiventral para o mesofilo. Em estudo da anatomia foliar de *Eugenia umbelliflora* O. Berg também foi verificada estrutura dorsiventral³⁵. Do mesmo modo, o

mesófilo da espécie *Eugenia dysenterica* DC. apresentou composição dorsiventral, sendo constituído por dois estratos de parênquima paliádico e sete estratos de parênquima esponjoso ³⁶. Com relação à organização anatômica do mesófilo de folhas adultas de *E. benthamii*, foi possível constatar um arranjo heterogêneo simétrico, do tipo isobilateral, diferentemente do encontrado em alguns estudos farmacognósticos para a família Myrtaceae.

Como característica típica para a espécie *E. benthamii*, foi observada a presença do súber cicatricial. Essa formação, que compõe a lâmina foliar, está presente em alguns taxa de *Eucalyptus*, sendo revelada como pequenas áreas escuras, salientes, formadas de células suberosas para evitar a perda de água e de outras substâncias voláteis, como ocorre para *Eucalyptus globulus* Labill. ^{37,38}. Dessa forma, esse detalhe morfoanatômico tem elevada importância e pode ser considerado um aspecto diferencial na diagnose de *E. benthamii* frente a outros exemplares de Myrtaceae.

Tuffi-Santos e colaboradores ³⁹, ao descreverem a anatomia foliar de sete espécies de *Eucalyptus*, verificaram feixes vasculares do tipo bicolateral na nervura mediana. Entretanto, a disposição vascular foi diferenciada para os taxa avaliados, sendo em arco aberto para *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden, *E. pellita* F. Muell., *E. pilularis* Sm. e *E. urophylla* S. T. Blake. *E. resinifera* Smith in J. White e *E. saligna* Sm. apresentaram o mesmo arranjo de vascularização em arco, porém com terminações invaginadas. Para a nervura mediana de *E. pyrocarpa* L.A.S. Johnson & Blaxell, os pesquisadores observaram sistema vascular do tipo sifonostélico. Nessa mesma pesquisa, também foram evidenciados cristais e drusas próximos a região de feixes vasculares para as sete espécies investigadas. A secção transversal de *E. benthamii* demonstrou sistema vascular em arco aberto com feixes do tipo bicolaterais, características que concordam com os dados encontrados para alguns taxa de *Eucalyptus*. A região de nervura mediana das folhas de *E. benthamii* também revelou cristais de oxalato de cálcio nas regiões de parênquima, sendo que no estudo realizado por Tuffi-Santos e colaboradores ³⁹, a presença de cristais na área de vascularização foi uma característica comum àquelas espécies estudadas.

De acordo com Cronquist ⁴⁰ e Metcalfe & Chalk ²⁹, o pecíolo das Myrtaceae apresenta sistema vascular bicolateral. Na pesquisa farmacognóstica de *E. dysenterica* foi evidenciado que o

pecíolo está caracterizado por um feixe vascular bicolateral aberto e arqueado, sendo o arco com extremidades dirigidas para o centro ³⁶. Medeiros igualmente observou feixes vasculares bicolaterais no pecíolo da espécie *E. umbeliflora* ³⁵. Paula e colaboradores ⁴¹ constataram que os feixes vasculares no pecíolo de *Pimenta pseudocaryophyllus* (Gomes) Landrum estão organizados na forma de arco, do tipo bicolateral. O arranjo vascular verificado no táxon desse estudo é do tipo bicolateral em arco aberto e sem a presença de parênquima medular, corroborando com as evidências encontradas na literatura para o pecíolo de espécies de Myrtaceae.

Estudo fitoquímico

No presente estudo, a presença de substâncias esteroidais e/ou triterpenóides foi confirmada nas folhas de *E. benthamii*, por meio da reação de Liebermann-Burchard. Esses resultados estão de acordo com os relatos da literatura, nos quais é possível verificar que os esteróides, particularmente o estigmasterol e o δ -sitosterol, são largamente difundidos no reino vegetal ⁴². Balacs, da mesma forma, afirmou que um dos principais constituintes químicos do grupo *Eucalyptus* são os esteróides e/ou triterpenos ⁴³. Além disso, a investigação dos constituintes fitoquímicos, a partir das folhas de *E. camaldulensis* var. *obtusata* Blakely, permitiu o isolamento e a caracterização de um triterpenóide pentacíclico ⁴⁴, o que corrobora com o resultado obtido.

Os alcalóides, assim como os terpenóides, são um grupo de metabólitos com grande heterogeneidade estrutural. São compostos nitrogenados e de extenso potencial farmacológico. A ocorrência dos alcalóides é verificada predominantemente nas Solanaceae, Papaveraceae, Rubiaceae e Apocynaceae ⁴⁵. Franco, ao estudar a espécie *E. cinerea*, verificou a ausência de alcalóides a partir de análises fitoquímicas preliminares ⁴⁶. As frações do extrato hidroalcoólico de *E. benthamii* submetidas à pesquisa de alcalóides apresentaram resultado negativo para todos os reativos empregados, confirmando a ausência desse metabólito em *E. benthamii*.

Os ensaios para identificar a presença de cumarinas e glicosídeos antraquinônicos nas folhas de *E. benthamii* também demonstraram resultados negativos. As antraquinonas são especialmente observadas nas famílias Rhamnaceae, Polygonaceae, Liliaceae, Verbenaceae, Rubiaceae, Asphodelaceae e Caesalpiniaceae ²¹. As cumarinas são geralmente encontradas nas famílias Apiaceae, Rutaceae, Asteraceae, Fabaceae, Olea-

ceae, Moraceae e Thymeleaceae²¹. Dessa forma, os resultados nulos evidenciados nas provas para constatar a existência de cumarinas e de glicosídeos antraquinônicos são condizentes com a literatura.

Os taninos são constituintes fenólicos que usualmente formam complexos insolúveis em água com alcalóides, gelatina e outras proteínas²¹. Espécies florestais do gênero *Eucalyptus* estão entre as mais empregadas para produção de taninos. *E. astringens* Maiden, *E. wandoo* Blakeley e *E. grandis* W. Hill ex Maiden são alguns dos taxa utilizados para a obtenção desse grupo metabólico^{47,48}. Vital e colaboradores evidenciaram a potencialidade da utilização dos taninos das cascas de *E. grandis* e *E. pellita* na confecção de adesivos para uso em chapas de composição para aplicação em interiores⁴⁹. De acordo com Costa, é comum encontrar taninos, além de glicosídeos flavônicos nos representantes do gênero *Eucalyptus*⁵⁰. Santos & Waterman isolaram taninos hidrolisáveis a partir das folhas de *E. consideniana* Maiden e *E. viminalis* Labill., bem como glicosídeos flavônicos a partir da espécie *E. consideniana*⁵¹. Esses mesmos autores obtiveram, a partir das folhas de *E. ovata* Labill., o isolamento de outros 13 polifenóis, dentre os quais quatro flavonóis e nove taninos⁵². Os ensaios investigativos para taninos e glicosídeos flavônicos revelaram a formação de complexos insolúveis, a presença de precipitados característicos ou o aparecimento de colorações específicas, determinando positividade para esses metabólitos, quando da avaliação dos extratos aquoso e hidroalcoólico das folhas adultas de *E. benthamii*. Esses resultados concordam com as evidências relatadas em estudos anteriores para esse gênero.

A formação de espuma persistente no extrato hidroalcoólico de *E. benthamii* caracterizou a presença de glicosídeos saponínicos. A principal característica das saponinas é apresentar atividade tensoativa, isto é, esses compostos são capazes de formar soluções espumantes persistentes e abundantes quando em solução aquosa. As propriedades biológicas das saponinas são determinadas pelo seu comportamento anfifílico e pela habilidade em formar complexos com esteróides, proteínas e fosfolipídeos de membrana²¹. Fabrowski, ao estudar a espécie *Eucalyptus smithii* R.T. Baker, constatou a presença de esteróides e/ou triterpenos, taninos e glicosídeos saponínicos e flavônicos⁵³.

Ponderando as informações relatadas nos trabalhos prévios, é possível afirmar que os re-

sultados obtidos por meio do *screening* fitoquímico para as frações procedentes do extrato hidroalcoólico e também, para o extrato aquoso proveniente das folhas de *E. benthamii* está em conformidade com os metabólitos secundários evidenciados no gênero *Eucalyptus*.

CONCLUSÕES

Considerando os resultados apresentados, a avaliação das características anatômicas e a investigação dos grupos de metabólitos secundários verificados nas folhas de *E. benthamii* são elementos científicos de relevância para o controle farmacognóstico da espécie.

Agradecimentos. Os autores agradecem ao Centro Nacional de Pesquisa de Florestas (CNPQ) da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), pelo material botânico cedido para a realização deste estudo, e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

1. Brooker, M.I.H. & D.A. Kleinig (2006) "*Field Guide to Eucalyptus*", 3rd edition, Bloomings, Melbourne.
2. Costa, E.M. (1996) A madeira do eucalipto na indústria moveleira. Anais do IV SEMADER, Curitiba.
3. Brophy, J.J. & I.A. Southwell (2002) "*Eucalyptus chemistry*", in "*Eucalyptus: The Genus Eucalyptus*", (J.J.W. Cooper, ed.) Taylor & Francis, London, pp. 102-60.
4. Doran, J.C. (1991) "*Commercial sources, uses, formation, and biology*", in "*Eucalyptus leaf oils: use, chemistry, distillation and marketing*", (D.J. Boland, J.J. Brophy, A.P.N. House, eds.) Inkata, Melbourne, pp. 11-28.
5. Alitonou, G., F. Avlessi, V.D. Wotto, E. Ahoussi, J. Dangou & D.C.K. Sohounhouloué (2004) *C.R. Chimie* **7**: 1051-5.
6. Schinizler, P., K. Schon & J. Reichling (2001) *Pharmazie* **56**: 343-7.
7. Cheng, S.S., C.G. Huang, Y.J. Chen, J.J. Yu, W.J. Chen & S.T. Chang (2009) *Bioresource Technol.* **100**: 452-6.
8. Toloza, A.C., J. Zygadlo, G.M. Cueto, F. Biurrun, E. Zerba & M.I. Picollo (2006) *J. Med. Entomol.* **43**: 889-95.
9. Graça, M.E.C., J.Y. Shimizu & F.R. Tavares (1999) *Bol. Pesq. Fl.* **39**: 135-8.
10. Silva, P.H.M., J.O. Brito & F.G. Silva Junior (2006) *Sci. Agric.* **63**: 85-9.
11. Leite, A.M., E.O. Lima, E.L. Souza, M.F.F.M. Diniz, V.N. Trajano & I.A. Medeiros (2007) *Rev. Bras. Cienc. Farm.* **43**: 121-6.
12. Merck & Co. (2001) "*The Merck Index*", 13th

- ed., Merck & Co., Rahway, on CD-ROM Version.
13. Johansen, D.A. (1940) "*Plant microtechnique*", McGraw Hill Book, New York.
 14. Sakai, W.S. (1973) *Stain Technol.* **48**: 247-9.
 15. Luque, R., H.C. Sousa & J.E. Kraus (1996) *Acta Bot. Bras.* **10**: 199-211.
 16. Roeser, K.R. (1972) *Mikrokosmos* **61**: 33-6.
 17. Berlyn, G.P. & J.P. Miksche (1976) "*Botanical microtechnique and cytochemistry*", Iowa State University, Ames.
 18. Farago, P.V., I.J.M. Takeda, J.M. Budel & M.R. Duarte (2004) *Acta Farm. Bonaerense* **23**: 323-7.
 19. Budel, J.M., P.V. Farago, M.D.R. Duarte & I.J.M. Takeda (2007) *Rev. Bras. Farmacogn.* **17**: 39-43.
 20. Farmacopeia dos Estados Unidos do Brasil (1959) 2ª. ed., Gráfica Siqueira, São Paulo, pp. 448-9.
 21. Simões, C.M.O., E.P. Schenkel, G. Grosmann, J.C.P. Mello, L.A. Mentz & P.R. Petrovick (eds.) (2004) "*Farmacognosia: da planta ao medicamento*", 5 ed., UFSC/UFRGS, Florianópolis/Porto Alegre.
 22. Moreira, E.A. (1979) *Tribuna Farmacêutica* **47**: 3-19.
 23. Farnsworth, N.R. (1966) *J. Pharm. Sci.* **55**: 225-76.
 24. Evans, W.C. (1989) "*Farmacognosia Trease y Evans*", Interamericana McGraw-Hill, México.
 25. Harborne, J.B. (1998) "*Phytochemical methods: A guide to modern techniques of plant analysis*", 3rd edition, Chapman & Hall Pub. London.
 26. De Paula, J.P., P.V. Farago, J.L.C. Ribas, G.M.S. Spinardi, P.M. Döll, R.F. Artoni & S.F. Zawadzki (2007) *Lat. Am. J. Pharm.* **26**: 846-51.
 27. Jolly, B. (1998) "*Botânica: Introdução à taxonomia vegetal*", Companhia Editora Nacional, São Paulo, 12ª ed.
 28. Johnson, E.D. (1926) *New Phytol.* **25**: 202-12.
 29. Metcalfe, C.R. & L. Chalk (1950) "*Anatomy of the dicotyledons*". Clarendon Press, Oxford, Vol. 2.
 30. Wilkinson, H.P. (1979) "*The plant surface (Mainly Leaf) Part VII: Epicuticular wax and its morphology*", in "Anatomy of the dicotyledons: leaves, stem and woods in relation to taxonomy with notes on economic uses" (Metcalfe, C.R. & L. Chalk) Clarendon Press, Oxford, pp. 158-61.
 31. Solereder, H. (1908) "*Systematic anatomy of the dicotyledons: a handbook for laboratories of pure and applied botany*", Clarendon Press, Oxford, Vol. 2.
 32. Alves, E.S., F. Tresmondi & E.L. Longui, (2008) *Acta Bot. Bras.* **22**: 241-8.
 33. Donato, A.M. & B.L. Morretes (2007) *Rev. Bras. Farmacogn.* **17**: 426-43.
 34. Baptista da Silva, L.D.S.A. (2002) "*Anatomia foliar e taxa de herbivoria em Psidium cattleianum Sab. (Myrtaceae)*", Dissertação, Mestrado em Biologia Vegetal, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 95 p.
 35. Medeiros, J.D. (2000) *Biotemas* **13**: 7-20.
 36. Palhares, D. (2003) *Lecta* **21**: 29-36.
 37. Farmacopeia dos Estados Unidos do Brasil (1996) 4. ed., Atheneu, São Paulo, pp. 27.1-2.
 38. Oliveira, F., G. Akisue & M.K. Akisue (1998) "*Farmacognosia*", Atheneu, São Paulo.
 39. Tuffi-Santos, L.D., M. Thadeo, L. Iarema, R.M.S.A. Meira & F.A. Ferreira (2008) *R. Árvore* **32**: 769-79.
 40. Cronquist, A. (1981) "*An integrated system of classification of flowering plants*", Columbia University Press, New York, Vol. 1.
 41. Paula, J.A.M., J.R. Paula, M.T.F. Bara, M.H. Rezende & H.D. Ferreira (2008) *Rev. Bras. Farmacogn.* **18**: 265-78.
 42. Conforti, F., S. Sosa, M. Marrelli, F. Menichini, G.A. Statti, D. Uzunov, A. Tubaro, F. Menichini & R.D. Loggia (2008) *J. Ethnopharmacol.* **116**: 144-51.
 43. Balacs, T. (1997) *Inter. J. Aromatherapy* **8**: 15-21.
 44. Siddiqui, B.S., I. Sultana & S. Begum (2000) *Phytochemistry* **54**: 861-5.
 45. Kuklinski, C. (2000) "*Farmacognosia: estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural*", Ediciones Omega, Barcelona.
 46. Franco, J. (2005) "*Prospecção fitoquímica e análise química e microbiológica do óleo essencial de Eucalyptus cinerea F. Muell ex. Benth., Myrtaceae*", Dissertação, Mestrado em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 71 p.
 47. Haslam, E. (1966) "*Chemistry of vegetable tannins*", Academic Press, New York.
 48. Mori, F.A. (2000) "*Caracterização parcial dos taninos da casca e dos adesivos de três espécies de E. grandis*", Tese, Doutorado em Ciência Florestal, Universidade Federal de Viçosa, Brasil.
 49. Vital, B.R., A.C.O. Carneiro, A.S. Pimenta & R.M.D. Lucia (2004) *R. Árvore* **28**: 571-82.
 50. Costa, A.F. (1986) "*Farmacognosia*". 4ª ed., Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa, Vol. 1.
 51. Santos, S.C. & P.G. Waterman (2001) *Fitoterapia* **72**: 95-7.
 52. Santos, S.C. & P.G. Waterman (2001) *Fitoterapia* **72**: 316-8.
 53. Fabrowski, F.J. (2002) "*Caracterização de Eucalyptus smithii R. T. Baker (Myrtaceae) como espécie produtora de óleo essencial em Colombo-PR*", Tese, Doutorado em Engenharia Florestal, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.