

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

Sabrina Bassaldua da Cunha

**INVESTIGAÇÃO DE COMPONENTES QUÍMICOS DA CASCA DO
CAULE DE *Luehea divaricata* MARTIUS – (MALVACEAE) E SUAS
POTENCIAIS ATIVIDADES BIOLÓGICAS**

**Santa Maria, RS, Brasil
2016**

Sabrina Bassaldua da Cunha

**INVESTIGAÇÃO DE COMPONENTES QUÍMICOS DA CASCA DO
CAULE DE *Luehea divaricata* MARTIUS – (MALVACEAE) E SUAS
POTENCIAIS ATIVIDADES BIOLÓGICAS**

Dissertação apresentada ao Curso de mestrado do programa de Pós-Graduação em Química do Centro de Ciências Naturais e Exatas, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Química**.

Orientador: Prof. Dr. Ademir Farias Morel

**Santa Maria, RS, Brasil
2016**

Ficha catalográfica elaborada através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Central da UFSM, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Bassaldua da Cunha, Sabrina

Investigação de Componentes Químicos da Casca do Caule de *Luehea divaricata* Martius- (Malvaceae) e suas Potenciais Atividades Biológicas / Sabrina Bassaldua da Cunha.- 2016.

161 p.; 30 cm

Orientadora: Ademir Farias Morel

Coorientadores: Ionara Irion Dalcol, Marco Aurélio Mostardeiro, Denise Russowski

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Programa de Pós-Graduação em Química, RS, 2016

1. Catequina 2. Triterpeno 3. Esteróide 4. Antioxidante 5. Antimicrobiano I. Farias Morel, Ademir II. Irion Dalcol, Ionara III. Mostardeiro, Marco Aurélio IV. Russowski, Denise V. Título.

Sabrina Bassaldua da Cunha

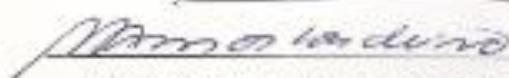
**INVESTIGAÇÃO DE COMPONENTES QUÍMICOS DA CASCA DO
CAULE DE *Luehea divaricata* MARTIUS –(MALVACEAE) E SUAS
POTENCIAIS ATIVIDADES BIOLÓGICAS**

Dissertação apresentada ao Curso de mestrado do
programa de Pós-Graduação em Química do
Centro de Ciências Naturais e Exatas, da
Universidade Federal de Santa Maria
(UFSM,RS), como requisito parcial para
obtenção do grau de **Mestre em Química**.

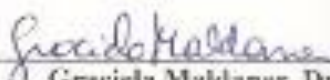
Aprovada em 24 de Junho de 2016:



Ademir Farias Morel, Dr. (UFSM)
(Presidente/Orientador)



Marco Aurélio Mustardeiro, Dr. (UFSM)



Graciela Maldaner, Dra. (URCAMP)

Santa Maria, RS
2016

GRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida e a oportunidade de alcançar os objetivos.

Ao Prof. Dr. Ademir Farias Morel, meu agradecimento pela orientação, amizade e essencial contribuição na minha formação. Minha sincera gratidão!

Aos meus pais, Mirta e Roberto pelo amor incondicional e por acreditarem em mim ao longo desta etapa. Meu eterno reconhecimento e admiração.

Ao meu irmão, Luís Roberto pelo carinho e paciência.

Aos meus avós, Adyr e Luiz Felipe (in memoriam) que me passaram todos os ensinamentos para tornar a pessoa que sou.

Em especial, ao Mateus e a Gabi que sempre colaboraram comigo, desde o incentivo com palavras encorajadoras demonstrando quererem o meu bem e me valorizando como pessoa. Obrigada pelo carinho e amizade.

As minhas grandes amigas de faculdade Caroline e Márcia, que mesmo longe, sempre me apoiaram e incentivaram nos momentos difíceis.

Aos colegas de laboratório, em especial Adri, Eveline e Fred pela ajuda e colaboração com o meu trabalho.

A Luciana Tavares pela receptividade, carinho e pelos ensinamentos.

A Denise Russowski pela paciência e amizade, conversas trocadas, pelos sinceros sentimentos.

Aos demais colegas do NPPN: Adriano, Lizi, Dani, Tanize, Janice e Leonardo, obrigada pela colaboração, respeito e contribuições de vocês.

A Professora Dr^a Ionara Irion Dalcol pela importante colaboração no exame de qualificação.

Ao Dr. Ubiratan Flores da Silva pela ajuda no decorrer deste trabalho.

Ao programa de pós-graduação em Química pela oportunidade.

A coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível superior (CAPES) pelo apoio financeiro.

Aos funcionários Ademir e Valéria que colaboraram para a realização desse trabalho.

Aos professores Dra. Graciela Maldaner e Dr. Marco A. Mostardeiro, por fazerem parte da minha banca de defesa.

Aos demais que de alguma forma contribuíram para a realização desse trabalho.

INVESTIGAÇÃO DE COMPONENTES QUÍMICOS DA CASCA DO CAULE DE *Luehea divaricata* MARTIUS (MALVACEAE) E SUAS POTENCIAIS ATIVIDADES BIOLÓGICAS

AUTORA: Sabrina Bassaldua da Cunha
ORIENTADOR: Ademir Farias Morel

Luehea divaricata, conhecida como açoita-cavalo, é uma espécie nativa brasileira e com poucos relatos na literatura. A investigação fitoquímica do extrato bruto metanólico e de suas frações (etérea ácida, etérea básica, acetato de etila básica, diclorometano neutra, acetato de etila neutra e hexânica neutra) das cascas do caule de *L. divaricata* (Malvaceae) resultou no isolamento de sete compostos: Ftalato de bis (2-etil-heptila) (**26**), triterpeno friedelina (**28**), mistura triterpênica de α - (**27**) e β -amirina (**1**), dois esteroides β -sitosterol (**29**) e β -sisotsterol glicosilado (**14**), além de dois flavonoides conhecidos como Catequina (**22**) e epicatequina (**8**), estes sendo diastereoisômeros, respectivamente. O composto friedelina (**28**) isolado da fração etérea ácida, foi identificado pela primeira vez no gênero *Luehea*. As estruturas dos metabólitos isolados foram elucidadas através de RMN ^1H e ^{13}C , uni e bidimensionais, por análise de difração de raio-X, ponto de fusão além de comparação com amostra padrão quando existente e dados disponíveis na literatura. O extrato, as frações e os compostos isolados foram testados quanto à sua atividade antimicrobiana e a sua capacidade antioxidante. Extrato bruto metanólico, suas frações e compostos isolados obtidos no fracionamento ácido-base apresentaram atividade antibacteriana (Gram-positivas e Gram-negativas) e antifúngica efetivas, para as cepas testadas. As frações acetato de etila básico e acetato de etila neutro quando testadas frente a sua capacidade antioxidante apresentaram um bom potencial. Dessa forma, o estudo fitoquímico e das atividades farmacológicas dos compostos identificados da casca do caule de *L. divaricata* amplia os conhecimentos alusivos à quimiotaxonomia, bem como justifica seu uso na etnofarmacologia pois, até o momento, apenas estudos com outras partes aéreas foram realizados.

Palavras chave: catequina, triterpeno, esteroide, antioxidante, antimicrobiano

INVESTIGATION OF CHEMICAL COMPONENTS FROM STEM BARK OF *Luehea divaricata* MARTIUS (MALVACEAE) AND ITS POTENTIAL BIOLOGICAL ACTIVITIES

AUTHOR: Sabrina Bassaldua da Cunha
ADVISOR: Ademir Farias Morel

Luehea divaricata, known as “açoita-cavalo”, is a Brazilian native species and has few reported in the literature. Phytochemical investigation of the methanolic crude extract and its fractions (acid ethereal, basic ethereal, basic ethyl acetate, neutral dichloromethane, neutral ethyl acetate and neutral hexane) from stem bark of *L. divaricata* (Malvaceae) resulted in the isolation of seven compounds: bis (2-ethyl-heptyl) ftalate (26), one triterpene friedelin (28), mixture of the terpenes α - (27) and β -amyrin (1), two steroids β -sitosterol (29) and glycosyl β -sisotsterol (14), and two flavonoids known as catechin (22) and epicatechin (8), which are diastereoisomers, respectively. The compound friedelin (28), isolated from ethereal acid fraction, was identified for first time in genus *Luehea*. The structures of the isolated metabolites were elucidated by ^1H and ^{13}C NMR in one- and two-dimensional analysis, by X-ray diffraction, melting point, beyond comparison with standard samples where possible and data available from literature. The extract, fractions and isolated compounds were tested for their antimicrobial activity and antioxidant capacity. Crude methanolic extract, fractions and isolated compounds from acid-base fractionation showed effective antibacterial (Gram-positive and Gram-negative) and antifungal activities for the strains tested. Basic and neutral ethyl acetate fractions showed good antioxidant potential when tested against their capacity. Thus, the study of phytochemical and pharmacological activities of the identified compounds from stem bark of *L. divaricata* expands knowledge alluding to chemotaxonomy and justifies its use in ethnopharmacology because, to date, only studies with other aerial parts were performed.

Kay-words: catechins, triterpene, steroid, antioxidant, antimicrobial.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Alguns medicamentos derivados de produtos naturais inseridos no mercado entre 1981 e 2010.....	16
Tabela 2- Atividades farmacológicas possivelmente atribuídas aos compostos fenólicos.....	29
Tabela 3- Subfrações obtidas através de CC da fração etérea ácida (FEA) proveniente do extrato bruto metanólico (EBM).....	64
Tabela 4- Frações obtidas da subfração V, através de CC acompanhada de CCD da fração etérea ácida (FEA) proveniente do extrato bruto metanólico (EBM).....	65
Tabela 5- Frações obtidas da subfração VI, oriunda da fração etérea ácida - separação por CC acompanhada de CCD.....	65
Tabela 6- Frações obtidas da subfração VII, oriunda da fração etérea ácida - separação por CC acompanhada de CC.....	66
Tabela 7- Separação em CC da fração AcOEt básica (FAB) proveniente do extrato bruto metanólico.....	67
Tabela 8- Separação em CC da fração hexânica obtida do extrato bruto metanólico.....	68
Tabela 9- Separação em coluna cromatográfica da fração diclorometano neutra.....	69
Tabela 10- Separação em coluna cromatográfica da fração acetato de etila neutra...	70
Tabela 11- Micro-organismos indicadores utilizados na atividade antimicrobiana...	76
Tabela 12- Rendimento das frações ácidas e básicas da <i>Luehea divaricata</i>	79
Tabela 13- Rendimento das frações neutras da <i>Luehea divaricata</i>	79
Tabela 14- Rendimento das frações neutras da <i>Luehea divaricata</i>	85
Tabela 15- Dados de RMN de ¹ H (400 MHz) e ¹³ C (100 MHz) da friedelina (28) em CDCl ₃	94
Tabela 16- Dados de RMN de ¹ H (400 MHz) e ¹³ C (100 MHz) da catequina e epicatequina em CD ₃ OH.....	104
Tabela 17- Dados de atividade antioxidante das frações do (fracionamento 1 e 2) em µg/mL.....	110
Tabela 18- CIM 20 e CLM frente a bactérias (µg/mL) do extrato e frações do Fracionamento 1.....	113
Tabela 19- CIM 50 e CLM frente a bactérias (µg/mL) do extrato e frações do Fracionamento 1.....	114
Tabela 20- CIM 20 e CLM frente a bactérias (µg/ml) do fracionamento 2.....	116
Tabela 21- CIM 50 e CLM frente a bactérias (µg/mL) do fracionamento 2.....	117
Tabela 22- CIM 20 CIM/CLM frente a bactérias (µg/ml) dos compostos isolados...	120
Tabela 23- CIM 50/CLM frente a bactérias (µg/ml) dos compostos isolados.....	121
Tabela 24- CIM 20 e CLM frente a fungos (µg/mL) do extrato e frações do Fracionamento 1.....	122
Tabela 25- CIM 50 e CLM frente a fungos µg/mL do extrato e frações do Fracionamento 1.....	125
Tabela 26- CIM 20 e CLM frente a fungos (µg/ml) do fracionamento 2.....	124
Tabela 27- CIM 50/CLM frente a fungos (µg/ml) do fracionamento 2.....	124
Tabela 28- CIM 20 e CLM frente aos fungos (µg/ml) dos compostos isolados.....	125
Tabela 29- CIM 50 e CLM frente aos fungos (µg/ml) dos compostos isolados.....	125

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Aspecto geral de <i>Luehea divaricata</i>	19
Figura 2- Ácidos graxos marcadores na quimiotaxonomia da família Malvaceae.....	38
Figura 3- Estrutura química dos atropoisômeros do Gossipol.....	42
Figura 4- Estrutura molecular geral dos fitoesteróis.....	52
Figura 5- Estruturas químicas dos principais núcleos de compostos pertencentes à classe dos flavonoides.....	53
Figura 6- Esqueleto básico de um flavonoide.....	54
Figura 7- Espectro de RMN ¹ H do Ftalato de bis 2-etil-heptila (26) em CDCl ₃ a 400 MHz.....	80
Figura 8- Espectro de RMN ¹³ C do Ftalato de bis 2-etil-heptila (26) em CDCl ₃ a 100 MHz.....	81
Figura 9- Estrutura química da molécula do Ftalato de bis 2-etil-heptila.....	82
Figura 10- Espectro de RMN 2D COSY do Ftalato de bis 2-etil-heptila (26) em CDCl ₃ a 400 MHz.....	83
Figura 11- Espectro de RMN 2D HSQC do Ftalato de bis 2-etil-heptila (26) em CDCl ₃ a 400 MHz.....	84
Figura 12- Estrutura química das amirinas.....	85
Figura 13- Espectro de RMN ¹ H do composto S11, em CDCl ₃ a 400 MHz.....	86
Figura 14- Espectro de RMN ¹³ C do composto S11, em CDCl ₃ a 100 MHz.....	88
Figura 15- Cromatograma obtido para a mistura da substância S11.....	90
Figura 16- Espectro de RMN de ¹ H de (28) em CDCl ₃ a 400 MHz.....	91
Figura 17- Espectro de RMN de ¹³ C de Friedelina em CDCl ₃ a 100 MHz.....	92
Figura 18- Espectro de RMN DEPT 135° de Friedelina (28) em CDCl ₃ a 400 MHz..	92
Figura 19- Difração do raio-X da substância S08.....	93
Figura 20- Cromatograma de HPLC da catequina (22): condição de eluição descrita no subitem 4.1.5	95
Figura 21- Estrutura química do flavonoide catequina.....	95
Figura 22- Espectro de RMN de ¹ H do composto S04 em CD ₃ OD a 400 MHz.....	96
Figura 23- Espectro de RMN 2D COSY de catequina (22) em CD ₃ OD a 400 MHz...	97
Figura 24- Espectro de RMN de ¹³ C de S04 em CD ₃ OD a 100 MHz.....	98
Figura 25- Espectro de DEPT 135° da catequina (22) em CD ₃ OD a 100 MHz.....	99
Figura 26- Cromatograma de HPLC da epicatequina (8); condição de eluição descrita no subitem 4.1.5.....	100
Figura 27- Espectro de RMN de ¹ H da epicatequina (8) em CD ₃ OD a 400 MHz.....	100
Figura 28- Espectro de RMN 2D COSY da epicatequina (8) em CD ₃ OD a 400 MHz.....	101
Figura 29- Espectro de RMN de ¹³ C da epicatequina (8) em CD ₃ OD a 100 MHz.....	102
Figura 30- Espectro DEPT 135° da epicatequina (8) em CD ₃ OD a 100 MHz.....	103
Figura 31- Espectro de RMN 2D HSQC da epicatequina (8) em CD ₃ OD a 400 MHz	104
Figura 32- Espectro de RMN de ¹ H de S18 em C ₅ D ₅ N a 400 MHz.....	106
Figura 33- Espectro de RMN de ¹³ C do β - sitosterol glicosilado (14) em C ₅ D ₅ N a 100 MHz.....	107
Figura 34- Espectro de DEPT 135° do β - Sitosterol Glicosilado (14) em C ₅ D ₅ N 100 MHz.....	107
Figura 35- Espectro de RMN de ¹ H do (29) β-sitosterol em CDCl ₃ a 400 MHz.....	108
Figura 36- Espectro de RMN de ¹³ C do β- sitosterol (29) em CDCl ₃ a 100 MHz.....	109
Figura 37-Gráfico representando a porcentagem de inibição do radical DPPH verificado para as frações FAB e FAN da espécie <i>L. divaricata</i>	110
Figura 38- Gráfico representando IC ₅₀ das frações testadas.....	111

LISTA DE ESQUEMA

Esquema 1- Fracionamento ácido-base (Fracionamento 1) do extrato bruto metanólico obtido das cascas do caule de <i>L.divaricata</i> coletadas em julho 2014.....	62
Esquema 2- Fracionamento neutro (Fracionamento 2) do extrato bruto metanólico obtido das cascas do caule de <i>L.divaricata</i> coletadas em julho 2014.....	63

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

δ	Deslocamento químico
J	Constante de acoplamento
λ	Comprimento de onda
μg	Micrograma
μL	Microlitro
ATCC	American Type Culture Collection
AcOEt	Acetato de etila
$^{\circ}\text{C}$	Graus Celsius
CC	Cromatografia em Coluna
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CCDP	Cromatografia em Camada Delgada Preparativa
CG	Cromatografia Gasosa
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CNS	Conferência Nacional de Saúde
CBM	Concentração Bactericida Mínima
CFM	Concentração Fungicida Mínima
CIM	Concentração Inibitória mínima
CLM	Concentração Letal Mínima
COSY	Correlated Spectroscopy
CDCl_3	Clorofórmio Deuterado
CH_2Cl_2	Diclorometano
^{13}C	Carbono 13
D	Dupleto
Dd	Duplo Dupleto
DEPT	Distorsionless Enhancement by Polarization Transfer
DPPH	2,2 – difenil -1 picrilhidrazila
EBM	Extrato Bruto Metanólico
EtOH	Etanol
FAA	Fração Aquosa Ácida
FEA	Fração Etérea Ácida
FEB	Fração Etérea Básica
FAB	Fração Acetato Básica
FBB	Fração Butanólica Básica
FHN	Fração Hexânica Neutra
FDN	Fração Dicloro Neutra
FDA	Food and Drugs Administration
FAN	Fração Acetato Neutra
HCl	Ácido Clorídrico
H_2SO_4	Ácido Sulfúrico
HEX	Hexano
HSQC	Heteronuclear Single - Quantum Correlation
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
Hz	Hertz
H	Horas
^1H	Próton
mL	Mililitro
M	Multiplete

MeOH	Metanol
MHz	Mega Hertz
m/z	Razão massa – carga
Mg	Miligramas
NH ₄ OH	Hidróxido de Amônia
Nm	Nanômetro
NPPN	Núcleo de Pesquisa de Produtos Naturais
NCCLS	National Committee for Clinical Laboratory Standards
OMS	Organização Mundial da Saúde
Pág.	Página
Ppm	Partes por milhão
PF	Ponto de Fusão
Q	Quarteto
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
Rf	Fator de Retenção
S	Simpleto
ssp.	Especies
SUS	Sistema Único de Saúde
TMS	Tetrametilsilano
UFSM	Universidade Federal de Santa Maria
UV	Ultravioleta
CD ₃ OH	Metanol Deuterado
C ₅ D ₅ N	Piridina Deuterada
T	Tripleto

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	15
1.1 OBJETIVOS.....	17
1.1.1 Geral.....	17
1.1.2 Objetivos Específicos.....	18
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	19
2.1 ASPECTOS BOTÂNICOS, TAXONÔMICOS E SISTEMÁTICOS DE <i>Luehea</i> <i>divaricata</i>	19
2.2 ETNOFARMACOLOGIA E ATIVIDADES BIOLÓGICAS DOS PRINCIPAIS GÊNEROS DA FAMÍLIA MALVACEAE.....	21
2.2.1. O gênero <i>Abutilon</i>	22
2.2.2 O gênero <i>Gossypium</i>	25
2.2.3. O gênero <i>Hibiscus</i>	27
2.2.4. O gênero <i>Pavonia</i>	30
2.2.5. O gênero <i>Sida</i>	32
2.2.6. O gênero <i>Luehea</i>	34
2.3 FITOQUÍMICA DOS PRINCIPAIS GÊNEROS MEDICINAIS DA FAMÍLIA MALVACEAE.....	37
2.3.1 O gênero <i>Abutilon</i>	40
2.3.2 O gênero <i>Gossypium</i>	41
2.3.3 O gênero <i>Hibiscus</i>	43
2.3.4 O gênero <i>Pavônia</i>	45
2.3.5. O gênero <i>Sida</i>	46
2.3.6 O Gênero <i>Luehea</i>	47
2.4 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA SUMÁRIA DOS PRINCIPAIS COMPOSTOS ENCONTRADOS NO GÊNERO <i>LUEHEA</i>	50
2.4.1 Terpenos.....	50
2.4.2 Esteroides.....	52
2.4.3 Flavonoides.....	52
2.4.3.1 Catequinas.....	55
2.4.3.2 Epicatequinas.....	56
2.4.4 Ftalatos.....	57
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	58
3.1 MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS.....	58
3.1.1 Cromatografia em coluna (CC).....	58
3.1.2 Cromatografia em camada delgada (CCD).....	58
3.1.3 Cromatografia em placa preparativa (CCDP).....	58
3.1.4 Cromatografia Gasosa (CG).....	58
3.1.5 Cromatografia Líquida de Alta eficiência (CLAE).....	59
3.2 REAGENTES E SOLVENTES UTILIZADOS.....	59
3.3 ANÁLISES ESPECTROSCÓPICAS POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE ¹ H E ¹³ C.....	59
3.4 ANÁLISES POR ESPECTRÔMETRIA DE DIFRAÇÃO DE RAIOS-X.....	60
3.5 ANÁLISES POR ESPECTROFOTOMETRIA – FLUORÍMETRO.....	60
3.6 PONTO DE FUSÃO.....	60
3.7 MATERIAL VEGETAL.....	60
3.8 OBTENÇÃO DO EXTRATO BRUTO.....	60
3.9 OBTENÇÃO DAS FRAÇÕES DOS FRACIONAMENTOS ÁCIDO-BASE E NEUTRO.....	61

3.10 ANÁLISES CROMATOGRÁFICAS DAS FRAÇÕES OBTIDAS.....	63
3.10.1 Fração etérea ácida (FEA).....	64
3.10.2 Fração acetato de etila (AcOEt) básica (FAB).....	66
3.10.3 Fração butanólica básica (FBB).....	68
3.10.4 Fração hexânica neutra (FHN).....	68
3.10.5 Fração diclorometano neutra (FDN).....	69
3.10.6 Fração AcOEt neutra (FAN).....	70
3.11 METABÓLITOS ISOLADOS E IDENTIFICADOS DA <i>Luehea divaricata</i>	71
3.11.1 Composto (26) - Ftalato de bis 2-etil-heptila.....	71
3.11.2 Composto (27) - α -amirina.....	71
3.11.3 Composto (1) - β -amirina.....	72
3.11.4 Composto (28) - Friedelina.....	72
3.11.5 Composto (22) - (+) Catequina.....	73
3.11.6 Composto (8) - (-) Epícatequina.....	73
3.11.7 β - Sitosterol Glicosilado (14).....	74
3.11.8 Composto (29) - β - Sitosterol.....	74
3.12 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	75
3.12.1 Método do Radical Livre - Ensaio Quantitativo.....	75
3.13 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA.....	76
3.13.1 Microrganismos e padrões utilizados.....	76
3.13.2 Meios de cultura.....	76
3.13.3 Manutenção dos microrganismos indicadores.....	77
3.13.4 Determinação da CIM e CLM.....	77
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	78
4.1 RENDIMENOS DO EXTRATO E FRAÇÕES.....	79
4.2 METABÓLITOS ISOLADOS DE <i>Luehea divaricata</i>	80
4.2.1 Ftalato de bis 2-etil-heptila (S12).....	80
4.2.2 Mistura α - e β -amirina.....	85
4.2.3 Friedelina.....	90
4.2.4 Catequina.....	94
4.2.5 Epicatequina.....	99
4.2.6 β - sitosterol glicosilado.....	105
4.2.7 β - sitosterol.....	108
4.3 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	109
4.4 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA.....	111
4.4.1 Atividade antibacteriana referente ao fracionamento 1 - fracionamento ácido-base.....	112
4.4.2 Atividade antibacteriana referente ao fracionamento 2 - fracionamento neutro.....	115
4.4.3 Atividade antibacteriana dos compostos isolados.....	118
4.4.4 Atividade antifúngica referente ao fracionamento 1 - fracionamento base.....	122
4.4.5 Atividade antifúngica referente ao fracionamento 2 - fracionamento neutro.....	124
4.4.6 Atividade antifúngica dos compostos isolados.....	125
5. CONCLUSÃO.....	127
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA.....	128
7. APÊNDICES.....	153

1- INTRODUÇÃO

Desde os primórdios, os homens procuram encontrar na natureza recursos para melhorar suas condições de vida, aumentando as suas chances de sobrevivência. O homem primitivo buscava descobrir soluções para suas necessidades básicas de sobrevivência, como alimentação, moradia, proteção e reprodução. Suas experiências e observações resultaram em descobertas importantes para soluções de tratamentos de injúrias ou doenças através do uso das plantas e ervas (VIEGAS JR. et al., 2006). Existem evidências históricas e arqueológicas de que as propriedades terapêuticas das plantas medicinais já eram conhecidas desde o período Neolítico¹ (BHATTARAM et al., 2002; MILLS; BONE, 2000).

Devido à importância das plantas medicinais para a química e a medicina moderna, estudos permitiram um rápido desenvolvimento de seus campos específicos e assim, muitas substâncias ativas foram conhecidas e introduzidas na terapêutica, permanecendo até hoje como medicamentos. (PEREIRA; CARDOSO, 2012).

Desde o quarto século a. C. existem relatos de normas para a coleta de plantas medicinais. Os carrascos gregos coletavam suas amostras do veneno cicuta (*Conium maculatum*) pela manhã, quando os níveis de coniina são maiores. Variações temporais e espaciais no conteúdo total, bem como as proporções relativas de metabólitos secundários em plantas ocorrem em diferentes níveis (sazonais e diárias; intraplanta, inter- e intraespecífica) e, apesar da existência de um controle genético, a expressão pode sofrer modificações resultantes da interação de processos bioquímicos, fisiológicos, ecológicos e evolutivos. De fato, os metabólitos secundários representam uma interface química entre as plantas e o ambiente circundante, portanto, sua síntese é frequentemente afetada por condições ambientais (GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

No Brasil, até o início do século XX o país era rural, na sua essência, o que colaborava para a ampla utilização dos recursos naturais como ingredientes de remédio, embora essa situação tenha mudado com o início da industrialização e aumento da urbanização do país (LORENZI; MATOS, 2008).

O Brasil possui a maior diversidade vegetal do mundo, contando com mais de 55 mil espécies catalogadas. Devido a esta grande diversidade de espécies, aumentam-se as chances de identificação de substâncias do metabolismo vegetal com atividades farmacológicas e o descobrimento de novos alvos biológicos (CARNEIRO et al., 2014).

O surgimento de novas doenças e epidemias, bem como o reaparecimento de antigas moléstias ou até mesmo daquelas consideradas extintas, ou restritas a uma determinada área geográfica do planeta, estimulou um aumento nos investimentos feitos à pesquisa de produtos naturais, tornando o mercado de fitomedicamentos com comprovação científica de eficácia clínica, segurança e qualidade, promissor em todo o mundo (CALIXTO, 2005).

Os produtos naturais e seus derivados têm sido a maior fonte de fármacos comercializados e detentores da maior diversidade química para se iniciar a condução de descobertas terapêuticas ao longo do último século. Historicamente, as companhias farmacêuticas têm utilizado extratos brutos de plantas para produzir formulações terapêuticas, porém no século XX, com o avanço das técnicas de isolamento e purificação, formulações de fármacos com compostos bastante purificados tornaram-se mais típicas (TIWARI; MISHRA, 2011). Plantas, fungos, insetos, organismos marinhos e bactérias são fontes importantes de substâncias biologicamente ativas. Exemplos importantes de fármacos obtidos de plantas são a digoxina, proveniente da *Digitalis spp.* e a morfina e a codeína, obtidas da *Papaver somniferum* (RATES, 2001). A utilização dos produtos naturais pode seguir duas vertentes principais: (i) a comercialização de partes da planta processada que contém o ativo ou (ii) a produção sintética de ativos a partir dos produtos naturais (MONTANARI; BOLZANI, 2001). Um estudo recente realizado por Newman e Cragg (2012) apresenta um levantamento sobre a utilização de produtos naturais no desenvolvimento de moléculas ativas. A Tabela 1 contém alguns produtos naturais inseridos no mercado e sua principal ação.

Tabela 1 – Alguns medicamentos derivados de produtos naturais inseridos no mercado entre 1981 e 2010.

Derivado de Produto Natural	Nome comercial	Efeito farmacológico
Daptomicina	Cubicin®	Antibacteriano
Teicoplanina	Targocid®	Antibacteriano
Acetato de Caspofungina	Cancidas®	Antifúngico
Anidulafungina	Eraxis®	Antifúngico
Zanamivir	Relenza®	Antiviral
Peramivir	PeramiFlu®	Antiviral
Artemisinina	Artemisin®	Antiparasitário
Ivermectina	Mectizan®	Antiparasitário
Pentostatina	Nipent®	Anticancerígeno
Peplomicina	Pepleo®	Anticancerígeno

Fonte: (NEWMAN; CRAGG, 2012).

No final da década de 70, a Organização Mundial da Saúde (OMS) criou o Programa de Medicina Tradicional, objetivando a formulação de políticas na área e expressando a sua posição a respeito da necessidade de se valorizar a utilização de plantas medicinais no âmbito sanitário, pois 80% da população mundial utiliza essas plantas ou preparações como primeiro embate no processo de cura ou tratamento de moléstias. No Brasil, a legitimação e a institucionalização dessas abordagens de atenção à saúde pública e primária iniciaram-se a partir da década de 80, principalmente, após a criação do Sistema Único de Saúde (SUS). A VIII Conferência Nacional de Saúde (CNS), impulsionada pela Reforma Sanitária, deliberou em seu relatório final, a introdução de práticas alternativas de assistência à saúde no âmbito dos serviços de saúde, o que envolve diretamente o uso de plantas medicinais (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006).

Devido a importância das plantas no âmbito mundial como fonte medicinal, o estudo dos metabólitos secundários e suas respectivas atividades farmacológicas, torna-se relevante.

Nessa perspectiva, o grupo do Núcleo de Pesquisa de Produtos Naturais (NPPN), coordenado pelo professor Dr. Ademir Farias Morel, vem contribuindo, não somente para a fitoquímica clássica (isolamento e determinação estrutural), mas também para a realização de trabalhos que envolvem atividade biológica de plantas que apresentam algum tipo de uso na medicina popular. O grupo vem trabalhando com espécies nativas do Rio Grande do Sul, as quais possuem efeitos medicinais relatados pela cultura popular.

Das inúmeras espécies vegetais de interesse medicinal encontradas no nosso estado, selecionou-se a espécie *Luehea divaricata* Martius (Malvaceae), conhecida popularmente como açoita cavalo. Infusão das folhas e na casca do caule desta espécie apresentam diversos usos etnofarmacêuticos tais como anti-inflamatório, antianêmico, diurético, asséptico bucal, entre outros (BERNARDI-WENZEL et al., 2013).

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Geral:

Este trabalho se propõe a realizar a análise fitoquímica da espécie *Luehea divaricata*, bem como verificar as potenciais atividades antioxidante e antimicrobiana do extrato bruto metanólico, das frações obtidas do fracionamento ácido-base e neutro e dos compostos isolados, provenientes das cascas dos caules.

1.1.2 Objetivos específicos:

- a) realizar extrações metanólicas de cascas do caule para obtenção de um extrato bruto (EBM – extrato bruto metanólico) e suas respectivas frações;
- b) realizar dois tipos de fracionamentos para verificação da presença de alcaloides;
- c) verificar as composições químicas dos extratos e frações através de técnicas de fracionamento (fracionamento ácido-base e neutro) e cromatográficas;
- d) analisar, isolar e identificar os metabólitos secundários presentes no extrato e frações através do uso de técnicas espectroscópicas uni e bidimensionais, como RMN de ^1H e ^{13}C , DEPT 135, COSY, HSQC e difração de raio-X;
- e) realizar ensaios para a determinação das atividades antioxidante e antimicrobiana dos compostos isolados, extrato bruto e respectivas frações, extraídos da casca do caule de *L. divaricata*.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 ASPECTOS BOTÂNICOS, TAXONÔMICOS E SISTEMÁTICOS DE *Luehea divaricata*

Luehea divaricata Martius & Zucarini (Figura 1), mais conhecida como açoita-cavalo, é uma espécie nativa brasileira (FLORA DIGITAL), pertencente à família Malvaceae, a qual é altamente cosmopolita, habitando, principalmente, zonas tropicais. Esta família abriga cerca de 250 gêneros e, aproximadamente, 4.300 espécies (CALIXTO Jr. et al., 2015; COSTA et al., 2007; DI STASI; HIRUMA-LIMA, 2002; GIULIETTI et al., 2005; LATTAR et al., 2014; SCHULTZ, 1968).

Figura 1 – Aspecto geral de *Luehea divaricata*



a) Árvore b) Flores

Fonte: Flora digital. http://www.ufrgs.br/fitoecologia/florars/open_sp.php?img=8260

A família Malvaceae no Brasil se apresenta com cerca de 400 espécies distribuídas em 80 gêneros, sem considerar a inclusão das famílias Sterculiaceae, Tiliaceae e Bombacaceae. Pela última classificação apresentada pelo Angiosperm Phylogeny Group (APG), nela estão incorporados os integrantes das antigas famílias supracitadas (FRYXELL, 1997; KRAPOVICKAS, 2005). Se considerar tal incorporação, o Brasil passa contar com 1.500 espécies distribuídas em 90 gêneros (COSTA, 2006; GRINGS et al., 2011; SOUZA; LORENZI, 2008), que podem ser de porte herbáceo, arbustivo ou subarbustivo (BARROSO et al., 1978; FRYXELL, 1997). Aparecem em todas as regiões do território brasileiro e de forma generalizada no bioma Mata Atlântica, incluindo o cerrado brasileiro, mas, principalmente, nas florestas de altitude. Inúmeras são as espécies

medicinais desta família que povoam a Mata Atlântica (DI STASI et al., 2002). Considerando que 80% das plantas medicinais nativas são pertencentes à Mata Atlântica, isto demonstra a importância desse bioma para a pesquisa de plantas medicinais (MING et al., 2012).

O gênero *Luehea* é considerado como Neotropical, com flores grandes de coloração rosa ou branca (Figura 1b), que se dissemina desde o México até Uruguai e Argentina, passando pelo Brasil (BERNARDI-WENZEL et al., 2013; LATTAR et al., 2012; 2014; TANAKA et al., 2005) e abriga cerca de 50 espécies (PLANTAMED). Dados, não muito atuais devido à escassez de informações sob qualquer aspecto do gênero ou espécie de *Luehea*, revelam que até este momento, apenas 12 espécies e uma variedade do gênero *Luehea*, ocorrem no Brasil (CARVALHO, 1994).

De acordo com o sistema de classificação da *L. divaricata*, a posição taxonômica obedece à seguinte hierarquia: ordem Malvales, família Malvaceae, subfamília Rosoideae tribo Grewieae, gênero *Luehea* e espécie *Luehea divaricata* (LATTAR et al., 2012; 2014).

A espécie *L. divaricata* se apresenta como uma árvore (Figura 1a) com característica caducifólia, alcançando de quinze a trinta metros de altura, com tronco geralmente tortuoso e nodoso, com base alargada; casca de cor escura levemente fissurada, com escamas retangulares pequenas; casca interna de tom rosa vivo-intenso ou rosa-marrom (REITZ et al., 1988). Floresce durante o verão nos meses de dezembro, janeiro e fevereiro e seus frutos encontram-se maduros de maio a junho. (LORENZI, 1988).

Estudos recentes revelaram que diferentes espécies nativas, incluindo *L. divaricata* aparecem com frequência superior a 60 % nas regiões de floresta ombrófila, o que demonstra que estão bastante adaptadas ao ecossistema demonstrando grande plasticidade ecológica. Só isto basta para torná-las espécies-alvo em reflorestamentos (CORDEIRO, 2010). Soma-se a isto, o fato de ser considerada espécie pioneira de rápido crescimento, que não pode faltar nos reflorestamentos mistos de áreas degradadas de preservação ambiental permanente. Além disso, *L. divaricata* também possui características ornamentais que a recomendam para o paisagismo (GRAVE et al., 2007).

O açoita-cavalo possui madeira de alta qualidade, a qual tem sido empregada largamente na confecção de móveis, por apresentar fácil trabalhabilidade, o que proporciona bom acabamento e razão pela qual sofre grande procura. É indicada para a confecção para caixas, embalagens, artefatos de madeira, saltos para calçados, peças

torneadas e, ainda para a confecção de contraplacados. Na construção civil é recomendado para ripas, molduras, cordão, guarnições, rodapés. Atualmente é utilizada para confecção de cadeira de balanço, carrocerias, tamancos, lanças para cavalaria, caixas de piano, obras internas e esculturas (FARIAS, 2006).

Inúmeras espécies da família Malvaceae são amplamente utilizadas em todas as partes do mundo para diversos fins, inclusive na indústria de bens de consumo, como forrageiras e para o tratamento de diversas doenças (BOVINI et al., 2001; OTERO et al., 2000). Outras espécies da família Malvaceae são conhecidas por seus diferentes usos na medicina popular como diurético, em tratamento de reumatismo, distúrbios gastrointestinais e asma. Seus usos como anti-inflamatórios e antinociceptivos têm sido investigados (COSTA et al., 2007).

2.2 ETNOFARMACOLOGIA E ATIVIDADES BIOLÓGICAS DOS PRINCIPAIS GÊNEROS DA FAMÍLIA MALVACEAE

O uso de plantas tem sido um dos recursos terapêuticos mais utilizados por grande parcela da população brasileira e mundial (PINTO et al., 2002). Moléculas procedentes do metabolismo secundário das plantas funcionam como suporte a sua sobrevivência e fornecem vários produtos farmacologicamente ativos. Esses metabólitos tem distribuição limitada na natureza, e sua expressão é individualizada em cada espécie (DEWICK, 2002).

Oliveira e col. (2012) realizaram estudo sobre a atividade antioxidante dos compostos fenólicos presentes em diversas espécies de malváceas. Os resultados obtidos demonstraram que espécies desta família possuem alto teor de compostos fenólicos e boa atividade antioxidante e, conseqüentemente, podem ser utilizadas no tratamento de doenças relacionadas ao aumento da produção de radicais livres. Devido às contundentes atividades antioxidante e anti-inflamatória, compostos naturais isolados de diversas espécies da malváceas são largamente explorados em todo o mundo para tratamento de doenças como a asma e gastrites (GOMES et al., 2015).

Apesar de ser uma família extensa, os registros sobre a utilização de suas espécies na medicina popular ainda são restritos. Os extratos de diferentes espécies das Malvaceae têm mostrado algum tipo de atividade biológica. Pode-se citar que nas áreas costeiras da Índia, o extrato das flores do *Abelmoschus manihot* é usado no tratamento da bronquite crônica e em dores de dentes, já os extratos das folhas e raízes mostram-se efetivas na

cicatrização de feridas (PRITAM; SANJAY, 2011). Também tem sido descrita para outras substâncias isoladas das Malvaceae, a atividade anticancerígena do ácido p-cumárico (JANICKE et al., 2005) e do β -sitosterol (AWAD et al., 2005), ambos isolados de *Bakeridesia pickelii*. Atividade antibacteriana vem sendo atribuída a 1,8-cineol de *Hibiscus esulentus* (KOTAN et al., 2007), ácido 4- hidróxi-3-metóxi-benzóico de *Backeridesia pickelii* e *Herissantia tiubae* (NAZ et al., 2005). Os gêneros desta família com perfil medicinal que mais se destacam são: *Abutilon*, *Gossypium*, *Hibiscus*, *Pavonia*, *Sida*, e *Luehea* (DI STASI et al., 2002).

2.2.1. O gênero *Abutilon*

Este gênero consiste em mais de 150 espécies que se encontram distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais ao redor do mundo e, principalmente, no continente asiático. Largamente usada na etnofarmacologia, espécies do gênero *Abutilon* tem sido empregadas, através de vários tipos de consumo, como tônico do sistema nervoso central, emoliente, antitérmica, diurética e para tratamento de reumatismos e paralisia facial e como emulsificante, devido a grande presença de mucilagens (AHMED et al., 1990; ALI et al., 2014; DEOKULE; PATALE, 2002; GILL; KAUR, 2015).

Infusões de folhas secas e de cascas das raízes de *A. grandiflorum* são tradicionalmente usadas na Tanzânia para o tratamento da malária, doenças venéreas infecciosas e distúrbios mentais. Seus extratos mostraram efeitos anti-malária *in vivo* e *in vitro*. Decocção de folhas de *A. muticum* são usadas como um remédio para prisão de ventre, como tônico, emoliente, para tratamento da bronquite catarral, diarreia biliar, gonorréia, inflamação da bexiga e febre. As flores e folhas são usadas como uma aplicação local para furúnculos e úlceras (KHADABADI; BHAIJPALE, 2010). Farta bibliografia se refere ao emprego destas espécies na cura da hanseníase, diabetes, icterícia, hemorróidas, úlceras, bronquite, diarreia, inflamação da bexiga, febre, gonorréia (DEOKULE; PATALE, 2002; GILL; KAUR, 2015).

A espécie *A. indicum* é reconhecida por sua ação anti-inflamatória no tratamento da gonorréia, além de imunoestimulante. Suas raízes e cascas, bem como seu sumo, são largamente usados como afrodisíaco, antidiabético, tônico para o sistema nervoso, diurético, anti-helmíntico, febrífugo, sedativo pulmonar e para o tratamento de inflamação da bexiga, da bronquite, diarreia e gonorréia. Além disso, ele é usado na limpeza de feridas e úlceras; tratamento de infecções vaginais e hemorróidas. Também é

eficaz para o tratamento da lepra. Extrato etéreo desta planta é também uma poderosa fonte de agente larvicida natural de mosquitos. As sementes são também usadas para tratamento da tosse e hemorróidas, da disenteria crônica, para desordens urinárias e como laxante e emoliente.

As sementes desta planta são consideradas afrodisíacas, enquanto que sementes de *A. muticum* são usadas como agentes diuréticos e demulcente, no tratamento da tosse e infecção brônquica, inflamação do trato urinário, gonorréia, diarreia, e úlceras. As sementes podem ser usadas em “bolos” para alimentação do gado leiteiro e como fertilizante (KHADABADI; BHAJIPALE, 2010).

Vários estudos já confirmaram suas ações antimicrobiana, analgésica, hipoglicemiante e hepatoprotetora, antidiarréica, diurética, anti-infertilidade e anti-inflamatória de *A. indicum* (DEOKULE; PATALE, 2002; KHADABADI; BHAJIPALE, 2010; PARANJAPE; METHA, 2008). Óleos extraídos de sementes de diferentes espécies de *Abutilon* se mostraram ativos e com largo espectro de ação contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, como antioxidantes e controladores na absorção e secreção de insulina, enquanto que constituintes das sementes de *A. theophrashti* apresentaram atividade antimicrobiana, contra fungos e bactérias. Extrato aquoso de sementes de *A. indicum* apresentaram atividade diurética quando comparados com referência Furosemida padrão. (KHADABADI; BHAJIPALE, 2010).

Extratos foliares aquosos e etanólicos de diferentes espécies de *Abutilon* também apresentaram efeito antidiabético, em experimentos com ratos. Tal atividade hipoglicemiante foi atribuída à presença de flavonoides e seus glicosídeos, pois flavonoides foram capazes de induzir à regeneração de células pancreáticas lesadas e os glicosídeos estimularam a secreção de insulina pancreática. Estes mesmos extratos ainda foram capazes de exibir efeito hepatoprotetor e antimicótico. Ainda, extratos aquosos também se mostraram ativos contra diarreia natural e induzida, através da inibição da motilidade gastrointestinal e extratos etanólicos apresentaram (KHADABADI; BHAJIPALE, 2010).

Extratos etanólicos apresentaram atividade pró-cicatrizantes em ferimentos de corte e queimaduras. Além disso, um estudo clínico realizado na Índia confirmou sua eficácia no tratamento da asma brônquica (DEOKULE; PATALE, 2002; PARANJAPE; METHA, 2008). A confirmação da atividade anti-asmática é provenientes de testes com pó de folhas e outras partes aéreas secas de *A. indicum* em diminuir a gravidade dos sintomas de asma brônquica ou seja, dispneia, tosse, aperto torácico e pieira. Também,

verificou-se um aumento significativo da função pulmonar, em pacientes com leve a moderada asma brônquica. Em outro estudo, extratos metanólico inibiram formação de edema pulmonar induzido experimentalmente, em ratos. Estudos recentes revelaram que extratos brutos metanólicos de partes aéreas de *A. indicus*, planta amplamente usada na medicina ayurvédica, eram capazes de reverter a falta de libido em ratas, tornando-se um potente estimulador sexual feminino (KHADABADI; BHAJIPALE, 2011).

Extratos etanólicos, clorofórmicos e aquosos de folhas de várias espécies de *Abutilon* tem rendido potente atividade anti-inflamatória equivalentes ao padrão diclofenaco de sódio, mas que decresce com o tempo. Atividade redutora do teor de lipídeos também foi observada. Tais atividades têm sido atribuídas à presença de triterpenoides, flavonoides, taninos, glicosídeos, e/ou saponinas, enquanto que a administração de extratos etéreos em ratos apresentou evidente ação analgésica. Extratos etanólicos e aquosos foram eficazes ao atenuar crises convulsivas. Este efeito anticonvulsivante foi atribuído à presença de ácido linoleico e/ou flavonoides (KHADABADI; BHAJIPALE, 2010).

Extratos etanólicos e aquosos de *A. indicum* também demonstraram, através de testes *in vitro*, atividade imuno-estimuladora significativa, a qual foi atribuída à presença de flavonoides (principalmente quercetina), alcaloides, taninos, saponinas glicosiladas e outros compostos fenólicos, enquanto que extratos metanólicos apresentaram atividade anti-estrogênica (KHADABADI; BHAJIPALE, 2010). Outros estudos *in vitro* confirmaram o uso de extratos de *A. indicum* para tratamento de artrites e reumatismos, através da indução da degradação de enzimas-chaves envolvidas nos processos reumáticos (KHADABADI; BHAJIPALE, 2010). Assim, vários estudos já confirmaram suas ações analgésica, antimicrobiana, hepatoprotetora, antidiarréica, diurética, antifertilidade e anti-inflamatória. Além disso, um estudo clínico realizado na Índia confirmou sua eficácia no tratamento da asma brônquica (PARANJAPE; METHA, 2008) e outro que confirma seu efeito antidiabético (KRISANAPUN et al., 2011).

Extratos etéreos, clorofórmico e metanólicos (fração acetato de etila e n-butanol) de folhas e outras partes aéreas de *A. muticum* apresentaram significativa atividade antibacteriana contra bactéria Gram-positiva, como Gram-negativas, tal como os extratos dos óleos provenientes de suas sementes, mas somente os extratos metanólicos foram efetivos contra os três fungos testados *Candida tropicalis*, *Cryptococcus luteolus* e *Candida albicans*. Além disso, extratos metanólicos e fração n-butanólica apresentaram atividade antioxidante. Em adição, os óleos das sementes de *A. muticum* demonstraram

atividade antioxidante contundente através dos testes de ABTS, FRAP, DPPH e peroxidação do ácido linoleico. Estes métodos indicam a presença de moléculas de reação rápida e lenta. Os glicosídeos fenólicos (mutinisídeos) e flavonoidal (cefacosídeo) revelaram atividade antioxidante poderosa. Mas moderada atividade inibitória da enzima lipoxigenase (KHADABADI; BHAJIPALE, 2010).

2.2.2 O gênero *Gossypium*

É o gênero mais citado da família malvácea, do qual o algodoeiro faz parte, e é largamente utilizado na indústria têxtil; suas sementes contêm 15-30% de um óleo empregado na indústria e na alimentação, podendo substituir o azeite. A torta remanescente das sementes é empregada para a forragem e adubo, suas raízes e suas cascas são usadas para fins medicinais (SCHULTZ, 1968).

No Brasil, na forma de chá, o algodão é utilizado para o tratamento de disenteria e hemorragia uterina. Suas folhas danificadas e/ou injuriadas são empregadas localmente como cicatrizantes e o chá da raiz é utilizado nos casos de falta de memória, amenorréia, distúrbios da menopausa e impotência sexual. As flores e frutos ainda verdes são utilizados friccionando-os localmente, em casos de micoses como frieiras, além de impingens. O óleo extraído das suas sementes é empregado como purgativo e vermífugo para áscaris (ascaricida) e, localmente, como emoliente e no combate de piolhos. *Gossypium herbaceum* é relatado, na medicina tradicional, como planta com propriedades únicas, como anticoncepcional (contraceptivante), antiespermatogênica, antitumoral, abortiva, antidiabética, antiviral e antibacteriana. É relatado, também, seu uso no tratamento da dor de dente (KUMAR et al., 2011). De modo geral, plantas de algodão de inúmeras espécies tem sido usadas tradicionalmente desde a antiguidade para tratamento da lactação inadequada, asma bônquica, dismenorréia, diarreia, disenteria, otalgia, debilidade sexual, fraqueza muscular, diabetes, doenças pulmonares e epiteliais. Elas efetivamente apresentam atividade antinfertilidade, galactagogue, anti-espermatogênica, antidiabética, antiviral e antibacteriana (KHALEEQR et al., 2012).

Folhas de várias espécies do gênero *Gossypium* têm sido utilizadas devido sua ação emoliente, mucilagínosa, hematinica, diurética, arrefecimento, constipante e utilizadas na irritação gástrica, tratamento da diarreia, disenteria, disúria, artrite reumatóide e otalgia (Indian Medicinal Plants: A Compendium of 500 species).

Extrato hidroalcoólico das folhas de *Gossypium herbaceum* apresentou potencial significativo como antioxidante em experimentos *in vitro* (KUMAR et al., 2011). Recentemente, efeitos antioxidante e inibitório da acetilcolinesterase dos flavonoides de *Gossypium herbaceum* foram relatados (ZHAO et al., 2013),

Atividade anti-leishmaniose de extratos de *Gossypium hirsutum*, foi observada após 72 horas de incubação do extrato e *Leishmania major* (fase promastigotas), quando houve inibição da evolução do crescimento do estágio do parasita (BARATI et al., 2014).

Extratos aquosos e metanólicos de plantas inteiras de *G. arboreum* se revelaram ativos contra a febre tifoide, através de ação antibiótica/antimicrobiana contra *Salmonella typhi*, *S. paratyphi* e *S. typhimurium*, em experimentos *in vitro* (NKUO-AKENJI et al., 2001), enquanto que extratos aquosos de folhas de *G. arboreum* mostraram atividade antibacteriana contra bactérias Gram-positivas *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis* e *Micrococcus flavus*, bem como contra cepas resistentes de *S. aureus* e bactérias Gram-negativas, como *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*. Em adição, este mesmo extrato também apresentou atividade antioxidante contra danos oxidativos em células de fibroblastos humanas, em experimentos *in vitro* (ANNAN; HOUGHTON, 2008). *G. herbaceum* e *G. hirsutum* também mostraram atividade antimicrobiana contra *B. cereus* e *S. typhimurium*, embora frações isentas de flavonoides provenientes de extratos de sementes, também foram ativas contra *B. cereus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Salmonella typhimurium*, *E. coli*, e *Trichoderma viride* (KHALEEQR et al., 2012).

Extratos de sementes de *G. hirsutum* e *G. arboreum* se mostraram ativos contra *Blastomyces dermatitidis*, responsável por causar a blastomicose (CHATURVEDI et al., 1990; 1991). Flavonoides presentes em extratos de *G. herbaceum* foram responsabilizados pela atividade antimicótica contra *Trichoderma viride*. Nenhuma das frações contendo ou não flavonoides de sementes e calos de três espécies de *Gossypium* foram capazes de combater *Candida albicans* (KHALEEQR et al., 2012).

Atividade anti-inflamatória tem sido proposta em decorrência da liberação de histamina, pelas raízes de plantas de algodoeiro, e por isso, ser capaz de induzir resposta anti-inflamatória: os primeiros mediadores químicos a se manifestarem no processo inflamatório são histamina e serotonina. (CUZZOCREA, 2005; SARKAR; FISHER, 2006; WANG et al., 2005).

O gossipol, um composto polifenólico, isolado das sementes, troncos e raízes do algodão (*Gossypium sp.*), é o principal constituinte do algodoeiro e é usado na China

como anticoncepcional masculino, por sua propriedade contraceptiva de inibir a espermatogênese (KHALEEQUR et al., 2012; LORENZI; MATOS, 2002). Este composto e seus derivados têm sido alvo de muita pesquisa devido suas atividades biológicas multifacetadas: antiinfertilidade, antioxidante, antitripanossômico, antiplasmódico (antimalárico), antiviral e antimicrobiano, além de pronunciada atividade antitumoral. Mais recentemente, foi demonstrado que as atividades antiviral e antiparasitária *in vitro*, requerem concentrações de gossipol da ordem de micromolar. Quimicamente, o gossipol é uma molécula quiral apresentando isômeros e, por isso, suas atividades biológicas se refletem vários níveis de intensidade (KHALEEQUR et al., 2012; SANTOS et al., 2007).

Atividade antineoplásica do gossipol foi detectada em experimentos *in vitro* com extratos alcoólicos e aquosos de *G. indicum* contra o melanoma murino (B16) e linhas de células de leucemia linfocítica murina (L1210) (CHOI et al., 1998). Doses orais do gossipol em homens férteis provoca redução/inibição de espermatogênese revelando atividade contraceptiva, embora o risco de aspermia irreversível seja de 10% (WOOLLEY, 1991). No entanto, este efeito pode ser reduzido se o gossipol for administrado na forma de cápsulas (pó), em comprimidos com revestimento entérico (QIAN; WANG, 1984). A atividade diurética decorre do fato de que gossipol é capaz de provocar um efeito de depleção de potássio do gossipol em indivíduos que tomam triamtereno (LIU et al., 1988). Gossipol apresenta efeito quelante com ferro e por isso ocasiona uma redução linear na absorção do mesmo (HERMAN; SMITH, 1973). Atividade antibacteriana foi atribuída à presença de pectina em extratos de *G. herbaceum*, a qual induzia ao aumento das propriedades antibacterianas de componentes do colostro, em mulheres lactantes, quando submetidas a administração oral dos extratos. (SEPEHRI et al., 1998). Gossipol também é capaz de induzir a liberação de histamina em mastócitos humanos (DI STASI et al., 1989)

2.2.3. O gênero *Hibiscus*

O gênero *Hibiscus* apresenta muitas espécies que despertam o interesse da comunidade científica graças a sua vasta utilização terapêutica com que são empregadas por comunidades no mundo inteiro. Plantas de *Hibiscus esculentus* tem sido utilizadas para o tratamento de distúrbios gástricos e úlceras pépticas (YESILADA; GÜRBÜS, 2002). Estudos farmacológicos comprovaram, através de análises histopatológicas, sua

ação gastroprotetora (GÜRBÜS et al., 2003). *Hibiscus tiliaceus*, conhecido popularmente como majaguá é usado como antipirético, laxante, emoliente, entre outros. Suas flores, cozidas no leite, são utilizadas no tratamento de dor de ouvido e os sumos dos seus frutos são esfregados no corpo para curar fraqueza. Estudos realizados com o extrato aquoso das suas flores apresentaram significativa atividade antioxidante quando comparados com outros estudos bem caracterizados. Narender et al., (2009) relataram efeito antinocepcivo e anti-inflamatório de *H. tiliaceus*, em ratos. (LI et al., 2006; NARENDER et al., 2009). Na medicina popular, flores de *H. sabdariffa* são utilizadas para controle da pressão sangüínea, como febrífugo e para problemas hepáticos (ALI et al., 2005).

No México, *H. sabdariffa* L. é utilizada pela população devido ao seu efeito emagrecedor. Sua ação foi confirmada por estudos farmacológicos que mostraram que o extrato aquoso das flores reduziu o peso corporal de camundongos obesos (ALARCON-AGUILAR, 2007), além de ação anti-hipertensiva (MOJIMINIYI et al., 2014). Extratos de *H. sabdariffa* ainda foram capazes de reduzir os níveis de triglicerídeos, colesterol total e o LDL no soro em coelhos e análises histopatológicas revelaram redução do grau de aterosclerose induzida nas artérias e impediram a calcificação e posterior formação da placa de ateroma na musculatura lisa dos vasos sanguíneos, confirmando ação anti-aterosclerótica (CHEN et al., 2003). O extrato aquoso de *Hibiscus sabdariffa* tem apresentado atividade anti-hipertensiva, através do relaxamento da musculatura lisa (ALI et al., 2005; ALONSO et al., 2012). Além disso, em outras populações do mundo, seus extratos são utilizados para o controle da hipertensão, doenças hepáticas e como antitérmico. Farmacologicamente, estes extratos também apresentam atividades antioxidante e anti-hipertensiva bastante contundentes, tanto *in vitro* como *in vivo*. Atividades imunomoduladora e antipirética foram observada em ratos e coelhos. Ação diurética-depurativa, representada por reduções de creatinina, ácido úrico, citratos, tartaratos, fosfatos, sódio, cálcio e potássio, na urina, foi observada em humanos. Em adição, redução da hipertensão na rede vascular renal foi relatada quando extratos de *H. sabdariffa* eram administrados de maneira sistemática (ALI et al., 2005; CHEN et al., 2003; ODIGIE et al., 2003). Wahabi et al. (2010), em trabalho de revisão, comprovaram a eficácia dos extratos de *H. sabdariffa* no tratamento da hipertensão, quando administrados sistematicamente. Óleos provenientes de suas sementes apresentaram efeito inibitório sobre algumas bactérias e fungos (ALI et al., 2005). Atividades antibacteriana e citotóxica de extratos metanólicos proveniente das flores de *H. sebdariffa* também foram observadas

(OLALEYE, 2007). Esta espécie de *Hibiscus* também apresentou atividade antioxidante oriunda de extratos aquosos das pétalas, a qual tem sido atribuída à presença de antocianinas (TSAI et al., 2002; TSENG et al., 1997). Estudos fitoquímicos com *H. esculentus* revelaram a presença de citronelol, o qual foi responsável pela ação anticonvulsivante e antibacteriana desta espécie (SOUZA; SILVA, 2006). Atividade antibacteriana também foi atribuída a 1,8-cineol de *H. esculentus* (KOTAN et al., 2007).

De modo geral, grande parte das atividades farmacológicas tem sido atribuída à presença do variável conteúdo de polifenóis dos diferentes tipos de extratos. Entretanto, tal conteúdo é mal definido em termos de conteúdo mínimo desencadeador de efeito, e quando descrito é de forma genérica e pobremente qualificado, como aqueles extratos que revelam misturas complexas de antocianinas, ácidos fenólicos e orgânicos e flavonoides (DA-COSTA-ROCHA). Assim sendo, ainda parece nebulosa a origem das várias atividades biológicas apresentadas pelos diferentes extratos das inúmeras espécies de *Hibiscus*, embora sejam bastante contundentes. Um forte exemplo das ambiguidades das atividades farmacológicas provocadas pelos constituintes de *H. sabdariffa* pode ser acompanhado pela Tabela 2.

Tabela 2 – Atividades farmacológicas possivelmente atribuídas aos compostos fenólicos

Tipo e Extrato	Parte Da Planta	Atividade	Composto Reponsável
Alcoólico	Flores	Antispasmódica	Poliphenols.
Aquoso	Cálices (Flores)	Antibacteriana Antifúngica Antiparasítica	Protocatechuic Acid
Aquos./Metanól.	Cálices (Flores)	Antibacteriana	-
Aquoso Etanólico Ác. Protocateico	Cálices (Flores)	Antibacteriana	- - Ác. protocateico
Cru	Sementes	Antibacteriana	
Aquoso Etanólico Aquos./Etanól.	Cálices (Flores)	Antipirética, Antinoceptiva Anti-inflamatória	Flavonoides, Polissacarídeos Ácidos orgânicos
Aquoso Etanólico Aquos./Etanól.	Flores Sementes Folhas	Antioxidante Hepatoprotetora Nefroprotetora	- - Antocianinas (delfinidina-3- glicosídeo) e Ác. Protocateico

Continua...

Continuação...

Tipo e Extrato	Parte da Planta	Atividade	Composto Responsável
Extrato Polifenol	-	Nefroprotetora Antilitíase	Polifenóis
Aquoso Extrato Antocianina	Cálices (Flores)	Antioxidante Hepatoprotective	Antocianinas Ác. Protocateico
Aquos./Etanól.	Cálices (Flores)	Nefroprotetora Antilitíase	-
Aquos./Etanól.	Cálices (Flores)	Diurético Redutor de Na	Antocianinas
-	Cálices (Flores)	Anticancerígeno (prevenção) = Antioxidante e Apoptótico Antileucêmico Anticâncer de pele Anticâncer de estômago	Antocianinas (delfinidina-3- sambubiosídeo) Ác. Protocateico
-	Folhas	Anticancerígeno Anticâncer de póstata	Polifenóis
Aquoso Etanólico	Cálices (Flores) Folhas	Colesterolinêmico Anti-ateroesclerótico	Antocianinas Ác. Protocateico
Aquoso	Cálices (Flores)	Anti-obesidade	Antocianinas
Aquoso	Planta inteira	Anti-obesidade	Polifenóis (ef. Maior)
Etanólico	Cálices (Flores)	Anti-obesidade	Polifenóis
Etanólico	Sementes	Lactante	-
Extrato Polifenólico	-	Antidiabética	Polifenóis
Etanólico	Flores	Antidiabética	Polifenóis Ác. Protocateico e correlatos
Aquoso/quente	Cálices (Flores)	Anti-hipertensiva	Antocianinas: hibiscina e gossipicianina
Aquoso/quente/ferme ntação	Cálices (Flores)	Anti-anêmica/ Antitripanossomíase	Ferro, Zinco, Calcio e Magnésio Ác. Ascórbico

Fonte: DA-COSTA-ROCHA et al., 2014.

2.2.4. O gênero *Pavonia*

Pavonia constitui um grande gênero florístico com cerca de 250 espécies, sendo 134 delas de ocorrência brasileira e largamente utilizadas na medicina popular de diversos

países como Índia, Tanzânia e Brasil, para tratamento de disenteria, hemorragias intestinais, tratamento de doenças neoplásicas e microbianas (MOSTARDEIRO et al., 2014). Diferentes espécies de *Pavonia* são utilizadas e indicadas na medicina popular do Brasil e em países de clima tropical e subtropical para combater tumores de próstata; adicionalmente agem como bactericida, vermífugo e purgativo. As folhas de *P. varians* Moric., mais conhecida como cabeça de boi, são utilizadas, no Brasil, para combater infecções do aparelho digestivo, bem como inflamações da boca e garganta (LEAL, 2008). *Pavonia zeylanica* Cav. é usada como vermífugo e purgativo por nativos do Zâmbia e Índia (TIWARI; MINOCHA, 1980). A espécie *P. distinguenda* é usada na medicina popular principalmente como antibacteriana e para tratamento de tumores de próstata (MARASCIULO et al., 2006), enquanto que *P. varians* o é para infecções do aparelho digestivo (LEAL, 2008). *Pavonia cancellata*, conhecida como corda-de-viola ou malva rasteira vem sendo utilizada como cataplasma e contra furunculoses, na medicina popular (AGRA et al, 2007).

Existem alguns estudos sobre espécies de *Pavonia* que apresentam atividade biológica. Efeito antimicrobiano, analgésico, larvicida, antiespasmódico, anti-hipertensivo, antinocepcivo, anti-inflamatório, hepatoprotetor, bem como atividade antioxidante, têm sido relatados em vários estudos (MOSTARDEIRO et al., 2014). *Pavonia odorata*, cujo extrato metanólico exibiu propriedade citotóxica e ação antioxidante (SELVAN et al., 2007). Extratos cetônicos de partes aéreas de *P. zeylanica* foram testados contra larva do mosquito *Culex quinquefasciatus*, apresentando excelentes resultados (VAHITHA et al., 2002). Atividade antioxidante foi constatada a partir de testes com extratos etanólicos de *Pavonia cancellata*, (ALBUQUERQUE, 2015).

Estudos recentes revelaram que vários compostos fenólicos extraídos do extrato bruto e de suas frações de partes aéreas de *P. xanthogloea* apresentaram atividade citoprotetora, combatendo citotoxicidade induzida *in vitro* de linfócitos humanos (MOSTARDEIRO et al., 2014). Efeito antimicótico também foi observado contra *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*, *Fusarium culmorum*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas syringae* e *Erwinia amylovora* usando extratos aquosos, metanólicos e fração acetato de etila de plantas de *Pavonia urens* (BOER et al., 2005).

Recentemente, estudos do extrato hidroalcoólico do caule de *P. alnifolia* mostraram atividade hipotensora (ANDRADE et al., 2012) e extrato etanólico do caules e das folhas de *P. zeylanca* exibiram atividade laxativa, antidiabética, em ratos. Extrato aquoso desta mesma espécie também apresentou analgésica e anti-inflamatória, além da

antidiabética, em ratos (HEPCY KALARANI et al., 2012a,b,c). O extrato total das folhas de *P. multiflora* apresentou atividade inibitória da catepsina K e V com concentração de 500 µg/mL (LOPES, 2014). Catepsinas são peptidases, envolvidas na degradação de proteínas nos lisossomos ou em outras organelas e atuam em processos patológicos, como a osteoporese e cânceres de várias etiologias. São cerca de 15, ao todo, mas em mamíferos são apenas, algumas. São intituladas de catepsina A, B, C, D, E, F, G, H, K, L, O, V, W, X e catepsina Z. Para exemplificar, catepsina K é uma potente enzima que degrada a matriz extracelular em osteoclastos, enquanto que a catepsina B está envolvida nos processos de desmielinização neuronal, na artrite reumatóide, enfizema pulmonar e invasibilidade neoplásica (BECHET et al., 2005; KUESTER et al., 2008; MARQUES, 2011; PALERMO; JOYCE, 2007; TURK; GUNCAR, 2003). Existem crescentes evidências da contribuição das catepsinas lisossomais nos eventos proteolíticos relacionados à progressão tumoral, ao desenvolvimento e progressão das doenças cardiovasculares, incluindo aterosclerose e formação de aneurismas, e na reabsorção óssea (osteoporose). Em situações patológicas, a catepsina V é considerada um potente marcador de diagnóstico de tumores no cólon e está diretamente associada ao processo de desenvolvimento da aterosclerose (HOSTETTMANN et al., 2003; ROUHI, 2003; SANTA MARIA et al., 1998; YASUDA, 2004).

O potencial econômico de algumas espécies de *Pavonia* se deve a sua utilização como fonte de fibras na cordoaria e aniagem. Outras espécies, devido à beleza de suas flores apresentam um grande potencial ornamental (COSTA, 2006). Muito recentemente, estudos alusivos à fitoquímica de *P. multiflora*, isolou 10 novos metabólitos, sendo loliolide e taraxerol 4-methoxybenzoate identificados como potentes inibidores fotossintéticos, os quais promissora e são indicados como herbicidas naturais (LOPES et al., 2016).

2.2.5. O gênero *Sida*

A relevância etnofarmacológica deste gênero reside no fato de que diversas populações do mundo, como Índia, China e países dos continentes Africano e Americano, utilizam espécies de *Sida*, há séculos, para prevenção e tratamento de diferentes enfermidades, como diarreia, desintéria, infecções gástro-intestinais, epiteliais e urinárias, malária e outros tipos de febres, problemas de parto, problemas cardíacos e do sistema nervoso, tuberculose, asma, bronquite e outros problemas respiratórios, reumatismos e

inúmeras outras infecções. Em adição, espécies deste gênero tem sido largamente utilizadas como auxiliar na perda de peso (DINDA et al., 2015). *Sida rhombifolia* L., conhecida como “guanxuma”, “malva”, “vassoura-do-campo”, “mata-pasto” ou “vassourinha”, é amplamente empregada na medicina caseira, como emoliente, tônica, estomáquica, febrífuga, calmante, anti-hemorroidal, anti-diarréico e para aliviar dores ocasionadas por picadas de insetos. Na Índia, a infusão de suas raízes é utilizada no tratamento do reumatismo. *Sida carpinifolia* (L.f.) K. Schum e *Sidastrum micranthum* (A. St.-Hill.) Frixell, outras espécies de malváceas, possuem características e propriedades semelhantes (LORENZI; MATOS, 2002).

O extrato bruto e alguns isolados exibiram amplo espectro de ação, tanto *in vivo*, como *in vitro*, principalmente no que se refere aos efeitos antimicrobiano, analgésico, anti-inflamatório, abortivo, antimalárico, antituberculose, antidiabético e antiobesidade, além de efeito nefro, neuro e cárdio protetor, entre outros. Efeito citotóxico foi observado em apenas três espécies de *Sida*, quando extratos brutos eram administrados de forma oral em ratos. Tais atividades farmacológicas têm sido atribuídas à presença de alcaloides, flavonoides e outros compostos fenólicos e ecdisteróides (DINDA et al., 2015). Estigmasterol e luteolina, portadores de atividade anticâncerígena, foram encontrados em *S. acuta* e de *Sida galheirensis* (AWAD et al., 2005; JU et al., 2007). Atividade antibacteriana foi atribuída à criptolepina de *S. acuta* (SAWER, 2005), à luteolina (BASILE, 1999) e ácido salicílico (HUANG, 1993), de *S. galheirensis* e à hipaforina de *S. spinosa* (DIAS FILHO et al., 2002). Estes resultados indicam que mais atenção deve ser dada às espécies *Sida acuta*, *S. cordifolia*, *S. spinosa*, *S. rhombifolia* e *S. veronicaefolia* no que se refere a seus usos para controle e tratamento da diarréia, disenteria, infecções gastrointestinais e urinárias, doenças de pele, asma, bronquite e demais problemas respiratórios, adversidades pós-parto e abortos, malária, alterações cardíacas e nervosas, no tratamento adjuvante a perda de peso, reumatismos e outras inflamações. Além disso, são raros os estudos que oferecem segurança ao uso etnofarmacológico das espécies de *Sida* e suas preparações comerciais locais ou globais (DINDA et al., 2015). O extrato etanólico de *Sida rhombifolia* L. tem apresentado atividade vasorrelaxante (CHAVES et al., 2013), além de fraca citotoxicidade (PIEME et al., 2010).

Sida rhomboidea Roxb, é uma erva encontrada em pântanos da Índia cujas raízes e folhas são usadas como tônico, para cura de febres, doenças do coração e todos os tipos

de inflamação. Estudos farmacológicos desta planta indicaram sua atividade antinociceptiva e anti-inflamatória (VENKATESH et al., 1999).

Sida cordifolia L., é conhecida no Brasil como malva branca ou malva branca sedosa e tradicionalmente utilizada no tratamento de estomatites, blenorragia, bronquite asmática e congestão nasal. No nordeste brasileiro, esta e outras espécies de *Sida* são comumente usadas pra atenuação dos efeitos contra mordedura de animais peçonhentos, principalmente de cobras, como analgésico, anti-inflamatório, e antinoceptivo (SILVA et al., 2006a; SILVA et al., 2006b). Os efeitos anti-inflamatório e analgésico foram investigados para os extratos aquosos desta planta, mostrando-se bastante significativos, comprovando sua utilização popular (FRANCO et al., 2005; FRANZOTTI et al., 2000). *Sida cordifolia* também apresentou atividade antibiótica decorrente da presença de óleos essenciais (NUNES et al., 2006). Algumas espécies de *Sida* são referidas como uma droga conhecida por “bala” na medicina ayurvédica (DEOKULE; PATALE, 2002) e utilizada no tratamento de leucorréia, gonorréia, reumatismos e da dor ciática, enquanto no Irã, é utilizada no tratamento de disenteria (LEAL, 2008). Estudos farmacológicos em modelos animais utilizando extratos de *S. cordifolia* e *S. rhomboidea*, indicaram atividade antinociceptiva e anti-inflamatória comprovando sua utilização popular (ALAM et al., 1991; FRANZOTTI et al., 2000; SUTRADHAR et al., 2006; VENKATESH et al., 1999).

2.2.6. O gênero *Luehea*

Estudos relatam que folhas de *L. divaricata* são empregadas na etnofarmacologia para controle e/ou tratamento de diversas enfermidades, em decorrência de suas atividades farmacológicas: antitérmica, contra disenteria, afecções gastrointestinais e hepáticas, leucorréia, reumatismos e artrites, blenorragia, sangramentos, tumores, úlceras e feridas e gangrena. As hastes e caules são usados como anti-inflamatório; cascas e partes aéreas são utilizadas para a cura de afecções epiteliais e a raiz é depurativa. Infusões de folhas de *L. divaricata* contém numerosos polifenóis, flavonoides, taninos, saponinas e mucilagens, aos quais tem sido atribuída as propriedades antioxidantes (PORT'S et al., 2013). Ações analgésica, diurética, antiespasmódicas e antitussígena são atribuídas ao uso de infusão das folhas e flores (ALICE et al., 1995; BERNARDI-WENZEL et al., 2013; TANAKA et al., 2005). Os mesmos efeitos são obtidos além da exibição de propriedades anti-inflamatória, antimicrobiana (infecções respiratórias,

intestinais e leucorréias), antirreumática e vermífuga quando extratos das cascas são usados pela população nativa, no Brasil (ROSA et al., 2014).

As cascas, folhas e flores de *L. divaricata* são usadas tradicionalmente pela população como cicatrizante externo, antiartrítico, antileucorréico, diurético, em afecções do aparelho respiratório e urinário. As raízes têm uso como depurativo e anti-inflamatório e as folhas são empregadas nos casos de disenteria, reumatismo, blenorragia e ainda como calmante e antiespasmódico. As famílias da cultura Mbyá-Guarani, no município de Viamão/RS, utilizam as folhas de *Luehea divaricata* com o propósito de prevenir afecções bucais (WALKER et al., 2008).

Compostos de fungos endofíticos isolados de folhas de *L. divaricata* apresentam atividade antimicrobiana contra bactérias patogênicas em animais, como *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* e fitopatógeno. Esta atividade antibiosis indica um papel na proteção da planta contra patógenos microbianos na natureza, com potencial para aplicações farmacêuticas e agrícolas. Parece que o exame da comunidade microbiana associada com plantas medicinais das regiões tropicais tem potencial como uma estratégia útil para procurar espécies com aplicações biotecnológicas. A presença de fungos endofíticos em hospedeiros pode beneficiá-los. Isso porque eles colonizam um nicho ecológico muito semelhante ao ocupado pelos fitopatógenos, que habitam os espaços intracelulares, interagindo intimamente com seu anfitrião (TANAKA et al., 2003; BERNARDI-WENZEL et al., 2013).

Souza et al. (2004), em decorrência de um estudo etnofarmacológico, avaliaram o potencial antimicrobiano de algumas plantas usadas no Brasil, mais precisamente no estado do Rio Grande do Sul. Utilizando o método de difusão em ágar, os autores constataram que o extrato metanólico de *L. divaricata* apresentava atividade contra a bactéria *Micrococcus luteus*. O extrato não apresentou nenhuma atividade contra bactérias, como *Staphylococcus aureus* e *S. epidermidis*, *Escherichia coli*, além da levedura *Candida albicans*.

Lopes et al. (1990) avaliaram a atividade anti-inflamatória da espécie *L. divaricata*. A partir de um experimento utilizando o extrato aquoso obtido de folhas secas da planta, os autores empregaram o teste do edema da pata do rato, induzido por carragenina. Aplicação do extrato na dose de 150 mg/kg administrada intraperitonealmente obteve o pico máximo de redução do edema.

Estudos recentes revelaram que extratos hidroalcoólicos de folhas de *L. divaricata* mostraram atividade anti-inflamatória, analgésica e imunoestimuladora (ROSA et al.,

2014). Seus extratos aquosos ainda foram capazes de apresentar propriedades anti-degenerativa do sistema nervo central, e antioxidante, mas atividade antimutagênica foi detectada em extratos aquosos das cascas de partes aéreas (COURTES et al., 2015). Atividade antioxidante e anticolinesterase em modelo *in vivo* usando o nematoide *Caenorhabditis elegans* foi observada, quando extratos de folhas de *L. divaricata* eram administrados neste sistema. (ARANTES et al., 2014.)

Análises de extratos de *L. divaricata* revelaram propriedades antifúngicas com amplo espectro de atividade contra dermatofitos. Extrato aquoso de *L. divaricata* apresentou atividade genotóxica no teste de Ames. Tais extratos também têm sido utilizados no tratamento da disenteria leucorréia, reumatismo, gonorréia, tumores, afecções epiteliais e bronquite e largamente utilizados como depurativo e anti-inflamatório (BERNARDI-WENZEL et al., 2013; TANAKA et al., 2005).

Outras espécies de açoita-cavalo presentes em outros biomas brasileiros, como *L. candicans* Mart. et Zucc., que habita o cerrado brasileiro, também são consideradas plantas medicinais muito importantes pelas populações locais. Os extratos metanólicos brutos de ramos e folhas de *L. cadicans* foram capazes de inibir o crescimento de linhagens celulares de câncer renal. Extratos hexânico e derivados, clorofórmio e metanol apresentaram uma alta seletividade e pronunciada atividade citostática contra células cancerosas renais. (SILVA et al., 2012).

A presença de flavonoides, tais como a vitexina e ácido maslinico pode ser associada com a indicação popular de sua formação, propriedades anti-inflamatória e antitumoral. Extratos de *L. divaricata* têm apresentado atividade antioxidante e propriedades analgésicas. Seu extrato também mostrou citotoxicidade contra linhagens de células tumorais. Outra indicação citada é no tratamento das doenças pulmonares e vias respiratórias superiores. No entanto não há nenhuma evidencia científica sobre a sua atividade de regulação em tosse, enquanto suas propriedades antibióticas também variam. Além disso, o extrato de *L. divaricata* mostrou inibir fortemente o crescimento de *S.aureus*, *S.epidermitis*, *Klebsiella pneumoniae*, *E.coli* (BIESKI et al., 2012; TANAKA et al., 2005). Diversos ensaios *in vivo* e *in vitro* vêm comprovando e determinando a ampla variedade das atividades biológicas dos flavonoides. Em seres humanos e animais, estes compostos apresentam efeitos potenciais como antioxidantes, anti-inflamatorório, protetor cardíaco, analgésico, antialérgico, antitumoral, anti-diabético, cicatrizante, entre outros (SIMÕES et al., 2010). Produtos naturais extraídos de plantas que pertencem à família Malvaceae são utilizados no tratamento de muitas doenças, entre elas picadas de

cobra, asma, distúrbios gastrointestinais e reumatismo, como diuréticos, entre outros (GOMES et al., 2011a; MAGANHA et al., 2010). Estudos fitoquímicos de *L. divaricata* têm relatado que algumas espécies pertencentes a este gênero são usadas como remédios naturais para tratar reumatismo e hemorragia. Flavonoides, saponinas e triterpenos constituem os principais produtos químicos (ALVES et al., 2014).

Bianchi et al. (1991) realizaram estudos de toxicidade aguda e sub-aguda com a espécie *L. divaricata*. Em ambos os estudos foram utilizados camundongos Swiss, machos. O extrato alcoólico administrado por via intraperitoneal, nas doses de 250 mg/kg e 500 mg/kg desencadearam diarreia e eriçamento do pêlo, nas 72 horas em que foram observados no teste de toxicidade aguda. Óbitos de 50% dos animais foram evidenciados, utilizando dose de 500 mg/kg em 48 horas. Para o teste de toxicidade sub-aguda, os autores administraram a dose de 25 mg/kg de extrato aquoso e alcoólico por via intraperitoneal, uma vez por semana durante 8 dias. O extrato aquoso desencadeou a morte de um animal após a 8ª dose, diferentemente do extrato alcoólico, que nesta dose não desencadeou nenhum óbito.

Folhas de *L. divaricata* são comercializadas como fitoterápicos (BERNARDI-WENZEL et al., 2013; TANAKA et al., 2003) e, considerando-se que medicamentos à base de plantas, por vezes podem provocar tumores ou prevenir eventos de mutação, é importante estudar a ação desses fitomedicamentos naturais no DNA. Extratos aquosos de *L. divaricata* administrados conjuntamente com doxorubicina (droga indutora de neoplasias) impediram a formação de tumores, em drosófilas, neutralizando a ação da droga e inibindo os efeitos tóxicos sobre o DNA, protegendo-o, de modo a não desencadear proliferação celular desordenada (FELICIO et al., 2011).

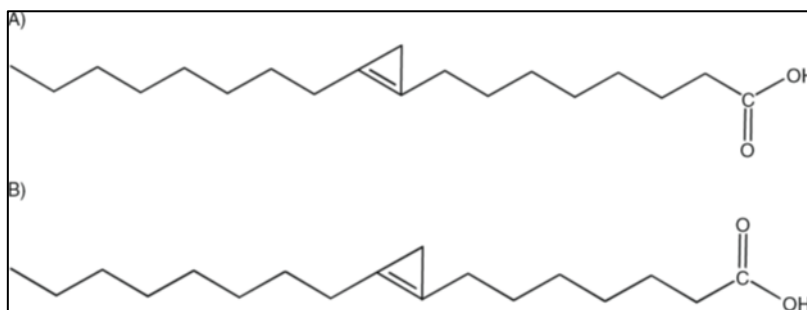
2.3 FITOQUÍMICA DOS PRINCIPAIS GÊNEROS MEDICINAIS DA FAMÍLIA MALVACEAE

Estudos científicos com espécies desta família, realizados por vários grupos de pesquisa, têm demonstrado a riqueza de seus constituintes químicos, muitos dos quais sendo descritos pela primeira vez na literatura e pertencentes às mais variadas classes de compostos, que surpreendem pelo potencial farmacológico, quando testados *in vitro* e *in vivo* (BOVINI et al., 2001; OTERO et al., 2000). Alguns constituintes químicos já foram isolados de espécies desta família, por exemplo, compostos pertencentes à classe dos ácidos graxos (COSTA et al., 2009; NAKATANI et al., 1986; SCHMID; PATTERSON,

1988; SILVA et al., 2006a,b; VICKERY, 1980), terpenóides (AMES; MACLEOD, 1990; SILVA et al., 2006a,b), esteróides (ALI et al., 2014; COSTA et al., 2007; GOYAL; RANI, 1988) e fitoesteróis (TODARWAL et al., 2011), esfingolípídeos, triterpenos e iridóides (ALI et al., 2014; COSTA et al., 2009), alcaloides (GUANATILAKA et al., 1980), flavonoides (ALI et al., 2014; COSTA et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2012; SILVA et al., 2005; SILVA et al., 2006a,b; WOLLENWEBER; DÖRR, 1996), cumarinas (SILVA et al., 2007), ácidos fenólicos (COSTA et al., 2007; SILVA et al., 2007) e outros compostos fenólicos (LEAL, 2008), betainas (BLUNDEN et al., 2001), especialmente as glicilbetainas (GORHAM, 1996), alcaloides (GHOSAL et al., 1975). Em adição, outro estudo relativo à fitoquímica da família Malvaceae descreve o isolamento de óleos essenciais, sesquiterpenoides do tipo cadineno (para as quais tem sido atribuída atividade inseticida) e lactonas sesquiterpênicas, (COSTA et al., 2009).

Ácidos graxos palmítico (C16:0), oleico (C18:1), linoleico (C18:2), e “ciclopropenóicos/ciclopropênicos” podem ser encontrados em óleos de sementes de várias espécies das ordens Malvales (onde se encontra taxonomicamente classificada o gênero *Luehea*), Fabales e Sapindales e de inúmeras gimnospermas, mas, apenas ocasionalmente são encontrados em outras partes das plantas (OLIVEIRA et al., 2012; SCHMID; PATTERSON, 1988; SILVA et al., 2010). Alguns destes ácidos graxos são bastante incomuns e contêm um anel de três membros no centro de suas cadeias de 18 e 17 carbonos, conforme Figura 2. Além do seu papel como produto de armazenamento, estes ácidos graxos ciclopropenóicos têm ação antimicótica e são considerados marcadores, na quimiotaxonomia, da família Malvaceae.

Figura 2 – Ácidos graxos marcadores na quimiotaxonomia da família Malvaceae



Estruturas químicas de: (A) Ácido estercúlico (C19: ácido 1, [8-(2-octil-1-ciclopropenil) octanóico] e (B) ácido malvático (C18:1, [7-(2-octil-1-ciclopropenil) heptanóico]).

Fonte: HERRERA-MEZA et al., 2014.

Ácidos graxos com ligações duplas e triplas conjugadas com carbonilas no interior da cadeia carbonada são os principais marcadores (HERRERA-MEZA et al., 2014; SCHMID; PATTERSON, 1988). Já os esfingolipídeos aparecem concentrados no gênero *Abutilon*, também pertencente à família Malvaceae (HMEDS et al., 1990).

Também fazem parte da constituição química de várias espécies de malváceas, éteres metílicos com enonas conjugadas, confirmando a variabilidade estrutural dos ácidos graxos desta família (NAKATANI et al., 1994).

Ácidos fenólicos e flavonoides (agliconas e glicosilados) e outros compostos fenólicos, aparecem na maioria das espécies de Malvaceae além de, com frequência, serem compostos majoritários nos extratos brutos. As contundentes atividades antioxidantes exibidas pelas espécies de Malvaceae têm sido atribuídas, em grande parte, á esta classe de compostos (COSTA et al., 2009; GORHAM, 1996; OLIVEIRA et al., 2012). Compostos fenólicos extraídos das cascas dos caules com atividades antioxidantes também podem ser encontrados em espécies do gênero *Sterculia* (COSTA et al., 2010). O gênero *Herissantia* apresenta, em sua constituição, ácidos graxos, triterpenos, esteroides, ácidos fenólicos, flavonoides e glicosídeos flavonoídicos (COSTA et al., 2007; SILVA et al., 2005; SILVA et al., 2009). A ocorrência de flavonoides em Malváceas é ampla, alguns deles são bastante conhecidos como a luteolina e quercetina (WOLLENWEBER; DORR, 1996) por serem isolados de muitas espécies, principalmente daquelas dos gêneros *Sida*, *Herissantia* e *Sidastrum* (COSTA et al., 2007; GOMES et al., 2011b; SILVA et al., 2006a).

Outros compostos nitrogenados, como alcaloides, glicinas betaínas, as quais também aparecem em abundância, além das saponinas esteroidais e triterpênicas (glicosiladas ou não) são igualmente encontrados comumente nos membros desta família (COSTA et al., 2009; GORHAM, 1996). Investigações alusivas a diversas espécies da família Malvacea tem revelado a ocorrência de esteróis e terpenos (mono-, sesqui- e triterpenos). Triterpenos como α - e β -amirina e aqueles pertencentes à série dos ursenos e esteroide sitosterol, aparecem quase que ubiquamente nesta família. (COSTA et al., 2009; GORHAM, 1996; HMEDS et al., 1990; SCHIMID; PATERSON, 1988;). Esteroides sitosterol, estigmasterol e sitosterol-3-O- β -D-glicopiranosídeo, juntamente com os triterpenóides pentacíclicos lupeol, 3- β -O-acil lupeol, lupenona e ácido betulínico são bastante comuns entre as espécies de malvácias, principalmente naquelas pertencentes ao gênero *Sterculia*. Nestas, elas tem sido encontrados nas cascas dos caules (COSTA et al., 2010). Os triterpenos *cicloartenol* e *cicloeucaenol* de *Herissantia tiubae* são

portadores de atividade espasmolítica (GOMES et al, 2005). Em estudos fitoquímicos de *Thespesia populnea* L., verificou-se a presença de alcaloides, carboidratos, glicosídeos, saponinas, proteínas, flavonoides, taninos e compostos fenólicos (YUVARAJ; SUBRAMONIAM, 2009, YUVARAJ et al., 2012). Uma exaustiva lista de alguns componentes químicos isolados de diferentes espécies de malváceas, suas atividades farmacológicas e respectivas estruturas químicas pode ser encontrada nos Apêndices A e B.

2.3.1 O gênero *Abutilon*:

Espécies do gênero *Abutilon*, mostram uma constituição química diversificada, que inclui entre outras classes de substâncias, as lactonas sesquiterpênicas (SHARMA; AHMAD, 1989) e vários esteroides (AHMED et al., 1990; AHMED et al., 1991). Alcaloides, esteróis, glicosídeos cardíacos, e fenólicos (mutinisídeo) e flavonoisídeos (cefacosídeo) já foram isolados de frações n-butanólicas, enquanto que metil-4-hidroxibenzoato, β -sitosterol-3-O-beta-D-glicopiranosídeo, lupeol, taraxacina, ácido ursólico, o foram de frações etanólicas de *A. muticum* (KHADABADI; BHAJIPALE, 2010).

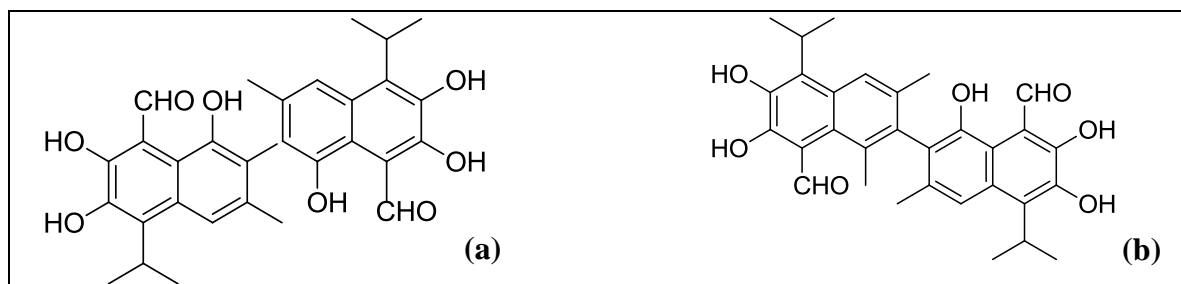
Este gênero é portador de diferentes alcaloides, esteroides, ésteres glicosilados, triterpenos e iridóides e esfingolipídeos. Ceril álcool, α -sitosterol, mistura de p-amirinas, ácidos fenólicos, flavonoides, carboidratos (glicose, frutose e galactose) e aminoácidos. Terpenos do tipo urseno são bastante comuns dentro deste gênero, mas aqueles do tipo esfingolipídeos parecem restitos a determinadas espécies. Grande diversidade de alcaloides, terpenóides, saponinas, flavonoides, principalmente quercetina, taninos e outros compostos fenólicos têm sido extraídos de folhas e/ou outras partes aéreas de diferentes espécies do gênero *Abutilon* (ALI et al., 2012; 2014; FATIMA et al., 2014; KHADABADI; BHAJIPALE, 2010; SCHMID; PATTERSON, 1988). Estudos com *A. indicum* revelaram a presença de sesquiterpeno lactonas, ácido gálico, β -sitosterol, geraniol e cariofilina. Das raízes, já foram identificados vários ácidos graxos, como linoleico, oleico, esteárico, palmítico, láurico, mirístico, caprílico, cáprico e um incomum ácido graxo de 17 carbonos, da classe dos ciclopropenóicos, os quais são responsáveis pela ação antimicótica (SCHMID; PATTERSON, 1988), além dos já citados sitosterol e α - e β -amirina. Abutilina A e (R)-N-(1'-metoxicarbonil-2'-feniletil)-4-hidroxibenzamida, também tem sido encontrados neste gênero. Extratos de plantas inteiras de espécies de

Abutilon tem demonstrado redução de dano peroxidativo no fígado, através da captura de radicais livres devido à presença de flavonoides. Flavonoides e seus glicosídeos são abundantes em flores de *A. indicum* e *A. grandiflorum*, como por exemplo, hipolaetina e isoscutelareina 8-O- β -glicuronopiranosídeo 3-O-sulfato, em conjunto com hipolaetina 8-O- β -glicuronopiranosídeo, também encontrados nas folhas de *A. indicum*. As flavonas: luteolina, chrisoeriol, apigenina 7-O-beta-glicopiranosídeo foram encontradas apenas nas flores de *A. indicum* (KHADABADI; BHAJIPALE, 2010; SCHIMID; PATTERSON, 1988). Outros flavonoides C-glicopiranosídeos foram encontrados em *A. pakistanicum* (HUSSAIN et al., 2008). A quantidade de compostos fenólicos biologicamente ativos presentes neste gênero desperta considerável interesse comercial, inclusive como flavorizante (KHADABADI; BHAJIPALE, 2010; SCHIMID; PATTERSON, 1988).

2.3.2 O gênero *Gossypium*:

Estudos qualitativos da fitoquímica de extratos das espécies de *Gossypium* têm revelado a presença de carboidratos, saponinas, esteróis, glicosídeos, flavonoides, taninos e outros compostos fenólicos, como o principal pigmento, o gossipol, que está presente cerca de 0,4-2% da massa seca das sementes. Gossipol é um dialdeído polifenólico (Figura 3), isolado das sementes, troncos e raízes do algodão (*Gossypium sp.*), é o principal constituinte do algodoeiro (LORENZI; MATOS, 2002; KHALEEQR et al., 2012). Quimicamente, o gossipol é um composto quiral e apresenta dois atropoisômeros: (aR)-(-)- e (aS)-(+)-gossipol (Figura 3) e por isso exibem suas atividades biológicas em diferentes níveis de intensidade (KHALEEQR et al., 2012; SANTOS et al., 2007). A presença de seis hidroxilas fenólicas e dois grupos aldeídicos (Figura 3), tornam esta molécula bastante reativa e responsável pelas reações de ozonólises. Outros pigmentos como gossypupurina, gossifulvina, gossicaerulina, carotenoides, flavonas e pigmentos amarelos, também se fazem presente nas sementes. (KHALEEQR et al., 2012).

Figura 3 – Estrutura química dos atropoisômeros do Gossipol



(a) (aR)-(-)-gossipol; (b) (aS)-(+)-gossipol

Fonte: Santos et al., 2007.

A fração não saponificável do óleo de sementes do algodão indiano contém sitosterol e ergosterol, lipídeos, ácidos graxos oleico, palmítico e linoleico, além do pigmento polifenólico gossipol. Saponinas, ácido láctico, colina e betainas e compostos ricos em sulfidrilas e compostos fosforados, como fitinas e fosfatídeos, também compõe a fração orgânica das sementes. As sementes também são portadoras de glicosídeos, esteróis, resinas, saponinas, carboidratos, taninos e compostos fenólicos. Proteínas, enzimas (lipases, catases, peroxidases e fitases) e aminoácidos, bem como iódina, fluorina e altos teores de todas as vitaminas. Cobre, boro, zinco, níquel, estrôncio e bário compõe a fração mineral das sementes (KHALEEQR et al., 2012).

O gênero *Gossypium* também é conhecido por produzir sesquiterpenoides com esqueleto carbônico tipo cadineno, aos quais tem sido atribuída uma atividade antioxidante, presentes, e bisabolol, com atividade anti-inflamatória, principalmente, em *G. hirsutum* (SARTORI et al., 2003; SOUZA et al., 2005; STIPANOVIC et al., 1980).

As concentrações destas substâncias nas plantas da família Malvaceae têm sido atribuídas à atividade de resistência a insetos e doenças. Mas o gênero *Gossypium* tem apresentado flavonoides contendo unidades de açúcar, como quercimetrina e quercetina 3'-O-glicosídeo, os quais tem sido relatados como responsáveis pela resistência de algumas espécies de algodão contra insetos (WAAGE; HEDIN, 1984). *Gossypium herbaceum* também apresenta flavonoides com atividade antioxidante e inibidora da enzima acetilcolinesterase (ZHAO et al., 2013). Extratos hidroalcoólicos de raízes *G. herbaceum*, mais conhecido como algodão asiático e que ocorre no meio oeste do continente africano, oeste da Índia, e países da Ásia central como Irã, Afeganistão, Rússia e Turkistão, apresentou carboidratos, saponinas, amido, taninos e outros compostos fenólicos. As demais classes de metabólitos estavam ausentes nas raízes (KHALEEQR

et al., 2012). Extratos de folhas secas e pulverizadas de *G. herbaceum* mostraram presença de carboidratos, taninos, flavonoides e outros compostos fenólicos, saponina, glicosídeos e esteróis (KUMAR et al., 2011).

2.3.3 O gênero *Hibiscus*

Os principais constituintes com atividades farmacológicas em *H. sabdariffa* são: ácidos orgânicos, antocianinas, polissacarídeos e flavonoides (DA-COSTA-ROCHA et al., 2014). Antocianinas com propriedades antioxidantes foram encontradas nas flores desta espécie (TSAI et al., 2002). Pigmentos antociânicos presentes nesta espécie tem sido responsabilizados pelos efeitos benéficos sobre a pressão sangüínea, febre e doenças hepáticas (ALI et al., 2005). Extratos metanólicos de *H. sabdariffa* tem revelado a presença de alcaloides, flavonoides, saponinas e glicosídeos cardíacos (cardenólídeo) (OLALEYE, 2007).

Ácidos orgânicos como os ácidos 3,4-dihidroxibenzóico, málico, cítrico, hidroxicítrico, hîbiscus, tartárico, oxálico e ascórbico foram relatados nas flores de *H. sabdariffa*. Interessantemente, nem sempre estes compostos estavam presentes todas às vezes à que esta espécie fora submetida à extração. Ácido hîbiscus também foram encontrados em folhas de *H. sabdariffa*. Tal fato foi atribuído ao grau de desenvolvimento floral, distribuição geográfica, sazonalidade e ao estado de úmidade (flores frescas ou secas). Ácidos clorogênico, protocateico (ácido 3,4-di-hidrobenzóico), pelargonídico, elágico e compostos correlatos do ácido cinâmico (ácidos cafeico, ferúlico e p-cumárico) e quínico foram obtidos de extratos metanólicos e aquosos de flores e folhas secas de *H. sabdariffa* (ALI et al., 2005; DA-COSTA-ROCHA et al., 2014).

Antocianinas cianidina e delfinidinas, bem como suas derivadas, glicosiladas ou não, incluindo crisantenina (cianidina-3-glicosídeo) gossipicianina (cianidina-3-sambubiosídeo) e hibiscina (delfinidina-3-sambubiosídeo) foram encontradas nas flores de *H. sabdariffa*, embora cianidina-3,5-diglicosídeo e cianidina-3-(2G-glicosilrutinosídeo) tenham sido encontradas somente em *H. sabdariffa* var. *altissima* (ALI et al., 2005; DA-COSTA-ROCHA et al., 2014). Antocianinas têm sido responsabilizadas pelas ações terapêuticas imputadas às espécies de *Hibiscus* (ALI et al., 2005).

Das pétalas e/ou flores de *H. sabdariffa*, diferentes extratos metanólicos permitiram o isolamento de diversos polifenóis dos tipos flavonóis e flavanóis, tanto em

suas formas simples ou polimerizadas e demais flavonoides: quercetina (gliocosilada e aglicona), rutina (quercetin-3-rutinosídeo); luteolina, miricetina, hibiscetina ou hibiscitrina (hibiscetina-3-glicosídeo), sabdaritrina, sabdaretina (hidroxiflavona), campferol. Gossipitrina (gossipetina-7-glicosídeo), gossitrina (gossipetina-3-glucosídeo) e outras gossipentinas. Alguns destes compostos também foram isolados de *Gossypium indicum* e de pétalas de *H. altissima*. Extratos aquosos de folhas e flores secas de *H. sabdariffa* permitiram o isolamento e identificação dos fenólicos catequina e galocatequina e galato de galocatequina. Finalmente, glicinabetaina e trigonelina também estavam presentes nas flores de *H. sabdariffa*. (ALI et al., 2005; DA-COSTA-ROCHA et al., 2014).

As pétalas também renderam 65% do peso seco de mucilagens e pectinas, que hidrolizadas, forneceram galactose, ácido galacturônico e rhamnose. Polissacarídeos do tipo arabinanos e arabinogalactanos compunham a fração solúvel em água, além de galactose, glicose, rhamnose, manose, xilose e ácidos anidrouônico, galacturônico e glicurônico foram identificados em flores e folhas de diferentes espécies de *hibiscus* (ALI et al., 2005; DA-COSTA-ROCHA).

Mais de 37 compostos voláteis foram identificados de diversas partes das flores, principalmente hidrocarbonetos insaturados, álcoois, aldeídos de 8-13 carbonos e pertenciam a quatro grupos: derivados de ácidos graxos (2-etilfurano e hexanal), de açúcares (furfural e 5-metil-2-furaldeído), de compostos fenólicos (eugenol), e terpenóides (1,4-cineol e limoneno), sendo furfural, 5-metil-2-furfural, (Z)-3-hexenol, 2-hexenol, 1-hexenol, α -terpineol os principais (ALI et al., 2005). Ácido acético também foi extraído da fração dos voláteis. Em outro estudo, os compostos isolados e identificados foram distribuídos em cinco grupos: aldeídos, álcoois, cetonas e ácidos, sendo estes os compostos aromáticos: hexanal, 3-octanona, octanal, 1-octen-3-ona, nonanal, 2,4-nonadienal (E,E) e geranilacetona (DA-COSTA-ROCHA et al., 2014).

Das sementes de *H. sabdariffa*, colesterol, campasterol, estigmasterol, β -sitosterol, α -espinasterol e ergosterol constituíram a fração oleosa. (ALI et al., 2005). Mas as folhas apresentaram β -sitosteril- β -D-galactosídeo. Em estudo recente de revisão sobre *H. sabdariffa*, um extenso resumo alusivo aos componentes químicos de extratos aquosos das flores foi apresentado por Da-Costa-Rocha et al. (2014), o qual pode ser observado mais detalhadamente no APÊNDICE C.

Confirmando a presença dos compostos citados, estudos fitoquímicos da espécie *H. tiliaceus* mostraram que hibiscusina, hibiscusamida, ácido vanílico, ácido p-hidróxi-

benzóico, ácido siríngico, p-hidróxibenzaldeído, escopolentina, N-trans-feruloiltiramina, N-cis-feruloiltiramina, β -sitosterol, estigmasterol, β -estigmasterone, hibiscolactona, hibisconas, hibiscoquinonas, lapachol, gossipol, gossipetina, manosononas, hiperosídeo, campferol, quercetina, gossipitina, gossitrine e ácidos p-coumárico e fumáricos estão presentes em seus vários tipos de extratos (NARENDER et al., 2009).

Da espécie *Hibiscus syriacus* L. foram isoladas várias antocianidinas glicosiladas e seus respectivos derivados esterificados com ácido mevalônico, como aquelas do tipo delphinidina, petunidina, cianidina e malvidina, peonidina e pelargonidina (KIM et al., 1989). *Hibiscus esculentus* contém citronelol, responsável pela ação anticonvulsivante e antibacteriana (SOUZA; SILVA, 2006). Atividade antibacteriana também foi atribuída a 1,8-cineol de *H. esculentus* (KOTAN et al., 2007).

2.3.4 O gênero Pavonia:

Espécies deste gênero se destacam pelas suas várias atividades. A saponina pavofilina com atividade depurativa foi isolada de *Pavonia zeylanica* (TIWARI; MINOCHA, 1980). Esteróides sitosterol, sitosterol-3-O-D-glicopiranosídeo, estigmasterol, estigmasterol-3-O-b-D-glicopiranosídeo e os compostos fenólicos 4',5-dihidroxi-3,7-dimetoxiflavona e canferol 3-O- β -D-(6''-E-p-coumaroil) glicosídeo foram isolados de *P. cancellata* (FERNANDES, 2013). A investigação fitoquímica da espécie *P. distinguenda* também possibilitou a identificação de β -sitosterol, lupeol, taraxerol, germanicol e os flavonoides glicosilados (tilirosídeo) e astragalina. Recentemente, o composto canferol 3-O- β -D-(6''-E-p-coumaroil) glicosídeo (tilirosídeo) encontrado na espécie foi relatado como potente hipotensor e vasorrelaxante em artéria mesentérica de rato, (LEAL, 2008; SILVA et al., 2013). Em *P. varians* já foram detectados alcaloides, taninos, catequinas e saponinas (LEAL, 2008).

Recentemente, um estudo mais minucioso alusivo à fitoquímica da espécie *P. multiflora*, permitiu o isolamento e identificação do triterpenóide derivado do taraxerol, o p-metoxibenzoato de taraxol, juntamente com outros derivados terpênicos: loliolideo, vomifoliol, 3-oxo- α -ionol, 4,5-di-hidroblumenol A e blumenol C. Os ácidos fenólicos vanílico, ferúlico, p-hidroxibenzóico, p-coumárico, também foram identificados nos extratos foliares de *P. multiflora*. O extrato bruto das folhas apresentou atividade inibitória da catepsina K e V com concentração de 500 μ g/mL, em experimento *in vitro* (LOPES et al., 2014). Estudos recentes sobre a fitoquímica de *P. multiflora* revelou a

presença de 10 novos metabólitos na espécie: loliolido, taraxerol 4-metóxi-benzoato, vomifoliol, 4,5-dihydroblumenol A, 3-oxo- α -ionol, blumenol e os ácidos vanílico, ferúlico, p-cumárico, p-hidróxi-benzóico, sendo os dois primeiros potentes inibidores da fotossíntese, o que os coloca como herbicidas naturais em potencial (LOPES et al., 2016)

2.3.5. O gênero *Sida*:

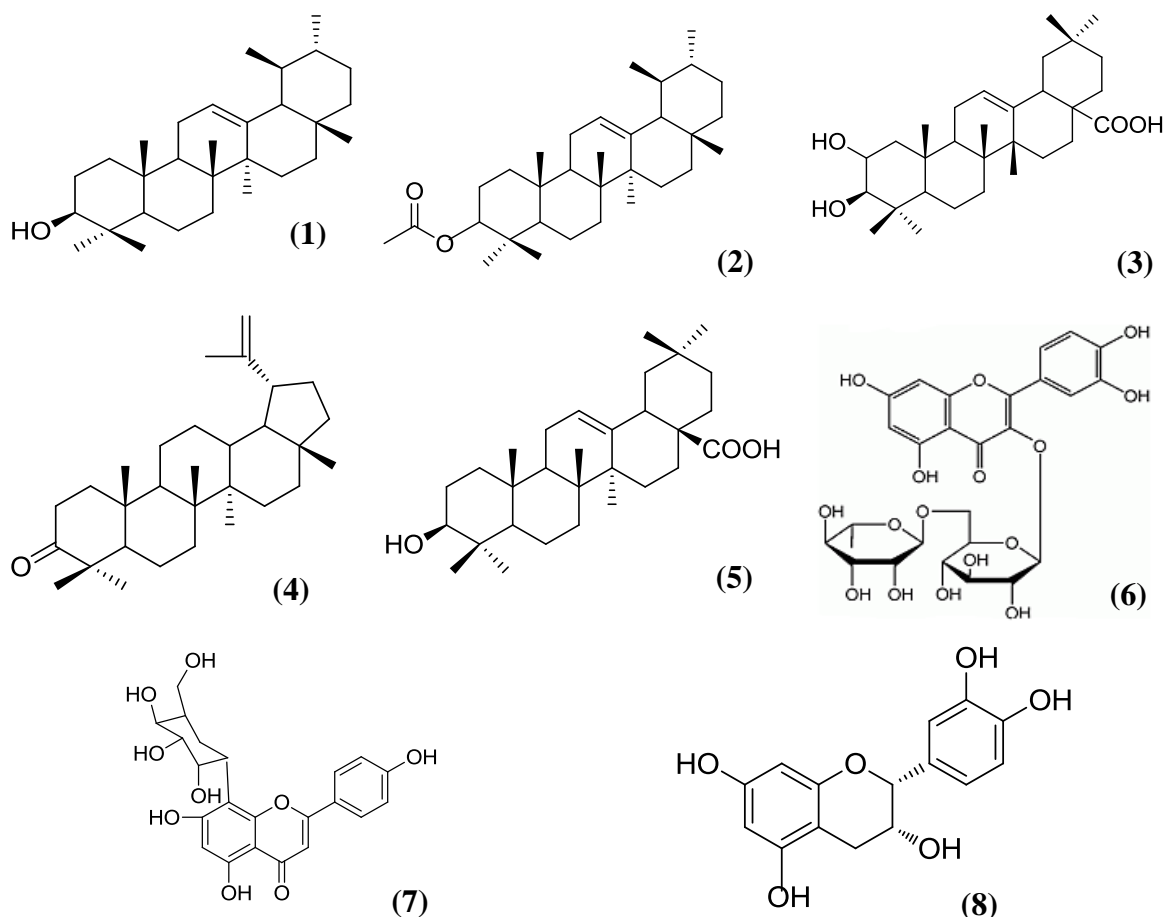
Estudos relativos ao gênero *Sida* têm identificado até o momento, cerca de 142 constituintes químicos, dentre eles, aqueles pertencentes à classe dos alcaloides (23), flavonoides (19), ecidisteróides (16), que são as principais. Mas mono e triterpenos (5), tocoferóis (4), lignanas (3), cumarinas (4), esteróis (12), compostos fenólicos (10) e alifáticos (22), feofitinas (4), aminoácidos (16) e outras classes de compostos (4), inclusive compostos nitrogenados, de menores concentrações estão, igualmente, presentes (DINDA et al., 2015; SILVA et al., 2006b). Alcaloides, flavonoides, compostos fenólicos e ecidisteróides parecem ser os responsáveis pelas atividades farmacológicas atribuídas a este gênero (DINDA et al., 2015). Estigmasterol e luteolina, portadores de atividade anticâncerígena, foram encontrados em *S. acuta* (AWAD et al., 2005) e *S. galheirensis* (JU et al., 2007), respectivamente. Atividade antibacteriana foi atribuída à criptolepina de *S. acuta* (SAWER, 2005), à luteolina (BASILE, 1999) e ácido salicílico (HUANG, 1993), de *S. galheirensis*, e à hipaforina de *S. spinosa* (DIAS FILHO et al., 2002). Vale ressaltar que sitosterol-3-O- β -D-glicopiranosídeo, campferol-3-O- β -D-(6''-E-p-cumaroil) glicopiranosídeo e luteolina-7-O- β -D-glicopiranosídeo e várias flavonas estão presentes, como na maioria das espécies vegetais. (DINDA et al., 2015; SILVA et al., 2006b).

Este gênero é reconhecido por suas espécies *S. cordifolia*, *S. spinosa*, *S. salzmanii*, e *S. galheirensis* ricas em ácido linoleico e outros ácidos graxos. (SILVA et al., 2010a). Além disso, raízes de *S. cordifolia* atestou a presença de alcaloides, fenóis e saponinas. O teor de polifenóis foi de 0,84% e índice de espuma 100. Em análise fitoquímica de folhas de *S. cordifolia* detectou-se a presença de aminas simpatomiméticas, efedrina e pseudoefedrina, um potente vasoconstritor, denominado vasocinona (GHOSAL et al., 1975; PRADO et al., 2005). Uma completa e exaustiva lista dos compostos químicos isolados deste gênero pode ser encontrada nos trabalhos de Revisão do gênero de Dinda et al. (2015) e Silva et al. (2006b).

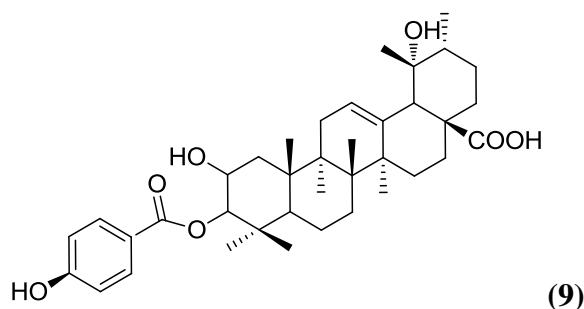
2.3.6 O Gênero *Luehea*

Estudo fitoquímico do extrato alcoólico de *Luehea divaricata*, identificaram taninos, saponinas e flavonoides como rutina, quercetina e vitexina e ácido maslínico (LOPES et al. 1990; PORT'S et al., 2013). Flavonoides aparecem em maior quantidade que os demais compostos fenólicos, em *Luehea divaricata* (*L. espiciosa*.) e garante e atividade antioxidante exibida por esta (PORT'S et al., 2013). A indicação do uso de espécies de *Luehea* por diferentes população se deve às suas propriedades anti-inflamatória e antitumoral, as quais têm sido atribuídas à presença dos flavonoides vitexina e ácido maslínico (BIESKI et al., 2012; TANAKA et al., 2005). Estudos recentes com *L. divaricata* revelaram a presença de epicatequina, estigmasterol, lupeol e α - e β -amirina em seus extratos (ROSA et al., 2014). Catequina e quercetina foram encontradas nos extratos aquosos de *L. divaricata* (PORT'S et al., 2013). Em adição, alcaloides, óleos não voláteis, antocianidinas, carotenóides e polissacarídeos têm sido encontrados em seus extratos brutos (COURTES et al., 2015). Além destes constituintes químicos bem difundidos na família Malvaceae, existem outros compostos minoritários de diferentes classes, como algumas xantonas (CAFFERY et al., 1996), saponinas (TIWARI; MINOCHA, 1980), naftalenos (YOO et al., 1988) e taninos condensados (LANE et al., 1981). Segundo Walker e colaboradores (2008), a análise fitoquímica das folhas da *L. divaricata* caracterizou a presença de flavonoides, saponinas, taninos catéquicos e mucilagen e alcaloides, óleos fixos, antocianinas e carotenoide apareceram em menor quantidade. Tanaka et al. (2005) também isolaram da fração acetato de etila a vitexina, uma flavona C-glicosilada, e da fração clorofórmica foi isolado o esteroide glicopiranosil-sitosterol.

Alves e colaboradores (2014) em estudo realizados com *Luehea paniculata* isolaram seis metabólitos das folhas: β -amirina (**1**), β -amirina-3-acetato (**2**), ácido maslínico (**3**), lupenona (**4**) e ácido oleanólico (**5**) e rutina (**6**). O ácido maslínico também foi isolado de folhas de *L. divaricata* (WALKER et al., 2008). A vitexina (**7**), juntamente com a (-)- epicatequina (**8**), um flavonoide pertencente à classe dos flavan-3-ol foram isolados da espécie *L. divaricata* (TANAKA et al., 2005).

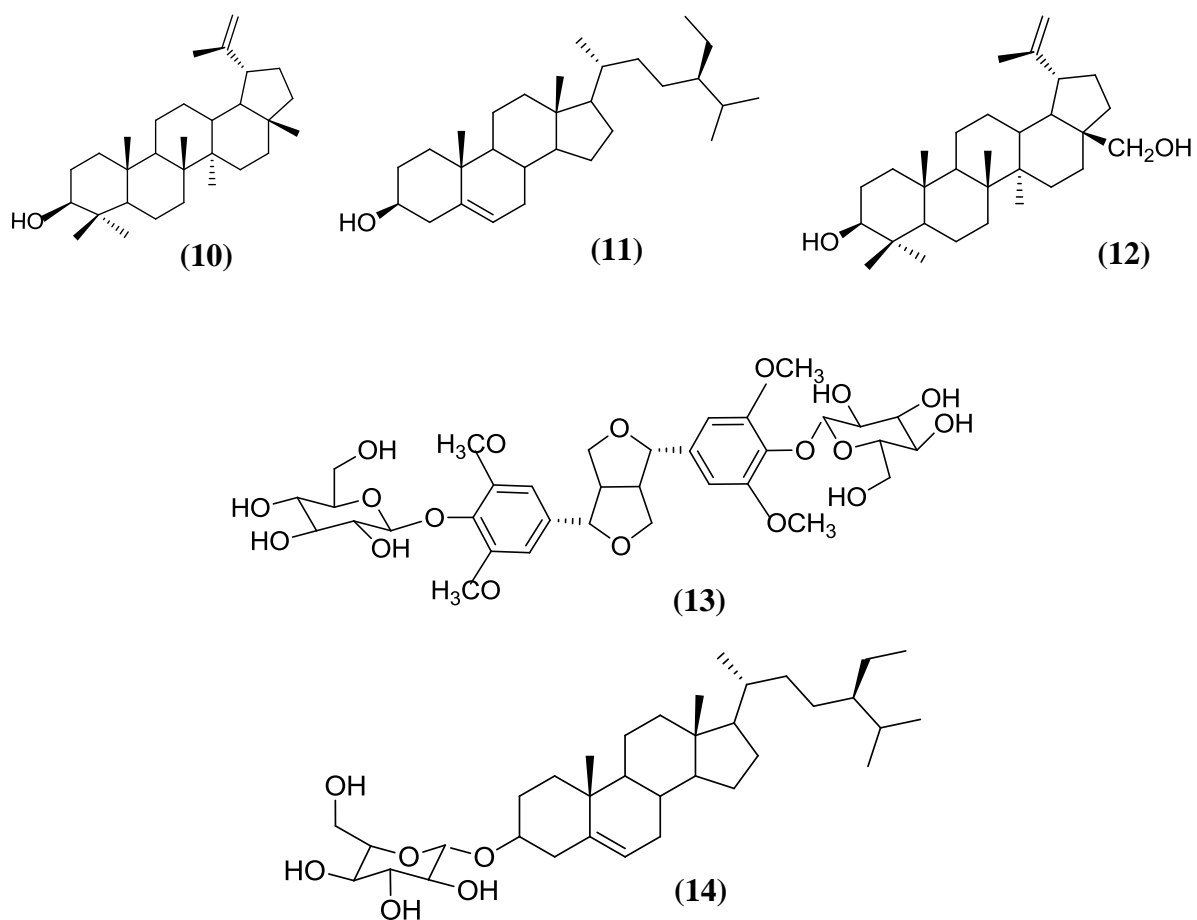


O estudo químico da fração clorofórmica do extrato bruto metanólico das folhas de *L. divaricata*, proveniente do Brasil, resultou no isolamento do ácido 3 β -p-hidroxibenzoil (**9**) tormêntico e do ácido maslínico (**3**) e o triterpeno com esqueleto básico dos ursenos, e uma mistura cuja substância majoritária foi o ácido maslínico, triterpeno derivado dos oleanenos (TANAKA et al., 2005).

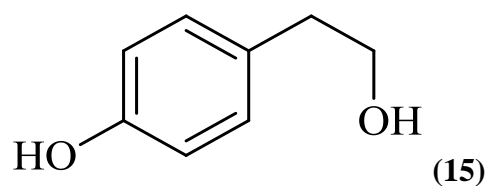


Lup-20(29)-en-3 β -ol (**10**), sitosterol (**11**), 3- β ,28-di-idróxilup-20(29)-ene (**12**), epicatequina (**8**) e siringaresinol-(2,6-Bis (4',4'-O-bis- β -D-glicosídeo-3',5'-dimetoxifenil)-3,7-dioxabicyclo (**13**) foram isolados de *L. candicans* (SILVA et al., 2004).

Glicopiranosil sitosterol (**14**) foi isolado de *L. candidans* e *L. divaricata* (SILVA et al., 2004; TANAKA et al., 2005).



Em 2012, Specian e col., realizaram o estudo químico da *L. divaricata* e, a partir do fungo, foi isolado o composto tirosol (**15**).



2.4 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA SUMÁRIA DOS PRINCIPAIS COMPOSTOS ENCONTRADOS NO GÊNERO LUEHEA

2.4.1. Terpenos

Os terpenos também denominado de terpenoides ou isoprenoides são compostos que ocorrem em todas as plantas e compreendem uma classe de metabólicos secundários com uma grande variedade estrutural. São derivados do isopreno (C₅), e são classificados em monoterpenos (C₁₀), sesquiterpenos 15, diterpenos (C₂₀), triterpenos (C₃₀) e tetraterpenos (C₄₀) (DEWICK, 2009).

Todos os organismos são capazes de sintetizar algum tipo de terpenoide, porém apenas as angiospermas conseguem sintetizar todas as classes. Vertebrados não sintetizam carotenoides. Já os insetos são capazes de sintetizar carotenoides e esteroides (VICKREY et al., 1981).

Sesquiterpenos do tipo cadieno e bisabolol estão presentes em várias espécies de malvácias, dentre elas, aquelas pertencentes, principalmente aos gêneros *Gossypium* e *Wissadula* (GOMES, 2007), aos quais inúmeras atividades biológicas têm sido atribuídas. Bisabolol, por sua vez, age como antifúngico (MASSON et al., 2006), larvicida contra *A. aegypti* (FURTADO et al., 2005) e anti-inflamatório (SARTORI et al., 2003).

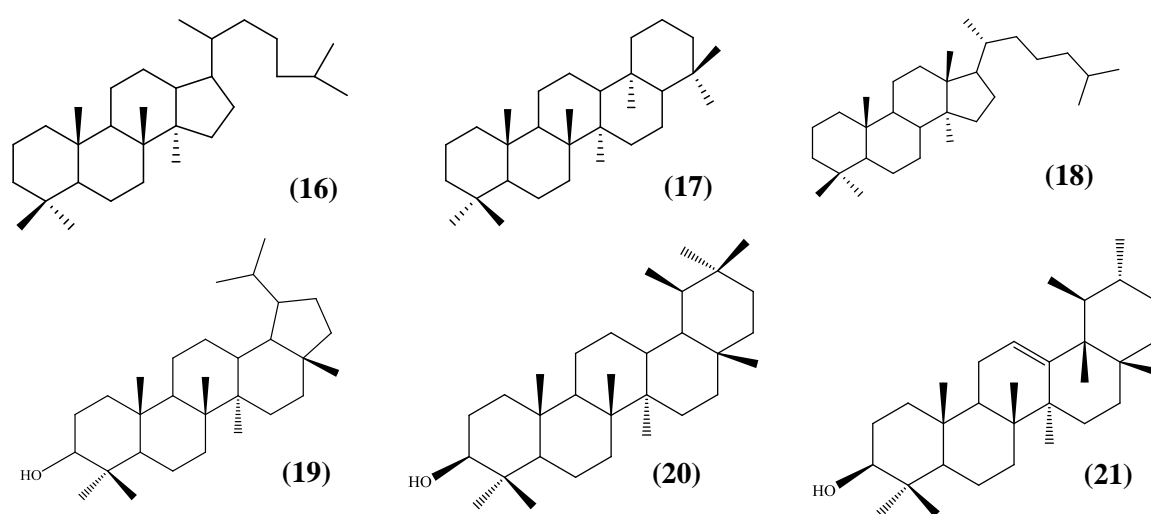
Os terpenos possuem diversas funções nas plantas como, por exemplo, hormônios, pigmentos fotossintéticos, carregadores de elétrons, mediadores na construção de polissacarídeos e componentes estruturais de membranas (HARBONE, 1991). Eles também despertam grande interesse farmacológico devido à ampla variedade com atividade biológica como, ação anti-inflamatória, bactericida, antiparasitária, anticancerígena, antifúngica, antinociceptiva dentre outras (BEZERRA et al., 2009).

Os triterpenos têm despertado um grande interesse em razão da descoberta do seu potencial farmacológico, com inúmeras atividades terapêuticas, tais como: anticâncer, anti-inflamatório, antiviral, antibacteriano, antifúngico, antioxidante e antiulcerogênico (JORGE et al., 2004). São compostos abundantes na natureza, principalmente no reino vegetal e pertencem a uma classe de substâncias químicas conhecidas como terpenóides (terpenos).

Estes compostos são moléculas constituídas por trinta átomos de carbono formados pela união de seis unidades de isopreno (C₅H₈) que se unem, formando cadeias

maiores (PATOČKA, 2003). Ocorrem também no reino animal como é o caso do esqualeno, obtido do óleo de fígado de tubarão (DEWICK, 2002). Apresentam uma grande diversidade quanto ao esqueleto e sua funcionalização que é predominantemente oxigenada. Consistem em compostos cuja estrutura é policíclica podendo ser tetracíclicos (animais) ou pentacíclicos são comuns em vegetais, que contém no máximo uma ou duas ligações duplas respectivamente. Exemplo dessas substâncias são a α -amirina, β -amirina e a friedelina (OLEA; ROQUE, 1990).

De acordo com os esqueletos básicos, triterpenos estão divididos em seis grupos: damarano (16), gamacerano (17), lanostano (18), lupano (19), oleano (20) e ursano (21),



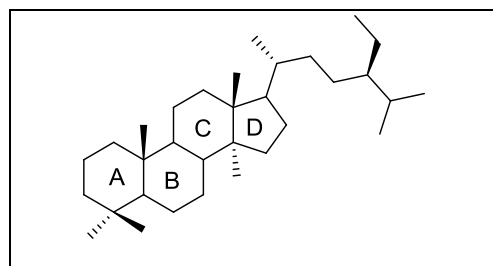
onde cada grupo apresenta uma variedade estrutural em decorrência de perda ou adição de grupos metilênicos, abertura de anel ou formação de novos e, principalmente rearranjos de grupos metílicos do esqueleto padrão (MAHATO; KUNDU, 1994). Existem, pelo menos cerca de 4000 triterpenoides conhecidos e isolados de fontes naturais. Os triterpenos de estrutura pentacíclica são aqueles que possuem maiores capacidade anticancerígena (PATOČKA, 2003). Alguns triterpenos possuem suas atividades fisiológicas bastante evidenciadas, sendo empregados no tratamento de diversos males. Por exemplo, a α -amirina e β -amirina possuem atividades anticonvulsante, antidepressiva, ansiolítica e sedativa (ARAÚJO et al., 2005).

2.4.2 Esteroides

Assim como os triterpenos, os esteroides são derivados da ciclização do esqualeno, apresentando o esqueleto tetracíclico (Figura 4). O colesterol exemplifica a

estrutura básica dos esteroides o que contribui para a formação de uma grande gama de compostos com atividade biológica. A atividade biológica é conferida pincipalmente devido ao esqueleto com núcleo esteroidal (DEWICK, 2009).

Figura 4 – Estrutura molecular geral dos fitoesteróis



Fonte: SIMÕES et al., 2010.

Moreau e col. (2002) citam que atualmente, há mais de 200 tipos de esteroides identificados. Os mesmos são distribuídos em três categorias: 4-desmetilesteróis, 4-monometilesteróis e 4,4-dimetilesteróis (IFST, 2009). Embora frequentemente agrupados como fitosteróis, na realidade há os esteróis com uma dupla ligação no carbono cinco (LAW, 2002). Os fitoesteróis são esteróis compostos por 27 a 29 átomos de carbono estruturalmente semelhantes ao colesterol (C-27), diferenciando-se deste pelas configurações no núcleo ou na cadeia lateral ou, ainda pelos seus grupos polares. As modificações geralmente estão relacionadas à adição de substituintes alquil tais como metil e etil, ou à inserção da dupla ligação nas posições C-24 ou C-22 (YANKAH, 2006).

Estudos atuais têm demonstrado que os fitoesteróis podem ser usados com fins terapêuticos para a prevenção de outras doenças além das referentes ao sistema cardíaco. Assim, o câncer e outras doenças relacionadas ao estresse oxidativo são exemplos de abordagens terapêuticas que tem despertado o interesse para o uso dos compostos fitoesteróis (RUDKOWSKA, 2010).

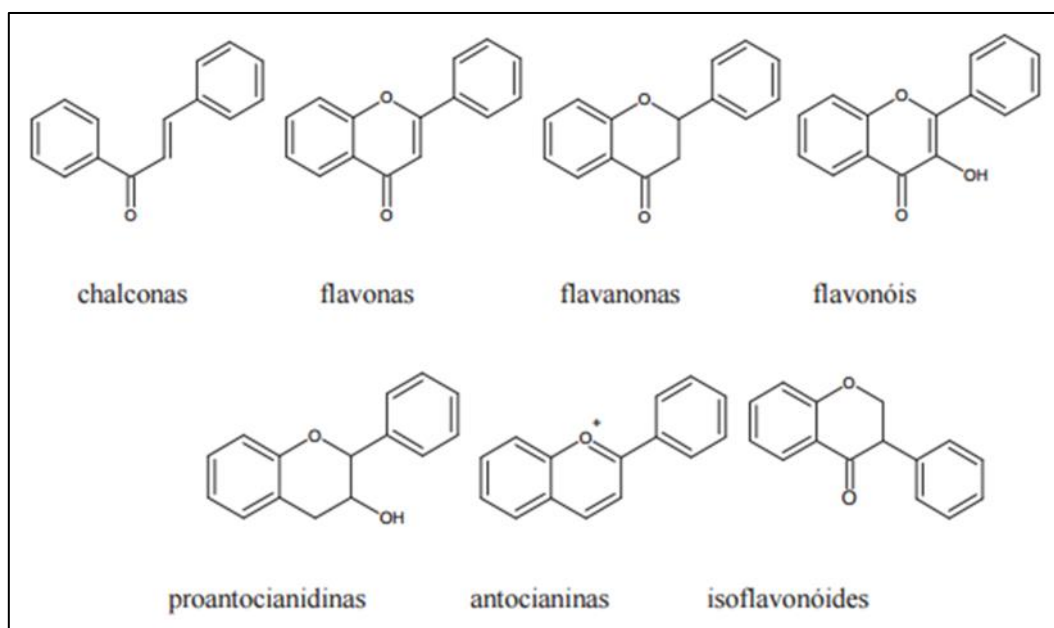
2.4.3 Flavonoides

Os flavonoides foram identificados pela primeira vez em 1930, pelo Dr. Szent György, a partir da casca do limão, de onde foi extraída a citrina, a qual possuía capacidade de regulação da permeabilidade dos capilares (CAMPOS, 2008). Constituem uma das classes de polifenóis de origem natural, cuja síntese não ocorre na espécie

humana e são importantes fitonutrientes presentes principalmente em vegetais, frutas e bebidas (KIM et al., 2006).

Entretanto tais compostos apresentam uma série de propriedades farmacológicas que os fazem atuarem sobre sistemas biológicos. Conseqüentemente, muitas dessas propriedades atuam de forma benéfica para a saúde humana. Atualmente, já foram identificadas mais de quatro mil substâncias pertencentes ao grupo dos flavonoides (PETERSON; DWYER, 1998; CAROCHO; FERREIRA, 2013), sendo suas maiores classes os flavonóis, flavonas, flavononas, catequinas, antocianinas, isoflavona, dihidroflavonois e chalconas (YAO et al., 2004), devido a sua diversidade estrutural os flavonoides são subdivididos em classes, de acordo com o grau de instauração e oxidação do anel C apresentada na Figura 2 (ROCHA, 2011).

Figura 5 – Estruturas químicas dos principais núcleos de compostos pertencentes à classe dos flavonoides



Fonte: ROCHA, 2011.

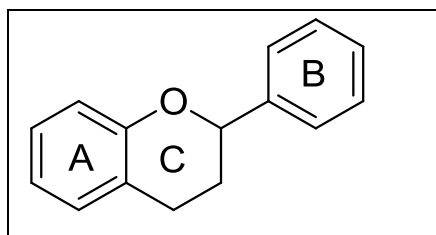
São encontrados em todas as plantas, acumulam-se principalmente na epiderme das folhas de diferentes ecossistemas (KCHAOU et al., 2016), com ênfase as angiospermas, e considerados compostos relativamente estáveis por resistirem à oxidação. Podem se apresentar como agliconas, glicosídeos ou fazerem parte de outros compostos químicos, como a flavolignanas (KUMAR ; PANDEY, 2014).

Algumas funções atribuídas aos flavonoides, nas plantas são: proteção dos vegetais contra a incidência de raios ultravioletas e visíveis, de proteção contra insetos, fungos, vírus e bactérias; atração de animais com a finalidade de polinização; antioxidantes; controle de ação de hormônios vegetais; agentes alelopáticos e inibidores de enzimas (CAROCHO; FERREIRA, 2013; ZUANAZZI; MONTANHA, 2004).

Muitos flavonoides, como a quercetina, luteonilina e catequinas, são melhores antioxidantes que a vitamina C, vitamina E e β -caroteno (GAO et al,1999), a estrutura é muito importante para a atividade e, quanto maior o número de hidroxilas substituintes no esqueleto básico do flavonoide, maior a atividade antioxidante apresentada (CAO, 1997).

Os flavonoides têm sido considerados como nutracêuticos devido os seus efeitos sobre memória e cognição, um estudo de características estruturais das ações neuroprotetoras de flavonoides concluiu-se que a neuroproteção aparecera estar ligado a motivos estruturais específicos, além daqueles envolvidos na antioxidação (JOHNSTON et al., 2015). Assim, a estrutura química destes compostos, conhecidos como flavilium, consiste de 15 carbonos distribuídos em dois anéis aromáticos (anéis A e B), os benzenos, interligados a uma estrutura heterocíclica central, o pirano (anel C), onde o primeiro benzeno é condensado com o sexto carbono do pirano, que na posição 3 carrega um grupo fenila (DORNAS et al., 2010), conforme pode ser visualizada na Figura 6.

Figura 6 – Esqueleto básico de um flavonoide



Fonte: ROCHA, 2011.

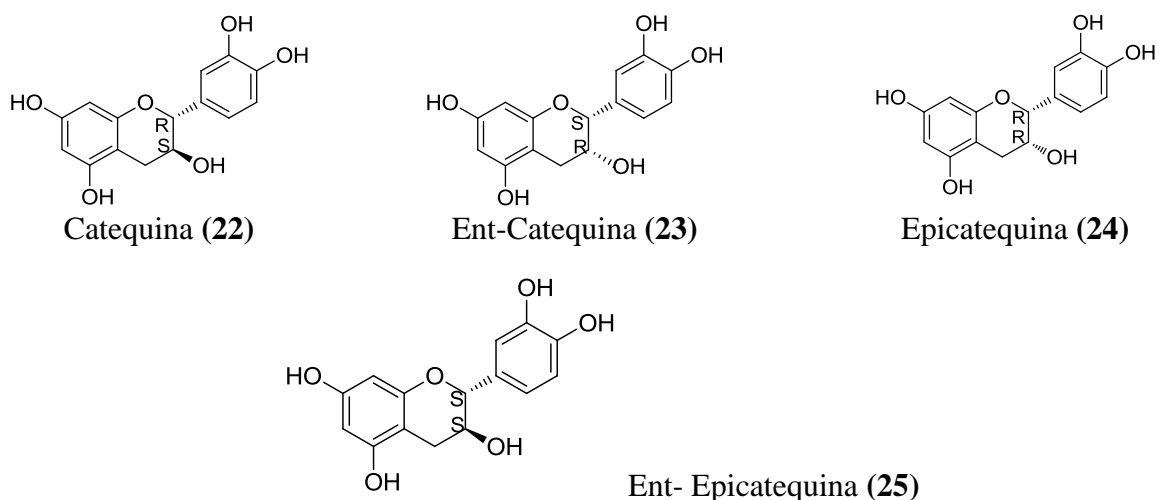
As suas principais aplicações na indústria são como corantes, aromatizante e flavolizantes. Além disso, as pesquisas demonstraram o seu envolvimento com propriedades farmacológica importantes como antioxidantes (RICE-EVANS et al., 1995), vasodilatadoras (DUARTE et al., 1993), anti-inflamatórias (PATHAK et al., 1991), anticarcinogênica, anti-virais (MIDDLETON et al., 2000), cardioprotetoras e antioxidantes (PATHAK et al., 1991; HOLLMAN et al., 1996; MARTINEZ-FLOREZ et al., 2002).

A capacidade antioxidante é a propriedade mais difundida dos flavonoides. É comprovada sua eficácia no combate ao envelhecimento precoce ao inibir a ação da enzima xantina oxidase, responsável pela oxidação dos tecidos (RODRIGUES-DAS-DÔRES, 2007). Eles são compostos doadores de elétrons e possuem estruturas químicas conjugadas ricas em grupos hidroxilas, com grande potencial sobre agentes oxidantes (MACHADO et al., 2008).

Em estudo realizado por Carocho e Ferreira (2013), os flavonoides mais ativos contra o câncer é a quercetina que provou ser eficaz contra a leucemia e o campferol. Os compostos fenólicos são os mais benéficos, tais como os ácidos fenólicos e flavonoides, os quais reduzem a doença de Parkinson por eliminação de radicais livres e limitando o stress (GANESAN et al., 2015). Estudos têm demonstrado que o risco de doenças cardíacas pode ser reduzido através do consumo de dietas ricas em flavonoides (SALVAMANI et al., 2014).

2.4.3.1 Catequinas

As catequinas são moléculas produzidas pelo metabolismo vegetal e pertencem à classe dos polifenóis, e sua subclasse é conhecida como flavan-3 ol (BRAICU et al., 2013) e possuem pelo menos dois centros assimétricos nas posições C-2 e C-3. Portanto, existem quatro possíveis diastereoisômeros: (2R, 3S)-2,3-trans (**22**), (2S, 3R)-2,3-trans (**23**), (2R, 3R) -2,3-cis (**24**), e (2S, 3S) -2,3-cis (**25**), demonstrados na Figura 7 (PORTO, 2002).



As catequinas são caracterizadas por apresentarem vários grupos de hidroxilas nos anéis aromáticos, elas são geralmente substância incolor e muitas vezes com um sabor amargo, adstringente (BRAICU et al., 2013; GADKARI; BALARAMAN, 2015).

Em estudo realizado por Butt e colaboradores (2015), catequinas são amplamente distribuídas em frutos como uvas, bananas, bagas, cacau, chá verde e o caqui. As catequinas revelam aspectos benéficos para saúde, tais como: antienvhecimento, anticancerígeno, antimicrobiana, antiviral e antioxidante (GANESAN et al., 2015). Numerosos estudos relatam que as catequinas são potentes inibidores de carcinogênese em vários tipos de câncer, como: o cancro de pele, pulmão, esôfago, estômago, fígado e glândula mamária e pâncreas (BRAICU et al., 2013). Catequinas são pobremente absorvidas pelos animais, mas seus produtos de degradação são mais facilmente, o que torna estes compostos relevantes, uma vez que a eles tem sido atribuídos possíveis atividades como: hipotensora, hipoglicêmica e quimiopreventiva. Estudos alusivos ao metabolismo de isoflavonas em bactérias intestinais revelaram que a degradação de catequinas por biotransformação de (-) – epicatequina, (+) – epicatequina, (-) – catequina e (+) – catequina por determinadas bactérias, era capaz de incrementar a absorção de catabólitos de catequinas, no intestino de animais. Além disso galocatequinas parecem reduzir a pressão arterial através da inibição da enzima envolvida na regulação da pressão, a ACE (angiotensin-converting enzyme), em experimentos com roedores (TAKAGAKI, NANJO, 2015). Inibidores de ACE são importantes drogas reguladoras da pressão sanguínea (ROUHI, 2003). Gadkari e Balaraman (2015) relataram que as catequinas apresentavam maior atividade antimicrobiana contra bactérias gram-positivas do que contra bactérias gram-negativa; catequinas encontradas no chá verde ajudam a inibir a carcinogênese da pele, pulmão, esôfago, fígado, intestino delgado, cólon e as glândulas mamárias em estudos com animais.

A extração de catequinas é uma tarefa difícil devido a duas razões: elas podem ocorrer em tecidos das plantas ligados com açúcares, proteínas ou podem criar derivados polimerizados, em um segundo momento elas, são altamente susceptíveis à oxidação, de elevada temperatura e ambiente alcalino e assim, o desenvolvimento de um processo de extração apropriado é uma tarefa difícil (GADKARI; BALARAMAN, 2015).

2.4.3.2 Epicatequinas

A epicatequina um isômero da catequina, é um composto polifenólico presente em várias espécies de plantas (ROZZA et al., 2012), e encontrados em vários produtos

alimentares, principalmente em legumes e frutas (BLANCO, 2012). A epicatequina é tida como um importante citoprotetor, tanto por ter uma atividade antioxidante intensa como também por prevenir apoptose celular interferindo na cadeia de caspases (SPENCER et al., 2001). Galvez e col.(1995) verificaram que a epicatequina possui uma potente capacidade de inibir a peroxidação lipídica, tanto em modelo não enzimático quanto enzimático, e apresentando um potencial para atuar como anti-inflamatório na doença inflamatória intestinal.

2.4.4 Ftalatos

Os ftalatos são ésteres do ácido ftálico, muito empregados como plastificantes para aumentar a flexibilidade e viabilidade de diversos tipos de plásticos (ESTEVES et al., 2007). O papel dessas moléculas na planta ainda é desconhecido, porém especulase que a presença delas seja através de sua absorção do meio ambiente, seja da atmosfera, do solo ou da irrigação (MAVAR-MANGA et al., 2008). Entretanto, não se podem descartar a hipótese de contaminações durante o processo de purificação, a qual pode ser resultante do uso de solventes, recipientes e sacos plásticos para estocagem da amostra, uma vez que ftalatos estão presentes na constituição de todos esses objetos (SANTOS, 2012).

Nos últimos 137 anos, devido ao amplo uso dos ftalatos, grande atenção tem sido dada ao seu potencial tóxico, visto que esse composto tem potencial de acumulação em plantas, além de ser tóxico para organismos do solo (SCHNEIDER; MÜHLEN, 2011).

A cada ano toneladas de ftalatos são produzidos no mundo em vários processos de fabricação. Estes compostos são excelentes devido à sua estabilidade e apresentam-se em sua maioria como líquidos viscosos, baixa volatilidade e ainda apresentam-se com baixa solubilidade ou totalmente insolúveis em água. As principais aplicações são em tintas, pisos vinílicos, corantes, biocidas, cosméticos, lubrificantes, calçados, tubos, fios, brinquedos, mangueira de jardim entre outras utilidades plásticas (JAWOREK; CZAPLICKA, 2013). Os ftalatos são utilizados como plastificantes e causam problemas adversos à saúde; compreendendo desde danos ao fígado, rins e pulmões, bem como anormalidades no sistema reprodutivo e ao desenvolvimento sexual, danos testiculares, infertilidade sendo classificados como prováveis carcinogênicos humanos (ZINI et al., 2009).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS

3.1.1 Cromatografia em coluna (CC)

Para as análises em cromatografia em coluna utilizou-se sílica tipo gel F60 240-400 mesh (SILICYCLER), como adsorvente, em colunas de diferentes diâmetros internos e eluídas por solventes puros ou em sistemas gradientes, para a separação de alguns dos compostos.

3.1.2 Cromatografia em camada delgada (CCD)

A técnica de cromatografia em camada delgada foi realizada em cromatoplasmas de folhas de alumínio (SILICYCLER), como suporte e sílica gel F60 com 0,25 mm de espessura, como adsorvente.

As cromatoplasmas foram reveladas através do uso da lâmpada ultravioleta ($\lambda = 240$ e 400 nm (Spectroline), reagente de vanilina para a revelação dos triterpenos e esteroides e cloreto férrico para a detecção dos flavonoides. Nebulização com solução EtOH/H₂SO₄ a 5%, seguida de tratamento térmico foi usada para revelação dos demais metabólitos.

3.1.3 Cromatografia em placa preparativa (CCDP)

As placas cromatográficas preparativas foram confeccionadas em lâminas de vidro (20 cm X 20 cm), recobertas de sílica gel 60 UV 254 nm (Macherey - Nagel) e ativadas em forno a 100 °C, por 24 horas.

3.1.4 Cromatografia Gasosa (CG)

Os cromatogramas foram obtidos de cromatógrafo a gás Varian, modelo 3400 e 3800, equipado com coluna HP5-MS de 30 m e 0,25 mm. Os sinais foram observados através de um detector de ionização de chama (DIC); o gás de arraste (fase móvel) utilizado foi o hidrogênio (H₂) a pressão 7 Psi; temperaturas do injetor foi de 220 °C;

temperatura do detector de 280 °C; temperatura da coluna foi de 120 – 300 °C, com aumento de 4 °C/min.

3.1.5 Cromatografia Líquida de Alta eficiência (CLAE)

As análises em cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) foram realizadas em um cromatógrafo Agilent Technologies Modelo 1200, com detector DAD com coluna de fase reversa ZORBAX Eclipse Plus C18 (4,6 mm x 150 mm, 5 µm) e fase móvel composta de acetonitrila (0,036% TFA) e água (0,036% TFA).

3.2 REAGENTES E SOLVENTES UTILIZADOS

Os reagentes e solventes (Vetec e Synth) utilizados eram de qualidade PA e, aqueles de grau comercial foram secos e purificados por técnicas específicas de destilação. As secagens foram realizadas mediante uso de óxido de cálcio (CaO), refluxo e destilação.

3.3 ANÁLISES ESPECTROSCÓPICAS POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE ^1H E ^{13}C

Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais (COSY, HSQC, DEPT 135°) foram obtidos de um Espectrômetro Bruker Avance 400 III, operando a 400 MHz para ^1H e 100 MHz para ^{13}C , do departamento de Química da Universidade Federal de Santa Maria.

Para a preparação das amostras, utilizou-se quantidades entre 4-20 mg de amostra em 0,5 mL de solventes deuterados em tubos de 5 mm, a saber: clorofórmio (CDCl_3); metanol (CD_3OH) e piridina ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$). Os deslocamentos químicos (δ) foram registrados em partes por milhão (ppm) e as constantes de deslocamento (J) foram calculadas em Hertz (Hz). Para a calibração dos espectros ^1H e ^{13}C utilizou-se como referencia interna o TMS (δ 0,00 ppm), CDCl_3 (δ 77,00 ppm), CD_3OH (δ 49,05 ppm) e $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ (δ 135 ppm).

Os espectros 1D e 2D; 2D Homonuclear (^1H - ^1H COSY-45) e Heteronuclear (HSQC), foram realizados conforme os parâmetros de aquisição fornecidos pelo aparelho e processados pelo software TOPSPIN-NMR 3.2 de Bruker.

3.4 ANÁLISES POR ESPECTRÔMETRIA DE DIFRAÇÃO DE RAIOS-X

Os dados das medidas cristalográficas foram obtidos em difratômetro Bruker X8 Kappa-Apex II CCD de propriedade do departamento de Química da Universidade Federal de Santa Maria, UFSM. As estruturas foram resolvidas com auxílio do programa SHELXS-2013 e suas representações gráficas cristalinas foram realizadas através do uso dos programas DIAMOND e ORTEP.

3.5 ANÁLISES POR ESPECTROFOTOMETRIA - FLUORÍMETRO

Para as leituras de microplacas empregadas na avaliação das atividades biológicas utilizou-se espectrofotômetro SpectraMax M2 e SoftMax Pro 5.4.1 (Molecular Devices Inc., USA), operando em 620 nm e 25 °C para os testes antimicrobianos.

3.6 PONTO DE FUSÃO

Para a determinação do ponto de fusão (PF.) das substâncias cristalinas, foi utilizado um aparelho MQAPF-301 Digital da Micro-Química.

3.7 MATERIAL VEGETAL

As cascas do caule de *Luehea divaricata* foram coletadas no mês de julho de 2014, no interior do município de São Francisco de Assis (29° 33' 16" S; 55° 7' 38" W). A identificação botânica desta espécie foi realizada pelo professor Dr. Renato Zachia, do departamento de Biologia da UFSM, a qual consta em uma exsicata no Herbário da Universidade Federal de Santa Maria sob o número de registro SMDB 15014.

3.8 OBTENÇÃO DO EXTRATO BRUTO

Cascas do caule (6 Kg) foram secas por uma semana em estufa de ar circulante a 50 °C, e moídas a fino grão em moinho Willey, obtendo-se 3.448 g. A extração à quente foi realizada em aparato Soxlet, munido de balão de fundo redondo de 5 L contendo o

material vegetal seco e moído imerso em quantidade suficiente de metanol. A extração se procedeu por 18 dias até completa exaustão, rendendo um resíduo escuro e viscoso (902 g), denominado extrato bruto metanólico (EBM). Ao final de cada dia de extração (± 8 h/dia), o solvente era removido à pressão reduzida em evaporador rotatório e o cartucho substituído.

3.9 OBTENÇÃO DAS FRAÇÕES DOS FRACIONAMENTOS ÁCIDO-BASE E NEUTRO

O extrato bruto metanólico de *L. divaricata* foi dividido em duas partes, onde 452 g se destinaram ao sistema de extração ácido-base (Fracionamento 1) e 450 g para o sistema de extração neutra (Fracionamento 2). Tal particionamento foi realizado com a finalidade de se verificar a presença de alcaloides, uma vez que tal classe de compostos ainda não fora referida pela literatura, em plantas de *L. divaricata*.

No fracionamento ácido-base, EBM (452 g) foi solubilizado em água destilada e transferido para uma ampola de separação e acidificado com solução 3 mol/L de ácido clorídrico (HCl) e o pH ajustado para próximo de 2. Em seguida, o extrato bruto aquoso-ácido foi tratado com éter etílico, gerando duas frações: aquosa ácida (FAA) e etérea ácida (FEA), a qual apresentou manchas na análise por CCD, quando reveladas com vanilina, mostrando positividade para triterpenos e que será comentada mais adiante.

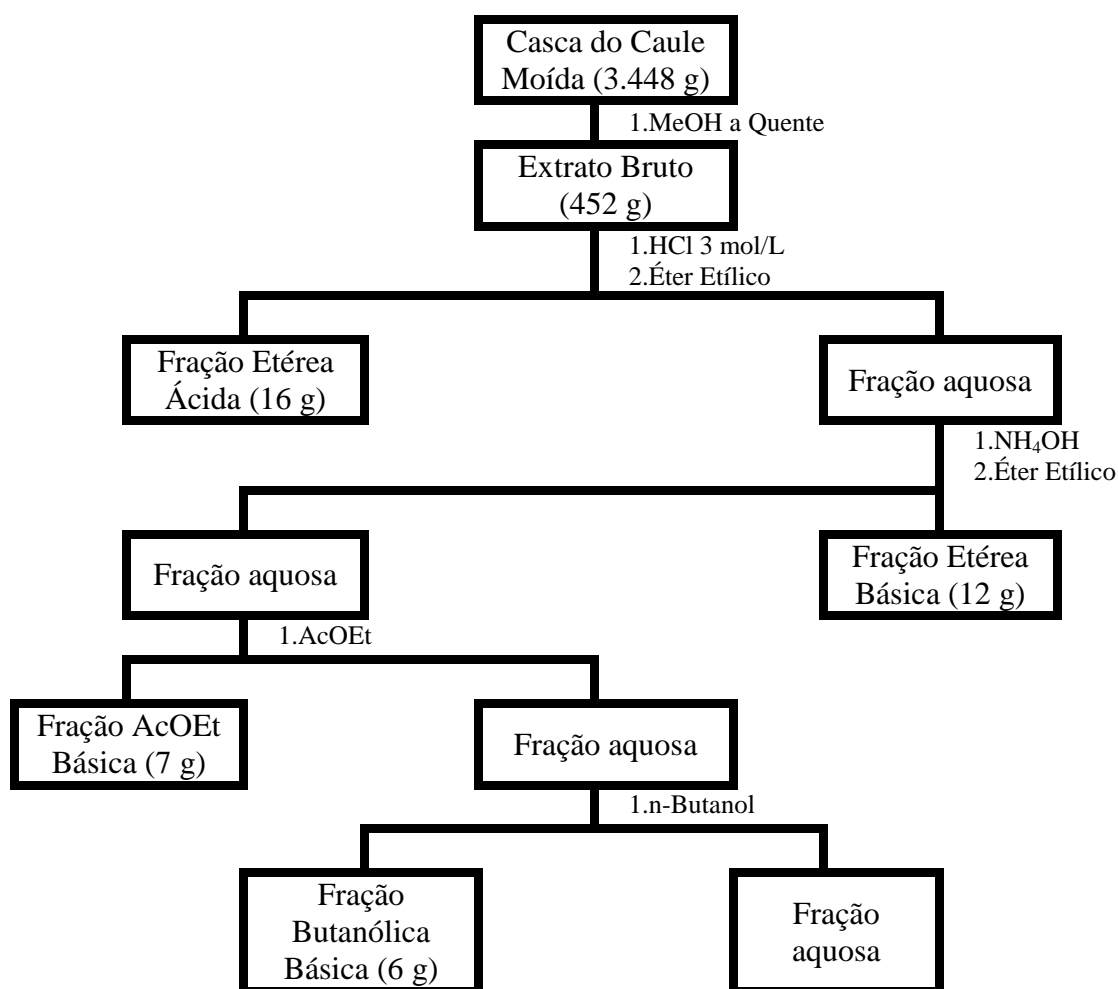
A fração aquosa remanescentemente (FAA) foi alcalinizada com solução de hidróxido de amônio (NH_4OH) até $\text{pH} = 9$ e extraída sucessivamente com éter etílico, acetato de etila (AcOEt) e n-butanol. Após cada extração, efetuou-se a evaporação do solvente em evaporador rotatório para obtenção das frações secas etérea básica (FEB), AcOEt básica (FAB) e n-butanólica básica (FBB), respectivamente. A FEB foi analisada por coluna cromatográfica durante cinco meses. Porém, devido à dificuldade em se isolar seus metabólitos por CC, nenhum composto pôde ser isolado, como comprovado pela análise em CCD, a qual não mostrou boa resolução. A FAB apresentou manchas escuras frente ao reagente cloreto férrico, mostrando positividade para flavonoides, conforme Esquema 1.

O fracionamento ácido-base (Esquema 1) tinha por finalidade principal detectar a presença de alcaloides, dentre outros vários tipos de compostos. Com a resposta negativa para a presença dos mesmos, houve a necessidade de se realizar o fracionamento neutro (Esquema 2), para extração dos demais compostos não obtidos através do sistema ácido-

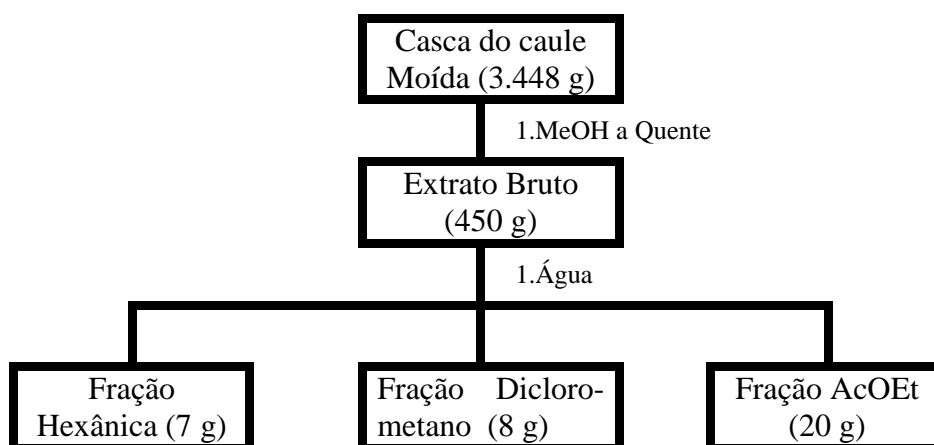
base e comparação dos metabólitos obtidos entre ambos sistemas. A ausência de alcaloides foi confirmada através de testes, com aplicação por aspersão do reagente de Dragendorff, por sobre a placa de CCD.

No sistema neutro, EBM (450 g) foi solubilizado em água destilada e posteriormente transferido para uma ampola de separação, onde foi efetuado o fracionamento por partição sequencial, utilizando solventes em ordem crescente de polaridade. Dessa forma, as seguintes frações secas foram geradas: fração n-hexânica (FHN), fração diclorometano (CH_2Cl_2 – FDN)

Esquema 1 – Fracionamento ácido-base (Fracionamento 1) do extrato bruto metanólico obtido das cascas do caule de *L. divaricata* coletadas em julho 2014.



Esquema 2 – Fracionamento neutro (Fracionamento 2) do extrato bruto metanólico obtido das cascas do caule de *L. divaricata* coletadas em julho 2014.



e fração AcOEt (FAN) neutras. A FAN, tal como ocorreu com a FAB, também apresentou manchas escuras frente ao reagente cloreto férrico, mostrando positividade para flavonoides. Nos esquemas 1 e 2 estão representados o modo de fracionamento a que foi submetido os extratos brutos metanólicos obtidos das cascas do caule da espécie *L. divaricata*.

3.10 ANÁLISES CROMATOGRÁFICAS DAS FRAÇÕES OBTIDAS

De cada fração obtida dos extratos ácido-base e neutro, o solvente foi removido e o respectivo resíduo seco foi retomado em diclorometano e/ou metanol para análises em cromatografia em camada delgada (CCD). Os respectivos sistemas de eluentes se constituíam de gradientes de misturas de solventes a fim de se obter o melhor sistema de isolamento dos compostos e determinação de seus respectivos fatores de retenção (R_fs). As manchas das cromatoplasmas foram reveladas em lâmpada ultravioleta (UV) de 254 nm e 365 nm para visualização de substâncias fluorescentes (placa sem indicador) ou que sequestram a fluorescência (placa com indicador fluorescente), com aplicação de cloreto férrico para a identificação da presença de flavonoides (compostos fenólicos) e vanilina para a identificação de triterpenos e esteroides. Solução EtOH/H₂SO₄ a 5%, seguida de tratamento térmico, foi o método utilizado para revelação dos demais metabólitos.

Sendo assim, observou-se que FEA apresentou positividade para a presença de triterpenos; FAB e FAN o são para flavonoides e FDN, o é para esteroides.

A FHN apresentou manchas escuras quando reveladas em ácido sulfúrico, seguida de aquecimento. Essa fração (FHN) foi analisada individualmente e submetida a várias colunas cromatográficas para o isolamento e identificação de compostos.

3.10.1 Fração etérea ácida (FEA)

A fração etérea ácida (FEA – 16 g) foi cromatografada em coluna, empregando sílica gel F60 (Silicycle) 240-400 mesh como fase estacionária e mistura de diclorometano/metanol num gradiente crescente de polaridade, como fase móvel. Foram coletadas 150 frações e seus solventes removidos em evaporador rotatório. Cada fração foi analisada individualmente por CCD e reunidas conforme suas similaridades (Tabela 3). A maioria das frações mostrou ser composta por mistura de metabólitos. Essas frações foram submetidas a novos processos de purificação, através de recristalizações, cromatografias em colunas ou placas preparativas.

Tabela 3 – Subfrações obtidas através de CC da fração etérea ácida (FEA) proveniente do extrato bruto metanólico (EBM).

Frações	Subfrações	% Solventes	Substâncias
1 a 11	I	CH ₂ Cl ₂	Mistura
12 e 20	II	CH ₂ Cl ₂ /MeOH 1%	Mistura
21 a 28	III	CH ₂ Cl ₂ /MeOH 2%	Mistura
29 a 35	IV	CH ₂ Cl ₂ /MeOH 3%	Mistura
36 a 43	V	CH ₂ Cl ₂ /MeOH 5%	Mistura
44 a 58	VI	CH ₂ Cl ₂ /MeOH 7%	Mistura
58 a 65	VII	CH ₂ Cl ₂ /MeOH 10%	Mistura
66 e 75	VIII	CH ₂ Cl ₂ /MeOH 12%	Mistura
76 a 82	IX	CH ₂ Cl ₂ /MeOH 15%	Mistura
83 a 90	X	CH ₂ Cl ₂ /MeOH 20%	Mistura
91 a 99	XI	CH ₂ Cl ₂ /MeOH 25%	Mistura
100 a 111	XII	CH ₂ Cl ₂ /MeOH 30%	Mistura
112 a 120	XIII	CH ₂ Cl ₂ /MeOH 35%	Mistura
121 a 133	XIV	CH ₂ Cl ₂ /MeOH 1:1	Mistura
134 a 150	XV	MeOH	Mistura

Cabe ressaltar que o sistema de eluente usado nas CCs foi o mesmo utilizado no acompanhamento das CCDs. Quando necessário, um novo sistema de eluente foi proposto para as análises em CCDs. As análises em CCD das subfrações I a IV foram

exaustivamente exploradas quanto ao gradiente de polaridade do eluente, resultando em abandono das mesmas, devido ao insucesso em se obter Rfs claramente definidos.

Foi realizada uma CC da subfração V (36 a 43 – 51mg), proveniente da fração etérea ácida, acompanhada de análise em CCD, utilizando-se como eluente um sistema com gradiente de polaridade crescente do eluente composto por HEX / AcOEt, como apresentado na Tabela 3. As frações foram coletadas em frascos de 20 mL, evaporadas lentamente a temperatura ambiente e reunidas conforme suas similaridades de acordo com a análise em CCD (Tabela 4).

Tabela 4 – Frações obtidas da subfração V, através de CC acompanhada de CCD da fração etérea ácida (FEA) proveniente do extrato bruto metanólico (EBM)

Fração	% Solventes	Substâncias
1-10	Hexano	Mistura
11-22	HEX/AcOEt 1%	Mistura
23-35	HEX/AcOEt 2%	Mistura
36-50	HEX/AcOEt 5%	S12
51-60	HEX/AcOEt 10%	Mistura
61-68	HEX/AcOEt 15%	Mistura
69	AcOEt	Mistura

As frações 1-35 e 51-69 não foram trabalhadas em decorrência da pequena quantidade. A fração 36-50 (4 mg), após a evaporação do solvente em temperatura ambiente, apresentou um aspecto oleoso, de cor amarelada. A comprovação de que as frações 36-50 se constituíam de uma substância pura obtida através de testes com diferentes eluentes de diversos gradientes de polaridade nas análises em CCD, sendo o melhor deles composto por HEX/AcOEt (95:5). As análises de RMN de ^1H e ^{13}C realizadas permitiram confirmar a estrutura do composto como Ftalato de bis 2-etil-heptila **26**. A subfração VI (frações 44 a 58 – 57,8 mg), proveniente da fração etérea ácida, foi submetida a uma CC, acompanhada de análise em CCD, gerando 69 frações, eluidas com HEX/AcOEt em ordem crescente de polaridade. Frações foram coletadas em volume de 20 mL cada e reunidas após análises de CCD, conforme a Tabela 5.

Tabela 5 – Frações obtidas da subfração VI, oriunda da fração etérea ácida - separação por CC acompanhada de CCD.

Frações da subfração VI	%Solventes	Substâncias
1 a 16	HEX/AcOEt 1%	Mistura
17 a 29	HEX/AcOEt 3%	Mistura
30 a 47	HEX/AcOEt 5%	S11
48 a 56	HEX/AcOEt 10%	Mistura
57 a 69	AcOEt	Mistura

Após a evaporação do solvente em temperatura ambiente, ocorreu a formação de um sólido branco nas frações 30-47. Foram obtidos com esta metodologia dois compostos considerados puros quando analisados por CCD frente a vários sistemas eluentes. No entanto, análises espectrais, principalmente de cromatografia gasosa e ^{13}C -RMN, mostraram que as amostras não se encontravam puras. Através das análises espectroscópicas de ^1H e ^{13}C desta mistura, foi possível identificar a presença dos isômeros de posição α - e β -amirina, que são metabólitos pertencentes à classe dos triterpenos pentacíclicos. (SANTOS, 2013; TAYLOR et al., 2006).

A subfração VII (frações 58 a 65 – 40 mg) foi colunada com HEX/AcOEt, num gradiente crescente de polaridade, com coleta de frações de 30 mL, sendo as mesmas agrupadas após observância de similaridade em CCD , conforme a Tabela 6.

Na fração 24 a 38 (12 mg) houve a formação de cristal após a evaporação do solvente em temperatura ambiente e, quando testado em CCD, apresentou-se na forma pura. As análises de RMN de ^1H e ^{13}C levaram a identificação do composto como sendo um triterpeno,

Tabela 6 – Frações obtidas da subfração VII, oriunda da fração etérea ácida - separação por CC acompanhada de CCD

Frações	% Solventes	Substâncias
1 a 10	Hexano	Mistura
11 a 23	HEX/AcOEt 1%	Mistura
24 a 38	HEX/AcOEt 2%	S8
39 a 46	HEX/AcOEt 5%	Mistura
47 a 54	AcOEt	Mistura

conhecido como friedelina. A estrutura deste triterpeno foi confirmada através de medidas de difração de raio-X e comparação com dados da literatura, de acordo com Almeida (2011). As frações VIII a XV foram trabalhadas separadamente, através de técnicas cromatográficas de CCD, CC e CCDP, entretanto, não foi possível a purificação dos metabólitos secundários presentes nas mesmas.

3.10.2 Fração acetato de etila (AcOEt) básica (FAB)

Esta fração (7 g) foi obtida no fracionamento do extrato ácido-base e cromatografada em coluna, empregando sílica gel F60 (Silicycle) 240-400 mesh como fase estacionária e mistura de diclorometano e metanol como eluente num gradiente

crescente de polaridade, como fase móvel. Foram coletadas 296 frações de 150 mL, as quais foram analisadas por CCD e reunidas de acordo com a similaridade, como mostra a Tabela 7.

Tabela 7 – Separação em CC da fração AcOEt básica (FAB) proveniente do extrato bruto metanólico

Frações	Subfrações	% Solventes	Substâncias
1 a 9	I	CHCl ₂	Mistura
10 a 20	II	CH ₂ Cl ₂ / MeOH 1%	Mistura
21 a 38	III	CH ₂ Cl ₂ / MeOH 2%	Mistura
39 a 57	IV	CH ₂ Cl ₂ / MeOH 3%	Mistura
58	V	CH ₂ Cl ₂ / MeOH 7%	S04 +Mistura
59 a 95	VI	CH ₂ Cl ₂ / MeOH 10%	Mistura
96 a 120	VII	CH ₂ Cl ₂ / MeOH 12%	Mistura
121 a 150	VIII	CH ₂ Cl ₂ / MeOH 15%	Mistura
151 a 170	IX	CH ₂ Cl ₂ / MeOH 20%	Mistura
171 a 210	X	CH ₂ Cl ₂ / MeOH 25%	Mistura
211 a 230	XI	CH ₂ Cl ₂ / MeOH 30%	Mistura
231 a 280	XII	CH ₂ Cl ₂ / MeOH 1:1	Mistura
291 a 296	XIII	MeOH	Mistura

As subfrações IV, VII, VIII e IX também foram trabalhadas separadamente através de técnica cromatográfica de CC, entretanto, não foi possível a purificação dos metabólitos secundários presentes nas mesmas. As demais subfrações não foram analisadas sob qualquer aspecto.

Na subfração V, após a evaporação do solvente em temperatura ambiente ocorreu a formação de cristais de coloração branca e marrom misturadas, os quais foram submetidos à lavagem com n-hexano, para remoção de impurezas. O sobrenadante foi removido com pipeta de Pasteur. Cristais de coloração, apenas, branca, foram solubilizados em metanol e testados em CCD, em sistema de eluição diclorometano/metanol (90:10) e as bandas revelados com cloreto férrico (FeCl₃), confirmando ser um composto fenólico. Dessa forma obteve-se uma substância pura (10 mg) que através das análises de RMN de ¹H e ¹³C, além de comparação com dados da literatura (HORST, 2008), levaram a identificação de um flavonoide, conhecido como a catequina **22**.

3.10.3 Fração butanólica básica (FBB)

Em decorrência da demora extrema em se determinar sistemas de eluentes para separação/isolamento dos compostos presentes nas frações anteriores (FEA e FAB) e das subsequentes, esta fração não pôde ser analisada em tempo hábil.

3.10.4 Fração hexânica neutra (FHN)

Para o isolamento das substâncias presentes, esta fração (7 g) foi primeiramente submetida a uma separação através de CC empregando sílica gel convencional F60 (Silicycle) 240-400 mesh como fase estacionária e HEX/AcOEt num gradiente crescente de polaridade como fase móvel. Obteve-se assim 110 subfrações que foram coletadas em frascos de 100 mL cada e utilizou-se o evaporador rotatório para remoção do solvente. Após evaporação, as subfrações foram analisadas individualmente por CCD e unidas por suas semelhanças em Rf (Tabela 8).

Na subfração II (frações 7 a 10 - 20 mg) foi recromatografada em CCDP, sendo esta eluída com HEX/AcOEt a 2%, permitindo a purificação de um composto na forma de cristais em forma de agulhas incolores (10 mg). Através da análise comparativa em CCD com o padrão autêntico, anteriormente isolado na fração etérea ácida, o mesmo foi identificado como friedelina (**28**).

Tabela 8 – Separação em CC da fração hexânica obtida do extrato bruto metanólico

Frações	Subfração	% Solventes	Substâncias
1 a 6	I	Hexano	Mistura
7 a 10	II	HEX/AcOEt 2%	S22 + Mistura
16 a 22	III	HEX/AcOEt 5%	Mistura
23 a 25	IV	HEX/AcOEt 10%	S23 + Mistura
26 a 30	V	HEX/AcOEt 15%	Mistura
31 a 43	VI	HEX/AcOEt 20%	Mistura
44 a 55	VII	HEX/AcOEt 25%	Mistura
56 a 66	VIII	HEX/AcOEt 1:1	Mistura
67 a 80	IX	HEX/AcOEt 80%	Mistura
81 a 110	X	AcOEt	Mistura

A subfração IV (frações 23 a 25 - 40 mg), após a evaporação do solvente em temperatura ambiente houve a formação de cristais, os quais foram submetidos à lavagem com n-hexano. A partir de análises de CCD, com padrões autênticos, anteriormente

isolados pelo grupo, análises de ^1H e ^{13}C RMN e comparação com dados da literatura, o mesmo foi identificado como sendo o β – sitosterol (**29**).

3.10.5 Fração diclorometano neutra (FDN)

A fração diclorometano neutra (8 g) obtida no segundo fracionamento, foi cromatografada em coluna, empregando sílica gel F60 (Silicycle) 240-400 mesh como fase estacionária e diclorometano e metanol num gradiente crescente de polaridade como fase móvel. Foram coletadas 135 frações de 200 mL e evaporadas com evaporador rotatório. As frações foram comparadas em CCD e reunidas conforme suas similaridades, conforme descrito na Tabela 9.

Tabela 9 – Separação em coluna cromatográfica da fração diclorometano neutra

Frações	Subfrações	%Solventes	Substâncias
1 a 4	I	CH_2Cl_2	Mistura
5 a 10	II	$\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 1%	Mistura
11 a 17	III	$\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 3%	Mistura
18 a 26	IV	$\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 5%	Mistura
27 a 34	V	$\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 7%	Mistura
35 a 44	VI	$\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 10%	S 18 +Mistura
45 a 52	VII	$\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 15%	Mistura
53 a 56	VIII	$\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 20%	Mistura
57 a 85	IX	$\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 25%	Mistura
86 a 120	X	$\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 1:1	Mistura
121 a 135	XI	Metanol	Mistura

Um metabólito foi obtido após separação por CC da subfração VI (35 a 44) retirada da fração diclorometano neutra. Desta subfração, houve a formação de um sólido de cor marrom, o qual foi submetido à lavagem com metanol para a limpeza e formação de um precipitado de cor branca. O sobrenadante foi removido manualmente para render um sólido branco puro (15 mg) solúvel em piridina. Este composto foi visualizado através do surgimento de uma mancha cinza-escuro, quando tratado com solução de ácido sulfúrico/etanol sob aquecimento, em placas de CCD. As análises de RMN de ^1H e ^{13}C , além da comparação com dados da literatura (TANAKA et al., 2005), levaram a identificação deste composto como sendo o esteroide β -sitosterol glicosilado **14**.

3.10.6 Fração acetato de etila (AcOEt) neutra (FAN)

Esta fração (20 g) foi cromatografada em coluna, empregando sílica gel F60 (Silicycle) 240-400 mesh como fase estacionária e mistura de HEX/AcOEt num gradiente crescente de polaridade, como fase móvel. Foram coletadas 172 frações, as quais foram acompanhadas de CCD e reunidas conforme suas similaridades (Tabela 10).

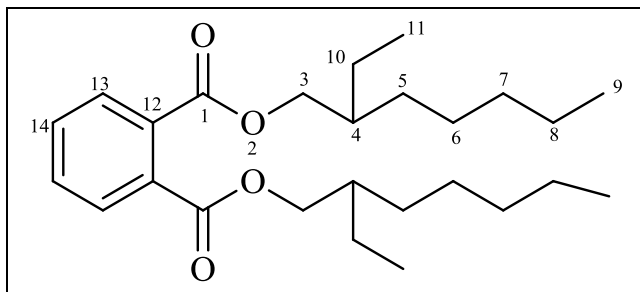
Tabela 10 – Separação em coluna cromatográfica da fração acetato de etila neutra

Frações	Subfrações	%Solventes	Substâncias
1 a 20	I	Hexano	Mistura
21 a 50	II	HEX/AcOEt 1%	Mistura
51 a 70	III	HEX/AcOEt 2%	S16
71 a 90	IV	HEX/AcOEt 5%	Mistura
91 a 110	V	HEX/AcOEt 7%	Mistura
111 a 122	VI	HEX/AcOEt 10%	Mistura
122 a 132	VII	HEX/AcOEt 15%	Mistura
133 a 147	VIII	HEX/AcOEt20 %	Mistura
147 a 158	IX	HEX/AcOEt 25%	Mistura
159 a 171	X	HEX/AcOEt 1:1	Mistura
172	XI	AcOEt	Mistura

A subfração VIII (frações 133 a 147) foi testada com diferentes sistemas de eluentes na análise de CCD. As manchas foram reveladas sob lâmpada de UV (254 e 365 nm), verificando-se a presença de um metabólito puro que, ao ser submetido a análises de ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais, foi identificado como sendo um flavonoide denominado epicatequina, conforme comparação com dados da literatura (LÔBO, 2008)

3.11 METABÓLITOS ISOLADOS E IDENTIFICADOS DA *Luehea divaricata*

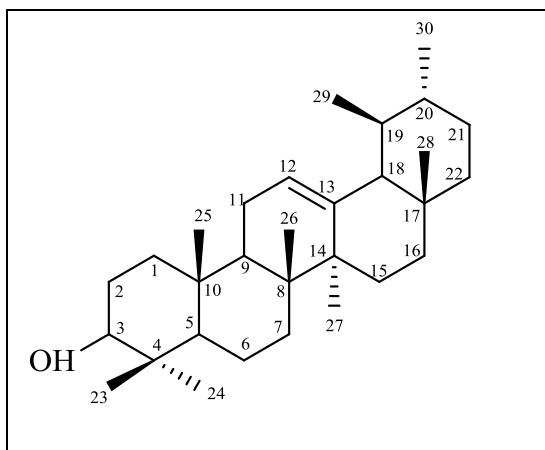
3.11.1 Composto (26) - Ftalato de bis 2-etil-heptila



4 mg, óleo amarelado, RMN de ^1H a 400 MHz, em CDCl_3 , δ 7,66 (2H, dd, $J = 3,2$ Hz e 5,6 Hz, H-13,-13'), 7,47 (2H, dd, $J = 3,2$ Hz e 5,6 Hz, H-14, -14'), 4,18 (4H, m, H-3, -3'), 1,62 (2H,

m, H-4,- 4'), 1,21 (4H, m, H-5,-5'), 1,24 (4H, m, H-6,-6'), 1,35 (4H, m, H-7, -7'), 1,37 (4H, m, H-8,-8'), 0,87 (6H, m, H-9,-9'), 1,35 (4H, m, H-10,-10'), 0,89 (6H, m, H-11,-11'). RMN de ^{13}C a 100 MHz, em CDCl_3 , δ 167,7 (C-1, -1'), 68,6 (C-3, -3'), 38,8 (C-4, -4'), 29,7 (C-5, -5'), 29,0 (C-6, -6'), 30,4 (C-7, -7'), 24,2 (C-8, -8'), 13,6 (C-9, -9'), 23,2 (C-10, -10'), 10,8 (C-11, -11'), 132,6 (C-12, -12'), 130,7 (C-13, -13'), 128,8 (C-14, 14').

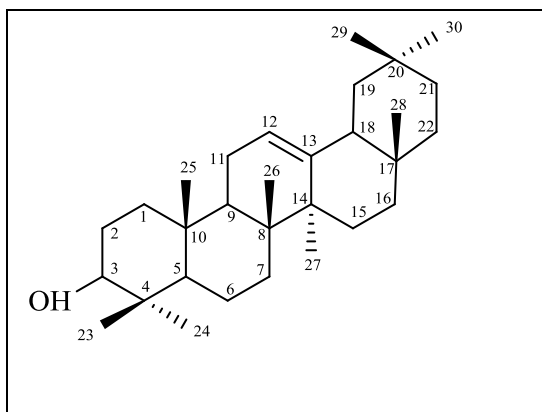
3.11.2 Composto (27) - α -amirina



17 mg, sólido branco; ponto de fusão: (175-178 °C - Lit.179-181 °C - MAHATO; KUNDU, 1994), RMN de ^1H a 400 MHz, em CDCl_3 , δ 3,23 (1H, dd, $J = 5,2$ Hz e 10,8 Hz, H-3), 5,19 (1H, t, $J = 3,6$ Hz, H-12 α), 1,16 (3H, s, H-23), 1,00 (3H, s, H-24), 0,87 (3H, s, H-25), δ 1,02 (3H, s, H-26), 0,96 (3H, s, H-27), 0,91 (3H, s, H-28), 0,84 (3H, s, H-29), 0,80 (3H, s, H-30). RMN de ^{13}C a 100 MHz, em

CDCl_3 , δ 39,0 (C-1), 27,0 (C-2), 79,4 (C-3), 39,0 (C-4), 55,6 (C-5), 17,7 (C-6), 32,8 (C-7), 39,9 (C-8), 47,6 (C-9), 37,2 (C-10), 23,6 (C-11), 124,8 (C-12), 139,9 (C-13), 41,9 (C-14), 28,5 (C-15), 26,3 (C-16), 33,6 (C-17), 59,5 (C-18), 39,2 (C-19), 40,0 (C-20), 31,6 (C-21), 40,2 (C-22), 28,7 (C-23), 15,8 (C-24), 15,9 (C-25), 17,1 (C-26), 23,9 (C-27), 28,5 (C-28), 15,9 (C-29), 21,6 (C-30).

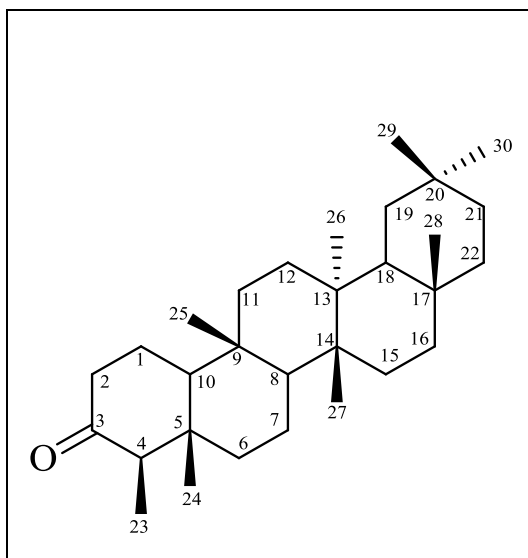
3.11.3 Composto (1) – β -amirina



17 mg, sólido branco; ponto de fusão: (175-178 °C - Lit.179-181 °C – MAHATO; KUNDU, 1994), RMN de ^1H a 400 MHz, em CDCl_3 , δ 3,21 (1H, dd, $J=6,4$ Hz e 9,6 Hz, H-3), 5,13 (1H, t, $J = 3,6$ Hz, H-12 β), 1,26 (3H, s, H-23), 1,01 (3H, s, H-24), 0,88 (3H, s, H-25), 1,14 (3H, s, H-26), 0,98 (3H, s, H-27), 0,94 (3H, s, H-28), 0,84 (3H, s, H-29), 0,80 (3H, s, H-30).

RMN de ^{13}C a 100 MHz em CDCl_3 , δ 39,0 (C-1), 26,5 (C-2), 79,4 (C-3), 39,0 (C-4), 55,7 (C-5), 18,7 (C-6), 31,7 (C-7), 40,0 (C-8), 48,0 (C-9), 37,3 (C-10), 23,7 (C-11), 122,1 (C-12), 145,5 (C-13), 42,1 (C-14), 27,6 (C-15), 26,5 (C-16), 32,8 (C-17), 47,6 (C-18), 47,2 (C-19), 30,0 (C-20), 34,1 (C-21), 37,3 (C-22), 28,4 (C-23), 15,9 (C-24), 15,8 (C-25), 15,9 (C-26), 26,3 (C-27), 27,3 (C-28), 33,3 (C-29), 23,7 (C-30).

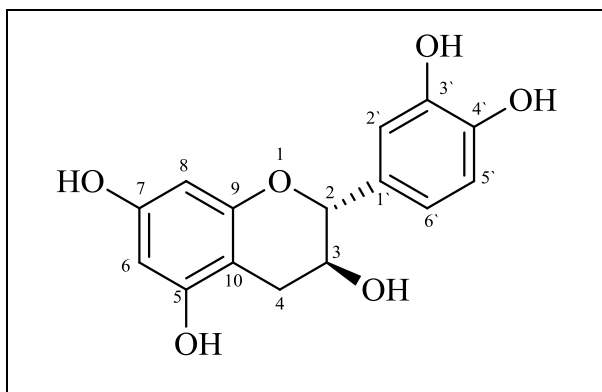
3.11.4 Composto (28) – Friedelina



12 mg, cristais em forma de agulha incolores; ponto de fusão: 258-261°C; p.f. 258-265°C (SILVA et al., 2010b) RMN de ^1H a 400 MHz, CDCl_3 , δ 1,96 (2H, m, H-1), 2,36 (2H, dd, $J = 2$ Hz e 5, 2 Hz, H-2), 2,40 (2H, dd, $J = 2$ Hz e 5, 2 Hz, H-2), 0,87 (3H, d, $J = 2,4$ Hz, H-23), 0,72 (3H, s, H-24), 0,88 (3H, s, H-25), 1,01 (3H, s, H-26), 1,05 (3H, s, H-27), 1,18 (3H, s, H-28), 0,95 (3H, s, H-29), 1,00 (3H, s, H-30), 1,20-2,38(m, demais hidrogênios). RMN de ^{13}C a 100 MHz em CDCl_3 , δ 21,9 (C-1), 41,2 (C-2), 212,6 (C-3), 57,9 (C-4), 41,8 (C-5), 41,0 (C-6), 18,3 (C-7), 52,8 (C-8),

37,1 (C-9), 59,2 (C-10), 35,3 (C-11), 30,2 (C-12), 39,4 (C-13), 38,0 (C-14), 32,1 (C-15), 35,7 (C-16), 29,7 (C-17), 42,5 (C-18), 35,0 (C-19), 27,8 (C-20), 32,5 (C-21), 38,9 (C-22), 6,4 (C-23), 14,3 (C-24), 17,8 (C-25), 19,9 (C-26), 17,9 (C-27), 31,7 (C-28), 34,6 (C-29), 31,7 (C-30).

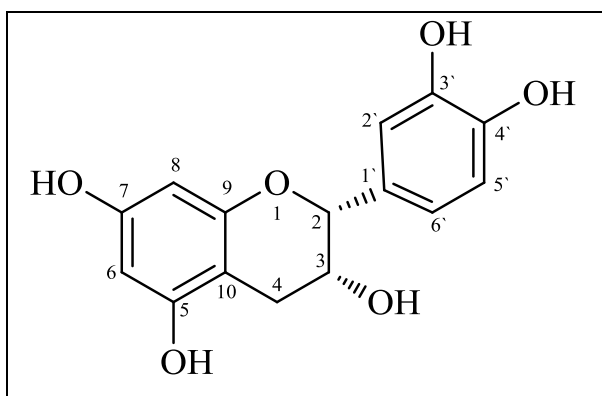
3.11.5 Composto (22) – (+) Catequina



10 mg, sólido branco cristalino, ponto de fusão (139-142°C – Lit. 140-144°C- HORST, 2008), RMN de ^1H a 400 MHz, CD_3OD , δ 6,86 (1H, d, $J = 2$ Hz, H-2'), 4,60 (1H, d, $J = 7,6$ Hz, H-2), 4,02 (1H, m, H-3), 2,89 (1H, dd, $J = 5,6$ Hz, 16 Hz, H-4a), 2,50 (1H, dd, $J = 8,0$ Hz, 16 Hz, H-4b), 6,80 (1H, d, $J = 8$ Hz H-5'), 5,96 (1H, d,

$J = 2,4$ Hz, H-6), 6,75 (1H, dd, $J = 2$ Hz, $J = 8$ Hz, H-6'), 5,89 (1H, d, $J = 2,4$ Hz, H-8). RMN de ^{13}C a 100 MHz, CD_3OD , δ 130,9 (C-1'), 113,9 (C-2'), 81,4 (C-2), 67,4 (C-3), 144,7 (C-3'), 27,0 (C-4), 144,8 (C-4'), 156,1 (C-5), 114,7 (C-5'), 95,0 (C-6), 119,6 (C-6'), 156,4 (C-7), 94,2 (C-8), 155,5 (C-9), 99,5 (C-10).

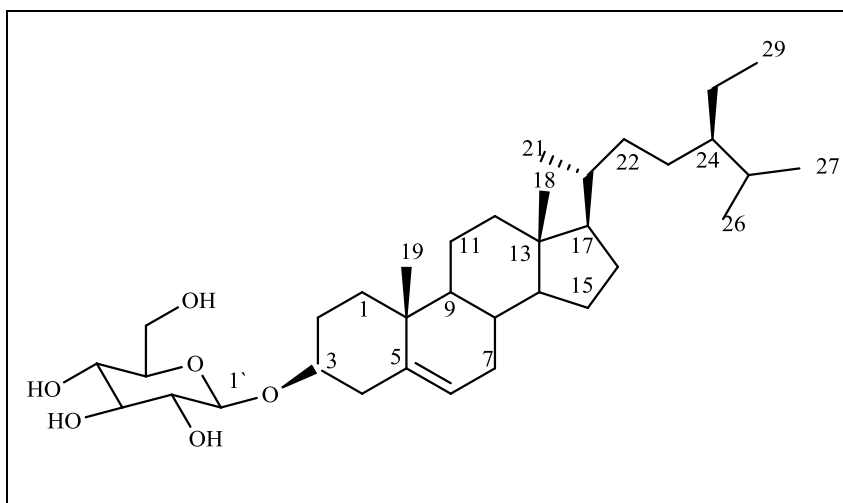
3.11.6 Composto (8) – (-) Epicatequina



12 mg, sólido branco, ponto de fusão 241-244°C- Lit 242-245°C-BARREIROS, 2000), RMN de ^1H a 400 MHz em CD_3OD , δ 4,83 (1H, s, H-2), 4,21 (1H, m, H-3), 2,91 (1H, dd, $J = 4,8$ Hz e 17 Hz, H-4a), 2,72 (1H, dd, $J = 3,2$ Hz e 17 Hz, H-4b), 5,96 (1H, d, $J = 2,2$ Hz, H-6), 5,94 (1H, d, $J = 2,2$ Hz, H-8), 6,99

(1H, d, $J = 2$ Hz, H-2'), 6,78 (1H, d, $J = 8,2$ Hz, H-5'), 6,83 (1H, dd, $J = 2,4$ Hz e 8,2 Hz, H-6'). RMN de ^{13}C a 100 MHz, em CD_3OD : δ 78,4 (C-2), 66,1 (C-3), 27,8 (C-4), 156,2 (C-5), 95,1 (C-6), 156,5 (C-7), 94,6 (C-8), 155,9 (C-9), 98,2 (C-10), 130,9 (C-1'), 114,0 (C-2'), 144,3 (C-3'), 144,5 (C-4'), 114,6 (C-5'), 118,3 (C-6').

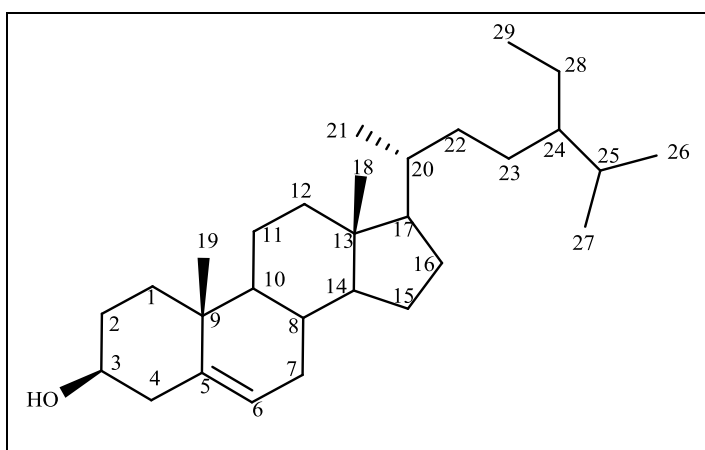
3.11.7 β – Sitosterol Glicosilado (14)



15 mg, sólido branco, ponto de fusão (288-290°C- Lit 295-300 °C – GALOTTA, 2005), RMN de ^1H a 400 em $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, δ 4,25 (1H, m, H-3), 5,35 (1H, m, H-6), 5,01 (1H, d, $J = 7,6$ Hz, H-1'), 4,01 (1H, m, H-2'), 3,92 (1H, m, H-3'), 4,21

(1H, m, H-4'), 2,72 - 0,66 (m, demais hidrogênios). RMN de ^{13}C a 100 MHz, em $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$: δ 37,6 (C-1), 30,3 (C-2), 75,4 (C-3), 39,4 (C-4), 141,0 (C-5), 121,9 (C-6), 32,2 (C-7), 32,3 (C-8), 50,2 (C-9), 37,6 (C-10), 21,4 (C-11), 40,1 (C-12), 42,6 (C-13), 56,9 (C-14), 24,6 (C-15), 28,6 (C-16), 56,4 (C-17), 12,0 (C-18), 19,5 (C-19), 36,4 (C-20), 19,1 (C-21), 34,3 (C-22), 30,3 (C-23), 46,2 (C-24), 29,6 (C-25), 20,0 (C-26), 19,3 (C-27), 23,5 (C-28), 12,2 (C-29), 102,7 (C-1'), 78,3 (C-2'), 78,5 (C-3'), 71,9 (C-4'), 78,7 (C-5'), 63,0 (C-6').

3.11.8 Composto (29) – β - Sitosterol



15 mg, sólido branco; ponto de fusão: (138–140 °C - Lit. 136-138°C – (SANTOS, 2013), RMN de ^1H a 400 MHz, em CDCl_3 , δ 3,53 (1H, m, H-3), 0,66, 0,80, 0,84, 0,85, 0,92, 1,00 (3H, CH_3 -18, -19, -21, -26, -27, -29), 5,36 (1H, d, H-6), 1,02-2,29 (m, demais hidrogênios). RMN de ^{13}C a 100 MHz,

em CDCl_3 , δ 37,2 (C-1), 31,6 (C-2), 71,7 (C-3), 42,2 (C-4), 140,7 (C-5), 121,7 (C-6), 31,8 (C-7), 31,6 (C-8), 0,1 (C-9), 36,4 (C-10), 21,0 (C-11), 39,7 (C-12), 42,3 (C-13), 56,7 (C-14), 24,2 (C-15), 28,2 (C-16), 56,0 (C-17), 11,8 (C-18), 18,7 (C-19), 36,1 (C-20), 19,0 (C-21), 33,9 (C-22), 26,0 (C-23), 45,8 (C-24), 29,1 (C-25), 19,8 (C-26), 19,3 (C-27), 23,0 (C-28), 11,9 (C-29).

3.12 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Com o intuito de se avaliar a capacidade antioxidante das frações FAB e FAN, bem como de seus respectivos compostos isolados, catequina e epicatequina (ambos flavonoides), fez-se o uso do método quantitativo, realizado pela medida da leitura de absorvância das amostras frente a uma amostra “branco” e um padrão “BHT” (di-terc-butil metil fenol).

3.12.1 Método do Radical Livre – Ensaio Quantitativo

O método consiste na redução do radical DPPH (BROINIZI et al., 2007; NASCIMENTO et al., 2011; SOUSA et al., 2007), onde é avaliada a capacidade dos compostos testados em serem doadores de hidrogênio – ação antioxidante. A solução de DPPH possui uma coloração violeta que se descolore progressivamente tornando-se amarelada, permitindo assim, a observação da capacidade antioxidante do composto testado. Mais recentemente, Zhang et al. (2012) adaptaram a técnica para diferentes concentrações das substâncias a serem testadas, a qual foi adotada no presente trabalho.

Para a avaliação da capacidade antioxidante, as amostras e o padrão foram testados em concentrações 800 µg/mL a 1,56 µg/mL (microdiluição em série). Após a microdiluição nas colunas pares, foram acrescentados 100 µL de solução de DPPH 0,0016% e nas colunas ímpares, 100 µL metanol. As amostras permanecem à temperatura ambiente por 30 minutos sob a proteção da luz. Após, fez-se a leitura da absorvância em espectrofotometria (λ 517 nm) para medir a redução do radical livre. Como controle de absorvância da DPPH, utilizou-se uma amostra de concentração de 200 µL (100 µL solução metanólica com 0,0016% de DPPH +100 µL MeOH), representando 0% de inibição.

Para avaliar a capacidade de captura do radical das amostras testadas, a porcentagem de inibição é calculada pela fórmula: % de inibição = $[(Ac-Aa)/Ac] \times 100$, onde Ac é a absorvância da solução controle e Aa é a absorvância da amostra testada, no tempo de 30 minutos. Através de regressão linear, utilizando-se as médias das porcentagens de inibição e respectivas concentrações, é obtido o IC₅₀ (50% de capacidade de captura do radical livre DPPH).

3.13 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

A atividade antimicrobiana dos extratos foi realizada pelo método de microdiluição em caldo e a análise das placas de 96 poços foi realizada por meio de Fluorímetro (espectrofotometria), no comprimento de onda de 620nm. Os resultados são expressos em função da concentração inibitória mínima (CIM) e concentração letal mínima (CLM), Os ensaios microbiológicos foram realizados na Universidade Federal de Santa Maria (UFSM).

3.13.1 Microrganismos e padrões utilizados

Para os ensaios microbiológicos, utilizaram-se cepas padrão da American Type Culture Collection (ATCC), constituídas de microrganismos gram-positivos, gram-negativos e fungos, conforme a Tabela 11. Como antibióticos-padrões foram utilizados Cloranfenicol para bactérias e Fluconazol para fungos, preparados conforme as normas da FDA (Food and Drug Administration, 1991).

Tabela 11 – Microorganismos indicadores utilizados na atividade antimicrobiana

Microrganismos (ATCC)		
Gram-negativos	Gram-positivos	Fungos
<i>Pseudomas aeroginosa</i> (27853)	<i>Bacillus cereus</i> (33019)	<i>Candida albicans</i> (44373)
<i>Burkholderia cepacia</i> (17759)	<i>Enterococcus</i> (6589)	<i>Candida parapslosis</i> (22018)
<i>Morganella morgani</i> (25829)	<i>Staphylococcus aureus</i> (25923)	<i>Candida krusei</i> (6258)
<i>Escherichia coli</i> (25922)	<i>Enterobacter aerogenes</i> (13048)	<i>Candida tropicalis</i> (750)
<i>Shigella sonnei</i> (25931)	<i>Bacillus subtilis</i> (19659)	<i>Cryptococcus neoformans</i> (28952)
<i>Salmonella typhimurium</i> (14028)		<i>Cryptococcus gatti</i> (56990)

3.13.2 Meios de cultura

Os meios de cultura utilizados foram o Caldo de caseína de soja (5g de cloreto de sódio, 2,5 g de dextrose, 2,5 g de fosfato dibásico de potássio, 17g de peptona de caseína, 3g de peptona de soja e 1L de água destilada) para bactérias e o Caldo Sabouraud

dextrosado (40 g de dextrose, 5 g de peptona de carne, 5 g de peptona de caseína e 1L de água destilada) para os fungos.

3.13.3 Manutenção dos microrganismos indicadores

As cepas dos microrganismos indicadores foram armazenadas em tubos de ensaio inclinado contendo 5 - 8 mL de ágar nutriente para bactérias ou ágar sabouraud para fungos em geladeira. Os repiques foram realizados de 24 a 48 horas antes de cada análise.

3.13.4 Determinação da CIM e CLM

A efetividade antimicrobiana de uma substância é frequentemente descrita em termos de sua concentração Inibitória mínima (CIM), a menor concentração da substância que tem a capacidade de inibir totalmente o crescimento de um microrganismo selecionado.

Os ensaios de microdiluição em caldo foram realizados em placas de cultura estéreis de 96 micropoços, utilizando-se a técnica modificada do NCCLS (National Comittee for Clinical Laboratory Standarts). Nesta técnica, cada poço foi inoculado com os microrganismos na concentração de 1×10^6 células viáveis e posteriormente, as amostras a serem testadas foram adicionadas no primeiro poço seguindo-se a diluição em série das mesmas, de 200 µg/mL. As placas foram incubadas por 24 horas a 35-37 °C para os ensaios antibacterianos e por 48 horas a 25-27 °C, para os antifúngicos. Após o período de incubação, foi realizado a leitura das placas por meio do uso de fluorímetro, em 620 nm para a verificação da CIM.

Os testes foram realizados em triplicata, sendo realizada a análise dos padrões (Cloranfenicol e Fluconazol) simultaneamente.

As culturas dos microrganismos que não apresentaram crescimento ou foram inibidas no método CIM, foram inoculadas novamente utilizando-se 10 µL de cada uma das soluções presentes nos poços do teste anterior e 90 µL de um novo meio de cultura líquido apropriado para cada classe de microrganismo. A concentração Letal Mínima (CLM) é considerada a menor concentração de substância capaz de aniquilar 99,9% das unidades formadoras de colônia (UFC).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesta seção serão apresentados os resultados e a discussão do estudo fitoquímico realizado com os extratos, frações e metabólitos isolados da casca do caule da espécie *Luehea divaricata*, bem como a avaliação das atividades biológicas dos mesmos. As estruturas químicas dos metabólitos isolados foram estabelecidas com base na interpretação de dados espectrais de RMN ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais, difração de Raio-X, comparação com dados da literatura e com amostras-padrão, quando existentes no laboratório.

No tratamento inicial do material vegetal foram obtidos 902 g do extrato bruto metanólico (EBM). Primeiramente, trabalhou-se com 452 g, objetivando-se o isolamento, principalmente, de alcaloides de *L. divaricata* e demais metabólitos secundários. No fracionamento ácido-base, esperava-se a presença dos alcaloides nas frações básicas, o que não se verificou, conforme a aplicação do revelador Dragendorff. Alcaloides são bases orgânicas nitrogenadas, predominantemente encontrados nas plantas, onde o átomo de nitrogênio frequentemente compõe anel heterocíclico (FESTER, 2010). O fracionamento ácido-base permitiu, então, o isolamento de um ftalato e três triterpenos da FEA: ftalato de bis 2-etil-heptila, um triterpeno identificado como friedelina e uma mistura triterpênica de isômeros, identificados como sendo α e β - amirina. Em adição, da fração FAB, foi isolado o flavonoide catequina. Assim, realizou-se um segundo fracionamento (neutro), utilizando-se 450 g do EBM, conforme descrito anteriormente (pág. 61). Deste fracionamento, a FHN rendeu um esteroide identificado como β - sitosterol; da FDN isolou-se um segundo esteroide conhecido como β - sitosterol glicosilado e da FAN, foi obtido outro flavonoide, a epicatequina, sendo este último diásteroisômero da catequina. Resumindo, este trabalho conduziu à identificação/isolamento de sete compostos: um ftalato, três triterpenos, dois esteroides e dois flavonoides.

Dos extratos e frações analisadas não foi detectada a presença de alcaloides e ácidos graxos marcadores. Apesar do uso da constituição química de ácidos graxos como marcadores quimiotaxonômicos para diversas famílias de angiospermas, a ausência de ácidos graxos marcadores não deve prejudicar seu uso na quimiotaxonomia de *L. divaricata*. Ausência dos ácidos cicloprênicos não pode ser considerada como conclusiva, pois eles são de difícil detecção em cromatografias convencionais devido à facilidade de destruição da estrutura química durante os processos de isolamento, reações de

esterificação e decomposição térmica em análises por cromatografia gasosa (SILVA et al., 2010b). Estes compostos, assim como o extrato bruto e as frações ácidas, básicas e neutras foram submetidas à análise antimicrobiana e antioxidante.

4.1 RENDIMENOS DO EXTRATO E FRAÇÕES

A fração que apresentou melhores resultados quanto ao isolamento de metabólitos, foi a FEA, onde foram isoladas uma substância pura, e uma mistura triterpênica de isômeros, totalizando três compostos. A fração etérea básica (FEB) foi analisada através de técnicas cromatográficas, não sendo possível o isolamento, pois apresentavam os seus Rfs muito próximos e de difícil separação. A fração hexânica, diclorometano e acetato de etila neutras, foram trabalhadas através de diversas técnicas cromatográficas, sendo possível o isolamento em quantidades suficientes para análise e elucidação estrutural dos compostos puros.

Os rendimentos obtidos dos fracionamentos ácido-base e neutro, em relação às quantidades da planta moída e extrato bruto estão descritos nas Tabelas 12 e 13, abaixo.

Tabela 12 – Rendimento das frações ácidas e básicas da *Luehea divaricata*

Frações	Quantidades obtidas (g)	% em relação à planta moída	% em relação ao extrato bruto
FEA	16	0,46	3,53
FEB	12	0,34	2,65
FAB	7	0,20	1,54
FBB	6	0,17	1,32

Tabela 13 – Rendimento das frações neutras da *Luehea divaricata*

Frações	Quantidades Obtidas (g)	% em relação à planta moída	% em relação ao extrato bruto
FHN	7	0,20	1,55
FDN	8	0,23	1,77
FAN	20	0,58	4,42

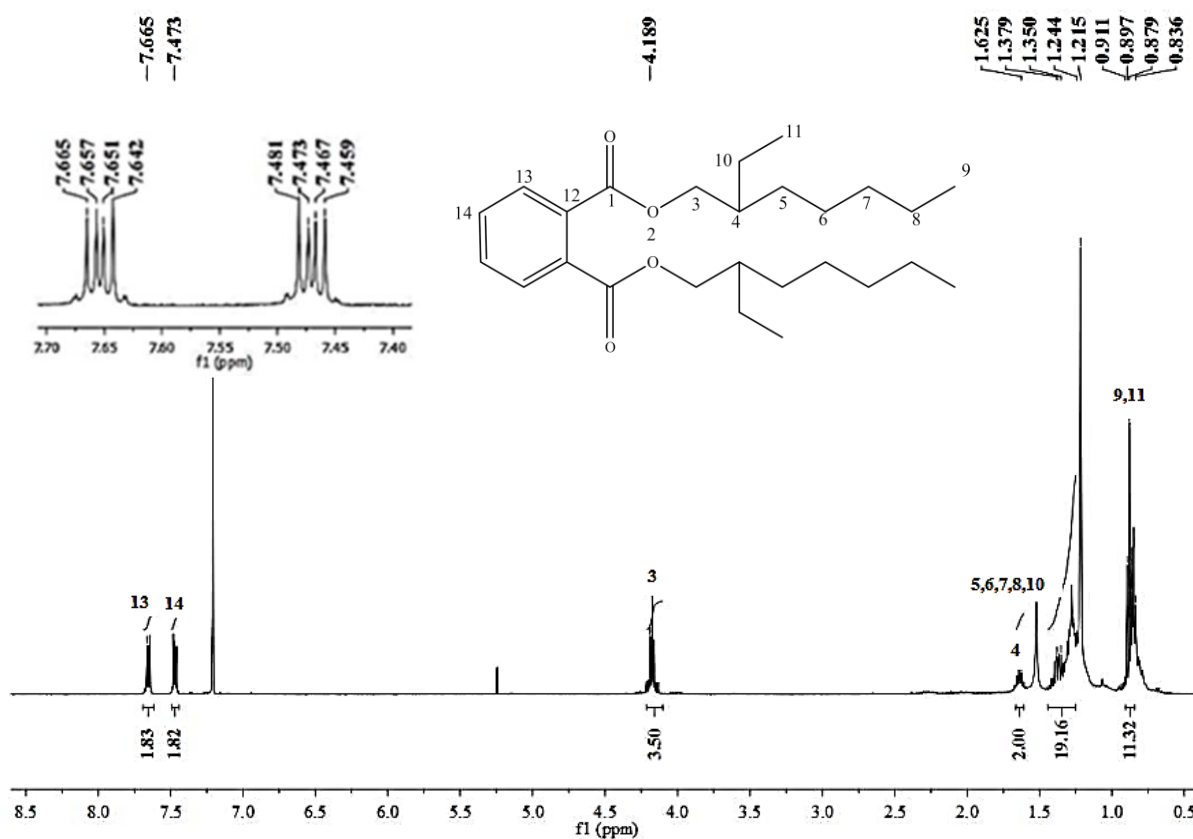
4.2 METABÓLITOS ISOLADOS DE *Luehea divaricata*

4.2.1 Ftalato de bis 2-etil-heptila (26)

Este composto foi obtido através de técnicas cromatográficas, onde se isolou uma substância de aspecto oleoso de coloração amarelada, a qual foi identificada como sendo o ftalato de bis 2-etil-heptila **26**, através técnicas de espectroscopia de RMN uni e bidimensionais e confirmada por Nunes (2015).

Nas Figuras 7 e 8 apresentam-se os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C , respectivamente, da substância **26** obtida em CDCl_3 (400 MHz). No espectro de RMN de ^1H da Figura 7 pode-se observar a presença de dois sinais na região aromática entre δ 7,47 e 7,66 ppm.

Figura 7 – Espectro de RMN ^1H do Ftalato de bis 2-etil-heptila **26** em CDCl_3 a 400 MHz

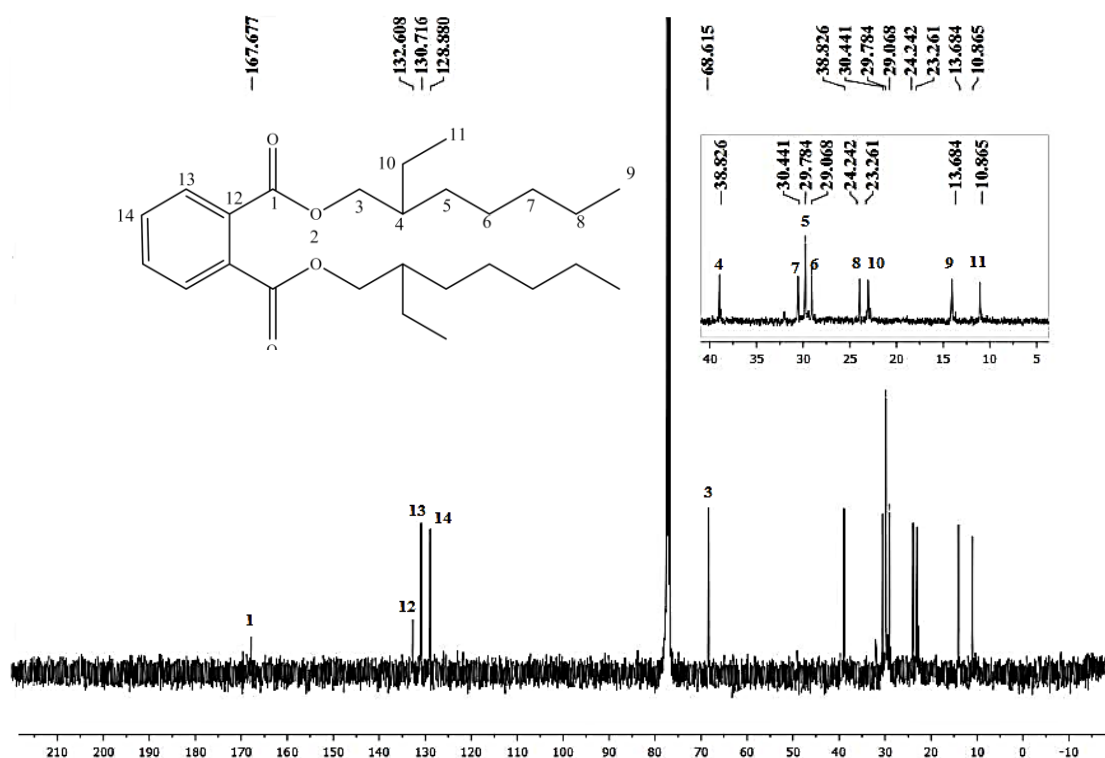


Os sinais desta região aparecem como dois duplos dupletos (dd), de δ 7,47 ppm (H-14/14') e δ 7,66 ppm (H-13/13'), ambos com constantes de acoplamento (J) de 3,2 Hz e 5,6 Hz, se referindo aos hidrogênios aromáticos.

Em 4,18 ppm observa-se a presença de um sinal com integração referente a quatro hidrogênios, sendo relacionado aos hidrogênios H-3/3' próximos ao grupamento éster da molécula.

No espectro da Figura 8, são discutidos os sinais partindo-se do campo baixo (zona de menor blindagem) para o campo alto (zona de maior blindagem), em relação ao TMS. Alguns sinais são identificados facilmente através das atribuições dos sinais nos espectros de RMN ^{13}C para o composto **26**. A ocorrência de um grupo éster foi indicada pelo sinal mais desprote-

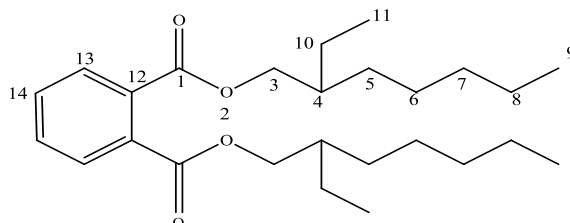
Figura 8 – Espectro de RMN ^{13}C do Ftalato de bis 2-etil-heptila **26** em CDCl_3 a 100 MHz



gido do espectro listado em 167,7 ppm, atribuído ao carbono carbonílico que corresponde ao C-1 e C-1', como pode ser observado por Mc.MURRY (2005). Os sinais em 132,6, 130,7 e 128,8 ppm, referentes aos carbonos aromáticos C-12/12', C-13/13' e C-14/14' do ftalato de bis 2-etil-heptila, também puderam ser comprovados por dados da literatura (MARCHESE, 2009; ARGONDIZO et al., 2007). Foi observado em 68,6 ppm a presença dos carbonos C3/3' vizinhos ao átomo de oxigênio do grupamento éster. Em campo alto, em 38,8 ppm, são encontrados os demais carbonos referentes aos grupos metínicos, que foram atribuídos aos C4/4'; os metilênicos, na região de 30,4 até 23,2 ppm, pertencentes aos carbonos C5/5', C6/6', C7/7', C8/8', C10/10'; e os metílicos, na região de 13,6 e

10,8 ppm, atribuídos para os C11/11' e C9/9', respectivamente. Portanto, os dados de RMN ^1H e ^{13}C sugerem se tratar de uma molécula simétrica, do Ftalato de bis 2-etil-heptila ($\text{C}_{26}\text{H}_{42}\text{O}_4$), como mostra a Figura 9.

Figura 9 – Estrutura química da molécula do Ftalato de bis 2-etil-heptila

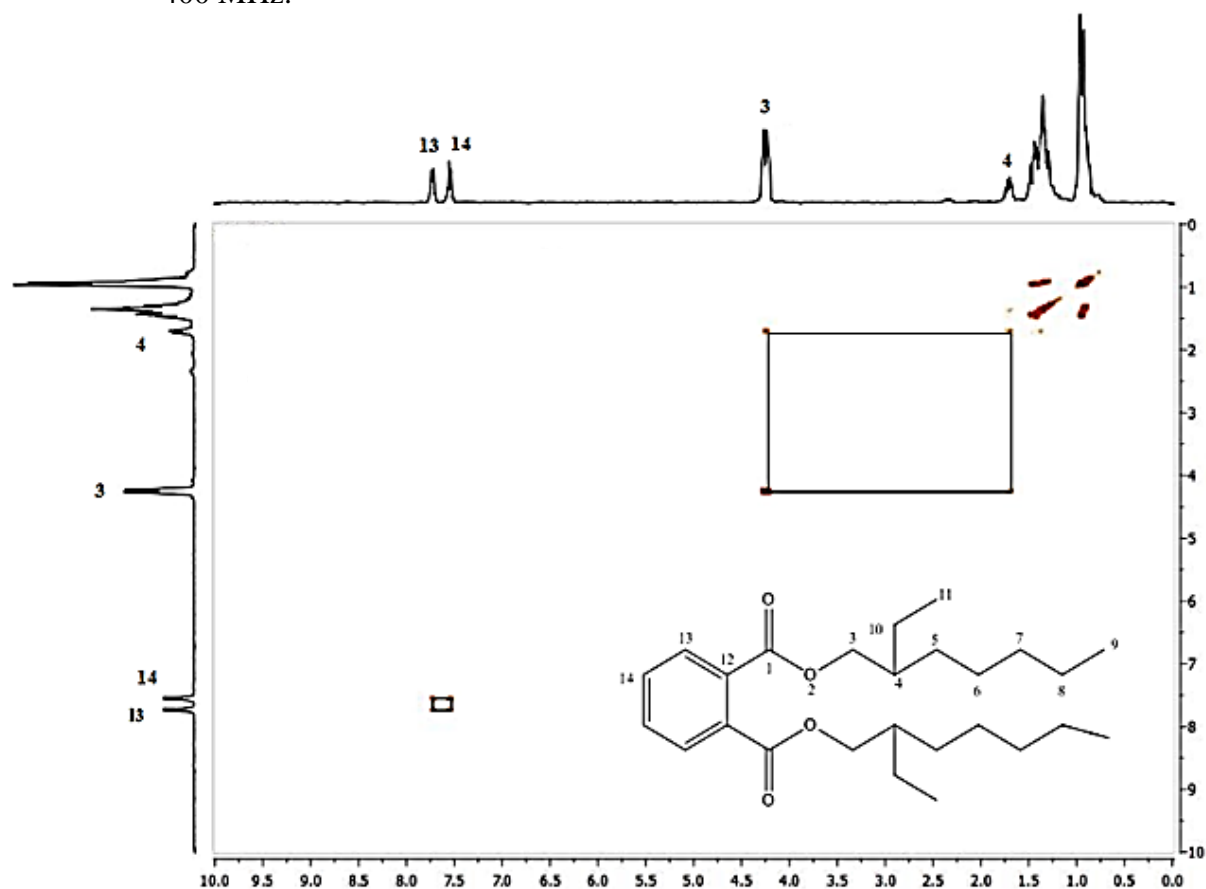


Entretanto, para confirmar a elucidação dessa molécula identificada na fração etérea ácida, foram empregadas técnicas bidimensionais.

No experimento de RMN-2D COSY homonuclear ^1H - ^1H , por sua vez, são observadas as correlações entre os hidrogênios pertencentes a um mesmo sistema de spin. No espectro resultante, observa-se a formação de uma diagonal, que representa o espectro em uma dimensão. Sinais fora da diagonal, sob a forma de pares simétricos, representam os sistemas de acoplamento dos hidrogênios.

No experimento COSY homonuclear ^1H - ^1H , em CDCl_3 (Figura 10), podemos observar dois sistemas de spins distintos. Inicialmente, nota-se um sistema de spins no qual apresenta a relação entre os hidrogênios ligados ao sistema aromático (H-13/H-14). Um segundo sistema de spins, mostra a correlação entre os hidrogênios H-3 e H-4, ligados aos carbonos C-3 e C-4, respectivamente.

Figura 10 – Espectro de RMN 2D COSY do Ftalato de bis 2-etil-heptila **26** em CDCl_3 a 400 MHz.

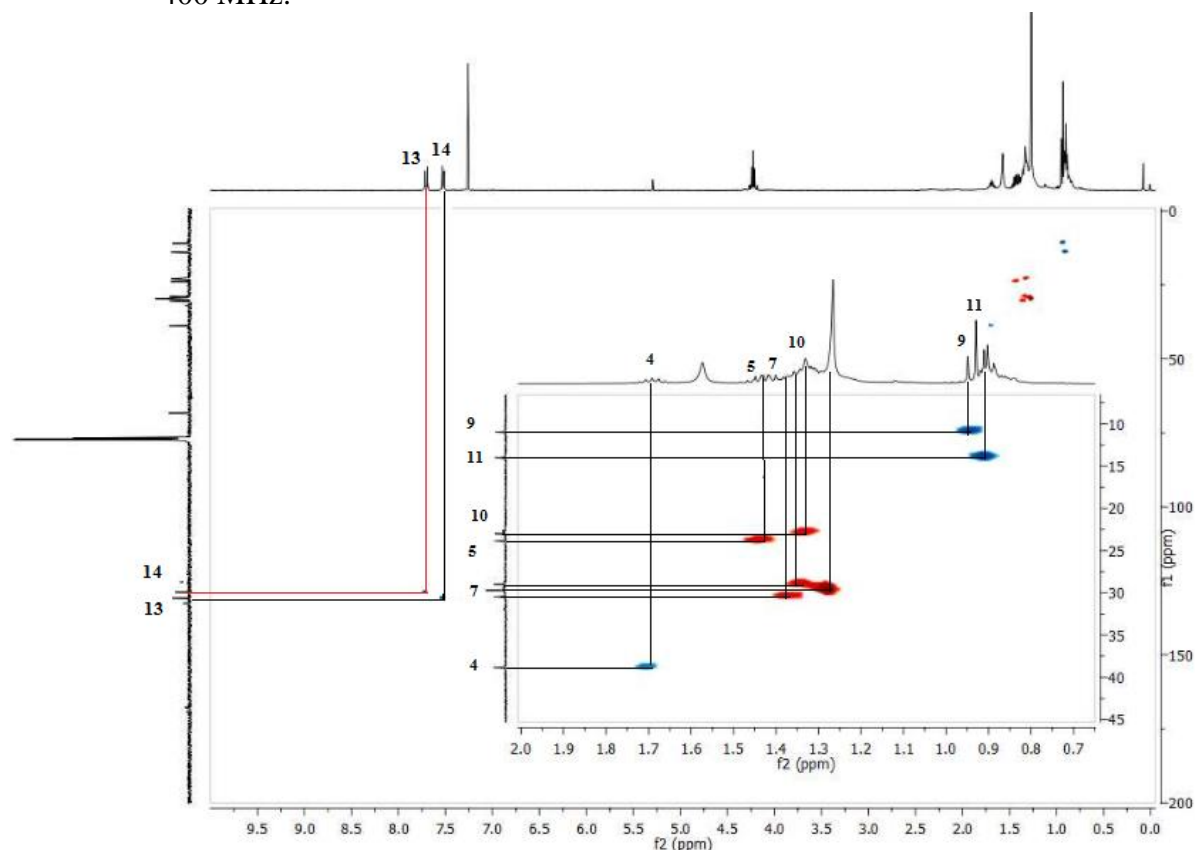


No espectro de RMN-2D heteronuclear HSQC (Figura 11), foram analisados os acoplamentos carbono-hidrogênio, a distância de uma ligação. A atribuição do sinal 68,6 ppm como sendo o carbono C-3/C-3' mostra a correlação ortogonal com o multipletto presente na região compreendida entre 4,18 ppm, com integral relativa a 4 hidrogênios. Evidencia-se também, a correlação entre multipletto presente no deslocamento químico em 1,62 ppm do espectro de RMN ^1H , com sinal de RMN ^{13}C , que possui deslocamento químico de 38,8 ppm, referente ao C-4/C-4'. O carbono C-5 em 29,7 ppm apresenta uma correlação com o multipletto presente no deslocamento 1,21 ppm, no espectro de RMN ^1H .

Da mesma forma pode ser atribuído a correlação do carbono C-6 em 29,0 ppm, com multipletto presente no deslocamento de 1,24 ppm, referente a 4 hidrogênios. Ainda, pode ser identificada a relação do C-7 em 30,4 ppm, com o multipletto em 1,35 ppm. Observa-se também, a correlação do sinal de carbono pertencente ao deslocamento químico de 24,2 ppm referente ao C-8, com o multipletto (RMN ^1H) com deslocamento químico de δ 0,87 ppm. Por fim, seguindo a última atribuição, os carbonos presentes nos

deslocamentos químicos de 13,6; 10,8 e 23,2 ppm, podem ser identificados como C-9, C-11 e C-10, respectivamente, já que estes apresentam correlações com o multipletto na região entre 0,87 a 1,35 ppm, no espectro de RMN ^1H (Figura 7).

Figura 11 – Espectro de RMN 2D HSQC do Ftalato de bis 2-etil-heptila **26** em CDCl_3 a 400 MHz.



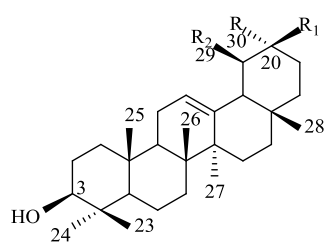
Interessantemente, ftalatos nas suas mais diversas formas têm sido isolados de extratos de plantas e algas (SRINIVASAN et al., 2008). Não há registros quanto ao isolamento de algum ftalato no gênero *Luehea*. O papel dessas moléculas na planta ainda é desconhecido, porém especula-se que a presença delas se dê através de sua absorção do meio ambiente, seja da atmosfera, do solo ou da irrigação (MAVAR-MANGA et al., 2008).

Contudo, não se pode descartar contaminações durante o processo de purificação, que podem ocorrer por meio da utilização de solventes, recipientes e sacos plásticos para estocagem da amostra, uma vez que ftalatos estão presentes na constituição de todos esses objetos (DRAKE et al., 2009). Porém, vale ressaltar que a amostra foi acondicionada durante todo o processo em frascos de vidro.

4.2.2 Mistura α - e β -amirina

A partir da fração etérea ácida, proveniente do EBM das cascas do caule de *L. divaricata* obteve-se uma mistura de triterpenos pentacíclicos (17 mg) conforme descrito na (pág.65). Após purificação, a mesma foi submetida às técnicas de RMN de ^1H e ^{13}C unidimensional e cromatografia gasosa. Análise desses dados e comparação com aqueles da literatura, permitiram a identificação de uma mistura de α - e β -amirina, conforme Figura 12.

Figura 12 – Estrutura química das amirinas



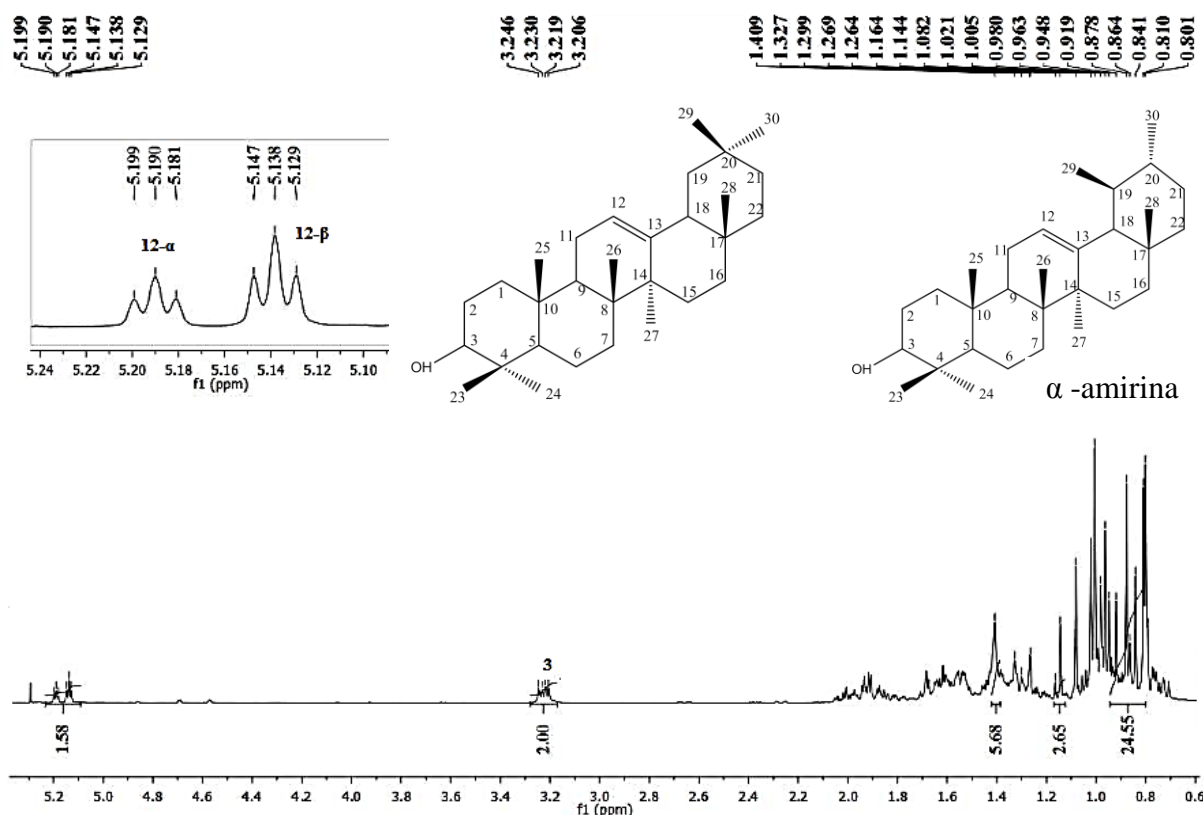
- (1) $\text{R}=\text{R}_2=\text{CH}_3$, $\text{R}_1=\text{H}$ (3 α -hidroxiurs-12-eno (α -amirina))
 (2) $\text{R}=\text{R}_1=\text{CH}_3$, $\text{R}_2=\text{H}$ (3 β -hidroxiolean-12-eno (β -amirina))

O espectro de RMN ^1H (Figura 13) mostrou sinais de metilas na forma de simpletos de alta intensidade em campo alto (mais blindado). Desses, quatro aparecem com maior intensidade: δ_{H} 0,80, 0,81, 0,87 e 1,00 ppm, indicando que se tratam de prótons equivalentes entre as estruturas, resultando em dezesseis metilas existentes na mistura (oito para cada isômero). Atribuíram-se os valores de deslocamento químico (δ) por comparação com dados encontrados na literatura (Tabela 14).

Tabela 14 – Dados de RMN de ^1H e ^{13}C relevantes da identificação da mistura

H	δ_{H} (ppm)	δ_{H}^* (ppm) ZANON, 2006
	(400 MHz, CDCl_3)	(400 MHz, CDCl_3)
3	3,23 (dd, $J= 4,4$ Hz e $10,8$Hz, 1H)	3,23 (dd, $J = 6,3$ e $9,0$ Hz, 1H)
12α	5,19 (t, $J= 3,6$ Hz, 1H)	5,19 (t, $J = 3,2$ Hz, 1H)
12β	5,13 (t, $J= 3,6$ Hz, 1H)	5,14 (t, $J = 3,2$ Hz, 1H)
23	1,26 (s, 3H)	1,27 (s, 3H)
24	1,01 (s, 3H)	1,01 (s, 3H)
25	0,88 (s, 3H)	0,88 (s, 3H)
26	1,14 (s, 3H)	1,11 (s, 3H)
27	0,98 (s, 3H)	1,00 (s, 3H)
28	0,94 (s, 3H)	0,95 (s, 3H)
29	0,84 (s, 3H)	0,83 (s, 3H)
30	0,80 (s, 3H)	0,80 (s, 3H)

Figura 13 – Espectro de RMN ^1H do composto S11, em CDCl_3 a 400 MHz



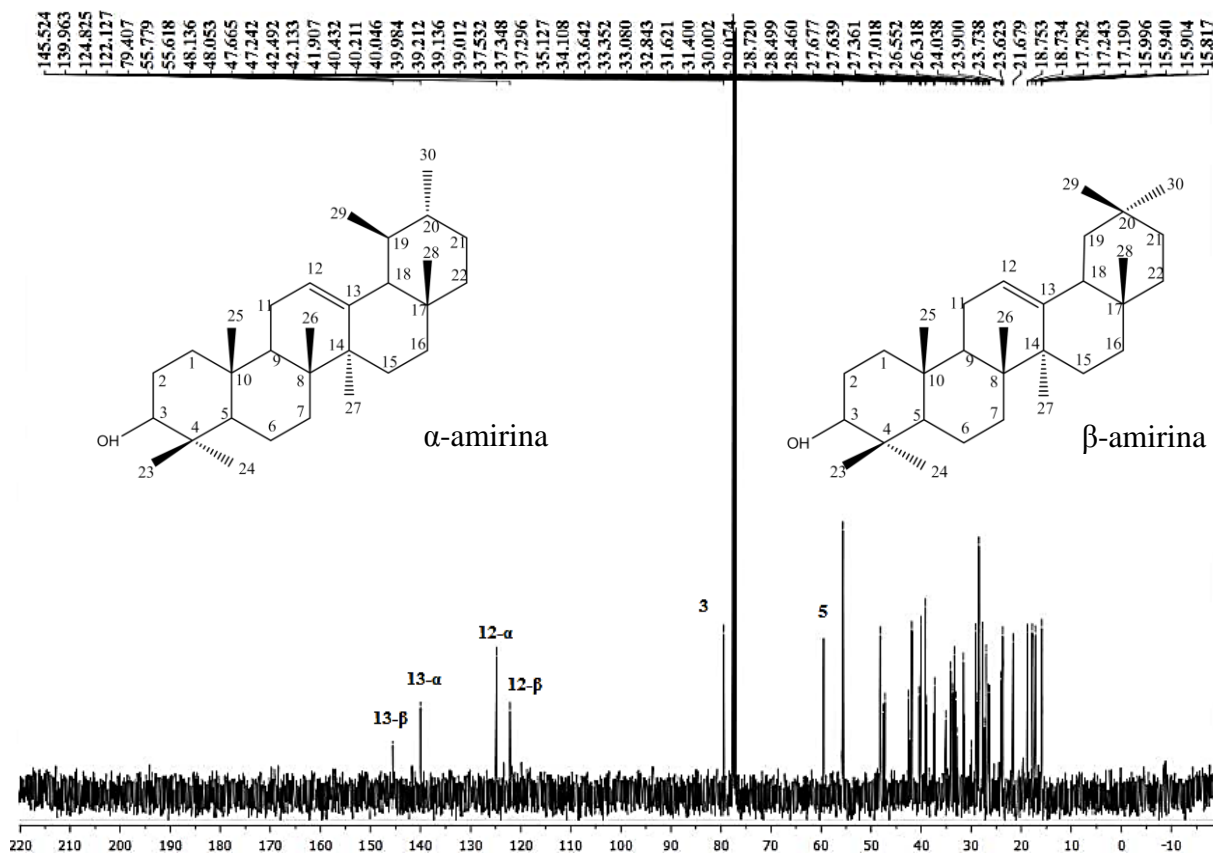
Os δ de hidrogênio para essas metilas foram δ 0,80 (H-30 β , 3H), 0,81 (H-30 α , 3H), 0,84 (H-29, 3H), 0,91 (H-28 α , 3H), 0,94 (H-28 β , 3H), 0,96 (H-27 β , 3H), 0,98 (C-27 α , 3H), 1,01 (C-24, 3H), 1,02 (H-26 β , 3H), 1,14 (H-26 β , 3H) e 1,16 ppm (H-23 α , 3H). Uma última metila, em 1,26 ppm (referente ao H-23 β , 3H), aparece mais desblindada por estar próxima a hidroxila, que exerce esse tipo de efeito. O H-24, apesar de estar também ligado ao C-4, não sofre tanto este efeito, pois está em posição estereoquímica oposta à hidroxila deslocando-se em δ 1,01 ppm.

Outra característica dessa classe de compostos é o sinal referente ao H-3. Segundo dados da literatura, o deslocamento químico de H-3 pode determinar sua conformação, ou seja, quando H-3 está na posição β , seu deslocamento ocorre em δ 3,40 ppm (m), (SOUZA, et al., 2001). Como o deslocamento observado para H-3 no espectro de RMN de ^1H foi δ 3,21 ppm, isto sugere que H-3 esteja em α . A multiplicidade observada para este sinal (dd, $J = 4,4, 10,8\text{Hz}$) refere-se ao acoplamento com os dois hidrogênios diastereotópicos na posição H-2.

Portanto o grupo OH se encontra na face β . Ainda foi observado a presença de dois tripletos em δ 5,19 (t, $J = 3,6$ Hz) e 5,13 (t, $J = 3,6$ Hz), característicos de hidrogênios olefínicos. Em comparação com dados da literatura, sugere-se que estes sinais δ 5,19 e 5,13 ppm são característicos dos hidrogênios H-12 em triterpenos do tipo urseno e oleaneno, respectivamente, onde o primeiro corresponde a α -amirina e o segundo, à uma β -amirina (VIEIRA et al., 2005). Prótons H-12 acoplam com os dois hidrogênios H-11, resultando em um triplete para α -amirina e um para β -amirina, caracterizando hidrogênios H-12 dos esqueletos de triterpenos do tipo urseno e oleaneno (SUSUNAGA et al., 2001). Na região mais blindada do espectro de RMN ^1H , entre 0,80 a 1,40 ppm, pode-se observar sinais característicos de hidrogênios metílicos, metínicos e metilênicos de triterpenos pentacíclicos.

O espectro de RMN ^{13}C (Figura 14) totalmente desacoplado indicou a presença de 58 átomos de carbono, sugerindo uma mistura binária de triterpenos, uma vez que dois desses sinais aparecem em alta intensidade e, provavelmente, tratam-se de carbonos com mesmos deslocamentos químicos (equivalentes, respectivamente em 55,6 e 28,4 ppm). Sinais de grupamentos metílicos e metilênicos entre 15-50 ppm, que geralmente aparecem duplicados, são sinais característicos de isomeria, corroborando para uma sugestão da presença de uma mistura de isômeros, onde os elementos estruturais são distribuídos de forma muito semelhante diferindo, apenas, em algumas posições, e por isso, a maioria dos sinais aparecem duplicados

Figura 14 - Espectro de RMN ^{13}C do composto S11, em CDCl_3 a 100 MHz.



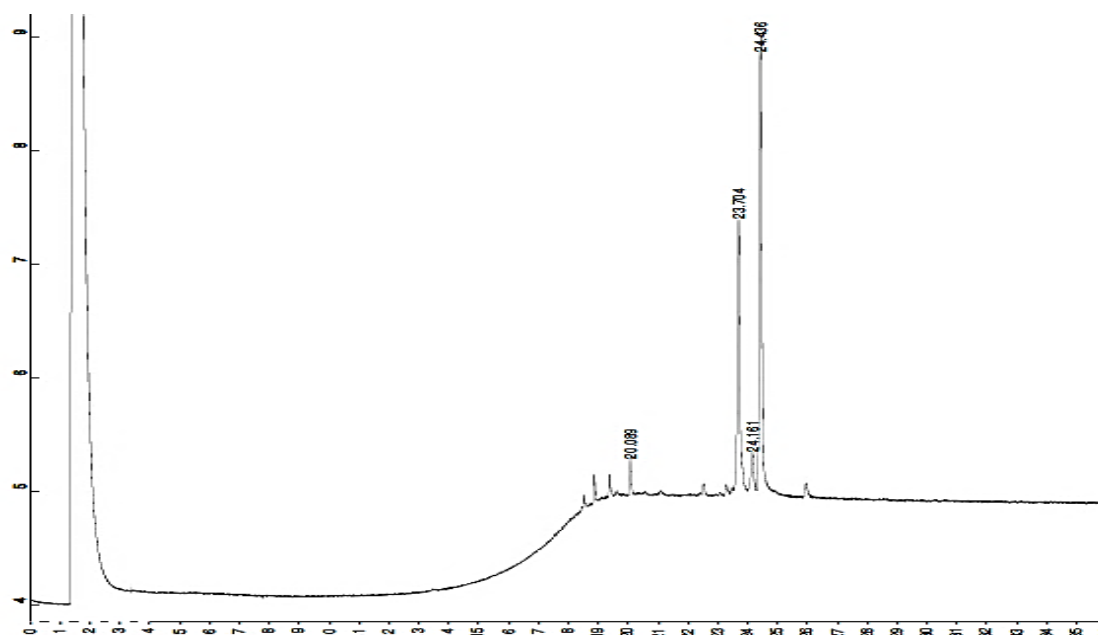
Os sinais em 121,1; 124,8; 139,9 e 145,5 ppm são desblindados, sugerindo duas duplas ligações. Segundo uma análise espectroscópica de RMN ^{13}C descrita por Olea e Roque (1990), sinais nesta região, são característicos das amirinas, pelo menos no caso de triterpenos oxigenados no C-3. Estes sinais são, portanto, muito importantes na elucidação estrutural de misturas de triterpenos. O espectro da Figura 14 apresentou-se na forma de uma mistura de compostos pertencentes às séries dos ursenos (δ 139,60 e 124,50 ppm) e oleanos (δ 121,80 e 145,20 ppm) (BERRONDO et al., 2003). São núcleos triterpênicos isoméricos dotados de uma dupla ligação entre C-12 e C-13, diferindo somente na posição de uma metila (C-29): na α -amirina ela encontra-se ligada ao C-19 da molécula de triterpeno, enquanto que, na β -amirina, está ligada ao C-20 da molécula. Os valores de deslocamento químicos confirmaram a presença dos dois esqueletos. Para o tipo urso-12-eno, em geral, o carbono 12 é desblindado, enquanto o carbono 13 é blindado em relação às séries olean-12-eno. Com base neste espectro de ^{13}C (Figura 14), chegou-se a conclusão de que a substância tratava-se, de um triterpeno constituído por cinco carbonos metínicos, dez carbonos metilênicos, oito metílicos e sete carbonos

desidrogenados. Na região das olefinas foram observados dois pares de sinais mais intensos, referentes aos constituintes majoritários, dos quais δ 145,2 (C) e δ 121,0 (CH) ppm caracterizam a β -amirina, e δ 139,6 (C) e δ 124,6 (CH), a α -amirina, sendo o constituinte principal. Pelo fato de um dos carbonos envolvidos na dupla ligação ser um carbono desidrogenado (C-13), conclui-se que os sinais verificados são pertencentes ao hidrogênio do C-12. Outro sinal característico aparece em δ 79,4 ppm no espectro de carbono, o qual decorre de efeito de desblindagem exercido por oxigênios carbinólicos. O C-3 aparece ligado a uma hidroxila (OH), tal como relatam Hartmann (1998) e Kotowicz et al. (2005). Este sinal, em relação aos demais, está em alta intensidade e isto é um indício de que nas estruturas, os carbonos oxigenados (C-3) são equivalentes, possuindo o mesmo deslocamento. Este efeito de desblindagem exercido pelo oxigênio afeta também o deslocamento de carbonos vizinhos ao carbono hidroxilado, deslocando-os para campo mais baixo.

A comparação com os valores registrados na literatura para α - e β -amirina e derivados destes triterpenos permitiu determinar a conformação da hidroxila no C-3. Observou-se que quando a hidroxila está em posição 3- α o deslocamento de C-3 ocorre em torno de 75 ppm (SOUZA et al., 2001), valor este não observado no espectro. No entanto, um δ 79,4 ppm foi observado e é compatível com a função OH em conformação β (CHATURVEDULA et al., 2004). Os deslocamentos dos hidrogênios e carbonos vizinhos a esta hidroxila comprovam esta informação. O deslocamento químico de 39,0 para C-1 foi observado tanto para α -amirina como para β -amirina, e o sinal em 55,7 ppm correspondente ao C-5. Estes dados indicam que a hidroxila interage com esses carbonos deslocando-os para campo mais baixo.

No cromatograma da análise por CG (Figura 15), foi possível observar dois picos cromatográficos, com tempos de retenção de 23,704 minutos, correspondendo a 35% da substância β e 24,436 minutos, referindo-se a 56% da substância α .

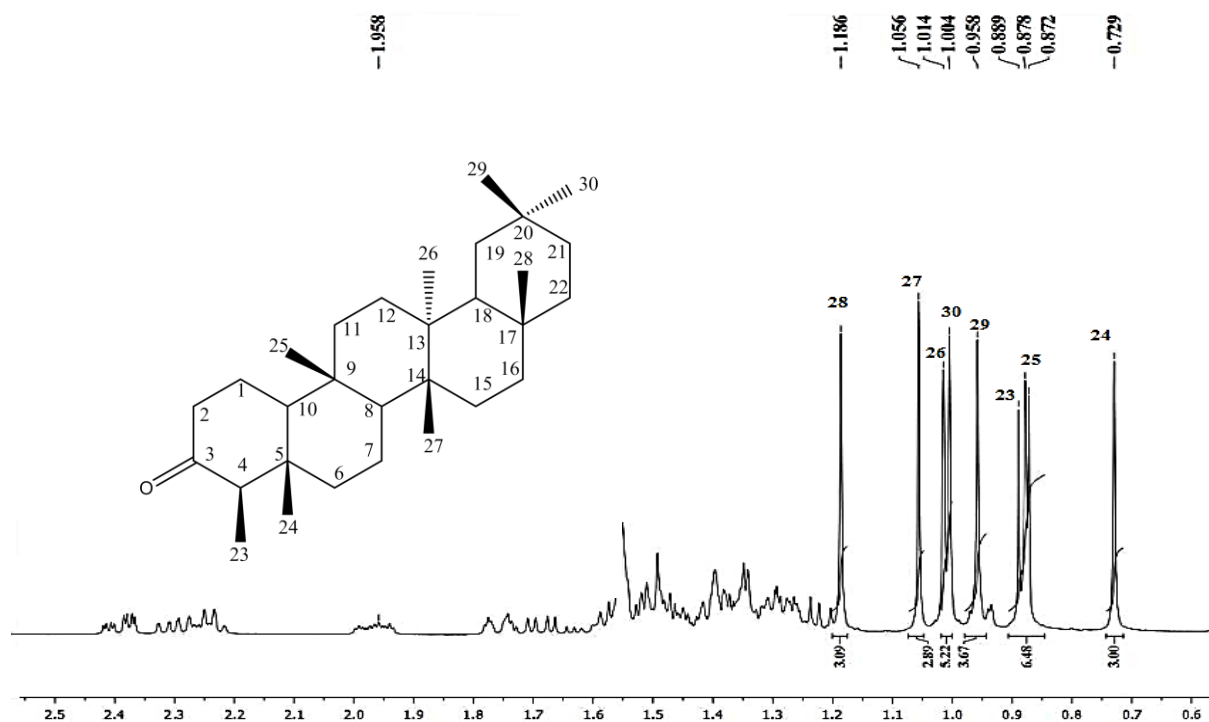
Figura 15 – Cromatograma obtido para a mistura da substância S11



4.2.3 Friedelina

A partir da fração etérea ácida, proveniente do EBM das cascas de *L.divaricata*, conforme descrito na parte experimental (pág. 66), fez-se o isolamento da substância **28**. Este foi isolado como cristais em forma de agulha incolores, que se demonstraram puros quando eluidos em CCD, sendo submetidos às técnicas de RMN de ^1H e ^{13}C unidimensionais, além de medidas de difração de raios-X. A partir das análises desses dados e comparação com dados da literatura, pode-se propor uma estrutura química, a qual corresponde ao triterpeno pentacíclico friedelina **28**, de fórmula molecular $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}$.

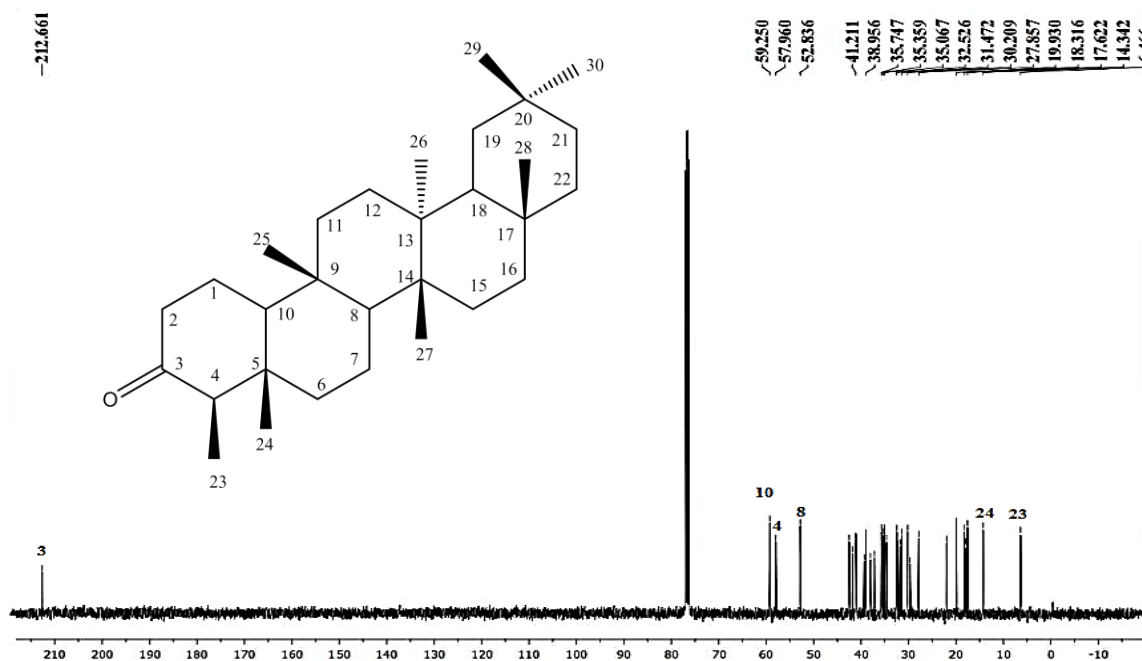
Através da análise do espectro de RMN ^1H (Figura 16), pode-se atribuir aos oito grupos metilas, sete simpletos com δ de 1,18, 1,05, 1,01, 1,00, 0,95, 0,88 e 0,72 ppm, e um duplete em δ 0,87 ppm ($J = 2,4$ Hz), associado a outro grupo metila (H-23). Este último sinal, é característico de triterpenos de esqueleto friedelano (ABREU et al., 2011). O sinal em δ 1,96 ppm, integrado para dois hidrogênios, corresponde ao H-1. O sinal em δ 2,36 ppm (dd, $J=2$ Hz, 5,2 Hz), foi atribuído a um dos H-2, enquanto que o sinal para o outro H-2 apresenta-se em δ 2,40 ppm, como um duplo dubleto ($J=2$ Hz, 5,2 Hz).

Figura 16 – Espectro de RMN de ^1H de **28** em CDCl_3 a 400 MHz

Através da análise de RMN de ^{13}C , Figura 17, mostra que a estrutura é formada por 30 sinais de carbonos, caracterizando um triterpeno. Em 212,6 ppm aparece um grupo carbonílico de cetona. O deslocamento químico dos carbonos C-2 (41,2 ppm) e C-4 (57,9 ppm) foram atribuídos com base no efeito do grupo desprotetor vizinho, apresentando o sinal mais desblindado causado pelo grupo carbonílico (C-3).

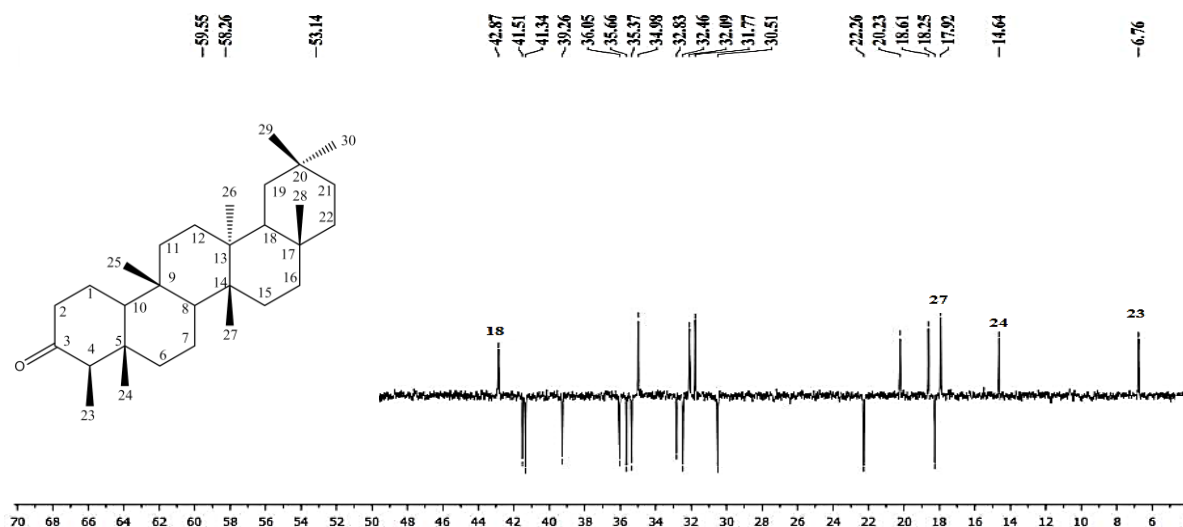
Os sinais em 14,3 ppm (C-24) e 6,4 ppm (C-23), são atribuídos aos grupos metilas característicos de triterpenos pentacíclico da classe friedelano (MAHATO; KUNDU, 1994). Para os carbonos desidrogenados tem-se deslocamentos químicos em 41,8 ppm, C-5, 37,1 ppm, C-9, 39,4 ppm (C-13), 38,0 ppm, C-14, 29,7 ppm, C-17, 27,8 ppm (C-20). Para os carbonos metínicos, C-4, C-8, C-10 e C-18, os sinais aparecem em 57,9 ppm, δ 52,8 ppm, 59,2 ppm e 42,5 ppm, respectivamente.

Figura 17 – Espectro de RMN de ^{13}C de Friedelina em CDCl_3 a 100 MHz



A análise do espectro de DEPT 135° , mostrado na Figura 18, confirma a presença de onze sinais de amplitude negativa, referentes aos carbonos metilênicos C-1, C-2, C-6, C-7, C-11, C-12, C-15, C-16, C-19, C-21, C-22, além de sinais com amplitude positiva correspondentes aos carbonos metínicos e metílicos. O desaparecimento de sete dos sinais no espectro de DEPT 135° , mas observados no espectro de RMN ^{13}C , indica a presença dos sete carbonos desidrogenados, estando assim, os dados analisados em concordância com a estrutura proposta.

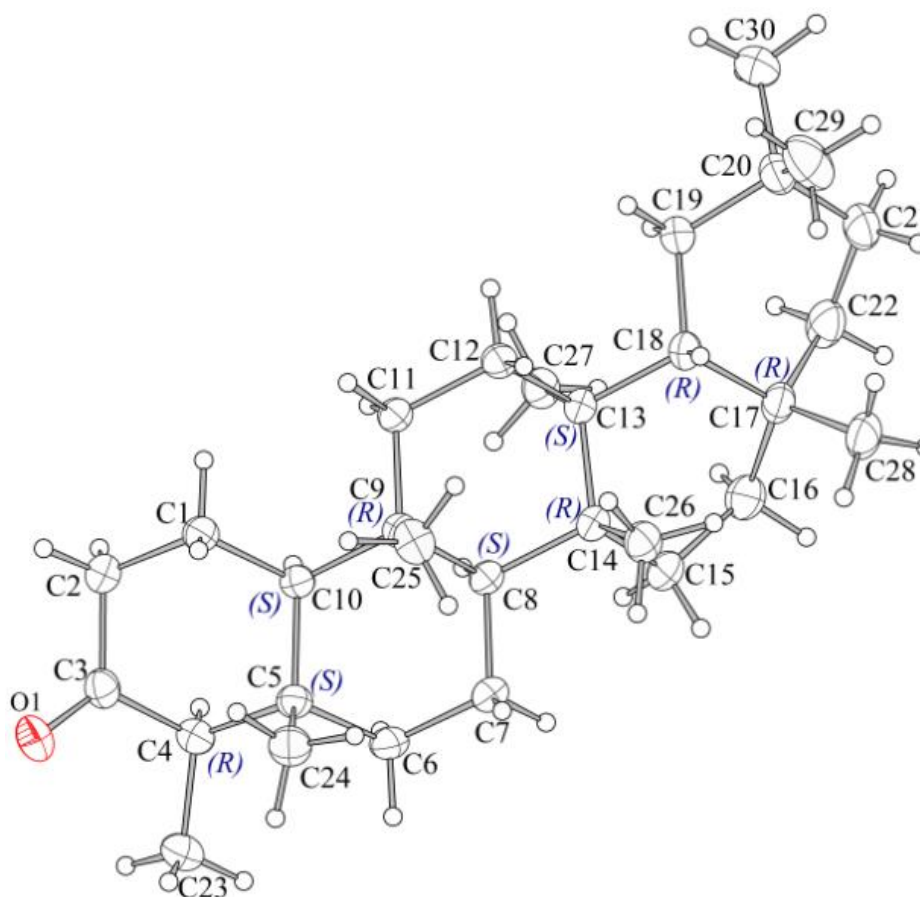
Figura 18 – Espectro de RMN DEPT 135° de Friedelina (**28**) em CDCl_3 a 400 MHz



A aplicação da difração de Raio-X é um método auxiliar de grande importância na elucidação estrutural, principalmente em análises conformacionais e configuracionais. A dificuldade encontrada nessa técnica é a obtenção de cristais ideais. Normalmente são substâncias amorfas, ou que formam cristais em forma de agulhas muito finos e pequenos para a cristalografia.

Através da análise de difração de raio-X do cristal obtido na fração etérea ácida foi possível confirmar a estereoquímica absoluta da friedelina, onde o carbono C-4 apresenta estereoquímica absoluta R, o C-5 S, C-8 S, C-10 S, C-14 R, C-17 R e C-18 R, conforme a estrutura mostrada na Figura 19.

Figura 19 – Difração do raio-X da substância S08



Na Tabela 15 encontram-se listados os valores dos deslocamentos observados no presente trabalho e aqueles relatados pela literatura, para o composto identificado como friedelina **28**.

Tabela 15 – Dados de RMN de ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) da friedelina **28** em CDCl_3

Posição	$\delta\text{C}(\text{ppm})$	$\delta\text{C}^*(\text{ppm})$	$\delta\text{H}(\text{ppm})$	$\delta\text{H}^*(\text{ppm})$
1	21,9	22,3	1,96 (2H, m, H-1)	1,94 (2H, m, H-1)
2	41,2	41,5	2,40(dd, $J=2$ Hz e 5,2 Hz)/2,35(dd, $J=2$ Hz e 5,2Hz)	2,40(dd, $J=2,06$ Hz e 5,24 Hz)/2,31(dd, $J=1,15$ Hz e 7,09 Hz)
3	212,6	213,2	-	-
4	57,9	58,2	2,23(q, $J=6,4$ Hz)	2,25(q, $J=6,4$ Hz)
23	6,4	6,8	0,89 d, $J= 6,7$ Hz	0,88,d, $J=6,64$ Hz
24	14,3	14,7	0,72 s	0,73s
25	17,6	17,9	0,88 s	0,87 s
26	19,9	20,3	1,01 s	1,01 s
27	17,9	18,7	1,05 s	1,05 s
28	31,7	32,1	1,18 s	1,18s
29	34,6	35,0	0,95 s	0,96 s
30	31,7	31,8	1,00 s	1,00 s

δ $^1\text{H}^*$ e $^{13}\text{C}^*$ da friedelina (**28**) em CDCl_3 a 400 MHz conforme SOUSA et al., 2012

Os resultados obtidos confirmam que o composto isolado no presente trabalho é triterpeno friedelina **28**, uma vez que os valores apresentados se aproximam muito dos referentes a ele na literatura.

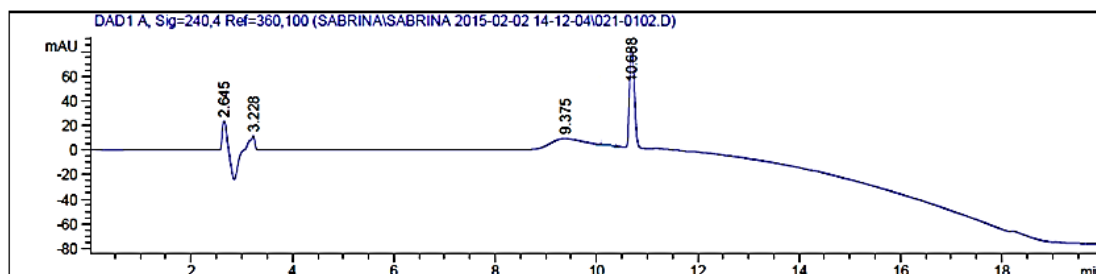
A friedelina também foi isolada da casca do caule de *Byrsonima crassa* (HIGUCHI et al., 2008) e de *B. verbascifolia* (GOTTLIEB et al., 1975), no gênero *Maytenus* (NOSSACK et al., 2000; QUEIROGA et al., 2000; OLIVEIRA et al., 2007; SOUSA et al., 2012), porém esta foi a primeira vez que o mesmo foi isolado no gênero *Luehea*.

4.2.4 Catequina

O flavonoide catequina **22**, de fórmula molecular $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_6$, foi obtido como um sólido branco cristalino. Seu isolamento se deu através de CC e HPLC, além de análises em CCD que confirmaram a pureza do mesmo, conforme descrito na parte experimental (pág. 67). Sua estrutura foi elucidada após análises de RMN de ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais, DEPT 135°, COSY e comparações com dados da literatura disponível (HORST, 2008).

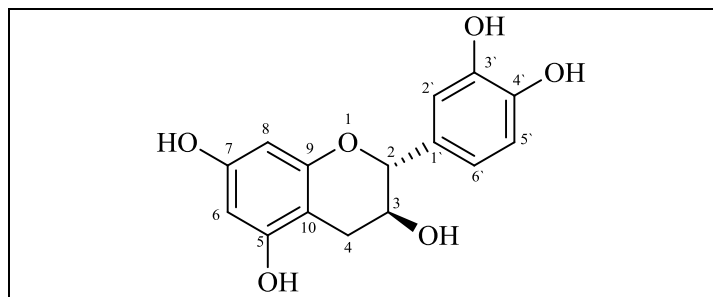
O cromatograma de HPLC, Figura 20, obtido do flavonoide catequina **22**, pode ser observado, como sendo o componente principal presente na fração FAB.

Figura 20 – Cromatograma de HPLC da catequina (**22**): condição de eluição descrita no subitem 4.1.5



A catequina (Figura 21) possui em sua estrutura nove hidrogênios carbônicos e cinco hidroxílicos. Dentre os nove hidrogênios carbônicos, cinco são metínicos aromáticos, dois metínicos carbinólicos e dois metilênicos.

Figura 21 – Estrutura química do flavonoide catequina

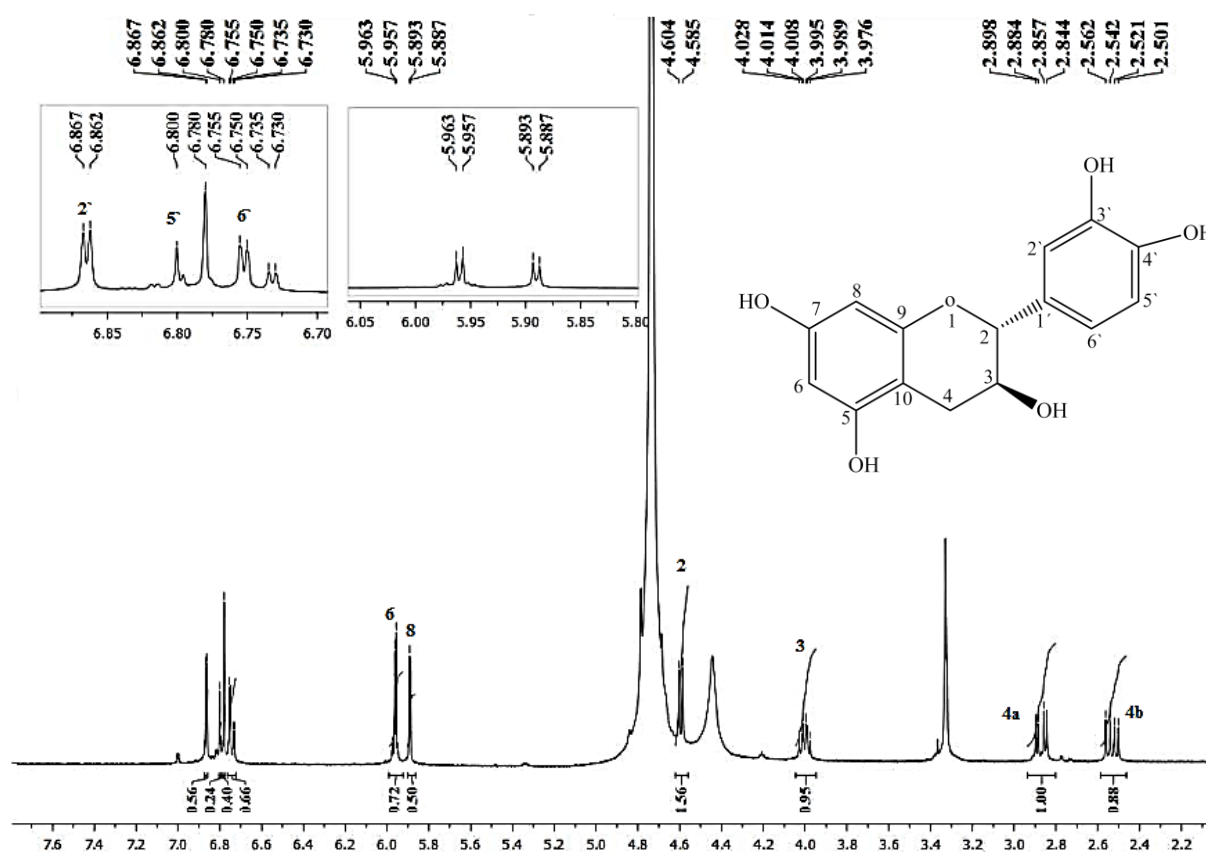


No espectro de RMN ^1H (Figura 22) observa-se os sinais característicos de hidrogênios aromáticos entre δ 5,88 e 6,86 ppm, característicos do anel A. Os dois dupletos com constantes de acoplamentos meta $J = 2,4$ Hz em δ 5,96 e 5,89 ppm são atribuídos aos hidrogênios dos C-6 e C-8. Em seguida, encontra-se sinais típicos do sistema catecol (anel B) constituídos de um duplete em 6,86 ppm, com $J = 2$ Hz do H-2' em meta ao H-6'; outro duplete em δ 6,80 ppm, com $J = 8$ Hz correspondente ao acoplamento orto de H-5' com o H-6'. Em δ 6,75 ppm percebe-se um duplo duplete $J = 2$ Hz correspondendo ao H-6' acoplado com o H-5', em orto e em meta com o H-2',

respectivamente. De acordo com Lôbo e col. (2008), este conjunto de sinais é típico do anel B da catequina.

Em 4,60 ppm encontra-se um duplete referente ao H-2 com $J = 7,6$ Hz acoplado com o H-3, o qual aparece como um multipeto, em δ 4,02 ppm atribuído aos acoplamentos com os H-4a e H-4b do C-4 e com o H-2. Os hidrogênios metilênicos do C-4 encontram-se em campo alto, com maior blindagem sobre seu núcleo, em relação aos outros. Os dois duplos dupletos: um em δ 2,5 ppm referindo-se ao H-4b com $J = 8$ Hz e 16,0 Hz e o outro em δ 2,89 ppm, que se refere ao H-4a, com $J = 5,6$ Hz e 16,0 Hz, sendo estes os hidrogênios diástereotópicos do composto catequina.

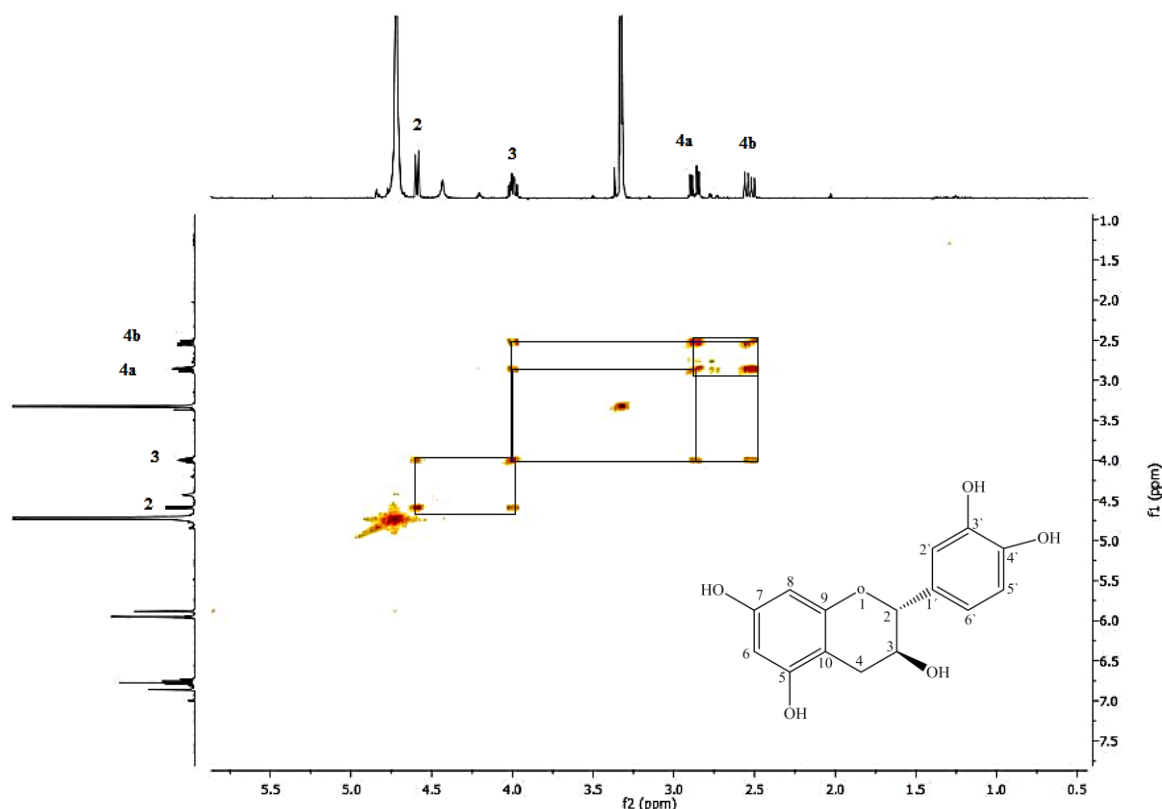
Figura 22 – Espectro de RMN de ^1H do composto (22) em CD_3OD a 400 MHz



Através do espectro bidimensional COSY ^1H - ^1H (Figura 23) foi possível a confirmação das atribuições feitas anteriormente, de forma que pode-se visualizar os acoplamentos entre os hidrogênios dos diferentes sistemas de spin. Observam-se as correlações entre os hidrogênios H-2 e H-3, completando assim o primeiro sistema de spins.

O segundo sistema de spins pode ser observado pela correlação estabelecida entre o H-3 com os hidrogênios diastereotópicos H-4a e H-4b. O espectro mostra ainda as correlações do terceiro e último sistema de spins referentes aos acoplamentos entre os hidrogênios diastereotópicos H-4a e H-4b.

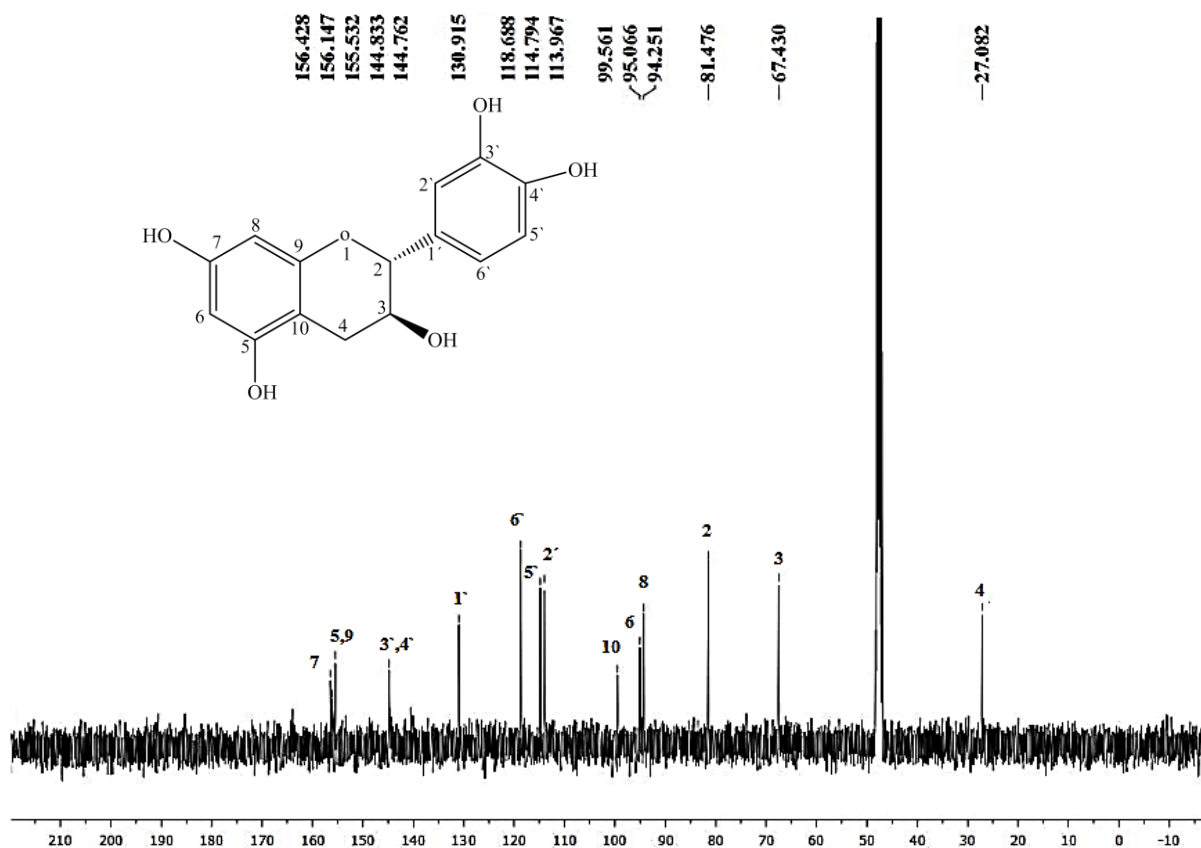
Figura 23 – Espectro de RMN 2D COSY de catequina (**22**) em CD₃OD a 400 MHz



Pela análise do espectro de RMN de ¹³C desacoplado de **22**, (Figura 24), tem-se a confirmação da presença de quinze carbonos na estrutura. Observaram-se três sinais a 156,4, 156,1 e 155,5 ppm relativos aos carbonos desidrogenados C-7, C-5 e C-9, respectivamente. Foi observado um sinal a 144,8 ppm para C-3' e um sinal a 144,7 ppm referente ao C-4'.

Em 130,9 ppm aparece o sinal para C-1' e a 118,9, 114,7 e 113,9 ppm são apresentados os sinais para os carbonos restantes do anel aromático. A 99,5 ppm foi encontrado o sinal de C-10 e a δ 95,0 ppm e 94,2 ppm, os sinais para C-6 e C-8, respectivamente, foram atribuídos. Já o grupo metínico apresenta sinais em 81,4 ppm (C-2) e 67,4 ppm (C-3) e por último, o grupo metilênico, na posição C-4, com deslocamento químico de 27,0 ppm.

Figura 24 – Espectro de RMN de ^{13}C de (22) em CD_3OD a 100 MHz

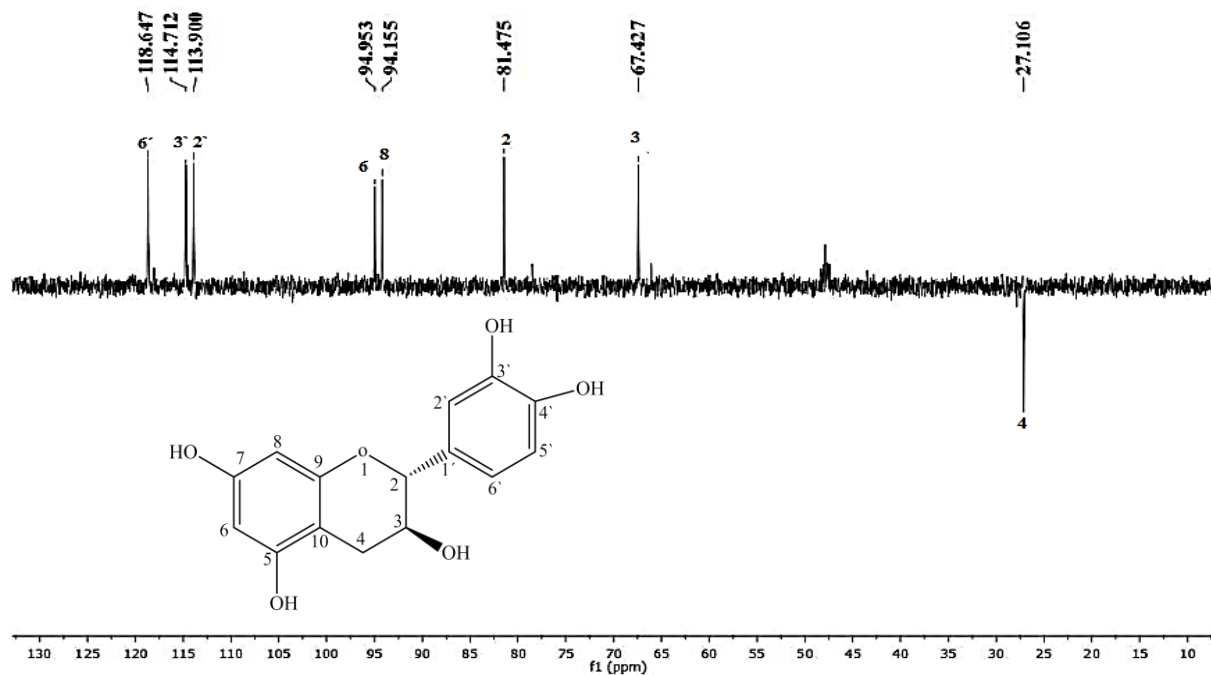


A análise do espectro de DEPT 135° , mostrado na Figura 25, confirma a presença de um sinal de amplitude negativa, referente ao carbono metilênico C-4, além de sinais com amplitude positiva correspondentes aos carbonos metínicos. Pode-se verificar, também, a ausência dos sete sinais observados no espectro de RMN de ^{13}C a 156,1 (C-5), 156,4 (C-7), 144,7 (C-3'), 144,8 (C-4'), 155,5 (C-9), 99,5 (C-10) e 130,9 ppm (C-1'), sinais característicos de carbonos desidrogenados, conforme é proposto na estrutura do composto **22**.

Catequinas são polifenóis hidrossolúveis, incolores, que contribuem para o amargor e a adstringência do vegetal (ARAÚJO, 2008). São encontradas em diversas espécies vegetais das mais variadas famílias, como por exemplo, *Camellia sinensis* (“chá verde”, família Theaceae; ITO et al., 2003), *Theobroma cacao* (“cacau”, família Malvaceae; KOFINK et al., 2007), *Hancornia speciosa* (“mangaba”, família Apocynaceae; RODRIGUES et al., 2007). Extratos de folhas e/ou flores secas de

Hibiscus sabdariffa também revelaram a existência de catequina e correlatos (DA-COSTA-ROCHA et al., 2014).

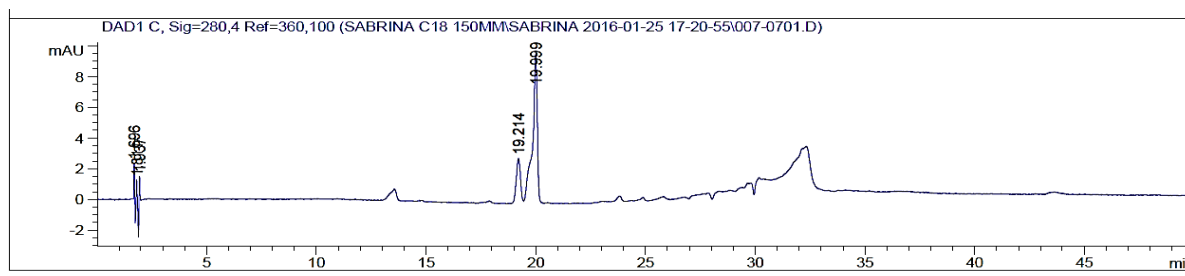
Figura 25 – Espectro de DEPT 135° da catequina (**22**) em CD₃OD a 100 MHz



4.2.5 Epicatequina

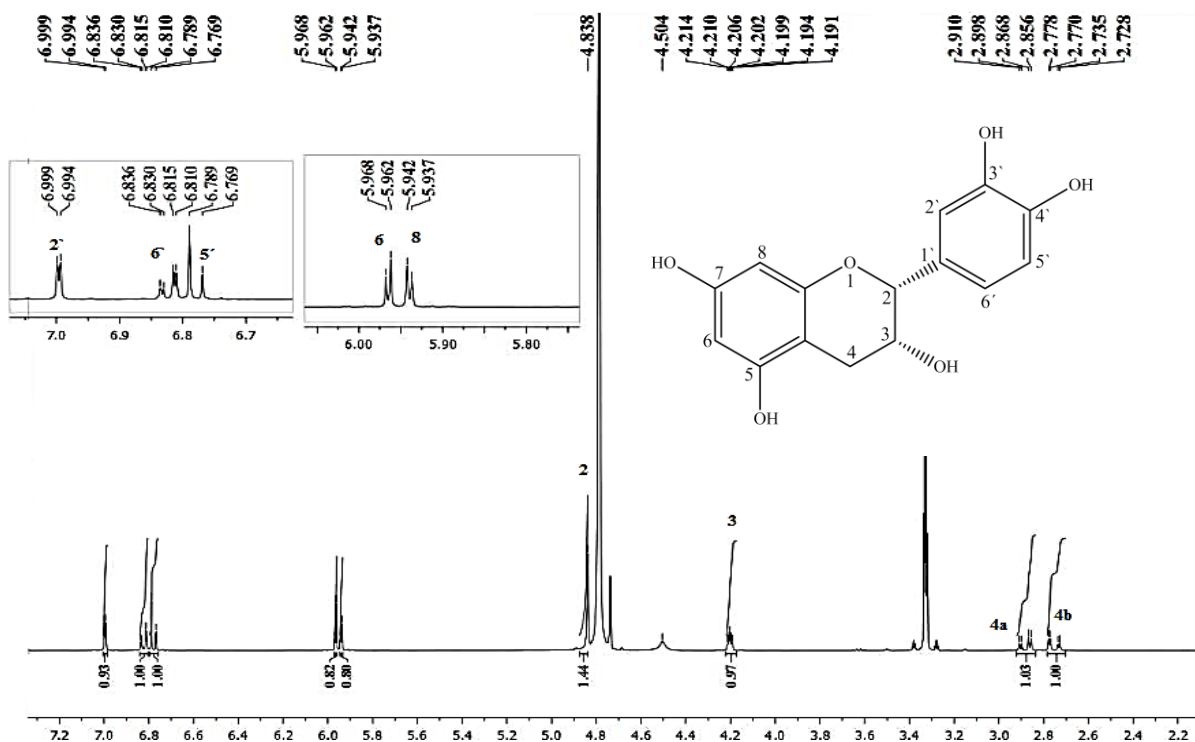
A substância **8** foi isolada da fração acetato de etila neutra, proveniente do extrato bruto metanólico das cascas do caule de *L. divaricata* (pág. 70). Apresentou-se como um sólido amorfo branco, solúvel em metanol com PF. 288-290 °C (Lit. 295-300°C - BARREIROS, 2000). Na análise em CCD, apresentou uma coloração escura após revelação com o cloreto férrico, sendo submetida às técnicas espectroscópicas de RMN de ¹H e de ¹³C uni e bidimensionais. Após análise destes resultados, propôs-se a estrutura química, como sendo um flavonoide, de fórmula molecular C₁₅H₁₄O₆, conhecido como epicatequina. No cromatograma de HPLC da substância **8** (Figura 26), após isolamento, observa-se um pico principal com tempo de retenção de 19,99 min, confirmando ser este um dos principais metabólitos presentes na fração FAN.

Figura 26 – Cromatograma de HPLC da epicatequina **8**; condição de eluição descrita no subitem 4.1.5



Analisando o espectro de RMN de ^1H (Figura 27), pode-se observar a presença de dois dubletos localizado na região de δ 5,96 ppm ($J = 2,2$ Hz) e δ 5,94 ppm ($J = 2,2$ Hz), sinalizando aos hidrogênios aromáticos H-6 e H-8, respectivamente. Em δ 2,91 e 2,72 ppm são observados dois duplos dupletos, cada um com integração correspondente a um hidrogênio, referentes aos hidrogênios diastereotópicos H-4a ($J=4,8$ Hz e 17 Hz) e H-4b ($J=3,2$ Hz e 17 Hz) respectivamente.

Figura 27 – Espectro de RMN de ^1H da epicatequina (**8**) em CD_3OD a 400 MHz

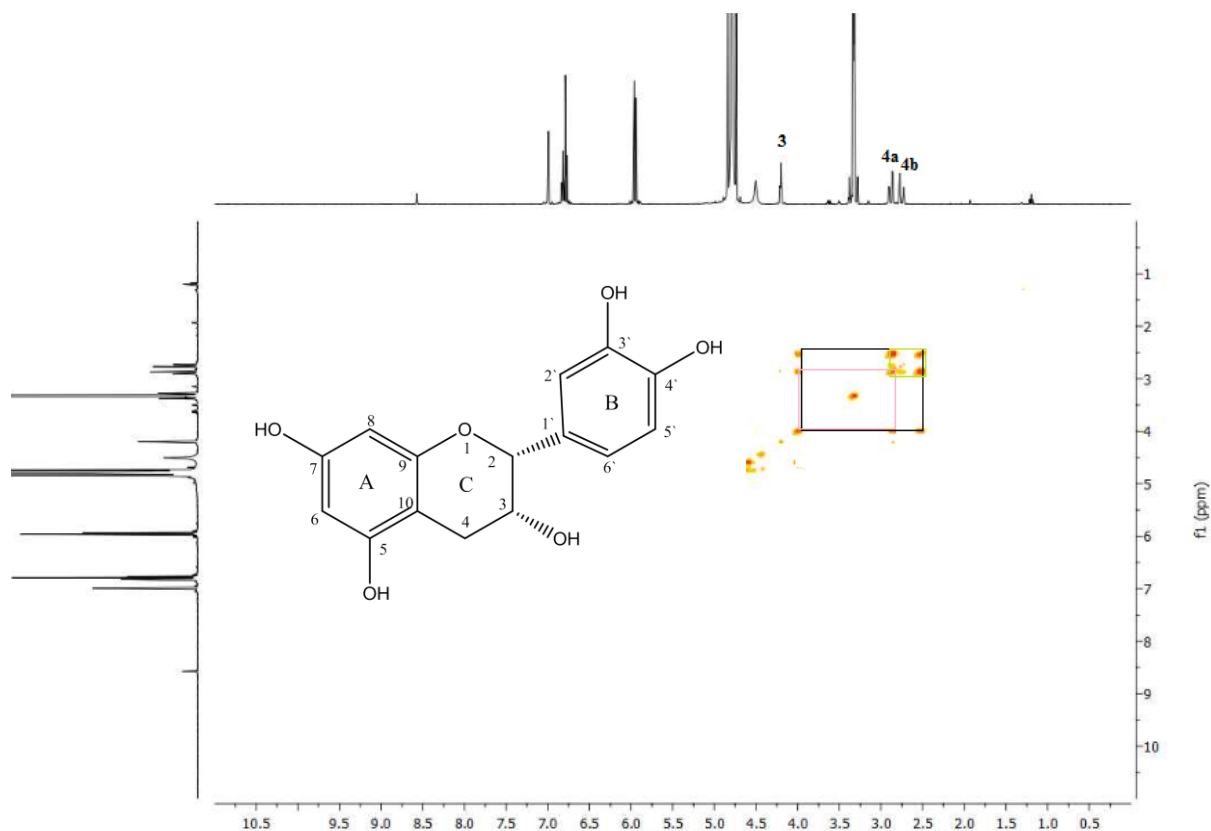


Um sinal na forma de simpleto referente ao hidrogênio metínico (H-2), presente na estrutura da epicatequina, é sinalizado em δ 4,83 ppm. Em δ 4,21 ppm aparece um multipletto atribuído ao hidrogênio H-3 ligado a um carbono carbinólico. Os hidrogênios

aromáticos sinalizam em δ 6,78 ppm (1H, d, $J = 8,2$ Hz, H- 5') e em δ 6,83 ppm (1H, dd, $J = 2,2$ Hz e 8,2 Hz, H-6'); o duplete em δ 6,99 ppm com ($J = 2,2$ Hz), característico de acoplamento meta, referente ao H-2'.

O espectro bidimensional homonuclear, COSY ^1H - ^1H mostrado na Figura 28, apresenta três sistemas de spins na estrutura **8**. O primeiro e o segundo sistema de spins mostra o acoplamento entre o H-3 (δ 4,21 ppm) com os hidrogênios diastereotópicos H-4a e H-4b. O espectro mostra ainda as correlações do terceiro e último sistema de spins referentes aos acoplamentos entre os hidrogênios diastereotópicos H-4a (2,91 ppm, $J = 4,8$ Hz e 17Hz) e H-4b (2,72 ppm, $J = 3,2$ Hz e 17 Hz).

Figura 28– Espectro de RMN 2D COSY da epicatequina **8** em CD_3OD a 400 MHz



O espectro de RMN de ^{13}C Figura 29, visualiza-se a presença de quinze carbonos confirmando a fórmula molecular $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_6$. Na região espectral em 27,8 ppm caracterizou-se o carbono sp^3 do anel C, através dos sinais referente ao carbono metilênico C-4; em 66,14 ppm e 78,4 ppm aparecem os sinais relativos aos carbonos oximetínicos C-2 e C-3, respectivamente. Observaram-se três sinais a 156,5, 156,2 e 155,9 ppm relativos aos carbonos desidrogenados C-7, C-5 e C-9. Os sinais em 95,1 e

94,6 ppm atribuídos aos carbonos C-6 e C-8, também confirmaram o padrão 5,7 dissubstituído para o anel A de flavonoide. Os sinais em 114,0 ppm, 114,6 ppm e 118,3 ppm foram atribuídos aos carbonos C-2', C-5' e C-6', respectivamente, referentes ao anel aromático B, conforme a estrutura abaixo:

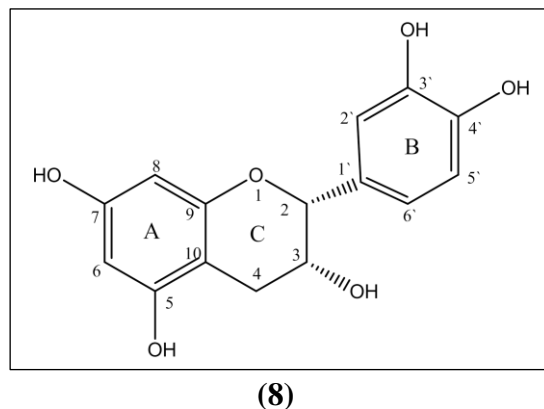
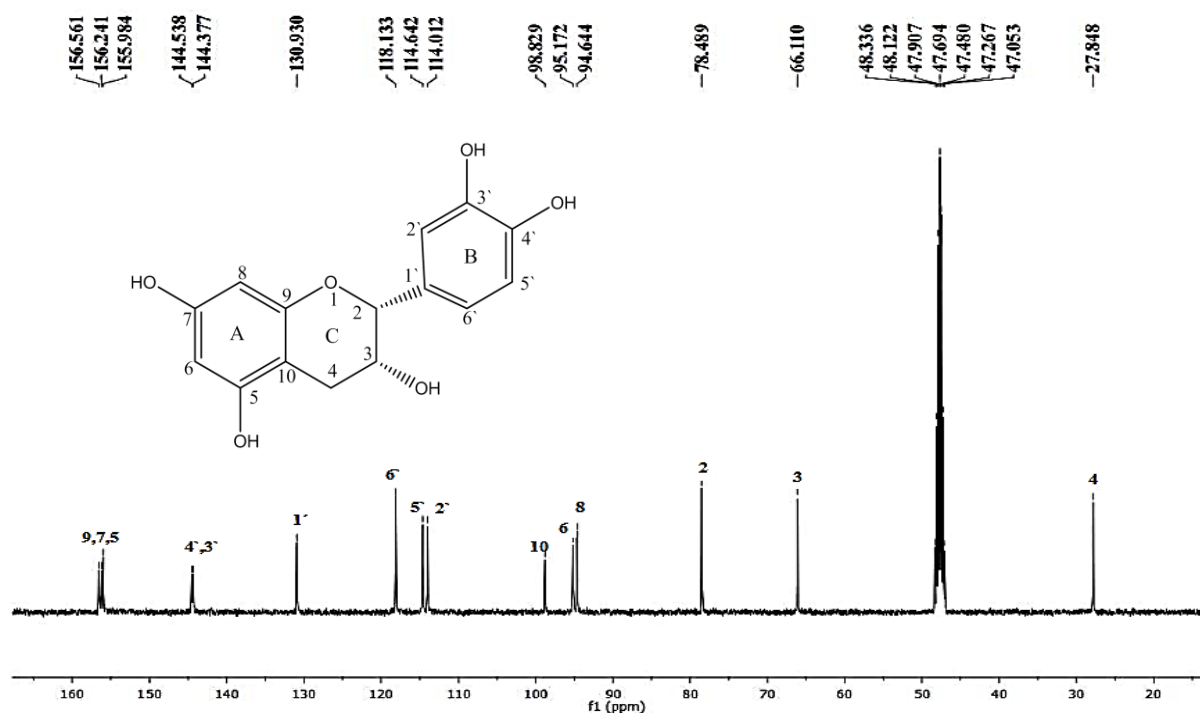


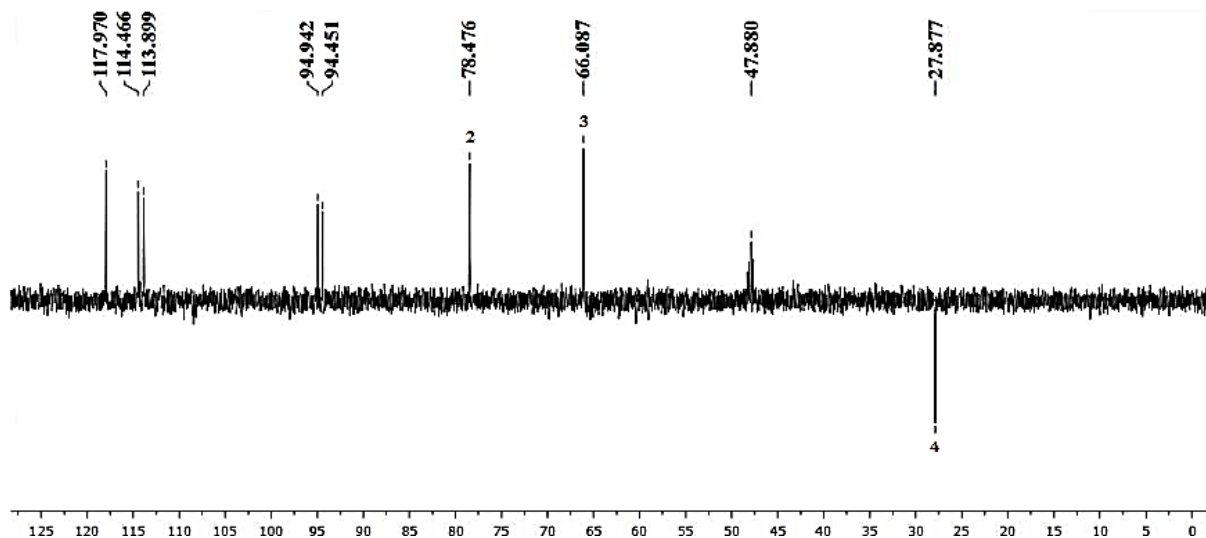
Figura 29 – Espectro de RMN de ^{13}C da epicatequina **8** em CD_3OD a 100 MHz



O espectro de DEPT 135° (Figura 30) mostra a presença de um sinal correspondente a um carbono metilênico com amplitude negativa, além de carbonos metínicos, na amplitude positiva. O desaparecimento no espectro de DEPT 135° de seis dos sinais observados no espectro de RMN de ^{13}C indica a presença de seis carbonos

desidrogenados, estando assim os dados analisados em concordância com a estrutura proposta.

Figura 30 – Espectro DEPT 135° da epicatequina **8** em CD₃OD a 100 MHz



O espectro bidimensional de RMN HSQC ¹H-C (Figura 31) mostra a correlação de cada hidrogênio ligado diretamente ao seu carbono, sendo a análise deste espectro muito importante principalmente para a atribuição de hidrogênios diastereotópicos. O espectro mostra as principais correlações existentes referentes aos hidrogênios diastereotópicos presentes na estrutura proposta.

A literatura ainda esclarece como diferencial entre elas, o fato de que no espectro de RMN de ¹H, o H-3, na epicatequina, encontra-se mais desblindado que o H-3 da catequina, sendo o δ em torno de 4,21 ppm para o H-3 da epicatequina e de δ 4,02 ppm para o H-3 da catequina. Outra diferença a ser analisada, ainda no espectro de hidrogênio, é que o H-2 na catequina se apresenta na forma de um duplete (1H, d, J= 7,6 Hz) e na epicatequina, o H-2 encontra-se na forma de um simpleto alargado com δ 4,83 ppm. Além disso, no espectro de ¹³C, a diferença epimérica entre catequina e epicatequina é + 3,03 (C-2), +1,34 (C-3) e -0,7 (C-4), (LÔBO et al., 2008).

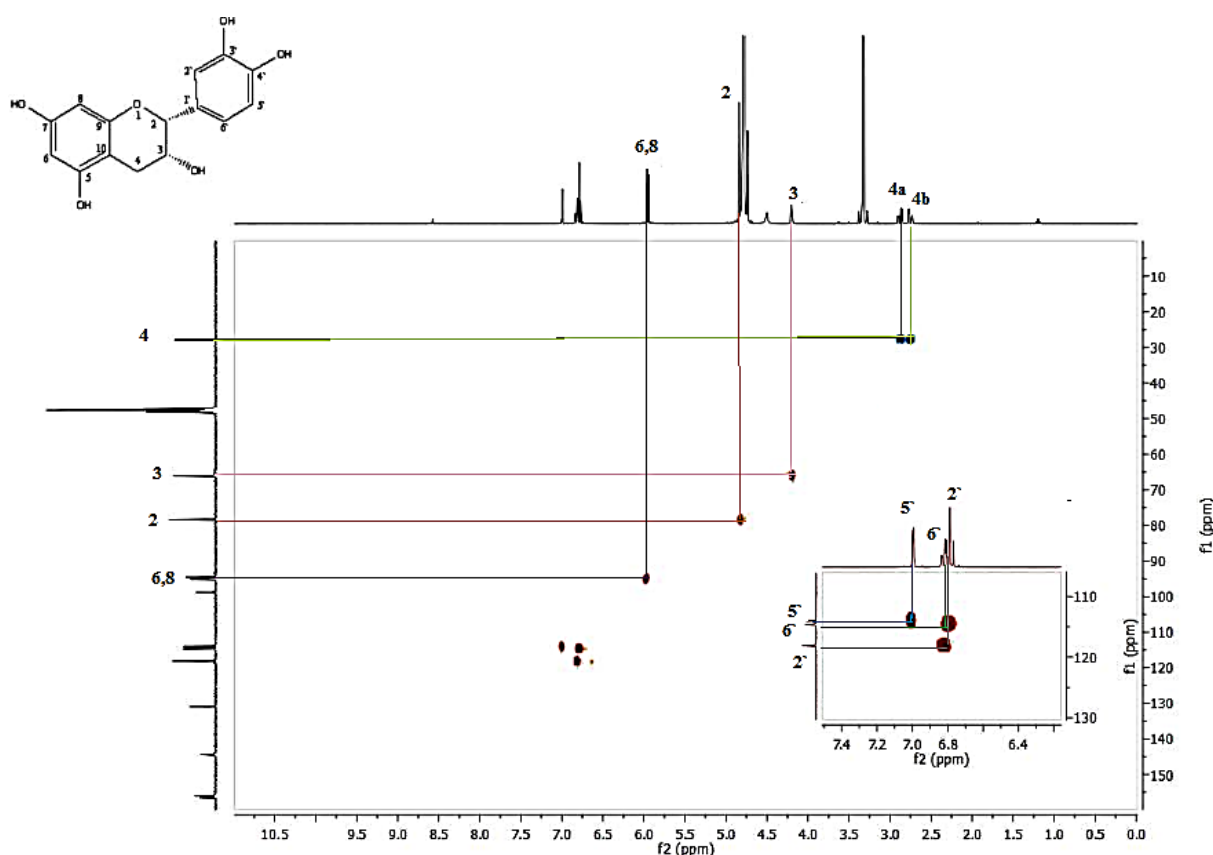
Na Tabela 16 são descritos os dados de RMN ¹H e ¹³C sinalizando algumas diferenças relevantes para a catequina **22** e a epicatequina **8** em comparação com dados disponíveis na literatura.

Tabela 16 – Dados de RMN de ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) da catequina e epicatequina em CD_3OH

	Posição	δ ^1H (ppm); J (Hz)	δ $^1\text{H}^*$ (ppm)	δ ^{13}C (ppm)	δ $^{13}\text{C}^*$ (ppm)
Catequina	2	4,60 (d, 7,6 Hz)	4,57	81,4	82,5
	3	4,02 (m)	3,98	67,4	68,2
	4	2,89(dd, 5,6; 16 Hz/ 2,50 (dd, 8; 16 Hz)	2,85; 2,51	27,0	27,5
Epicatequina	2	4,83 (s)	4,81	78,4	78,9
	3	4,21(m)	4,17	66,1	67,0
	4	2,91(dd, 4,8; 17 Hz/2,72 (dd, 3,2; 17 Hz)	2,86; 2,74	27,8	28,2

δ $^1\text{H}^*$ e $^{13}\text{C}^*$ da catequina e epicatequina em CD_3OD a 400 MHz conforme LÔBO et al.; 2008

Figura 31 – Espectro de RMN 2D HSQC da epicatequina **8** em CD_3OD a 400 MHz



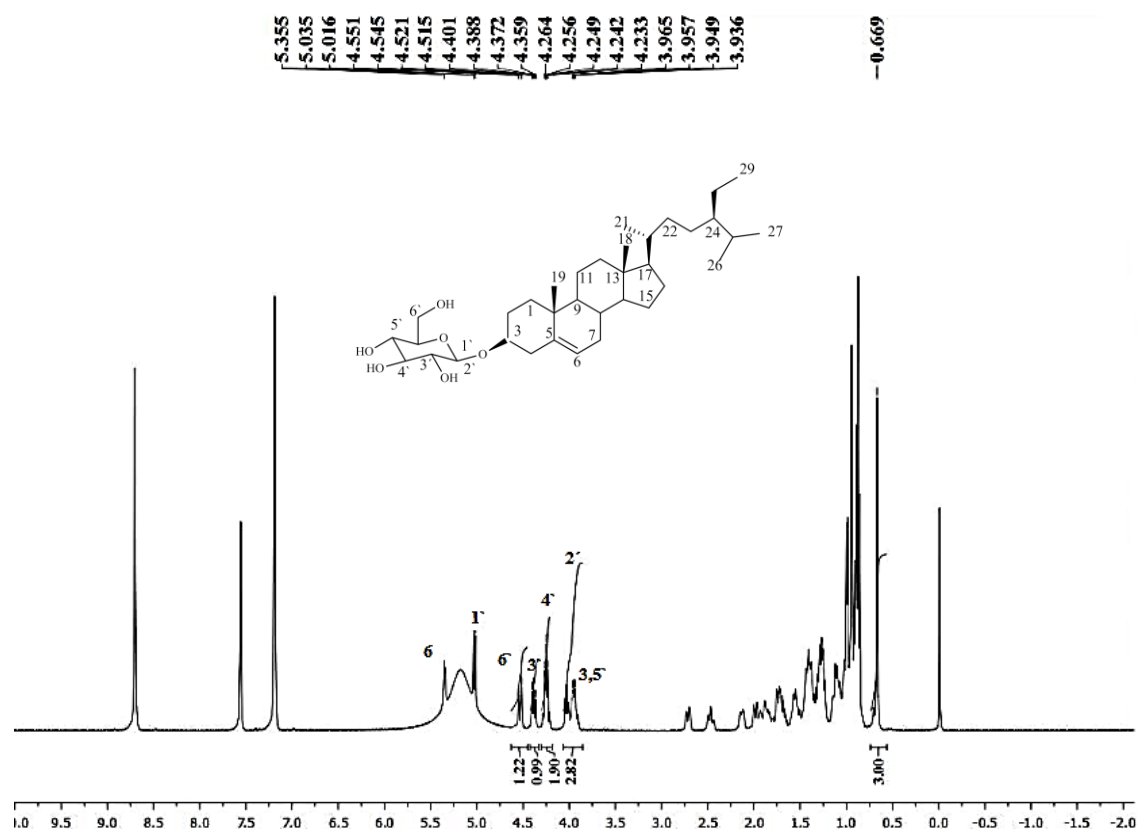
A presença destes flavonoides em *L. divaricata* é plenamente suportada pela literatura, uma vez que compostos fenólicos são ubíquos nas plantas para sua proteção, quer seja como antioxidante, no sentido de proteger o aparato fotossintetizante, quer seja como antimicrobiano, no sentido de proteção contra patógenos. De todos compostos

fenólicos, os flavonoides constituem o maior grupo com estrutura química comum composta de difenil propano, com diferentes graus de hidroxilação, oxidação e substituição e frequentemente ocorrendo sob a forma glicosilada. (KUMAR et al., 2011)

4.2.6 β - sitosterol glicosilado

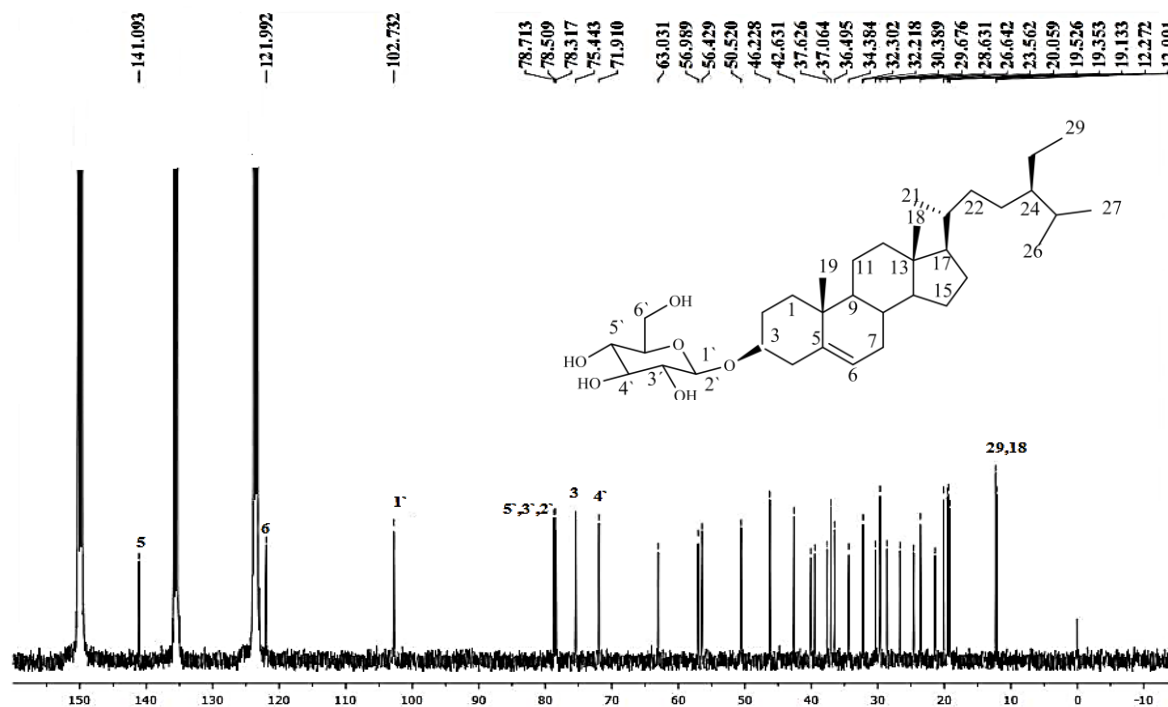
A substância **14** foi isolada da fração diclorometano neutra proveniente do extrato bruto metanólico das cascas do caule de *L. divaricata* (pág. 69). Este composto apresentou-se como um sólido amorfo branco, solúvel em piridina e com Pf 288-290°C, (Lit.295-300°C- GALOTTA, 2005). Análise em CCD, **14** apresentou coloração roxa escura após revelação com vanilina. Foi submetido às técnicas espectroscópicas de RMN de ^1H e ^{13}C , unidimensionais e DEPT. Após análise destes resultados, e comparação com dados da literatura propôs-se a estrutura como sendo um esteroide, da classe dos fitoesteróis, de fórmula molecular $\text{C}_{35}\text{H}_{60}\text{O}_6$, conhecida como β - sitosterol glicosilado, o qual já havia sido isolado diversas vezes pelo grupo NPPN.

Pela análise do espectro de RMN de ^1H (Figura 32), observa-se sinais referentes aos hidrogênios metínicos, metilênicos e metílicos de sistema esteroidal entre δ 0,66 -2,72 ppm. Sinais entre δ 3,96 - 4,5 ppm são característicos de hidrogênios de natureza glicosídica. O sinal em δ 5,35 ppm são referentes ao hidrogênio olefinico H-6. A atribuição da configuração β da glicose foi baseada na observação de um dubleto em δ 5,03 ppm, com constante de acoplamento de 7,6 Hz, entre H-1` e H-2`.

Figura 32 – Espectro de RMN de ^1H de **14** em $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ a 400 MHz

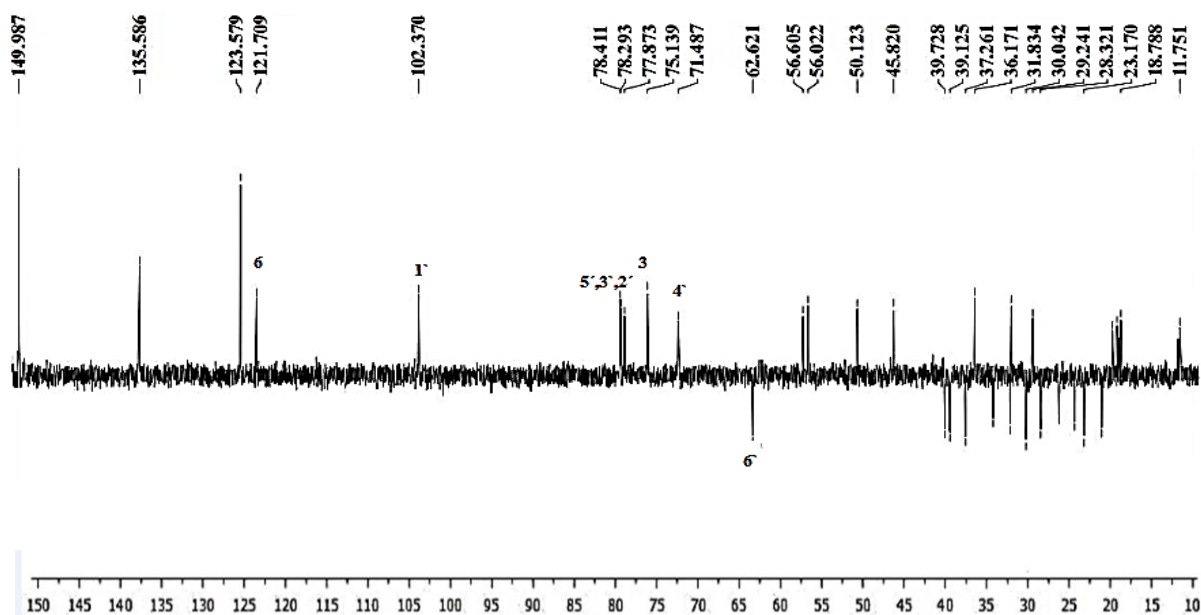
O espectro de RMN de ^{13}C desacoplado, conforme observado na Figura 33, apresenta trinta e cinco sinais referentes aos carbonos do β -sitosterol glicosilado **14**. Dentre os sinais observados, destaca-se a presença de um carbono oximetínico glicosilado (C-3) em 75,4 ppm e de dois carbonos olefínicos C-5 e C-6 em 141,0 ppm e 121,9 ppm, respectivamente. Em adição, observa-se a presença de sinais característicos para uma unidade de açúcar, destacando-se o sinal para carbono metilênico C-6' em 63,0 ppm, da unidade glicosídica e o carbono anomérico C-1' com 102,7 ppm. O restante dos sinais corresponde aos grupos metilênicos e metílicos presentes na estrutura do metabólito **14**.

Figura 33 – Espectro de RMN de ^{13}C do β - sitosterol glicosilado **14** em $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ a 100 MHz



A análise do espectro de DEPT 135° foram observados sinais de três carbonos desidrogenados, dez carbonos metínicos, onze metilênicos, sendo um deles aquele que absorve cerca de δ 63,0 ppm, correspondente ao único carbono metilênico da unidade de glicose e seis carbonos metílicos, confirmando a estrutura **14**, como mostrada a Figura 34.

Figura 34 – Espectro de DEPT 135° do β - Sitosterol Glicosilado **14** em $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ a 100 MHz



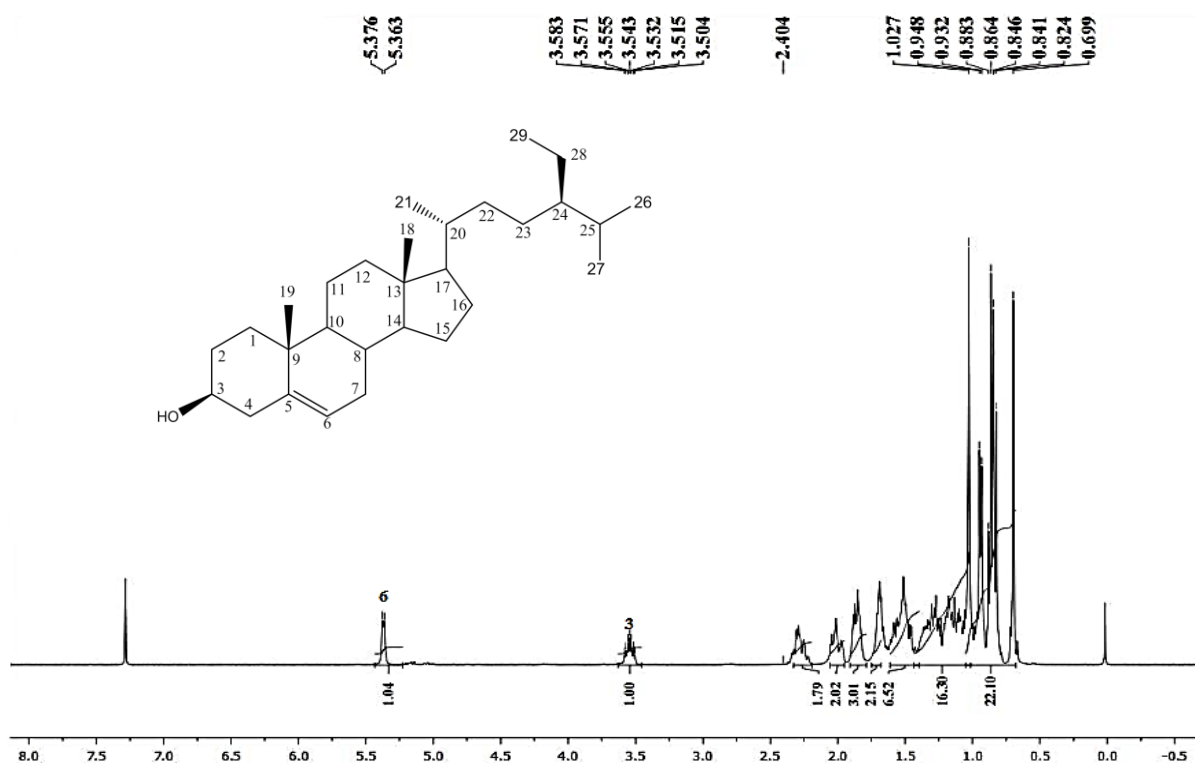
4.2.7 β – sitosterol

β -sitosterol é um fitoesteróide (esteroides de plantas) bastante difundido no reino vegetal juntamente com o estigmasterol e o campesterol, podendo ser detectado em quase todas as espécies, principalmente nas plantas superiores, cuja fórmula molecular é $C_{29}H_{50}O$, já isolado pelo grupo anteriormente, foi obtido como um sólido branco conforme descrito na parte experimental (pág. 68).

Sua estrutura foi determinada com base nos dados espectrais de RMN 1H e ^{13}C unidimensionais e comparação com dados da literatura (SILVA, 2011).

Pela análise do espectro de RMN de 1H (Figura 35), é possível observar a existência de um pico característico de hidrogênio olefínico em δ 5,36 ppm referentes à ligação com o carbonos C-6, respectivamente, além de um multiplete em δ 3,50 ppm referente ao hidrogênio ligado ao carbono C-3. Na região a campo alto, entre δ 0,69-2,29 ppm é possível observar a presença de vários outros sinais correspondentes aos hidrogênios dos grupos metílicos e metilênicos presentes na estrutura do β -sitosterol **29**.

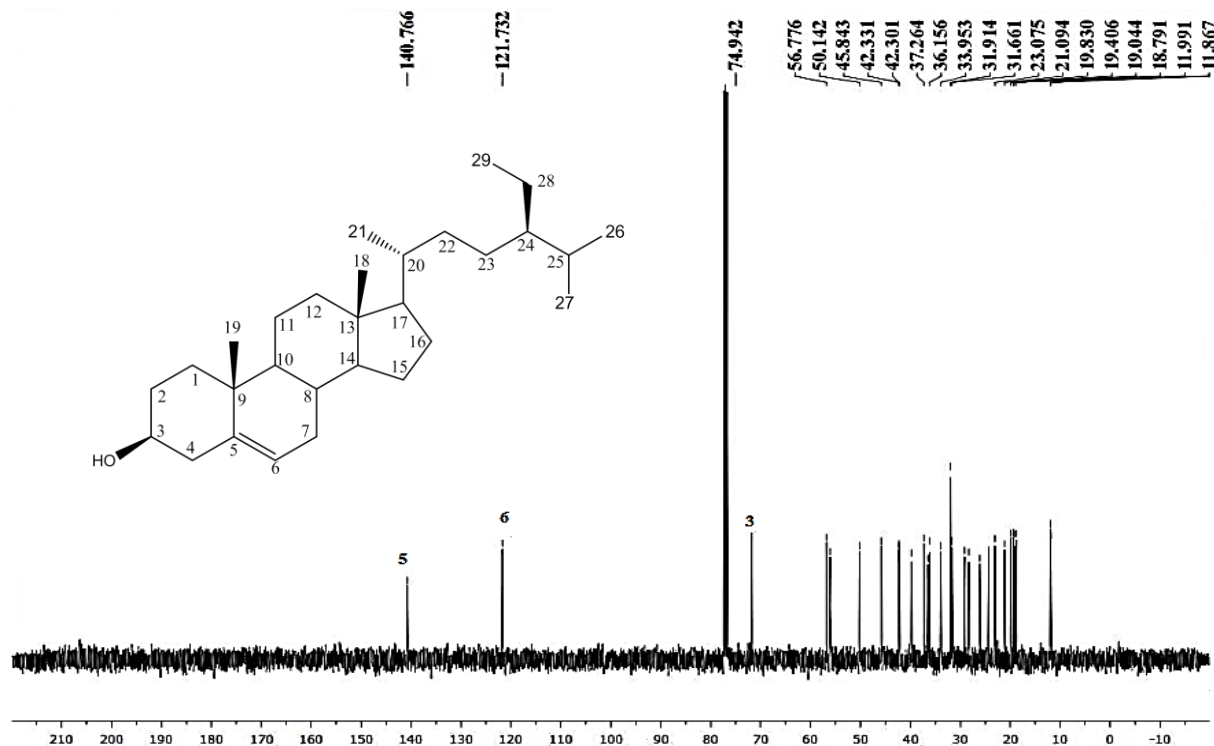
Figura 35 – Espectro de RMN de 1H do **29** β -sitosterol em $CDCl_3$ a 400 MHz



O espectro de RMN de ^{13}C , demonstrado na Figura 36, permite a visualização do pico de carbonos olefínicos C-5, C-6, em 140,7, 121,7 ppm, respectivamente. Em 74,9

ppm o pico referente ao C-3 e entre 11,0 - 56,6 ppm os demais picos correspondentes aos carbonos metílicos e metilênicos característicos da estrutura do composto **29**.

Figura 36 – Espectro de RMN de ^{13}C do β - sitosterol **29** em CDCl_3 a 100 MHz



Extratos aquosos, etanólicos, metanólicos e frações hexânica, acetato de etila, etérea e cetônica de *Abutilon indicum* apresentaram, todos, moderada atividade larvicida, contra larvas de *Culex quinquefasciatus*, um mosquito tropical doméstico. Mas o maior índice de mortalidade foi observado quando extrato etéreo foi adicionado ao viveiro de larvas, o qual continha β -sitosterol (KHADABADI; BHAJIPALE, 2010).

Sitosterol e estigmasterol também foram encontrados nas espécies *Sidastrum micranthum* e *Wissadula periplocifolia*, na forma de misturas, bem como em suas formas isoladas (GOMES, 2011a).

4.3 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Com o intuito de se avaliar o potencial antioxidante da planta em estudo, utilizou-se o método do DPPH, conforme descrito na parte experimental (pág. 75). Um ensaio quantitativo foi realizado, apenas, com as frações acetato de etila básica (FAB) e neutra (FAN), as quais continham os compostos potencialmente ativos (flavonoides), uma vez

que catequina e epicatequina não puderam ser testadas em razão das respectivas massas irrisórias restantes.

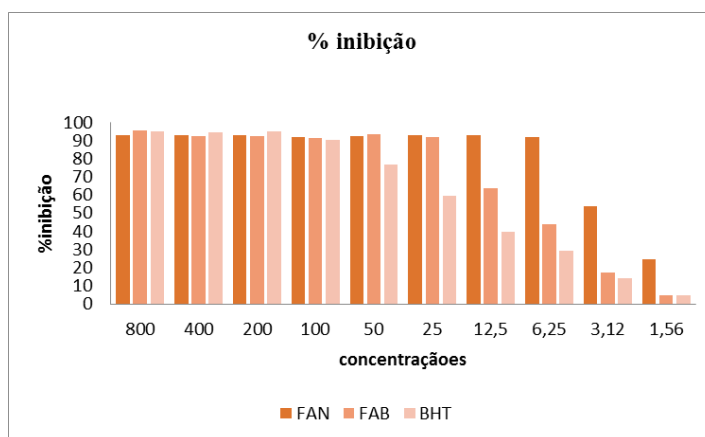
A leitura foi realizada em um espectrofotômetro (SpectraMax M2). Na Tabela 17 são apresentados o potencial antioxidante das frações da espécie *L. divaricata* comparadas ao padrão BHT.

Tabela 17 – Dados de atividade antioxidante das frações do (fracionamento 1 e 2) em $\mu\text{g/mL}$

Concentrações ($\mu\text{g/mL}$)	%inibição		
	FAB	FAN	BHT
800	95,4728	93,0196	94,8179
400	92,2325	92,7611	94,4042
200	92,2268	92,6691	94,9902
100	91,5029	91,6752	90,4171
50	93,2954	92,5198	76,5024
25	91,8648	92,7955	59,3359
12,5	63,6562	92,6921	39,9632
6,25	43,6860	92,0946	29,1853
3,12	17,0286	53,6194	14,3744
1,56	4,9293	24,3823	4,6076

Através destes valores pode-se concluir que a espécie em questão tem relativo potencial antioxidante, permitindo assim o cálculo do IC_{50} , que é a concentração necessária para inibir 50% da atividade do radical DPPH, sendo esta demonstrada na Figura 37.

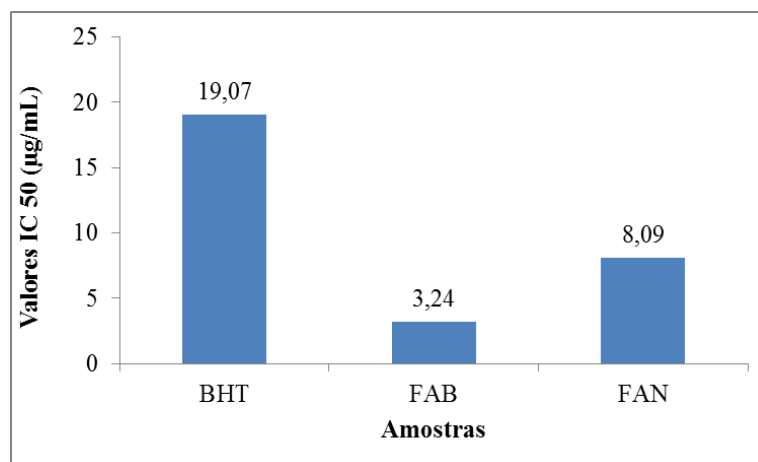
Figura 37 – Gráfico representando a porcentagem de inibição do radical DPPH verificado para as frações FAB e FAN da espécie *L.divaricata*



A partir da análise dos valores obtidos de concentração inibitória referente aos dois fracionamentos, verificou-se que as frações FAB e FAN acetato de etila neutro e acetato de etila básica apresentaram bons resultados de IC₅₀ sendo estes 3,24 e 8,09 µg/mL respectivamente, menor que o padrão BHT 19,07 µg/mL como mostra a Figura 38.

Oliveira e col. (2012) realizaram estudo sobre a atividade antioxidante dos compostos fenólicos presentes em diversas espécies de malváceas. Os resultados obtidos demonstraram que espécies desta família possuem alto teor de compostos fenólicos e boa atividade antioxidante e, conseqüentemente, podem ser utilizadas no tratamento de doenças relacionadas ao aumento da produção de radicais livres. Devido às contundentes atividades antioxidante e anti-inflamatória, compostos naturais isolados de diversas espécies da malváceas são largamente explorados em todo o mundo para tratamento de doenças como a asma e gastrites (GOMES et al., 2015).

Figura 38 – Gráfico representando IC₅₀ das frações testadas



4.4 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

As doenças infecciosas permanecem como as principais causas de morbidade e mortalidade mundialmente. Adicionalmente, apresentam altas taxas de prevalência entre a população mais pobre (WHO, 2012).

Reforçando esta grave questão, o surgimento de microrganismos resistentes aos antibióticos, nos últimos anos, tem se tornado preocupante e conduzido a altas taxas de morbimortalidade associadas às infecções por bactérias e fungos patogênicos em todo

mundo, e constituindo-se em um dos maiores problemas no ambiente hospitalar. O uso frequente e indiscriminado de agentes antimicrobianos tem contribuído para o aumento da multirresistência aos antibióticos quimioterápicos (DALL'AGNOL et al., 2003).

Paralelamente, poucos fármacos antimicrobianos têm sido lançados no mercado e a carência de estratégias visando novas alternativas terapêuticas em contraste com o crescente aumento destes microrganismos é um grande problema, repercutindo na saúde pública em todo mundo (CHANDRA, 2010).

Com o intuito de avaliar o potencial antimicrobiano da espécie *Luehea divaricata*, extrato bruto, frações e compostos isolados foram testados. Para a realização do ensaio antimicrobiano, utilizou-se o método de microdiluição em caldo (MIC), conforme descrito na parte experimental (págs. 76-77).

A efetividade antimicrobiana foi descrita em termos da concentração inibitória mínima (CIM) e da concentração letal mínima (CLM). Os resultados obtidos para o extrato bruto, frações e compostos isolados de *Luehea divaricata* são apresentados nas Tabelas 18-29. Os resultados dos CIM 20 e 50 encontram-se listados nas Tabelas 18 e 19, respectivamente. O EBM apresentou potencial para inibir o crescimento da bactéria Gram-negativa *Pseudomonas aeruginosa*, com CIM (20 e 50) de 6,2 µg/mL.

4.4.1 Atividade antibacteriana referente ao fracionamento 1 – fracionamento ácido-base

A fração FEA se mostrou ativa, apresentando CIM (20 e 50) entre 6,2 e 12,5 µg/mL para algumas bactérias Gram-positivas *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus* e para *Pseudomonas aeruginosa* (Gram-negativa). As frações FEB, FBB e FAB foram ativas frente o crescimento microbiano apenas para a bactéria Gram-negativa *Pseudomonas aeruginosa*, com CIM (20 e 50) de 6,2 µg/mL e CLM de 200 µg/mL.

Apesar da disponibilização de novos antibióticos, a resistência bacteriana ocorre em ritmo crescente nos diferentes patógenos Gram positivos e Gram negativos e representa um grande desafio terapêutico (ROSSI; ANDREAZII, 2005). Nas últimas décadas o enfoque dado para o controle das infecções por bactérias Gram negativas, pode ter contribuído para o surgimento de bactérias Gram positivas multirresistentes, principalmente *Staphylococcus sp.* resistentes a meticilina, *Pneumococcus sp.* resistente à penicilina e eritromicina, *Enterococcus sp.* resistentes à vancomicina e também as Gram negativas *Pseudomonas aeruginosa* e *Klebsiella pneumoniae* resistentes a β-lactâmicos e carbapenenos (SANTOS FILHO et al., 2002).

Tabela 18 – CIM 20 e CLM frente a bactérias ($\mu\text{g/mL}$) do extrato e frações do Fracionamento 1

Microorganismos	Frações e extrato (CIM 20/CLM $\mu\text{g/mL}$)											
	Extrato bruto		FEB		FAB		FBB		FEA		Cloranfenicol	
	CIM	CLM	CIM	CLM	CIM	CLM	CIM	CLM	CIM	CLM	CIM	CLM
Gram-positivas												
<i>Staphylococcus aureus</i>	200	>200	100	>200	50	>200	50	>200	100	>200	3,1	200
<i>Bacillus subtilis</i>	50	>200	50	>200	50	>200	50	>200	6,2	>200	3,1	100
<i>Bacillus cereus</i>	50	>200	25	>200	50	>200	25	>200	6,2	>200	3,1	100
<i>Enterococcus spp.</i>	100	>200	100	>200	25	>200	100	>200	200	>200	6,2	50
<i>Enterobacter aerogenes</i>	50	200	25	>200	50	200	50	200	50	>200	3,1	50
Gram-negativas												
<i>Escherichia coli</i>	50	>200	50	>200	50	>200	50	>200	100	>200	6,2	>200
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6,2	200	6,2	200	6,2	200	6,2	200	12,5	200	6,2	200
<i>Burkholderia cepacia</i>	50	>200	50	>200	50	>200	50	>200	50	>200	3,1	200
<i>Shigella sonnei</i>	50	200	25	>200	25	200	25	200	50	200	3,1	50
<i>Salmonella typhimurium</i>	50	>200	50	>200	50	>200	50	>200	50	>200	3,1	100
<i>Morganella morganii</i>	50	>200	50	>200	50	>200	50	>200	50	>200	3,1	100

Tabela 19 – CIM 50 e CLM frente a bactérias ($\mu\text{g/mL}$) do extrato e frações do Fracionamento 1

Microorganismos	Frações e extrato (CIM 50/CLM $\mu\text{g/mL}$)											
	Extrato bruto		FEB		FAB		FBB		FEA		Cloranfenicol	
	CIM	CLM	CIM	CLM	CIM	CLM	CIM	CLM	CIM	CLM	CIM	CLM
Gram-positivas												
<i>Staphylococcus aureus</i>	200	>200	100	>200	100	>200	100	>200	200	>200	6,2	200
<i>Bacillus subtilis</i>	50	>200	50	>200	50	>200	50	>200	6,2	>200	3,1	100
<i>Bacillus cereus</i>	50	>200	50	>200	50	>200	50	>200	50	>200	3,1	100
Enterococcus spp.	100	>200	100	>200	25	>200	100	>200	200	>200	6,2	50
Enterobacter aerogenes	100	200	100	>200	50	200	50	200	100	>200	6,2	50
Gram-negativas												
<i>Escherichia coli</i>	50	>200	50	>200	50	>200	50	>200	100	>200	6,2	>200
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6,2	200	6,2	200	6,2	200	6,2	200	12,5	200	6,2	200
<i>Burkholderia cepacia</i>	50	>200	50	>200	50	>200	50	>200	50	>200	3,1	200
<i>Shigella sonnei</i>	50	200	25	>200	25	200	25	200	50	200	3,1	50
<i>Salmonella typhimurium</i>	100	>200	200	>200	100	>200	100	>200	200	>200	12,5	100
<i>Morganella morganii</i>	50	>200	50	>200	50	>200	50	>200	50	>200	3,1	100

O triterpeno Friedelina, isolado da FEA, em decorrência de sua já confirmada atividade antimicrobiana, não foi submetido a tais análises farmacológicas. O composto S11, o qual se trata de uma mistura dos triterpenos α - e β -amirina, o ftalato de bis 2- etil-heptila, ambos obtidos do isolamento da FEA, bem como o flavonoide catequina, isolado da FAB, terão suas atividades discutidas no subitem dos compostos 4.4.3, correspondentes às Tabelas 22 e 23.

4.4.2 Atividade antibacteriana referente ao fracionamento 2 – fracionamento neutro

Os resultados das atividades antibacterianas das frações neutras com seus CIM (20 e 50) e CLM encontram-se dispostos nas Tabelas 20 e 21, respectivamente.

No fracionamento neutro, a FDN mostrou-se mais eficiente frente à *Enterococcus spp*, *Bacillus cereus*, *Shigella sonnei*, *Salmonella typhimurium* e *Pseudomonas aeruginosa*, com CIM 20 entre 7,8 e 62,5 $\mu\text{g/mL}$. A FAN mostrou-se ativa frente à *Enterococcus sp.* e *Shigella sonnei* com CIM 20 de 15,6 $\mu\text{g/mL}$, frente à e *Pseudomonas aeruginosa*, com CIM 20 de 31,2 $\mu\text{g/mL}$. As cepas *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cerreus*, *Enterobacter aerogenes* e *Morganella morganii* não foram testadas, devido às quantidades insuficientes de FAN. A FHN também apresentou valores significativos de potencial antibacteriano para as bactérias *Shigella sonnei*, *Burkholderia cepacia* e *Pseudomonas aeruginosa* (Gram-negativas) com CIM 20 entre 31,2 e 62,5 $\mu\text{g/mL}$; o potencial antibacteriano desta fração (FHN) frente às bactérias *Bacillus cereus* e *Salmonella typhimurium* (Gram–negativas) com CIM 50 de 62,5 $\mu\text{g/mL}$.

O flavonoide epicatequina, isolado da FAN, bem como o esteroide β -sitosterol glicosilado, isolado de FDN e o não-glicosilado, proveniente da FHN, terão suas atividades farmacológicas discutidas no subitem 4.4.3, referente às atividades biológicas dos compostos isolados.

O estudo realizado por Tanaka et al. (2005) mostrou que o extrato bruto metanólico das cascas do caule de *L.divaricata* e da fração acetato de etila foram moderadamente ativos contra *Staphylococcus aureus*, enquanto que a fração butanólica inibiu discretamente o crescimento do mesmo e a fração hexânica apresentou uma pequena atividade contra *S. aureus*.

Tabela 20 – CIM 20 e CLM frente a bactérias ($\mu\text{g/ml}$) do fracionamento 2

<i>Gram-positivas</i>			<i>Gram-negativas</i>				
Amostras/Microorganismos*	<i>E</i>	<i>Bs</i>	<i>Ss</i>	<i>Ec</i>	<i>Bc</i>	<i>St</i>	<i>Pa</i>
FDN	7,8/ >500	-/>500	31,2/250	250/500	62,5/>500	62,5/>500	62,5/500
FAN	15,6/>500	-/>500	15,6/500	125/500	125/500	125/>500	31,2/500
FHN	125/>500	-/>500	62,5/>500	250/500	31,2/500	125/>500	62,5/>500
Cloranfenicol	<1,9/62,5	<1,9/62,5	<1,9/15,2	<1,9/15,2	1,9/15,2	<1,9/62,5	15,6/250

*Gram-positivas – *Enterococcus*, *Bs*- *Bacillus subtilis*. Gram-negativas: *Ss*- *Shigella sonnei*, *Ec*- *Escherichia coli*, *Bc*- *Burkholderia cepacia*, *St*- *Salmonella typhimurium*, *Pa* – *Pseudomonas aeruginosa*; (-) sem inibição

Tabela 21 – CIM 50 e CLM frente a bactérias ($\mu\text{g/mL}$) do fracionamento 2

<i>Gram-positivas</i>			<i>Gram-negativas</i>				
Amostras/Microorg.*	<i>E</i>	<i>Bs</i>	<i>Ss</i>	<i>Ec</i>	<i>Bc</i>	<i>St</i>	<i>Pa</i>
FDN	62,5 / >500	250/ >500	62,5 /250	250/500	62,5 / >500	250/ >500	250/500
FAN	62,5 / >500	250/ >500	62,5 /500	250/500	250/500	250/ >500	250/500
FHN	250/ >500	250-/ >500	125/ >500	250/500	62,5 /500	62,5 / >500	250/ >500
Cloranfenicol	1,9/62,5	1,9/62,5	1,9/15,2	1,9/15,2	3,9/15,2	3,9/62,5	125/250

*Gram-positivas: *E* – *Enterococcus*, *Bs*- *Bacillus subtilis*. Gram-negativas: *Ss*- *Shigella sonnei*, *Ec*- *Escherichia coli*, *Bc*- *Burkholderia cepacia*, *St*- *Salmonella typhimurium*, *Pa* – *Pseudomonas aeruginosa*

Montovani et al., (2009), realizou um estudo antimicrobiano de extratos brutos de *L. divaricata*, os quais apresentaram resultados promissores: todas as bactérias sofreram inibição de crescimento. Os maiores halos de inibição frente aos microrganismos foram obtidos com testes usando as frações acetato de etila e metanólica (provenientes de um extrato bruto hexânico) e do extrato bruto metanólico para *S. aureus*. O mesmo comportamento foi observado por Ushimaru et al., (2007) ao avaliar a atividade antimicrobiana de extratos metanólicos de algumas plantas medicinais, obtendo os melhores resultados de inibição de crescimento para cepas de *S. aureus*.

Extratos aquosos e metanólicos de plantas inteiras de *G. arboreum* se revelaram ativos contra a febre tifoide, através de ação antibiótica/antimicrobiana contra *Salmonella typhi*, *S. paratyphi* e *S. typhimurium*, em experimentos *in vitro* (NKUO-AKENJI et al., 2001), enquanto que extratos aquosos de folhas de *G. arboreum* mostraram atividade antibacteriana contra bactérias Gram-positivas *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis* e *Micrococcus flavus*, bem como contra cepas resistentes de *S. aureus* e bactérias Gram-negativas, como *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*.

Souza et al. (2004), em decorrência de um estudo etnofarmacológico, avaliaram o potencial antimicrobiano de algumas plantas usadas no Brasil, mais precisamente no estado do Rio Grande do Sul. Utilizando o método de difusão em ágar, os autores constataram que o extrato metanólico de *L. divaricata* apresentava atividade contra a bactéria *Micrococcus luteus*. O extrato não apresentou nenhuma atividade contra bactérias, como *Staphylococcus aureus* e *S. epidermidis*, *Escherichia coli*, além da levedura *Candida albicans*.

4.4.3. Atividade antibacteriana dos compostos isolados

Os resultados referentes aos compostos isolados das frações supracitadas encontram-se nas Tabelas 22 e 23. São eles: os flavonoides catequina e epicatequina, os terpenos α - e β -amirina, o ftalato de bis 2-etil-heptila, e o estróide β -sitosterol glicosilado. O composto β -sitosterol não teve suas atividades executadas em razão da inexistência de quantidades apropriadas para a realização dos testes.

É possível observar que os compostos catequina, epicatequina e β -Sitosterol glicosilado são muito ativos como inibidores do crescimento bacteriano (ação bacteriostática), principalmente contra as bactérias *Enterococcus* e *Shigella Sonnei*, com CIM 20 de 1,9 $\mu\text{g/mL}$

e CIM 20 de 31,25 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente. O composto S11, que representa a mistura de α - e β -amirina, exibiu maior potencial antibacteriano frente à *Shigella Sonnei* com CIM 20 de 31,25 $\mu\text{g/mL}$. O β -Sitosterol glicosilado apresentou o potencial antimicrobiano frente a, *Enterococcus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia* e *Shigella sonnei* apresentaram uma CIM 20 entre 1,9 a 15,6 $\mu\text{g/mL}$. O Ftalato de bis 2-etil-heptila, mostrou maior eficiência frente á *Shigella sonnei* e *Burkholderia cepacia* com CIM 20 de 31,25 $\mu\text{g/mL}$.

Tabela 22 – CIM 20 CIM/CLM frente a bactérias (µg/ml) dos compostos isolados

<i>Gram-positivas</i>			<i>Gram-positivas</i>			
Amostra/Microorg.*	<i>E</i>	<i>Bs</i>	<i>Ss</i>	<i>Bc</i>	<i>St</i>	<i>Pa</i>
Epicatequina	1,9/>250	-/>250	31,25/>250	125/>250	62,5/>250	-
β-Sitosterol Glicosilado	1,9/>250	62,5/>250	31,25/>250	62,5/>250	62,5/>250	15,6/250
Catequina	1,9/>250	62,5/>250	31,25/>250	62,5/>250	62,5/>250	-
α-, β- Amirina	-	-	31,25/>250	62,5/>250	-	-
Ftalato de bis 2- etil-heptila	-	-	31,25/>250	62,5/>250	-	-
Cloranfenicol	<1,9/31,2	<1,9/15,8	<3,9/15,6	1,9/31,2	<1,9/62,5	15,6/250

*Gram-positivas: *E* – *Enterococcus*, *Bs*- *Bacillus subtilis*. Gram-negativas: *St*- *Salmonella typhimurium*, *Ec*- *Escherichia coli*, *Bc*- *Burkholderia cepacia*, *Ss*- *Shigella sonnei*, *Pa* – *Pseudomonas aeruginosa* ,(-) sem inibição

Tabela 23- CIM 50/CLM frente a bactérias (µg/ml) dos compostos isolados

<i>Gram-positivas</i>			<i>Gram-negativas</i>				
Amostra/Microorg.*	<i>E</i>	<i>Bs</i>	<i>Ss</i>	<i>Ec</i>	<i>Bc</i>	<i>St</i>	<i>Pa</i>
Epicatequina	125/>250	125/>250	62,5/>250	125/>250	250/>250	125/>250	125/>250
β-Sitosterol Glicosilado	62,5/>250	125/>250	62,5/>250	125/>250	125/>250	125/>250	125/250
Catequina	62,5/>250	125/>250	62,5/>250	125/>250	125/>250	125/>250	125/>250
α-, β- Amirina	-	125/>250	62,5/>250	-	125/>250	-	-
Ftalato de bis 2- etil-heptila	62,5/>250	125/>250	62,5/>250	125/>250	125/>250	125/>250	125/>250
Cloranfenicol	1,9/31,2	1,9/15,8	3,9/15,6	125/31,2	3,9/31,2	1,9/62,5	125/250

*Gram-positivas: *E* – *Enterococcus*, *Bs*- *Bacillus subtilis*. Gram-negativas: *Ss*- *Shigella sonnei*, *Ec*- *Escherichia coli*, *Bc*- *Burkholderia cepacia*, *St*- *Salmonella typhimurium*, *Pa* – *Pseudomonas aeruginosa*, (-) sem inibição

4.4.4 Atividade antifúngica referente ao fracionamento 1 – fracionamento ácido-base

Tabela 24 – CIM 20 e CLM frente a fungos ($\mu\text{g/mL}$) do extrato e frações do Fracionamento 1

Microrganismos	Extrato e frações (CIM 20/CLM $\mu\text{g/mL}$)											
	EB		FEB		FAB		FBB		FEA		Fluconazol	
	CIM	CLM	CIM	CLM	CIM	CLM	CIM	CLM	CIM	CLM	CIM	CLM
Candida albicans	100	200	100	100	100	100	100	200	100	200	< 6,25	100
Candida tropicalis	50	>200	50	>200	100	>200	100	>200	100	>200	25	100
Candida krusei	12,5	200	12,5	200	12,5	200	12,5	100	6,25	100	1,5	200
Candida parapslosis	100	>200	100	200	100	200	100	>200	100	200	1,5	100
Cryptococcus neoformans	50	200	50	200	25	200	25	200	50	200	3,12	100
Cryptococcus Gatti	25	>200	25	>200	25	>200	25	>200	12,5	>200	1,5	200
Sacharomyces cerevisae	50	200	50	200	50	200	50	200	50	100	6,25	100

Tabela 25 – CIM 50 e CLM frente a fungos $\mu\text{g/mL}$ do extrato e frações do Fracionamento 1

Microorganismos	Extrato e frações (CIM 50/CLM $\mu\text{g/mL}$)											
	EB		FEB		FAB		FBB		FEA		Fluconazol	
	CIM	CLM	CIM	CLM	CIM	CLM	CIM	CLM	CIM	CLM	CIM	CLM
Candida albicans	100	200	100	100	100	100	100	200	100	200	6,25	100
Candida tropicalis	100	>200	100	>200	100	>200	100	>200	100	>200	50	100
Candida krusei	50	200	50	200	50	200	50	100	50	100	12,5	200
Candida parapslosis	100	>200	100	200	100	200	100	>200	100	200	3,12	100
Cryptococcus neoformans	100	200	100	200	100	200	50	200	50	200	3,12	100
Cryptococcus Gatti	100	>200	100	>200	100	>200	100	>200	50	>200	6,25	200
Sacharomyces cerevisae	50	200	50	200	50	200	50	200	50	100	12,5	100

4.4.5 Atividade antifúngica referente ao fracionamento 2 – fracionamento neutro

Tabela 26 – CIM 20 e CLM frente a fungos ($\mu\text{g/ml}$) do fracionamento 2

Amostras/Microorg*.	<i>Cp</i>	<i>Ck</i>	<i>Ct</i>	<i>Cg</i>	<i>Cn</i>	<i>Sc</i>
FDN	125/>500	15,6/250	-	125/>500	125/>500	125/>500
FAN	-	31,2/250	125/250	125/500	125/>500	125/>500
FHN	-	15,6/500	62,5/>500	-	62,5/>500	62,5/>500
Fluconazol	62,5/62,5	7,8/125	62,5/125	62,5/125	3,9/>250	7,8/125

Cp-Candida parapslosis, *Ck-Candida krusei*, *Ct-Candida tropicalis*; *Cg-Cryptococcus gatti*; *Cn-Cryptococcus neoformans* *Sc-Sacharomyces cerevisiae*, (-) sem inibição

Tabela 27 – CIM 50/CLM frente a fungos ($\mu\text{g/ml}$) do fracionamento 2

Amostras/Microorg*.	<i>Cp</i>	<i>Ck</i>	<i>Ct</i>	<i>Cg</i>	<i>Cn</i>	<i>Sc</i>
FDN	500/>500	125/250	250/>500	250/>500	500/>500	250/>500
FAN	250/500	125/250	250/250	250/500	250/>500	250/>500
FHN	250/>500	125/500	250/>500	250/>500	250/>500	250/>500
Fluconazol	15,6/62,5	31,2/125	125/125	125/125	15,6/>250	125/125

Cp-Candida parapslosis, *Ck-Candida krusei*; *Ct-Candida tropicalis*; *Cg-Cryptococcus gatti*; *Cn-Cryptococcus neoformans* *Sc-Sacharomyces cerevisiae*

4.4.6 Atividade antifúngica dos compostos isolados

Tabela 28 – CIM 20 e CLM frente aos fungos ($\mu\text{g/ml}$) dos compostos isolados

Amostra/Microorg*.	<i>Cp</i>	<i>Ck</i>	<i>Cg</i>	<i>Sc</i>
Epicatequina	125/>250	3,9/>250	-	1,9/>250
β-sitosterol glicosilado	-	7,8/125	-	1,9/>250
Catequina	-	3,9/125	125/>250	1,9/>250
α, β- amirina	125/>250	-	-	1,9/>250
Ftalato de bis 2- etil-heptila	125/>250	-	-	15,6/250
Fluconazol	1,9/31,2	1,9/62,5	62,5/125	3,9/250

Cp-Candida parapslosis, *Ck-Candida krusei*; *Cg-Cryptococcus gatti*; *Sc-Sacharomyces cerivisae*; (-) sem inibição

Tabela 29 – CIM 50 e CLM frente aos fungos ($\mu\text{g/ml}$) dos compostos isolados

Amostra/Microorg*.	<i>Cp</i>	<i>Ck</i>	<i>Ct</i>	<i>Cg</i>	<i>Sc</i>
Epicatequina	250/>250	15,6/>250	250/>250	250/>250	125/>250
β-sitosterol glicosilado	125/>250	15,6/125	250/>250	250/>250	62,5/>250
Catequina	125/>250	15,6/125	250/250	250/>250	62,5/>250
α, β- amirina	250/>250	3,9/125	250/>250	250/>250	125/>250
Ftalato de bis 2- etil-heptila	250/>250	3,9/125	250/>250	250/>250	125/250
Fluconazol	3,9/31,2	3,9/62,5	125/250	125/125	15,6/250

Cp-Candida parapslosis, *Ck-Candida krusei*; *Ct-Candida tropicalis*; *Cg-Cryptococcus gatti*; *Sc-Sacharomyces cerivisae*

Quanto ao potencial antifúngico da epicatequina, β -Sitosterol glicosilado e catequina, todos mostraram-se eficientes, apenas em suas funções fungistáticas, contra *Candida krusei* e *Sacharomyces cerevisiae*, na avaliação de CIM 20, enquanto que a mistura dos triterpenos α - e β - amirina e ftalato de bis 2- etil-heptila o foram apenas para *S. cerevisiae*, como apresentado na Tabela 28.

A fração FHN apresentou resultados significativos frente aos microrganismos *Candida krusei*, *Candida tropicalis* e *Cryptococcus neoformans* com CIM 20 entre 15,6 e 62,5 $\mu\text{g/mL}$.

A elevada incidência de infecções fúngicas tem levado à pesquisa contínua de novas drogas. Extratos de *Luehea paniculata*, foram avaliados para a atividade contra o fungo do gênero *Candida*, bem como o seu potencial modulador do antibiótico Fluconazol (CALIXTO Jt. et al., 2015). A atividade fungicida do extrato bruto e das folhas e das cascas do caule, também foi testada, pelo mesmo método, por Tanaka e colaboradores (2005). Os autores observaram que a *Candida albicans*, *Candida krusei*, *Candida parapsilosis* e *Candida tropicalis* são resistentes aos extratos da *Luehea divaricata*. *Candida albicans* também mostrou-se resistente frente a frações que continham ou não flavonoides, provenientes de sementes e calos de três espécies de *Gossypium* (KHALEEQR et al., 2012). *Candida krusei* tem sido reconhecida como um patógeno fúngico resistente a um amplo repertório de antimicóticos, principalmente devido a sua resistência intrínseca ao fluconazol, combinada com a baixa sensibilidade para anfotericina B e a 5-fluorocitosina. Todavia, autores vêm relatando uma diminuição da sensibilidade para vários alopáticos (PFALLER et al., 2008).

É possível concluir pelos resultados obtidos que *L. divaricata* apresenta um grande potencial antimicrobiano frente às bactérias e fungos, já que tanto o extrato bruto, quanto as frações e os compostos isolados apresentaram CIM com valores satisfatórios para tal atividade, não apresentando um poder biocida satisfatório.

CONCLUSÃO

Após a investigação fitoquímica e antimicrobiana realizada com a espécie pertencente a família Malvaceae, *Luehea divaricata*, pode-se concluir que:

- Pela metodologia utilizada no presente trabalho, constatou-se a ausência de alcaloides;
- Este trabalho foi capaz de comprovar a presença de β -sitosterol glicosilado também na casca do caule, uma vez que outros trabalhos os tenham identificados, apenas, em outras partes da planta.
- Friedelina compõe a porção triterpênica do gênero, sendo encontrada pela primeira vez.
- A investigação fitoquímica da casca do caule de *L. divaricata*, através da identificação estrutural de três triterpenos, dois esteroides, dois flavonoides e um Ftalato, coopera para o aprofundamento da quimiotaxonomia da família Malvaceae.
- O estudo fitoquímico e das atividades biológicas dos compostos identificados provenientes das cascas do caule de *L. divaricata*, realizados no presente trabalho, também pode justificar seu uso etnofarmacológico.
- Mesmo que parcial, o estudo fitoquímico da casca do caule de *L. divaricata* amplia o conhecimento científico a respeito desta espécie.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, V.G.C.; TAKAHASHI, J.A.; DUARTE, L.P.; PILÓ-VELOSO, D.; JUNIOR, P.A.S.; ALVES, R.O.; ROMANHA, A.J.; ALCÂNTARA, A.F.C. Evaluation of the bactericidal and trypanocidal activities of triterpenes isolated from the leaves, stems, and flowers of *Lychnophora pinaster*. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 21, p. 615-621, 2011.
- AGRA, M.F.; FREITAS, P.F.; BARBOSA FILHO, J.M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 1, p. 114-140, 2007.
- AHMED, Z.; KAZMI, S.N.-UL-H.; MALIK, A. A new pentacyclic triterpene from *Abutilon pakistanicum*. **Journal of Natural Products**, v. 53, n. 5, p. 1342-1344, 1990.
- AHMED, Z.; KAZMI, S.N.-UL-H.; MALIK, A. Phytochemical investigation of *Abutilon pakistanicum*. **Fitoterapia**, v. 62, n. 4, p. 349-352, 1991.
- ALARCON-AGUILAR, F.J.; ZAMILPA, A.; PEREZ-GARCIA, M.D.; ALMANZA-PEREZ, J.C.; ROMERO-NUNEZ, E.; CAMPOS-SEPULVEDA, E.A.; VAZQUEZ-CARRILLO, L.I.; ROMAN-RAMOS, R. Effect of *Hibiscus sabdariffa* on obesity in MSG mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 114, p. 66-71, 2007,
- ALAM, M., JOY, S., USMAN ALI, S. Screening of *Sida cordifolia* Linn. *Sida rhomboidea* Linn. and *Triumfetta rotundifolia* Lam. for anti-inflammatory and antipyretic activities. **Indian Drugs**, v. 28, n. 9, p. 397-400, 1991.
- ALBUQUERQUE, I.L.L. de. **Investigação da atividade oxidante e antioxidante do Extrato etanólico e das fases hexânica, clorofórmica, Acetato de etila e butanólica das partes aéreas de *Pavonia cancellata* (L.) Malvaceae**. 2015. Monografia. Curso de Bacharelado em Ciências Biológicas, João Pessoa/PB, 2015. Universidade Federal da Paraíba. 46 p.
- ALI, B.; IBRAHIM, M.; HUSSAIN, I.; HUSSAIN, N.; IMRAN, M.; NAWAZ, H.; JAN, S.; KHALID, M.; GHOUS, T.; AKASH, M.S.H. Pakistanamide C, a new sphingolipid from *Abutilon pakistanicum*. **Revista Brasileira de Farmacognosia/ Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 24, p. 277-281, 2014.
- ALI, B.; MEHMOOD, R.; HUSSAIN, R.; MALIK, A.; IMRAN, M.; NAWAZ, H.; HUSSAIN, A. New sphingolipids from *Abutilon pakistanicum*. **Naturforsch**, v. 67b, p. 433-437, 2012.
- ALI, B.; IBRAHIM, M.; HUSSAIN, I.; HUSSAIN, N.; IMRAN, M.; NAWAZ, H.; JAN, S.; KHALID, M.; GHOUS, T.; AKASH, M.S.H. Pakistanamide C, a new sphingolipid from *Abutilon pakistanicum*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 24, p. 277-281, 2014.
- ALI, B.H.; WABEL, N.A.L.; BLUNDEN, G. Phytochemical, pharmacological and toxicological aspects of *Hibiscus sabdariffa* L.: a review. **Phytotherapy Research**, v. 19, p. 369-375, 2005.

ALICE, C.B.; SIQUEIRA, N.C. S.; MENTZ, L.A.; SILVA, G.A.A.B.; JOSÉ, K.F.D. **Plantas medicinais de uso popular: atlas farmacognóstico**. Canoas. ULBRA. 1995. 205p.

ALMEIDA, M.deF.O.; MELO, A.C.R.de.; PINHEIRO, M.L.B.; SILVA, J.R.deA.; SOUZA, A.D.L.de.; BARISON, A.; CAMPOS, F.R.; AMARAL, A.C.F.; MACHADO, G.M.deC.; LEON, L.L.P. Constituintes químicos e atividade leishmanicida de *Gustavia elliptica* (Lecythidaceae). **Química Nova**, v. 34, n. 7, p. 1182-1187, 2011.

ALONSO, J.A.; ZAMILPA, A.; AGUILAR, F.A.; RUIZ, M.H.; TORTORIELLO, J.; FERRER, E.J. Pharmacological characterization of the diuretic effect of *Hibiscus sabdariffa* Linn (Malvaceae) extract. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 139, p. 751-756, 2012.

ALVES, V.G.; ROSA, E.A.; COELHO, N.P.; VANDRESEN, F.; SILVA, C.C. da. Chemical constituents from leaves of *Luehea paniculata*. **Chemistry of Natural Compounds**, v. 50, n. 4, 770-771, 2014.

AMES, J.M.; MACLEOD, G. Volatile components of okra. **Phytochemistry**, v. 29, n. 4, p. 1201-1207, 1990.

ANDRADE, T.U.; EWALD, B.T.; FREITAS, P.D.R.; LENZ, D.; ENDRINGER, D.C. *Pavonia alnifolia* A. St. Hil.: *in vivo* hypotensive effect and *in vitro* ace inhibitory activity. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v.4, suppl.1, p.124-126, 2012.

ANNAN, K.; HOUGHTON, P.J. Antibacterial, antioxidant and fibroblast growth stimulation of aqueous extracts of *Ficus asperifolia* Miq. and *Gossypium arboreum* L., wound-healing plants of Ghana. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 119, p. 141–144, 2008.

ARANTES, L.P.; COLLE, D.; MACHADO, M.L.; ZAMBERLAN, D.C.; TASSI, C.L.C.; CRUZ, R.C. da; MANFRON, M.P.; ATHAYDE, M.L.; SOARES, F.A.A. *Luehea divaricata* Mart. anticholinesterase and antioxidant activity in a *Caenorhabditis elegans* model system. **Industrial Crops and Products**, v. 62, p. 265–271, 2014.

ARAÚJO, J.M. **Química de alimentos: teoria e prática**. 4. Ed. Viçosa: Editora UFV, 2008. 477p.

ARAÚJO JR., V.T.D.; SILVA, M.S.D.; DA-CUNHA, E.V.L.; AGRA, M.D.F.; ATHAYDE-FILHO, P.F.D.; VIEIRA, I.J.C. Muscicapine, a new class of guaiane-type sesquiterpene alkaloids from cróton muscicapa. **Journal of The Brazilian Chemical Society**, v. 16, n. 3, p. 553-557, 2005.

ARGONDIZO, F.; OLIVEIRA, A.J.A.; KITAMURA, R.O.S.; ROMOFF, P.; KATO, M.J.; LAGO, J.H.G. **Constituintes químicos de *Piper glabratum* Kunth (Piperaceae)**. In: 30ª Reunião Anual da SBQ, Águas de Lúndia – SP, 2007.

AWAD, A.B.; BURR, A.T.; FINK., C.S. Effect of resveratrol and β -sitosterol in combination on reactive oxygen species and prostaglandin release by PC-3 cells.

Prostaglandins, Leucotrienes and Essencial Fatty Acids (PLEFA), v. 72, p. 219-226, 2005.

BARATI, M.; SHARIFI, I.; SHARIFIFAR, F.; PARIZI, M.H.; SHOKRI, A. Anti-leishmanial activity of *Gossypium hirsutum* L., *Ferula assa-foetida* L. and *Artemisia aucheri* Boiss. extracts by colorimetric assay. **Anti-Infective Agents (Anti-Infective Agents in Medicinal Chemistry)**, v. 12, n.2, p. 159-164, 2014.

BARREIROS, A.L.B.S. **Contribuição ao estudo fitoquímico de *Diocleo lasiophylla*** 2000. Dissertação. Programa de Pós-graduação em Química, Salvador/BA, 2000. Universidade Federal da Bahia.

BARROSO, G.M.; GUIMARÃES, E.F.; ICHASO, C.L.I.; COSTA, C.G.; PEIXOTO, A.L. **Sistemática de angiospermas do Brasil**. São Paulo: LTC: EDUSP, 1978. v.1, 255 p. BRASIL. Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatísticas- IBGE. Manual Técnico da Vegetação brasileira. Rio de Janeiro: IBGE, 1991. 92p.

BASILE, A.; GIORDANO, S.; LOPEZ-SAEZ, J.A.; COBIANCHI, R C. Antibacterial activity of pure flavonoids isolated from mosses. **Phytochemistry**, v. 52 n.8, p.1479-82, 1999.

BECHET, D.; TASSA, A.; TAILLANDIER, D.; COMBARET, L.; ATTAIX, D. Lysosomal proteolysis in skeletal muscle. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 37, p. 2098–2114, 2005.

BERNARDI-WENZEL, J.; GARCÍA, A.; AZEVEDO, J.L.; PAMPHILE, J.A. Molecular characterization by amplified ribosomal DNA restriction analysis and antimicrobial potential of endophytic fungi isolated from *Luehea divaricata* (Malvaceae) against plant pathogenic fungi and pathogenic bacteria. **Genetics and Molecular Research**, v.12, n. 4, p. 5072-5084, 2013.

BERRONDO, L.F.; GABRIEL, F.T.; FERNANDES, S.B.O.de; MENEZES, F.S.de; MOREIRA, D.L. de. Dirhamnosyl flavonoid and other constituents from *Brillantaisia palisatii*. **Química Nova**, v. 26, n. 6, p. 922-923, 2003.

BEZERRA, S.B.; LEAL, L.K.A.M.; NOGUEIRA, N.A.P.; CAMPOS, A.R. Bisabolol-induced gastroprotection against acute gastric lesions: role of prostaglandins, nitric oxide, and K⁺ ATP channels. **Journal of Medicinal Food**, v. 12, n. 6, p. 1403-406, 2009.

BHATTARAM, V.A.; GRAEFE, U.; KOHLERT, C.; VEIT, M.; DERENDORF, H. Pharmacokinetics and bioavailability of herbal medicinal products. **Phytomedicine**, v. 9 (Supplement III), p. 1-33, 2002.

BIANCHI, N.R., MACHADO, C.A., ALICE, C.B., SIQUEIRA, N.C.S. Estudo da toxicidade da *Luehea divaricata* Mart & Zucc. **Revista Brasileira de Farmácia**, v.72, n.3, p.57-58, 1991.

BIESKI, I.G.C.; SANTOS, F.R.; OLIVEIRA, R.M.DE; ESPINOSA, M.M.; MACEDO, M.; ALBUQUERQUE, U.P.; MARTINS, D.T. de O. Ethnopharmacology of medicinal

plants of the Pantanal Region (Mato Grosso, Brazil). **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2012, p. 1-36, 2012.

BLANCO, G.J.P.; **Farmacología de la (-)-epicatequina** – 2012. Monografía. Facultad de Ciencias Químicas, ORIZABA/VER. UNIVERSIDAD VERACRUZANA (México).

BLUNDEN, G.; PATEL, A.V.; ARMSTRONG, N.J.; GORHAM, J. Betaine distribution in the Malvaceae. **Phytochemistry**, v. 58, p. 451-454, 2001.

BOER, H.J. de; KOOL, A.; BROBERG, A.; MZIRAY, W.R.; HEDBERG, I.; LEVENFORS, J.J. Anti-fungal and anti-bacterial activity of some herbal remedies from Tanzania. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 96, p. 461–469, 2005.

BOVINI, M.G.; OKANO, R.M.C.; VIEIRA, M.F. Malvaceae A. Juss. no Parque Estadual do Rio Doce, Minas Gerais, Brasil. **Rodriguésia**, v. 52, n. 81, p. 17-47, 2001.

BRACK, P.; GRINGS, M.; KINUPP, V.; LISBOA, G.; BARROS, I. Espécies arbóreas de uso estratégico para Agricultura familiar (lista preliminar, agosto 2011, inédito). Disponível em: <http://www.ufrgs.br/viveiroscomunitarios/publicacoes/ESPECIES%20ARBOREAS%20DE%20USO%20ESTRATEGICO%20PARA%20AGRICULTURA%20FAMILIAR%20.pdf>. Acesso em: maio 2014.

BRAICU, C.; LADOMERY, M.R.; CHEDEA, V.S.; IRIMIE, A.; BERINDAN-NEAGOE, I. The relationship between the structure and biological actions of green tea catechins. **Food Chemistry**, v. 141, p. 3282–3289, 2013.

BROINIZI, P.R.B.; ANDRADE-WARTHA, E.R.S. de; OLIVEIRA E SILVA, A.M. de; NOVOA, A.J.V.; et al. Avaliação da atividade antioxidante dos compostos fenólicos naturalmente presentes em subprodutos do pseudofruto de caju (*Anacardium occidentale* L.) Evaluation of the antioxidant activity of phenolic compounds naturally contained in by-products of the cashew apple (*Anacardium occidentale* L.). **Ciência & Tecnologia de Alimentos** (Campinas), v. 27, n.4, p. 902-908, 2007.

CAFFERTY, S.; GREENHAM, J.; WILLIAMS, C. A. Isolation of mangiferin and isomangiferin from leaf material of *Hibiscus liliastrum* (Malvaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 24, n. 2, p.173-174, 1996.

CALIXTO, J.B. Twenty-five years of research on medicinal plants in Latin America: a personal review. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 100, p. 131-134, 2005.

CALIXTO Jr., J.T.; MORAIS, S.M.; MARTINS,C.G.; VIEIRA,L.G.; BRAGA, M.F.B.M.; CARNEIRO, J.N.P.; MACHADO, A.J.P.; MENEZES, I.R.A.; TINTINO,S. R.T.; COUTINHO, H.D.M. Phytochemical analysis and modulation of antibiotic activity by *Luehea paniculata* Mart. & Zucc. (Malvaceae) in multiresistant clinical isolates of *Candida Spp.* **BioMed Research International**, v. 2015, P. 1-10, 2015.

CAMPOS, D. deA. **Efeito gastroprotetor da 3,6-dimetoxi-6'',6''-dimetil-[2'',3'':7,8]-cromenoflavona isolada de *Lonchocarpus araripensis* Benth em camundongos e possíveis mecanismos.** 2008. – Dissertação – Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Fortaleza/CE – Universidade Federal do Ceará. 131 páginas

CAO, G.; SOFIC, E.; PRIOR, R.L. Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structure-activity relationships. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 22, n. 5, p. 749–760, 1997

CAROCHO, M.; FERREIRA, I.C.F.R. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. **Food and Chemical Toxicology**, v. 51, p. 15–25, 2013.

CARNEIRO, F.M.; SILVA, M.J.P.; BORGES, L.L.; ALBERNAZ, L.C.; COSTA, J.D.P. Tendeências dos estudos com plantas medicinais no Brasil. **Revista Sapiência: sociedade, saberes e práticas educacionais**, v.3, n.2, p. 44-75, 2014.

CARRETERO, M.; GANCI, E.C. MALVACEAE JUSS. **Multequina**, v. 20, p. 1-6, 2011.

CARVALHO, P.E.R. **Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira**. Colombo: EMBRAPA – CNPF; Brasília: EMBRAPA – SPI, 1994. 640p.

CHANDRA, S. Bacteria: drug resistance spreads, but few new drugs emerge. **Chemistry & Biology**, v. 17, n. 5, p. 413-414, 2010.

CHATURVEDI, S.; RANDHAWA, H.S.; CHATURVEDI, V.P.; KHAN, Z.U. Cotton seed extract versus pharammedia for the *in vitro* mould-yeast conversion of *Blastomyces dermatitidis*. **Journal of Medical and Veterinary Mycology**, v. 28, n. 2, p. 139-145, 1990.

CHATURVEDI, S.; RANDHAWA, H.S.; CHATURVEDI, V.P.; KHAN, Z.U. Efficacy of seed-based media for the mould-yeast conversion of *Blastomyces dermatitidis*. **Mycopathologia**, v.116, n. 2, p. 87-96, 1991.

CHATURVEDULA, V.S.; ZHOU, B.N.; GAO, Z.; THOMAS, S.J.; HECHT, S.M.; KINGSTON, D.G. New lupane triterpenoids from *Solidago canadenses* that inhibit the lyase activity of DNA polymerase beta. **Bioorganic Medicinal Chemistry**, v.12, p.6271-6275, 2004.

CHAVES, O.S.; GOMES, R.A.; TOMAZ, A.C.A.; FERNANDES, M.G.; JUNIOR, L.G.M.; AGRA, M.F.; BRAGA, V.A.; de SOUZA, M.F.V. Secondary metabolites from *Sida rhombifolia* L. (Malvaceae) and the vasorelaxant activity of cryptolepinone. **Molecules**, v. 18, p. 2769-2777, 2013.

CHEN, C.-C.; HSU, J.-D.; WANG, S.-F.; CHIANG, H.-C.; YANG, M.-Y.; KAO, E.-S.; HO, Y.-C.; WANG, C.-J. *Hibiscus sabdariffa* extract inhibits the development of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 5472-5477, 2003.

CHOI, J.J.; YOON, K.N.; LEE, S.K.; LEE, Y.H.; PARK, J.H.; KIM, W.Y.; KIM, J.K.; KIM, W.K. Antitumor activity of the aqueous-alcoholic extracts from unripe cotton ball of *Gossypium indicum*. **Archives of Pharmacal Research**, v. 21, n. 3, p. 266-72, 1998.

CORDEIRO, J. **Compartimentação pedológico-ambiental e sua influência sobre a florística e estrutura de um remanescente de floresta ombrófila mista na região centro-sul do Paraná, Curitiba** – 2010. Tese. Programa de Pós-graduação em Engenharia – Universidade Federal do Paraná. 197 f. il.

COSTA, D. A. **Constituintes Químicos de Duas Espécies de Malvaceae: *Herissantia crispera* e *Bakeridesia pickelii***. – 2006. Tese. Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos. Universidade federal da Paraíba. 95p. il.

COSTA, D.A.; CHAVES, M.H.; SILVA, W.C.S.; COSTA, C.L.S. Constituintes químicos, fenóis totais e atividade antioxidante de *Sterculia striata* St. Hil. et Naudin. **Acta Amazonica**, v. 40, n. 1, p. 207-212, 2010.

COSTA, D.A. da; SILVA, D.A.; CAVALCANTI, A.C.; MEDEIROS, M.A.A.de; LIMA, J.T.de; CAVALCANTE, J.M.S.; SILVA, B.A.da; AGRA, M.F.; SOUZA, M.F.V.de. Chemical constituents from *Bakeridesia pickelii* Monteiro (Malvaceae) and the relaxant activity of kaempferol-3-O- β -D-(6''-E-p-coumaroyl) glucopyranoside on guinea-pig ileum. **Quimica Nova**, v. 30, n. 4, p. 901-903, 2007.

COSTA, D.A.; MATIAS, W.N.; LIMA, I.O.; XAVIER, A.L.; COSTA, V.B.M.; DINIZ, M.F.F.M.; AGRA, M.F.; BATISTA, L.M.; SOUZA, M.F.V. First secondary metabolites from *Herissantia crispera* L (Brizicky) and the toxicity activity against *Artemia salina* Leach. **Quimica Nova**, v. 32, p. 48–50, 2009.

COSTA, F.J. da; BANDEIRA, P.N.; ALBUQUERQUE, M.R.J.R.; PESSOA, O.D.L.; SILVEIRA, E.R.; BRAZ-FILHO, R. Constituintes químicos de *Vernonia chalybaea* Mart. **Quimica Nova**, v. 31, n. 7, p. 1691-1695, 2008.

COURTES, A.A.; ARANTES, L.P.; BARCELOS, R.P.; SILVA, I. K. da; BOLIGON, A.A.; ATHAYDE, M.L.; PUNTEL, R.L.; SOARES, F.A.A. Protective effects of aqueous extract of *Luehea divaricata* against behavioral and oxidative changes induced by 3-nitropropionic acid in rats. **Hindawi Publishing Corporation-Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2015, p. 1-11, 2015.

CUZZOCREA, S. Shock, inflammation and PARP. **Pharmacological Research**, v.52, p. 72-82, 2005.

DA-COSTA-ROCHA, I.; BONNLAENDER, B.; SIEVERS, H.; PISCHEL, I.; HEINRICH, M. *Hibiscus sabdariffa* L. – a phytochemical and pharmacological review. **Food Chemistry**, v. 165, p. 424–443, 2014.

DALL' AGNOL, R.; FERRAZ, A.; BERNARDI, A.P.; ALBRING, D.; NOR, C.; SARMENTO, L.; LAMB, L.; HASS, M.; VONPOSER, G.; SCHAPOYAL, E.E. Antimicrobial activity of some *Hypericum* species. **Phytomedicine**, v.10, n.6, p. 511-516, 2003.

DEOKULE, S.S.; PATALE, M.W. Pharmacognostic study of *Abutilon indicum*, (L.) sweet. **Journal of Phytological Research**, v. 15, n. 1, p. 1-6, 2002.

DEWICK, P.M. **Medicinal Natural Products: a biosynthetic approach**. 2nd Ed. England: John Wiley & Sons LTD, 2002. 507p.

DEWICK, P.M. **The Mevalonate and methylerythritol phosphate pathways: terpenoids and steroids**. In: *Medicinal Natural Products: a biosynthetic approach*. 3ed, Chichester: John Wiley & Sons, 2009. Cap.5, p.187-306.

DEWICK, P.M. *Medicinal natural Product-A biosynthetic approach*. 3rd edition. Chichester: John Wiley & Sons Ltd., 2009. 546 pp.

DI STASI, L.C. **Química de produtos naturais: principais constituintes ativos**. In: DI STASI, L.C. (Ed.). **Plantas medicinais: arte e ciência – um guia de estudos multidisciplinar**. São Paulo: Ed. Universidade Paulista. 1996. p.109-127.

DI STASI, L.C.; HIRUMA-LIMA, C.A. **Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica**. 2. ed. São Paulo: Editora UNESP, 2002. 604 p. Il.

DI STASI, L.C.; SANTOS, E.M.G.; SANTOS, C.M. dos; HIRUMA, C.A. **Plantas medicinais na Amazônia** (Coleção Natura Naturata). São Paulo: Editora Unesp, 1989. 194p. il

DIAS FILHO, B.P.; NAKAMURA, C.V.; CORTEZ, D.A.C.; SANCHES, N.R.; PESSINI, G.L.; HOLETZ, F.B. Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.97, n.7, p.1027-1031, 2002.

DINDA, B.; DAS, N.; DINDA, S.; DINDA, M.; SILSARMA, I. The genus *Sida* L. – a traditional medicine: its ethnopharmacological, phytochemical and pharmacological data for commercial exploitation in herbal drugs industry. Review. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 176, p. 135–176, 2015.

RODRIGUES-DAS-DÔRES, R.G. Análise morfológica e fitoquímica da fava d'anta (*Dimorphandra mollis* Benth). 2007. Tese – Programa de Pós-graduação em Fitotecnia, Viçosa/MG. Universidade Federal de Viçosa. 375p.

DORNAS, W.C.; OLIVEIRA, T.T.D.; RODRIGUES, R.G.D.; SANTOS, A.F.D.; NAGEM, T.J. Flavonóides: potencial terapêutico no estresse oxidativo. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada (Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences)**, v. 28, n.3, p. 241-249, 2009.

DRAKE, A.J.; DRIESCHE, S.VAN DEN; SCOTT, H.M. HUTCHISON, G.R; SECKL, J.R.; SHARPE, R.M. Glucocorticoids amplify dibutyl phthalate-induced disruption of testosterone production and male reproductive development. **Endocrinology**, v. 11, n. 150, p. 5055-64, 2009.

DUARTE, J.; PEREZ-VIZCAINO, F.; ZARZUELO, A.; JIMENEZ, J.; TANARGO, J., Vasodilatador effects of quercetin in isolated rat vascular smooth muscle. **European Journal Pharmacology, Amsterdam**, v. 239, n. 3, p. 1-7, 1993.

ESTEVEES, A.A.; BORGES, S.V., ABRANTES, S.; SILVEIRA, M.G.; SOUZA, M.O. C.C. Validação em laboratório de método analítico para determinação do teor de adipato e ftalato de di-(2-etil-hexila) utilizados como plastificantes em filmes flexíveis de PVC. **Química Nova**, v. 30, n. 1, p. 219-223, 2007.

FARIAS, J.A. de. **Contribuição para a silvicultura de *Luehea divaricata* Martius et Zuccarini (açoita-cavalo)** – 2006. Dissertação. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal – Universidade Federal de Santa Maria. 70 f. il.

FATIMA, H.; PERVEEN, A.; QAMARUNNISA, S.; MUNIR, U. Pharmacognostic and phytochemical analyses of leaves and seed storage of *Abutilon pakistanicum* Jafri and Ali an endemic plant of Pakistan. **Pakistan Journal of Botany**, v. 46, n. 6, p. 2035-2041, 2014.

FELÍCIO, L.P.; SILVA, E.M.; RIBEIRO, V.; MIRANDA, C.T.; VIEIRA, I.L.B.F.; PASSOS, D.C.S.; FERREIRA, A.K.S.; VALE, C.R.; LIMA, D.C.S.; CARVALHO, S.; NUNES, W.B. Mutagenic potential and modulatory effects of the medicinal plant *Luehea divaricata* (Malvaceae) in somatic cells of *Drosophila melanogaster*: SMART/wing. **Genetics and Molecular Research**, v. 10, n. 1, p. 16-24, 2011.

FERNANDES, M.M.M. de S. **Estudo fitoquímico pioneiro de *Pavonia cancellata* (L.) - Malvaceae.** – 2013. Dissertação. Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, João Pessoa/PB - Universidade Federal da Paraíba. 95 p. il.

FESTER, K. **Plant alkaloids.** In: Encyclopedia of Life Sciences (ELS). John Wiley & Sons, Ltd: Chichester. 2010

FLORA DIGITAL. Disponível em: http://www.ufrgs.br/fitoecologia/florars/open_sp.php?img=8260. Acesso em: Agosto 2015.

FRANCO C.I.F.; MORAIS, L.C.S.L.; QUINTANS JUNIOR, L.J.; ALMEIDA, R.N.; ANTONIOLLI, A.R. CNS pharmacological effects of the hydroalcoholic extract of *Sida cordifolia* Linn leaves. **Journal of Ethnopharmacology**, Irlanda, v. 98, n. 3, p. 275-279, 2005.

FRANZOTTI, E.M.; SANTOS, C.V.F.; RODRIGUES, H.M.S.L.; MOURÃO, R.H.V.; ANDRADE, M.R.; ANTONIOLLI, A.R. Anti-inflammatory, analgesic activity and acute toxicity of *Sida cordifolia* L. (Malva-branca). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 72, p. 273-278, 2000.

Food and Drugs Administration (FDA): Code of Federal Regulations, Cap. 21, 300, 1991.
ROSSI, F. & ANDREAZZI, D. Resistência bacteriana: Interpretando o antibiograma. Ed. Atheneu. São Paulo, 2005.

FRYXELL, P.A. A New specie and other notes in the Malvaceae. **Brittonia**, v. 25, n. 2, 1997.

FURTADO, R.F.; LIMA, M.G.A.; BEZERRA, J.N.S.; ANDRADE NETO, M.; SILVA, M.G.V. Atividade larvicida de óleos essenciais sobre o *Aedes aegypti* Linnaeus (Diptera: Culicidae). **Neotropical Entomology**, v. 34, n. 5, p. 843-847, 2005.

GADKARI, P.V.; BALARAMAN, M. Catechins: Sources, extraction and encapsulation: a review. **Food and Bioproducts Processing**, v. 93, p. 122–138, 2015.

GALOTTA, A.L.Q.A. de; BOAVENTURA, M.A.D. Constituintes químicos da raiz e do talo da folha do açaí *Euterpe precatoria* Mart (Arecaceae). **Quimica Nova**, v.28, n.4, p.610-613, 2005.

GALVEZ, J., COELHO, G., CRESPO, M.E., CRUZ, T., RODRIGUEZ-CABEZAS, M.E., CONCHA, A., GONZALEZ, M., ZARZUELO, A., Intestinal antiinflammatory activity of morin on chronic experimental colitis in the rat. **Alimentary Pharmacology & Therapeutics**, v. 15, p. 2027-2039, 2001.

GANESAN, P.; KO, H.; KIM, I.; CHOIN, D. Recent trends in the development of nanophytobioactive compounds and delivery systems for their possible role in reducing oxidative stress in Parkinson's disease models. **International Journal of Nanomedicine**, v. 2015, n.10, p. 6757–6772 2015.

GAO, Z.; HUANG, K.; YANG, X.; XU, H Free radical scavenging and antioxidant activities of flavonoids extracted from the radix of *Scutellaria baicalensis* Georgi. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1472, p. 643-650, 1999.

GHOSAL, S.; CHAUHAN, R.B.P.S.; MEHTA, R. Alkaloids of *Sida cordifolia*. **Phytochemistry**, v. 14, p. 830-832, 1975.

GILL, A.; KAUR, R. Cytomorphological investigations of some species of *Abutilon* Mill. from Punjab. **Journal on New Biological Reports**, v. 4, n. 3, p. 219 – 227, 2015.

GIULIETTI, A.M.; HARLEY, R.; QUEIROZ, L.; WANDERLEY, M.G.; BERG, C. Biodiversity and conservation of plants in Brazil. **Conservation Biology**, v.24, n. 3, p.277-281, 2005.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N.P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Quimica Nova**, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.

GOMES, A.Y.S.; SOUZA, M.F.V.; CORTES, S.F.; LEMOS, V.S. Mechanism involved in the spasmolytic effects of a mixture of two triterpenes, cycloartenol and cycloeucalenol, isolated from *Herissantia tiubae* in the guinea-pig ileum. **Planta Medica**, Italia, v. 71, p. 1025-1029, 2005.

GOMES, R.A. **Abordagem fitoquímica e primeiros constituintes químicos de *Wissadula periplocifolia* (L.) C. Presl (Malvaceae)**. – 2007. Dissertação. Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, João Pessoa/PB – Universidade Federal da Paraíba. 109 p. il.

GOMES, R.A. **Estudo fitoquímico de *Sidastrun micranthum* (A. St.-Hil.)Fryxell e *Wissadula periplocifolia* (L.) C. Presl: uma contribuição à quimiotaxonomia da família Malvaceae**. – 2011a. Tese. Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, João Pessoa/PB – Universidade Federal da Paraíba. 120 f. il.

GOMES, R.A.; RAMIREZ, R.R.A.; MACIEL, J.K.S.; AGRA, M.F.; FALCÃO-SILVA,

V.S.; SIQUEIRA-JUNIOR, J.P.; SOUZA, M.F.V. Phenolic compounds from *Sidastrum micranthum* (A.St.-Hil.) Fryxell and evaluation of acacetin and 7,4'-dimethylisoscuteallarein as modulator of bacterial drug resistance. **Química Nova**, 34, p. 1385-1388, 2011b.

GOMES, R.A.; TELES, Y.C.F.; PEREIRA, F.de O.; RODRIGUES, L.A.de S.; LIMA, E.de O.; AGRA, M.de F.; SOUZA, M.de F.V.de. Phytoconstituents from *Sidastrum micranthum* (A. St.-Hil.) Fryxell (Malvaceae) and antimicrobial activity of pheophytin a **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 51, n. 4, 2015.

GORHAM, J. Glicinebetaine a major nitrogen-containing solute in the Malvaceae. **Phytochemistry**, v.43, n.2, p.367-393, 1996.

GOTTLIEB, O.R.; MENDES, P.H.; MAGALHÃES, M.T. Triterpenoids from *Byrsonima verbascifolia*. **Phytochemistry**, v. 14, n. 5, p. 1456-1456, 1975.

GOYAL, M.M.; RANI, K.K. *Sida veronicaefolia* Lam.: chemical components and taxonomical characteristics. **Pharmazie**, v. 44, n. 1, p.74, 1988.

GRAVE, F.; FRANCO, E.T.H.; PACHECO, J.P.; SANTOS, S.R. The growth in seedlings of açoita-cavalo (*Luehea divaricata*) in four different substrates [Crescimento de plantas jovens de açoita-cavalo (*Luehea divaricata*) em quatro diferentes substratos]. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 17, n. 4, p. 289-298, 2007.

GRINGS, M.; KRAPOVICKAS, A.; BOLDRINI, I.I. A new species of Pavonia (Malvaceae) from Southern Brazil. **Systematic Botany**, v. 36, n. 2, p. 419-423, 2011.

GUANATILAKA, A.A.L.; SOTHEESWARAN, S.; BALASUBRAMANIAN, S.; CHANDRASEKARA, A.I.; BADRA SRIYANI, H.T. Studies on medicinal plants of Sri Lanka. III. Pharmacologically important alkaloids of *Sida* species. **Planta Médica**, v. 39, 66-72, 1980.

GÜRBÜS, I.; ÜSTÜN, O.; YESILADA, E.; SEZİK, E.; KUTSAL, O. Antiulcerogenic activity of some plants used as folk remedy in Turkei. **Journal of Ethnofarmacology**, v. 88, p. 93-97, 2003.

HARBORNE, J.B. **Recent advances in the ecological chemistry of plant terpenoids.** In: Ecological chemistry of plant terpenoids. Ed. Oxorford: Claredon Press. 1991, 399-426.

HARTMANN, M.A. Plant sterols and the membrane environment. **Trends in Plant Science**, v. 3, n. 5, p.170-175, 1998.

HEPCY KALARANI, D.; DINAKAR, A.; SENTHILKUMAR, N. Evaluation of laxative activity of an ethanolic extract of *Alangium salvifolium* and *Pavonia zeylanica* in rats. **International Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 3, n. 4, p. 647-649, 2012a.

HEPCY KALARANI, D.; DINAKAR, A.; SENTHIL KUMAR, N. Antidiabetic activity of ethanolic extracts of *Alangium salvifolium* and *Pavonia zeylanica* in streptozotocin

induced diabetic rats. **International Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 4, n. 5, p. 337-339, 2012b.

HEPCY KALARANI, D.; DINAKAR, A.; SENTHIL KUMAR, N. Antidiabetic, analgesic and anti-inflammatory activity of aqueous extracts of stem and leaves of *Alangium salvifolium* and *Pavonia zeylanica*. **International Journal of Drug Development & Research**, v. 4, n. 4, p. 298-306, 2012c.

HERMAN, D.L.; SMITH, F.H. Effect of bound gossypol on the absorption of iron by rats. **The Journal of Nutrition**, v. 103, p. 882-889, 1973.

HERRERA-MEZA, S.; MARTÍNEZ, A.J.; SÁNCHEZ-OTERO, M.G.; MENDOZA-LÓPEZ, M.R.; GARCÍA-BARRADAS, O.; ORTIZ-VIVEROS, G.R.; OLIART-ROS, R.M. Fatty acid composition and some physicochemical characteristics of *Sterculia apetala* seed oils. **Grasas y Aceites**, v. 65, n. 3, p. 1-7, 2014.

HIGUCHI, C.T.; PAVAN, F.R.; LEITE, C.Q.F.; SANNOMIYA, M.; VILEGAS, W.; LEITE, S.R.A.; SACRAMENTO, L.V.S.; SATO, D.N. Triterpenes and antitubercular activity of *Byrsonima crassa*. **Química Nova**, v. 31, n. 7, p. 1719-1721, 2008.

HMEDS, Z.; ZMI, Y.N.-UL-H.; ALIK, A. A new pentacyclic triterpene from *Abutilon pakistanicum*. **Journal of Natural Products**, v. 53, n. 5, p. 1342-1344, 1990.

HOLLMAN, P. C. H.; HERTOOG, M. G. L.; KATAK, M. B., Analysis and health effects of flavonoids. **Food Chemistry, Amsterdam**, v. 57, n. 1, p. 43-46, 1996.

HORST, H. **Análise química e biológica dos constituintes fenólicos de *Croton celtidifolius* Baill.** 2008. Programa de Pós-Graduação em Química – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis/SC.

HOSTETTMANN, K.; QUEIROZ, E.F.; VIEIRA, P.C. **Princípios ativos de plantas superiores.** EdUFSCar (Editora da Universidade Federal de São Carlos), São Carlos/SP, 2003.

HUANG, K. C. **The pharmacology of chinese herbs.** Boca Raton, CRC Press, Fl. 388 p. 1993.

HUSSAIN, M.; ZAHRA, D.N.; MALIK, A.; EJAZ, A.; SIDDIQUI, H.; CHOUDHARY, M.I.; AHMED, Z. Flavonoids C-glycosides from *Abuliton pakistanicum*. **Heterocycles**, v. 75, p. 645-653, 2008.

Indian medicinal plants: a compendium of 500 species. 3rd ed. Orient Longman Ltd; 2001. P.100-103.

IFST – INSTITUTE OF FOOD SCIENCE & TECHNOLOGY Phytosterol esters (plant sterol and stanol esters). 2009. Disponível em: < http://www.ifst.org/science_technology_resources/for_food_professionals/information_statements/19514/Phytosterol_Esters_%28plant_sterol_and_stanol_esters%29>. Acesso em: 01 de nov. 2009.

ITO, R.; YAMAMOTO, A.; KODAMA, S.; KATO, K.; YOSHIMURA, Y.; MATSUNAGA, A.; NAKAZAWA, H. A study on the change of enantiomeric purity of catechins in green tea infusion. *Food Chemistry*, v. 83, n. 4, p. 563-568, 2003.

JANICKE, B.; ONNING, G.; OREDSSON, S.M. Differential effects of ferulic acid and p-coumaric acid on S phase distribution and length of S phase in the colonic cell line Caco-2. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, v. 53, n. 17, p. 6658-6665, 2005.

JOHNSTON, G.A.R. Flavonoid nutraceuticals and ionotropic receptors for the inhibitory neurotransmitter GABA. *Neurochemistry International*, v. 89, p. 120-125, 2015.

JAWOREK, K.; CZAPLICKA, M. Determination of phthalates in polymer materials – comparison of GC/MS and GC/ECD Methods. *Polímeros*, v. 23, n. 6, p. 718-724, 2013.

JU, W.; WANG, X.; SHI, H.; CHEN, W.; BELINSKY, S.A.; LIN, Y. A critical role of luteolin-induced reactive oxygen species in blockage of tumor necrosis factor-activated nuclear factor- κ B pathway and sensitization of apoptosis in lung cancer cells. *Molecular Pharmacology*, v. 71, n. 5, p. 1381-1388, 2007.

KCHAOU, M.; BEN SALAH, H.; MHIRI, R.; ALLOUCHE, N. Anti-oxidant and anti-acetylcholinesterase activities of *Zygophyllum album*. *Bangladesh Journal of Pharmacology*, v. 11, p. 54-62, 2016.

KHADABADI, S.S.; BHAJIPALE, N.S. A review on some important medicinal plants of *Abutilon spp.* *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences (RJPBCS)*, v. 1, n. 4, p. 718-729, 2010.

KHADABADI, S.S.; BHAJIPALE, N.S. Effect of *Abutilon indicum* extract on female libido in rats. *International Journal of PharmTech Research*, v. 3, n. 3, p. 1652-1659, 2011.

KHALEEQR, R.; ARSHIYA, S.; SHAFEEQR, R. *Gossypium herbaceum* LINN: an ethnopharmacological review. *Journal of Pharmaceutical and Scientific Innovation*, v. 1, n. 5, p. 1-5, 2012.

KIM, J-D.; LIU, L.; GUO, W.; MEYDANE, M. Chemical structure of flavonols in relation to modulation of angiogenesis and immune-endotelial cell adhesion. *Journal of Nutritional Biochemistry*, v. 17, p. 165-176, 2006.

KIM, J.H.; NONAKA, G.-I.; FUJIEDA, K.; UEMOTO, S. Anthocyanidin malonyl glucosides in flowers of *Hibiscus syriacus*. *Phytochemistry*, v. 28, n. 5, p. 1503-1506, 1989.

KOFINK, M.; PAPAGIANNPOULOS, M.; GALENSA, R. Enantioseparation of catechin and epicatechin in plant food by chiral capillary electrophoresis. *European Food Research and Technology*, v. 225, n. 3, p. 569-577, 2007.

KOTAN, R.; KORDOLI, S.; CAKIR A. Screening of antibacterial activities of twentyone oxygenated monoterpenes. *Journal of Biosciences* v. 62, n.6, p. 507-513, 2007.

KOTOWICZ, C.; CATALIAN, C. A.N.; GRIFFIN, C.L.; HERZ, W. Triterpenes and other constituents of *Nassaouvia axillaris*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v.33, p. 737-742, 2005.

KRAPOVICKAS, A. **Malvaceae**. In: Bacigalupo, N.M. (ed.). **Flora ilustrada de Entre-Ríos** vol. 6, p. 292 – 333. Buenos Aires: Colección Científica del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, 2005.

KRISANAPUN, C.; LEE, S.-H.; PEUNGVICHA, P.; TEMSIRIRIRKKUL, R.; SEUNG, J.B. Antidiabetic activities of *Abutilon indicum* (L.) sweet aremediated by enhancement of adipocyte differentiation and activation of the GLUT1 promoter. **Hindawi Publishing Corporation-Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2011, p. 1-9, 2011.

KUESTER, D.; LIPPERT, H.; ROESSNER, A.; KRUEGER, S. The cathepsin family and their role in colorectal cancer. **Pathology – Research and Practice**, v. 204, p. 491-500, 2008.

KUMAR, S.; PANDEY, A.K. Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. **The Scientific World Journal**, v. 2013, p. 1-16, 2013.

KUMAR, S.P.; SINGH, S.S.; SINGH, N.P.; MAYUR, P. In-vitro antioxidant activity of *Gossypium herbaceum* Linn. **International Research Journal of Pharmacy**, v. 2, n.7, p. 166-170, 2011.

LANE, H.C.; SCHUSTER, M.F. Condensed tannins of cotton leaves. **Phytochemistry**, v. 20, p. 425-427, 1981.

LATTAR, E.; GALATI, B.G.; FERRUCCI, M.S. Comparative study of anther development, microsporogenesis and microgametogenesis in species of *Corchorus*, *Heliocarpus*, *Luehea* and *Triumfetta* (Malvaceae: Grewioideae) from South America. **New Zealand Journal of Botany**, v. 52, n. 4, p. 1-17, 2014.

LATTAR, E.; GALATI, B.G.; FERRUCCI, M.S. Ultrastructural study of pollen and anther development in *Luehea divaricata* (Malvaceae, Grewioideae) and its systematic implications: role of tapetal transfer cells, orbicules and male germ unit. **Flora**, v. 207, p. 888– 894, 2012.

LAW, M. Plant sterol and stanol margarines and health. **British Medical Journal**, v. 30, p. 861-864, 2000.

LEAL, R.S. **Estudo etnofarmacológico e fitoquímico das espécies medicinais *Cleome spinosa* Jacq, *Pavonia varians* Moric e *Croton cajuara* Benth.** 2008. Tese. – Programa de Pós-Graduação em Química – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal/RN. 190p. II.

LI, L.; HUANG, X.; SATTLER, I.; FU, H.; GRABLEY, S.; LIN, W. Structure elucidation of a new friedelane triterpene from the mangrove plant *Hibiscus tiliaceus*. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 44, p. 624–628, 2006.

LIU, G.Z.; CH'IU-HINTON, K.; CAO, J.A.; ZHU, C.X.; LI, B.Y. Effects of K salt or a potassium blocker on gossypol-related hypokalemia. **Contraception**, v. 37, n. 2, p. 111-117, 1988.

LÔBO, L. T.; CASTRO, K. C.F.; ARRUDA, M. S. P.; SILVA, M. N.; ARRUDA, A.C.; MULLER, A. H.; ARRUDA, G. M.S.; SANTOS, A.S. Potencial alelopático de catequinas de *Tachigali myrmecophyla* (Leguminosea). **Química Nova**, v. 31, n.3, p. 493-497, 2008.

LOPES, E.C. et al. Avaliação das atividades biológicas de *Luehea divaricata*. In: Semana Acadêmica de Estudos Farmacêuticos, jul.1990, Porto Alegre. **Resumos. (UFRGS)**, v. 1, n.1, p.10, 1990.

LOPES, L.G.; TAVARES, G.L.; THOMAZ, L.D.; SABINO, J.R.; VIEIRA, P.C.; BORGES, W. de S. Secondary metabolites from *Pavonia multiflora* (Malvaceae). **Planta Medica**, v. 80, n.10, p. 778, 2014.

LOPES, L.G.; TAVARES, G.L.; THOMAZ, L.D.; et al. Taraxerol 4-methoxybenzoate, an *in vitro* inhibitor of photosynthesis isolated from *Pavonia multiflora* A. St-Hil. (Malvaceae). **Chemistry & Biodiversity**, v. 13, n. 3, p. 284-292, 2016.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Plantarum: Nova Odessa, SP. 1988.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas Medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda, 2002.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil**. 2ª ed. São Paulo, SP: Editora Medfarma. 2008. 544p. Il.

MACHADO, H.; NAGEM, T.J.; PETERS, V.M.; FONSECA, C.S.; OLIVEIRA, T.T. Flavonóides e seu potencial terapêutico. **Boletim do Centro de Biologia da Reprodução**, Juiz de Fora, v. 27, n. 1/2, p. 33-39, 2008.

MAGANHA, E.G.; HALMENSCHLAGER, R.D.C.; ROSA, R.M.; HENRIQUES, J.A. P.; RAMOS, A.L.L.P.; SAFFI, J. Pharmacological evidences for the extracts and secondary metabolites from plants of the genus *Hibiscus*. **Food Chemistry**, v. 118, p. 1–10, 2010.

MAHATO, S.B.; KUNDU, A.P. ¹³C NMR Spectra of pentacyclic triterpenoids – a compilation and some salient features. **Phytochemistry**, v. 37, p. 1517-1575, 1994.

MARASCIULO, C., CAVINATTO, S., DACOL, I. I., MOREL, A. F. **Análises de toxicidade aguda em camundongos e citotoxicidade frente a *Artemia salina* (TSA) de *Pavonia distinguenda* ST. Hill e Naud**. In: 29º Reunião da Sociedade Brasileira de Química. Águas de Lindóia, 2006.

MARCHESE, R.M. **Atividade de constituintes micromoleculares de *Renealmia alpinia* (Rottb.) Mass (Zingiberaceae) sobre *Leishmania chagassi***. 2009. Dissertação.

Programa de Pós – graduação em Ciências da Saúde, Brasília/DF, 2009. Universidade de Brasília.

MARQUES, E.F. **Estudos de produtos naturais e derivados sintéticos buscando inibidores seletivos das catepsinas L e V.** 2011. Dissertação. Programa de Pós – graduação em Química, São Carlos/SP, 2011. Universidade Federal de São Carlos.

MARTÍNEZ-FLOREZ, S.; GONZÁLEZ-GALLEGO, J.; CULEBRAS, J. M.; TUÑÓN, M. J., Revisión: Los Flavonoids: propiedades y acciones antioxidantes. **Nutrición hospitalaria: organo oficial de la Sociedad Española de Nutrición Parenteral y Enteral, Madrid**, v. 17, n. 6, p. 271-278, 2002.

MASSON, N.C.; GIBOTTI, A.; CORTEZ, E.A.; KONDRAT, B.R.; BENVENUTI, F.F. **Análise química e estudo *in vitro* da atividade antifúngica do óleo essencial de candeia (*E. erypappus*) sobre a micose (*T. pedis*).** In: 29ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de química, 2006, Águas de Lindóia. SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA 29ª REUNIÃO ANUAL, 2006.

MAVAR-MANGA, H.; HADDAD, M.; PIETERS, L.; BACELLI, C.; PENGE, A.; LECLERCQ, J.Q. Anti-inflammatory compounds from leaves and root bark of *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 115, p. 25-29, 2008.

McMURRY, J. **Química orgânica.** 6ª edição, Thomson: São Paulo, 2005.

MEUNIER, S.; HANÉDANIAN, M.; DESAGE-EL MURR, M.; NOWACZYK, S.; LE GALL, T.; PIN, S.; RENAULT, J.-P.; BOQUET, D.; CRÉMINON, C.; MIOSKOWSKI, C.; TARAN, F. High-throughput evaluation of antioxidant and pro-oxidant activities of polyphenols with thymidine protection assays. **ChemBioChem**, v. 6, p. 1234 – 1241, 2005.

MIDDLETON, E. JR.; KANDASWAM, C.; THEOHARIDES, T. C., The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. **Pharmacological Reviews**, v. 53, p. 673-751, 2000.

MILLS, S.; BONE, K. Principles and practice of phytotherapy: modern herbal medicine Edinburgh: Churchill Livingstone, UK. 2000. 643 p. IL.

MING, L.C.; FERREIRA, M.I.; GONÇALVES, G.G. Pesquisas agronômicas das plantas medicinais da Mata Atlântica regulamentadas pela ANVISA. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, Botucatu**, v.14, n.esp., p.131-137, 2012.

MINISTÉRIO DA SAÚDE - Secretaria de Atenção à Saúde - Departamento de Atenção Básica. **Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS - PNPIC-SUS.** Brasília: Ministério da Saúde, 2006. 92p.

MOJIMINIYI, F.B.O.; DIKKO, M.; MUHAMMAD, B.Y.; OJOBOR, P.D.; AJAGBONNA, O.P.; OKOLO, R.U.; IGBOKWE, U.V.; MOJIMINIYI, U.E.; FAGBEMI, M.A.; BELLO, S.O.; ANGA, T.J. Antihypertensive effect of an aqueous extract of the calyx of *Hibiscus sabdariffa*. **Fitoterapia**, v. 78, p. 292–297, 2007.

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

MONTOVANI, P.A.B.; GONÇALVES, J. A.C.; MORAES, A.; FIORENTINI, F.; MEINERZ, C.; SHIKIDA, S. **Atividade antimicrobiana do extrato de açoita-cavalo (*Luehea sp.*)**. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v.4, n.2, p.3731-3735, 2009.

MOREAU, R.A.; WHITAKER, B.D.; HICKS, K.B. Phytosterols, phytostanols, and their conjugates in foods: structural diversity, quantitative analysis, and health-promoting uses. **Progress in Lipid Research**, v. 41, p. 457–500, 2002.

MOSTARDEIRO, C.P.; MOSTARDEIRO, M.A.; MOREL, A.F.; OLIVEIRA, R.M.; MACHADO, A.K.; LEDUR, P.; CADONÁ, F.C.; SILVA, U.F da; CRUZ, I.B.M. da. The *Pavonia xanthogloea* (Ekman, Malvaceae): phenolic compounds quantification, antioxidant and cytotoxic effect on human lymphocytes cells. **Pharmacognosy Magazine**, v. 10, suppl. 3, p. S630–S638, 2014.

NAKATANI, M.; FUKUNAGA, Y.; HASE, T. Aliphatic compounds from *Hibiscus rosa-sinensis*. **Phytochemistry**, v. 25, n. 2, p. 449-452, 1986.

NAKATANI, M.; MATSUOKA, K.; UCHIO, Y.; HASE, T. Two aliphatic enone ethers from *Hibiscus rosa-sinensis*. **Phytochemistry**, v. 35, n. 5, p. 1245-1247, 1994.

NARENDER, S.K.; KUMAR, D.; KUMAR, V. Antinociceptive and anti-inflammatory activity of *Hibiscus tiliaceus* leaves. **International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research**, v. 1, n. 1, p. 15-17, 2009.

NASCIMENTO, J.C.; LAGE, L.F.O.; CAMARGOS, C.R.D.; AMARAL, J.C.; COSTA, L.M.; SOUSA, A.N.de; OLIVEIRA, F.Q. Determinação da atividade antioxidante pelo método DPPH e doseamento de flavonóides totais em extratos de folhas da *Bauhinia variegata* L. Antioxidant determination activity by DPPH method and assay for total flavonoids in leaves extracts of *Bauhinia variegata* L. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 92, n. 4, p. 327-332, 2011.

NAZ, S.; AHMAD, S.; RASOOL, S.A.; SAYEED, S.A.; SIDDIQI, R. Antibacterial activity-directed isolation of compounds from *Onosma hispidum*. **Microbiological Research**, p. 1-6, 2005.

NEWMAN, D.J.; CRAGG, G.M. Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010. **Journal of Natural Products**, Cincinnati, v. 75, p. 311 – 335, 2012.

NKUO-AKENJI, T.; NDIP, R.; MCTHOMAS, A.; FRU, E.C. Anti-Salmonella activity of medicinal plants from Cameroon. **Central African Journal of Medicine**, v. 47, n. 6, p. 155-158, 2001.

NOSSACK, A.C.; VASCONCELOS, E.C.; VILEGAS, J.H.Y.; LANÇAS, F.M.; ROQUE, N.F. Quantitative analysis of triterpenes friedelin and friedelan-3-ol in

Maytenus aquifolium by HRGC and HT-CGC. **Phytochemical Analysis**, v. 11, p. 243-246, 2000.

NUNES, C.dosR. **Estudos químicos da atividade antineoplásica de *Annona muricata* L.** 2015. Tese. Programa de Pós – graduação em Química de alimentos, Campos dos Goytacazes/RJ, 2015. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro.

NUNES, X.P.; MAIA, G.L.de A.; ALMEIDA, J.R.G.da S.; PEREIRA, F.de O.; LIMA, E.deO. Antimicrobial activity of the essential oil of *Sida cordifolia* L. **Revista Brasileira de Farmacognosia/Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 16 (Supl.), p. 642-644, 2006.

ODIGIE, I.P.; ETTARH, R.R.; ADIGUN, S.A. Chronic administration of aqueous extract of *Hibiscus sabdariffa* attenuates hypertension and reverses cardiac hypertrophy in 2K-1C hypertensive rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 86, p. 181–185, 2003.

OLALEYE, M.T. Cytotoxicity and antibacterial activity of Methanolic extract of *Hibiscus sabdariffa*. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 1, n. 1, p. 009-013, 2007.

OLEA, R.S.G.; ROQUE, N.F. Análise de misturas de triterpenos. **Química Nova**, v.13, n. 4, p.278-281, 1990.

OLIVEIRA, A.M.F. de; PINHEIRO, L.S.; PEREIRA, C.K.S.; MATIAS, W.N.; GOMES, R.A.; CHAVES, O.S.; SOUZA, M.de F.V. de; ALMEIDA, R.N. de; ASSIS, T.S. de. Total phenolic content and antioxidant activity of some malvaceae family species. **Antioxidants**, v. 1, n. 33-43, 2012.

OLIVEIRA, M.L.G. **Estudo fitoquímico de folhas de *Maytenus gonoclada* Martius (Celastraceae) e obtenção de derivados nitrogenados da 3-oxo-friedelano.** 2007 – Dissertação. Programa de Pós-graduação em Química, Belo Horizonte/MG. Universidade Federal de Minas Gerais.

OTERO, R.; NÚÑEZ, V.; BARONA, J.; FONNEGRA, R.; JIMENEZ, S.L.; OSORIO, R. G.; SALDARRIAGA, M.; DÍAZ, A. Snakebites and ethnobotany in the Northwest Region of Colômbia. Part III: Neutralization of the haemorrhagic effect of *Brothopsatrox* venom. **Journal of Ethnopharmacology**, v.37, p. 233-241, 2000.

PALERMO, C.; JOYCE, J.A. Cysteine cathepsin proteases as pharmacological targets in cancer. **Cell Press**, v. 29, p. 22-27, 2007.

PARANJAPE, A.N.; MEHTA, A.A. Investigation into the mechanism of action of *Abutilon indicum* in the treatment of bronchial asthma. **Global Journal of Pharmacology**, v. 2, n. 2, p. 23 – 30, 2008.

PATHAK, D.; PATHAK, K.; SINGLA, A. K., Flavonoids as medicinal agents: recent advances. **Fitoterapia, Amsterdam**, v. 57, n. 5, p. 371-389, 1991.

PATOČKA, J. Biologically active pentacyclic triterpenes and their current medicine signification. **Journal of Applied Biomedicine**, v. 1, p. 7-12, 2003.

PEREIRA, R.J.; CARDOSO, M.G. Vegetable secondary metabolites and antioxidants benefits/Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 3, n.4: p. 146-152, 2012.

PETERSON, J.; DWYER, J. Flavonoids: dietary occurrence and biochemical activity. **Nutrition Research**, v.18, n.12, p.1995-2018, 1998.

PFALLER, M.A.; DIEKEMA, D.J.; GIBBS, D.L.; NEWELL, V.A.; NAGY, E.; DOBIASOVA, S.; et al. *Candida krusei*, a multidrug-resistant opportunistic fungal pathogen: geographic and temporal trends from the Artemis Disk antifungal surveillance program, 2001 to 2005. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 46, n. 2, p. 515-521, 2008.

PIEME, C.A.; PENLAP, V.N.; NGOGANGA, J.; COSTACHE, M. *In vitro* cytotoxicity and antioxidant activities of five medicinal plants of Malvaceae family from Cameroon. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 29, p. 223–228, 2010.

PINTO, A.C.; SILVA, D.H.S.; BOLZANI, V.S.; LOPES, N.P.; EPIFANIO, R. A. Produtos Naturais: atualidade, desafios e perspectivas. **Química Nova**, 25; n. 1, p. 45-61, 2002

PLANTAMED. **Família: Tiliaceae Juss., 1789. Algumas Espécies do Gênero: Luehea** F.W. Schmidt, 1793. Disponível em: [dhttp://www.plantamed.com.br/plantaservas/gêneros/Luehea.htm](http://www.plantamed.com.br/plantaservas/gêneros/Luehea.htm).; <http://www.tropicos.org/NameSearch.aspx?name=Luehea&commonname=>. Acesso em: março 2016.

PORT'S, P. da S.; CHISTÉ, R.C.; GODOY, H.T.; PRADO, M.A. The phenolic compounds and the antioxidant potential of infusion of herbs from the Brazilian Amazonian region. **Food Research International**, v. 53, p. 875–881, 2013.

PRADO, C.C.; ALENCAR, R.G.; OLIVEIRA, L.M.G.; FREITAS, M.R.F.; SILVA, L.N.M.; NOGUEIRA, J.C.M.; PAULA, J.R.; BARA, M.T.F. Estudo farmacognóstico da raiz de *Sida cordifolia* L Malvaceae. **Revista Eletrônica de Farmácia** (Suplemento), v. 2, n. 2, p. 161-163, 2005.

PRITAM S. J.; SANJAY B. B. Preliminary phytochemical screening of woody stem extracts of *Abelmoschus manihot* and *Wrightia tinctoria*. **Internationale Pharmaceutica Scientia**, v. 1, n. 3, p. 59-63, 2011.

QIAN, S.-Z.; WANG, Z.-G. Gossypol: a potential antifertility agent for males. **Annual Reviews of Pharmacology and Toxicology**, v. 24, p. 329-360, 1984.

QUEIROGA, C.L.; SILVA, G.F.; DIAS, P.C.; POSSENTI, A.; CARVALHO, J.E. Evaluation of the antiulcerogenic activity of friedelan-3 β -ol and friedelin isolated from *Maytenus ilicifolia* (Celastraceae). **Journal Ethnopharmacol**, v. 72, n. 3, p. 465-468, 2000.

RATES, S.M.K. Plants as source of drugs. **Toxicon**, Oxford, v. 39, p. 603–613, 2001.

REITZ, R.; KLEIN, R.N.; REIS, A. **Projeto madeira do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: SUDESUL, Governo do Rio grande do Sul, Herbário Barbosa Rodrigues, 1988. 525 p.

RICE-EVANS, C.A.; MILLER, N.J.; BOLWELL, G.B.; BRAMLEY, P.M.; PRIDHAM, J.B. The relative antioxidant activities of plant derived polyphenolic flavonoids. **Free Radical Research, Basingstoke**, v. 22, n. 4, p. 375-383, 1995.

ROCHA, E. de O. **Avaliação dos constituintes fenólicos e voláteis, atividade antioxidante e antimicrobiana de *Campomanesia pubescens* (DC.) O. Berg (Gabioba)**. 2011. Dissertação. – Programa de Pós-Graduação em Química, Uberlândia/MG. Universidade Federal de Uberlândia, 80 f.

RODRIGUES, C.M.; RINALDO, D.; SANTOS, L.C.dos; MONTORO, P.; PIACENTE, S.; PIZZA, C.; HIRUMA-LIMA, C.A.; BRITO, A.R.M.S.; VILEGAS, W. Metabolic fingerprinting using direct flow injection electrospray ionization tandem mass spectrometry for the characterization of proanthocyanidins from the barks of *Hancornia speciosa*. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 21, n. 12, p. 1907-1914, 2007.

ROSA, R.L. da; NARDI, G.M.; JANUÁRIO, A.G. de F.; BOÇOIS, R.; BAGATINI, K.P.; BONATTO, S.J.R.; PINTO, A. de O.; FERREIRA, J.R.N.; MARIANO, L.N.B.; NIERO, R.; IAGHER, F. Anti-inflammatory, analgesic, and immunostimulatory effects of *Luehea divaricata* Mart. & Zucc. (Malvaceae) bark. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 50, n. 3, p. 599-610, 2014.

ROUHI, A. M. Rediscovering natural products. **Chemical & Engineering News**, v. 81, n. 41, p. 77-91, 2003.

ROZZA, A.L.; HIRUMA-LIMA, C.A.; TANIMOTO, A.; PELLIZZON, C.H. Morphologic and pharmacological investigations in the epicatechin gastroprotective effect. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2012, p. 1-8, 2012.

RUDKOWSKA, Iwona. Plant sterols and stanols for healthy ageing. **Maturitas, Amsterdam**, v. 66, n. 2, p. 158-162, 2010.

SALVAMANI, S.; GUNASEKARAN, B.; SHAHARUDDIN, N.A.; AHMAD, S.A.; SHUKOR, A.Y. Antiatherosclerotic effects of plant flavonoids. **BioMed Research International**, v. 2014, p. 1-11, 2014.

SANTAMARIA, I.; VELASCO, G.; CAZORLA, M.; FUEYO, A.; CAMPO, E.; LOPEZ-OTIN, C. Cathepsin L2, a novel human cysteine proteinase produced by breast and colorectal carcinomas. **Cancer Research**, v. 58, p. 1624-1630, 1998.

SANTOS, A.R.dos; PINHEIRO, A.C.; SODERO, A.C.R.; CUNHA, A.S.da; PADILHA, M.C.; FONTES, P.M.deS.eS.P.; VELOSO, M.P.; FRAGA, C.A.M. Atropoisomerismo: o efeito da quiralidade axial em substâncias bioativas. **Química Nova**, v. 30, n. 1, p. 125-135, 2007.

SANTOS FILHO, L.; SANTOS, I.B.; ASSIS, A.M.L.; XAVIER, D.E. Determinação da produção de metalo-beta-lactamase em amostras de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas em João Pessoa, Paraíba. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 38, n. 4, p. 291-296, 2002.

SANTOS, M.H.F. **Estudo químico e avaliação biológica das espécies *Byrsonima coccolobifolia* Kunth. (Malpighiaceae) e *Eugenia malaccensis* L. (Myrtaceae)/ Chemical study and biological evaluation of species *Byrsonima coccolobifolia* Kunth. (Malpighiaceae) and *Eugenia malaccensis* L. (Myrtaceae).** – 2013. Dissertação. Programa de Pós-graduação em Química (Regional de Catalão-RC) – Universidade Federal de Goiás

SANTOS, S.N. **Bioprospecção de biomoléculas isoladas de fungos endofíticos de *Combretum leprosum* do bioma Caatinga.** 2012. Tese. Programa de Pós-graduação em Microbiologia Agrícola – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz – Universidade de São Paulo.

SARKAR, D.; FISHER, P.B. Molecular mechanisms of aging-associated inflammation. **Cancer Letters**, v. 236, p.13–23, 2006.

SARTORI, L.R.; FERREIRA, M.S.; PERAZZO, F.F.; LIMA, L.M.; CARVALHO, J.C.T. Atividade antiinflamatória do granulado de *Calendula officinalis* L. e *Matricaria recutita*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 13, n. 1, p. 17-19, 2003.

SAWER, I.K.; BERRY, M.I.; FORD, J.L. The killing effect of cryptolepine on *Staphylococcus aureus*. **Letters in Applied Microbiology**, v. 40, n.1, p.24-29. 2005.

SCHMID, K.M.; PATTERSON, G.W. Distribution of cyclopropenoid fatty acids in malvaceous plant parts. **Phytochemistry**, v. 27, n. 9, p. 2831-2834, 1988.

SCHNEIDER, A.; MÜHLEN, C.V. Caracterização cromatográfica de compostos orgânicos presentes nos resíduos sólidos provenientes de indústria de reciclagem de papel e sua aplicação na produção de briquetes de carvão vegetal. **Química Nova**, v.34, n.9, p. 1556-1561, 2011.

SCHULTZ, A.R. **Introdução ao Estudo da Botânica Sistemática.** 3.ed. Porto Alegre, Globo, 1968.

SELVAN, V.T.; KAKOTI, B.B.; GOMATHI, P.; KUMAR, D.A.; ISLAM, A.; GUPTA, M.; MAZUMDER, U.K. Cytotoxic and antitumor activities of *Pavonia odorata* against erlich's ascites carcinoma cells bearing mice. **Pharmacology on line**, v. 2, p. 453-477, 2007.

SEPEHRI, H.; ROGHANI, M.; HOUDEBINE, M.L. Oral administration of pectin-rich plant extract enhances C3 and C4 complement concentration in woman colostrum. **Reproduction Nutrition Development**, v. 38, n. 3, p. 255-260, 1998.

SHARMA, P.V.; AHMAD, Z.A. Two sesquiterpene lactones from *Abutilon indicum*. **Phytochemistry**, v. 28, n. 12, p. 3525, 1989.

SILVA, A.C.O. da; OLIVEIRA, A.F.M. de; SANTOS, D.Y.A.C. dos; SILVA, S.I. da. An approach to chemotaxonomy to the fatty acid content of some Malvaceae species. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 38, p. 1035–1038, 2010a.

SILVA, D.A.; ALVES, V.G.; FRANCO, D.M.M.; RIBEIRO, L.C.; SOUZA, M.C.; KATO, L.; CARVALHO, J.E.; KOHN, L.K.; OLIVEIRA, C.M.A.; SILVA, C.C. Antiproliferative activity of *Luehea candicans* Mart. et Zucc. (Tiliaceae). **Natural Products Research**, v. 26, p. 364-369, 2012.

SILVA, D.A.; COSTA, D.A.; SILVA, D.F.; SOUZA, M.F.V.; AGRA, M.F.; MEDEIROS, I.A.; BARBOSA-FILHO, J.M.; BRAZ-FILHO, R. Flavonóides glicosilados de *Herissantia tiubae* (K. Schum) Brizicky (Malvaceae) e testes farmacológicos preliminares do canferol 3,7-di-O- α -L-ramnopiranosídeo. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 1, p. 23-29, 2005.

SILVA, D.A.; SILVA, T.M.S.; LINS, A.C.S.; COSTA, D.A.; CAVALCANTE, J.M.S.; MATIAS, W.N.; SOUZA, M.F.V.; BRAZ FILHO, R. Constituintes Químicos e Atividade Antioxidante de *Sida galheirensis* Ulbr. (Malvaceae). **Química Nova**, v. 29, n. 06, p. 1250-1256, 2006a.

SILVA, D.A. da. **Estudo químico e avaliação de atividade antifúngica e antiproliferativa da espécie *Luehea candicans* Mart et Zucc. (Tiliaceae).** – 2004. Dissertação. Programa de Pós-Graduação em Química, Maringá/PR. Universidade Estadual de Maringá. 137 p. il.

SILVA, E.P. da. Novos Alquenil benzofuranos e perfil de ácidos graxos presentes nas sementes e folhas de *Tapirira guianensis* (Anacardiaceae). 2011 – Dissertação. Programa de Pós-graduação em Química, Salvador/BA. Universidade Federal da Bahia.

SILVA, F.S. **Investigação da atividade antineoplásica de substâncias puras isoladas de plantas do semiárido Brasileiro e derivados sintéticos.** 2007. Dissertação. Programa de Pós-graduação em Biotecnologia, Feira de Santana/BA. – Universidade Estadual de Feira de Santana.

SILVA, F. de O.; OLIVEIRA, Í.R. de; SILVA, VASCONCELOS, M.G. de; BRAZ-FILHO, R. Constituintes químicos das folhas de *Senna spectabilis* (DC) Irwin & Barneby var. Excelsa (Schrad.) Irwin & barneby. **Química Nova**, v. 33, n. 9, p. 1874-1876, 2010b.

SILVA, G.C.; PEREIRA, A.; REZENDE, B.; SILVA, J.da; CRUZ, J.; SOUZA, M.de; GOMES, R.; TELES, Y.; CORTES, S.; LEMOS, V. Mechanism of the antihypertensive and vasorelaxant effects of the flavonoid tiliroside in resistance arteries. **Planta Medica**, v. 79, p. 1003-1008, 2013.

SILVA, M.T. M.; OLIVEIRA, J.S.; JALES, K.A. Avaliação da qualidade físico-química de polpas de frutas congeladas comercializadas no interior do Ceará. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas. Set/Dez de 2006.

SILVA, R.L.; MELO, G.B.de; MELO, V.A.de; ANTONIOLLI, Â.R.; MICHELLONE, P.R.T.; ZUCOLOTO, S.; PICINATO, M.A.N.C.; FRANCO, C.F.F.; MOTA, G.de A.; CASTRO E SILVA, O.de. Effect of the aqueous extract of *Sida cordifolia* on liver

regeneration after partial hepatectomy/Efeito do extrato aquoso de *Sida cordifolia* na regeneração hepática após hepatectomia parcial. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 21, (Suplemento 1), p. 37-39, 2006b

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6^a ed. Editora UFRGS, Porto Alegre/RS, 2010. 1102p.

SOUSA, C.M. de M.; ROCHA E SILVA, H.; VIEIRA-JR., G.M.; AYRES, M.C.C.; et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais **Química. Nova**, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.

SOUSA, G.F.; DUARTE, L.P.; ALCANTARA, A.F. C.; SILVA, G.D.; FILHO VIEIRA, S.A.; SILVA, R.R.; OLIVEIRA, D.M.; TAKAHASHI, J.A. New triterpenes from *Maytenus robusta*: structural elucidation based on NMR experimental data and theoretical calculations. **Molecules**, v. 17, p. 13439-13456, 2012.

SOUZA, A.D.L.de; ROCHA, A.F.I. da; PINHEIRO, M.L.B.P.; ANDRADE, C.H.S. de; GALOTTA, A.L.A.Q.; SANTOS, M.P.S.S. Constituintes químicos de *Gustavia augusta* L. (Lecythidaceae). **Química Nova**, v. 24, n. 4, p.439-442, 2001.

SOUZA, G.C. de.; HAAS, A.P.S.; VON POSER, G.L.; SCHAPOVAL, E.E.S.; ELISABETSKY, E. Ethnopharmacological studies of antimicrobial remedies in the south of Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 90, p. 135–143, 2004.

SOUZA, M.F.V.; SILVA, D.A. **Extração, isolamento e reações de caracterização de constituintes químicos**. In: ALMEIDA, R.N. **Psicofarmacologia, fundamentos práticos**. Capítulo 6, p. 76-88, 1 ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2006.

SOUZA, T.J.; APELL, M.A.; BORDIGNON S.A.L.; MATZENBACHER, N.I.; ZUANAZZI, J.A.; HENRIQUES, A. Composição química e atividade antioxidante do óleo volátil de *Eupatorium ivifolium* L. var *hirsutum* e *Eupatorium inulifolium* HBK. Sociedade Brasileira de Química. V Reunión de la Sociedad Latino-Americana de Fitoquímica, 156 (Caderno de resumos) 2005.

SOUZA, V.; LORENZI, H. **Botânica sistemática : guia ilustrado para identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG II**. 2 ed. Instituto Plantarum, Nova Odessa, SP. 2008. 704p.

SPECIAN, V.; SARRAGIOTTO, M.H.; PAMPHILE, J.A.; CLEMENTE, E. Chemical characterization of bioactive compounds from the endophytic fungus *Diaporthe helianthi* isolated from *Luehea Divaricata*. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 2012, p. 1174-1182, 2012.

SPENCER, J.P.; SCHROETER, H.; KUHNLE, G.; SRAI, S.K.; TYRRELL, R.M.; HAHN, U.; RICE EVANS, C. Epicatechin and its in vivo metabolite, 3'-O- methyl epicatechin, protect human fibroblasts from oxidative stress induced cell death involving caspase 3 activation. **Biochemical Journal**, v. 354, p. 493-500, 2001.

SRINIVASAN, G.V.; SHARANAPPA, P.; LEELA, N.K.; SADASHIVA, C.T.; VIJAYAN, K.K. Identification of chemical compounds from the leaves of *Leea indica*. **Natural Product Radiance**, v. 8, n.5, p. 488-493, 2008.

SUSUNAGA, G. S.;SIANI, A.C.; PIZZOLATTI, M.G.; YUNES, R.A.; DELLE, M.F. Triterpenes from the resin of *Protium heptaphyllum*. **Fitoterapia**, v. 72, n.6, p.709-711, 2001.

STIPANOVIC, R.D.; BELL, A.A.; O'BRIEN, D. Raimondal, a new sesquiterpenoid from pigment glands of *Gossypium raimondii*. **Phytochemistry**, v. 19, p. 1735-1738, 1980.

SUTRADHAR, R.K.; RAHMAN, A.M.; AHMAD, M; BACHAR, S.C.; SAHA, A.; GUHA, S.K. Bioactive alkaloid from *Sida cordifolia* Linn. with analgesic and anti-inflammatory activities. **Iranian Journal of Pharmacology e Therapeutics**, v. 5, p. 175-178, 2006.

TAKAGAKI, A.; NANJO, F. Biotransformation of (-) epicatechin, (+) - epicatechin, (-)-catechin, and (+)-catechin by intestinal bacteria involved in isoflavone metabolism. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 2015, p. 1-5, 2015.

TANAKA, J.C.A.; SILVA, C.C. da; DIAS FILHO, B.P.; NAKAMURA, C.V.; CARVALHO, J.E. de; FOGLIO, M.A. Constituintes químicos de *Luehea divaricata* Mart. (Tiliaceae). **Quimica Nova**, v. 28, n. 5, p. 834-837, 2005.

TANAKA, J.C.A.; VIDOTTI, G.J.; SILVA, C.C. da. A new tormentic acid derivative from *Luehea divaricata* Mart. (Tiliaceae) **Journal of Brazilian Chemical Society**, v. 14, n. 3, p. 475-478, 2003.

TAYLOR, P. G.; CESARI, I. M.; ARSENAK, M.; BALLEEN, D.; ABAD, M. J.; FERNÁNDEZ, A.; MÍLANO, B.; RUIZ, M. C.; WILLIAMS, B.; MICHELANGELI, F. Evaluation of Venezuelan medicinal plant extracts for antitumor and antiprotease activities. **Pharmaceutical Biology**, v. 44, p. 349-362, 2006.

TIWARI, K.P.; MINOCHA, P.K. Pavophylline, a new saponin from the stem of *Pavonia zeylanica*. **Phytochemistry**, v. 19, n. 4, p. 701-704, 1980.

TIWARI, V.K; MISHRA, B.B. Natural products: An evolving role in future drug discovery. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 46, p. 4769, 2011.

TODARWAL, A.; JAIN, P.; BARI, S. *Abelmoschus manihot* Linn: ethnobotany, phytochemistry and pharmacology. **Asian Journal of Traditional Medicines**, v. 6, n. 1, p. 1-7, 2011.

TSAI, P.-J.; MCINTOSH, J.; PEARCE, P.; CAMDEN, B.; JORDAN, B.R. Anthocyanin and antioxidant capacity in Roselle (*Hibiscus Sabdariffa* L.) extract. **Food Research International**, v. 35, p. 351–356, 2002.

TSENG, T.-H.; KAO, E.-S.; CHU, C.-Y.; CHOU, F.-P.; LIN WU, H.-W.; WANG, C.-J. Protective effects of dried flower extracts of *Hibiscus sabdariffa* L. against oxidative stress in rat primary hepatocytes. **Food and Chemical Toxicology**, v. 35, p. 1159-1164, 1997.

TURK, D.; GUNCAR, G. Lysosomal cysteine protease (cathepsinas): promising drug targets. **Acta Crystallographica Section D-Biological Crystallography**, v. 59, 203-213, 2003.

USHIMARU, P.I.; SILVA, M.T.N. da; DI STASI, L.C.; BARBOSA, L.; JUNIOR, A.F. Antibacterial activity of medicinal plant extracts. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 38, n. 4, p. 717-719, 2007.

VAHITHA, R.; VENKATACHALAM, M.R.; MURUGAN, K.; JEBANESAN, A. Larvicidal efficacy of *Pavonia zeylanica* L. and *Acacia ferruginea* D.C. against *Culex quinquefasciatus* Say. **Bioresource Technology**, v. 82, n.2, p. 203-204, 2002.

VENKATESH, S.; REDDY, S.R.; SURESH, B.; RESSY, B.M.; RAMESH, M. Antinociceptive and anti-inflammatory activity of *Sida rhomboidea* leaves. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 67, p. 229-232, 1999.

VICKERY, J. R. The fatty acid composition of seed oils from ten plant families with particular reference to cyclopropene and dihydrosterculic acids. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, p. 87-91, 1980.

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

VIEIRA, G.M.; SOUZA, C.M.L.; CHAVES, M.H. Resina de *Protium heptaphyllum*: isolamento, caracterização estrutural e avaliação das propriedades térmicas. **Química Nova**, v. 28, n. 2, p. 183-187, 2005.

WAAGE, S.K.; HEDIN, P.A. Biologically-active flavonoids from *Gossypium arboreum*. **Phytochemistry**, v. 23, n. 11, p. 2509-2511, 1984.

WAHABI, H.A.; ALANSARY, L.A.; AL-SABBAN, A.H.; GLASZIHO, P. The effectiveness of *Hibiscus sabdariffa* in the treatment of hypertension: a systematic review. **Phytomedicine**, v. 17, p. 83-86, 2010.

WALKER, C.I.B.; ZANETTI, G.D.; CERON, C.S.; MANFRON, M.P. Morfoanatomia e histoquímica das folhas de *Luehea divaricata* Mart. **Latin American Journal of Pharmacy (formerly Acta Farmacéutica Bonaerense)**, v. 27, n. 2, p. 203-210, 2008.

WANG, T.Y.; ALJAROUDI, W.A.; NEWBY, L.K. Markers of Cardiac ischemia and inflammation. **Cardiology Clinics**, v. 23, p. 491-501, 2005.

WOLLENWEBER, E.; DÖRR, M. Exudate flavonoids from aerial parts of *Kitaibelia vitifolia* (Malvaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 24, n. 7/8, p. 801, 1996.

WOOLLEY, R.J. Contraception – a look forward, Part II: mifepristone and gossypol. **The Journal of the American Board of Family Practice**, v. 4, n. 2, p. 103-113, 1991.

WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Report on infectious diseases**. World Health Organization, Geneva, Switzerland, 2012.

YANKAH, V.V. **Lipids, phytosterols and human health.** In: AKOH, C.C. **Handbook of functional lipids.** New York: CRC, 2006. cap18, p.403-418.

YAO, L.H.; JIANG, Y.M.; SHI, J.; TOMAS-BARBERAN, F.A.; DATTA, N.; SINGANUSONG, R.; CHEN, S.S. Flavonoids in food and their health benefits. **Plant Foods for Human Nutrition**, n. 59, p. 113–122, 2004.

YASUDA, Y.; LI, Z.; GREENBAUM, D.; BOGYO, M.; WEBER, E.; BRÖMME, D. Cathepsin V, a novel and potent elastolytic activity expressed in activated macrophages. **Journal of Biological Chemistry**, v. 279, n. 35, p. 36761-36770, 2004.

YESILADA, E.; GÜRBÜZ, I. A compilation of the studies on the anti-ulcerogenic effects of medicinal plants. **Recent progress in medicinal plants.** Vol.II. In: Singh, S., Singh, V.K., Govil, J.N. (Eds.), **Phytochemistry and Pharmacology.** SCI Tech Publishing LLC, Houston,Texas, pp. 111–174.

YOO, I.D.; Y, B.S.; LEE, I.K.; RYOO, I.J.; CHOUNG, D.H.; HAN, K.H. Three Naphtalenes from root bark of *Hibiscus syriacus*. **Phytochemistry**, v. 47, n.5, p. 799-802, 1998.

YUVARAJ, P.; SUBRAMONIAM, A. Hepatoprotective property of *Thespesia populnea* against carbon tetrachloride induced liver damage in rats. **The Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology**, v. 20, p. 169-177, 2009.

YUVARAJ, P.; SUBRAMONIAM, A.; THERASILIN, L., MADHAVACHANDRAN, V.; ANTONEY, M.; NARASU, M. L. Hepatoprotective properties of phenolic acids from *Thespesia populnea* Soland ex. Correa. **Annals of Phytomedicine**, v. 1, n. 2, p. 74-87, 2012.

ZANON, R.B. **Metabólitos Secundários em *Vernonia Tweedieana* Baker.** 2006. Dissertação. Programa de Pós – graduação em Ciências Farmacêuticas, Santa Maria/RS, 2006. Universidade Federal de Santa Maria.

ZHANG, H.-M.; WANG, C.-F.; SHEN, S.-M.; WANG, G.-L.; LIU, P.; LIU, Z.-M.; WANG, Y.-Y.; DU, S.-S.; LIU, Z.-L.; DENG, Z.-W. Antioxidant phenolic compounds from pu-erh tea. **Molecules**, v. 17, p. 14037-14045, 2012.

ZHAO, Y.; DOU, J.; WU, T.; AISA, H.A. Investigatin the antioxidant and acetylcholinesterase inhibition activities of *Gossypium herbaceam*. **Molecules**, v.18, p. 951-962, 2013.

ZINI, J.; FERREIRA, J.; CARVALHO, F.; BUSTILLOS, J.; SCAPIN, M.; SALVADOR, V.; ABRÃO, A. Estudo de metais e de substâncias tóxicas em brinquedos. **Química Nova**, v. 32, n. 4, p. 833, 2009.

ZUANAZZI, J.A.; MONTANHA, J.A. In: **Farmacognosia: da planta ao medicamento.** 5 ed. Porto Alegre – RS: Editora da UFSC, 2004. pág. 577-604.

**APÊNDICE A – ALGUNS CONTITUNTOS QUÍMICOS DA FAMÍLIA
MALVACEAE**

Classe	Constituinte Químico	Fonte Natural	Atividade Farmacológica	
Ácidos Graxos	Ácido malváico (1)	<i>Abutilon aritum</i>	Carcinogênica	
	Ácido estercúlico (2)	<i>Gossypium stuntianum</i>	Carcinogênica	
	Ácido dihidroestercúlico (3)	<i>Hibiscus divertifolius</i>	Não relatado na literatura	
Terpenoides	Citronelol (4)	<i>Hibiscus esculentus</i>	Anticonvulsivante Anti-bacteriana Larvicida contra <i>Aedis aegypti</i>	
	Neral (5)	<i>Hibiscus esculentus</i>	Antifúngica	
	α -terpineol (6) 1,8-cineol (7)	<i>Hibiscus esculentus</i>	Anti Leishmania Antibacteriana	
	Bisabolol (8)	<i>Gossypium hirsutum</i>	Antifúngica Larvicida contra <i>Aedis aegypti</i> Anti-inflamatória	
	Cadineno (9)	<i>Gossypium hirsutum</i>	Antioxidante	
	Alantolactona (10)	<i>Abutilon indicum</i>	Antioxidante Anti-inflamatório Hepatoprotetor	
	Terasterol (11)	<i>Abutilon indicum</i>	Não encontrado na literatura	
	Cicloartenol (12) Cicloeucaleenol (13)	<i>Herissantia tiubae</i>	Espasmolítica	
	Esteroides	β -Sitosterol (14)	<i>Bakeridesia pickelii</i>	Antiúlcera Gastroprotetora Hipoglicêmica Anticancerígena (próstata e de mama) contra veneno de cobra <i>Bothrops</i>)
		Estigmasterol (15)	<i>Sida veronicaefolia</i>	Anti-inflamatório Anticancerígena Anti-hepatotóxica hipocolesterolêmico sedativo
22-Deidrocampes-terol (16)		<i>Sida veronicaefolia</i>	Anti-inflamatória Hipocolesterolêmica	

Continua...

Continuação...

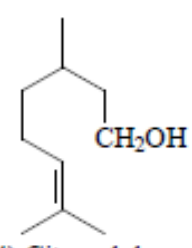
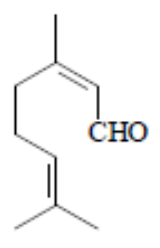
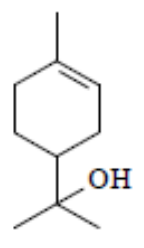
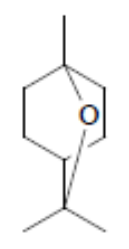
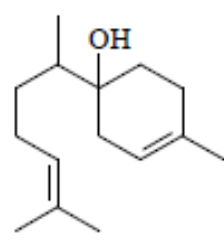
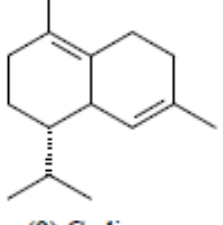
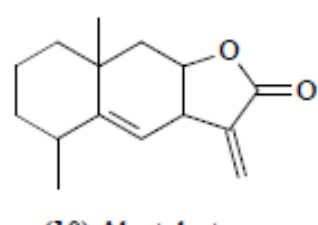
Classe	Constituinte Químico	Fonte Natural	Atividade Farmacológica
Esteroides	β -sitosterol glicosilado (17)	<i>Herissantia crispera</i>	Antiúlceras Gastroprotetora
	β -sitosterol glicosilado (17)	<i>Sida galheirensis</i>	Antiinflamatória
	Estigmasterol glicosilado (18)	<i>Herissantia tiubae</i>	
Ácidos Fenólicos	Ácido m-metoxi-p-Hidroxi benzico (19)	<i>Bakeridesia pickelii</i> <i>Herissantia tiubae</i>	Antioxidante Antibacteriana (Bactérias Gram-positivas)
	Ácido-O-hidroxi benzóico (Ácido salicílico) (20)	<i>Sida galheirensis</i>	Analgésico Antiartrítico Antibacteriano Anti-inflamatório Antioxidante Antipirético Antisséptico
	Ácido p-hidroxi-cinâmico (21)	<i>Bakeridesia pickelii</i>	Antioxidante Anticancerígena
Cumarinas	6,7-dimetoxicumarina (22)	<i>Sida galheirensis</i>	Antioxidante Hipocolesterolêmica
	6-metoxi-7-hidroxi cumarina (Escopoletina) (23)	<i>Sida hermaphrodita</i>	Atividade hipotensora
Flavonoides	Quercetina (24)	<i>Sida cordifolia</i>	Antioxidante Anti-inflamatória Antianêmica Anticancerígena Antialérgica; Antidiabética; Antidiarréica; Antihepatotóxica; Antiespasmódica; Antiúlceras Anticancerígena Antibacteriana Antialérgica Antioxidante
		<i>Herissantia crispera</i>	
	Luteolina (25)	<i>Sida galheirensis</i>	
	Herbacetina (26)	<i>Sida hermaphrodita</i>	
	Pentametoxiflavona (27)	<i>Herissantia tiubae</i>	Moduladora de antibiótico

Continua...

Continuação...

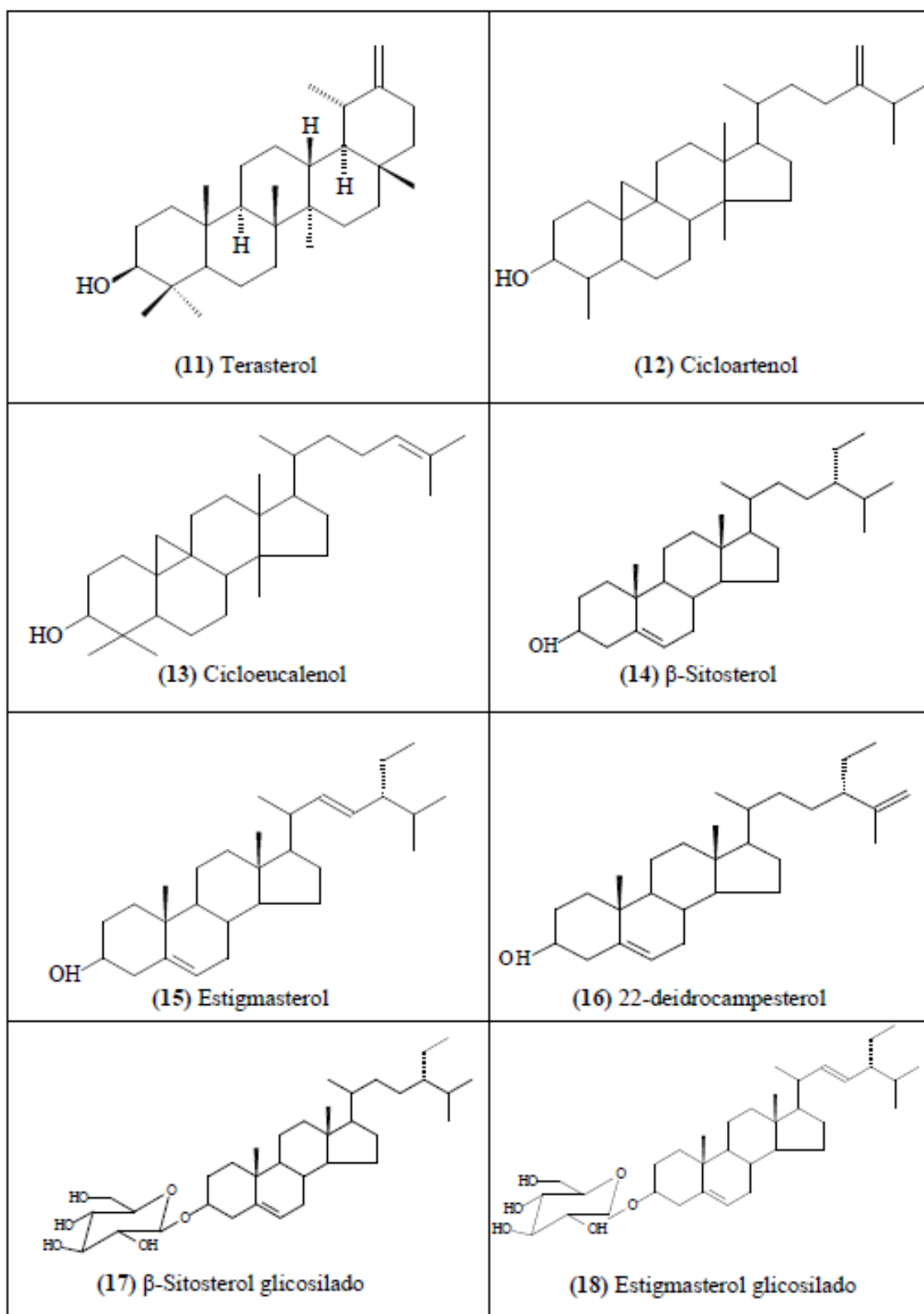
Classe	Constituinte Químico	Fonte Natural	Atividade Farmacológica
Glicosídeos Flavonoídicos	Gossypetina-8-Oramnosídeo (28)	<i>Gossypium arboreum</i>	Anti-inflamatória Antileucêmica Antioxidante
	Campferol 3,7-di-O- α -L-Ramnopiranosídeo (lespedina) (29)	<i>Herissantia tiubae</i> <i>Herissantia crispa</i>	Antidiabética Antioxidante Hipotensora Anti-inflamatória, Antinociceptiva Vasorelaxante
	Campferol 7-O-L-Ramnopiranosídeo (30)	<i>Herissantia tiubae</i>	Anticancerígena
	Canferol 3-O-A-D-(6''-E-p-cumaroil) glicosídeo Tilirosídeo (31)	<i>Herissantia tiubae</i> <i>Sida galheirensis</i> <i>Backeridesia Pickelii</i> <i>Herissantia crispa</i>	Antioxidante Bloqueadora UV Anti-inflamatória Hepatoprotetora Anticancerígena Antitumoral Anti-HIV Moduladora Relaxante em Óleo
	Rutina (32)	<i>Sida hermaphrodita</i>	Antioxidante
Xantona Glicosilada	Mangiferina (33)	<i>Hibiscus liliastrum</i>	Antioxidante
Antocianidina Glicosilada	Cianidina (34)	<i>Hibiscus syriacus</i>	Inibidor d agregação plaquetária
Alcaloides	Criptolepina (35)	<i>Sida acuta</i>	Antibacteriana Antidiabética
	Efedrina (36)	<i>Sida acuta</i>	Broncodilatadora
	Hipaforina (37)	<i>Sida spinosa</i>	Antibacteriana Anti-inflamatória Analgésica
	Vasicinina (38)	<i>Sida spinosa</i> <i>Sida cordifolia</i>	Antiasmática
	Vasicinol (39)	<i>Sida spinosa</i>	Antiasmática
	Vasicinona (40)	<i>Sida spinosa</i> <i>Sida humilis</i>	Antiasmática
Amida	β -fenetilamina (41)	<i>Sida acuta</i>	Emagrecedora
	Transferuloiltiramina (42)	<i>Sidastrum paniculatum</i>	Anti <i>Helicobacter pylori</i>

**APÊNDICE B – RESPECTIVAS ESTRUTURAS QUÍMICAS DE
ALGUNS DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DA FAMÍLIA
MALVACEAE**

$\text{HOOC}(\text{CH}_2)_6\underset{\text{CH}_2}{\text{C}}=\text{C}(\text{CH}_2)_7\text{CH}_3$ <p align="center">(1) Ácido Malvático</p>	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\underset{\text{CH}_2}{\text{C}}=\text{C}(\text{CH}_2)_7\underset{\text{OH}}{\text{C}}=\text{O}$ <p align="center">(2) Ácido Estercúlico</p>
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\underset{\text{CH}_2}{\text{CH}}-\underset{\text{OH}}{\text{CH}}(\text{CH}_2)_7\text{C}=\text{O}$ <p align="center">(3) Ácido Diidroestercúlico</p>	 <p align="center">(4) Citronelol</p>
 <p align="center">(5) Neral</p>	 <p align="center">(6) α-Terpineol</p>
 <p align="center">(7) 1,8-Cineol</p>	 <p align="center">(8) Bisabolol</p>
 <p align="center">(9) Cadineno</p>	 <p align="center">(10) Alantolactona</p>

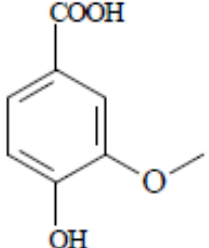
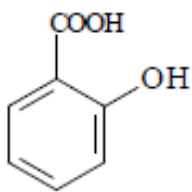
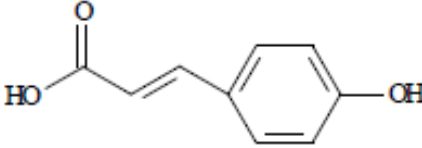
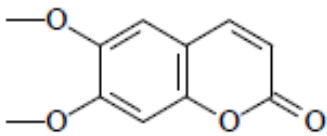
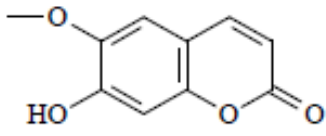
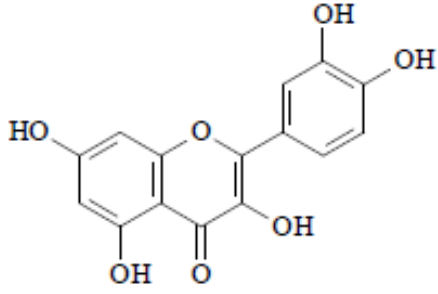
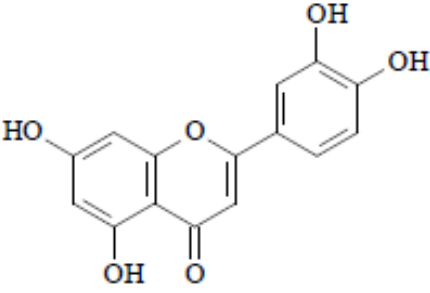
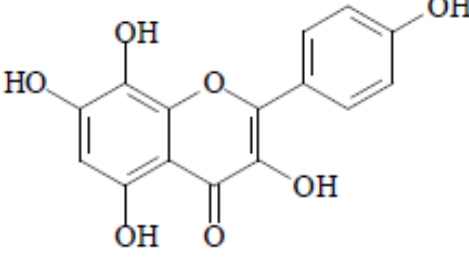
Continua

Continuação...



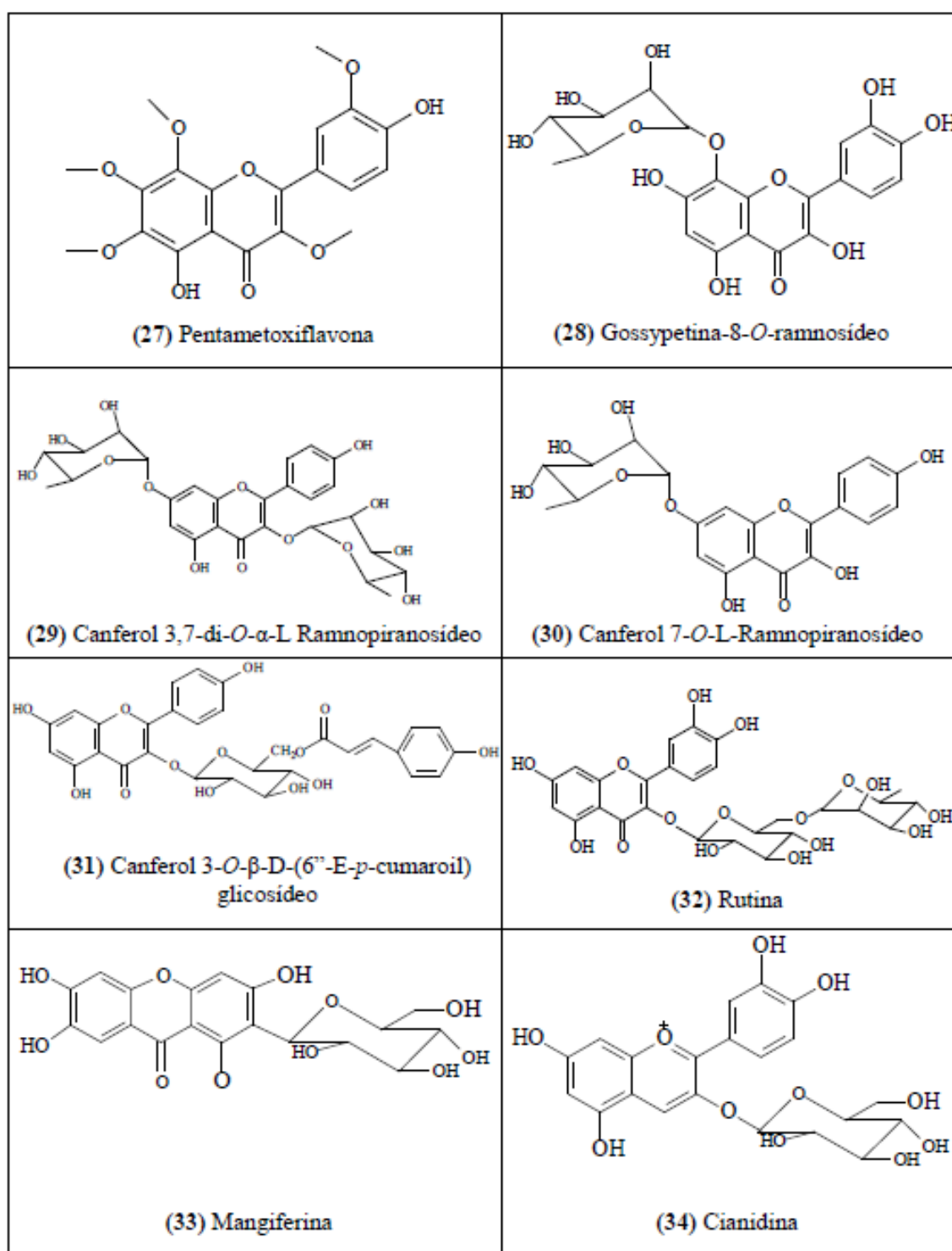
Continua...

Continuação...

 <p>(19) Ácido <i>m</i>-metoxi-<i>p</i>-hidroxi benzoico</p>	 <p>(20) Ácido <i>o</i>-hidroxi benzoico</p>
 <p>(21) Ácido <i>p</i>-hidroxi cinâmico</p>	 <p>(22) 6,7-dimetoxicumarina</p>
 <p>(23) 6-metoxi-7-hidroxicumarina</p>	 <p>(24) Quercetina</p>
 <p>(25) Luteolina</p>	 <p>(26) Herbacetina</p>

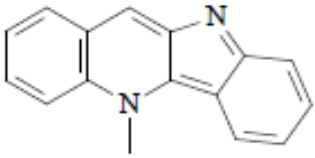
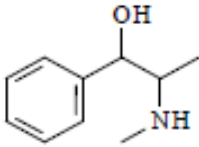
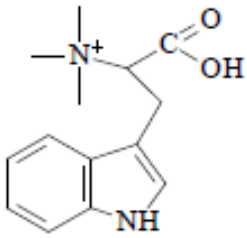
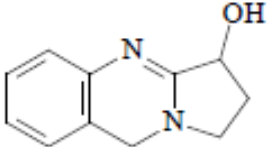
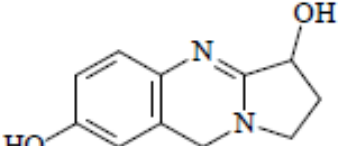
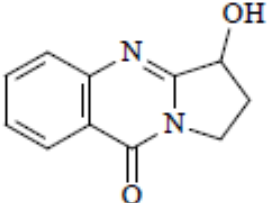
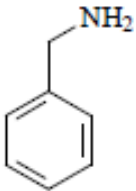
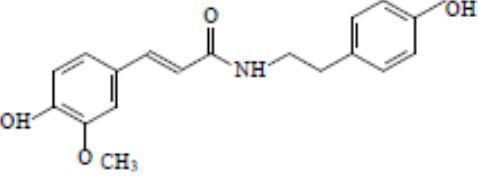
Continua

Continuação...



Continua

Continuação...

 <p>(35) Criptolepina</p>	 <p>(36) Efedrina</p>
 <p>(37) Hipaforina</p>	 <p>(38) Vasicinina</p>
 <p>(39) Vasicinol</p>	 <p>(40) Vasicinona</p>
 <p>(41) β-Fenetilamina</p>	 <p>(42) Transferuloiltiramina</p>

Fonte: GOMES, 2011

**APÊNDICE C – CONSTITUINTES QUÍMICOS OBTIDOS DE
EXTRATOS AQUOSOS DE FLORES DE *Hibiscus sabdariffa*.**

Class	Compound
<i>Organic acid</i>	Hydroxycitric acid Hibiscus acid Hibiscus acid glucoside Hibiscus acid 6-methyl ester
<i>Anthocyanins</i>	Delphinidin-3-sambubioside Cyanidin-3-sambubioside
<i>Flavonoids and phenolic acid</i>	Gallic acid Chlorogenic acid isomer I Chlorogenic acid Chlorogenic acid isomer II 5-Hydroxymethylfurfural Methyl gallate 2- <i>O</i> - <i>trans</i> -Caffeoyl-hydroxycitric acid 5-Caffeoylquinic acid Myricetin-3-arabinogalactoside 3-Caffeoylquinic acid Protocatechuic acid Protocatechuic acid glucoside Coumaroylquinic acid Quercetin-3-sambioside Quercetin-3-rutinoside 5- <i>O</i> -Caffeoylshikimic acid Leucoside(kaempferol-3- <i>O</i> -sambubioside) Quercetin-3-glucoside Kaempferol-3- <i>O</i> -rutinoside Feruloyl derivative Methyl(AS in Methylepigallocatechin) Myricetin <i>N</i> -Feruloyltyramide 4-Caffeoylquinic acid Caffeoylquinic acid isomer Kaempferol-3- <i>p</i> -coumarylglucoside Quercetin Caffeic acid Galloyl ester Feruloyl quinic acid derivative Kaempferol-3-glucoside Quercetin derivative Tiliroside