

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA
Laboratório de Pesquisa em Química dos Produtos Naturais (LPqPN)



Estudo Químico e Avaliação da Toxicidade e das Propriedades Antioxidante e Anticolinesterásica de Lindackeria paraensis Kuhl. (Flacourtiaceae)

Edmilson Pinto Ribeiro

Maceió/AL

2009

Edmilson Pinto Ribeiro

Estudo Químico e Avaliação da Toxicidade e das Propriedades Antioxidante e Anticolinesterásica de Lindackeria paraensis Kuhl. (Flacourtiaceae)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia do Instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas, como cumprimento às exigências para obtenção do **grau de Mestre em Ciências - Química Orgânica com ênfase na área de Produtos Naturais**. Este trabalho foi **orientado pela Profa. Dra. Lúcia Maria Conserva**.

Maceió/AL

2009

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico

Bibliotecária Responsável: Helena Cristina Pimentel do Vale

R484e Ribeiro, Edmilson Pinto.
 Estudo químico e avaliação da toxicidade e das propriedades antioxidante e anticolinesterásica de *Lindackeria Paraensis* Kuhl (Flacourtiaceae) / Edmilson Pinto Ribeiro, 2009.
 86 f. : il. tabs., grafs.

Orientadora: Lúcia Maria Conserva.
Dissertação (mestrado em Química e Biotecnologia) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Química e Biotecnologia. Maceió, 2009.

Bibliografia: f. 79-86.

1. *Lindackeria Paraensis*. 2. Flacourtiaceae. 3. Artemia salina. 4. Flavanoides. 5. Antioxidante. 6. Anticolinesterásica. 7. Trinter penor. I. Título.

CDU: 547.9



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA E
BIOTECNOLOGIA



BR 104 Km14, Campus A. C. Simões
Cidade Universitária, Tabuleiro dos Martins
57072-970, Maceió-AL, Brasil
Fone: (82) 3214-1384, Fax (82) 3214-1384
Email: cpgqb@qui.ufal.br

Membros da Comissão Julgadora da Dissertação de Mestrado de **Edmilson Pinto Ribeiro** intitulada: "**Estudo Químico e Avaliação da Toxicidade e das Propriedades Antioxidante e Anticolinesterásica da *Lindackeria paraensis* Kuhl. (*Flacourtiaceae*)**", apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas, em 6 de novembro de 2009, às 8h30min. na Sala de Reuniões do IQB/UFAL.

COMISSÃO JULGADORA

Prof.^a Dr.^a Lucia Maria Conserva
Orientadora – PPGQB/IQB/UFAL

Prof.^o Dr.^o Jorge Mauricio David
IQ/UFBA

Prof.^o Dr.^o Edson de Souza Bento
PPGQB/IQB/UFAL

*A **Deus**, por tudo aquilo que representa, paz, amor, compaixão, prosperidade etc. e a **Virgem Maria Santíssima**, por ser capaz de iluminar a todos sem a necessidade de recompensas!*

*Aos meus pais **Zacarias** e **Santina** (in memoriam), por tudo aquilo que representaram para mim em vida, hoje sei o quão estariam felizes por esta realização.*

*Àqueles que sempre estiveram comigo em todos os momentos difíceis, minha esposa **Solange** e meus filhos **Jana** e **Lipe**, motivo maior para que conquistasse mais essa etapa, essa vai com certeza em especial para vocês.*

*A meus **irmãos** que sempre me incentivaram na busca do conhecimento.*

A vocês dedico este trabalho.

Muito Obrigado!

Agradecimentos

A *Profa. Dra. Lucia Maria Conserva*, pela oportunidade, desde a disciplina Pesquisa em Química no Curso de Graduação, aceitando-me como aluno e iniciando-me na pesquisa na área de Produtos Naturais. Por toda paciência, amizade, dedicação e valiosos ensinamentos, estes jamais serão perdidos.

Aos **botânicos** do *Museu Paraense Emílio Goeldi*, Belém-PA, pela coleta e identificação do material vegetal;

A *Profa. Dra. Giselle Maria S. P. Guilhon*, por ter fornecido extratos da espécie vegetal em estudo.

Ao *Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)*, a *Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Alagoas (FAPEAL)*, ao *Instituto do Milênio do Semi-Árido (IMSEAR)* e ao Banco do Nordeste-Rede Nordestina de Biotecnologia (**BNB-RENORBIO**), pelos recursos financeiros concedidos;

Aos Professores do Instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas, **Dra. Lúcia M. Conserva, Dra. Marília Goulart, Profº Dr. Euzébio Goulart e Dr. Edson Bento** por todo aprendizado transmitido durante as disciplinas cursadas.

Aos Professores que participaram da banca de qualificação Profºs. **Dr. João Xavier de Araújo Júnior. Dr. Edson de Souza Bento e o Dr. Mario Roberto Meneghetti** por suas contribuições para melhoria do trabalho;

Aos Professores que participaram da avaliação final dessa dissertação, Profº. **Dr. Jorge Maurício David** do Instituto de Química da Universidade Federal da Bahia e Profº **Dr. Edson de Souza Bento** do Instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas pelas correções e sugestões finais que muito contribuíram para fechamento da mesma;

Ao Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará, em especial ao *Prof. Dr. Edilberto Rocha Silveira* e a *Doutoranda*, hoje *Dra. Renata*, pela obtenção dos espectros de RMN a 500 e a 125 MHz;

Ao Prof. *Dr. Edson de Souza Bento*, do Instituto de Química da Universidade Federal de Alagoas, pelos espectros de RMN a 400 e a 100 MHz;

Ao Laboratório de Tecnologia Farmacêutica da Universidade Federal da Paraíba, em especial ao técnico *Vicente Carlos de Oliveira*, pelos espectros de RMN a 200 e 50 MHz;

Aos colegas de Laboratório de Pesquisa em Química dos Produtos Naturais: *Fernando, Sandovânio, Patrícia, Sebastião, Thiago, Cynara, Fabyanne, Lívyá, Gerson, Lysete e Jataí*, pela amizade, troca de experiências sobre os conhecimentos adquiridos e os momentos de confraternização vivenciados;

A *Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas*, pela busca da melhoria dos cursos como um todo representado pelas *Profas. Dras. Carmem Zonta* em um primeiro momento, em seguida, *Simoni Meneghetti* e hoje, *Fabiane Caxico*.

Aos Funcionários da Secretaria de Pós-Graduação, pela presteza quando da solicitação de informes, documentos entre outros;

Aos colegas de Pós-Graduação que enriqueceram as discussões e contribuíram para o aprendizado durante nossos estudos em grupo, em especial, *Ana Lucila, Daniel, Carol, Milena, Marcos, Amaro, Lysete, Mércia, Cintya e Prazeres*.

Aos bibliotecários da Secretaria Setorial e, enfim, a todos que participaram direta ou indiretamente na construção deste trabalho.

Sumário

<i>Agradecimentos</i>	iv
<i>Lista de Figuras</i>	vii
<i>Lista de Tabelas</i>	ix
<i>Lista de Quadros</i>	x
<i>Lista de Abreviaturas, Siglas e Símbolos</i>	xi
<i>Resumo</i>	xii
<i>Abstract</i>	xiii
1. Introdução	1
2. Considerações Sobre as Atividades Biológicas relacionadas aos Radicais Livres e Antioxidantes, Doença de Alzheimer e Anticolinesterásicos, Toxicidade frente a <i>Artemia salina</i> Leach, bem como sobre a Família Flacourtiaceae, Gênero <i>Lindackeria</i> e Espécie selecionada para Estudo	4
2.1. Radicais Livres e Agentes Antioxidantes	4
2.2. Doença de Alzheimer e Anticolinesterásicos	6
2.3. Toxicidade frente à <i>Artemia Salina</i> Leach (TAS)	7
2.4. A Família Flacourtiaceae	9
2.5. O Gênero <i>Lindackeria</i>	10
2.6. A Espécie <i>Lindackeria paraensis</i> Kuhl.	11
3. Objetivos	20
4. Experimental	21
4.1. Materiais, Solventes, Reagentes e Equipamentos Utilizados.....	22
4.2. Coleta e Identificação do Material Vegetal.....	23
4.3. Preparação dos Extratos e Frações.....	23
4.4. Avaliação do Potencial Biológico de Extratos, Frações e Substâncias Isoladas.....	25
4.4.1. Avaliação da Atividade Qualitativa Frente ao Radical Sintético DPPH.....	25
4.4.2. Determinação do Teor de Fenóis Totais.....	26
4.4.3. Avaliação Quantitativa Frente ao DPPH.....	27
4.4.4. Avaliação Qualitativa da Atividade Anticolinesterásica	29
4.4.5. Toxicidade Frente à <i>Artemia salina</i> Leach (TAS).....	30

4.4.5.1. Ensaio Qualitativo.....	30
4.4.5.2. Ensaio Quantitativo.....	31
4.5. Isolamento dos Constituintes Químicos de Extratos das Folhas.....	32
4.5.1. Isolamento de alguns dos constituintes químicos do extrato em hexano.....	32
4.5.2. Isolamento de alguns dos constituintes químicos do extrato em CH ₂ Cl ₂	32
4.5.3. Isolamento de alguns dos constituintes químicos do extrato em MeOH.....	33
4.6. Dados Físicos e Espectroscópicos das substâncias isoladas das folhas de <i>L. paraensis</i>	33
5. Resultados e Discussão	35
5.1. Resultados dos Ensaio Biológicos Efetuados.....	35
5.1.1. Resultados da Avaliação Qualitativa Frente ao DPPH	35
5.1.2. Resultados da Determinação do Teor de Fenóis Totais	35
5.1.3. Resultados da Avaliação Quantitativa Frente ao DPPH	36
5.1.4. Resultados da Avaliação Qualitativa da Atividade Anticolinesterásica	37
5.1.5. Resultados dos Ensaio para Determinação da Toxicidade Frente à <i>Artemia salina</i>	39
5.2. Resultados do Estudo Fitoquímico	41
5.2. 1. Identificação Estrutural das Substâncias Isoladas	41
5.2.1.1. Identificação Estrutural das Substâncias Codificadas de LpFH-1a/LpFM-1a e LpFH-1b/LpFM-1b	42
5.2.1.2. Identificação Estrutural das Substâncias Codificadas de LpFD-1a e LpFD-1b ...	48
5.2.1.3. Identificação Estrutural das Substâncias Codificadas de LpFD-2a e LpFD-2b ..	54
5.2.1.4. Identificação Estrutural da Substância Codificada de LpFM-2	59
5.2.1.5. Identificação Estrutural da Substância Codificada de LpFM-3	69
6. Considerações Finais	77
7. Referências Bibliográficas	79

Lista de Figuras

Figura 1.	Foto do mapa do Brasil com os diferentes tipos de biomas (Fonte: www.wwf.org.br).	2
Figura 2.	Representação esquemática da reação de redução do DPPH.....	6
Figura 3.	Larvas de <i>Artemia salina</i> (Fonte: www.meerwasser-lexikon.de/bilder/thumbs_video/53T598.jpg).....	8
Figura 4.	Foto das folhas de <i>L. dentata</i> (A) e de <i>Lindackeria</i> sp. (Fonte: herbario.up.ac.pa/Herbario/FinalTaxa1.php).....	11
Figura 5.	Fluxograma da marcha química utilizada para obtenção dos extratos e frações das folhas de <i>L.paraensis</i>	24
Figura 6.	Fluxograma da marcha química utilizada para fracionamento do extrato em metanol.....	25
Figura 7.	Recipiente para eclosão de ovos, náuplios (A), placas de Petri para cultivo dos metanúplios (B) e microplacas utilizadas nos ensaios preliminares (C)...	31
Figura 8.	Placas (12 orifícios) utilizadas nos ensaios quantitativos do TAS.....	32
Figura 9.	Espectro RMN ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) das substâncias LpFH-1a/LpFM-1a e LpFH-1b/LpFM-1b	45
Figura 10.	Espectro RMN ¹³ C (125 MHz, CDCl ₃) das substâncias LpFH-1a/LpFM-1a e LpFH-1b/LpFM-1b	46
Figura 11.	Espectro DEPT (125 MHz, CDCl ₃) das substâncias LpFH-1a/LpFM-1a e LpFH-1b/LpFM-1b	47
Figura 12.	Espectro de RMN ¹ H (200 MHz, CDCl ₃ /CD ₃ OD) das substâncias LpFD-1a e LpFD-1b	51
Figura 13.	Espectro de RMN ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃ /DMSO-d ₆) das substâncias LpFD-1a e LpFD-1b	52
Figura 14.	Espectro de RMN ¹ H (500 MHz, CD ₃ OD) da substância codificada de LpFD-2b	56
Figura 15.	Espectro COSY (500 MHz, CD ₃ OD) da substância codificada de LpFD-2b	57
Figura 16.	Espectro de RMN ¹³ C (125 MHz, CD ₃ OD) da substância codificada de	

	LpFD-2b	58
Figura 17.	Espectro HSQC (^1H : 500; ^{13}C : 125 MHz, CD_3OD) da substância LpFD-2b	59
Figura 18.	Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância codificada de LpFM-2	63
Figura 19.	Espectro COSY (500 MHz, CDCl_3) da substância codificada de LpFM-2	64
Figura 20.	Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) da substância codificada de LpFM-2	65
Figura 21.	Espectro DEPT (125 MHz, CDCl_3) da substância codificada de LpFM-2	66
Figura 22.	Espectro HSQC (^1H : 500; ^{13}C : 125 MHz, CDCl_3) da substância codificada de LpFM-2	67
Figura 23.	Espectro HMBC (^1H : 500; ^{13}C : 125 MHz, CDCl_3) da substância codificada de LpFM-2	68
Figura 24.	Espectro de RMN ^1H (500 MHz, acetona- d_6) da substância codificada de LpFM-3	72
Figura 25.	Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, acetona- d_6) da substância LpFM-3	73
Figura 26.	Espectro DEPT (125 MHz, acetona- d_6) da substância codificada de LpFM-3 ...	74
Figura 27.	Espectro HSQC (^1H : 500; ^{13}C : 125 MHz, acetona- d_6) da substância LpFM-3 ...	75
Figura 28.	Espectro HMBC (^1H : 500; ^{13}C : 125 MHz, acetona- d_6) da substância LpFM-3 ...	76

Lista de Tabelas

Tabela 1.	Triterpenos relatados em espécies da família Flacourtiaceae.....	12
Tabela 2.	Flavonóides relatados em espécies da família Flacourtiaceae.....	18
Tabela 3.	Resultados da determinação do conteúdo de fenóis totais e DPPH quantitativo dos extratos, frações, substâncias isoladas e padrões positivos utilizados.....	36
Tabela 4.	Resultados dos ensaios preliminares anticolinesterásicos com as frações e substâncias isoladas das folhas de <i>L. paraensis</i> e comparação com os	

	ensaios qualitativos frente ao DPPH.....	38
Tabela 5.	Resultados da avaliação qualitativa (1000 µg/mL) e quantitativa (CL ₅₀) da toxicidade de extratos e frações frente à <i>Artemia salina</i> (TAS).....	40
Tabela 6.	Dados de RMN ¹ H (200 MHz, CDCl ₃ , δ, J em Hz) das substâncias LpFH-1a/LpFM-1a e LpFH-1b/LpFM-1b e comparação com dados da <i>Fridelina</i> e <i>Fridelinol</i> (200 MHz, CDCl ₃ , δ, J em Hz) (Andrade, 2005).....	43
Tabela 7.	Dados de RMN ¹³ C (125 MHz, CDCl ₃ , δ) das substâncias LpFH-1a/LpFM-1a e LpFH-1b/LpFM-1b e comparação com os da <i>Fridelina</i> e do <i>Fridelinol</i> (Carvalho <i>et al.</i> , 1998).....	44
Tabela 8.	Dados de RMN das substâncias LpFD-1a e LpFD-1b (¹ H: 200, CDCl ₃ /CD ₃ OD, J em Hz; ¹³ C: 100 MHz, CDCl ₃ /DMSO-d ₆) e comparação com dados da <i>Genkawanina</i> e da <i>Complavina A</i> (Agrawal <i>et al.</i> , 1989).....	50
Tabela 9.	Dados de RMN da substância LpFD-2b (¹ H: 500; ¹³ C: 125 MHz, CDCl ₃ , J em Hz)* e comparação com os da <i>Diosmetina</i> e da <i>Complavina A</i> (Agrawal, 1989).....	55
Tabela 10.	Dados de RMN da substância LpFM-2 (¹ H: 500; ¹³ C: 125 MHz, CDCl ₃ , J em Hz) e comparação com dados da <i>Genkawanina</i> e da <i>Acacetina</i> (Chari <i>et al.</i> , 1977).....	62
Tabela 11.	Dados de RMN* da substância LpMF-3 (¹ H: 500; ¹³ C: 125 MHz, acetona-d ₆ , J em Hz) e comparação com dados da <i>Genkwanina</i> e <i>Acacetina</i> (Chari <i>et al.</i> , 1977).....	70

Lista de Quadros

Quadro 1.	Extratos, frações e subfrações e substâncias isoladas que foram avaliadas qualitativamente frente ao radical DPPH.....	26
------------------	--	----

Lista de Abreviaturas, Siglas e Símbolos

AcOEt	Acetato de Etila
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CDCl ₃	Clorofórmio deuterado
CI	Concentração inibitória
CL	Concentração letal
Cols.	Colaboradores
COSY	Correlation Spectroscopy
d	duplete
dd	Duplo duplete
DEPT	Distortioless Enhancement by Polarization Transfer
DMSO	Dimetilsulfóxido
DMSO-d ₆	Dimetilsulfóxido deuterado
DP	Desvio padrão
DPPH	2,2-Diphenyl-1-picryl-hidrazil
h	Hora
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence
Hz	Hertz
IC	Intervalo de confiança
<i>J</i>	Constante de acoplamento
m	Multiplete
MeOH	Metanol
MHz	Megahertz
nm	Nanometro
OMe	Metoxila
p.	Página
pp.	Páginas
P.A.	Para análise
Ppm / δ	Partes por milhão / Deslocamento Químico
RMN ¹ H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
RMN ¹³ C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono Treze
rpm	Rotação por minuto
s	Singleto
sl	Singleto largo
t	Triplete
TAS	Toxicidade frente <i>Artemia salina</i>
TMS	Tetrametilsilano
UV	Ultravioleta

Resumo

O presente trabalho descreve o isolamento de alguns constituintes químicos, a avaliação da toxicidade frente à *Artemia salina* Leach, o conteúdo de fenóis totais (reagente Folin-Ciocalteu) e as atividades anticolinesterásica e antioxidante, utilizando o DPPH, de extratos e frações das folhas de *Lindackeria paraensis* Kuhlmann (Flacourtiaceae). Nos ensaios antioxidantes, alguns dos extratos e frações testados forneceram altos teores de fenóis totais e, quando comparados com os padrões positivos utilizados (ácido ascórbico, α -tocoferol e BHT), sequestraram radicais e DPPH. Alguns desses extratos foram eficazes em inibir o efeito da enzima acetilcolinesterase. Nos ensaios de toxicidade frente à *Artemia salina*, dentre as amostras que foram avaliadas, somente três foram atóxicas (CL_{50} superior a 1000 $\mu\text{g/mL}$) e sete mostraram alta toxicidade (CL_{50} inferior a 500 $\mu\text{g/mL}$), sugerindo que esta espécie possui outras atividades biológicas, tais como inseticida, pesticida, cercaricida e outras que dependam de citotoxicidade. O estudo fitoquímico efetuado com alguns dos extratos ativos conduziu ao isolamento de dois triterpenos pentacíclicos (*Fridelina* e *Fridelinol*) além de quatro flavonas (*5-Hidroxi-7,4'-dimetoxiflavona*, *5,4'-Dihidroxi-7-metoxiflavona*, *5,7,4'-Trihidroxi-3'-metoxiflavona* e *5,4'-Dihidroxi-7,3'-dimetoxiflavona*). Estas substâncias tiveram suas estruturas identificadas com base na análise dos dados de RMN e pela comparação com dados da literatura e todas estão sendo relatadas pela primeira vez no gênero *Lindackeria*. As flavonas identificadas como *5,7,4'-trihidroxi-3'-metoxiflavona*, *5-Hidroxi-7,4'-dimetoxiflavona* e *5,4'-Dihidroxi-7-metoxiflavona* frente ao DPPH sequestraram o radical e nos ensaios anticolinesterásicos, somente a flavona identificada como *5,4'-Dihidroxi-7-metoxiflavona* inibiu a ação desta enzima.

Palavras-Chave: *Lindackeria paraensis*, Flacourtiaceae, antioxidante, anticolinesterásico, *Artemia salina*, triterpenos, flavonóides.

Abstract

This work describes the isolation of some chemical constituents besides the evaluation of toxicity against *Artemia salina* Leach, total phenolic content, using Folin-Ciocalteu reagent, inhibition of acetylcholinesterase and antioxidant (DPPH) activities of extracts of leaves of *Lindackeria paraensis* Kulhm (Flacourtiaceae). In the antioxidant assays, some of the extracts and chromatographic fractions tested showed high total phenolic content, when compared to positive controls used (ascorbic acid, α -tocopherol and BHT) free radicals scavenger. In the anticholinesterasic assays, some these extracts were effective to inhibit the enzyme. On the other hand, in the toxicity assay against *Artemia salina*, among samples tested, only three were non toxic (LC_{50} upper to 1000 $\mu\text{g/mL}$) and seven showed high toxicity (LC_{50} under to 500 $\mu\text{g/mL}$), suggesting that this species must be evaluated for other activities, such as insecticidal, pesticide, cercaricidal and others that dependent of citotoxicity. Phytochemical study with some these active extracts conduced to the isolation of two pentacyclic triterpenes (*fridelin* and *fridelinol*) and four flavones (*5-Hydroxy-7,4'-dimethoxyflavone*, *5,4'-Dihydroxy-7-methoxy-flavone*, *5,7,4'-Trihydroxy-3'-methoxyflavone*, and *5,4'-Dihydroxy-7,3'-dimethoxyflavone*). All isolated compounds were identified on the basis of the NMR spectral data and by comparison with literature data and are being described for the first time in the genus *Lindackeria*. The flavones identified as *5,7,4'-trihydroxy-3'-methoxyflavone*, *5-hydroxy-7,4'-dimethoxy-flavone* and *5,4'-Dihydroxy-7-methoxyflavone* free scavenging radicals against DPPH and *5,4'-dihydroxy-7-methoxyflavone* inhibited the action of anticholinesterase enzyme.

Key words: *Lindackeria paraensis*, Flacourtiaceae, antioxidant, *Artemia salina*, anticholinesterase, flavones, triterpenes.

“O valor das coisas não está no tempo em que elas duram, mas na intensidade com que acontecem. Por isso, existem momentos inesquecíveis, coisas inexplicáveis e pessoas incomparáveis”.

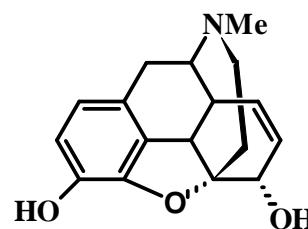
(Fernando Pessoa)

1. Introdução

As espécies vegetais sempre ocuparam, na história da humanidade, a base energética e estrutural da cadeia alimentar, sendo também, um dos recursos mais primitivos usados pelo homem para alívio e cura das suas doenças. As primeiras descrições feitas pelo homem sobre plantas com uso medicinal remontam às sagradas escrituras e ao papiro de Ebers. Porém durante o período anterior à era cristã que ficou conhecida como civilização grega, vários filósofos podem ser destacados por suas obras sobre história natural. Aristóteles, discípulo de Hipócrates, considerado o pai da medicina moderna, escreveu vários manuscritos sobre a história das plantas. É seu o registro da utilização da espécie botânica *Papaver somniferum*, planta cujo princípio ativo é a morfina (**1**). Evidências arqueológicas mostram que o uso de drogas era exemplo em culturas antigas. Nozes de bétel (*Areca catechu*), uma planta aromática que contém substâncias psicoativas, eram mascaradas há 13 mil anos no Timor; e artefatos descobertos no Equador estendem o uso das folhas da coca (*Erythroxylum coca*) há 5000 anos (Pinto *et al.*, 2002).

As idéias de que as plantas possuem um sistema de defesa semelhante ao sistema imunológico dos animais surgiu no final do século IX, mas evidências de que elas respondem ao ataque de microorganismos, alterando seu metabolismo e sintetizando substâncias capazes de protegê-las das doenças, só foram obtidas por volta de 1940. Estudos realizados na Alemanha, com cultivares de batata atacados pelo fungo da requeima, levaram à descoberta de que as plantas resistentes acumulavam substâncias inibidoras do crescimento do fungo, o que não ocorria nos cultivares de batata suscetível à doença (Braga, 2007).

Nos dias atuais, mesmo com o grande desenvolvimento de fármacos obtidas por síntese orgânica, os metabólitos secundários das plantas desempenham um papel de destaque na saúde pública. Nos países em desenvolvimento da América Latina, e em particular no Brasil, a porcentagem de utilização de produtos naturais pela população vem aumentando substancialmente, revelando a importância do conhecimento da química das plantas utilizadas para estes fins. Considerando 119 fármacos derivados de plantas em uso em vários países, 74% foram descobertos através de estudos químicos dirigidos para o isolamento de constituintes químicos de plantas usadas na medicina tradicional. O Brasil, um dos 14 países com grande



(**1**)

biodiversidade, contendo um pouco mais de 10% de todos os organismos descritos na Terra, apresenta das plantas floríferas conhecidas, aproximadamente 55.000 espécies, cerca de 22 % ocorrem no Brasil em diferentes tipos de biomas (Figura 1, p. 2), principalmente nas regiões da floresta amazônica, mata atlântica e cerrado (Vieira e Bolzani *et al.*, 2007).

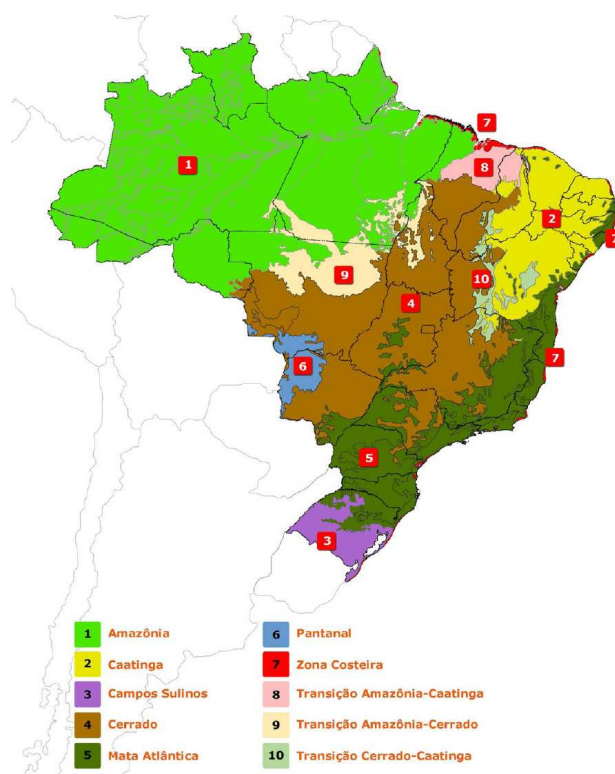
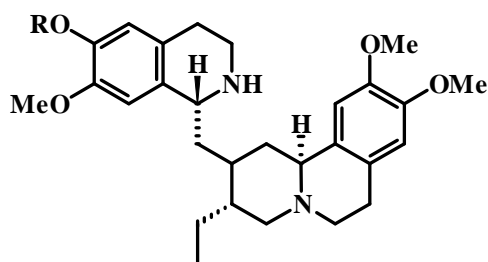


Figura 1. Foto do mapa do Brasil com os diferentes tipos de biomas (Fonte: www.wwf.org.br).

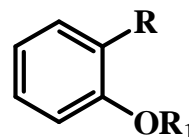
Dos compostos ativos oriundos de plantas com significado importante dentro do contexto dos produtos naturais que podemos relatar os alcalóides emetina (2) e cefalina (3) , extraídos de *Cephaelis ipecacuanha* (Rubiaceae), usados na produção de fitoterápicos amebicidas, expectorantes e eméticos (Machado *et al.*, 2005); a salicina (4) substância isolada pela primeira vez em 1829 pelo farmacêutico francês H. Leroux que tem propriedades anti-reumáticas é o princípio ativo do salgueiro branco, encontrado em várias espécies dos gêneros *Salix* e *Populus*, por oxidação e hidrólise no organismo se converte a ácido salicílico (5), esse também com propriedades anti-reumáticas (Pinto *et al.*, 2007), a galantamina (6) um produto natural isolado de várias espécies vegetais da família Amaryllidaceae, usado como protótipo para o desenvolvimento de novos fármacos anticolinesterásicos (Viegas Junior *et al.*, 2004). A utilização de plantas, associada aos rituais religiosos nas crenças populares e a ausência de testes clínicos em humanos que comprovassem as atividades farmacológicas da maioria dos extratos vegetais, foram alguns dos principais motivos que levaram ao ceticismo da

comunidade médica quanto à prescrição de fitofármacos. Somente os medicamentos alopáticos possuíam estudos científicos comprovados e poderiam ser receitados com segurança para os pacientes pelos médicos (Veiga Júnior *et al.*, 2005). A aceitação de grande parte da comunidade da área de saúde à utilização das plantas medicinais como opção de tratamento completa o quadro atual de automedicação indiscriminada em todas as classes sociais, muitas vezes sem o conhecimento da toxicidade dos extratos vegetais, o que pode ser perigoso se não houver a garantia de que as propriedades farmacológicas esperadas sejam realmente obtidas, sem efeitos colaterais ou adversos perigosos para sua saúde (Veiga Júnior *et al.*, 2005).

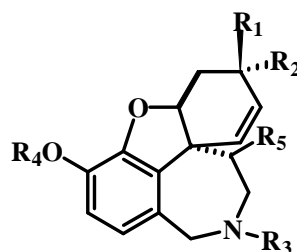
No Brasil, diretrizes do Ministério da Saúde determinaram prioridades na investigação das plantas medicinais e implantando a fitoterapia como prática oficial da medicina, orientando as Comissões Interinstitucionais de Saúde a buscarem sua inclusão no Sistema Único de Saúde (SUS). Para que essa inclusão ocorra é essencial que os profissionais da área de saúde conheçam as atividades farmacológicas e a toxicidade das plantas medicinais de cada bioma brasileiro, de acordo com os costumes, tradições e condição sócio-econômica da população.



- (2) R = Me
(3) R = H



- (4) R = CH₂OH, R₁ = Glc
(5) R = CO₂H, R₁ = H



- (6) R₁ = OH, R₂ = R₅ = H, R₃ = R₄ = Me

Considerando que os objetivos do presente trabalho incluíram o estudo químico de extratos vegetais monitorado pelas atividades antioxidantes, anticolinesterásicos e de toxicidade frente a *Artemia salina* Leach, a seguir serão relatadas algumas considerações teóricas sobre esses temas, bem como sobre a família, o gênero e espécie selecionada para o estudo.

*2. Considerações Sobre as Atividades Biológicas relacionadas aos Radicais Livres e Antioxidantes, Doença de Alzheimer e Anticolinesterásicos, Toxicidade frente a *Artemia salina* Leach, bem como sobre a Família Flacourtiaceae, Gênero *Lindackeria* e Espécie selecionada para Estudo.*

2.1. Radicais Livres e Antioxidantes

A oxidação exagerada, dito estresse oxidativo, tem feito com que o homem tenha cada vez mais interesse no estudo dos antioxidantes, que são capazes de inibir os efeitos dos radicais livres produzidos naturalmente no organismo humano. Sendo assim, a investigação científica de extratos brutos, frações, subfrações ou de substâncias isoladas e/ou modificadas tem se acentuado de um modo geral, no sentido de minimizar os efeitos desses radicais no nosso organismo, pois várias classes de compostos, como os flavonóides presentes em algumas espécies de vegetais são capazes de combatê-los. Apesar do nosso organismo ter seu próprio mecanismo de defesa, esse estudo tem mostrado a necessidade de podermos contar com esse auxílio presente na natureza, uma vez que várias enfermidades podem ser evitadas e até eliminadas a partir de novos modelos de fármacos que podem ser originados e que pode combater esse estresse oxidativo (Barreiros *et al.*, 2006).

◆ **Radicaís livres e as espécies reativas do oxigênio (EROs) e do nitrogênio (ERNs)**

Elétrons não parificados presentes em átomos, moléculas ou íons os tornam bastantes reativos. Estas espécies reativas de radicais livres, cujo elétron desemparelhado encontra-se em seu orbital mais externo, podem surgir a partir de duas importantes substâncias em seu estado fundamental o oxigênio (O_2) e o óxido nítrico (NO), que ocorre na natureza na forma de poluente, mas que também é sintetizado em diversas células e atualmente é identificado como o fator relaxante dependente do endotélio e um importante vasodilatador (Rover Júnior *et al.*, 2001).

As espécies **EROs** e **ERNs** geradas em processos inflamatórios, por alguma disfunção biológica ou provenientes dos alimentos e responsáveis pelo estresse oxidativo, tais como radical hidroxila ($\cdot OH$), ânion radical superóxido ($O_2^{\cdot -}$) e peroxila ($ROO\cdot$), causam danos ao DNA ou podem oxidar lipídeos e proteínas. Atacando as cadeias de ácidos graxos poliinsaturados dos fosfolipídeos e do colesterol, abstraindo um hidrogênio do grupo metileno

bis-alílico, iniciando assim o processo de peroxidação lipídica na membrana celular. Dentre as ERNs que podem atuar nesses processos ou em parte deles podemos citar o óxido nítrico (NO^\cdot), óxido nitroso (N_2O_3), ácido nitroso (HNO_2), nitritos (NO_2^-), nitratos (NO_3^-) e peroxinitritos (ONOO^\cdot). As EROs também podem ser moléculas como o próprio oxigênio, o peróxido de hidrogênio e o ácido hipocloroso (Barreiros *et al.*, 2006; Sousa *et al.*, 2007).

◆ **Antioxidante como sistema de defesa**

A oxidação de lipídios, ou autooxidação, se inicia com a formação de radicais livres e os hidroperóxidos formados podem causar alterações sensoriais indesejáveis em óleos, gorduras ou alimentos que os contêm, produzindo odor e sabor desagradáveis e com isso, a diminuição do tempo de vida útil. Além disso, os produtos da oxidação lipídica podem desencadear a peroxidação *in vivo*, resultando em problemas de saúde que podem variar desde o envelhecimento precoce até a instalação de doenças degenerativas, como câncer, aterosclerose, artrite reumática e também, compostos secundários como aldeídos e cetonas que podem provocar mutações.

A oxidação nos sistemas biológicos ocorre devido à ação dos radicais livres no organismo. Estas moléculas têm elétrons desemparelhados, livres para se ligar a qualquer outro elétron, e por isso são extremamente reativas. Elas podem ser geradas por fontes endógenas ou exógenas. Por fontes endógenas, originam-se de processos biológicos que normalmente ocorrem no organismo, tais como: redução de flavinas e tióis; resultado da atividade de oxidases, cicloxigenases, lipoxigenases, desidrogenases e peroxidases; presença de metais de transição no interior da célula e de sistemas de transporte de elétrons. Esta geração de radicais livres envolve várias organelas celulares, como mitocôndrias, lisossomos, peroxissomos, núcleo, retículo endoplasmático e membranas (Machlin & Bendich, 1987).

Sendo assim, os antioxidantes apresentam-se como alternativa para prevenir a deterioração oxidativa dos alimentos e minimizar os danos oxidativos nos seres vivos, uma vez que, são substâncias capazes de retardar ou reduzir a velocidade da oxidação.

◆ **Método para avaliar a atividade antioxidante (DPPH)**

Vários métodos são utilizados para determinar a atividade antioxidante em extratos e substâncias isoladas; um dos mais usados consiste em avaliar a atividade sequestradora do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH), de coloração púrpura que absorve a 515 nm, porém na presença de um antioxidante (**AH**) ou espécie radicalar (**R'**) cuja cor púrpura

desaparece, pois é reduzido, dando origem ao 2,2-difenil-picril-hidrazina (Figura 2, p. 6), de coloração amarela, com conseqüente desaparecimento da absorção, podendo assim ser monitorado pelo decréscimo dessa absorbância (Sousa *et al.*, 2007).

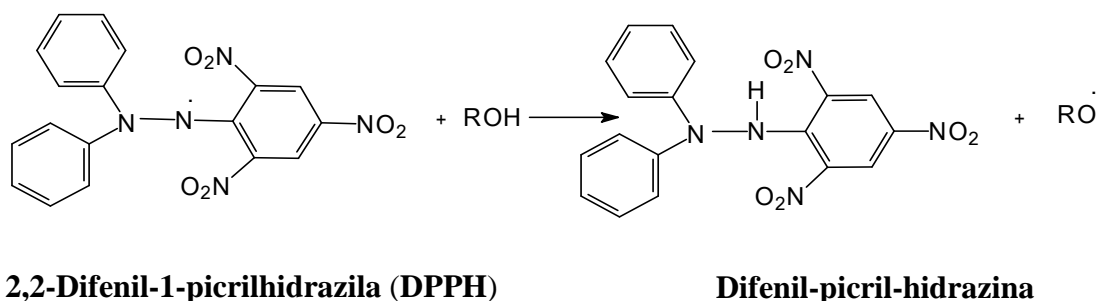


Figura 2. Representação esquemática da reação de redução do DPPH.

2.2. Doença de Alzheimer e Anticolinesterásicos

A doença de Alzheimer é neurodegenerativa, atinge primeiramente a memória e, em seguida, a capacidade de raciocinar e a comunicação entre os seres humanos. Dentre as causas mais evidentes da gênese da doença estão a ocorrência de deposição extracelular de peptídeo β -amilóide em plaquetas senis e a formação errática de neurofibrilas intracelulares. Todo este processo resulta em perda da função neuronal e dano sináptico, com subsequente comprometimento da memória, da coordenação motora e do raciocínio, além de perda da capacidade cognitiva e demência (Viegas Júnior *et al.*, 2004).

Em nível celular, a doença está associada à redução das taxas de acetilcolina (ACh) no processo sináptico, diminuindo a neurotransmissão colinérgica cortical, além de outros neurotransmissores como noradrenalina, dopamina, serotonina, glutamato e substância P em menor extensão (Bryne *et al.*, 1988). Estudos mais recentes demonstraram ocorrência de redução do número de receptores nicotínicos e muscarínicos de ACh, muitos dos quais localizados nas terminações colinérgicas pré-sinápticas, havendo preservação dos receptores muscarínicos pós-sinápticos.

Sintomaticamente, o mal de Alzheimer é tratado e consiste justamente na tentativa de restauração da função colinérgica. Sendo assim, eleva-se o nível de acetilcolina na tentativa de amenizar a deficiência da aprendizagem, um dos sinais da doença (Perry *et al.*, 1986). Inibir a enzima acetilcolinesterase (AChE) é um meio amplamente utilizado no tratamento da doença, procedimento este que se baseia na hipótese colinérgica. A galantamina, um alcalóide isolado de plantas da família Amaryllidaceae, apresenta ações seletivas, reversíveis e apresenta ação

competitiva para inibir a acetilcolinesterase. Esse alcalóide considerado eficaz no tratamento da doença de Alzheimer, quando comparado a fisostigmina e a tacrina (Ingkaninan *et al.*, 2000; Rhee *et al.*, 2001), que são as drogas atualmente utilizadas.

Em virtude do alto custo dos medicamentos, os pesquisadores têm buscado em espécies vegetais novos inibidores, sendo esta uma alternativa interessante na busca de novos fármacos para o controle da doença, que poderão contribuir para diminuir os custos com o tratamento. Atualmente, há uma atividade de pesquisa relativamente intensa na busca de novos inibidores em extratos de plantas (Rhee *et al.*, 2001), com especial interesse no isolamento e na identificação de novos inibidores da AChE.

Existem duas estratégias principais sendo aplicadas para equilibrar o déficit colinérgico em portadores da doença: inibição da degradação da ACh e administração de agonistas de receptores nicotínicos. Os fármacos inibidores de acetilcolinesterase vêm sendo uma alternativa terapêutica muito comum e empregada por apresentarem melhores resultados no controle da doença, entretanto, não são capazes de impedir sua progressão em nenhum de seus níveis (Viegas Júnior *et al.*, 2004).

Recentemente estudos com plantas brasileiras utilizou o ensaio bioautográfico de Rhee e cols. (Trevisan *et al.*, 2003) e o ensaio de Ellmann em microplaca (Ellmann, 1961; Rhee *et al.*, 2001), para identificar extratos que poderiam conter substâncias inibidoras da AChE. O estudo utilizou 58 extratos de 30 espécies de diversos gêneros vegetais, dos quais os autores consideraram os resultados de inibição maior ou igual a 50% como critério de seleção para o fracionamento químico. A partir do trabalho de triagem, *Paullinia cupana* (guaraná), *Amburana cearensis* (cumaru) e *Lippia sidoides* foram as espécies que demonstraram melhores resultados, inibindo de 65-100% da atividade enzimática, em ambos os bioensaios. No caso do guaraná, foi evidenciado um efeito positivo de incremento de memória após a administração aguda e crônica; o fracionamento biomonitorado dos extratos de *A. cearensis* e *L. sidoides* levou ao isolamento de 12 cumarinas até o momento (Trevisan *et al.*, 2003), demonstrando a utilidade e praticidade deste tipo de ensaio para a bioprospecção de novos fármacos anticolinesterásicos.

2.3. Toxicidade frente à Artemia Salina Leach (TAS)

A *Artemia salina* é um microcrustáceo (Figura 3, p. 8), de águas salinas e salobras, pertencente à subclasse Anostracea, família Artermiidae, que na fase adulta chega a medir de 8 a 13 mm de comprimento. Seu desenvolvimento envolve quatro estágios (ovo, náuplio,

metanúplio e adulto), e alguns mecanismos de adaptação a torna cosmopolita, como a osmorregulação, a presença de pigmentos respiratórios como a hemoglobina e a disponibilidade de alternativas reprodutivas que facilitam a dispersão e a perpetuação dessa espécie. Esses modos de reprodução referem-se à oviparidade, viviparidade, partenogênese e encistamento (diapausa), quando as condições ambientais são impróprias.

A flora brasileira é composta por uma infinidade de plantas detentoras de uma grande variedade de princípios ativos, responsáveis por diferentes atividades biológicas. Levando em consideração o arsenal de plantas com atividade terapêutica e a rigorosidade dos Comitês de Ética na utilização criteriosa de animais para testes *in vivo*, a TAS passa a ser um método alternativo de triagem toxicológica para extratos de plantas que agrega custo-benefício.



Figura 3. Larvas de *Artemia salina* (Fonte: www.meerwasserlexikon.de/bilder/thumbs_video/53T598.jpg)

2.4. Família Flacourtiaceae

As espécies vegetais da família Flacourtiaceae apresentam os caracteres mais primitivos na ordem Malpighiales (Cronquist, 1968). São árvores, arbustos ou subarbustos lenhosos de distribuição pantropical e de difícil diagnose no campo, devido a sua morfologia floral extremamente heterogênea (Chase *et al.*, 2002). São plantas dióicas geralmente polinizadas por insetos e pássaros. Dentro da classificação filogenética as espécies desta família foram divididas em duas famílias, Salicaceae e Achariaceae, ficando maior parte de seus representantes em Salicaceae, clado das Eurosideas I. E as demais representantes na família Achariaceae.

De acordo com Sleumer (1980), esta família é constituída por sete tribos, com 86 gêneros e cerca de 900 espécies, distribuídas nas Américas, África, Ásia e Oceania (Malásia, Austrália e nas ilhas do Pacífico). Nas Américas foram catalogados 32 gêneros, com cerca de 300 espécies neotropicais (Klein & Sleumer, 1984), sendo que no Brasil são citados 19 gêneros com aproximadamente 90 espécies distribuídas pelos diferentes biomas, com grande capacidade de adaptação ao meio (Thadeo *et al.*, 2007).

Plantas pertencentes à família Flacourtiaceae são usadas na terapêutica popular como antitérmica, antiofídica, antiinflamatória, antimicrobiana e cicatrizante, entre outras (Almeida, 1988; Mosaddika *et al.*, 2004). Algumas dessas espécies, tais como *Caloncoba echinata* (Oliv.) Gilg, *Carpotroche barsiliensis* e *Caseria sylvestris*, uma planta que ocorre em todo território brasileiro, foram promissoras contra o agente etiológico da hanseníase (*Mycobacterium leprae*) e da malária (*Plasmodium falciparum*), no desenvolvimento de células neoplásicas, frente ao fungo *Aspergillus níger*, bem como um potente antiofídico (Hanne *et al.*, 2002; Nicholas *et al.*, 2002; Saulo *et al.*, 2009).

Em relação ao perfil químico, a família está representada por diferentes classes de compostos. Dentre as quais estão cumarinas, lignanas (Simom, 1996), alcalóides, triterpenóides e flavonóides (Jungles, 1985). Dentre os triterpenóides, 45 deles, pertencentes aos esqueletos oleanano, ursano, lupano, damarano e, principalmente friedelano, além de um limonóide foram relatados (Tabela 1, p. 12). Ao passo que somente 16 flavonóides, distribuídos entre flavonas, flavonóis, flavonona, flavanas e flavonolignóides foram encontrados (Tabela 2, p. 18).

Os flavonóides, metabólitos secundários muito importantes, devido aos benefícios trazidos pelo consumo por meio de frutas e outros vegetais que os contém, é o nome dado a um grande grupo de fitoquímicos ou fitonutrientes, que são polifenóis de baixa massa molecular. É encontrado nos vegetais em geral, assim como em alimentos processados como chá e vinho. Devido ao vasto leque de efeitos biológicos que incluem entre outros: ação anti-inflamatória, anti-alérgica e anti-câncer, esses compostos são de interesse, tanto da indústria como de consumidores pelo seu potencial na prevenção de doenças como o cancer e as de origem cardiovasculares, pois tem ação antioxidante. Mais de cinco mil flavonóides que ocorrem na natureza foram descritos e classificados a partir de sua estrutura química, em flavanas, flavanonas, flavonas e flavonóis, isoflavonas e antocianinas. Alguns têm sido descritos como antioxidantes, antihemorrágicos e protetores dos vasos sanguíneos (Roseghini *et al.*, 2005).

Os terpenóides constituem uma diversificada classe de substâncias, que são considerados como derivados do 2-metil-butadieno, mais conhecido como isopreno. O verdadeiro precursor dos terpenos é o ácido mevalônico o qual provém da acetil coenzima A.

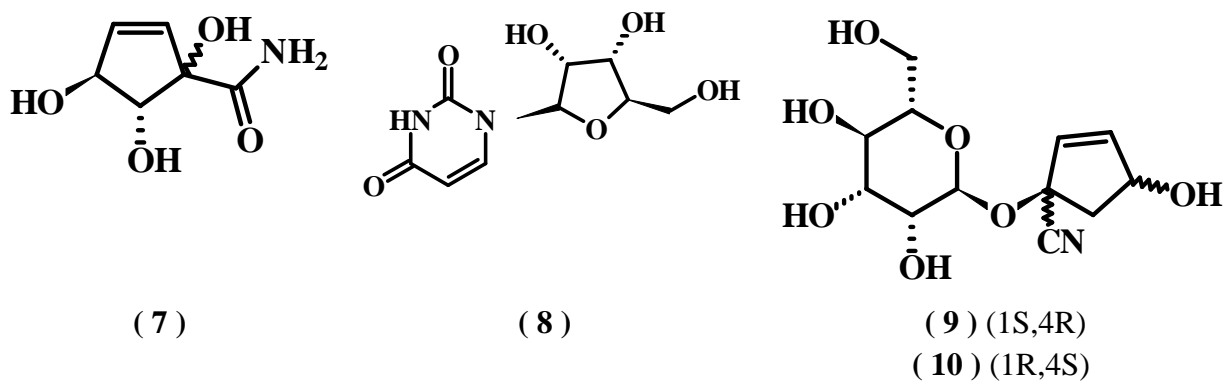
Em qualquer caso, a divisão da estrutura dos terpenos em unidades de isopreno é muito útil e se utiliza com bastante frequência. De acordo com o número de cadeias de isopreno presentes, os terpenos são classificados como: hemiterpenos (C₅), monoterpenos (C₁₀), sesquiterpenos (C₁₅), diterpenos (C₂₀) e triterpenos (C₃₀). Estes compostos encontram-se em sementes, flores, folhas, raízes e madeira de plantas superiores assim como no musgo, algas e líquens. (<http://www.dq.fct.unl.pt/qa/biossin/2i.html>)

Sertié e cols. (2000) relatam que no Brasil, mais da metade dos gêneros de Flacourtiaceae ainda não tiveram espécie alguma estudada do ponto de vista químico. Esses dados podem sugerir que o potencial dessa família, tanto do ponto de vista de sua quimiodiversidade quanto da bioprospecção de novos potenciais fitofármacos, ainda é pouco conhecido. Nesse sentido, considerando a necessidade de novas substâncias bioativas como antineoplásicas, antiofídica, antioxidante, anticolinesterásica, antiinflamatória, antimicrobiana e cicatrizante e outras, o presente estudo buscou contribuir com a ampliação do conhecimento químico e biológico dessa família através do estudo de uma espécie vegetal, proveniente do estado do Pará, a *Lindackeria paraensis* Kuhlman.

2.5 O Gênero *Lindackeria*

Lindackeria é um gênero botânico, pertencente ao Reino: Plantae, Divisão: Magnoliophyta, Classe: Magnoliopsida, Ordem: Malpighiales e Família: Flacourtiaceae. Este gênero é composto por 25 espécies, a saber: *L. bequaerti*, *L. bukobensis*, *L. caillei*, *L. cuneato*, *L. dentata*, *L. fragrans*, *L. gilleti*, *L. grewioides*, *L. kivuensis*, *L. latifolia*, *L. laurina*, *L. maynensis*, *L. mildbraedii*, *L. ngounyensis*, *L. nítida*, *L. ovata*, *L. paludosa*, *L. paraensis*, *L. pauciflora*, *L. poggei*, *L. schweinfurthii*, *L. somalensis*, *L. stipulata*, *L. vageleri*, *L. vernicosa* (<http://us.mirror.gbif.org/species/14737998>)

Sob o ponto de vista químico somente a espécie *L. dentata* (Oliv.) Gilg. (Figura 4, p. 11) foi até então investigada e das cascas desta espécie foi isolada somente uma amida ciclopentenóide *lindackeriamida* (7) (Gibbons *et al.*, 1998) e das folhas três cianidrinas glicosiladas *uridina* (8), *epivolkenina* (9) e *taraktophyllina* (10) e amidas (Jaroszewski *et al.*, 2004). O óleo essencial das sementes de *L. dentata*, uma espécie coletada no Congo foi saponificado e os ácidos graxos obtidos por destilação fracionada dos ésteres foram caracterizados como ácidos hidnocárpico, chaulmoogrico, górrico, palmítico e oléico (Adriaens, 1945; 1946).



A



B

Figura 4. Foto das folhas de *L. dentata* (A) e de *Lindackeria* sp. (Fonte: herbario.up.ac.pa/Herbario/FinalTaxa1.php).

2.6. A Espécie *Lindackeria paraensis* Kuhl.

Lindackeria paraensis é uma árvore oriunda do estado do Pará, conhecida como “farinha seca”, foi até então estudada como fonte geradora de energia, por meio de lenha (lascas secas) ou de carvão vegetal (De Paula, 2005).

Tabela 1. Triterpenos relatados em espécies da família Flacourtiaceae.

Nome da Substância	Número da Substância	Nome da Espécie	Parte da Planta	Referências
Ácido betulínico	I.1	<i>Hydnocarpus wightiana</i>	Cascas (Caule)	Nair & Rao, 1993
Ácido acetilbetulínico	I.2	<i>Hydnocarpus wightiana</i>	Cascas (Caule)	Nair & Rao, 1993
Lupeol	I.3	<i>Limonia acidissima</i>	Folhas e Caule	Patra <i>et al.</i> , 1988
β -Amirina	I.4	<i>Aberia caffra</i>	Folhas	Sayed <i>et al.</i> , 2000
11 α -Metoxi- β -amirina	I.5	<i>Myroxylon balsamum</i>		Mathias <i>et al.</i> , 2000
α -Amirina	I.6	<i>Aberia caffra</i> <i>Limonia crenulata</i>	Folhas	Sayed <i>et al.</i> , 2000 Jain <i>et al.</i> , 1989
Ácido ursólico	I.7	<i>Hydnocarpus wightiana</i>	Cascas (Caule)	Nair & Rao, 1993
Ácido acetilursólico	I.8	<i>Hydnocarpus wightiana</i>	Cascas (Caule)	Nair & Rao, 199
Ácido 6 β ,23-diidroxi- 28-O- β -D-glicopiranosiltormêntico	I.9	<i>Aphloia madagascariensis</i> <i>Aphloia theiformis</i>	Folhas Folhas	Dijoux <i>et al.</i> , 1993 Gopalsamy <i>et al.</i> , 1988
Ácido 6 β -hidroxi-28-O- β -D-glicopiranosiltormêntico	I.10	<i>Aphloia madagascariensis</i> <i>Aphloia theiformis</i>	Folhas Folhas	Dijoux <i>et al.</i> , 1993 Gopalsamy <i>et al.</i> , 1988
2 α ,3 β ,19-Triidroxiurs-12-en-28-oato de β -D-glicopiranosila	I.11	<i>Aphloia theiformis</i>	Folhas	Gopalsamy <i>et al.</i> , 1988
Ácido octandrólico	I.12	<i>Hydnocarpus octandra</i>	Cascas (Caule)	Gunasekera <i>et al.</i> , 1977
Ácido octandrônico	I.13	<i>Hydnocarpus octandra</i>	Cascas (Caule)	Gunasekera <i>et al.</i> , 1977
Ácido trichadônico	I.14	<i>Caloncoba glauca</i> <i>Trichadenia zeylanica</i>	Cascas (Caule) Cascas	Giner-Pons <i>et al.</i> , 1991 Gunasekera <i>et al.</i> , 1973; 1977

Tabela 1 (Continua)

Tabela 1 (Continuação)

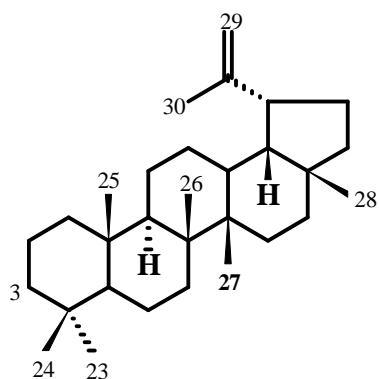
Ácido trichadênico A	I.15	<i>Gynocardia odorata</i>	Raízes	Pradhan <i>et al.</i> , 1995
		<i>Trichadenia zeylanica</i>	Cascas	Gunasekera <i>et al.</i> , 1973; 1977
Ácido O-acetiltrichadênico A	I.16	<i>Trichadenia zeylanica</i>	Cascas	Gunasekera <i>et al.</i> , 1973; 1977
Ácido acetiltrichadênico B	I.17	<i>Trichadenia zeylanica</i>	Cascas	Gunasekera <i>et al.</i> , 1973; 1977
Trichadenal	I.19	<i>Trichadenia zeylanica</i>	Cascas	Gunasekera <i>et al.</i> , 1977
O-Acetiltrichadenal	I.18	<i>Trichadenia zeylanica</i>	Cascas	Gunasekera <i>et al.</i> , 1977
3 α -Acetilfriedelano	I.20	<i>Trichadenia zeylanica</i>	Cascas	Gunasekera <i>et al.</i> , 1977
Acido 3 β -hidroxi-(D:A)-frieo-olean-26,29-dióico	I.21	<i>Phyllobotryon spathulatum</i>	Cascas	Gibbons <i>et al.</i> , 1993
Octadrolal	I.22	<i>Hydnocarpus octandra</i>	Cascas (Caule)	Gunasekera <i>et al.</i> , 1977
Octandrolol	I.23	<i>Hydnocarpus octandra</i>	Cascas (Caule)	Gunasekera <i>et al.</i> , 1977
Octandronal	I.24	<i>Hydnocarpus octandra</i>	Cascas (Caule)	Gunasekera <i>et al.</i> , 1977
Octandronol	I.25	<i>Hydnocarpus octandra</i>	Cascas (Caule)	Gunasekera <i>et al.</i> , 1977
3 β -Acetoxi-(D:A)-frieo-olean-(26 \rightarrow 16 α)- δ -lactona	I.26	<i>Homalium longifolium</i>	Caule	Shaari <i>et al.</i> , 1996
3 β -Benzoil-(D:A)-frieo-oleanan-(26 \rightarrow 16 α)- δ -lactone	I.27	<i>Homalium longifolium</i>	Caule	Shaari <i>et al.</i> , 1996
Ácido 3 β ,21 β -diidroxi-(D:A)-frieo-30-norolean-20(29)-en-26-óico	I.28		Cascas (Caule)	Tchuendem <i>et al.</i> , 1996
Ácido 3 β ,21 β -diidroxi-30-nor-(D:A)-frieo-olean-26-óico	I.29	<i>Caloncoba glauca</i>	Cascas (Caule)	Giner <i>et al.</i> , 1993
(+)-Caloncobalactona	I.30	<i>Caloncoba lophocarpa</i>	Cascas (Caule)	Tchuendem <i>et al.</i> , 1996
		<i>Caloncoba glauca</i>	Cascas (Caule)	Giner-Pons <i>et al.</i> , 1991
21 β -Hidroxicaloncobalactona	I.31	<i>Caloncoba lophocarpa</i>	Cascas (Caule)	Tchuendem <i>et al.</i> , 1996
		<i>Caloncoba glauca</i>	Cascas (Caule)	Giner-Pons <i>et al.</i> , 1991
Éster metílico do ácido 3-oxo-19 β , 21 β -Lophocarpina	I.32	<i>Phyllobotryon spathulatum</i>	Cascas	Gibbons <i>et al.</i> , 1993
	I.33	<i>Caloncoba lophocarpa</i>	Cascas (Caule)	Tchuendem <i>et al.</i> , 1996

Tabela 1 (Continua)

Tabela 1 (Continuação)

21 β -Hidroxiophocarpina	I.34	<i>Caloncoba lophocarpa</i>	Cascas (Caule)	Tchuendem <i>et al.</i> , 1996
Kokoonol [= 3-oxo-(D:A)-fiedo-olean-26-ol]	I.35	<i>Caloncoba glauca</i>	Cascas (Caule)	Giner <i>et al.</i> , 1993
Kokoonal [= 3-Oxo-(D:A)-fiedo-olean-27-al]	I.36	<i>Caloncoba glauca</i>	Cascas (Caule)	Giner <i>et al.</i> , 1993
Odollactona [= 3-Oxo- (D:A)-fiedo- olean-(27 \rightarrow 12 α) - γ -lactona]	I.37	<i>Gynocardia odorata</i>	Raízes	Pradhan <i>et al.</i> , 1995
(-)-Odolactona [= 3-Oxo-(D:A)-fiedo- olean-(26 \rightarrow 15 α)- γ -lactona]	I.38	<i>Gynocardia odorata</i>	Cascas	Pradhan <i>et al.</i> , 1984
(-)-Acetilodolactona [= 3 α -Acetoxi-(D:A)- fiedoolean-(26 \rightarrow 12 α) - γ -lactona]	I.39	<i>Phyllobotryon spathulatum</i>	Cascas	Gibbons <i>et al.</i> , 1993
3 α -Hidroxi-friedelan-(27 \rightarrow 12 β)-lactona]	I.40	<i>Gynocardia odorata</i>	Cascas	Pradhan <i>et al.</i> , 1984
11,20-Diidroxi-24-damaren-3-ona (11R,20R)	I.41	<i>Caloncoba echinata</i>	Folhas	Ziegler <i>et al.</i> , 2002
17,25-Diidroxi-20, 24-epoxi-14(18)- malabaricen-3-ona (17S,20R,24R)	I.42	<i>Caloncoba echinata</i>	Folhas	Ziegler <i>et al.</i> , 2002
17,25-Diidroxi-20, 24-epoxi-14(18)- malabaricen-3-ona (17R,20S,24R)	I.43	<i>Caloncoba echinata</i>	Folhas	Ziegler <i>et al.</i> , 2002
A'-Neogammacer-22(29)-en-3-ona (21 β)	I.44	<i>Flacourtia jangomas</i>	Folhas	Mukherjee <i>et al.</i> , 1997
Limonina	I.45	<i>Limonia acidissima</i>	Folhas e Caule	Patra <i>et al.</i> , 1988

Estruturas de Triterpenos Relacionados na Família Flacourtiaceae

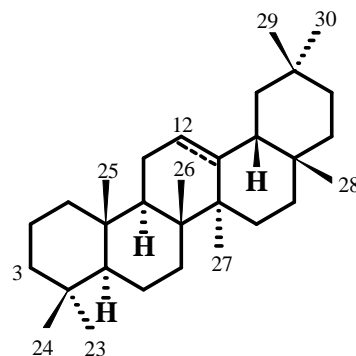


LUPANO

I.1 3 β -OH, 28-CO₂H

I.23 β -OAc, 28-CO₂H

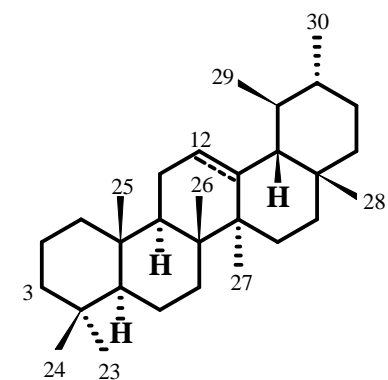
I.33 β -OH



OLEANANO

I.4 3 β -OH

I.5 3 β , 11 α -OH



URSANO

I.6 3 β -OH

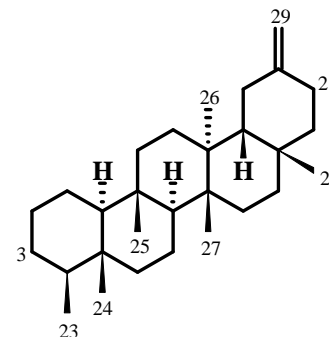
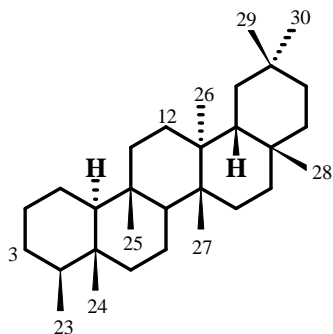
I.7 3 β -OH, 28-CO₂H

I.8 3 β -OAc, 28-CO₂H

I.9 2 α , 3 β , 6 β , 19, 23-OH, 28-CO₂- β -D-Glc

I.10 2 α , 3 β , 6 β , 19-OH, 28-CO₂- β -D-Glc

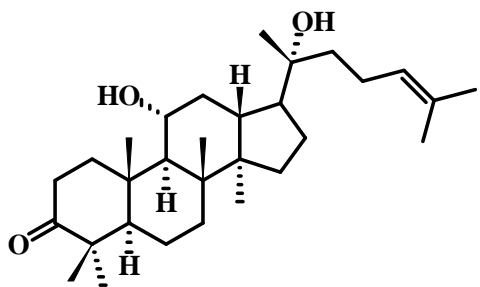
I.11 2 α , 3 β , 6 β , 19-OH, 28-CO₂- β -D-Glc



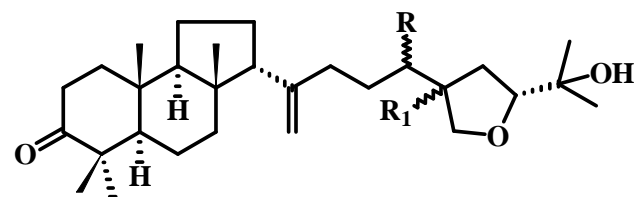
FRIEDELANO

- I.12** 3 α -OH, 29-CO₂H
- I.13** 3-Oxo, 29-CO₂H
- I.14** 3-Oxo, 26-CO₂H
- I.15** 3 α -OH, 26-CO₂H
- I.16** 3 α -OAc, 26-CO₂H
- I.17** 3 β -OAc, 26-CO₂H
- I.18** 3 β -OH, 26-CHO
- I.19** 3 β -OAc, 26-CHO
- I.20** 3 α -OAc
- I.21** 3 β -OH, 26,29-CO₂H
- I.22** 3 α -OH, 29-CHO
- I.23** 3 α -OH, 29-OH
- I.24** 3-Oxo, 29-CHO
- I.25** 3-Oxo, 29-OH
- I.26** 3 β -OAc, (26 \rightarrow 16 α)- δ -lactona
- I.27** 3 β -BzO, (26 \rightarrow 16 α)- δ -lactona

- I.28** 3 β ,21 β -OH, 26-CO₂H
- I.29** 3 β ,21 β -OH, 26-CO₂H
- I.30** 3-Oxo, (26 \rightarrow 15 α)- γ -lactona
- I.31** 3-Oxo, 21 β -OH, (26 \rightarrow 15 α)- γ -lactona
- I.32** 3-Oxo, 19 β ,21 β -OH, 26-CO₂Me
- I.33** 3-Oxo
- I.34** 3-Oxo, 21 β -OH
- I.35** 3-Oxo, 27-OH
- I.36** 3-Oxo, 26-CHO
- I.37** 3-Oxo, (27 \rightarrow 12 β)-lactona
- I.38** 3-Oxo, (26 \rightarrow 15 α)- γ -lactona]
- I.39** 3 α -OAc, (27 \rightarrow 12 β)-lactona
- I.40** 3 α -OH, (27 \rightarrow 12 β)-lactona

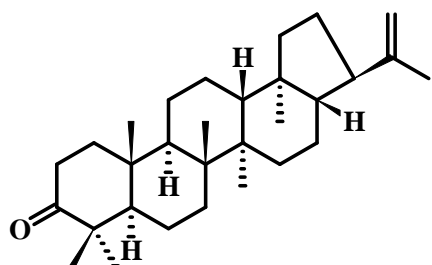


I.41

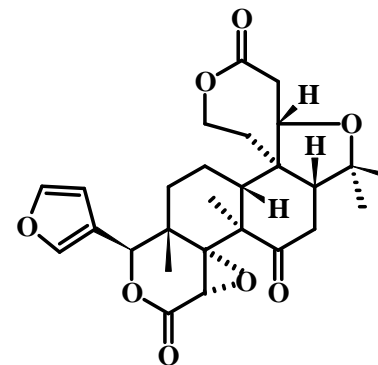


I.42 R = β -OH, R₁ = α -Me

I.43 R = α -OH, R₁ = β -Me



I.44



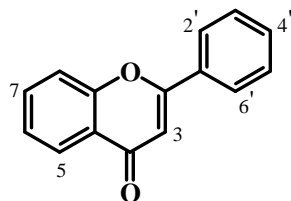
I.45

Tabela 2. Flavonóides relatados em espécies da família Flacourtiaceae.

Nome do Composto	Número do Composto	Nome da Espécie	Parte da Planta	Referências
3',4',5,7-Tetrahidroxiflavona	II.1	<i>Aberia caffra</i>	Folhas	Sayed <i>et al.</i> , 2000
4',5,7-Triidroxiflavona	II.2	<i>Aberia caffra</i>	Folhas	Sayed <i>et al.</i> , 2000
,7-O-β-D-Glicopiranosilapigenina	II.3	<i>Aberia caffra</i>	Folhas	Sayed <i>et al.</i> , 2000
3, 3',4',5,7-Tetrahidroxiflavona	II.4	<i>Aberia caffra</i>	Folhas	Wassel <i>et al.</i> , 1974
5,7,4'-Triidroxiflavonol	II.5	<i>Aberia caffra</i>	Folhas	Wassel <i>et al.</i> , 1974
3-O-α-L-Dirhamnosilmiricetina	II.6	<i>Azara microphylla</i>	Folhas	Sagareishvili <i>et al.</i> , 1983
3',5,7-Triidroxi-4'-metoxiflavona	II.7	<i>Azara dentada</i>	Folhas	Lebreton <i>et al.</i> , 1967
(-)-(2R,3R)-5,7,3',4'-Tetrahidroxiflavan-3-ol	II.8	<i>Caloncoba glauca</i>	Raízes	Giner <i>et al.</i> , 1993
Quercetina	II.9	<i>Casearia ilicifolia</i>	Folhas	Weniger <i>et al.</i> , 1982
Kaempferol	II.10	<i>Casearia ilicifolia</i>	Folhas	Weniger <i>et al.</i> , 1982
Leucopelargonidol [=Apigenol ; 3,4,4',5,7-flavanpentol]	II.11	<i>Casearia ilicifolia</i> <i>Casearia esculenta</i> <i>Hydnocarpus wightiana</i>	Folhas Raízes	Weniger <i>et al.</i> , 1982 Krishnan <i>et al.</i> , 1965 Nair <i>et al.</i> , 1971
3-O-Rhamnosilquercetina	II.12	<i>Erythrospermum monticolum</i>	Folhas	Recio <i>et al.</i> , 1996
3-O-β-D-Rhamnopiranosil-(1→2)-β-D-xilopiranosil-3',4',5,7-tetrahidroxiflavona	II.13	<i>Erythrospermum monticolum</i>	Folhas	Recio <i>et al.</i> , 1996
Hidnocarpina	II.14	<i>Hydnocarpus wightiana</i>	Folhas	Sharma & Hall, 1991

Hidnowightina	II.15	<i>Hydnocarpus wightiana</i>	Folhas	Sharma & Hall, 1991
Neohidnocarpina	II.16	<i>Hydnocarpus wightiana</i>	Folhas	Sharma & Hall, 1991

Estruturas dos Flavonóides Relacionados em Espécies de Flacourtiaceae.



II.1 3',4',5,7-OH

II.2 4',5,7-OH

II.3 4',5-OH, 7-O- β -D-Glc

II.4 3, 3',4',5,7-OH

II.5 3, 4',5,7-OH

II.6 3',4',5,5',7-OH, 3-O- α -L-Rha-Rha

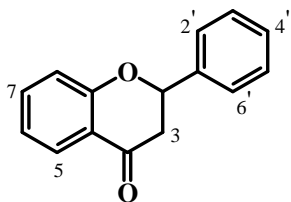
II.7 3',5,7-OH, 4'-OMe

II.9 3,3',4',5,7-OH

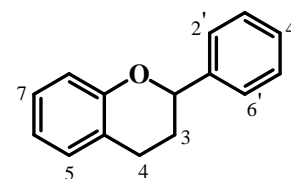
II.10 3,4',5,7-OH

II.12 3',4',5,7-OH, 3-O-Rha

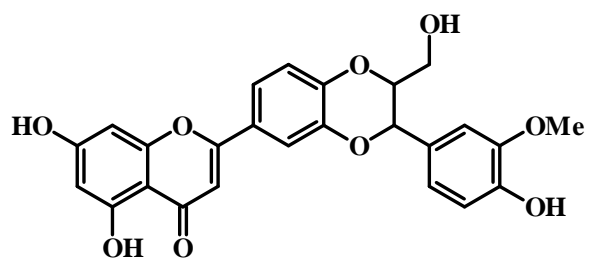
II.13 3',4',5,7-OH, 3-O- β -D-Rha-(1 \rightarrow 2)- β -D-Xil



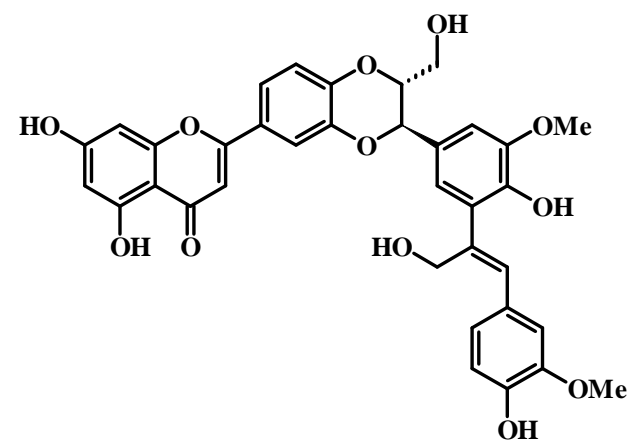
II.8 3,3',4',5,7,-OH (2R,3R)



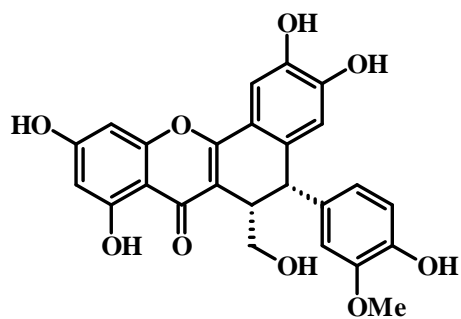
II.11 3,4,4',5,7, -OH



II.14



II.15



II.16

3. Objetivos

3.1. Geral

Extrair, isolar e identificar os componentes dos extratos das folhas de *Lindackeria paraensis* (Flacourtiaceae) e submeter extratos e frações a ensaios biológicos, bem como as substâncias isoladas da espécie vegetal.

3.2. Específicos

1. Isolar e elucidar os principais constituintes químicos presentes nos extratos hexânicos, diclorometânico e metanólico das folhas;
2. Contribuir para ampliação do perfil quimiotaxonômico e biológico do gênero *Lindackeria*
3. Determinar, o teor de compostos fenólicos presentes nos extratos;
4. Avaliar frente ao DPPH o potencial antioxidante de extratos, frações e substâncias isoladas dos extratos com resultados promissores;
5. Verificar frente ao microcrustáceo *Artemia salina*, a toxicidade dos extratos e frações das folhas da espécie acima mencionada;
6. Analisar o potencial anticolinesterásico dos extratos e frações, bem como das substâncias isoladas.