



UFAL

INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA

JAYRAN DE SOUZA ALMEIDA

**ESTUDO QUÍMICO E ATIVIDADES LARVICIDA, ANTIOXIDANTE E ANTIBACTERIANA DE
POUROUMA GUIANENSIS AUBL. (URTICACEAE)**

Maceió-AL
2014

Universidade Federal de Alagoas

**Campus A. C. Simões
Tabuleiro do Martins
57072-970 - Maceió-AL**

JAYRAN DE SOUZA ALMEIDA

**ESTUDO QUÍMICO E ATIVIDADES LARVICIDA, ANTIOXIDANTE E
ANTIBACTERIANA DE *POUROUMA GUIANENSIS* AUBL. (URTICACEAE)**

Dissertação de Mestrado entregue
ao Programa de Pós-Graduação em
Química e Biotecnologia da
Universidade Federal de Alagoas,
como requisito parcial para
obtenção do Grau de Mestre em
Ciências.

Orientadora: Prof^a Dr^a Lúcia Maria
Conserva.

Coorientadora: Prof^a Dr^a Maria
Lysete de Assis Bastos.

Maceió-AL
2014

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico
Bibliotecária Responsável: Maria Helena Mendes Lessa

A447e Almeida, Jayran de Souza.
Estudo químico e atividades larvicida, antioxidante e antibacteriana de
Pourouma guianensis Aubl. (Urticaceae) / Jayran de Souza Almeida. – 2014.
113 f. : il

Orientadora: Lúcia Maria Conserva.

Coorientadora: Maria Lysete de Assis Bastos.

Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade Federal de Alagoas.
Instituto de Química e Biotecnologia. Programa de Pós-Graduação em
Química e Biotecnologia. Maceió, 2014.

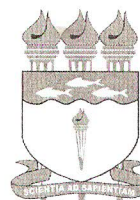
Bibliografia. f. 103-113.

1. Mapati - Plantas medicinais. 2. *Pourouma guianensis* (Urticaceae) –
Atividades larvicida. 4. *Pourouma guianensis* (Urticaceae) – Atividade
bactericida. 5. Antioxidantes. 6. Triterpenos. 7. Derivados fenólicos.
I. Título.

CDU:542 : 661.16.034.7



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/Fax: (82) 3214-1144
email: ppgqb.ufal@gmail.com

FOLHA DE APROVAÇÃO

Membros da Comissão Julgadora da Defesa de Dissertação de Mestrado de **Jayran de Souza Almeida**, intitulada: “**Estudo Químico e Atividades Larvicida, Antioxidante e Antibacteriana de Pourouma guianensis Aubl. (Urticaceae)**”, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas em 18 de novembro de 2014, às 08h30, na Sala de Reuniões do IQB/UFAL.

COMISSÃO JULGADORA

Prof^ª. Dr^ª. Lucia Maria Conserva
Orientador (PPGQB/IQB/UFAL)

Prof^ª. Dr^ª. Eurica Adélia Nogueira Ribeiro
(ESENFAR/UFAL)

Prof. Dr. João Xavier de Araújo Júnior
(PPGQB/ESENFAR/UFAL)

*A **Deus**, pelo dom da vida e por todas as oportunidades encontradas, pela perseverança e coragem para enfrentar os desafios e por estar sempre comigo;*

*Aos meus amados pais, **Sebastião e Maria Lúcia**, pelo amor, dedicação, por terem lutado pela minha educação e por serem meu maior exemplo de dignidade;*

*A minha esposa **Patrícia**, pelo amor, apoio, dedicação e paciência e apoio durante toda minha jornada;*

*As minhas irmãs, **Janielly e Jaciely**, pelo apoio, carinho e incentivo;*

*Aos meus tios, **Luiz e Maria**, e **primos** pelo apoio nos momentos mais difíceis;*

A vocês dedico este trabalho. Muito obrigado!

AGRADECIMENTOS

A **Profa. Dra. Lucia Maria Conserva**, pela orientação, paciência e oportunidade de conhecer o seu trabalho, e por ter transmitido um pouco de seu grande conhecimento;

A **Rosangela Pereira de Lyra Lemos**, botânica do Instituto do Meio Ambiente de Alagoas, pela coleta e identificação do material vegetal;

A **Profa. Dra. Maria Lysete de Assis Bastos** pelo apoio e incentivo, bem como a toda equipe do Laboratório de Tratamento de Feridas (**Isabelle, Raíssa, Thiane, Júnior, Wagner e Kátia**), pela atenção, amizade e colaboração durante a realização dos ensaios antimicrobianos;

Ao **Prof. Dr. Edson de Souza Bento** e ao Técnico **Ms. Adilson Rodrigues Aquino**, do Instituto de Química da Universidade Federal de Alagoas, pelos espectros de RMN;

Ao **Laboratório de Tecnologia Farmacêutica** da Universidade Federal da Paraíba, pelos espectros de RMN;

Aos **Funcionários da Secretaria de Pós-Graduação** e a **Aldy dos Santos**, pela presteza quando da solicitação de informes, documentos e pelo apoio na trituração do material vegetal;

Aos amigos **Cynthia Lima, Fernando Maia e Jéssu Costa** pela amizade, apoio, incentivo e ajuda em todos os momentos;

Aos colegas do Laboratório de Pesquisa em Química de Produtos Naturais: **Anderson Marques, Maria José, Vívian Tenório, Patrícia Vasconcelos, Jataí Sobreira, Gustavo Alonso, Ernande Júnior, Thaísa Alivia, Rossiel Aslan e Sandovânio**, pela amizade, apoio, troca de experiências e pelos momentos de confraternização vivenciados;

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)**, ao **Banco do Nordeste-Rede Nordestina de Biotecnologia (BNB-RENORBIO)** e a **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)**, pelos recursos financeiros e bolsa concedida;

A todos, que de uma forma ou de outra, contribuíram para a realização deste trabalho.

Não há nada de nobre em sermos superiores ao próximo. A verdadeira nobreza consiste em sermos superiores ao que éramos antes”.

(Autor desconhecido)

RESUMO

O presente trabalho descreve o isolamento de alguns constituintes químicos e avaliação das atividades larvicida (larvas do 4º estadio do *Aedes aegypti* L.), sequestradora de radicais livres (DPPH) e antibacteriana (microdiluição em caldo) de *Pourouma guianensis* Aubl. (Urticaceae). O estudo fitoquímico efetuado com os extratos que forneceram os melhores resultados nos ensaios conduziu ao isolamento de dois triterpenos (*Ácidos 3β,19α-dihidroxiurs-12-en-28-óico* e *2α,3α,19α-trihidroxiurs-12-en-28-óico*, conhecidos como *Ácidos Pomólico* e *Euscáfico*, respectivamente), relatados pela primeira vez no gênero *Pourouma*, e de dois derivados do ácido benzoico (*Ácidos 3-metoxi-4-hidroxibenzoico* e *3,4-dihidroxibenzoico* conhecidos como *Ácidos vanílico* e *protocatequico*, respectivamente), descritos pela primeira vez na espécie em estudo. Estes compostos tiveram suas estruturas identificadas com base na análise de dados de RMN e pela comparação com dados da literatura. Nos ensaios larvicidas, dentre as amostras de folhas, cascas e caule testadas, atividades moderadas (mortalidade > 50% e < 75%) foram observadas somente com frações provenientes do caule [Hexano-CHCl₃ 1:1 (58,5%), CHCl₃ (71,11%) e AcOEt (60,0 e 53,33%; ppt e ssb, respectivamente)]. Nos ensaios antioxidantes, quando comparados com os padrões positivos utilizados (ácido ascórbico, ácido gálico e BHT), somente duas frações provenientes das folhas [CHCl₃ (312,01 ± 1,55 µg/mL) e AcOEt (CI₅₀ 120,76 ± 1,85 µg/mL)] e do caule [CHCl₃ (372,47 ± 4,28 µg/mL) e AcOEt-MeOH 1:1 (360,68 ± 1,05 µg/mL)] foram consideradas promissoras. Nos ensaios antibacterianos, dentre as amostras avaliadas, os melhores resultados foram obtidos somente com extratos provenientes de folhas e caule frente às bactérias *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis* (CIM 125-500 µg/mL). Dentre as amostras oriundas de cascas avaliadas, somente alguns extratos mostraram fraca atividade frente a *S. aureus* e *E. faecalis* (CIM 1000 µg/mL). Em relação às bactérias Gram-negativas utilizadas, todos os extratos testados foram inativos frente à *Klebsiella pneumoniae* e somente alguns extratos apresentaram fraca atividade frente à *Pseudomonas aeruginosa* (CIM 1000 µg/mL). Os resultados obtidos no presente trabalho contribuirão para ampliar a quimiotaxonomia e o potencial biológico do gênero *Pourouma*.

Palavras-Chave: Mapati – plantas medicinais. *Pourouma guianensis*. Urticaceae. Larvicida. Antioxidante. Antibacteriano. Triterpenos. Derivados fenólicos.

ABSTRACT

This work describes the isolation of some chemical constituents and evaluation of larvicidal (4th instar larvae of *Aedes aegypti* L.), free radical scavenging (DPPH) and antibacterial (microdilution method) activities of leaves, bark and stem of *Pourouma guianensis* Aubl. (Urticaceae). The phytochemical study performed with the extracts with positive results in trials led to the isolation of two triterpenes (*3 β ,19 α -dihydroxyurs-12-en-28-oic* and *2 α ,3 α ,19 α -trihydroxyurs-12-en-28-oic acids*, known as *pomolic* and *euscaphic acids*, respectively), reported for the first time in this genus, and two benzoic acid derivatives (*3-methoxy-4-hydroxybenzoic* and *3,4-dihydroxybenzoic acids*, known as *vanillic* and *protececuic acids*, respectively), described for the first time in the species under study. All compounds had their structures identified on the basis of their NMR spectral data and by comparison with literature data. In the larvicidal assays, among the samples of leaves, bark and stem tested, moderate activity (mortality > 50% < 75%) were observed only in some of the fractions from the stem [Hexane-CHCl₃ 1:1 (58.5%), CHCl₃ (71.11%) and EtOAc (60.0 and 53.33%; ppt and ssb, respectively)]. In the antioxidant assays, when compared with positive standard used (ascorbic acid, gallic acid and BHT), only two fractions from leaves [CHCl₃ (312.01 ± 1.55 µg/mL) and EtOAc (CI₅₀ 120.76 ± 1.85 µg/mL)] and stem [CHCl₃ (372.47 ± 4.28 µg/mL) and EtOAc-MeOH 1:1 (360.68 ± 1.05 µg/mL)] showed promising results. In the antibacterial assays, among the samples tested, the best results were obtained only with extracts from leaves and stem against *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus faecalis* (MIC 125-500 mg/mL). Among the evaluated samples from bark, only a few extracts showed a weak activity against *S. aureus* and *E. faecalis* (CIM 1000 mg/mL). Regarding Gram-negative bacteria used, all extracts were inactive against *Klebsiella pneumoniae* and only some extracts showed weak activity against *Pseudomonas aeruginosa* (CIM 1000 mg/mL). The results obtained in this study will contribute to extend the chemotaxonomy and the biological potential of the genus *Pourouma*.

Keywords: Mapati – medicinal plants. *Pourouma guianensis*. Urticaceae. Larvicidal. Antioxidante. Antibacterial. Triterpenes. Phenolic derivatives.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Casos de Dengue no país entre 2011 e 2012	21
Figura 2 – Esquema geral do mecanismo de ação lipídica.	24
Figura 3 – Estruturas de flavonoides isolados de espécies de <i>Pourouma</i> .	50
Figura 4 – Estruturas de terpenoides isolados ou identificados em espécies de <i>Pourouma</i> .	51
Figura 5 – Estruturas de ácidos, ésteres e alcoóis que ocorrem em espécies de <i>Pourouma</i> .	54
Figura 6 – Estruturas de aldeídos, cetona, lactonas e de outros compostos que ocorrem em espécies de <i>Pourouma</i> .	56
Figura 7 – Foto da espécie <i>P. guianensis</i> (árvore, frutos e folhas).	59
Figura 8 – Esquema geral do procedimento experimental efetuado com a partição do caule.	64
Figura 9 – Esquema geral do procedimento experimental efetuado com a filtração do caule.	65
Figura 10 – Esquema geral do procedimento experimental efetuado com as folhas.	66
Figura 11 – Esquema geral do procedimento experimental efetuado com as cascas.	67
Figura 12 – Representação esquemática da reação de redução do DPPH [•] .	69
Figura 13 – Representação esquemática da reação de redução do TTC.	74
Figura 14 – Possíveis configurações relativas e valores de deslocamentos químicos para triterpenos 2,3-dihidroxiados (MAHATO, 1994).	85
Figura 15 – Espectro de RMN ¹ H (200 MHz, CDCl ₃ /CD ₃ OD) da substância PgCCA-1 .	89
Figura 16 – Expansão do Espectro de RMN ¹ H (200 MHz, CDCl ₃ /CD ₃ OD) da substância PgCCA-1 .	89
Figura 17 – Espectro de RMN ¹ H (400 MHz, CDCl ₃ /CD ₃ OD) da substância PgCA-4 .	90
Figura 18 – Expansão do espectro de RMN ¹ H (400 MHz, CDCl ₃ /CD ₃ OD) da substância PgCA-4 (δ 3,0-6,0).	90
Figura 19 – Expansão do espectro de RMN ¹ H (400 MHz, CDCl ₃ /CD ₃ OD) da substância PgCA-4 (Região δ 3,0-0,70).	91
Figura 20 – Espectro de RMN ¹³ C-APT (50 MHz, CDCl ₃ /CD ₃ OD) da substância PgCCA-1 .	91

Figura 21 – Expansão do Espectro ^{13}C -APT (50 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) da substância PgCCA-1 (δ 15,0-80,0).	92
Figura 22 – Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) da substância PgCA-4 .	92
Figura 23 – Expansão do espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) da substância PgCA-4 (δ 15 a 42).	93
Figura 24 – Espectro ^{13}C -DEPT-135 (100 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) da substância PgCA-4 .	93
Figura 25 – Expansão do espectro de RMN ^{13}C -DEPT-135 (100 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) da substância PgCA-4 (δ 10,0 a 56,0).	94
Figura 26 – Espectro de RMN ^1H (400 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) da substância PgCA-1 .	97
Figura 27 – Espectro de RMN ^1H (400 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) da substância PgFA-1 .	98
Figura 28 – Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) da substância PgCA-1 .	99
Figura 29 – Espectro ^{13}C -DEPT 135 (100 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) da substância PgCA-1 .	99
Figura 30 – Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) da substância PgFA-1 .	100
Figura 31 – Espectro ^{13}C -DEPT 135 (100 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) da substância PgFA-1 .	100

LISTA DE TABELAS E QUADROS

Tabela 1 – Compostos isolados ou identificados através de CG-EM em espécies de <i>Pourouma</i> .	35
Tabela 2 – Resultados dos Ensaio Larvicidas (250 ppm em 48 h).	78
Tabela 3 – Resultados da avaliação da capacidade sequestradora de radicais livres.	80
Tabela 4 – Resultados da avaliação antibacteriana de extratos e frações das cascas, folhas e caule de <i>P. guianensis</i> , através do método de microdiluição em caldo.	82
Tabela 5 – Dados de RMN ¹ H (CDCl ₃ /CD ₃ OD, δ, Hz) das substâncias PgCCA-1 (200 MHz) e PgCA-4 (400 MHz) e comparação com dados relatados para aglicona do <i>Ácido Pomólico</i> (300 MHz, CD ₃ OD; SANTOS et al., 2005) e o <i>Euscáfato de metila</i> (300 MHz, CDCl ₃ ; LONTSI et al., 1992).	87
Tabela 6 – Dados de RMN ¹³ C (CDCl ₃ /CD ₃ OD, δ) das substâncias PgCCA-1 (50 MHz) e PgCA-4 (100 MHz) e comparação com dados dos <i>Ácidos Ursólico</i> (CDCl ₃ ; FALCÃO et al., 2003), <i>Pomólico</i> (MAHATU, 1994) e <i>Euscáfico</i> (50 MHz, CDCl ₃ /DMSO-d ₆ ; LEMES, 2011).	88
Tabela 7 – Dados de RMN (¹ H: 400 MHz e ¹³ C: 100 MHz, δ, Hz) das substâncias codificadas de PgCA-1 (CDCl ₃) e PgFA-1 (CDCl ₃ /CD ₃ OD) e comparação com dados dos <i>Ácidos 3-Metoxi-4-hidroxibenzoico</i> (CD ₃ OD)* e <i>3,4-Dihidroxibenzoico</i> (DMSO-d ₆ ; COLOMBO et al., 2010)**.	96
Quadro 1 – Extratos e frações que foram submetidos à avaliação qualitativa da capacidade sequestradora de radicais livres frente ao radical sintético DPPH.	69

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AcOEt	Acetato de etila
AG	Ácido Gálico
BHA	Butil-hidroxi-anisol
BHT	Butil-hidroxi-tolueno
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CDCl ₃	Clorofórmio deuterado
CD ₃ OD	Metanol deuterado
CI ₅₀	Concentração Inibitória capaz de inibir 50% da população em estudo
CIM	Concentração Inibitória Mínima capaz de inibir visivelmente o crescimento de um bacteriano
CL ₅₀	Concentração Letal capaz de eliminar 50% da população de larvas
CTT	Cloreto de 2,3,5-Trifeniltetrazólio
DEPT	Distortioless Enhancement by Polarization Transfer
DMSO	Dimetilsulfóxido
DP	Desvio Padrão
DPPH	2,2-Difenil-1-picrilidrazila
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio
Cols.	Colaboradores
EtOH	Etanol
Ext.	Extrato
FAS	Febre amarela silvestre
FAU	Febre amarela urbana
FDA	Food and Drug Administration
FHD	Febre Hemorrágica da Dengue
Fr	Fração
MeOH	Metanol
MS	Ministério da Saúde
p.	Página
pp.	Páginas
ppm	Partes por milhão

RMN ¹ H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
RMN ¹³ C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono Treze
SVS	Secretaria de Vigilância em Saúde
UFC	Unidade formadora de colônias

LISTA DE SÍMBOLOS

dd	Duplo dupleteo
J	Constante de acoplamiento
m	Mutipleto
s	Simpleto
sl	Simpleto largo
δ	Deslocamiento químico

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA: CONSIDERAÇÕES SOBRE DENGUE E FEBRE AMARELA, RADICAIS LIVRES E ANTIOXIDANTES, ANTIMICROBIANOS E AS PLANTAS MEDICINAIS, FAMÍLIA E GÊNERO DA ESPÉCIE ESTUDADA	20
2.1 Dengue	20
2.2 Febre amarela	22
2.3 Radicais livres e antioxidantes	23
2.4 Antimicrobianos e as plantas medicinais	26
2.5 A família Urticaceae	28
2.5.1 Considerações sobre a taxonomia da família Urticaceae	29
2.6 Gênero <i>Pourouma</i> Aubl	33
2.7 Espécie <i>Pourouma guianensis</i> Aubl.	58
3 OBJETIVOS	60
3.1 Gerais	60
3.2 Específicos	60
4 EXPERIMENTAL	61
4.1 Solventes, materiais e equipamentos	61
4.2 Coleta e identificação do material vegetal	62
4.3 Preparação dos extratos	62
4.4 Avaliação do potencial biológico de extratos e frações	63
4.4.1 Avaliação da atividade larvicida	63
4.4.1.1 Criação e manutenção das larvas e insetos adultos	63
4.4.1.2 Ensaio para avaliação da atividade larvicida	67
4.4.2 Avaliação da capacidade sequestradora de radicais livres (DPPH)	68
4.4.2.1 Ensaios qualitativos	68
4.4.2.2 Ensaios quantitativos	69
4.4.3 Avaliação da atividade antibacteriana	71
4.4.3.1 Meios de cultivo e soluções utilizados nos ensaios antibacterianos	71
4.5 Isolamento de alguns constituintes químicos do caule	74

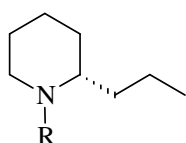
4.5.1 Procedimento experimental efetuado com frações oriundas da filtração do caule	74
4.5.1.1 Fração clorofórmio	74
4.5.1.2 Fração clorofórmio-AcOEt	75
4.5.1.3 Fração AcOEt	75
4.5.1.4 Procedimento experimental efetuado com a fração em AcOEt oriunda da partição do caule	76
4.5.2 Isolamento de alguns constituintes químicos das folhas	76
4.5.2.1 Procedimento experimental efetuado com a fração em AcOEt das folhas	76
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	77
5.1 Resultados dos ensaios biológicos com extratos e frações	77
5.1.1 Avaliação da atividade larvicida	77
5.1.2 Avaliação da capacidade sequestradora de radicais livres	78
5.1.3 Avaliação da atividade antibacteriana	80
5.2 Resultados e discussão do estudo fitoquímico	82
5.2.1 Identificação estrutural das substâncias isoladas	82
5.2.1.1 Identificação estrutural das substâncias codificadas de PgCCA-1 e PgCA-4	83
5.2.1.2 Identificação estrutural das substâncias codificadas de PgCA-3 e PgFA-1	94
6 CONCLUSÕES	101
7 REFERÊNCIAS	103

1 INTRODUÇÃO

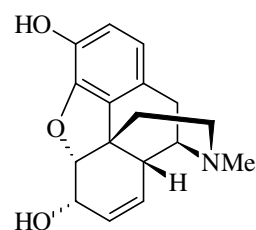
A busca por alívio e cura de doenças pela ingestão de ervas talvez tenha sido uma das primeiras formas de utilização dos produtos naturais. A história do desenvolvimento das civilizações Oriental e Ocidental é rica em exemplos da utilização de recursos naturais na medicina, no controle de pragas e em mecanismos de defesa, merecendo destaque a civilização Egípcia, a Greco-romana e a Chinesa. A medicina tradicional chinesa desenvolveu-se com tanta eficiência que até hoje muitos preparados vegetais são estudados na busca pelo entendimento de seu mecanismo de ação e no isolamento dos princípios ativos (VIEGAS JÚNIOR et al., 2006).

Em 1985, a Organização Mundial da Saúde (OMS) estimou que 65% da população mundial utilizaram medicamentos derivados de plantas em seus cuidados primários com a saúde (CRAGG, 2013). Um dos exemplos marcantes de produtos naturais que causaram impacto na humanidade foi a descoberta de substâncias alucinógenas, que de certa forma modificou o comportamento do homem moderno. Rapés e bebidas alucinógenas eram largamente usados pelos povos antigos em suas práticas religiosas e mágicas. Na Grécia antiga, extratos vegetais eram utilizados em execuções, como Sócrates que morreu após a ingestão de uma bebida que continha a coniina (**1**) e seu derivado a metilconiina (**2**) (VIEGAS JÚNIOR et al., 2006).

Dentre as plantas secularmente conhecidas, a *Papaver somniferum*, da qual o ópio é preparado, apresenta propriedades soporíferas e analgésicas. Esta planta era utilizada desde 4000 a.C., havendo relatos na mitologia grega sobre o simbolismo de Morfeu, o deus do sono. Um dos pioneiros na busca pelo uso de substâncias naturais na sua forma pura foi Sertürner que publicou trabalhos sobre o *principium somniferum* e Derosne descreveu o “sal de ópio” em 1803, iniciando os estudos sobre a constituição química do ópio; já na França em 1804, Armand Séquin isolou a morfina (**3**) como constituinte majoritário (VIEGAS JUNIOR et al., 2006).



1 R = H
2 R = Me



3

Na biodiversidade existente no reino vegetal, encontramos uma fonte ilimitada de compostos, que podem dar origem a novos fármacos. Estes compostos, os quais pertencem às classes dos alcaloides, terpenoides, derivados fenólicos e outros, em sua maioria, são metabólitos sintetizados pelas plantas como forma de defesa tanto contra herbívoros, como outros agentes patógenos e até como agente polinizador (BRUSOTT et al., 2013). No entanto, para o homem, são compostos bioativos de suma importância farmacêutica e biotecnológica, desempenhando um papel importante na descoberta de novos medicamentos, e estima-se que mais de 75% dos antibióticos aprovados pelo Food and Drug Administration (FDA) e drogas anticâncer nos últimos 25 anos são produtos naturais ou protótipos deles (XU et al., 2013).

A partir de materiais inorgânicos presentes no ambiente as plantas sintetizam de forma eficientes compostos orgânicos, enquanto que animais e outros micro-organismos dependem da obtenção de suas matérias primas consumindo-os em sua dieta. As vias para modificação e síntese de carboidratos, proteínas, gorduras e ácidos nucleicos são essencialmente as mesmas, apesar de algumas características variadas em alguns organismos vivos. Os compostos obtidos através desta via são chamados de metabólitos primários (DEWICK, 2002).

A produção de metabólitos secundários não ocorre sob todas as condições, e em alguns casos a sua função e os benefícios para o organismo ainda não é conhecida. Alguns agem como tóxicos contra predadores, atrativos voláteis para a mesma ou outra espécie, agentes corantes para atrair ou afastar outras espécies, mas logicamente para o bem estar do produtor. A via do ácido chiquimico dá origem a alguns aminoácidos aromáticos, precursores de vários metabólitos secundários, dentre os quais fenilpropanoides, cumarinas, lignanas e outros. Pela via do mevalonato obtêm-se os terpenoides e esteroides, enquanto que pelas vias do acetato e do chiquimato são obtidos os flavonoides (DEWICK, 2002).

O Brasil possui a maior e mais rica biodiversidade do planeta, distribuída em seis biomas distintos, o que o torna o maior país com potencial para pesquisas com espécies vegetais. Considerando todos os aspectos citados anteriormente, associando a boa aceitabilidade destes produtos no mercado farmacêutico, as altas cifras que circundam a comercialização de fitomedicamentos no mercado, torna-se cada vez mais crescente o interesse na utilização e pesquisas de plantas medicinais, objetivando fins terapêuticos (NOLDIN et al., 2006).

A ocorrência cada vez maior de populações de mosquitos *Aedes aegypti* resistentes, devido ao uso contínuo de inseticidas organoclorados e organofosforados, além da poluição ambiental e toxicidade tem estimulado a procura por métodos de controle alternativos. Neste sentido, os produtos naturais e seus análogos sintéticos surgem como uma estratégia

promissora, eficiente e ambientalmente segura para reduzir a população de larvas do vetor da dengue em seus criadouros antes de sua dispersão (BRAGA, 2007).

A OMS vem incentivando estudos com plantas, visando avaliar os riscos e benefícios dos fitoterápicos. Segundo Antunes e cols. (2006) diferentes substâncias têm sido usadas para auxiliarem, por ex., na cicatrização de feridas, contribuindo para debelar a infecção microbiana. No entanto, uma das grandes dificuldades tem sido a resistência. Por conseguinte, pacientes infectados por bactérias multi-resistentes necessitam de maior tempo de hospitalização e usam antibióticos mais caros e/ou mais tóxicos. Esses fatores motivam a busca por drogas que possam substituir ou melhorar os fármacos disponíveis.

O presente trabalho constitui parte de um projeto de pesquisa multidisciplinar voltada para a busca de substâncias bioativas (larvicida, antioxidante, antimicrobiana e anti-inflamatória), oriundas de espécies vegetais do Estado de Alagoas. Neste sentido, considerando as atividades observadas em algumas espécies da família Urticaceae, e que até o presente não há estudos envolvendo as atividades frente a larvas de mosquitos *Aedes aegypti*, antioxidante e antibacteriana da espécie *Pourouma guianensis* Aubl., buscou-se com este trabalho avaliar o potencial desta espécie frente aos referidos ensaios. Por esta razão, serão relatadas a seguir algumas considerações teóricas sobre esses temas, bem como sobre a família, o gênero e a espécie selecionada para estudo.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA: CONSIDERAÇÕES SOBRE DENGUE E FEBRE AMARELA, RADICAIS LIVRES E ANTIOXIDANTES, ANTIMICROBIANOS E AS PLANTAS MEDICINAIS, FAMÍLIA, GÊNERO E A ESPÉCIE EM ESTUDO

2.1 Dengue

A dengue, também conhecida como “febre de quebra ossos”, é uma doença viral, transmitida através da picada da fêmea do mosquito *Aedes (Stegomyia) aegypti* L., 1762 (Diptera: Culicidae), da família Flaviviridae (BARRETO, 2005; BRAGA, 2007). Ao picar o homem infectado, torna-se apta a transmitir o vírus após período de 8 a 12 dias de incubação extrínseca. Apesar de existirem relato do ciclo de transmissão selvagem na África e na Ásia envolvendo o macaco, nas Américas o vírus da dengue persiste na natureza devido ao ciclo de transmissão homem → *A. aegypti* → homem. É importante ressaltar que a transmissão através de fluidos corporais, água ou alimentos contaminados, bem como qualquer tipo de contato com uma pessoa doente não ocorre (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

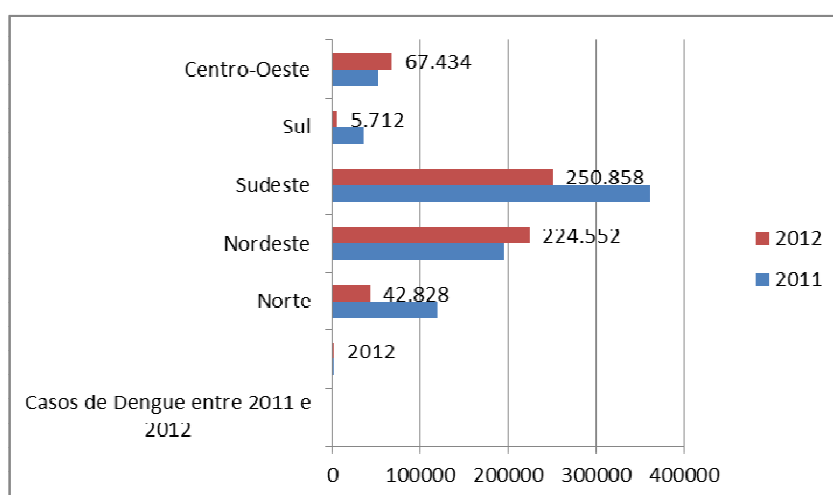
As manifestações clássicas da dengue são febre alta (39 a 40°C), geralmente de início abrupto, associada à cefaleia, dor retro-orbitária, com presença ou não de prurido. Outros sintomas também podem ser observados por um período de 2 a 6 dias, como anorexia, náuseas, vômitos e diarreia. Algumas manifestações hemorrágicas podem aparecer em todas as apresentações clínicas da dengue (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

O vírus da dengue possui quatro sorotipos conhecidos como DENV1; DENV2; DENV3 E DENV4 (FIGUEIREDO et al., 2011; LEE et al., 2013; CUI et al., 2013). Os pacientes infectados por qualquer um destes sorotipos podem ser assintomáticos ou apresentar diversos sinais e sintomas clínicos que vão desde uma febre inespecífica a uma Febre Hemorrágica do Dengue (FHD) (LEE et al., 2013). Nos casos graves da Dengue ocorrem complicações potencialmente fatais devido ao extravasamento de plasma, acúmulo de líquido, dificuldade respiratória, hemorragia grave ou falência de órgãos. Os sinais de aviso ocorrem entre 3 e 7 dias após o início dos primeiros sintomas, são acompanhados por uma queda na temperatura corpo (inferior a 38° C), tendo como principais sintomas: dor abdominal persistente, vômitos, respiração rápida, sangramento nas gengivas, fadiga, ansiedade e sangue no vômito (WHO, 2013). Esses sinais de alarme, de uma forma geral, precedem o aparecimento de manifestações hemorrágicas, espontâneas ou provocadas (prova do laço positiva) e os sinais de insuficiência circulatória que podem existir na FHD. Em crianças, a dengue apresenta-se na maioria das

vezes como uma síndrome febril com sinais e sintomas inespecíficos: apatia, sonolência, vômitos, diarreia ou fezes amolecidas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

Atualmente a dengue representa um dos maiores problemas de saúde pública em regiões tropicais e subtropicais do mundo. Estima-se que cerca de 50 milhões de casos no mundo ocorram anualmente, e mais de 2,5 bilhões de pessoas estão vivendo em regiões geográficas onde a dengue é endêmica (ROCCO et al., 2012; LEE et al., 2013). No Brasil, esta doença também representa um dos graves problemas de saúde pública, mesmo com os crescentes investimentos por parte do governo (mais de R\$ 4 bilhões entre 2010-2012) observou-se um grande aumento no número de casos entre 2011-2012 (SES/SINAN, 2013) (Figura 1, p. 21).

Figura 1 – Casos de dengue no país entre 2011 e 2012.



Fonte: Autor, 2014.

Ao analisar os dados, percebe-se que houve um aumento no número de casos no referido período nas regiões nordeste (SES/SINAN, 2013). Analisando a série histórica de 1996 a 2013, notam-se picos epidêmicos nos anos de 1998, 2002, 2007 e 2008 em diante. Os anos epidêmicos mais críticos foram 2010, com a recirculação do sorotipo DENV1 e reintrodução do sorotipo DENV3, e com a detecção do sorotipo DENV4 em 2012, resultou na ocorrência de formas graves da doença (SVS/AL, 2013).

Até novembro de 2013, 97,05% dos municípios alagoanos, o que equivale a 99 dos 102 municípios, notificaram 13.265 casos suspeitos de dengue. Quando comparados ao mesmo período de 2012 (32.723 casos), observa-se uma redução no número de casos (59,46%). A capital contribuiu com 3.662 (27,61%) notificações, destacando a importância dos mesmos quanto à necessidade de desenvolver ações para alcançar o impacto esperado no Programa Nacional de Combate à Dengue em Alagoas (SVS/AL, 2013).

A introdução do sorotipo DENV1 no Brasil, data de 1986, onde foram registradas epidemias em diversos estados. Já os sorotipos DENV2 e DENV3 foram registrados no Estado do Rio de Janeiro a partir de 1990, e em dezembro de 2000 respectivamente, sendo que este último apresentou entre 2001 e 2003, rápida dispersão para 24 estados do país (BARRETO, 2005; BRAGA, 2007; ROCCO et al., 2012). Duas grandes epidemias foram detectadas no Brasil, uma em 1998 com 530 mil casos notificados, dos quais foram confirmados 507.715 casos, e outra em 2002 com 800 mil casos notificados, com 696.472 confirmados (SES/SINAN, 2013). Em agosto de 2010 foi registrado o primeiro caso de DENV4 em Boa Vista, Rondônia. Em seguida se espalhou por outras regiões do Brasil, sendo detectado no Amazonas, Pará, Bahia, Pernambuco e Piauí. No sudeste, o primeiro caso com o DENV4 ocorreu em 2011, no Rio de Janeiro (ROCCO et al., 2012).

2.2 Febre Amarela

A Febre amarela é uma doença transmitida pelo vírus amarílico, um arbovírus do gênero *Flavivirus* e família Flaviviridae. Esta doença possui um ciclo silvestre e outro urbano, apresentando-se de duas formas distintas: Febre Amarela Silvestre (FAS) e Febre Amarela Urbana (FAU), sendo este último de interesse epidemiológico e tem como principal característica diferencial entre ambas, a localização geográfica, a espécie vetorial e o tipo de hospedeiro (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010). A transmissão da doença no Brasil tem como vetor o mosquito *Haemagogus janthinomys*, cujos hospedeiros naturais são os primatas. Acidentalmente o homem entra nesse ciclo. No caso da FAU, na qual o homem é o único hospedeiro de importância epidemiológica, tem como vetor e principal reservatório o mosquito *A. aegypti* e o ciclo inicia pela picada da fêmea no homem infectado → *A. aegypti* → homem sadio (ARAUJO, 2002; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

Os macacos são os hospedeiros vertebrados primários do vírus da febre amarela e desempenham um papel importante na amplificação de viral transmissão. Um único macaco virêmico pode ser uma fonte de infecção de dezenas ou centenas de mosquitos vetores, aumentando grandemente a taxa de transmissão de doenças. Uma vez que a espécie *Haemagogus* alimenta-se de preferência em primatas, o seu papel na infecção de vetores de mosquito, incluindo taxa de infecção mínima, pode ser medido e é um importante marcador de infecção mosquito. Nas FAS, o ciclo ocorre entre o macaco infectado → mosquito silvestre → macaco sadio (VASCONCELOS, 2010).

A febre amarela possui curta duração e gravidade variável, apresentando-se desde infecções subclínicas e/ou leves, até formas graves e até fatais. É uma patologia que apresenta um período de infecção e outro de intoxicação, sendo assim de evolução bifásica. Seu início é abrupto, com febre alta e pulso lento em relação à temperatura, sinais estes conhecidos como sinais de Faget. Apresenta ainda calafrios, cefaleia intensa, mialgia, prostração, náuseas e vômitos, que geralmente duram cerca de três dias, após os quais observamos a remissão da febre e melhora dos demais sintomas. Esse período anteriormente descrito é conhecido como período de infecção, a partir daí pode evoluir para a cura ou para o período de intoxicação (forma grave), que é caracterizada pelo aumento da febre, diarreia, ressurgimento de vômitos com aspecto de borra de café, instalação de insuficiência hepática e renal. Surgem também sintomas como icterícia, hematêmese, melena, epistaxe, hematuria, sangramento vestibular e da cavidade oral, oligúria, albuminúria e prostração intensa. A pessoa acometida pode apresentar também comprometimento sensorial, expressa através de obnubilação mental e torpor, que pode evoluir para o estado de coma (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010). No caso da FAU a principal medida de controle é a vacinação, que é administrada em dose única a partir dos nove meses de idade, e confere imunidade próxima dos 100%. Um reforço é recomendado a cada 10 anos.

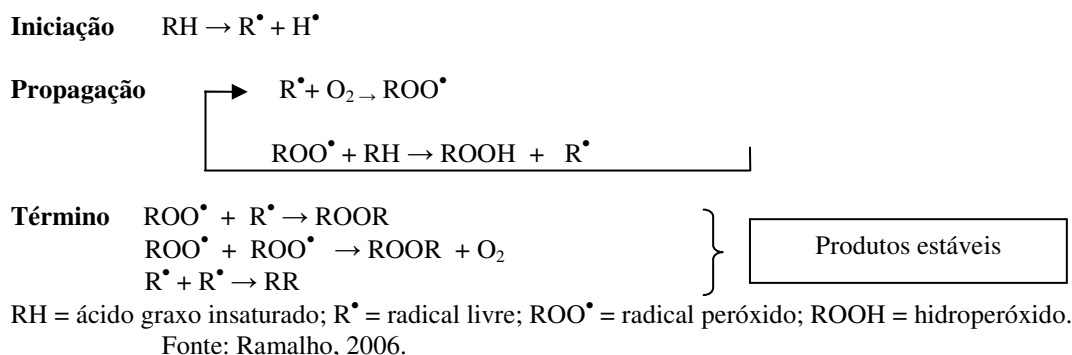
2.3 Radicais Livres e Antioxidantes

Os radicais livres, em virtude de seus elétrons desemparelhados, apresentam grande reatividade. Dessa forma, podem reduzir macromoléculas como proteínas, DNA e lipídios, causando danos aos sistemas biológicos e tecidos e ocasionar doenças cardíacas, diabetes e alguns tipos de câncer (TELESI, 2008).

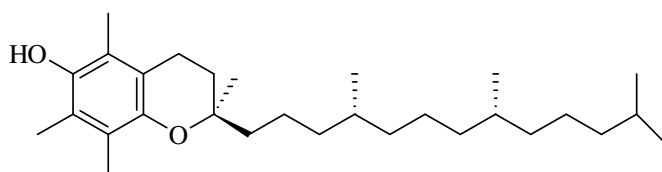
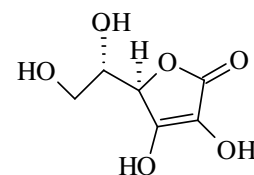
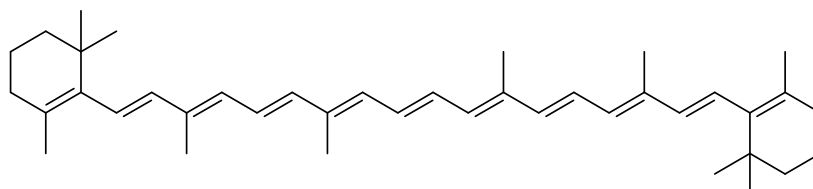
Espécies Reativas de Oxigênio (EROS) e Espécies Reativas de Nitrogênio (ERNS) são radicais livres cuja principal característica é um ou mais elétrons desemparelhados no oxigênio (ROS) ou no nitrogênio (RNS), e encontram-se envolvidos em alguns processos biológicos como fagocitose, regulação do crescimento celular e síntese de substâncias biológicas importantes. Porém, seu excesso acarreta efeitos prejudiciais, tais como a lipoperoxidação de membranas e oxidação de proteínas. As EROS são produzidas continuamente na cadeia respiratória das mitocôndrias com a redução de um elétron do oxigênio molecular. NAD(P)H oxidase, xantina oxidase, mieloperoxidase, ciclooxigenase e lipoxigenase são grandes fontes enzimáticas de EROS em células de mamíferos, enquanto que a radiação UV representa um exemplo de um fator ambiental de geração de EROS (SILVA et al., 2011).

Os lípidios podem ser oxidados por diferentes caminhos, e um deles são as reações hidrolíticas que são catalisadas pelas enzimas lipases ou pela ação de calor e umidade, com formação de ácidos graxos livres. Outro caminho é a oxidação enzimática onde a ação das enzimas lipoxigenases catalisa a adição de oxigênio à cadeia hidrocarbonada poli-insaturada. O resultado é a formação de peróxidos e hidroperóxidos com duplas ligações conjugadas que podem envolver-se em diferentes reações degradativas. E também a autooxidação, que está associada à reação do oxigênio com ácidos graxos insaturados (RAMALHO, 2006). Todos os componentes celulares são alvos das EROS, no entanto, a membrana celular composta por ácidos graxos poli-insaturados é a mais atingida, a princípio, pela existência de dienos conjugados. Os radicais livres centrados no oxigênio (HO^\bullet) atacam a cadeia lipídica em sítios onde há abstração de hidrogênio, convertendo-o em novo centro de radical livre (iniciação). O radical lipídico formado pode reagir com qualquer estrutura da membrana, porém a reação mais provável é com oxigênio (O_2), gerando o radical lípidio-peroxila (propagação), que pode originar peróxidos cíclicos ou abstrair hidrogênio de outro lípidio levando desta maneira à continuação da reação de cadeia radicalar. O término acontece quando dois radicais se combinam para formar produtos estáveis obtidos por cisão e rearranjo dos peróxidos (epóxidos, compostos voláteis e não voláteis) (Figura 2, p. 24).

Figura 2 – Esquema geral do mecanismo de ação lipídica

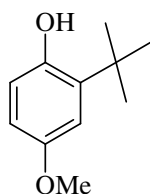
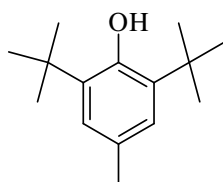
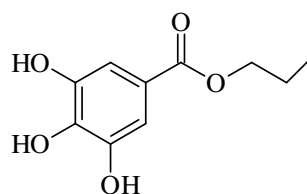
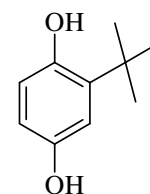


A peroxidação lipídica pode ser inibida por antioxidantes que reagem com os radicais peroxila ou alcoxila gerando, desta forma, um hidroperóxido e um radical livre formado a partir do antioxidante. Dentre os quais estão o ***α -tocoferol*** (vitamina E), que interage com o oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$) e fornece átomos de hidrogênio para o radical peroxila dos ácidos graxos, impedindo desta forma a reação em cadeia que se propaga nas membranas lipídicas. Existem outras vitaminas antioxidantes, como ***ácido ascórbico*** (vitamina C) e o ***β -caroteno***, que interrompem a cadeia de peroxidação.

 **α -Tocoferol****Ácido ascórbico** **β -Caroteno**

Compostos que sequestram radicais livres com potencial antioxidante são aqueles que podem retardar ou inibir a oxidação de lipídios ou de outras moléculas, evitando o início ou propagação das reações em cadeia de oxidação. A atividade antioxidante de compostos fenólicos é principalmente devida às suas propriedades de oxirredução, as quais podem desempenhar um importante papel na absorção e neutralização de radicais livres, espécies reativas de oxigênio ou decompondo peróxidos (TIVERON, 2009; THOMAZINI, 2011).

Em geral, existem duas categorias básicas de antioxidantes: os sintéticos e os naturais. Antioxidantes sintéticos como o butil-hidroxianisol (BHA), o butil-hidroxitolueno (BHT), o galato de propila (PG) e o *terc*-butilhidroquinona (TBHQ) são normalmente utilizados como conservantes nas indústrias de óleos e de derivados lipídicos. Entretanto, estudos destes compostos demonstram que podem apresentar alguns efeitos adversos nocivos a saúde. Deste modo, tem havido nos últimos anos a preocupação de se obter substâncias naturais que tenham a mesma função e eficiência dos antioxidantes sintéticos (TAKEMOTO, 2009).

**BHA****BHT****PG****TBHQ**

Dentre os antioxidantes naturais estão os compostos fenólicos oriundos de fontes vegetais, tais como os flavonoides e outros derivados fenólicos, que são responsáveis pela prevenção de doenças degenerativas, neste sentido, as frutas, principalmente as que apresentam

a coloração vermelha/azul, são as mais importantes fontes de compostos fenólicos em dietas alimentares. Especialmente os derivados do ácido hidroxibenzoico e do ácido hidroxicinâmico dentre estes se cita: as antocianinas, os flavonóis, as catequinas e os taninos nas quais estão frequentemente presentes. Muitos destes compostos apresentam uma grande gama de efeitos biológicos, incluindo ações antioxidantes, antimicrobiana, anti-inflamatória e vasodilatadora (SOARES, 2002).

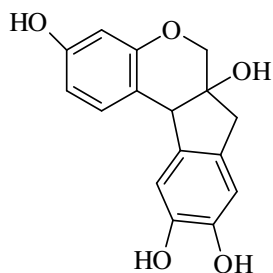
Os efeitos desses compostos são essenciais ao organismo humano, porém a exposição a infecções microbianas e virais, radiação e produtos químicos tóxicos, doenças autoimunes e crônicas, obesidade, consumo de álcool, uso de tabaco, e uma dieta de alto teor calórico, são fatores que constituem estresse oxidativo e fazem parte da modulação de diferentes estágios da carcinogênese. Sob um estresse ambiental, espécies reativas de oxigênio (EROS) são produzidas durante um longo período de tempo, podendo causar um dano significativo para a estrutura e as funções das células, induzindo mutações somáticas e transformação neoplásica. Um exemplo é que o início e progressão do cancro têm sido associados ao estresse oxidativo, aumentando as mutações e induzindo danos ao DNA, a instabilidade do genoma, e a proliferação das células (REUTER et al., 2010).

2.4 Antimicrobianos e as Plantas Medicinais

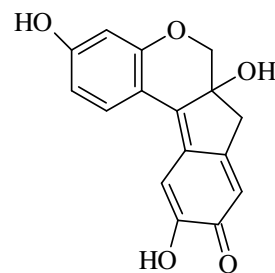
O homem utiliza as plantas como forma de tratamento de inúmeras afecções, e tanto a civilização oriental quanto a ocidental relata o uso de plantas, nas suas mais diversas formas de preparados, seja para o controle de pragas, ou o uso medicinal. O processo de mumificação, bem como os venenos utilizados para defesa, caça e métodos ilícitos (veneno de Hemlock; *Conium maculatum*) são exemplos do uso das plantas medicinais. As civilizações greco-romana, egípcia e chinesa merecem posição de destaque neste cenário, tanto que a busca por princípios ativos e a compreensão do seu mecanismo de ação é estudada até hoje, devido a sua grandiosidade e eficiência, principalmente quando se trata da medicina tradicional chinesa (VIEGAS JUNIOR et al., 2006). Cerca de 80% da população mundial usa a medicina tradicional na busca de alívio de alguma sintomatologia dolorosa ou desagradável (SANTOS et al., 2010).

O Brasil, com sua vasta e rica flora, faz parte também deste histórico, desde o seu descobrimento, o qual também esteve ligado ao comércio de produtos naturais (as especiarias), que determinaram várias disputas de posse da nova terra e, por fim, a colonização portuguesa. Do pau-brasil (*Caesalpinia echinata*) era obtido um corante de cor vermelha, usado para tingir

roupas e como tinta de escrever, que desde a Idade Média era utilizado nas Índias Orientais. Do lenho desta planta era extraído a brazilina (4), um derivado catecólico que facilmente oxida à brazileína (5), um fenoldienônico identificado como corante. Assim como os povos primitivos, os indígenas possuem profundo conhecimento do arsenal químico da natureza, e pode ser considerado um fator fundamental na descoberta de substâncias tóxicas e medicamentosas, ao longo do tempo (VIEGAS JUNIOR et al., 2006).



Brazilina (4)



Brazileína (5)

No final do século XIX, o isolamento de produtos naturais na sua forma pura foi fundamental para a criação da indústria farmacêutica. No início os produtos naturais eram a principal fonte de insumos para a preparação de medicamentos. A partir de meados do século XX, houve um avanço na Química, Farmacologia e Biologia Molecular, que aliados a novos ensaios bioquímicos, levaram ao desenvolvimento da Química Medicinal, com o planejamento de fármacos baseados na abordagem fisiológica. À medida que os produtos sintéticos ganharam posição de destaque, diminuiu sensivelmente o interesse em produtos naturais e conseqüentemente a redução de investimento nessa área. Contudo, ocorreu também uma diminuição no número de novos fármacos introduzidos no mercado. A partir daí, ocorreu novamente o interesse em produtos naturais, como fonte de substâncias bioativas, associado aos avanços das técnicas de separação, purificação e identificação de misturas complexas de produtos, bem como a diversidade estrutural presente na natureza (COSTA, 2009).

As doenças infecciosas são tão importantes para a história da humanidade quanto às guerras e os desastres naturais. Nos últimos anos, o conhecimento disponível para controle das de diferentes síndromes infecciosas tem aumentado como resultado da melhor caracterização clínica e epidemiológica dessas doenças, e principalmente, dos avanços registrados nas áreas de microbiologia e imunologia. Assim, o aumento da expectativa de vida pode ser atribuído, em muito, ao controle da morbimortalidade causada pelas doenças infecciosas e à melhoria das condições sanitárias com o emprego massivo de vacinas e ao desenvolvimento da terapia

antimicrobiana eficaz (DE OLIVEIRA, 2011). No entanto, as doenças infecciosas permanecem como um dos principais problemas de saúde pública, sendo a principal causa de óbito no mundo. Segundo a Organização Mundial de Saúde, uma em cada três mortes é causada por doenças infectoparasitárias. Nessa categoria, as principais causas são as doenças do trato respiratório inferior, a tuberculose, as doenças diarreicas, a síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS) e a malária. Muitas dessas condições altamente letais afetam populações jovens em países pobres, acarretando um grande impacto socioeconômico (PASQUALOTTO, 2006).

Mesmo com o surgimento e a disponibilização de antimicrobianos eficazes para os tratamentos dessas afecções, o uso indiscriminado acarreta na resistência de alguns microrganismos dificultando o tratamento (PEDROSO, 2013). A resistência microbiana refere-se à ausência de resposta de um microrganismo a determinado antimicrobiano, podendo ser natural, quando o microrganismo naturalmente não é afetado pelo antimicrobiano; ou adquirida, refere-se ao desenvolvimento de resistência pelo microrganismo, por mutação genética ou por transferência gênica de um microrganismo para outro. Este último tipo de resistência representa um problema clínico sério, pois limita as alternativas terapêuticas no tratamento de muitas doenças infecciosas (TRIPATHI, 2006).

Pelo exposto, faz-se necessária a busca constante por novas drogas para o controle e combate de micro-organismos. Dentre os produtos naturais, os derivados de plantas superiores têm despertado um interesse maior nos últimos anos, no que diz respeito à investigação fitoquímica na busca por substâncias com atividades antimicrobianas (AYRES et al., 2008). Muitas plantas são tradicionalmente utilizadas no tratamento de várias doenças infecciosas. No entanto, o número de pesquisas científicas que comprovem tais propriedades ainda é muito pequeno. Considerando a grande diversidade da flora da brasileira, bem como o alto poder mutagênico de alguns microrganismos, ressalta-se a importância das pesquisas a fim de validar a utilização popular das plantas, determinando seus efeitos biológicos (DE OLIVEIRA, 2011).

2.5 Família Urticaceae

A família Urticaceae inclui aproximadamente 49 gêneros e cerca de 2000 espécies, com distribuição tropical e subtropical, raramente em regiões temperadas. No Brasil é listado um total de 13 gêneros e 95 espécies, muitas das quais cultivadas em parques e jardins (LORENZI, 2001; GAGLIOTI, 2011). A família apresenta uma grande variedade de habitats, podendo ser árvores, arbustos, porém na sua maior parte são ervas ou subarbustos e, ainda, mais raramente, se

apresentam como trepadeiras ou hemiepífitas. O interesse econômico de espécies desta família concentra-se principalmente na fabricação de cordas, fibras têxteis, papel e tecidos grossos (WOODLAND, 1989) e como forrageiras para gado (GAGLIOTI, 2011). Alguns pesquisadores vêm aprofundando pesquisas com plantas de Urticaceae tentando esclarecer dúvidas taxonômicas existentes nos gêneros e espécies (KARSBURG, 2006).

2.5.1. Considerações sobre a taxonomia da família Urticaceae

O clado Urticoide, atualmente formado pelas famílias Moraceae, Urticaceae, Cannabaceae e Ulmaceae, está inserido na ordem Rosales (APG III, 2009). Este grupo apresenta caracteres diagnósticos particulares, tais como a presença de flores reduzidas e inconspícuas, gineceu bicarpelar, óvulo unilocular, com placentação basal ou apical e tricomas diferenciados. As primeiras contribuições para o grupo datam do século XVIII e uma das mais importantes foi o trabalho de Jussieu (1789), onde foi descrito a “Ordo” III Urticae, a qual incluía 18 gêneros, divididos em dois grupos, de acordo com a disposição das flores na inflorescência. O primeiro constituído por plantas com flores dispostas em receptáculos involucrados (*Ficus*, *Dorstenia* e *Perebea*, atualmente reconhecidos em Moraceae) e o segundo, plantas com muitas flores por receptáculo, ou flores dispostas em capítulos rodeadas de brácteas, ou flores isoladas (*Cecropia*, *Elatostema*, *Boehmeria*, *Procris*, *Urtica*, *Forsskaolea*, *Parietaria*, atualmente reconhecidos em Urticaceae), bem como os gêneros *Artocarpus* e *Morus* (Moraceae), *Humulus* e *Cannabis* (Cannabaceae) (SOUZA, 2009; GAGLIOTI, 2011).

Posteriormente, em 1806, Lamarck & De Candolle propuseram a divisão da ordem Urticeae em duas tribos: Artocarpeae (composta pelos gêneros *Ficus* e *Morus* - flores inseridas em um receptáculo comum, frutos carnosos, semente com perisperma e embrião curvo) e Urticeae (*Cannabis*, *Humulus*, *Urtica* e *Parietaria* - flores solitárias, em amentos, espigas e cimeiras frutos nunca carnosos, perisperma ausente, embrião frequentemente reto). Somente a partir de 1847 com os trabalhos de Trécul, a tribo Cecropieae (*Cecropia* e *Coussapoa*) foi incluída, pois havia uma tendência em considerar esses dois gêneros fora de Urticaceae. Somente após estudos filogenéticos, é que esses gêneros foram novamente classificados em Urticaceae. Em 1853, Miquel classificou na *Flora brasiliensis*, todo o grupo dentro da ordem Urticineae, cujos gêneros atualmente reconhecidos em Urticaceae, foram incluídos nas subordens Artocarpeae [*Cecropia* (14), *Coussapoa* (16) e *Pourouma* (18 spp.)] e Urticeae

[*Boehmeria* (4), *Urera* (10), *Gesnouinia* e *Urtica* (1 espécie cada), *Fleurya* (2), e *Pilea* (11 spp.)], totalizando 77 espécies para o Brasil (GAGLIOTI, 2011).

Cronquist (1981; 1988), posicionou Moraceae na ordem Urticales, a qual era composta pelas famílias Barbeyaceae, Cannabaceae, Cecropiaceae, Ulmaceae, Urticaceae e Moraceae, e delimitada principalmente por caracteres vegetativos e reprodutivos. Sytsma e cols. (2002) e Datwyler (2004) verificaram que, excluindo Cecropiaceae e Cannabaceae, os elementos de Moraceae formam um grupo monofilético, semelhante ao proposto por Cronquist (1981) e verificou uma proximidade muito grande entre Cecropiaceae e Urticaceae.

Romaniuc-Neto (1999) sugeriu uma classificação alternativa para o grupo, na qual atribuiu duas subfamílias, incluindo Cecropiaceae como subfamília de Moraceae e dividindo os demais gêneros em seis tribos (Artocarpeae, Brosimeae, Dorstenieae, Ficeae, Moreae e Olmedieae). De acordo com os estudos filogenéticos, as duas famílias não são monofiléticas, mas juntas formam o grupo irmão de Moraceae, confirmando a estreita relação entre Moraceae e as famílias agrupadas em Urticineae antes mesmo dos primeiros sistemas evolucionários de classificação (SYTSMA et al., 2002; DATWYLER, 2004; SANTOS, 2012).

As afinidades taxonômicas entre Urticaceae e Moraceae são aceitas pela maioria dos sistemas de classificação mais recentes (GAGLIOTI, 2011) e as características morfológicas destas famílias assinalam a possibilidade de um ancestral comum. A presença de laticíferos é apontada como uma das sinapomorfias que aproximam Moraceae e Urticaceae como grupos irmãos dentro da ordem Rosales (JUDD et al. 2009). Sytsma e cols. (2002) separaram as Urticaceae, incluindo Cecropiaceae, com laticíferos restritos as cascas e látex aquoso, de Moraceae que apresenta os laticíferos distribuídos por todo o feixe vascular e látex leitoso.

Segundo Sytsma e cols. (2002), as espécies de Urticaceae constitui um grupo monofilético e são delimitadas de modo amplo, incluindo espécies herbáceas a lenhosas, distribuídas em seis tribos: Boehmerieae, Cecropieae, Elatostemateae, Forsskaoleae, Parietarieae e Urticeae (GAGLIOTI, 2011). Somente a partir dos recentes estudos sobre a filogenia do grupo (SYTSMA et al., 2002; DATWYLER, 2004; MONRO, 2006; HADIAH et al., 2008; APG III, 2009) é que Urticaceae foi ampliada com a inclusão dos gêneros tradicionalmente reconhecidos em Cecropiaceae *sensu* Berg. Conn (2009), baseado nos trabalhos de outros autores, propôs uma organização dos gêneros e tribos dentro da família Urticaceae, na qual as Urticaceae são divididas nas seis tribos acima. No entanto, os estudos filogenéticos ainda não são suficientes para o esclarecimento desta questão e a sistemática das espécies de Urticaceae apresenta numerosas dificuldades e desde os estudos de Weddell em 1856, que descreveu a família de forma mais completa, até Cronquist (1981, 1988), a família

não apresentou grandes variações (GAGLIOTI, 2011). Contudo, a partir dos estudos sobre a filogenia do grupo é que a delimitação de Urticaceae foi ampliada com a inclusão dos gêneros *Cecropia*, *Coussapoa* e *Pourouma*, tradicionalmente reconhecidos em Cecropiaceae sensu Berg. Embora ocorram divergências entre autores quanto à posição sistemática destes gêneros, ou mesmo sobre a validade e posição filogenética da família, atualmente esses gêneros são incluídos ou discutidos nas filogenias de Urticaceae (JUDD et al. 1999; 2009, SYTSMA et al., 2002; DATWYLER, 2004; CASTRO, 2006; HADIAH et al., 2008; APG III, 2009; CONN, 2009; GAGLIOTI, 2011).

Espécies de Urticaceae são utilizadas na medicina popular para tratar uma variedade de doenças e as espécies do gênero *Urtiga* são as mais amplamente usadas. A infusão das folhas e ramos de *U. dioica* L., única espécie cultivada comercialmente (EXARCHOU et al., 2006; GAGLIOTI, 2011; NAHATA, 2012), é usada em rinite alérgica, reumatismo, eczema, artrites e como cicatrizante e hemostático de feridas (LEGSSYER et al., 2002; ROSCHEK et al., 2009; FARAG et al., 2013) e as raízes como diurético, alívio dos sintomas da hiperplasia prostática benigna (HUDEC et al., 2007; FARAG et al., 2013).

Estudos farmacológicos demonstraram diversas atividades de *U. dioica*, dentre elas: antirreumáticas, anti-inflamatórias, antisséptica, bactericida, adstringente, hipotensiva, diurética (diurese natriurética e em anéis isolados de aorta contraídos por KCl ou norepinefrina), vasodilatação (ALONSO, 2004), expectorante, estimulante circulatória, antianêmica, emenagoga, hemostática, hipoglicêmica, antiviral, antidiarréica, cicatrizante, colagoga, antialérgica e galactogoga (CHEVALLIER, 1996). As atividades antirreumáticas e antiinflamatória são em parte, devido a inibição da via da cicloxigenase e por inibição da 5-lipoxigenase; a ação anti-inflamatória foi identificada em modelos experimentais *in vivo*, através de edema de pata induzida por carragenina, e atribuída aos polissacarídeos presentes nas raízes (ALONSO, 2004).

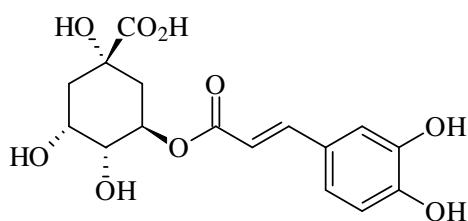
Até o presente, os estudos químicos e farmacológicos com o gênero *Urtiga* estão focalizados principalmente com a espécie *U. dioica*, cuja química está representada principalmente por flavonoides, derivados fenilpropanoides (BUDZIANOWSKI, 1991; BUCAR et al., 2006; PINELLI et al., 2008; ROSCHEK et al., 2009; WANG et al., 2011; FEDOSEEVA et al., 2012; ANZOISE et al., 2013; LI et al. 2013), alcaloides (WANG et al., 2011); lignans (ZHOU et al., 2009; WANG et al., 2011), terpenoides (GANSSEER, 1995; WANG et al., 2011; LI et al. 2013) e ácidos graxos oxigenados (FARAG et al., 2013). As bioatividades dos compostos isolados incluem citotoxicidade, antitumoral, anti-inflamatória,

antimicrobiana, anti-BPH, anti-HIV, antidiabética, hipolipidêmica, inibição da 5 α -reductase e antioxidante (WANG et al., 2011).

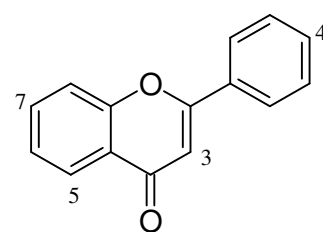
Extratos das folhas de *U. dioica* também foram ativos como antihipertensivos (THAKUR et al., 2012), anti-inflamatório (BURKOVA et al., 2011; DAR et al., 2012), antimicrobiano (*Enterococcus faecalis*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *Shigella flexneri* e *S. typhi*, com CIM variando entre 250 e 7,81 $\mu\text{g/mL}$) (DAR et al., 2012) e analgésico (BURKOVA et al., 2011). O estudo químico biomonitorado de algumas das frações ativas como antimicrobiano conduziu a identificação através de CG-EM de derivados alquilfenólicos ésteres e ácidos carboxílicos como os principais componentes responsáveis pela atividade do extrato em hexano (BURKOVA et al., 2011; DAR et al., 2012).

O extrato hidroalcoólico de *U. circularis* (Hicken) Sorarú mostrou atividade sedativa através da facilitação das transmissões GABAérgica e colinérgica. A análise química deste extrato revelou a presença de flavonoides, fenilpropanoides e derivados fenólicos, além do ácido clorogênico (**6**) (ANZOISE et al., 2013). Os extratos hidroalcoólicos provenientes de diferentes partes (folhas, flores, sementes e raízes) de *U. pilulifera* L. exibiu atividade antioxidante, utilizando vários métodos *in vitro* (OEZEN et al., 2010) e extratos de *Pilea microphylla* apresentaram atividades antioxidante (DPPH) e antibacteriana (Gram positiva e Gram negativa) e antifúngica *in vitro* (CHAHARDEHI et al., 2010).

O extrato em etanol das folhas de *Boehmeria nivea* (Linn.) Gaudich exibiu atividade anti-inflamatória (200, 400, 800, 1200 $\mu\text{g/mL}$). O estudo químico deste extrato revelou como principais constituintes o ácido clorogênico (**6**) e flavonoides, tais como rutina (**7**), luteolina 7-glicopiranosídeo (**8**), naringina (**9**), hesperidina (**10**) e tangeritina (**11**) (SUNG et al., 2013). O triterpeno 2 α ,3 β ,21 β ,23,28-pentahidroxi-olean-12-eno (**12**), isolado das raízes de *Laportea crenulata* Gaud, foi ativo como antifúngico (KHAN et al., 2011).



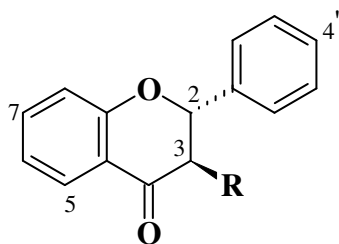
6



7 5,7,3',4'-OH, 3-OGlc-(1 \rightarrow 6-Rha)

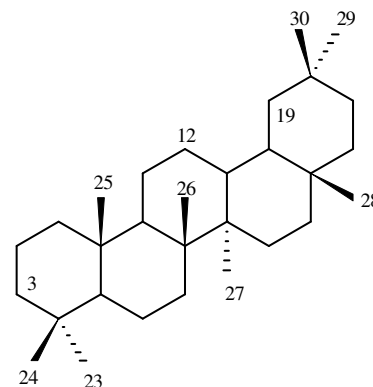
8 3,5,3',4'-OH, 7-OGlc

11 5,6,7,8,4'-OMe



9 5,7,4'-OH, R = H

10 5,3'-OH, 7-OGlc-(1→6-Rha), 4'-OMe



12 2 α ,3 β ,21 β ,23,28-OH, Δ^{12}

2.6 O Gênero *Pourouma* Aubl.

O gênero *Pourouma*, o qual pertence à tribo Cecropieae, compreende cerca de 30 espécies arbóreas de médio porte, ocorrentes em áreas de florestas úmidas da América do Sul e Central (MARTINS, 2010). Um grande número de espécies apresenta ampla distribuição, e todas essas estão presentes na Bacia Amazônica e nas Guianas. Segundo Berg et al. (1990) este gênero apresenta vários caracteres, especialmente vegetativos, que demonstram um estágio intermediário entre *Cecropia* (Cecropiaceae) e *Coussapoa* (Urticaceae). Assim como espécies de *Cecropia*, algumas espécies de *Pourouma* (*P. formicarum* Ducke e *P. myrmecophila* Ducke) apresentam mirmecofilia. Essas espécies apresentam dilatações (domácias) na base do pecíolo, frequentemente habitadas por formigas (MARTINS, 2010). Segundo Gaglioti (2011), *Pourouma* apresenta caracteres morfológicos intermediários entre Moraceae e Urticaceae, como por exemplo, os estames retos no botão e a placentação lateral do óvulo.

A circunscrição de Urticaceae tem sido ampliada a partir de estudos filogenéticos (MONRO, 2006; MARTINS, 2010), onde foram incluídos nesta família os gêneros *Cecropia*, *Coussapoa* e *Pourouma*, que eram tradicionalmente reconhecidos em Cecropiaceae. Além das evidências de dados macromoleculares, esses gêneros apresentam vários caracteres morfológicos comuns à família Urticaceae que corroboram essa circunscrição. Dentre todos os estudos filogenéticos existentes para o grupo das Urticineae, apenas Datwyler (2004), analisou uma espécie de *Pourouma*. Com base na sequência *ndhF*, este gênero está próximo à *Cecropia* e *Coussapoa*, dentro de um clado maior formado por Cecropiaceae + Urticaceae. No entanto, Conn (2009) relatou que a posição de *Pourouma* dentro das Urticaceae ainda não foi avaliada. Diante desse quadro, consideramos que este gênero necessita de novos estudos filogenéticos, já

que durante muitos anos e em vários sistemas de classificação, foi considerado parte das famílias Moraceae ou Cecropiaceae.

Os frutos de algumas espécies são comestíveis, dentre essas, destaca-se *P. cecropiifolia* Mart., cujos frutos são apreciados na região Norte do Brasil e utilizados na fabricação de um tipo de vinho doce (FALCÃO, 1980; BERG et al., 1990). Dentre as espécies de *Pourouma* até então catalogadas, somente quatro delas, coletadas no Brasil (*P. guianensis* Aubl., *P. cecropiifolia*, *P. mollis* Trécul. e *P. velutina* Mart. ex Miq.) ou na Colômbia (*P. cecropiifolia*), foram até então investigadas do ponto de vista químico. Os principais constituintes químicos isolados têm sido flavonoides livre [apigenina (**13**) em *P. guianensis* (TORRES-SANTOS et al., 2004)] e glicosilados [quercetina 3-O- α -ramnopiranosil-(1 \rightarrow 6)- β -galactopiranosídeo (**25**), quercetina 3-O- α -ramnopiranosil-(1 \rightarrow 6)- β -glicopiranosídeo (**26**) (GUIO et al., 2010)] e antocianinas glicosiladas (**14-24**) (Tabela 1, p. 35; Figura 3, p. 50), formadas pelos esqueletos de cianidina, delphinidina, malvidina, petunidina, pelargonidina e peonidina em *P. cecropiifolia* (GUIO et al., 2010; LOPES-LUTZ et al., 2010) e terpenóides (Tabela 1, p. 35; Figura 4, p. 51).

Os óleos essenciais provenientes das folhas, cascas do caule, flores (*P. guianensis*) e frutos (*P. cecropiifolia*) e parte não especificada de *P. mollis* e *P. velutina* revelaram principalmente a presença de monoterpenos, sesquiterpenos, ácidos carboxílicos, ésteres e alcoóis, aldeídos, cetonas e lactonas e de outros compostos [Tabela 1, p. 35; Figuras 5 (p. 54), 6 (p. 56) e 7 (p. 59)].

Tabela 1 – Compostos isolados e/ou identificados em espécies de *Pourouma*. Continua

Nome e Número do Composto	Espécies	Parte da Planta	País de Coleta	Referências
<i>Flavonoides</i> (Figura 3, p. 50)				
Apigenina (13)	<i>P. guianensis</i>	Folhas	Brasil	TORRES-SANTOS et al., 2004
Cianidina 3-O- β -glicopiranosídeo (14)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Brasil Colômbia	LOPES-LUTZ et al., 2010 GUIO et al., 2010
Cianidina 3,5-diglicosídeo (15)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Brasil	LOPES-LUTZ et al., 2010
Cianidina-3-O-(6''-malonil)glicopiranosídeo (16)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia Brasil	GUIO et al., 2010 LOPES-LUTZ et al., 2010
Cianidina 3-(3''-malonil)glicosídeo (17)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Brasil	LOPES-LUTZ et al., 2010
Cianidina 3-rutinosídeo (18)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Brasil	LOPES-LUTZ et al., 2010
Delfinidina 3-galactosídeo (19)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Brasil	LOPES-LUTZ et al., 2010
Delfinidina 3-O- β -glicopiranosídeo (20)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia Brasil	GUIO et al., 2010 LOPES-LUTZ et al., 2010
Malvidina 3-glicosídeo (21)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Brasil	LOPES-LUTZ et al., 2010
Petunidina 3-glicosídeo (22)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Brasil	LOPES-LUTZ et al., 2010
Pelargonidina 3-glicosídeo (23)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Brasil	LOPES-LUTZ et al., 2010
Peonidina 3-glicosídeo (24)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Brasil	LOPES-LUTZ et al., 2010

Tabela 1 – Compostos isolados e/ou identificados em espécies de *Pourouma*. Continua

Nome e Número do Composto	Espécies	Parte da Planta	País de Coleta	Referências
Quercetina 3-O- α -ramnopiranosil-(1 \rightarrow 6)- β -galactopiranosídeo (25)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	GUIO et al., 2010
Quercetina 3-O- α -ramnopiranosil-(1 \rightarrow 6)- β -glicopiranosídeo (26)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	GUIO et al., 2010
<i>Terpenoides</i> (Figura 4, p. 51)				
Ácido arjunólico (Ácido 2 α ,3 β ,23-trihidroxi-olean-12-en-28-óico) (27)	<i>P. guianensis</i>	Folhas	Brasil	TORRES-SANTOS et al., 2004
Ácido hiptático B (Ácido 2 α ,3 β ,19 α ,24-tetra-hidroxi-urs-12-en-28-óico) (28)	<i>P. guianensis</i>	Folhas	Brasil	TORRES-SANTOS et al., 2004
Ácido ursólico (29)	<i>P. guianensis</i>	Folhas	Brasil	TORRES-SANTOS et al., 2004
Ácido oleanólico (30)	<i>P. guianensis</i>	Folhas	Brasil	TORRES-SANTOS et al., 2004
Ácido 2 α ,3 β -dihidroxi-urs-12-en-28-óico (31)	<i>P. guianensis</i>	Folhas	Brasil	TORRES-SANTOS et al., 2004
Ácido 2 α ,3 β -dihidroxi-olean-12-en-28-óico (32)	<i>P. guianensis</i>	Folhas	Brasil	TORRES-SANTOS et al., 2004
Ácido 2 α ,3 β ,19 α -trihidroxi-urs-12-en-28-óico (Ácido tormêntico) (33)	<i>P. guianensis</i>	Folhas	Brasil	TORRES-SANTOS et al., 2004
Epi-friedelinol (34)	<i>P. guianensis</i>	Folhas	Brasil	TORRES-SANTOS et al., 2004
Estigmasterol (35)	<i>P. guianensis</i>	Folhas	Brasil	TORRES-SANTOS et al., 2004

Tabela 1 – Compostos isolados e/ou identificados em espécies de *Pourouma*. Continua

Nome e Número do Composto	Espécies	Parte da Planta	País de Coleta	Referências
Estigmasterol 3-O- β -D-glicopiranosídeo (36)	<i>P. guianensis</i>	Folhas	Brasil	TORRES-SANTOS et al., 2004
Fitol (37)	<i>P. guianensis</i>	Folhas, Cascas do Caule, Flores	Brasil	LOPES et al., 1999
Friedelina (38)	<i>P. guianensis</i>	Folhas	Brasil	TORRES-SANTOS et al., 2004
Sitosterol (39)	<i>P. guianensis</i>	Folhas	Brasil	TORRES-SANTOS et al., 2004
Sitosterol 3-O- β -D-glicopiranosídeo (40)	<i>P. guianensis</i>	Folhas	Brasil	TORRES-SANTOS et al., 2004
Álcool cariofilênico (41)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	PINO, 2008
α -Bergamoteno (42)	<i>P. guianensis</i>	Folhas, Cascas do Caule	Brasil	LOPES et al., 1999
Biclogermacreno (43)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	PINO, 2008
Cadaleno (44)	<i>P. guianensis</i> <i>P. cecropiifolia</i>	Folhas, Cascas do Caule Frutos	Brasil Colômbia	LOPES et al., 1999 PINO, 2008
δ -Cadineno (45)	<i>P. guianensis</i>	Folhas, Cascas do Caule	Brasil	LOPES et al., 1999
α -Cadinol (46)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	PINO, 2008
α -Calacorene (47)	<i>P. guianensis</i>	Folhas, Cascas do Caule, Flores	Brasil	LOPES et al., 1999
Calameneno (48)	<i>P. guianensis</i>	Folhas, Cascas do Caule, Flores	Brasil	LOPES et al., 1999
β -Cariofileno (49)	<i>P. guianensis</i> <i>P. cecropiifolia</i>	Flores, Cascas do Caule Frutos	Brasil Colômbia	LOPES et al., 1999 PINO, 2008

Tabela 1 – Compostos isolados e/ou identificados em espécies de *Pourouma*. Continua

Nome e Número do Composto	Espécies	Parte da Planta	País de Coleta	Referências
α -Cedreno (50)	<i>P. guianensis</i>	Flores	Brasil	LOPES et al., 1999
α -Copaene (51)	<i>P. guianensis</i>	Folhas, Cascas do Caule, Flores	Brasil	LOPES et al., 1999
	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	PINO, 2008
α -Cubebeno (52)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	GUIO et al., 2010
β -Cubebeno (53)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	PINO, 2008
Cubenol (54)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	PINO, 2008
δ -Elemeno (55)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	PINO, 2008
Guaiol (56)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	PINO, 2008
α -Ilangeno (57)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	PINO, 2008
α -Muuroleno (58)	<i>P. guianensis</i>	Cascas do Caule	Brasil	LOPES et al., 1999
α -Muurolol (59)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	PINO, 2008
1,8-Cineol (60)	<i>P. guianensis</i>	Folhas, Cascas do Caule, Flores	Brasil	LOPES et al., 1999
	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	PINO, 2008
	<i>P. cecropiifolia</i> , <i>P. mollis</i> , <i>P. velutina</i>	Óleo essencial	Brasil	LOPES et al., 2002
Carvona (61)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	GUIO et al., 2010

Tabela 1 – Compostos isolados e/ou identificados em espécies de *Pourouma*. Continua

Nome e Número do Composto	Espécies	Parte da Planta	País de Coleta	Referências
ρ -Cimeno (62)	<i>P. guianensis</i>	Folhas, Cascas do Caule, Flores	Brasil	LOPES et al., 1999
	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	PINO, 2008
β -Ciclocitral (63)	<i>P. guianensis</i>	Folhas, Cascas do Caule, Flores	Brasil	LOPES et al., 1999
α -Felandreno (64)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	PINO, 2008
Fenchona (65)	<i>P. guianensis</i>	Folhas, Cascas do Caule	Brasil	LOPES et al., 1999
Geraniol (66)	<i>P. guianensis</i>	Flores	Brasil	LOPES et al., 1999
	<i>P. cecropiifolia</i> , <i>P. mollis</i> ,	Óleo essencial	Brasil	LOPES et al., 2002
	<i>P. velutina</i>			
4-Hidroxi-3,6-óxido de linalol (67)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	GUIO et al., 2010
α -Ionone (68)	<i>P. guianensis</i>	Folhas	Brasil	LOPES et al., 1999
β -Ionone (69)	<i>P. guianensis</i>	Folhas e Flores	Brasil	LOPES et al., 1999
	<i>P. cecropiifolia</i> , <i>P. mollis</i> ,	Óleo essencial	Brasil	LOPES et al., 2002
	<i>P. velutina</i>			
Isomentona (70)	<i>P. guianensis</i>	Folhas, Cascas do Caule, Flores	Brasil	LOPES et al., 1999
Limoneno (71)	<i>P. guianensis</i>	Folhas, Cascas do Caule, Flores	Brasil	LOPES et al., 1999

Tabela 1 – Compostos isolados e/ou identificados em espécies de *Pourouma*. Continua

Nome e Número do Composto	Espécies	Parte da Planta	País de Coleta	Referências
Linalol (72)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	PINO, 2008
	<i>P. cecropiifolia</i> , <i>P. mollis</i> , <i>P. velutina</i>	Óleo essencial	Brasil	LOPES et al., 2002
	<i>P. cecropiifolia</i> , <i>P. mollis</i> , <i>P. velutina</i>	Óleo essencial	Brasil	LOPES et al., 2002
	<i>P. guianensis</i> <i>P. cecropiifolia</i>	Folhas, Cascas do Caule, Flores Frutos	Brasil Colômbia	LOPES et al., 1999 PINO, 2008; GUIO et al., 2010
<i>p</i> -Menta-1,3,8-trieno (73)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	PINO, 2008
Mentona (74)	<i>P. guianensis</i>	Folhas, Cascas do Caule, Flores	Brasil	LOPES et al., 1999
<i>p</i> -Ment-1-en-9-al (75)	<i>P. cecropiifolia</i> , <i>P. mollis</i> , <i>P. velutina</i>	Óleo essencial	Brasil	LOPES et al., 2002
2-Metoxibornileno (76)	<i>P. cecropiifolia</i> , <i>P. mollis</i> , <i>P. velutina</i>	Óleo essencial	Brasil	LOPES et al., 2002
Nerol (77)	<i>P. guianensis</i>	Flores	Brasil	LOPES et al., 1999
<i>(E)</i> -Nerolidol (78)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	PINO, 2008
	<i>P. guianensis</i>	Folhas e Flores	Brasil	LOPES et al., 1999

Tabela 1 – Compostos isolados e/ou identificados em espécies de *Pourouma*. Continua

Nome e Número do Composto	Espécies	Parte da Planta	País de Coleta	Referências
	<i>P. cecropiifolia</i> , <i>P. mollis</i> , <i>P. velutina</i>	Óleo essencial	Brasil	LOPES et al., 2002
(<i>E</i>)- β -Ocimeno (79)	<i>P. guianensis</i> <i>P. cecropiifolia</i>	Folhas, Cascas do Caule, Flores Frutos	Brasil Colômbia	LOPES et al., 1999 PINO, 2008
(<i>Z</i>)- β -Ocimeno (80)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	PINO, 2008
α -Pinenos (81)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	PINO, 2008
Óxido de <i>cis</i> -linalol (82)	<i>P. cecropiifolia</i> , <i>P. mollis</i> , <i>P. velutina</i> <i>P. guianensis</i> <i>P. cecropiifolia</i>	Óleo essencial Folhas, Cascas do Caule, Flores Frutos	Brasil Brasil Colômbia	LOPES et al., 2002 LOPES et al., 1999 PINO, 2008
Óxido de <i>cis</i> -linalol (piranoide) (83)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	PINO, 2008; GUIO et al., 2010
Óxido de <i>trans</i> -linalol (piranoide) (84)	<i>P. cecropiifolia</i> , <i>P. mollis</i> , <i>P. velutina</i> <i>P. cecropiifolia</i>	Óleo essencial Frutos	Brasil Colômbia	LOPES et al., 2002 GUIO et al., 2010
Óxido de <i>trans</i> -linalol (furanoide) (85)	<i>P. guianensis</i> <i>P. cecropiifolia</i>	Folhas, Cascas do Caule, Flores Frutos	Brasil Colômbia	LOPES et al., 1999 GUIO et al., 2010
Terpinen-4-ol (86)	<i>P. guianensis</i>	Folhas, Cascas do Caule, Flores	Brasil	LOPES et al., 1999

Tabela 1 – Compostos isolados e/ou identificados em espécies de *Pourouma*. Continua

Nome e Número do Composto	Espécies	Parte da Planta	País de Coleta	Referências
α -Terpineol (87)	<i>P. cecropiifolia</i> , <i>P. mollis</i> , <i>P. velutina</i>	Óleo essencial	Brasil	LOPES et al., 2002
	<i>P. guianensis</i> <i>P. cecropiifolia</i>	Folhas Frutos	Brasil Colômbia	LOPES et al., 1999 PINO, 2008
<i>Ácidos carboxílicos, Ésteres e Alcoóis</i> (Figura 5, p. 54)				
Ácido benzoico (88)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	GUIO et al., 2010
Ácido 2-etilhexanóico (89)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	PINO, 2008
Ácido hexanóico (90)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	PINO, 2008; GUIO et al., 2010
Ácido (Z)-2-hexenoico (91)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	GUIO et al., 2010
Ácido hexadecanóico (92)	<i>P. guianensis</i> <i>P. cecropiifolia</i> <i>P. cecropiifolia</i> , <i>P. mollis</i> , <i>P. velutina</i>	Folhas, Cascas do Caule, Flores Frutos Óleo essencial	Brasil Colômbia Brasil	LOPES et al., 1999 PINO, 2008 LOPES et al., 2002
Ácido heptadecanóico (93)	<i>P. guianensis</i>	Folhas, Cascas do Caule	Brasil	LOPES et al., 1999
Ácido isovalérico (94)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	PINO, 2008
Ácido octanóico (95)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	PINO, 2008 GUIO et al., 2010
Ácido octadecanóico (96)	<i>P. guianensis</i>	Folhas, Cascas do Caule	Brasil	LOPES et al., 1999

Tabela 1 – Compostos isolados e/ou identificados em espécies de *Pourouma*. Continua

Nome e Número do Composto	Espécies	Parte da Planta	País de Coleta	Referências
Ácido (Z,Z)-octadeca-9,12-dienóico (97)	<i>P. guianensis</i>	Folhas, Cascas do Caule, Flores	Brasil	LOPES et al., 1999
	<i>P. cecropiifolia</i> , <i>P. mollis</i> , <i>P. velutina</i>	Óleo essencial	Brasil	LOPES et al., 2002
Ácido 2-metilpropanóico (98)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	GUIO et al., 2010
Ácido 2-metilbutanóico (99)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	PINO, 2008
Ácido 3-metilbutanoico (100)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	GUIO et al., 2010
Ácido nonanoico (101)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	GUIO et al., 2010
Ácido pentadecanóico (102)	<i>P. guianensis</i>	Folhas, Cascas do Caule	Brasil	LOPES et al., 1999
	<i>P. cecropiifolia</i> , <i>P. mollis</i> , <i>P. velutina</i>	Óleo essencial	Brasil	LOPES et al., 2002
Ácido tetradecanóico (103)	<i>P. guianensis</i>	Folhas, Cascas do Caule	Brasil	LOPES et al., 1999
	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	PINO, 2008
	<i>P. cecropiifolia</i> , <i>P. mollis</i> , <i>P. velutina</i>	Óleo essencial	Brasil	LOPES et al., 2002
Acetato de hexila (104)	<i>P. guianensis</i>	Folhas, Cascas do Caule, Flores	Brasil	LOPES et al., 1999
Acetato de (Z)-3-hexenila (105)	<i>P. guianensis</i>	Folhas, Cascas do Caule	Brasil	LOPES et al., 1999
Acetato de (E)-cinamoíla (106)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	PINO, 2008

Tabela 1 – Compostos isolados e/ou identificados em espécies de *Pourouma*. Continua

Nome e Número do Composto	Espécies	Parte da Planta	País de Coleta	Referências
Benzoato de benzila (107)	<i>P. guianensis</i>	Flores	Brasil	LOPES et al., 1999
Butanoato de hexila (108)	<i>P. guianensis</i>	Folhas	Brasil	LOPES et al., 1999
Butanoato de (Z)-hex-3-enila (109)	<i>P. guianensis</i>	Folhas	Brasil	LOPES et al., 1999
Formiato de (Z)-hex-3-enila (110)	<i>P. guianensis</i>	Folhas	Brasil	LOPES et al., 1999
Salicilato de benzila (111)	<i>P. guianensis</i>	Flores	Brasil	LOPES et al., 1999
Salicilato de etila (112)	<i>P. guianensis</i>	Folhas, Cascas do Caule, Flores	Brasil	LOPES et al., 1999
	<i>P. cecropiifolia</i> , <i>P. mollis</i> , <i>P. velutina</i>	Óleo essencial	Brasil	LOPES et al., 2002
	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	PINO, 2008
Salicilato de metila (113)	<i>P. guianensis</i>	Folhas, Cascas do Caule, Flores	Brasil	LOPES et al., 1999
	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	PINO, 2008; GUIO et al., 2010
	<i>P. cecropiifolia</i> , <i>P. mollis</i> , <i>P. velutina</i>	Óleo essencial	Brasil	LOPES et al., 2002
2-Metilbutanoato de hex-3-enila (114)	<i>P. guianensis</i>	Folhas	Brasil	LOPES et al., 1999
Palmitato de metila (115)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	GUIO et al., 2010
Tetradecanoato de isopropila (116)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	PINO, 2008

Tabela 1 – Compostos isolados e/ou identificados em espécies de *Pourouma*. Continua

Nome e Número do Composto	Espécies	Parte da Planta	País de Coleta	Referências
Alcool benzílico (117)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	GUIO et al., 2010
Alcool feniletílico (118)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	GUIO et al., 2010
Butanol (119)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	GUIO et al., 2010
(-)-2,3-Butanodiol (120)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	GUIO et al., 2010
Dietilenoglicol (121)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	GUIO et al., 2010
3,7-Dimetil-1,5-octadien-3,7-diol (122)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	GUIO et al., 2010
2,6-Dimetil-2(E)-7-octadien-1,6-diol (123)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	GUIO et al., 2010
2,5-Dimetil-2,5-hexanodiol (124)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	GUIO et al., 2010
1,2-Etanodiol (125)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	GUIO et al., 2010
<i>n</i> -Hexanol (126)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	PINO, 2008; GUIO et al., 2010
	<i>P. guianensis</i>	Flores	Brasil	LOPES et al., 1999
	<i>P. cecropiifolia</i> , <i>P. mollis</i> , <i>P. velutina</i>	Óleo essencial	Brasil	LOPES et al., 2002
Hexadecanol (127)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	PINO, 2008; GUIO et al., 2010
(E)-2-Hexenol (128)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	GUIO et al., 2010

Tabela 1 – Compostos isolados e/ou identificados em espécies de *Pourouma*. Continua

Nome e Número do Composto	Espécies	Parte da Planta	País de Coleta	Referências
(Z)-3-Hexenol (129)	<i>P. guianensis</i>	Folhas	Brasil	LOPES et al., 1999
	<i>P. cecropiifolia</i> , <i>P. mollis</i> , <i>P. velutina</i>	Óleo essencial	Brasil	LOPES et al., 2002
3-Metil-1-butanol (130)	<i>P. guianensis</i>	Folhas e Flores	Brasil	LOPES et al., 1999
	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	PINO, 2008; GUIO et al., 2010
3-Metil-1-butanol (130)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	GUIO et al., 2010
Octanol (131)	<i>P. cecropiifolia</i> , <i>P. mollis</i> , <i>P. velutina</i>	Óleo essencial	Brasil	LOPES et al., 2002
3-Octanol (132)	<i>P. guianensis</i>	Folhas, Cascas do Caule	Brasil	LOPES et al., 1999
	<i>P. cecropiifolia</i> , <i>P. mollis</i> , <i>P. velutina</i>	Óleo essencial	Brasil	LOPES et al., 2002
1-Octen-3-ol (133)	<i>P. guianensis</i>	Folhas, Cascas do Caule, Flores	Brasil	LOPES et al., 1999
	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	PINO, 2008; GUIO et al., 2010
	<i>P. cecropiifolia</i> , <i>P. mollis</i> , <i>P. velutina</i>	Óleo essencial	Brasil	LOPES et al., 2002
Octadecanol (134)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	PINO, 2008
2-Pentanol (135)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	GUIO et al., 2010

Tabela 1 – Compostos isolados e/ou identificados em espécies de *Pourouma*. Continua

Nome e Número do Composto	Espécies	Parte da Planta	País de Coleta	Referências
3-Pentanol (136)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	GUIO et al., 2010
1,2-Propanodiol (137)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	GUIO et al., 2010
<i>Aldeídos, Cetonas e Lactonas</i> (Figura 6, p. 56)				
Benzaldeído (138)	<i>P. guianensis</i>	Flores	Brasil	LOPES et al., 1999
	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	PINO, 2008; GUIO et al., 2010
Benzofenona (139)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	PINO, 2008
2-Ciclopenten-1-ona (140)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	GUIO et al., 2010
Decanal (141)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	PINO, 2008
(<i>E</i>)-Dec-2-enal (142)	<i>P. guianensis</i>	Cascas do Caule	Brasil	LOPES et al., 1999
(<i>E,E</i>)-2,4-Decandienal (143)	<i>P. guianensis</i>	Folhas, Cascas do Caule, Flores	Brasil	LOPES et al., 1999
	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	PINO, 2008
2-Fenilcetaldeído (144)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	PINO, 2008; GUIO et al., 2010
Furfural (145)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	PINO, 2008; GUIO et al., 2010
3-Hidroxi-2-butanona (146)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	GUIO et al., 2010
<i>n</i> -Heptanal (147)	<i>P. guianensis</i>	Folhas, Cascas do Caule, Flores	Brasil	LOPES et al., 1999

Tabela 1 – Compostos isolados e/ou identificados em espécies de *Pourouma*. Continua

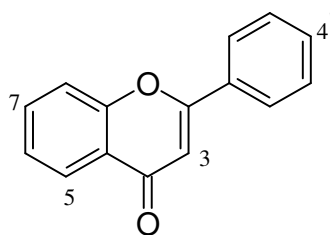
Nome e Número do Composto	Espécies	Parte da Planta	País de Coleta	Referências
	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	PINO, 2008
(<i>E</i>)-2-Heptenal (148)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	PINO, 2008
2-Heptanona (149)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	PINO, 2008
<i>n</i> -Hexanal (150)	<i>P. guianensis</i> <i>P. cecropiifolia</i>	Folhas, Cascas do Caule, Flores Frutos	Brasil Colômbia	LOPES et al., 1999 PINO, 2008
(<i>E</i>)-2-Hexenal (151)	<i>P. cecropiifolia</i> <i>P. guianensis</i>	Frutos Folhas	Colômbia Brasil	PINO, 2008; GUIO et al., 2010 LOPES et al., 1999
<i>n</i> -Nonanal (152)	<i>P. guianensis</i> <i>P. cecropiifolia</i>	Folhas, Cascas do Caule, Flores Frutos	Brasil Colômbia	LOPES et al., 1999 PINO, 2008; GUIO et al., 2010
<i>n</i> -Octanal (153)	<i>P. guianensis</i> <i>P. cecropiifolia</i>	Folhas, Cascas do Caule, Flores Frutos	Brasil Colômbia	LOPES et al., 1999 PINO, 2008
(<i>E</i>)-Undec-2-enal (154)	<i>P. guianensis</i>	Folhas, Cascas do Caule	Brasil	LOPES et al., 1999
γ -Butirolactona (155)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	GUIO et al., 2010
3-Metil- γ -butirolactona (156)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	GUIO et al., 2010
γ -Nonalactona (157)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	GUIO et al., 2010.
Benzotiazol (158)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	
<i>p</i> -Cresol (159)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	PINO, 2008

Tabela 1 – Compostos isolados e/ou identificados em espécies de *Pourouma*. Conclusão

Nome e Número do Composto	Espécies	Parte da Planta	País de Coleta	Referências
Eugenol (160)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	PINO, 2008
Fenol (161)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	GUIO et al., 2010
2-Fenoxietanol (162)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	GUIO et al., 2010
<i>o</i> -Guaiacol (163)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	PINO, 2008; GUIO et al., 2010
(<i>E</i>)-Isoeugenol (164)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	PINO, 2008
Índol (165)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	PINO, 2008
Isobutanoato de 2-fenoxietila (166)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	GUIO et al., 2010
Leptospermona (167)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	PINO, 2008
Metileugenol (168)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	PINO, 2008
Veratrol (169)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	PINO, 2008
4-Vinilguaiacol (170)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	PINO, 2008; GUIO et al., 2010
2-Oxo-pirrolidina (171)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	GUIO et al., 2010
Safrol (172)	<i>P. guianensis</i>	Folhas	Brasil	LOPES et al., 1999
Tri- <i>tert</i> -butilfenol (173)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	GUIO et al., 2010
<i>ρ</i> -Xileno (174)	<i>P. cecropiifolia</i>	Frutos	Colômbia	GUIO et al., 2010

Fonte: Autor, 2014.

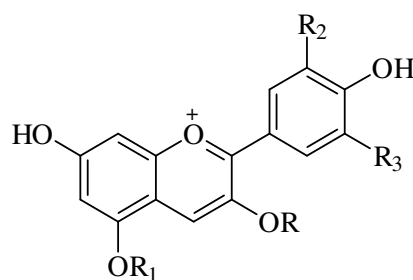
Figura 3 – Estruturas de flavonoides isolados de espécies de *Pourouma*.



13 5,7,4'-OH

25 5,7,3',4'-OH, 3-O- α -Rha-(1 \rightarrow 6)- β -Gal

26 5,7,3',4'-OH, 3-O- α -Rha-(1 \rightarrow 6)- β -Glc



14 R = O- β -Glc, R₁ = R₂ = OH, R₃ = H

15 R = R₁ = O- β -Glc, R₂ = OH, R₃ = H

16 R = 3-O-(6''-Ma)-Glc, R₁ = R₂ = OH, R₃ = H

17 R = 3-(3''-Ma)-Glc, R₁ = R₂ = OH, R₃ = H

18 R = Rut, R₁ = R₂ = OH, R₃ = H

19 R = O- β -Glc, R₁ = R₂ = R₃ = OH

20 R = O- β -Gal, R₁ = R₂ = R₃ = OH

21 R = O- β -Glc, R₁ = H, R₂ = R₃ = OMe

22 R = O- β -Glc, R₁ = H, R₂ = OMe, R₃ = OH

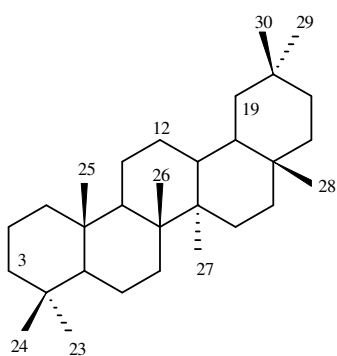
23 R = O- β -Glc, R₁ = R₂ = R₃ = H

24 R = O- β -Glc, R₁ = H, R₂ = OMe, R₃ = H

Gal = galactopiranosídeo; Glc = glicopiranosídeo; Ma = malonil; Rut = rutenosídeo

Fonte: Autor, 2013.

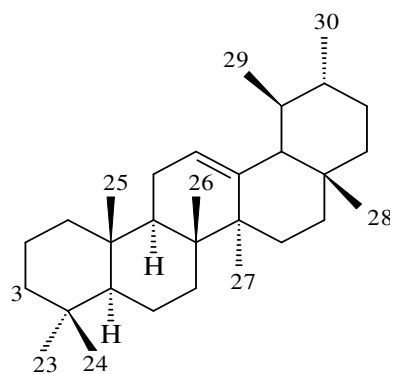
Figura 4 – Estruturas de terpenoides isolados ou identificados em espécies de *Pourouma*. Continua.



27 2 α ,3 β ,23-OH, 28-CO₂H, Δ^{12}

30 3 β -OH, 28-CO₂H, Δ^{12}

31 2 α ,3 β -OH, 28-CO₂H, Δ^{12}

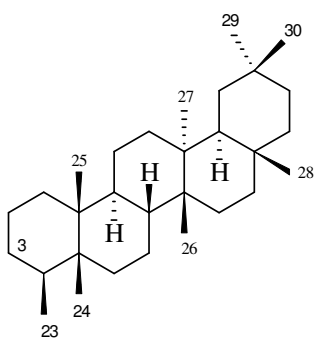


28 2 α ,3 β ,19 α ,24-OH, 28-CO₂H, Δ^{12}

29 3 β -OH, 28-CO₂H, Δ^{12}

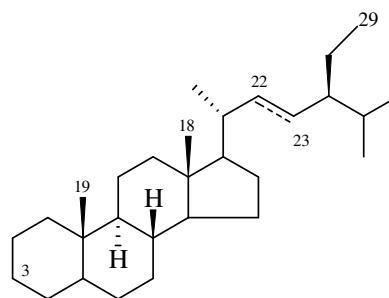
32 2 α ,3 β -OH, 28-CO₂H, Δ^{12}

33 2 α ,3 β ,19 α -OH, 28-CO₂H, Δ^{12}



34 3 α -OH

38 3-Oxo

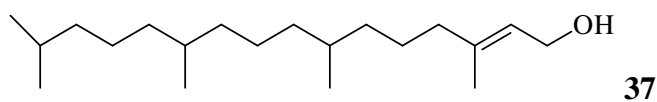


35 3 β -OH, $\Delta^{5,22}$

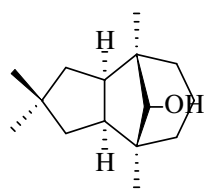
36 3-O- β -D-Glc, $\Delta^{5,22}$

39 3 β -OH, Δ^5 , 22-didro

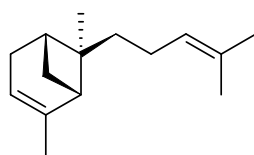
40 3-O- β -G-Glc, Δ^5 , 22-didro



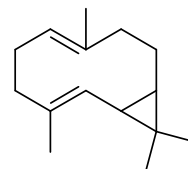
37



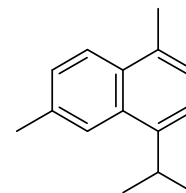
41



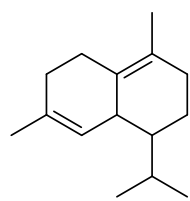
42



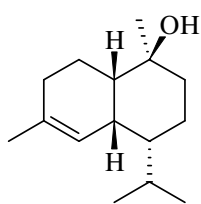
43



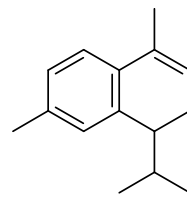
44

Figura 4 – Estruturas de terpenoides isolados ou identificados em espécies de *Pourouma*. Continua

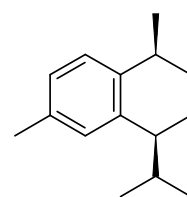
45



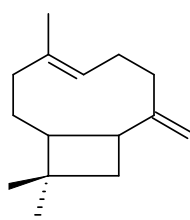
46



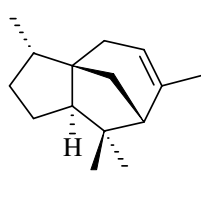
47



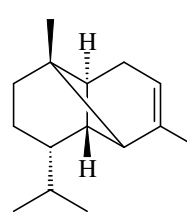
48



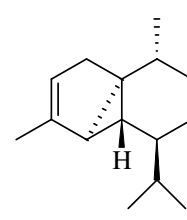
49



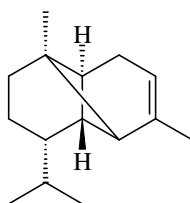
50



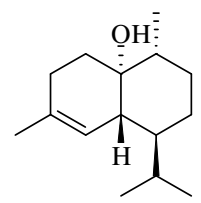
51



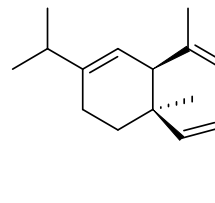
52



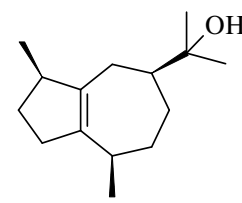
53



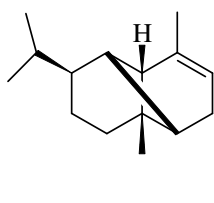
54



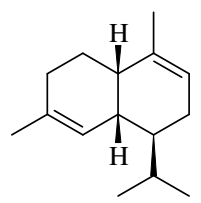
55



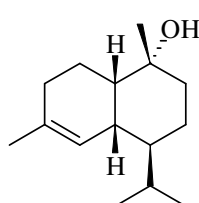
56



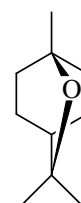
57



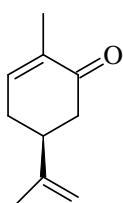
58



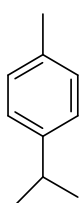
59



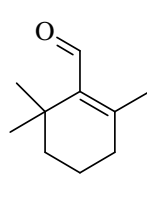
60



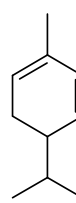
61



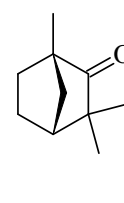
62



63

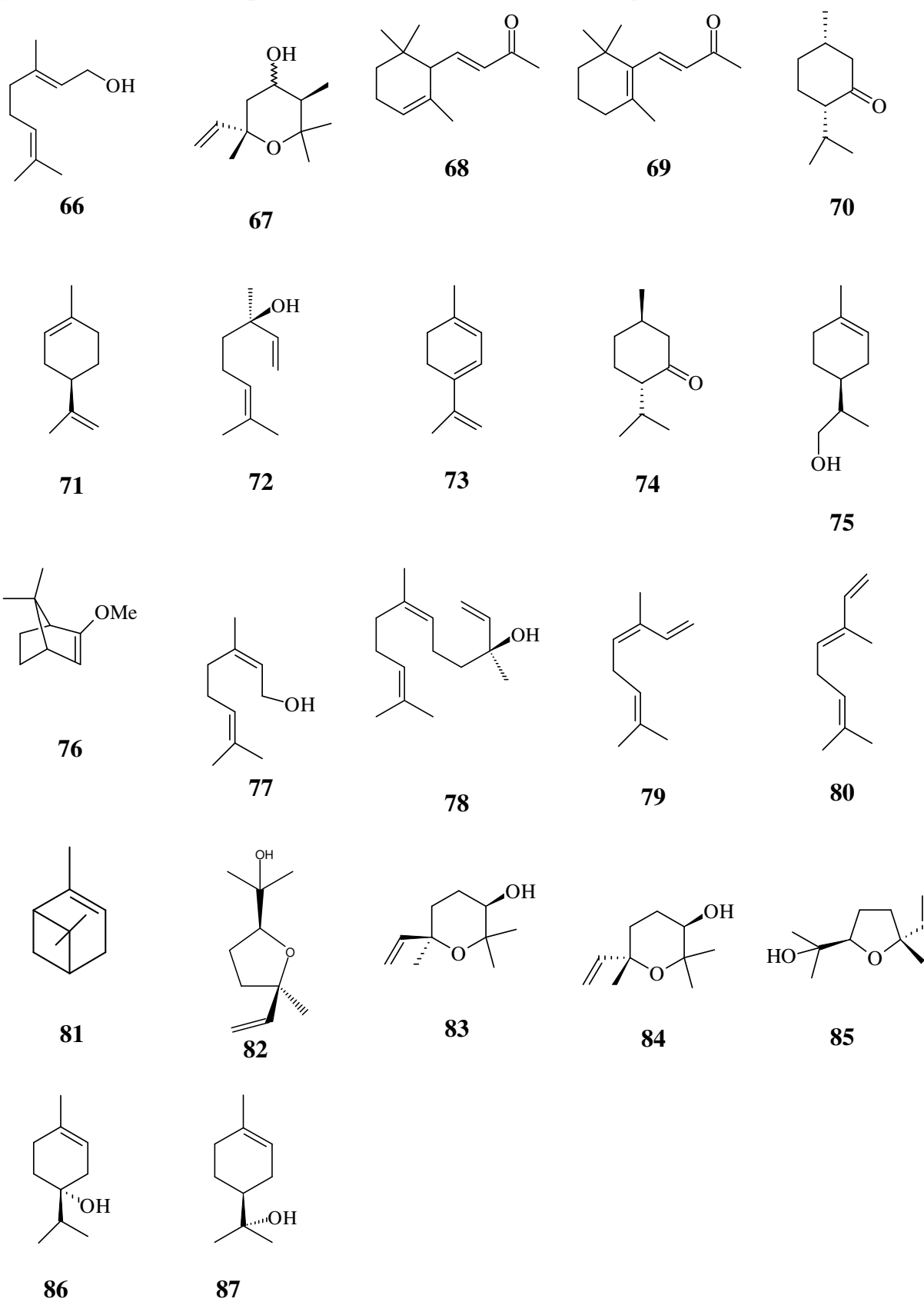


64

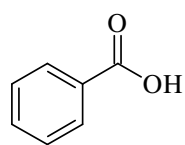


65

Figura 4 – Estruturas de terpenoides isolados ou identificados em espécies de *Pourouma*. Conclusão.



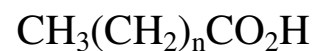
Fonte: Autor, 2013.

Figura 5 – Estruturas de ácidos, ésteres e alcoóis que ocorrem em espécies de *Pourouma*. Continua

88



89



90 n = 4

92 n = 14



91

93 n = 15



93

95 n = 6

96 n = 16

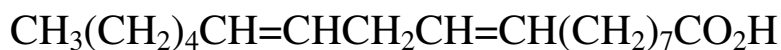


98

101 n = 7

102 n = 13

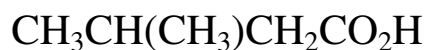
103 n = 12



97



99



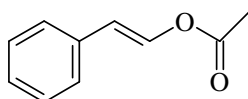
100



104



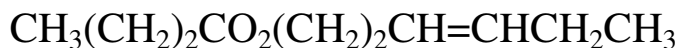
105 n = 1



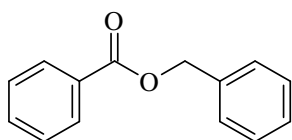
106



108



109



107

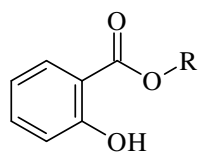


110



114

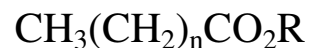
Figura 5 – Estruturas de ácidos, ésteres e alcoóis que ocorrem em espécies de *Pourouma*. Continua



111 R = Bz

112 R = Et

113 R = Me

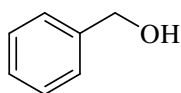


115 n = 16, R = Me

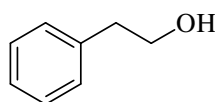
116 n = 12, R = i-Pr



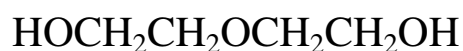
120



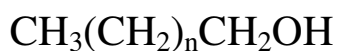
117



118



121



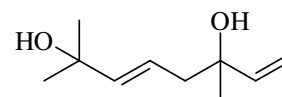
119 n = 2

126 n = 4

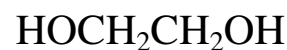
127 n = 14

128 n = 6

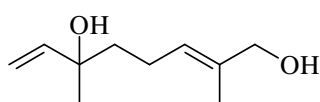
134 n = 16



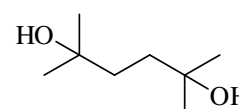
122



125



123



124



131 n = 4

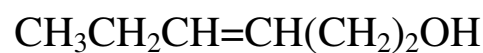
132 n = 1



128 n = 2

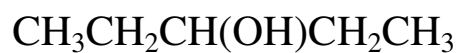


133 n = 2

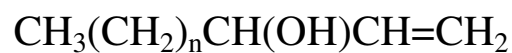


129

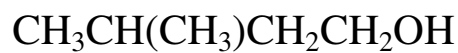
Figura 5 – Estruturas de ácidos, ésteres e alcoóis que ocorrem em espécies de *Pourouma*. Conclusão



136



133



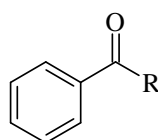
130



137

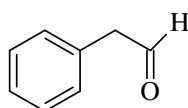
Fonte: Autor, 2013.

Figura 6 – Estruturas de aldeídos, cetona, lactonas e de outros compostos que ocorrem em espécies de *Pourouma*. Continua

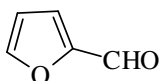


138 R = H

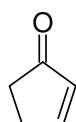
139 R = Fenila



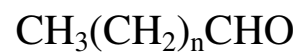
144



145



140



141 n = 8

147 n = 5

150 n = 4

152 n = 7

153 n = 6

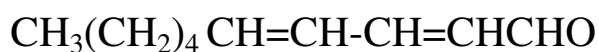


142 n = 6

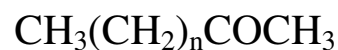
148 n = 3

151 n = 2

154 n = 7



143

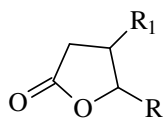


149 n = 5



146

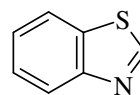
Figura 6 – Estruturas de aldeídos, cetona, lactonas e de outros compostos que ocorrem em espécies de *Pourouma*. Conclusão



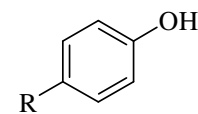
155 R = R₁ = H

156 R = H, R₁ = Me

157 R = H, R₁ = -(CH₂)₄CH₃

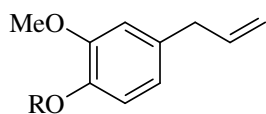


158



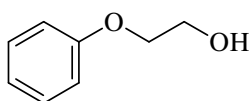
159 R = Me

161 R = H

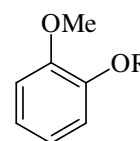


160 R = H

168 R = Me

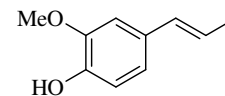


162

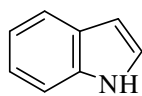


163 R = H

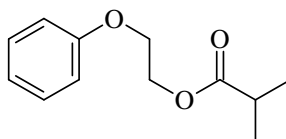
169 R = Me



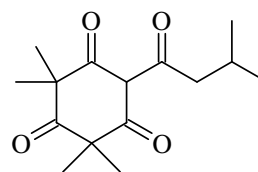
164



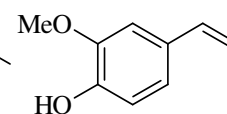
165



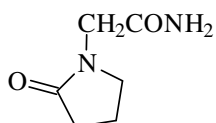
166



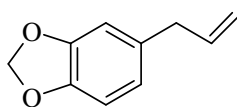
167



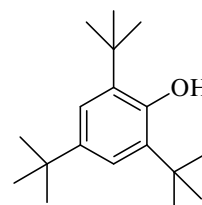
170



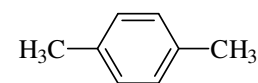
171



172



173



174

Fonte: Autor, 2013.

2.7 Espécie *Pourouma guianensis* Aubl.

A espécie *Pourouma guianensis* Aubl. (sinonímia: *P. acutiflora* Trécul., *P. cinerascens* Mart. ex Miq., *P. fuliginea* Miq., *P. heterophylla* Mart. ex Miq., *P. mildbraediana* Standl., *P. palmata* Poepp. & Endl., *P. radula* Benoist., *P. scabra* Rusby., *P. substrigosa* Mildbr. e *P. subtriloba* Rusby), conhecida como embaúba da mata (Pernambuco), mapati e amapati (Pará), imbaubarana (Mato Grosso), itararanga e tararanga branca (Bahia), embaúba-benguê e pau-de-jacu (Paraná) e inharé (Piauí) e em outros países como buruma, sandpaper (Guiana); bois cânon, kuluma (Guiana Francesa), papaya del monte, uvilla, uvilla blanca (Peru), masbospapaja (Suriname), chaparro de água delta amacurro (Venezuela) e outros nomes (LORENZI, 1998), é uma árvore de cerca de 30 metros de altura (Figura 7, p. 59), que ocorre na Colômbia, Venezuela, Guianas e no Brasil, onde se distribui na região amazônica e da costa litorânea de Pernambuco até Santa Catarina (TORRES-SANTOS, 2004).

A planta floresce durante os meses de agosto e setembro e os frutos amadurecem a partir de dezembro, com uma grande quantidade de sementes (MARANHÃO, 2012), dispersas por pássaros e mamíferos (VIEIRA et al., 1996) e suas folhas servem de alimento para o bicho-preguiça (LORENZI, 1998). A árvore é ornamental, é recomendada para composição de reflorestamentos mistos e a madeira é empregada para produção de polpa celulósica, confecção de brinquedos, palitos, caixas e pequenas embalagens (LORENZI, 1998).

No campo é frequentemente confundida com *Cecropia*, da qual é distinguida por não apresentar folhas peltadas e nos herbários com *Pourouma bicolor*, da qual se diferencia por apresentar face adaxial da lâmina tomentosa-vilosa, nervuras proeminentes na face abaxial da lâmina e estípulas com a face interna glabra a pubérula. Berg e cols. (1990) reconhecem duas subespécies de *P. guianensis*: *venezuelensis* (Cuatrec.) C.C. Berg & van Heusden, restrita a região norte da Venezuela e *guianensis* que apresenta ampla distribuição ocorrendo desde a bacia amazônica até o leste da Colômbia, Guianas e no leste do Brasil (GAGLIOTI, 2011).

O principal uso desta espécie é como fruto comestível, do qual também se faz uma bebida fermentada. Os índios Waimiri Atoari esfregam pedaços das cascas internas (que tem cheiro de Vick vaporub) na testa para aliviar os sintomas de gripe, ou fazem uma infusão das cascas para o mesmo fim (LORENZI, 1998; MARANHÃO, 2012). A infusão das cascas do caule é utilizada na medicina popular para tratar disenteria e os frutos verdes como remédio para tratar feridas (LOPES et al., 1999; TORRES-SANTOS, 2004).

O estudo químico efetuado com o extrato em metanol das folhas de *P. guianensis*, ativo contra formas promastigotas e amastigotas de *Leishmania amazonensis* (TORRES-SANTOS et

al., 2004) resultou no isolamento do flavonoide apigenina (**13**) e de onze terpenoides [ácidos arjunólico (**27**), hiptático B (**28**), ursólico (**29**), oleanólico (**30**), $2\alpha,3\beta$ -dihidroxiursan-12-en-28-óico (**31**), $2\alpha,3\beta$ -dihidroxiolean-12-en-28-óico (**32**) e tormêntico (**33**), epi-friedelinol (**34**), estigmasterol (**35**), friedelina (**38**) e sitosterol (**39**)] (Figura 4, p. 51). Embora as frações contendo os compostos **13**, **27-28**, **34-35**, **38-39** foram inativas ou com fraca atividade, as frações contendo os ácidos **29-32** e **33** foram mais potentes em inibir o crescimento de formas promastigotas a 100 $\mu\text{g/mL}$, sendo que os ácidos ursólico (**29**) e oleanólico (**30**) mostraram alta atividade frente formas amastigotas intracelular de *L. amazonensis* (IC_{50} 27 e 11 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente) (TORRES-SANTOS et al., 2004).

Os componentes químicos dos óleos essenciais, obtidos por hidrodestilação e identificados através de CG e CG-EM, das folhas, cascas do caule e flores desta espécie (LOPES et al., 1999). Sesquiterpenos (**41-59**), monoterpênos (**60-87**) (Tabela 1, p. 35; Figura 4, p. 51), ácidos graxos (**88-103**), ésteres (**104-116**), alcoóis alifáticos (**117-137**) (Tabela 1, p. 35; Figura 5, p. 54), aldeídos, cetonas e lactonas (**138-157**) e derivados aromáticos (**158-174**) foram os principais componentes (Tabela 1, p. 35; Figura 6, p. 56).

Figura 7 – Foto da espécie *P. guianensis* (árvore, frutos e folhas).



Fonte: http://www.ufrgs.br/fitoecologia/florars/open_sp.php.

3 OBJETIVOS

3.1 Gerais

O presente trabalho teve como objetivo ampliar o conhecimento da composição química e do potencial biológico do gênero *Pourouma*, através do estudo químico e da avaliação das atividades larvicida, antioxidante e antibacteriana de extratos das folhas, cascas e caule da espécie vegetal *Pourouma guianensis* Aubl. (Urticaceae).

3.2 Específicos

- Avaliar o potencial larvicida, frente larvas do 4º instar do *Aedes aegypti*, de extratos e frações da espécie *Pourouma guianensis*;
- Avaliar, frente ao radical 2,2-difenil-1-picrilidrazila (DPPH), o potencial antioxidante de extratos e frações da espécie acima mencionada;
- Avaliar a atividade antibacteriana de extratos e substâncias isoladas da espécie acima mencionada;
- Isolar e elucidar a estrutura química de alguns dos constituintes químicos presentes nos extratos e frações, especialmente daqueles com resultados promissores nos ensaios efetuados.

4 EXPERIMENTAL

4.1 Solventes, reagentes, materiais e equipamentos

- Na preparação dos extratos foram utilizados extratores de aço inoxidável e etanol 90%;
- Nas partições, separações cromatográficas e outras marchas químicas foram utilizados acetato de etila, clorofórmio, hexano e metanol P.A (Dinâmica, Labsynth e Quimex); ou destilados no próprio laboratório;
- Nas separações cromatográficas foram utilizados como adsorventes géis de sílica (70-230 e 230 a 400 mesh, Merk) e Sephadex LH-20 (Pharmacia).
- Nas cromatografias em camada delgada analítica (CCD - 0,75 mm de espessura) utilizados gel de sílica 60 PF₂₅₄ da Merck. As cromatoplacas foram preparadas utilizando-se suspensões de sílica gel em água destilada, espalhadas sobre placas de vidro através de um espalhador mecânico e, em seguida, ativadas a 100°C, em estufa (Biomatic);
- As soluções contendo grandes volumes foram concentradas em evaporadores rotativos, marcas BUCHI (modelo R-114) e IKA WERKE (modelo RV06-ML), enquanto as soluções com pequenos volumes foram concentradas à temperatura ambiente em capela de exaustão da Permution;
- As pesagens foram efetuadas em balança eletrônica analítica (modelo AX 200, Shimadzu) e balança semianalítica (BEL);
- Utilizou-se Ultrasson da Brason (modelo 1210) nas solubilizações das amostras;
- A secagem da vidraria foi realizada em estufa de esterilização universal (modelo 219);
- Os cromatogramas foram revelados em lâmpada ultravioleta da Spectroline (modelo ENF-260C/F), em comprimentos de onda de 254 e 366 nm; por imersão em cubas de vidro contendo cristais e vapores de iodo; e/ou através de métodos destrutivos de revelação como a aplicação de uma solução ácida de sulfato cérico;
- Os espectros de RMN (¹H: 400 e 200 MHz; ¹³C: 100 e 50 MHz) foram registrados em espectrômetro Brüker Avance 400 do Instituto de Química da Universidade Federal de

Alagoas (IQB/UFAL) e Mercury-Varian 200 do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica da Universidade Federal da Paraíba. As amostras foram dissolvidas em solventes deuterados puros ou em mistura (clorofórmio e/ou metanol) e a referência interna utilizada foi o sinal residual do solvente deuterado ou TMS;

- Nos ensaios para avaliação da atividade larvicida, as amostras foram solubilizadas com DMSO. A ração animal para alimentação das larvas foi esterilizada em autoclave vertical modelo 415 (Fanem) e os insetos adultos de *Aedes aegypti* (*Stegomyia aegypti* L., 1762 (Diptera: Culicidae) foram alimentados com glicose anidra P.A. (Amresco);
- Nos ensaios antioxidantes utilizou-se cromatoplasmas de gel de sílica 60 F₂₅₄ (Merck), o radical sintético 2,2-difenil-1-picrilidrazila (DPPH), (+)-catequina, 2,6-di-tert-butil-4-metilfenol (BHT), ácido ascórbico e ácido gálico (Sigma) e MeOH grau espectroscópico (Vetec). As medidas de absorvância foram efetuadas em espectrofotômetro UV/VIS (modelo Mini-1240 da Shimadzu);
- Nos ensaios antibacterianos foram utilizados: pipetas automáticas de volumes variáveis, ponteiros de polietileno, microplacas de poliestireno com 96 orifícios estéreis (JET BIOFIL[®] Tissue Culture Plates), tubos de ensaios, erlenmeyers e provetas de volumes variados, máscaras, gorro e jaleco, luvas de procedimento, *swabs* e gazes estéreis, meio de cultivo Ágar Müeller-Hinton e cepas padrão adquiridas da empresa Laborclin (Pinhais-PR, Brasil), cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólio (CTT) (Vetec), papel Whatman[®] n° 1, autoclave vertical (modelo Q316M2 Quimis[®] e estufa bacteriológica (modelo Q290 Quimis[®]), capela de fluxo laminar (Biohazard Safety Cabinet, JSR-JS Research, Veco do Brasil Indústria e Comércio de Equipamentos Sociedade Ltda, Campinas/SP, Brasil).

4.2 Coleta e identificação do material vegetal

As folhas, cascas e caule da espécie *Pourouma guianensis* Aubl. foram coletadas em março de 2001, na Área Relevante de Interesse Ecológico, município de Fleixeiros/AL, e identificada pela botânica **Rosângela P. Lyra Lemos** do Instituto do Meio Ambiente do Estado de Alagoas, onde um exemplar do referido material encontra-se catalogado (MAC-14277).

4.3 Preparação dos extratos

Os materiais vegetais provenientes das partes folhas (1000 g), caule (2600 g) e cascas (630 g), após secagem a temperatura ambiente e moagem, foram extraídos individualmente através de maceração com acetona (folhas e cascas) e EtOH 90% (cascas e caule). Após concentração das soluções em evaporadores rotativos, parte dos extratos brutos obtidos [folhas (28,34 g), caule (23,21 g), cascas (7,95 g em acetona)] foram suspensos em solução MeOH-H₂O (3:2) e extraídos individualmente e sucessivamente com hexano, CHCl₃ e AcOEt, ou filtrados em gel de sílica, com diferentes sistemas de solventes (Figuras 8-11, pp. 64-67). Posteriormente, os extratos brutos e suas respectivas frações de partição e/ou de filtração foram submetidos a ensaios para avaliar os efeitos sobre larvas do 4º estágio do *A. Aegypti*, capacidade de sequestrar radicais livres (DPPH) e antibacterianos (bactérias Gram-positivas e Gram-negativas).

4.4 Avaliação do potencial biológico de extratos e frações

4.4.1 Avaliação da atividade larvicida

Os extratos brutos, bem como as frações oriundas de partição ou de filtração das folhas, caule e cascas foram submetidos a ensaios frente larvas do quarto estágio do mosquito *A. aegypti*. Os experimentos foram realizados no insetário do Laboratório de Pesquisa em Química dos Produtos Naturais (LPqPN) do IQB/UFAL, de acordo com as recomendações da Organização Mundial de Saúde (WHO, 1981) e metodologia descrita por Oliveira e cols. (2010).

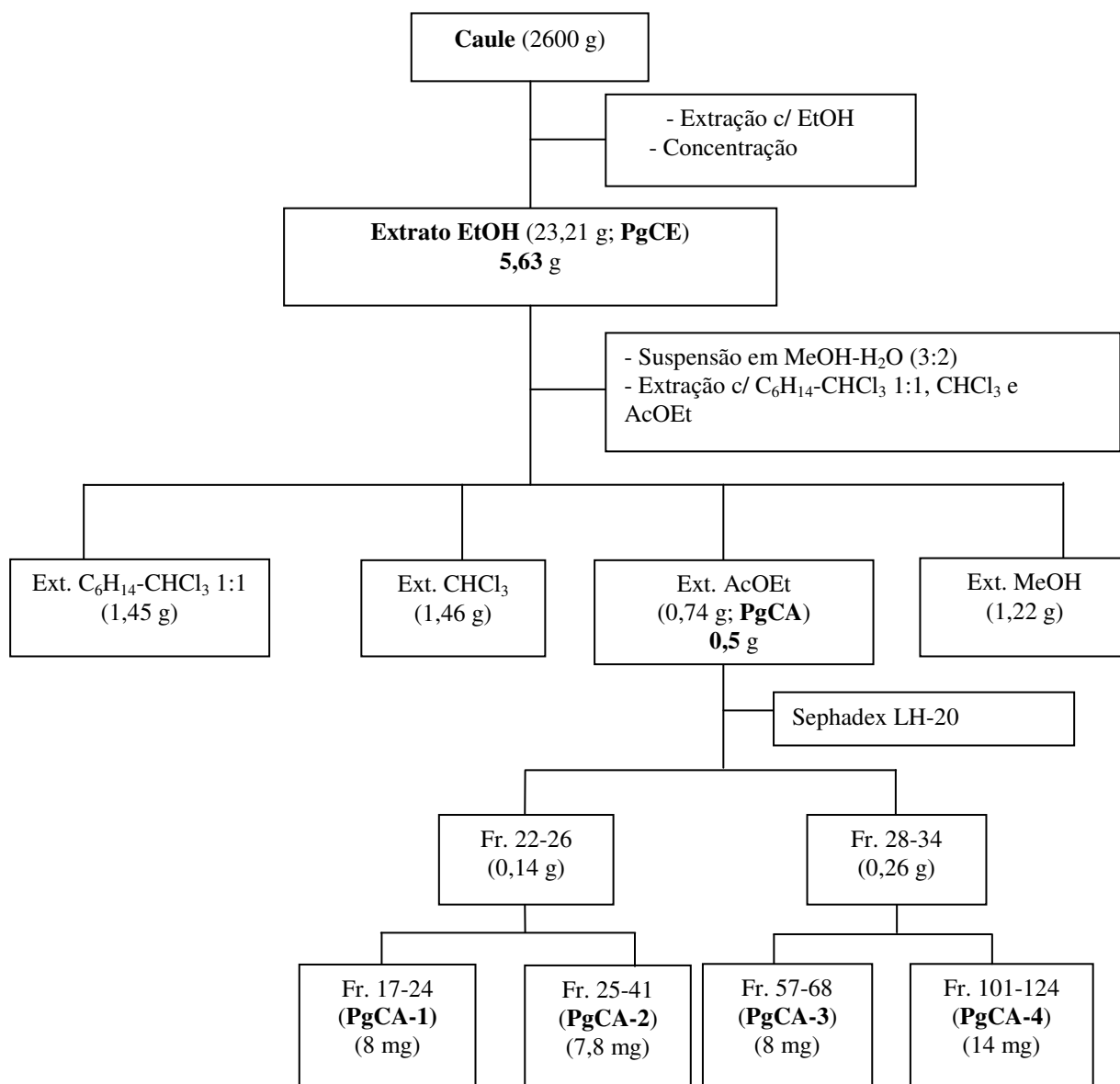
4.4.1.1 Criação e manutenção das larvas e insetos adultos

Larvas do 4º estágio de mosquitos *A. aegypti* foram obtidas a partir de ovos depositados em papéis de filtro por fêmeas adultas criadas no insetário do LPqPN. Os insetos foram mantidos a uma temperatura média de $27,1 \pm 4,0$ °C, umidade relativa do ar de $69,9 \pm 7,8\%$ e com fotoperíodo de aproximadamente de 12 horas.

Os ovos de mosquitos, coletados três dias após a realização do repasto sanguíneo, foram colocados em bacias plásticas contendo água destilada, onde ocorreu a eclosão das larvas e seu desenvolvimento nos diferentes estádios (L₁, L₂, L₃, L₄). As larvas foram alimentadas com ração autoclavada para gatos e mantidas em bacias até o desenvolvimento das pupas. Em seguida, com auxílio de pipetas plásticas, as pupas foram manualmente separadas das larvas, acondicionadas em copos descartáveis e colocadas em gaiolas teladas para posterior

emergência dos insetos adultos. Estes foram alimentados com solução de glicose anidra a 10%, em chumaços de algodão trocados diariamente. A alimentação sanguínea (repasto sanguíneo) para as fêmeas, visando à maturação dos ovos, foi realizada utilizando pombos da espécie *Columbia livia* (GMELIN, 1789).

Figura 8 – Esquema geral do procedimento experimental efetuado com a partição do caule de *Pourouma guianensis*.



Fonte: Autor, 2012

Figura 9 – Esquema geral do procedimento experimental efetuado com o extrato em EtOH do caule de *Pourouma guianensis*.

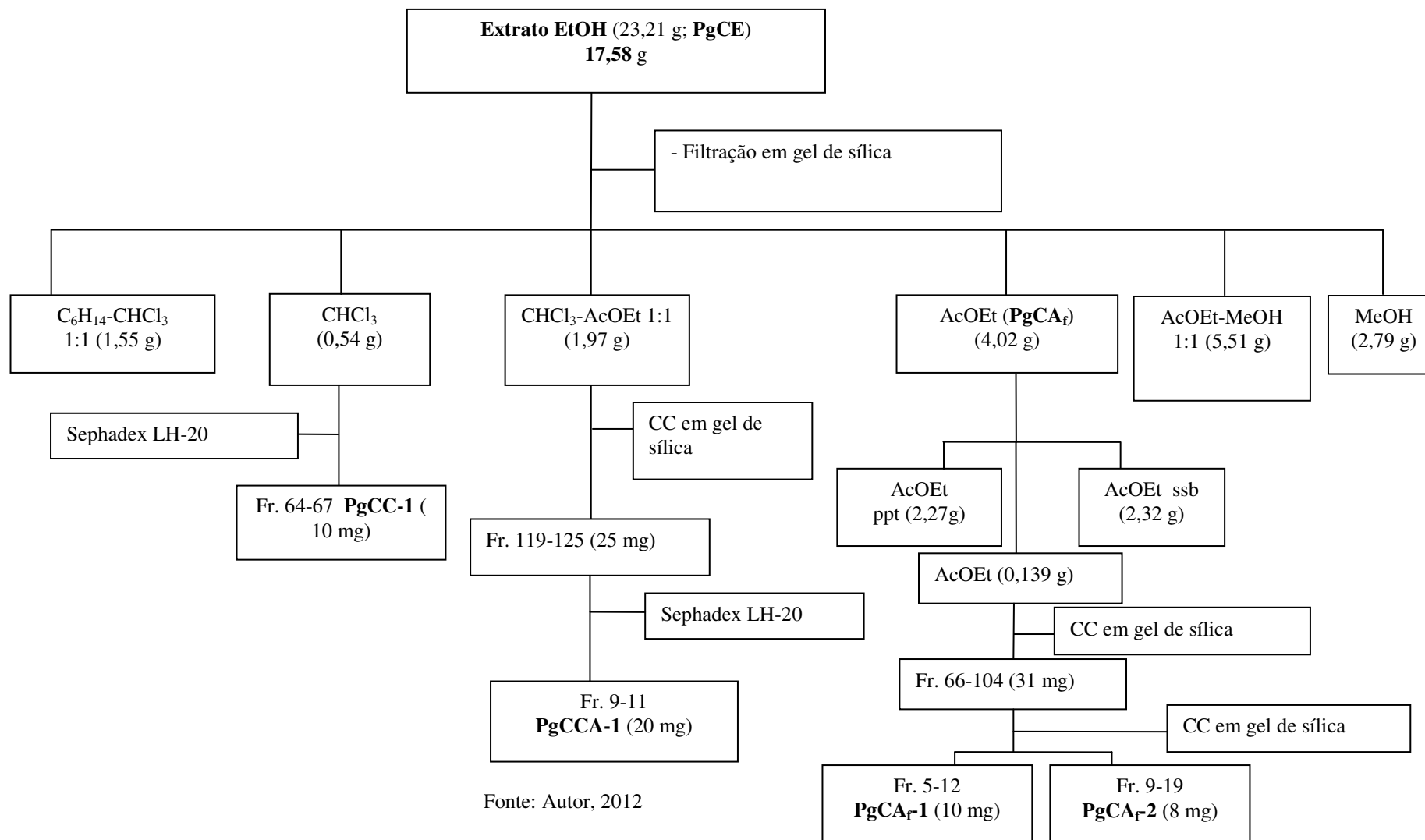
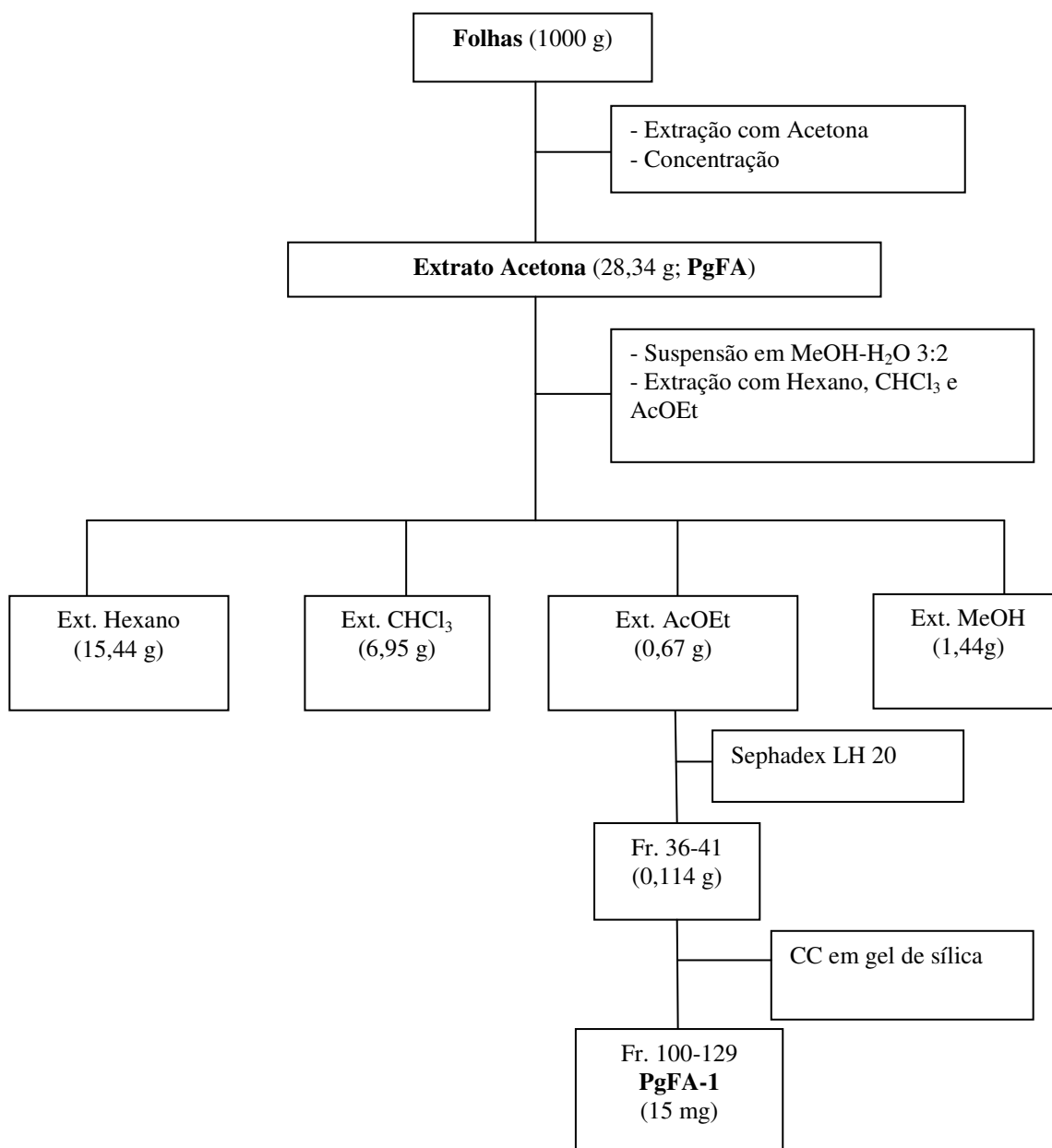
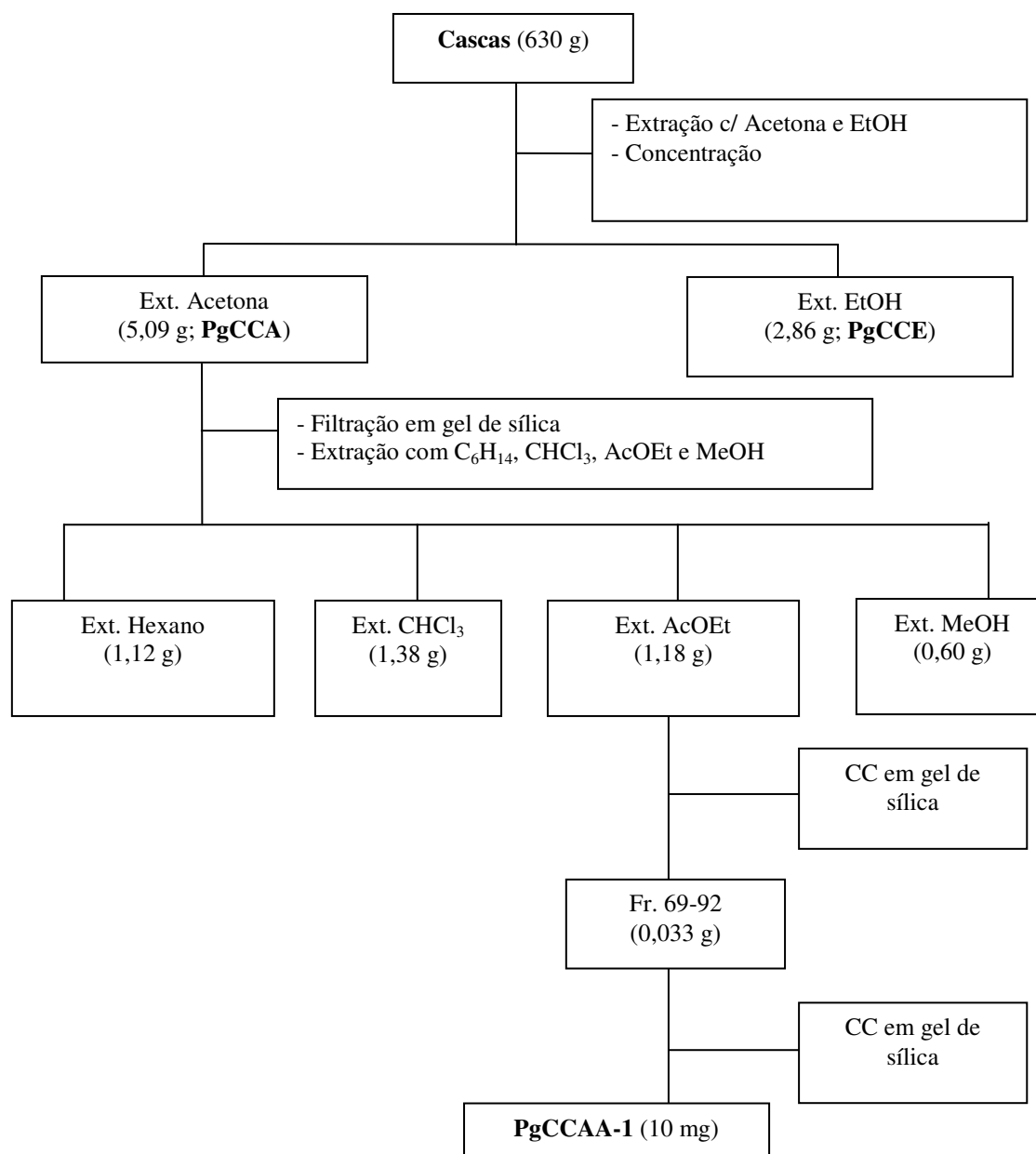


Figura 10 – Esquema geral do procedimento experimental efetuado com as folhas de *Pourouma guianensis*.



Fonte: Autor, 2012.

Figura 11 – Esquema geral do procedimento experimental efetuado com as cascas de *Pourouma guianensis*.



Fonte: Autor, 2012.

4.4.1.2 Ensaio para Avaliação da Atividade Larvicida

Inicialmente, os experimentos foram realizados em triplicata, utilizando-se larvas jovens do 4º estágio (cabeça branca, sob alimentação), na concentração de 250 ppm. Para tanto, 75 mg de cada amostra foram dissolvidos em 1 mL de dimetilsulfóxido (DMSO), e em seguida, diluídos em água destilada, obtendo-se um volume total de 300 mL. Esta solução foi distribuída, em três copos descartáveis, onde foram adicionados grupos de quinze larvas. Como

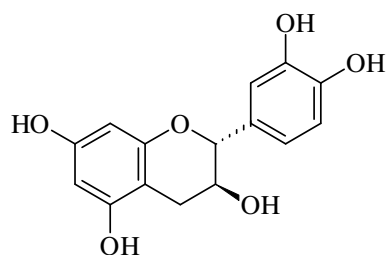
controle negativo, utilizou-se uma solução aquosa de DMSO a 0,33%, e como controle positivo solução de temefós reformulado a 1% na concentração de 3 µg/mL, que foram mantidos sob as mesmas condições do teste. As larvas foram expostas as soluções das amostras e do controle por um período de 48 horas, sendo a leitura do experimento realizada a cada 24 horas durante 48 horas após o início do teste, observando-se o percentual de mortalidade. Aos copos contendo as larvas, adicionou-se 0,005 g de ração para garantir ausência de mortalidade por falta de alimento, evitando uma falsa interpretação da atividade larvicida.

De acordo com o percentual de mortalidade observado após 24 e 48 horas, o grau de atividade das amostras testadas foi classificado de acordo com os seguintes critérios: considerado promissor → Mortalidade superior a 75%; parcialmente promissor → Mortalidade entre 50% e 75%; fracamente promissor → Mortalidade entre 25% e inferior a 50% e inativo → Mortalidade inferior a 25%.

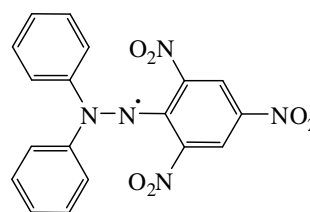
4.4.2 Avaliação da capacidade sequestradora de radicais livres

4.4.2.1 Ensaios qualitativos

A avaliação qualitativa da capacidade sequestradora de radicais livres frente ao radical sintético DPPH[•] foi efetuada de acordo com a metodologia descrita por Soler-Rivas e cols. (2000). Após dissolução das amostras em solventes apropriados (Quadro 1, p. 69), alíquotas de aproximadamente 2 µL de cada foram aplicadas em cromatoplasas de sílica gel 60 F₂₅₄ (Merck), que foram eluídas em sistemas de solventes adequados. Após eliminação do solvente a temperatura ambiente, ao lado das amostras, aplicou-se 2 µL de (+)-catequina (1 mg/mL em CHCl₃), como controle positivo. Em seguida, as cromatoplasas foram submersas, durante 10 segundos, em solução metanólica do radical DPPH (0,4 mM), que após secagem à temperatura ambiente, o aparecimento de manchas amareladas sob um fundo roxo, quando comparado com a (+)-catequina, sugeriu uma possível atividade.



(+)-Catequina



DPPH[•]

Quadro 1 – Extratos e frações que foram submetidos à avaliação qualitativa da capacidade sequestradora de radicais livres frente ao radical sintético DPPH.

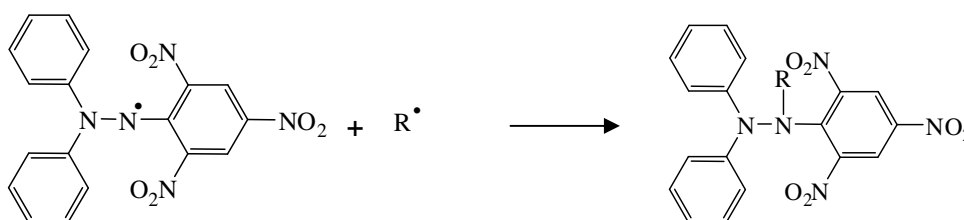
Partes da planta	Extratos	Frações
<i>Folhas</i>	Acetona	Filtração: Hexano; CHCl ₃ ; AcOEt e MeOH
<i>Caule</i>	EtOH	Partição: Hexano-CHCl ₃ (1:1); CHCl ₃ ; AcOEt e MeOH-H ₂ O Filtração: Hexano-CHCl ₃ (1:1); CHCl ₃ ; CHCl ₃ -AcOEt (1:1); AcOEt; AcOEt-MeOH (1:1) e MeOH
<i>Cascas</i>	Acetona EtOH	Filtração: Hexano; CHCl ₃ ; AcOEt e MeOH

Fonte: Autor, 2012.

4.4.2.2 Ensaio quantitativos

Somente as amostras que apresentaram resultados positivos (manchas amareladas) nos ensaios qualitativos foram submetidas a ensaios quantitativos frente ao radical sintético DPPH, conforme metodologia descrita por Brand-Williams e cols. (1995) e Sánchez-Moreno e cols. (1998), na qual a amostra cuja atividade deseja-se avaliar reage com o radical livre DPPH[•] em solução metanólica. O radical DPPH (coloração púrpura) absorve no comprimento de onda de 515 nm. Porém, ao ser reduzido por um agente antioxidante (doador de hidrogênio) ou uma espécie radicalar (R[•]) forma-se o difenil-picrilhidrazina (coloração amarela; Figura 12, p. 69). O consumo do radical foi monitorado pelo decréscimo da absorbância do radical.

Figura 12 – Representação esquemática da reação de redução do DPPH[•].

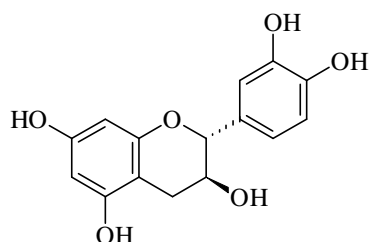


Fonte: Autor, 2013.

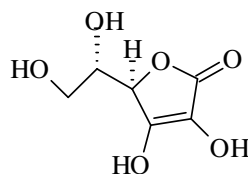
❖ Preparo das Soluções e Construção da Curva de Calibração do DPPH

As soluções estoque das amostras testes [caule (partição: frações em CHCl₃, AcOEt e MeOH-H₂O); filtração: frações em CHCl₃, CHCl₃-AcOEt, AcOEt, AcOEt_{ssb}, AcOEt-MeOH e

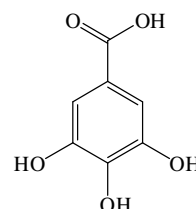
MeOH); folhas (partição: frações: CHCl₃ e AcOEt) e cascas filtração fração CHCl₃], bem como dos padrões [(ácido ascórbico, ácido gálico e butilhidroxitolueno (BHT)] utilizados foram preparadas na concentração de 40 µg/mL em MeOH (grau HPLC). De cada amostra foram testadas no mínimo 5 concentrações, variando de 200 a 3,125 µg/mL.



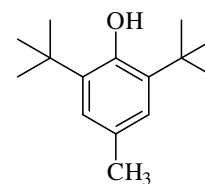
(+)-Catequina



Ácido ascórbico



Ácido gálico



BHT

Inicialmente, preparou-se uma solução estoque de DPPH em MeOH grau espectroscópico (40 µg/mL ou 100 mMol/L), que foi protegida da ação da luz e mantida sob refrigeração até o momento dos testes. A partir desta solução, foram preparadas soluções nas concentrações de 35, 30, 25, 20, 15, 10, 5 e 1 µg/mL necessárias para a construção da curva de calibração. As medidas de absorvância da radiação UV a 515 nm de cada solução do DPPH (1 a 40 µg/mL) foram feitas em espectrofotômetro UV/VIS (modelo Mini-1240, Shimadzu). As medidas foram feitas em triplicata, utilizando-se cubetas de poliestireno com percurso óptico de 1 cm, contendo 1 mL de cada solução. Como branco utilizou-se MeOH grau HPLC.

A curva de calibração foi construída a partir dos valores médios de absorvância de cada solução do DPPH *versus* as concentrações usadas (1 a 40 µg/mL), através da análise de regressão linear utilizando o programa Microcal OriginPro 8.0. Esta análise forneceu a equação matemática da curva de calibração: $Y = a + b \cdot x$, onde: a = coeficiente linear; b = coeficiente angular ou inclinação da reta; com seu desvio padrão (DP) e coeficiente de correlação (R).

A solução estoque de DPPH para avaliação quantitativa da capacidade sequestradora de radical livre frente ao DPPH dos extratos e frações foi preparada várias vezes. Para cada solução estoque foi construída uma curva de calibração, sendo obtidas diferentes medidas de dispersão: os desvios padrão (DP) variaram de 0,0051 a 0,0344 e os coeficientes de correlação (R) variaram entre 0,995 e 0,999.

Após a obtenção da curva de calibração, alíquotas de 0,1 mL de cada concentração das amostras foram individualmente colocadas em cubetas e adicionadas a cada uma delas 0,9 mL da solução do radical DPPH (100 µmol/L). As soluções foram protegidas da presença de luz,

homogeneizadas e as leituras de no mínimo cinco diferentes concentrações (200 a 3,125 µg/mL) foram feitas nos tempos 0, 15, 30, 45 e 60 minutos. As absorvâncias das soluções foram registradas contra um branco (MeOH, grau HPLC).

A percentagem remanescente de DPPH (DPPH_{REM}) no meio reacional foi obtida a partir da equação matemática da curva de calibração e dos valores de absorvâncias obtidos após 60 minutos de análise para cada concentração testada, conforme fórmula descrita por Sánchez-Moreno e cols. (1998).

$$\% \text{ DPPH}_{\text{REM}} = [\text{DPPH}]_{\text{T=t}} / [\text{DPPH}]_{\text{T=0}} \times 100$$

Onde:

[DPPH]_{T=t} = concentração de radical DPPH no meio após reação com a amostra;

[DPPH]_{T=0} = concentração inicial de DPPH no meio (40 mg/L).

Os dados de percentagens de radical DPPH remanescente versus as concentrações testadas (200,0 a 3,125 µg/mL) foram plotados no OriginPro 8. A quantidade de antiradical necessária para diminuir a concentração inicial de DPPH em 50% (CI₅₀) foi obtida usando o modelo matemático $Y = a + b.x$.

4.4.3 Avaliação da atividade antibacteriana

Os ensaios antibacterianos foram realizados no Laboratório de Pesquisa e Tratamento de Feridas (LPTF), em colaboração com a *Prof^a Dr^a Maria Lysete de Assis Bastos*, da Escola de Enfermagem e Farmácia (ESENFAR) da Universidade Federal de Alagoas.

Os extratos brutos e frações oriundas de partições e filtrações do caule, cascas e folhas de *P. guianensis* foram submetidos a ensaios utilizando o método de microdiluição em caldo, para determinação da concentração inibitória mínima (CIM), conforme descrito por Ayres e cols. (2008), frente a quatro bactérias, sendo duas Gram-positivas [*Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212)] e duas Gram-negativas [*Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) e *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 31488)], todos adquiridos da empresa Laborclin, Pinhais-PR, mantidos em temperaturas entre 2 a 8°C, até o momento do uso.

4.4.3.1 Meios de cultivo e soluções utilizados nos ensaios antibacterianos

❖ Meios de cultivo: composição e preparo

Mueller Hinton Broth ou Caldo Mueller Hinton (BHM, 500 g): meio sólido de enriquecimento altamente nutritivo utilizado na propagação de micro-organismos (cepas-padrão) utilizados nos testes antimicrobianos. Segundo o fabricante, este meio é composto (g/L): carne e infusão de aminoácido caseína. O meio BHM foi preparado utilizando-se 21 g do pó em 1 litro de água destilada sob agitação. Após a completa dissolução, a solução foi esterilizada em autoclave vertical, a 121°C durante 15 minutos, com pH final de $7,4 \pm 0,1$ a 25°C. O meio foi armazenado a uma temperatura de 2-8°C até o momento do uso, quando foi redistribuído em placas de Petri.

Solução salina tamponada: solução utilizada para diluir o inóculo visando obter o equivalente a $1,5 \times 10^6$ Unidades Formadoras de Colônias (UFC/mL). A solução foi preparada utilizando-se os sais: cloreto de sódio (5,61g), cloreto de potássio (0,11g), fosfato de potássio monobásico (1,0g), e fosfato dibásico de sódio (2,0g), após agitação com auxílio de bastão de vidro, todos os componentes da solução foram dissolvidos em 1 litro de água destilada. Após completa dissolução, a solução foi transferida para um erlenmeyer, o qual foi vedado com rolha de gaze. Após o processo de esterilização em autoclave a 121°C durante 15 minutos e ajuste do pH ($7,4 \pm 0,2$ a 25°C), armazenou-se em refrigerador a uma temperatura de 2- 8°C, até o momento do uso. Em cada bateria de testes, a solução era novamente esterilizada para receber inóculos ativos. A turbidez desta suspensão foi comparada com a turbidez do tubo 0,5 da Escala de MacFarland ($1,5 \times 10^6$ UFC/mL), obtendo-se assim a suspensão microbiana a ser adicionada nos poços.

Solução de sulfato de bário para a escala de MacFarland: foram utilizadas soluções padrão de turbidez de sulfato de bário ($BaSO_4$), denominada Escala de MacFarland. Esta escala é utilizada para padronização da densidade do inóculo dos micro-organismos para testes *in vitro*, e ajuste do número de UFC/mL. A escala foi preparada conforme procedimento abaixo:

- 1 – Acrescentar 0,5 mL de $BaCl_2$ 0,048 mol/L (1,175% w/v $BaCl_2 \cdot 2H_2O$) a 99,5 mL de H_2SO_4 0,18 mol/L (0,36 N) (1% v/v).
- 2 – Verificar a densidade correta da solução padrão de turbidez usando um espectrofotômetro com via de luz (*light path*) de 1 cm e cubeta correspondente para determinar a absorbância. A 625nm, a absorbância deverá ser de 0,08 a 0,10 para a solução padrão MacFarland 0.5.
- 3 – Colocar de 4 a 6 mL em tubos com tampas de rosca, do mesmo tamanho dos usados para cultivar ou diluir o inóculo em cultura de caldo.

- 4 – Fechar bem os tubos e armazená-los em câmara escura, a temperatura ambiente.
- 5 – Agitar vigorosamente o padrão de turbidez num misturador de vórtex mecânico imediatamente antes de usar.
- 6 – Substituir as soluções padrão ou verificar novamente as densidades três meses depois de preparadas.

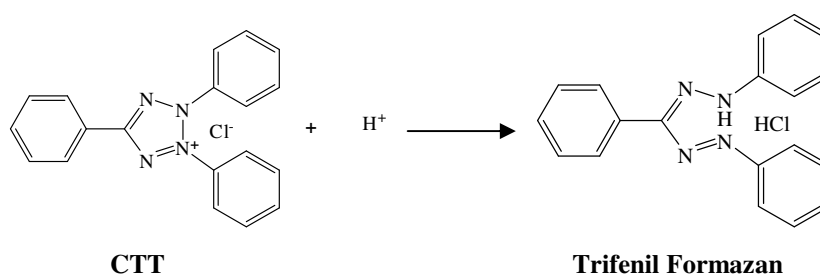
A concentração inibitória mínima (CIM) é definida como a menor concentração de um agente antimicrobiano capaz de impedir o crescimento visível de um micro-organismo em testes de sensibilidade por diluição em ágar ou caldo (NCCLS, 2012). O ensaio para determinação da CIM (adaptado de AYRES et al., 2008), foi realizado utilizando-se a técnica de microdiluição em caldo, em placas estéreis de 96 poços com fundo em “U”, que contém 12 colunas (1 a 12) e 8 linhas (A a H). Foi preparada previamente uma solução estoque das amostras dos extratos e frações, na concentração de 2000 ug/mL, a uma concentração de DMSO a 10%, mediante a solubilização de 6mg em 300 uL de DMSO e 2700 uL de solução salina. As amostras foram testadas em triplicata.

Estes ensaios antibacterianos foram realizados com extratos brutos, frações e substâncias isoladas de *P. guianensis*, para avaliar a capacidade de inibir o crescimento bacteriano frente a bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. Para a realização do ensaio, foram adicionados 100 µL do caldo BHM em cada poço das colunas de 1 a 12 da microplaca. Um volume de 100 µL da solução estoque de 2 mg/mL das amostras devidamente identificadas foram adicionadas nos poços de 1 a 3, de 4 a 6 e de 7 a 9 da linha A. Em seguida, foram homogeneizadas com auxílio de uma pipeta e transferidos uma alíquota de 100 µL do conteúdo de cada orifício da linha A para os orifícios da linha B, e após homogeneização, o mesmo volume foi transferido para a linha C, repetindo-se este procedimento até a linha H, e desprezando-se após homogeneização o excesso da diluição, obtendo-se assim concentrações decrescentes dos extratos (1000 µg/mL - linha A; 500 µg/mL - linha B; 250 µg/mL - Linha C, e assim por diante). Os inóculos microbianos na concentração de 0,5 de McFarland ($1,5 \times 10^6$ UFC/mL) foram depositados em todos os orifícios das linhas A-H. Os orifícios das colunas 10, 11 e 12 foram destinados para os testes de controle do experimento. Os orifícios da coluna 10 receberam apenas BHM e o inóculo microbiano (5 µL), possibilitando o controle positivo da viabilidade bacteriana (CC) a coluna 11 foi reservada para o controle negativo da atividade inibitória do diluente DMSO, utilizado na preparação dos extratos. Desta forma, a solução de DMSO a 10% foi diluída em caldo BHM até a linha H e o mesmo inóculo microbiano acrescido à coluna 11. Os orifícios da

coluna 12 receberam apenas caldo BHM para a verificação da esterilidade da placa. As microplacas foram incubadas em estufa bacteriológica a 35° C por 18 horas. Decorrido este intervalo de tempo foi acrescentado a cada um dos orifícios 20 µL de uma solução aquosa de CTT (cloreto de trifetil tetrazolium) a 0,5% e as microplacas novamente re-incubadas por mais três horas a 35° C. Após esta última incubação a presença de uma coloração vermelha nos orifícios é interpretada como prova negativa do efeito inibitório do extrato, enquanto a ausência da coloração vermelha é considerada prova positiva da ação inibitória do extrato.

O CTT é um reagente comumente utilizado para detecção de metabolismo em células eucarióticas; ele se reduz em presença de H⁺, formando o Trifenil Formazan, que tem cor vermelha (Figura 13, p. 74). Portanto, o aparecimento da coloração avermelhada indica crescimento microbiano. A leitura do experimento foi realizada observando-se a menor concentração da amostra em µg/mL capaz de impedir o crescimento microbiano, na qual não houve mudança de coloração. Cada teste foi realizado em triplicata.

Figura 13 – Representação esquemática da reação de redução do CTT.



Fonte: Autor, 2013.

4.5 Isolamento de alguns constituintes químicos do caule de *Pourouma guianensis*

As frações provenientes de partição ou filtração que apresentaram resultados promissores nos ensaios larvicidas, antioxidantes e antibacterianos foram investigadas visando o isolamento dos componentes responsáveis pelas atividades.

4.5.1 Procedimento efetuado com frações oriundas da filtração do caule de *Pourouma guianensis*

4.5.1.1 Fração clorofórmio

A fração em CHCl₃ (542 mg) oriunda da filtração de parte do extrato bruto em EtOH do caule foi dissolvida em MeOH e permeada em gel (Sephadex LH-20 com MeOH), da qual

foram obtidas 67 frações com volume médio de 10 mL cada. Após análise através de CCD, em diferentes sistemas eluentes, as frações com Rfs semelhantes foram reunidas. A fração 64-67 (10 mg) apresentou um aspecto de um sólido amarelo que após revelação com luz ultravioleta e vapores de iodo mostrou-se como uma única mancha e foi codificada de **PgCC-1** (10 mg). Este material encontra-se em fase de obtenção dos dados espectrais.

4.5.1.2 Fração clorofórmio-AcOEt

A fração em CHCl_3 -AcOEt (1:1) (1,97 g), oriunda da filtração do extrato em EtOH do caule, por ter apresentado fraca atividade frente a *S. aureus* e *E. faecalis* (CIM 1000 $\mu\text{g/mL}$), foi fracionada em gel de sílica com misturas de solventes (hexano, Hex- CHCl_3 9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 1:1, CHCl_3 , CHCl_3 -AcOEt 9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 1:1, AcOEt e MeOH). A fração 119-125 (25 mg), eluída com CHCl_3 , foi permeada em Sephadex LH-20 com MeOH, que após análise comparativa através de CCD foram agrupadas. O material reunido do subgrupo 9-11 (20 mg) se mostrou como um sólido amorfo branco, que através de análise em CCD e revelação com sulfato cérico se apresentou como uma única mancha, de coloração rosa claro, indicando a possível presença de terpenos. Este material foi codificado de **PgCCA-1**.

4.5.1.3 Fração AcOEt

Parte da fração acetato (139 mg) foi fracionada em gel de sílica com as misturas de solventes (hexano, hexano-acetato 9:1; 8:2; 7:3; 6:4; 1:1; AcOEt e MeOH) e forneceu 165 frações com volume médio de 5 mL cada. Após análise comparativa através de CCD, em diferentes sistemas eluentes, e revelação com sulfato cérico, as frações com Rfs semelhantes foram reunidas. O material da fração 66-104 (31 mg) apresentou o aspecto de um sólido branco que após borrifar sulfato cérico e aquecer em estufa apresentava 4 manchas de coloração rosa claro, sugerindo a presença de terpenos, com Rfs diferentes. A fração 66-104 (31 mg) foi submetida novamente a fracionamento em gel de sílica nos sistemas de solvente (hexano/acetato 8:2, 7:3, 6:4; 1:1 e Acetato) onde foram recolhidas 28 sub-frações com volume médio de 5 mL cada. Após análise comparativa através de CCD, em diferentes sistemas eluentes, e revelação com sulfato cérico, as sub-frações 5-12 (10 mg) e 14-19 (8 mg), foram agrupadas devido aos Rfs semelhantes, e apresentaram duas manchas de coloração rosa claro, o que sugere a presença de terpenos. Ambas as frações foram codificadas de **PgCA_r-1** e **PgCA_r-2** respectivamente. Estes materiais se encontram em fase de obtenção de dados espectrais.

4.5.1.4 Procedimento experimental efetuado com a fração em AcOEt oriunda da partição do caule

A fração em AcOEt (0,74 g), oriunda da partição de parte do extrato em EtOH do caule, foi dissolvida em MeOH e submetida a uma permeação em gel utilizando Sephadex LH-20 com MeOH, onde foram obtidas 83 frações. O material da sub-fração 22-26 (144 mg) foi submetida a fracionamento em gel de sílica com as misturas de solventes (hexano, hexano-acetato 9:1; 8:2; 7:3; 6:4; 1:1; AcOEt e MeOH) e forneceu 195 frações com volume médio de 5 mL cada. Após análise comparativa através de CCD, em diferentes sistemas eluentes, e revelação com luz UV e vapores de iodo, as sub-frações com Rfs semelhantes foram reunidas. Os materiais das sub-frações 17-24 (8 mg) e 25-41 (7,8 mg), apresentaram o aspecto de um sólido amarelo, com uma única mancha quando revelada com luz ultravioleta e vapores de iodo. Ambas as sub-frações foram codificadas de **PgCA-1** e **PgCA-2**, respectivamente. A sub-fração **PgCA-2** encontra-se no momento em fase de obtenção dos dados espectrais.

O material das frações reunidas 28-34 (0,264 g) foi refracionado em gel de sílica com misturas de solventes de diferentes polaridades (hexano, Hex-AcOEt 9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 1:1, AcOEt e MeOH). Os materiais das sub-frações 57-68 (8 mg) e 101-124 (14 mg), apresentaram o aspecto de um sólido amarelo, com uma única mancha quando revelada com luz ultravioleta e vapores de iodo. Ambas as sub-frações foram codificadas de **PgCA-3** e **PgCA-4**, respectivamente.

4.5.2 Isolamento de alguns constituintes químicos das folhas de *Pourouma guianensis*

4.5.2.1 Procedimento experimental efetuado com a fração em AcOEt das folhas de *Pourouma guianensis*

A fração em AcOEt (0,67 g), oriunda da partição do extrato em EtOH das folhas, foi dissolvida em MeOH e submetida a permeação em gel com Sephadex LH-20 e MeOH, onde foram obtidas 92 frações com volume médio de aproximadamente 10 mL cada. O material da subfração reunida 36-41 (0,114 g) foi refracionado em gel de sílica com misturas de solventes de diferentes polaridades (hexano, Hex-acetato 9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 1:1, AcOEt e MeOH). O material das subfrações reunidas 103-129 (15 mg), se mostrou como um sólido amorfo de aspecto amarelo, que após análise através de CCD e revelação com luz UV e vapores de iodo se apresentou como uma única mancha. Este material foi codificado de **PgFA-1**.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Resultados dos ensaios biológicos com extratos e frações

5.1.1 Avaliação da Atividade Larvicida

O uso repetido de inseticidas para controle do mosquito *A. aegypti* tem dificultado o controle biológico e isto tem levado a ressurgência de populações de mosquitos, além do desenvolvimento de resistência e efeitos indesejáveis sobre organismos não alvos, promovendo assim um problema de saúde ambiental e humana. Para aliviar estes problemas, grande ênfase tem sido dada a busca de produtos naturais como uma alternativa (BARRETO, 2005; BRAGA, 2007; GOKULAKRISHNAN et al, 2013). A literatura relata vários trabalhos envolvendo a atividade de extratos vegetais contra larvas do *A. aegypti*. No entanto, no que diz respeito ao gênero *Pourouma*, não foi encontrado qualquer relato sobre esta atividade em espécies deste gênero. Assim, na busca por um controle químico alternativo contra este vetor, avaliou-se a atividade larvicida dos extratos e frações do caule, folhas e cascas da espécie em estudo (*P. guianensis*).

A Tabela 2 (p. 78) mostra os resultados obtidos frente às larvas do 4º estágio, na concentração inicial de 250 ppm, durante o período de 48 horas. Conforme critérios previamente estabelecidos (parte experimental item 4.4.1.2, p. 67), dentre as amostras avaliadas, atividades moderadas (mortalidade > 50% e < 75%) foram obtidas com as frações em Hexano-CHCl₃ 1:1 (58,5%), proveniente da **partição do caule**, e em CHCl₃ (71,11%) e AcOEt (60,0 e 53,33%; ppt e ssb, respectivamente) oriundas da **filtração do caule**. Todas as amostras oriundas de **folhas** e **cascas** testadas foram inativas (mortalidade < 25%).

De acordo com Sukumar e cols. (1991), o grau da atividade larvicida depende da parte da planta estudada, do local da coleta e do método de avaliação utilizado. Conforme mostra a Tabela 2 (p. 78), essa atividade em *P. guianensis* variou em função da parte da planta, visto que os maiores percentuais de mortalidade ocorreram somente com extratos oriundos do caule, em geral com extratos obtidos com solventes de média polaridade, especialmente procedentes de filtração em vez de partição. Deste modo, os resultados obtidos no presente estudo, muito embora ainda de forma preliminar, sugerem que a espécie *P. guianensis* poderá ser considerada uma fonte de novos agentes larvicidas, visto que essa atividade em extratos de plantas está frequentemente associada a uma mistura complexa de componentes ativos. No entanto, estudos

complementares visando à obtenção da Concentração Letal que mata 50% das larvas (CL₅₀) ainda serão necessários.

Tabela 2 – Resultados dos ensaios larvicidas (250 ppm em 48 h) com extratos e frações.

Partes da planta	Extratos/Frações	Mortalidade em 48h (%)
<i>Caule</i>	Extrato bruto em EtOH	0,0
<i>Folhas</i>	Extratos em Acetona e EtOH	0,0
<i>Cascas</i>	Extratos em Acetona e EtOH	0,0
<i>Caule</i> (partição)	CHCl ₃ , AcOEt e MeOH-H ₂ O Hexano-CHCl₃ 1:1	0,0 - 2,22 58,5
<i>Caule</i> (filtração)	Hexano-CHCl ₃ 1:1, AcOEt- MeOH 1:1 e MeOH CHCl₃ CHCl₃-AcOEt 1:1 AcOEt AcOEt (ppt) AcOEt (ssb)	0,0 - 4,44 71,11 37,77 46,66 60,0 53,33
<i>Folhas</i> (Acetona, partição)	CHCl ₃ , AcOEt e MeOH-H ₂ O Hexano	0,0 - 6,66 24,44
<i>Cascas</i> (Acetona, filtração)	Hexano, CHCl ₃ , AcOEt e MeOH-H ₂ O	0,0 - 7,0
	Temefós DMSO a 0,33%	100 0

Fonte: Autor, 2012.

5.1.2 Avaliação da capacidade sequestradora de radicais livres

A avaliação da capacidade sequestradora de radicais livres através do radical DPPH é uma das técnicas mais utilizadas na avaliação da atividade antioxidante de extratos vegetais, suas frações e substâncias isoladas. É um método de fácil utilização e de rápida obtenção de resultados. Neste ensaio, os compostos que apresentam potencial para sequestrar radicais livres reduzem o DPPH através da doação de elétrons ou átomos de hidrogênio para o radical livre.

A Tabela 3 (p. 80) mostra os extratos e frações do *caule*, *cascas* e *folhas* que foram avaliados qualitativamente e que sugeriram uma possível atividade sequestradora de radicais livres (manchas amarelas sob um fundo roxo), quando comparados com o controle positivo

[(+)-catequina]. Em virtude desses resultados, essas amostras foram quantificadas e tiveram a concentração inibitória necessária para reduzir a concentração inicial do DPPH em 50% (CI_{50}) determinada. Vale ressaltar que nestes ensaios os valores da CI_{50} são inversamente relacionados à atividade e esta aumenta, portanto, com a diminuição do DPPH remanescente no meio reacional. Conforme pode ser observado na Tabela 3 (p. 80), quando comparadas com os padrões utilizados [ácido ascórbico (CI_{50} $37,37 \pm 3,18$ $\mu\text{g/mL}$), BHT (CI_{50} $82,75 \pm 5,82$ $\mu\text{g/mL}$) e ácido gálico (CI_{50} $15,29 \pm 4,38$)], as amostras avaliadas apresentaram uma variação de CI_{50} muito grande ($120,76 \pm 1,85$ a $5.958,80 \pm 3,55$ $\mu\text{g/mL}$) e dentre as quais, os melhores resultados foram obtidos com as frações em CHCl_3 ($312,01 \pm 1,55$ $\mu\text{g/mL}$) e em AcOEt (CI_{50} $120,76 \pm 1,85$ $\mu\text{g/mL}$) das *folhas* e em CHCl_3 ($372,47 \pm 4,28$ $\mu\text{g/mL}$) e AcOEt-MeOH 1:1 ($360,68 \pm 1,05$ $\mu\text{g/mL}$) do *caule*. As demais frações foram consideradas inativas ($CI_{50} > 400$ $\mu\text{g/mL}$). Da fração em AcOEt das folhas foi isolada a substância codificada de **PgFA-1**, um derivado fenólico ativo como antioxidante (SOARES, 2002).

Várias são as classes de compostos químicos presentes em plantas responsáveis pelo sequestro de radicais livres e ativos como antioxidantes. Os polifenóis, por exemplo, possuem muitos efeitos biológicos, os quais são atribuídos principalmente às suas atividades antioxidantes, eliminação de radicais livres, inibição da peroxidação e quelantes de metais de transição (TAIZ, 2004; NICKAVAR, 2007). De um modo geral, os compostos fenólicos são responsáveis pela prevenção de doenças degenerativas, neste sentido, as frutas, principalmente as que apresentam coloração vermelha, são as mais importantes fontes de compostos fenólicos em dietas alimentares. Especialmente os derivados do ácido hidroxibenzoico e do ácido hidroxicinâmico dentre estes se cita as antocianinas, os flavonóis, as catequinas e os taninos (hidrolisados ou condensados) nas quais estão frequentemente presentes. Muitos destes compostos apresentam uma grande gama de efeitos biológicos, incluindo ações antioxidantes, antimicrobiana, anti-inflamatória e vasodilatadora (MELO, 2002; RICE-EVANS, 2004; MANACH, 2004). A atividade antioxidante desses compostos deve-se principalmente às suas propriedades redutoras e estrutura química, características que desempenham um papel importante na neutralização ou sequestro de radicais livres, agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo (SOUSA et al., 2007).

Tabela 3 – Resultados da avaliação da capacidade sequestradora de radicais livres.

Partes da planta	Fração		CI ₅₀ ± DP (µg/mL)
<i>Caule</i>	Partição	CHCl ₃	372,47 ± 4,28
		AcOEt	1.420,35 ± 1,59
		MeOH-H ₂ O	2.283,65 ± 1,05
	Filtração	CHCl ₃	5.133,98 ± 0,85
		CHCl ₃ -AcOEt 1:1	5.958,80 ± 3,55
		AcOEt ppt	799,03 ± 0,85
AcOEt ssb		729,67 ± 1,02	
AcOEt-MeOH 1:1		360,68 ± 1,05	
	MeOH	2.010,51 ± 3,27	
<i>Cascas</i>	Filtração	CHCl ₃	1.723,31 ± 1,85
<i>Folhas</i>	Partição	CHCl ₃	312,01 ± 1,55
		AcOEt	120,76 ± 1,85
<i>Padrões usados</i>	Ácido ascórbico		37,37 ± 3,18
	BHT		82,75 ± 5,82
	Ácido gálico		15,29 ± 4,38

Fonte: Autor, 2012.

5.1.3 Avaliação da atividade antibacteriana

Na busca por drogas alternativas para o tratamento de infecções causadas por agentes bacterianos, extratos brutos e suas respectivas frações oriundas de filtração e/ou partição, provenientes de cascas, folhas e caule de *P. guianensis* foram avaliados, utilizando o método de microdiluição em caldo, contra cepas patogênicas de duas bactérias Gram-positivas (*S. aureus* e *E. faecalis*) e duas Gram-negativas (*P. aeruginosa* e *K. pneumoniae*). Nesses ensaios, o grau de atividade foi definido de acordo com o valor da CIM, segundo os critérios descritos por Ayres e cols. (2008) e HOLETZ e cols. (2002). Segundo estes autores, extratos e/ou frações com valor de CIM inferior a 100 µg/mL → serão considerados ativos; de 100 a 500 µg/mL → moderada atividade; de 500 a 1000 µg/mL → fraca atividade; e superior a 1000 µg/mL → inativo.

Conforme pode ser observado na (Tabela 4, p. 82), dentre as amostras avaliadas, os melhores resultados foram obtidos frente às bactérias *S. aureus* e *E. faecallis* com extratos provenientes de *folhas* [extrato em acetona (*S. aureus*: 250 µg/mL; *E. faecallis*: 500 µg/mL) e fração em CHCl₃ (*S. aureus*: 125 µg/mL)] e *caule* [Frs. em AcOEt (Filt.; *S. aureus*: 125 µg/mL; *E. faecallis*: 250 µg/mL); AcOEt (Filt. ppt; *S. aureus* *E. faecallis*: 125 µg/mL) e AcOEt (Filt.

ssb; *S. aureus* e *E. faecalis*: 250 µg/mL). Dentre as amostras oriundas de *cascas* avaliadas, somente o extrato bruto em acetona mostrou fraca atividade frente a *S. aureus*, *P. aeruginosa* e *E. faecalis* (CIM 1000 µg/mL) e a fração em AcOEt frente a *S. aureus* (CIM 1000 µg/mL).

Em relação às bactérias Gram-negativas utilizadas, todos os extratos testados foram inativos frente a *K. pneumoniae* e somente alguns extratos das *cascas* (ext. em acetona), *folhas* (ext. em acetona e frações em hexano e CHCl₃) e *caule* (fração em Hexano-CHCl₃) apresentaram fraca atividade frente a *P. aeruginosa* (CIM 1000 µg/mL).

É importante salientar que uma droga vegetal pode apresentar determinados efeitos devido às interações sinérgicas existentes entre os diversos princípios ativos com o mesmo efeito, o que ocasiona uma eficácia superior quando comparada com os compostos isolados. Bem como, o contrário também pode ocorrer, onde em uma mesma planta, podem ocorrer substâncias com propriedades antagônicas entre si, o que dificulta a interpretação dos resultados, pois mascaram o efeito (MÜLLER, 2006). Extratos brutos e frações são constituídos de uma mistura de diversas substâncias. Assim, os resultados obtidos podem ocorrer quer sejam por efeitos sinérgicos ou antagônicos, o que pode potencializar ou reduzir seu efeito frente a um micro-organismo.

A bactéria *K. pneumoniae* é restrita a ambiente hospitalar e tem a propriedade de inibir a ação dos antibióticos carbapenêmicos (imipenem, meropenem e ertapenem), dificultando ou reduzindo as opções terapêuticas disponíveis. Sua colonização em seres humanos ocorre provavelmente por contato com as diversas fontes ambientais; enquanto que em pessoas imunocomprometidas esta bactéria encontra um ambiente propício para seu crescimento, levando a quadros de infecção (DESIMONI et al., 2004; MARTINEZ et al., 2004). Por outro lado, *P. aeruginosa* é considerada uma bactéria oportunista visto que causa doenças em indivíduos imunocomprometidos. É um dos principais agentes causadores de infecções hospitalares, principalmente em Unidades de Terapia Intensiva e tem sido associada a uma ampla variedade de infecções. O tratamento de infecções causadas por esta bactéria é difícil devido à resistência a vários antibióticos, pela presença de uma membrana dupla envolvendo cada célula bacteriana, que impede a entrada dos antibióticos na célula (TRABULSI, 2004).

Tabela 4 – Resultados da avaliação antibacteriana de extratos e frações das cascas, folhas e caule de *P. guianensis*, através do método de microdiluição em caldo.

Parte da planta/Amostras Testadas	CIM ($\mu\text{g/mL}$)			
	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>E. faecalis</i>
Cascas				
Ext. EtOH e Frs. em Hexano, CHCl_3 e MeOH	-	-	-	-
Ext. Acetona	1000	1000	-	1000
Fr. AcOEt	1000	-	-	-
Folhas				
Ext. EtOH e Fr. MeOH- H_2O	-	-	-	-
Ext. Acetona	250	1000	-	500
Fr. Hexano	1000	1000	-	-
Fr. CHCl_3	125	1000	-	1000
Fr. AcOEt	1000	-	-	-
Caule				
Ext. EtOH, Frs. em AcOEt, MeOH- H_2O , Hex- CHCl_3 1:1, Hex- CHCl_3 1:1 (óleo), AcOEt-MeOH 1:1 e MeOH (Filt.)	-	-	-	-
Fr. Hex- CHCl_3 1:1	-	1000	-	1000
Frs. CHCl_3 e CHCl_3 (Filt.)	1000	-	-	-
Fr. CHCl_3 -AcOEt 1:1	1000	-	-	1000
Fr. AcOEt (Filt.)	125	-	-	250
Fr. AcOEt (Filt. ppt)	125	-	-	125
Fr. AcOEt (Filt. ssb)	250	-	-	250
Fr. Hex- CHCl_3 1:1 (ssb)	1000	-	-	-

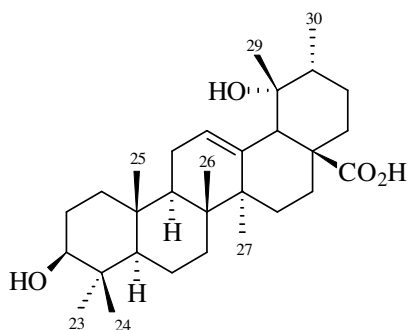
Fonte: Autor, 2013.

5.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO DO ESTUDO FITOQUÍMICO

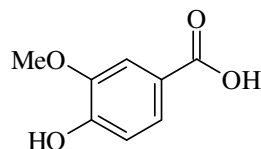
5.2.1 Identificação estrutural das substâncias isoladas

O estudo fitoquímico efetuado com a espécie *P. guianensis* resultou no isolamento de sete compostos. Destes, somente cinco tiveram suas estruturas identificadas como sendo dois triterpenos e de dois derivados fenólicos do ácido benzoico. Cada composto isolado foi codificado de acordo com o nome da planta (**Pg**), da parte da planta (**F** = folhas e **C** = caule) e do extrato ou fração de onde foram isoladas (**A** = AcOEt, **AA** = AcOEt (Acetona), **AE** = AcOEt (EtOH), **C** = Clorofórmio, **CA** = Clorofórmio-AcOEt e **H** = Hexano). Esses compostos tiveram suas estruturas identificadas com base na análise dos dados obtidos dos espectros de

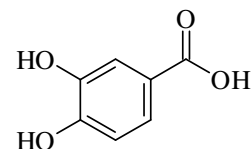
RMN ^1H e de ^{13}C , incluindo experimentos DEPT e APT, bem como comparação com dados de modelos e de compostos análogos descritos na literatura.



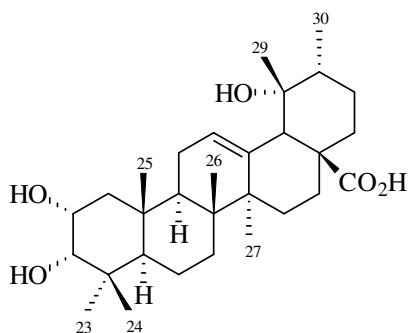
PgCCA-1 e PgCA-1



PgCA-3



PgFA-1



PgCA-4

5.2.1.1 Identificação estrutural das substâncias codificadas de PgCCA-1 e PgCA-4

As substâncias codificadas de **PgCCA-1** e **PgCA-4** foram identificadas como sendo triterpenos pentacíclicos da série ursano com base na análise dos dados obtidos dos respectivos espectros RMN, bem como pela comparação com dados de modelos descritos na literatura.

Os dados obtidos dos seus respectivos espectros de RMN ^1H (Figuras 15-19, p. 89-91) permitiram identificar sinais, cujos valores de deslocamentos químicos e multiplicidade estão condizentes com a presença de hidrogênios de ligação dupla trissubstituída [**PgCCA-1**: δ 5,28 (m, H-12); **PgCA-4**: δ 5,34 (m, H-12)], hidrogênios carbinólicos [**PgCCA-1**: δ 3,14 (m, H-3); **PgCA-4**: δ 3,92 (sl, H-3) e δ 3,65 (m, H-2)] e vários sinais atribuídos a hidrogênios de grupos metílicos (**PgCCA-1**: δ 0,70 a δ 1,20; **PgCA-4**: δ 0,75 a δ 1,34) (Tabela 5, p. 87). Essa feição espectral, associada à presença de simpleto um para hidrogênio metínico em δ 2,49 (**PgCCA-1**)

e em δ 2,54 (**PgCA-4**) atribuídos ao H-18, sugeriram para ambos esqueletos de triterpenos pentacíclico da série urs-12-eno.

A análise conjunta dos dados obtidos dos espectros de RMN¹³C (Figuras 20-25, p. 91-94) permitiu reconhecer para cada composto a natureza de sinais correspondentes a trinta átomos de carbonos (Tabela 6, p. 88). Dentre esses carbonos, foram observadas absorções referentes a carbonos sp² de ligação dupla [**PgCCA-1**: δ 128,96 (CH, C-12) e δ 138,01 (C, C-13); **PgCA-4**: δ 128,68 (CH, C-12) e δ 138,23 (C, C-13)], cujas natureza e os valores de deslocamentos químicos definem o tipo estrutural do esqueleto em triterpenos pentacíclicos (MAHATO, 1994). Adicionalmente, foram observados sinais para dois carbonos sp³oxigenados em **PgCCA-1** [δ 78,79 (CH, C-3) e δ 72,98 (C, C-19)] e três em **PgCA-4** [δ 78,74 (CH, C-3), δ 66,16 (CH, C-2) e δ 72,96 (C, C-19)], além de um grupo carboxílico em ambos [**PgCCA-1**: δ 180,72 (C-28); **PgCA-4**: [δ 180,86 (C-28)].

O número total de átomos de carbonos, a multiplicidade do sinal atribuído a H-18 (**PgCCA-1**: δ 2,49 s e **PgCA-4**: δ 2,54 s), bem como a desproteção observada para o C-12 (**PgCCA-1**: δ 128,96; **PgCA-4**: δ 128,68) e a proteção para o C-13 (**PgCCA-1**: δ 138,01; **PgCA-4**: δ 138,23), em comparação com os correspondentes em triterpenos pentacíclicos da série olean-12-eno (~ 122 e 145 ppm) (MAHATO, 1994) confirmam para ambos compostos um esqueleto de um triterpeno pentacíclico da série urs-12-eno.

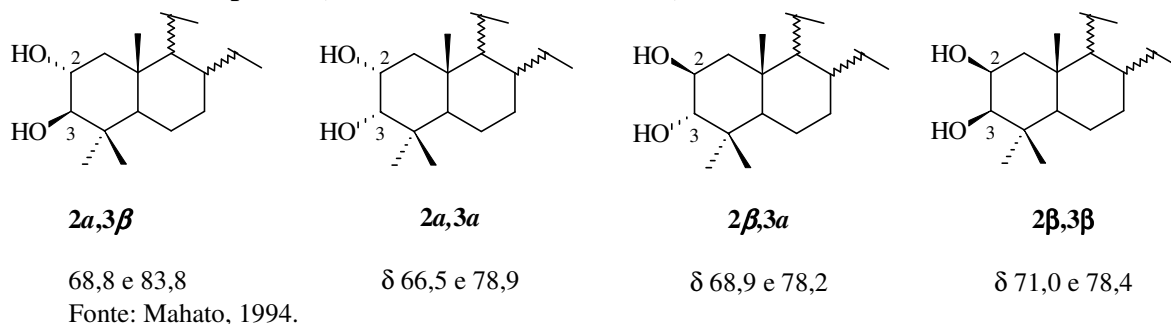
A presença dos sinais em δ 72,96 (**PgCCA-1**) e δ 72,96 (**PgCA-4**) referentes a carbonos carbinólicos terciários e as diferenças de deslocamentos químicos observados para C-12, C-13, C-19, C-20, C-21, C-29 e C-30, quando comparados com os correspondentes do *Ácido ursólico* (Tabela 6, p. 88), além da presença dos simpletos atribuídos ao H-18 nos espectros de RMN ¹H de cada composto, possibilitaram inferir um grupo hidroxila em C-19 de ambos.

A localização das hidroxilas em C-2 e/ou C-3 e suas respectivas configurações relativas em ambos compostos foram definidas principalmente por comparação com os dados de RMN ¹³C de triterpenos contendo os mesmos esqueletos. De acordo com Mahato (1994), a introdução de um grupo hidroxila em esqueletos de triterpenos resulta em desproteção dos carbonos *alfa* (34-50 ppm) e *beta* (2-10 ppm) e proteção do carbono *gamma* (0-9 ppm). Assim, a comparação dos dados de RMN ¹³C de **PgCCA-1** e **PgCA-4** e de compostos modelos (Tabela 6, p. 88), os valores em δ 78,79 e δ 78,74 foram atribuídos, respectivamente, ao C-3 de ambos.

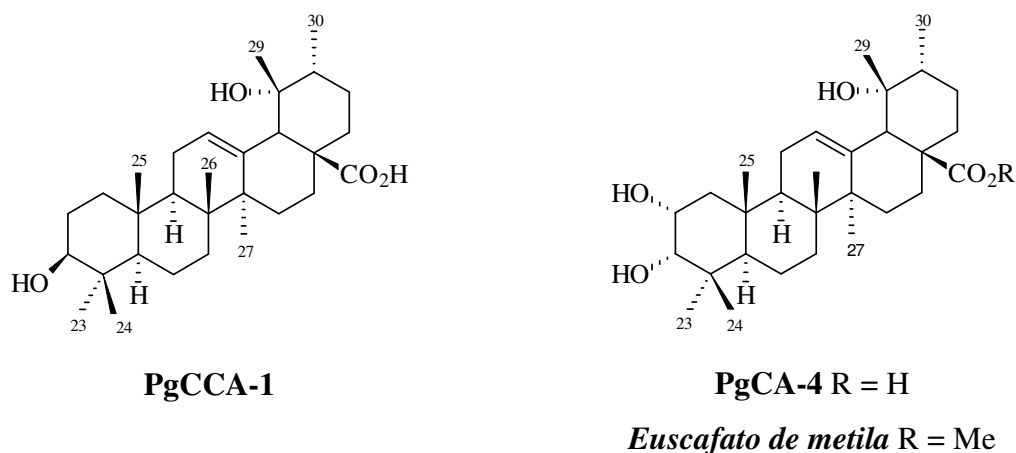
A multiplicidade do sinal atribuída ao H-3 (simpleto largo) indica que seria um duplete com valor pequeno de constante de acoplamento, sugerindo, portanto, uma relação de acoplamento *axial-equatorial* ou *equatorial-axial* entre este hidrogênio e H-2, definindo, assim,

configurações relativas para os grupos hidroxilas em C-2 e C-3 de 2α -equatorial, 3α -axial ou 2β -axial, 3β -equatorial, respectivamente (LEMES, 2011). Entretanto, a introdução de um grupo hidroxila adicional em C-2, além de alterar os valores de deslocamentos químicos do C-3 em virtude dos efeitos eletrônicos mútuos, possibilita que o composto assumira quatro diferentes configurações relativas, $2\alpha,3\beta$ -, $2\alpha,3\alpha$ -, $2\beta,3\alpha$ - e $2\beta,3\beta$ - (Figura 14, p. 85). No espectro de RMN ^{13}C , **PgCA-4** apresenta um carbono carbinólico adicional em δ 66,16 em relação a **PgCCA-1**, compatível com um grupo hidroxila em C-2, com uma configuração relativa de $2\alpha,3\alpha$ - (Figura 14, p. 85). Associado a estes dados, observa-se um efeito γ -gauche de proteção sobre o C-5 de **PgCA-4** (δ 47,65) em relação ao mesmo carbono de **PgCCA-1** (δ 55,08) e do **ácido pomólico** (δ 55,80) (Tabela 6, p. 88).

Figura 14 – Possíveis configurações relativas e valores de deslocamentos químicos para triterpenos 2,3-diidroxilados (MAHATO, 1994).



A análise conjunta dos dados de RMN obtidos e comparação com os dos **Ácidos Ursólico** (FALCÃO et al., 2003), **Pomólico** (MAHATO, 1994) e **Euscáfico** (LEMES, 2011) (Tabela 6, p. 88) permitiram identificar **PgCCA-1** com a estrutura do **Ácido 3 β ,19 α -dihidroxiurs-12-en-28-oico**, conhecido como **Ácido Pomólico** e de **PgCA-4** com o **Ácido 2 α ,3 α ,19 α -trihidroxiurs-12-en-28-oico**, conhecido como **Ácido Euscáfico**.



O **Ácido pomólico (PgCCA-1)** foi isolado da fração em CHCl_3 -AcOEt (1:1) filtração do caule, com fraca atividade frente a *S. aureus* e *E. faecalis* (CIM 1000 $\mu\text{g/mL}$). Este composto está sendo relatado pela primeira vez no gênero *Pourouma* e também apresentou moderada atividade frente a ambas as bactérias (CIM 125 e 250 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente). Também foi isolado da fração Acetato partição do caule, sendo codificada como **PgCA-1**. A literatura relata para este composto atividade citotóxica frente à célula tumoral humana A549 (IC_{50} 5,63 μM) (LEI et al., 2014), efeito hepatoprotetor *in vivo* (MOYAKAWA et al., 2014), inibição da proteína tirosina fosfatase 1B (LI et al., 2014), inibidor da enzima acetilcolinesterase (BAE et al., 2013), indutor de apoptose em células de adenocarcinoma ovariano de humanos (YOO et al., 2013), inibição da ADP- e epinefrina induzindo agregação plaquetária, podendo ser um potente antagonista competitivo do receptor P2Y_{12} (ALVARADO-CASTILLO, 2013) e, entre outras, anticancerígena (YOUN et al., 2012).

Tabela 5 – Dados de RMN ¹H (CDCl₃/CD₃OD, δ, Hz) das substâncias PgCCA-1 (200 MHz) e PgCA-4 (400 MHz) e comparação com dados relatados para aglicona do *Ácido Pomólico* (300 MHz, CD₃OD; SANTOS et al., 2005) e o *Euscafato de metila* (300 MHz, CDCl₃; LONTSI et al., 1992).

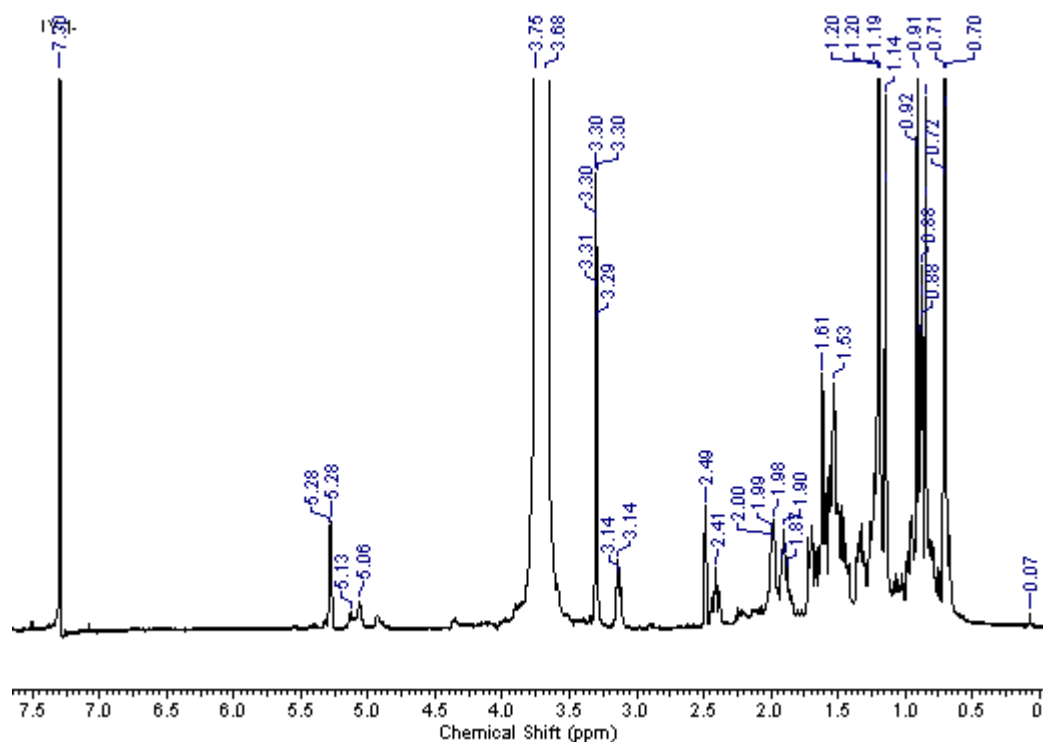
Hidrogênios	PgCCA-1	<i>Ácido Pomólico</i>	PgCA-4	<i>Euscafato de metila</i>
H-2	-	-	3,65 m	3,97 (ddd, 11,8; 4,4 e 2,8)
H-3	3,14 m	3,18 (dd, 12,3 e 4,3)	3,92 sl	3,40 (d, 2,8)
H-12	5,28 sl	5,28 <i>t</i>	5,34 (<i>t</i> , 3,2)	5,33 (dd, 3,6 e 3,5)
H-18	2,49 s	2,52 sl	2,54 sl	2,57 s
Me-23	1,14 s	1,06 s	0,95 s	0,99 s
Me-24	0,82 s	0,86 s	0,85 s	0,84 s
Me-25	0,95 s	0,95 s	0,88 s	0,93 s
Me-26	0,71 s	0,79 s	0,75 s	0,64 s
Me-27	1,20 s	1,33 s	1,34 s	1,23 s
Me-29	1,19 s	1,19 s	1,23 s	1,18 s
Me-30	0,90 (<i>d</i> , 6,3)	0,93 (<i>d</i> , 6,8)	0,99 (<i>d</i> , 6,4)	0,92 (<i>d</i> , 6,6)

Fonte: Autor, 2014.

Tabela 6 – Dados de RMN ^{13}C ($\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$, δ) das substâncias PgCCA-1 (50 MHz) e PgCA-4 (100 MHz) e comparação com dados dos *Ácidos Ursólico* (CDCl_3 ; FALCÃO et al., 2003), *Pomólico* (MAHATO, 1994) e *Euscáfico* (50 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{DMSO-d}_6$; LEMES, 2011).

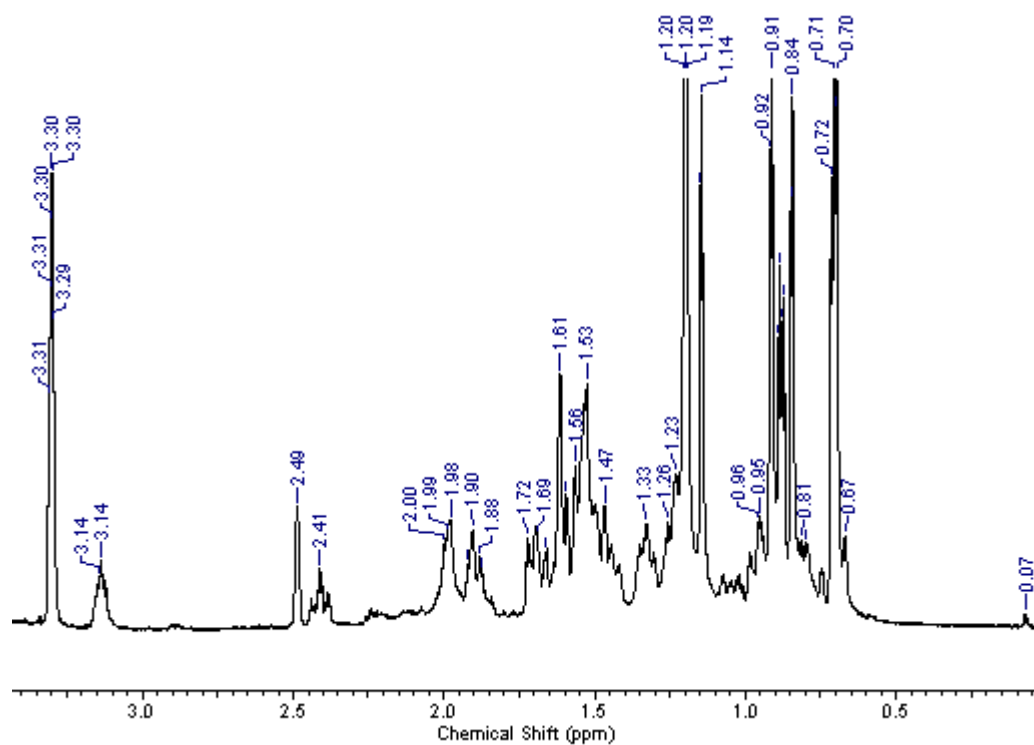
Carbonos	PgCCA-1	<i>Ácido Ursólico</i>	<i>Ácido Pomólico</i>	PgCA-4	<i>Ácido Euscáfico</i>	
C	4	38,58	38,8	39,3	38,13	38,9
	8	39,78	39,6	40,3	40,01	40,8
	10	37,46	37,0	37,3	38,13	37,9
	13	138,01	138,0	139,9	138,23	138,2
	14	42,10	42,0	42,1	41,18	41,0
	17	47,49	48,1	48,2	47,93	47,1
	19	72,98	-	72,7	72,96	72,7
	28	180,72	180,0	180,6	180,86	180,2
CH	3	78,79	78,8	78,2	78,74	78,4
	5	55,08	55,4	55,8	47,65	45,5
	9	47,09	47,5	47,7	46,71	47,5
	12	128,96	125,5	128,1	128,68	128,3
	18	53,14	52,8	54,5	53,24	52,7
	19	-	39,1	-	-	-
20	41,07	38,8	42,3	41,20	40,8	
CH₂	1	38,39	38,8	38,7	41,28	41,3
	2	28,10	27,3	28,0	66,16	65,8
	6	18,32	18,4	18,9	18,06	17,7
	7	32,72	33,0	33,6	33,61	32,2
	11	23,54	23,3	24,0	24,92	23,2
	15	29,53	28,2	29,2	29,26	29,2
	16	25,90	24,3	26,6	25,97	25,7
	21	26,67	30,7	27,0	26,49	25,1
	22	36,86	36,7	37,4	37,56	37,2
	CH₃	23	27,86	28,2	28,7	29,69
24		15,90	15,5	16,7	21,72	21,5
25		15,03	15,7	15,5	15,91	15,9
26		16,39	16,9	17,1	16,47	16,5
27		24,23	23,6	24,6	24,21	24,3
29		26,98	16,9	26,8	26,85	26,9
30		15,38	21,2	16,4	16,06	15,9

Fonte: Autor, 2014.



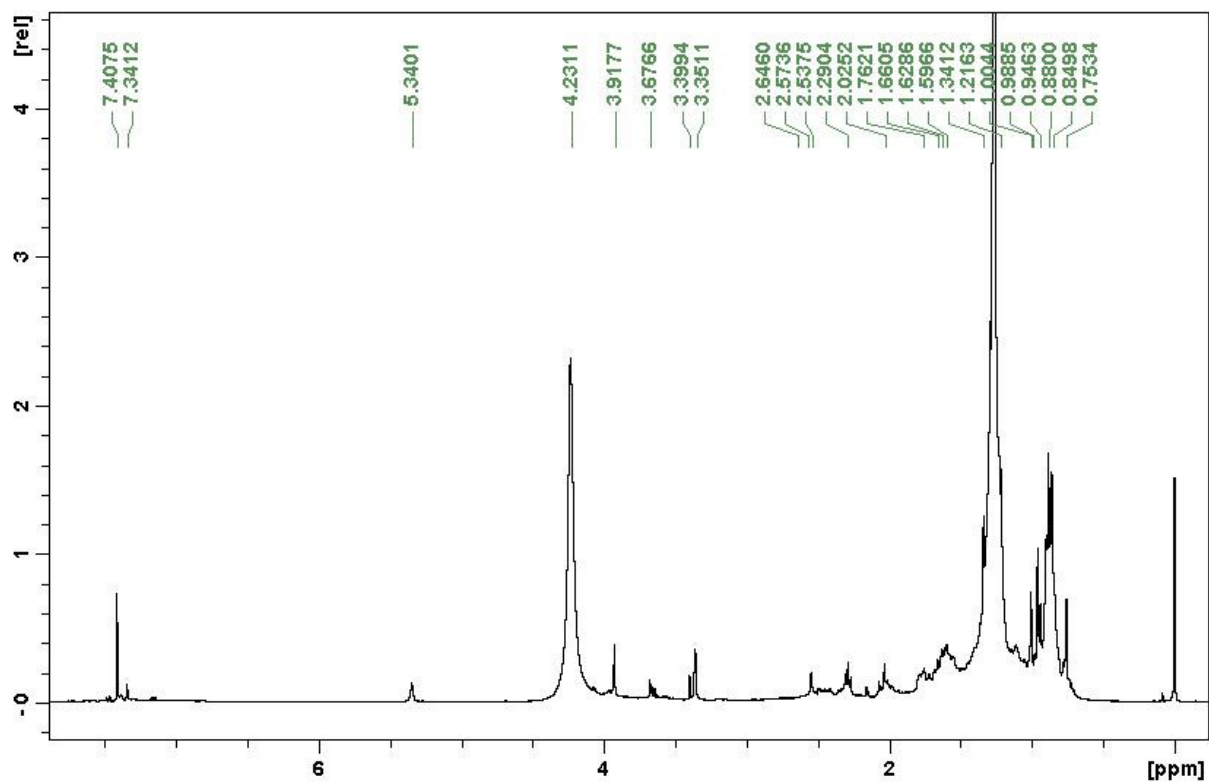
Fonte: Laboratório de Tecnologia Farmacêutica da Universidade Federal da Paraíba, 2014.

Figura 15 – Espectro de RMN ^1H (200 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) da substância PgCCA-1.



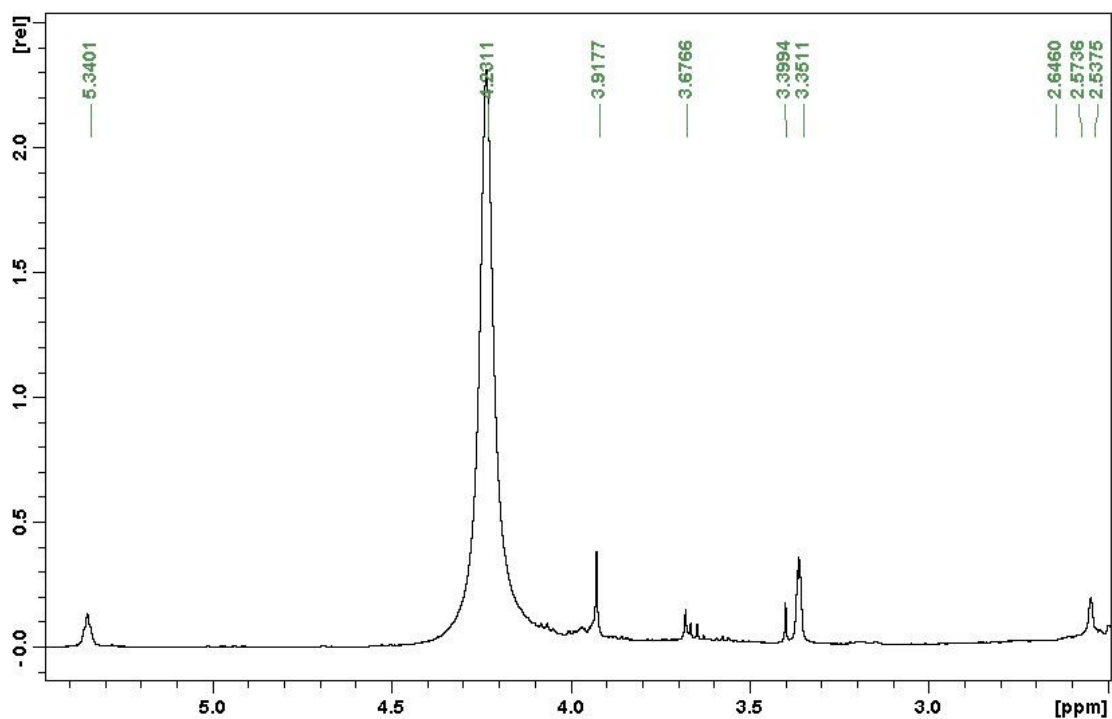
Fonte: Laboratório de Tecnologia Farmacêutica da Universidade Federal da Paraíba, 2014.

Figura 16. Expansão do Espectro de RMN ^1H (200 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) da substância PgCCA-1.



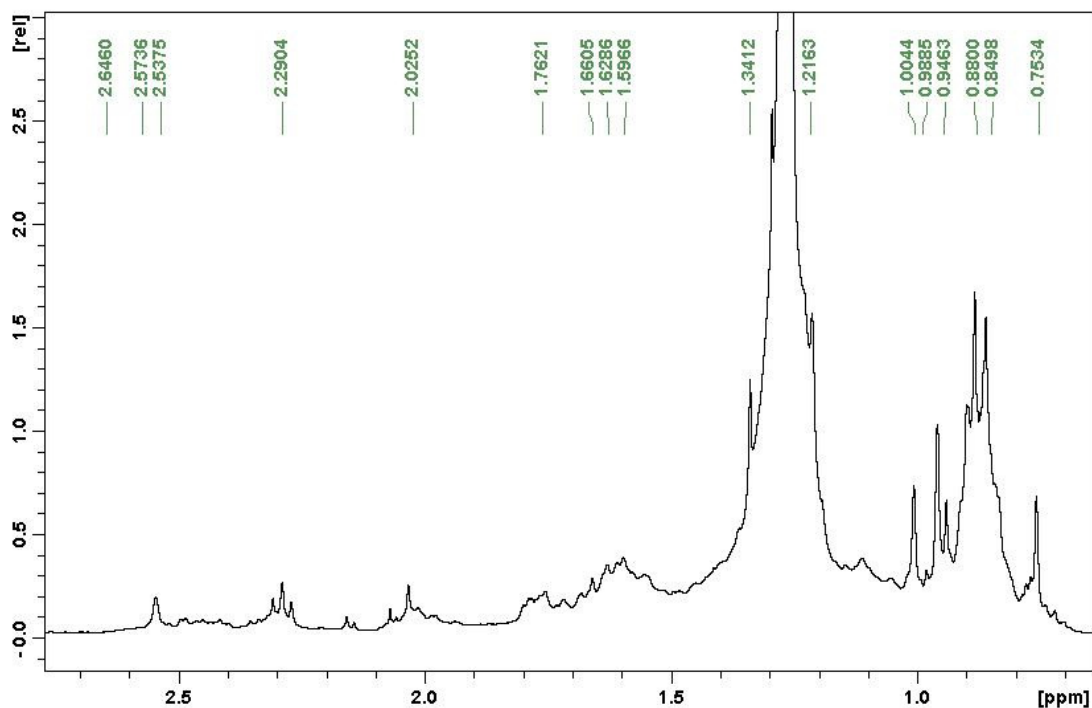
Fonte: Autor, 2014.

Figura 17 – Espectro de RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃/CD₃OD) da substância PgCA-4.



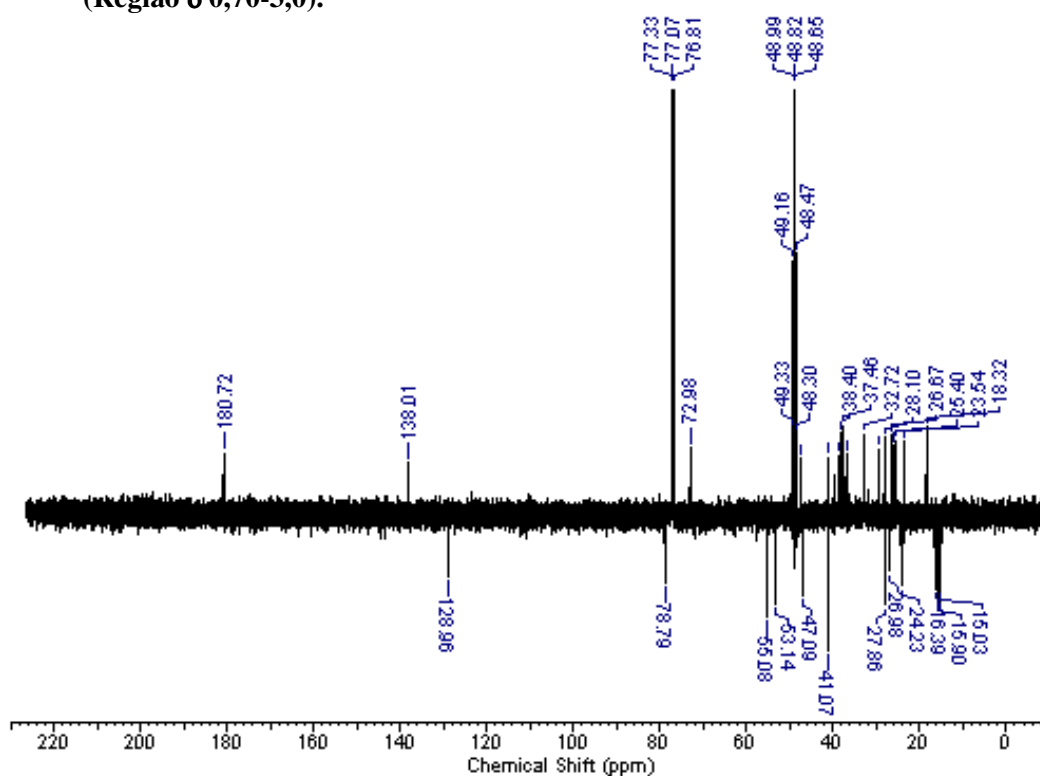
Fonte: Autor, 2014.

Figura 18 – Expansão do espectro de RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃/CD₃OD) da substância PgCA-4 (Região δ 3,0-6,0).



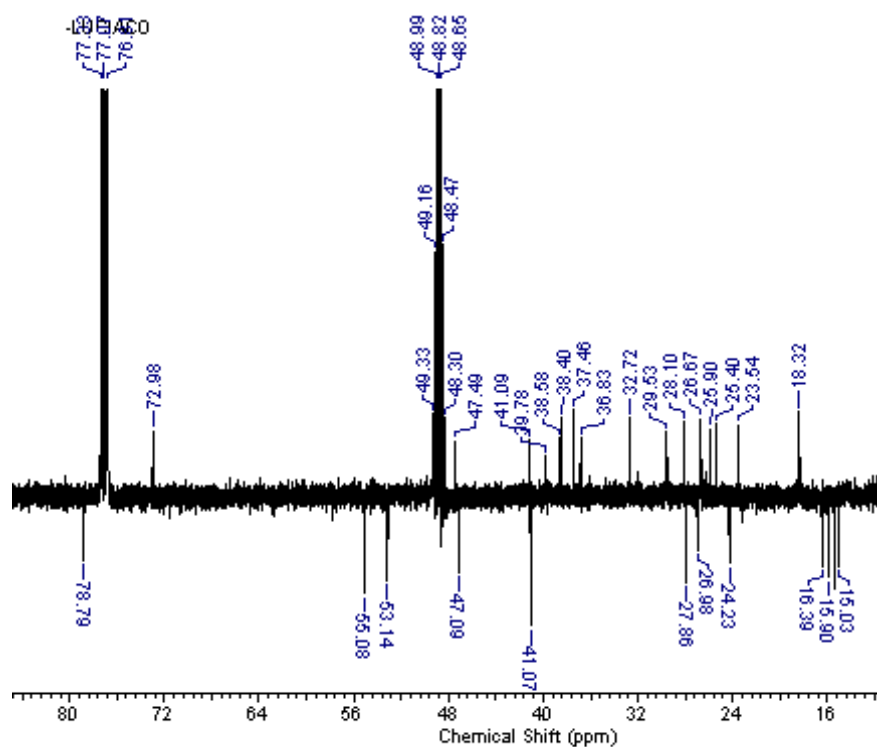
Fonte: Autor, 2014.

Figura 19 – Expansão do espectro de RMN ^1H (400 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) da substância PgCA-4 (Região δ 0,70-3,0).



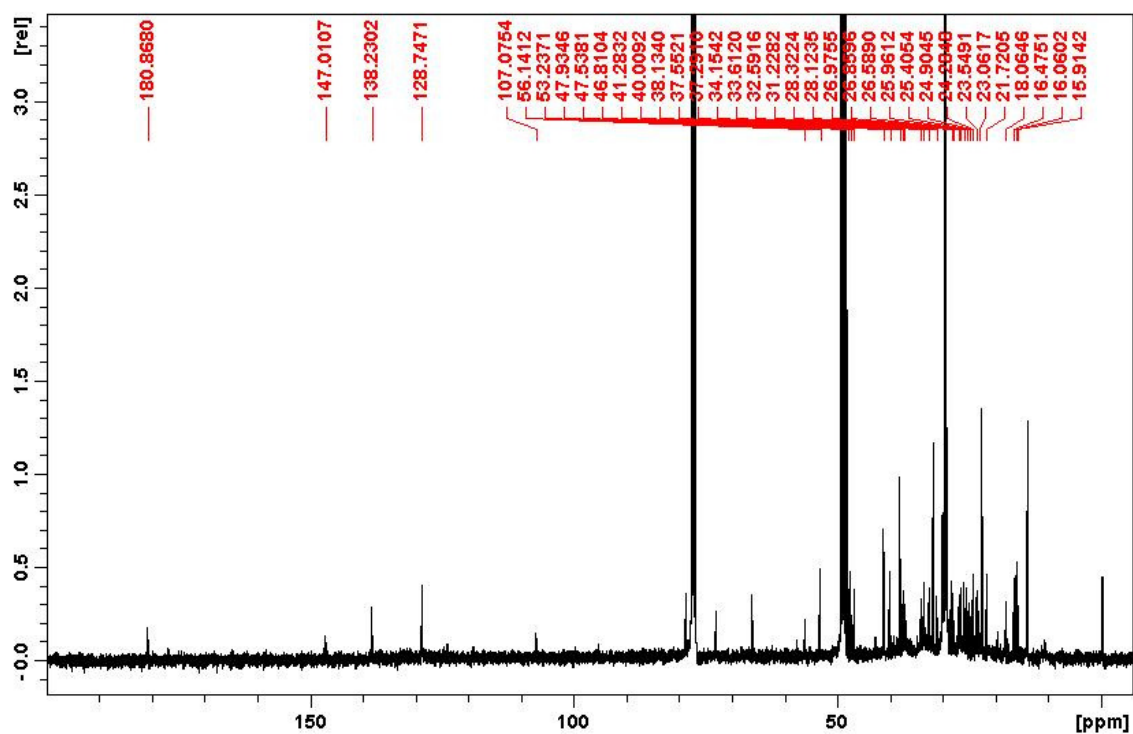
Fonte: Laboratório de Tecnologia Farmacêutica da Universidade Federal da Paraíba, 2014.

Figura 20 – Espectro de RMN ^{13}C -APT (50 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) da substância PgCA-4.



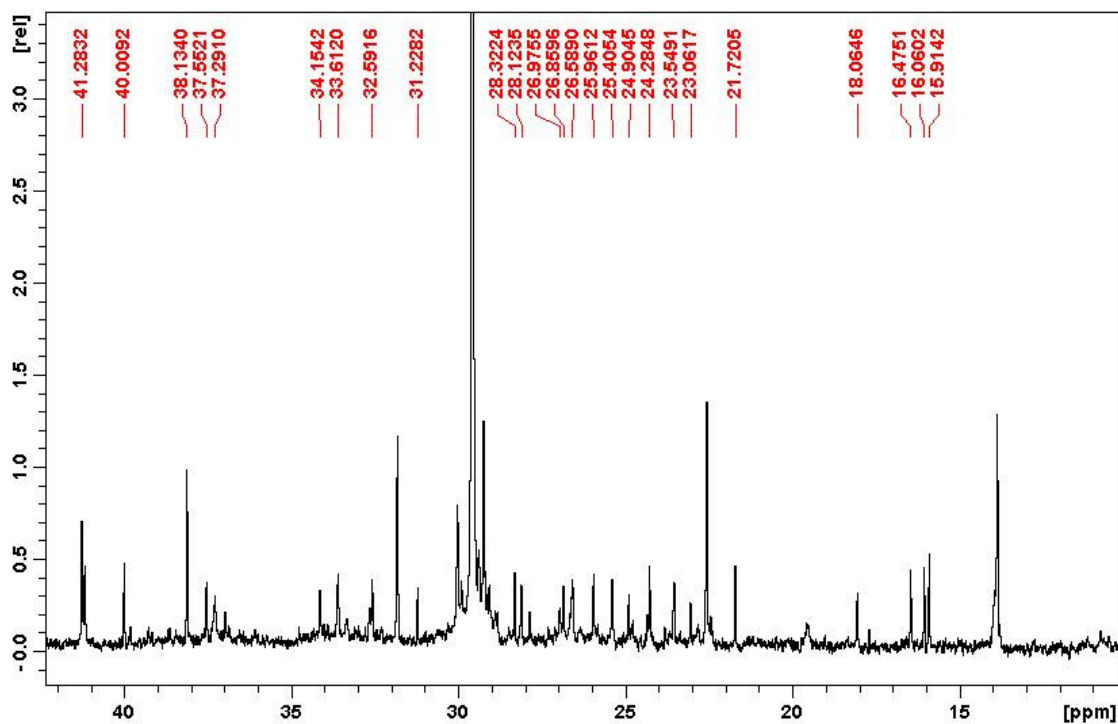
Fonte: Laboratório de Tecnologia Farmacêutica da Universidade Federal da Paraíba, 2014.

Figura 21 – Expansão do Espectro ^{13}C -APT (50 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) da substância PgCCA-1 (Região δ 15,0-80,0).



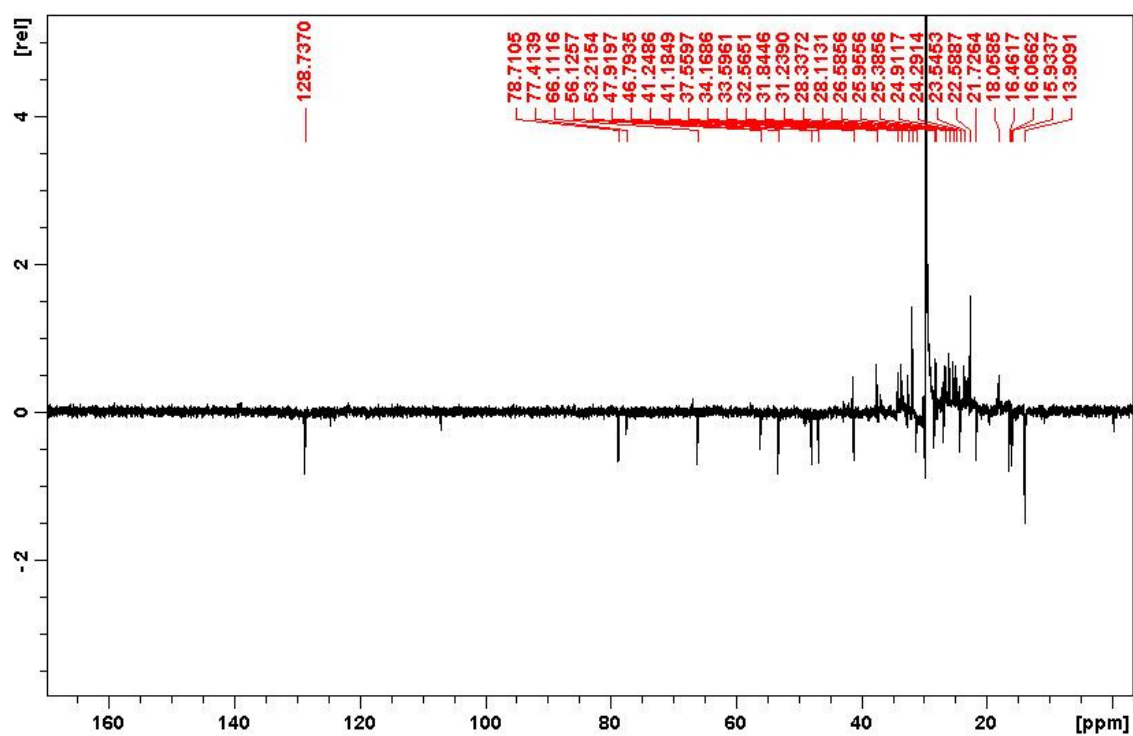
Fonte: Autor, 2014.

Figura 22 – Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) da substância PgCA-4.



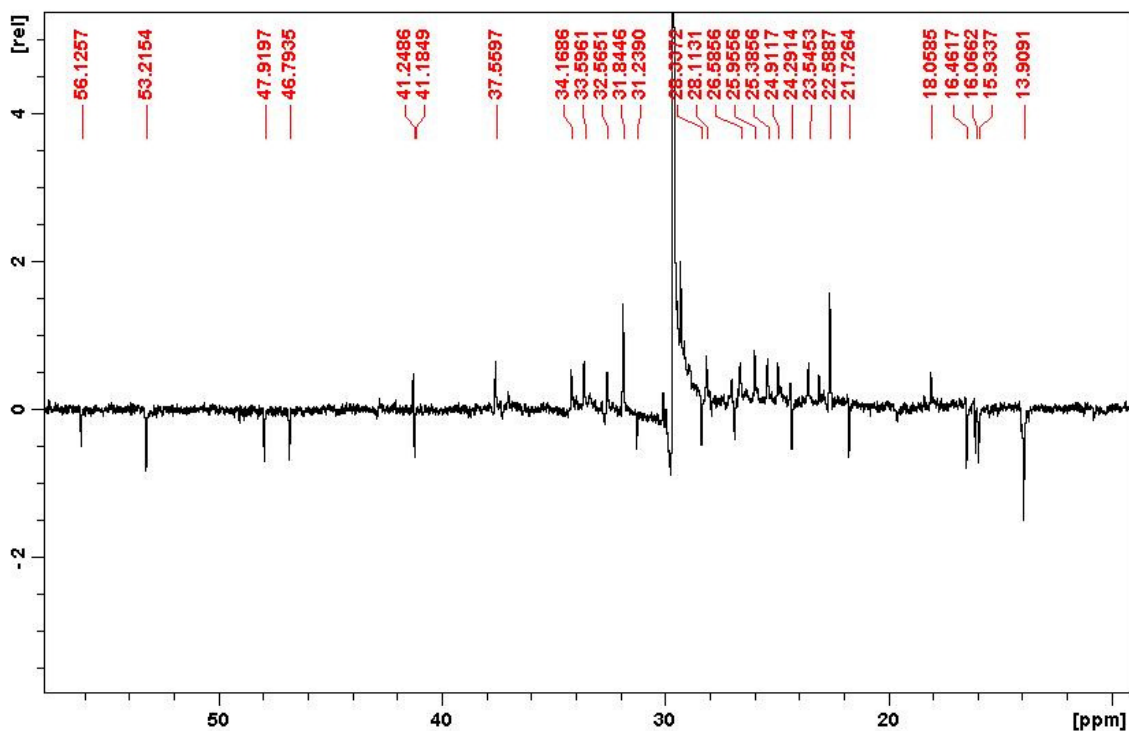
Fonte: Autor, 2014.

Figura 23 – Expansão do espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) da substância PgCA-4 (δ 15 a 42).



Fonte: Autor, 2014.

Figura 24 – Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135 (100 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) da substância PgCA-4.



Fonte: Autor, 2014.

Figura 25 – Expansão do espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135 (100 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) da substância PgCA-4 (Região δ 10,0 a 56,0).

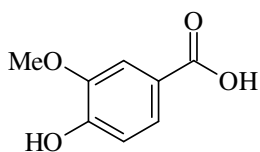
5.2.1.2 Identificação estrutural das substâncias codificadas de PgCA-3 e PgFA-1

As substâncias codificadas de **PgCA-3** e **PgFA-1** foram identificadas como sendo dois derivados fenólicos do ácido benzoico com base na análise dos dados obtidos de RMN.

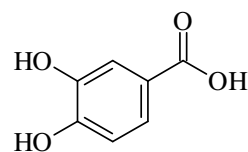
Os respectivos espectros de RMN ^1H [Figuras 26 (p. 97) e 27 (p. 98)] evidenciaram sinais cujos valores de deslocamentos químicos e multiplicidade estão compatíveis com a presença de anéis aromáticos 1,3,4-trissubstituídos [**PgCA-3**: δ 6,98 (*d*, $J = 8,0$ Hz), δ 7,60 (*sl*) e (7,72 *d*); **PgFA-1**: δ 6,84 (*d*, $J = 8,0$ Hz), δ 7,47 (*sl*) e δ 7,49 (*m*)], além de um sinal para um grupo metoxila [**PgCA-3**: δ 3,97 (*s*)] (Tabela 7, p. 96).

Os respectivos espectros de RMN ^{13}C [Figuras 28 (p. 99) e 30 (p. 100) e DEPT (Figuras 29 (p. 99) e 31 (p. 100)] permitiram o reconhecimento de oito átomos de carbono em **PgCA-3** (quatro não hidrogenados, três mono-hidrogenados, um tri-hidrogenado) e sete em **PgFA-1** (quatro não hidrogenados e três mono-hidrogenados) sinais de átomos de carbono. Dentre os quais, foram identificadas absorções para anéis aromáticos 1,3,4-trissubstituídos [**PgCA-3**: δ 112,12 (CH, C-2), 114,21 (CH, C-5) e δ 125,15 (CH, C-6); **PgFA-1**: δ 116,61 (CH, C-2), 114,64 (CH, C-5) e 123,07 (CH, C-6)], para um grupo carboxila [**PgCA-3**: δ 170,79; **PgFA-1**:

δ 169,45)] e para um grupo metoxila (**PgCA-3**: δ 55,13). Estes dados, associados à comparação com dados dos compostos correspondentes descritos na literatura, sugeriram para **PgCA-3** e para **PgFA-1** estruturas dos *Ácidos 3-Metoxi-4-hidroxibenzoico* (ácido vanílico) e *3,4-Dihidroxibenzoico* (ácido protocatecuico), respectivamente.



PgCA-3

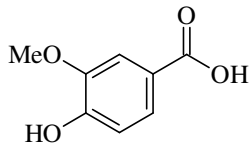
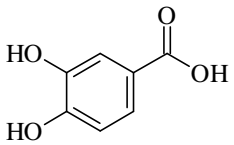


PgFA-1

O composto codificado de **PgFA-1** foi isolado da fração em AcOEt das folhas, promissora nos ensaios frente ao DPPH. A literatura relata atividade antioxidante para este composto (SOARES, 2002).

A presença de compostos fenólicos em plantas tem sido muito estudada pelo fato de apresentarem atividades farmacológicas e antinutricional e também por inibirem a oxidação lipídica e a proliferação de fungos. De um modo geral, os ácidos fenólicos caracterizam-se por terem um anel benzênico, um grupamento carboxílico e um ou mais grupamentos de hidroxila e/ou metoxila na molécula, conferindo propriedades antioxidantes tanto para os alimentos como para o organismo, sendo, por isso, indicados para o tratamento e prevenção do câncer, doenças cardiovasculares e outras doenças (SOARES, 2002).

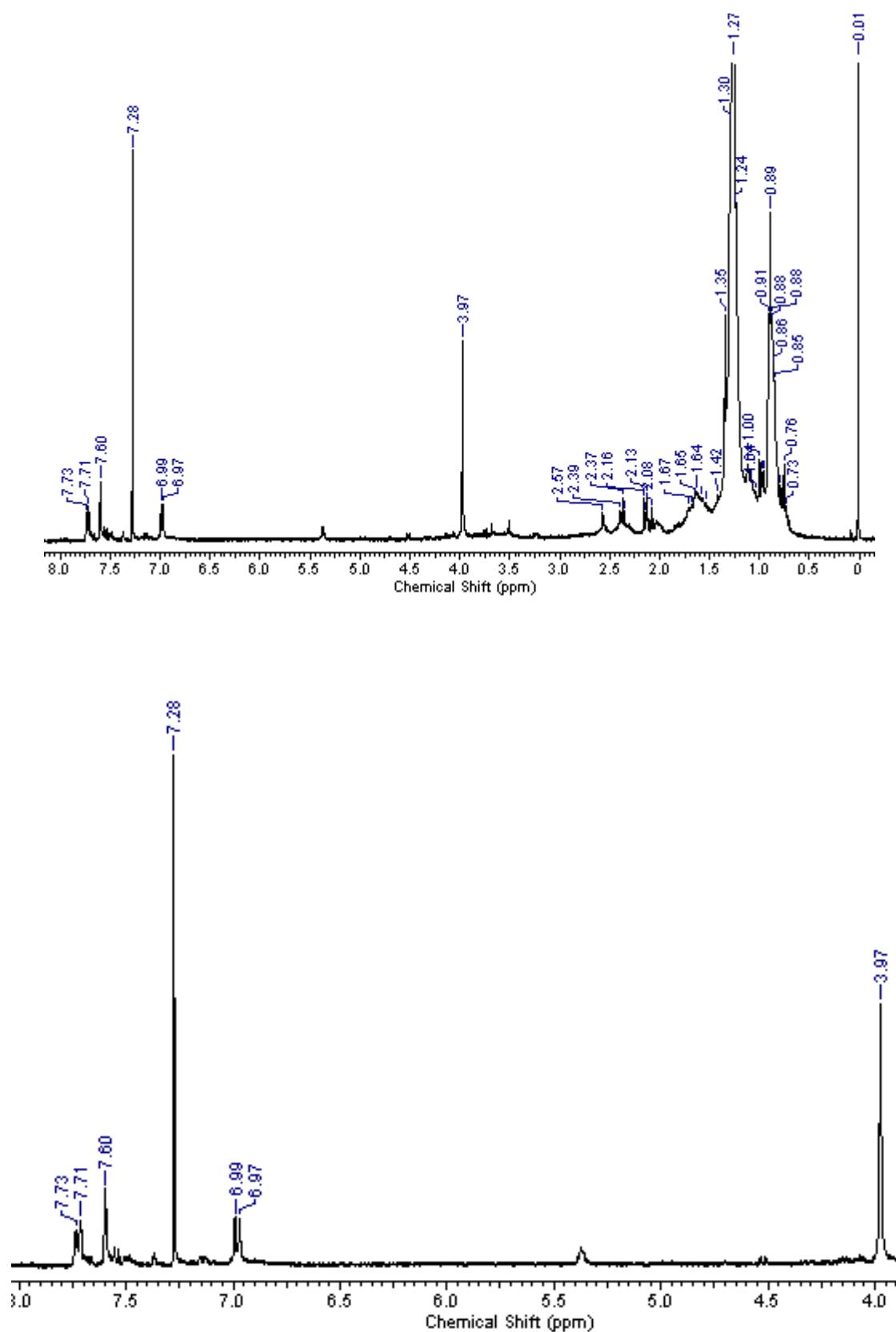
Tabela 7 – Dados de RMN (^1H : 400 MHz e ^{13}C : 100 MHz, δ , Hz) das substâncias codificadas de PgCA-3 (CDCl_3) e PgFA-1 ($\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) e comparação com dados dos Ácidos 3-Metoxi-4-hidroxibenzoico (CD_3OD)* e 3,4-Dihidroxibenzoico ($\text{DMSO}-d_6$; COLOMBO et al., 2010).**

Posição	 PgCA-3		Ácido 3-Metoxi-4-hidroxi-benzoico	 PgFA-1		Ácido 3,4-Dihidroxi-benzoico
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{C}
1		121,26	124,9		121,99	121,8
2	7,60 <i>sl</i>	112,12	114,0	7,47 m	116,61	116,5
3		148,21	148,5		144,32	144,8
4		150,78	152,6		149,81	150,0
5	6,98 (<i>d</i> , $J = 8,0$)	114,21	115,7	6,84 (<i>d</i> , $J = 8,0$)	114,64	115,0
6	7,72 m	125,15	-	7,49 m	123,07	121,8
7		170,79	172,1		169,45	167,5
OMe	3,97 s	55,13	56,4	-	-	-

Fonte: Autor, 2014.

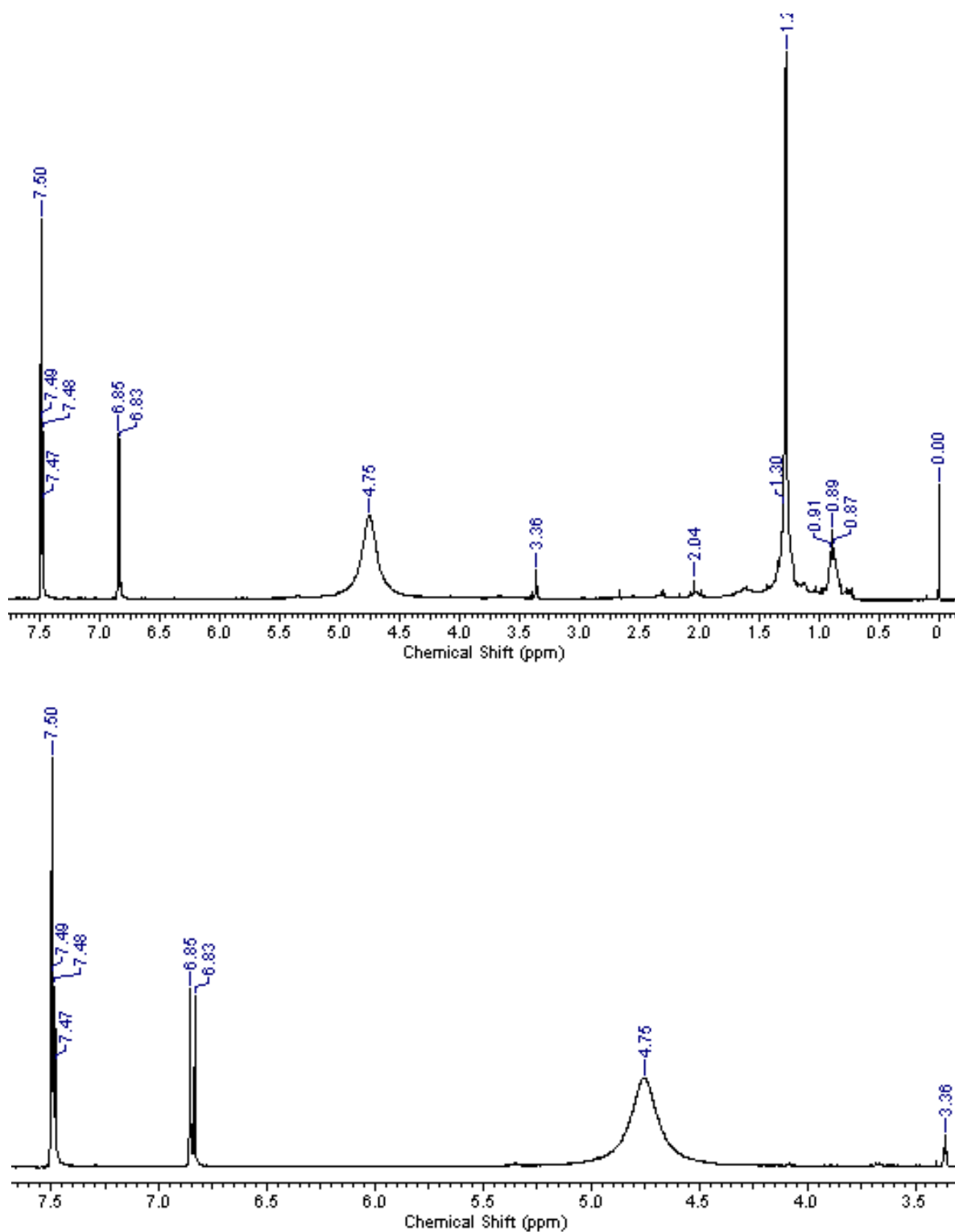
* **Ácido 3-Metoxi-4-hidroxibenzoico:** RMN ^1H (500 MHz, CD_3OD , δ) 7,57 (1H, *d*, $J = 2,0$ Hz, H-2), 7,54 (1H, *dd*, $J = 8,0$ e 2,0 Hz, H-6), 6,82 (1H, *d*, $J = 8,0$ Hz, H-5), 3,89 (3H, *s*, MeO-3) (COLOMBO et al., 2010).

** **Ácido 3,4-Dihidroxibenzoico:** RMN ^1H (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$, δ) 7,34 (1H, *d*, $J = 2,0$ Hz, H-2), 7,29 (1H, *dd*, $J = 8,0$ e 2,0 Hz, H-6), 6,78 (1H, *d*, $J = 8,0$ Hz, H-5) (COLOMBO et al., 2010).



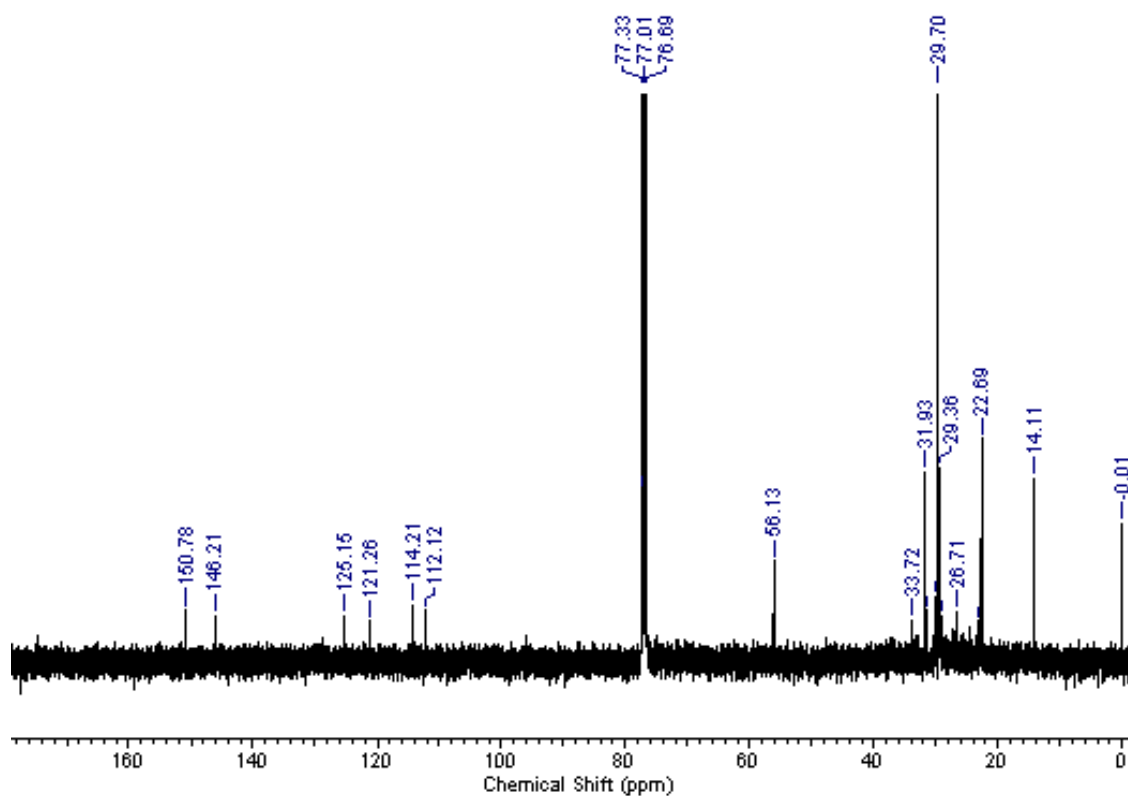
Fonte: Autor, 2014.

Figura 26 – Espectro de RMN ^1H (400 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) da substância PgCA-3.



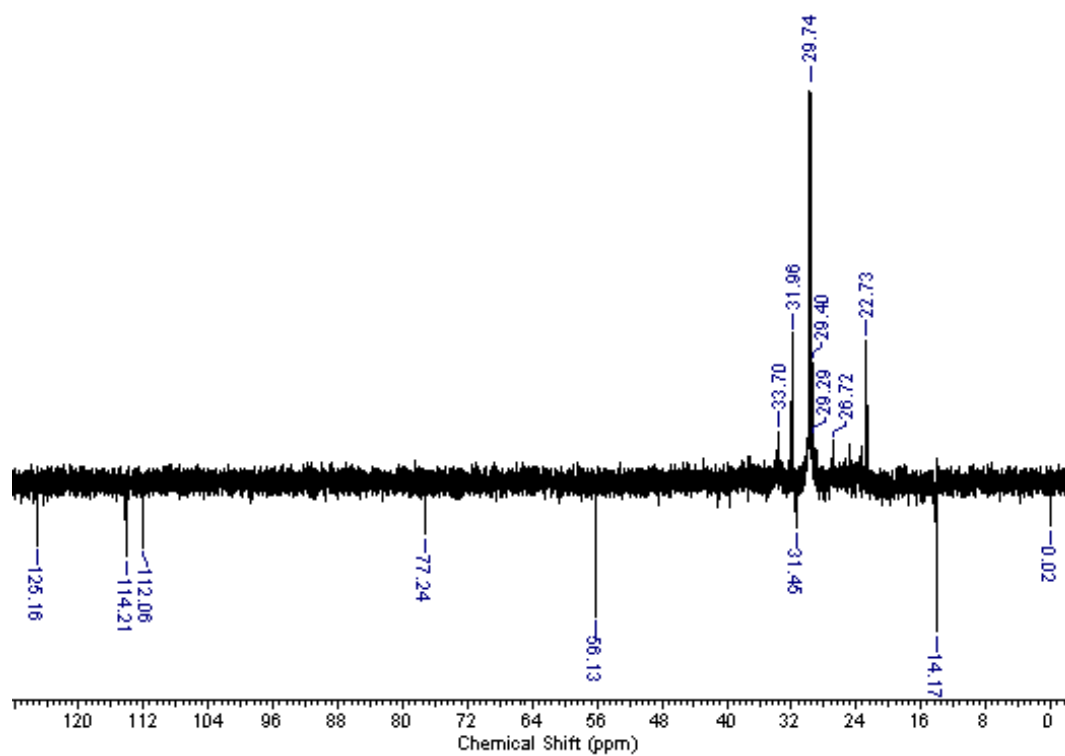
Fonte: Autor, 2014.

Figura 27 – Espectro de RMN ^1H (400 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) da substância PgFA-1.



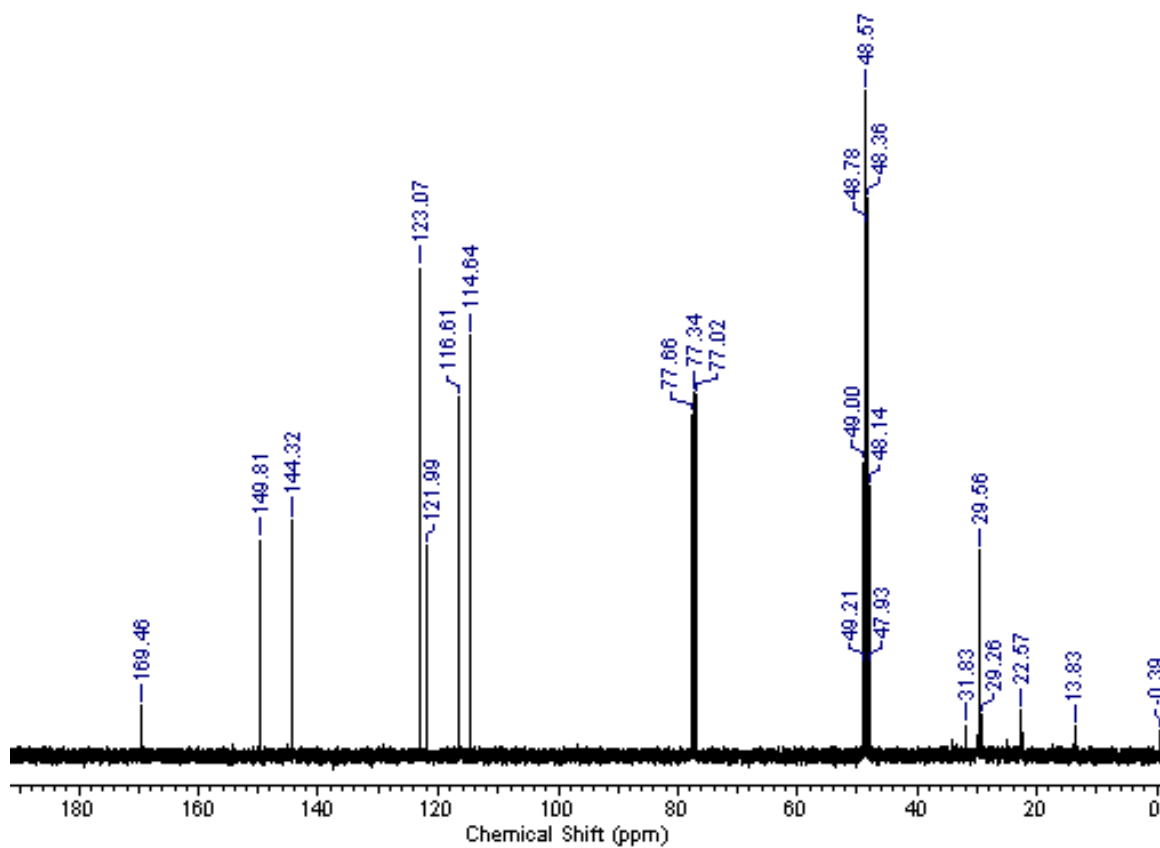
Fonte: Autor, 2014.

Figura 28 – Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) da substância PgCA-3.



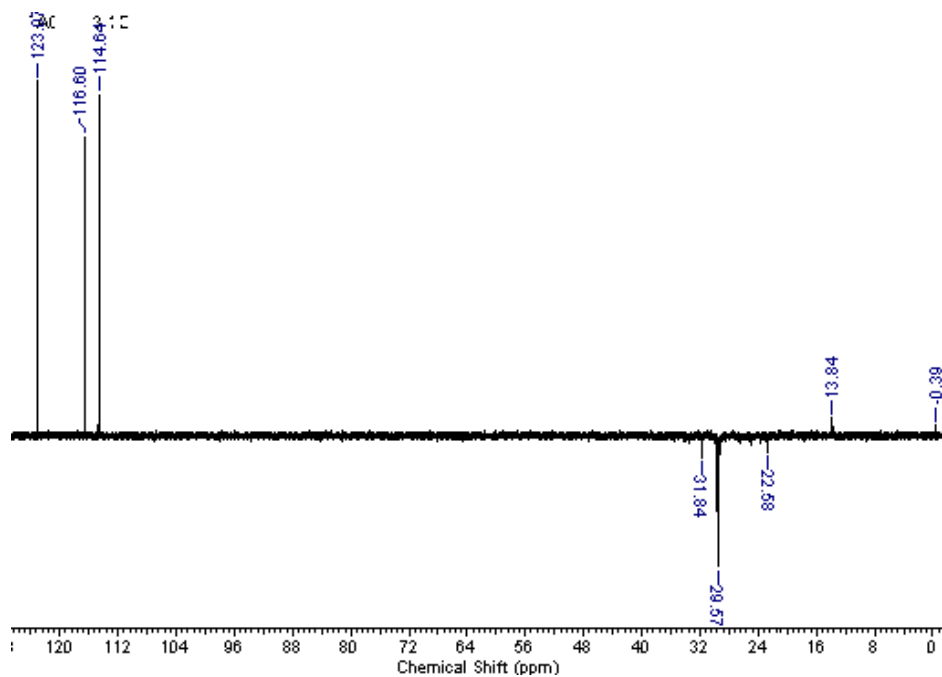
Fonte: Autor, 2014.

Figura 29. Espectro RMN ^{13}C -DEPT 135 (100 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) da substância PgCA-3.



Fonte: Autor, 2014.

Figura 30 – Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) da substância PgFA-1.



Fonte: Autor, 2014.

Figura 31 – Espectro DEPT 135 (100 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) da substância PgFA-1.

6 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no presente trabalho, envolvendo a avaliação das atividades larvicida (larvas do 4º estágio do *Aedes aegypti*), sequestradora de radicais livres (DPPH) e antibacteriana (*S. aureus*, *E. faecallis*, *K. pneumoniae* e *P. aeruginosa*), bem como a investigação fitoquímica com extratos do caule e folhas da espécie *Pourouma guianensis* (Urticaceae), permitiram relacionar as seguintes considerações:

- Nos ensaios frente larvas do 4º estágio do *A. aegypti*, dentre as amostras testadas, atividades moderadas (mortalidade > 50% e < 75%) foram observadas somente com algumas das frações provenientes do **caule** [Hexano-CHCl₃ 1:1 (58,5%), CHCl₃ (71,11%) e AcOEt (60,0 e 53,33%; ppt e ssb, respectivamente)]. Todas as amostras oriundas de **folhas** e **cascas** testadas foram inativas (mortalidade < 25%);
- Nos ensaios frente ao radical DPPH, dentre as frações que forneceram resultados positivos nos ensaios qualitativos, somente duas frações provenientes das **folhas** [CHCl₃ (312,01 µg/mL) e AcOEt (CI₅₀ 120,76 µg/mL)] e do **caule** [CHCl₃ (372,47 µg/mL) e AcOEt-MeOH 1:1 (360,68 µg/mL)] foram consideradas promissoras nos ensaios quantitativos (IC₅₀ < 400 µg/mL);
- Nos ensaios antibacterianos, dentre as amostras avaliadas, os melhores resultados (CIM 125-500 µg/mL) foram obtidos somente frente às bactérias Gram-positivas *S. aureus* e *E. faecallis*, com extratos provenientes de **folhas** e **caule**. Dentre as amostras oriundas de **cascas** avaliadas, somente alguns extratos mostraram fraca atividade (CIM 1000 µg/mL) frente a *S. aureus* e *E. faecallis*. Em relação às bactérias Gram-negativas utilizadas, todos os extratos testados foram inativos frente a *K. pneumoniae* e somente alguns extratos das **cascas**, **folhas** e **caule** apresentaram fraca atividade frente a *P. aeruginosa* (CIM 1000 µg/mL);
- Da fração em AcOEt das folhas, com moderado potencial antioxidante, foi isolada a substância identificada como sendo o ácido 3,4-dihidroxibenzoico (**PgFA-1**), um derivado fenólico ativo como antioxidante, possivelmente um dos componentes responsável em parte pela atividade sequestradora de radicais livres desta fração;

- O estudo fitoquímico efetuado com algumas frações das folhas e do caule de *P. guianensis* conduziu ao isolamento de dois triterpenos (*Ácido pomólico* e *Ácido euscáfico*), relatados pela primeira vez no gênero *Pourouma*, e de dois derivados fenólicos do ácido benzoico (*Ácidos 3-metoxi-4-hidroxibenzoico* e *3,4-dihidroxibenzoico*), descritos pela primeira vez na espécie em estudo, além de três compostos cujos dados espectrais encontram-se ainda em fase de obtenção.

De acordo com as considerações acima, conclui-se que este trabalho atingiu pelo menos parte dos seus objetivos visto que os resultados obtidos através do estudo da espécie *P. guianensis* permitiram ampliar o conhecimento da composição química e o do potencial biológico do gênero *Pourouma* e da família Urticaceae.

REFERÊNCIAS

- ALONSO, J. **Tratado de Fitofármacos y Nutraceuticos**. Rosario, Argentina: Corpus Libros. p.831-836, 2004.
- ALVARADO-CASTILLO, C.; ESTRADA, O.; CARVAJAL, E. Pomolic acid, triterpenoid isolated from *Licania pittieri*, as competitive antagonist of ADP-induced aggregation of human platelets. **Phytomedicine.**, v.19, n.6, p.484-487, 2012.
- ANTUNES, R.M.P. et al. Atividade antimicrobiana in vitro e determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de fitoconstituintes e produtos sintéticos sobre bactérias e fungos leveduriformes. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.16, n.4, p.517-524, 2006.
- ANZOISE, M.L. et al. Hydroalcoholic extract of *Urtica circularis*: A neuropharmacological profile. **Pharmaceutical Biology.**, v.51, n.10, p.1236-1242, 2013.
- APG (Angiosperm Phylogeny Group) III. 2009. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APGIII. **Botanical Journal of Linnean Society**, 161: 105-121.
- ARAÚJO, T. P. et al. Diagnóstico sorológico de infecções por dengue e febre amarela em casos suspeitos no Estado do Pará, Brasil, 1999. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.35, n.6, p.579-584, 2002.
- AYRES, M. C. C. et al. Atividade antibacteriana de plantas úteis e constituintes químicos da raiz de *Copernicia prunifera*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.18, n.1, p.90-97, 2008.
- BAE, Y.H. et al. Cholinesterase inhibitors from the roots of *Harpagophytum procumbens*. **Arch. Pharm. Res.** DOI 10.1007/s12272-013-0316-y, 2013.
- BARRETO, C. F. *Aedes aegypti* - Resistência aos inseticidas químicos e as novas alternativas de controle. **Revista Eletrônica Faculdade Montes Belos**, Goiás, v.1, n.2, p.62-73, 2005.
- BERG, C.C. 1990. Differentiation of flowers and inflorescences of Urticales in relation to the protection against breeding insects and to pollination. **Sommerfeltia.**, v.11, p.13-34.
- BRAGA, I. A.; VALLE, D. *Aedes aegypti*: inseticidas, mecanismos de ação e resistência. **Epidemiol. Serv. Saúde**, Brasília, v.16, n.4, p.279-293, 2007.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. **Lebensm Wiss Technol.**, v.28, n.1, p.25-30, 1995.

BRUSOTTI, G. et al. Isolation and characterization of bioactive compounds from plant resources: The role of analysis in the ethnopharmacological approach. **J. of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, Pávia, Itália, v.87, p. 218-228, 2014.

BUCAR, F. et al. LC-PDA-MS-profiles of phenolic compounds in extracts of aerial parts of *Urtica* species. **Planta Medica**, v.72, p.152, 2006.

BUDZIANOWSKI, J. Caffeic acid-esters from *Urtica dioica* and *U. urens*. **Planta Medica**, v.57, n.5, p.507-, 1991

BURKOVA, V.N. et al. Antiinflammatory and analgesic activity of *Urtica dioica* (Urticaceae) extracts. **Rastitel'nye Resursy.**, v.47, n.2, p.136-143, 2011.

Casos de Dengue. Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas, 1990 a 2012. SES/SINAN.15 mar. 2013. Disponível em:<
http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/dados_dengue_classica_2012_at032013.pdf>.
Acesso em: 09 out. 2013.

CASTRO, R.M. **Flora da Bahia - Moraceae**. 2006. 143 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, 2006.

CHAHARDEHI, A.M.; IBRAHIM, D.; SULAIMAN, S.F. Antioxidant, antimicrobial activity and toxicity test of *Pilea microphylla*. **International Journal of Microbiology**, volume No pp. given, (2010).

CHEVALLIER, A. **The Encyclopedia of Medicinal Plants**. London: Dorling Kindersley. p.145, 1996.

Clinical and Laboratory Standards Institute. **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically**. Approved Standard—ninth Edition. Clinical and Laboratory Standards Institute document M07-A9. Wayne, Pennsylvania, USA, 2012.

COLOMBO, R. et al. Validação de método de cromatografia líquida de alta performance para padronização de extratos comerciais de *Ptychopetalum olacoides* Benth., Olacaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.20, n.5, p.781-788, 2010.

CONN, B. J.; HADIAH, J. T. Nomenclature of tribes within the Urticaceae. **Kew Bull**, v.64, p. 349-352, 2009.

COSTA, P. R. R.; Produtos naturais como ponto de partida para a descoberta de novas substâncias bioativas: Candidatos a fármacos com ação antiofídica, anticâncer e antiparasitária. **Revista Virtual de Química**, Rio de Janeiro, v.1, n.1, 2009.

CRAGG, G. M.; NEWMAN, D. J. Natural products: A continuing source of novel drug leads, **Biochimica et Biophysica Acta**, USA, v.1830, p.3670–3695, 2013.

CRONQUIST, A. Na integrated system of classifications of flowering plants. New York. **Columbia University Press**, 1981.

CRONQUIST, A. The evolution and classification of flowering plants. 2 ed. New York **Botanical Garden**, New York, 1988.

CUI, L. et al. Serum Metabolome and Lipidome Changes in Adult Patients with Primary Dengue Infection. **PLoS Negl Trop Dis.**, Florida, USA, v.7, n.8, e2373, 2013.

DAR, S.A. et al. Bioassay guided isolation and identification of anti-inflammatory and anti-microbial compounds from *Urtica dioica* L. (Urticaceae) leaves. **African Journal of Biotechnology**, v.11, n.65, p.12910-12920, 2012).

DATWYLER, S.L.; WEIBLEIN, G.D. On the origin of the fig: Phylogenetic relationships of the Moraceae from *ndhF* sequences. **Am. J. Bot.**, v.91, n.5, p.767-777, 2004.

DE OLIVEIRA, P.V. **Constituintes Químicos e Atividades Larvicida, Antioxidante e Antimicrobiana de *Rourea doniana Baker* (Connaraceae)**. 2011. 102 f. Dissertação (Mestrado em Química e Biotecnologia) - Universidade Federal de Alagoas, Maceió, AL, 2011.

Dengue and severe Dengue, World Health Organization, set. 2013. Disponível em: www.who.int/mediacentre/factsheets/fs117/en/index.htm. Acessado em: 19 nov. 2013.

DEWICK, P. M. **Medicinal natural products: a biosynthetic approach**, 2. ed., John Wiley & Sons Ltda, 2002.

DESIMONI, E.; BRUNETTI, B.; CATTANEO, R. Comparing Some Operational Approaches to the Limit of Detection. **Wiley Online Library**. V.94, p. 555-569, 2004.

- EXARCHOU, V. et al. Hyphenated chromatographic techniques for the rapid screening and identification of antioxidants in methanolic extracts of pharmaceutically used plants. **Journal of Chromatography A.**, v.1112, p.293–302, 2006.
- FALCÃO, M.A., LLERAS, E. Aspectos fenológicos, ecológicos e de reprodutividade do mapati (*Pourouma cecropiifolia* Mart.). **Acta Amazonica**, v.10, n.4, p.711-724, 1980.
- FALCÃO, D.Q.; FERNANDES, S.B.O.; MENEZES, F.S. Triterpenos de *Hyptis fasciculata* Benth. **Rev. Bras. Farmacogn.**, v.13, supl., p.81-83, 2003.
- FARAG, M.A. et al. Phytochemical, phylogenetic, and anti-inflammatory evaluation of 43 *Urtica* accessions (stinging nettle) based on UPLC-Q-TOF-MS metabolomic profiles. **Phytochemistry**, v.96, p.170-183, 2013.
- FEDOSEEVA, L. M.; KIRYAKOVA, V. O. Study of some phenolic compounds *Urtica cannabina* herbs growing in the Altai territory. **Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya**, v.2, p.133-138, 2012.
- FIGUEIREDO, R. M. P. et al. Co-infection of dengue virus by serotypes 3 and 4 in patients from Amazonas, Brazil. **Rev. Inst. Med. Trop.**, São Paulo, v.53, n.6, p.321-323, 2011.
- FILHO, V. C.; YUNES, R. A. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. **Química Nova**, v.21, n.1, p.99-105, 1998.
- GAGLIOTI, A.L. **Urticaceae Juss. no Estado de São Paulo, Brasil**. 2011. 209 f. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Botânica da Secretaria de Meio Ambiente, São Paulo, SP, 2011.
- GANSSER, D.; SPITELLER, G. Aromatase inhibitors from *Urtica dioica* roots. **Planta Medica**, v.61, p.138-140, 1995.
- GOKULAKRISHNAN, J. et al. Pupicidal and repellent activities of Pogostemon cablin essential oil chemical compounds against medically important human vector Mosquitões. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**. v.3, n.1, p.26-31, 2013.
- GUIO, J. C. B.; LEON, D. C. S.; PEREZ, A. L. M.; Compuestos volátiles libres y enlazados glicosídicamente en la pulpa de la uva Caimarona (*Pourouma cecropiifolia* Mart.), **Acta Amazonica**, v.40, n.1, p.189-198, 2010.

HADIAH, J.T., QUINN, C.J., CONN, B.J. Infra-familial phylogeny of Urticaceae, using chloroplast sequence data. **Austral. Syst. Bot.**, v.21, p.375-385, 2008.

HOLETZ, F. B. et al. 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.

HUDEC, J. et al. Antioxidant capacity changes and phenolic profile of *Echinacea purpurea*, nettle (*Urtica dioica* L.), and dandelion (*Taraxacum officinale*) after application of polyamine and phenolic biosynthesis regulators. **J. Agric.Food Chem.**, v.55, p. 5689-5696, 2007.

JAGROOP, I. A. Plant extracts inhibit ADP-induced platelet activation in humans: their potential therapeutic role as ADP antagonists, DOI 10.1007/s11302-013-9393-0, **Purinergic Signalling**, 2013.

JUDD, W.S. et al. Plant systematics, a phylogenetic approach. Sianuer Associates, **Massachusetts**, 1999.

JUDD, W.S. et al. Sistemática Vegetal, um enfoque filogenético. 3 ed. **Artmed**, Porto Alegre, 2009.

JÚNIOR, C. V.; BARREIRO, E. J.; BOLZANI, V. S. Os produtos naturais e a química medicinal moderna, **Quím. Nova**, Rio de Janeiro, v.29, n.2, p.326-337, 2006.

KARSBURG, I.V., BATTISTIN, A. Meiose e número cromossômico de cinco espécies da família Urticaceae do Rio Grande do Sul. **Revista de Ciências Agro-Ambientais**, Alta Floresta, MT, v.4, n.1, p.47-60, 2006.

KHAN, A. et al. M. Sub-acute toxicological studies 2 α ,3 β ,21 β ,23,28-penta hydroxyl 12-oleanene isolated from roots of *Laportea crenulata* Gaud. **Asian Biomedicine**, v.5, n.5, p.595-599, 2011.

LEE, I. K. et al. Increased Production of Interleukin-4, Interleukin-10, and Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor by Type 2 Diabetes' Mononuclear Cells Infected with Dengue Virus, but Not Increased Intracellular Viral Multiplication. **BioMed Research International**, v.2013, p.1-7, 2013.

LEGSSYER, A. et al. Cardiovascular effects of *Urtica dioica* L. in isolated rat heart and aorta. **Phytotherapy Research**, v.16, p.503-507, 2002.

- LEI, Y., SHI, S-P., SONG, Y-L., BI, D., TU, P-F. Triterpene saponins from the roots of *Ilex asprella*. **Chemistry & Biodiversity**, v.11, n.5, p.767-775, 2014.
- LEMES, G.F.; FERRI, P.H.; LOPES, M. N. Constituintes químicos de *Hyptidendron canum* (Pohl ex Benth.) R. Harley (Lamiaceae). **Quim. Nova**, v.34, n.1, p.39-42, 2011.
- LI, J. et al. Triterpenoids and flavonoids from *Cecropia schreberiana* Miq. (Urticaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v.48, p.96-99, 2013.
- LI, D., LI, W., HIGAI, K., KOIKE, K., Protein tyrosine phosphatase 1B inhibitory activities of ursane- and lupane-type triterpenes from *Sorbus pohuashanensis*. **Journal of Natural Medicines**, v.68, n.2, p.427-431, 2014.
- LONTSI, D. et al. Musangic acid, a triterpenoid constituent of *Musanga cecropioides*. **Phytochemistry**, v.31, n.12, p.4285-4288, 1992.
- LOPES-LUTZ, D. et al. Characterization and Quantification of Polyphenols in Amazon Grape (*Pourouma cecropiifolia* Martius). **Molecules**, v.15, p.8543-8552, 2010.
- LOPES, D. et al. Chemical composition of *Pourouma guianensis* Aublet essential oils. **Flavour Fragr. J.**, v.14, p.233-236, 1999.
- LOPES, D. et al. Essential Oil Composition of Brazilian *Pourouma* Species. **Journal of Essential Oil Research**, v.14, p.402-406, 2002.
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil**. Nova Odessa: Plantarum, v.2, 3.ed., p.384, 1998.
- LORENZI, H.; SOUZA, H. M. Plantas ornamentais no Brasil: arbustivas, herbáceas e trepadeiras. 3 ed. **Instituto Plantarum**, Nova Odessa, p.1024-1028, 2001.
- MAHATO, S. B.; KUNDU, A. ¹³C NMR spectra of pentacyclic triterpenoids-a compilation and some salient features. **Phytochemistry**, v.37, n.6, p.1517-1575, 1994.
- MANACH, C. et al. Polyphenols: food sources and bioavailability. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v.79, n.5, p.727-747, 2004.

MARANHO, A.S.; PAIVA, A.V. Emergência de plântulas de *Pourouma guianensis* Aubl. (Urticaceae) em função do substrato. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.7, suplemento, p.844-849, 2012.

MARTINS, E.G.A.; PIRANI, J.R. Flora da Serra do cipó, Minas Gerais: Urticaceae. **Bol. Bot. Univ.**, São Paulo, v.28, n.2, p.161-173, 2010.

MARTINEZ-CAMPOS, M. et al.. The Drosophila pericentrin-like protein is essential for cilia/flagella function, but appears to be dispensable for mitosis. **J. Cell Biol.**, v.165, n.5, p.673-683, 2004.

MELO, E. A.; GUERRA, N. B. Ação antioxidante de compostos fenólicos naturalmente presentes em alimentos. **Bol. SBCTA.**, v. 36, p.1-11, 2002.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Doenças infecciosas e parasitárias: guia de bolso**, 8. ed. Brasília, DF: Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica, 2010.

MONRO, A.K. The revision of species-rich genera: a phylogenetic framework for the strategic revision of *Pilea* (Urticaceae) based on *cpDNA*, *nrDNA*, and morphology. **Amer. J. Bot.**, v.93, n.3, p.426-441, 2006.

MORIKAWA, T. et al. Hepatoprotective triterpenes from traditional Tibetan medicine *Potentilla anserina*. **Phytochemistry**, v.102, p.169-181, 2014.

MÜLLER, J. B. **Avaliação das atividades antimicrobiana, antioxidante e antinociceptiva das folhas da *Luehea divaricata* Martius**. 2006. 99 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, 2006.

NAHATA, A.; DIXIT, V. Ameliorative effects of stinging nettle (*Urtica dioica*) on testosterone-induced prostatic hyperplasia in rats. **Andrologia**, v.44, p.396-409, 2012.

NICKAVAR, B.; KAMALINEJAD M.; IZADPANAH H.; *In vitro* free radical scavenging activity of five *salvia* species. **Pak. J. Pharm. Sci.**, v.20, n.4, p.291-294, 2007.

NOLDIN, V. F., ISAIAS, D. B.; FILHO, V. C. Gênero *calophyllum*: importância química e farmacológica, **Quim. Nova**, Itajaí, v.29, n.3, p.549-554, 2006.

OEZEN, T.; COELLUE, Z.; KORKMAZ, H. Antioxidant Properties of *Urtica pilulifera* root, seed, flower, and leaf extract. **Journal of Medicinal Food**, v.13, n.5, p.1224-1231, 2010.

OLIVEIRA et al. Larvicidal activity of 94 extracts from ten plant species of northeastern of Brazil against *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). **Parasitol. Rev.**, v.107, n.2, p.403-407, 2010.

OSTROSKY, E. A. et al. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v.18, n.2, p.301-307, 2008.

PASQUALOTTO, A.C., SCHWARZBOLD, A.V., 2006. Prefácio. **Doenças infecciosas: consulta rápida**. Porto Alegre, Artmed, p.17-19.

PEDROSO, M. T. R.; Batista, M. A. T. **Uso indiscriminado de antibióticos e resistência bacteriana**. 2013. 25 f. Monografia (Farmácia) – Faculdade de Pindamonhangaba, Pindamonhangaba, SP, 2013.

PINELLI, P. Extraction and HPLC analysis of phenolic compounds in leaves, stalks, and textile fibers of *Urtica dioica* L. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.56, p.9127-9132, 2008.

PINO, J. A.; QUIJANO, C. E.; Volatile compounds of *Pourouma cecropiifolia* Mart. fruits from Colombia. **Jornal of Essential Oil Research**, v.20, p.242-244, 2008.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Quim. Nova**, v.29, n.4, p.755-760, 2006.

RICE-EVANS, C. Flavonoids and isoflavones (Phytoestrogens): absorption, metabolism bioactivity. **Free Radical Biology and Medicine**, v.36, n.7, p.827-828, 2004.

ROCCO, I. M. et al. First isolation of dengue 4 in the state of São Paulo, Brazil. **Rev. Inst. Med. Trop.** Sao Paulo, v.54, n.1, p.49-51, 2012.

REUTER, S. et al. Oxidative stress, inflammation, and cancer: How are they linked?, **Free Radical Biology & Medicine**, v.49, p.1603–1616, 2010.

ROMANTIUC-NETO, S. Cecropioideae (C.C. Berg) Romantiuc-Neto stat. nov. (Moraceae - Urticales). **Albertoa Nova Série**, v.4, p.13-16, 1999.

ROSCHEK, B. et al. Nettle extract (*Urtica dioica*) affects key receptors and enzymes associated with allergic rhinitis. **Phytotherapy Research**, v.23, p.920-926, 2009.

SANCHEZ-MORENO, C.; LAURRARI, J.A.; SAURA-CALIXTO, F. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. **J Sci Food Agric.**, v.76, p.270-276, 1998.

SANTOS, A. **Moraceae Gaudich. (excl. *Ficus*) da Serra da Mantiqueira.** 2012. 192 f. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Botânica da Secretaria de Meio Ambiente, São Paulo, SP, 2012.

SANTOS, R. P. et al. Chemical Constituents of *Cordia piauhiensis* – **Boraginaceae.** **J. Braz. Chem. Soc.**, v.16, n.3B, p.662-665, 2005.

SANTOS, S. C. et al. Avaliação da atividade antibacteriana dos estratos de *Avicennia shaueriana* Stapf & Leechm. Ex Moldenke, Verbenaceae. **Rev. Brasileira de Farmacognosia**, Salvador, v.20, n.1, p.124-129, 2010.

SILVA, D. C.; CERCHIARO, G.; HONÓRIO, K. M. Relações patofisiológicas entre estresse oxidativo e arteriosclerose. **Quim. Nova**, v.34, n.2, p.300-305, 2011.

Situação Atual da Dengue em Alagoas. Maceió. Superintendência de vigilância em saúde (SVS), 2013.

SOARES, S.E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, Campinas, SP, v.15, n.1, p.71-81, 2002.

SOLER-RIVAS, C.; ESPÍN, J. C.; WICHERS, H. J.; Na easy and fast test to compare total free radical scavenger capacity of foodstuffs. **Phytochemical Analysis**, v.11, p.330-338, 2000.

SOUZA, P.P. **Moraceae Gaudich. de Viçosa, Minas Gerais, Brasil:** florística e anatomia foliar de *Ficus mexiae* Standl. 2009. 157 f. Dissertação (Mestrado em Botânica), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2009.

SOUZA, T.J.T.; et al. Composição química e atividade antioxidante do óleo volátil de *Eupatorium polystachyum* DC. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.17, n.3, p.368-372, 2007.

SUKUMAR K.; PERICH M.J.; BOOBAR L. R. Botanical derivatives in mosquito control: a review. **J Amer Mosquito Control Assoc**, v.7, n.2, p.210–237, 1991.

SUNG, M.J. et al. *Boehmeria nivea* attenuates LPS-induced inflammatory markers by inhibiting p38 and JNK phosphorylations in RAW264.7 macrophages. **Pharmaceutical Biology**, v.51, n.9, p.1131-1136, 2013.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**, 3ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.

SYTSMA, K.J. et al. Urticalean Rosids: Circumscription, Rosid ancestry, and phylogenetics based on *rbcL*, *trnL-F*, and *ndhF* sequences. **Am. J. Bot.**, v.89, n.9, p.1531-1546, 2002.

TAKEMOTO, E.; FILHO, J. T.; GODOY, H. T. Validação de metodologia para a determinação simultânea dos antioxidantes sintéticos em óleos vegetais, margarinas e gorduras hidrogenadas por CLAE/UV. **Química nova**, v.32, n.5, p.1189-1194, 2009.

TELESI, M.; MACHADO, F. A. A influência do exercício físico e dos sistemas antioxidantes na formação de radicais livres no organismo humano. **SaBios: Rev. Saúde e Biol.**, v.3, n.1 p.40-49, 2008.

THAKUR, R. K. et al. Antihypertensive effect of ethanolic extract of *Urtica dioica* L. leaves (Urticaceae) in renal artery occluded hypertensive rats. **Journal of Pharmacy Research**, v.5, n.7, p.3585-3587, 2012.

THOMAZINE, M. H. et al. Antioxidantes sintéticos e naturais aplicados em óleo vegetal sob condições de oxidação. In: Encontro de Divulgação Científica e Tecnológica, 2011, Toledo. **Anais do III ENDICT**. Toledo, PR: UTFPR, 2011.

TIVERON, A. P. **Atividade antioxidante e composição fenólica de legumes e verduras consumidos no Brasil**. 2010. 102 f. Dissertação (Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”) – Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP, 2010.

TORRES-SANTOS, E. C. et al. Antileishmanial activity of isolated triterpenoids from *Pourouma guianensis*. **Phytomedicine**, v.11, p.114–120, 2004.

TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM F. **Microbiologia**. 4 ed. São Paulo: Atheneu, 718p., 2004.

TRIPATHI, K.D. **Farmacologia Médica**. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2006.

VASCONCELOS, P. F. C. Febre amarela no Brasil: reflexões e hipóteses sobre a emergência em áreas previamente livres. **Rev. Saúde Pública**, Belém, PA, 2010.

VIEIRA, I.C.G.; GAVÃO, N.; ROSA, N.A. Caracterização morfológica de frutos e germinação de sementes de espécies arbóreas nativas da Amazônia. **Boletim Paraense do Museu Emílio Goeldi**, série botânica, v.12, n.2, 1996.

WANG, J.; et al. An overview on the progress of chemical constituents and bioactivities of plants in Urticaceae during 2000-2010. **Chinese Herbal Medicines**, v.3, n.1, p.9-16, 2011.

WOODLAND, D. W. Biology of temperate Urticaceae (nettle) family. *In*: P.R. Crane & S. Blackmore (eds.). Evolution, systematics, and fossil history of the Hamamelidae, "Higher" Hamamelidae. v. 2. **Clarendon Press**, Oxford, London, v. 40B, pp. 309-318, 1989.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (1981) **Instructions for determining the susceptibility or resistance of mosquito larvae to insecticides**. WHO/VBC/81.807.

XU, P.; BHAN, N.; KOFFAS, M. A. G. Engineering plant metabolism into microbes: from systems biology to synthetic biology, **Plant biotechnology**, v.24, p.291-299, 2013.

YOO, K.H. et al. Pomolic acid induces apoptosis in SK-OV-3 human ovarian adenocarcinoma cells through the mitochondrial-mediated intrinsic and death receptor-induced extrinsic pathways. **Oncology Letters**, v.5, n.1, p.386-390, 2013.

YOUN, S. H. et al. Anticancer properties of pomolic acid-induced AMP-activated protein kinase activation in MCF7 human breast cancer cells. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v.35, n.1, p.105-110, 2012.

ZHOU, Y. et al. Lignan and flavonoid glycosides from *Urtica laetevirens* Maxim. **Journal of Natural Medicines**, v.63, p.100-101, 2009.