

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS  
MESTRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**CARACTERIZAÇÃO BOTÂNICA, PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA E ATIVIDADES  
BIOLÓGICAS PRELIMINARES DE *Hirtella racemosa* Lam.  
(CHRYSOBALANACEAE)**

**EVANILSON ALVES FEITOSA**

**RECIFE 2012**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**CARACTERIZAÇÃO BOTÂNICA, PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA E ATIVIDADES  
BIOLÓGICAS PRELIMINARES DE *Hirtella racemosa* Lam.  
(CHRYSOBALANACEAE)**

**EVANILSON ALVES FEITOSA**

**RECIFE, 2012**

EVANILSON ALVES FEITOSA

**CARACTERIZAÇÃO BOTÂNICA, PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA E ATIVIDADES  
BIOLÓGICAS PRELIMINARES DE *Hirtella racemosa* Lam.  
(CHRYSOBALANACEAE)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do grau de mestre em Ciências Farmacêuticas.

Área de concentração: Obtenção e Avaliação de Produtos Naturais e Bioativos

ORIENTADORA: Profa. Dra. KARINA PERRELLI RANDAU  
CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. HAROUDO SATIRO XAVIER

RECIFE. 2012





UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
PRÓ-REITORIA PARA ASSUNTOS DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS



Recife, 24 de fevereiro de 2012.

Defesa de Dissertação de Mestrado de Evanilson Alves Feitosa defendida e APROVADA, por decisão unânime, em 24 de fevereiro de 2012 e cuja Banca Examinadora foi constituída pelos seguintes professores:

**PRESIDENTE E PRIMEIRA EXAMINADORA INTERNA: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Karina Perrelli Randau (Dept<sup>o</sup> de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco - UFPE).**

Assinatura: \_\_\_\_\_

**SEGUNDA EXAMINADORA INTERNA: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Elba Lúcia Cavalcanti Amorim. (Dept<sup>o</sup> de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco - UFPE).**

Assinatura: \_\_\_\_\_

**EXAMINADORA EXTERNA: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Gerlane Coelho Bernardo Guerra (Dept<sup>o</sup> de Biofísica e Farmacologia da Universidade Federal do Rio Grande do Norte - UFRN).**

Assinatura: \_\_\_\_\_

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

REITOR

Prof. Dr. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

VICE-REITOR

Prof. Dr. Sílvio Romero de Barros Marques

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS GRADUAÇÃO

Prof. Dr. Francisco de Souza Ramos

DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Prof. Dr. José Thadeu Pinheiro

VICE-DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Prof. Dr. Márcio Antônio de Andrade Coelho Gueiros

CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Prof. Dr. Dalci José Brondani

VICE-CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Prof. Dr. Antônio Rodolfo de Faria

COORDENADORA DO PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS  
FARMACÊUTICAS

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Nereide Stela Santos Magalhães

VICE-COORDENADORA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS  
FARMACÊUTICAS

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Cristina Lima Leite

**Dedico aos meus pais Antônio Nilson Alves  
e Maria Evani Alves Feitosa.**

## **AGRADECIMENTOS**

A todos aqui apresentados, agradeço pela contribuição para a realização deste trabalho.

## **INSTITUIÇÕES**

Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas – UFPE.  
FACEPE – Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco.  
Departamento de Antibióticos – UFPE.

## **AOS PROFESSORES**

Profa. Dra. Karina Perrelli Randau  
Prof. Dr. Haroudo Satiro Xavier  
Prof. Luiz Alberto de Lira Soares  
Profa. Dra. Rejane Pimentel  
Profa. Dra. Teresinha Gonçalves Alves de Lima  
Prof. Dr. Nicácio H. da Silva

## **AOS AMIGOS DE CURSO E COLEGAS**

Alan Lucena de Vasconcelos	Magda Ferreira
Alex Lucena de Vasconcelos	Anselmo Segundo
Márcia Maria Barbosa da Silva	Asaph Santos Cabral
Luciana Gomes Arrais	Risoleta Nogueira
Luma Gomes dos Santos	
Rafaela Damasceno	
Januária Rodrigues de Lima	
Gustavo S. Dimech	
Ingrid Campos	
Karla Camila	
Bruno Nunes	
Tatiane Bezerra de Oliveira	
Anne Cecília	
Gibson Gomes	
José Antonio Pereira	

## AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

À prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. **Karina Perrelli Randau**, pela qual poderia discorrer esta página inteira em agradecimentos. Pela orientação, atenção, paciência, amizade, pela ajuda e exemplo. Este trabalho não seria possível sem a sua orientação.

Ao prof. **Dr. Haroudo Satiro Xavier** pela atenção, pelos ensinamentos e principalmente pela paciência nestes anos de convívio. Pelo incentivo, amizade, simpatia e orientação. Enfim, por tudo, saiba que muito lhe admiro.

Às professoras **Dra. Rejane Pimentel** e **Dra. Teresinha Gonçalves Alves de Lima** pela colaboração e uso das dependências dos seus laboratórios.

Ao professor **Luiz Alberto de Lira Soares** pelo apoio e ajuda sempre que necessário.

Aos colegas de laboratório **Alan Lucena, Alex Lucena e Márcia Maria Barbosa, Rafaela Damasceno, José Antônio e Gibson Gomes** pela inestimável amizade, cumplicidade e luta compartilhada.

Aos amigos da vida: **Jouldes Matos Duarte, Luma Gomes, Luciana Gomes Arrais, Carlos Émerson Borges, Lucian Mendes, Wilson Filho, Paulo Henrique, Luciano Pinheiro, Marília Novaes, Monalisa Ferreira e Milena Novaes** pelo compartilhamento dos sofrimentos e alegrias.

À Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (**FACEPE**).

**Aos meus pais pelo amor e dedicação.**

## RESUMO

*Hirtella racemosa* Lam. (Chrysobalanaceae), popularmente conhecida como ajururana, ajirú-do-mato ou murtinha, é um arbusto que se desenvolve em biomas como caatinga, restinga e cerrado. Com o objetivo de avaliar o potencial fitoquímico e farmacológico da espécie, este trabalho compreende três tópicos referentes ao estudo farmacognóstico: farmacobotânica, fitoquímica e atividades biológicas. Para caracterização botânica da espécie foram realizados cortes histológicos que revelaram a presença, no caule, de periderme com 2-4 camadas de súber, lenticelas, idioblastos contendo drusas no córtex e floema. Na folha, foi observada a presença de pelos tectores simples, estômatos do tipo paracítico, idioblastos contendo drusas no parênquima. O estudo fitoquímico realizado em CCD (cromatografia em camada delgada) identificou constituintes terpênicos, flavonoídicos, saponinas e proantocianidinas nas folhas. Foi realizada a extração dos metabólitos em aparelho de Soxhlet, utilizando solventes de polaridades distintas para posterior avaliação das atividades biológicas de *H. racemosa*. Procedeu-se ao ensaio de toxicidade aguda não revelando-se tóxica na dose de 2000 mg/Kg. No ensaio de peritonite induzida por carragenina, para avaliação de atividade anti-inflamatória, foi observada atividade na dose de 200 mg/Kg para os extratos utilizados. Experimentos *in vitro* utilizando culturas de células cancerígenas demonstraram potencial citotóxico contra a linhagem de câncer de pulmão humano (NCI-H-292) e potencial moderado contra linhagens de carcinoma de cólon (HT29) e laringe (HEp-2). A partir de todos os resultados obtidos com esta pesquisa, torna-se possível expressar que os estudos botânicos, fitoquímico e avaliação preliminar das atividades anti-inflamatória e citotóxica de *H. racemosa*, contribuem para o conhecimento de uma espécie com potenciais químico e farmacológico inexplorados, podendo vir a colaborar futuramente no arsenal terapêutico.

Palavras chaves: Histologia, Terpenos, Flavonóides, Citotoxicidade, Inflamação.

## ABSTRACT

*Hirtella racemosa* Lam (Chrysobalanaceae), popularly known as ajururana, ajirú-domato or murtinha, is a shrub that grows in biomes such as savanna, cerrado and restinga. In order to evaluate the potential of the phytochemical and pharmacological species, this work covers three topics concerning the study pharmacognosy: Pharmacobotany, phytochemical and biological activities. For characterization of the botanical species were prepared histologic sections that revealed the presence, on the stem, of a periderm of 2-4 layers of cork, lenticels, idioblasts containing druses in the cortex and phloem. In leaves, was observed the presence of glandular simple paracitic stomata, idioblasts containing druses in parenchyma. The phytochemical study performed on TLC (thin layer chromatography) identified terpene constituents, flavonoids, saponins and proanthocyanidins in leaves. We performed the extraction of metabolites in the Soxhlet apparatus using solvents of different polarities for further evaluation of the biological activities of *H. racemosa*. The acute toxicity test revealed no toxic dose at 2000 mg / kg. For tests on carrageenan-induced peritonitis, to evaluate anti-inflammatory activity, activity was observed at a dose of 200 mg / kg of the extracts used. In vitro experiments using cultured cancer cells showed cytotoxic potential against the strain of human lung cancer (NCI-H-292) and moderate potential against colon carcinoma cell lines (HT29) and larynx (HEp-2). From all results obtained with this research, it becomes possible to express the botanical studies, preliminary phytochemical and anti-inflammatory activity and cytotoxicity of *H. racemosa*, contribute to the knowledge of a species with potential chemical and pharmacological unexplored may come to contribute in future therapeutic arsenal.

Keywords: Histology, Terpenes, Flavonoids, Citotoxicity, Inflammation

## LISTA DE ABREVIACOES E SIGLAS

- AcOEt – Acetato de etila.
- AcOH – cido acético.
- ACVr-HSV1 – Vírus Herpes Smplex tipo I aciclovir-resistente
- AF – cido fórmico.
- Caco-2 – Linhagem de células de câncer de cólon
- DMSO - Dimetilsulfóxido
- EAcoEt – Extrato acetato de etila.
- Edicloro – Extrato diclorometano.
- EDTA – cido etilenodiamino tetra acético
- En-hex – Extrato n-hexano.
- ESP – Extrato metanólico rico em saponinas, proantocianidinas e leucoantocianidinas.
- FAA 50 - Formol, cido acético e álcool etílico a 50% (90:5:5)
- HEP-2 – Linhagem de células de câncer de laringe humano.
- Hep G2 – Linhagem de células de hepatoma humano.
- *H. racemosa* – *Hirtella racemosa*.
- HT29 – Linhagem de células de câncer de colo humano.
- IC % - Percentual de inibição celular
- *L. apetala* – *Licania apetala*.
- *L. carii* – *Licania carii*.
- *L. heteromorpha* – *Licania heteromorpha*.
- *L. licaniaeflora* – *Licania licaniaeflora*.
- *L. pittieri* – *Licania pittieri*.

- *L. pyrifolia* – *Licania pyrifolia*.
- MTT - 3-(4,5-dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil-2-H-brometo de tetrazolium.
- NCI-H-292 – Linhagem de células de câncer de pulmão humano.
- NEU - difenilboriloxietilamina
- PBS – Tampão fosfato salino.
- K562 – Linhagem de células de eritroleucemia

## SUMÁRIO

<b>OBJETIVOS</b> .....	14
<b>CAPÍTULO I - FARMACOBOTÂNICA DE <i>Hirtella racemosa</i> Lam</b> .....	16
<b>1. Introdução</b> .....	16
<b>2. Revisão da Literatura</b> .....	18
2.1. Características Botânicas da Família Chrysobalanaceae .....	18
2.2. Características Botânicas de <i>Hirtella racemosa</i> Lam.....	19
<b>3. Padronização Botânica de <i>Hirtella racemosa</i> Lam</b> .....	21
3.1. Material Vegetal.....	21
3.2. Microscopia.....	21
<b>4. Resultados e Discussão</b> .....	22
4.1. Caule.....	22
4.2. Folha.....	22
<b>5. Conclusão</b> .....	26
<b>CAPÍTULO II - FITOQUÍMICA E ATIVIDADES BIOLÓGICAS PRELIMINARES</b>	28
<b>DE <i>Hirtella racemosa</i> Lam</b> .....	
<b>1. Introdução</b> .....	28
1.1. Fitoquímica da Família Chrysobalanaceae.....	28
1.2. Etnofarmacologia da Família Chrysobalanaceae.....	42
1.3. Atividades Biológicas da Família Chrysobalanaceae.....	43
1.4. A reação inflamatória e a busca de novos agentes anti-inflamatórios....	44
1.5. O câncer e os produtos naturais como arsenal terapêutico.....	45
<b>2. Materiais e Métodos</b> .....	47
2.1. Material vegetal.....	47
2.2. Prospecção Fitoquímica de <i>Hirtella racemosa</i> .....	47
2.3. Obtenção dos Extratos.....	50
2.4. Procedimentos Éticos.....	50
2.5. Avaliação da Toxicidade Aguda.....	50
2.6. Avaliação da Atividade Anti-inflamatória .....	51
2.7. Análise Estatística.....	51
2.8. Avaliação da Citotoxicidade <i>in vitro</i> .....	52
<b>3. Resultados e Discussão</b> .....	53

3.1. Prospecção Fitoquímica.....	53
3.2. Rendimento e composição química dos extratos obtidos.....	55
3.3. Avaliação da Toxicidade Aguda .....	56
3.4. Avaliação da Atividade Anti-inflamatória.....	57
3.5. Avaliação da Citotoxicidade.....	58
<b>4. Conclusão.....</b>	<b>60</b>
<b>CONCLUSÕES GERAIS.....</b>	<b>61</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>62</b>
<b>ANEXO</b>	
<b>APÊNDICE</b>	

## OBJETIVOS

### GERAL

Caracterização botânica, identificação dos grupos de metabólitos secundários majoritários e estudo de atividade biológica (anti-inflamatória e citotóxica) de *Hirtella racemosa* Lam.

### ESPECÍFICOS

- Caracterizar a espécie microscopicamente;
- Realizar prospecção fitoquímica para os principais grupos de metabólitos secundários;
- Avaliar toxicidade aguda;
- Avaliar atividade anti-inflamatória;
- Avaliar a citotoxicidade em três linhas de células de câncer humano: NCI-H-292 (carcinoma de pulmão), HT29 (carcinoma de cólon) e Hep-2 (carcinoma de laringe).

# CAPÍTULO I

# CAPÍTULO I - FARMACOBOTÂNICA DE

## *Hirtella racemosa* Lam.

### 1. Introdução

Chrysobalanaceae foi descrita pela primeira vez pelo botânico Robert Brown na obra “*Observations, systematical and geographical, on the herbarium collected by Professor Christian Smith, in the vicinity of the Congo, during the expedition to explore that river, under the command of Captain Tuckey, in the year 1816*” (SALISBURY, 1818). Acioa, Atuna, Bafodeya, Chrysobalanus, Couepia, Dactyladenia, Exellodendron, Grangeria, Hirtella, Hunga, Kostermanthus, Licania, Magnistipula, Maranthes, Neocarya, Parinari e Trichocarya são os 17 gêneros que compõe a família (NCBI, 2012), há no total, cerca de 525 espécies. São plantas lenhosas, arbustivas ou arbóreas, encontradas nas regiões tropicais e subtropicais (figura 1), principalmente nos trópicos da América Latina e África (YAKANDALAWALA; MORTON; PRANCE, 2010). A madeira é pouco aproveitada devido à alta taxa de sílica, porém diversas espécies têm frutos comestíveis (PRANCE, 1988).

No nordeste do Brasil, encontram-se 23 espécies do gênero *Hirtella*, duas variedades de *H. racemosa*: *H. racemosa* Lam. var. *racemosa* e *H. racemosa* Lam. var. *hexandra* (CNIP, 2010). *Hirtella racemosa* possui distribuição geográfica ocorrendo desde o México até o centro-oeste do Brasil (figura 2). Foi identificada pela primeira vez por Lamarck em 1789 (PRANCE, 1988). Popularmente conhecida no norte do Brasil como ajururana, coração de negro ou murtinha, apresenta-se como arbusto (figura 3), com floração constante ao longo do ano em vegetações de cerrado, caatinga e restinga (PRANCE, 1988).

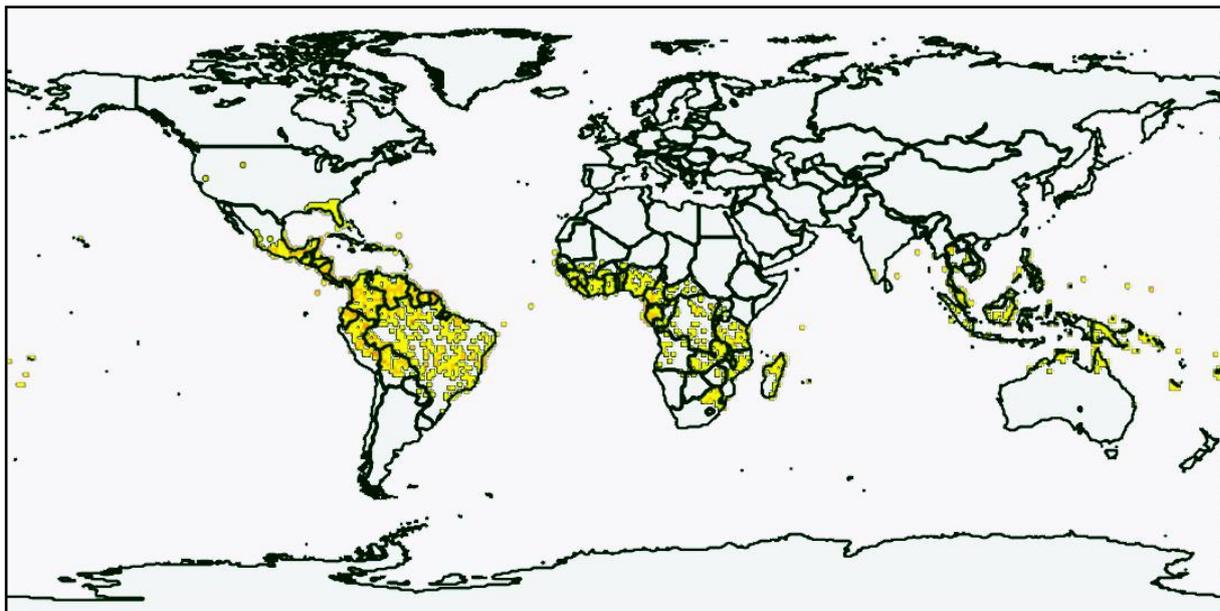


Figura 1 – Distribuição geográfica da família Chrysobalanaceae (GBIF, 2012a).

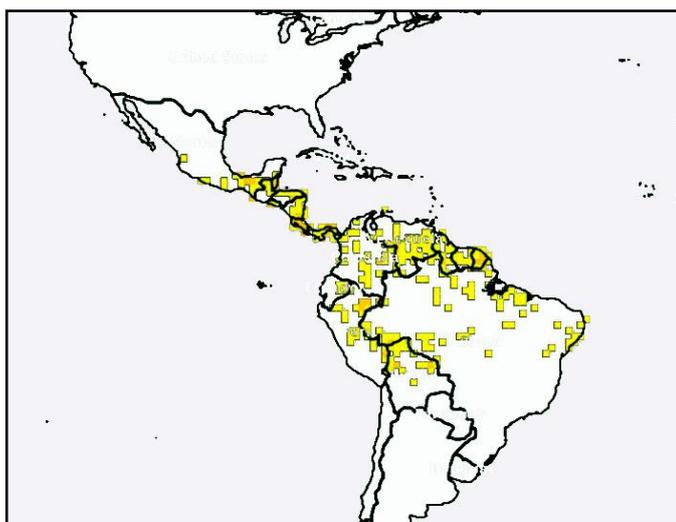


Figura 2 – Distribuição geográfica de *Hirtella racemosa* (GBIF, 2012b).



Figura 3 – *Hirtella racemosa* em *habitat*. Por Evanilson A. Feitosa

## 2. Revisão da Literatura

### 2.1. Características Botânicas da Família Chrysobalanaceae

As plantas da família Chrysobalanaceae possuem folhas inteiras, duras, de disposição alterna, dísticas, com estípulas. Flores pequenas em geral branco-esverdeadas, cíclicas, zigomorfas, diclamídeas, com receptáculo desenvolvido. Sépalas e pétalas livres, em geral pentâmeros; ovário súpero, bi a tricarpelar, unilocular, em geral com um só óvulo e geralmente fruto drupáceo. Nos cerrados brasileiros e nas matas da Amazônia ocorrem espécies arbóreas do gênero *Licania*, algumas delas conhecidas como oiticica, produtoras de óleo. As espécies do cerrado em geral apresentam-se com troncos muito retorcidos. No Nordeste do Brasil, espécies dos gêneros *Licania* e *Moquilea* são popularmente conhecidas como oiti. Do gênero *Parinari*, espécies da região amazônica produzem a fruta designada pajurá. Também na região amazônica, espécies de *Couepia* produzem a castanha-de-cutia (JOLY, 1998). No nordeste do Brasil, são utilizadas como potencial forrageiro: *Chrysobalanus icaco*, *Couepia impressa*, *Couepia rufa*, *Couepia uiti*, *Licania parviflora*, *Licania salzmännii* e *Licania tomentosa*. Em Pernambuco, na Zona da Mata, utilizam-se como forrageiras *Couepia impressa* e *Couepia rufa* e, no Litoral, *Chrysobalanus icaco* e *Licania tomentosa* (TABARELLI; SILVA, 2002).

Metcalf e Chalk (1988) descrevem características anatômicas de algumas espécies de Chrysobalanaceae. Geralmente apresentam pecíolo com

cilindro fechado de xilema e floema, dois pequenos fios vasculares adaxiais, com variações entre gêneros e espécies do mesmo gênero. As folhas apresentam estômatos paracíticos, na face abaxial, epiderme com paredes mucilaginosas, papiliosidade na face abaxial e hipoderme presente em algumas espécies. Pêlos ramificados, peltados, estrelados ou glandulares. Mesofilo predominantemente dorsiventral, atravessado por células lignificadas como fibras. Veias com feixes vasculares cercados por fibras esclerenquimáticas. Células dos vasos com perfurações simples, sem espaçamento espiral, bandas uni-trisseriadas de parênquima apotraqueal em raios heterogêneos e fendas de fronteira em fibras. Cristais de sílica, isolados ou agrupados, presentes em membranas, células da epiderme e dentro de idioblastos cercando veias foliares e o mesofilo. Cavidades secretoras também são encontradas em alguns gêneros. Um anel contínuo ou descontínuo de esclerênquima circunda o cilindro vascular caracterizando o periciclo e células com espessamento em “U” na secção transversal. O feixe vascular principal mostra variações relacionadas com o arranjo do xilema e do floema.

## 2.2. Características Botânicas de *Hirtella racemosa* Lam.

Possui folhas que variam em tamanhos de 3,5 a 16,5 cm de comprimento por 1,5 a 7 cm de largura, com formas elípticas a oblongas e com aspecto semelhante a couro, base subcordada a cuneada (forma de cunha); ápice acuminado com 1 a 14 mm de comprimento. As folhas na face abaxial apresentam nervuras secundárias que vão de 6 a 10 pares proeminentes, e na face adaxial promímulas. O pecíolo são teretes, eglandulosos, glabros ou pubérulos com comprimento de 1 a 3 mm. Estípulas lineares, eglandulosas, persistentes, glabras ou pubescentes com comprimento de 1,5 a 5 mm. Sua inflorescência (Figura 4), é ramificada (racemosa) terminal e axilar que vai de 5 a 29 cm de comprimento com ráquis pubérulo ou glabrescente. Flores que variam de 3,5 a 6 cm de comprimento, com sépalas agudas e pouco pubérulas externamente, porém, pubérulas internamente. Pétalas em tons roxos e glabras. O ovário é inserido na margem do disco, de natureza pilosa-tomentosa. O fruto, drupáceo, tem formato elipsoide com epicarpo glabro e mesocarpo delgado, carnoso, endocarpo delgado, duro e hirsuto internamente (PRANCE, 1988).

Em levantamento realizado sobre caracteres funcionais existentes em plantas da caatinga e restinga em Pernambuco, Brasil, foram colhidos dados sobre a espécie como mostra a Tabela 1.



Figura 4 – Inflorescência de *H. racemosa*. Por Evanilson A. Feitosa.

Tabela 1 - Parâmetros morfológicos quantitativos em folhas de *Hirtella racemosa* Lam (COSTA; CHAGAS; PIMENTEL, 2010).

<b>Parâmetros</b>	<b>Medidas</b>
Área (cm <sup>2</sup> )	14,32
Comprimento (cm)	6,78
Largura (cm)	2,75
Espessura (cm)	0,16
Índice Foliar	2,47
Volume (cm <sup>3</sup> )	0,29

### 3. Padronização Botânica de *Hirtella racemosa* Lam.

Procedeu-se à caracterização microscópica visando contribuir com a descrição macroscópica relatada anteriormente para fins de padronização botânica.

#### 3.1. Material Vegetal

O material examinado de *Hirtella racemosa* Lam. foi coletado no município de Itamaracá-PE, a cerca de 50 km do Recife, com coordenadas: 07°45'00" S, 34°49'30" W limitando-se ao norte com Goiana, ao sul com Igarassu, a leste com Oceano Atlântico e a oeste com Itapissuma. Após coleta, exemplares dessecados e prensados foram depositados no Herbário UFP – Geraldo Muniz, da Universidade Federal de Pernambuco e também no Herbário IPA – Dárdano de Andrade Lima, obtendo-se número de tombamento 58.372 e 86.753, respectivamente.

#### 3.2. Microscopia

Folhas adultas e sem danos visíveis foram removidas de cada indivíduo e fixadas na solução FAA 50 (formol, ácido acético e álcool etílico a 50%).

Lâminas semipermanentes, montadas em glicerina aquosa 50% foram produzidas com secções transversais (JOHANSEN, 1940), à mão livre, do caule e das folhas, utilizando pecíolo de embaúba como suporte, clarificados com hipoclorito de sódio 50% e coradas com azul de metileno 1% (solução aquosa) e safranina alcoólica 1%. Fragmentos epidérmicos, de ambas as faces foliares foram obtidos após dissociação, por imersão em solução de hipoclorito de sódio a 20% por um período de 48 – 72 horas (KRAUTER, 1985).

As descrições anatômicas são baseadas em Metcalf e Chalk (1988). As observações e análises foram realizadas com imagens digitais, utilizando o programa de análise *Image Tool* (WILCOX et al., 2002).

## 4. Resultados e Discussão

### 4.1. Caule

A espécie apresenta caule de contorno circular, estrutura secundária com revestimento de periderme com 2-4 camadas de súber, presença de lenticelas, idioblastos contendo drusas no córtex e floema (Figura 5A). Faixa unisseriada de fibras de esclerênquima (Figura 5B, seta sólida). Feixe vascular contínuo, do tipo colateral, e região medular contendo parênquima incolor.

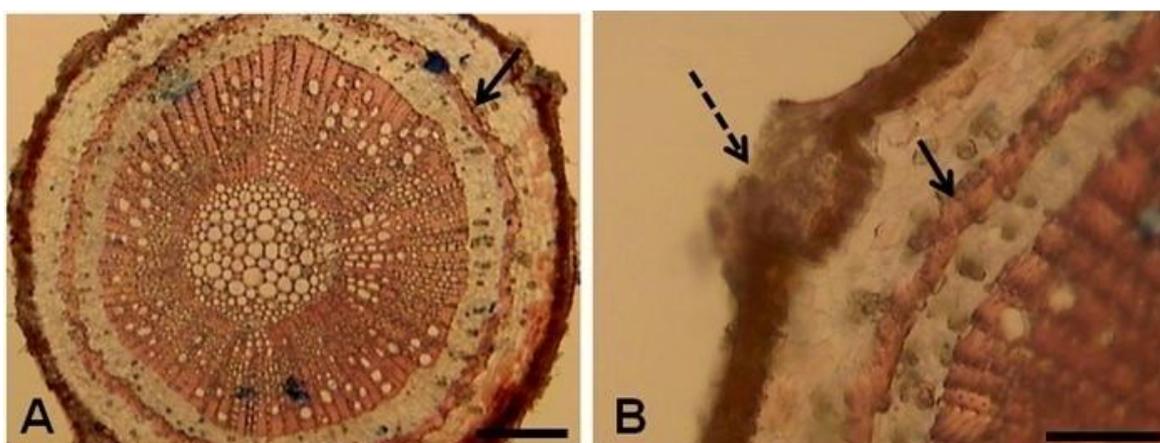


Figura 5. Vista transversal do caule de *H. racemosa*. A. Aspecto geral mostrando faixa de esclerênquima (seta); B. Detalhe do córtex caulinar mostrando lenticela (seta tracejada) e faixa de esclerênquima (seta sólida). Barras: A. 200 $\mu$ m; B. 100  $\mu$ m.

### 4.2. Folha

Folha apresentando epiderme com pelos tectores simples e unicelulares (Figura 6), com base de células em disposição radial e paredes anticlinais retas. Os pelos estão distribuídos, preferencialmente, sobre as nervuras (Figura 6A), em ambas as faces, e mais abundantes na face abaxial. Estômatos do tipo paracítico estão presentes apenas na face abaxial (Figura 7).

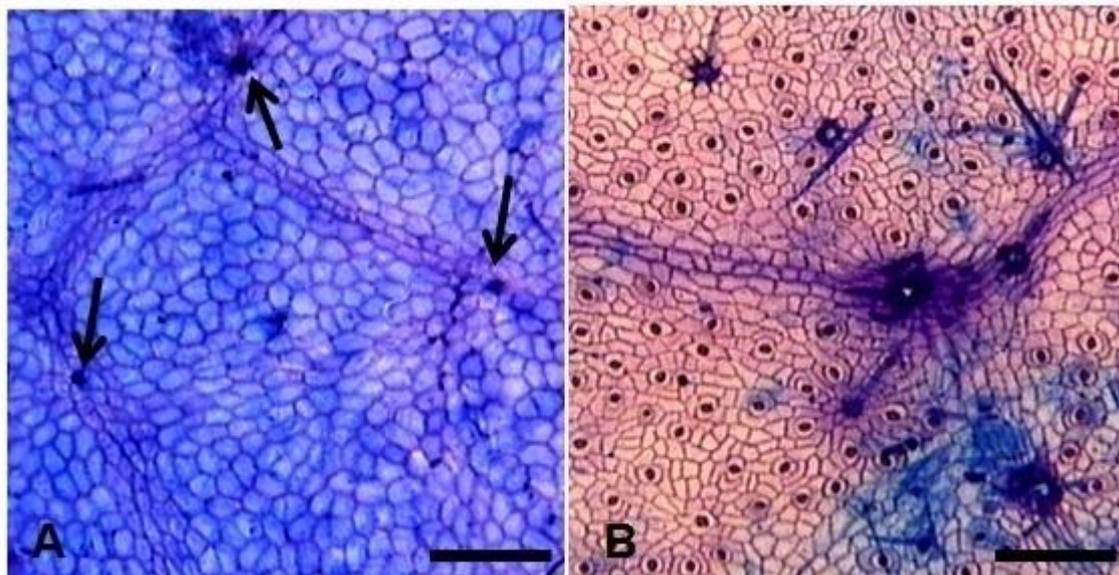


Figura 6. Vista frontal da epiderme foliar de *H. racemosa*. A. Face adaxial mostrando pelo tector sobre as nervuras (setas); B. Face abaxial mostrando pelos tectores. Barras: 200 $\mu$ m.

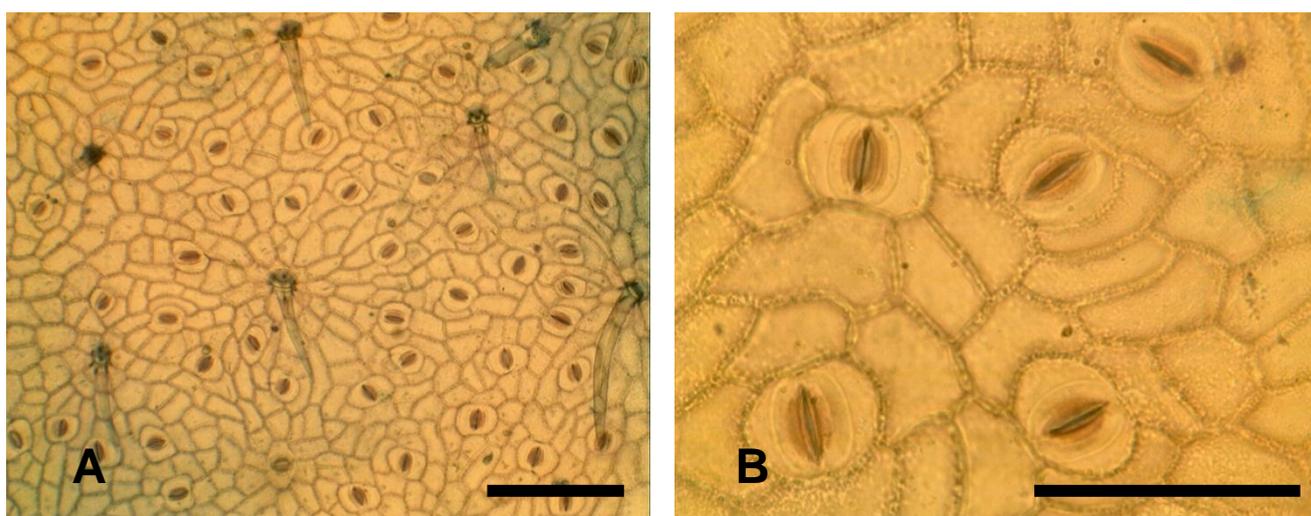


Figura 7. Vista frontal da epiderme foliar de *H. racemosa*. A. Face abaxial evidenciando pêlos tectores e estômatos; B. Detalhe de estômatos paracíticos. Barras: A. 200 $\mu$ m; B. 50  $\mu$ m.

O mesofilo é dorsiventral, com uma camada de células de parênquima paliádico e cinco camadas de células de parênquima esponjoso. Imediatamente abaixo da face adaxial da epiderme é encontrada uma camada com grandes células incolores semelhante a uma hipoderme (Figura 7A). Idioblastos contendo drusas estão presentes no parênquima, especialmente sobre ambas as costelas da nervura principal (Figura 7B).

A presença de estruturas como idioblastos contendo cristais (drusas), em sua grande maioria de oxalato de cálcio, são comuns em espécies estabelecidas em ambientes com grande quantidade de sais no solo (ARRUDA, VIGILIO, BARROS, 2009; COSTA, CHAGAS, PIMENTEL, 2010), como é o caso de *H. racemosa*, que é mais facilmente encontrada em áreas de restinga e regiões litorâneas próximas a grandes reservatórios de água salgada/salobra.

A hipoderme é considerada como um auxiliar na proteção contra a perda de água por dessecação, pelo fato dessas células acumularem água em seu interior, e, também, como proteção das células do parênquima clorofiliano contra a ação danosa da radiação solar direta sobre essas células. Boeger e Gluzezak (2006), explicam a presença de tecidos que acumulam água como uma característica de plantas que são encontradas em ambientes salinos.

É observado também uma faixa de fibras de esclerênquima que circunda o feixe vascular da nervura principal com extensões em direção à face adaxial da folha (Figura 8). Nervura principal apresentando feixe vascular do tipo colateral aberto (Figura 8B).

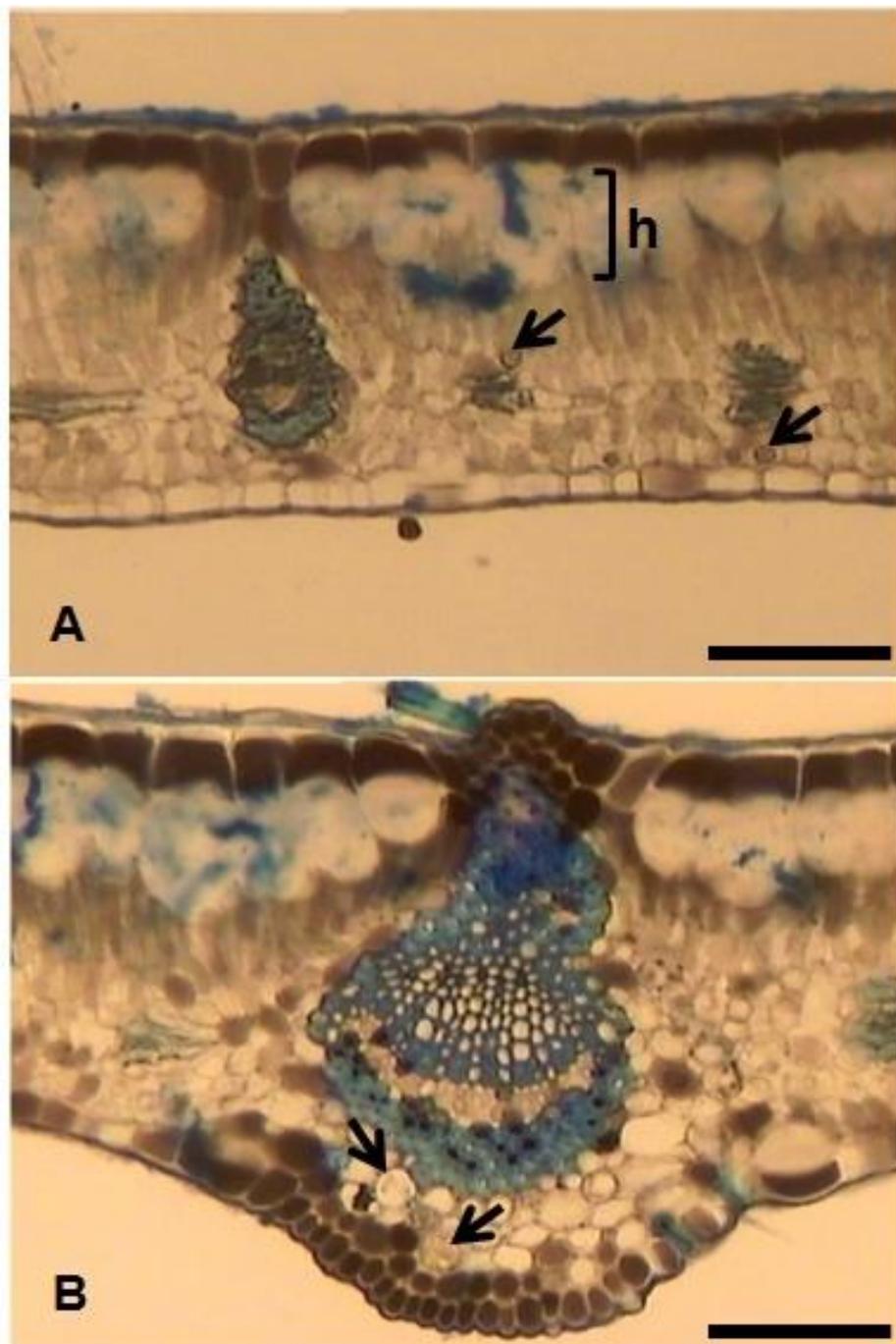


Figura 8. Mesofilo de *H. racemosa*. A. Vista transversal mostrando hipoderme (h) e drusas (setas). B. Vista transversal de nervura central evidenciando a presença de drusas (setas). Barras: 100µm.

## 5. Conclusão

Como descrito por Metcalfe e Chalk (1988) de forma geral para a família Chrysobalanaceae, *H. racemosa* apresenta estruturas morfológicas comuns a outros representantes deste taxa. Estômatos paracíticos somente na face abaxial, presença de hipoderme, mesofilo predominantemente dorsiventral e veias com feixes vasculares cercados por fibras esclerenquimáticas corroboram a descrição geral da família.

Visto que não consta na literatura dados sobre a caracterização microscópica da espécie, os resultados obtidos contribuem como ferramenta para caracterização botânica de *Hirtella racemosa*.

# CAPÍTULO II

# Capítulo II: FITOQUÍMICA E ATIVIDADES BIOLÓGICAS PRELIMINARES DE *Hirtella racemosa* Lam.

## 1. Introdução

Dentre todas as fontes de substâncias biologicamente ativas existentes, o uso de plantas é certamente uma das estratégias mais bem sucedidas (FARNSWORTH *et al.*, 1985). A pesquisa de atividades biológicas utilizando material vegetal é fascinante por envolver conhecimentos interdisciplinares, tal como a etnofarmacologia, química, ciências biológicas e médicas.

*H. racemosa* é uma espécie com potencial farmacológico inexplorado, mas possui o precedente bastante favorável de outros exemplares de Chrysobalanaceae que são ricos em indicações de usos populares e atividades biológicas.

### 1.1. Fitoquímica da Família Chrysobalanaceae

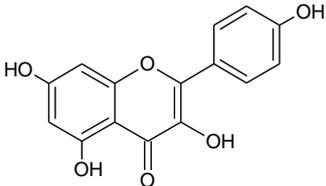
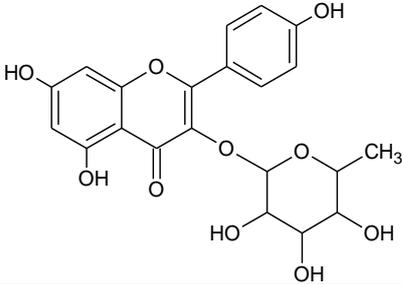
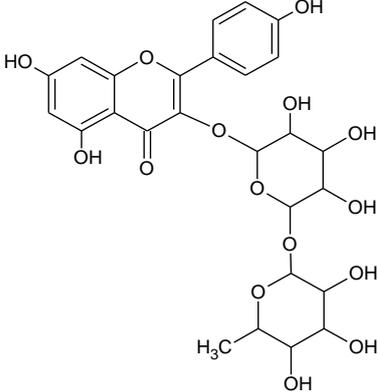
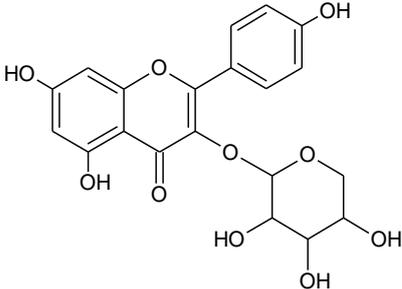
Há ainda poucos estudos que abordem a composição química de espécies de Chrysobalanaceae além dos gêneros *Licania* e *Parinari*. Nota-se que não há estudos com outros gêneros da família, tal como *Hirtella*, *Dactyladenia*, *Exellodendron* ou *Grangeria*.

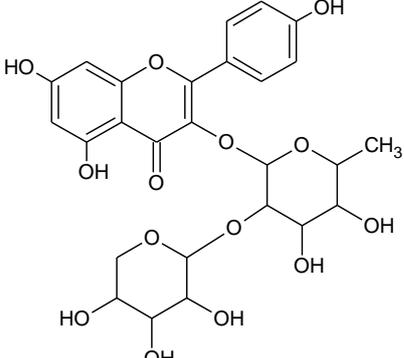
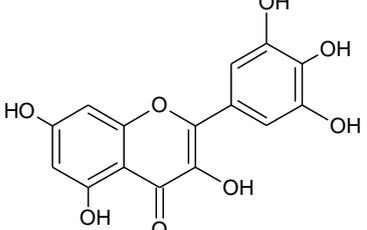
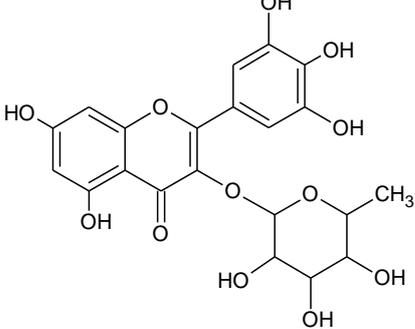
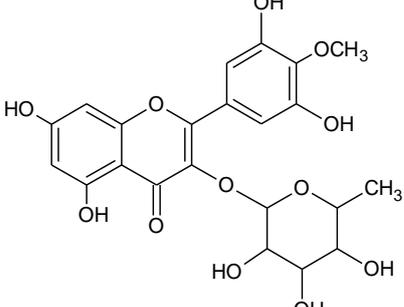
Os primeiros estudos ocorreram na década de 60 e abordavam a presença de agliconas flavonoídicas em espécies de Rosaceae, incluindo dois taxos de Chrysobalanaceae: *Chrysobalanus icaco* e *Licania rigida*, nos quais identificou-se a miricetina (CHAFFAUD; EMBERGER, 1960).

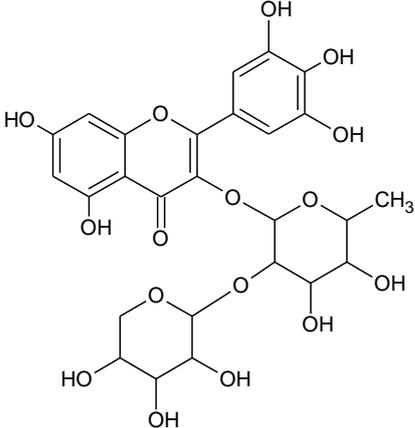
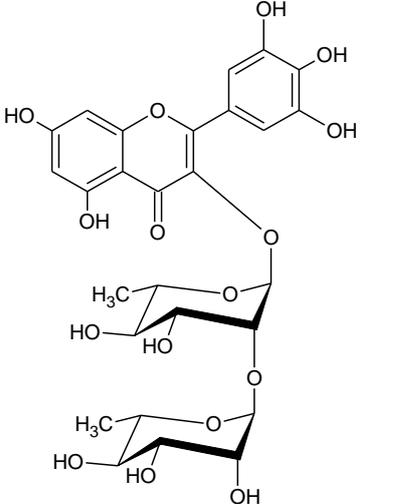
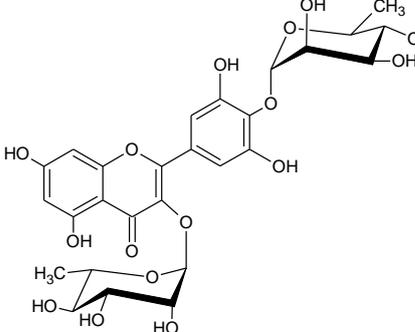
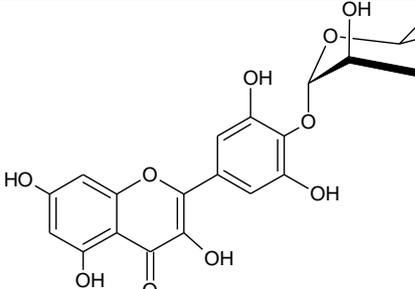
Posteriormente, a investigação de 31 espécies do gênero *Parinari*, identificou flavonóides como miricetina, quercetina, kaempferol e seus glicosídeos (CORADIN; GIANNASE; PRANCE 1985). Estudos com espécies do gênero *Licania* demonstram que assim como em *Parinari*, resultam no isolamento e caracterização de duas classes majoritárias de compostos: metabólitos triterpênicos e flavonoídicos

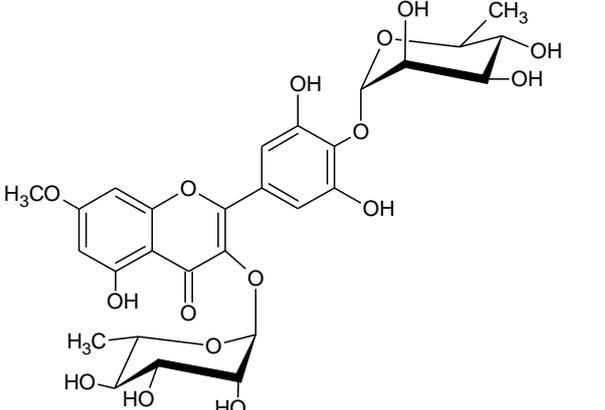
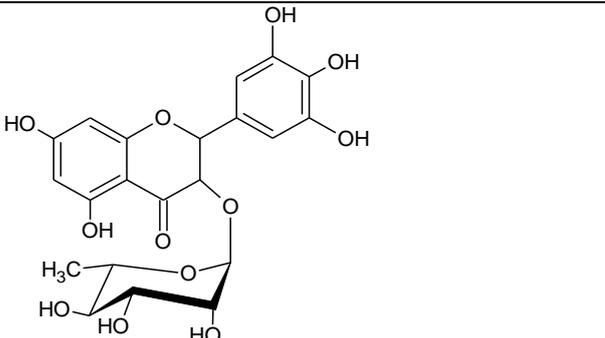
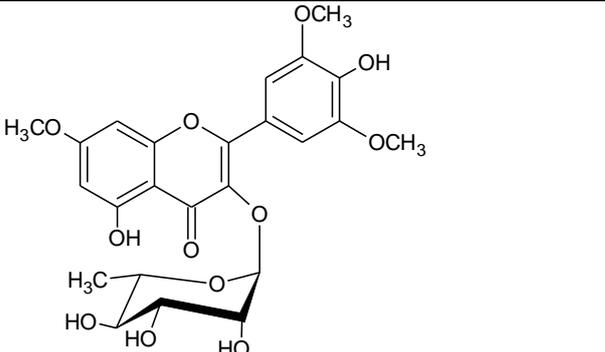
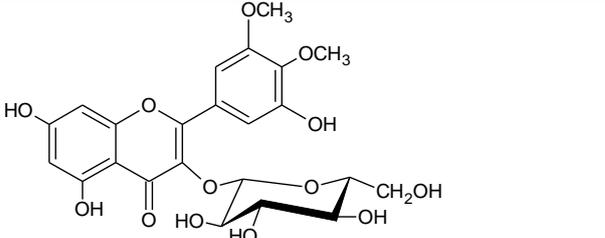
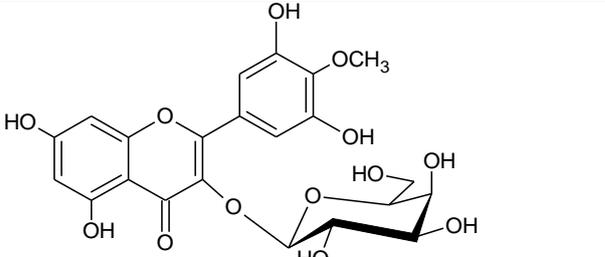
(CASTILHO *et al.*, 2005). De forma particular, diterpenos de núcleo kaurano em espécies de Parinari. As estruturas químicas dos constituintes de espécies de Chrysobalanaceae são apresentadas no Quadro 1.

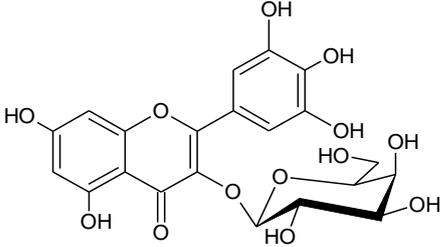
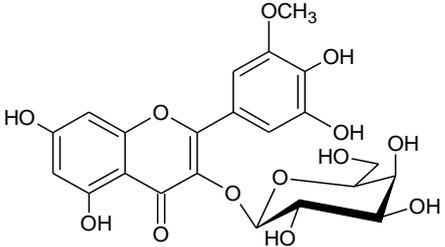
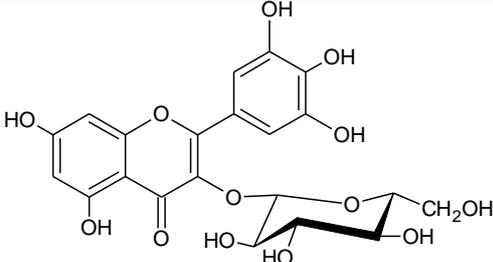
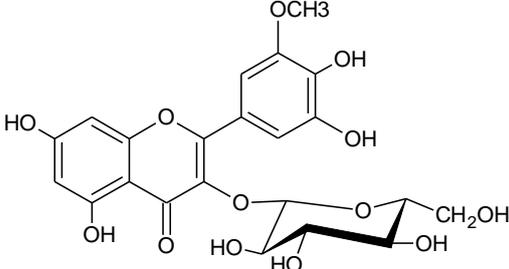
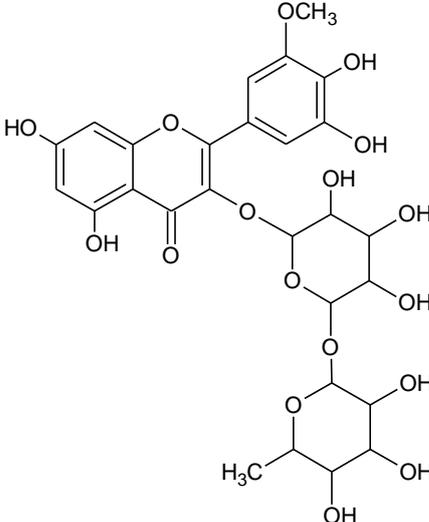
Quadro 1 – Estruturas químicas dos constituintes de Chrysobalanaceae

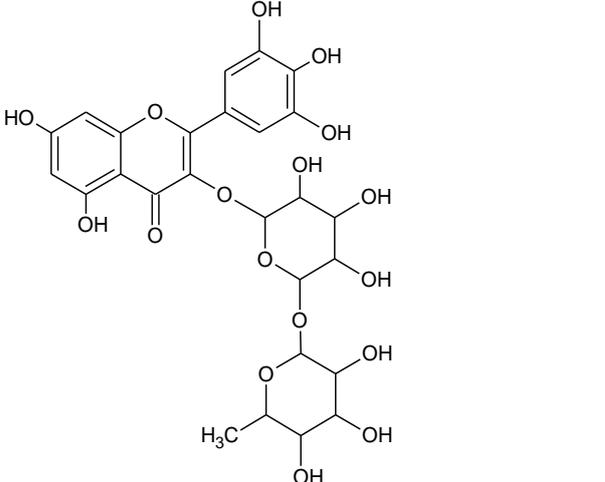
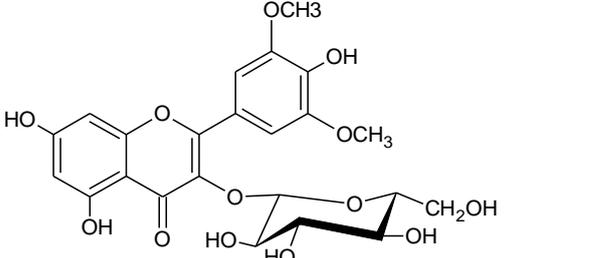
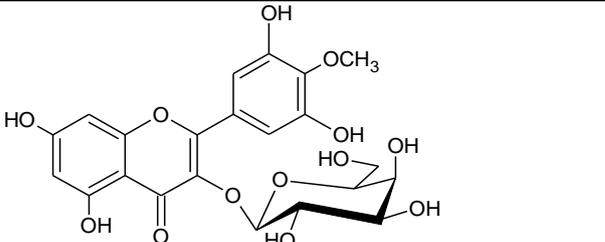
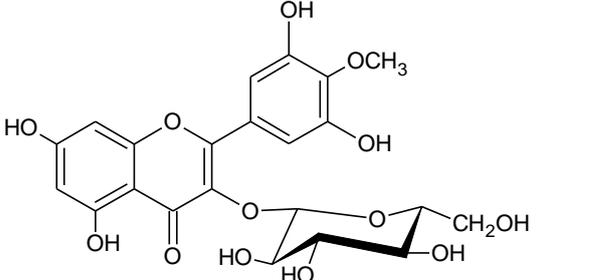
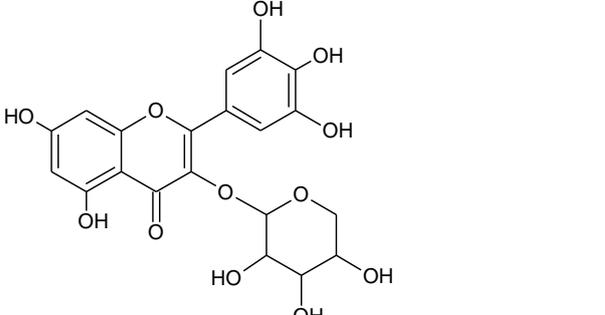
Constituinte	Estrutura	Espécies	Referência
Kaempferol		<i>Licania pyrifolia</i>	(BILIA <i>et al.</i> , 1996)
Kaempferol-3-ramnosídeo		<i>L. pyrifolia</i> <i>L. licaniaeflora</i>	(BILIA <i>et al.</i> , 1996) (BRACA <i>et al.</i> , 2002b)
Kaempferol-3-rutinosídeo		<i>L. apetala</i> <i>Parinari curatellifolia</i> <i>P. hypochrysea</i> <i>P. excelsa</i> <i>P. campestris</i> <i>P. occidentalis</i> <i>P. anamensis</i> <i>P. oblongifolia</i> <i>P. nonda</i>	(BRACA <i>et al.</i> , 2002b) (CORADIN, GIANNASE & PRANCE 1985).
Kaempferol-3-arabinosídeo		<i>Licania pyrifolia</i>	(BILIA <i>et al.</i> , 1996)

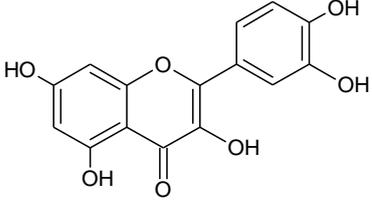
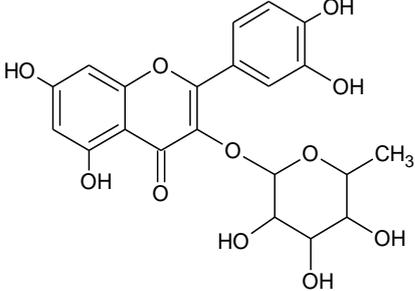
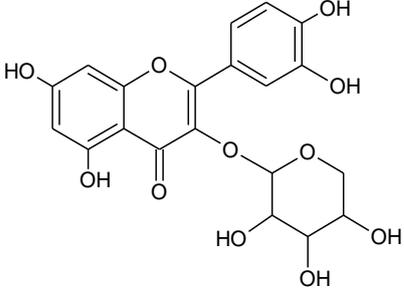
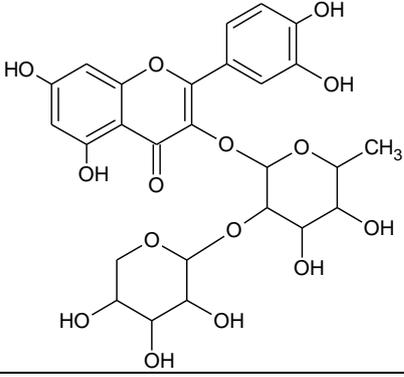
Kaempferol-3-(2''-xilosil) ramnosídeo		<i>L. pyrifolia</i>  <i>L. licaniaeflora</i>	(BILIA <i>et al.</i> , 1996)  (BRACA <i>et al.</i> , 2002b)
Miricetina		<i>L. pyrifolia</i>  <i>L. densiflora</i>	(BILIA <i>et al.</i> , 1996)  (BRACA <i>et al.</i> , 2002b)
Miricetina-3-ramnosídeo		<i>Licania pyrifolia</i>  <i>L. heteromorpha</i>  <i>L. densiflora</i> <i>L. apetala</i>  <i>Parinari curatellifolia</i> <i>P. capensis</i> <i>P. curatellifolia</i> <i>P. congolana</i> <i>P. chapelieri</i>	(BILIA <i>et al.</i> , 1996)  (BRACA <i>et al.</i> , 1999b)  (BRACA <i>et al.</i> , 2002b)  (CORADIN, GIANNASE & PRANCE 1985).
Miricetina-4'-metóxi-3-ramnosídeo		<i>L. heteromorpha</i>  <i>L. densiflora</i>	(BRACA <i>et al.</i> , 1999b)  (BRACA <i>et al.</i> , 2001b)

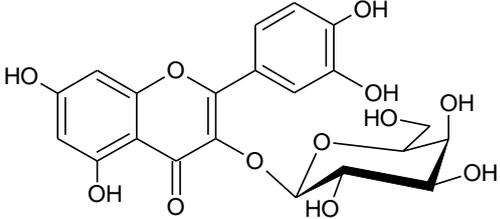
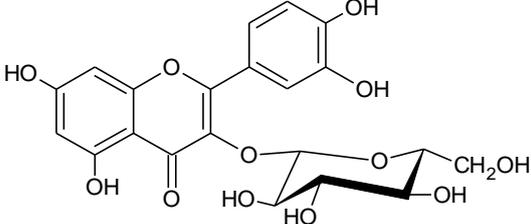
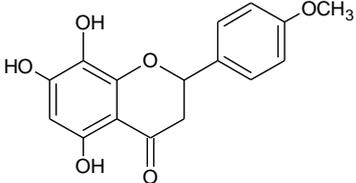
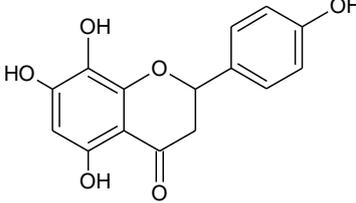
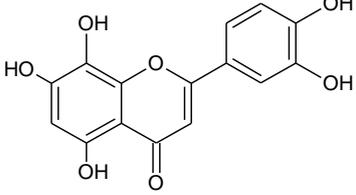
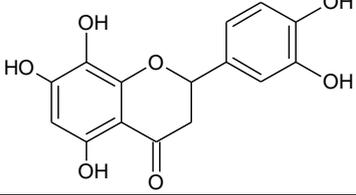
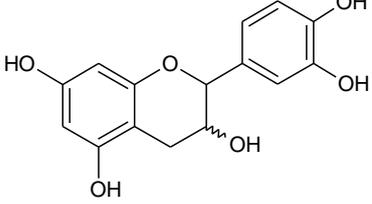
<p>Miricetina-3-(2''-xilosil) ramnosídeo</p>		<p><i>L. pyrifolia</i></p> <p><i>L. carii</i></p>	<p>(BILIA <i>et al.</i>, 1996)</p> <p>(BILIA; MENDEZ; MORELLI, 1996)</p>
<p>Miricetina 3-O-<math>\alpha</math>-L-(2''-O-<math>\alpha</math>-L-ramnopiranosil)-ramnopiranosídeo</p>		<p><i>L. densiflora</i></p>	<p>(BRACA <i>et al.</i>, 1999a)</p>
<p>Miricetina 3,4'-di-O-<math>\alpha</math>-L-ramnopiranosídeo</p>		<p><i>L. heteromorpha</i></p> <p><i>L. heteromorpha</i></p>	<p>(BRACA <i>et al.</i>, 1999c)</p> <p>(BRACA <i>et al.</i>, 1999b)</p>
<p>Miricetina-4'-ramnosídeo</p>		<p><i>L. apetala</i></p>	<p>(BRACA <i>et al.</i>, 2002b)</p>

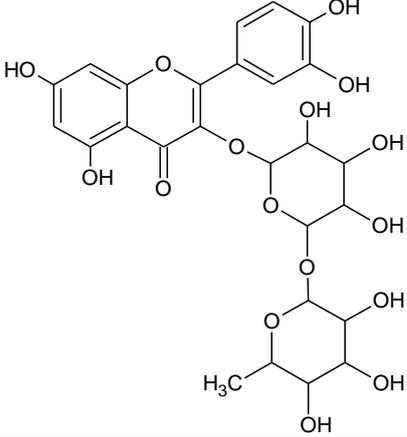
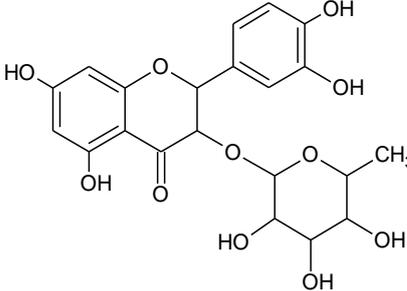
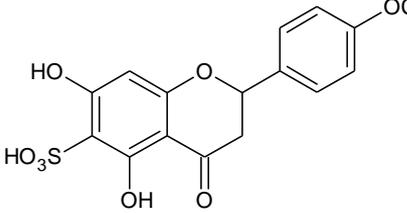
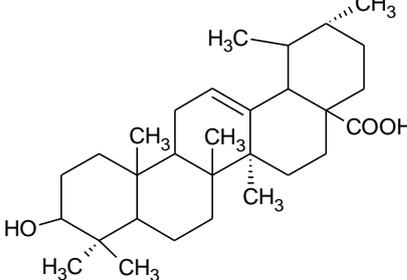
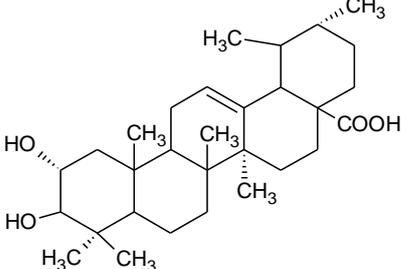
<p>Miricetina 7-metil éter 3,4'-di-O-<math>\alpha</math>-L-ramnopiranosídeo</p>		<p><i>L. heteromorpha</i></p>	<p>(BRACA <i>et al.</i>, 1999c)</p>
<p>Dihidromiricetina-3-ramnosídeo</p>		<p><i>L. licaniaeflora</i></p>	<p>(BRACA <i>et al.</i>, 2002b)</p>
<p>Miricetina 3',5'-dimetil-éter-3-ramnosídeo</p>		<p><i>L. densiflora</i></p>	<p>(BRACA <i>et al.</i>, 2001b)</p>
<p>3',4'-dimetilmiricetina-3-O-<math>\beta</math>-D-glucopiranosídeo</p>		<p><i>L. densiflora</i></p>	<p>(BRACA <i>et al.</i>, 1999a)</p>
<p>Miricetina 4'-metil éter 3-O-<math>\beta</math>-D-galactopiranosídeo</p>		<p><i>L. heteromorpha</i></p>	<p>(BRACA <i>et al.</i>, 1999c)</p>

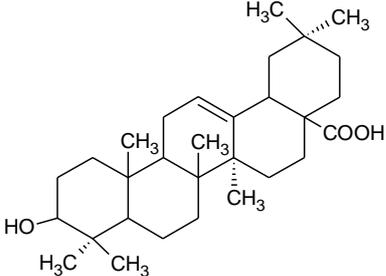
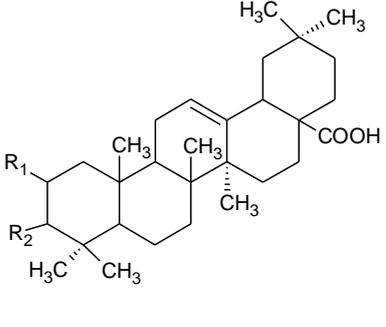
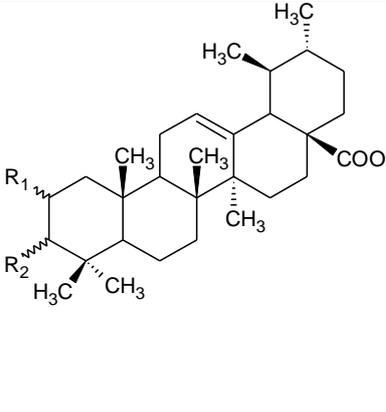
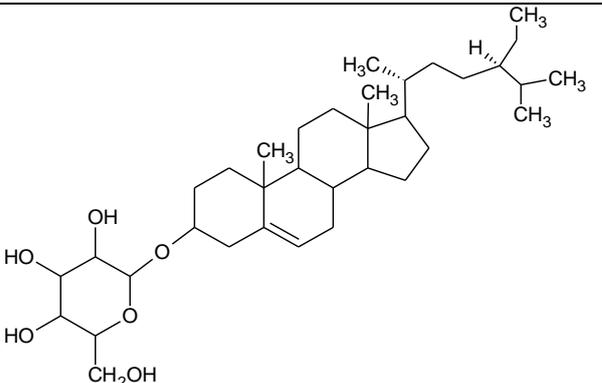
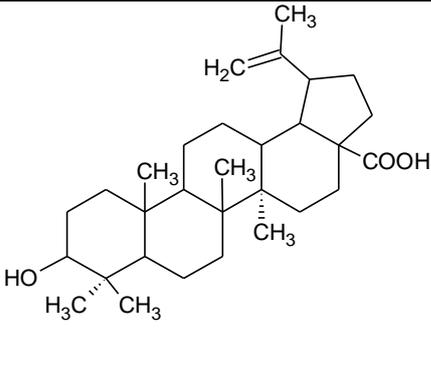
<p>Miricetina-3-galactosídeo</p>		<p><i>L. carii</i></p> <p><i>L. licaniaeflora</i> <i>L. heteromorpha</i> <i>L. densiflora</i></p> <p><i>Parinari curatellifolia</i> <i>P. capensis</i> <i>P. congolana</i> <i>P. chapelieri</i></p>	<p>(BILIA; MENDEZ; MORELLI, 1996)</p> <p>(BRACA <i>et al.</i>, 2002b) (BRACA <i>et al.</i>, 1999b)</p> <p>(CORADIN, GIANNASE &amp; PRANCE 1985).</p>
<p>Miricetina-3'-metil-éter-3-galactosídeo</p>		<p><i>L. densiflora</i></p>	<p>(BRACA <i>et al.</i>, 2001b)</p>
<p>Miricetina-3-glucosídeo</p>		<p><i>L. carii</i></p> <p><i>L. densiflora</i></p>	<p>(BILIA; MENDEZ; MORELLI, 1996)</p> <p>(BRACA <i>et al.</i>, 1999b)</p>
<p>Miricetina 3'-metil-éter-3-glucosídeo</p>		<p><i>L. densiflora</i></p>	<p>(BRACA <i>et al.</i>, 2001b)</p>
<p>Miricetina-3'-metil-3-rutinosídeo</p>		<p><i>L. carii</i></p>	<p>(BILIA; MENDEZ; MORELLI, 1996)</p>

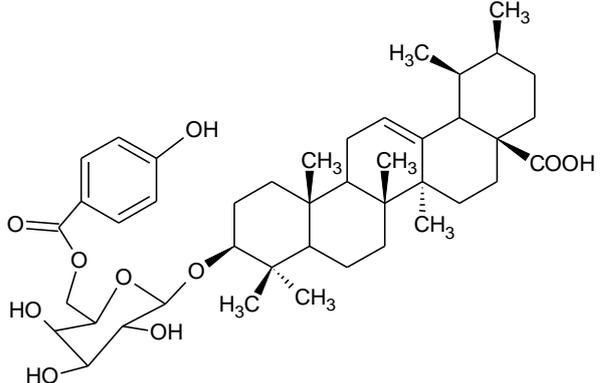
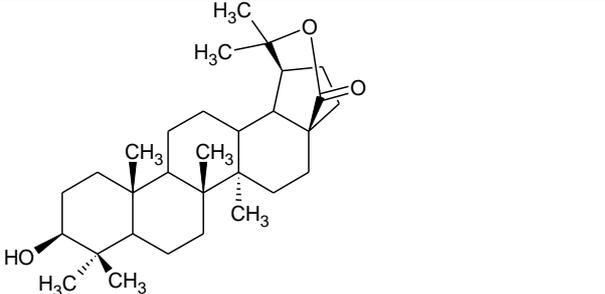
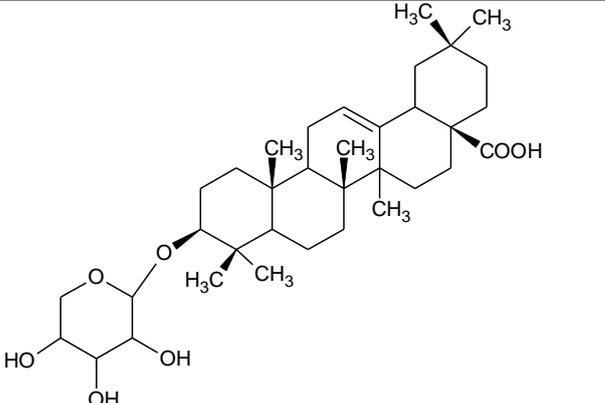
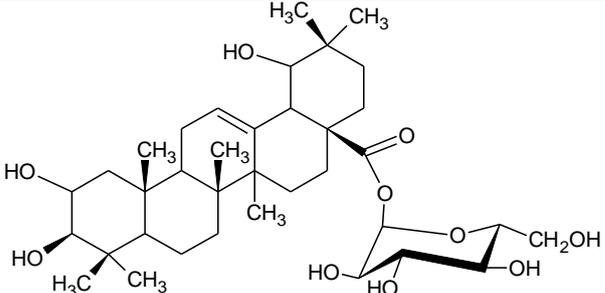
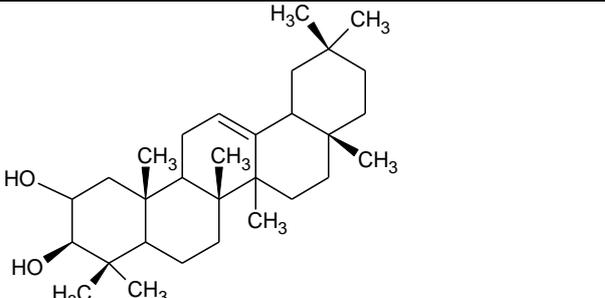
Miricetina-3-rutinosídeo		<i>L. carii</i>	(BILIA; MENDEZ; MORELLI, 1996)
Miricetina 3',5'-dimetil-éter-3-O-glucosídeo		<i>L. densiflora</i>	(BRACA <i>et al.</i> , 2001b)
Miricetina-4'-metóxi-3-galactosídeo		<i>L. heteromorpha</i>	(BRACA <i>et al.</i> , 1999b)
Miricetina-4'-metóxi-3-glucosídeo		<i>L. heteromorpha</i>	(BRACA <i>et al.</i> , 1999b)
Miricetina-3-arabinosídeo		<i>L. licaniaeflora</i>	(BRACA <i>et al.</i> , 2002b)

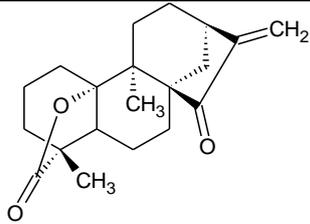
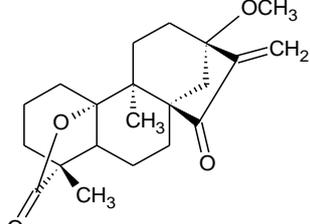
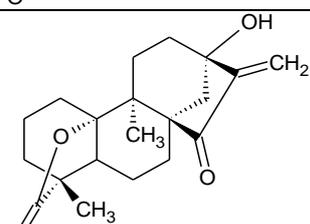
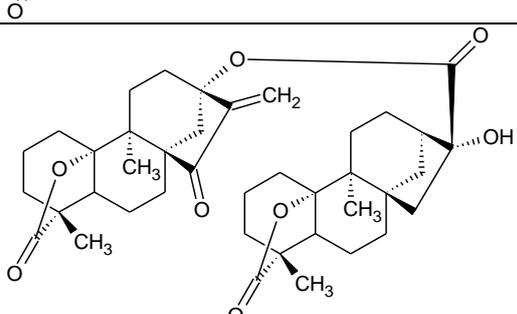
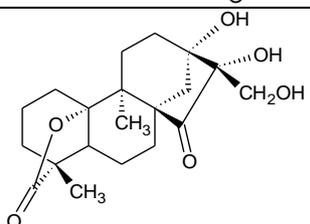
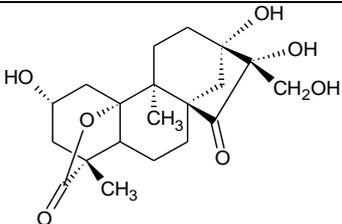
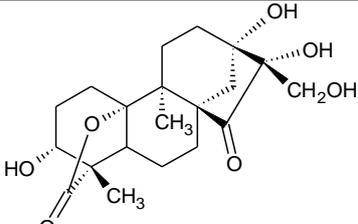
Quercetina		<i>L. pyrifolia</i>  <i>L. pittieri</i>  <i>L. densiflora</i>	(BILIA <i>et al.</i> , 1996)  (MENDEZ, BILIA, MORELLI, 1995)  (BRACA <i>et al.</i> , 1999b).
Quercetina-3-ramnosídeo		<i>L. pyrifolia</i>  <i>L. apetala</i>  <i>L. licaniaeflora</i>  <i>L. pittieri</i>  <i>L. densiflora</i>  <i>Parinari sp.</i>	(BILIA <i>et al.</i> , 1996)  (BRACA <i>et al.</i> , 2002b)  (BRACA <i>et al.</i> , 2002b)  (MENDEZ; BILIA; MORELLI, 1995)  (BRACA <i>et al.</i> , 1999b)  (CORADIN, GIANNASE & PRANCE 1985).
Quercetina-3-arabinosídeo		<i>L. pyrifolia</i>  <i>L. licaniaeflora</i>  <i>L. apetala</i>  <i>L. pittieri</i>	(BILIA <i>et al.</i> , 1996)  (BRACA <i>et al.</i> , 2002b)  (BRACA <i>et al.</i> , 2002b)  (MENDEZ; BILIA; MORELLI, 1995)
Quercetina-3-(2''-xilosil) ramnosídeo		<i>L. pyrifolia</i>  <i>L. carii</i>	(BILIA <i>et al.</i> , 1996)  (BILIA <i>et al.</i> , 1996)

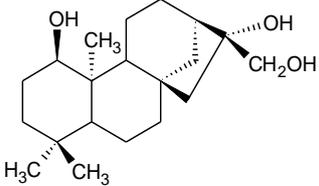
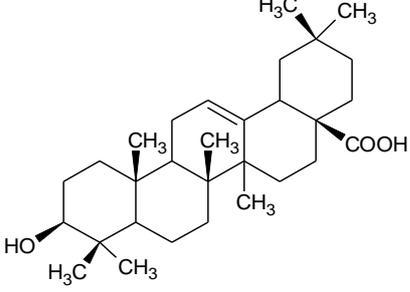
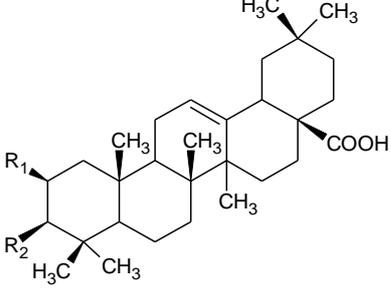
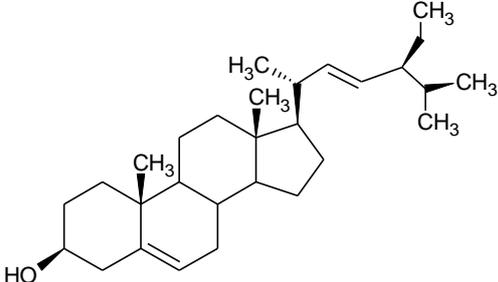
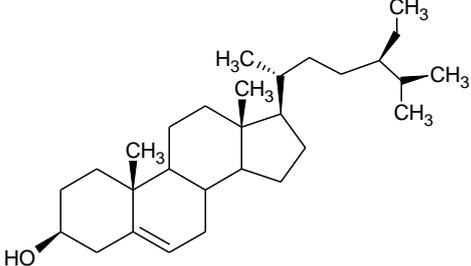
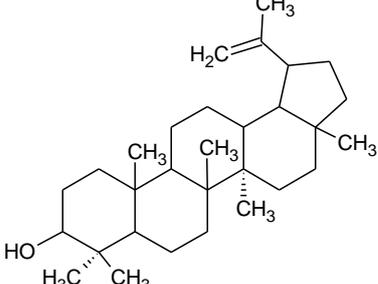
<p>Quercetina-3-galactosídeo</p>		<p><i>L. carii</i></p> <p><i>L. licaniaeflora</i></p> <p><i>L. apetala</i></p> <p><i>L. pittieri</i></p>	<p>(BILIA; MENDEZ; MORELLI, 1996)</p> <p>(BRACA <i>et al.</i>, 2002b)</p> <p>(BRACA <i>et al.</i>, 2002b)</p> <p>(MENDEZ; BILIA; MORELLI, 1995)</p>
<p>Quercetina 3-glucosídeo</p>		<p><i>L. carii</i></p> <p><i>L. pittieri</i></p>	<p>(BILIA; MENDEZ; MORELLI, 1996)</p> <p>(MENDEZ; BILIA; MORELLI, 1995)</p>
<p>Narigenina 8-hidróxi-4'-metil éter</p>		<p><i>L. densiflora</i></p>	<p>(BRACA <i>et al.</i>, 1999a)</p>
<p>8-Hidróxi-naringenina</p>		<p><i>L. pyrifolia</i></p> <p><i>L. licaniaeflora</i></p>	<p>(BILIA <i>et al.</i>, 1996)</p> <p>(BRACA <i>et al.</i>, 2002b)</p>
<p>Hipoletina</p>		<p><i>L. pyrifolia</i></p>	<p>(BILIA <i>et al.</i>, 1996)</p>
<p>8-Hidróxi-eriodictiol</p>		<p><i>L. pyrifolia</i></p>	<p>(BILIA, <i>et al.</i> 1996)</p>
<p>Catequina (trans) Epicatequina (cis)</p>		<p><i>L. pittieri</i></p> <p><i>L. densiflora</i></p>	<p>(MENDEZ; BILIA; MORELLI, 1995)</p> <p>(BRACA <i>et al.</i>, 1999b)</p>

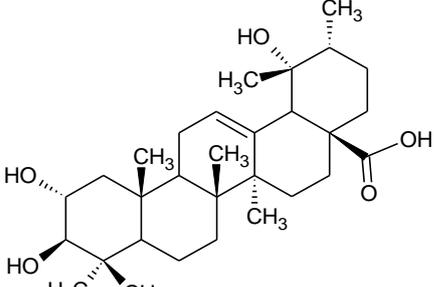
Rutina		<i>L. carii</i>  <i>L. apetala</i>	(BILIA; MENDEZ; MORELLI, 1996)  (BRACA <i>et al.</i> , 2002b)
Taxifolina-3-ramnosídeo		<i>L. apetala</i>  <i>L. licaniaeflora</i>	(BRACA <i>et al.</i> , 2002b)
Ácido flavona-sulfônico, 4'-metoxi-5,7-diidroxi-flavona-6-sulfônico		<i>L. arianae</i>	(CARVALHO <i>et al.</i> , 2008)
Ácido ursólico		<i>L. carii</i>  <i>L. tomentosa</i>  <i>L. pittieri</i>	(BILIA; MENDEZ; MORELLI, 1996)  (CASTILHO; KAPLAN, 2008)  (MENDEZ; BILIA; MORELLI, 1995)
Ácido 2α-hidróxi-ursólico		<i>L. carii</i>	(BILIA; MENDEZ; MORELLI, 1996)

<p>Ácido maslínico</p>		<p><i>L. carii</i></p> <p><i>L. licaniaeflora</i></p>	<p>(BILIA; MENDEZ; MORELLI, 1996)</p> <p>(BRACA <i>et al.</i>, 2001a)</p>
<p>Ácido 3-<i>O-trans-p</i>-cumaroil maslínico : R<sub>1</sub>= OH, R<sub>2</sub>=<i>trans-p</i>-cumaroil</p> <p>Ácido 3-<i>O-cis-p</i>-cumaroil maslínico: R<sub>1</sub>= OH, R<sub>2</sub>=<i>cis-p</i>-cumaroil</p>		<p><i>L. heteromorpha</i></p>	<p>(BRACA <i>et al.</i>, 1999b)</p>
<p>Ácido 3β-<i>O-trans-p</i>-cumaroil-2α-hidróxi-urs-12-en-28-óico: R<sub>1</sub>= αOH, R<sub>2</sub>=β-<i>O-trans</i>-cumaroil</p> <p>Ácido 3β-<i>O-cis-p</i>-cumaroyl-2α-hidróxi-urs-12-en-28-óico: R<sub>1</sub>= αOH, R<sub>2</sub>=β-<i>O-cis</i>-cumaroil</p>		<p><i>L. heteromorpha</i></p>	<p>(BRACA <i>et al.</i>, 1999b)</p>
<p>β-sitosterol-3-<i>O</i>-glucosídeo</p>		<p><i>L. carii</i></p>	<p>(BILIA <i>et al.</i>, 1996)</p>
<p>Ácido betulínico</p>		<p><i>L. carii</i></p> <p><i>L. tomentosa</i></p> <p><i>L. heteromorpha</i></p> <p><i>L. licaniaeflora</i></p>	<p>(BILIA; MENDEZ; MORELLI, 1996)</p> <p>(CASTILHO; KAPLAN, 2008)</p> <p>(BRACA <i>et al.</i>, 1999b)</p> <p>(BRACA <i>et al.</i>, 2001a)</p>

<p>Ácido 3-O-[6'-O-4-hidroxibenzoil]-β-D-galactopiranosil-ursa-12-en-28-óico</p>		<p><i>L. arianae</i></p>	<p>(CARVALHO <i>et al.</i>, 2008)</p>
<p>Licanolídeo</p>		<p><i>L. tomentosa</i></p>	<p>(CASTILHO <i>et al.</i>, 2005)</p>
<p>Ácido oleanólico 3-O-arabinosídeo</p>		<p><i>L. licaniaeflora</i></p>	<p>(BRACA <i>et al.</i>, 2001a)</p>
<p>Arjunetina</p>		<p><i>L. licaniaeflora</i></p>	<p>(BRACA <i>et al.</i>, 2001a)</p>
<p>Olean-12-en-2α,3β-diol</p>		<p><i>L. licaniaeflora</i></p>	<p>(BRACA <i>et al.</i>, 2001a)</p>

15-Oxozoapatlina		<i>P. curatellifolia</i>	(LEE <i>et al.</i> , 1996)
13-Metóxi-15-oxozoapatlina		<i>P. curatellifolia</i>	(LEE <i>et al.</i> , 1996)
13-Hidróxi-15-oxozoapatlina		<i>P. curatellifolia</i> <i>P. campestris</i>	(LEE <i>et al.</i> , 1996) (BRACA <i>et al.</i> , 2005)
Ácido 15-oxozoapatlina-13 $\alpha$ -yl-10' $\alpha$ , 16' $\alpha$ -dihidroxi-9' $\alpha$ -metil-20'-nor-kaurano-19'-óico $\gamma$ -lactona-17'-óico		<i>P. campestris</i>	(BRACA <i>et al.</i> , 2005)
Ácido 10 $\alpha$ , 13 $\alpha$ , 16 $\alpha$ , 17 $\alpha$ -tetrahidroxi-9 $\alpha$ -metil-15-oxo-20-nor-kaurano-19-óico $\gamma$ -lactona		<i>P. campestris</i>	(BRACA <i>et al.</i> , 2005)
Ácido 2 $\alpha$ , 10 $\alpha$ , 13 $\alpha$ , 16 $\alpha$ , 17-pentahidróxi-9 $\alpha$ -metil-15-oxo-20-nor-kaurano-19-óico (19,10)-lactona		<i>Parinari campestris</i>	(BRACA <i>et al.</i> , 2005)
Ácido 3 $\alpha$ , 10 $\alpha$ , 13 $\alpha$ , 16 $\alpha$ , 17-pentahidróxi-9 $\alpha$ -metil-15-oxo-20-nor-kaurano-19-óico $\gamma$ -lactona		<i>P. campestris</i>	(BRACA <i>et al.</i> , 2005)

<p>1<math>\beta</math>, 16<math>\alpha</math>, 17-trihidr<math>\acute{o}</math>xi-<i>ent</i>-kaurano</p>		<p><i>P. campestris</i></p>	<p>(BRACA <i>et al.</i>, 2005)</p>
<p>Ácido olean<math>\acute{o}</math>lico</p>		<p><i>L. tomentosa</i> <i>L. licaniaeflora</i> <i>L. pittieri</i></p>	<p>(CASTILHO; KAPLAN, 2008) (BRACA <i>et al.</i>, 2001a) (MENDEZ, BILIA, MORELLI, 1995)</p>
<p>Ácido alfit<math>\acute{o}</math>lico: R<math>_1</math>=R<math>_2</math>=OH  Ácido 3-<i>O</i>-<i>trans</i>-<i>p</i>-cumaroil alfit<math>\acute{o}</math>lico: R<math>_1</math>= OH, R<math>_2</math>=<i>trans</i>-<i>p</i>-cumaroil  Ácido 3-<i>O</i>-<i>cis</i>-<i>p</i>-cumaroil alfit<math>\acute{o}</math>lico: R<math>_1</math>= OH, R<math>_2</math>=<i>cis</i>-<i>p</i>-cumaroil</p>		<p><i>L. heteromorpha</i></p>	<p>(BRACA <i>et al.</i>, 1999b)</p>
<p>Estigmasterol</p>		<p><i>L. tomentosa</i></p>	<p>(CASTILHO; KAPLAN, 2008)</p>
<p>Sitosterol</p>		<p><i>L. tomentosa</i></p>	<p>(CASTILHO; KAPLAN, 2008)</p>
<p>Lupeol</p>		<p><i>L. tomentosa</i></p>	<p>(CASTILHO; KAPLAN, 2008)</p>

Ácido Tomêntico		<i>L. tomentosa</i>	(CASTILHO; KAPLAN, 2008)
-----------------	---	---------------------	--------------------------

A família Chrysobalanaceae ainda apresenta-se como fonte pouco explorada no isolamento e caracterização de seus constituintes químicos. Por isso, pode abrir novos caminhos na descoberta de moléculas com ação terapêutica, candidatas a princípios ativos.

## 1.2. Etnofarmacologia da Família Chrysobalanaceae

Espécies de Chrysobalanaceae são empregadas popularmente para diversos fins na América do Sul e África. Na Venezuela, espécies de *Licania* são cultivadas devido seus frutos comestíveis (TOLEDO; KUBITZKI; PRANCE, 1982) e utilizadas popularmente como anti-inflamatórias (PITTIER, 1978).

No nordeste brasileiro, espécies de *Licania* são conhecidas como oitica e tem suas folhas usadas para tratar diabetes (AGRA *et al.*, 2008), dores estomacais, diarreia e disenteria (CARTAXO; SOUZA; ALBUQUERQUE, 2010). Também é utilizada para tratar diabetes, no Senegal, a casca do caule de *Parinari excelsa* (NDIAYE *et al.*, 2008), e no estado do Pará, *Hirtella racemosa*, tem as folhas utilizadas no preparo de chá também para tratar diabetes (COELHO-FERREIRA, 2009). Na América Latina, *Licania arborea* é utilizada como antifúngica (SVETAZ *et al.*, 2010).

*Chrysobalanus icaco*, também conhecido como abajeru, é um arbusto de médio porte, nativo do litoral do continente americano. É utilizado na medicina popular para o tratamento de leucorréia, hemorragias e diarreia crônica, sendo também conhecido pelo seu efeito diurético e hipoglicêmico (COSTA, 1977; PAULO *et al.*, 2000; VARGAS-SIMON, ARELLANO-OSTOA, GARCIA-VILLANUEVA, 1997). No norte do Brasil, a sua raiz é utilizada para tratar diabetes (COELHO-FERREIRA, 2009).

Espécies do gênero *Parinari*, como *P. curatellifolia* e *P. excelsa* são utilizadas tradicionalmente na África como remédio para desintéria, epilepsia, malária, dor de dente e doenças sexualmente transmissíveis (UYS *et al.*, 2002; ARNOLD, GULUMIAN, 1984). A folha de *Parinari curatellifolia*, no sul da Uganda, é utilizada para tratar dores estomacais (SSEGAWA; KASENENE, 2007), no oeste da África, sua casca do caule é empregada como antihelmíntico (DIEHL *et al.*, 2004). A casca do caule de *Parinari excelsa* é indicada na Guinéa para tratar doenças infecciosas (MAGASSOUBA *et al.*, 2007), no oeste da África, seu fruto é utilizado para tratar diarreia (DIEHL *et al.*, 2004) e na Tanzânia, como antisséptico e no tratamento da malária (KAMUHABWA; NSHIMO; DE WITTE, 2000). *Parinari polyandra* em Ghana, também é indicada popularmente no tratamento da malária (ASASE *et al.*, 2005).

A casca do caule de *Maranthes floribunda*, no oeste da África, é empregada no tratamento de diarreia e desintéria (KONÉ *et al.*, 2004), *Atuna racemosa*, na Polinésia, é utilizada para tratar a náusea da gravidez (OSTRAFF *et al.*, 2000), e no Senegal, é preparado um cigarro da casca do caule de *Neocarya macrophylla* como remédio para mordida de cobra (MOHAGHEGHZADEH *et al.*, 2006).

### 1.3. Atividades Biológicas da Família Chrysobalanaceae

Há estudos que apresentam a propriedade anti-hiperglicêmica de algumas espécies de Chrysobalanaceae, tal como *Chrysobalanus icaco* (PRESTA; PEREIRA, 1987), e *Parinari excelsa*, ratificando seu uso na medicina tradicional (NDIAYE *et al.*, 2008).

Atividade citotóxica é observada no ácido pomólico de *Chrysobalanus icaco* e nos ácidos betulínico e oleanólico de *Licania tomentosa*, os quais mostram capacidade de inibir o crescimento e induzir apoptose na linhagem de células de eritroleucemia (K562) e impedir também a proliferação de Lucena 1, um derivado de K562 vincristina-resistente (FERNANDES *et al.*, 2003). O extrato da raiz de *Licania michauxii* apresenta citotoxicidade para culturas de hepatoma humano (Hep G2) e carcinoma de cólon (Caco-2) (BADISA *et al.*, 2000).

Diterpenos de núcleo *ent*-kaurane isolados da raiz de *Parinari curatellifolia* apresentam atividade citotóxica *in vitro* contra diversas linhagens de células cancerígenas humanas (LEE *et al.*, 1996). *Parinari capensis* possui atividade citotóxica moderada em triagem com linhagens de células de câncer de pulmão, renal e melanoma (FOUCHE *et al.*, 2008).

Diterpenos encontrados em *Parinari capensis* possuem atividade antifúngica (GARO *et al.*, 1997), também atividade antimalarial, porém apresentam alta toxicidade (UYS *et al.*, 2002). O extrato etanólico de *Couepia grandiflora* possui atividade antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* e o extrato hexânico, contra *Pseudomonas aeruginosa* (ZUQUE *et al.*, 2004).

Diterpenos de *Chrysobalanus icaco* apresentam atividade anti-HIV (GUSTAFSON *et al.*, 1991) e o extrato aquoso de suas folhas, potente efeito genotóxico (FERREIRA-MACHADO *et al.*, 2004).

São descritas outras atividades de espécies do gênero *Licania*. Flavonóides quercetínicos das folhas de *L. licaniaeflora* e *L. heteromorpha* apresentam atividade antioxidante (BRACA *et al.*, 2002a; MONTORO *et al.*, 2005). *L. carii*, *L. Pittieri* e *L. Pyrifolia* são tóxicas contra *Biomphalaria glabrata* Say, um molusco envolvido no ciclo reprodutivo de *Schistosoma mansoni* Sambon (BILIA *et al.*, 2000). O extrato das folhas de *Licania tomentosa* possui capacidade de inibir o vírus Herpes Simplex Tipo I aciclovir resistente (ACVr-HSV1) e interferir com o processo anterior à infecção em concentrações não citotóxicas (MIRANDA *et al.*, 2002).

Apesar de espécies de *Licania* possuírem indicação popular como anti-inflamatórias, são poucos os estudos efetuados para comprovar este uso. *Licania tomentosa* e *Chrysobalanus icaco* apresentam ação analgésica e antiinflamatória (CASTILHO *et al.*, 2000), e os frutos de *Atuna racemosa* possuem atividade anti-inflamatória inibindo a biossíntese de prostaglandinas (DUNSTAN *et al.*, 1997).

#### 1.4. A reação inflamatória e a busca de novos agentes anti-inflamatórios

A reação inflamatória é uma resposta biológica defensiva de tecidos que induz adaptações fisiológicas ao organismo na tentativa de limitar e/ou reverter o dano tecidual induzido por uma ampla variedade de agentes nocivos (p. ex.

infecções, anticorpos ou lesões físicas) (CUZZOCREA, 2005; BURKE, SMYTH; FITZGERALD, 2006).

Uma importante etapa do processo inflamatório é o recrutamento de leucócitos para a área lesionada e sua ativação posterior para que desempenhem suas funções normais de defesa do hospedeiro. Os leucócitos incorporam e degradam bactérias, complexos imunes e restos de células necróticas; contudo, podem prolongar a inflamação e aumentar o dano tecidual pela liberação de enzimas, mediadores químicos e radicais livres, que são tóxicos para os tecidos (RANG; DALE; RITTER, 2003).

O exemplo mais tradicional de uma espécie vegetal empregada com fins de aliviar os sintomas da inflamação, é o uso da casca e folhas de árvores do gênero do salgueiro (*Salix sp.*), sendo reportado a Hipócrates na Grécia Antiga. Em 1828, no Instituto de Farmacologia de Munique, Johann Buchner isolou de *Salix alba* uma pequena quantidade de salicina, em 1898, Felix Hofmann, um químico que trabalhava para a companhia Bayer, medicou o pai que sofria de artrite reumatóide com um derivado do ácido salicílico – o ácido acetilsalicílico (AAS). Desde então, a aspirina<sup>®</sup> tornou-se o medicamento que foi usado pelo maior número de pessoas no mundo (LE COUTEUR, BURRESON, 2006; VIEGAS JR., BOLZANA, 2006).

Posteriormente, surgiram diversas outras moléculas que tinham como mecanismo de ação a inibição da síntese de prostaglandinas, um mediador nociceptivo, através do bloqueio da enzima ciclooxigenase (COX). Todavia, apesar de serem eficazes no combate aos sintomas da inflamação, apresentam efeitos indesejáveis significativos (SERHAN, 2007).

Desde então, tem se buscado novos agentes anti-inflamatórios, com menos efeitos adversos, a partir de síntese química, biologia molecular, técnicas genéticas ou ainda produtos naturais. Neste contexto, é válido a pesquisa de atividade anti-inflamatória em espécies vegetais ainda não estudadas, como é o caso de *H. racemosa*.

#### 1.5. O câncer e os produtos naturais como arsenal terapêutico.

O câncer é uma doença do material genético celular e decorre do acúmulo progressivo de mutações, ocasionando crescimento celular descontrolado

(OTAKE, 2006). Possui etiologia diversa, a radiação ionizante ultravioleta, tabagismo, ozônio ou óxidos de nitrogênio no ar poluído, podem ser responsáveis por danos ao DNA celular (DEMEULE *et al.*, 2002). Os tumores apresentam características peculiares nos tecidos acometidos: desdiferenciação e perda da função, proliferação descontrolada, poder de invasão sobre tecidos adjacentes e metástases (LEMKE; WILLIAMS, 2008).

Durante os anos 60, o NCI - National Cancer Institute (EUA) realizou pesquisas com extratos de diversas plantas e avaliou a atividade antitumoral de cada (MONKS *et al.*, 2002). Selecionou-se o extrato das cascas de *Taxus brevifolia* para avaliação de sua eventual atividade. Entretanto, nos modelos *in vivo* utilizados pelo NCI, este não se mostrou muito ativo; Por outro lado foi observada atividade *in vitro* e foi isso que impulsionou a pesquisa, resultando no isolamento do taxol em 1966, uma das drogas mais importantes no tratamento do câncer de mama (OBERLIES, KROLL, 2004; VIEGAS JR., BOLZANI, 2006).

Compostos de origem natural apresentam significativa diversidade estrutural e novos mecanismos de atividade biológica, desempenhando um papel essencial na busca de novos agentes citotóxicos para tratamento do câncer (CRAGG; KINGSTON; NEWMAN, 2005). Dessa forma, os princípios ativos de muitas espécies, como *Angelica gigas*, *Catharanthus roseus*, *Podophyllum peltatum*, *Podophyllum emodii*, *Taxus brevifolia*, *Ocrosia elliptica*, e *Campototheca acuminata*, têm sido utilizados no tratamento de vários tipos de câncer, muitos deles usados como protótipos estruturais para elaboração de novos quimioterápicos (PATEL; SUTHAR; PATEL, 2009).

Muitos compostos do metabolismo secundário vegetal, produzidos inicialmente para o combate contra microrganismos invasores ou em resposta ao estresse fotossintético, apresentam-se ativos farmacologicamente na prevenção ou tratamento de diferentes tumores, como exemplo, flavonas, flavonóides, isoflavonas, catequinas, e taxanos (MEDINA *et al.*, 2006). Devido a sua capacidade antioxidante, muitos compostos fenólicos, como flavonóides, ou mesmo alguns terpenos, possuem a capacidade de neutralizar essas espécies reativas de oxigênio, desempenhando um importante papel anticancerígeno sobre as células (DEMEULE *et al.*, 2002; WONG, KADIR, LING, 2012).

De todos os tumores malignos, o câncer de pulmão é o mais comum, apresentando um aumento por ano de 2% na sua incidência mundial. No Brasil, o câncer de pulmão foi responsável por 14.715 óbitos em 2000, sendo o tipo de câncer que mais fez vítimas. O câncer de cólon levou ao óbito cerca de 5.847 homens e 6.624 mulheres em 2009. Para o Brasil, no ano de 2012, estimam-se 14.180 casos novos de câncer de cólon e reto em homens e 15.960 em mulheres. O câncer de laringe acomete predominantemente homens, em 2009, levou a óbito 3.081 homens e 409 mulheres. Para o ano de 2012, no Brasil, estimam-se 6.110 novos casos. (INCA, 2011).

Cientes de que cerca de 77% das drogas utilizadas para tratar o câncer provêm de um produto de origem natural (VIEGAS JR.; BOLZANNI, 2006) e com fins de avaliar o potencial de *H. racemosa* para estudos posteriores de atividade anticancerígena, realizou-se teste de citotoxicidade de seus extratos contra três linhagens de células tumorais humanas: carcinoma de cólon, de laringe e de pulmão.

## **2. Materiais e Métodos**

### 2.1 Material vegetal

O material vegetal utilizado, folhas, caule e raiz de *H. racemosa*, foi coletado no município de Itamaracá-PE, a cerca de 50 km do Recife, com coordenadas: 07°45'00" S, 34°49'30" W limitando-se ao norte com Goiana, ao sul com Igarassu, a leste com Oceano Atlântico e a oeste com Itapissuma, no período de setembro de 2009 a fevereiro de 2011. A coleta foi realizada em indivíduos adultos e floridos. O material para estudo fitoquímico foi acondicionado em sacos de nylon e transportado ao laboratório para as operações seguintes.

### 2.2. Prospecção Fitoquímica de *Hirtella racemosa*

Cerca de 3 g de cada parte do vegetal (folhas, caule e raiz) foram submetidos à decocção metanólica sob agitação durante 3 minutos. Os extratos obtidos foram filtrados em papel e posteriormente analisados por CCD

(cromatografia em camada delgada), empregando-se diversos sistemas de desenvolvimento e reveladores adequados (WAGNER, BLADT, 1996; HARBORNE, 1998).

Alguns ensaios foram efetuados empregando-se procedimentos clássicos utilizando testes em vidro de relógio com reagentes gerais de precipitação (Dragendorff, Mayer, Bouchardat, Bertrand) para alcalóides. Em tubos de ensaio, foi efetuado o teste de Borntraeger para indicativo de antraquinonas (COSTA, 2001).

Para identificação de saponósidos, foi realizado o ensaio de afrogenicidade, quando há presença de espuma persistente por mais de 2 horas é um indício da presença de saponinas, confirmada posteriormente através de cromatografia utilizando fração n-butanólica do extrato obtida após partição (WAGNER; BLADT, 1996)

A caracterização dos grupos de metabólitos presentes nos cromatogramas foi efetuada empregando diversos reativos cromogênicos como descrito no quadro 2.

Quadro 2 - Sistemas de eluição, reveladores e padrões utilizados para a prospecção fitoquímica de *H. racemosa*.

METABÓLITOS	FASE MÓVEL	REVELADOR	PADRÃO	CRITÉRIO DE AVALIAÇÃO	REFERÊNCIA
Alcalóides	AcOEt-AF-AcOH-H <sub>2</sub> O (100:11:11:27)	Dragendorff	Pilocarpina	Presença de bandas de coloração alaranjada intensa	WAGNER; BLADT, 1996
Monotrpenóides e Sesquiterpenóides	benzeno-AcOEt (97:3 v/v)	Vanilina sulfúrica	Timol	Presença de bandas de coloração rosa, roxo, azul escura	WAGNER; BLADT, 1996
Triterpenóides e Esteróides	AcOEt-n-hexano (1:1)	Lieberman/Burchard	β-amirina, β-sitosterol e Á. ursólico	Presença de bandas de coloração levemente rósea a avermelhada	HARBONE, 1998
Saponinas	AcOEt-AF-AcOH-H <sub>2</sub> O (100:11:11:27)	Anisaldeído	Saponina (Merck)	Presença de bandas de coloração castanha ou escuras	WAGNER; BLADT, 1996
Fenilpropanoglicosídeos/ Derivados cinâmicos	AcOEt-AF-AcOH-H <sub>2</sub> O (100:11:11:27)	NEU	Ác. caféico	Presença de bandas fluorescência verde-limão e azul intenso	WAGNER; BLADT, 1996
Flavonóides	AcOEt-AF-AcOH-H <sub>2</sub> O (100:11:11:27)	NEU	Luteolina	Presença de bandas de fluorescência alaranjada (vermelha, amarela laranja ou verde)	XAVIER, 1988
Cumarinas	Éter-Tolueno-AcOH 10% (50:50:50)	U.V.	Umbeliferona	Presença de bandas de fluorescência azul	WAGNER; BLADT, 1996
Proantocianidinas e Leucoantocianidinas	AcOEt-AF-AcOH-H <sub>2</sub> O (100:11:11:27)	Vanilina clorídrica	Catequina	Presença de bandas de coloração vermelha	ROBERTSON; CARTWRIGHT; WOOD, 1957

AcOEt – Acetato de Etila, AF – Ácido fórmico, AcOH – Ácido acético, NEU – difenilboriloxietilamina.

### 2.3. Obtenção dos Extratos

Folhas do material vegetal (400 g) foram submetidas à extração em Aparelho de Soxhlet, utilizando-se inicialmente n-hexano como solvente em um ciclo de 12 horas. O extrato obtido foi captado e iniciou-se outro ciclo extrativo com acetato de etila, após captação deste extrato, utilizou-se, por fim, metanol.

A partir do procedimento extrativo foram obtidos 3 extratos com solventes de polaridades distintas: n-hexano (apolar), acetato de etila (polaridade intermediária) e metanol (polar). O extrato obtido com n-hexano foi codificado como **En-hex** e o obtido com acetato de etila codificado como **EAcOEt**. Visando a obtenção de frações com constituição distinta do extrato metanólico, foi realizada partição utilizando diclorometano e metanol. A fração obtida com diclorometano foi codificada como **Edicloro** e a metanólica **ESP**.

### 2.4. Procedimentos Éticos

A pesquisa foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, com número de protocolo 23076.052301/2011-00.

### 2.5. Avaliação da Toxicidade Aguda

Testes de toxicidade são elaborados com o objetivo de avaliar ou prever os efeitos tóxicos nos sistemas biológicos e dimensionar a toxicidade relativa das substâncias (FORBES; FORBES, 1994).

O teste para avaliação da toxicidade aguda de extratos de *H. racemosa* em dose única foi realizado de acordo com o protocolo descrito em OECD (2001) que preconiza a utilização de grupos compostos por no máximo 5 animais com pesos similares, preferencialmente fêmeas e com idade entre 8 e 12 semanas.

Foram utilizados camundongos albinos Swiss (*Mus musculus*) fêmeas adulto, pesando entre 25 a 30 g, divididos em 3 grupos de 4 animais cada, previamente pesados e marcados. Todos os animais foram mantidos em gaiolas de polipropileno em condições controladas de iluminação (ciclo de 12 horas claro/escuro) e temperatura de  $22 \pm 3$  °C, alimentados com ração industrial adequada (labina) e água *ad libitum*.

Foram utilizados os extratos EAcOEt e ESP na dose de 2000 mg/kg. A escolha dos extratos de Acetato de Etila e do Extrato rico em Saponinas e Proantocianidinas/Leucoantocianidinas deu-se a partir da seleção dentre todos os extratos obtidos dos melhores candidatos ao teste de atividade anti-inflamatória posterior, levando-se em consideração suas composições químicas.

Em dois desses grupos foram administrados por gavagem os extratos EAcOEt e ESP e um grupo controle recebeu água destilada, que foi o veículo utilizado. Os extratos foram administrados na dose de 2000 mg/Kg. Os animais foram observados durante os primeiros 60 minutos, tomando como parâmetros: piloereção, taquicardia, contorções abdominais, estiramento, agitação, evacuação e poliúria. Os animais foram observados diariamente para verificação do número de óbitos. O peso corpóreo, quantidade de ração e água ingeridas por cada animal foram registrados diariamente durante um período de 14 dias.

## 2.6. Avaliação da Atividade Anti-inflamatória

Para este ensaio, foram utilizados seis grupos de seis animais cada. Dois grupos receberam as doses de 100 mg/Kg e 200 mg/Kg dos extratos EAcOEt e ESP. A administração foi por gavagem. A indometacina, fármaco anti-inflamatório não-esteroidal utilizado como padrão, foi administrada na dose de 10 mg/Kg. O grupo controle recebeu apenas o veículo (água destilada). Uma hora após o tratamento, a inflamação foi induzida pela aplicação intraperitoneal de carragenina (1% em solução salina). Quatro horas após a indução da inflamação os animais foram eutanasiados em câmara de CO<sub>2</sub>, foi injetado na cavidade peritoneal 2 mL de PBS (tampão fosfato salino) contendo 10 µL de EDTA, em seguida o peritônio foi levemente massageado e o volume do líquido da cavidade peritoneal foi coletado. A contagem de leucócitos totais foi realizada em analisador hematológico micros 60 (GUERRA *et al.*, 2011).

## 2.7. Análise Estatística

Os valores foram expressos como média ± desvio padrão. As diferenças entre os grupos foram determinadas através da análise de variância (ANOVA – one way), seguido pelo pós teste de Bonferroni. Os resultados foram considerados significativos quando  $p < 0,05$ . As análises foram feitas com auxílio do programa *GraphPad Prism 5*.

## 2.8. Avaliação da Citotoxicidade *in vitro*.

A análise de citotoxicidade pelo método do MTT (3-(4,5-dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil-2-H-brometo de tetrazolium), vem sendo utilizada no programa de *screening* do *National Cancer Institute* dos Estados Unidos (NCI), que testa mais de 10.000 amostras a cada ano (SKEHAN *et al.*, 1990). É um método rápido, sensível e barato. Foi descrita primeiramente por Mossman (1983), tendo a capacidade de analisar a viabilidade e o estado metabólico da célula. É uma análise colorimétrica baseada na conversão do sal 3-(4,5-dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil-2-H-brometo de tetrazolium (MTT) em azul de formazan (Figura 1), a partir de enzimas mitocondriais presentes somente nas células metabolicamente ativas. O estudo citotóxico pelo método do MTT permite definir facilmente a citotoxicidade, mas não o mecanismo de ação (BERRIDGE *et al.*, 1996).

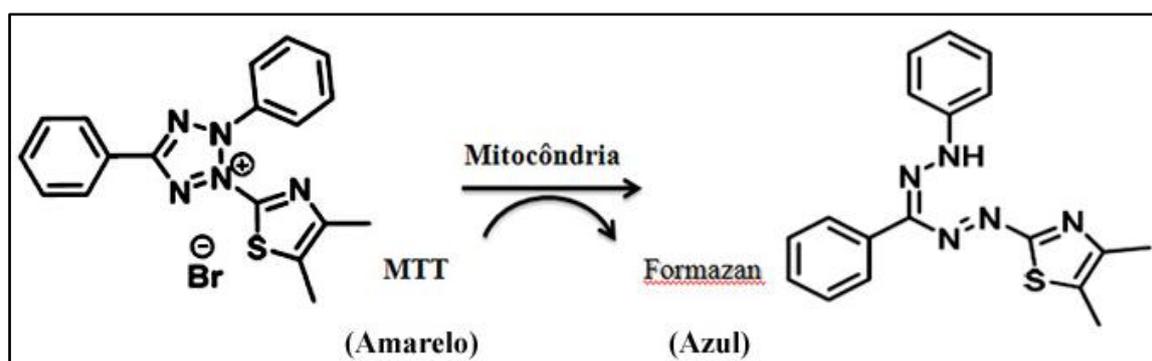


Figura 1. Reação de formação do azul de formazan através da ação enzimática das mitocôndrias sobre o MTT.

As linhagens antitumorais utilizadas foram HT-29 (carcinoma humano de cólon), HEP-2 (carcinoma humano de laringe) e NCI-H292 (carcinoma humano de pulmão). Elas foram inoculadas em microplacas de 96 poços contendo dulbecco's modified eagle medium (DMEM) suplementado com soro fetal bovino (10%), L – glutamina (1%), penicilina (100  $\mu\text{L}/\text{mL}$ ) e estreptomicina (250  $\mu\text{L}/\text{mL}$ ). As placas foram incubadas durante 24h a 37°C com atmosfera de 5 % de  $\text{CO}_2$ , para obtenção de concentração final de  $1 \times 10^5$  células/mL. Após esse período, as células foram tratadas com os extratos En-hex, EAcOEt, Ediclora e ESP na concentração de 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$ .

As placas foram incubadas novamente por 72 horas a 37°C sob as mesmas condições anteriores e, depois desse período, foi adicionado como indicador uma solução tampão salina de MTT (5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), seguido de incubação por mais 3 horas. A leitura óptica

foi realizada em leitor automático de placas Thermoplate –TP Reader® a 595 nm, após a total dissolução dos cristais de formazan com 100µL de DMSO (dimetilsulfóxido estéril) (WONG; KADIR; LING, 2012).

Os experimentos foram analisados segundo suas médias e respectivos desvios no programa Graph Pad Prism. Uma escala de intensidade foi utilizada para avaliar o potencial citotóxico das amostras testadas e os resultados expressos em percentual de inibição de crescimento. Amostras sem atividade (1 a 20% de inibição), com pouca atividade (inibição de crescimento celular variando de 20 a 50%), com atividade moderada (inibição de crescimento celular variando de 50 a 70%) e com alta atividade (inibição de crescimento variando de 70 a 100%) (FOUCHE *et al.*, 2008).

### 3. Resultados e Discussão

#### 3.1. Prospecção Fitoquímica

Constatou-se a presença de triterpenos, esteróides e flavonóides (Tabela 1), consonante com a maioria das espécies da família Chrysobalanaceae estudadas que apresentam os terpenos, flavonóides e seus glicosídeos como marcadores químicos (CORADIN; GIANNASE; PRANCE, 1985).

Tabela 1 – Prospecção Fitoquímica de *Hirtella racemosa* Lam.

METABÓLITO	FOLHAS	CAULE	RAIZ
Alcalóides	-	-	-
Monoterpenos e sesquiterpenos	+	-	-
Triterpenos e Esteróides	+++	+	+
Saponinas	+++	-	-
Iridóides	-	-	-
Fenilpropanoglicosídeos/ Derivados cinâmicos	+	-	-
Flavonóides	+++	+	+
Cumarinas	-	-	-
Proantocianidinas e Leucoantocianidinas	+++	++	++
Antraquinonas	-	-	-

Expressão dos resultados: +++ = (≥ 5 bandas), ++ = (3 a 4 bandas), + = (1 a 2 bandas), (-) = (ausência de bandas).

Foi observada a presença de flavonóides (Figura 2), proantocianidinas/leucoantocianidinas (Figura 3) e saponinas (Figura 4). Há registros, dentre Chrysobalanaceae, de saponinas isoladas, tal como o ácido 3-O-[6'-O-4-hidroxibenzoil]- $\beta$ -D-galactopiranosil-ursa-12-en-28-óico, saponina isolada de *Licania arianae* (CARVALHO; DA COSTA, 2009), e não há registro de proantocianidinas ou leucoantocianidinas isoladas. A composição fitoquímica de *H. racemosa* é semelhante à de outros exemplares da mesma família, tal como *Licania macrophylla*, onde observa-se a presença de terpenos, flavonóides, saponinas, proantocianidinas e leucoantocianidinas, sendo esta, utilizada popularmente contra inflamações e como cicatrizante (GOMES *et al.*, 2006).

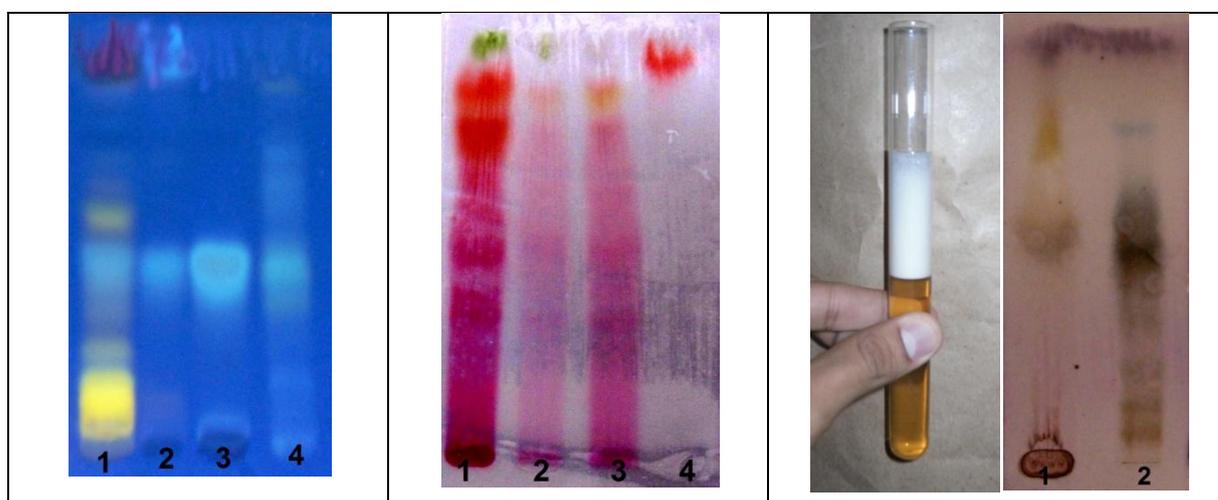


Figura 2 – Cromatografia para identificação de Flavonóides de *H. racemosa*. 1 – folha, 2 – caule, 3 – raiz, 4 – padrão de Luteolina.

Figura 3 – Cromatografia para identificação de Proantocianidinas e Leucoantocianidinas de *H. racemosa*. 1 – folha, 2 – caule, 3 – raiz, 4 – padrão de Catequina.

Figura 4 – Identificação de saponinas de *H. racemosa* a partir de teste de afrogenicidade e cromatografia. 1 – *H. racemosa*, 2 – padrão de saponinas.

Foi identificado nas folhas, o ácido ursólico e o  $\beta$ -sitosterol a partir de cromatografia em camada delgada utilizando adrões autênticos. Dentre Chrysobalanaceae, o ácido ursólico já foi identificado em *L. carii* (BILIA; MENDEZ; MORELLI, 1996), *L. tomentosa* (CASTILHO; KAPLAN, 2008) e *L. pittieri* (MENDEZ; BILIA; MORELLI, 1995). E o sitosterol em *L. tomentosa* (CASTILHO; KAPLAN, 2008).

A presença acentuada de metabólitos na folha foi decisiva na escolha do material para o procedimento de extração.

### 3.2. Rendimento e composição química dos extratos obtidos

Após eliminação do n-hexano no primeiro extrato, foi obtido 7,83 g (2% de rendimento) de material resinoso, castanho escuro. O extrato de acetato de depois de seco apresentou rendimento de 10,19% (40,77 g), este se apresentava como material granuloso de cor verde escura. O extrato metanólico apresentava coloração escura, deste o rendimento foi 3,27% (13,10 g).

O extrato metanólico apresentava perfil cromatográfico rico em saponósidos, proantocianidinas/leucoantocianidinas, terpenos e flavonóides. Visando obter duas frações com contituições distintas, procedeu-se à partição com diclorometano, obtendo-se uma fração de diclorometano (Edicloro) e uma fração metanólica rica em saponinas e proantocianidinas (ESP).

O Edicloro, quando seco apresentou aspecto sólido, preto, com rendimento 1,13% (4,53 g) e o EST, quando seco, apresentou aspecto pastoso, avermelhado, com rendimento de 1,93% (7,73 g).

Observa-se a presença triterpenos e esteróides no En-hex, terpenos, saponinas, flavonóides, proantocianidinas e leucoantocianidinas nos EAcOEt e Edicloro e predominantemente saponinas, proantocianidinas e leucoantocianidinas no ESP (Tabela 2). Foi identificado o  $\beta$ -sitosterol no En-hex e o ácido ursólico e  $\beta$ -sitosterol nos EAcOEt e Edicloro (Figura 4).

Tabela 2 – Composição fitoquímica de diferentes extratos de *H. racemosa*

Extrato	Triterpenos e Esteróides	Saponinas	Flavonóides	Proantocianidinas e Leucoantocianidinas
<b>En-hex</b>	+++	-	-	-
<b>EAcOEt</b>	+++	+	+++	+
<b>Edicloro</b>	+++	+	+++	+
<b>ESP</b>	-	+++	+	+++

Expressão dos resultados: +++ = ( $\geq 5$  bandas), ++ = (3 a 4 bandas), + = (1 a 2 bandas), (-) = (ausência de bandas).

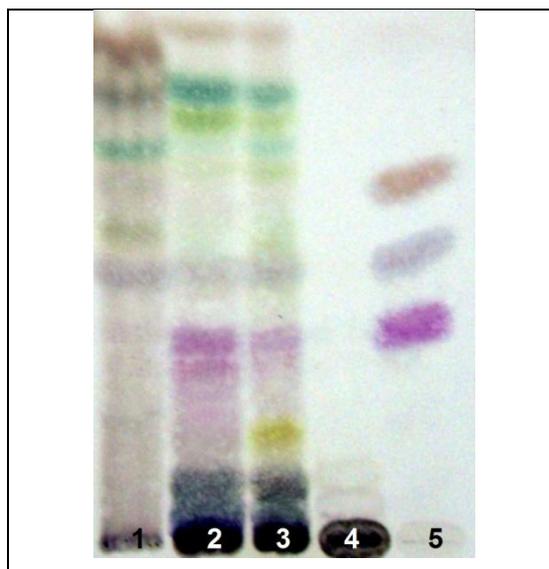


Figura 4 – Cromatografia para Identificação do  $\beta$ -sitosterol no En-hex e do ácido ursólico e  $\beta$ -sitosterol nos EAcOEt e Edicloro. 1 – En-hex, 2 – EAcOEt, 3 – Edicloro, 4 – ESP, 5 – padrões de  $\beta$ -amirina,  $\beta$ -sitosterol e ácido ursólico.

A obtenção dos extratos foi importante no prosseguimento do trabalho, para avaliação das atividades biológicas (anti-inflamatória e citotóxica).

### 3.3. Avaliação da Toxicidade Aguda

Geralmente, o primeiro teste a ser realizado em produto químico desconhecido é a toxicidade aguda a partir de exposição única. Os ensaios são comumente realizados em camundongos ou ratos. Recomenda-se a via oral por mimetizar a via de administração mais adotada pelos humanos (KLAASSEN, 2008).

Nenhum dos extratos testados promoveu a morte dos animais na dose de 2000 mg/Kg e não revelaram quaisquer alterações que os diferenciavam dos animais do grupo controle.

Durante 14 dias foi feita a monitoração da ingestão alimentar e ganho de peso dos animais, não sendo observada nenhuma variação significativa em relação ao grupo controle. Desta forma, para a dose testada, não foi constatada toxicidade dos extratos AcOEt e ESP, oferecendo, assim, ampla margem de segurança para o ensaio posterior que fará uso destes extratos no modelo da peritonite induzida por carragenina.

### 3.4. Avaliação da Atividade Anti-inflamatória

Dentre diversos modelos experimentais, o da peritonite induzida por carragenina é bastante utilizada para estudo do processo inflamatório agudo. A carragenina foi utilizada como agente flogístico e após 4 horas, mensurou-se a resposta imunológica adaptativa a partir da migração leucocitária.

A partir da migração leucocitária, apresentada Figura 5, pode-se observar que os testes realizados com EAcOEt e ESP na dose de 200 mg/Kg revelam diferença significativa em relação ao grupo controle.

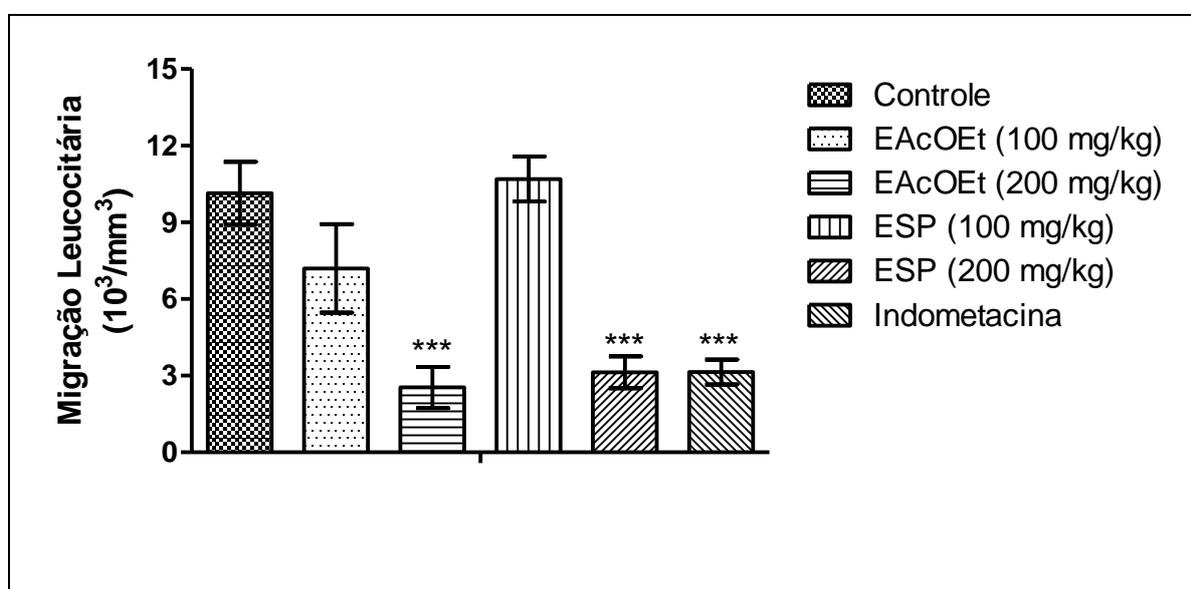


Figura 5. Efeito na migração leucocitária dos grupos testados. \*\*\* Diferença significativa em relação ao grupo controle ( $p < 0,05$ ).

Sabe-se que em várias plantas, a atividade anti-inflamatória é atribuída, muitas vezes, aos componentes terpênicos (DELLA-LOGGIA *et al.*, 1994), (UKIYA *et al.*, 2006), (CARVALHO *et al.*, 1996), visto que terpenóides podem apresentar propriedades inibitórias sobre mediadores e citocinas inflamatórias (BREMNER; HEINRICH, 2002). Observa-se, por exemplo, em extrato rico em terpenos e flavonóides de *Chrysobalanus icaco*, atividade anti-inflamatória (CASTILHO *et al.*, 2000). O ácido ursólico, identificado no EAcOEt, possui atividade anti-inflamatória comprovada, atuando em diversas etapas do processo inflamatório (LIU, 1995). Há presença também de  $\beta$ -sitosterol neste extrato e observa-se, por exemplo, que a presença desta substância e seus derivados glicosilados em *Croton pulei* é responsável pela atividade anti-inflamatória (ROCHA *et al.*, 2008).

Diversos flavonóides possuem atividade anti-inflamatória, muitos inibem a via tanto da ciclooxigenase quanto da 5-lipoxigenase no metabolismo do ácido araquidônico (SILVA *et al.*, 2002; HAVSTEEN, 2002). É possível, então, que a presença destes metabólitos no EAcOEt esteja relacionada com a sua atividade.

Pode-se propor o mesmo para a atividade do ESP devido à sua composição rica em saponinas e proantocianidinas, pois há na literatura diversos exemplos de saponinas com ação anti-inflamatória comprovada (LEUNG *et al.*, 2005; AHN *et al.*, 2005). Saponinas possuem mecanismos de ação anti-inflamatórios variados, tal como inibição da degradação de corticóides e ação corticomimética, o que interfere no metabolismo de mediadores, desempenhando atividade anti-inflamatória (LACAILLE-DUBOIS; WAGNER, 1996). Proantocianidinas podem ter efeito inibitório sobre a ciclooxigenase (SUBARNAS; WAGNER, 2000) e as encontradas em *Anacardium occidentale*, bloqueiam a degranulação de mastócitos e também a hialuronidase ativada em ratos (SCHOLZ, 1994).

Não há registros de estudos biológicos com exemplares do gênero *Hirtella*. Espécies de outro gênero de Chrysobalanaceae, *Licania*, são utilizadas na medicina popular como anti-inflamatórias (PITTIER, 1978), inclusive *L. macrophylla* que possui composição química semelhante à *H. racemosa* (GOMES *et al.*, 2006). Frutos de *Atuna racemosa* possuem atividade anti-inflamatória inibindo a biossíntese de prostaglandinas (DUNSTAN *et al.*, 1997). Os resultados deste ensaio indicam a presença de atividade anti-inflamatória em *H. racemosa*, contribuindo para estudos posteriores que visem avaliar de forma mais aprofundada o potencial desta atividade e mecanismos de ação envolvidos.

### 3.5. Avaliação da Citotoxicidade

O En-hex apresentou alta atividade contra a linhagem de câncer de pulmão, assim como o Ediclora (Tabela 3). O EAcOEt, apresentou atividade moderada contra as três linhagens testadas. Atividade moderada foi observada nos extratos Ediclora e EAcOEt frente às linhagens de carcinoma de cólon e carcinoma de laringe humano.

Dentre representantes de Chrysobalanaceae, há relatos de terpenos com atividade citotóxica (UYS *et al.*, 2002; FERNANDES *et al.*, 2003; BADISA *et al.*, 2000; LEE *et al.*, 1996). Terpenos isolados de *Parinari capensis*, demonstraram citotoxicidade contra células de câncer de pele humano (UYS *et al.*, 2002), também o ácido pomólico isolado de *Chrysobalanus icaco* e os ácidos betulínico e oleanólico de *Licania tomentosa*,

apresentam citotoxicidade contra linhagem de células de eritroleucemia (FERNANDES *et al.*, 2003).

Tabela 3. Percentual de inibição do crescimento celular  $\pm$  desvio padrão das linhagens testadas frente às amostras de *H. racemosa* na dose de 50  $\mu\text{g/mL}$ .

Amostra	Linhagens		
	NCI-H-292	HT29	HEp-2
En-hex	72,6 $\pm$ 6,0	30,2	46,1 $\pm$ 1,1
EAcOEt	63,1 $\pm$ 8,8	52,4 $\pm$ 7,2	67,0 $\pm$ 3,1
Edicloro	79,1 $\pm$ 4,2	55,1 $\pm$ 7,2	51,5 $\pm$ 1,9
ESP	5,0	0	0

NCI-H-292 (carcinoma de pulmão), HT29 (carcinoma de cólon), HEp-2 (carcinoma de laringe), IC (inibição celular).

Os extratos EAcOEt e Edicloro apresentam na sua composição ácido ursólico. Ácidos triterpênicos, como o ácido oleanólico e o ácido ursólico, que são bastante comuns dentre constituintes de plantas, são compostos que possuem atividade antitumoral, estudos que desenvolvem derivados sintéticos destes, tem mostrado potencial *in vivo* e *in vitro* contra vários tumores, como câncer de pulmão, pâncreas e leucemias (COUCH *et al.*, 2005). A atividade citotóxica do ácido ursólico é descrita em muitos trabalhos (MA *et al.*, 2005; ES-SAADY *et al.*, 1996). E o mecanismo de ação deste é o bloqueio da progressão do ciclo celular e apoptose seguida de fragmentação do material genético (MA *et al.*, 2005).

O  $\beta$ -sitosterol que é presente nos extratos En-hex, EAcOEt e Edicloro, apresenta citotoxicidade frente a linhagem de células de câncer de fígado. A partir do mecanismo de indução da apoptose celular (KOSCHUTNING *et al.*, 2009).

Flavonóides são encontrados mais prevalentemente nos extratos EAcOEt e Edicloro. A presença destes metabólitos também ajuda a explicar a atividade demonstrada, visto que flavonóides possuem capacidade de inibir a proliferação celular e induzir a apoptose em diversas linhagens (HSU; KUO; LIN, 2004), porém os mecanismos de ação ainda não são compreendidos (DORTA, 2007).

O ESP não apresentou nenhuma atividade frente às linhagens testadas, podendo-se observar, portanto, que as saponinas, proantocianidinas e leucoantocianidinas não possuem atividade citotóxica.

Dentre os extratos testados, os que podem levar à descoberta de novas substâncias bioativas contra o câncer em estudos posteriores, o Edicloro e En-hex foram os mais promissores.

#### **4. Conclusão**

A partir dos resultados obtidos com esta pesquisa, torna-se possível indicar que *H. racemosa* possui perfil fitoquímico rico em constituintes terpênicos, flavonoídicos, proantocianidinas e leucoantocianidinas.

Foi observada ausência de toxicidade aguda na dose de 2000 mg/Kg nas condições estudadas, oferecendo ampla margem de segurança para o ensaio posterior. Os extratos EAcOEt e ESP, apresentaram significativa inibição da migração celular na dose de 200 mg/Kg, indicando atividade anti-inflamatória destes extratos. Também, foi observada alta citotoxicidade frente à linhagem de câncer de pulmão e atividade moderada contra linhagens de câncer de cólon e laringe.

Estes resultados indicam que a espécie pode tornar-se alvo de estudos mais aprofundados que avaliem a ação anti-inflamatória e mecanismos de citotoxicidade para pesquisas de ação anticancerígena.

## CONCLUSÕES GERAIS

Chrysobalanaceae ainda apresenta-se pouco explorada na busca de novos agentes que possam contribuir com a terapêutica. Por isso, pode abrir novos caminhos na descoberta de moléculas com atividade biológica. Os estudos farmacobotânico, fitoquímico e atividades biológicas de *H. racemosa* contribuem para o conhecimento de um taxa inexplorado desta família botânica.

A análise dos resultados obtidos a partir dos objetivos propostos e sob as condições em que foram realizados os experimentos, permite as seguintes conclusões: A espécie foi caracterizada botanicamente a partir da descrição microscópica. A presença, no caule, de lenticelas, idioblastos contendo drusas no córtex e floema e a presença, na folha, de estômatos do tipo paracítico na face abaxial, pêlos tectores simples mais abundantes na face abaxial, são dados que corroboram a padronização da espécie estudada.

Quimicamente, evidenciou-se a presença de triterpenos, esteróides e flavonóides tal como a maioria dos representantes da família. Saponósidos, proantocianidinas e leucoantocianidinas foram também identificadas. Foi identificada a presença de ácido ursólico e  $\beta$ -sitosterol nas folhas.

Foi observada ausência de toxicidade aguda na dose testada (2000 mg/Kg) e a partir da investigação de atividade anti-inflamatória, foi observada atividade nos extratos EAcOEt e ESP na dose de 200 mg/Kg, estes possuem na sua composição terpenóides, flavonóides, proantocianidinas e saponinas. Testes com linhagens celulares de carcinomas humanos demonstraram um possível efeito citotóxico contra câncer de pulmão e atividade moderada contra câncer de cólon e laringe.

Estudos futuros poderão contribuir com o isolamento e elucidação estrutural dos metabólitos e a realização de testes farmacológicos bioguiados ajudarão a identificar quais são as moléculas responsáveis pelas atividades investigadas neste trabalho, bem como para maior compreensão dos mecanismos de ação envolvidos.

## REFERÊNCIAS

AGRA, M. F. *et al.* Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. **Rev. Brasileira de Farmacognosia**, n. 18, p. 472-508, 2008.

AHN, K.S. *et al.* Inhibition of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase II by *Platycodon grandiflorum* saponins via suppression of nuclear factor- $\kappa$ B activation in RAW 264.7 cells. **Life Sci**, v. 76, p. 2315-2328, 2005.

ARNOLD, H. J.; GULUMIAN, M. Pharmacopoeia of traditional medicine in Venda. **Journal of Ethnopharmacology**; v. 12, p.35, 1984.

ARRUDA, R. C. O.; VIGILIO, N. S. F.; BARROS, A. A. M. **Anatomia Foliar de Halófitas e Psamófilas Reptantes Ocorrentes na Restinga de Ipitangas, Saquarema, Rio de Janeiro**. Brasil. Rodriguésia. v. 2., p. 333-352, 2009.

ASASE, A. *et al.* Ethnobotanical study of some Ghanaian anti-malarial plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 99, p. 273–279, 2005.

BADISA, B. B. *et al.* *Licania michauxii* prance root extract induces hsp 70 mRNA and necrotic cell death in cultured human hepatoma and coln carcinoma cell lines. **Cancer Letters**, v.149, p. 61-68, 2000.

BERRIDGE, M. V. *et al.* The biochemical and cellular basis of cell proliferation assays that use tetrazolium salts. **Biochemica**, v. 4, p. 14-19, 1996.

BILIA, A. R.; MENDEZ, J.; MORELLI, I. Phytochemical investigations of *Licania* genus: flavonoids and triterpenoids from *Licania carii*. **Pharmaceutica Acta Helvetiae**, n. 71, p. 191-197, 1996.

BILIA, A. R. *et al.* Phytochemical investigations of *Licania* genus: flavonoids from *Licania pyrifolia*. **Pharmaceutica Acta Helvetiae**, v. 71, p. 199-204, 1996.

- BILIA, A. R. *et al.*. Molluscicidal and piscicidal activities of Venezuelan Chrysobalanaceae plants. **Life Sciences**, v. 66, n. 4, p. 53-59, 2000.
- BRACA, A. *et al.* Three flavonoids from *Licania densiflora*. **Phytochemistry**, n. 51, p. 1125-1128, 1999a.
- BRACA, A. *et al.* Flavonoids and triterpenoids from *Licania heteromorpha* (Chrysobalanaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 27, p. 527-530, 1999b.
- BRACA, A. *et al.* Three flavonoids from *Licania heteromorpha*. **Phytochemistry**, n. 51, p. 1121-1124, 1999c.
- BRACA, A. *et al.* Triterpenes from *Licania licaniaeflora*. **Fitoterapia**, n. 72, p. 585-587, 2001a.
- BRACA, A. *et al.* Myricetin glycosides from *Licania densiflora*. **Fitoterapia**, n. 72, p. 182-185, 2001b.
- BRACA, A. *et al.* Antioxidant activity of flavonoids from *Licania licaniaeflora*. **Journal of Ethnopharmacology**, v.79, p. 379-381, 2002a.
- BRACA, A. *et al.* Flavonoids from *Licania apetala* and *Licania licaniaeflora* (Chrysobalanaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, n. 30, p. 271-273, 2002b.
- BRACA, A. *et al.*. A new kaurane diterpene dimer from *Parinari campestris*. **Fitoterapia**, n. 76, p. 614-619, 2005.
- BOEGER, M. R. T.; GLUZEZAK, R. M. **Adaptações estruturais de sete espécies de plantas para as condições ambientais da área de dunas de Santa Catarina, Brasil**. Porto Alegre: Iheringia, v. 61, p. 73-82, 2006.
- BREMNER, P.; HEINRICH, M. Natural products as targeted modulators of the nuclear factor-KappaB pathway. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 54, p. 453-472, 2002.

BURKE, A.; SMYTH, E. & FITZGERALD, G. A. Analgésicos-antipiréticos; farmacoterapia da gota. *In*: BRUTON, L. L.; LAZO, J. S.; PARKER, K. L. **Goodman & Gilman: as bases farmacológicas da terapêutica**. 11. ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill Interamericana do Brasil, 2006. Cap. 26, p. 601-638.

CARTAXO, S. L.; SOUZA, M. M. A.; ALBUQUERQUE, U. P. Medicinal plants with bioprospecting potential used in semi-arid northeastern Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 131, n. 2, p. 326-342, 2010. DOI: 10.1016/j.jep.2010.07.003

CARVALHO, J. C. T. *et al.* Investigation of anti-inflammatory and antinociceptive activities of *trans*-dehydrocrotonin: a 19-nor-clerodane diterpene from *Croton cajucara*, part 1. **Planta Medica**, v. 62, n. 5, p. 402-404, 1996. DOI: 10.1055/s-2006-957925

CARVALHO, M. G. *et al.* Triterpenes acids and saponins isolated from *Licania arianeae* (Chrysobalanaceae). **Natural Medicine**, v. 62, p. 360-361, 2008.

CARVALHO, M. G., DA COSTA, P. M. Outros constituintes isolados de *Licania arianeae* (Chrysobalanaceae). **Brazil Journal of Pharmacognosy**, v. 19, p. 290-293, 2009.

CASTILHO, R. O. *et al.* A Survey of Chemistry and Biological Activities of Chrysobalanaceae. **Annais da Academia Brasileira de Ciência**, v. 72. P. 292-293, 2000.

CASTILHO, R. O. *et al.* Licanolide, a new triterpene lactone from *Licania tomentosa*. **Fitoterapia**, v. 76, p. 562-566, 2005.

CASTILHO, R. O.; KAPLAN, M. A. C. Constituintes químicos de *Licania tomentosa* BENTH. (Chrysobalanaceae). **Química Nova**, v. 31, n. 1, p. 66-69, 2008.

CHAFFAUD, M.; EMBERGER, L. **Traité de Botanique Systematique**. Paris: Masson, 1960. V. 2, p. 1338-1340.

CHRYSOBALANACEAE. National Center for Biotechnology Information (NCBI). 2012. Disponível em:

<[http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?lin=s&p=has\\_linkout&id=22973](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?lin=s&p=has_linkout&id=22973)>. Último acesso em: 28 fev. 2012.

CENTRO NORDESTINO DE INFORMAÇÕES SOBRE PLANTAS (CNIP). Brasil, 2010. Disponível em: <<http://www.cnip.org.br/>>. Último acesso em: 2 fev. 2012.

COELHO-FERREIRA, M. Medicinal knowledge and plant utilization in an Amazonian coastal community of Marudá, Pará State (Brazil). **Journal of Ethnopharmacology**, n. 126, p. 159-175, 2009.

CORADIN, L.; GIANNASI, D. E.; PRANCE, A. T. Chemosystematic studies in the Chrysobalanaceae: flavonoids in Parinari. **Brittonia**, v.37, n. 2, p. 169-178, 1985.

COSTA, O. A. Plantas hipoglicemiantes brasileiras II. **Leandra**, v. 6-7, n. 7, p. 63-75, 1977.

COSTA, A. F.; **Farmacognosia**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian. V. 3, p. 187-190, 2001.

COSTA, V. B. S.; CHAGAS, M. G. S.; PIMENTEL, R. M. M. Caracteres funcionais da paisagem e relações de dominância do espaço ambiental em comunidades vegetais lenhosas da restinga e da caatinga em Pernambuco. *In: X Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão (JEPEX)*, 2010.

COUCH, R.D. *et al.* Studies on the reactivity of CDDO, a promising new chemopreventive and chemotherapeutic agent: implications for a molecular mechanism of action. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 15, p. 2215–2219, 2005.

CRAGG, G. M.; KINGSTON, D. G. I.; NEWMAN, D. J. **Anticancer Agents from Natural Products**. Boca Raton (Flórida): CRC Press, 2005.

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

DELLA-LOGGIA, R. *et al.* The role of triterpenoids in the anti-inflammatory activity of *Calendula officinalis* flowers. **Planta Medica**, v. 60, p. 516-520, 1994.

DEMEULE, M. *et al.* Green Tea Catechins as Novel Antitumor and Antiangiogenic Compounds. **Current Medicinal Chemistry – Anti-Cancer Agents**, v. 2, p. 441 - 463, 2002.

DIEHL, M. S. *et al.* Prospect for anthelmintic plants in the Ivory Coast using ethnobotanical criteria. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 95, p. 277–284, 2004.

DORTA, D. J. **Efeitos citoprotetor e/ou citotóxico dos flavonóides: estudo estrutural-atividade envolvendo mecanismos mitocondriais, com ênfase na apoptose.** 2007. 134 f. Tese (doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2007.

DUNSTAN, C. A. *et al.* Evaluation of some Samoan and Peruvian medicinal plants by prostaglandin biosynthesis and rate ear oedema assays. **Journal of Ethnopharmacology**, v.57, p. 35-36, 1997.

ES-SAADY *et al.* Inhibitory effect of ursolic acid on B16 proliferation through cell cycle arrest. **Cancer Letters**, v. 106, n. 2, p. 193-197, 10 set. 1996.

FARNSWORTH, N. R. *et al.* Medicinal plants in therapy. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 63, p. 965-981, 1985.

FERNANDES, J. *et al.* Pentacyclic triterpenes from Chrysobalanaceae species: cytotoxicity on multidrug resistant and sensitive leukemia cell lines. **Cancer Letters**, v.190, p. 165-169, 2003.

FERREIRA-MACHADO, S. C. *et al.* Genotoxic potentiality of aqueous extract prepared from *Chrysobalanus icaco* L. leaves. **Toxicology Letters**, v. 151, p. 481-487, 2004.

FORBES, V. E.; FORBES, T. L. **Ecotoxicology in theory and practice.** Londres: Chapman and Hall, 1994. 247 p.

FOUCHE, G. *et al.* *In vitro* anticancer screening of South African plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 119, n. 3, p. 455-461, 2008.

GARO E. *et al.* Absolute Configuration of a Diterpene Lactone from *Parinari capensis*. **Helvetica Chimica Acta**, v. 80, p. 538, 1997.

GLOBAL BIODIVERSITY INFORMATION FACILITY (GBIF). **Ocurrence overview**. Open Geospatial consortium services. Dinamarca, 2012a. Disponível em: <<http://data.gbif.org/species/91111>>. Último acesso em: 27 fev. 2012.

GLOBAL BIODIVERSITY INFORMATION FACILITY (GBIF). **Ocurrence overview**. Open Geospatial consortium services. Dinamarca, 2012b. Disponível em: <[http://data.gbif.org/species/2985122/?extent=-159%2B-43%2B21%2B47&zoom=2&minMapLong=-159&minMapLat=-43&maxMapLong=21&maxMapLat=47&c\[0\].s=20&c\[0\].p=0&c\[0\].o=2985122](http://data.gbif.org/species/2985122/?extent=-159%2B-43%2B21%2B47&zoom=2&minMapLong=-159&minMapLat=-43&maxMapLong=21&maxMapLat=47&c[0].s=20&c[0].p=0&c[0].o=2985122)>. Último acesso em: 27 fev. 2012.

GOMES, M. L. *et al.* Usos medicinais e composição química das folhas de *Licania macrophylla* Benth. (Chrysobalanaceae). **Revista Brasileira de Farmácia**. v. 87, p. 26-29, 2006.

GUERRA, A. S. *et al.* Anti-inflammatory and antinociceptive activities of indole-imidazolidine derivatives. **International Immunopharmacology**, 16 ago. 2011. PMID: 21855654.

GUSTAFSON, K. R. *et al.* HIV inhibitory natural products. 3. Diterpenes from *Homalantus acuminatus* and *Chrysobalanus icaco*. **Tetrahedron**, v. 47, p. 4547, 1991.

HARBORNE, J.B. **Phytochemical Methods**. 3<sup>a</sup> ed. London: Chapman & Hall, 1998.

HAVSTEEN, B. H. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. **Farmacology and Therapeutics**, v. 96, p. 67-202, 2002.

Hsu, Y.; Kuo, P. L.; Lin, C. C. Proliferative inhibition, cell-cycle dysregulation, and induction of apoptosis by ursolic acid in human non-small cell lung cancer A549 cells. **Life Sci**, v. 75, p. 2303-2316.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA (INCA). **Estimativa 2012**. Incidência de câncer no Brasil. Ministério da Saúde: Rio de Janeiro, 2011.

JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. New York: Mc Graw Hill Book, 1940.

JOLY, A. B. **Botânica**: introdução à taxonomia vegetal. [S. L.]: IBEP/ Nacional (Brasil), 1998.

KAMUHABWA, A.; NSHIMO, C.; DE WITTE, P. Cytotoxicity of some medicinal plant extracts used in Tanzanian traditional medicine. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 70, p. 143–149, 2000.

KLAASSEN, C. D. (Ed.). **Casarett & Doull's toxicology: the basic science of poisons**. 7. ed. New York: McGraw Hill, 2008. P. 29-31.

KOSCHUTNIG *et al.* Cytotoxic and apoptotic effects of single and mixed oxides of  $\beta$ -sitosterol on HepG2-cells. **Toxicology in Vitro**, v. 23 n. 5, p. 755-762, ago. 2009.

KRAUTER, D. Erfahrungen mit Etzolds FSA-Färbung für pflanzenschnitte. **Mikrokosmos**. V. 74, p. 231-233, 1985.

KONÉ, W. M. *et al.* Traditional medicine in North Côte-d'Ivoire: screening of 50 medicinal plants for antibacterial activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 93, p. 43–49, 2004.

LACAILLE-DUBOIS, M.A.; WAGNER, H. A review of the biological and pharmacological activities of saponins. **Phytomedicine**, v.2, p. 363-386, 1996.

LE COUTEUR P.; BURRESON J. **Os Botões de Napoleão**: as 17 moléculas que mudaram a história. Rio de Janeiro: Zahar, 2006. P. 169-171.

- LEE, I. *et al.* Cell-cycle specific cytotoxicity mediated by rearranged ent-Kaurene diterpenoids isolated from *Parinari curatellifolia*. **Chemico-Biological Interactions**, n. 99, p. 193-204, 1996.
- LEMKE, T. L.; WILLIAMS, D. A. **Foye's principles of medicinal chemistry**. 6. ed. Philadelphia (EUA): Lippincot Williams & Wilkins, 2008. P. 924-928.
- LEUNG, C. Y. *et al.* Saikosaponin-d inhibits T cell activation through the modulation of PKC $\theta$ , JNK e NF- $\kappa$ B transcription factor. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 338, p. 1920-1927, 2005.
- LIU, Jie. Pharmacology of oleanolic acid and ursolic acid. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 49, n. 2, p. 57–68, 1<sup>o</sup> dez.1995.
- MA, Chao-Mei *et al.* The cytotoxic activity of ursolic acid derivatives. **European Journal of Medicinal Chemistry**. V. 40, n. 6, p. 582-589, jun. 2005.
- MAGASSOUBA, F. B. *et al.* Corrigendum to “Ethnobotanical survey and antibacterial activity of some plants used in Guinean traditional medicine”. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 114, n. 1, p. 44–53, 2007.
- MENDEZ, J.; BILIA, A. R.; MORELLI, I. Phytochemical investigations of *Licania* genus: flavonoids and triterpenoids from *Licania pittieri*. **Pharmaceutica Acta Helvetiae**, n. 70, p. 223-226, 1995.
- METCALFE, C. R. & CHALK, L. **Anatomy of the dicotyledons: systematic anatomy of the leaf and stem**. 2. ed. Oxford: Clarendon Press, v.1, 1988.
- MEDINA, E. J. *et al.* A new extract of the plant *Calendula officinalis* produces a dual *in vitro* effect: cytotoxic anti-tumor activity and lymphocyte activation. **BMC Cancer**. v. 6. p.119, 2006.

- MIRANDA, M. S. *et al.* Anti-herpes simplex vírus effect of a seed extract from the tropical plant *Licania tomentosa* (Benth.) Fritsch (Chrysobalanaceae). **Phytomedicine**, v.9, p. 641-645, 2002.
- MOHAGHEGHZADEH, A. *et al.* Medicinal smokes. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 108, p. 161-184, 2006.
- MONKS, N. R. *et al.* Anti-tumor screening of Brazilian plants. **Pharmaceutical Biology**, v. 40, p. 603-616, 2002.
- MONTORO, P. *et al.* Structure–antioxidant activity relationships of flavonoids isolated from different plant species. **Food Chemistry**, v. 92, p. 349–355, 2005.
- MOSSMAN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunological Methods**, v. 65, p. 55-63, 1983.
- NDIAYE, M. *et al.* Antidiabetic properties of aqueous barks extract of *Parinari excelsa* in alloxan-induced diabetic rats. **Fitoterapia**, v.79, p. 267-270, 2008.
- OBERLIES, N. H.; KROLL, D. J. Camptothecin and Taxol: Historic Achievements in Natural Products Research. **Journal of Natural Products**, v. 67, p. 129, 2004.
- ORGANIZATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT (OECD). **OECD guideline for testing of chemicals: acute oral toxicity – up-and-down procedure** 425. Paris: [S.N.], 2001.
- OSTRAFF, M. *et al.* Traditional Tongan cures for morning sickness and their mutagenic: toxicological evaluations. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 71, p. 201–209, 2000.
- OTAKE, A. H. Câncer: novos alvos para o tratamento. **Ciência Hoje**, v. 38, n. 223, p. 28-33, 2006.

PATEL, S. R.; SUTHAR, A. P.; PATEL, R. M. In Vitro Cytotoxicity Activity of Semecarpus anacardium Extract Against Hep 2 Cell Line and Vero Cell Line. **International Journal of PharmTech Research**, v. 1., n. 4., p. 1429 - 1433, 2009.

PAULO, S. A. *et al.* *Chrysobalanus icaco* L. Extract for antiangiogenic potential observation. **International Journal of Molecular Medicine**, v. 5, n. 6, p. 667-669, 2000.

PITTIER, H. **Manual de las plantas usuales de Venezuela**. Caracas: Fundación Eugenio Mendoza, 1978. 579 p.

PRANCE, G T. **Flora do Estado de Goiás**. Coordenado por José Ângelo Rizzo. Goiânia (GO): Ed. da Universidade Federal de Goiás, 1988. 62 p.

PRESTA, G. A.; PEREIRA, N. A. Atividade do abagerú (*Crysobalanus icaco* Lin, Crysobalanaceae) em modelos experimentais para o estudo de plantas hipoglicemiantes. **Revista Brasileira de Farmácia**, v.68, p. 91, 1987.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; HITER, J. M. **Farmacologia**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003.

ROBERTSON, E.H.; CARTWRIGHT, R.A.; WOOD, D.J. J. Natural products of woody plants. **Science of Food and Agriculture**, v. 07, p. 637-640, 1957.

ROCHA, Fábio *et al.* Evaluation of antinociceptive and antiinflammatory effects of *Croton pullei* var. *glabrior* Lanj. (Euphorbiaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa , v.18, n. 3, jul./set. 2008.

SALISBURY, R. [Review of] Narrative of an Expedition to explore the River Zaire, usually called the Congo, in South Africa, in 1816, under the Direction of Captain J. H. Tuckey, R. N. **Monthly Review**, n. 86, p. 113–129, 292–305. 1818.

SCHOLZ, E. Pflanzliche Gerbstoffe: Pharmacologie und Toxikologie. **Deutsche Apotheker Zeitung**, v. 134, p. 3167-3179, 1994.

SERHAN, C. N. Resolution phase of inflammation: novel endogenous anti-inflammatory and proresolving lipid mediators and pathways. **Annual Review of Immunology**, v. 25, p. 101-137, 2007.

SILVA, R. R. *et al.* Effect of flavonoids on the arachidonic acid metabolism. **Medicina, Ribeirão Preto**, v. 35, p. 127-133, 2002.

SKEHAN, P. *et al.* New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer: drug screening. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 82, n.13, p. 1107-1112, 1990.

SSEGAWA, P.; KASENENE, J. M. Medicinal plant diversity and uses in the Sango bay area, Southern Uganda. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 113, p. 521–540, 2007.

SUBARNAS, A.; WAGNER, H. Analgesic and anti-inflammatory activity of the proanthocyanidin shelleaguein A from *Polypodium feei* METT. **Phytomedicine**, v. 7, p. 401-405, 2000.

SVETAZ, L. *et al.* Value of the ethnomedical information for the discovery of plants with antifungal properties: a survey among seven Latin American countries. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 127, p. 137–158, 2010.

TABARELLI, M.; SILVA, J. M. C. **Diagnóstico da Biodiversidade de Pernambuco**. Recife: Secretaria de Ciência, Tecnologia e Meio Ambiente/Massangana, 2002.

TOLEDO, C. L.; KUBITZKI, K. & PRANCE, G. H. **Flora de Venezuela**. Caracas: Fundación Educación Ambiental, 1982. V. 4, p. 332-406.

UKIYA, M. *et al.* Anti-inflammatory, antitumor-promoting, and cytotoxic activities of constituents of marigold (*Calendula officinalis*) flowers. **Journal of Natural Products**, v. 69, p. 1692-1696, 2006.

UYS, A. C. U. *et al.* Antimalarial compounds from *Parinari capensis*. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, n. 12, p. 2167, 2002.

VARGAS-SIMON, G.; ARELLANO-OSTOA, G.; GARCIA-VILLANUEVA, E. Propagación por estacas con hojas de icaco (*Chrysobalanus icaco*) y anatomía del enraizamiento. **Proceedings of the International Society for Tropical Horticulture**, v. 41, p. 264-269, 1997.

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

WAGNER, H.; BLADT, S. **Plant Drug Analysis – A thin layer chromatography atlas**. 2ªed. Berlim: Springer-Verlag, 1996.

WILCOX, D. *et al.* **D. Image Tool**. University of Texas Health Science Center. San Antonio, 2002.

WONG, Y. H.; KADIR, H. A.; LING, S. K. Bioassay-Guided Isolation of Cytotoxic Cycloartane Triterpenoid Glycosides from the Traditionally Used Medicinal Plant *Leea indica*. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, 2012.

XAVIER, H. S. **Lavandula stoechas L. (Lamiaceae): Estude Botanique, Chimique et Pharmacodynamique**. Tese (Doutorado), Université de Montpellier I (FR), 250 p., 1988.

YAKANDALAWALA, D.; MORTON, C. M.; PRANCE, G. T. Phylogenetic relationships of the Chrysobalanaceae inferred from chloroplast, nuclear and morphological data. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, n. 97, p. 259-281, 2010.

ZUQUE, A. L. F. *et al.* Avaliação das atividades antioxidante, antimicrobiana e citotóxica de *Couepia grandiflora* Benth. (Chrysobalanaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**,

## ANEXO

Universidade Federal de Pernambuco  
Centro de Ciências Biológicas

Av. Prof. Nelson Chaves, s/n  
50670-420 / Recife - PE - Brasil  
fones: (55 81) 2126 8840 | 2126 8351  
fax: (55 81) 2126 8350  
www.ccb.ufpe.br



Recife, 08 de março de 2012

Ofício 416/12

Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEA) da UFPE  
Para: **Profa. Karina Perrelli Randau**  
Departamento de Ciências Farmacêuticas - UFPE  
Processo nº 23076.052301/2011-00

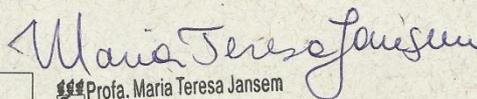
Os membros da Comissão de Ética em Experimentação Animal do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEEA-UFPE) avaliaram seu projeto de pesquisa intitulado: "**Estudo Botânico, Fitoquímico e Atividades Biológicas de *Hirtella racemosa* Lam (*Chrysobalanaceae*).**"

Concluimos que os procedimentos descritos para a utilização experimental dos animais encontram-se de acordo com as normas sugeridas pelo Colégio Brasileiro para Experimentação Animal e com as normas internacionais estabelecidas pelo National Institute of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals as quais são adotadas como critérios de avaliação e julgamento pela CEEA-UFPE.

Encontra-se de acordo com as normas vigentes no Brasil, especialmente a Lei 9.605 – art. 32 e Decreto 3.179-art 17, de 21/09/1999, que trata da questão do uso de animais para fins científicos.

Diante do exposto, emitimos **parecer favorável** aos protocolos experimentais realizados.

Atenciosamente,



 Prof. Maria Teresa Janssen  
Presidente do CEEA

Observação: Origem dos animais: Biotério do Departamento de Antibióticos (aquisição e manutenção) - UFPE; Animais: Camundongos, Linhagem: Albinos Swiss (*Mus musculus*); Sexo: Machos e Fêmeas; Idade: 60 dias; Peso: 25g; Nº de Animais previsto no projeto: 24 animais.

**APÊNDICE - Artigo enviado para a Revista Brasileira de Farmacognosia**

**Chrysobalanaceae: traditional uses, phytochemistry and pharmacology**

*Evanilson Alves Feitosa<sup>1</sup>, Haroudo Satiro Xavier<sup>1</sup>, Karina Perrelli Randau<sup>1\*</sup>*

*Laboratório de Farmacognosia, Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, Brazil.*

**Abstract:** Chrysobalanaceae is a family composed of seventeen genera and about 525 species. In Africa and South America some species have popular indications for various diseases such as malaria, epilepsy, diarrhea, inflammations and diabetes. Despite presenting several indications of popular use, there are few studies confirming the activities of these species. In the course of evaluating the potential for future studies, the present work is a literature survey on databases of the botanical, chemical, biological and ethnopharmacological data on Chrysobalanaceae species published since the first studies that occurred in the 60's until the present day.

**Keywords:** *Hirtella*, *Licania*, *Parinari*, Botany, Ethnopharmacology.

## **INTRODUCTION**

Chrysobalanaceae was first described by the botanist Robert Brown in his study “*Observations, systematical and geographical, on the herbarium collected by Professor Christian Smith, in the vicinity of the Congo, during the expedition to explore that river, under the command of Captain Tuckey, in the year 1816*” (Salisbury, 1818). It is a family composed of seventeen genera and about 525 species. These are woody plants, shrubs and trees found in tropical and subtropical regions, mainly in the New World tropics (Yakandawala et al., 2010). The wood is of little advantage due to high rate of silica, but several species have edible fruits (Prance, 1988).

## **MATERIAL AND METHODS**

An extensive search through books and original articles was carried out in this work. The search was performed accessing SciFinder, ScienceDirect, Web of Science, Scielo and NAPRALERT databases, updated to February 2012. The keywords used for this review were “Chrysobalanaceae”, “*Licania*”, “*Parinari*” and the names of all other Chrysobalanaceae genus. More than 90% of the references obtained were later consulted.

## **BOTANY (MORPHOLOGY AND MICROSCOPY)**

The Chrysobalanaceae plants have entire leaves, hard, provision of alternate, distichous, with stipules. Small flowers usually greenish-white, cyclic, zigomorphic, diclamides, with a developed receptacle, sepals and petals free, general pentamers, androecium consists of two stamens to many free or more or less welded together; superomedial ovary, bi to tricarpellate, unilocular, usually with only one ovule and fruit usually drupaceous. In the Brazilian cerrado and in the Amazonian forests trees from the species of the genus *Licania* can be found. Some of them are

known as “*oiticica*”, and they are oil-producing. The Cerrado species usually present a very twisted trunk. In northeastern Brazil, species of *Licania* and *Moquilea* are known as “*oiti*”. Other genera of the Amazon region produces the fruit called “*pajurá*” (*Parinarium*). Also in the Amazon, species of *Couepia* produce a type of nut known as “*castanha-de-cutia*” (Joly, 1998). Again in northeast Brazil, many are used as forage potential: *Chrysobalanus icaco*, *Couepia impressa*, *Couepia rufa*, *Couepia uiti*, *Licania parviflora*, *Licania salzmannii* and *Licania tomentosa*. In Pernambuco’s Atlantic Jungle region, they are used as fodder: *Couepia impressa* and *Couepia rufa* and on the coast *Chrysobalanus icaco* and *Licania tomentosa* (Tabarelli & Silva, 2002).

Metcalf & Chalk (1988) describes anatomical features of some species of Chrysobalanaceae. The petiole has a closed cylinder of xylem and phloem, and two small adaxial vascular strands, with variations occurring among genera and species of a single genus. The leaves show paracytic stomata (sometimes only on the abaxial surface) and epidermis with mucilaginous walls, with papillose on abaxial surface; hypoderm is present in some species. It has a ramified, peltate, stellate or glandular hairs. Mesophyll has predominantly a dorsiventral traversed by lignified cells, like fiber. Veins with vascular bundles surrounded by sclerenchymatous fibers. Vessel cells with simple perforations without spiral thickening, uni-triseriate bands of apotracheal parenchyma in heterogeneous rays, and pits bordered in fibers. Silica crystal, isolated or clustered, is present into membranes, into epidermis cells, into idioblasts surrounding leaf veins and in the mesophyll. Secretory cavities are also found in some genera. A continuous or discontinuous ring of sclerenchyma encircles the vascular cylinder, characterizing the pericycle, and cells with U-thickening in transversal section. The main vascular bundle shows variations related to xylem and phloem arrangement.

## **ETHNOPHARMACOLOGY**

In folk medicine, Chrysobalanaceae species are used for various purposes. Among those in popular use, the species of the genus *Licania* show the largest number of biological activities, and are vastly used in Venezuela as an anti-inflammatory (Pittier, 1978). Most of them are cultivated because of its edible fruits (Toledo et al., 1982).

In northeastern Brazil, *Licania* species has its leaves used to treat diabetes (Agra et al., 2007), stomach aches (Albuquerque et al., 2007), diarrhea and dysentery (Cartaxo et al., 2010). The stem bark of *Parinari excelsa*, which is widespread in Senegal (Ndiaye et al., 2008), is also used to treat diabetes; and also leaves of *Hirtella racemosa*, that is commonly known in the northern Brazil as “*ajirú-do-mato*” (Coelho-Ferreira, 2009).

*Chrysobalanus icaco*, also known as “*abajeru*”, is a medium sized shrub native of the American coast. It is used in folk medicine for the treatment of leucorrhoea, bleeding and chronic diarrhea, and is also known for its diuretic, hypoglycemic and antiangiogenic effects (Costa, 1977; Paulo et al., 2000; Vargas-Simon et al., 1997). In northern Brazil, its root is used to treat diabetes (Coelho-Ferreira, 2009).

*Parinari* species, like *P. curatellifolia* and *P. excelsa*, are traditionally used in Africa as a remedy for dysentery, epilepsy, malaria, toothache and venereal diseases (Uys et al., 2002; Arnold & Gulumian, 1984). The leave of *P. curatellifolia* is indicated to treat stomachaches in Southern Uganda (Ssegawa & Kasenene, 2007). The stem bark of *P. excelsa* is used in Guinea to treat infectious diseases (Magassouba et al., 2010). In West Africa, its stem bark is popularly known as anthelmintic, and its fruit is used to treat diarrhea (Diehl et al., 2004). In Tanzania it is used as an antiseptic and to treat malaria (Kamuhabwa et al., 2000). *P. polyandra* is also used to treat malaria in Ghana (Asase et al, 2005).

*Maranthes floribunda* bark is used in West Africa to treat diarrhea and dysentery (Koné et al., 2004), *Atuna racemosa* is used to treat pregnancy nausea in Polynesia (Ostraff et al., 2000), and in Latin America *Licania arborea* is used as an antifungal (Svetaz et al., 2010). In Senegal, a

cigarette is prepared from the stem bark of *Neocarya macrophylla* used as a remedy for snake bite (Mohagheghzadeh et al., 2006).

The ethnopharmacological uses of these species reveal that they present a significant number of indications in South America and Africa, where they are distributed. Usually, the popular knowledge can guide the search for medicinal plants, which occasionally results in the discovery of molecules with biological activity (Maciel et al., 2002). Therefore, species of *Licania* and *Parinari* can be studied for anti-inflammatory activity, diabetes and malaria.

## PHYTO-CONSTITUENTS

There are few studies that address the chemical composition of species Chrysobalanaceae beyond genres *Licania* and *Parinari*. Note that there are no studies with other genera of the family as *Hirtella*, *Dactyladenia*, *Exellodendron* or *Grangeria*.

Early phytochemical studies occurred in the 60's and described the presence of aglycone flavonoids in species of Rosaceae, including two taxa of Chrysobalanaceae: *Chrysobalanus icaco* and *Licania rigida*, where was identified the myricetin (Chaffaud & Emberger, 1960).

Later, the investigation of 31 species of *Parinari* in 1985 presented that they showed a predominance of flavonoids glycosides based on myricetin, quercetin, and kaempferol (Figure 1) (Coradin et al., 1985). Other phytochemicals studies of *Parinari* species led to the isolation and identification of flavonoids with fatty acids and their glycosides (Chisholm & Hopkins, 1966; Coradin et al., 1985). The molecules identified in Chrysobalanaceae are shown in the Table 1.

Phytochemical studies with the genus *Licania* shown similarities with other Chrysobalanaceae, resulting in the isolation and characterization of two majority classes of compounds: flavonoids and triterpene metabolites (Castilho et al., 2005). Isocarthamidin and 4-hydroxybenzoic acid were isolated by the powdered stems of *P. anamense* (Werawattanachai & Kaewamatawong, 2010). Of *P. curatellifolia*, diterpenes with molecular core ent-kaurene (figure 2)

derivative of 15-oxozoapatlin were isolated and presented cytotoxic activity (Lee et al., 1996). In other species, *P. campestris*, six diterpenes kaurane were also isolated (Braca et al., 2005).

The study of the phytochemical composition of the other genera in the family can contribute to the characterization of the major constituents in Chrysobalanaceae.

## **BIOLOGICAL ACTIVITIES**

There are studies that show the antihyperglycemic property of some species of Chrysobalanaceae, as *Chrysobalanus icaco* (Presta & Pereira, 1987) and *P. excelsa*, confirming its use in traditional medicine (Ndiaye et al., 2008).

Cytotoxic activity is observed in the pomolic acid of *Chrysobalanus icaco*. Betulinic and oleanolic acid of *Licania tomentosa*, show ability to inhibit the growth and induce apoptosis in the cell line erythroleukemia (K562), and also to prevent proliferation of Lucena 1, a derived vincristine-resistant from K562 (Fernandes et al., 2003). The root extract of *L. michauxii* has cytotoxicity against cultured human hepatoma (Hep G2) and colon carcinoma (Caco-2) (Badisa et al., 2000). Ent-kaurane diterpenes isolated from the root of *P. curatellifolia*, show cytotoxicity in vitro against several cancer cell lines (Lee et al., 1996). *P. capensis* has moderate cytotoxicity against cell lines of lung cancer, renal cancer and melanoma (Fouche et al., 2008).

The presence of cytotoxicity may be indicative of anticancer action of these compounds, further studies are needed to assess the mechanism of action responsible for cytotoxicity and *in vivo* evaluation of these molecules and extracts. The presence of cytotoxic activity of kaurane diterpenes is discussed in many studies in different species (He et al., 2009; Huéso-Falcon et al., 2010; Lin et al., 2012);

Diterpenes found in *P. capensis* have antifungal (Garo et al., 1997) and antimalarial activity, but have high toxicity (Uys et al., 2002). The hexane extract of *Couepia grandiflora* has

antibacterial activity against *Pseudomonas aeruginosa* and the ethanolic extract against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* (Zuque et al., 2004).

Diterpenes of *Chrysobalanus icaco* have anti-HIV activity (Gustafson et al., 1991), and aqueous extract of leaves have a potent genotoxic effect (Ferreira-Machado et al., 2004).

Other activities of the genus *Licania* are described. Quercetin flavonoids obtained from sheets of *L. licaniaeflora* and *L. heteromorpha* exhibit antioxidant activity (Braca et al., 2001<sup>1</sup>; Montoro et al., 2005). *L. carii*, *L. pittieri* and *L. pyrifolia* are toxic against *Biomphalaria glabrata* Say, a mollusk involved in the reproductive cycle of *Schistosoma mansoni* Sambon (Bilia et al., 2000). The extract of *L. tomentosa* has the ability to inhibit herpes simplex virus type I acyclovir-resistant (ACVr-HSV1) and interfere with the initial process of infection in non-cytotoxic concentrations (Miranda et al., 2002)

The fruits of *Atuna racemosa* presents anti-inflammatory activity by inhibiting the biosynthesis of prostaglandins (Dunstan et al., 1997). Although *Licania* species have popular indication as anti-inflammatory, there are few studies to support this use.

## CONCLUSION

Chrysobalanaceae species have indications in the traditional medicine and treatments for various diseases such as malaria, epilepsy, diarrhea, bleeding, venereal disease and diabetes. But there are few studies, both phytochemical and pharmacological, which express with larger therapeutic potential of these species and chemicals.

*Chrysobalanus icaco* and *Parinari excelsa* have results that express their potential on treating diabetes, but other species with popular indications such as *Hirtella racemosa*, lack of pharmacological studies. *Licania tomentosa* and *Chrysobalanus icaco* have activity in vitro in the treatment of multidrug-resistant erythroleukemia, confirming the value of natural products in search of new active substances. We should also watch for the need of developing countries to research

alternative therapies and substances candidates for drugs to fight diseases called "neglected". Species such as *Parinari excelsa* and *P. curatellifolia* present popular indication in the treatment of malaria, and there are no studies to prove this statement, while *Licania carii*, *L. pittieri* and *L. pyrifolia* need more studies to prove his action in the fight against schistosomiasis.

Moreover, it appears that the molecules isolated by Chrysobalanaceae, mostly, are flavonoids and terpenoids. In a particular way, flavonoids and terpenes being mentioned in most species of *Licania* and kaurene diterpene in species of *Parinari*.

Chrysobalanaceae still presents itself as an unexplored source for the isolation and characterization of new active substances. Thus, new researches can open new paths in the discovery of molecules with therapeutic action and drug discovery.

## REFERENCES

- Agra MF, França PF, Barbosa-Filho JM 2007. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. *Rev Bras Farmacogn* 17: 114-140.
- Albuquerque UP, Monteiro JM, Ramos MA, Amorim ELC 2007. Medicinal and magic plants from a public market in northeastern Brazil. *J Ethnopharmacol* 110: 76-91.
- Arnold HJ, Gulumian MJ 1984. Pharmacopoeia of traditional medicine in Venda. *J Ethnopharmacol* 12: 35-pg final.
- Asase A, Oteng-Yeboah A A, Odamtten G T, Simmondsb M S J 2005. Ethnobotanical study of some Ghanaian anti-malarial plants. *J Ethnopharmacol* 99: 273–279.
- Badisa BB, Chaundhuri SK, Pilarinou E, Rutkoski NJ, Hare J, Levenson CW 2000. *Licania michauxii* Prance root extract induces hsp 70 mRNA and necrotic cell death in cultured human hepatoma and colon carcinoma cell lines. *Cancer Lett* 149: 61-68.
- Bilia AR, Ciampi L, Mendez J, Morelli I 1996<sup>1</sup>. Phytochemical investigations of *Licania* genus. Flavonoids from *Licania pyrifolia*. *Pharm Acta Helv* 71: 199-204.

- Bilia AR, Mendez J, Morelli I 1996<sup>2</sup>. Phytochemical investigations of *Licania* genus. Flavonoids and triterpenoids from *Licania carii*. *Pharm Act Helv* 71: 191-197.
- Bilia AR, Braca A, Mendez J, Morelli I 2000. Molluscicidal and piscicidal activities of venezuelan Chrysobalanaceae plants. *Life Sci* 66/ 4: 53-59.
- Braca A, Bilia AR, Mendez J, Morelli I 1999<sup>1</sup>. Three flavonoids from *Licania densiflora*. *Phytochem* 51: 1125-1128.
- Braca A, De Tomassi N, Mendez J, Morelli I 1999<sup>2</sup>. Flavonoids and triterpenoids from *Licania heteromorpha* (Chrysobalanaceae). *Biochem Syst Ecol* 27: 527-530.
- Braca A, De Tommasi N, Mendez J, Morelli I, Pizza C 1999<sup>3</sup>. Three flavonoids from *Licania heteromorpha*. *Phytochem* 51: 1121-1124.
- Braca A, Sortino C, Mendez J, Morelli I 2001<sup>1</sup>. Triterpenes from *Licania licaniaeflora*. *Fitoter* 72: 585-587.
- Braca A, Bilia A R, Mendez J, Morelli I 2001<sup>2</sup>. Myricetin glycosides from *Licania densiflora*. *Fitoter* 72: 182-185.
- Braca A, Luna D, Mendez J, Morelli I 2002. Flavonoids from *Licania apetala* and *Licania licaniaeflora* (Chrysobalanaceae). *Biochem Syst Ecol* 30: 271-273.
- Braca A, Abdel-Razik AF, Mendez J, Morelli I 2005. A new kaurane diterpene dimer from *Parinari campestris*. *Fitoter* 76: 614-619.
- Cartaxo SL, Souza MMA, Albuquerque UP 2010. Medicinal plants with bioprospecting potential used in semi-arid northeastern Brazil. *J Ethnopharmacol* 131: 326-342.
- Carvalho MG, Da Costa PM 2009. Outros constituintes isolados de *Licania arianaeae* (Chrysobalanaceae). *Brazil J Pharmacogn* 19(1B): 290-293.
- Castilho RO, Oliveira RR, Kaplan MAC 2005. Licanolide, a new triterpene lactone from *Licania tomentosa*. *Fitoter* 76: 562-566.
- Castilho RO, Kaplan MAC 2008. Constituintes químicos de *Licania tomentosa* BENTH. (Chrysobalanaceae). *Quim Nova* 31: 66-69.

- Chaffaud M, Emberger L 1960. *Traité de Botanique Systematique Vol. II*. Paris: Masson, p 1338-1340.
- Chisholm MJ, Hopkins, CY 1966. Kamloenic acid and other conjugated fatty acids in certain seed oils. *J Am Oil Chem Soc* 43: 390-392.
- Coelho-Ferreira M 2009. Medicinal knowledge and plant utilization in an Amazonian coastal community of Marudá, Pará State (Brazil). *J Ethnopharmacol* 126: 159-175.
- Coradin L, Giannasi DE, Prance AT 1985. Chemosystematic studies in the Chrysobalanaceae. Flavonoids in Parinari. *Britton* 37 (2): 169-178.
- Costa OA 1977. *Plantas hipoglicemiantes brasileiras II*. Brasil: Leandra p 63-75.
- Diehl M S, Atindehou K K, T´er´e H, Betschart B 2004. Prospect for anthelmintic plants in the Ivory Coast using ethnobotanical criteria. *J Ethnopharmacol* 95: 277–284.
- Dunstan CA, Noreen Y, Serrano G, Cox PA, Pereira P, Bohlin L 1997. Evaluation of some Samoan and Peruvian medicinal plants by prostaglandin biosynthesis and rate ear oedema assays. *J Ethnopharmacol* 57: 35-36.
- Fernandes J, Castilho RO, Costa MR, Wagner-Souza K, Kaplan MAC, Gattass CR 2003. Pentacyclic triterpenes from Chrysobalanaceae species: cytotoxicity on multidrug resistant and sensitive leukemia cell lines. *Cancer Lett* 190: 165-169.
- Ferreira-Machado SC, Rodrigues MP, Nunes APM, Dantas FJS, De Matos JCP, Silva CR, Moura EG, Bezerra RJAC, Caldeira-de-Araujo A 2004. Genotoxic potentiality of aqueous extract prepared from *Chrysobalanus icaco* L. leaves. *Toxicol Lett* 151: 481-487.
- Fouche G, Cragg G M, Pillay P, Kolesnikova N, Maharaj V J, Senabe J 2008. *In vitro* anticancer screening of South African plants. *J Ethnopharmacol* 119: 455–461.
- Garo E, Maillard M, Hostettmann K, Stoeckli-Evans H, Mavi S 1997. Absolute Configuration of a Diterpene Lactone from *Parinari capensis*. *Helv Chim Acta* 80: 538.

- Gustafson KR, Munro MHG, Cardellina JH, Malon JB, Gulakowski RJ, Cragg GM, Cox PB, Linda SJ 1991. HIV inhibitory natural products. 3. Diterpenes from *Homalantus acuminatus* and *Chrysobalanus icaco*. *Tetrahedron* 47: 4547.
- Hueso-Falcón I, Girón N, Velasco P, Amaro-Luis JM, Ravelo AG, Heras B, Hortelano S, Estevez-Braun A 2010. Synthesis and induction of apoptosis signaling pathway of *ent*-kaurane derivatives. *Bioorg. Med Chem* 18: 1724-1735. Issue 4.
- He F, Xiao WL, Pu JX, Wu YL, Zhang HB, Li XN, Zhao Y, Yang LB, Chen GQ, Sun HD 2009. Cytotoxic *ent*-kaurane diterpenoids from *Isodon sinuolata*. *Phytochemistry* 70: 1462-1466. Issues 11–12.
- Joly AB 1998. *Botânica: introdução à taxonomia vegetal*. Brasil: IBEP.
- Kamuhabwa A, Nshimo C, de Witte P 2000. Cytotoxicity of some medicinal plant extracts used in Tanzanian traditional medicine. *J Ethnopharmacol* 70: 143–149.
- Koné WM, Atindehou KK, Terreaux C, Hostettmann K, Traoré D, Dosso M 2004. Traditional medicine in North Côte-d'Ivoire: screening of 50 medicinal plants for antibacterial activity. *J Ethnopharmacol* 93: 43–49.
- Lee I, Shamon L, Chai H, Chagwedera TE, Besterman JM, Farnsworth NR, Cordell GA, Pezzuto JM, Kinghorn AD 1996. Cell-cycle specific cytotoxicity mediated by rearranged *ent*-Kaurene diterpenoids isolated from *Parinari curatellifolia*. *Chem-Biol Interact* 99: 193-204.
- Lin L, Gao Q, Cui C, Zhao H, Fu L, Chen L, Yang B, Luo W, Zhao M 2012. Isolation and identification of *ent*-kaurane-type diterpenoids from *Rabdosia serra* (MAXIM.) HARA leaf and their inhibitory activities against HepG-2, MCF-7, and HL-60 cell lines. *Food Chem* 131: 1009-1014. Issue 3.
- Maciel MAM, Pinto AC, Veiga Jr VF, Grynberg NF, Echevarria A 2002. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. *Quim Nova* 25. no.3.
- Magassouba F B, Diallo A, Kouyaté M, Mara F, Mara O, Bangoura O, Camara A, Traoré S, Diallo A K, Zaoro M, Lamah K, Diallo S, Camara G, Traoré S, Kéita A, Camara M K, Barry R,

- Kéita S, Oularé K, Barry M S, Donzo M, Camara K, Toté K, Vanden Berghe D, Totté J, Pieters L, Vlietinck A J, Baldé A M 2010. Corrigendum to “Ethnobotanical survey and antibacterial activity of some plants used in Guinean traditional medicine”. *J Ethnopharmacol* 114: 44–53.
- Mendez J, Bilia AR, Morelli I 1995. Phytochemical investigations of *Licania* genus. Flavonoids and triterpenoids from *Licania pittieri*. *Pharm Acta Helv* 70: 223-226.
- Metcalf CR, Chalk L 1988. *Anatomy of the dicotyledons: systematic anatomy of the leaf and stem vol 1*. Oxford: Clarendon Press.
- Miranda MMFS, Gonçalves JLS, Romanos MTV, Silva FP, Pinto L, Silva MH, Ejzemberg R, Granja LFZ, Wigg MD 2002. Anti-herpes simplex virus effect of a seed extract from the tropical plant *Licania tomentosa* (Benth.) Fritsch (Chrysobalanaceae). *Phytomed* 9: 641-645.
- Mohagheghzadeh A, Faridi P, Shams-Ardakani M, Ghasemi Y 2006. Medicinal smokes. *J Ethnopharmacol* 108: 161-184.
- Montoro P, Braca A, Pizza C, De Tommasi N 2005. Structure–antioxidant activity relationships of flavonoids isolated from different plant species. *Food Chem* 92: 349–355.
- Ndiaye M, Diatta W, Sy AN, Dièye AM, Faye B, Bassène E 2008. Antidiabetic properties of aqueous barks extract of *Parinari excelsa* in alloxan-induced diabetic rats. *Fitoter* 79: 267-270.
- Ostraff M, Anitoni K, Nicholson A, Booth GM 2000. Traditional Tongan cures for morning sickness and their mutagenic: toxicological evaluations. *J Ethnopharmacol* 71: 201–209.
- Paulo SA, Balassiano IT, Silva NH, Castilho RO, Kaplan MAC, Cabral MC, Carvalho MGC 2000. *Chrysobalanus icaco* L. Extract for antiangiogenic potential observation. *Internat J Mol Med* 5: 667-669.
- Pittier H 1978. *Manual de las plantas usuales de Venezuela*. Caracas: Editorial Fundación Eugenio Mendoza, p 579.
- Prance G T 1988. *Flora do Estado de Goiás*. Goiânia: Ed. da Universidade Federal de Goiás.

- Presta GA, Pereira NA 1987. Atividade do abagerú (*Chrysobalanus icaco* Lin, Chrysobalanaceae) em modelos experimentais para o estudo de plantas hipoglicemiantes. *Rev Bras Farmác* 68: 91.
- Salisbury R 1818. "[Review of] Narrative of an Expedition to explore the River Zaire, usually called the Congo, in South Africa, in 1816, under the Direction of Captain J. H. Tuckey, R. N". *Month Rev* 86: 113-129, 292-305.
- Ssegawa P, Kasenene J M 2007. Medicinal plant diversity and uses in the Sango bay area, Southern Uganda. *J Ethnopharmacol* 113: 521–540.
- Svetaz L, Zuljan F, Derita M, Petenatti E, Tamayo G, Cáceres A, Filho V C, Giménez A, Pinzón R, Zacchino S A, Gupta M 2010. Value of the ethnomedical information for the discovery of plants with antifungal properties. A survey among seven Latin American countries. *J Ethnopharmacol* 127: 137–158.
- Tabarelli M, Silva JMC 2002. *Diagnóstico da Biodiversidade de Pernambuco*. Recife: Secretaria de Ciência, Tecnologia e Meio Ambiente, Editora Massangana.
- Toledo CL, Kbitzki K, Prance GH 1982. *Flora de Venezuela vol IV*. Caracas: Ediciones Fundacion Educacion Ambiental p 332-406.
- Uys ACU, Malan SF, van Dyck S, van Zyl RL 2002. Antimalarial compounds from *Parinari capensis*. *Bioorg Medic Chem Lett* 12: 2167.
- Vargas-Simon G, Arellano-Ostoa G, Garcia-Villanueva E 1997. Propagación por estacas com hojas de icaco (*Chrysobalanus icaco*) y anatomía del enraizamiento. *Proced Internat Soc Trop Horticul* 41: 264-269.
- Werawattanachai N, Kaewamatawong R 2010. Chemical constituents from *Parinari anamense*. *Biochem Syst Ecol* 38: 836–838.
- Yakandawala D, Morton CM, Prance GT 2010. Phylogenetic Relationships of the Chrysobalanaceae inferred from chloroplast, nuclear, and morphological data. *Ann Missouri Bot Gard* 97: 259-281.

Zuque ALF, Watanabe ES, Ferreira AMT, Arruda ALA, Resende UM, Bueno NR, Castilho RO  
 2004. Avaliação das atividades antioxidante, antimicrobiana e citotóxica de *Couepia grandiflora* Benth. (Chrysobalanaceae). *Rev Bras Farmacog* 14: 129-136.

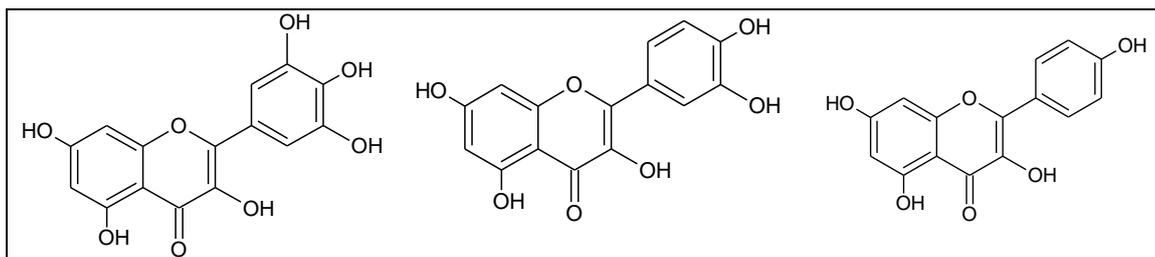


Figure 1 – Myricetin, Quercetin and Kaempferol. The most prominent flavonoids found in species of *Licania* and *Parinari*, as their glycoside derivates.

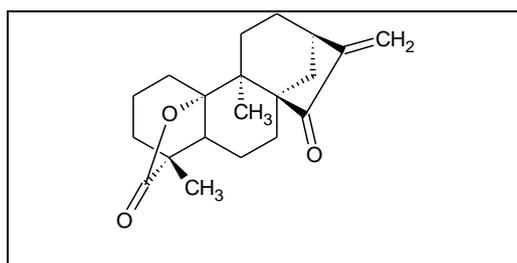


Figure 2 – 15-Oxozoapatlina, a diterpene core kaurane identified in *P. curatellifolia* (Lee et al., 1996).

Table 1 – Molecules identified in Chrysobalanaceae species		
Specie	Molecules	Ref
<i>Licania apetala</i>	Kaempferol-3-rutinoside, Myricetin-3-rhamnoside, Myricetin-4'-rhamnoside, Quercetin-3-rhamnoside, Quercetin-3-arabinoside, Quercetin-3-galactoside, Quercetin 3-glucoside, Rutin, Taxifolin-3-rhamnoside.	(Braca et al., 2002)
<i>Licania arianae</i>	Acid 3-O-[6'-O-4-hidroxibenzoil]-β-D-galactopiranosil-ursa-12-en-28-óico, Acid flavone-6-sulphonic, 4'-O-methyl-5,7-diidroxi-flavone-6-sulphonic.	(Carvalho & Da Costa, 2009)
<i>Licania densiflora</i>	Myricetin, Myricetin-3-rhamnoside, Myricetin-3-glucoside, Myricetin-3-galactoside, Myricetin-4'-methoxy-3-rhamnoside, Myricetin 3',5'-dimethylether-3-rhamnoside, Myricetin-3'-methylether-3-galactoside, Myricetin 3'-methylether-3-glucoside, Myricetin 3',5'-dimethylether-3-O-glucoside, Myricetin 3-O-α-L-(2''-O-α-L-rhamnopyranosyl)-rhamnopyranoside, 3',4'-dimethylmyricetin-3-O-β-D-glucopyranoside, Quercetin, Quercetin-3-rhamnoside, Quercetin 3-glucoside, Narigenin 8-hydroxy-4'-methyl ether, Catechin	(Braca et al., 1999 <sup>1</sup> ; Braca, 2001 <sup>2</sup> )
<i>Licania heteromorpha</i>	Myricetin-3-galactoside, Myricetin-4'-methoxy-3-rhamnoside, Myricetin 3,4'-di-O-α-L-rhamnopyranoside, Myricetin 4'-methyl ether 3-O-β-D-galactopyranoside, Myricetin-4'-methoxy-3-galactoside, Myricetin-4'-methoxy-3-glucoside, Myricetin 7-methyl	(Braca et al., 1999 <sup>2</sup> ; Braca et al., 1999 <sup>3</sup> )

	ether 3,4'-di-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside, Betulinic acid, Alphitolic acid.	
<i>Licania licaniaeflora</i>	Kaempferol-3-(2''-xylosyl)rhamnoside, Kaempferol-3-rhamnoside, Myricetin-3-arabinoside, Myricetin-3-galactoside, Dihidromyricetin-3-rhamnoside, Quercetin-3-rhamnoside, Quercetin-3-arabinoside, 8-hydroxy-narigenin, Taxifolin-3-rhamnoside, Oleanolic acid, Maslinic acid, Oleanolic acid 3-O-arabinoside, Betulinic acid, Arjunetin, Tomentic acid glucosyl ester, Pomolic acid, Olean-12-en-2 $\alpha$ ,3 $\beta$ -diol.	(Braca et al., 2002, Braca et al., 2001 <sup>1</sup> , Bilia et al., 1996 <sup>1</sup> )
<i>Licania pittieri</i>	Quercetin, Quercetin-3-rhamnoside, Quercetin-3-arabinoside, Quercetin-3-galactoside, Quercetin 3-glucoside, Catechin, Epicatechin, Ursolic acid, Oleanolic acid.	(Bilia et al., 1996 <sup>1</sup> ; Mendez et al., 1995)
<i>Licania pyrifolia</i>	Kaempferol, Kaempferol-3-rhamnoside, Kaempferol-3-arabinoside, Kaempferol-3-(2''-xylosil) rhamnoside, Hipoletin, 8-Hydroxy-eriodictyol, 8-Hydroxy-narigenin, Myricetin, Myricetin-3-rhamnoside, Myricetin-3-(2''-xylosyl)rhamnoside, Quercetin, Quercetin-3-rhamnoside, Quercetin-3-arabinoside, Quercetin-3-(2''-xylosyl)rhamnoside.	(Bilia et al., 1996 <sup>1</sup> )
<i>Licania tomentosa</i>	Betulinic acid, Licanolide, Palmitoic acid, Oleanolic acid, Stigmasterol, Sitosterol, Lupeol, Tomentic acid, Ursolic acid.	(Castilho & Kaplan, 2008)
<i>Licania carii</i>	Myricetin-3-rutinoside, Myricetin-3-glucoside, Myricetin-3-(2''-xylosyl)rhamnoside, Quercetin-3-(2''-xylosyl)rhamnoside, Quercetin-3-galactoside, Quercetin 3-glucoside, Rutin, 2 $\alpha$ -hydroxy ursolic acid, Betulinic acid, Maslinic acid.	(Bilia et al., 1996 <sup>2</sup> )
<i>Parinari campestris</i>	Kaempferol-3-rutinoside, 15-oxoapatlin-13 $\alpha$ -yl-10 $\alpha$ ,16 $\alpha$ -dihydroxy-9 $\alpha$ -methyl-20 $\alpha$ -nor-kauran-19 $\alpha$ -oic acid $\gamma$ -lactone-17 $\alpha$ -oate, 13-hydroxy-15-oxoapatlin, 10 $\alpha$ ,13 $\alpha$ ,16 $\alpha$ ,17-tetrahydroxy-9 $\alpha$ -methyl-15-oxo-20-nor-kauran-19-oic acid $\gamma$ -lactone, 2 $\alpha$ ,10 $\alpha$ ,13 $\alpha$ ,16 $\alpha$ ,17-pentahydroxy-9 $\alpha$ -methyl-15-oxo-20-nor-kauran-19-oic acid (19,10)-lactone, 3 $\alpha$ ,10 $\alpha$ ,13 $\alpha$ ,16 $\alpha$ ,17-pentahydroxy-9 $\alpha$ -methyl-15-oxo-20-nor-kauran-19-oic acid $\gamma$ -lactone, 1 $\beta$ ,16 $\alpha$ ,17-trihydroxy-ent-kaurane.	(Coradin et al., 1985; Braca et al., 2005)
<i>Parinari curatellifolia</i>	15-Oxoapatlin, 13-Methoxy-15-oxoapatlin, 13-Hydroxy-15-oxoapatlin.	(Lee et al., 1996)
<i>Chrysobalanus icaco</i>	Pomolic acid.	(Fernandes et al., 2003)