



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

GIBSON GOMES DE OLIVEIRA

ESTUDOS FARMACOGNÓSTICOS DE *Adenocalymma imperatoris- maximilianii*
(WAWRA) L. G. LOHMANN E ATIVIDADE BIOLÓGICA (BIGNONEACEAE)

Recife

2014

GIBSON GOMES DE OLIVEIRA

**ESTUDOS FARMACOGNÓSTICOS DE *Adenocalymma imperatoris- maximilianii*
(WAWRA) L. G. LOHMANN E ATIVIDADE BIOLÓGICA (BIGNONEACEAE)**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Ciências Farmacêuticas do Centro de Ciências
da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco,
como parte dos requisitos para obtenção do título
de Doutor em Ciências Farmacêuticas.

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

Orientador: Prof. Dr. Sebastião José de Melo

Recife

2014

Catálogo na Fonte
Bibliotecária: Gláucia Cândida, CRB4-1662

- O48e Oliveira, Gibson Gomes de.
Estudos farmacognósticos de *Adenocalymma imperatoris- maximilianii* (wawra) L. G. Lohmann e atividade biológica (bignoneaceae) / Gibson Gomes de Oliveira.. – Recife: O autor, 2014.
200 f: il. ; 30 cm.
- Orientador: Sebastião José de Melo.
Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS.
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, 2014.
Inclui Referências, apêndices e anexos.
1. Bignoniaceae. 2. Antivirais. I. Melo, Sebastião José de. (Orientador). II. Título.
- 615.3 CDD (23.ed.) UFPE (CCS2014-154)

GIBSON GOMES DE OLIVEIRA

**ESTUDOS FARMACOGNÓSTICOS DE *Adenocalymma imperatoris- maximilianii*
(WAWRA) L. G. LOHMANN E ATIVIDADE BIOLÓGICA (BIGNONEACEAE)**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências Farmacêuticas.

Aprovado em 29 de maio de 2014.

BANCA EXAMINADORA:

Profª. Dra. Janete Magali de Araújo (membro externo)

Centro de Ciências Biológicas da UFPE - Departamento de Antibióticos

Prof. Dr. Sebastião José de Melo (membro interno-Orientador-presidente)

Centro de Ciências Biológicas da UFPE - Departamento de Antibióticos

Prof. Dra. Gláucia Manoella de Souza Lima (membro externo)

Centro de Ciências Biológicas da UFPE - Departamento de Antibióticos

Prof. Dr. Emerson Peter da Silva Falcão (membro externo)

Núcleo de Nutrição – UFPE/ Vitória de Santo Antão

Profª. Dra. Elba Lucia Cavalcante Amorim (membro interno)

Centro de Ciências da Saúde da UFPE - Departamento de Ciências Farmacêuticas

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
DOUTORADO EM OBTENÇÃO E AVALIAÇÃO DE PRODUTOS
NATURAIS E BIOATIVOS**

**ANÍSIO BRASILEIRO DE FREITAS DOURADO
REITOR**

**SÍLVIO ROMERO MARQUES
VICE-REITOR**

**FRANCISCO DE SOUSA RAMOS
PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**

**NICODEMOS TELES DE PONTES FILHO
DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**VÂNIA PINHEIRO RAMOS
VICE-DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**ANTÔNIO RODOLFO DE FARIA
CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**DALCI JOSÉ BRONDANI
VICE-CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**ALMIR GONÇALVES WANDERLEY
COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS**

**ANA CRISTINA LIMA LEITE
VICE-COORDENADORA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

AGRADECIMENTOS

*Primeiramente a **Deus** pela minha existência e capacidade de realizar os meus objetivos.*

*Aos meus pais **Antonio Gomes** e **Rute Maria** que lapidaram minha personalidade e me oferecem todo seu amor incondicional e exemplo de vida.*

*A minha esposa **Diégina Claudia** e meu filho **Gibson Gomes Jr.** pelo apoio, incentivo, compreensão, amor e paciência nos momentos desafiantes.*

*Aos meus irmãos **Gileno Gomes** e **Genilton Gomes** pelos momentos de ensinamentos e lazer em família.*

*Aos meus sobrinhos **Miguel, Beatriz, Alice, Heleninha e Mariana** pelos momentos de descontrações em nossos encontros.*

*Aos meus tios **Elias Apolinário** e **Marlene Apolinário** pela alimentação balanceada para manter a mente e corpo são, e por me ensinar a viver e acreditar que os sonhos podem se tornar reais.*

*A toda minha **Família** que foi a base e exemplo seguido para minha formação como cidadão.*

*Ao amigo **Welson** e **família** pelos incentivos e disposição para colaborar no que fosse preciso.*

*A amiga **Verônica Gomes** pela dieta balanceada nos momentos finais deste trabalho, a qual proporcionou muita disposição nesta etapa tão árdua e pelos momentos de descontração.*

*Aos Amigos **Gerson, Simone, Dalva** e **família** pela força, alegria e humildade que me foi dispensada em todos os momentos que estávamos juntos.*

A Todos os meus **Amigos** que fizeram parte direta ou indiretamente para realização deste trabalho.

À **Universidade Federal de Pernambuco** e ao **Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas** pela oportunidade.

Aos meus orientadores **Profº Dr. Sebastião José de Melo e Dr. Haroudo Sátiro Xavier** pelos ensinamentos, paciência, confiança e amizade.

Ao amigo **José Antonio**, pelo incentivo, convivência e ensinamentos dado para a realização deste novo projeto de vida, sempre demonstrando humildade, perseverança e que mesmo nos momentos mais críticos nunca deixou de acreditar.

Ao amigo **Gustavo Dimech** pelo convívio e ensinamento nos experimentos antibacterianos.

A **Isla Bastos** pelos momentos de confinamento e ensinamentos, e por tornar este objetivo mais perto de seu alcance.

Ao Prof. Dr. **Norberto Peporine Lopes** pela oportunidade de Estágio no laboratório do Núcleo de produtos Naturais e Sintéticos de Ribeirão Preto-USP.

Ao Especialista **José Carlos Tomaz** pela lição de generosidade e humildade, sempre disposto a estender a mão, e pelos momentos de reflexão e lazer.

Aos Especialistas **Jaqueline Nadau e Cristina da Silva** pela disponibilidade e convívio nos momentos de experimentos e lazer.

A todos os **colegas** de doutorado e iniciação científica, pela amizade e companheirismo, em especial ao mestrando **Rômulo Sampáio**, pela ajuda nos momentos mais difíceis desta jornada.

A todos os **professores** do programa e aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

Ao Laboratório de Virologia e Terapia Experimental do Centro de Pesquisa Ageu Magalhães-FIOCRUZ.

Ao Laboratório de Fisiologia e Bioquímica de Microrganismo da Universidade Federal de Pernambuco.

À CAPES pela concessão da Bolsa de Pesquisa.

À FACEPE pelo Auxílio de Mobilidade Discente.

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota”. (Madre Teresa de Calcuta)

RESUMO

Adenocalymma imperatoris-maximilianii (Wawra) L.G. Lohmann (Bignoniaceae) é uma liana conhecida como cipó-amarelo no Nordeste brasileiro, utilizada para afecções da pele e como alimento para caprinos. O presente estudo teve como objetivo caracterizar a morfoanatomia, histoquímica, realizar prospecção fitoquímica e atividades biológicas, frente a vírus, bactérias e linhagens de células tumorais, dos extratos aquosos, metanólicos, hexânicos, clorofórmicos, diclorometânicos e acetato de etila, das raízes, caules, folhas e flores. Para o estudo anatômico foram utilizadas técnicas para montagem de lâminas semipermanentes. Na prospecção fitoquímica preliminar (extrato metanólico) utilizou-se cromatografia em camada delgada (CCD) e cromatografia a gás- acoplada a espectrometria de massa-CG-EM (extratos: hexano, clorofórmio, diclorometano e acetato de etila). Para a análise antiviral, foi utilizada linhagem celular BHK-21-rep-FA17D-LucNeoIres. Para os testes antibacterianos utilizou-se metodologia de Concentração Inibitória Mínima e Bactericida frente a *Staphylococcus aureus* (CIM e CBM). Para análise citotóxica frente às linhagens celulares: NCI-H292-carcinoma mucoepidermoide de pulmão humano; HEp-2-carcinoma de laringe humana; HL-60 -leucemia promielocítica aguda e MCF-7-câncer de mama humano, utilizou-se o método do MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromido). Anatomicamente foram evidenciados: estômatos paracíticos, anisocíticos e ciclocíticos, cutícula espessa, flange cuticular, presença de cristais prismáticos, tricomas glândulares e tectores, calotas de esclerênquima circundando os feixes vasculares, histoquimicamente evidenciou-se polifenóis totais, amido e lipídeos totais no mesofilo dos foliíolos. Preliminarmente, foram evidenciados por CCD: flavonóides, açúcares redutores, taninos, derivados cinâmicos, terpenos/esteróides, heterosídeos saponinicos. Na análise por CG-EM: Lupeol, lupenona, stigmasterol, β -amirina, β -sitosterol, esqualeno, neofitadieno, ácido octadeca-9,12-dienóico éster metílico, Ácido 1,2-benzeno, bis-(2-etil-hexil). No presente trabalho, foram identificados dez alcalóides pela primeira vez para família Bignoniaceae. O extrato bruto aquoso das raízes, caules e folhas testados frente ao vírus da febre amarela, não apresentou atividade, e o extrato bruto metanólico das raízes, caules e folhas não foram tóxico frente às linhagens de células tumorais tratadas (NCI-H292-carcinoma mucoepidermoide de pulmão humano; HEp-2-carcinoma de laringe humana; HL-60 -leucemia promielocítica aguda e MCF-7-câncer de mama humano). Os extratos brutos das partes vegetativas apresentaram atividade antibacteriana (CIM e CBM) que variaram de 32 a 1024 $\mu\text{g/mL}$, frente a *Staphylococcus aureus* Multiresistente e Multissensíveis. Face ao exposto, a espécie *Adenocalymma imperatoris-maximilianii*, pode ser considerada uma fonte promissora de moléculas bioativas para terapêutica moderna. Estas são as primeiras contribuições químicas e biológicas para a espécie.

Palavras chaves: Bignoniaceae. Lianas. Antiviral. Antibacteriano. Citotoxicidade. Morfoanatomia. Fitoquímica. CG-EM. *Adenocalymma imperatoris-maximilianii*.

ABSTRACT

Adenocalymma imperatoris-maximiliani (Wawra) LG Lohmann (Bignoniaceae) is a vine known as vine-yellow in the Brazilian Northeast, used for skin diseases and as food for goats. The present study aimed to characterize the morpho-anatomy, histochemistry, perform phytochemical and biological activities against virus, bacteria and tumor cells, of the aqueous, methanol, hexane, chloroform, ethyl acetate and dichloromethane, extracts, roots, stems, leaves and flowers parts. For anatomical study for assembling semi-permanent slides. The preliminary phytochemical (methanol extracts) screening was used thin layer chromatography (TLC) and gas chromatography-mass spectrometry GC-MS (hexane, chloroform, ethyl acetate and dichloromethane, extracts). To antiviral analysis was used cell line BHK-21-rep-FA17D-LucNeoIres. To antibacterial analysis Minimum Inhibitory Concentration and bactericidal against *Staphylococcus aureus* (MIC and BMC). To analyze the cytotoxic front cell lines: NCI-H292 mucoepidermoid carcinoma, human lung; Hep-2 human larynx-carcinoma; HL-60 acute promyelocytic leukemia, and human breast cancer MCF-7-, used the MTT method (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide). Anatomically were evident: paracytic, anisocytic and cyclocytic stomata, thick cuticle, cuticular flange, prismatic crystals, glandular and tector trichomes presence, hubcaps sclerenchyma surrounding the vascular bundles. Histochemically revealed polyphenols, starch and total lipids in the mesophyll of leaflets. Preliminarily, were evidenced by TLC: flavonoids, reducing sugars, tannins, cinnamic derivatives, terpenes / steroids, saponin glycosides. The analysis by GC-MS evidenced: Lupeol, lupenone, stigmasterol, β -amyrin, β -sitosterol, squalene, neophytadiene, octadeca acid-9,12-dienoic acid methyl ester, 1,2-benzene acid bis-(2-ethylhexyl) ester. In the present study ten alkaloids were first identified to family Bignoniaceae. The crude aqueous extract of the roots, stems and leaves tested against yellow fever virus, showed no activity, and the crude methanol extract of the roots, stems and leaves were not toxic to front lines treated tumor cells (NCI-H292, human lung mucoepidermoid carcinoma, Hep-2 human larynx-carcinoma; HL-60 acute promyelocytic leukemia, and human breast-cancer MCF-7). Crude extracts from vegetative parts showed antibacterial activity (MIC and MBC) ranging from 32 to 1024 μ g/mL front *Staphylococcus aureus* multiresistant and multisensitive. Given the above, the species *Adenocalymma Imperatoris-maximiliani*, can be considered a promising source of bioactive molecules for modern therapeutic. These are the first chemical and biological contributions to the species.

Key words: Bignoniaceae. Vine. Antiviral. Antibacterial. Cytotoxicity. Morphoanatomy. Phytochemical. GC-MS. *Adenocalymma imperatoris-maximiliani*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Características gerais de Bignoniaceae. A: ramo florífero; B: ramo vegetativo, apresentando folhas compostas e opostas; C: Folha digitada; D: Aspecto geral do ramo; E: fruto;	32
Figura 2 – Exsicata depositada no herbário do Missouri Botanical Garden.	48
Figura 3 - Distribuição do gênero <i>Adenocalymma</i> .	48
Figura 4 - Esquema do experimento para avaliação dos constituintes químicos dos extratos brutos aquosos de raiz, caule e folha de <i>Adenocalymma imperatoris-maximilianii</i> (Wawra) L. G. Lohmann, Bignoniaceae frente ao vírus da febre amarela.	64
Figura 5 – A: Hábito de <i>Adenocalymma imperatoris-maximilianii</i> (Wawra) L. G. Lohmann touceira se formando. B: Gavinhas simples (setas).	70
Figura 6 - Inflorescência de <i>Adenocalymma imperatoris-maximilianii</i> (Wawra) L. G. Lohmann A. Aparência geral da inflorescência. B. Detalhe do cálice, mostrando glândulas pateliformes (B1) e na base do ovário glândulas nectaríferas (B2).	71
Figura 7 - Estruturas reprodutivas da flor de <i>Adenocalymma imperatoris-maximilianii</i> (Wawra) L. G. Lohmann, Bignoniaceae. A- vista geral de estruturas sexuais (setas indicando androceu). B- Detalhe mostrando o estaminóide.	72
Figura 8 - Frutos de <i>Adenocalymma imperatoris-maximilianii</i> (Wawra) L. G. Lohmann: A. Aspecto do fruto jovem. B. Fruto madura.	73
Figura 9 - Detalhes do limbo foliolar de <i>Adenocalymma imperatoris-maximilianii</i> (Wawra) L. G. Lohmann, seção transversal do mesofilo. Legenda: epad: epiderme adaxial; cortar: cutícula, pp: paliçada do parênquima; pl: parênquima esponjoso; co: colênquima; scl: esclerênquima; phl: floema; xy: xilema; epab: epiderme abaxial. Bar = 10 µm	74
Figura 10 - Epiderme de foliíolos da planta adulta de <i>Adenocalymma imperatoris-maximilianii</i> (Wawra) L. G. Lohmann. A. superfície abaxial; B- superfície adaxial; C- aspecto de estômatos em roseta característica taxonômica do gênero, D- estômatos paracítico; E- estômatos anisocíticos. Bar = 10µm	75
Figura 11 - Detalhe de cristais prismáticos nos foliíolos de <i>Adenocalymma imperatores-maximilianii</i> (Wawra) L. G. Lohmann, Bignoniaceae (setas).	76
Figura 12 - Pecíolo da folha de <i>Adenocalymma imperatoris-maximilianii</i> (Wawra) L. G. Lohmann, Bignoniaceae, em secção transversal.	76

ce: cordões esclerenquimáticos; esc: esclerênquima; ep: epiderme; cu: cutícula. Bar = 10µm

- Figura 13** - Peciólulo de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann, Bignoniaceae, em secção transversal. A- Aspecto geral do peciólulo B- Detalhe do xilema, floema, parênquima medular, parênquima cortical, esclerênquima e cutícula. C- Detalhe do xilema e do parênquima medular do peciólulo, evidenciando pontuações (setas) cu: cutícula; ep: epiderme; epad: face adaxial da epiderme; epab: face abaxial da epiderme; esc: esclerênquima; f: floema; pc: parênquima cortical; pm: parênquima medular; tg: tricoma glandular; x: xilema. Bar = 10µm 77
- Figura 14**- Secção transversal da Gavinha de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (wawra) L. G. Lohmann. Detalhe da cutícula, parênquima cortical, esclerênquima, xilema, floema, parênquima medular. (aumento de 100x). **cu**: cutícula, **pc**: parênquima cortical, **esc**: esclerênquima, **x**: xilema, **f**: floema, **pm**: parênquima medular. Bar = 10µm 78
- Figura 15** - Ráquila do foliólulo de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann, Bignoniaceae, em secção transversal. A- Aspecto geral da raquilha. (aumento 40x) B- Detalhe de cristais prismáticos presentes na raquilha (setas). (aumento 200x) cu: cutícula; epab: face abaxial da epiderme; epad: face adaxial da epiderme, esc: esclerênquima; f: floema; pc: parênquima cortical; pm: parênquima medular; x: xilema. Bar = 10µm 79
- Figura 16** - Diferentes tipos de tricomas glandulares encontrados em *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann. Bar = 10 µm 80
- Figura 17** - Tricoma tector evidenciado em *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann. Bar = 10µm 80
- Figura 18** - Testes histoquímica dos foliós de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann, Bignoniaceae. A- parênquima paliçádico da lâmina foliolar, indicando a presença de compostos fenólicos, evidenciado pela reação com cloreto férrico (seta); B- amido intracelular em parênquima paliçádico em lâmina foliar, observado após a reação com Lugol; C- lipídios totais nas células do parênquima paliçádico e intercelular no parênquima esponjoso, evidenciada pela reação com o Sudão III (setas); D- presença de lipídios na cutícula da folha manchada de vermelho após a reação com o Sudão III (seta). 81
- Figura 19** – Cromatogramas dos constituintes químicos evidenciados nos extratos brutos metanólicos das partes vegetativas (raiz, caule e folha) de *A. imperatoris-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann, Bignoniaceae. Cumarinas (A), taninos hidrolisáveis (B), 83

açúcares (C), proantocianidinas e leucoantocianidinas (D), derivados cinâmicos e flavonóides (E) e Triterpenos e esteróides (F). (1) raiz, (2) caule, (3) folha e (P) padrão.

- Figura 20** – (A) Tubo de ensaio contendo extrato bruto da raiz de *A. imperatoris-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann, Bignoniaceae. Apresentando espuma persistente após 2 horas. (B) Capilares contendo água e o extrato bruto da raiz, respectivamente, demonstrando a presença de saponinas no extrato por diminuir a tensão superficial e aumentar o escoamento. Seta amarela: nível da água; seta vermelha: nível do extrato. 84
- Figura 21** – Cromatograma de CCD dos constituintes químicos presente em *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann, Bignoniaceae (Fase estacionária: sílica; fase móvel: Acetato de etila - ácido acético - ácido fórmico - água 100:11:11:27, v/v). (987 mg) 86
- Figura 22** – Cromatograma da CCDP da fração enriquecida evidenciando várias bandas dos constituintes químicos da espécie *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann 86
- Figura 23** – Cromatograma da CCD analítica das frações obtidas em CCDP anteriores da fração enriquecida evidenciando várias bandas dos constituintes químicos de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann, Bignoniaceae. 87
- Figura 24** – Cromatograma evidenciando as substâncias purificadas G1 e G2 de *A. imperatoris-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann. 87
- Figura 25** - Cromatograma evidenciando os picos e tempos de retenção dos compostos identificados no extrato hexânico das raízes de *Adenocalymma imperatores-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann por CG-EM. 89
- Figura 26** - Cromatograma evidenciando os picos e tempos de retenção dos compostos identificados no extrato clorofórmico das raízes de *Adenocalymma imperatores-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann por CG-EM. 90
- Figura 27** - Cromatograma evidenciando os picos e tempos de retenção dos compostos identificados no extrato diclorometano das raízes de *Adenocalymma imperatores-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann por CG-EM. 93
- Figura 28**- Cromatograma evidenciando os picos e tempos de retenção dos compostos identificados no extrato em acetato de etila das raízes de *Adenocalymma imperatores-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann por CG-EM. 93

Figura 29- Cromatograma evidenciando os picos e tempos de retenção dos compostos identificados no extrato hexânico do caule de <i>Adenocalymmma imperatores-maximilianii</i> (Wawra) L. G. Lohmann por CG-EM.	95
Figura 30- Cromatograma evidenciando os picos e tempos de retenção dos compostos identificados no extrato clorofórmico do caule de <i>Adenocalymmma imperatores-maximilianii</i> (Wawra) L. G. Lohmann por CG-EM.	96
Figura 31- Cromatograma evidenciando os picos e tempos de retenção dos compostos identificados no extrato diclometano do caule de <i>Adenocalymmma imperatores-maximilianii</i> (Wawra) L. G. Lohmann por CG-EM.	98
Figura 32- Cromatograma evidenciando os picos e tempos de retenção dos compostos identificados no extrato acetate de etila do caule de <i>Adenocalymmma imperatores-maximilianii</i> (Wawra) L. G. Lohmann por CG-EM.	99
Figura 33- Cromatograma evidenciando os picos e tempos de retenção dos compostos identificados no extrato hexânico das folhas de <i>Adenocalymmma imperatores-maximilianii</i> (Wawra) L. G. Lohmann por CG-EM.	101
Figura 34- Cromatograma evidenciando os picos e tempos de retenção dos compostos identificados no extrato clorofórmico das folhas de <i>Adenocalymmma imperatores-maximilianii</i> (Wawra) L. G. Lohmann por CG-EM.	102
Figura 35- Cromatograma evidenciando os picos e tempos de retenção dos compostos identificados no extrato diclorometano das folhas de <i>Adenocalymmma imperatores-maximilianii</i> (Wawra) L. G. Lohmann por CG-EM.	103
Figura 36- Cromatograma evidenciando os picos e tempos de retenção dos compostos identificados no extrato acetato de etila das folhas de <i>Adenocalymmma imperatores-maximilianii</i> (Wawra) L. G. Lohmann por CG-EM.	105
Figura 37- Cromatograma evidenciando os picos e tempos de retenção dos compostos identificados no extrato clorofórmico das flores de <i>Adenocalymmma imperatores-maximilianii</i> (Wawra) L. G. Lohmann por CG-EM.	108
Figura 38- Cromatograma evidenciando os picos e tempos de retenção dos compostos identificados no extrato diclometano das flores de <i>Adenocalymmma imperatores-maximilianii</i> (Wawra) L. G. Lohmann por CG-EM.	110
Figura 39- Cromatograma evidenciando os picos e tempos de retenção dos compostos identificados no extrato acetato de etila das flores de <i>Adenocalymmma imperatores-maximilianii</i> (Wawra) L. G. Lohmann por CG-EM.	112
Figura 40 – Alcalóides identificados no extrato clorofórmico de raiz de <i>Adenocalymma imperatoris-maximilianii</i> (Wawra) L.G.Lohmann, Bignoniaceae	115
Figura 41- Avaliação da expressão do gene repórter luciferase em células BHK-21-rep-FA17D-LucNeolres tratadas com 1 a 10µg/mL de extrato aquoso do caule de <i>Adenocalymma imperatoris-</i>	116

maximiliani (Wawra) L. G. Lohmann.

Figura 42- Avaliação da expressão do gene repórter luciferase em células BHK-21-rep-FA17D-LucNeoIres tratadas com 1 a 10µg/mL de extrato aquoso da raiz de *Adenocalymma imperatoris-maximiliani* (Wawra) L. G. Lohmann. 116

Figura 43- Avaliação da expressão do gene repórter luciferase em células BHK-21-rep-FA17D-LucNeoIres tratadas com 1 a 10µg/mL de extrato aquoso da folha de *Adenocalymma imperatoris-maximiliani* (Wawra) L. G. Lohmann. 117

LISTA DE QUADROS

Quadro 1- Plantas da família Bignoniaceae e suas descrições farmacológicas, fitoquímicas e etnomedicinais.	33
Quadro 2 - Condições cromatográficas da prospecção fitoquímica de <i>Adenocalymma imperatoris-maximilianii</i> (Wawra) L. G. Lohmann (Bignoniaceae)	58
Quadro 3 – Análise fitoquímica preliminar dos extratos brutos da raiz, caule e folhas de <i>A. imperatoris maximilianii</i> (Wawra) L. G. Lohmann, Bignoniaceae.	82

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Compostos identificados no extrato hexânico das raízes de <i>Adenocalymmma imperatores-maximilianii</i> por CG-EM.	89
Tabela 2- Compostos identificados no extrato clorofórmico das raízes de <i>Adenocalymmma imperatores-maximilianii</i> (Wawra) L. G. Lohmann por CG-EM.	90
Tabela 3- Compostos identificados no extrato diclorometano das raízes de <i>Adenocalymmma imperatores-maximilianii</i> (Wawra) L. G. Lohmann por CG-EM.	93
Tabela 4- Compostos identificados no extrato acetate de etila das raízes de <i>Adenocalymmma imperatores-maximilianii</i> (Wawra) L. G. Lohmann por CG-EM.	94
Tabela 5- Compostos identificados no extrato hexânico do caule de <i>Adenocalymmma imperatores-maximilianii</i> (Wawra) L. G. Lohmann por CG-EM.	96
Tabela 6 - Compostos identificados no extrato clorofórmico do caule de <i>Adenocalymmma imperatores-maximilianii</i> (Wawra) L. G. Lohmann por CG-EM.	97
Tabela 7- Compostos identificados no extrato diclorometano do caule de <i>Adenocalymmma imperatores-maximilianii</i> (Wawra) L. G. Lohmann por CG-EM.	98
Tabela 8- Compostos identificados no extrato em acetate de etila do caule de <i>Adenocalymmma imperatores-maximilianii</i> (Wawra) L. G. Lohmann por CG-EM.	99
Tabela 9- Compostos identificados no extrato hexânico das folhas de <i>Adenocalymmma imperatores-maximilianii</i> (Wawra) L. G. Lohmann por CG-EM.	101
Tabela 10- Compostos identificados no extrato clorofórmico das folhas de <i>Adenocalymmma imperatores-maximilianii</i> (Wawra) L. G. Lohmann por CG-EM.	102
Tabela 11- Compostos identificados no extrato diclorometano das folhas de <i>Adenocalymmma imperatores-maximilianii</i> (Wwara) L. G. Lohmann por CG-EM.	104
Tabela 12- Compostos identificados no extrato em acetate de etila das folhas de <i>Adenocalymmma imperatores-maximilianii</i> (Wwara) L. G. Lohmann por CG-EM.	105
Tabela 13- Compostos identificados no extrato clorofórmico das flores de <i>Adenocalymmma imperatores-maximilianii</i> (Wwara) L. G. Lohmann por CG-EM.	108

Tabela 14- Compostos identificados no extrato diclorometano das flores de <i>Adenocalymma imperatores-maximilianii</i> (Wwara) L. G. Lohmann por CG-EM.	110
Tabela 15- Compostos identificados no extrato em acetate de etila das flores de <i>Adenocalymma imperatores-maximilianii</i> (Wwara) L. G. Lohmann por CG-EM.	112
Tabela 16- Atividade Antibacteriana dos Extratos de Raiz de <i>Adenocalymma imperatoris-maximilianii</i> (Wawra) L.G.Lohmann, Bignoniaceae.	119
Tabela 17 – Atividade Antibacteriana dos Extratos do Caule de <i>Adenocalymma imperatoris-maximilianii</i> (Wawra) L.G.Lohmann, Bignoniaceae	120
Tabela 18 – Atividade Antibacteriana dos Extratos da Folha de <i>Adenocalymma imperatoris-maximilianii</i> (Wawra) L.G.Lohmann, Bignoniaceae	121
Tabela 19 – Atividade Antibacteriana do Extrato Bruto Aquoso Enriquecido da Raiz e Substância Purificada do Extrato Metanólico da Raiz de <i>Adenocalymma imperatoris-maximilianii</i> (Wawra) L.G.Lohmann, Bignoniaceae	122
Tabela 20- Teste de Citotóxicidade do Extrato Metanólico de <i>Adenocalymma imperatoris-maximilianii</i> (Wawra) L. G. Lohmann diante de Linhagens de Células Tumerais (MCF-7, NCI-H292, HL-60, HEP-2).	125

LISTA DE SIMBOLO E ABREVIATURAS

µg - micrograma

µg/mL – micrograma por mililitro

µL – microlitro

µm – microméto

ATCC – American Type Culture Colection

CCD – Cromatografia em camada delgada

CCDP – Cromatografia em camada delgada preparativa

CIM – Concentração inibitória mínima

cm – centímetro

CpqAM – Centro de pesquisa Ageu Magalhães

cu – cutícula

EBA – Extrato bruto aquoso

EBM – Extrato bruto metanólico

EBHC- Extrato bruto hexânico do caule

EBCC- Extrato bruto clorofórmico do caule

EBDC- Extrato bruto diclorometânico do caule

EBAC- Extrato bruto em acetato de etila do caule

EBHF- Extrato bruto hexânico da folha

EBCF- Extrato bruto clorofórmico da Folha

EBDF- Extrato bruto diclorometânico da Folha

EBAF- Extrato bruto em acetato de etila da Folha

EBHR- Extrato bruto hexânico da raíz

EBCR- Extrato bruto clorofórmico da raíz

EBDR- Extrato bruto diclorometano da raíz

EBAR- Extrato bruto em acetato de etila da raíz

FAER – Fração aquoso enriquecida da raíz

SPEMR – Substância purificada do extrato metanólco da raíz

epba – face abaxial da epiderme

epda – face adaxial da epiderme

es – estômato

esc- esclerênquima

exb – extensão da bainha

f – floema

FAA – formol, ácido acético, álcool etílico 50%

FIOCRUZ – Fundação Osvaldo Cruz

IFN alfa – Interferon alfa

IPA - Instituto Pernambucano de Pesquisa Agropecuária

mg - miligrama

mL –mililitro

°C – graus celsius

pc- parênquima cortical

pH – potencial hidrogeniônico

pl – parênquima lacunoso

pm- parênquima medular

pp – parênquima paliçado

RLU – raw lights units

S - Sul

tg- pelo glândular

UFC/mL – unidade formadora de colônia por mililitro

UFPE – Universidade Federal de Pernambuco

UI/mL – unidade internacional por mililitro

UV – ultra violeta

v:v – volume a volume

VFA – Vírus da febre amarela

W – Oeste

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	26
2 OBJETIVOS	28
2.1 OBJETIVO GERAL	28
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	28
3 REVISÃO DA LITERATURA	29
3.1 PRODUTOS NATURAIS	29
3.2 FAMÍLIA BIGNONIACEAE	31
3.3 TRIBO BIGNONIEAE	44
3.4 GÊNERO <i>ADENOCALYMMA</i>	45
3.5 <i>ADENOCALYMMA IMPERATORIS-MAXIMILIANII</i> (WAWRA) L. G. LOHMANN	46
3.6 ATIVIDADE ANTIVIRAL	49
3.7 ATIVIDADE ANTIBACTERIANA	50
3.8 ATIVIDADES CITOTÓXICA	52
4 MATERIAIS E MÉTODOS	55
4.1 COLETA DO MATERIAL BOTÂNICO	55
4.1.1 <i>LOCAL DE COLETA</i>	55
4.1.2 <i>COLETA E PROCESSAMENTO</i>	56
4.2 FARMACOBOTÂNICA	56

4.2.1 <i>DESCRIÇÃO MORFOLÓGICA</i>	56
4.2.2 <i>DESCRIÇÃO ANATÔMICA</i>	56
4.3 <i>PROSPECÇÕES FITOQUÍMICA</i>	57
4.3.1 <i>PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS</i>	57
4.3.2 <i>CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA (CCD)</i>	57
4.4 <i>PURIFICAÇÃO DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS</i>	60
4.4.1 <i>CROMATOGRAFIA EM COLUNA</i>	60
4.4.2 <i>CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA PREPARATIVA (CCDP)</i>	61
4.4.3 <i>OBTENÇÃO DAS FRAÇÕES ENRIQUECIDAS AQUOSA DA RAÍZ (FEAR), E SUBSTÂNCIA PURIFICADA DO EXTRATO METANÓLICOS DA RAIZ (SPEMR).</i>	61
4.5 <i>IDENTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS VOLÁTEIS POR CG-EM DAS RAÍZES, CAULES, FOLHAS E FLORES DE ADENOCALYMMMA IMPERATORIS-MAXIMILIANII (WAWRA) L. G. LOHMANN, BIGNONIACEAE</i>	62
4.5.1 <i>OBTENÇÃO DOS EXTRATOS</i>	62
4.5.2 <i>ANÁLISE POR CG-EM</i>	62
4.6 <i>ATIVIDADES BIOLÓGICAS</i>	63
4.6.1 <i>ATIVIDADE ANTIVIRAL</i>	63
4.6.2 <i>ATIVIDADE ANTIBACTERIANA</i>	65
4.6.2.1 <i>Preparação das Amostras</i>	65
4.6.2.2 <i>Agente Antimicrobiano</i>	66
4.6.2.3 <i>Microrganismos e Padronização dos Inoculos</i>	66
4.6.2.4 <i>Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e</i>	66

Concentração Bactericida Mínima (CMB).

4.6.3 AVALIAÇÃO CITOTÓXICA	68
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	69
5.1 FARMACOBOTÂNICA E HISTOQUÍMICA	69
5.1.1 DESCRIÇÃO MORFOANATÔMICA DE <i>ADENOCALYMMA IMPERATORIS-MAXIMILIANII</i> (WAWRA) L. G. LOHMANN, <i>BIGNONIACEAE</i>	69
5.1.2 CARACTERIZAÇÃO ANATÔMICA	73
5.1.2.1 Lâmina do Foliólo	73
5.1.2.2 Estômatos	74
5.1.2.3 Cristais Prismáticos	75
5.1.2.4 Pecíolo e Pecíolulo	76
5.1.2.5 Gavinha	77
5.1.2.6 Raquíla	78
5.1.2.7 Tricomas	79
5.1.3 ANÁLISE HISTOQUÍMICA	81
5.2 PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA PRELIMINAR DAS RAÍZES, CAULES E FOLHAS DE <i>ADENOCALYMMA IMPERATORIS-MAXIMILIANII</i> (WAWRA) L. G. LOHMANN, <i>BIGNONIACEAE</i> .	82
5.3 PURIFICAÇÃO DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS	85
5.3.1 CROMATOGRAFIA EM COLUNA	85
5.3.2 CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA PREPARATIVA DA (CCDP)	86

5.4 ANÁLISE POR CG-EM	88
5.4.1 <i>CG-EM DOS EXTRATOS EM DIFERENTES SOLVENTES DE DIFERENTES POLARIDADES DA RAIZ</i>	88
5.4.2 <i>CG-EM DOS EXTRATOS EM DIFERENTES SOLVENTES DE DIFERENTES POLARIDADES DE CAULE</i>	95
5.4.3 <i>CG-EM DOS EXTRATOS EM DIFERENTES SOLVENTES DE DIFERENTES POLARIDADES DAS FOLHAS</i>	100
5.4.4 <i>CG-EM DOS EXTRATOS EM DIFERENTES SOLVENTES DE DIFERENTES POLARIDADES DAS FLORES</i>	106
5.5 ATIVIDADES BIOLÓGICAS	115
5.5.1 <i>ATIVIDADE ANTIVIRAL</i>	115
5.5.2 <i>ATIVIDADE ANTIBACTERIANA</i>	117
5.5.3 <i>ATIVIDADE CITOTOXICA</i>	124
6. CONCLUSÕES	127
REFERÊNCIAS	129
Apêndice A – Artigo no prelo	152
Apêndice B – Artigo a ser publicado	165
Anexo A – Artigo publicado	191

1 INTRODUÇÃO

O reconhecimento da utilização das plantas como forma alternativa de cura de enfermidades e também como alimentos para povos indígenas, bem como para populações modernas, tem despertado o interesse crescente da comunidade científica. *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann é uma espécie pertencente à família Bignoniaceae, a qual já se tem relatos na literatura sobre utilização de suas espécies, seja de cunho etnobotânicos, químicos e farmacológicos, dentre estas espécies, merece uma investigação minuciosa de seus constituintes químicos e de suas atividades biológicas *Adenocalymma imperatoris-maximilianii*.

Plantas medicinais são aquelas que quando administradas, sob qualquer forma, exercem uma ação farmacológica no homem, sendo consideradas assim como extremamente importantes na busca de biomoléculas com atividades biológicas. As plantas consideradas medicinais têm sido usadas para os mais variados fins terapêuticos, desde combate aos diversos tipos de doenças mais simples, como também de alta complexidade como as neoplasias, e até mesmo patogenidades causadas por microrganismos (CALIXTO, 2000; SILVA; CARVALHO, 2004).

A localização de metabólitos nos tecidos e/ou determinadas células vegetais torna-se um fator de elevada importância, pois auxilia na indicação da melhor parte do vegetal a ser utilizada nas terapias. Dizer qual parte e procedimento adequado viabiliza a validação do produto, indicando a sua qualidade e demonstrando que é cientificamente confiável para o uso farmacoterapêutico. Os estudos de validação das propriedades medicinais dos vegetais constituem uma exigência da Resolução da Diretoria Colegiada (RDC), N° 48, de 16 de março de 2004, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, a qual normatiza o registro de medicamentos fitoterápicos como parte essencial das boas práticas de fabricação, garantindo a qualidade de um medicamento (BRASIL, 2009).

O Brasil é reconhecido por sua biodiversidade. Essa riqueza biológica torna-se ainda mais importante porque esta aliada a uma sociodiversidade que envolve vários povos e comunidades, com visões, saberes e práticas culturais próprias. Na questão do uso terapêutico das plantas, esses saberes e práticas estão intrinsecamente relacionados aos territórios e seus recursos naturais, como parte integrante da reprodução sociocultural e econômica desses povos e comunidades. Neste sentido, é imprescindível

promover o resgate, o reconhecimento e a valorização das práticas tradicionais e populares de uso de plantas medicinais e remédios caseiros, como elementos para a promoção da saúde, conforme preconiza a Organização Mundial da Saúde (BRASIL, 2009).

Espécies da família Bignoniaceae são largamente utilizados em sistemas de medicamentos tradicionais de muitos países. Um número notável de compostos bioativos tem sido relatado a partir de plantas desta família botânica. Estes compostos demonstraram uma série de atividades importantes, que são benéficas para a saúde dos seres humanos. As diversas atividades relatadas deste grupo são: moluscicida, tripanosomicida, larvicida, antioxidante, antidiabético, antiplasmódio, antiinflamatória, imunoestimulantes, antimicrobianos, antidepressivo, antiveneno de cobra, antineoplásico, antinociceptiva e atividades neurotróficos (RAHMATULLAH et al., 2010).

Adenocalymma Mart. ex Meisn, é um gênero Neotropical, e um dos mais ricos em espécies (47 espécies) da tribo Bignonieae. Ele é distribuído desde o México até o Norte da Argentina (UDULUTSCH et al., 2009). No Brasil, onde 42 (89%) de 47 espécies ocorrem, *Adenocalymma* é amplamente distribuído, sendo encontrado em 25 dos 26 estados, e é representada em todos os tipos de vegetação, incluindo florestas tropicais sazonais, florestas semidecíduais e formações savânicas (UDULUTSCH et al., 2009).

As substâncias bioativas e atividades biológicas comprovadas, na literatura especializada, de várias espécies da família Bignoniaceae, que já são tradicionalmente usadas no mundo todo, como é o caso do lapachol, β e α -lapachona, extraídas do ipê roxo *Tabebuia avellanedae*, faz-se necessário uma investigação química e de atividades biológicas em espécies da família Bignoniaceae, como *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (Wawra) L.G. Lohmann popularmente conhecida como cipó cesta ou cipó amarelo, que não possuem nenhum relato na literatura de estudos farmacognósticos.

2 OBJETIVOS

O intuito deste trabalho foi colaborar na produção de dados acerca de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (wawra) L. G. Lohmann, uma espécie ainda não estudada quimicamente e nem biologicamente, mesmo sendo pertencente ao gênero *Adenocalymma* o qual pertence à família Bignoniaceae, uma das famílias botânicas mais estudadas sobre suas ações medicinais.

2.1 OBJETIVO GERAL

Realizar estudos farmacognósticos da espécie *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (Wawra) L.G. Lohmann tais como: farmacobotânicos, farmacoquímicos e atividades biológicas.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Coletar material botânico para estudos farmacognósticos e atividades biológicas de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii*;
- Caracterizar morfoanatomicamente as partes vegetativas e reprodutivas de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii*;
- Realizar prospecção fitoquímica da espécie *Adenocalymma imperatoris-maximilianii*;
- Purificar e identificar os constituintes químicos;
- Analisar os extratos de raíz, caules, folhas e flores por cromatografia á gás-acoplada a espectrométrie de massa (CG-EM) de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii*
- Realizar ensaios antivirais, antibacterianos e citotóxicos dos extratos de raíz, caule e folhas de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii*;

3 REVISÃO DA LITERATURA

Pela escassez de trabalhos sobre a espécie em estudo, principalmente sobre sua atividade biológica e aspectos farmacognósticos, foram realizados levantamentos na literatura sobre espécies afins, até mesmo parafins comparativos.

3.1 PRODUTOS NATURAIS

A busca por novas alternativas para cura de diversas enfermidades do mundo moderno pode estar nos metabólitos secundários produzidos por uma enorme diversidade de organismos vivos existente em nosso planeta, merecendo uma atenção especial às plantas. Os vegetais, microrganismos e alguns animais apresentam todo um arsenal metabólico (enzimas, coenzimas e organelas) capaz de produzir, transformar e acumular outras substâncias não necessariamente relacionadas de forma direta à manutenção da vida do organismo produtor. Este conjunto metabólico é definido como metabolismo secundário. Muitos metabólitos secundários estão envolvidos nos mecanismos que permitem a adequação do produtor ao seu meio, por exemplo: defesa contra herbívoros e microrganismos, proteção contra os raios UV, atração dos polinizadores ou animais dispersores de sementes e também como sua participação em alelopatias (SIMOES et al., 2010).

O desenvolvimento dos fármacos a partir de plantas pode ser dividido em três períodos. O primeiro período entre 1800 e 1900, foi marcado pela descoberta de vários fármacos entre eles, morfina da *Papaver somniferum*, efedrina da *Ephedra sinica*, quinina da *Cinchona calisaya*, emetina e a cephaelina da *Cephalis ipeccacuanha* e a salicina de *Salix alba* (que posteriormente originou o ácido acetilsalicílico). No segundo período, entre 1901 e 1970/80, aparecem somente os antibióticos obtidos das adenobactérias como produtos naturais de importância, sendo este período marcado pela síntese e consideração das plantas medicinais sem valor científico. No terceiro período, que compreende de 1970/80 até o presente, ocorre o retorno à busca de drogas vegetais com a descoberta de inúmeras moléculas bioativas que se tornaram fármacos, como

exemplo: artemisinina (presente em *Artemisia annua*) e o paclitaxel (taxol) isolado de *Taxus brevifolia* como (YUNES et al., 2001).

No início dos anos 1980, houve um ressurgimento do interesse no uso de substâncias naturais oriundas de plantas, microrganismos, animais e minerais. Independente de sua origem hoje é conhecido como compostos bioativos. Os compostos bioativos são principalmente os metabólitos secundários e seus derivados, por exemplo, flavonóides, saponinas, quininas, terpenos, esteróides, alcalóides, quinóides, fenilpropanóides, iridóides e compostos fenólicos etc (CHOUDHURY et al., 2011).

Produtos naturais ainda representam uma importante fonte para a inovação na descoberta de medicamentos, desempenhando papel significativo na descoberta e compreensão dos percursos celulares, um componente essencial no processo de descoberta de drogas. Em muitos casos, os produtos naturais proporcionam compostos /medicamentos comercializados, ou ferramentas bioquímicas que demonstraram o papel das vias específicas em doenças (GULLO et al, 2006).

Em relação ao desenvolvimento de novos fármacos a partir de produtos naturais, foi a partir do período compreendido entre 1981 e 2006, que os produtos naturais voltaram a ter importância em diversas áreas, seja para o tratamento do câncer ou de doenças infecciosas, correspondendo a aproximadamente 63% e 70% de origem natural, respectivamente (NEWMAN et al., 2003; NEWMAN; CRAGG, 2007). No período de 2005 a 2007, foram aprovados 13 fármacos de origem natural e seus derivados, e até março de 2007, 37 eram candidatos, que estavam em fase de desenvolvimento, dos quais 6 encontravam-se em fase de registro e 31 na fase III (BUTLER, 2008). Tabela com os fármacos.

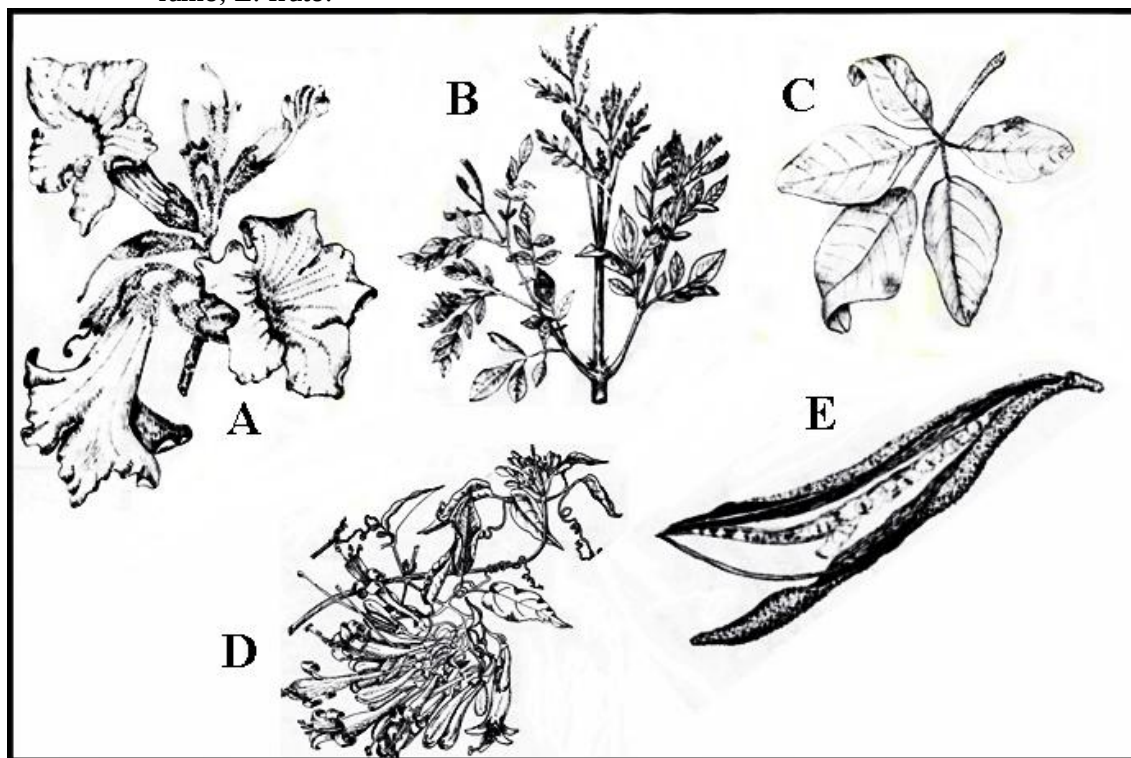
Até 2008, os fármacos que foram aprovados ou estavam em fase de desenvolvimento, incluíam compostos oriundos de plantas, bactérias, fungos e animais, sendo o maior número de plantas e bactérias, com predominância de indicações terapêuticas como anticâncer, antiinfecção e antidiabéticos (HARVEY, 2008). Muitas substâncias são consideradas como protótipos ou são bases para as modificações estruturais na busca de drogas com melhor atividade biológica, farmacológica e possível utilidade terapêutica (PATERSON; ANDERSON, 2005; VIEGAS et al., 2006). Entretanto, há um crescente interesse no desenvolvimento de produtos contendo misturas de compostos naturais a partir da medicina popular e extratos com

composições químicas definidas, como o caso do chá verde, que foi aprovado pelo FDA (CARLISH, 2008).

3.2 FAMÍLIA BIGNONIACEAE

Segundo Joly (1985), a família Bignoniaceae é composta por plantas lenhosas, arbustivas, arbóreas e trepadeiras, com gavinhas foliares (Figura 1 D), às vezes modificadas em fixadores com unhas (*Bignonia*), folhas compostas (Figura 1 B e C) raramente simples (*Crescentia*), opostas. Flores (Figura 1 A) grandes e vistosas diclamídeas, hermafroditas, pentâmeras, zigomorfas. De corola ligeiramente bilabiada. Androceu formado por 4 estames didínamos e um estaminóide, às vezes muito desenvolvido e glandular (*Jacaranda*). Uma teca de cada um dos estames férteis às vezes não desenvolvido (*Jacaranda*). Ovário sempre súpero, bicarpelar, bilocular com dois lóculos e muitos óvulos. Placenta sempre bipartida. Fruto capsular seco (Figura 2 E), loculicída ou septicida, às vezes cápsula septicida, sempre com sementes aladas (Figura 2 E); raramente indeiscente com sementes não aladas (*Crescentia*). Exemplos comuns para o Nordeste brasileiro: *Tabebuia*, ipê e também o pau-d'arco, com flores amarelas, roxas ou brancas; *Jacaranda*, a coroba, carobinha-do-campo, também o jacarandá cor de abóbora, trepadeira comum no interior; *Anemopaegma*, trepadeira da mata com flores brancas; *Pithecoctenium*, o conhecido pente-de-macaco das matas; *Crescentia*, o útil cuietê ou cabaça-de-árvore, com seus enormes frutos dos quais se fazem as cuias. *Tecoma* (*Stenolobium*), com flores verdes-amareladas; *Arrabidaea* e *Zeyhera* nos campos cerrados, este com frutos que se separam em duas metades, como se foram pequenas canoas, com papilas grossas no exterior.

Figura 1 – Características gerais de Bignoniaceae. A: ramo florífero; B: ramo vegetativo, apresentando folhas compostas e opostas; C: Folha digitada; D: Aspecto geral do ramo; E: fruto.



Fonte: Joly (1987)

Dentre os gêneros introduzidos e cultivados pelas flores vistosas, destacam-se: *Tecomaria*, a *falsa-flor-de-são-joão*; *Podranea* (*Pandorea*), trepadeira de flores cor-de-rosa; *Spathodea*, originária da África, com enormes flores vermelhas, é uma árvore grande com botões florais, como se fossem pequenas bisnagas cheias de líquidos (JOLY, 1985).

A família bignoniácea é uma fonte promissora de constituintes químicos poucos explorados. Entretanto, com o isolamento do lapachol e reconhecimento de suas atividades (citostática, bacteriostática, antifúngica, cercaricida, tripanossomicida e antipirético) e de seus quimiofármacos biossintéticos, aumentaram o interesse farmacológicos pelas espécies desta família (OLIVEIRA et al. 1990; RAHMATULLAH et al., 2010), são sumarizados no Quadro 1.

Quadro 1- Plantas da família Bignoniaceae e suas descrições etnobotânicas, farmacológicas e fitoquímicas.

Nome Botânico	Componentes fitoquímicos relatados e atividades farmacológicas
<i>Adenocalymma comosum</i> (Cham.) A.P. DC.	Desta planta foi relatada a atividade moluscicida dos constituintes do extrato etanólico, diante de <i>Biomphalaria glabrata</i> (SILVA et al. 2007).
<i>Anemopaegma arvense</i> (Vell.) Stelff. Ex Souza	As atividades antioxidantes desta espécie podem estar relacionadas aos constituintes: flavan-3-ol-fenilpropanóide conjugados, catuabina A, cinchonaina Ia, cinchonaina Iia, e Candelina A1, isolados da fração acetato de etila das cascas do caule (TABANCA et al., 2007).
<i>Arrabidaea chica</i> Verlot	Esta planta é usada na medicina tradicional brasileira como agente de cicatrização de feridas, onde o extrato das folhas demonstraram propriedades curativas, pela estimulação do crescimento de fibroblastos e síntese de colágeno, tanto <i>in vitro</i> como <i>in vivo</i> (JORGE et al., 2008).
<i>Arrabidaea triplinervia</i> H. Baill.	Alguns constituintes do extrato etanólico das folhas desta planta são: ácido ursólico, ácido oleanólico, ácido pomólico e alpinetina, dos quais os dois primeiros demonstraram atividade tripanosomicida contra tripomastigotas de <i>Trypanosoma cruzi</i> , causador da doença de Chagas (LEITE et al., 2006).
<i>Arrabidaea parviflora</i> Bureau & K.Schum.	Os constituintes presentes no extrato etanólico desta planta, apresentaram atividade moluscicida diante de <i>Biomphalaria glabrata</i> (SILVA et al., 2007).
<i>Campsis grandiflora</i> K. Schum.	Extratos das flores desta planta evidenciaram: ácido oleanólico, ácido ursólico, aldeído ursólico, ácido maslínico, ácido corosólico, ácido 23-hidroxiursólico e ácido arjunólico, dos quais os últimos quatros componentes são os responsáveis pela alta atividade inibidora de acil-CoA e colesterol aciltransferase em humanos (KIM et al., 2005).
<i>Catalpa bignonioides</i> Walt.	São atribuídas a esta planta atividades antioxidantes devido aos constituintes dos extratos metanólicos de raquis das inflorescências, corolas, cálices, folhas, válvulas de cápsulas e

	placenta hipertrofiadas (DVORSKÁ et al., 2007).
<i>Catalpa ovata</i> G. Don.	Das frações solúveis em diclorometano desta planta, foram isolados os seguintes compostos: naftoquinona, 4-hidroxi-2-(2-metoxi-3-hidroxi-3-metil-butil-1-enil)-4-hidro-1H-naftaleno-1-ona bem como catalponol, catalponone, catalpalactone, α -lapachona, 9-hidroxi- α -lapachona, 4,9-di-hidroxi- α -lapachona, 9-metoxi- α -lapachona, 4-oxo- α -lapachona e 9-metoxi-4-oxo- α -lapachona dos quais catapalactone, 9-hidroxi- α -lapachona, e 4,9-di-hidroxi- α -lapachona, os quais exibiram efeitos inibidores diante de macrófagos da linhagem RAW 264,7 induzida por lipopolissacarídeo (PARK et al., 2010).
<i>Clytostoma binatum</i> (Thunb.) Sandw.	Constituintes presentes no extrato etanólico da planta inteira, apresentaram atividade moluscicida contra <i>Biomphalaria glabrata</i> (SILVA et al. 2007).
<i>Crescentia cujete</i> L.	Uma série de compostos desta planta apresentaram atividade no reparo do DNA de leveduras, são eles: (2S,3S)-3-hidroxi-5,6-dimetoxidehidroiso- α -lapachona, (2R)-5,6-dimetoxidehidroiso- α -lapachona,(2R)-5-etoxidehidroiso- α -lapachona, 2-(1-hidroxi-il)nafto[2,3-b]furano-4,9-diona, 5-hidroxi-2-(1-hidroxietil)-nafto[2,3-b]furano-4,9-diona, 2-isopropenilnafto [2,3-b]furano-4,9-diona e 5-hidroxidehidroiso- α -lapachona (HETZEL et al., 1993).
<i>Cuspidaria argentea</i> (Wawra) Sandw	Constituintes do extrato etanólico da planta, apresentou atividade moluscicida contra <i>Biomphalaria glabrata</i> (SILVA et al., 2007).
<i>Cybistax antisyphilitica</i> (Mart.) Mart.	Contituintes do extrato hexano da madeira do tronco desta planta, após fracionamento guiado por bioatividade, indicou como componente ativo provavelmente o lapachol, o qual apresentou atividade larvicida frente á <i>Aedes aegypti</i> (RODRIGUES et al., 2005).
<i>Dolichandrone falcata</i> (Wall. ex DC.) Seem	Constituintes evidenciados no extrato solúvel em acetato de etila do cerne desta espécie tais como: Dolichandrosideo-A, α -lapachona, lapachol, aloesaponarina II, 8-hidroxidehidroiso- α -lapachone, β -sitosterol, 3,8-dihidroxidehidroiso- α -lapachona e

	verbascosídeo, demonstraram atividade inibidoura de α -glucosidase, após testes com verbascosídeo e aloesaponarina II, os quais são inibidores da atividade de glucosidase, e após teste com dolichandrosídeo A, foi observado a eliminação de radicais livres (APARNA et al., 2009).
<i>Jacaranda acutifolia</i> Humb. & Bonpl.	Os extratos das cascas do caule desta espécie são usados na etnomedicina da América do Sul, como adstringente e diurético (ROTH; LINDORF, 2002); e também são utilizados para o tratamento de feridas; a parte tenra da casca é usada contra doenças venéreas, reumatismo e dor ciática (CORREA; BERNAL, 1989). Constituintes químicos isolados das cascas desta planta incluem 7,2,3,4-tetrahidroxiflavona e 3-O-neohesperidosídeo (FERGUSON; LIEN, 1982).
<i>Jacaranda caerulea</i> (L.) Juss.	Habitantes de Camaguey (Cuba) utilizam ramos frondosos desta planta, para eliminar eczemas e espinhas e as folhas para tratar o câncer de pele (MORTEN, 1981; citado em GACHET; SCHUHLY, 2009).
<i>Jacaranda caroba</i> D.C.	Em algumas regiões do Brasil, as folhas desta espécie são utilizadas para o tratamento de infecções como: sífilis e úlcera (DI STASI; HIRUMA-LIMA, 2002; BOTION et al., 2005). ‘Lerobina’ um dos constituintes do extrato hidroetanólico da planta, faz parte de um produto fitofarmacêutico brasileiro, utilizado no tratamento de dispepsia, o qual foi validado em modelos de ratos (BOTION et al., 2005).
<i>Jacaranda caucana</i> Pittier	Folhas e cascas desta planta são usadas na medicina tradicional para o tratamento de doenças venéreas (GENTRY, 1992), na Colômbia são utilizadas no tratamento de reumatismo, resfriados e doenças de pele (WENIGER et al., 2001; citado por GACHET; SCHUHLY, 2009). Os constituintes da planta: ácido ursólico, β -sitosterol, ácido 2-A-hidroxiursólico, ácido jacarandico e 2 α ,3 α -dihidroxiurs-12-eno-28-óico (OGURA et al., 1977a). Na casca do caule identificou-se: ácido jacoumárico e ácido betulínico (OGURA et

	al., 1977b); nos galhos e folhas o composto jacaranona (OGURA et al., 1976). Ainda com relação aos constituintes: glicosídeos feniletanóides, juntamente com ácido protocatequico, acteosídeo, jionosídeo D, isoacteosídeo, martinósídeo, e um ramnosil derivado de sisimbrifolina apresentaram atividade antioxidante (MARTIN et al., 2009). Extratos metanólicos das folhas são supostamente ativos devidos á presença de cloroquina frente a cepas resistentes de <i>Plasmodium falciparum</i> cloroquina sensível (WENIGER et al., 2001).
<i>Jacaranda copaia</i> (Aubl.) D. Don	Usada como medicinal pelo Yanesha, um grupo étnico da Amazônia peruana para doenças relacionadas com a leishmaniose e malária, o extrato etanólico desta planta, tem apresentado boa atividade frente á <i>Plasmodium falciparum</i> cloroquina resistente (VALADEAU, et al., 2009). Na região da Amazônia a seiva das cascas e folhas desta espécie servem para o tratamento de infecções da pele dos índios Andoque da Amazônia colombiana (CORREA; BERNAL, 1989; EVANS-SCHULTS; RAFFAUF, 1990; citado em GACHET; SCHUHLY, 2009); os mesmos ainda são utilizados, para o tratamento de doenças de pele dos índios da região amazônica equatoriana-WAO e Shuar (De La TORRE et al., 2007). As cascas dos caules são usadas ainda, para tratar a leishmaniose na América do Sul (ROTH; LINDORF, 2002); e por pessoas do planalto da Guiana (Venezuela) (SAUVIAIN et al., 1993). Os tubérculos são utilizados na Amazônia brasileira, para tratamento de distúrbios gastrointestinais (RODRIGUES, 2006); as folhas são utilizadas para tratar reumatismo pelos índios Chácobo na Bolívia e utilizadas pelos Tiriyós do norte do Brasil para curar a debilidade e febre; as cascas de árvores jovens são usadas para tratar á sífilis na Guiana Francesa; as folhas são usadas para tratar infecções da pele pelos Jivaros do Peru e a seiva da casca, usado para tratar infecções da pele, pelos índios

	do rio Vaupés na Colômbia. Jacaranona e ácido ursólico são alguns constituintes das folhas (GACHET; SCHUHLY, 2009).
<i>Jacaranda cuspidifolia</i> Martius ex. DC.	Folhas desta espécie são usadas pelos índios Chinane e Colonos (China) para tratar a leishmaniose (FOURNET et al., 1994).
<i>Jacaranda decurrens</i> Cham.	No Brasil, folhas e cascas desta planta são utilizadas para tratar feridas e doenças da pele; as cascas ainda são usadas para o tratamento do prurido; quanto às raízes e folhas são usados para o tratamento da sífilis, reumatismo, além de doenças da pele e inflamação (MARONI et al. 2006; citado por GACHET; SCHUHLY, 2009). Dentre os constituintes químicos da cera epicuticular inclui-se o ácido ursólico (VARANDA et al., 1992); e nas folhas os compostos químicos como: luteolina, 6-hidroxluteolina 7-O-glicosídeo, quercetina-3-O-glucosídeo, quercetina-3-O-galactosídeo (BLATT et al., 1998).
<i>Jacaranda filicifolia</i> D. Don	Constituintes dos ramos da planta incluem: β -sitosterol, ácido ursólico, $2\alpha,3\alpha$,dihidroxiuros-12-eno-28-óico, e 2-(4-hidroxifenil) acetato de 1-dodeciloctadecanoate (ácido triacontanóico) (ALI; HOUGHTON, 1999). O extrato em diclorometano das cascas do caule apresentaram atividades antifúngicas frente a <i>Coriolus versicolor</i> , <i>Gloeophyllum trabeum</i> e <i>Bostryodiplodia theobromae</i> (ALI et al., 1998).
<i>Jacaranda puberula</i> Cham.	Os extratos metanólicos das folhas apresentaram atividade antileishmaniose, frente a formas promastigotas de <i>Leishmania amazonensis</i> (PASSERO et al., 2007).
<i>Jacaranda glabra</i> (DC.) Bureau & K. Schumann	As folhas desta planta são usadas pelos índios Tacana na Bolívia e os Kichwas da Amazônia equatoriana para tratamento da leishmaniose e para doenças de pele (De La TORRE et al., 2007; citado por GACHET; SCHUHLY, 2009).
<i>Jacaranda hesperia</i> Dugand	Usada para tratar a leishmaniose na região do Chocó da Colômbia (VÁZQUEZ et al., 1991; citado por GACHET; SCHUHLY, 2009).
<i>Jacaranda</i>	Fazem parte das cascas das raízes desta espécie os constituintes

<i>mimosifolia</i> D. Don	químicos: lupenona, β-sitosterol, ácido ursólico e ácido oleanólico (PRAKASH; GARG, 1980); nas folhas são: hidroquinonas (GACHET; SCHUHLY, 2009); scutellareina (SANKARA-SUBRAMANIAN et al., 1972); scutellareina 7-glucuronido (SANKARA-SUBRAMANIAN et al., 1973); isoquercitrina, isovitexina, apigenina 7-O-β-D-glucopiranosídeo, luteolina 7-O-β-D-glucopiranosídeo, scutellareina 7-O-β-D-glucuronopiranosídeo éster metílico, apigenina 7-O-β-D-glucuronopiranosídeo metil éster, luteolina 7-O-β-D-glucuronopiranosídeo éster metílico, E-acteosídeo, Z-acteosídeo, isoacteosídeo, cistanosídeo, 6-acetilateosídeo, campneosídeo e jacraninosídeo (MOHARRAM; MARZOUK, 1962). O componente majoritário do óleo essencial das sementes é 8Z,10E, ácido 12-Z-octadocatrienóico (CHISHOLM; HOPKINS, 1962), o qual apresentou alta atividade inibitória da ciclooxigenase na biossíntese de prostaglandinas (NUGTEREN; CHRIST-HAZELHOF, 1987). As cascas do caule são usadas no Equador para tratar doenças venéreas e como um purificador do sangue. Propriedades hipotensivas ainda são relatadas para os constituintes dos extratos metanol-água das folhas (NICASIO; MECKES, 2005).
<i>Jacaranda obtusifolia</i> Humboldt and Bonpland	Esta planta é usada na Venezuela e Guiana para promover cicatrização de feridas (ROTH; LINDORF, 2002), e as suas folhas são usadas para tratar a sífilis na Colômbia (PÉREZ-ARBELÁEZ, 1990; citado em GACHET; SCHUHLY, 2009).
<i>Jacaranda puberula</i> Cham.	As folhas são utilizadas pelos índios Xokleng da Terra Indígena Ibarama que reside no sul do Brasil para tratar queimaduras de gelo (SENS, 2002; citado em GACHET; SCHUHLY, 2009).
<i>Kigelia africana</i> (Lam.) Benth.	Esta espécie é usada na medicina tradicional Africana como antiinflamatório, antimicrobiano, contra picadas (veneno) de formigas e efeitos do envelhecimento. O extrato polar do fruto contém: iridóide, verminosídeo e polifenóis como o verbascosídeo. O verminosídeo foi relatado como

	antiinflamatório (PICERNO et al., 2005).
<i>Kigelia pinnata</i> (Jacq.) DC.	Esta espécie é usada na medicina tradicional Africana como antiinflamatório, antimicrobiano, contra picadas (veneno) de formigas e efeitos do envelhecimento. O extrato polar do fruto contém: iridóide, verminosídeo e polifenóis como o verbascosídeo. O verminosídeo foi relatado como antiinflamatório (BINUTU et al., 1996).
<i>Macfadyena unguiscati</i> L.	Esta planta a qual é classificada como uma liana, é utilizada na medicina popular do Brasil como um antiinflamatório, antimalárico e antivenereal, uma série de compostos químicos dos extratos das folhas são relatados: corimbosídeo, vicenina-2, quercitrina, ácido clorogênico, ácido isoclorogênico, lupeol, β -sitosterol, β -sitosterilglucosídeo, alantoína e lapachol. Atividades antitumorais e antitripanossomicida são atribuídas aos seus extratos (DUARTE et al., 2000)
<i>Mansoa hirsuta</i> D.C.	Os extratos etanólicos das folhas desta planta, mediados através de NO e por endotélio, apresentou vasodilatação dos anéis da aorta de ratos (CAMPANA et al., 2009).
<i>Markhamia tomentosa</i> (Benth.) K. Schum.	Compostos do extrato acetato de etila das cascas do caule como: 2-acetilnafito [2,3-b] furano-4,9-diona, 2-acetil-6-metoxinafite [2,3-b]furano-4,9-diona, ácido oleanólico, ácido pomólico, ácido 3-acetilpomólico, ácido tormentico, β -sitosterol, e β -sitosterol-3-O- β -D-glucopiranosídeo. Atividades antiprotozoários, são atribuídas para os dois primeiros constituintes, os quais exibiram também alta toxicidade diante de linhagens de células (G-6) de mamíferos (TANTAAGNO et al., 2010).
<i>Melloa quadrivalvis</i> (Jacq.)	Atividade moluscicida contra <i>Biomphalaria glabrata</i> é atribuída ao extrato etanólico dos ramos desta planta (SILVA et al., 2007).
<i>Millingtonia hortensis</i> L.	São atribuídas aos extratos das folhas desta espécie atividades larvicidas frente aos mosquitos: <i>Anopheles stephensi</i> , <i>Culex quinquefasciatus</i> e <i>Aedes aegypti</i> (KAUSHIK; SAUNI, 2008). Atividade antimutagênica são atribuídas aos flavonóides isolados desta planta, são eles: hispidulina e hortenisina, 2-

	aminoantraceno e dimetilnitrosoamina (CHULASIRI et al., 1992).
<i>Newbouldia laevis</i> P. Beauv.	A planta é utilizada na medicina tradicional de Togo para o tratamento de doença de células falciformes; atividade <i>in vitro</i> e antiafoçamento são descritas para os constituintes desta espécie (JOPPA et al., 2008). A partir das raízes, uma naftoquinona-antraquinona pigmento acoplado–newbouldiaquinone A, foi isolada com atividade antimalárica contra <i>Plasmodium falciparum</i> e fortes atividades antimicrobianas frente à <i>Candida gabrata</i> e <i>Enterobacter aerogens</i>. Outros componentes isolados dos constituintes das raízes são: apigenina, crisoeriol, newbouldiaquinone, lapachol, 2-metilantraquinona, 2-acetilfuro-1,4-naftoquinona, 2,3-dimetoxi-1,4-benzoquinona, ácido oleanólico, ácido cântico, 2-(4-hidroxifenil) etiltriacontanoate, newbouldiamida, 5,7-dihidroxidehidroiso-α-lapachone, β-sitosterol e β-sitosterol glucopiranosídeo (EYONG et al., 2006). Constituintes das cascas do caule incluem: os glicosídeos feniletanoídeos, newbouldiosídeo AC, sal de sódio do análogo B, verbascosídeo, 5-hidroxidehidroiso-β-lapachona, 3,8-dihidroxidehidroiso-α-lapachona, apigenina, luteolina (GORMANN et al., 2006); e furanonaftoquinona-1-(1-metiletênil)-5-hidroxinaftol[2,3-β]furano-4,9-diona, 2-(1-metiletênil)-7-hidroxinaftol [2,3-β] furano-4,9-diona, 2-acetil-5-hidroxinafto[2,3-β]furano-4,9-diona, e 2-(1-metiletênil)nafto [2,3-β]furano-4,9-diona, juntamente com ácido atrarico e 2-(1-metiletênil)-6-hidroxi-2,3-di-hidrobenzofurano (GORMANN et al., 2003). Uma série de naftoquinonas extraídas das raízes apresentaram atividades antifúngicas contra <i>Cladosporium cucumerinum</i> e <i>Candida albicans</i>; os constituintes desta espécie incluem ainda: 6-hidroxidehidroiso-α-lapachona, 7-hidroxidehidroiso-α-lapachona, 5,7-dihidroxidehidroiso-α-lapachona, e 3-hidroxi-5-methoxidehidroiso-α-lapachona (GAFNER et al., 1996).

<i>Oroxylum indicum</i> Vent.	Atividade imunoestimulante e antioxidante em ratos são atribuídas aos constituintes químicos da fração n-butanol das raízes desta espécie (ZAVERI et al., 2006).
<i>Spathodea campanulata</i> P. Beauv	Os extratos etanólicos das folhas desta espécie são usados na medicina tradicional para o tratamento de convulsões, epilepsia, e atividade anticonvulsiva são atribuídas aos constituintes químicos, os quais apresentaram importantes resultados em modelos experimentais induzidos por eletrochoques em ratos (ILODGWE et al., 2010). A planta é usada para tratar a cicatrização de feridas em povos Ashanti na medicina tradicional de Gana. Extrato metanólico da casca exibiu atividades antimicrobianas, bem como antioxidante protegendo células MRC-5 a partir de peróxido de hidrogênio induzido por lesão oxidante (MENSAH et al., 2006).
<i>Stereospermum kunthianum</i> Cham, Sandrine Petit	Estas plantas são usadas na medicina tradicional para o tratamento da bronquite, pneumonia, tosse, gastrite, feridas, artrite reumática, úlceras, disenteria, lepra e doenças sexualmente transmissíveis. Devido aos constituintes do extrato aquoso da casca do caule, esta espécie apresenta atividade antiinflamatória e também foram utilizados em modelos experimentais com animais induzindo edema de patas por carregenina em ratos (CHING et al., 2009a). O extrato aquoso da casca do caule apresentou atividade analgésica mediada através de ambos os mecanismos: central e periférico e Proteção contra crises generalizadas com pentilenotetrazol em modelos eletro-convulsivo em roedores (CHING et al., 2009b).
<i>Stereospermum suaveolens</i> (Roxb.) DC	Ao extrato metanólico desta espécie são atribuídas atividade hepatoprotetora diante de lesões induzidas por tetracloreto de carbono em fígado de ratos albinos (CHANDRASHEKHAR et al., 2010).

<i>Tabebuia aurea</i> (Manso) Benth. & Hook. f. ex S. Moore	Os constituintes dos extratos etanólicos dos ramos, foram os responsáveis pela a atividade moluscicida contra <i>Biomphalaria glabrata</i> (SILVA et al., 2007).
<i>Tabebuia avellanedae</i> Lorentz ex Griseb.	Esta planta é usada na medicina popular da America Central e America do Sul para tratar as infecções bacterianas, coagulação sanguínea, câncer e doenças inflamatórias (PEREIRA et al., 2006; BYEON et al., 2008). Os componentes dos extratos aquosos das cascas do caule apresentaram atividades antiinflamatórias <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i>. Extratos etanólicos da casca apresentaram efeitos antiulcerogênicos em testes induzindo ulceração gástrica aguda por etanol e ibuprofeno em ratos (FREITAS et al., 2010). Devido aos constituintes dos extratos etanólicos da planta, foram observados efeitos antidepressivos em testes de natação forçada e de suspensão de caldas em camundongos. Algumas naftoquinonas foram isoladas da casca desta espécie, são elas: (-)-5-hidroxi-2-(1-hidroxietil)-nafto [2,3-β] furano-4,9-diona (1), e (-)-8-hidroxi-2-(1-hidroxietil)-nafto [2,3-β] furano-4,9-diona (2). Uma quinona (β-lapachona) isolada da casca do caule apresentou atividade citotóxica, inibindo o crescimento de células de carcinoma de pulmão humano A549, por meio de indução a apoptose e inibição da telomerase (WOO; CHOI, 2005).
<i>Tabebuia impetiginosa</i> Martius ex DC.	Componentes bioativos da casca seca são: 2-(hidroximetil) antraquinona, ácido antraquinona-2-carboxílico e lapachol{2-hidroxi-3-(3-metil-2-butenil)-1,4-naftoquinona}, apresentaram atividade diante de <i>Helicobacter pylori</i> ATCC 43504 (PARK et al., 2006).
<i>Tabebuia rosea</i> (Bertol.) DC.	Os constituintes do extrato etanólico das cascas do caule desta espécie, são reconhecidos pelos curandeiros da região noroeste da Colombia como um potente neutralizante contra veneno de cobras <i>Bothrops atrox</i> (OTERO et al., 2000).

<i>Tecoma sambucifolia</i> H.B.K.	Constituintes dos extratos alcoólicos de vagens e flores apresentaram atividades antiinflamatória e antinociceptiva, e o extrato de flores foram ainda citotóxicos frente a linhagens celulares de hepatoma humano (AGUACIL et al., 2000).
<i>Tecoma stans</i> (L.) Juss. ex Kunth.	O extrato aquoso da planta é utilizado como um agente anti - diabético na medicina tradicional do México, os constituintes deste extrato exibiram atividades α -glicosidase, ação hipoglicemiante, juntamente com ação hipotrigliceridêmica e hipocolesterolêmico em ratos machos Sprague-Dawley (AGUILAR-SANTAMARIA et al., 2009).
<i>Tecoma undulata</i> Seem.	Os constituintes dos extratos etanólicos das cascas do caule desta planta, apresentaram atividade hepatoprotetora em testes induzidos por tioacetamida em ratos albinos (KHATRI et al., 2009).
<i>Zeyheria montana</i> Mart.	Os componentes dos extratos etanólicos das folhas apresentaram atividades antiinflamatórias e antinociceptivas em camundongos e ratos (GUENKA et al., 2008).

Fonte: adaptado de Rahmatullah et al., (2010)

No Brasil, os gêneros mais comuns são *Tabebuia*, que inclui os Ipês e o Pau-d'arco; *Pyrostegia*, Flor-de-São-João; a medicinal Unha-de-Gato do gênero *Bignonia*, e as várias espécies do gênero *Zeyhera* (DI STASI; HIRUMA-LIMA, 2002).

As diferentes espécies de Bignoniaceae ocorrem em habitats como cerrado, caatinga, florestas secas, úmidas ou molhadas, desenvolvendo-se em qualquer várzea tropical. Isto marca uma forte oposição à tendência geral mostrada pela maior parte das famílias botânicas. Porém, as Bignoniaceae são muito mais frequentes em floresta seca do que em floresta úmida (GENTRY, 1980).

Muitas espécies desta família apresentam características biológicas que as tornam potencialmente como plantas invasoras. Segundo Lorenzi (2000), plantas invasoras são espécies vegetais, tanto silvestres quanto exóticas, que nascem e se reproduzem espontaneamente, comportando-se de forma indesejável e, geralmente, em áreas de grande interesse econômico, sem que seu cultivo seja de interesse. Outra característica que pode ser destacada é o fato de muitas espécies serem lianas (GENTRY, 1972), que são plantas heliófilas e se desenvolvem melhor em ambientes

com muita luminosidade, como clareiras e bordas, como é o caso de muitas espécies desta família (LOPES et al., 2008).

Esta família botânica possui grande variedade de usos etnobotânicos e econômicos. São importantes para a indústria madeireira e são utilizadas como plantas ornamentais, além do seu grande potencial medicinal. Há relatos de 36 gêneros de Bignoniaceae que são utilizados na medicina popular, sendo 27 gêneros de lianas e nove de árvores (LOPES et al., 2008). Apesar do reconhecimento da importância etnofarmacológica da família Bignoniaceae muitas espécies ainda necessitam de estudos químicos e farmacológicos, entre elas destacam-se as espécies do gênero *Adenocalymma* (TRESVENZOL et al., 2009).

A família Bignoniaceae apresenta grande diversidade de classes de metabólitos secundários, como lignanas, flavonóides, iridóides, triterpenos, xantonas, naftoquinonas, ácidos cinâmicos e benzóicos e seus derivados, sendo os alcalóides extremamente raros (OLIVEIRA et al., 1990).

Bignoniaceae é subdividida em oito tribos (Bignonieae, Catalpeae, Coleeae, Crescentieae, Jacarandaeae, Oroxyleae, Tecomeae, Tourrettieae), ocorrendo três delas no Brasil (Bignonieae, Crescentieae e Tecomeae), as quais se diferenciam pelo hábito da planta e pela morfologia do fruto (BUREAU; SCHUMANN, 1897; GENTRY, 1980; OLMSTEAD et al., 2009).

3.3 TRIBO BIGNONIEAE

A tribo Bignonieae inclui 393 espécies neotropicais, o que representa quase a metade das espécies da família Bignoniaceae. A tribo é composta principalmente de lianas e arbustos com ampla distribuição ou altamente com padrões endêmicos. Nas últimas décadas, estudos florísticos desta família têm sido realizados na região norte (LOHMANN; HOPKINS, 1999), sudeste (LOHMANN; PIRANI, 1998, 2003; RIZZINI et al., 1997; ASSIS et al., 2000; SCUDELLER, 2004) e nordeste (SILVA-CASTRO; QUEIROZ, 2003), sendo escassos os levantamentos florísticos direcionados especificamente à tribo Bignonieae na maioria das regiões brasileiras (SCUDELLER; CARVALHO-OKANO, 1998). Uma realidade bem diferente é encontrada no estado de São Paulo, onde a flora de Bignonieae é relativamente bem conhecida e os trabalhos

desenvolvidos contemplam aspectos no âmbito ecológico e evolutivo da tribo. Partindo da filogenia proposta por Lohmann (2006), inúmeros trabalhos têm investigado a evolução de características como as variantes cambiais (PACE et al., 2009), as gavinhas (SOUZA-BAENA; LOHMANN, 2008) e, mais recentemente, iridóides, acarodomáceas, nectários extra-florais, tricomas, sementes e sistemas de dispersão em espécies da tribo.

3.4 GÊNERO *ADENOCALYMMMA*

O nome "*Adenocalymma*" é de origem grega, onde "Aden, adenos" (substantivo masculino=glândula) e "kalymma" (substantivo neutro=cobertura ou cálice) referem-se a glândulas pateliformes encontradas no cálice da maioria das espécies. O nome genérico foi proposto por Martius em uma anotação feita numa espécie em 1839, mas foi publicado de forma válida apenas 1 ano depois por Meisner (1840a; 1840b).

Embora nas publicações originais (MEISNER, 1840a, 1840b), a ortografia para o gênero foi "*Adenocalymna*" (mn), o índice de trabalho de Meisner (publicado em 1843, parte 2, p.374, Meisner, 1.837-1.844) e algumas publicações mais tarde, por exemplo, Bentham (1876), relata que a ortografia para o gênero deve ser "*Adenocalymma*" (com mm). Bureau (1872) mostrou que a ortografia utilizada no protólogo, e em seguida mais tarde por De Candolle (1845), estava incorreta e também não se encaixava na origem do termo "kalymma".

Em uma recente revisão do gênero *Adenocalymma* (=Memora), Udulutsch et al. (2008) encontraram 144 nomes que têm sido propostos para o gênero, dos quais 47 estavam corretos e aceitos, 75 foram sinônimos considerados dos quais 29 eram espécie do gênero *Adenocalymma* e 46 de outros gêneros de Bignoniaceae, 14 não foram validamente publicada (6 foram nominal e 8 apareceram em rótulos de herbários apenas), e 8 foram considerados *insertae sedis*.

Apesar da riqueza de espécies, o gênero *Adenocalymma* tem poucas espécies que foram estudadas química e farmacologicamente, como relatadas a seguir:

Adenocalymma comosum (Cham.) A.P. DC., devido a constituição química do extrato etanólico, apresenta atividade moluscicida diante de *Biomphalaria glabrata* (SILVA et al., 2007).

Os extratos aquosos de *Adenocalymma alliaceum* Miers demonstraram baixa atividade diante de *Trichophyton mentagrophytes*. Entretanto, esta planta é utilizada no tratamento de distúrbios respiratórios, antirreumáticos e como hipocolesterolêmico. Os componentes químicos presentes nesta espécie *A. alliaceum* são voláteis e instáveis em temperaturas elevadas (SRINIVASAN; SRINIVASAN, 1995).

Adenocalymma nodosum (Silva Manso) L.G. Lohmann, contém as seguintes classes de metabólitos secundários: flavonóides e saponinas nas raízes; saponinas, flavonóides e óleo essencial nas folhas, com os principais componentes sendo benzaldeído e 1-octen-3-ol (OLIVEIRA et al., 1990; TRESVENZOL et al., 2005). Estudos preliminares em *Adenocalymma peregrinum* (Miers) L.G. Lohmann, foram identificadas as seguintes classes de metabólitos secundários: flavonóides, carboidratos e glicosídeos iridóides saponinas. As duas espécies apresentaram as seguintes atividades biológicas: antimicrobiana, antiinflamatória, bem como sarnicida (OLIVEIRA et al., 1990; TRESVENZOL et al., 2005, 2009).

3.5 ADENOCALYMMA IMPERATORIS-MAXIMILIANII (WAWRA) L. G. LOHMANN

Segundo Missouri Botanical Garden (2014), a espécie está taxonomicamente enquadrada da seguinte forma:

Divisão: Magnoliophyta

Classe: Equisetopsida C. Agardh

Subclasse: Magnoliidae Novák ex Takht.

Superordem: Asteranae Takht.

Ordem: Lamiales Bromhead

Família: Bignoniaceae Juss.

Gênero: *Adenocalymma* Mart. ex Meisn.,

Espécie: *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann

Sinonímias: *Memora imperatoris-maximilianii* (Wawra) A. H. Gentry

Bignonia imperatoris-maximilianii Wawra

Pleonotoma imperatoris-maximilliani (Wawra) Bureau & K.Schum.

A espécie *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (Wawra) L. G. Lomann (Figura 3) é encontrada no Nordeste brasileiro, distribuída nos Estados do Maranhão, Piauí, Ceará, Pernambuco, Paraíba, Rio Grande do Norte e Bahia, conhecida vulgarmente como cipó de cesta (MISSOURI BOTANICAL GARDEN, 2014).

Gentry (1977), elenca algumas características relevantes para o enquadramento de *Memora imperatoris-maximilianii* que atualmente é denominada *A. imperatoris-maximilianii* (Figura 3) no gênero *Memora* (= *Adenocalymma*), tais como: cálice pentadenticulado, inflorescência em panícula aberta, corolas vermelhas com os lóbulos e os tubos glabros por fora, glândulas achatadas na base dos lóbulos, folhas trialternadas. O autor, ainda considera fundamentais, os comentários nas anotações de campo, do professor Dárdano de Andrade Lima, encontrados no exemplar 57-2799, coletado em Nazaré da Mata-PE, que permitiram ampliar a descrição de Waraw: “flores roseo nos lobos (variando de róseo a lilaz bem claro), e amarelo no tubo Cálice esverd.”

Figura 2– Exsicata depositada no herbário do Missouri Botanical Garden.



Fonte: Tropicos.org. Missouri Botanical Garden. Disponível em: <<http://www.tropicos.org/Specimen/1018840>>. Acesso em: 3 mar. 2013.

Figura 3 - Distribuição do gênero *Adenocalymma*.



Fonte: Kew Garden. Disponível em: <<http://data.kew.org/vpfg/genindex?action=5&id=8712>> . Acesso em: 28 fev. 2012.

3.6 ATIVIDADE ANTIVIRAL

A infecção por agentes virais permanece como um importante problema de saúde mundial e o controle de doenças virais é o tema do esforço científico constante. Além disso, o aparecimento de estirpes virais resistentes a agentes antivirais é um problema emergente. Como consequência, há uma escassez de medicamentos antivirais. Portanto, a busca de agentes antivirais mais eficazes é uma condição necessária e tarefa altamente desejável (VANDEN BERGHE et al., 1986; VIJAYAN et al., 2004; MÜLLER et al., 2007).

As plantas têm sido utilizadas como remédios caseiros e a literatura etnobotânica tem descrito o uso de extratos de plantas, infusões e pós durante séculos para doenças agora conhecidas por serem de origem viral (VANDEN BERGHE et al., 1986; VIJAYAN et al., 2004). Levantamentos etnofarmacológicos apontam para algumas plantas da família Bignoniaceae que são utilizadas para tratar os sintomas relacionados com as doenças virais (BRANDÃO et al., 2010).

Choudhury et al. (2011), relatam a importância dos chamados compostos químicos bioativos de espécies de Bignoniaceae com ação antiviral como é o caso do verbascosídeo, iso verbascosídeo, crisina e baicaleína, dentre outros.

Brandão et al. (2010) demonstraram o potencial de dez espécies de bignoniaceas como fontes de novos agentes antivirais contra ao menos um dos seguintes vírus: herpes simplex-tipo 1, vaccinia e encefalomiocardite murina. Os extratos da casca do lenho, e das cascas da raiz e flores do ipê roxo *Tabebuia impetiginosa* (Mart.) Standl., já foram testados para várias afecções da boca, sendo promissores contra herpes labial (PANIZZA, 1998).

Compostos isolados da casca do caule: 8-metoxidehidroso- α -lapachona, 9-metoxi-4-oxo- α -lapachona, (4S,4 α R,10R,10 α R)-4,10-di-hidroxi-2, 2,-dimetil-2,3,4,4 α ,10,10 α -hexahidrobenczo [g]cromeno-5-ona, 3-hidroxidehidroso- α -lapachona, 4,9-di-hidroxi- α -lapachona, 4-hidroxi- α -lapachona, 9-metoxi- α -lapachona e catalpalactona exibiram atividade antiviral contra vírus de Epstein-Barr (FUGIWARA et al. 1998).

3.7 ATIVIDADE ANTIBACTERIANA

A busca por novos agentes antimicrobianos, para aplicação em produtos farmacêuticos e cosméticos, faz-se cada vez mais necessário, devido ao surgimento de microrganismos resistentes aos antibióticos em uso clínico, e aos microrganismos oportunistas que levam a infecções fatais. Desta forma, compostos provenientes de extratos de plantas podem contribuir para o desenvolvimento de antibióticos mais eficazes e menos tóxicos, na corrida contra a resistência e o surgimento de microrganismos patogênicos (SILVA et al., 2011; OSTROSKY et al., 2008).

Singh e Shuklavy (1984) relatam as diferenças entre antimicrobianos produzidos por microrganismos e por plantas, eles destacam que os compostos isolados de plantas são substâncias cuja estrutura química, com raras exceções, apresentará grandes diferenças estruturais em relação aos antibióticos derivados de microrganismos, onde os agentes antimicrobianos isolados de plantas superiores geralmente agem como reguladores do metabolismo intermediário, ativando ou bloqueando reações enzimáticas, afetando diretamente uma síntese enzimática seja em nível nuclear ou ribossomal, ou mesmo alterando estruturas de membranas. Com isso as plantas destacam-se como grande manancial de novas moléculas bioativas.

Os extratos metanólicos das folhas e casca do caule de quatro espécies de Bignoniaceae, *Jacaranda mimosifolia* D. Dol., *Tecoma stans* L., *Tabebuia rosea* (Bertol) DC, e *Crescentia cujete* L., foram testados quanto à sua atividade antimicrobiana utilizando uma vasta gama de bactérias Gram-positivas, Gram-negativas e fungos, sendo mais eficazes contra as Gram-positivas (BINUTO; LAJUBUTO, 2004).

Tyagi et al. (2011), verificaram a atividade dos extratos etanólico e aquoso de *Kigelia africana* frente a *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente, isolada de pacientes com infecção urinária internados em UTI, mostrando resultados promissores.

Al-Azzawi et al. (2012) demonstraram a atividade antimicrobiana dos constituintes químicos frente a bactérias Gram-positivas e Gram-negativas do extrato

alcoólico e aquoso e do alcalóide tecomina isolado de *Tecoma stans*, além de não apresentarem alterações histopatológicas sobre o fígado, baço e pâncreas de ratos.

Em ensaios biomonitoradas para evidenciar compostos biologicamente ativos nos extratos de *Zeyheria tuberculosa* (Vell.) Bur., culminou no isolamento de quatro flavonas: 5,6,7,8-tetrametoxiflavona, 4-hidroxi-5,6,7,8-tetrametoxiflavona, 5,6,7-trimetoxiflavona e 4-hidroxi-5,6,7-trimetoxiflavona. As flavonas 5,6,7,8-tetrametoxiflavona e 4-hidroxi-5,6,7,8-tetrametoxiflavona apresentaram atividade antimicrobiana frente a *S. aureus* e *Candida albicans*, enquanto que a flavona 5,6,7-trimetoxiflavona só apresentou atividade frente a *Staphylococcus aureus*, já a flavona 4-hidroxi-5,6,7-trimetoxiflavona não apresentou qualquer atividade antibacteriana (BASTOS et al., 2009).

O composto antraquinona-2- ácido carboxílico lapachol isolado da casca interna da planta *Tabebuia impetiginosa* Martius ex DC., tem demonstrado forte inibição do crescimento de *Clostridium paraputrificum* os quais são bactérias intestinais humanas (PARK et al., 2005).

Tabebuia avellanadae Lorentz ex Griseb. apresenta atividade antibacteriana contra estirpes de *Staphylococcus* resistentes à metilina isto se deve aos constituintes químicos, tais como: β -lapachona, 3-hidroxi- β -lapachona (PEREIRA et al., 2006).

Os constituintes da casca do caule de *Stereospermum zenkeri* K.Schum. ex De Wild são: antraquinonas-zenkequinonas A e B, juntamente com esterequinona-F, ácido p-cumárico, β -sitosterol-3-O- β -D-glucopiranosídeo e β -hidroxioleano-12-eno-28-O- β -D-glucopiranosídeo, dos quais zenkequinona B apresentou atividade antibacteriana frente a *Pseudomonas aeruginosa* (LENTA et al., 2007).

Os constituintes dos extratos das cascas do caule de *Spathodea campanulata* P. Beauv. apresentaram atividade frente a *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans* (OFORI-KWAKYE et al., 2009); os componentes antibacterianos foram: espantosídeo (a cerebrosídeo), n-alcanos, álcoois alifáticos lineares, β -sitosterol e seus ésteres, β -sitosterol-3-O- β -D-glucopiranosídeo, ácido oleanólico, ácido pomólico, ácido p-hidroxibenzóico e feniletanol ésteres (MBOSSO et al., 2008). Esta espécie é usada para tratar cicatrização de feridas em povos Ashanti na medicina tradicional de Gana. O extrato metanólico da casca exibiu atividades antimicrobianas (MENSAH et al., 2006).

Foram testadas várias naftoquinonas dos extratos das raízes de *Newbouldia laevis* P. Beauv. com atividade contra *Cladosporium cucumerinum* e *Candida albicans*, e com atividade antibacteriana frente ao *Bacillus subtilis* e *Escherichia coli*, os compostos testados foram: 6-hidroxidehidroiso- α -lapachona, 7-hidroxidehidroiso- α -lapachona, 5,7-dihidroxidehidroiso- α -lapachona, e 3-hidroxi-5-metoxidehidroiso- α -lapachona (GAFNER et al., 1996).

As atividades antimicrobianas de *Jacaranda mimosifolia* D. Don, frente á *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* são atribuídas aos constituintes dos extratos hexanos, etanólicos e aquosos das folhas (ROJAS et al., 2006).

Alguns compostos antibacterianos e antifúngicos de *Kigelia pinnata* (Jacq.) DC., foram isolados dos extratos das raízes como: kigelinona, isopinatal, hidro- α -lapachona e lapachol (naftoquinonas) e os fenilpropanoides: ácido p-cumárico e ácido ferúlico. A partir dos extratos dos frutos, foram relatados os seguintes compostos antibacterianos e antifúngicos: kigelinona e ácido caféico (BINUTU et al., 1996).

3.8 ATIVIDADE CITOTÓXICA

O teste de citotoxicidade *in vitro* em cultura de células tumorais tem se tornado importante para a avaliação de agentes anticâncer, sendo também muito utilizado como método alternativo aos testes farmacológicos em órgãos isolados, e tem, pelo menos durante a fase de *screening* para avaliação de agentes anticânceres, reduzindo a experimentação *in vivo* em animais (HAMBURGUER; HOSTETTMANN, 1991; CINGI et al., 1991).

A citotoxicidade se traduz por alteração morfológica, inibição da proliferação, crescimento e morte celular, devido á ação de agentes externos as quais são expostas (STREISSLE et al., 1981).

Extrato da espécie *Zeyheria tuberculosa* (Vell.) Bur., apresentou atividade citotoxicidade em ensaios com *Artemia salina* (BASTOS et al., 2009).

Dos extratos dos frutos de *Tecoma stans* (L.) Juss. ex Kunth., foram isolados os seguintes compostos: 2-(3,4-di-hidroxifenil)-etil-2-O-[6-desoxi- α -L-manopiranosil-4-

(3,4-di-hidroxi-fenil)-2-ropenoato]- β -glucopiranosídeo, 5-hidroxiskitantina hidrocloreto, 4-O-E-cafeoil- α -L-ramnopiranosil-(163)- β , O- β -D-glucopiranosose, E/Z-acteosídeo; isoateosídeo, rutina, luteolina 7-O- β -D-neohespiridosídeo, luteolina-7-O- β -D-glucopiranosídeo e sacarose; os extratos das flores evidenciaram: luteolina-7-O- β -D-glucuronopiranosídeo, diosmetina 7-O- β -D-lucuronopiranosídeo, diosmetina 7-O- β -D-glucopiranosídeo, diosmetina 7-O- β -D-glucuronopiranosídeo éster metílico e acteosídeo. Os compostos (5-hidroxiskitantina hidrocloreto e O- β -D-glucopiranosose) exibiram atividade citotóxica contra células de hepatocarcinoma humano (Hep-G2), enquanto que os compostos (5-hidroxiskitantina hidrocloreto e luteolina-7-O- β -D-glucopiranosídeo) demonstraram potente inibição do crescimento de câncer de mama humano frente às linhagens celulares de carcinoma MCF-7 (MARZOUK et al., 2006).

Constituintes dos extratos alcoólicos das flores de *Tecoma sambucifolia* H.B.K., apresentaram atividade citotóxicas frente á linhagens celulares de hepatoma humano (ALGUACIL et al., 2000).

O composto (-)-5-hidroxi-2-(1-hidroxietil)-nafto[2,3- β]-furano-4,9-diona isolado da espécie *Tabebuia avellanadae* Lorentz ex Griseb., apresentou alto efeito antiproliferativa em várias linhagens celulares tumorais humanas (YAMASHITA et al., 2009).

Cinco constituintes químicos do extrato alcoólico de *Incarvillea arguta* (Royle) Royle, são: plantarenalosídeo, 5-hidroxi-4,6,7-trimetoxiflavona, 4,5-di-hidroxi-6, 7-dimetoxiflavona, 4,5-di-hidroxi-7-metoxiflavona e 5-didroxi-4,7-dimetoxiflavona, dos quais plantarenalosídeo apresentou atividade citotóxica em linhagens celulares neutróficas PC-12 (YU et al., 2005).

Habitantes de Camaguey utilizam ramos frondosos de *Jacaranda caerulea*, para eliminar eczemas e espinhas e as folhas para tratar o câncer de pele (MORTEN, 1981, citado em GACHET; SCHUHLY, 2009); Já a espécie *Jacaranda copaia* apresentou atividades citotóxicas frente a diferentes linhagens celulares, bem como inibição de quatro proteases, estes efeitos biológicos são atribuídos aos constituintes químicos dos extratos etanólicos (VILLASMIL et al., 2006; TAYLOR et al., 2006); enquanto que a espécie *Macfadyena unguis-cati* devido a composição química dos seus extratos apresentaram atividades antitumorais (DUARTE et al., 2000).

A partir do extrato em acetato de etila das cascas do caule da planta *Markhamia tomentosa* (Benth.) K. Schum., foram isolados os seguintes compostos: 2-acetilnafto

[2,3-b] furano-4,9-diona, 2-acetil-6-metoxinafeto[2,3- β]-furano-4,9-diona, ácido oleanólico, ácido pomólico, ácido 3-acetilpomólico, ácido tormentico, β -sitosterol e β -sitosterol-3-O- β -D-glucopiranosídeo, os quais exibiram alta toxicidade diante de linhagens de células G-6 de mamíferos (TANTANGMO et al., 2010).

Das cascas do caule da espécie *Melloa quadrivalvis* (Jacq.), foram isolados os seguintes compostos: 5-hidroxi-6-metoxi- α -lapachona, 5,6-di-hidroxi- α -lapachona, 4,5-di-hidroxi-6-metoxi- α -lapachona, lapachol e 5,5-di-hidroxi-3,4,7-trimetoxiflavanone, dos quais o primeiro composto e os constituintes do extracto clorofórmico apresentaram-se como inibidor do crescimento celular de Hep2 e NCIH-292 (LIMA et al., 2005).

O constituinte químico Jacaranona da espécie *Jacaranda caucana* Pittier apresentou atividades *in vivo* e *in vitro* diante de células linfocíticas P-388 de leucemia (OGURA et al., 1976, 1977a).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

No desenvolvimento deste trabalho foram conduzidos experimentos para determinação da atividade antiviral, antibacteriana e citotóxicas dos extratos de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii*, Foram realizados experimentos visando à caracterização farmacognóstica, analisando-se aspectos fitoquímicos, características morfoanatomicas e atividades biológicas.

4.1 COLETA DO MATERIAL BOTÂNICO

4.1.1 LOCAL DE COLETA

As partes raízes, caules, folhas e flore de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann, vulgarmente conhecida como cipó amarelo ou cipó cesta, foram coletadas no município de Pombos-PE (coordenadas 8° 8' 29'' S, 35° 23' 45'' W) distando 59.9 km da capital, cujo acesso é feito pela BR-232, com altitude de 208 metros.

O município de Pombos está inserido na Mesorregião da Mata Sul do Estado de Pernambuco que condiciona a vegetação, as culturas e a fixação do homem ao meio. O relevo de Pombos faz parte da unidade das superfícies retrabalhadas que é formada por áreas que têm sofrido retrabalhamento intenso, com relevo bastante dissecado e vales profundos. Na região litorânea de Pernambuco e Alagoas, é formada pelo “mar de morros” que antecede a chapada da Borborema, com solos pobres e vegetação de floresta hipoxerófila. O clima é do tipo Tropical chuvoso com verão seco. O período chuvoso começa no outono/inverno tendo início em dezembro/janeiro e término em setembro. A precipitação média anual é de 1.309,9 mm. A vegetação é predominantemente do tipo Floresta Subperenifólia, com partes de Floresta Hipoxerófila. Os solos dessa unidade geoambiental, são representados pelos Latossolos nos topos planos, sendo profundos e bem drenados pelos podzólicos nas vertentes íngremes, sendo pouco a medianamente profundos e bem drenados e pelos gleissolos de

várzea nos fundos de vales estreitos com solos orgânicos e encharcados CPRM (2005).

Colocar

4.1.2 COLETA E PROCESSAMENTO

O material botânico foi coletado sempre pela manhã no período chuvoso (dezembro/janeiro e término em setembro), com auxílio de tesoura de poda, para coleta das folhas e caule da planta e de enxada e pá, para coleta da raiz. Uma parte do material coletado foi destinada para confecção da exsicata, amostras foram preservadas em FAA (composição para 100 ml: 90 ml - álcool a 70%, 5 ml - formol e 5 ml - ácido acético) para elaboração dos cortes histológicos e o restante, reservado para o preparo dos extratos (raíz, caule, folhas e flores).

A identificação botânica foi realizada pela Dr^a Rita de Cássia e o material testemunho foi depositado no Herbário Dárdano de Andrade Lima do Instituto Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA), sob a numeração IPA- n^o 84012.

4.2 FARMACOBOTÂNICA

4.2.1 DESCRIÇÃO MORFOLÓGICA

A caracterização macroscópica foi realizada com auxílio de literatura especializada, usando-se microscópio estereoscópico, seguindo os parâmetros de Vidal e Vidal (2000), Gonçalves e Lorenzi (2007). As imagens das estruturas estudadas foram registradas por câmera digital Kodak EasyShare Z915.

4.2.2 DESCRIÇÃO ANATÔMICA

Foram coletadas folhas completamente expandidas, provenientes do quinto nó, folhas jovens do primeiro e segundo nós, e gavinhas. Dessas folhas foram retirados

fragmentos da região mediana e do bordo da lâmina do foliolo, da região mediana da raque, da ráquila, do pecíolo, do peciólulo e da gavinha. As secções à mão livre foram realizadas em material fresco, como também em preservado em FAA. As lâminas histológicas foram confeccionadas utilizando secções paradérmicas e transversais da lâmina do foliolo, secções transversais do pecíolo, do peciólulo, da raque, da ráquila e da gavinha. Após processo de diafanização segundo Ghouse e Yunus (1972), os cortes foram submetidos à dupla coloração com azul de Astra/safranina (KRAUS; ARDUIM, 1997) montados em glicerina a 50%.

O estudo anatômico das folhas, bem como as fotomicrografias foram realizadas utilizando-se fotomicroscópio óptico Nikon Eclipse 50i.

4.3 PROSPECÇÕES FITOQUÍMICA

4.3.1 PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS

As partes da planta raiz, caule e folhas de *A. imperatoris-maximilianii* foram dessecadas por 72 horas em estufa a 45⁰C, em seguida trituradas e cada parte da planta foi pesada (500g). Estas amostras foram submetidas a maceração em dois litros tanto de solventes metanólicos como aquosos, para obtenção final do extrato bruto metanólico (EBM) e do extrato bruto aquoso (EBA), o material foi submetido à filtração e rotaevaporado (BUCHII-RE 121) até a eliminação total do solvente.

4.3.2 CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA (CCD)

Amostras de 1mg de cada extrato bruto das partes (raíz, caule e folhas) da planta foram solubilizados em metanol:água (9:1 v:v), destes extratos foram retiradas aliquotas de 10µl para serem analisadas por cromatografia em camada delgada (placas de gel de sílica Merck-Alemanha, Art.105554), para a identificação das classes de metabólitos secundários, empregando-se diversas fases móveis e reveladores específicos (WAGNER; BLADT, 1996; HARBONE, 1998; METZ, 1961; ROBERTSON et al., 1956; NEU, 1956). O quadro 2- apresenta as condições experimentais para a prospecção fitoquímica de *A. imperatoris maximilianii*.

Quadro 2- Condições cromatográficas da prospecção fitoquímica de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann (Bignoniaceae)

METABÓLITOS	FASE MÓVEL	REAGENTE	REFERÊNCIA
Alcalóides	A	Dragendorff	WAGNER,1986
Triterpenos	B	Liebermann	SHARMA e DAWRA 1991
Esteróides	B	Liebermann	SHARMA e DAWRA 1991
Iridóides	A	Vanilina sulfúrica	HARBONE,1998
Saponosídeos	-	Afrogenicidade	WAGNER,1986
Flavonóides	A	Difenilborinato	WAGNER,1986
Cumarinas	C	UV-365nm	WAGNER,1986
Taninos catéquicos	A	Vanilina clorídrica	ROBERTSON,1956
Leucoantocianidinas	A	Vanilina clorídrica	ROBERTSON,1956
Fenilpropanoglicosídeos	A	Difenilborinato	WAGNER,1986
Derivados cinâmicos	A	Difenilborinato	WAGNER,1986
Açúcares redutores	D	Trifeniltetrazólio	WAGNER,1986
Antraquinonas	-	Hidróxido de Potássio	WAGNER,1986

A= Acetato de etila - ácido acético - ácido fórmico - água (100:11:11:27, v/v)

B= Tolueno - acetato de etila (90:10, v/v)

C= Tolueno - acetato de etila - ácido fórmico (6:4:1, v/v)

D= n-butanol – acetona - tampão fosfato pH 5,0 (4:5:1, v/v)

No presente estudo foram realizados ensaios para detecção dos seguintes metabólitos secundários:

- Cumarinas: Cromatografia em camada delgada, usando-se como fase móvel o sistema acetato de etila:ácido fórmico:ácido acético:água (100:11:11:27 v:v), sendo a presença da classe de metabólito evidenciada por bandas de fluorescência verde azulada em UV, e a intensificação da fluorescência quando revelado com o reagente de NEU e analisada em UV. O padrão utilizado foi a umbeliferona.
- Taninos hidrolisáveis: Cromatografia em camada delgada, usando-se como fase móvel o sistema Acetato de etila:ácido fórmico:ácido acético:água (100:11:11:27 v:v), sendo a presença da classe de metabólito evidenciada pela presença de bandas com fluorescência após revelação com o reagente de NEU e analisada em UV, comparando-se com os padrões de ácido elágico e ácido gálico.
- Açúcares redutores: Cromatografia em camada delgada, usando-se como fase móvel o sistema acetona:n-butanol:tampão fosfato pH 5,0 (40:50:10 v:v), sendo a presença da classe de metabólito evidenciada após revelação com solução metanólica de timol. Os padrões utilizados foram glicose, sacarose e frutose.
- Taninos condensados: Cromatografia em camada delgada, usando-se como fase móvel o sistema acetato de etila:ácido fórmico:ácido acético:água (100:3:3:3 v:v), sendo a presença da classe de metabólito evidenciada após revelação com solução de vanilina sulfúrica a 2%. O padrão utilizado foi o extrato bruto metanólico de jurema preta.
- Derivados cinâmicos e flavonóides: Cromatografia em camada delgada, usando-se como fase móvel o sistema acetato de etila:ácido fórmico:ácido acético:água (100:11:11:27 v:v), sendo a presença destas classes de metabólitos evidenciada por bandas com fluorescência tenuemente azulada (derivados cinâmicos) ou de laranja a vermelho (flavonóides) quando revelado com o reagente de NEU e

analisada em UV. O padrão utilizado foi o extrato bruto metanólico de alcachofra.

- Triterpenos e esteróides: Cromatografia em camada delgada, usando-se como fase móvel o sistema benzeno:acetato de etila (80:20 v:v), sendo a presença destas classes de metabólitos evidenciada pela presença de bandas marrons a azuladas após revelação com o reagente de Lieberma-Buchard. Os padrões utilizados foram a β -amirina, β -sitosterol e o ácido ursólico.
- Saponinas: A presença destas classes de metabólitos secundários foi investigada, usando-se o teste de afrogenicidade, ressuspendendo o extrato em água num tubo de ensaio e agitando-se vigorosamente por 2 minutos e deixando-se em repouso por mais de 1 hora. Se a espuma formada persistir após esse período, o resultado é considerado positivo. Foi realizado o teste do escoamento capilar, onde é feita a comparação do escoamento do extrato testado em um tubo capilar com o escoamento da água destilada em outro capilar. O resultado é considerado positivo se o escoamento do extrato for maior do que o da água.

Após a prospecção fitoquímica, foram realizadas CCDs, visando-se selecionar as condições cromatográficas ideais para purificação de flavonóides, empregando-se CCD em poliamida e celulose como fases estacionárias. Para a CCD em poliamida, foram utilizadas cromatoplas DC-Alufolien Polyamid 11 F 254 (Merck[®]), usando-se como fase móvel diferentes proporções de metanol/água. Na CCD em celulose, foram utilizadas cromatoplas Cellulose DC-fertigplatten (Merck[®]), usando-se como fase móvel diferentes proporções de metanol/água e de ácido acético/água.

4.4 PURIFICAÇÃO DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS

4.4.1 CROMATOGRAFIA EM COLUNA

A cromatografia líquida em coluna é uma das técnicas mais utilizadas e eleita para a separação e isolamento dos constituintes químicos dos extratos analisados. É um processo que permite diferentes combinações, utilizando-se colunas de diferentes dimensões e tipos, e de diversas fases móveis e estacionárias (SIMÕES et al., 2007).

As frações utilizadas para a realização de coluna cromatográfica foram selecionadas a partir de prévia avaliação dos cromatogramas a partir de CCD. As colunas foram realizadas tendo-se como fase estacionária poliamida CC 6 (0,07 mm) da Macherey, Nagel & Co. A fase móvel empregada foi uma solução de metanol:água (1:1– v:v), elevando-se gradativamente a proporção de metanol.

4.4.2 CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA PREPARATIVA (CCDP)

Amostras, correspondendo à reunião de frações da coluna cromatográfica que apresentavam perfis cromatográficos semelhantes em CCD, foram aplicadas com o auxílio de um capilar, em placas cromatográficas de celulose (Cellulose DC-fertigplatten - Merck[®]). A aplicação foi realizada em forma de linha ou barra. Após aplicação, a placa foi deixada em contato com a fase móvel adequada metanol:água (1:1 v:v), em recipiente fechado, até saturação da mesma. As bandas formadas foram retiradas com auxílio de espátula e o material coletado foi ressuspendido em solvente específico. Posteriormente fez-se a filtração para separar a celulose da substância dissolvida no seu solvente. A celulose ficou retida no filtro sinterizado, e o solvente com a substância dissolvida foi coletado para um frasco previamente tarado. Levou-se este frasco à secura e finalmente verificou-se a quantidade da substância isolada (20mg).

4.4.3 OBTENÇÃO DA FRAÇÃO AQUOSA ENRIQUECIDA DA RAÍZ (FAER) E SUBSTÂNCIA PURIFICADA DO EXTRATO METANÓLICOS DA RAIZ (SPEMR).

Uma amostra de 50g do pó das raízes de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii*, foram tranferidos para um becker junto com 100mL de H₂O Milli-Q, e mantido em banho de ultra-sons (USC – 1400-18mΩ) por 30 minutos (5x100mL), depois o extrato foi filtrado (Filtros Millipore 20μ) e rotaevaporado até a eliminação total do solvente, em seguida toda amostra seca foi pesada totalizando 30mg. 1 mg da fração aquosa enriquecida, foi solubilizada em uma solução de metanol:água (9:1 - v:v),

após este processo, uma alíquota (10µl) foi aplicada em placa de CCD de sílica gel com auxílio de um capilar, logo após a placa era colocada para migrar em um recipiente contendo uma fase móvel constituída de metanol-água 9:1 (v:v), posteriormente foram retiradas da fase móvel e secas totalmente e observadas em UV. posteriormente foram rotaevaporadas as amostras enriquecidas com flavonóides (extrato aquoso), sendo este produto final testado frente a bactérias *Staphylococcus aureus* Multiresistentes e Multisensíveis. A mesma metodologia foi adotada para obtenção da substância purificada da raíz, partindo de várias extrações do pó inicial da raíz, de onde foram obtidas as frações aquosas enriquecidas de flavonoides.

4.5 IDENTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS VOLÁTEIS POR CG-EM DAS RAÍZES, CAULES, FOLHAS E FLORES DE ADENOCALYMMA IMPERATORIS-MAXIMILIANII (WAWRA) L. G. LOHMANN, BIGNONIACEAE

As análises foram realizadas no laboratório do Núcleo de Pesquisa em produtos Naturais e Sintéticos da Faculdade de Farmácia de Ribeirão Preto-Universidade de São Paulo-USP.

4.5.1 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS

Uma amostra de 40 mg do pó das raízes, caule, folhas e flores, foram submetidas a extração com 2 ml de clorofórmio (HPLC - Merck) durante 30 minutos num banho de ultra-sons (marca única , modelo USC - 1400). As amostras foram evaporadas em um soprador de gás N₂ e 2 mg dos extratos foram dissolvidos em 2mL de acetato de etila para análise em Cromatografo a Gás - Acoplada a Espectômetro de Massa (CG-EM).

4.5.2 ANÁLISE POR CG-EM

Os extratos hexano, clorofórmio, diclorometano e acetato de etila das raízes, caules e folhas; e clorofórmico, diclorometano e acetato de etila das flores foram analisados em Cromatografo a Gás – Acoplado a espectrométo de Massa (GC-EM) utilizando um espectografo Shimadzu modelo QP2010 GCMS em um sistema operado

por impacto de eletrons (70eV) e a temperatura do injector foi de 260°C, com uma razão de divisão de 1:5. A coluna DB5 - MS [30 m x 0,25 milímetros ID, espessura do filme 0,25 µm (5% reticulado fenil-metilpolisiloxano)] foi utilizado (Agilent J & W colunas GC), com hélio como gás transportador, com um fluxo de coluna de 1,3 mL/min, e volume de injeção de 1 ml, a temperatura do injector a 260 ° C e à pressão de 97,4 kPa. Uma mistura de hidrocarbonetos lineares (C9-C20, C21-C40), foi injetada sob as mesmas condições, a fim de identificar os constituintes químicos. Os espectros obtidos foram comparados com o banco de dados do equipamento (FFNSC1.3.lib, WILEY7.LIB, NIST08s.LIB, MY LIBRARY.lib).

4. 6 ATIVIDADES BIOLÓGICAS

4.6.1 ATIVIDADE ANTIVIRAL

Para os testes de atividade antiviral, 10g do pó das raízes, caules e folhas foram submetidas á extração, utilizando-se água MilliQ (extrato aquoso=EA). O EA foi rotaevaporada até secura total do solvente, obtendo-se assim, 575mg (raíz), 487mg (caule) e 620mg (folha).

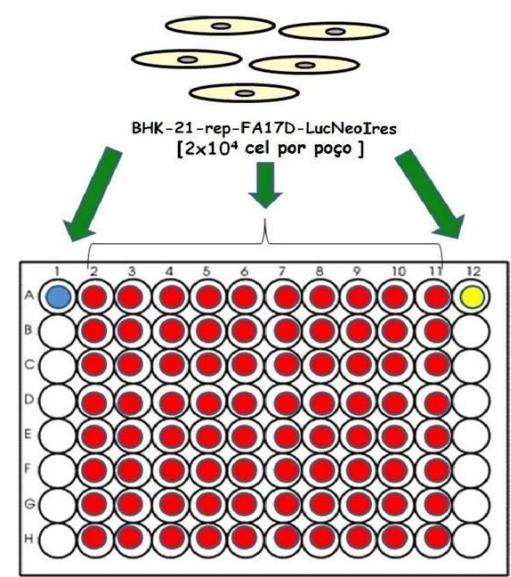
Os experimentos para verificação da atividade antiviral frente ao vírus da febre amarela foram realizados no Laboratório de virologia do Departamento de Virologia e Terapia Experimental do Centro de Pesquisa Ageu Magalhães–CpqAM/FIOCRUZ.

A linhagem celular BHK-21-rep-FA17D-LucNeoIres desenvolvida foi semeada em placas de 96 poços, numa concentração de 2×10^4 células por mL de meio de cultivo (MEM completo - meio mínimo essencial de Eagle). Após um intervalo de 24 horas para a aderência das células e posterior observação da viabilidade celular em cada poço, o meio de cultura contendo 500 µg/mL de geneticina foi removido e então substituído por MEM completo contendo concentrações do EA que foram de 1 a 10 µg/mL, num volume final de 100 µL de MEM completo. Como controle positivo foi inoculado 100 µL de MEM completo contendo 1000 UI/mL de IFN- α 2b (Heber). E como controle negativo, as células foram tratadas apenas com MEM completo contendo 500 µg/mL de geneticina como no cultivo de manutenção (Figura 4). Durante o período de incubação das células com os substratos, realizaram-se a cada 24 horas a análise da morfologia e viabilidade das células através de microscópio óptico, individualmente em cada poço, a

fim de detectar alguma possível citotoxicidade do composto e evitar a interpretação errônea de uma possível inibição da replicação do replicon repórter devido à morte celular. Após uma incubação de 48 horas as células foram lisadas em 20 µL de 1X tampão de lise (PROMEGA) por 5 minutos. Para o ensaio de luciferase utilizou-se 20µl de lisado celular e 100 µL do substrato luciferina (PROMEGA), a leitura foi realizada em luminômetro Berthold Mithras, tendo os valores resultantes expressos em *raw lights units* (RLU). Os valores obtidos nos tratamentos com os extratos foram comparados com os obtidos do controle negativo, através do cálculo da porcentagem de inibição de cada substrato em relação às células sem tratamento (controle negativo).

Os extratos são considerados como agentes antivirais quando houver diminuição da atividade da luciferase, implicando assim na diminuição da replicação viral.

Figura 4- Esquema do experimento para avaliação dos constituintes químicos dos extratos aquosos de raiz, caule e folha de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann, Bignoniaceae frente ao vírus da febre amarela.



-  Controle negativo (MEM completo + 500 µg/mL de geneticina)
-  Diferentes concentrações do EA
-  Controle positivo (MEM completo + 1000 U.I./mL de IFNalfa)

Fonte: Laboratório de virologia do Departamento de Virologia e Terapia Experimental do Centro de Pesquisa Aggeu Magalhães–CpqAM/FIOCRUZ

4.6.2 ATIVIDADE ANTIBACTERIANA

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Bioquímica e Fisiologia de Microrganismos – Departamento de Antibióticos da UFPE.

4.6.2.1 Preparação das Amostras

A atividade antibacteriana a partir dos extratos brutos da raiz (EBR=extrato bruto da raiz), do caule (EBC=extrato bruto do caule) e das folhas (EBF= extrato bruto da folha) de *Adenocalymma imperatori-maximilianii* em diferentes solventes de polaridades crescentes, foram avaliados a partir das frações obtidas por maceração com: hexano, clorofórmio, diclorometano e acetato de etila, como também da fração aquosa enriquecida da raiz (FEAR) e a substância purificada do extrato metanólico da raiz (SPEMR).

Foram testados 14 extratos, são eles: hexânico (EBHR= extrato bruto hexânico da raiz; EBHC= extrato bruto hexânico do caule; EBHF= extrato bruto hexânico da folha), clorofórmico (EBCR= extrato bruto clorofórmico da raiz; EBCC= extrato bruto clorofórmico do caule; EBCF= extrato bruto clorofórmico da folha), diclorometano (EBDR= extrato bruto diclorometânico da raiz; EBDC= extrato bruto diclorometânico do caule; EBDF= extrato bruto diclorometânico da folha), acetato de etila (EBAR= extrato bruto em acetato de etila da raiz; EBAC= extrato bruto em acetato de etila do caule; EBAF= extrato bruto em acetato de etila da folha), aquoso (FEAR= fração enriquecida da raiz), metanólico (SPEMR= substância purificada do extrato metanólico da raiz).

Os extratos EBHR, EBHC, EBHF, EBCR, EBCC, EBCF, EBDR, EBDC, EBDF, EBAR, EBAC, EBAF, FEAR E SPEMR foram solubilizados em dimetil sulfoxido - Tween80 - água (1:1:8 v/v), enquanto que os agentes antimicrobianos foram solubilizados em água. As soluções de estoque foram esterilizados por filtração através de uma membrana Millipore, com uma porosidade de 0,22 µm.

4.6.2.2 Agente Antimicrobiano

O antibiótico Oxacilina produzido pelo laboratório Eurofarma, foi utilizado para avaliar a resistência ou sensibilidade das bactérias, de acordo com os critérios estabelecidos pelo Clinical Laboratory standard Institute (2012). Este fármaco pertence à classe de antibiótico penicilina, cujo mecanismo de ação, é a inibição da síntese da parede celular bacteriana. A resistência foi definida para Oxacilina (OXA, MIC $\geq$ 4 μ g/mL).

4.6.2.3 Microrganismos e Padronização dos Inóculos

Foram utilizadas dez bactérias obtidas de culturas estoque do Laboratório de Fisiologia e Bioquímica de Microorganismos – LFBM - UFPE. Para este foram selecionadas cepas de *Staphylococcus aureus*, isoladas de amostras clínicas, depositadas no LFBM com os seguintes registros: *Staphylococcus aureus* (*Staphylococcus aureus* AM 04; *Staphylococcus aureus* AM 13; *Staphylococcus aureus* AM 18; *Staphylococcus aureus* AM 19; *Staphylococcus aureus* AM 20; *Staphylococcus aureus* AM 21; *Staphylococcus aureus* AM 24 e *Staphylococcus aureus* IC 17).

Como cepas padrões, foram utilizadas *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 Multisensíveis (MSSA) e *Staphylococcus aureus* ATCC 33591 Multiresistente (MRSA).

Esses microrganismos foram cultivados em agar Mueller Hinton (MHA) (Acumedia Manufacturers, Baltimore, USA) e incubados a 37°C por 18 horas. Algumas colônias foram inoculadas em caldo Mueller Hinton (Acumedia Manufacturers, Baltimore, USA) para comparação da turbidez com padrões 0,5 McFarland os quais são equivalentes a contagem de aproximadamente 10⁸ UFC / mL. Posteriormente essas suspensões bacterianas foram diluídas para obtenção de um inóculo de 10⁷ UFC / mL.

4.6.2.4 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CMB).

A Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi determinada pelo método de microdiluição em caldo, seguindo as recomendações estabelecidas pela (CLSI, 2012),

com algumas modificações. Os ensaios foram realizados em microplacas estéreis de 96 poços com fundo em forma de “U”.

Inicialmente as soluções estoque dos extratos foram esterilizadas por filtração através de membranas de porosidade de 0,22 µm milipore®, em seguida, um volume de 200 µL foi adicionado nos poços de 1 a 12 da linha A. Os demais poços foram preenchidos inicialmente apenas com 100 µL de caldo Mueller-Hinton.

Logo após, foi realizada transferência de 100µL do conteúdo dos poços da linha A para os da linha B e assim sucessivamente até a linha H, sendo desprezados os últimos 100 µL, obtendo-se assim concentrações decrescentes dos extratos (1024 a 7,81 µg/mL).

Após a diluição dos extratos, foi acrescido em todos os poços um volume de 5 µL do inóculo microbiano padronizado. As microplacas foram incubadas em estufa bacteriológica a 37°C por 24 horas.

Foi considerado crescimento total (100%) na placa controle, onde foi adicionado apenas caldo Muller Hinton mais o inóculo.

Para determinar a Concentração Bactericida Mínima (CBM), os conteúdos dos poços que mostraram inibição de crescimento foram semeados em MHA. Após 24h de incubação a 37°C, o número de micro-organismos viáveis foi determinado. A CMB foi definida como a menor concentração do extrato em que 99,9% da população foram mortas. Todos os experimentos foram realizados em triplicata. Como revelador do crescimento bacteriano foi utilizado a resazurina (7-hidroxi-3H-fenoxazina-3-ona-10-óxido) de cor azul que, na presença de células viáveis, é oxidada à resofurina, substância de coloração vermelha, facilitando a verificação da presença de crescimento microbiano com a coloração azul, indicando ausência de crescimento visível (PALOMINO et al., 2002; STOPPA et al., 2009).

As microplacas foram novamente incubadas por mais três horas a 37°C. Após esse intervalo de tempo, a leitura da placa foi realizada: a presença de uma coloração vermelha nos poços foi interpretada como prova negativa do efeito inibitório do extrato, ou seja, houve crescimento bacteriano; enquanto que a ausência de cor foi considerada prova positiva da ação antimicrobiana dos extratos. A CIM foi definida como sendo a menor concentração da droga antimicrobiana que impede o crescimento visível do microrganismo testado.

4.6.3 AVALIAÇÃO CITOTÓXICA

A atividade citotóxica foi realizada através do método do MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromideo) (ALLEY et al., 1988; MOSMANN, 1983).

As linhagens de células tumorais humanas utilizadas foram a NCI-H292 (carcinoma mucoepidermoide de pulmão humano) e a HEp-2 (carcinoma de laringe humana) mantidas em meio de cultura DMEM (Meio Eagle Modificado por Dulbecco), HL-60 (leucemia promielocítica aguda) e MCF-7 (câncer de mama humano) mantidas em meio de cultura RPMI (Meio Roswell Park Memorial Institute). Os meios foram suplementados com 10 % de soro fetal bovino e 1 % de solução de antibiótico (penicilina e estreptomicina). As células foram mantidas em estufa a 37 °C em atmosfera úmida enriquecida com 5 % de CO₂.

As células NCI-H292, HEp-2 e MCF-7 (10^5 células/mL) e HL-60 ($0,3 \times 10^6$ células/mL) foram cultivadas em placas de 96 poços e incubadas por 24 h. Em seguida, as amostras do extrato metanólico foram dissolvidos em DMSO (1%) e adicionadas aos poços em concentração final de 50 µg/mL. Após 72 h de reincubação foram adicionado 25 µL de MTT (5mg/mL) e depois de 3 h de incubação, o meio de cultura com o MTT foram aspirados e 100 µL de DMSO foi adicionado a cada poço. A absorbância foi medida em um leitor de microplacas no comprimento de onda de 560 nm.

Os experimentos foram realizados em triplicata e a percentagem de inibição foi calculada no programa *GraphPad Prism* 5.0.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com base nas metodologias propostas e usadas no presente trabalho, foram alcançados resultados inéditos quanto à prospecção fitoquímica e as atividades biológicas.

5.1 FARMACOBOTÂNICA E HISTOQUÍMICA

5.1.1 DESCRIÇÃO MORFOANATÔMICA DE *ADENOCALYMMA IMPERATORIS-MAXIMILIANII* (WAWRA) L. G. LOHMANN, *BIGNONIACEAE*

A espécie é um arbusto, com aproximadamente 70-350 cm de altura, cujos caules se agrupam formando touceiras (Figura 5A). Possui caule cilíndrico cor variando do verde ao marrom-esverdeado, flexível, glabro, porém piloso quando jovem e provido de lenticelas longitudinalmente por todos os ramos caulinares. Quando jovens os caules são eretos, não ramificados. A fixação dos ramos caulinares é por gavinhas foliílares simples que emergem das axilas foliílares (figura 5B). Essas características são típicas de várias espécies do gênero *Adenocalymma*, especialmente no que diz respeito às gavinhas.

Figura 5– A: Hábito de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann touceira se formando. B: Gavinhas simples (setas).



Fonte: Acervo do Autor

Possui raiz pivotante, atingindo mais de 85 cm de comprimento e cerca de 6 cm de diâmetro. Na parte superior da raiz encontra-se o colo de onde se originam os caules, como observado por Tresvenzol et al. (2011) para *Adenocalymma nodosum* (Silva Manso) LG Lohmann [= *Memora nodosa* (Silva Manso) Miers].

A filotaxia observada foi oposta cruzada, porém foi observado também filotaxia verticilada, sendo recompostas, tripinadas, imparipinadas, trifolioladas nas ráquulas terciárias. Possuem geralmente dois pares de três foliólulos por ráquila terciária. Nas axilas dos foliós encontram-se estípulas e ramos caulinares modificados em gavinhas. As folhas expandidas possuem de 22 a 37 cm de comprimento e 17 a 25 cm de largura. Os foliós apresentam tricomas escassos, cartáceos e tricomas verde-claros na face abaxial, muito brilhantes nos foliós jovens, lanceolados ou ovalado-lanceolados, de base simétrica, subarredondada ou cuneada, ápice acuminado, margens lisas, inteiras. Os foliós são peninérveos, com padrão de venação camptódromo-broquidódromo.

Os foliós apresentam de 4 a 6,5 cm de comprimento por 1 a 3 cm de largura. As folhas do terço superior dos ramos jovens e das axilas das inflorescências geralmente apresentam apenas dois pares de três foliós por nó e uma gavinha terminal.

A ráquila também é subcilíndrica, sulcada superiormente, glabra, com 1,1 a 3 cm de comprimento. As raques e as ráquulas apresentam expansões na face abaxial, no ponto de inserção dos foliós e dos foliólulos.

O pecíolo é cilíndrico, reto ou sulcado na face superior, alargado na base, medindo de 1,5 a 10 cm de comprimento, apresenta tricomas glandulares e tectores.

A inflorescência corresponde a uma panícula aberta, terminal ou axilar, às vezes moderadamente ramificada formando racemos, contendo 15 a 45 flores monoclinas (Figura 6A). As flores possuem pedicelos curtos de cor verde-claro, glabros. O cálice é tubuloso, de cor verde-claro, com 0,8 a 1,3 cm de comprimento, pentadentado (dentes com 0,1 cm), glabro ou com tricomas minúsculos nos bordos; glândulas nectaríferas pequenas e proeminentes são observadas sobre as nervuras, no terço superior do cálice (Figura 6B). A corola é infundibuliforme com 6 a 6,5 cm de comprimento, cor amarelo, com tonalidade lilás nos lobos, internamente com tricomas, corola apresentando serício nos lobos e base do androceu. O gineceu apresenta estilete com 2,8 a 3,5 cm de comprimento, estigmas bilamelados, ovário súpero, com 0,2 a 0,3 cm, bicarpelar, bilocular com até 30 óvulos. Presença de disco nectarífero na base do ovário. Androceu com quatro estames férteis, epipétalos, didínamos e um pequeno estaminódio (Figura 7 B) (0,4 a 0,5 cm), anteras amarelas com tecas de 0,6 cm de comprimento (Figura 7A). As flores são muito visitadas por insetos, principalmente pelas formigas (Figura 6B).

Figura 6- Inflorescência de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann
A. Aparência geral da inflorescência. B. Detalhe do cálice, mostrando glândulas pateliformes (B1) e na base do ovário glândulas nectaríferas (B2).



Fonte: Acervo do Autor

Figura 7- Estruturas reprodutivas da flor de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann, Bignoniaceae. A- vista geral de estruturas sexuais (setas indicando androceu). B- Detalhe mostrando o estaminóide.



Fonte: Acervo do Autor

O fruto (Figura 8A) é seco, deiscente, do tipo cápsula, com 23 a 36 cm de comprimento e 1 a 1,8 cm de largura, linear ou ligeiramente ondulado, achatado, agudo nas duas extremidades, margens subonduladas e espessadas. O fruto maduro (Figura 8 B) é escuro externamente e, quando se abre, mostra duas valvas e uma coluna seminífera presa pela base e circundada por dois filamentos; as sementes, em número de 6 a 10 presas em cada valva do fruto, são aladas e estão aderidas à coluna seminífera pelo hilo e pelas alas.

Figura 8- Frutos de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann: A. Aspecto do fruto jovem. B. Fruto maduro.



Fonte: Acervo do Autor

Morfológicamente, contribuem para a identificação de *A. imperatoris-maximilianii*, as estruturas dos ramos caulinares, caracterizadas por apresentarem gavinhas, classificando-a como uma liana de hábito trepador quando jovem e curvado com ramificações no terço superior quando adulto, formando touceiras; o tamanho das folhas que contrasta com a relativamente pequena área dos folíolos, bem como, o conjunto de características dos folíolos e das flores. A variabilidade foliolar verificada para *A. imperatoris-maximilianii* foram relatadas por Vidal (1978) como características diagnósticas do gênero *Adenocalymma* e por Seibert (1948) como sendo frequente nas trepadeiras da família Bignoniaceae.

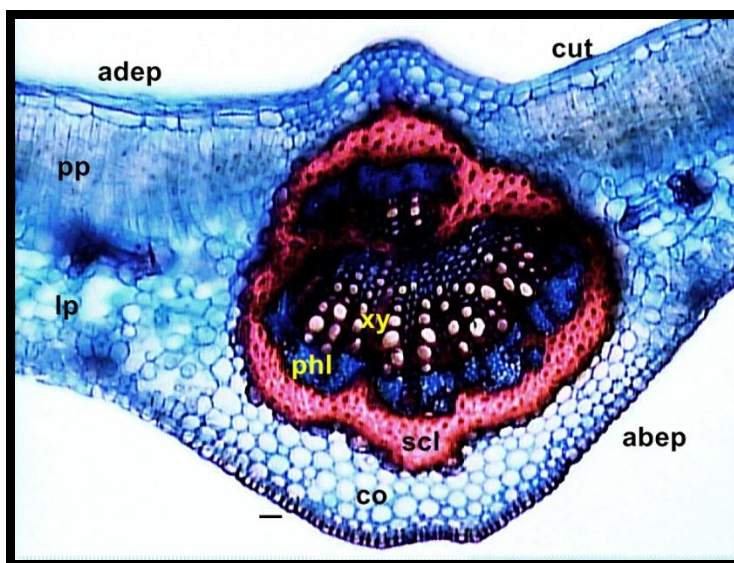
5.1.2 CARACTERIZAÇÃO ANATÔMICA

5.1.2.1 Lâmina do Foliólo

Em vista frontal, as células epidérmicas dos foliós são poligonais com paredes retas ou levemente ondeadas nas faces adaxiais e abaxiais. A epiderme é uniestratificada, sendo as células da face adaxiais mais volumosas e revestidas por cutícula mais espessa que as da face abaxial, com parênquima paliçádico ocupando metade do mesófilo, caracterizando um foliolo assimétrico (Figura 9).

A anatomia da epiderme do foliolo de *A. imperatoris-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann observada neste trabalho é similar à relatada por Vidal (1978) para as espécies do gênero *Adenocalymma*.

Figura 9- Detalhes do limbo foliolar de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann, seção transversal do mesofilo. Legenda: epad: epiderme adaxial; cortar: cutícula, pp: paliçada do parênquima; pl: parênquima esponjoso; co: colênquima; scl: esclerênquima; phl: floema; xy: xilema; epab: epiderme abaxial. Bar = 10 µm



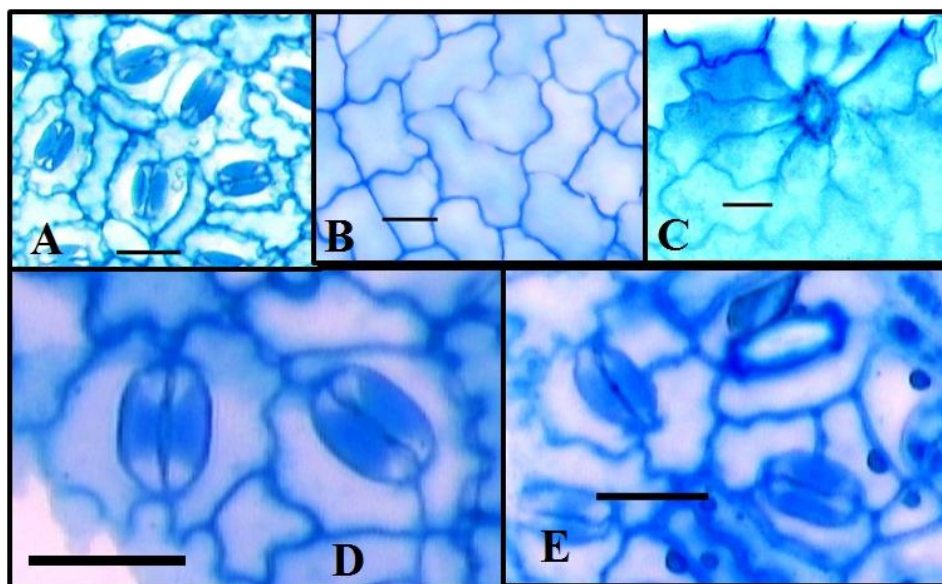
Fonte: Acervo do Autor

5.1.2.2 Estômatos

Foram observados dois diferentes tipos de estômatos (Figura 10), paracítico (mais frequente) (Figura 10D), anisocítico (Figura 10E). Na face abaxial do foliolo foi evidenciado estômatos em roseta (Figura 10C) uma característica importante na identificação de espécies do gênero *Adenocalymma* (TRENSVENZOL, et al., 2010), não sendo observado estômatos na face adaxial, indicando que a folha é hipoestomática

(Figura 10B). Estes estômatos também foram evidenciados em outros estudos morfoanatômicos (VIDAL; VIDAL, 2003; GONÇALVES; LORENZI, 2007; TRENSVENZOL, et al., 2010).

Figura 10- Epiderme de foliólos da planta adulta de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann. A- superfície abaxial; B- superfície adaxial; C- aspecto de estômatos em roseta característica taxonômica do gênero, D- estômatos paracítico; E- estômatos anisocíticos. Bar = 10µm



Fonte: Acervo do Autor

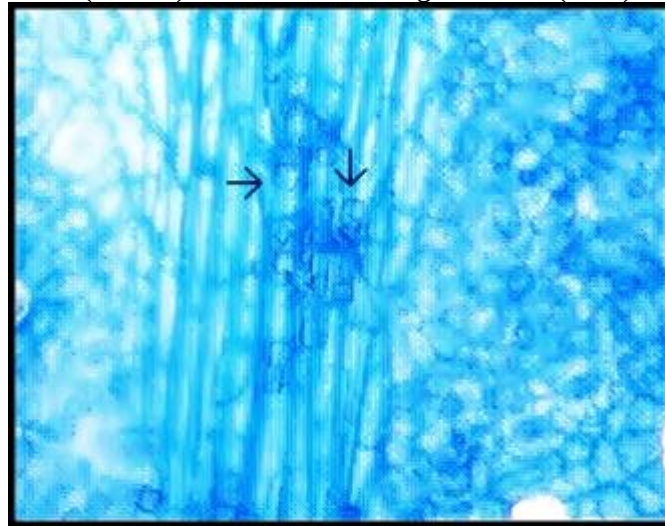
5.1.2.3 Cristais Prismáticos

Nos cortes paradérmicos dos foliólos foram observados cristais prismáticos, no presente estudo não foram realizados teste sobre constituição química dos cristais (Figura 11).

Metcalf e Chalk (1950) descreveram para a família Bignoniaceae a presença de cristais na forma de pequenos octaedros, prismas ou ráfides; estando os maiores isolados, raramente formando aglomerados.

Na medula caular de *Arrabidea chica*, foram evidenciados cristais de oxalato de cálcio são abundantes, sendo mais comuns os prismáticos e quadrangulares, com número variado de faces.

Figura 11- Detalhe de cristais prismáticos nos folíolos de *Adenocalymma imperatores-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann, Bignoniaceae (setas).

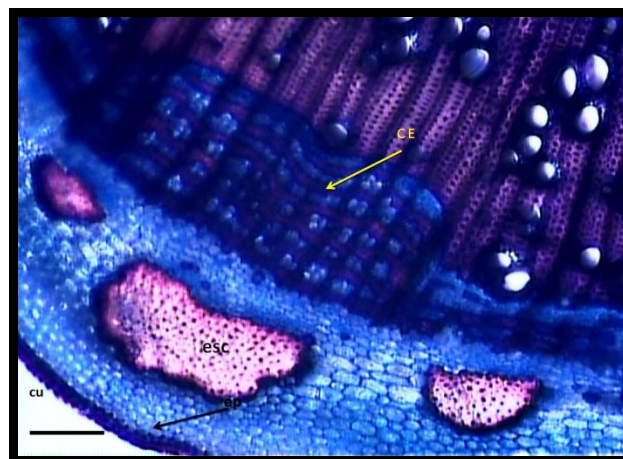


Fonte: Acervo do Autor

5.1.2.4 Pecíolo e Pecíólulo

O pecíolo é cilíndrico, apresentando epiderme unisseriada revestida por cutícula espessa com flange cuticular; parênquima cortical constituído por quatro a oito camadas de células e cordões esclerenquimáticos envolvendo o metaxilema (Figura 12); algumas células do parênquima cortical encontram-se parcialmente ou completamente lignificadas; sistema vascular envolto por calotas esclerenquimáticas; na região central.

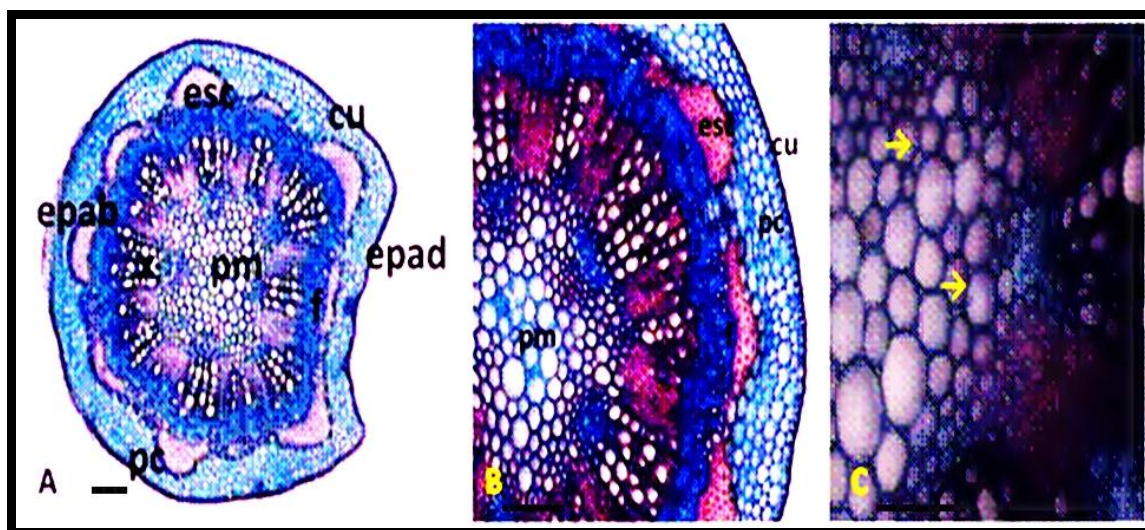
Figura 12- Pecíolo da folha de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann, Bignoniaceae, em secção transversal. ce: cordões esclerenquimáticos; esc: esclerênquima; ep: epiderme; cu: cutícula. Bar = 10µm



Fonte: Acervo do Autor

A organização estrutural do peciólulo consiste de epiderme unisseriada revestida por cutícula espessa com flange cuticular; parênquima cortical constituído por quatro a oito camadas de células (Figura 13A); no peciólulo algumas células do parênquima cortical encontram-se parcialmente ou completamente lignificadas (Figura 13B); sistema vascular envolto por calotas esclerenquimáticas; na região central, o parênquima medular apresenta células de tamanhos variados, algumas com paredes espessas evidenciando pontuações (Figura 13C).

Figura 13- Peciólulo de *Adenocalymma imperatoris-maximiliani* (Wawra) L. G. Lohmann, Bignoniaceae, em secção transversal. A- Aspecto geral do peciólulo B- Detalhe do xilema, floema, parênquima medular, parênquima cortical, esclerênquima e cutícula. C- Detalhe do xilema e do parênquima medular do peciólulo, evidenciando pontuações (setas) cu: cutícula; ep: epiderme; epad: face adaxial da epiderme; epab: face abaxial da epiderme; esc: esclerênquima; f: floema; pc: parênquima cortical; pm: parênquima medular; tg: tricoma glandular; x: xilema. Bar = 10µm

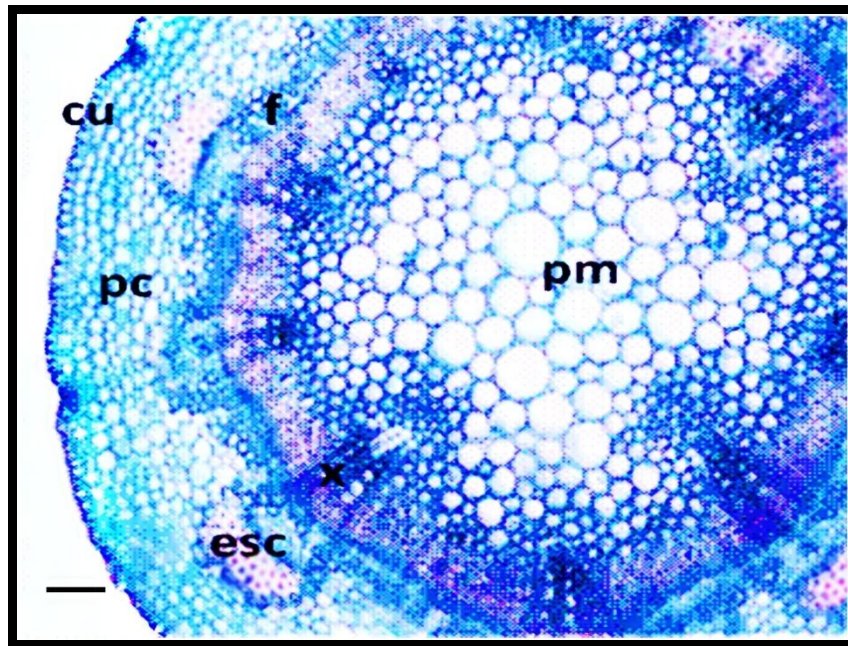


Fonte: Acervo do Autor

5.1.2.5 Gavinha

A gavinha, em seção transversal, apresenta forma cilíndrica. A epiderme é unisseriada com cutícula espessa evidenciando flange cuticular; na região cortical observam-se colênquima angular e parênquima. O cilindro vascular é formado por feixes vasculares colaterais, com calotas esclerenquimáticas dispostas externamente ao floema. A região central está preenchida por parênquima medular, com células de tamanhos variados apresentando campos de pontuações primários. (Figura 14)

Figura 14- Secção transversal da Gavinha de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (wawra) L. G. Lohmann. Detalhe da cutícula, parênquima cortical, esclerênquima, xilema, floema, parênquima medular. (aumento de 100x). **cu**: cutícula, **pc**: parênquima cortical, **esc**: esclerênquima, **x**: xilema, **f**: floema, **pm**: parênquima medular. Bar = 10µm

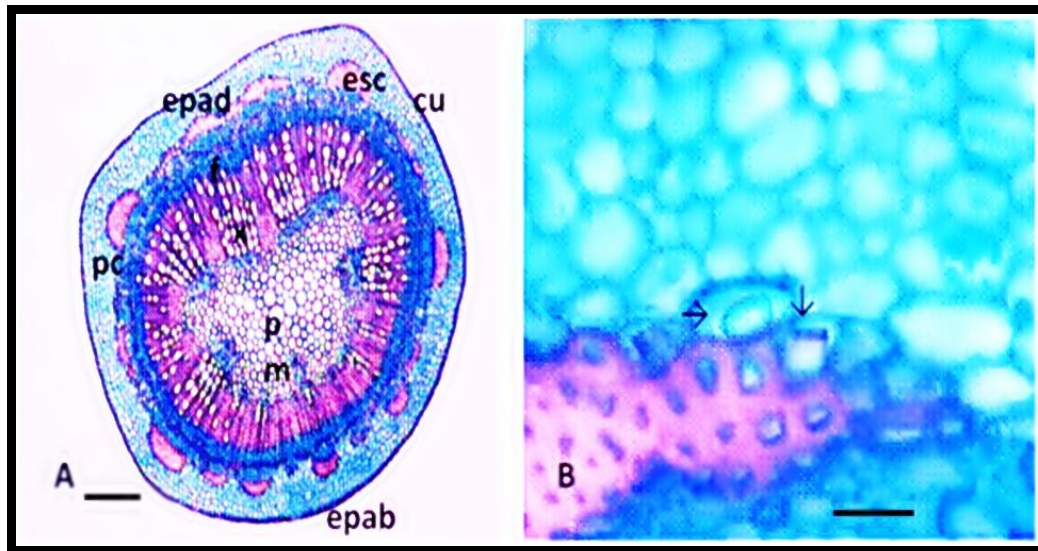


Fonte: Acervo do Autor

5.2.2.6 Raquíla

As ráquilas (Figura 15A) apresentam face adaxial côncava e abaxial convexa, com duas pequenas projeções laterais. Anatomicamente, a ráquila apresenta organização estrutural semelhante ao pecíolo, constituída por epiderme unisseriada revestida por cutícula espessa com flange cuticular; colênquima e parênquima na região cortical, com algumas células colenquimáticas parcialmente lignificadas; sistema vascular envolto por bainha esclerenquimática e região central preenchida por parênquima medular, constituído por células de tamanhos variados. Observou-se a presença de cristais prismáticos nas células do cortéx da ráquila (Figura 15B).

Figura 15- Ráquila do foliólulo de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann, Bignoniaceae, em secção transversal. A- Aspecto geral da raquíla. (aumento 40x) B- Detalhe de cristais prismáticos presentes na raquíla (setas). (aumento 200x) cu: cutícula; epab: face abaxial da epiderme; epad: face adaxial da epiderme; esc: esclerênquima; f: floema; pc: parênquima cortical; pm: parênquima medular; x: xilema. Bar = 10µm



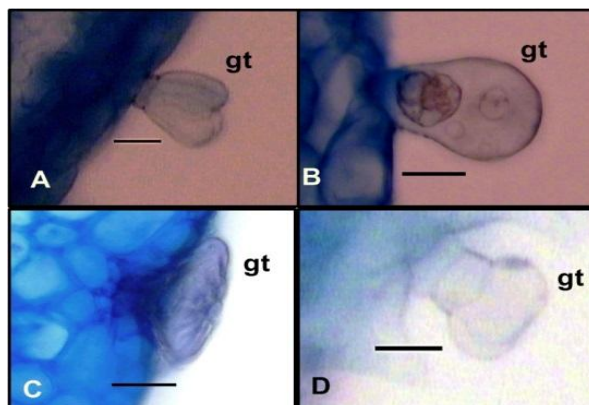
Fonte: Acervo do Autor

5.1.2.7 Tricomas

Nos foliólos jovens da espécie estudada foram observados tricomas glandulares e tectores. Esses tricomas provavelmente estão relacionados com mecanismos de defesa da planta contra predadores Trensvenzol et al. (2010) (Figuras 16 e 17).

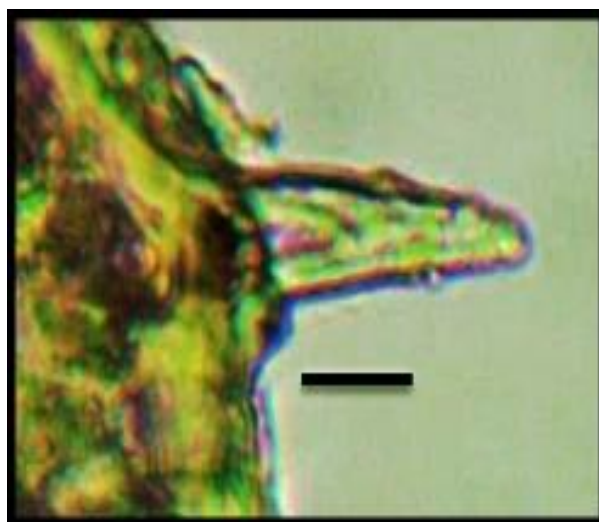
A anatomia da epiderme do foliolo de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann observada neste trabalho é similar à relatada por Vidal (1978) para as espécies do gênero *Adenocalymma*.

Figura 16 - Diferentes tipos de tricomas glandulares encontrados em *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann. Bar = 10 μ m



Fonte: Acervo do Autor

Figura 17- Tricoma tector evidenciado em *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann. Bar = 10 μ m



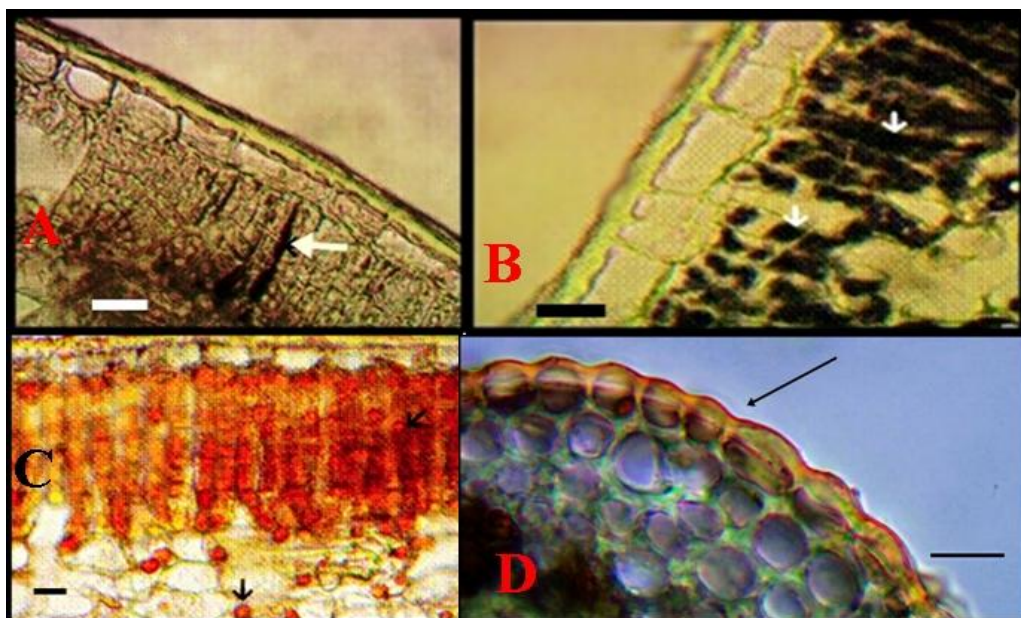
Fonte: Acervo do Autor

Os tricomas glândulares de variadas formas, bem como tricomas tectores são encontrados em ambas as faces dos foliíolos, em números variados no limbo foliolar e na nervura principal de espécies do gênero *Adenocalymma* (UDULUTSCH et al., 2013; TRENSVENZOL et al., 2010; PRATA-ALONSO et al., 2011).

5.1.3 ANÁLISE HISTOQUÍMICA

Testes histoquímicos em *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann revelaram a presença de metabólitos secundários, tais como: compostos fenólicos (Figura 18A), amido (Figura 18B) e lipídios totais (Figura 18C), com um padrão de distribuição intra e intercelular em mesofilo foliolar, especialmente nos parênquimas lacunoso e paliçádico, bem como nas cutículas (Figura 18D).

Figura 18- Testes histoquímica dos foliós de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann, Bignoniaceae. A- parênquima paliçádico da lâmina foliolar, indicando a presença de compostos fenólicos, evidenciado pela reação com cloreto férrico (seta); B- amido intracelular em parênquima paliçádico em lâmina foliar, observado após a reação com Lugol; C- lipídios totais nas células do parênquima paliçádico e intercelular no parênquima esponjoso, evidenciada pela reação com o Sudão III (setas); D- presença de lipídios na cutícula da folha manchada de vermelho após a reação com o Sudão III (seta).



Fonte: Acervo do Autor

Na superfície do foliós de *Arrabidaea chica* (Bignoniaceae), o parênquima paliçádico, evidenciou gotículas lipídicas, bem como polifenóis em toda extensão dos foliós, com exceção da nervura central (PUHL et al., 2007). Estes resultados corroboram com os resultados histoquímicos evidenciados em *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann.

5.2 PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA PRELIMINAR DAS RAÍZES, CAULES E FOLHAS DE *ADENOCALYMMMA IMPERATORIS-MAXIMILIANII* (WAWRA) L. G. LOHMANN, BIGNONIACEAE.

Os resultados da prospecção fitoquímica mostraram que a raiz de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii*, apresentaram açúcares redutores, flavonóides, taninos condensados, triterpenos/esteróides e heterosídeos saponínicos. O caule apresentou: cumarinas, taninos hidrolisáveis, açúcares redutores, derivados cinâmicos, flavonóides, triterpenos/esteróides. Foram evidenciados nas folhas: açúcares redutores, derivados cinâmicos, flavonóides, taninos condensados, triterpenos/esteróides (Quadro 3). Os cromatogramas da prospecção fitoquímica preliminar dos extratos brutos de raiz, caule e folhas estão representados na figura 19, e a figura 20 representa o teste de afrogenicidade.

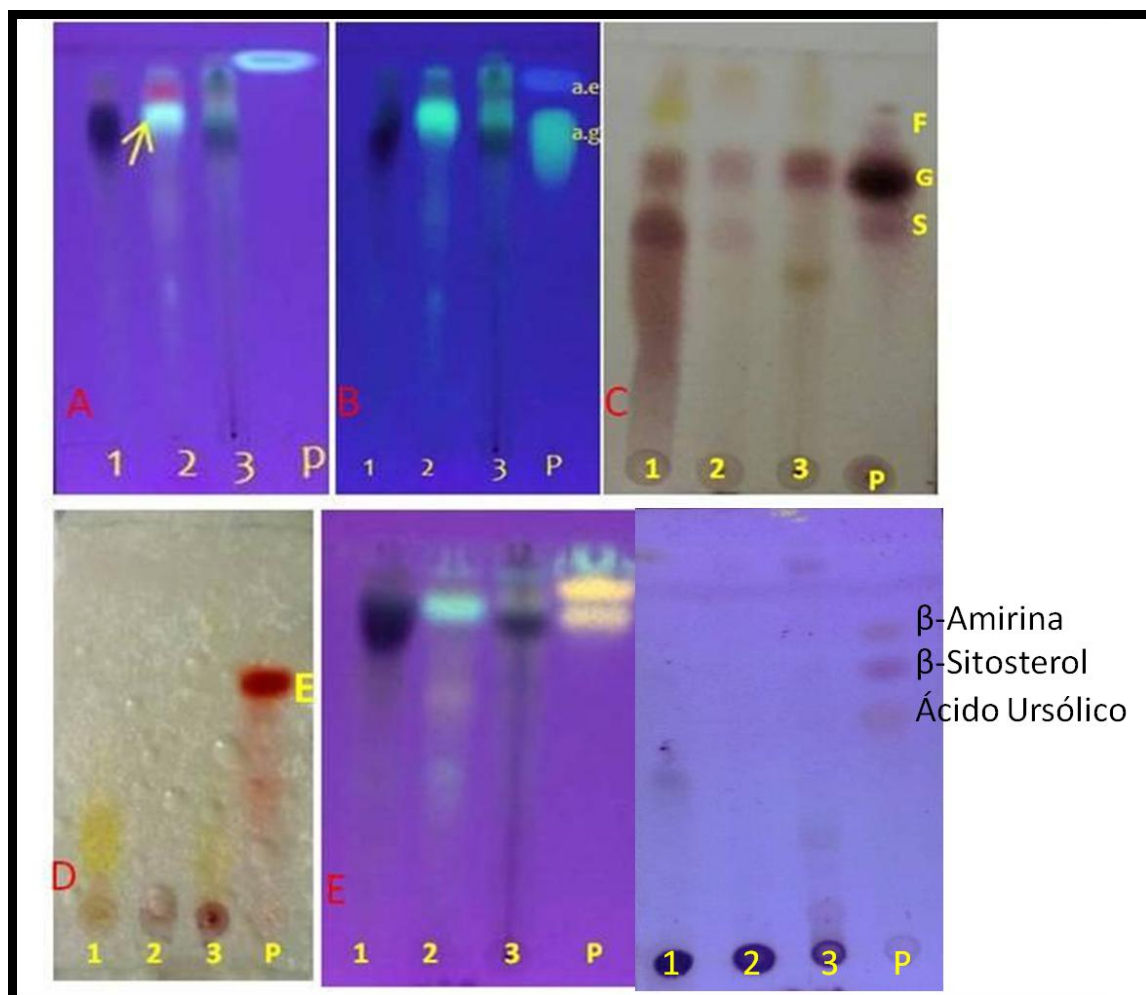
Quadro 3 – Análise fitoquímica preliminar dos extratos brutos da raiz, caule e folhas de *A. imperatoris maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann, Bignoniaceae.

Classe de Metabólitos	Parte Vegetal		
	Raiz	Caule	Folha
Cumarinas (Figura 19 A)	-	+	-
Taninos hidrolisáveis (Figura 19 B)	-	----	-
Açúcar (Figura 19 C)	+	+	+
Derivados cinâmicos (Figura 19 E)	-	+	+
Flavonóides (Figura 19 E)	+	+	+
Taninos condensados (Figura 19 D)	+	-	+
Triterpenóides e Esteróides (Figura 19 F)	+	+	+

Saponinas (Figuras 20 A e B)	+	-	-
---------------------------------------	---	---	---

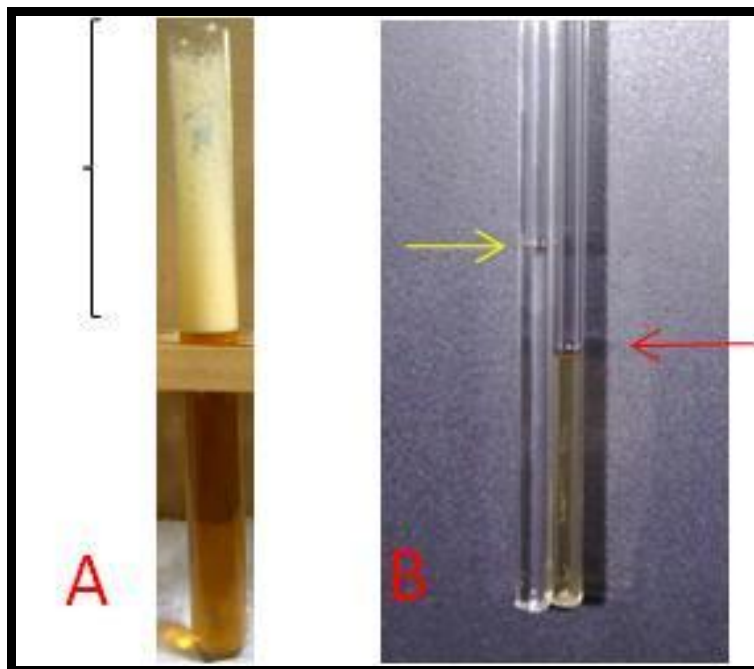
Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 19– Cromatogramas dos constituintes químicos evidenciados nos extratos brutos metanólicos da raiz, caule e folhas de *A. imperatoris-maximiliani* (Wawra) L. G. Lohmann, Bignoniaceae. Cumarinas (A), taninos hidrolisáveis (B), açúcares (C), proantocianidinas e leucoantocianidinas (D), derivados cinâmicos e flavonóides (E) e Triterpenos e esteróides (F). (1) raiz, (2) caule, (3) folha e (P) padrão.



Fonte: Acervo do Autor

Figura 20– (A) Tubo de ensaio contendo extrato bruto da raiz de *A. imperatoris-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann, Bignoniaceae. Apresentando espuma persistente após 2 horas. (B) Capilares contendo água e o extrato bruto da raiz, respectivamente, demonstrando a presença de saponinas no extrato por diminuir a tensão superficial e aumentar o escoamento. Seta amarela: nível da água; seta vermelha: nível do extrato.



Fonte: Acervo do Autor

Os resultados da prospecção fitoquímica da espécie em estudo corroboram com os descritos por Cipriani et al. (2007) os quais relatam que a família Bignoniaceae é caracterizada quimicamente pela presença de flavonóides, terpenóides, quinonas, principalmente naftoquinonas e compostos aromáticos tais como: lignanas, cinamoil, benzoil e derivados acetofenônicos.

A prospecção fitoquímica de *A. imperatoris-maximilianii*, evidenciou um perfil semelhante aos encontrados nas espécies *Adenocalymma peregrinum* e *Adenocalymma nodosum*. Entre as substâncias encontradas para as duas espécies, Tresvenzol et al. (2005) destacam as seguintes classes de metabólitos secundários: flavonóides, carboidratos, iridóides e heterosídeos saponínicos.

Metabólitos secundários como flavonóides e ácidos fenólicos, foram evidenciados após fitoquímica preliminar da espécie *Oroxylum indicum* (Bignoniaceae) os quais têm sido testados para diferentes fins, evidenciando múltiplos efeitos

biológicos incluindo, atividade antioxidante (CONFORTI et al., 2008); bem como antiinflamatório, diuréticos, antiartríticos, antifúngicos e antibacterianos (MAITREYI et al., 2008).

Os extratos metanólicos das folhas de *Newbouldia leavis* (Bignoniaceae) foram submetidos a uma triagem fitoquímica preliminar, revelando a presença de flavonóides, taninos, terpenos, esteróides e glicosídeos cardíacos, os mesmos foram testados em ensaios antibacterianos *in vitro* (USMAN; OSUJI, 2007).

Autores destacam a utilização de extratos contendo taninos, amplamente empregados no tratamento de entorses, contusões e feridas superficiais e são também responsáveis por propriedades antidesintéricas e antidiarréicas (HUSMAN; OSUJI, 2007; GALVEZ et al., 1991, 1993; LOGANGA et al., 2000).

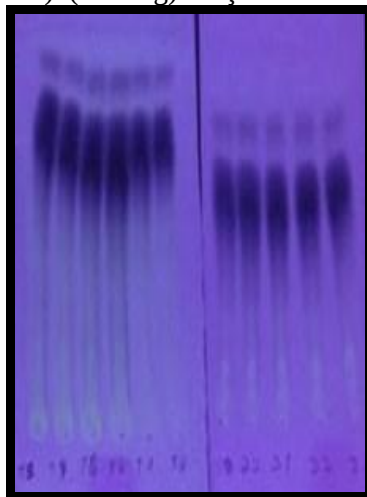
Estudos revelaram que os esteróides são em parte responsáveis por atividades antidiarreicas e também antifúngicas (HANWA et al., 2007).

5.3 PURIFICAÇÃO DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS

5.3.1 CROMATOGRAFIA EM COLUNA

Foram realizadas, duas colunas da partição aquosa do extrato metanólico da raiz (6 g), obtendo-se uma fração enriquecida com flavonóides (Figura 21), oriunda da junção das frações 13 a 23 (cerca de 900 mL da fase móvel metanol/água 1:1 – 987 mg após rotaevaporação).

Figura 21– Cromatograma de CCD dos constituintes químicos presente em *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann, Bignoniaceae (Fase estacionária: sílica; fase móvel: Acetato de etila - ácido acético - ácido fórmico - água 100:11:11:27, v/v). (987 mg) Frações da coluna.



Fonte: Acervo do Autor

5.3.2 CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA PREPARATIVA (CCDP)

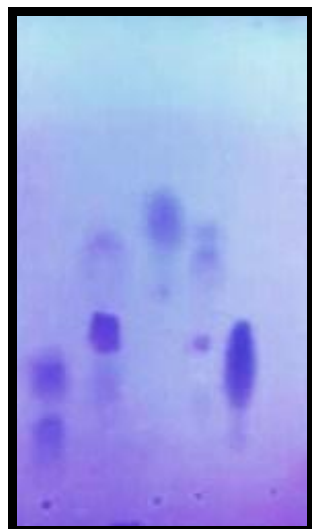
A fração enriquecida da raiz foi submetida à cromatografia em camada delgada preparativa (Figura 22) utilizando-se como fase estacionária celulose, e ácido acético: água (15:85 v:v) como fase móvel. Após migração das substâncias do ponto de aplicação, surgiram varias bandas, as quais foram raspadas e ressuspendidas em solvente específico e filtrada, obtendo assim várias amostras contendo de 1 a 3 substâncias (Figura 23).

Figura 22 – Cromatograma da CCDP da fração enriquecida da raiz evidenciando várias bandas dos constituintes químicos da espécie *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann



Fonte: Acervo do Autor

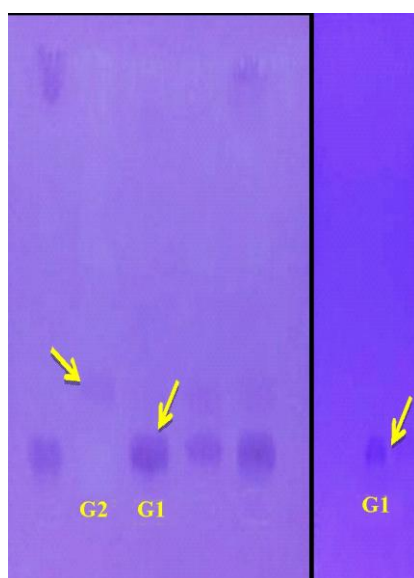
Figura 23– Cromatograma da CCD analítica das frações da raíz, obtidas em CCDP anteriores da fração enriquecida evidenciando várias bandas dos constituintes químicos de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann, Bignoniaceae.



Fonte: Acervo do Autor

Depois de seguidas CCDPs, foram obtidos 98 mg da substância G1 (G 1) e 30 mg substância G2 (G 2) (Figura 24). 25 mg de G1 foi usados para elucidação, por dados espectrais de ressonância magnética nuclear (RMN) de prótons e carbono 13 e cromatografia gasosa acoplado a massa de alta resolução.

Figura 24 – Cromatograma evidenciando as substâncias purificadas G1 e G2 da raíz de *A. imperatoris-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann.



Fonte: Acervo do Autor

Embora, muitas plantas têm sido avaliadas do ponto de vista farmacológico, há a necessidade de mais abordagens para encontrar compostos fitoquimicamente eficazes. Assim, devemos investigar desde plantas sem ou com conhecimento tradicional etnobotânico, para que se possa chegar à descoberta de drogas utilizando abordagens altamente sofisticadas as quais possam ser úteis neste campo do conhecimento.

As classes de metabólitos secundários encontrados neste estudo são amplamente utilizadas como alternativa terapêutica para várias patologias anticâncer, anti-inflamatório, antioxidante e antibacteriano, destacando assim a espécie *Adenocalymma imperatoris-maximiliani* (Wawra) L. G. Lohmann, como uma fonte natural na busca de novos constituintes químicos que possam se tornar possíveis fármacos. Estes resultados são as primeiras contribuições químicas para a espécie em estudo.

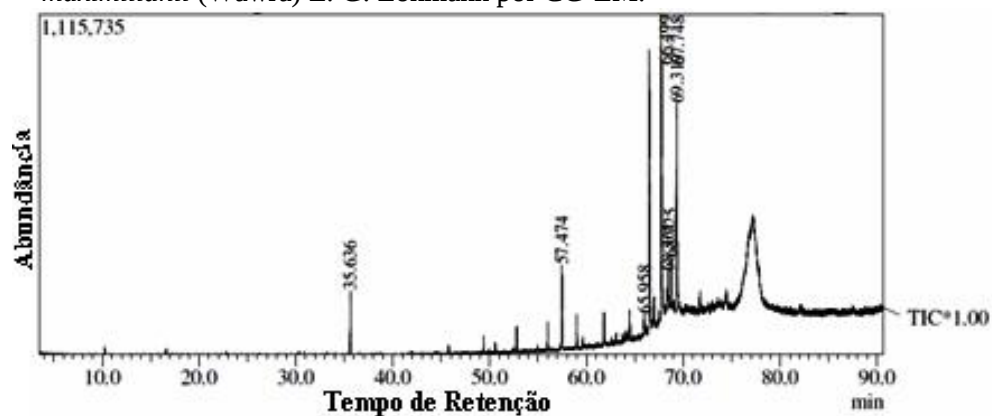
5.4 ANÁLISE POR CG-EM

5.4.1 GC-EM DOS EXTRATOS EM DIFERENTES SOLVENTES DE DIFERENTES POLARIDADES DE RAÍZ

O cromatograma de CG-EM do extrato hexano da raiz de *Adenocalymma imperatoris-maximiliani* evidenciou oito picos (Figura 25), correspondendo a oito compostos químicos listados na Tabela 1. Os compostos que apresentaram as maiores áreas foram: Lupeol (20.62%), Lupenona (5.14%), β -sitosterol (30.55%), Estigmasterol (27.83%), Esqualeno (6.34%); quanto ao cromatograma do extrato clorofórmico, foram evidenciados setenta e um picos (Figura 26), o que corresponde à presença de setenta e um compostos (Tabela 2); os compostos de maiores áreas (%) foram os seguintes: 2-pentanona ,4,4-dimetilo (22,48 %); Palmitato de metilo (6,72 %); ácido octadeca-9,12-dienóico éster metílico (4,98 %), Ácido 1,2-benzeno , Bis(2-etilhexil) fitalato (14,29 %) e Estigmasta-5-eno-3- β -ol (5,63 %). Já no cromatograma de CG-EM do extrato diclorometano, foram evidenciados nove picos (Figura 27), correspondendo a nove compostos químicos (Tabela 3); onde os de maiores áreas (%) foram: Lupeol (36.39%), Lupenona (5.46%), β -sitosterol (27.90%), β -amirina (5.495%), Estigmasterol (15.65%), Esqualeno (5.43%); no cromatograma de CG-EM do extrato em acetato de etila, foram evidenciados doze picos (Figura 28), correspondendo a doze 12 compostos

químicos (Tabela 4); sendo os de maiores áreas (%): Lupeol (16.40%), β -sitosterol (30.39%), Estigmasterol (28.01%), Esqualeno (9.56%).

Figura 25- Cromatograma evidenciando os picos e tempos de retenção dos compostos identificados no extrato hexânico das raízes de *Adenocalymma imperatores-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann por CG-EM.



Fonte: Acervo do Autor

Tabela 1- Compostos identificados no extrato hexânico das raízes de *Adenocalymma imperatores-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann por CG-EM.

Pico	Tempo de retenção (min.)	Área do pico %	Compostos	Massa molecular	Fórmula molecular
1	35.636	4.41	Caureno-18-ol, acetato, (4 β)	303	C ₂₂ H ₃₄ O ₂
2	57.474	6.34	Squaleno	410	C ₃₀ H ₅₀
3	65.958	1.87	delta.5-Ergostenol	400	C ₂₈ H ₄₈ O
4	66.499	27.83	Estigmasterol	412	C ₂₉ H ₄₈ O
5	67.748	30.55	Ácido 2-(2,3-diacetoxi-propil)-hexadecanoico anion	414	C ₂₉ H ₅₀ O
6	68.361	3.25	β -amirina	426	C ₃₀ H ₅₀ O
7	68.725	5.14	Lupenona	424	C ₃₀ H ₄₈ O
8	69.319	20.62	Lupeol	426	C ₃₀ H ₅₀ O

Fonte: Elaborada pelo autor

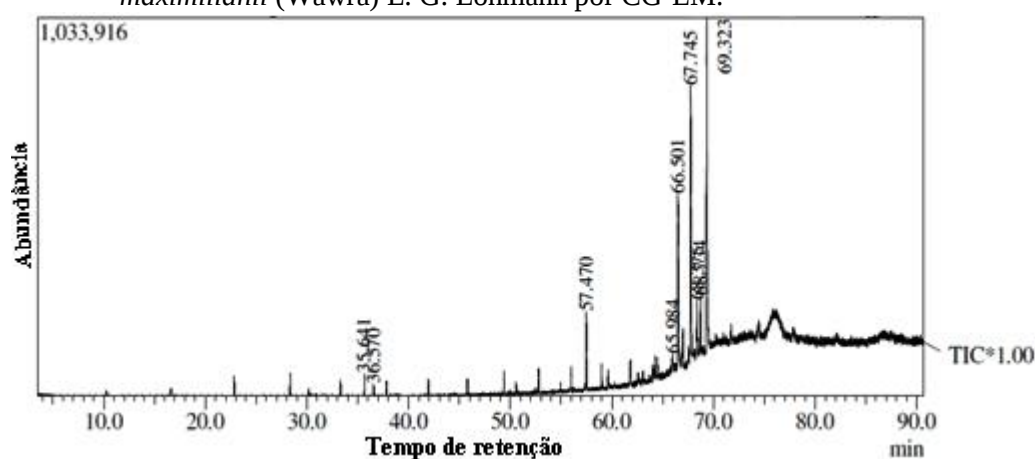
16	11.009	0.16	Ácido acético sec-butil ester	130	C ₇ H ₁₄ O ₂
17	11.352	0.17	3,4,5-Trimetoxi-tetrahydro-pirano-2-ol	192	C ₈ H ₁₆ O ₅
18	12.329	0.68	1-(4-metoxi-fenil)-etanona	150	C ₉ H ₁₀ O ₂
19	13.068	1.39	Ácido 4-metoxi-benzoico metil ester	166	C ₉ H ₁₀ O ₃
20	14.540	0.44	Ácido carboxílico 2-tert-butil-5-hidroximetil-oxazola-3- metil ester	215	C ₁₀ H ₁₇ NO ₄
21	18.379	0.29	Ácido 4-hidroxi-3-metoxi-benzoico metil ester	182	C ₉ H ₁₀ O ₄
22	18.430	0.02	1-(2-cloro-etoxi) propano	122	C ₅ H ₁₀ O ₄
23	19.065	0.25	Ácido 2-metoxycarbonilamino-hexanoico decil ester	329	C ₁₈ H ₃₅ NO ₄
24	20.369	0.42	Allil-ciclopentiloxi-dimetil-silano	184	C ₁₀ H ₂₀ OSi
25	20.410	0.04	Propano, 1,3-dimetoxi-2-(metoximetil)-2-metil-	162	C ₈ H ₁₈ O ₃
26	20.425	0.03	3-tioxo-3,4-dihidro-2H[1,2,4]triazina-5-ona	129	C ₃ H ₃ N ₃ OS
27	27.690	0.62	Ácido 4-hidroxi-3,5-dimetoxi-benzóico hidrazida	172	C ₁₀ H ₂₀ O ₂
28	27.745	0.03	4-metil-1-(5-metil-2,3,4,5-tetrahydro-[2,3']bifuranil-5-il)-pentano-2-ona	250	C ₁₅ H ₂₂ O ₃
29	27.770	0.05	Ácido cloro-acético <i>terce</i> -butil ester	150	C ₆ H ₁₁ ClO ₂
30	30.136	0.58	7,11,15-trimetil-3-metileno-hexadeca-1-ona	278	C ₂₀ H ₃₈
31	30.240	0.03	1,3,3-trimetil-biciclo[2.2.1]heptano-2-ona	152	C ₁₀ H ₁₆ O
32	33.152	6.72	Ácido hexadecanóico metil ester	270	C ₁₇ H ₃₄ O ₂
33	34.394	0.76	Ácido hexadecanoic	256	C ₁₆ H ₃₂ O ₂
34	36.385	0.38	Ácido heptadecanóico metil ester	270	C ₁₇ H ₃₄ O ₂
35	38.371	4.98	Ácido octadeca-9,12-dienóico metil ester	294	C ₁₉ H ₃₄ O ₂
36	38.540	0.80	Ácido octadeca-9,12,15-trienóico metil ester	292	C ₁₉ H ₃₂ O ₂
37	38.609	2.17	Octadeca-2,11-dienoic acid metil ester	296	C ₁₉ H ₃₆ O ₂
38	38.788	0.10	3-ciclohexilpropano-1-ol	142	C ₉ H ₁₈ O
39	38.830	0.05	Trimetil-[(E)-tetra-deo-7-enoxi] silano	384	C ₁₇ H ₃₆ OSi
40	39.475	1.49	Ácido octadecanoico metil ester	298	C ₁₉ H ₃₈ O ₂
41	40.195	0.02	Ácido 3-metil-but-2-enoico fenil ester	176	C ₁₁ H ₁₈ O ₂
42	40.238	0.29	2-(2-formilbenzoil) benzaldehido	278	C ₁₅ H ₁₀ O ₃
43	41.842	1.01	Ácido dodecanóico 2,3-dihidroxi-propil ester	274	C ₁₅ H ₃₀ O ₄
44	41.965	0.04	Ácido pentanoico-ciclopentil-etil	198	C ₁₂ H ₂₂ O ₂

			ester		
45	42.463	0.08	Metil 5-(2undeciciclopropil)pentanoato	310	C ₂₀ H ₃₈ O ₂
46	42.475	0.02	(2,2,3,3-Tetrametil-ciclopropil)-metanol	128	C ₈ H ₁₆ O
47	43.090	0.21	Ácido 3-acetoxi-3-butoxicarbonil-pentanedioico dibutil ester	402	C ₂₀ H ₃₄ O ₈
48	43.200	0.02	1-clorometil-1-(2,2-dimetil-propoxi)-silinano	234	C ₁₁ H ₂₃ ClOSi
49	43.664	2.13	Ácido icosanoico 1-acetoximetil-2-hidroxi-etil ester	470	C ₂₇ H ₅₀ O ₆
50	43.860	3.98	Ácido 2-(2,3-diacetoxi-propil)-hexadecanoico	414	C ₂₃ H ₄₂ O ₆
51	45.304	0.47	Ácido icosanoico metil ester	470	C ₂₇ H ₅₀ O ₆
52	45.460	0.01	2-metil-3-metileno-ciclopentanecarbaldehido	124	C ₈ H ₁₂ O
53	47.831	0.19	Ácido 4-(2-(2-[2-(2-Pentil-ciclopropilmehil)ciclopropilmetil]-ciclopropilmetil)ciclopropil)butil metil ester	374	C ₂₅ H ₄₂ O ₂
54	48.989	1.21	Ácido 11-biciclo [3.1.0]hexa-2-il-undecanoico metil ester	280	C ₁₈ H ₃₂ O ₂
55	49.215	1.07	Ácido 2-(2,3-diacetoxi-propil)tetradecanoico	386	C ₂₁ H ₃₈ O ₆
56	49.695	0.24	Ácido 6-acetoxi-4,5,7-trimetoxi-heptanoico	278	C ₁₂ H ₂₂ O ₇
57	49.870	1.26	Ácido 9,10-diacloro-octadecnoico metil ester	366	C ₁₉ H ₃₆ Cl ₂ O ₂
58	50.564	14.29	Bis(2-etillexil)benzeno-1,2dicarboxilato	390	C ₂₄ H ₃₈ O ₄
59	51.650	0.40	1,1,4a-trimetil-8-propano-2-il-2,3,4,9,10,10a-hexahidrofenantreno-2,7-diol	302	C ₂₀ H ₃₀ O ₂
60	56.236	2.67	2(1H)-fenantrenona,3,4,4a,9,10,10a,-hexahidro-1,1,4a, -trimetil	242	C ₁₇ H ₂₂ O
61	56.305	1.04	6 β,6.β.-dibromo-6,7-metilenetestosterona	456	C ₂₀ H ₂₆ Br ₂ O ₂
62	58.576	0.32	3,6,9-trimetil-2,7-dioxo-2,3,3a,4,5,7,9a,9b-octahidroazuleno[4,5-b]furano-2,7-dione	304	C ₁₇ H ₂₀ O ₅
63	62.567	0.64	Colesta-4,6-dieno-3-ol, benzoato, (3β)-	488	C ₃₄ H ₄₈ O ₂
64	65.650	0.40	Ácido dodecanoico, 1,2,3-propanetriil Ester	470	C ₂₇ H ₅₀ O ₆
65	66.471	3.77	Estigmasta-5,22-dieno-3-ol, (3β,22E)-	412	C ₂₉ H ₄₈ O
66	66.939	0.46	Estigmasterol trimetilsilil eter	484	C ₃₈ H ₅₆ OSi

67	67.717	5.63	Estigmasta-5-eno-3-ol,(3 β)-	414	C ₂₉ H ₅₀ O
68	68.148	0.87	β -sitosterol trimetilsilil eter	486	C ₃₂ H ₅₈ OSi
69	69.296	1.63	Lupeol	426	C ₃₀ H ₅₀ O
70	70.225	1.13	Estigmasta-4-eno-3-ona	412	C ₂₉ H ₄₈ O
71	72.384	0.84	7, β -hidroxidiosgenina	430	C ₂₇ H ₄₂ O ₄

Fonte: Elaborada pelo autor

Figura 27- Cromatograma evidenciando os picos e tempos de retenção dos compostos identificados no extrato diclorometano das raízes de *Adenocalymma imperatores-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann por CG-EM.



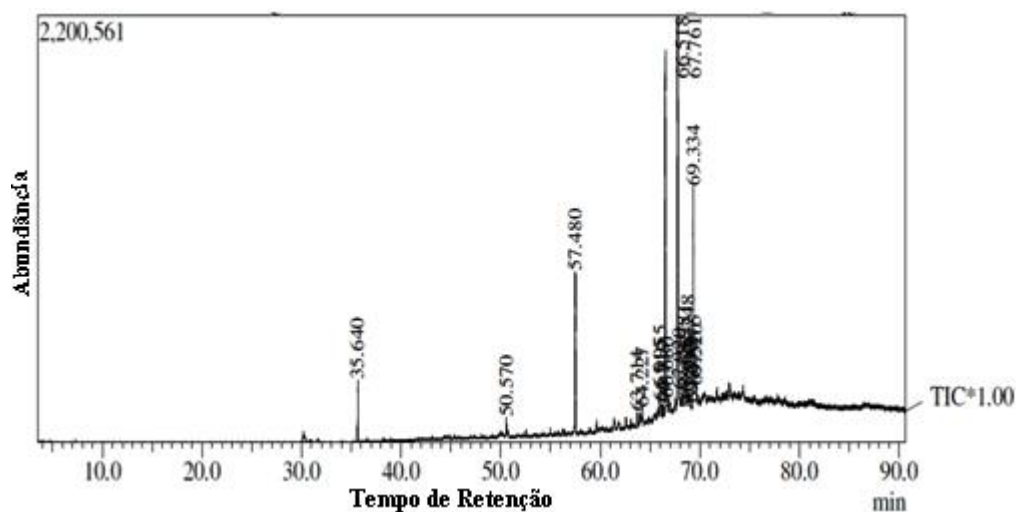
Fonte: Acervo do Autor

Tabela 3- Compostos identificados no extrato diclorometano das raízes de *Adenocalymma imperatores-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann por CG-EM.

Pico	Tempo de retenção (min.)	Área do pico%	Compostos	Massa molecular	Fórmula molecular
1	35.641	1.24	1,3-bis-(2-ciclopropil,2-metilciclopropil)-but-2-eno-	258	C ₁₈ H ₂₆ O
2	36.570	0.62	Globulol	222	C ₁₅ H ₂₆ O
3	57.470	5.43	Esqualeno	410	C ₃₀ H ₅₀
4	65.984	1.83	Campesterol	400	C ₂₈ H ₄₈ O
5	66.501	15.65	Estigmasterol	412	C ₂₉ H ₄₈ O
6	67.745	27.90	β -sitosterol	414	C ₂₉ H ₅₀ O
7	68.375	5.49	β -amirina	426	C ₃₀ H ₅₀ O
8	68.734	5.46	Lupenona	424	C ₃₀ H ₄₈ O
9	69.323	36.39	Lupeol	426	C ₃₀ H ₅₀ O

Fonte: Elaborada pelo autor

Figura 28- Cromatograma evidenciando os picos e tempos de retenção dos compostos identificados no extrato em acetato de etila das raízes de *Adenocalymma imperatores-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann por CG-EM.



Fonte: Acervo do Autor

Tabela 4- Compostos identificados no extrato acetato de etila das raízes de *Adenocalymma imperatores-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann por CG-EM.

Pico	Tempo de retenção (min.)	Área do pico %	Compostos	Massa molecular	Fórmula molecular
1	35.640	3.45	Caureno-18-ol, acetato, (4β)	330	C ₂₂ H ₃₄ O ₂
2	50.570	0.75	Di-n-octil fitalato	390	C ₂₄ H ₃₈ O ₄
3	57.480	9.56	Esqualeno	410	C ₃₀ H ₅₀
4	63.714	0.64	Colesterol	386	C ₂₇ H ₄₆ O
5	64.227	0.52	Vitamina E	430	C ₂₉ H ₅₀ O ₂
6	65.955	1.94	Campesterol	400	C ₂₈ H ₄₈ O
7	66.319	0.51	7-Colesteno-3-ona		
8	66.518	28.01	Estigmasterol	412	C ₂₉ H ₄₈ O
9	67.761	30.39	β-sitosterol	414	C ₂₉ H ₅₀ O
10	68.381	2.57	β-amirina	426	C ₃₀ H ₅₀ O
11	68.748	3.69	Lupenona	424	C ₃₀ H ₄₈ O
12	69.334	16.40	Lupeol	426	C ₃₀ H ₅₀ O

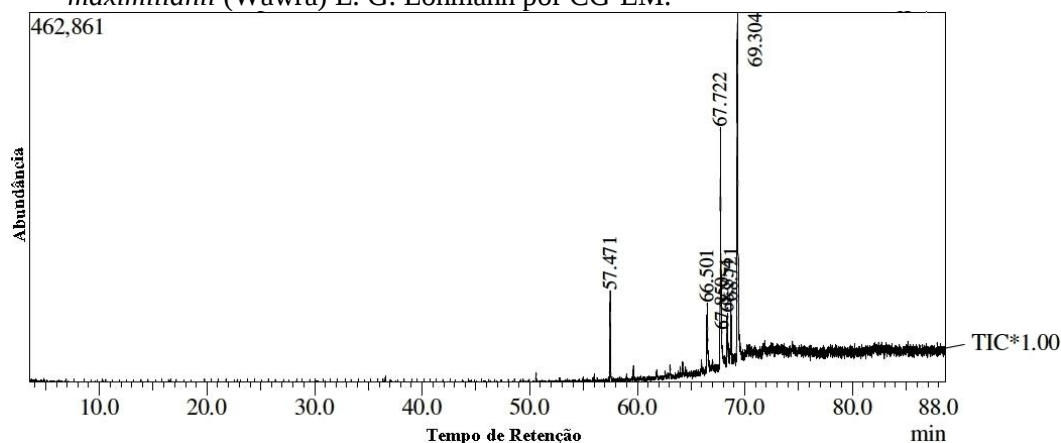
Fonte: Elaborada pelo autor

Os dados comparativos dos cromatogramas de CG-EM dos diferentes extratos de raiz, indicam que o extrato clorofórmico foi o que melhor extraiu qualitativamente.

5.4.2 GC-EM DOS EXTRATOS EM DIFERENTES SOLVENTES DE DIFERENTES POLARIDADES DO CAULE

O cromatograma de CG-EM do extrato hexano do caule de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* evidenciou seis picos (Figura 29), correspondendo a seis compostos químicos (Tabela 5). Os compostos que apresentaram as maiores áreas (%) foram: Lupeol (44.31%), β -amirina (5.79%), β -sitosterol (27.37%), Estigmasterol (8.60%), Esqualeno (6.24%), Lupenona (5.28%); quanto ao cromatograma de CG-EM do extrato clorofórmio, mostrou onze picos (Figura 30), correspondendo a onze compostos químicos (Tabela 6); sendo que os de maiores áreas (%): Esqualeno (48,07 %), Estigmasterol (5,75 %); Estigmasta-5-eno-3- β -ol (31,46 %); Lupenona (6,98 %) e Lupeol (36,13 %); para o cromatograma de CG-EM do extrato diclorometano do caule foi evidenciado treze picos (Figura 31), correspondendo a treze compostos químicos (Tabela 7); são eles: Lupeol (42.06%), β -amirina (5.58%), β -sitosterol (24.41%), Estigmasterol (8.28%), Esqualeno (6.43%); no cromatograma de CG-EM do extrato em acetato de etila do caule foram evidenciados quinze picos (figura 32), correspondendo a quinze compostos (Tabela 8), tendo como compostos majoritários: Esqualeno (6.83%), β -amirina (4.99%), β -sitosterol (26.7%), Estigmasterol (8.96%), Lupeol (37.52%),

Figura 29- Cromatograma evidenciando os picos e tempos de retenção dos compostos identificados no extrato hexânico do caule de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann por CG-EM.



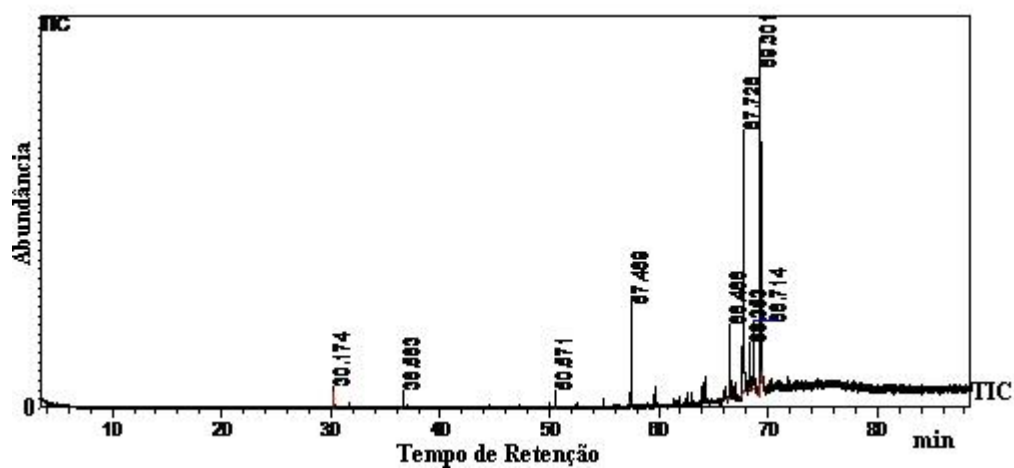
Fonte: Acervo do Autor

Tabela 5- Compostos identificados no extrato hexânico do caule de *Adenocalymma imperatores-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann por CG-EM.

Picok	Tempo de retenção (min)	Área do pico%	Compostos	Massa molecular	Fórmula molecular
1	57.471	6.24	Esqualeno	410	C ₃₀ H ₅₀
2	66.501	8.60	Estigmasterol	412	C ₂₉ H ₄₈ O
3	67.722	27.37	β -sitosterol	414	C ₂₉ H ₅₀ O
4	68.354	5.79	β -amirina	426	C ₃₀ H ₅₀ O
5	68.721	5.28	Lupenona	424	C ₃₀ H ₄₈ O
6	68.721	44.31	Lupeol	426	C ₃₀ H ₅₀ O

Fonte: Elaborada pelo autor

Figura 30- Cromatograma evidenciando os picos e tempos de retenção dos compostos identificados no extrato clorofórmico do caule de *Adenocalymma imperatores-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann por CG-EM.



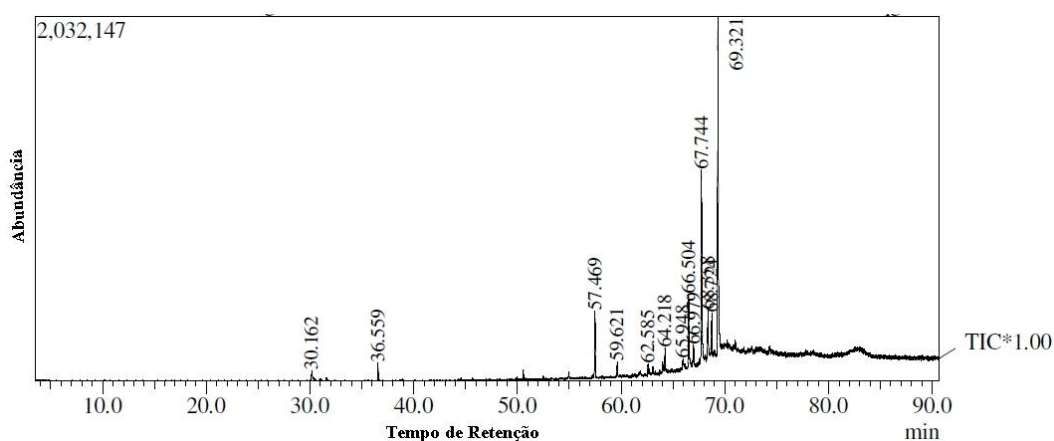
Fonte: Acervo do Autor

Tabela 6 - Compostos identificados no extrato clorofórmico do caule de *Adenocalymma imperatores-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann por CG-EM.

Pico	Tempo de retenção (min)	Área do pico (%)	Compostos	Massa molecular	Fórmula molecular
1	30.174	0.51	7,11,15-trimetil-3-metileno-hexadeca-1-eno	278	C ₂₀ H ₃₈
2	36.563	1.16	Caureno-16-eno	272	C ₂₀ H ₃₂
3	50.571	1.20	bis(2-etilhexil) benzeno-1,2-dicarboxilato	390	C ₂₄ H ₃₈ O ₄
4	57.469	48.07	(6E,10E,14E,18E)-2,6,10,15,19,23-hexametiltetracos-2,6,10,14,18,22-hexaeno	410	C ₃₀ H ₅₀
5	62.582	1.17	(2R)-2,7,8-Trimetil-2-[(4R,8R)-4,8,12-trimetiltridecil]-6-cromanol	416	C ₂₈ H ₄₈ O ₂
6	64.210	2.06	2,5,7,8-tetrametil-2-(4,8,12-trimetiltridecil)-3,4-dihidrocromeno-6-ol	430	C ₂₉ H ₅₀ O ₂
7	66.486	5.75	(3S,8S,9S,10R,13R,14S,17R)-17-[(E,2R,5S)-5-etil-6-metilhepta-3-eno-2-il]-10,13-dimetil-2,3,4,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dodecahidro-1H-ciclopenta[a]feenantreno-3-ol	412	C ₂₉ H ₄₈ O
8	67.728	31.46	Estigmasta-5-eno-3-ol, (3β)-	414	C ₂₉ H ₅₀ O
9	68.353	5.53	(3S,4aR,6aR,6bS,8aR,12aR,14aR,14bR)-4,4,6a,6b,8a,11,11,14b-octametil-1,2,3,4a,5,6,7,8,9,10,12,12a,14,14a-tetradecahidropiceno-3-ol	426	C ₃₀ H ₄₈ O
10	68.714	6.98	(1R,3aR,5aR,5bR,7aR,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a,5a,5b,8,8,11a-hexametil-1-prop-1-eno-2-il-2,3,4,5,6,7,7a,10,11,11b,12,13,13a,13β-tetradecahidro-1h-ciclopenta[a]criseno-9-ona	424	C ₃₀ H ₄₈ O
11	69.301	36.13	(1R,3aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a,5a,5b,8,8,11a-hexametil-1-prop-1-eno-2-il-1,2,3,4,5,6,7,7a,9,10,11,11b,12,13,13a,13b-hexadecahidrocclopenta[a]criseno-9-ol	416	C ₃₀ H ₅₀ O

Fonte: Elaborada pelo autor

Figura 31- Cromatograma evidenciando os picos e tempos de retenção dos compostos identificados no extrato diclorometano do caule de *Adenocalymma imperatores-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann por CG-EM.



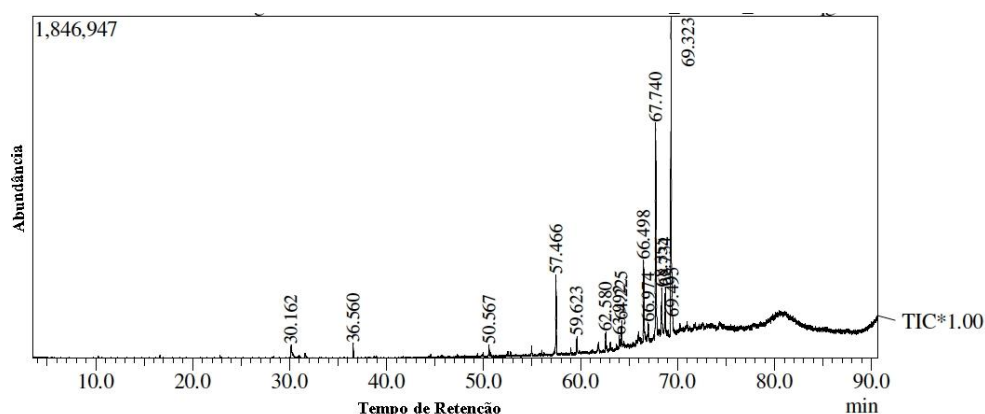
Fonte: Acervo do Autor

Tabela 7- Compostos identificados no extrato diclorometano do caule de *Adenocalymma imperatores-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann por CG-EM.

Pico	Tempo de retenção (min)	Área do pico%	Compostos	Massa molecular	Fórmula molecular
1	30.162	0.96	Neofitadieno	278	C ₂₀ H ₃₈
2	36.559	1.48	Kaur-16-eno	272	C ₂₀ H ₃₂
3	57.469	6.43	Esqualeno	410	C ₃₀ H ₅₀
4	59.621	1.19	n-Docosano	310	C ₂₂ H ₄₆
5	62.585	0.98	β-tocoferol	416	C ₂₈ H ₄₈ O ₂
6	64.218	1.93	Vitamina E	430	C ₂₉ H ₅₀ O ₂
7	65.948	1.10	Campesterol	400	C ₂₈ H ₄₈ O
8	66.504	8.28	Stigmasterol	412	C ₂₉ H ₄₈ O
9	66.979	1.56	Aldeído palmitico	240	C ₁₆ H ₃₂ O
10	67.744	24.41	β-sitosterol	414	C ₂₉ H ₅₀ O
11	68.358	5.58	β-amirina	426	C ₃₀ H ₅₀ O
12	68.724	4.05	Lupenona	424	C ₃₀ H ₄₈ O
13	69.321	42.06	Lupeol	426	C ₃₀ H ₅₀ O

Fonte: Elaborada pelo autor

Figura 32- Cromatograma evidenciando os picos e tempos de retenção dos compostos identificados no extrato acetate de etila do caule de *Adenocalymma imperatores-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann por CG-EM.



Fonte: Acervo do Autor

Tabela 8- Compostos identificados no extrato em acetate de etila do caule de *Adenocalymma imperatores-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann por CG-EM.

Pico	Tempo de retenção (min.)	Area%	Nome compostos	Massa molecular	Formula molecular
1	30.162	1.44	Neofitadieno	278	C ₂₀ H ₃₈
2	36.560	1.18	Kaur-16-eno	272	C ₂₀ H ₃₂
3	50.567	0.55	Ácido 1,2-benzenedicarboxílico diisooctil ester	390	C ₂₄ H ₃₈ O ₄
4	57.466	6.83	Esqualeno	410	C ₃₀ H ₅₀
5	59.623	1.17	Docosano	310	C ₂₂ H ₄₆
6	62.580	1.08	6.β,6.β-Dibromo-6,7-metilenetesterona	456	C ₂₀ H ₂₆ Br ₂ O ₂
7	63.992	0.81	n-Nonadecano	268	C ₁₉ H ₄₀
8	64.225	2.18	Vitamina E	430	C ₂₉ H ₅₀ O ₂
9	66.498	8.96	Estigmasta-5,22-dieno-3-ol, (3β,22E)-	412	C ₂₉ H ₄₈ O
10	66.974	0.86	Aldeído palmitico	240	C ₁₆ H ₃₂ O
11	67.740	26.77	β-sitosterol	414	C ₂₉ H ₅₀ O

12	68.355	4.99	β -amirina	426	C ₃₀ H ₅₀ O
13	68.734	4.43	Lupenona	424	C ₃₀ H ₄₈ O
14	69.323	37.52	Lupeol	426	C ₃₀ H ₅₀ O
15	69.495	1.22	Estigmasta-3,5-dieno-7-ona	410	C ₂₉ H ₄₆ O

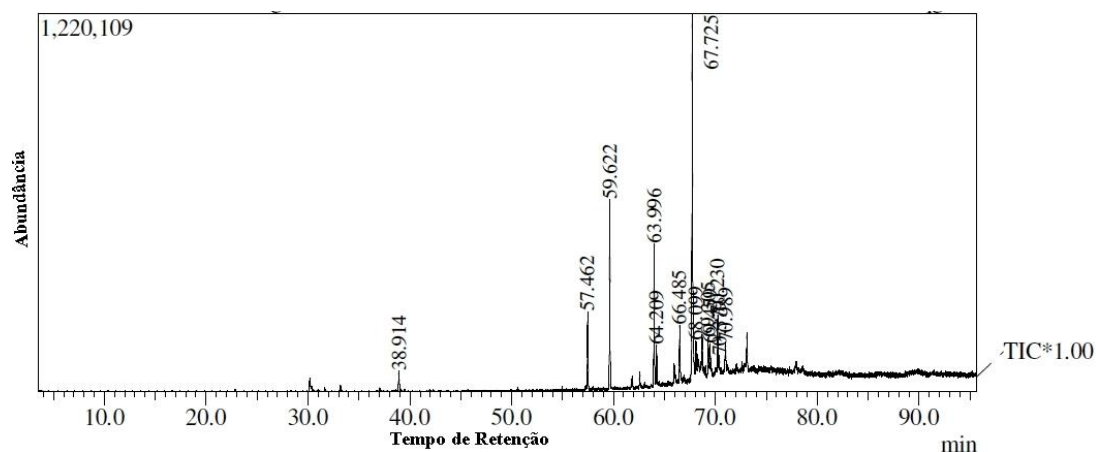
Fonte: Elaborada pelo autor

Os dados comparativos dos cromatogramas de CG-EM dos diferentes extratos de caule, indicam que o extrato acetato de etila foi o que melhor extraiu qualitativamente.

5.4.3 GC-EM DOS EXTRATOS EM DIFERENTES SOLVENTES DE DIFERENTES POLARIDADES DAS FOLHAS

O cromatograma de CG-EM do extrato hexânico das folhas de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* evidenciou doze picos (Figura 33), correspondendo a doze compostos químicos (Tabela 9), Os compostos que apresentaram as maiores áreas (%) foram: β -sitosterol (37.47%), n-Tetratetracontano (17.56%) n-Triacontano (14.98%), Esqualene (6.39%); já no cromatograma de CG-EM do extrato clorofórmio foi evidenciado dezessete picos (Figura 34), correspondente a dezessete compostos químicos (Tabela 10), os quais apresentaram maiores áreas (%) foram: Neofitadieno (10,29%), Vitamina E (10,16%) , Estigmasterol (7,98 %) e β -sitosterol (40,93 %); e o cromatograma de CG-EM do extrato diclorometano, evidenciou dezenove picos (Figura 35), correspondendo a dezenove compostos químicos (Tabela 11), os de maiores áreas (%) foram: Neofitadieno (24.21%), β -sitosterol (29.24%), n-Pentacosano (17.57%), Metil commato B (5.34%); quanto ao cromatograma de CG-EM do extrato em acetato de etila, evidenciou trinta e dois picos (Figura 36), correspondendo a trinta e dois compostos químicos (Tabela 12), Os compostos que tiveram as maiores áreas (%) foram: Estigmasta-5-eno-3-ol, (3 β)- (17.18%), Fitol acetato (6.0%), 2-Hexadeceno-1-ol, 3,7,11,15-tetrametil-, [R-[R*,R*-] (50.06%).

Figura 33- Cromatograma evidenciando os picos e tempos de retenção dos compostos identificados no extrato hexânico das folhas de *Adenocalymma imperatores-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann por CG-EM.



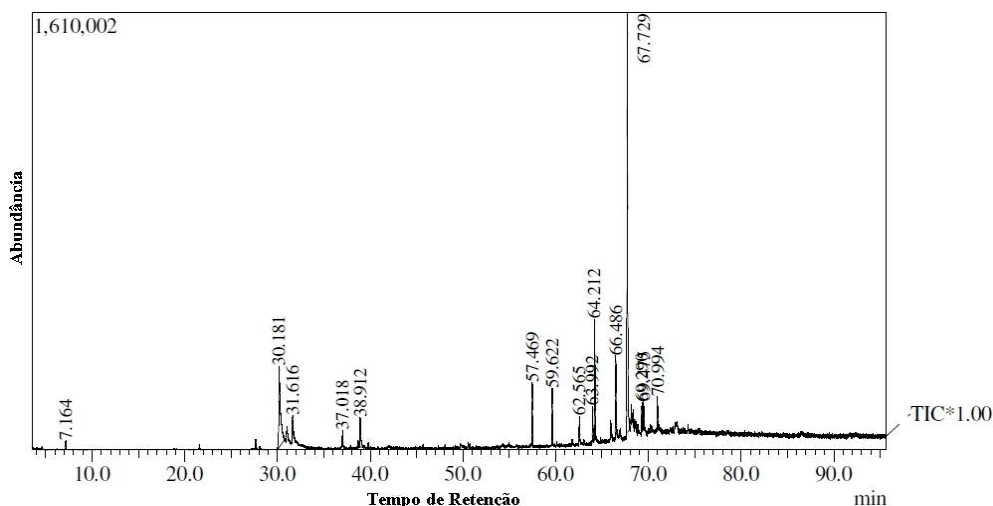
Fonte: Acervo do Autor

Tabela 9- Compostos identificados no extrato hexânico das folhas de *Adenocalymma imperatores-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann por CG-EM.

pico	Tempo de retenção	Área do pico %	Nome dos compostos	Massa Molecular	Fórmula Molecular
1	38.914	1.35	Fitol	296	C ₂₀ H ₄₀ O
2	57.462	6.39	Esqualeno	410	C ₃₀ H ₅₀
3	59.622	17.56	n-Tetratetracontano	619	C ₄₄ H ₉₀
4	63.996	12.30	n-Triacontano	422	C ₃₀ H ₆₂
5	64.209	3.08	Vitamina E	430	C ₂₉ H ₅₀ O ₂
6	66.485	4.88	Estigmasterol	412	C ₂₉ H ₄₈ O
7	67.725	37.47	β-sitosterol	414	C ₂₉ H ₅₀ O
8	68.099	2.68	n-Triacontano	422	C ₃₀ H ₆₂
9	69.305	3.57	Lupeol	426	C ₃₀ H ₅₀ O
10	69.459	2.04	9,19-Ciclolanosta-24-eno-3-ol, (3-β)-	426	C ₃₀ H ₅₀ O
11	70.230	4.26	Estigmasta-4-eno-3-ona	412	C ₂₉ H ₄₈ O
12	70.379	0.89	Longifolenaldehído	220	C ₁₅ H ₂₄ O
13	70.989	3.53	Pseudotaraxasterol	426	C ₃₀ H ₅₀ O

Fonte: Elaborada pelo autor

Figura 34- Cromatograma evidenciando os picos e tempos de retenção dos compostos identificados no extrato clorofórmico das folhas de *Adenocalymma imperatores-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann por CG-EM.



Fonte: Acervo do Autor

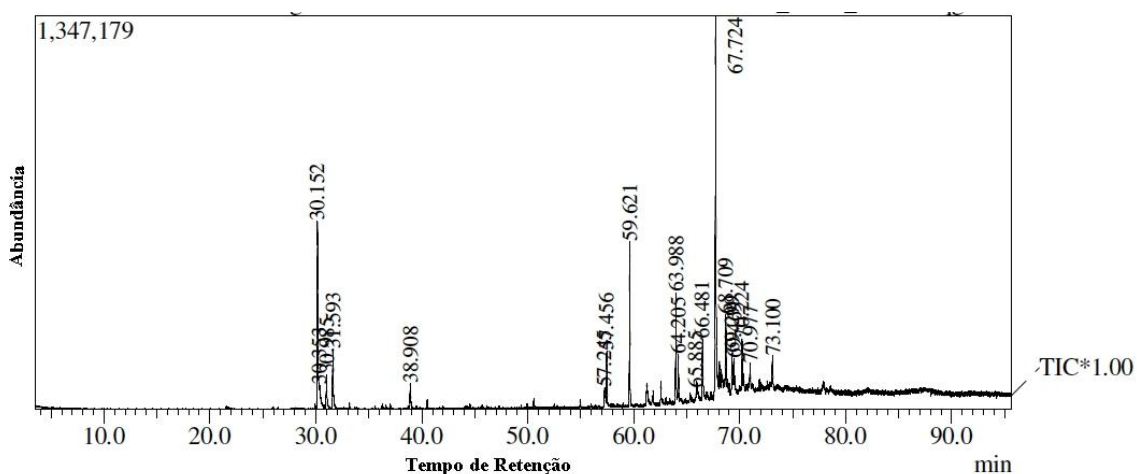
Tabela 10- Compostos identificados no extrato clorofórmico das folhas de *Adenocalymma imperatores-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann por CG-EM.

Pico	Tempo de retenção (min)	Área do pico (%)	Nome dos compostos	Massa molecular	Fórmula molecular
1	7.164	0.58	2-bromo-1-cloro-propano	156	C ₃ H ₆ BrCl
2	30.181	10.29	7,11,15-Trimetil-3-metileno-hexadeca-1-eno	278	C ₂₀ H ₃₈
3	30.340	0.18	Trideco-2-eno-ol	198	C ₁₃ H ₂₆ O
4	37.018	1.05	trimetilsilil hexadecanoato	328	C ₁₉ H ₄₀ O ₂ Si
5	38.665	0.02	trimetilsilil (7Z)-7-trimetilsililoxiiminooctanoato	317	C ₁₄ H ₃₁ NO ₃ Si ₂
6	38.912	2.90	3,7,11,15-Tetrametil-hexadeca-2-eno-1-o	297	C ₂₀ H ₄₀ O
7	57.469	4.86	2,6,10,15,19,23-hexametil-tetracosa-2,6,10,14,18,22-hexaeno	410	C ₃₀ H ₅₀
8	59.622	3.94	Tetratetracontano	619	C ₄₄ H ₉₀
9	62.565	2.03	2,6,10,15,19,23-hexametil-tetracosa-2,6,10,14,18,22-hexaeno	416	C ₂₈ H ₄₈ O
10	63.992	2.57	Nonacosano	408	C ₂₉ H ₆₀

11	64.212	10.16	2,5,7,8-tetrametil-2-(4,8,12-trimetiltridecil)-3,4-dihidrocromeno-6-ol	430	C ₂₉ H ₅₀ O ₂
12	66.486	7.98	(3S,8S,9S,10R,13R,14S,17R)-17-[(E,2R,5S)-5-etil-6-metilhepta-3-eno-2-il]-10,13-dimetil-2,3,4,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dodecahidro-1h-ciclopenta[a]fenantreno-3-ol	412	C ₂₉ H ₄₈ O
13	67.729	40.93	17-10,13-dimetil-2,3,4,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dodecahidro-1h-ciclopenta[a]fenantreno-3-ol	414	C ₂₉ H ₅₀ O
14	68.139	1.35	[17-(5-etil-6-metilheptano-2-yl)-10,13-dimetil-2,3,4,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dodecahidro-1h-ciclopenta[a]fenantreno-3-il]oxi-trimetilsilano	486	C ₃₂ H ₅₈ OSi
15	69.290	2.79	2,6,10,15,19,23-hexametil-tetracosa-2,6,10,14,18,22-hexaeno	426	C ₃₀ H ₅₀ O
16	69.475	2.57	2-bromo-1-cloro-propano	426	C ₃₀ H ₅₀ O
17	70.994	3.46	7,11,15-trimetil-3-metilene-hexadeca-1-eno	426	C ₃₀ H ₅₀ O

Fonte: Elaborada pelo autor

Figura 35- Cromatograma evidenciando os picos e tempos de retenção dos compostos identificados no extrato diclorometano das folhas de *Adenocalymma imperatores-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann por CG-EM.



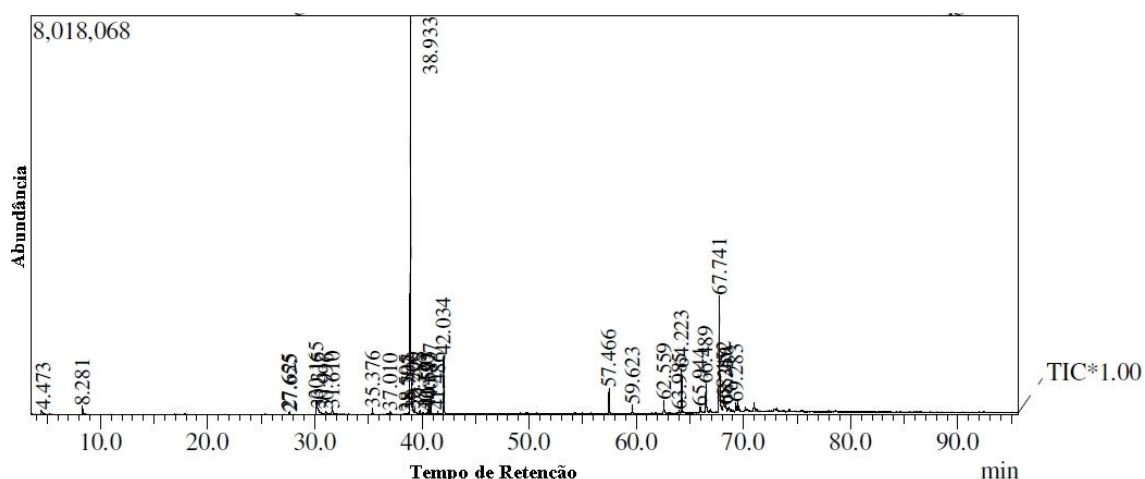
Fonte: Acervo do Autor

Tabela 11- Compostos identificados no extrato diclorometano das folhas de *Adenocalymma imperatores-maximilianii* (Wwara) L. G. Lohmann por CG-EM.

Pico	Tempo de retenção	Área do pico%	Nome dos compostos	Massa molecular	Fórmula molecular
1	30.152	15.53	Neofitadieno	278	C ₂₀ H ₃₈
2	30.353	0.67	2-hexadeceno, 3,7,11,15-tetrametil-, [R-[R*,R*-(E)]]-	280	C ₂₀ H ₄₀
3	30.985	2.32	Neofitadieno	278	C ₂₀ H ₃₈
4	31.593	4.26	Neofitadieno	278	C ₂₀ H ₃₈
5	38.908	1.56	2-Hexadeceno-1-ol, 3,7,11,15-tetrametil-, [R-[R*,R*-(E)]]-	296	C ₂₀ H ₄₀ O
6	57.245	1.32	2h-benzo[f]oxireno[2,3-E]benzofurano-8	399	C ₂₃ H ₂₉ NO ₅
7	57.456	3.33	Esqualeno	410	C ₃₀ H ₅₀
8	59.621	10.03	n-Pentacosano	352	C ₂₅ H ₅₂
9	63.988	7.54	n-Pentacosano	352	C ₂₅ H ₅₂
10	64.205	2.94	Vitamina E	430	C ₂₉ H ₅₀ O ₂
11	65.885	0.07	Vitamina A aldeído	284	C ₂₀ H ₂₈ O
12	66.481	4.18	Estigmasterol	412	C ₂₉ H ₄₈ O
13	67.724	29.24	β-sitosterol	414	C ₂₉ H ₅₀ O
14	68.709	5.34	Metil commato B	470	C ₃₁ H ₅₀ O ₃
15	69.299	2.38	Lupeol	426	C ₃₀ H ₅₀ O
16	69.469	1.39	Lanosterol	426	C ₃₀ H ₅₀ O
17	70.224	3.31	Estigmasta-4-eno-3-ona	412	C ₂₉ H ₄₈ O
18	70.977	2.10	Pseudotaraxasterol	426	C ₃₀ H ₅₀ O
19	73.100	2.51	Neofitadieno	278	C ₂₀ H ₃₈

Fonte: Elaborada pelo autor

Figura 36- Cromatograma evidenciando os picos e tempos de retenção dos compostos identificados no extrato acetato de etila das folhas de *Adenocalymma imperatores-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann por CG-EM.



Fonte: Acervo do Autor

Tabela 12- Compostos identificados no extrato em acetate de etila das folhas de *Adenocalymma imperatores-maximilianii* (Wwara) L. G. Lohmann por CG-EM.

Pico	Tempo de retenção (min)	Área do pico%	Nome dos compostos	Massa Molecular	Fórmula Molecular
1	4.473	0.38	1,2,3-propanetriol, monoacetato	134	C ₅ H ₁₀ O ₄
2	8.281	1.12	1,2,3-propanetriol, monoacetato	134	C ₅ H ₁₀ O ₄
3	27.625	0.24	(-)-Loliolido	196	C ₁₁ H ₁₆ O ₃
4	27.655	0.13	3-hexin-2-ol, 5-metil-	112	C ₇ H ₁₂ O
5	30.165	2.68	Neofitadieno	278	C ₂₀ H ₃₈
6	30.315	0.14	1,2-ciclohexanediamino, N,N,N',N'-tetrametil-	170	C ₁₀ H ₂₂ N ₂
7	30.996	0.29	Neofitadieno	278	C ₂₀ H ₃₈
8	31.610	0.54	Neofitadieno	278	C ₂₀ H ₃₈
9	35.376	0.62	Etil palmitato	284	C ₁₈ H ₃₆ O ₂
10	37.010	0.28	Ácido hexadecanóico, trimetilsilil ester	328	C ₁₉ H ₄₀ O ₂ Si
11	38.595	0.04	Biciclo[2.1.1]hexano-1-ol	98	C ₆ H ₁₀ O
12	38.707	0.15	(trans)-2-nonadeceno	266	C ₁₉ H ₃₈
13	38.933	50.06	2-hexadeceno-1-ol, 3,7,11,15-tetrametil-, [R-[R*,R*-	296	C ₂₀ H ₄₀ O
14	39.200	0.01	1R,3-cis-dietoxi-5-trans-metilciclohexano	186	C ₁₁ H ₂₂ O ₂
15	39.785	0.31	Palmitaldehído, diallil acetal	338	C ₂₂ H ₄₂ O ₂
16	40.420	0.09	Cyclooctano, etenil-	138	C ₁₀ H ₁₈

17	40.577	0.26	Metil 13,14-octadecadienoato 13,14-18:2	294	C ₁₉ H ₃₄ O ₂
18	40.595	0.30	Etil 9-hexadecenoato	282	C ₁₈ H ₃₄ O ₂
19	40.837	1.41	Fitol, trimetilsilil eter	368	C ₂₃ H ₄₈ OSi
20	41.486	0.27	Ácido nonadecanoico, etil ester	326	C ₂₁ H ₄₂ O ₂
21	42.034	6.00	Acetato de fitol	338	C ₂₂ H ₄₂ O ₂
22	57.466	2.77	Esqualeno	410	C ₃₀ H ₅₀
23	59.623	0.89	Octacosano	394	C ₂₈ H ₅₈
24	62.559	1.43	Gama.-Tocoferol	416	C ₂₈ H ₄₈ O ₂
25	63.985	0.13	n-Docosano	310	C ₂₂ H ₄₆
26	64.223	5.56	Vitamina E	430	C ₂₉ H ₅₀ O ₂
27	65.944	0.86	Delta.5-Ergostenol	400	C ₂₈ H ₄₈ O
28	66.489	3.25	Estigmasterol	412	C ₂₉ H ₄₈ O
29	67.741	17.18	Estigmasta-5-eno-3-ol, (3-β)-	414	C ₂₉ H ₅₀ O
30	68.152	0.92	β-sitosterol trimetilsilil eter	486	C ₃₂ H ₅₈ OSi
31	68.356	0.29	β-amirina	426	C ₃₀ H ₅₀ O
32	69.283	1.29	Metil commato D	486	C ₃₁ H ₅₀ O ₄

Fonte: Elaborada pelo autor

Os dados comparativos dos cromatogramas de CG-EM dos diferentes extratos de folha, indicam que o extrato acetato de etila foi o que melhor extraiu qualitativamente.

5.4.4 GC-EM DOS EXTRATOS EM DIFERENTES SOLVENTES DE DIFERENTES POLARIDADES DAS FLORES

O cromatograma de CG-EM do extrato clorofórmio, evidenciou vinte e oito picos (Figura 37), correspondente a vinte e oito compostos químicos (Tabela 13), dos quais os que apresentaram as maiores áreas (%) foram: Estigmasta-5-eno-3-ol, (3β,24S)- (5.36%), n-Pentacosano (50.45%), n-Hexacontano (17.85 %) e n-Triacontano (9.61%); quanto ao cromatograma de CG-EM do extrato diclorometano evidenciou trinta picos (Figura 38), correspondendo a trinta compostos químicos (Tabela 14), Os compostos que tiveram as maiores áreas (%) foram: Ácido 1,2-Benzenodicarboxílico,

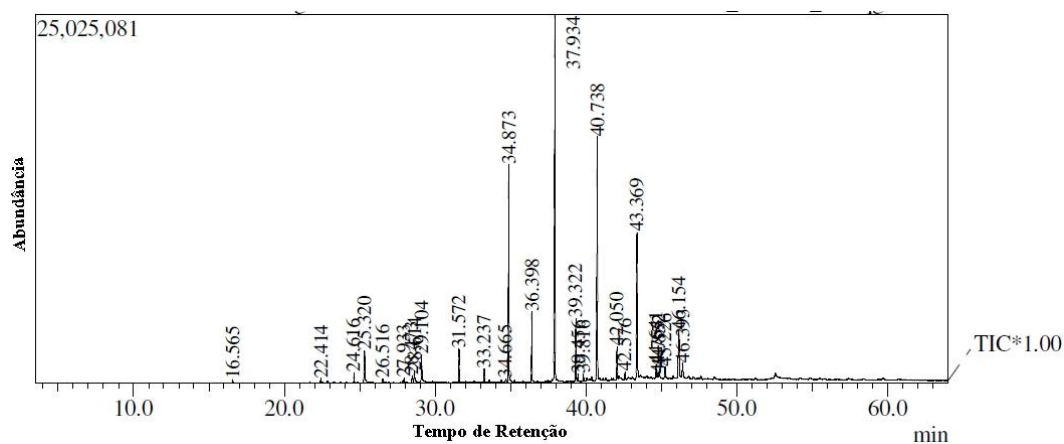
bis(2-etilhexil) ester (10.83%), n-Pentacosano (61.02%), n-Hexacontano (19.57%), n-Triacontano (13.27%); e o cromatograma de CG-EM do extrato em acetato de etila, evidenciou trinta e três picos (Figura 39), correspondendo a trinta e três compostos químicos (Tabela 15), sendo os de maiores áreas (%): Estigmasta-5-eno-3-ol, (3- β ,24S)- (6.13%); 25-Nor-9,19-ciclolanostano-24-ona, 3-acetoxi-24-fenil- (6.54%), n-Pentacosano (10.65%), n-Hexacosano (17.16%), n-Triacontano (34.53%).

2,4,4-trimetil-7-azabicyclo [4.1.0] heptano, Acacetina-7-glicosídeo e 25-Nor-9,19-ciclolanostano-24-ona e -3-acetoxi-24-fenil, foram identificada apenas no extrato em acetato de etila das flores de *A. imperatoris-maximilianii*. Decil-N-(metoxycarbonil)leucinato e 5,5-bis(heptilsulfanil)pentano1,2,3-triol foram identificados apenas no extrato clorofórmio das flores de *A. imperatoris-maximilianii*.

Neofitadieno, álcool oleico e trifluoracetato foram identificados apenas no extrato diclorometano das flores de *A. imperatoris-maximilianii*. O composto químico esqualeno foi identificado nos extratos de acetato de etila, diclorometano e clorofórmio das flores de *A. imperatoris-maximilianii*.

Vários compostos identificados neste estudo, tem atividades biológicas relatadas em plantas da família Bignoniaceae, tais como: antipirético, analgésico, antiinflamatório, antimicrobianos e antioxidantes. Os extractos em acetato de etila, clorofórmio e diclorometano das flores de *A. imperatoris-maximilianii* apresentou os mesmos metabolitos secundários encontrados em várias espécies desta família: esqualeno, estigmasta-5-eno-3-ol,(3- β)-, neofitadieno, lupeol , lupenona e estigmasterol.

Figura 37- Cromatograma evidenciando os picos e tempos de retenção dos compostos identificados no extrato clorofórmico das flores de *Adenocalymma imperatores-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann por CG-EM.



Fonte: Acervo do Autor

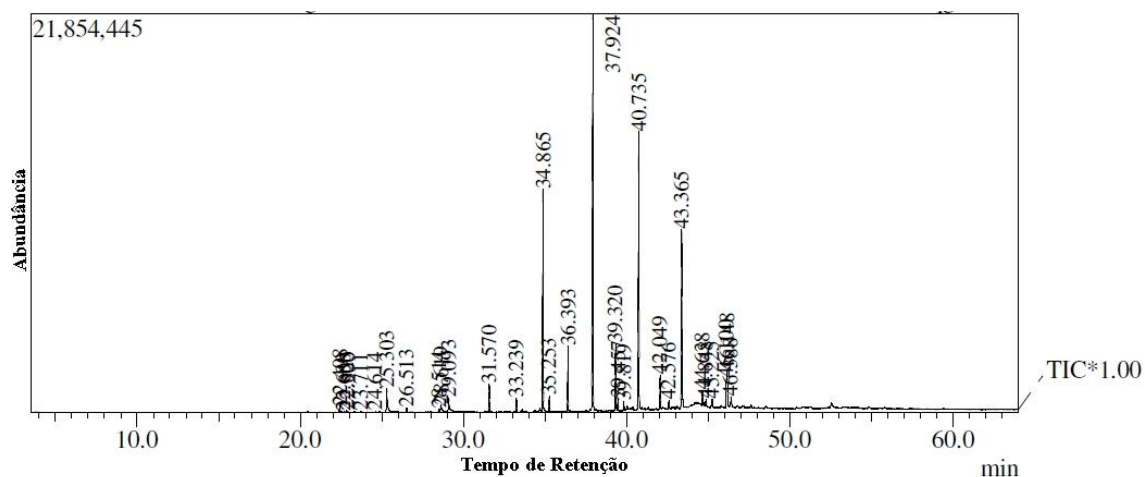
Tabela 13- Compostos identificados no extrato clorofórmico das flores de *Adenocalymma imperatores-maximilianii* (Wwara) L. G. Lohmann por CG-EM.

Pico	Tempo de retenção (min)	Área pico (%)	Nome compostos	Massa molecular	Formula molecular
1	16.565	0.18	l-Leucina, N-metoxycarbonil-, decil ester	329	C ₁₈ H ₃₅ NO ₄
2	22.414	0.28	Estearaldehido	268	C ₁₈ H ₃₆ O
3	24.616	0.53	Hexadecanoato metil-	270	C ₁₇ H ₃₄ O ₂
4	25.320	2.30	Ácido n-hexadecanoico	256	C ₁₆ H ₃₂ O ₂
5	26.516	0.20	Estearaldehido	268	C ₁₈ H ₃₆ O
6	27.933	0.24	Ácido 9,12,15-octadecatrienoico, metil ester, (Z,Z,Z)-	292	C ₁₉ H ₃₂ O ₂
7	28.473	0.50	Ácido octadecanoico, metil ester	284	C ₁₈ H ₃₆ O ₂
8	28.614	0.71	Metil-Linolenato	292	C ₁₉ H ₃₂ O ₂
9	29.104	1.71	Ácido octadecanoico	284	C ₁₈ H ₃₆ O ₂
10	31.572	1.81	n-Tetracosano	338	C ₂₄ H ₅₀
11	33.237	0.76	n-Tetracosano	338	C ₂₄ H ₅₀

12	34.665	0.13	d-Ribose, 2-deoxy-bis(thioheptil)-ditioacetal	380	C ₁₉ H ₄₀ O ₃ S ₂
13	34.873	13.78	n-Pentacosano	352	C ₂₅ H ₅₂
14	36.398	4.02	n-Pentacosano	352	C ₂₅ H ₅₂
15	37.934	28.86	n-Pentacosano	352	C ₂₅ H ₅₂
16	39.322	3.79	n-Pentacosano	352	C ₂₅ H ₅₂
17	39.456	0.40	Esqualeno	410	C ₃₀ H ₅₀
18	39.816	0.46	Ácido heptanoico, docosil ester	438	C ₂₉ H ₅₈ O ₂
19	40.738	17.85	Henicosano	366	C ₂₆ H ₅₄
20	42.050	1.87	n-Triacontano	422	C ₃₀ H ₆₂
21	42.576	0.42	Hexadecanal	240	C ₁₆ H ₃₂ O
22	43.369	9.61	n-Triacontano	422	C ₃₀ H ₆₂
23	44.641	0.79	n-Nonacosano	408	C ₂₉ H ₆₀
24	44.755	0.35	Estigmasta-5,24(28)-dieno-3-ol, (3β)	412	C ₂₉ H ₄₈ O
25	44.852	0.79	Campesterol	400	C ₂₈ H ₄₈ O
26	45.226	0.92	Estigmasta-5,22-dieno-3-ol, (3β,22E)	412	C ₂₉ H ₄₈ O
27	46.154	5.36	Estigmasta-5-eno-3-ol, (3β,24S)-	414	C ₂₉ H ₅₀ O
28	46.393	1.39	Fucosterol	412	C ₂₉ H ₄₈ O

Fonte: Elaborada pelo autor

Figura 38- Cromatograma evidenciando os picos e tempos de retenção dos compostos identificados no extrato diclorometano das flores de *Adenocalymma imperatores-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann por CG-EM.



Fonte: Acervo do Autor

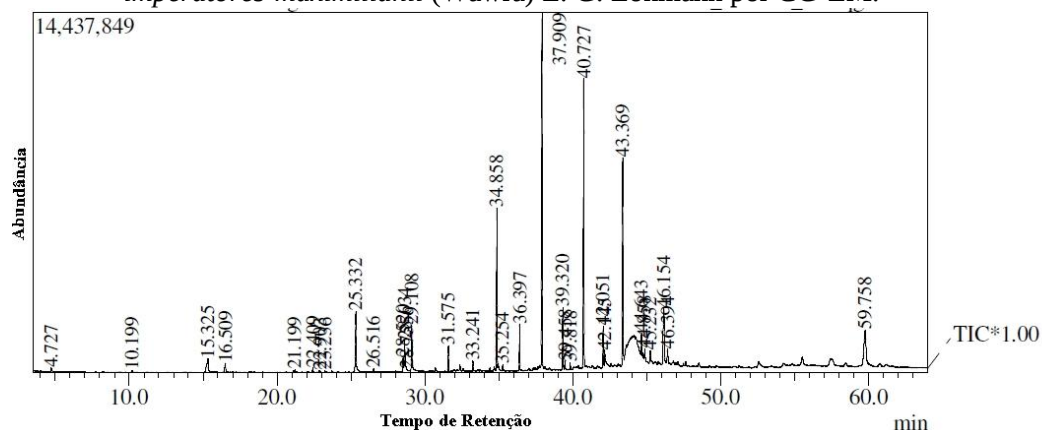
Tabela 14- Compostos identificados no extrato diclorometano das flores de *Adenocalymma imperatores-maximilianii* (Wwara) L. G. Lohmann por CG-EM.

Pico	Tempo de retenção (min.)	Área pico (%)	Compostos	Massa molecular	Fórmula molecular
1	22.408	0.42	Tetradecanal	212	C ₁₄ H ₂₈ O
2	22.680	0.02	Benzeno, 1-butilhexadecil	358	C ₂₆ H ₄₆
3	22.825	0.16	Neofitadieno	278	C ₂₀ H ₃₈
4	22.900	0.08	Hexahidrofarnesilacetona	268	C ₁₈ H ₃₆ O
5	23.711	0.10	Oleil álcool, trifluoroacetato	364	C ₂₀ H ₃₅ F ₃ O ₂
6	24.614	0.05	Ácido hexadecanoico, metil ester	270	C ₁₇ H ₃₄ O ₂
7	25.303	2.09	Ácido n-hexadecanoico	256	C ₁₆ H ₃₂ O ₂
8	26.513	0.26	Estearaldehido	268	C ₁₈ H ₃₆ O
9	28.514	0.14	Ácido 9,12-octadecadienoico (Z,Z)-	280	C ₁₈ H ₃₂ O ₂
10	28.619	0.50	Linolenato metil-	292	C ₁₉ H ₃₂ O ₂
11	29.093	1.08	Ácido octadecanoico	284	C ₁₈ H ₃₆ O ₂

12	31.570	1.52	n-Tetracosano	338	C ₂₄ H ₅₀
13	33.239	0.71	n-Tetracosano	338	C ₂₄ H ₅₀
14	34.865	13.27	n-Pentacosano	352	C ₂₅ H ₅₂
15	35.253	10.83	Ácido 1,2-benzenodicarboxílico, bis(2-etilhexil) éster	390	C ₂₄ H ₃₈ O ₄
16	36.393	3.73	n-Pentacosano	352	C ₂₅ H ₅₂
17	37.924	29.37	n-Pentacosano	352	C ₂₅ H ₅₂
18	39.320	3.82	n-Pentacosano	352	C ₂₅ H ₅₂
19	39.457	0.70	Esqualeno	410	C ₃₀ H ₅₀
20	39.819	0.47	Ácido heptanoico, docosil éster	438	C ₂₉ H ₅₈ O ₂
21	40.735	19.57	Henicosano	366	C ₂₆ H ₅₄
22	42.049	2.07	n-Triacontano	422	C ₃₀ H ₆₂
23	42.576	0.44	Estearaldehído	268	C ₁₈ H ₃₆ O
24	43.365	11.20	n-Triacontano	422	C ₃₀ H ₆₂
25	44.638	0.86	n-Triacontano	422	C ₃₀ H ₆₂
26	44.848	0.54	Ergosta-5-eno-3-ol, (3β)-ol	400	C ₂₈ H ₄₈ O
27	45.225	0.60	Trans-estigmasta-5,22-dieno-3β-Ol	412	C ₂₉ H ₄₈ O
28	46.100	1.75	n-hexatriacontano	507	C ₃₆ H ₇₄
29	46.148	2.88	Estigmasta-5-eno-3-ol, (3 β)-	414	C ₂₉ H ₅₀ O
30	46.388	0.76	Fucosterol	412	C ₂₉ H ₄₈ O

Fonte: Elaborada pelo autor

Figura 39- Cromatograma evidenciando os picos e tempos de retenção dos compostos identificados no extrato acetato de etila das flores de *Adenocalymma imperatores-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann por CG-EM.



Fonte: Acervo do Autor

Tabela 15- Compostos identificados no extrato em acetate de etila das flores de *Adenocalymma imperatores-maximilianii* (Wwara) L. G. Lohmann por CG-EM.

Pico	Tempo de retenção (min.)	Área do pico (%)	Compostos	Massa molecular	Fórmula molecular
1	4.727	0.16	1,2,3-propanetriol, monoacetato	134	C ₅ H ₁₀ O ₄
2	10.199	0.09	2-metoxi-4-vinilfenol	150	C ₉ H ₁₀ O ₂
3	15.325	1.76	Ácido benzoico, 4-hidroxi-	138	C ₇ H ₆ O ₃
4	16.509	0.74	Ácido benzoico, 4-hidroxi-3-metoxi-	168	C ₈ H ₈ O ₄
5	21.199	0.07	Benzeno, 1-metoxi-4-(2,2-dicianoetenil)	184	C ₁₃ H ₁₂ O
6	22.409	0.24	Tetradecanal	212	C ₁₄ H ₂₈ O
7	22.903	0.17	Fitona	268	C ₁₈ H ₃₆ O
8	23.236	0.08	Ácido fitalico, butil undecil ester	376	C ₂₃ H ₃₆ O ₄
9	25.332	4.15	Ácido hexadecanoico <n->	256	C ₁₆ H ₃₂ O ₂
10	26.516	0.16	Tetradecanal	228	C ₁₄ H ₂₈ O ₂
11	28.520	0.93	Ácido 9,12 octadecadienoico (Z,Z)-	280	C ₁₈ H ₃₂ O ₂

12	28.634	2.20	Linolenato <metil->	292	C ₁₉ H ₃₂ O ₂
13	28.755	0.21	7-azabicyclo[4.1.0]heptano, 2,4,4-trimetil-	139	C ₉ H ₁₇ N
14	29.108	2.71	Ácido octadecanoico	284	C ₁₈ H ₃₆ O ₂
15	31.575	1.26	n-Tetracosano	338	C ₂₄ H ₅₀
16	33.241	0.48	Heneicosano	310	C ₂₂ H ₄₆
17	34.858	8.27	n-Pentacosano	352	C ₂₅ H ₅₂
18	35.254	0.24	Ácido 1,2- benzenodicarboxílico, bis(2- etilhexil) ester	390	C ₂₄ H ₃₈ O ₄
19	36.397	2.38	n-Pentacosano	352	C ₂₅ H ₅₂
20	37.909	21.41	Triacotano	324	C ₂₃ H ₄₈
21	39.320	3.11 ₅₄	Henicosano	366	C ₂₆ H ₅₄
22	39.458	0.49	Esqualeno	410	C ₃₀ H ₅₀
23	39.818	0.29	1,3,5-Trisilaciclohexano	132	C ₃ H ₁₂ Si ₃
24	40.727	17.16	Henicosano	366	C ₂₆ H ₅₄
25	42.051	2.09	n-Triacotano	422	C ₃₀ H ₆₂
26	42.145	0.82	Acetina-7-glicosídeo	446	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₀
27	43.369	11.83	n-Triacotano	422	C ₃₀ H ₆₂
28	44.643	1.29	n-Triacotano	422	C ₃₀ H ₆₂
29	44.858	0.64	Ergosta-5-eno-3-ol, (3β)-	400	C ₂₈ H ₄₈ O
30	45.232	0.82	Estigmasta-5,22-dieno-3-ol, (3β,22E)-	412	C ₂₉ H ₄₈ O
31	46.154	6.13	Estigmasta-5-eno-3-ol, (3 β,24S)-	414	C ₂₉ H ₅₀ O
32	46.394	1.07	Fucosterol	412	C ₂₉ H ₄₈ O
33	59.758	6.54	25-nor-9,19-ciclolanostano- 24-one, 3-acetoxi-24-fenil-	518	C ₃₅ H ₅₀ O ₃

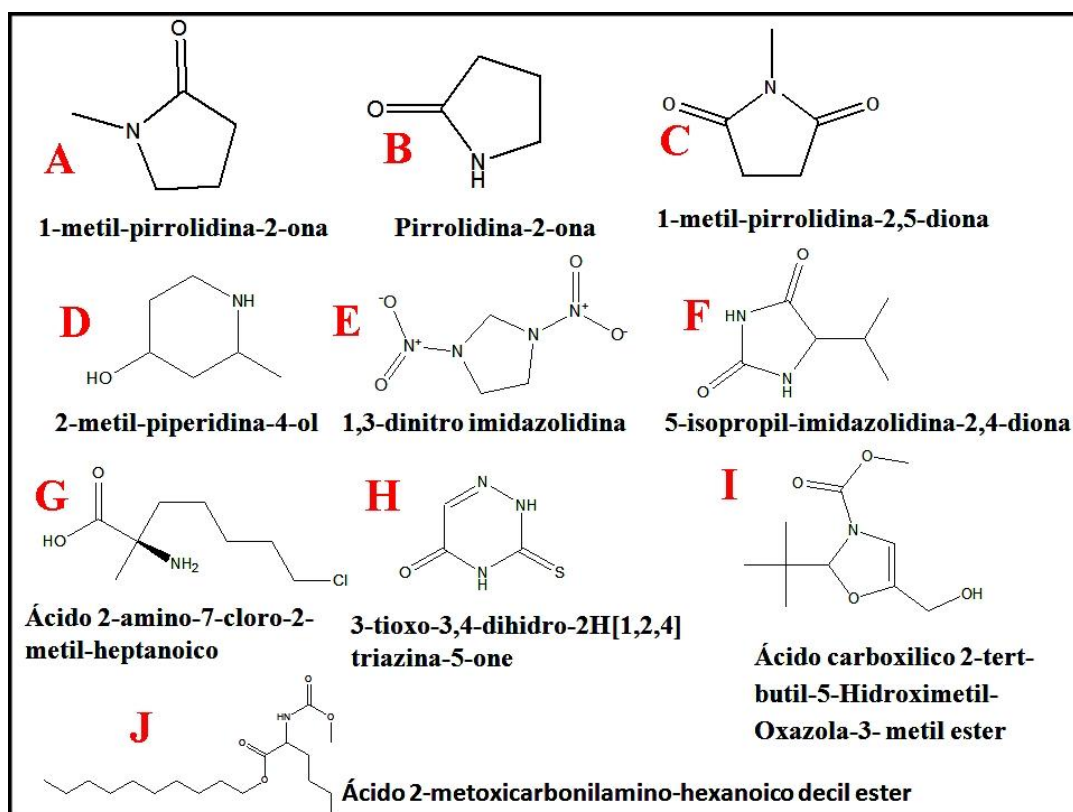
Fonte: Elaborada pelo autor

Os dados comparativos dos cromatogramas de CG-EM dos diferentes extratos da flor, indicam que o extrato em acetato de etila foi o que melhor extraiu qualitativamente. Obter mais informações no sobre o vírus da febre amarela discutir com relação as células

Os resultados encontrados em relação aos constituintes químicos de *Adenocalymma imperatoris-maximilianni*, estão de acordo com os encontrados na literatura para diversas plantas medicinais da família Bignoniaceae. Como exemplo, β -sitosterol no extrato em acetato de etila do cerne de *Dolichandrone falcata* (Wall. ex DC.) Seem, em extratos das cascas de caules e folhas de *Jacaranda caucana* Pittier, no extrato em diclorometano das cascas do caule de *Jacaranda filicifolia* D. Don, nos extratos das folhas de *Macfadyena unguis-cati* L., em extratos da casca do caule em acetato de etila de *Markhamia tomentosa* (Benth.) K. Schum (OGURA et al., 1976; PRAKASH & GARG, 1980; ALI et al., 1998; DUARTE et al., 2000; EYONG et al., 2006; APARNA et al., 2009; TANTANGMO et al., 2010). Lupenona é encontrada em extrato hexânico das cascas das raízes de *Jacaranda mimosifolia* D. Don (PRAKASH & GARG, 1980); β -sitosterilglucosídeo e Lupeol em extratos de *Macfadyena unguis-cati* L. (DUARTE et al., 2000).

Dentre as classes de metabólitos secundários, a mais rara e pouco estudada na família Bignoniaceae é a dos alcalóides (OLIVEIRA, 1990). No presente trabalho, foram identificados 10 alcalóides no extrato clorofórmico da raiz de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii*, o 1-metil-pirrolidina-2-ona (Figura 40 A), pirrolidina-2-ona (Figura 40 B), 1-metil-pirrolidina-2,5-diona (Figura 40 C), 2-metil-piperidina-4-ol (Figura 40 D), 1,3-dinitro imidazolidina (Figura 40 E), 5-isopropil-imidazolidina-2,4-diona (Figura 40 F), ácido 2-amino-7-cloro-2-metil-heptanoico (Figura 40 G), 3-tioxo-3,4-dihidro-2H[1,2,4] triazina-5-ona (Figura 40 H), ácido carboxílico 2-tert-butil-5-hidroximetil-oxazola-3- metil Ester (Figura 40 I) e ácido 2-metoxycarbonilamino-hexanoico decil ester (Figura 40 J), todas identificadas pela primeira vez para a família Bignoniaceae.

Figura 40 – Alcalóides identificados no extrato clorofórmico da raiz de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (Wawra) L.G.Lohmann, Bignoniaceae



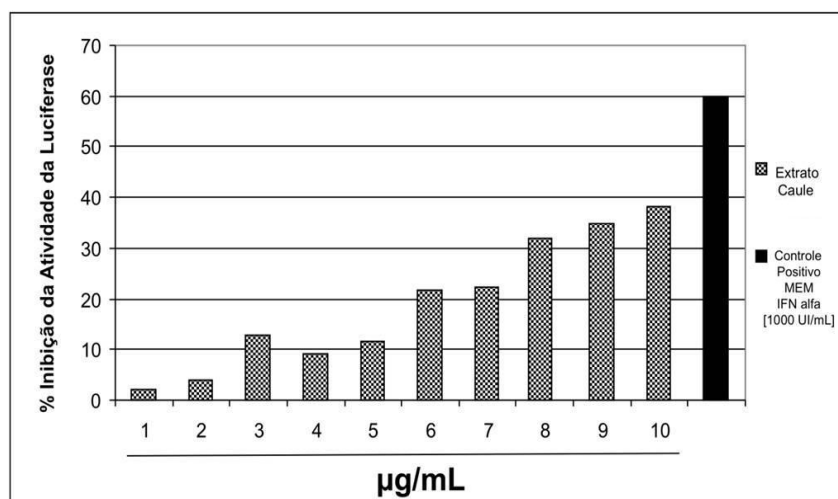
Fonte: Elaborada pelo autor

5.5 ATIVIDADES BIOLÓGICAS

5.5.1 ATIVIDADE ANTIVIRAL

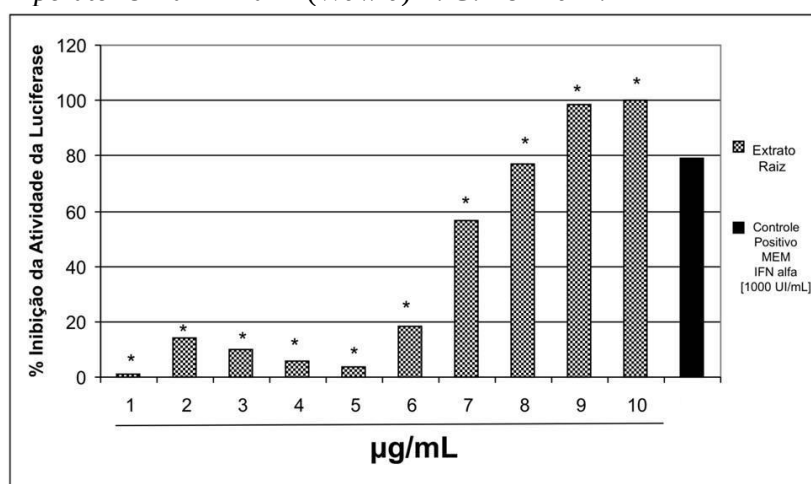
Os constituintes do extrato aquoso do caule (EAC) não foram citotóxicos em nenhuma das concentrações testadas, porém não apresentaram possível atividade antiviral, contra o vírus da febre amarela. Os constituintes dos extratos aquosos de raiz e folhas foram citotóxicos diretamente proporcionais às concentrações testadas, logo, as taxas de inibição da luciferase são devido à morte celular e não por ação de agente antiviral presente nos constituintes químicos dos extratos aquosos testados (Figura 41 a 43).

Figura 41- Avaliação da expressão do gene repórter luciferase em células BHK-21-rep-FA17D-LucNeoIres tratadas com 1 a 10µg/mL de extrato aquoso do caule de *Adenocalymma imperatoris-maximiliani* (Wawra) L. G. Lohmann.



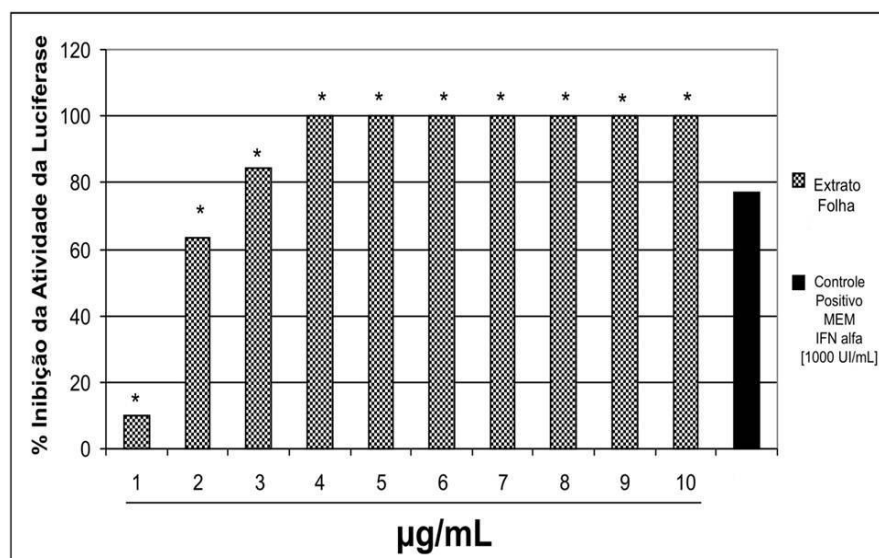
Fonte: Laboratório de virologia do Departamento de Virologia e Terapia Experimental do Centro de Pesquisa Ageu Magalhães–CpqAM/FIOCRUZ

Figura 42- Avaliação da expressão do gene repórter luciferase em células BHK-21-rep-FA17D-LucNeoIres tratadas com 1 a 10µg/mL de extrato aquoso da raiz de *Adenocalymma imperatoris-maximiliani* (Wawra) L. G. Lohmann.



Fonte: Laboratório de virologia do Departamento de Virologia e Terapia Experimental do Centro de Pesquisa Ageu Magalhães–CpqAM/FIOCRUZ

Figura 43- Avaliação da expressão do gene repórter luciferase em células BHK-21-rep-FA17D-LucNeoIres tratadas com 1 a 10µg/mL de extrato aquoso da folha de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann.



Fonte: Laboratório de virologia do Departamento de Virologia e Terapia Experimental do Centro de Pesquisa Aggeu Magalhães–CpqAM/FIOCRUZ

As amostras analisadas não inibiram 50% ou mais da atividade da luciferase quando não provocaram efeito citotóxico. Logo, isso indica que não há um possível efeito antiviral contra o vírus da febre amarela dentre os extratos naturais testados.

5.5.2 ATIVIDADE ANTIBACTERIANA

A escolha da metodologia de microdiluição em poços (CMI e CBM) foi devido às características dos extratos e pequenas quantidades a serem utilizadas para inibir o crescimento ou provocar a morte dos microrganismos avaliados, além de ser de baixo custo, ter reprodutibilidade, ser 30 vezes mais sensível que outros métodos usados na literatura, podendo ser usada para grande número de amostras e deixar um registro permanente, aliados a aspectos de extrema relevância como: toxicológicos e microbiológicos, quando se trabalha com extratos brutos naturais ou suas frações enriquecidas. A interpretação dos resultados obtidos nos testes de microdiluição (CIM e CBM) depende de vários parâmetros, quando se trata de extratos naturais, tais como: técnica aplicada, origem dos microrganismos, origem da planta, época de coleta, se os

extratos foram preparados a partir de plantas frescas ou secas, quantidade dos extratos testados (ELOFF, 1998; PINTO et al., 2003; FENNEL et al., 2004).

No presente estudo foi observado que a atividade antibacteriana dos extratos testados das raízes, caules e folhas de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii*, frente a *Staphylococcus aureus*, foram de moderada a forte. A CIM para os extratos foram de 32 a 1024 µg/mL frente às espécies Gram positivos testadas, sendo consideradas de forte a moderada, segundo Sartoratto et al. (2004), que consideram como atividade antibacteriana forte, valores de CIM entre 50 e 500 µg/mL; atividade moderada, para valores entre 600 e 1500 µg/mL e atividade fraca, para valores acima de 1500 µg/mL.

Comparando os resultados dos extratos brutos hexânicos e diclorometânico deste estudo, os quais apresentaram CIM de 32 a 1024 µg/mL das partes vegetativas de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* foram bem mais promissores, quando comparados com os resultados encontrados por Tresvenzol (2009) para *Memora nodosa* (= *Adenocalymma nodosum*), onde os melhores resultados foram obtidos com as frações em hexano (CIM de 390 µg/mL) e diclorometano (CIM de 390 µg/mL), obtidas das raízes diante de bactérias Gram-positivas.

Os extratos das raízes (extrato bruto hexânico da raiz – EBHR; extrato bruto clorofórmico da raiz – EBCR; extrato bruto diclorometânico da raiz - EBDR; extrato bruto em acetato de etila da raiz - EBAR), constituídos por terpenos, esteróides, derivados benzênicos, alcaloides e n-alkanos, apresentaram de forte a moderada inibição frente a *Staphylococcus aureus*, com valores estimados de CIM e CBM entre 512 a 1024 e 1024 µg/mL respectivamente (Tabela 16).

Tabela 16 – Atividade Antibacteriana dos Extratos de Raiz de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (Wawra) L.G.Lohmann, Bignoniaceae

Cepas Testadas	Concentração Inibitória Mínima / Concentração Bactericida Mínima (µg/mL)				
	EBHR	EBCR	EBDR	EBAR	OXA
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25293	1024/1024	1024/1024	1024/1024	1024/1024	0,12 / 0,25
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 33591	1024/1024	1024/1024	1024/1024	1024/1024	64/128
<i>Staphylococcus aureus</i> AM 04	1024/1024	1024/1024	1024/1024	1024/1024	1,0/1,0
<i>Staphylococcus aureus</i> AM 13	1024/1024	1024/1024	1024/1024	1024/1024	256/512
<i>Staphylococcus aureus</i> AM 18	1024/1024	1024/1024	1024/1024	1024/1024	256/256
<i>Staphylococcus aureus</i> AM 19	1024/1024	1024/1024	1024/1024	1024/1024	16/32
<i>Staphylococcus aureus</i> AM 20	1024/1024	1024/1024	1024/1024	1024/1024	8,0 / 16
<i>Staphylococcus aureus</i> AM 21	1024/1024	1024/1024	1024/1024	1024/1024	16/16
<i>Staphylococcus aureus</i> AM 24	1024/1024	1024/1024	1024/1024	1024/1024	256/256
<i>Staphylococcus aureus</i> IC 17	1024/1024	1024/1024	1024/1024	512/1024	256/256

American Type Culture Collection - ATCC; Extrato Bruto Hexânico da Raiz - EBHR; Extrato Bruto Clorofórmico da Raiz - EBCR; Extrato Bruto Diclorometânico da Raiz - EBDR; Extrato Bruto em Acetato de Etila da Raiz - EBAR; Oxacillina OXA;

Fonte: Elaborada pelo Autor.

Os extratos do caule (extrato bruto hexânico do caule - EBHC; extrato bruto clorofórmico do caule - EBCC; extrato bruto diclorometânico de caule - EBDC; extrato bruto em acetato de etila - EBAC) também apresentaram constituintes químicos como: terpenos, esteroides, derivados benzênicos e n-alcanos, apresentaram forte a moderada inibição sobre *Staphylococcus aureus*, com valores estimados de CIM e CBM entre 512 a 1024 e 1024µg/mL respectivamente frente as bactérias testadas (Tabela 17).

Tabela 17 – Atividade Antibacteriana dos Extratos do Caule de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (Wawra) L.G.Lohmann, Bignoniaceae

Cepas Testadas	Concentração Inibitória Mínima / Concentração Bactericida Mínima (µg/mL)				
	EBHC	EBCC	EBDC	EBAC	OXA
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25293	512/1024	1024/1024	512/1024	1024/1024	0,12 / 0,25
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 33591	1024/1024	1024/1024	1024/1024	1024/1024	64/128
<i>Staphylococcus aureus</i> AM 04	512/1024	512/1024	1024/1024	1024/1024	1,0/1,0
<i>Staphylococcus aureus</i> AM 13	1024/1024	1024/1024	1024/1024	1024/1024	256/512
<i>Staphylococcus aureus</i> AM 18	1024/1024	1024/1024	512/1024	1024/1024	256/256
<i>Staphylococcus aureus</i> AM 19	512/1024	1024/1024	1024/1024	1024/1024	16/32
<i>Staphylococcus aureus</i> AM 20	1024/1024	1024/1024	1024/1024	1024/1024	8,0 / 16
<i>Staphylococcus aureus</i> AM 21	1024/1024	1024/1024	1024/1024	1024/1024	16/16
<i>Staphylococcus aureus</i> AM 24	1024/1024	1024/1024	1024/1024	1024/1024	256/256
<i>Staphylococcus aureus</i> IC 17	1024/1024	1024/1024	1024/1024	1024/1024	256/256

American Type Culture Collection - ATCC; Extrato Bruto Hexânico do Caule - EBHC; Extrato Bruto Clorofórmico do Caule - EBCC; Extrato Bruto Diclorometânico do Caule - EBDC; Extrato Bruto em Acetato de Etila do Caule - EBAC; Oxacillina OXA;

Fonte: Elaborada pelo Autor.

Os extratos das folhas (extrato bruto hexânico de folhas – EBHF; extrato bruto clorofórmico de folha – EBCF; extrato bruto diclorometânico de folhas - EBDF e extrato bruto em acetato de etila de folha - EBAF) os quais, são constituídos quimicamente por: terpenos, esteróides, derivados benzênicos e n-alcanos, apresentaram forte a moderada inibição frente à *Staphylococcus aureus*, onde os valores de CIM e CBM de 32 a 1024 e 32 a 1.024µg/mL (Tabela 18).

Tabela 18 – Atividade Antibacteriana dos Extratos da Folha de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (Wawra) L.G.Lohmann, Bignoniaceae

Cepas Testadas	Concentração Inibitória Mínima / Concentração Bactericida Mínima (µg/mL)				
	EBHF	EBCF	EBDF	EBAF	OXA
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25293	128/128	128/128	1024/1024	1024/1024	0,12 / 0,25
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 33591	512/512	1024/1024	1024/1024	1024/1024	64/128
<i>Staphylococcus aureus</i> AM 04	32/32	32/64	1024/1024	1024/1024	1,0/1,0
<i>Staphylococcus aureus</i> AM 13	64/128	128/256	1024/1024	1024/1024	256/512
<i>Staphylococcus aureus</i> AM 18	64/128	128/256	1024/1024	1024/1024	256/256
<i>Staphylococcus aureus</i> AM 19	256/512	256/512	1024/1024	1024/1024	16/32
<i>Staphylococcus aureus</i> AM 20	128/256	1024/1024	1024/1024	1024/1024	8,0 / 16
<i>Staphylococcus aureus</i> AM 21	512/512	1024/1024	1024/1024	1024/1024	16/16
<i>Staphylococcus aureus</i> AM 24	256/256	256/512	1024/1024	1024/1024	256/256
<i>Staphylococcus aureus</i> IC 17	1024/1024	1024/1024	1024/1024	1024/1024	256/256

American Type Culture Collection - ATCC; Extrato Bruto Hexânico da Folha - EBHF; Extrato Bruto Clorofórmico da Folha – EBCF; Extrato Bruto Diclorometânico da Folha – EBDF; Extrato Bruto em Acetato de Etila da Folha – EBAF; Oxacillina OXA;
 Fonte: Elaborada pelo Autor.

A fração aquosa enriquecida da raiz constituída por flavonóides (FAER) e a substância purificada do extrato metanólico da raiz (SPEMR) apresentaram inibição de forte a moderada sobre *Staphylococcus aureus*, com valores de CIM e CBM para FAER de 256 e 256µg/mL e para a CIM e CBM de SPEMR foi de 1024 e 1024 µg/mL (Tabela 19).

Tabela 19 – Atividade Antibacteriana da Fração Aquoso Enriquecido da Raiz (FAER) e Substância Purificada do Extrato Metanólico da Raiz (SPEMR) de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (Wawra) L.G.Lohmann, Bignoniaceae.

Cepas Testadas		Concentração Inibitória Mínima / Concentração Bactericida Mínima (µg/mL)		
		FAER	SPEMR	OXA
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25293		256/256	1024/1024	0,12 / 0,25
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 33591		256/256	1024/1024	64/128
<i>Staphylococcus aureus</i> AM 04		256/256	1024/1024	1,0/1,0
<i>Staphylococcus aureus</i> AM 13		256/256	1024/1024	256/512
<i>Staphylococcus aureus</i> AM 18		256/256	1024/1024	256/256
<i>Staphylococcus aureus</i> AM 19		256/256	1024/1024	16/32
<i>Staphylococcus aureus</i> AM 20		256/256	1024/1024	8,0 / 16
<i>Staphylococcus aureus</i> AM 21		256/256	1024/1024	16/16
<i>Staphylococcus aureus</i> AM 24		256/256	1024/1024	256/256
<i>Staphylococcus aureus</i> IC 17		256/256	1024/1024	256/256

American Type Culture Collection - ATCC; Fração Aquoso Enriquecido da Raiz - FAER; Substância Purificada do Extrato Metanólico da Raiz – SPEMR; Oxacillina OXA;

Fonte: Elaborada pelo Autor

Comparando os resultados com os encontrados por Tresvenzol (2009) para *Memora nodosa* (= *Adenocalymma nodosum*), onde os melhores resultados foram obtidos com as frações hexânicas (CIM de 390 µg/mL) e diclorometânicas (CIM de 390 µg/mL) obtidas das raízes e o óleo essencial, que apresentou CIM de 0,78 mg/mL a 1560 µg/mL contra bactérias Gram-positivas e 1560 µg/mL a 3120 µg/mL contra bactérias Gram-negativas. Com isso, os resultados obtidos para *A. imperatoris-maximilianii*, usando-se extratos aquosos, foram bem mais significativos, obtendo-se valores de CIM 32 a 1024 µg/mL contra bactérias Gram positivas.

Os microrganismos testados, *S. aureus*, foram selecionados por apresentarem maior prevalência em resistência bacteriana hospitalar e por serem recomendados como microrganismos padrões para testes de suscetibilidade antimicrobiana, sendo responsáveis por várias formas de infecções em humanos e por adquirirem, com mais frequência, resistência aos antimicrobianos (OPLUSTIL et al., 2010; ANVISA, 2010).

Os melhores resultados antibacterianos foram observados tanto para os extratos brutos hexânico e clorofórmico das folhas, bem como para a fração aquoso enriquecida da raiz e substância purificada do extrato metanólico da raiz de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii*, com valores de CIM entre 32 e 1024 µg/mL, para todas as bactérias testadas. Diferentes pesquisadores revelaram que a eficácia da atividade antimicrobiana de extratos vegetais brutos, pode ser devido à interação dos diferentes compostos químicos presentes nas plantas, e não pela atividade de compostos isolados, o que pode explicar estes resultados (RIOS et al., 1987; BIRDI et al., 2010). Esta CIM caracteriza uma forte a moderada atividade antibacteriana (FABRY et al. 1998; SARTORATTO et al. 2004), o que é particularmente interessante quanto à ação sobre *S. aureus* multirresistentes e sensíveis, já que a disseminação de cepas de *Staphylococcus aureus* resistente a oxacilina tem sido frequentemente relatada em todo o mundo, provocando um aumento de custos associados à infecções causadas por estes microrganismos em hospitais, onde decorrem de internação prolongada, necessidade de antimicrobianos mais caros e gastos indiretos com medidas de controle da infecção (ROSSI e ANDREAZZI, 2005; VINCENT et al. 2009; PADOVESE et al. 2010).

As atividades antibacterianas das espécies *Bidens pilosa* L., *Bixa orellana* L., *Cecropia peltata* L., *Cinchona officinalis* L., *Gliricidia sepium* H.B. & K, *Jacaranda mimosifolia* D.Don, *Justicia secunda* Vahl., *Piper pulchrum* C.DC, *P. paniculata* L. e *Spilanthes americana*, pertencentes a família Bignoniaceae frente à *Staphylococcus aureus*, são atribuídas aos constituintes químicos dos extratos hexânicos, etanólicos e aquosos das folhas (ROJAS et al., 2006). Este trabalho corrobora com os resultados observados neste estudo, com relação aos constituintes químicos do extrato hexânico das folhas de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii*, o qual apresentou inibição moderada a forte, frente à *Staphylococcus aureus* Multiresistente e Multissensíveis.

Al-Azzawi et al. (2012) demonstraram a atividade antimicrobiana frente á bactérias Gram-positivas e Gram-negativas do extrato alcoólico e aquoso e do alcalóide tecomina isolado de *Tecoma stans*. No presente estudo, constituintes químicos da classe dos alcalóides fazem parte dos metabólitos secundários presentes no EBCR, o que poderia explicar a atividade frente à *Staphylococcus aureus*.

Como exemplo do uso de plantas da família Bignoniaceae contra *S. aureus* resistentes, o ipê roxo *Tabebuia avellaneda* Lorentz ex Griseb, é usado na medicina

popular da América Central e América do Sul para tratar as infecções causadas por agentes bacterianos (PEREIRA et al. 20006).

Constituintes químicos com atividades antibacterianas relatadas para as espécies da família Bignoniaceae (MBOSSO et al., 2008; OFORI-KWAKYE et al., 2009) foram identificados nas raízes, caules e folhas de *Adenocalymma imperatoris-maximiliani*, são eles: β -sitosterol e seus esteres, β -amirina. Lupeol, Lupenona, Esqualeno, Neofitadieno, n-alcanos, Ácido oleico, Ácidos benzenicos, justificando a inibição antibacteriana observada neste estudo.

Assim, as atividades antibacterianas observadas pela ação dos constituintes químicos dos extratos das raízes, caules e folhas de *Adenocalymma imperatoris-maximiliani* extraídos utilizando-se diferentes solventes de polaridades crescentes (hexano, clorofórmio, diclorometano e acetato de etila), assim como frações enriquecidas e substância purificada a partir de extratos polares (aquoso e metanólico) de raízes, demonstraram a sua ação antibacteriana diante de *Staphylococcus aureus*.

Devido ao aumento crescente da frequência de *S. aureus* resistentes à *Staphylococcus aureus* oxacilina resistente-SAOR/*Staphylococcus aureus* multirresistente-SAMR dado preocupante por trata-se de isolados provenientes de pacientes hospitalizados, tornam importante o desenvolvimento de novas drogas com atividade antiestafilocócicas e, nesse contexto, os extratos brutos e enriquecidos das partes vegetativas de *Adenocalymma imperatoris-maximiliani* mostraram potencial para obtenção de moléculas bioativas, que poderiam ser utilizadas como alternativa terapêutica.

Todos os resultados deste estudo são as primeiras contribuições para o conhecimento da ação antibacteriana dos constituintes químicos dos extratos da espécie estudada.

5.5.3 ATIVIDADE CITOTÓXICA

O teste de citotoxicidade *in vitro* em culturas de células tumorais tem se tornado importante para avaliação de agentes anticâncer, sendo também muito utilizado como método alternativo aos testes farmacológicos em órgãos isolados, e tem, pelo menos

durante a fase de *screening* para avaliação de agentes anticânceres, reduzindo a experimentação *in vivo* em animais (HAMBURGUER; HOSTETTIMANN, 1991; CINGI et al.,1991).

Os extratos brutos metanólicos testados na concentração de 50 µg/mL não apresentaram citotoxicidade conforme a Tabela 20. No presente estudo os resultados obtidos quanto á citotoxicidade frente ás linhagens de células tumorais (MCF-7, NCI-H292, HL-60, HEP-2) foram muito baixos. Um extrato bruto só pode ser considerado citotóxico, quando os parâmetros que incluem alteração do metabolismo e ou morte celular são observados (FRESHNEY, 1994; KEAWPRADUB et al.,1999). Estudos futuros são necessários para testar frações enriquecidas e substâncias isoladas em diferentes linhagens de células tumorais.

Tabela 20- Teste de Citotóxicidade do Extrato Metanólico da Raiz de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann diante de Linhagens de Células Tumorais (MCF-7, NCI-H292, HL-60, HEP-2).

Produtos teste	% de inibição							
	MCF-7	SEM	NCI-H292	SEM	HL-60	SEM	HEP-2	SEM
Extrato bruto raiz	28,81	2,74	0,00	0,00	29,33	3,13	3,65	0,00
Extrato bruto caule	8,20	0,00	14,66	2,24	19,16	0,00	10,67	0,00
Extrato bruto folha	24,28	0,08	0,36	4,46	41,90	2,75	25,10	0,69

SEM = Erro Médio Padrão NCI-H292 (carcinoma mucoepidermoide de pulmão humano); HEP-2 (carcinoma de laringe humana); HL-60 (leucemia promielocítica aguda); MCF-7 (câncer de mama humano).

Fonte: Elaborada pelo Autor

Este estudo reforça a perspectiva de que os constituintes químicos a serem isolados em estudos futuros desta espécie *A. imperatoris-maximilianii*, identificados em análise fitoquímica neste trabalho, podem ser considerados potenciais agentes citotóxicos: Lupeol, Esqualeno, Gamma-tocoferol, Estigmasterol, Lupenona. Estes compostos são relatados na literatura como agentes antitumorais. Como por exemplo,

Saleen (2009) avaliou os efeitos anticancerígenos do constituinte químico Lupeol, também identificado para *Adenocalymma imperatoris-maximilianii*.

Os resultados de citotóxicidade obtidos com os extratos brutos das partes vegetativas de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann foram considerados baixos segundo a literatura para as linhagens de células tumorais testadas, no entanto diante da indentificação química de compostos com potencial anticancerígenos existente na espécie estudada, podemos aprofundar os estudos como uma fonte promissora de moléculas bioativas, como alternativa terapêutica para testes de citotoxicidade frente a diferentes linhagens de células tumorais. Sendo estes resultados, os primeiros relatos de testes de citotoxicidade para a espécie.

6 CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos nos ensaios realizados no presente trabalho, conclui-se que:

- As características morfoanatômica de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (Wawra) L.G.Lohmann são condizentes para o enquadramento taxonômico da mesma no Gênero *Adenocalymma*.
- Os testes histoquímicos evidenciaram que os fenóis totais, amido e lipídeos totais encontram-se no mesofilo e cutícula foliolar.
- A prospecção fitoquímica preliminar evidenciou que as principais classes de metabólitos secundários, são: flavonóides, derivados cinâmicos, açúcares redutores, taninos, esteróides/triterpenos, cumarinas e saponinas, que estão de acordo com as classes encontradas para as espécies da família Bignoniaceae.
- Na análise dos extratos das raízes, caules e folhas de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (Wawra) L.G.Lohmann, em diferentes solventes realizadas por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM), foram evidenciados constituintes químicos que apresentam diferentes atividades biológicas comprovadas na literatura, como lupeol, lupenona, β -sitosterol, β -amirina, esqualeno, neofitadieno, estigmasterol, dentre outros.
- No extrato clorofórmico da raiz de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (Wawra) L.G.Lohmann foram identificados dez alcalóides, representando a primeira ocorrência dos mesmos para a família Bignoniaceae.
- O flavonóide acacetina-7-glicosídeo foi identificado apenas no extrato em acetato de etila das flores de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (Wawra) L.G.Lohmann.
- Os extratos aquosos da raiz de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (Wawra) L.G.Lohmann não apresentaram atividade antiviral frente ao vírus da febre amarela, quando não foram citotóxicos.
- Os extratos em diferentes solventes (hexano, clorofórmio, diclorometano e acetato de etila) das raízes, caules e folhas, bem como a fração aquoso

enriquecido da raiz e a substância purificada do extrato metanólico da raiz, apresentaram de forte a moderada inibição frente a *Staphylococcus aureus* multirresistentes e multisensíveis.

- Os extratos brutos metanólicos das partes vegetativas de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (Wawra) L.G.Lohmann não apresentaram atividade citotóxicas frente às linhagens tumorais MCF-7, NCI-H292, HL-60, HEP-2.

REFERÊNCIAS

- AGUILAR-SANTAMARÍA, L.; RAMÍREZ, G.; NICASIO, P.; ALEGRÍA-REYES, C.; HERRERA-ARELLANO, A. Antidiabetic activities of *Tecoma stans* (L.) Juss. ex Kunth. **Journal of Ethnopharmacology**, 124: p. 284-288, 2009.
- AL-AZZAWI, A. M.; AL-KHATEEB, E.; AL-SAMERAEI, K.; AL-JUBOORI, A. G. Antibacterial activity and the histopathological study of crude extracts and isolated tecomine from *Tecoma stans* Bignoniaceae in Iraq. **Pharmacognosy Research**. v. 4, n.1, p. 37-43, 2012.
- ALGUACIL, L. F.; GALÁN DE MERA, A.; GÓMEZ, J.; LLINARES, F.; MORALES, L.; MUNOZ-MINGARRO, M. D.; POZUELO, J. M.; VICENTE ORELLANA, J. A. *Tecoma sambucifolia*: anti-inflammatory and antinociceptive activities, and 'in vitro' toxicity of extracts of the 'huarumo' of Peruvian Incas. **Journal of Ethnopharmacology**, 70: p. 227-233, 2000.
- ALI, R. M.; HOUGHTON, P. J. A new phenolic fatty acid ester with lipoxygenase inhibitory activity from *Jacaranda filicifolia*. **Planta Medica**, 65: p. 455-457, 1999.
- ALI, R. M.; HOUGHTON, P. J.; HOO, T. S. Antifungal activity of some Bignoniaceae family found in Malaysia. **Phytotherapy Research**, 12: p. 331-334, 1998.
- ALEY, D. S.; SHEMAKER, R. H.; PAULL, K. D.; MONKS, A.; TIERNEY, S.; NOFZIGER, T. H.; CURRENS, M. J.; SENIFF, D.; Michael R. BOYD, M. R. Evaluation of a Soluble Tetrazolium/Formazan Assay for Cell Growth and Drug Sensitivity in Culture Using Human and Other Tumor Cell Lines. **Cancer Research**, v. 48, p. 589- 601, 1988.
- APARNA, P.; TIWARI, A. K.; SRINIVAS, P. V.; ALI, A. Z.; ANURADHA, V.; RAO, J. M. Dolichandroside A, a new α -glucosidase inhibitor and DPPH free-radical scavenger from *Dolichandrone falcata* Seem. **Phytotherapy Research**, 23: p. 591-596, 2009.
- ASSIS, M. A.; SCUDELLER, V. V.; SEMIR, J. Flórula Fanerogâmica da Planície Litorânea de Picinguaba, Ubatuba/SP: Bignoniaceae Juss. **Naturalia** 25: p. 77-103, 2000.

BACHEREAU, F.; MARIGO, G. Effect of solar radiation (UV and visible) at high altitude on CAM-cycling and phenolic compound biosynthesis in *Sedum album*. **Asta J. Physiol. Plant.**, v. 104, p. 203-210, 1998.

BALASUBRAMANIAN, T.; CHATERJEE, T. K.; SARKAR, M.; MEENA, S. L. Anti-inflammatory effect of *Stereospermum suaveolens* ethanol extract in rats. **Pharmaceutical Biology**, 48: p. 318-323, 2010.

BASTOS, M. L.; LIMA, M. R.; CONSERVA, L. M.; ANDRADE, V. S.; ROCHA, E. M.; LEMOS, R. P. Studies on the antimicrobial activity and brine shrimp toxicity of *Zeyheria tuberculosa* (Vell.) Bur. (Bignoniaceae) extracts and their main constituents. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, 8: p. 16, 2009.

BENTHAM G. Bignoniaceae, In: Bentham G & Hooker JD (eds.) *Genera plantarum*, vol. 2, part 2, p. 1026–1053, London: **Lovell Reeve**, 1876.

BINUTU, O. A.; LAJUBUTU, B. A. Antimicrobial potentials of some plant species of the Bignoniaceae family. **African Journal of Medicine and Medical Sciences**. v. 23, n. 3, p. 269-273. 2004.

BIRDI, T.; DASWANI, P.; BRIJESH, S.; TETALI, P.; NATU, A.; ANTIA, N. Newer insights into the mechanism of action of *Psidium guajava* L. leaves in infectious diarrhea. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 10, p. 33, 2010.

BLATT, C. T. T.; DOS-SANTOS, M. D.; SALATINO, A. Flavonoids of Bignoniaceae from the “cerrado” and their possible taxonomic significance. **Plant Systematics and Evolution**, 210: p. 289-292, 1998.

BOTION, L. M.; FERREIRA, A. V.; CÔRTEZ, S. F.; LEMOS, V. S.; BRAGA, F. C. Effects of the Brazilian phytopharmaceutical product Ierobina on lipid metabolism and intestinal tonus. **Journal of Ethnopharmacology**, 102: p. 137-142, 2005.

BRANDÃO, G. C.; KROON, E. G.; SANTOS, J. R.; STEHMANN, J. R.; LOMBARDI, J. A.; OLIVEIRA, A. B. O. Antiviral activities of plants occurring in the

state of Minas Gerais, Brazil. Part2. Screening Bignoniaceae species. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 20, n. 5, p. 742-750, 2010.

BRASIL Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos/ Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. – Brasília: **Ministério da Saúde**, 2009.

BRUMMITT, R. K. Report of the Committee for Spermatophyta: 52. **Taxon** **50**: p. 1179–1182, 2001.

BRYANT, J. P.; CHAPIN III, F. S.; KLEIN, D. R. Carbon/nutrient balance of boreal plants in relation to vertebrate herbivory. **Oikos**, v. 40, p. 357-368, 1983.

BUREAU E. Valeur des caracteres tires de la structure de la tige, pour le classification des Bignoniacées. **Bulletin de la Société Botanique de France** 19: p. 14–20, 1872.

BUREAU, E.; SCHUMANN, K. *Adenocalymma*, In: **Martius CFP & Eichler AG (eds.) *Flora Brasiliensis***, vol. 8, part 2, p. 85–120, Lipsiae [Leipzig]: Frid. Fleischer, 1896.

BUREAU, E.; SCHUMANN, K. Bignoniaceae. **Flora Brasiliensis**, v. 8, n. 2, p. 2-298, 1897.

BUTLER, M. S, Natural products to drugs: natural product-derived compounds in clinical trials. **Natural Product Reports**, v. 25, p. 475-516, 2008.

BYEON, S. E.; CHUNG, J. Y.; LEE, Y. G.; KIM, B. H.; KIM, K. H.; CHO, J. Y. *In vitro* and *in vivo* antiinflammatory effects of taheebo, a water extract from the inner bark of *Tabebuia avellanedae*. **Journal of Ethnopharmacology**, 119: p. 145-152, 2008.

CALIXTO, J. B. Efficacy, safety quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). **Brazilian Journal and Biological Research**, n. 33, p. 179-189, 2000.

CECHINEL FILHO, V. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. **Química Nova.**, v. 21, n.1, 1998.

CHANDRASHEKHAR, V. M.; MUCHANDI, A. A.; SUDI, S. V.; GANAPTY, S. Hepatoprotective activity of *Stereospermum suaveolens* against CCl₄-induced liver damage in albino rats. **Pharmaceutical Biology**, 48: p. 524-528, 2010.

CHING, F. P.; OMOGBAI, E. K.; OKPO, S. O.; OZOLUA, R. I. Antiinflammatory activity of aqueous extract of *Stereospermum kunthianum* (Cham, Sandrine Petit) stem bark in rats. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, 71: p. 106-110, 2009a.

CHING, F. P.; OMOGBAI, E. K.; OTOKITI, I. O. Aqueous stem bark extract of *Stereospermum kunthianum* (Cham, Sandrine Petit) protects against generalized seizures in pentylenetetrazole and electro-convulsive models in rodents. **African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines**, 6: p. 544-548, 2009c.

CHING, F.P.; OMOGBAI, E. K.; OZOLUA, R. I.; OKPO, S. O. Analgesic activity of aqueous extract of *Stereospermum kunthianum* (Cham, Sandrine Petit) stem bark. **Acta Poloniae Pharmaceutica**, 66: p. 83-88, 2009b.

CHISHOLM, M. J.; HOPKINS, C. Y. Isolation and structure of a new conjugated triene fatty acid. **Journal of Organic Chemistry**, 27: p. 3137-3139, 1962.

CHOUDHURY, S. I. S.; DATTA, S.; TALUKDAR, A. D.; CHOUDHURY, M. DUT T. A. Phytochemistry of the Family Bignoniaceae- A review. Assam University, **Journal of Science & Technology**, n. 1, v. 7, p. 145-150, 2011.

CHOUDHURY, S.; DATTA, S. A.; Das TALUKDAR, A.; CHOUDHURY, M. D. Phytochemistry of the Family Bignoniaceae- A review, Assam University Journal of

Science & Technology: **Biological and Environmental Sciences**, Vol. 7 Number I, p. 145-150, 2011.

CHULASIRI, M.; BUNYAPRAPHATSARA, N.; MOONGKARNDI, P. Mutagenicity and antimutagenicity of hispidulin and hortensin, the flavonoids from *Millingtonia hortensis* L. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, 20: p. 307-312, 1992.

CINGI, M. R.; DE ANGELIS, I.; FORTUNATI, E. Choice and standardization of test protocols in cytotoxicology: a multicentre approach. **Toxicology in vitro**, v. 5, p. 119-125, 1991.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE; **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing**; Twenty-Second Informational Supplement M100-S22, Vol. 32 No. 3, Wayne, PA: CLSI, 2012.

COLEY, P. D.; BRYANT, J. P.; CHAPIN, F. S. Resource availability and plant antiherbivore defense. **Science**, New York, v. 230, n. 4728, p. 895-899, 1985.

CONFORTI, F.; G. IOELE,; G. STATTI,; M. MARRELLI,; G. RANGO,; F. MENICHINI Anti-proliferative activity against human tumour cell lines and toxicity test on Mediterranean dietary plants. **Food and chemical toxicology**. 46, p. 3325-3332, 2008.

CORREA, J. E.; BERNAL, H. Y. Especies vegetales promisorias de los países del Convenio Andrés Bello, Secretaría Ejecutiva del Convenio Andrés Bello (SECAB), vol. 2. Editora Guadalupe Ltda., Bogotá, p. 195-196, 202, 204-207, 211-214, 1989.

DE CANDOLLE A. P. Bignoniaceae, In: de Candolle ALPP (ed.) *Prodromus systematis naturalis regni vegetabilis*, vol. 9, p. 142–248, Paris: **Typis Grapelel**, 1845.

DE LA TORRE, L.; NAVARRETE, H.; MURIEL, P. M.; MACÍA, M. J.; BALSLEV, H. (Eds.), **Plantas Útiles del Ecuador**, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Universidad de Aarhus, Quito, p. 243-244, 2007.

DI STASI, L. C.; HIRUMA-LIMA, C. A. **Plantas Medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica**. 2 ed. rev. e ampl. São Paulo: **UNESP**, 2002.

DUARTE, D. S.; DOLABELA, M. F.; SALAS, C. E.; RASLAM, D. S.; OLIVEIRA, A. B.; NENNINGER, A.; WIEDEMANN, B.; WAGNER, H.; LOMBARDI, J.; M.T. LOPES, M. T. Chemical characterization and biological activity of *Macfadyena unguiscati* (Bignoniaceae). **The Journal of Pharmacy and Pharmacology**, 52: 347-352, 2000.

DVORSKÁ, M.; ZEMLICKA, M.; MUSELÍK, J.; KARARFIÁTOVÁ, J.; SUCHÝ, V. Antioxidant activity of *Catalpa bignonioides*. **Fitoterapia**, 78: p. 437-439, 2007.

EVANS-SCHULTES, R.; RAFFAUF, R. F. The Healing Forest. In: **Dudley, T.R. (Ed.), Medicinal and Toxic Plants of the Northwest Amazonia**, vol. 2, Dioscorides Press, Oregon, p 104, 1990.

EYONG, K. O.; FOLEFOG, G. N.; KUETE, V.; BENG, V. P.; KROHN, K.; HUSSAIN, H.; NKENGFACK, A. E.; SAEFTEL, M.; SARITE, S. R.; HOERAUF, A. Newbouldiaquinone A: A naphthoquinone-anthraquinone ether coupled pigment, as a potential antimicrobial and antimalarial agent from *Newbouldia laevis*. **Phytochemistry**, 67: p. 605-609, 2006.

FABRY, W.; OKEMO, P. O.; ANSORG, R. Antibacterial activity of East African medicinal plants. **J. Ethnopharmacol**, v. 60, p. 79-84, 1998.

FAJER, E. D.; BOWERS, M. D.; BAZZAZ, F. A. The effect of nutrients and enriched FERGUSON, N. M.; LIEN, E. J. A flavonol neohesperidoside from *Jacaranda acutifolia*, **Journal of Natural Products**, 45, p. 523-524, 1982.

FOURNET, A.; BARRIOS, A. A.; MUNOZ, V. Leishmanicidal and trypanocidal activities of Bolivian medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, 41: p. 19-37, 1994.

FREITAS, A. E.; BUDNI, J.; LOBATO, K. R.; BINFARÉ, R. W.; MACHADO, D. G.; JACINTO, J.; VERONEZI, P. O.; PIZZOLATTI, M. G.; RODRIGUES, A. L. Antidepressant-like action of the ethanolic extract from *Tabebuia avellanedae* in mice: evidence for the involvement of the monoaminergic system. **Progress in Neuropsychopharmacology & Biological Psychiatry**, 34: p. 335-343, 2010.

FRESHNEY, I. R. **Culture of animal cells**. A manual of Basic Technique. 3^o ed. New York, Wiley-Liss, 1994.

FUJIWARA, A.; MORI, T.; IIDA, A.; UEDA, S.; HANO, Y.; NOMURA, T.; TOKUDA, H.; NISHINO, H. Antitumor promoting naphthoquinones from *Catalpa ovata*. **Journal of Natural Products**, 61: p. 629-632, 1998.

GACHET, M. S.; SCHUHLY, W. Jacaranda – An ethnopharmacological and phytochemical review. **Journal of Ethnopharmacology**, 121: p. 14-27, 2009.

GAFNER, S.; WOLFENDER, J. L.; NIANGA, M.; STOECKLI-EVANS, H.; HOSTETTMANN, K. Antifungal and antibacterial naphthoquinones from *Newbouldia laevis* roots. **Phytochemistry**, 42: p. 1315-1320, 1996.

GALVEZ, J.; A. ZARZUELO,; M. E. CRESPO,; M. D. LORENTE,; M. A. OCETS,; J. JIMENEZ Anti-diarrheal activity of *Euphorbia hirta* extract and isolation of an active flavonoid constituent. **Planta Médica**, 59: p. 333–336, 1993.

GENTRY, A. H. An eco-evolutionary study of the Bignoniaceae of Southern Central America. Saint Louis. Washington University. **Tese de Doutorado**, p. 145, 1972.

GENTRY, A. H. **Bignoniaceae. Part I (Crescentieae and Tourrettieae)**. New York: The New York Botanical Garden, **Flora Neotropica**, v. 25, n. 1, p. 1-130, 1980.

GENTRY, A. H. Six new species of *Adenocalymma* (Bignoniaceae) from Eastern South America. **Novon** 3: p. 137–141, 1993.

GENTRY, A. H. Studies in Bignoniaceae 25: new species and combinations in South American Bignoniaceae. **Annals of the Botanical Missouri Garden**. n.64, p. 311-319. 1977.

GENTRY, A. H.; **Flora Neotropica**: Monograph 25, Tribe Tecomeae, vol. 2. The New York Botanical Garden, New York, p. 52-105, 1992.

GHOUSE, A.K.; YUNUS, M. Preparation of epidermal peels from leaves of Gymnosperm by treatment with hot, 60° GL HNO₃. **Stain Technology**. n. 47, p. 322-325. 1972.

GONÇALVES, E.G.; LORENZI, H. **Morfologia vegetal: organografia e dicionário ilustrado de morfologia das plantas vasculares**. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora. 2007.

GONÇALVES, E.G.; LORENZI, H. **Morfologia vegetal: organografia e dicionário ilustrado de morfologia das plantas vasculares**. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora. 2007.

GORMANN, R. M.; KALOGA, X. C.; LI, D.; FERREIRA, D.; BERGENTHAL AND KOLODZIEJ, H. Furanonaphthoquinones, atraric acid and a benzofuran from the stem barks of *Newbouldia laevis*. *Phytochemistry*, 64: p. 583-587, 2003.

GORMANN, R.; KALOGA, M.; FERREIRA, D.; MARAIS, J. P.; KOLODZIEJ, H. Newbouldiosides A-C, phenylethanoid glycosides from the stem bark of *Newbouldia laevis*. **Phytochemistry**, 67: p. 805-811, 2006.

GUENKA, L. C.; GOMES, R. C.; MELO, V. L.; KITANISHI, C. R. PEREIRA, P. S.; França, S. C.; COUTO, L. B.; BELETONI, R. O. Anti-inflammatory and anti-nociceptive effects of *Zeyharia montana* (Bignoniaceae) ethanol extract. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 103: p. 768-772, 2008.

GUERRA, M. P.; NODARI, R. O. Biodiversidade: aspectos biológicos, geográficos, legais e éticos. **In: Farmacognosia: da planta ao medicamento**; Simões, C.M.O.; Schenkel, E.P.; Gosmann, G.; Mello, J.C.P.; Mentz, L.A.; Petrovick, P.R.; 5ª ed.; Editora da UFRGS/Editora da UFSC; Porto Alegre/ Florianópolis, 2003.

GULLO, V.P; McALPINE, E.J.; BAKER, E.K.S.L.D; PETEREN, E.F. Drug discovery from natural products. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**. v.33, p. 523-531. 2006.

HAMBURGER, M.; HOSTETTMANN, K. Bioactivity in plants: the link between phytochemistry and medicine. **Phytochemistry**, v. 30, p. 3864-3874, 1991.

HANWA, U. A.; A. M. MUSA,; M. I. SULE,; A. EJILA,; A. BABALE Isolation of 15 α – hydroxylean – 12- en -3 - one from *Stereospermum kunthianum*. **Nig. Journ. Pharm. Sci.** 8(2), p. 13 – 17, 2009.

HARBONE, J. B., In: HARBONE, J. B., **Phytochemical Methods: A guide to modern techniques of plant analysis**. Nova York: Chapman and Hall, 1998.

HARVEY, A. L. natural products in drug discoverey. **Drug Discovery Today**, v. 13, p. 894-901, 2008.

HETZEL, C. E.; GUNATILAKA, A. A.; GLASS, T. E.; KINGSTON, D. G.; HOFFMANN, G.; JOHNSON, R. K. Bioactive furanonaphthoquinones from *Crescentia cujete*. **Journal of Natural Products**, 56: p. 1500-1505, 1993.

ILODIGWE, E.E.; AKAH; P. A. NWORU, C. S. Anticonvulsant activity of ethanol leaf extract of *Spathodea campanulata* P. Beauv (Bignoniaceae). **Journal of Medicinal Food**, 13: p. 827-833, 2010.

JOLY, A. B. Botânica: Introdução à taxonomia vegetal. 7 .ed. São Paulo: **Nacional**. 1985.

JOPPA, K. M.; VOVOR, A.; EKLUGADEGBEKU, K.; AGBONON, A.; AKLIKOKOU, K.; GBEASSOR, M. Effect of *Morinda lucida* Benth. (Rubiaceae) and *Newbouldia leavis* P. Beauv. (Bignoniaceae) on sickling of red blood cells. **Médecine Tropicale**: Revue du Corps de Santé Colonial, 68: p. 251-256, 2008.

JORJE, M. P.; C. MADJAROF, A. L.; GOIS RUIZ, A. T.; FERNANDES, R. A.; FERREIRA RODRIGUES, I. M.; de OLIVEIRA SOUSA, M. A.; FOGLIO A.; de CARVALHO, J. E. Evaluation of wound healing properties of *Arrabidaea chica* Verlot extract. **Journal of Ethnopharmacology**, 118: p. 361-366, 2008.

KHATRI, A.; GARG, A.; AGRAWAL, S. S. Evaluation of hepatoprotective activity of aerial parts of *Tephrosia purpurea* L. and stem bark of *Tecomella undulata*. **Journal of Ethnopharmacology**, 122: p. 1-5, 2009.

KIM, D. H.; HAN, K. M.; CHUNG, I. S.; KIM, D. K.; KIM, S. H.; B.M. KWON, B. M.; JEONG, T. S.; PARK, M. H.; E.M. AHN, E. M.; BAEK, N. I., Triterpenoids from the flower of *Campsis grandiflora* K. Schum. As human acyl-CoA: cholesterol acyltransferase inhibitors. **Archives of Pharmacal Research**, 28: p. 550-556, 2005.

KORICHEVA, J.; LARSSON, S.; HAUKIOJA, E.; KEINÄNEN, M. Regulation of woody plant secondary metabolism by resource availability: hypothesis testing by means of metaanalysis. **Oikos**, v. 83, p. 212-226, 1998.

KRÄNZLIN, F. Bignoniaceae, In: Pilger R (ed.) *Plantae Uleanae nova vel minus cognita, Notizblatt des königlichen botanischen Gartens und Museums zu Berlin Dahlem* 6: p. 369–380, 1915.

KRAUS, J.; ARDUIN, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Seropédica: EDUR. 1997.

LEITE, J. P.; OLIVEIRA, A. B.; LOMBARDI, J. A.; FILHO, J. D.; CHIARI, E. Trypanocidal activity of triterpenes from *Arrabidaea triplinervia* and derivatives. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, 29: p. 2307-2309, 2006.

LENTA, B. N.; WENIGER, B.; ANTHERAUME, C.; NOUNGOUE, D. T.; NGOUELA, S.; ASSOBA, J. C.; VONTHRON-SÉNÉCHEAU, C.; FOKOU, P. A.; DEVKOTA, K. P.; TSAMO, E.; SEWALD, N. Anthraquinones from the stem bark of *Stereospermum zenkeri* with antimicrobial activity. **Phytochemistry**, 68: p. 1595-1599, 2007.

LEVIN, D. A.; Alkaloid-bearing plants: an ecogeographic perspective. **American Naturalist**, v. 110, p. 261-284, 1976.

LIMA, C. S.; De AMORIM, E. L.; NASCIMENTO, S. C.; ARAÚJO, C. F.; AGRA, M. F.; BARBOSA-FILHO, J. M.; SILVA, M. S.; DA-CUNHA, E. V.; VIEIRA, I. J.; BRAZ-FILHO, R. Cytotoxic pyranonaphthoquinones from *Meloea quadrivalvis* (Bignoniaceae). **Natural Product Research**, 19: p. 217-222, 2005.

LOGANGA, O. A.; A. VERCRUYSSSE,; A. FORIERS Contribution to the ethanobotanical, phytochemical Phytochemistry of the Family and pharmacology

studies of traditionally used medicinal plant in the treatment of dysentery and diarrhoeal in Lomela area, Democratic Republic of Congo (DRC). **J. Ethnopharmacol.** 71(3): p. 41-423, 2000.

LOHMANN, L. G.; HOPKINS, M. J. G. Bignoniaceae. In: J.E.L.S. Ribeiro, M.J.G. Hopkins, A. Vicentini, C.A. Sothers, M.A. da Costa, J.M. de Brito, M.A.D. de Souza, L.H.P. Martins, L.G. 13 Lohmann, P.A.C.L. Assunção, E. da Pereira, C.F. da Silva, M.R. Mesquita, & L.C. Procópio (eds.), Flora da Reserva Ducke: guia de identificação de uma floresta de terra-firme na Amazônia Central. INPA/DIFD, Manaus, Brasil, p. 608–623, 1999.

LOHMANN, L. G.; PIRANI, J. R. Flora de Grão-Mogol, Minas Gerais: Bignoniaceae. **Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo** 21(1): p. 109-121, 2003.

LOHMANN, L. G.; PIRANI, J. R. Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais, Brasil: Bignoniaceae. **Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo** 17: p. 127-153, 1998.

LOPES, M. M. M.; CARVALHO-OKANO, R. M.; SOUZA, A. L.; PAIVA, H. N. Crescimento de Mudas de Cipó-Cravo (*Tynanthus fasciculatus* Miers), uma Liana com Potencial Medicinal. **Revista Árvore**, Viçosa, v.32, n.2, p.211-216, 2008.

LORENZI, H. **Plantas Daninhas do Brasil**, 3ª ed., Plantarum: Nova Odessa, 2000.

MAITREYI, Z.; A. KHANDHAR,; S. JAIN Quantification of Baicalein, Chrysin, Biochanin-A and Ellagic Acid in Root Bark of *Oroxylum indicum* by RPHPLC with UV Detection. **Eurasian Journal of Analytical Chemistry**. 3(2), 2008.

MARONI, B.; DI STASI, L. C.; MACHADO, S. **Plantas medicinais do cerrado de Botucatu**. FAPESP, BIOTA, UNESP, São Paulo, 2006.

MARTIM, F.; HAY, A. E.; CONDORETTY QUINTEROS, V. R.; CRESSEND, D.; REIST, M.; GUPTA, M. P.; CARRUPT, P. A.; HOSTETTMANN, K. Antioxidant

phenylethyl glycosides and a neolignan from *Jacaranda caucana*. **Journal of Natural Products**, 72: p. 852-856, 2009.

MBOSSO, E. J.; NGOUELA, S.; NGUEDIA, J. C.; PENLAP, V.; ROHMER, M.; TSAMO, E. Spathoside, a cerebroside and other antibacterial constituents of the stem bark of *Spathodea campanulata*. **Natural Product Research**, 22: p. 296-304, 2008.

MCNEILL, J.; BARRIE, F. R.; BURDET, H. M.; DEMOULIN, V.; HAWKSWORTH, D. L.; MARHOLD, K.; NICOLSON, D. H.; PRADO, J.; SILVA, P.C.; SKOG, J. E.; WIERSEMA, J. H.; TURLAND, N. J. International Code of Botanical Nomenclature (Vienna Code) adopted by the Seventeenth International Botanical Congress Vienna, Austria, July 2005, vol. 146 [Regnum Veg.]. Königstein: **Koeltz Scientific Books**, eds. 2006.

MEISNER C. F. Bignoniaceae, **In: Plantarum vascularium genera secundum ordines naturales digesta eorumque differentiae et affinitates tabulis diagnosticis expositae, Pars prior**, p. 299–312, Lipsiae [Leipzig]: Libraria Weidmannia, 1840a.

MEISNER C. F. Bignoniaceae, **In: Plantarum vascularium genera secundum ordines naturales digesta eorumque differentiae et affinitates tabulis diagnosticis expositae, Pars altera**, p. 206–224, Lipsiae [Leipzig]: Libraria Weidmannia, 1840b.

MENSAH, A. Y.; HOUGHTON, P. J.; DICKSON, R. A.; FLEISCHER, T. C.; HEINRICH, M.; BREMNER, P. *In vitro* evaluation of effects of two Ghanaian plants relevant to wound healing. **Phytotherapy Research**, 20: p. 941-944, 2006.

MOHARRAM, F. A.; MARZOUK, M. S. A. A novel phenylethanoid dimer and flavonoids from *Jacaranda mimosaeifolia*. **Zeitschrift für Naturforschung B**, 62: p. 1213-1220, 2007.

MOORE, S. M. The phanerogamic botany of the Mato Grosso expedition, 1891–1892. **Transactions of the Linnean Society**, Series 2, 4: p. 265–516, 1895.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **J. Immunological Methods**, v. 65, n. 1-2, p. 55–63, 1983.

MÜLLER, V.; CHÁVEZ, J. H.; REGINATTO, F. H.; ZUCOLOTTI, S. M.; NIERO, R.; NAVARRO, D.; YUNES, R. A.; SCHENKEL, E. P.; BARADI, C. R. M.; ZANETTI, C. R.; SIMÕES, C. M. O. Evaluation of antiviral activity of south american plant extracts against herpes simplex virus type 1 and rabies virus. **Phytotherapy Research**. Published online in Wiley InterScience (www.interscience.wiley.com) DOI: 10.1002/ptr.2198. 29 June 2013.

MÜLLER, V.; CHÁVEZ, J. H.; REGINATTO, F. H.; ZUCOLOTTI, S. M.; NIERO, R.; NAVARRO, D.; YUNES, R. A.; SCHENKEL, E. P.; BARADI, C. R. M.; ZANETTI, C. R.; SIMÕES, C. M. O. Evaluation of antiviral activity of south american plant extracts against herpes simplex virus type 1 and rabies virus. **Phytotherapy Research**. Published online in Wiley InterScience (www.interscience.wiley.com) DOI: 10.1002/ptr.2198. 29 June 2007.

NAIRAFIANPOUR, M.; BAHREININEJAD, B.; WITT, M.; ZIEGLER, H. L.; JAROSZEWSKI, J. W.; STAERK, D. Terpenoids of *Salvia hydrangea*: two new, rearranged 20-norabietanes and the effect of oleanolic acid on erythrocytemembranes. **Planta Med**, 69: p. 846-850, 2003.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural products as sources of new drugs over last 25 years. **Journal of Natural Products**, v. 70, p. 461-477, 2007.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M.; SNADER, K. M. Natural products as sources of new drugs over the period the 1981-2002. **Journal of Natural Products**, v. 66, p. 1022-1037, 2003.

NUGTEREN, D. H.; CHRIST-HAZELHOF, E. Naturally occurring conjugated octadecatrienoic acids are Strong inhibitors of prostaglandin biosynthesis. **Prostaglandins**, 33: p. 403-417, 1987.

OFORI-KWAKYE, K.; KWAPONG, A. A.; ADU, F. Antimicrobial activity of extracts and topical products of the stem bark of *Spathodea campanulata* for wound healing.

African Journal of Traditional. Complementary and Alternative Medicines, 6: p. 168-174, 2009.

OGURA, M.; CORDELL, G. A.; FARNSSWORTH, N. R. Potential anticancer agents. IV. Constituents of *Jacaranda caucana* Pittier (Bignoniaceae). **Lloydia**, 40: p. 157-168, 1977a.

OGURA, M.; CORDELL, G. A.; FARNSSWORTH, N. R. Jacoumaric acid, a new triterpene ester from *Jacaranda caucana*. **Phytochemistry**, 16: p. 286-287, 1977b.

OGURA, M.; CORDELL, G. A.; FARNSSWORTH, N. R. Potential anticancer agents. III. Jacaranone, a novel phytoquinoid from *Jacaranda caucana*. **Lloydia**, 39: p. 255-257, 1976.

OLIVEIRA, A. B.; RASLAN, D. S.; MIRAGLIA, M. C. M.; MESQUITA, A. A. L.; ZANI, C. L.; FERREIRA, D. T.; MAIA, J. G. S. Estrutura química e atividade biológica de naftoquinonas de Bignoniaceae brasileiras. **Química Nova**, v. 13, n. 4, p. 302-307, 1990.

OLMSTEAD, R. G.; ZJHRA, M. L.; LOHMANN, L. G.; GROSE, S. O.; ECKERT, A. J. A molecular phylogeny and classification of Bignoniaceae. **American Journal of Botany** 96: p. 1731-1743, 2009.

OPLUSTIL, C. P.; ZOCCOLI, C, M.; TOBOUTI, N. R. **Procedimentos básicos em microbiologia clínica**. São Paulo: Sarvier. 3^a. Ed. V. 1, p. 544, 2010.

OSTROSKY, E. A.; MIZUMOTO, M. K.; 1 Marcos E. L. Lima, M. E. L.; 2 Telma M. Kaneko, T. M.; NISHIKAWA, S. O.; FREITAS, B. R. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Revista Brasileira Farmacognosia**, v.18, p. 301-307, 2008.

OTERO, R.; NÚÑEZ, V.; JIMÉNEZ, S. L.; FONNEGRA, R.; OSORIO, R. G.; GARCÍA, M. E.; DÍAZ, A. Snakebites and ethnobotany in the northwest region of Colombia: Part II: neutralization of lethal and enzymatic effects of *Bothrops atrox* venom. **Journal of Ethnopharmacology**, 71: p. 505-511, 2000.

PACE, M. R.; LOHMANN, L. G.; ANGYALOSSY, V. The rise and evolution of the cambial variant in Bignoniaceae (Bignoniaceae). **Evolution & Development** 11(5): p. 465-479, 2009.

HOFT, M.; VERPOORT, R.; BECK, E. Leaf Alkaloid Contents of *Tabernaemontana pachysiphon* as influenced by endogenous and environmental factors in the natural habitat. **Planta Med.**, v. 64, p. 148-152, 1998.

PADOVESE, M. C.; ASSIS, D. B.; FREIRE, M. P.; MADALOSSO, G.; FERREIRA, S. A.; VALENTE, M. G.; FORTALEZA, C. M. Surveillance programme for Healthcare Associated Infections in the State of Sao Paulo, Brazil. Implementation and first three years' results. **J Hosp Infect**, v. 76, p. 311-315, 2010.

PALOMINO, J. C.; MARTIN, A.; CAMACHO, M.; GUERRA, H.; SWINGS, J.; PORTAELS, F.; Resazurin microtiter assay plate: simple and inexpensive method for detection of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. **Antimicrob. Agents Chemother**, v. 46, p. 2720, 2002.

PANIZZA, S. **Plantas que curam: cheiro de mato**. 17ed. São Paulo: Ibrasa, p. 279, 1998.

PARK, B. M.; HONG, S. S.; LEE, C.; LEE, M. S.; KANG, S. J.; SHIN, Y. S.; JUNG, J. K.; HONG, J. T.; KIM, Y.; LEE, M. K.; HWANG, B. Y. Naphthoquinones from *Catalpa ovata* and their inhibitory effects on the production of nitric oxide. **Archives of Pharmacal Research**, 33: p. 381-385, 2010.

PARK, B. S.; KIM, J. R.; LEE, S. E.; KIM, K. S.; TAKEOKA, G. R.; AHN, Y. J.; KIM, J. H. Selective growthinhibiting effects of compounds identified in *Tabebuia impetiginosa* inner bark on human intestinal bacteria. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 53: p. 1152-1157, 2005.

PARK, B. S.; LEE, H. K.; LEE, S. E.; PIAO, X. L.; TAKEOKA, G. R.; WONG, R. Y.; AHN, Y. J.; KIM, J. H. Antibacterial activity of *Tabebuia impetiginosa* Martius ex DC (Taheebo) against *Helicobacter pylori*. **Journal of Ethnopharmacology**, 105: p. 255-262, 2006.

PARTESON, I.; ANDERSON, E. A. The ranaissance of natural products as drugs candidates. **Science**, v. 310, p. 451-453, 2005.

PEREIRA, E. M.; de MACHADO, B. T.; LEAL, I. C.; JESUS, D. M.; DAMASO, C. R.; PINTO, A. V.; GIAMBIAGI-deMAVAL, M.; KUSTER, R. M.; SANTOS, K. R. *Tabebuia avellaneda* naphthoquinones: activity against methicillinresistant staphylococcal strains, cytotoxic activity and in vivo dermal irritability analysis. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, 5: p. 5, 2006.

PRATA-ALONSO, R. R.; LEMOS, I. C.; ANEZ, R. B. S.; ALONSO, S.; BRAZ, A. A. Glandular trichomes of the leaves of *Adenocalymma alliaceum* Miers **Journal Biology**, 71: p. 565-566, 2011.

PUHL, M. C. M. N.; MILANEZE-GUTIERRE, M. A.; NAKAMURA, C. V.; CORTEZ, D. A. G. Morfoanatomia das Folhas e dos Caules Jovens de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verl. (Bignoniaceae), **Latim Americam Journal. Pharmace.**, 26: p. 224-229, 2007.

QUEIROZ, M. L.; VALADARES, M. C.; TORLLO, C. O.; RAMOS, A. L.; OLIVEIRA, A. B.; ROCHA, F. D.; ARRUDA, V. A.; ACCORCI, W. R. Comparative studies on the effects of *Tabebuia avellaneda* bark extract and β -lapachone on the hematopoietic response of tumour-bearing mice. **Journal of Ethnopharmacology**, 117: p. 228-235, 2008.

RIOS, J. L.; RECIO, M. C.; VILLAR, A. Screening methods for natural products with activity: a rewiev of the literartue. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 23, p. 124–149, 1987.

RIZZINI, C. M.; AGAREZ, F. V.; ANDRADE, L. H. C. A família Bignoniaceae na APA de Maricá, RJ, Brasil. **Acta Botanica Brasília** 12(2): p. 153-163, 1997.

ROBERTSON, E. A. H.; CARTWRIGHT, R. A.; OLDSCHOOL, M. Phenolic substances of manufactured tea. I. Fractionation and paper chromatography of water-soluble substances. **Jounal of the Science of Food and Agriculture** 8., p.72-80. 1956.

RODRIGUES, A. M.; de PAULA, J. E.; ROBLOT, F.; A. FOURNET, A.; ESPÍNOLA, L. S. Larvicidal activity of *Cybistax antisyphilitica* against *Aedes aegypti* larvae. **Fitoterapia**, 76: p. 755-757, 2005.

ROJAS, J. J.; OCHOA, V. J.; OCAMPO, S. A.; MUNOZ, J. F. Screening for antimicrobial activity of tem medicinal plants used in Colombian folkloric medicine: a possible alternative in the treatment of nonnosocomial infections. **BioMed Central Complementary and Alternative Medicine**, 6: p. 1-6, 2006.

ROSSI, F.; ANDREAZZI, D. **Resistência bacteriana: Interpretando o antibiograma**. Ed. Atheneu. São Paulo, 2005.

ROTH, I.; LINDORF., H. South American Medicinal Plants. **Springer**, New York, p. 45-46, 122, 2002.

RUSBY, H. H. **Descriptions of Three Hundred New Species of South American Plants**. New York: Published by the author, 1920.

SALEEM, M. Lupeol, a novel anti-inflammatory and anti-cancer dietary triterpene. **Cancer Letters**, 285: p. 109-115, 2009.

SANKARA-SUBRAMANIAN, S.; NAGARAJAN, S.; SULOCHANA, N. Hydroquinone from the leaves of *Jacaranda mimosaeifolia*. **Phytochemistry**, 12: p. 220-221, 1973.

SARTORATTO, A.; MACHADO, A. L. M.; DELARMELINA, C.; FIGUEIRA, G. M. DUARTE, M. C. T.; REHDER, V.L.G. "Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil," **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 35, n. 4, p. 275–280, 2004.

SAUAIN, M.; DEDET, J. P.; KUNESCH, N.; POISSON, J.; GANTIER, J. C.; GAYARAL, P.; KUNESCH, G. *In vitro* and *in vivo* leishmanicidal activities of natural and synthetic quinoids. **Phytotherapy Research**, 7: p. 167-171, 1993.

SCUDELLER, V. V. Bignoniaceae Juss. no Parque Nacional da Serra da Canastra – Minas Gerais, Brasil. **Iheringia** 59(1): p. 59-73, 2004.

SCUDELLER, V. V. Proposal to conserve the name *Adenocalymma* Mart ex Meisn. (Bignoniaceae) with a conserved spelling. **Taxon** **49**: p. 303–304, 2000b.

SCUDELLER, V. V.; CARVALHO-OKANO, R. M. Bignoniaceae (Bignoniaceae) no Parque Estadual do Rio Doce, Minas Gerais, Brasil. **Iheringia** **51**(1): p. 79-133, 1998.

SCUDELLER, V.V. *Novon*. A new species de *Adenocalymma* Martius ex Meisner (Bignoniaceae) from Minas Gerais Brazil,10: p. 234-237, 2000.

SEIBERT, R.J. The use of glands in a taxonomic consideration of the family Bignoniaceae. *Annls of the Missouri Botanical Garden*. v.35, p.123- 137. 1948.

SHARMA, O. P.; DAWRA, R. K. Thin layer chromatographic separations of lantadenes, the pentacyclic triterpenoids from lantana (*Lantana camara*) plant. **Journal of Chromatography**. v. 587, p. 351–354, 1991.

SILVA, M. C.; CARVALHO, J. C. T. Plantas Medicinais: **In: J. C. T. Carvalho, Fitoterápicos. Antiinflamatórios. Aspectos químicos, farmacológicos e aplicações terapêuticas.** Ribeirão Preto: Tecmedd, p. 480, 2004.

SILVA, P. B.; MEDEIROS, A. C .M.; DUARTE, M. C. T.; RUIZ, A. L. T. G.; KOLB, R. M.; FREI, F.; SANTOS, C. Avaliação do potencial alelopático, atividade antimicrobiana e antioxidante dos extratos orgânicos das folhas de *Pyrostegia venusta* (Ker Gawl.) Miers (Bignoniaceae). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**. v. 13, n. 4, p. 447-445, 2011.

SILVA, T. M.; da SILVA T. G.; MARTINS R. M.; MAIA, G. L.; CACRAL, A. G.; CAMARA, C. A.; AGRA, M. F.; BARBOSA-FIHLO, J. M. Molluscicidal activities of six species of Bignoniaceae from north-eastern Brazil, as measured against *Biomphalaria glabrata* under laboratory conditions. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, 101: p. 359-365, 2007.

SILVA-CASTRO, M. M.; QUEIROZ, L. P. A família Bignoniaceae na Região de Catolés, Chapada Diamantina, Bahia, Brasil. *Sitientibus. Série Ciências Biológicas* **3** (1-2): p. 3-21, 2003.

SIMÕES, C. M. D.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; de MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 6^a Ed.; Editora UFSC, 2010.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia da planta ao medicamento**, 3 ed., 883 p., Porto Alegre, UFSC, 2007.

SINGH, K. V. & SHUKLA, N. P. Activity on multiple resistant bacteria of garlic (*Allium sativum*) extract. **Fitoterapia**, v. 55, p. 313-315, 1984.

SMITH, J. D. Undescribed plants from Guatemala, XI. **Botanical Gazette** 18: p. 197–211, 1893.

SRINIVASAN M. R.; SRINIVASAN K. Hypocholesterolemic efficacy of garlic-smelling flower *Adenocalymma alliaceum* Miers. in experimental rats. **Indian J Exp Biol**. Jan; 33(1): p. 64-66, 1995.

STANDLEY, P. C. **Studies of American Plants – II. Publication of the Field Museum of Natural History**, Botanical Series 4: p. 301–345. (Publication 264), 1929.

STOPPA, M. A.; CASEMIRO, L. A.; VINHOLIS, A. H. C.; CUNHA, W. R.; SILVA, M. L. A.; MARTINS, C. A. G. Estudo comparativo entre as metodologias preconizadas pelo CLSI e pelo EUCAST para avaliação da atividade antifúngica. **Química Nova**, v. 32, n. 2, p. 498-502, 2009.

SUSUKI, R.; YASUI, Y.; KOHNO, H.; MIYAMOTO, S.; HOSOKAWA, M.; MIYASHITA, K.; TANAKA, T. Catalpa seed oil rich in 9t,11t,13c-conjugated linolenic acid suppresses the development of colonic aberrant crypt foci induced by azoxymethane in rats. **Oncology Reports**, 16: p. 989-996, 2006.

TABANCA, N.; PAWAR, R. S.; FERREIRA, D.; MARAIS, J. P.; KHAN, S. I.; JOSHI, V.; WEDGE, D. E.; KHAN, I. A. Flavan-3-ol-phenylpropanoid conjugates from *Anemopaegma arvense* and their antioxidant activities. **Planta Médica**, 73: p. 1107-1111, 2007.

TANTANGMO, F.; LENTA, B. N.; BOYOM, F. F.; NGOUELA, S.; KAISER, M.; TSAMO, E.; WENIGER, B.; ROSENTHAL, P. J.; VONTHRON-SONTHRON-SÉNÉCHEAU, C. Antiprotozoal activities of some constituents of *Markhamia tomentosa* (Bignoniaceae). **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, 104: p. 391-398, 2010.

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

TRESVENZOL, L. M. F.; QUEIROZ, D. C.; REZENDE, R. C.; NASCIMENTO, T. L.; ROSA, V. S.; PAULA, J. R. Estudo Farmacognóstico da *Memora nodosa* (MANSO) Miers. **Revista Eletrônica de Farmácia**, 2 (2): p. 221-223, 2005.

TRESVENZOL, L. M. F.; FIUZA, T. S.; PIMENTA, F. C.; ZATTA, D. T.; BARA, M. T. F.; FERRI, P. H.; LIMA, A. B. M.; PAULA, J. R. Composição Química do Óleo Essencial e Atividade Antimicrobiana da *Memora nodosa* (Bignoniaceae). **Latin American Journal of Pharmacy**. v. 28, n. 4. p. 513-9, 2009.

TWARDOWSCHY, A.; FREITAS, C. S.; BAGGIO, C. H.; MAYER, B.; dos SANTOS, A. C.; PIZZOLATTI, M. G.; ZACARIAS, A. A.; dos SANTOS, E. P.; OTUKI, M. F.; MARQUES, M. C. Antiulcerogenic activity of bark extract of *Tabebuia avellanedae*, Lorentz ex Griseb. **Journal of Ethnopharmacology**, 118: p. 455-459, 2008.

TYAGI, A.; SINGH, V.; BHARADWAJ, M.; KUMAR, A.; THAKUR, K. Isolation and antibacterial susceptibility testing of multi drug resistant *Pseudomonas aeruginosa* causing urinary tract infections. **Journal of Chemical and pharmaceutical Research**. v. 3, n. 4, p. 342-347. 2011.

UDULUTSCH, R. G. **Revisão taxonômica de *Adenocalymma* Mart. ex Meisn. (Bignoniaceae Juss.)**. PhD, Universidade Estadual Paulista, Brasil, 2008.

UDULUTSCH, R. G.; ASSIS, M. A.; DIAS P. *Adenocalymma calcareum* sp. nov. (Bignoniaceae) from Brazilian Amazonia and a key to the Amazonian species of the genus. **Nordic Journal of Botany**, 27: p. 449–453, 2009.

UDULUTSCH, R.; ASSIS, M. A.; Dias, P. Taxonomic update of *Adenocalymma* (Bignoniaceae): emendations, new synonyms, typifications, and status change **Turk J. Bot.** 37: 630-643, 2013.

USMAN, H.; J. C. OSUJI Phytochemical and In vitro antimicrobial assay of the leaf extract of *Newbouldia laevis*. **Afri. J. Trad. CAM.** 4 (4): p. 476-480, 2007.

VALADEAU, C.; PABON, A.; DEHARO, E.; ALBÁN-CASTILLO, J.; ESTEVEZ, Y.; LORES, F. A.; ROJAS, R.; GAMBOA, D.; SAUVAIN, M.; CASTILLO, D.; BOURDY, G.; Medicinal plants from the Yanesha (Peru): evaluation of the leishmanicidal and antimalarial activity of selected extracts. **Journal of Ethnopharmacology**, 123: p. 413-422, 2009.

VANDEN BERGHE, D. A.; VLIETINCK, A. J.; VANHOOF, L. Plant products as potential antiviral agents. **Bulletin de l'Institut Pasteur.** v. 84, p. 101-47. 1986.

VARANDA, E. M.; ZÚNIGA, G. E.; SALATINO, A.; ROQUE, N. F.; CORCUERA, L. J. Effect of ursolic acid from epicuticular waxes of *Jacaranda decurrens* on *Schizaphis graminum*. **Journal of Natural Products**, 55: p. 800-803, 1992.

VIDAL, W. N.; VIDAL, M. R. R. **Botânica - organografia: quadros sinóticos ilustrados de fanerógamos**. 4. ed. rev. ampl. Viçosa: UFV, p. 124, 2003.

VIDAL, W.N., VIDAL, M.R.R. **Botânica - Organografia: quadros sinóticos ilustrados de fanerógamos**. Viçosa: UFV. 1978.

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

VIJAYAN, P.; RAGHU, C.; ASHOK, G.; DHANARAJ, S. A.; SURESH, B. Antiviral activity of medicinal plants of Nilgiris. **Indian Journal of Medical Research**. v. 120, p. 42-29. 2004.

VILLASMIL, J.; ABAD, M. J.; ARSENAK, M.; FERNÁNDEZ, A.; RUIZ, M. C.; WILLIAMS, B.; MICHELANELI, F.; HERRERA, F.; TAYLOR, P. Cytotoxic and antitumor activities of Venezuelan plant extracts *in vitro* and *in vivo*. **Pharmacologyonline**, 3: p. 808-816, 2006.

VINCENT, J. L.; RELLO, J.; MARSHALL, J.; SILVA, E.; ANZUETO, A.; MARTIN, C. D.; MORENO, R.; LIPMAN, J.; GOMERSALL, C.; SAKR, Y.; REINHART, K. **International Study of the Prevalence and Outcome of Infection in Intensive Care Units**. JAMA, v. 302, p. 2323-2329, 2009.

WAGNER, H., BLADT, S. **Plant drug analysis – Athin layer chromatography atlas**. Springer. 2a. ed. Munich. 1996.

WENIGER, B.; S. ROBLEDO, S.; ARANGO, G. J.; DEHARO, E.; ARAGÓN, R.; MUNOZ, V.; CALLAPA, J.; LOBSTEIN, A.; ANTON, R. Antiprotozoal activities of Colombian plants. **Journal of Ethnopharmacology**, 78: p. 193-200, 200.

WOO, H. J.; CHOI, Y. H. Growth inhibition of A549 human lung carcinoma cells by b-lapachone through induction of apoptosis and inhibition of telomerase activity. **International Journal of Oncology**, 26: p. 1017-1023, 2005.

YAMASHITA, M.; KANEKO, M.; TOKUDA, H.; NISHIMURA, K.; KUMEDA, Y.; IIDA, A. Synthesis and evaluation of bioactive naphthoquinones from the Brazilian medicinal plant, *Tabebuia avellanedae*. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, 17: p. 6286-6291, 2009.

YUNES, R. A.; PEDROSA, R. C.; CECHINEL FILHO, V. Fármacos e fitoterápicos: A necessidade da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. **Quim. Nova**, v. 24, n. 1, p. 147-152, 2001.

YU, Z. W.; H.Y. ZHU, H. Y.; YANG, X. S.; Q.Y. SUN, Q. Y.; X.J. HAO, X. J. Study on chemical constituents from *Incarvillea arguta* and their accelerating PC-12 cell differentiation. **Zhongguo Zhong Yao Za Zhi**, 30: p. 1335-1338, 2005.

ZAVERI, M.; GOHIL, P.; JAIN, S. Immunostimulant Activity of n-butanol Fraction of Root Bark of *Oroxylum indicum* vent. **Journal of Immunotoxicology**, 3: p. 83-99, 2006.

**PHYTOCHEMICAL INVESTIGATION OF CHLOROFORM,
DICHLOROMETANE, ETHYL ACETATE EXTRACTS FROM FLOWERS OF
ADENOCALYMMMA IMPERATORIS-MAXIMILIANII (WAWRA) L. G.
LOHMANN (BIGNONIACEAE)**

**G. G. DE OLIVEIRA¹; J. A. DE S. PEREIRA JUNIOR¹;
N. P. LOPES² AND S. J. DE MELO^{1*}**

¹*Department of Antibiotics - Federal University of Pernambuco - Recife - Brazil*

²*Department of Physical and Chemistry - University of São Paulo - Ribeirão Preto -
Brazil*

ABSTRACT

The Bignoniaceae family has 110 genera and approximately 650 species, widely distributed in tropical regions. Among the genera of this family, the *Adenocalymma* (46 species) have hardly been investigated from a phytochemical point of view, and usually found only ethnobotanical reports. The aim of this study was the phytochemical characterization of ethyl acetate, chloroform and dichlorometane extracts from the flowers of *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (Wawra) L.G. Lohmann using analysis by GC-MS. Thirty-tree secondary metabolites were identified in ethyl acetate, twenty-eight chloroform, and thirty dichlorometane extracts of the flowers. There was evidence of Squalene in the ethyl acetate, chloroform and dichlometane extracts of this species. Due to the importance and the various biological activities described in the literature on compounds identified in this study *A. imperatoris-maximilianii* can be considered an alternative source of bioactive secondary metabolites for pharmaceutical therapy.

KEYWORDS: Bignoniaceae, *Adenocalymma imperatoris-maximilianii*, flowers, ethyl acetate, chloroform, diclometane, extract, GC-MS.

Introduction

The flowers of the Bignoniaceae family have varied structural shapes, sizes and colors with different biological, ecological and ornamental functions, ensuring that future generations will survive. Their reproductive organs are also important because rural people use the flowers for therapeutic and nutraceutic reasons. This is owing to the diversity in the flowers of bioactive secondary metabolites with medicinal potential

(antioxidant, anti-fungal, antibacterial, anti - inflammatory) utilized in various diseases^{1,2,3,4,5}. Different chemical constituents can be found in floral organs such as anthocyanins, flavonoids and flavanones^{6,7}. The biosynthesis of aromatic volatiles, including terpenoids and phenylpropanoids / benzene compounds, as well as aliphatic esters, amines (indoles), and thiols, occurs predominantly in the petals^{8,9}.

Adenocalymma Mart. ex Meisn., *orth. cons.*¹⁰, is a Neotropical genus, and one of the most species-rich (47 species) genera of the tribe Bignonieae. It is distributed from Mexico to northern Argentina¹². In Brazil, where 42 (89%) out of the 47 species occur, *Adenocalymma* is widely distributed, being found in 25 out of 26 states, and is represented in all vegetation types, including rain forests, seasonal semideciduous forests, and savanna formations¹¹.

Of the 47 species of the genus *Adenocalymma*, many have only undergone ethnobotanical studies, and still require pharmacognostic studies to determine their chemical constituents¹². Some of the few species studied of the genus *Adenocalymma* that have been analyzed as to their phytochemical and pharmacological properties, are the *Adenocalymma nodosum* (Silva Manso) L.G. Lohmann, the following classes of secondary metabolites: flavonoids and saponins in the roots, saponins, flavonoids and essential oil in the leaves, with the main components being benzaldehyde and 1-octen-3-ol^{13,14}. And there are preliminary studies of the *Adenocalymma peregrinum* (Miers) L.G. Lohmann, identified with the following classes of secondary metabolites: flavonoids, carbohydrates and iridoid glycosides saponins. The two species showed the following biological activities: antimicrobial, anti-inflammatory, as well as against scabies^{13,14,15}.

The species *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (Wawra) L.G. Lohmann is found in northeastern Brazil, distributed throughout the states of Maranhão, Piauí, Ceará, Pernambuco, Paraíba and Bahia, where it is commonly known as "vine basket"¹⁶. The plant species spreads quickly over surrounding plants, producing blooms in its natural habitat, usually in the months from December to February.

A. imperatoris-maximilianii has several synonyms: *Bignonia imperatoris-maximilianii* Wawra; *Pleonotoma Imperatoris-maximilianii* (Wawra) Bureau & K. Schum; *Memora imperatoris-maximilianii* (Wawra) A.H. Gentry, *Memora cristicalix* A.H. Gentry¹⁷.

Ethnobotanical data reports from areas where this plant is commonly harvested refer to its use decocted in alcohol to treat bacterial skin diseases or as food for animals, especially goats. Most Brazilian native plants do not have research reports that allow the development of complete and up-to-date studies. Many species are used empirically without scientific support for their efficacy and safety, which shows that in a country like Brazil, with enormous biodiversity, there is a large gap between the supply of plants and the research studies available about them. Given the above, *A. imperatoris-maximilianii*, fits into this scenario, as we found no reports or studies of its phytochemical or biological activities in the specialized literature. The objective of study was to use GC-MS to analyze the bioactive compounds of the chloroform, dichloromethane and ethyl acetate extract of the flowers of *A. imperatoris-maximilianii*,

hoping to contribute to the knowledge of existing majoritarian secondary metabolites in this species.

MATERIALS AND METHODS

(i) Botanical Material

A. imperatoris-maximilianii (Bignoniaceae) was collected in the municipality of Pombos, state of Pernambuco, Northeast of Brazil (Coordinates: 80° 7' 33" S, 350° 21' 14" W). The plant material was identified by botanist Rita de Cássia A. P. Galindo. A voucher specimen was deposited in the Herbarium Dárdano de Andrade Lima, Instituto Agrônômico de Pernambuco (IPA), and assigned the number IPA - n. 84012.

(ii) Obtaining the extracts

Flowers of *A. imperatoris-maximilianii*, were ground in a Willey mill and then 40 mg of the material was subjected to extraction using 2 mL of chloroform (HPLC grade - Merck) for 30 minutes in an ultrasonic bath (Unique brand, model USC-1400). The samples were evaporated in an N₂ gas dryer and 2 mg of the extracts were dissolved in 2 mL of ethyl acetate for analysis with gas chromatography coupled to mass spectroscopy (GC-MS).

(iii) GC-MS analysis

The chloroform, dichloromethane and ethyl acetate extracts of the flowers were analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) using a Shimadzu GCMS model QP2010 instrument in a system operated by electron impact (70 eV) and the injector temperature was set at 260 °C with a split ratio of 1:5. A DB5-MS column [30 m × 0.25 mm i.d., film thickness 0.25 µm (5% cross-linked phenyl-methylpolysiloxane)] was used (Agilent J & W GC Columns), with helium as the carrier gas, a column flow of 1.3 mL/min, an injection volume of 1 µL, the injector temperature at 260 °C and pressure of 97.4 kPa. A mixture of (C₉-C₂₀, C₂₁-C₄₀) linear hydrocarbons was injected under the same conditions to identify the components. The spectra obtained were compared with the equipment database (FFNSC1.3.lib, WILEY7.LIB, NIST08s.LIB, MY LIBRARY.lib).

RESULTS AND DISCUSSION

The GC-MS chromatogram of the ethyl acetate extract of the flowers of *A. imperatoris-maximilianii* has thirty-three peaks (Fig. 1), corresponding to presence of the twenty-six compounds (Table 1), whose structures proposed by the four libraries of the instrument (FFNSC1.3.lib, WILEY7. LIB, NIST08s.LIB, MY LIBRARY.lib). The compounds that showed the largest areas (%) were: Pentacosane n- (10.65%); Triacontane (36.12%); Hexacosane (36.12%), Clionasterol (6.13%) and 25-Nor-9,19-cyclolanostan-24-one, 3-acetoxy-24-phenyl- (6.54%).

The GC-MS chromatogram of the chloroform extract of the flowers *A. imperatoris-maximilianii* showed twenty-eight peaks (Figure 2), corresponding to presence of the twenty-two compounds (Table 2), which represents the structures proposed by the four libraries of the instrument. The compounds which had the largest areas (%) were: Pentacosane n- (50.40%), Hexacosane (17.87%); Triacontane (9.61%) and Clionasterol (5.36%).

The third extract analyzed by GC-MS was the Dichlorometane extract of the flowers, with a chromatogram that showed thirty peaks (Figure 3), corresponding to the twenty-two secondary metabolites whose structures were proposed by the four libraries of the instrument (Table 3). Compounds that had the largest areas (%) were: Pentacosane (43.19%), 1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-ethylhexyl) ester (10.83%), Hexacosane (19.57%) and Triacontane (14.13%).

7-Azabicyclo[4.1.0]heptane,2,4,4-trimethyl-, Flavone 4'-Ome,5-Oh,7-O-Glucosid and 25-Nor-9,19-cyclolanostan-24-one, 3-acetoxy-24-phenyl-were identified only in the extract ethyl acetate of the flowers of *A. imperatoris-maximilianii*.

Leucine, N-methoxycarbonyl-, decyl ester and d-Ribose, 2-deoxy-bis(thioheptyl)-dithioacetal were identified only in the extract chloroform of the flowers of *A. imperatoris-maximilianii*.

Neophytadiene and Oleyl alcohol, trifluoroacetate were identified only in the extract dichlorometane of the flowers of *A. imperatoris-maximilianii*.

Squalene was identified in the ethyl acetate, dichlorometane and chloroform extracts of the flowers of *A. imperatoris-maximilianii*.

In the chromatogram of the ethyl acetate extract (figure 1; table 1) , the peaks 6 and 10 are isomers of tetradecanal; 17 and 19 are isomers of pentacosane; 20, 25 and 27-28 are isomers of hexacosane; 21 and 24 are isomers of triacontane. In the chromatogram of the chloroform extract (figure 2; table 2),the peaks 10 and 11 are isomers of tetracosane, 13 - 16 are isomers of pentacosane and 20 and 22 are isomers of triacontane. in the chromatogram of the dichlorometane extract (figure 3; table 3), the peaks 12-13 are isomers of tetracosane, 14-18 are isomers of triacontane and 22 and 24-25 are isomers of pentacosane. These compounds have the following biological activities: antipyretic, analgesic, anti-inflammatory, antimicrobial and antioxidant¹⁸.

All extracts studied in this paper presented the same secondary metabolites: squalene, Stigmast-5-en-3-ol, (3.beta.)-, Neophytadiene Lupeol, Lupenone and stigmasterol, as shown in table 4.

Figure 1
GC-MS chromatogram of the ethyl acetate extract of the flowers of *A. imperatoris-maximilianii*.

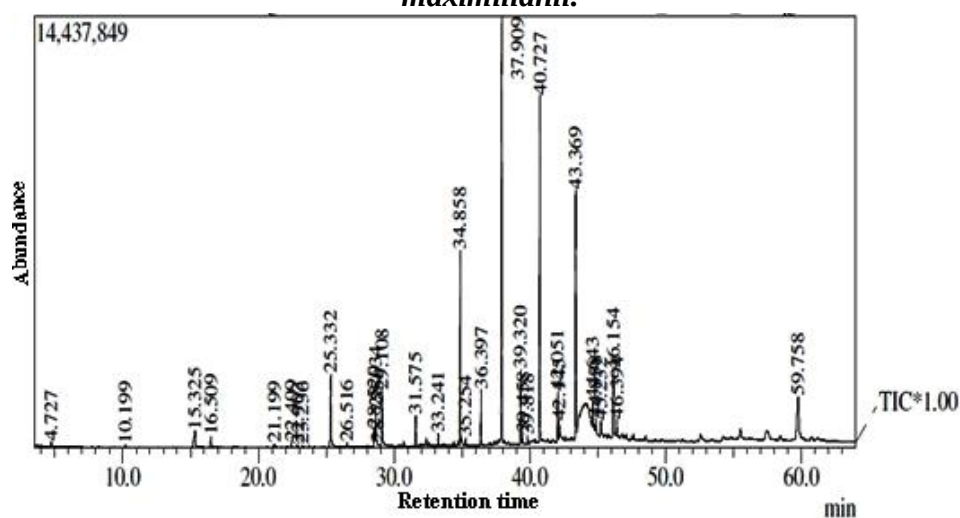


Table 1
Compounds identified in the ethyl acetate extract of the flowers of *A. imperatoris-maximilianii* by GC-MS.

Peak	Retention time (min)	Peak area (%)	Compounds	Molecular weight	Molecular formula
1	4.727	0.16	1,2,3-Propanetriol, monoacetate	134	C ₅ H ₁₀ O ₄
2	10.199	0.09	1-(4-Methoxy-phenyl)-ethanone	150	C ₉ H ₁₀ O ₂
3	15.325	1.76	Benzoic acid, 4-hydroxy-	138	C ₇ H ₆ O ₃
4	16.509	0.74	Benzoic acid, 4-hydroxy-3-methoxy-	168	C ₈ H ₈ O ₄
5	21.199	0.07	Benzene, 1-methoxy-4-(2,2-dicyanoethenyl)	184	C ₁₃ H ₁₂ O
6	22.409	0.24	Tetradecanal	212	C ₁₄ H ₂₈ O
7	22.903	0.17	Phytone	268	C ₁₈ H ₃₆ O
8	23.236	0.08	Phthalic acid, butyl undecyl ester	376	C ₂₃ H ₃₆ O ₄
9	25.332	4.15	Hexadecanoic acid	256	C ₁₆ H ₃₂ O ₂
10	26.516	0.16	Tetradecanal	228	C ₁₄ H ₂₈ O ₂
11	28.520	0.93	11-bicyclo [3.1.0]hex-2-yl-undecanoic acid methyl ester	280	C ₁₈ H ₃₂ O ₂
12	28.634	2.20	Octadeca-9,12,15-trienoic acid	292	C ₁₉ H ₃₂

			methyl ester		O ₂
13	28.755	0.21	7-Azabicyclo[4.1.0]heptane, 2,4,4-trimethyl-	139	C ₉ H ₁₇ N
14	29.108	2.71	Octadecanoic acid	284	C ₁₈ H ₃₆ O ₂
15	31.575	1.26	n-Tetracosane	338	C ₂₄ H ₅₀
16	33.241	0.48	Henicosane	310	C ₂₂ H ₄₆
17	34.858	8.27	n-Pentacosane	352	C ₂₅ H ₅₂
18	35.254	0.24	Bis(2-ethylhexyl)benzene-1,2dicarboxylate	390	C ₂₄ H ₃₈ O ₄
19	36.397	2.38	n-Pentacosane	352	C ₂₅ H ₅₂
20	37.909	21.41	triacontane	324	C ₂₃ H ₄₈
21	39.320	3.11	n-Hexacosane	366	C ₂₆ H ₅₄
22	39.458	0.49	(6E,10E,14E,18E)-2,6,10,15,19,23-hexamethyltetracosane-2,6,10,14,18,22-hexaene	410	C ₃₀ H ₅₀
23	39.818	0.29	1,3,5-Trisilacyclohexane	132	C ₃ H ₁₂ Si ₃
24	40.727	17.16	n-Hexacosane	366	C ₂₆ H ₅₄
25	42.051	2.09	n-Triacontane	422	C ₃₀ H ₆₂
26	42.145	0.82	Acacetin-7-glucosid	446	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₀
27	43.369	11.83	n-Triacontane	422	C ₃₀ H ₆₂
28	44.643	1.29	n-Triacontane	422	C ₃₀ H ₆₂
29	44.858	0.64	Campesterol	400	C ₂₈ H ₄₈ O
30	45.232	0.82	(3S,8S,9S,10R,13R,14S,17R)-17-[(E,2R,5S)-5-ethyl-6-methylhept-3-en-2-yl]-10,13-dimethyl-2,3,4,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dodecahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-3-ol	412	C ₂₉ H ₄₈ O
31	46.154	6.13	Stigmast-5-en-3-ol,(3β)-	414	C ₂₉ H ₅₀ O
32	46.394	1.07	Stigmasta-5,22-dien-3-ol, (3β,22E)-	412	C ₂₉ H ₄₈ O
33	59.758	6.54	25-Nor-9,19-cyclolanostan-24-one, 3-acetoxy-24-phenyl-	518	C ₃₅ H ₅₀ O ₃

Figure 2
GC-MS chromatogram of the chloroform extract of the flowers of *A. imperatoris-maximilianii*.

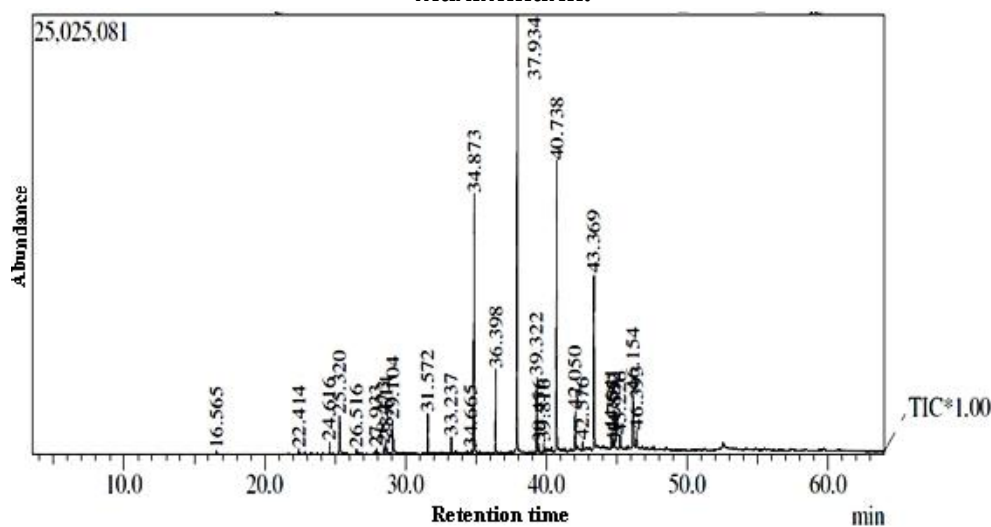


Table 2
Compounds identified in the chloroform extract of the flowers of *A. imperatoris-maximilianii* by GC-MS.

Peak	Retention time (min)	Peak area (%)	Compounds	Molecular weight	Molecular formula
1	16.565	0.18	Leucine, N-methoxycarbonyl-, decyl ester	329	C ₁₈ H ₃₅ NO ₄
2	22.414	0.28	Stearaldehyde	268	C ₁₈ H ₃₆ O
3	24.616	0.53	Methyl-Hexadecanoate	270	C ₁₇ H ₃₄ O ₂
4	25.320	2.30	Hexadecanoic acid	256	C ₁₆ H ₃₂ O ₂
5	26.516	0.20	Octadecanal	268	C ₁₈ H ₃₆ O
6	27.933	0.24	9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)-	292	C ₁₉ H ₃₂ O ₂
7	28.473	0.50	Octadecanoic acid, methyl ester	284	C ₁₈ H ₃₆ O ₂
8	28.614	0.71	Octadeca-9,12,15-trienoic acid methyl ester	292	C ₁₉ H ₃₂ O ₂
9	29.104	1.71	Octadecanoic acid	284	C ₁₈ H ₃₆ O ₂

10	31.572	1.81	n-Tetracosane	338	C ₂₄ H ₅₀
11	33.237	0.76	n-Tetracosane	338	C ₂₄ H ₅₀
12	34.665	0.13	d-Ribose, 2-deoxy-bis(thioheptyl)-dithioacetal	380	C ₁₉ H ₄₀ O ₃ S ₂
13	34.873	13.78	n-Pentacosane	352	C ₂₅ H ₅₂
14	36.398	4.02	n-Pentacosane	352	C ₂₅ H ₅₂
15	37.934	28.86	n-Pentacosane	352	C ₂₅ H ₅₂
16	39.322	3.79	n-Pentacosane	352	C ₂₅ H ₅₂
17	39.456	0.40	(6E,10E,14E,18E)-2,6,10,15,19,23-hexamethyltetracos-2,6,10,14,18,22-hexaene	410	C ₃₀ H ₅₀
18	39.816	0.46	Heptanoic acid, docosyl ester	438	C ₂₉ H ₅₈ O ₂
19	40.738	17.85	Henicosane	366	C ₂₆ H ₅₄
20	42.050	1.87	n-Triacontane	422	C ₃₀ H ₆₂
21	42.576	0.42	Palmitic aldehyde	240	C ₁₆ H ₃₂ O
22	43.369	9.61	n-Triacontane	422	C ₃₀ H ₆₂
23	44.641	0.79	n-Nonacosane	408	C ₂₉ H ₆₀
24	44.755	0.35	Stigmast-5,24(28)-dien-3-ol, (3 β)-	412	C ₂₉ H ₄₈ O
25	44.852	0.79	Campesterol	400	C ₂₈ H ₄₈ O
26	45.226	0.92	Stigmasta-5,22-dien-3-ol, (3 β ,22E)-	412	C ₂₉ H ₄₈ O
27	46.154	5.36	Stigmast-5-en-3-ol, (3 β)-	414	C ₂₉ H ₅₀ O
28	46.393	1.39	Fucosterol	412	C ₂₉ H ₄₈ O

Figure 3
GC-MS chromatogram of the dichloromethane extract of the flowers of *A. imperatoris-maximilianii*.

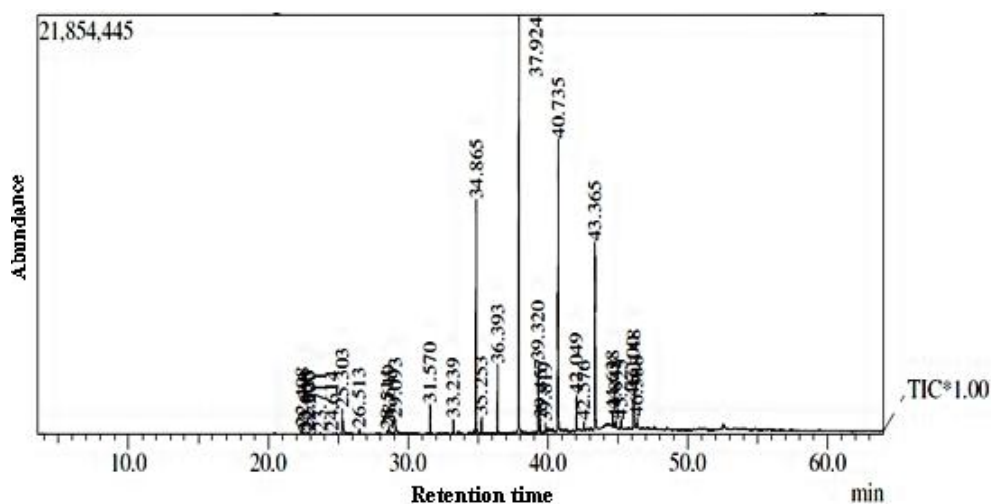


Table 3
Compounds identified in the dichloromethane extract of the flowers of
***A. imperatoris-maximilianii* by GC-MS.**

Peak	Retention time (min)	Peak area (%)	Compounds	Molecular weight	Molecular formula
1	22.408	0.42	Tetradecanal	212	C ₁₄ H ₂₈ O
2	22.680	0.02	Benzene, (1-butylhexadecyl)	358	C ₂₆ H ₄₆
3	22.825	0.16	Neophytadiene	278	C ₂₀ H ₃₈
4	22.900	0.08	Phytone	268	
5	23.711	0.10	Oleyl alcohol, trifluoroacetate	364	C ₂₀ H ₃₅ F ₃ O ₂
6	24.614	0.05	Hexadecanoic acid, methyl ester	270	C ₁₇ H ₃₄ O ₂
7	25.303	2.09	Hexadecanoic acid	256	C ₁₆ H ₃₂ O ₂
8	26.513	0.26	Octadecanal	268	C ₁₈ H ₃₆ O
9	28.514	0.14	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-	280	C ₁₈ H ₃₂ O ₂
10	28.619	0.50	Octadeca-9,12,15-trienoic acid methyl ester	292	C ₁₉ H ₃₂ O ₂
11	29.093	1.08	Octadecanoic acid	284	C ₁₈ H ₃₆ O ₂
12	31.570	1.52	n-Tetracosane	338	C ₂₄ H ₅₀
13	33.239	0.71	n-Tetracosane	338	C ₂₄ H ₅₀

14	34.865	13.27	n-Pentacosane	352	C ₂₅ H ₅₂
15	35.253	10.83	Bis(2-ethylhexyl)benzene-1,2dicarboxylate	390	C ₂₄ H ₃₈ O ₄
16	36.393	3.73	n-Pentacosane	352	C ₂₅ H ₅₂
17	37.924	29.37	n-Pentacosane	352	C ₂₅ H ₅₂
18	39.320	3.82	n-Pentacosane	352	C ₂₅ H ₅₂
19	39.457	0.70	(6E,10E,14E,18E)-2,6,10,15,19,23-hexamethyltetracos-2,6,10,14,18,22-hexaene	410	C ₃₀ H ₅₀
20	39.819	0.47	Heptanoic acid, docosyl ester	438	C ₂₉ H ₅₈ O ₂
21	40.735	19.57	Henicosane	366	C ₂₆ H ₅₄
22	42.049	2.07	n-Triacontane	422	C ₃₀ H ₆₂
23	42.576	0.44	Octadecanal	268	C ₁₈ H ₃₆ O
24	43.365	11.20	n-Triacontane	422	C ₃₀ H ₆₂
25	44.638	0.86	n-Triacontane	422	C ₃₀ H ₆₂
26	44.848	0.54	Ergost-5-en-3-ol, (3 β)-	400	C ₂₈ H ₄₈ O
27	45.225	0.60	Trans-Stigmasta-5,22-Dien-3β-Ol	412	C ₂₉ H ₄₈ O
28	46.100	1.75	Hexatriacontane	507	C ₃₆ H ₇₄
29	46.148	2.88	Stigmast-5-en-3-ol, (3 β)-	414	C ₂₉ H ₅₀ O
30	46.388	0.76	Fucosterol	412	C ₂₉ H ₄₈ O

Table 4
Compounds identified in the ethyl acetate, chloroform and dichlorometane extract of the flowers
***Adenocalymma imperatoris-maximilianii* with their biological activities.**

Compounds Name	Biological Activity
Squalene	Neutralizes different xenobiotics, anti-inflammatory, anti-atherosclerotic and anti-neoplastic, has arole in skin aging and

	pathology, and synergistic activities.
Lupeol	Anticancer
Stigmast-5-en-3-ol, (3.beta.)-	Antidiabetic, Antiangiogenic, Anticancer, antimicrobial, antiinflammatory, antidiarrhoeal and antiviral.
Lupenone	Antimicrobial, antitubercular activity
Neophytadiene	Antipyretic, analgesic, antiinflammatory, antimicrobial and antioxidant
Stigmasterol	Antiinflammatory, inhibits tumor promotion, anti-HIV reverse transcriptase, antiinflammatory.

Source: Dr. Duke's Phytochemical and Ethnobotanical Database¹⁹

CONCLUSION

In this study, we used GC-MS to analyze the ethyl acetate, chloroform and dichloromethane extracts from the flowers of *Adenocalymma imperatoris-maximilianii*. Many of the compounds found in the flowers have proven to have antibacterial activity, as is the case of Squalene, found in the flowers, justifying the popular application of the plant the rural population. Because of the wealth of compounds in the flowers, we concluded that *A. imperatoris-maximilianii* has important potential as a phytotherapeutic, as an alternative source of bioactive compounds that can be used in the treatment of various diseases. This justifies future studies to evaluate its different biological activities and toxicity.

Referencias

1. Sukumaran S, Kiruba S, Mahesh M, Nisha S.R, Miller Paul Z, C.P. Ben; S Jeeva. Phytochemical constituents and antibacterial efficacy of the flowers of *Peltophorum pterocarpum* (DC.) Baker ex Heyne *Asian Pac J Trop Med.*, 4(9), 735-738, (2011).
2. Jeeva S, Johnson M, Aparna J.S, Irudayaraj V, Preliminary phytochemical and antibacterial studies on flowers of selected medicinal plants. *Int J Med Aromatic Plants*, 1(2), 107-114, (2011).

3. Jeeva S, Johnson M, Screening of select ornamental flowers of the family Apocynaceae for phytochemical constituents *Asian Pac J Trop Biomed.*, 1(S1), 151-154, (2012).
4. Joselin J, Shynin Brintha T.S, Florence A.R, Jeeva S. Phytochemical evaluation of Bignoniaceae flowers. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 5(4): 106-111, (2013).
5. Johnson M, Aparna J.S, Jeeva S, Sukumaran S, Babu A. Preliminary phytochemical studies on the methanolic flower extracts of some selected medicinal plants from India *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(S1), 79-82, (2012).
6. Nielsen A.H, Olsen C.E, Møller B.L, 'Flavonoids in flowers of 16 *Kalanchoë blossfeldiana* varieties' *Phytochemistry*, 66, 2829–2835, (2005).
7. Fukui Y, Tanaka Y, Kusumi T, Iwashita T, Nomoto K, A rationale for the shift in colour towards blue in transgenic carnation flowers expressing the flavonoid 3',5'-hydroxylase gene *Phytochemistry*, 63, 15–23, (2003).
8. Schuurink R.C, Haring M.A, Clark D.G, Regulation of volatile benzenoid biosynthesis in petunia flowers *Trends Plant Sci.*, 11, 20–25, (2006).
9. Van Schie C.C.N, Haring M.A, Schuurink R.C, Regulation of terpenoid and benzenoid production in flowers *Curr Opin Plant Biol.*, 9, 203–208, (2006).
10. McNeill J, Barrie F.R, Burdet H.M, Demoulin V, Hawksworth D.L, Marhold K, Nicolson D.H, Prado J, Silva P.C, Skog J.E, Wiersema J.H, Turland N.J (eds.) *International Code of Botanical Nomenclature (Vienna Code) adopted by the Seventeenth International Botanical Congress Vienna, Austria, July 2005*, vol. 146 [Regnum Veg.]. Königstein: Koeltz Scientific Books. (2006).
11. Udulutsch R.G, Assis M.A, Dias P. *Adenocalymma calcareum* sp. nov. (Bignoniaceae) from Brazilian Amazonia and a key to the Amazonian species of the genus. *Nordic Journal of Botany* 27: 449–453, (2009).
12. Gentry A.H, A synopsis of Bignoniaceae ethnobotany and economic botany. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 79: 53-64, (1992).
13. Oliveira A.B, Raslan D.S, Miraglia M.C.M, Mesquita A.A.L, Zani C.L, Ferreira D.T, Maia J.G.S, Estrutura química e atividade biológica de naftoquinonas de Bignoniáceas brasileiras. *Quim. Nova*, 13 (4): 302-307, (1990).
14. Tresvenzol L.M.F, Queiroz D.C, Rezende R.C, Nascimento T.L, Rosa V.S, Paula J.R, Estudo Farmacognóstico da *Memora nodosa* (MANSO) MIERS. *Revista Eletrônica de Farmácia*, 2 (2): 221-223, (2005).

15. Tresvenzol L.M.F, Fiuza T.S, Pimenta F.C, Zatta D.T, Bara M.T.F, Ferri P.H, Lima A.B.M, Paula J.R, Composição química do óleo essencial e atividade antimicrobiana da *Memora nodosa* (Bignoniaceae). Latin American Journal of Pharmacy, 28 (4): 513-519, (2009).
16. Grassi R.F, Resende U.M, Silva W, Macedo M.L.R, Butera A.P, Tulli E.O, Saffran F.P, Siqueira J.M, Estudo fitoquímico e avaliação alelopática de *Memora peregrina* – “ciganinha” – Bignoniaceae, uma espécie invasora de pastagens em Mato Grosso do Sul. Quimica Nova, 28 (2): 199-203, (2005).
17. Forzza, R.C, Catálogo de Plantas e Fungos do Brasil, Vol 1, Jardim Botânico do Rio de Janeiro publisher: 759, (2010).
18. Ashok, K.K, Vijayalakshmi, K. GC-MS Analysis of phytochemical constituents in ethanolic extract of *Punica granatum* peel and *Vitis vinifera* seeds. International Journal of Pharma and Bio Sciences, Vol. 2, Issue 4, Oct – Dec 2011.
19. Dr. Duke’s phytochemical and ethnobotanical databases [Online database]. (Available online: 18 Abr. 2014) <http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/duke/chem-activities.pl>

Apêndice B – Artigo a ser submetido ao Latin American Journal of Pharmacy

MORPHOANATOMICAL, PHYTOCHEMICAL CHARACTERIZATION AND

ANTIBACTERIAL ACTIVITY IN ETHYL ACETATE EXTRACTS OF THE

VEGETATIVE PARTS OF *ADENOCALYMMMA IMPERATORIS-MAXIMILIANII*

(WAWRA) L.G. LOHMANN, BIGNONIACEAE

Gibson G. Oliveira¹, Douglas P. Rodrigues¹, José A. S. Pereira-Junior¹, Gustavo S. Dimech¹, Eulália A. Ximenes¹, Norberto P. Lopes², Sebastião J. de Melo^{1*}

¹ Departamento de Antibióticos, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE),

² Departamento de Física e Química – Universidade de São Paulo (USP)

SUMMARY

Adenocalymma imperatoris-maximilianii (Wawra) LG Lohmann (Bignoniaceae) is a vine known as vine-yellow in the Brazilian Northeast, used for skin diseases and as food for goats. The present study aimed to characterize the morpho-anatomy, histochemistry, perform phytochemical and biological activities, bacteria of the ethyl acetate extracts, vegetative. morphology-anatomy, showed tendrils, flowers in panicles, fruit dehiscent septifraga and lentels along the stem, three different types of stomata: paracytic and anisocytic in epidermal tissues, presence of prismatic crystals, and nonglandular trichomes, in histochemical tests found the presence of phenols, starch and total lipid leaflet mesophyll in paliçado and spongy parenchyma, these characteristics are consistent with those reported for the genus *Adenocalymma*. The analysis of GC-MS some chemical compounds majoritarian were detected in the root lupeol (16.40%), β -sitosterol (30.39%), stigmasterol (28.01%), squalene (9.56%); in the stem lupeol (37.52%), β -sitosterol (26.77%), stigmasta-5,22-dien-3-ol, (3. β ,22E)- (8.96%), squalene (6.83%); in the leaves, stigmast-5-en-3-ol, (3. β)- (17.18%), phytol acetate (6.0%), 2-Hexadecen-1-ol, 3,7,11,15-tetramethyl-, [R-[R*,R*- (50.06%). The extracts by vegetative parts in ethyl acetate against Gram positive bacteria (*Staphylococcus aureus* MRAS and MSAS) showed MIC and CMB 1024-512 and 1024 mg / mL classified as inhibition strong to moderate. *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (Wawra) LG Lohmann is a promising source of bioactive molecules for modern therapy. These are the first morphoanatomic and biological contributions described for specie

KEY WORDS: Morphoanatomical, phytochemical, Antibacterial, ethyl Acetate Extracts *Adenocalymma imperatoris-maximilianii*, Bignoniaceae.

INTRODUCTION

The recognition of the use of plants as an alternative way of curing diseases, nutritional well as for the population, has aroused growing interest of the scientific community. Considered medicinal plants have been used for various therapeutic purposes, since combating various types of neoplasms to pathogenicity caused by microorganisms, being considered as medicinal plants those which when administered in any form, exerts a pharmacological action man, classifying them as extremely important in the search for biomolecules in biological activities ^{1,2}.

Bignoniaceae is a family of angiosperms that includes woody plant, usually climber, but also includes trees and shrubs³. About 36 genera of Bignoniaceae are used in folk medicine, represented by 27 genera of lianas and nine trees ⁴. Substances in Bignoniaceae belong to different classes, such as flavonoids, alkaloids, tannins, steroids, quinones, chromones, iridoid glycosides, saponins ⁵,

Adenocalymma Mart. ex Meisn., Orth. Cons., is a neotropical genus, and one of the richest genres of tribe Bignonieae, the largest tribe the Bignoniaceae with half of all known species, occurring from Mexico to northeastern Argentina,^{5,6,7}. Among the species of the genus *Adenocalymma*, *A. alliaceum* is the most studied, evaluated for different biological activities such as hypolipidaemis ⁸, against antraquinose ⁹, induction of apoptosis in carcinoma cells mama¹⁰, antifungal and antiaflatoxigênica ¹¹. Another widely studied species is *A. nodosum* (= *Memora*) presented allelopathic activity and the duration of the pupal stage in *Tenebrio molitor* ¹², antimicrobial ¹³, healing activity ¹⁴, among others.

Adenocalymma imperatoris-maximilianii (Wawra) L.G. Lohmann, is found in northeastern Brazil, distributed in the states of Pernambuco, Paraíba, Rio Grande do Norte and Bahia, commonly known as vine basket ¹⁵. Residents of the rural

municipality of Pombos, Pernambuco, Brazil, reported the use of the extract of *A. Imperatoris-maximilianii* for skin disorders as well as for feeding goats. There are no published reports of studies on the morpho-anatomy of the species, nor its phytochemical.

The present study aimed to contribute to the morphological study of *A. Imperatoris-maximilianii* and give the first contribution to the anatomical and histochemical study of the species as well as provide a phytochemical screening by GC-MS of crude ethyl acetate extract of the your vegetative parts .

MATERIAL AND METHODS

Collection of plant material

The vegetative parts of *Adenocalimma imperatoris-maximilianii* were collected in the municipality of Pombos, Pernambuco state, Brazil (8° 7' 33'' S, 35° 21' 14'' W). Part of the material collected was intended to construct the voucher specimen, samples were preserved in FAA for preparation of histological sections and the remainder reserved for the preparation of the extracts. The botanical identification was made by Dr. Rita A. P. Galindo and testimony material was deposited in the Herbarium Dárdano de Andrade Lima of the Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA), under the numbering IPA-n. 84012.

Morphological and anatomical studies

From the material collected, comparative studies of the plant with the literature data, detailed description taking into account characteristics of the Bignoniaceae family and genre *Adenocalymma* were performed^{3, 4, 16,17, 18,19}. Images were recorded using digital camera Kodak® Easy Share Z915.

For anatomical studies fully expanded leaves from the fifth node, young leaves from the first and second nodes, and tendrils were collected. Freehand sections were performed on fresh material, but also in preserved in FAA^{19, 20, 21}. The histological slides were prepared using paradermic and blade cross sections foliolule; cross sections of the petiole, the petiolule, rachis, the rachila and tendril. After a diafanization process^{20, 22}, the sections were subjected to double staining with Astra blue / safranin and mounted in glycerine^{18, 19, 20}.

Histochemistry

For histochemical tests, freehand transverse sections of leaf (without diafanization) were made and placed on the following reagents: 10% ferric chloride (FeCl_3) for detection of phenolic compounds^{20, 21, 23}; Lugol for starch detection^{20, 21} and Sudan III for detection of total lipids^{21, 24}. The tests were carried out with fresh material.

Obtaining the ethyl acetate extract

The vegetative parts (leaves: LAcOEt; steam: SAcOEt; root: RAcOEt) of *A. imperatoris-maximilianii*, were ground in a Willey mill and then 40 mg of the material was subjected to extraction using 2 mL of ethyl acetate (HPLC grade - Merck) for 30 minutes in an ultrasonic bath (Unique brand, model USC-1400). The samples were evaporated in an N_2 gas dryer and 2 mg of the extracts were dissolved in 2 mL of ethyl acetate for analysis with gas chromatography coupled to mass spectroscopy (GC-MS).

Gas Chromatography-mass Spectrometry (GC-MS) analyzes

The ethyl acetate extracts of vegetative parts of *A. imperatoris maximilianii* were analyzed by coupled with mass spectrometry (GC-MS) in the apparatus of

Shimadzu QP 2010 in an operating system via electron impact (70 eV) equipped with gun Split (gas chromatography 260 ° C). DB-5 MS column was used (30 m x 0.25 mm x 0.25 µm) Agilent J & W GC Columns, using helium as the carrier gas, the column flow of 1.3 mL/min, injection volume of 1 µL, injector temperature 260 °C and pressure of 97.4 kPa. A mixture of (C₉-C₂₀, C₂₁-C₄₀) linear hydrocarbons was injected under the same conditions to identify the components. The spectra obtained were compared with the database of equipment (FFNSC1.3.lib, WILEY7.LIB, NIST08s.LIB, MY LIBRARY.lib).

Determination of Antibacterial Activity

Bacteria were obtained from stock cultures and maintained at Laboratório de Fisiologia e Bioquímica de Microorganismos (LFBM) of the Departamento de Antibióticos of the Universidade Federal de Pernambuco - Brazil. For this study we used the following *Staphylococcus aureus* strains isolated from clinical specimens: (LFBM 04, LFBM 13, LFBM 18, LFBM 19, LFBM 20, LFBM 21, LFBM 24, LFBM CI 17). *Staphylococcus aureus* ATCC 259 MSSA, *Staphylococcus aureus* ATCC 33591A, were used as standard strains.

These microorganisms were cultured on Mueller-Hinton agar (MHA) (Acumedia Manufacturers, Baltimore, USA) and incubated at 37 °C for 18 hours. Single colonies were selected and inoculated into Mueller-Hinton broth (Acumedia Manufacturers, Baltimore, USA) with turbidity comparable to that of 0.5 McFarland standards. In sequence, these bacterial suspensions were diluted to obtain a final inoculum of 10⁶ CFU/mL. For positive control oxacillin (Sanofi Aventis) was used. Resistance was defined for each case: oxacillin (OXA, MIC ≥ 4 µg/mL) according to the criteria established by the Clinical Laboratory Standard Institute (2012)²⁵. The extracts were solubilized in dimethyl sulfoxide/Tween80/water (1/1/8), while the

oxacillin were solubilized in water. The stock solutions were sterilized by filtration through a Millipore membrane with a 0.22 μm porosity.

RESULTS AND DISCUSSION

Morphological and anatomical studies

The species is a bush 70 to 350 cm in height, with flexible cylindrical stems, glabrous, but are pubescent when young, grouped forming clumps (Figure 1A). The stems have lenticels distributed by all branches. The coloration of the stem varies from green to greenish-brown. Of the axilla of the leaves arise simple tendrils (Figure 1B) that attach the stem to a support, showing characteristic climbing arise. These characteristics are typical in the genus *Adenocalymma*, especially with regard to the tendrils^{6, 26, 27}.



Figure 1- A. Habit of *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* forming clump. B. Tendrils simple (arrows).

The root is pivoting, reaching more than 85 cm long and about 6 inches in diameter. Lying on top of a root dilated, rounded or elongated, giving rise to the stem structure, as observed for *Adenocalymma nodosum* (Silva Manso) L.G. Lohmann [= *Memora nodosa* (Silva Manso) Miers]¹⁹.

The leaflets present 4 to 6.5 cm in length by 1 to 3 cm wide. The leaves of the upper third of young specimens and the axial branches of inflorescence usually have only two pairs of three leaflets per node and a terminal tendril. The rachis is sub-cylindrical, grooved superiorly glabrous, with 4 to 18 cm in length. The rachile is also sub-cylindrical, grooved superiorly glabrous, with 1.1 to 3 cm in length. The rachis and rachiles present nodosidades on the abaxial surface at the point of insertion of the leaflets as noted from *A. nodosum*¹⁹. The stem is cylindrical or straight on the upper surface grooved, extended base, measuring 1.5 to 10 cm long, has few glandular trichomes.

The inflorescence is open panicate (Figure 2 A), terminal or axillary, sometimes forming moderately branched racemes, containing 15 to 45 flowers monoclinal. The flowers have pedicels short light green, glabrous. The calyx is tubuloso powered, light green color, with 0.8 to 1.3 cm in length, pentadentate (teeth with 0.1 cm), glabrous or with trichomes tiny lips; nectar glands are small spherical and prominent observed the ribs on the upper third of the cup (Figure 2 B1). The corolla is infundibuliform with 6.0 to 6.5 cm long, yellow, with purple tint in the lower lobes, internally and externally with trichomes sericeous in the corolla lobes and base of the androecium, characteristics common to the genre^{26,27}. The gynoecium shows stylet with 2.8 to 3.5 cm in length, bi-lamellate stigma, ovary supero, with 0.2 to 0.3 cm, bi-carpellate, bi-loculated with 20 to 30 ovules. Nectary presence of the base of the ovary (Figure 2 B2). Androecium (Figure 3) with four epipetalous fertile stamens, didynamus,

one small staminode (0.4 to 0.5 cm) (Figure 3B), yellow anthers with thecae 0.6 cm in length. The flowers are visited by insects, especially ants (Figure 2 B).



Figure 2 - Inflorescence of *Adenocalymma Imperatoris-maximilianii*. **A.** General appearance of inflorescência. **B.** Detail of calyx, showing nectar glands (**B1**) and nectar at the base of the ovary (**B2**).



Figure 3 - Structures of the *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* flower. **A.** General view of sexual structures (arrows indicating androecium). **B.** Detail showing the staminode.

The fruit (Figure 4 A), dry dehiscent is a capsule, with 23-36 cm long and 1.0 to 1.8 cm wide, straight or slightly wavy, flat tablet, acute at both ends, and thickened

edges subonduladas. The dried fruit is dark outside, and when it opens, shows two valves and a column by seminiferous prey base and surrounded by two filaments; seeds by number 6-10 prey in each valve of the fruit, are winged and are adhered to seminiferous column at hilo and the wings (Figure 4 B).



Figure 4 - Fruit *Adenocalymma imperatoris-maximilianii*. A. Aspect of the young fruit. B. Ripe fruit.

Morphologically, contribute to the identification of *A. imperatoris-maximilianii*, the structure of the stem branches characterized by having tendrils, classifying it as a climber when young and when bent with branches in upper third adult, forming clumps, the size of the leaves contrasts with the relatively small leaf area of foliólulos well as the set of characteristics of leaves and flowers^{26, 27}.

Foliar epidermis study

In front view, the leaflets epidermal cells are polygonal with straight or slightly wavy walls on the adaxial and abaxial faces (Figure 5). The epidermis is uniseriate, with cells on the adaxial bulkier and covered with thicker cuticle of the abaxial surface

with palisade parenchyma occupying half of the mesophyll (Figure 5), featuring an asymmetrical leaflet. Anatomically the epidermis of leaves of *A. imperatoris-maximiliani* observed in this study is similar to that reported for species of *Adenocalymma*^{16,17,19}.

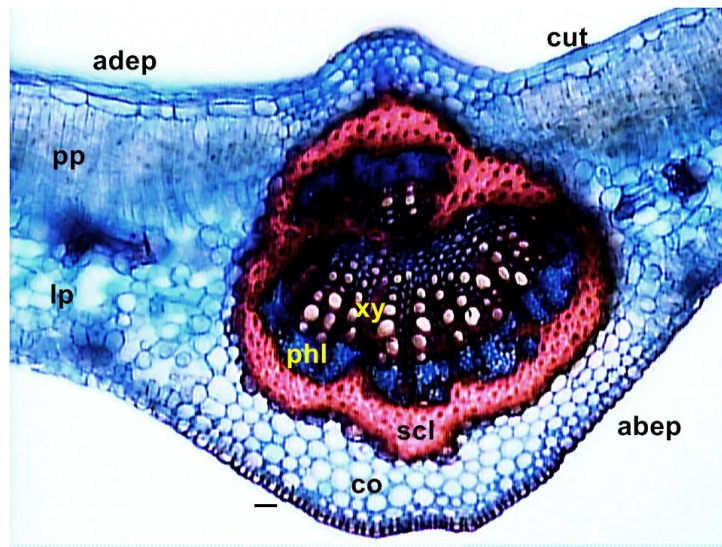


Figure 5 - Details of the leaf blade *Adenocalymma imperatoris-maximiliani*, cross section of leaf mesophyll. Legend: **ade**: adaxial epidermis; **cut**: cuticle, **pp**: palisade parenchymal; **lp**: spongy parenchyma; **co**: collenchyma; **scl**: sclerenchyma; **phl**: phloem; **xy**: xylem; **abep**: abaxial epidermis. Bar = 10µm

Different types of stomata (Figure 6), paracitic (most frequent) (Figure 6 D), anisocytic (Figure 6 E) the abaxial leaf surface, including stomata rosette (Figure 6 C) an important feature were observed¹⁹. Stomata on the adaxial surface being observed indicating that the sheet is hypostomatic. These types of stomata were described for species of Bignoniaceae^{16,17,19}.

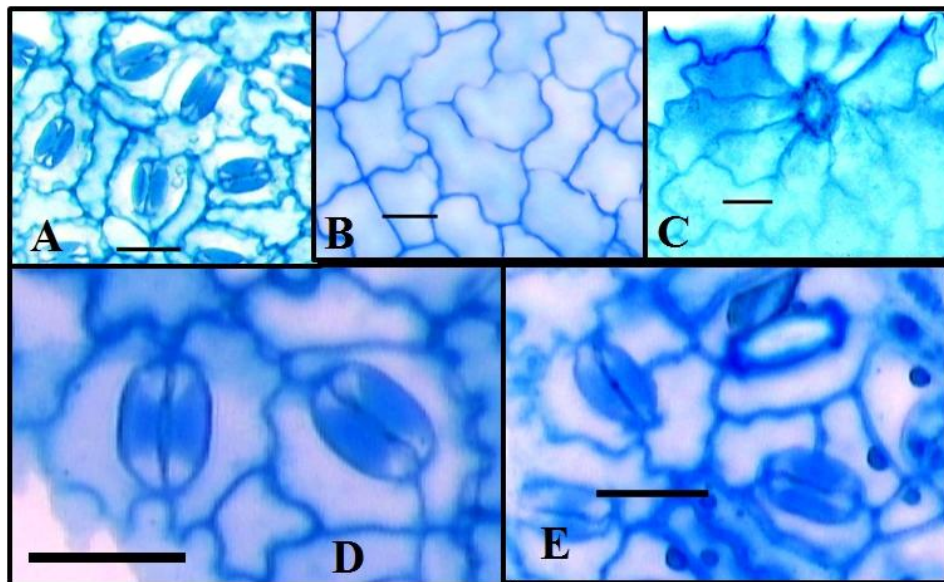


Figure 6 - Epidermis of leaves of the adult plant *Adenocalymma imperatoris-maximilianii*. A. abaxial surface; B. adaxial surface; C. aspect of stomata in rosette characteristic of the genus, D. paracitic stomata; E. anisocytic stomata. Bar = 10µm

In young leaves of the species studied glandular trichomes (Figure 7) and tector (Figure 8) were observed. These trichomes are probably related to mechanisms of plant defense against predators, because the younger leaves are brighter and attractive ¹⁹.

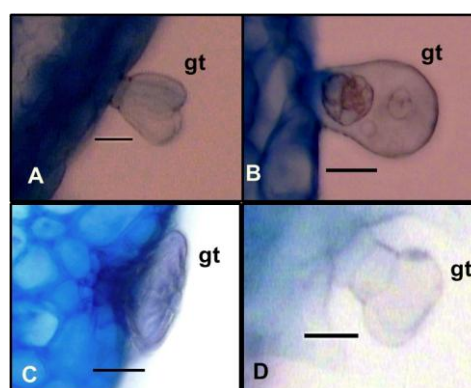


Figure 7- Different types of glandular trichomes found in *Adenocalymma imperatoris-maximilianii*. Bar = 10µm

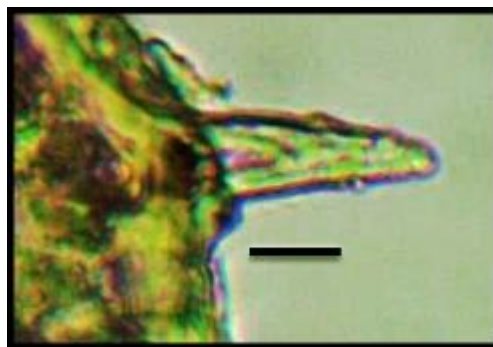


Figure 8 - Tector trichome found in *Adenocalymma imperatoris-maximiliani*. Bar = 10µm

Trichomes of varied forms, as well as tector trichomes are found on both faces of the leaflets, in varying numbers in the leaf blade and series kind in the vein of *Adenocalymma*^{5,6,19, 28}.

Histochemistry

Histochemical tests in *Adenocalymma imperatoris-maximiliani*, revealed the presence of secondary metabolites such as phenolic compounds (Figure 9 A), starch (Figure 9 B) and total lipids (Figure 9 C), with a pattern of intra and intercellular distribution in leaf mesophyll, especially in lacunary and palisade parenchyma and cuticle (Figure 9 D).

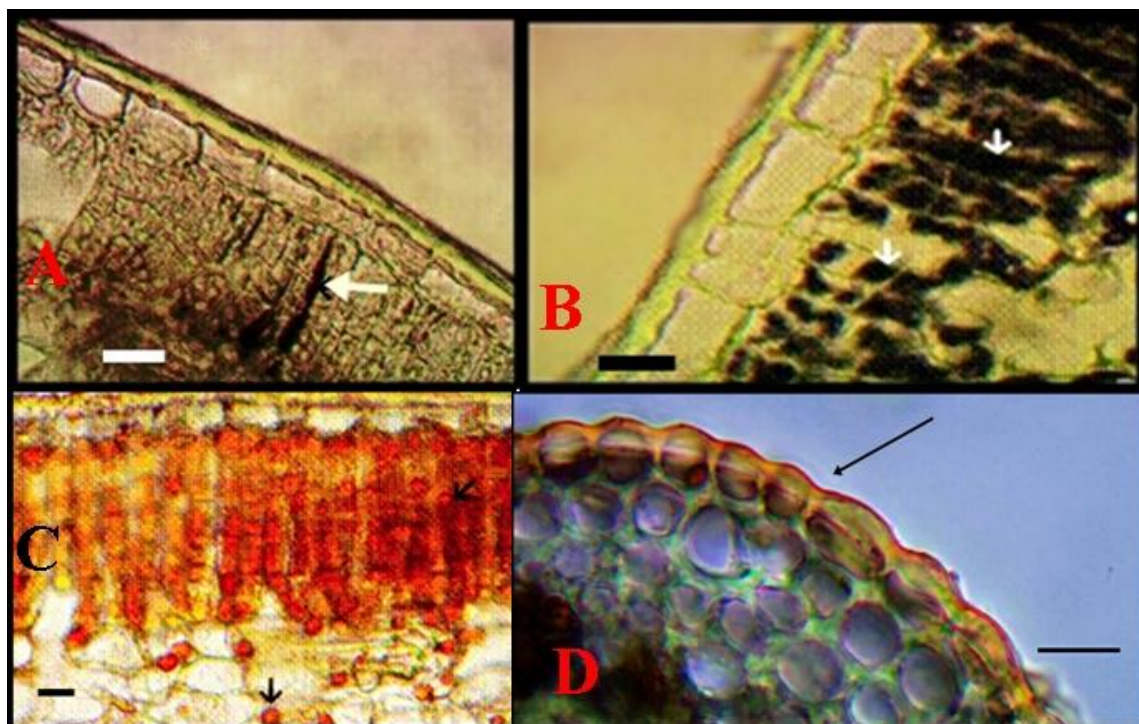


Figure 9 – Histochemistry of the *Adenocalymma Imperatoris-maximilianii* leaves. A. palisade parenchyma of the leaf blade indicating the presence of phenolic compounds, evidenced by reaction with ferric chloride (arrow); B. Starch intracellular in palisade parenchyma in the leaf blade, shown after reaction with Lugol; C. Total Lipids in the palisade parenchyma cells and the intercellular in spongy parenchyma, evidenced by reaction with Sudan III (arrows); D. Presence of lipids in the leaf cuticle stained red after reaction with Sudan III (arrow).

On the leaf surface of *Arrabidaea chica* (Bignoniaceae), the chlorophyll parenchyma proved rich in lipid droplets as well as polyphenols in whole extension of leaf leaflets, except the midrib²⁹. These evidential corroborate the histochemical studies in *Adenocalymma Imperatoris-maximilianii*.

Gas Chromatography-mass Spectrometry (GC-MS) analyzes

The results were compared with those found for species the same genre and the Bignoniaceae family, is no work was found for *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* in the surveyed literature.

Root

In the GC-MS chromatogram of the RAcOEt (Figure 10), 12 peaks were found, corresponding to 12 chemical compounds (Table 1); the larger areas were: lupeol (16.40%), β -sitosterol (30.39%), stigmasterol (28.01%), squalene (9.56%).

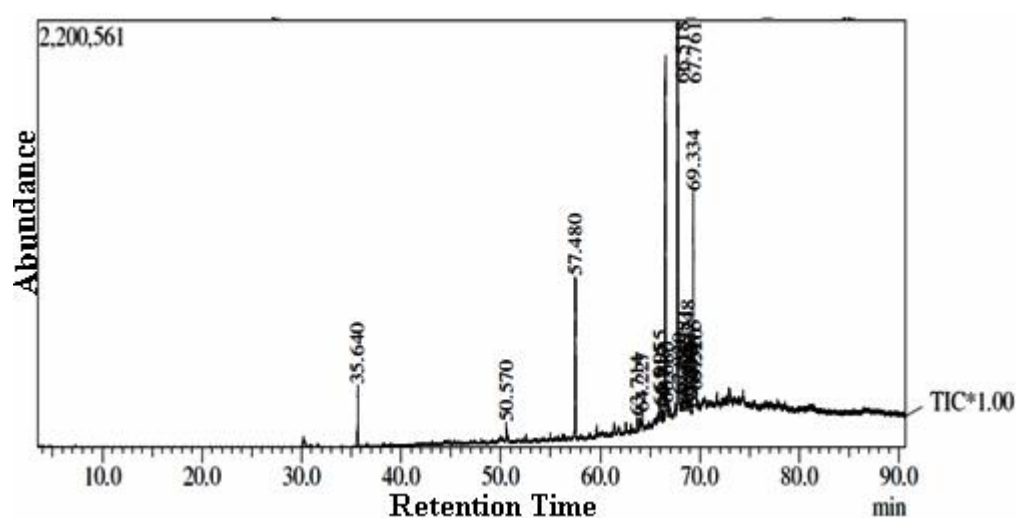


Figure 10 - Chromatogram of ethyl acetate extract of the root of *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann by GC-MS.

Tabel 1- Compounds identified in the ethyl acetate extract of the roots of *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann by GC-MS.

Peak	Retention time (min.)	Area%	Compound	Molecular Weight	Molecular formula
1	35.64	3.45	Kauren-18-ol, acetate, (4. β)	330	$C_{22}H_{34}O_2$
2	50.570	0.75	Di-n-octyl phthalate	390	$C_{24}H_{38}O_4$
3	57.480	9.56	Squalene	410	$C_{30}H_{50}$

4	63.714	0.64	Cholesterol	386	C ₂₇ H ₄₆ O
5	64.227	0.52	Vitamin E	430	C ₂₉ H ₅₀ O ₂
6	65.955	1.94	Campesterol	400	C ₂₈ H ₄₈ O
7	66.319	0.51	7-Cholesten-3-one	400	C ₂₇ H ₄₄ O ₂
8	66.518	28.01	Stigmasterol	412	C ₂₉ H ₄₈ O
9	67.761	30.39	β-sitosterol	414	C ₂₉ H ₅₀ O
10	68.381	2.57	B-amirine	426	C ₃₀ H ₅₀ O
11	68.748	3.69	Lupenone	424	C ₃₀ H ₄₈ O
12	69.334	16.40	Lupeol	426	C ₃₀ H ₅₀ O

Stem

In the GC-MS chromatogram of the SAcOEt (Figure 11), 15 peaks were found, corresponding to 15 chemical compounds (Table 2); the larger areas were: lupeol (37.52%), β-sitosterol (26.77%), stigmasterol (8.96%), squalene (6.83%).

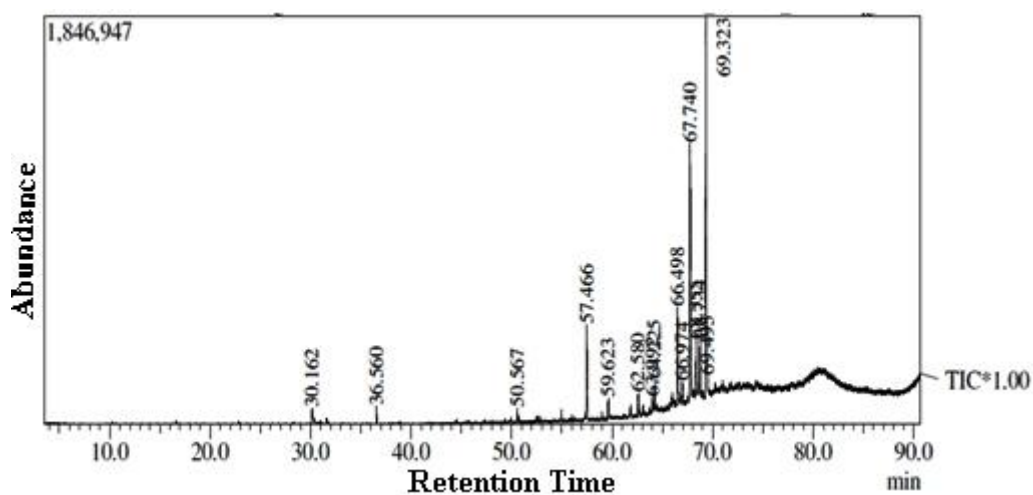


Figure 11 - Chromatogram of ethyl acetate extract of the stem of *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann by GC-MS.

Table1 2- Compounds identified in the ethyl acetate extract of the stem of *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann by GC-MS.

Peak	Retention Time (min.)	Area%	Compound	Molecular Weight	Molecular Formula
1	30.162	1.44	Neophytadiene	278	C ₂₀ H ₃₈
2	36.560	1.18	Kaur-16-ene	272	C ₂₀ H ₃₂
3	50.567	0.55	Acid 1,2-benzenedicarboxylic diisooctyl ester	390	C ₂₄ H ₃₈ O ₄
4	57.466	6.83	Squalene	410	C ₃₀ H ₅₀
5	59.623	1.17	n-Docosane	310	C ₂₂ H ₄₆
6	62.580	1.08	6.β,6.β-dibromo-6,7-methylenetestosterone	456	C ₂₀ H ₂₆ Br ₂ O ₂
7	63.992	0.81	n-Nonadecane	268	C ₁₉ H ₄₀
8	64.225	2.18	Vitamin E	430	C ₂₉ H ₅₀ O ₂
9	66.498	8.96	Stigmasta-5,22-dien-3-ol, (3.β,22E)-	412	C ₂₉ H ₄₈ O
10	66.974	0.86	Palmitic aldeihyde	240	C ₁₆ H ₃₂ O

11	67.740	26.77	β -sitosterol	414	C ₂₉ H ₅₀ O
12	68.355	4.99	β -amirina	426	C ₃₀ H ₅₀ O
13	68.734	4.43	Lupenona	424	C ₃₀ H ₄₈ O
14	69.323	37.52	Lupeol	426	C ₃₀ H ₅₀ O
15	69.495	1.22	Stigmasta-3,5-dien-7-one	410	C ₂₉ H ₄₆ O

Leaves

In the GC-MS chromatogram of the SAcOEt (Figure 12), 32 peaks were found, corresponding to 32 chemical compounds (Table 3); the larger areas were: stigmast-5-en-3-ol, (3. β)- (17.18%), phytol acetate (6.0%), 2-hexadecen-1-ol, 3,7,11,15-tetramethyl-, [R-[R*,R*-] (50.06%).

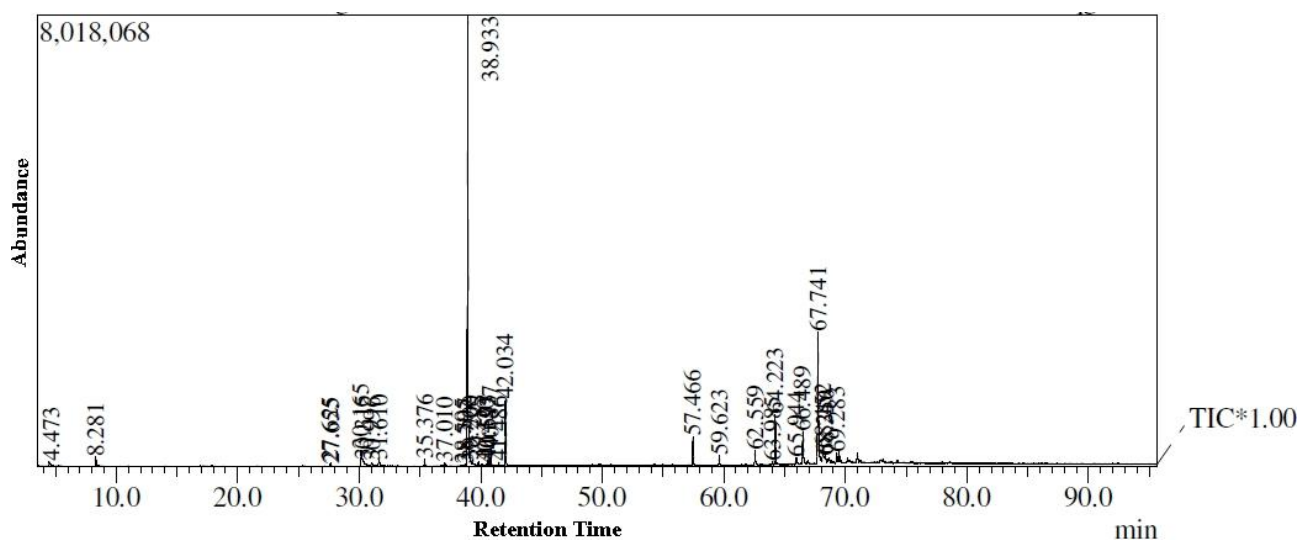


Figure 12 - Chromatogram of ethyl acetate extract of the leaves of *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann by GC-MS.

Table1 3- Compounds identified in the ethyl acetate extract of the leaves of *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann by GC-MS.

Peak	Retention Time (min)	Area %	Compound	Molecular	Molecular Formula
1	4.473	0.38	1,2,3-Propanetriol, monoacetate	134	C ₅ H ₁₀ O ₄
2	8.281	1.12	1,2,3-Propanetriol, monoacetate	134	C ₅ H ₁₀ O ₄
3	27.625	0.24	(-)-Loliolide	196	C ₁₁ H ₁₆ O ₃
4	27.655	0.13	3-Hexyn-2-ol, 5-methyl-	112	C ₇ H ₁₂ O
5	30.165	2.68	Neophytadiene	278	C ₂₀ H ₃₈
6	30.315	0.14	1,2-Cyclohexanediamine, N,N,N',N'-tetramethyl-	170	C ₁₀ H ₂₂ N ₂
7	30.996	0.29	Neophytadiene	278	C ₂₀ H ₃₈
8	31.610	0.54	Neophytadiene	278	C ₂₀ H ₃₈
9	35.376	0.62	Ethyl palmitate	284	C ₁₈ H ₃₆ O ₂
10	37.010	0.28	Acid hexadecanoic, trimethylsilyl ester	328	C ₁₉ H ₄₀ O ₂ SI
11	38.595	0.04	Bicyclo[2.1.1]hexan-1-ol	98	C ₆ H ₁₀ O
12	38.707	0.15	(trans)-2-nonadecene	266	C ₁₉ H ₃₈
13	38.933	50.06	2-Hexadecen-1-ol, 3,7,11,15-tetramethyl-, [R-[R*,R*-	296	C ₂₀ H ₄₀ O
14	39.200	0.01	1R,3-cis-diethoxy-5-trans-methylcyclohexane	186	C ₁₁ H ₂₂ O ₂

15	39.785	0.31	1,1-diprop-2-enoxy	338	C ₂₂ H ₄₂ O ₂
16	40.420	0.09	Vinylcyclooctane	138	C ₁₀ H ₁₈
17	40.577	0.26	Methyl 13,14-octadecadienoate or 13,14-18:2	294	C ₁₉ H ₃₄ O ₂
18	40.595	0.30	Ethyl 9-hexadecenoate	282	C ₁₈ H ₃₄ O ₂
19	40.837	1.41	Phytol, trimethylsilyl ether	368	C ₂₃ H ₄₈ OSi
20	41.486	0.27	Acid nonadecanoic, ethyl ester	326	C ₂₁ H ₄₂ O ₂
21	42.034	6.00	Phytol acetate	338	C ₂₂ H ₄₂ O ₂
22	57.466	2.77	Squalene	410	C ₃₀ H ₅₀
23	59.623	0.89	Octacosane	394	C ₂₈ H ₅₈
24	62.559	1.43	γ-Tocopherol	416	C ₂₈ H ₄₈ O ₂
25	63.985	0.13	n-Docosane	310	C ₂₂ H ₄₆
26	64.223	5.56	Vitamin E	430	C ₂₉ H ₅₀ O ₂
27	65.944	0.86	Δ ⁵ -Ergosterol	400	C ₂₈ H ₄₈ O
28	66.489	3.25	Stigmasterol	412	C ₂₉ H ₄₈ O
29	67.741	17.18	Stigmast-5-en-3-ol, (3. β)-	414	C ₂₉ H ₅₀ O
30	68.152	0.92	β-sitosterol trimethylsilyl ether	486	C ₃₂ H ₅₈ OSi
31	68.356	0.29	β-amirina	426	C ₃₀ H ₅₀ O
32	69.283	1.29	Methyl commat D	486	C ₃₁ H ₅₀ O ₄

The results of this study regarding the chemical constituents of *Adenocalymma imperatoris-maximilianni* are in agreement with those found in the literature for various medicinal plants of the family Bignoniaceae. The presence of β-sitosterol, in ethyl acetate soluble extract of the heartwood of *Dolichandrone falcata* (Wall. ex DC.)

Seem³⁰; still the chemical constituent β -sitosterol makes parts of the extracts from the barks of stems and leaves of *Jacaranda caucana* Pittier³¹; in dichloromethane extract of the stem bark *Jacaranda filicifolia* D. Don, showed lupenona and β -sitosterol as of the chemical constituents³²; *Macfadyena unguis-cati* L. leaves extracts of which is classified as a liana were evidenced the chemical constituents: lupeol, β -sitosterol, β -sitosterilglucosídeo³³; β -sitosterol is one of the chemical constituents of the stem bark extracts in ethyl acetate of *Markhamia tomentosa* (Benth) K. Schum.³⁴; β -sitosterol and β -sitosterol glucopyranoside are chemical constituents of *P. newbouldia* Beauv.³⁵.

Antibacterial analysis

In the present study it was observed that the antibacterial activity of chemical constituents present in the ethyl acetate extracts of the vegetative parts of *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* tested against multiresistant and multisensitive *Staphylococcus aureus* were moderate to strong. The MIC for extracts were 1024-512 $\mu\text{g/mL}$ across the species of *Gram positive* and is considered moderate to strong, they perceive as strong antibacterial activity, MIC values between 50 and 500 $\mu\text{g/mL}$; moderate activity to between 600 and 1500 $\mu\text{g/mL}$ and weak activity, to values above 1500 $\mu\text{g/mL}$ ³⁶. This activity is particularly interesting as the action on *S. aureus* and multidrug multisensitive, since the spread of strains resistant to oxacillin *Staphylococcus aureus* has often been reported worldwide, causing an increase in costs associated with infections caused by these organisms in hospitals, which result from prolonged hospitalization, need for more expensive antimicrobials and indirect spending control measures infecção³⁷⁻³⁹.

This activity can be attributed to the chemical composition of these extracts root, stem and leaf, extracted in ethyl acetate (Table 4) on phytochemical can be observed that the existing classes of secondary metabolites are: terpenes, steroids, benzene derivatives, n-alkanes and various esters, which were identified as species of the family Bignoniaceae agents antibacterianos⁴⁰⁻⁴².

Table 4 - Minimal Inhibitory Concentration of the extracts against Gram-positive cocci

Gram-Positive cocci	Minimum Inhibitory Concentration / Minimal Bactericidal Concentration (µg/mL)			
	LAcOEt	SAcOEt	RAcOEt	OXA
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25293	1024/1024	512/1024	1024/1024	0,12 / 0,25
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 33591	1024/1024	1024/1024	1024/1024	64/128
<i>Staphylococcus aureus</i> AM 04	1024/1024	1024/1024	1024/1024	1,0/1,0
<i>Staphylococcus aureus</i> AM 13	1024/1024	1024/1024	1024/1024	256/512
<i>Staphylococcus aureus</i> AM 18	1024/1024	526/1024	1024/1024	256/256
<i>Staphylococcus aureus</i> AM 19	1024/1024	1024/1024	1024/1024	16/32
<i>Staphylococcus aureus</i> AM 20	1024/1024	1024/1024	1024/1024	8,0 / 16
<i>Staphylococcus aureus</i> AM 21	1024/1024	1024/1024	1024/1024	16/16
<i>Staphylococcus aureus</i> AM 24	1024/1024	1024/1024	1024/1024	256/256
<i>Staphylococcus aureus</i> IC 17	1024/1024	1024/1024	1024/1024	256/256

American Type Culture Collection: ATCC; Leaf Extract in ethyl acetate: LAcOEt; Steam Extract in ethyl acetate: SAcOEt; Root Extract in ethyl acetate: RAcOEt; Oxacillin (sensitive ≤ 2.0 / ≥ 4.0 Resistant): OXA.

The microorganisms tested, *S. aureus*, were selected because of their higher prevalence in hospital bacterial resistance and are recommended as microorganisms standards for antimicrobial susceptibility testing, and are responsible for several forms of infections in humans and acquire more often, antimicrobianos resistance⁴³.

Different researchers have shown that the efficacy of the antimicrobial activity of crude plant extracts may be due to the interaction of different chemical compounds present in plants and not by the activity of the isolated compounds, which may explain these resultados^{44, 45}.

Thus, the antibacterial activities observed by the action of the chemical constituents of the extracts in ethyl acetate vegetative parts of *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* demonstrated action of antibacterial agents against multiresistant *Staphylococcus aureus* and multisensivile. How not found any reports on the antibacterial activity of the plant in the literature, the results against *S. aureus* represent an alternative to overcome the mechanisms of microbial resistance.

CONCLUSIONS

Morphoanatomical characteristics of *Adenocalymma Imperatoris - maximilianii* (Wawra) LGLohmann are befitting for the taxonomic classification in Genre *Adenocalymma* .

Histochemical tests showed that total phenols , starch and total lipids are found in mesophyll and leaflet cuticle.

In the analysis of the extracts of vegetative parts of *Adenocalymma Imperatoris - maximilianii* (Wawra) LGLohmann in ethyl acetate performed by gas chromatography- mass spectrometry (GC-MS) , chemical constituents that have different biological activities confirmed in the literature were highlighted , as lupeol , lupenone , β - sitosterol , β - amyrin , squalene , neophytadiene , stigmasterol , which may explain the strong to moderate inhibition against *Staphylococcus aureus* and multiresistant multi-sensitive. These inedited results reinforce the importance of *Adenocalymma Imperatoris-maximilianii* as a source of active biomolecules.

ACKNOWLEDGMENTS

. Thanks to everyone who participated in the preparation of this work and Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível superior - CAPES, for financial support to Gibson G. de Oliveira.

REFERENCES

1. Calixto, J. B. (2000). *Braz. J. Bio. Res.* 33: 179-189.
2. Carvalho, A. R. (2004). *Env. Dev. Sustain.* 153: 307-316.
3. Gentry, A.H. (1980). *Flora Neotrop.* 25: 130.

4. Gentry, A.H. (1992). *Ann. Missouri Bot. Gard.* 79: 53-64.
5. Udulutsch, R., M.A. Assis, P. Dias (2013). *Turk J. Bot.* 37: 630-643.
6. Udulutsch, R.G., M.A. Assis, P. Dias (2013). *Nord. J. Bot.* 31: 176-185.
7. Lohmann, L.G. (2006). *Am. J. Bot.* 93: 304-318.
8. Srinivasan, M.R., K. Srinivasan (1995). *Indian J Exp Biol.* 33:64-6.
9. Aswini, D., K. Prabakar, L. Rajendran, G. Karthikeyan, T. Raguchander (2010). *World J. Microb Biot.* 26: 1107-1116.
10. Dugasani, S.L., M.K. Balijepalli, M. R. Pichik (2009). *Curr. Trends Biotechnol Pharm.* 3: 278 – 286.
11. Kumar, A., R. Shukla, P. Singh, N.K. Dubey(2009). *Food Chem. Toxicol.* 48:539–543.
12. Menezes, C.W.G., W.S. Tavares, E.G. de Souza, M.A. Soares, J E. Serrão, J.C. Zanuncio (2014). *Allelopathy J.* 33: 141-150.
13. Tresvenzol, L.M.F., T.S Fiuza, F.C Pimenta, D.T. Zata; M.T.F Bara, P.H Ferri, A.B.M Lima, J.R. Paula (2009). *Lat. Am. J. Pharm.* 28: 513-19.
14. Tresvenzol, L.M.F; L.M.L. Parente, R.S. Lino Júnior, T.S. Fiuza, M.T.F. Bara, L.C. Cunha, L.P. Laxor, M.P. Miguel, J.R. Paula (2013). *Rev. Bras. Pl. med.* 15: 423-430.
15. Forzza, R.C. (2010). *Catálogo de Plantas e Fungos do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeir, Rio de Janeiro*, p. 759.
16. Vidal, W.N., M.R.R Vidal (2003). *Botânica - organografia: quadros sinóticos ilustrados de fanerógamos. UFV, Viçosa*, p. 124.

17. Gonçalves, E.G., H. Lorenzi (2007). Morfologia vegetal: organografia e dicionário ilustrado de morfologia das plantas vasculares. Instituto Plantarum de Estudos da Flora, São Paulo, p.p. 416.
18. Souza, L. A., G. O. Santos, I. S. Moscheta (2010). *IHERINGIA*. 65: 5-15.
19. Tresvenzol, L. M. F., T. S. Fiuza, M. H. Rezende, H. D. Ferreira, M. T. F. Bara, D. T. Zatta, J. R. Paula (2010). *Rev. bras. Farmacogn.* 20: 833-842.
20. Junior, A. G., I.C.P. Ferreira, C.V. Nakamura, B.P.D. Filho, E. Jacomassi, M.C.M. Young, D.A.G. Cortez (2005). *Acta Farm. Bonaerense*. 24: 371-376.
21. Duarte, M.R., I. Jurgensen (2007). *Lat. Am. J. Pharm.* 26: 70-75.
22. Ghouse, A.K., M. Yunus (1972). *Stain Technology*. 47: 322-325.
23. Johansen, D.A. (1940). *Plant Microtechnique*. McGraw-Hill, New York, p.p. 523.
24. Jensen, W.A. (1962). *Botanical histochemistry: principles and practice*. San Francisco, W. H. Freeman & Co., p.p. 408 .
25. Clinical and Laboratory Standards Institute (2012). *Performace Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing M100-S22*. Wayne, PA: CLSI.
26. Scudeller, V.V. (2000). *Novon*. 10: 234-237.
27. Kadereit, J.W. (Ed.) (2004). *Flowerin Plants v.7 – Dicotyledons: Lamiales (Except Acanthaceae Including Avicenniaceae)*. Springer, Berlin – Germany, p.p.478.
28. Prata-Alonso, R.R., I.C. Lemos, R.B.S., Añez, A.A. Alonso (2011). *Braz. J. Biol.*, 71: p. 565-566.
29. Puhl, M. C.M.N, M. A. Milaneze-Gutierre, C. V. Nakamura, D. A. G. Cortez (2007). *Lat. Am. J. Pharm.*, 26: 224-229.
30. Aparna, P., A.K. Tiwari, P.V. Srinivas, A.Z. Ali, V. Anuradha, J. M. Rao (2009). *Phytotherapy Research*, 23: 591-596,

31. Ogura, M., G.A. Cordell, N.R. Farnsworth (1976). *Lloydia*, 39: 255-257.
32. Ali, R.M., P.J. Houghton, T.S. Hoo (1998). *Phytotherapy Research*, 12: 331-334.
33. Duarte, D.S., M.F. Dolabela, C.E. Salas, D.S. Raslan, A.B. Oliveiras, A. Nenninger, B. Wiedemann, H. Wagner, J. Lombardi, M.T. Lopes (2000). *The J. of Pharm. and Pharmac.*, 52: 347-352.
34. Tantangmo, F., B.N. Lenta, F.F. Boyom, S. Ngouela, M. Kaiser, E. Tsamo, B. Weniger, P.J. Rosenthal, C. Vonthron-Sénécheau (2010). *Annals of Trop. Med. and Parasit.* 104: 391-398.
35. Eyong, K.O., G.N. Folefoc, V. Kuete, V.P. Beng, K. Krohn, H. Hussain, A.E. Nkengfack, M. Saftel, S.R. Sarite, A. Hoerauf (2006). *Phytochemistry*, 67: 605-609.
36. Sartorato, A., A.L.M. Machado, C. Delarmelina, G.M. Figueira, M.C.T. Duarte, V.L.G. Rehder (2004). *Brazilian J. of Microb.*, v. 35, n. 4, 275–280.
37. Rossi, F., D. Andreazzi (2005). Ed. Atheneu. São Paulo, 2005.
38. Vincent, J. L., J. Rello, J. Marshall, E. Silva, A. Anzueto, C.D. Martin, R. Moreno, J. Lipman, C. Gomersall, Y. Sakr, K. Reinhart, (2009). *JAMA*, v. 302, 2323-2329.
39. Padovese, M. C., D.B. Assis, M.P. Freire, G. Maldalosso, S.A. FERREIRA, M.G. VALENTE, C.M. FORTALEZA (2010). *J Hosp Infect*, v. 76, 311-315.
40. Rojas, J.J., V.J. Ochoa, S.A. Ocampo, J.F. Muñoz, (2006). *BioMed Central Complementary and Alternative Medicine*, 6: 1-6.
41. Mboosso, E. J., S. Ngouela, J. C. Nguedia, V. Penlap, M. Rohmer, E. Tsamo (2008). *Nat. Prod. Research*, 22: 296-304.
42. Ofori-Kwakye, K., A.A. Kwapong, F. Adu, (2009). *African Journal of Traditional*, 6: 168-174.

43. Oplustil, C.P., C.M. Zoccoli, N.R. Tobouti (2010). São Paulo: Sarvier. 3ª. Ed. V. 1, 544.
44. Rios, J. L., M.C. Recio, A. Villar (1987). J of Ethnoph., v. 23, 124–149.
45. Birdi, T., P. Daswani, S. Brijesh, P. Tetali, A. NATU, N. Antia (2010). BMC Complementary and Alternative Medicine, v. 10, 33.

***Correspondence**

Sebastião J. Melo - melosebastiao@yahoo.com.br

Departamento de Antibióticos, Universidade Federal de Pernambuco

Av. Artur Sá s/n, Cidade Universitária, 50670-901 Recife-PE, Brasil

Tel/Fax: +55 81 2126 8347

ANEXO A – ARTIGO PUBLICADO

Int J Pharm Bio Sci 2014 July ; 5 (3) : (P) 70 - 78

Research Article

Chemistry of Natural Products



International Journal of Pharma and Bio Sciences

ISSN
0975-6299

**PHYTOCHEMICAL INVESTIGATION OF CHLOROFORM EXTRACT FROM
ROOT, STEM AND LEAF OF *ADENOCALYMMMA IMPERATORIS-MAXIMILIANII*
(WAWRA) L.G. LOHMAM (BIGNONIACEAE)**

**G. G. DE OLIVEIRA¹; J. A. DE S. PEREIRA JUNIOR¹; I. V. G. A. BASTOS¹;
R. C. SAMPAIO FILHO¹; N. P. LOPES² AND S. J. DE MELO^{1*}**

¹Department of Antibiotics - Federal University of Pernambuco - Recife - Brazil

²Department of Physical and Chemistry - University of São Paulo - Ribeirão Preto - Brazil

ABSTRACT

The Bignoniaceae family has 110 genera and approximately 650 species, widely distributed in tropical regions. Among the genera of this family, the *Adenocalymma* (75 species) have been little investigated from a phytochemical point of view, found only ethnobotanical reports. The aim of this study was the phytochemical characterization of chloroform extracts from the vegetative parts (root, stem and leaves) of *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (Wawra) L.G. Lohmann using analysis by GC-MS. Seventy-one secondary metabolites were identified in chloroform extracts of the root, eleven compounds were detected in stems and seventeen were found in the leaves. There was evidence of neophytadiene in the vegetative parts of this species. Five compounds were common only to stem and leaf extracts. In the root extract, we observed compounds belonging to the alkaloid class. Due to the importance and the various biological activities described in the literature on compounds identified in this study *A. imperatoris-maximilianii* can be considered an alternative source of bioactive secondary metabolites for pharmaceutical therapy.

KEYWORDS: Bignoniaceae, *Adenocalymma imperatoris-maximilianii*, vegetative parts, chloroform extract, GC-MS.

**S. J. DE MELO**

Department of Antibiotics - Federal University of Pernambuco - Recife - Brazil

*Corresponding author

INTRODUCTION

Bignoniaceae is a very important economic family, and ethnobotany studies report 36 genera which are used in folk medicine. Of these, twenty-seven are vines and nine are trees¹. The family comprises 110 genera and about 650 species, widely distributed in tropical regions around the world, especially in the American tropics². The number of species of Bignoniaceae adapted to temperate regions has grown significantly in North America and East Asia. Although considered a small botanical family, it has attracted attention of researchers in recent decades due to its inherent bioactive constituents described in the literature. This family, because of its biological and pharmacological effects, is used in traditional medicinal systems of different countries, where people and practitioners use a number of species for the treatment of several diseases². Bignoniaceae is distinguished from other botanical families by the common occurrence of secondary metabolites, such as iridoids, alkaloids and iridoid glycosides, quinones and anthraquinones, complex esters and diphenolic O-glycosides, tannins, flavonoids, anthocyanins and carotenoids³. The Bignoniaceae family is a promising source of chemical constituents which has been little explored. However, the isolation of lapachol and recognition of its activities: cytostatic, bacteriostatic, antifungal, cercaricidal, trypanocidal and antipyretic, and their biosynthetic chemo-pharmaceutical properties have increased the pharmacological interest in the species of this family⁴. As for the chemical constituents of the genus *Adenocalymma*, there are about 75 species, most of these requiring pharmacognostic studies, since many of them have only undergone ethnobotanical studies³. As an example of the few species studied of the genus *Adenocalymma* were analyzed as to their phytochemical and pharmacological properties, there is: *Adenocalymma nodosum* (Silva Manso) L.G. Lohmann, having the following classes of secondary metabolites: flavonoids and saponins in the roots, saponins, flavonoids and essential oil in the leaves, with the main

components being benzaldehyde and 1-octen-3-ol^{5,6}. Preliminary studies of *Adenocalymma peregrinum* (Miers) L.G. Lohmann, identified the following classes of secondary metabolites: flavonoids, carbohydrates and iridoid glycosides saponins. The two species showed the following biological activities: antimicrobial, anti-inflammatory as well as against scab^{5,6,7}.

The species *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (Wawra) L.G. Lohmann is found in northeastern Brazil, distributed throughout the states of Maranhão, Piauí, Ceará, Pernambuco, Paraíba and Bahia, where it is commonly known as "vine basket"⁸. The plant species spreads quickly over surrounding plants, producing blooms in its natural habitat, usually in the months from December to February. *A. imperatoris-maximilianii* has several synonyms: *Bignonia imperatoris-maximilianii* Wawra; *Pleonotoma Imperatoris-maximilianii* (Wawra) Bureau & K. Schum; *Memora imperatoris-maximilianii* (Wawra) A.H. Gentry, *Memora cristicalix* A.H. Gentry⁹. Ethnobotanical data reports from areas where this plant is commonly harvested refer to its use decocted in alcohol to treat bacterial skin diseases or as food for animals, especially goats. Most Brazilian native plants do not have studies that allow the development of complete and up-to-date studies. Many species are used empirically without scientific support for their efficacy and safety, which shows that in a country like Brazil, with enormous biodiversity, there is a large gap between the supply of plants and research studies available on them. Given the above, *A. imperatoris maximilianii*, fits this scenario, as we found no reports or studies of its phytochemical or biological activities in the specialized literature. The objective of this study was to analyze the bioactive compounds by GC-MS of the chloroform extract of the root, stem and leaf of *A. imperatoris-maximilianii*, hoping to contribute to the knowledge of existing majoritarian secondary metabolites in this species.

MATERIALS AND METHODS

(i) Botanical Material

A. imperatoris-maximiliani (Bignoniaceae) was collected in the municipality of Pombos, state of Pernambuco, Northeast of Brazil (Coordinates: 80° 7' 33" S, 350° 21' 14" W). The plant material was identified by botanist Rita de Cássia A. P. Galindo. A voucher specimen was deposited in the Herbarium Dárdano de Andrade Lima, Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA), and assigned the number IPA - n. 84012.

(ii) Obtaining the partitions

Root, stem and leaf of *A. imperatoris-maximiliani*, were ground in a Willey mill and then 40 mg of the material was subjected to extraction using 2 mL of chloroform (HPLC grade - Merck) for 30 minutes in an ultrasonic bath (Unique brand, model USC-1400). The samples were evaporated in an N₂ gas dryer and 2 mg of the extracts were dissolved in 2 mL of ethyl acetate for analysis with gas chromatography coupled to mass spectroscopy (GC-MS).

(iii) GC-MS analysis

The chloroform extracts of root, stem and leaf were analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) using a Shimadzu GCMS model QP2010 instrument in a system operated by electron impact (70 eV) and the injector temperature was set at 260 °C with a split ratio of 1:5. The DB5-MS column [30 m × 0.25 mm i.d., film thickness 0.25 µm (5% cross-linked phenyl-methylpolysiloxane)] was used (Agilent J & W GC Columns), with helium as the carrier gas, a column flow of 1.3 mL/min, an injection volume of 1 µL, the injector temperature at 260 °C and pressure of 97.4 kPa. A mixture of (C₉-C₂₀, C₂₁-C₄₀) linear hydrocarbons was injected under the same conditions to identify the components. The spectra obtained were compared with the equipment database (FFNSC1.3.lib, WILEY7.LIB, NIST08s.LIB, MY LIBRARY.lib).

RESULTS AND DISCUSSION

The GC-MS chromatogram of the chloroform extract of the root of *A. imperatoris-maximiliani* has seventy-one peaks (Fig. 1), corresponding to presence of the seventy-one compounds (Table 1), whose structures have been proposed by the four libraries of the instrument (FFNSC1.3.lib, WILEY7. LIB, NIST08s.LIB, MY LIBRARY.lib). The compounds that showed the greater areas (%) were: 2-pentanone, 4,4-dimethyl (22.48%); methyl palmitate (6.72%); octadeca acid-9,12-dienoic acid methyl ester (4.98%), 1,2-benzenedicarboxylic acid, bis(2-ethylhexyl) ester (14.29%) and stigmast-5-en-3β-ol (5.63%). The GC-MS chromatogram of the chloroform extract of the stems *A. imperatoris-maximiliani* showed eleven peaks (Figure 2), which corresponds to the structures that have been proposed by the four libraries of the instrument (Table 2). The compounds which had the greater areas (%) were: squalene (48.07%), stigmasterol (5.75%); stigmast-5-en-3β-ol (31.46%); lupenone (6.98%) and lupeol (36.13%). The third extract analyzed by GC-MS was the chloroform extract of the leaves, which chromatogram showed seventeen peaks (Figure 3), corresponding to the seventeen secondary metabolites whose structures have been proposed by the four libraries of the instrument (Table 3). Compounds that had the greatest areas (%) were: neophytadiene (10.29%), vitamin E (10.16%), stigmasterol (7.98%) and β-sitosterol (40.93%). Neophytadiene was identified in all vegetative parts of *A. imperatoris-maximiliani* (root, stem and leaf). This compound has the following biological activities: antipyretic, analgesic, anti-inflammatory, antimicrobial and antioxidant¹⁰. The chloroform extracts of the leaves and stems of *A. imperatoris maximiliani* presented the same secondary metabolites: squalene, γ-tocopherol, vitamin E, β-amyrin and stigmasterol, as shown in Table 4. Ten peaks in the chromatogram were detected by GC-MS of the chloroform extract of the root of *A. imperatoris-maximiliani*, thus identifying ten compounds belonging to the class of alkaloids: 1-methyl-2-pyrrolidinone;

pyrrolidinone; 1-methyl-2,5-pyrrolidinedione;
2-methyl-piperidin-4-ol; 1,3-dinitro
imidazolidine; 5-isopropyl-2,4-
imidazolidinedione; 2-amino-7-chloro-2-
methyl-heptanoic acid; 2-*t*-butyl-5-

hydroxymethyl-4-oxazoline-3-carboxylic; L-
norleucine, 2-Methoxycarbonylamino-
hexanoic acid decyl ester; 3-Thioxo-3,4-
dihydro-2*H*[1,2,4]triazin-5-one

Figure 1

GC-MS chromatogram of the chloroform extract of the roots of *A. imperatoris-maximilianii*.

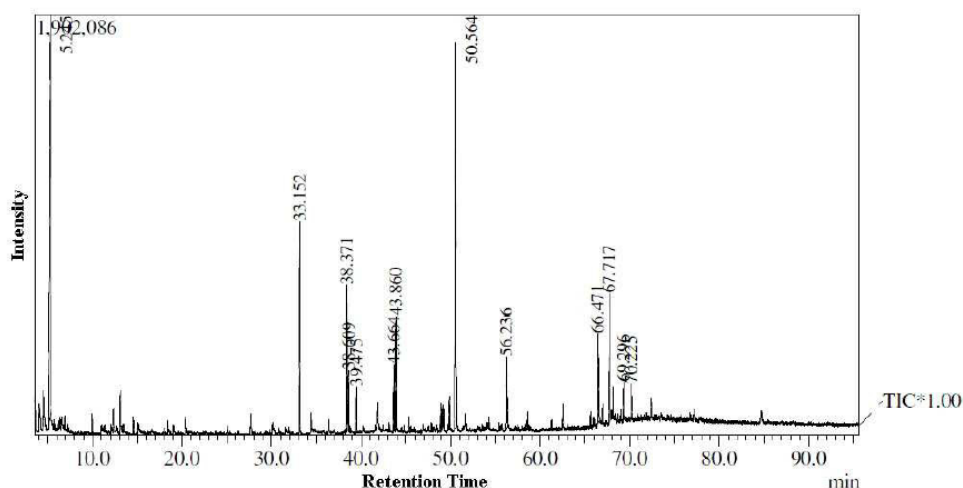


Table 1

Compounds identified in the chloroform extract of the roots of *A. imperatoris-maximilianii* by GC-MS.

Peak	Retention time (min)	Peak area (%)	Compounds	Molecular weight	Molecular formula
1	3.546	0.98	2-chloro-2,3-dimethyl-butane	120	C ₆ H ₁₃ Cl
2	3.590	0.51	1-methyl-pyrrolidin-2-one	99	C ₅ H ₉ NO
3	4.032	0.71	Pyrrolidin-2-one	85	C ₄ H ₇ NO
4	4.155	0.55	Cyclopencarboxylic- acid 2-methoxy-ethyl-ester	172	C ₉ H ₁₆ O ₃
5	4.444	0.33	1-Methyl-pyrrolidine-2,5-dione	113	C ₅ H ₇ NO ₂
6	4.535	0.57	Succinic acid monomethyl ester	132	C ₅ H ₈ O ₄
7	5.055	0.18	2-hydroxy-succinic acid dimethyl ester	162	C ₆ H ₁₀ O ₅
8	5.245	22.48	4,4-dimethyl-2-pentanone	114	C ₇ H ₁₄ O
9	5.739	0.24	Pentyl formate	116	C ₆ H ₁₂ O ₂
10	6.329	0.28	Trimethylsilyl 5-methoxypentanoate	204	C ₉ H ₂₀ O ₃ Si
11	6.530	0.30	2-Methyl-piperidin-4-ol	115	C ₆ H ₁₃ NO
12	6.585	0.09	1,3-Dinitro imidazolidine	162	C ₃ H ₆ N ₄ O ₄
13	6.946	0.35	5-isopropyl-imidazolidine-2,4-dione	142	C ₆ H ₁₀ N ₂ O ₂
14	7.215	0.18	2,3-Dihydroxy-succinic acid dimethyl ester	178	C ₆ H ₁₀ O ₆
15	9.933	0.66	2-Amino-7-chloro-2-methyl-heptanoic acid	193	C ₈ H ₁₆ ClNO ₂
16	11.009	0.16	Acetic acid sec-butyl ester	130	C ₇ H ₁₄ O ₂
17	11.352	0.17	3,4,5-Trimethoxy-tetrahydro-pyran-2-ol	192	C ₈ H ₁₆ O ₅
18	12.329	0.68	1-(4-Methoxy-phenyl)-ethanone	150	C ₉ H ₁₀ O ₂
19	13.068	1.39	4-Methoxy-benzoic acid methyl ester	166	C ₉ H ₁₀ O ₃
20	14.540	0.44	2-tert-Butyl-5-hydroxymethyl-oxazole-3-carboxylic acid methyl ester	215	C ₁₀ H ₁₇ NO ₄
21	18.379	0.29	4-Hydroxy-3-methoxy-benzoic acid methyl	182	C ₉ H ₁₀ O ₄

Int J Pharm Bio Sci 2014 July ; 5 (3) : (P) 70 - 78

			acid ester		
22	18.430	0.02	1-(2-chloro-ethoxy)propane	122	C ₅ H ₁₀ O ₄
23	19.065	0.25	2-Methoxycarbonylamino-hexanoic acid decyl ester	329	C ₁₈ H ₃₅ NO ₄
24	20.369	0.42	Allyl-cyclopentyloxy-dimethyl-silane	184	C ₁₀ H ₂₀ OSi
25	20.410	0.04	Propane, 1,3-dimethoxy-2-(methoxymethyl)-2-methyl-	162	C ₈ H ₁₈ O ₃
26	20.425	0.03	3-Thioxo-3,4-dihydro-2H[1,2,4]triazin-5-one	129	C ₃ H ₃ N ₃ OS
27	27.690	0.62	4-Hydroxy-3,5-dimethoxy-benzoic acid hydrazide	172	C ₁₀ H ₂₀ O ₂
28	27.745	0.03	4-Methyl-1-(5-methyl-2,3,4,5-tetrahydro-[2,3']bifuranyl-5-yl)-pentan-2-one	250	C ₁₅ H ₂₂ O ₃
29	27.770	0.05	Chloro-acetic acid <i>tert</i> -butyl ester	150	C ₆ H ₁₁ ClO ₂
30	30.136	0.58	7,11,15-trimethyl-3-methylene-hexadec-1-ene	278	C ₂₀ H ₃₈
31	30.240	0.03	1,3,3-Trimethyl-bicyclo[2.2.1]heptan-2-one	152	C ₁₀ H ₁₆ O
32	33.152	6.72	Hexadecanoic acid methyl ester	270	C ₁₇ H ₃₄ O ₂
33	34.394	0.76	Hexadecanoic acid	256	C ₁₆ H ₃₂ O ₂
34	36.385	0.38	Heptadecanoic acid methyl ester	270	C ₁₇ H ₃₄ O ₂
35	38.371	4.98	Octadeca-9,12-dienoic acid methyl ester	294	C ₁₉ H ₃₄ O ₂
36	38.540	0.80	Octadeca-9,12,15-trienoic acid methyl ester	292	C ₁₉ H ₃₂ O ₂
37	38.609	2.17	Octadeca-2,11-dienoic acid methyl ester	296	C ₁₉ H ₃₆ O ₂
38	38.788	0.10	3-cyclohexylpropan-1-ol	142	C ₉ H ₁₈ O
39	38.830	0.05	Trimethyl-((E)-tetradeco-7-enoxysilane	384	C ₁₇ H ₃₆ OSi
40	39.475	1.49	Octadecanoic acid methyl ester	298	C ₁₉ H ₃₈ O ₂
41	40.195	0.02	3-Methyl-but-2-enoic acid phenyl ester	176	C ₁₁ H ₁₈ O ₂
42	40.238	0.29	2-(2-formylbenzoyl)benzaldehyde	278	C ₁₅ H ₁₀ O ₃
43	41.842	1.01	Dodecanoic acid 2,3-dihydroxy-propyl ester	274	C ₁₅ H ₃₀ O ₄
44	41.965	0.04	Pentanoic acid-cyclopentyl-ethyl ester	198	C ₁₂ H ₂₂ O ₂
45	42.463	0.08	Methyl 5-(2-undecycyclopropyl)pentanoate	310	C ₂₀ H ₃₈ O ₂
46	42.475	0.02	(2,2,3,3-Tetramethyl-cyclopropyl)-methanol	128	C ₈ H ₁₆ O
47	43.090	0.21	3-Acetoxy-3-butoxycarbonyl-pentanedioic acid dibutyl ester	402	C ₂₀ H ₃₄ O ₈
48	43.200	0.02	1-Chloromethyl-1-(2,2-dimethyl-propoxy)-silinane	234	C ₁₁ H ₂₃ ClOSi
49	43.664	2.13	Icosanoic acid 1-acetoxymethyl-2-hydroxy-ethyl ester	470	C ₂₇ H ₅₀ O ₆
50	43.860	3.98	2-(2,3-Diacetoxy-propyl)-hexadecanoic acid anion	414	C ₂₃ H ₄₂ O ₆
51	45.304	0.47	Icosanoic acid methyl ester	470	C ₂₇ H ₅₀ O ₆
52	45.460	0.01	2-Methyl-3-methylene-cyclopentanecarbaldehyde	124	C ₈ H ₁₂ O
53	47.831	0.19	4-(2-(2-(2-Pentyl-cyclopropylmethyl)cyclopropylmethyl)-cyclopropylmethyl)cyclopropylbutyl methyl ester	374	C ₂₅ H ₄₂ O ₂
54	48.989	1.21	11-bicyclo [3.1.0]hex-2-yl-undecanoic acid methyl ester	280	C ₁₈ H ₃₂ O ₂
55	49.215	1.07	2-(2,3-diacetoxy-propyl)tetradecanoic acid anion	386	C ₂₁ H ₃₈ O ₆
56	49.695	0.24	6-acetoxy-4,5,7-trimethoxy-heptanoic acid anion	278	C ₁₂ H ₂₂ O ₇
57	49.870	1.26	9,10-diachloro-octadecnoic acid methyl ester	366	C ₁₉ H ₃₆ Cl ₂ O ₂
58	50.564	14.29	Bis(2-ethylhexyl)benzene-1,2dicarboxylate	390	C ₂₄ H ₃₈ O ₄
59	51.650	0.40	1,1,4a-trimethyl-8-propan-2-yl-2,3,4,9,10,10a-hexahydrophenanthrene-2,7-diol	302	C ₂₀ H ₃₀ O ₂
60	56.236	2.67	2(1H)-phenanthrenone,3,4,4a,9,10,10a,-hexahydro-1,1,4a,-trimethyl	242	C ₁₇ H ₂₂ O
61	56.305	1.04	6 beta,6.beta.-Dibromo-6,7-methylenetestosterone	456	C ₂₀ H ₂₈ Br ₂ O ₂
62	58.576	0.32	3,6,9-Trimethyl-2,7-dioxo-2,3,3a,4,5,7,9a,9b-octahydroazuleno[4,5-b]furan-2,7-dione	304	C ₁₇ H ₂₀ O ₅
63	62.567	0.64	Cholesta-4,6-dien-3-ol, benzoate, (3.beta.)-	488	C ₃₄ H ₄₈ O ₂
64	65.650	0.40	Dodecanoic acid, 1,2,3-propanetriyl Ester	470	C ₂₇ H ₅₀ O ₆

65	66.471	3.77	Stigmasta-5,22-dien-3-ol, (3.β.,22E)-	412	C ₂₉ H ₄₈ O
66	66.939	0.46	Stigmasterol trimethylsilyl ether	484	C ₃₈ H ₅₈ OSi
67	67.717	5.63	Stigmast-5-en-3-ol,(3.β.)-	414	C ₂₉ H ₅₀ O
68	68.148	0.87	Beta-sitosterol trimethylsilyl ether	486	C ₃₂ H ₅₈ OSi
69	69.296	1.63	Lupeol	426	C ₃₀ H ₅₀ O
70	70.225	1.13	Stigmast-4-en-3-one	412	C ₂₉ H ₄₈ O
71	72.384	0.84	7, βeta-hydroxydiosgenin	430	C ₂₇ H ₄₂ O ₄

Figure 2
GC-MS chromatogram of the chloroform extract from the stems of *A. imperatoris-maximilianii*.

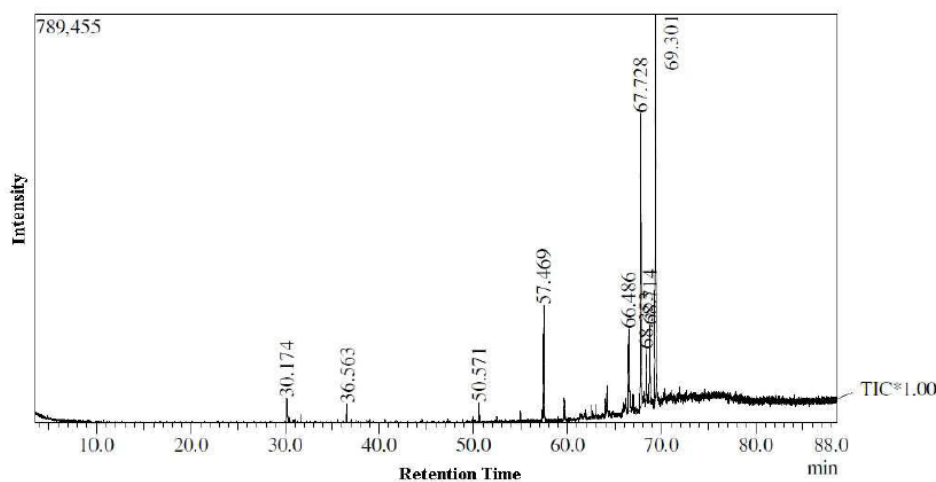


Table 2
Compounds identified in the chloroform extract from the stems of *A. imperatoris-maximilianii* by GC-MS.

Peak	Retention time (min)	Peak area (%)	Compounds	Molecular weight	Molecular formula
1	30.174	0.51	7,11,15-Trimethyl-3-methylene-hexadec-1-ene	278	C ₂₀ H ₃₈
2	36.563	1.16	Kaur-16-ene	272	C ₂₀ H ₃₂
3	50.571	1.20	bis(2-ethylhexyl) benzene-1,2-dicarboxylate	390	C ₂₄ H ₃₈ O ₄
4	57.469	48.07	(6E,10E,14E,18E)-2,6,10,15,19,23-hexamethyltetracos-2,6,10,14,18,22-hexaene	410	C ₃₀ H ₅₀
5	62.582	1.17	(2R)-2,7,8-Trimethyl-2-[(4R,8R)-4,8,12-trimethyltridecyl]-6-chroman-ol	416	C ₂₈ H ₄₈ O ₂
6	64.210	2.06	2,5,7,8-tetramethyl-2-(4,8,12-trimethyltridecyl)-3,4-dihydrochromen-6-ol	430	C ₂₈ H ₅₀ O ₂
7	66.486	5.75	(3S,8S,9S,10R,13R,14S,17R)-17-[(E,2R,5S)-5-ethyl-6-methylhept-3-en-2-yl]-10,13-dimethyl-2,3,4,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dodecahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-3-ol	412	C ₂₉ H ₄₈ O
8	67.728	31.46	Stigmast-5-en-3-ol, (3.β.)-	414	C ₂₉ H ₅₀ O
9	68.353	5.53	(3S,4aR,6aR,6bS,8aR,12aR,14aR,14bR)-4,4,6a,6b,8a,11,11,14b-octamethyl-1,2,3,4a,5,6,7,8,9,10,12,12a,14,14a-tetradecahydronicen-3-ol	426	C ₃₀ H ₄₈ O
10	68.714	6.98	(1R,3aR,5aR,5bR,7aR,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a,5a,5b,8,8,11a-hexamethyl-1-prop-1-en-2-yl-2,3,4,5,6,7,7a,10,11,11b,12,13,13a,13b-tetradecahydro-1H-cyclopenta[a]chrysen-9-one	424	C ₃₀ H ₄₈ O
11	69.301	36.13	(1R,3aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a,5a,5b,8,8,11a-hexamethyl-1-prop-1-en-2-yl-1,2,3,4,5,6,7,7a,9,10,11,11b,12,13,13a,13b-hexadecahydrocyclopenta[a]chrysen-9-ol	416	C ₃₀ H ₅₀ O

Figure 3
GC-MS chromatogram of the chloroform extract from the leaves of *A. imperatoris-maximilianii*.

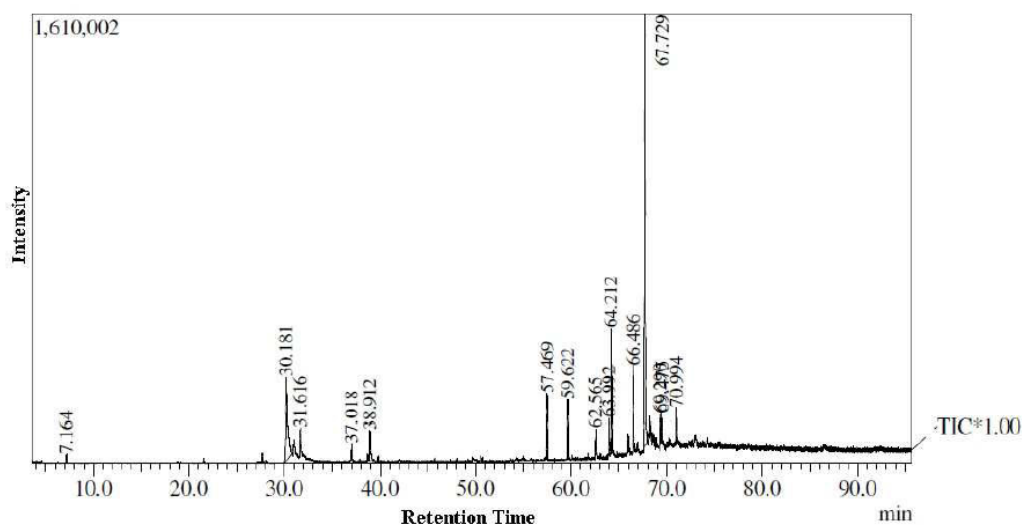


Table 3
Compounds identified in the chloroform extract from the leaves of *A. imperatoris-maximilianii* by GC-MS.

Peak	Retention time (min)	Peak area (%)	Compounds	Molecular weight	Molecular formula
1	7.164	0.58	2-bromo-1-chloro-propane	156	C ₃ H ₆ BrCl
2	30.181	10.29	7,11,15-Trimethyl-3-methylene-hexadec-1-ene	278	C ₂₀ H ₃₈
3	30.340	0.18	Tridec-2-en-ol	198	C ₁₃ H ₂₆ O
4	37.018	1.05	trimethylsilyl hexadecanoate	328	C ₁₈ H ₄₀ O ₂ Si
5	38.665	0.02	trimethylsilyl (7Z)-7-trimethylsilyloxyiminooctanoate	317	C ₁₄ H ₃₁ NO ₃ Si ₂
6	38.912	2.90	3,7,11,15-Tetramethyl-hexadec-2-en-1-o	297	C ₂₀ H ₄₀ O
7	57.469	4.86	2,6,10,15,19,23-Hexamethyl-tetracos-2,6,10,14,18,22-hexaene	410	C ₃₀ H ₅₀
8	59.622	3.94	Tetratetracontane	619	C ₄₄ H ₉₀
9	62.565	2.03	2,6,10,15,19,23-Hexamethyl-tetracos-2,6,10,14,18,22-hexaene	416	C ₂₈ H ₄₈ O
10	63.992	2.57	Nonacosane	408	C ₂₉ H ₆₀
11	64.212	10.16	2,5,7,8-tetramethyl-2-(4,8,12-trimethyltridecyl)-3,4-dihydrochromen-6-ol	430	C ₂₉ H ₅₀ O ₂
12	66.486	7.98	(3S,8S,9S,10R,13R,14S,17R)-17-[(E,2R,5S)-5-ethyl-6-methylhept-3-en-2-yl]-10,13-dimethyl-2,3,4,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dodecahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-3-ol	412	C ₂₉ H ₄₈ O
13	67.729	40.93	17--10,13-dimethyl-2,3,4,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dodecahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-3-ol	414	C ₂₉ H ₅₀ O
14	68.139	1.35	[17-(5-ethyl-6-methylheptan-2-yl)-10,13-dimethyl-2,3,4,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dodecahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-3-yl]oxy-trimethylsilane	486	C ₃₂ H ₅₈ OSi

15	69.290	2.79	2,6,10,15,19,23-Hexamethyl-tetracos-2,6,10,14,18,22-hexaene	426	C ₃₀ H ₅₀ O
16	69.475	2.57	2-bromo-1-chloro-propane	426	C ₃₀ H ₅₀ O
17	70.994	3.46	7,11,15-Trimethyl-3-methylene-hexadec-1-ene	426	C ₃₀ H ₅₀ O

Table 4
Compounds identified in the chloroform extract of the stem and leaves
***Adenocalymma imperatoris-maximiliani* with their biological activities.**

Compounds Name	Biological Activity
Squalene	Neutralizes different xenobiotics, anti-inflammatory, anti-atherosclerotic and anti-neoplastic, has a role in skin aging and pathology, and Adjuvant activities.
Gamma-tocopherol	AntiCRP, Antiatherosclerotic, Anticancer, Antiinflammatory, Antioxidant, Antiprostaglandin, Antitumor, Cardioprotective, Cyclooxygenase-Inhibitor, Hypcholesterolemic, NO-Inhibitor, Natriuretic, PKC-Inhibitor.
Vitamin E	5-HETE-Inhibitor; Allergenic; Analgesic; Antiaggregant; Antiaging; Antialzheimeria; Antianginal; Antiarteriosclerotic; Antiarthritic; Antiatherosclerotic; Antibronchitic; Anticancer; Anticariogenic; Anticataract; Antidecubitic; Antichorea; Antichoreic; Anticonvulsant; Anticoronary; Antidementia; Antidermatitic; Antiepileptic; Antidiabetic; Antifibrotic; Antidysmenorrheic; Antiinflammatory; Antiglycosation; Antiherpetic; Antinfertility; Antischismic; Antileukemic; Antileukotriene; Antilithic; Antimalarial; AntimD; Antilupus; Antimaculitic; Antineuritic; Antimelanomic; AntiMS; Antimycoclonic; Antineuropathic; Antinitrosaminic; Antiophthalmic; Antioxidant; Antiosteoarthritis; AntiPMS; Antiproliferant; Antiparkinsonian; Antisenility; Antiradicular; Antiretinopathic; Antisterility; Antirheumatic; Antisickling; Antispasmodic; Antistroke; Antisunburn; Antisyndrome-X; Antithalassemic; Antithrombotic; Antithromboxane-B2; Antitoxemic; Antitumor; Antitumor (Breast); Antitumor (Colorectal); Antitumor (Prostate); Antitumor (Stomach); Antiulcerogenic; Apoptotic; Calcium-Antagonist; Cancer-Preventive; Cardioprotective; Cerebroprotective; Circulatory-Stimulant; Circulotonic; Immunomodulator; Hepatoprotective; Hypcholesterolemic; Hypoglycemic; Immunostimulant; Lipoxigenase-Inhibitor; NO-Inhibitor; Phospholipase-A2-Inhibitor; Ornithine-Decarboxylase-Inhibitor; P21-Inducer; Protein-Kinase-C-Inhibitor; Vasodilator.
Beta- amyrin	Analgesic, antiedemic, antiinflammatory, antinociceptive, antiulcer, gastroprotective, hepatoprotective, larvicide, mosquitocide.
Stigmasterol	Anti-inflammatory, inhibits tumor promotion, anti-HIV reverse transcriptase, anti-inflammatory.

Source: Dr. Duke's Phytochemical and Ethnobotanical Databases

CONCLUSION

In this study, using GC-MS analysis of chloroform extracts of root, leaf and stem of *Adenocalymma Imperatoris-maximiliani*, seventy-one compounds were detected in the root, eleven compounds in the stem and seventeen compounds in the leaves. Many of the compounds found in the vegetative parts of *A. Imperatoris-maximiliani* have proven to have antibacterial activity, as is the case neophytadiene, found in the root, stem and leaves, justifying the popular

application of the plant held by the local people. Because of the wealth of compounds in the vegetative parts, especially in the root, we concluded that *A. Imperatoris-maximiliani* has important potential as a phytotherapeutic, being an alternative source of bioactive compounds that can be used for the treatment of various diseases. This justifies future studies to evaluate its different biological activities and toxicity.

REFERENCES

- Lopes M.M.M, Carvalho-Okano R.M, Souza A.L, Paiva H.N, Crescimento de mudas de cipó-cravo (*Tynanthus fasciculatus* Miers), uma liana com potencial medicinal. Revista Árvore, 32 (2): 211-216, (2008).
- Rahmatullah M, Samarrai W, Jahan R, Rahman S, Sharmin N, Miajee Z.U.M. E.U, Chowdhury M.H, Bari S, Jamal F,

- Bashar A.B.M. A, Azad A.K, Ahsan S, An ethnomedicinal, pharmacological and phytochemical review of some Bignoniaceae family plants and a description of Bignoniaceae plants in folk medicinal uses in Bangladesh. *Advances in Natural and Applied Sciences*, 4 (3): 236-253, (2010).
3. Gentry A.H, A synopsis of Bignoniaceae ethnobotany and economic botany. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 79: 53-64, (1992).
 4. Oliveira A.B, Raslan D.S, Miraglia M.C.M, Mesquita A.A.L, Zani C.L, Ferreira D.T, Maia J.G.S, Estrutura química e atividade biológica de naftoquinonas de Bignoniáceas brasileiras. *Quim. Nova*, 13 (4): 302-307, (1990).
 5. Tresvenzol L.M.F, Queiroz D.C, Rezende R.C, Nascimento T.L, Rosa V.S, Paula J.R, Estudo Farmacognóstico da *Memora nodosa* (MANSO) MIERS. *Revista Eletrônica de Farmácia*, 2 (2): 221-223, (2005).
 6. Tresvenzol L.M.F, Fiuza T.S, Pimenta F.C, Zatta D.T, Bara M.T.F, Ferri P.H, Lima A.B.M, Paula J.R, Composição química do óleo essencial e atividade antimicrobiana da *Memora nodosa* (Bignoniaceae). *Latin American Journal of Pharmacy*, 28 (4): 513-5199, (2009).
 7. Grassi R.F, Resende U.M, Silva W, Macedo M.L.R, Butera A.P, Tulli E.O, Saffran F.P, Siqueira J.M, Estudo fitoquímico e avaliação alelopática de *Memora peregrina*—"ciganinha" – Bignoniaceae, uma espécie invasora de pastagens em Mato Grosso do Sul. *Química Nova*, 28 (2): 199-203, (2005).
 8. Forzza, R.C, Catálogo de Plantas e Fungos do Brasil, Vol 1, Jardim Botânico do Rio de Janeiro publischer: 759, (2010).
 9. Tropicos.org. Missouri Botanical Garden 2013 (Available online: 06Jan2014) <<http://www.tropicos.org/Name/100141548>>.
 10. Dr. Duke's phytochemical and ethnobotanical databases [Online database]. (Available online: 17Jan 2014) <http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/duke/chem-activities.pl>.
 11. Ashok, K.K, Vijayalakshmi, K. GC-MS Analysis of phytochemical constituents in ethanolic extract of *Punica granatum* peel and *Vitis vinifera* seeds. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, Vol. 2, Issue 4, Oct – Dec 2011.