



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

**RÔMULO CÉSAR SAMPAIO PEIXOTO FILHO**

**Caracterização físico-química e atividades biológicas das folhas de *Adenocalymma imperatoris-maximiliani* (WAWRA) L.G. LOHMANN (BIGNONEACEAE).**

**Recife**

**2015**

**RÔMULO CÉSAR SAMPAIO PEIXOTO FILHO**

**Caracterização físico-química e atividades biológicas das folhas de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (WAWRA) L.G. LOHMANN (BIGNONEACEAE).**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, do Centro de Ciências da Saúde, da Universidade Federal de Pernambuco como requisito para obtenção do título de mestre.

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

**Orientador:** Prof. Dr. Sebastião José de Melo

**Recife**

**2015**

Ficha catalográfica elaborada pela  
Bibliotecária: Mônica Uchôa, CRB4-1010

P379c Peixoto Filho, Rômulo César Sampaio.  
Caracterização físico-química e atividades biológicas das folhas de  
Adenocalymma imperatoris-maximilianii (WAWRA) L.G. LOHMANN  
(BIGNONEACEAE) / Rômulo César Sampaio Peixoto Filho. – Recife: O  
autor, 2015.  
106 f.: il.; tab.; quad.; 30 cm.

Orientador: Sebastião José de Melo.  
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS.  
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, 2015.  
Inclui referências e apêndices.

1. Bignoniaceae. 2. Atividades biológicas. 3. CG-EM. 4.  
Adenocalymma. 5. Imperatoris-maximilianii. I. Melo, Sebastião José de  
(Orientador). II. Título.

615.3 CDD (23.ed.)

UFPE (CCS2015-059)

**RÔMULO CÉSAR SAMPAIO PEIXOTO FILHO**

**Caracterização físico-química e atividades biológicas das folhas de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (WAWRA) L.G. LOHMANN (BIGNONEACEAE).**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Aprovada em: 20 / 02 / 2015.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Sebastião José de Melo (Orientador)  
Universidade Federal de Pernambuco

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Elba Lúcia Cavalcanti de Amorim (Examinadora Interna)  
Universidade Federal de Pernambuco

---

Prof. Dr. José Antônio de Sousa Pereira Junior (Examinador Externo)  
Faculdade Escritor Osman Lins

**RECIFE  
2015**

**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**

**ELBA LÚCIA CAVALCANTI DE AMORIM  
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

*Em primeiro lugar a **Deus**, por todas as bênçãos e oportunidades.*

*Aos meus pais **Ângela e Rômulo**, pela formação como pessoa, por todo apoio, amor, compreensão e motivação. vocês são a peça fundamental nessa conquista.*

*A minha esposa **Bruna Gonçalves** pelo apoio, incentivo, compreensão, amor e paciência nos momentos mais difíceis.*

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

*Ao meu orientador **Prof. Dr. Sebastião José de Melo**, pela confiança, dedicação e empenho admirável fazendo a diferença em minha vida. Consciente de que é impossível listar todos os seus ensinamentos. Um amigo para todas as horas. Meu muito obrigado pela amizade, carinho e paciência.*

*Ao grande amigo **José Antonio**, por fazer parte, sem dúvida alguma, dos melhores momentos desta jornada, muito obrigado pela ajuda e paciência. Agradeço pelas horas extras do seu tempo dedicadas a me ensinar. Você faz a diferença na vida acadêmica das pessoas.*

*Ao grande amigo **Gibson Gomes**, com quem tive o privilégio de contar com seu apoio. Mais do que um mestre, Gibão é um amigo para todas as horas. O agradecimento aqui envolve mais do que um simples obrigado.*

*A **Isla Bastos** por participar diretamente deste trabalho, nos momentos de confinamento e ensinamentos, por tornar este objetivo mais perto de seu alcance. Bem como por acreditar em mim, mostrando-me o caminho da ciência, fazendo parte da minha vida nos momentos bons e ruins, sendo um exemplo.*

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

*A professora Dr<sup>a</sup> **Elba Lúcia** por fazer parte de minha história acadêmica. Me ensinando, sendo sempre muito atenciosa, companheira e por fazer parte, sem dúvida alguma, dos melhores momentos desta jornada.*

*Aos meus amigos de laboratório **Zenaide, George, Gracy, Douglas, Luiz, Guilherme, Gustavo, Waleska**, que sempre estiveram do meu lado dando força e apoio.*

*Aos amigos **Danielle e Evangeline**, que me ajudaram em todos os momentos..*

*Aos amigos **Allan, Danilo, Suyanna** que fizeram parte desses momentos sempre me ajudando e incentivando.*

*Às funcionárias da secretatia de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da UFPE, pela atenção, carinho e paciência.*

*Ao laboratório do Núcleo de Química Fundamental da Universidade Federal de Pernambuco pelas análises do óleo essencial*

*A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.*

*“Não sabendo que era impossível,  
ele foi lá e fez.” (Jean Cocteau).*

## RESUMO

A utilização de plantas medicinais como forma alternativa de cura à enfermidades tem como facilitadores a grande diversidade vegetal e o baixo custo associado à terapêutica. A família Bignoniaceae representa fontes importantes de substâncias com grande diversidade estrutural, apresentando a espécie *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (Wawra) L.G. Lohmann uma fonte promissora de moléculas bioativas para terapêutica moderna. Diante disto, este trabalho teve como objetivo contribuir na produção de dados acerca das folhas de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (wawra) L., uma espécie ainda pouco estudada quimicamente e biologicamente. Foi realizada caracterização físico-química (perda por dessecação, análise granulométrica, teor de cinzas totais). Após CG/MS do óleo essencial da *A. imperatoris-maximilianii*, foi possível elucidar trinta e nove (39) compostos, sendo o fitol identificado como composto majoritário. Foi evidenciado quatorze (14) compostos derivados flavonoídicos por espectrometria de massas acoplado a eletrospray, presentes nos extratos aquoso, metanólico e acetônico. As análises espectroscópicas permitiu elucidar a possível estrutura química do composto, 6-[5,6-dihydroxy-2-(4-methoxy-phenyl)-4-oxo-4H-chromen-7-yloxy]-3,4,5-trihydroxy-tetrahydro-pyran-2-carboxylic acid., isolado da fração aquosa do extrato metanólico de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii*. Os extratos aquoso, metanólico e acetônico apresentaram atividade antibacteriana promissora frente bactérias Gram positivas (*Enterococcus faecalis*) quanto para Gram negativas (*Staphylococcus aureus*). Os extratos brutos de baixa e média polaridade apresentaram de moderadas a alta atividade no ensaio de citotoxicidade *in vitro*, sendo na HL-60 (leucemia promielocítica aguda) a melhor atividade em análise. A considerável atividade antioxidante e a quantidade de fenóis totais mostram que pode-se dizer que quanto maior a concentração de fenóis numa solução, maior a estabilização de radicais DPPH, portanto, maior a atividade antioxidante da mesma. Todos os resultados apresentados são inéditos para *Adenocalymma imperatoris-maximilianii*, tornando a espécie uma fonte de compostos bioativos, apresentando potenciais efeitos benéficos sobre a saúde humana.

**Palavras-chave:** Bignoniaceae. Atividades biológicas. CG-EM. *Adenocalymma imperatoris-maximilianii*

## ABSTRACT

The use of medicinal plants as an alternative form of healing the disease has as facilitators great plant diversity and the low cost associated with the therapy. The Bignoniaceae family represents important sources of substances with great structural diversity, with species *imperatoris-maximiliani* *Adenocalymma* (Wawra) LG Lohmann a promising source of novel therapeutic bioactive molecules. In view of this, this study aimed to contribute to the production data on the leaves of *imperatoris-maximiliani* *Adenocalymma* (Wawra) L., a species not well known chemically and biologically. Was performed physicochemical characterization (loss on drying, particle size analysis, total ash content). After GC / MS of the essential oil of *imperatoris-maximiliani* A., it was possible to elucidate thirty-nine (39) compounds, with the phytol identified as major compound. evidenced fourteen (14) derived flavonoid compounds by mass spectrometry coupled to electrospray, present in the aqueous, methanol and acetone extracts. Spectroscopic analyzes helped to clarify the possible chemical structure of the compound, 6-[5,6-dihydroxy-2-(4-methoxy-phenyl)-4-oxo-4H-chromen-7-yloxy]-3,4,5-trihydroxy-tetrahydro-pyran-2-carboxylic acid., isolated from the aqueous fraction of the methanol extract of *imperatoris-maximiliani* *Adenocalymma*. The aqueous extracts, methanol and acetone showed promising antibacterial activity against Gram positive bacteria (*Enterococcus faecalis*) and for Gram negative bacteria (*Staphylococcus aureus*). Gross low and medium polarity extracts showed moderate to high activity in vitro cytotoxicity assay, and HL-60 (acute promyelocytic leukemia) the best activity in question. The considerable antioxidant and the amount of total phenols show that one can say that the greater the phenol concentration in solution, the greater the stabilization DPPH, therefore, the higher the antioxidant activity thereof. All results presented are original for *imperatoris-maximiliani* *Adenocalymma*, making the species a source of bioactive compounds, with potential beneficial effects on human health..

**Keywords:** Bignoniaceae. biological activities. CG-EM. *Adenocalymma imperatoris-maximiliani*

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> – 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;	24
<b>Figura 2</b> – Exsicata depositada no herbário do Missouri Botanical Garden.	37
<b>Figura 3</b> - Distribuição do gênero <i>Adenocalymma</i> .	38
<b>Figura 4</b> - Esquema geral do mecanismo da oxidação lipídica, onde RH-ácido graxo insaturado; $R^\bullet$ - radical livre; $ROO^\bullet$ - radical peróxido e ROOH – hidroperóxido.	45
<b>Figura 5</b> – Mecanismo de ação para os antioxidantes primários, onde $ROO^\bullet$ e $R^\bullet$ - radicais livres; AH – antioxidante com um átomo de hidrogênio ativo e $A^\bullet$ radical inerte.	46
<b>Figura 6</b> - Histograma de distribuição granulométrica do pó das folhas de <i>Adenocalymma imperatoris-maximilianii</i> .	63
<b>Figura 7</b> - Curva de retenção e passagem das folhas de <i>Adenocalymma imperatoris-maximilianii</i> .	63
<b>Figura 8</b> - Cromatograma evidenciando os picos e tempos de retenção dos compostos identificados no óleo essencial de <i>Adenocalymma imperatores-maximilianii</i> (Wawra) L. G. Lohmann por CG-EM.	66
<b>Figura 9</b> - Compostos encontrados em maior percentual no óleo essencial de <i>Adenocalymma imperatores-maximilianii</i> (Wawra) L. G. Lohmann – (A) hexadecanal; (B) 2-pentadecanona,6,10,14-trimetil; (C) cis-9-hexadecenal; (D) isofitol; (E) farnesil acetona; (F) 2-ciclohexeno-1-ol, 3-metil; (G) geranilgeraniol; (H) 5,9,13-pentadecatrieno-2 ona; (I) Fitol.	68
<b>Figura 10</b> - Espectro de RMN $^1H$ do composto TOMAIZINA	72
<b>Figura 11</b> - Espectro de RMN $^{13}C$ ; 400MHz do composto TOMAIZINA	73
<b>Figura 12</b> - Subespectro DEPT 135°; 400MHz; DMSO-d, TOMAIZINA	74
<b>Figura 13</b> - Espectrometria de massas acoplado a eletronspray (modo negativo (M-H) $^-$ ) TOMAIZINA.	75
<b>Figura 14</b> - Espectrometria de massas acoplado a eletronspray (modo positivo (M+H) $^+$ ) TOMAIZINA .	76
<b>Figura 15</b> - Composto elucidado TOMAIZINA	77

**Figura 16** - Redução do DPPH pelo antioxidante BHT (di-terc-butilmetilfenol).

82

## LISTA DE QUADROS

- Quadro 1** - Plantas da família Bignoniaceae e suas descrições farmacológicas, fitoquímicas e etnomedicinais. 25
- Quadro 2** - Composição percentual do óleo essencial de *Adenocalymma imperatoris-maximiliani* (Wawra) L. G. Lohmann (Bignoniaceae). 67

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1-** Compostos identificados por espectrometria de massas acoplado a eletrospray (modo negativo (M-H<sup>-</sup>), nos extratos: Aquoso (A), Metanólico (M) e Acetônico (Ac.) das folhas de *Adenocalymma imperatores-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann, Bignoniaceae. 70
- Tabela 2** - Concentração Inibitória Mínima das bactérias ensaiadas com extrato bruto (aquoso, metanólico e acetônico) das folhas de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann (Bignoniaceae). 78
- Tabela 3** - Teste de Citotóxicidade dos extratos das folhas de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann diante de Linhagens de Células Tumorais (NCI-H292, HEP-2, MCF-7, HL-60). 81

## LISTA DE SIMBOLO E ABREVIATURAS

**µg** - micrograma

**µg/mL** – micrograma por mililitro

**µL** – microlitro

**µm** – microméetro

**ATCC** – American Type Culture Colection

**CCD** – Cromatografia em camada delgada

**CIM** – Concentração inibitória mínima

**cm** – centímetro

**CpqAM** – Centro de pesquisa Ageu Magalhães

**EBA** – Extrato bruto aquoso

**EBM** – Extrato bruto metanólico

**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

**FAA** – formol, ácido acético, álcool etílico 50%

**FDA** – Food and Drug Administration

**FIOCRUZ** – Fundação Oswaldo Cruz

**IPA** - Instituto Pernambucano de Pesquisa Agropecuária

**mg** - miligrama

**mL** –mililitro

**°C** – graus celsius

**pH** – potencial hidrogeniônico

**RLU** – raw lights units

**S** - Sul

**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

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	17
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	20
<b>2.1 OBJETIVO GERAL</b> .....	20
<b>2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b> .....	20
<b>3 REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	22
<b>3.1 PRODUTOS NATURAIS</b> .....	22
<b>3.2 FAMÍLIA BIGNONIACEAE</b> .....	23
<b>3.3 GÊNERO <i>ADENOCALYMMA</i></b> .....	35
<b>3.4 <i>ADENOCALYMMA IMPERATORIS-MAXIMILIANII</i> (WAWRA) L. G. LOHMANN</b> .....	36
<b>3.5 ÓLEO ESSENCIAL</b> .....	38
<b>3.6 ATIVIDADE ANTIBACTERIANA</b> .....	40
<b>3.7 ATIVIDADE CITOTÓXICA</b> .....	42
<b>3.8 ANTIOXIDANTES</b> .....	44
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	48
<b>4.1 COLETA DO MATERIAL BOTÂNICO</b> .....	48
<b>4.2 PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS</b> .....	48
<b>4.3 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA</b> .....	49
<b>4.3.1 Análise granulométrica por tamisação</b> .....	49
<b>4.3.2 Determinação da perda por dessecação</b> .....	49
<b>4.3.3 Determinação de cinzas totais</b> .....	50
<b>4.3.4 QUANTIFICAÇÃO DE POLIFENÓIS TOTAIS</b> .....	51
<b>4.4 IDENTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS DO ÓLEO ESSENCIAL POR CG-EM</b> ...	52
<b>4.4.1 Extração do óleo essencial</b> .....	52
<b>4.4.2 Análise por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrômetro de Massa</b> .....	52
<b>4.5 PURIFICAÇÃO DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS</b> .....	54
<b>4.5.1 Obtenção dos extratos</b> .....	54
<b>4.5.2 Obtenção da fração aquosa da folha (Faef)</b> .....	55

4.5.3 Cromatografia em Coluna .....	55
4.5.4 Cromatografia em Camada Delgada Preparativa (Ccdp) .....	56
4.5.5 Análise ION-TRAP-MS/MS .....	56
<b>4. 6 ATIVIDADES BIOLÓGICAS .....</b>	<b>57</b>
4.6.1 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE .....	57
4.6.2 ATIVIDADE ANTIBACTERIANA.....	58
4.6.3 AVALIAÇÃO CITOTÓXICA .....	61
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>62</b>
<b>5.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA.....</b>	<b>62</b>
5.1.1 Análise granulométrica por tamisação .....	62
5.1.2 Perda por dessecação .....	64
5.1.3 Teor de cinzas totais .....	64
5.1.4 Determinação do teor de polifenóis totais.....	65
<b>5.2 ÓLEO ESSENCIAL.....</b>	<b>65</b>
<b>5.3 ANÁLISE POR ESPECTOMETRIA DE MASSAS ACOPLADO A ELETROSPRAY (TOF – ION TRAP).....</b>	<b>69</b>
<b>5.4 ELUCIDAÇÃO DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS .....</b>	<b>71</b>
5.4.1 Cromatografia em Coluna .....	71
5.4.2 Cromatografia Em Camada Delgada Preparativa (Ccdp) .....	71
5.4.3 Elucidação do composto isolado.....	72
<b>5.4 ATIVIDADES BIOLÓGICAS .....</b>	<b>78</b>
5.4.1 Atividade antibacteriana .....	78
5.2.2 Atividade citotóxica .....	80
5.2.3 Atividade antioxidante.....	82
<b>6. CONCLUSÕES .....</b>	<b>84</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>86</b>
<b>Apêndice A – Artigo publicado .....</b>	<b>98</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A utilização de plantas medicinais como forma alternativa de cura à enfermidades tem como facilitadores a grande diversidade vegetal e o baixo custo associado à terapêutica, proporcionando a sua utilização para os mais variados fins terapêuticos, desde o combate aos diversos tipos de neoplasias até patogenidades causadas por microrganismos (VIEGAS *et al.*, 2006). A convicção da importância dos recursos naturais vem de longa data, fazendo parte da vida do homem desde seus primórdios e sua importância nos diversos estágios de desenvolvimento da sociedade é inegável (SIMÕES, 2010).

Segundo a Organização Mundial de Saúde, 80% da humanidade não têm acesso ao atendimento primário de saúde, por estarem muito distantes dos centros de saúde ou por não possuírem recursos para adquirir os medicamentos prescritos. Para essas populações, as terapias alternativas são as principais formas de tratamento, e as plantas medicinais, os principais medicamentos (VEIGA JUNIOR, 2008).

O Brasil é reconhecido por sua biodiversidade. Essa riqueza biológica torna-se ainda mais importante porque está 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).

Na flora brasileira, Bignoniaceae é uma das principais famílias de angiospermas do ponto de vista farmacológico e etnobotânico, pois muitas espécies são usadas na medicina popular, apresentando uma riqueza em moléculas com atividades biológicas comprovadas, como é o caso do ipê roxo *Tabebuia avellaneda*, fonte do lapachol, uma naftoquinona usada no tratamento de certos tipos de câncer. Rahmatullah *et al.*, (2012), relataram as diversas atividades da família Bignoniaceae, como: moluscicida,

tripanosomicida, larvicida, antioxidante, antidiabética, antiplasmódica, antiinflamatória, imunostimulante, antimicrobiana, antidepressiva, antiveneno de cobra, antineoplásica e antinociceptiva.

*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. Segundo os mesmos autores, no Brasil, onde 42 (89%) de 47 espécies ocorrem, *Adenocalymma* é amplamente distribuída, sendo encontrada 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).

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 - ANVISA, a qual normatiza o registro de medicamentos fitoterápicos como parte essencial das boas práticas de fabricação, garantindo a qualidade de um medicamento (BRASIL, 2009).

A avaliação da eficiência, potencial terapêutico e a segurança de medicamentos a base de produtos naturais não é bem expressa pois ainda existe uma escassez de artigos científicos sobre a atividade biológica dos extratos brutos das plantas e sua relação com os diferentes constituintes químicos (DVORSKÁ. 2007).

Para autorização de produção e comercialização de produtos fitoterápicos, a ANVISA, exige a documentação de todas as ações direta ou indiretamente relacionadas à sua produção (BRASIL, 2004). Para tanto, a existência de especificações oficiais de matérias-primas farmacêuticas, oriundas de plantas medicinais, representa um passo importante para o estabelecimento de critérios mínimos para aceitação da qualidade. A definição de critérios de qualidade para insumos farmacêuticos de origem vegetal é de suma importância para garantir a manutenção da eficácia do produto final, especialmente devido à complexidade de composição destas matérias-primas e às

variações ligadas às condições de cultivo e coleta do vegetal, assim como de tratamentos empregados para promover sua estabilidade (SONAGLIO, 2003)

Devido a carência de estudos das espécies do gênero *Adenocalymma*, o presente trabalho busca contribuir para o conhecimento de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann, popularmente conhecida como cipó cesta ou cipó amarelo, planta usada na medicina popular e na alimentação de caprinos no agreste pernambucano, principalmente nos municípios de Vitória de Santo Antão e Pombos.

## 2 OBJETIVOS

O presente trabalho contribue na produção de dados acerca de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (wawra) L. G. Lohmann, uma espécie ainda pouco estudada quimicamente e biologicamente, contribuindo com o potencial farmacológico deste gênero.

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Realizar estudos farmacocômicos e atividades biológicas das folhas de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (Wawra) L.G. Lohmann, bem como, avaliar o perfil químico do óleo essencial.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar caracterização físico-química (perda por dessecação, análise granulométrica, teor de cinzas totais) de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii*;
- Extrair, e caracterizar quimicamente o óleo essencial das folhas por cromatografia à gás acoplada a espectrometria de massa (CG-EM) de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii*;
- Purificar metabólitos secundários a partir do extrato metanólico das folhas de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii*;
- Realizar elucidção da estrutura química por RMN de  $^1\text{H}$  /  $^{13}\text{C}$  e por espectrometria de massas.
- Avaliar a atividade antibacteriana dos extratos aquoso, metanólico e acetônico das folhas de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii*;

- Determinar o potencial antioxidante dos extratos das folhas de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii*;
- Avaliar a citotoxicidade *in vitro* dos extratos brutos de baixas e média polaridade das folhas de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* frente a linhagens de de carcinomas humanos de pulmão, laringe e de mama, bem como de uma linhagem de leucemia promielocítica;

### 3 REVISÃO DA LITERATURA

#### 3.1 PRODUTOS NATURAIS

A variedade e variabilidade entre organismos vivos fornecem uma gama de produtos de importância econômica, sendo as plantas uma fonte importante de produtos naturais biologicamente ativos, muitos dos quais constituem novas alternativas para cura de diversas enfermidades do mundo moderno. Há vários caminhos para estes estudos e o Brasil, país que coincidentemente tem seu nome derivado a partir de uma planta, é um país propício e produtivo à pesquisa científica que envolve a aplicação de conhecimentos locais sobre o uso em especial de plantas medicinais (OLIVEIRA, 2013).

De acordo com Zuanazzi e Mayorga (2010), é notável a importância histórica do uso dos recursos naturais em saúde no Brasil, especialmente na área farmacêutica. Isto pode ser justificado ao considerarmos a origem de nossa indústria farmacêutica, voltada inicialmente ao emprego de diversos insumos vegetais. Esta realidade se mantém atualmente com grande parte da indústria nacional utilizando plantas como insumo básico. Todavia, o impacto na economia brasileira não é significativo. Isto é contrastante em um país de grande potencial em biodiversidade e dado às excelentes condições climáticas, edáficas e potencial hídrico, onde é possível aqui adaptar inúmeras espécies vegetais.

São considerados compostos bioativos, que podem originar fármacos, principalmente os metabólitos secundários e seus derivados, por exemplo, flavonóides, saponinas, quininas, terpenos, esteróides, alcalóides, quinóides, fenilpropanóides, iridóides entre outros (CHOUDHURY et al., 2011).

Pode-se dividir a produção de fármacos a partir de planta em três períodos distintos: o primeiro entre 1800 e 1900, onde se destacam as descobertas de fármacos importantes até hoje, como a efedrina, a partir de *Ephedra sinica*; a morfina, a partir de *Papaver somniferum*; quinina, a partir de *Cinchona calisaya*, dentre outros. O segundo período, situado entre 1901 e 1970/80, foi marcado pela descoberta e produção de antibióticos de origem microbiana. O terceiro e atual período, iniciado a partir da

década de 1980, é marcado pela retomada a busca de drogas vegetais, com a descoberta de moléculas bioativas que se tornaram fármacos, como exemplo o paclitaxel (taxol), obtido a partir de *Taxus brevifolia*, que apresenta atividade anticancerígena (YUNES *et al.*, 2001; NEWMAN, 2007).

Nas últimas décadas vem ocorrendo um crescente interesse no desenvolvimento de produtos contendo misturas de compostos naturais a partir da medicina popular e extratos com composições químicas definidas, como é o caso do chá verde, que foi aprovado pelo FDA (TWARDOWSCHY, 2008).

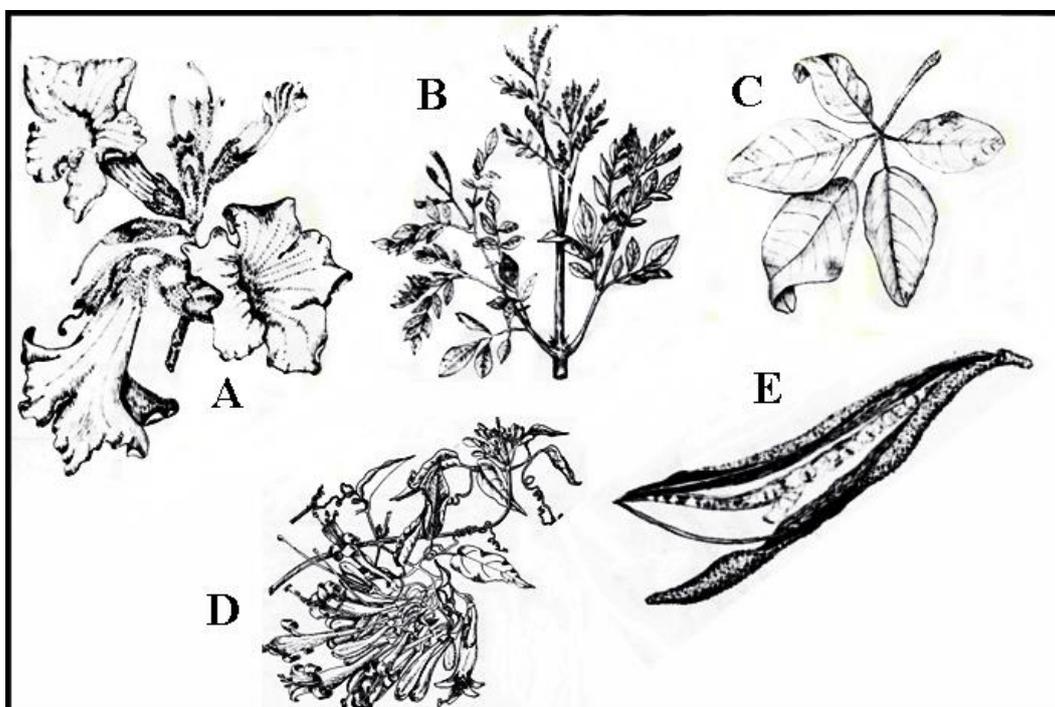
### 3.2 FAMÍLIA BIGNONIACEAE

Bignoniaceae é uma família predominantemente neotropical, sendo um componente importante de florestas neotropicais, com contribuições menores para África e as florestas tropicais do Sudeste Asiático, sendo o Brasil o centro de dispersão desta família (GENTRY, 1980; OLMSTEAD *et al.*, 2009). Apresenta cerca de 120 gêneros e 650 espécies (BARROSO *et al.*, 1991).

Segundo JOLY (1985) a família Bignoniaceae tem a seguinte descrição botânica: quanto ao hábito apresenta 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, 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. Uma teca de cada um dos estames férteis às vezes não desenvolvido. Ovário sempre súpero, bicarpelar, bilocular com dois lóculos e muitos óvulos. Placenta sempre bipartida. Fruto capsular seco, loculicída ou septicida, às vezes cápsula septífraga, sempre com sementes aladas;

raramente indeiscente com sementes não aladas. 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, 1985)

A família bignoniacea é uma fonte promissora de diferentes classes de metabólitos secundários, como glicosídeo iridóide e alcalóide iridóide, naftoquinonas e antraquinonas, complexos ésteres e glicosídeos de *o*-difenólico, taninos, flavonóides, antocianinas e carotenóides (UDULUTSCH, 2008). OLIVEIRA (2014), sumariza a importância etnobotânica e farmacêutica de bignoniaceas (Quadro 1) e destaca como exemplo clássico o isolamento do lapachol e reconhecimento de suas atividades (citostática, bacteriostática, antifúngica, cercaricida, tripanossomicida e antipirético) e de seus quimiofármacos biossintéticos, como fator preponderante no aumento do interesse farmacológico pelas espécies desta família.

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

Nome científico	Componentes fitoquímicos relatados e atividades farmacológicas	Referência
<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 ao constituinte: flavan-3-ol-fenilpropanóide, isolado 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.	Alguns constituintes do extrato etanólico das folhas desta planta são: ácido ursólico, ácido oleanólico, ácido	(JORGE et al., 2008).

Baill.	pomolico e alpinetina, dos quais os dois primeiros demonstraram atividade tripanosomicida contra tripomastigotas de <i>Trypanosoma cruzi</i> , causador da doença de Chagas.	
<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 quatro 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.	(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, $\alpha$ -lapachona, 9-hidroxi- $\alpha$ -lapachona, 4,9-di-hidroxi- $\alpha$ -lapachona, 9-metoxi- $\alpha$ -lapachona, 4-oxo- $\alpha$ -lapachona e 9-metoxi-4-oxo- $\alpha$ -lapachona dos quais catalpalactone, 9-hidroxi- $\alpha$ -lapachona, e 4,9-di-hidroxi- $\alpha$ -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- $\alpha$ -lapachona, (2R)-5,6-dimetoxidehidroiso- $\alpha$ -lapachona,(2R)-5-etoxidehidroiso- $\alpha$ -lapachona, 2-(1-hidroxi-il)nafto[2,3-b]furano-4,9-diona, 5-hidroxi-2-(1-hidroxi- <i>etil</i> )-nafto[2,3-b]furano-4,9-diona, 2-isopropenilnafto [2,3-b]furano-4,9-diona e 5-hidroxidehidroiso- $\alpha$ -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 antisiphilitica</i> (Mart.) Mart.	Contituientes 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 à <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: Dolichandrosídeo-A, $\alpha$ -lapachona, lapachol, aloesaponarina II, 8-hidroxidehidroiso- $\alpha$ -lapachone, $\beta$ -sitosterol, 3,8-dihidroxidehidroiso- $\alpha$ -lapachona e verbascosídeo, demonstraram atividade inibidoura de $\alpha$ -glucosidase, após testes com verbascosídeo e aloesaponarina II, os quais são inibidores da atividade de glucosidase, e após teste com dolichandrosídeo A, foi observado à 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 e também são utilizados para o tratamento de feridas; a parte tenra da casca é usada contra doenças venéreas, reumatismo e dor ciática. Constituintes	(LINDORF, 2002).

	químicos isolados das cascas desta planta incluem 7,2,3,4-tetrahidroxiflavona e 3-O-neohesperidosídeo.	
<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.	(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. ‘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 na Colômbia são utilizadas no tratamento de reumatismo, resfriados e doenças de pele. Os constituintes da planta: ácido ursólico, $\beta$ -sitosterol, ácido 2-A-hidroxiursólico, ácido jacarandico e 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -dihidroxiurs-12-eno-28-óico. Na casca do caule identificou-se: ácido jacoumárico e ácido betulínico nos galhos e folhas o composto jacaranona. Ainda com relação aos contituintes: glicosídeos feniletanóides, juntamente com ácido protocatequico, acteosídeo, jionosídeo D, isoacteosídeo, martinósídeo, e um ramnosil derivado de sisimbrifolina apresentaram atividade antioxidante.	(MARTIN et al., 2009).
<i>Jacaranda copaia</i> (Aubl.) D. Don	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, os mesmos ainda são utilizados, para o tratamento de doenças de pele dos índios da região amazônica equatoriana-WAO e Shuar. As cascas dos caules são	(ROTH; LINDORF, 2002. RODRIGUES, 2006).

	<p>usadas ainda, para tratar a leishmaniose na América do Sul; e por pessoas do planalto da Guiana (Venezuela). Os tubérculos são utilizados na Amazônia brasileira, para tratamento de distúrbios gastrointestinais; 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 a 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.</p>	
<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. Dentre os constituintes químicos da cera epicuticular inclui-se o ácido ursólico e nas folhas os compostos químicos como: luteolina, 6-hidroxluteolina 7-O-glicosídeo, quercetina-3-O-glucosídeo, quercetina-3-O-galactósídeo.	(MARONI et al. 2006).
<i>Jacaranda filicifolia</i> D. Don	Constituintes dos ramos da planta incluem: $\beta$ -sitosterol, ácido ursólico, 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,dihidroxiuros-12-eno-28-óico, e 2-(4-hidroxifenil) acetato de 1-dodeciloctadecanoate (ácido triacontanóico). O extrato em diclorometano das cascas do caule apresentaram atividades antifúngicas frente à <i>Coriolus versicolor</i> , <i>Gloeophyllum trabeum</i> e	(ALI; HOUGHTON, 1999).

	<i>Bostryodiplodia theobromae.</i>	
<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).
<i>Jacaranda hesperia</i> Dugand	Usada para tratar a leishmaniose na região do Chocó da Colômbia.	SCHUHLY, 2009).
<i>Jacaranda mimosifolia</i> D. Don	Fazem parte das cascas das raízes desta espécie os constituintes químicos: lupenona, $\beta$ -sitosterol, ácido ursólico e ácido oleanólico; nas folhas são: hidroquinonas scutellareina 7-glucuronido; isoquercitrina, isovitexina, apigenina 7-O- $\beta$ -D-glucopiranosídeo, luteolina 7-O- $\beta$ -D-glucopiranosídeo, scutellareina 7-O- $\beta$ -D-glucuronopiranosídeo éster metílico, apigenina 7-O- $\beta$ -D-glucuronopiranosídeo metil éster, luteolina 7-O- $\beta$ -D-glucuronopiranosídeo éster metílico, E-acteosídeo, Z-acteosídeo, isoacteosídeo, cistanosídeo, 6-acetilateosídeo, campneosídeo e jacraninosídeo O componente majoritário do óleo essencial das sementes é 8Z,10E, ácido 12-Z-octadocatrienóico o qual apresentou alta atividade inibitória da ciclooxigenase na biossíntese de prostaglandinas. 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 metanólicos das folhas.	(NICASIO; MECKES, 2005).
<i>Jacaranda obtusifolia</i>	Esta planta é usada na Venezuela e Guiana para promover cicatrização de feridas e as suas folhas são	SCHUHLY, 2009).

Humboldt and Bonpland	usadas para tratar á sífilis na Colômbia.	
<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.	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>Macfadyena unguis-cati</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, $\beta$ -sitosterol, $\beta$ -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).

<p><i>Markhamia tomentosa</i> (Benth.) K. Schum.</p>	<p>Compostos do extrato acetato de etila das cascas do caule como: 2-acetilnafito [2,3-b] furano-4,9-diona, 2-acetil-6-metoxinafito [2,3-b]furano-4,9-diona, ácido oleanólico, ácido pomólico, ácido 3-acetilpomólico, ácido tormentico, <math>\beta</math>-sitosterol, e <math>\beta</math>-sitosterol-3-O-<math>\beta</math>-D-glucopiranosídeo. Atividades antiprotozoários, são atribuídas para os dois primeiros constituintes, os quais exibiram também alta toxicidade diante de linhagens de células de mamíferos.</p>	<p>(TANTAAGNO et al., 2010).</p>
<p><i>Melloa quadrivalvis</i> (Jacq.)</p>	<p>Atividade moluscicida contra <i>Biomphalaria glabrata</i> é atribuída ao extrato etanólico dos ramos desta planta.</p>	<p>(SILVA et al., 2007).</p>
<p><i>Millingtonia hortensis</i> L.</p>	<p>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>. Atividade antimutagênica são atribuídas aos flavonóides isolados desta planta, são eles: hispidulina e hortensisina, 2-aminoantraceno e dimetilnitrosoamina.</p>	<p>(KAUSHIK; SAUNI, 2008).</p>
<p><i>Newbouldia laevis</i> P. Beauv.</p>	<p>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 contituíntes desta espécie, uma naftoquinona-antraquinona foi isolada com atividade antimalárica contra <i>Plasmodium falciparum</i> e fortes atividades antimicrobianas frente á <i>Candida gabrata</i> e <i>Enterobacter aerogens</i>.</p>	<p>(EYONG et al., 2006).</p>
<p><i>Oroxylum indicum</i> Vent.</p>	<p>Atividade imunoestimulante e antioxidante em ratos são atribuídas aos contituíntes químicos da fração n-butanol das raízes desta espécie.</p>	<p>(ZAVERI et al., 2006).</p>
<p><i>Spathodea campanulata</i> P.</p>	<p>Os extratos etanólicos das folhas desta espécie são usados na medicina tradicional para o tratamento de convulsões, epilepsia, e atividade anticonvulsiva são</p>	<p>(ILODGWE et al., 2010).</p>

Beauv	atribuídas aos constituintes químicos, os quais apresentaram importantes resultados em modelos experimentais induzidos por eletrochoques em ratos.	
<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 carragenina em ratos. 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 eletroconvulsivo em roedores.	(CHING et al., 2009).
<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 moluscida contra <i>Biomphalaria glabrata</i> .	(SILVA et al., 2007).
<i>Tabebuia avellaneda</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. Os componentes dos extratos aquosos das cascas do caule apresentaram atividades antiinflamatórias <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> . Algumas naftoquinonas foram isoladas da casca desta espécie,	(FREITAS et al., 2010).

	são elas: (-)-5-hidroxi-2-(1-hidroxietil)-nafto [2,3- $\beta$ ] furano-4,9-diona (1), e (-)-8-hidroxi-2-(1-hidroxietil)-nafto [2,3- $\beta$ ] furano-4,9-diona (2). Uma quinona ( $\beta$ -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.	
<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 $\alpha$ -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 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 antinoceptivas em camundongos e ratos.	(GUENKA et al., 2008).
----------------------------------	--	------------------------

Fonte: (OLIVEIRA, 2014. adaptado de Rahmatullah et al., (2010).

### 3.3 GÊNERO *ADENOCALYMMMA*

*Adenocalymma* Mart. ex Meisn., Orth. cons. (McNeill et al., 2006), é um gênero que apresenta sua nomenclatura de origem grega "Aden, adenos" (substantivo masculino = glândula) e kalymma" (substantivo neutro = cobertura ou cálice) referindo-se a glândulas pateliformes encontradas no cálice de suas espécies.

Em uma recente revisão do gênero *Adenocalymma* apresentando sinônimo *Memora*, 144 nomes foram 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, não foram validamente publicados (6 foram nominal e 8 apareceram em rótulos de herbários apenas), e foram considerados incapazes de estabelecer a posição exata de um taxon (UDULUTSCH et al. 2008).

Apesar da riqueza de espécies, o gênero *Adenocalymma* tem poucas espécies que foram estudadas química e farmacologicamente. OLIVEIRA (2014) relata o estudo das seguintes espécies: *Adenocalymma comosum* (Cham.) devido a constituição química do extrato etanólico, apresenta atividade moluscicida diante de *Biomphalaria glabrata*; *Adenocalymma alliaceum* Miers, utilizada no tratamento de distúrbios respiratórios, antirreumáticos e como hipocolesterolêmico; *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 ; em *Adenocalymma peregrinum* (Miers) L.G. Lohmann, foram identificadas as seguintes classes de metabólitos secundários: flavonóides e glicosídeos iridóides saponinas.

### 3.4 *ADENOCALYMMMA 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. Lohmann (Figura 2) 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 (TRÓPICOS, 2013).

As principais características de *Memora imperatoris-maximilianii* (Figura 3) que a enquadra no gênero são: 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 (GENTRY ,1977). O autor, ainda considera fundamental, 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 esverdeado.”

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



Fonte: (TRÓPICOS, 2013).

**Figura 3** - Distribuição do gênero *Adenocalymma* nas Américas.



Disponível em: < <http://www.gbif.org/species/6401106> > . Acesso em: 31.01.2015

### 3.5 ÓLEO ESSENCIAL

Os óleos essenciais são líquidos, voláteis, límpidos, raramente coloridos, lipossolúveis, solúveis em solventes orgânicos e geralmente são menos densos que a água. As substâncias odoríferas em plantas possuem funções ecológicas, especialmente como inibidores da germinação, na proteção contra predadores, na atração de polinizadores, na proteção contra a perda de água e aumento da temperatura, entre outras (BAKKALI et al., 2008).

Quanto à composição os óleos essenciais compreendem misturas de hidrocarbonetos terpênicos, alcoóis simples e terpênicos, aldeídos cetonas, peróxidos, ésteres, fenóis, éteres, óxidos, lactonas, cumarinas, ácidos orgânicos, sendo os terpenos, que são formados a partir da condensação de unidades de cinco carbonos, o isopreno (C5), é considerado como principal componente, sendo os mesmos classificados em: monoterpenos (C10) e sesquiterpenos (C15), porém pode-se encontrar os hemiterpenos (C5), diterpenos (C20), triterpenos (C30) e raramente tetraterpenos (C40) (SIMÕES,

2010). Porém, vários fatores interferem na composição dos óleos essenciais, como a natureza do organismo, a sazonalidade, o estágio de maturidade do organismo, pois diferentes rotas e enzimas ativas em diferentes estágios de maturidade, resultam em diferentes composições de compostos voláteis ( ZANG, WU; LI, 2008; BENDAOU et al., 2009).

As técnicas usadas na obtenção de óleos essenciais levam em conta o tipo de material biológico, os órgãos, a quantidade produzida, para garantir a estabilidade do óleo. Simões e Schenkel (2010), relatam as técnicas mais empregadas para obtenção de óleos essenciais:

A) Hidrodestilação ou arraste por vapor de água: como os óleos voláteis possuem tensão de vapor mais elevada que a da água, podem ser arrastados pelo vapor de água durante uma destilação. Quando em pequena escala o material acrescido de duas a três vezes o seu peso com água é aquecido, empregando-se o aparelho de Clenvenger. Após a obtenção, o óleo deve ser seco empregando-se sulfato de sódio anidro e armazenado a baixa temperatura, ao abrigo da luz e do ar.

B) Hidrodifusão: é um método em que o vapor a pressão atmosférica (<0-1 bar) atravessa o material a partir do topo da câmara de extração saturando o mesmo, resultando num óleo que retém o aroma original.

C) Enfloração (enfleurage): Este processo é aplicável às flores, que possuem baixo teor de óleo essencial de alto valor comercial. As pétalas são depositadas em bandejas a temperatura ambiente, sobre uma camada de gordura animal ou vegetal que irá adsorver o óleo essencial durante um período de tempo. Em seguida, as pétalas esgotadas são substituídas por novas até ocorrer a saturação da gordura, que é tratada com álcool. Para se obter o óleo essencial, o álcool é destilado a baixa temperatura.

D) Extração com solventes orgânicos: Os óleos voláteis são extraídos com solventes apolares (éter etílico, éter de petróleo, benzeno, acetona, clorofórmio ou diclorometano) de acordo com o material, por exemplo, a extração a partir de folhas ou frutos podem ser realizadas com benzeno, com ou sem a adição de acetona ou éter, a temperatura ambiente ou na temperatura de ebulição, enquanto a extração a partir de flores é realizada com éter. Nesse processo, os solventes acabam extraíndo outras substâncias apolares além dos óleos voláteis. O solvente é removido por evaporação sob pressão

reduzida, sendo o material residual extraído com etanol absoluto, que é resfriado a baixas temperaturas para precipitação das ceras, sendo em seguida filtrado. O álcool, então é evaporado sob pressão reduzida e obtém-se o óleo essencial.

E) Extração por micro-ondas: Faz-se uso de micro-ondas para excitar as moléculas de água do material biológico, fazendo com que as células se rompam e liberem o óleo essencial. A técnica garante um bom rendimento e reduz o tempo de extração.

F) Extração por CO<sub>2</sub> super crítico: Nesta técnica o material é depositado num extrator onde ocorre a elevação da pressão e da temperatura, fazendo com que o dióxido de carbono atinja um quarto estado no qual sua viscosidade é análoga a de um gás, mas sua capacidade de dissolução é elevada como a de um líquido. Quando a pressão é diminuída, o dióxido de carbono retorna para o estado gasoso, sem deixar nenhum resíduo

### 3.6 ATIVIDADE ANTIBACTERIANA

Singh e Shukla (1984) relatam as diferenças entre antimicrobianos produzidos por microrganismos e por plantas. Destacando 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., *Tecomastans* 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.

Ensaio biomonitorados para evidenciar compostos biologicamente ativos nos extratos de *Zeyheria tuberculosa* (Vell.) Bur., culminaram 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 lapachol isolado da casca interna da planta *Tabebuia impetiginosa* Martius ex DC., tem demonstrado forte inibição do crescimento de *Clostridium paraputrificum* a qual é uma bactéria intestinal humana (PARK et al., 2005).

*Tabebuia avellanadae* Lorentz ex Griseb. apresenta atividade antibacteriana contra estirpes de *Staphylococcus* resistentes à meticilina. Isto se deve aos constituintes químicos, tais como:  $\beta$ -lapachona, 3-hidroxi- $\beta$ -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,  $\beta$ -sitosterol-3-O- $\beta$ -D-glucopiranosídeo e  $\beta$ -hidroxioleano-12-eno-28-O- $\beta$ -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: espatosídeo (cerebrosídeo), n-alcanos,

álcoois alifáticos lineares,  $\beta$ -sitosterol e seus ésteres,  $\beta$ -sitosterol-3-O- $\beta$ -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-hidroxi-8-hidroxi- $\alpha$ -lapachona, 7-hidroxi-8-hidroxi- $\alpha$ -lapachona, 5,7-dihidroxi-8-hidroxi- $\alpha$ -lapachona, e 3-hidroxi-5-metoxi-8-hidroxi- $\alpha$ -lapachona (GAFNER et al., 1996).

As atividades antimicrobianas de *Jacaranda mimosifolia* D. Don, frente a *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: kigelina, isopinatal, hidro- $\alpha$ -lapachona e lapachol (naftoquinonas) e os fenilpropanóides: ácido p-cumárico e ácido ferúlico. A partir dos extratos dos frutos, foram relatados os seguintes compostos antibacterianos e antifúngicos: kigelina e ácido caféico (BINUTU et al., 2004).

### 3.7 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 à ação de agentes externos as quais são expostas.

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- $\alpha$ -L-manopiranosil-4-(3,4-di-hidroxi-fenil)-2-ropenoato]- $\beta$ -glucopiranosídeo, 5-hidroxiskitantina hidrocloreto, 4-O-E-cafeoil- $\alpha$ -L-ramnopiranosil-(163)- $\beta$ , O- $\beta$ -D-glucopiranosose, E/Z-acteosídeo; isoateosídeo, rutina, luteolina 7-O- $\beta$ -D-neohespiridosídeo, luteolina-7-O- $\beta$ -D-glucopiranosídeo e sacarose; os extratos das flores evidenciaram: luteolina-7-O- $\beta$ -D-glucuronopiranosídeo, diosmetina 7-O- $\beta$ -D-lucuronopiranosídeo, diosmetina 7-O- $\beta$ -D-glucopiranosídeo, diosmetina 7-O- $\beta$ -D-glucuronopiranosídeo éster metílico e acteosídeo. Os compostos 5-hidroxiskitantina hidrocloreto e O- $\beta$ -D-glucopiranosose exibiram atividade citotóxica contra células de hepatocarcinoma humano (Hep-G2), enquanto que os compostos 5-hidroxiskitantina hidrocloreto e luteolina-7-O- $\beta$ -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 citotóxica frente á linhagens celulares de hepatoma humano (ALGUACIL et al., 2000).

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

Cinco constituintes químicos do extrato alcoólico de *Incarvillea arguta* (Royle) são: plantarenalósídeo, 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 plantarenalósídeo 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 (GACHET; SCHUHLY, 2009); 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); A espécie *Macfadyena unguis-cati* devido a composição química dos seus extratos apresentou atividade antitumoral (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-acetilnafito [2,3-b] furano-4,9-diona, 2-acetil-6-metoxinafito[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-lapachone, 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).

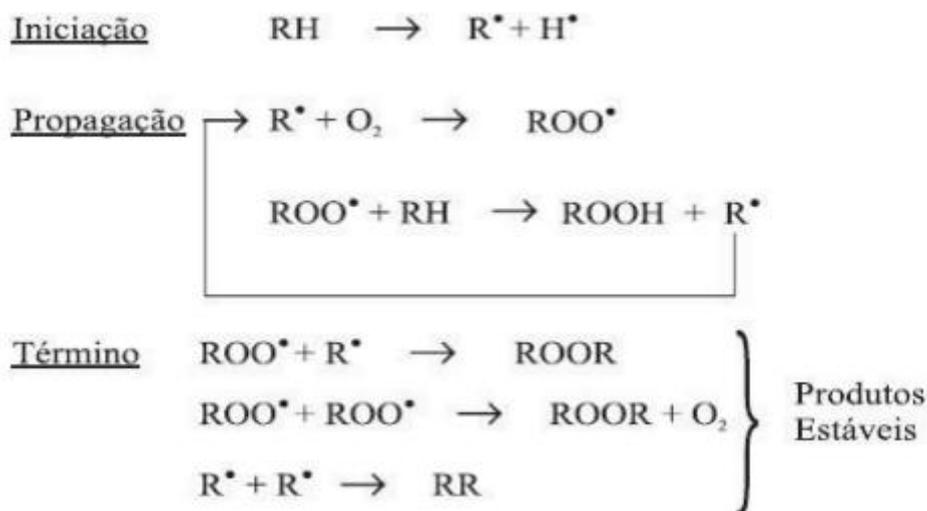
O constituinte químico Jacaranona da espécie *Jacaranda caucana* Pittier apresentou atividades *in vivo* e *in vitro* diante de células linfocíticas P-388 de leucemia ( OGURA; CORDELL; FARNSSWORTH, 1977).

### 3.8 ANTIOXIDANTES

Os antioxidantes podem ser definidos como quaisquer substâncias que, presentes em baixas concentrações, quando comparada a um substrato oxidável, atrasam ou inibem a oxidação desse substrato de maneira eficaz (HARVEY, 2008). O principal mecanismo de oxidação dos óleos e gorduras está associada à reação do oxigênio com ácidos graxos insaturados, ocorrendo em três etapas: iniciação, onde acontece a retirada de um hidrogênio do carbono alílico na molécula do ácido graxo e a consequente formação de radicais livres, em condições favorecidas por luz e calor, propagação, na qual ocorre a conversão dos radicais livres susceptíveis ao ataque do oxigênio a outros radicais (peróxidos e hidroperóxidos), que são produtos primários da oxidação lipídica e

cuja estrutura depende da natureza dos ácidos graxos presentes. Esse processo é autocatalítico, uma vez que os radicais formados atuam como propagadores da reação. Por fim ocorre a etapa do término, na qual dois radicais se combinam formando produtos estáveis (produtos secundários da reação), obtidos por cisão e rearranjo dos peróxidos (RAMALHO; JORGE, 2006). A figura 4, mostra o esquema geral da oxidação lipídica.

**Figura 4.** Esquema geral do mecanismo da oxidação lipídica, onde RH- ácido graxo insaturado; R<sup>•</sup>- radical livre; ROO<sup>•</sup>- radical peróxido e ROOH - hidroperóxido

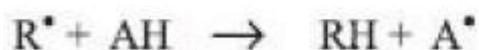


Fonte: Ramalho e Jorge (2006)

Algumas propriedades são desejáveis em antioxidantes, dentre elas estão a eficácia em baixas concentrações (0,001 a 0,01%), ausência de efeitos indesejáveis na cor, no odor, no sabor, além de seus produtos não poderem ser tóxicos. Os antioxidantes podem ser classificados em primários e secundários, sendo que alguns apresentam mais de um mecanismo de atividade e são referidos como antioxidante de múltipla função (BAILEY; NISSEN; SKIBSTED, 1996).

Os antioxidantes primários ou inibidores da reação são aceptores de radicais livres e atuam atrasando ou inibindo a iniciação ou interrompendo a propagação da autoxidação, seu principal mecanismo de ação é o seqüestro de raicais livres. A figura 5 representa o mecanismo de ação dos antioxidantes primários

**Figura 5** – Mecanismo de ação para os antioxidantes primários, onde ROO• e R• - radicais livres; AH – antioxidante com um átomo de hidrogênio ativo e A• radical inerte.



Fonte: (FRANKEL 1980)

Os antioxidantes primários mais comumente utilizados em alimentos são compostos sintéticos. Como por exemplos: BHA (butil hidroxianisol), BHT (butil hidroxitolueno) PG (galato de propila) e TBHQ (*terc*-butil hidroquinona). No entanto, alguns componentes naturais dos alimentos também agem como antioxidantes primários e são comumente adicionados em alimentos. Tocoferóis são os antioxidantes primários mais utilizados. Os caratenóides são outro grupo de compostos naturais que agem como antioxidantes primários, porém, por meio de mecanismos diferentes (TAKEMOTO FILHO; GOPO, 2009).

Os antioxidantes secundários ou preventivos agem por meio de vários possíveis mecanismos, diminuem a taxa de oxidação por diferentes formas, mas não convertem radicais livres em produtos mais estáveis. Podem quelar metais pró-oxidantes e desativá-los, repor hidrogênio para antioxidantes primários, decompor hidroperóxidos a espécies não radicais, absorver radiação ultravioleta ou agir como sequestrante de oxigênio. Ainda podem ser classificados como sinergistas, pelo fato de promoverem a atividade dos antioxidantes primários, pode-se citar o ácido cítrico, ácido ascórbico e ácido tartárico como bons exemplos de sinergistas (RICEEVANS *et al*, 1997)

A vitamina E faz parte da composição dos óleos vegetais e encontra-se na natureza de quatro formas diferentes:  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ -tocoferol, sendo  $\alpha$ -tocoferol o antioxidante mais abundante e distribuído nos tecidos e no plasma (BIANCHI; ANTUNES, 1999). A atividade antioxidante dos tocoferóis deve-se principalmente ao fato de doarem seus hidrogênios aos radicais lipídicos, interrompendo a propagação em cadeia (RAMALHO, 2006).

De acordo com Silva (2011), o ácido ascórbico geralmente é consumido em grande quantidade pelo ser humano e uma de suas funções quando adicionado a outros

produtos alimentícios, é inibir a formação de compostos nitrosos carcinogênicos. Além disso, estudos vêm demonstrando que a vitamina C apresenta um possível papel de proteção no desenvolvimento de tumores em seres humanos.

Nos últimos anos com os antioxidantes naturais, os compostos fenólicos presentes nos vegetais têm recebido grande importância. Quimicamente, os fenóis vegetais constituem um grupo heterogêneo, com aproximadamente 10.000 compostos, apresentando grande variedade de funções nos vegetais, como: suporte mecânico, atrativo de polinizadores ou dispersores de frutos e na proteção contra a radiação ultravioleta (TABANCA, 2007). De acordo com TIVERON (2010) outros tipos de compostos presentes nos vegetais têm recebido grande importância nos últimos anos. Os fenóis vegetais assim como os antioxidantes naturais, apresentam grande variedade de função vegetal, tem como função proteção contra radiação ultravioleta, atrativo de polinizadores ou suporte mecânico.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

No desenvolvimento deste trabalho foram conduzidos experimentos analisando-se aspectos fitoquímicos, físico-químicos e atividades biológicas.

### 4.1 COLETA DO MATERIAL BOTÂNICO

As folhas de *Adenocalymma imperatoris-maximiliani* (Wawra) L. G. Lohmann, foram coletadas no município de Pombos-PE (local da coleta 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 material botânico foi coletado sempre pela manhã no mês de dezembro, com auxílio de tesoura de poda, para coleta das folhas. Uma parte do material coletado foi destinada para identificação.

A identificação botânica foi realizada pela Dr<sup>a</sup> 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<sup>o</sup> 84012.

### 4.2 PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS

As folhas de *A. imperatoris-maximiliani* foram dessecadas por 72 horas em estufa a 45°C, em seguida foram trituradas em um moinho de facas. A extração foi realizada por maceração durante sete dias, utilizando diferentes solventes: água (100g/L), metanol (100g/L), acetona (100g/L), acetato de etila (100g/L), clorofórmio (100g/L), dicloro metano (100g/L) e Hexano (100g/L). Em seguida os solventes foram eliminados à pressão reduzida em evaporador rotativo (BUCHII-RE) a 40°C e o material obtido correspondendo ao respectivo extrato.

### 4.3 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA

#### 4.3.1 Análise granulométrica por tamisação

Amostras de 25g, exatamente pesados, da matéria-prima vegetal foram submetidas à passagem através de tamises, previamente tarados, com abertura de malha de 850, 600, 425, 250 e 150  $\mu\text{m}$ . A tamisação foi realizada a 60 vibrações por segundo durante 15 minutos. Para a análise dos dados, as frações retidas nos tamises e coletor foram pesadas e a média entre as amostras foi calculada utilizando a equação (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010).

$$\text{Fração retida (\%)} = \frac{P1}{P2 \cdot 100}$$

*P1*: peso do material retido em cada tamis (g); *P2*: somatório dos pesos retidos em cada tamis e no coletor (g); 100: fator de porcentagem.

#### 4.3.2 Determinação da perda por dessecação

Amostras contendo 1,0 g do pó das folhas foram transferidas para pesa-filtros previamente dessecados durante 30 minutos nas mesmas condições a serem empregadas na determinação. As amostras foram colocadas na estufa (Quimis<sup>®</sup>), com temperatura de  $105^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{C}$  durante 2 horas, seguidas de resfriamento em dessecador por 30 minutos e pesagem em balança analítica (Shimadzu<sup>®</sup>). A operação foi repetida em ciclos de uma hora até peso constante. Os resultados foram expressos em perda de massa percentual, pela média de três determinações, segundo a equação (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010):

$$\text{Perda por dessecação (\%)} = \frac{Pu - Ps}{Pa} \times 100$$

Onde: *Pu*: peso do pesa-filtro contendo a amostra antes da dessecação (g); *Ps*: peso do pesa-filtro contendo a amostra após a dessecação (g); *Pa*: peso da amostra (g); 100: fator de porcentagem.

#### 4.3.3 Determinação de cinzas totais

Amostras contendo 1,0 g do material vegetal foram transferidas para cadinhos de porcelana previamente calcinados, arrefecidos e pesados. As amostras foram incineradas em mufla por 3 horas, sob gradiente crescente de temperatura (30 minutos a 200 °C, 60 minutos a 400 °C e 90 minutos a 600 °C ± 25 °C). Em seguida foram arrefecidos por 30 minutos em dessecador e pesados. Os resultados foram expressos pela média de três determinações, segundo a equação (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010):

$$\text{Cinzas totais (\%)} = \frac{Cdi - C}{Pa} \times 100$$

*Cdi*: peso do cadinho contendo a amostra após incineração (g); *C*: peso do cadinho sem a amostra (g); *Pa*: Peso da amostra (g); 100: fator de porcentagem.

#### 4.3.4 QUANTIFICAÇÃO DE POLIFENÓIS TOTAIS

Os compostos fenólicos são oxidados pelo reagente de Folin-Ciocalteu. Este último é constituído por uma mistura de ácido fosfotúngstico e de ácido fosfomolibdico que é reduzido, quando da oxidação dos fenóis, numa mistura de óxidos azuis de tungstênio e de molibdênio. A cor azul produzida possui uma absorção máxima na proximidade dos 760 nm e é proporcional à taxa de compostos fenólicos (AMORIM *et al.*, 2008)

Para quantificação de fenóis totais, uma alíquota de 0,02 a 0,2 mL (20 a 200 µL) do extrato diluído (1.0 mg/mL), devendo ser ajustado de acordo com a planta, foi transferida para um tubo de ensaio. Posteriormente, foram adicionados 500 µL da solução do reagente Folin-Ciocalteu, 1 mL da solução de carbonato de sódio e completar para 10 mL com água destilada. As amostras permaneceram por 30 minutos no escuro a temperatura ambiente. A absorbância da mistura foi medida a 760 nm contra um branco preparado com água destilada. O ensaio foi realizado ao menos em triplicata.

A curva de calibração (alíquotas de 0.050, 0.100, 0.150, 0.200, 0.250, 0.500, 0.750 e 1 mL) será preparada com uma solução padrão de ácido tânico. foram adicionados 500 µL da solução do reagente Folin-Ciocalteu, 1 mL da solução de carbonato de sódio e completar para 10 mL com água destilada (8.45; 8.40; 8.35; 8.30; 8.25; 8.00; 7.75; 7.50 mL, respectivamente). As concentrações finais de ácido tânico serão 0.5; 1.0; 1.5; 2.0; 2.5; 5.0; 7.5; 10.0 µg/mL, respectivamente. O teor de fenóis totais é expresso como miligramas equivalentes de ácido tânico por grama de extrato (mg EAT/g).

## **4.4 IDENTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS DO ÓLEO ESSENCIAL POR CG-EM**

As análises foram realizadas no laboratório do Núcleo de Química Fundamental da Universidade Federal de Pernambuco.

### **4.4.1 Extração do óleo essencial**

Para obtenção do óleo essencial (OE) foram utilizados 500 g de folhas frescas, as quais foram trituradas juntamente com 1750 mL de água destilada. Posteriormente o material vegetal foi transferido para um balão de fundo redondo de 5 litros, adicionando-se mais água destilada, perfazendo um volume final de 2500 mL. O balão volumétrico foi transferido para uma manta aquecedora (160 °C – 170 °C), acoplada à um aparato de Clevenger modificado e um condensador durante um período de 3h. Em seguida, o óleo foi coletado e tratado com sulfato de sódio anidro para retirada da água remanescente. O óleo obtido foi mantido sob refrigeração (-24 °C) até o uso nos experimentos (CONFORTI et al., 2008).

### **4.4.2 Análise por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrômetro de Massa**

Análise química do óleo essencial foi realizada por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massa (GC/EM) em um sistema quadrupolo Agilent 5975C Series CG-EM (Agilent Technologies, Palo Alto, EUA), equipado com uma coluna apolar DB-5 (Agilent J&W; 60 m x 0.25 mm d.i., 0.25 µm espessura da película), realizado no laboratório de cromatografia do Departamento de Química Fundamental (DQF) da UFPE.

Foi injetado 1µL em split1:20 do óleo essencial de concentração na faixa de 1000 a 2000 ppm. Posteriormente injetou-se 1µL em split (1:20) da mistura de padrões de hidrocarbonetos: C<sub>9</sub>-C<sub>34</sub>. Injetou-se a mistura do óleo essencial e a mistura de padrões de hidrocarbonetos, 1µL (0.2µL de alcanos e 0.8µL de óleo) em splitless. A

temperatura do GC foi mantida em 60 °C por 3 min, depois foi aumentada de 2.5 °C min<sup>-1</sup> até 240 °C e mantida por 10 min nesta temperatura. O fluxo de hélio foi mantido em pressão constante de 100 kPa. A interface do EM foi definida em 200 °C e os espectros de massa registrados em 70eV (em modo EI) com uma velocidade de escaneamento de 0.5 scan<sup>-s</sup> de  $m/z$  20-350.

A partir da análise dos tempos de retenção dos compostos na amostra do óleo essencial, dos padrões de hidrocarboneto e a combinação do óleo essencial com a mistura de padrões foi calculado o índice de retenção para cada componente do óleo, segundo a equação de Kratz. (ADAMS, 2007).

$$I.R. = 100 \cdot i \cdot \frac{(tr_x - tr_{hA})}{(tr_{hD} - tr_{hA})} + 100 \cdot N$$

**Onde:**

**IR:** Índice de Retenção de Kratz.

**i:** Diferença do número de carbonos do hidrocarboneto que elui depois da amostra com o hidrocarboneto que elui antes.

**tr<sub>x</sub>:** Tempo de Retenção do composto

**tr<sub>hA</sub>:** Tempo de Retenção do hidrocarboneto que elui antes da amostra.

**tr<sub>hD</sub>:** Tempo de Retenção do hidrocarboneto que elui depois da amostra.

**N:** Número de carbonos do hidrocarboneto que elui antes da amostra.

Os índices de retenção e os espectros de massa de cada um dos compostos foram comparados com os da biblioteca (GC/EM) e com os descritos por Adams (2007), identificando-se assim os principais componentes presentes no óleo essencial.

- Fórmula usada para determinação do índice de retenção Kováts

$$KI = 100Z + \frac{100[(\log t'RX) - (\log t'RZ)]}{(\log t'RZ + 1) - (\log t'RZ)}$$

**Onde:**

**KI:** Índice de retenção Kováts

**X:** Composto de interesse

**Z:** Número de átomos de carbono do hidrocarboneto com tempo de retenção imediatamente anterior ao tempo de retenção de X

**t'RX:** Tempo de retenção ajustado de X

**t'RZ:** Tempo de retenção ajustado de Z

**t'RZ +1:** Tempo de retenção ajustado do hidrocarboneto com tempo de retenção imediatamente posterior ao tempo de retenção de X

## 4.5 PURIFICAÇÃO DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS

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

Folhas de *A. imperatoris-maximiliani*, foram triturados em moinho de facas, em seguida, 40mg do material foi sujeita a extração com 2 mL de solventes (acetona,

metanol, aquoso) de qualidade para HPLC-Merck, durante 30 minutos no banho de ultra-sons marca original, modelo USC-1400. As amostras foram evaporadas sob N<sub>2</sub> secador de gás e 2mg dos extratos foram dissolvidos em 1 mL de metanol:água (MeOH:H<sub>2</sub>O, 1: 1v/v) para a análise de cromatografia em eletronspray acoplada a espectroscopia de massa (ESI-TOF IONTRAP).

#### 4.5.2 Obtenção da fração aquosa da folha (Faef)

Uma amostra de 50g do pó das folhas de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii*, foram tranferidos para um becker junto com 100mL de H<sub>2</sub>O 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, 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 poliamida 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.

#### 4.5.3 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 (9:1– v:v), elevando-se gradativamente a proporção de metanol.

#### 4.5.4 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 cellulose (Cellulose DC-fertigplatten - Merck<sup>®</sup>). 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 (9:1 v:v), em recipiente fechado, até saturação da mesma. As bandas formadas foram retiradas com auxílio de espátula e o material coletado foi ressuscitado 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 (3mg).

#### 4.5.5 Análise ION-TRAP-MS/MS

As análises e identificação dos ions quase moleculares (m/z) por HPLC-DAD-MS (ION-TRAP-AmazonS) foram realizadas num aparelho de HPLC Shimadzu LC-20A com um detector de arranjo de diodos (CBM20A; Shimadzu) acoplado a um espectrometro de massa UltrOTOF (Bruker Daltonics) ESI-QTOF. A fase móvel consistiu de MeOH (B) e H<sub>2</sub>O (A) em sistema de bombas binário, ambas contendo 1,0% de Ácido Acético (v/v), em gradiente de eluição: 0,01min: 5.0% B, 45,0 min: 100% B, 50.0 min: 100% B, 55 min: 5.0% B, 60.0 min: 5.0% B. Usou-se uma coluna C18 Shimadzu (250 mm, 4.6 diam., 5µm), fluxo de 1mL/min, temperatura da coluna: 35-40°C, volume de injeção: 20µL, limites de pressão (A e B), mínimo: 0 Kgf/cm<sup>2</sup>, máximo: 350 Kgf/cm<sup>2</sup>. Energia de colisão, 60 eV, argônio foi usado como gás de colisão (0.15 Lh<sup>-1</sup>, pressão na célula de colisão: 3.02 X 10<sup>-3</sup>mBar), o gás de solvatação usado foi o nitrogênio (600Lh<sup>-1</sup>). As análises dos dados foram realizadas no exterior da versão de software Mass Lynx 4.4. (micromass, Manchester, UK).

## 4. 6 ATIVIDADES BIOLÓGICAS

### 4.6.1 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

A atividade sequestradora de radicais livres pode ser determinada medindo a capacidade de um composto para remover os radicais livres 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH). A atividade sequestradora de radicais é determinada conforme descrito por Peixoto Sobrinho et al. (2011) com modificações.

Alíquotas de 1 a 5 mL do extrato ou padrão (0,25 mg/mL) foram transferidos para tubos de ensaio, aferindo-se o volume final para 5 mL com metanol. As concentrações finais do extrato ou padrão foram de 50-250µg/mL. Resumidamente, 1 mL das concentrações do extrato diluído em metanol foram adicionados 3 mL da solução de DPPH a 50 µg/mL (ou 3 mL de metanol para fazer o branco) em cada tubo. As soluções foram agitadas cuidadosamente e deixadas em repouso por 30 minutos no escuro a temperatura ambiente. A absorbância da mistura será medida a 517 nm, zerando o espectrofotômetro com metanol. A solução do controle negativo consiste na utilização da solução de DPPH a 50 µg/mL. A atividade de remoção de radicais livres será expressa como a porcentagem de inibição utilizando a seguinte equação:

$$\% \text{ inibição} = \frac{ABS_{cn} - (ABS_{amostra} - ABS_{branco})}{ABS_{cn}} \times 100$$

Onde:  $ABS_{cn}$  é a absorbância do controle negativo;  $ABS_{amostra}$  é a absorbância da amostra;  $ABS_{branco}$  é a absorbância das concentrações da amostra diluída em metanol.

## 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 realização da atividade antibacteriana a partir dos extratos brutos das folhas (EBF= extrato bruto da folha) de *Adenocalymma imperatori-maximilianii* foram avaliadas e obtidas por maceração com: água, metanol e acetona.

Foram testados os extratos: aquoso (EBAq= extrato bruto aquoso da folha); metanólico (EBMe= extrato bruto metanólico da folha); acetônico (EBAc extrato bruto acetônico da folha). Os extratos avaliados foram analiticamente pesados (10mg) e solubilizados em um sistema composto por DMSO (dimetil sulfóxido 10%)/Tween80/água(1:1:8), obtendo assim uma solução estoque padronizada de concentração igual a 1000 µg/mL., enquanto que os agentes antimicrobianos usados como padrão foram solubilizados em água. As soluções de estoque foram esterilizadas 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  $\geq$  4µg/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 13; *Staphylococcus aureus* AM 18; *Staphylococcus aureus* AM 24 ), *Enterococcus faecalis* 292 e *Enterococcus faecalis* ATCC

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 da escala McFarland os quais são equivalentes a contagem de aproximadamente  $10^8$  UFC / mL. Posteriormente essas suspensões bacterianas foram diluídas para obtenção de um inóculo de  $10^7$  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 indicando ausência de crescimento visível, e na presença de células viáveis, é oxidada à resofurina, substância de coloração vermelha, facilitando a verificação da presença de crescimento microbiano (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 brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (ALLEY et al., 1988; MOSMANN, 1983).

Os produtos teste dos extratos das folhas de *Adenocalymma imperatores-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann, foram os extratos brutos em: acetato, Clorofórmio, diclorometano e hexano, todos pesando 10 mg.

As linhagens de células tumorais humanas utilizadas foram NCI-H292 (carcinoma mucoepidermoide de pulmão humano), MCF-7 (adenocarcinoma de mama humana) e Hep-2 (carcinoma de laringe humana) mantidas em meio de cultura DMEM e HL-60 (leucemia promielocítica aguda) mantidas em meio de cultura RPMI. 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 CO<sub>2</sub>.

As células NCI-H292, HT-29 e Hep-2 (10<sup>5</sup> células/mL) e HL-60(0,3 x 10<sup>6</sup> células/mL) foram plaqueadas em placas de 96 poços e incubadas por 24 h. Em seguida as amostras dissolvidas em DMSO (1 %) foram adicionadas aos poços em concentração final de 25 µg/mL. O fármaco doxorrubicina (5 µg/mL ) foi utilizado como padrão. Após 72 h de reincubação foi adicionado 25 µL de MTT (5 mg/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 quadruplicatas e a percentagem de inibição foi calculada no programa *GraphPadPrism 5.0*.

Uma escala de intensidade foi utilizada para avaliar o potencial citotóxico das amostras testadas. Amostras com atividade (90 a 100 % de inibição), com atividade moderada (inibição de crescimento celular variando de 50 a 90%) e sem atividade (inibição de crescimento menor que 50 %) (RODRIGUES et al., 2014).

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

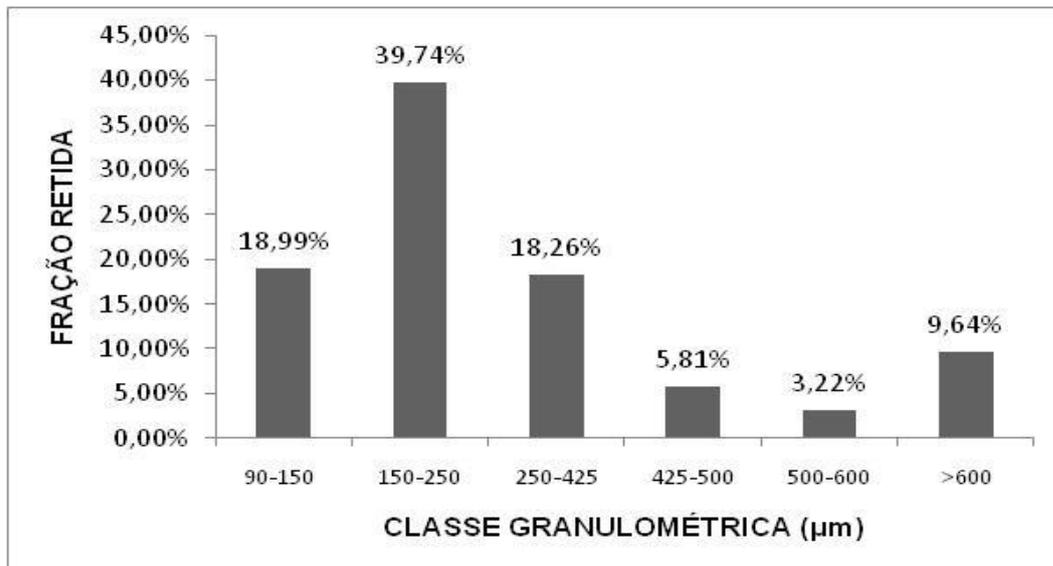
### 5.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA

#### 5.1.1 Análise granulométrica por tamisação

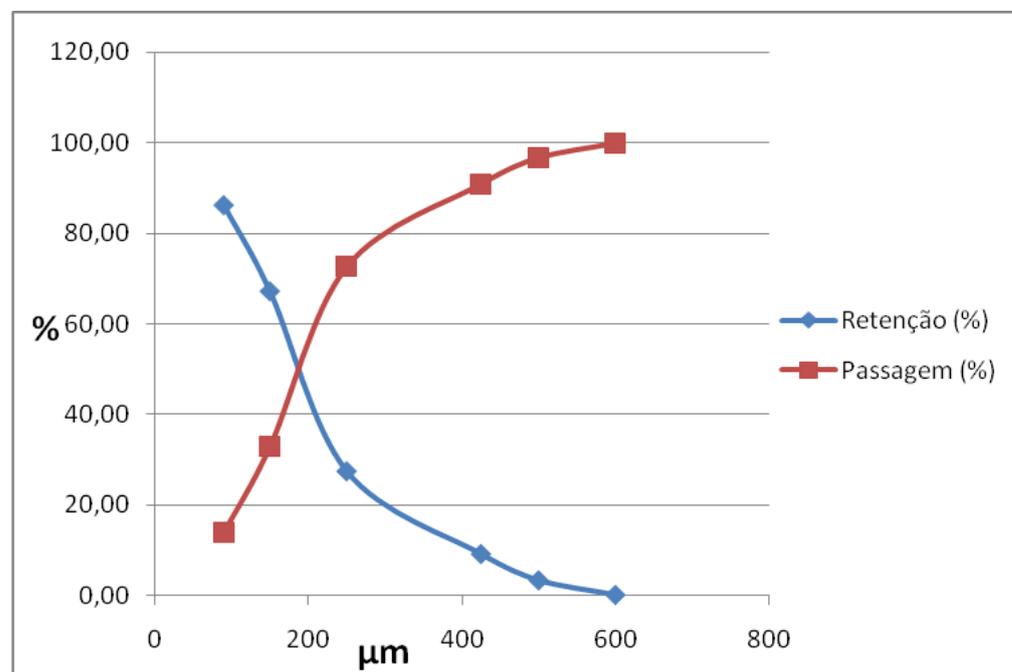
Os resultados observados através do histograma de distribuição granulométrica das folhas de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (Figura 6) demonstram que as partículas do material encontram-se predominantemente distribuídas entre os tamises de 150 e 250  $\mu\text{m}$  (representando 39,74% de todo o material). De acordo com Cechinel Filho (2009), a distribuição granulométrica é relativamente útil na indicação da tamisação como o procedimento prévio aos processos, onde a homogeneidade do tamanho de partículas constitui um fator determinante na homogeneidade e reprodutibilidade dos processos extrativos de acordo com Voigt & Bornschein (1982). Já o tamanho médio das partículas determinado pelo ponto interseção das curvas de retenção e passagem (Figura 7), apresentou valor médio de 187,2  $\mu\text{m}$ . De acordo com esses dados, as folhas pulverizadas de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* foram classificadas como pó semifino (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010). Pós de tamanho maior, como os desta classificação, favorecem as extrações, pois partículas muito finas podem aderir às partículas maiores, aumentando a viscosidade do meio e criando uma barreira que impeça a penetração de solventes (Voigt & Bornschein, 1982).

Quando a droga rasurada tem diâmetro médio de partícula muito pequeno (menor que 0,2 mm) ocorre o comprometimento da filtração e conseqüentemente, do teor das substâncias ativas. Da mesma forma, ocorre o diâmetro médio de partícula muito grande (acima de 0,8 mm) pode prejudicar a extração, não permitindo a penetração do líquido extrator em todas as células o que pode levar o comprometimento da qualidade dos extratos obtidos, os quais não apresentarão uniformidade de conteúdo, Voigt & Bornschein (1982).

**Figura 6.** Histograma de distribuição granulométrica do pó das folhas de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii*



**Figura 7.** Curva de retenção e passagem das folhas de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii*



### 5.1.2 Perda por dessecação

A perda por dessecação expressa o percentual de umidade residual da droga vegetal. É um teste farmacopeico que reflete um índice de qualidade e garantia de sua conservação. A Farmacopeia Brasileira (2010) preconiza um limite de aceitação de 8 a 14% de teor de umidade para drogas vegetais. Para as folhas de *Adenocalymma imperatoris-maximiliani*, os valores percentuais obtidos de perda por dessecação foram de  $11,630\% \pm 0,26$ , estando, portanto dentro dos limites estabelecidos pelo compêndio oficial. Dessa forma, valores aceitáveis de teor de umidade sugerem que houve eficiência durante o processo de secagem e assegura a boa conservação e estabilidade microbiológica do material vegetal, uma vez que, teores de umidade acima do especificado possibilitam o desenvolvimento de fungos e bactérias, hidrólise e atividade enzimática com conseqüente deterioração de constituintes químicos (Couto *et al.*, 2009).

### 5.1.3 Teor de cinzas totais

O teor de cinzas totais estabelece a quantidade de substâncias residuais não voláteis obtidas por incineração representando a soma de material inorgânico integrante da espécie (cinzas intrínsecas) com as substâncias aderentes de origem terrosa (cinzas extrínsecas) (Braga *et al.*, 2007; Simões *et al.*, 2007). Os resultados da determinação de cinzas totais nas amostras das folhas foram de  $32,48\% \pm 4,98$ . Não sendo estabelecido o limite para este ensaio.

Os resultados obtidos neste trabalho tornaram-se importantes no processo de identificação e padronização de parâmetros de qualidade para as folhas de *Adenocalymma imperatoris-maximiliani*, sobretudo pela ausência de limites estabelecidos para os ensaios de granulometria, perda por dessecação e teor de cinzas totais na literatura para esta droga vegetal.

#### 5.1.4 Determinação do teor de polifenóis totais

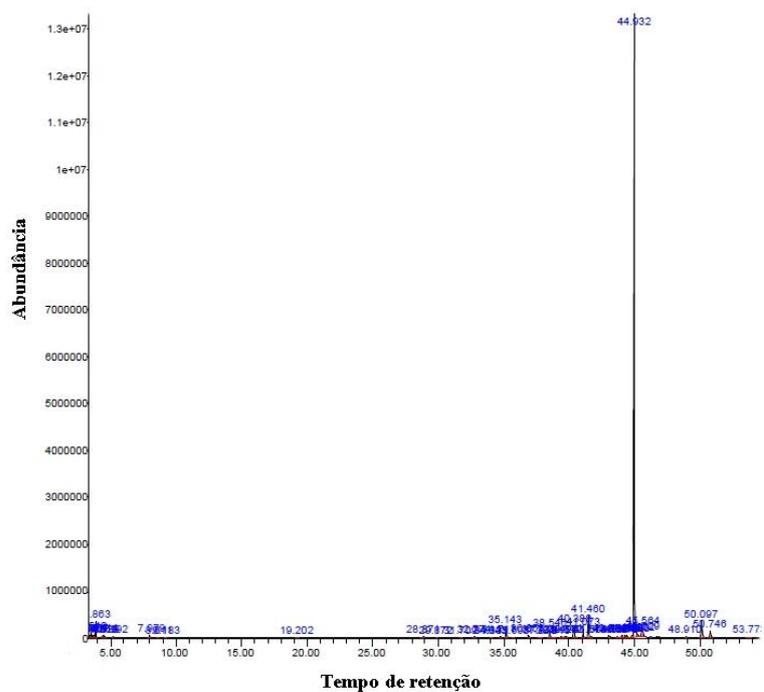
Após definição do comprimento de onda, com absorção máxima, a reta de calibração do ácido tânico ( $y = 0,066x + 0,063$ ) foi utilizada para quantificação dos teores de fenóis totais. Os valores das absorvâncias dos extratos foram substituídos nesta equação, determinando o teor de  $229,52 \pm 8,94$  mg/g equivalentes ao ácido tânico.

Esta atividade provavelmente é devida à afinidade das substâncias fenólicas pelo solvente polar empregado (TIWARI et al., 2011), como também pode estar relacionada a fatores ambientais intrínsecos ou extrínsecos que alteram a biossíntese dos metabólitos especiais nos vegetais (GOBBO; LOPES, 2008)

## 5.2 ÓLEO ESSENCIAL

O cromatograma de CG-EM do óleo essencial de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (Figura 8) evidenciou 39 picos (Quadro 2), sendo que os compostos que apresentaram as maiores áreas foram: hexadecanal (Figura 9A), com 1,45%; 2-pentadecanona,6,10,14-trimetil (Figura 9B), com 1,0%; cis-9-hexadecenal (Figura 9C), com 1,95%; isofitol (Figura 9D), com 1,09%; farnesil acetona (Figura 9E), com 2,63%; 2-ciclohexeno-1-ol, 3-metil (Figura 9F), com 1,27%; geranylgeraniol (Figura 9G), com 3,22%; 5,9,13-pentadecatrieno-2 ona (Figura 9H), com 1,01%. O composto majoritário foi identificado como sendo o fitol (Figura 9I), com 76,51% de área e tempo de retenção 44,931min.

**Figura 8** - Cromatograma evidenciando os picos e tempos de retenção dos compostos identificados no óleo essencial de *Adenocalymma imperatores-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann por CG-EM.

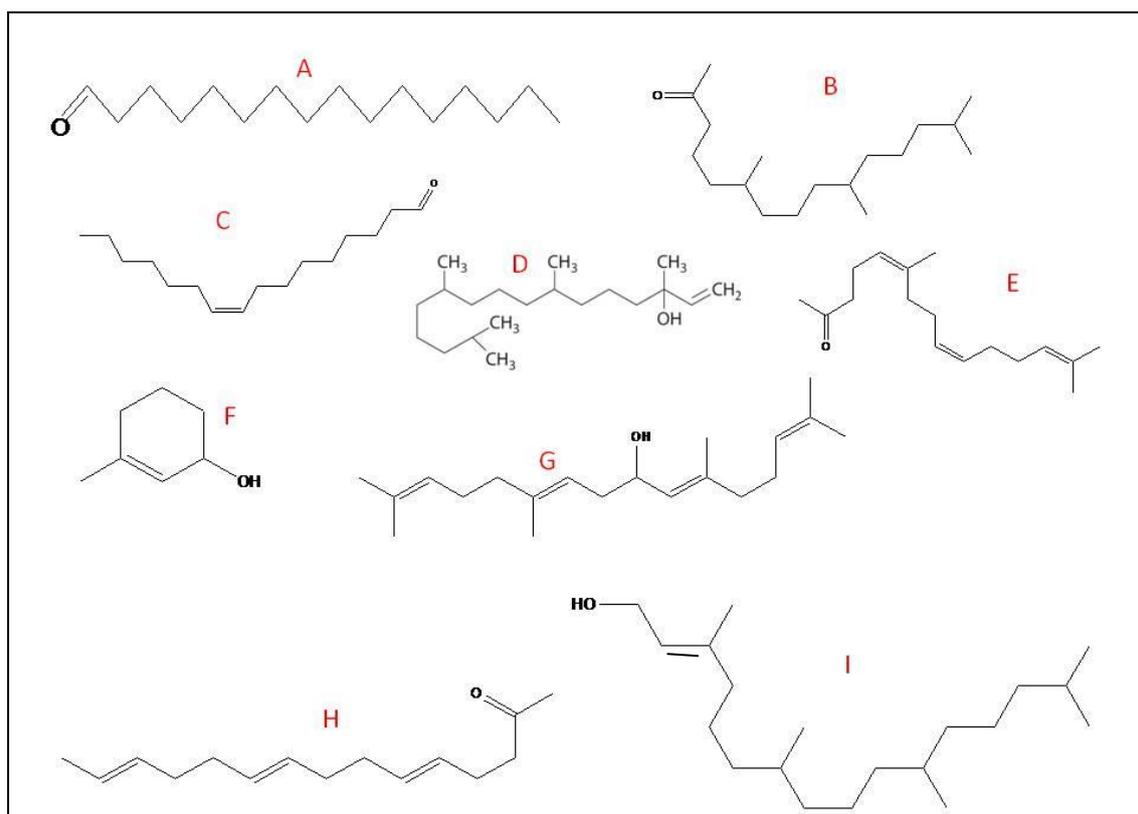


**Quadro 2** – Composição percentual do óleo essencial de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii*

<b>Pico</b>	<b>Tempo de retenção (min)</b>	<b>Área (%)</b>	<b>Composto sugerido</b>
1	19,201	0,10	5,6-dihidro-2,4,6-trimetil-4H-1
2	28,871	0,15	1-Isopropil-4,7-dimetil-1,2,3,4,4a,5,6,7-octahidro-naftaleno
3	29,872	0,08	(1S)-1,6-dimetil-4-propano-2-il-1,2,3,7,8,8a-hexahidronaftaleno
4	31,710	0,10	1-Isopropil-4,7-dimetil-1,2,3,4,4a,5,6,7-octahidro-naftaleno
5	32,773	0,16	7H-Purina, 2-metoxi-7-metil-6-(2-propeniloxi)
6	34,042	0,07	Propanal, 2-metil-, 2-propenil
7	34,132	0,04	Octadecanal
8	34,710	0,24	Biciclo[4.3.1]decano-10-ona
9	35,142	1,45	Hexadecanal
10	35,694	0,10	Cicoundecano, 1,1,2-trimetil
11	36,852	0,42	Hexadecanal
12	37,720	0,14	4-Isopropil-1-metoxi-2-metoximetil-benzeno
13	37,819	0,11	Docosanal
14	38,547	1,00	2-Pentadecanona, 6,10,14-trimetil
15	38,814	0,16	4-Benzylidene-2-tert-butyl-3,3,5-trimethyl-1,2-diaza-3-sila-5-cyclopentene
16	39,420	0,45	Hexadecil acetato
17	39,639	0,21	Ciclotetradecane
18	39,773	0,26	1-Ethil-2-trifluoroacetoxiciclohexano
19	40,387	1,95	cis-9-Hexadecenal
20	41,073	1,09	Isofitol
21	41,461	2,63	Farnesyl Acetone
22	41,575	0,20	Isofitol
23	41,668	0,25	3,7-Di-tert-butil-1-naftol
24	43,022	0,37	Geranilinalool
25	43,134	0,16	(1,3-Benzodioxol-5-iloxi)etaneno
26	43,663	0,17	( E )-Biformeno
27	43,971	0,12	Ácido fitalico, 2-ciclohexiletil
28	44,046	0,30	Dolabella-6,10,15-trieno
29	44,235	0,37	Hexadecil acetato
30	44,358	0,53	Fitol
31	44,799	0,36	Pirrolidina-2-ona
32	44,931	76,51	Fitol

33	45,201	0,50	Bicyclo[2.2.1]heptane, 2-(3-methylbutyl)
34	45,563	1,27	2-Ciclohexeno-1-ol, 3-metil
35	45,630	0,47	4-Benzylidene-2-tert-butyl-3,3,5-trimethyl-1,2-diaza-3-sila-5-cyclopentene
36	48,909	0,10	Sulfurous acid, pentadecyl 2
37	50,097	3,22	Geranilgeraniol
38	50,747	1,01	5,9,13-Pentadecatrieno-2-ona
39	53,772	0,21	Heptacosano

**Figura 9** – Compostos encontrados em maior percentual no óleo essencial de *Adenocalymmma imperatores-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann – (A) hexadecanal; (B) 2-pentadecanona,6,10,14-trimetil; (C) cis-9-hexadecenal; (D) isofitol; (E) farnesil acetona; (F) 2-ciclohexeno-1-ol, 3-metil; (G) geranilgeraniol; (H) 5,9,13-pentadecatrieno-2 ona; (I) Fitol.



Dos constituintes encontrados no óleo essencial de *Adenocalymmma imperatores-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann, o fitol (3,7,11,15-tetrametilhexadec-2-en-1-ol), um diterpeno pertencente ao grupo dos alcoóis acíclicos insaturados de cadeia longa

(C<sub>20</sub>H<sub>40</sub>O) e ramificada, pode ser considerado o mais abundante isoprenóide acíclico na biosfera, por fazer parte da estrutura da clorofila-a (RONTANI & VOLKMAN, 2003). Segundo McGinty; Letizia; Api (2010), o fitol apresenta as seguintes características físico-químicas: é líquido à temperatura ambiente, apresenta densidade de 0.8533 g/cm<sup>3</sup>, ponto de ebulição de 202 °C e solubilidade aquosa de aproximadamente 0.0327 mg L<sup>-1</sup>.

Dentre as atividades biológicas do fitol, destacam-se a indução de genes alvo de importância no tratamento de distúrbios lipídicos de doenças como diabetes, obesidade e dislipidemia (GOTO *et al.*, 2005); atua na ativação da β-oxidação de ácidos graxos e na degradação de mediadores inflamatórios de origem lipídica (CHINETTI *et al.*, 2000); efeito anti-inflamatório e antinociceptivo (CHINETTI *et al.*, 2000; LEITE, 2010); diminuição da intensidade da neurite autoimune alérgica em ratos, relacionada a via NADPH oxidase (HUBERLE *et al.*, 2009). Em relação à toxicidade aguda Costa *et al.* (2012), não encontraram nenhuma alteração hematológica, bioquímica e histopatológica cerebrais em camundongos tratados com fitol nas doses de 25, 50 e 75 mg/kg por via intraperitoneal e que a DL<sub>50</sub> foi de 1153.39 mg/kg para camundongos tratados com fitol por via intraperitoneal. Como foi visto, o uso terapêutico do fitol é muito promissor e o óleo essencial de *Adenocalymma imperatores-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann representa uma importante fonte deste metabólito.

### **5.3 ANÁLISE POR ESPECTOMETRIA DE MASSAS ACOPLADO A ELETROSPRAY (TOF – ION TRAP).**

A análise das folhas de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* evidenciou quatorze picos nos extratos da folha: Aquoso (A), Metanólico (M) e Acetônico (Ac.), identificados parcialmente por espectrometria de massas acoplado a eletrospray (modo negativo (M-H<sup>-</sup>)), correspondendo a doze compostos químicos (tabela 1) obtendo assim o primeiro relato destes compostos isolados para a espécie em estudo.

Tabela 1 – Compostos identificados por espectrometria de massas acoplado a eletrospray (modo negativo (M-H)<sup>-</sup>), nos extratos: Aquoso (A), Metanólico (M) e Acetônico (Ac.) das folhas de *Adenocalymmaimperatores-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann, Bignoniaceae.

Pico	Tempo de Retenção (min.)	Compostos	Ion quase molecular (M-H) <sup>-</sup> m/z	UV (λmax) nm	Massa molecular
1	18.1	Quercetina	301.0978		302
2	7.7	Astilbina Diastereoisomero	449.1370	291	450
3	11.9	Angelitina	433.1570	294	434
4	29.1	2''-O-α-L-ramnopiranosilvitexina	577.1758		578
5		3-O-metilquercetina	315.		316
6	23.0	quercetina-3-ramnosídeo	447.1726		448
7	27.0	Astilbina	449.1189	292	450
8	27.1	miricetina-3-ramnosídeo	463,1357		464
9	27.4	Astilbina Diast.	449.1196	293	450
10	27.8	quercetina-3-glicosídeo	463.1352		464
11	28.1	Caempferol-3-	447.1392		448

		glicosídeo			
12	29.7	AstilbinaDiaster.	449.1150	294	450
13	26.5	Taxofolina	303.0507		304
14	31.9	3-O-acetilpinobanksina	313.0797		314

Serão necessários estudos de fragmentação (MS-MS), isolamento dos mesmos e utilização de outras técnicas espectrométricas, para confirmação dos mesmos. Segundo Alrawaiq (2014) Estes flavonoides já foram descritos também em outras espécies da família Bignoniaceae. Apresentando diferentes atividades biológicas: antibacteriana, inseticida, antioxidante, cura de feridas de queimaduras, anti-inflamatória e anti-apoptose, espamolíticas (PEREIRA *et al* 2002; MOULARI *at al.*; WANG *et al.*, 2010; CAY, 2005; MATSUBARA, 2006).

A identificação de outros flavonóides detectados dependerá de novas etapas de purificação dos componentes das frações obtidas, que serão objeto de estudos futuros.

## 5.4 ELUCIDAÇÃO DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS

### 5.4.1 Cromatografia em Coluna

Foram realizadas, duas colunas da partição aquosa do extrato metanólico da folha (6 g), obtendo-se uma fração enriquecida com flavonóides oriunda da junção das frações 13 a 23 (cerca de 900 mL da fase móvel metanol/água 9:1 – 687 mg após rotaevaporação).

### 5.4.2 Cromatografia Em Camada Delgada Preparativa (Ccdp)

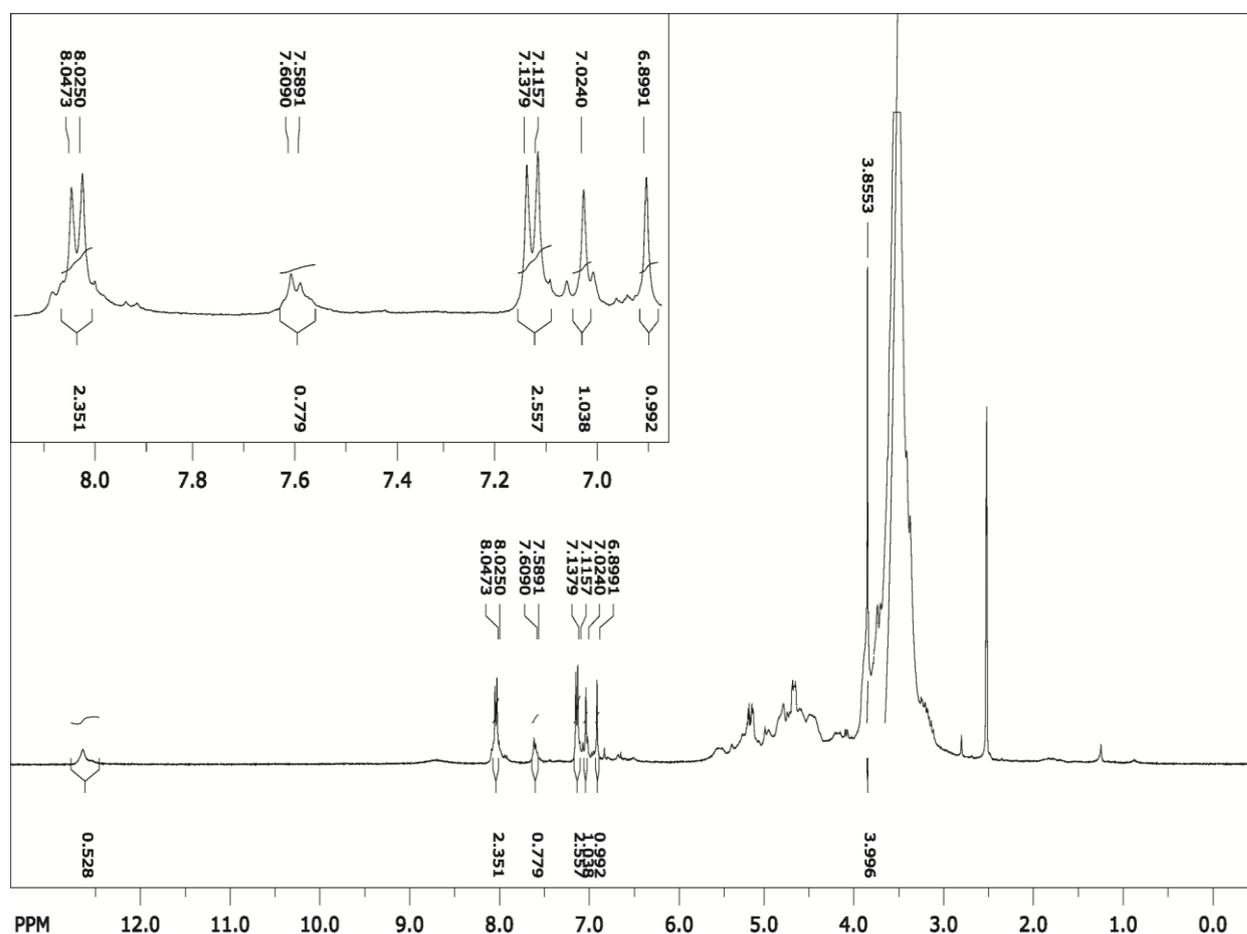
A fração enriquecida da folha foi submetida à cromatografia em camada delgada preparativa utilizando-se como fase estacionária poliamida, e metanol/água 9:1 (15:85

v:v) como fase móvel. Após migração das substâncias do ponto de aplicação, surgiram varias bandas, as quais foram raspadas e ressuspensas em solvente específico e filtradas.

### 5.4.3 Elucidação do composto isolado

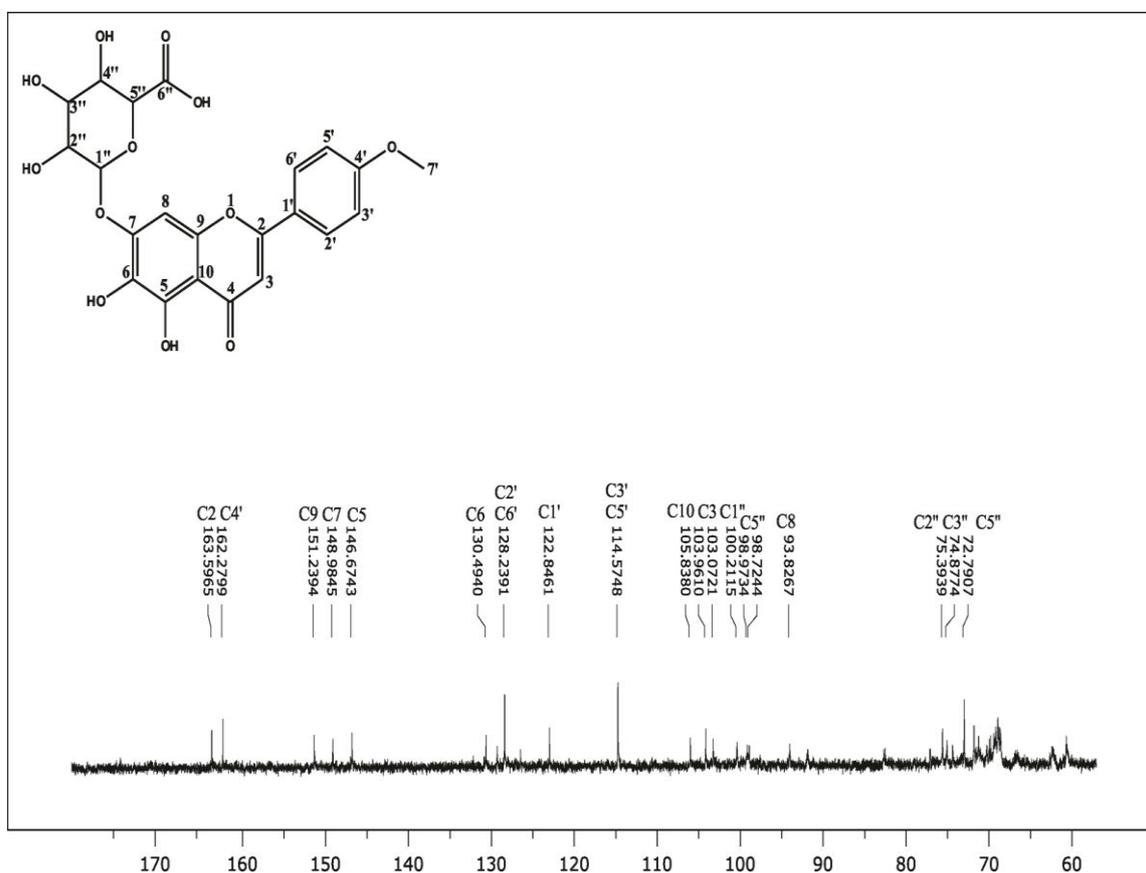
Depois de seguidas CCDPs, foram obtidos 98 mg da substância isolada. 25 mg foram usados para elucidação, por dados espectrais de ressonância magnética nuclear (RMN) de  $^1\text{H}$  (Fig. 10) e  $^{13}\text{C}$  (fig. 11) e DEPT 135° (fig. 12).

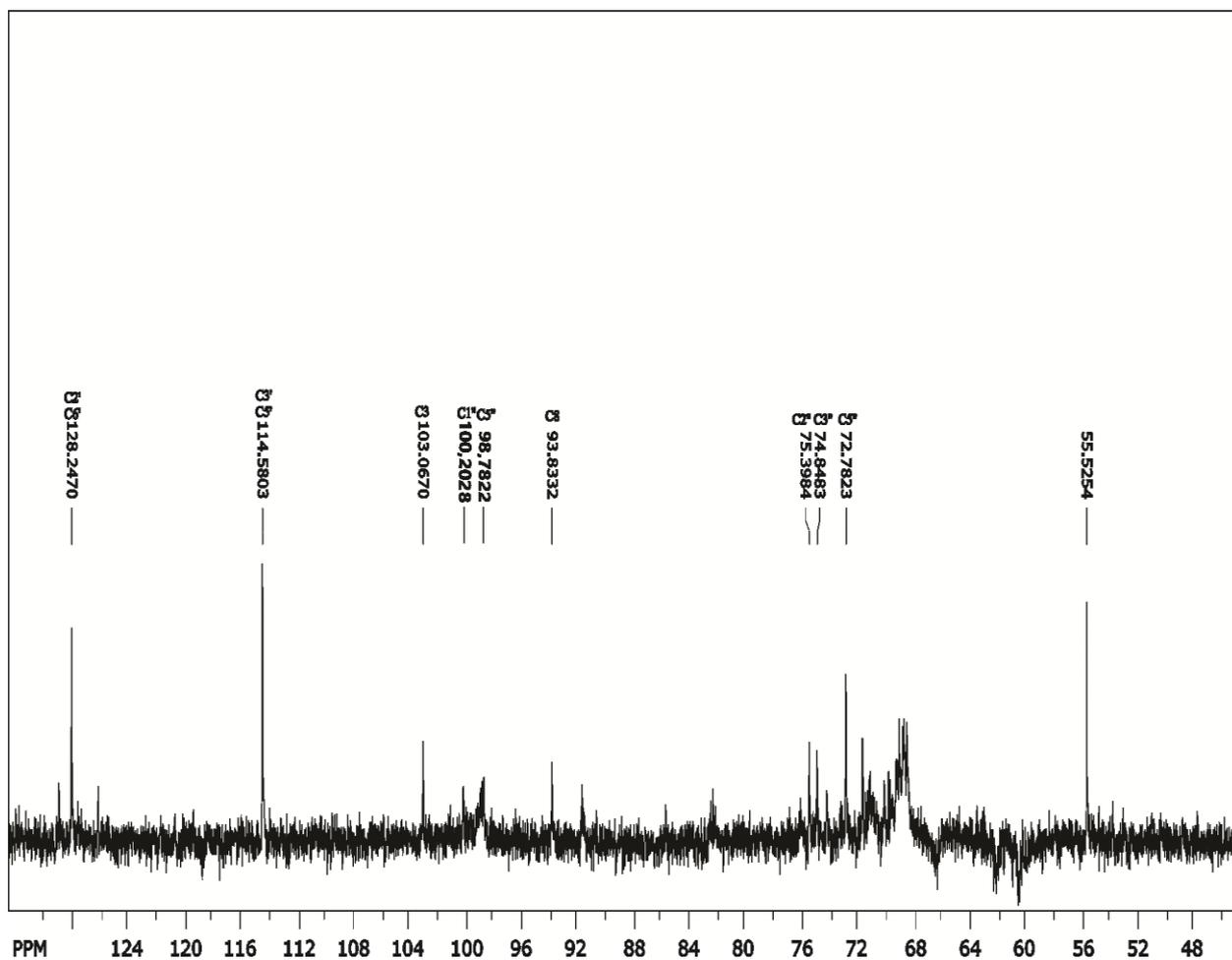
Fig. 10 - Espectro de RMN  $^1\text{H}$ , ; 400MHz, DMSO-d.



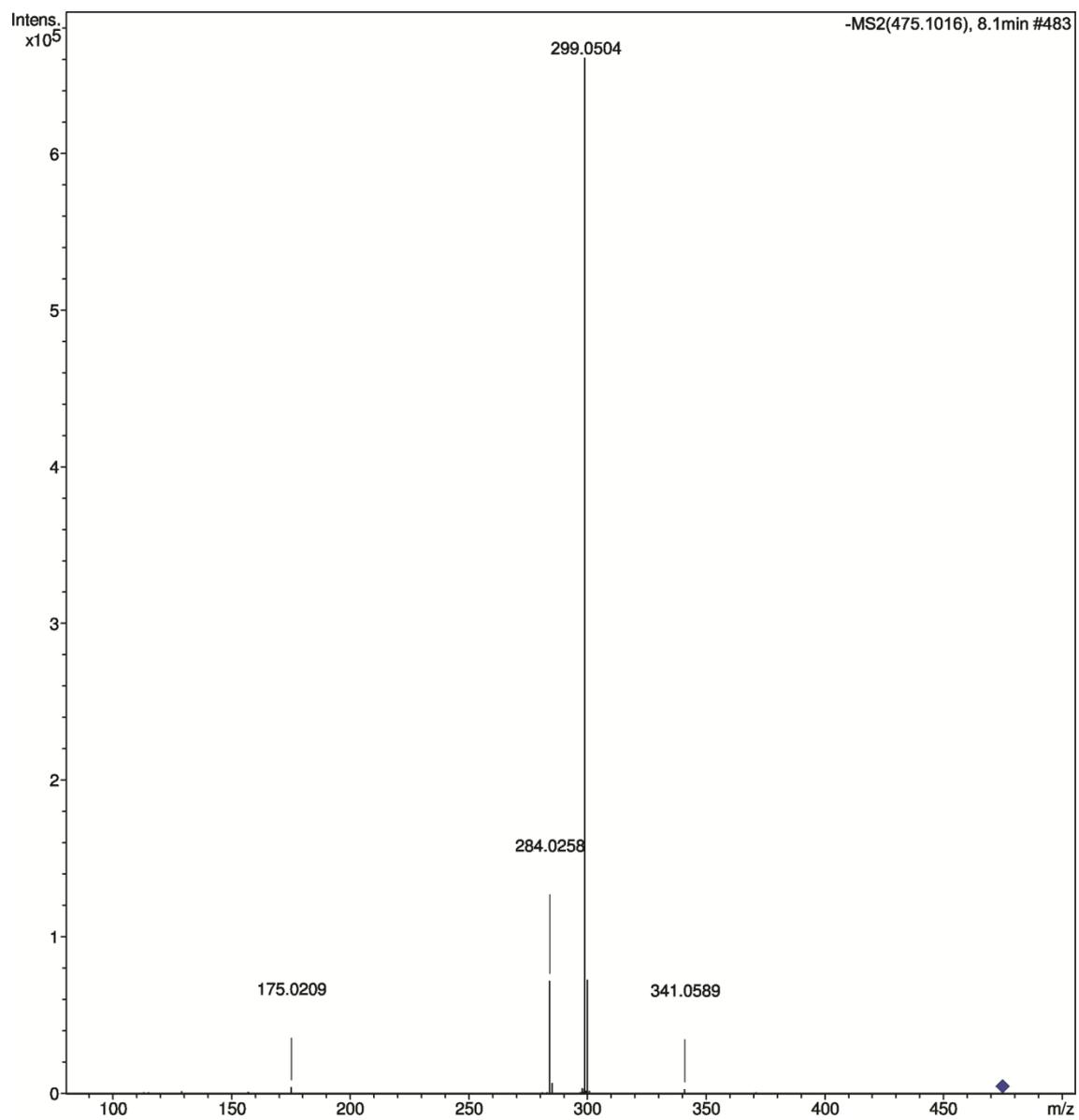
No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da substância cuja estrutura está proposta na Fig.15, pode-se constatar a presença de um dubleto correspondente a dois hidrogênios ( $\text{H}'\text{-5}$  e  $\text{H}'\text{-3}$ ), com deslocamento químico em  $\delta$  7,11 ppm e com constante de acoplamento de ( $J = 8,88 \text{ Hz}$ ), devido ao acoplamento dos mesmos com os  $\text{H}\text{-2}'$ ,  $\text{H}\text{-6}'$ . Igualmente, observa-se a presença de um outro dubleto correspondente aos dois hidrogênios  $\text{H}\text{-2}'$ ,  $\text{H}\text{-6}'$ , com deslocamento químico de  $\delta$  8,04 ppm e com constante de acoplamento ( $J = 8,92 \text{ Hz}$ ), atribuído ao acoplamento entre esses hidrogênios e os hidrogênios ( $\text{H}'\text{-5}$  e  $\text{H}'\text{-3}$ ). Esses assinalamentos são característicos aos encontrados na literatura para os hidrogênios do anel B *para* substituído (HARBORNE, 1975). Os picos apresentados a  $\delta$  6,89 ppm e  $\delta$  7,02 correspondem aos  $\text{H}\text{-3}$  e  $\text{H}\text{-8}$ , respectivamente (HARBORNE, 1975). Observa-se, igualmente um pico com deslocamento químico a  $\delta$  3,85 ppm (3H, s) é característico de metila de uma metoxila. Sugerimos que o composto deve ser um glicosídeo, onde a aglicona é a flavona, que se encontra ligada ao ácido glicônico. Os deslocamentos químicos correspondentes à parte glicônica são compatíveis com os dados encontrados na literatura (JORGE, 2005). Enquanto que os deslocamentos químicos de  $^{13}\text{C}$  encontram-se demarcados na figura 11.

**Fig. 11-** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ ; 400MHz do composto isolado.



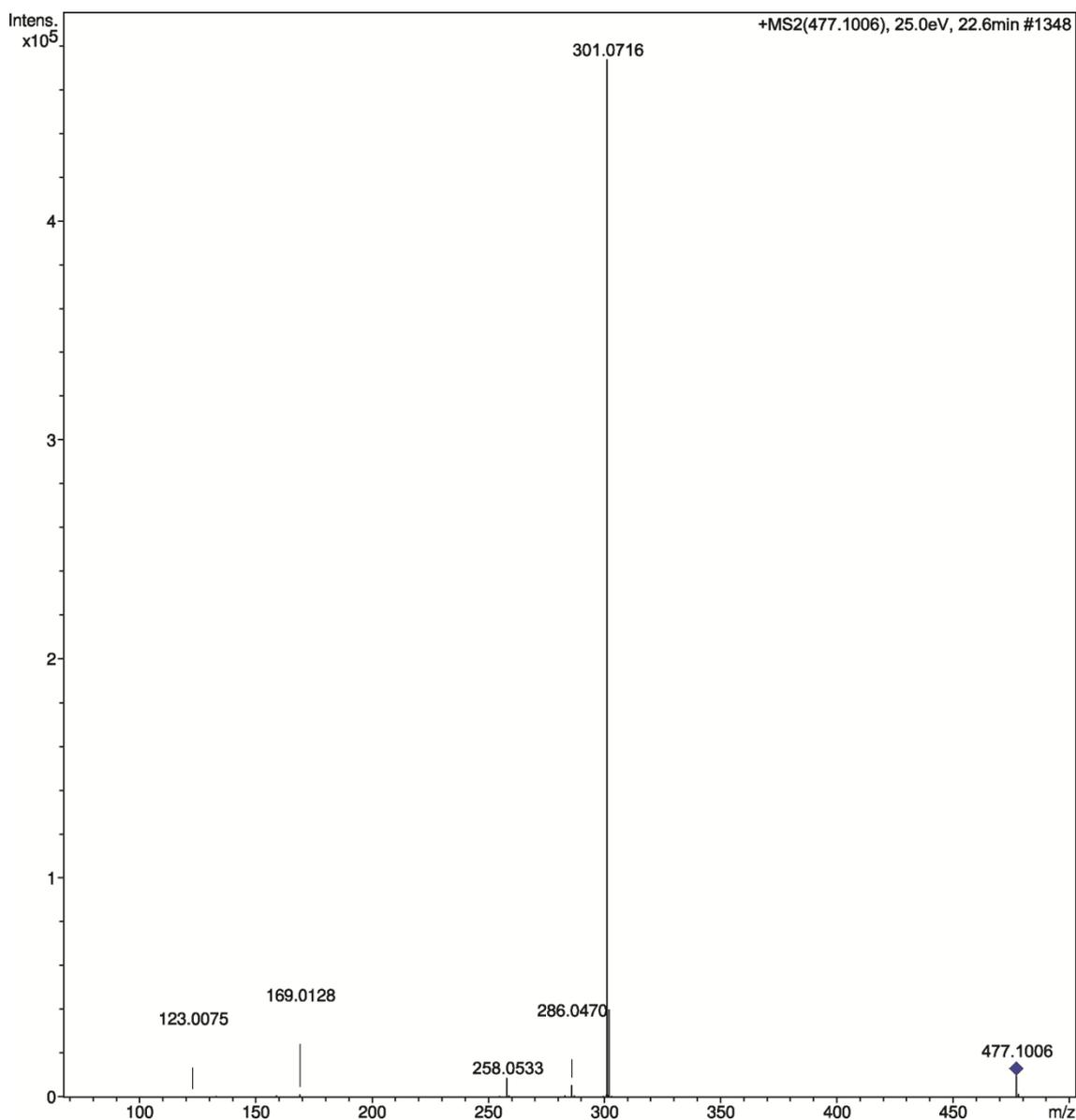
**Fig. 12** Subspectro DEPT 135°; 400MHz; DMSO-d.

**Fig. 13** - Espectrometria de massas acoplado a eletrospray (modo negativo (M-H)<sup>-</sup>). Erro em ppm foi de 1.9.



O espectro de massas de alta resolução revelou a presença do íon molecular  $m/z = 477,1000$  no espectro de massas acoplado a eletrospray (modo positivo positivo (M+ H) (Fig. 14 ), apresentando o pico de base o ácido glicônico deslocado em 301 m/z, confirmando a massa molecular para a estrutura proposta.

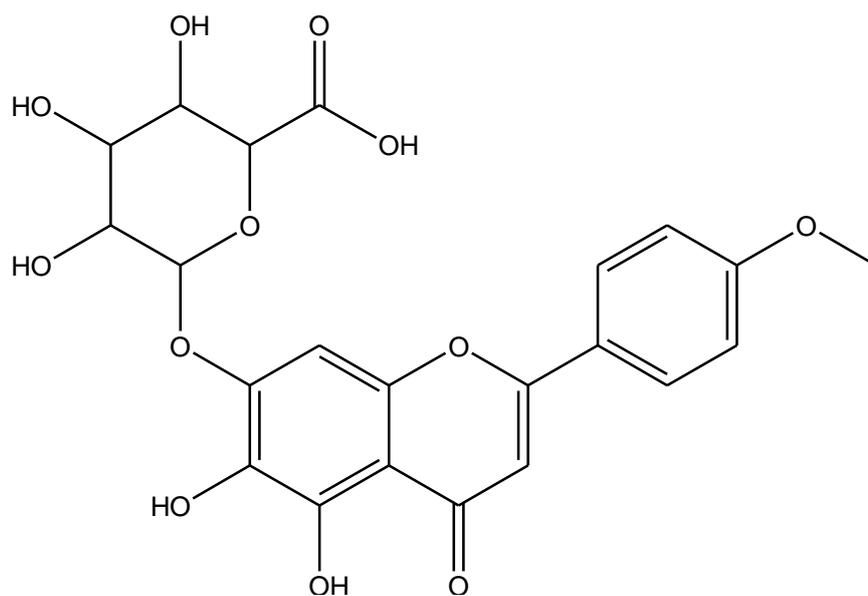
**Fig. 14** - Espectrometria de massas acoplado a eletrospray (modo positivo (M+H)<sup>+</sup>).



As análises espectroscópicas anteriormente relatadas nos fornecem dados importantes, os quais nos permite elucidar a estrutura química do composto, 6-[5,6-dihydroxy-2-(4-methoxy-phenyl)-4-oxo-4H-chromen-7-yloxy]-3,4,5-trihydroxy-tetrahydro-pyran-2-carboxylic acid. (fig. 15), isolado da fração aquosa do extrato metanólico

de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii*. Estudos futuros serão necessários para avaliação de seu potencial biológico.

Fig. 15 - Composto isolado das folhas de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii*.



6-[5,6-Dihydroxy-2-(4-methoxy-phenyl)-4-oxo-4*H*-chromen-7-yloxy]-3,4,5-trihydroxy-tetrahydro-pyran-2-carboxylic acid

$C_{22}H_{20}O_{12}$   
 Exact Mass: 476  
 Mol. Wt.: 476  
 m/e:  
 C, 55.47; H, 4.23; O, 40.30

## 5.4 ATIVIDADES BIOLÓGICAS

### 5.4.1 Atividade antibacteriana

Os extratos testados apresentaram atividade tanto para bactérias Gram positivas quanto para Gram negativas (Tabela 2).

**Tabela 2:** Concentração Inibitória Mínima das bactérias ensaiadas com extrato bruto (aquoso, metanólico e acetônico) das folhas de *Adenocalymma imperatoris-maximiliani* (Wawra) L. G. Lohmann (Bignoniaceae).

Microorganismos/Cepas	Oxacilina (µg/ml)	Tetraciclina (µg/ml)	Aquoso	Metanol	Acetona
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25293	<b>0,125</b>	<b>ND</b>	500	500	500
<i>Staphylococcus aureus</i> AM 13	<b>0,125</b>	<b>ND</b>	500	500	500
<i>Staphylococcus aureus</i> AM 18	<b>256</b>	<b>ND</b>	500	500	500
<i>Staphylococcus aureus</i> AM 24	<b>256</b>	<b>ND</b>	500	500	500
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 33591	<b>64</b>	<b>ND</b>	500	500	500
<i>Enterococcus faecalis</i> 292 UFPEDA	<b>ND</b>	0,25	7,8	-	-
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC	<b>ND</b>	8,0	7,8	-	-

As pesquisas com extratos vegetais visam explorar a ação antimicrobiana dos seus constituintes químicos, o que pode representar uma saída para o combate às bactérias, em razão do grande aumento da resistência das bactérias patogênicas a múltiplas drogas devido ao uso indiscriminado de antibióticos, levando assim, a procura dessas novas alternativas terapêuticas (OPLUSTIL, 2010).

Singh & Shuklavv (1984), relatando as diferenças entre antimicrobianos produzidos por microrganismos e por plantas, destacam que 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 e ou ribossomal, ou mesmo alterando estruturas de membranas. Com isso as plantas destacam-se como grande manancial de novas moléculas bioativas.

Comparando os nossos resultados com os encontrados por Tresvenzol *et al.* (2009), para *Adenocalymma nodosum*, onde os melhores resultados foram obtidos com as frações hexano (CIM de 0,39 mg/mL) e diclorometano (CIM de 0,39 mg/mL) obtidas das raízes; e o óleo essencial que apresentou CIM de 0,78 mg/mL a 1,56 mg/mL frente a bactérias Gram-positivas e 1,56 mg/mL a 3,12 mg/mL frente a bactérias Gram-negativas, podemos dizer que os resultados encontrados para *A. imperatoris-maximilianii*, usando-se extratos aquosos, metanólicos e acetônicos, foram bem mais significantes, obtendo-se valores de CIM 7,81 a 500 µg/mL.

De acordo com Holetz *et al.* (2002), a atividade antimicrobiana pode ser classificada de acordo com a CIM em: Inativa (CIM > 1000 µg/mL); atividade fraca (500 < CIM < 1000 µg/mL); atividade moderada (100 < CIM < 500 µg/mL) e boa atividade (CIM < 100 µg/mL).

Em uma ampla revisão sobre plantas medicinais, Ríos e Recio (1987), fizeram uma avaliação quanto à atividade antimicrobiana de extratos, óleos essenciais e de substâncias obtidas de vegetais, e destacaram os resultados obtidos com os óleos essenciais, alcalóides, cumarinas, triterpenos, ácido caurêmico entre outros, que em baixas concentrações, exercem inibição sobre o crescimento de bactérias Gram-positivas, Gram-negativas, leveduras e fungos filamentosos, confirmando a grande importância que possuem como perspectivas para a produção de novos e eficientes produtos farmacêuticos que possam ser usados na terapêutica de processos infecciosos.

Os extratos metanólicos das folhas e casca do caule de quatro plantas da família Bignoniaceae tais como: *Jacaranda mimosifolia* D. Dol., *Tecoma stans* L., *Tabebuia rosea* (Bertol) DC, e *Crescentia cujete* L., foram testados quanto à sua atividade antimicrobiana utilizando uma gama de bactérias Gram-positivas, Gram-negativas e fungos, sendo mais eficazes contra as Gram-positivas (BINUUTO *et al.*, 2004).

Al-Azzawi *et al.* (2012) demonstraram a atividade antimicrobiana 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.

### 5.2.2 Atividade citotóxica

Uma escala de intensidade foi utilizada para avaliar o potencial citotóxico das amostras testadas. Amostras com atividade (90 a 100 % de inibição), com atividade moderada (inibição de crescimento celular variando de 50 a 90%) e fraca atividade (inibição de crescimento menor que 50 %) (RODRIGUES *et al.*, 2014).

Os extratos brutos de baixa e média polaridade das folhas de *Adenocalymma imperatoris-maxilianii* testados na concentração de 50 µg/mL apresentaram atividade citotóxica conforme a (Tabela 3). No presente estudo os resultados obtidos quanto á citotoxicidade frente ás linhagens de células tumorais (MCF-7, NCI-H292, HL-60, HEP-2) foram de moderadas a alta atividade, sendo na HL-60 (leucemia promielocítica aguda) a melhor atividade em análise. Um extrato bruto só pode ser considerado citotóxico, quando os parâmetros que incluem alteração do metabolismo e ou morte celular são observados (FRESHNEY, 1994). Com os resultados promissores no presente estudos, serão necessárias investigações minuciosas para testar frações enriquecidas e substâncias isoladas em diferentes linhagens de células tumorais.

**Tabela 3:** Teste de Citotóxicidade dos extratos das folhas de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann diante de Linhagens de Células Tumorais (NCI-H292, HEP-2, MCF-7, HL-60).

Extratos Testados	% de inibição							
	NCI-H292	SEM	HEP-2	SEM	MCF-7	SEM	HL-60	SEM
Acetato de Etila	47,6	1,6	39,0	1,2	27,2	0,0	84,9	2,2
Clorofórmio	48,7	0,6	47,2	1,2	52,1	2,8	94,7	0,7
Diclorometano	60,8	2,0	66,7	1,6	11,2	0,0	83,8	2,6
Hexano	68,2	1,6	54,8	2,8	41,7	2,3	88,3	2,3

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

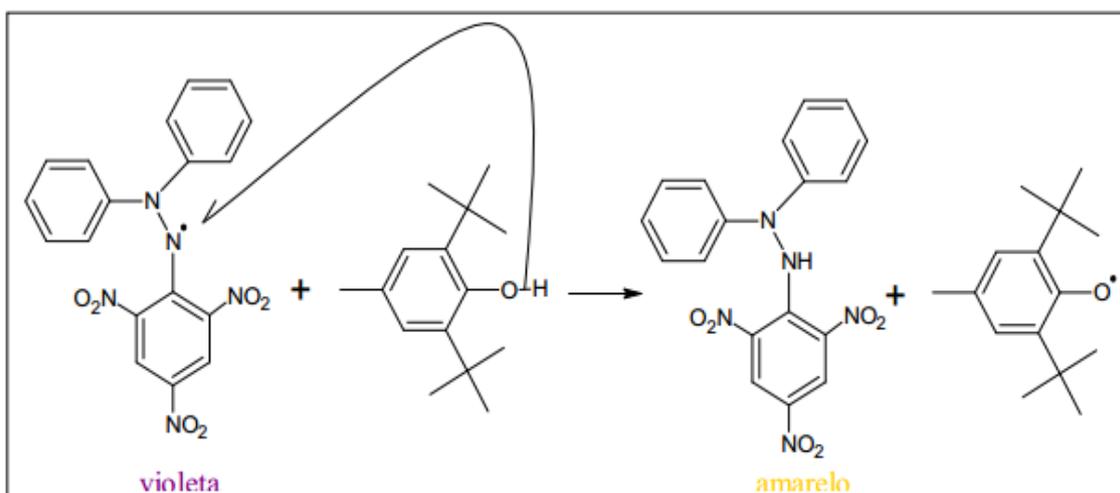
De acordo com Oliveira *et al.* (2014), Os resultados de citotóxicidade obtidos com o extrato bruto metanólico da parte vegetativa (folhas) de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann foi considerado baixo, segundo a literatura para as linhagens de células tumorais testadas, fortalecendo a importância dos novos estudos dos extratos de diferentes polaridades da testada inicialmente frente as mesmas linhagens celulares.

Os resultados de citotóxicidade obtidos com os extratos brutos das partes vegetativas de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* (Wawra) L. G. Lohmann foram considerados de moderado a alta atividade, 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, destacando esta espécie como uma fonte promissora de moléculas bioativas, como alternativa terapêutica para testes de citotoxicidade frente a diferentes linhagens de células tumorais.

### 5.2.3 Atividade antioxidante

O extrato bruto metanólico das folhas de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii*, teve sua avaliação de sua potencial atividade antioxidante pela técnica do DPPH. Onde O radical de DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila) apresenta uma forte absorção no espectro visível (comprimento de onda de 515 a 517 nm) com coloração violácea intensa, devido à presença de elétrons desemparelhados. Quando o DPPH é colocado em presença de substâncias capazes de doar elétrons, a absorção é inibida. Ocorre a descoloração estequiométrica em relação ao número de radicais DPPH reduzidos por moléculas doadoras de elétrons ( $H^{\cdot}$ ) presentes na amostra testada. Isso ocorre porque ao ser reduzido, o DPPH passa a apresentar coloração amarela, não mais sofrendo absorção no comprimento de onda analisado (Figura 16). Portanto, o grau de descoloração indica a capacidade sequestradora de radical livre (BLOIS, 1955; YAMAKASI et al., 1994).

**Figura 16** - Redução do DPPH pelo antioxidante BHT (di-terc-butilmetilfenol).



O resultado da concentração eficaz para 50% de atividade antioxidante ( $CEA_{50}$ ) obtidos por meio de regressão linear, foi de:  $177,31 \pm 8,56 \mu\text{g/mL}$ . Esta atividade deve estar associada a substâncias fenólicas, quimicamente caracterizadas como boas doadoras de elétrons ( $H^{\cdot}$ ), favorecendo atividade sequestradora de radicais livres. Quando o radical DPPH é estabilizado por ação de um  $H^{\cdot}$ , a absorbância do mesmo em  $\lambda_{\text{máx}}$ , 516 nm não mais é observada, de forma que quanto menor a concentração desse

radical em solução, menor a absorbância da solução. Da mesma forma pode-se dizer que quanto maior a concentração de fenóis numa solução, maior a estabilização de radicais DPPH e, portanto, maior a atividade antioxidante da mesma (YAMASAKI et al., 1994; RICIEVANS et al., 1997).

## 6. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste trabalho permitem constatar os seguintes aspectos:

# A importância no processo de identificação e padronização de parâmetros de qualidade para as folhas de *A. imperatoris-maximilianii*, sobretudo pela ausência de limites estabelecidos para os ensaios de perda por dessecação, teor de cinzas totais e análise granulométrica na literatura para esta droga vegetal.

# Após CG/MS do óleo essencial da *A. imperatoris-maximilianii*, foi possível elucidar 39 compostos. O composto majoritário foi identificado como sendo o fitol, com 76,51% de área e tempo de retenção 44,931min. Tornando a espécie uma promissora fonte alternativa de obtenção do composto.

# Foi evidenciado doze compostos derivados flavonoídicos por espectrometria de massas acoplado a eletrospray, presentes nos extratos Aquoso, Metanólico e Acetônico, correspondendo a quatorze compostos químicos. Obtendo assim o primeiro relato destes compostos isolados para a espécie em estudo.

# As análises espectroscópicas permitiram elucidar a estrutura química do composto 6-[5,6-dihydroxy-2-(4-methoxy-phenyl)-4-oxo-4H-chromen-7-yloxy]-3,4,5-trihydroxy-tetrahy dro-pyran-2-carboxylic acid., isolado da fração aquosa do extrato metanólico de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii*.

# Os extratos aquoso, metanólico e acetônico de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* apresentaram atividade antibacteriana promissora frente bactérias Gram positivas (*Enterococcus faecalis*) quanto para Gram negativas (*Staphylococcus aureus*).

# Os extratos brutos de baixa e média polaridade das folhas de *Adenocalymma imperatoris-maximilianii* apresentaram de moderadas a alta atividade no ensaio de citotóxicidade *in vitro*, sendo na HL-60 (leucemia promielocítica aguda) a melhor atividade em análise.

Este trabalho mostrou que as folhas de *Adenocalymma imperatoris-maxilianii*, podem ser consideradas boas fontes de compostos bioativos, apresentando efeitos potenciais benéficos sobre a saúde humana e justificando a ampliação dos estudos.

## REFERÊNCIAS

ADAMS, R.P. **Identification of essential oils components by gas chromatography/mass spectroscopy**. 4.ed. Carol Stream: Allured, p.469, 2007.

AGUILAR, S. L.; RAMÍREZ, G.; NICASIO, P.; ALEGRÍA-REYES, C.; HERRERA-ARELLANO, A. Antidiabetic activities of *Tecoma stans* (L.) Juss. ex Kunth. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 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, 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**, v. 70, p. 227-233, 2000.

ALLEY, 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.

AMORIM, E. L. C.; NASCIMENTO, J. E.; MONTEIRO, J. M.; PEIXOTO SOBRINHO, T. J. S.; ARAÚJO, T. A. S.; ALBUQUERQUE, U. P. A simple and accurate procedure for the determination of tannin and flavonoid levels and some applications in ethnobotany and ethnopharmacology. **Func Ecosyst and Communit.**, v. 2, p. 88-94, 2008.

BAILEY, A.E.; NISSEN, L.R.; SKIBSTED, L.H. Antioxidant evaluation protocols: Food quality or health effects. **European Food Research Technology**, New York, v.219, n.6, p. 561-571, 2004.

BAKKALI, F.; AVERBEK, S.; AVERBEK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – a review. **Food and Chemical Toxicology**. v.46, p. 446-475, 2008.

BARROSO G. M.; PEIXOTO A. L.; COSTA C. G.; ICHASO C. L. F.; GUIMARÃES E. F.; LIMA H. C. *Sistemática de Angiospermas do Brasil*. Viçosa, UFV: **Imprensa Universitária**. v.3, 1991.

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**, v. 8, p. 16, 2009.

BENDAOU, H.; BOUJILA, J.; RHOUMA, A.; SAVAGNAC, A.; ROMDHANE, M. GC/MS analysis and antimicrobial and antioxidant activities of essential oil of *Eucalyptus radiata*. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. v.89, p. 1202-1297, 2009.

BIANCHI, M.L.P.; ANTUNES, L.M.G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. Artigo de Revisão. **Revista de nutrição**, Campinas, v.12, n.2, p. 123-130, 1999.

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.

BLOIS, M. S. **A note on free radical formation in biologically occurring quinones**. **Biochim. Biophys**, v.18, n.1, p.165, 1955

BRAGA, T.V.; OLIVEIRA, T. T.; PINTO, J. T.; DORES, R. G. R.; NAGEM, T. J. Determinação de massa fresca, massa seca, água e cinzas totais de folhas de *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & C. E. Jarvis subsp. *verticillata* e avaliação do processo de secagem em estufa com ventilação forçada. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl**. V.28, p.287-290, 2007.

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.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada nº 48 de 16 de março de 2004. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. *D.O.U.*, 18 de mar. 2004

CAI Y.; CHEN T.; XU Q. Astilbin suppresses collagen-induced arthritis via the dysfunction of lymphocytes. **Inflamm Res**, v. 52, p. 334-340, 2003.

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, F. 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.

CHINETTI, G., FRUCHART, J. C., STAELS, B. Peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs): nuclear receptors at the crossroads between lipid metabolism and inflammation. **Inflammation Research**, v. 49, n. 10, p. 497-505, 2000.

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

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**, v. 32, n. 3, 2012.

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

COSTA, J. P.; LOURENÇO, N. V.; SANTOS, C. M. P.; TOMÉ, A. R.; SOUSA, G. F.; SOUSA, D. P.; ALMEIDA, R. N.; FREITAS, R. M. Avaliação da toxicidade aguda e das alterações histopatológicas em camundongos tratados com fitol. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 33, n. 3, p. 421-428, 2012.

COUTO R. O.; VALGAS, A. B.; BARA, M. T. F.; PAULA, J. R. Caracterização físico-química do pó das folhas de *Eugenia dysenterica* dc. (Myrtaceae). **Rev. Eletr. Farm.**; v. 6, p.59-69, 2009

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**, v. 52, p. 347-352, 2000.

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

**Farmacopeia Brasileira**. 5ª Ed. 2010.

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

GACHET, M. S.; SCHUHLY, W. Jacaranda – An ethnopharmacological and phytochemical review. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 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**, v. 42, p. 1315-1320, 1996.

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

GOBBO N. L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova. São Paulo**, v. 30, n. 2, p. 374-371, 2007.

GOTO, T.; TAKAHASHI, N.; KATO, S.; EGAWA, K.; EBISU, S.; MORIYAMA, T.; FUSHIKI, T.; KAWADA, T. Phytol directly activates peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$  (PPAR $\alpha$ ) and regulates gene expression involved in lipid metabolism in PPAR $\alpha$ -expressing HepG2 hepatocytes. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 337, p. 440-445, 2005.

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

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

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

HUBERLE, A., BEYEEN, A.D., ÖCKINGER, J., AYTURAN, M., JAGODIC, M., DE GRAAF, K.L., FISSOLO, N., MARTA, M., OLOFSSON, P., HULTQVIST, M., HOLMDAHL, R., OLSSON, T., WEISSERT, R. Advanced Intercross Line Mapping Suggests That *Ncf1* (*Ean6*) Regulates Severity in an Animal Model of Guillain-Barre´ Syndrome. **The Journal of Immunology**, v. 182, p. 4432–4438, 2009.

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

VEIGA JUNIOR, V. F. Estudo do consumo de plantas medicinais na Região Centro-Norte do Estado do Rio de Janeiro: aceitação pelos profissionais de saúde e modo de uso pela população. **Revista brasileira de farmacognosia**, v.18, p. 308-313, 2008.

LEITE, A.C.R.M. **Efeitos antiinflamatórios e antinociceptivos do fitol, um ativador de NADPH oxidase, e tadalafil, um inibidor de 5-fosfodiesterase, em modelos experimentais**. 2010. 120f. Tese de Doutorado em Ciências Médicas da Universidade Federal do Ceará, 2010.

LENTA, B. N.; WENIGER, B.; ANTHEAUME, C.; NOUNGOUE, D. T.; NGOUELA, S.; ASSOUB, 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**, v. 68, p. 1595-1599, 2007.

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

LOHMANN, L. G.; PIRANI, J. R. Flora de Grão-Mogol, Minas Gerais: Bignoniaceae. **Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo** v. 21, 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** v.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**, v. 32, n. 2, p.211-216, 2008.

MARCUCCI, M. Propiedades biológicas e terapêuticas dos constituintes químicos da própolis. **Química nova**, v.19, n.5, p.539-536, 1996

MBOSSO, E. J.; GOUELA, S.; GUEDIA, 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**, v. 22, p. 296-304, 2008.

McGINTY, D.; LETIZIA, C.S.; API, A.M. **Fragrance material review on phytol. Food and Chemical Toxicology**, v. 48, p. 59-63, 2010.

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.

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**, v. 20, p. 941-944, 2006.

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

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.

NISSEN, N., EVANS, S. Exploring the practice and use of Western herbal medicine: Perspectives from the social science literature. **Journal of Herbal Medicine**. v. 2, p. 15, 2012.

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**, v. 6, p. 168-174, 2009.

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

OLIVEIRA, G. G. **ESTUDOS FARMACOGNÓSTICOS DE *Adenocalymma imperatoris-maximiliani* (WAWRA) L. G. LOHMANN E ATIVIDADE BIOLÓGICA (BIGNONEACEAE)**. 2014. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Pernambuco.

OLIVEIRA, L. G.; MÔNICA T. P.; VIEIRA, P. C. Explorando produtos naturais microbianos nas fronteiras da Química e da Biologia. **Química Nova**. V. 36, n. 10, p.1577-1586, 2013.

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** v. 96, p. 1731-1743, 2009.

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

OSTROSKY, E. A.; MIZUMOTO, M. K.; MARCOS E. L. LIMA, M. E. L.; 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.

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.

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**, v. 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**, v. 105, p. 255-262, 2006.

PEIXOTO-SOBRINHO. T. J.; CASTRO, V. T. N. A.; SARAIVA, A. M.; ALMEIDA, D. M.; TAVARES, E. A.; AMORIM, E. L. C. Phenolic content and antioxidant capacity of four *Cnidocolus* species (Euphorbiaceae) used as ethnopharmacologicals in Caatinga, Brazil. **Afr j pharm pharmaco**, v. 5, p. 2310-2316, 2011.

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 avellanadae* naphthoquinones: activity against methicillin-resistant staphylococcal strains, cytotoxic activity and in vivo dermal irritability analysis. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, v. 5, p. 5, 2006.

RAHMATULLAH, M.; KHATUN, Z.; HASAN, A.; PARVIN, W.; MAHAL, M. J.; JAHAN, R. Survey And Scientific Evaluation Of Medicinal Plants Used By The Pahan And Teli Tribal Communities Of Natore District, Bangladesh. **African Networks on Ethnomedicines** v.9, p. 366-373, 2012.

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

RICIEVANS, C.A.; MILLER, N.J.; PAGANGA, G. Antioxidant properties of phenolic compounds. **Trends in Plant Science**, London, v.2 n.4, p152-159, 1997.

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

RODRIGUES, F. A. R. et al. Mefloquine–Oxazolidine Derivatives: A New Class of Anticancer Agents. **ChemBiol Drug Des**, v. 83, p. 126–131, 2014.

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

RONTANI, J-F., VOLKMAN, J.K. Phytol degradation products as biogeochemical tracers in aquatic environments. **Organic Geochemistry**, v. 34, p. 1–35, 2003.

SALVADOR, M. J. **Estudo químico e biotecnológico de *alternanthera marítima* e *alternanthera tenella* (Gomphrena, Amaranthaceae)**. 2005. p. 405, Tese (Doutorado em química) – Faculdade de Filosofia, Ciências e letras de Ribeirão Preto

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 Mediciniais**. v. 13, n. 4, p. 447-445, 2011.

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<sup>a</sup> Ed.; Editora UFSC, 2010.

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

SONAGLIO, D.; ORTEGA, G. G.; PETROVICK, P. R.; BASSANI, V. L. Desenvolvimento tecnológico e produção de fitoterápicos. In: SIMÕES, C.M.O. et al. (Org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5.ed. Porto Alegre: Ed. UFRGS; Florianópolis: Ed. UFSC, p.290-326, 2003.

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.

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**, v. 73, p. 1107-1111, 2007.

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

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**, v. 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**, v. 44, p. 349-362, 2006.

TIVERON, A.P. **Atividade antioxidante e composição fenólica de legumes e verduras consumidos no Brasil**. Dissertação Mestrado, 2010

TIWARI, P. et al. Phytochemical screening and Extraction: a review. *Internationale Pharmaceutica Scientia*, **Ghaziabad**, v. 1, p. 98-106, 2011.

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**, v.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.

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

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 avellaneda*, Lorentz ex Griseb. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 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**, v. 27, p. 449–453, 2009.

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

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**, v.3, p. 808-816, 2006.

VOIGT R, Bornschein M. *Tratado de tecnologia farmacêutica*. 3°. ed. Zaragoza: Editorial Acribia, 1982.

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

YAMASAKI, K.; HASHIMOTO, A.; KOKUSENYA, Y; MIYAMOTO, T.; SATO, T. Protective effects of methanol extracts of crude drugs. **Chem. Pharm. Bull.**, v. 42, p.1663-1665, 1994.

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

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**, v. 30, p. 1335-1338, 2005.

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

ZANG, Z. M.; WU, W. W.; LI, G. K. A. GC-MS study of the volatile organic composition of straw and oyster mushrooms during maturity and its relations to antioxidant activity. **Journal of Chromatographic Science**. v. 46, p. 690-696, 2008.

ZUANAZZI, J. A. S.; MAYORGA, P. Fitoprodutos e desenvolvimento econômico. **Química Nova**, v. 33, n. 6, p. 109-114, 2010.

## Apêndice 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 OLIVEIRA<sup>1</sup>; J. A. DE S. PEREIRA JUNIOR<sup>1</sup>; I. V. G. A. BASTOS<sup>1</sup>;  
R. C. SAMPAIO FILHO<sup>1</sup>; N. P. LOPES<sup>2</sup> AND S. J. DE MELO<sup>1\*</sup>**

<sup>1</sup>Department of Antibiotics - Federal University of Pernambuco - Recife - Brazil

<sup>2</sup>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* (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 trees<sup>1</sup>. The family comprises 110 genera and about 650 species, widely distributed in tropical regions around the world, especially in the American tropics<sup>2</sup>. 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 diseases<sup>2</sup>. 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 carotenoids<sup>3</sup>. 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 family<sup>4</sup>. 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 studies<sup>3</sup>. 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<sup>5,6</sup>. 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<sup>5,6,7</sup>.

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"<sup>8</sup>. 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. Gentry<sup>9</sup>. 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: 8° 7' 33" S, 35° 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 Agronômico 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 N<sub>2</sub> 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 (C<sub>9</sub>-C<sub>20</sub>, C<sub>21</sub>-C<sub>40</sub>) 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 antioxidant<sup>10</sup>. 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*.

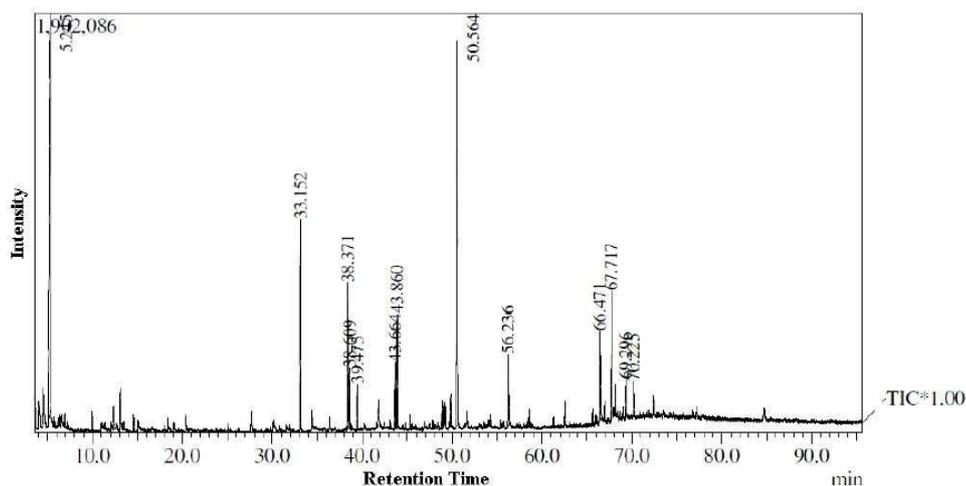


Table 1

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

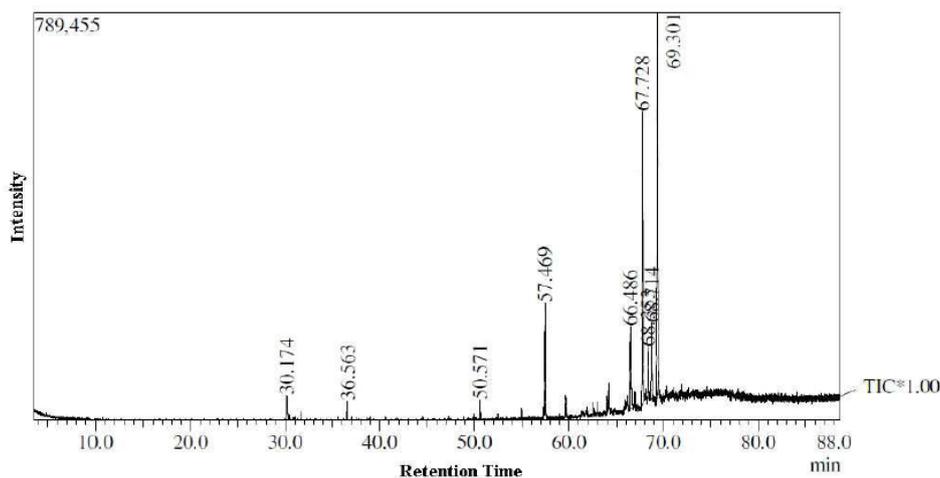
## Int J Pharm Bio Sci 2014 July ; 5 (3) : (P) 70 - 78

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

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

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

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

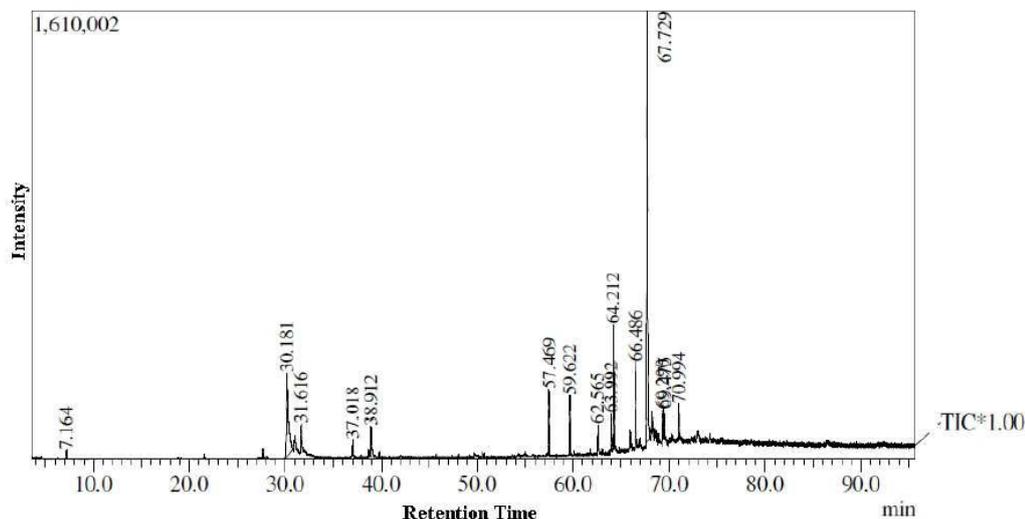


**Table 2**  
Compounds identified in the chloroform extract from the stems of *A. imperatoris-maximilianii* by GC-MS.

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 <sub>20</sub> H <sub>38</sub>
2	36.563	1.16	Kaur-16-ene	272	C <sub>20</sub> H <sub>32</sub>
3	50.571	1.20	bis(2-ethylhexyl) benzene-1,2-dicarboxylate	390	C <sub>24</sub> H <sub>38</sub> O <sub>4</sub>
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 <sub>30</sub> H <sub>50</sub>
5	62.582	1.17	(2R)-2,7,8-Trimethyl-2-[(4R,8R)-4,8,12-trimethyltridecyl]-6-chromanol	416	C <sub>28</sub> H <sub>48</sub> O <sub>2</sub>
6	64.210	2.06	2,5,7,8-tetramethyl-2-(4,8,12-trimethyltridecyl)-3,4-dihydrochromen-6-ol	430	C <sub>28</sub> H <sub>50</sub> O <sub>2</sub>
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 <sub>28</sub> H <sub>48</sub> O
8	67.728	31.46	Stigmast-5-en-3-ol, (3.beta.)-	414	C <sub>29</sub> H <sub>50</sub> 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-tetradecahydricen-3-ol	426	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> 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 <sub>30</sub> H <sub>48</sub> 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 <sub>30</sub> H <sub>50</sub> O

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

**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 <sub>3</sub> H <sub>6</sub> BrCl
2	30.181	10.29	7,11,15-Trimethyl-3-methylene-hexadec-1-ene	278	C <sub>20</sub> H <sub>38</sub>
3	30.340	0.18	Tridec-2-en-ol	198	C <sub>13</sub> H <sub>26</sub> O
4	37.018	1.05	trimethylsilyl hexadecanoate	328	C <sub>19</sub> H <sub>40</sub> O <sub>2</sub> Si
5	38.665	0.02	trimethylsilyl (7Z)-7-trimethylsilyloxyiminoctanoate	317	C <sub>14</sub> H <sub>31</sub> NO <sub>3</sub> Si <sub>2</sub>
6	38.912	2.90	3,7,11,15-Tetramethyl-hexadec-2-en-1-o	297	C <sub>20</sub> H <sub>40</sub> O
7	57.469	4.86	2,6,10,15,19,23-Hexamethyl-tetracos-2,6,10,14,18,22-hexaene	410	C <sub>30</sub> H <sub>60</sub>
8	59.622	3.94	Tetratetracontane	619	C <sub>44</sub> H <sub>90</sub>
9	62.565	2.03	2,6,10,15,19,23-Hexamethyl-tetracos-2,6,10,14,18,22-hexaene	416	C <sub>28</sub> H <sub>48</sub> O
10	63.992	2.57	Nonacosane	408	C <sub>29</sub> H <sub>60</sub>
11	64.212	10.16	2,5,7,8-tetramethyl-2-(4,8,12-trimethyltridecyl)-3,4-dihydrochromen-6-ol	430	C <sub>29</sub> H <sub>50</sub> O <sub>2</sub>
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 <sub>29</sub> H <sub>48</sub> 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 <sub>29</sub> H <sub>50</sub> 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 <sub>32</sub> H <sub>58</sub> OSi

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

15	69.290	2.79	2,6,10,15,19,23-Hexamethyl-tetracosane	426	C <sub>30</sub> H <sub>60</sub> O
16	69.475	2.57	2,6,10,14,18,22-hexaene	426	C <sub>30</sub> H <sub>60</sub> O
17	70.994	3.46	2-bromo-1-chloro-propane	426	C <sub>30</sub> H <sub>60</sub> O
			7,11,15-Trimethyl-3-methylene-hexadec-1-ene		

**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, Hypocholesterolemic, 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; Antifibrositic; Antidysmenorrheic; Antiinflammatory; Antiglycosation; Antiherpetic; Antiinfertility; Antischismic; Antileukemic; Antileukotriene; Antilithic; Antimastalgic; AntiMD; Antilupus; Antimaculitic; Antineuritic; Antimelanomic; AntiMS; Antimyoclonic; Antineuropathic; Antininosaminic; Antiophthalmic; Antioxidant; Antiosteoarthritic; 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); Antitulerogenic; Apoptotic; Calcium-Antagonist; Cancer-Preventive; Cardioprotective; Cerebroprotective; Circulatory-Stimulant; Circulotonic; Immunomodulator; Hepatoprotective; Hypocholesterolemic; Hypoglycemic; Immunostimulant; Lipoxigenase-Inhibitor; NO-Inhibitor; Phospholipase-A2-Inhibitor; Ornithine-Decarboxylase-Inhibitor; P21-Inducer; Protein-Kinase-C-Inhibitor; Vasodilator.
Beta- amyryn	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, Samarra 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. *Quimica 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 publisher: 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.