



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ  
Centro de Ciências da Natureza  
Programa de Pós-Graduação em Química



Emanuelly Elanny Andrade Pinheiro

CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO FITOQUÍMICO E POTENCIAL BIOLÓGICO DAS  
FLORES DE *Platonia insignis* Mart.

TERESINA-PI

2016

Emanuelly Elanny Andrade Pinheiro

CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO FITOQUÍMICO E POTENCIAL BIOLÓGICO DAS  
FLORES DE *Platonia insignis* Mart.

Dissertação de Mestrado apresentada ao  
Programa de Pós- Graduação em Química-  
Centro de Ciências da Natureza da  
Universidade Federal do Piauí como parte  
dos requisitos necessários para a obtenção do  
grau de Mestre em Química. Área: Química  
Orgânica

Profa. Dra. Antônia Maria das Graças Lopes Citó

Orientadora

TERESINA-PI

Emanuely Elanny Andrade Pinheiro

CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO FITOQUÍMICO E POTENCIAL BIOLÓGICO DAS  
FLORES DE *Platonia insignis* Mart.

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química – Centro de Ciências da Natureza da Universidade Federal do Piauí como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Mestre em Química – Área: Química Orgânica

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Aprovada por:

---

Profa. Dra. Antônia Maria das Graças Lopes Citó  
Universidade Federal do Piauí – UFPI  
(Orientadora e Presidente)

---

Prof. Dr. Gerardo Magela Vieira Júnior  
Universidade Federal do Piauí – UFPI  
(Membro Titular)

---

Prof. Dr. Joaquim Soares da Costa Júnior  
Instituto Federal do Piauí – IFPI  
(Membro Titular)

Dedico à minha mãe  
Fernanda Andrade

## AGRADECIMENTOS

A Deus que é Pai, Filho e Espírito Santo por todas as oportunidades concedidas, pela saúde, sabedoria e paciência que me fizeram chegar até aqui.

À minha amada mãe Fernanda Andrade, por seu amor incondicional, compreensão e força, que nos momentos difíceis estava ao meu lado, meu porto seguro e por quem quero alcançar os mais altos voos.

Às minhas tias Maria José Andrade e Socorro Chaves pelas orações.

Aos meus primos Maria Luíza, Milenna e Wendell pela torcida e incentivo.

À minhas amigas Paloma Vasconcelos, Manalde Silva, Jéssica Rodrigues, Maria Eugênia, Nayana Bruna, Steffane Quaresma e Lourdes Cristina pelas palavras de conforto que me ajudaram a superar muitos obstáculos.

À minha querida orientadora Antônia Maria das Graças Lopes Citó por acreditar em minha capacidade, e me conceder a oportunidade de ser sua orientanda. Muito obrigada pela paciência e por seus ensinamentos.

Ao Prof. José de Sousa Lima Neto pela confiança, incentivo, desafios e ensinamentos profissionais e pessoais.

Aos amigos Jéssica Sara, Douglas Sousa, Antônia Laires e Alexandre pelo carinho e companheirismo.

À CAPES pela bolsa concedida.

Ao LAUREMN em nome do professor Alexandre de Araújo Sousa e professora Mônica Regina Silva de Araújo pelas análises de RMN.

Aos professores do IFPI em nome do professor Joaquim Soares da Costa Júnior, o primeiro que confiou em mim, me dando a oportunidade de ser sua aluna de iniciação científica.

Aos meus amigos e colegas do Laboratório de Geoquímica Orgânica em especial Iolanda, Juliana, Mariana, Alek, Arkellau e Sara.

Aos meus amigos e colegas do Mestrado em Química.

“Se tens fé, cumpre, sabeis que tudo  
é possível àquele que a tem”  
(Mc 9, 14-29)

## RESUMO

*Platonia insignis* Mart. (Clusiaceae), popularmente conhecida por bacuri, é uma planta nativa do Estado do Pará, sendo também encontrada nos estados da região norte, nordeste e centro-oeste. O presente trabalho descreve o primeiro estudo dos constituintes químicos das flores de *P. insignis* com base em análises de ESI-IT-MS, CG-EM, RMN, IR, ESI-qTOF-HRMS e UFLC-ESI-qTOF-HRMS, bem como a avaliação das atividades antioxidantes e antiacetilcolinesterásica. A análise do extrato hidroalcoólico das flores de *P. insignis*, permitiu a identificação dos biflavonoides moreloflavona e volkensiflavona e do acilfloroglucinol garcinialiptona FC (GFC). O extrato foi submetido a partição com hexano, diclorometano e acetato de etila. Para o isolamento dos constituintes químicos da fração hexânica foi realizado fracionamento cromatográfico, no qual foi obtida a mistura de três esteroides, campesterol, estigmasterol e sitosterol, ainda nesta fração por CG-EM foram identificados além dos esteroides, derivados de ácidos graxos. A análise da fração diclorometano por UFLC-ESI-qTOF-HRMS permitiu a identificação dos compostos moreloflavona, volkensiflavona, catequina, garcinialiptona FC e sinfonona F, também nesta fração por CG-EM foram identificadas as xantonas 3,5-dihidroxi-1,2-dimetoxixantona e garcinona B. Para a identificação dos constituintes químicos da fração acetato de etila realizou-se fracionamento cromatográfico em coluna seca de sílica, obtendo-se uma mistura dos dois biflavonoides, a moreloflavona e a volkensiflavona, sendo estas confirmadas por análise de ESI-qTOF-HRMS no modo negativo. A quantificação de fenóis e flavonoides totais mostrou-se elevada na fração acetato de etila, seguida da fração diclorometano e do extrato hidroalcoólico. A avaliação do potencial antioxidante indicou que *P. insignis* é promissora no sequestro de radicais livres, sendo a fração diclorometano, a fração acetato de etila e o extrato hidroalcoólico os mais ativos na redução dos radicais DPPH e ABTS. A fração acetato de etila, a fração diclorometano foram as mais eficientes frente ao potencial redutor do ferro e ao teste de inibição da peroxidação lipídica. Na avaliação da atividade inibidora da enzima acetilcolinesterase, o extrato e frações de *P. insignis* apresentaram resultado positivo frente à inibição da enzima acetilcolinesterase em todas as concentrações testadas. Dentre as substâncias identificadas, volkensiflavona, sinfonona F, 3,5-dihidroxi-1,2-dimetoxixantona e garcinona B são inéditas na espécie.

Palavras-chave: *Platonia insignis* Mart. (flores). Moreloflavona. Atividade antioxidante, antiacetilcolinesterase.

## ABSTRACT

*Platonia insignis* Mart. (Clusiaceae), popularly known as bacuri, is a plant native to the state of Pará, and also found in the states of the north, northeast and midwest. This paper describes the first study of the chemical constituents of *P. insignis* flowers based on analysis of ESI-IT-MS, GC-MS, NMR, IR, ESI-qTOF-HRMS and UFLC-ESI-qTOF-HRMS and the evaluation of antioxidants and anti-acetylcholinesterase activities. The analysis of hydroalcoholic extract of *P. insignis* flowers, allowed the identification of morelloflavone and volkensiflavone biflavonoids and acylphloroglucinol garcinielliptone FC (GFC). After partition with hexane, dichloromethane and ethyl acetate, to isolate the chemical constituents of the hexane fraction was carried chromatographic fractionation, which was obtained by mixing three steroids, campesterol, stigmasterol and sitosterol, although this fraction by GC-MS were identified addition of steroids, fatty acid derivatives. The analysis of the fraction dichloromethane by UFLC-ESI-qTOF-HRMS allowed the identification of compounds morelloflavone, volkensiflavone, catechin, garcinielliptone FC and sinfonone F, also in this fraction by GC-MS were identified xanthenes 3,5-dihydroxy-1,2-dimethoxyxanthone and garcinone B. For the identification of chemical constituents in the ethyl acetate fraction chromatographic fractionation was carried out on a dry column of silica to give a mixture of the two biflavonoids the morelloflavone and volkensiflavone, which were confirmed by analysis of ESI-qTOF-HRMS in negative mode. Quantification of total phenols and flavonoids high showed up in ethyl acetate fraction, followed by dichloromethane fraction and hydroalcoholic. The evaluation of the antioxidant potential indicated that *P. insignis* is promising in scavenging free radicals, and the dichloromethane fraction, ethyl acetate fraction and the hydroalcoholic extract the most active in reducing DPPH and ABTS radical. The ethyl acetate fraction, the fraction dichloromethane were the most effective against the iron reducing potential and inhibition of lipid peroxidation test. In assessing the inhibitory activity of the enzyme acetylcholinesterase, the extract and *P. insignis* fractions were positive result ahead to inhibition of acetylcholinesterase in all tested concentrations. Among the substances identified, volkensiflavone, symphonone F, 3,5-dihydroxy-1,2-dimethoxyxanthone and garcinone B are unique in specie.

Keywords: *Platonia insignis* Mart. (flowers). Morelloflavone. Anti-acetylcholinesterase, antioxidant activity.



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estruturas dos constituintes químicos isolados em espécies da família Clusiaceae ...	27
Figura 2 – Espécie <i>Platonia insignis</i> Mart., flores e frutos .....	39
Figura 3 – Estrutura básica de um flavonoide .....	42
Figura 4 – Procedimento de obtenção do extrato hidroalcoólico e frações das flores de <i>P. insignis</i> .....	47
Figura 5 – Espectro de massas ( <i>full-scan</i> ) do extrato hidroalcoólico.....	59
Figura 6 – Constituintes químicos identificados no extrato hidroalcoólico das flores de <i>P. insignis</i> por FIA-ESI-IT-MS .....	60
Figura 7 - Cromatograma de íons totais da subfração F11 de <i>P. insignis</i> obtido por análise em CG-EM .....	62
Figura 8 - Espectro de RMN de <sup>1</sup> H da mistura <b>1 -3</b> (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz) .....	64
Figura 9 - Espectro de RMN de <sup>13</sup> C da mistura <b>1 -3</b> (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz) .....	65
Figura 10 – Cromatograma de íons totais da fração hexânica.....	66
Figura 11 – Ésteres metílicos majoritários da fração hexânica .....	68
Figura 12 – Esteróide presente na fração hexânica .....	68
Figura 13 – Cromatograma de íons totais da fração diclorometano das flores de <i>P. insignis</i> por análise de UFLC-ESI-qTOF-HRMS .....	69
Figura 14 – Espectro de massas obtido para o composto moreloflavona por LC-ESI-qTOF-HRMS.....	70
Figura 15 – Espectro de massas obtido para o composto volkensiflavona por LC-ESI-qTOF-HRMS.....	71
Figura 16 – Espectro de massas obtido para o composto catequina por LC-ESI-qTOF- HRMS	72
Figura 17 – Estrutura da catequina.....	72

Figura 18 – Espectro de massas obtido para o composto sinfonona F por LC-ESI-qTOF-HRMS.....	73
Figura 19 - Estrutura da sinfonona F .....	73
Figura 20 – Espectro de massas obtido para o composto GFC por UFLC-ESI-qTOF-HRMS ....	74
Figura 21 – Representação genérica da reação de sililação.....	75
Figura 22 – Cromatograma de íons totais da fração diclorometano sililada .....	76
Figura 23 - Espectro de massas da 3,5-dihidroxi-1,2-dimetoxixantona .....	77
Figura 24 - Proposta de fragmentação para $m/z$ 229 .....	78
Figura 25 - Proposta de fragmentação para $m/z$ 273 .....	79
Figura 26 - Espectro de massas da garcinona B .....	80
Figura 27 - Proposta de fragmentação para $m/z$ 231, $m/z$ 593 e $m/z$ 540.....	80
Figura 28 - Proposta de fragmentação para $m/z$ 281 .....	81
Figura 29 – Espectro de massas da subfração F1' .....	82
Figura 30 – Espectro no infravermelho da mistura <b>4</b> e <b>5</b> .....	84
Figura 31 – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da mistura <b>4</b> e <b>5</b> ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 100 MHz) .....	87
Figura 32 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ da mistura <b>4</b> e <b>5</b> ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 100 MHz) .....	88
Figura 33 – Mapa de contornos HSQC de $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ de <b>4</b> e <b>5</b> (400 e 100 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) .....	89
Figura 34 – Mapa de contornos HMBC de $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ de <b>4</b> e <b>5</b> (400 e 100 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) .....	90
Figura 35 – Mapa de contornos HMBC de $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ de <b>4</b> e <b>5</b> (400 e 100 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) .....	91
Figura 36 – Reação de redução do reagente de Folin-Ciocalteu .....	92
Figura 37 – Complexação de um flavonoide com solução metanólica de $\text{AlCl}_3$ .....	93
Figura 38 – Redução do radical DPPH frente a um composto antioxidante (HA).....	95

Figura 39 – Percentuais de atividade antioxidante do extrato e frações das flores de <i>P. insignis</i> frente ao radical DPPH .....	96
Figura 40 – Redução do radical ABTS frente a um composto antioxidante (AOH) .....	97
Figura 41 – Percentuais de atividade antioxidante do extrato e frações das flores de <i>P. insignis</i> frente ao radical ABTS .....	98
Figura 42 – Reação de condensação do ácido tiobarbitúrico (TBA) ao malondialdeído (MDA) .	100
Figura 43 – Percentuais de inibição de peroxidação lipídica do extrato e frações das flores de <i>P. insignis</i> .....	101
Figura 44 – Reação da atividade enzimática da acetilcolinesterase (AChE) .....	102

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Constituintes isolados e identificados em espécies da família Clusiaceae..... 19

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Subfrações da CC em gel de sílica da fração Hex das flores de *P. insignis*..... 49

Tabela 2 – Subfrações da CS de sílica da fração AcOEt das flores de *P. insignis*..... 52

Tabela 3 – Dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  do campesterol (1), estigmasterol (2) e sitosterol (3) ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) ..... 63

Tabela 4– Constituintes identificados na fração Hex de *P. insignis* por análise de CG-EM ..... 67

Tabela 5- Compostos detectados na fração DCM das flores de *P. insignis* por análise de UFLC-ESI-qTOFHRMS ..... 70

Tabela 6- Constituintes identificados na fração DCM sililada das flores de *P. insignis* por análise de CG-EM ..... 76

Tabela 7 – Dados de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  da Volkensiflavona e Morelloflavona, incluindo correlação heteronuclear através de uma ligação (HSQC: $^1\text{J}_{\text{CH}}$ ) e a longa distância (HMBC: $^n\text{J}_{\text{CH}}$ , n= 2 e 3) ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 100 MHz) ..... 85

Tabela 8 – Conteúdos de fenóis e flavonoides totais do extrato hidroalcoólico e frações das flores de *P. insignis* ..... 94

Tabela 9 – Atividade antioxidante pelo método de redução do ferro –FRAP ( $\text{CE}_{50}$ ) do extrato hidroalcoólico e frações das flores de *P. insignis*..... 99

Tabela 10 - Resultado da inibição da enzima acetilcolinesterase do extrato e frações das flores de *P. insignis* ..... 103

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- AAPH – 2,2'-azobis-(2-amidino-propano)-hidroclorado
- ABTS - 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)
- AchE – enzima acetilcolinesterase
- AcOEt – acetato de etila
- AlCl<sub>3</sub> – cloreto de alumínio
- ANOVA – análise de variância
- PPAPs - *polycyclic polyprenylated acylporoglucinols*
- ATCI – iodeto de acetilcolina
- BSTFA – N,O-Bis(trimetilsilil) trifluoracetamida
- CC – cromatografia em coluna
- CCD – cromatografia em camada delgada
- CCDC – cromatografia em camada delgada comparativa
- CSS – coluna seca de sílica
- CDCl<sub>3</sub> – clorofórmio deuterado
- CE<sub>50</sub> – concentração eficiente capaz de reduzir 50 % de radicais livres
- CG-EM – cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas
- CHCl<sub>3</sub> – clorofórmio
- COSY – *correlation spectroscopy*
- DCM – diclorometano
- DEPT- *distortionless enhancement by polarization transfer*
- DPPH – 2,2-difenil-1-picril-hidrazila
- DTNB – (ácido 5,5' – ditiobis-[2-nitrobenzóico])
- EtOH – etanol
- EROs – espécies reativas de oxigênio

ESI – *electrospray ionization*

FeCl<sub>3</sub> – cloreto férrico

FRAP – *ferric reducing antioxidant power*

FT – fenóis totais

FT-IR – *Fourier transform infrared*

FLAT – flavonoides totais

Hex – *n*-hexano

HMBC – *heteronuclear multiple quantum coherence*

HSQC – *heteronuclear single coherence spectroscopy*

HRMS – *high- resolution mass spectrometry*

IE- ionização por elétrons

IT- *ion trap*

KBr – brometo de potássio

MDA – malondialdeído

MeOH – metanol

RMN – ressonância magnética nuclear

TBA – ácido tiobarbitúrico

TOF – *time-of-flight*

T<sub>r</sub> – tempo de retenção

UFLC- *ultra fast liquid chromatography*

UV-Vis – ultravioleta-visível

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	18
1.1 Plantas medicinais .....	18
1.2 Família Clusiaceae .....	19
1.2.1 Estudos fitoquímicos e biológicos de espécies da família Clusiaceae .....	20
1.3 Espécie <i>Platonia insignis</i> Mart.....	39
1.4 Teor de fenóis e flavonoides.....	41
1.5 Atividade antioxidante.....	42
1.6 Atividade inibidora da enzima acetilcolinesterase .....	43
2 OBJETIVOS .....	45
2.1 Objetivo geral .....	45
2.2 Objetivos específicos.....	45
3 PARTE EXPERIMENTAL .....	46
3.1 Material vegetal .....	46
3.2 Obtenção do extrato e frações das flores de <i>P. insignis</i> .....	46
3.3 Análise por infusão direta do extrato hidroalcoólico das flores de <i>P. insignis</i> por espectrometria de massas com ionização por eletrospray (ESI-MS) .....	48
3.4 Análise cromatográfica comparativa das frações da partição do extrato hidroalcoólico das flores de <i>P. insignis</i> .....	48
3.5 Fracionamento cromatográfico da fração hexânica .....	49
3.5.1 Subfração F11 .....	50
3.6 Análise da fração hexânica de <i>P. insignis</i> por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) .....	50

3.7 Análise da fração diclorometano de <i>P. insignis</i> por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (LC-ESI-qTOF-HRMS).....	51
3.8 Análise da fração diclorometano de <i>P. insignis</i> por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) .....	51
3.9 Fracionamento cromatográfico da fração acetato de etila .....	52
3.9.1 Subfração F1' .....	53
3.10 Análises no infravermelho.....	53
3.11 Ressonância magnética nuclear .....	53
3.12 Espectrometria de massas de alta resolução .....	53
3.13 Fenóis totais (FT) .....	54
3.14 Flavonoides totais (FLAT) .....	54
3.15 Atividades antioxidantes.....	55
3.15.1 Potencial sequestrador do radical DPPH.....	55
3.15.2 Potencial sequestrador do radical ABTS .....	56
3.15.3 Potencial redutor do ferro – FRAP .....	56
3.15.4 Potencial inibidor de peroxidação lipídica .....	57
3.16 Atividade inibidora da enzima acetilcolinesterase (AChE).....	58
3.17 Espectrometria de massas .....	58
3.18 Análise estatística .....	58
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	59
4.1 Análise fitoquímica .....	59
4.1.1 Identificação dos constituintes do extrato hidroalcoólico das flores de <i>P. insignis</i> por ESI-MS .....	59
4.1.2 Identificação dos constituintes da fração hexânica.....	61



4.1.2.1 Identificação estrutural dos compostos de <b>1-3</b> .....	61
4.1.2.2 Composição química da fração hexânica das flores de <i>P. insignis</i> por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM) .....	66
4.1.3 Identificação dos constituintes da fração diclorometano.....	69
4.1.3.1 Composição química da fração diclorometano das flores de <i>P. insignis</i> por cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas de alta resolução (UFLC-ESI-qTOF-HRMS).....	69
4.1.3.2 Composição química da fração diclorometano sililada das flores de <i>P. insignis</i> por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM).....	75
4.1.4 Identificação dos constituintes da fração acetato de etila.....	82
4.1.4.1 Identificação estrutural dos compostos de <b>4-5</b> .....	82
4.5 Teores de fenóis e flavonoides totais.....	92
4.6 Atividades antioxidantes.....	95
4.6.1 Atividade antioxidante frente ao radical DPPH .....	95
4.6.2 Atividade antioxidante frente ao radical ABTS .....	97
4.6.3 Atividade antioxidante pelo método de redução do ferro –FRAP .....	97
4.6.4 Potencial inibidor de peroxidação lipídica .....	99
4.7 Atividade inibidora da enzima acetilcolinesterase (AChE).....	102
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	104
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	105

---

## 1 INTRODUÇÃO

### 1.1 Plantas medicinais

O poder curativo das plantas é tão antigo quanto o surgimento da vida humana na terra. As primeiras civilizações, desde muito cedo, perceberam que algumas plantas continham em suas essências princípios ativos, que ao serem consumidos com a finalidade de combater às doenças, revelavam empiricamente seu poder curativo. Por muito tempo, o uso de plantas medicinais foi o principal recurso terapêutico utilizado por muitas famílias no trato de doenças (BADKE et al., 2011).

Apesar da grande evolução da medicina alopática a partir de meados do século XX, constatou-se a existência de obstáculos básicos para a sua utilização pela população carente, que vão desde o acesso aos centros de atendimento hospitalares à obtenção de exames e medicamentos. Estes motivos, aliados ao fácil acesso e a grande tradição do uso de plantas medicinais, contribuem para a utilização da medicina alternativa pelas populações (VEIGA JÚNIOR; PINTO; MACIEL, 2005)

O conhecimento sobre estas plantas simboliza muitas vezes o único recurso terapêutico de muitas comunidades e grupos étnicos. Este conhecimento têm impulsionado estudos químicos e biológicos de espécies vegetais visando obter compostos de origem natural com possibilidades de aplicação como agentes medicinais importantes (BADKE et al., 2011; MACIEL, et al., 2002).

A química de produtos naturais apresenta papel importante frente à investigação de uma planta alvo, o estudo dos constituintes químicos de uma determinada planta é baseado em métodos fundamentais que incluem a preparação de extratos, obtenção de frações e isolamentos de substâncias (ALBUQUERQUE; HANAZAKI, 2006).

Através desses métodos diversas plantas e substâncias isoladas já foram identificadas, avaliadas e suas propriedades terapêuticas confirmadas, como por exemplo, a ginkgetina, substância utilizada no tratamento de distúrbios vasculares periféricos e cerebrais, obtida a partir do extrato das folhas de *Ginkgo biloba*, e a hipericina e pseudo-hipericina, obtida a partir dos extratos da “erva-de-São-João” (*Hypericum perforatum*), utilizada no tratamento de depressões leves e moderadas (GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

---

## 1.2 Família Clusiaceae

A família Clusiaceae, também conhecida como Gutiferae, é composta por plantas tropicais e apresenta cerca de 55 gêneros e 1200 espécies dispersos nas regiões tropicais e subtropicais do mundo. Em nove desses gêneros, cerca de 90 espécies são de plantas cujos frutos são comestíveis (YAMAGUCHI et al., 2014).

Esta família abrange árvores, arbustos, lianas e ervas de importância econômica, devido aos seus frutos comestíveis, madeiras nobres e derivados químicos de interesse industrial e farmacêutico (FERREIRA et al., 2012).

Estudos fitoquímicos realizados com plantas da família Clusiaceae mostraram a presença de acilfloroglucinois policíclicos poliprenilados (COSTA JÚNIOR et al., 2011a), xantonas (HA et al., 2006), triterpenos (SOBRAL et al., 2009), cumarinas e biflavonoides, produzidos pelas plantas principalmente como mecanismos de defesa (ACUNÃ et al., 2009).

As subfamílias da família Clusiaceae são Clusioideae (14 gêneros e cerca de 600 espécies), Calophylloideae (13 gêneros e cerca de 460 espécies) e Kielmeyroideae (9 gêneros e cerca de 560 espécies) (RUHFEL et al., 2011). No Brasil, a família Clusiaceae está distribuída em cerca de 18 gêneros e 150 espécies, destacando-se, *Kielmeyera* Mart & Zucc (pau-santo), *Caraipa* Aubl (Camaçari), *Platonia insignis* Mart. (bacuri), *Calophyllum brasiliense* (guanandi) e *Rheedia* L. (bacupari) (FERREIRA et al., 2012).

Muitas espécies da família Clusiaceae são utilizadas na medicina popular, como por exemplo, a *Hypericum perforatum*, pertencente ao gênero *Hypericum*, conhecida popularmente como erva-de-São-João, um potente antidepressivo, *Platonia insignis* Mart. (bacuri), onde a “banha” extraída de suas sementes é utilizada na cicatrização de feridas (GOBBO-NETO; LOPES, 2007; SANTOS JÚNIOR et al., 2010).

### 1.2.1 Estudos fitoquímicos e biológicos de espécies da família Clusiaceae

A pesquisa bibliográfica realizada nos bancos de dados *Scifinder*, *Web of Science*, periódicos CAPES, ScienceDirect, e Scielo permitiu realizar uma revisão sobre os estudos fitoquímicos e biológicos relatados para as espécies da família Clusiaceae. Apesar da grande quantidade de espécies da família foram encontradas informações apenas para 16 espécies pertencentes à família Clusiaceae do período de 1967 a 2016.

### 1.2.1.1 Estudos fitoquímicos e biológicos de espécies da família Clusiaceae

Com base nos relatos fitoquímicos, foram encontrados informações sobre 18 espécies que indicaram a família Clusiaceae como uma fonte rica em flavonoides. Os estudos indicaram também a presença de outras classes de compostos como benzofenonas, esteroides, terpenoides, dentre outros. Diante disto, é crescente os estudos, no que diz respeito ao seu potencial biológico, que incluem informações sobre seus efeitos antimicrobiano, anti-inflamatório, antifúngico, antiviral, entre outros O Quadro 1 apresenta os constituintes químicos identificados nas espécies da família Clusiaceae incluindo a parte da planta avaliada e suas atividades biológicas e a Figura 1 dispõe das estruturas químicas desses constituintes.

Quadro 1- Constituintes isolados e identificados em espécies da família Clusiaceae

<b>Espécie</b>	<b>Parte da Planta</b>	<b>Atividades biológicas</b>	<b>Constituinte</b>	<b>Referência</b>
<i>Allanblackia</i> <i>Floribunda</i>	Casca da Raiz	Antibacteriana, anti-inflamatória, antioxidante	Moreloflavona ( <b>64</b> ), volkensiflavona ( <b>67</b> )	KUETE et al., 2011
	Casca do Caule	Anti-hipertensiva, citotoxicidade	Alanxantona A ( <b>2</b> ), 1,5-dihidroxixantona ( <b>1</b> ), estigmasterol ( <b>25</b> ), 1,5,6-trihidroxi-3,7-dimetoxixantona ( <b>3</b> )	NKENGFAK et al., 2001; BILANDA et al., 2010

Quadro 1- Continuação

<i>A. monticola</i>	Casca do Caule	Citotoxicidade	Alanxantona B (4), tovofiglina A (7), garciniafurana (8), lupeol (27), estigmasterol (25)	AZEBAZE et al., 2004
	Folhas	Antimalárica, vasorelaxante, citotoxicidade, antimicrobiana	$\alpha$ -Mangostina (10), tovofiglina A (7), alanxantona C (5), amentoflavona (70), podocarpusflavona A (71),	AZEBAZE et al., 2007
<i>Calophyllum brasiliensi</i>	Folhas	Moluscida, antileishimania,	Amentoflavona (70), ( $\pm$ )mammea A/BB (22)	GASPAROTTO JR. et al., 2005; SANTOS et al., 2015; OLIVEIRA et al., 2014
	Caule	Anti-inflamatória, toxicidade		
<i>C. inophylloide</i>	Casca do caule	Antibacteriana, anti-HIV	Amentoflavona (70), piranoamentoflavona (72), teismanona A (19), teismanona B (20), calanona (18), inofiluns C (23)	SPINO; DODIER; SOTHEESWARAN, 1998; CAO et al., 1998

Quadro 1- Continuação

<i>C. paniculatum</i>	Folhas	nd	GB1 (71), GB-1a (76), garcinianina (82), pancibiflavonol (83)	ITO et al., 1999
<i>C. venulosum</i>	Folhas	nd	Amentoflavona (70), 3,8''- biapigenina (80), piranoamentoflavona 4''- metil éter (73)	CAO et al., 1997
<i>Clusia columnaris</i>	Fruto	Antioxidante	Moreloflavona (64), volkensiflavona (67), GB- 1a (76), moreloflavona-7''- O- glicopiranosídeo (65), eufol (33), machuona (17), clusiachomena (41), friedelina (28)	COMPAGNONE et al., 2008; LINS et al., 2016

Quadro 1- Continuação

<i>G.gardineriana</i>	Raiz	Analgésica	Macluraxantona ( <b>9</b> ), moreloflavona ( <b>64</b> ), 8- deoxigartanina ( <b>14</b> )	DELLE MONACHE et al., 1983, ONYEKWELU et al., 2015
	Casca do caule	Anti-HIV	$\beta$ -sitosterol ( <b>24</b> ), 1,5- dihidroxixantona ( <b>1</b> ), lupeol ( <b>27</b> )	BRAZ FILHO et al., 1970; ABARIKWU et al., 2014
	Casca do fruto	Anti-inflamatória	Friedelina ( <b>28</b> ), canofilol ( <b>31</b> )	DOS SANTOS et al., 2007; OWOEYE et al., 2014
	Folhas		Moreloflavona ( <b>64</b> ), fukugisideo ( <b>68</b> ), GB-2a ( <b>77</b> ), volkensiflavona ( <b>67</b> ), estigmasterol ( <b>25</b> ), lupeol ( <b>27</b> ), $\alpha$ -amirina ( <b>34</b> ), friedelina ( <b>28</b> ), amentoflavona ( <b>70</b> ), 7- epiclusianona ( <b>38</b> ), campesterol ( <b>26</b> ), $\beta$ - amirenona ( <b>36</b> ) sitosterol	CASTARDO et al., 2008; LUZZI et al., 1997 CAMPOS et al., 2013; SARMA et al., 2016; ALVES et al., 1999; DOS SANTOS et al., 1999
Casca	Tripanocida, nematicida			

Quadro 1- Continuação

<i>G. magostana</i>	Pericarpo	Citotóxica, antibacteriana, analgésica, anti-inflamatória	$\gamma$ -mangostina ( <b>12</b> ), gartanina ( <b>13</b> ), garcinona E ( <b>16</b> ), $\alpha$ -mangostina ( <b>10</b> ), $\beta$ -mangostina ( <b>11</b> ),	WITTENAUER et al., 2012; SANTA- CECILIA et al., 2011; GONTIJO et al., 2012, WANG; SANDERSON; ZANG, 20011
<i>G. kola</i>	Sementes	Antibacteriana, antioxidante, anti-inflamatório, hepatotóxica	Amentoflavona ( <b>70</b> ), kolaflavonona ( <b>73</b> ), mannilflavonona ( <b>74</b> ), 3''-metoximanniflavonona ( <b>75</b> ), garcinianina ( <b>82</b> ),	XU et al., 2013, PEREIRA et al., 2010, KOH et al., 2013,
<i>G. morella</i>	Folhas	Citotóxica, antifúngica, antioxidante	Moreloflavona ( <b>64</b> ), moreloflavona-7''-O-glicopiranosídeo ( <b>65</b> ) isogarcinol ( <b>46</b> ),	FERREIRA, 2012; KARANJGOKAR; RADHAKRISHNAN; VENKATARAMAN, 1967
<i>Platonia Insignis</i>	Sementes	Antioxidante, anticonvulsivante, cicatrizante	Garcinielliptona FC ( <b>42</b> ), TG1( <b>60</b> ), caura-16-eno ( <b>48</b> ), ácido <i>E</i> -labda-8(20)13-dieno-15,19-	COSTA JÚNIOR et al.,2011a; SANTOS JÚNIOR et al., 2010



<i>P. insignis</i>	Sementes	Antileishmania, citotóxica, antioxidante	dióico (49), eicosanol (56), octadecanol (57), ácido oleico (61), ácido palmítico (62), ácido linoleico (63), $\gamma$ -mangostina (12), 1-hidróxi-3,5,6-trimetoxixanten-9-ona (15), $\alpha$ -mangostina (10)	COSTA JÚNIOR et al., 2013; COSTA JÚNIOR et al., 2012; NASCIMENTO et al., 2014
	Fruto	Antioxidante	Linalol (50), acetato de linalol (51), bisabolenol (52), terpineol (53), citrato de trimetila (54), 2-heptanona (59), eugenol (55), 3-hexenol (58)	YAMAGUCHI et al., 2014; RUFINO et al., 2010; VIANA et al., 2013
	Caule	Gastoprotetora		

Quadro 1- Continuação

<i>Rheedia acuminata</i>	nd*	Antioxidante, antimutagênico, antiplasmodial	Moreloflavona ( <b>64</b> ), moreloflavona-7''-sulfato ( <b>66</b> ), volkensiflavona-7''-sulfato ( <b>69</b> ), gutiferona L ( <b>45</b> ),	LI et al., 2002; CHOUDHURY et al., 2016; ALMANZA et al., 2011; MARTI et al., 2010
<i>R. gardneriana</i>	Folhas	nd*	Moreloflavona ( <b>64</b> ), moreloflavona-7''-O-glicopiranosídeo ( <b>65</b> ), volkensiflavona ( <b>67</b> ), GB-2a-I-7-O-glicopiranosídeo ( <b>78</b> ), GB-2a-II-4'-OMe ( <b>79</b> ), 7-epiclusianona ( <b>38</b> )	BOTTA et al.,1984; CECHINEL FILHO et al., 2000; VERDI et al., 2004
<i>Symphonia globulifera</i>	nd*	Anti-HIV	Manniflavona ( <b>74</b> ), gutiferona B ( <b>43</b> ), gutiferona C ( <b>44</b> )	GUSTAFSON et al.,1992

\*nd= Não disponibilizado

Figura 1- Estruturas dos constituintes químicos isolados em espécies da família Clusiaceae

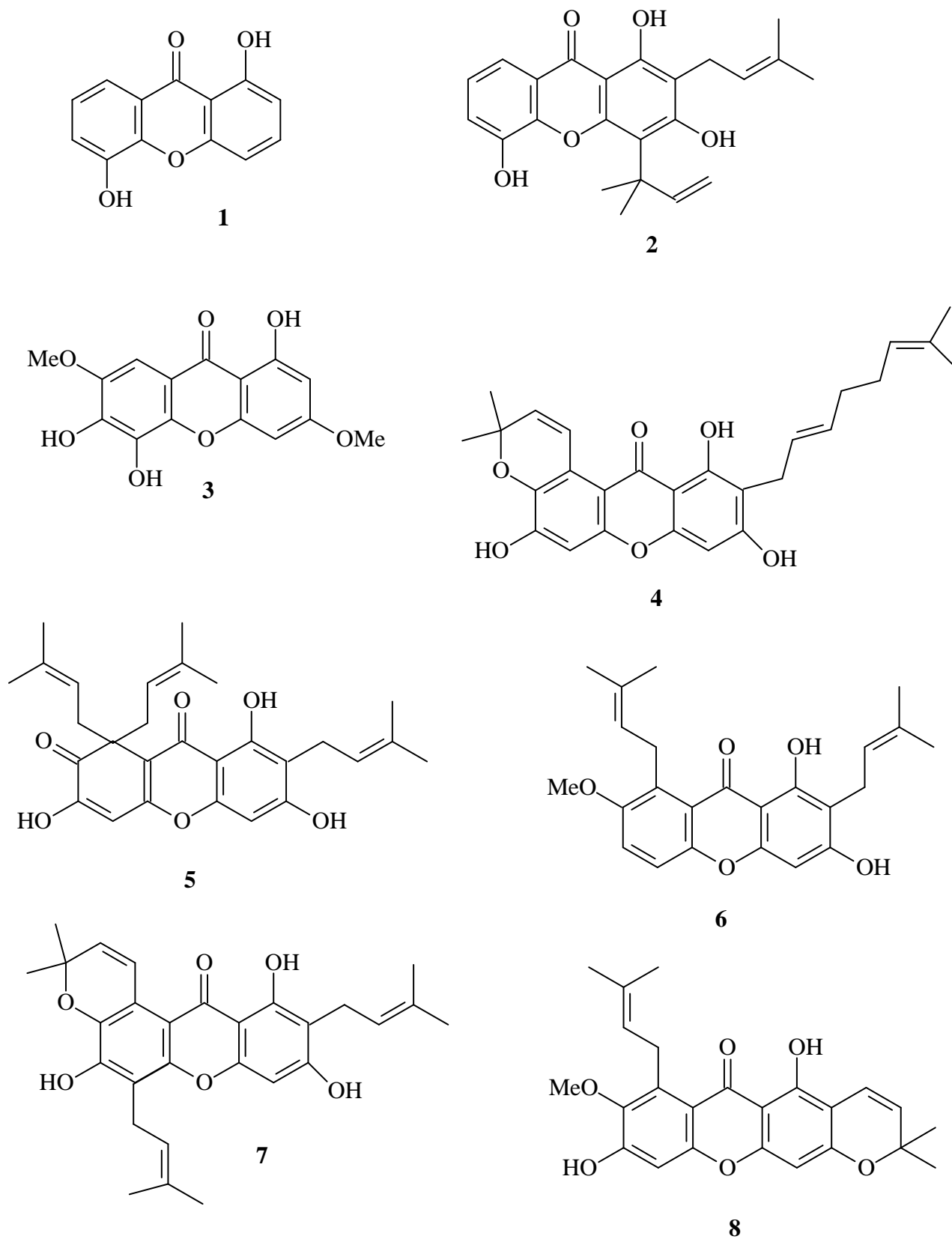
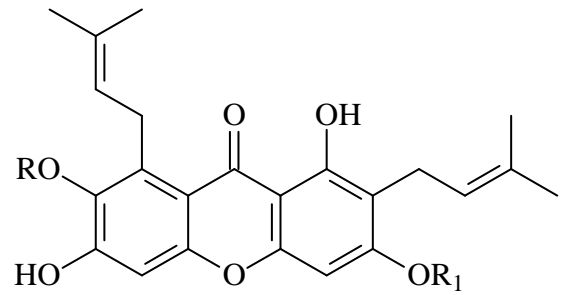
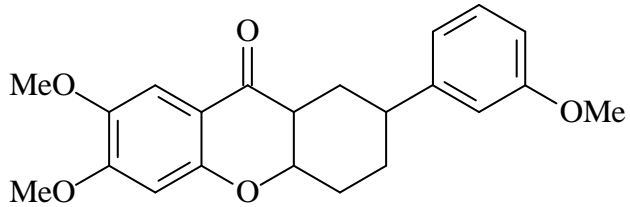
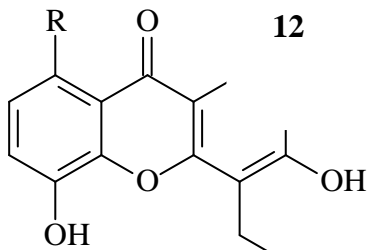


Figura 1- Continuação

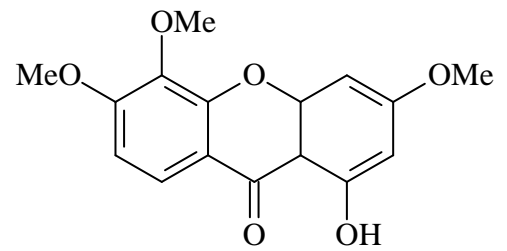


	<b>R</b>	<b>R<sub>1</sub></b>
<b>10</b>	CH <sub>3</sub>	H
<b>11</b>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
<b>12</b>	H	H

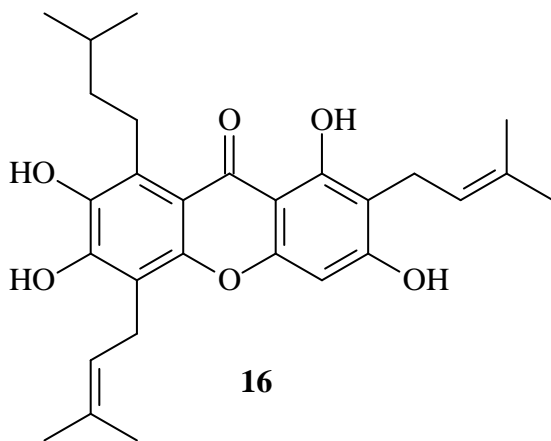
	<b>R</b>	<b>R<sub>1</sub></b>
<b>10</b>	CH <sub>3</sub>	H
<b>11</b>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
<b>12</b>	H	H



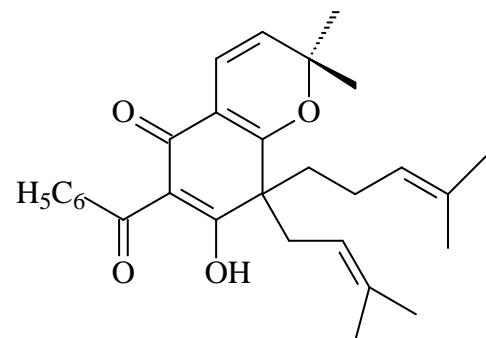
<b>13</b>	R = OH
<b>14</b>	R = H



**15**



**16**



**17**

Figura 1- Continuação

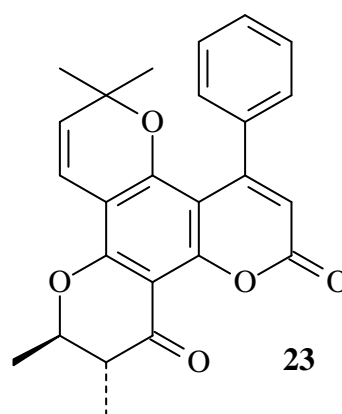
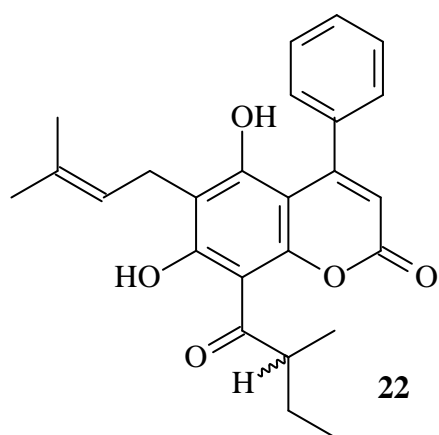
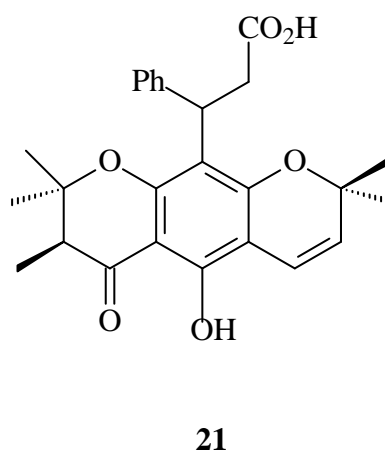
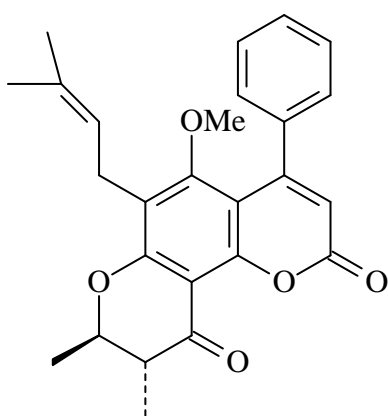
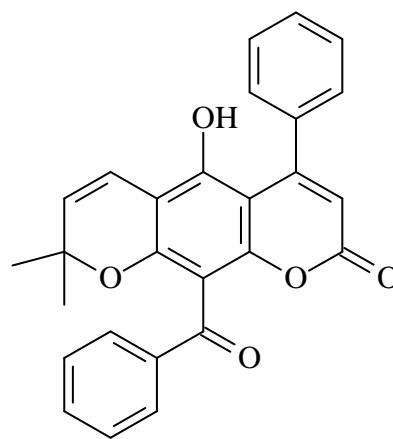
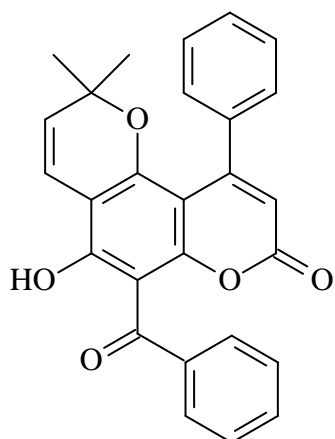
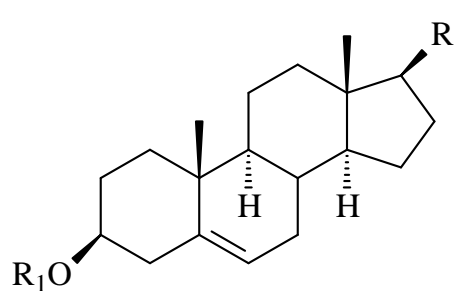
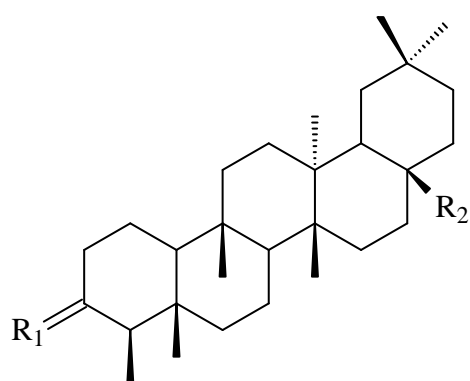
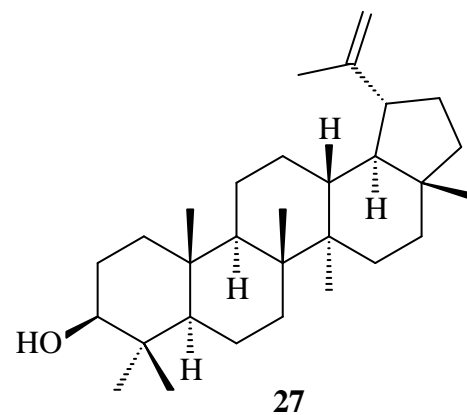
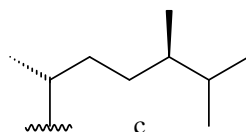
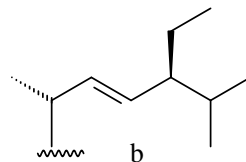
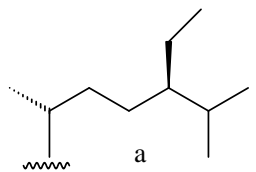


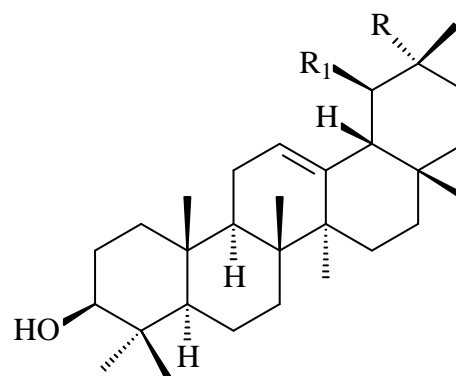
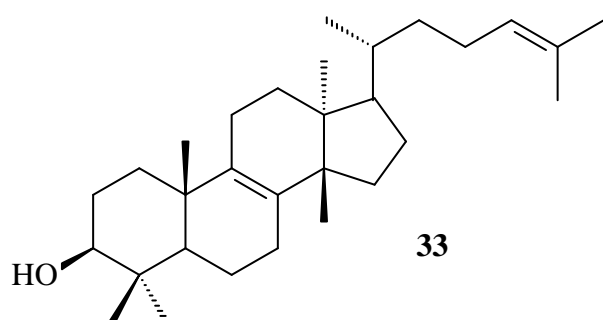
Figura 1- Continuação



	<b>R</b>	<b>R<sub>1</sub></b>
<b>24</b>	a	H
<b>25</b>	b	H
<b>26</b>	c	H

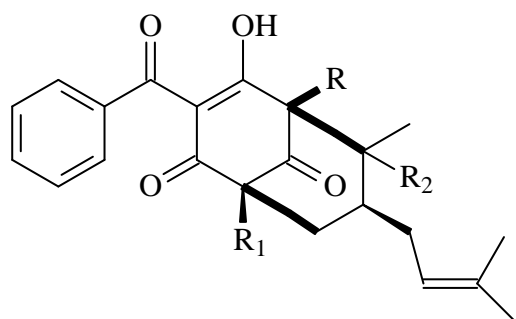
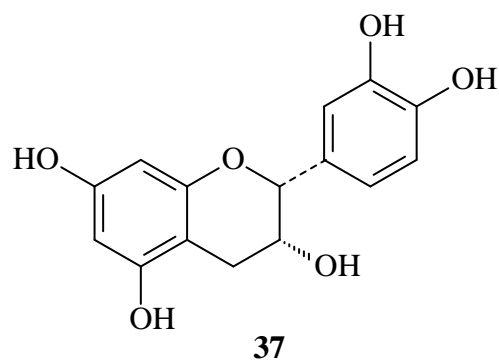
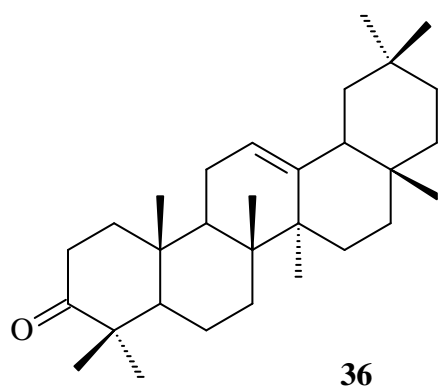


	<b>R<sub>1</sub></b>	<b>R<sub>2</sub></b>
<b>28</b>	O	MeO
<b>29</b>	$\alpha$ -H $\beta$ -OH	CH <sub>3</sub>
<b>30</b>	O	CHO
<b>31</b>	O	OH
<b>32</b>	$\alpha$ -H $\beta$ -OH	CO <sub>2</sub> H



	<b>R</b>	<b>R<sub>1</sub></b>
<b>34</b>	H	CH <sub>3</sub>
<b>35</b>	CH <sub>3</sub>	H

Figura 1- Continuação



	R	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
38	a	a	CH <sub>3</sub>
39	H	b	CH <sub>3</sub>
40	b	CH <sub>3</sub>	a

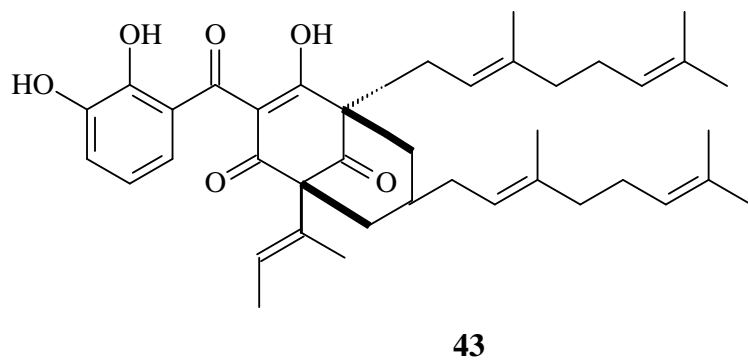
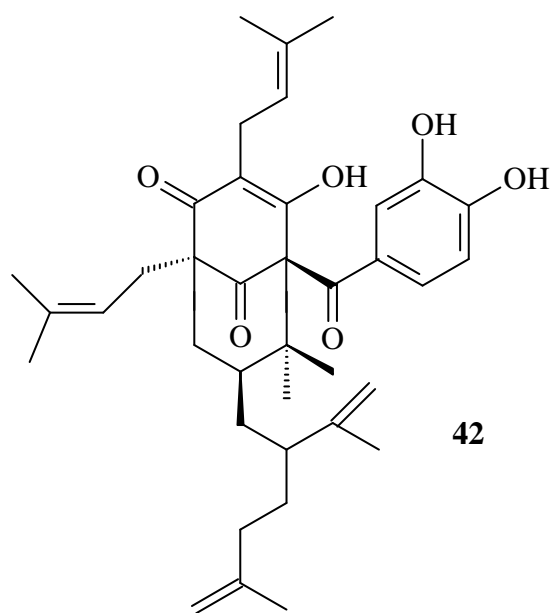
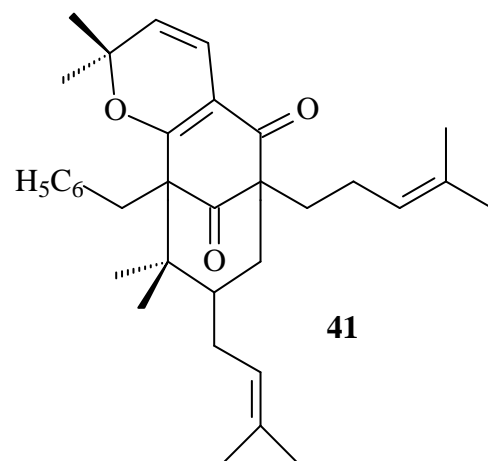
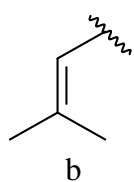
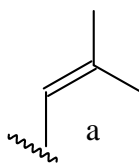
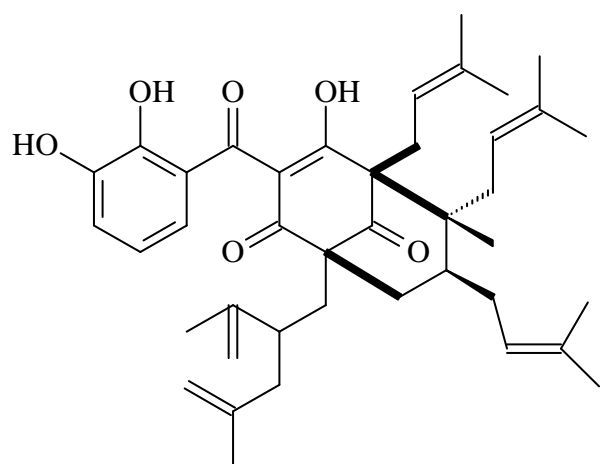
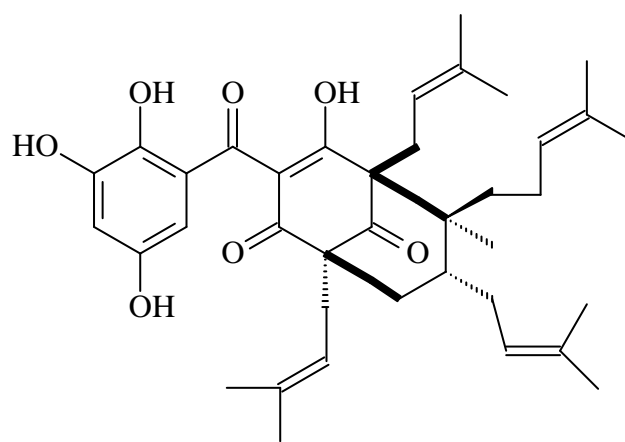


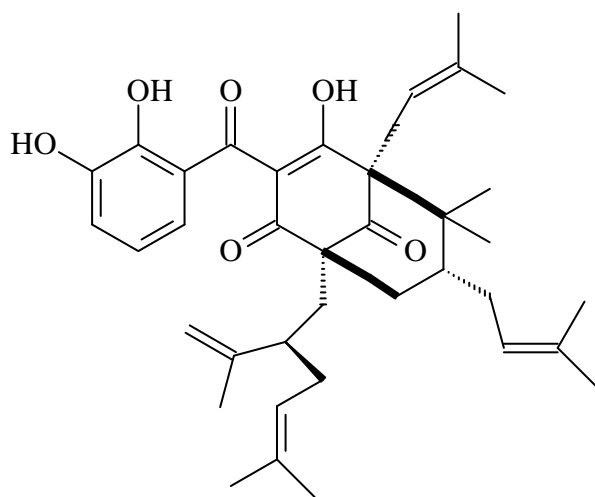
Figura 1- Continuação



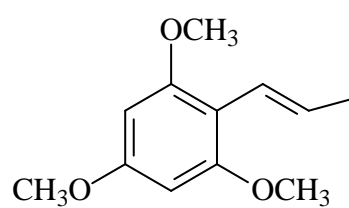
44



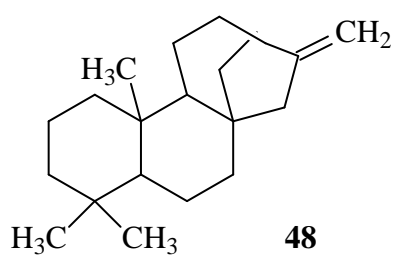
45



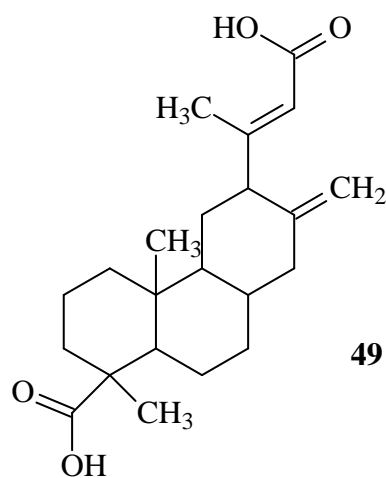
46



47



48



49



Figura 1- Continuação

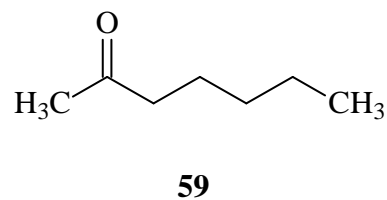
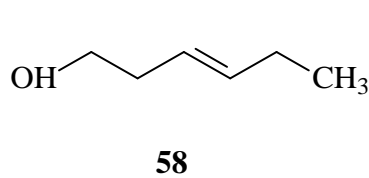
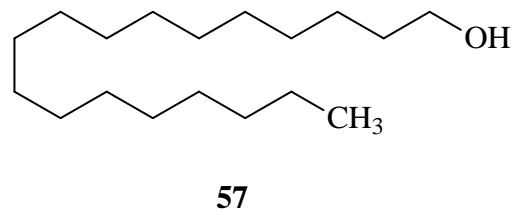
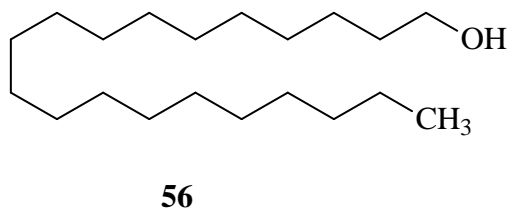
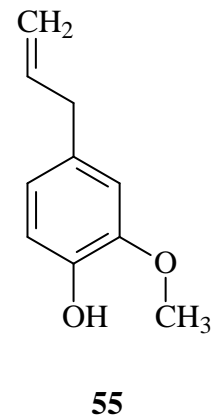
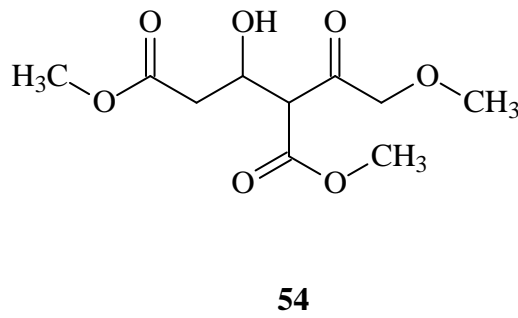
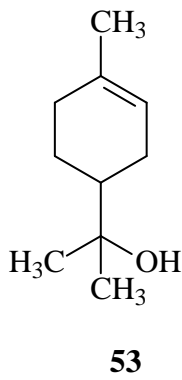
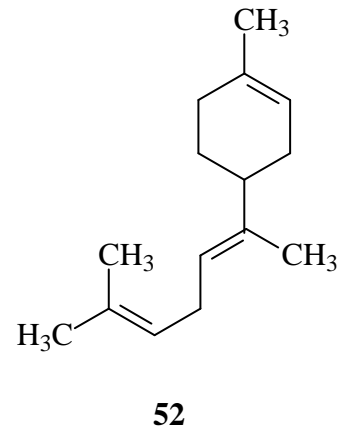
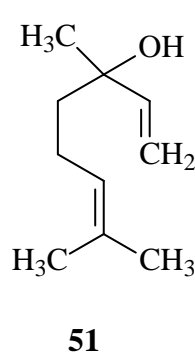
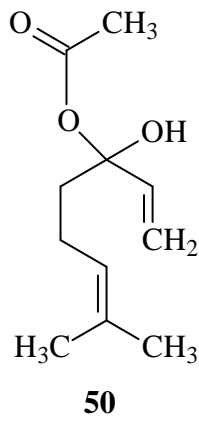


Figura 1- Continuação

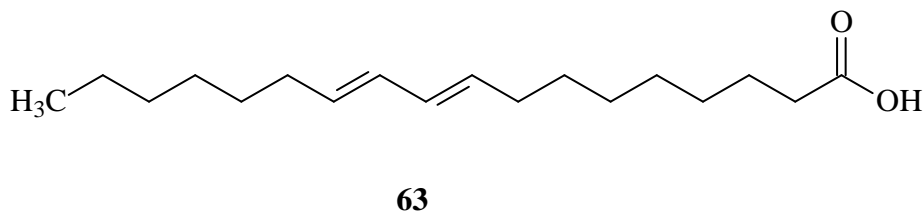
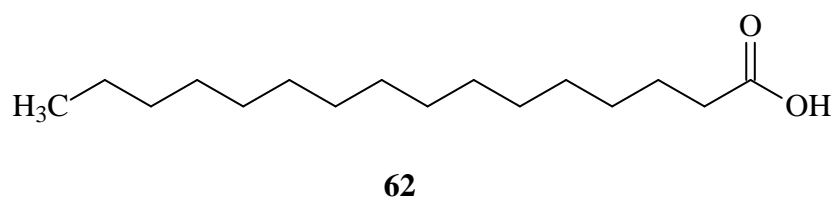
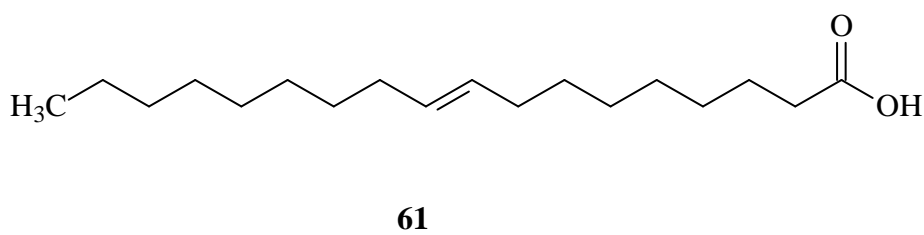
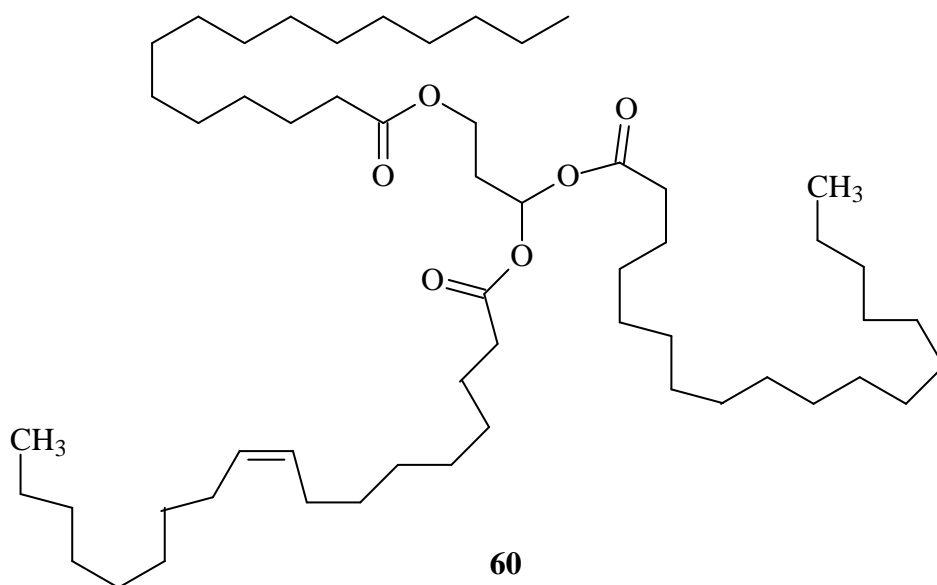
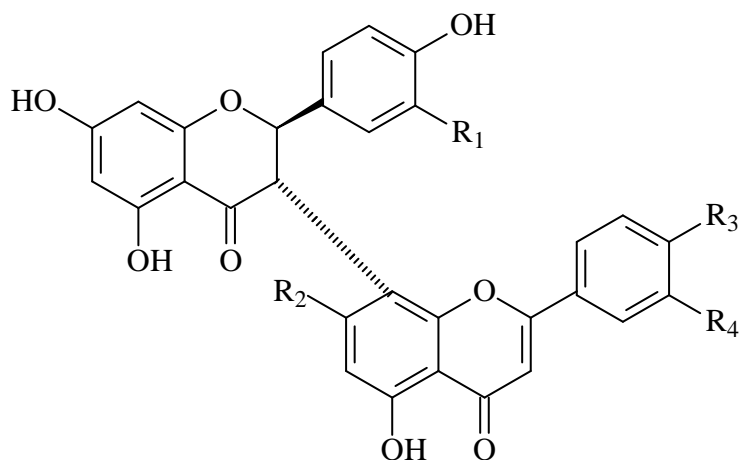
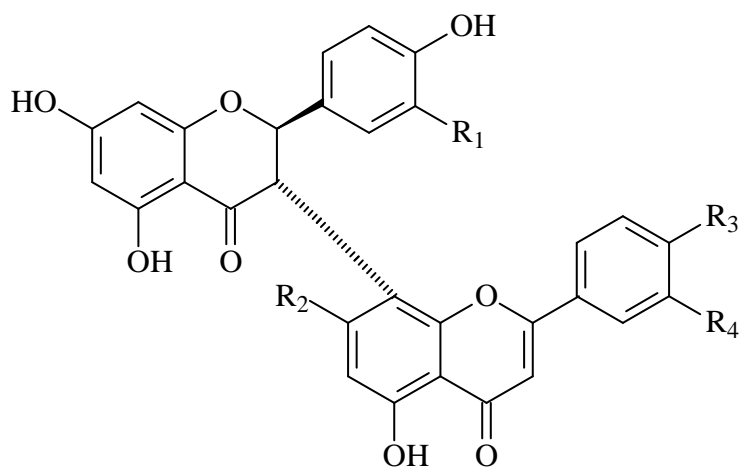


Figura 1- Continuação

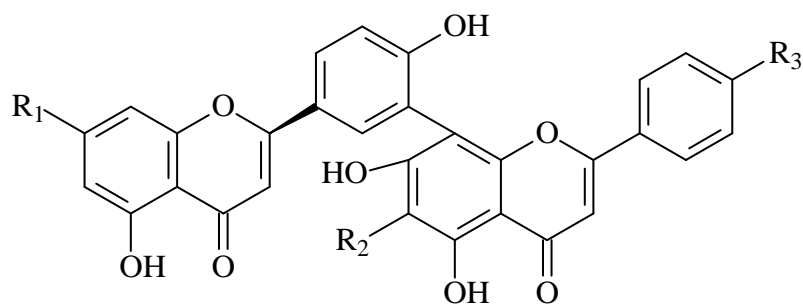


	<b>R<sub>1</sub></b>	<b>R<sub>2</sub></b>	<b>R<sub>3</sub></b>	<b>R<sub>4</sub></b>
<b>64</b>	H	OH	OH	OH
<b>65</b>	H	OGli	OH	OH
<b>66</b>	H	SO <sub>3</sub>	OH	OH

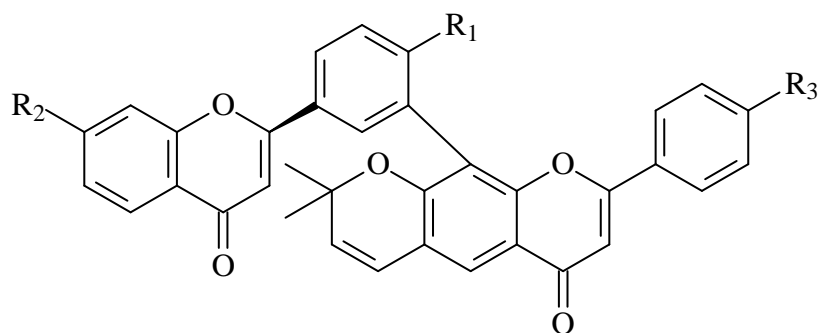


	<b>R<sub>1</sub></b>	<b>R<sub>2</sub></b>	<b>R<sub>3</sub></b>	<b>R<sub>4</sub></b>
<b>67</b>	H	OH	OH	H
<b>68</b>	H	OGli	OH	OH
<b>69</b>	H	SO <sub>3</sub>	OH	H

Figura 1 - Continuação

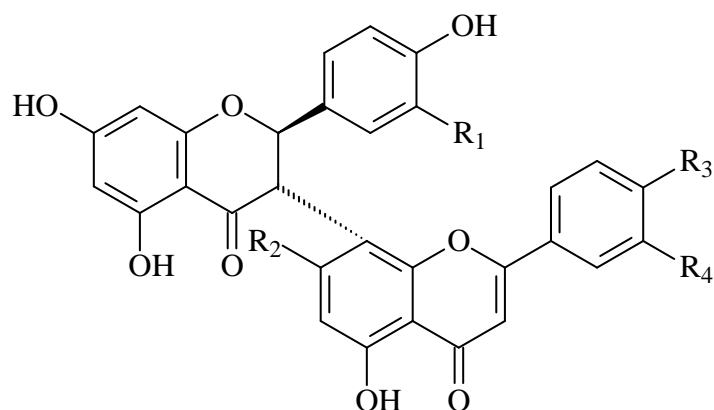


	<b>R<sub>1</sub></b>	<b>R<sub>2</sub></b>	<b>R<sub>3</sub></b>
<b>70</b>	OH	H	OH
<b>71</b>	OH	H	CH <sub>3</sub>
<b>72</b>	OH	2-OH- 3-Me-3- butenil	OH

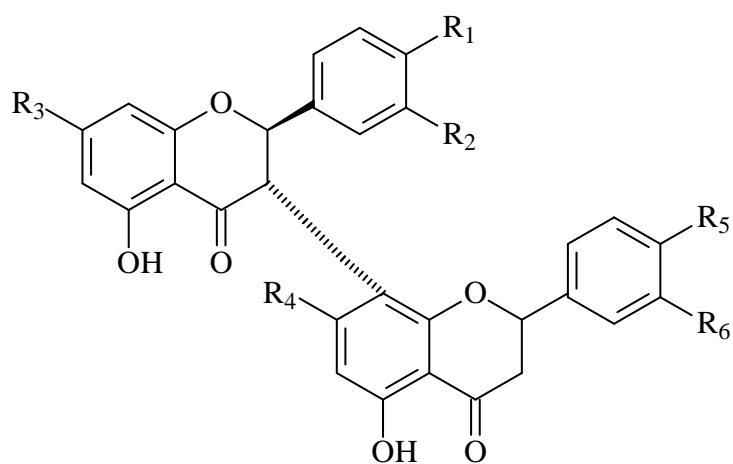


	<b>R<sub>1</sub></b>	<b>R<sub>2</sub></b>	<b>R<sub>3</sub></b>
<b>70</b>	OMe	OH	OH

Figura 1- Continuação

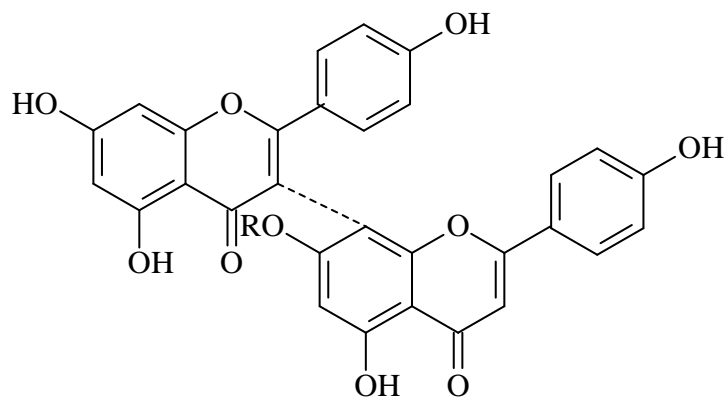


	<b>R<sub>1</sub></b>	<b>R<sub>2</sub></b>	<b>R<sub>3</sub></b>	<b>R<sub>4</sub></b>	<b>R<sub>5</sub></b>
<b>71</b>	OH	H	OH	OH	H
<b>72</b>	OH	H	OGlic	OH	H
<b>73</b>	OH	H	OH	OMe	OH
<b>74</b>	OH	OH	OH	OH	OH
<b>75</b>	OH	OH	OH	OH	OMe

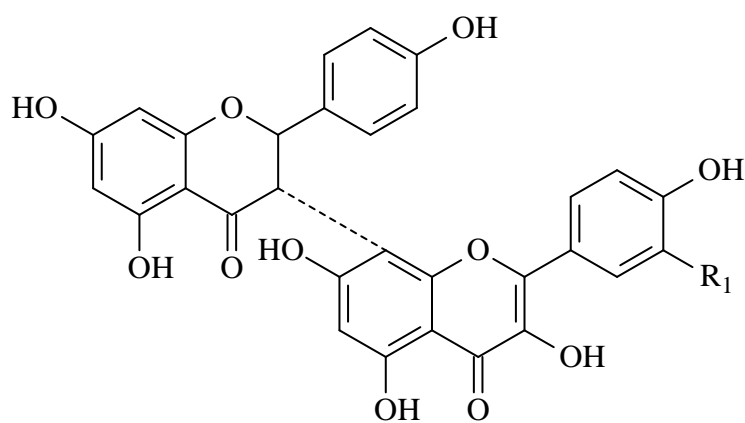


	<b>R<sub>1</sub></b>	<b>R<sub>2</sub></b>	<b>R<sub>3</sub></b>	<b>R<sub>4</sub></b>	<b>R<sub>5</sub></b>	<b>R<sub>6</sub></b>
<b>76</b>	OH	H	OH	OH	OH	H
<b>77</b>	OH	OH	OH	OH	OH	OH
<b>78</b>	OH	H	OGli	OH	OH	OH
<b>79</b>	OMe	H	OH	OH	OH	OH

Figura 1- Continuação



	<b>R</b>
<b>80</b>	H
<b>81</b>	Glic



	<b>R</b>
<b>82</b>	H
<b>83</b>	OH

### 1.3 Espécie *Platonia insignis* Mart.

*Platonia insignis* Mart. pertencente à família Clusiaceae, subfamília Clusioideae, gênero *Platonia*, é monotipo, sendo conhecida popularmente como bacuri, bacuri-açu, parcori, pakuri, wild mammee apple (BRAGA, 1976). Trata-se de uma espécie frutífera e madeireira, com cerca de 15 a 25 m de altura e até 1 m de diâmetro (BATISTA; JARDIM, 2006). Originária do Estado do Pará, se dispersou em direção aos estados da região norte, nordeste e centro-oeste como Maranhão, Piauí, Mato Grosso, Tocantins, e rompendo as fronteiras do Brasil atinge o Peru, Colômbia, Venezuela e Guiana Francesa (CARVALHO, 2008).

A denominação do gênero “*Platonia*” é uma homenagem ao filósofo grego Platão, e o nome da espécie, “*insignis*” significa notável, insigne, importante, grande, em alusão ao porte do fruto, pois este é o maior dentre as diferentes espécies da família Clusiaceae, presentes na Amazônia (YAMAGUCHI et al., 2014). Nos últimos anos, o bacuri tem sido frequentemente citado como uma espécie com amplas possibilidades de usos nas indústrias de alimentos e madeireira. Em toda a Amazônia, a área de maior concentração da espécie é o estuário do Rio Amazonas (NASCIMENTO et al., 2007).

Figura 2- Espécie *Platonia insignis* Mart, flores e fruto



Fonte: Próprio autor.

---

O fruto tem odor e sabor agradáveis, sua polpa é de grande aceitação popular, tanto “*in natura*”, quanto no preparo de compotas, geleias e sorvetes. Sua casca também pode ser utilizada para a fabricação de cremes, sorvetes e doces, aumentando significativamente o aproveitamento do fruto, porém este processo só deve ocorrer após a retirada da resina presente em sua casca (AGUIAR, 2008).

Na medicina popular as sementes de bacuri são utilizadas na fabricação da “banha de bacuri”, que é utilizada como matéria prima na fabricação de sabões e no tratamento de diversas doenças da pele, picadas de aranhas e cobras, reumatismos, artrites e como cicatrizante (COSTA JÚNIOR et al., 2013). Um crescimento no número de estudos envolvendo as propriedades químicas, biológicas e farmacológicas de *P. insignis* Mart. podem ser observados na literatura, como por exemplo, estudos com a semente (COSTA JÚNIOR et al., 2010), com o fruto (RUFINO et al., 2010) e com a casca do caule (SHANLEY; MEDINA, 2005).

O gênero *Platonia* é uma fonte rica de produtos naturais com propriedades antioxidantes como, a vitamina C (ácido ascórbico) e E (tocoferóis), sua semente é rica em ácidos graxos, oléico (C18:1) 27,59%, palmítico (C16:0) 25,31%, éster metílico do ácido linoleico (C 18:2) 4,35%, ácido erúico (C 22:1) 3,50%, mirístico 3,34%, linoléico (C18:2) 2,5%, esteárico (C18:0) 1,86%, palmitoleico (C16:1 cis 9) 1,82%, além da presença de tripalmitina, cerca de 10 - 12% dos extrativos graxos das sementes de bacuri (COSTA JÚNIOR et al., 2011a, BENTES et al., 1986, MORAES; GUTJAHR, 2009).

A substância Garciniellipitona FC (GFC), um acilfloroglucinol policíclico poliprenilado (APPP's), isolada do extrato hexânico das sementes de *P. insignis* por Costa Júnior et al. (2011a), tem despertado grande interesse no nosso grupo, devido a algumas propriedades farmacológicas relacionadas a essa substância, também isolada anteriormente em *Garcinia subeliptica* (WU et al., 2008). Algumas atividades biológicas estão relacionadas a GFC, tais como, antimicrobiana (OLIVEIRA et al., 1999), leishmanicida ( COSTA JÚNIOR et al., 2012), antioxidante (COSTA JÚNIOR et al., 2011a), anti-inflamatória (HARBORNE et al., 1999). Os APPP's são substâncias comumente encontradas em plantas da família Clusiaceae (CIOCHINA; GROSSMAN, 2006).

O uso de extratos de plantas medicinais tem avançado durante os últimos anos no país, no entanto, pouca informação é disponibilizada sobre os riscos à saúde destes extratos. Em vista do grande uso popular e do grande potencial químico e farmacológico de plantas da família Clusiaceae, este trabalho descreve o primeiro estudo fitoquímico e potencial biológico com extrato hidroalcoólico e frações das flores de *Platonia insignis* Mart.

---



---

#### **1.4 Teor de fenóis e flavonoides totais**

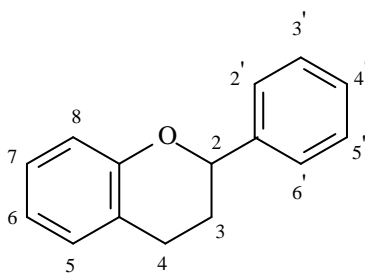
Compostos fenólicos são metabolitos secundários amplamente distribuídos em vegetais e microrganismos, sendo fundamentais para o desenvolvimento, resistência e reprodução de plantas. Por apresentar um alto potencial antioxidante em função de suas estruturas químicas, que contribuem no sequestro de radicais livres e na prevenção de processos oxidativos, estes compostos assumem um papel de grande destaque (ROCHA et al., 2011, ALENCAR et al., 2014).

O habitat natural de uma planta pode influenciar na quantidade de compostos fenólicos produzidos por ela. Plantas que estão situadas em regiões com grande incidência de radiação solar tendem a biossintetizar uma maior quantidade de compostos fenólicos, pois esta precisa de maior proteção contra a foto-destruição de seus tecidos mais internos (GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

A grande biodiversidade de compostos fenólicos existentes fazem com que suas estruturas variem de simples a complexas. Compostos fenólicos são definidos como substâncias que possuem um anel aromático com uma hidroxila como substituinte, podendo possuir outros grupos funcionais, eles podem ser classificados em fenóis simples, fenilpropanoides, ácidos fenólicos, ácidos cinâmicos e derivados, xantonas, flavonoides, taninos, cumarinas, dentre outros (ANGELO; JORGE, 2007; SIMÕES et al., 2007, ROCHA et al., 2011).

Uma variedade de compostos fenólicos que se destacam são os flavonoides, que são compostos que possuem um esqueleto básico  $C_6-C_3-C_6$  (Figura 3). Os flavonoides exercem uma função fundamental na defesa antioxidante sendo essencial a sua ingestão, visto que não podem ser sintetizados pelo organismo. São compostos polifenólicos, podendo ser classificados de acordo com suas características químicas e biossintéticas em diversos grupos como: chalconas, flavonóis, flavonas, dihidroflavonóides (flavanonas e flavanonois), antocianidinas, isoflavonoides, entre outros, além de apresentar potencial antioxidante maior ou menor de acordo com sua relação estrutura-atividade (EGHDAMI; SADEGHI, 2010; HOSU; CRISTEA; CIMPOIU, 2014).

Figura 3- Estrutura básica de um flavonoide



### 1.5 Atividades antioxidantes

Os primeiros relatos de espécies químicas na forma de radicais livres foram descritos no ano de 1900, quando a decomposição do hexa-feniletano em dois radicais tri-fenilmetil foi demonstrada. No entanto, reações envolvendo espécies reativas de oxigênio (EROs) no meio biológico foram consideradas importantes após 1940, a partir da introdução de técnicas que permitiam a detecção dessas espécies (RIBEIRO, et al., 2005).

As informações sobre os mecanismos de formação e regulação dos níveis das EROs, são de grande importância para o entendimento de eventos celulares que estão relacionados ao controle da sobrevivência, da morte e da proliferação celular, possibilitando a geração de outros conhecimentos que permitam a interferência na modulação desses processos em sistemas biológicos animais e vegetais (HERRAIZ; GALISTEO, 2015; VALKO et al., 2007).

Muitos problemas biológicos como inflamações crônicas, diabetes, disfunções cardiovasculares, doenças autoimune, e o envelhecimento humano estão associados a processos oxidativos do DNA, lipídios, carboidratos e proteínas que são ocasionados pelas EROs. Essas espécies são subprodutos resultantes de reações biológicas ou por fatores externos, estas são encontradas na forma de radicais peroxila ( $\cdot\text{OOR}$ ) e hidroxila ( $\cdot\text{OH}$ ), peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) e oxigênio singlete ( $^1\text{O}_2$ ) (ANDRADE et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2009; SOUSA et al., 2007).

Em meio biológico a reatividade das EROs (particularmente do radical hidroxila) é aumentada, podendo oxidar qualquer molécula. O peróxido de hidrogênio pode permear pelas membranas celulares e reagir com alvos biológicos em seus compartimentos. Já o oxigênio singlete pode reagir com lipídios de membranas, proteínas, carboidratos, aminoácidos e tiois. (HANCOCK; DESIKAN; NEIL, 2001).

Todos os organismos aeróbicos estão sujeitos aos efeitos oxidantes dos metabolitos reativos de oxigênio, uma vez que estas espécies são produzidas durante o metabolismo

---

aeróbico. A mitocôndria é uma importante fonte de EROs, pois o  $O_2$  resultante da respiração é reduzido parcialmente a radical ânion superóxido ( $O_2^{\cdot -}$ ) que em meio aquoso sofre dismutação formando  $H_2O_2$ , este interage com metais de transição ( $Cu^+$  ou  $Fe^{2+}$ ) gerando radicais hidroxila, que são responsáveis por abstrair átomos de hidrogênio de lipídios, que após a reação com o oxigênio se convertem em radicais peroxila, que induzem a peroxidação lipídica (HERRAIZ; GALISTEO, 2015; BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006).

Substâncias antioxidantes são os controladores do excesso de radicais livres nos seres vivos, estas são compostos responsáveis pela redução de radicais livres prevenindo a peroxidação lipídica, danos celulares e a iniciação ou propagação de reações em cadeia. Para a proteção contra as EROs, as células fazem o uso de antioxidante enzimáticos (superóxido dismutases, catalase e glutatona peroxidases) auxiliado por antioxidantes exógenos obtidos a partir de dieta alimentar e outras fontes (ANDRADE et al., 2007; HERRAIZ; GALISTEO, 2015; SOUSA et al., 2007; VALKO et al., 2007).

Carotenoides, terpenoides e compostos fenólicos, são metabólitos secundários que se destacam por apresentar propriedades antirradicalares, por isso as plantas são apontadas como fontes naturais de substâncias antioxidantes de grande importância. O  $\alpha$ -tocoferol (vitamina E), o ácido ascórbico e o  $\beta$ -caroteno, são exemplos de substâncias que apresentam propriedades antioxidantes potentes (ALENCAR et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2009).

Diversos métodos *in vitro* podem ser usados para avaliar o potencial antioxidante de extratos, frações ou substâncias isoladas de plantas (ALVES et al., 2010; RUFINO et al., 2010). Este estudo avaliou o potencial antioxidante do extrato e frações das flores de *P. insignis*, sendo este ensaio realizado frente à capacidade de sequestro do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH) e radical 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS) e inibição de peroxidação lipídica.

## 1.6 Atividade inibidora da enzima acetilcolinesterase (AChE)

A enzima acetilcolinesterase (AChE) é responsável por desativar a transmissão de impulsos nervosos e esta relacionada a problemas degenerativos como a doença de Alzheimer. A acetilcolina, um importante neurotransmissor de processos simpáticos, na presença da enzima AChE é hidrolisada a acetato e colina, o que leva a uma redução de suas taxas. Compostos capazes de aumentar os níveis de acetilcolina, o que implica na inibição da enzima AChE, são usados no tratamento associados à doença de Alzheimer. A busca por compostos naturais com propriedades antiacetilcolinesterásica tem sido alvo nas pesquisas

---

científicas, com isso as plantas medicinais tem se tornado um método alternativo promissor na inibição da enzima AchE (MOTA et al., 2012; RHEE et al., 2001, TREVISAN; MACEDO, 2003

---

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

Investigar a composição química e o potencial biológico das flores de *Platonia insignis* Mart. (Clusiaceae)

### 2.2 Objetivos específicos

- ✓ Preparar o extrato hidroalcoólico das flores de *P. insignis* e submeter à partição com hexano (Hex), diclorometano (DCM) e acetato de etila (AcOEt).
- ✓ Identificar os principais constituintes do extrato hidroalcoólico por espectrometria de massas com ionização por eletrospray (ESI-MS).
- ✓ Separar, identificar e/ou elucidar as estruturas dos constituintes químicos das frações hexânica, acetato de etila e diclorometano.
- ✓ Identificar os compostos apolares e derivados de ácidos da fração hexânica por análise de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM).
- ✓ Identificar os compostos presentes na fração diclorometano sililada por análises por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM).
- ✓ Identificar os compostos presentes na fração diclorometano por cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas de alta resolução (LC-ESI-qTOF-HRMS).
- ✓ Determinar os teores de compostos fenólicos totais e flavonoides no extrato e frações.
- ✓ Avaliar o potencial antioxidante por meio do sequestro dos radicais DPPH e ABTS, potencial redutor do ferro e inibição de peroxidação lipídica.
- ✓ Avaliar o potencial inibidor da enzima antiacetilcolinesterase (AChE) do extrato e frações das flores de *P. insignis*.

### **3 PARTE EXPERIMENTAL**

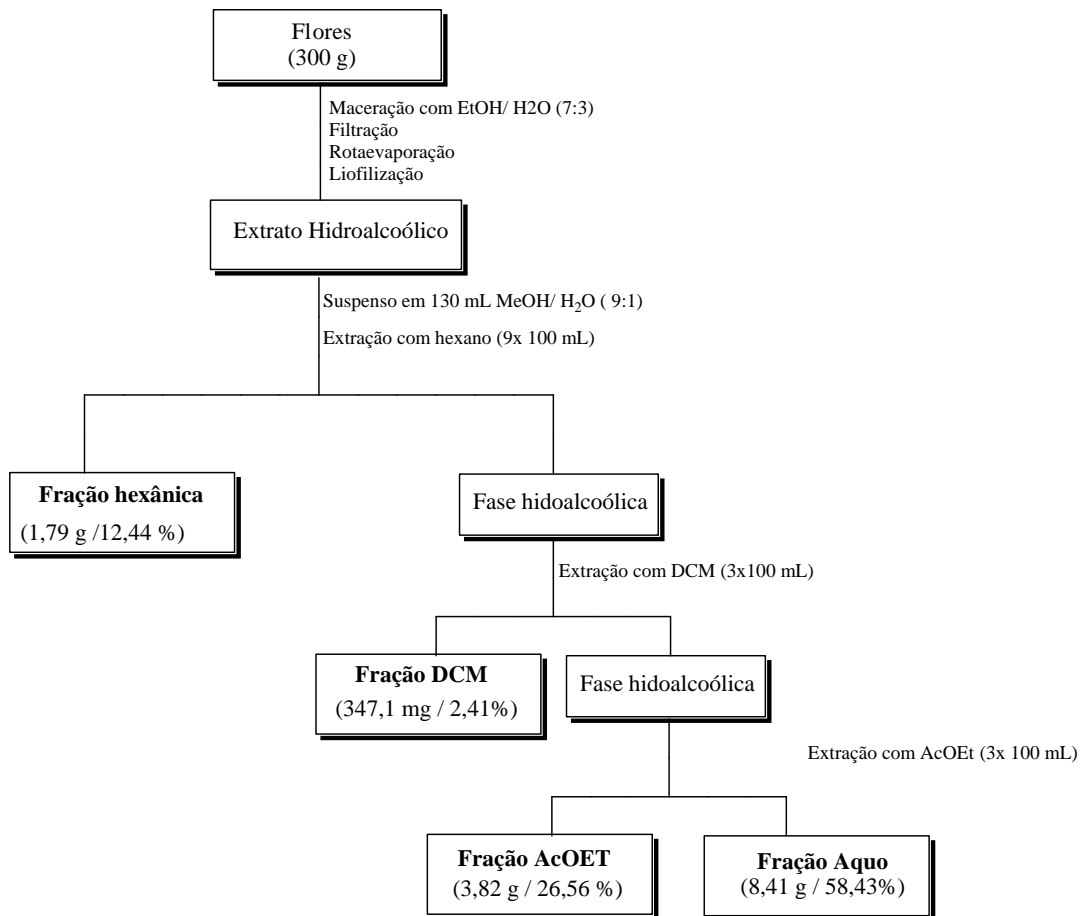
#### **3.1 Material vegetal**

As flores de *P. insignis* Mart. foram coletadas no Município de Parnarama, Maranhão, Brasil, em agosto de 2014, situada a 116 m de altitude e com as seguintes coordenadas geográficas: latitude – 5°40'10" e longitude – 43°5'58". Uma exsicata foi preparada e comparada com uma anteriormente identificada pela Dra. Roseli Farias Melo de Barros e depositada no Herbário Graziella Barroso da Universidade Federal do Piauí (UFPI) sob n°. ICN TEPB 27174.

#### **3.2 Obtenção do extrato e frações das flores de *P. insignis***

As flores frescas de *P. insignis* foram trituradas resultando em 576,2 g. Retirou-se do material triturado, 300 g que foi extraído, por maceração, com uma mistura de solvente EtOH/H<sub>2</sub>O, na proporção de 7:3 (v/v) na razão de 1:5 de material vegetal/solvente (m/v) a temperatura ambiente, durante 9 dias. O extrato hidroalcoólico foi concentrado em evaporador rotativo à pressão reduzida, em seguida foi liofilizado, para a retirada da água residual, resultando em 28,2 g de extrato hidroalcoólico. O procedimento de obtenção do extrato hidroalcoólico e frações das flores de *P. insignis* é representado na Figura 4.

Figura 4- Procedimento de obtenção do extrato hidroalcoólico e frações das flores de *P. insignis*



Parte do extrato hidroalcoólico (5 g) foi reservado para testes biológicos e 14,38 g foram suspensos em MeOH/H<sub>2</sub>O (9:1, v/v) e submetido a uma partição líquido-líquido utilizando solventes em ordem crescente de polaridade resultando nas frações hexânica (Hex, 1,79 g, 12,44 %), diclorometano (DCM, 0,34 g, 2,41 %), acetato de etila (AcOEt, 3,82 g, 26,56 %) e aquosa (Aquo, 8,41 g, 58,59 %).

### **3.3 Análise por infusão direta do extrato hidroalcoólico das flores de *P. insignis* por espectrometria de massas com ionização por eletrospray (ESI-MS)**

O extrato hidroalcoólico (30 mg) das flores de *P. insignis* foi submetido a uma partição em fase sólida utilizando um cartucho Chromabond C<sub>18</sub> (500,0 mg, Macherey-Nagel). O cartucho foi ativado com 3 mL de metanol e subsequentemente, 3 mL de água. O extrato foi eluído com 3 mL de MeOH/H<sub>2</sub>O isocrático (85:15, v/v). A fração foi filtrada utilizando um filtro de 0,45 µm Nylon (Millipore) acoplado a seringa e evaporada em evaporador rotativo. Em seguida a amostra foi analisada em espectrômetro de massas (Amazon X, Bruker Daltonics), utilizando a fonte de ionização eletrospray no modo negativo, os espectros foram adquiridos no intervalo de faixa de massa de 100 a 1000 m/z, voltagem do capilar 4,5 Kv, nebulizador de nitrogênio com fluxo de 5 L/min e temperatura da fonte de 220 °C a uma pressão de 10 psi para o nebulizador de nitrogênio. Antes de cada análise o ESI-IT-MS foi calibrado com formiato de sódio, sendo o erro inferior a 1 ppm.

### **3.4 Análise cromatográfica comparativa das frações da partição do extrato hidroalcoólico das flores de *P. insignis***

As frações obtidas a partir da partição do extrato hidroalcoólico das flores de *P. insignis* foram analisadas por cromatografia em camada delgada comparativa (CCDC) de sílica gel, utilizando cromotoplas de sílica gel 60, 250 µm Layer, com indicador de fluorescência na faixa de 254 nm e sistema de eluição *n*-hexano/AcOEt (7:3 v/v), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O (6,5:3:0,5 v/v), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (9:1 v/v). Para a visualização dos constituintes, as cromatoplas foram borrifadas com solução de sulfato cérico, preparada dissolvendo-se 2,1 g de Ce(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>.5H<sub>2</sub>O em 15 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado com posterior adição de 800 mL de água destilada e aquecidas em chapa aquecedora (Fisaton 509T, 0-350 °C) 100 °C por 5 minutos. Com base nos perfis cromatográficos obtidos, a fração hexânica apresentou manchas azuladas características de substâncias de natureza isoprênica (esteroides) e a fração AcOEt apresentou manchas características de flavonoides devido sua coloração amarela (CHAVES, 1997), estas foram submetidas a fracionamento cromatográfico com posterior identificação estrutural de seus constituintes químicos.



### 3.5 Fracionamento cromatográfico da fração hexânica

A fração hexânica (1,0 g) foi submetida à cromatografia em coluna (CC, 38 x 4 cm) de sílica gel 60 (0,060-0,200  $\mu\text{m}$ ) (170 g), utilizando-se como solventes de eluição misturas de *n*-hexano/AcOEt (98:2, 95:5, 9:1, 7:3, 1:1 v/v), AcOEt (100 %) e MeOH (100 %). Foram coletadas 20 mL de cada fração, obtendo-se ao final 149 frações. As frações obtidas foram reunidas por CCDC utilizando como sistema de eluição *n*-hexano/AcOEt (9:1 e 8:2 v/v) e  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  (95:5 v/v). As frações de mesmos perfis cromatográficos foram reunidas, resultando em 22 subfrações. A Tabela 1 apresenta as frações coletadas e as subfrações reunidas.

Tabela 1- Subfrações da CC em gel de sílica da fração hexânica das flores de *P. insignis*

Eluente	Frações	Subfrações	Massa (mg)
Hex/AcOEt (98:2)	1	1	48,6
	2-3	2	34,7
	4-5	3	9,9
Hex/AcOEt (95:5)	6-15	4	9,3
	16-18	5	5,7
	19-28	6	163,4
	29	7	4,3
	30-33	8	4,2
Hex/AcOEt (9:1)	34-36	9	4,1
	37	10	1,8
	38	11	2,1
	39-48	12	1,8
	49	13	7,3
	58	14	4,0
	59-66	15	3,7
	67	16	2,1
Hex/AcOEt (7:3)	68-121	17	141,7
	122-131	18	30,8
Hex/AcOEt (1:1)	132-136	19	23,4
AcOEt (100 %)	137-145	20	15,3
MeOH (100%)	146-149 <sub>s</sub>	21	20,9
	146-149 <sub>p</sub>	22	34,8

### 3.5.1 Subfração F11

A subfração F11 (fração 38) apresentou-se como um sólido cristalino branco, a CCDC da fração, eluída com *n*-hexano/AcOEt (9:1 v/v) e revelada com sulfato cério, apresentou uma mancha azulada. As análises de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  e CG-EM permitiram a identificação da mistura dos compostos **1-3**.

### 3.6 Análise da fração hexânica de *P. insignis* por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria e massas (CG-EM)

Cerca de 10 mg da fração hexânica foi adicionada a 5 mL de solução metanólica de hidróxido de sódio a 5%, a mistura foi submetida a refluxo por 5 min. Em seguida, adicionou-se 10 mL de reagente esterificante, mantendo-se a mistura em refluxo por 5 min. O reagente esterificante foi obtido a partir da diluição de 2 g de cloreto de amônio em 60 mL de metanol e posterior refluxo da solução com ácido sulfúrico concentrado por 15 min. (HARTMAN; LAGO, 1973). A mistura foi submetida à partição em funil de separação com 20 mL de água destilada e 30 mL de éter de petróleo. A fase etérea foi separada, seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e rotaevaporada a pressão reduzida.

Em seguida, a fração metilada foi analisada em cromatógrafo a gás acoplado a espectrômetro de massa (sistema GCMS-QP2010 SE, AOC-5000 (Shimadzu)) equipado com coluna Rxi-5HT (30 m x 0,25mm x 0,25  $\mu\text{m}$ ), onde alíquota de 1  $\mu\text{L}$  de solução da amostra metilada (5 mg mL<sup>-1</sup>) foi injetada no modo *split* (10:1). O hélio foi o gás de arraste em fluxo de 1 mL min<sup>-1</sup>. A temperatura do injetor foi de 260 °C. Condições de temperatura do CG: inicial 100 °C por 1 minuto, apresentando três rampas de aquecimento uma de 6 °C min até 180 °C (0 min), a segunda de 15 °C min<sup>-1</sup> até 260 °C (10 min) e a terceira rampa de 10 °C min<sup>-1</sup> até 310 °C (15 min).

O espectrômetro de massas com analisador quadrupolo foi operado com ionização por elétrons (IE) a 70 eV, detector a 290 °C, tempo de corte do solvente de 3 min e faixa de varredura de massas de 35-500 Da. Os constituintes químicos foram identificados por comparação dos espectros de massas obtidos com as bibliotecas computacionais Wiley 229 e NIST 0,8.

### **3.7 Análise da fração DCM de *P. insignis* por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas de alta resolução (UFLC-ESI-qTOF-HRMS)**

A fração diclorometano (1,5 mg) foi diluída em metanol, sem aditivos, a fim de obter a concentração de 1,5 mg mL<sup>-1</sup>. A solução preparada foi filtrada em filtro 0,22 µm Nylon (Millipore). A amostra foi analisada por UFLC-ESI-qTOF-HRMS, utilizando-se cromatógrafo líquido (UFLC-Shimadzu) acoplado ao espectrômetro de massa (MicroTOF QII, Bruker Daltonics) equipado com fonte de ESI. O ESI-qTOF-HRMS operou nas seguintes condições: modo de ionização negativo, voltagem do capilar 3500 V, nebulizador de nitrogênio com fluxo de 4 L min<sup>-1</sup> e temperatura da fonte de 200 °C a uma pressão de 0,4 bar para o nebulizador de nitrogênio. Aquisição dos dados e processamento foi feito usando o software DataAnalysis 4.1 (Bruker Daltonics). A separação foi conseguida através de uma coluna C-18 (Shim-pack XR-ODS, 2,0 mm x 50 mm), acoplado a uma bomba modelo LC-20AD. A fase móvel consistiu de água com ácido fórmico a 0,1% (A) e metanol com 0,1% ácido fórmico (B) a um fluxo de 0,15 mL min<sup>-1</sup>, com um gradiente de eluição: 0,01- 2 min (98% A / 2% B); 4 min (50 % A / 50 % B ); 27-35 min (100 % B), o tempo total da análise foi de 37 min. O volume de injeção foi de 10 µL.

### **3.8 Análise da fração DCM de *P. insignis* por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria e massas (CG-EM)**

Para a determinação dos seus constituintes químicos, a fração diclorometano foi previamente sililada. Para o processo de sililação foram usados 5 mg da fração e cerca de 1 mL de tolueno e algumas gotas de piridina destilada para a dissolução da amostra. A amostra foi transferida para um balão de fundo redondo de 5 mL e purgada com nitrogênio até garantir que o ambiente estivesse livre de umidade, adicionou-se o reagente sililante N,O-Bis(trimetilsilil) trifluoracetamida (BSTFA), o sistema foi tampado com septo de vidro e em seguida mantido no banho de areia previamente aquecido, mantendo a temperatura na faixa de 65° - 75° C. A análise da fração diclorometano de *P. insignis* foi realizada por CG-EM, utilizando-se um cromatógrafo a gás (Thermo GC Ultra) acoplado a espectrômetro de massas sequencial de alta resolução com ionização por impacto de elétrons e analisador triplo quadrupolo (TSQ Quantum XLS), onde uma alíquota de 2 µL de solução da amostra (5 mg mL<sup>-1</sup>), previamente sililada, foi injetada no cromatógrafo no modo *split* (10:1). A temperatura

do injetor foi de 290 °C. As condições de análise foram: coluna capilar de 30 m de comprimento por 0,25 mm de diâmetro e 0,1 µm de fase estacionária dimetilpolisiloxano (100%) para altas temperaturas (modelo COL-ELITE-1HT, PerkinElmer®); o hélio foi o gás de arraste em fluxo de 1 mL min<sup>-1</sup>.; programação de análise: temperatura inicial de 100 °C indo até 300°C com uma taxa de 10 °C/min; Temperatura do injetor 290 °C, interface de 300°C. O espectrômetro de massas operou com ionização por impacto eletrônico de 70 eV e faixa de varredura de 50 a 650 Daltons (Da).

### 3.9 Fracionamento cromatográfico da fração acetato de etila

A fração AcOEt (500 mg) foi submetida a fracionamento cromatográfico em coluna seca de sílica (CSS), utilizando-se uma coluna de celulose com 20 cm de altura e 3 cm de diâmetro e como solventes de eluição a mistura de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O (65:30:5, v/v/v), sendo coletadas 7 frações. As frações obtidas foram analisadas por CCDC utilizando como sistema de eluição CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O (65:30:5, v/v/v). A Tabela 2 apresenta as frações coletadas e subfrações analisadas (mg).

Tabela 2- Frações da CSS da fração AcOEt das flores de *P. insignis*

Eluente	Frações	Massa (mg)
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH/H <sub>2</sub> O (65:30:5)	1 (F1)*	188,9
	2	80,5
	3	38,0
	4	22,3
	5	8,4
	6	3,4
	7	3,2

\*A fração F1 foi submetida a outros processos de separação e analisada por métodos espectroscópicos.

### **3.9.1 Subfração F1'**

A fração F1 foi submetida à partição em fase sólida reversa com eluente MeOH/H<sub>2</sub>O (1:1, v/v), resultando em 4 subfrações. A subfração F1' foi submetida à análise de CCDC eluída com CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O (7:2,5:0,5, v/v) e revelada com sulfato cérico apresentando uma mancha amarela. As análises no infravermelho e RMN de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C permitiram a identificação da mistura dos compostos **4** e **5** (20,1 mg).

### **3.10 Análises no infravermelho**

Os espectros de absorção na região do infravermelho foram obtidos, utilizando pastilhas de KBr, em espectrômetro Perkin-Elmer, modelo Spectrum 100 FT-IR usando o aparato UATR (Universal Attenuated Total Reflectance), pertencente ao Laboratório de Biodiesel e Materiais

### **3.11 Ressonância magnética nuclear**

Os espectros de RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C, uni e bidimensionais, foram obtidos em espectrômetro Varian INOVA – modelo 400 operando a 400 (<sup>1</sup>H) e 100 (<sup>13</sup>C) MHz. As amostras analisadas foram dissolvidas em CD<sub>3</sub>OD e CDCl<sub>3</sub>.

### **3.12 Espectrometria de massas de alta resolução**

Os espectros de massa de alta resolução (HRMS, do inglês *high resolution mass spectra*) foram obtidos em espectrômetro de massas MicrOTOF Q-II (Bruker Daltonics) equipado com fonte de ESI. A amostra foi analisada em espectrômetro de massa MicrOTOF Q-II equipado com fonte de ESI operando no modo de ionização negativo. Os espectros foram adquiridos na faixa de massa de *m/z* 100-1100, antes de cada análise o ESI-qTOF-HRMS foi calibrado com formiato de sódio, sendo o erro inferior a 1 ppm. Parâmetros da fonte ESI: Potencial do spray: 4,0 kV; pressão do nebulizador de nitrogênio: 0,4 bar; temperatura do capilar: 200 °C.

### 3.13 Fenóis totais (FT)

Os teores de fenóis totais do extrato e frações das flores de *P. insignis* foram determinados por meio de espectroscopia na região do visível utilizando o método de Folin-Ciocalteu com modificações (BONOLI et al., 2004; OYEDEMI et al., 2012). As frações (10 mg) foram dissolvidas em 2 mL de metanol (5 mg mL<sup>-1</sup>). Uma alíquota de 200 µL (ou seja, 1 mg) desta solução foi transferida para um balão volumétrico e adicionou-se 1 mL do reagente Folin-Ciocalteu a 25 % e 1 mL de água destilada, com posterior agitação por 1 minuto.

Em seguida adicionou-se 0,6 mL de uma solução de carbonato de cálcio 15% (m/v). O balão foi completado com água destilada e mantido a temperatura ambiente. O branco foi preparado utilizando um alíquota de 0,1 mL de MeOH seguido a mesma sequencia de reagentes e etapas.

Após 90 minutos, as absorvâncias das amostras foram medidas a 750 nm ( $\lambda_{\text{máx}}$ ) usando um espectrofotômetro UV-Vis e o conteúdo de fenóis totais foi determinado utilizando curva analítica padrão de ácido gálico (0,1 a 2,5 µg mL<sup>-1</sup>, R = 0,999). A equação da reta foi  $A = 0,11852C - 0,04532$ , onde  $A$  é a absorvância e  $C$  a concentração. Os resultados foram expressos em miligramas de equivalentes de ácido gálico por grama de material vegetal (mg EAG g MV<sup>-1</sup>). Todas as análises foram realizadas em triplicata (n = 3).

### 3.14 Flavonoides totais (FLAT)

Os teores de flavonoides totais do extrato e frações das flores de *P. insignis* foram determinados por meio de espectrofotometria de absorção molecular utilizando solução metanólica de cloreto de alumínio (AlCl<sub>3</sub>), (PEIXOTO et al., 2010). Uma alíquota de 200 µL (ou seja, 1 mg) desta solução foi transferida para um balão volumétrico e adicionou-se 1 mL de AlCl<sub>3</sub> a 20 %, e em seguida 100 µL de ácido acético 50 %, por fim acertou-se o volume final para 3 mL usando água destilada. . O branco foi preparado utilizando um alíquota de 0,1 mL de MeOH seguido a mesma sequencia de reagentes e etapas.

A solução preparada foi mantida em temperatura ambiente por 30 minutos para ocorrer à reação com posterior leitura da absorvância a um comprimento de onda ( $\lambda_{\text{máx}}$ ) de 420 nm utilizando um espectrofotômetro UV-Vis. Os teores de flavonoides totais foram determinados utilizando curva padrão de quercetina (10 a 100 µg mL<sup>-1</sup>, R = 0,999). A equação da reta foi  $A = 0,02618C - 0,0717$ , onde  $A$  é a absorvância e  $C$  a concentração. Os resultados

foram expressos em miligramas de equivalentes de quercetina por grama de material vegetal (mg EQ g MV<sup>-1</sup>). Todas as análises foram realizadas em triplicata (n = 3).

### 3.15 Atividades antioxidantes

#### 3.15.1 Potencial sequestrador do radical DPPH

O potencial antioxidante do extrato e frações das flores de *P. insignis* foi determinado analisando o decréscimo do radical DPPH conforme descrito por Sousa et al., (2007). Para a avaliação foi preparada uma solução estoque do extrato hidroalcoólico, das frações Hex, DCM, AcOEt, e do padrão ácido ascórbico, diluídas em solução salina 0,9 % + Tween 0,05 %. Em seguida por diluições seriadas, foram obtidas soluções com concentrações de 62,5, 125, 250, 500 e 1000 µg mL<sup>-1</sup>.

As misturas reacionais foram preparadas com 0,3 mL de solução das amostras nas concentrações de 62,5 a 1000 µg mL e 2,7 mL de solução estoque de DPPH a 40 µg mL. As medidas das absorbâncias foram realizadas no comprimento de onda ( $\lambda_{\text{máx}}$ ) de 516 nm após 30 minutos de reação. O branco foi preparado com 0,3 mL de solução das amostras nas concentrações avaliadas e 2,7 mL de MeOH. O ácido ascórbico foi utilizado como controle positivo e avaliado nas mesmas concentrações.

A curva analítica foi construída com soluções metanólicas de DPPH nas concentrações de 1 a 35 mg L<sup>-1</sup>. A equação da reta foi de  $A = 0,0301C + 0,0319$ , onde A é a absorbância e C é a concentração de DPPH no meio, com coeficiente de correlação linear R= 0,999.

A conversão dos valores de absorbância do extrato e frações nas concentrações de 62,5, 125, 250, 500 e 1000 µg mL<sup>-1</sup> no tempo de 30 minutos ( $\lambda_{\text{máx}}$  516 nm) em porcentagem de atividade antioxidante (%AA) foi quantificada utilizando a Equação 1.

$$\% AA = [Abs_{DPPH} - (Abs_{amostra} - Abs_{branco})] \times 100 / Abs_{DPPH} \quad (\text{Equação 1})$$

Onde:

$Abs_{DPPH}$  é a absorbância inicial da solução metanólica de DPPH;

$Abs_{amostra}$  é a absorbância da mistura reacional de DPPH + amostra

$Abs_{branco}$  é a absorbância do MeOH (solvente) + amostra.

### 3.15.2 Potencial sequestrador do radical ABTS

Para a determinação do potencial antioxidante pelo método ABTS no extrato e frações das flores de *P. insignis*, formou-se o cátion radical ABTS a partir da reação de 5 mL de uma solução 7 mM de ABTS com 88 µL de uma solução 2,45 mM de persulfato de potássio (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>), incubada à temperatura ambiente e na ausência de luz por 16 horas. Transcorrido esse tempo, a solução de ABTS foi diluída em etanol até obter-se uma solução com absorvância de 1 a 734 nm. Na ausência de luz foi transferida uma alíquota de 200 µL das frações, do extrato e padrão nas concentrações de 62,5, 125, 250, 500 e 1000 µg mL<sup>-1</sup> para tubos de ensaio contendo 2,0 mL do radical ABTS. As medidas das absorvâncias foram realizadas no comprimento de onda (λ<sub>máx</sub>) de 734 nm após 6 minutos de reação e os resultados foram expressos como porcentagem de inibição da absorvância da solução do radical ABTS.

A conversão dos valores de absorvância do extrato e frações nas concentrações de 62,5, 125, 250, 500 e 1000 µg mL<sup>-1</sup> no tempo de 6 minutos (λ<sub>máx</sub> 734 nm) em porcentagem de atividade antioxidante (%AA) foi quantificada utilizando a Equação 2.

$$\% AA = [Abs_{ABTS} - (Abs_{amostra} - Abs_{branco})] \times 100 / Abs_{ABTS} \quad (\text{Equação 2})$$

Onde:

$Abs_{ABTS}$  é a absorvância inicial da solução metanólica de ABTS;

$Abs_{amostra}$  é a absorvância da mistura reacional de ABTS + amostra

$Abs_{branco}$  é a absorvância do MeOH (solvente) + amostra

### 3.15.3 Potencial redutor do ferro - FRAP

Para a avaliação da atividade antioxidante pelo potencial redutor do ferro no extrato e frações das flores de *P. insignis*, foi preparada uma solução estoque do extrato hidroalcoólico, das frações Hex, DCM, AcOEt, e do padrão ácido ascórbico, diluídas em solução salina 0,9 % + Tween 0,05 %. Em seguida por diluições seriadas, foram obtidas soluções com concentrações de 62,5, 125, 250, 500 e 1000 µg mL<sup>-1</sup>. A estas, adicionou-se 0,5 mL de ferrocianeto de potássio 1 % e 0,5 mL de tampão fosfato de sódio (0,2 M, pH 6,6). A mistura reacional foi incubada a 50 °C durante 20 minutos, após o tempo decorrido, foi adicionado a mistura reacional 0,5 mL de ácido tricloroacético 10 %, 0,5 mL de água



destilada e 0,125 mL de cloreto férrico (FeCl<sub>3</sub>) 0,1 %. As medidas das absorvâncias foram realizadas no comprimento de onda ( $\lambda_{\text{máx}}$ ) de 700 nm. O branco foi preparado com 0,3 mL de tampão fosfato. O ácido ascórbico foi utilizado como controle positivo e avaliado nas mesmas concentrações.

#### **3.15.4 Potencial inibidor de peroxidação lipídica**

O potencial antioxidante do extrato e frações das flores de *P. insignis* contra a peroxidação lipídica, foi determinada a partir da avaliação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS do inglês, *thiobarbituric acid reactive species*), como descrito por Guimarães et al., (2010). A gema de ovo homogeneizada em 50 mM de tampão fosfato (pH 7,4) (1% w/v) foi utilizada como substrato rico em lipídios. Uma alíquota de 1 mL foi sonificado e adicionado em 0,1 mL do extrato e das frações em diferentes concentrações (62,5, 125, 250, 500 e 1000  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ). Posteriormente, 0,1 mL da solução de 2,2'-azobis-(2-amidino-propano)-hidroclorado (AAPH) foi adicionado para a peroxidação lipídica.

O tempo reacional das amostras foi de 30 minutos a 30 °C e após resfriamento, uma alíquota de 0,5 mL das amostras foram centrifugadas com 0,5 mL de ácido tricloroacético 15 % a 1200 rpm durante 10 minutos. Em seguida, 0,5 mL do sobrenadante foi misturado com 0,5 mL de ácido tiobarbitúrico 0,67 % (TBA) e aquecidos por 30 minutos a 95 °C. Após resfriamento, as absorvâncias das amostras nas diferentes concentrações foram medidas em espectrofotômetro UV-Vis no comprimento de onda ( $\lambda_{\text{máx}}$ ) de 532 nm. Os resultados foram expressos em percentual de inibição de peroxidação lipídica. O ácido ascórbico foi utilizado como controle positivo e avaliado nas mesmas concentrações.

#### **3.16 Atividade inibidora da enzima acetilcolinesterase (AChE)**

A análise semi-quantitativa de inibição da enzima acetilcolinesterase (AChE) foi realizada seguindo a metodologia descrita por Ellman et al. (1961), adaptada por Rhee et al. (2001). Uma solução estoque a 1 mg mL<sup>-1</sup> do extrato e frações foi preparada dissolvendo 1 mg em 1 mL de MeOH. Alíquotas de 0,0625 a 1,0 mg mL<sup>-1</sup> de cada amostra foram aplicadas em placa cromatográfica de gel de sílica e eluída com CHCl<sub>3</sub>/ MeOH (95:5, v/v). Após a eluição da placa, a atividade inibitória foi avaliada utilizando o revelador de Ellman.

A placa foi borrifada com 1mM de DTNB (ácido 5,5' – ditiobis-[2-nitrobenzólico]) e 1 Mm de ATCI (iodeto de acetiltiocolina) em tampão A até a saturação do reagente. Deixou-se a placa secar por um período de 3 a 5 minutos e após o tempo decorrido, esta foi pulverizada com 5 units/mL da enzima AchE conferindo a placa uma coloração amarelada. O teste de inibição é considerado positivo quando se observa na cromatoplaça uma mancha branca após o período de 5 minutos. A cafeína foi utilizada como controle positivo.

### **3.17 Espectroscopia de absorção molecular**

As medidas de absorção molecular foram determinadas utilizando espectrofotômetro UV-Vis Lambda 25 da PerkinElmer e cubetas de vidro e de quartzo de 1 cm de caminho ótico.

### **3.18 Análise estatística**

Os dados experimentais foram avaliados por análise de variância (ANOVA) utilizando o *software* Origin 8, com o nível de confiança de 95% ( $p < 0,05$ ). A concentração eficiente, em  $\mu\text{g mL}^{-1}$  de amostra, capaz de reduzir a concentração dos radicais em 50 % ( $\text{CE}_{50}$ ) foi determinada utilizando o *software* GraphPad Prism 6.0, a partir da curva exponencial de primeira ordem do % de radicais remanescentes (ordenada) *versus* a concentração da amostra em  $\mu\text{g mL}^{-1}$  (abscissa) (SOUSA et al., 2007).

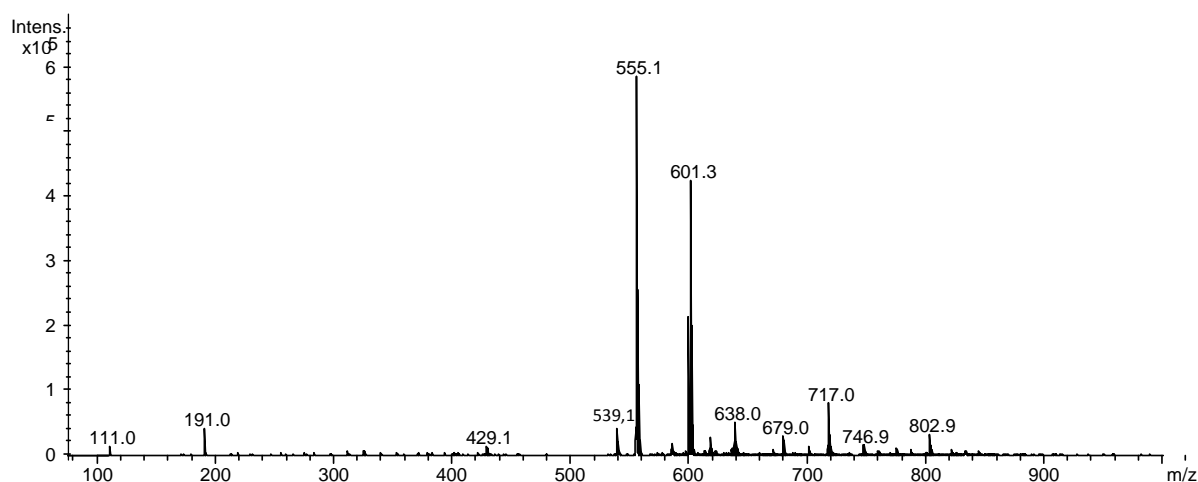
## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Análise fitoquímica

#### 4.1.1 Identificação dos constituintes do extrato hidroalcoólico das flores de *P. insignis* por ESI-IT-MS

Na investigação dos constituintes químicos do extrato hidroalcoólico das flores de *P. insignis* Mart. por espectrometria de massas com ionização por eletrospray no modo negativo acoplado a espectrômetro de massas (híbrido *ion trap*) (ESI-IT-MS) no modo *scan*, destacaram-se como constituintes um biflavonoide, a moreloflavona e um acilfloroglucinol policíclico poliprenilado, a garcinaliptona FC. A Figura 5 apresenta o espectro de massas de primeira-ordem (*full-scan*), obtido da análise por infusão direta, do extrato hidroalcoólico das flores de *P. insignis*.

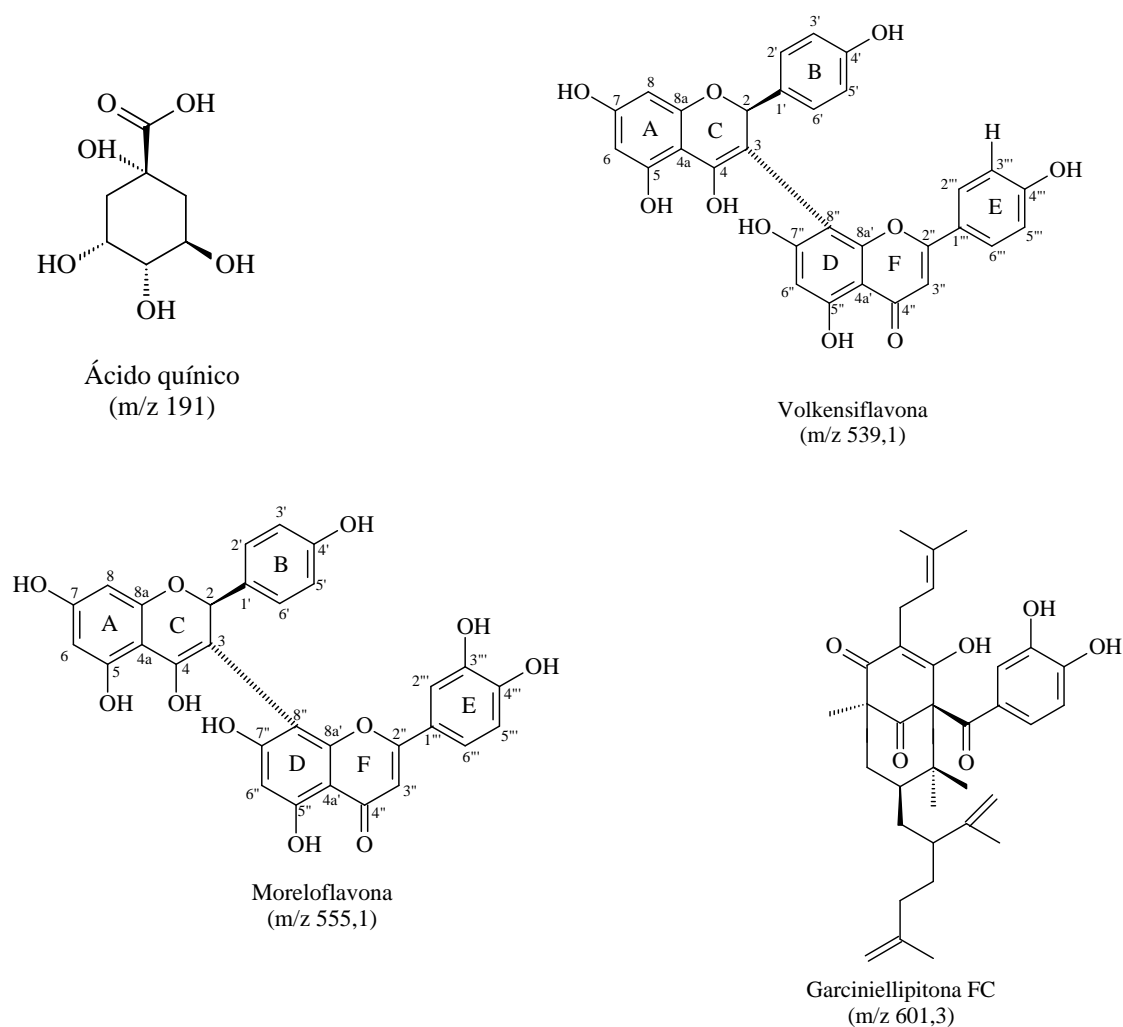
Figura 5- Espectro de massas (*full-scan*) do extrato hidroalcoólico das flores de *P. insignis*



Ao analisar o espectro de massas, destaca-se que o sinal obtido por ESI-IT-MS em modo negativo  $m/z$  191, 0  $[M-H]^-$  é característico do ácido quínico, um metabólito secundário de ampla ocorrência natural, ácido cristalino encontrado na casca de quina, pode ser obtido sinteticamente através da hidrólise do ácido clorogênico (TSUKUI et al., 2015). O íon em  $[M-H]^-$  em  $m/z$  539,1 sugere a presença de um outro constituinte da classe dos biflavonoides, a volkensiflavona. O íon em  $[M-H]^-$  em  $m/z$  555,1 sugeriu a presença do biflavonóide do tipo

flavonona-(3→8)-flavona, moreloflavona, isolada pela primeira vez em *Garcinia morella* (KARANJGAOKAR et al., 1967). O sinal  $m/z$  601,3 sugere a presença de um acilfloroglucinol policíclico poliprenilado (APPPs), a garcinialiptona FC (GFC), isolada anteriormente das sementes de *P. insignis* por Costa Júnior e colaboradores (2010). Dentre as atividades biológicas deste composto está a atividade pró-oxidante no DNA, e induz a morte celular *in vitro*, atividade anti-HIV (GARNSEY et al., 2011), anti-inflamatória (WENG et al., 2004), antiplasmódica (MARTI et al., 2010). As estruturas dos constituintes identificados, estão apresentadas na Figura 6.

Figura 6- Estruturas dos constituintes químicos identificados no extrato hidroalcoólico das flores de *P. insignis* por ESI-IT-MS

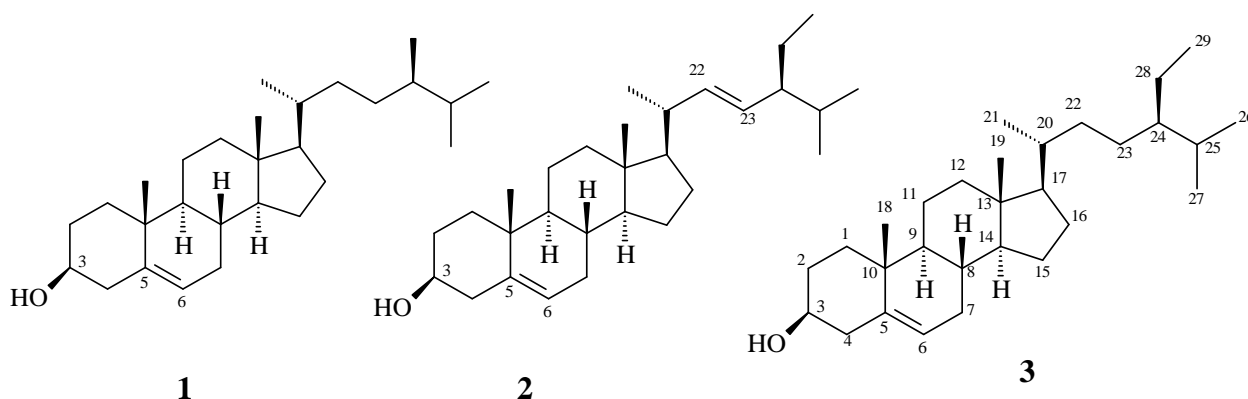


Na tentativa de identificar mais constituintes químicos, o extrato hidroalcoólico, foi submetido à partição com *n*-hexano, diclorometano e acetato de etila.

#### 4.1.2 Identificação dos constituintes da fração hexânica

Para a identificação dos constituintes desta fração, utilizou-se fracionamento cromatográfico e derivatização desta fração por esterificação para análise por CG-EM.

##### 4.1.2.1 Identificação estrutural dos compostos de 1-3



A separação cromatográfica da fração hexânica do extrato hidroalcoólico das flores de *P. insignis* em coluna de gel de sílica eluída com a mistura de *n*-hexano/AcOEt, resultou na identificação de uma mistura de campesterol (**1**) estigmasterol (**2**) e sitosterol (**3**) na subfração F11, eluída com *n*-hexano/AcOEt (9:1, v/v). As estruturas **1**, **2** e **3** foram confirmadas por análise de CG-EM, RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e DEPT-90 e 135 e por comparação com a literatura (WRIGHT et al., 1978).

Os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  da subfração F11 apresentaram sinais característicos de estruturas esteroidais  $\Delta^5$  (Figuras 8 e 9). O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  apresentou acúmulo de sinais na região de  $\delta$  0,65 a 2,35 atribuídos aos hidrogênios dos grupos metílicos, metilênicos e metínicos de estruturas esteroidais, um multiplete em  $\delta_{\text{H}}$  3,52 referente ao hidrogênio oximetínico em C-3, um duplete em  $\delta_{\text{H}}$  5,35 ( $J = 5,2$  Hz) correspondente ao hidrogênio olefínico H-6 da instauração C-5 e C-6. Os dois duplos dupletos em  $\delta_{\text{H}}$  5,02 e 5,14 ( $J = 8,5$  e 15,1 Hz) são característicos dos hidrogênios olefínicos H-22 e H-23 da cadeia lateral do estigmasterol (**2**) (COSTA et al., 2010; DE-EKNAMKUL; POTDUANG, 2003).

O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  apresentou um sinal em  $\delta$  71,9 confirmando a presença do carbono oximetínico (C-3), dois sinais em  $\delta$  140,9 e 121,8 atribuídos aos carbonos olefínicos C-5 e C-6, respectivamente, presentes em esteroides  $\Delta^5$  e dois sinais em  $\delta$  129,4 e 138,4 referentes aos carbonos olefínicos C-23 e C-22 confirmando a presença do estigmasterol (**2**) em mistura com o sitosterol (**3**) (WRIGHT et al., 1978).

O campesterol, com um átomo de carbono a menos na cadeia lateral, que o sitosterol, torna-se difícil a sua identificação, contudo, os sinais menos intensos em  $\delta_{\text{C}}$  30,4; 38,9; 32,7; 20,3; 18,4; 15,3 (Figura 9), foram atribuídos aos carbonos da cadeia lateral (C-23, 24, 25, 26, 27 e 28) do campesterol, com isso foi possível a identificação da mistura de campesterol (**1**), estigmasterol (**2**) e sitosterol (**3**) (Tabela 3).

A mistura dos três esteroides (F11) foi confirmada pela análise em CG-EM onde o cromatograma de íons totais Figura 7, apresentou três picos com íons moleculares correspondentes ao campesterol (**1**) com  $m/z$  400 (9 %), estigmasterol (**2**) com  $m/z$  412 (22 %) e o majoritário, o sitosterol (**3**) com  $m/z$  414 (68 %).

Figura 7. Cromatograma de íons totais da subfração F11 de *P. insignis* obtido por análise em CG-EM

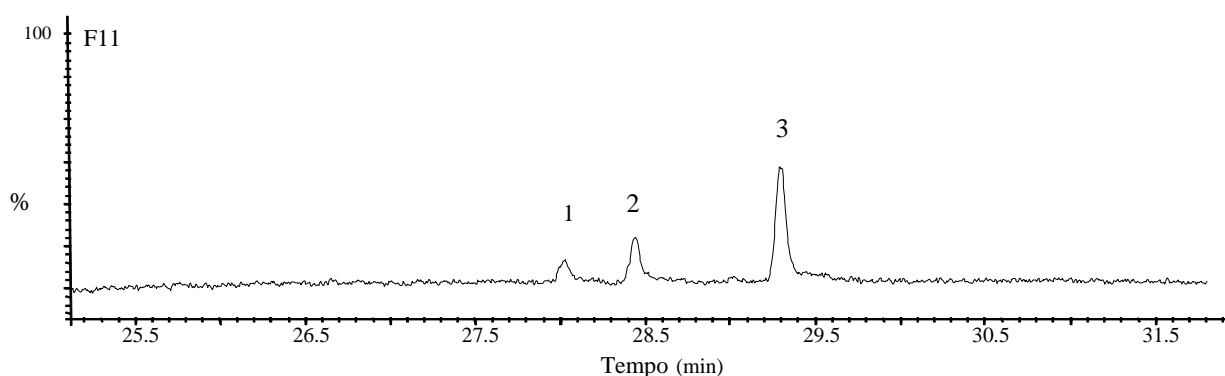


Tabela 3– Dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  do campesterol (**1**), estigmasterol (**2**) e sitosterol (**3**) ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)

C	Campesterol		Estigmasterol		Sitosterol	
	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{C}}^*$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{C}}^*$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{C}}^*$
1	34,7	37,3	37,4	37,3	37,4	37,3
2	31,8	31,6	31,8	31,7	31,8	31,6
3	71,9	71,7	71,9	71,8	71,9	71,7
4	42,4	42,2	42,4	42,3	42,4	42,2
5	140,9	140,8	140,9	140,8	140,9	140,8
6	121,8	121,6	121,8	121,7	121,8	121,6
7	32,0	31,9	32,0	31,9	32,0	31,9
8	32,0	31,9	32,0	31,9	32,0	31,9
9	50,2	50,2	50,2	50,2	50,2	50,2
10	36,3	36,5	36,3	36,6	36,3	36,5
11	21,2	21,1	21,2	21,1	21,2	21,1
12	39,9	39,8	39,9	39,7	39,9	39,8
13	42,4	42,3	42,4	43,3	42,4	42,3
14	57,0	56,8	56,9	56,9	56,9	56,8
15	24,4	24,3	24,4	24,4	24,4	24,3
16	24,4	28,3	28,4	29,0	28,4	28,3
17	56,1	56,1	56,2	56,1	56,2	56,1
18	12,0	11,9	12,0	12,1	12,0	11,9
19	19,5	19,4	19,5	19,4	19,9	19,4
20	36,3	36,2	40,6	40,5	36,3	36,2
21	19,1	18,8	21,2	21,1	19,1	18,8
22	33,8	33,8	138,4	138,4	34,1	34,0
23	30,4	30,4	129,4	129,3	26,2	26,2
24	38,9	38,9	51,3	51,3	46,0	45,8
25	32,7	32,5	32,0	31,9	29,5	29,2
26	20,3	20,3	19,9	21,3	19,9	19,8
27	18,4	18,3	19,1	19,0	19,1	19,1
28	15,3	15,4	26,2	25,4	22,8	23,1
29	-	-	12,1	12,3	12,1	12,3

\*Dados relatados por Wright et al., 1978

Figura 8- Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da mistura **1-3** ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)

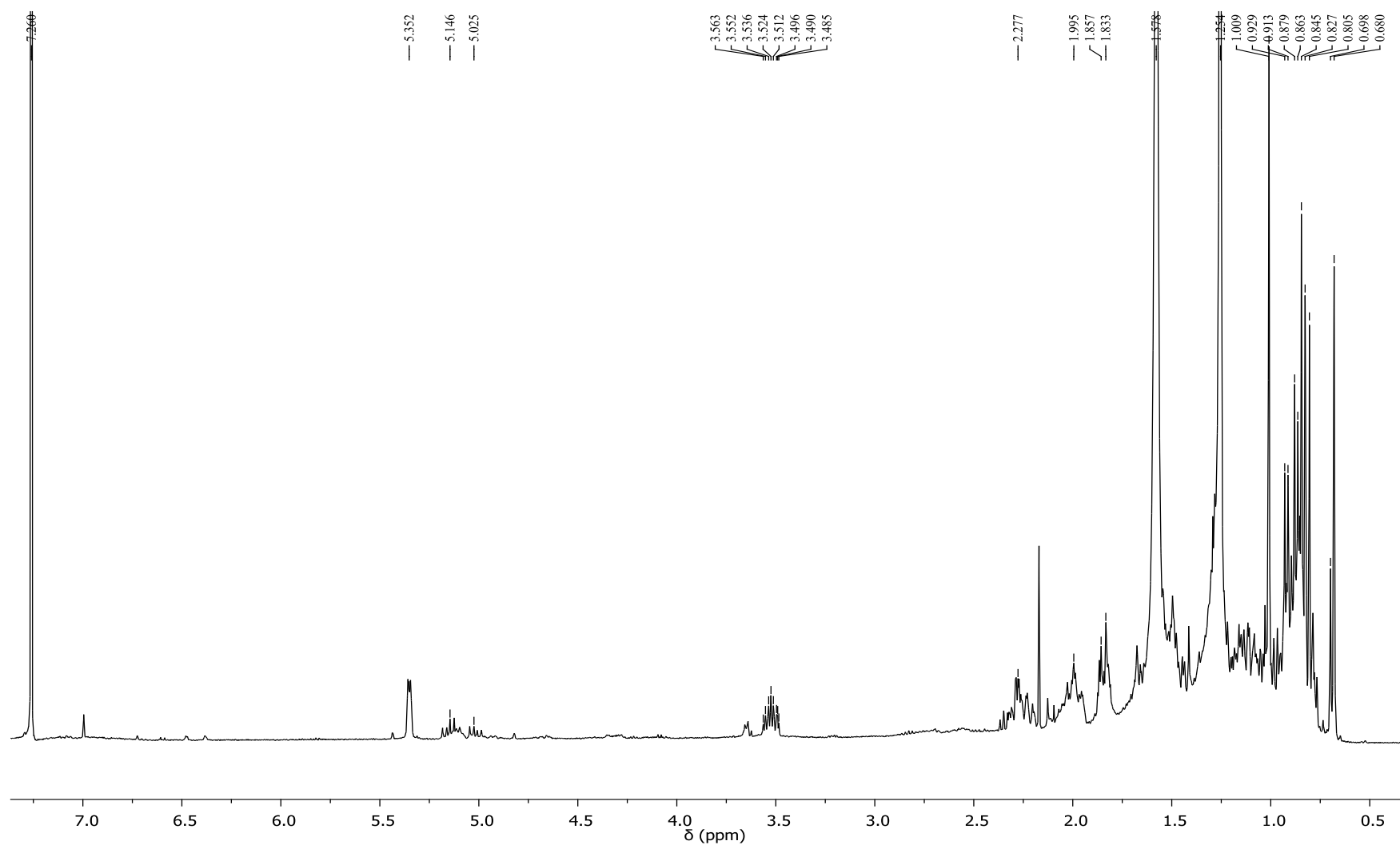
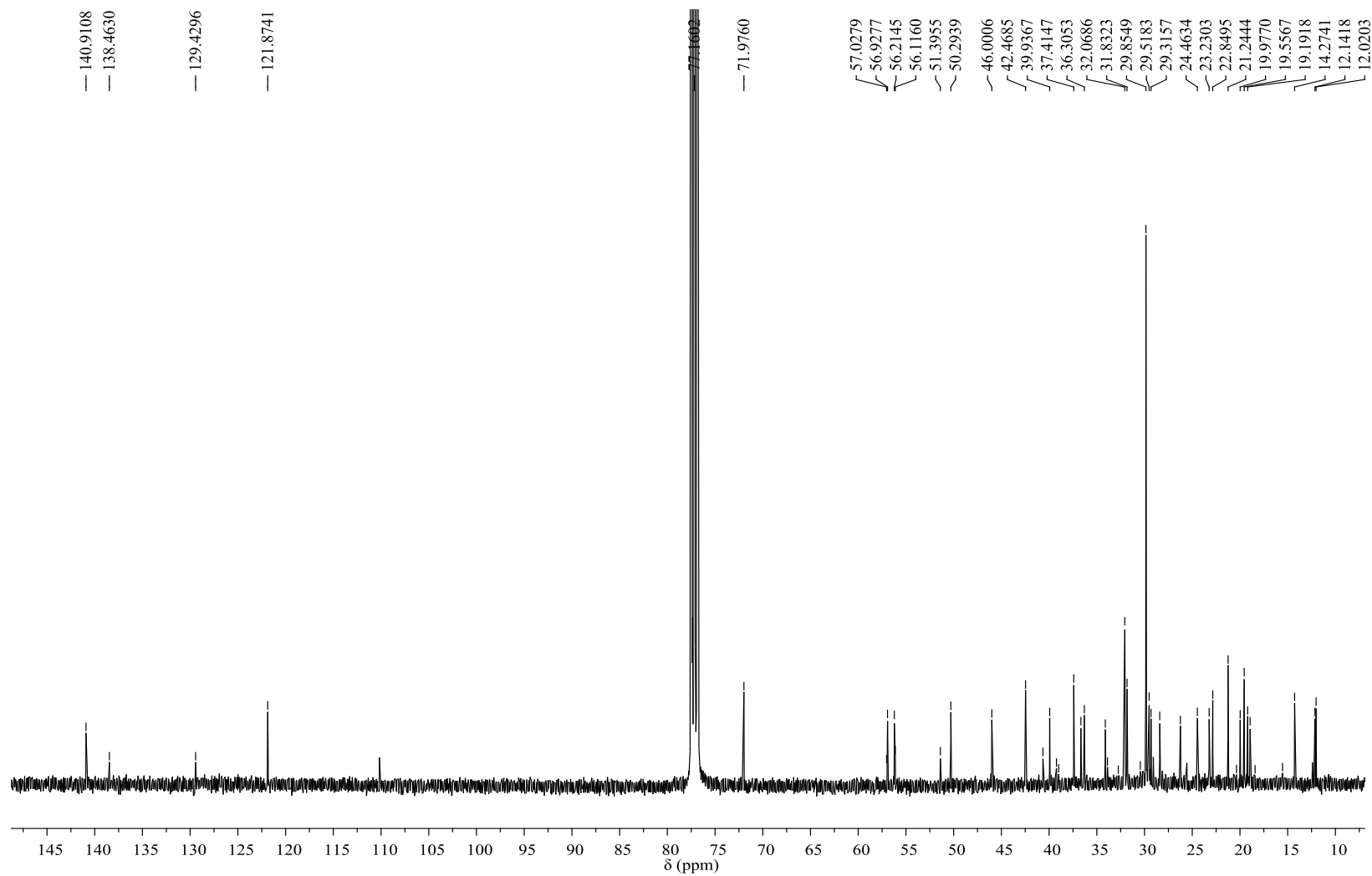




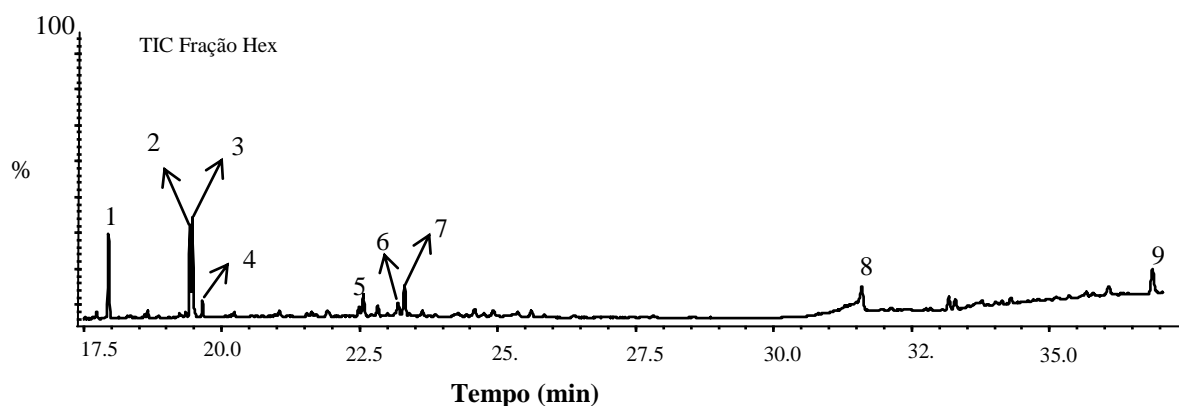
Figura 9- Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  da mistura **1-3** ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)



#### 4.1.2.2 Composição química da fração hexânica das flores de *P. insignis* por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM), após reação de metilação

A análise da composição química de extratos e frações por CG-EM é um método útil na investigação de fitoquímicos, por proporcionar a separação e identificação de compostos individuais em matrizes orgânicas complexas, sendo de grande importância em estudos de biodiversidade guiada (ORHAN et al., 2012). Para a identificação de ácidos graxos, como ésteres, a fração hexânica de *P. insignis* foi metilada usando a metodologia descrita em Hartman e Lago (1973), tal método favorece a conversão de compostos ácidos em ésteres metílicos que são substâncias mais voláteis e menos polares, permitindo assim a separação e identificação por CG-EM. O perfil em CG-EM da fração hexânica de *P. insignis* é mostrado na Figura 10.

Figura 10- Cromatograma de íons totais da fração Hex de *P. insignis* por análise em CG-EM



A abundância relativa (%), íon, fórmula molecular e tempo de retenção dos compostos identificados na fração hexânica por análise em CG-EM são mostrados na Tabela 4. A identificação dos constituintes foi realizada utilizando os tempos de retenção e análise dos espectros de massas (íon molecular  $[M^+]$ , pico base e principais fragmentos) em comparação com os espectros de massas descritos na literatura e na biblioteca computacional NIST 0,8 (ASSIMOPOULO; PAPAGEORGIU, 2005; SANTOS et al., 2013; ZARETSKII et al., 1967).

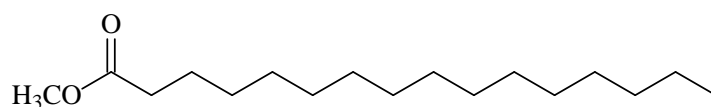
Tabela 4- Constituintes identificados na fração Hex de *P. insignis*, após metilação por de CG-EM

	Constituintes químicos	Fórmula Molecular	[M <sup>+</sup> ]	Tr (min)	(%)
1	Hexadecanoato de metila C16:0	C <sub>17</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	270	17,98	21,28
2	(9Z,12Z)-octadeca-9-12-dienoato de metila C18:2	C <sub>19</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	294	19,45	18,55
3	(9Z)-octadec-9-enoato de metila C18:1	C <sub>19</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	296	19,5	22,15
4	Octadecanoato de metila C18:0	C <sub>19</sub> H <sub>38</sub> O <sub>2</sub>	298	19,68	2,96
5	n.i			22,51	1,81
6	n.i			22,60	5,71
7	n.i			23,37	13,58
8	n.i			31,63	5,64
9	Sitosterol	C <sub>29</sub> H <sub>50</sub> O	414	36,87	8,32

\*n.i: não identificado; Tr: tempo de retenção

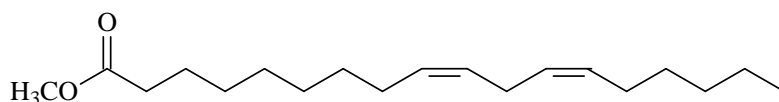
Os principais tipos de constituintes presentes na fração hexânica de *P. insignis* foram ácidos graxos, identificados como ésteres metílicos (64,94 %) e esteroides (8,32 %). Os ésteres metílicos majoritários foram hexadecanoato de metila (21,28 %) e os ésteres metílicos de ácidos graxos insaturados foram o C18:2 *cis*-9,*cis*-12 (18,55 %) e C18:1 *cis*-9 (22,15 %) (Figura 11).

Figura 11- Estrutura química dos ácidos graxos metilados majoritários da fração hexânica



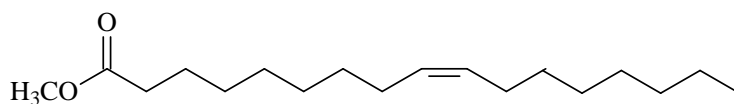
Hexadecanoato de metila (21,28 %)

(pico 1)



Octadeca-9-12-dienoato de metila (18:2- 9c,12c) (18,55)

(pico 2)

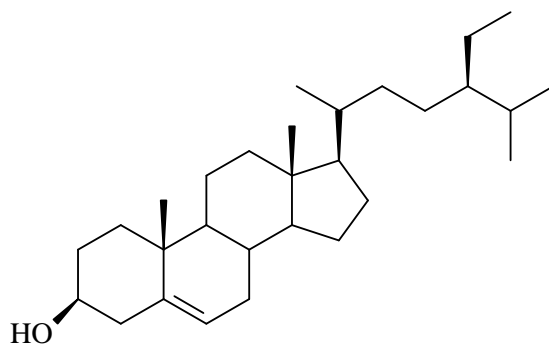


Octadeca-9-enoato de metila (18:1- 9c) (12,15)

(pico 3)

O esteroide identificado na fração hexânica metilada foi o sitosterol (8,32 %), este esteroide foi previamente identificado no fracionamento cromatográfico da fração hexânica sendo relatado na subfração F11. Sua estrutura está representada na Figura 12.

Figura 12- Estrutura química do esteroide presente na fração hexânica



Sitosterol (8,32 %)

pico 9

### 4.1.3 Identificação dos constituintes da fração diclorometano

Inicialmente esta fração foi submetida a análise por cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas de alta resolução (UFLC-ESI-qTOF-HRMS) e também foi submetida a derivatização por sililação para a análise por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM).

#### 4.1.3.1 Composição química da fração DCM das flores de *P. insignis* por cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas de alta resolução (UFLC-ESI-qTOF-HRMS)

A análise dos íons detectados foi realizada por comparação dos dados de massas de alta resolução contidos na literatura. Os espectros de massas foram selecionados tomando-se como referência os tempos de retenção ( $T_r$ ) das substâncias. Foram detectados na fração diclorometano das flores de *P. insignis* 5 compostos, sendo 2 pertencentes a classe dos biflavonoides, 1 polifenol e 2 acilfloroglucinol policíclico poliprenilado: moreloflavona (**1**), volkensiflavona (**2**), catequina (**3**), sinfonona F (**4**) e GFC (**5**). O perfil de UFLC-ESI-qTOF-HRMS da fração diclorometano é mostrado na Figura 13. A fórmula molecular, a massa molecular, o erro e o tempo de retenção dos compostos identificados na fração diclorometano por análise de UFLC-ESI-qTOF-HRMS são mostrados na Tabela 5.

Figura 13- Cromatograma de íons totais da fração DCM das flores de *P. insignis* por análise em UFLC-ESI-qTOF-HRMS

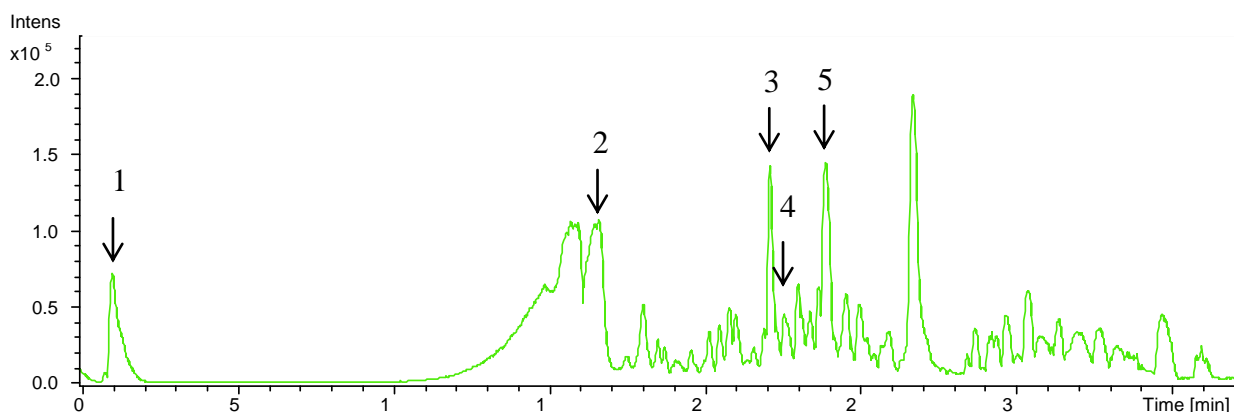


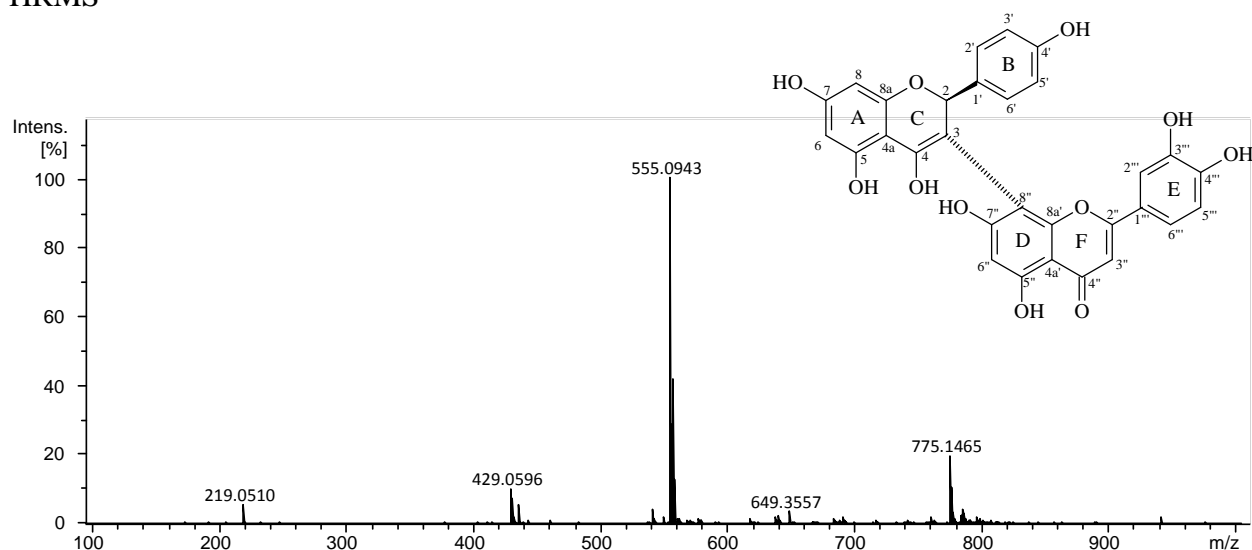
Tabela 5- Compostos detectados na fração DCM das flores de *P. insignis* por análise em UFLC-ESI-qTOF-HRMS

Pico	Composto	Tr (min)	[M-H] <sup>-</sup>	Erro	Fórmula molecular	Ref.
1	Moreloflavona	1,1	555,0943	-1,9	C <sub>30</sub> H <sub>19</sub> O <sub>11</sub>	LI et al., 2002
2	Volkensiflavona	16,7	539,1008	-4,6	C <sub>30</sub> H <sub>19</sub> O <sub>10</sub>	LI et al., 2002
3	Catequina	22,1	289,2318	23,0	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	ROCKENBACH et al., 2012
4	Sinfonona F	22,6	617,3484	0,5	C <sub>38</sub> H <sub>49</sub> O <sub>7</sub>	MARTI et al., 2010
5	GFC	23,9	601,3557	-3,7	C <sub>38</sub> H <sub>49</sub> O <sub>6</sub>	COSTA JÚNIOR et al., 2010

Tr: tempo de retenção; Ref.: referência

No cromatograma de íons totais da fração diclorometano das flores de *P. insignis* foi detectado no T<sub>r</sub> 1,1 min., o composto moreloflavona de fórmula molecular C<sub>30</sub>H<sub>20</sub>O<sub>11</sub> e com massa molecular 556, 1013, apresentando como íon molecular de alta resolução *m/z* 555,0943 [M-H]<sup>-</sup> como mostra a Figura 14.

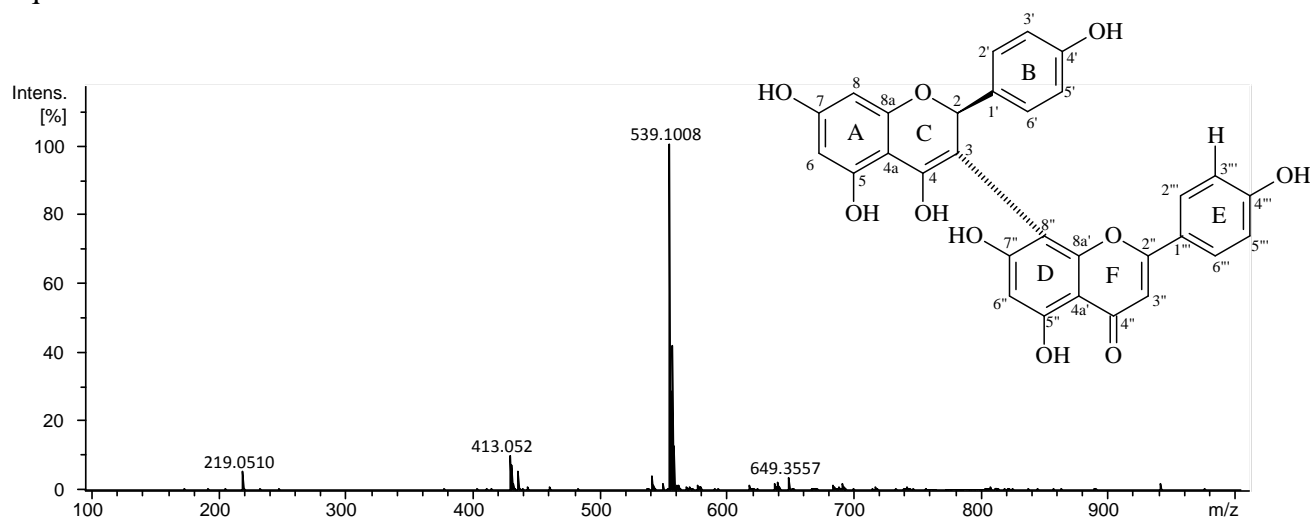
Figura 14- Espectro de massas obtido para o composto moreloflavona por UFLC-ESI-qTOF-HRMS



A banda 2 do cromatograma de íons totais da fração diclorometano, detectado no T<sub>r</sub> 16,7 min., refere-se ao biflavonoide volkensiflavona, composto de fórmula molecular

$C_{30}H_{20}O_{10}$  e com massa molar 540,1056. Este apresentou como íon molecular de alta resolução  $m/z$  539,1008  $[M-H]^-$  como mostra a Figura 15.

Figura 15- Espectro de massas obtido para o composto volkensiflavona por UFLC-ESI-qTOF-HRMS



Estes biflavonoides foram também identificados e isolados em mistura na fração acetato de etila do extrato hidroalcoólico das flores de *P. insignis*. A banda 3 do cromatograma de íons totais da fração diclorometano, detectado no  $T_r$  22,1 min., refere-se a catequina, composto de fórmula molecular  $C_{15}H_{14}O_6$  e com massa molar 290,1664. Este apresentou como íon molecular de alta resolução  $m/z$  289,2318  $[M-H]^-$  como mostra a Figura 16. Na Figura 17 a estrutura deste composto é representada.

Figura 16- Espectro de massas obtido para o composto catequina por LC-ESI-qTOF-HRMS

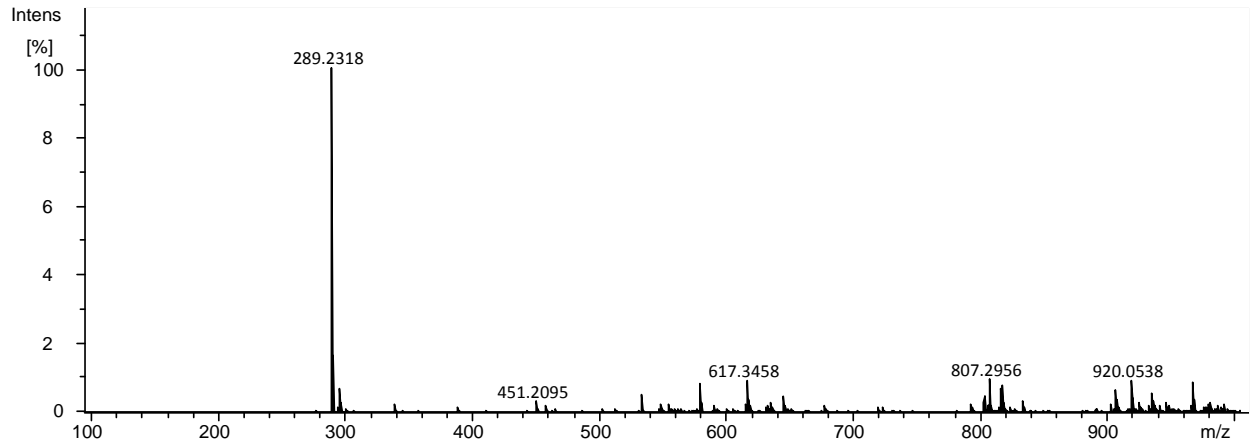
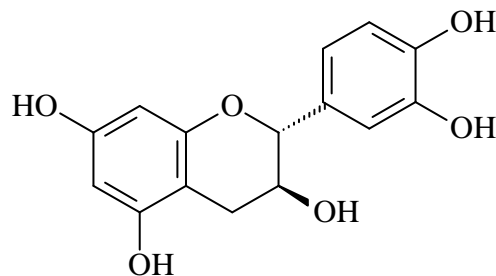


Figura 17- Estrutura química da catequina



No TIC da fração diclorometano, foi detectado no  $T_r$  22,6 min. o composto identificado como sinfonona F, um acilfloroglucinol policíclico poliprenilado de fórmula molecular  $C_{38}H_{50}O_7$  e com massa molecular 618, 3556, apresentando como íon molecular de alta resolução  $m/z$  617,3487  $[M-H]^-$ , como mostra a Figura 18. Este APPs foi também identificado no extrato acetato de etila das raízes de *Symphonia globulifera* L. F. (Clusiaceae), planta nativa da América do Sul, África e Madagascar (MARTI et al., 2010). Na Figura 19 a estrutura deste composto é representada.



Figura 18- Espectro de massas obtido para o composto sinfonona F por LC-ESI-qTOF-HRMS

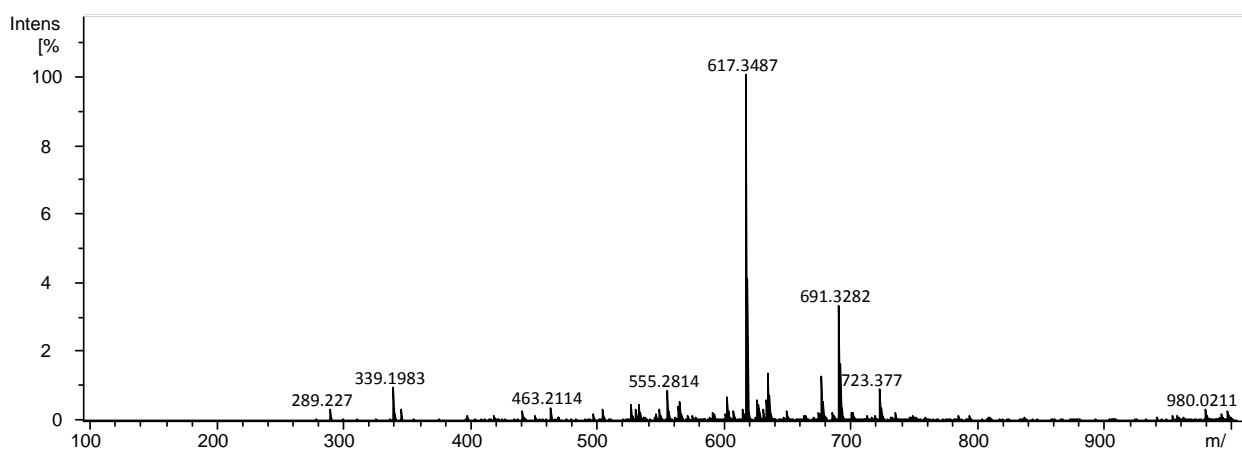
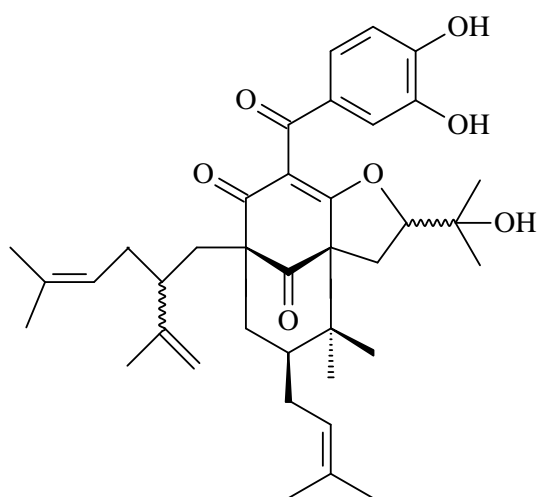
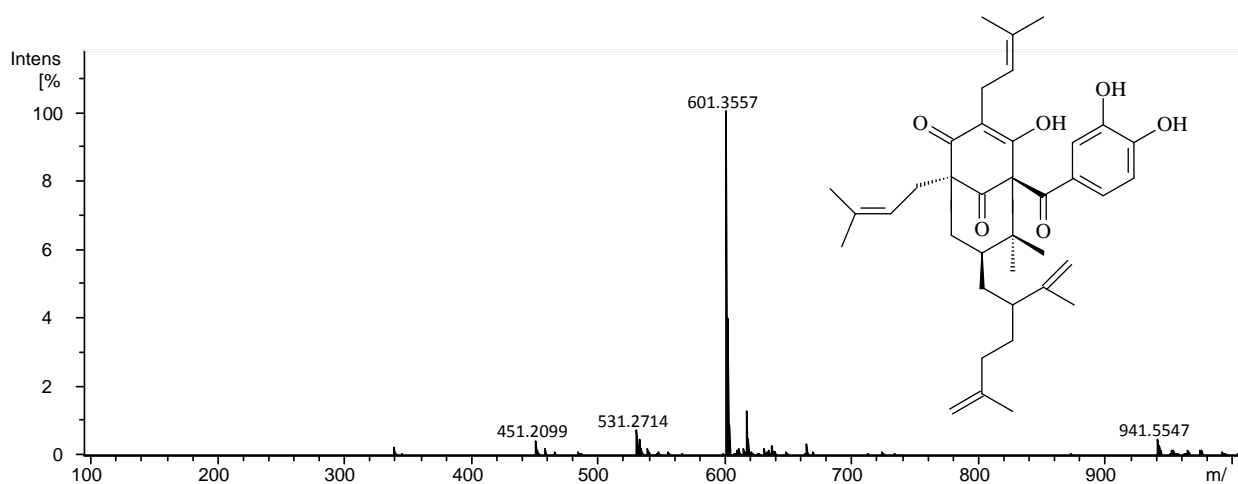


Figura 19- Estrutura química do composto sinfonona F



No cromatograma de íons totais da fração diclorometano das flores de *P. insignis* foi detectado no  $T_r$  23,9 min. um APPP<sub>S</sub> identificado como garcinielipitona FC (GFC) de fórmula molecular  $C_{38}H_{50}O_6$  e massa molecular 602,3412 apresentando como íon molecular de alta resolução 601,3557  $[M-H]^-$ , como mostra a Figura 20, este foi também identificado e isolado do extrato hexânico das sementes de *P. insignis* (COSTA JÚNIOR et al., 2010).

Figura 20- Espectro de massas obtido para o composto GFC por LC-ESI-qTOF-HRMS

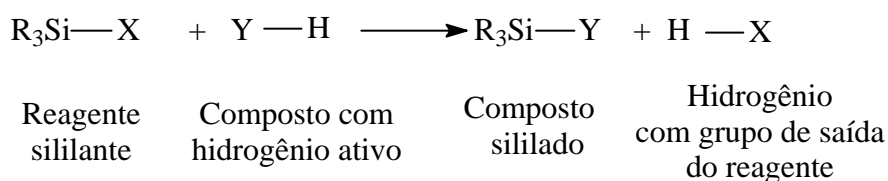


#### 4.1.3.2 Composição química da fração DCM sililada das flores de *P. insignis* por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM)

Para a realização de uma análise por cromatografia a gás, se faz necessário que as substâncias a serem analisadas sejam suficientemente voláteis e termicamente estáveis. Quando há a utilização de substâncias de alta massa molar ou contendo grupos funcionais de alta polaridade, ocorre a necessidade de derivatização. Esta é uma reação química de modificação de substâncias com a finalidade de gerar novos produtos com melhores propriedades cromatográficas, dentre os vários tipos de derivatização, a sililação é muito utilizada (COLLINS; BRAGA; BONATO, 2006; SCHUMMER, 2009).

A sililação é uma reação simples e rápida, ocorre em uma única etapa bloqueando os sítios próticos, favorecendo uma redução das interações do tipo ligação de hidrogênio, elevando a volatilidade dos compostos resultando em picos estreitos e simétricos (HARDMA; GILMAN, 2005). A reação geral para a formação do derivado é apresentada na Figura 21. Os perfis de CG-EM da fração diclorometano o extrato hidroalcoólico de *P. insignis* são mostrados na Figura 22.

Figura 21- Representação da reação de sililação utilizando substrato com hidrogênio ativo



Fonte: Hardma; Gilman, 2005

A identificação das substâncias foi realizada através da análise dos espectros de massas (íon molecular  $[M^+]$ , pico base e principais fragmentos) em comparação com os espectros de massas dos compostos descritos na literatura (ASSIMOPOULOU; PAPAGEORGIU, 2005; SANTOS et al., 2013; ZARETSKII et al., 1967). A abundância relativa (%), íon, fórmula molecular e tempo de retenção dos compostos identificados na fração diclorometano por análise em CG-EM são mostrados na Tabela 6.

Figura 22- Cromatograma de íons totais da fração DCM sililada das flores de *P. insignis* por análise em CG-EM

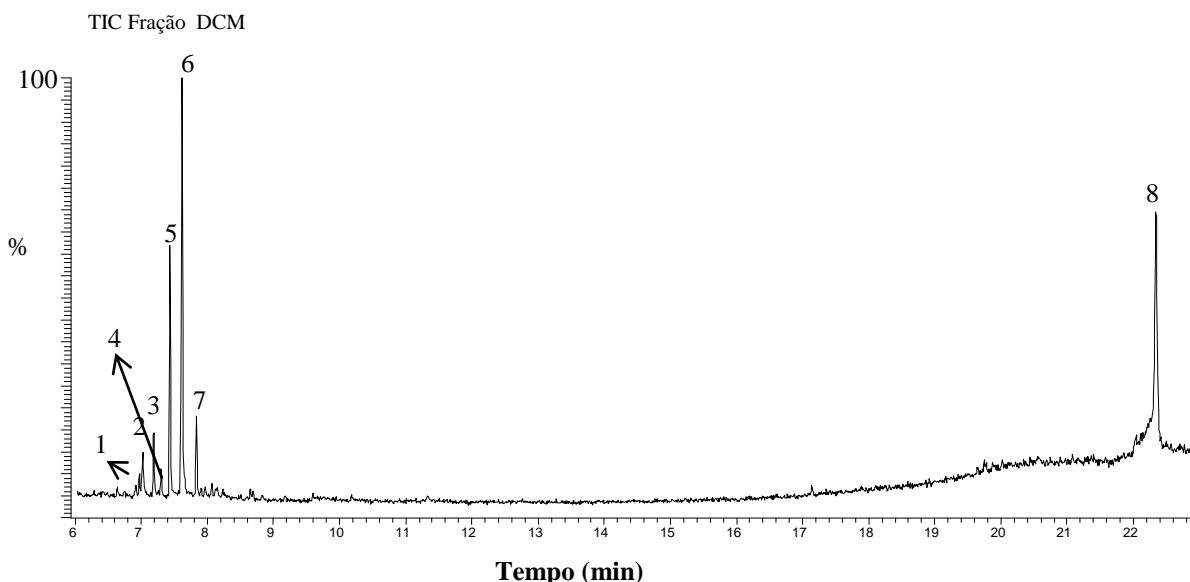


Tabela 6- Constituintes identificados na fração DCM sililada das flores de *P. insignis* por análise de CG-EM

	Constituintes químicos	Tr (min)	(%)	Fragmentos	[M <sup>+</sup> ]
1	Xantona não identificada	6,98	1,47	229(100), 73(51), 303 (49)	462
2	n.i	7,02	4,11	297(100), 223(88), 267(69)	312
3	3,5-dihidroxi-1,2-dimetoxixantona TMS	7,20	4,79	73 (100), 273 (75), 229 (74)	432
4	n.i	7,30	2,48	73 (100), 117 (63), 217 (41)	324
5	Xantona não identificada	7,43	17,23	73(100), 273 (89), 229 (88)	423
6	Xantona não identificada	7,62	31,77	273 (100), 147 (62), 73 (79)	421
7	Xantona não identificada	7,84	6,50	273 (100), 146 (91), 73 (77)	466
8	Garcinona B TMS	22,34	31,65	281 (100), 231(93), 69 (30)	610

\*n.i: não identificado; Tr: tempo de retenção

Os compostos 3,5-dihidroxi-1,2-dimetoxixantona e garcinona B foram tentativamente identificados na fração diclorometano das flores de *P. insignis*, estes já foram anteriormente identificadas em espécies da família Clusiaceae, como *Calophyllum caledonicum* e *Garcinia mangostana*, respectivamente (MOREL et al., 2002; WITTENAUER et al., 2012). As xantonas são bastante comuns nas espécies da família Clusiaceae e assim como os flavonoides possuem grande importância farmacológica. O espectro de massas da 3,5-dihidroxi-1,2-dimetoxixantona está representado na Figura 23 e sua proposta de fragmentação é representada nas Figuras 24 e 25 para  $m/z$  229 e  $m/z$  273, respectivamente, que são picos característicos de xantonas. Os espectros de massas dessa substância não derivatizada, apresentam o íon  $m/z$  273 como pico base e o 229, como o segundo de maior intensidade.

Figura 23- Espectro de massas da 3,5-dihidroxi-1,2-dimetoxixantona

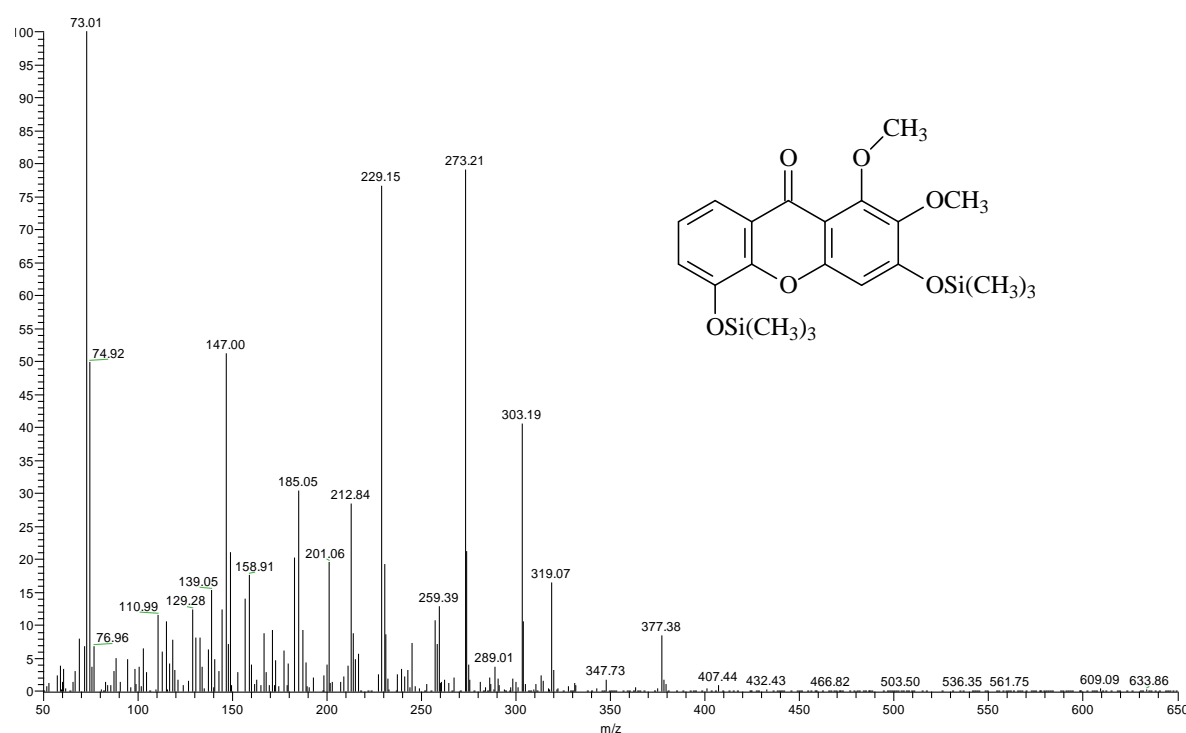
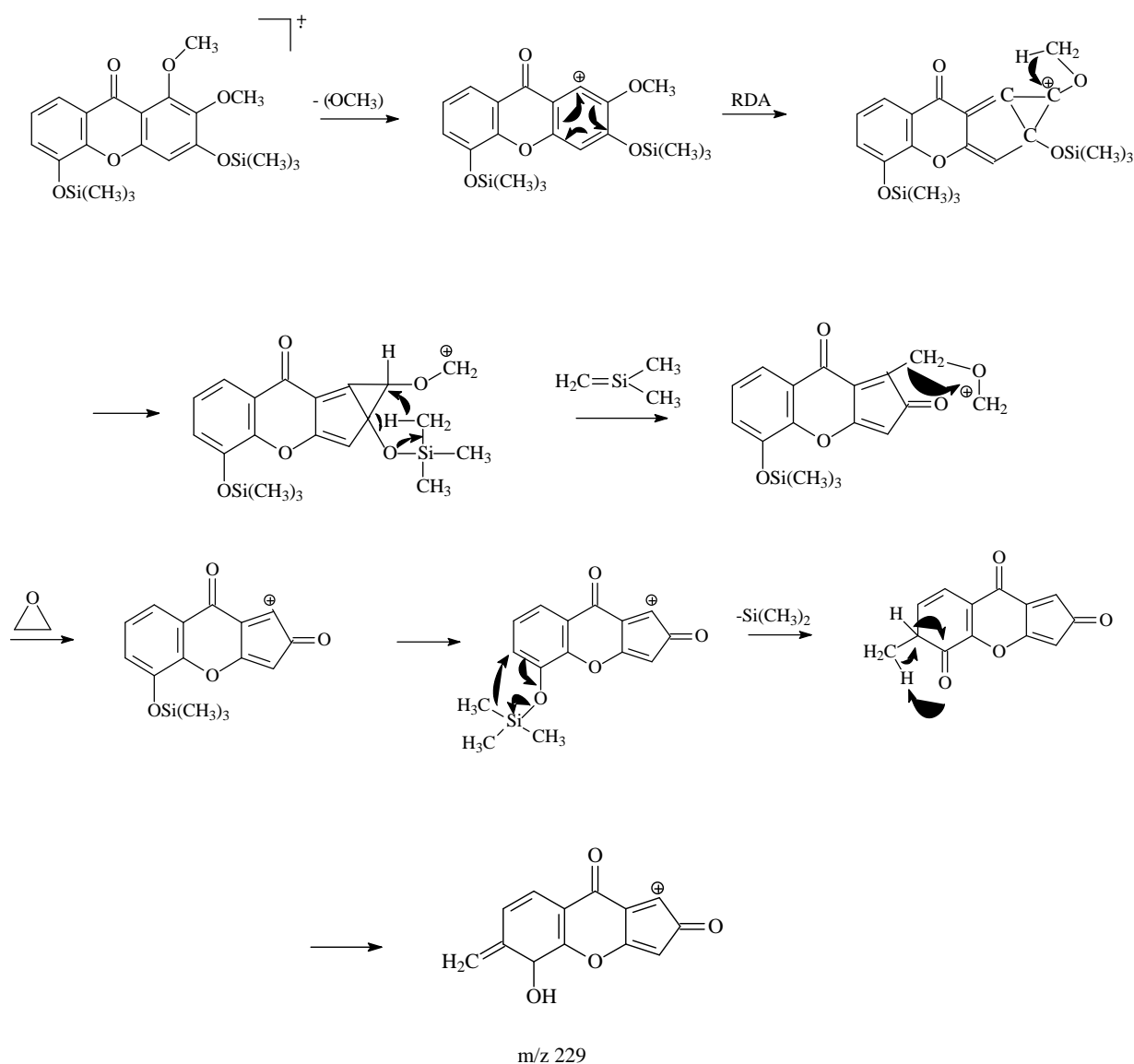
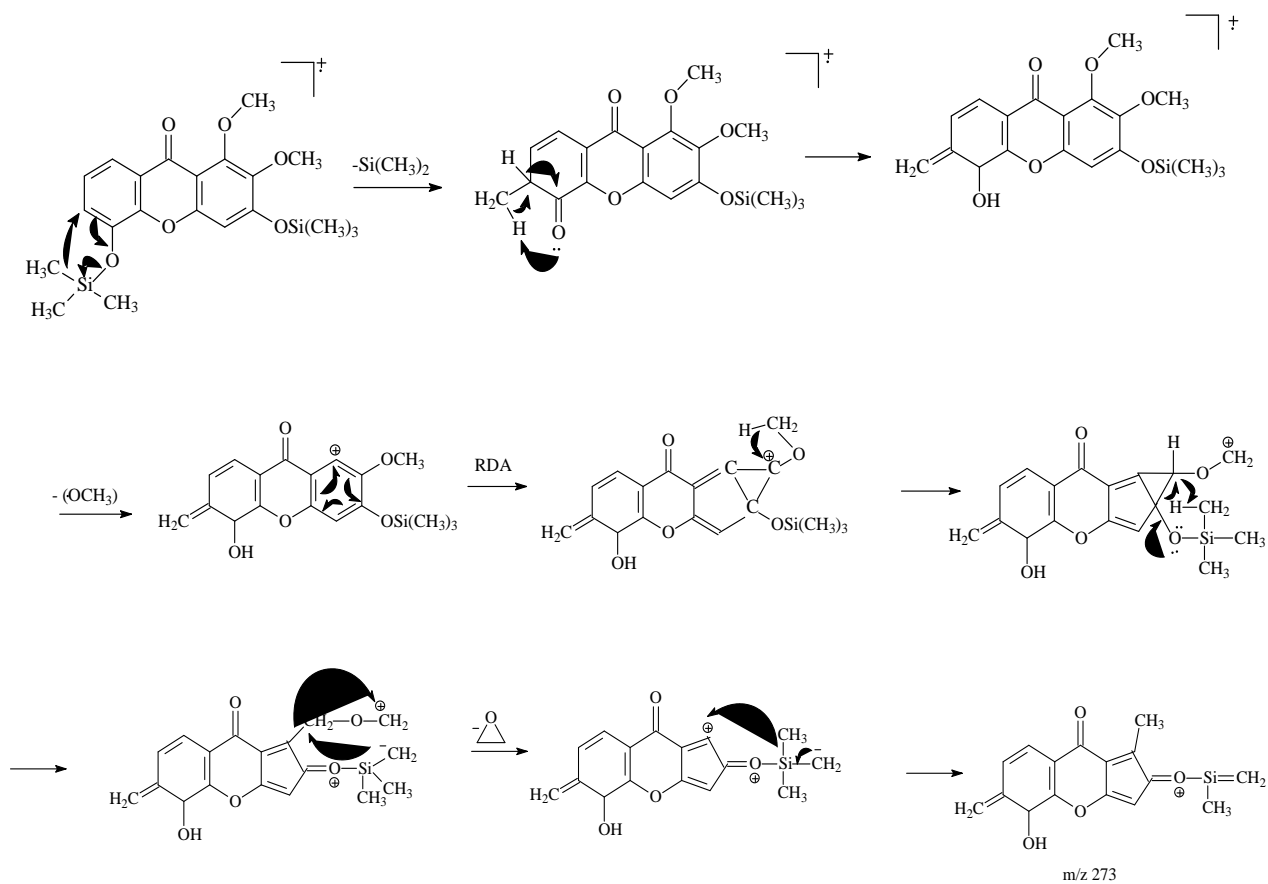


Figura 24- Proposta de fragmentação para  $m/z$  229 da 3,5-dihidroxi-1,2-dimetoxixantona



A proposta de fragmentação acima representa a formação do fragmento  $m/z$  229, que pode ocorrer pela perda de uma metoxila, seguida de uma reação retro- Diels-Alder, para a liberação de  $[H_2C-Si(CH_3)_2]$ , com posterior perda de epóxido e  $[Si(CH_3)_2]$ .

Figura 25- Proposta de fragmentação para  $m/z$  273 da 3,5-dihidroxi-1,2-dimetoxixantona



Para a formação do fragmento  $m/z$  273, representada na proposta acima, ocorreu a liberação de  $[\text{Si}(\text{CH}_3)_2]$  seguida da perda de uma metoxila. Após uma reação retro-Diels-Alder, ocorre a liberação de epóxido com posterior formação do fragmento.

O espectro de massas da garcinona B está representado na Figura 26 e sua proposta de fragmentação é representada nas Figuras 27 e 28

Figura 26- Espectro de massas da garcinona B

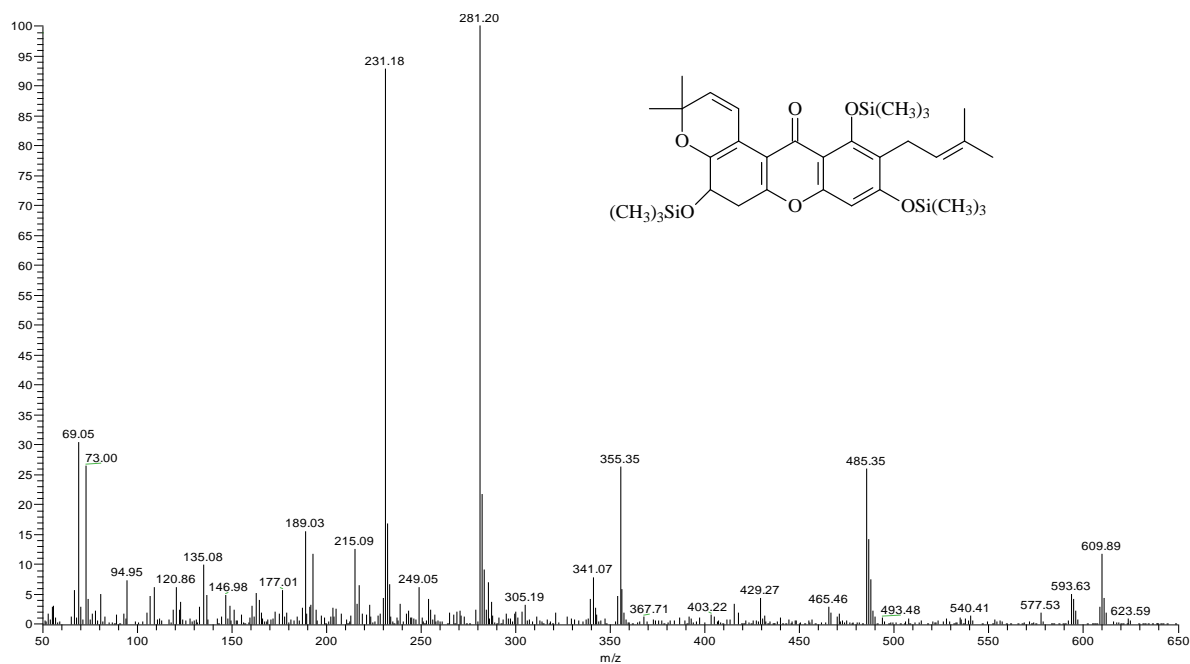
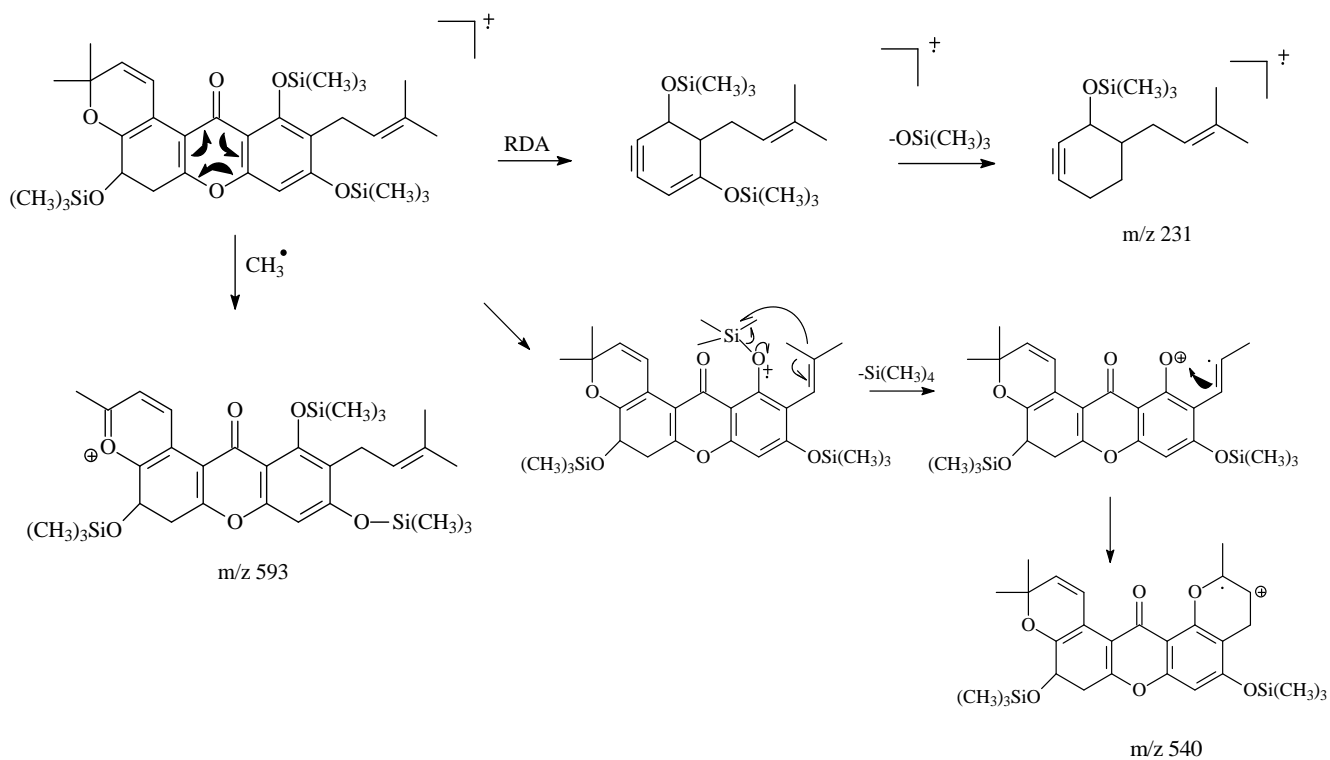


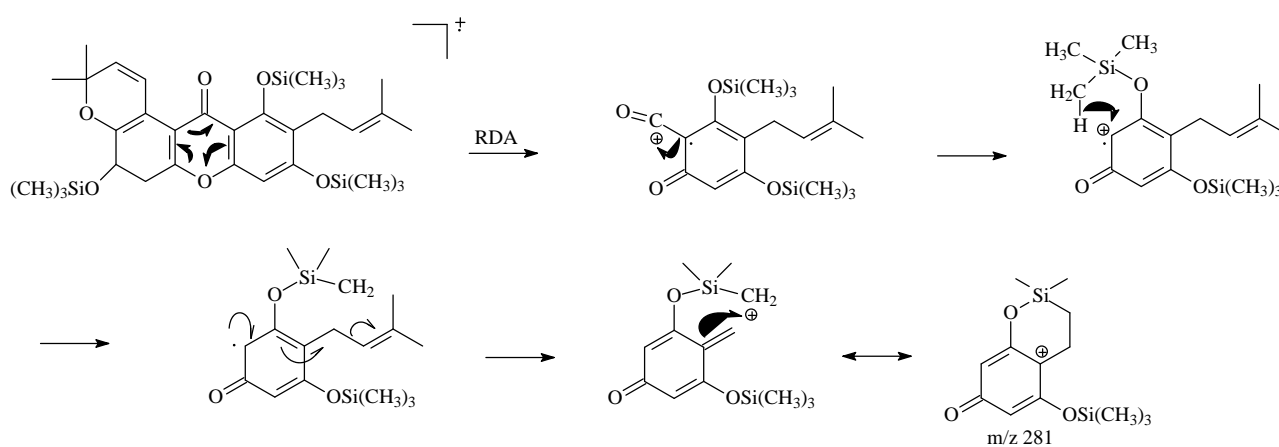
Figura 27- Proposta de fragmentação para  $m/z$  231,  $m/z$  593 e  $m/z$  540 da garcinona B





De acordo com a proposta de fragmentação acima o pico  $m/z$  593, representa a perda de uma metila a partir do íon molecular da garcinona B ( $M^+$  610) . Para a formação do fragmento  $m/z$  231, ocorre uma reação retro-Diels-Alder, e posterior perda de  $[\text{OSi}(\text{CH}_3)_3]$ . O pico  $m/z$  540 representa a perda de  $[\text{Si}(\text{CH}_3)_4]$ .

Figura 28- Proposta de fragmentação para  $m/z$  281 da garcinona B

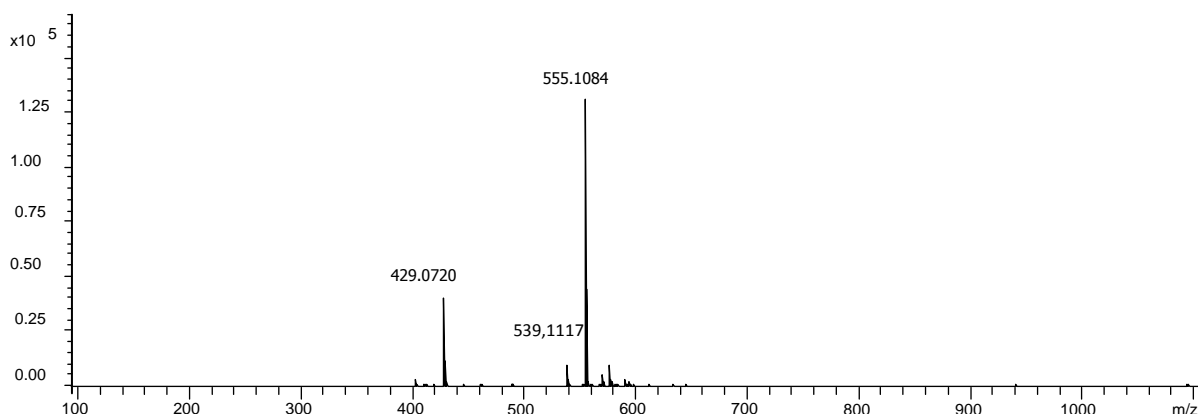


A proposta de fragmentação acima representa a formação do fragmento  $m/z$  281 este é formado a partir de uma reação retro-Diels-Alder. Os padrões de fragmentação obtidos na análise em comparação com os dados da literatura sugerem que as bandas 1, 5, 6 e 7 tratam-se de xantonas. Para o composto 1, o fragmento mais abundante foi  $m/z$  229, este pode ser formado através de uma reação retro-Diels-Alder na ligação dupla C-9a-C-4a, do anel A do núcleo xântônico. A formação do fragmento  $m/z$  273, nos compostos 5, 6 e 7, pode ser justificada pela perda de uma unidade  $\text{C}_4\text{H}_8$  (56 Da), que é uma perda característica de xantonas preniladas (ZHOU et al., 2008).

#### 4.1.4 Identificação dos constituintes da fração acetato de etila

Para a identificação dos constituintes desta fração realizou-se processo cromatográfico em coluna seca de sílica. A separação cromatográfica da fração AcOEt do extrato hidroalcoólico das flores de *P. insignis* em coluna seca de sílica, resultou na identificação de compostos pertencentes à classe dos biflavonoides, moreloflavona (**4**) e volkensiflanova (**5**). A subfração F1', eluída com MeOH/H<sub>2</sub>O (1:1, v/v), um sólido amarelo amorfo, que após análise por ESI-MS, operando no modo de ionização negativo evidenciou tratar-se de uma mistura de compostos com [M-H]<sup>-</sup> de 555,1084 e 539,1117, com as respectivas fórmulas moleculares C<sub>30</sub>H<sub>19</sub>O<sub>11</sub> e C<sub>30</sub>H<sub>19</sub>O<sub>10</sub>. A Figura 29 representa o espectro de massas da subfração

Figura 29- Espectro de massas da subfração F1' das flores de *P. insignis* por ESI-qTOF

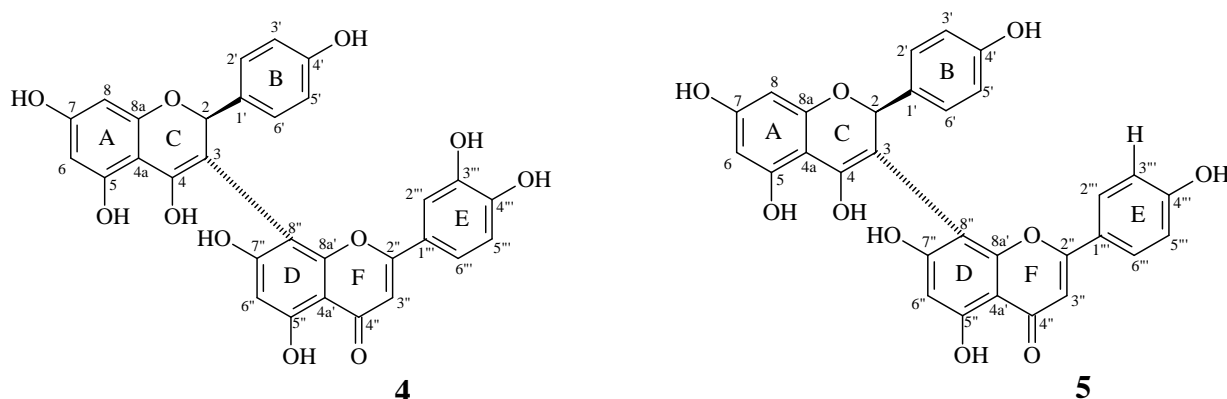


##### 4.1.4.1 Identificação estrutural dos compostos de 4-5

O espectro na região do infravermelho (Figura 30) revelou bandas de absorção em: 3399 cm<sup>-1</sup> característica de deformação axial de ligação O-H; 1643 e 1610 cm<sup>-1</sup> deformação angular C=O de carbonila; 2963 a 2922 cm<sup>-1</sup> de deformação axial de C-H; 1517 a 1426 cm<sup>-1</sup> de deformação angular C=C; além de absorção em 1088 e 1050 cm<sup>-1</sup> de deformação axial de C-O.

Aliado a isso, os dados de Ressonância Magnética Nuclear de <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, DEPT, HSQC e HMBC (Figuras 31 a 35) em comparação com dados registrados na literatura permitiu a identificação desta fração como uma mistura de dois biflavonoides do tipo, flavonona-(3→8)-

flavona: moreloflavona (**4**) e volkensiflavona (**5**) sendo a primeira majoritária (LI et al., 2002).



O espectro de RMN  $^1\text{H}$  apresentou sinais em  $\delta_{\text{H}}$  5,75 (s), referente ao hidrogênio H-2 e a ausência dos sinais de H-3 em  $\delta_{\text{H}}$  4,78 e de C-3 em  $\delta_{\text{C}}$  50,9 que foi deslocado para  $\delta_{\text{C}}$  104,0 sugere que as estruturas encontram-se na forma enólica. Na literatura, os tautômeros descritos encontram-se na forma cetônica e os hidrogênios H-2 e H-3, apresentam dupletos com constante de acoplamento,  $J = 12$  Hz, indicando que estes ocupam posição diaxial.

Os sinais presentes no espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  em  $\delta_{\text{C}}$  82,6, 104,0, 165,8, e 103,4 (C-2, C-3, C-2'' e C-3'') confirmam a existência de duas unidades flavonoídicas distintas: uma flavonona e uma flavona. Os sinais em  $\delta_{\text{H}}$  7,11 (d,  $J = 8,2$  Hz) e 6,43 (d,  $J = 6,9$  Hz) atribuídos aos pares de átomos de hidrogênios H-2'/H-6' e H-3'/H-5', respectivamente, confirmam o padrão de substituição característica de anel *p*-substituído da porção flavonona do biflavonoide.

Os singletos em  $\delta_{\text{H}}$  5,97 e 5,98 referem-se aos hidrogênios H-6 e H-8, respectivamente. São observadas no COSY as correlações em  $\delta_{\text{H}}$  7,11 com  $\delta_{\text{H}}$  6,43 referentes aos átomos H-2'/H-6' e H-3'/H-5', respectivamente. O hidrogênio H-5''' em  $\delta_{\text{H}}$  6,92 (d,  $J = 8,4$  Hz) correlacionando com o H-6''' em  $\delta_{\text{H}}$  7,30 (d,  $J = 8,4$  Hz), confirmando a substituição 3''' e 4''' do anel E.

Os dois singletos em  $\delta_{\text{H}}$  6,43 e 6,26 são referentes aos átomos de hidrogênio nas posições 3'' e 6'', respectivamente. A análise do espectro de HMBC mostrou, dentre outras correlações, o átomo de hidrogênio da posição 2 ( $\delta_{\text{H}}$  5,75) com o átomo de carbono na posição 2' ( $\delta_{\text{C}}$  129,2), os hidrogênios H-2'/H-6' ( $\delta_{\text{H}}$  7,11) com o carbono na posição 2 ( $\delta_{\text{C}}$  82,6). Todos os dados de RMN da mistura estão apresentados na Tabela 7. De acordo com Li et al., (2002), o espectro de RMN  $^1\text{H}$  deste tipo de biflavonoides apresenta pobre resolução devido a existência de várias conformações, resultando em fortes interações intra e intermolecular por ligação de hidrogênio, dado o grande número de hidroxilas presentes.

Figura 30- Espectro no infravermelho da mistura 4 e 5

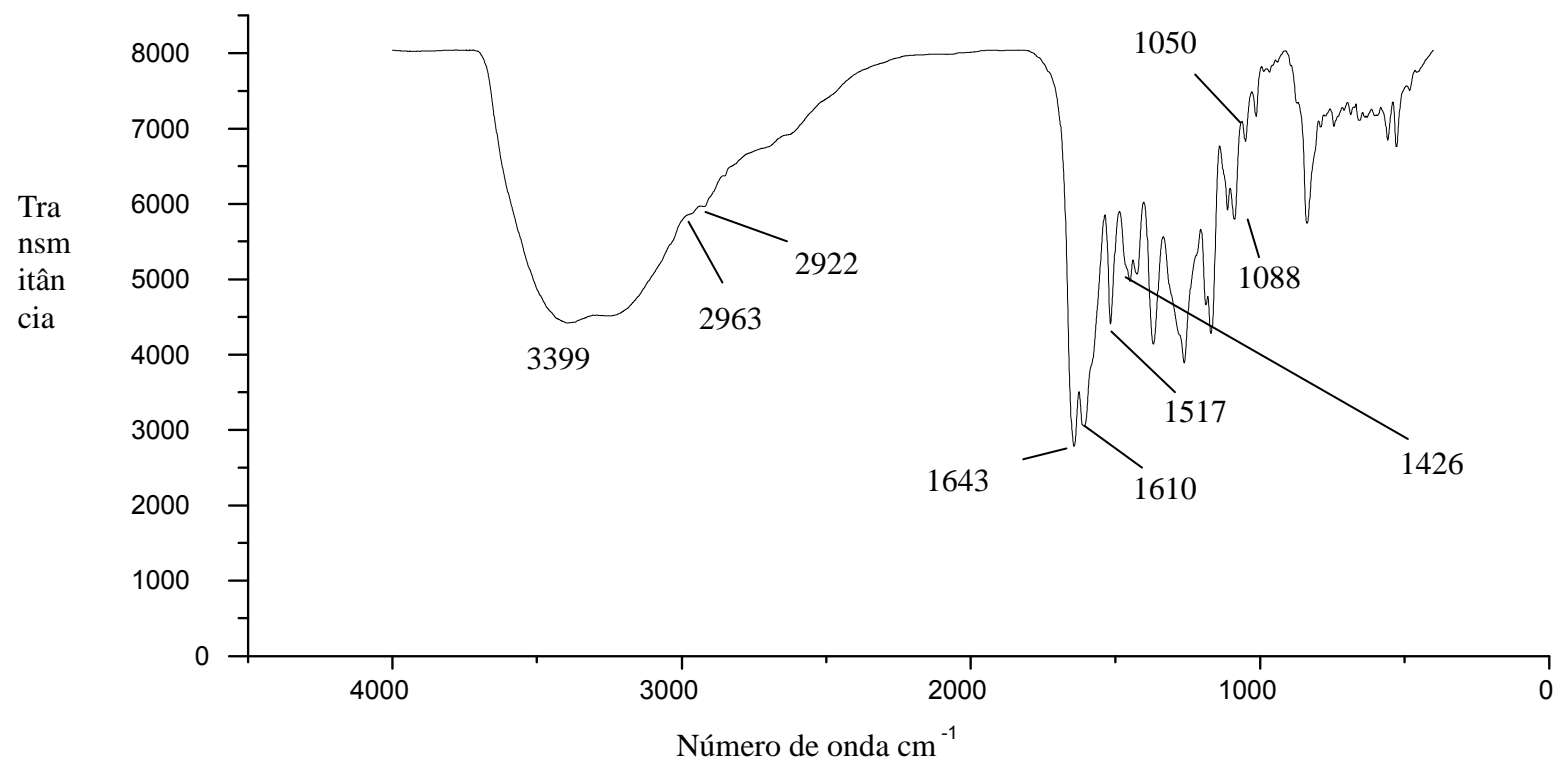


Tabela 7- Dados de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  da Volkensiflavona e Morelloflavona, incluindo correlação heteronuclear através de uma ligação (HSQC:  $^1\text{J}_{\text{CH}}$ ) e a longa distância (HMBC:  $^n\text{J}_{\text{CH}}$ , n= 2 e 3). ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 100 MHz)

Posição	Morelloflavona (forma enólica)					Volkensiflavona (forma enólica)				
	HSQC		HMBC		Lit*(cetona)	HSQC		HMBC		Lit*(cetona)
	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$^2\text{J}_{\text{CH}}$	$^3\text{J}_{\text{CH}}$	$\delta_{\text{C}}^*$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$^2\text{J}_{\text{CH}}$	$^3\text{J}_{\text{CH}}$	$\delta_{\text{C}}^*$
2	82,6	5,75 (sl)		H-2'; H-6'	82,8	83,8	5,62 (s)			82,3
3	104,0	-			50,9	105,3	**			48,8
4	197,8	-			198,0	198,4	-			197,9
4a	102,0	-			101,8	103,1	-			102,9
5	158,5	-			158,7	166,1	-			165,5
5-OH	-	12,18 (s)			-	-	12,18 (s)			-
6	96,4	5,97 (s)		H-8	96,5	97,6	6,06 (d J=7,5 Hz)			97,5
7	162,5	-			162,4	168,8	-			168,3
8	97,4	5,99 (s)			97,5	96,6	6,06 (d J=7,5 Hz)			96,4
8a	162,5	-			162,7	164,4	-			164,4
1'	130,4	-		H-3'; H-5'	130,6	129,8	-		H-2	129,7
2'	129,2	7,11 (d J=8,4 Hz)	H-3'	H-2; H-6'	129,4	130,4	7,07 (d J=8,2 Hz)			130,0
3'	115,5	6,43 (d J=6,9 Hz)		H-5'	115,7	116,3	6,43 (d J=6,9 Hz)			116,9
4'	157,4	-		H-2'; H-6'	157,5	158,8	-			159,3
5'	115,5	6,43 (d J=6,9 Hz)		H-3'	115,7	116,3	6,43 (d J=6,9 Hz)			116,9
6'	129,8	7,11 (d J=8,4 Hz)			129,9	130,4	7,07 (d J=8,2 Hz)			130,0
2''	165,8	-		H-2'''; H-6'''	164,9	164,4	-			164,2
3''	103,4	6,43 (s)			103,5	103,1	6,43 (s)			103,6
4''	183,8	-			184,0	183,8	-			182,8
4a'	103,1	-			103,0	104,9	-		H-3''	104,7
5''	164,8	-			164,5	163,3	-			163,3
5''-OH	-	12,74 (s)			-	-	12,74 (s)			-
6''	99,8	6,26 (s)			99,9	98,2	6,26 (s)			99,8
7''	168,2	-			168,3	168,8	-			168,2
8''	103,4	-		H-6''	103,3	102,0	-		H-6''	102,1

Tabela 7- Dados de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  da Volkensiflavona e Morelloflavona, incluindo correlação heteronuclear através de uma ligação (HSQC:  $^1\text{J}_{\text{CH}}$ ) e a longa distância (HMBC:  $^n\text{J}_{\text{CH}}$ , n= 2 e 3). ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 100 MHz)

Posição	Morelloflavona (forma enólica)					Volkensiflavona (forma enólica)				
	HSQC		HMBC		Lit* (cetona)	HSQC		HMBC		Lit*(cetona)
	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$^2\text{J}_{\text{CH}}$	$^3\text{J}_{\text{CH}}$	$\delta_{\text{C}}^*$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$^2\text{J}_{\text{CH}}$	$^3\text{J}_{\text{CH}}$	$\delta_{\text{C}}^*$
8a'	168,2	-			168,8	162,2	-			162,4
1'''	120,5	-	H-2'''	H-3'''	120,6	123,4	-			122,3
2'''	114,1	7,35 (sl)		H-6'''	114,2	129,2	7,75 (d J=8,4 Hz)			129,2
3'''	146,8	-		H-5'''	147,0	116,3	6,64 (d J=8,1 Hz)			115,8
4'''	151,0	-		H-2'''; H-6'''	151,0	157,4	-			156,8
5'''	116,8	6,92 (d J=8,4 Hz)			117,0	116,3	6,64 (d J=8,1 Hz)			115,8
6'''	120,5	7,30 (d J=8,4 Hz)			120,7	129,2	7,75 (d J=8,4 Hz)			129,2

Figura 31 -Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da mistura **4** e **5** ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz)

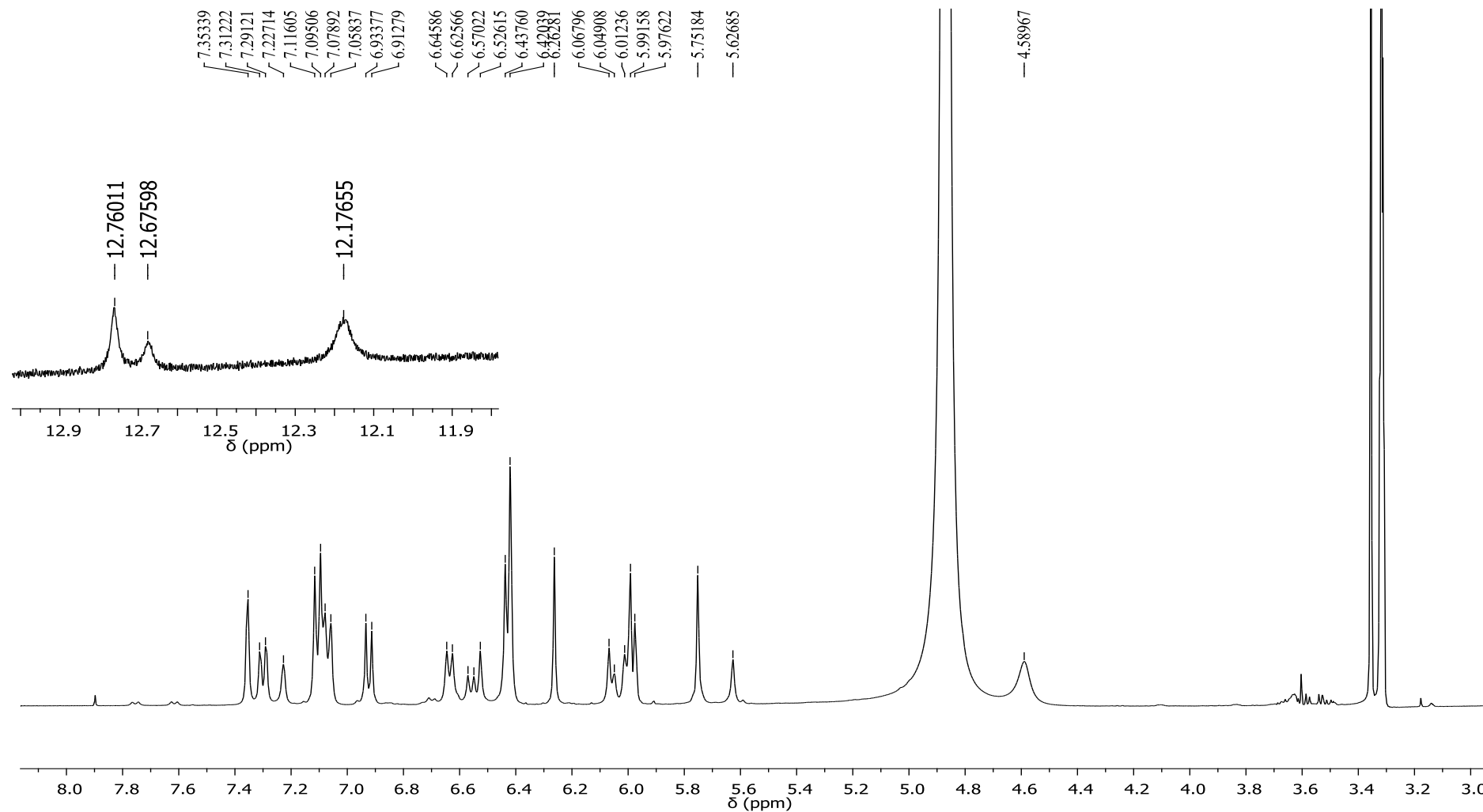


Figura 32- Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  da mistura **4** e **5** ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 100 MHz)

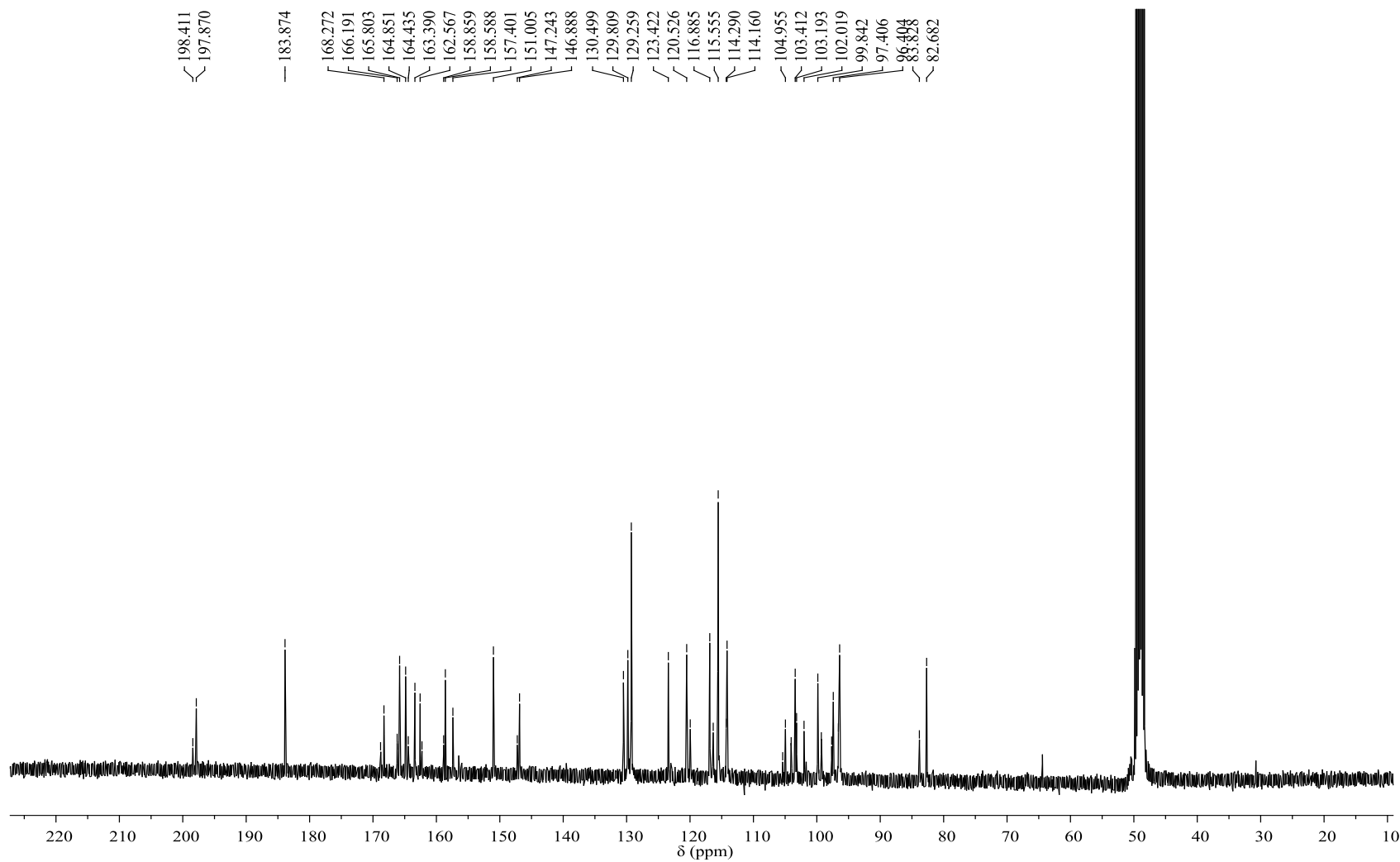




Figura 33- Mapa de contornos HSQC de  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  de **4** e **5** (400 e 100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )-expansão da região de  $\delta_{\text{H}}$  5,1-7,7 e  $\delta_{\text{C}}$  70-160

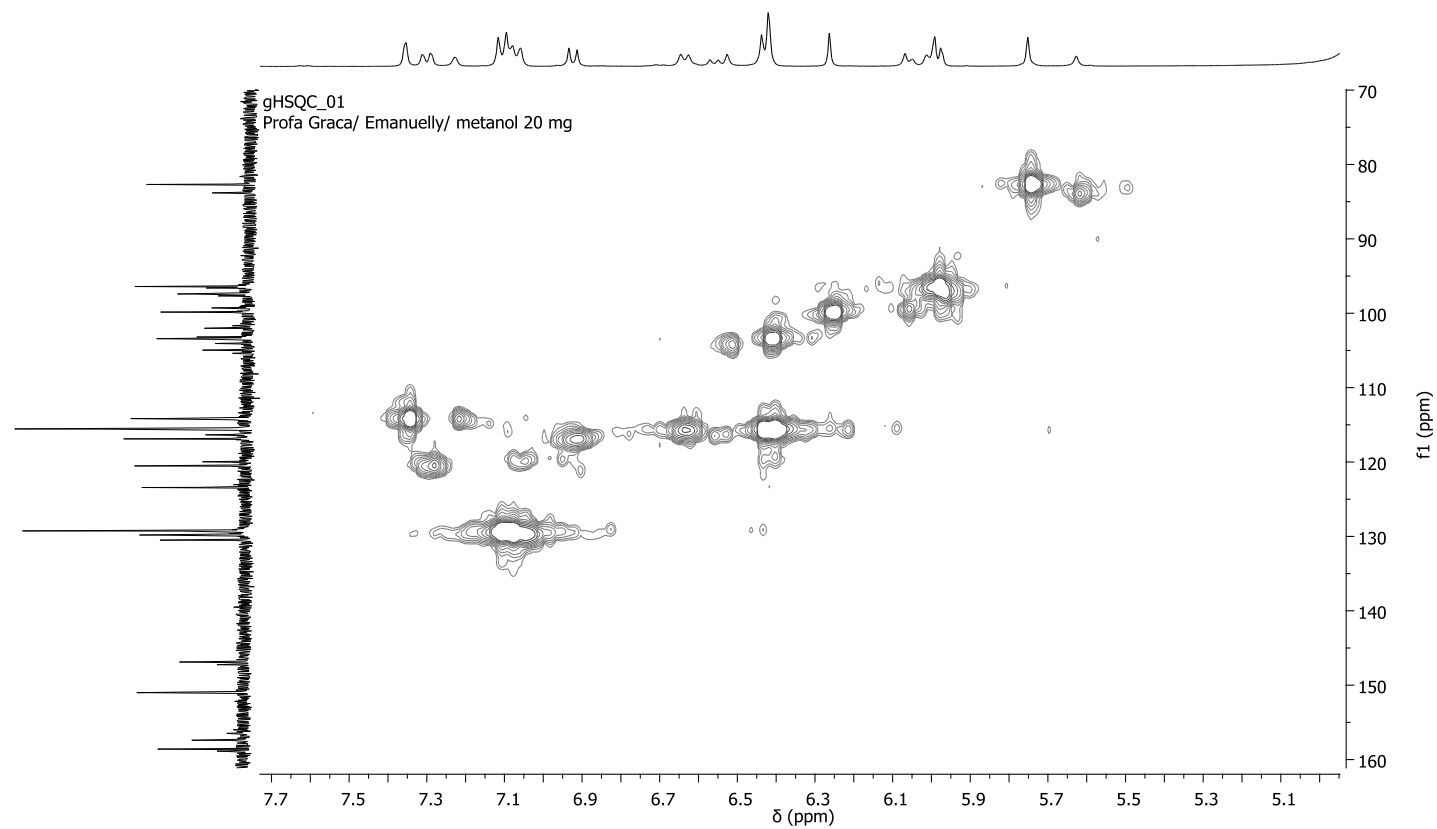


Figura 34- Mapa de contornos HMBC de  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  de **4** e **5** (400 e 100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )-expansão da região de  $\delta_{\text{H}}$  5,25- 6,15 e  $\delta_{\text{C}}$  80-170

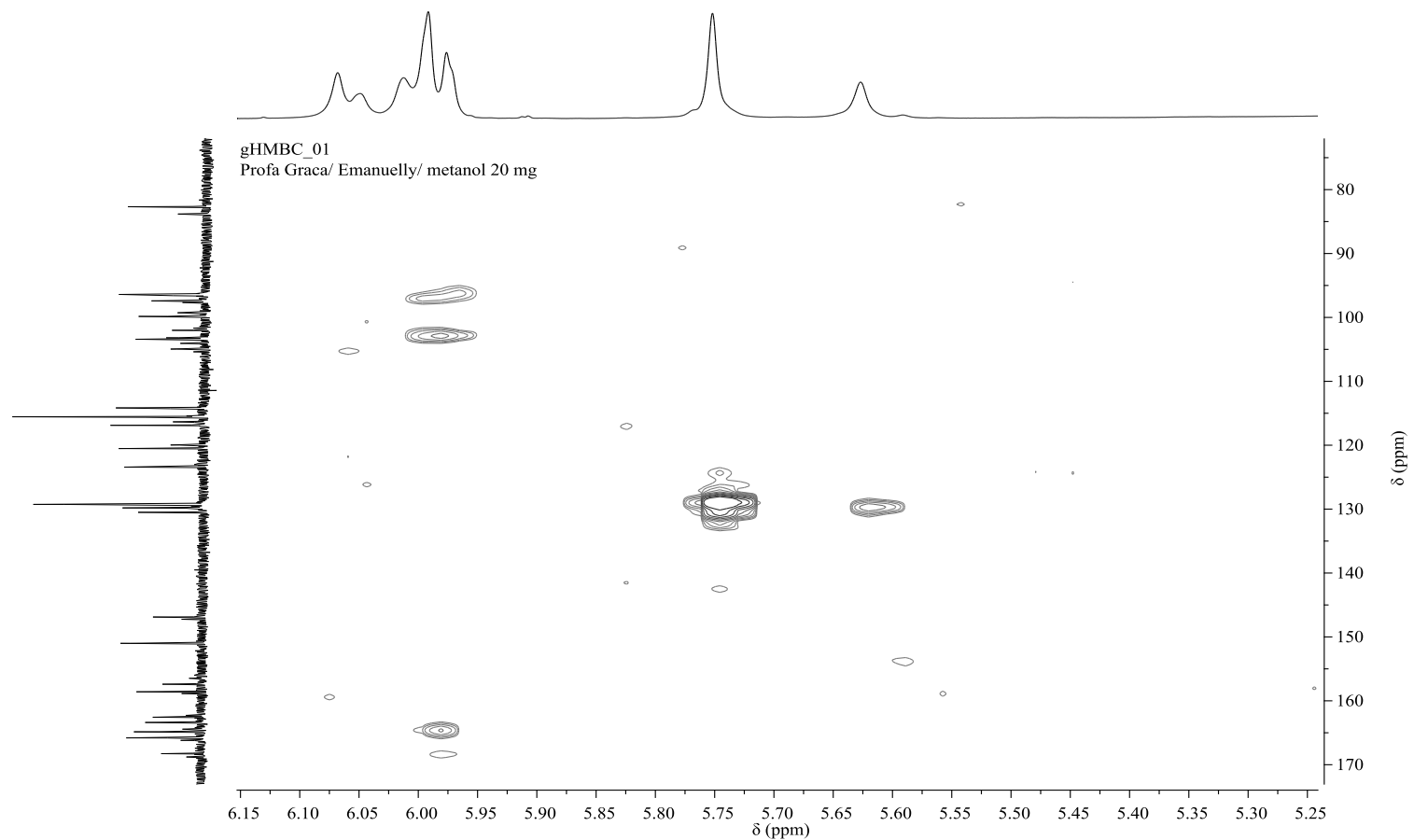
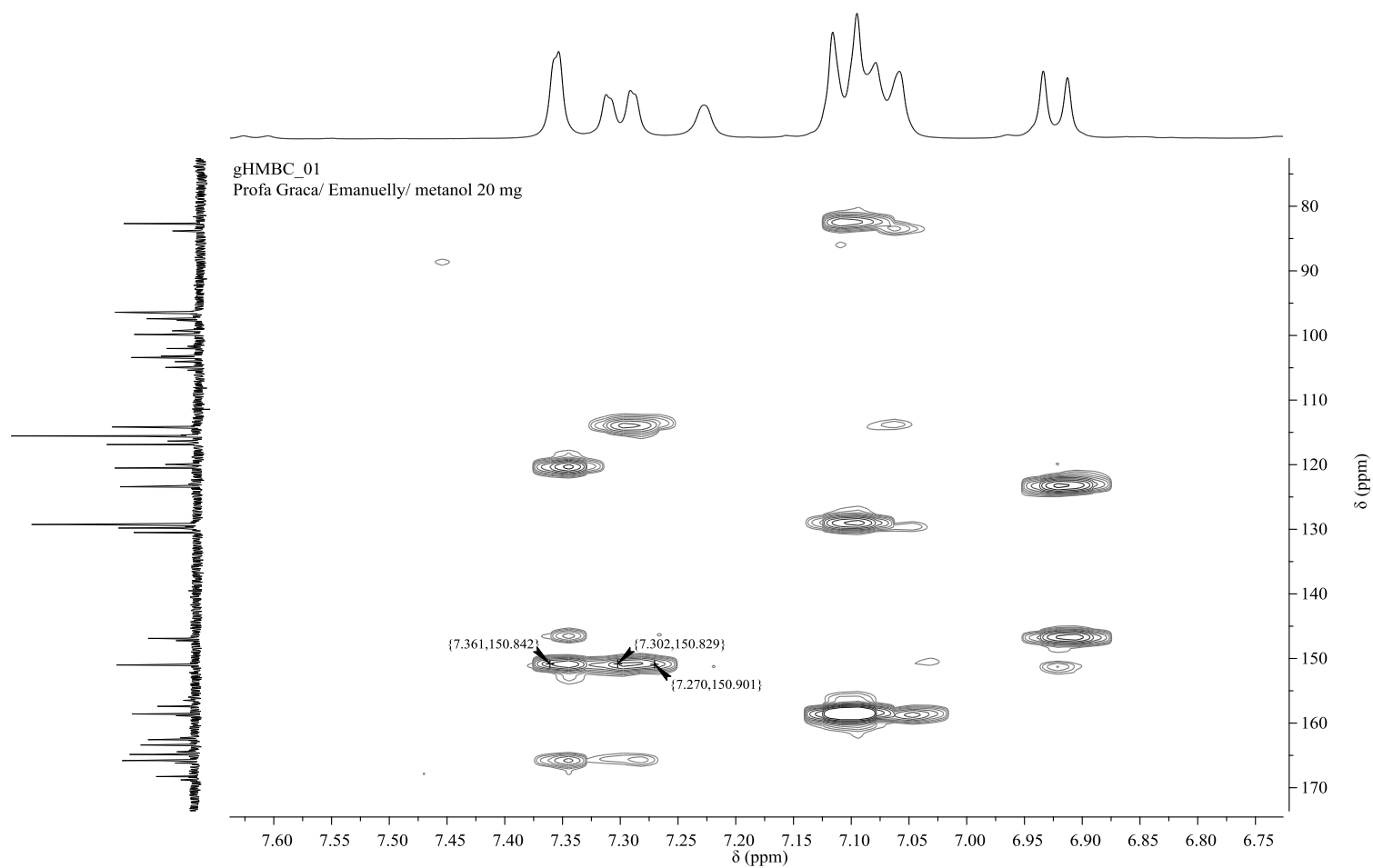


Figura 35- Mapa de contornos HMBC de  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  de **4** e **5** (400 e 100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )-expansão da região de  $\delta_{\text{H}}$  6,75- 7,60 e  $\delta_{\text{C}}$  80-170

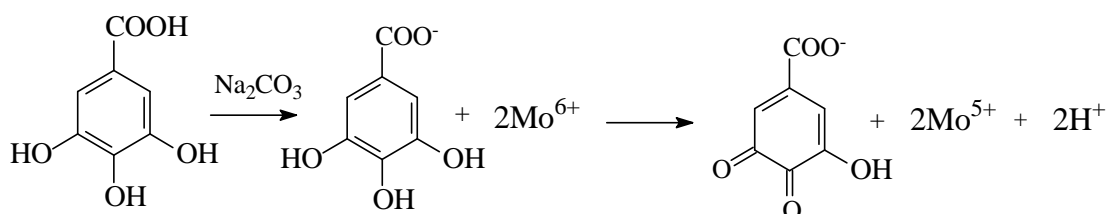


#### 4.5 Teor de fenóis e flavonoides totais

Vários métodos são utilizados para a quantificação dos teores de fenóis totais, dentre eles o mais utilizado é o método espectrofotométrico que utiliza o reagente Folin-Ciocalteu. Este reagente de cor amarela é constituído de uma mistura dos ácidos fosfomolibdídico e fosfotungstístico, no qual o molibdênio e o tungstênio apresentam estado de oxidação 6+, quando estão na presença de substâncias fenólicas são reduzidos a complexos de molibdênio-tungstênio azuis, e apresentam estados de oxidação variando entre 5+ e 6+ (KAMAL-ELDIN, 2008; OLIVEIRA et al., 2009; SOUSA et al., 2007).

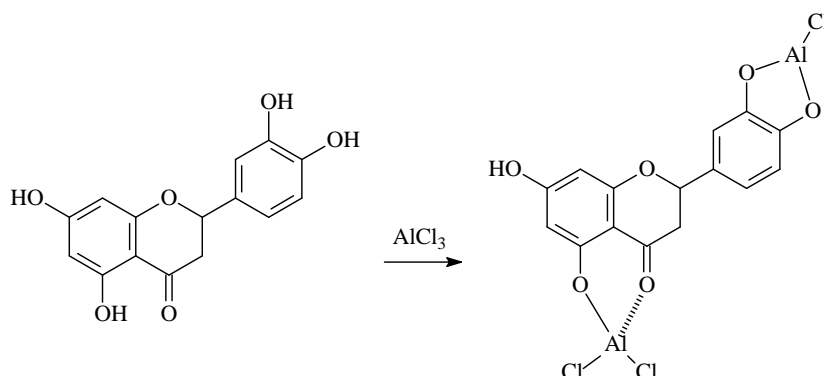
A reação entre o reagente de Folin-Ciocalteu e os agentes redutores em meio básico produz ânions fenolatos que reagem facilmente, reduzindo o molibdênio e a cor do meio reacional muda, passa de amarela para azul (Figura 36) (OLIVEIRA et al., 2009).

Figura 36- Reação de redução do reagente de Folin-Ciocalteu



Fonte: Oliveira et al., 2009

Para a quantificação de flavonoides em plantas, um método muito utilizado é o ensaio que se baseia na formação de um complexo utilizando cloreto de alumínio é bastante empregado. A Figura 37 representa como ocorre a formação do complexo flavonoide-alumínio (FERREIRA et al., 2014; FERNANDES et al., 2012)

Figura 37- Complexação de um flavonoide com solução metanólica de  $\text{AlCl}_3$ 

Fonte: Ferreira et al., 2014

A importância de polifenóis e compostos relacionados na família Clusiaceae estão associados a propriedades biológicas e farmacológicas tais como, antioxidante, citotóxico e antimicrobiano.

A investigação fitoquímica de *Garcinia gradneriana* mostrou a presença de substâncias fenólicas que incluem flavonoides, flavonoides glicosilados com atividade analgésica, antifúngica e anti-inflamatória (ex., amentoflavona, um biflavonóide comum na família Clusiaceae) (NOLDIN et al., 2006). Em termos quimiossistemáticos, biflavonoides assim como benzofenonas e xantonas, tem sido relatados como potenciais marcadores taxonômicos na subfamília Clusioidae (FERREIRA; CARVALHO; SILVA, 2012).

Os resultados dos teores de fenóis totais (FT) e flavonoides totais (FLAT) do extrato hidroalcoólico e frações de *Platonia insignis* são mostrados na Tabela 8.

Tabela 8 - Conteúdos de fenóis e flavonoides totais do extrato hidroalcoólico e frações das flores de *P. insignis*

Amostra	FT	FLAT
	mg EAG g MVF <sup>-1</sup>	mg EQ g MVF <sup>-1</sup>
Extrato hidroalcoólico	1511,20 ± 13,41	157,70 ± 0,29
Fração Hex	1336,73 ± 20,32	97,17 ± 1,10
Fração DCM	2590,33 ± 17,67	96,37 ± 1,06
Fração AcOEt	2650,10 ± 61,31	237,90 ± 0,86

Média ± desvio padrão; Fenóis totais (FT); Flavonoides totais (FLAT); miligramas equivalente grama de ácido gálico por grama de material vegetal (mg EAG g MVF<sup>-1</sup>); miligramas equivalentes de quercetina por grama de material vegetal (mg EAQ g MVF<sup>-1</sup>).

A fração AcOEt apresentou o maior teor de fenóis totais com 2650,10 mg EAG g MVA<sup>-1</sup>, seguido da fração DCM (2590,33 mg EAG g MVF<sup>-1</sup>), enquanto a fração Hex apresentou o menor conteúdo (1336,73 mg EAG g MVF<sup>-1</sup>). Segundo Rufino et al., (2010) o teor de polifenóis pode ser classificado em três categorias: baixo (< 1mg EAG/g), médio (1-5 mg EAG/g) e alto (>5 mg EAG/g) para amostras baseadas em material vegetal fresco (MVF) e baixo (< 10 mg EAG/g), médio (10-50 EAG/g) e alto (> 50 mg EAG/g) baseadas em material vegetal seco (MVS). De acordo com a classificação dada, o extrato hidroalcoólico e as frações das flores de *P. insignis* possui um alto teor de fenóis totais, variando na seguinte ordem fração AcOEt > fração DCM > extrato hidroalcoólico > fração Hex.

Na presente investigação, o teor de flavonoides variou de 96,17-237,9 mg EQ g MVF<sup>-1</sup>. A fração AcOEt apresentou o maior teor de flavonoides (237,9 mg EQ g MVF<sup>-1</sup>), confirmando a presença da mistura dos dois biflavonoides isolados a partir desta fração, seguida do extrato hidroalcoólico, que foi de 157,7 mg EQ g MVF<sup>-1</sup>. Os teores de flavonoides totais diminuíram na seguinte ordem: fração AcOEt > extrato hidroalcoólico > fração DCM ≅ fração Hex. Em geral, flavonoides estão ausentes (ou em baixo teor) nas frações da partição em que se utilizou solventes de baixa polaridade como *n*-hexano (FERREIRA et al., 2014). Na análise por CG-EM, os flavonoides e derivados C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> não foram detectados na fração Hex.

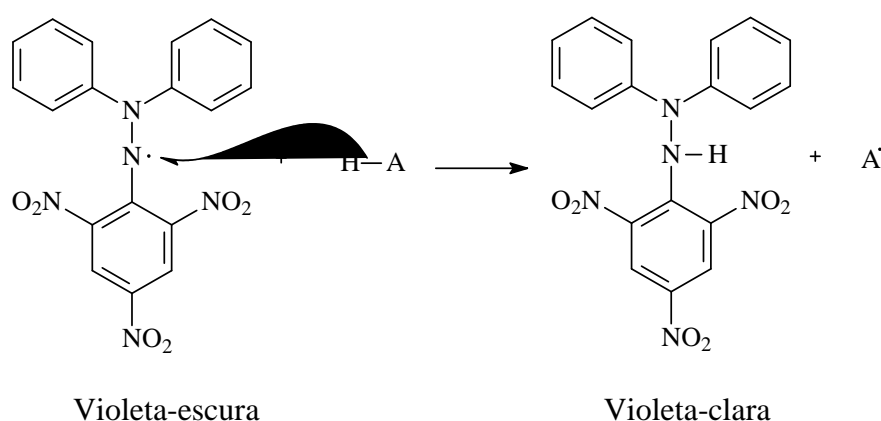
## 4.6 Atividades Antioxidantes

Na literatura, a investigação fitoquímica de *P. insignis* mostrou a presença de substâncias fenólicas com promissora atividade antirradicalar, como por exemplo, os florglucinois relatados anteriormente em sementes de *P. insignis* (COSTA JÚNIOR et al., 2011), antibacteriana, como os biflavonoides isolados de *Garcinia morella* por Karanjgaokar et al., (1967).

### 4.6.1 Atividade antioxidante frente ao radical DPPH

A avaliação da atividade antioxidante frente ao radical DPPH é um dos métodos mais utilizados devido sua maior sensibilidade, praticidade e rapidez. O radical DPPH é uma substância muito estável, pois ocorre a deslocalização do elétron desemparelhado por toda molécula, o mesmo apresenta coloração violeta intensa e banda de absorção que varia de 515 a 520 nm. Na presença de substâncias antioxidantes, o radical DPPH é facilmente reduzido a 2,2-difenil-1-picril-hidrazina (DPPH-H), que em solução apresenta coloração amarelada (ALVES et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2009). A reação de redução do radical DPPH é representada na Figura 38.

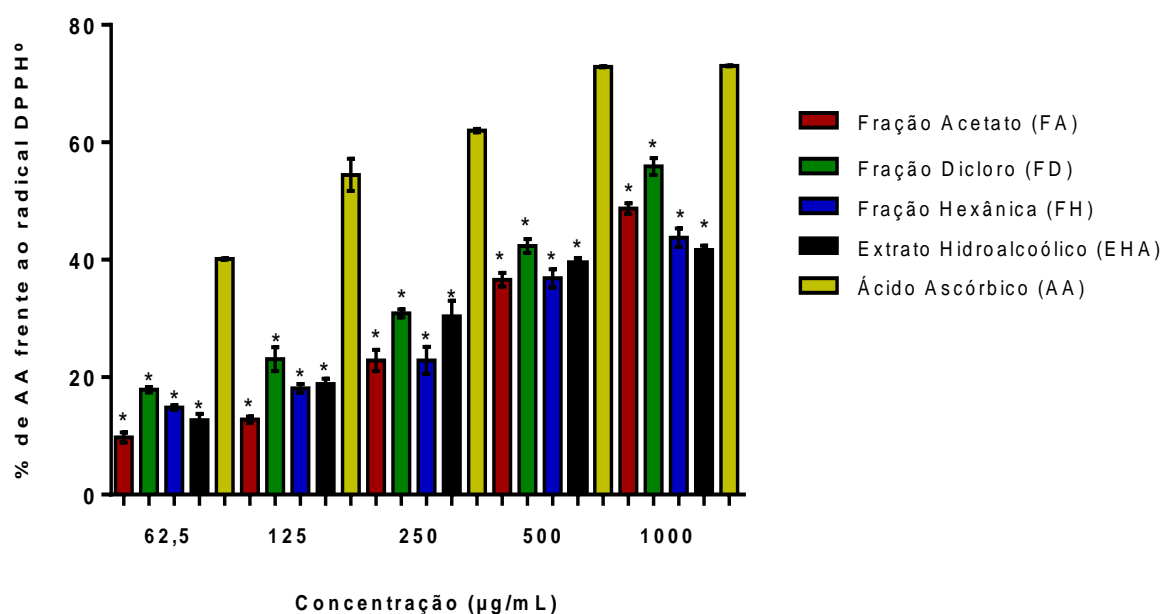
Figura 38- Reação de redução do radical DPPH frente a um composto antioxidante (HA)



Fonte: Adaptada de Oliveira et al., 2009.

Na avaliação do potencial antioxidante do extrato e frações das flores de *P. insignis* frente ao radical DPPH, a atividade antioxidante decresceu na seguinte ordem: fração DCM > fração AcOEt > extrato hidroalcoólico > fração Hex (Figura 39).

Figura 39- Percentuais de atividade antioxidante do extrato e frações das flores de *P. insignis* frente ao radical DPPH



Os valores representam a média  $\pm$  Desvio Padrão dos valores de inibição *in vitro*,  $n=5$ , experimentos em triplicata. O ácido ascórbico foi usado como padrão antioxidante. \*  $p < 0,05$  frações e extrato *versus* ácido ascórbico (significância estatística). Análise de variância (*One-way ANOVA* e *Tukey multiple comparisons* como *post hoc* teste). *GraphPad Prism*, versão 6.0, 2016.

A fração DCM, a fração AcOEt e o extrato hidroalcoólico apresentaram as melhores atividades antioxidantes com  $CE_{50}$  de  $128,4 \pm 0,69$ ,  $160,6 \pm 0,54$  e  $164,2 \pm 0,72 \mu\text{g mL}^{-1}$ , respectivamente. A presença de compostos fenólicos nessas três amostras pode estar associada a seus resultados satisfatórios frente ao sequestro de radicais DPPH, pois foram as que apresentaram os maiores teores de fenóis e flavonoides totais. A fração hexânica mostrou baixa atividade antioxidante ( $CE_{50} = 242,7 \pm 0,40$ ), confirmando esta associação, pois a fração



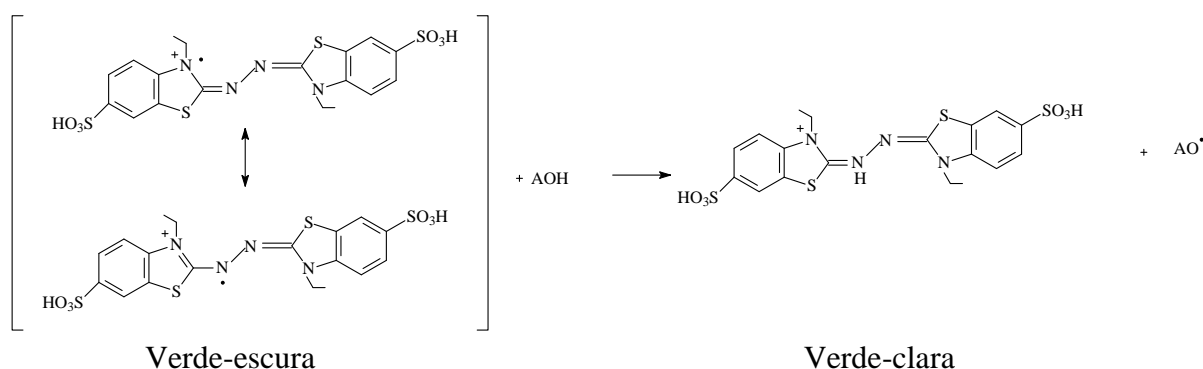
hexânica apresentou o menor teor de compostos fenólicos. O ácido ascórbico utilizado como padrão antioxidante apresentou uma  $CE_{50}$  de  $55,8 \pm 0,69$ .

#### 4.6.2 Atividade antioxidante frente ao radical ABTS

O método indireto do sequestro do radical 2-2'-azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS) sugerido por Miller et al. (1993) em testes de amostras biológicas, também é muito utilizado. O ABTS origina-se após uma reação, que pode ser química (dióxido de manganês, persulfato de potássio, ABAP), enzimática (peroxidase, mioglobulina), ou também eletroquímica (KUSKOSKI et al., 2005).

Por meio da adição de persulfato de potássio, ocorre a formação do cátion radical ABTS, que confere a cor esverdeada ao meio reacional. Na medida em que substâncias antioxidantes são misturadas com esse cátion radical, ocorre a redução do  $ABTS^{\cdot+}$  a  $ABTS^+$ , provocando a perda de coloração do meio reacional (RUFINO et al., 2007). A reação de redução do radical ABTS está representada na Figura 40.

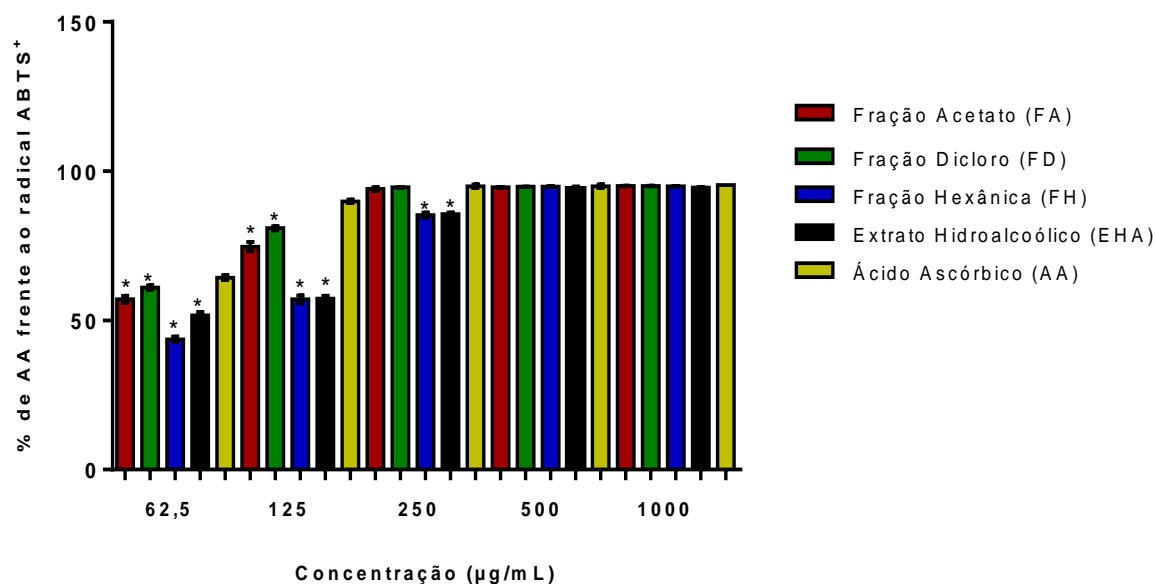
Figura 40- Reação de redução do radical ABTS frente a um composto antioxidante (AOH)



Fonte: Adaptada de Rufino et al., 2007

Na avaliação do potencial antioxidante do extrato e frações das flores de *P. insignis* frente ao cátion radical ABTS, a atividade antioxidante decresceu na seguinte ordem: fração DCM > fração AcOEt > extrato hidroalcoólico > fração Hex (Figura 41).

Figura 41- Percentuais de atividade antioxidante do extrato e frações das flores de *P. insignis* frente ao radical ABTS



Os valores representam a média  $\pm$  Desvio Padrão dos valores de inibição *in vitro*,  $n=5$ , experimentos em triplicata. O ácido ascórbico foi usado como padrão antioxidante. \*  $p < 0,05$  frações e extrato *versus* ácido ascórbico (significância estatística). Análise de variância (*One-way ANOVA* e *Tukey multiple comparisons* como *post hoc* teste). *GraphPad Prism*, versão 6.0, 2016.

A fração DCM, a fração AcOEt e o extrato hidroalcoólico apresentaram as melhores atividades antioxidantes com  $CE_{50}$  de  $45,28 \pm 0,37$ ,  $51,64 \pm 0,84$  e  $69,00 \pm 0,72 \mu\text{g mL}^{-1}$ , respectivamente. A resposta satisfatória dessas três amostras pode está associada à presença de compostos fenólicos, pois foram as que apresentaram os maiores teores de fenóis e flavonoides totais. A fração hexânica mostrou baixa atividade antioxidante ( $CE_{50} = 83,38 \pm 0,40$ ), o que confirma que o potencial antioxidante frente ao radical ABTS está associada à presença de compostos fenólicos. O ácido ascórbico utilizado como controle positivo apresentou uma  $CE_{50}$  de  $44,95 \pm 0,69$ .

#### 4.6.3 Atividade antioxidante pelo método de redução do ferro –FRAP

O método que avalia o potencial de redução do ferro indica a capacidade que uma substância possui em doar elétrons, e em consequência, reduzir os intermediários oxidativos (EROs). Este é descrito como método FRAP ( *Ferric Reducing Antioxidant Power*), e baseia-se na redução do ferro ( $\text{Fe}^{3+} \rightarrow \text{Fe}^{2+}$ ) e não na captura de radicais livres como os métodos descritos anteriormente (MOTTA et al., 2013).

Na avaliação do potencial redutor do ferro do extrato e frações das flores de *P. insignis*, a atividade antioxidante decresceu na seguinte ordem: fração AcOEt > fração DCM > extrato hidroalcoólico > fração Hex . Os dados de  $\text{CE}_{50}$  são expressos na Tabela 9.

Tabela 9- Atividade antioxidante pelo método de redução do ferro –FRAP ( $\text{CE}_{50}$ ) do extrato hidroalcoólico e frações das flores de *P. insignis*

Amostra	$\text{CE}_{50(\text{Fe}^{2+})}$ $\mu\text{g mL}^{-1} \pm \text{DP}$
Extrato hidroalcoólico	240,0 $\pm$ 0,72
Fração Hex	545,6 $\pm$ 0,40
Fração DCM	220,7 $\pm$ 0,69
Fração AcOEt	217,8 $\pm$ 0,54
Ácido ascórbico	130,9 $\pm$ 0,29

Média  $\pm$  desvio padrão; Concentração eficiente ( $\text{CE}_{50}$ )

A fração AcOEt, a fração DCM e o extrato hidroalcoólico apresentaram as melhores atividades antioxidantes pelo método de redução do ferro, este resultado pode estar relacionado ao elevado teor de flavonoides presentes na fração AcOEt, tendo em vista os inúmeros trabalhos que relatam as diferentes atividades exibidas por esta classe de compostos e seu alto potencial antioxidante (ALVES et al., 2007).

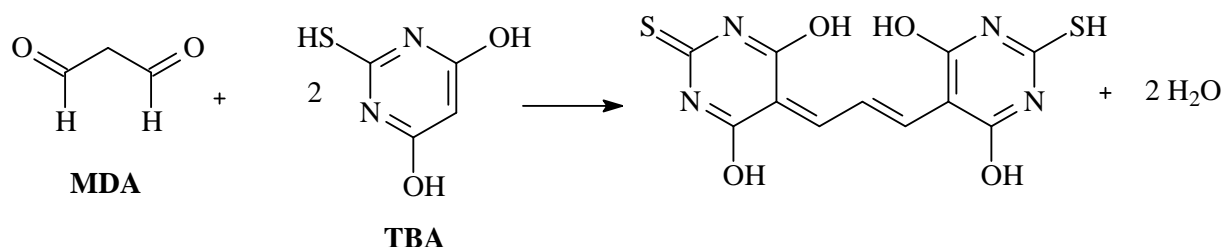
#### 4.6.4 Potencial inibidor de peroxidação lipídica

Uma das principais consequências biológicas provocadas pelos radicais livres é a peroxidação lipídica, esta inicia-se pela remoção de átomos de hidrogênio da cadeia lateral de

ácidos graxos insaturados. A inibição da peroxidação lipídica é avaliada a partir da quantificação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, conhecido como o ensaio TBARS (do inglês, *thiobarbituric acid reactive species*), que é um método espectrofotométrico simples e reprodutível (MIRANDA-VILELA; RESCK; GRISOLA, 2008; SERAFINI et al., 2001).

O malondialdeído (MDA), um subproduto da oxidação de ácidos graxos poliinsaturados, é um biomarcador confiável e muito usado na medida do potencial inibidor de peroxidação lipídica. Na presença do ácido tiobarbitúrico (TBA) o malondialdeído reage formando um complexo TBA-MDA de coloração rosa-avermelhada, que apresenta banda de absorção na faixa de 532 a 535 nm (Figura 28). Na realização do ensaio, utiliza-se gema de ovo como substrato lipídico que pode ser oxidado a partir da adição de íons metálicos ( $\text{Cu}^+$  ou  $\text{Fe}^{2+}$ ) ou uma fonte de radicais livres, como o 2-2'-azobis-(2amidino-propano)-hidroclorado (AAPH) (MIRANDA-VILELA; RESCK; GRISOLA, 2008; SILVA; BORGES; FERREIRA, 1999).

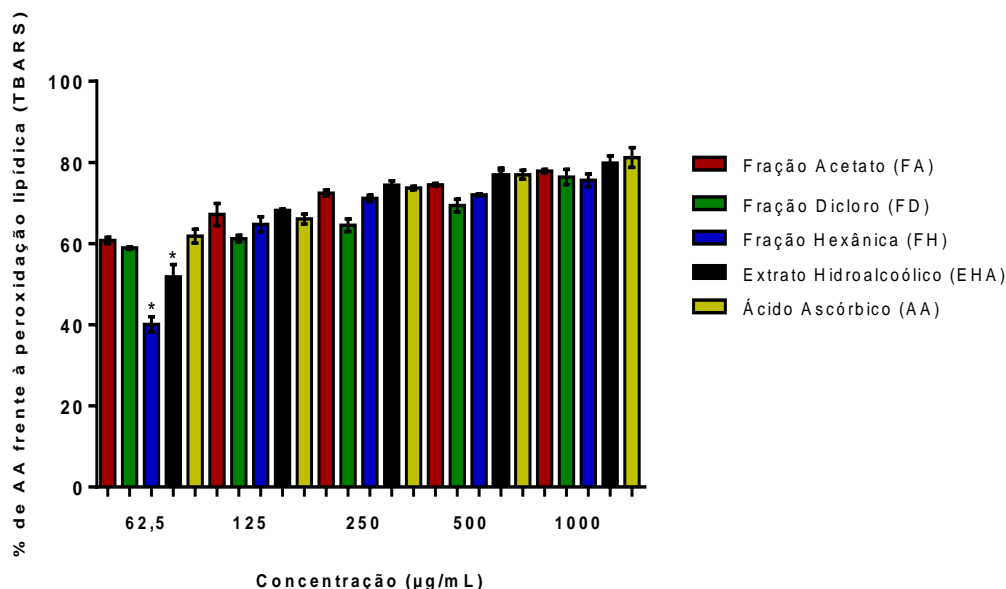
Figura 42-Reação de condensação do ácido tiobarbitúrico (TBA) com malondialdeído (MDA)



Fonte : Adaptada de Serafini et al., 2001

Na avaliação da inibição de peroxidação lipídica induzida por AAPH do extrato e frações das flores de *P. insignis*, a inibição decresceu na seguinte ordem: fração AcOEt > fração DCM > extrato hidroalcoólico > fração Hex (Figura 43).

Figura 43- Percentuais de inibição de peroxidação lipídica causada pelas formas reativas associadas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) do extrato e frações das flores de *P. insignis*



Os valores representam a média  $\pm$  Desvio Padrão dos valores de inibição *in vitro*,  $n=5$ , experimentos em triplicata. O ácido ascórbico foi usado como padrão antioxidante. \* $p < 0,05$  frações e extrato *versus* ácido ascórbico (significância estatística). Análise de variância (*One-way ANOVA* e *Tukey multiple comparisons* como *post hoc* teste). *GraphPad Prism*, versão 6.0, 2016.

Nas condições avaliadas as frações AcOEt e a fração DCM apresentaram as atividades antioxidantes mais significativas, com percentuais de inibição de peroxidação lipídica variando de 60,74 a 77,85 % e 58,91 a 76,40 % e  $CE_{50}$  12,34 e 28,05  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , respectivamente. O padrão antioxidante, ácido ascórbico mostrou percentuais de inibição de 61,85 a 81,21 % com  $CE_{50}$  de 17,18. Com isso a fração AcOEt apresentou atividade antioxidante de inibição de peroxidação lipídica superior ao padrão antioxidante.

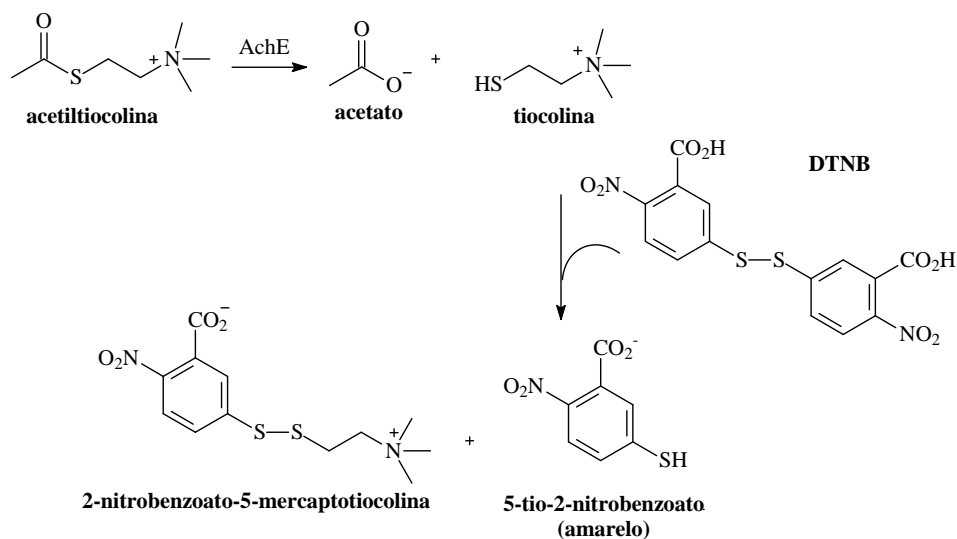
O extrato hidroalcoólico apresentou percentuais de inibição de 51,79 a 79,81 % e  $CE_{50}$  de 38,39. A fração menos ativa dentre as avaliadas nas concentrações testadas foi a Hex apresentando percentuais de inibição de 40,10 a 79,02 % e  $CE_{50}$  de 74,05. Isso indica que o fracionamento do extrato influenciou no aumento da atividade de inibição de peroxidação lipídica, já que suas frações mostraram um crescimento na atividade de inibição de acordo com o aumento da polaridade do solvente durante a partição. Estes resultados sugerem que o

extrato e as frações podem exercer potencial antioxidante com efeito protetor para as biomoléculas lipídicas.

#### 4.7 Atividade inibidora da enzima acetilcolinesterase (AChE)

Um ensaio qualitativo bastante utilizado na inibição da enzima acetilcolinesterase (AChE) é o método de Ellman que se baseia na coloração apresentada na cromatoplaca. O princípio do método avalia a hidrólise da acetiltiocolina a partir da enzima AChE formando a tiocolina que na presença do reagente de Ellman (ácido 5,5' – ditiobis-[2-nitrobenzóico], DTNB) produz o ânion 5-tio-2-nitrobenzoato (cor amarelo) e 2-nitrobenzoato de metila-5-mercaptotiocolina. O reagente confere à cromatoplaca uma coloração amarelada e o teste de inibição é considerado positivo quando se observa manchas brancas, pois indica que a acetiltiocolina não foi hidrolisada (RHEE et al., 2001).

Figura 44- Reação da atividade enzimática da acetilcolinesterase (AChE)



Fonte: Adaptada de Rhee et al., 2001

O potencial de inibição da enzima acetilcolinesterase do extrato e frações das flores de *P. insignis* foram avaliados semi-quantitativamente nas concentrações de 1,0 mg mL<sup>-1</sup>, 0,5 mg mL<sup>-1</sup>, 0,25 mg mL<sup>-1</sup>, 0,125 mg mL<sup>-1</sup> e 0,0625 mg mL<sup>-1</sup>. O teste é considerado positivo quando se observa na cromatoplaça manchas brancas em meio a coloração amarelada. Diante disto, o extrato e frações de *P. insignis* Mart apresentaram resultado positivo frente à inibição da enzima AChE em todas as concentrações testadas, conforme observado na Figura 45. Desta forma, tal espécie é candidata a um possível estudo bio guiado visando investigações quantitativas, assim como isolamento e elucidação estrutural das substancias ativas.

Tabela 10 - Resultado da inibição da enzima acetilcolinesterase do extrato e frações das flores de *P. insignis*

Amostra	Inibição de AChE
Extrato hidroalcoólico	+
Fração Hex	+
Fração DCM	+
Fração AcOEt	+
Ácido ascórbico	+

+: teste positivo

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir deste estudo, foi possível identificar como constituintes das flores: moreloflavona, volkensiflavona, garcinieliptona FC, sinfonona F, garcinona B, catequina, 3,5-dihidroxi-1,2-dimetoxixantona, os esteroides campesterol, estigmasterol e sitosterol e ácidos graxos.

Na quantificação dos teores de fenóis e flavonoides totais, a fração acetato de etila apresentou os maiores teores em ambos, seguida a fração diclorometano e do extrato hidroalcoólico.

O extrato hidroalcoólico e as frações das flores de *P. insignis* mostraram-se promissores no sequestro de radicais livres evidenciados por meio dos ensaios de DPPH e ABTS, potencial redutor do ferro (FRAP) e inibição de peroxidação lipídica, a atividade antioxidante, é atribuída aos constituintes de natureza fenólica responsáveis por muitas atividades farmacológicas de produtos naturais, como também preventivas em muitos processos degenerativos, doenças cardiovasculares, dentre outras.

No ensaio semi-quantitativo de inibição da enzima acetilcolinesterase por meio do ensaio de Ellman, o extrato e frações de *P. insignis* Mart apresentaram teste positivo para a inibição da enzima, em todas as concentrações testadas.

Este estudo com as flores é pioneiro e apresenta resultados relevantes contribuindo com a determinação de novos constituintes químicos, como volkensiflavona, sinfonona F, garcinona B e atividades biológicas da espécie *Platonia insignis* Mart.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABARIKWU, O. S. Anti-inflammatory effects of kolaviron modulate the expressions of inflammatory marker genes, inhibit transcription factors ERK1/2, p- JNK, NF-Kb, and activate Akt expressions in the 93RS2 Sertoli cell lines. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 401, p. 197-208, 2015.

ACUNÃ, U. L.; JANCOVSKI, N.; KENNELLY, E. J. Polyisoprenuçated benzophenones from Clusiaceae: Potential Drugs and Lead Compounds. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 9, p. 1560-1580, 2009.

ALBUQUERQUE, U. P.; HANZAKI, N. As pesquisas etnodirigidas na descoberta de novos fármacos de interesse médico e farmacêutico: fragilidades e perspectivas. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, supl., p. 678-689, 2006

ALENCAR, D. B.; SILVA, S. R.; CAVALCANTE, K. M. S. P.; LIMA, R. L.; PEREIRA JÚNIOR, F. N.; SOUSA, M. B.; VIANA, F. A.; NAGANO, C. S.; NASCIMENTO, K. S.; CAVADA, B. S.; SAMPAIO, S. S. Antioxidant potential and cytotoxic activity tow red seaweed species, *Amansia multiflora* and *Meristiella echinocarpa*, from thes coast of Northeastem Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 86, n.1, p. 251-263, 2014.

ALMANZA, G. R.; QUISPE, R.; MOLLINDO, P.; RODRIGO, G.; FUKUSHIMA, O.; VILLAGOMEZ, R.; AKESSON, B.; STERNER, O. Antioxidant and antimutagenic polyisoprenilated benzophenones and xantones from *Rheedia acuminata*. **Natural Product Communication**, v.6, n.9, p.1269-1274, 2001.

ALVES, T. M. A.; ALVES, R. O.; ROMANHA, A. J.; SANTOS, M. H.; NAGEM, T. J.; ZANI, C. L. Biological Activities of 7-Epiclusianone. **Journal of Natural Products**, v. 62, p. 369-371, 1999.

ALVES, C. Q.; BRANDÃO, H. N.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P.; LIMA, L. S. Avaliação da atividade antioxidante de flavonóides. **Diálogos e Ciência – Revista da Rede de Ensino FTC**, v. 5, n. 12, p. 1-8, 2007.

ALVES, C. Q.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P.; BAHIA, M. V.; AGUIAR, R. M. Métodos para a determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos. **Química Nova**, v. 33, p.2202, 2010.

ANDRADE, C. A.; COSTA, C. K.; BORA, K.; MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G.; KERBER, V. A. Determinação do conteúdo fenólico e avaliação da atividade antioxidante de *Acacia podolyarifolia* A. Cunn. Ex. G. Don, Leguminaceae- Mimosoideae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 2, p. 231-235, 2007.

ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n. 1, p. 232-240, 2007.

ASSIMOPOULOU, A. N.; PAPAGEORGIOU, V. P. GC-MS analysis of penta- and tetracyclic triterpenes from resins of *Pistacia* species. Part I. *Pistacia lentiscus* var. *Chia*. **Biomedical Chromatography**, v. 19, p. 285-311, 2005.

AZEBAZE, A. G. B.; MEYER, B.; BODO, B.; NKENGFAK, A. E. Allanzanthone B, a polyisoprenylated xanthone from the stem bark of *Allanblackia monticola* Staner L. C. **Phytochemistry**, v. 65, p. 2561-2564, 2004.

AZEBAZE, A. G. B.; DOGMO, A. B.; MEYER, M.; OUAHOUB, B. M. W.; VALENTIN, A.; LAURE NGUEMFO, E.; NKEKGFACK, A. E.; VIERLING, W. Antimalarial and vasorelaxant constituents of the leaves of *Allanblackia monticola* (Guttiferae). **Annals of Tropical Medicine E Parasitology**, v. 101, n. 1, p. 23-30, 2007.

BADKE, M. R.; BUDO, M. L. D.; SILVA, F. M.; RESSEL, L. B. Plantas medicinais: O saber sustentado na prática do cotidiano popular. **Revista Escola Anna Nery**, v. 15, p. 132-139, 2011.

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, v. 29, n. 1, p. 113-123, 2006.

BATISTA, F. J.; JARDIM, M. A. G. Notas sobre a morfologia floral e a fenologia do bacurizeiro (*Platonia insignis* Mart.) Clusiaceae, no município de Bragança, Estado do Pará. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi, Ciências Naturais**, v.1, n.1, p.183-186, 2006.

BENTES, M. H. S.; SERRUYA, H.; ROCHA FILHO, G. N.; GODOY, R. L. O.; SILCA CABRAL, J. A.; SOARES MAIA, J. G.; Estudo fitoquímico das sementes de bacuri. **Acta Amazonensis**, v. 16, p. 363-368, 1986.

BILANDA, D. C.; DIMO, T.; DJOMENI, P. D. D.; BELLA, N., M., T., ABOUBAKAR, O. B. F.; NGUELEFACK, T. B.; TAN, P. V.; KAMTCHOUING, P. Antihypertensive and antioxidante effects of *Allanblackia floribunda* Oliv. (Clusiaceae) aqueous extrect in alcohol- and sucrose-induced hypertensive rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v.128, p. 634-640, 2010.

BONOLI, M.; VERARDO, V.; MARCONI, E.; CABONI, M. F.; Antioxidant phenols in barley (*Hordeum vulgare* L.) flour: comparative spectrophotometric study among extraction methods of free and bound phenolic compounds. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 52, p. 5195, 2004.

BOTTA, B.; MAC-QUHAE, M. M.; DELLE MONACHE, G.; DELLE MONACHE, F. Chemical investigation of the genus *Rheedia*. V. biflavonoids and xanthochymol. **Journal of Natural Products**, v.47, n. 3, p. 1053, 1984.

BRAGA, R. Plantas do nordeste especialmente do Ceará. **ESAM: Coleção Mossoroense**, v. 42, p. 540-542, 1976.

BRAZ-FILHO, R.; CAVALCANTE DE MAGALHÃES, G.; GOTTLIEB, O. R. Chemistry of Brazilian guttiferæ. XX. Xanthones of *Rheedia gardineriana*. **Phytochemistry**, v. 9, p. 673, 1970.

CAMPOS, P. M.; HORINOCHI, C. D. S.; PRUDENTE, A. S., CECHIEL-FILHO, V.; CABRINI, D. A.; OTUKI, M. F. Effect of a *Garcinia gardneriana* ( Planchon and Triana) Zappi hidroalcoholic extraxt on melanogenesis in B16F10 melonoma cells. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 148, p. 199-204, 2013.

CAO, S. G.; SIM, K. Y.; GOH S. H.; XUE, F. M.; THOMAS C. W. Gracilipene, a heterocyclic seco-trisnoroleane from *Calophyllum gracilipes* (Guttiferae). **Tetrahedron Lett**, v. 38, n.27, p. 4783-4786, 1997.

CAO, S. G.; SIM, K. Y.; PEREIRA, J.; GOH, S. H. Coumarins from *Calophyllum teysimannii* (Guttiferae). **Phytochemistry**, v. 47, n.6, p. 1051-1055, 1998.

CARVALHO, G. E. V. Revisão sobre o bacurizeiro: espécie potencial para a sustentabilidade de agroecossistemas. **Jornal Chapada Limpa**, v.1, p. 1-4, 2008.

CASTARDO, J. C.; PRUDENTE, A. S.; FERREIRA, J.; GUIMARAES, C. L.; DELLE MONACHE, F.; CECHINEL FILHO, V.; OTUKI, M. F.; CABRINI, D. A. Anti-inflammatory effects of hydroalcoholic extract and two biflavonoids from *Garcinia gardneriana* leaves in mouse paw oedema. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 118, p. 405-411, 2008.

CECHINEL FILHO, V.; DA SILVA, K. L.; DE SOUZA, M. M.; OLIVEIRA, A. E.; YUNES, R. A.; GUIMARAES, C. L.; VERDI, L. G.; SIMIONATTO, E. L.; DELLE MONACHE, F. Z. I3-naringenin-II8-4'OMe-eriodictyol: a new potential analgesic agent isolated from *Rheedia gardneriana* leaves. **Zeitschrift fur Naturforschung C: Biosciences**, v. 55, p. 820, 2000.

CHAVES, M. H. Análise de extratos de plantas por CCD: uma metodologia aplicada à disciplina "Química Orgânica". **Química Nova**, v. 20, n. 5, p. 560-562, 1999.

CHOUDHURY, B.; KANDIMALLA, R.; BHARALI, R.; MONISHA, J.; KUNNUMAKARA, A. B.; KALITA, K.; KOTOKY, J. Anticancer activity of *Garcinia morella* on T-cell murine lymphoma via apoptotic induction. **Frontiers in Phamacology**, v. 7, p. 1-13, 2016.

CIOCHINA, R.; GROSSMAN, R. B. Polycyclic polyprenylated acylphloroglucinols. **Chemical Reviews**, v. 106, p. 3963-3986, 2006

COELHO, L. P.; SERRA, M. F.; PIRES, A. L. A.; CORDEIRO, R. S. B.; SILVA, P. M. R.; DOS SANTOS, M. H., MARTINS, M. A.; 7- Epiclusionone, a tetraprenylated, relaxes airway smooth muscle through activation of the nitric oxide-cGMP pathway. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, v. 327, n.1, p. 206-214, 2008.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. (Org). **Fundamentos de Cromatografia**, Campinas, SP; UNICAMP, 2006

COMPAGNONE, R. S.; SUAREZ, A. C.; LEITAO, S. G.; DELLE MONACHE, F. Flavonoids, benzofenones and a new euphane derivative from *Clusia colummaris* Engl. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, p. 6-10, 2008.

COSTA JÚNIOR, J. S.; FEITOSA, C. M. ; CITÓ, A. M. G. L.; FREITAS, R. M. ; HENRIQUES, J. A. P. ; SAFFI, J. Evaluation of effects of ethanolic extract (EE) from *Platonia insignis* Mart. on pilocarpine-induced seizures. **Journal of Biological Sciences** (Faisalabad), v. 10, p. 747-753, 2010.

COSTA JÚNIOR, J. S.; FERRAZ, A. B. F.; FILHO, B. A. B.; FEITOSA, C. M.; CITO, A. M. G. L.; FREITAS, R. M.; SAFFI, J. Evolution of antioxidant effects in vitro of garcinielliptone FC (GFC) isolated from *Platonia insignis* Mart. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 5, p. 293-299, 2011a.

COSTA JÚNIOR, J. S.; ALMEIDA, A. A. C.; TOME, A. R.; CITO, A. M. G. L.; SAFFI, J.; FREITAS, R. M. Evolution of possible antioxidant and anticonvulsant effects of the ethyl acetate fraction from *Platonia insignis* Mart. (Bracuri) on epilepsy models. **Epilepsy & Behavior**, v. 22, p. 678-684, 2011b.

COSTA JÚNIOR, J. S.; ALMEIDA, A. A. C.; FERRAZ, A. B. F.; ROSSATTO, R. R.; SILVA, T. G.; SILVA, P. B. N.; MILITÃO, G. C. G.; CITO, A. M. G. L.; SANTANA, L. C. L. R.; CARVALHO, F. A. A. C.; FREITAS, R. M. Cytotoxic and leishmanicidal properties of

---

garcinielliptone FC, a prenylated benzofenone from *Platonia insignis*. **Natural Product Research**, v. 27, p. 470-474, 2012.

COSTA JÚNIOR, J. S.; FERRAZ, A. B. F.; SOUSA, T. O.; SILVA, R. A. C.; LIMA, S. G.; FEITOSA, C. M.; CITO, A. M. G. L.; CAVALCANTE, A. A. C. M.; FREITAS, R.; SPEROTTO, A. R. M.; PERES, V. F.; MOURA, D. J.; SAFFI, J. Investigation of biological activities of dichloromethane and ethyl acetate fractions of *Platonia insignis* Mart. Seed. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, v. 112, p. 34-41, 2013.

CUI, J.; HU, W.; CAI, Z.; LIU, Y.; LI, S.; TAO, W.; XIANG, H.; New medicinal properties of mangostins: Analgesic activity and pharmacological characterization of active ingredients from the fruit hull of *Garcinia mangostana* L. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v. 95, p. 166-172, 2010.

DE-EKNAMKUL, W.; POTDUANG, B. Biosynthesis of  $\beta$ -sitosterol and stigmasterol in *Croton sublyratus* proceeds via a mixed origin of isoprene units. **Phytochemistry**, v. 62, n. 3, p. 389-398, 2003.

DELLE MONACHE, G.; DELLE MONACHE, F.; BETOLLO, G. B. M. Chemical investigation of the genus *rheedia*. II. Prenylated xanthines from *Rheedia gardneriana*. **Journal of Natural Products**, v. 46, n. 5, p.655-659, 1983.

DOS SANTOS, M. H.; NAGEM, T. J.; DE OLIVEIRA, T. T.; BRAZ-FILHO, R. 7-Epiclusianona, a nova benzofenona tetraprenilada e outros constituintes químicos dos frutos de *Rheedia gardneriana*. **Química Nova**, v. 22, n. 5, p. 654-660, 1999.

DOS SANTOS, M. H.; NAGEM, T. J.; DE OLIVEIRA, T. T.; BRAZ-FILHO, R. Efeitos dos constituintes químicos isolados da casca do fruto de *Rheedia gardneriana* sobre a eclosão de juvenis de meloidogyne icognita raça 3. *Latin American Journal of Pharmacy*, v. 26, n. 5, p. 711-714, 2007.

EGHDAMI, A.; SADEGHI, F. Determination of total phenolic and flavonoids contents in methanolic and aqueous extract of *Achillea millefolium*. **Organic Chemistry Journal**, v. 1, n. 2, p. 81-84, 2010.

ELLMAN, G. L.; COURTNEY, D. K.; ANDRES JR, V.; FEATHERSTONE, R. M. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochemical Pharmacology**, v. 7, n. 2, p. 88-95, 1961.

FERNANDES, A. J. D.; FERREIRA, M. R. A.; RANDAU, K. P.; SOUZA, T. P.; SOARES, L. A. Total flavonoids content in the raw material and aqueous extract from *Bauhinia monandra* Kurz (Caesalpinaceae). **The Scientific World Journal**. v. 2012, n. 1, p. 1-7, 2012.

FERREIRA, R. O.; CARVALHO, M. G.; SILVA, T. M. S. Ocorrência de biflavonoides em Clusiaceae: aspectos químicos e farmacológicos. **Química Nova**, v. 35, p. 2271, 2012.

FERREIRA, R. O.; CAMARA, C. A.; AGRA, M. F.; SILVA, T. M. S. Biflavonoids from the Unripe Fruits of *Clusia paralicola* and their antioxidante activity. **Natural Product Communications**, v. 7, n. 12, p.1598- 1600, 2012.

FERREIRA, E. L. F.; MASCARENHAS, T. S.; OLIVEIRA, J. P. C.; CHAVES, M. H.; ARAÚJO, B. Q.; CAVALHEIRO, A. J. Phytochemical investigation and antioxidant activity of extracts of *Lecythis pisonis* Camb. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 8, n. 8, p. 353-360, 2014.

GARNSEY, M. R.; MATOUS, J. A.; KWIEK, J. J.; COLTART, D. M. Asymmetric total synthesis of (+)-and (-)-clusianone and (+)-and (-)-clusianone methyl enol ether via ACC alkylation and evaluation of their anti-HIV activity. **Bioorganic & medicinal chemistry letters**, v. 21, n. 8, p. 2406-2409, 2011

GASPAROTTO JÚNIOR, A.; BRENZAN, M. A.; PILOTO, I. C.; GARCIA CORTEZ, D. A.; NAKAMURA, C. V.; DIAS FILHO, B. P.; RODRIGUES FILHO, E.; FERREIRA, A. G. Estudo fitoquímico e avaliação da atividade moluscicida do *Calophyllum brasiliense* CAMB (Clusiaceae). **Química Nova**, v. 28, n. 4, p. 575-578, 2005.

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

GONTIJO, V. S.; SOUZA, T. C.; ROSA, I. A.; SOARES, M. G.; SILVA, M. A.; VILEGAS, W.; VIEGAS JÚNIOR, C.; DOS SANTOS, M. H. Isolations and evaluations of the antioxidant od phenolic constituents of the *Garcinia brasiliensis* epicarp. **Food Chemistry**, v. 132, p. 1230-1235, 2012.

GUIMARÃES, A. G.; OLIVEIRA, G. F.; MELO, M. S.; CAVALCANTI, S. C. H.; ANTONIOLLI, A. R.; BONJARDIM, L. R.; SILVA, F. A.; SANTOS, J. P. A.; ROCHA, R. F.; MOREIRA, J. C. F.; ARAÚJO, A. A. S.; GELAIN, D. P.; QUINTANS-JÚNIOR, L. J. Bioassay-guided evaluation of antioxidant and antinociceptive activities of carvacrol. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, v. 107, n. 6, p. 949-957, 2010.

GUNATILAKA, A. A. L.; SILVA, A. M. Y.; SOTHEESWARAN, S.; BALASUBRAMANIAM, S.; WAZEER, M. I. M. Studies on medicinal and related plants of Sri Lanka, Part 11: Terpenoid and biflavonoid constituents of *Calophyllum calaba* and *Garcinia spicata* from Sri Lanka, **Phytochemistry**, v. 23, p. 323-328, 1984.

GUSTAFSON, K. R.; BLUNT, J. W.; MUNRO, H. G. M.; FULEER, R. W.; MCKEE, C. T.; CARDELLINA, J. H.; MCMAHON, J. B.; CRAGG, G. M.; BOYD, M. R.; The Guttiferones, HIV- inhibitory benzophenones from *Syphonia globulifera*, *Garcinia livigstonei*, *Garcinia ovalifolia*, and *Clusia rosea*. **Tetrahedron**, v. 48, p. 10093-10102, 1992.

HA, W. Y.; WU, P. K.; KOK, T. W.; LEUNG, K. W.; MAK, N. K.; YUE, P. Y. K.; NGA, S. M.; TSAI, S. N.; WONG, R. N. S. Involvement of protein kinase C and E2F-5 in euxanthone-induced neurite differentiation of neuroblastoma. **International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 38, p. 1393, 2006.

HANCOCK, J. T.; DESIKAN, R.; NEILL, S. J. Role reactive oxygen species in cell signaling pathways. **Biochemical Society Transactions**, v. 29, p. 345-350, 2011.

HARBORNE, J. B.; BAXTER, H.; MOSS, G. P. Phytochemical dictionary: a handbook od bioactive compounds from plants. **Tylor & Francis**, v. 2, p. 893-896, 1999.



HARDMA, J. G.; GILMAN, L. E. Goodman & Gilman: As Bases Farmacológicas da Terapêutica, **McGraw-Hill**, v. 10, 2005.

HARTMAN, L.; LAGO, R. C. A. Rapid preparation of fatty acid methyl from lipids. In: **Laboratory Practice**, v. 22, p. 475, 1973.

HERRAIZ, T.; GALISTEO, J. Hydroxyl radical reactions and the radical scavenging activity of  $\beta$ -carboline alkaloids. **Food Chemistry**, v. 172, n. 1, p. 640-649, 2015.

HOSU, A.; CRISTEA, V.; CIMPOIU, C. Analysis of total phenolic, flavonoids, anthocyanins and tannins content in Romanian red wines: prediction of antioxidant activities and classification of wines using artificial neural networks. **Food Chemistry**, v. 150, n. 1, p. 113-118, 2014.

ITO, C.; ITOIGAWA, M.; MIYAMOTO, Y.; RAO, K. S.; TAKAYASU, J.; OKUDA, Y.; MUKAINAKA, T.; TOKUDA, H.; NISHINO, H.; FURUKAWA, H.; A new biflavonoid from *Calophyllum paniciflorum* with antitumor-promoting activity. **Journal of Natural Products**, v. 62, p. 1668-1671, 1999.

KAMAL-ELDIN, A.; KIM, H. J.; TAVADYAN, L.; MIN, D. Tocopherol concentrations and antioxidant efficacy. **Lipid Oxidation Pathways**, v. 2, p. 127-141, 2008.

KARANJGAOKAR, C. G.; RADHAKRISHNAN, P. V.; VENKATARAMAN, K. Morelloflavone, a 3-(8) flavonylflavanone, from the heartwood of *Garcinia morella*. **Tetrahedron**, v. 8, p. 3195- 3197, 1967.

KOH, J. J.; QUI, S.; ZOU, H.; LAKSHMINARAYANAN, R.; LI, J.; ZHOU, X.; TANG, C.; SARASWATHI, P.; VERMA, C.; TAN, D. T. H.; TAN, A. L.; LIU, S.; BEUERNAM, R. W. Rapid bactericidal action of alpha-mangostin against MRSA as na outcome os membrane targeting. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1828, p. 834-844, 2013.

KUETE, V.; AZEBAZE, A. G. B.; MBAVENG, A.; NGUEMFO, E. L.; TSHIKALANGE, E. T.; CHALARD, P.; NKENGFACK, A. Antioxidant, antitumor and antimicrobial activities of the crude extract and compounds of the root bark of *Allanblackia floribunda*. **Pharmaceutical Biology**, v. 49, p. 57-65, 2011.

KUSKOSKI, E. M.; ASUERO, A. G.; TRONCOSO, A. M.; MANCINI-FILHO, J.; FETT, R. Aplicación de diversos métodos químicos para a determinação da actividade antioxidante em pulpa de frutos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, p 726-732, 2005

LI, X. C.; JOSHI, A. S.; TAN, B.; ELSOHLY, H. N.; WALKER, L. A.; ZJAWIONY, J. K.; FERREIRA, D. Absolute configuration, conformation and chiral properties of flavonone-(3→8)-flavone biflavonoids from *Rheedia acuminata*. **Tetrahedron**, v. 58, p. 8709, 2002.

LINS, A. C. S.; AGRA, M. F.; CONCEIÇÃO, C. D. O. Constituintes Químicos e Atividade Antioxidante das Partes Aéreas de *Clusia paralicola* (Clusiaceae) e *Vismia guianensis* (Hypericaceae). **Revista Virtual de Química**, 2016.

LUZZI, R.; GUIMARÃES, C. L.; VERDI, L. G.; SIMIONATTO, E. L.; DELLE MONACHE, F.; YUNES, R. A.; FLORIANI, A. E. O.; CECHINEL FILHO, V. Isolation of biflavonoids with analgesic activity from *Rheedia gardneriana* leaves. **Phytomedicine**, v. 4, p. 141- 144, 1997.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; VEIGA JUNIOR, V. F.; GRYNBERG, N. F.; ECHEVARRIA, A. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, v. 25, n. 3, p. 429-438, 2002.

MARTI, G.; EPARVIER, V.; LITAUDON, M.; GRELLIER, P.; GUERITTE, F. A new xanthone from the bark extract of *Rheedia acuminata* and antiplasmodial activity of its major compounds. **Molecules**, v. 15, p. 7106-7114, 2010.

MARTI, G.; EPARVIER, V.; MORETTI, C.; PRADO, S.; GRELLIER, P.; HUE, N.; THOINSON, O.; DELPECH, B.; GUERITTE, F.; LITUADON, M. Antiplasmodial benzophenone derivatives from the root barks of *Symphonia globurifera* (Clusiaceae). **Phytochemistry**, v. 71, p. 964-974, 2010.

---

MIRANDA-VILELA, A. L.; RESCK, I. S.; GRISOLIA, C. K. Antigenotoxic activity and antioxidant properties of organic and aqueous extracts of pequi fruit (*Caryocar brasiliense* Camb.) pulp. **Genetics and Molecular Biology**, v. 31, n. 4, p. 956-963, 2008.

MORAES, R. L.B; GUTJAHR, E. Química de Oleaginosas- Valorização de Biodiversidade Amazônica. **Agencia de Cooperação Técnica Alemã**, 2009.

MOREL, C.; HAY, A. E.; LITAUDON, M.; SEVENET, T.; SERAPHIN, D.; BRUNETON, J.; RICHOMME, P. Thirteen new xanthone derivatives from *Calophyllum caledonicum*. **Molecules**, v. 7, p. 38-50, 2002.

MOTA, W. M.; BARROS, M. L.; CUNHA, P. E. L.; SANTANA, M. V. A.; STEVAM, C. S.; LEOPOLDO, P. T. G.; FERNANDES, R. P. M. Avaliação da inibição da acetilcolinesterase por extratos de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 14, n. 4, p. 624-628, 2012.

MOTTA, E. V. S.; PINTO, N. C. C.; DUQUE, A. P.N; MENDES, R. F.; BELLOZI, P. M. Q.; SCIO, E. Atividades antioxidante, antinociceptiva e anti-inflamatória das folhas de *Mucuna pruriens* (L.) DC. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 15, n. 2, p. 264-272, 2013.

NALDONI, F. J.; CLAUDINO, A. L. R.; CRUZ JR. J. W.; CHAVASCO, J. K.; FARIA E SILVA, P. M.; VELOSO, M. P.; DOS SANTOS, M. H. Antimicrobial activity of benzophenones and extracts from the fruits of *Garcinia brasiliensis*. **Journal of Medicinal Food**, v. 12, n. 2, p. 403-407, 2009.

NASCIMENTO, W. M. O.; CARVALHO, J. E. U.; MULER, C. H. Ocorrência e distribuição geográfica do bacurizeiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 29, p. 657, 2007.

NASCIMENTO, J. L.; COELHO, A. G.; BARROS, Y. S. O.; SILVA, O. A.; FREITAS, R. M.; ROCHA, M. S.; DAVID, J. M.; COSTA JÚNIOR, J. S.; ARCANJO, D. D. R.; OLIVEIRA, R. C. M.; CITO, A. M. G. L. Avaliação da atividade antioxidante in vitro do

extrato hexânico da semente do bacuri (*Platonia insignis* Mart.) e de seu complexo de inclusão com  $\beta$ -ciclodextrina. **Boletim informativo Geum**, v. 5, n. 2, p. 44-53, 2014.

NKENGFAK, A. E.; AZEBAZE, G. A.; VARDAMIDES, J. C.; FOMIM, Z. T.; VAN HEERDEN, F. R. A prenylated xanthone from *Allanblackia floribunda*. **Phytochemistry**, v. 60, p. 381-384, 2002.

NOLDIN, V. F.; ISAIAS, D. B.; CECHINEL FILHO, V. Gênero *Calophyllum*: Importância Química e Farmacológica. **Química Nova**, v. 29, p. 549, 2006.

OLIVEIRA, C. M. A.; PORTO, A. L. M.; BITTRICH, V.; MARSAIOLI A. J. Tow polyisopreny-lated benzophenones from the floral resins of three *Clusia* species. **Phytochemistry**, v. 50, p. 1073-1079, 1999.

OLIVEIRA, A. C.; VALENTIM, I. B.; GOULART, M. O. F.; SILVA, C. A.; BECHARA, E. J. H.; TREVISAN, M. T. S. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 689-702, 2009.

OLIVEIRA, M. C.; LEMOS, L. M. S.; OLIVEIRA, R. G.; DALL'OGGIO, E. L.; SOUSA JÚNIOR, P. T.; MARTINS, D. T. O. Evolution of toxicity of *Calophyllum brasiliense* stem bark extract by in vivo and in vitro assays. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 155, p. 30-38, 2014.

ONYEKWLU, J. C.; OYEWALE, O.; STIMM, B.; MOSANDI, R. Antioxidant, nutritional and anti-nutritional composition of *Garcinia kola* and *Chrysophyllum albidum* from rainforest ecosystem of Ondo State, Nigeria. **Journal of Forest Research**, v. 26, p. 417-424, 2015.

ORHAN, N.; ASLAN, M.; DEMIRCI, B.; ERGUN, F. A bioactivity guided study on the antidiabetic activity of *Juniperus oxycedrus* subsp. *oxycedrus* L. leaves. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 140, n. 2, p. 409-415, 2012.

OWOEYE, O.; ADEDARA, I. A.; BAKARE, O. S.; ADEYEMO, O. A.; EGUN, C.; FAROMBI, E. O. Kolaviron and vitamin E ameliorate hematotoxicity and oxidatice stress in

brains of prepubertal rats treated with an anticonvulsant phenytoin. **Toxicology Mechanisms and Methods**, v. 24, p. 353-361, 2014.

OYEDEMI, S. O.; OYEDEMI, B. O.; AROWOSEGBE, S.; AFOLAYAN, A. J. Phytochemicals Analysis and Medicinal Potentials of Hydroalcoholic Extract from *Curtisia dentata* (Burm.f) C. A. Sm Stem Bark. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 13, p. 6189, 2012.

PEIXOTO, T. J. S.; GOMES, T. L. B.; CARDOSO, K. C. M.; AMORIM, E. L. C. Otimização de metodologia analítica para o doseamento de flavonoides de *Bauhinia cheilantha* (Bongard) Steudel. **Química Nova**, v. 33, p. 288, 2010.

PEREIRA, I. O.; MARQUES, M. J.; PAVAN, A. I. R.; CODONHO, B. S.; BARBIERI, C. I.; BEIJO I. A.; DORIGUETTO, A. C.; D’MARTIN, E. C.; SANTOS, M.H. Leishmanicidal activity od benzophenones and extracts from *Garcinia brasiliensis* Mart fruits. **Phytomedicine**. V. 17, p. 339-345, 2010.

RHEE, I. K.; MEENT, M. V.; INGKANINAN, K.; VERPOORTE, R. Screening for acetylcholinesterase inhibitors from Amaryllidaceae using silica gel thin-layer chromatography in combination with bioactivity staining. **Journal of Chromatography A**, v. 915, n. 1, p. 217-223, 2001.

RIBEIRO, S. M. R.; QUEIROZ, J. H.; PELUZO, M. C. G.; COSTA, N. M. B.; MATTA, S. L. P.; QUEIROZ, M. E. L. R. A formação e os efeitos das espécies reativas de oxigênio no meio biológico. **Bioscience Journal**, v. 21, n. 3, p. 133- 149, 2005.

ROCHA, W. S.; LOPES, R. M.; SILVA D. B.; VIEIRA, R. F.; SILVA, J. P.; COSTA, T. S. A. Compostos fenólicos totais e taninos condensados em frutas nativas do Cerrado. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 4, p. 1215-1221, 2011.

ROCKENBACH, I. I.; JUNGFER, E.; RITTER, C.; SANTIAGO-SCHUBEL, B.; THIELE, B.; FETT, R.; GALENSA, R. Chatacterizatin od flavan-3-ols in seeds od grape pomace by CE, HPLC-DAD-MS<sup>n</sup> and LC-ESI-FTICR-MS. **Food Research International**, v. 48, p. 848-855, 2012.

ROGEZ, H.; BUXANT, R.; MIGNOLET, E.; SOUZA, J. N. S.; SILVA, E. M.; LARONDELLE, Y. Chemical composition of the pulp of three typical Amazonian fruits: araçá-boi (*Eugenia stipitata*), bacuri (*Platonia insignis*) and cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*). **European Food Research Technology**, v. 218, p. 380-384, 2004.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. Metodologia científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS<sup>+</sup>. **Comunicado técnico Embrapa**, v. 128, p. 1-4, 2007.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F.D.; MANCINI-FILHO, J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 121, n. 4, p. 996-1002, 2010.

RUHFEL, B. R.; BITTRICH, V.; BOVE, C. P.; GUSTAFSSON, M. H. G.; PHILBRICK, C. T.; RUTISHAUSER, R; XI, Z.; DAVIS, C. C. Phylogeny of the clusioid clade (Malpighiales): evidence from the plastid and mitochondrial genomes. **American Journal of Botany**, v.98, p. 306-325, 2011.

SANTA-CECILIA, F. V.; FREITAS, L. A. D.; VILELA, F. C.; VELOSO, C. C.; ROCHA, C. Q.; MOREIRA, M. E. C.; DIAS, D. F.; GIUSTI-PAIVA, A.; SANTOS, M. H. Antinociceptive and anti-inflammatory properties of 7-epiclusianone, a prenylated benzophenone from *Garcinia brasiliensis*. **European Journal of Pharmacology**, v. 620, p. 280-285, 2011.

SARMA, R.; DIAS, M.; MUDOI, T.; SHARMA, K. K.; KOTOKY, J.; DEVI, R. Evolution of antioxidante and antifungal activities of polyphenol-rich extracts of dried pulp of *Garcinia pedunculata* Roxb. and *Garcinia morella* Gaertn. (Clusiaceae). **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v. 15, p. 133-140, 2016.

SANTOS JÚNIOR, R. Q.; SOARES, L. C.; MAIA FILHO, A. L. M.; ARAUJO, K. S.; SANTOS, I. M. S. P.; COSTA JÚNIOR, J. S.; SAFFI, J. Estudo histológico da cicatrização

---

---

de feridas cutâneas utilizando a banha de bacuri (*Platonia insignis* Mart.). **ConScientiae Saúde**, v. 9, p. 575-581, 2010.

SANTOS, D. S.; SILVA, I. G.; ARAÚJO, B. Q.; LOPES JÚNIOR, C. A.; MONÇÃO, N. B. N.; CITO, A. M. G. L.; SOUZA, M. H. S. L.; NASCIMENTO, M. D. S. B.; COSTA, M. C. P. Extraction and evaluation of fatty acid composition of *Orbignya phalerata* Martuis oils (Arecaceae) from Maranhão State, Brasil. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 24, p. 355, 2013.

SANTOS, L. L.; BRENZAN, M. A.; HONDA, P. A.; BAZOTTE, R. B.; OLIVEIRA, C. E.; YAMAGUCHI, M. U.; CORTEZ, L. E. R.; CORTEZ, D. A. G. Evaluation of extract from leaves of *Calophyllum brasiliense* Cambess. (Clusiaceae) using micronucleus assay in mouse bone-marrow cells. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 9, p. 576-581, 2015.

SCHUMMER, C.; DELHOMME, O.; APPENZELLER, B. M. R.; WENNIG, R.; MILLET, M. Comparison of MTBSTFA and BSTFA in derivatization reactions of polar compounds prior to GC/MS analysis. **Talanta**, v. 77, p. 1473-1482, 2009.

SERAFINI, M. R.; SANTOS, R. C.; GUIMARÃES, A. G.; SANTOS, J. P. A.; SANTOS, A. D. C.; ALVES, I. A.; GELAIN, D. P.; NOGUEIRA, P. C. L.; QUINTANS-JÚNIOR, L. J.; BONJARDIM, L. R.; ARAÚJO, A. A. S. *Morinda citrifolia* Linn leaf extract possesses antioxidant activities and reduces nociceptive behavior and leukocyte migration. **Journal of Medicinal Food**, v. 14, n. 10, p. 1159-1166, 2011.

SHANLEY, P.; MEDINA, G. Frutíferas e plantas úteis na vida amazônica. Pará: Belém, v. 54, 2005.

SILVA, F. A. M.; BORGES, M. F. M.; FERREIRA, M. A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. **Química Nova**, v. 22, n. 1, p. 94-103, 1999.

SIMÕES, C. M. O.; SCHEMKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora UFSC, p.1104, 2007.

SOBRAL, I. S.; SOUZA NETA, L. C.; COSTA, G. A. N.; GUEDES, M. L. S.; MARTINS, D.; CRUZ, F. G. Xantonas, triterpenos e atividade antibacteriana do extrato em diclorometano de *Kielmeyera cuspidata* saddi, Clusiaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, p. 686, 2009.

SOUSA, C. M. M.; SILVA, H. R.; VIEIRA-JR., G. M.; AYRES, M. C. C.; COSTA, C. L. S.; ARAÚJO, D. S.; CAVALCANTE, L. C. D.; BARROS, E. D. S.; ARAÚJO, P. B. M.; BRANDÃO, M. S.; CHAVES, M. H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.

SPINO, C.; DODIER, M.; SOTHEESWARAN, S. Anti-HIV coumarins from calophyllum seed oil. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 8, p. 3475-3478, 1998.

TSUKUI, A. ; BRAND, A. L. M.; VENDRAMINI, P. H. ; EBERLIN, M. N. ; SCHOLZ, M. B. S.; REZENDE, C. M. Abordagem metabolômica: discriminação de tratamento póscolheita de grãos de café verde (*Coffea arabica* L.) do Paraná. In: **IX Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil. Anais eletrônicos. Curitiba. 2015.** Disponível em <[http://www.sapc.embrapa.br/arquivos/consorcio/spcb\\_anais/simposio9/169.pdf](http://www.sapc.embrapa.br/arquivos/consorcio/spcb_anais/simposio9/169.pdf)>. Acesso em: 17 nov.2015.

TREVISAN, M. T. S.; MACEDO, F. V. V. Seleção de plantas com atividade anticolinesterase para o tratamento da doença de Alzheimer. **Química Nova**, v. 26, n. 3, p. 301-304, 2003.

VALKO, M.; LEIBFRITZ, D.; MONCOL, J.; CRONIN, M. T. D.; MAZUR, M.; TELSER, J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 39, n. 1, p. 44-84, 2007.

VEIGA JÚNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. Plantas medicinais: Cura segura. **Química Nova**, v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005

VERDI, L. G.; PIZZOLATTI, M. G.; MONTANHER, A. B. P.; BRIGHENTE, I. M. C.; SMANIA JÚNIOR, A.; SMANIA, E. F. A.; SIMIONATTO, E. L.; DELL MONACHE, F.



Antibacterial and brine shrimp lethality tests of biflavonoids and derivatives of *Rheedia gardneriana*. **Fitoterapia**, v. 75, n. 3, p. 360-363, 2004.

VIANA, A. F. S. C.; REIS FILHO, A. C.; LIMA, G. S.; DINIZ, J. A.; SANTOS M. O.; OLIVEIRA, R. C. M. Avaliação da atividade gastroprotetora das casca do caule da *Platonia insignis* Mart. em ensaios experimentais de lesão gastrica em roedores. **Anais do I Encontro Estratégico em Ciências Farmacêuticas**, v.4, n. 2, p. 129- 130, 2013.

WANG, J. J.; SANDERSON, B. J.; ZHANG, W. Citotoxic effect of xantones from pericarp of the tropical fruit mangosteen (*Gracinia mangostana* Linn.) on human melanoma cells. **Food and Chemical Toxicology**, v. 49, p. 2385-2391, 2011.

WENG, J. R.; TSAO, L. T.; WANG, J. P.; WU, R.R.; LIN, C. N. Anti-inflammatory phloroglucinols and terpenoids from *Garcinia subelliptica*. **Journal of Natural Products**, v. 67, p. 1796–1799, 2004.

WITTENAUER, J.; FALK, S.; SCHUEIGGERT-WEISZ, U.; CARLE, R. Characterisation and quantification of xanthonenes from the aril and pericarpo of mangosteen containing functional beverage by HPLC-DAD-MN<sup>II</sup>. **Food Chemistry**, v. 134, p. 445-452, 2012.

WRIGHT, J. L. C.; MCINNES, A. G.; SHIMIZU, S.; SMITH, D. G.; WALTER, J. A.; IDLER, D.; KHALIL, W. Identification of C-24 alkyl epimers of marine sterols by <sup>13</sup>C nuclear magnetic resonance spectroscopy. **Canadian Journal of Chemistry**, v. 56, n. 14, p. 1898-1903, 1978.

WU, C. C.; LU, Y. H.; WEI, B. L.; YANG, S. C.; WON, S. J.; LIN, C. N. Phloroglucinols with prooxidant activity from *Garcinia subelliptica*. **Journal of natural products**, v. 71, p. 246-250, 2008.

XU, H. X.; MUGHAL, S.; TAIWO, O.; LEE, S. F. Isolation and characterization of an antibacterial biflavonoid from an African chewing stick *Garcinia kola* Herckel (Clusiaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 147, p. 497-502, 2013.

YAMAGUCHI, K. K. L.; PEREIRA, C. V. L.; LIMA, E. S.; VEIGA JÚNIOR, V. F. Química e farmacologia do bacuri (*Platonia insignis*). **Scientia Amazonia**, v. 3, n. 2, p. 39-46, 2014.

ZARETSKII, V. I.; VULFSON, N. S.; ZAIKIN, V. G.; PAPERDAYA, I. B. Mass spectrometry of steroid systems. XII. Determination of the position of the double Bond in some steroid systems by the method of fragmentation mass spectrometry. **Chemistry of Natural Compounds**, v. 3, n. 6, p. 320-327, 1967.

ZHOU, Y.; HAN, Q. B.; SONG, J. Z.; QIAO, C. F.; XU, H. X. Characterization of polyprenylated xanthenes in *Garcinia xipshuanbannaensis* using liquid chromatography coupled with electrospray ionization quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1206, p. 131-139, 2008.