

CONSTITUENTES QUÍMICOS E ATIVIDADE ANTIEDEMATOGÊNICA DE *Peltodon radicans* (LAMIACEAE)**Habel Nasser Rocha da Costa**

Departamento de Química, Centro de Ciências e Tecnologia, Universidade Federal de Roraima, Av. Capitão Ene Garcez, 2413, Campus Paricarana, 69304-000 Boa Vista – RR, Brasil

**Maria Cristina dos Santos**

Departamento de Parasitologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas, Campus Universitário, 69077-000 Manaus – AM, Brasil

**Antônio Flavio de Carvalho Alcântara\*, Marilda Conceição Silva, Roberta Cabral França e Dorila Piló-Veloso**

Departamento de Química, Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Minas Gerais, Av. Presidente Antônio Carlos, 6627, 31260-901 Belo Horizonte – MG, Brasil

Recebido em 4/6/07; aceito em 11/10/07; publicado na web em 10/3/08

CHEMICAL CONSTITUENTS AND ANTIEDEMATOGENIC ACTIVITY OF *Peltodon radicans* (Lamiaceae). Most of the snakebite incidents in the Amazon region involve *Bothrops atrox*, whose venom presents the most potent edematogenic and necrotic activities in the genus. This work describes the studies of isolation of the chemical constituents and antiedematogenic activity of the species *Peltodon radicans* (Lamiaceae), which is used in the treatment of snakebites and scorpion stings in the region. The extracts presented aliphatic hydrocarbons, 3*b*-OH, *b*-amirin (**1**), 3*b*-OH, *a*-amirin (**2**), *b*-sitosterol (**3**), stigmasterol (**4**), ursolic acid (**5**), 2*a*,3*b*,19*a*-trihydroxy-urs-12-en-28-oic acid (tormentic acid, **6**), methyl 3*b*-hydroxy,28-methyl-ursolate (**7**), sitosterol-3-*O*-*b*-D-glucopyranoside (**8**), and stigmasterol-3-*O*-*b*-D-glucopyranoside (**9**). The flower extracts presented the higher antiedematogenic activity. This is the first report on the study of the flowers, stem, and roots of this plant.

Keywords: *Peltodon radicans*; antiedematogenic activity; triterpenes.

## INTRODUÇÃO

Segundo a Organização Mundial da Saúde, anualmente cerca de 2,5 milhões de pessoas sofrem acidentes ofídicos no mundo, com 125 mil mortes.<sup>1</sup> Esses acidentes representam um enorme problema de saúde pública, especialmente em países tropicais.<sup>2-4</sup> Na África, são registrados cerca de 500 mil acidentados por ano, com 40% dos casos hospitalizados e 20.000 óbitos.<sup>5</sup> Na Ásia há entre 25 e 35 mil óbitos por ano.<sup>6</sup> O Ministério da Saúde do Brasil registra entre 19 e 22 mil acidentes ofídicos por ano, com aproximadamente 0,45% de letalidade.<sup>7</sup> Quando informado o gênero da serpente, *Bothrops* foi responsável por 90,5% dos acidentes ofídicos, envolvendo 0,31% de óbito.

*Bothrops atrox* (jararaca) é encontrada vastamente na região Norte do Brasil,<sup>8,9</sup> habitando ambientes úmidos de zonas rurais ou periféricas das grandes cidades, onde haja facilidade para proliferação de roedores.<sup>10-13</sup> Na Amazônia essa espécie ocorre em altas densidades, principalmente em florestas, apresentando hábitos noturnos. Os jovens ingerem presas exotérmicas e os adultos, presas endotérmicas, ocorrendo portanto variação ontogenética para a peçonha dessa espécie.<sup>14-16</sup> Os venenos de *B. atrox* são constituídos principalmente por proteínas com atividade enzimática, apresentando variações tanto inter quanto intraespecíficas.<sup>17-19</sup> Esses vene-

nos induzem reações locais imediatas como dor, edema, hemorragia e mionecrose,<sup>20</sup> podendo levar à perda tecidual abundante, assim como de parte ou de todo o membro atingido. Dentre as atividades biológicas sistêmicas destacam-se principalmente a coagulante e a hemorrágica.<sup>21-24</sup> Os antivenenos botrópicos neutralizam principalmente os efeitos sistêmicos induzidos pelos venenos.<sup>25-27</sup> Porém, os efeitos locais, particularmente o edema, não são neutralizados, dificultando o tratamento dos acidentados.<sup>28-31</sup>

Alguns estudos mostram o uso popular de espécies vegetais<sup>32-37</sup> e a eficácia da heparina no tratamento das reações locais por envenenamentos ofídicos.<sup>38-40</sup> A espécie *Peltodon radicans* é conhecida popularmente por paracari,<sup>41-43</sup> sendo encontrada na região Amazônica principalmente em terrenos arenosos e matas de terra firme.<sup>44,45</sup> Essa espécie tem sido usada em tratamentos de asma, bronquite, coqueluche, inflamações dos rins e do fígado, afecções da pele e como vermífugo,<sup>46,47</sup> além do uso no tratamento de acidentes ofídicos.<sup>48</sup> Das folhas foram isolados éteres de cadeias longas, resinas, glucosídeos e alcalóides,<sup>49</sup> *b*-sitosterol, stigmasterol, ácido ursólico<sup>50</sup> e *mio*-inositol.<sup>51</sup> Nenhum outro estudo fitoquímico mais sistemático sobre *P. radicans* foi encontrado na literatura. Portanto, neste trabalho são descritos os estudos do isolamento de constituintes químicos e da atividade antiedematogênica de diferentes partes dessa espécie vegetal (folhas, flores, caules e raízes) para estabelecer dentre seus princípios ativos quais atuam como antiofídicos, sendo este o primeiro relato do estudo de flores, caules e raízes desta espécie. Os estudos fitoquímicos foram direcionados para isolamento de esteróides e triterpenos pentacíclicos, considerando a vasta gama de atividades biológicas alegadas para estas duas classes de metabólitos secundários.<sup>52-56</sup>

Dedicamos este trabalho à Helena Ferraz, que nasceu e cresceu, e que me viu também nascer e crescer, em um daqueles muitos rincões mineiros encostados na Serra da Mantiqueira. Mantiqueira - do tupi "Amantikir" - a montanha que chora, agora chora e choramos ainda mais, por você, Helena.

\*e-mail: aalcantara@zeus.qui.ufmg.br

## PARTE EXPERIMENTAL

### Procedimentos fitoquímicos gerais

Os pontos de fusão não corrigidos foram determinados em um aparelho Mettler, modelo FP80 a uma taxa de aquecimento de 2 °C/min. Os espectros de absorção na região do infravermelho (IV) foram obtidos em espectrômetro Mattson Instruments – FTIR usando pastilhas de KBr. Os espectros de RMN foram obtidos em espectrômetro Bruker Avance DRX 400, operando na frequência de 400 MHz (<sup>1</sup>H) e 100 MHz (<sup>13</sup>C), otimizados para técnicas uni (RMN de <sup>1</sup>H, de <sup>13</sup>C e subespectros DEPT 135) e bidimensionais (<sup>1</sup>H,<sup>1</sup>H-COSY, <sup>1</sup>H,<sup>1</sup>H-NOESY, <sup>1</sup>H,<sup>13</sup>C-HMQC e <sup>1</sup>H,<sup>13</sup>C-HMBC). Os solventes CDCl<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>OD e CD<sub>5</sub>N foram empregados na dissolução de quantidades variáveis de amostras, tendo TMS como padrão interno. Os deslocamentos químicos foram registrados em unidade *d* e as constantes de acoplamento (*J*) em Hz. As análises por CG/EM foram realizadas em cromatógrafo Hewlett Packard modelo HP5989A II, acoplado a espectrômetro de massas Hewlett Packard modelo 5989 A. As amostras foram energizadas a 70 eV e submetidas à coluna metilsilicone de sílica fundida (30 m/0,2 mm), tendo hélio como gás de arraste em fluxo de 1,5 mL/min.

As cromatografias de adsorção em coluna (CC) foram realizadas em colunas cilíndricas de vidro de dimensões dependentes da quantidade de amostra cromatografada, empregando como fases estacionárias sílica gel 60 (70-230 mesh) da Merck, florisil da Aldrich e Sephadex LH-20 da Sigma, submetidas a pressão atmosférica. Nas cromatografias *flash* foram empregadas como fases estacionárias sílica gel 60 (230-400 mesh, UETC) e florisil da Aldrich. As cromatografias em camada delgada (CCD) foram realizadas em placas de vidro recobertas por sílica gel 60 G da Merck, empregando luz UV (254 e 366 nm), vapores de iodo e solução anisalaldeído/ácido sulfúrico como reveladores. Os testes de Liebermann-Burchard foram realizados para amostras dissolvidas em clorofórmio, com adição de gotas de anidrido acético e, lentamente, gotas de ácido sulfúrico concentrado, apresentando coloração violeta/azul permanente para triterpenos pentacíclicos e coloração esverdeada para esteróides.<sup>57</sup>

### Material vegetal

O material vegetal de *Peltodon radicans* foi oriundo do município de Novo Airão, estado do Amazonas (Latitude -2,62139 e Longitude -60,94417). As coletas para estudos fitoquímicos e biológicos foram realizadas respectivamente em janeiro de 2004 e março de 2006, ambas na parte da manhã e no mesmo local, de solo argiloso e com bastante capim. Uma exsicata da espécie foi identificada pelo Dr. J. Lima (Depto. de Botânica do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA), encontrando-se depositada no Herbário do INPA (n° 216.222).

### Extração e isolamento dos fitoconstituintes

As diferentes partes da planta foram separadas e secadas, fornecendo materiais moídos das folhas (Fo; 613,00 g), flores (Fl; 366,20 g), caules (Ca; 1.054,20) e raízes (Ra; 206,65 g). A extração foi realizada sucessivamente em hexano e etanol a temperatura ambiente. Após evaporação dos solventes em rotavapor, foram obtidos respectivamente os extratos hexânico (EH) e etanólico (EE) das folhas: Fo-EH (7,1050 g) e Fo-EE (54,2533 g); flores: Fl-EH (3,4608 g) e Fl-EE (4,7459 g); caules: Ca-EH (37,4070 g) e Ca-EE (74,8357 g); raízes: Ra-EH (9,1710 g) e Ra-EE (2,8500 g). Os extratos foram submetidos à CC em coluna de sílica gel, eluindo com

hexano, diclorometano, acetato de etila e etanol, em gradiente crescente de polaridade. O fracionamento cromatográfico foi acompanhado por luz UV e as frações foram reunidas em grupos de acordo com análises por CCD de sílica gel. As substâncias foram analisadas por CG/EM e RMN. A Figura 1 apresenta as estruturas químicas dos fitoconstituintes isolados de *Peltodon radicans*, enquanto na Tabela 1 são especificadas as suas quantidades relativas e a parte do vegetal do qual foram isolados.

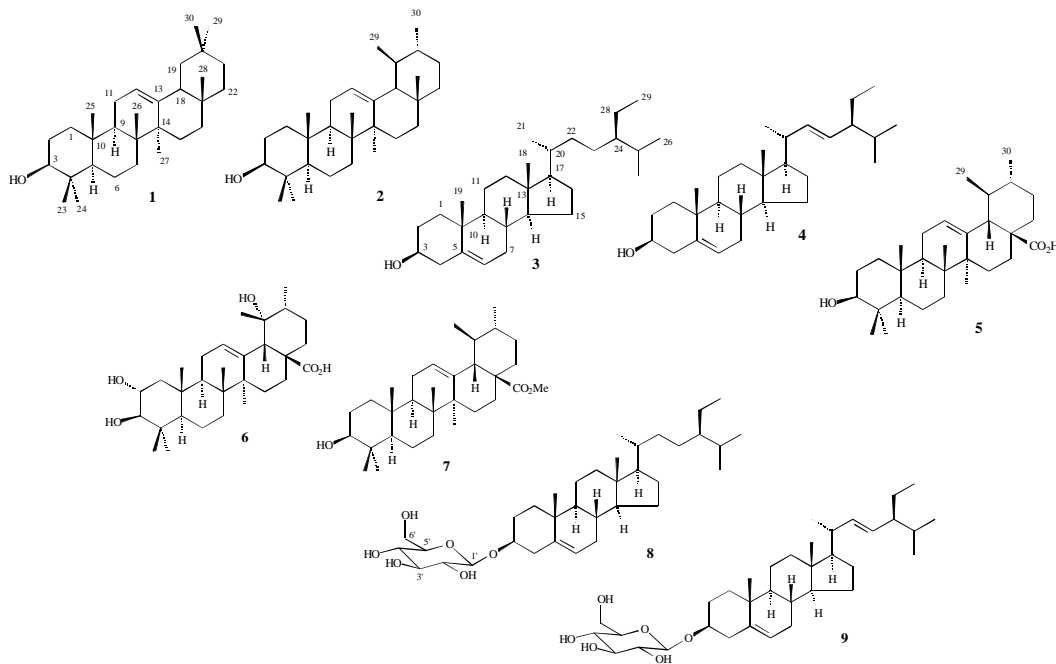
As frações de Fo-EH eluídas com hexano foram reunidas e submetidas à CC em sílica gel. A eluição com hexano:diclorometano (6:4) forneceu um sólido branco (12,8 mg), constituído por hidrocarbonetos saturados (C<sub>21</sub>H<sub>44</sub>, C<sub>12</sub>H<sub>26</sub> e C<sub>19</sub>H<sub>40</sub>). As frações hexânicas de Ca-EH forneceram um sólido branco (65,5 mg), constituído por hidrocarbonetos saturados (C<sub>29</sub>H<sub>60</sub> a C<sub>37</sub>H<sub>76</sub>). As frações hexânicas de Ra-EH foram reunidas e submetidas à CC em sílica gel. A eluição com hexano forneceu um sólido branco (5,0 mg), constituído por hidrocarbonetos saturados (C<sub>27</sub>H<sub>56</sub> a C<sub>37</sub>H<sub>76</sub>).

As frações de Fl-EH eluídas com hexano foram reunidas e recristalizadas em etanol, fornecendo um sólido (11,4 mg) constituído por hidrocarbonetos saturados (C<sub>29</sub>H<sub>60</sub> a C<sub>33</sub>H<sub>68</sub>). As frações eluídas com acetato de etila foram reunidas e submetidas à CC de florisil. A fração eluída com diclorometano foi recristalizada em hexano:diclorometano (7:3), fornecendo um sólido (10,1 mg) que apresentou teste Liebermann-Burchard positivo para triterpenos pentacíclicos (p.f.: 77,6–79,7 °C), constituído por: **3b-OH,b-amirina** (**1**, 42,9%) e **3b-OH,a-amirina** (**2**, 57,1%).

A eluição do extrato Fo-EE com hexano:diclorometano (1:1) forneceu um sólido que foi submetido à CC de sílica gel. A fração eluída com hexano:diclorometano (1:1) forneceu um sólido branco (8,6 mg), que apresentou teste Liebermann-Burchard positivo para triterpenos pentacíclicos, identificado como **a-amirina 2**. As frações de Fo-EE eluídas com diclorometano foram reunidas e submetidas à CC em sílica gel. A eluição com hexano:diclorometano (4:6) forneceu seis frações com sólidos brancos que foram recristalizados separadamente em etanol e apresentaram teste Liebermann-Burchard positivo para esteróides, constituídos por: Fração 1 (3 mg; **3**, 69,3%; **4**, 30,7%); Fração 2 (9,7 mg; **3**, 66,1%; **4**, 33,9%); Fração 3 (80,6 mg; **3**, 65,2%; **4**, 34,8%); Fração 4 (34,2 mg; **3**, 62,3%; **4**, 37,7%); Fração 5 (17,7 mg; **3**, 56,3%; **4**, 43,7%); Fração 6 (140,8 mg; **3**, 46,2%; **4**, 53,8%).

As frações de Fl-EE eluídas com acetato de etila:etanol (1:1) foram reunidas e submetidas à CC em sílica gel. As frações eluídas com diclorometano:etanol (9:1) foram reunidas e recristalizadas em acetona, fornecendo um sólido branco (8,5 mg), que apresentou teste Liebermann-Burchard positivo para triterpenos pentacíclicos, identificado como ácido ursólico **5**. As frações eluídas com diclorometano:etanol (8:2) foram reunidas e recristalizadas em acetona, fornecendo um sólido branco (10,9 mg), que apresentou teste Liebermann-Burchard positivo para triterpenos pentacíclicos, identificado como **2a,3b,19a-tri-hidroxi-urs-12-en-28-óico** (ácido tormêntico, **6**).

As frações de Ca-EE eluídas com acetato de etila foram reunidas e submetidas à CC de sílica gel. As frações eluídas com diclorometano foram reunidas e submetidas à CC de florisil. A fração eluída com hexano:diclorometano (9:1) foi recristalizada em etanol, fornecendo um sólido branco (148,5 mg), que apresentou teste Liebermann-Burchard positivo para esteróides, constituído por **3** (36,5%) e **4** (63,5%). A fração eluída com hexano:diclorometano (8:2) foi recristalizada em etanol, fornecendo um sólido branco (43,9 mg), que apresentou teste Liebermann-Burchard positivo para esteróides, constituído por **3** (49,5%) e **4** (50,5%). As frações eluídas com diclorometano:acetato de etila (1:1) foram reunidas e recristalizadas em etanol, fornecendo um sólido branco



**Figura 1.** Estruturas químicas dos fitoconstituintes isolados de *P. radicans*

(45,1 mg), que apresentou teste Lieberman-Burchard positivo para triterpenos pentacíclicos, identificado como **3 $\beta$ -hidroxi-28-ursolato de metila (7)**.

As frações de Ra-EE eluídas com hexano:acetato de etila (9:1) foram reunidas e recristalizadas em metanol, fornecendo um sólido branco (9,0 mg), que apresentou teste Liebermann-Burchard positivo para esteróides (p.f.: 146,9–148,1 °C), constituído por **3** (58,5%) e **4** (41,5%). As frações eluídas com acetato de etila foram reunidas e recristalizadas em etanol, fornecendo um sólido branco (2,9 mg), que apresentou teste Liebermann-Burchard positivo para esteróides (p.f.: 282,9–285,6 °C), constituído por sitosterol-3-*O*-*b*-D-glicopiranosídeo (**8**, 31,2%) e estigmasterol-3-*O*-*b*-D-glicopiranosídeo (**9**, 68,8%).

#### **3 $\beta$ -OH,*b*-Amirina (1)<sup>58</sup>**

Sólido cristalino: RMN de <sup>13</sup>C (100 MHz; CDCl<sub>3</sub>)  $d_c$  145,2 (C-13), 121,8 (C-12), 79,1 (C-3), 55,2 (C-5), 47,8 (C-9), 47,3 (C-18), 46,9 (C-19), 41,8 (C-14), 38,8 (C-1, C-4 e C-8), 37,2 (C-10 e C-22), 34,8 (C-21), 33,4 (C-29), 32,8 (C-7), 32,5 (C-17), 31,1 (C-20), 28,4 (C-28), 28,1 (C-23), 27,3 (C-2), 27,0 (C-16), 26,2 (C-15), 26,0 (C-27), 23,7 (C-30), 23,6 (C-11), 18,9 (C-26), 18,4 (C-6) e 15,6 (C-24 e C-25).

#### **3 $\beta$ -OH,*a*-Amirina (2)<sup>59</sup>**

Sólido cristalino: p.f.: 78,0–81,1 °C (Lit. 78,8–80,3 °C); RMN de <sup>13</sup>C (100 MHz; CDCl<sub>3</sub>)  $d_c$  139,6 (C-13), 124,4 (C-12), 79,1 (C-3), 59,1 (C-18), 55,2 (C-5), 47,7 (C-9), 42,1 (C-14), 41,5 (C-22), 40,0 (C-8), 39,6 (C-19 e C-20), 39,4 (C-1), 38,8 (C-4), 36,9 (C-10), 33,7 (C-17), 32,9 (C-7), 31,9 (C-21), 28,7 (C-15), 28,1 (C-23 e C-28), 27,3 (C-2), 26,6 (C-16), 23,3 (C-11), 22,7 (C-27), 21,3 (C-30), 19,8 (C-6), 17,5 (C-29), 16,9 (C-26) e 15,5 (C-24 e C-25).

#### **Ácido ursólico (5)<sup>60,61</sup>**

Sólido cristalino: p.f.: 224,3–227,5 °C (Lit. 232,8–235,2 °C); RMN de <sup>13</sup>C (100 MHz; MeOD)  $d_c$  181,9 (C-28), 139,8 (C-13), 127,0 (C-12), 79,9 (C-3), 56,9 (C-5), 54,6 (C-18), 49,3 (C-17), 49,1 (C-9), 43,4 (C-14), 40,9 (C-8), 40,6 (C-4 e C-19), 40,2 (C-20), 39,9 (C-1), 38,3 (C-10 e C-22), 34,5 (C-7), 31,9 (C-21), 29,4 (C-

15), 28,9 (C-23), 28,1 (C-2), 25,5 (C-16), 24,5 (C-27), 24,2 (C-11), 21,7 (C-30), 19,4 (C-6), 17,9 (C-29), 17,7 (C-26), 16,5 (C-25) e 16,2 (C-24).

#### **Ácido 2 $\alpha$ ,3 $\beta$ ,19 $\alpha$ -tri-hidroxi-urs-12-en-28-óico (ácido tormântico, 6)<sup>62,63</sup>**

Sólido branco: p.f.: 278,5–283,2 °C (Lit. 277,2 – 278,3 °C); IV (KBr, cm<sup>-1</sup>)  $\nu$  : 3435, 2930, 2878, 1690, 1460, 1379, 1262, 1233, 1156, 1048, 1033, 932, 866 e 802; RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz; MeOD)  $d_H$  5,20 (s, H-12), 3,50 (m, H-2), 2,81 (d,  $J=9,6$  Hz, H-3), 2,48 (dd,  $J=13,2$  e 4,0 Hz, H-16a), 2,41 (s, H-18), 1,91 (m, H-11), 1,84 (dd,  $J=12,1$  e 4,2 Hz, H-1a), 1,71 (ddd,  $J=14,6$ , 13,6 e 4,2 Hz, H-15a), 1,65 (m, H-9), 1,63 (m, H-21a), 1,62 (m, H-22a), 1,53 (m, H-22b), 1,45 (m, H-6a), 1,42 (m, H-16b), 1,39 (m, H-6b), 1,27 (m, H-20), 1,24 (s, H-27), 1,13 (m, H-21b), 1,09 (s, H-29), 0,92 (s, H-25), 0,88 (m, H-15b), 0,84 (d,  $J=6,6$  Hz, H-30), 0,82 (s, H-23), 0,78 (m, H-1b), 0,77 (m, H-5), 0,71 (s, H-24) e 0,70 (s, H-26); RMN de <sup>13</sup>C (100 MHz; MeOD)  $d_c$  181,1 (C-28), 140,3 (C-13), 129,4 (C-12), 84,3 (C-3), 73,8 (C-19), 69,7 (C-2), 56,9 (C-5), 55,3 (C-18), 48,8 (C-17), 48,7 (C-9), 48,3 (C-1), 43,2 (C-20), 41,3 (C-8), 40,7 (C-4), 39,4 (C-10), 39,2 (C-22), 34,3 (C-7), 29,7 (C-15), 28,8 (C-23), 27,4 (C-21), 27,2 (C-29), 26,8 (C-16), 25,0 (C-27), 24,9 (C-11), 19,8 (C-6), 17,7 (C-24), 17,6 (C-26), 17,1 (C-25) e 16,7 (C-30).

#### **3 $\beta$ -Hidroxi-28-ursolato de metila (7)<sup>64</sup>**

Sólido cristalino: p.f.: 218,9–222,7 °C (Lit. 220,0 – 222,0 °C); RMN de <sup>13</sup>C (100 MHz; MeOD)  $d_c$  180,4 (C-28), 138,5 (C-13), 125,3 (C-12), 78,8 (C-3), 55,3 (C-5 e O-Me), 53,0 (C-18), 47,8 (C-17), 47,7 (C-9), 42,1 (C-14), 39,6 (C-8), 39,2 (C-19), 39,0 (C-20), 38,8 (C-4), 38,7 (C-1), 37,1 (C-10), 37,0 (C-22), 33,1 (C-7), 30,9 (C-21), 28,2 (C-15 e C-23), 27,3 (C-2), 24,5 (C-16), 23,6 (C-27), 23,3 (C-11), 21,3 (C-30), 18,4 (C-6), 17,1 (C-29), 17,0 (C-26), 15,7 (C-25) e 15,5 (C-24).

#### **Sitosterol-3-*O*- $\beta$ -D-glicopiranosídeo (8)<sup>65,66</sup>**

Sólido cristalino: RMN de <sup>13</sup>C (100 MHz; DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $d_c$  140,5 (C-5), 121,2 (C-6), 100,8 (C-1'), 76,9 (C-3'), 76,8 (C-2'), 73,5 (C-5'), 70,1 (C-3 e C-4'), 61,1 (C-6'), 56,3 (C-14), 55,3 (C-17), 49,6

**Tabela 1.** Rendimento de obtenção das substâncias isoladas nos diferentes extratos de *P. radicans*

Extrato (massa)	Substância	Massa (mg)	Rendimento (%)
Fo-EH (7,1050 g)	Hidrocarbonetos	12,8	0,18
Fo-EE (54,2533 g)	<b>a</b> -Amirina ( <b>2</b> )	8,6	0,02
	<b>b</b> -Sitosterol ( <b>3</b> )	157,4	0,29
	Estigmasterol ( <b>4</b> )	128,6	0,24
Fl-EH (3,4608 g)	Hidrocarbonetos	11,4	0,33
	<b>b</b> -Amirina ( <b>1</b> )	4,3	0,12
	<b>a</b> -Amirina ( <b>2</b> )	5,8	0,17
Fl-EE (4,7459 g)	Ácido ursólico ( <b>5</b> )	8,5	0,18
	Ácido tormêntico ( <b>6</b> )	10,9	0,23
Ca-EH (37,4070 g)	Hidrocarbonetos	65,5	0,18
Ca-EE (74,8357 g)	<b>b</b> -Sitosterol ( <b>3</b> )	75,9	0,10
	Estigmasterol ( <b>4</b> )	116,5	0,16
	<b>3b</b> -Hidroxi-28-ursolato de metila ( <b>7</b> )	45,1	0,06
Ra-EH (9,1710 g)	Hidrocarbonetos	5,0	0,05
Ra-EE (2,8500 g)	<b>b</b> -Sitosterol ( <b>3</b> )	5,3	0,19
	Estigmasterol ( <b>4</b> )	3,7	0,13
	Sitosterol-3- <i>O</i> - <b>b</b> -D-glicopiranosídeo ( <b>8</b> )	0,9	0,03
	Estigmasterol-3- <i>O</i> - <b>b</b> -D-glicopiranosídeo ( <b>9</b> )	2,0	0,07

Fo= folha; Fl= flor; Ca= caule; Ra= raiz; EH= extrato hexânico; EE= extrato etanólico

(C-9), 45,2 (C-24), 41,8 (C-4 e C-13), 39,2 (C-12), 36,8 (C-1), 36,2 (C-10), 35,5 (C-20), 33,4 (C-22), 31,4 (C-8), 31,3 (C-7 e C-2), 28,7 (C-25), 27,8 (C-16), 25,5 (C-23), 24,9 (C-15), 22,6 (C-28), 20,6 (C-11), 19,8 (C-26), 19,1 (C-19), 18,6 (C-21 e C-27), 11,9 (C-29) e 11,7 (C-18).

#### Estigmasterol-3-*O*- $\beta$ -D-glicopiranosídeo (**9**)<sup>67,68</sup>

Sólido cristalino: RMN de <sup>13</sup>C (100 MHz; DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $d_c$  140,5 (C-5), 138,0 (C-22), 128,8 (C-23), 121,2 (C-6), 100,8 (C-1'), 76,9 (C-3'), 76,8 (C-2'), 73,5 (C-5'), 70,1 (C-3 e C-4'), 61,1 (C-6'), 56,2 (C-14), 55,4 (C-17), 50,6 (C-24), 49,6 (C-9), 41,9 (C-4 e C-13), 40,1 (C-20), 39,2 (C-12), 36,8 (C-1), 36,2 (C-10), 31,4 (C-8 e C-25), 31,3 (C-2 e C-7), 29,3 (C-16), 24,9 (C-15 e C-28), 21,1 (C-21), 20,9 (C-26), 20,6 (C-11), 19,1 (C-19), 18,6 (C-27), 12,1 (C-29) e 11,8 (C-18).

#### Atividade antiedematogênica

Imediatamente após a coleta do material vegetal, as folhas (317,72 g) e flores (145,13 g) foram maceradas, espremidas e os sumos liofilizados, obtendo-se os extratos macerados M-Fo (63,54 g) e M-Fl (88,80 g), respectivamente. A amostra de peçonha de *Bothrops atrox* foi extraída de uma fêmea adulta procedente do município de Presidente Figueiredo, estado do Amazonas. A peçonha liofilizada foi cedida pelo Núcleo de Animais Peçonhentos do Instituto de Medicina Tropical de Manaus. Os camundongos utilizados foram não-isogênicos, fêmeas, pesando entre 18 e 22 g, procedentes do Biotério do Departamento de Ciências Fisiológicas – ICB, UFAM. Esses animais foram mantidos em gaiolas de plástico a temperatura ambiente, recebendo ração apropriada e água à vontade.

Para determinação da atividade bloqueadora da ação edematogênica do veneno de *Bothrops atrox*<sup>69</sup> foram formados sete grupos com quatro animais por grupo. Seis grupos de camundongos receberam os extratos de M-Fo ou M-Fl nas doses de 7,0, 3,5 e 1,75 mg/mL, e um grupo foi usado como controle. As suspensões-mãe utilizadas nos preparos das doses foram feitas pesando-se de cada extrato 70 mg, que foram diluídos, separadamente, em 1 mL de solução salina. As doses dos extratos testadas nos experimentos corresponderam às usadas popularmente nos acidentes por serpentes peçonhentas em humanos. Todos os grupos de camundongos receberam a dose equivalente a três vezes a dose mínima edematogênica (DME) do veneno (3 x 1,2  $\mu$ g/animal – anteriormente determinada para esta amostra de veneno), no coxim plantar da pata traseira direita (pata experimental), em um volume de 50  $\mu$ L. No coxim plantar, da pata contralateral (pata controle) foram aplicados 50  $\mu$ L de solução salina. As diferentes doses dos extratos vegetais foram injetadas por via intraperitoneal no tempo zero, em um volume de 500,0  $\mu$ L. Os animais do grupo controle receberam solução salina (500,0  $\mu$ L) pela via intraperitoneal. As mensurações das patas foram realizadas nos tempos de 2, 4 e 6 h após aplicação do veneno, com auxílio do paquímetro digital Mitutoyo. O edema foi expresso em porcentagem, pela diferença entre as espessuras do coxim da pata experimental e da pata controle, dividida pela espessura do coxim da pata controle, multiplicado por 100, conforme Equação 1 (onde  $V_p\%$  é o aumento percentual do volume podal, sendo  $V_f$  e  $V_i$  os volumes final e inicial das patas medidas, respectivamente).

$$V_p\% = [(V_f - V_i) / V_i] \times 100 \quad (1)$$

Alíquotas dos extratos obtidos da primeira coleta foram submetidas aos testes de bloqueio da ação edematogênica do veneno de *Bothrops atrox*. Os extratos Fo-EE e Ca-EE (100  $\mu$ L) foram diluídos em 900  $\mu$ L de solução salina. O extrato Fl-EE (100  $\mu$ L) foi diluído em 800  $\mu$ L de solução salina e em 100  $\mu$ L de Twenn 20. Os experimentos seguiram a mesma metodologia descrita acima.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Estudo fitoquímico

Todos os hidrocarbonetos saturados isolados foram caracterizados por CG/EM. O esqueleto de triterpenos pentacíclicos do tipo oleonano de **1** foi proposto pela análise dos dados de RMN e comparação com dados da literatura para **3b**-OH-**b**-amirina.<sup>58</sup> O carbono metílico C-28 de **2** foi confirmado pela correlação HMBC do sinal em  $d_H$  5,13 (m, H-18) com o sinal de carbono em  $d_C$  28,1 (C-28). Análises por RMN indicaram o esqueleto de triterpenos pentacíclicos do tipo ursano para **2**, estando de acordo com dados descritos na literatura para **a**-amirina.<sup>59</sup> As estruturas dos esteróides **3** e **4** foram determinadas pelas análises por RMN e comparação com dados descritos na literatura para **b**-sitosterol<sup>70</sup> e estigmasterol,<sup>71</sup> respectivamente. Análises por RMN indicaram o esqueleto de triterpenos pentacíclicos do tipo ursano para **5**, estando de acordo com dados descritos na literatura para ácido ursólico.<sup>60,61</sup>

A caracterização estrutural de **6** foi baseada em análises por RMN 1D e 2D. Pelo mapa de contornos HMBC verificou-se que H-12 ( $d_H$  5,20) apresentou correlações com os carbonos de  $d_C$  140,3 (C-13), 55,3 (C-18), 48,7 (C-9), 43,0 (C-14) e 24,9 (C-11) e pelo mapa de contornos COSY com os hidrogênios de  $d_H$  2,41 (s, H-18) e 1,91 (m, H-11). O hidrogênio H-18 ( $d_H$  2,41) correlaciona-se por HMBC com os carbonos de  $d_C$  181,9 (C-28), 140,3 (C-13), 129,4 (C-12), 73,8 (C-19), 43,2 (C-20), 43,0 (C-14), 39,2 (C-22), 27,2

(C-29) e 26,8 (C-16), enquanto por NOESY apresenta correlações com os hidrogênios de  $d_H$  0,70 (s, H-26) e 1,09 (s, H-29). Esse último hidrogênio correlaciona-se por HMBC com os carbonos de  $d_C$  73,8 (C-19), 55,3 (C-18) e 43,2 (C-20) e ainda por NOESY apresenta correlações com o hidrogênio de  $d_H$  1,27-1,24 (m, H-20).

O hidrogênio H-2 ( $d_H$  3,50) correlaciona-se por HMBC com os carbonos de  $d_C$  84,3 (C-3), 48,3 (C-1), 40,7 (C-4) e 39,4 (C-10), apresentando por COSY correlações com os hidrogênios de  $d_H$  2,81 (d,  $J=9,6$  Hz, H-3), 1,84 (dd,  $J=12,1$  e 4,2 Hz, H-1a) e 0,78 (m, H-1b) e por NOESY correlações com os hidrogênios de  $d_H$  0,82 (s, H-23), 0,92 (s, H-25) e 0,78 (m, H-1b).

O hidrogênio H-3 ( $d_H$  2,81) correlaciona-se por HMBC com os carbonos de  $d_C$  69,7 (C-2), 56,9 (C-5), 48,3 (C-1), 40,7 (C-4), 28,8 (C-23) e 17,7 (C-24), apresentando por NOESY correlações com os hidrogênios de  $d_H$  0,77 (m, H-5) e 1,84 (dd,  $J=12,1$  e 4,2 Hz, H-1a). O hidrogênio H-25 ( $d_H$  0,92) apresenta por HMBC correlações com os carbonos de  $d_C$  56,9 (C-5), 48,3 (C-1), 39,4 (C-10) e 48,7 (C-9), apresentando por NOESY correlação com o hidrogênio de  $d_H$  0,70 (s, H-26). Esse último hidrogênio apresenta por HMBC correlações com os carbonos de  $d_C$  48,7 (C-9), 43,0 (C-14), 41,3 (C-8) e 34,3 (C-7). As demais atribuições dos sinais de RMN de  $^1H$  e de  $^{13}C$  do ácido tormêntico foram realizadas por comparação com dados da literatura.<sup>62,63</sup>

Análises por RMN indicaram também o esqueleto de triterpenos pentacíclicos do tipo ursano para **7**, estando de acordo com dados descritos na literatura para **3b**-hidroxi-28-ursolato de metila<sup>64</sup>. As estruturas dos esteróides **8** e **9** foram determinadas pelas análises por RMN e comparação com dados descritos na literatura para sitosterol-3-*O*-*b*-D-glicopiranosídeo<sup>65,66</sup> e estigmasterol-3-*O*-*b*-D-glicopiranosídeo,<sup>67,68</sup> respectivamente.

A Tabela 1 mostra o rendimento de obtenção das substâncias isoladas nos diferentes extratos da planta. Misturas dos esteróides **3** e **4** foram isoladas de Fo-EE, Ca-EE e Ra-EE, sendo também isolados os esteróides glicosilados **8** e **9** neste último extrato. Porém, esses esteróides não foram encontrados nas flores. Triterpenos pentacíclicos foram isolados em maiores proporções nas flores, sendo **1** e **2** de Fl-EH e **5** e **6** de Fl-EE. Proporções, relativamente, pequenas dos triterpenos pentacíclicos **2** e **7** foram isolados respectivamente de Fo-EE e Ca-EE.

### Atividade antiedematogênica

A Tabela 2 mostra os resultados obtidos nos testes de bloqueio da ação edematogênica com os extratos Fo-EE, Fl-EE e Ca-EE e as mensurações das patas em diferentes tempos após as aplicações. Após 2 h, apenas Fl-EE apresentou ação bloqueadora, pois reduziu 23,39% da atividade edematogênica do veneno de *Bothrops atrox*, em relação aos animais controle. Essa ação bloqueadora foi mais eficaz na 4ª e 6ª h (34,67 e 57,38%, respectivamente). Já o extrato Ca-EE apresentou fraca ação bloqueadora na dose testada (2ª h = -17,33%; 4ª h = 7,44% e na 6ª h = 20,89%) e o extrato Fo-EE não foi eficaz em bloquear a ação edematogênica induzida pelo veneno de *B. atrox*. Os valores negativos do bloqueio da ação edematogênica apresentados nesta tabela podem ser interpretados como potencialização do efeito edematogênico.

A Tabela 3 expressa os resultados obtidos dos testes de bloqueio da ação edematogênica 2 e 4 h após a aplicação dos extratos obtidos de acordo com o uso popular de M-Fo e M-Fl nas concentrações de 7,0; 3,5 e 1,75 mg/mL em solução salina. Apenas na 4ª h, M-Fo apresentou atividade bloqueadora nas concentrações de 1,75 e 7,0 mg/mL. Esses resultados indicam efeito pouco eficaz de M-Fo na neutralização da atividade edematogênica do veneno.

Por outro lado, M-Fl apresentou atividade antiedematogênica

**Tabela 2.** Bloqueio da atividade edematogênica do veneno de *Bothrops atrox* pelos extratos Fl-EE, Fo-EE e Ca-EE em relação aos animais controle, nos diferentes tempos após a aplicação

Tempo após aplicação	% de Bloqueio dos Extratos		
	Fo-EE	Fl-EE	Ca-EE
2 h	-49,65	23,39	-17,33
4 h	-51,45	34,67	7,44
6 h	-24,62	57,38	20,89

Fo= folha; Fl= flor; Ca= caule; Ra= raiz; EH= extrato hexânico; EE= extrato etanólico.

efetiva, dose-dependente, nos diferentes tempos observados. Portanto, os testes indicam que as flores apresentam maior concentração de composto(s) eficaz(es) em bloquear a ação edematogênica do veneno de *Bothrops atrox* que os extratos obtidos das outras partes da espécie vegetal (folhas e caule).

**Tabela 3.** Bloqueio da atividade edematogênica do veneno de *Bothrops atrox* pelos extratos M-Fo e M-Fl em relação aos animais controle, em concentrações variáveis e diferentes tempos após a aplicação

Tempo após aplicação	Concentração (mg/mL)	% de Bloqueio dos Extratos	
		M-Fo	M-Fl
2 h	1,75	1,05	49,74
	3,5	1,22	60,36
	7,0	1,66	65,19
4 h	1,75	15,16	57,26
	3,5	26,97	61,90
	7,0	14,57	82,73

M-Fo= macerado das folhas; M-Fl= macerado das flores.

Estudos mostram que esteróides apresentam atividades antiinflamatórias,<sup>72</sup> podendo ser relacionadas com a neutralização do efeito letal dos venenos brotópicos.<sup>73</sup> No entanto, os extratos das flores não forneceram os esteróides **3**, **4**, **8** e **9** (Tabela 1) mas apresentaram maiores efeitos de DME (Tabelas 2 e 3). Assim sendo, não é possível relacionar essas substâncias com a atividade DME estudada das flores.

Os efeitos anti-hiperalgésico de **2** têm sido observados nas dores inflamatórias persistentes.<sup>74</sup> Alguns estudos mostram que **1** e **2** apresentam atividades similares aos corticóides.<sup>75</sup> A atividade antiinflamatória dos triterpenos tem sido atribuída à presença de grupos carboxílicos e hidroxílicos em posições específicas nas interações de receptores glucocorticóides. Nos casos de **1** e **2**, a atividade antiinflamatória tem sido atribuída à posição do grupo hidroxila em C-3, com efeitos antiinflamatórios localizados.<sup>76</sup> Nos extratos das flores foram encontrados esses dois triterpenos (Tabela 1), o que poderia ser relacionado com a atividade antiedematogênica de Fl-EE e M-Fl (Tabelas 2 e 3).

O ácido ursólico **5** é encontrado amplamente no reino vegetal, apresentando diversas propriedades farmacológicas, como antiedematogênica e antiinflamatória.<sup>77-82</sup> Por sua vez, o ácido tormêntico **6** é menos freqüente em espécies vegetais,<sup>83-86</sup> apresentando também atividade antiinflamatória.<sup>87</sup> Esses dois triterpenos foram encontrados apenas nas flores a 0,18 e 0,23%, respectivamente. Ambas as proporções são relativamente altas, permitindo relacionar **5** e **6** com a atividade antiedematogênica de *Peltodon radicans* verificada popularmente e confirmada pelos testes biológicos realizados neste trabalho.

## CONCLUSÃO

Nos extratos das folhas, caules e raízes de *Peltodon radicans* foram identificados os esteróides **3**, **4**, **8** e **9**, além de proporções relativamente pequenas dos triterpenos pentacíclicos **2** e **7**. Esses extratos apresentaram menores atividades antiedematogênicas que o extrato das flores. Os testes de DME indicaram que o extrato das flores de *Peltodon radicans* apresentou eficácia significativa na neutralização da atividade edematogênica do veneno de *Bothrops atrox*. Além disso, a ação bloqueadora da atividade edematogênica desse extrato aumentou tanto com o tempo de aplicação quanto com a concentração do extrato (dose-resposta). Portanto, os resultados estão de acordo com algumas das informações etnofarmacológicas dessa espécie vegetal. Os triterpenos pentacíclicos **1**, **2**, **5** e **6**, identificados nos extratos das flores, podem estar relacionados com o bloqueio da atividade edematogênica pela *P. radicans*.

## AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM) pelo suporte financeiro.

## REFERÊNCIAS

- Cardoso, J. C. L.; Brando, R. B.; *Acidentes por animais peçonhentos*. Ed. Santos: São Paulo, 1982.
- Pinho, F. M. O.; Oliveira, E. S.; Faleiros, F.; *Rev. Assoc. Med. Bras.* **2004**, *50*, 16.
- Ministério da Saúde do Brasil; *Manual de Diagnóstico e Tratamento de Acidentes por Animais Peçonhentos*, Fundação Nacional de Saúde: Brasília, 1998.
- Pinho, F. M. O.; Pereira, I. D.; *Rev. Ass. Bras.* **2001**, *47*, 24.
- Chippaux, J. P.; *Bull. World Health Org.* **1998**, *76*, 515.
- Ribeiro, L. A.; Albuquerque, M. U.; Campos, V. A. P.; *Rev. Saúde Pública* **1995**, *5*, 380.
- Ministério da Saúde do Brasil; *Manual de Diagnóstico e Tratamento de Acidentes por Animais Peçonhentos*, Fundação Nacional de Saúde: Brasília, 2001.
- Jorge, M. T.; Ribeiro, L. A.; *Rev. Inst. Med. Trop.* **1992**, *34*, 347.
- Campbell, J. A.; Lamar, W. W.; *The Venomous Reptiles of Latin America*, Cornell University: New York, 1989.
- Barraviera, B.; *Arq. Bras. Med.* **1991**, *65*, 345.
- Hoge, A. R.; Hoge, S. A. R. W. R.; *Mem. Inst. Butantan* **1978/79**, *42/43*, 373.
- Cunha, R.; *Ofídios da Amazônia*, Museu Emílio Goeldi: Belém, 1978.
- Dos-Santos, M. C.; Martins, M.; Boechat, A. L.; Sá-Neto, R. P.; Oliveira, M. E.; *Serpentes de interesse médico da Amazônia*, UFAM/SESU: Manaus, 1995.
- Cardoso, J. L.; França, F. O. S.; Wen, F. H.; Sant'Ana, C. M. M.; Haddad, Jr. V.; *Animais Peçonhentos no Brasil: Biologia, clínica e terapêutica dos acidentes*, Sarvier: São Paulo, 2003.
- [http://eco.ib.usp.br/labvert/Jararaca/projjar\\_atrox\\_manau.htm](http://eco.ib.usp.br/labvert/Jararaca/projjar_atrox_manau.htm), acessada em Março 2007.
- Bolaños, R.; *Serpientes, Venenos y Ofidismo en Centro América*, Ed. Univ. de Costa Rica: San José, 1984.
- Furtado, M. F. D.; Colleto, G. M. D. D.; Dias da Silva, W.; *Mem. Inst. Butantan* **1991**, *53*, 149.
- Meier, J.; *Toxicon* **1996**, *34*, 787.
- Otero, R.; Osorio, R. G.; Valderrama, R.; Giraldo, O. A.; *Toxicon* **1992**, *30*, 611.
- Russel, F. E.; Calson, R. W.; Wainschel, J.; Osborne, A. H.; *JAMA, J. Am. Med. Assoc.* **1975**, *233*, 341.
- Rosenfeld, G. Em *Venomous Animals and their Venoms*; Buchel, W.; Buckley, E., eds.; Academic Press: New York, 1971.
- Teixeira, C. F. P.; Cury, Y.; Olga, S.; Jancar, S.; *Toxicon* **1994**, *32*, 419.
- Cury, Y.; Teixeira, C. F. P.; Sudo, L.; *Toxicon* **1994**, *32*, 1425.
- Picolo, G.; Chacur, M.; Gutiérrez, J. M.; Teixeira, C. F. P.; Cury, Y.; *Braz. J. Med. Biol. Res.* **2002**, *35*, 1221.
- Warrell, D. A.; *The Global Problem of Snake Bite: Its Prevention and Treatment*, Nat. Univ. of Singapore: Singapura, 1992.
- Coetzer, P. W.; Tilbury, C. R.; *S. Afr. Med.* **1982**, *62*, 206.
- Cardoso, J. L. C.; Fan, H. W.; Franca, F. O. S.; Jorge, M. T.; Leite, R. P.; Nishioka, S. A.; Avila, A.; Sano-Martins, I. S.; Tomy, S. C.; Santoro, M. L.; Chudzinski, A. M.; Castro, S. B.; Kamiguti, A. S.; Kelen, E. M. A.; Hirata, M. H.; Mirandola, R. M. S.; Theakston, R. D. G.; Warrell, D. A.; *Q. J. Med.* **1993**, *86*, 315.
- Gutiérrez, J. M.; Chaves, F.; Bolaños, R.; Cerdas, L.; Rojas, E.; Arroyo, O.; Portilla, E.; *Toxicon* **1981**, *19*, 493.
- Gutiérrez, J. M.; Gené, J. A.; Cerdas, L.; Rojas, G.; *Toxicon* **1985**, *23*, 887.
- Gutiérrez, J. M.; Gené, J. A.; Lemonte, B.; Cerdas, L.; Rojas, G.; *Comp. Biochem. Physiol., Part C: Toxicol. Pharmacol.* **1986**, *85*, 171.
- Jorge, M. T.; Ribeiro, L. A.; *Rev. Ass. Med. Brasil.* **1997**, *43*, 74.
- Melo, P. A.; Nascimento, M. C.; Mors, W. B.; Suarez-Kurtz, G.; *Toxicon* **1994**, *32*, 595.
- Mors, W. B.; Nascimento, M. C.; Pereira, B. M. R.; Pereira, M. A.; *Phytochemistry* **2000**, *55*, 627.
- Freitas, F. G.; Silva, T. A.; Oliveira, F.; Santos, B. R.; Homs-Brandeburgo, M. I.; Hamaguchi, A.; *Biosci. J.* **2005**, *21*, 95.
- Veronese, E. L.; Esmeraldino, L. E.; Trombone, A. P.; Santana, A. E.; Bechara, G. H.; Kettlehut, I.; Cintra, A. C.; Giglio, J. R.; Sampaio, S. V.; *Phytomedicine* **2005**, *12*, 123.
- Neves, P. C. A.; Maria Neves, M. C.; Cruz, A. B.; Sant'ana, A. E. G.; Yunes, R. A.; Calixto, J. B.; *Eur. J. Pharmacol.* **1993**, *243*, 213.
- Borges, M. H.; Alves, D. L.; Raslan, D. S.; Piló-Veloso, D.; Rodrigues, V. M.; Homs-Brandeburgo, M. I.; Lima, E.; *J. Ethnopharmacol.* **2005**, *98*, 21.
- Borges, C. C.; Sadahiro, M.; Dos-Santos, M. C.; *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* **1999**, *32*, 637.
- Melo, P. A.; Suarez-Kurtz, G.; *Toxicon* **1988**, *26*, 87.
- Melo, P. A.; Homs-Brandeburgo, M. I.; Giglio, J. R.; Suarez-Kurtz, G.; *Toxicon* **1993**, *31*, 285.
- Lorenzi, H.; Matos F. J. A.; *Plantas Medicinais no Brasil, Nativas e Exóticas*, Nova Odessa: Instituto Plantarum, Rio de Janeiro, 2002.
- [http://www.zum.de/stueber/pohl/band1/high/IMG\\_6485.html](http://www.zum.de/stueber/pohl/band1/high/IMG_6485.html), acessado em Março 2007.
- Balbach, A.; *A Flora Nacional na Medicina Doméstica, Edel - A Edificação do Lar*: São Paulo, 1969.
- Pedersen, J. A.; *Biochem. Syst. Ecol.* **2000**, *28*, 229.
- Ribeiro, J. E. L. S.; Hopkins, M. J. G.; Vicentini, A.; Sothers, C. A.; Costa, M. A. S.; Brito, J. M.; Souza, M. A. D.; Martins, L. H. P.; Lohmann, L. G.; Assunção, P. A. C. L.; Pereira, E. C.; Silva, C. F.; Mesquita, M. R.; Procópio, L. C.; *Flora da Reserva Ducke: Guia de Identificação das Plantas Vasculares de uma Floresta de Terra Firme na Amazônia Central*, INPA: Manaus, 1999.
- Barberán, F. A. T.; Barkmeijer, R. J. G.; Gil, M. I.; Harborne, J. B.; *Phytochemistry* **1988**, *27*, 2631.
- Paiva, E. A. S.; Machado, S. R.; *Braz. Arch. Biol. Techn.* **2005**, *48*, 147.
- Ruppelt, B. M.; Pereira, E. F.; Gonçalves, L. C.; Pereira, N. A.; *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* **1991**, *86*, 203.
- Peckolt, T.; *J. Chem. Soc.* **1905**, *11*, 113.
- Zelnik, R.; Matilda, K. A.; Paniza, S.; *Mem. Inst. Butantan* **1978/1979**, *42/43*, 357.
- Moniz, A. M. H.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal do Amazonas, Brasil, 2004.
- Oliveira, B. H.; Bueno, D. D.; *Quim. Nova* **1996**, *19*, 233.
- Patoëka, J.; *J. Applied Biom.* **2003**, *1*, 7.
- Singh, B.; Singh, S.; *Phytother. Res.* **2003**, *17*, 814.
- Cárdenas, C.; Quesada, A. R.; Medina, M. A.; *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2004**, *320*, 402.
- Liu, J.; *J. Ethnopharmacol.* **1995**, *49*, 57.
- Matos, F. J. A.; *Introdução à Fitoquímica Experimental*, Edições UFC: Fortaleza, 1997.
- Lima, F. V.; Malheiros, A.; Otuki, M. F.; Calixto, J. B.; Yunes, R. A.; Filho, V. C.; Monache, B. F. D.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2005**, *16*, 578.
- Otuki, F. M.; Ferreira, J.; Lima, F. V.; Meyre-Silva, C.; Malheiros, A.; Muller, L. A.; Cani, G. S.; Santos, A. R. S.; Yunes, R. A.; Calixto, J. B.; *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2004**, *10*, 1124.
- Mahato, S. B.; Kundu, A. P.; *Phytochemistry* **1994**, *37*, 1517.
- Romeo, G.; Gianetto, P.; Aversa, M. C.; *Org. Magn. Reson.* **1977**, *9*, 29.
- Taniguchia, S.; Imayoshia, Y.; Kobayashia, E.; Takamatsua, Y.; Itoa, H.; Hatanoa, T.; Sakagamib, H.; Tokudac, H.; Nishinoc, H.; Sugitad, D.; Shimurad, S.; Yoshida, T.; *Phytochemistry* **2002**, *59*, 315.
- Tanaka, J. C. A.; Vidotti, G. J.; Silva, C. C.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2003**, *14*, 475.
- Seo, B. S.; Tomita, Y.; Tori, K.; *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1975**, 954.
- Kojima, H.; Sato, N.; Hatano, A.; Ogura, H.; *Phytochemistry* **1990**, *29*, 2351.

66. Silva, D. A.; Silva, T. M. S.; Lins, A. C. S.; Costa, D. A.; Cavalcante, J. M. S.; Matias, W. N.; Souza, M. F. V.; Braz-Filho, R.; *Quim. Nova* **2006**, *29*, 1250.
67. Paula, V. F.; Barbosa, L. C. A.; Demuner, A. J.; Piló-Veloso, D.; Howarth, O. W.; *Eclética Química* **1998**, *23*, 45.
68. Agrawal, P. K.; *Phytochemistry* **1982**, *31*, 3307.
69. Yamakawa, M.; Nozaki, M.; Hakana, Z.; *Plants Microbial Toxins* **1976**, *1*, 98.
70. Garg, V. K.; Nes, W. R.; *Phytochemistry* **1984**, *23*, 2925.
71. Goulart, M. O. F.; Sant'Ana, A. E. G.; Lima, R. A.; Cavalcante, S. H.; Carvalho, M. G.; Braz-Filho, R.; *Quim. Nova* **1993**, *16*, 95.
72. Mbaze, L. M.; Poumale, H. M. P.; Wansi, J. D.; Lado, J. A.; Khan, S. N.; Iqbal, M. C.; Ngadjui, B. T.; Laatsch, H.; *Phytochemistry* **2007**, *68*, 591.
73. Mors, W. B.; Nascimento, M. C.; Pereira, B. M. R.; Pereira, M. A.; *Phytochemistry* **2000**, *55*, 627.
74. Hasmeda, M.; Kweifio-Okai, G.; Macrides, T.; Polya, G.; *Planta Med.* **1999**, *65*, 14.
75. Tolstikov, G. A.; Baltina, L. A.; Serdyuk, N. G.; *Pharm. Chem. J.* **1998**, *32*, 5.
76. Recio, M.; Giner, R.; Máñez, S.; Gucho, J.; Julien, H.; Hostettmann, K.; Ríos, J.; *Planta Med.* **1995**, *61*, 9.
77. Ovesna, Z.; Vachalkova, A.; Horvathova, K.; Tothova, D.; *Neoplasma* **2004**, *51*, 327.
78. Miceli, N.; Taviano, M. F.; Giuffrida, D.; Trovato, A.; Tzakou, O.; Galati, E. M.; *J. Ethnopharmacol.* **2005**, *97*, 261.
79. Ngouela, S.; Ndjakou, B. L.; Tchamo, D. N.; Zelefack, F.; Tsamo, E.; Connolly, J. D.; *Nat. Prod. Res.* **2005**, *19*, 23.
80. Jeong, H. G.; Kim, H. G.; Hwang, Y. P.; *Toxicol. Lett.* **2005**, *155*, 369.
81. Ryu, S. Y.; Oak, M. H.; Yoon, S. K.; Cho, D. I.; Yoo, G. S.; Kim, K. M.; *Planta Med.* **2000**, *66*, 358.
82. Banno, N.; Akihisa, T.; Tokuda, H.; Yasukawa, K.; Higashihara, H.; Ukiya, M.; Watanabe, K.; Kimura, Y.; Hasegawa, J.; Nishino, H.; *Biosci., Biotechnol., Biochem.* **2004**, *68*, 85.
83. Beirith, A.; Santos, A. R. S.; Calixto, J. B.; Hess, S. C.; Messana, I.; Ferrari, F.; Yunes, R. A.; *Planta Med.* **1999**, *65*, 50.
84. Hess, S. C.; Monache, F. D.; *J. Braz. Chem. Soc.* **1999**, *10*, 104.
85. Houghton, P. J.; Lian, L. M.; *Phytochemistry* **1986**, *25*, 1939.
86. Lee, K. H.; Lin, Y. M.; Wu, T. S.; Zhang, D. C.; Yamagishi, T.; Hayashi, T.; Hall, I. H.; Chang, J. J.; Wu, R. Y.; Yang, T. H.; *Planta Med.* **1988**, *54*, 308.
87. Bortalanza, L. B.; Ferreira, J.; Hess, C. S.; Monache, D. F.; Yunes, A. R.; Calixto, J. B.; *Eur. J. Pharmacol.* **2002**, *453*, 203.