

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE QUÍMICA

CONSTITUINTES QUÍMICOS DO CAULE E RAÍZ DE
Salacia elliptica (Mart.) Peyr

GILMAR AIRES DA SILVA

GOIÂNIA-GO

2009

GILMAR AIRES DA SILVA

CONSTITUINTES QUÍMICOS DO CAULE E RAÍZ DE
***Salacia elliptica* (Mart.) Peyr**

Dissertação apresentada ao programa de Mestrado em Química do Instituto de Química da Universidade Federal de Goiás, como requisito parcial para a obtenção do Título de Mestre em Química. Área de concentração: Química de Produtos Naturais
Orientador: Prof. Dr. Luciano Morais Lião

MEMBROS DA COMISSÃO EXAMINADORA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO
DE **GILMAR AIRES DA SILVA**
APRESENTADA AO DEPARTAMENTO DE QUÍMICA DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
EM 25 DE SETEMBRO DE 2009

ORIENTADOR:

Prof. Dr. Luciano Morais Lião

COMISSÃO EXAMINADORA:

Prof. Dr. Antônio Carlos Severo Menezes

Profa. Dra. Glauca Braz Alcantara

Dedico este à MINHA ESPOSA
DANIELLE e ao nosso produto natural,
MIGUEL.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Luciano Morais Lião pela orientação, transparência, liberdade e amizade.

À Prof. Dr^a. Suzana pela companhia no laboratório e no cafezinho.

Ao Prof. Dr. Márlon pelos ensinamentos e descontração nas aulas.

Ao Deomar pela companhia no R.U. e pelos espectros de massas.

À técnica Eliane pela ajuda com as vidrarias.

Ao técnico Arides pela ajuda com os reagentes.

Ao Rafael pela GIGANTESCA ajuda nas análises de RMN.

À Alessandra, Kiki, pelo companheirismo nas aulas de biossíntese.

À minha perseverança durante todo o período.

“A coisa mais indispensável a um homem é reconhecer o uso que deve fazer do seu próprio conhecimento.”
Platão

SUMÁRIO

Resumo	ix
Abstract	x
Lista de figuras	xi
Lista de esquemas	xii
Lista de fluxogramas	xiii
Lista de tabelas	xiv
1. Introdução	1
1.1. Família Hippocrateaceae	3
1.2. A espécie <i>Salacia elliptica</i> (Mart.) Peyr	6
1.3. Morfologia da <i>Salacia elliptica</i> (Mart.) Peyr	8
1.4. Potencial biológico de Hippocrateaceae	8
1.5. Ensaio Biológicos	9
2. Objetivo	10
3. Parte experimental	10
3.1. Especificações dos materiais, instrumentos e reagentes utilizados	11
3.2. Equipamentos	11
3.3. Material Botânico	12
3.4. Preparo dos Extratos Brutos	12
3.4.1. Extrato hexânico do caule (C ₁)	14
3.4.2. Extrato hexânico do caule (C ₂)	15
3.4.3. Extratos hexânico das raízes (R ₁)	17
3.5. Extração ácido-base do extrato bruto das raízes de <i>S. elliptica</i>	18

4. Resultados e discussões	19
4.1. Identificação do β -sitosterol	20
4.2. Identificação do 3 α -hidroxifriedelan-3-ona	23
4.3. Identificação da pristimerina	26
4.4. Identificação da maitenina	29
5. Biossíntese de triterpenos	34
6. Dados físicos das substâncias isoladas	35
7. Bioautografia	37
8. Conclusão	38
9. Referências bibliográficas	

RESUMO

Salacia elliptica é uma planta da família Hippocrateaceae, conhecida como bacupari, saputá entre outros nomes populares. Na medicina popular tem sido usado no tratamento da febre, edemas, cicatrizações de ferimentos, diabetes, etc. A família Hippocrateaceae é constituída por 30 gêneros, sendo *Salacia* e *Hippocratea* os maiores representantes. Há um embate entre grupos de botânicos quanto ao posicionamento taxonômico da *S. elliptica* devido às similaridades morfológicas e químicas entre as famílias Celastraceae e Hippocrateaceae.

Neste trabalho, foi considerado que a *S. elliptica* é uma Hippocrateaceae. Trabalho este que busca contribuir com a quimiotaxonomia da família, através do isolamento de marcadores químicos. O estudo fitoquímico do caule e da raiz levou ao isolamento de triterpenos quinonametídeos: maitenina, pristimerina e 30-hidroxi-friedelan-3-ona, cujas estruturas foram elucidadas a partir de espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C .

Os bioensaios realizados até então demonstram o grande potencial da espécie.

ABSTRACT

This work describes the study of the specie *Salacia elliptica*, a plant from Hippocrateaceae family, known as bacupari, saputá and other popular names. In folk medicine it has been used in fever, swelling, scarring of wounds, diabetes and other treatments. The families Hippocrateaceae and Celastraceae are morphologically very close. Some taxonomists have considered them as only one family, while others split them in two. The Hippocrateaceae family comprises around 30 genera, and *Salacia* and *Hippocratea* are the most important with 300 species. Celastraceae comprises about 55 genera and 850 species.

In this work, *S. elliptica* was considered an *Hippocrateaceae* plant, and by phytochemical study we intend to contribute to the chemotaxonomy position of this family. The phytochemical study of stem and root led to the isolation of the quinonamethide triterpenes: maitenin, pristimerin and 30-hydroxy-friedelan-3-one. Their structures were elucidated by ^1H and ^{13}C NMR spectra.

The bioassays carried out so far demonstrate the great potential of this specie.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Classes de metabólitos especiais recorrentes em Hippocrateaceae	4
Figura 2	Exemplar de <i>S. elliptica</i> estudado	7
Figura 3	Raiz e caule de <i>S. elliptica</i>	7
Figura 4	Caule e folhas de <i>S. elliptica</i>	7
Figura 5	Principais fragmentos do EM do β sitosterol	19
Figura 6	Espectro de RMN de ^1H para 30-hidroxifriedelan-3-ona	20
Figura 7	Espectro de RMN de ^{13}C para 30-hidroxifriedelan-3-ona	21
Figura 8	Espectro de RMN de ^1H para pristimerina	24
Figura 9	Espectro de RMN de ^{13}C para pristimerina	24
Figura 10	Espectro de RMN de ^1H para maitenina	27
Figura 11	Espectro de RMN de ^{13}C para maitenina	27

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1	Rota biossintética para formação de triterpenos	30
Esquema 2	Rota biossintética para formação da friedelina	31
Esquema 3	Rota biossintética para formação de triterpenos quinonametídeos	32
Esquema 4	Etapa de oxidação do anel E de triterpenos quinonametídeos	33

LISTA DE FLUXOGRAMAS

Fluxograma 1	Partição dos extratos brutos de <i>S. elliptica</i>	13
Fluxograma 2	Extrato hexânico do caule (C ₁)	15
Fluxograma 3	Extrato etanólico do caule (C ₂)	16
Fluxograma 4	Extrato hexânico do raiz (R ₁)	17
Fluxograma 5	Extração ácido-base	18

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Atividade biológica de metabólitos secundários de Hippocrateaceae.	5
Tabela 2	Classificação botânica de <i>S. elliptica</i> .	6
Tabela 3	Partições obtidas	14
Tabela 4	Espectro de RMN ¹³ C para 30-hidroxfriedelan-3-ona (CDCl ₃ , 125MHz)	22
Tabela 5	Espectro de RMN de ¹ H e ¹³ C para pristimerina (CDCl ₃ , 125MHz)	25
Tabela 6	Espectro de RMN de ¹ H e ¹³ C para maitenina (CDCl ₃ , 500MHz)	28
Tabela 7	Halo de inibição (mm) do extrato bruto da <i>S. elliptica</i> .	36
Tabela 8	Halo de inibição (mm) de frações da <i>S. elliptica</i> .	37

1. INTRODUÇÃO

Desde o principiar da humanidade as plantas têm sido aproveitadas no tratamento de enfermidades (salgueiro - *Salix alba*), como repelente de insetos (citronela - *Cymbopogon winterianus*) ou até mesmo para o abate da caça (curare - *Chondodendron tomentosum*). As propriedades farmacológicas destas e outras plantas têm sido descobertas ao longo de gerações. Com o avanço botânico-farmacológico associado ao conhecimento popular, tornou-se possível a descoberta de fármacos de grande relevância, tais como: quinina, morfina, ácido acetil salicílico, artemisinina, taxol, entre outros. Metabólitos secundários de plantas são ainda utilizados como padrão na síntese de fármacos, aromatizantes, inseticidas e herbicidas (HARVEY, 1999; CROTEAU, *et al*, 2000; VIEGAS, *et al*, 2006).

Plantas produzem uma grande variedade de metabólitos que estão ganhando importância devido a suas aplicações terapêuticas e biotecnológicas. Os níveis de produção desses metabólitos são induzidos por fatores ambientais e genéticos. A habilidade para sintetizar compostos tóxicos está relacionada com a defesa a fitopatógenos (bactérias ou fungos), a herbívoros como animais ou insetos ou a supressão do crescimento de espécies vizinhas competitivas (SINGH, *et al*, 2003). As condições ambientais variáveis fazem com que as plantas criem um arsenal químico de metabólitos em busca da sobrevivência da espécie; diante da incapacidade de fugir, defendem-se pelo quimismo (GOTTLIEB, *et al*, 1996).

Os vegetais são fontes de metabólitos de grande variedade, sendo que suas estruturas, funções e usos, na maioria, ainda não foram descobertos. O interessante é que esses metabólitos não fazem parte de funções vitais, mas são essenciais para a sobrevivência das plantas. Fazem relação planta-planta, planta-inseto, planta-microorganismo e planta-meio-ambiente, manifestando-se nas cores, fragrâncias, paladar e resistência aos ataques de pragas e doenças (DIXON, 2001; VERPOORTE *et al*, 1999). Deste mecanismo químico, são conhecidos mais de 200.000 metabólitos secundários, havendo ainda uma infinidade a ser descoberta. Grande parte da variedade é proveniente de rotas biossintéticas que geram uma infinidade de metabólitos obtidos de esqueletos carbônicos bem definidos. Pequenas modificações nestes esqueletos propiciam uma gama de metabólitos distintos. Exemplo disso é o flavonol: dos 5.000 flavonóides conhecidos, 300 são variações de glicosilações da quercetina (SCHWAB, 2003).

Dentre os diversos ecossistemas brasileiros produtor desse arsenal químico destaca-se o Cerrado. Estima-se que a área do Cerrado tenha aproximadamente 2 milhões de km², abrangendo dez Estados brasileiros, quando consideradas as áreas periféricas que se acham encravadas em outros domínios vizinhos e nas faixas de transição. Cerca de 80% de sua superfície foi transformada em pastagens, lavouras e áreas urbanas, causando destruição, fragmentação e isolamento de ambientes naturais do bioma. Típico de regiões tropicais, o cerrado apresenta duas estações bem marcadas: inverno seco e verão chuvoso. Com solo de savana tropical, deficiente em nutrientes e rico em ferro e alumínio, abriga plantas de aparência seca, arbustos esparsos e gramíneas. A presença de três das maiores bacias hidrográficas da América do Sul (Tocantins-Araguaia, São Francisco e Prata) na região favorece a biodiversidade do cerrado (PORTAL BRASIL CERRADO, 2009; FERRI, 1977).

A localização centralizada do Cerrado propicia o compartilhamento de espécimes com a maioria dos biomas brasileiros, principalmente floresta amazônica, caatinga e floresta atlântica. Devido a este fato, possui uma biodiversidade comparável a da floresta amazônica. Contudo pela ocupação desordenada e destrutiva de sua área, o Cerrado é hoje o ecossistema brasileiro que mais sofre agressões por parte do “desenvolvimento”. Boa parte de suas espécies já são exclusivas de regiões específicas (FONSECA, *et al.*, 2001).

A vegetação do Cerrado vem sendo altamente explorada como fonte de matéria prima vegetal. A copaíba (*Copaifera langstorfii*), o angelim do cerrado (*Vatairea macrocarpa*) e o jacarandá do cerrado (*Machaerium opacum*), por exemplo, têm sido utilizados na fabricação de móveis e estruturas residenciais. Na alimentação, destaca-se o aproveitamento das frutíferas como a cagaita (*Eugenia dysenterica*), o murici (*Byrsonima verbacifolia*), o pequi (*Cayocar brasiliensis*) e o baru (*Dipteryx alata*), que possuem alto valor nutricional. Tratando-se do uso medicinal, há uma gama de plantas a serem estudadas, que se mostram como uma rica fonte de metabólitos especiais, com alto potencial de atividade biológica. O que possibilita essa alta diversidade de metabólitos são as intempéries que a planta enfrenta durante todo o seu ciclo de vida. Nos meses quentes de verão, nos quais as chuvas se concentram e os dias são mais longos, a vegetação se apresenta basicamente verde. No inverno, ao contrário, o capim amarelece e quase todas as árvores secam e os arbustos trocam de folhagem, havendo ainda o risco de combustão espontânea ou provocada da matéria seca originada (EMBRAPA-CERRADO, 2008).

Dentre as espécies vegetais do cerrado, estão aquelas pertencentes à ordem Celastrales *sensu* Cronquist, que compreende as famílias Celastraceae, Hippocrateaceae, Stackhousiaceae, Corynocarpaceae, Aquifoliaceae, Geissolomataceae, Salvadoraceae, Icacinaceae e Dichapetalaceae (HEYWOOD, 1993).

1.1. Família Hippocrateaceae

A família Hippocrateaceae compreende cerca de 30 gêneros, ocorrendo nas regiões tropicais do mundo. Em alguns sistemas de classificação a família é incluída em Celastraceae, como subfamília Hippocrateoideae (TAKHTAJAN, 1997).

No Brasil existem 12 gêneros de Hippocrateaceae (*Anthodon*, *Cheiloclinium*, *Cuervea*, *Elachyptera*, *Hippocratea*, *Hylенаea*, *Peritassa*, *Prionostemma*, *Pistimera*, *Salacia*, *Semialarium*, *Tontelea*), sendo os gêneros *Salacia* e *Hippocratea* os maiores representantes, com aproximadamente 200 e 100 espécies, respectivamente. A maioria das espécies pode ser encontrada em áreas de mata, mas também estão presentes em campos, cerrados e restingas. Ocorre na forma de arbustos ou árvores podendo chegar a 8 m de altura, ou lianas, glabros (GUNATILAKA, 1996).

A posição taxonômica da família Hippocrateaceae é motivo de debate entre taxonomistas. Há grupos que consideram sua junção com a família Celastraceae, enquanto outros argumentam que deveriam pertencer a uma família distinta (GUNATILAKA, 1996). Esse debate é regido pela composição química peculiar dessas famílias.

Espécies destas famílias apresentam em comum a ocorrência de alcalóides sesquiterpênicos piridínicos e triterpenos das classes dos friedelanos e dos quinonametídeos, sendo os últimos de ocorrência restrita às Celastraceae e Hippocrateaceae, e por isso considerados marcadores quimiotaxonômicos dessas famílias. Por outro lado, os diterpenos do tipo 18-(4,3)-abeo-abietanos e sesquiterpenos β -diidroagarofuranos, até o momento só foram isolados de Celastraceae (GUNATILAKA, 1996). Na figura 1, são apresentados alguns representantes dessas classes de substâncias.

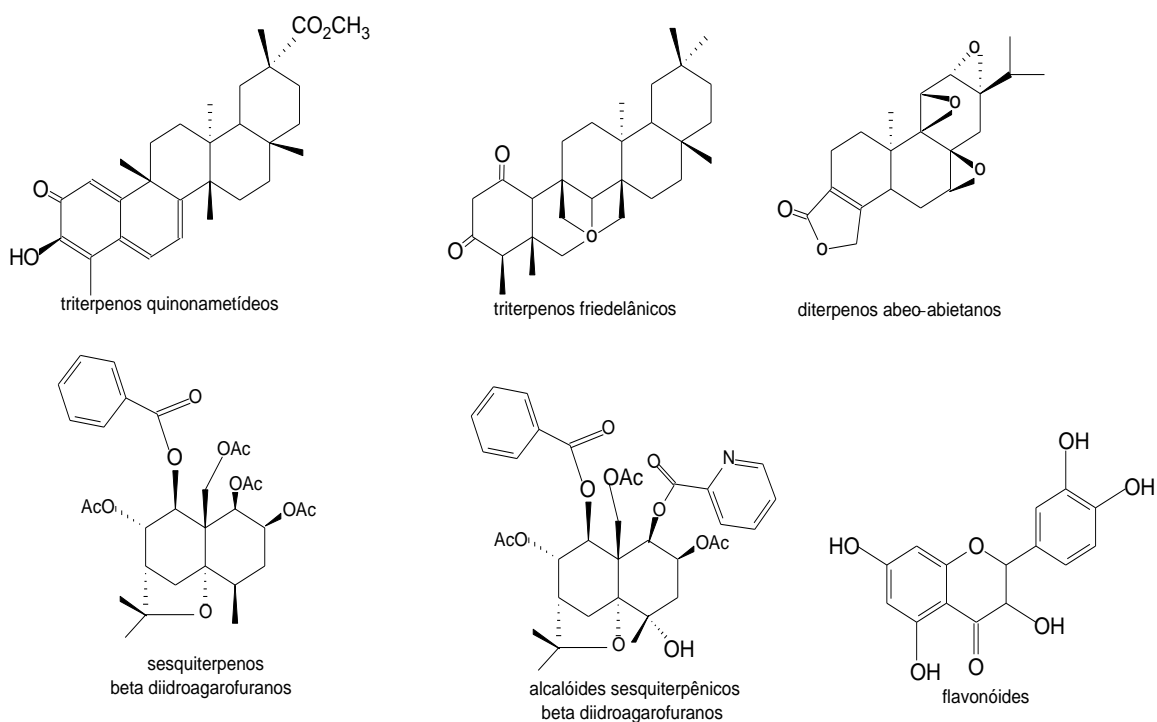


Figura 1 – Classes de metabólitos secundários recorrentes em Hippocrateaceae.

O posicionamento taxonômico definitivo dessas famílias ainda não é possível uma vez que apenas 25% de suas espécies foram estudadas. Entretanto, existe uma forte tendência entre os botânicos em mantê-las separadas. Nesse trabalho, utilizaremos a classificação que mantém as duas famílias separadas e consideraremos a *Salacia elliptica* como pertencente às Hippocrateaceae.

Do ponto de vista farmacológico, o estudo das plantas dessa família tem levado ao isolamento de substâncias promissoras. Alguns exemplos de substâncias e suas respectivas propriedades biológicas estão representados na tabela 1.

Tabela 1 – Atividade biológica de metabólitos secundários de Hippocrateaceae.

Classe	Bioatividade	Princípio ativo	Referência bibliográfica
Triterpenos quinonametídeos	Antibiótica	15 α -hidroxi-21-cetopristimirina	ALVARENGA <i>et al.</i> ,1999
		Pristimerina	GONZALES <i>et al.</i> , 1998
		Escutione	
	Citotóxica	15 α -hidroroxipristimirina	ALVARENGA <i>et al.</i> ,1999
		Pristimerina	GONZALES <i>et al.</i> , 1998
		Maitenina	SETZER <i>et al.</i> , 1988
	Antimicrobiana	15 α -hidroroxipristimirina	GONZALES <i>et al.</i> , 1998
		Pristimerina	
		Celastrol	MOUJIR <i>et al.</i> , 1991
		Maitenina	
		Netzualcoiondiol	
		Netzualcoiono	
	Antitumoral	Maitenina	SANTANA <i>et al.</i> , 1971
	Antimalárica	Pristimerina	FIGUEIREDO <i>et al.</i> ,1998
		17-carbaldeído-28-nor-isoiguesterina	
		Celastrol	
	antioxidante	Maitnina	JELLER <i>et al.</i> , 2003
20 α -hidroximaitenina			
22 β -hidroximaitenina			
Netzualcoiol			
Netzualcoiondiol			
Sesquiterpenos β -diidroagarofuranos	Fagorrepelente	Celangulina	WAKABAYASHI <i>et al.</i> ,1988
	Inseticida	Angulatueoide G	DANGANG <i>et al.</i> , 1992
Flavonóides	antioxidantes	Epigalocatequina	CORSINO <i>et al.</i> ,2003
		Ouraecatequina	
		Proantocianidina	

Alcalóides sesquiterpênicos piridínicos	Inseticida	Hipocrateina I	KUBO <i>et al.</i> , 1986
		Euoverrina A	JINBO <i>et al.</i> , 2002
		Euofelina C	
		Euoverrina B	
	Euojaponina C		
Antitumoral	Aquifoliunina E-I	CORSINO <i>et al.</i> , 1998	

1.2.A espécie *Salacia Elliptica* (Mart.) Peyr.

Tabela 2 - Classificação botânica de *S. elliptica*.

Reino	Plantae
Superdivisão	Spermatophyta
Divisão	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Subclasse	Rosidae
Família	Hipocrateaceae
Gênero	<i>Salacia</i>
Espécie	<i>Elliptica</i>

É uma planta da família Hippocrateaceae, conhecida como bacupari, saputá, saputá do brejo, entre outros nomes populares. Encontrada em matas fechadas e de galeria, possui fruto de casca amarela com duas bagas revestida por uma polpa adstringente e doce. Esta planta foi selecionada para tal trabalho, tendo em vista a sua disponibilidade e por ser uma espécie ainda pouco estudada. Nas figuras 2 e 3, a seguir, pode-se observar fotos do exemplar de *S. elliptica* estudado.



Figura 2 – Exemplo de *S. elliptica* estudado



Figura 3 – Raiz e caule de *S. elliptica*

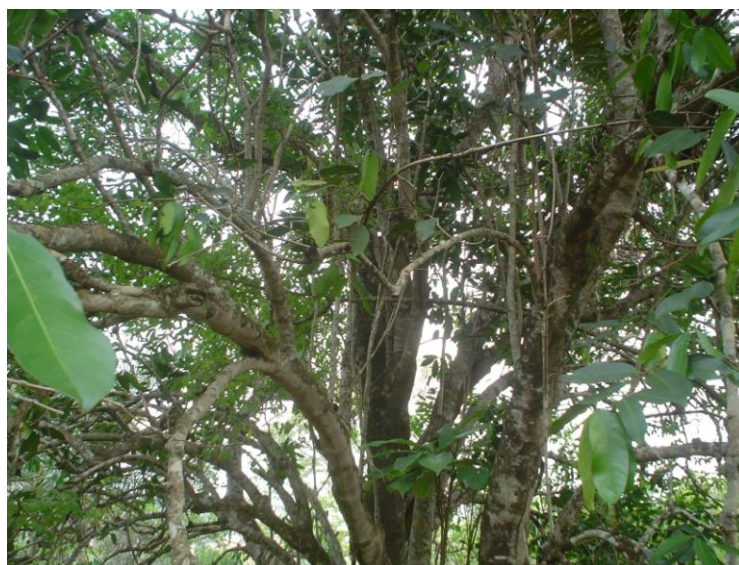


Figura 4 – Caule e folhas de *S. elliptica*

1.3. Morfologia da *Salacia elliptica*

É descrita na literatura como arbustos ou árvores, de 3,9 a 8 metros de altura, ou raro lianas, glabros. Folhas opostas ou subopostas; elípticas, coriáceas, secas castanhas ou verde-oliva, nervação secundária imersa em ambas as faces, ápice arredondado, emarginado ou agudo, base arredondada ou cuneada, margem inteira, obscuramente crenulada ou crenulada, levemente revoluta e espessada. Inflorescência fasciculada. Frutos laranja a amarelo-avermelhado quando maduros. Epicarpo liso, lustroso comestível de sabor adstringente e adocicado (LOMBARDI, *et al.*, 2002).

1.4. Potencial biológico de Hippocrateaceae

Segundo o conhecimento popular, sua entrecasca é utilizada na cicatrização de ferimentos e no tratamento de diabetes do tipo 1. Muitos metabólitos bioativos tais como salicinol e kotalonol, isolados de *S. Oblonga* e *S. reticulata*, se mostraram como potentes inibidores da enzima α -glicosidase. Também foram isolados alcalóides sesquiterpênicos e triterpenos quinonametídeos com ação antitumoral, triterpenos fenólicos com ação antioxidante (JELLER, *et al.*, 2004) e triterpenos pentacíclicos com atividade antibacteriana (DEEPA, *et al.*, 2004). Triterpenos eno-quinonametídeos, avaliados *in vitro* quanto a sua atividade biológica contra bactérias Gram (+) e Gram (-), foram tão ativos quanto a 6-mercaptopurina, utilizada como padrão, destacando-se o resultado observado frente a *B. subtilis* (CIM < 1,6 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) (GONZÁLES, *et al.*, 1987). Devido à grande diversidade de compostos químicos isolados bem como aos diferentes tipos de atividade biológica apresentada por espécies desse gênero iniciou-se o estudo fitoquímico de *S. elliptica*.

São também utilizados, os extratos aquosos e alcoólicos de algumas plantas destas famílias nos tratamentos de tosse crônica, problemas renais, terapia da malária (RAO, *et al.*, 1990 e VINES, 1960) e no tratamento de reumatismo (GONZALEZ, 1992).

A avaliação biológica dos extratos e metabólitos isolados de algumas

Hippocrateaceae mostram o grande potencial desta família. À pristimerina e a tingenona, isoladas neste trabalho, são atribuídas atividades biológicas potentes *in vitro*, a maioria delas relacionadas ao seu caráter citotóxico. Inúmeros artigos na literatura descrevem os valores de IC₅₀ contra os mais diversos parasitas e linhagens tumorais humanas e animais. A pristimerina mostrou ser mais potente (e a tingenona atividade similar) que o metronidazol contra *Giardia intestinalis* (MENA-RÉJON, *et al*, 2007) e atua contra *Leishmania major* e *Plasmodium falciparum* (KLAID, *et al*, 2007; TAHIR, *et al*, 2001), embora menos ativa que as drogas convencionais em uso (PAVANAD, *et al*, 1989). Essa substância apresentou ainda, ação antiinflamatória significativa em modelos experimentais animais (HUI, *et al*, 2003).

1.5 Ensaio Biológicos

Um composto é considerado biologicamente ativo quando exerce uma ação específica sobre um determinado ser vivo, seja ele animal, vegetal ou microorganismo. Uma vasta gama de compostos orgânicos de origem vegetal, produtos de metabolismo primário e secundário, é biologicamente ativa, ou seja, tem ação tranqüilizante, analgésica, antiinflamatória, citotóxica, anticoncepcional, antimicrobiana, antiviral, fungicida, inseticida, etc (PLETSCH, *et al.*, 1999).

Para bioavaliação de extratos brutos e metabólitos isolados de plantas, visando o mapeamento de seu potencial, vários tipos de ensaios biológicos estão disponíveis (COLE, *et al.*, 1994). No entanto, grande parte desses bioensaios tem custo elevado, pois necessitam de especialistas de diferentes áreas, como farmacólogos, biólogos ou bioquímicos, além de infra-estrutura específica adequada (HAMBURGER, *et al.*, 1991). Por outro lado, o grande número de extratos e frações oriundas de plantas requer bioensaios gerais que sejam simples, rápidos, reprodutíveis e baratos. Se o princípio ativo está presente nos extratos, esses bioensaios devem ser sensíveis o suficiente para tal detecção e submissão posterior aos bioensaios específicos. Conseqüentemente, muitos esforços são feitos para a introdução deste tipo de bioensaios de amplo espectro. Esses

testes de bancada permitem um rápido estudo de extratos e metabólitos isolados, com uma variedade de objetivos. Um bom exemplo é a Bioautografia utilizada para avaliar a atividade antifúngica e antibacteriana.

A Bioautografia permite avaliar a bioatividade de compostos sobre cromatoplasas, ou seja, é um método de detecção da atividade biológica em Cromatografia de Papel (CP) ou Cromatografia de Camada Delgada (CCD), através da visualização de halos de inibição que se formam sobre as superfícies.

2. OBJETIVO

O principal objetivo deste trabalho é o estudo da composição química da espécie *Salacia elliptica*, dando assim continuidade ao estudo das Hippocrateaceae que vem sendo realizado pelo grupo de Química dos Produtos Naturais do Instituto de Química da Universidade Federal de Goiás – IQ/UFG. Dessa forma, buscar evidências que definam o posicionamento taxonômico da espécie, bem como o isolamento de compostos com atividades antimicrobianas.

3. PARTE EXPERIMENTAL

Os equipamentos, reagentes e solventes utilizados, bem como o procedimento experimental empregado no isolamento dos metabólitos secundários de *S. elliptica*, estão descritos nos itens que se seguem.

3.1. Especificações dos materiais, instrumentos e reagentes utilizados.

- Cromatografia em Camada Delgada – CCD. Suspensão de sílica-gel 60G em água destilada sobre placas de vidro 5 x 10 cm. Utilizou-se ainda, placas de sílica-gel PF₂₅₄ em alumínio da MERCK.
- Cromatografia em Coluna – CC. Utilizou-se sílica Gel 70-230 Mesh, com o eluente apropriado para cada empacotamento.
- Reveladores para CCD – Utilizou-se vapor de iodo, luz ultravioleta nos comprimentos de 254 e 366 nm, além do reagente Dragendorff, específico para identificação de alcalóides, preparado da seguinte forma: 0,85 g de subnitrito de bismuto, 10 mL de ácido acético glacial, 40 mL de água destilada (solução A); 8,0 g de iodeto de potássio, água 20 mL (solução B) - Soluções A e B misturadas, sendo 20 mL diluídos em 60 mL de água e 20 mL de ácido acético glacial
- Solventes para Cromatografia – Grau P.A. da Merck, Synth, Vetec e outros.
- Solvente para RMN - Solventes deuterados da Cambridge Isotope Laboratories - CIL.

3.2. Equipamentos

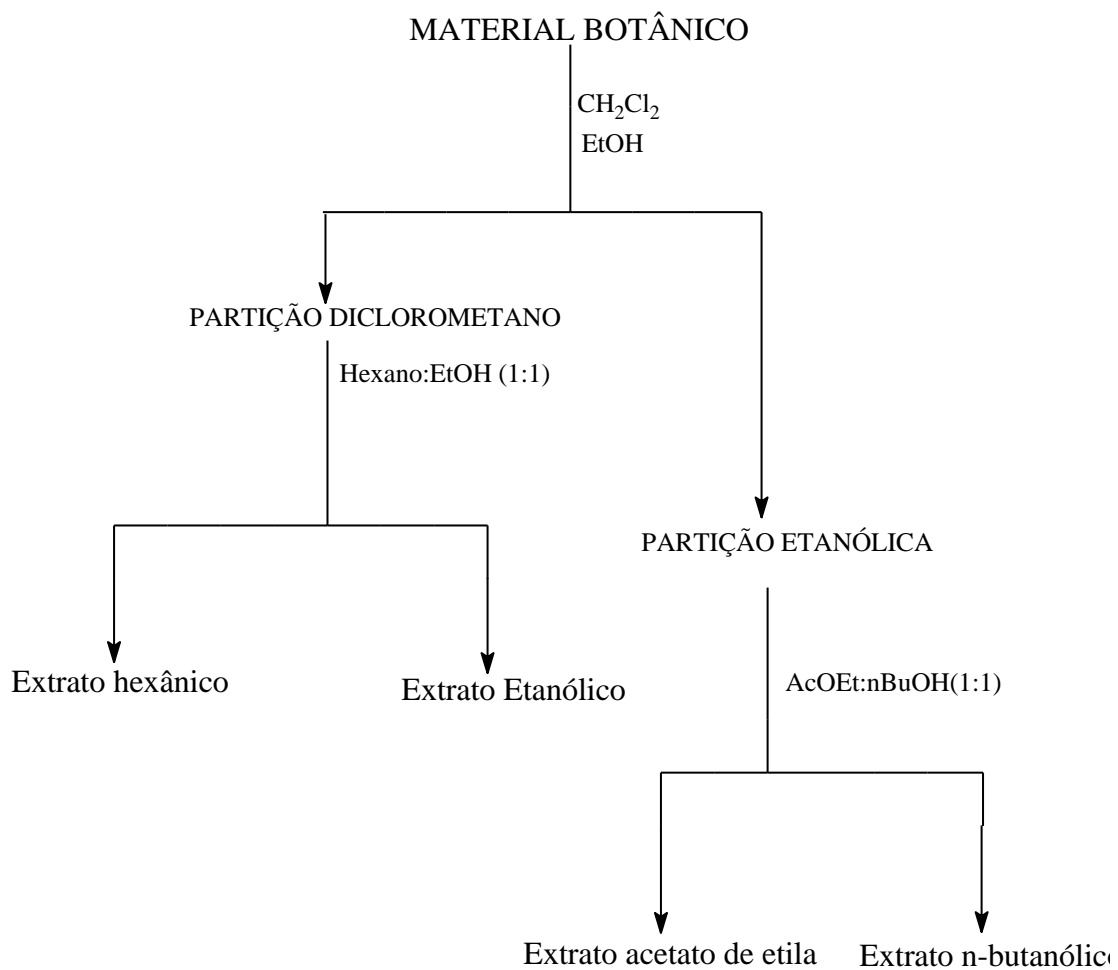
- Espectrômetro de RMN: Bruker Avance III – 500
- Espectrômetro de infravermelho: Bomem - FT/IR
- Espectrômetro de massas Shimadzu, modelo QP505A
- Moinho mecânico do tipo Wiley - triturar o material coletado.

3.3. Material Botânico

Salacia elliptica foi coletada na Fazenda Paulo de Freitas na região de Ceres-GO segundo as coordenadas geográficas: S 15° 19' 220'' e W 49° 36' 277'' a uma elevação de 631,3 metros em relação ao mar, entre 15:30 e 16:20 horas do dia 30/09/2006. A identificação foi realizada por José Ângelo Rizzo – ICB- UFG. A exsicata está depositada no Herbário do Instituto de Ciências biológicas da UFG com o número 30344.

3.4. Preparo dos Extratos Brutos

Folhas (330g), raízes (130g) e caule (715g) de *S. elliptica* foram secos a temperatura ambiente e posteriormente em estufa com circulação de ar a 45°C. O material seco foi triturado individualmente em moinho eletromecânico e submetido à extração com CH₂Cl₂ por 3 x 24 horas com agitação mecânica, consumindo 2,5 litros de solvente para cada parte da planta. Em seguida foram concentrados em evaporador rotativo dando respectivamente: 73,16g, 44,27g e 54,98g de extrato bruto. Estes extratos foram submetidos a partição líquido-líquido conforme o fluxograma 1, sendo o códigos e massas descritos na tabela 3.



Fluxograma 1 – Partição dos extratos brutos de *S. elliptica*.

Tabela 3 – Partições obtidas

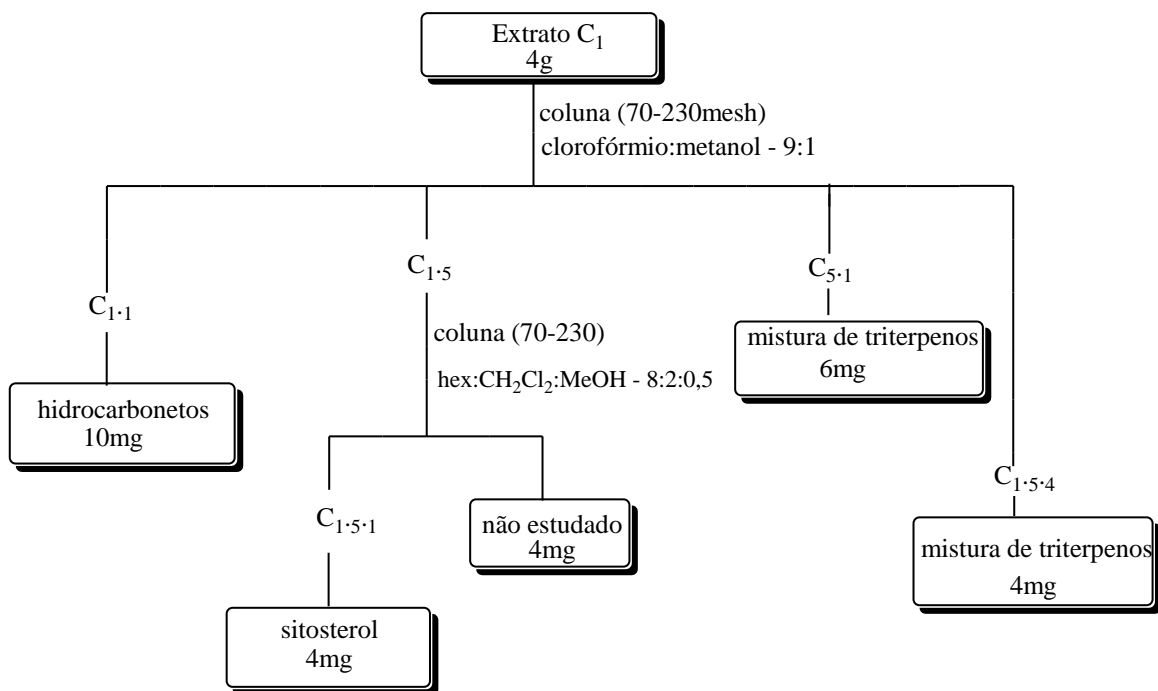
Parte vegetal	Solvente	Massa (g)	Código
Raiz	Hexano	4,650	R ₁
	EtOH	31,620	R ₂
	* AcOEt	3,268	R ₃
	* n-BuOH	4,740	R ₄
Caule	* Hexano	7,502	C ₁
	EtOH	12,568	C ₂
	* AcOEt	29,252	C ₃
	* n-BuOH	5,658	C ₄
Folha	* Hexano	16,125	F ₁
	* EtOH	27,252	F ₂
	* AcOEt	19,542	F ₃
	* n-BuOH	10,247	F ₄

* Não estudadas.

As partições foram assim organizadas para simplificar os procedimentos cromatográficos utilizados no isolamento das substâncias. Este procedimento foi de grande valia para o bom andamento dos procedimentos.

3.4.1. Extrato hexânico do caule (C₁)

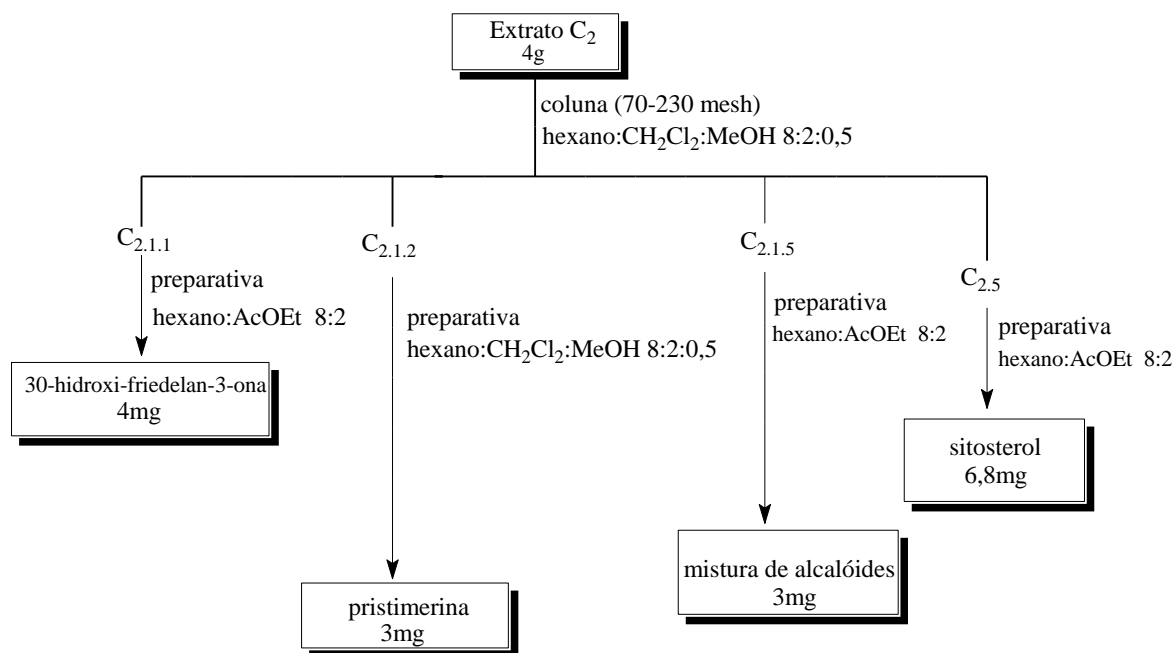
O extrato hexânico resultante das partições entre líquidos imiscíveis mostradas no fluxograma 1, foi submetido a cromatografia em coluna, conforme fluxogramas 2 e 3. Foi evidenciado complexas misturas de coloração laranja intenso, típicas dos triterpenos quinonametídeos. Foi purificado o β -sitosterol, um hidrocarboneto não identificado, e misturas de triterpenos.



Fluxograma 2 - Extrato hexânico do caule (C₁)

3.4.2. Extrato Etanólico do caule (C₂)

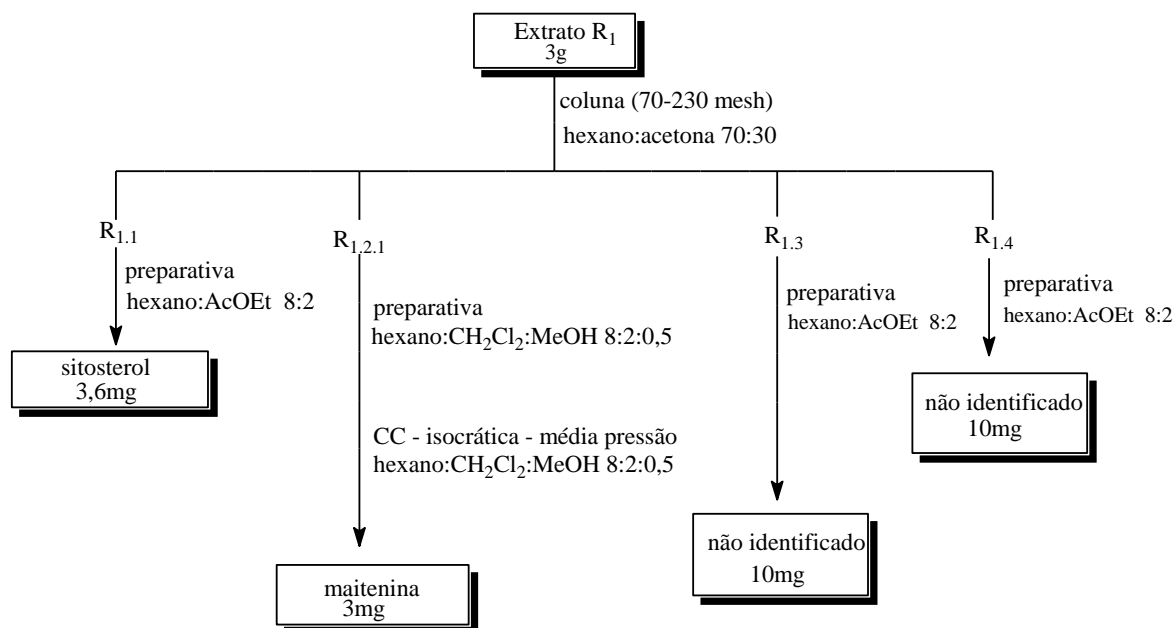
O extrato etanólico (C₂) do caule conduziu ao isolamento de 3 substâncias: 30-hidroxi-friedelan-3-ona, pristimerina, β-sitosterol e a uma mistura de alcalóides que ainda não foram identificados. Obteve-se 12 frascos com 5 mL cada. Após verificação via CCD, as amostras C_{2,1}, a C_{2,3} foram agrupadas, sendo denominada C_{2,1}, cuja posterior purificação desta, seguiu o procedimento apresentado na sequência.



Fluxograma 3 - Extrato etanólico do caule (C₂)

3.4.2. Extratos hexânico das raízes (R₁)

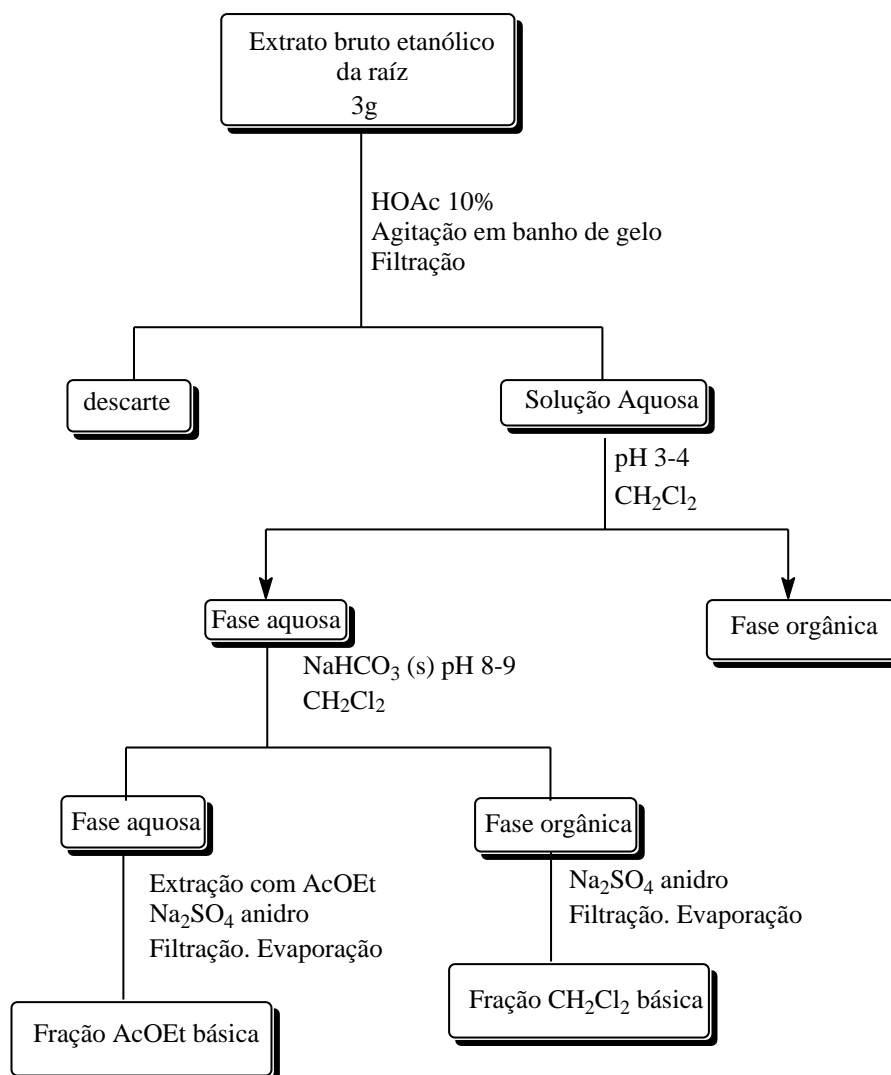
O extrato hexânico das raízes, resultante das partições entre líquidos imiscíveis mostradas no fluxograma 1, foi submetido à cromatografia em coluna e em camada delgada preparativa, conforme fluxograma 4. Para o isolamento da tingenona, também conhecida como maitenina, a fração R_{1.2} foi ainda submetida à cromatografia de média pressão em sistema isocrático. A amostra R_{1.2.1} vem do refractionamento de R_{1.2}.



Fluxograma 4- Extrato hexânico do raiz (R₁)

3.5. Extração ácido-base do extrato bruto das raízes de *S. elliptica*

Utilizou-se como metodologia para o isolamento de alcalóides o tratamento ácido-base do extrato bruto etanólico, conforme demonstrado no fluxograma 5. A análise por CCD da fração diclorometano, revelada com o reagente de Dragendorff, evidenciou a existência de alcalóides, que devido à pequena quantidade disponível e complexidade da mistura não foram isolados. O fluxograma 5 descreve o procedimento na busca de isolar os alcalóides existentes na *S. elliptica*.



Fluxograma 5 – Extração ácido-base.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os metabólitos de *S. elliptica* foram isolados da casca do caule e da raiz. Suas estruturas e discussão de seus dados espectroscópicos são mostradas a seguir.

4.1. Identificação do β -sitosterol

Um sólido branco em forma de agulhas e apresentando coloração azul, quando revelado em anisaldeído, foi obtido da fração de menor polaridade da partição hexânica da casca do caule e das raízes. Comparando seu R_f : 0,89 para o sistema hexano:dicloro:metanol – 8:2:0,5, com amostra padrão de β -sitosterol, através do método de aplicação simples e mista, conclui-se que se tratava do mesmo composto, um esteróide de ampla ocorrência em plantas. A análise do espectro de massas confirmou a proposta estrutural do β -sitosterol, caracterizado pelo pico do íon molecular m/z 414, assim como dos cinco íons fragmentados: m/z 255, 145, 105, 91 e 55 (figura 3).

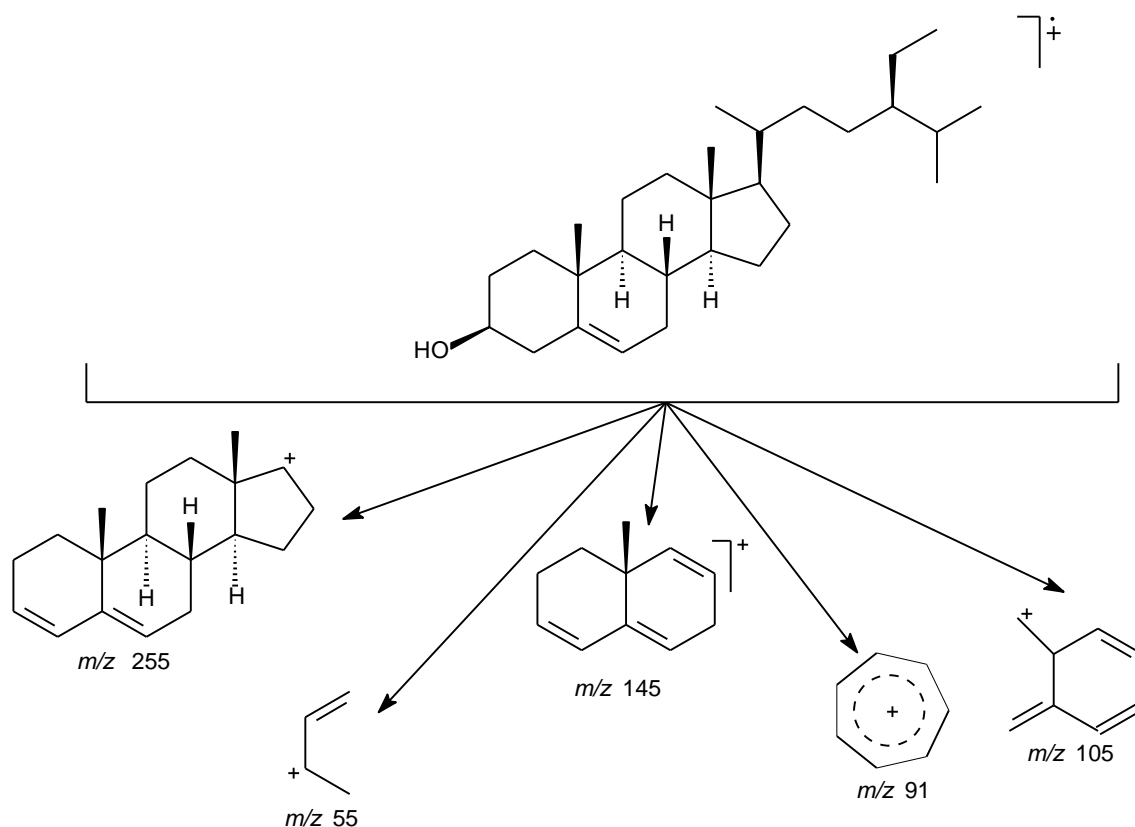


Figura 5 – Principais fragmentos do EM do β sitosterol.

4.2. Identificação do 30-hidroxifriedelan-3-ona

Esse composto foi isolado da fração hexânica do caule na forma de sólido amorfo de coloração branca.

O espectro de RMN de ^{13}C (figura 06 p. 20) e apresentou 30 sinais de carbonos, destacando-se os sinais em δ 213,1 e δ 74,12, atribuídos aos carbonos carbonílico C-3 e carbinólico C-30. O RMN de ^1H (figura 07 p. 21) observa-se um singlete em δ 2,17 sinal de hidrogênio alfa carbonila, e em δ 0,89 observa-se um dubleto, atribuído ao grupo metila C-23 que é comum aos triterpenos desta classe. O espectro de massas indicou o pico do íon molecular m/z 442, resultando na fórmula molecular $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}_2$. Observa-se ainda o íon m/z 273, típico de friedelina. Avaliando-se os dados obtidos, juntamente com a comparação com os descritos na literatura para a 30-hidroxifriedelan-3-ona (PATRA, *et al*, 1987), conclui-se tratar do mesmo composto.

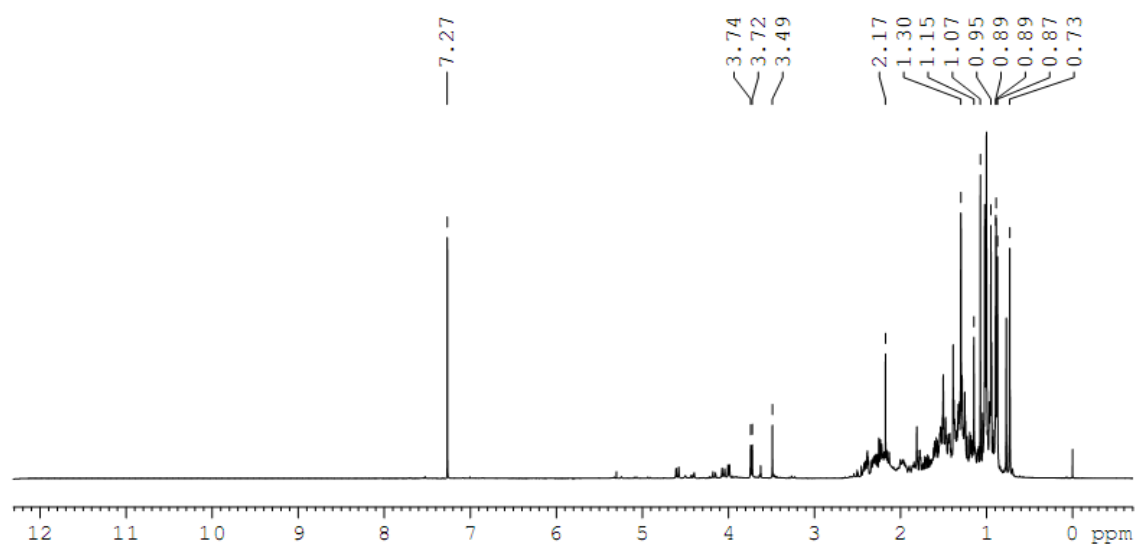


Figura 6– Espectro de RMN de ¹H para 30-hidroxifriedelan-3-ona (CDCl₃, 500MHZ)

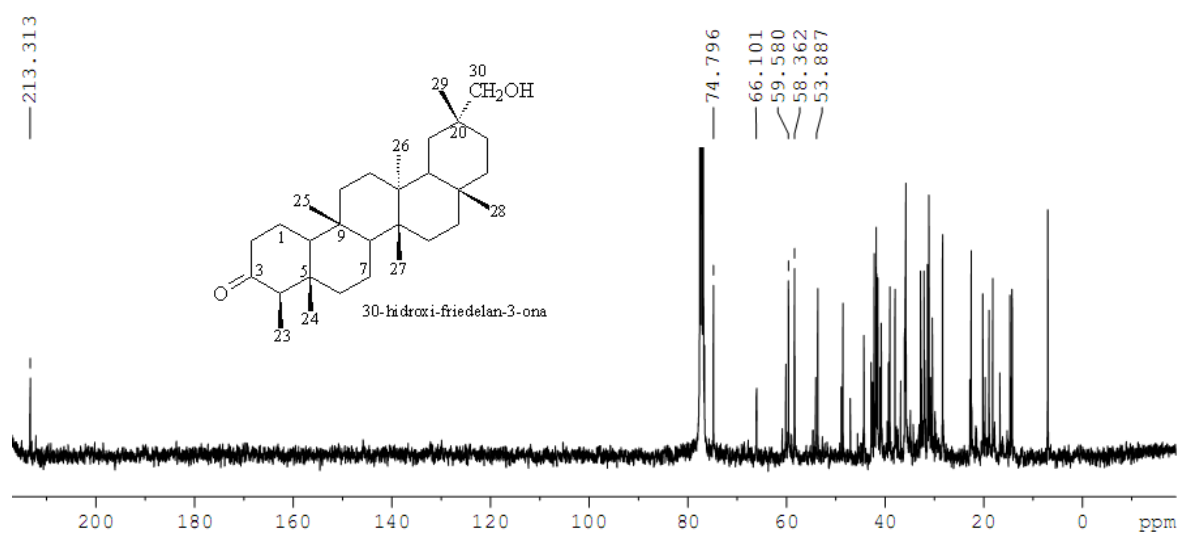


Figura 7– Espectro de RMN de ¹³C para 30-hidroxifriedelan-3-ona(CDCl₃,125MHZ)

Tabela 4 RMN ^{13}C para 30-hidroxifriedelan-3-ona (CDCl_3 , 125MHz)

Carbono	Hidrogênio	Obtidos	PATRA, <i>et al</i> , 1987
1		22,50	22,32
2		41,50	41,55
3		213,12	212,20
4	2,17	58,30	58,31
5		42,20	42,18
6		41,60	41,37
7		18,31	18,29
8		53,40	53,47
9		37,40	37,51
10		59,60	59,58
11		35,70	35,72
12		29,80	29,82
13		39,55	40,03
14		38,19	38,31
15		32,80	32,81
16		35,90	35,96
17		30,80	29,82
18		41,70	41,97
19		30,50	30,63
20		33,10	33,17
21		28,30	27,87
22	0,89	39,20	39,56
23	0,89	7,00	6,82
24	0,73	18,10	17,90
25	0,87	14,70	14,70
26		18,45	18,44
27		20,10	20,77
28	1,15	32,10	32,14
29		25,85	25,87
30	3,74	74,62	74,79

4.3. Identificação da pristimerina

A pristimerina foi isolada a partir das frações intermediárias da partição hexânica do caule, como um sólido amorfo de coloração laranja clara, típica de triterpenos quinonametídeos. Durante o fracionamento, foram utilizadas sucessivas colunas na tentativa de purificação. Além do uso de cromatografia em camada delgada preparativa na separação de misturas dos triterpenos.

A pristimerina possui ampla ocorrência na família Hippocrateaceae e mostra considerável atividade antibiótica contra bactérias gram positivas, além de efeito citostático em testes com células “HeLa” (GONZALES, *et al.*, 1988).

O espectro de RMN de ^1H apresenta um singlete em δ 3,48 que corresponde ao hidrogênio metoxílico, caracterizando assim um grupo éster metílico. Apresentou ainda, os singletos característicos de grupos metila em δ 1,38; 1,19; 1,11; 1,03 e 0,46.

O espectro de RMN de ^{13}C apresentou 30 picos, sendo que o pico em δ 178,7, característico de carbono carbonílico, foi atribuído ao Carbono C-29. Na região entre δ 45 e 10 foram observados sinais típicos de carbonos metílicos, metilênicos e quaternários, os quais foram devidamente caracterizados e comparados com dados já descritos na literatura para a pristimerina (GUNATILAKA, *et al.*, 1989).

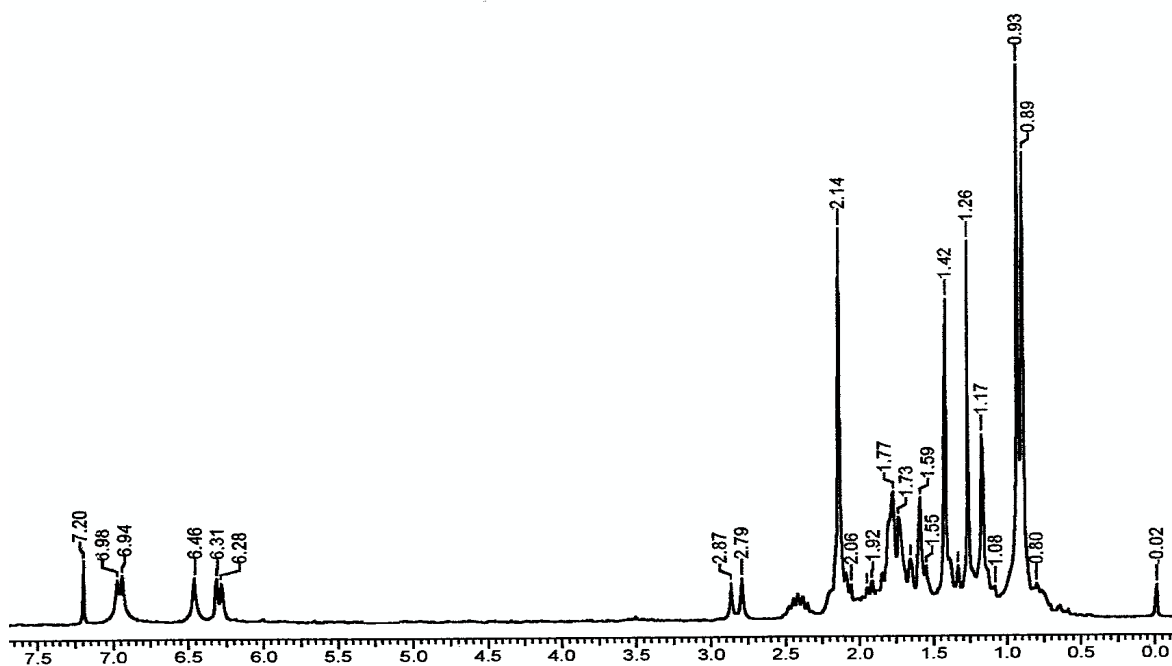


Figura 8– Espectro de RMN de ^1H para pristimerina (em CDCl_3 , 500 MHz)

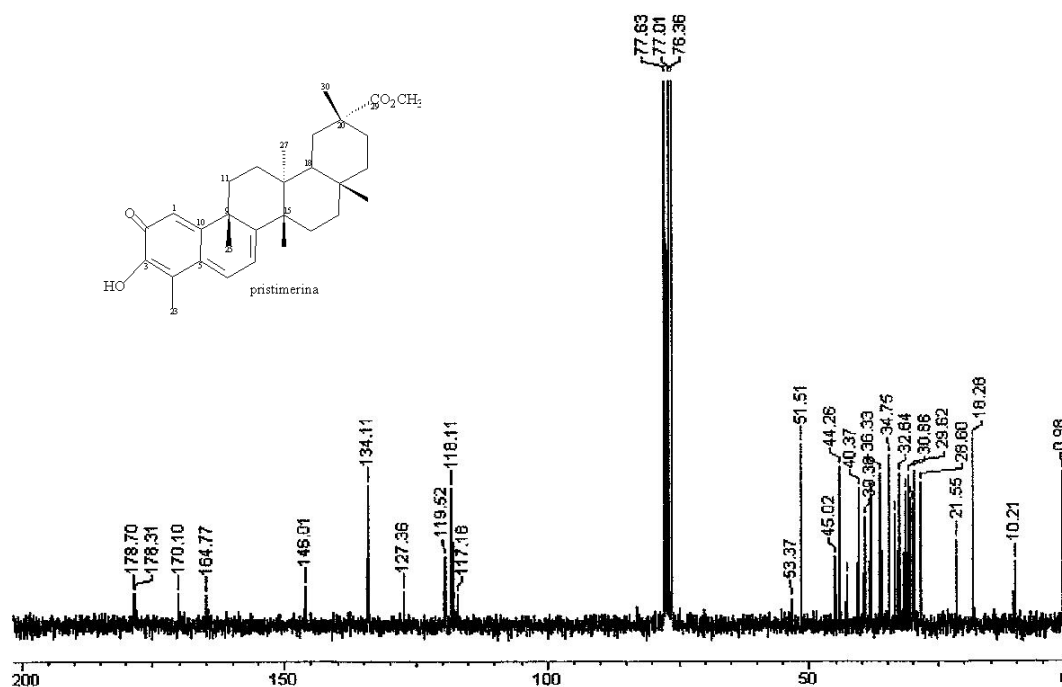


Figura 9 – Espectro de RMN de ^{13}C para pristimerina (em CDCl_3 , MHz)

Tabela 5. RMN de ^1H e ^{13}C para pristimerina (CDCl_3 , 125MHz)

Carbono	Hidrogênio	Obtidos	GUNATILAKA <i>et al.</i> , 1989
1	6,46	119,5	119,6
2		178,3	178,4
3		146,0	146,1
4		117,3	117,0
5		127,3	127,5
6	6,96	134,2	133,9
7	6,28	118,4	118,1
8		170,3	169,9
9		42,9	42,6
10		164,8	164,7
11		33,7	33,6
12		29,6	29,7
13		39,4	39,4
14		45,0	45,0
15		28,6	28,7
16		36,3	36,4
17		30,5	30,6
18		44,3	44,4
19		30,8	30,9
20		40,4	40,4
21		29,8	29,9
22		34,7	34,8
23	2,14	10,2	10,2
24	1,38	51,8	51,5
25		38,2	38,3
26	1,19	21,5	21,6
27	0,46	18,3	18,3
28	1,03	31,5	31,6
29	3,48	178,7	178,7
30	1,17	32,6	32,6

4.4. Identificação da maitenina

Essa substância foi isolada das frações mais polares da partição hexânica das raízes, como cristais de coloração laranja intenso.

O espectro de RMN de ^1H desta substância (Fig 09, p. 28) apresentou cinco sinais em δ 1,42; 1,26; 1,20; 0,93; e 0,89, integrando para 3H cada, característicos de grupos metila, localizados nos carbonos 23, 25, 26, 30, 28, 27, respectivamente. Em δ 2,83 e 1,70 observa-se a presença de dois dubletos integrando para um próton cada, caracterizando o grupo metilênico ligado ao carbono C-22. Em δ 6,46 observou-se um hidrogênio hidroxílico em ponte de hidrogênio intramolecular com o oxigênio carbonílico.

O espectro de RMN de ^{13}C apresenta 29 picos. Dentre esses, destaca-se o pico em 213,6, característico de carbonila não conjugada, sugerindo a presença da maitenina, um triterpeno quinonametídeo muito comum em plantas das famílias Celastraceae e Hippocrateaceae. Essa informação foi ainda confirmada pela absorção em λ 250,4 nm, obtida no espectro de ultravioleta. Comparando os dados espectroscópicos do composto isolado de *S. elliptica* com os descritos na literatura (ICE-UFMG-2009), (GUNATILAKA *et al.*, 1989), conclui-se que se trata do triterpeno quinonametídeo maitenina, um dinortriterpenóide conhecido também como tingenona.

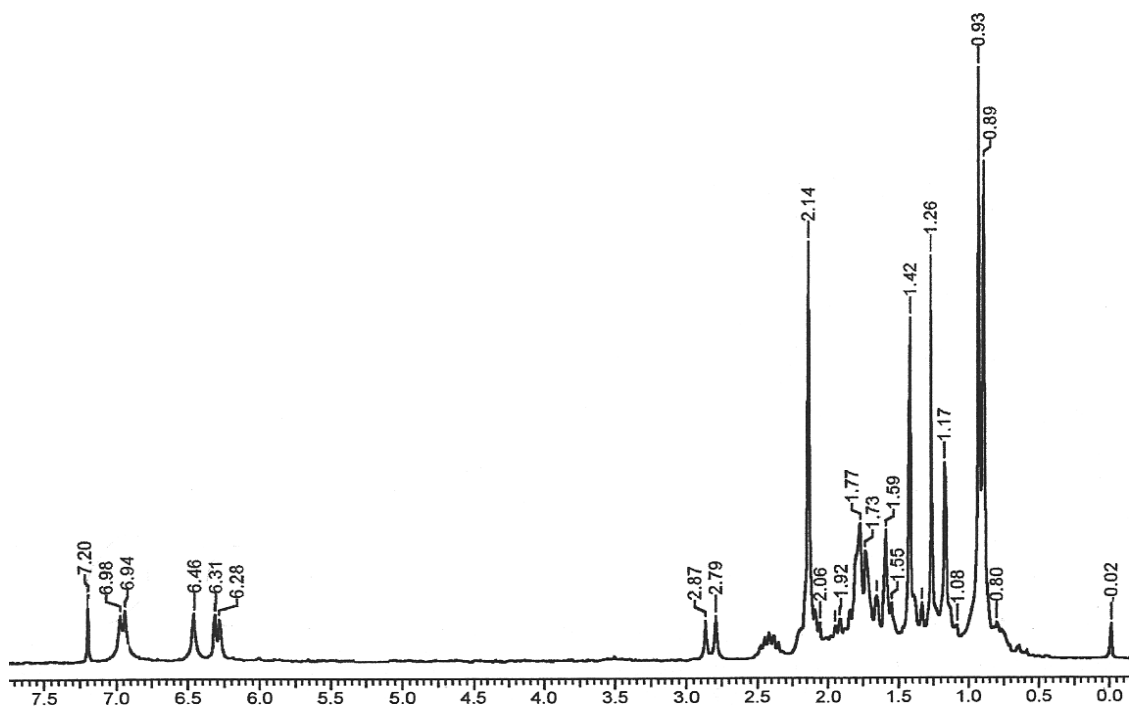


Figura 10– Espectro de RMN de ^1H para maitenina (em CDCl_3 , 500 MHz)

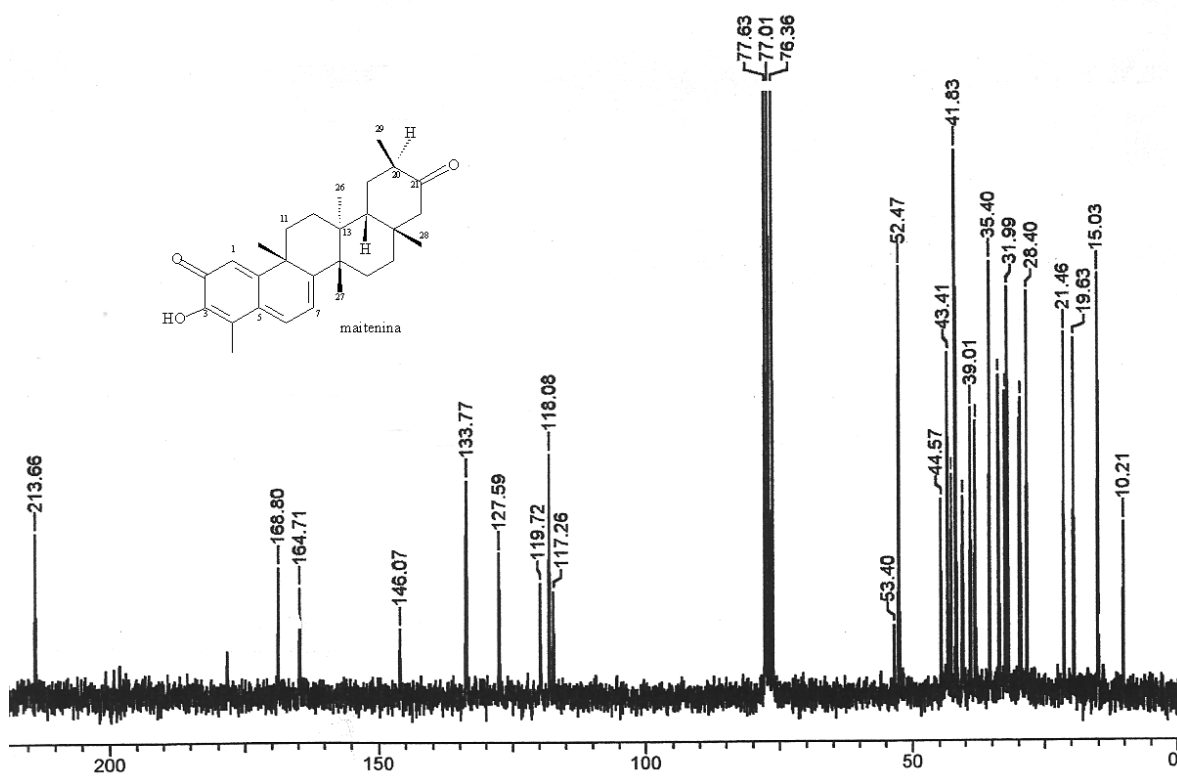


Figura 11– Espectro de RMN de ^{13}C para maitenina (em CDCl_3 , 125 MHz)

Tabela 6. RMN de ^1H e ^{13}C para maitenina (CDCl_3 , 500MHz)

Posição	Hidrogênio	Carbono	MAHATO, 1994
1	6,46	119,7	119,8
2		178,5	178,4
3		146,2	146,1
4		117,3	117,1
5		126,9	127,8
6	6,94	133,7	133,5
7	6,31	118,3	118,1
8		168,8	168,6
9		42,5	42,7
10		164,7	164,7
11		33,6	33,8
12		29,8	30,0
13		40,5	40,7
14		44,5	44,7
15		28,4	28,5
16		35,4	35,5
17		38,1	38,2
18		43,4	43,6
19		31,9	32,1
20		41,8	41,9
21		213,6	213,5
22	2,87	52,4	52,5
23	2,14	10,2	10,3
24			
25	1,42	39,0	21,6
26	1,26	21,4	19,7
27	0,89	19,6	32,6
28	0,93	32,5	32,6
29		25,7	25,8
30	1,20		

5. BIOSÍNTESE DE TRITERPENOS

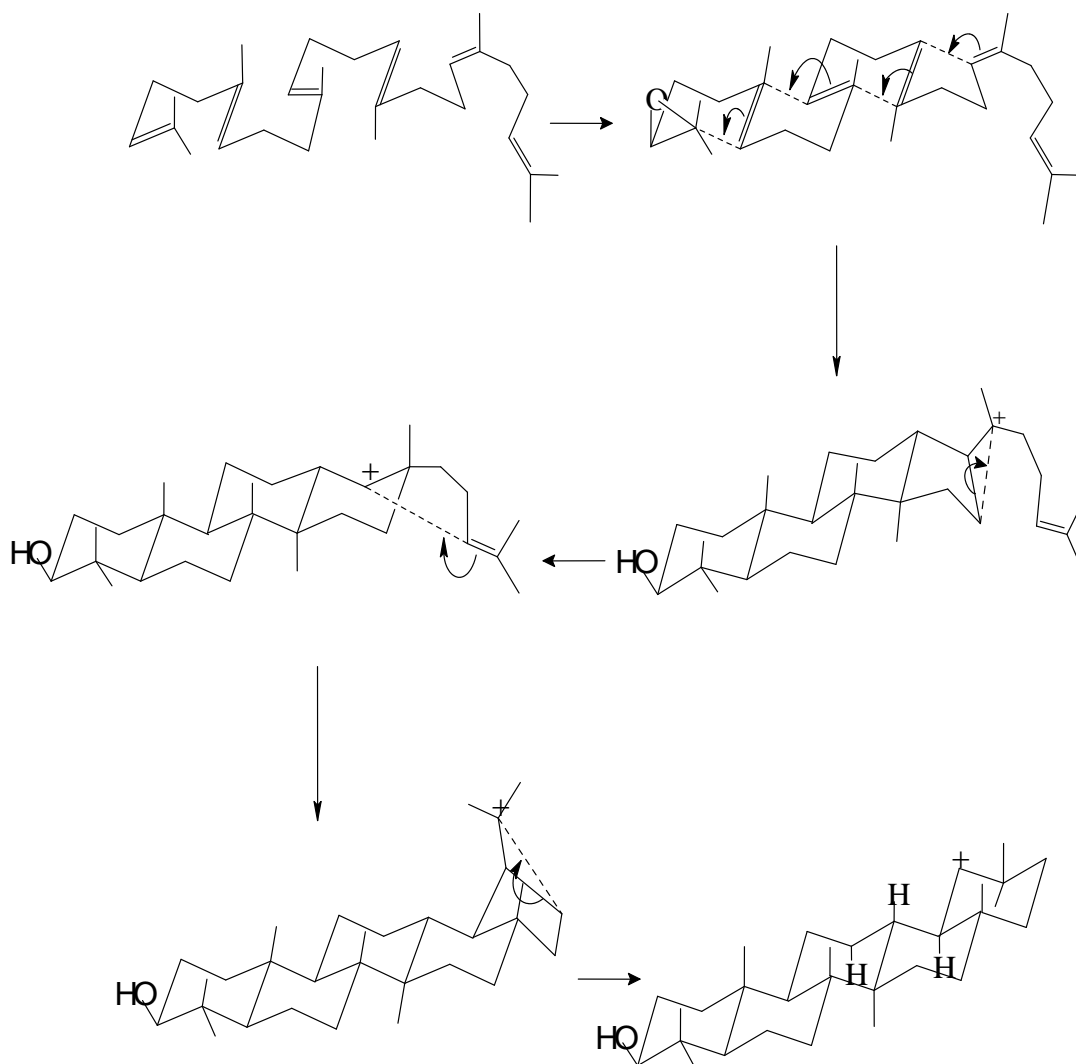
Devido à grande importância dos metabólitos secundários, a fitoquímica clássica passou a ter um enfoque não apenas no isolamento e determinação estrutural das substâncias presentes em uma determinada espécie, mas também em estudos relacionados a descoberta de atividades biológicas, elucidações de rotas biossintéticas, estudos de ecologia química, entre outros. Neste contexto, a busca por novas estruturas e suas respectivas propriedades não são mais focadas apenas nos estudos das plantas, estendendo-se assim aos microorganismos, organismos marinhos e até mesmo a interações simbióticas entre diferentes organismos. A química de produtos naturais na atual era genômica, caracterizada pelo enfoque macromolecular, continua sendo uma ferramenta fundamental para o entendimento dos mecanismos metabólicos de cada parte da célula e das funções desses metabólitos em determinada unidade celular, atuando assim como uma ciência de fronteira do conhecimento (PINTO, *et al.*, 2002).

Com base no exposto, a compreensão das etapas de produção dos metabólitos pelos seres vivos tem papel importante no processo de entendimento dos mecanismos de defesa de plantas. Os estudos biossintéticos de produtos naturais tiveram início nos anos 60 (KOUKOL *et al.*, 1961).

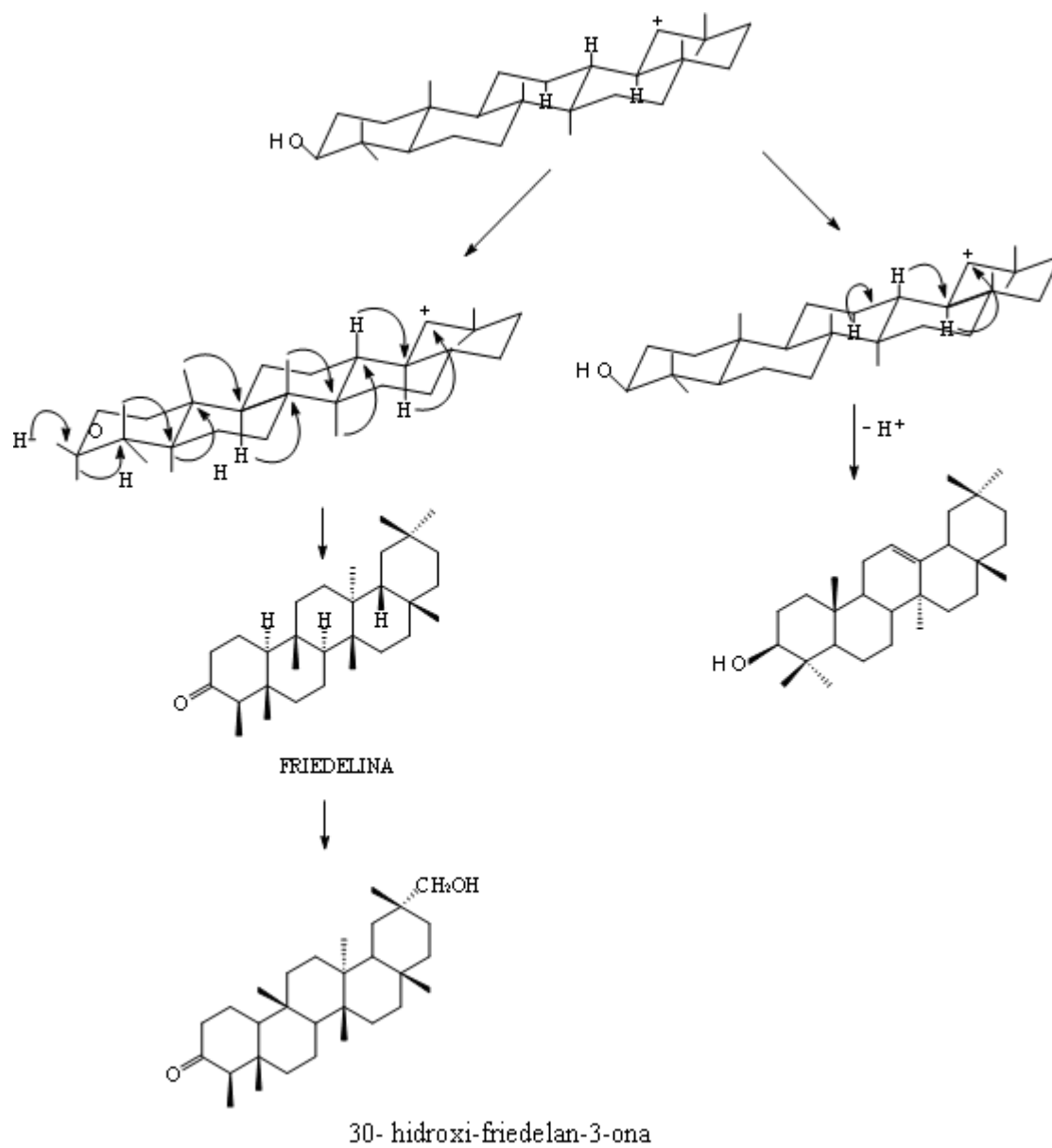
Os metabólitos secundários isolados de *S. elliptica* pertencem basicamente a classe estrutural dos terpenóides, destacando-se a classe dos triterpenóides. Os triterpenos são formados via mevalonato, a partir do esqualeno (2 unidades de farnesil ligados pela cauda), que é epoxidado seletivamente a 2,3-epóxido esqualeno (conformação cadeira-cadeira-cadeira-barco). As ciclizações são iniciadas pela abertura do anel epóxido catalisada por ácido, com a participação da ligação π vizinha, conforme esquema 1 (DEWICK, 1997). Sendo ciclizado, gera a friedelina, esquema 2, que por meio de uma série de etapas oxidativas, origina os triterpenos quinonametídeos, esquema 3.

A oxidação do anel E dos triterpenos quinonametídeos, resulta no celastrol, um dos triterpenos quinonametídeos de maior ocorrência. A estereificação desse composto no carbono C-29, leva a formação da pristimerina, que por sucessivas oxidações no carbono C-21, origina a 21- β -hidroxi-pristimerina e 21-ceto-pristimerina. A descarboxilação do C-29 leva a síntese da maitenina, cuja oxidação resulta nos triterpenos quinonametídeos 22-

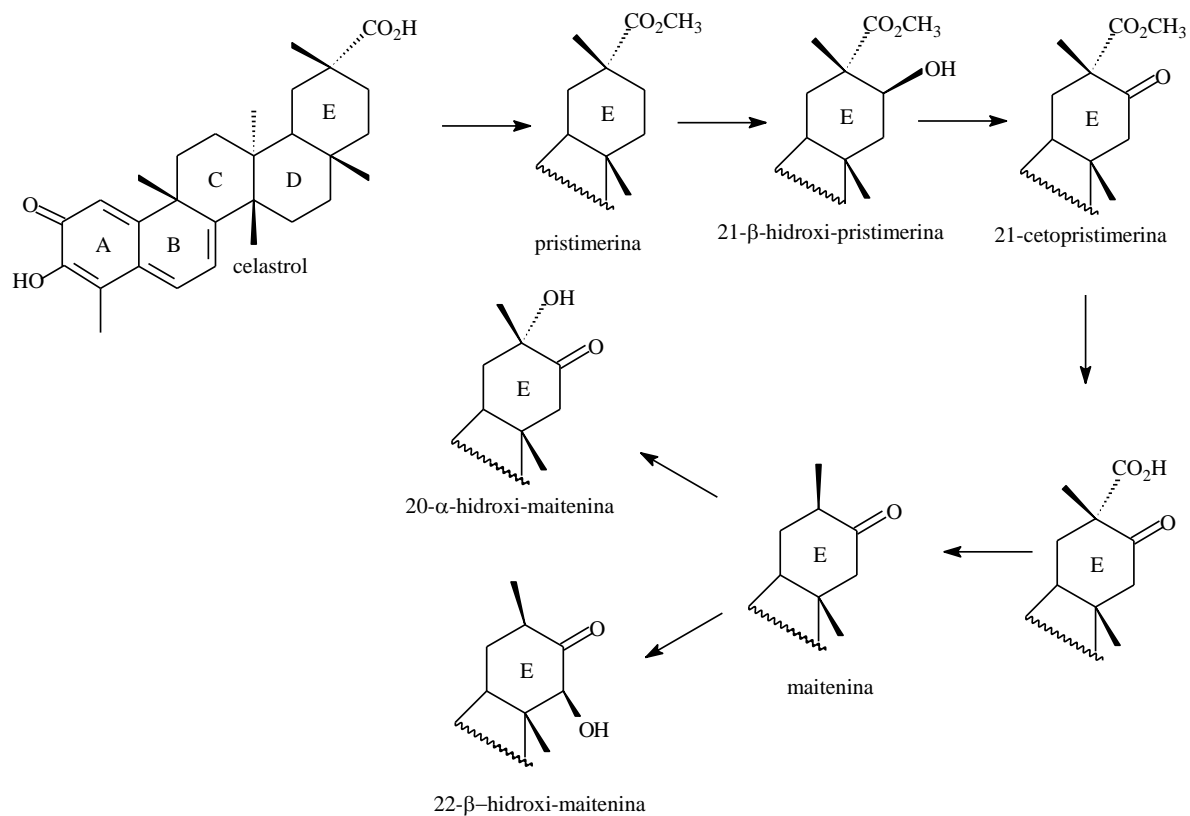
β -hidroxi-maitenina e 20- α -hidroxi-maitenina, conforme descrito no esquema 4 (LIÃO, 1997).



Esquema 1. Rota biossintética para formação de triterpenos.



Esquema 2. Rota biossintética para formação da friedelina.



Esquema 4. Etapa de oxidação do anel E de triterpenos quinonametídeos (LIÃO, 1994).

6. DADOS FÍSICOS DAS SUBSTÂNCIAS IDENTIFICADAS.

Pristimerina:

Fórmula Molecular:	$C_{30}H_{40}O_4$ (464,64 g/mol)
Ponto de fusão:	214-217 (MeOH), 216-219(hexano),
Rotação ótica:	$[\alpha]_D^{27} -164$ (c 1,0) $CHCl_3$
IV (KBr), ν (máx; cm^{-1}):	3350; 2920; 1720; 1690; 1590; 1430; 1370; 1290; 1220; 1180; 1150; 1090; 865
UV (nm):	(MeOH) 250(11000); 430(13000) 253 (4,08); 420 (4,10)
RMN:	Tabela 05 p.24
Atividade biológica:	Antitumoral, anti-bacteriana, antibiótico, citostático, inibidor de atividade citotóxica, atividade antimalaria

Maitenina:

Fórmula Molecular:	$C_{28}H_{36}O_3$ (420,59g/mol)
PF:	147-149($CHCl_3$ /éter de petróleo)
Rotação ótica:	$[\alpha]_D^{-340}$ (c 0,1; MeOH)
IV (filme seco), ν (máx; cm^{-1}):	3324, 2973-2872, 1706, 1595, 1514, 1437, 1289, 1217, 1184, 1084, 870, 756, 677
UV (nm):	210 (3,33); 242 (3.02); 288 (2,21); 421 (3,16)
RMN:	Tabela 06 p. 26
Atividade biológica:	Atividade antibicrobiana contra bacteria gran positivas Antitumoral, citostático, citotóxica, tripanosomicida

30-Hidroxi-friedelan-3-ona:

Fórmula Molecular:	$C_{30}H_{50}O_2$ (442g/mol)
PF:	268-269 (CHCl ₃ /MeOH)
Rotação ótica:	$[\alpha]_D -15$ (c=0,260) $[\alpha]_D -12,1$ (c=0,1, CHCl ₃)
IV (filme seco), ν (máx; cm ⁻¹):	3528, 2925, 1706, 1445, 1380, 1034; 3610, 1710
RMN	Tabela 04 p.20
Atividade biológica	Ação antibacteriana e citotóxica

 β -Sitosterol

Fórmula Molecular:	$C_{29}H_{50}O$
PF:	188-189°C
EM:	m/z 414, 255, 145, 105, 91 e 55

7. Bioautografia

Através da bioautografia, extratos e frações purificadas de *S. elliptica* foram avaliados frente a *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Kocuria rhizophila*. *E. coli* é uma bactéria comensal do intestino humano, quando patogênica, causa infecções no sistema digestório, conhecidas como gastroenterites. Já *S. aureus* pode causar doenças por invasão direta ou por formação de toxinas. Dentre as doenças por invasão diretas estão: foliculite, furúnculo, carbúnculo, terçol e etc. Por toxinas produzidas por ela: síndrome da pele escaldada, síndrome do choque tóxico e intoxicação alimentar. Tanto a *S. aureus* e a *P. aeruginosa*, apresentam alto grau de resistência a antibióticos e estão envolvidas nas infecções hospitalares

oportunistas. O *B. subtilis* e a *K. rhizophila* são bactérias gram positivas não patogênicas comuns no solo.

Dentre os resultados obtidos usando este modelo de ensaio biológico, podemos destacar a maior inibição total do crescimento de todas as bactérias por parte do extrato diclorometano da raiz e das folhas de *S. elliptica*, conforme pode-se observar na tabela 07.

Tabela 7 – Halo de inibição (mm) do extrato bruto da *S. elliptica*.

Extrato Bruto	<i>E. coli</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>K. rhizophila</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>
Raiz(CH ₂ Cl ₂)	-	-	-	-	-
Raiz(etOH)	10	10	9	11	-
Caule(CH ₂ Cl ₂)	-	-	8	-	-
Caule(etOH)	9	8	12	11	-
Folhas(CH ₂ Cl ₂)	-	-	-	-	-
Folhas(etOH)	-	9	11	-	-
Cloranfenicol	15	24	19	29	25

A 30-hidroxifriedelan-3-ona (C_{2.1.1}) foi submetida às bactérias *B. subtilis*, *K. rhizophila*, dando como resultado inibição total do crescimento de ambas, estes resultados estão expressos na tabela 08. Já o β -sitosterol (C_{1.5.1}), que também foi submetido às mesmas cepas apresentou inibição, não com a mesma eficiência, porém. Faz-se necessário mais testes com outras frações e o teste de concentração mínima inibitória.

Tabela 8 – Halo de inibição (mm) de frações da *S. elliptica*.

Frações (Caule)	<i>B. subtilis</i>	<i>K. rhizophila</i>
C _{1.3}	-	-
B sitosterol	12	10
C _{1.5.4}	-	-
30- hidroxifriedelan-3- ona	-	-
C _{2.1.2}	-	-
C _{2.1.5}	-	-
Cloranfenicol	27	25

8. CONCLUSÃO

O estudo fitoquímico dos extratos apolares e de média polaridade das raízes e caule de *Salacia elliptica* (Hippocrateaceae) conduziu ao isolamento e determinação estrutural de 04 metabólitos secundários. Dentre os quais se destaca os triterpenos quinonametídeos maitenina e pristimerina, uma vez que são considerados marcadores quimiotaxonômicos das famílias Celastraceae e Hippocrateaceae, de ocorrência restrita a este grupo vegetal. Seu isolamento em *S. elliptica* vem corroborar com esta informação, porém seu isolamento nesta espécie não conduz a nenhuma conclusão sobre as relações quimiotaxonômicas entre Hippocrateaceae e Celastraceae, visto que estes metabólitos são comuns a ambas as famílias e que os estudos fitoquímicos realizados nestas famílias não abrange 25% de suas espécies.

Os bioensaios demonstram o alto potencial biológico *S. Elliptica*, já que frente aos microorganismos aos quais os extratos e partições foram expostos, houve a redução ou até mesmo a inativação total do crescimento do microorganismo. Estes resultados leva a concluir que há muito por fazer quanto a determinação de quais princípios ativos são realmente ativos e viáveis economicamente quanto ao seu uso farmacológico.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVARENGA, N. L.; VELAZQUEZ, C. A.; GÓMEZ, R.; CANELA, N. J.; BAZOCCHI, I. L.; FERRO, E. A. A new antibiotic nortriterpene quinone methide from *Maytenus cantigarum*. Journal of Natural Products, n. 62, p. 750-751, 1999.

COLE, M. D., 1994. Key antifungal , antibacterial and anti-insect assays- a critical review. *Biochemical Systematic and Ecology*, 22(8), 837-856.

CORSINO, J.; BOLZANI, V. S.; PEREIRA, A. M. S.; FRANÇA, S. C; FURLAN, M. Bioactive sesquiterpene pyridine alkaloids from *Maytenus aquifolium*. *Phytochemistry*, v. 48, n. 1, p. 137-140, 1998.

CORSINO, J.; CARVALHO, P. R. F.; KATO, M. J.; OLIVEIRA, O. M. F.; ARAÚJO, A. R.; BOLZANI, V. S.; FRANÇA, S. C.; PEREIRA, A. M. S.; FURLAN, M. Antioxidant flavan-3-ona-ols and flavonol glycosides from *Maytenus aquafolium*. *Phytochemistry Research*, 2003.

CROTEAU, R. ; KUTCHA. T. M.; LEWIS, N. G. natural products (secondary metabolites). IN: BUCHANAN, B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*. New York: Elsevier, 2000. Cap. 24, p. 1250-1317.

DAGANG, W.; JIKAL, L.; CHUNQUAN, C. Angulatueoid G and H, sesquiterpenes from the seeds of *Celatrus angulatus*. *Phytochemistry*, v. 31, n. 12, p. 4219-4222, 1992.

DEEPA, M.A.; BAI, V.N.; Antibacterial activity of *Salacia beddomei*. Fitoterapia 2004, v.75, p. 589-591.

DEWICK, P.M. Medicinal natural products: a biosynthetic approach. Chichester, Ed. John Wiley & Sons, p. 466, 1997.

DIXON, R. A. Natural products and plant disease resistance. Nature, v. 411, n. 6839, p. 843-847, 2001.

Embrapa Cerrado – Disponível no sítio:

http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia16/AG01/arvore/AG01_52_911200585234.html. Acesso em 22/12/2008

FERRI, M.G. – IV Simpósio Sobre o Cerrado: Bases para Utilização Agropecuária. Belo Horizonte: Editora Itatiaia; São Paulo, Editora USP, 1977.

FIGUEIREDO, J. N.; RAZ, B.; SEQUIN, U. Novel quinone methides from *Salacia kraussii* with *in vitro* antimalarial activity . Journal of Natural Products, v. 61, n. 6, p. 718-723, 1998.

FONSECA, C.E.L. DA; RIBEIRO, J.F., SOUZA, C.C. DE; REZENDE, R.P.& BALBINO, V.K. Recuperação da vegetação de Matas de Galeria: estudos de caso no Distrito Federal e Entorno. In: Cerrado: Caracterização e recuperação de Matas de Galeria. Ribeiro, J.F., Fonseca, C.E.L. da, Sousa-Silva, J.C. eds. Planaltina: Embrapa Cerrados, p. 815-870, 2001

GOTTLIEB, O.R., KAPLAN, M.A.C. E BORIN, M.R. DE M.B. – Biodiversidade: Um enfoque Químico-Biológico. Rio de Janeiro: Editora UFRJ, 1996.

GONZÁLES, A. G.; ALVARENGA. N. L.; BAZZOCCHI, O. L.; RAVELO, A. G.; MOUJIR, L. A new bioactive norquinonemethide tripterene from *Maytenus scutioides*. Planta Medica, v. 64, n. 8, p. 769-771, 1998,

GONZÁLES, A. G.; RAVELO, A. G.; BAZZOCCHI, I. L., JIMENEZ, J. S., LUIS, J. G., FERRO, E. A., MOUJIR, L. M. E GUTIERREZ, A. M. – Two new triterpene dimers from Celastraceae, their partial synthesis and antimicrobial activity. *Tetrahedron*, 48(4), 769-774, 1992.

GUNATILAKA, A. A. L. - Triterpenoid quinonamethides and related compounds (*Celastruloids*). *Progress in the Chemistry of Organic Natural Products*, v. 67, p. 1-123, 1996.

GUNATILAKA, A. A. L.; FERNANDO, C. H.; KIKUCHI, T.; TEZUKA, Y. ¹H and ¹³C NMR analysis of three quinonemethide triterpenoids. *Magnetic Resonance in Chemistry*, v. 27, n. 8, p. 803-887, 1989.

HAMBURGUER, M E HOSTETTMANN, K., Bioactivity in plants: the link between phytochemistry and medicine. *Phytochemistry*, 30(12), 3864-3874, 1991.

HARVEY, A. L. Medicines from nature: are natural products still relevant to drug discovery? *Trends in Pharmacological Sciences*, v. 20, n.5, p. 196-198, 1999.

HEYWOOD, V.H – *Flowering Plants of the World*. New York: Oxford University Press, 178-183, 1993.

HUI, B.; WU, Y.; WANG, H.; TIAN, X. Effect of pristimerin on experimental inflammation in mice rats. *Zhanguo Yaolixue Tongbao*, v. 19, p. 656-659, 2003.

Instituto de Ciências Exatas – Universidade Federal de Minas Gerais. Disponível no sítio: <http://zeus.qui.ufmg.br/~neplam/triterpenos>. Acesso em 08/04/2009.

JELLER, A. H.; SILVA, D. H. S.; LIÃO, M. L.; BOLZANI, V. S.; FURLAN, M. Antioxidant phenolic and quinonemethide triterpenes from *Cheiloclinium cognatum*. *Phytochemistry*, 2004.

JINBO, Z.; MINGAN, W.; WENJUM, W.; ZHIQING, J.; ZHAONONG, H. Insecticidal sesquiterpene pyridine alkaloids from *Euonymus* species. *Phytochemistry*, v. 61, n. 6, p. 699-704, 2002.

KLAID, S. A.; FRIEDRICHSEN, G.E. ; CHRISTENSEN, S. B.; EL TAHIR, A; SATTI, O. M. Isolation and characterization of pristimerine as the antiplasmodial and antileishmanial agent of *Maytenus senegalis* (Lam.) Excell. *Aktivoc.*, v.9, p.129-134, 2007.

KOUKOL, J.; CONN, E. E. Metabolism of aromatic compounds in higher plants. 4. Purification and properties of phenylalanine deaminase of *Hodium vulgare*. *Journal of Biological Chemistry*, v. 31, p. 2692-2698, 1961.

KUBO, I., KLOCHE, J. A. – ACS Symp. Ser., 296,206,1986.

LIÃO, L.M. – Triterpenos quinonametídeos de *Salacia campestris* (Hippocrateaceae). São Carlos: Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de São Carlos, 1994.

LIÃO, L.M. – Alcalóides Sesquiterpênicos Piridínicos e Triterpenos Quinonametídeos Degradados de *Salacia campestris* (Hippocrateaceae). São Carlos: Tese de Doutorado, Universidade Federal de São Carlos, 1997.

LOMBARDI J. A. & TEMPONI L. G. – Flora dos Estados de Goiás e Tocantins. Goiânia, v. 25, p. 29 – 32, 2002.

MAHATO, S. B.; KUNDU, A. P. ¹³C NMR spectra of pentacyclic triterpenoids – a compilation and some salient features. *Photochemistry*, v. 37, n. 6, p 1517-1575, 1994.

MENA-REJON, G. J M.; ESPADAS, A. R. P.; MÔO-PUC, R. E.; RIVIERA, R. C.; BAZZOCCHI, L. L.; DIAZ, I. A. J.; QUIJANO, L. Anti-giardial activity of triterpenoids from root bark of *Hippocratea excelsa*. *J. Nat. Prod.*, v.70, p.863-865, 2007.

MOUJIR, J.; GUTIERREZ-NAVARRO, A. M.; GONZALEZ, A. G.; RAVELO, A. G.; LUIS, J. G. Mode of action netzahualcoyone. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v, 35, n. 1, p. 211-213, 1991.

PATRA, A. E CHAUDHURI, S. K. – Assignment of Carbon – 13 Nuclear Magnetic Resonance Spectra of Some Friedelanes. *Magnetic Resonance in Chemistry*. 25, 95-100, 1987.

PAVANAD, K.; WEBSTER, H. K.; YONGVANITCHIT, K.; KUN-ANKE, A.; DECHATIWONGSE, T.; NUTAKUL, W.; BANSIDDNI, J. Schizontocidal activity of *Celastrus paniculatus* willd against *Plasmodium falciparum* in vitro. *Phytother. Res.*, v.3, p.136-139, 1989.

PINTO, A. C.; SILVA, D. H. S.; BOLZANI, V. S.; PEPORINE, N. L.; EPIFANIO, R. A. Produtos naturais: atualidade e desafios e perspectivas. *Química Nova*, V. 25, p. 45 – 61, 2002.

PLETSCH, M. Compostos naturais biologicamente ativos. *Biotecnologia*, 4, 1-7, 1999.

Portal Brasil Cerrado – Disponível no sitio: <http://www.portalbrasil.net/cerrado.htm> acesso em 08/04/2009.

PREMAKUMARA, G. A. S.; RATNASOORIYA, W. D.; JAYAKODY, J. R. A. C.; Adverse pregnancy outcome in rats following exposure to a *Salacia reticulata* (Celastraceae) root extract. *Brazilian journal of medical and biological research* , V. 6, p. 931-935, 1992.

RAO, R. B.; SUKUMAR, E., KUNDU, A. B. E PATRA, A. – A triterpenoid from *Pristimera grahamii*. *Phytochemistry*, 29(6), 2027-2029, 1990.

RODRIGUES, N.K.J., Triterpenos da Casca da Raiz de *Austroplenckia populnea*. RMN 13C, dissertação de Mestrado, Departamento de Química - UFMG, Belo Horizonte, 1989.

SANTANA, C. F.; ASFORA, J. J.; CORTIAS, C. T. Primeiras observações sobre o emprego da maitenina em pacientes cancerosus. *Revista do Instituto de Antibióticos (Recife)*, v. 11, p. 37, 1971.

SCHWAB, W. Metabolome diversity: t̃o few genes, too many terabolites? *Phytochemistry*, v. 62, n. 6, p. 837-849, 2003.

SETZER, W. N.; SETZER, M. C., HOPPER, A. L.; MONTIARITY, D. M; LEHRMAN, G. K.; NIEKAMP, K. L.; MORCOMB, S. M.; BATES, R. B.; MCCLURE, K. J.; STESSMAN, C. C.; HABER, A. H. The cytotoxic activity of a *Salacia liana* species from Monteverde Costa Rica is due to a high concentration of tingenone. *Planta Medica*, v. 64, n. 6 p. 583, 1 Tahir, A. E.; Satti, G. M. H.; Sami, A. A novel antiplasmodial activity of pristimerin isolated from *Maytenus senegalensis* (Lam.) *J. Saudi Chem. Soc.*, v.5, p.157-163, 2001.

SINGH, B.; BHAT, T. K. Potential therapeutic applications of some antinutritional plant secondary metabolites. *J. Agric. Food Chem.*, v.51, p.5579-5597, 2003.

TAKHTAJAN, A. L. Diversity and classification of flowering plants. New York: Columbia University, p. 643-659, 1997.

TAHIR, A. E.; SATTI, G. M. H.; SAMI, A. A novel antiplasmodial activity of pristimerin isolated from *Maytenus senegalensis* (Lam.) *J. Saudi Chem. Soc.*, v.5, p.157-163, 2001.

VERPOORTE, R.; VAN DER HEIJDEN, R.; TEM HOOPEN, H. J. G.; Memelink, J. Metabolic engineering of plant secondary metabolite pathways for the production of fine chemicals. *Biotechnology Letters*, v. 21, n. 6, p. 467-479, 1999.

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

VINES, R. A. – Trees shrubs and woody vines of the southwest. Austin: University of Texas Press, 1990.

WAKABAYASHI, N.; WU, W. J.; WATERS, R. M.; REDFERN, R. W.; MILLS-JR, G. D.; DEMILO, A. B.; LUSBY, W. R.; ANDRZEJEWSKI, D. Celagulin: a nonalkaloidal insect antifeedant from Chinese bittersweet *Clastrus angulatus*. Journal of Natural Products, v. 51, n. 3 p. 537-542, 1988.