



Universidade Federal do Rio de Janeiro
Centro de Ciências da Saúde
Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais

**Estudo Químico e Farmacológico de Folhas
e Flores de *Couroupita guianensis* Aubl.**

Sidnei Bessa de Oliveira Fernandes

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química de Produtos Naturais, Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Ciências.

Orientadores: Prof. Dr. Ricardo Machado Kuster
Prof. Dr. Fábio de Sousa Menezes

Rio de Janeiro
Abril de 2006

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

FICHA CATALOGRÁFICA

Fernandes, Sidnei Bessa de Oliveira

Estudo Químico e Farmacológico de Folhas e Flores de *Couroupita guianensis*
Aubl./ Sidnei Bessa de Oliveira Fernandes. – Rio de Janeiro: UFRJ/NPPN, 2006.
xi, 108 f. il.; 31 cm.

Orientadores: Prof. Dr. Ricardo Machado Kuster
Prof. Dr. Fábio de Sousa Menezes

Dissertação (mestrado) – UFRJ/ COPPEAD/ Programa de Pós-graduação em
Química de Produtos Naturais, 2006.

Referências Bibliográficas: f. 99-108.

1. Lecythidaceae. 2. *Couroupita guianensis*. 3. Fitoquímica. 4. Farmacologia. I.
Menezes, Fábio de Sousa e Kuster, Ricardo Machado. II. Universidade Federal do Rio
de Janeiro, Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais, Programa de Pós-graduação em
Química de Produtos Naturais. III. Título.

Dedico essa Dissertação a minha avó “Nininha”

e aos meus pais, Cesar e Sonia.

Aos meus orientadores
Ricardo Machado Kuster
e Fábio de Sousa Menezes.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Cesar e Sonia, por tudo que fizeram e fazem por mim.

À minha avó “Nininha” pelo carinho, meu irmão Fábio e o Gobi.

À minha madrinha, minha avó Almerinda, tios e primas.

À minha “Linda” Silvia Rein, que tem me ensinado e apoiado muito desde que nos conhecemos. E à sua família.

Aos meus amigos Elisangela “Lisa”, Tatiana Baratelli e Leandro Soter e aos colegas do NPPN.

À Catharina Fingolo, minha amiga e fiel escudeira no laboratório, que se dedicou muito para a realização desse trabalho.

Aos amigos Fábio “Nog”, Débora Malta e Deborah Quintanilha pelo companheirismo e amizade.

Aos amigos atualmente no Laquel: Edlaine, Patrícia, Gabriel, Raquel e Cristiane.

Aos amigos que passaram pelo Laquel: Fábio “Canário”, Alessandra, Felipe, Robert, Eniana, Cássio, Ana Carolina, Andrea “Pequena”, Andréa Minto, Magda e Verônica.

Aos amigos Raphael e Elaine pelo companheirismo e várias caminhadas.

Aos professores da “Federal de Química” com quem trabalhei: Hiran, Morgado e o amigo Jorge Hudson.

Aos amigos da “Federal de Química”: Fábio “Pardal” e Mônica Padilha.

À professora Suzana Guimarães Leitão pelas ajudas e cartas de recomendação.

Ao professor Davyson de Lima Moreira pelas análises.

Ao professor Carlos Roland pelos espectros de RMN.

À professora Rosana Conrado pela identificação botânica.

À Marinéia pela ajuda burocrática e atenção.

À professora Patrícia Dias Fernandes e Mariana Martins pelos testes farmacológicos.

Ao professor Antônio Jorge, ao Francisco e a Cristina, da Central Analítica do NPPN.

A todos que de alguma forma contribuíram para minha formação e realização desse trabalho.

Aos membros da banca examinadora, Prof. Dr. Antonio Jorge Ribeiro da Silva, Prof. Dr. Davyson de Lima Moreira, Prof^ª. Dr^ª. Patricia Dias Fernandes e Prof^ª. Dr^ª. Lucia Cruz Sequeira de Aguiar.

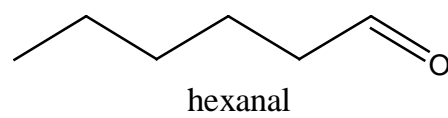
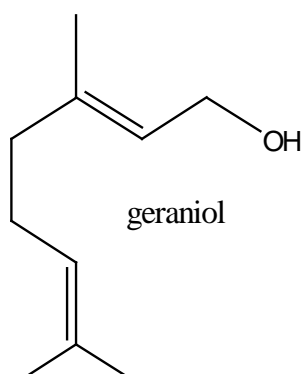
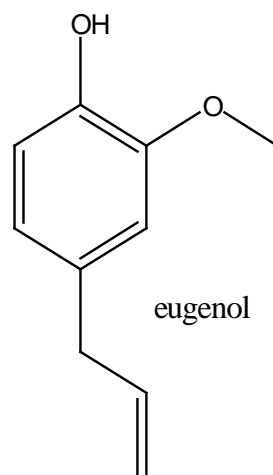
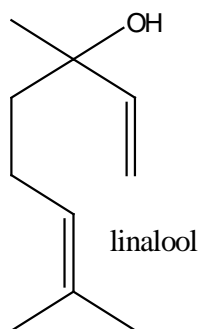
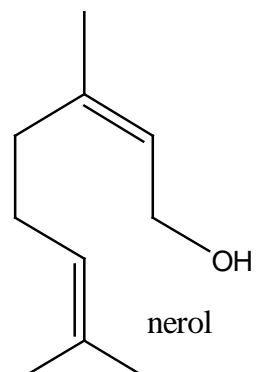
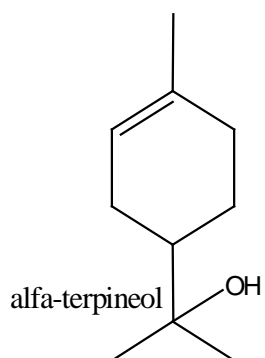
Ao professor Ricardo Machado Kuster pela confiança ao aceitar me orientar pelo NPPN e a ajuda oferecida.

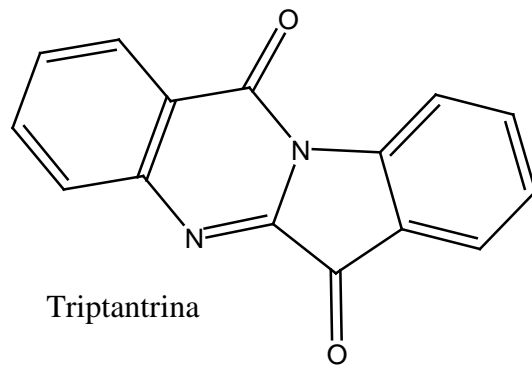
E especialmente ao professor e amigo Fábio de Sousa Menezes por ter me recebido em seu laboratório e com grande competência e amizade me orientado desde o começo da minha faculdade, sempre com grande dedicação, paciência e bom humor. Obrigado por todos esses anos de pesquisa científica e amizade.

SUMÁRIO

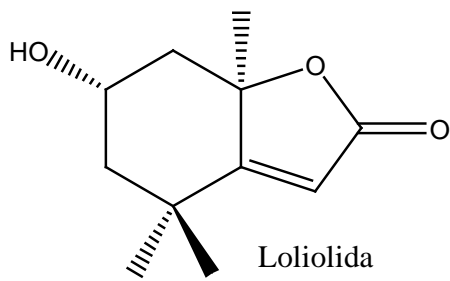
SUBSTÂNCIAS IDENTIFICADAS EM <i>Couroupita guianensis</i>	II
ÍNDICE DE FIGURAS.....	IV
ÍNDICE DE ESQUEMAS.....	VI
ÍNDICE DE QUADROS.....	VII
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	X
ÍNDICE DE CROMATOGRAMAS.....	XII
ÍNDICE DE ESPECTROS.....	XIII
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS.....	XVII
RESUMO.....	XIX
ABSTRACT.....	XXI
INTRODUÇÃO.....	1
JUSTIFICATIVA.....	8
OBJETIVOS.....	9
PARTE EXPERIMENTAL.....	10
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	31
CONCLUSÕES.....	97
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	99

SUBSTÂNCIAS IDENTIFICADAS EM *Couroupita guianensis*

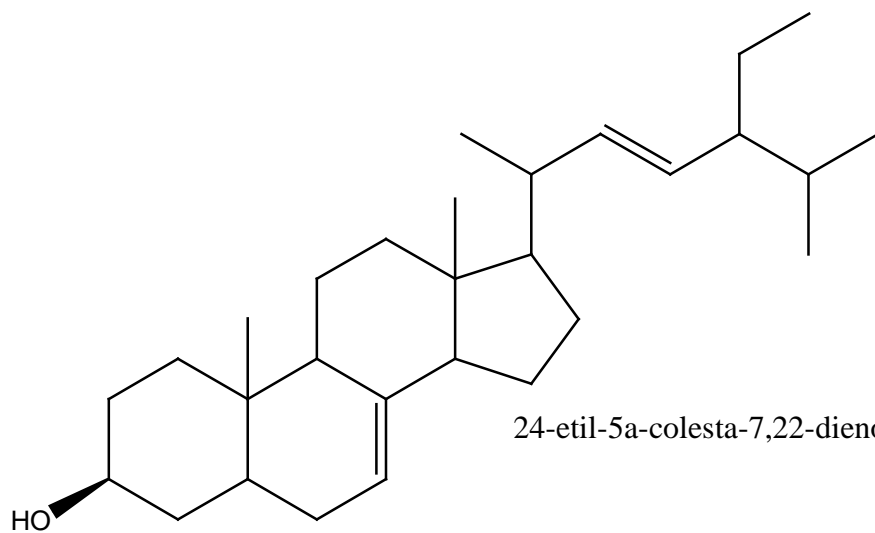




Triptantrina



Loliolida



24-etil-5a-colesta-7,22-dieno

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Representação gráfica das flores de <i>Couroupita guianensis</i>	2
Figura 2: Árvore de <i>Couroupita guianensis</i>	3
Figura 3: Folhas e flores de <i>Couroupita guianensis</i>	4
Figura 4: Redução da molécula de DPPH.....	25
Figura 5: Loliolida.....	31
Figura 6: Loliolida e 3-Epiloliolida.....	32
Figura 7: Triptantrina.....	39
Figura 8: Relação entre carbonos e hidrogênios mediante espectro 2D de HMQC, de FAFGC.....	44
Figura 9: Relação entre carbono e hidrogênio mediante espectro 2D de HMBC, de FAFGC.....	48
Figura 10: Relação entre hidrogênios mediante espectro 2D de COSY, de FAFGC.....	50
Figura 11: Relação entre hidrogênios mediante espectro 2D de NOESY, de FAFGC.....	52

Figura 12: Eugenol.....	55
Figura 13: 24-etil-5 α -colesta-7,22-dieno.....	63
Figura 14: Espinasterol e Chondrillasterol.....	64
Figura 15: Proposta de ressonância da Triptantrina.....	86

ÍNDICE DE ESQUEMAS

Esquema 1: Preparo do Extrato Etanólico Total e das Partições em Hexano, Diclorometano, Acetato de Etila e <i>n</i> -Butanol a partir das Folhas de <i>Couroupita guianensis</i>	13
Esquema 2: Preparo do Extrato Etanólico Total e das Partições em Hexano, Diclorometano, Acetato de Etila e <i>n</i> -Butanol a partir das Flores de <i>Couroupita guianensis</i>	14
Esquema 3: Fluxograma da Purificação da Loliolida, a partir da Partição em Diclorometano das Folhas.....	15
Esquema 4: Fluxograma da Purificação da Triptantrina, a partir da Partição em Acetato de Etila das Folhas.....	17
Esquema 5: Fluxograma da Purificação do Eugenol, a partir da Partição em Hexano das Flores.....	19
Esquema 6: Fluxograma da Purificação do Espinasterol, a partir da Partição Hexânica das Flores.....	20

ÍNDICE DE QUADROS

Quadro 1: Dados espectrais de RMN da Substância FDE, da Loliolida e da 3-Epiloliolida obtidos na literatura.....	32
Quadro 2: Dados espectrométrico de RMN da substância FAFGC, e de Triptantrina obtidos na literatura.....	40
Quadro 3: Relação entre carbonos e hidrogênios mediante espectro 2D de HMQC, de FAFGC.....	44
Quadro 4: Relação entre carbono e hidrogênios mediante espectro 2D de HMBC, de FAFGC.....	48
Quadro 5: Relação entre hidrogênios mediante espectro 2D de COSY, de FAFGC.....	50
Quadro 6: Relação entre hidrogênios mediante espectro 2D de NOESY, de FAFGC.....	52
Quadro 7: Dados espectrais de RMN da Substância FLHCA, e do Eugenol obtidos na literatura.....	56

Quadro 8: Dados espectrais de RMN da Substância FLHE, do Espinasterol e do Chondrillasterol obtidos na literatura.....	65
Quadro 9: Substâncias detectadas nos óleos essenciais de flores de <i>Couropita guianensis</i>	74
Quadro 10: Valores de CE ₅₀ do extrato etanólico total e partições de folhas de <i>Couropita guianensis</i> e do extrato padronizado de <i>Ginkgo biloba</i> (EGb 761 [®]), utilizado como controle positivo.....	82
Quadro 11: Valores de CE ₅₀ do extrato etanólico total e partições de <i>Couropita guianensis</i> e do extrato padronizado de <i>Ginkgo biloba</i> (EGb 761 [®]), utilizado como controle positivo.....	84
Quadro 12: Valores de CE ₅₀ da Triptantrina e do extrato padronizado de <i>Ginkgo biloba</i> (EGb 761 [®]), utilizado como controle positivo.....	86
Quadro 13: Efeito do extrato etanólico total e das partições em hexano, diclorometano, acetato de etila e <i>n</i> -butanol das folhas de <i>Couropita guianensis</i> em dose de 100 mg/kg e 10 mg/kg no modelo de contorções abdominais.....	88
Quadro 14: Efeito do extrato etanólico total e das partições em hexano, diclorometano, acetato de etila e <i>n</i> -butanol das folhas de <i>Couropita guianensis</i> em dose de 100 mg/kg e 10 mg/kg referente ao tempo de latência no modelo de retirada de cauda.....	91

Quadro 15: Efeito do extrato etanólico total e das partições em hexano, diclorometano, acetato de etila e *n*-butanol das folhas de *Couroupita guianensis* em dose de 100 mg/kg e 10 mg/kg referente à porcentagem de aumento em relação a linha de base no modelo de retirada de cauda.....91

Quadro 16: Efeito do extrato etanólico total e das partições em hexano, diclorometano, acetato de etila e *n*-butanol das folhas de *Couroupita guianensis* em dose de 100 mg/kg e 10 mg/kg referente ao tempo de latência no modelo de placa quente.....94

Quadro 17 Efeito do extrato etanólico total e das partições em hexano, diclorometano, acetato de etila e *n*-butanol das folhas de *Couroupita guianensis* em dose de 100 mg/kg e 10 mg/kg referente à porcentagem de aumento em relação a linha de base no modelo de placa quente.....95

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Atividade antioxidante pelo método do DPPH do extrato etanólico total e das partições das folhas de <i>Couroupita guianensis</i> . O extrato padronizado de <i>Ginkgo biloba</i> (EGb 761 [®]) foi utilizado como controle positivo.....	81
Gráfico 2: Atividade antioxidante pelo método do DPPH do extrato etanólico total e das partições das flores de <i>Couroupita guianensis</i> . O extrato padronizado de <i>Ginkgo biloba</i> (EGb 761 [®]) foi utilizado como controle positivo.....	83
Gráfico 3: Atividade antioxidante pelo método do DPPH da Triptantrina. O extrato padronizado de <i>Ginkgo biloba</i> (EGb 761 [®]) foi utilizado como controle positivo.....	85
Gráfico 4: Efeito do extrato etanólico total e das partições em hexano, diclorometano, acetato de etila e <i>n</i> -butanol das folhas de <i>Couroupita guianensis</i> em dose de 100 mg/kg no modelo de contorções abdominais.....	89
Gráfico 5: Efeito do extrato etanólico total e das partições em hexano, diclorometano, acetato de etila e <i>n</i> -butanol das folhas de <i>Couroupita guianensis</i> em dose de 10 mg/kg no modelo de contorções abdominais.....	89
Gráfico 6: Efeito do extrato etanólico total e das partições em hexano, diclorometano, acetato de etila e <i>n</i> -butanol das folhas de <i>Couroupita guianensis</i> em dose de 100 mg/kg no modelo de retirada de cauda.....	92

Gráfico 7: Efeito do extrato etanólico total e das partições em hexano, diclorometano, acetato de etila e *n*-butanol das folhas de *Couropita guianensis* em dose de 10 mg/kg no modelo de retirada de cauda.....92

Gráfico 8: Efeito do extrato etanólico total e das partições em hexano, diclorometano, acetato de etila e *n*-butanol das folhas de *Couropita guianensis* em dose de 100 mg/kg no modelo de placa quente.....95

Gráfico 9: Efeito do extrato etanólico total e das partições em hexano, diclorometano, acetato de etila e *n*-butanol das folhas de *Couropita guianensis* em dose de 10 mg/kg no modelo de placa quente.....95

ÍNDICE DE CROMATOGRAMAS

Cromatograma 1– Cromatograma de íons totais da amostra FDE de folhas de <i>Couroupita guianensis</i>	38
Cromatograma 2 – Cromatograma da amostra FAGC de folhas de <i>Couroupita guianensis</i>	54
Cromatograma 3 – Cromatograma da amostra FLHC de flores de <i>Couroupita guianensis</i>	62
Cromatograma 4 – Cromatograma da amostra FLHE de flores de <i>Couroupita guianensis</i>	72
Cromatograma 5 – Cromatograma do óleo essencial das pétalas de <i>Couroupita guianensis</i>	75
Cromatograma 6 – Cromatograma do óleo essencial do verticilo reprodutor de <i>Couroupita guianensis</i>	78

ÍNDICE DE ESPECTROS

Espectro 1- Espectro de RMN de ^1H (300 MHz) de FDE em CDCl_3	35
Espectro 2- Expansão da região de δ (ppm) 4,10 – 4,45 do espectro de RMN ^1H (300 MHz) de FDE em CDCl_3	35
Espectro 3- Expansão da região de δ (ppm) 4,00 – 6,00 do espectro de RMN ^1H (300 MHz) de FDE em CDCl_3	36
Espectro 4- Expansão da região de δ (ppm) 1,20 – 2,60 do espectro de RMN ^1H (300 MHz) de FDE em CDCl_3	36
Espectro 5- Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz) de FDE em CDCl_3 , com atenuação suficiente para verificar sinais.....	37
Espectro 6– Espectro de massas da amostra FDE de folhas de <i>Couroupita guianensis</i>	38
Espectro 7- Espectro 2D de HMQC, de FAFGC em CDCl_3	43
Espectro 8- Ampliação do espectro 2D de HMQC, de FAFGC em CDCl_3	43
Espectro 9 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz) de FAFGC em CDCl_3 .e expansão da região de δ (ppm) 7,4 - 8,7.....	45

Espectro 10- Expansão da região de δ (ppm) 115,0 – 140,0 do espectro de RMN ^{13}C (75 MHz) de FAFGC em CDCl_3	46
Espectro 11- Expansão da região de δ (ppm) 140,0 – 200,0 do espectro de RMN ^{13}C (75 MHz) de FAFGC em CDCl_3	46
Espectro 12- Espectro 2D de HMBC, de FAFGC em CDCl_3	47
Espectro 13- Ampliação do espectro 2D de HMBC, de FAFGC em CDCl_3	47
Espectro 14- Espectro 2D de COSY, de FAFGC em CDCl_3	49
Espectro 15- Ampliação do espectro 2D de COSY, de FAFGC em CDCl_3	49
Espectro 16- Espectro 2D de NOESY, de FAFGC em CDCl_3	51
Espectro 17- Ampliação do espectro 2D de NOESY, de FAFGC em CDCl_3	51
Espectro 18- Espectro de DEPT de FAFGC em CDCl_3 , com atenuação suficiente para verificar sinais.....	53
Espectro 19- Espectro de massas da amostra FAGC de folhas de <i>Couroupita guianensis</i>	54
Espectro 20 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz) de FLHCA em CDCl_3	58

Espectro 21- Expansão da região de δ (ppm) 3,3 – 4,0 do espectro de RMN ^1H (300 MHz) de FLHCA em CDCl_3	58
Espectro 22- Expansão da região de δ (ppm) 5,0 – 5,6 do espectro de RMN ^1H (300 MHz) de FLHCA em CDCl_3	59
Espectro 23- Expansão da região de δ (ppm) 5,85 - 6,05 do espectro de RMN ^1H (300 MHz) de FLHCA em CDCl_3	59
Espectro 24- Expansão da região de δ (ppm) 6,6 – 6,9 do espectro de RMN ^1H (300 MHz) de FLHCA em CDCl_3	60
Espectro 25- Expansão da região de δ (ppm) 40 – 150 do espectro de RMN ^{13}C (300 MHz) de FLHCA em CDCl_3	61
Espectro 26– Espectro de massas da amostra FLHC de flores de <i>Couropita guianensis</i>	62
Espectro 27 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz) de FLHE em CDCl_3	67
Espectro 28- Expansão da região de δ (ppm) 4,90 – 5,50 do espectro de RMN ^1H (300 MHz) de FLHE em CDCl_3	67
Espectro 29- Expansão da região de δ (ppm) 0,50 – 1,50 do espectro de RMN ^1H (300 MHz) de FLHE em CDCl_3	68

Espectro 30 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz) de FLHE em CDCl_3	69
Espectro 31- Expansão da região de δ (ppm) 9,0 – 16,0 do espectro de RMN ^{13}C (75 MHz) de FLHE em CDCl_3	69
Espectro 32- Expansão da região de δ (ppm) 19,0 – 26,0 do espectro de RMN ^{13}C (75 MHz) de FLHE em CDCl_3	70
Espectro 33- Expansão da região de δ (ppm) 28,0 – 35,0 do espectro de RMN ^{13}C (75 MHz) de FLHE em CDCl_3	70
Espectro 34- Expansão da região de δ (ppm) 37,0 – 44,0 do espectro de RMN ^{13}C (75 MHz) de FLHE em CDCl_3	71
Espectro 35- Expansão da região de δ (ppm) 48,0 – 53,0 do espectro de RMN ^{13}C (75 MHz) de FLHE em CDCl_3	71
Espectro 36– Espectro de massas da amostra FLHE de flores de <i>Couroupita guianensis</i>	72

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

[M]⁺ - Íon Molecular.

AA% - Porcentagem de Atividade Antioxidante.

Abs – Absorbância.

AcOEt – Acetato de Etila.

CE₅₀ – Concentração Efetiva para 50% da Atividade.

CG/EM – Cromatografo com Fase Gasosa Acoplado a Espectrômetro de Massas.

COX₂ – Cicloxigenase 2

d – dubleto

dd – duplo dubleto

ddd – duplo duplo dubleto

ddt – duplo duplo tripleto

DMSO – Dimetilsulfóxido

DNA – Ácido desoxirribonucléico.

DPPH – 2,2-difenil-1-picrilidrazila.

dt – duplo tripleto

EM/EI – Espectro de Massas/Impacto de Elétrons.

EROs – Espécie Reativas de Oxigênio.

Hz – Hertz.

IRK – Índice de Retenção de Kovats.

J – Constante de Acoplamento.

m – multipletto

m/z – Relação massa/carga.

PBS – Phosphate Buffer Saline (tampão fosfato)

ppm – parte por milhão

RMN ^{13}C – Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13.

RMN ^1H – Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio.

s – singleto

S.C. – Sub Cutânea.

t – tripleto

TR – Tempo de Retenção.

UV – Ultra Violeta

δ – Deslocamento Químico.

RESUMO

Estudo Químico e Farmacológico de Folhas e Flores de *Couroupita guianensis* Aubl.

Sidnei Bessa de Oliveira Fernandes

Orientadores: Prof. Dr. Fábio de Sousa Menezes

Prof. Dr. Ricardo Machado Kuster

Resumo da Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-graduação em Química de Produtos Naturais, Núcleo de Pesquisa de Produtos Naturais, da Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Ciências.

A espécie *Couroupita guianensis* (Lecythidaceae), popularmente utilizada para dor de dente, foi investigada neste trabalho de mestrado objetivando contribuir para um melhor conhecimento de suas propriedades químicas e atividade farmacológica.

Extratos em etanol foram preparados com as folhas e flores dessa espécie, além de quatro partições de cada parte, com diferentes polaridades (hexano, diclorometano, acetato de etila e *n*-butanol).

A partição em diclorometano das folhas, após fracionamento cromatográfico, forneceu a substância Loliolida; a partição em acetato de etila das folhas, após fracionamento cromatográfico, forneceu a substância Triptantrina; e a partição em hexano das flores forneceu, após fracionamento cromatográfico, as substâncias Eugenol e um 24-etil-5 α -colesta-7,22-dieno.

O óleo essencial das pétalas e da região reprodutora das flores mostrou diferenças quanto à composição química.

A partição em acetato de etila das folhas e flores dessa espécie mostrou uma alta atividade antioxidante, superior a do extrato de *Ginkgo biloba* 761®, usado como controle, pelo método do DPPH.

O extrato etanólico e as partições das folhas da espécie estudada foram ensaiadas em: modelo de contorção abdominal induzida por ácido acético para verificar a antinocicepção periférica, o modelo de retirada da cauda para verificar a antinocicepção espinhal e o modelo de analgesia supra-espinhal. Essa espécie mostrou grande potencial antinociceptivo em níveis periféricos para os extratos em diclorometano e *n*-butanol. Os extratos em hexano e acetato de etila, mostraram efeito em nível central para os extratos *n*-butanol e acetato de etila e em nível central-espinhal para os extratos em acetato de etila e *n*-butanol, respectivamente nas concentrações de 100 mg/kg e 10 mg/kg.

Palavras-chave: 1. Lecythydaceae; 2. *Couropita guianensis*; 3. Fitoquímica; 4. Farmacologia

Rio de Janeiro

Abril de 2006

ABSTRACT

Chemical and Pharmacological Studies from Leaves and Flowers of *Couroupita guianensis* Aubl.

Sidnei Bessa de Oliveira Fernandes

Orientadores: Prof. Dr. Fábio de Sousa Menezes
Prof. Dr. Ricardo Machado Kuster

Abstract da Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-graduação em Química de Produtos Naturais, Núcleo de Pesquisa de Produtos Naturais, da Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Ciências.

Couroupita guianensis (Lecythidaceae), a plant popularly used to treat toothache, was investigated in this work aiming at a better knowledge about its chemical properties and pharmacological profile.

Ethanol extracts from the leaves and flowers were prepared and from them four fractions were obtained by liquid/liquid partition with solvents in different polarities (hexane, dichlorometane, ethyl acetate and *n*-butanol).

From the dichlorometane fraction obtained using leaves, after chromatographic procedures, was possible to identify the compound Loliolide. Using the same methodology, Tryptanthrin was isolated and identified from ethyl acetate fraction and Eugenol and 24-ethyl-5 α -cholesta-7,22-diene from the hexane. The essential oil obtained from flowers showed

differences in composition regarding the parts used for the analysis, being those the petals and the reproductive area.

The ethyl acetate partition of the leaves and flowers has shown an excellent antioxidant activity, with a EC_{50} value lower than that for the Ginkgo biloba standard extract (EGb 761[®]) used as positive control, when tested in the DPPH assay.

The ethanol extract and partitions of the leaves were assayed in mice using the models of abdominal contortions induced by acetic acid to test peripheric antinociception, tail flick to test spinal antinociception and hot plate to test supraspinal analgesia. The results have shown a significant reduction in the number of contortions when the fractions hexane, dichlorometane, ethyl acetate and *n*-butanol were tested. In tail flick model, the ethanol extract and the hexane, ethyl acetate and *n*-butanol partitions have increased latency time. In hot plate model, the ethyl acetate and *n*-butanol partitions have increased latency time.

Kew-words: 1. Lecythidaceae; 2. *Couropita guianensis*; 3. Phytochemistry; 4. Pharmacology

Rio de Janeiro

Abril de 2006

1. INTRODUÇÃO:

Os vegetais fazem parte da vida do homem desde seus primórdios como fontes de alimentos, de materiais para vestuário, habitação, como utensílios para manifestações artísticas, culturais e religiosas e como meio de restauração da saúde (SCHENKEL *et al.*, 2004). O processo de evolução da “arte da cura” se deu de forma empírica, em processos de descobertas por tentativas, em erros e acertos (GOTTLIEB & KAPLAN, 1993).

Neste processo os povos primitivos propiciaram a identificação de espécies e de gêneros vegetais, bem como as partes dos vegetais que se adequam ao uso medicinal, do reconhecimento do *habitat* e da época da colheita (SCHENKEL *et al.*, 2004).

As plantas continuam sendo uma fonte excepcional de produtos naturais biologicamente ativos, os quais podem servir como entidades de interesse comercial ou podem fornecer informações para o desenvolvimento de derivados que possuam uma atividade farmacológica seletiva e reduzida toxidez (CORDELL *et al.*, 1991).

Segundo a Organização Mundial de Saúde, cerca de 80% da população mundial utiliza a medicina tradicional para o tratamento de suas necessidades primárias de saúde (BOMBARDELLI, 1996) e a maior parte dessa terapia envolve o uso de extratos de plantas ou de seus princípios ativos. O Brasil certamente se insere nesse quadro, sendo um dos mais ricos dentre os países em diversidade biológica, concentrando cerca de 10 a 20% do número de espécies de plantas do planeta. Além disso, apresenta a flora mais diversificada com cerca de 56.000 espécies de Fanerógamas descritas, aproximadamente 22% do total estimado no mundo (MITTERMEIER *et al.*, 1997). Considerando que a maioria das espécies vegetais brasileiras não tem qualquer estudo químico e/ou farmacológico, fica claro que esse universo representa um potencial econômico a ser explorado na busca de princípios biologicamente ativos (CORDELL, 1995).

1.1. Família Lecythidaceae

A família Lecythidaceae pertence à ordem Ericales e é constituída de 25 gêneros e 400 espécies apresentando distribuição pantropical com grande concentração na região tropical da América do Sul (BRITO, 1996). Algumas indicações etnofarmacológicas para essa família vêm sendo descritas na literatura como: atividade anti-hipertensiva, anti-tumoral, analgésica, antiinflamatória, dentre outras, sendo usadas cascas e folhas (REVILLA, 2002). Estudos químicos relacionados a essa família relatam a presença de triterpenos glicosilados (PAL *et al.*, 1991), saponinas (MASSIOT *et al.*, 1992), sapogeninas triterpênicas (DAS, 1982), flavonol glicosilado acetilado (CRUBLET *et al.*, 2003) e constituintes indólicos. O estudo farmacológico identificou atividade antinociceptiva (DERANIYAGALA *et al.*, 2003).



Figura 1: Representação gráfica das flores de *Couroupita guianensis*

1.2. *Couroupita guianensis* Aubl.:

A árvore possui dimensões de até 20 metros de altura e 65 centímetros de diâmetro, folhas alternas, pecioladas, oblongas, agudo-acuminadas, obliquas na base, inteiras ou crenado-serradas, reticuladas, glabras, pálidas na página inferior, estipulas pequenas, caducas, flores brancacentas ou róseas, dispostas em racimos simples, sobre o tronco e os ramos, fruto globoso, coriáceo-lenhoso, indeiscente, com a cinta calicina fortemente acentuada, sementes oblongas, aladas, coriáceas e vilosas, envoltas em polpa azul ou azulada, abundante e comestível (CORRÊA, 1931).

Planta decídua, heliófita, higrófito, característica de terrenos inundáveis de beira de igapós e margens de rios de toda a região amazônica. Apresenta dispersão ampla, porém em baixa densidade populacional. Produz anualmente grande quantidade de sementes viáveis (LORENZI, 1992).



Figura 2: Árvore de *Couroupita guianensis* (Plantarum)

Floresce durante um longo período do ano (meses de setembro a março).

Os frutos amadurecem em dezembro-março. Apresenta madeira mole e sem resistência. Os frutos vazios servem para uso doméstico; as sementes são comestíveis e o líber das fibras utilizadas como cordoalhas rústicas (CORRÊA, 1931).



Figura 3: Folhas e flores de *Couroupita guianensis* (Plantarum)

A palavra Couroupita que designa o gênero é derivado de seu nome popular "kouroupitoumou" na Guiana Francesa onde a planta foi pela primeira vez estudada, assim como o epíteto específico guianensis que é relativo a esse país (LORENZI, 1992). Apresenta como sinonímia botânica: *Lecythis bracteata* Willd. e *Pekea couroupita* Juss. (CORRÊA, 1931) e como nomes populares: macacarecuia, abricó-de-macaco, castanha-de-macaco, cuia-de-macaco, amêndoa-dos-andes (LORENZI, 1992) e *cannon-ball tree* (CORRÊA, 1931).

Possui indicação etnofarmacológica de suas folhas para “dor de dente” (REVILLA, 2002). Alguns trabalhos sobre estudos químicos foram dedicados a essa espécie, sendo dois

sobre a casca, tendo sido isolados α -amirina, β -amirina, β -sitosterol, taninos (ROW *et al.*, 1966) e cetoesteróide (ANJANEYULU & RAO, 1998), dois sobre óleos voláteis, oriundos das flores, que determinaram as presenças majoritárias de eugenol, linalool e (*E,E*)-farnesol (WONG & TIE, 1995; ANDRADE *et al.*, 2000) um sobre folhas que caracterizou ésteres triterpenoídicos de ácidos graxos como o palmitato de β -amirina (EKNAT & SHIVCHANDRAJI, 2002), dois sobre os frutos que caracterizaram constituintes indólicos (SEN *et al.*, 1974; BERGMAN *et al.*, 1995) , um sobre sementes que demonstrou a presença de ácidos graxos, tocoferóis, esteróides, açúcares e ácidos aminados (ANDRADE *et al.*, 1999).

1.3. Estresse Oxidativo

Espécies reativas de oxigênio (EROs), na forma de ânion superóxido (O_2^-), radical hidroxila ($\cdot OH$) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2), são gerados em organismos vivos por várias vias. O acúmulo de EROs em organismos aeróbios é causa de danos oxidativos em células, que estão associados a várias doenças, câncer, esclerose múltipla, aterosclerose e o processo de envelhecimento (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 1999).

A grande produção de EROs é neutralizada, em grande parte, por um sistema antioxidante de defesa, que inclui os sistemas enzimáticos superóxido desmutase, catalase e glutathione peroxidase. A enzima superóxido desmutase catalisa a conversão do superóxido a peróxido de hidrogênio, este por sua vez é convertido à água pela ação da catalase ou da glutathione peroxidase (FINKEL & HOLBROOK, 2000).

O balanço entre a produção de EROs e as defesas antioxidantes determina o nível de estresse oxidativo. Como consequência do estresse oxidativo podem ocorrer modificações das proteínas celulares, lipídios e do DNA (FINKEL & HOLBROOK, 2000).

Antioxidantes podem neutralizar radicais livres e assim podem ser usados para a proteção da saúde humana e retardar a rancificação lipídica de alimentos (KINSELLA *et al.*, 1993).

As plantas produzem substâncias antioxidantes para controlar o estresse oxidativo causado pela luz solar e pelo oxigênio. Substâncias de origem natural tais como as antraquinonas, os flavonóides, os ácidos aromáticos e taninos, têm comprovada atividade antioxidante, seqüestrando EROs e prevenindo a peroxidação lipídica (CHEN *et al.*, 2004).

1.4. Antinocicepção

A sensação de dor é uma das funções vitais do sistema nervoso e por sua natureza aversiva, promove a informação de advertência sobre a ocorrência ou a ameaça de dano (DRUMOND, 2000).

A dor pode ser provocada por alterações na nocicepção, que são devidas a dois mecanismos: modificações na transdução e nas regiões adjacentes á lesão (sensibilização periférica) ou transformações na transmissão, ao nível do corno dorsal da medula, ou na função sináptica (sensibilização central) (DRUMOND, 2000).

Na dor periférica ocorre a modificação na sensibilização da transdução, onde nociceptores de elevado limiar se transformam em nociceptores de baixo limiar, mediante a ação conjunta de várias substâncias algogênicas (DRUMOND, 2000).

Na dor central ocorre a facilitação da transmissão celular, como consequência direta de estimulação nóxica repetitiva das fibras C, provocando despolarização parcial, progressiva e sustentada, dos neurônios do corno posterior, cuja membrana se torna cada vez mais susceptível a estímulos aferentes (DRUMOND, 2000).

2. JUSTIFICATIVA:

A espécie *Couropita guianensis* pertence à família Lecythidaceae e é característica de terrenos inundáveis de beira de igapós e margens de rios de toda a região amazônica. O levantamento bibliográfico realizado para esta espécie evidenciou a existência de indicação etnofarmacológica associada a dor além de pouco estudo químico e farmacológico, portanto justificam a escolha dessa espécie para a realização desse trabalho.

3. OBJETIVOS:

3. 1. Objetivo Geral:

O objetivo geral é contribuir para o estudo químico e farmacológico de *Couroupita guianensis*, tendo como interesse suas folhas e flores.

3. 2. Objetivos Específicos:

1. Estudar, do ponto de vista químico, procedendo com a separação, isolamento e elucidação estrutural do maior número possível de substâncias do metabolismo especial das folhas e flores dessa espécie, incluindo a análise do óleo essencial das flores;

2. Realizar estudos farmacológicos relacionados às atividades antioxidante das folhas e flores e antinociceptiva das folhas dessa espécie.

4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1. Ensaio Químico:

4.1.1. Material Químico e Aparelhagem:

Os solventes utilizados para as extrações, cromatografias e reações foram de grau P.A., com exceção do etanol comercial que foi de grau 96° GL.

As análises cromatográficas em camada fina foram realizadas em cromatoplasmas de gel de sílica 60 F₂₅₄ sobre placa de alumínio, com 0,2 mm de espessura, fabricada pela Merck S/A Indústrias Químicas, Brasil. Os eluentes foram preparados em concentração v/v e a visualização das substâncias foi efetuada por irradiação com lâmpada ultravioleta com λ de 254 e 365 nm e/ou por revelação com solução de ácido sulfúrico a 10% em etanol, seguido de aquecimento a 50°C em placa aquecedora.

Para a purificação das substâncias por cromatografia em coluna foi utilizado gel de sílica 60 (70-230 mesh; Merck S/A). Também foi utilizado carvão vegetal ativo P.A. da marca Synth, para a remoção de clorofila.

A eliminação dos solventes das partições e das frações das colunas cromatográficas foi feita sob pressão reduzida em evaporador rotatório com banho aquecedor (Tecnol Brasil).

A determinação estrutural das substâncias isoladas foi realizada através dos métodos instrumentais de espectrometria de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ¹H) e carbono (RMN ¹³C), espectrometria de massas (EM) e espectrometria na região do ultravioleta (UV).

Os espectros de RMN ¹H (200 MHz) e RMN ¹³C (50 MHz) foram registrados em espectrômetro GEMINI-200 do Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais (NPPN) da UFRJ,

e os espectros de RMN ^1H (300 MHz) e RMN ^{13}C (75 MHz) foram registrados em espectrômetro Bruker DPX-200 do Instituto de Química (IQ) da UFRJ. Os espectros foram feitos utilizando solventes deuterados e o TMS foi utilizado como padrão interno.

A cromatografia com fase gasosa acoplada a espectrômetro de massas foi realizada no Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais (NPPN) da UFRJ, para a análise dos óleos essenciais das flores, em aparelho SHIMADZU CG-MS QP 5000, coluna capilar HP5 (30m x 0,25 mm), usando hélio como gás de arraste (fluxo constante de 1mL/min.) e programação de temperatura de 60°C a 240°C (3°C/min.), permanecendo por mais 20 min. em 240°C, os espectros de massas foram obtidos a 70 eV e os fragmentos foram descritos com relação entre as unidades de massa atômica e carga (m/z) com a abundância relativa expressa em valores percentuais.

No Instituto de Química (IQ) da UFRJ o aparelho utilizado para as demais análises utilizando espectrômetro de massas foi CG Agilent modelo 6890N, acoplado a um espectrometro de massas quadrupolo Agilent, modelo 7953N a coluna foi uma DB-5 de 30 metros, 0,30 id x 0,25 μm usando hélio como gás de arraste (fluxo constante de 1mL/min.) e programação de temperatura de 60°C a 240°C (3°C/min.) permanecendo por mais 5 minutos em 240°C. Os fragmentos foram descritos com relação entre as unidades de massa atômica e carga (m/z) com a abundância relativa expressa em valores percentuais. Os resultados obtidos foram todos comparados com o catálogo de espectros de massas de McLafferty (McLafferty & Stauffer, 1989) e automaticamente com biblioteca de espectros de massas Wiley 275.

Os índices de retenção de Kovats (IRK) foram obtidos a partir do tempo de retenção de uma série homóloga de hidrocarbonetos de 8 a 26 átomos de carbono. Os resultados obtidos foram comparados com os índices de retenção de Kovats do catálogo de identificação de óleos essenciais de Adams (Adams, 1995).

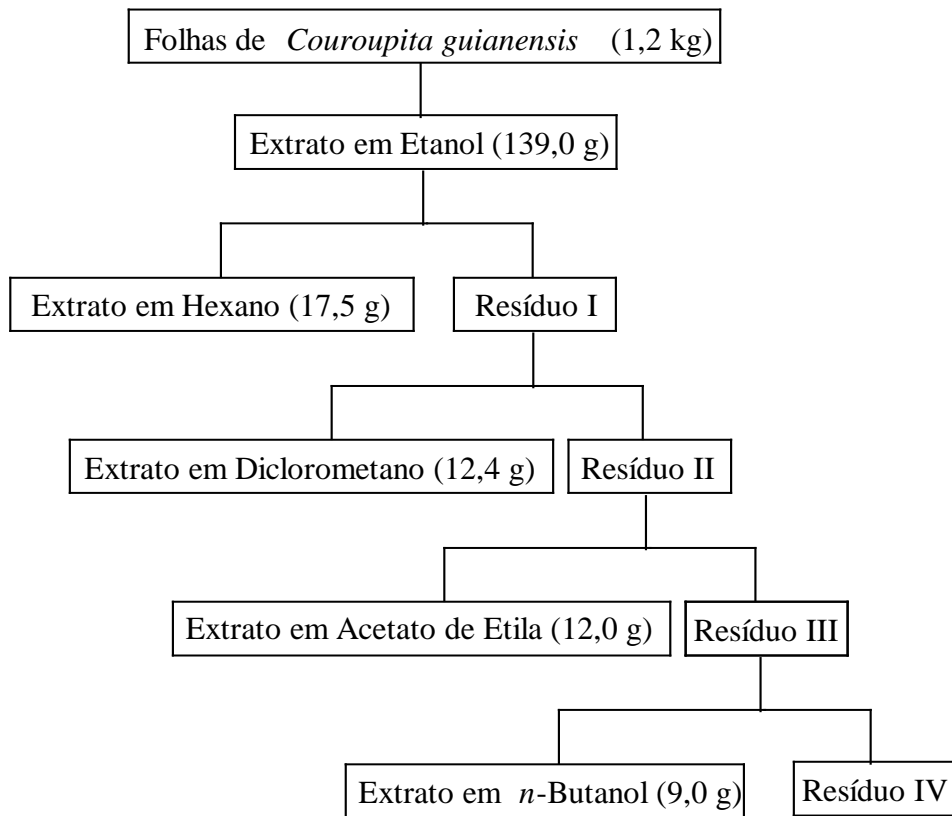
As leituras em comprimento de onda de 518 nm, para a determinação das atividades antioxidantes, foram obtidas em aparelho UV-Vis Shimadzu UV 1601, utilizando etanol como solvente.

4.1.2. Material Vegetal:

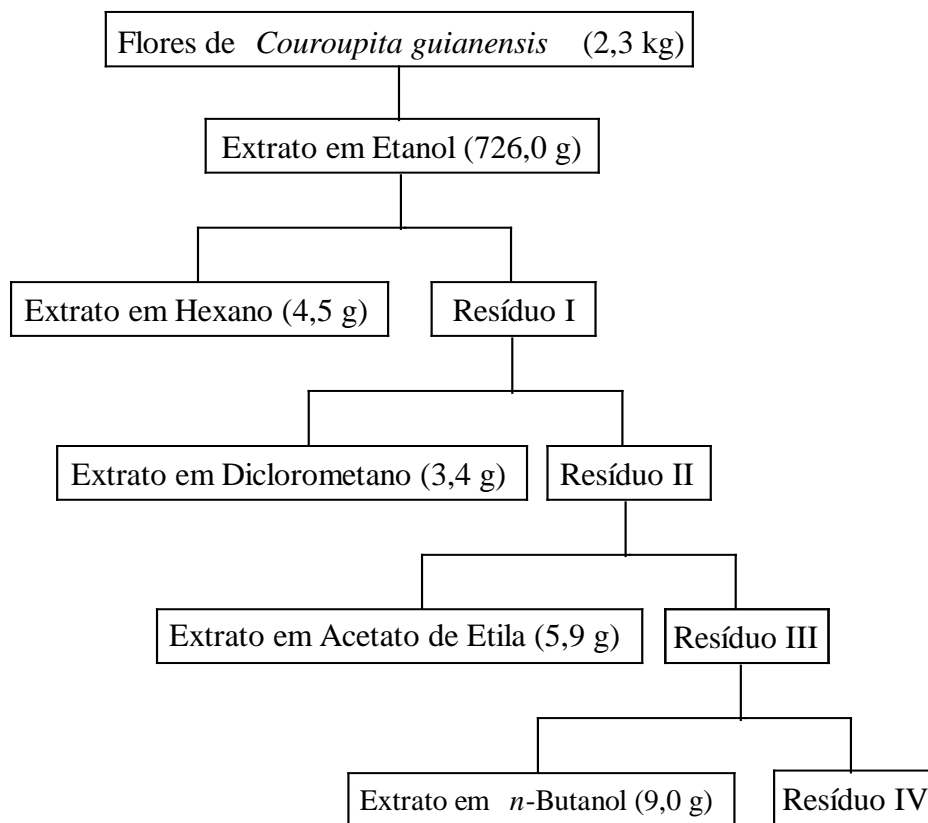
As folhas de *Couropita guianensis* foram coletadas no Campus da Universidade Federal do Rio de Janeiro em outubro de 2003 e as flores desta mesma espécie foram coletadas em outubro de 2004 também no Campus da Universidade Federal do Rio de Janeiro. A planta foi identificada pela professora Rosana Conrado Lopes e depositada com o número 13150 no herbário RFA do Instituto de Biologia Departamento de Botânica da UFRJ.

4.1.3. Métodos de Extração do Material Vegetal:

Folhas de *Couropita guianensis* (1,2 kg) foram coletadas e secas em estufa a 37°C e moídas em moinho de facas. A extração foi feita por maceração estática com etanol. O extrato obtido foi seco sob pressão reduzida em evaporador rotatório e quantificado após remoção total do solvente. O extrato obtido foi ressuscitado em solução etanol/água (2:8). O material assim obtido foi particionado sucessivamente em hexano, diclorometano, acetato de etila e *n*-butanol (Esquema 1, página, 13). O resíduo final foi acondicionado em geladeira. As flores desta mesma espécie sofreram extração *in natura* por maceração estática com etanol e procedimento subsequente igual ao das folhas (Esquema 2, página, 14).



Esquema 1: Preparo do Extrato Etanólico Total e das Partições em Hexano, Diclorometano, Acetato de Etila e *n*-Butanol a partir das Folhas de *Couroupita guianensis*.



Esquema 2: Preparo do Extrato Etanólico Total e das Partições em Hexano, Diclorometano, Acetato de Etila e *n*-Butanol a partir das Flores de *Couroupita guianensis*.

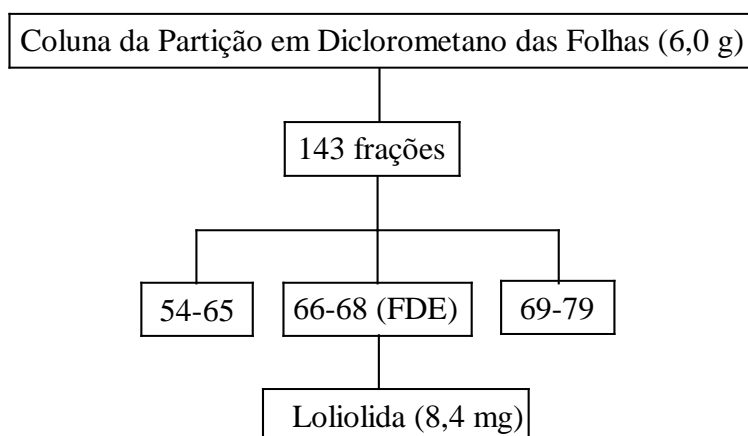
4.1.4. Estudo Fitoquímico das Folhas:

Partição em Diclorometano:

A partição em diclorometano das folhas de *C. guianensis* (6,0 g) foi solubilizado em diclorometano e transferido para erlenmeyer junto com carvão ativo, que permaneceu em banho-maria a 50°C por 20 minutos, sendo filtrado posteriormente. A partição semi-purificado resultante (150 mg), após secagem sob pressão reduzida em evaporador rotatório, foi cromatografado em coluna de gel de sílica (50 g), utilizando-se como eluente misturas de hexano, acetato de etila e metanol em gradiente de polaridade crescente. Essa cromatografia resultou na coleta de 143 frações, que foram reunidas segundo perfil cromatográfico em camada fina.

Purificação da Fração FDE:

As frações 66-68 foram reunidas segundo o perfil cromatográfico em camada fina, sendo codificada como FDE (8,4 mg) (Esquema 3, página, 15). Análise espectrométrica de FDE permitiu identificá-la como sendo a lactona do ácido 3,5-diidroxil-1,1,5-trimetilcicloexilideno-6-acético (Loliolida).



Esquema 3: Fluxograma da Purificação da Loliolida, a partir da Partição em Diclorometano das Folhas.

CG/EM (Loliolida): TR/min: 22,472

EM-EI m/z (%): 196 [M]⁺ (4,4); 178 (3,8); 163 (12,4); 153 (7,4); 140 (21,2); 135 (16,8); 125 (5,0); 111 (55,0); 95 (16,1); 85 (14,8) 79 (10,4); 67 (19,5); 57 (25,2); 43 (100,0).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, TMS): δ (ppm) 4,33 (1H, *quint.*, J 3,8 Hz, H₃), 1,28 (3H, *s*, H₉), 1,47 (3H, *s*, H₁₀), 1,53 (1H, *dd*, J 3,8 e 14,6 Hz, H_{2β}), 1,78 (3H, *s*, H₁₁), 1,79 (1H, *dd*, J 3,8 e 14,0 Hz, H_{4β}), 1,98 (1H, *dt*, J 2,6 e 14,6 Hz, H_{2α}), 2,47 (1H, *dt*, J 2,6 e 14,0 Hz, H_{4α}) e 5,70 (1H, *s*, H₇).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3 , TMS): δ (ppm) 26,8 (C_{10}), 27,4 (C_{11}), 30,9 (C_9), 36,2 (C_1), 45,6 (C_4), 47,4 (C_2), 66,7 (C_3), 86,8 (C_5), 113,3 (C_7), 176,7 (C_8) e 182,1 (C_6).

Partição em Acetato de Etila:

A partição em acetato de etila das folhas de *C. guianensis* (12,0g) foi cromatografado em coluna de gel de sílica (160g), utilizando-se como eluente misturas de hexano, acetato de etila e metanol em gradiente de polaridade crescente. Essa cromatografia resultou na coleta de 156 frações, que foram reunidas segundo perfil cromatográfico em camada fina.

Purificação da Fração FAG:

As frações 94-139 foram reunidas segundo o perfil cromatográfico em camada fina, sendo codificada como FAG. Essa fração foi re-cromatografada, obtendo-se 286 frações. As frações 25-40 dessa nova coluna foram reunidas segundo o perfil cromatográfico e a presença de cristais em forma de agulhas. Os cristais em forma de agulhas foram purificados, adicionando-se hexano à fração, onde os cristais não se mostraram solúveis, sendo esses retidos ao filtrar em papel de filtro. Esta amostra foi codificada como FAGC (6,9 mg) (Esquema 4, página, 17). Análise espectrométrica de FAGC permitiu identificá-la como sendo 6,12-diidro-6,12-dioxindol[2,1-b]quinazolina (Triptantrina).

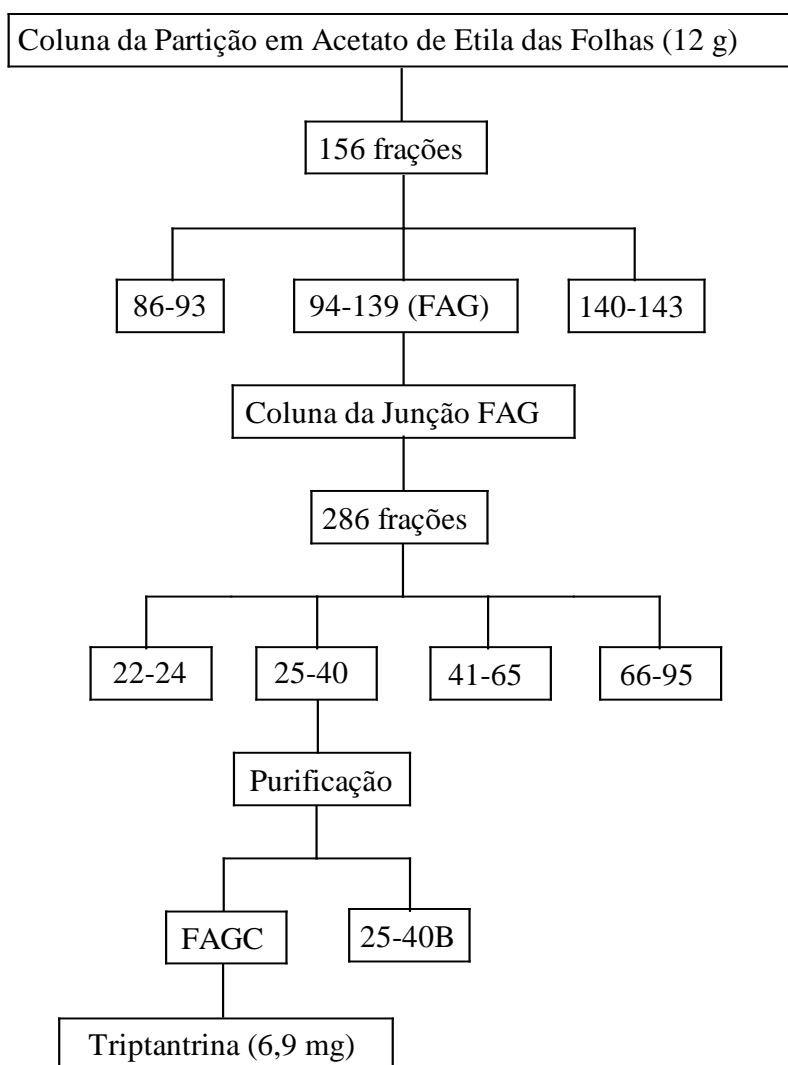
CG/EM (Triptantrina): TR/min: 36,899

EM-EI m/z (%): 248 $[\text{M}]^{+\bullet}$ (100,0); 220 (30,4); 192 (22,3); 178 (3,6); 164 (6,2); 144 (5,4); 124 (6,2); 102 (13,8); 90 (12,9); 76 (23,2); 63 (12,5); 50 (17,4); 44 (4,5).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3 , TMS): δ (ppm) 7,43 (1H, *ddd*, *J* 7,68, 7,68 e 0,74 Hz, H_5), 7,68 (1H, *ddd*, *J* 7,17, 7,50 e 1,10 Hz, H_5'), 7,77 (1H, *ddd*, *J* 8,19, 7,68 e 1,19 Hz, H_6),

7,84 (1H, *ddd*, *J* 8,19, 8,02 e 1,19 Hz, H_{6'}), 7,92 (1H, *ddd*, *J* 7,58; 0,85 e 0,50 Hz, H₄), 8,04 (1H, *ddd*, *J* 8,19, 0,85 e 0,50 Hz, H_{7'}), 8,45 (1H, *ddd*, *J* 7,68, 1,19 e 0,34 Hz, H_{4'}), 8,63 (1H, *d*, *J* 8,19 Hz, H₇).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃, TMS): δ (ppm) 118,2 (C₇), 122,1 (C_{3a}), 123,9 (C_{3'}), 125,6 (C₄), 127,4 (C₅), 127,8 (C_{4'}), 130,4 (C_{5'}), 130,9 (C_{7'}), 135,3 (C_{6'}), 138,5 (C₆), 144,5 (C_{7a}), 146,5 (C_{7'a}), 146,8 (C₂), 158,3 (C_{2'}) e 182,8 (C₃).



Esquema 4: Fluxograma da Purificação da Triptantrina, a partir da Partição em Acetato de Etila das Folhas.

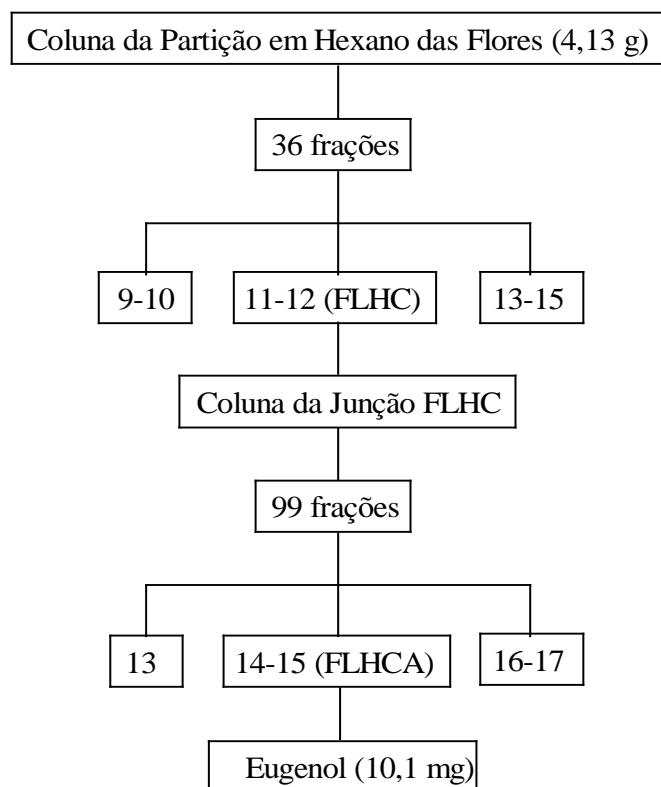
4.1.5. Estudo Fitoquímico das Flores:

Partição Hexânico:

Parte da partição em hexano das flores de *C. guianensis* (4,13g) foi cromatografado em coluna de gel de sílica (170g), utilizando-se como eluente misturas de hexano, acetato de etila e metanol em gradiente de polaridade crescente. Essa cromatografia resultou na coleta de 36 frações, que foram reunidas segundo perfil cromatográfico em camada fina.

Purificação da Fração FLHC:

As frações 11-12 foram reunidas segundo o perfil cromatográfico em camada fina, sendo codificada como FLHC (72 mg). Esta junção das frações foi re-cromatografada em coluna de gel de sílica (17,98g), utilizando-se como eluente misturas de hexano, acetato de etila e metanol em gradiente de polaridade crescente. Essa cromatografia resultou na coleta de 99 frações, que foram reunidas segundo perfil cromatográfico em camada fina. As frações 14-15 (10,1mg) foram reunidas segundo o perfil cromatográfico em camada fina, sendo codificada como FLHCA (Esquema 5, página, 19). Análise espectrométrica de FLHCA permitiu identificá-la como sendo o eugenol.



Esquema 5: Fluxograma da Purificação do Eugenol, a partir da Partição em Hexano das Flores.

CG/EM (Eugenol): TR/min: 29,526

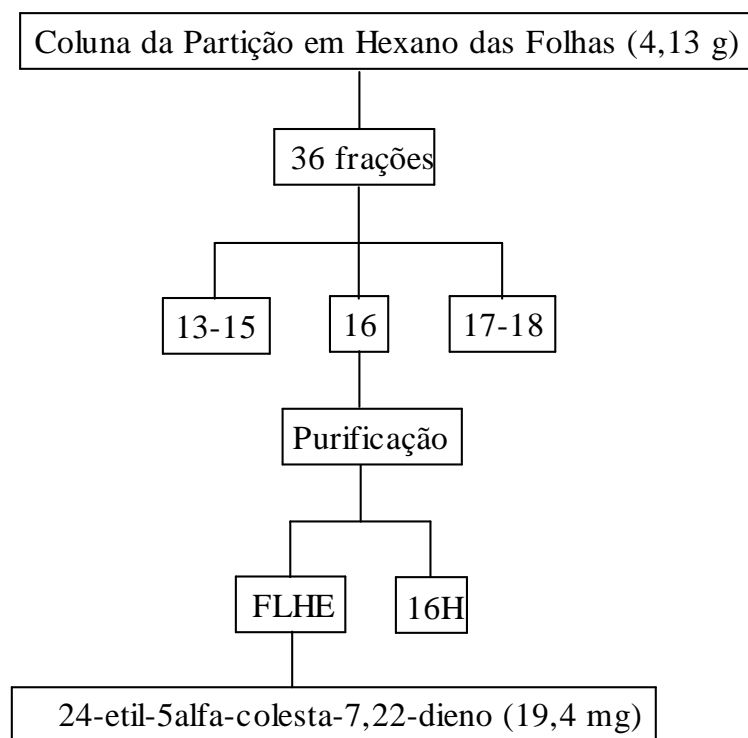
EM-EI m/z (%): 164 [M]⁺• (2,7); 150 (4,5); 135 (5,8); 123 (6,7); 109 (18,3); 95 (41,5); 81 (71,4); 67 (99,1); 55 (72,3); 41 (100,0).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, TMS): δ 3,32 (2H, *d*, *J* 6,66 Hz, H₇), 3,87 (3H, *s* H₁₀), 5,02 (1H, *t*, *J* 1,19 Hz, H_{9a}), 5,09 (1H, *ddd*, *J* 3,41, 3,24; 1,71, 1,19 Hz, H_{9b}), 5,49 (1H, *s*, H₁), 5,95 (1H, *ddt*, *J* 6,66, 3,58, 3,41, 3,24 Hz, H₈), 6,67 (1H, *quint.*, *J* 3,58, 3,41, 1,71 Hz, H₃), 6,82 (1H, H₅), 6,86 (1H, H₆).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3 , TMS): δ 40,11 (C_7), 56,13 (C_{10}), 111,19 (C_9), 114,33 (C_3), 115,69 (C_6), 121,14 (C_5), 132,00 (C_4), 137,97 (C_8), 143,98 (C_1) e 146,39 (C_2).

Purificação da Fração FLHE:

A fração 16 da coluna inicial da partição hexânico de flores segundo seu perfil cromatográfico e a presença de cristais aciculares ligeiramente acinzentados foi purificada, adicionando-se hexano a fração, onde os cristais não se mostraram solúveis, e retirando-se a parte solúvel com auxílio de uma pipeta Pasteur. A amostra com os cristais purificados foi codificada como FLHE (19,4mg) (Esquema 6, página, 20). FLHE é solúvel em clorofórmio e acetato de etila formando uma solução violeta intensa. A análise espectrométrica de FLHE permitiu identificar o esqueleto como sendo o 24-etil-5 α -colesta-7,22-dieno e podendo ser um dos epímeros: Chondrillasterol ou Espinasterol.



Esquema 6: Fluxograma da Purificação do 24-etil-5 α -colesta-7,22-dieno, a partir da Partição Hexânica das Flores.

CG/EM (24-etil-5 α -colesta-7,22-dieno):

TR/min: 47,074

EM-EI m/z (%): 412 [M]⁺ (16,2); 397 (5,2); 369 (5,2); 351 (2,9); 327 (1,4); 300 (9,0); 271 (6,9); 246 (10,5); 213 (9,5); 187 (4,8); 173 (9,5); 147 (17,6); 119 (17,6); 107 (37,1); 81 (64,8); 55 (100); 43 (96,2).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, TMS): δ 0,56 (3H, *s*, H₁₈), 0,80 (*d*; *J* 6,4Hz, H₂₆), 0,81 (3H, *s*, H₁₉), 0,81 (*t*; *J* 6,5 Hz, H₂₉), 0,85 (*d*; *J* 6,5 Hz, H₂₇), 1,03 (*d*; *J* 6,7 Hz, H₂₁), 5,02 (*dd*; *J* 7,9 e 15,3 Hz, H₂₂), 5,17 (*dd*; *J* 8,2 e 14,2 Hz, H₂₃), 5,11 (*m*, H₇) e δ 3,60 (*m*, H₃).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃, TMS): δ 12,1 (C₁₈), 12,3 (C₂₉), 13,1 (C₁₉), 19,1 (C₂₇), 21,2 (C₂₁), 21,5 (C₁₁), 21,6 (C₂₆), 23,1 (C₁₅), 25,5 (C₂₈), 28,6 (C₁₆), 29,7 (C₆), 31,6 (C₂), 32,0 (C₂₅), 34,3 (C₁₀), 37,2 (C₁), 38,1 (C₄), 39,6 (C₁₂), 40,4 (C₅), 40,9 (C₂₀), 43,4 (C₁₃), 49,6 (C₉), 51,3 (C₂₄), 55,2 (C₁₄), 56,0 (C₁₇), 71,2 (C₃), 117,6 (C₇), 129,5 (C₂₃), 138,2 (C₂₂) e 139,6 (C₈).

4.1.6. Extração do Óleo Essencial das Flores de *Couroupita guianensis*

As flores frescas foram separadas em pétalas e verticilos reprodutores obtendo-se respectivamente 241g e 304g, sendo separadamente adicionados a balões de fundo redondo, onde adicionou-se em ambos 500mL de água destilada. Os balões separadamente foram submetidos a hidrodestilação em aparelho de Clevenger modificado. O sistema foi mantido a 100°C por cerca de uma hora. O óleo essencial obtido foi separado da fase aquosa por partição líquido-líquido com clorofórmio.

A composição dos óleos essenciais foi determinada por cromatografia com fase gasosa acoplada a espectrometria de massas.

A cromatografia com fase gasosa acoplada a espectrômetro de massas foi realizada no Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais (NPPN) da UFRJ, para a análise dos óleos essenciais das flores, em aparelho SHIMADZU CG-MS QP 5000, coluna capilar HP5 (30m x 0,25 mm), usando hélio como gás de arraste (fluxo constante de 1mL/min.) e programação de temperatura de 60°C a 240°C (3°C/min.), permanecendo por mais 20 min. em 240°C, os espectros de massas foram obtidos a 70 eV e os fragmentos foram descritos com relação entre as unidades de massa atômica e carga (m/z) com a abundância relativa expressa em valores percentuais.

O índice de retenção de Kovats foi calculado a partir dos dados do tempo de retenção de série homóloga de hidrocarbonetos saturados (C8 a C26), obtidos por cromatografia com fase gasosa nas mesmas condições utilizadas para análise dos óleos essenciais.

Identificação dos Constituintes dos Óleos Essenciais das Pétalas:

Linalool:

TR/min: 14,616

EM-EI m/z (%): 154 $[M]^{+\bullet}$ (0); 136 (7,0); 121 (11,2); 105 (5,1); 93 (57,4); 71 (47,8); 55 (43,6); 41 (100).

α -Terpineol:

TR/min: 18,946

EM-EI m/z (%): 154 $[M]^{+\bullet}$ (0); 139 (5,2); 136 (37,7); 121 (35,5); 107 (11,3); 93 (74,2); 68 (37,7); 59 (100); 43 (73,2).

Geraniol:

TR/min: 20,666

EM-EI m/z (%): 154 [M]⁺• (0); 136 (10,0); 121 (11,6); 107 (5,5); 93 (45,5); 69 (49,7); 67 (22,6); 41 (100).

Nerol:

TR/min: 21,890

EM-EI m/z (%): 154 [M]⁺• (0); 136 (3,9); 121 (5,5); 105 (3,2); 93 (31,6); 69 (55,5); 67 (13,5); 41 (100).

Eugenol:

TR/min: 26,631

EM-EI m/z (%): 164 [M]⁺• (100); 149 (36,1); 131 (28,1); 121 (18,4); 103 (30,6); 91 (29,7); 77 (43,9); 55 (45,8); 51 (27,1).

Identificação dos Constituintes dos Óleos Essenciais dos Verticilos Reprodutores:**Hexanal:**

TR/min: 3,814

EM-EI m/z (%): 100 [M]⁺• (0); 82 (9,3); 72 (14,52); 56 (63,5); 44 (100).

Linalool:

TR/min: 14,618

EM-EI m/z (%): 154 [M]⁺• (0); 136 (7,7); 121 (12,5); 105 (5,8); 93 (64,5); 71 (40,6); 55 (40,0); 41 (100).

Geraniol:

TR/min: 20,686

EM-EI m/z (%): 154 [M]⁺• (0); 136 (11,9); 121 (13,5); 107 (6,1); 93 (52,6); 69 (48,4); 67 (25,5); 41 (100).

Nerol:

TR/min: 21,923

EM-EI m/z (%): 154 [M]⁺ (0); 136 (4,8); 121 (6,4); 105 (4,2); 93 (38,1); 69 (52,9); 67 (14,8); 41 (100).

Eugenol:

TR/min: 26,698

EM-EI m/z (%): 164 [M]⁺ (100); 149 (34,2); 131 (27,4); 121 (18,1); 103 (31,0); 91 (27,1); 77 (40,0); 55 (45,5); 51 (26,4).

4.2. Ensaios Farmacológicos:

4.2.1. Análise da Atividade Antioxidante pelo Método do DPPH

Este método consiste na determinação da atividade antioxidante, por método fotocolorimétrico, do extrato frente à presença do radical livre estável DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazila), que apresenta coloração violeta e absorção máxima em 518 nm. A coloração violeta passa a amarelo quando o elétron não emparelhado do radical livre DPPH emparelha com o hidrogênio radicalar de um antioxidante formando o DPPH-H reduzido, que é sua hidrazila correspondente (Figura 4). A descoloração é estequiométrica.

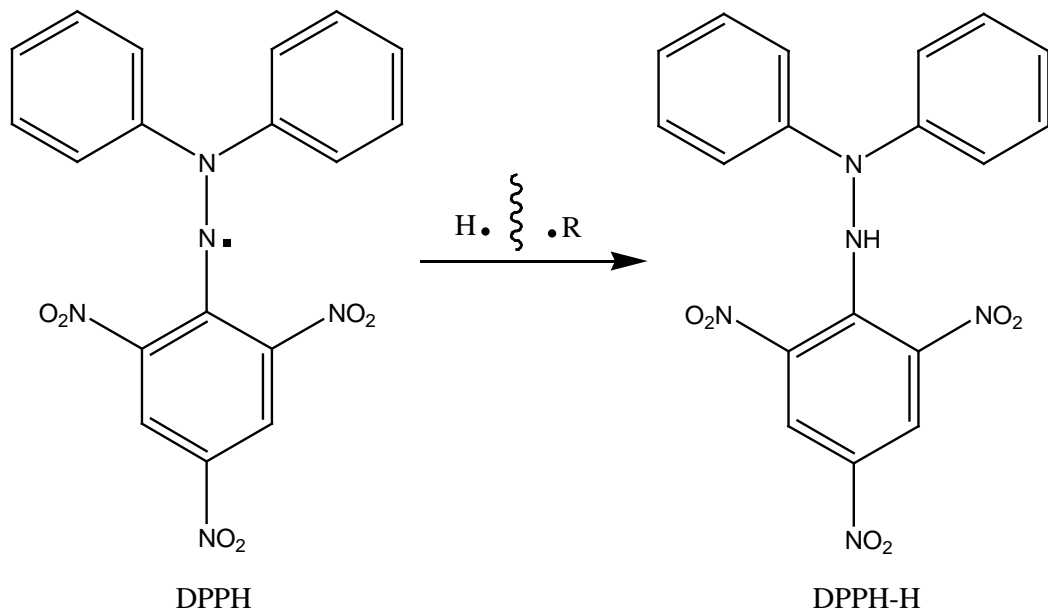


Figura 4: Redução da molécula de DPPH.

Utilizou-se para este ensaio o extrato etanólico total das folhas e flores de *Couroupita guianensis* e suas partições em hexano, diclorometano, acetato de etila e *n*-butanol, além da Triptantrina. As amostras foram solubilizadas em etanol na proporção de 1:1. A partir dessa

solução foram preparadas por diluição as soluções de concentrações de 250, 125, 50, 25, 10 e 5 µg/mL, com exceção da triptantrina, que em virtude da pouca massa teve suas concentrações ajustadas para 125; 62,5; 25; 12,5; 5 e 2,5 µg/mL. Um mililitro (1 mL) da solução de DPPH na concentração de 0,3 mM (em etanol) foi adicionada a 2,5 mL de cada uma das soluções, em triplicata (MENSOR *et al.*, 2001).

Um solução (branco) foi preparado para cada diluição com 2,5mL de solução e 1 ml de etanol. Uma amostra controle foi preparada com 2,5 mL de etanol e 1 mL de DPPH. O extrato padronizado de *Ginkgo biloba* (EGb 761[®]) foi utilizando como controle positivo.

Antes da leitura as soluções foram mantidas a temperatura ambiente por 30 minutos, para que houvesse a reação e em seguida a leitura foi realizada em espectrofotômetro de UV-Vis Shimadzu UV 1601 a um comprimento de 518 nm (MENSOR *et al.*, 2001).

O ensaio foi realizado em triplicata e o cálculo da atividade antioxidante percentual foi obtida através da equação:

$$AA\% = 100 - \left\{ \frac{(\text{Abs amostra} - \text{Abs branco}) \times 100}{\text{Abs controle}} \right\}$$

Os resultados foram expressos em CE₅₀, a partir da regressão linear dos valores obtidos.

4.2.2. Detrerminação da Atividade Antinociceptiva:

Os testes da atividade antinociceptiva foram realizados no laboratório da Dra. Patrícia Dias Fernandes do Departamento de Farmacologia Básica e Clínica, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal do Rio de Janeiro.

Para os ensaios foram testadas as seguintes amostras de extratos das folhas de *Couroupita guianensis*: extrato etanólico total, partição em hexano, diclorometano, acetato de etila e *n*-butanol.

Todos os experimentos foram executados com camundongos machos Swiss 44 (18-25g), comprados no Biotério Central do Instituto de Microbiologia Prof. Paulo de Góes, da Universidade Federal do Rio de Janeiro. Os animais foram mantidos à temperatura ambiente controlada ($22 \pm 2^\circ\text{C}$) com um ciclo de claro/escuro por 12 horas, com livre acesso a comida e água. Doze horas antes de cada experimento os animais receberam somente água e, a alimentação foi evitada para minimizar possíveis interferências na absorção dos extratos.

Os extratos foram diluídos previamente em DMSO. Foram feitas soluções com PBS de todos os extratos, assim como as substâncias utilizadas como padrão, imediatamente antes do uso e administrados oralmente, em uma concentração de 100 mg/kg e 10 mg/kg. Em todos os experimentos, a concentração final de DMSO não excedeu a 0,5%, concentração essa, na qual esse solvente não tem efeito tóxico.

Quando necessário, os animais foram sacrificados de acordo com a ética para investigação experimental de dor em animais conscientes (ZIMMERMANN,1983).

Para todos os ensaios, cada grupo experimental foi constituído de 5 animais. Utilizou-se como grupo controle animais que receberam somente o veículo utilizado para solubilizar os extratos (DMSO e PBS). Os resultados foram analisados estatisticamente com a aplicação do método *One-Way* seguido de teste de *Bonferroni* com um grau de liberdade de $\alpha = 0,05$ e o valor de $p \leq 0,05$ foi considerado significativo.

4.2.2.1. Contorções Abdominais Induzidas por Ácido Acético:

O modelo baseia-se nas contorções, que são definidas por uma série de contrações e alongamentos dos músculos abdominais acompanhadas por torção do tronco e extensão dos membros posteriores, o que irá promover o contato do músculo abdominal do camundongo com o fundo do recipiente no qual o mesmo se encontra. O ensaio das contrações é muito utilizado na determinação da atividade antinociceptiva periférica.

O ensaio é realizado através da administração intra-peritoneal em camundongos de 0,5 mL de ácido acético a 2%, diluído em salina (0,1mL/10mg). Os animais (camundongos) foram utilizados de acordo com COSTA *et al.* (2003). O ensaio foi realizado com 8 grupos, onde cada grupo, foi tratado oralmente 60 minutos antes da administração do ácido acético, com: PBS e DMSO (veículo); morfina (1mg/kg) e dipirona (1 mg/kg), como controles positivos; extrato etanólico total e as partições em hexano, em diclorometano, em acetato de etila e em *n*-butanol de folhas de *Couroupita guianensis*. O uso do ácido acético produz uma irritação abdominal produzindo respostas reflexas, provocando as contorções. O número total de contorções após a administração intraperitoneal (i.p.) foi registrada durante um período de 20 minutos; onde, iniciou-se o registro após 5 minutos da injeção i.p. do ácido acético (2%).

Os valores foram expressos como média \pm desvio padrão do número total de contorções.

4.2.2.2. Teste de Retirada da Cauda:

O procedimento foi de acordo com COSTA *et al.* (2003). Nesse teste o camundongo é imobilizado em um pequeno cilindro rígido, chamado contensor, e com ventilação, deixando apenas a cauda imersa em um banho de água na temperatura de $50^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Durante a imersão da cauda os camundongos não foram manipulados diretamente evitando-se assim o estresse ou compressão do animal, e antes de se medir a relatividade ao calor, esperou-se a adaptação dos animais à nova situação (JANSSEN *et al.* 1963; GROTTO & SULMAN, 1967). Foi imerso o terço inferior da cauda dos camundongos na água. O tempo necessário para o animal retirar a cauda, em segundos, foi registrado, com auxílio de um cronômetro.

Em quarenta e vinte minutos antes da administração dos extratos, o tempo de reação da retirada da cauda foi medido. A linha de base foi considerada como a média dos valores de 40 e 20 minutos antes da administração dos fármacos (grupo controle) e o *cut-off* usado foi de 3 vezes o valor da linha de base. Os limiares de resposta ao teste foram normalizados através do índice de antinocicepção da retirada da cauda, calculado de acordo com a seguinte fórmula:

$$(\text{Valor Medido} - \text{Linha de Base}) / (\text{Cut-off} - \text{Linha de Base})$$

Foram registrados os tempos de reação de retirada da cauda, em 20, 40, 60, 80, 100 e 120 minutos após administração dos extratos e dos fármacos. Os valores foram expressos como porcentagem de aumento em relação a linha de base. Nesse ensaio também se avaliou o aumento do tempo de resposta dos animais (KURAIISHI *et al.* 1983). Os testes de reação ao calor são seletivos para o estudo de substâncias com ação analgésica exercida por mecanismos centrais, semelhantes aos opiáceos. Nesse modelo foi feito um grupo controle positivo com morfina por via oral, na dose de 1 mg/kg e um controle tratado com PBS e DMSO (veículo).

4.2.2.3. Teste da Placa Quente:

Os animais foram testados de acordo com o método descrito por FRANZOTTI *et al.* (2000). Os animais foram colocados em uma placa quente com $55^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ e o tempo de reação foi registrado quando o animal retirava e/ou lambia uma ou ambas as patas anteriores.

Aos sessenta e trinta minutos antes da administração dos extratos, o tempo de reação ao estímulo térmico foi medido, em segundos. Como também, após a administração dos extratos nos tempos de 30, 60, 90, 120, 150 e 180 minutos. Para esse ensaio utilizou-se um controle positivo de morfina na dose de 1 mg/kg, e um controle tratado com PBS e DMSO (veículo). Os valores foram expressos em porcentagem de aumento em relação a linha de base.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. lactona do ácido 3,5-diidroxi-1,1,5-trimetilcicloexilideno-6-acético (Loliolida):

A partição em diclorometano forneceu, após cromatografias em coluna de gel de sílica (Esquema 3, pág. 15), uma substância, nas frações 66-68 da coluna da extrato em diclorometano das folhas (junção FDE). Solúvel em clorofórmio e acetato de etila, a substância sofreu purificação por cromatografia em coluna de gel de sílica. A cromatografia com fase gasosa (Cromatograma 1, pág. 38) evidencia o grau de pureza dessa amostra. Seu espectro de massas (Espectro 6, pág. 38) mostrou um sinal em m/z 196 relativo a um íon molecular compatível com a fórmula $C_{11}H_{16}O_3$. A análise dos dados espectrométricos de RMN de 1H e ^{13}C permitiu sugerir para a substância a seguinte estrutura:

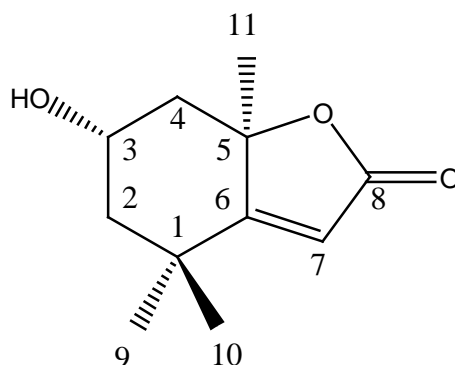


Figura 5: Loliolida

O espectro de RMN 1H de FDE em $CDCl_3$ (Espectros 1, 2, 3 e 4, pág. 35 e 36) mostra a presença de sinais relativos a 3 metilas: δ 1,28 (3H, *s*, H_9), 1,47 (3H, *s*, H_{10}), 1,78 (3H, *s*, H_{11}), um hidrogênio hidroximetínico em δ 4,33 (*quint.*, J 3,8 Hz, H_3), e dois grupos de hidrogênios metilênicos em δ 1,53 (1H, *dd*, J 3,8 e 14,6 Hz, $H_{2\beta}$), 1,79 (1H, *dd*, J 3,8 e 14,0 Hz, $H_{4\beta}$), 1,98 (1H, *dt*, J 2,6 e 14,6 Hz, $H_{2\alpha}$), 2,47 (1H, *dt*, J 2,6 e 14,0 Hz, $H_{4\alpha}$).

O espectro de RMN ^{13}C de FDE (Espectro 5, pág. 37) apresenta um total de 11 sinais de carbono. Os sinais relativos à unidade lactônica α,β -insaturada são os sinais δ 113,3 (C_7), 176,7 (C_8) e 182,1 (C_6).

Os dados obtidos de RMN de ^1H e RMN de ^{13}C para FDE foram comparados aos da literatura para a loliolida (RMN ^1H , 300 MHz, CDCl_3 e RMN ^{13}C , 75,5 MHz, CDCl_3) (VALDÉS III, 1986 e CONEGERO *et al.*, 2003) e aos de seu epímero, a 3-Epiloliolida (RMN ^1H , 500 MHz, CDCl_3) (BORKOSKY *et al.*, 1996) (Quadro 1, página 32).

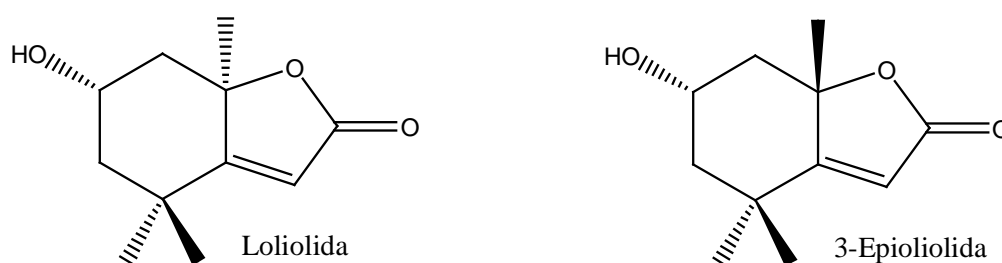


Figura 6: Loliolida e 3-Epiloliolida.

Quadro 1: Dados espectrais de RMN da Substância FDE, da Loliolida (VALDÉS III, 1986 e CONEGERO *et al.*, 2003) e da 3-Epiloliolida (BORKOSKY *et al.*, 1996) obtidos na literatura.

#	Loliolida		3-Epiloliolida	Substância FDE	
	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$ (mult., J em Hz)	$\delta^1\text{H}$ (mult., J em Hz)	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$ (mult., J em Hz)
1	36,0	-	-	36,2	-
2	47,2	1,98 (<i>dt</i> ; 2,7; 14,4; $\text{H}\alpha$) 1,53 (<i>dd</i> ; 3,5; 14,4; $\text{H}\beta$)	2,04 (<i>ddd</i> , 2,0, 4,0, 13)	47,4	1,98 (<i>dt</i> ; 2,6; 14,6; $\text{H}\alpha$) 1,53 (<i>dd</i> ; 3,8; 14,6; $\text{H}\beta$)
3	66,8	4,33 (<i>quint.</i> , 3,5)	4,13 (<i>tt</i> , 4,0, 11,5)	66,7	4,33 (<i>quint.</i> , 3,8)
4	45,5	2,46 (<i>dt</i> ; 2,7; 14,0; $\text{H}\alpha$) 1,79 (<i>dd</i> ; 3,5; 14,0; $\text{H}\beta$)	2,53 (<i>ddd</i> ; 2,0; 4,0;12,0)	45,6	2,47 (<i>dt</i> ; 2,6; 14,0; $\text{H}\alpha$) 1,79 (<i>dd</i> ; 3,8; 14,0; $\text{H}\beta$)
5	86,9	-	-	86,8	-
6	182,6	-	-	182,1	-
7	113,0	5,70 (<i>s</i>)	5,71 (<i>s</i>)	113,3	5,70 (<i>s</i>)
8	171,0	-	-	176,7	-
9	30,6	1,27 (<i>s</i>) ($\alpha\text{-CH}_3$)	1,26 (<i>s</i>)	30,9	1,28 (<i>s</i>) ($\alpha\text{-CH}_3$)
10	26,4	1,47 (<i>s</i>) ($\beta\text{-CH}_3$)	1,31 (<i>s</i>)	26,8	1,47 (<i>s</i>) ($\beta\text{-CH}_3$)
11	27,0	1,78 (<i>s</i>)	1,58 (<i>s</i>)	27,4	1,78 (<i>s</i>)

CG/EM (Loliolida): TR/min: 22,472

EM-EI m/z (%): 196 [M]⁺ (4,4); 178 (3,8); 163 (12,4); 153 (7,4); 140 (21,2); 135 (16,8); 125 (5,0); 111 (55,0); 95 (16,1); 85 (14,8) 79 (10,4); 67 (19,5); 57 (25,2); 43 (100,0).

O quintupeto observado, com deslocamento químico (δ) de 4,33 ppm, sugere o acoplamento deste com outros 4 hidrogênios, porém para este, só foi calculado uma constante de acoplamento (J) com valor de 3,8 Hz, que coincide com os valores de J observados para os sinais (duplo dubletos) com valores de δ de 1,53 e 1,78 ppm. Estes mesmos sinais apresentam também respectivamente valores de J de 14,6 e 14,0 Hz, o que sugere acoplamentos geminais, cada um, com outros hidrogênios. O valor de δ de 4,33 ppm sugere a proximidade do hidrogênio referente a este sinal a um heteroátomo.

A presença de dois outros sinais (duplo tripletos) de δ igual a 1,98 e 2,47 ppm com J respectivamente de 14,6 e 14,0 Hz e de 2,6 Hz para ambos, confirma a presença de hidrogênios geminais e um acoplamento entre estes.

Os cinco hidrogênios acima descritos encontram-se em um anel de seis membros, onde a determinação das configurações α e β dos hidrogênios geminais se dá a partir da adoção da conformação em cadeira para este anel e a posição axial do hidrogênio com sinal em δ 4,33 ppm em virtude da presença de um heteroátomo geminal a este, que se encontrará preferencialmente em equatorial, devido a presença de metilas no mesmo anel em posições intercaladas (ou β) a este. Pode-se verificar a partir deste sinal acoplamentos axial-equatorial com os hidrogênio vicinais de 1,53 e 1,78 ppm em virtude do valor de J ser de 3,8 Hz para estes, estando estes então em configuração equatorial, logo, segundo a perspectiva adotada, sendo classificados com configuração β (para frente do plano), enquanto os seus hidrogênios

geminais, respectivamente de δ igual a 1,98 e 2,47 ppm são axiais, sendo classificados como α (para trás do plano).

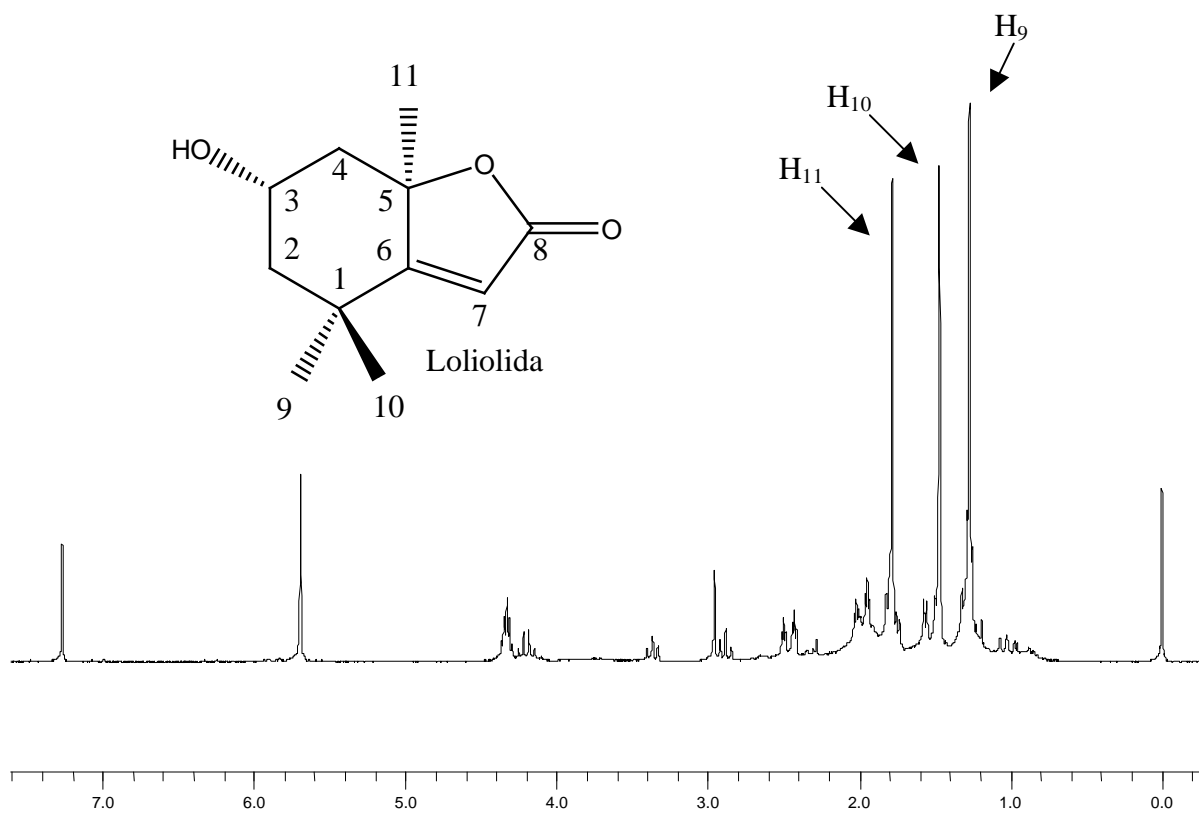
O espectro ainda apresenta quatro sinais referentes a singletos com δ de 5,70; 1,78; 1,47 e 1,27 ppm; sendo o primeiro destes, devido ao deslocamento, possivelmente pertencente a um alceno.

O espectro de carbono apresenta os sinais com δ de 26,8; 27,4 e 30,9 ppm que são característicos de metilas (δ 15-30 ppm), os sinais com δ de 66,8 e 86,9 ppm que são característicos de carbono ligado a heteroátomo (δ 65-90 ppm), assim como os sinais δ 45,5 e 47,2 ppm que são característicos de metileno (15-50). Apresenta ainda o sinal de δ 36,0 ppm que está dentro da faixa de carbono quaternário (δ 30-40 ppm), o sinal de δ 113 ppm que está na faixa de alceno (δ 95-155 ppm) e δ 171 ppm referente a carbonila de lactona.

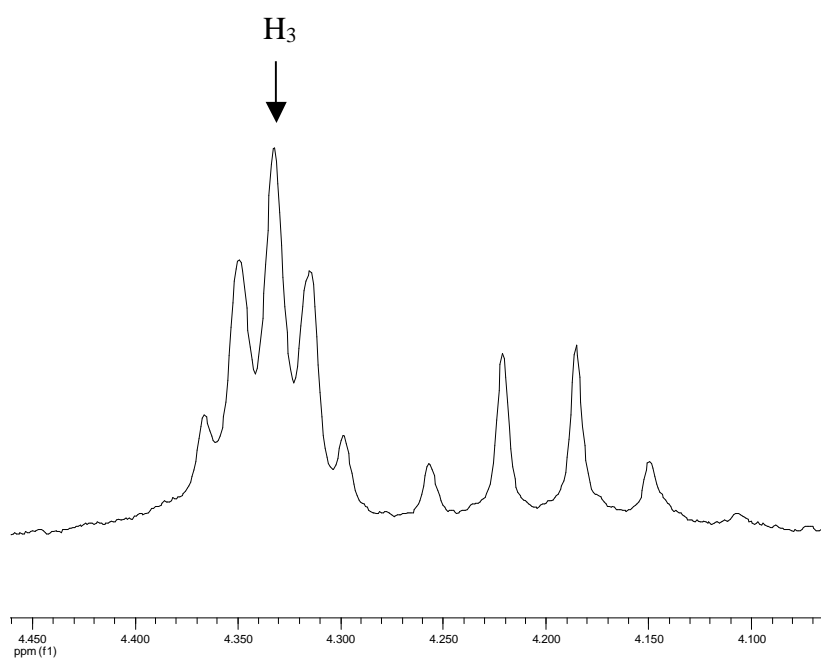
A comparação dos dados do espectro de RMN ^1H e RMN ^{13}C obtidos da amostra FDE com dados da literatura (CONEGERO *et al.*, 2003), assim como o íon molecular obtido, por espectrometria de massas, demonstram que a substância isolada trata-se da Loliolida (Quadro 1, página 32).

A Loliolida já foi isolada de outras plantas (PETTIT *et al.*, 1980) e de organismos marinhos (PETTIT *et al.*, 1980), porém é pela primeira vez descrita no gênero *Couroupita* e na família Lecythidaceae. Algumas das atividades biológicas citadas na literatura para a Loliolida incluem atividade como repelente de formigas (OKUNADE & WIEMER, 1985), inibidora de germinação (CONEGERO *et al.*, 2003), imunossupressora (OKADA *et al.*, 1994) e citotóxica contra carcinoma humano de nasofaringe (KB) e leucemia linfóide (P388) (CONEGERO *et al.*, 2003 e PETTIT *et al.*, 1980).

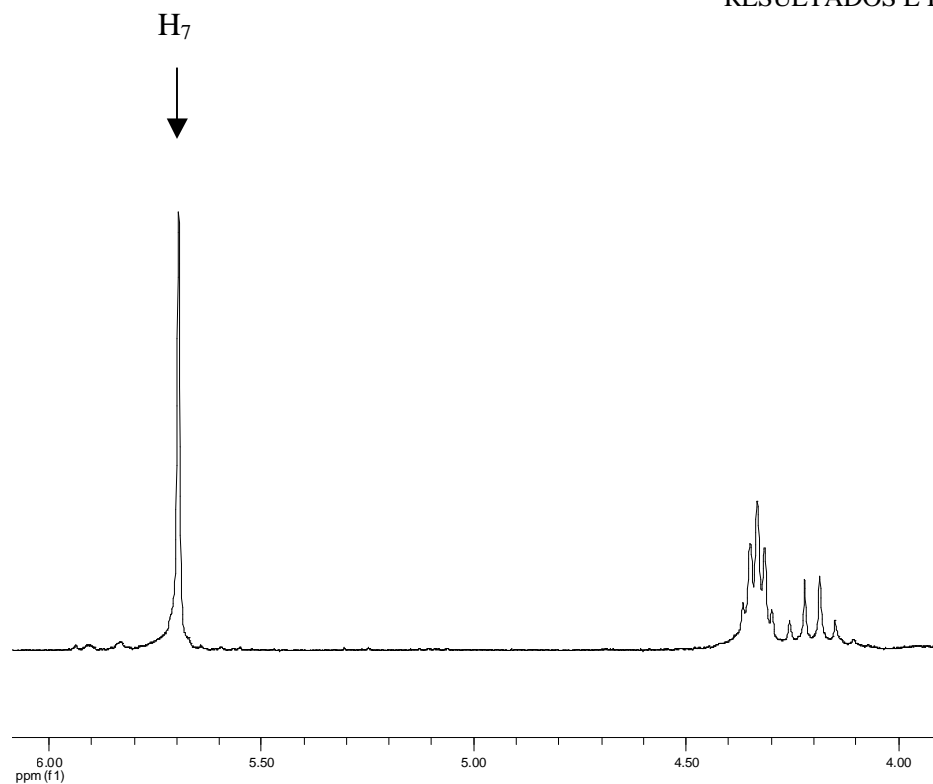
Sua biossíntese é atribuída a oxidação de certos carotenóides, entretanto ela pode pertencer ao metabolismo normal da planta como molécula biossintetizada (PETTIT *et al.*, 1980).

5.1.1. Espectros de RMN ^1H da amostra FDE:

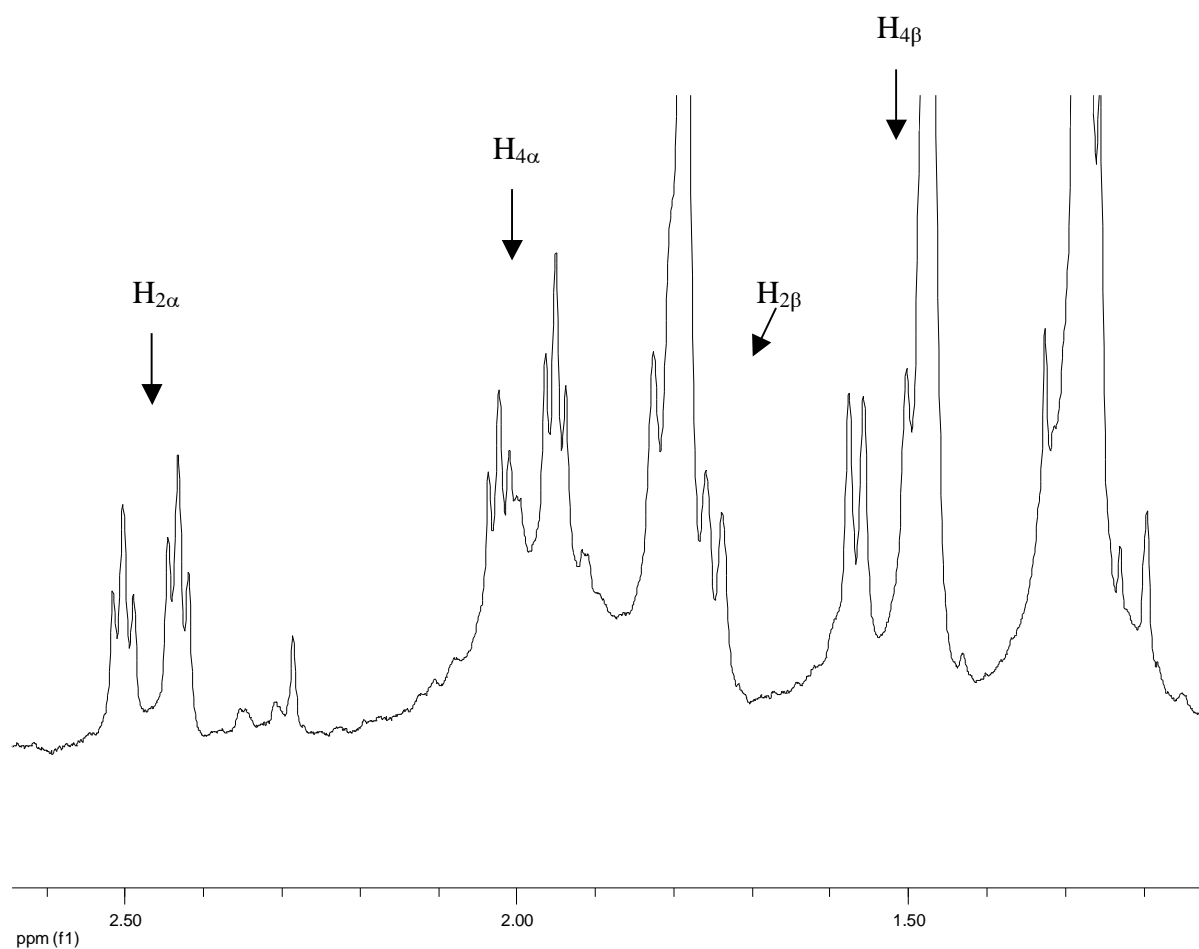
Espectro 1- Espectro de RMN de ^1H (300 MHz) de FDE em CDCl_3 . Em 1,0 e 4,2 ppm tem-se sinal de solvente.



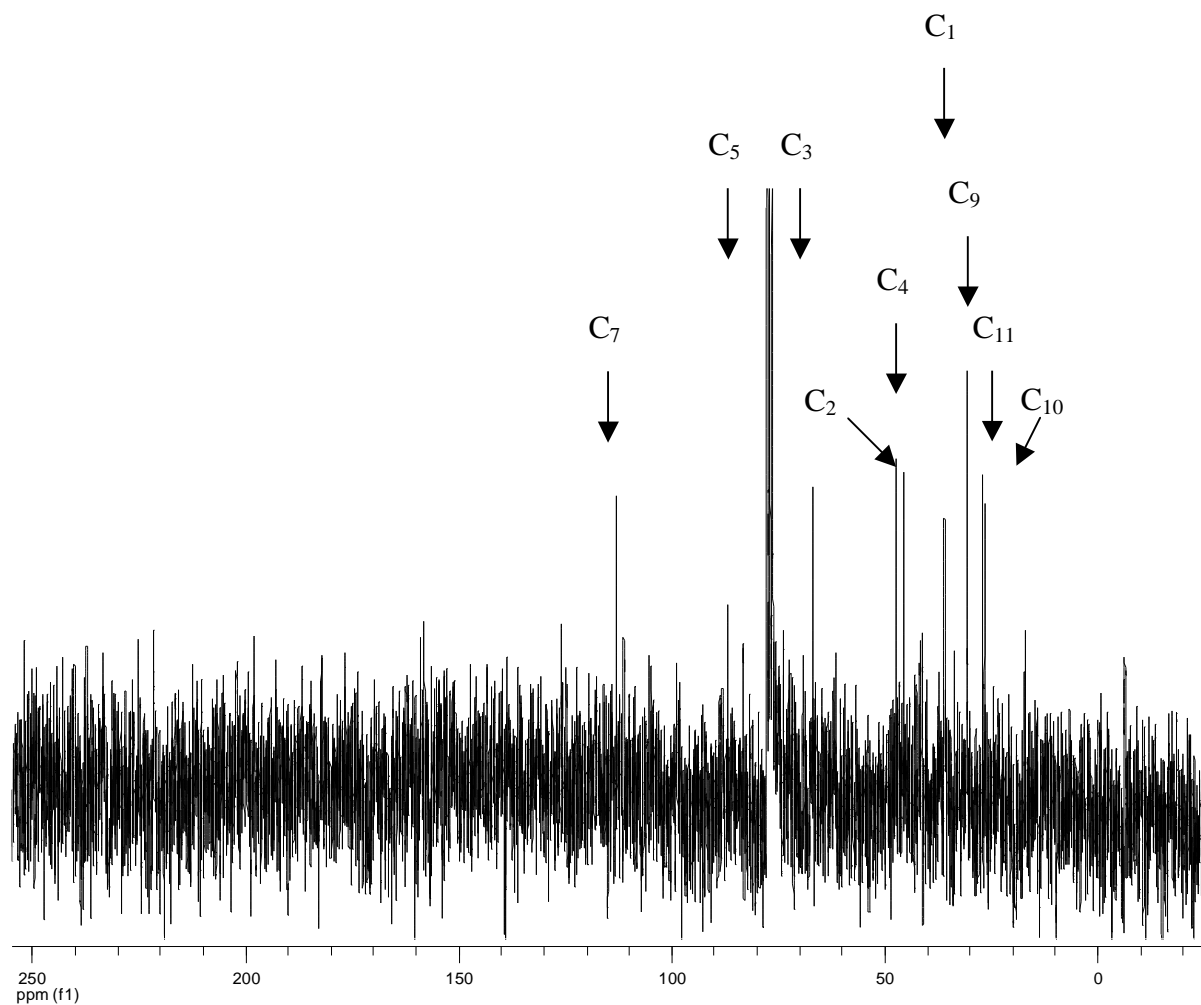
Espectro 2- Expansão da região de δ (ppm) 4,10 – 4,45 do espectro de RMN ^1H (300 MHz) de FDE em CDCl_3 .



Espectro 3- Expansão da região de δ (ppm) 4,00 – 6,00 do espectro de RMN ^1H (300 MHz) de FDE em CDCl_3 .

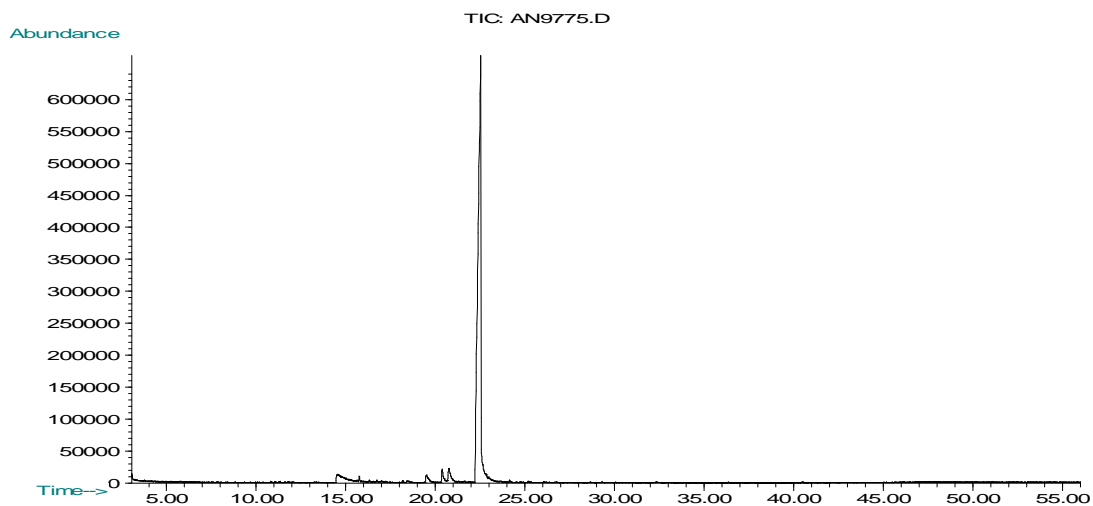


Espectro 4- Expansão da região de δ (ppm) 1,20 – 2,60 do espectro de RMN ^1H (300 MHz) de FDE em CDCl_3 .

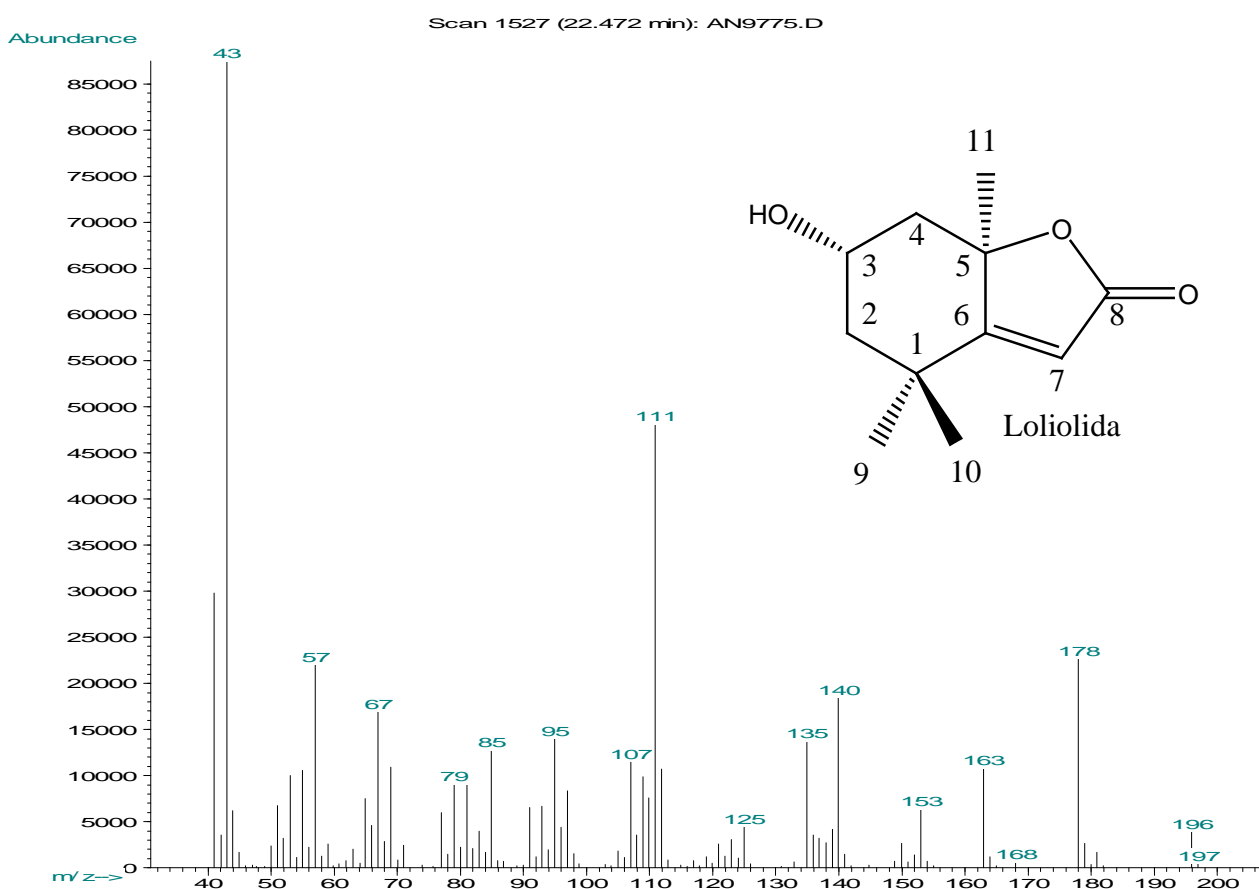
5.1.2. Espectros de RMN ^{13}C da amostra FDE:

Espectro 5- Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz) de FDE em CDCl_3 , com atenuação suficiente para verificar sinais.

5.1.3. Cromatograma e Espectro de Massas da Amostra FDE de Folhas de *Couroupita guianensis*:



Cromatograma 1– Cromatograma de íons totais da amostra FDE de folhas de *Couroupita guianensis*.



Espectro 6– Espectro de massas da amostra FDE de folhas de *Couroupita guianensis*.

5.2. 6,12-diidro-6,12-dioxoindol [2,1-b]quinazolina (Triptantrina):

A partição em acetato de etila forneceu, após sucessivas purificações por cromatografias em coluna de gel de sílica (Esquema 4, pág. 17), uma substância amarela com cristais em agulhas, nas frações 25-40 da coluna FAFG (junção FAFGC). Insolúvel em hexano e totalmente solúvel em clorofórmio e acetato de etila, a substância sofreu purificação primeiramente por cromatografia em coluna de gel de sílica e posteriormente por processo de filtração. A cromatografia com fase gasosa (Cromatograma 2, pág. 54) evidencia a pureza dessa amostra. Seu espectro de massas (Espectro 19, pág. 54) mostrou um sinal em m/z 248 relativo a um íon molecular compatível com a fórmula $C_{15}H_8N_2O_2$. A análise dos dados espectrométricos de RMN de 1H e ^{13}C permitiu sugerir para a substância a seguinte estrutura:

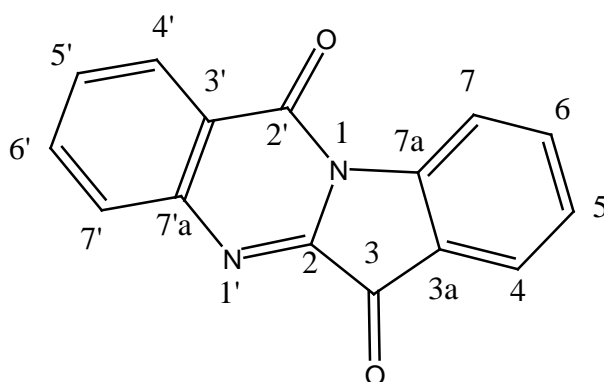


Figura 7: Triptantrina

O espectro de RMN 1H de FAFGC em $CDCl_3$ (Espectro 9, pág. 45) mostra a presença de sinais relativos aos 8 hidrogênios aromáticos da estrutura: δ 7,43 (*ddd*, J 0,74, 7,68 e 7,68 Hz, H_6), 7,68 (*ddd*, J 1,10, 7,17 e 7,50 Hz, H_6'), 7,77 (*ddd*, J 1,19, 7,68 e 8,19 Hz, H_5), 7,84 (*ddd*, J 1,10, 8,02 e 8,19 Hz, H_5'), 7,92 (*ddd*, J 0,50, 0,85 e 7,58 Hz, H_7), 8,04 (*ddd*, J 0,50, 0,85 e 8,19 Hz, H_4'), 8,45 (*ddd*, J 0,34, 1,19 e 7,68 Hz, H_7'), 8,63 (*d*, J 8,19 Hz, H_4). A

atribuição dos sinais de hidrogênio foram feitas por comparação com os valores encontrados na literatura para a Triptantrina (RMN ^1H , 500 MHz, CDCl_3) (GEORGE *et al.*, 1996) (Quadro 2, pág. 40).

O espectro de RMN ^{13}C de FAFGC em CDCl_3 (Espectros 10 e 11, pág. 46) apresenta um total de 15 sinais de carbono, compatível com a estrutura proposta. Os sinais relativos aos carbonos aromáticos são: δ 123,9 ($\text{C}_{3'}$); 127,7 ($\text{C}_{4'}$); 130,4 ($\text{C}_{5'}$); 130,9 ($\text{C}_{7'}$); 135,3 ($\text{C}_{6'}$) e 146,5 ($\text{C}_{7'a}$) para um dos anéis e δ 118,2 (C_7); 122,1 (C_{3a}); 125,6 (C_4); 127,7 (C_5); 138,5 (C_6) e 144,5 (C_{7a}) para o outro anel, e os sinais relativos as carbonilas são: δ 158,3 ($\text{C}_{2'}$) e 182,8 (C_3). A atribuição dos sinais de carbono foram feitas por comparação com os valores encontrados na literatura para a Triptantrina (RMN ^{13}C , 150 MHz, DMSO-D_6) (HOSOE *et al.*, 1999) (Quadro 2, pág.40).

Quadro 2: Dados espectrométrico de RMN da substância FAFGC, e de Triptantrina obtidos na literatura (GEORGE *et al.*, 1996 e HOSOE *et al.*, 1999).

#C	Triptantrina		Substância FAFGC	
	δ ^{13}C	δ ^1H (mult., J em Hz)	δ ^{13}C	δ ^1H (mult., J em Hz)
1	-	-	-	-
2	146,4	-	146,8	-
3	182,4	-	182,8	-
3a	122,2	-	122,1	-
4	124,7	7,91 (<i>ddd</i> ; 0,58; 1,29; 7,58)	125,6	7,92 (<i>ddd</i> ; 0,50; 0,85; 7,58)
5	126,8	7,43 (<i>ddd</i> ; 0,80; 7,56; 7,56)	127,4	7,43 (<i>ddd</i> ; 0,74; 7,68; 7,68)
6	137,7	7,79 (<i>ddd</i> ; 1,30; 7,56; 8,10)	138,5	7,77 (<i>ddd</i> ; 1,19; 7,68; 8,19)
7	117,0	8,62 (<i>d</i> ; 8,11)	118,2	8,63 (<i>d</i> ; 8,19)
7a	144,9	-	144,5	-
1'	-	-	-	-
2'	157,6	-	158,3	-
3'	123,2	-	123,9	-
3'a	-	-	-	-
4'	126,9	8,43 (<i>ddd</i> ; 0,30; 1,50; 7,90)	127,8	8,45 (<i>ddd</i> ; 0,34; 1,19; 7,68)
5'	129,8	7,67 (<i>ddd</i> ; 1,10; 7,09; 8,50)	130,4	7,68 (<i>ddd</i> ; 1,10; 7,50; 7,17)
6'	135,1	7,85 (<i>ddd</i> ; 1,50; 8,05; 8,10)	135,3	7,84 (<i>ddd</i> ; 1,19; 8,02; 8,19)
7'	129,8	8,03 (<i>ddd</i> ; 0,40; 1,00; 8,10)	130,9	8,04 (<i>ddd</i> ; 0,50; 0,85; 8,19)
7'a	145,9	-	146,5	-
8'	-	-	-	-

CG/EM (Triptantrina): TR/min: 36,899

EM-EI m/z (%): 248 [M]⁺ (100,0); 220 (30,4); 192 (22,3); 178 (3,6); 164 (6,2); 144 (5,4); 124 (6,2); 102 (13,8); 90 (12,9); 76 (23,2); 63 (12,5); 50 (17,4); 44 (4,5).

O espectro 2D de HMQC (Heteronuclear Multiple-Quantum Coherence) (Espectros 7 e 8, pág. 43) juntamente com o Quadro 3 e a Figura 8 (pág., 44), mostram a relação entre carbonos e hidrogênios diretamente ligados, tendo-se oito carbonos, ligados cada um a um hidrogênio, totalizando oito hidrogênios.

O espectro de RMN ¹H (Espectro 9, pág. 45) demonstra a presença unicamente de hidrogênios aromáticos, em virtude destes estarem na faixa de deslocamento químico entre δ 6,00-9,00 ppm, sendo que o deslocamento de quatro sinais (δ 8,63; 8,45; 8,04 e 7,92 ppm), sugere a presença de heteroátomos, próximos aos hidrogênios.

O espectro de RMN ¹³C (Espectros 10 e 11, pág. 46) demonstra a presença de quinze carbonos sendo que treze desses apresentam sinais na faixa de deslocamento de carbono aromático, δ 100-150 ppm, enquanto dois apresentam-se mais deslocados (δ 158,3 e 182,4 ppm), sugerindo a ligação direta a heteroátomos.

O espectro 2D de HMBC (Heteronuclear Multiple Bond Correlation) (Espectros 12 e 13, pág. 47) que determina a relação de carbono e hidrogênio a longa distância (mínimo de duas ligações), que está demonstrado no Quadro 4 e na Figura 9 (pág., 48).

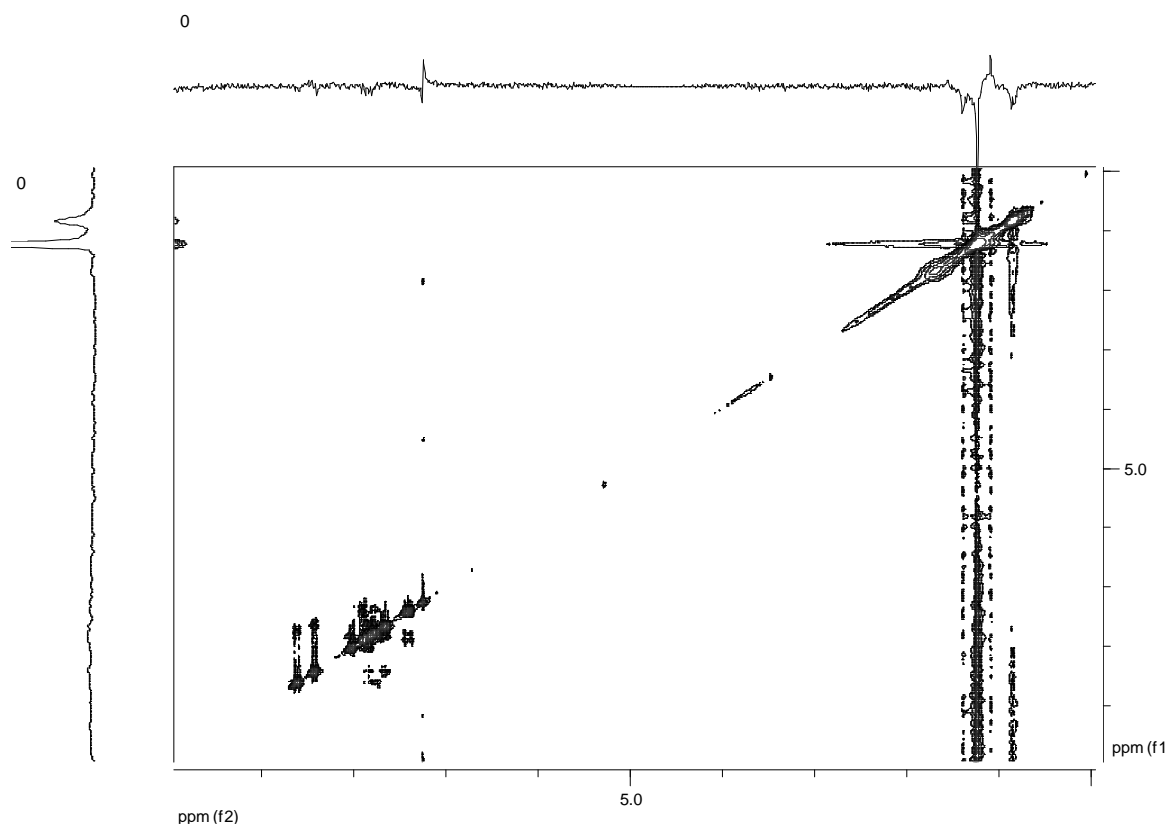
Os espectros 2D de COSY (Cooler Synchrontron) (Espectros 14 e 15, pág. 49), juntamente com o Quadro 5 e a Figura 10 (pág., 50), e NOESY (Nuclear Overhause Effect Spectroscopy) (Espectros 16 e 17, pág. 51), juntamente com o Quadro 6 e a Figura 11 (pág., 52), que determinam a relação respectivamente, entre hidrogênios, e hidrogênios que estejam próximos, mostram as relações entre os hidrogênios 4', 5', 6' e 7', e relação entre os hidrogênios 4, 5, 6 e 7, sugerindo distância entre esses grupos de quatro hidrogênios.

O espectro de DEPT 135 (Distortionless Enhancement by Polarization Transfer) (Espectro 18, pág. 53) indica oito sinais como sendo de CH ou CH₃, com mesmos deslocamentos químicos que os sinais de carbono que apresentam relação com os hidrogênios demonstrados no espectro HMQC.

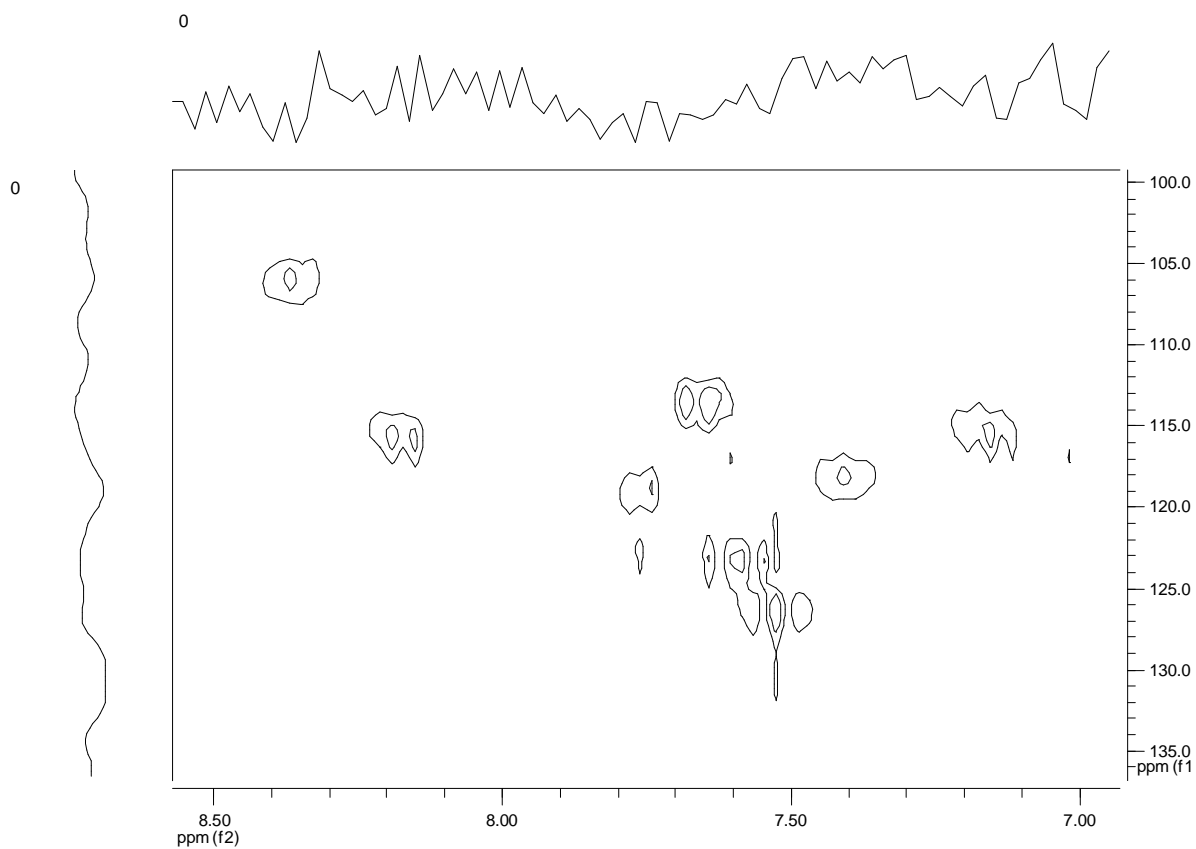
A comparação dos dados do espectro de RMN ¹H e RMN ¹³C obtidos da amostra FAFGC com dados da literatura (GEORGE *et al.*, 1996 e HOSOE *et al.*, 1999), assim como os demais dados espectroscópicos e o íon molecular obtido, por espectrometria de massas, demonstram que a substância isolada trata-se da Triptantrina.

A Triptantrina já foi isolada de outras plantas (DANZ *et al.*, 2001) inclusive da própria espécie estudada nessa dissertação, tendo sido isolada dos frutos (BERGMAN *et al.*, 1995), porém é pela primeira vez descrita nas folhas dessa espécie. Algumas das atividades biológicas citadas na literatura para a Triptantrina incluem atividade antiinflamatória inibindo a COX-2 (MICALLEF *et al.*, 2002; DANZ *et al.*, 2001 e 2002; ISHIHARA *et al.*, 2000) e a 5-lipoxigenase (OBERTHÜR *et al.*, 2005), antimicrobiana (BERGMAN *et al.*, 1995), possível antifúngico (HOSOE *et al.*, 1999); assim como esta substância e seus derivados apresentam atividades de agonistas do receptor hidrocarboneto de arila (SCHRENK *et al.*, 1997), atividade antileishmaniose (BHATTACHARJEE *et al.*, 2002) e candidato a antimalárico (BHATTACHARJEE *et al.*, 2004).

5.2.1. Espectros 2D de HMQC, quadro e estrutura da amostra FAFGC:



Espectro 7- Espectro 2D de HMQC, de FAFGC em $CDCl_3$.



Espectro 8- Ampliação do espectro 2D de HMQC, de FAFGC em $CDCl_3$.

Quadro 3: Relação entre carbonos e hidrogênios mediante espectro 2D de HMQC, de FAFGC.

Posição do C (δ ppm)	Posição do H (δ ppm)
4 (125,6)	4 (7,92)
5 (127,7)	5 (7,43)
6 (138,5)	6 (7,77)
7 (118,2)	7 (8,63)
4' (127,7)	4' (8,45)
5' (130,4)	5' (7,68)
6' (135,3)	6' (7,84)
7' (130,9)	7' (8,04)

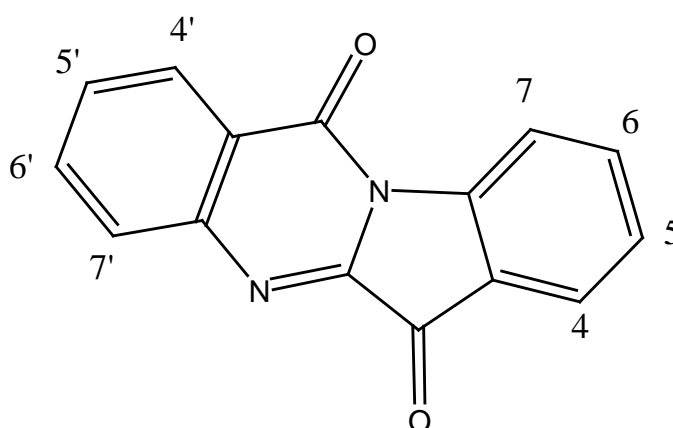
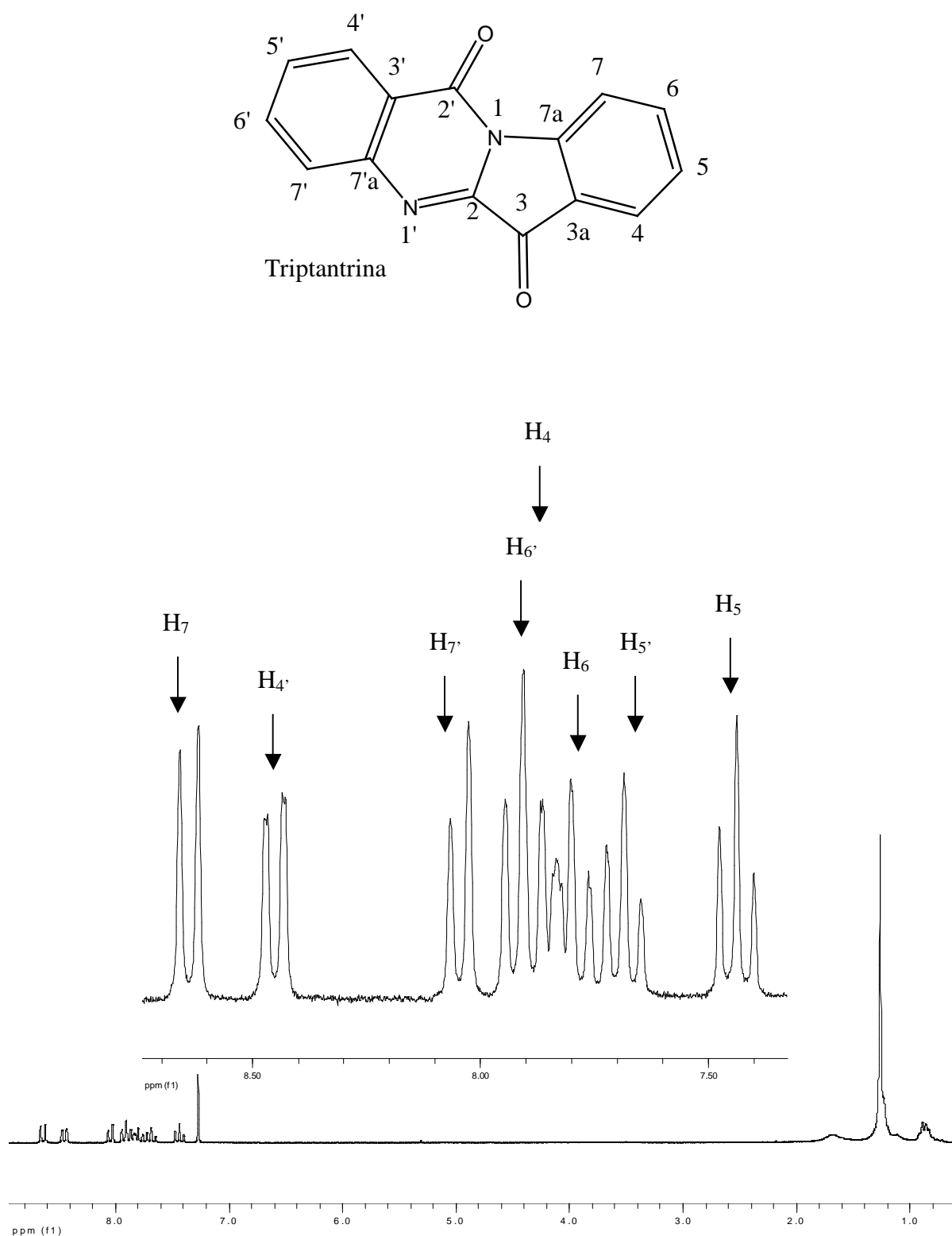
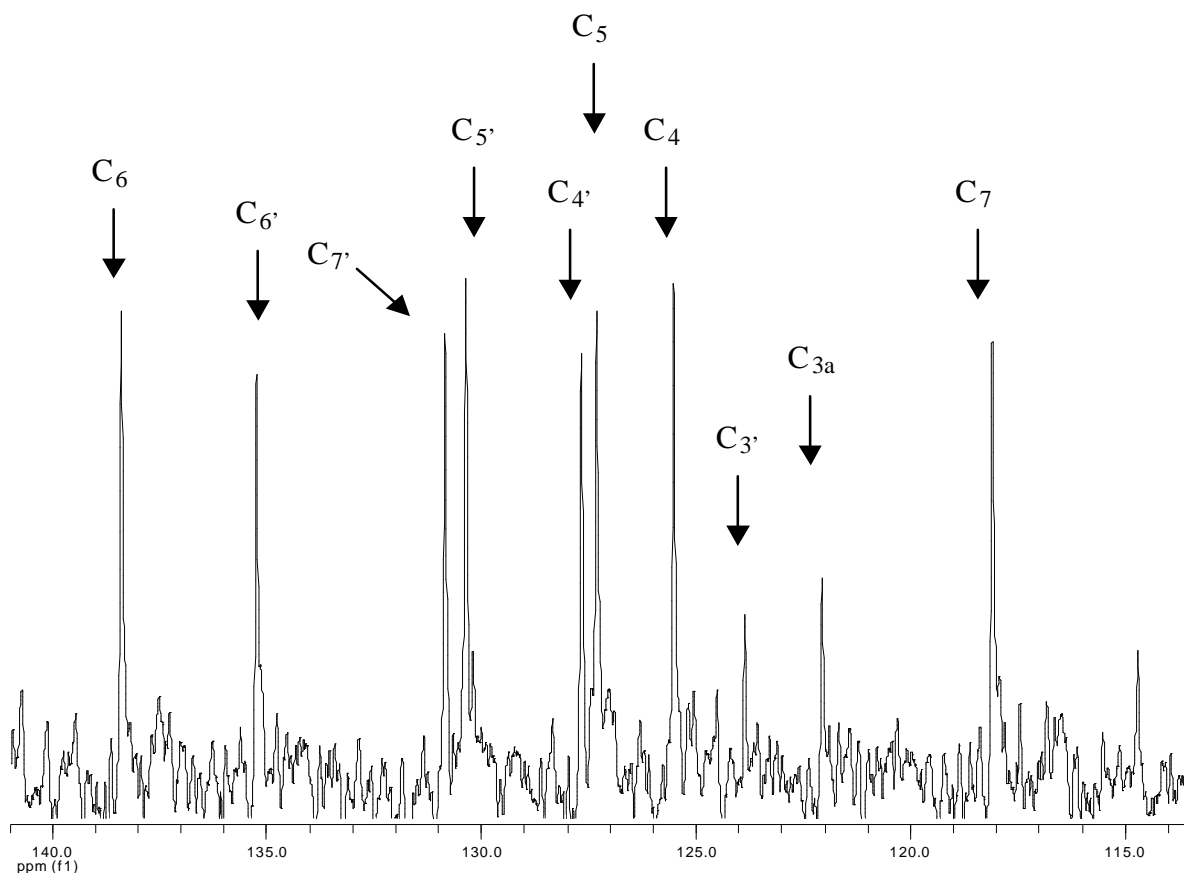


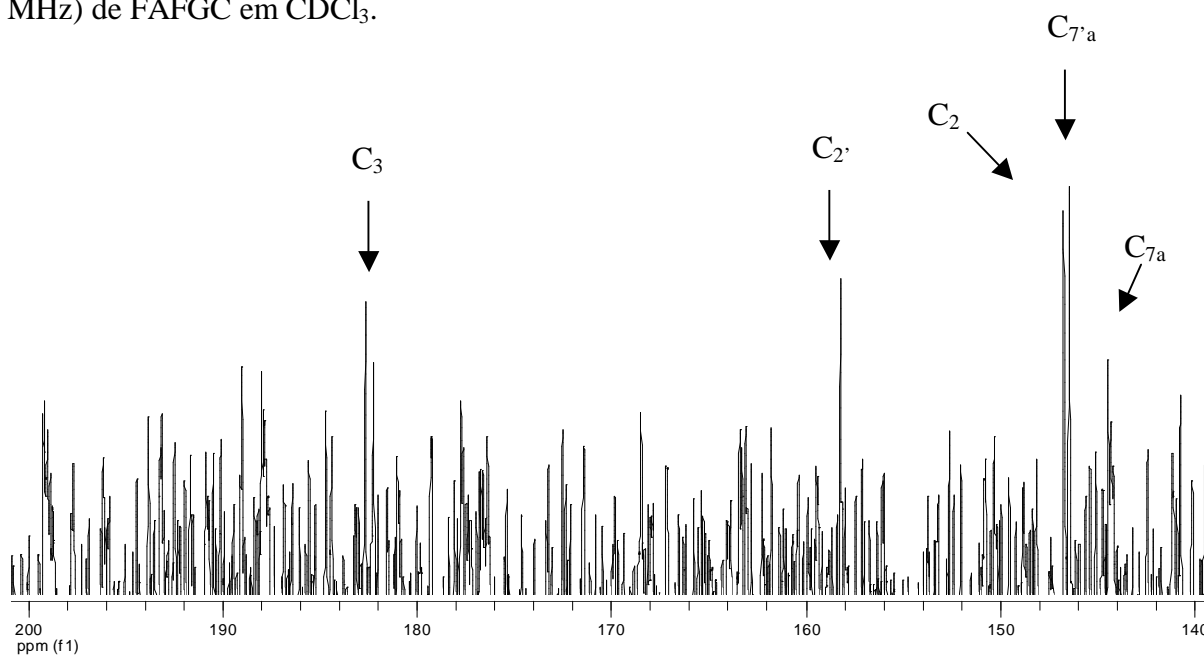
Figura 8: Relação entre carbonos e hidrogênios mediante espectro 2D de HMQC, de FAFGC.

5.2.2. Espectros de RMN ^1H da amostra FAFGC:

Espectro 9 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz) de FAFGC em CDCl_3 , e expansão da região de δ (ppm) 7,4 - 8,7.

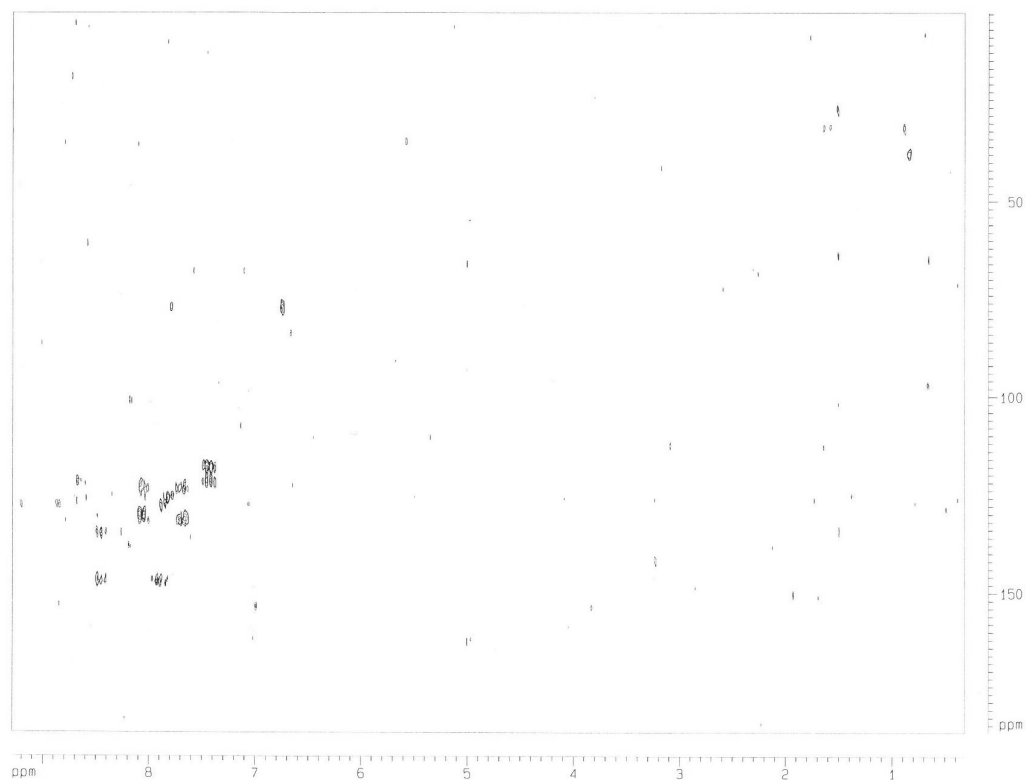
5.2.3. Espectros de RMN ^{13}C da amostra FAFGC:

Espectro 10- Expansão da região de δ (ppm) 115,0 – 140,0 do espectro de RMN ^{13}C (75 MHz) de FAFGC em CDCl_3 .

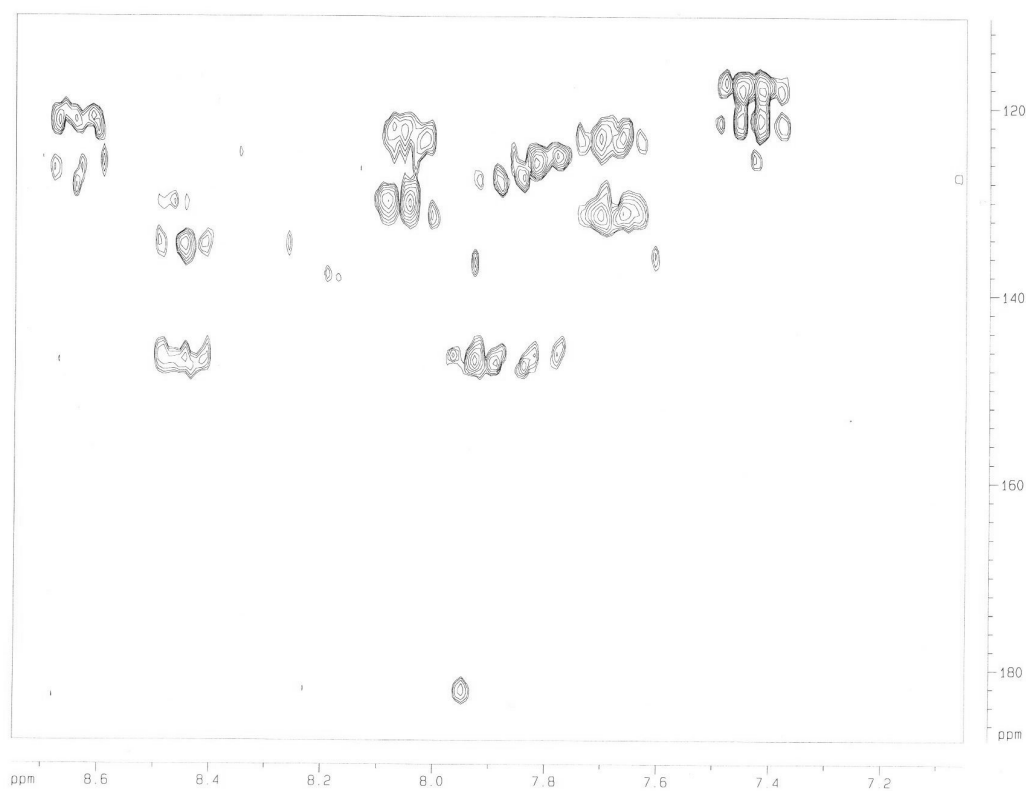


Espectro 11- Expansão da região de δ (ppm) 140,0 – 200,0 do espectro de RMN ^{13}C (75 MHz) de FAFGC em CDCl_3 .

5.2.4. Espectros 2D de HMBC, quadro e estrutura da amostra FAFGC:



Espectro 12- Espectro 2D de HMBC, de FAFGC em CDCl_3 .



Espectro 13- Ampliação do espectro 2D de HMBC, de FAFGC em CDCl_3 .

Quadro 4: Relação entre carbono e hidrogênios mediante espectro 2D de HMBC, de FAFGC.

Posição do C	Posição do H
2	4
3	4
3a	5
4	5, 6
5	7
6	-
7	5
7a	-
2'	-
3'	5'
4'	-
5'	7'
6'	4'
7'	5'
7'a	-

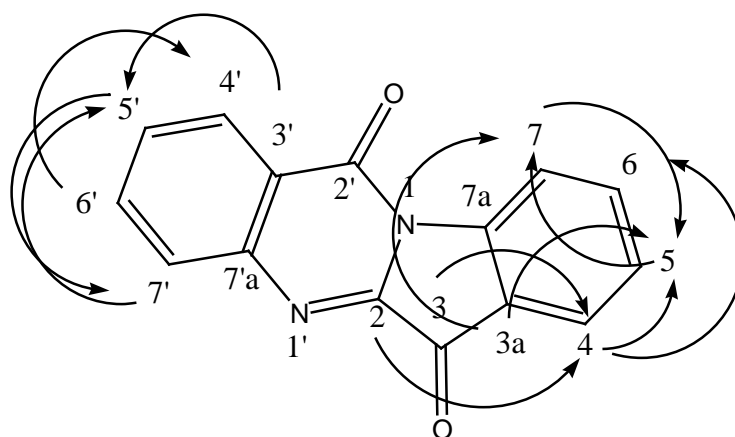
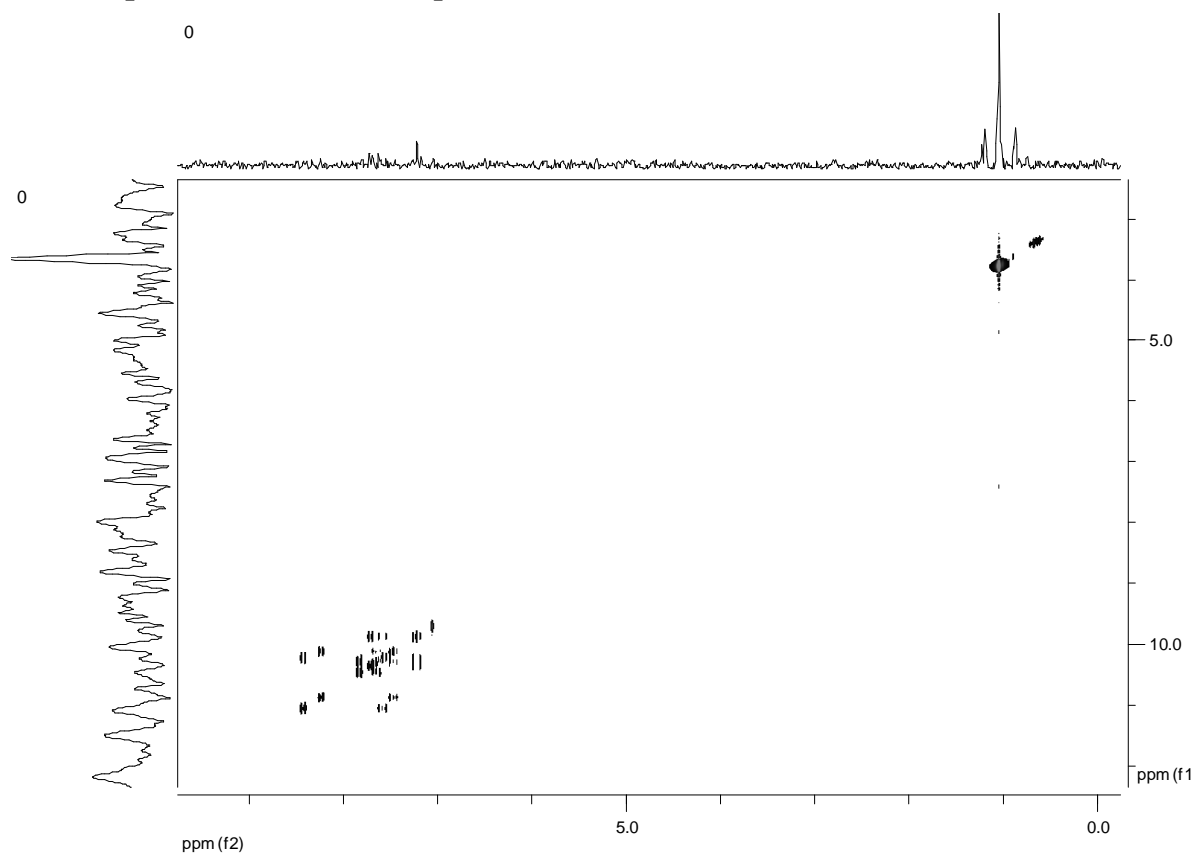
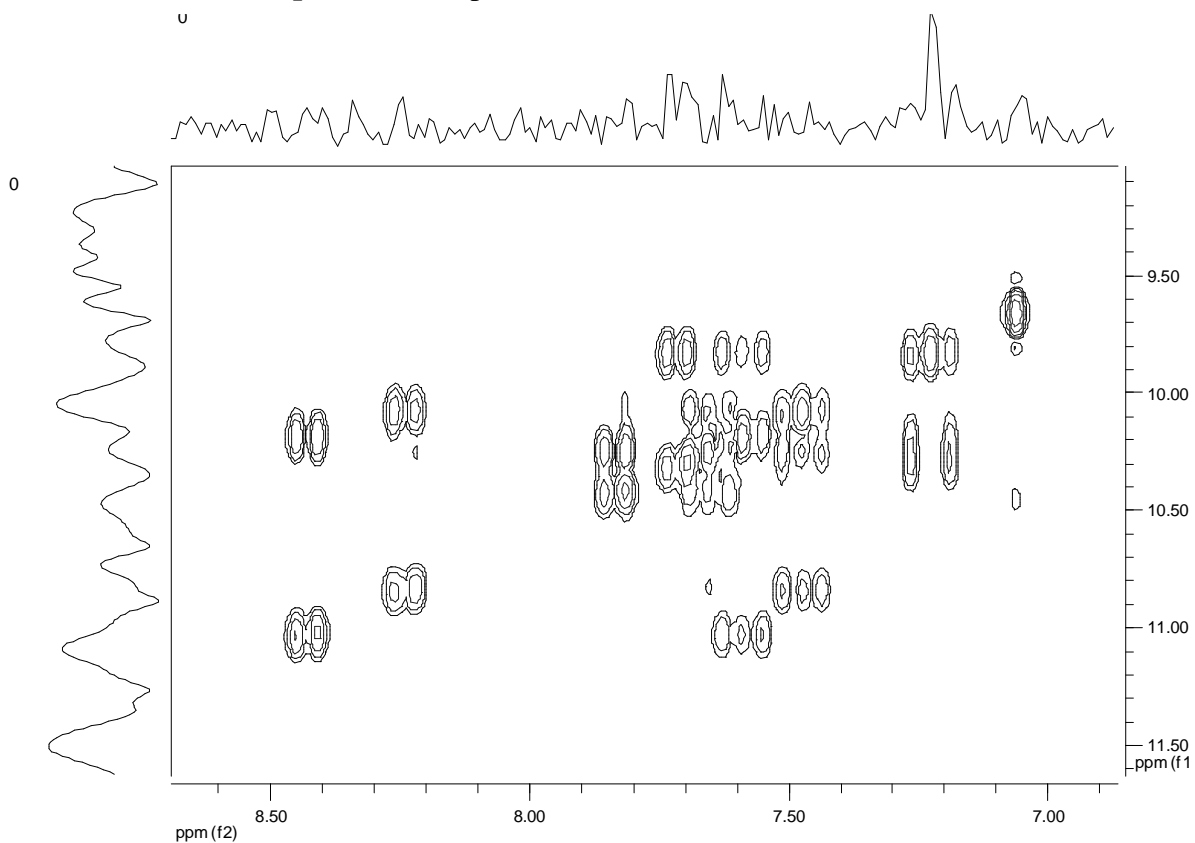


Figura 9: Relação entre carbono e hidrogênio mediante espectro 2D de HMBC, de FAFGC.

5.2.5. Espectros 2D de COSY, quadro e estrutura da amostra FAFGC



Espectro 14- Espectro 2D de COSY, de FAFGC em CDCl_3 .



Espectro 15- Ampliação do espectro 2D de COSY, de FAFGC em CDCl_3 .

Quadro 5: Relação entre hidrogênios mediante espectro 2D de COSY, de FAFGC.

Posição dos H de Referência	Posição do H
4	5
5	4, 6
6	5, 7
7	6
4'	5', 6'
5'	4', 6', 7'
6'	7'
7'	5', 6'

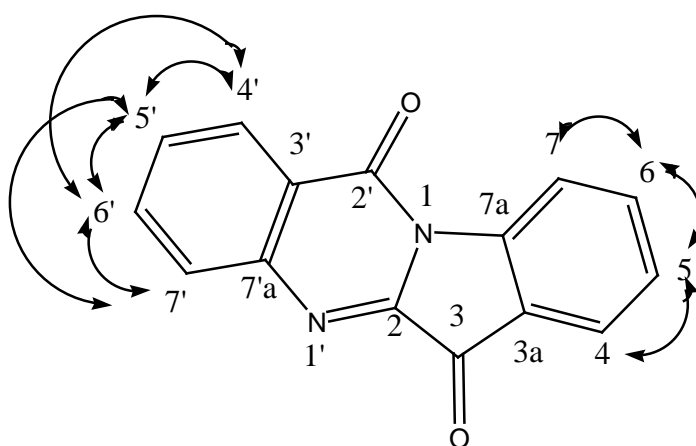
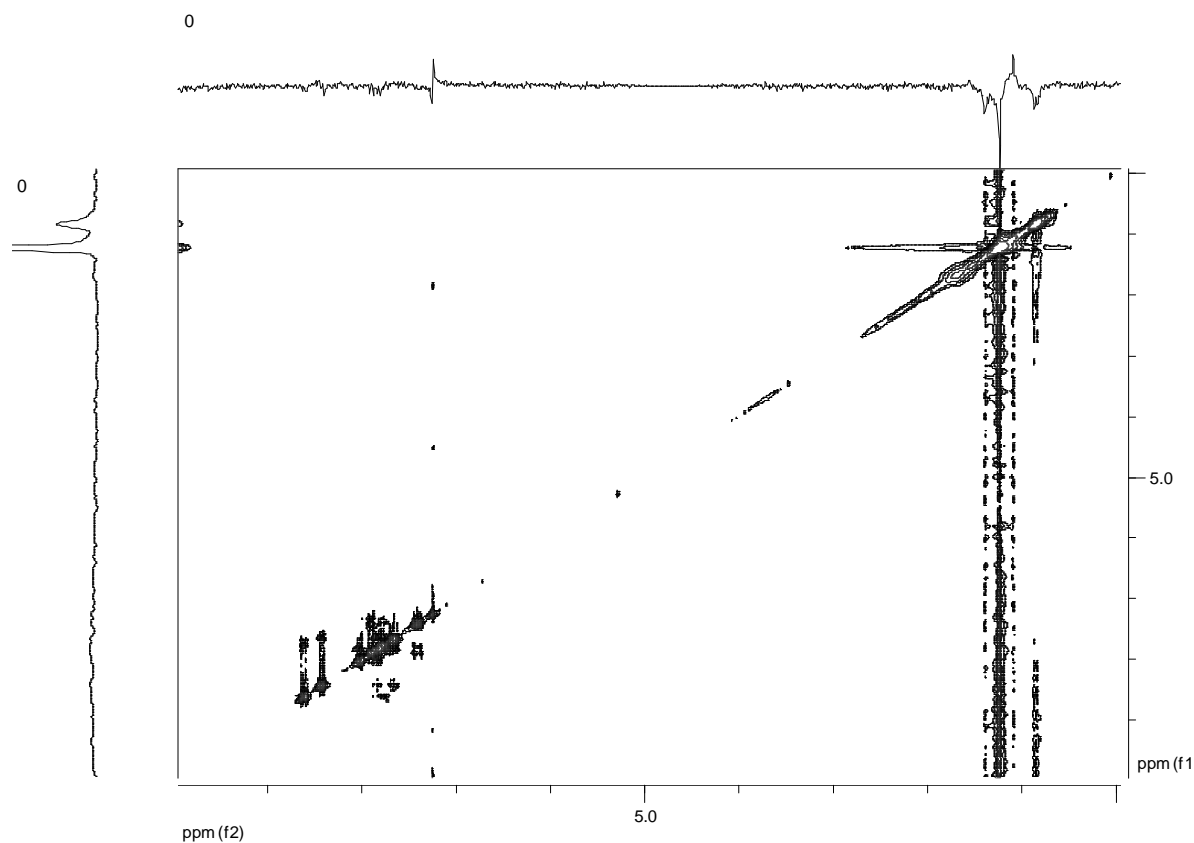
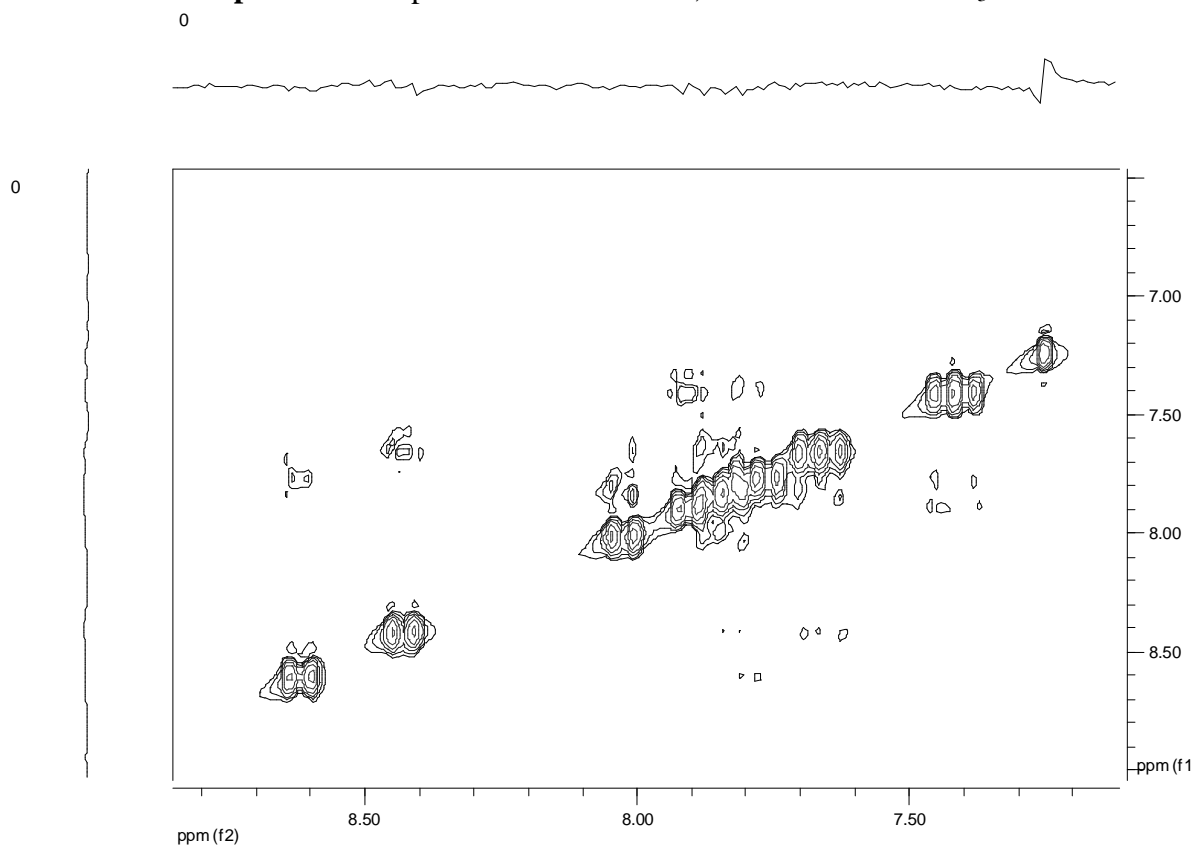


Figura 10: Relação entre hidrogênios mediante espectro 2D de COSY, de FAFGC.

5.2.6. Espectros 2D de NOESY, quadro e estrutura da amostra FAFGC:



Espectro 16- Espectro 2D de NOESY, de FAFGC em CDCl_3 .



Espectro 17- Ampliação do espectro 2D de NOESY, de FAFGC em CDCl_3 .

Quadro 6: Relação entre hidrogênios mediante espectro 2D de NOESY, de FAFGC.

Posição dos H de Referência	Posição do H
4	5
5	4, 6
6	5, 7
7	6
4'	5', 6'
5'	4', 6', 7'
6'	7'
7'	5', 6'

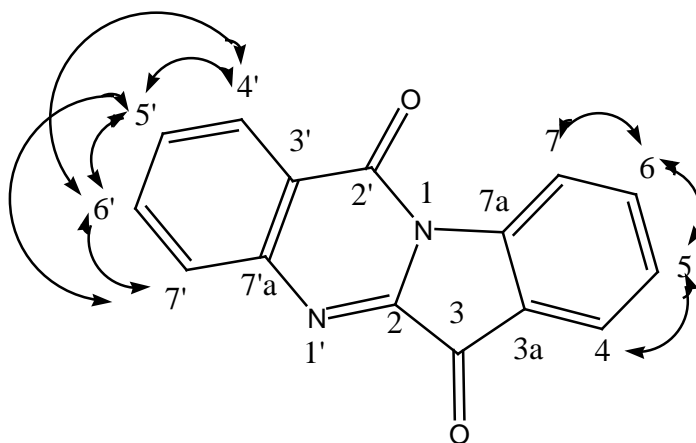
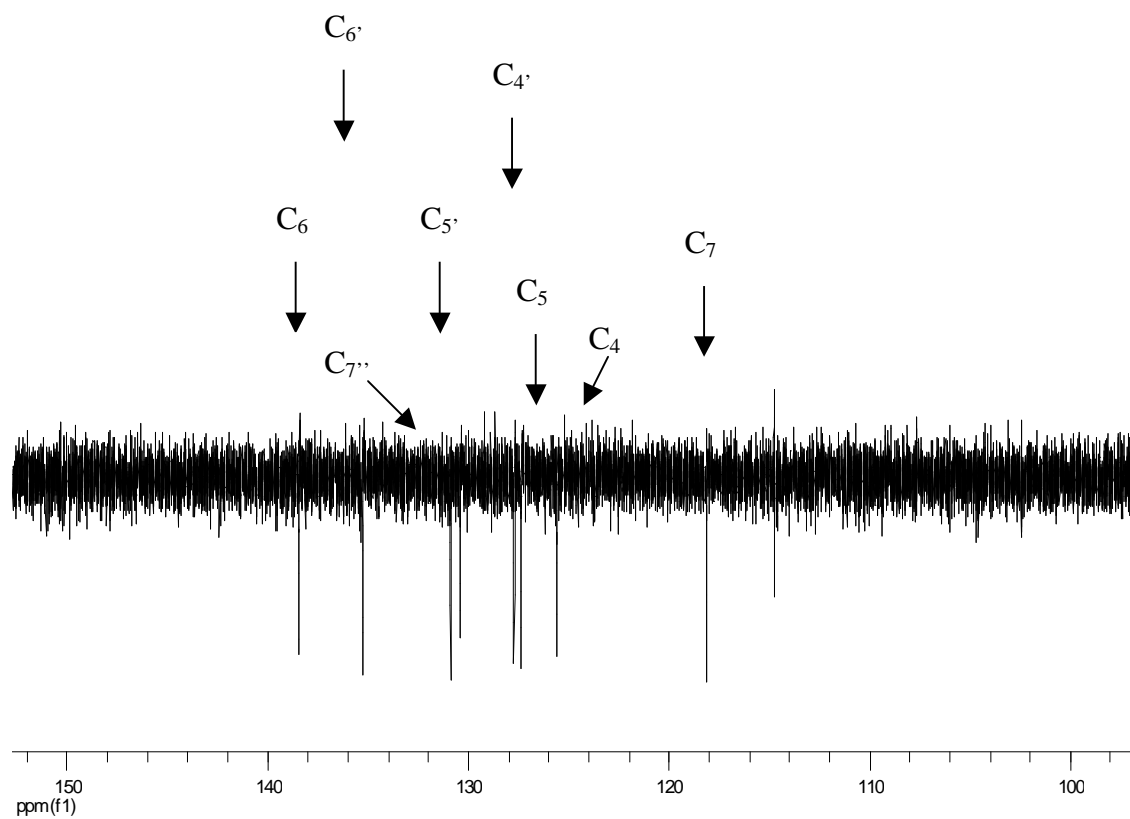
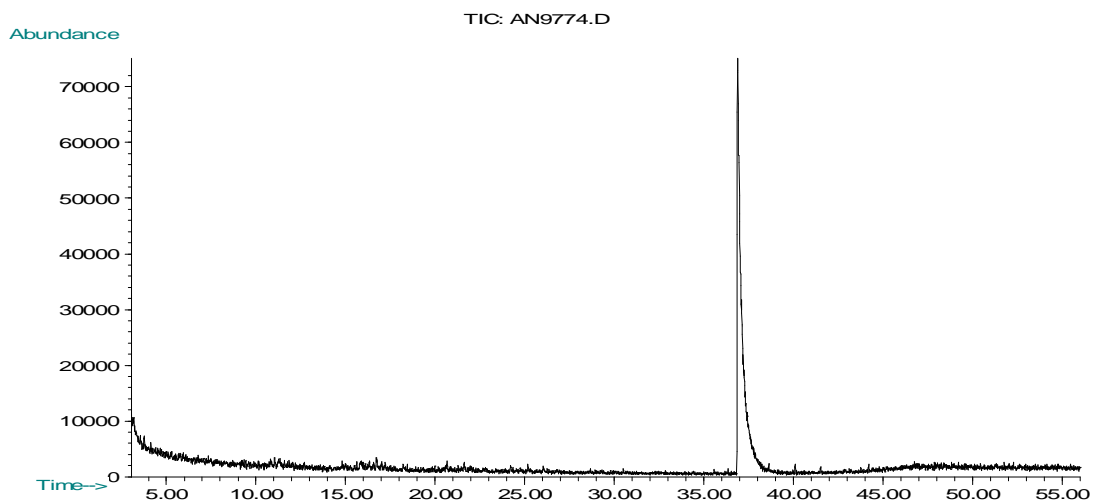


Figura 11: Relação entre hidrogênios mediante espectro 2D de NOESY, de FAFGC.

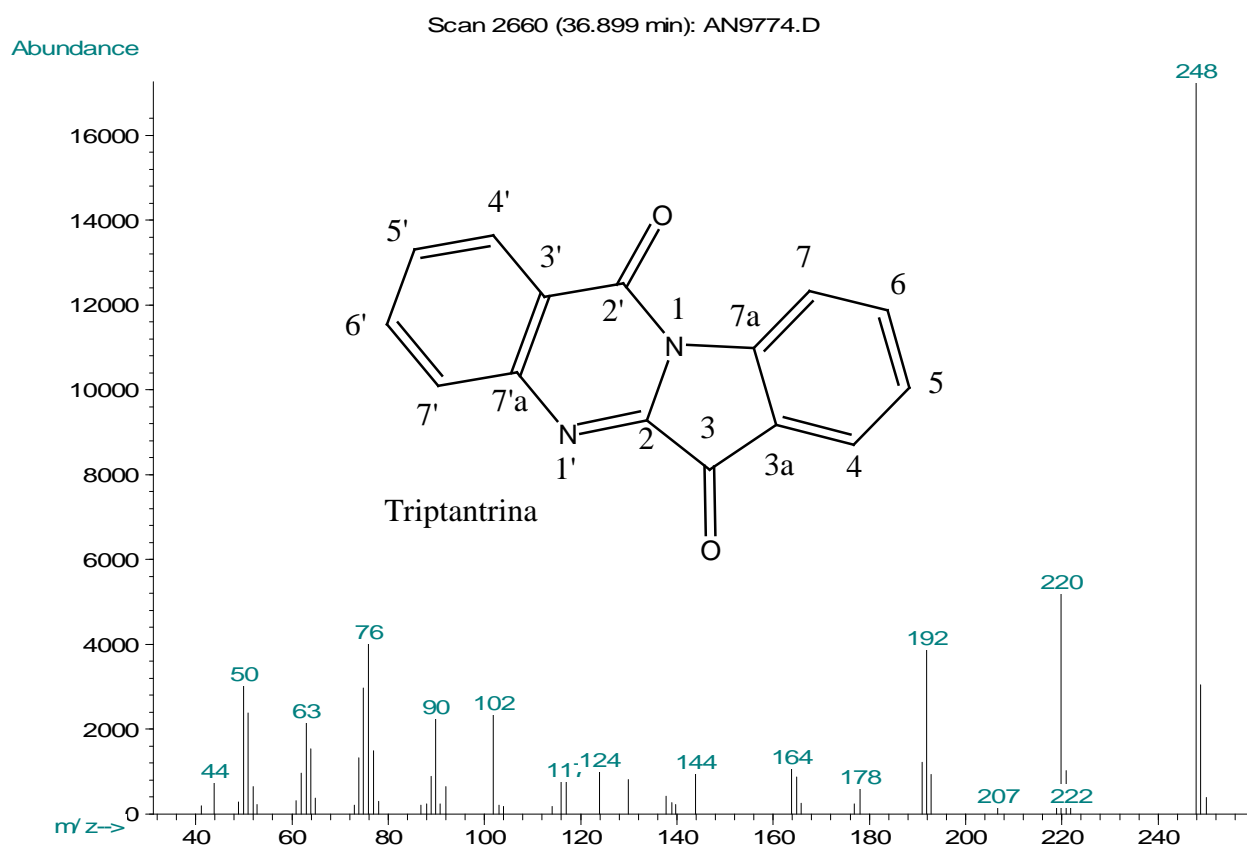
5.2.7. Espectros de DEPT da amostra FAFGC:

Espectro 18- Espectro de DEPT de FAFGC em CDCl₃, com atenuação suficiente para verificar sinais.

5.2.8. Cromatograma e Espectro de Massas da Amostra FAFCG de Folhas de *Couropita guianensis*:



Cromatograma 2 – Cromatograma da amostra FAGC de folhas de *Couropita guianensis*.



Espectro 19– Espectro de massas da amostra FAGC de folhas de *Couropita guianensis*.

5.3. 4-alil-2-metoxi-fenol (Eugenol):

A partição em hexano das flores forneceu, após sucessivas cromatografias em coluna de gel de sílica (Esquema 5, pág. 19), uma substância oleosa de cor laranja e odor característico nas frações 14-15 da coluna FLHC (junção FLHCA). Solúvel em hexano e clorofórmio passou por purificação cromatográfica em coluna de gel de sílica. A cromatografia com fase gasosa (Cromatograma 3, pág. 62) evidencia o grau de pureza dessa amostra. Seu espectro de massas (Espectro 26, pág. 62) mostrou um sinal em m/z 164 relativo a um íon molecular compatível com a fórmula $C_{10}H_{12}O_2$. A análise dos dados espectrométricos de RMN de 1H e ^{13}C permitiu sugerir para a substância a seguinte estrutura:

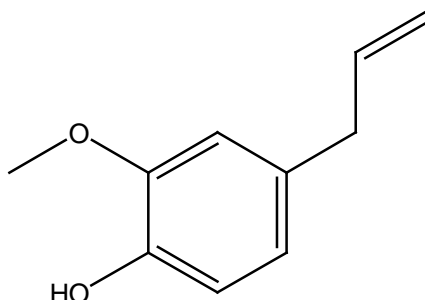


Figura 12: Eugenol

O espectro de RMN 1H de FLHCA em $CDCl_3$ (Espectros 20, 21, 22, 23 e 24, pág. 58, 59 e 60) mostra a presença de sinais relativos aos 3 hidrogênios aromáticos da estrutura: δ 6,67 (*quint.*; J 6,50; 3,58; 3,41; 1,71 Hz, H_5), 6,82 (H_3), 6,86 (H_6), a 1 metila: δ 3,87 (*s*, H_{10}), a 3 hidrogênios olefínicos, δ 5,02 (*t*; J 1,19 Hz, H_9), 5,09 (*ddd*; J 3,41; 3,24; 1,71; 1,19 Hz, H_{9b}), 5,95 (*ddt*; J 6,66; 6,50; 3,58; 3,41; 3,24 Hz, H_8), dois hidrogênios metilênicos δ 3,32 (*d*, J 6,66 Hz, H_7) e um hidrogênio referente a hidroxila δ 5,49 (*s*). A atribuição dos sinais de hidrogênio foi feita por comparação com os valores encontrados na literatura para o eugenol

(RMN ^1H , CDCl_3 , 90 MHz) (SAITO, AIST - Spectral Database for Organic Compounds, SDBS) (Quadro 7, pág. 56).

O espectro de RMN ^{13}C de FLHCA (Espectro 25, pág. 61) apresenta um total de 10 sinais de carbono. Os sinais relativos aos carbonos aromáticos são: δ 114,46 (C_3); 115,49 (C_6); 121,26 (C_5); 131,94 (C_4); 144,03 (C_1) e 146,6 (C_2) e os sinais relativos à ligação dupla em δ 111,19/137,97 ($\text{CH}=\text{CH}_2$). A atribuição dos sinais de carbono foi feita por comparação com os valores encontrados na literatura para o eugenol (RMN ^{13}C , CDCl_3 , 15 MHz) (SAITO, AIST - Spectral Database for Organic Compounds, SDBS) (Quadro 7, pág.56).

Quadro 7: Dados espectrais de RMN da Substância FLHCA, e do Eugenol obtidos na literatura (SAITO, AIST - Spectral Database for Organic Compounds, SDBS).

	Eugenol	Substância		Eugenol	Substância FLHCA
#C	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{13}\text{C}$	#H	$\delta^1\text{H}$	$\delta^1\text{H}$ (mult., <i>J</i> em Hz)
1	144,03	143,98	1(OH)	5,53	5,49 (<i>s</i>)
2	146,60	146,39	2	-	-
3	114,46	114,33	3	6,66	6,82
4	131,94	132,00	4	-	-
5	121,26	121,14	5	6,67	6,67 (<i>quint.</i> ; 3,58; 3,41; 1,71)
6	115,49	115,69	6	6,82	6,86
7	36,92	40,11	7	3,29	3,32 (<i>d</i> ; 6,66)
8	137,91	137,97	8	5,91	5,95 (<i>ddt</i> ; 6,66; 3,58; 3,41; 3,24)
9	111,28	111,19	9a	5,04	5,02 (<i>t</i> ; 1,19)
-	-	-	9b	5,06	5,09 (<i>ddd</i> ; 3,41; 3,24; 1,71; 1,19)
10	55,84	56,13	10	3,81	3,87 (<i>s</i>)

CG/EM (Eugenol): TR/min: 29,526

EM-EI m/z (%): 164 [M] $^{+\bullet}$ (2,7); 150 (4,5); 135 (5,8); 123 (6,7); 109 (18,3); 95 (41,5);

81 (71,4); 67 (99,1); 55 (72,3); 41 (100,0).

O espectro de RMN ^1H apresenta quatro singletos com δ 6,82; 6,86 ppm que estão dentro da faixa de hidrogênios aromáticos (δ 6,00-9,00 ppm), um com δ de 5,49 ppm referente a deslocamento de hidrogênio de hidroxila e δ 3,87 ppm que pela intensidade e deslocamento do sinal, sugere ser uma metila ligada a heteroátomo.

Os sinais em δ 5,95; 5,09 e 5,02 ppm sugerem serem hidrogênios referentes a olefina (δ 4,5-7,5 ppm), onde pelo J de 1,19 Hz os sinais de δ 5,02 e 5,09 ppm seriam geminais.

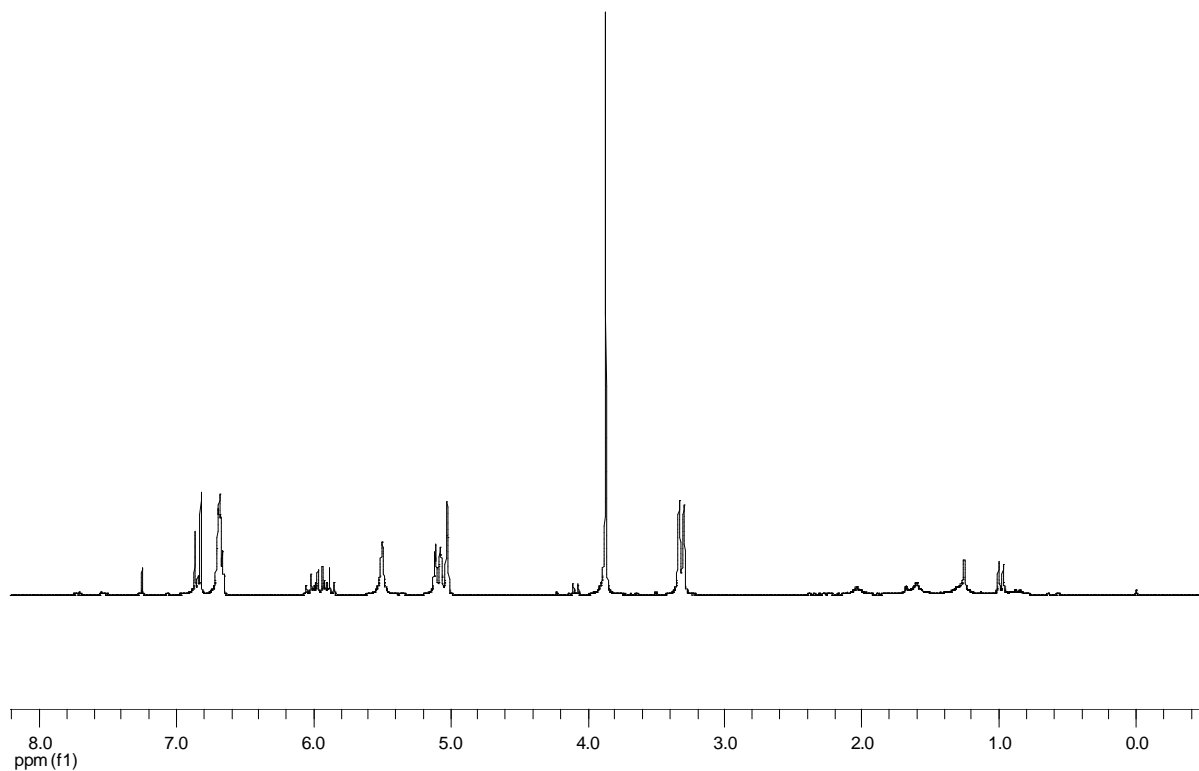
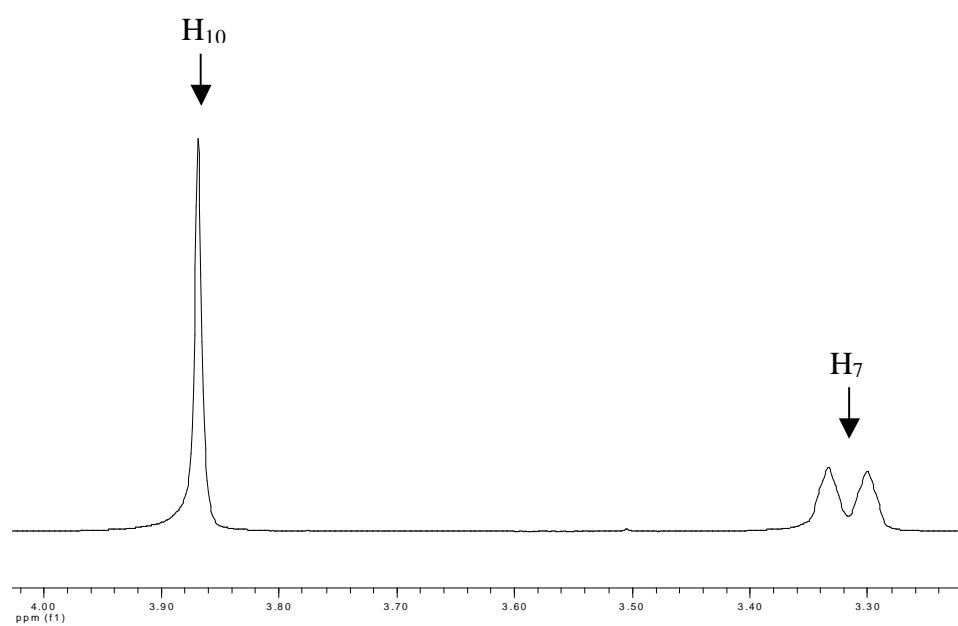
O sinal com δ de 6,67 ppm, que está na faixa de hidrogênio aromático, apresenta dois acoplamentos (J de 3,58 e 3,41 Hz) com o sinal de δ 5,95 ppm, que por acoplamento (J 6,66 Hz) interage com o sinal em δ 3,32.

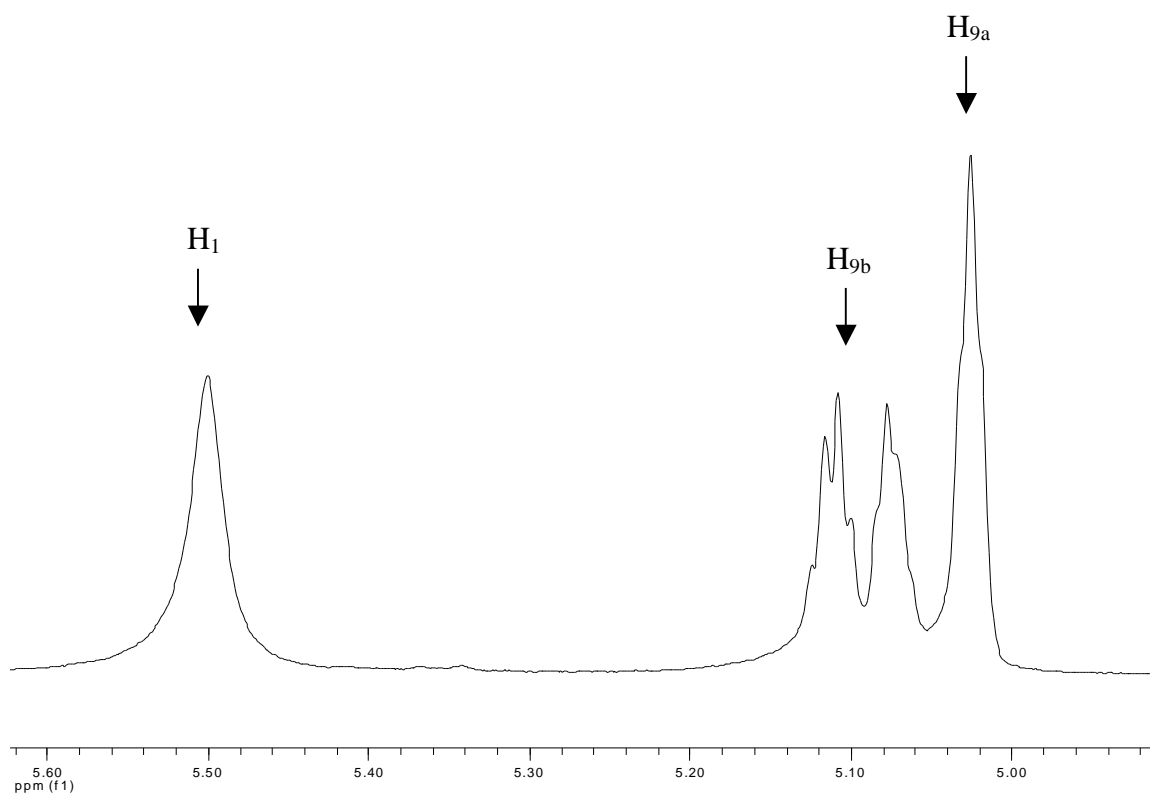
Os sinais com δ de 146,39; 143,98; 137,97; 132,00; 115,69; 114,33, 121,14 e 111,19 ppm são característicos de alcenos (δ 95-155 ppm).

O sinal de δ 56,13 ppm está dentro da faixa de metila ligada a heteroátomo (δ 55-65 ppm) e o sinal de δ 40,11 ppm está na faixa de metileno δ 15-50 ppm.

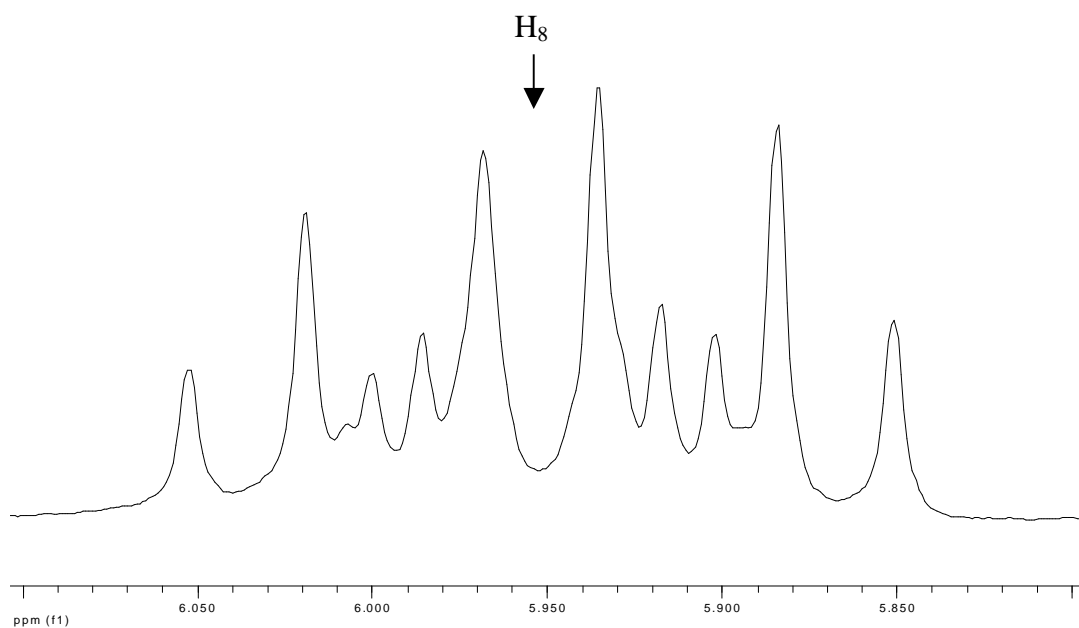
A comparação dos dados do espectro de RMN ^1H e RMN ^{13}C obtidos da amostra FLHCA com dados da literatura (SAITO, AIST - Spectral Database for Organic Compounds, SDBS), assim como o íon molecular obtido, por espectrometria de massas, demonstram que a substância isolada, trata-se do Eugenol.

O Eugenol já foi isolada de outras plantas e caracterizado na espécie estudada (WONG & TIE, 1995; ANDRADE *et al.*, 2000), porém é pela primeira vez isolado nessa.

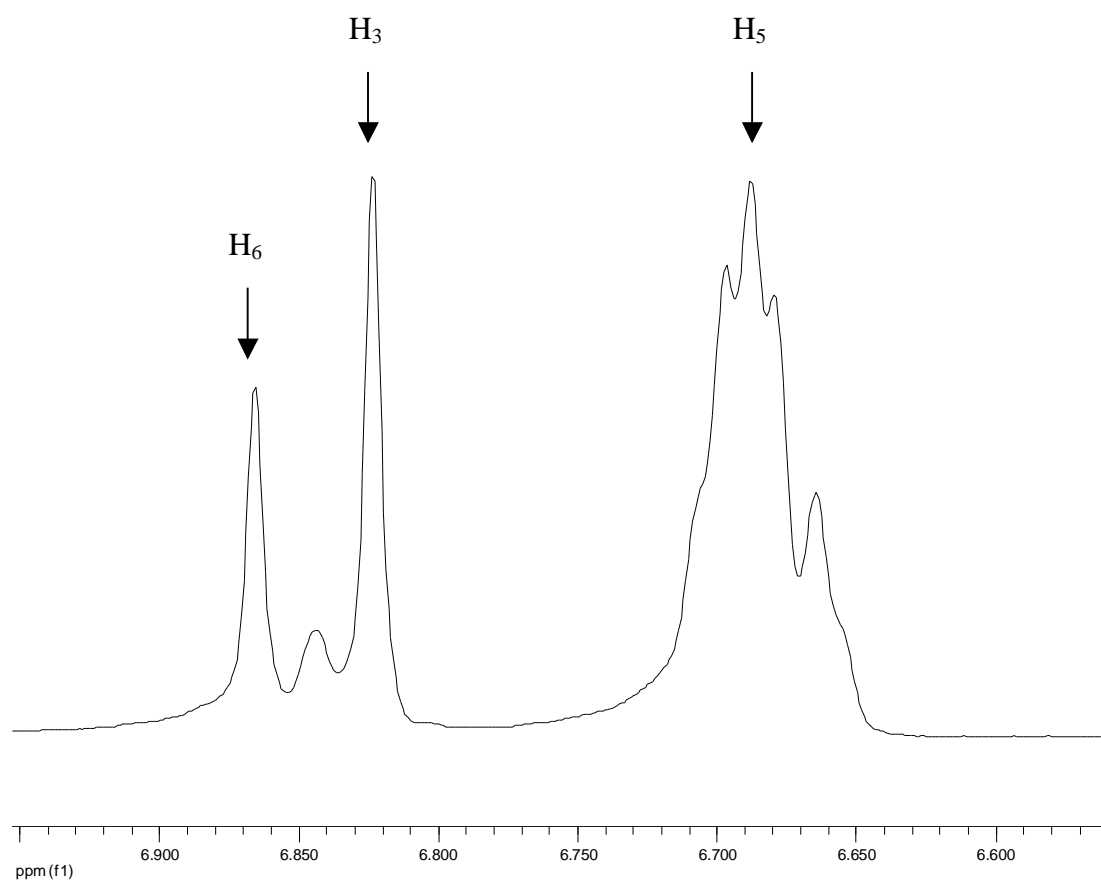
5.3.1. Espectros de RMN ^1H da amostra FLHCA:**Espectro 20** – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz) de FLHCA em CDCl_3 .**Espectro 21**- Expansão da região de δ (ppm) 3,3 – 4,0 do espectro de RMN ^1H (300 MHz) de FLHCA em CDCl_3 .



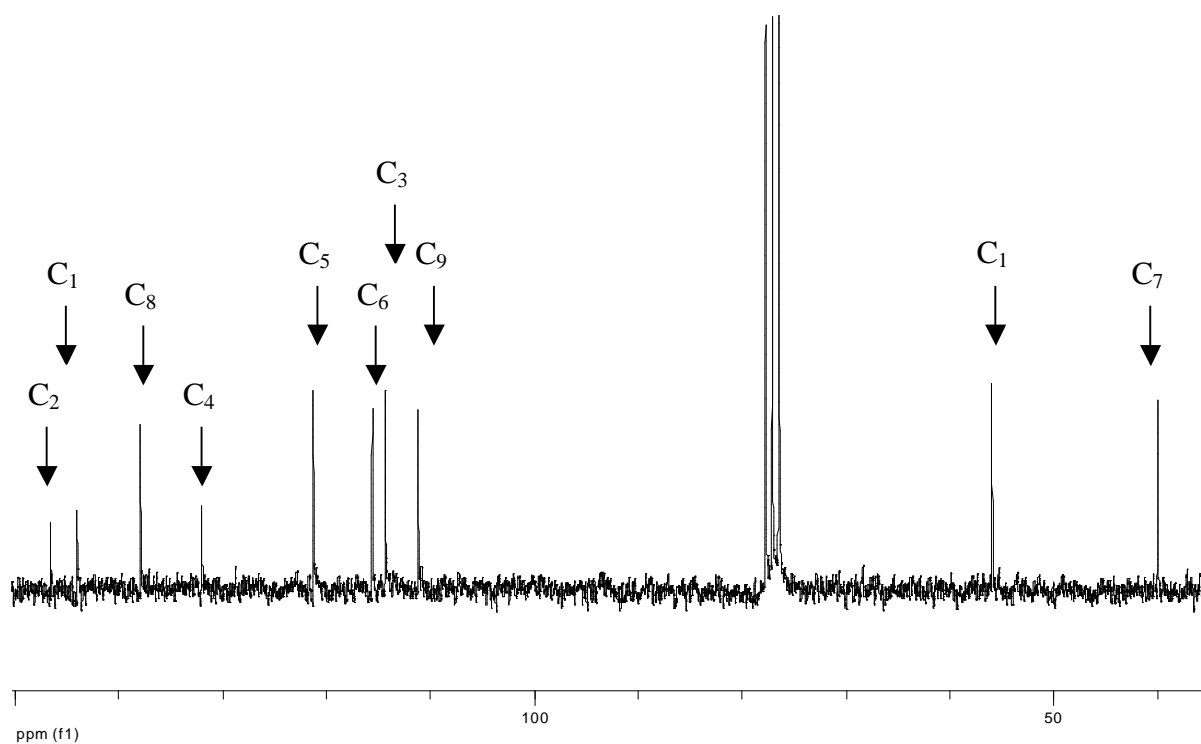
Espectro 22- Expansão da região de δ (ppm) 5,0 – 5,6 do espectro de RMN ¹H (300 MHz) de FLHCA em CDCl₃.



Espectro 23- Expansão da região de δ (ppm) 5,85 - 6,05 do espectro de RMN ¹H (300 MHz) de FLHCA em CDCl₃.

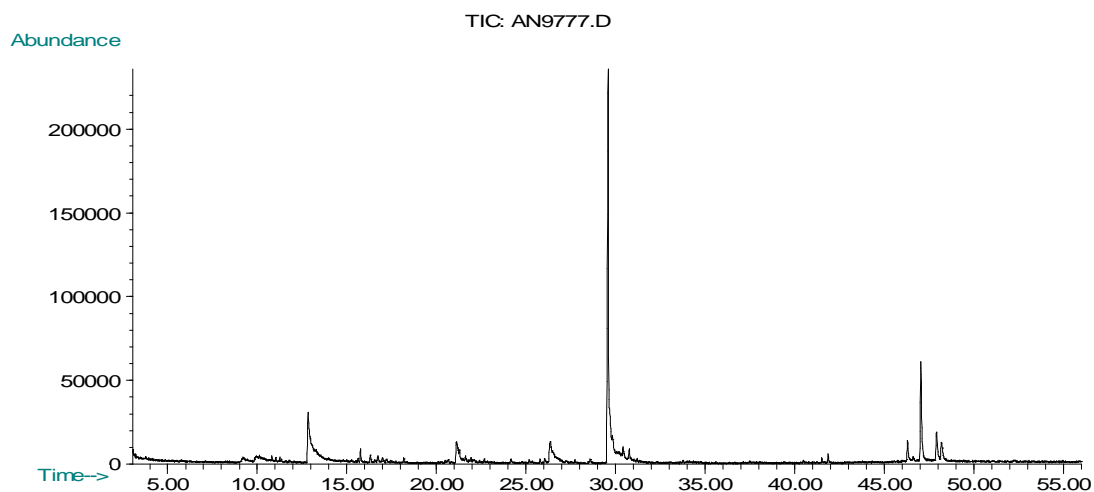


Espectro 24- Expansão da região de δ (ppm) 6,6 – 6,9 do espectro de RMN ^1H (300 MHz) de FLHCA em CDCl_3 .

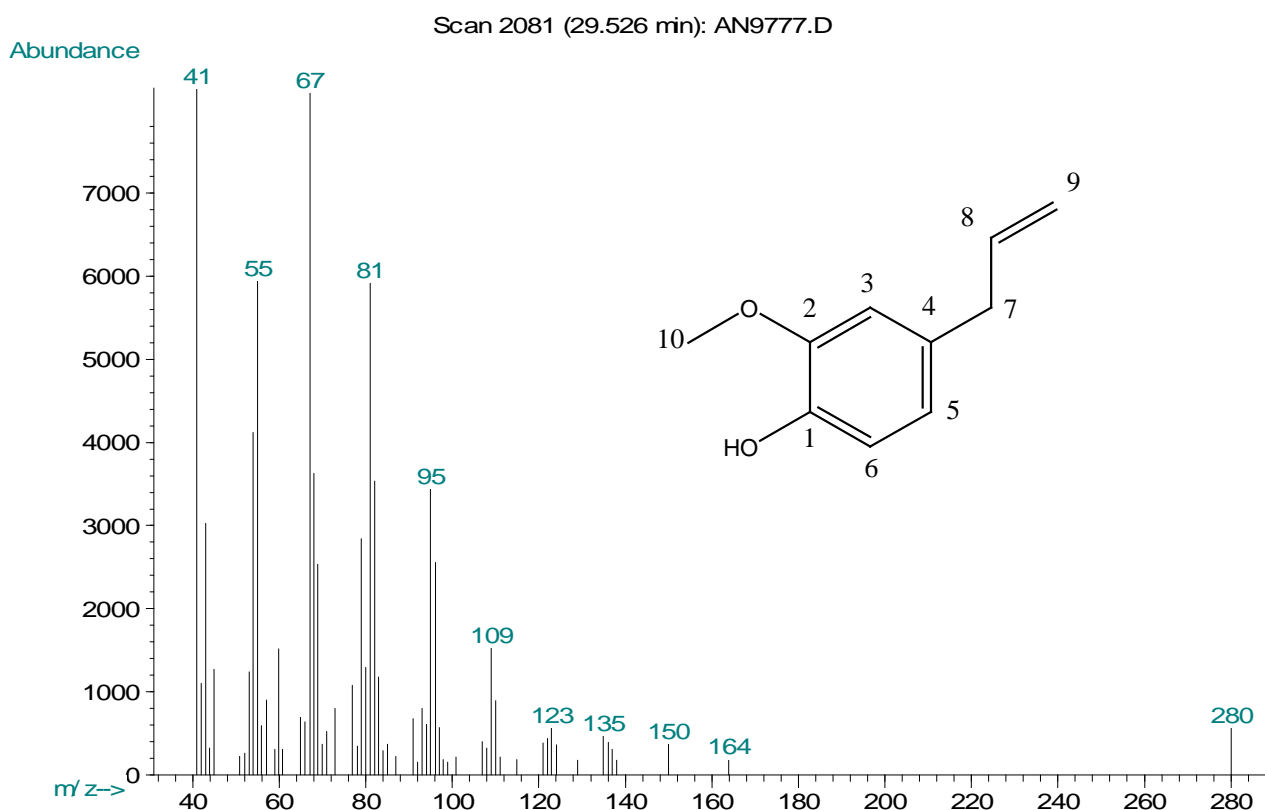
5.3.2. Espectros de RMN ^{13}C da amostra FLHCA:

Espectro 25- Expansão da região de δ (ppm) 40 – 150 do espectro de RMN ^{13}C (300 MHz) de FLHCA em CDCl_3 .

5.3.3. Cromatograma e Espectro de Massas da Amostra FLHCA de Flores de *Couropita guianensis*:



Cromatograma 3 – Cromatograma da amostra FLHCA de flores de *Couropita guianensis*.



Espectro 26– Espectro de massas da amostra FLHCA de flores de *Couropita guianensis*.

5.4. 24-etil-5 α -colesta-7,22-dieno:

A partição em hexano das flores forneceu, após cromatografia em coluna de gel de sílica (Esquema 6, pág. 20), uma substância cristalina com cristais aciculares ligeiramente acinzentados, na fração 16. Insolúvel em hexano e totalmente solúvel em acetato de etila e clorofórmio (fornecendo solução violeta escura), a substância sofreu purificação primeiramente por cromatografia em coluna de gel de sílica e posteriormente por sucessivas recristalizações. A cromatografia com fase gasosa (Cromatograma 4, pág. 72) evidencia o grau de pureza dessa amostra. Seu espectro de massas (Espectro 36, pág. 72) mostrou um sinal em m/z 412 relativo a um íon molecular compatível com a fórmula $C_{29}H_{48}O$. A análise dos dados espectrométricos de RMN de 1H e ^{13}C permitiu sugerir para a substância a seguinte estrutura:

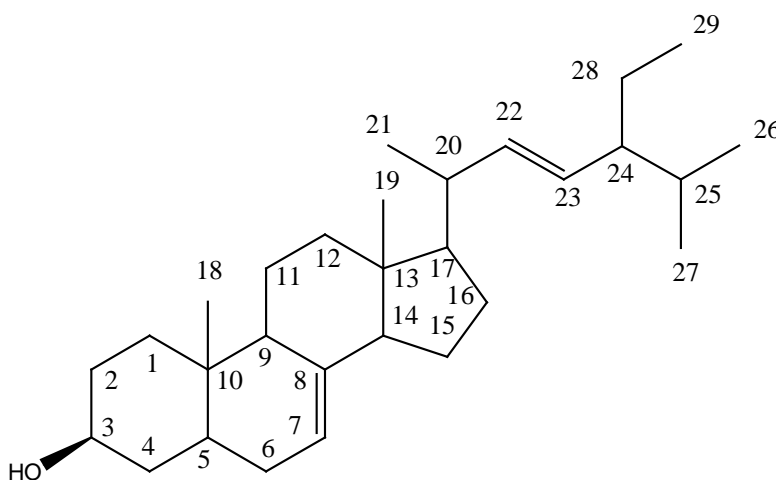


Figura 13: 24-etil-5 α -colesta-7,22-dieno.

O espectro de RMN 1H de FLHE em $CDCl_3$ (Espectros 27, 28 e 29, pág. 67 e 68) mostra a presença de sinais relativos a 6 metilas: δ 0,56 (3H, *s*, H_{18}), 0,80 (*d*, J 7,0 Hz, H_{26}),

0,81 (3H, *s*, H₁₉), 0,81 (*t*, *J* 6,5 Hz, H₂₉), 0,85 (*d*, *J* 6,5 Hz, H₂₇), 1,03 (*d*, *J* 6,7 Hz, H₂₁), a 3 hidrogênios olefínicos, δ 5,02 (*dd*, *J* 7,9 e 15,3 Hz, H₂₂), 5,17 (*dd*, *J* 8,2 e 14,2 Hz H₂₃), 5,11 (*m*, H₇) e ainda um multiplete em δ 3,60 relativo ao hidrogênio carbinólico (H₃).

Com base nos dados obtidos de RMN de ¹H FLHE demonstra ter a estrutura de um 24-etil-5 α -colesta-7,22-dieno. São conhecidas duas substâncias nestas condições, sendo epímeros em C₂₄, Chondrillasterol e Espinasterol.

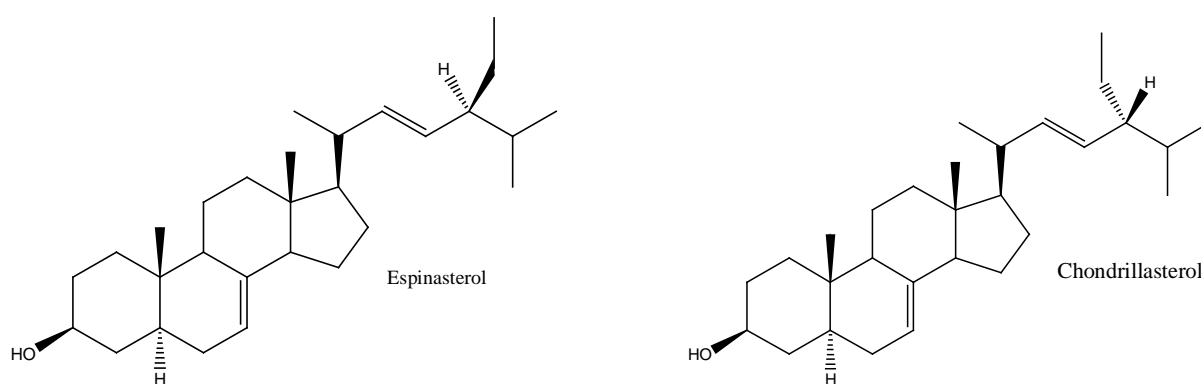


Figura 14: Espinasterol e Chondrillasterol.

A comparação dos dados espectrométricos de RMN ¹H de FLHE com os das duas substâncias encontradas na literatura (RMN ¹H, CDCl₃, 270 MHz) (SUCROW *et al.*, 1976) encontra-se no Quadro 8 (pág., 65).

Quadro 8: Dados espectrais de RMN da Substância FLHE, do Espinasterol e do Chondrillasterol obtidos na literatura (SUCROW *et al.*, 1976 e FURUYA *et al.*, 1990).

#H	Espinasterol		Chondrillasterol		Substância	
	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}(\text{mult.}, J \text{ em Hz})$	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}(\text{mult.}, J \text{ em Hz})$	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}(\text{mult.}, J \text{ em Hz})$
1	36,8		36,8		37,2	
2	27,5		27,5		31,6	
3	73,5		73,5		71,2	3,60 (<i>m</i>)
4	33,8		33,8		38,1	
5	40,1		40,1		40,4	
6	29,5		29,5		29,7	
7	117,3		117,3		117,6	5,11 (<i>m</i>)
8	139,5		139,5		139,6	
9	49,3		49,3		49,6	
10	34,2		34,2		34,3	
11	21,5		21,5		21,5	
12	39,4		39,4		39,6	
13	43,3		43,3		43,4	
14	55,1		55,1		55,2	
15	23,0		23,0		23,1	
16	28,5		28,4		28,6	
17	55,9		55,9		56,0	
18	12,1	0,55 (<i>s</i>)	12,1	0,54 (<i>s</i>)	12,1	0,56 (<i>s</i>)
19	13,0	0,81 (<i>s</i>)	13,0	0,81 (<i>s</i>)	13,1	0,81 (<i>s</i>)
20	40,8		40,8		40,9	
21	21,1	1,03 (<i>d</i> ; 6,6)	21,0	1,03 (<i>d</i> ; 6,5)	21,2	1,03 (<i>d</i> ; 6,7)
22	138,1		138,1		138,2	5,02 (<i>dd</i> ; 7,9; 15,3)
23	129,4		129,4		129,5	5,17 (<i>dd</i> ; 8,2; 14,2)
24	51,2		51,2		51,3	
25	31,9		31,9		32,0	
26	21,5	0,80 (<i>d</i> ; 7,0)	19,0	0,79 (<i>d</i> ; 7,0)	21,6	0,80 (<i>d</i> ; 7,0)
27	19,0	0,85 (<i>d</i> ; 6,5)	21,5	0,84 (<i>d</i> ; 6,5)	19,1	0,85 (<i>d</i> ; 6,5)
28	25,4		25,4		25,5	
29	12,3	0,81 (<i>t</i> ; 6,5)	12,5	0,81 (<i>t</i> ; 7,2)	12,3	0,81 (<i>t</i> ; 6,5)

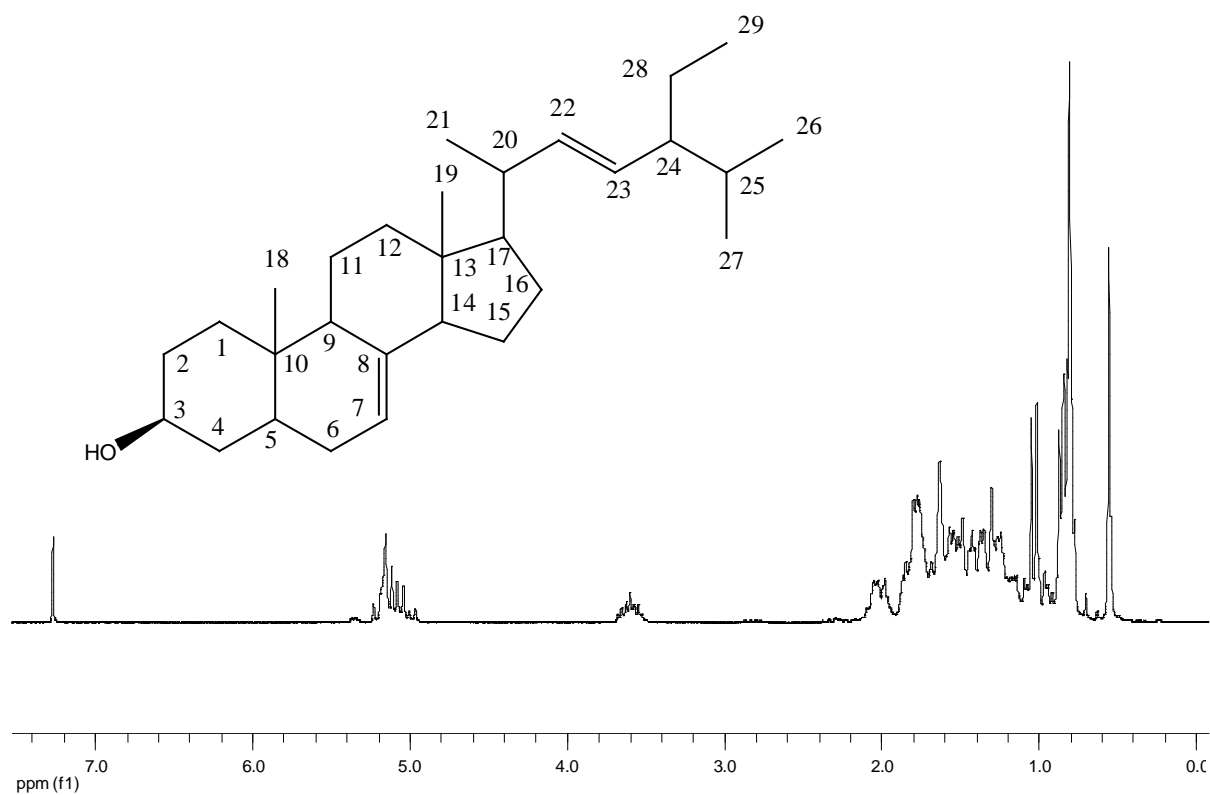
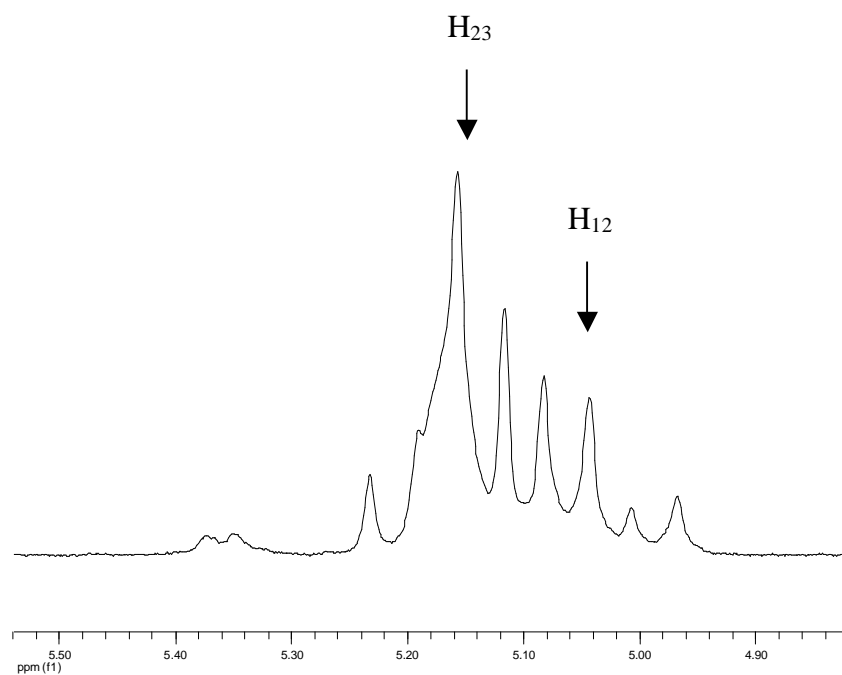
CG/EM (Espinasterol): TR/min: 47,074

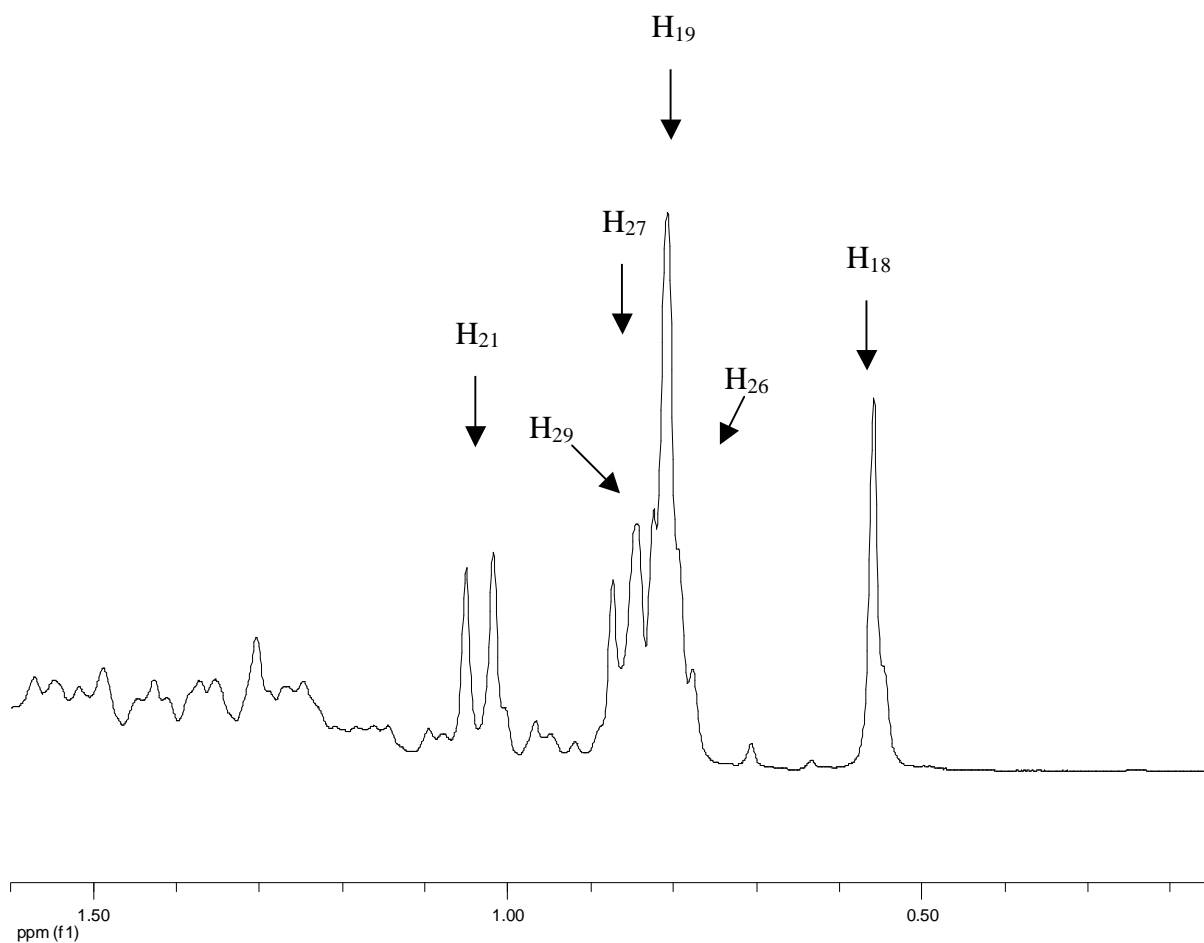
EM-EI m/z (%): 412 [M]⁺ (16,2); 397 (5,2); 369 (5,2); 351 (2,9); 327 (1,4); 300 (9,0); 271 (6,9); 246 (10,5); 213 (9,5); 187 (4,8); 173 (9,5); 147 (17,6); 119 (17,6); 107 (37,1); 81 (64,8); 55 (100); 43 (96,2).

O espectro de RMN ^{13}C de FLHE (Espectros 30, 31, 32, 33, 34 e 35 pág. 69, 70 e 71) apresenta um total de 29 sinais de carbono. Os sinais relativos as duas ligações duplas em δ 117,6/139,6 (CH=C) e 129,5/138,2 (CH=CH) estão de acordo ao esperado para um esteróide tetracíclico, perfazendo um total de 6 insaturações, compatível com a fórmula molecular $\text{C}_{29}\text{H}_{48}\text{O}$. A atribuição dos sinais de carbono foi feita por comparação com os valores encontrados na literatura para o Espinasterol e o Chondrillasterol (Quadro 8, pág 65) (RMN ^{13}C , CDCl_3 , 67,5 MHz) (FURUYA *et al.*, 1990).

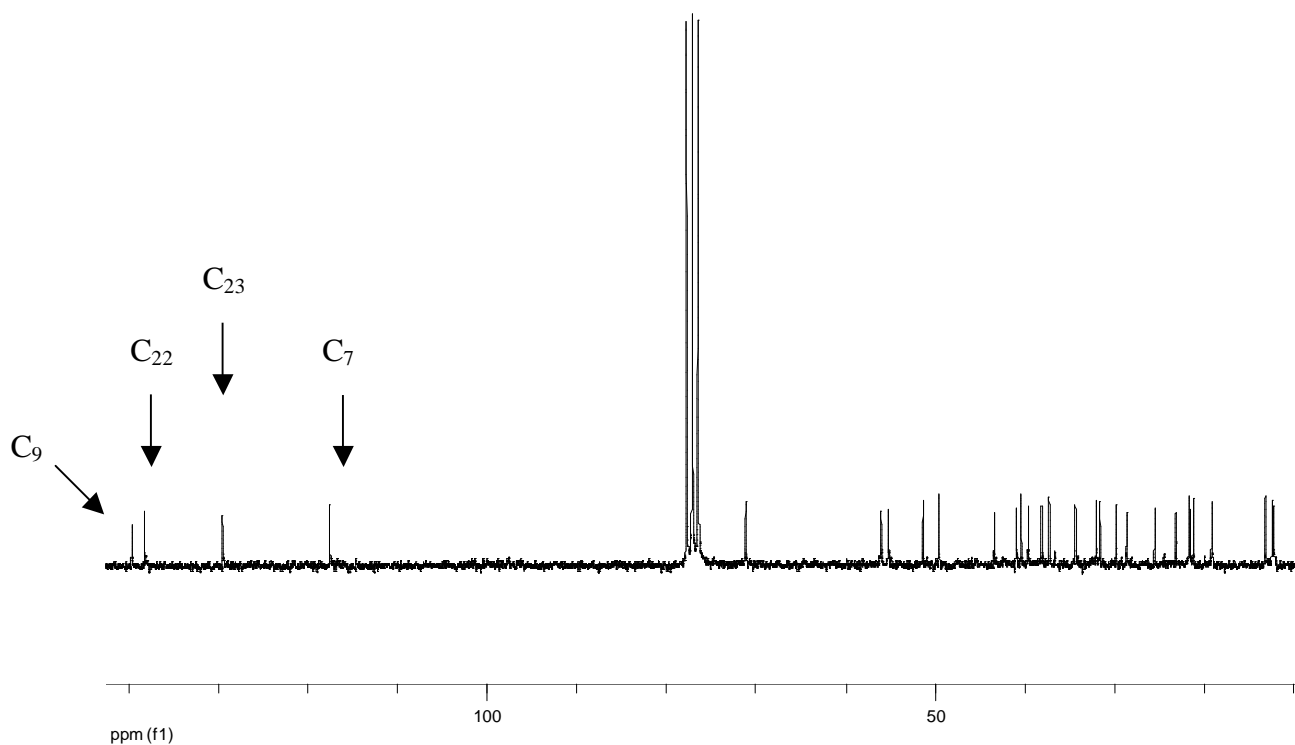
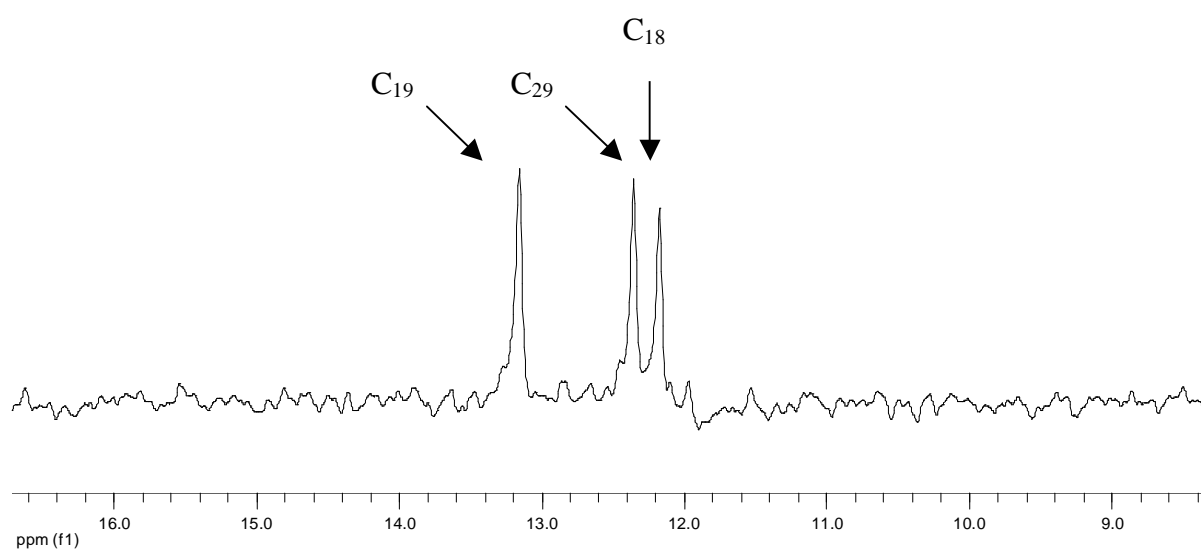
A comparação dos dados do espectro de RMN ^1H e RMN ^{13}C obtidos da amostra FLHE com dados da literatura (SUCROW *et al.*, 1976 e FURUYA *et al.*, 1990), o íon molecular obtido, por espectrometria de massas, assim como a análise da estrutura do Espinasterol e do Chondrillasterol, que apresenta rotação ótica no carbono 24, demonstram que a substância isolada não pode ser caracterizada pelos dados obtidos, podendo-se afirmar somente quanto ao seu esqueleto, que é o 24-etil-5 α -colesta-7,22-dieno,

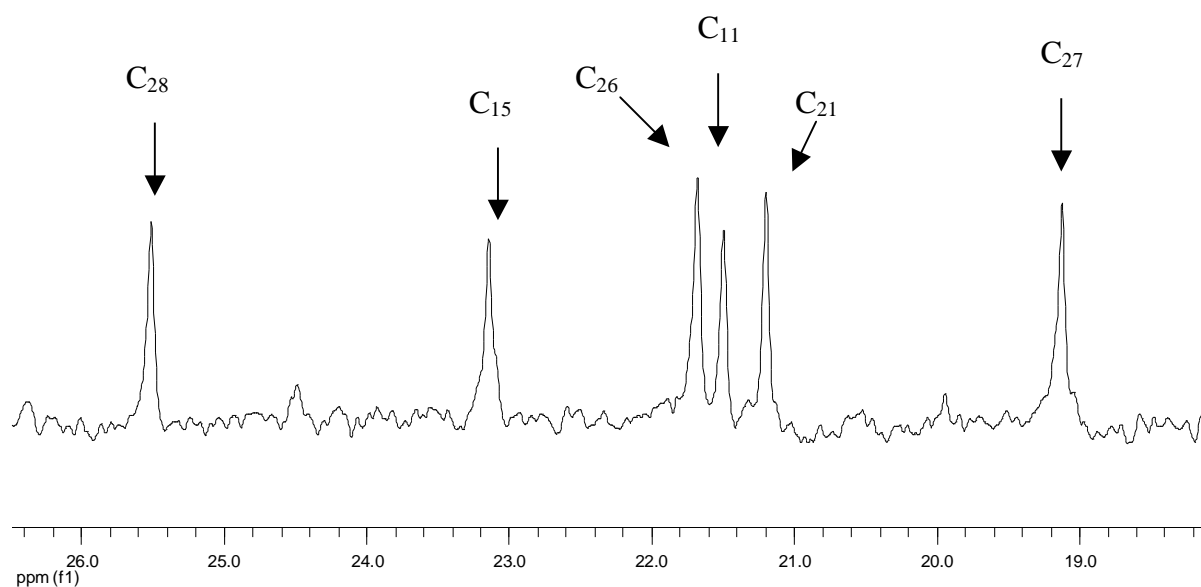
Este esqueleto já foi isolado de outras plantas, porém é pela primeira vez descrito nessa espécie.

5.4.1. Espectros de RMN ^1H da amostra FLHE:Espectro 27 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz) de FLHE em CDCl_3 .Espectro 28- Expansão da região de δ (ppm) 4,90 – 5,50 do espectro de RMN ^1H (300 MHz) de FLHE em CDCl_3 .

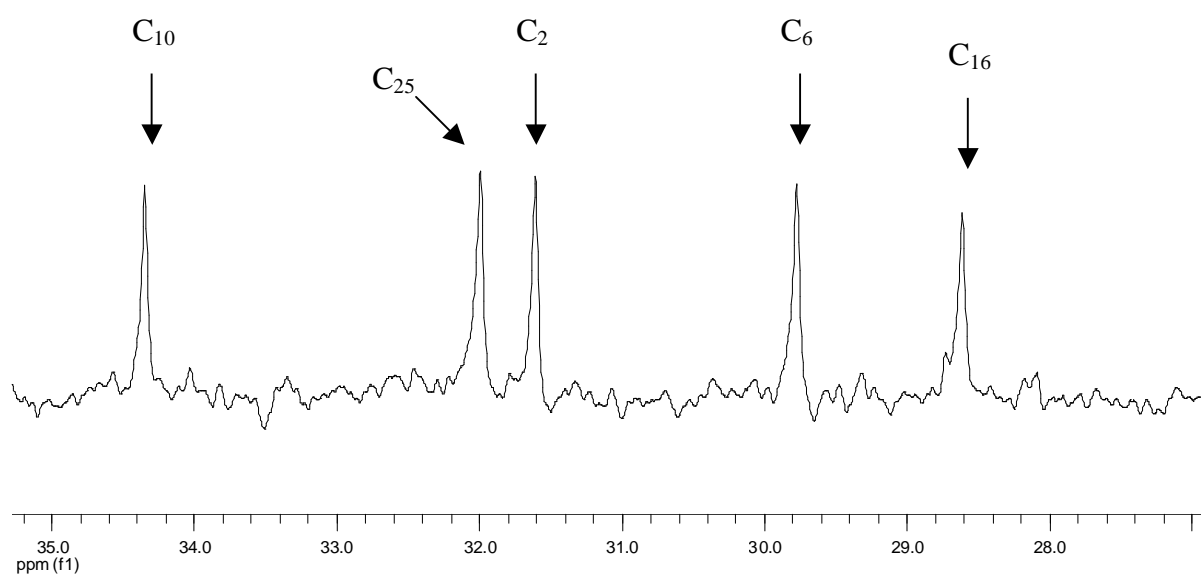


Espectro 29- Expansão da região de δ (ppm) 0,50 – 1,50 do espectro de RMN ^1H (300 MHz) de FLHE em CDCl_3 .

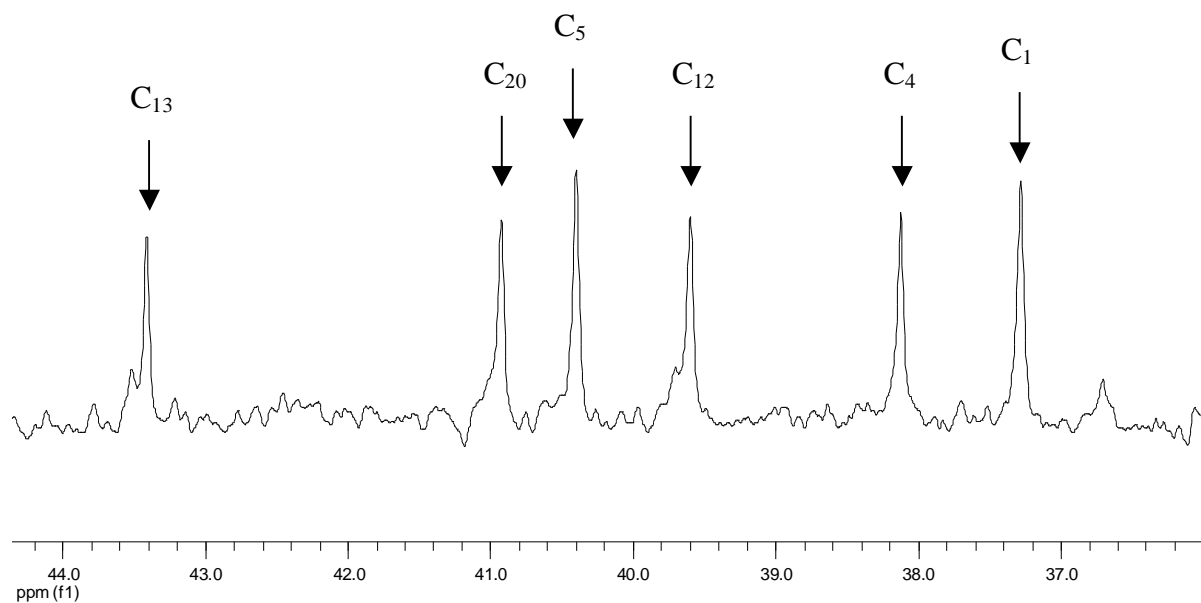
5.4.2. Espectros de RMN ^{13}C da amostra FLHE:**Espectro 30** – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz) de FLHE em CDCl_3 .**Espectro 31-** Expansão da região de δ (ppm) 9,0 – 16,0 do espectro de RMN ^{13}C (75 MHz) de FLHE em CDCl_3 .



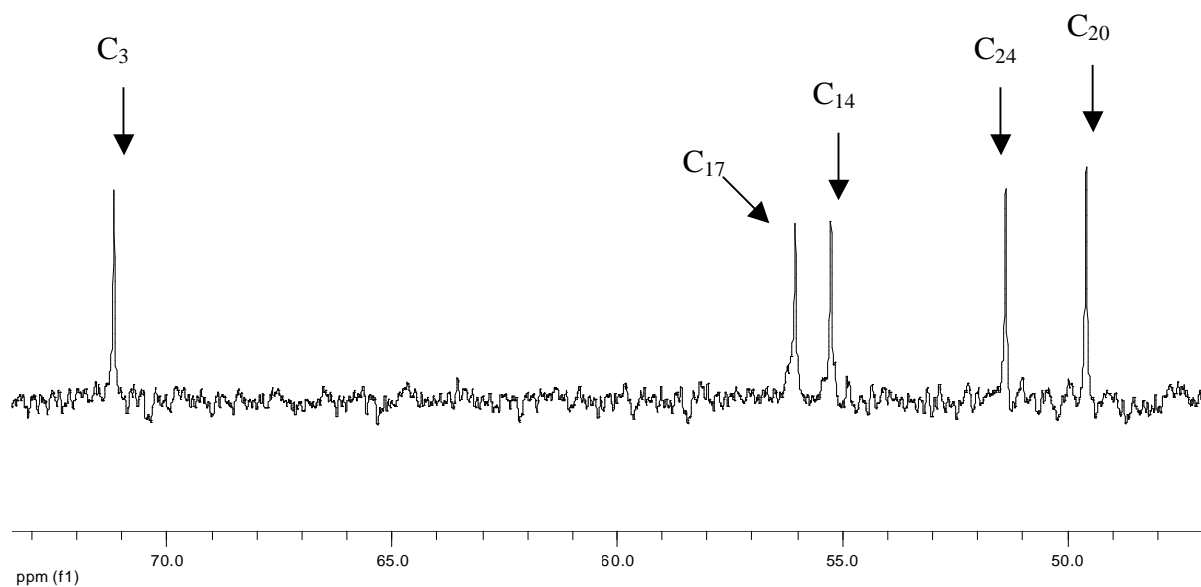
Espectro 32- Expansão da região de δ (ppm) 19,0 – 26,0 do espectro de RMN ^{13}C (75 MHz) de FLHE em CDCl_3 .



Espectro 33- Expansão da região de δ (ppm) 28,0 – 35,0 do espectro de RMN ^{13}C (75 MHz) de FLHE em CDCl_3 .

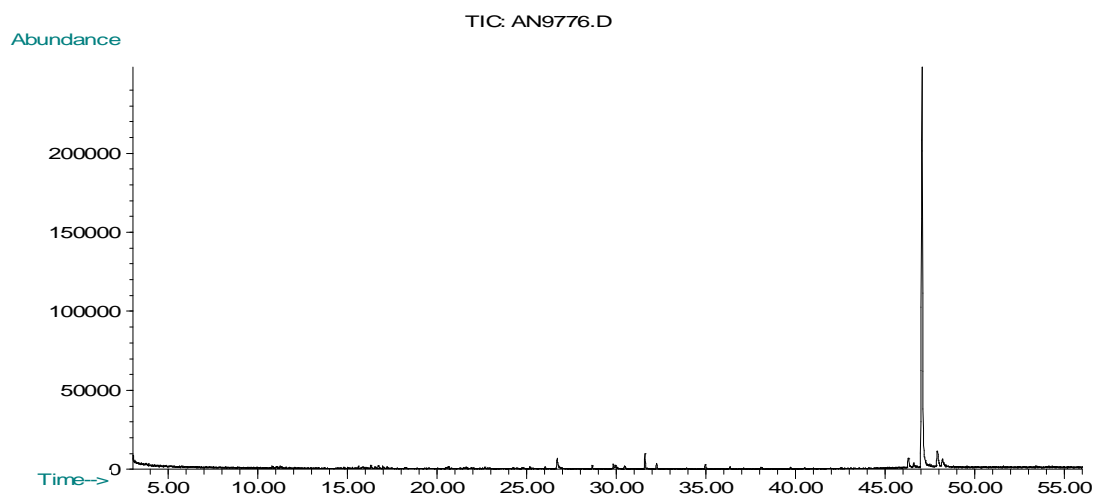


Espectro 34- Expansão da região de δ (ppm) 37,0 – 44,0 do espectro de RMN ^{13}C (75 MHz) de FLHE em CDCl_3 .

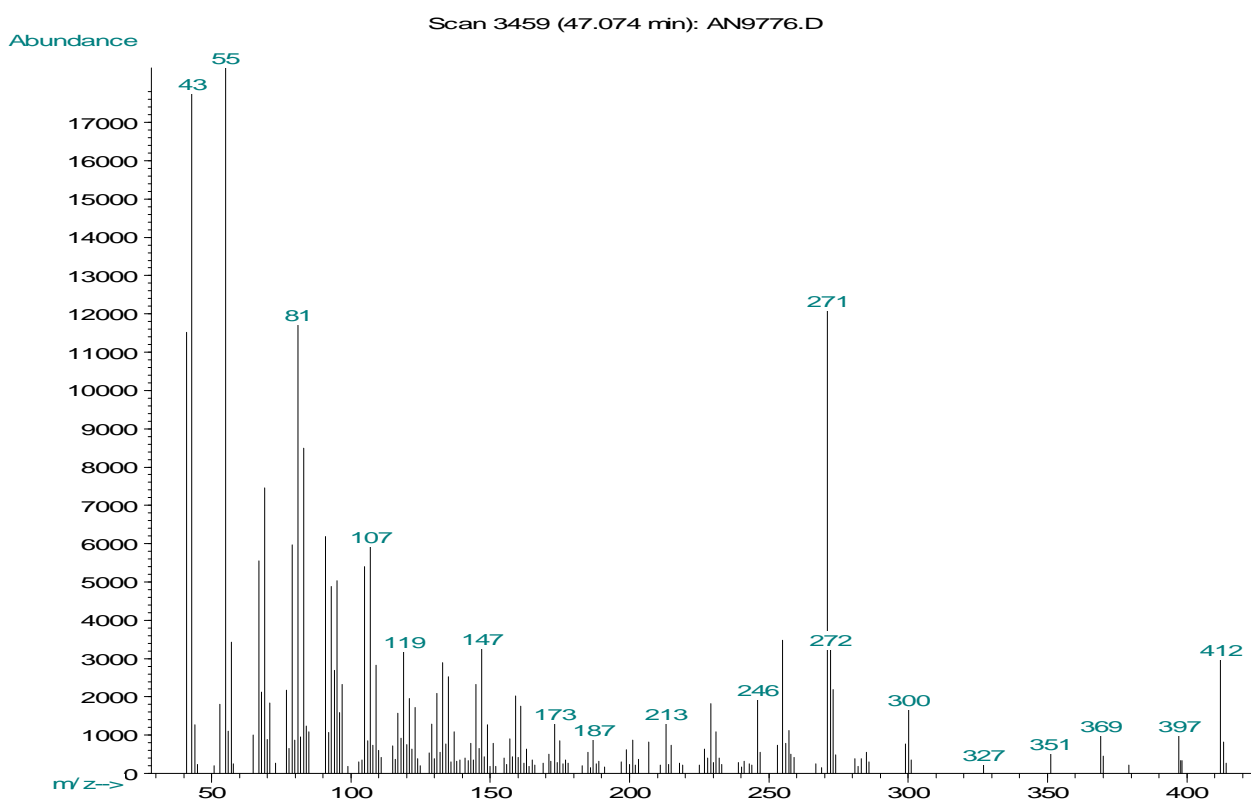


Espectro 35- Expansão da região de δ (ppm) 48,0 – 53,0 do espectro de RMN ^{13}C (75 MHz) de FLHE em CDCl_3 .

5.4.3. Cromatograma e Espectro de Massas da Amostra FLHE de Flores de *Couroupita guianensis*:



Cromatograma 4 – Cromatograma da amostra FLHE de flores de *Couroupita guianensis*.



Espectro 36– Espectro de massas da amostra FLHE de flores de *Couroupita guianensis*.

5.5. Óleos Essenciais:

A análise dos óleos essenciais das flores de *Couroupita guianensis* foi realizada por cromatografia com fase gasosa acoplada a espectrometro de massas. Essa análise permitiu a diferenciação dos óleos provenientes das pétalas e dos verticilos reprodutores das flores, pela ausência de um constituinte em quantidade detectável em cada um dos cromatogramas (Cromatograma 5, pág. 75 e Cromatograma 6, pág. 78). Identificou-se três substâncias majoritárias comuns a ambos os óleos, que são o linalool, o geraniol e o eugenol, com tempo de retenção respectivamente para o óleo proveniente das pétalas e dos verticilos reprodutores de: TR= 14,616 e 14,618 para o linalool, TR= 20,666 e 20,686 para o geraniol e TR= 26,631 e 26,698 para o eugenol. Outra substância em comum em ambos os óleos identificadas pela análise foi o nerol, que apresenta tempo de retenção de 21,890 e 21,923, respectivamente para o óleo proveniente das pétalas e dos verticilos reprodutores. A diferença se dá pela presença de α -terpineol (TR= 18,946) no cromatograma referente ao óleo essencial das pétalas e hexanal (TR= 3,814) referente ao óleo essencial dos verticilos reprodutores.

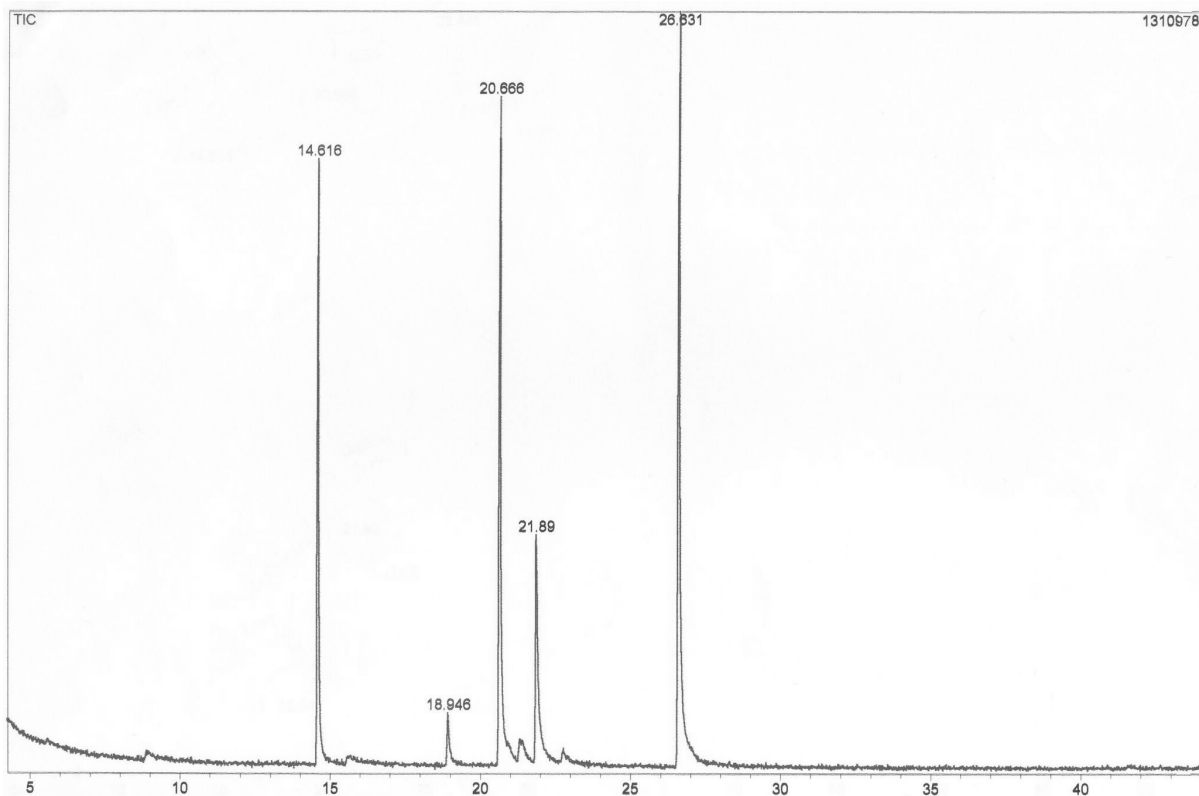
O perfil de fragmentação das substâncias presentes nos óleos essenciais foi comparado com dados presentes na biblioteca Wiley 275 e seus espectros são mostrados a seguir. A identificação dos constituintes dos óleos essenciais foi confirmada pela determinação dos índices de retenção de Kovats e comparação desses com a literatura (ADAMS, 1995) (Quadro 9, pág. 74).

Quadro 9: Substâncias detectadas nos óleos essenciais de flores de *Couroupita guianensis*.

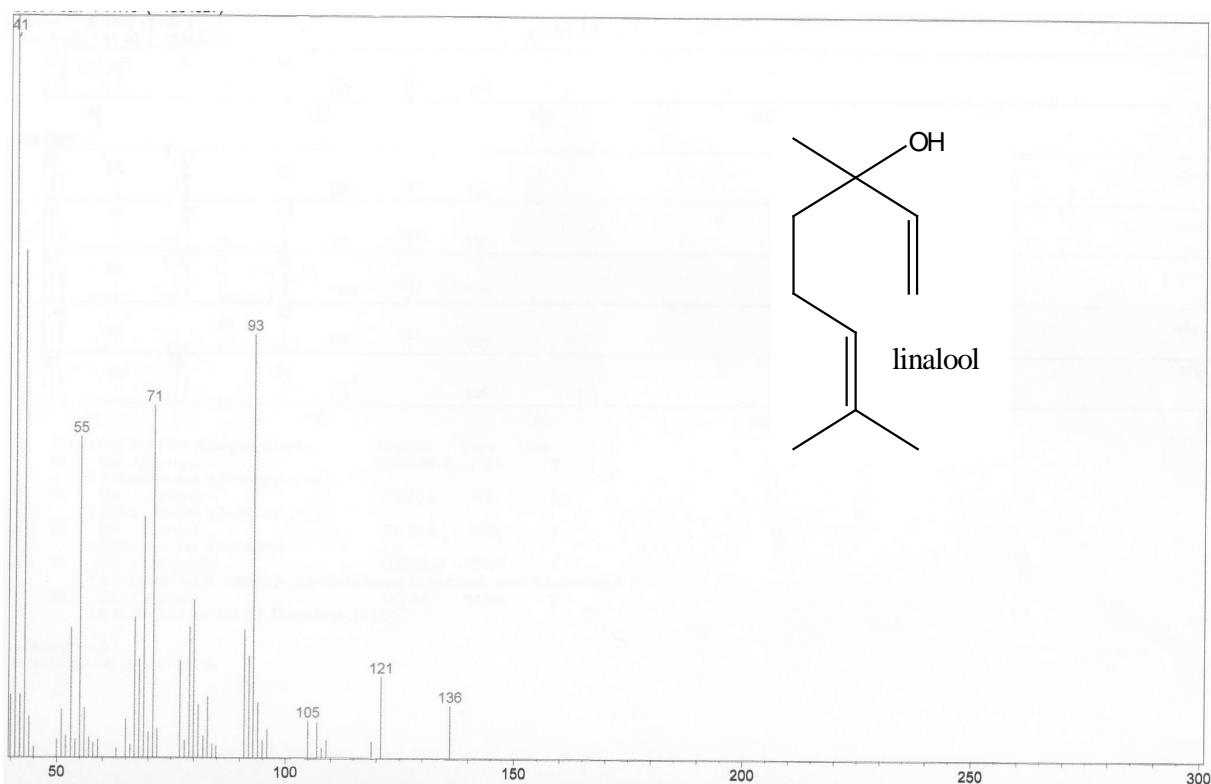
Substância	IRK das Pétalas	IRK dos Verticilos Reprodutores	IRK da Literatura
Hexanal	não detectado	não calculado	800
Linalool	1094	1094	1098
α-Terpineol	1185	não detectado	1189
Geraniol	1222	1222	1255
Nerol	1248	1249	1228
Eugenol	1350	1352	1279

IRK= índice de retenção de Kovats.

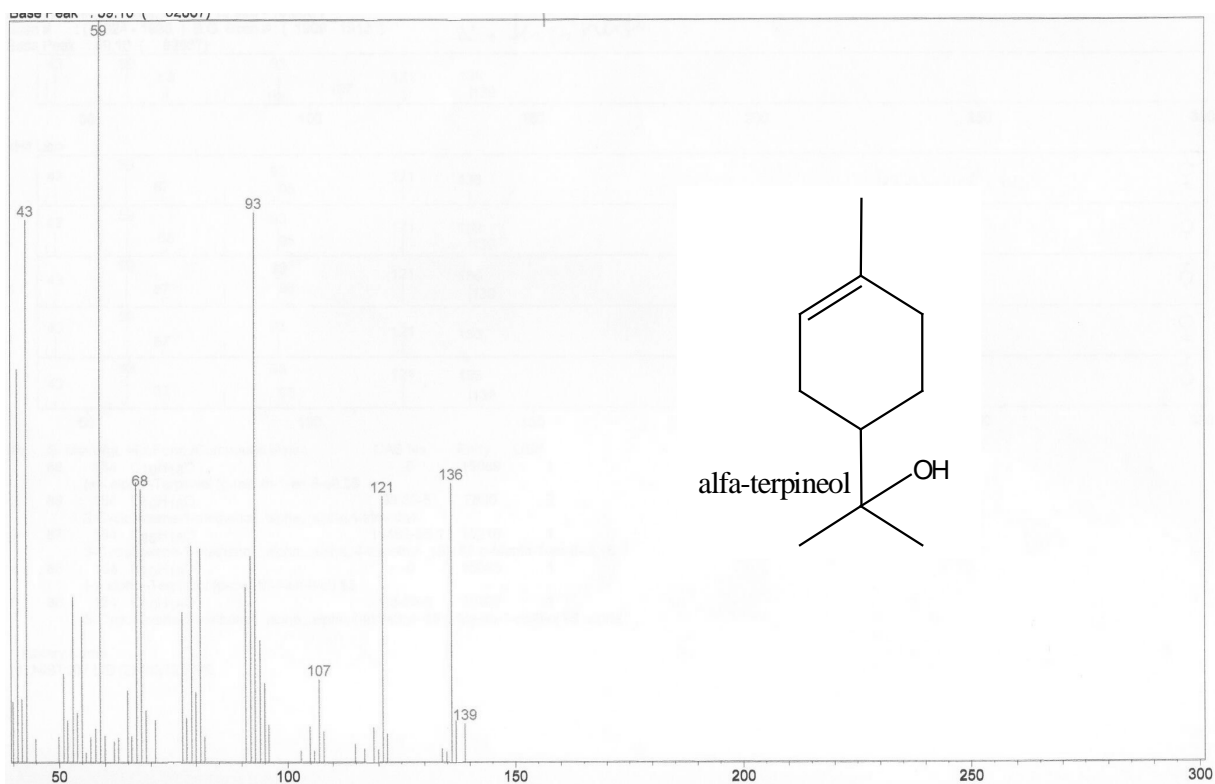
5.5.1. Cromatograma e Espectro de Massas do Óleo Essencial das Pétalas de Flores de *Couropita guianensis*:



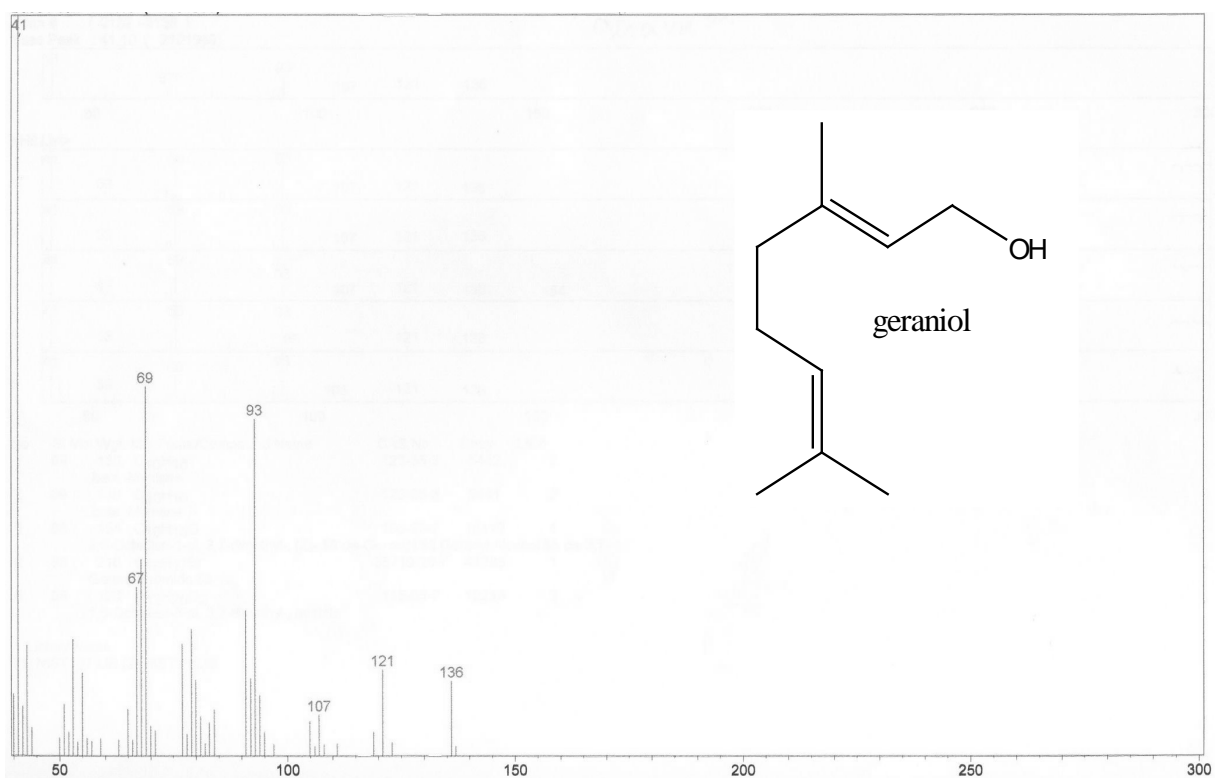
Cromatograma 5 – Cromatograma do óleo essencial das pétalas de *Couropita guianensis*.



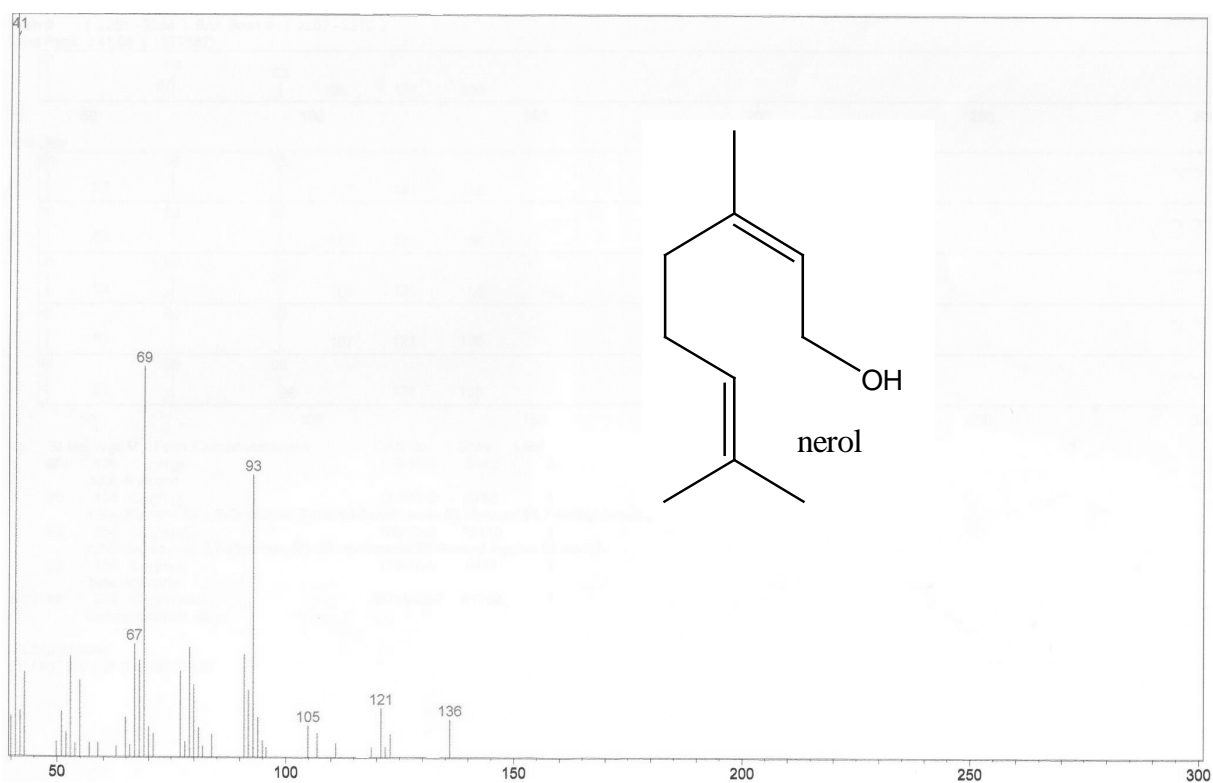
Espectro 36– Espectro de massas do linalool (massa molecular = 154).



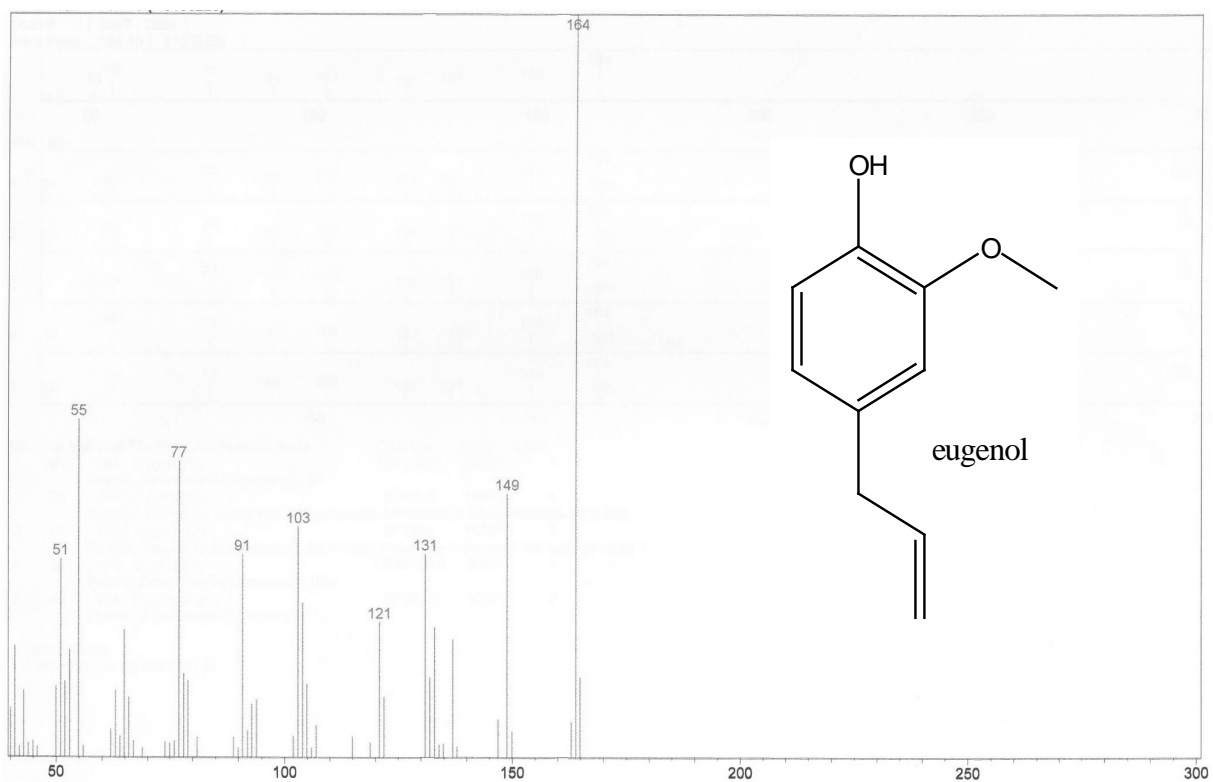
Espectro 37– Espectro de massas do α -terpineol (massa molecular = 154).



Espectro 38– Espectro de massas do geraniol (massa molecular = 154).

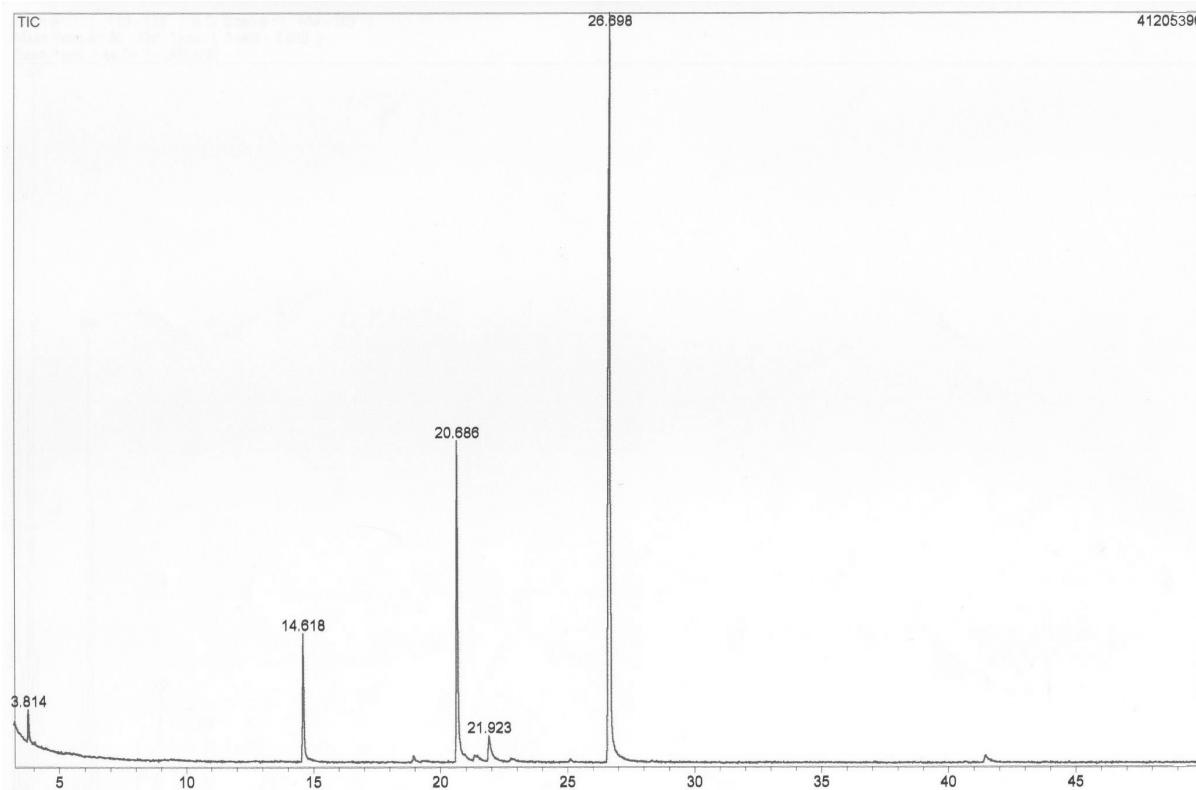


Espectro 39– Espectro de massas do nerol (massa molecular = 154).

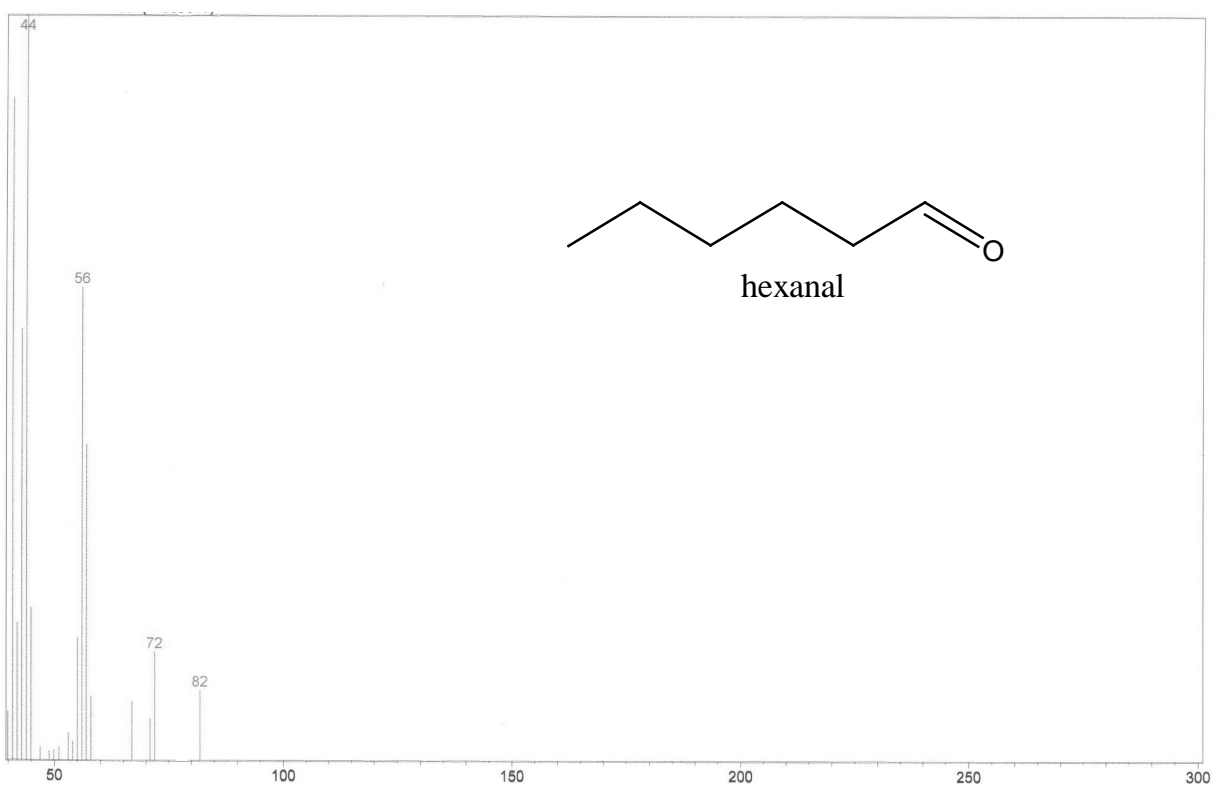


Espectro 40– Espectro de massas do eugenol (massa molecular = 164).

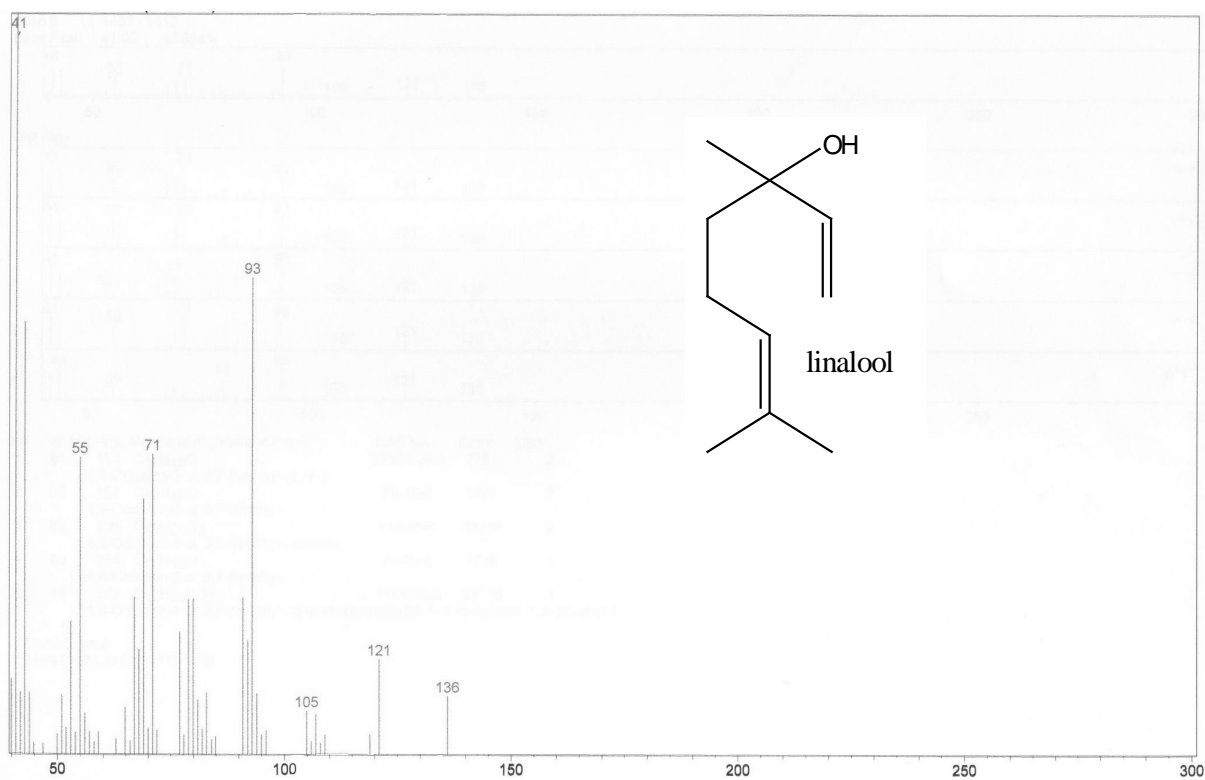
5.5.2. Cromatograma e Espectro de Massas do Óleo Essencial do Verticilo Reprodutor de Flores de *Couroupita guianensis*:



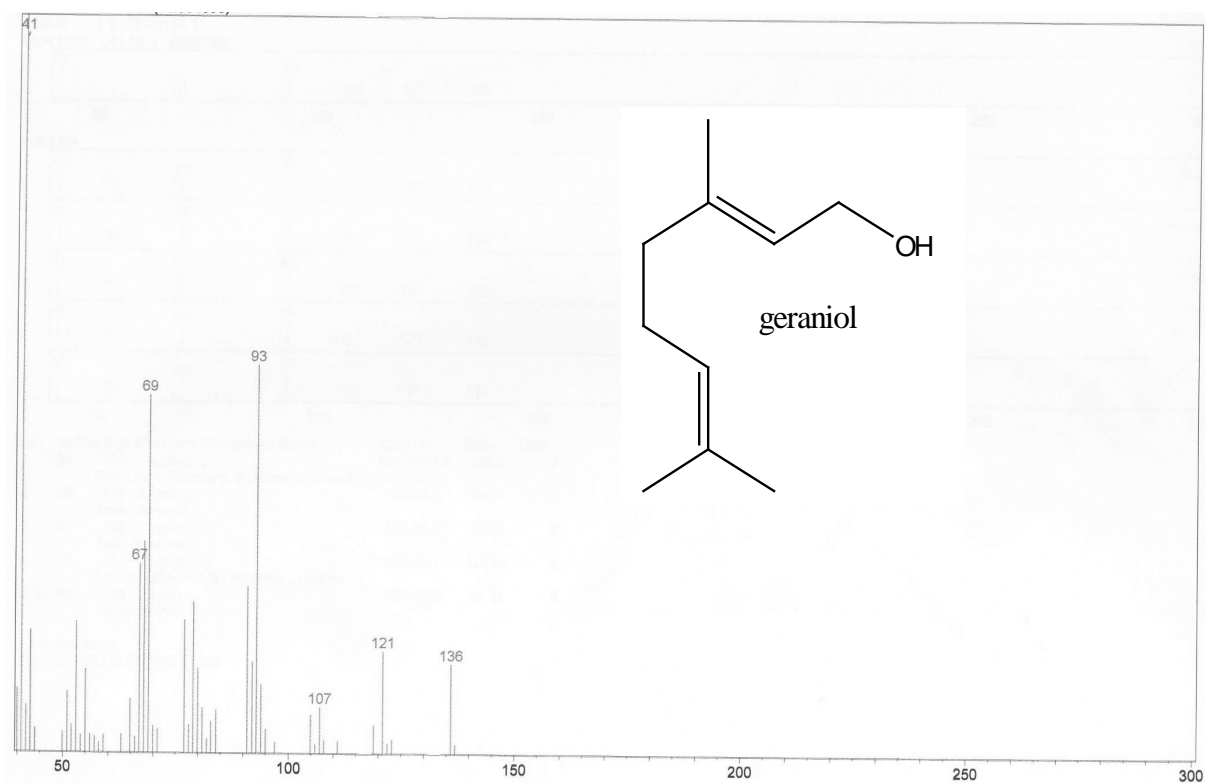
Cromatograma 6 – Cromatograma do óleo essencial do verticilo reprodutor de *Couroupita guianensis*.



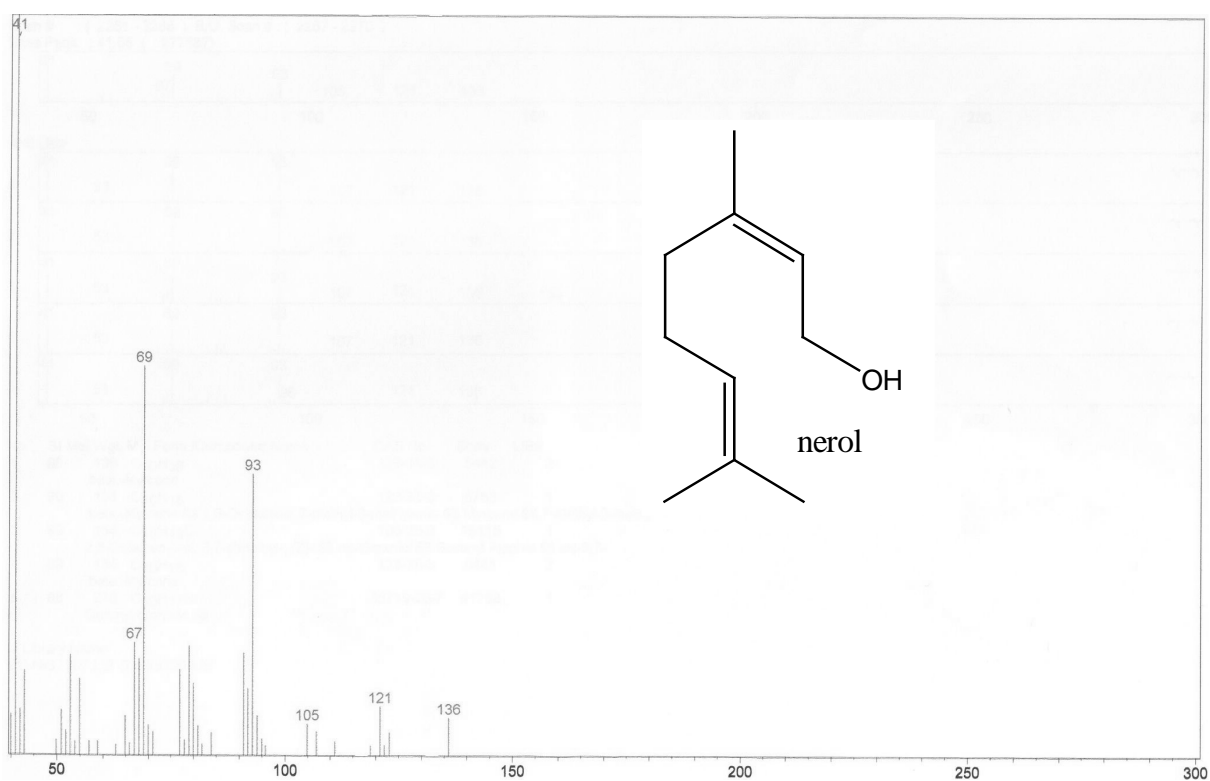
Espectro 41– Espectro de massas do hexanal (massa molecular = 100).



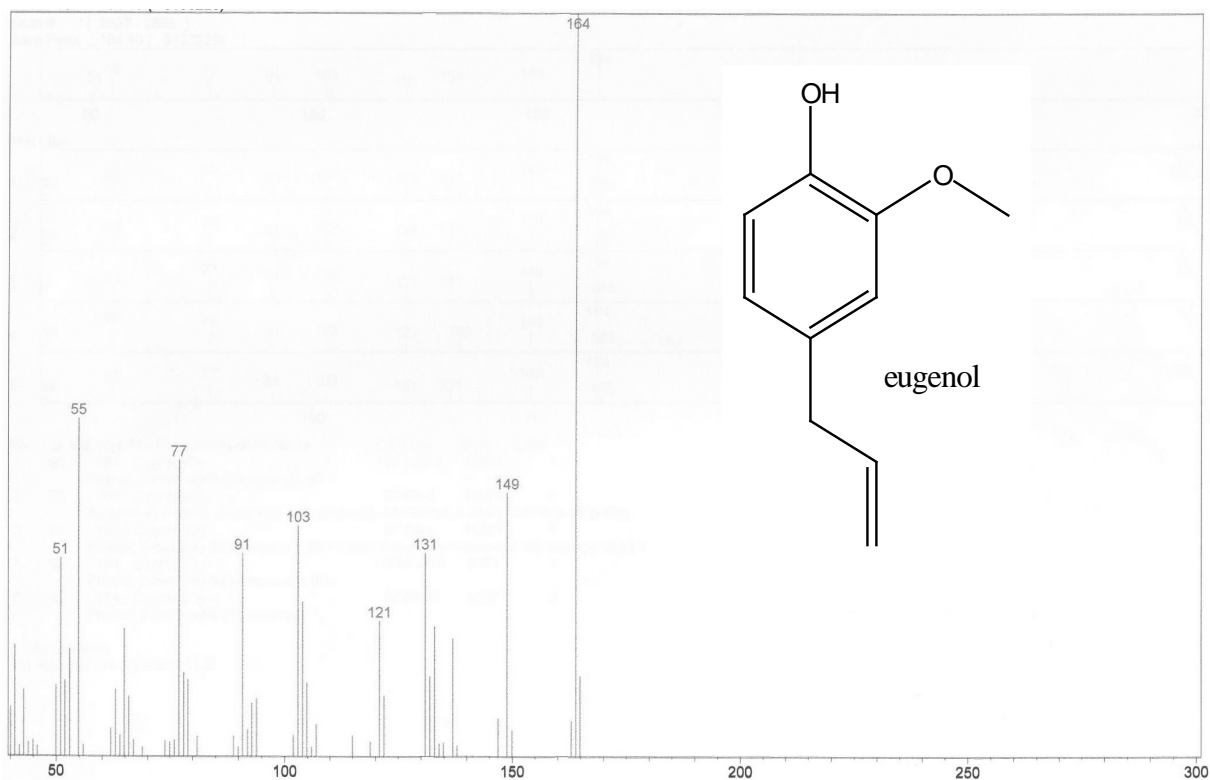
Espectro 42– Espectro de massas do linalool (massa molecular = 154).



Espectro 43– Espectro de massas do geraniol (massa molecular = 154).



Espectro 44– Espectro de massas do nerol (massa molecular = 154).



Espectro 45– Espectro de massas do eugenol (massa molecular = 164).

5.6. Análise da Atividade Antioxidante pelo método do DPPH

A análise da atividade antioxidante do extrato etanólico total e partições (em hexano, diclorometano, acetato de etila e *n*-butanol) de folhas e folhas de *Couroupita guianensis*, e da triptantrina foi realizada pelo método do DPPH. Como controle positivo foi utilizado o extrato padronizado de *Ginkgo biloba* (EGb 761[®]) extraído com etanol e na proporção de 1:1 em etanol. A análise foi realizada em triplicata e os resultados foram expressos em porcentagem de atividade antioxidante.

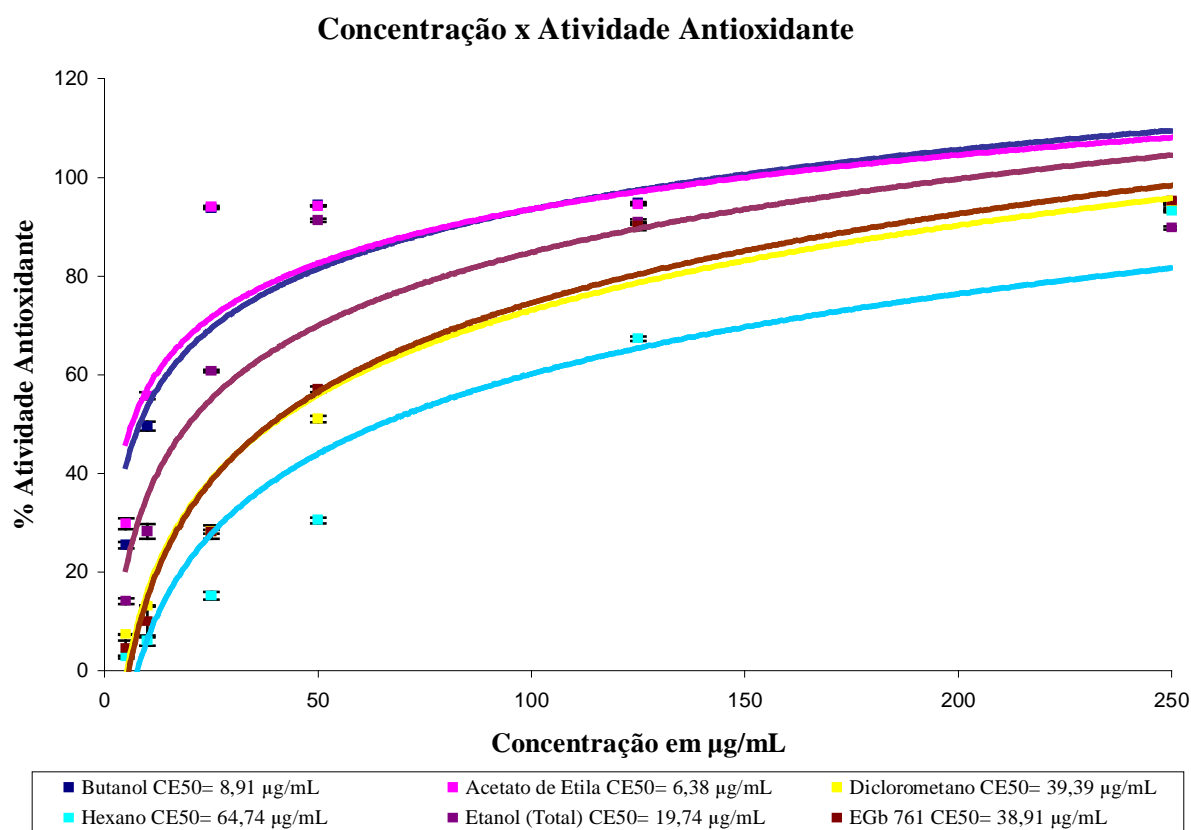


Gráfico 1: Atividade antioxidante pelo método do DPPH do extrato etanólico total e das partições das folhas de *Couroupita guianensis*. O extrato padronizado de *Ginkgo biloba* (EGb 761[®]) foi utilizado como controle positivo.

No Gráfico 1 estão mostrados os valores em porcentagem referentes à atividade antioxidante para os extratos provenientes das folhas da espécie estudada. A partir destes

valores foi determinada a melhor curva e a partir da equação correspondente foram determinados os valores de CE_{50} (a concentração necessária para se obter metade do efeito máximo antioxidante estimado em 100%).

No Quadro 10 são apresentados os valores de CE_{50} para o extrato etanólico total e partições de folhas de *Couroupita guianensis*, assim como o valor para o extrato padronizado de *Ginkgo biloba* (EGb 761[®]).

Quadro 10: Valores de CE_{50} do extrato etanólico total e partições de folhas de *Couroupita guianensis* e do extrato padronizado de *Ginkgo biloba* (EGb 761[®]), utilizado como controle positivo.

Amostra	$CE_{50} \pm DP$ ($\mu\text{g/mL}$)
Partição em <i>n</i> -Butanol	$8,19 \pm 0,32$
Partição em Acetato de Etila	$6,38 \pm 0,39$
Partição em Diclorometano	$39,39 \pm 0,32$
Partição em Hexano	$64,74 \pm 0,56$
Extrato Etanólico Total	$19,74 \pm 0,57$
Extrato de <i>Ginkgo biloba</i> (EGb 761 [®])	$38,91 \pm 1,32$

As partições em acetato de etila, *n*-butanol e o extrato etanólico total, apresentaram valores de CE_{50} inferiores ao do extrato padronizado de *Ginkgo biloba* (EGb 761[®]), que foi utilizado neste teste como controle positivo em virtude de sua conhecida atividade antioxidante. A partição em acetato de etila foi a amostra que apresentou melhor atividade antioxidante, que comparada ao extrato padronizado de *Ginkgo biloba* (EGb 761[®]), apresenta uma atividade aproximadamente seis vezes maior, seguida da partição em *n*-butanol que apresenta atividade aproximadamente cinco vezes maior e do extrato etanólico total, que devido a grande atividade das partições anteriormente citadas apresenta atividade duas vezes maior. Entretanto a partição em diclorometano apresenta atividade aproximadamente igual a

do extrato padronizado de *Ginkgo biloba* (EGb 761[®]) e a partição em hexano apresenta atividade aproximadamente 1,5 vezes menor.

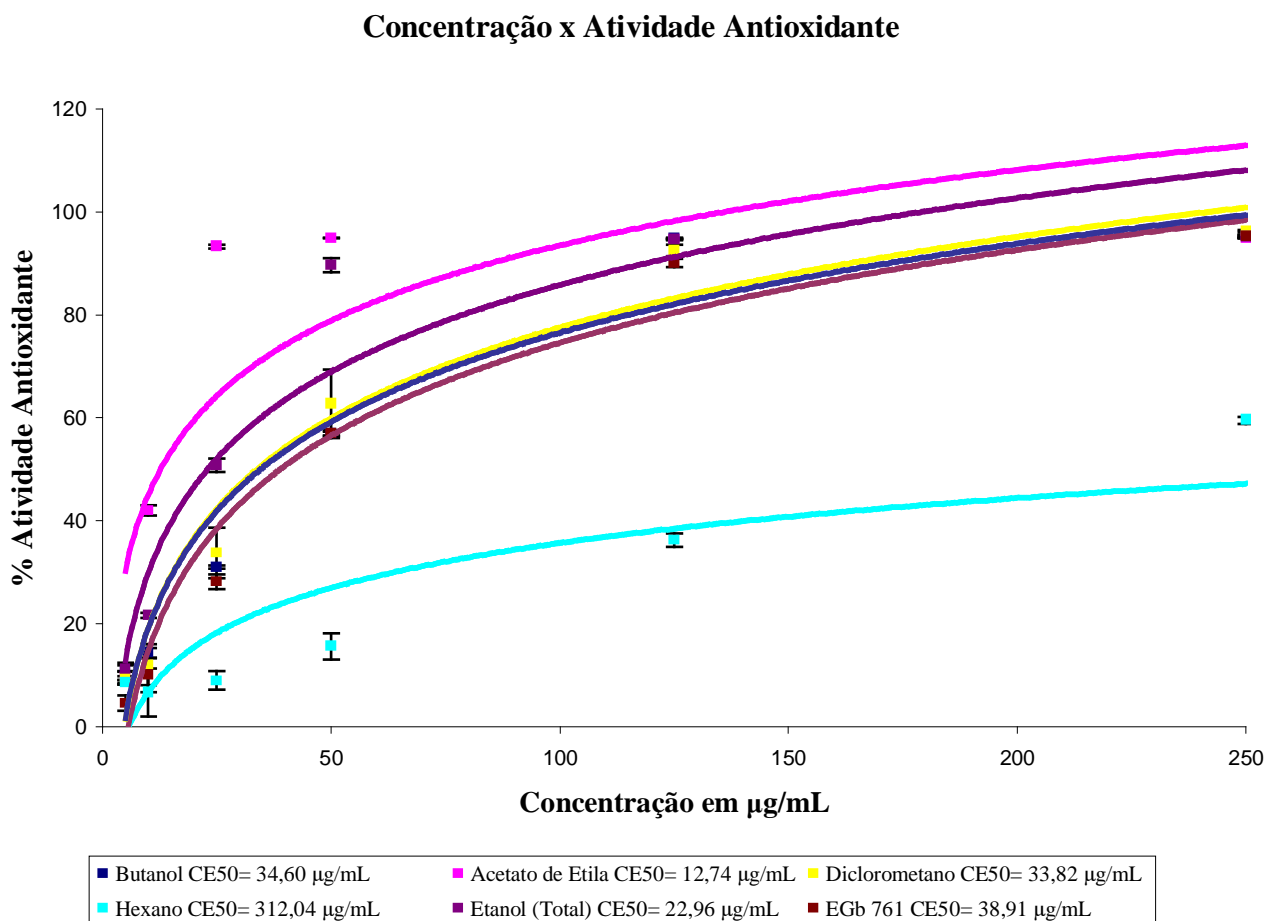


Gráfico 2: Atividade antioxidante pelo método do DPPH do extrato etanólico total e das partições das flores de *Couroupita guianensis*. O extrato padronizado de *Ginkgo biloba* (EGb 761[®]) foi utilizado como controle positivo.

No Gráfico 2 estão mostrados os valores em porcentagem referentes à atividade antioxidante para os extratos provenientes das flores da espécie estudada. A partir destes valores foi determinada a melhor curva e a partir da equação correspondente foram determinados os valores de CE₅₀ (a concentração necessária para se obter metade do efeito máximo antioxidante estimado em 100%).

No Quadro 11 são apresentados os valores de CE₅₀ para o extrato etanólico total e partições das flores de *Couroupita guianensis*, assim como o valor para o extrato padronizado de *Ginkgo biloba* (EGb 761[®]).

Quadro 11: Valores de CE₅₀ do extrato etanólico total e partições de *Couroupita guianensis* e do extrato padronizado de *Ginkgo biloba* (EGb 761[®]), utilizado como controle positivo.

Amostra	CE ₅₀ ± DP (µg/mL)
Partição em <i>n</i> -Butanol	34,6 ± 0,54
Partição em Acetato de Etila	12,74 ± 0,47
Partição em Diclorometano	33,82 ± 3,01
Partição em Hexano	312,04 ± 2,4
Extrato Etanólico Total	22,96 ± 0,78
Extrato de <i>Ginkgo biloba</i> (EGb 761 [®])	38,91 ± 1,32

As partições em *n*-butanol, acetato de etila, diclorometano e o extrato etanólico total, apresentaram valores de CE₅₀ inferiores ao do extrato padronizado de *Ginkgo biloba* (EGb 761[®]), que foi utilizado neste teste como controle positivo em virtude de sua conhecida atividade antioxidante. A partição em acetato de etila foi a amostra que apresentou melhor atividade antioxidante, que comparada ao extrato padronizado de *Ginkgo biloba* (EGb 761[®]), apresenta uma atividade aproximadamente três vezes maior, seguida da amostra do extrato etanólico total que apresenta atividade 1,7 vezes maior, as amostras das partições em diclorometano e *n*-butanol apresentaram atividades aproximadamente iguais a amostra do extrato controle. Entretanto a partição em hexano apresenta atividade aproximadamente oito vezes menor, que a amostra do extrato controle.

Estes resultados sugerem a presença de substâncias doadoras de radicais hidrogênio nas partições mais polares, provavelmente devido a presença de substâncias com grupamentos hidroxila (fenólicas ou não), disponíveis para doar radical hidrogênio à molécula oxidante (SILVA, 2005; MENSOR, 2001).

No Gráfico 3 estão mostrados os valores em porcentagem referentes à atividade antioxidante a triptantrina. A partir destes valores foi determinada a melhor curva e a partir da equação correspondente foram determinados os valores de CE_{50} (a concentração necessária para se obter metade do efeito máximo antioxidante estimado em 100%).

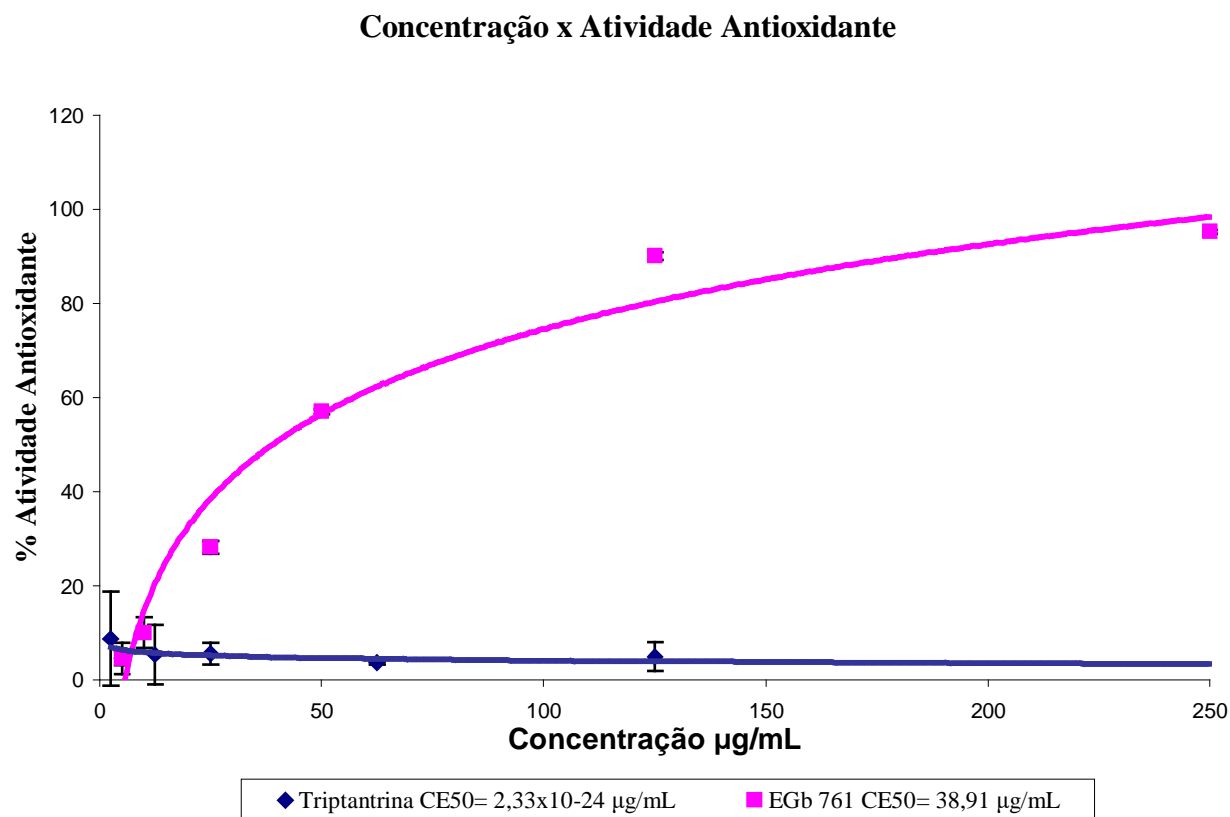


Gráfico 3: Atividade antioxidante pelo método do DPPH da Triptantrina. O extrato padronizado de *Ginkgo biloba* (EGb 761[®]) foi utilizado como controle positivo.

No Quadro 13 são apresentados os valores de CE_{50} para a Triptantrina, assim como o valor para o extrato padronizado de *Ginkgo biloba* (EGb 761[®]).

Quadro 13: Valores de CE_{50} da Triptantrina e do extrato padronizado de *Ginkgo biloba* (EGb 761[®]), utilizado como controle positivo.

Amostra	$CE_{50} \pm DP$ ($\mu\text{g/mL}$)
Triptantrina	não calculado
Extrato de <i>Ginkgo biloba</i> (EGb 761 [®])	$38,91 \pm 1,32$

A impossibilidade de calcular o valor de CE_{50} para a Triptantrina indica que a mesma possui baixíssima atividade antioxidante, tendo-se no segundo membro da ressonância oxigênios radicalares (Figura 6), não tendo assim a capacidade de doar um hidrogênio radicalar e estabilizar o elétron desemparelhado pela estrutura aromática da Triptantrina.

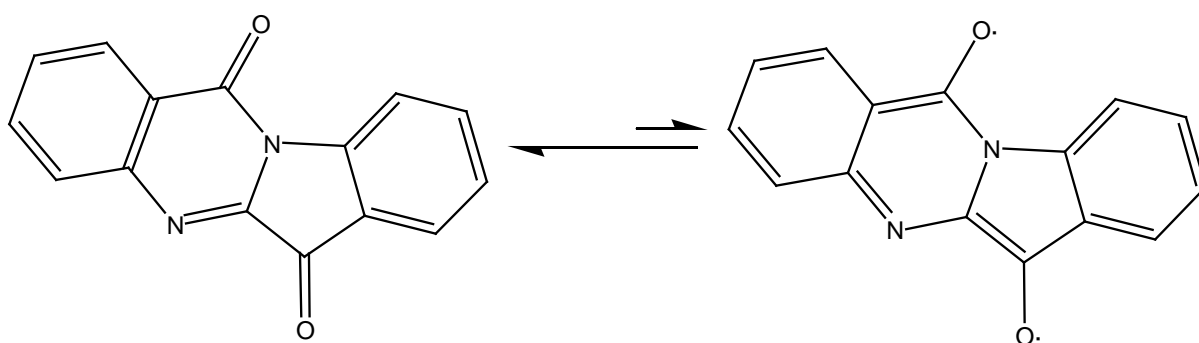


Figura 6: Proposta de ressonância da Triptantrina.

5.7. Determinação da Atividade Antinociceptiva:

Para a determinação da atividade antinociceptiva periférica foi utilizado o método das contorções abdominais induzidas pelo ácido acético e para atividade antinociceptiva espinal e supra-espinal utilizou-se os métodos da retirada de cauda e da placa quente, respectivamente.

Para todos os testes foram administrados por via oral o extrato etanólico total e as partições em hexano, diclorometano, acetato de etila e *n*-butanol de folhas de *Couroupita guianensis*, nas doses de 100 mg/kg e 10 mg/kg.

Como controles positivos foram usados morfina por via sub-cutânea a 1 mg/kg e dipirona por via oral a 1 mg/kg, para o ensaio de contorções abdominais induzidas pelo ácido acético e apenas morfina por via sub-cutânea a 1 mg/kg para os ensaios da retirada de cauda e da placa quente.

5.7.1. Contorções Abdominais Induzidas pelo Ácido Acético:

Dentre as amostras testadas na dose de 100 mg/kg as partições em diclorometano e *n*-butanol apresentaram os melhores resultados, inibindo o número de contorções abdominais, respectivamente em 47,6 e 47,2%, em relação ao controle (Quadro XXX), enquanto na dose de 10 mg/kg as partições em hexano e acetato de etila apresentaram os melhores resultados, inibindo o número de contorções, respectivamente em 47,2% e 45,6% (Quadro XXX). Esses extratos apresentam valores de inibição superiores aos observados para os controles positivos, morfina (1 mg/kg) e dipirona (1 mg/kg), que possuem inibição, respectivamente de 44,5 e 27,60 %, como mostra o Quadro 13, página 87.

A amostra do extrato etanólico total, partição em hexano e em acetato de etila apresentaram valores de inibição percentual maiores para as doses de 10 mg/kg que para as doses de 100 mg/kg. Estes resultados podem ser explicados pelo fato de que em uma concentração maior, a solução preparada ficou mais viscosa, o que pode ter prejudicado a absorção completa no aparelho gastrointestinal.

Quadro 13: Efeito do extrato etanólico total e das partições em hexano, diclorometano, acetato de etila e *n*-butanol das folhas de *Couroupita guianensis* em dose de 100 mg/kg e 10 mg/kg no modelo de contorções abdominais.

TRATAMENTO	DOSE (mg/kg)	NÚMERO DE CONTORÇÕES	INIBIÇÃO (%)
Veículo	-	51,5 ± 6,9	-
Morfina (S.C.)	1	28,6 ± 5,4*	44,5
Dipirona	1	37,3 ± 1,5	27,60
Etanol	10	41,5 ± 4,5	19,4
	100	44,0 ± 10,3	14,6
Hexano	10	27,2 ± 3,2*	47,2
	100	43 ± 8,8	16,5
Acetato de Etila	10	28 ± 3,5*	45,6
	100	43,3 ± 4,16	15,9
Diclorometano	10	38,7 ± 3,4	24,9
	100	27 ± 1,4*	47,6
<i>n</i>-Butanol	10	41,4 ± 2,60	19,6
	100	27,2 ± 5,90*	47,2

P < 0,05 *

***Couroupita guianensis* 100 mg/Kg**

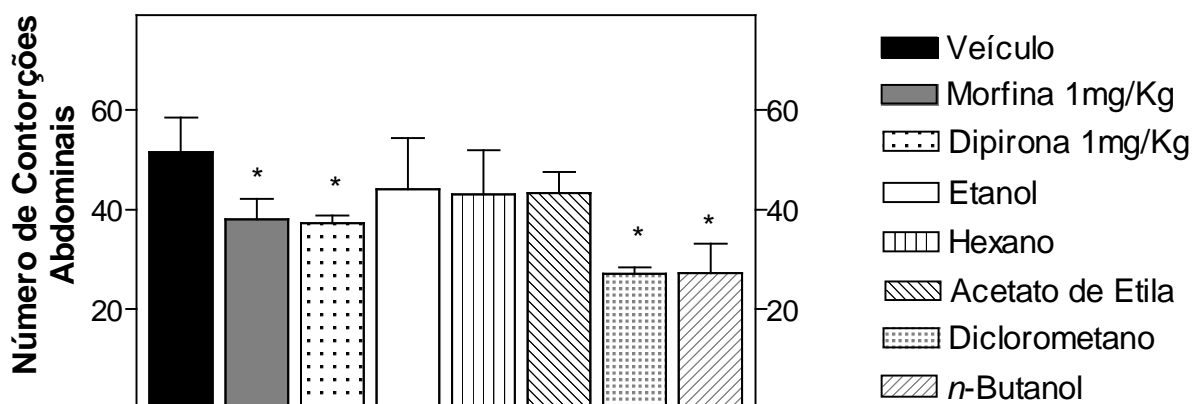


Gráfico 4: Efeito do extrato etanólico total e das partições em hexano, diclorometano, acetato de etila e *n*-butanol das folhas de *Couroupita guianensis* em dose de 100 mg/kg no modelo de contorções abdominais.

***Couroupita guianensis* 10 mg/kg**

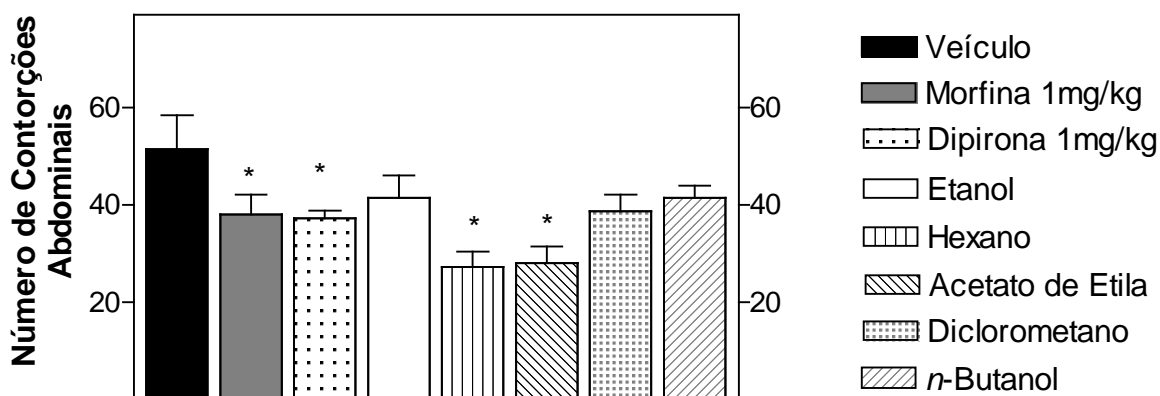


Gráfico 5: Efeito do extrato etanólico total e das partições em hexano, diclorometano, acetato de etila e *n*-butanol das folhas de *Couroupita guianensis* em dose de 10 mg/kg no modelo de contorções abdominais.

5.7.2. Teste de Retirada de Cauda:

Os resultados para o modelo de retirada de cauda demonstram que o extrato em etanol e as partições avaliadas apresentam diversos resultados significativos com exceção da partição em diclorometano.

O extrato total em etanol na dose de 100 mg/kg possui picos de aumento de 122,07%, 137,99%, 109,31% e 204,2%, respectivamente nos tempos de 20, 80, 100 e 120 minutos. Enquanto na dose de 10 mg/kg, apresentou pico de aumento de 38,33%, 54,21%, 43,73% e 60,25%, respectivamente nos tempos de 40, 80, 100 e 120 minutos.

A partição em hexano na dose de 100 mg/kg apresenta como picos de aumento de 298,55%, 133,07%, 144,72% e 137,26%, respectivamente nos tempos de 20, 60, 80 e 120 minutos. Já na dose de 10 mg/kg possui picos de aumento de 85,53% e 80,97%, respectivamente nos tempos de 20 e 80 minutos.

A partição em acetato de etila na dose de 100 mg/kg apresenta como picos de aumento de 114,49%, 103,62%, 102,17% e 106,52%, respectivamente nos tempos de 20, 80, 100 e 120 minutos. Na dose de 10 mg/kg possui picos de aumento de 100,99%, 61,08% e 75,85%, respectivamente nos tempos de 40, 60 e 80 minutos.

A partição em diclorometano não apresentou resultados significativos na dose de 100 mg/kg, enquanto na dose de 10 mg/kg apresentou como pico de aumento de 59,29% no tempo de 40 minutos.

A partição em *n*-butanol na dose de 100 mg/kg apresenta como picos de aumento de 235,06%, 160,74%, 128,74% e 313,83%, respectivamente nos tempos de 20, 80, 100 e 120 minutos. Já na dose de 10 mg/kg apresentou como picos de aumento de 71,72%, 70,15% 67,04% e 69,01%, respectivamente nos tempos de 20, 40, 80 e 100 minutos.

O extrato total em etanol e as partições em hexano, acetato de etila e principalmente o *n*-butanol, apresentaram na dose de 100 mg/kg diversos resultados significativos em relação a linha de base, e perfil melhor que o da morfina ao longo do tempo.

Quadro 14: Efeito do extrato etanólico total e das partições em hexano, diclorometano, acetato de etila e *n*-butanol das folhas de *Couropita guianensis* em dose de 100 mg/kg e 10 mg/kg referente ao tempo de latência no modelo de retirada de cauda.

	TEMPO DE LATÊNCIA (SEGUNDOS)						
	Dose(mg/kg)	20 min	40 min	60 min	80min	100 min	120 min
Veículo	-	1,87 ± 0,37	1,94 ± 0,53	2,04 ± 0,45	2,10 ± 0,45	1,86 ± 0,39	2,29 ± 0,45
Morfina (S.C.)	1	2,42 ± 0,90	2,13 ± 0,36	2,46 ± 0,64	3,06 ± 0,45	1,92 ± 0,59	3,08 ± 0,49
Etanol	100	3,70 ± 2,21	1,89 ± 0,49	2,52 ± 0,48	3,96 ± 1,05	3,49 ± 1,21	5,07 ± 1,28*
Hexano	100	6,42 ± 1,51*	2,50 ± 0,22	3,75 ± 0,50	3,94 ± 0,91	3,31 ± 0,90	3,82 ± 1,27
Acetato de Etila	100	2,96 ± 0,87	2,63 ± 0,55	2,52 ± 0,52	2,81 ± 0,23	2,79 ± 0,37	2,85 ± 0,63
Diclorometano	100	2,13 ± 0,59	4,83 ± 0,63*	4,29 ± 0,25*	4,38 ± 0,25*	4,89 ± 1,67*	2,16 ± 0,70
<i>n</i> -Butanol	100	4,52 ± 1,80*	1,89 ± 0,49	2,52 ± 0,48	3,52 ± 0,70	3,09 ± 1,38	5,59 ± 0,91*
Etanol	10	1,90 ± 0,48	2,56 ± 0,58	2,20 ± 0,33	2,86 ± 0,79	2,66 ± 0,55	2,97 ± 0,76
Hexano	10	3,84 ± 0,88*	2,70 ± 0,59	2,52 ± 0,49	3,75 ± 1,13	3,05 ± 0,79	2,92 ± 0,60
Acetato de Etila	10	2,63 ± 1,05	3,65 ± 1,23*	2,92 ± 0,91	3,19 ± 0,65	2,84 ± 0,38	2,78 ± 0,40
Diclorometano	10	3,08 ± 1,06	4,24 ± 1,81*	2,75 ± 0,97	3,44 ± 0,27	3,01 ± 1,03	2,25 ± 0,62
<i>n</i> -Butanol	10	2,79 ± 1,12	2,76 ± 0,55	2,28 ± 0,63	2,71 ± 0,62	2,74 ± 0,90	2,59 ± 0,73

P < 0,05 *

Quadro 15: Efeito do extrato etanólico total e das partições em hexano, diclorometano, acetato de etila e *n*-butanol das folhas de *Couropita guianensis* em dose de 100 mg/kg e 10 mg/kg referente à porcentagem de aumento em relação a linha de base no modelo de retirada de cauda.

	% AUMENTO EM RELAÇÃO A LINHA DE BASE						
	Dose (mg/kg)	20 min	40 min	60 min	80min	100 min	120 min
Veículo	-	13,67	18,17	24,25	27,66	12,94	39,41
Morfina (S.C.)	1	60,79	41,79	63,58	103,46	27,84	104,78
Etanol	100	122,07	13,21	51,35	137,99	109,31	204,2
Hexano	100	298,55	55,48	133,07	144,72	105,75	137,26
Acetato de Etila	100	114,49	90,58	82,6	103,62	102,17	106,52
Diclorometano	100	6,5	10,5	9,5	11,8	12,5	5,5
<i>n</i> -Butanol	100	235,06	39,63	86,667	160,74	128,74	313,827
Etanol	10	2,69	38,33	18,89	54,21	43,73	60,25
Hexano	10	85,53	30,37	21,77	80,97	47,39	40,75
Acetato de Etila	10	44,76	100,99	61,08	75,85	56,71	53,25
Diclorometano	10	15,65	59,29	3,26	29,25	12,88	12,4
<i>n</i> -Butanol	10	71,72	70,15	40,28	67,04	69,01	59,65

Retirada de Cauda - *Couropita guianensis* 100 mg/kg

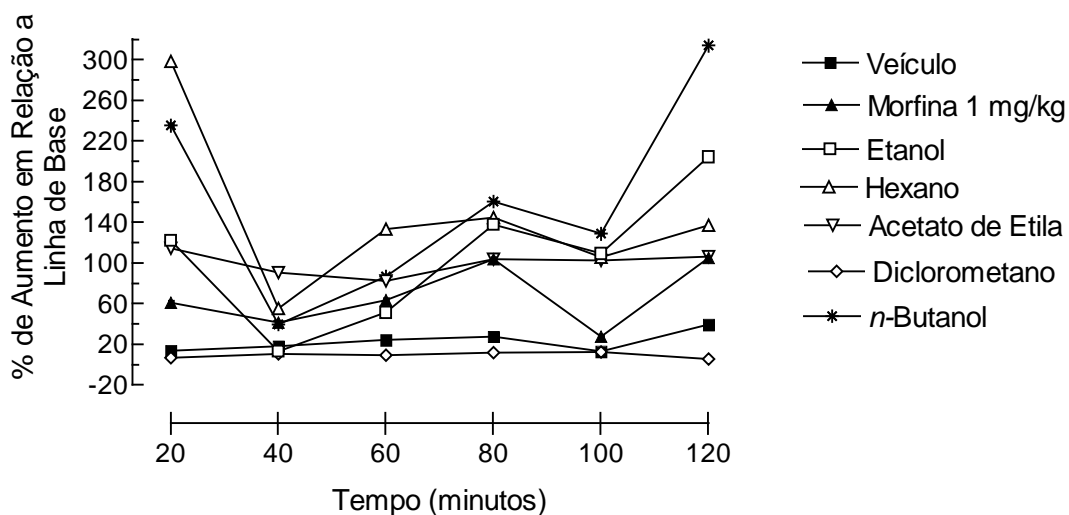


Gráfico 6: Efeito do extrato etanólico total e das partições em hexano, diclorometano, acetato de etila e *n*-butanol das folhas de *Couropita guianensis* em dose de 100 mg/kg no modelo de retirada de cauda.

Retirada de Cauda - *Couropita guianensis* 10 mg/kg

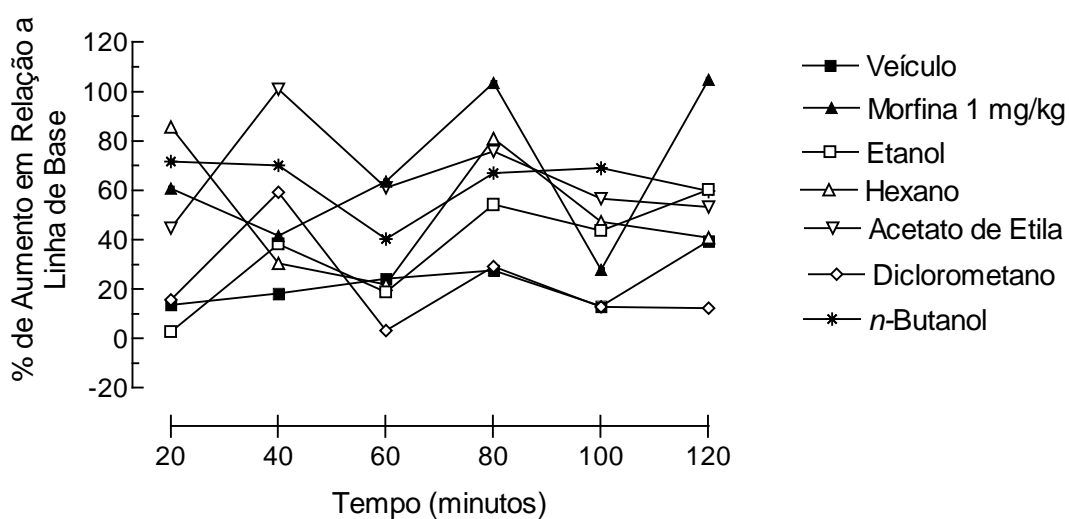


Gráfico 7: Efeito do extrato etanólico total e das partições em hexano, diclorometano, acetato de etila e *n*-butanol das folhas de *Couropita guianensis* em dose de 10 mg/kg no modelo de retirada de cauda.

5.7.3. Teste da Placa Quente:

O extrato total em etanol na dose de 100 mg/kg possui pico de aumento de 93,5% no tempo de 150 minutos. Enquanto na dose de 10 mg/kg não apresentou qualquer resultado significativo.

A partição em hexano na dose de 100 mg/kg apresenta como pico de aumento de 121,71% no tempo de 150 minutos. Já na dose de 10 mg/kg não apresentou qualquer resultado significativo.

A partição em acetato de etila na dose de 100 mg/kg apresenta como picos de aumento de 112,86%, 136,38% e 110,15% respectivamente nos tempos de 120, 150 e 180 minutos. Na dose de 10 mg/kg possui pico de aumento de 57,92 no tempo de 60 minutos.

A partição em diclorometano na dose de 100 mg/kg apresenta como picos de aumento de 57,62% e 55,65%, respectivamente nos tempos de 120 e 150 minutos. Na dose de 10 mg/kg possui picos de aumento de 63,89% e 68,24% nos tempos de 150 e 180 minutos.

A partição em *n*-butanol na dose de 100 mg/kg apresenta como pico de aumento de 47,9%, no tempo de 90 minutos. Já na dose de 10 mg/kg apresentou como picos de aumento de 69,82%, 79,56%, 91,12% e 101,94% respectivamente nos tempos de 90, 120, 150 e 180 minutos.

Na dose de 100 mg/kg o extrato em etanol, dos 60 aos 150 minutos, a partição em hexano, dos 120 aos 180 minutos, as partições em acetato de etila e diclorometano dos 90 aos 180 minutos e a partição em *n*-butanol, aos 30 e aos 120 minutos, apresentam melhor perfil de aumento em relação a linha de base e valores superiores aos observados para a morfina. Na dose de 10 mg/kg os extratos com resultados significativos, seriam a partição em acetato de etila nos tempos de 60 a 90 e 150 a 180 minutos, a partição em diclorometano de 150 a 180

minutos e a partição em *n*-butanol de 90 a 180 minutos, com resultados superiores aos da morfina.

Quadro 16: Efeito do extrato etanólico total e das partições em hexano, diclorometano, acetato de etila e *n*-butanol das folhas de *Couroupita guianensis* em dose de 100 mg/kg e 10 mg/kg referente ao tempo de latência no modelo de placa quente.

	TEMPO DE LATÊNCIA (SEGUNDOS)						
	Dose(mg/kg)	30 min	60 min	90 min	120 min	150 min	180 min
Veículo	-	18,45 ± 1,85	21,01 ± 3,13	18,30 ± 3,93	18,48 ± 5,60	21,50 ± 2,65	21,12 ± 3,52
Morfina (S.C.)	1	18,17 ± 4,36*	19,17 ± 3,54*	15,74 ± 3,67*	15,61 ± 3,27*	17,93 ± 4,82*	17,99 ± 2,90*
Etanol	100	15,13 ± 2,36	17,93 ± 1,93	17,13 ± 1,25	16,72 ± 2,39*	26,65 ± 4,38	19,09 ± 2,40
Hexano	100	14,67 ± 3,35*	15,15 ± 2,86*	15,36 ± 1,51*	18,45 ± 3,95*	33,95 ± 4,59*	21,46 ± 2,92*
Acetato de Etila	100	15,58 ± 3,58*	13,38 ± 2,71*	21,59 ± 3,85*	28,74 ± 5,06*	31,92 ± 3,53*	28,38 ± 2,38*
Diclorometano	100	16,79 ± 3,13*	19,02 ± 5,85*	21,65 ± 3,13*	25,73 ± 4,00*	25,41 ± 4,51*	21,83 ± 1,39*
<i>n</i> -Butanol	100	27,78 ± 8,81*	17,55 ± 5,42*	32,05 ± 5,58*	27,58 ± 7,98*	22,55 ± 4,89*	17,60 ± 2,00*
Etanol	10	19,98 ± 2,25*	31,35 ± 4,47*	31,03 ± 1,10*	26,98 ± 5,83*	24,98 ± 2,28*	27,49 ± 5,91*
Hexano	10	30,09 ± 6,97*	20,56 ± 2,39*	17,97 ± 1,45*	13,38 ± 2,87*	22,41 ± 4,15*	19,11 ± 3,97*
Acetato de Etila	10	21,73 ± 1,71*	30,82 ± 10,35*	23,29 ± 6,45*	17,54 ± 4,72*	24,71 ± 2,75*	24,96 ± 6,87*
Diclorometano	10	16,29 ± 2,91*	20,05 ± 4,54*	19,74 ± 3,12*	23,01 ± 6,14*	33,73 ± 3,33*	34,63 ± 4,26*
<i>n</i> -Butanol	10	19,30 ± 2,36*	23,98 ± 1,44*	42,24 ± 1,99*	44,66 ± 11,21*	47,54 ± 9,97*	50,23 ± 7,24*

Quadro 17: Efeito do extrato etanólico total e das partições em hexano, diclorometano, acetato de etila e *n*-butanol das folhas de *Couroupita guianensis* em dose de 100 mg/kg e 10 mg/kg referente à porcentagem de aumento em relação a linha de base no modelo de placa quente.

	% AUMENTO EM RELAÇÃO A LINHA DE BASE						
	Dose (mg/kg)	30 min	60 min	90 min	120 min	150 min	180 min
Veículo	-	5,92	16,74	13,82	2,72	19,47	17,39
Morfina (S.C.)	1	10,47	15,22	16,38	16,5	7,74	8,09
Etanol	100	9,86	30,22	24,39	21,4	93,5	38,62
Hexano	100	16,5	17	0,29	20,49	121,71	40,14
Acetato de Etila	100	15,39	10,53	59,92	112,86	136,38	110,15
Diclorometano	100	2,85	16,5	32,66	57,62	55,65	33,71
<i>n</i> -Butanol	100	28,18	5,01	47,9	27,27	4,02	7,7
Etanol	10	6	15,97	14,8	5,2	4,5	1,69
Hexano	10	19,16	7,8	5,6	4,5	11	10,6
Acetato de Etila	10	11,34	57,92	19,36	10,09	26,61	27,91
Diclorometano	10	5,6	16	10,5	11,77	63,89	68,24
<i>n</i> -Butanol	10	5,9	18,2	69,82	79,56	91,12	101,94

Placa Quente - *Couroupita guianensis* 100 mg/kg

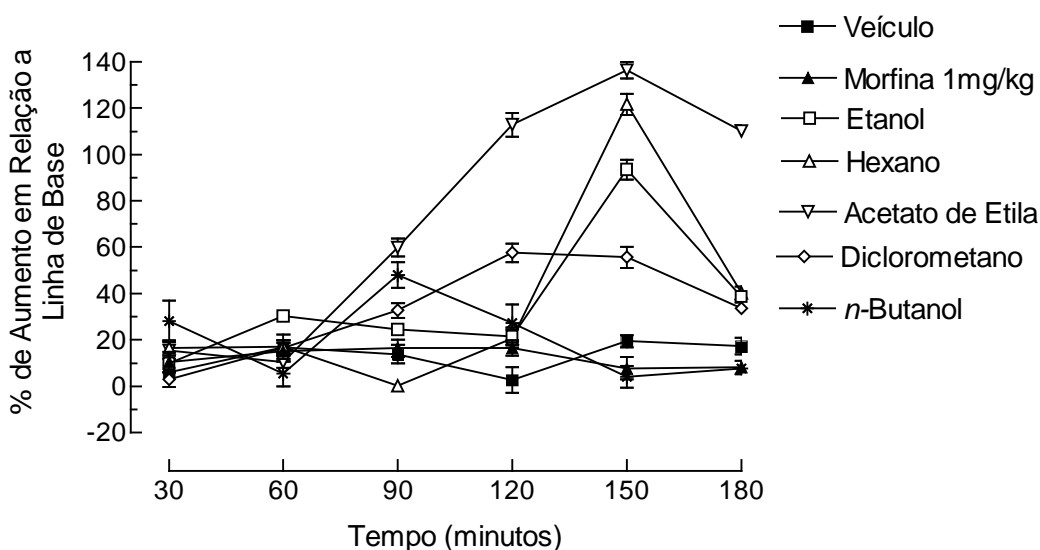


Gráfico 8: Efeito do extrato etanólico total e das partições em hexano, diclorometano, acetato de etila e *n*-butanol das folhas de *Couroupita guianensis* em dose de 100 mg/kg no modelo da placa quente.

Placa Quente - *Couroupita guianensis* 10 mg/kg

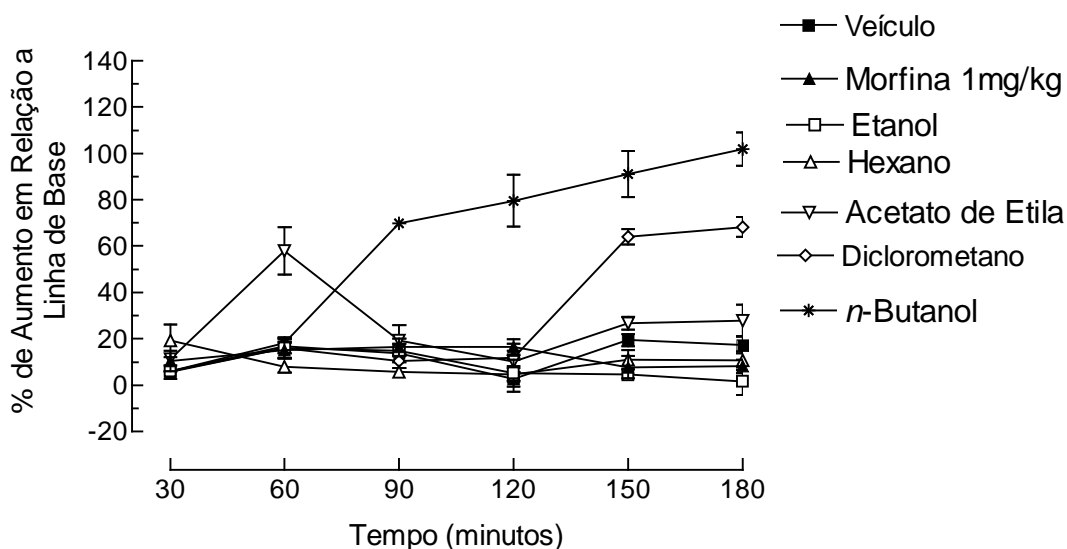


Gráfico 9: Efeito do extrato etanólico total e das partições em hexano, diclorometano, acetato de etila e *n*-butanol das folhas de *Couroupita guianensis* em dose de 10 mg/kg no modelo da placa quente.

Em relação a atividade antinociceptiva periférica, os extratos em diclorometano e *n*-butanol na dose de 100 mg/kg apresentaram maior inibição comparados aos controles positivos. Já na dose de 10 mg/kg foram as partições em hexano e acetato de etila que apresentaram maior inibição comparados aos controles positivos.

Para a atividade antinociceptiva central espinhal observou-se que o extrato em diclorometano foi o que apresentou menor resposta na concentração de 100 mg/kg em todos os tempos enquanto todos os outros extratos apresentaram resultados significativos, inclusive superiores ao resultado obtido com o controle positivo de morfina. Já com exceção do diclorometano, na dose de 10 mg/kg, os extratos apresentam resultados significativos e maiores que o do controle positivo no tempo de 100 minutos.

Na atividade antinociceptiva central supra-espinhal verifica-se que os extratos tiveram pouca resposta em comparação a porcentagem de aumento em relação a linha de base nos tempos de 30 e 60 minutos, tanto para o extrato com concentração de 10 mg/kg, quanto o extrato de 100 mg/kg, com exceção da partição em acetato de etila no tempo de 60 minutos. Nos tempos de 90 a 180 minutos a partição em acetato de etila apresentou acentuada resposta na concentração de 100 mg/kg e o extrato em etanol e a partição em hexano apresentaram seus picos de aumento no tempo de 150 minutos. A partição em *n*-butanol apresentou resposta significativa na concentração de 10 mg/kg, quando comparada a linha de base, nos tempos de 90 a 180 minutos.

6. CONCLUSÕES:

1- Foi isolada a substância Loliolida da partição em diclorometano das folhas de *Couroupita guianensis*, sendo essa substância inédita nessa espécie.

2- Foi isolada a substância Triptantrina da partição em acetato de etila das folhas de *Couroupita guianensis*, sendo essa substância já isolada dos frutos dessa mesma espécie.

3- Foi isolada uma substância de esqueleto 24-etil-5 α -colesta-7,22-dieno da partição em hexano das flores de *Couroupita guianensis*, sendo essa substância inédita nessa espécie.

4- Foi isolada a substância Eugenol da partição em hexano das flores de *Couroupita guianensis*, sendo essa substância já identificada no óleo essencial dessa espécie.

5- O óleo essencial das flores foi analisado e pode-se verificar a sua composição química e as diferenças existentes nas partes utilizadas.

6- Essa espécie mostrou possuir alta atividade antioxidante pelo método do radical livre DPPH especialmente as partições em acetato de etila das folhas e das flores.

7- Essa espécie mostrou grande potencial antinociceptivo em níveis periféricos para os extratos em diclorometano e *n*-butanol, e hexano e acetato de etila, em nível central para os extratos *n*-butanol e acetato de etila e em nível central-espinhal para os extratos em acetato de etila e *n*-butanol, respectivamente nas concentrações de 100 mg/kg e 10 mg/kg.

8- Esse trabalho contribuiu para o melhor conhecimento da química e da farmacologia dessa espécie.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

ADAMS, R P. **Identification of essential oil components by gas chromatography / mass spectroscopy.** *Allured Publishing Corporation, USA.* 1995.

ANDRADE, E. H. A., MAIA, J. G. S., STREICH, R, MARX FRIEDHELM, **Seed Composition of Amazonian Lecythidaceae species: part 3 in ter series “Studies of Edible Amazonian Plants”**, *Journal of Food compositon and Analysis*, Vol. 12, pp. 37-51, 1999.

ANDRADE, E. H. A.; ZOGHBI, M.G. B.and MAYA, J. G. S. **The volatiles from flowers of *Couroupita guianensis* Aubl., *Lecythis usitata* Miers. Var. *paraensis*, *R. Kunth* and *Eschweilera coriacea* Mori (Lecythidaceae)**, *Journal of Essential Oil Research*, Vol. 12, No. 2, pp. 163-166, 2000.

ANJANEYULU, A. S. R. and RAO, S. S. **A new ketosteroid from the bark of *Couroupita guianensis* Aubl.**, *Indian Journal Chemistry Section B: Organic Chemistry*, Vol. 37B, No. 4, pp. 382-386, 1998.

BARNES, N. M.; SHARP, T. **A Review of Central 5-HT Receptors and Their Function.** *Neuropharmacology*. Vol. 38, p. 1083-1152, 1999.

BERGMAN, J., LINDSTROM, J. and TILSTAM, U. **The structure and properties of some indolic constituents in *Couroupita guianensis* Aubl.**, *Tetrahedron*, Vol. 41, No. 14, pp. 2879-2881. 1995.

BHATTACHARJEE, A. K.; HARTELL, M. G.; NICHOLS, D. A.; HICKS, R. P.; STANTON, B.; VAN HAMONT, J. E.; MILHOUS, W. K., **Structure-Activity Relationship Study of Antimalarial Indolo [2,1-*b*]quinazoline-6, 12-diones (tryptanthins). Three Dimensional Pharmacophore Modeling and Identification of New Antimalarial Candidates**, *European Journal of Medicine Chemistry*, Vol. 39, pp. 59-67, 2004.

BHATTACHARJEE, A. K.; SKANCHY, D. J.; JENNINGS, B.; HUDSON, T. H.; BRENDLE, J.J.; WERBOVETZ, K.A., **Analysis of Stereoelectronic Properties, Mechanism of Action and Pharmacophore of Synthetic Indolo [2,1-*b*]quinazoline-6,12-dione Derivatives in relation to Antileishmanial Activity Using Quantum Chemical, Cyclic Voltammetry and 3-D-QSAR CATALYST Procedures**, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, Vol. 10, pp. 1979-1989, 2002.

BOMBARDELLI, E. **The medicinal plants industry**. Wuesekera, R. O. B. (ed.), CRC Press Inc, 83-97. 1996.

BORKOSKY, S.; VALDÉS, D. A.; BARDÓN, A.; DÍAZ, J. G.; HERZ, W. **Sesquiterpene Lactones and Other Constituents of *Eirmocephala megaphylla* and *Cyrtocymura cincta***. *Phytochemistry*, Vol. 42, No 6, pp.1637-1639, 1996.

BRITO, N.R.S. de 1986. **Perfil Químico de famílias Angiosperma**, Tese de Doutorado, *Instituto de Química-USP*, São Paulo, Brasil, p. 268.

CHEN, I. C.; CHANG, H. C.; YANG, H. W.; CHEN, G. L. **Evaluation of total antioxidant activity of several popular vegetables and chinese herbs: a fast approach with ABST/H₂O₂/HRP system in microplates.** *Journal of Food and Drug Analysis*, 12(1), 29-33. 2004.

CONEGERO, L. S.; IDE, R. M.; NAZARI, A. S.; SARRAGIOTTO, M. H.; DIAS FILHO, B. P.; NAKAMURA, C. V.; CARVALHO, J. E.; FOGLIO, M. A., **Constituintes de *Alchornea glandulosa* (EUPHORBIACEAE).** *Química Nova*, VOL. 26, NO. 6, 825-827, 2003.

CORDELL, G. A. **Natural products and Environmental Issues.** *A. C. S. Symposium Series*, 8, 588. 1995.

CORDELL, G. A.; CHRISTOPHER, W.; BEECHER, W.; PEZZUTO, J. M. **Can ethnopharmacology contribute to the development of new anticancer drugs?** *J. of Ethnopharmacology*, 32, 117-133. 1991.

CORRÊA, M. P. **Dicionário das Plantas Úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas.** Vol. 2. Rio de Janeiro: *Ministério da Agricultura*. p.121. 1931.

COSTA, V. B.; COUBE, C. S.; MARINHO, B. G.; MATHEUS, M. E.; LEITÃO, S. G.; FERNANDES, P.D. **Anti-inflammatory and Analgesic Activity of *Bouchea fluminensis*.** *Fitoterapia*, Vol.74, pp.364-371. 2003.

CRUBLET, M.; LONG, C.; SÉVENET, T.; HADI, H. A.; LAUVAUD, C. **Acylated flavonol glycosides from leaves of *Planchonia grandis*,** *Phytochemistry*, Vol. 64, pp. 589-594, 2003.

DAS, M. C. and MAHATO, S. B. **Triterpenoid sapogenols from the leaves of *Careya arborea*: structure of careyagenolide**, *Phytochemistry*, Vol. 21, No. 8, pp. 2069-2073, 1982.

DANZ, H.; STOYANOVA, S.; THOMET, O. A. R.; SIMON, H.; DANNHARDT, G.; ULBRICH, H.; HAMBURGER, M. **Inhibitory Activity of tryptanthrin on Prostaglandin and Leukotriene Synthesis**, *Planta Med*, Vol. 68, pp.875-880, 2002.

DANZ, H.; STOYANOVA, S.; WIPPICH, P.; BRATTSTRÖM, A.; HAMBURGER, M. **Identification and isolation of the Cyclooxygenase-2 Inhibitory Principle in *Isatis tinctoria***. *Planta Med*, Vol. 67, pp. 411-416, 2001.

DERANIYAGALA, S. A.; RATNASOORIYVA, W. D.; GOONASCKARA, C. L., **Antinociceptive effect and toxicological study of the aqueous bark extract of *Barringtonia racemosa* on rats**, *Journal of Ethnopharmacology*, Vol. 86, pp. 21-26, 2003.

DRUMOND, J. P.; **Dor Aguda – Fisiologia, Clínica e Terapêutica**, Ed. Atheneu – SP, 2000.

EKNAT, A. A. and SHIVCHANDRAJI, L. K. **Amirin palmitate isolation on from *Couroupita guianensis* Aubl. Leaves**, *Indian Drugs*, Vol. 39, No. 4, pp. 213-216, 2002.

FINKEL, T. & HOLBROOK, N. J. **Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing**, *Nature*, 408, 239-247.2000.

FRANZOTTI, E. M.; SANTOS, C. V.; RODRIGUES, H. M.; MOURÃO, R. H.; ANDRADE, M. R.; ANTONIOLLI, A. R. **Anti-inflammatory, Analgesic Activity and Acute Toxicity of *Sida cordifolia* L. (Malva-branca).** *Journal of Ethnopharmacology*, 72, 273-277. 2000.

FURUYA, T.; ORIHARA, Y.; TSUDA, Y. **Caffeine and Theanine from Cultured Cells of *Camellia sinensis*.** *Phytochemistry*, vol.29, No 8, pp. 2539-2543, 1990.

GEORGE, V.; KOSHY, A. S.; SINGH, O. V.; NAYAR, M. N. S.; PUSHANGADAN, P. **Tryptanthrin from *Wrightia tinctoria*.** *Fitoterapia* Vol. LXVII, No. 6, 1996.

GOTTLIEB, O.; KAPLAN, M. **Das Plantas Mediciniais aos Fármacos Naturais.** *Ciência Hoje*, 89, 5154. 1993.

GROTTO, M. & SULMAN, F. G. **Modified Receptacle Method for Animal Analgesimetry.** *Arch. Int. Pharmacodyn*, Vol. 165, pp. 152-159, 1967.

HALLIWELL, B & GUTTERIDGE, J. M. C. **Free radicals in biology and medicine.** Oxford: *Oxford University Press*. 1999.

HOSOE T.; NOZAWA, K.; KAWAHANA, N.; FUKUSHIMA, K.; NISHIMURA, K.; MIYAJI, M.; KAWAI, K. **Isolation of a New Potent Cytotoxic Pigment Along with Indigotin the Pathogenic Basidiomycetous Fungus *Schizophyllum commune*.** *Mycopathologia* 146, pp. 9-12, 1999.

ISHIHARA, T.; KOHNO, K.; USHIO, S.; IWAKI, K.; IKEDA, M.; KURIMOTO, M., **Tryptanthrin Inhibits Nitric Oxide and Prostaglandin E₂ Synthesis by Murine Macrophages.** *European Journal of Pharmacology*, Vol. 407, pp. 197-204, 2000.

ITO, S.; OKUDA-ASHITAKA, E.; MINAMI, T. **Central and peripheral roles of prostaglandins in pain and their interactions with novel neuropeptides nociceptin and nocistatin.** *Neuroscience Research* 41 (2001) 299-332.

JANSSEN, P.A. J.; NIEMEGERES, C. J. E.; DONY, G. H. **The Inhibitory Effect of Fentanyl and Morphine-like Analgesics on the Warm Induced Tail Withdraal Reflex in Rats.** *Arzheim Forsch. Drug Res.*, Vol. 13, pp.502-507. 1963.

KINSELLA, J. E., FRANKEL, E., GERMAN, B., & KANNER, J. **Possible mechanisms for the protective role of antioxidants in wine and plant foods.** *Food Technology*, 47(4), 85-89. 1993.

KURAISHI, Y.; HARADA, Y.; ARATANI, S. **Involvement of the Spinal Noradrenergic and Serotonergic Systems in Morphine Analgesia: The Differences in Mechanical and Thermal Analgesic Test,** *Brain Research*, Vol. 273, pp. 245-252. 1983.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas do Brasil.** 3.ed. São Paulo: *Instituto Plantarum de Estudos da Flora LTDA*. Vol. 1, p. 137, 1992.

MARINHO, B. G. **Avaliação de Perfil Antinociceptivo de Vitex cymosa Bertero**, Tese de Mestrado, *Departamento de Farmacologia Bsica e Clíica, da UFRJ*, Rio de Janeiro, 2002.

MASSIOT, G.; CHEN, X.; LAVAUD, C.; MEN-OLIVIER, L. L.; DELAUDE, C.; VIARI, A.; VIGNY, P. and DUVAL, J. **Saponins from stem bark of *Petersianthus macrocarpus***, *Phytochemistry*, Vol. 31, No. 10, pp. 3571-3576, 1992.

McLAFERTY, F. W.; STAUFFER, D.B. **The wiley/ NBS registry of mass espectral data**. New York, ed. *Wiley Interscience Pub.* 1989. v. I-V.

MENSOR, L.L.; MENEZES, F. S.; LEITAO, G.G.; REIS, A. S.; DOS SANTOS, T.C., COUBE, C.S.; LEITÃO, S.G. **Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method**. *Phytotherapy Research*, 15(2), 127-130, 2001.

MICALLEF, M. J.; IWAKI, K.; ISHIHARA, T.; USHIO, S.; AGA, M.; KUNIKATA, T.; KOYA-MIYATA, S.; KIMOTO, T.; IKEDA, M.; KURIMOTO, M.; **The Natural Plant Product Tryptanthrin Ameliorates Dextran Sodium Sulfate-Induced Colitis in Mice**. *International Immunopharmacology*. Vol. 2, pp.565-578, 2002.

MITTERMEIER, R. A.; GIL, P. R.; MITTERMEIER, C. G. **Megadiversity: Earth's Biologically Wealthiest Nations**. Mexico: CEMEX, Agrupación Sceira Madre. 1997.

OBERTHÜR, C.; JÄGGI, R.; HAMBURGUER, M.; **HPLC Based Activity Profiling for 5-lipoxygenase Inhibitory Activity in *Isatis tinctoria* leaf extracts.** *Fitoterapia*, Vol. 76, pp. 324-332, 2005.

OKADA, N.; SHIRATA, K., NIWANO, M.; KOSHINO, H.; URAMOTO, M., **Immunosuppressive Activity of a Monoterpene from *Eucommia ulmoides*.** *Phytochemistry*, Vol. 37, No 1, pp. 281-282, 1994.

OKUNADE, A. L.; WIEMER, D. F., **(-)-Loliolide, an Ant-Repellent Compound from *Xanthoxylum setulosum*,** *Journal of Natural Products*, Vol. 48, No. 3, pp. 472-473, 1985.

PAL, B. C.; ACHAIRI, B.; PRICE, K. R. **A triterpenoid glucoside from *Barringtonia acutangula*,** *Phytochemistry*, Vol. 30, No. 12, pp. 4177-4179, 1991.

PETTIT, G. R.; HERALD, C. L.; ODE, R. H., BROWN, P.; GUST, D. J.; MICHEL, C. **The Isolation of Loliolide from an Indian Ocean *Opisthobranch mollusc*.** *Journal of Natural Products*, Vol. 43, No. 6, pp. 752-755, 1980.

REVILLA, J. **Plantas úteis da bacia amazônica,** Manaus: SEBRAE-AM/INPA,2002. Volume 1, p.445

ROW, L. R.; SANTRY, C. S. P. and SURYANANAYANA, P. **Chemical examination of *Couroupita guianensis*,** *Current Science*, Vol. 35, No. 6, pp. 146-147, 1966.

SAITO, T.; HAYAMIZU, K.; YANAGISAWA M.; YAMAMOTO, O., **Spectral Database for Organic Compounds, SDBS**; *National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST)*, Japan. http://www.aist.go.jp/RIODB/SDBS/cgi-bin/cre_index.cgi

SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; PETROVICK, P. R. **Produtos de Origem Vegetal e o desenvolvimento de Medicamentos. Farmacognosia da planta ao medicamento.** Porto Alegre/Florianópolis. *Editora da UFRGS/ Editora da UFSC*. 2004. p 371.

SCHRENK, D.; RIEBNIGER, D.; TILL, M.; VETTER, S.; FIEDLER, H., **Triptanthrins: A Novel Class of Agonists of the Aryl Hydrocarbon Receptor**, *Biochemical Pharmacology*, Vol. 54, pp. 165-171, 1997.

SEN, A. K.; Mahato, S. B.; Dutta, N. L. **Couroupitine A, A New Alkaloid from *Couroupita guianensis***. *Tetrahedron Letters* No. 7, pp 609-610, 1974.

SUCROW, W.; SLOPIANKA, M.; KIRCHER, H. W., **The Occurrence of C₂₉ Sterols with Different Configurations at C-24 in *Curcubita pepo* Shown by 270MHz NMR**, *Phytochemistry*, Vol. 15, p.1533.

WONG, K. C. and TIE, D. Y. **Volatile constituents of *Couroupita guianensis* Aubl. Flowers**, *Journal of Essential Oil Research*, Vol. 7, No. 2, pp.225-227, 1995.

VALDÉS III, L. J. **Loliolide from *Salvia divinorum***. *Journal of Natural Products* Vol. 49(1), p. 171, 1986.

ZIMMERMANN, M. **Ethical Guidelines for Investigations of Experimental Pain in Conscious Animals.** *Pain*. Vol. 16. pp. 109-110. 1983.

<http://www.plantarum.com.br/abrico.html>

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)