

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA

ESTUDO FITOQUÍMICO DAS FOLHAS, FRUTOS E RAÍZES DE
Passiflora edulis **FORMA** *flavicarpa* **DEGENER.**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

SILVANA MARIA ZUCOLOTTO

Florianópolis

2005

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA

**ESTUDO FITOQUÍMICO DAS FOLHAS, FRUTOS E RAÍZES DE
Passiflora edulis FORMA *flavicarpa* DEGENER.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Farmácia por Silvana Maria Zucolotto como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Farmácia

ORIENTADOR: Prof. Dr. Eloir Paulo Schenkel

Florianópolis

2005

DEDICATÓRIA

*Aos meus pais: Waldemar e Carmen
e aos meus avós:
Mansueto (in memoriam) e Etelvina*

*"A vida só pode ser compreendida
olhando-se para trás; mas só pode ser
vivida olhando-se para a frente."*

Soren Kierkegaard

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todas as pessoas que, de uma forma ou de outra, contribuíram para a realização deste trabalho, especialmente:

Ao Prof. Dr. Eloir Schenkel, pela sua orientação, carinho, compreensão, incentivo e principalmente, pela sua contribuição em minha formação científica e humana;

Ao Prof. Dr. Jorge Palermo, da Universidade de Buenos Aires, na Argentina, por todo auxílio, sobretudo por todo carinho e boa vontade;

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Farmácia da Universidade Federal de Santa Catarina, e em especial à Profa. Dra. Marení Rocha Farias e à Profa. Dra. Miriam de Barcellos Falkenberg, por todo auxílio e atenção dispensados em meu trabalho e às Profa. Dra. Cláudia Maria Oliveira Simões e Tânia Frode, assim como as alunas de mestrado Vanessa Muller e Ana Beatriz Montanher Pimentel, pela realização dos experimentos para avaliação das atividades biológicas dos extratos de *P. edulis*;

Ao Prof. Dr. Daniel de Barellos Falkenberg pela identificação do material vegetal;

Aos meus pais, Waldemar e Carmen e ao meu irmão André por todo esforço que fizeram para eu concluir o curso de farmácia e o mestrado. Muito obrigada! Amo vocês!

Aos meus avós, agradeço por todo apoio. Devo muito a vocês pelo que sou hoje.

À técnica do laboratório Solange Dias, que foi uma “super amiga”, e além disso, me ajudou em vários apuros. Agradeço muito pela sua amizade e dedicação;

Ao meu noivo Gustavo, por todo carinho, apoio, dedicação e por toda paciência. Te amo!

Aos amigos, Karen, Maria Isabel, Rodrigo, Melissa, Roberto, Andressa, Beatriz, Cíntia, Hellen, Pablo, Teca, Silvânia, Daiani, Teca, Mariliz, Mariana, Patrícia, Márcia e Januária, pela amizade, por toda atenção dispensada e por todos momentos alegres nos laboratórios.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	vii
LISTA DE TABELAS.....	x
LISTA DE ABREVIATURAS.....	xi
RESUMO.....	xii
ABSTRACT.....	xiii
1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS	5
2.1 OBJETIVO GERAL	6
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	6
3 REVISÃO DA LITERATURA	7
3.1 INFORMAÇÕES BOTÂNICAS	8
3.2 PRODUÇÃO.....	11
3.3 USOS POPULARES.....	12
3.4 CONSTITUINTES QUÍMICOS.....	14
3.4.1 Flavonóides em espécies de <i>Passiflora</i>	16
3.4.2 Triterpenos na espécie <i>P.edulis</i>	21
3.4.3 Saponinas em espécies de <i>Passiflora</i>	23
3.4.4 Glicosídeos cianogênicos em espécies de <i>Passiflora</i>	27
3.5 ATIVIDADES FARMACOLÓGICAS DESCRITAS PARA A ESPÉCIE <i>P. edulis</i> ..	34
3.5.1 Atividade ansiolítica e sedativa.....	34
3.5.2 Atividade analgésica	36
3.5.3 Atividade anticonvulsivante.....	36
3.5.4 Atividade antioxidante	37
3.6 AVALIAÇÕES TOXICOLÓGICAS.....	37
3.7 ATIVIDADE ANTIINFLAMATÓRIA DE ESPÉCIES DO GÊNERO <i>Passiflora</i>	39
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	40
4.1 PROCEDIMENTOS GERAIS.....	41
4.2 MATERIAL VEGETAL.....	42
4.3 PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS.....	43
4.3.1 Preparação dos Extratos das folhas	43
4.3.2 Preparação dos Extratos dos frutos	43
4.3.3 Preparação dos Extratos das raízes.....	45
4.3.4 Preparação dos Extratos para avaliação das atividades antiinflamatória e antiviral	45
4.4 FRACIONAMENTO DOS EXTRATOS	46
4.4.1 Fracionamento do extrato etanólico das folhas.....	46

4.4.2	Fracionamento dos extratos dos frutos.....	47
4.4.3	Fracionamento do extrato etanólico das raízes	48
4.5	ANÁLISE CROMATOGRÁFICA DAS FRAÇÕES	49
4.5.1	Análise cromatográfica das frações das folhas	49
4.5.2	Análise cromatográfica dos frutos.....	50
4.5.3	Análise cromatográfica das frações das raízes.....	50
4.6	ISOLAMENTO, PURIFICAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO.....	51
4.6.1	Identificação e isolamento de <i>C</i> -glicosilflavonóides do extrato metanólico das folhas	51
4.6.2	Isolamento da substância SRI e SRII a partir da fração diclorometano das raízes	52
4.6.3	Isolamento da substância SRIII a partir da fração diclorometano das raízes.....	53
4.6.4	Isolamento da substância SRIV, SRV, SRVI a partir da fração butanólica das raízes	55
4.6.5	Reação de Liebermann-Burchard.....	57
4.6.6	Análise das substâncias isoladas	57
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	58
5.1	Estudo fitoquímico das folhas.....	59
5.1.1	Rendimento dos extratos das folhas.....	59
5.1.2	Análise cromatográfica das frações das folhas	59
5.1.3	Análise estrutural da <i>C</i> -glicosilflavona SFI	62
5.2	ESTUDO FITOQUÍMICO DOS FRUTOS	70
5.2.1	Rendimento dos extratos dos frutos	70
5.2.2	Análise cromatográfica dos extratos e frações e frutos.....	70
5.3	ESTUDO FITOQUÍMICO DAS RAÍZES.....	77
5.3.1	Rendimento dos extratos das raízes	77
5.3.2	Análise cromatográfica das frações das raízes.....	78
5.3.3	Análise estrutural do terpenóide SRI	83
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	108
7	CONCLUSÕES	113
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	116

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Foto das folhas de <i>P.edulis</i> f. <i>flavicarpa</i> Degener.....	11
Figura 2: Foto da flor de <i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i> Degener.....	11
Figura 3: Principais agliconas que dão origem aos C-glicosídeos flavonoídicos das espécies de <i>Passiflora</i>	17
Figura 4: Flavonóides C-glicosídeos descritos para a espécie <i>P. edulis</i>	19
Figura 5: Ácidos ciclopassiflóicos A – C de <i>P. edulis</i>	21
Figura 6: Ácidos ciclopassiflóicos D – G de <i>P. edulis</i>	22
Figura 7: Saponina passiflorina.....	23
Figura 8: Ciclopassiflosídeos I - VI de <i>P. edulis</i>	24
Figura 9: Ciclopassiflosídeos VII - XI de <i>P. edulis</i>	25
Figura 10: Saponinas triterpênicas de <i>P. alata</i>	26
Figura 11: Quadrangulosídeo.....	26
Figura 12: Glicosídeos cianogênicos tipo I.....	28
Figura 13: Glicosídeos cianogênicos tipo II.....	28
Figura 14: Glicosídeos cianogênicos tipo III.....	29
Figura 15: Glicosídeos cianogênicos tipo IV.....	29
Figura 16: Glicosídeos cianogênicos descritos para <i>P. edulis</i>	32
Figura 17: Foto de cultivo de <i>P.edulis</i>	42
Figura 18: Estrutura do fruto de <i>P. edulis</i>	43
Figura 19: Esquema representativo do fracionamento do extrato etanólico das folhas de <i>P. edulis</i>	46
Figura 20: Esquema representativo do fracionamento do extrato etanólico do pericarpo dos frutos maduros de <i>P. edulis</i>	47
Figura 21: Esquema representativo do fracionamento do suco concentrado Maguary® de <i>P. edulis</i>	48
Figura 22: Esquema representativo do fracionamento do extrato etanólico das raízes de <i>P. edulis</i>	49
Figura 23: Esquema representativo do isolamento dos C-glicosilflavonóides das folhas de <i>P. edulis</i>	52

Figura 24: Esquema de isolamento das substâncias SRI e SRII.....	55
Figura 25: Esquema de isolamento da substância SRIII.....	55
Figura 26: Esquema de isolamento das substâncias SRIV, SRV e SRVI.....	56
Figura 27: Cromatografia em camada delgada das subfrações (SF4A, SF4B) de <i>P. edulis</i>	61
Figura 28: Cromatografia em camada delgada da sub-fração 4B (SF4B) e da substância SFI	62
Figura 29: Núcleo fundamental de uma flavona.....	64
Figura 30: Espectro de RMN ^1H da substância SFI em DMSO- d_6	66
Figura 31: Espectro de RMN ^1H ampliado da substância SFI em DMSO- d_6	67
Figura 32: Espectro de RMN ^1H ampliado da substância SFI em DMSO- d_6	68
Figura 33: Espectro de RMN ^{13}C da substância SFI em DMSO- d_6	69
Figura 34: Comparação cromatográfica entre os extratos e frações dos frutos de <i>P. edulis</i>	73
Figura 35: Comparação cromatográfica entre os extratos processados com a casca e com o mesocarpo dos frutos de <i>P. edulis</i>	74
Figura 36: Comparação cromatográfica entre a fração acetato de etila do extrato aquoso dos frutos maduros, com polpa e sementes e das frações acetato de etila e n- butanólica do suco concentrado de maracujá Maguary [®]	76
Figura 37: Comparação cromatográfica das frações das folhas, frutos e raízes de <i>P. edulis</i>	79
Figura 38: Cromatografia em camada delgada das substâncias SRI, SRII e SRIII.....	81
Figura 39: Representação esquemática do perfil cromatográfico da fração butanólica das raízes de <i>P. edulis</i> e das substâncias SRIV, SRV e SRVI.....	82
Figura 40: Espectro de RMN ^1H expandido da substância SRI em CDCl_3	85
Figura 41: Espectro de RMN ^1H expandido da substância SRI em CDCl_3	86
Figura 42: Espectro de RMN ^1H expandido da substância SRI em CDCl_3	87
Figura 43: Espectro de RMN ^{13}C expandido da substância SRI em CDCl_3	88
Figura 44: Espectro de RMN ^{13}C expandido da substância SRI em CDCl_3	89
Figura 45: Espectro de RMN ^{13}C expandido da substância SRI em CDCl_3	90
Figura 46: Espectro de RMN ^{13}C expandido da substância SRI CDCl_3	91

Figura 47: Espectro DEPT 135° da substância SRI em CDCl ₃	92
Figura 48: Subespectro DEPT 135° da substância SRI em CDCl ₃	93
Figura 49: Subespectro DEPT 135° da substância SRI em CDCl ₃	94
Figura 50: Espectro de HMBC-CH da substância SRI em CDCl ₃	96
Figura 51: Espectro H-H COSY da substância SRI em CDCl ₃	97
Figura 52: Espectro H-H COSY ampliado da substância SRI em CDCl ₃	98
Figura 53: Núcleos triterpênicos do tipo α-amirina (urseno) e β-amirina (oleaneno).....	99
Figura 54: Estrutura proposta para a substância SRI.....	103
Figura 55: Espectro de HMBC ampliado da substância SRI em CDCl ₃	104
Figura 56: Espectro HETCOR ampliado da substância SRI em CDCl ₃	105

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Produção do suco de maracujá interna e externa, 1993 – 1996.....	12
Tabela 2: Principais flavonóides C-glicosídeos descritos para a espécie <i>P. edulis</i>	20
Tabela 3: Comparação da concentração de HCN em diferentes partes e fases de maturação do maracujá	31
Tabela 4: Principais glicosídeos cianogênicos descritos para as espécies de <i>Passiflora</i>	33
Tabela 5: Coloração desenvolvida na reação de Liebermann-Burchard de acordo com o núcleo triterpênico ou esteroidal	57
Tabela 6: Rendimento do extrato etanólico das folhas de <i>P. edulis</i>	59
Tabela 7: Valores de deslocamentos químicos em ppm observados no espectro de RMN ¹ H da substância SFI em DMSO-d ₆	63
Tabela 8: Valores de deslocamentos químicos (δ ppm) para o anel C em flavonóides C-glicosídeos.....	63
Tabela 9: Valores de deslocamentos químicos (δ ppm) de alguns carbonos do anel A e C da substância SFI comparados com a literatura.....	65
Tabela 10: Valores de deslocamentos químicos (δ ppm) de alguns dos carbonos referentes ao açúcar da substância SFI comparados com a literatura.....	65
Tabela 11: Rendimento da extração por maceração dos extratos do mesocarpo e da casca dos frutos verdes e dos frutos maduros de <i>P. edulis</i>	70
Tabela 12: Rendimento do extrato etanólico das raízes de <i>P. edulis</i>	77
Tabela 13: Rendimento das frações da partição das raízes de <i>P. edulis</i>	77
Tabela 14: Comparação entre núcleo urseno e oleaneno para C-12 e C-13 com os dados da literatura.....	100
Tabela 15: Comparação entre núcleo urseno e oleaneno para C-18 com dados da literatura.....	101
Tabela 16: Correlações observadas dos grupamentos metilas, no espectro de HMBC C-H em CDCl ₃ do triterpeno SRI.....	102
Tabela 17: Valores de deslocamentos químicos em ppm observados no espectro de RMN ¹³ C do triterpeno SRI, comparados com dados da literatura.....	106
Tabela 18: Valores de deslocamentos químicos em ppm observados no espectro de RMN ¹ H do triterpeno SRI, comparados com dados da literatura.....	107

LISTA DE ABREVIATURAS

RMN-¹H: Ressonância magnética nuclear de hidrogênio
RMN-¹³C: Ressonância magnética nuclear de carbono 13
DEPT: Distortionless enhancement by polarization transfer
COSY: Correlated spectroscopy
HMBC: Heteronuclear multiple bond correlation
CDCl₃: Clorofórmio deuterado
AcOEt: Acetato de etila
CHCl₃: Clorofórmio
n-BuOH: n-Butanol
CH₂Cl₂: Diclorometano
EtOH: Etanol
MeOH: Metanol
EP: Éter de petróleo
IPOH: Isopropanol
CH₃COOH: Ácido acético
CLAE: Cromatografia líquida de alta eficiência
Glc: glicose
Quin: quinose
Fuc: fucose
Cq: Carbono quaternário

RESUMO

Passiflora edulis pertence a família Passifloraceae e é popularmente conhecida no Brasil, como maracujá. Há duas variedades de *P. edulis*: *P. edulis* Sims ou também *P. edulis* forma Sims (maracujá roxo) e *P. edulis* forma *flavicarpa* Degener (maracujá amarelo). Nesse trabalho, foi escolhida a espécie *P. edulis* f. *flavicarpa* como objeto de estudo. Essas espécies tem sido utilizadas na medicina popular principalmente como sedativas e calmantes. Foram analisados extratos das folhas, frutos e raízes de *P. edulis*. As análises cromatográficas indicaram a presença de flavonóides C-glicosídeos nas folhas e frutos de *P. edulis*. Nas raízes não foi identificada a presença de flavonóides C-glicosídeos. Nas folhas foi realizada a pesquisa de flavonóides e nas raízes foi investigada a presença de terpenóides e saponinas. O fracionamento de flavonóides C-glicosídeos no extrato metanólico das folhas resultou em duas sub-frações e possibilitou o isolamento de uma C-glicosilflavona, caracterizada através de técnicas espectroscópicas de RMN ^1H e ^{13}C . Predominam nas sub-frações as C-glicosilflavonas, vitexina, isovitexina, orientina e isoorientina. A partir da fração diclorometano das raízes, foram isoladas três substâncias. Uma dessas substâncias, codificada como SRI, foi elucidada como um triterpeno de núcleo urseno, através de medidas espectroscópicas de RMN ^1H e ^{13}C , DEPT, HETCOR, COSY e HMBC. O triterpeno foi identificado como 3β , 16β - diacetoxiurs-12-eno, substância não descrita previamente na literatura para as espécies do gênero *Passiflora*. A substância codificada como SRII foi identificada como sitosterol. Além disso, foi determinada a atividade antiinflamatória dos extratos aquosos liofilizados das folhas, pericarpo dos frutos maduros e raízes de *P. edulis*. O extrato das folhas (50, 100, 250 e 500 mg/Kg, i.p.), no modelo de pleurisia, induzida por carragenina, em camundongos, inibiu significativamente a migração de leucócitos. Os mesmos extratos foram avaliados em relação a potencial atividade antiviral. O extrato aquoso liofilizado das raízes apresentou valores de índice de seletividade de IS = 6,21 e 11,8, respectivamente, para as cepas KOS e 29R (resistentes ao aciclovir), merecendo especial interesse para estudos posteriores visando a caracterização de frações ativas.

ABSTRACT

Passiflora edulis is a member of the family Passifloraceae. It is popularly known in Brazil as maracujá. Two types of *P. edulis* are grown commercially, the purple form (*P. edulis* Sims or also *P. edulis* forma Sims) and a yellow form (*P. edulis* forma *flavicarpa* Degener). This species has been used in medicine popularly mainly as a sedative and tranquilizer. In this work the *P. edulis* f. *flavicarpa* was researched. The phytochemical research was performed with the leaves, fruits and roots extracts. Chromatographic analyses on silica gel indicated flavonoids C-glycosides in the leaves and fruits extracts but not in the roots extracts. Fractionation of the leaves methanolic extract resulted in two sub-fractions and allowed the isolation of a C-glycosylflavon, identified on the basis of NMR - ^1H e ^{13}C spectral data. The main compounds identified in the sub-fractions were vitexin, isovitexin, orientin and isoorientin. From the dichloromethane fraction of the roots three compounds were isolated. The compound SRI was identified as a triterpenoid on the basis of NMR ^1H and ^{13}C , DEPT, HETCOR, COSY and HMBC, the 3β , 16β - diacetoxyurs-12-ene. This is the first report of this compound in *Passiflora* species. The compound SRII was identified as sitosterol. Furthermore, the anti-inflammatory activities of the lyophilized aqueous extracts obtained from the leaves, pericarp of the mature fruits and roots were evaluated in mouse model of pleurisy induced by carrageenan. The leaves extract (50, 100, 250 e 500 mg/Kg, i.p.), inhibited leukocyte migration. The antiviral potential activity of the lyophilized aqueous and hydroethanolic extracts obtained from the leaves, pericarp of the mature fruits and roots were evaluated. The results showed that the lyophilized aqueous roots extract has antiviral activity with selectivity indices (SI=CC50/EC50) varying from 6,21 to 11,8, respectively, against KOS and 29R strains (aciclovir resistant). Further investigations are required to characterize the active fractions.

1 INTRODUÇÃO

O gênero *Passiflora*, pertence à família Passifloraceae e possui cerca de 400 espécies, nativas da América tropical, desde o sul dos Estados Unidos, México e América Central até o sul da América do Sul, incluindo o Brasil. Apenas cerca de dez por cento de suas espécies são nativas na Ásia Tropical até a Polinésia e Austrália (SACCO, 1980). As espécies mais estudadas e utilizadas para a elaboração de medicamentos fitoterápicos são *P. alata*, que constitui a espécie oficial descrita na Farmacopéia Brasileira (FARM. BRAS, 1959 e 1977) e *P. incarnata*, descrita como espécie oficial em várias farmacopéias e em muitos compêndios de plantas da América do Norte e Europa. Também a espécie *P. edulis* é muito cultivada no Brasil pelos seus frutos, utilizados na indústria alimentícia (OLIVEIRA et al., 2002). Há duas variedades de *P. edulis*: *P. edulis* forma *flavicarpa* Degener (maracujá amarelo) e *P. edulis* Sims ou também *P. edulis* forma Sims (maracujá roxo) (SPENCER; SEIGLER, 1983; VALE; LEITE, 1983; CARVALHO-OKANO; VIEIRA, 2001). Nesse trabalho, foi escolhida a espécie *P. edulis* f. *flavicarpa* como objeto de estudo.

A espécie *P. edulis* f. *flavicarpa* é conhecida popularmente como maracujá-amarelo, maracujá-ácido, maracujá-azedo, maracujá-comum, maracujá-de-comer, maracujá-de-suco, maracujá-mirim e maracujá-peroba (SACCO, 1980; CARVALHO-OKANO; VIEIRA, 2001).

Várias espécies do gênero *Passiflora*, silvestres ou cultivadas, são tradicionalmente conhecidas no âmbito da medicina popular em quase todos os países ocidentais. A literatura etnofarmacológica registra o uso das folhas, das diversas espécies de *Passiflora*, na forma de chá, como um calmante e suave indutor do sono (PIO CORRÊA, 1978; LORENZI; MATOS, 2002). O uso das folhas também é indicado para combater febres intermitentes, inflamações cutâneas, a eripsela sendo ainda consideradas diaforéticas e anti-histéricas (PIO CORRÊA, 1978). Especificamente para *P. edulis*, o suco dos seus frutos é referido por alguns autores como sedativo e o chá das folhas como calmante, sedativo e antiespasmódico (LORENZI; MATOS, 2002).

O efeito terapêutico de muitas plantas medicinais já está bem estabelecido, embora seus mecanismos de ação ainda não estejam muito claros. Diferentemente de fármacos isolados, as plantas medicinais contêm várias substâncias ativas que podem apresentar um efeito sinérgico, tanto farmacodinâmico quanto farmacocinético e, por isso, normalmente, há várias hipóteses de mecanismos de ação em relação à ação terapêutica dos extratos de plantas medicinais (WILLIAMSON, 2000; SPINELLA, 2002).

Vários ensaios pré-clínicos, mas poucos ensaios clínicos foram desenvolvidos para avaliar as atividades farmacológicas propostas para espécies de *Passiflora*. A espécie mais estudada é *P. incarnata*. Alguns estudos (OGA et al., 1984; PETRY et al., 2001 e PARIS et al., 2002) relataram atividade no Sistema Nervoso Central para a espécie *P. alata*. Para *P. edulis*, também há relatos (VALE; LEITE, 1983; MALUF et al., 1991; PETRY et al., 2001; PARIS et al., 2002) de efeito depressor do Sistema Nervoso Central para o extrato das folhas.

Na revisão bibliográfica realizada encontrou-se apenas um estudo em relação à atividade antiinflamatória da espécie *P. incarnata* (BORRELI et al., 1996). As espécies *P. edulis* Sims e *P. alata* vem sendo objetivo de estudo em relação a determinação da atividade antiinflamatória nesse Programa de Pós-Graduação. Resultados prévios sugerem que essas espécies têm um importante papel na modulação da inflamação. Em relação a avaliação da potencial atividade antiviral não foi encontrado relatos na literatura.

Dentro deste contexto, a proposta principal deste trabalho é o isolamento e caracterização de compostos ou frações das folhas e raízes de *P. edulis* f. *flavicarpa* e comparação dos constituintes químicos das folhas, raízes e frutos. Também é objetivo de estudo deste trabalho a determinação da atividade antiinflamatória e antiviral da espécie *P. edulis* f. *flavicarpa*, realizados em colaboração com a Dra. Profa. Tânia Fröde e Dra. Profa. Cláudia Maria Oliveira Simões. Neste trabalho também está sendo considerado os extratos processados dos subprodutos do maracujá, dentre eles, casca e mesocarpo, visto que, conforme Pruthi (1963), na extração do suco de maracujá, cerca de

2/3 do volume total são descartados (que equivale aproximadamente a que 65 – 70 % do peso total dos frutos), dos quais 90 % são cascas e, em torno de 10 % são sementes.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Aprofundar os estudos fitoquímicos e biológicos da espécie *P. edulis* f. *flavicarpa* Degener.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar os constituintes químicos, especialmente, flavonóides das folhas da espécie *Passiflora edulis*.
- Caracterizar os constituintes químicos das raízes de *Passiflora edulis*.
- Comparar a composição química dos extratos e frações das folhas, frutos e raízes de *Passiflora edulis*, através de análise cromatográfica.
- Avaliar a atividade antiinflamatória dos extratos aquosos das folhas, das raízes e do pericarpo dos frutos maduros da espécie *Passiflora edulis*.
- Avaliar a atividade antiviral dos extratos aquosos e hidroetanólicos das folhas, das raízes e do pericarpo dos frutos da espécie *Passiflora edulis*.

3 REVISÃO DA LITERATURA

O nome maracujá, de origem indígena, é empregado exclusivamente para designar as espécies do gênero *Passiflora*, da família Passifloraceae, a maioria das quais é nativa da América do Sul. Muitas espécies fornecem frutos comestíveis, outras têm folhas consideradas venenosas, outras ainda são de uso medicinal popular, como sedativas e hipnóticas, além de serem também preconizadas contra o nervosismo, ansiedade e insônias (PIO CORRÊA, 1978).

3.1 INFORMAÇÕES BOTÂNICAS

A família Passifloraceae foi descrita por Antoine Laurent de Jussieu e Augustin Pyramus de Candolle e inclui dezessete gêneros, e cerca de 600 espécies tropicais e temperadas, compreendendo lianas, arbustos e árvores. A grande maioria das espécies descritas nessa família são herbáceas ou lenhosas, em geral trepadeiras. Dentre as principais espécies da família Passifloraceae, destacam-se os gêneros *Passiflora*, *Adenia* e *Tetrapathaea* (CARVALHO-OKANO; VIEIRA, 2001).

As espécies de *Passiflora* são popularmente conhecidas como maracujás (PIO CORRÊA, 1978). Especificamente a espécie *P. edulis* f. *flavicarpa*, é conhecida popularmente como maracujá-amarelo, maracujá-ácido, maracujá-azedo, maracujá-comum, maracujá-de-comer, maracujá-de-suco, maracujá-mirim e maracujá-peroba (SACCO, 1980; CARVALHO-OKANO; VIEIRA, 2001).

Passiflora é o maior gênero, com cerca de 400 espécies e ocorre, principalmente, nas Américas, registrando-se a ocorrência de somente cerca de dez por cento de suas espécies na Ásia Tropical, Polinésia e Austrália. Muitas espécies são cultivadas em regiões tropicais devido à produção de frutos, destacando-se a espécie *Passiflora edulis* (COSTA, 1977; SACCO, 1980; BISSET, 1994; BLUMENTHAL; GOLDBERG, BRINCKMANN, 2000; DER MARDEROSIAN, 2001; STASI; HIRUMA-LIMA, 2002).

Passiflora é o único gênero dessa família registrado para o Estado de Santa Catarina (SACCO, 1980).

O maracujá chamou a atenção dos exploradores espanhóis que estiveram no Peru no século XVI. A construção rara das suas flores fez com que os missionários espanhóis associassem seu aspecto aos elementos da paixão de Cristo (crucificação de Jesus). A coroa simboliza a coroa de espinhos, os cinco estames as feridas (chagas), os três estigmas os pregos da cruz, o ovário o martelo e as cinco pétalas e as cinco sépalas os dez verdadeiros apóstolos. As gavinhas simbolizam as cordas do chicote utilizado no açoite. E as suas cores, branca e violeta, são associadas a pureza e ao céu. A espécie que mais caracteriza essa lenda é a *Passiflora edulis* Sims. Desta forma originaram-se os nomes científicos e populares do maracujá, sendo as espécies do gênero amplamente conhecidas como flor-da-paixão, no Brasil e *flor-de-la-passion* e *passion flower* na Europa e na América do Norte (PIO CORRÊA, 1978; SACCO, 1980; PIERCE, 1999; BLUMENTHAL; GOLDBERG, BRINCKMANN, 2000; DER MARDEROSIAN, 2001; STASI; HIRUMA-LIMA, 2002). Na Europa, logo após a colonização das Américas, as espécies de *Passiflora* tornaram-se rapidamente conhecidas como remédio sedativo, calmante, antiespasmódico e tônico dos nervos.

Passiflora edulis ocorre no Brasil, nos Estados do Amazonas, Pará, Paraíba, Alagoas, Bahia, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, e na América Central, Venezuela, Equador, Paraguai e Argentina (SACCO, 1980), sendo cultivada em muitas regiões tropicais e subtropicais do mundo, devido aos frutos empregados na indústria alimentícia. Esta espécie produz dois tipos de frutos, amplamente consumidos: o fruto de cor amarela (*P. edulis* Sims forma *flavicarpa* Degener) e o maracujá roxo (*P. edulis* Sims ou também *P. edulis* forma *edulis*) (SPENCER; SEIGLER, 1983; VALE; LEITE, 1983; CARVALHO-OKANO; VIEIRA, 2001). Essas formas são infra-específicas, sendo portanto citadas erroneamente como variedades ou citadas de maneira incompleta, especialmente quando alguns autores se referem ao maracujá-roxo como *P. edulis* ao invés de *P. edulis* Sims, como corretamente

citados em poucos trabalhos. O maracujá amarelo apresenta uma série de características consideradas superiores ao maracujá roxo, tais como: maior tamanho do fruto e maior peso. Também são citados maior teor de caroteno, maior acidez total, maior resistência às pragas e maior produtividade por hectare (CARVALHO-OKAMO; VIEIRA, 2001).

As folhas das espécies de *Passiflora* são alternas, em regra inteiras ou lobadas, mas raramente palmatipartidas; as folhas jovens são ocasionalmente inteiras ou bilobadas e ovadas. Os pecíolos possuem nectários localizados na sua face adaxial e raramente glândulas resiníferas; a presença ou ausência destas glândulas, sua forma, posição e número constituem importantes caracteres para a diferenciação de espécies e grupos de espécies. As estípulas são variáveis quanto à forma, e essas características também são úteis para a distinção de espécies de *Passiflora*. As flores são bem características: axilares, isoladas, possuem um receptáculo definido, na margem do qual se dispõem cinco sépalas e cinco pétalas. Ao centro existe um androginóforo que suporta o androceu, com cinco estames e o gineceu, com três a cinco carpelos e apenas um lóculo e muitos rudimentos seminiais. Em relação ao fruto, apresenta pericarpo carnoso, indeiscente e várias sementes pequenas, o que caracteriza a baga (PIO CORRÊA, 1978; SACCO, 1980; CARVALHO-OKANO; VIEIRA, 2001).

Cada espécie do gênero *Passiflora* apresenta características individuais. A espécie *P. edulis* constitui uma trepadeira vigorosa com gavinhas axilares, perene, de folhas simples, profundamente trilobadas (Figura 1), lustrosas na face adaxial, com duas pequenas glândulas nectaríferas junto ao limbo, próximas a inserção do curto pecíolo, com flores típicas das plantas deste gênero (Figura 2) (SACCO, 1980). *P. edulis* f. *flavicarpa* é semelhante a *P. edulis* Sims, diferindo desse táxon, de acordo com Degener (1933), principalmente pela presença de duas glândulas marginais nas sépalas mais externas, corona fortemente roxa na base, frutos maiores (6-12 cm de comprimento; Martin & Nakasone, 1970) e amarelos (CARVALHO-OKANO; VIEIRA, 2001).



Figura 1: Foto das folhas de *P. edulis* f. *flavicarpa*.
Fonte: LORENZI; MATOS, 2002.



Figura 2: Foto da flor de *P. edulis* f. *flavicarpa*.
Fonte: LORENZI; MATOS, 2002.

3.2 PRODUÇÃO

O Brasil é um grande produtor e exportador do maracujá, destacando-se o Estado do Pará com mais de um terço da produção nacional. Em seguida, vem a região Nordeste, onde os Estados da Bahia, Sergipe e Ceará, juntos, alcançam também quase um terço da produção total seguidas da região Sudeste, com um quarto da produção, onde o Estado de São Paulo é o líder (BRASIL, 2004).

Atualmente, várias espécies de maracujá nativas da América do Sul são cultivadas em outros países com clima tropical, tais como o Havá (EUA), África do Sul e Austrália, onde alcançam considerável importância econômica (BRASIL, 2004).

Os frutos do maracujá - amarelo (*P. edulis* f. *flavicarpa*) podem ser obtidos quase o ano inteiro, principalmente no norte e no nordeste do país, e é a variedade que apresenta maior produtividade. O maracujá-doce (*P. edulis* Sims), embora nativo no Brasil, é o menos conhecido, produzido e consumido pelos brasileiros (BRASIL, 2004).

Os principais produtos obtidos do maracujá são os sucos e as polpas que, são a base para a produção de vários outros produtos. Eventualmente alguns subprodutos são possíveis de serem aproveitados, como a casca, pectina, obtida da casca e óleo, obtido a partir das sementes. No entanto, esses subprodutos não são processados em nível industrial, sendo ainda restritos ao processamento domiciliar e a experimentos em laboratórios (BRASIL, 2004).

Segundo os dados disponíveis, a produção nacional de suco de maracujá evoluiu, no período 1993 - 1996, conforme a Tabela 1, que contém também uma projeção para 2005. Observa-se que a parcela destinada ao mercado externo é muito pouco representativa (BRASIL, 2004). *P. edulis* f. *flavicarpa* representa 95% dos pomares comerciais do Brasil, sendo cultivada em vários outros países (SOUZA; MELETTI, 1997 apud CARVALHO-OKANO; VIEIRA, 2001)

Tabela 1: Produção do suco de maracujá interna e externa, 1993 - 1996.

Ano	Produção	Mercado Interno		Exportação	
		Toneladas	(%)	Toneladas	(%)
1993	36.692,8	33.048,3	90,1	3.644,5	9,9
1994	41.501,9	39.375,7	94,9	2.126,2	5,1
1995	67.240,0	66.992,0	99,6	248,0	0,4
1996	72.122,6	66.511,6	92,2	6.109,0	8,5
1997*	79.335,0	73.163,0	92,2	6.172,0	7,8
2005*	95.995,0	88.528,0	92,2	7.467,0	7,8

Fonte: Associação Nacional das Indústrias Processadoras de Frutos Tropicais (ASTN) Estimativas e projeções da Secretária de Comércio Exterior (SECEX) e empresas do setor
(*) Crescimento estimado entre os períodos pela ASTN: 10%

3.3 USOS POPULARES

Várias espécies do gênero *Passiflora*, silvestres ou cultivadas, são tradicionalmente conhecidas no âmbito da medicina popular em quase todos os países ocidentais. Algumas

espécies estão incluídas nas Farmacopéias ou aceitas oficialmente para o uso medicamentoso, como a *P. alata* Dryander, no Brasil e *P. incarnata* L., na América do Norte e na Europa. Várias outras espécies, tanto silvestres como cultivadas, são também utilizadas pelo povo, com as mesmas indicações.

A literatura etnofarmacológica registra o uso das folhas, das diversas espécies de *Passiflora*, na forma de chá, como um calmante e suave indutor do sono (PIO CORRÊA, 1978; SACCO, 1980; LORENZI; MATOS, 2002). O uso das folhas, também é indicado para combater febres intermitentes, inflamações cutâneas, a eripsela, sendo ainda consideradas diaforéticas e anti-histéricas (PIO CORRÊA, 1978). As raízes, as folhas e as sementes são também consideradas antihelmínticas (SACCO, 1980). Atualmente, a casca do maracujá, normalmente descartada, vem sendo utilizada para o preparo da farinha da casca do maracujá. O uso da farinha tem sido recomendado para auxiliar regimes de emagrecimento, devido a alta concentração de fibras, o que justificaria uma diminuição da velocidade de absorção de carboidratos e de lipídios (NEUMANN, 2005).

P. edulis é amplamente cultivada em todo o Brasil para fins industriais. A importância econômica do fruto do maracujazeiro está na produção de suco concentrado, porém outros alimentos são elaborados a partir do fruto, tais como: polpa para servir de matéria-prima para elaboração de doces e outras formulações, néctares, concentrados para sucos e refrigerantes, xaropes, sorvetes e geléias, dentre outros produtos (OLIVEIRA et al., 2002).

Para a preparação do chá é citado na maioria das vezes as folhas, algumas vezes os ramos floridos, colhidos depois do amadurecimento de alguns dos seus primeiros frutos e excluem-se as raízes e sementes (COSTA, 1977; LORENZI; MATOS, 2002).

Os medicamentos fitoterápicos à base de maracujá são elaborados a partir das espécies, *P. incarnata* e *P. alata* e estão entre os mais vendidos no Estado de Santa Catarina, segundo dados das distribuidoras de medicamentos Equipe, Santa Cruz e Fitofarma (ALEXANDRE, 2004). No entanto, um levantamento realizado por Ortega et

al. (1989) em nove volumes do Catálogo Brasileiro de Produtos Farmacêuticos, apontou que, dos 147 medicamentos registrados, que contêm maracujá em sua formulação, 101 medicamentos não especificam qual a espécie é utilizada, 27 caracterizam a espécie *P. incarnata* em sua formulação e 19 caracterizam a *P. alata*. Portanto, segundo os resultados apontados no estudo, há a possibilidade da espécie *P. edulis*, amplamente cultivada no país, estar presente nas formulações que não especificam a espécie de *Passiflora* utilizada.

3.4 CONSTITUINTES QUÍMICOS

Os estudos mais antigos sobre as espécies do gênero *Passiflora* citam o alcalóide, denominado passiflorina como componente ativo. Pio Corrêa (1978) menciona sua presença. Posteriormente, o nome passiflorina foi atribuído a uma saponina isolada de *P. edulis* (BOMBARDELLI et al., 1975).

Por uma determinada época as atividades farmacológicas do gênero *Passiflora*, foram atribuídas à presença dos alcalóides do tipo harmano. No entanto, alcalóides desse tipo possuem ação inibidora da monoamina oxidase (MAO), portanto, possuem atividade do tipo excitante, ação oposta do que se postula para o maracujá. Vários trabalhos, principalmente de Lutmoski e Malek (1975) e Lutowski, Malek e Rybacka (1975) descreveram a presença desses compostos em várias partes da planta. No entanto, estudos com metodologias mais apuradas, através de CLAE, não tem permitido a detecção desses alcalóides em espécies de *Passiflora* (REHWALD; MEIER; STICHER, 1995) ou então nas concentrações descritas em estudos anteriores (GRICE; FERREIRA; GRIFFITHS, 2001).

Posteriormente foi sugerido que a ação sobre o sistema nervoso central devia-se a presença de maltol (γ -pirona), que apresenta ação sedativa em ensaios em animais (AYOAGI et al., 1974). No entanto, também os teores de maltol são bastante baixos em

extratos de *Passiflora*, sendo inclusive considerado por alguns autores como um artefato formado durante o processamento (REHWALD; MEIER; STICHER, 1995).

Recentemente, alguns trabalhos têm enriquecido a discussão sobre a atividade das espécies de *Passiflora*. Medina e colaboradores (1989 e 1990) isolaram de *P. coerulea* a flavona crisina, a qual mostrou afinidade pelos receptores benzodiazepínicos, tanto centrais quanto periféricos e também apresentou propriedade anticonvulsivante. Em 1988, Speroni e Minguetti relataram atividade sedativa para o extrato aquoso de *P. incarnata*. Em 1994, Wolfmann et al. sugeriram efeito ansiolítico para a crisina. No entanto, Speroni e colaboradores (1996) não detectaram a presença de crisina em extratos alcoólicos, mas confirmaram atividade sedativa dos mesmos.

Em trabalho posterior, Soulimani e colaboradores (1997) demonstraram que as atividades depressoras centrais, ansiolítica e sedativa são dependentes do líquido extrator empregado na preparação dos extratos. Extratos aquosos das partes aéreas de *P. incarnata* apresentaram ação sedativa enquanto o hidroetanólico atividade ansiolítica. Esses autores não conseguiram demonstrar nenhuma das ações acima descritas para misturas de alcalóides β -carbolínicos (harmano, harmina, harmalina, harmol e harmalol) com maltol; de flavonóides (vitexina, isovitexina, orientina e isoorientina) com maltol e nem de maltol isoladamente. As frações resultantes das combinações de flavonóides e alcalóides (amostras comerciais dessas substâncias) foram calculadas em relação as suas respectivas concentrações nas partes aéreas secas da planta. Esses resultados sugerem que esses compostos não são os responsáveis pela atividade psicotrópica apresentada pelos extratos aquosos e hidroetanólicos.

Mais recentemente, Zanoli, Avallone e Baraldi (200), avaliaram o efeito comportamental da administração dos flavonóides apigenina e crisina, identificados nas espécies *Matricaria chamomilla* e *Passiflora incarnata*. Ambos flavonóides foram capazes de reduzir a atividade locomotora de ratos na dose mínima (25 mg/Kg). No entanto, crisina apresentou efeito ansiolítico na dose de 1 mg/ Kg, enquanto apigenina não

demonstrou atividade. Segundo os resultados obtidos, o efeito sedativo desses flavonóides não está relacionado com a interação com receptores GABAérgicos, já que a atividade desses compostos não foi inibida pelo antagonista benzodiazepínico Flumazenil. Por outro lado, o efeito ansiolítico da crisina pode estar relacionado com a ativação do sistema GABA_A, já que a administração de Flumazenil bloqueou sua atividade.

Assim, com base nos ensaios em animais, até o presente momento, não é possível concluir quais os compostos são responsáveis pelas atividades farmacológicas atribuídas as espécies de *Passiflora*.

A presente revisão está voltada para os principais componentes químicos descritos para a espécie *P. edulis*, independente da atividade biológica. São abordados os flavonóides, triterpenos, saponinas e glicosídeos cianogênicos. A presença de alcalóides não é abordada, tendo em vista tratar-se de assunto controverso, já que trabalhos mais recentes, realizados com metodologias analíticas validadas e de maior sensibilidade não detectaram essas substâncias (REHWALD; MEIER; STICHER, 1995; GRICE; FERREIRA; GRIFFITHS, 2001).

Outros componentes detectados em traços, como óleos essenciais, bem como os componentes do aroma dos frutos formados durante o processamento não são aqui abordados. Segundo Meier (1995) já foram relatados mais de 200 componentes no aroma dos frutos.

3.4.1 Flavonóides em espécies de *Passiflora*

Todos os trabalhos relacionados aos flavonóides, foram realizados com folhas e partes aéreas, não sendo encontrado referência desses componentes nas raízes. Em relação aos frutos foram relatados dois trabalhos, um realizado ainda na década de 70, com o suco, relatando o teor de flavonóides, determinado através de densimetria, após separação de flavonóides em cromatografia em papel, relatando um teor de “1,00 mg %”

em média, nas duas variedades de *P. edulis*. Um flavonóide não foi identificado, pois não correspondeu aos *C*-glicosídeos descritos para outras espécies de *Passiflora*, como a vitexina e orientina (LUTOMSKI; MALEK; RYBACKA, 1975). Esse trabalho apresenta algumas deficiências metodológicas, visto que na fase final do processamento a fração flavonoídica foi extraída com clorofórmio, solvente que não é adequado para alguns flavonóides de maior polaridade, como os *C*-glicosídeos. O segundo trabalho sobre a pesquisa de flavonóides nos frutos, determina qualitativamente e quantitativamente, através de CLAE, a presença de flavonóides *C*-glicosídeos no suco dos frutos de *P. edulis* f. *flavicarpa* e no suco industrializado de maracujá. Foi relatado no suco dos frutos a presença de shaftosídeo e isoschaftosídeo (em mistura), isoorientina, orientina, isovitexina, luteolina 6-*C*-fucosídeo e luteolina 6-*C*-quinovosídeo. No suco industrializado de maracujá foi relatado a presença de shaftosídeo, isoorientina, orientina e isovitexina. A *C*-glicosilflavona isoorientina mostrou-se predominante tanto no suco in natura, como no suco industrializado (MARECK, GALENSA, HERRMANN, 1990).

Os trabalhos mencionados na tabela 2 indicam a predominância de *C*-glicosilflavonas, derivadas da apigenina e luteolina (Figura 3), destacando-se os trabalhos para *P. incarnata*.

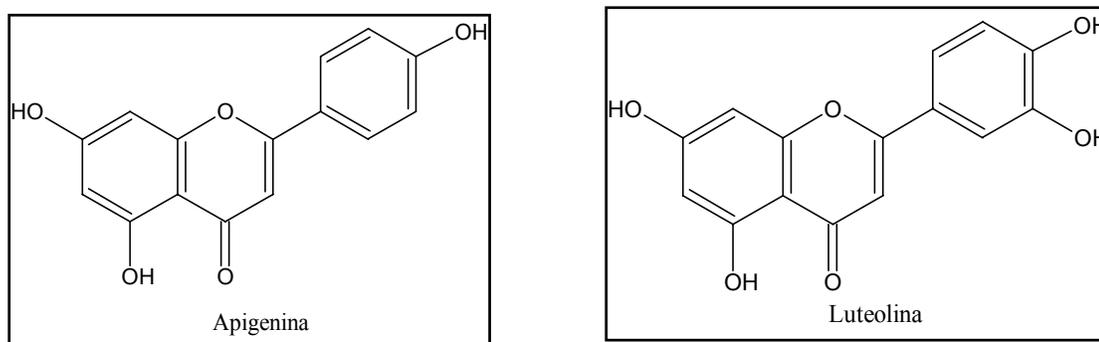


Figura 3: Principais agliconas que dão origem aos *C*-glicosídeos flavonoídicos das espécies de *Passiflora*

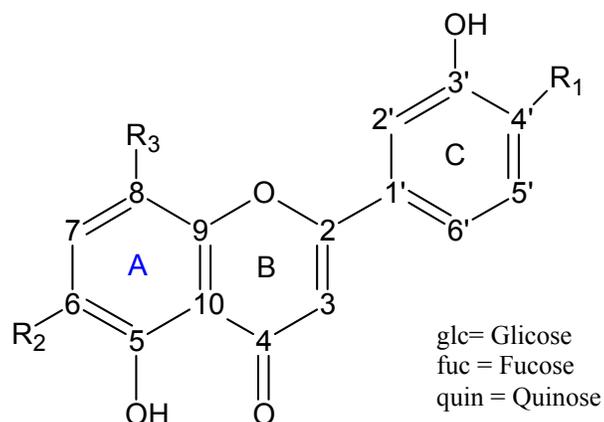
Especificamente para *P. edulis* foi relatada, através de CLAE, a presença dos flavonóides C-glicosídeos, luteolina-6-C-quinovosídeo e luteolina-6-C-fucosídeo nas folhas da forma *flavicarpa* (MARECK et al.,1991).

Petry (1999), através de análise por CLAE, relatou a presença de vitexina, isovitexina, orientina, isoorientina, com a predominância de isoorientina, identificada através de comparação do tempo de retenção com flavonóides de referência e espectros UV dos flavonóides, obtidos com detector de varredura de diodo. Desta forma, os flavonóides foram identificados por apresentaram semelhança ao tempo de retenção dos compostos de referências, similaridades com os seus espectros e aumento da área do pico, quando adicionado o respectivo flavonóide de referência. Assim, a composição da fração flavonoídica diferencia-se marcadamente dos compostos relatados para *P. incarnata*, onde predominam os glicosídeos shaftosídeo, isoshaftosídeo, isovitexina-2''-O- β -glicopiranosídeo e isoorientina-2''-O- β -glicopiranosídeo (REHWALD; MEIER; STICHER, 1994). Já para a espécie *P. alata*, em estudo mais recente foi relatada a presença das duas C-glicosilflavonas presentes também na espécie *P. edulis*, isovitexina (0,018 mg/ml) e vitexina (apenas em traços) no extrato fluido das folhas (MULLER et al., 2005).

Da mesma forma, Petry et al. (2001) caracterizaram a presença de isovitexina, vitexina, orientina, isoorientina no extrato hidroetanólico das folhas *P. edulis*, através de cromatografia em camada delgada em gel de sílica, utilizando como fase móvel acetato de etila: ácido fórmico: ácido acético: água (80:1:8:10, v/v/v/v) e Reagente Natural A/PEG 2000, para detecção. A composição de flavonóides do extrato de *P. alata* mostrou-se mais simples que o extrato de *P. edulis*. Duas manchas principais com características de flavonóides foram detectadas no extrato de *P. alata*, no entanto os valores de R_fs não foram semelhantes aos das amostras autênticas. Ao contrário, o extrato de *P. edulis* apresentou manchas com comportamentos cromatográficos semelhantes a vitexina, isovitexina, orientina e isoorientina, já descritos em publicação anterior por Petry (1999). Estudo posterior (PARIS et al., 2002), realizado com o extrato aquoso das folhas de *P.*

edulis e *P. alata*, no mesmo sistema cromatográfico citado acima, apresentou resultado semelhante em relação à composição de flavonóides.

Petry et al. (2001) também avaliaram os teores de flavonóides, através de análise espectroscópica por ultravioleta, do extrato hidroetanólico 40 % (planta: solvente, 1:10, p/v) das folhas de *P. edulis* e *P. alata*. O extrato de *P. edulis* mostrou o conteúdo de flavonóides maior aproximadamente duas vezes que o extrato de *P. alata*. A concentração total de flavonóides relatada para o extrato de *P. edulis* foi 4,6 % (p/p) e para *P. alata* foi 2,9 % (p/p). Desta forma, o conteúdo de flavonóides na espécie *P. edulis* mostra-se também maior que o da espécie *P. incarnata*, que varia de 1,5 - 2 % (SCHILCHER, 1967 apud QUIMIN et al., 1991) ou também 3,5 % (MENGHINI; MANCINI, 1988 apud REHWALD; MEIER; STICHER, 1994).

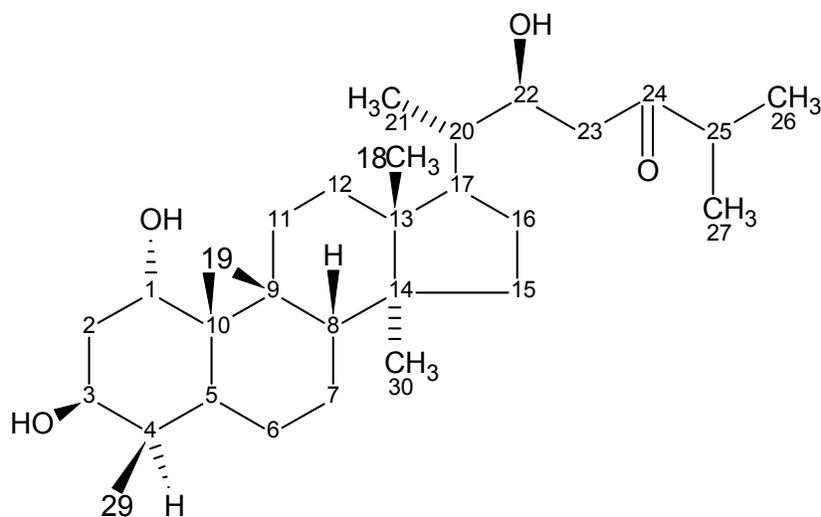


Flavonóide	R ₁	R ₂	R ₃
Orientina	OH	H	glc
Isoorientina	OH	glc	H
Vitexina	H	H	glc
Isovitexina	H	glc	H
Luteolina 6-C-fucosídeo	OH	fuc	H
Luteolina 6-C-quinovosídeo	OH	quin	H

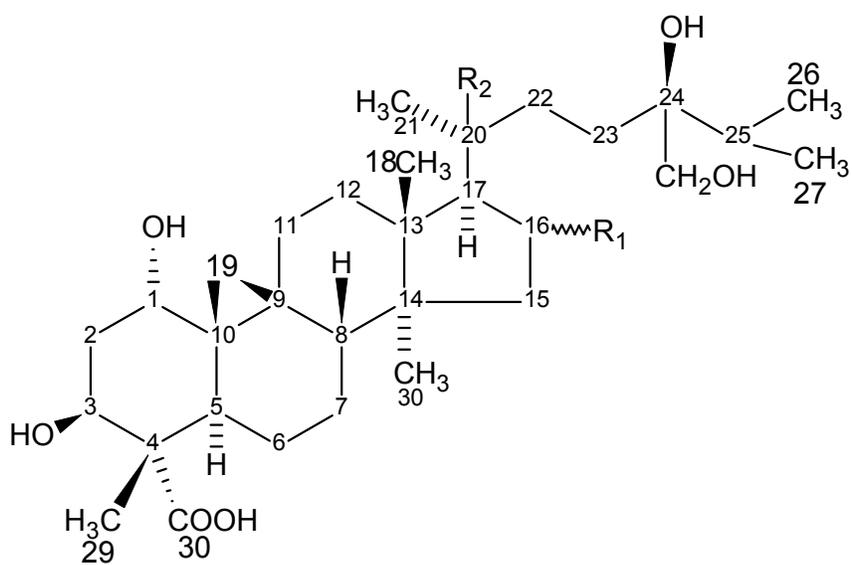
Figura 4: Flavonóides C-glicosídeos descritos para a espécie *P. edulis*

Tabela 2: Principais flavonóides descritos para as espécies de *Passiflora*

Espécie	Parte da planta	Constituintes químicos	Autores
<i>P. incarnata</i>	Folhas	Vitexina, isovitexina, orientina, isoorientina, saponarina	GLOTZBACH; RIMPLER, 1968; SCHILCHER, 1968; LÖHDEFINK, 1976
		Schaftosídeo, isoschaftosídeo, isovitexina-2''-O-glicopiranosídeo, isoorientina-2''-O-glicopiranosídeo e vicenina-2. Isoscoparina-2''-O-glicosídeo.	GEIGER; MARKHAM, 1986. RAHMAN et al., 1997.
<i>P. serratifolia</i> L.	Folhas	Vitexina, isovitexina, orientina, 2''-xilossilvitexina e 2''-xilossilisovitexina.	ULUBELEN; MABRY, 1980.
<i>P. cyanea</i> Mast.	Folhas	2''-xilossilvitexina	ULUBELEN; AYYILDIZ, 1981.
<i>P. oerstedii</i> Mast.	Folhas	2''-xilossilvitexina,	ULUBELEN; AYYILDIZ, 1981.
<i>P. menispermifolia</i> HBK.	Folhas	Vitexina, orientina, 6- hidroxiluteolina 6,7 dimetil-éter, luteolina 7- β -D-glicosídeo.	ULUBELEN; AYYILDIZ, 1981
<i>P. pavonis</i> Mast.	Folhas	Isoorientina 4'- β -D-glicosídeo, isovitexina, isoorientina e luteolina 7- β -D-glicosídeo	MCCORMICK; MABRY, 1981.
<i>P. alata</i>	Folhas	2''-xilossilvitexina, vitexina, isovitexina e isoorientina.	ULUBELEN et al., 1982a.
<i>P. foetida</i> var. <i>hispida</i> (DC ex Triana and Planch)	Folhas	Crisoeriol, apigenina, vitexina, isovitexina, 2''-xilossilvitexina, 2''-xilossilisovitexina, luteolina 7- β -D-glicosídeo, caenferol, luteolina	ULUBELEN et al., 1982b
<i>P. foetida</i> var. <i>hibiscifolia</i> (Lam.)	Folhas	Isovitexina, vitexina, 2''-xilossilvitexina, 2''-xilossilisovitexina, apigenina 7- β -D-glicosídeo, schaftosídeo, vicenina, luteolina 7- β -D-glicosídeo	ULUBELEN et al., 1982b
<i>P. sexflora</i> (Juss.)	Folhas	- di-C-glicosilflavonas: lucenina-2, carlinosídeo, isoviolantina, schaftosídeo, vicenina-1, isoschaftosídeo.	MCCORMICK; MABRY, 1982.
		- mono-C-glicosilflavonas: orientina, isoorientina, isoswertiajaponina, vitexina, swertiajaponina e isoswertisina. -luteolina-7-O-glicosídeo, luteolina e aurona.	
<i>P. coerulea</i>	Partes aéreas	crisina	MEDINA et al., 1990.



Ácido ciclopassiflórico D



Ácido ciclopassiflórico E = R1=β-OH, R2=OH

Ácido ciclopassiflórico F = R1=β-OH, R2=H

Ácido ciclopassiflórico G = R1=α-OH, R2=H

Figura 6: Ácidos ciclopassiflóricos D - G de *P. edulis*.

3.4.3 Saponinas em espécies de *Passiflora*

Em 1975, Bombardelli e colaboradores descreveram a ocorrência da saponina passiflorina (Figura 7) identificada como (28-O- β -D-glicosilpiranosilester do ácido (22R), (24S)-22,31-epoxi-24-metil-1 α , 3 β , 24, 31-tetrahidroxi-9, 19-ciclo-9 β -lanostan-20-óico) nas folhas da espécie *P. edulis*. Trata-se de uma saponina triterpênica do tipo cicloartano. A mesma saponina foi isolada também por Yohikawa et al. (2000a).

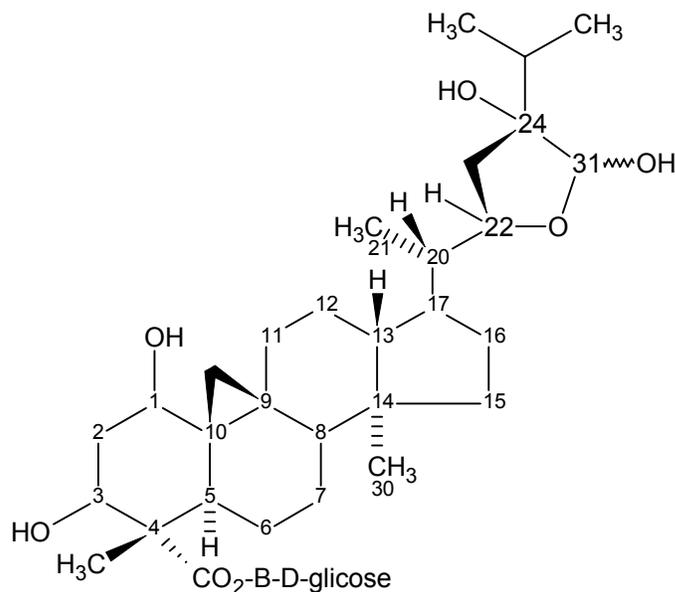
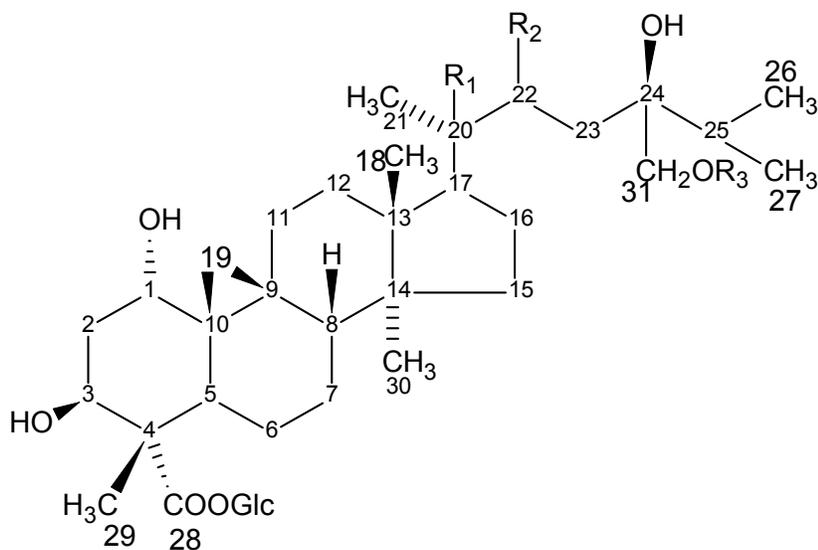


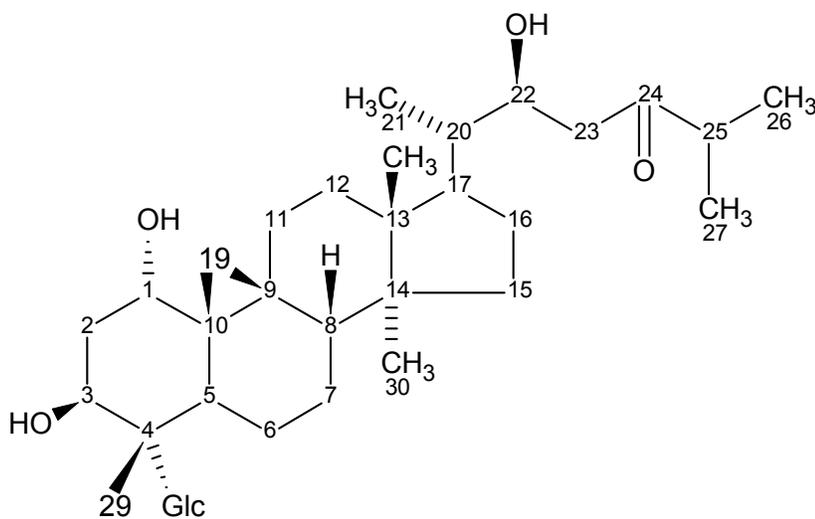
Figura 7: Saponina passiflorina

Yohikawa e colaboradores (2000a) identificaram nas partes aéreas da *P. edulis* Sims, a presença de seis saponinas, denominadas ciclopasiflosídeos I, II, III, IV, V, VI (Figura 8). Em trabalho posterior, os mesmos autores identificaram outras cinco ciclopasiflosídeos, codificadas VII, VIII, IX, X e XI (Figura 9). Todas saponinas são triterpênicas, do tipo cicloartano e monodesmosídicas. (YOHIKAWA et al., 2000b). Como se observa na metodologia dos trabalhos citados, a passiflorina foi obtida como componente majoritário entre as saponinas, obtida na quantidade de 4,5 g, a partir de 1,8 Kg de material.



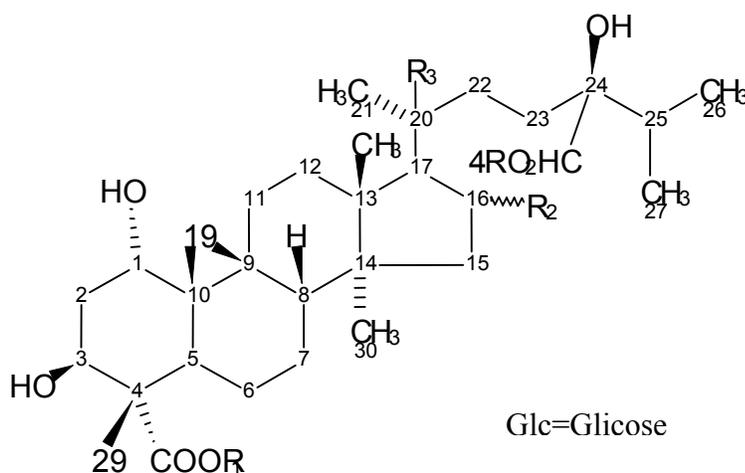
Ciclopasiflosídeo I = R1= R3=H, R2=OH
 Ciclopasiflosídeo IV = R1=OH, R2=R3=H
 Ciclopasiflosídeo V = R1=OH, R2=H, R3=Glc

Ciclopasiflosídeo II = R1= R2= R3=H
 Ciclopasiflosídeo III= R1=R2=H, R3= Glc



Ciclopasiflosídeo VI

Figura 8: Ciclopasiflosídeos I - VI de *P. edulis*.



Ciclopassiflosídeo VII = R1=Glc, R2=β-OH, R3=OH, R4=H
 Ciclopassiflosídeo VIII= R1=Glc, R2=β-OH, R3= R4=H,
 Ciclopassiflosídeo IX = R1=R4=Glc, R2= α-OH, R3=H
 Ciclopassiflosídeo X = R1=Glc, R2=α-OH, R3=R4=H
 Ciclopassiflosídeo XI = R1=R4=Glc, R2=α-OH, R3=H

Figura 9: Ciclopassiflosídeos VII -XI de *P. edulis*.

Reginato e colaboradores (2001) obtiveram a partir das folhas de *P. alata* quatro saponinas triterpênicas derivadas do ácido oleanóico, ácido-3-*O*-β-D-glicopiranosil-oleanóico (1), ácido-3-*O*-β-D-glicopiranosil-(1→3)- β-D-glicopiranosil-oleanóico (2), ácido-3-*O*-β-D-glicopiranosil-(1→2)- β-D-glicopiranosil-oleanóico (3), ácido 3-*O*-β-D-glicopiranosil-oleanóico (4) (Figura 10) e o 9,19-ciclolanosta-24Z-en-3β,21,26-trihidroxí-3,26-di-*O*-gentibiose (quadrangulosídeo), já descrito para a espécie *P. quadrangularis* (Figura 11) e um esteróide glicosilado, 3-*O*-β-D-glicopiranosil-estigmasterol. Nesse mesmo estudo, foram analisados os extratos hidroetanólicos das folhas de outras espécies de *Passiflora* encontradas no Rio Grande do Sul (*P. actinia*, *P. coerulea*, *P. edulis f. flavicarpa*, *P. elegans*, *P. foetida*, *P. misera* e *P. tenuifolia*). A análise cromatográfica dessas espécies apresentou acumulação de saponinas apenas na espécie *P. alata*.

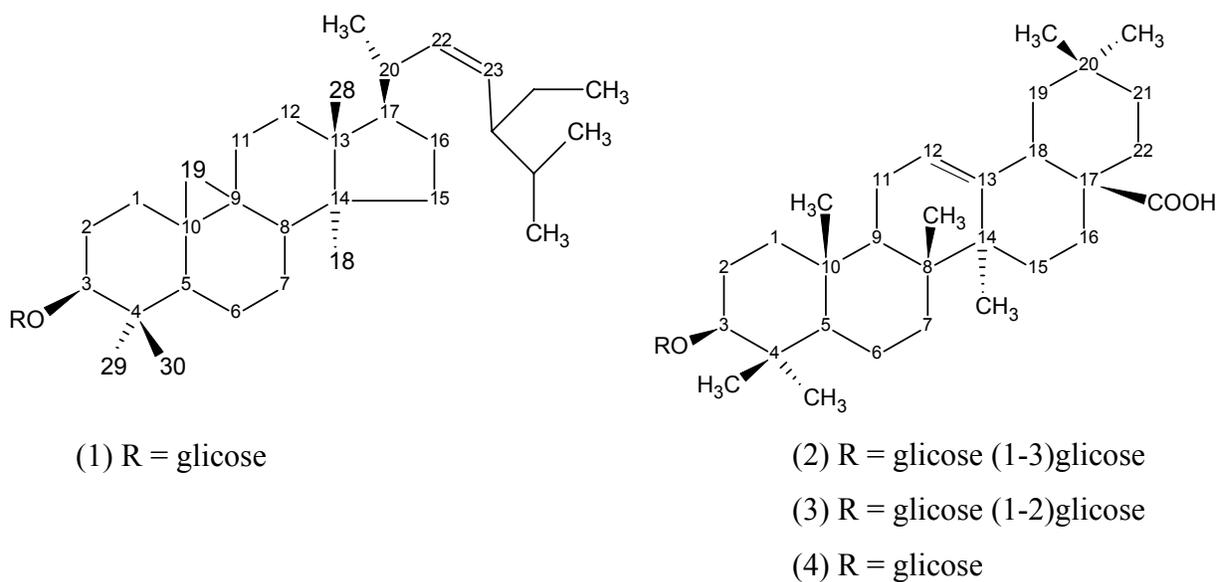


Figura 10: Esteróide glicosilado e saponinas triterpênicas de *P. alata*.

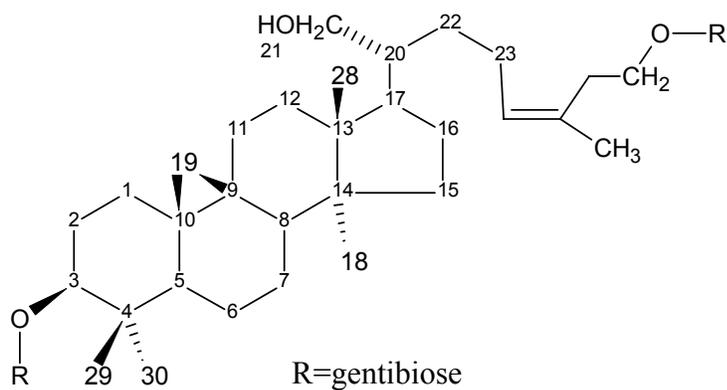


Figura 11: Quadrangulosídeo.

Como o extrato aquoso das folhas de *P. alata* apresentou ter alta quantidade do quadrangulosídeo (Figura 11), em relação a outras saponinas polares, os autores desenvolveram um método por CLAE, simples, preciso e reprodutível para detectar e quantificar o quadrangulosídeo, nas folhas de *P. alata*. A quantidade do quadrangulosídeo encontrada foi de 22,2 % (p/p), correspondente a 0,8 % (p/p) das folhas secas, ou seja, houve a predominância dessa saponina (REGINATTO et al., 2004).

3.4.4 Glicosídeos cianogênicos em espécies de *Passiflora*

Muitas espécies da família Passifloraceae são cianogênicas. Ao todo, já foram relatados dezenas de compostos contendo grupo CN⁻ em espécies de *Passiflora*, dados sumarizados na tabela 4. A presença de glicosídeos cianogênicos na espécie *P. edulis* foi relatada pela primeira vez por Rosenthaler (1919).

Os glicosídeos cianogênicos descritos na família Passifloraceae possuem na grande maioria aglicona do tipo ciclopentanóide, que podem ser classificadas em quatro tipos estruturais (JAROSZEWSKI et al., 2002):

Tipo I- enantiomêros β -D-glicopiranosídeos da cianidrina 2-ciclopentenona: tetrafilina A (1) e deidaclina (2) e seus derivados hidroxilados alílicos, tetrafilina B (3), volkenina (4), epivolkenina (5) e taraktofilina (6). A principal característica dessa classe é que geralmente esses glicosídeos cianogênicos apresentam-se como um par de β -D-glicopiranosídeos, tendo agliconas enantioméricas, como pode ser observado na figura 12. (OLASFDOTTIR et al., 1992; JAROSZEWSKI et al., 1996).

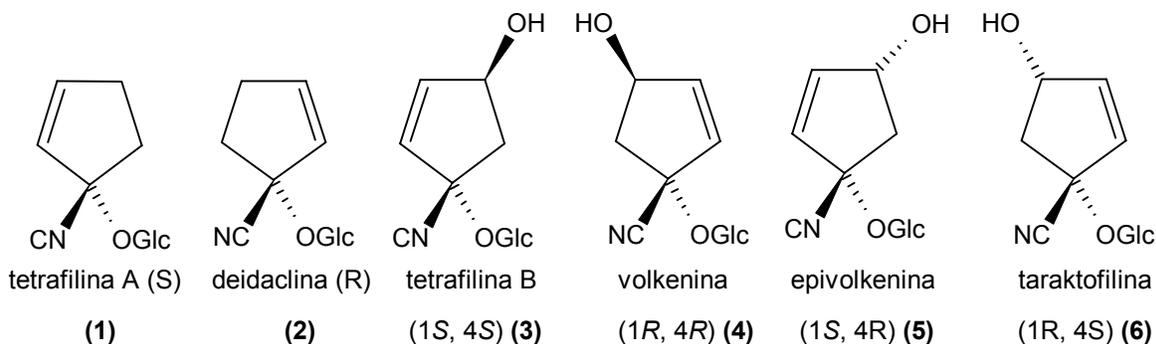


Figura 12: Glicosídeos cianogênicos tipo I, que se apresentam na família Passifloraceae como pares estereoisoméricos **1 e 2**, **3 e 4**, **5 e 6**, Glc = β -D-glicopiranosila

Tipo II- A aglicona desses glicosídeos cianogênicos contém um açúcar adicional, um grupo sulfato, ou uma oxigenação adicional no anel ciclopenteno. Fazem parte dessa classe, passibiflorina (7), passicapsina (8), passitrifasciatina (9), sulfato 4-O de tetrafilina B (10), o epóxido suberina A (11) e a ginocardina (12). Nenhum dos compostos 7 - 12 é encontrado junto com algum estereoisômero, em contraste aos glicosídeos cianogênicos tipo I. Além disso, todos glicosídeos cianogênicos tipo II apresentam estereoquímica idêntica em C-1, como pode ser observado na figura 13 (TOBER; CONN, 1985; OLAFSDOTTIR et al., 1992).

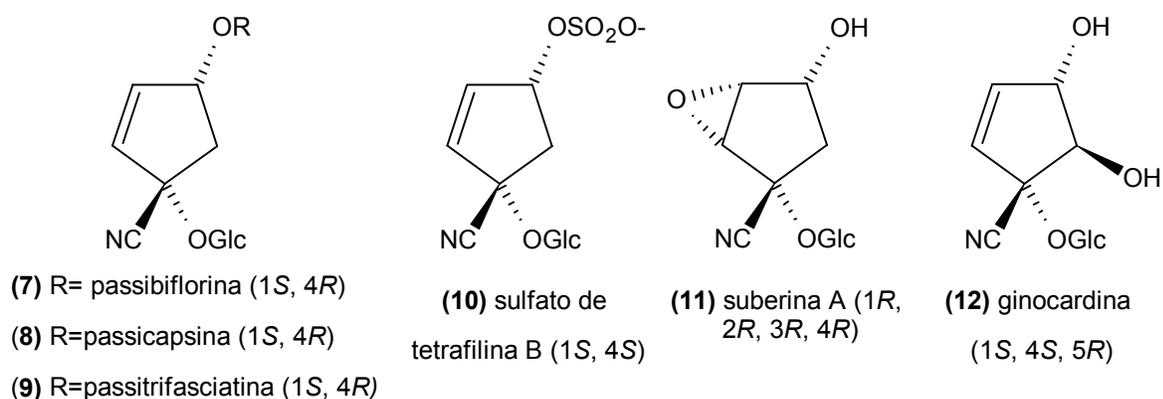


Figura 13: Glicosídeos cianogênicos tipo II, encontrados na família Passifloraceae como estereoisômeros isolados, Glc = β -D-glicopiranosila.

Tipo III- Glicosídeos cianogênicos derivados dos aminoácidos, valina e isoleucina. Esses cianogênicos não possuem anel ciclopenteno e seus aminoácidos precursores apresentam uma conformação espacial similar a 2-ciclopentenilglicina (JAROSZEWSKI et al., 1988). Fazem parte dessa classe, linamarina (13), lotaustralina (15), os gentibiosídeos, linustatina (14) e neolinustatina (16) e epilotaustralina (17) (Figura 14).

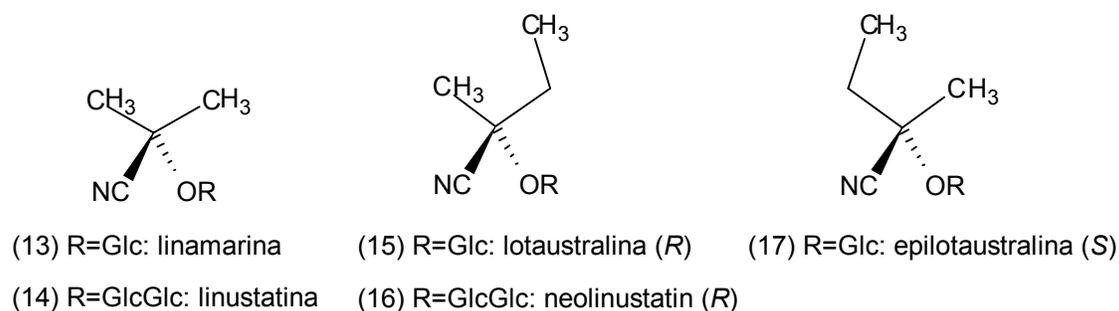
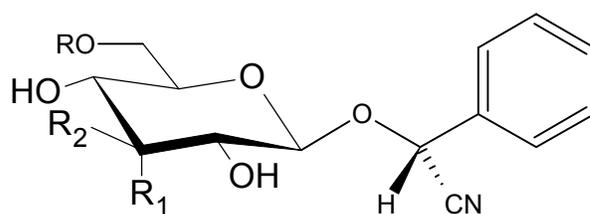


Figura 14: Glicosídeos cianogênicos tipo III relatados na família Passifloraceae, derivados da valina e isoleucina, Glc = β -D-glicopiranosila, GlcGlc = 6-*O*- β -D-glicopiranosil- β -D-glicopiranosila.

Tipo IV- Fazem parte dessa classe, prunasina e seus derivados e passiedulina (Figura 15), todos isolados da espécie *P. edulis*. Esses glicosídeos cianogênicos são derivados do aminoácido fenilalanina.



- (18) R=R₁=H, R₂=OH: prunasina (*R*)
 (19) R=Glc, R₁=H, R₂=OH: amigdalina (*R*)
 (20) R= α -L-ramnopiranosil, R₁=H, R₂=OH (*R*)
 (21) R=R₂=H, R₁=OH: passiedulina (*R*)

Figura 15: Glicosídeos cianogênicos tipo IV (derivados da fenilalanina), encontrados na família Passifloraceae.

Os glicosídeos cianogênicos encontrados na espécie *P. edulis* incluem (2*R*)-prunasina e amígdalina (Figura 15) e (2*S*)-sambunigrina (Figura 16) nos suco e cascas de frutos frescos (CHASSANGE et al., 1996a). Também foi citada a presença do glicosídeo cianogênico mandelonitrilo β -rutinosídeo ((*R*)-mandelonitrilo- α -*L*-ramnopiranosil- β -*D*-glicopiranosídeo) (Figura 16) no suco dos frutos maduros do maracujá roxo, sem as sementes (CHASSAGNE; CROUZET, 1998) e passiedulina (Figura 15), das folhas de *P. edulis*. Este glicosídeo cianogênico foi o primeiro a apresentar um açúcar diferente da *D*-glicose, ligado diretamente no centro da molécula de cianidrina (CHRISTENSEN; JAROSZEWSKI, 2001). Em trabalho mais recente, Seigler et al. (2002) relataram a presença de dois novos glicosídeos cianogênicos, (2*R*)- β -*D*-allopiranosiloxi-2-fenilacetoneitrila e (2*S*)- β -*D*-allopiranosiloxi-2-fenilacetoneitrila (Figura 16), nas partes aéreas de *P. edulis*.

Spencer e Seigler (1983) encontram níveis significativos de glicosídeos cianogênicos em todas as partes da espécie *P. edulis*, exceto nas sementes. Nesse estudo foram comparados os níveis de glicosídeos cianogênicos em todas as partes do maracujá amarelo e do roxo. Também foi comparado o conteúdo de cianeto entre a parte comestível do fruto (arilo) e a parte não comestível (pericarpo), em vários estágios de desenvolvimento do maracujá amarelo (imaturado, intermediário e maduro). Como pode ser observado na tabela 3 os maiores níveis de glicosídeos cianogênicos foram encontrados nos frutos imaturos do maracujá amarelo e não foram encontradas diferenças significativas entre os níveis de HCN entre as partes comestíveis e não-comestíveis dos frutos do maracujá amarelo. Desta forma os autores concluem que todas as partes do fruto do maracujá são tóxicas quando ainda imaturo, com exceção das sementes, e também que o fruto maduro contém significantes quantidades de glicosídeos cianogênicos, que diminuem com a maturação. Em geral, plantas que contêm 20 mg de HCN/100g de material vegetal fresco são consideradas tóxicas e a dose letal em humanos corresponde a 70 mg de HCN. Na tabela 3 observa-se que o conteúdo de cianeto nos frutos de *P. edulis*

variou de 6,5 a 59,4 mg de HCN/100 g de material vegetal fresco, ou seja, variou de níveis subtóxicos a níveis três vezes maiores que o valor considerado tóxico.

Tabela 3: Comparação da concentração de HCN em diferentes partes e fases de maturação do fruto do maracujá roxo e amarelo.

Variedade de maracujá	Parte da planta	Fase de maturação	mg de HCN/100 g de material vegetal fresco (p/v)
Roxo (coletado na Califórnia)	Folhas	-	11,6
	Frutos	Imaturo	13,3
		Intermediário	10,5
		Maduro ¹	10,0
Amarelo (coletado na Flórida)	Frutos	Imaturo	59,4
		Intermediário	15,4
		Maduro	14,6
		Maduro ²	6,5
Amarelo (coletado na Flórida)	Fruto	Intermediário	11,9
	Arila	Imaturo	59,4
	Pericarpo		58,3
	Arilo	Intermediário	17,8
	Pericarpo		22,3
	Arilo (incluindo suco)	Maduro	16,9
	Pericarpo		11,5

¹Fruto colhido do maracujazeiro e ² Fruto colhido no chão.

Fonte: Spencer; Seigler (1983)

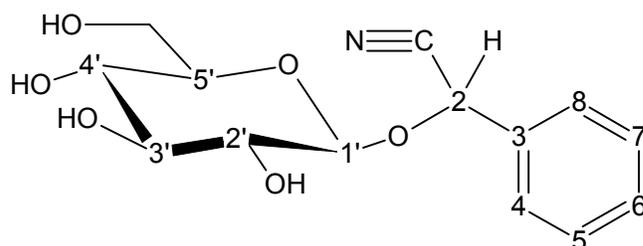
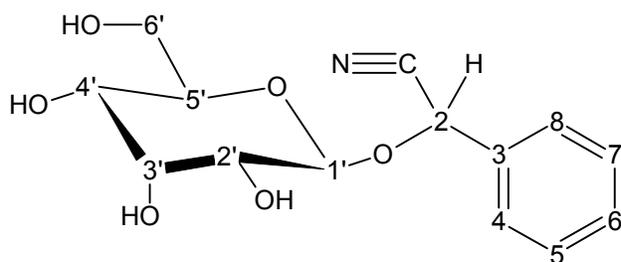
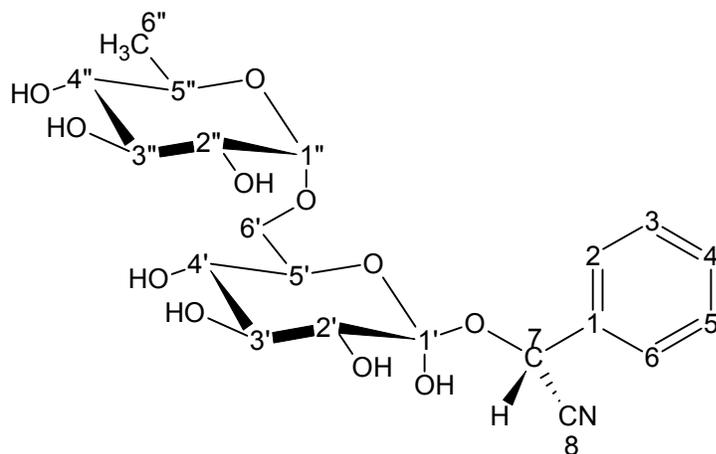
(2*S*)- sambunigrina(2*R*)-β-D-allopiranosiloxi-2-fenilacetoneitrila e(2*S*)-β-D-allopiranosiloxi-2-fenilacetoneitrilamandelonitrilo β-rutinosídeo ((*R*)-mandelonitrilo-α-*L*-ramnopiranosil-β-*D*-glicopiranosídeo)Figura 16: Glicosídeos cianogênicos descritos para a espécie *P. edulis*.

Tabela 4: Principais glicosídeos cianogênicos descritos para as espécies de *Passiflora*

Espécie	Parte da planta	Constituintes químicos	Autores
<i>P. capsularis</i>	Folhas	Passicapsina, linamarina	FISCHER; FUNG; LANKHORST, 1982.
<i>P. warmingüi</i>	Folhas	Linamarina	FISCHER; FUNG; LANKHORST, 1982; SPENCER; SEIGLER, 1986.
<i>P. caerulea</i>	Folhas frescas	Sulfato de tetrafilina B e sulfato de epitetrafilina B	SEIGLER et al., 1982.
<i>P. alato-caerulea</i>	Folhas	Sulfato de tetrafilina B e sulfato de epitetrafilina B	SEIGLER et al., 1982.
<i>P. incarnata</i>	Folhas frescas	Ginocardina	SPENCER; SEIGLER, 1984.
<i>P. trifasciata</i>	-	Passitrifasciatina	SPENCER; SEIGLER, 1985a.
<i>P. bifora e P. talamancensis</i>	-	Passibiflorina e epipassibiflorina	SPENCER; SEIGLER, 1985a.
<i>P. coccinea</i>	-	Passicoccina	SPENCER; SEIGLER, 1985b.
<i>P. lutea</i>	-	Linamarina, lotaustralina e passibiflorina	SPENCER; SEIGLER, 1985c.
<i>P. pendes</i>	-	Linamarina, lotaustralina, linustralina e neolinustralina	SPENCER; SEIGLER, 1986.
<i>P. adenopoda</i>	-	Linamarina e lotaustralina	SPENCER; SEIGLER, 1986.
<i>P. coriacea</i>	-	Tetrafilina B, epitetrafilina B, passicoriacina e epipassicoriacina	SPENCER; SEIGLER, 1987a.
<i>P. suberosa</i>	-	Passisuberosina, epipassisuberosina, passicoriacina e epipassicoriacina	SPENCER; SEIGLER, 1987b.
<i>P. guatemalensis</i>	Partes aéreas	Passiguatemalina, diidrogenocardina, passibiflorina	JAROSZEWSKI et al., 2002.

3.5 ATIVIDADES FARMACOLÓGICAS DESCRITAS PARA A ESPÉCIE

P. edulis

Vários ensaios pré-clínicos, mas poucos ensaios clínicos foram desenvolvidos para avaliar as atividades farmacológicas propostas para espécies de *Passiflora*. Abaixo estão descritos os ensaios não clínicos realizados com os objetivos de detectar as atividades farmacológicas da espécie *P. edulis*.

3.5.1 Atividade ansiolítica e sedativa

Vale e Leite (1983) investigaram a atividade sedativa e ansiolítica em amostras de *P. edulis* f. *flavicarpa*, provenientes de duas diferentes regiões do país (Rio Grande do Norte e São Paulo). A administração via i.p. do extrato aquoso de *P. edulis*, em camundongos, nas doses de 20 e 40 mg/Kg, reduziu a movimentação espontânea dos animais, indicando uma possível ação depressora do sistema nervoso central, hipótese esta reforçada pelos resultados obtidos com a potencialização do sono induzido por pentobarbital.

Maluf et al. (1991) avaliaram o efeito hipnótico e sedativo do extrato aquoso das folhas de *P. edulis* (sem especificação da variedade) intraperitonealmente, na dose de 30 mg/Kg em camundongos. Os autores concluíram que o extrato apresentou efeito depressor central, pois diminuiu a atividade motora e potencializou o tempo de sono induzido por pentobarbital em camundongos. Os resultados confirmam os estudos de Vale e Leite (1983).

Dhawan, Kurma e Sharma (2001) relataram uma comparação da atividade ansiolítica de diferentes extratos (éter de petróleo, clorofórmico, metanólico e aquoso) obtidos das partes aéreas de *P. incarnata* e *P. edulis*, administrado por via oral, em camundongos, através do teste em labirinto em cruz elevado. Os extratos éter de petróleo, clorofórmico e aquoso de ambas espécies, embora tenham apresentado efeitos

significantes em algumas doses, não foram significantes quando comparados com diazepam. O extrato metanólico da *P. incarnata* e da *P. edulis* apresentaram diferente perfil de atividade ansiolítica. A dose de 125 mg/Kg do extrato metanólico de *P. incarnata* mostrou um resultado equivalente àquele obtido com 2 mg/Kg de diazepam, mas a dose de 300 mg/kg não provocou tal efeito, sugerindo que o efeito ansiolítico na dose de 125 mg/Kg foi ocultado pelo efeito sedativo provocado pelas altas doses. Por outro lado, o extrato metanólico de *P. edulis* não exibiu atividade ansiolítica significativa. Os autores concluem que esses resultados são importantes para demonstrar que essas duas espécies de maracujá, no modelo experimental testado, apresentaram atividades farmacológicas diferentes e que *P. incarnata* é a espécie de maior interesse farmacológico, por ter apresentado melhores resultados.

Petry e colaboradores (2001) avaliaram as atividades ansiolítica e sedativa dos extratos hidroetanólicos (40 %) da *P. edulis* e *P. alata*, em camundongos, via intraperitoneal, utilizando o teste em labirinto em cruz elevado. Os resultados mostraram que os animais tratados com 100 e 150 mg/Kg do extrato de *P. alata*, e 50, 100 e 150 mg/Kg do extrato da *P. edulis* apresentaram um aumento do tempo de permanência nos braços abertos desse sistema, indicando que esses extratos apresentaram efeito ansiolítico, em relação à dose de 1 mg/Kg de diazepam. Todavia, o efeito ansiolítico da *P. edulis* foi obtido com uma dose equivalente à metade da dose de *P. alata* e, como os resultados em relação ao doseamento de flavonóides, demonstraram aproximadamente o dobro de flavonóides nesse extrato que de *P. alata*, os autores sugeriram que as ações poderiam estar relacionadas com o conteúdo de flavonóides desses extratos de maracujá.

Um estudo similar foi realizado com os extratos aquosos dessas espécies (PARIS et al. 2002). Os resultados mostraram que os animais tratados i.p. com 100 e 150 mg/Kg do extrato de *P. alata*, e 50, 100 e 150 mg/Kg do extrato da *P. edulis* apresentaram um aumento do tempo de permanência nos braços abertos desse sistema, indicando que essas duas espécies apresentaram efeito ansiolítico, em relação à dose de 1 mg/Kg de diazepam. Também, animais tratados com 150 mg/Kg do extrato da *P. alata* e 50, 100 e 150 mg/Kg

do extrato da *P. edulis* apresentaram um aumento do número de entradas nos braços abertos desse sistema. A análise quantitativa através de CLAE demonstrou que o extrato aquoso das folhas de *P. edulis* apresenta o dobro do conteúdo de flavonóides de *P. alata* e além disso, a composição de flavonóides do extrato de *P. alata* mostrou-se mais simples que o extrato de *P. edulis*, através da análise por cromatografia em camada delgada. Apesar dessas diferenças de composição em termos de flavonóides e saponinas os dois extratos (hidroetanólico e aquoso) apresentaram atividade ansiolítica, sendo que essa foi observada em menor dose por *P. edulis*.

3.5.2 Atividade analgésica

A atividade analgésica do extrato aquoso de *P. edulis* f. *flavicarpa*, amostras provenientes do RN e SP), foi avaliada em camungongos, por via intraperitoneal, com as doses de 20 e 40 mg/kg, na qual mediu-se o tempo de reação dos animais ao estímulo térmico pelo método da placa quente. Na dose de 40 mg/kg, observou-se um pequeno aumento, estatisticamente significativo, do tempo de reação ao estímulo (VALE; LEITE, 1983).

3.5.3 Atividade anticonvulsivante

A avaliação da atividade anticonvulsivante do extrato aquoso da espécie *P. edulis* f. *flavicarpa*, em camundongos, por via intraperitoneal, tratados com 20 e 40 mg/kg mostrou que o extrato não apresenta ação anticonvulsivante, pois não impediu a ocorrência das convulsões clônicas e tônicas nos animais, quando estas foram induzidas por pentilenotretazol e por choque elétrico transcorneal (VALE; LEITE, 1983).

Maluf e colaboradores (1991) avaliaram a atividade anticonvulsivante através de convulsões induzidas por pentilenotetrazol. Os camundongos foram tratados com 30 mg/Kg do extrato aquoso de *P. edulis*, via intraperitoneal e por gavagem. O extrato de *P. edulis* não protegeu os animais contra convulsões induzidas por pentilenotetrazol.

3.5.4 Atividade antioxidante

Em relação a atividade antioxidante foi encontrado apenas um relato na literatura na forma de resumo.

Rudnicki e colaboradores (2004) avaliaram a atividade antioxidante do extrato hidroetanólico das folhas de *P. edulis* e *P. alata* através da Capacidade Antioxidante Total (TRAP). Além disso, fatias do fígado foram expostas a 0,1 mM de sulfato de ferro e incubadas com ou sem extratos (1,25 µg/ml) por 90 min para avaliar a capacidade antioxidante *ex vivo*. A peroxidação lipídica e o dano oxidativo as proteínas foram estimados pela avaliação das substâncias que reagem com o ácido tiobarbitúrico (TBARS) e carbonila e também foi quantificada a lactato desidrogenase (LDH) liberada que causou dano a célula. O extrato de *P. alata* apresentou maior capacidade antioxidante quando comparado ao extrato de *P. edulis* pelo método TRAP. Pelo ensaio *ex vivo*, ambos extratos diminuíram a quantidade de LDH e a formação de carbonila.

3.6 AVALIAÇÕES TOXICOLÓGICAS

Vale e Leite (1983) avaliaram os efeitos psicofarmacológicos através de um estudo preliminar da toxicidade da *P. edulis* f. *flavicarpa*, em camundongos. Os animais foram tratados com 85, 171, 342, 685, 1.370 e 2.740 mg/kg do extrato aquoso dialisado, por via intraperitoneal, em grupos de 10 camundongos para cada dose. A maioria dos animais apresentou contrações abdominais e distensão das patas posteriores, indicando uma

possível irritação da cavidade peritoneal nas três doses mais elevadas. Na dose mais alta, ocorreu taquicardia pronunciada, ataxia e dispnéia grave, seguida da morte de todos os animais. Além disso, as doses de 685 e 1.370 mg/kg também causaram óbito e a dose letal foi calculada em 1.000 mg/kg.

Maluf e colaboradores (1991) avaliaram a toxicidade do extrato aquoso das folhas de *P. edulis* (sem especificação da variedade) em ratos e em humanos. Os animais foram tratados com extratos de *Passiflora* 1% (não há especificação da dose administrada), preparados com amostras provenientes de dois Estados (Rio Grande do Norte e São Paulo), e o grupo controle com água, durante o período de 4, 60 ou 90 dias. Os animais apresentaram uma indicação de disfunção hepática, pela presença de gamaglutamiltransferase (GGT) no sangue. Os voluntários foram instruídos a administrar quatro cápsulas do extrato liofilizado de *Passiflora* 10% (amostra proveniente do Rio Grande do Norte e não há especificação da dose administrada), ou quatro cápsulas de placebo (açúcar mascavo) às nove horas da noite e às oito horas da manhã. Alguns voluntários apresentaram aumento da amilase sérica um dia após a administração do extrato, indicando toxicidade ao tecido pancreático. Além disso, outros voluntários apresentaram sinais de toxicidade com modificações nos níveis séricos de bilirrubina direta, o que sugere disfunção hepatobiliar.

Mais recentemente, avaliou-se a toxicidade reprodutiva dos extratos aquosos brutos liofilizados das folhas de *P. edulis* e *P. alata*, administradas por via oral, em ratas gestantes. Durante toda o período da gestação, as ratas receberam 800 mg/kg/dia do extrato aquoso de *P. edulis* ou *P. alata*. Foram avaliadas as seguintes variáveis durante toda a gestação: consumo de água, alimento, massa corporal, contagem dos corpos lúteos e dos sítios de implantação uterina. Além disso, foram avaliadas as características da prole através das seguintes variáveis: massa corporal, desenvolvimento físico geral, sexual e comportamental. Após 50 dias de acompanhamento, dois machos e duas fêmeas de cada ninhada foram sacrificados para avaliação da massa relativa dos órgãos sexuais, rins e fígado. Os resultados mostraram que o desenvolvimento durante a gestação manteve-se

normal nas ratas tratadas com os extratos testados. Também não houve alteração no desenvolvimento físico geral, sexual e comportamental das ninhadas, indicando ausência de toxicidade para ratas tratadas, conforme o protocolo acima, durante os 21 dias de gestação (AMARAL; SCHENKEL; LANGELOH, 2001).

3.7 ATIVIDADE ANTIINFLAMATÓRIA DE ESPÉCIES DO GÊNERO

Passiflora

Na revisão da literatura foi verificado apenas um trabalho, de Borreli et al. (1996), que relataram a atividade antiinflamatória do extrato hidroetanólico liofilizado” (40 % de etanol) de *P. incarnata* em ratos, via oral, através da indução da inflamação por três modelos: edema de pata por carragenina, pleurisia causada pelo agente flogístico dextrano e formulação de granuloma. Os resultados sugerem que o extrato de *P. incarnata* exibe atividade antiinflamatória nas doses de 125, 250 e 500 mg/Kg. Nesse trabalho foi utilizado o ácido acetil salicílico como controle positivo.

Neste Programa de Pós-Graduação estão sendo realizados estudos para determinação da atividade antiinflamatória do extrato aquoso das partes aéreas de *P. edulis* e *P. alata*, obtidos por *spray drying*, através da administração intraperitoneal em camundongos. A inflamação é induzida através da administração intrapleural do agente flogístico carragenina. Resultados prévios indicam que o extrato aquoso das partes aéreas de *P. edulis* apresentam um importante papel na modulação da resposta inflamatória no modelo de pleurisia induzida por carragenina, em camundongos.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 PROCEDIMENTOS GERAIS

Os solventes e reagentes empregados neste trabalho para análise fitoquímica foram de procedências variadas: Nuclear®, Merck® e Reagen®. A água utilizada nos experimentos foi destilada no laboratório. O etanol empregado nas macerações foi o comercial.

As cromatografias em coluna foram realizadas em gel de sílica 60 de procedência Merck, com tamanhos de partículas 0,05–0,2 mm e gel de permeação molecular Sephadex LH-20, de procedência Pharmacia® R. As cromatografias em camada delgada foram realizadas em cromatofolhas de alumínio F₂₅₄ de procedência Merck®.

A detecção dos compostos foi realizada mediante observação sob lâmpada de luz ultravioleta com comprimentos de onda de 254 e 365 nm e visualização após reação com agente cromogênico anisaldeído-sulfúrico e com Reagente Natural A (1%). Os extratos e as frações obtidas das colunas cromatográficas foram concentrados em evaporador rotatório sob pressão reduzida em temperatura inferior a 60 °C.

Para a elucidação estrutural das substâncias isoladas, foram empregados métodos espectroscópicos, como: ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN de ¹H) e ressonância magnética nuclear de carbono (RMN de ¹³C).

Os equipamentos utilizados para a análise espectrocópica foram:

- Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear, obtidos em equipamento Bruker Avance 400 MHz e Bruker AM 500 MHz, através da colaboração do Prof. Dr. Jorge Palermo, do Departamento de Química Orgânica da Faculdade de Ciências Exatas e Naturais da Universidade de Buenos Aires, Argentina.

4.2 MATERIAL VEGETAL

As partes aéreas e os frutos de *P. edulis* foram coletadas em região de cultivo no município de Antônio Carlos, no estado de Santa Catarina, no mês de junho de 2003. As raízes foram coletadas no mesmo local, no mês de outubro de 2003. O material vegetal foi identificado pelo botânico Prof. Dr. Daniel de Barcellos Falkenberg e o material testemunho está depositado no herbário ICN do Departamento de Botânica da Universidade Federal de Santa Catarina, catalogado sob o número 33886.

Os materiais vegetais, com exceção dos frutos (utilizados a fresco), foram secos sob temperatura ambiente, ao abrigo da luz e calor, durante aproximadamente duas semanas. Com esses materiais foram realizadas as preparações dos extratos para a investigação fitoquímica e determinação da atividade antiinflamatória e antiviral.



Figura 17: Foto de cultivo de *P. edulis*. Município: Antônio Carlos/SC. Sistema de condução: latada.

4.3 PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS

4.3.1 PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS DAS FOLHAS

As folhas foram separadas dos talos e a extração foi realizada com cerca de 1200 g de folhas moídas. O extrato foi obtido por maceração em etanol comercial, durante o período de 7 dias, na proporções 14 g (droga vegetal)/ 100 ml (líquido extrator). O extrato etanólico foi filtrado e concentrado em evaporador rotatório sob pressão reduzida à temperatura inferior a 50 °C e o rendimento do extrato foi avaliado com base na quantidade de folhas moídas maceradas.

4.3.2 PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS DOS FRUTOS

Na figura 18 pode-se observar a estrutura do fruto de *P. edulis*. A casca é formada pelo pericarpo, o qual é constituído por uma região externa denominada epicarpo, por uma região parenquimática média, o mesocarpo, e por uma região parenquimática interna denominada endocarpo (NACIF, 1991 apud SALOMÃO;VIEIRA; MOTA, 2001).

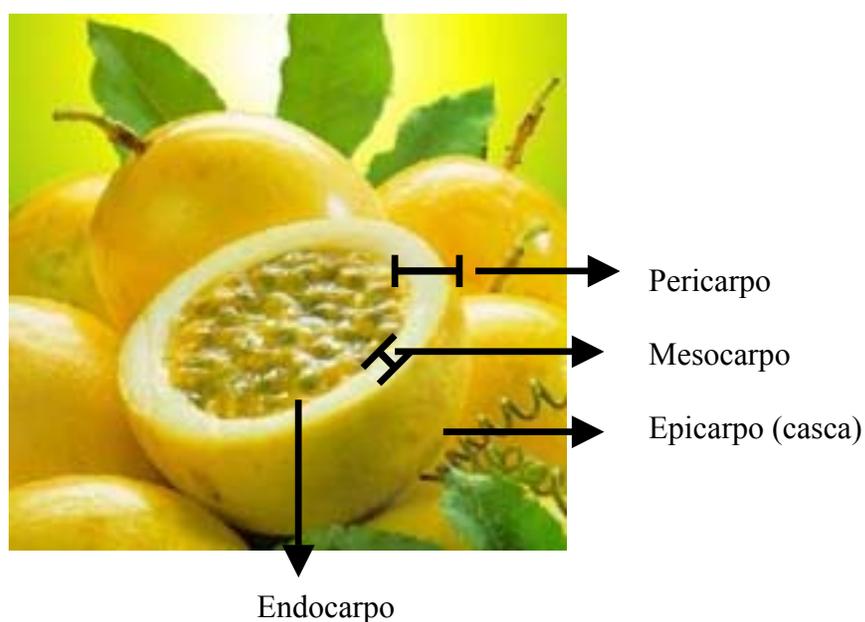


Figura 18: Estrutura do fruto de *P. edulis*.

A partir dos frutos, foram preparados dois tipos de extratos:

- a) Extrato etanólico dos frutos maduros, sem a polpa e as sementes (Extrato do pericarpo dos frutos maduros), obtido por maceração, durante 7 dias;
- b) Extrato aquoso, obtido em liquidificador com os frutos maduros, com a polpa e as sementes;

Adicionalmente foram processados extratos a partir das partes dos frutos, (conforme figura 18). O mesocarpo foi separado da epicarpo (casca) e a partir desses materiais foram preparados extratos com o mesocarpo e a casca de frutos verdes e com o mesocarpo e a casca de frutos maduros.

A fim de evitar repetições, os extratos processados a partir do mesocarpo e da casca dos frutos, serão descritos como:

- Extrato etanólico do mesocarpo dos frutos verdes: EMFV
- Extrato etanólico do mesocarpo dos frutos maduros: EMFM
- Extrato etanólico da casca dos frutos verdes: ECFV
- Extrato etanólico da casca dos frutos maduros: ECFM

Após a separação, determinou-se o peso da matéria fresca do mesocarpo e da casca. Para preparação dos extratos foram utilizadas cerca de 150 g de cada material, em etanol comercial, por maceração durante 7 dias. Todos os extratos etanólicos foram filtrados e concentrados em evaporador rotatório sob pressão reduzida à temperatura inferior a 50 °C.

Também foi analisado o suco concentrado de maracujá, da marca Maguary[®] (500 ml).

4.3.3 PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS DAS RAÍZES

A extração foi realizada com cerca de 1 Kg de raízes moídas de *P. edulis*, por maceração em etanol comercial, durante o período de 7 dias, na proporção 12 g (droga vegetal)/ 100 ml (líquido extrator). O macerado foi filtrado e concentrado em evaporador rotatório sob pressão reduzida à temperatura inferior a 50 °C. O rendimento do extrato foi avaliado com base na quantidade de raízes moídas maceradas.

4.3.4 PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS PARA AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTIINFLAMATÓRIA E ANTIVIRAL

Para determinação das atividades biológicas foram preparados extratos aquosos e hidroetanólicos com diferentes partes da planta: folhas, raízes e pericarpo dos frutos maduros.

Os extratos aquosos foram preparados por infusão, na proporção 1g (droga vegetal)/ 10 ml (líquido extrator), sendo que os materiais vegetais foram deixados em contato com água quente durante 10 minutos, filtrados e liofilizados. Os extratos hidroetanólicos foram preparados por maceração em etanol comercial durante 7 dias, na proporção 40 : 60 (água/ álcool). Os extratos hidroetanólicos foram filtrados, concentrados em evaporador rotatório sob pressão reduzida, à temperatura inferior a 50 °C e liofilizados.

Para avaliação da atividade antiinflamatória foram utilizados apenas os extratos aquosos liofilizados das folhas, raízes e pericarpo dos frutos maduros e para avaliação da atividade antiviral foram utilizados todos os extratos aquosos e hidroetanólicos.

4.4 FRACIONAMENTO DOS EXTRATOS

4.4.1 Fracionamento do extrato etanólico das folhas

O extrato etanólico das folhas de *P. edulis* foi extraído com solventes de polaridade crescente, éter de petróleo (8 × 50 ml), diclorometano (6 × 50 ml), acetato de etila (6 × 50 ml), n-butanol (6 × 50 ml), conforme mostra a figura 19, com auxílio do evaporador rotatório para haver uma melhor extração. O resíduo restante foi ressuspensão em metanol.

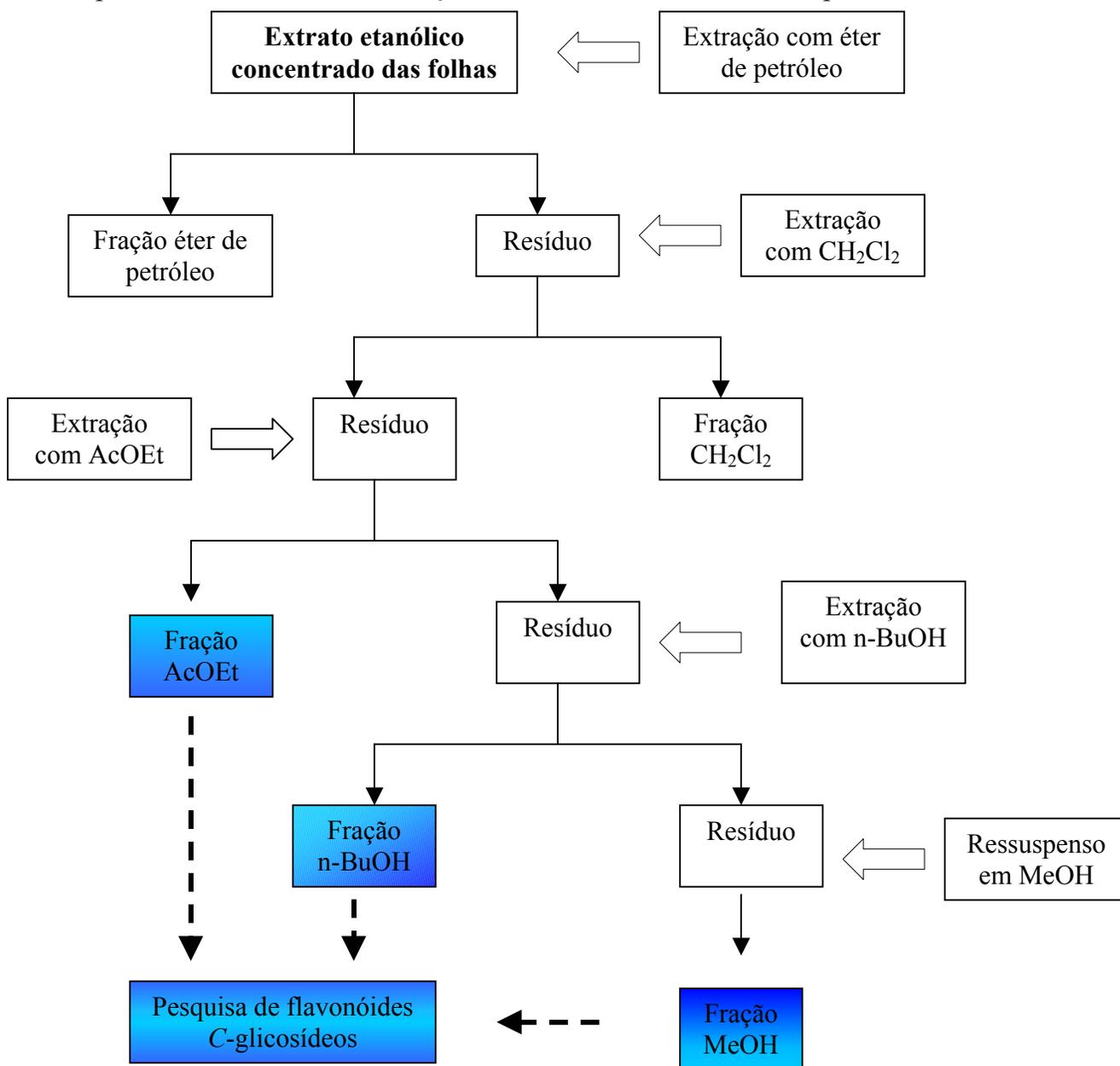


Figura 19: Esquema representativo do fracionamento do extrato etanólico das folhas de *P. edulis*.

4.4.2 Fracionamento dos extratos dos frutos

O extrato etanólico do pericarpo dos frutos maduros, de *P. edulis* foi particionado com solventes de polaridade crescente, éter de petróleo (3 × 100 ml), diclorometano (3 × 100 ml), acetato de etila (3 × 100 ml) e n-butanol (3 × 100 ml) conforme mostra a figura 20 para posterior análise cromatográfica. O extrato aquoso dos frutos maduros, com polpa e sementes, foi extraído apenas com acetato de etila (3 × 300ml). O suco concentrado de maracujá da marca Maguary[®] foi particionado com acetato de etila (3 × 300 ml) e n-butanol (3 × 300 ml) (conforme figura 21).

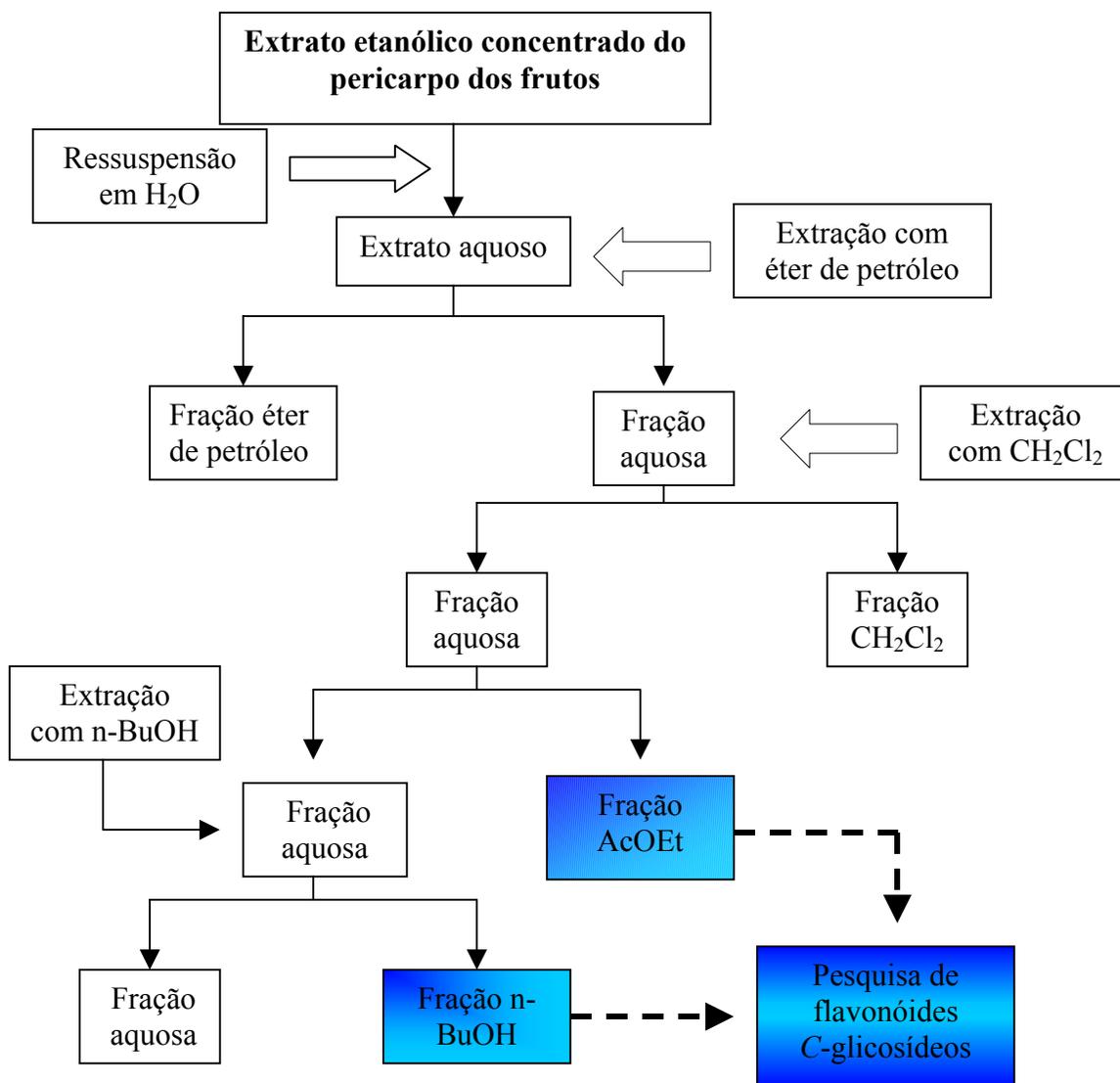


Figura 20: Esquema representativo do fracionamento do extrato etanólico do pericarpo dos frutos maduros de *P. edulis*.

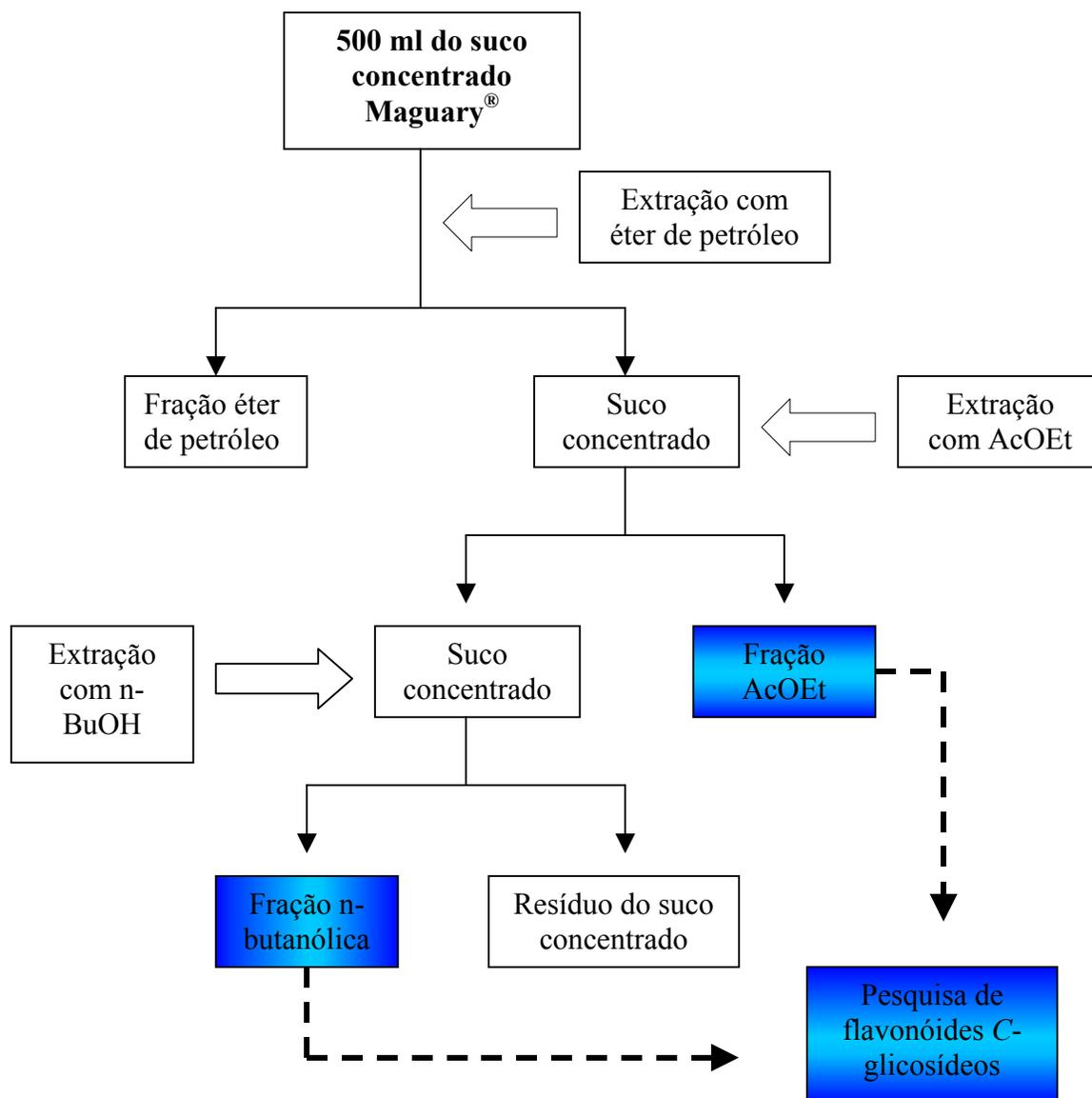


Figura 21: Esquema representativo do fracionamento do suco concentrado de maracujá da marca Maguary®.

4.4.3 Fracionamento do extrato etanólico das raízes

O extrato etanólico das raízes de *P. edulis* foi ressuspenso em água:metanol (90:20 v/v), pois o extrato não solubilizou totalmente em água. Foi particionado com diclorometano (4 × 100 ml) e com n-butanol (4 × 100 ml), conforme mostra a figura 22.

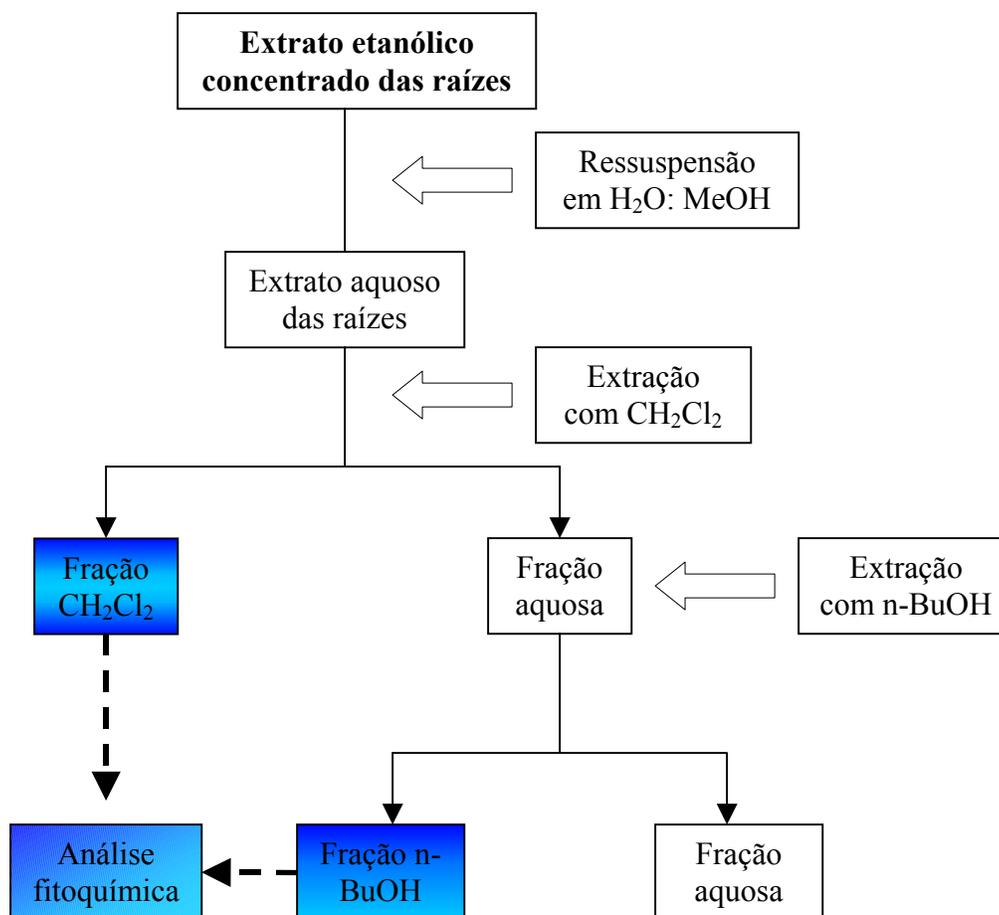


Figura 22: Esquema representativo do fracionamento do extrato etanólico das raízes de *P. edulis*.

4.5 ANÁLISE CROMATOGRÁFICA DAS FRAÇÕES

4.5.1 Análise cromatográfica das frações das folhas

As frações éter de petróleo, diclorometano, acetato de etila, butanólica e metanólica das folhas *P. edulis*, foram analisadas através de cromatografia em camada delgada, utilizando como fase móvel acetato de etila:ácido fórmico:água (80:10:10, v/v/v) e a revelação foi realizada com reagente natural A e anisaldeído sulfúrico.

4.5.2 Análise cromatográfica dos frutos

As frações diclorometano, acetato de etila e n-butanólica provenientes do extrato etanólico dos frutos maduros, sem polpa e sementes; a fração acetato de etila proveniente do extrato aquoso dos frutos maduros, com polpa e sementes; as frações acetato de etila e n-butanólica do suco Maguary[®] e os extratos EPFV e EPFM, ECFV e ECFM (conforme descritos no item 4.3.2) foram analisadas cromatograficamente em cromatografia em camada delgada, utilizando acetato de etila:ácido fórmico:água (80:10:10, v/v/v), como fase móvel e reagente natural A e anisaldeído sulfúrico como reveladores.

As frações provenientes dos frutos foram analisadas apenas qualitativamente e comparadas cromatograficamente com as frações das demais partes da planta: folhas e raízes, sem interesse em isolamento e purificação de substâncias. Desta forma, para alguns extratos não foram calculados os respectivos rendimentos.

4.5.3 Análise cromatográfica das frações das raízes

As frações diclorometano, butanólica e aquosa das raízes de *P. edulis*, foram analisadas através de cromatografia em camada delgada, utilizando como fase móvel acetato de etila:ácido fórmico:água (80:10:10, v/v/v) e reagente natural A, como revelador; clorofórmio:etanol:ácido acético (80:40:5, v/v,v) e diclorometano:metanol (95:5, v/v) e anisaldeído sulfúrico como revelador.

A fração diclorometano e a fração butanólica foram escolhidas como interesse para investigação fitoquímica.

4.6 ISOLAMENTO, PURIFICAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO

4.6.1 Identificação e isolamento de C-glicosilflavonóides do extrato metanólico das folhas

Parte do extrato metanólico das folhas de *P. edulis* (20g) foi primeiramente fracionado (conforme o esquema mostrado na figura 23) em coluna cromatográfica a vácuo, em gel de sílica com éter de petróleo:acetato de etila, em gradiente de concentração de 90:10, v/v até acetato de etila puro e acetato de etila:metanol de 90:10, v/v até metanol puro. No final obteve-se 21 frações que foram reunidas em função de sua semelhança cromatográfica, resultando em 5 frações, codificadas como FR1 à FR5, em ordem crescente de polaridade.

As frações 1 (FR1) e 2 (FR2) apresentaram grande quantidade de clorofila e não foram utilizadas para a análise fitoquímica. Nas frações 3 (FR3), 4 (FR4) e 5 (FR5) não se constatava, através de análise cromatográfica, a presença de clorofila. A FR3 foi armazenada para posterior estudo fitoquímico. A FR4 e a FR5 apresentaram basicamente as mesmas substâncias, as quais foram submetidas a fracionamento e analisadas através de comparação cromatográfica em cromatografia de camada delgada, com amostras autênticas de flavonóides C-glicosídeos.

A FR4, conforme pode ser observado no esquema mostrado na figura 23, foi submetida a sucessivos procedimentos cromatográficos em coluna em gel de sílica, utilizando acetato de etila:ácido fórmico:água (80:10:10, v/v/v) e acetato de etila : metanol:isopropanol:água:ácido acético (80:10:20:20:2, v/v/v/v/v) como eluentes. Apenas um flavonóide C-glicosídeo, designado SFI foi isolado nesse processamento. A substância SFI foi analisada através de comparação cromatográfica com amostra autêntica, além da análise através de espectros de RMN ^1H e ^{13}C . Da FR4 também foram obtidas duas sub-

frações, na qual foram identificados os flavonóides *C*-glicosídeos predominantes em cada fração, por comparação cromatográfica com amostras autênticas.

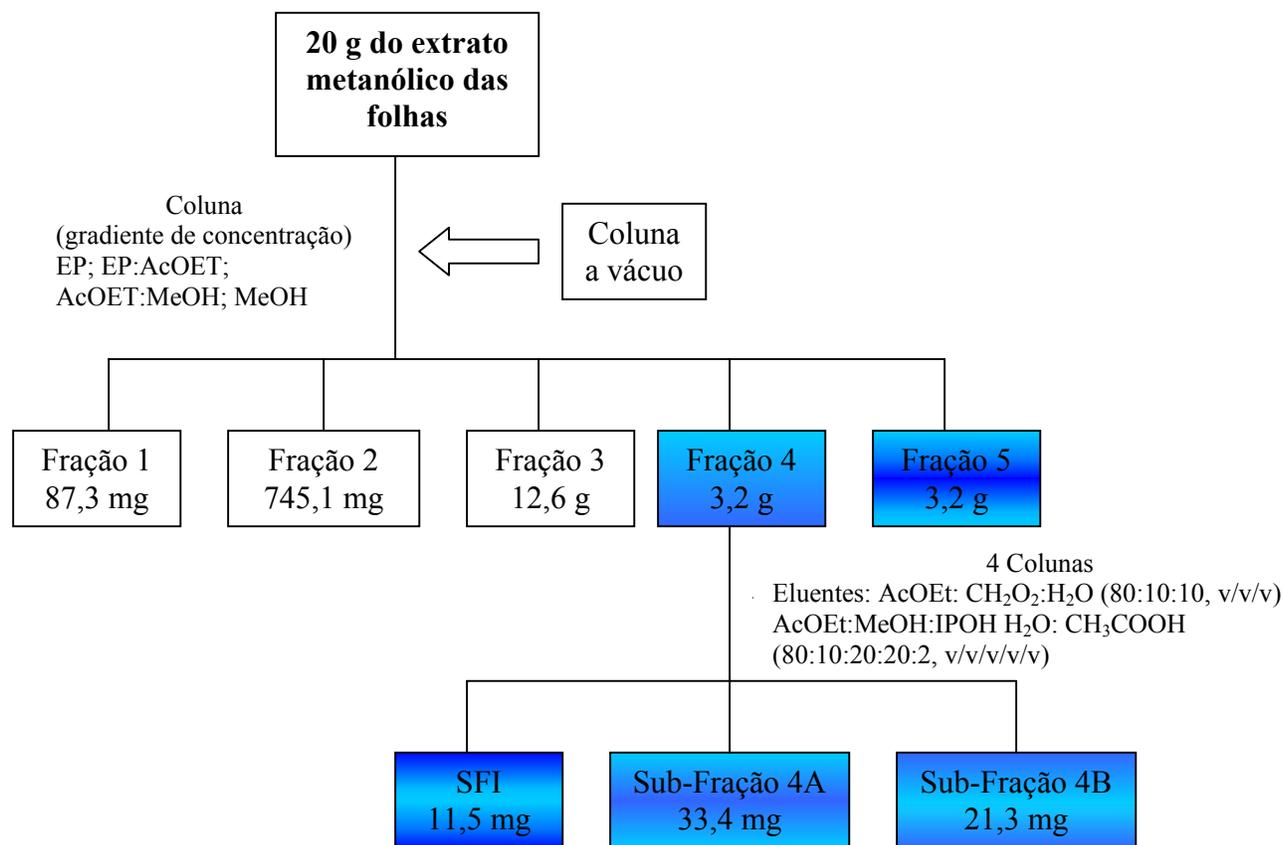


Figura 23: Esquema representativo do isolamento dos *C*-glicosilflavonóides das folhas de *P. edulis*.

4.6.2 Isolamento da substância SRI e SRII a partir da fração diclorometano das raízes

Foram pesados 2 g da fração diclorometano, na qual foi submetida a fracionamento (conforme mostra o esquema da figura 24) em cromatográfica em coluna em gel de sílica. A coluna foi eluída primeiramente apenas com diclorometano e em seguida houve o aumento da polaridade, utilizando diclorometano:metanol (95:5, v/v), como eluente. A partir dessa fração foi isolado um triterpeno codificado como SRI. O precipitado (22 mg)

formado na fração 30-47 foi separado por centrifugação. A análise por CCD apresentou uma substância predominante, que foi isolada através de coluna cromatográfica em gel de sílica. A coluna foi eluída com éter de petróleo:acetato de etila (90:10, v/v), resultando uma substância, designada SRII. Posteriormente a fração 30-47 (585,4 mg), enriquecida da substância codificada como SRII, foi fracionada em cromatografia em coluna em gel de sílica, utilizando éter de petróleo:acetato de etila (90:10, v/v) como eluente, resultando em uma substância pura e idêntica a substância SRII, já isolada.

4.6.3 Isolamento da substância SRIII a partir da fração diclorometano das raízes

A partir de 1,5 g da fração diclorometano foi realizado cromatografia em coluna em gel de sílica utilizando como eluente ciclohexano:acetato de etila (90:10, v/v). Foram isoladas duas substâncias, codificadas como SRIII e uma substância com comportamento cromatográfico semelhante a substância SRII, já isolada (Figura 25).

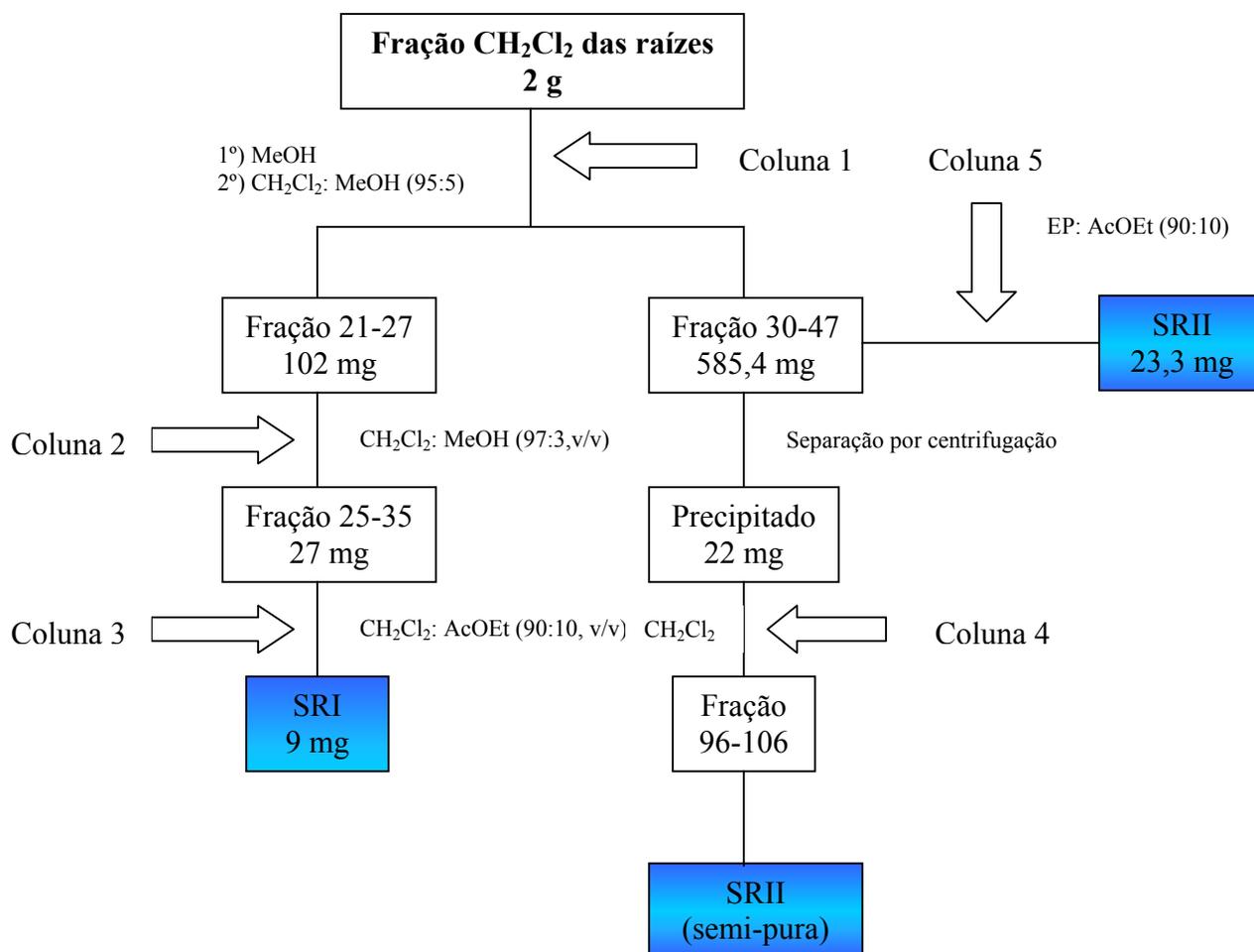


Figura 24: Esquema de isolamento das substâncias SRI e SRII.

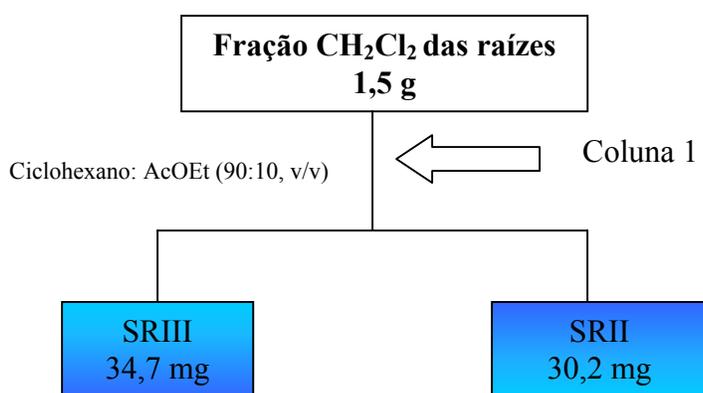


Figura 25: Esquema de isolamento da substância SRIII

4.6.4 Isolamento da substância SRIV, SRV, SRVI a partir da fração butanólica das raízes

A partir de 3 g da fração butanólica foi realizado cromatografia em coluna em gel de sílica. A coluna foi eluida com clorofórmio:etanol:ácido acético (80:60:4,v/v/v). Das frações resultantes dessa coluna, apenas duas (FR 17-21 e FR 28-39) foram submetidas a fracionamentos.

A FR 17-21 (197 mg) foi submetida a fracionamento (conforme figura 26) em coluna cromatográfica em gel de sílica, utilizando acetato de etila:metanol (90:10, v/v) e posteriormente, acetato de etila : metanol (50:50), como eluentes. Desta coluna resultou a fração FR 60-80 (20 mg), que foi submetida à purificação em sephadex LH 20, utilizando metanol como eluente. A partir dessa fração foi isolado uma substância codificada como SRIV, obtida em quatro frações, que não foram reunidas, por não estarem todas totalmente puras.

A FR 28-39 (399 mg) foi submetida a fracionamento em coluna cromatográfica em gel de sílica, utilizando clorofórmio:etanol:ácido acético (80:60:2, v/v/v), como eluente. Foram isoladas duas substâncias codificadas como SRV (24 mg) e SRVI (10 mg). A substância SRV foi submetida a purificação em sephadex LH 20, utilizando metanol como eluente, resultando em 22,8 mg de SRV.

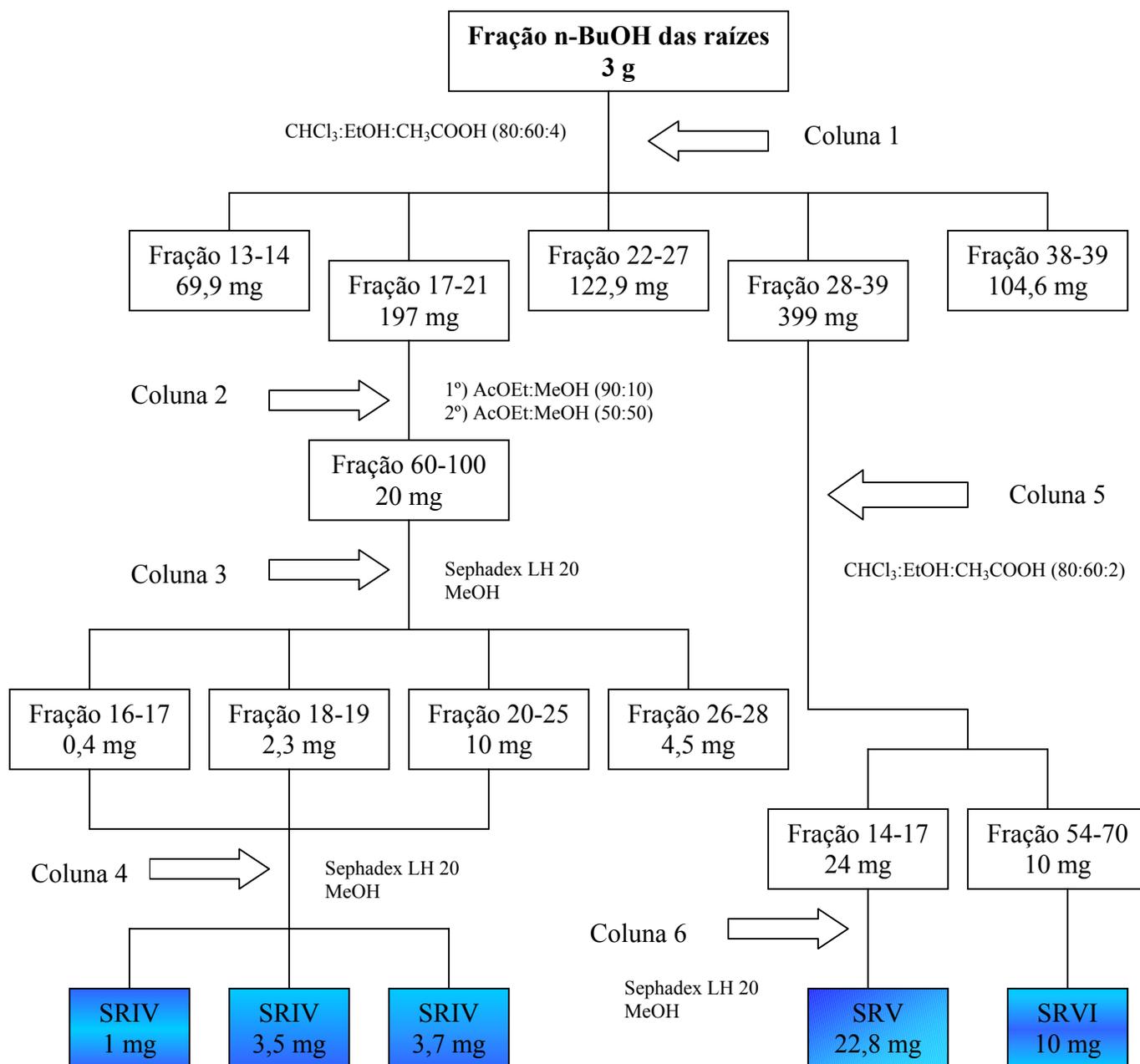


Figura 26: Esquema de isolamento das substâncias SRIV, SRV e SRVI.

4.6.5 Reação de Liebermann-Burchard

A reação de Liebermann-Burchard foi realizada para verificação da identidade da substância SRII. Utilizou-se uma alíquota da amostra, 1 ml de anidrido acético e 1 ml de ácido sulfúrico. A coloração observada, conforme tabela 5, permitiu diferenciar triterpenos e esteróides. Foram utilizadas amostras autênticas de ácido ursólico e β -sitosterol para comparação da coloração desenvolvida.

Tabela 5: Coloração desenvolvida na reação de Liebermann-Burchard de acordo com o núcleo triterpênico ou esteroidal

Núcleo	Coloração
Triterpênico	vermelho, rosa, púrpura ou violeta
Esteroidal	azul ou verde

4.6.6 Análise das substâncias isoladas

A substância SFI foi analisada através de espectros de RMN de ^1H e ^{13}C . A substância SRI foi analisada através de espectros de RMN de ^1H e ^{13}C , bem como por espectros de correlação e DEPT 135°. A substância SRII foi analisada através do seu ponto de fusão, comparação cromatográfica com amostra autêntica e reação de Liebermann-Burchard. A substância SRIII e SRVI foram analisadas através de espectros de RMN de ^1H . As substâncias SRIV e SRV ainda não foram identificadas.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ESTUDO FITOQUÍMICO DAS FOLHAS

5.1.1 Rendimento dos extratos das folhas

A extração das folhas de *P. edulis* com etanol, por maceração apresentou o seguinte rendimento:

Tabela 6: Rendimento do extrato etanólico das folhas de *P. edulis*

Quantidade de folhas secas e moídas	Extrato Etanólico	Rendimento * (%)
1190 g	103,5 g	8,70

* Rendimento em relação aos 1190 g de folhas maceradas.

O extrato etanólico seco foi extraído com solventes orgânicos de polaridade crescente (éter de petróleo, diclorometano, acetato de etila e n-butanol), no próprio balão em que o extrato foi concentrado, no evaporador rotatório. Todas frações apresentaram rendimentos muito baixos (reunindo todas frações obteve-se um total de 670 mg), mostrando-se como uma extração não efetiva. Desta forma, a quantidade restante no balão foi ressuspensa em metanol. O extrato metanólico apresentou um rendimento de 39 g (33 %), calculado em relação ao extrato etanólico.

5.1.2 Análise cromatográfica das frações das folhas

Devido aos baixos rendimentos obtidos com frações éter de petróleo, diclorometano, acetato de etila e n-butanol, apenas a fração metanólica foi escolhida como interesse para identificação e isolamento de substâncias. As frações acetato de etila e n-butanol foram utilizadas apenas para análise cromatográfica.

Para análise fitoquímica, a fração metanólica foi submetida a fracionamento em coluna a vácuo, em gel de sílica (conforme item 4.6.1). Desta coluna resultaram 5 frações, sendo que as frações codificadas como FR4 e FR5 apresentaram semelhanças e ausência de manchas características de clorofila. Na análise cromatográfica dessas frações foram visualizadas várias substâncias com características de flavonóides *C*-glicosídeos, das quais quatro apareciam como componentes principais, codificados em ordem decrescente de polaridade como SFI, SFII, SFIII e SFIV. A FR5 foi reservada para ensaios biológicos e a FR4 foi submetida a sucessivos fracionamentos (conforme figura 23), da qual resultaram duas sub-frações principais, codificadas como sub-fração 4A (SB4A) e sub-fração 4B (SB4B) (Figura 27) e uma substância isolada (SFI) (Figura 28).

A comparação cromatográfica dessas sub-frações com amostras autênticas e com dados da literatura (WAGNER; BLADT, 1996; GONZÁLEZ-ORTEGA, 1993), indicou a predominância das seguintes *C*-glicosilflavonas (conforme figura 27):

- Sub-fração 4A: vitexina (SFIV); orientina (SFIII);
- Sub-fração 4B: orientina (SFIII); isovitexina (SFII) e SFI.

A substância SFI apresenta após revelação com Reagente Natural A intensa fluorescência amarela, similar à coloração apresentada pela orientina, mas com um valor de R_f um pouco menor do que essa, sugerindo tratar-se da isoorientina, tendo em vista a não disponibilidade de amostra autêntica desse *C*-glicosídeo, foi realizado o seu isolamento e análise espectroscópica, apresentada no item 5.1.3.

Desta forma, os principais flavonóides *C*-glicosídeos presentes nos extratos e frações de *P. edulis* puderam ser reconhecidos através da cromatografia em camada delgada em gel de sílica, devido a satisfatória resolutividade para análise comparativa dos flavonóides *C*-glicosídeos no sistema escolhido. Para o reconhecimento das substâncias visualizadas, foi importante a coloração ou fluorescência desenvolvida após reação frente

ao Reagente Natural A e aquecimento, e quando possível o emprego de amostras autênticas, além dos Rfs comparados com a literatura.

Com base nesses dados puderam ser caracterizados a identidade das principais C-glicosilflavonas presentes na fração metanólica das folhas (FR4) de *P. edulis* f. *flavicarpa*: orientina, isoorientina, vitexina e isovitexina, o que está de acordo com os resultados obtidos por Petry (1999), que identificou os mesmos flavonóides C-glicosídeos na espécie *P. edulis* f. *flavicarpa*, através de CLAE.

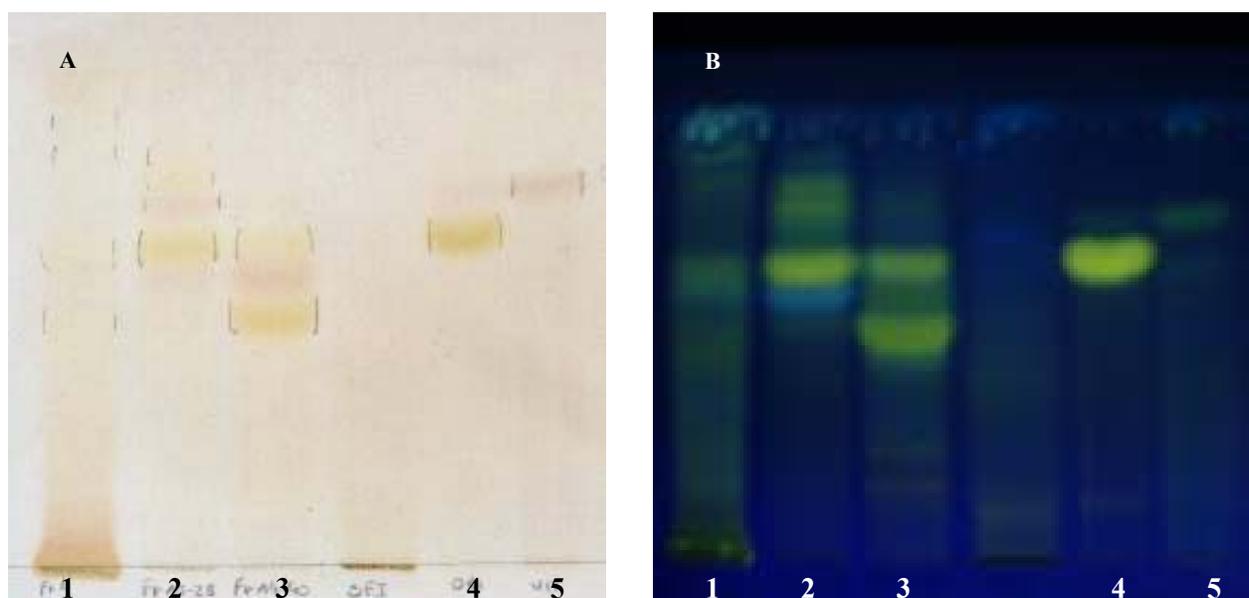


Figura 27: Cromatografia em camada delgada das sub-frações (SF4A; SF4B) de *P. edulis*.

Eluente: acetato de etila : ácido fórmico : água (80:10:10, v/v/v)

Adsorvente: gel de sílica F₂₅₄

Deteção: A - Reagente Natural A

B - Reagente Natural A/ 365 nm

Amostras: 1 - fração metanólica das folhas (FR4)

2 - sub-fração 4A (SF4A)

3 - sub-fração 4B (SF4B)

4 - amostra autêntica de orientina

5 - amostra autêntica de vitexina

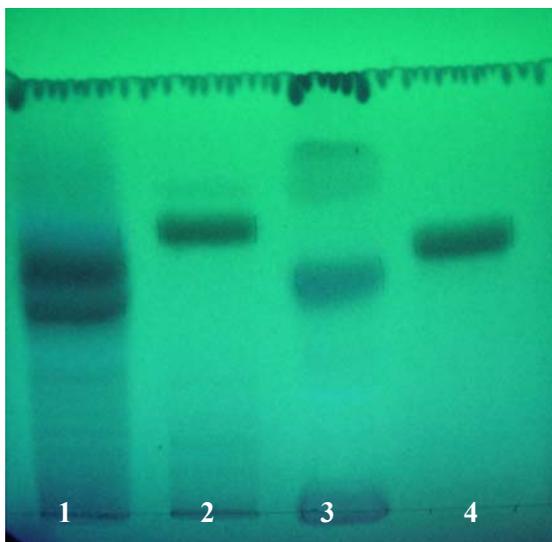


Figura 28: Cromatografia em camada delgada da sub-fração 4B (SF4B) e da substância SFI de *P. edulis*.

Eluente: acetato de etila:ácido fórmico:água (80:10:10, v/v/v)

Adsorvente: gel de sílica F₂₅₄

Deteção: 254 nm

Amostras: 1 - sub-fração 4B (SF4B)

2 - amostra autêntica de orientina

3 - substância isolada SFI

4 - amostra autêntica de isovitexina

5.1.3 Análise estrutural da C-glicosilflavona SFI

A substância SFI apresentou valor de R_f 0,53 no sistema acetato de etila:ácido fórmico:água (80:10:10, v/v/v) e após revelação com Reagente Natural A e aquecimento, a substância SFI apresentou intensa fluorescência amarela sob luz ultravioleta em 365 nm. Esses dados, segundo Wagner; Bladt (1996) e González-Ortega (1993), sugerem tratar-se de um flavonóide C-glicosídeo.

Através dos espectros de ressonância magnética nuclear protônica (RMN ¹H) e de carbono 13 (RMN ¹³C) foi possível caracterizar os principais átomos de carbono e hidrogênio que compõem a estrutura da substância SFI e atribuir os deslocamentos químicos de alguns hidrogênios e carbonos característicos de C-glicosilflavonóides.

No espectro de RMN ¹H ampliado (Figura 32) são evidentes os sinais correspondentes à glicose na região característica de açúcares, δ 3,4 – 4,0 (MARKHAM, 1982) e principalmente o próton H-1'' correspondente ao C-1'' da glicose, que aparece como um duplete em δ 4,58 e com constante de acoplamento de 9,6 Hz (Tabela 7), evidenciando tratar-se de um monoglicosídeo. Segundo Chopin e Bouillant (1982) a β -

configuração do radical glicopiranosila nos C-glicosilflavonóides é deduzida pela larga constante de acoplamento (10 Hz) do próton hidrogênio H-1^{''}. A interpretação desse e dos demais sinais de absorção estão na tabela 7.

Tabela 7: Valores de deslocamentos químicos em ppm observados no espectro de RMN ¹H da substância SFI em DMSO-d₆.

δ (ppm)	multiplicidade	atribuição	referência
7,50	d	H6'	7,42'; 7,39''; 7,42*
7,33	s	H2'	7,40'; 7,41''; 7,40*
7,08	d (8,2 Hz)	H5'	6,94'; 6,93''; 6,89 (8,2 Hz)*
6,52	s	H3	6,59'; 6,59''; 6,67*
4,5	d (9,6 Hz)	H1''	4,91' (9,4 Hz); 4,92 (9,6 Hz) ''; 4,58 (9,8 Hz)*

' Luteolina 6-C-quinovopiranosídeo em DMSO-d₆ (MARECK et al., 1991)

'' Luteolina-6-C-fucopiranosídeo em DMSO-d₆ (MARECK et al., 1991)

* Isoorientina em DMSO-d₆ (KUMAZAWA et al., 2000)

As diferentes agliconas dos flavonóides são indistinguíveis com base apenas na ressonância dos carbonos aromáticos, mas os deslocamentos químicos dos carbonos correspondentes ao anel C, especialmente C-2, C-3 e C-4 conforme tabela 8, apresentam valores característicos, que diferenciam flavononas, flavononols, flavonas e flavonols.

Tabela 8: Valores de deslocamento químico (δ ppm) para os carbonos do anel C em flavonóides glicosídeos¹.

Aglicona	C-2	C-3	C-4
Flavononas	71,5-79,4 (CH)	49,4-45,9 (CH ₂)	187,9-198,3 (CO)
Flavononols	77,8-85,8 (CH)	70,9-76,6 (CH)	188,3-198,7 (CO)
Flavonas	159,7-165,8 (C)	101,9-113,5 (CH)	176,0-183,7 (CO)
Flavonols (incluindo 3-metoxiflavonas)	140,0-159,7 (C)	132,5-139,2 (C)	175,9-179,8 (CO)

¹AGRAWAL, 1989.

Segundo os autores Kumazawa et al. (2000) e Markham (1982) os sinais correspondentes ao C-2 e ao C-3 da C-glicosilflavona isoorientina aparecem em δ_C 163,2

e δ_C 102,7 e respectivamente. E segundo Markham (1982) o sinal do C-3 da aglicona luteolina apresenta sinal em δ_C 102,8 – 103,2. No espectro de RMN ^{13}C (Figura 33), pode ser observado dois sinais em δ_C 101,9 e em δ_C 163,2 que segundo os dados acima e da tabela 8 puderam ser atribuídos aos carbonos C-3 e C-2, respectivamente. Desta forma, esse conjunto de dados sugere que a substância SFI seja uma flavona, o que indica a estrutura parcial:

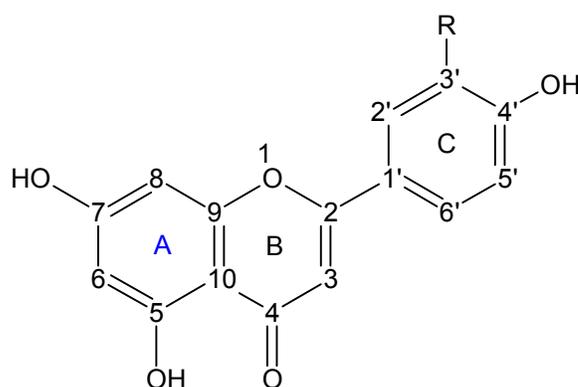


Figura 29: Núcleo fundamental de uma flavona/ R=H ou OH.

A C-glicosilação de uma aglicona flavonoídica causa um deslocamento de 10 ppm para campo mais baixo para o sinal do carbono glicosilado, mas não altera significativamente os sinais dos demais carbonos (MARKHAM, 1982). No espectro de RMN ^{13}C (Figura 33) não pode ser observado sinal referente ao carbono glicosilado. Como sugere-se que a flavona em questão trata-se da isoorientina (conforme item 5.1.2, em análise cromatográfica das frações), seria esperado um sinal em aproximadamente δ_C 109,0, visto que o deslocamento químico apresentado pelo C-6 na sua aglicona de origem (luteolina) é δ_C 99,2, conforme tabela 9 (MARKHAM, 1982). Uma explicação plausível seria a ocorrência de sobreposição de sinais, que só poderia ser confirmada através de um espectro ampliado de RMN ^{13}C . Na tabela 9 estão apresentados os deslocamentos químicos de alguns carbonos do anel A e B da C-glicosilflavona, que puderam ser atribuídos através de comparação com dados da literatura.

Tabela 9: Valores de deslocamento químico (δ ppm) de alguns carbonos do anel A e C da SFI comparados com a literatura.

Flavonóide	C-2	C-3	C-6	C-7	C-4'	C-5'
Luteolina'	164,5	102,8-103,2	99,2	164,7	150,1	116,4
Isorientina''	163,6	102,7	108,8	163,2	149,6	116,0
Substância SFI	163,2	101,9	-	163,2	150,9	116,3

' Espectro em DMSO-d₆ (MARKHAM, 1982)

'' Espectro em DMSO-d₆ (KUMAZAWA et al., 2000)

Os valores dos carbonos do açúcar da substância SFI foram atribuídos através de comparação com a literatura, conforme a tabela 10.

Tabela 10: Valores de deslocamento químico (δ ppm) dos carbonos referentes ao açúcar da substância SFI comparados com a literatura.

Flavonóide	C-1''	C-2''	C-3''	C-4''	C-5''	C-6''
Isovitexina'	79,0	73,4	70,7	70,7	81,3	61,6
Isoorientina''	73,0	70,5	78,9	70,2	81,4	61,4
Substância SFI	73,7	72,6	79,2	70,0	81,2	61,0

' AGRAWAL, 1989.

'' Espectro em DMSO-d₆ (KUMAZAWA et al., 2000)

O conjunto de dados sugere que a substância SFI trata-se de uma flavona conjugada com uma molécula de açúcar, no entanto a ausência de alguns sinais característicos de C-glicosilflavonóides, impossibilita concluir a identidade da substância SFI. Desta forma considera-se necessário confirmar a identidade de SFI através de CLAE, utilizando a sub-fração 4B (SF4B), que apresenta essa substância como predominante.

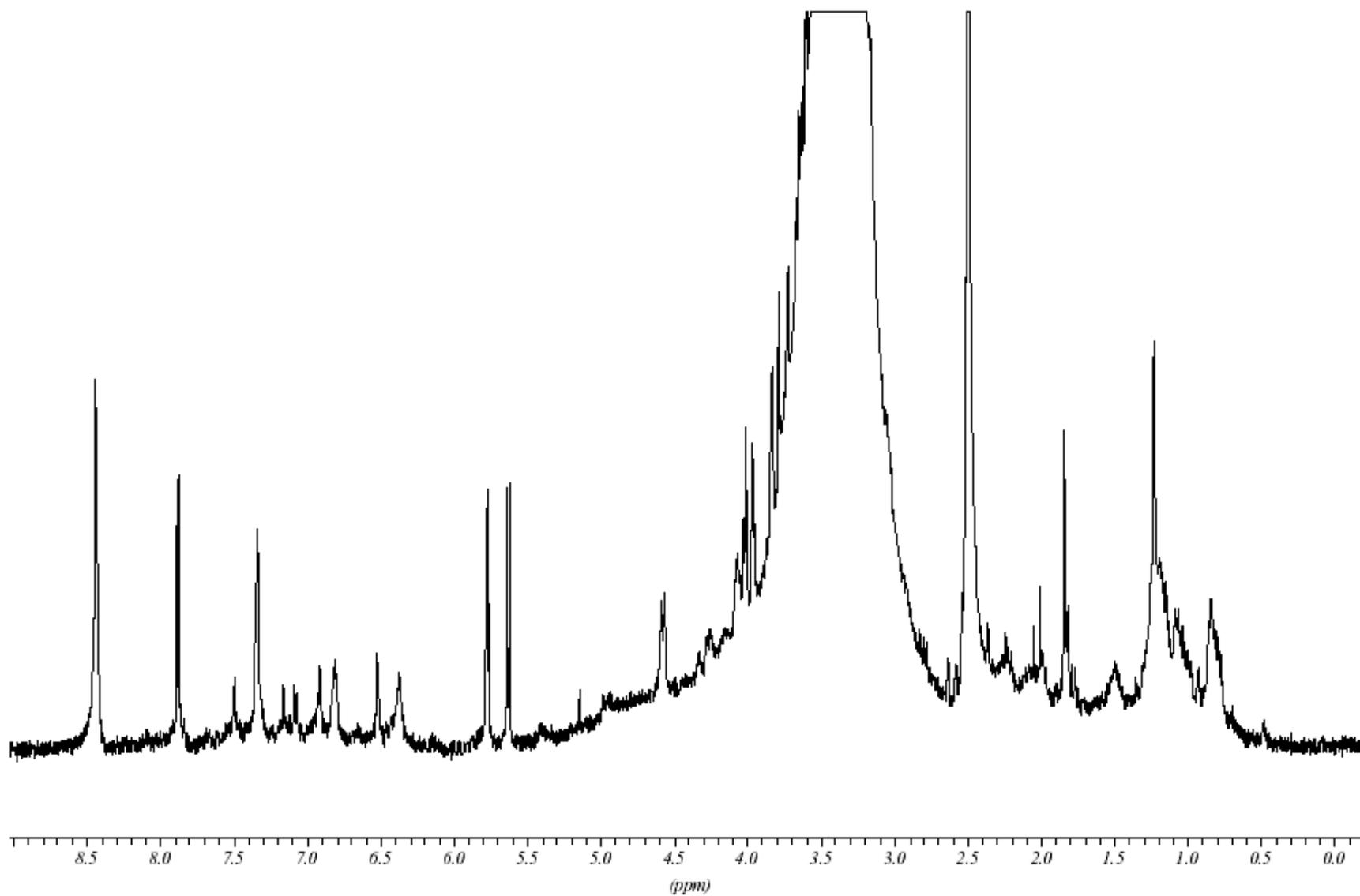


Figura 30: Espectro de RMN ^1H da substância SFI em DMSO-d_6 .

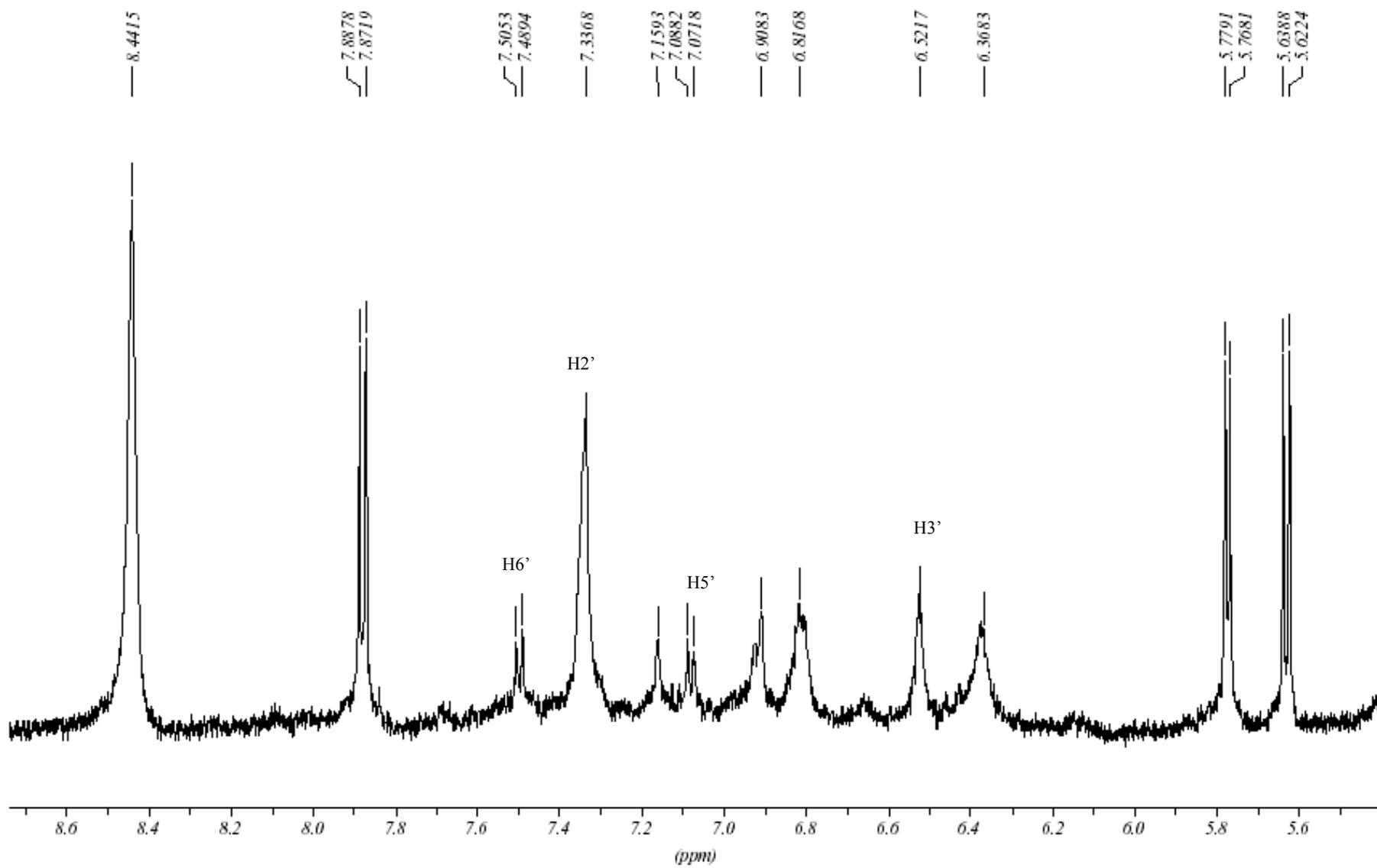


Figura 31: Espectro de RMN ^1H ampliado da substância SFI em DMSO-d_6 .

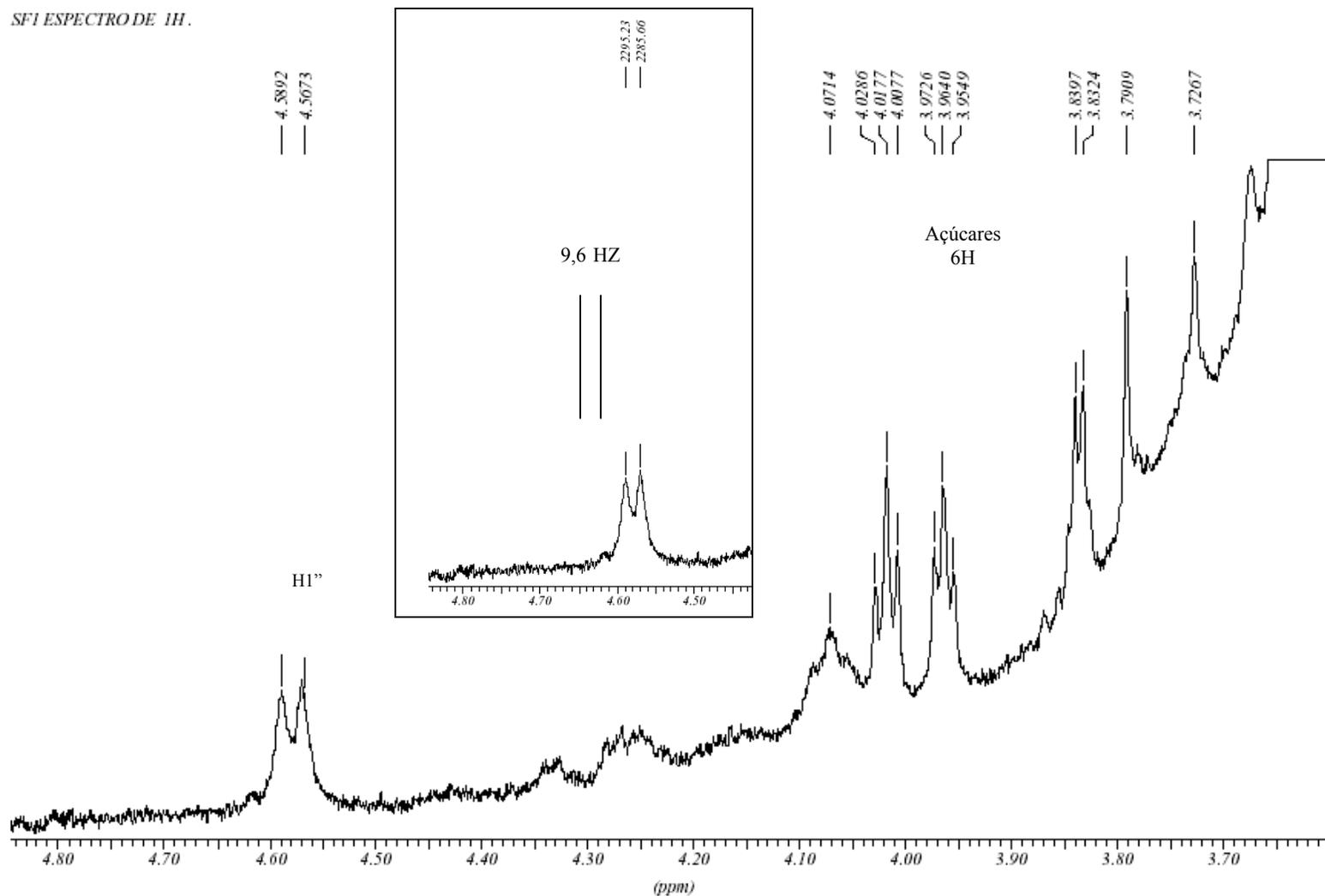


Figura 32: Espectro de RMN ^1H ampliado da substância SFI em DMSO-d_6 .

SF1, ESPECTRO DE ^{13}C .

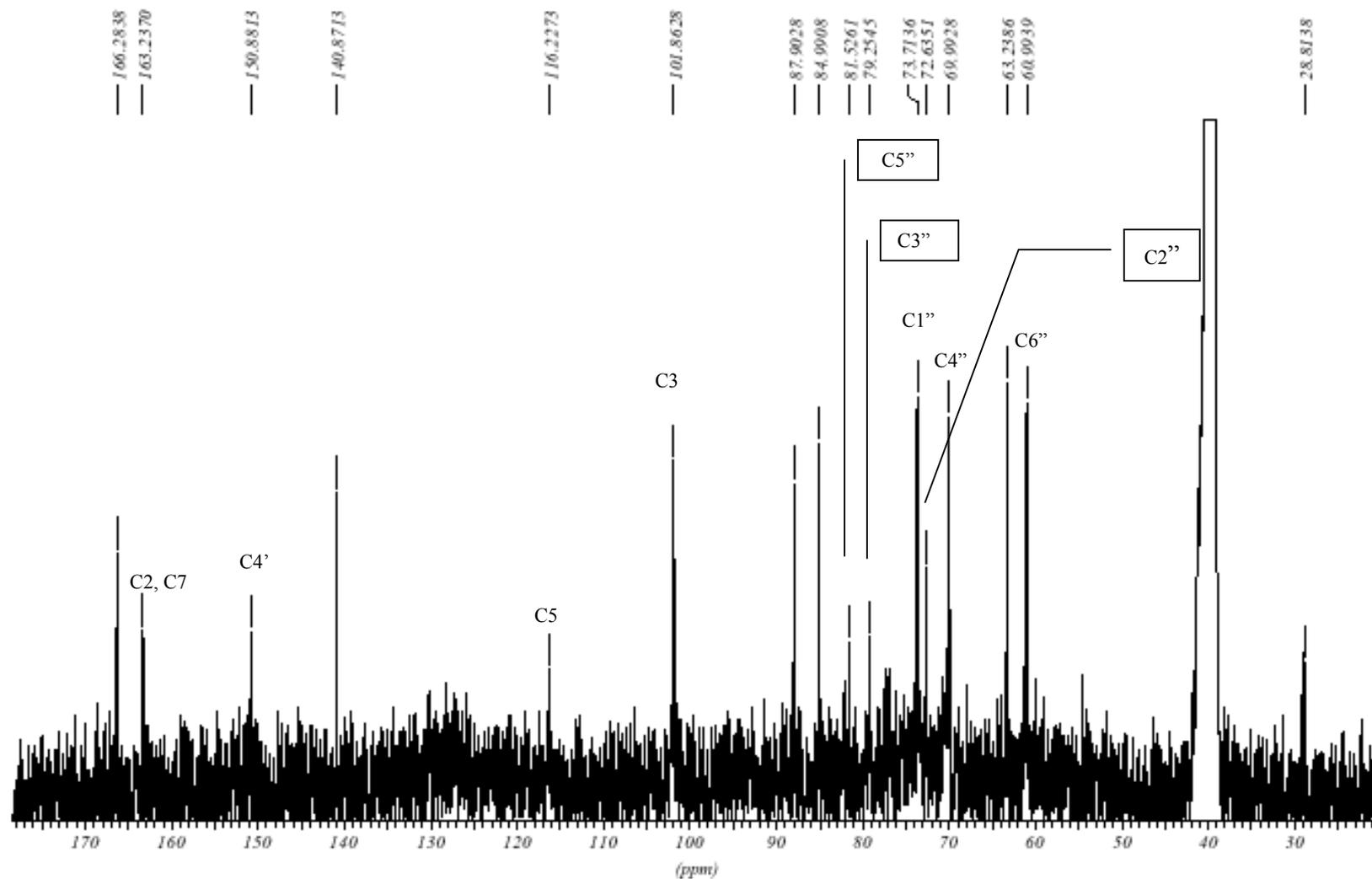


Figura 33: Espectro de RMN ^{13}C da substância SF1 em DMSO- d_6 .

5.2 ESTUDO FITOQUÍMICO DOS FRUTOS

5.2.1 Rendimento dos extratos dos frutos

Os extratos processados com o mesocarpo e com a casca dos frutos verdes e dos frutos maduros de *P. edulis* (conforme item 4.3.2), através de maceração com etanol, apresentaram os seguintes rendimentos:

Tabela 11: Rendimento da extração por maceração, dos extratos do mesocarpo e da casca dos frutos verdes e dos frutos maduros de *P. edulis*

Fração	Quantidade de material	Rendimento (g)	Rendimento (%)
EMFV	260 g	6,53	2,51
EMFM	214 g	6,17	2,88
ECFV	130 g	3,24	2,49
ECFM	131 g	2,64	2,01

EMFV = Extrato etanólico do mesocarpo dos frutos verdes

EMFM = Extrato etanólico do mesocarpo dos frutos maduros

ECFV = Extrato etanólico da casca dos frutos verdes

ECFM = Extrato etanólico da casca dos frutos maduros

Para as frações diclorometano, acetato de etila e n-butanólica dos frutos de *P. edulis* não foram calculados os respectivos rendimentos em virtude dessas frações terem sido feitas com pequena quantidade de material, com único objetivo de análise qualitativa desses extratos e frações com os extratos e frações das folhas e raízes.

5.2.2 Análise cromatográfica dos extratos e frações e frutos

Em relação a estudos fitoquímicos com frutos de *P. edulis* foram relatados três trabalhos. Lutomski e Malek (1975) avaliaram a presença de alcalóides nas cascas e nas sementes dos frutos de *P. edulis*. Lutomski, Malek e Rybacka (1975) avaliaram o conteúdo e a composição de alcalóides no suco dos frutos das espécies *P. edulis* Sims e *P. edulis* f. *flavicarpa*.

No que diz respeito a presença de flavonóides foi relatado apenas o trabalho de Mareck, Galensa, Herrmann (1990), que determinaram qualitativamente e quantitativamente, através de CLAE, a concentração de flavonóides *C*-glicosídeos no suco dos frutos de *P. edulis* f. *flavicarpa* e no suco industrializado de maracujá. Foi relatado no suco dos frutos a presença de apigenina-6-*C*-glicosil-8-*C*-arabinosídeo/apigenina-6-*C*-arabinosil-8-*C*-glicosídeo (shaftosídeo e isoshaftosídeo, em mistura), isoorientina, orientina, isovitexina, luteolina 6-*C*-fucosídeo e luteolina 6-*C*-quinovosídeo. No suco industrializado de maracujá foi relatado a presença de shaftosídeo, isoorientina, orientina e isovitexina. A *C*-glicosilflavona isoorientina foi considerada como predominante tanto no suco in natura, como no suco industrializado. Cabe destacar que os mesmos flavonóides também relatados para as parte aéreas foram relatados no suco: isoorientina, orientina e isovitexina (PETRY, 1999) e luteolina 6-*C*-fucosídeo e luteolina 6-*C*-quinovosídeo (MARECK et al., 1991).

Tendo em vista a presença de flavonóides no suco dos frutos, foi investigada a presença desses compostos no pericarpo dos frutos, que constitui um resíduo, geralmente não aproveitado pela população e pela indústria alimentícia.

A análise cromatográfica através de cromatografia em camada delgada em gel de sílica do extrato etanólico dos frutos maduros, sem a polpa e as sementes (extrato etanólico do pericarpo), e das frações acetato de etila e *n*-butanólica (conforme figura 34) indicou a presença de flavonóides *C*-glicosídeos, visualizados sob luz ultravioleta 365 nm, após revelação com Reagente Natural A. Constatou-se a predominância de substâncias com comportamento cromatográfico semelhante à orientina e a isoorientina, semelhante às folhas. O extrato etanólico dos frutos maduros foi preparado apenas com o pericarpo dos frutos, que compreende uma parte externa denominada epicarpo ou casca, uma parte mesenquimática média, o mesocarpo (mesocarpo) e uma parte mesenquimática interna, denominada endocarpo (conforme figura 18), desta forma foi investigada a presença desses flavonóides *C*-glicosídeos na casca e no mesocarpo, individualmente, conforme item 4.3.2.

A análise através de cromatografia em camada delgada em gel de sílica dos extratos processados da casca e do mesocarpo dos frutos verdes e maduros foi realizada com cerca de 200 mg de cada extrato, ressuspensos em volume igual de metanol e aplicados com capilares de diâmetros e tamanhos iguais. Posteriormente, com a expectativa de obter melhor resolução, as 200 mg de cada extrato, foram extraídas com pequena quantidade de acetato de etila e n-butanol, concentradas sob pressão reduzida em evaporador rotatório à temperatura inferior a 60 °C e analisadas cromatograficamente, através de cromatografia em camada delgada em gel de sílica.

Foi possível verificar a presença de flavonóides *C*-glicosídeos após revelação com Reagente Natural A em todos os extratos processados com as partes dos frutos, com exceção do extrato processado a partir do mesocarpo dos frutos verdes (EMFV) (conforme figura 34). Pode-se constatar a predominância das *C*-glicosilflavonas com comportamento cromatográfico semelhante a orientina e a isoorientina nos extratos EMFM, ECFV e ECFM dos frutos, resultados semelhantes aos obtidos com as folhas.

Em relação às frações acetato de etila e n-butanólica do mesocarpo e da casca dos frutos verdes e maduros, pode-se observar (conforme figura 35) também a presença de *C*-glicosilflavonóides nas frações acetato de etila e n-butanólica da casca dos frutos verdes e maduros, sendo que as frações butanólicas apresentaram a maior concentração dessas substâncias, a julgar pelo tamanho das manchas e intensidade da fluorescência. As substâncias com comportamento cromatográfico semelhante à orientina e à isoorientina são predominantes nessas frações. Manchas com comportamento cromatográfico semelhante à vitexina e à isovitexina também puderam ser visualizadas, mas em menor intensidade. Nas frações acetato de etila e n-butanólica do mesocarpo dos frutos maduros também observa-se a presença de *C*-glicosilflavonóides, mas em menor concentração e com predominância das *C*-glicosilflavonas orientina e isoorientina. Nas frações acetato de etila e n-butanólica do mesocarpo dos frutos verdes não foi possível observar a presença de substâncias com comportamento similar às *C*-glicosilflavonas.

Esses resultados são interessantes, visto não ter sido observado relato anterior na literatura sobre a presença de *C*-glicosilflavonas no pericarpo dos frutos, bem como no mesocarpo e na casca de espécies de *Passiflora*. Aparentemente, trata-se das mesmas substâncias presentes nas folhas. Dessa forma, o resíduo industrial do processamento dos frutos provavelmente contém também essas substâncias e pode constituir uma fonte de obtenção, caso torne-se importante a sua obtenção em maior escala.

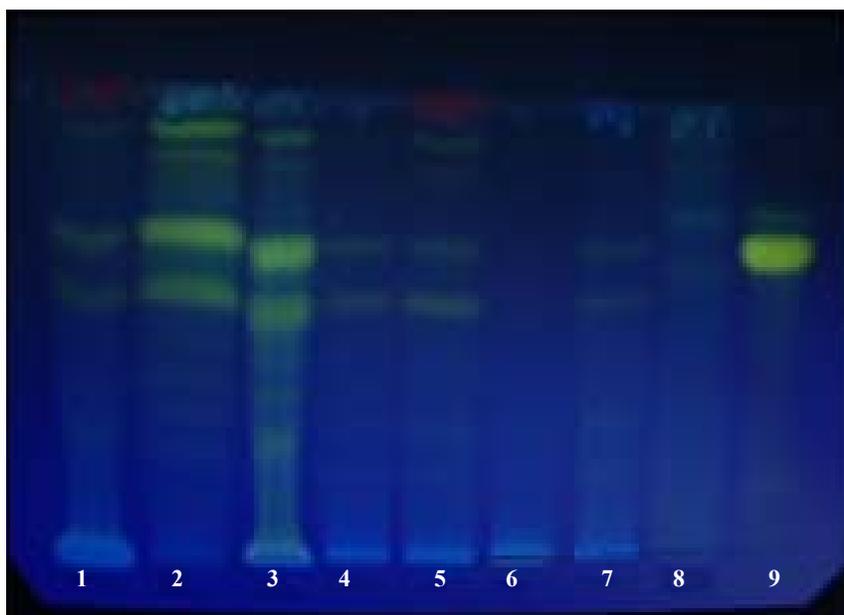


Figura 34: Comparação cromatográfica entre os extratos e frações dos frutos de *P. edulis*.

Eluente: acetato de etila : ácido fórmico:água (80:10:10, v/v/v)

Adsorvente: gel de sílica F₂₅₄

Deteção: Reagente Natural A/ 365 nm

- Amostras: 1 – extrato etanólico do pericarpo dos frutos maduros
2 – fração acetato de etila do pericarpo dos frutos maduros
3 – fração butanólica do pericarpo dos frutos maduros
4 – extrato ECFM
5 – extrato ECFV
6 – extrato EAFV
7 – extrato EAFM
8 – fração acetato de etila das folhas
9 – amostra autêntica de orientina

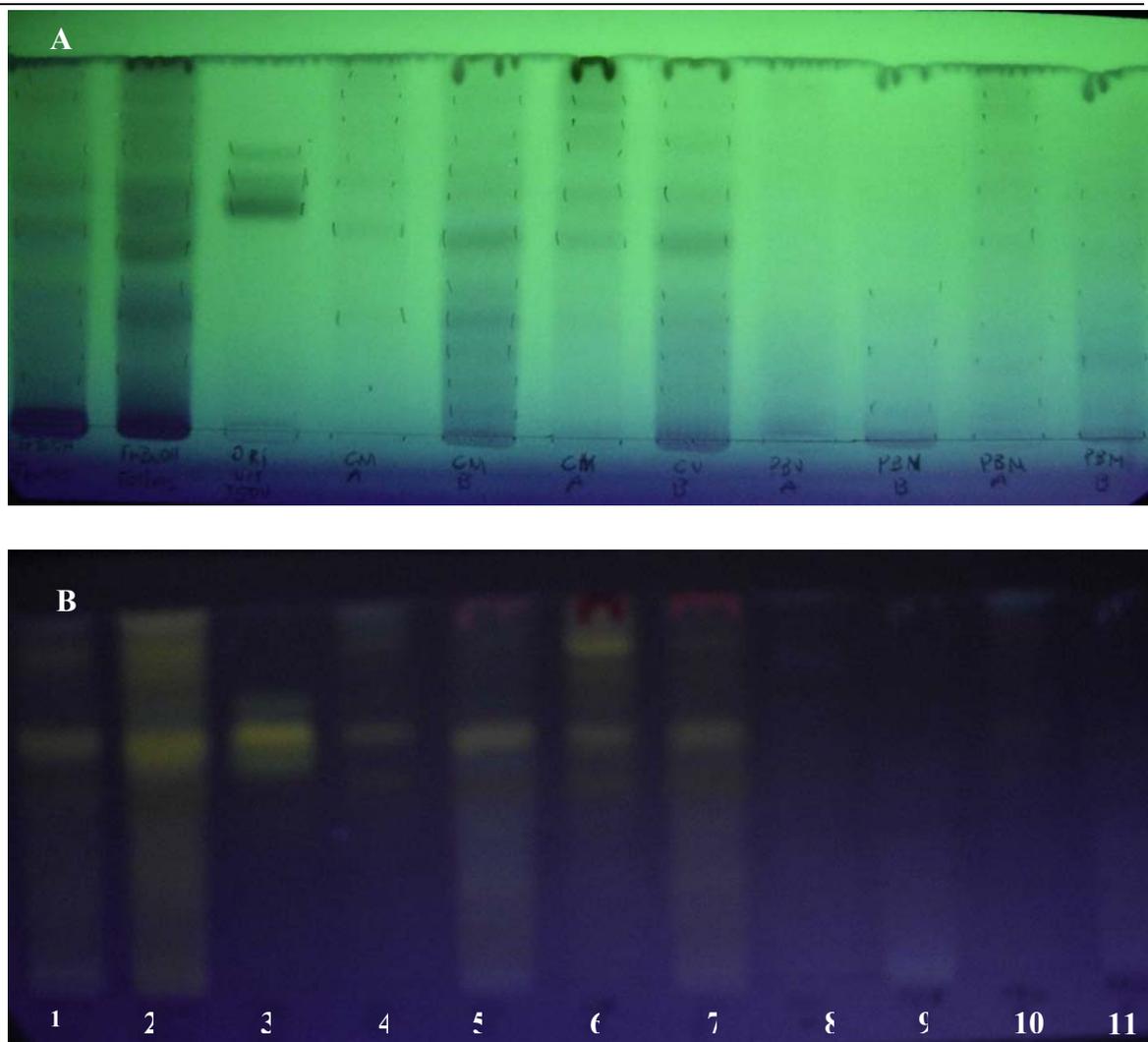


Figura 35: Comparação cromatográfica entre os extratos processados com a casca e o mesocarpo dos frutos de *P. edulis*.

Eluente: acetato de etila:ácido fórmico:água (80:10:10, v/v/v)

Adsorvente: gel de sílica F₂₅₄

Deteção: A) Visualização sob luz ultravioleta em 254 nm.

B) Reagente Natural A/ 365 nm

Amostras: 1 – fração n-butanólica do pericarpo dos frutos maduros

2 – fração acetato de etila das folhas

3 – amostra autêntica de vitexina, orientina e isovitexina.

4 – fração acetato de etila da casca dos frutos maduros

5 – fração n-butanólica da casca dos frutos maduros

6 – fração acetato de etila da casca dos frutos verdes

7 – fração n-butanólica da casca dos frutos verdes

8 – fração acetato de etila do mesocarpo dos frutos maduros

9 – fração n-butanólica do mesocarpo dos frutos maduros

10 – fração acetato de etila do mesocarpo dos frutos verdes

11 – fração n-butanólica do mesocarpo dos frutos verdes

A análise em cromatografia em camada delgada em gel de sílica da fração acetato de etila dos frutos maduros (Figura 36), com polpa e sementes indicou a presença de C-glicosilflavonóides, após revelação com Reagente Natural A, com a predominância das substâncias com comportamento cromatográfico semelhante à orientina e à isoorientina, semelhante aos resultados anteriores.

Outro dado relevante foi a visualização de flavonóides C-glicosídeos na fração acetato de etila e n-butanólica do suco concentrado Maguary[®] (Figura 36), com a predominância quase que exclusiva das substâncias com comportamento cromatográfico semelhante à orientina e à isoorientina. Esses resultados indicam que essas C-glicosilflavonas estão presentes nas folhas e frutos do maracujá in natura e permanecem no suco do fruto após industrializado. Portanto, seria interessante a qualificação dessas substâncias nos sucos de maracujá, visto a sua ingestão frequente.

Conforme Pruthi (1963), na extração do suco de maracujá, cerca de 2/3 do volume total são descartados, dos quais 90 % são cascas e em torno de 10 % são sementes. Isso equivale a 65 – 70 % do peso total dos frutos, com algumas variações conforme a espécie do fruto, que se tornam resíduos (MEDINA, 1980 apud OLIVEIRA et al., 2002).

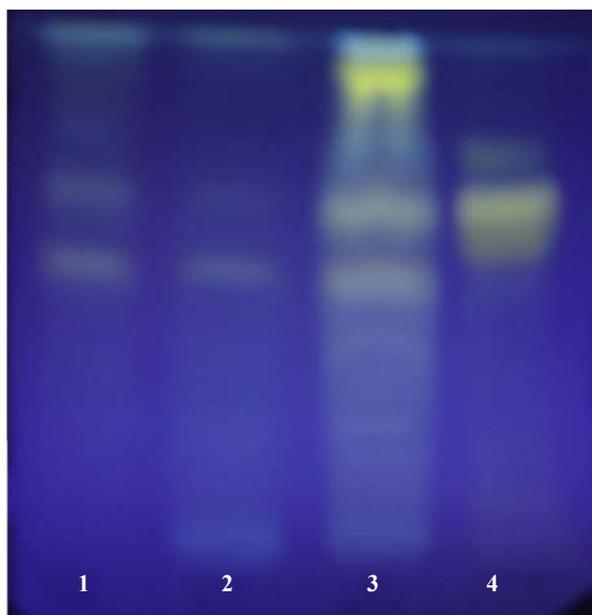


Figura 36: Comparação cromatográfica entre a fração acetato de etila do extrato aquoso dos frutos maduros, com polpa e sementes e das frações acetato de etila e n-butanólica do suco concentrado de maracujá Maguary®.

Eluente: acetato de etila:ácido fórmico:água (80:10:10, v/v/v)

Adsorvente: gel de sílica F₂₅₄

Deteção: Reagente Natural A/ 365 nm

Amostras: 1 – fração acetato de etila do suco Maguary®

2 – fração n-butanólica do suco Maguary®

3 – fração acetato de etila dos frutos maduros, com polpa e sementes

4 – amostra autêntica de vitexina, orientina e isovitexina

5.3 ESTUDO FITOQUÍMICO DAS RAÍZES

5.3.1 Rendimento dos extratos das raízes

A extração das raízes de *P. edulis* por maceração em etanol apresentou o rendimento conforme tabela 12.

Tabela 12: Rendimento do extrato etanólico das raízes de *P. edulis*.

Quantidade de Raízes secas e moídas	Extrato Etanólico *	Rendimento * (%)
1 Kg	77,2 g	7,5

* Rendimento em relação aos 1 Kg de raízes maceradas.

Para fracionamento do extrato etanólico das raízes foram realizados ensaios preliminares, os quais mostraram rendimento baixo nas extrações com éter de petróleo e acetato de etila (resultados não mostrados), razão pelo qual foi realizado fracionamento apenas com diclorometano e n-butanol, em pêra de decantação (conforme tabela 13). Nesse processo formou-se um precipitado abundante na interface diclorometano/água, na ordem de 4,2 g. Esse precipitado não foi analisado ainda, principalmente por não ter obtido resolução cromatográfica satisfatória em nenhum dos sistemas testados para flavonóides, entre outros.

Tabela 13: Rendimento das frações da partição do extrato etanólico das raízes de *P. edulis*.

Fração	Rendimento * (g)	Rendimento * (%)
Fração CH ₂ Cl ₂	5,1 g	10,2
Fração n-BuOH	4,7 g	9,4

* Valor calculado em relação a 50 g das raízes maceradas

5.3.2 Análise cromatográfica das frações das raízes

Além do trabalho de Lutomski e Malek (1975), que relataram a presença de alcalóides (harmano e harmina) nos extratos das folhas, caule, raízes, na casca dos frutos e nas sementes da espécie *P. edulis*, não foi encontrado nenhum outro estudo sobre a análise fitoquímica de raízes das espécies do gênero *Passiflora*. Desta forma, com a hipótese de encontrar flavonóides C-glicosídeos também nas raízes, fez-se uma comparação cromatográfica com os extratos e frações das folhas e frutos de *P. edulis*.

As frações n-butanólica e diclorometano das raízes de *P. edulis* (Figura 37) demonstraram completa desigualdade em relação aos extratos das folhas e frutos, no que diz respeito aos flavonóides. Não foi constatada a presença das C-glicosilflavonas nos extratos das raízes, diferentemente dos extratos de frutos e folhas.

A ausência de flavonóides C-glicosídeos nas raízes de *P. edulis* f. *flavicarpa* é um dado relevante, visto que, além do trabalho de Lutomski e Malek (1975), não há relato anterior sobre a composição das raízes das espécies do gênero *Passiflora*.

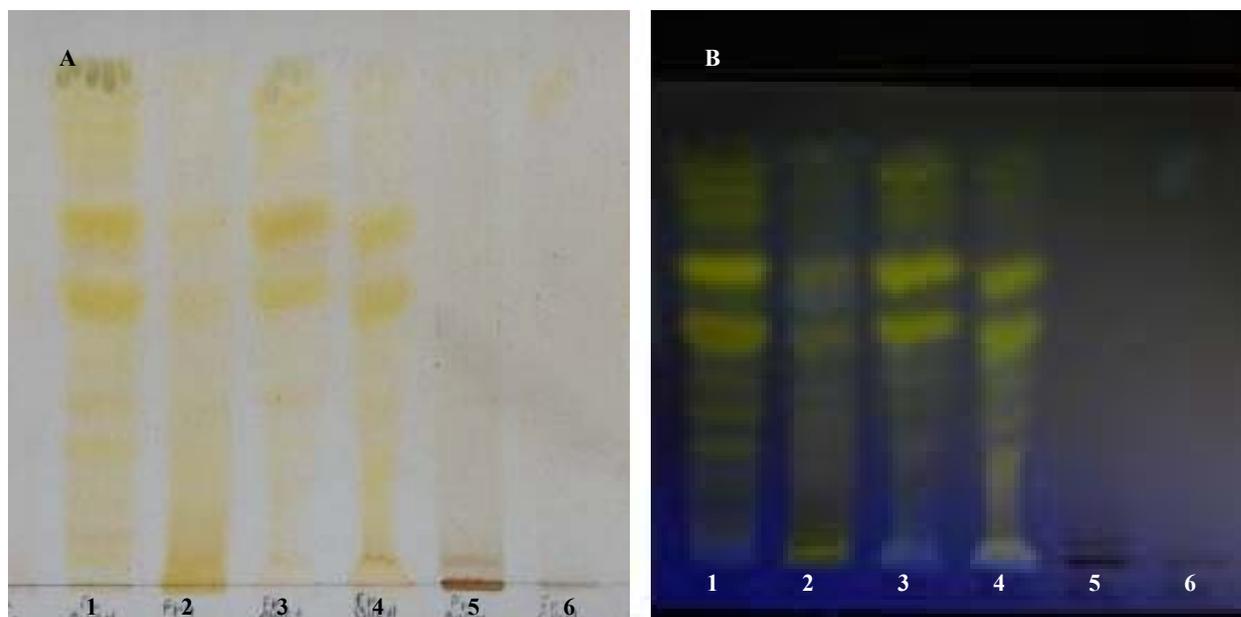


Figura 37: Comparação cromatográfica das frações das folhas, frutos e raízes de *P. edulis*.

Eluente: acetato de etila:ácido fórmico:água (80:10:10, v/v/v)

Adsorvente: gel de sílica F₂₅₄

Deteção: A - Reagente Natural A e aquecimento

B - Reagente Natural A e aquecimento/ 365 nm

Amostras: 1 - fração butanólica do pericarpo dos frutos maduros

2 - fração metanólica das folhas (FR4)

3 - fração acetato de etila das folhas

4 - fração butanólica das folhas

5 - fração butanólica das raízes

6 - fração diclorometano das raízes

Em vista da ausência de flavonóides *C*-glicosídeos nas raízes, a análise foi direcionada para terpenos e saponinas. Foram detectadas nas frações diclorometano (Figura 38) e butanólica (Figura 39) manchas com características de terpenóides e esteróides, caracterizados como tal pela reação com o agente cromogênico anisaldeído – sulfúrico.

Desta forma, foram utilizadas as frações, diclorometano e butanólica, para isolamento de substâncias, através de sucessivas cromatografias em coluna sobre gel de sílica. Esses procedimentos conduziram à obtenção de três substâncias da fração diclorometano, codificadas como SRI (7 mg), SRII (53 mg) e SRIII (35 mg) (Figura 38) e três substâncias da fração butanólica, codificadas como SRIV (8 mg), SRV (23 mg) e SRVI (10,0 mg) (Figura 39). A substância SRII foi caracterizada como sitosterol, através de comparação cromatográfica com amostra autêntica, coloração característica para esteróides na reação de Liebermann-Burchard e ponto de fusão semelhante aos valores encontrado na literatura. A substância SRIII foi caracterizada pelos espectros de RMN ¹H como uma mistura de esteróides, enquanto que a substância SRVI como uma mistura de açúcares não tendo sido levado adiante a sua purificação e elucidação estrutural.

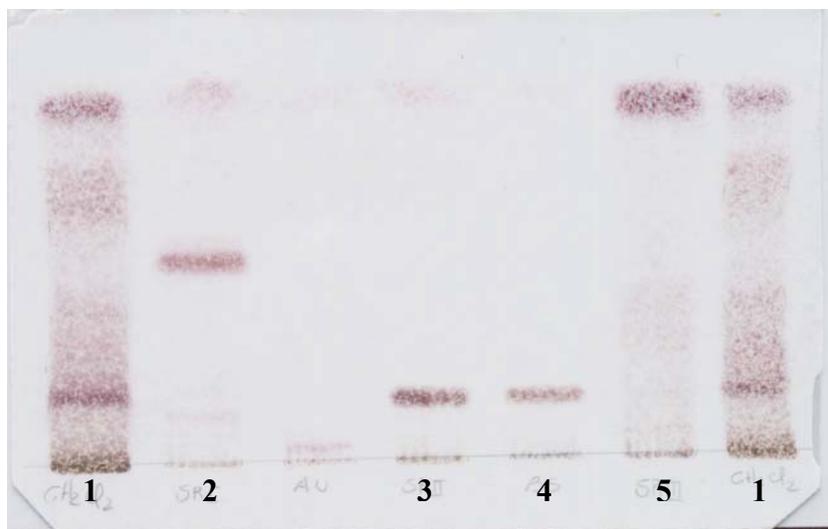


Figura 38: Cromatografia em camada delgada das substâncias SRI, SRII e SRIII, isoladas da fração diclorometano das raízes de *P. edulis*.

Eluente: ciclohexano:acetato de etila (90:10, v/v)

Adsorvente: gel de sílica F₂₅₄

Deteção: Anisaldeído sulfúrico

Amostras: 1 - fração diclorometano das raízes

2 - substância SRI

3 - substância SRII

4 - amostra autêntica de sitosterol

5 - substância SRIII

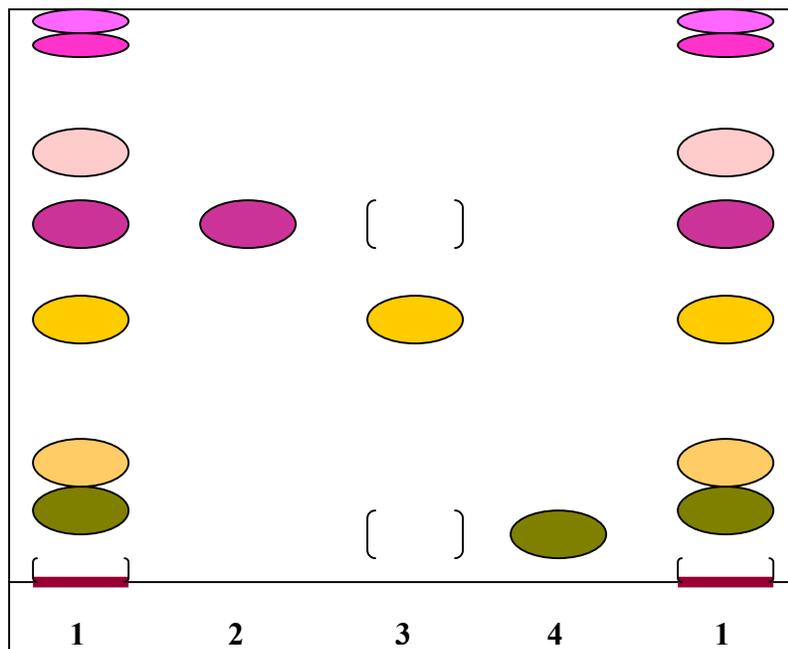


Figura 39: Representação esquemática do perfil cromatográfico da fração butanólica das raízes de *P. edulis* e das substâncias SRIV, SRV e SRVI.

Eluente: CHCl_3 : EtOH: CH_3COOH (80:60:2, v/v/v)

Adsorvente: gel de sílica F_{254}

Deteção: Anisaldeído sulfúrico e aquecimento

Amostras: 1 – fração butanólica das raízes

2 – substância SRIV

3 – substância SRV

4 – substância SRVI

5.3.3 Análise estrutural do terpenóide SRI

Como foram obtidas apenas 7 mg da substância SRI, toda amostra foi utilizada para a obtenção dos respectivos espectros de ressonância magnética nuclear.

Através dos espectros de RMN ^1H e ^{13}C , e de DEPT 135, HETCOR, HH-COSY e HMBC foi possível caracterizar os átomos de carbono e hidrogênio que compõem a estrutura do triterpeno SRI e atribuir os deslocamentos químicos de cada carbono e dos prótons correspondentes aos carbonos primários, secundários e terciários. Pelos espectros de correlação foram observadas as conectividades entre hidrogênios vizinhos (HH-COSY), entre hidrogênios e carbonos vizinhos a longa distância (HMBC).

Nas figuras 43-46 podem ser observados os espectros totalmente desacoplados de RMN ^{13}C do triterpeno SRI. No espectro DEPT (Figura 47-49) com polarização a 135° , os sinais correspondentes às metilas ($-\text{CH}_3$) aparecem em campo mais alto e voltados para cima, os sinais de carbonos terciários ($-\text{CH}<$) também aparecem em campo voltados para cima, mas em campo mais baixo, os sinais de carbonos secundários ($-\text{CH}_2-$) estão voltados para baixo e os sinais dos carbonos quaternários (Cq) não aparecem, sendo que os Cq foram determinados por comparação com o espectro de RMN ^{13}C .

O espectro de RMN ^{13}C totalmente desacoplado mostra a existência de 34 átomos de carbono para a estrutura do triterpeno SRI, os quais através dos espectros DEPT puderam ser caracterizados como:

Carbono	CH_3	CH_2	CH	Cq
$\Sigma = 34$	10	8	8	8

A partir do espectro de correlação HETCOR, foi possível identificar os hidrogênios ligados aos carbonos da molécula do triterpeno, o número de átomos de hidrogênio

atacados por cada átomo de carbono e caracterizar os sinais referentes a cada hidrogênio e verificar possíveis sobreposições de sinais no espectro de RMN ^1H .

Além dos 34 carbonos, o espectro de RMN ^{13}C revelou a presença de sinais característicos de dois carbonos ligados a oxigênio (δ_{C} 80,9 e δ_{C} 70,8) (Figura 45), de dois grupos acetilas (δ_{C} 170,8 e δ_{C} 171,0) (Figura 46) e uma dupla ligação (δ_{C} 125,3 e δ_{C} 137,6) (Figura 46). O espectro de RMN ^1H indicou a presença de dois grupos $-\text{CH}_3$ ligados a grupos acetilas, que aparecem em δ_{H} 2,03 e δ_{H} 2,04 (Figura 41), um dubleto de dubleto em δ_{H} 4,5 e em δ_{H} 5,45 e um tripleto em δ_{H} 5,2 (Figura 42). Esse conjunto de dados indica tratar-se de um triterpeno, com duas hidroxilas acetiladas.

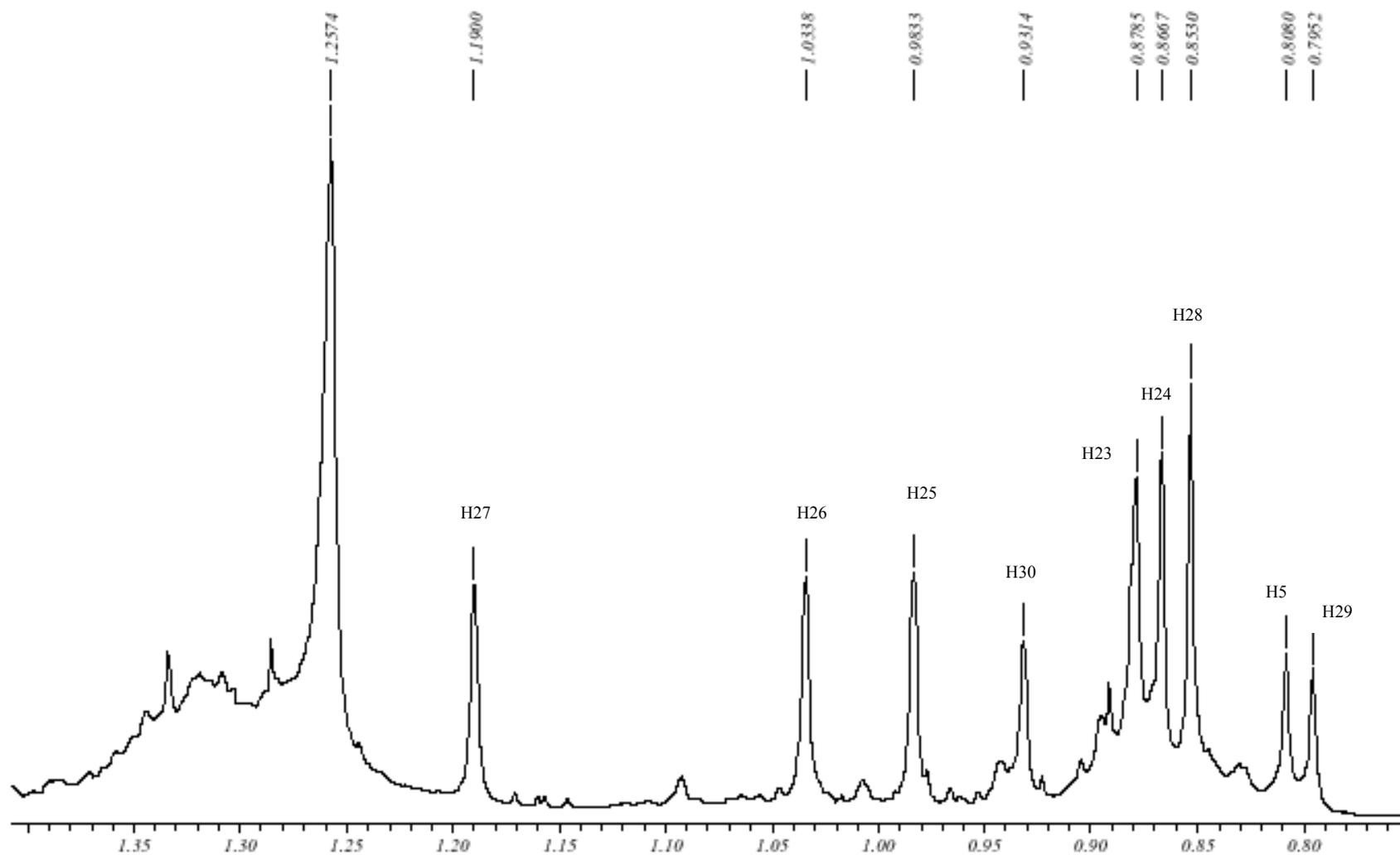


Figura 40: Espectro de RMN ^1H expandido da substância SRI em CDCl_3 .

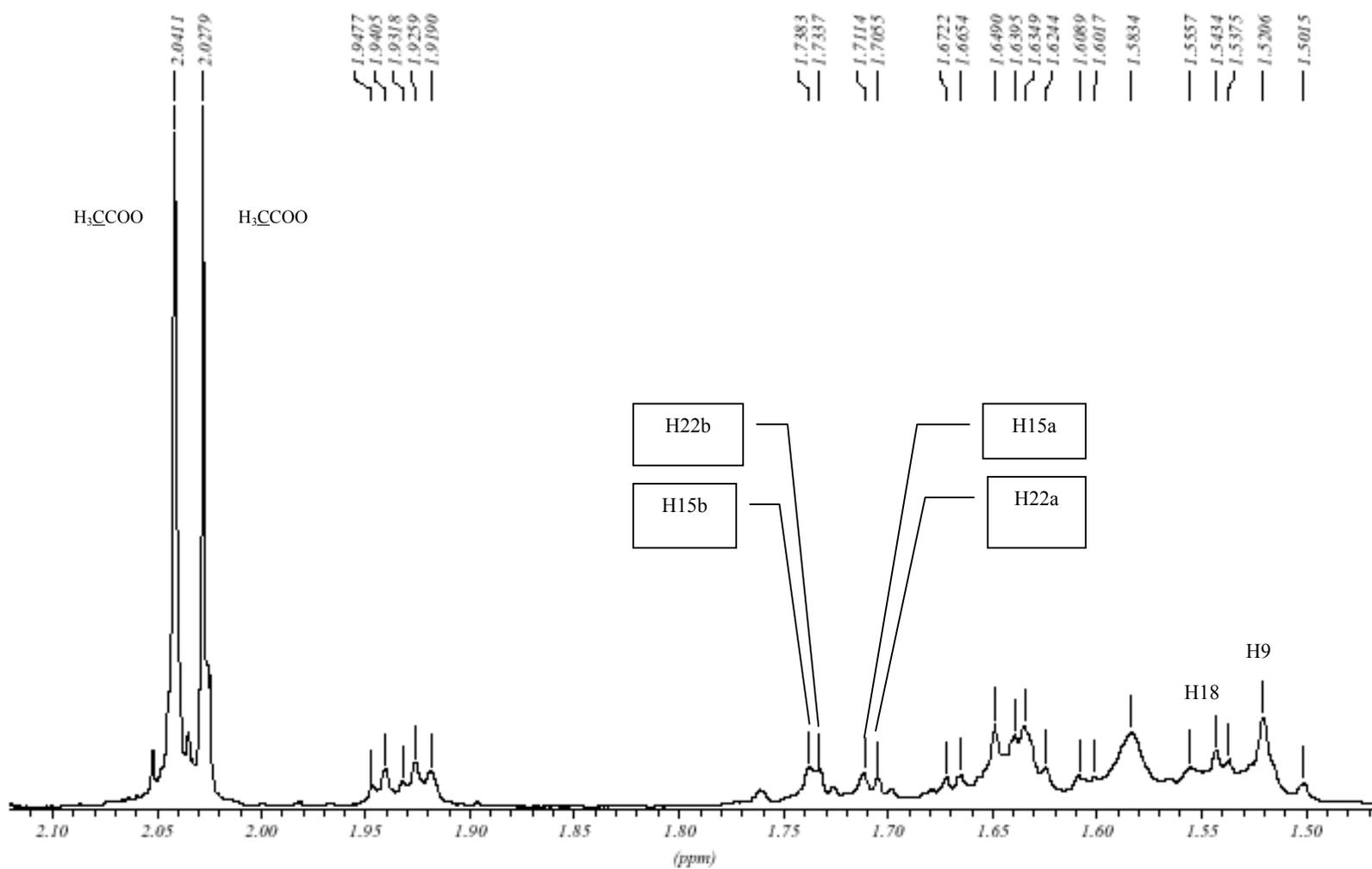


Figura 41: Espectro de RMN ¹H expandido da substância SRI em CDCl₃.

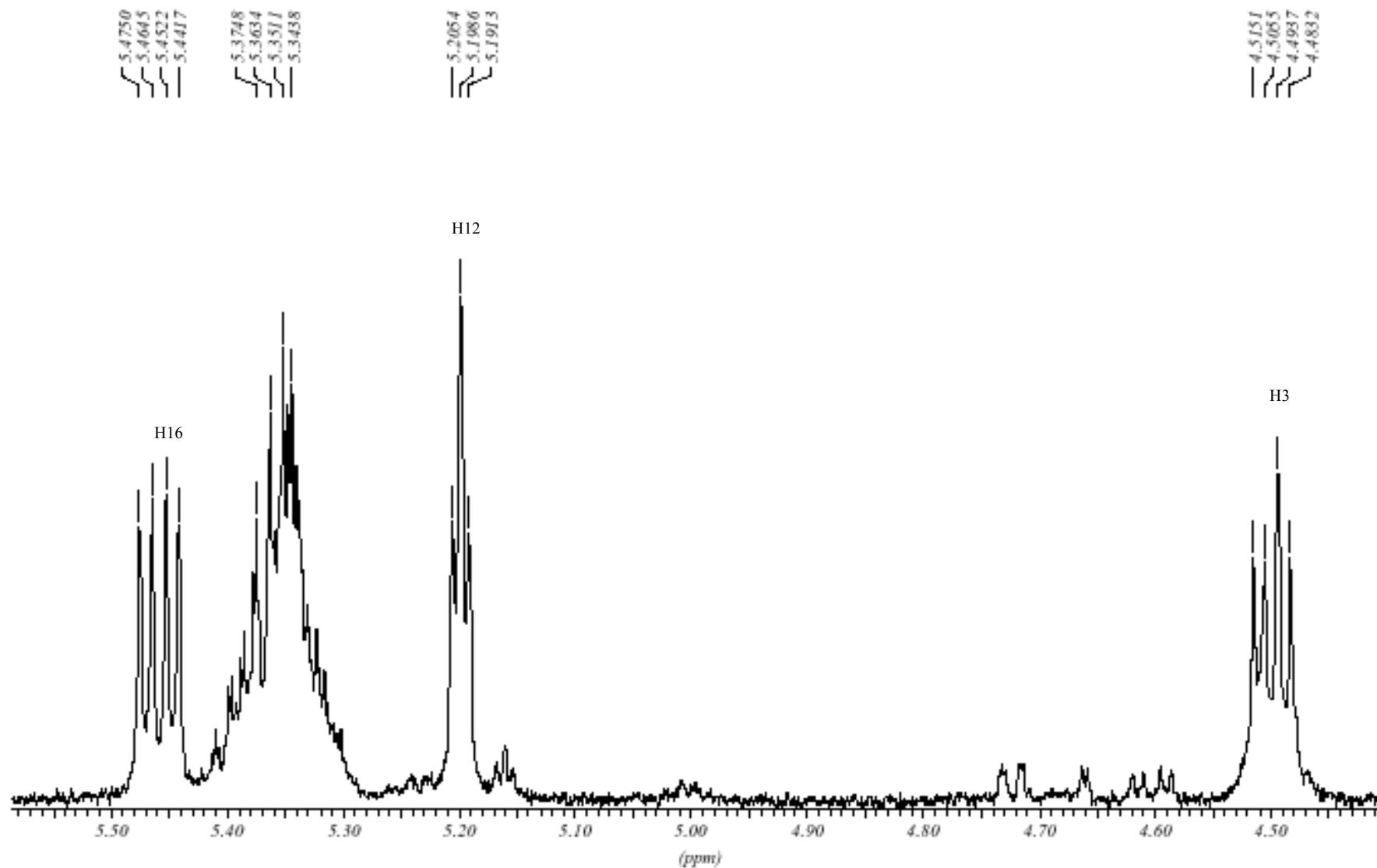


Figura 42: Espectro de RMN ^1H expandido da substância SRI em CDCl_3 .

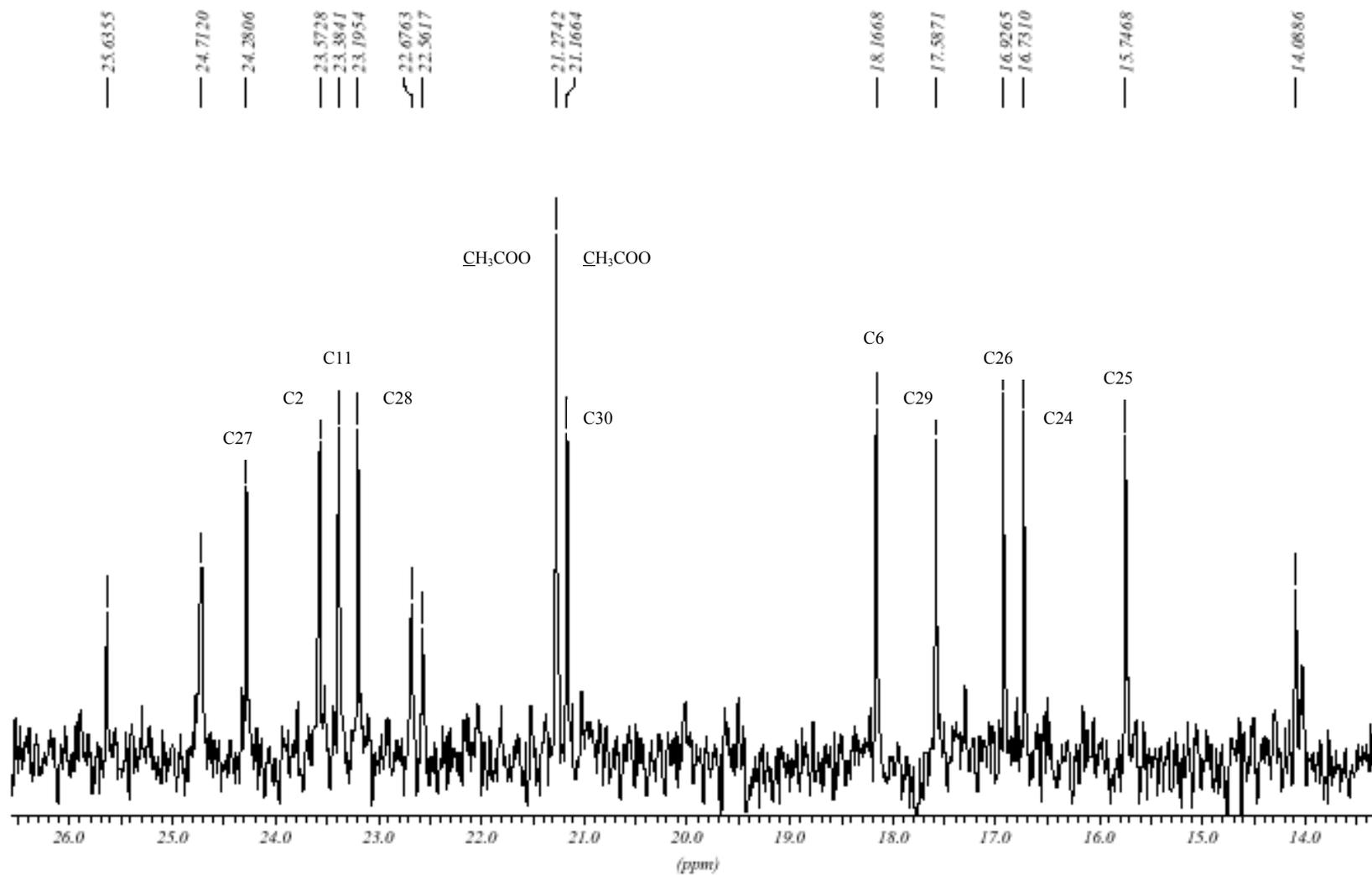


Figura 43: Espectro expandido de RMN ¹³C da substância SRI em CDCl₃.

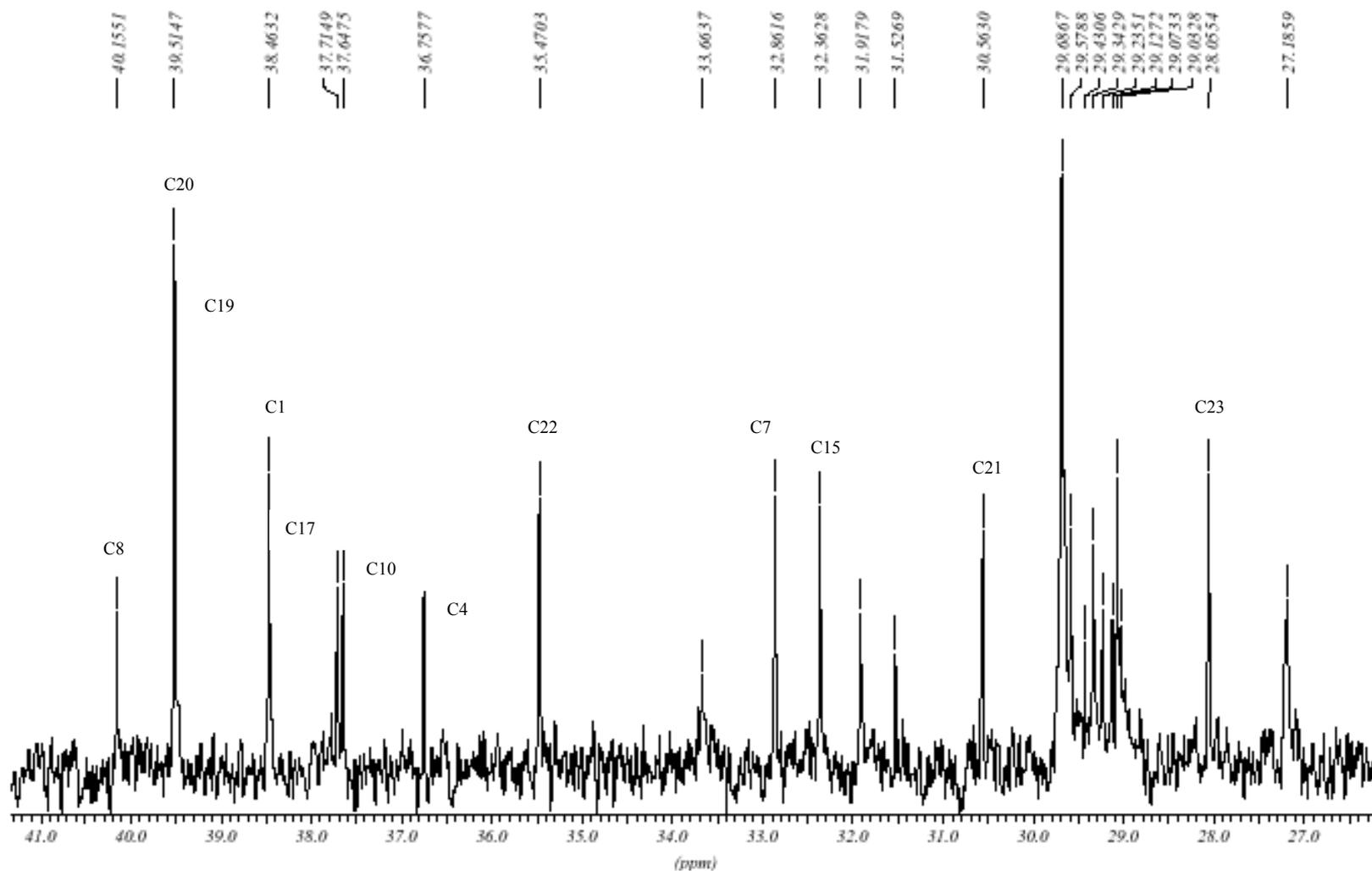


Figura 44: Espectro de RMN ^{13}C expandido da substância SRI em CDCl_3 .

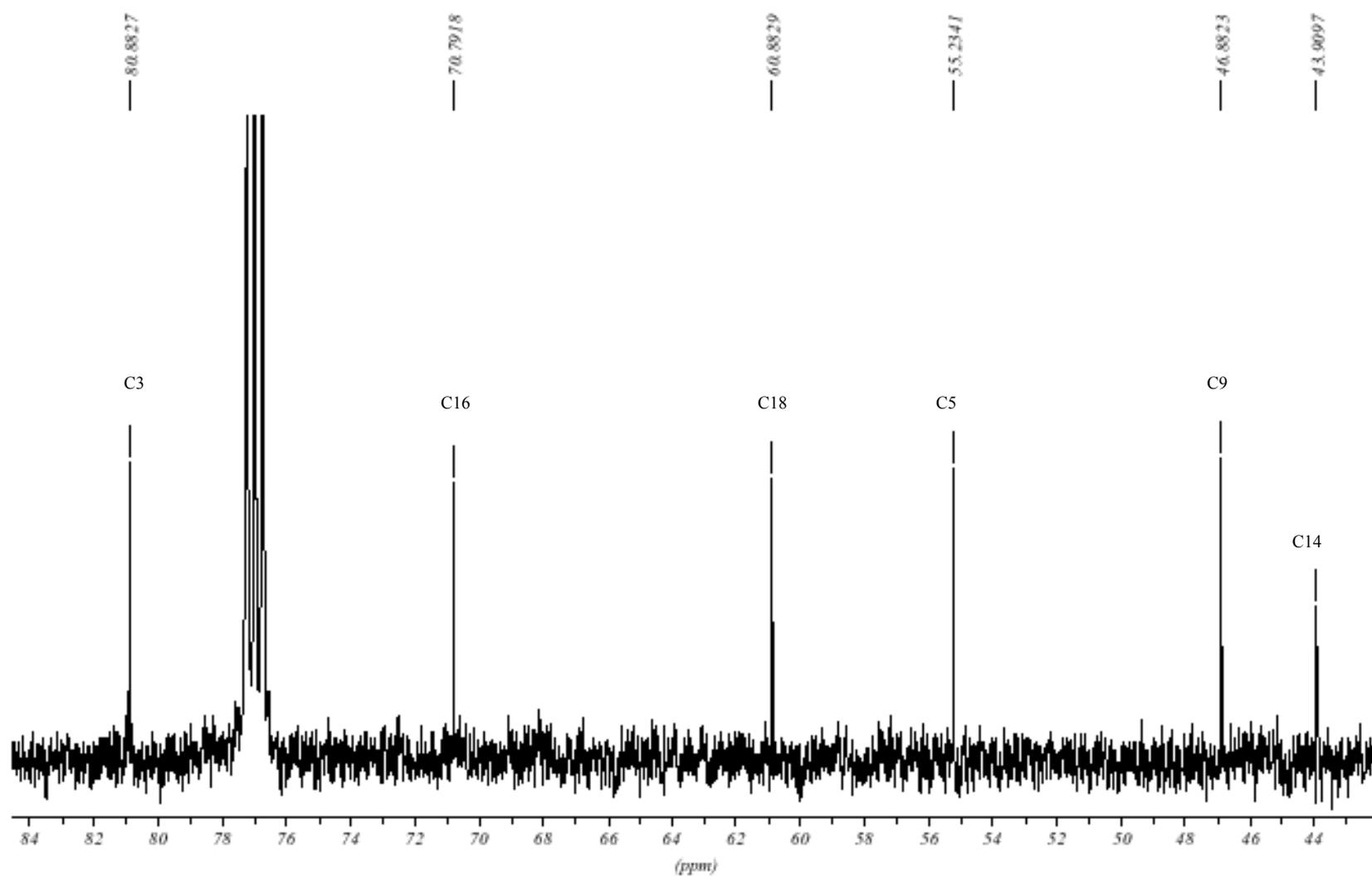


Figura 45: Espectro de RMN ^{13}C expandido da substância SRI em CDCl_3 .

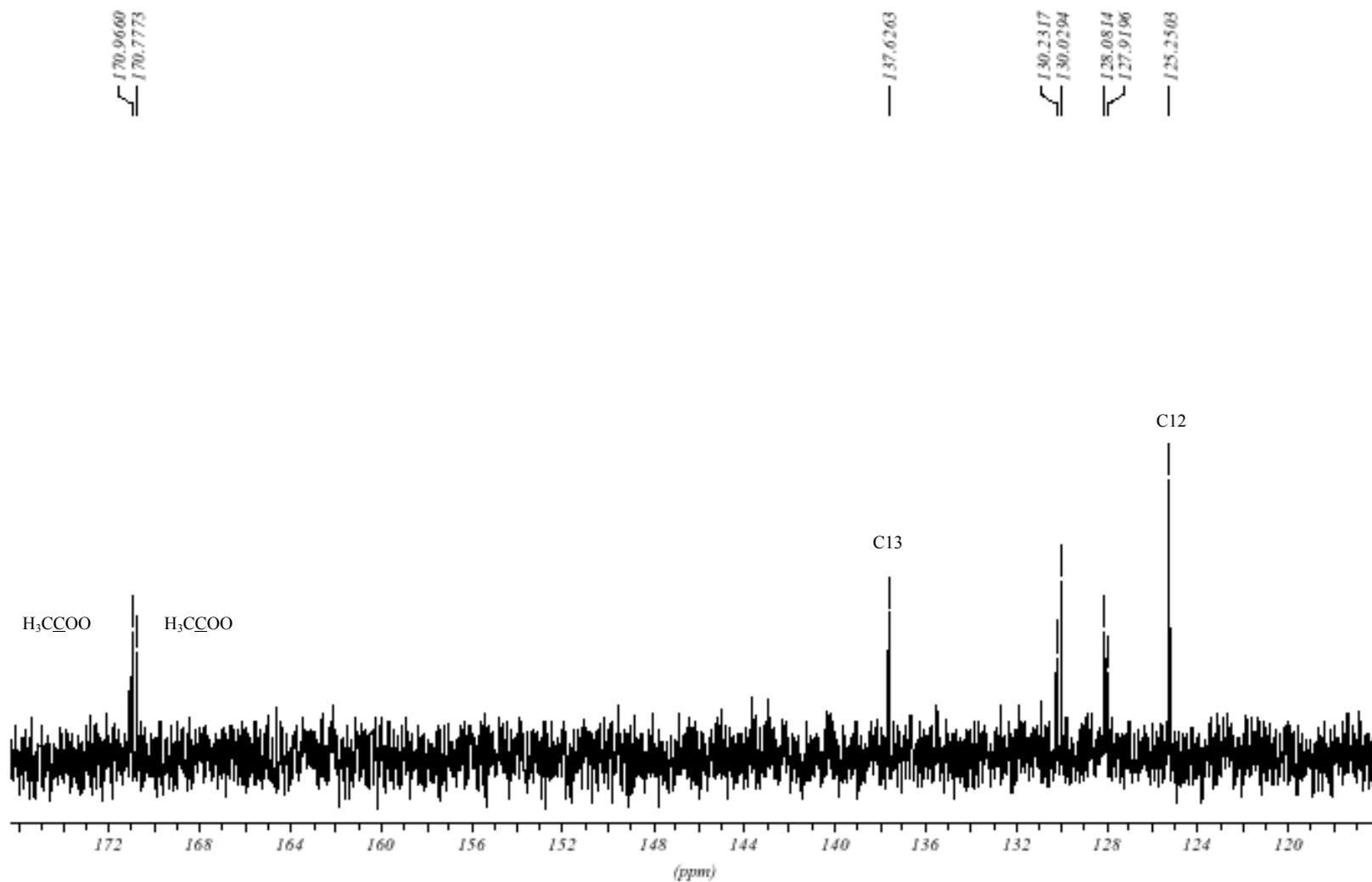


Figura 46: Espectro de RMN ^{13}C expandido da substância SRI em CDCl_3 .

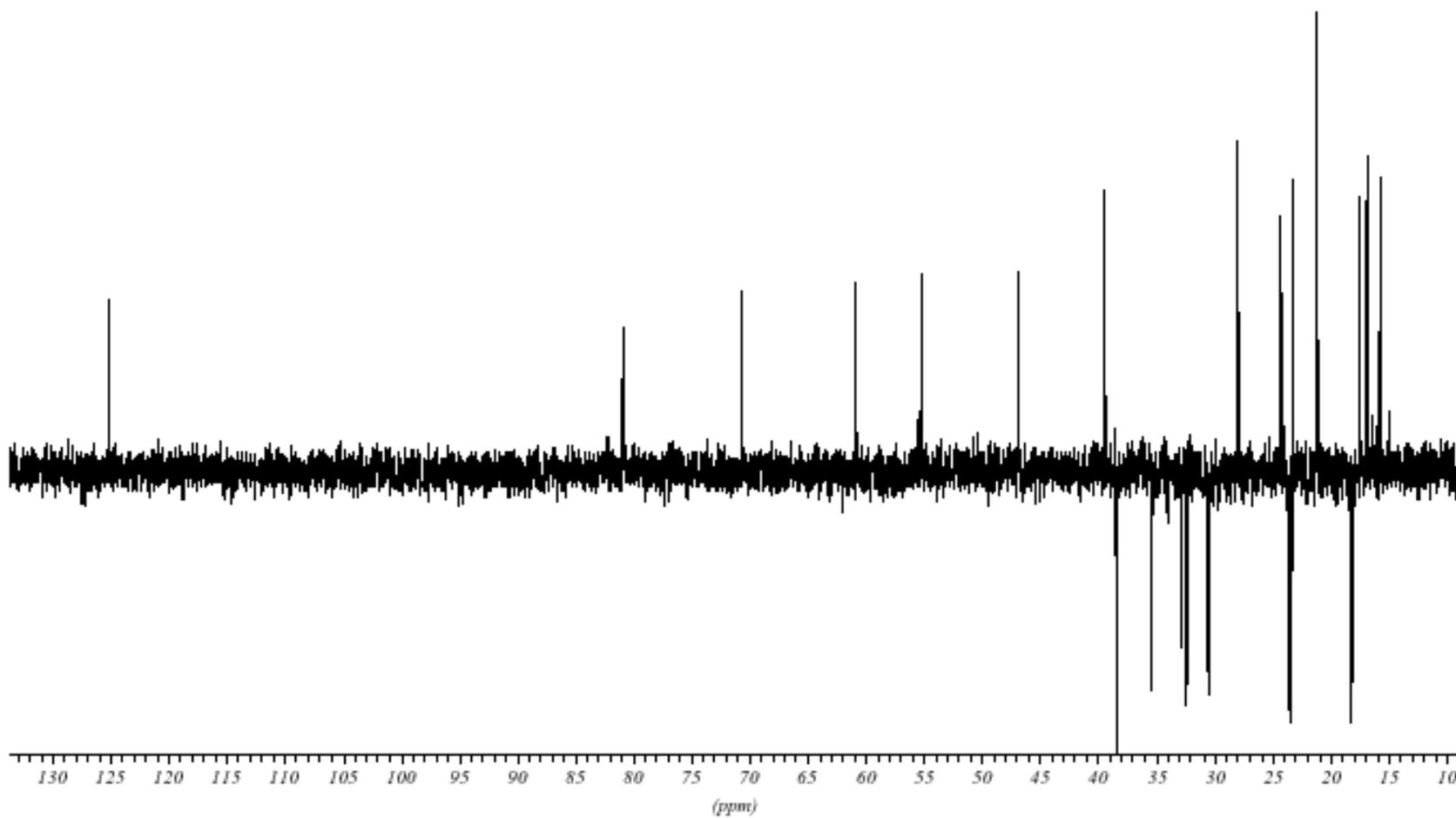


Figura 47: Espectro DEPT 135° da substância SRI em CDCl_3 .

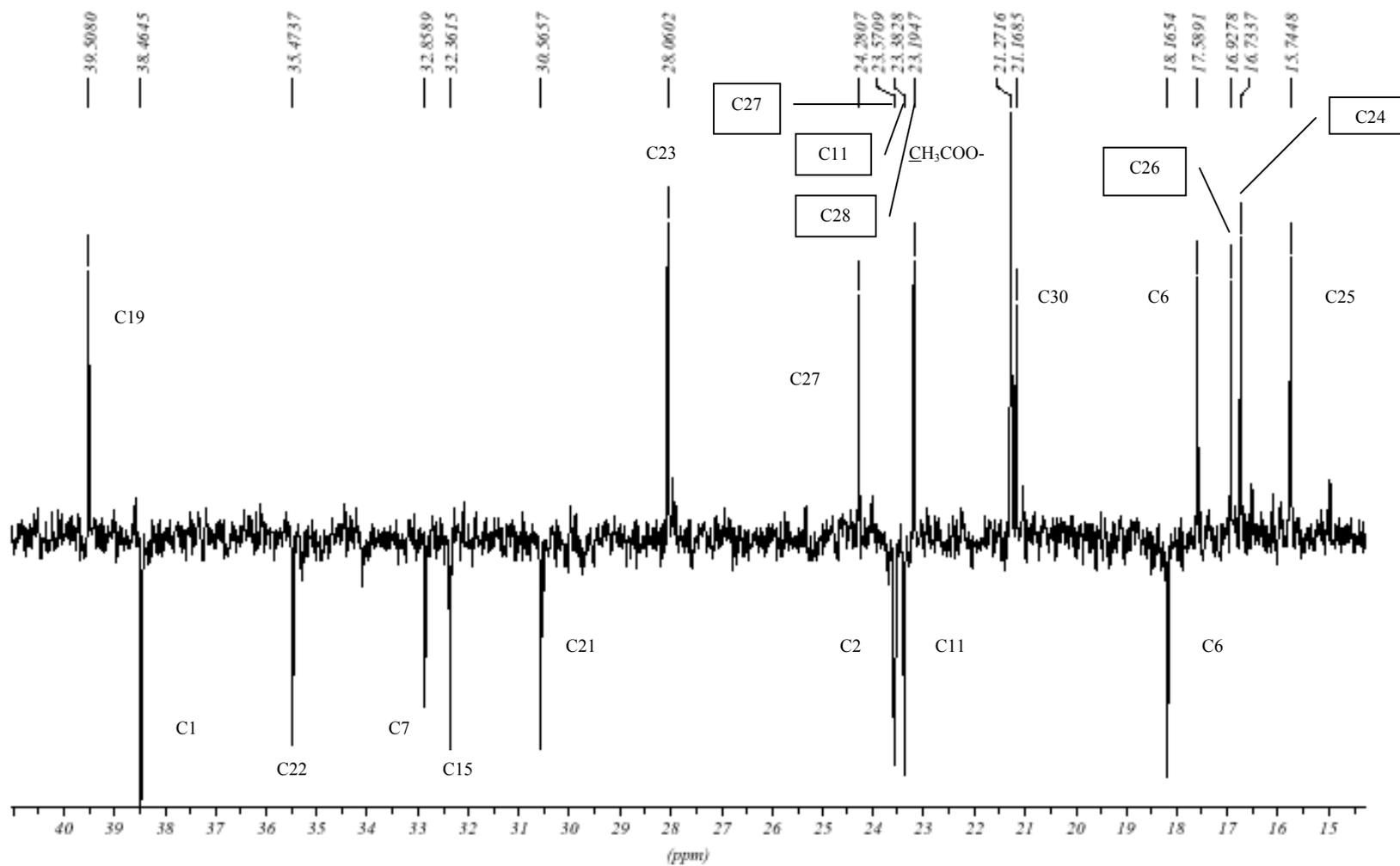
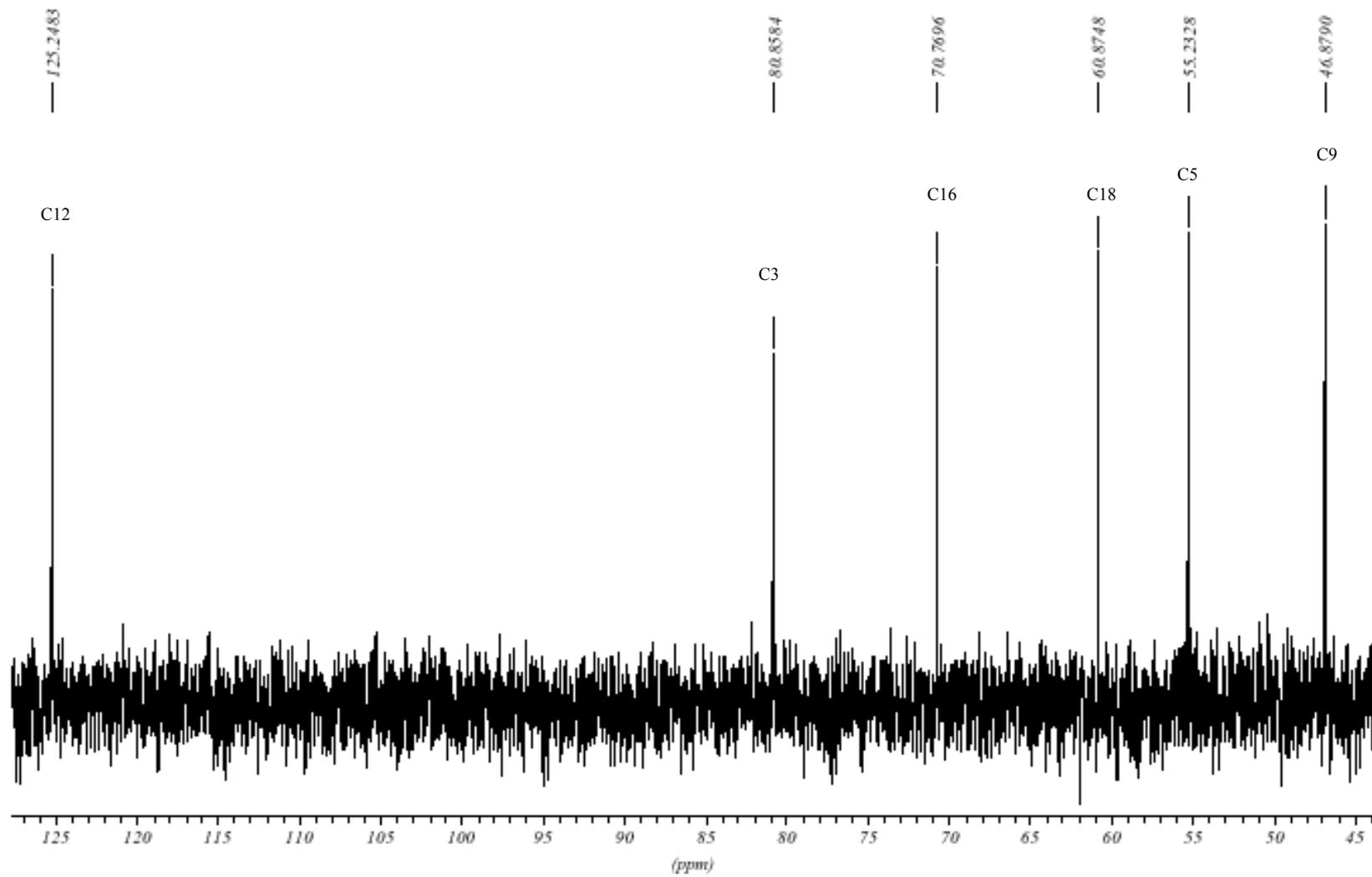


Figura 48: Subespectro DEPT 135° da substância SRI em CDCl₃.

Figura 49: Subespectro DEPT 135° da substância SRI em CDCl₃.

O espectro de correlação HMBC (Figura 50) forneceu informações importantes sobre a conectividade entre hidrogênios e carbonos vizinhos a longa distância. No espectro HMBC mostrado na figura 55 foi possível estabelecer todas as correlações dos hidrogênios em grupos - CH₃ com seus respectivos carbonos vizinhos.

O espectro de HH-COSY forneceu informações importantes sobre a conectividade entre hidrogênios vizinhos. No espectro HH-COSY (Figura 51) foram destacadas as correlações pertinentes aos hidrogênicos próximos a grupos eletronegativos, como acetoxilas e ligações insaturadas. O espectro HH-COSY (Figura 52), constitui uma ampliação da área de correlação dos hidrogênios que ressonam em campo mais alto, onde estão os hidrogênios referentes ao grupos - CH₃ e aos grupos - CH₂. Alguns sinais dos hidrogênios dos grupos -CH₂ não puderam ser determinados, pois havia sobreposição de sinais.

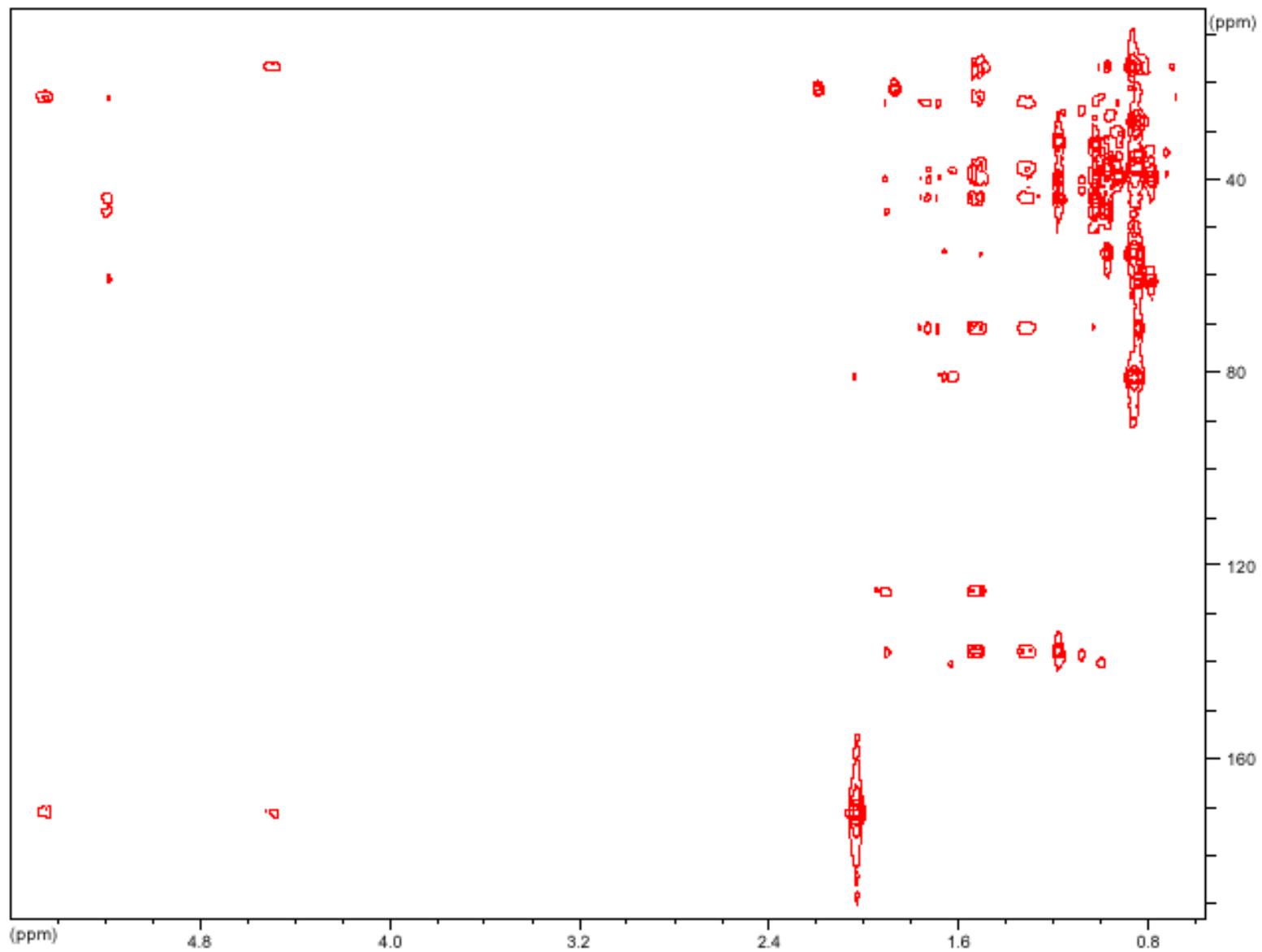


Figura 50: Espectro de HMBC-CH da substância SRI em CDCl_3 .

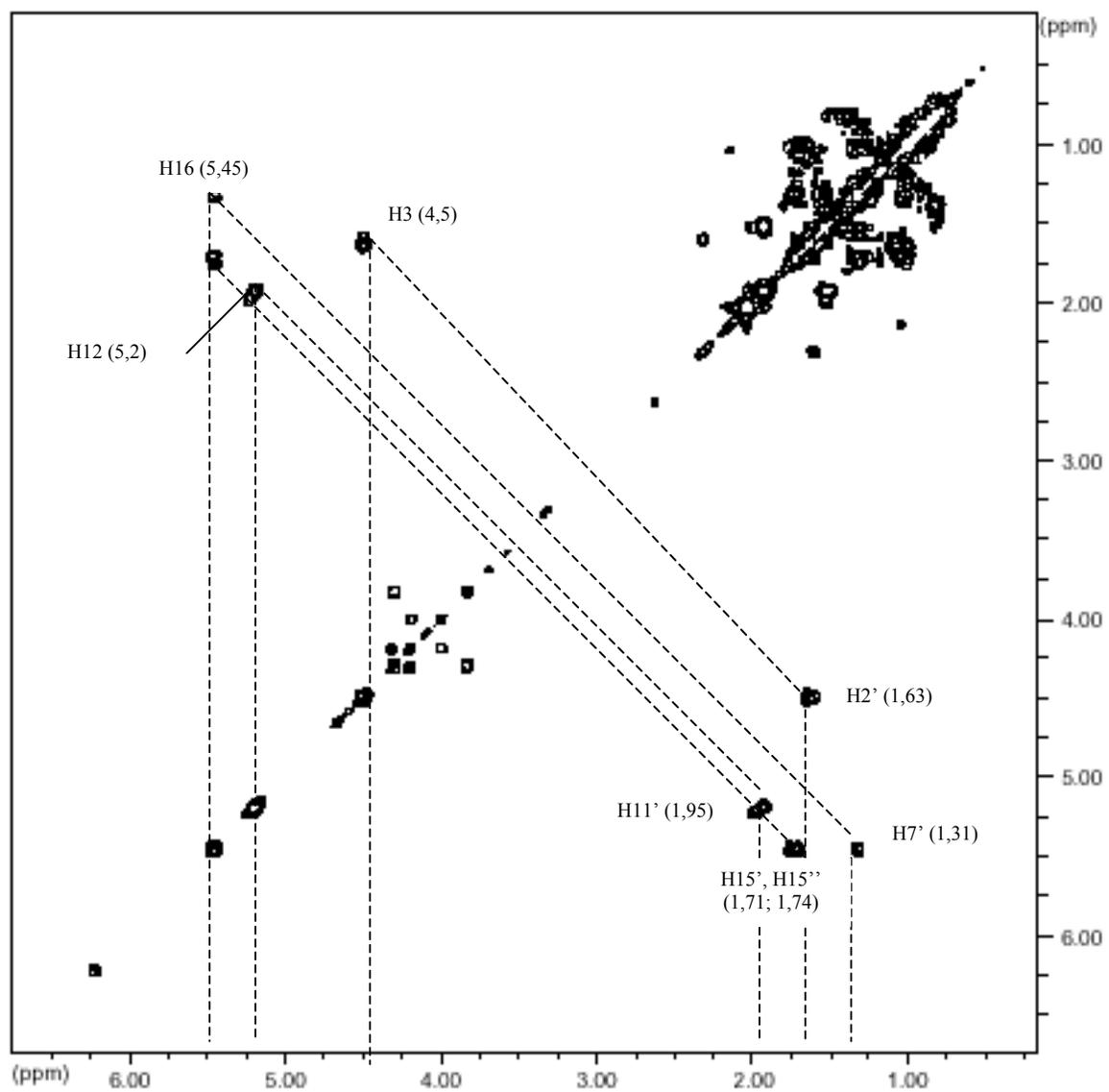


Figura 51: Espectro H-H COSY da substância SRI em CDCl_3 .

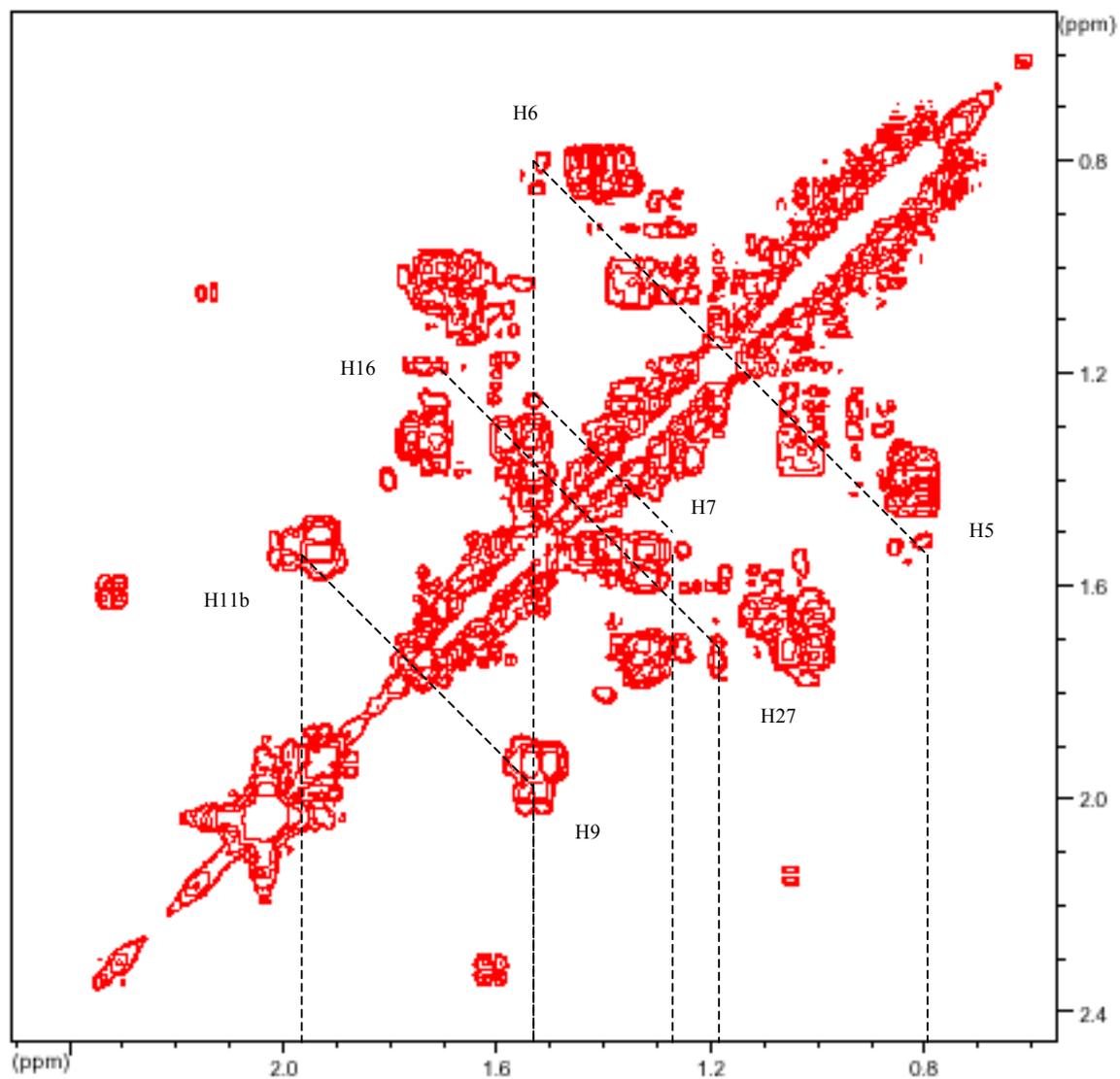


Figura 52: Espectro H-H Cosy ampliado da substância SRI em CDCl₃.

A presença de uma dupla ligação é confirmada com o sinal no espectro de RMN ^1H da figura 41 em δ_{H} 5,2 (triplete), sugerindo a presença do núcleo oleaneno (β -amirina) ou urseno (α -amirina). Para distinguir a classe α ou β - amirina (Figura 53) fez-se comparações com dados da literatura para os sinais de C-12 e C-13. Os valores de deslocamento (conforme Tabela 14) em δ_{C} 125,25 e δ_{C} 137,63 neste tipo de estrutura confirmam a presença de um esqueleto do tipo ursan-12-eno, pois em geral o carbono 12 é desblindado (cerca de 2 ppm), enquanto o carbono 13 é blindado (cerca de 5 ppm) nas séries ursan-12-eno em relação às séries olean-12-eno. A diferença entre os dois valores é determinada pela presença do grupamento 19 - α - CH_3 (equatorial), que está bem próximo à dupla ligação nas séries ursan-12-eno, afetando estericamente o deslocamento do carbono C13, efeito estérico sobre o carbono gama (MAHATO E KUNDU, 1994).

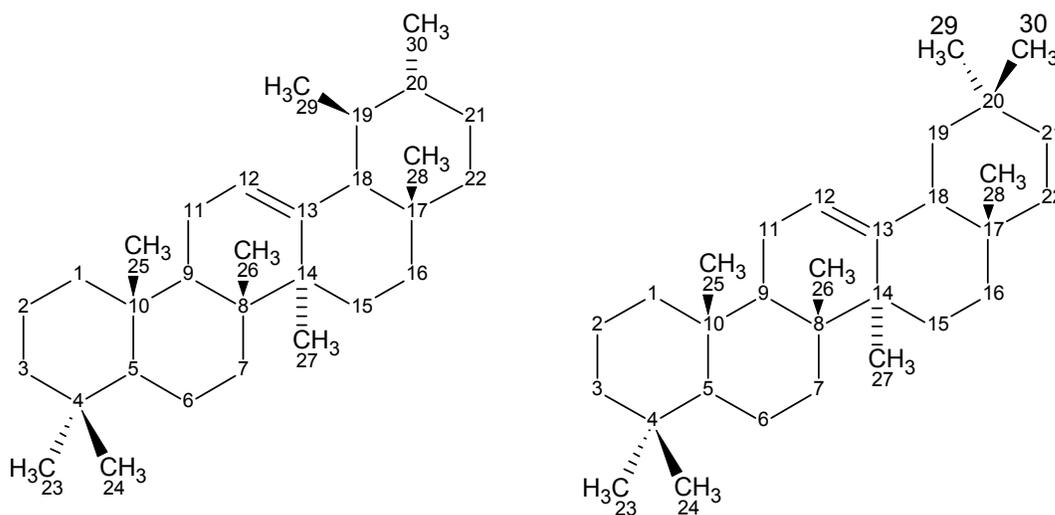
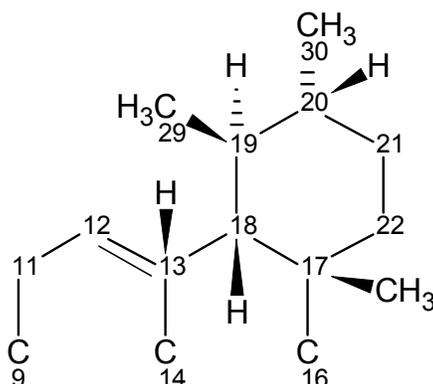


Figura 53: Núcleos triterpênicos do tipo α -amirina (urseno) e β -amirina (oleaneno).

Tabela 14: Comparação entre núcleo urseno e oleaneno para C-12 e C-13 com os dados da literatura

Autores	Núcleo ursano (δ_C)		Núcleo oleanano (δ_C)	
	C-12	C-13	C-12	C-13
SEO; TOMITA; TORI (1975)	124,3 a 125,5	137,9 a 139,4	121,5 a 122,1	143,4 a 145
MAHATO; KUNDU (1994)	124	140	122	145

Outra evidência de que a estrutura da substância SRI trata-se de um triterpeno pentacíclico do tipo urseno é o sinal do H-18, que aparece no espectro de RMN ^1H da figura (Figura 41) como um dubleto em δ_{H} 1,54. Nas séries dos oleanenos, o sinal do carbono apareceria com um dublete de dublete ou como um triplete. Esse conjunto de dados possibilitou confirmar que tipo de núcleo está presente, indicando a estrutura parcial:



Uma comparação com dados da literatura indica que há diferença em relação ao deslocamento químico do C-18 nas séries de núcleo urseno e oleaneno, no espectro de RMN ^{13}C (conforme a Tabela 17). Considerando que no espectro de RMN ^{13}C (Figura 45), o sinal do C-18 aparece em δ_C 60,9, nota-se que o C-18 foi desprotegido cerca de 8

ppm, comparando com os valores especificados na literatura para o C-18. Segundo Mahato e Kundu (1994) a introdução de um grupo hidroxila apenas no anel D - ou E - causa uma significativa alteração no deslocamento químico do C-18. O valor em campo mais alto para C18 sugere, portanto, que provavelmente um dos carbonos ligados a oxigênios, que aparecem com sinais em δ_C 80,9 e 70,8 estejam localizados no anel D- ou E-, nos carbonos C16 ou C22, devido ao efeito gama.

Tabela 15: Comparação entre núcleo urseno e oleaneno para C-18 com dados da literatura.

Autores	Núcleo urseno'	Núcleo oleaneno''
	(δ_C)	(δ_C)
	C - 18	C - 18
LIN et al. (1987) (‘ácido ursólico; ‘ácido oleanólico)	52,7	41,0
MAHATO; KUNDU (1994) (‘Ácido 3 β -22 α -dihidroxiurs-12-en-28-óico (a) e ‘3 β -11 α -urs-12-eno (b) ‘Ácido oleanólico (a) e ‘3 β -11 α -olean-12-eno (b))	57,2 (a) e 58,1(b)	41,3 (a) e 46,9 (b)
YOUNG et al., (1997) (‘ácido éster 28-O- β -D-glicopiranosila oleanólico)	-	41,0
YE et al., (2000) (‘ longispinogenina 3-O- β -glicopiranosídeo)	-	44,4
HUNG; YEN, (2001) (‘ácido ursólico; ‘ácido oleanólico)	52,6	41,0
DAVID et al., 2001 (‘ácido ursólico)	52,8	-
VOUTQUENNE et al.; (2003) (‘ácido 3-O- β -D-glicopiranosila-(1 \rightarrow 3)-[β -D-glicopiranosila-(1 \rightarrow 2)]- β -D-glicopiranosila oleanólico)	-	42,0

No espectro de HMBC mostrado na Figura 55 são apresentados as correlações entre dois hidrogênios metílicos (H - 23 e H - 24), que aparecem no espectro de RMN 1H mostrado na figura 40 com sinais em δ_H 0,87 e 0,86 e entre os hidrogênios de um - CH₃

(δ_H 2,03) com o sinal em δ_C 80,9 que aparece no espectro de RMN ^{13}C mostrado na figura 45. O sinal em δ_C 80,9 apresenta correlação no espectro HETCOR, mostrado na figura 56 com sinal em δ_H 4,5 (espectro de RMN 1H , Figura 42) que aparece como um dublete de dublete, indicando a possibilidade de estar ligado a um grupo CH_2 . Esses dados sugerem que o grupamento acetoxila esteja ligado no C – 3 (δ_C 80,9 δ_H 4,5). Essa hipótese é confirmada pelo espectro H-H COSY, mostrado na figura 51 na qual o sinal em δ_H 4,5 faz correlação com um dos prótons metilênicos atribuídos ao C – 2.

Na tabela 16 pode ser observado as correlações dos prótons referentes aos grupos

– CH_3 (Me):

Tabela 16: Correlações observadas dos grupamentos metilas, no espectro de HMBC C-H em $CDCl_3$ do triterpeno SRI

δ_H (metila)	δ_C
0,87 (C-23)	80,9 (C-3), 55,2 (C-5), 16,7 (C-24)
0,86 (C-24)	28,05 (C-23)
0,98 (C-25)	46,9 (C-9), 37,6 (C-10), 55,5 (C-5)
1,03 (C-26)	32,9 (C-7), 40,2 (C-8), 46,9 (C-9), 43,9 (C-14)
1,19 (C-27)	32,9 (C-7), 40,2 (C-8), 137,6 (C-13), 43,9 (C-14), 60,9 (C-15)
0,85 (C-28)	70,8 (C-16), 60,9 (C-18)
0,79 (C-29)	60,9 (C-18), 39,5 (C-19)
0,93 (C-30)	39,5 (C-19)

No espectro de HMBC (Figura 55) o carbono que aparece com sinal em δ_C 70,8 faz correlação com os hidrogênios atribuídos ao C – 28 (δ_H 0,85) e com o hidrogênio referente ao C – 18 (δ_H 1,54), sugerindo que o segundo carbono ligado a oxigênio (δ_C 70,8) seja o C – 16 ou o C – 22. Essa possibilidade é confirmada pelo espectro H-H COSY, como mostra na figura 51, na qual o sinal em δ_H 5,45 atribuído ao carbono com sinal em δ_C 70,8 faz correlação com os sinais em δ_H 1,71 e δ_H 1,74, atribuídos ao C-15. O conjunto de dados sugere que o triterpeno SRI seja substituído na posição 3 e 16.

Os dados espectroscópicos de RMN ^{13}C encontrados para SRI estão de acordo com os dados da literatura (conforme Tabela 17 e 18) da substância urs-12-eno-3 α ,16 β -diol, exceto para os deslocamentos químicos dos carbonos do anel A (valores em negrito na Tabela 17), que apresentaram semelhança com os valores da substância α - amirina. Portanto, através da comparação com dados da literatura e através do conjunto de dados espectroscópicos foi possível concluir a estrutura do triterpeno SRI como 3 β , 16 β - diacetoxiurs-12-eno (Figura 54), previamente isolado da espécie *Canarium album* (TAMAI et al., 1989) e *Trattinnickia burserifolia* (LIMA et al., 2004).

Trata-se portanto de uma substância inédita para as espécies do gênero *Passiflora*, destacando-se ter sido isolada das raízes, para as quais não existem dados sobre a composição química.

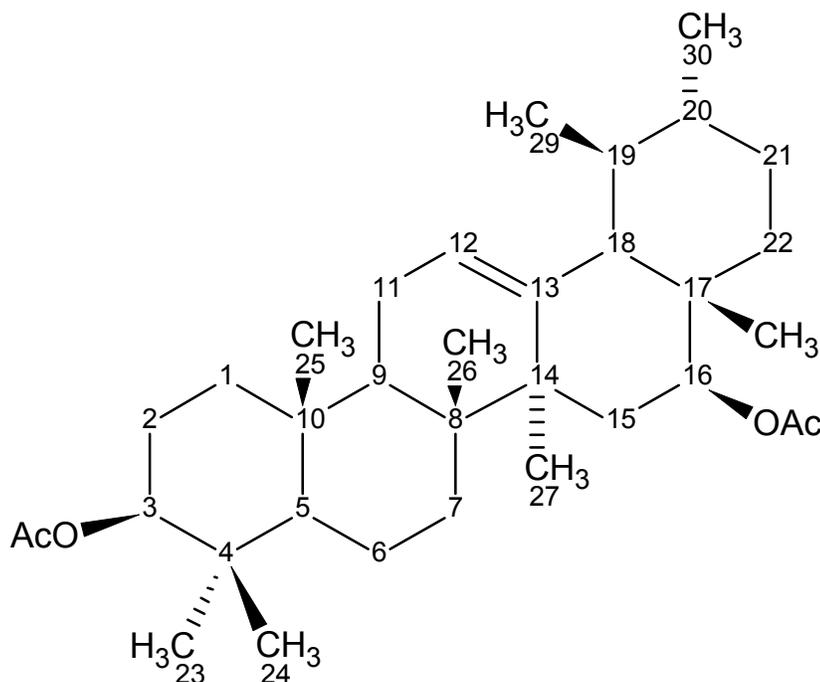


Figura 54: Estrutura proposta para a substância SRI, 3 β , 16 β - diacetoxiurs-12-eno.

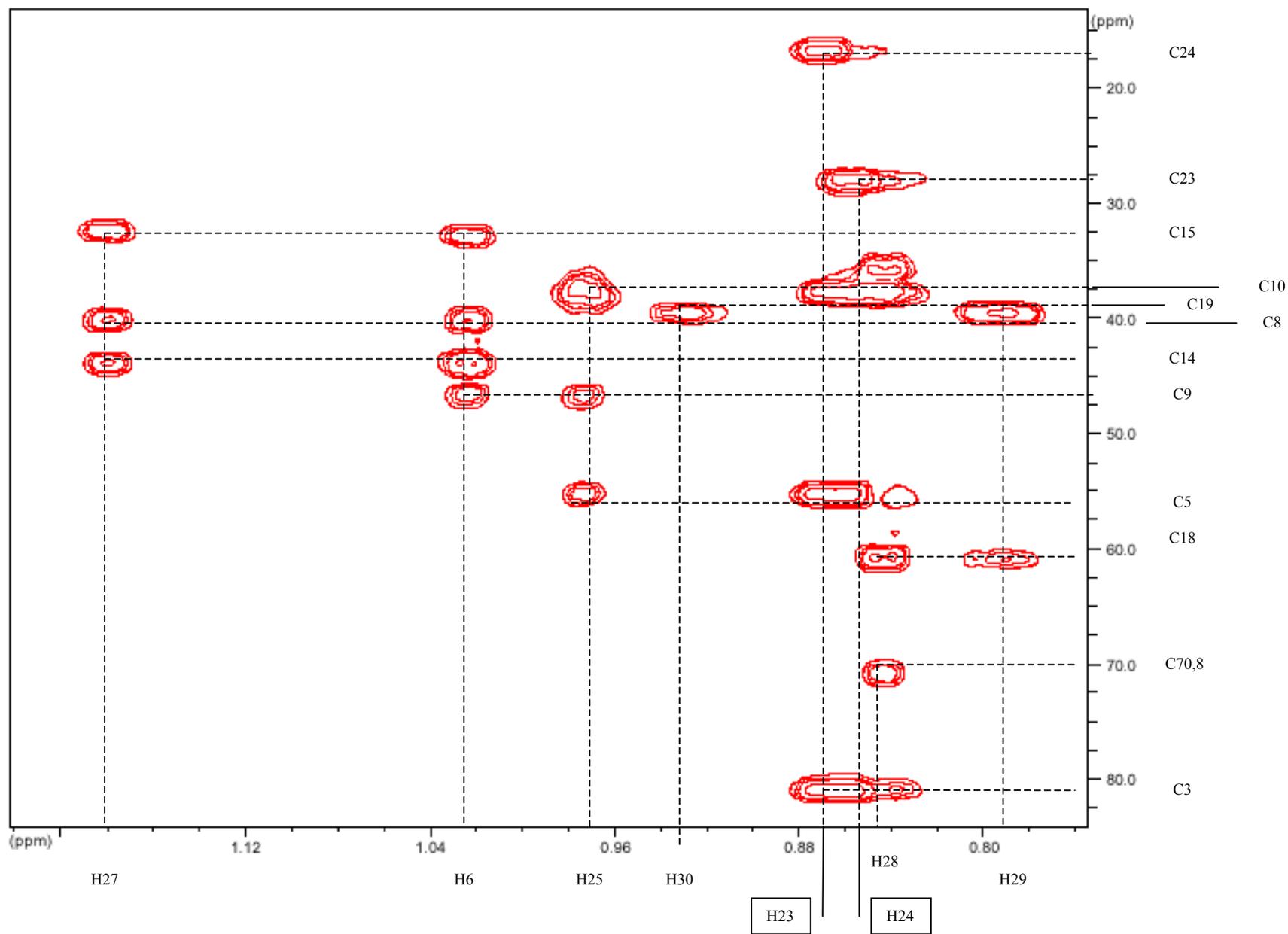


Figura 55: Espectro de HMBC expandido da substância SRI em CDCl_3 .

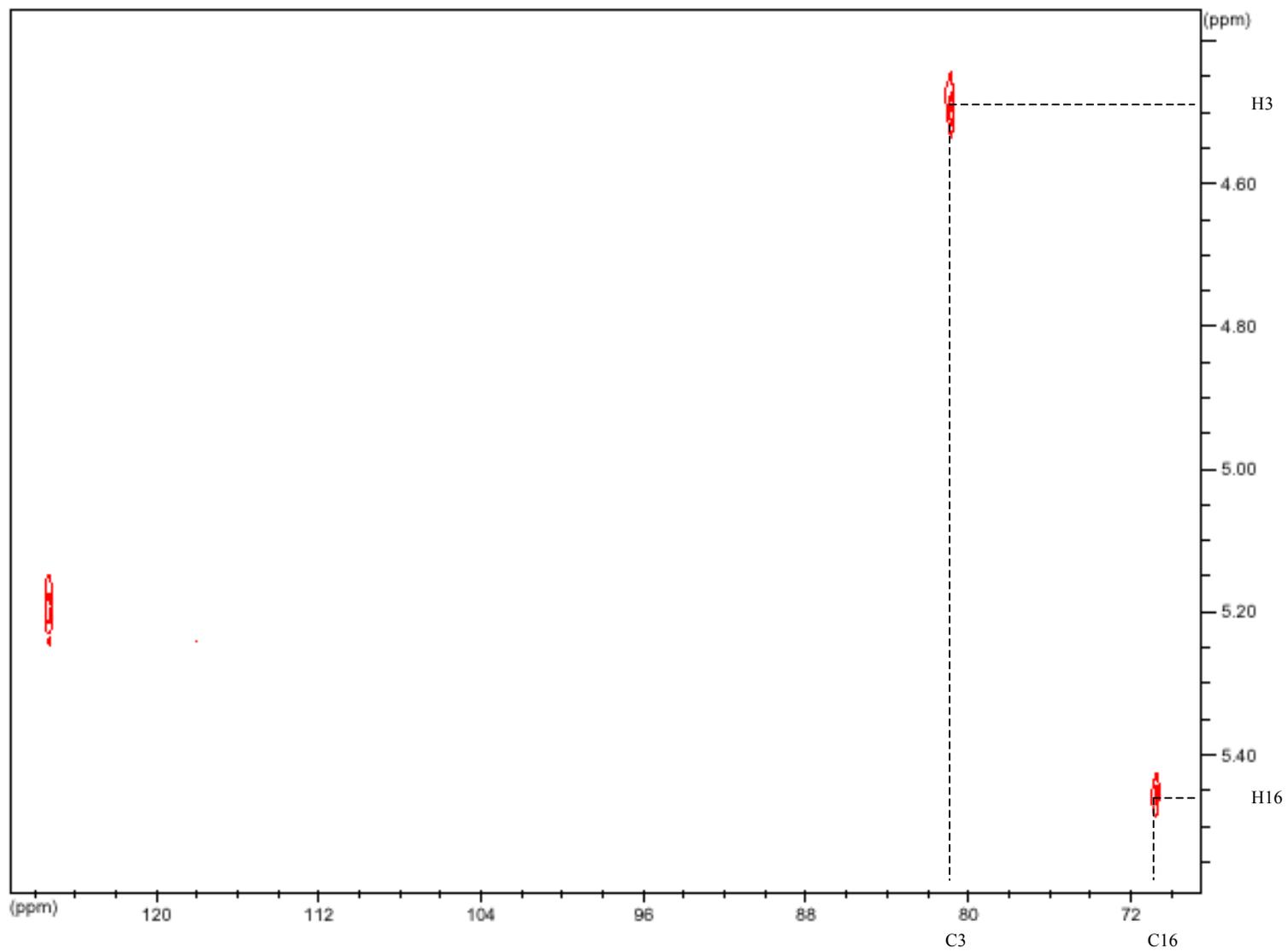


Figura 56: Espectro HETCOR expandido da substância SRI em CDCl_3 .

Tabela 17: Valores de deslocamentos químicos em ppm observados no espectro de RMN ¹³C em CDCl₃ do triterpeno SRI, comparados com dados da literatura

Nº- C	CHn DEPT	δc SRI	δc Urs-12-eno- 3β,16β-diol ¹	δc Urs-12-eno- 3α,16β-diol ²	δc α - amirina ³	δc Ácido ursólico ⁴
1	CH ₂	38,5	38,75	33,28	38,76	38,4
2	CH ₂	23,6	27,20	25,23	27,26	24,6
3	CH	80,9	78,94	76,07	79,03	80,6
4	Cq	36,8	38,75	37,37	38,76	38,0
5	CH	55,2	55,16	48,91	55,17	55,7
6	CH ₂	18,2	18,29	18,25	18,35	18,6
7	CH ₂	32,9	32,88	32,82	32,92	33,5
8	Cq	40,2	40,01	40,24	39,99	40,0
9	CH	46,9	46,95	46,80	47,70	47,9
10	Cq	37,7	36,81	36,90	36,88	37,2
11	CH ₂	23,4	23,34	23,29	23,35	23,7
12	=CH	125,3	125,07	125,16	124,40	125,6
13	=C	137,7	137,94	137,95	139,57	139,4
14	Cq	43,9	44,02	44,16	42,06	42,6
15	CH ₂	32,4	35,93	35,98	26,61	28,8
16	CH ₂	70,8	67,00	67,04	28,09	25,0
17	Cq	37,7	38,52	38,56	33,74	48,2
18	CH	60,9	60,68	60,78	59,04	53,6
19	CH	39,5	39,51	39,57	39,64	39,5
20	CH	39,5	39,46	39,51	39,60	39,6
21	CH ₂	30,6	30,51	30,57	31,25	31,2
22	CH ₂	35,5	35,17	35,23	41,53	37,6
23	CH ₂	28,1	28,09	28,27	28,12	28,3
24	CH ₃	16,7	15,59	22,32	15,62	17,1
25	CH ₃	15,8	15,68	15,49	15,68	15,7
26	CH ₃	16,9	16,85	16,90	16,85	17,5
27	CH ₃	24,3	24,50	24,66	23,27	24,1
28	CH ₃	23,2	21,93	21,97	28,75	180,1
29	CH ₃	17,6	17,60	17,61	17,47	17,7
30	CH ₃	21,2	21,34	21,33	21,40	21,6
CH₃-COO	Cq	170,8				
CH₃-COO	Cq	171,0				
CH₃-COO	CH₃	21,2				
CH₃-COO	CH₃	21,3				

^{1,2,3} Espectros em CDCl₃ (TAMAI et al., 1989)

⁴ Espectros em piridina (LIN et al., 1986)

Tabela 18: Valores de deslocamentos químicos para alguns hidrogênicos observados no espectro de RMN ^1H em CDCl_3 do triterpeno SRI, comparados com dados da literatura.

Substância SRI			Urs-12-eno-3 β ,16 β -diol ¹			Urs-12-eno-3 α ,16 β -diol ²		
N° H	δ_{H}	M	N° H	δ_{H}	M	N° H	δ_{H}	M
3	4,5	1H, dd	3	3,22	1H, dd	3	3,41	1H, t
12	5,2	1H, t	12	5,18	1H, t	12	5,19	1H, t
16	5,45	1H,dd	16	4,21	1H,dd	16	4,22	1H,dd
23	0,88	3H, s	23	0,99	3H, s	23	0,97	6H, s
24	0,87	3H, s	24	0,79	3H, s	24	0,85	3H, s
25	0,98	3H, s	25	0,95	3H, s	25	0,97	6H, s
26	1,03	3H, s	26	1,02	3H, s	26	1,03	3H, s
27	1,19	3H, s	27	1,14	3H, s	27	1,17	3H, s
28	0,85	3H, s	28	0,76	3H, s	28	0,77	3H, s
29	0,79	3H, d	29	0,78	3H, d	29	0,79	3H, d
30	0,93	3H, s	30	0,93	3H, br.s	30	0,94	3H, br.s

^{1,2} Espectros em CDCl_3 (TAMAI et al., 1989).

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

No presente trabalho foram analisados a composição de folhas, raízes, bem como do, do mesocarpo e da casca dos frutos de *P. edulis* f. *flavicarpa*. Com exceção das raízes, foi constatado a presença de C-glicosilflavonóides nas folhas, semelhantes àqueles já descritos na literatura para essa espécie, no pericarpo, no mesocarpo e na casca dos frutos.

Os extratos aquosos liofilizados das folhas, do pericarpo dos frutos maduros e das raízes de *P. edulis* foram também avaliados em relação a sua possível atividade antiinflamatória, utilizando-se o modelo da pleurisia induzida pela carragenina, em camundongos. A determinação da atividade antiinflamatória foi realizada no Laboratório de Imunologia Clínica, do Departamento de Análises Clínicas, da Universidade Federal de Santa Catarina, pela aluna de Pós-graduação Ana Beatriz Montanhel Pimentel, sob orientação da Dra. Profa. Tânia Fröde.

Os resultados iniciais obtidos destes experimentos demonstraram que:

1º) Dentre os extratos estudados, o extrato aquoso liofilizado das folhas de *P. edulis* apresentou efeito antiinflamatório superior aos outros extratos, nas doses de 50, 100, 250 e 500 mg/Kg, administrado intraperitonealmente, 0,5 h antes da carragenina.

2º) Na análise deste efeito antiinflamatório observou-se importante e significativa inibição de parâmetros inflamatórios. Dentre eles destacam-se: nível de leucócitos, enzimas pró-inflamatórias do tipo mieloperoxidase, adenosina-deaminase e óxido nítrico. Além disso, citocinas do tipo pró-inflamatórias como o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e a interleucina-1 beta (IL-1 β) também foram significativamente inibidas neste modelo de estudo. Além disso, o extrato aquoso liofilizado das folhas de *P. edulis* também inibiu outros mediadores pró-inflamatórios como a substância P e a bradicinina, no modelo de pleurisia em camundongos.

Estudos adicionais estão sendo realizados para melhor elucidar tanto o mecanismo de ação antiinflamatória, bem como os possíveis compostos envolvidos nesta atividade.

Cabe destacar que o extrato aquoso liofilizado das folhas foi preparado na forma de infusão das folhas (chá), semelhante à forma empregada pela população em suas preparações terapêuticas. O extrato aquoso liofilizado das raízes e do pericarpo dos frutos maduros apresentaram atividade antiinflamatória moderada, o que não exclui a possibilidade de possuírem outras atividades biológicas.

Investigações bioquímicas têm apresentado que flavonóides inibem tanto a ciclooxigenase como a 5-lipooxigenase, enzimas responsáveis pelo metabolismo do ácido araquidônico, bem como produção de substâncias que estão relacionadas ao desencadeamento do processo inflamatório (PELZER et al., 1998; ZANOLI et al., 2000). Contudo, alguns estudos (KIM et al., 1999; UEDA; YAMAZAKI; YAMAZAKI, 2004) relataram que flavonóides glicosídeos não apresentam atividade antiinflamatória, ao contrário dos flavonóides na forma livre (aglicona). Nesse contexto, torna-se importante verificar se flavonóides *C*-glicosídeos, diferentemente dos flavonóides *O*-glicosídeos, apresentam essa atividade.

A determinação da atividade antiviral foi realizada no Laboratório de Virologia Aplicada, do Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, da Universidade Federal de Santa Catarina, pela aluna de Pós-graduação Vanessa Müller, sob orientação da Dra. Profa. Cláudia Maria Oliveira Simões. Foram realizados estudos para avaliar a potencial atividade antiviral do extrato aquoso liofilizado das raízes, extrato aquoso liofilizado das folhas e extrato hidroetanólico do pericarpo dos frutos maduros de *Passiflora edulis*. Os vírus utilizados nos experimentos foram Herpes Vírus Simplex tipo 1 (HSV-1), cepas KOS e 29R (resistente ao aciclovir) (Universidade de Rennes, França) e células VERO (ATCC, CCl 81).

A citotoxicidade foi observada através da avaliação das alterações morfológicas celulares por microscopia óptica invertida (WALUM et al., 1990), e confirmada através do ensaio colorimétrico com sal de tetrazolium (MTT) (TAKEUCHI; BABA; SHIGETA,

1991). Esta técnica permitiu calcular a concentração que causa citotoxicidade a 50% das células (CC_{50}), quando comparadas com os controles celulares.

A atividade antiviral *in vitro* foi verificada pelo teste de inibição do efeito citopático viral (SIMÕES et al, 1999), e confirmado pelo mesmo ensaio colorimétrico do MTT citado acima. O primeiro teste permite estimar, com relação aos controles virais, os percentuais da inibição do efeito citopático viral provocada por cada concentração de cada material-teste testada. O segundo teste permite calcular e confirmar os valores de CE_{50} (concentração que diminui em 50% o efeito citopático viral), quando comparadas com os controles celulares e virais. Com posse dos valores de CC_{50} e CE_{50} , calcula-se os índices de seletividade ($IS=CC_{50}/CE_{50}$), que expressam o quão promissora é a atividade antiviral de determinado material-teste. Quanto maior o valor de IS, mais promissora é a atividade antiviral, indicando que seria viável a realização posterior de estudos mais detalhados, tanto *in vitro* quanto *in vivo*.

Tanto os valores de CC_{50} quanto de CE_{50} representam a média de três experimentos independentes \pm desvio padrão da media, e foram obtidos através de análise de regressão linear.

O extrato hidroetanólico liofilizado do pericarpo dos frutos maduros e o extrato aquoso liofilizado das folhas não inibiram o efeito citopático viral do HSV-1, cepas KOS e 29R. O extrato hidroetanólico liofilizado das raízes não apresentou atividade contra a cepa KOS, mas contra a cepa 29R apresentou um $IS=1,25$, que é considerado muito baixo.

No entanto, o extrato aquoso liofilizado das raízes apresentou valores de $IS=6,21$ e $11,8$, respectivamente, para as cepas KOS e 29R, merecendo especial interesse para estudos posteriores visando a caracterização de frações ativas.

Para a continuidade dessa linha de investigação, entende-se ser necessário:

- Através de CLAE caracterizar os flavonóides *C*-glicosídeos presentes no extrato do pericarpo dos frutos maduros, no extrato dos frutos, com polpa e sementes e nos extratos processados a partir da casca e do mesocarpo dos frutos, em vista da possibilidade de obter um perfil com melhor resolução do que a análise através de cromatografia em camada delgada.
- Caracterizar as frações ou os compostos responsáveis pela atividade antiinflamatória e antiviral.
- Realizar um estudo sazonal qualitativo dos extratos das folhas de *P. edulis* f. *flavicarpa*, buscando confirmar se é uma constante em diferentes épocas, a predominância das *C*-glicosilflavonas orientina e isoorientina.
- Avaliar quantitativamente o suco dos frutos in natura e após a industrialização (produto acabado), no que diz respeito a presença de flavonóides.

7 CONCLUSÕES

- Em *P. edulis* foi constatada a presença de *C*-glicosilflavonóides, que parecem ser os compostos majoritários das frações acetato de etila, *n*-butanólica e metanólica das folhas.
- A presença de *C*-glicosilflavonóides, semelhantes às folhas, também foi constatada nas frações *n*-butanólica e acetato de etila do pericarpo dos frutos maduros, como na fração acetato de etila obtida do fruto maduro, com polpa e sementes, tanto naquelas frações obtidas do suco concentrado de maracujá industrializado.
- Uma flavona glicosilada com comportamento cromatográfico semelhante a isoorientina foi isolada das folhas de *P. edulis*.
- As *C*-glicosilflavonas foram caracterizadas através de cromatografia em camada delgada nas folhas e frutos de *P. edulis* são vitexina, isovitexina, orientina e isoorientina.
- Nos extratos processados da casca e do mesocarpo dos frutos também foi constatada a presença de flavonóides *C*-glicosídeos, com exceção dos extratos e frações do mesocarpo dos frutos verdes.
- Em todos os extratos e frações das folhas e frutos em que foi observado a presença de flavonóides *C*-glicosídeos, observou-se a predominância das *C*-glicosilflavonas orientina e isoorientina.
- As frações das raízes apresentaram composição diferenciada em relação aos folhas e frutos, no que diz respeito aos flavonóides, não tendo sido detectada a presença desses compostos nas raízes.
- Da fração diclorometano das raízes de *P. edulis* foram isolados três compostos: um triterpeno diacetilado do tipo urseno, denominado como 3 β , 16 β - diacetoxiurs-12-eno, ainda não descrito para as espécies do gênero *Passiflora*, sitosterol e uma mistura de esteróides.

- Da fração n-butanólica das raízes de *P. edulis* foram isolados três compostos, uma mistura de açúcares, não identificada e duas substâncias ainda não identificadas.

Portanto, os trabalhos realizados em cooperação com grupos de trabalho que atuam na avaliação das atividades antiinflamatórias e antivirais abrem a perspectiva da busca de frações e substâncias ativas, a partir dessa espécie de *Passiflora*, que constitui matéria-prima vegetal abundante.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRAWAL, P. K. Carbon-13 NMR of flavonoids. Amsterdam: Elsevier , 1989.

ALEXANDRE, R. F. Fitoterapia baseada em evidências: Exemplos dos medicamentos fitoterápicos mais vendidos em Santa Catarina. Florianópolis: Programa de Pós-Graduação em Farmácia da UFSC, 2004, 412p. (Dissertação de Mestrado).

AMARAL, K. M.; SCHENKEL, E.; LANGELOH, A. Avaliação da toxicidade reprodutiva dos extratos aquosos liofilizados de *Passiflora alata* Dryander e *Passiflora edulis* Sims em ratas Wistar. *Acta Farmaceutica Bonaerense*, v. 20, p. 215-220, 2001.

AYOAGI, N.; KIMURA, R.; MURATA, T. Studies on *Passiflora incarnata* L. dry extracts. Isolation of maltol and pharmacological action of maltol and ethylmaltol. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, v. 22, p.1008-1013, 1974.

BISSET, N.G. (Ed.) **Herbal drugs and pharmaceuticals**. A handbook for practice on a scientific basis. BocaRaton: CRC Press, 1994.

BLUMENTHAL, M.; GOLDEBERG, A.; BRINCKMANN, J. Herbal Medicine: Expanded Commission E monographs. Austin: American Botanical Council, 2000, p.293-296.

BOMBARDELLI, E.; BONATTI, A.; GABETTA, B.; MARTINELLI, E. M.; MUSTICH, G. Passiflorine, a new glycoside from *Passiflora edulis*. *Phytochemistry*, v. 14 (12), p. 2661-2665, 1975.

BORRELI, E.; PINTO, L.; IZZO, A. A.; MASCOLO, N.; CAPASSO, F.; MERCATI, V.; TOJA, E.; AUTORE, G. Anti-inflammatory activity of *Passiflora incarnata* L. in rats. *Phytotherapy Research*, v. 10, p. 104-106, 1996.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Extratitificação do Consumo de Frutas. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em 25 nov. 2004.

CARVALHO-OKANO, R. M.; VIEIRA, M. F. Morfologia Externa e Taxonomia. In: BRUCKNER, C. H.; PICANÇO, M. C. Maracujá. Tecnologia de Produção, Pós-colheita, Agroindústria, Mercado. Porto Alegre: Cinco Continentes, p.33-49, 2001.

CHASSAGNE, D.; CROUZET, J. A.; BAYONOVE, C. L.; BAUMES, R. L. Identification and quantification of passion fruit cyanogenic glycosides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 44, p. 3817-3820, 1996.

CHASSAGNE, D.; CROUZET, J. A cyanogenic glycoside from *Passiflora edulis* fruits . *Phytochemistry*, v. 49 (3), p. 757-759, 1998

CHOPIN, J.; BOUILLANT, M. C-Glycosylflavonoids. In: HARBONE, J. B.; MABRY, T. J.; MABRY, H. M. **The Flavonoids**. New York: Academic Press, p. 633-691, 1975.

CHRISTENSEN, J.; JAROSZEWSKI, J. W. Natural glycosides containing allopyranose from the Passion Fruit and circular dichroism of benzaldehyde cyanohydrin glycosies. *Organic Letters*, v. 3 (14), p. 2193-2195, 2001.

COSTA A. F. *Farmacognosia*. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 3.v, 3 ed., 1977.

DAVID, J. P.; SILVA, E. F.; MOURA, D. L.; GUEDES, M. L. S.; ASSUNÇÃO, R.; DAVID, J. M. Lignan e triterpenos do extrato citotóxico de *Eriope Blanchetti*. *Química Nova*, v. 24 (6), p 730-733.

DEGENER, O. Passifloraceae. In: Flora Hawaiiensis. 1933. Book3 apud CARVALHO-OKANO, R. M.; VIEIRA, M. F. Morfologia Externa e Taxonomia in: BRUCKNER, C. H.; PICANÇO, M. C. Maracujá. Tecnologia de Produção, Pós-colheita, Agroindústria, Mercado. Porto Alegre: Cinco Continentes, p.33-49, 2001.

DERMARDEROSIAN, A. The review of natural products. St. Louis: Facts & Comparisons, p. 455-458, 2001.

DHAWAN, K.; KUMAR, S.; SHARMA, A. Comparative biological activity study on *Passiflora incarnata* and *Passiflora edulis*. *Fitoterapia*, v. 72, p. 698-702, 2001.

FARMACOPÉIA Brasileira. 2. ed., São Paulo: Siqueira, p. 561, 1959.

FARMACOPÉIA Brasileira. 3. ed., São Paulo: Andrei, p. 839-840, 1977.

FISCHER, F. C.; FUNG, S. Y.; LANKHORST, P. P. Cyanogenesis in Passifloraceae. *Planta Medica*, v. 45, p. 42-45, 1982.

GEIGER, H.; MARKHAM, K. R. The C-glycosilflavone pattern of *Passiflora incarnata* L., *Zeitschrift fur Naturforschung*, v. 41c, p. 949-950, 1986 apud QIMIN, L.; VAN DEN HEUVEL, H.; ZO, O.; CORTHOOT, J.; PIETERS, A. C.; VLIETINCK, A. J.; CLAEYS, M. Mass spectral characterization of C-glycosidic flavonoids isolated from a medicinal plant (*Passiflora incarnata*). *Journal of Chromatography*, v. 562, p. 435-446, 1991.

GLOTZBACH, B.; RIMPLER, H. Die Flavonoide von *Passiflora incarnata* L., *Passiflora quadrangularis* L. und *Passiflora pulchella* H. B. K. *Planta Medica*, v. 16, p. 1-7, 1968 apud QIMIN, L.; VAN DEN HEUVEL, H.; ZO, O.; CORTHOOT, J.; PIETERS, A. C.; VLIETINCK, A. J.; CLAEYS, M. Mass spectral characterization of C-glycosidic flavonoids isolated from a medicinal plant (*Passiflora incarnata*). *Journal of Chromatography*, v. 562, p. 435-446, 1991.

GONZÁLEZ-ORTEGA, G.; SCHENKEL, E. P.; ATHAYDE, M. L.; MENTZ, L. A. Brasilianische Phytotherapeutika. Ihre Rolle im Arzneimittelmarkt. *Deutsche Apotheker Zeitung*, 129 (35), p. 1847-1848, 1989.

GONZÁLEZ-ORTEGA, G. Trockenextrakte aus Passionsblumenkraut – Herstellung, Standardisierung, Wirkungsnachweis. Fakultät für Chemie und Pharmazie der Eberhard-Karls-Universität Tübingen, 1993, p.135. (Tese de doutorado).

GRICE, I. D.; FERREIRA, L. A., GRIFFITHS, L. R. Identification and simultaneous analysis of hamane, harmina, harmol, isovitexin, and vitexin in *Passiflora incarnata* extracts with a novel HPLC method. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, v. 24 (16), p. 2513-2523, 2001.

HUNG, C. Y.; YEN, G. C. Extraction and identification of antioxidative components of Hsian-tsoo (*Mesona procumbens* Hemsl.). *Lebensmittel-Wissenschaft, und-Technologie*, v. 34, p. 306-311, 2001.

JAROSZEWSKI, J. W.; JENSEN, B.; CORNETT, C.; BYBERG, J. R. Occurrence of lotaustralin in *Berberidopsis beckleri* and its relation to the chemical evolution of Flacourtiaceae. *Biochemical Systematics and Ecology*, v. 16, p. 23-28, 1988.

JAROSZEWSKI, J. W.; RASMUSSEN, A.,B.; RASMUSSEN, H. B.; OLSEN, C. E.; JORGENSEN, L. B. Biosynthesis of cyanohidrin glucosides from unnatural nitriles in intact tissue of *Passiflora morifolia* and *Turnera angustifolia*. *Phytochemistry*, v. 42, p. 649-654, 1996.

JAROSZEWSKI, J. W.; OLAFSDOTTIR, E. S.; WELLENDORPH, P.; CHRISTENSEN, J.; FRANZYK, H.; SOMANADHAN, B.; BUDNIK, B. A.; JORGENSEN, L. B.; CLAUSEN, V. Cyanohidrin glycosides of *Passiflora*: distribution pattern, a saturated cyclopentane derivate from *P. guatemalensis*, and formation of pseudocyanogenic α -hydroxyamides as isolation artefacts. *Phytochemistry*, v. 59, p. 501-511, 2002.

KIM, H. K.; CHEON, B. S.; KIM, Y. H.; KIM, S. Y.; KIM, H. P. *Biochemical Pharmacology*, v. 58, p. 759-765, 1999.

KUMAZAWA, T.; MINATOGAWA, T.; MATSUBA, S.; SATO, S.; ONODERA, J. An effective synthesis of a 6-C-glucosylflavone. *Carbohydrate Research*, v. 329, p. 507-513, 2000.

LIMA, M. P.; BRAGA, P. A.C.; MACEDO, M. L.; SILVA, M. F. G. F.; FERREIRA, A. G.; BERNARDES, J. B.; VIEIRA, P. C. Phytochemistry of *Trattinnickia burserifolia*, *T. rhoifolia*, and *Dacryodes hopkinsii*: chemosystematic implications. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 15 (3), p. 385-394, 2004.

LIN, C. N.; CHUNG, M. I.; GAN, K. H.; CHIANG, J. R. Xanthonenes from formosan gentianaceous plants. *Phytochemistry*, v. 26 (8), p. 2381-2384, 1987.

LOHDEFINK, J. Untersuchungen zur Flavonoidführung einiger *Passiflora*-Arten. *Deutsche Apotheker-Zeitung*, v. 116, p. 557-560, 1976 apud QIMIN, L.; VAN DEN HEUVEL, H.; ZO, O.; CORTHOOT, J.; PIETERS, A. C.; VLIETINCK, A. J.; CLAEYS, M. Mass spectral characterization of C-glycosidic flavonoids isolated from a medicinal plant (*Passiflora incarnata*). *Journal of Chromatography*, v. 562, p. 435-446, 1991.

LORENZI, H., MATOS, F. J. *Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas*. São Paulo: Instituto Plantarum, 2002, p. 371-374.

LUTOMSKI, J.; MALEK, B. Pharmakochemische Untersuchungen der Drogen der Gattung *Passiflora*. IV. Mittlg: Der Vergleich des Alkaloidgehaltes in verschiedenen Harmandrogen. *Planta Medica*, v. 27, p. 381-384, 1975.

LUTOMSKI, J.; MALEK, B.; RYBACKA, L. Pharmacochemical investigation of the raw materials from *Passiflora* genus. II. The pharmacochemical estimation of juices from the fruits of *Passiflora edulis* and *Passiflora edulis* forma *flavicarpa*. *Planta Medica*, v. 27, p. 112-21, 1975.

MAHATO, S.; KUNDU, A. ^{13}C NMR spectra of pentacyclic triterpenoids - A compilation and some salient features. *Phytochemistry*, v. 37 (6), p. 1517-1575, 1994.

MALUF, E.; BARROS, H. M. T.; FROCHTENGARTEN, M. L.; BENTI, R.; LEITE, J. R. Assesment of the Hypnotic/Sedative Effects and Toxicity of *Passiflora edulis* Aqueous Extract in Rodents and Humans. *Phytotherapy Research*, v. 5, p. 262-266, 1991.

MARECK, U.; GALENSA, R.; HERRMANN, K. Identification of passionfruit juice in fruit products by HPLC. *Zeitschrift fuer Lebensmittel-Untersuchung und- Forschung*, v. 191 (4/5) p. 269-274, 1990.

MARECK, U.; HERRMANN, K.; GALENSA, R.; WRAY, V. The 6-C-Chinovoside and 6-C-fucoside of luteolin from *Passiflora edulis*. *Phytochemistry*, v. 30, p. 3486- 3487, 1991.

MARKHAM, M. C. *Techniques of Flavonoids Identification*. New York: Academic Press, 1982.

MARTIN, F. W.; NAKASONE, H. Y. The edible species of *Passiflora*. *Economic Botanic*, Bronx, p. 24, v. 333-343, 1970 apud CARVALHO-OKANO, R. M.; VIEIRA, M. F. Morfologia Externa e Taxonomia. In: BRUCKNER, C. H.; PICANÇO, M. C.

Maracujá. Tecnologia de Produção, Pós-colheita, Agroindústria, Mercado. Porto Alegre: Cinco Continentes, p.33-49, 2001.

MCCORMICK, S.; MABRY, T. J. Flavonoids of *Passiflora pavonis*. *Journal of Natural Products*, v. 44, p. 623, 1981.

MCCORMICK, S.; MABRY, T. J. The flavonoids of *Passiflora sexflora*. *Journal of Natural Products*, v. 45, p. 782, 1982.

MEDINA, J. H.; PEÑA, M.; LEVI DE STEIN, M.; WOLFMAN, C.; PALADINI, A.C. Benzodiazepine-like Molecules, as well as other Ligands for the Brain Benzodiazepine Receptors, are Relatively Common Constituents of Plants. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, v. 165, n.2, p. 547-553, 1989.

MEDINA, J. H.; PALADINI, A. C.; WOLFMAN, C.; LEVI DE STEIN, M.; CALVO, D.; DIAZ, L. E.; PEÑA, M. Chrysin (5,7-di-OH-flavone), a Naturally-occurring Ligand for Benzodiazepine Receptors, with Anticonvulsant Properties. *Biochemical Pharmacology*, v. 40, n. 10, p. 2227-2231, 1990.

MEDINA, J. C. Subprodutos in: MEDINA, J. C. et al. **Maracujá**: da cultura ao processamento e comercialização. Campinas: Inst. Tecnol. Alim. 1980, p. 145-148 apud OLIVEIRA, L. F.; NASCIMENTO, M. R. F.; BORGES, S. V.; RIBEIRO, P. C. N.; RUBACK, V. R. Aproveitamento alternativo da casca do maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) para produção de doce em calda. *Ciência e Tecnologia e Alimentos*, v. 22 (3), p. 259-262, 2002.

MEIER, B. *Passiflorae herba*-pharmazeutische Qualität. *Zeitschrift für Phytotherapie*, v. 16, p. 90-99, 1995.

MEIER, B. *Passiflora incarnata* L.- Passionsblume. *Zeitschrift für Phytotherapie*, v. 16, p. 115-126, 1995.

MENGHINI, A.; MANCINI, L. A. TLC determination of flavonoid accumulation in clonal population of *Passiflora incarnata* L. *Pharmacological Research Communications*, v. 20 (5), p. 113-116, 1988 apud REHWALD, A.; MEIER, B.; STICHER, O. Qualitative and quantitative high-performance liquid chromatography of flavonoids in *Passiflora incarnata* L. *Pharmaceutica Acta Helvetiae*, v. 69, p. 153-158, 1994.

MÜLLER, S. D.; VASCONCELOS, S. B.; COELHO, M.; BIAVATTI, M. W. LC and UV determination of flavonoids from *Passiflora alata* medicinal extracts and leaves. *Pharmaceutical and Biomedical analysis*, v. 37, p. 399-403, 2005.

NACIF, S. R. Ontogenia e crescimento do fruto de maracujá-amarelo (*P. edulis* var. *flavicarpa*). Viçosa: UFV, 1991. 60p. (Dissertação de Mestrado) apud SALOMÃO, L. C. C., VIEIRA, G.; MOTA, W. F. Tecnologia de colheita e Pós-Colheita. In: : BRUCKNER, C. H.; PICANÇO, M. C. Maracujá. Tecnologia de Produção, Pós-colheita, Agroindústria, Mercado. Porto Alegre: Cinco Continentes, p.33-49, 2001.

NEUMANN, E. Maracujá, “o must” in: Brasília EmDia. Brasília: Dom Quixote, p. 24, 2005.

OGA, S.; FREITAS, P. C. D.; SILVA, A. C. G.; HANADA, S. Pharmacological trials of crude extract of *Passiflora alata*. *Planta Medica*, v. 51, p. 303-306, 1984.

OLAFSDOTTIR, E. S.; JORGENSEN, L. B.; JAROSZEWSKI, J. W. Substrate specificity in the biosynthesis of cyclopentanoid cyanohydrin glucosides. *Phytochemistry*, v.31, p. 4129-4134, 1992.

OLIVEIRA, L. F.; NASCIMENTO, M. R. F.; BORGES, S. V.; RIBEIRO, P. C. N.; RUBACK, V. R. Aproveitamento alternativo da casca do maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) para produção de doce em calda. *Ciência e Tecnologia e Alimentos*, v. 22 (3), p. 259-262, 2002.

PARIS, F.; PETRY, R. D.; REGINATTO, F. H.; GOSMANN, G.; QUEVEDO, J.; SALGUEIRO, J. B.; KAPCZINSKI; GONZÁLEZ ORTEGA, G.; SCHENKEL, E. P. Pharmacochemical Study of Aqueous Extracts of *Passiflora alata* Dryander and *Passiflora edulis* Sims. *Acta Farmaceutica Bonaerense*, v. 21 (1), p. 5-8, 2002.

PELZER, L. E.; GUARDIA, T.; JUAREZ, A. O; GUERREIRO, E. Acute and chronic anti-inflammatory effects of plant flavonoids. *Farmaco*, v.53, p. 421-424, 1998.

PETRY, R. D. Desenvolvimento e validação de métodos de doseamento de flavonóides de *Passiflora edulis* Sims (maracujá). Porto Alegre: Curso de Pos-Graduação em Ciências Farmacêuticas da UFRGS, 1999, 114 p. (Dissertação de Mestrado).

PETRY, R. D.; REGINATTO, F.; DE-PARIS, F.; GOSMANN, G., SALGUEIRO, J. B.; QUEVEDO, J.; KAPCZINSKI, F.; ORTEGA, G. G.; SCHENKEL, E. P.; Comparative pharmacological study of *Passiflora incarnata* and *Passiflora edulis* leaves. *Phytotherapy Research*, v. 15, p. 162-164, 2001.

PIERCE, A. *Practical guide of natural medicines*: The first authoritative home reference for herbs and nature remedies, from the Nation’s largest and most respected organization of pharmacists. New York: William Morrow and Company, p.488-91, 1999.

PIO CORRÊA, M. Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, 5v , 1978.

PRUTHI, J. S. Physiology, chemistry and technology of passion fruit. *Advances in Food Research*, London, v.12 (1), p. 203-282, 1963 apud SOUZA, A. C. G.; SANDI, D. Industrialização in: BRUCKNER, C. H.; PICANÇO, M. C. Maracujá. Tecnologia de Produção, Pós-colheita, Agroindústria, Mercado. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2001.

QIMIN, L.; VAN DEN HEUVEL, H.; ZO, O.; CORTHOUT, J.; PIETERS, A. C.; VLIETINCK, A. J.; CLAEYS, M. Mass spectral characterization of C-glycosidic flavonoids isolated from a medicinal plant (*Passiflora incarnata*). *Journal of Chromatography*, v. 562, p. 435-446, 1991.

RAHMAN, K.; KRENN, B.; KOPP, B.; SCHUBERT-ZSILAVECZ, M.; MAYER, K. K.; KUBELKA, W. Isoscoparin-2''-O-glicosídeo from *Passiflora incarnata*. *Phytochemistry*, v. 45, p. 1093-1094, 1997.

REGINATTO, F. H.; KAUFFMANN, C.; SHRIPSEMA, J.; GUILLAUME, D.; GOSMANN, G.; SCHENKEL, E. Steroidal and triterpenoidal glucosides from *Passiflora alata*. *Journal of Brazilian Chemistry Society*, v. 12, p.32-36, 2001.

REGINATTO, F. H.; GOSMAN, G.; SCHRISPSEMA, J.; SCHENKEL, E. P. Assay of Quadranguloside, the Major Saponin of Leaves of *Passiflora alata*, by HPLC. *Phytochemical Analysis*, v. 15, p. 195-197, 2004.

REHWALD, A.; MEIER, B.; STICHER, O. Qualitative and quantitative reversed-phase high-performance liquid chromatography of flavonoids in *Passiflora incarnata* L. *Pharmaceutica Acta Helvetica*, v. 69, p. 153 - 158, 1994.

REHWALD, A.; MEIER, B.; STICHER, O. Harmanalkaloide in Passiflorae herba? in: MEIER, B. Passiflorae herba-pharmazeutische Qualität. *Zeitschrift für Phytotherapie*, v. 16, p. 90 – 99, 1995.

ROSENTHALER, L. Distribution of hydrocyanic acid in the plant kingdom. *Schweizerische Apotheker-Zeitung*, v. 57, p. 279-283, 295-297, 307-313, 324-329, 341-346, 1919 apud SPENCER, K.; SEIGLER, D. S. Cyanogenesis of *Passiflora edulis*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 31, p. 794-796, 1983.

RUDNICK, M.; OLIVEIRA, M.R.; REGINATTO, F.H.; DAL-PIZZOL, F.; MOREIRA, J.C.F. In vitro antioxidante evaluation of *Passiflora alata* and *Passiflora edulis* extracts. *Free Radical Biology and Medicin*, v. 36 (S1), 2004.

SACCO, J. C. Passifloráceas. In: Reitz, R (Ed). *Flora Ilustrada Catarinense*, fasc. PASS. Itajaí, 1980, 132p.

SALOMÃO, L. C. C., VIEIRA, G.; MOTA, W. F. Tecnologia de colheita e Pós-Colheita. In: BRUCKNER, C. H.; PICANÇO, M. C. Maracujá. Tecnologia de Produção, Pós-colheita, Agroindústria, Mercado. Porto Alegre: Cinco Continentes, p.33-49, 2001.

SCHILCHER, H. Qualitätsprüfung von Handelsdrogen. 4. Mitteilung: Herba Passiflorae. *Naturforsch*, p. 1393, 1968 apud QIMIN, L.; VAN DEN HEUVEL, H.; ZO, O.; CORTHOUT, J.; PIETERS, A. C.; VLIETINCK, A. J.; CLAEYS, M. Mass spectral characterization of C-glycosidic flavonoids isolated from a medicinal plant (*Passiflora incarnata*). *Journal of Chromatography*, v. 562, p. 435-446, 1991.

SEIGLER, D. S.; SPENCER, K. C.; STATLER, W. S.; CONN, E. E.; DUNN, J. E. Tetraphyllin B and epitetraphyllin B sulphates: novel cyanogenic glucosides from *Passiflora caerulea* and *P. alato-caerulea*. *Phytochemistry*, v. 21 (9), p. 2277-2285, 1982.

SEIGLER, D. S.; PAULI, G. F.; NAHRSTEDT, A.; LEEN, R. Cyanogenic allosides and glucosides from *Passiflora edulis* and *Carica papaya*. *Phytochemistry*, v. 60, p. 873-882, 2002.

SIMÕES, C. M. O; Mechanism of antiviral activity of triterpenoid saponins. *Phytother apy Research*, v. 13 p. 323-8, 1999.

SOULIMANI, R.; YOUNOS, C.; JARMOUNI, S.; BOUSTA, D.; MISLIN, R.; MORTIER, E. Behavioral effects of *P. incarnata* L. And its indole alkaloid and flavonoid derivates and maltol in the mouse. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 57, p. 11-20, 1997.

SOUSA, J. S. I. de; MELETTI, L. M. M. Maracujá: espécies, variedades, cultivo. Piracicaba: Fealq, 1997, 179p. In: CARVALHO-OKANO, R. M.; VIEIRA, M. F. Morfologia Externa e Taxonomia. In: BRUCKNER, C. H.; PICANÇO, M. C. Maracujá. Tecnologia de Produção, Pós-colheita, Agroindústria, Mercado. Porto Alegre: Cinco Continentes, p.33-49, 2001.

SOUZA, A. C. G.; SANDI, D. Industrialização. In: BRUCKNER, C. H.; PICANÇO, M. C. Maracujá. Tecnologia de Produção, Pós-colheita, Agroindústria, Mercado. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2001.

SEO, S.; TOMITA, Y.; TORI, K. Carbon-13 NMR spectra of urs-12-enes and application to structural assignments of components of *Isodon japonicus* hara tissue cultures. *Tetrahedron Letters*, n.1, p. 7-10, 1975.

SPENCER, K.; SEIGLER, D. S. Cyanogenesis of *Passiflora edulis*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 31, p. 794-796, 1983.

SPENCER, K.; SEIGLER, D. S. Gynocardin from *Passiflora*. *Planta Medica*, v. 50, p.256-357, 1984.

SPENCER, K. C.; SEIGLER, D. S. Passibiflorin, epipassibiflorin and passitrifasciatin: cyclopentenoid cyanogenic glycosides from *Passiflora*. *Phytochemistry*, v.24 (5), p. 981-986, 1985a.

SPENCER, K. C.; SEIGLER, D. S. Passicoccin: a sulphated cyanogenic glycoside from *Passiflora coccinea*. *Phytochemistry*, v. 24 (11), p. 2615-2617, 1985b.

SPENCER, K. C.; SEIGLER, D. S. Co-occurrence of valine/isoleucine- derived and cyclopentenoid cyanogens in a *Passiflora* species. *Biochemical Systematics and Ecology*, v.13 (3), p.303-304, 1985c. Abstract.

SPENCER, K. C.; SEIGLER, D. S.; NAHRSTEDT, A. Linamarin, lotaustralin, linustatin and neolinustatin from *Passiflora* species. *Phytochemistry*, v.25 (3), p. 645-647, 1986.

SPENCER, K. C.; SEIGLER, D. S. Passicoriacin and epipassicoriacin: C-4 epimers of tetraphyllin B and epitetraphyllin B from *Passiflora coriacea*. *Phytochemistry*, v.26, p. 1661, 1987a.

SPENCER, K. C.; SEIGLER, D. S. Passisuberosin and epipassisuberosin: Two cyclopentenoid cyanogenic glycosides from *Passiflora suberosa*. *Phytochemistry*, v. 26 (6), p. 1665-1987, 1987b.

SPERONI, E.; MINGUETTI, A. Neuropharmacological activity of extract from *Passiflora incarnata*. *Planta Medica*, v. 54, p. 488-491, 1988.

SPERONI, E.; BILLI, R.; CRESCPI PERELLINO, N.; MINGHETTI, A. Role of chrysin in the sedative effects of *Passiflora incarnata* L. *Phytotherapy Research*, v. 10, p. 98-100, 1996.

SPINELLA, M. The importance of pharmacological synergy in psychoactive herbal medicines (Herbal synergy review). *Alternative Medicine Review*, v. 7, 130-7, 2002.

STASI, L. C.; HIRUMA-LIMA, C. *Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica*. São Paulo: Editora da UNESP, 2002, p. 192-95.

VALE, N. B., LEITE, J. R. Efeitos psicofarmacológicos de preparações de *Passiflora edulis* (maracujá). *Ciência e Cultura*, v. 35, p.11-24, 1983.

VOUTQUENNE, L.; GUINOT, P.; THOISON, O.; SEVENET, T.; LAVAUD, C. Oleanolic glycosides from *Pometia ridleyi*. *Phytochemistry*, v. 64, p. 781-789, 2003.

TAMAI, M.; WATANABE, N.; SOMEYA, M.; KONDOH, H.; OMURA, S.; LING, Z. P.; CHANG, R.; MING, C. W. New hepatoprotective triterpenes from *Canarium album*. *Planta Medica*, v. 55, p. 44-47, 1989.

TAKEUCHI, H.; BABAM.; SHIGETA, S. An application of tetrazolium (MTT) colorimetric assay for the screening of anti-herpes simplex virus compounds. *Journal of Virological Methods*, v.33, p. 61-71, 1991.

TOBER, I.; CONN, E. E. Cyclopentenilglicine, a precursor of deidaclina in *Turnera ulmifolia*. *Phytochemistry*, v. 24, p. 1215-1218, 1985.

UEDA, H.; YAMAZAKI, C.; YAMAZAKI, M. A hydroxyl group of flavonoids affects oral anti-inflammatory activity and inhibition of systemic tumor necrosis factor- α production. *Bioscience. Biotechnoogyl. Biochemistry*, v. 68 (1), p. 119-125, 2004.

ULUBELEN, A.; MABRY, T. C-glycosylflavonoids of *Passiflora serratifolia*. *Journal of Natural Products*, v. 43, p. 162-163, 1980.

ULUBELEN, A.; AYYILDIZ, H. C-glycosylflavonoids and other compounds from *Passiflora cyanea*, *P. oerstedii* and *P. menispermifolia*. *Journal of Natural Products*, v. 44, p. 368-369, 1981.

ULUBELEN, A.; OKSUZ, S.; MABRY, T. J.; DELLAMONICA, G.; CHOPIN, J. C-Glycosylflavonoids from *Passiflora pittieri*, *P. alata*, *P. ambigua* and *Adenia manii*. *Journal of Natural Products*, v. 45, n. 6, p. 783, 1982a.

ULUBELEN, A.; TOPCU, G.; MABRY, T. J.; DELLAMONICA, G.; CHOPIN, J. C-glycosylflavonoids from *Passiflora foetida* var. *hispida* and *P. foetida* var. *hibiscifolia*. *Journal of Natural Products*, v. 45, p. 103, 1982b.

ZANOLI, P.; AVALLONE, R.; BARALDI, M. Behavioral characterisation of the flavonoids apigenins and chrysin. *Fitoterapia*, v. 71, p. 117-123, 2000.

WAGNER, H. & BLADT, S. *Plant Drug Analysis. A Thin Layer Chromatography Atlas*. 2.ed. Berlin: Springer, 1996.

WALUM, E.; STRENBORG, K.; JENSSEN, D. **Understanding cell toxicology: principles and practice**. New York: Ellis Howood, 1990. p. 97-111.

WILLIAMSON E. M. Synergy – myth or reality? In: ERNST, E. (ed). *Herbal medicine a concise overview for professionals*. Oxford: Butterworth-Heinemann, p. 48-58, 2000.

WOLFMAN, C.; VIOLA, H.; PALADINI, A.; DAJAS, F.; MEDINA, J. H. Possible Anxiolytic Effects of Chrysin, a Central Benzodiazepine Receptor Ligand Isolated from *Passiflora coerulea*. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, v. 47, p. 1-4, 1994.

YE, W.C.; ZHANG, Q. W.; LIU, X.; CHE, C. T.; ZHAO, S. X. Oleanane saponins from *Gymnema sylvestre*. *Phytochemistry*, v. 53, p. 893-899, 2000.

YOSHIKAWA, K.; KATSUTA, S.; MIZUMORI, J.; ARIHARA, S. Four cycloartane triterpenoids and six related saponins from *Passiflora edulis*. *Journal of Natural Products*, v. 63, p. 1229-1234, 2000a.

YOSHIKAWA, K.; KATSUTA, S.; MIZUMORI, J.; ARIHARA, S. New cycloartane triterpenoids from *Passiflora edulis*. *Journal of Natural Products*, v. 63, p. 1377-1380, 2000b.

YOUNG, M. C. M.; POTOMATI, A.; CHU, E. P.; HARAGUCHI, M.; YAMAMOTO, M.; KAWANO, T. ¹³C NMR analysis of monodesmosidic saponins from *Gomphrena macrocephala*. *Phytochemistry*, v. 46 (7), p. 1267 – 1270, 1997.

