

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
DEPARTAMENTO DE APOIO À PESQUISA  
PROGRAMA INSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

ALCALOIDES E CITOTOXIDADE DE *Licaria cannella angustata* E *Licaria martiniana* (LAURACEAE).

Bolsista: Isadora da Silva Moita, CNPq

MANAUS

2014

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
DEPARTAMENTO DE APOIO À PESQUISA  
PROGRAMA INSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

RELATÓRIO FINAL

PIB-E/0069/2013

ALCALOIDES E CITOTOXIDADE DE *Licaria cannella angustata* E *L. martiniana* (LAURACEAE).

Bolsista: Isadora da Silva Moita, CNPq

Orientador: Prof. Dr. Valdir Florêncio da Veiga Junior

Co-orientador: MSc. Klenicy Kazumy de Lima Yamaguchi

MANAUS

2014

Todos os direitos deste relatório são reservados à Universidade Federal do Amazonas, ao Grupo de Pesquisa Q-Bioma (Química de Biomoléculas da Amazônia) aos seus autores. Parte deste relatório só poderá ser reproduzida para fins acadêmicos ou científicos.

Esta pesquisa, financiada pelo Conselho Nacional de Pesquisa – CNPq, através do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica da Universidade Federal do Amazonas, foi desenvolvida pelo Grupo de pesquisa Q-Bioma (Química de Biomoléculas da Amazônia) tendo como subprojeto Química de Lauraceae.

## RESUMO

A família Lauraceae possui cerca de 2500 espécies distribuídas em 50 gêneros, sendo 16% encontradas no Brasil. O gênero *Licaria* possui cerca de 38 espécies e três subgêneros, sendo um destes o *cannella*, que possui cerca de três espécies, quimicamente é rico em: lignanas furofurânicas, alcaloides oxoaporfínicos, monoterpenos, sesquiterpenos. Estudos preliminares, já relataram a atividade citotóxica em linhagem de células tumorais em *Licaria cannella angustata* e *Licaria martiniana* e a presença de alcaloides nessas espécies. Diante desse contexto, propôs-se neste trabalho estudar quimicamente os extratos e frações alcaloídicas de *L. angustata* e *L. martiniana* (Lauraceae). Os extratos etanólicos foram obtidos de folhas e galhos de *L. angustata* e *L. martiniana* coletados na Reserva Florestal Ducke. Foram realizados testes qualitativos e quantitativos de atividade antioxidante frente ao radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH) e atividade antioxidante frente ao radical livre ABTS. O extrato mais ativo foi o extrato de galhos de *L. martiniana*, apresentando um CE<sub>50</sub> próximo ao do padrão quercetina. Os extratos de folhas e galhos de *L. angustata* e *L. martiniana* foram desengraxados por meio de partição líquido-líquido e para a extração de alcaloides foi feita partição ácido-base com os extratos metanólicos obtidos das partições líquido-líquido. Por meio da análise de cromatografia em camada delgada (CCD) observou-se que as frações alcaloídicas de folhas e galhos de *L. angustata* apresentaram alcaloides de polaridade semelhantes e na fração de diclorometano não básica não apresentaram alcaloides, caracterizando que a partição foi boa. Quanto às frações de folhas e galhos de *L. martiniana* não se pode afirmar o mesmo, pois somente a fração alcaloídica de galhos apresentou perfil característico de alcaloides. As frações alcaloídicas de folhas e galhos das duas espécies foram submetidas a análise por espectrometria de massas, para obter o perfil dos alcaloides. Na fração de folhas de *L. angustata* o íon *m/z* 300, foi o mais intenso, sendo este pico também encontrado na fração alcaloídica das folhas de *L. martiniana*. Este íon pode corresponder aos alcaloides, N-metilcoclorina, já isolado em *Aniba muca*, 14-episiomenina isolado de *Ocotea brachybotra*, ou (-)-N-metilisococlorina, com relato de isolamento em *Cryptocarya rugulosa*. A confirmação desse pico será feita por MS/MS com isolamento da substância será feito o RMN de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C. Este trabalho foi de suma importância para a química de produtos naturais, pois proporcionou o conhecimento do perfil das frações alcaloídicas de duas espécies não possuem relato de isolamento de alcaloides na literatura.

**Palavras-chave:** *Lauraceae*, alcaloide, atividade biológica.

## SUMÁRIO

<b>1. Introdução.....</b>	<b>06</b>
<b>2. Revisão Bibliográfica.....</b>	<b>07 á 08</b>
<b>3. Metodologia.....</b>	<b>09</b>
3.1-Análise da atividade antioxidante frente ao radical livre DPPH .....	09
3.2- Análise da atividade antioxidante frente ao radical livre ABTS.....	09
3.3- Teste de inibição da enzima Lipase.....	09
3.4- Teste de inibição da enzima Tirosinase.....	09
3.5- Ensaio de citotoxicidade.....	09
3.6- Atividade antimicrobiana .....	09
<b>4. Resultados e Discussão.....</b>	<b>10 á 14</b>
4.1 Estudo fitoquímico de folhas e galhos de <i>L. angustata</i> .....	10 á 13
4.2 Estudo fitoquímico de folhas e galhos de <i>L. martiniana</i> .....	13 á 14
<b>5. Conclusão.....</b>	<b>15</b>
<b>6. Referências Bibliográficas.....</b>	<b>16 á 19</b>
<b>7. Cronograma .....</b>	<b>20</b>

# 1. INTRODUÇÃO

Os produtos naturais, ao longo dos anos, têm sido utilizados como matéria prima na produção de substâncias orgânicas pelo metabolismo secundário de organismos vivos, que representa uma importância para o desenvolvimento da química dos produtos naturais e colabora para o avanço de outras atividades científicas e tecnológicas no Brasil (BRAZ FILHO, 2010; PIETROVSKI, 2004).

O Brasil destaca-se na identificação de novos produtos, devido à diversidade biológica existente nas suas florestas e na quantidade de espécies, tornando imenso o campo de pesquisa de novas substâncias (PINTO et al, 2002). Dentre as famílias botânicas, a Lauraceae é uma das mais importantes devido à grande quantidade de espécies ricas em substâncias bioativas (BARROSO et al., 2002).

As Lauraceae possuem distribuição pantropical sendo bem representadas na América, Ásia tropical, Austrália e Madagascar, e pouco expressivas no sul da África. Possui cerca de 50 gêneros e 2500 espécies, sendo que no Brasil existem cerca de 400 espécies distribuídas em 25 gêneros, representando 16% da distribuição mundial. (BARROSO et al., 2002).

Quimicamente, é caracterizada por apresentar em suas diversas espécies substâncias como terpenos, alcaloides, neolignanas, fenilpropanoides, ésteres e flavonoides (BATISTA et al, 2010; FUNASAKI, 2009; GARCEZ, 2011). O gênero *Licaria* possui cerca de 38 espécies e três subgêneros, sendo um destes o *cannella*, que possui cerca de três espécies (KURZ, 2000). Há relatos na literatura da presença de lignanas furofurânicas (ALEGRIO et al. 1981), alcaloides oxoaporfínicos, (ALEGRIO et al., 1981), monoterpênicos, sesquiterpênicos (FRANCA; GOTTLIEB, 1974), entre outros metabólitos neste gênero.

Estudos preliminares de extratos etanólicos de *L. angustata* e *L. martiniana* apresentaram atividade citotóxica em linhagem de células tumorais e foi detectada a presença de alcaloides com reagente específico Dragendorff (ALCÂNTARA, 2009). Diante desse contexto, propôs-se neste trabalho estudar quimicamente os extratos e frações alcaloídicas de *L. angustata* e *L. martiniana* (Lauraceae), realizando um fracionamento bioguiado por ensaios de toxicidade a patógenos de interesse da Amazônia e células tumorais, de forma a isolar e identificar os alcaloides nunca antes descritos nestas espécies e substâncias bioativas.

## 2. Revisão Bibliográfica

Estudos botânicos classificam a família Lauraceae, entre as famílias mais importantes do mundo (SHEPHERD, 2000; QUINET, 2002). As Lauraceae são frequentes em florestas tropicais, com algumas espécies habitando em grandes altitudes, entretanto apresenta grande diversidade em terras baixas da Amazônia e América Central (ROHWER, 1993). No Brasil, a maioria das espécies da família são encontradas em florestas pluviais e em restingas e nos cerrados (SHEPHERD,2000; QUINET,2002).

Em meio à floresta Amazônica, é uma família muito comum (SOUZA, 2008), mas inventários botânicos relatam uma grande dificuldade de identificação de suas espécies, pois possuem uma uniformidade morfológica (CASTIGLIONI & COUTINHO, 2006; BAITELLO, 2001).

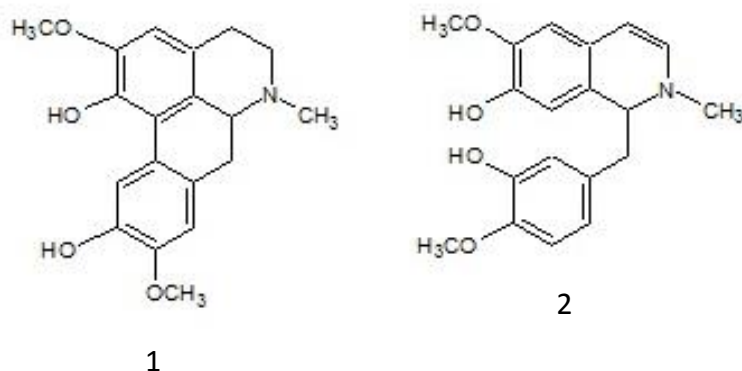
Economicamente, a família Lauraceae tem uma grande importância não só no Brasil, mas também no mundo. Apresenta um número expressivo de espécies com variadas utilidades, como: na culinária (o louro *Laurus nobilis*), fabricação de papel, construção civil e marcenaria, na indústria de perfumaria, na indústria química e na medicina popular (cânfora *Cinnamomum camphora*). Muitas espécies também fornecem resinas e óleos essenciais, úteis na medicina popular (MARQUES, 2001; QUINET et al, 2002).

Do ponto de vista químico, a família Lauraceae é rica em alcaloides, principalmente os isoquinolínicos, indólicos e triptofânicos (RIBEIRO et al, 1999). Cordell e colaboradores (2001) registraram em seu trabalho o isolamento de 425 alcaloides, em 25 gêneros e em 189 espécies da família Lauraceae. Segundo a revisão de Custódio e Veiga (2014) é relatada na literatura uma grande variedade de alcaloides em Lauraceae, com mais de 300 estruturas em 21 gêneros, sendo os alcaloides isoquinolínicos a maior classe com cerca de 287 compostos e estes estão presentes em todos os gêneros de Lauraceae.

Variados estudos na literatura relatam a composição química das espécies do gênero *Licaria*, relatando a presença das seguintes classes de metabólitos secundários: lignoides, alcaloides, terpenos, sendo a classe metabólica mais estudada nesse gênero, as neolignanais. Trabalhos abordam a presença de neolignanais do tipo biciclo biciclo [3.2.1] octanoide, benzofuranoides, benzodioxano, diariltetrahidrofurano e  $\beta$ -ariloxiarilpropano (AIBA et al, 1973; AIBA et al. 1978; ALEGRIO et al. 1981; BARBOSA-FILHO et al. 1989; BARBOSA-FILHO et al 1987; BRAZ-FILHO et al. 1981; FRANCA; GOTTLIEB, 1974).

Para o gênero *Licaria* algumas atividades biológicas já foram relatadas como: atividade frente ao radical livre DPPH, acetilcolinesterásica (YAMAGUCHI,2012) e atividade citotóxica em linha de células tumorais (Alcântara, 2009) e inibição da DNA-topoisomerase (BEZERRA et al,2012). Poucos trabalhos relatados desse gênero apresentam um estudo da composição química com atividades biológicas.

Na literatura já foi relatado, isolamento de alcaloides axoporfínicos e de alcaloides isoquinolínicos no gênero *Licaria*, dentre estes alcaloides estão: bracteolina (1), O-metilbracteolina,  $\alpha$ -deidroreticulina (2), que podem ser observados na figura 1, estes alcaloides foram isolados da haste da casca de *Licaria arminiaca*, isolados pela primeira vez no gênero.



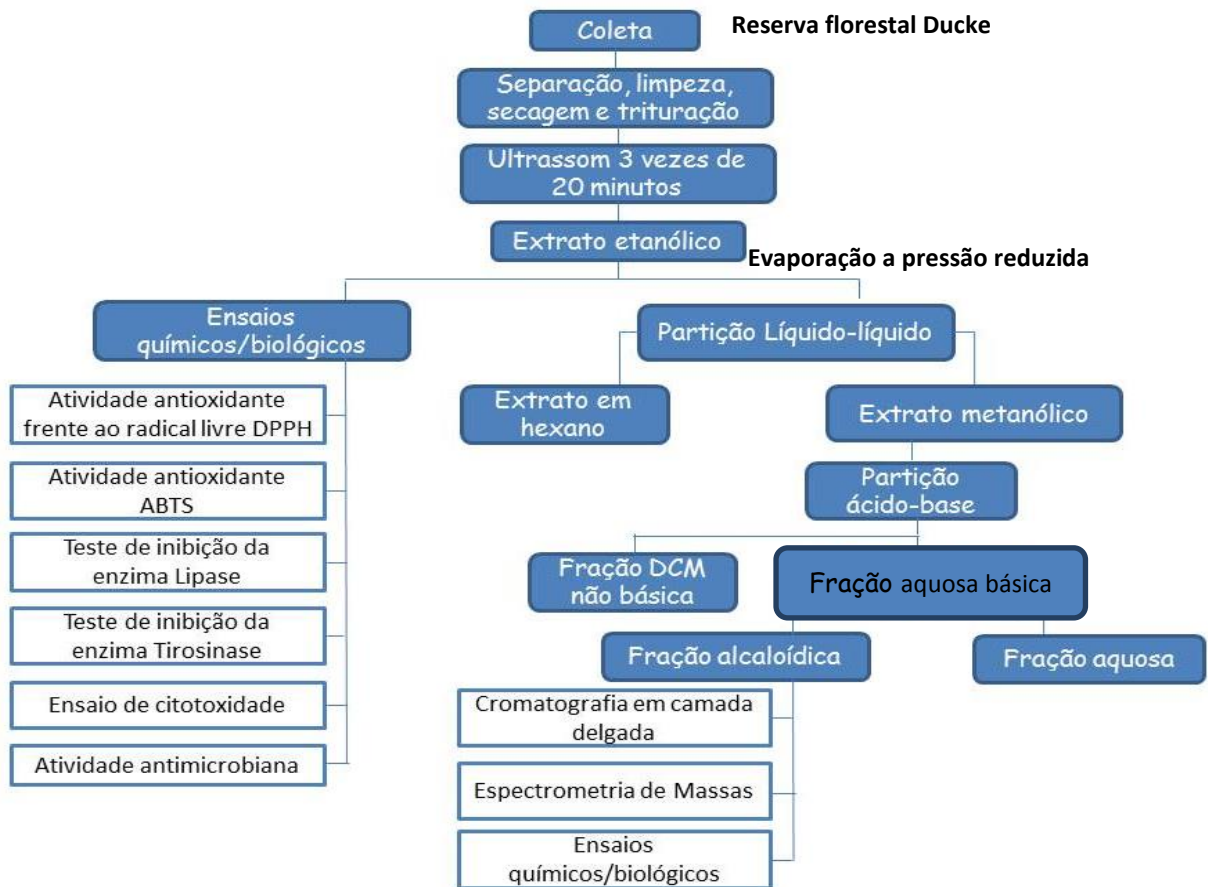
**Figura 1.** Alcaloides isolados em *Licaria*

Os alcaloides são compostos nitrogenados que apresentam em sua estrutura, além de carbonos e hidrogênio, ocasionalmente oxigênios (DEWICK, 2002; HENRIQUES *et al.* 2004). Este é o maior grupo de metabólitos secundários nitrogenados com mais de 15.000, sendo encontrados em 20% das espécies de plantas vasculares (TAIZ & ZEIGER, 2004).

Os alcaloides são constituídos de diversas classes, dentre essas destaca-se os isoquinolínicos, que possuem a maior quantidade de alcaloides em diversas famílias de plantas (TAIZ & ZEIGER, 2004). Dentre os isoquinolínicos destacam-se os aporfínicos, que representam um grupo grande ainda em expansão, com mais de 500 alcaloides isolados de mais de 90 gêneros de plantas e/ou sintetizados. Recebem destaque os alcaloides aporfínicos devido às pronunciadas bioatividades como antioxidante, antimicrobiana, anti-inflamatória (ZANIN & LORDELLO, 2007), citotóxica frente a células tumorais e entre outras atividades biológicas.



### 3. Métodos Utilizados



#### 3.1 - Análise da atividade antioxidante frente ao radical livre DPPH

A atividade antioxidante foi feita quantitativamente segundo Montenegro *et al.*(2006) e Soler-Rivas *et al.*(2000), e feita qualitativamente segundo Mensor (2001) com modificações.

#### 3.2 - Análise da atividade antioxidante frente ao radical livre ABTS

A atividade antioxidante foi feita segundo Re *et al* (1998), com modificações

#### 3.3 - Teste de inibição da enzima Lipase

O teste foi realizado segundo a metodologia Pereira *et al.* (2011), com modificações.

#### 3.4 - Teste de inibição da enzima Tirosinase

O teste foi realizado segundo a metodologia de Hearing (1987), com modificações.

#### 3.5 - Ensaio de citotoxicidade

Os ensaios de citotoxicidade serão realizados na Faculdade de Farmácia da UFAM, sob o acompanhamento do Dr. Emerson Lima e da Dra. Marne Vasconcelos.

#### 3.6 - Atividade antimicrobiana

Utilizou-se a técnica de difusão em ágar, utilizando como reservatório dos extratos: Técnica de difusão em poço e Técnica de difusão em disco. Os ensaios de atividade antimicrobiana foram realizados na FIOCRUZ-AM, que é o Instituto de referência em microbiologia médica.

## 4. Resultados e Discussão

### 4.1 Estudo fitoquímico de folhas e galhos de *Licaria cannella angustata*

Os extratos de etanólicos obtidos de folhas e galhos de *L. angustata*, apresentaram rendimentos de 4,86% e 3,00%, respectivamente.

A partir do extrato etanólico foi feita uma partição líquido-líquido (metanol:hexano), obtendo-se um extrato em hexano (A) e outro extrato metanólico. Posteriormente, fez-se uma partição alcaloídicas para a extração de alcaloides, obtendo por fim uma fração em DCM não básica (B) e uma fração rica em alcaloides (C). Os rendimentos das frações obtidas podem ser observados na tabela 1. Todo este processo foi realizado com folhas e galhos de *L. angustata*.

**Tabela 1.** Rendimento das partições alcaloídicas de folhas e galhos de *L. angustata*

Amostra	A	B	C
Folhas	2,92%	1,72%	2,14%
Galhos	14,28%	8,66%	1,81%

Em relação às frações C de folhas e galhos, pode-se observar na tabela 1 que o maior rendimento é de folhas, podendo assim sugerir a presença de mais alcaloides nas folhas de *L. angustata*. Destaca-se também um alto rendimento da fração hexânica de galhos, caracterizando uma grande quantidade de substâncias apolares nos galhos.

O teste de atividade antioxidante frente ao radical livre DPPH qualitativo foi realizado com os extratos de folhas e galhos, para guiar o biomonitoramento dos extratos etanólicos. No teste qualitativo de DPPH, verificou-se que o testes com os extratos de folhas e galhos apresentaram resultados positivos, assim como no trabalho de Yamaguchi et al. (2012). Para uma maior confiança nos dados, o teste de DPPH quantitativo foi realizado em triplicata, e utilizou-se também outro teste antioxidante em triplicata, utilizando o radical ABTS, para observar o comportamento do extrato com radicais diferentes. Estes resultados estão apresentados na tabela 2.

**Tabela 2.** Atividades quantitativa antioxidante ( $CE_{50} \pm DP$ ) dos extratos etanólicos e frações alcaloídicas.

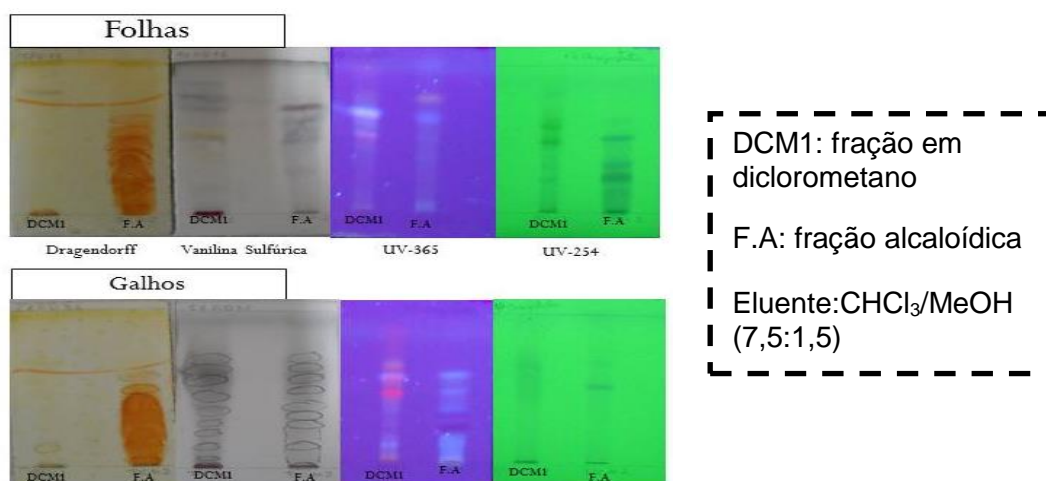
Amostra			DPPH ( $\mu\text{g/mL} \pm dp$ )	ABTS ( $\mu\text{g/mL} \pm dp$ )
<i>Licaria canella angustata</i>	Extratos	Folhas	47,05 $\pm$ 3,32	23,69 $\pm$ 4,60
		Galhos	55,92 $\pm$ 5,67	36,73 $\pm$ 3,56
	Frações alcaloídicas	Folhas	33,27 $\pm$ 5,82	37,37 $\pm$ 2,53
Padrão: Quercetina			5,84 $\pm$ 0,69	3,73 $\pm$ 0,09

Os resultados obtidos com o teste de sequestro do radical ABTS foram melhores, pois em folhas e galhos apresentaram valores mais próximos do padrão, destacando a melhor atividade do extrato de folhas tanto frente ao radical livre DPPH quanto para o radical livre ABTS ao comparar como o valor da concentração mínima do extrato de galhos.

Os testes de DPPH e ABTS apresentaram resultados próximo do padrão para a fração alcaloídica de folhas, mas para a fração alcaloídica de galhos não foi constatada atividade. Este fato pode estar associado à separação das substâncias na partição alcaloídica, pode-se dizer que não houve uma boa separação nesta partição. Testes enzimáticos realizados com as enzimas lipase e tirosinase realizados em triplicata não apresentaram resultado positivo nem para os extratos etanólicos nem para as frações alcaloídicas. A citotoxicidade e a atividade antimicrobiana estão sendo analisadas e os resultados serão apresentados na continuação do projeto.

As frações alcaloídicas e as frações de diclorometano não básica de folhas e galhos foram submetidas a análise por Cromatografia em Camada Delgada, apresentando um perfil rico em alcaloides nas frações alcaloídicas que pode ser observado na figura 3.

**Figura 3.** Perfil cromatográfico das frações em diclorometano e frações alcaloídicas



Pode-se observar a presença de alcaloides na fração alcaloídica e a inexistência de alcaloides na fração DCM1, destacando que a partição foi adequada. Em folhas e galhos pode-se observar na figura 3 na CCD revelada com vanilina sulfúrica, que na fração alcaloídica existem outras substâncias além de alcaloides. Na CCD revelada com Dragendorff de folhas e galhos é notória a semelhança de polaridade dos alcaloides, pois as manchas da fração alcaloídica são muito próximas e algumas destas apresentam-se no meio da placa, indicando uma polaridade média.

As frações alcaloídicas de folhas e galhos foram submetidas a análise por espectrometria de massas, para obter o perfil dos alcaloides, segundo dados na literatura.

Na tabela 3, pode se observar todos os íons correspondentes das frações alcaloídicas das espécies *L. angustata* e *L. martiniana* bem como a massa o M+1 observado, a intensidade desses íons, as sugestões dos possíveis alcaloides e a referência consultada.

**Tabela 3.** Substâncias correspondentes aos picos obtidos no espectro de massas.

Espécie	Órgão vegetal	Massa	M+1	Intensidade (%)	Alcalóide sugerido	Referência
<i>L. angustata</i>	Folhas	299	300	100	N-metilcoclaurina; 14-episiomenina; (-)-N-metilisococlaurina	Schmidt <i>et al.</i> , 2005; Vecchietti et al, 1977; Saidi et al,2011
		329	330	63	Reticulina; Ocobotrina;	Schmidt <i>et al.</i> , 2005; Vecchietti et al, 1977;
		193	194	38	Coripalina;	Wu & Huang, 2006
		396	397	24	Ocominarona	Vecchietti, 1979
	Galhos	326	327	42	Cassitina	Omar et al., 2010
		238	239	33	Deidrocentrina	Cava,1968; Cava & A. Venkateswarlu,1971
		281	282	24	Nornuciferina; Lirinidina	Torres <i>et al.</i> , 2007; Gilbert, 1964
		297	298	20	Zenquerina	Vilegas, 1989

Por meio da análise dos alcaloides sugeridos, pode-se observar que folhas e galhos de *L. angustata* possuem perfis diferentes em suas frações alcaloídicas. Destaca-se o íon  $m/z$  300, pois este foi o íon mais intenso, podendo corresponder a este pico os alcaloides, N-metilcoclaurina já isolado em *Aniba muca* (Schmidt *et al.*, 2005;), 14-episiomenina isolado de *O. brachybotra* (Vecchietti et al, 1977) e (-)-N-metilisococlaurina com relato isolamento em *Cryptocarya rugulosa*, a confirmação desse pico será feita por MS/MS com isolamento da substância será feito o RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ .

#### 4.2 Estudo fitoquímico de folhas e galhos de *Licaria martiniana*

Assim como para espécie discutida anteriormente, foi feito o teste qualitativo de DPPH para folhas e galhos de *L. martiniana*, e apresentaram resultados positivos assim como no trabalho de Yamaguchi et al. (2012) e o mesmo acontece em *L. angustata*. Os

testes de atividade antioxidante frente aos radicais livres DPPH quantitativo e ABTS, foram realizados com os extratos e frações alcaloídicas de folhas e galhos de *L. martiniana*. Os resultados dos testes podem ser observados na tabela 4.

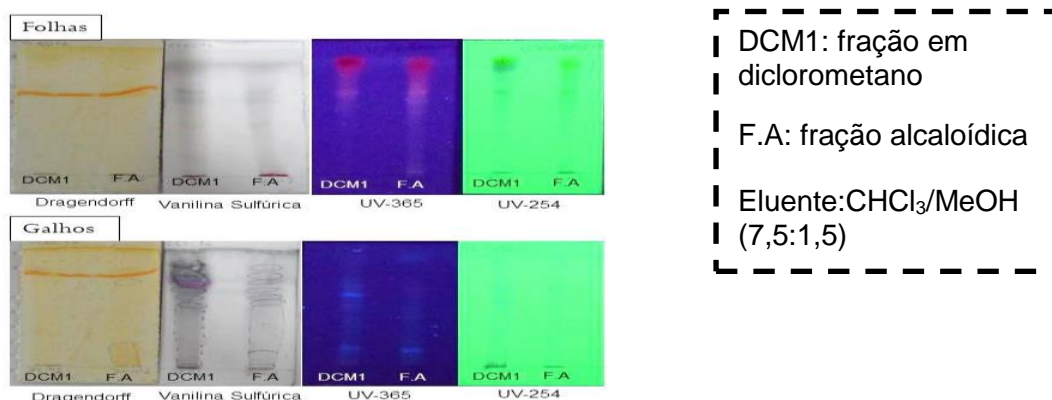
**Tabela 4.** Atividades quantitativas antioxidante ( $CE_{50} \pm DP$ ) dos extratos etanólicos e frações alcaloídicas.

Amostra		DPPH ( $\mu\text{g/mL} \pm dp$ )	ABTS ( $\mu\text{g/mL} \pm dp$ )
<i>L. martiniana</i>	Extratos	Folhas	47,63 $\pm$ 4,69
		Galhos	13,23 $\pm$ 1,64
	Frações alcaloídicas	Folhas	<50
Padrão: Quercetina		5,84 $\pm$ 0,69	3,73 $\pm$ 0,09

O extrato de galhos apresentou uma melhor atividade antioxidante para os dois radicais livres testados, os valores do  $CE_{50}$  ficaram bem próximos do padrão quercetina. No trabalho de Yamaguchi et al. (2012), o extrato de galhos de *L. martiniana* foi o que apresentou a melhor atividade antioxidante dentre as 20 espécies de Lauraceae em estudo. Quanto às frações alcaloídicas, somente a fração das folhas apresentou atividade antioxidante, podendo assim sugerir que a atividade antioxidante dos extratos de galhos não estar associada aos alcaloides encontrados na fração alcaloídica de galhos.

Os extratos etanólicos e frações alcaloídicas não apresentaram resultados positivos para os testes enzimáticos, com as enzimas tirosinase e lipase. As atividades de citotoxicidade e antimicrobiana com os extratos e frações estão sendo analisadas e os resultados serão apresentados na continuação do projeto. As frações alcaloídicas de folhas e galhos obtidas das partições alcaloídicas realizadas, foram submetidas à análise de cromatografia em camada delgada (CCD), como pode ser observado na figura 4.

**Figura 4.** Perfil cromatográfico



De acordo com o perfil cromatográfico das frações alcaloídicas de folhas e galhos, pode-se observar a presença de mancha característica de alcaloides somente na fração alcaloídica dos galhos. Na placa revelada com vanilina sulfúrica pode-se observar que estas frações apresentaram outras substâncias. As duas frações alcaloídicas foram também analisadas por espectrometria de massas e os resultados podem ser observados na tabela 5.

**Tabela 5.** Substâncias correspondentes aos picos obtidos no espectro de massas.

Espécie	Órgão vegetal	Massa	M+1	Intensidade (%)	Alcaloide sugerido	Referência
<i>L. martiniana</i>	Folhas	299	300	100	N-metilcoclaurina; 14-episiomenina; (-)-Nmetilisococlaurina	Schmidt <i>et al.</i> , 2005; Vecchiatti et al, 1977; Saidi et al,2011
		329	330	83	Reticulina; Ocobotrina;	Schmidt <i>et al.</i> , 2005; Vecchiatti et al, 1977;
		193	194	27	Coripalina	Wu & Huang, 2006
		396	397	24	Ocominarona	Vecchiatti, 1979
	Galhos	192	193	71	Escopoletina cumarina	GARCEZ, 2005
		313	34	42	Norboldina; (+)-6- metoxi-1-(3-metoxi- benzil)-N-meil-7- isoquinolinol; Arnepavina; Laureliptina;	Wu <i>et al.</i> , 2010; Saidi et al,2011; Johns, 1969; Yariwake Vilegas, 1989
		386	387	29	(+)-6S-ocoteine-N- oxide; Norleucoxilonina	Garcez et al., 2011; Vecchiatti, 1979

Com análise por espectrometria de massas, pode-se destacar que mesmo com uma baixa concentração de alcaloides na fração alcaloídicas das folhas, observou-se íons indicativos de alcaloides, podendo afirmar que a concentração da fração alcaloídica foi baixa, com isso não se observou machas indicativas de alcaloides.

O íon de maior intensidade na fração alcaloídica de folhas foi o mesmo encontrado na fração das folhas de *L. angustata*, este foi o íon *m/z* 300 que pode ser indicativo dos três alcaloides já citados anteriormente. O segundo íon de maior intensidade foi o *m/z* 330, podendo corresponder ao alcaloide benzilquinolínico reticulina, já relatado na família Lauraceae (SCHMIDT et al. 2005; DIAS et al. 2003). A confirmação das massas desses picos será feita por MS/MS, que é uma fragmentação dos picos, e com o isolamento da substância será feita a análise por RMN.

## 5. Conclusão

O teste qualitativo da atividade antioxidante frente ao radical livre DPPH, dos extratos etanólicos de folhas e galhos das duas espécies do presente estudo, apresentou resultados correspondente o relato da literatura. A partir do teste quantitativo de DPPH evidenciou-se um maior potencial antioxidante no extrato de galhos de *L. martiniana*, sendo este considerado mais ativo tanto frente ao radical livre DPPH quanto ao radical livre ABTS.

Apesar da atividade antioxidante de todos os extratos, as frações alcalóidicas exceto a fração de folhas de *L. angustata*, não apresentaram atividade antioxidante, podendo assim considerar que as atividades antioxidantes dos extratos não estão associadas aos alcaloides. Contudo, destaca-se o resultado do extrato de galhos de *L. martiniana* em que pode se sugerir uma atividade não associada a alcaloides, mas sim a outras substâncias ativas.

A partir da análise por espectrometria de massas observou-se que todas as frações das duas espécies apresentaram um perfil rico em alcaloides, apesar de que a fração das folhas de *L. angustata* não apresentou na CCD um indicativo de alcaloides. Esse resultado indica que alguns alcaloides que apresentaram maior intensidade como: N-metilcoclaurina, reticulina, cassitina e escopoletina, são mais suscetíveis ao isolamento.

Este estudo apresentou resultados promissores, e terá continuidade com o fracionamento dos extratos para o isolamento dos alcaloides encontrados em folhas e galhos de *L. angustata* e *L. martiniana*. Os alcaloides isolados serão submetidos a testes químicos e biológicos, como atividade citotóxica e antimicrobiana, tendo em vista que os alcaloides estão sendo considerados relevantes nos estudos de mecanismos de patologias como o câncer, por apresentarem potente atividade de inibição de linhagens de células tumorais já relatadas na literatura.

O presente estudo foi de suma importância para o enriquecimento do conhecimento na química de produtos naturais, pois este proporcionou um conhecimento das atividades antioxidante dos extratos etanólicos de folhas e galhos de *L. angustata* e *L. martiniana* e do perfil químico das frações alcalóidicas de folhas e galhos das duas espécies estudadas que não possuem relato de isolamento de alcaloides na literatura.

## 6. Referências Bibliográficas

- AIBA, C. J. *et al*, O. R. Natural occurrence of Erdtman's dehydrodiisoeugenol. *Phytochemistry*, v. 12, p. 1163-1164, 1973.
- AIBA, C. J. *et al*. Benzofuranoid neolignans from *Licaria armeniaca*. *Phytochemistry*, v. 1, p. 2038-2039, 1978.
- ALCÂNTARA, J. M. Bioprospecção de espécies amazônicas da família Lauraceae com potencial aromático e medicinal. Manaus, AM: UFAM, 139p, 2009.
- ALEGRIO, L. V. *et. al.*, Lignans and neolignans from *Licaria armeniaca*. *Phytochemistry*, v. 20, n. 8, p. 1963-1965, 1981.
- BARBOSA-FILHO, J. M. *et al*. Neolignans from the fruits of *Licaria armeniaca*. *Phytochemistry*, v. 26, n. 1, p. 319-321, 1987
- BARROSO, G. M. Sistemática de Angiosperma do Brasil. São Paulo: EDUSP. v. 1, Ed . 2, 2002.
- BATISTA, A. L. *et al.*, Aromatic compounds from three brazilian lauraceae species. *Química Nova*. São Paulo. v. 33, n. 2, p. 321-323, 2010.
- BRAZ FILHO, R.; Contribuição da fitoquímica para o desenvolvimento de um país emergente. *Química Nova*, Vol. 33, No. 01, Pp. 229-239, 2010.
- BRAZ-FILHO *et al*. Neolignans from *Licaria rigida*. *Phytochemistry*, v. 20, n. 8, p. 2049-2050, 1981
- CORDELL, G. A. *et al*. The potential of alkaloids in drug discovery. *Phytotherapy Research*, v. 15, n. 3, p. 183-205, 2001.
- COSTA, P R R. Sassafról e eugenol: estudo da reatividade química e uso em síntese de produtos naturais biológicos ativamente. *Química Nova*. São Paulo v. 23, n. 357-369, 2002.
- COUTINHO, *et al*. Morfo-anatomia foliar de *Ocotea gardneri* (Meisn.) Mez (Lauraceae-Lauroideae). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, p. 178-184, 2006.



COY-BARRERA, Ericsson D. Et al., PAF-antagonistic bicyclo[3.2.1]octanoid neolignans from leaves of *Ocotea macrophylla* Kunth. (Lauraceae). *Phytochemistry*. v. 70, p. 1309–1314, 2009.

CUSTÓDIO, Dayana Lacerda; VEIGA, Vaidir Florêncio. Lauraceae alkaloids. *Royal Society of Chemistry*. v. 4 , n. 21864–21890, 2014

DEWICK, P. M. *Medicinal natural product: a biosynthetic approach*. 2º edição, John Wiley & Sons, 2002.

DIAS, C.S *et al.* Isolamento e identificação de novos alcalóides de *Ocotea duckei* Vattimo (Lauraceae). *Ver. Bras. Farmacognosia*, vol. 13, p. 62-63, 2003.

FRANCA. N. C.; GOTTLIEB, O. R. Macrophyllin, a neolignan from *Licaria macrophylla*. *Phytochemistry*, v. 13, p. 2839-2842, 1974.

FUNASAKI, Mariko *et al.*, Neolignans and Sesquiterpenes from Leaves and Embryogenic Cultures of *Ocotea catharinensis* (Lauraceae). *Journal of the Brazilian Chemical Society*. v. 20, n. 5, p. 853-859, 2009.

GARCEZ, Fernanda R., *et al* Cytotoxic aporphine alkaloids from *Ocotea acutifolia*. *Planta Médica*, vol. 77, p. 383-387, 2011.

GARCEZ, W. D., *et al.* Indole alkaloid and other constituents from *Ocotea minarum*. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. v. 16, n. 6B, p. 1382-1386, 2005.

GOTTLIEB, O. R.; YOSHIDA, M. Lignóides, com atenção especial à química das neolignanas. *Química Nova*, v.7, p. 250-273, 1984.

HENRIQUES, A. T.; Limberger, R. P.; Kerber, V. A.; Moreno, P.R.H. Alcalóides: Generalidades e aspectos básicos. In In: C.M.O. Simões *et al.* (eds.). *Farmacognosia da planta ao medicamento*. Universidade UFRGS/ Ed. da UFSC, Porto Alegre, capítulo 29, Florianópolis, 2004.

MARQUES, C. A. Importância Econômica da Família Lauraceae. *Floresta e Ambiente*, Universidade Federal de Viçosa, vol. 8, n. 1, p. 195-206, 2001.

MENSOR, L. L. Screening of brazilian plant extract for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. *Phytotherapy Research*. v. 16, p. 127, 2001.

MONTENEGRO, L. H. M., et al. Terpenoids and evaluation of the antimalarial, larvicidal, antiradical and anticholinesterase potential of *Pouteria venosa* (Sapotaceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia*. n. 16, p. 611-617. 2006

OMAR, Hanita., et al. Aporphine alkaloids from the leaves of *Phoebe grandis* (Nees) Mer. (Lauraceae) and their cytotoxic and antibacterial activities. *Molecules*, v. 18, p. 8994-9009, 2013.

PIETROVSKI, E. F. Avaliação da atividade antinociceptiva do extrato etanólico e de princípios ativos das flores de *Combretum leprosum* Mart. Curitiba. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) – Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2004.

PINTO, A. C., et al. Produtos Naturais: Atualidade, desafios e perspectivas. *Química Nova*. v. 25, n. 01, p. 45-61, 2002.

QUINET, A.; ANDREATA, R. H. P. Lauraceae *Jussieu* na Reserva Ecológica de Macaé de Cima, município de Nova Friburgo. *Rodriguésia*, v. 5, n. 82, p. 59-121, 2002.

RE, R. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS+ radical cation decolorization assay. *Free Radicals in Biology and Medicine*, v. 26, n. 09- 10, p. 1231–1237, 1998.

RIBEIRO, J. E. L. S. et al. Flora da Reserva Ducke: guia de identificação das plantas vasculares de uma floresta de terra-firme na Amazônia Central. Manaus: INPA, p. 816, 1999.

ROHWER, J.G. Lauraceae. In: Kubitzki, K.; Rohwer, J.G. & Bittrich, V. (Eds.). *The families and genera of vascular plants*. Springer-Verlag, Berlin, v. 2, p. 366-391, 1993.

Saidi N.; Hadi A. H. A.; Awang K. & Mukhtar M. R. *Indonesian Journal of Chemistry*, 9, 461–465, 2009

SHEPHERD, G.J. *Conhecimento de Diversidade de Plantas Terrestres do Brasil*. Ed. Unicamp: São Paulo, p. 19, 2000.

SCHMIDT, J. et al. Analyses of benzyloquinoline-type alkaloids by electrospray tandem mass spectrometry and atmospheric pressure photoionization. *Eur. J. Mass Spectrom*, v. 11, p. 325-333, 2005.

SOUZA, Vinícius C. Botânica Sistemática: Guia Ilustrado para identificação das famílias de fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG II. 2 ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, p. 85, 2008.

TAIZ, Lincoln & ZEIGER, Eduardo. Fisiologia Vegetal. 3 ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.

TORRES, Omar; *et al* Obtención de alcaloides a partir de corteza y madera de la especie *Rollinia pittieri* (Annonaceae). Scientia et Technica Año XIII, n. 33, 2007.

VECCHIETTI, V.; CASAGRANDE, C. & Ferrari, G. Farmaco,32, 767–769,1977.

VECCHIETTI, V. *et al* Farmaco, 34, 829 -840, 1979,

ZANIN, Sandra Maria Warumby. Alcalóides aporfinóides do gênero *Ocotea* (LAURACEAE). Quim. Nova, vol. 30, n. 1, p. 92-98, 2007

YAMAGUCHI, Klenicy Kazumy., *et al* Investigação do potencial antioxidante e anticolinesterásico de 20 espécies da família Lauraceae. Acta Amazonica, vol. 42, p. 541-546, 2012

WU, W.; HUANG, C.; Sctructural Elucidation of Isoquinoline, Isoquinolone, Benzylisoquinoline, Aporphine, and Phenanthrene Alkaloids using API-ionspray Tandem Mass Sprectrometry. The Chinese Pharmaceutical Journal, v. 58, p. 51-55, 2006.

## 7. Cronograma de Atividades

Nº	Descrição	Ago 2012	Set	Out	Nov	Dez	Jan 2013	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul
1	Pesquisa bibliográfica	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
2	Coleta do material vegetal	X											
3	Obtenção dos extratos	X	X	X	X								
4	Partições ácido-base					X	X	X	X	X	X		
5	Fracionamento dos extratos								X	X	X	X	
6	Refracionamento												
7	Purificação das substâncias												
8	Análise por espectrômetro de massas das frações								X	X	X	X	
9	Ensaio de atividade citotóxica e testes antioxidantes										X	X	X
10	Apresentação de relatório Parcial					X							
11	Elaboração do Resumo e Relatório Final												X
12	Preparação da Apresentação Final para o Congresso												X