Terpenóides e avaliação do potencial antimalárico, larvicida, anti-radicalar e anticolinesterásico de *Pouteria venosa* (Sapotaceae)

Livya Holanda M. Montenegro¹, Patrícia Emanuella S. Oliveira¹, Lucia M. Conserva^{1*}, Eliana Maria M. Rocha², Ana Cristina Brito², Renata M. Araújo³, Maria Teresa S. Trevisan³, Rosângela P. Lyra Lemos⁴

¹Instituto de Química e Biotecnologia, Universidade Federal de Alagoas, 57072-970, Maceió, AL, Brasil,

²Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de Alagoas, 57010-020, Maceió, AL, Brasil,

³Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Universidade Federal do Ceará, 60021-970, Fortaleza, CE, Brasil,

⁴Instituto do Meio Ambiente do Estado de Alagoas, 57017-320, Maceió-AL, Brasil

RESUMO: O presente trabalho descreve o isolamento de quatro triterpenos (taraxerol, ácido ursólico, ácido 3 β ,19 α ,23-triidroxiurs-12-en-28-óico e ácido 2 α ,3 α ,19 α ,23-tetraidroxiurs-12-en-28-óico) e um fitoesteróide (espinasterol), bem como a avaliação do potencial antimalárico (cepa NK-65 do *Plasmodium berghei*), larvicida (larvas do 4º instar do *Aedes aegypti*), anti-radicalar (2,2-difenil-1-picril-hidrazila, DPPH) e anticolinesterásico de extratos das folhas, cascas do caule e caule de *Pouteria venosa* (Mart.) Baehni. Todos os compostos isolados estão sendo descritos pela primeira vez nesta espécie e foram identificados com base na análise de dados espectrais (IV e RMN, incluindo APT e DEPT), bem como pela comparação com dados descritos na literatura.

Unitermos: *Pouteria venosa*, terpenóides, anticolinesterase, anti-radicalar, malária, larvicida.

ABSTRACT: "Terpenoids and evaluation of the antimalarial, larvicidal, anti-radicalar and anticholinesterase potential of *Pouteria venosa* (Sapotaceae)". This work describes the isolation of four triterpenes (taraxerol, ursolic acid, 3 β ,19 α ,23-trihydroxyurs-12-en-28-oic acid and 2 α ,3 α ,19 α ,23-tetrahydroxyurs-12-en-28-oic acid) and a phytosteroid (spinasterol), as well as a preliminary evaluation of antimalarial (NK-65 strains of *Plasmodium berghei*), larvicidal (4th instar of *Aedes aegypti*), anti-radicalar (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, DPPH) and anticholinesterase activities of *Pouteria venosa* (Mart.) Baehni extracts from leaves, stem barks and stems. All isolated compounds are being described for the first time in this species and were identified on basis of the spectral data (IR and NMR, including APT, DEPT), as well as by comparison with literature data

Keywords: *Pouteria venosa*, terpenoids, anticholinesterase, anti-radicalar, malaria, larvicidal.

INTRODUÇÃO

A família Sapotaceae compreende cerca de 50 gêneros e 800 espécies distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais, sendo que 12 deles, com cerca de 103 espécies, são encontrados no Brasil (Barroso, 1978; Joly, 1998). Algumas das espécies apresentam importância econômica, pois fornece o látex usado na produção de goma comercial, madeira de qualidade, matéria-prima para especiarias e frutos comestíveis (Pennington, 1990), além de serem utilizadas na medicina popular para os mais variados fins, tais como malária (Bhat et al., 1990), hanseníase (Nwude; Ebong, 1980), febres e resfriados (Gill; Akinwumi, 1986), inflamação ovariana e diabetes (Desmarchelier et al., 1999; Pereira et al., 2004). A literatura reporta para algumas espécies

atividades antibacteriana (Kudi et al., 1999; Ogunwande et al., 2001), antifúngica (Ogunwande et al., 2001), antiviral (Khurana, 1972), antitumoral (Suffness et al., 1988), analgésica (Almeida et al., 1985; Pal; Nandy, 1999), tripanosomicida (Muelas-Serrano et al., 2000), antipirética e antiinflamatória (Pal; Nandy, 1999; Falcão et al., 2005), antiespasmolítica, anticonvulsivante, depressora do SNC e anti-hiperglicêmica (Almeida et al., 1985; Naik et al., 1991; Barbosa-Filho et al., 2005), entre outras.

Os estudos fitoquímicos efetuados com espécies de Sapotaceae têm revelado, entre outros, a ocorrência de alcalóides (Ata; Fejir, 1975; Yang, et al., 1999), flavonóides (Mathew; Lakshminayana, 1969; Maranz et al., 2003), terpenóides (Montenegro, 2005), benzenóides (Dixit; Srivastava, 1990) e fenilpropanóides

(Wong; Teng, 1994).

Recentemente foi isolado das folhas de *Pouteria torta* (Mart.) Radlk, uma árvore do Cerrado brasileiro, o triterpeno acetato de lupeol. Também foi verificado que o extrato aquoso e a fração MeCN:CHCl₃ desta mesma planta mostraram atividade citotóxica para *Artemia salina* na concentração de 0,28 mg/mL e 0,27 mg/mL, respectivamente (Perfeito et al., 2005). A espécie *Pouteria venosa* (Mart.) Baehni [sinonímia: *P. marginata* (Mart & Eicher) Rizzini], conhecida como “tuturubá ou leiteiro”, é uma árvore abundante em áreas de mata atlântica e restinga do estado de Alagoas. Até o presente, a literatura não relata qualquer estudo químico ou biológico para esta espécie.

MATERIAIS E MÉTODOS

Métodos gerais

As cromatografias em coluna foram efetuadas em gel de sílica (70-230 e 230-400 mesh, Merck) e em Sephadex LH-20 (Pharmacia). Os espectros IV foram registrados em pastilhas de KBr utilizando espectrofotômetro Perkin-Elmer, FT-IR 1750. Os espectros de RMN (¹H: 200, 300 e 500 MHz; ¹³C: 50, 75 e 125 MHz) foram obtidos em espectrômetros Varian Mercury-200, Varian Gemini-300 e DRX-500, respectivamente. O sinal residual do solvente ou o TMS foram utilizados como referência interna.

Material vegetal

As folhas, cascas do caule e caule de um espécime de *Pouteria venosa* (Mart.) Baehni foram coletados em novembro de 1999, na Área de Proteção Ambiental de Santa Rita (Mucuri), município de Marechal Deodoro, Alagoas, Brasil. A identificação botânica da espécie foi efetuada por Rosângela Pereira de Lyra Lemos do Departamento de Botânica do Instituto do Meio Ambiente do Estado de Alagoas, onde uma exsiccata foi depositada (MAC 10.798).

Extração e isolamento dos constituintes químicos

As folhas (800 g), cascas do caule (940 g) e caule (1460 g), após secagem a temperatura ambiente e moagem, foram individualmente macerados com etanol 90%. Após remoção do solvente em evaporador rotatório, os extratos brutos obtidos [folhas (80,6 g), cascas do caule (37,5 g) e caule (72,6 g)] foram suspensos em solução de MeOH-H₂O (3:2) e extraídos sucessivamente com C₆H₁₄, CHCl₃ ou CH₂Cl₂ e AcOEt; enquanto que o extrato do caule foi filtrado em gel de sílica com C₆H₁₄-AcOEt 1:1 (6,8 g), AcOEt (3,9 g) e MeOH (60,3 g). Estes extratos, bem como as respectivas frações oriundas da partição e filtração, foram submetidos a ensaios para avaliação do potencial antimalárico (cepa NK 65 do *Plasmodium*

berghei), larvicida (larvas do 4º instar do *Aedes aegypti*), anti-radicalar e anticolinesterásico.

A fração em CHCl₃ (20 g), proveniente das folhas, foi fracionada em gel de sílica com misturas de C₆H₁₄-AcOEt em gradiente crescente de polaridade. As subfrações obtidas, após análise comparativa através de CCD, utilizando diferentes sistemas de eluentes, foram agrupadas. O material das subfrações 23-33 (0,6 g) após permeação em gel (Sephadex LH-20 com MeOH) e sucessivas cristalizações com MeOH forneceu o espinasterol (**1**, 28 mg). Os materiais das subfrações 81-93 (0,6 g) e 94-118 (1,5 g) foram cromatografados em gel de sílica (230-400 mesh, em misturas de C₆H₁₄-AcOEt em gradiente crescente de polaridade) resultando na purificação do ácido ursólico (**2**, 15 mg).

A fração em CH₂Cl₂ (3,6 g), oriunda das cascas do caule, foi fracionada em gel de sílica (70-230 mesh), utilizando-se misturas de hexano-AcOEt em gradiente crescente de polaridade. As subfrações resultantes, após análise comparativa através de CCD foram reunidas. O material das subfrações 13-19 (1,2 g) foi submetido a sucessivas lavagens a temperatura ambiente com hexano, seguida de permeação em gel (Sephadex LH-20) com MeOH conduzindo a purificação de quantidade adicional de **1** (22 mg) e do taraxerol (**3**, 20 mg).

A fração em C₆H₁₄-AcOEt 1:1 (6,8 g), proveniente da filtração do extrato em EtOH do caule, após sucessivas lavagens a temperatura ambiente com MeOH e permeação em gel (Sephadex LH-20) com MeOH forneceu 29 mg de uma mistura constituída pelos triterpenos **4** (ácido 3β,19α,23-triidroxiurs-12-en-28-óico) e **5** (ácido 2α,3α,19α,23-tetraidroxiurs-12-en-28-óico).

Avaliação da atividade antimalárica

A avaliação *in vivo* do potencial antimalárico foi efetuada utilizando-se camundongos albinos (*Mus musculus*), pesando entre 16-20 g cada, criados no Biotério Setorial do Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de Alagoas. O ensaio foi realizado através do teste supressivo descrito por Peters (1980), no qual os animais foram infectados, por via intraperitoneal, com cepa NK-65 do *P. berghei* (10⁶ hemácias parasitadas/animal). Os extratos das folhas (EtOH, C₆H₁₄, CHCl₃, AcOEt e MeOH-H₂O) e das cascas do caule (CH₂Cl₂) foram administrados, por via oral, nas doses de 250, 500 e 1000 mg/Kg, durante quatro dias consecutivos. A atividade antimalárica foi determinada pela percentagem da redução da parasitemia dos grupos tratados quando comparados com o grupo controle (não tratados). A supressão da parasitemia entre os grupos foi analisada pelo teste *t-Student* e considerado estatisticamente significativo para p<0,05. Difosfato de cloroquina (50 mg/Kg) foi usado como controle positivo.

2 R = β -OH, R¹ = R² = R³ = R⁴ = H

4 R = β -OH, R¹ = R⁴ = H, R² = R³ = OH

5 R = R¹ = α -OH, R² = R³ = OH, R⁴ = H

6 R = β -OH, R¹ = R² = R⁴ = H, R³ = OH

7 R = β -OH, R¹ = H, R² = R³ = OH, R⁴ = Me

Avaliação preliminar da atividade larvicida

Os ensaios larvicidas foram efetuados de acordo com as recomendações da WHO (1975) com algumas modificações. Larvas de mosquitos *Aedes aegypti*, obtidas a partir de ovos cedidos pelo Centro de Pesquisa Aggeu Magalhães (FIOCRUZ/PE), foram criadas e mantidas no Insetário do Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de Alagoas, a uma temperatura média de 27 ± 4 °C e umidade relativa do ar de $80 \pm 4\%$, com fotoperíodo de cerca de 12 horas. Os experimentos foram realizados em triplicata, na concentração de 250 ppm, com extratos das folhas (acetona, EtOH, CHCl₃, AcOEt e MeOH-H₂O), cascas do caule (CH₂Cl₂ e AcOEt) e caule (EtOH e frações oriundas da filtração em gel de sílica: C₆H₁₄-AcOEt 1:1, AcOEt e MeOH). Grupos contendo 20 larvas no 4º instar foram colocados em contato com os extratos dissolvidos em solução aquosa de DMSO a 1% (100 mL). Para o controle utilizou-se a solução aquosa de DMSO a 1%. A mortalidade foi determinada após exposição das larvas durante 48 horas. O nível de atividade dos extratos testados foi estabelecido com base no percentual médio de mortalidade das larvas [$> 75\%$ (resultado promissor), > 50 e $< 75\%$ (parcialmente promissor), $> 25\%$ e $< 50\%$ (fracamente promissor) e $< 25\%$ (inativo)].

Avaliação do potencial anti-radicalar

Aliquotas de cada extrato ou de cada fração oriunda das partições [folhas: acetona, EtOH, C₆H₁₄, CHCl₃, AcOEt e MeOH-H₂O]; cascas do caule (CH₂Cl₂, AcOEt e MeOH-H₂O) e caule (EtOH, C₆H₁₄-AcOEt 1:1, AcOEt e MeOH)] foram aplicadas em cromatoplasas e eluídas em sistemas de solventes adequados. Após

eliminação do solvente a temperatura ambiente, as cromatoplasas (gel de sílica, Merck) foram submersas, durante 10 segundos, em solução metanólica do radical DPPH a 0,4 mM. Após secagem dos cromatogramas a temperatura ambiente, o aparecimento de manchas esbranquiçadas sob um fundo violeta sugeriu a atividade anti-radicalar (Soler-Rivas et al., 2000). Nestes experimentos, os padrões positivos utilizados foram o galato de (-)-*epi*-galocatequina e a (+)-catequina (Sigma).

Avaliação preliminar da atividade anticolinesterásica

A avaliação qualitativa da atividade inibidora da enzima acetilcolinesterase foi efetuada de acordo com o ensaio enzimático descrito por Ellman et al. (1961) e modificado por Rhee et al. (2001). Os extratos brutos e frações oriundas das partições [folhas: acetona, EtOH, C₆H₁₄, CHCl₃, AcOEt e MeOH-H₂O]; cascas do caule (CH₂Cl₂, AcOEt e MeOH-H₂O) e caule (EtOH, C₆H₁₄-AcOEt 1:1, AcOEt e MeOH)] foram preparados (6 mg/mL) pela dissolução em solventes adequados e aplicados (2,0 μ L) em cromatoplasas (gel de sílica, Merck). Após eliminação do solvente, as cromatoplasas foram borrifadas com solução aquosa 1 mM de iodeto de acetiltiocolina (substrato) e com o Reagente de Ellman [1 mM do ácido 5,5'-ditiobis-(2-nitrobenzóico em solução tampão 50 mM de Tris/HCl, pH 8,0)]. Após 5 minutos, as cromatoplasas foram borrifadas com a solução contendo a enzima acetilcolinesterase (5 U/mL dissolvida em solução tampão 50 mM de Tris/HCl pH = 8,0 contendo 0,1% de albumina sérica bovina). A inibição da atividade enzimática foi sugerida pelo surgimento de manchas esbranquiçadas sob um fundo amarelado (Trevisan et al., 2003). Nestes experimentos, a cafeína (Acros Organics) dissolvida em clorofórmio (3 mg/mL) foi utilizada como

Tabela 1. Dados de RMN ^{13}C dos compostos **2**, **4** e **5** e comparação com dados da literatura do ácido miriântico (Wandji et al., 2003) e dos modelos **6** (Taketa et al., 2004) e **7** (Mahatu; Kundu, 1994)].

Carbonos	2 ^a	4 ^b	6 ^a	7 ^c	5 ^b	Ácido miriântico ^c
1	39,4	39,4	39,1	38,9	42,7	42,4
2	28,5	27,1	27,8	27,7	66,3	65,8
3	78,5	72,7	73,5	73,7	78,9	77,0
4	39,8	43,6	43,1	42,9	43,6	44,4
5	56,2	47,8	48,7	48,8	47,8	47,9
6	19,2	18,5	18,7	18,9	18,5	18,6
7	33,9	33,2	33,4	33,4	33,2	33,4
8	40,3	40,5	40,1	40,4	40,5	40,8
9	48,4	48,3	48,2	47,9	47,8	47,7
10	37,7	38,4	37,3	37,3	38,9	38,7
11	24,0	24,7	23,8	24,1	24,1	24,3
12	126,0	127,9	125,8	128,1	127,9	127,8
13	139,7	139,9	139,5	140,0	139,9	139,7
14	42,9	42,4	42,7	42,2	42,4	42,3
15	29,1	29,6	28,9	29,4	29,3	29,1
16	25,3	26,4	25,1	26,5	26,4	26,2
17	48,4	48,3	48,2	48,3	48,3	48,0
18	53,9	54,6	53,7	54,7	54,6	54,2
19	39,9	72,6	39,6	72,7	71,2	72,7
20	39,8	42,2	39,6	42,4	42,2	42,2
21	31,4	26,9	31,2	27,0	26,9	27,0
22	37,8	38,4	37,6	38,5	38,4	38,2
23	29,2	69,7	68,0	68,2	69,2	70,2
24	16,0	14,3	13,3	13,1	17,0	17,5
25	16,9	16,8	16,3	17,3	17,3	17,7
26	17,9	17,7	17,7	16,8	17,7	17,8
27	24,3	24,7	24,1	24,9	24,7	25,1
28	180,3	180,6	180,2	180,7	180,6	180,0
29	17,8	27,1	27,7	27,2	27,1	27,4
30	21,89	22,9	21,6	16,0	16,8	17,3

^a (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$), ^b (75 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$), ^c (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).

padrão positivo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As estruturas do espinasterol (**1**) (Goad, 1991), do ácido ursólico (**2**) (Connolly; Hill, 1991; Mahatu; Kundu, 1994; Frighetto et al. 2005) e do taraxerol (**3**) (Olea; Roque, 1990; Mahatu; Kundu, 1994) foram identificadas através da comparação dos dados espectrais obtidos com os da literatura.

As substâncias **4** e **5** foram obtidas em mistura e identificadas como sendo triterpenos pentacíclicos da série ursano com base na análise dos dados obtidos dos espectros na região IV, RMN ^1H , RMN ^{13}C , incluindo DEPT 135, bem como pela comparação com dados de compostos descritos na literatura (Tabela 1). Embora essas substâncias tenham sido obtidas em mistura, os dados de RMN de ambas, especialmente os referentes aos anéis A

e B, foram discerníveis visto que forneceram sinais com diferentes intensidades, permitindo definir a substância **4** como sendo o componente majoritário. O espectro de absorção na região IV, obtido em KBr, revelou bandas de absorção indicativas da presença de grupos hidroxilas de álcool (3432 e 1042 cm^{-1}) e de ácido carboxílico (3100-2500 e 1706 cm^{-1}), além de bandas para grupos alquilas saturados (2931, 1462 e 1384 cm^{-1}). Os dados obtidos do espectro de RMN ^1H , registrados em $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, permitiram identificar sinais, cujos valores de deslocamentos químicos estão condizentes com a presença de uma ligação dupla [**4+5**: δ 5,53 (sl)], hidrogênios carbinólicos [**4+5**: δ 3,49 (m, H-3), δ 3,62 e δ 4,19 (m, H-23); **5**: δ 3,79 (m, H-2)], além de um sinal atribuído ao H-18 [**4+5**: δ 3,07 (sl)] e sinais para vários grupos metílicos (**4+5**: δ 0,69 a δ 1,42).

A análise dos dados obtidos dos espectros de

RMN ^{13}C e DEPT 135 da mistura permitiu reconhecer a natureza de um total de 43 sinais de átomos de carbonos (10 não hidrogenados, 08 monoidrogenados, 16 diidrogenados e 09 triidrogenados). Dentre os quais, atenção especial foi dada aos sinais cujos valores de deslocamentos químicos [4+5: δ 127,9 (CH, C-12) e δ 139,9 (C, C-13)], sugeriram esqueletos do tipo ursano (Olea; Roque, 1990; Mahato; Kundu, 1994). Adicionalmente, observou-se um sinal intenso para carbonos carboxílicos [4+5: δ 180,6 (C)], bem como vários sinais com diferentes intensidades para carbonos sp^3 oxigenados [4: δ 72,7 (CH), 72,6 (C) e 69,7 (CH₂); 5: δ 78,9 e 66,3 (CH), 71,22 (C) e 69,2 (CH₂)] (Tabela 1). A ausência de sinais com deslocamentos químicos característicos de carbonos anoméricos eliminou a possibilidade de existência de triterpenos glicosilados, permitindo sugerir estruturas de triterpenos pentacíclicos oxigenados. O sinal no espectro de RMN ^1H em δ 3,07 (sl, H-18) sugeriu para ambos a presença de um grupo hidroxila em C-19 (Taketa et al., 2004), cuja configuração *alfa* foi confirmada com base no efeito γ -gauche observado para o C-21 (4+5: δ 26,9), o qual foi protegido por cerca de 4,50 ppm quando comparado com o correspondente de 2 (δ 31,4). O deslocamento químico do C-5 (4+5: δ 47,8), bem como do C-24 (4: δ 14,3; 5: δ 17,0), quando comparados com os correspondentes de 2 [δ 56,2 (C-5) e δ 16,0 (C-24)], possibilitou localizar um grupo hidroxila em C-23. Geralmente, quando o grupo hidroxila está ligado ao C-23 o grupo metila em C-24 absorve em torno de δ_{C} 12,8–13,8. Por outro lado, quando o grupo hidroxila está ligado ao C-24 o grupo metila em C-23 absorve em torno de δ_{C} 23,5 (Wandji et al., 2003). O valor do deslocamento químico atribuído ao C-24 (δ 17,0) no composto 5, sugeriu a configuração *alfa* para o grupo hidroxila em C-3. Quando este grupo possui uma configuração *beta* o C-24 é mais protegido (δ_{C} 13,1–15,5) (Mahato; Kundu, 1994).

A análise conjunta dos dados espectrais obtidos e comparação com dados de compostos modelos [6 (Taketa et al., 2004) e 7 (Mahato; Kundu, 1994)] ou com os dos correspondentes descritos na literatura [ácido miriântico (5, Wandji et al., 2003)] permitiram propor para 4 e 5 as estruturas dos ácidos 3 β ,19 α ,23-triidroxiurs-12-en-28-óico (ácido 19 α ,23-diidroxiursólico) e 2 α ,3 α ,19 α ,23-tetraidroxiurs-12-en-28-óico (ácido miriântico), respectivamente.

Dentre as amostras submetidas a ensaios antimaláricos *in vivo*, somente o extrato em EtOH (46,7 e 41,7%) das folhas e a fração hidroalcóolica (37,6 e 34,7%) oriunda deste através de partição reduziram a parasitemia induzida pelo *P. berghei* nas doses de 250 e 500 mg/kg, respectivamente. Estes dados foram considerados estatisticamente significativos ($p < 0,05$) em relação à inibição do crescimento do parasito pela cloroquina (controle positivo).

Dentre os extratos e frações que foram submetidos a ensaios frente a larvas do 4º instar do *Aedes aegypti*, na concentração de 250 ppm, resultado

promissor foi obtido somente com a fração em C₆H₁₄-AcOEt 1:1 (100% de mortalidade em 24 h), oriunda da filtração em gel de sílica do extrato em EtOH do caule, o qual foi inativo nos ensaios (mortalidade < 25%). Neste caso, a atividade larvicida observada pode ser justificada pelo fato da substância potencialmente ativa está mais concentrada na fração ou em decorrência de um provável efeito antagonístico causado pelas substâncias presentes no extrato bruto (Oliveira, 2003).

Nos ensaios para detecção do potencial anti-radicalar, o extrato bruto em EtOH, a fração em C₆H₁₄-AcOEt (1:1) do caule e as frações em AcOEt e MeOH-H₂O provenientes das partições dos extratos das folhas, cascas do caule e caule forneceram resultados positivos quando comparados com o padrão utilizado [(+)-catequina], enquanto que os extratos em acetona, EtOH, C₆H₁₄ e CHCl₃ das folhas e em CH₂Cl₂ das cascas do caule sugeriram uma discreta atividade. As substâncias isoladas [espinasterol (1), ácido ursólico (2) e taraxerol (3)] foram inativas.

Nos ensaios qualitativos anticolinesterásicos, quando comparados com a cafeína, (padrão), a inibição da enzima acetilcolinesterase foi observada somente para as frações em AcOEt das folhas e em MeOH-H₂O do caule.

CONCLUSÃO

O estudo químico de alguns dos extratos, oriundos das folhas (CHCl₃), cascas do caule (CH₂Cl₂) e caule (C₆H₁₄-AcOEt 1:1) de *P. venosa*, com resultados preliminares positivos nos ensaios larvicidas e/ou anti-radicalar, resultou no isolamento de cinco substâncias (taraxerol, ácido ursólico, ácido 3 β ,19 α ,23-triidroxiurs-12-en-28-óico, ácido 2 α ,3 α ,19 α ,23-tetraidroxiurs-12-en-28-óico e espinasterol) inéditas para a espécie. Destas, três foram inativas frente ao radical DPPH (espinasterol, ácido ursólico e taraxerol). Os demais extratos que apresentaram resultados preliminares positivos necessitam de ensaios complementares para obtenção de dados mais conclusivos.

AGRADECIMENTOS

Os autores expressam seus agradecimentos a FAPESP, CNPq, MCT/IMSEAR e BNB-RENORBIO pelo apoio financeiro; a Vicente Carlos Costa de Oliveira, Laboratório de Tecnologia Farmacêutica da Universidade Federal da Paraíba, ao Prof. Dr. Edilberto R. Silveira, CENAUREMN da Universidade Federal do Ceará, e ao Prof. Dr. Jorge Maurício David, da Universidade Federal da Bahia, pelos espectros de RMN.

REFERÊNCIAS

Almeida RN, Barbosa-Filho JM, Naik SR 1985. Chemistry and pharmacology of an ethanol extract of *Bumelia*

- sartorum*. *J Ethnopharmacol* 14: 173-185.
- Ata J, Fejr D 1975. Allantoin in shea kernel. *Ghana J Agr Sci* 8: 149.
- Barbosa-Filho JM, Vasconcelos THC, Alencar AA, Batista LM, Oliveira RAG, Guedes DN, Falcão HS, Moura MD, Diniz MFFM, Modesto-Filho J 2005. Plants and their active constituents from South, Central, and North America with hypoglycemic activity. *Rev Bras Farmacogn* 15: 392-413.
- Barroso G 1978. *Sistemática de Angiospermas do Brasil*. Rio de Janeiro: LTC/EDUSP.
- Bhat RB, Eterjere EO, Oladipo VT 1990. Ethnobotanical studies from Central Nigeria. *Econ Bot* 44: 382-390.
- Connolly J, Hill RA 1991. Triterpenoids. In: Dey P, Harbone J. *Methods in plant biochemistry*. Ed. Charlwood BV, Banthorpe DV, London: Academic Press.
- Desmarchelier C, Romao RL, Coussio J, Ciccio G 1999. Antioxidant and free radical scavenging activities in extracts from medicinal trees used in the 'Caatinga' region in Northeastern Brazil. *J Ethnopharmacol* 67: 69-77.
- Dixit B, Srivastava S 1990. Detection of tannins from the bark of *Mimusops littoralis*. *Indian J Nat Prod* 6: 16-17.
- Ellmann GL, Courtney KD, Andres Jr V, Featherstone RM 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem Pharmacol* 7: 88-90.
- Falcão HS, Lima IO, Santos VL, Dantas HF, Diniz MFFM, Barbosa-Filho JM, Batista LM 2005. Review of the plants with anti-inflammatory activity studied in Brazil. *Rev Bras Farmacogn* 15: 381-391.
- Frighetto N, Welendorf RM, Silva AMP, Nakamura MJ, Siani AC 2005. Aplicação de cromatografia centrífuga de contra-corrente na purificação de ácido ursólico das folhas de *Eugenia brasiliensis* Lam. *Rev Bras Farmacogn* 15: 338-343.
- Gill LS, Akinwumi C 1986. Nigerian folk medicine: practices and beliefs of the undo people. *J Ethnopharmacol* 18: 259-266.
- Goad LJ 1991. Phytosterols. In: Dey P.M, Harbone JB. *Methods in Plant Biochemistry: Terpenoids*. Ed. Charlwood BV, Banthorpe DV. London: Academic Press.
- Joly A 1998. *Botânica: Introdução à Taxonomia Vegetal*. São Paulo: Companhia Editora Nacional.
- Khurana S 1972. Studies on *Calotropis latex* as an inhibitor of Tobacco mosaic virus. *Phytopathol Z* 73: 341.
- Kudi A, Umoh J, Eduvie L, Gefu J 1999. Screening of some Nigerian medicinal plants for antibacterial activity. *J Ethnopharmacol* 67: 225-228.
- Mahato SB, Kundu AP 1994. ¹³C NMR spectra of pentacyclic triterpenoids – A compilation and some salient features. *Phytochemistry* 37: 1517-1575.
- Maranz S, Wiesman Z, Garti N 2003. Phenolic constituents of Shea (*Vitellaria paradoxa*) kernels. *J Agr Food Chem* 21: 6268-6273.
- Mathew A, Lakshminayana S 1969. Polyphenols of immature sapota fruit. *Phytochemistry* 8: 507-509.
- Montenegro LHM 2005. *Estudo químico e ensaios biológicos preliminares de Pouteria venosa (Mart.) Baehni e revisão dos terpenóides e das atividades biológicas de espécies de Sapotaceae*. Maceió, 141p. Dissertação de Mestrado – Universidade Federal de Alagoas.
- Muelas-Serrano S, Nogal J, Martinez-Diaz R, Escario J, Martinez-Fernandez A, Gomes-Barrio A 2000. *In vitro* screening plant extracts on *Trypanosoma cruzi* and *Tricomonas vaginalis*. *J Ethnopharmacol* 71: 101-107.
- Naik SR, Barbosa-Filho JM, Dhuley JN, Deshmuth V 1991. Probable mechanism of hypoglycemic activity of bassic acid, a natural product isolated from *Bumelia sartorum*. *J Ethnopharmacol* 33: 37-44, 1991.
- Nwude N, Ebong OO 1980. Some plants used in the treatment of leprosy in Africa. *Leprosy Rev* 51: 11-18.
- Ogunwande I, Bello M, Olawire O, Muili K 2001. Phytochemical and antimicrobial studies on *Butyrospermum paradoxum*. *Fitoterapia* 72: 54-56.
- Olea RSG, Roque NF 1990. Análise de misturas de triterpenos por RMN de ¹³C. *Quim Nova* 13: 278-281.
- Oliveira PES 2003. *Avaliação do potencial larvicida de espécies vegetais no controle de Aedes (Stegomyia) aegypti L., 1762 (Diptera: Culicidae) e isolamento de derivados furanocumarínicos das raízes de Esenbeckia grandiflora Mart (Rutaceae)*. Maceió, 111p. Dissertação de Mestrado - Universidade Federal de Alagoas.
- Pal S, Nandy A 1999. Antiinflammatory, analgesic and antipyretic of *Achras sapota* Linn. Leaf extracts and its isolated compounds. *Indian Drugs* 36: 106-114.
- Pennington TD 1990. *Flora Neotropica. Sapotaceae*. Monograph 52. Publ. New York: Organization for Flora Neotropica.
- Pereira RC, Oliveira MTR, Lemos GCS 2004. Plantas utilizadas como medicinais no município de Campos de Goytacazes-RJ. *Rev Bras Farmacogn* 14 (Supl. 1): 37-40.
- Perfeito JP, Santos ML, López KSE, Paula JE, Silveira D 2005. Characterization and biological properties of *Pouteria torta* extracts: a preliminary study. *Rev Bras Farmacogn* 15: 183-186.
- Peters W 1980. Chemotherapy of malaria. In: Kreier JP *Malaria: epidemiology, chemotherapy, morphology and metabolism*. New York: Academic Press.
- Rhee IR, Van de Meent M, Ingkaninan K, Verpoorte R 2001. Screening for acetylcholinesterase inhibitors from Amaryllidaceae using silica gel thin-layer chromatography combination with bioactivity staining. *J Chromatography A* 915: 217-223.
- Soler-Rivas C, Espín JC, Wichers HJ 2000. An easy and fast test to compare total free radical scavenger capacity of foodstuffs. *Phytochem Analysis* 11: 1-9.
- Suffness M, Abbott B, Statz D, Wonilowicz E, Spjut R 1988. The utility of P388 leukemia compared to B16 melanoma and colon carcinoma 38 for *in vivo* screening of plants extracts. *Phytother Res* 2: 89-97.
- Taketa ATC, Breitmaier E, Schenkel EP 2004. Triterpenes and triterpenoidal glycosides from the fruits of *Ilex paraguariensis* (Maté). *J Braz Chem Soc* 15: 205-211.
- Trevisan MTS, Macedo FVV, Meent M, Rhee IK, Verpoorte R 2003. Seleção de plantas com atividade anticolinesterase para tratamento da doença de Alzheimer. *Quim Nova* 26: 301-304.
- Wandji J, Tillequin F, Mulholland DA, Shirri JC, Tsabang N, Seguin E, Verte P, Libot F, Fomum ZT 2003. Pentacyclic triterpenoid and saponins from *Gambeya boukokoensis*. *Phytochemistry* 64: 845-849.

- Wong K, Teng Y 1994. Volatile components of *Mimusops elengi* L. flowers. *J Essent Oil Res* 6: 453-458.
- WHO (1975) Instructions for determining the susceptibility or resistance of mosquito larvae to insecticides. *WHO/VBC/74*. 583: 1-5.
- Yang S, Abdel-Kader M, Malone S, Werkhoven M, Wisse J, Bursuker I, Neddermann K, Fairchild C, Raventos-Suarez C, Menendez I, Lane K, Kingston D 1999. Synthesis and biological evaluation of analogues of cryptolepine, an alkaloid isolated from the Suriname rainforest. *J Nat Prod* 62: 976-983.