



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS  
FARMACÊUTICAS**



**NICOLÁS DE PALMA**

**ESTUDO DAS CARACTERÍSTICAS MORFOANATÔMICAS,  
FITOQUÍMICAS E DE ATIVIDADE BIOLÓGICA DE *Passiflora  
malacophylla* Mast. (PASSIFLORACEAE)**

Feira de Santana, BA  
2018

**NICOLÁS DE PALMA**

**ESTUDO DAS CARACTERÍSTICAS MORFOANATÔMICAS,  
FITOQUÍMICAS E DE ATIVIDADE BIOLÓGICA DE  
*Passiflora malacophylla* Mast. (PASSIFLORACEAE)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual de Feira de Santana, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Dr. Clayton Queiroz Alves.

Co-orientadores: Dres. Fabiano Machado Martins e Jorge Mauricio David.

Feira de Santana, BA  
2018

**Ficha Catalográfica - Biblioteca Central Julieta Carteado**

D32e De Palma, Nicolás  
Estudo das características morfoanatômicas, fitoquímicas e de atividade biológica de *Passiflora malacophylla* Mast. (Passifloraceae) / Nicolás De Palma. – 2018.  
127 f.: il.

Orientador: Clayton Queiroz Alves.  
Coorientador: Fabiano Machado Martins.  
Coorientador: Jorge Mauricio David.  
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Feira de Santana, Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, 2018.

1. *Passiflora malacophylla* Mast – Morfologia. 2. *Passiflora malacophylla* Mast – Anatomia. I. Alves, Clayton Queiroz, orient. II. Martins, Fabiano Machado, coorient. III. David, Jorge Mauricio, coorient. IV. Universidade de Feira de Santana. V. Título.

CDU: 582.842.7

*Aos meus pais, Claudia Andrea Esposito e  
Cristóbal Oscar De Palma.*

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida, por me guiar e me abençoar a cada dia.

Aos meus pais, Claudia e Oscar, e a minha irmã, Carolina, que nunca deixaram de me dar ânimo para alcançar os meus objetivos.

A minha namorada, Cristina Sulivania, pelo amor e pelo apoio constante, e a sua família pelo carinho de sempre.

Ao Professor Dr. Clayton Queiroz Alves, pela orientação, pela paciência e pela confiança que depositou em mim.

Ao Professor Dr. Hugo Neves Brandão, pela ajuda brindada nos momentos em que eu precisei.

À Professora Dra. Tânia Regina dos Santos Silva, pela colaboração e pelo grande aporte neste trabalho.

À Professora Dra. Mariana Borges Botura e a sua orientanda Raquel, pela ajuda na realização do teste de inibição da acetilcolinesterase.

Ao pessoal do Laboratório de Bioprospecção Vegetal da UEFS, pela colaboração na realização dos testes biológicos.

A minha parceira do Laboratório de Ciências Exatas da UEFS, Carol Anne, pelo apoio e pela cooperação.

Aos colegas do mestrado, pela compreensão e parceria.

À Assessoria Especial de Relações Institucionais da UEFS, pela atenção e pelo carinho.

À Embrapa pelo fornecimento do material vegetal.

À Capes, pelo apoio financeiro.

À Organização dos Estados Americanos, pela bolsa concedida para a realização do mestrado.

Muito obrigado a todos vocês por fazer parte deste sonho!

*"Tudo o que um sonho precisa para ser realizado é alguém que acredite que ele possa ser realizado"*

~ Roberto Shinyashiki ~

## RESUMO

*Passiflora malacophylla* Mast. (Passifloraceae) é uma espécie nativa do Brasil que carece de estudos anatômicos e possui escassos estudos químicos e de atividade biológica. Neste sentido, o presente trabalho teve como objetivo o estudo das suas características morfoanatômicas e fitoquímicas, e a avaliação *in vitro* da atividade antioxidante e anticolinesterásica. Para isso, partes aéreas vegetativas foram coletadas e analisadas mediante microscopia estereoscópica, microscopia óptica e microscopia eletrônica de varredura. O estudo químico foi realizado a partir de extratos metanólicos brutos tanto de caule quanto de folhas, os quais foram particionados com solventes de diferentes polaridades: hexano, clorofórmio e acetato de etila. Os extratos brutos foram submetidos a análise por Cromatografia a Líquido de Alta Eficiência o que permitiu observar diferenças qualitativas e quantitativas entre eles. O fracionamento dos extratos foi realizado mediante Cromatografia em Coluna, o que possibilitou o isolamento do fitoesteroide daucosterol e do flavonoide vitexina. A atividade antioxidante dos extratos foi avaliada através do ensaio de sequestro do radical livre DPPH•. Neste sentido destacou-se o extrato acetato de etila do caule (%SRL =  $91,19 \pm 0,64$  ;  $CE_{50} = 2,51$  mg/mL) e acetato de etila das folhas (%SRL =  $73,08 \pm 2,84$  ;  $CE_{50} = 2,52$  mg/mL). A atividade anticolinesterásica dos extratos foi avaliada através do teste de Ellman, o qual permitiu concluir que estes possuem baixa, moderada e potente inibição da enzima acetilcolinesterase. O presente estudo fornece resultados inéditos sobre a anatomia de *P. malacophylla*, e sugere também, que esta espécie poderia ser uma fonte promissora de substâncias biologicamente ativas.

**Palavras-chave:** *Passiflora*. Morfoanatomia. Fitoquímica. Atividade antioxidante. Atividade anticolinesterásica. Maracujá.

## ABSTRACT

*Passiflora malacophylla* Mast. (Passifloraceae) is a species native to Brazil that lacks anatomical studies and has few chemical and biological studies. In this sense, the present work had as objective the study of its morpho-anatomical and phytochemical characteristics, and the *in vitro* evaluation of the antioxidant and anticholinesterase activities. For this, vegetative aerial parts were collected and analyzed by means of stereoscopic microscopy, optical microscopy and scanning electron microscopy. The chemical study was carried out from crude methanolic extracts of both stem and leaves, which were partitioned with solvents of different polarities: hexane, chloroform and ethyl acetate. The crude extracts were analyzed by High Performance Liquid Chromatography, which allowed qualitative and quantitative differences between them to be observed. The fractionation of the extracts was done by means of Chromatography in Column which made possible the isolation of the phytosteroid daucosterol and the flavonoid vitexin. The antioxidant activity of the extracts was evaluated by the DPPH free radical sequestration assay. In this sense, were highlighted ethyl acetate extract of the stem (% SRL =  $91.19 \pm 0.64$ ,  $EC_{50} = 2.51$  mg/mL) and ethyl acetate extract of the leaves (% SRL =  $73.08 \pm 2.84$  ;  $EC_{50} = 2.52$  mg/mL). The anticholinesterase activity of the extracts was evaluated through the Ellman test, which allowed to conclude that these have low, moderate and potent inhibition of the acetylcholinesterase enzyme. The present study provides unpublished results on the anatomy of *P. malacophylla*, and also suggests that this species could be a promising source of biologically active substances.

**Keywords:** *Passiflora*. Morphoanatomy. Phytochemistry. Antioxidant activity. Anticholinesterase activity. Passion fruit.

## SUMÁRIO

1	<b>INTRODUÇÃO</b>	16
2	<b>OBJETIVOS</b>	19
2.1	OBJETIVO GERAL	19
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
3	<b>REVISÃO DA LITERATURA</b>	20
3.1	BREVE HISTÓRICO DO USO DAS PLANTAS MEDICINAIS	20
3.2	METABOLISMO DE PLANTAS	23
3.3	ORIGEM DA DENOMINAÇÃO POPULAR DAS PASSIFLORACEAE	24
3.4	ASPECTOS BOTÂNICOS	25
3.4.1	<b>Família Passifloraceae</b>	25
3.4.2	<b><i>Passiflora</i> L.</b>	26
3.4.2.1	Morfologia das partes aéreas do gênero <i>Passiflora</i> L. e de <i>P.</i> subg. <i>Passiflora</i>	27
3.4.3	<b><i>Passiflora malacophylla</i> Mast.</b>	27
3.4.4	<b>Nectários</b>	28
3.5	CONSTITUINTES QUÍMICOS DO GÊNERO <i>Passiflora</i>	29
3.6	FARMACOLOGIA DO GÊNERO <i>Passiflora</i>	34
3.7	IMPORTÂNCIA DAS ATIVIDADES BIOLÓGICAS DE PLANTAS	39
3.7.1	<b>Atividade antioxidante e sua avaliação <i>in vitro</i></b>	39
3.7.2	<b>Atividade anticolinesterásica e sua avaliação <i>in vitro</i></b>	41
4	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b>	43
4.1	COLETA E IDENTIFICAÇÃO DA ESPÉCIE	43
4.2	EQUIPAMENTOS E MATERIAIS UTILIZADOS	43
4.3	CARACTERIZAÇÃO BOTÂNICA	44
4.3.1	<b>Estudo morfológico</b>	44
4.3.2	<b>Estudo anatômico</b>	45
4.3.2.1	Estudo das glândulas peciolares: reação do Ácido Periódico de Schiff (PAS)	45
4.3.3	<b>Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)</b>	45
4.4	ESTUDOS FITOQUÍMICOS	46
4.4.1	<b>Preparação do material vegetal</b>	46
4.4.2	<b>Preparação dos extratos</b>	46
4.4.3	<b><i>Fingerprint</i> cromatográfico</b>	47
4.4.4	<b>Separação e purificação das substâncias de <i>P. malacophylla</i></b>	48
4.4.5	<b>Ressonância Magnética Nuclear (RMN)</b>	50
4.5	TESTES DE ATIVIDADE BIOLÓGICA	50
4.5.1	<b>Teste de atividade antioxidante</b>	50
4.5.2	<b>Teste de inibição da enzima Acetilcolinesterase</b>	51
4.6	ANÁLISE ESTATÍSTICA	51
5	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	52
5.1	ASPECTOS MORFOANATÔMICOS	52
5.1.1	<b>Descrição morfológica</b>	52

5.1.2	<b>Descrição anatômica</b>	58
5.1.2.1	Caule	58
5.1.2.2	Pecíolo	60
5.1.2.2.1	Glândulas peciolares	62
5.1.2.3	Lâmina foliar	66
5.2	<b>ASPECTOS FITOQUÍMICOS</b>	70
5.2.1	<b><i>Fingerprint</i> cromatográfico</b>	70
5.2.2	<b>Separação e purificação das substâncias de <i>Passiflora malacophylla</i></b>	74
5.2.2.1	Fracionamento do extrato clorofórmico (EC) do caule	74
5.2.2.2	Fracionamento do extrato hexânico (EH) do caule	75
5.2.2.3	Fracionamento do extrato acetato de etila (EAE) do caule	75
5.2.2.4	Fracionamento do extrato clorofórmico (EC) das folhas	76
5.2.2.5	Fracionamento do extrato hexânico (EH) das folhas	77
5.2.2.6	Fracionamento do extrato acetato de etila (EAE) das folhas	78
5.2.3	<b>Identificação das substâncias isoladas de <i>Passiflora malacophylla</i></b>	79
5.2.3.1	Substância PM1 (daucosterol)	79
5.2.3.2	Substância PM2 (vitexina)	84
5.3	<b>TESTES DE ATIVIDADE BIOLÓGICA</b>	87
5.3.1	<b>Atividade antioxidante dos extratos</b>	87
5.3.2	<b>Atividade anticolinesterásica dos extratos</b>	91
6	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	96
	<b>REFERÊNCIAS</b>	97
	<b>APÊNDICE</b>	118
	APÊNDICE A - Cromatogramas e espectros UV dos padrões utilizados (280 nm)	118
	APÊNDICE B - Espectros UV dos picos correlatos com os padrões presentes no extrato bruto das folhas (280 nm)	120
	APÊNDICE C - Ampliação do espectro de RMN de <sup>1</sup> H [500 MHz, DMSO, δ (ppm)] e de <sup>13</sup> C [125 MHz, DMSO, δ (ppm)] da substância PM1	121
	APÊNDICE D - Ampliação do espectro de RMN de <sup>1</sup> H da substância PM2 [500 MHz, DMSO, δ (ppm)]	124



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Semelhança entre a romã e a granadilla	24
Figura 2	Partes aéreas de <i>Passiflora incarnata</i>	25
Figura 3	Distribuição das espécies de <i>Passiflora</i> no mundo	26
Figura 4	Anatomia geral de um nectário	29
Figura 5	Estrutura básica dos flavonoides	30
Figura 6	Estrutura molecular da apigenina e da luteolina	31
Figura 7	Estruturas dos principais flavonoides presentes em <i>Passiflora</i> spp.	31
Figura 8	Estrutura do núcleo indólico e do núcleo $\beta$ -carbolina	33
Figura 9	Estruturas dos principais alcaloides presentes em <i>Passiflora</i> spp.	33
Figura 10	Mecanismo de reação entre o radical DPPH• e um antioxidante	41
Figura 11	Reação geral que acontece no teste de inibição da acetilcolinesterase	42
Figura 12	Esquema geral de extração	47
Figura 13	Montagem das colunas cromatográficas	49
Figura 14	Agrupamento de sufrações baseado na semelhança dos Rf das substâncias	50
Figura 15	Caracteres morfológicos de <i>Passiflora malacophylla</i> Mast.	55
Figura 16	Caracteres morfológicos de <i>Passiflora malacophylla</i> Mast.	56
Figura 17	Caracteres morfológicos de <i>Passiflora malacophylla</i> Mast.	57
Figura 18	Caracteres anatômicos do caule de <i>Passiflora malacophylla</i> Mast.	59
Figura 19	Caracteres anatômicos do pecíolo de <i>Passiflora malacophylla</i> Mast.	61
Figura 20	Caracteres anatômicos das glândulas peciulares de <i>Passiflora malacophylla</i> Mast.	64
Figura 21	Caracteres anatômicos das glândulas peciulares de <i>Passiflora malacophylla</i> Mast.	65
Figura 22	Caracteres anatômicos da lâmina foliar de <i>Passiflora malacophylla</i> Mast.	68
Figura 23	Caracteres anatômicos da lâmina foliar de <i>Passiflora malacophylla</i> Mast.	69
Figura 24	Cromatograma do extrato bruto do caule	71
Figura 25	Cromatograma do extrato bruto das folhas	72
Figura 26	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da substância PM1 [500 MHz, DMSO, $\delta$ (ppm)]	80
Figura 27	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ da substância PM1 [125 MHz, DMSO, $\delta$ (ppm)]	81
Figura 28	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da substância PM2 [500 MHz, DMSO, $\delta$ (ppm)]	85
Figura 29	Teste DPPH: aspecto das amostras e do padrão após execução do ensaio	87
Figura 30	Teste de inibição da AChE: aspecto das amostras e do padrão após 30 min de reação	92



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Propriedades terapêuticas de algumas espécies de <i>Passiflora</i>	36
Tabela 2	Gradiente de eluição utilizado durante a análise dos extratos brutos por CLAE-DAD	48
Tabela 3	Tabela comparativa sobre a morfologia de <i>P. malacophylla</i> segundo diferentes autores	54
Tabela 4	Massas e percentuais de rendimento dos extratos do caule	70
Tabela 5	Massas e percentuais de rendimento dos extratos das folhas	70
Tabela 6	$t_R$ e longitudes de onda de absorção máxima no UV do extrato bruto do caule	71
Tabela 7	$t_R$ e longitudes de onda de absorção máxima no UV do extrato bruto das folhas	72
Tabela 8	$t_R$ e longitudes de onda de absorção máxima ( $\lambda$ máx) no UV dos padrões	73
Tabela 9	Frações obtidas do extrato clorofórmico do caule	74
Tabela 10	Frações obtidas do extrato hexânico do caule	75
Tabela 11	Frações obtidas do extrato acetato de etila do caule	76
Tabela 12	Frações obtidas do extrato clorofórmico das folhas	76
Tabela 13	Frações obtidas da fração CFPM 4	77
Tabela 14	Frações obtidas da fração CFPM 4-D	77
Tabela 15	Frações obtidas do extrato hexânico das folhas	78
Tabela 16	Frações obtidas do extrato acetato de etila das folhas	78
Tabela 17	Frações obtidas da fração AFPM 4	79
Tabela 18	Comparação dos espectros de RMN de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ da substância PM1 com dados da literatura	82
Tabela 19	Comparação dos espectros de RMN $^1\text{H}$ da substância PM2 com dados da literatura	86
Tabela 20	Percentuais de SRL dos extratos do caule	88
Tabela 21	Percentuais de SRL dos extratos das folhas	88
Tabela 22	Percentuais de IChE dos extratos do caule	92
Tabela 23	Percentuais de IChE dos extratos das folhas	93
Tabela 24	Classificação da inibição da atividade acetilcolinesterásica dos extratos de <i>P. malacophylla</i>	94

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1	%SRL dos extratos do caule e das folhas	89
Gráfico 2	CE <sub>50</sub> do extrato acetato de etila do caule	90
Gráfico 3	CE <sub>50</sub> do extrato acetato de etila das folhas	90
Gráfico 4	%IChE dos extratos do caule e das folhas	93

## LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1	Cálculo do percentual do sequestro de radicais livres	87
Equação 2	Cálculo do percentual de atividade da enzima acetilcolinesterase no tempo 30 minutos	91
Equação 3	Cálculo do percentual de inibição da enzima acetilcolinesterase	91

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

UEFS - Universidade Estadual de Feira de Santana  
OMS - Organização Mundial da Saúde  
BFG - The Brazil Flora Group  
DA - Doença de Alzheimer  
A $\beta$  - Peptídeo  $\beta$ -amiloide  
ACh - Acetilcolina  
ERO - Espécies reativas de oxigênio  
RL - Radicais livres  
DNA - Ácido Desoxirribonucleico  
CLAE-DAD - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada a Detector de arranjo de diodos  
RMN - Ressonância Magnética Nuclear  
DPPH - 2,2-difenil-1-picrilhidrazila  
AChE - Enzima acetilcolinesterase  
a.C. - antes de Cristo  
d.C. - depois de Cristo  
UV - Ultravioleta  
NFs - Nectários florais  
NEFs - Nectários extra-florais  
PAS - Ácido Periódico de Schiff  
PN - Parênquima nectarífero  
PSN - Parênquima subnectarífero  
UV-Vis - Ultravioleta-Visível  
HUEFS - Herbário da Universidade Estadual de Feira de Santana  
FAA - Formalina, ácido acético, álcool etílico  
FNT - Formalina neutra tamponada  
UFRB - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
MEV - Microscopia Eletrônica de Varredura  
LAEX - Laboratório de Extração de Produtos Naturais  
UEHF - Unidade Experimental Horto Florestal  
LABEXA - Laboratório de Ciências Exatas  
EB - Extrato bruto  
EH - Extrato hexânico  
EC - Extrato clorofórmico  
EAE - Extrato acetato de etila  
CCPM - Extrato clorofórmico do caule de *P. malacophylla*  
HCPM - Extrato hexânico do caule de *P. malacophylla*  
ACPM - Extrato acetato de etila do caule de *P. malacophylla*  
CFPM - Extrato clorofórmico das folhas de *P. malacophylla*  
HFPM - Extrato hexânico das folhas de *P. malacophylla*  
AFPM - Extrato acetato de etila das folhas de *P. malacophylla*  
MeOH - Metanol  
CHCl<sub>3</sub> - Clorofórmio  
AcOEt - Acetato de etila  
CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> - Diclorometano  
LABIV - Laboratório de Bioprospecção Vegetal  
t<sub>R</sub> - tempos de retenção  
CC - Cromatografia em coluna

CA - Cromatografia de adsorção  
CE - Cromatografia de exclusão  
CCD - Cromatografia em camada delgada  
Rf - Fatores de retenção  
LabRMN - Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear  
TMS - Tetrametilsilano  
CE<sub>50</sub> - Concentração Eficiente Média  
%SRL - Percentual de sequestro de radicais livres  
% AE<sub>30</sub> - Atividade da enzima acetilcolinesterase no tempo 30 minutos  
%IACHe - Percentual de inibição da enzima acetilcolinesterase  
[ I ] - Concentração de inibidor  
 $\lambda$  máx - Comprimento de onda máximo  
 $\delta$  - Deslocamento químico  
*s* - singleto  
*d* - duplete  
*t* - tripleto  
*J* - Constante de acoplamento

## 1 INTRODUÇÃO

Os produtos de origem vegetal são uma importante fonte de nutrientes tais como carboidratos, proteínas, lipídeos, vitaminas e minerais, essenciais para uma dieta equilibrada. O consumo dos mesmos também tem um impacto positivo na saúde devido à presença de metabólitos secundários, os quais podem apresentar propriedades antioxidantes, antibacterianas, antivirais, analgésicas, citotóxicas, sedativas, entre outras (CUTLER; CUTLER, 2000; GOBBO-NETO; LOPES, 2007; SIMÕES et al., 2017).

A referência mais antiga sobre o uso das plantas medicinais pelo homem data de mais de sessenta mil anos, sendo as primeiras descobertas realizadas através de estudos arqueológicos em Ruínas do Irã. Por sua vez, na China, em 3.000 a.C. já existiam farmacopéias que compendiam as ervas e suas indicações terapêuticas (REZENDE; COCCO, 2002).

No Brasil, a utilização de plantas medicinais originou-se por meio da prática indígena, com influência das tradições portuguesas e africanas (ALVES; DA SILVA, 2003). Dessa forma, os conhecimentos foram e ainda continuam sendo transmitidos de geração em geração.

A Fitoterapia é definida como “A ciência que estuda a utilização dos produtos de origem vegetal com finalidade terapêutica, seja para prevenir, atenuar ou curar um estado patológico” (CARVALHO, 2012, p. 6).

Conforme a Organização Mundial da Saúde (OMS), o cuidado da saúde de cerca de 75% da população mundial depende quase exclusivamente da utilização de plantas medicinais (DESMARCHELIER, 2012). Neste sentido, em torno de 82% da população brasileira emprega produtos à base de plantas, seja pelo conhecimento tradicional, o uso popular, o baixo custo, o fácil acesso, ou pelo uso nos sistemas oficiais de saúde (BRASIL, 2012; CRUZ; ALVIM, 2013).

O Brasil é um dos 17 países megadiversos a nível mundial, pois sua diversidade biológica é enorme tanto em número de espécies quanto na variedade e complexidade de seus biomas (PIMENTEL et al., 2015). Levantamentos atuais indicam que o Brasil possui 33.109 espécies nativas de Angiospermas (FLORA DO BRASIL 2020 em construção). Esta biodiversidade é considerada uma imensa fonte de substâncias biologicamente ativas úteis tanto como princípios ativos quanto como protótipos para o desenvolvimento de novas moléculas (BARREIRO; BOLZANI, 2009; PIMENTEL et al., 2015).

Dentro da grande diversidade de plantas com atividade farmacológica se encontram as espécies do gênero *Passiflora* L., conhecidas popularmente no Brasil como maracujá

(CARVALHO, 2008). Cerca de 96% das espécies desse gênero têm ampla distribuição nas regiões tropicais e subtropicais, especialmente na América do Sul (CERQUEIRA-SILVA et al., 2016), mas só algumas são economicamente importantes segundo a qualidade dos frutos para consumo ou pelas suas propriedades medicinais (CROCHEMORE; MOLINARI; STENZEL, 2003). Entretanto, apesar da grande diversidade, os aspectos fitoquímicos de espécies menos comuns de *Passiflora* são pouco explorados e, aproximadamente apenas 4% das espécies deste gênero têm sido estudado do ponto de vista farmacológico (MONTERO, 2017).

Dentre as atividades biológicas atribuídas às espécies de maracujá, há relatos na América do Sul sobre o uso de diferentes partes da planta, principalmente no tratamento de distúrbios do sistema nervoso central (SILVA, 2015a; FREIRE, 2017). Neste sentido, vários autores afirmam que são as partes aéreas as responsáveis por suas propriedades sedativas, ansiolíticas e antiespasmódicas (MÜLLER, 2006; LEAL et al., 2016; ZUANAZZI; MONTANHA; ZUCOLOTTO, 2017).

A OMS estimou que, no ano 2010, aproximadamente 35,6 milhões de pessoas ao redor do mundo eram portadoras de doenças mentais, e a cada ano é informado 7,7 milhões de novos casos. Estudos epidemiológicos indicam que essa quantidade vai quase duplicar em vinte anos: de 65,7 milhões em 2030 a 115,4 milhões em 2050 (PRINCE, 2009).

A demência é uma síndrome causada a nível cerebral na qual diferentes funções corticais superiores sofrem alterações, incluindo a memória, o pensamento, a orientação, a compreensão, a linguagem e a aprendizagem (OMS, 2016).

A Doença de Alzheimer (DA) é a forma mais prevalente de demência, representando 60-70% dos casos. Etiologicamente é uma patologia multifatorial na qual estão envolvidos agregados do peptídeo  $\beta$ -amiloide ( $A\beta$ ) e de proteína *Tau*, altas quantidades de metais de transição, baixos níveis de Acetilcolina (ACh), e estresse oxidativo (TEDESCHI et al., 2010).

Outras doenças e estados fisiológicos e fisiopatológicos envolvidos no estresse oxidativo são: envelhecimento, isquemia, artrite, anemia, Parkinson, câncer, aterosclerose, cardiopatias, retinopatias, e inúmeras patologias de alto impacto a nível mundial (AFANAS et al., 1989; FERREIRA; MATSUBARA, 1997; ARUOMA, 1998; GELPI; BOVERIS; PODEROSO, 2016).

O estresse oxidativo ocorre após diminuição nos níveis de moléculas antioxidantes, ou quando a velocidade de produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) é elevada, ou quando existe uma combinação de ambos os fatores (SALVADOR; HENRIQUES, 2004).

As ERO são intermediários altamente reativos produzidos a partir de oxigênio (BATTELLO, 2016), e são consideradas radicais livres (RL) por conter um ou mais elétrons desaparelhados na sua estrutura.

Naturalmente, essas ERO são produzidas em condições fisiológicas normais como parte do metabolismo celular aeróbio (FERREIRA; MATSUBARA, 1997). Estas espécies altamente reativas, tendem a causar danos e até inclusive serem potencialmente tóxicas, mutagênicas e carcinogênicas. As principais biomoléculas alvo são DNA, proteínas e lipídeos, podendo causar mutação do DNA, alterações na expressão de genes, modificações na transdução de sinais, apoptose celular, degradação de proteínas, peroxidação lipídica, entre outras (NORDBERG; ARNER, 2001; FU et al., 2011).

Considerando a capacidade para prevenir e/ou minimizar os danos oxidativos provocados pelas ERO, nos últimos anos vem aumentando o interesse pela comprovação farmacológica e obtenção de novos agentes antioxidantes provenientes de plantas (BRITO, 2012), o que justifica o desenvolvimento do presente trabalho.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Analisar as características morfoanatômicas e realizar estudos fitoquímicos e de atividade biológica de estruturas aéreas vegetativas de *Passiflora malacophylla* Mast. (Passifloraceae).

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estudar as características macro e microscópicas do material vegetal mediante microscopia estereoscópica, microscopia óptica e microscopia eletrônica de varredura;
- Realizar *screening* fitoquímico para comparar a composição química do caule e das folhas através da técnica de CLAE-DAD por *fingerprint*;
- Isolar substâncias com potencial atividade antioxidante e anticolinesterásica utilizando técnicas cromatográficas;
- Determinar a estrutura das substâncias isoladas através de métodos espectrométricos como RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ ;
- Avaliar o potencial antioxidante e anticolinesterásico *in vitro* das frações obtidas e dos compostos isolados através do método de radicais DPPH, e inibição da AChE, respectivamente;
- Realizar uma comparação morfoanatômica e química da espécie com aquelas citadas na literatura.

### 3 REVISÃO DA LITERATURA

#### 3.1 BREVE HISTÓRICO DO USO DAS PLANTAS MEDICINAIS

Desde épocas primitivas, o homem teve uma relação estreita com a natureza, pois dependia dela para a sua sobrevivência e utilizava plantas medicinais para curar-se. Provavelmente, o registro mais antigo é o Pen Ts'ao, de 2800 a.C., onde Shen Numg, um imperador e herborista chinês, descreveu o uso de centenas de plantas medicinais na cura de diferentes doenças (ALMEIDA, 2016). Esta descrição se baseava em 365 medicamentos: 237 de origem vegetal, 65 de origem animal, 43 de origem mineral, e 20 de origem desconhecida. Entre algumas das espécies vegetais descritas encontra-se: ginseng (*Panax ginseng* C.A.Mey.), alcaçuz (*Glycyrrhiza glabra* L.), grama-pelo-de-urso (*Ophiopogon japonicus* (Thunb.) Ker Gawl.), angélica (*Angelica sinensis* (Oliv.) Diels) e ruibarbo (*Rheum palmatum* L.) (HOU, 1977). Os hindus também usavam centenas de ervas nos seus tratamentos, considerando estas como as "filhas prediletas dos deuses" (JORGE, 2009).

Em 1873, o egiptólogo alemão Georg Ebers, decifrou um documento escrito que continha a seguinte frase introdutória: “Aqui começa o livro relativo à preparação dos remédios para todas as partes do corpo humano”. Este documento, que data de 1500 a.C, é denominado papiro de Ebers, e representa o primeiro tratado médico egípcio conhecido, sendo descritas várias fórmulas à base de plantas medicinais como efedra (*Ephedra* spp.), salgueiro (*Salix* spp.), e acácia (*Acacia* spp.), entre outras (ELDIN; DUNFORD, 2001; CUNHA, 2003; DEVIENNE; RADDI; POZETTI, 2004). Muitas vezes, as plantas eram escolhidas por seu cheiro, pois acreditava-se que certos aromas afugentavam os espíritos das enfermidades (JORGE, 2009).

Gregos e romanos também contribuíram para o conhecimento sobre o uso de medicina à base de ervas. Hipócrates (468-377 a.C), conhecido como o "pai da medicina", enfatizou a importância do tratamento individual dos seus pacientes. Ele fez um regime de tratamento à base de plantas medicinais, usando mais de 400 espécies, em combinação com exercícios e dietas especiais adaptadas às necessidades de cada pessoa. Algumas destas espécies eram: sene (*Cassia senna* L.), tomilho (*Thymus vulgaris* L.), bardana (*Arctium lappa* L.) e dente-de-leão (*Taraxacum officinale* G.H. Weber) (ELDIN; DUNFORD, 2001).

Teofrasto (300 a.C), conhecido como o "pai da botânica", em seu livro História das plantas, fez descrições morfológicas acompanhadas de informações sobre efeitos tóxicos e propriedades curativas. Outro dos seus trabalhos foi o Tratado dos odores, o qual aporta

conhecimentos sobre preparações e usos de plantas (ELDIN; DUNFORD, 2001; CUNHA, 2003).

Galeno (200-130 a.C), médico e filósofo grego, considerado o primeiro farmacêutico ou o "pai da farmácia", foi conhecido por suas prescrições complexas e formulações farmacêuticas, denominadas preparações galênicas (NOGUEIRA; MONTANARI; DONNICI, 2009; CRAGG; NEWMAN, 2013). Suas obras descreviam métodos de manipulação destas formulações, muitas das quais continham drogas de origem natural (DEVIIENNE; RADDI; POZETTI, 2004).

Na obra *De Materia Medica*, do médico grego Dioscórides (40-90 d.C.), foram descritos cerca de 600 produtos de origem vegetal, animal e mineral. Este texto também proporcionava informação sobre as dosagens e os efeitos tóxicos, como por exemplo, o uso do ópio como medicamento e como veneno (ELDIN; DUNFORD, 2001; CUNHA, 2003; NOGUEIRA; MONTANARI; DONNICI, 2009). Algumas das espécies mencionadas são: açafraão (*Crocus sativus* L.), mirra (*Commiphora myrrha* (Nees) Engl.), amora (*Morus nigra* L.), erva doce (*Pimpinella anisum* L.) e funcho (*Foeniculum vulgare* Mill.), entre outras (BECK, 2005).

Após a queda do Império Romano, a Igreja Católica se fortaleceu e o estudo das plantas medicinais na Idade Média ficou estagnado por um longo período, e muitos documentos foram esquecidos ou perdidos (JORGE, 2009). A terapia à base de medicamentos foi substituída pelos ensinamentos da Igreja, pois acreditava-se que o pecado e a doença estavam estreitamente relacionados. Assim, a Igreja ficou sob o poder dos documentos sobre plantas medicinais, sendo copiados, traduzidos e preservados nas bibliotecas dos mosteiros, levando estes lugares a se tornarem centros de cura, tanto corporal quanto espiritual (DEVIIENNE; RADDI; POZETTI, 2004; ALLEN JR, 2016).

Com o passar dos anos, foi produzido um grande número de obras sobre fitoterapia, tais como *De Viribus Herbarum*, escrita no século XI pelo bispo de Meung, e *Antidotarium*, escrita no século XII por Nicolaus de Salerno (CHOULANT, 1832; ELDIN; DUNFORD, 2001; EVERETT; GABRA, 2014).

Já no século XIII, o catalão Arnau de Vilanova deu importância à qualidade dos remédios: ordem, limpeza, medida, consistência e mistura. Por outro lado, ele reconhecia que, plantas que cresceram em diferentes habitats conteriam diferentes quantidades de princípios ativos (ELDIN; DUNFORD, 2001).

Paracelso (1493-1541), médico, alquimista, físico e astrólogo suíço, afirmava que cada doença precisava ser tratada com um tipo de medicamento específico, e que a dose certa

define se uma substância é um medicamento ou um veneno. Ele tinha interesse especial pela fitoquímica das plantas medicinais e acreditava na Teoria das Assinaturas, que relacionava a forma ou a cor das estruturas vegetais com suas propriedades medicinais. Por exemplo, como as folhas da pulmonária (*Pulmonaria officinalis* L.) têm aparência de pulmão doente, serviriam no tratamento de enfermidades pulmonares; ou a noz (*Juglans regia* L.) serviria para doenças cerebrais (CAVALLAZZI, 2006; NOGUEIRA; MONTANARI; DONNICI, 2009). Esta teoria foi criada pelo botânico Robert B. Turner, no século XVII, cujo princípio é a frase "Deus imprimiu nas plantas, ervas, flores e frutas, hieróglifos que são a própria assinatura de suas virtudes" (DEVIIENNE; RADDI; POZETTI, 2004, p. 12).

Anos depois da morte de Paracelso, surgiram os primeiros códigos de prescrições farmacêuticos, e foi em 1560 que a palavra 'farmacopeia' apareceu, a partir de investigações feitas por Johannes Brecht Schneider, que escreveu a obra *Pharmacopea in Compendium Redacta* (CAVALLAZZI, 2006).

Em 1673, após a publicação da obra *Histoire général des Drogues*, do farmacêutico Pierre Pomet, o estudo das plantas começa a levar em consideração a classificação e a descrição taxonômica (CUNHA, 2003).

As primeiras pesquisas na busca da utilização de drogas naturais puras se remontam ao ano 1803, com a descrição do ópio isolado de *Papaver somniferum* L., por Derosne. Logo em 1817, o farmacêutico francês Joseph Pelletier descreveu o isolamento da emetina, um poderoso emético, a partir de *Carapichea ipecacuanha* (Brot.) L. Andersson. Apenas um ano depois, os farmacêuticos franceses Pelletier e Caventou conseguiram isolar estricnina a partir de *Strychnos nux-vomica* L., e identificar a quinina, em 1820. A salicina, precursor na síntese do ácido salicílico, foi isolada pela primeira vez em 1829 a partir da casca do salgueiro (*Salix alba* L.). Já em 1889, o ácido acetilsalicílico, um dos analgésicos mais utilizados a nível mundial, foi sintetizado por Felix Hoffman. Outros acontecimentos importantes foram o isolamento da atropina de *Atropa beladonna* L., da digoxina de *Digitalis lanata* Ehrh., da escopolamina de *Datura stramonium* L. e da efedrina a partir de espécies do gênero *Ephedra* L. (CUNHA, 2003; DEVIIENNE; RADDI; POZETTI, 2004; THOM, 2007).

As plantas superiores constituem uma das fontes mais importantes de substâncias que são utilizadas como fármacos e protótipos para novos fármacos, sendo estes compostos originados a partir do seu metabolismo primário ou secundário (NEVES; CUNHA, 2006; FILHO, 2010). Por sua vez, graças à melhoria das técnicas de extração, isolamento e identificação, milhares de metabólitos provenientes principalmente de Angiospermas conseguiram ser classificados segundo sua natureza química (CAPASSO, 2011).

### 3.2 METABOLISMO DE PLANTAS

Denomina-se metabolismo ao conjunto de reações químicas que acontecem continuamente nas células. Os compostos químicos formados, degradados ou transformados são chamados de metabólitos, e as reações enzimáticas envolvidas são designadas como anabólicas, catabólicas ou de biotransformação (KREIS; MUNKERT; PÁDUA, 2017). Por sua vez, os metabólitos podem ser classificados em primários, como açúcares, aminoácidos, nucleotídeos e graxas; ou secundários tais como óleos essenciais, flavonoides, alcaloides, entre outros (GOBBO-NETO; LOPES, 2007; WAKSMUNDZKA-HAJNOS; SHERMA; KOWALSKA, 2008).

Os metabólitos primários são os mais abundantes na natureza, pois ocorrem em todas as plantas e desempenham um papel essencial no metabolismo básico (GARCÍA; SOLÍS, 2007). Em contrapartida, os metabólitos secundários não estão implicados diretamente no crescimento e desenvolvimento da planta, e têm distribuição limitada a certas espécies ou grupos taxonômicos (GARCÍA; SOLÍS, 2007; TAIZ; ZEIGER, 2009). Os metabólitos secundários, também denominados produtos secundários, produtos naturais ou metabólitos especiais, classificam-se em três grandes grupos: compostos fenólicos, compostos nitrogenados e terpenos (TAIZ; ZEIGER, 2009; SIMÕES et al., 2017).

Durante muito tempo, os metabólitos secundários foram considerados como produtos de excreção do vegetal, mas atualmente sabe-se que muitas destas substâncias estão diretamente envolvidas em mecanismos de adequação ao meio (SIMÕES et al., 2000). Mais recentemente descobriu-se que muitos dos metabólitos secundários têm importantes funções ecológicas nas plantas tais como proteção contra herbívoros e agentes patógenos, proteção contra radiação UV, atração de polinizadores e dispersores de sementes, agentes alelopáticos, entre outras (SIMÕES et al., 2000; TAIZ; ZEIGER, 2009).

Outra característica do metabolismo secundário é a elevada capacidade biossintética, tanto em relação ao número de substâncias produzidas quanto a sua diversidade em uma mesma espécie (SIMÕES et al., 2000). O conteúdo destes metabólitos secundários é influenciado por diferentes fatores como sazonalidade, ritmo circadiano e desenvolvimento, temperatura, disponibilidade hídrica, radiação ultravioleta, nutrientes, altitude, poluição atmosférica, indução por estímulos mecânicos e ataque de patógenos (GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

A maioria das substâncias obtidas de plantas, utilizadas como princípios ativos por suas propriedades farmacológicas, derivam do metabolismo secundário e ocorrem na droga vegetal em porcentagem raramente superior a 1% (VANACLOCHA; FOLCARA, 2003).

### 3.3 ORIGEM DA DENOMINAÇÃO POPULAR DAS PASSIFLORACEAE

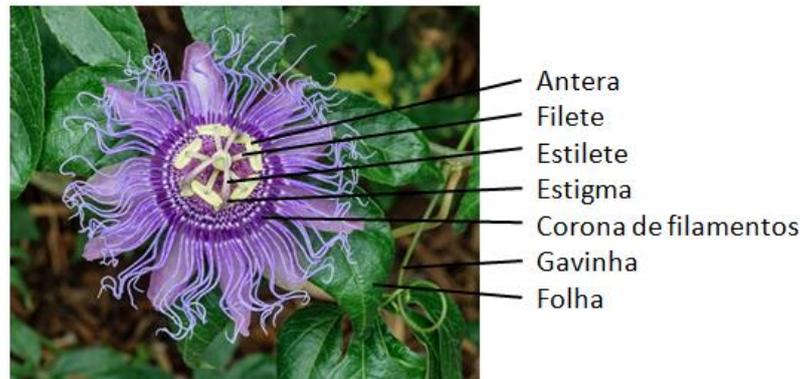
Originalmente, as espécies da família Passifloraceae eram conhecidas com o nome de ‘granadilla’, pois seu fruto assemelhava-se à romã, ou ‘granada’ em espanhol (*Punica granatum* L., Lythraceae) (Figura 1) (CERVI, 1997). Provavelmente, o nome surgiu para referir-se a *Passiflora ligularis* Juss., a qual ainda continua sendo reconhecida como ‘granadilla’ (MONTERO, 2017). Porém, mais tarde recebeu o nome de ‘*Passiflora*’, ‘pasionária’ ou ‘flor da paixão’. Esta denominação foi designada à primeira espécie descoberta, *Passiflora incarnata* L., e deriva de *Flos Passionis*, devido a uma relação mística com a paixão de Cristo (REITER; HEIDEN, 1998), dado que as folhas e as partes florais apresentavam certo simbolismo: as folhas simbolizavam a lança que transpassou o Salvador na cruz; os três estiletes representavam os três cravos; as cinco anteras representavam as chagas de Cristo; a coroa de filamentos simbolizava a coroa de espinhos, e as gavinhas simbolizavam o açoite (Figura 2, p. 25) (CERVI, 1997).

Figura 1 - Semelhança entre a romã (fruto de *Punica granatum*) (A) e a granadilla (fruto de *Passiflora ligularis*) (B)



Fonte: (A) SÁNCHEZ; BARRACHINA (2017) ; (B) CENTRE FOR AGRICULTURE AND BIOSCIENCES INTERNATIONAL (2017)

Figura 2 - Partes aéreas de *Passiflora incarnata*



Fonte: [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Passion\\_Vine\\_NBG\\_LR.jpg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Passion_Vine_NBG_LR.jpg)

Por sua vez, as espécies de *Passiflora* são popularmente conhecidas como ‘maracujá’, nome de origem indígena adotado pelas tribos Tupi e Guarani, derivado de ‘murukuia’, que significa ‘alimento em forma de cuia’ (MELETTI, 1996; SOUSA; MELETTI, 1997).

No Brasil, a primeira referência ao maracujá foi no ano 1587, no Tratado Descritivo do Brasil, onde recebeu o nome de ‘erva que dá fruto’ (JÚNIOR; ESTANISLAU; PAIVA, 2000).

### 3.4 ASPECTOS BOTÂNICOS

#### 3.4.1 Família Passifloraceae

Passifloraceae é uma família de eudicotiledôneas pertencente à ordem Malpighiales (APG IV, 2016). Está dividida em duas tribos: Paropsieae e Passiflorieae. Por sua vez, esta última está representada no continente latino-americano por quatro gêneros: *Ancistrothysus* Harms, *Dilkea* Mast., *Mitostemma* Mast. e *Passiflora* L. (CERVI, 2005). Atualmente, a família Passifloraceae é composta por 3 subfamílias, 27 gêneros e 975 espécies (STEVENS, 2001 onwards) com distribuição predominantemente pantropical, embora algumas espécies ocorram em áreas temperadas da América do Norte e do Sul, na China e na Nova Zelândia (FEUILLET; MACDOUGAL, 2007).

Esta família caracteriza-se por possuir plantas trepadeiras herbáceas ou lenhosas com gavinhas axilares, até subarbustos a árvores pequenas. Podem ser hermafroditas, dioicas ou andromonóicas. Possuem ramos cilíndricos ou subcilíndricos, raramente angulados ou achatados. As folhas geralmente são alternas e muito raramente opostas. As estípulas podem estar presentes ou ausentes, sendo às vezes decíduas quando presentes. O pecíolo nem sempre

possui nectários e a lâmina é geralmente simples (lobada a inteira) ou composta, com ou sem ocelos (SACCO, 1980; BERNACCI, 2003).

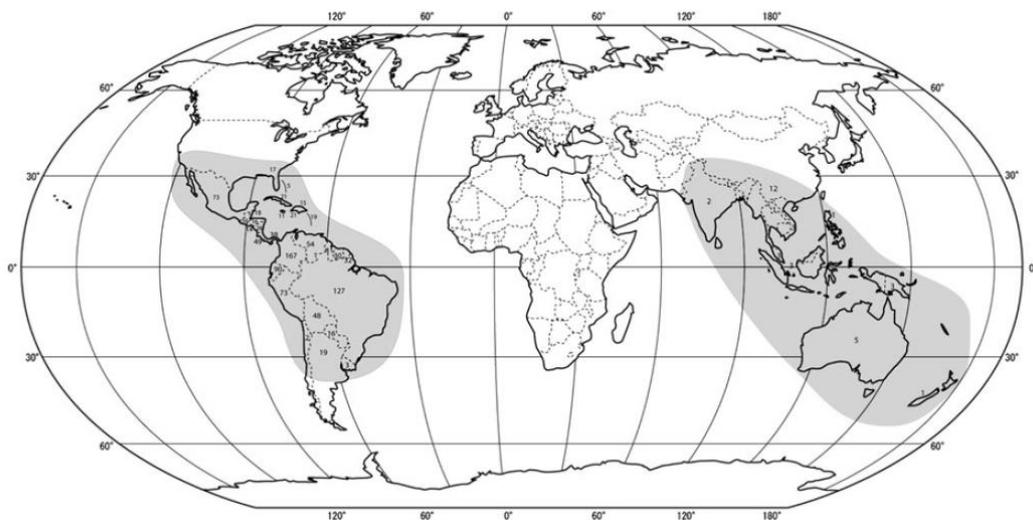
### 3.4.2 *Passiflora* L.

*Passiflora* L. é o maior gênero da família Passifloraceae (PÉREZ-CORTÉZ; ESCALA; TILLET, 2009) e caracteriza-se por possuir uma ampla variedade morfológica (FREITAS, 2011). Atualmente, é composto por 4 subgêneros: *P.* subg. *Astrophea* (DC.) Mast., *P.* subg. *Decaloba* (DC.) Rchb., *P.* subg. *Deidamioides* Harms e *P.* subg. *Passiflora* L. (CUTRI et al., 2013), e aproximadamente 575 espécies (KOCH; CARDOSO; ILKIUBORGES, 2014). Por sua vez, o subgênero *Passiflora*, o maior deles, possui cerca de 236 espécies (YOCKTENG; D'ECKENBRUGGE; SOUZA-CHIES, 2011).

Estas espécies são reconhecidas por possuir frutos saborosos e muitas propriedades medicinais, além do seu uso ornamental (YOCKTENG; D'ECKENBRUGGE; SOUZA-CHIES, 2011).

A maior diversidade de *Passiflora* ocorre nos neotrópicos, sendo a América do Sul, a região que apresenta aproximadamente 95% das espécies existentes (Figura 3) (YOCKTENG; D'ECKENBRUGGE; SOUZA-CHIES, 2011). Estima-se que o Brasil possui cerca de 145 espécies, das quais aproximadamente 83 são endêmicas (FLORA DO BRASIL 2020 em construção).

Figura 3 - Distribuição das espécies de *Passiflora* no mundo



Fonte: YOCKTENG; D'ECKENBRUGGE; SOUZA-CHIES (2011)

Na Bahia é representado por 42 espécies (FLORA DO BRASIL 2020 em construção), ocorrendo praticamente em todos os biomas do Estado (NUNES; QUEIROZ, 2006).

#### 3.4.2.1 Morfologia das partes aéreas do gênero *Passiflora* L. e de *P.* subg. *Passiflora*

Segundo Cervi (1997) e Yockteng; d'Eeckenbrugge; Souza-Chies (2011), em espécies de *Passiflora* o caule pode ser cilíndrico, angular, sub-angular ou raramente quadrangular, ou estriado longitudinalmente. As gavinhas geralmente são solitárias e axilares, bem desenvolvidas. As estípulas sempre estão presentes, embora possam ser caducas. A forma é muito variável: de setácea ou linear, até ovada. O bordo pode ser inteiro, dentado, serreado ou laciniado. Algumas estípulas podem ter o ponto de inserção lateralmente, e não na base. As folhas, sempre alternas, têm forma variável, inclusive dentro da mesma espécie e até dentro do mesmo exemplar. Podem ser inteiras, orbiculares, elípticas ou ovadas, bi, tri, pentalobadas ou palmadas. A margem geralmente é inteira, dentada ou serreada. Em relação à nervura, podem ser trinervadas, pentanervadas ou peninérveas, podendo terminar em um mucrom. O pecíolo geralmente apresenta glândulas extra-florais (glândulas nectaríferas), de distribuição e forma variável: sésseis, sub-sésseis, orbiculares ou estipitadas. A presença ou ausência, a forma, a posição e o número destas glândulas constitui uma importante ferramenta taxonômica.

As espécies de *P.* subg. *Passiflora* são lianas glabras a pubescentes com caule circular, estriado, denteado ou quase angulado; estípulas inconspícuas, lanceoladas ou ovadas; folhas inteiras, tri a heptalobadas, com 3 nervuras principais; glândulas peciolares nem sempre presentes, quando presentes, de 2 a 6, raramente mais de 6; lâmina com ou sem nectários; pedúnculos unifloros; flores geralmente grandes, de cor púrpura, branco, azul, violeta, vermelho ou variações destas, nascidas sobre uma gavinha, com 3 brácteas, geralmente conspicuas, tubo floral às vezes conspicuo, corona em (1-)3-20 séries de filamentos, opérculo não plicado, às vezes filamentosos; frutos esverdeados, amarelos a alaranjados ou avermelhados; sementes reticuladas, com ornamentação (ULMER; MACDOUGAL, 2004; NUNES, 2009).

#### **3.4.3 *Passiflora malacophylla* Mast.**

*Passiflora malacophylla* é uma espécie endêmica do Brasil, com distribuição na região Nordeste (Bahia), na região Sudeste (Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo)

e na região Sul (Santa Catarina) (FLORA DO BRASIL 2020 em construção). Na Bahia pode ser encontrada na região estacional e na mata atlântica (NUNES, 2002).

Esta espécie foi descrita pela primeira vez por Masters (1872), na obra *Flora Brasiliensis*. Segundo este autor, trata-se de uma planta subfruticosa, ferrugíneo-tomentosa com ramos lisos e estípulas decíduas. O pecíolo é 3-4 vezes menor do que a lâmina e possui duas glândulas sésseis no ápice. As folhas são subcoriáceas, elíptico-lanceoladas e serreadas, com nervura média tomentosa e proeminente na face abaxial, atingindo 5-10 cm de comprimento por 1,5-4 cm de largura.

Vários autores têm estudado os aspectos morfológicos de *P. malacophylla*, embora algumas informações são divergentes (MASTERS, 1872; CERVI, 1997; NUNES; QUEIROZ, 2006).

#### 3.4.4 Nectários

Os nectários são tecidos secretores presentes em muitas plantas vasculares (FAHN, 1988). Eles são classificados em nectários florais (NFs) ou nectários extra-florais (NEFs) (ELIAS; GELBAND, 1976), também denominados nupciais e extra-nupciais, respectivamente por Delpino (1886). Os NFs ocorrem dentro da flor e estão diretamente associados à polinização, enquanto que os NEFs ocorrem nas partes florais externas e nos órgãos vegetativos, e não estão associados à polinização. Além da posição na planta, também se diferenciam segundo sua estrutura e material secretado (FAHN, 1988). Ambos os tipos de estruturas podem se encontrar em uma mesma espécie (PACINI; NICOLSON, 2007).

O néctar é uma solução composta principalmente por açúcares e pequenas quantidades de outras substâncias tais como aminoácidos e proteínas de baixo peso molecular, ácidos orgânicos, vitaminas, lipídeos, alcaloides, compostos fenólicos, terpenoides e íons minerais, entre outros (BAKER, 1977; LÜTTGE, 1977; BAKER; BAKER, 1986; FAHN, 1988; NICOLSON; THORNBURG, 2007). Os açúcares comumente encontrados são sucrose, glicose e frutose; no entanto, maltose, rafinose, galactose e melobiose podem apresentar-se em baixas concentrações (FAHN, 2000).

Elias (1983) classificou morfológicamente os NEFs em sete tipos: nectários sem forma, planos, elevados, escamiformes, ocos, em forma de poço e embutidos.

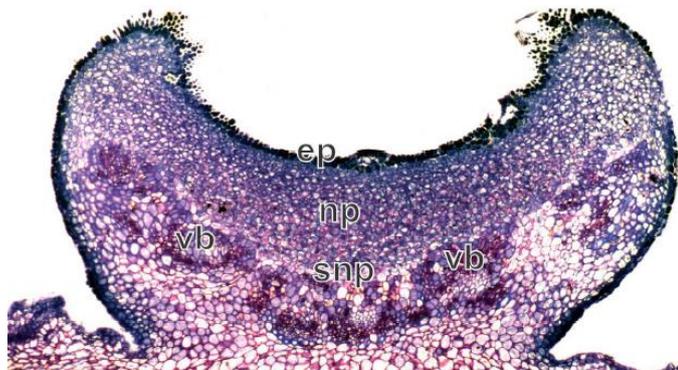
Anatomicamente e de modo geral, os nectários são formados por três componentes (Figura 4) (FAHN, 2000 ; NEPI, 2007):

- Epiderme, com ou sem estômatos/tricomas e pela qual o néctar é liberado ao exterior.
- Parênquima especializado, que produz e armazena o néctar.
- Sistema vascular, que transporta água e nutrientes para o parênquima. Composto frequentemente por apenas floema, ou por xilema e floema.

Por sua vez, o parênquima especializado compõe-se de (Figura 4):

- Parênquima nectarífero (PN) (também denominado tecido secretor), localizado por baixo da epiderme e cujas células são pequenas e isodiamétricas com citoplasma denso granuloso.
- Parênquima subnectarífero (PSN) (também denominado parênquima subglandular), formado geralmente por células grandes, com abundantes cloroplastos e com disposição laxa em relação às células do parênquima nectarífero (DURKEE, 1983; PACINI; NEPI; VESPRINI, 2003; NEPI, 2007).

Figura 4 - Anatomia geral de um nectário



ep: epiderme; np: parênquima nectarífero; snp: parênquima subnectarífero; vb: feixe vascular

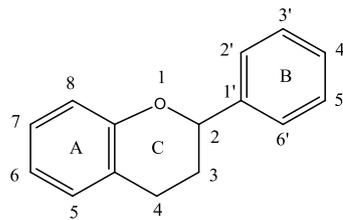
Fonte: COUTINHO; MEIRA (2015)

### 3.5 CONSTITUINTES QUÍMICOS DO GÊNERO *Passiflora*

Estudos sobre a composição química de diferentes espécies do gênero *Passiflora* evidenciam principalmente a presença de flavonoides e alcaloides (ABOURASHED; VANDERPLANK; KHAN, 2002; DHAWAN; DHAWAN; SHARMA, 2004; ZUCOLOTTO et al., 2011). Porém, podem apresentar-se saponinas como principais metabólitos secundários, como ocorre em *P. alata* Curtis (BIRK et al., 2005).

Os flavonoides são compostos polifenólicos provenientes da via dos fenilpropanoides e do acetato (DORNAS et al., 2007). Estruturalmente são formados por dois anéis aromáticos conectados por uma cadeia de três átomos de carbono ( $C_6C_3C_6$ ) (Figura 5). Estes pigmentos naturais estão amplamente distribuídos em angiospermas, constituindo uma das classes mais importantes de polifenóis (ZUANAZZI; MONTANHA; ZUCOLOTTO, 2017). Na natureza apresentam-se geralmente oxigenados e conjugados com açúcares (heterosídeos), embora possam se encontrar em forma livre, sem o açúcar (geninas ou agliconas) (ZAVALETA et al., 2005; CAPASSO et al., 2007). Nestes compostos tricíclicos, cada anel recebe uma denominação (A, B e C) e a numeração dos átomos de carbono é dada através de números ordinários para os anéis A e C, e de números ordinários seguidos de uma linha (') para o anel B (Figura 5), com exceção das chalconas que apresentam uma numeração diferente. Sua classificação se baseia no estado de oxidação e no grau de insaturação do anel C (ou perda, para chalconas) (ZUANAZZI; MONTANHA; ZUCOLOTTO, 2017).

Figura 5 - Estrutura básica dos flavonoides



Fonte: COOK; SAMAN (1996)

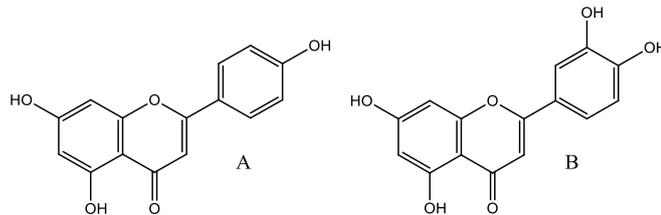
Nos vegetais, estes compostos cumprem diversas funções tais como proteção contra raios UV e visíveis, proteção contra insetos, fungos, vírus e bactérias, atração de polinizadores, antioxidantes, agentes alelopáticos, reguladores hormonais e inibidores enzimáticos (BRUNETON, 1991; ZUANAZZI; MONTANHA; ZUCOLOTTO, 2017).

Os flavonoides também são uma importante ferramenta taxonômica, pois são utilizados como marcadores por diferentes causas: sua abundância relativa em quase todo o reino vegetal, sua relativa facilidade de identificação e sua relativa estabilidade, sua especificidade em certas espécies e seu acúmulo com menor influência no meio ambiente. Por isso, também são considerados marcadores analíticos ou ativos usados no controle de qualidade de drogas vegetais (ZUANAZZI; MONTANHA; ZUCOLOTTO, 2017). Neste sentido, tanto flavonoides quanto saponinas são marcadores químicos utilizados para avaliar autenticidade e adulteração entre espécies de *Passiflora* estreitamente relacionadas (QIMIN et al., 1991; GOSMANN et al., 2011).

De acordo com Zuanazzi, Montanha e Zucolotto (2017), os flavonoides podem ser classificados em: flavonas e flavonóis; antocianinas; chalconas; auronas; di-hidroflavonoides; flavanas, leucoantocianidinas e proantocianidinas; isoflavonoides; neoflavonoides; e biflavonoides.

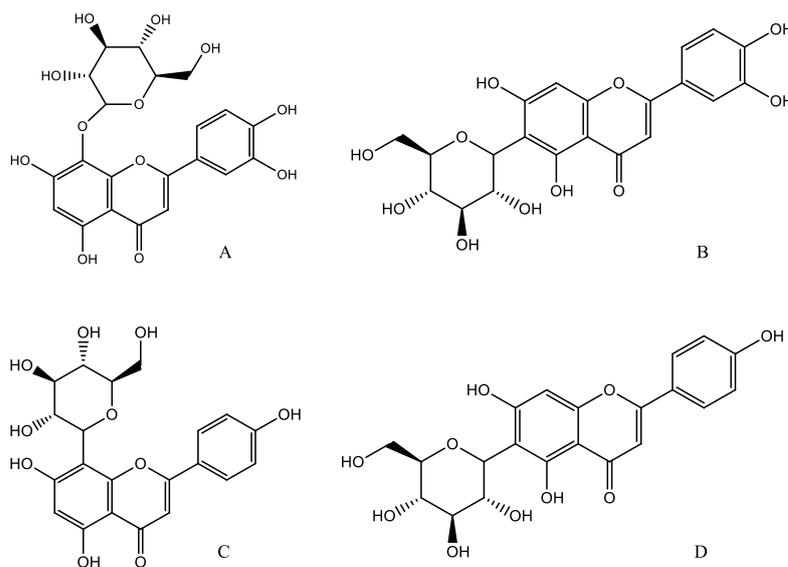
Conforme Pereira et al. (2004), diferentes espécies de *Passiflora* contêm C-glicosilflavonas da apigenina e da luteolina (Figura 6) como constituintes maioritários, sendo estas substituídas nas posições 6 ou 8 (REIMBERG, 2006). Estes flavonoides C-glicosilados são: orientina, isoorientina, vitexina e isovitexina (Figura 7) (ABOURASHED; VANDERPLANK; KHAN, 2002; DHAWAN; DHAWAN; SHARMA, 2004; ZUCOLOTTO et al., 2011).

Figura 6 - Estrutura molecular da apigenina (A) e da luteolina (B)



Fonte: COUTINHO; MUZITANO; COSTA (2009)

Figura 7 - Estruturas dos principais flavonoides presentes em *Passiflora* spp.: (A) orientina, (B) isoorientina, (C) vitexina e (D) isovitexina



Fonte: GOSMANN et al. (2011)

Em relação à variação da composição flavonoídica, diferentes estudos indicaram que as folhas apresentam maior quantidade de flavonoides em comparação ao caule (MENGHINI; MANCINI, 1988; PEREIRA; VILEGAS, 2000; CAMPOS, 2015). A acumulação destes compostos nas partes aéreas começa na etapa de plântula, aumentando durante o crescimento vegetativo e atingindo um nível máximo no momento da antese. Além disso, este teor flavonoídico diminui notavelmente com o armazenamento (MENGHINI; MANCINI, 1988; PEREIRA; VILEGAS, 2000).

Os alcaloides são compostos nitrogenados de baixo peso molecular encontrados principalmente em plantas e, em menor proporção, em animais e microrganismos. São conhecidas mais de 27.000 estruturas de alcaloides provenientes de 21.000 plantas. Estes compostos ocorrem geralmente como aminas primárias, secundárias, terciárias, ou até quaternárias, fato que lhes confere basicidade. No entanto, o grau de basicidade depende da estrutura molecular e da presença e localização de outros grupos funcionais (DEWICK, 2009).

Fisiologicamente, os alcaloides desempenham um papel importante no estoque e transporte de nitrogênio, na proteção contra a radiação ultravioleta, e na defesa química contra predadores (KLEIN-JÚNIOR; HENRIQUES, 2017).

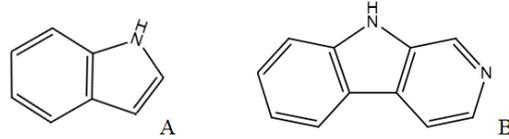
Do ponto de vista estrutural e da sua origem, estes compostos podem dividir-se em: alcaloides verdadeiros, protoalcaloides e pseudoalcaloides (EAGLESON, 1994; ANISZEWSKI, 2007). Porém, sua classificação mais frequente se baseia na natureza da estrutura que contém o átomo de nitrogênio: pirrolidina, piperidina, indol, quinolina, isoquinolina, etc. (DEWICK, 2009).

Segundo Pereira e Vilegas (2000), os alcaloides que ocorrem em *Passiflora* são do tipo indólico (Figura 8-A, p. 33), mais precisamente do tipo  $\beta$ -carbonílico (Figura 8-B, p. 33) (MADOGLIO, 2011), como harmalina, harmina, harmol, harmalol, harmano e norharmano (Figura 9, p. 33) (ABOURASHED; VANDERPLANK; KHAN, 2002; DHAWAN; DHAWAN; SHARMA, 2004; ZUCOLOTTO et al., 2011).

Carbolina é a nomenclatura adotada para designar o sistema de anéis fusionados benzeno-pirrol-piridina (ABRAMOVITCH; SPENSER, 1964). Estas moléculas classificam-se segundo o grau de saturação do anel de seis membros que contém o nitrogênio. Denominam-se  $\beta$ -carbolinas quando este anel está completamente insaturado (Figura 8-B, p. 33), e di-hidro- $\beta$ -carbolinas e tetrahidro- $\beta$ -carbolinas quando o anel está parcial ou completamente saturado, respectivamente (CAO et al., 2007). Harmina, harmol, harmano e

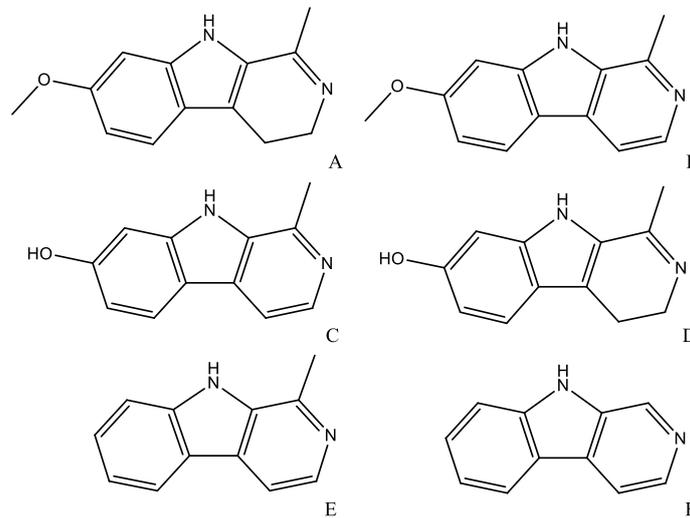
norharmano pertencem ao primeiro grupo, enquanto que harmalina e harmalol pertencem ao segundo grupo (Figura 9) (MOURA et al., 2007).

Figura 8 - Estrutura do núcleo indólico (A) e do núcleo  $\beta$ -carbolina (B)



Fonte: MOURA (2006)

Figura 9 - Estruturas dos principais alcaloides presentes em *Passiflora* spp.: (A) harmalina, (B) harmina, (C) harmol, (D) harmalol, (E) harmano e (F) norharmano



Fonte: CAO et al. (2007)

Alcaloides  $\beta$ -carbonílicos foram isolados pela primeira vez do harmal (*Peganum harmala* L., Zygophyllaceae), uma espécie nativa do mediterrâneo oriental (MOLOUDIZARGARI et al., 2013). Estes compostos apresentam ampla distribuição em *Passiflora* spp. e outras espécies dos gêneros *Anadenanthera* Speg. (Leguminosae), *Banisteriopsis* C.B.Rob. (Malpighiaceae), *Tetrapteryx* A.Juss. (Malpighiaceae), entre outros (ALLEN; HOLMSTEDT, 1980; PICADA et al., 1997).

Lutomski e Malek (1975) estudaram os teores de alcaloides harmânicos nos diferentes órgãos de *P. edulis* Sims. e de *P. incarnata*, concluindo que, em ambas as espécies, o maior teor ocorre nas folhas.

A composição quali e quantitativa varia tanto entre diferentes espécies quanto dentro da mesma espécie (OGA et al., 1984). Outros compostos presentes em *Passiflora* tais como

glicosídeos cianogênicos, terpenos, fitoesteróis, ácidos graxos, aminoácidos, saponinas e antocianinas também são mencionados na literatura (DHAWAN; DHAWAN; SHARMA, 2004; BARBOSA, 2006; MÜLLER, 2006; GOSMANN et al., 2011).

### 3.6 FARMACOLOGIA DO GÊNERO *Passiflora*

Muitas das espécies de *Passiflora* são utilizadas por suas características ornamentais, alimentares e medicinais, porém, muitas delas não possuem estudos sobre suas propriedades farmacológicas.

Segundo Gosmann et al. (2011, p. 88): “O estágio do conhecimento atual sobre a química e a farmacologia do gênero *Passiflora* indica seu potencial para o desenvolvimento de medicamentos ansiolíticos e hipnótico/sedativos”. Entretanto a atribuição destes efeitos a certos compostos ou grupos de compostos é matéria de discussão (PEREIRA; VILEGAS, 2000). Conforme Grice; Ferreira e Griffiths (2001), e Da Silva (2015), as ações tranquilizantes e calmantes são produto do sinergismo de flavonoides e alcaloides.

A maioria das informações sobre as propriedades medicinais do gênero *Passiflora* se baseia nas espécies *P. incarnata* e *P. edulis*, seguido de *P. alata*, sendo a primeira, a espécie mais conhecida pela medicina popular por seu efeito sedativo e controlador da ansiedade. O efeito calmante é obtido, geralmente, a partir da infusão de folhas e flores e da polpa dos frutos (VIEIRA, 2006).

Na literatura encontraram-se antigos relatos sobre os usos da ‘flor da paixão’ (*P. incarnata*), os quais afirmam que foi introduzida na medicina pelo Dr. L. Phares (Mississippi, Estados Unidos) no ano 1840 (FOSTER; TYLER, 1999).

Na medicina tradicional, *P. incarnata* tem sido utilizada como sedativa, ansiolítica e no tratamento de diarreia, neuralgia, hemorroida, dismenorreia, síndrome pré-menstrual, histeria, espasmos musculares (MIRODDI et al., 2013), morfina-dependência (DHAWAN; KUMAR; SHARMA, 2002), hipertensão (RUGGY; SMITH, 1940), entre outros. Suas raízes são usadas como anti-inflamatório (MIRODDI et al., 2013) e não apresentam efeito ansiolítico, sendo utilizadas como adulterantes (DHAWAN; KUMAR; SHARMA, 2001).

Gupta et al. (2012), concluíram que as folhas de *P. incarnata* poderiam ser empregadas como medicina alternativa e/ou complementar no tratamento de diabetes mellitus, dado que extratos desta espécie apresentaram significativa atividade anti-hiperglicemiante em ratos. Estudos feitos por Dhawan, Kumar e Sharma (2003a), corroboraram seu uso tradicional na prevenção de asma bronquial, bronquite e outras doenças respiratórias. Propriedades afrodisíacas também foram observadas em ratos após tratamento

com extratos metanólicos das folhas de *P. incarnata* (DHAWAN; KUMAR; SHARMA, 2003b).

Akanbi, Bodunrin e Olayanju (2011) testaram a atividade antibacteriana das partes aéreas de *P. edulis*, concluindo que esta espécie é eficaz tanto contra bactérias gram positivas quanto contra gram negativas. Ripa et al. (2009) confirmaram esta atividade e avaliaram ainda as propriedades citotóxicas, obtendo resultados positivos.

Efeitos cicatrizantes (GARROS et al., 2006) e anti-inflamatórios (BENINCÁ et al., 2007) também foram observados em ratos após tratamento com extratos das folhas de *P. edulis*. Além disso, extratos feitos a partir das cascas dos frutos apresentaram ação anti-hipertensiva (ICHIMURA et al., 2006) e anti-asmática em humanos (WATSON et al., 2008).

Oga et al. (1984) realizaram estudos com *P. alata* em modelos murinos e observaram que o extrato das folhas prolongou o tempo de sono induzido por pentobarbital, reduziu significativamente a atividade motora e apresentou efeito anticonvulsivante. Por outro lado, Wasicky et al. (2015) evidenciaram ocorrência de efeito gastroprotetor em ratos.

A tabela 1 (p. 36) apresenta as propriedades terapêuticas de algumas espécies de *Passiflora*.

Tabela 1 - Propriedades terapêuticas de algumas espécies de *Passiflora*, testadas *in vitro* (Iv), em camundongos (C), em ratos (R), ou em humanos (H)

ESPÉCIE	PROPRIEDADES TERAPÊUTICAS
<i>P. alata</i> Curtis	Analgésica (C), antihelmíntica, antibacteriana, anticâncer, antidiarreica, antifúngica, antioxidante, antiviral, ansiolítica (R), diurética, emética, emenagoga, anti-inflamatória (C), tratamento da febre, hemorroida, hipertensão, morfíno dependência, inflamação da pele (Iv)
<i>P. actínia</i> Hook.	Sedativa (C), ansiolítica (R)
<i>P. caerulea</i> L.	Sedativa, diurética, anti-helmíntica, antibacteriana
<i>P. clathrata</i> Mast.	Sedativa
<i>P. capsularis</i> L.	Emenagoga
<i>P. contrayerva</i> Sm.	Antídoto
<i>P. edulis</i> Sims	Analgésica, antihelmíntica, antibacteriana (Iv), anticâncer (Iv), antidiarreica, antifúngica (Iv), antiviral (Iv), diurética, ansiolítica (R), sedativa, anti-inflamatória (M), tratamento da hipertensão, inflamação da pele (M)
<i>P. edulis</i> var. <i>flavicarpa</i>	Anticâncer (Iv), anti-inflamatória (C)
<i>P. foetida</i> L.	Analgésica, antihelmíntica, antibacteriana (Iv), anticâncer (Iv), ansiolítica (H), emética, emenagoga, tratamento da febre, histéria e inflamação da pele
<i>P. incarnata</i> L.	Anthelmíntica, antiasmática, ansiolítica, antidiarreica, sedativa, morfíno dependência, tratamento de neuralgia, hemorroida e dismenorreia
<i>P. maliformis</i> L.	Analgésica, tratamento da febre e hipertensão
<i>P. mucronata</i> Lam.	Antihelmíntica
<i>P. nítida</i> Kunth	Antibacteriana (Iv), antioxidante (Iv)
<i>P. palmeri</i> Rose	Antibacteriana (Iv), antioxidante (Iv)
<i>P. pedunculata</i> Hort. ex Mast.	Antídoto
<i>P. quadrangularis</i> L.	Ansiolítica (R), tratamento de diabetes e hipertensão
<i>P. salvadorensis</i> Donn.Sm.	Diurética
<i>P. suberosa</i> L.	Anti-inflamatória
<i>P. tenuifila</i> Killip	Antioxidante (Iv)
<i>P. trifoliata</i> Cav.	Antisséptica, sedativa
<i>P. vitifolia</i> Kunth	Antídoto

Fonte: Adaptado de YOCKTENG; D'EECKENBRUGGE; SOUZA-CHIES (2011)

Uma ampla variedade de atividades farmacológicas é atribuída aos alcaloides  $\beta$ -carbonílicos.

Kim, Sablin e Ramsay (1997), e Herraiz e Chaparro (2005) afirmaram que tanto harmano quanto norharmano são potentes inibidores reversíveis da MAO (monoaminoxidase) A e B. Por outro lado, também foi comprovada a capacidade das  $\beta$ -carbolinas para se unir a receptores serotoninérgicos, dopaminérgicos e benzodiazepínicos (GLENNON et al., 2000).

Nos estudos *in vitro* realizados por Jiménez et al. (2008), a harmina demonstrou ter potente citotoxicidade por indução de necrose e apoptose em linhagens de células tumorais. Também apresentou efeito inibitório específico na proliferação celular, fato que sugere que esta substância poderia ser útil como inibidor no desenvolvimento de tumores.

Di Giorgio et al. (2004) confirmaram atividade antileishmania para alcaloides  $\beta$ -carbonílicos; em contrapartida, harmana e harmina não poderiam ser utilizados como agentes terapêuticos devido a sua elevada toxicidade e possível genotoxicidade. No entanto, a presença destes compostos em plantas medicinais, poderia prevenir infecções por *Leishmania* nos consumidores.

Ações antioxidantes *in vivo* foram atribuídas às  $\beta$ -carbolinas por Moura et al. (2007). No metabolismo destas substâncias podem estar envolvidos radicais livres intermediários, tais como o núcleo indolil formado a partir da oxidação de triptofano e triptamina. Estes radicais estão altamente deslocalizados e estabilizados por ressonância, fato que poderia explicar sua atividade antioxidante. O potencial antioxidante aumenta com a hidroxilação do anel indolil, e diminui com a desidrogenação do anel piridil (JOVANOVIC; SIMIC, 1985; CHRISTEN, PETERHANS; STOCKER, 1990; TSE; MAK; DICKENS, 1991). Então, do ponto de vista da substituição, harmalol e harmol possuem maior atividade antioxidante do que harmalina e harmina, respectivamente (Figura 9, p. 34). Do ponto de vista da insaturação, harmalol e harmalina possuem maior atividade antioxidante do que harmol e harmina, respectivamente (Figura 9, p. 34) (TSE; MAK; DICKENS, 1991).

Até meados do ano 1960, os estudos sobre *Passiflora* se baseavam na investigação da presença de alcaloides indólicos do tipo harmânico, mas com o passar dos anos, mudou o enfoque rumo ao estudo de compostos de natureza flavonoídica (PEREIRA; VILEGAS, 2000).

O flavonoide vitexina possui uma ampla variedade de efeitos farmacológicos tais como efeito inibitório em linhagens celulares de câncer mamário, efeito inibitório da proliferação celular e efeito indutor da apoptose em cultura de células com leucemia (LEE et

al., 2012), efeito cardioprotetor *in vivo* associado a efeito antioxidante e anti-inflamatório (DONG et al., 2013), efeito protetor do dano oxidativo em eritrócitos (células altamente vulneráveis ao dano causado pelos radicais livres) (AN et al., 2015), efeito analgésico associado a atividade antioxidante (BORGHI et al., 2013), efeito antidepressivo *in vitro* (CAN; ÖZKAY; ÜÇEL, 2013), e efeito anticonvulsivante (ABBASI et al., 2012).

Min et al. (2015), e Wang et al. (2015) atribuíram a esta substância, ação neuroprotetora *in vivo*. Neste sentido Guimarães et al. (2015) estudaram os efeitos dos flavonoides vitexina, isovitexina e quercetina em culturas de células murinas, demonstrando a capacidade da vitexina para reduzir os níveis do peptídeo amiloide  $\beta_{25-35}$  e suprimir completamente seus efeitos tóxicos. Essa diminuição induzida pela inibição da produção de óxido nítrico produz, por sua vez, um aumento significativo da viabilidade celular.

Devido à semelhança na estrutura química, a isovitexina exerce efeitos farmacológicos similares aos da vitexina (HE et al., 2016).

Em um estudo recente, Choi et al. (2014) avaliaram o potencial antidiabético e anti-inflamatório da apigenina e seus derivados C-glicosilados (vitexina e isovitexina), obtendo resultados positivos. Nesse trabalho, os autores também avaliaram o efeito anti-Alzheimer *in vitro* através da inibição da enzima acetilcolinesterase, concluindo que a isovitexina apresenta um potencial inibitório maior do que a vitexina.

Por outro lado, este potente antioxidante com capacidade de inibir a expressão do fator de necrose tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), prostaglandinas e ciclo-oxigenases (HUANG et al., 2005), também possui atividade antibacteriana (LING et al., 2010) e antiviral (WEI-YANG; XIANG; JIAN-WEI, 2011).

Em relação à orientina, esta apresenta propriedades antioxidantes (DEVI et al., 2000), antinociceptivas (SILVA et al., 2010), anti-inflamatórias (SUN et al., 2016) e antitumorais (AN et al., 2015). Estudos recentes têm demonstrado efeitos cardioprotetores (LIU; WU; HUANG, 2015), vasculoprotetores (LEE; KU; BAE, 2014) e antitrombóticos *in vitro* e *in vivo* (LEE; BAE, 2015).

Quanto às ações sobre o sistema nervoso, a orientina combate o estresse oxidativo e estimula a neurotransmissão e a neuroplasticidade, causando efeito antidepressivo e melhorando o déficit cognitivo *in vivo* (LIU et al., 2015; WANG et al., 2015). Neste sentido, Yu et al. (2015) comprovaram que este flavonoide também inibe a apoptose celular induzida pelo peptídeo  $A\beta_{1-42}$  em camundongos com doença de Alzheimer. Por sua vez, este composto ativa diferentes vias de sinalização, melhorando a disfunção mitocondrial e evitando o estresse oxidativo, tornando-o um candidato promissor para o tratamento desta patologia.

Diferentes pesquisas têm demonstrado que a isoorientina possui uma ampla variedade de atividades farmacológicas tais como atividade anti-inflamatória, antinociceptiva e antiulcerogênica (KÜPELI et al., 2004). Propriedades antidiabéticas (ALONSO-CASTRO et al., 2012) e hepatoprotetoras (YUAN et al., 2016) também foram atribuídas a esta substância.

Estudos mais recentes realizados por Yuan et al. (2012) e Yuan et al. (2014a), indicaram que a isoorientina possui atividade indutora da apoptose e da autofagia em linhagens celulares de câncer, o que permitiu aos autores concluir que estes efeitos poderiam representar uma forma eficaz de quimioterapia.

Em relação à ação sobre o sistema nervoso, Yuan et al. (2014b) afirmaram que este flavonoide possui atividade neuroprotetora e anti-inflamatória associada a atividade antioxidante.

### 3.7 IMPORTÂNCIA DAS ATIVIDADES BIOLÓGICAS DE PLANTAS

O reino vegetal constitui uma importante fonte de substâncias com uma ampla variedade de atividades biológicas (DE MELO; COSTA, 2005), razão pela qual, nos últimos anos tem crescido muito o interesse pela descoberta de novos compostos bioativos a partir de plantas (SILVA, 2015b). Neste sentido, uma investigação recente indicou que aproximadamente 40% dos novos fármacos desenvolvidos nos últimos 30 anos são de origem vegetal ou derivados de compostos provenientes do metabolismo vegetal ou de organismos marinhos (COSTA, 2013).

#### 3.7.1 Atividade antioxidante e sua avaliação *in vitro*

Um radical livre (RL) é qualquer espécie que contém um ou mais elétrons desemparelhados (HALLIWELL, 1994). A formação de RL é um processo normal que ocorre no metabolismo celular como consequência da ação catalítica de diferentes enzimas. Existem fontes endógenas e exógenas de geração de RL. Dentro das primeiras, encontram-se: respiração aeróbica, processos inflamatórios, peroxissomos, enzimas do citocromo P450; enquanto que dentro das segundas encontram-se: exposição ao ozônio e radiações gama e ultravioleta, medicamentos e dieta (BIANCHI; ANTUNES, 1999).

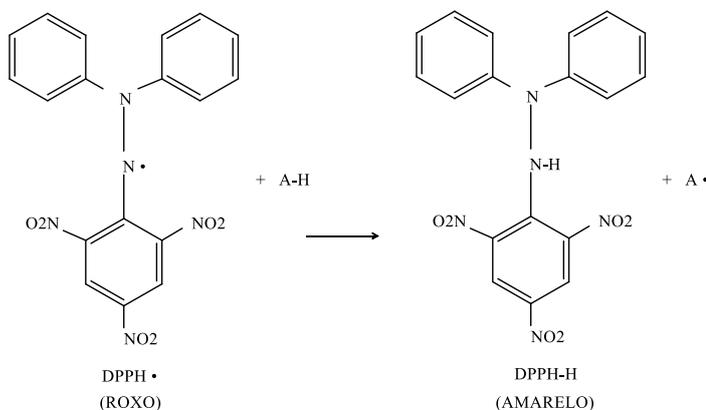
Os RL nos quais o elétron desemparelhado se encontra centrado no átomo de oxigênio são chamados de espécies reativas de oxigênio (ERO); ou espécies reativas de nitrogênio (ERN), quando centrado no átomo de nitrogênio (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006).

Para combater o excesso de RL os organismos produzem substâncias capazes de neutralizar ou impedir sua formação, sendo estas substâncias conhecidas como antioxidantes. Halliwell e Gutteridge (2015, p. 77) definiram antioxidante como sendo “qualquer substância que, quando presente em baixa concentração comparada à do substrato oxidável, regenera o substrato ou previne significativamente a oxidação do mesmo”. Estes antioxidantes são capazes de estabilizar, ou desativar RL antes deles reagirem com seus alvos biológicos celulares (ATOUI et al., 2005). O desequilíbrio entre moléculas oxidantes e antioxidantes, favorecendo as primeiras e conduzindo a danos celulares pelos RL, tem sido denominado estresse oxidativo (SIES, 1993).

Os antioxidantes naturais contidos nos alimentos, principalmente nos de origem vegetal, são: vitaminas (A, C e E), minerais (selênio, zinco e cobre), e polifenóis (GONZÁLES; CRUZ, 2017). Estes compostos são úteis no auxílio do sistema protetor endógeno contra o dano oxidativo, razão pela qual adquiriram grande importância, tanto na indústria farmacêutica quanto na indústria alimentar (FERREIRA; ABREU, 2007; VELLOSA; BARBOSA; OLIVEIRA, 2007).

Existem diversas metodologias para a avaliação da atividade antioxidante, e a maioria delas emprega o mesmo princípio, no qual a capacidade de uma amostra para eliminar ou neutralizar um radical é monitorada com auxílio de um espectrofotômetro UV-Visível (OLIVEIRA, 2015), tal como o ensaio do sequestro do radical livre DPPH• (2,2-difenil-1-picrilhidrazila). Essa técnica simples é uma das mais utilizadas no estudo de substâncias puras, misturas ou matrizes complexas (SOUSA et al., 2007; OLIVEIRA, 2015), e baseia-se na descoloração de uma solução composta pelo radical estável DPPH•, de cor roxa. Em presença de substâncias capazes de ceder um átomo de hidrogênio (substância antioxidante), o DPPH• se reduz formando 2,2-difenilpicril-hidrazina (DPPH-H, cor amarelo), e gerando um radical livre (A•) (BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSET, 1995; TEPE et al., 2005). A Figura 10 (p. 41) mostra o mecanismo geral da reação.

Figura 10 - Mecanismo de reação entre o radical DPPH• e um antioxidante (A-H) através da transferência de um átomo de hidrogênio.



Fonte: OLIVEIRA (2015)

A capacidade antioxidante pode ser estimada através da diminuição da absorção da solução a 517 nm (ZHAO et al., 2013).

Após revisão da literatura, Montero (2011) afirmou que as Passifloraceae são citadas como uma das melhores fontes de antioxidantes naturais.

### 3.7.2 Atividade anticolinesterásica e sua avaliação *in vitro*

Em relação à doença de Alzheimer (DA), uma das estratégias utilizadas no tratamento sintomático desta patologia é o aumento dos níveis de acetilcolina (ACh) no cérebro (DOHI; TERASAKI; MAKINO, 2009). Isto é possível através do uso de agentes inibidores da AChE, que é a enzima-chave na degradação da ACh (PINHEIRO, 2011). A doença de Parkinson, a demência senil, a ataxia e a miastenia gravis são outras patologias nas que a inibição da AChE resulta em uma forma de tratamento (MUKHERJEE et al., 2007).

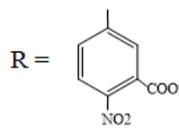
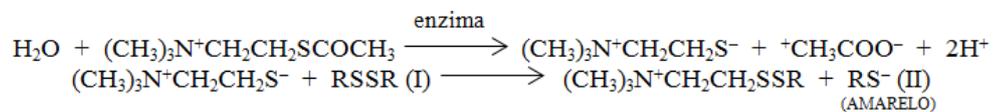
A grande diversidade de estruturas moleculares que ocorrem em espécies vegetais as tornam fontes valiosas de novos compostos com possíveis aplicações no tratamento contra a DA (DE MELO; COSTA, 2005). Neste sentido, a flora brasileira tem demonstrado sucesso no campo da DA (TREVISAN; MACEDO, 2003), e constitui uma grande fonte de substâncias ainda para serem descobertas (SEIDL, 2010).

Muitos métodos para avaliação da atividade inibitória da AChE têm sido relatados na literatura. Os primeiros ensaios utilizavam tecidos animais, mas a partir da década de 1930, os cientistas começaram a trabalhar com a enzima isolada (ARAÚJO; SANTOS; GONSALVES, 2016). Procedimentos espectrométricos, espectrofluorométricos, cromatográficos e de titulação ácido-base foram desenvolvidos com o objetivo de estudar esta atividade biológica

(ARAÚJO; SANTOS; GONSALVES, 2016). No entanto, muitos testes se baseiam nas reações de Ellman (MUKHERJEE et al., 2007; ARAÚJO; SANTOS; GONSALVES, 2016).

O método de Ellman, que permite a avaliação de compostos tanto de origem natural quanto sintética (ARAÚJO; SANTOS; GONSALVES, 2016), se fundamenta na medida da velocidade de produção de tiocolina quando a acetiltiocolina, um análogo da ACh, é hidrolisada. O tiol reage com o íon 5,5'-ditiobis-2-nitrobenzoato (I) para produzir o ânion do ácido 5-tio-2-nitrobenzóico (II), de coloração amarela (Figura 11). A velocidade de produção de cor é medida em espectrofotômetro a 412 nm (ELLMAN et al., 1961).

Figura 11 - Reação geral que acontece no teste de inibição da acetilcolinesterase



Fonte: ELLMAN et al. (1961)

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 COLETA E IDENTIFICAÇÃO DA ESPÉCIE

Órgãos aéreos vegetativos de *Passiflora malacophylla*, provenientes de diferentes clones desta espécie foram fornecidos pela Embrapa (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária).

Realizaram-se três coletas nos meses de Maio, Junho e Julho de 2016, no período da manhã, na Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas - BA, Brasil (12°40'47.2"S ; 39°05'19.8"W). O material obtido na primeira coleta foi utilizado para realizar os estudos botânicos, enquanto que o material obtido na segunda e na terceira coleta foi utilizado para realizar os estudos fitoquímicos e de atividade biológica. Só foram coletadas aquelas partes aéreas em ótimas condições e que não sofreram nenhum processo de contaminação por fungos, bactérias nem parasitas.

A identificação da espécie foi confirmada pela Especialista em Taxonomia de Passifloraceae do Herbário da Universidade Estadual de Feira de Santana (HUEFS), a Dra. Teonildes S. Nunes, e o material foi tombado com o voucher HUEFS 125350 (Coletor: Palma, N. De).

### 4.2 EQUIPAMENTOS E MATERIAIS UTILIZADOS

Na realização dos estudos morfoanatômicos utilizou-se: microscópio estereoscópico binocular Schonfeld® SZ845, micrótomo rotativo Leica Microsystems® RM2245, fotomicroscópio Olympus® BX-40 com câmera de captura Olympus® DB-71, microscópio eletrônico de varredura Zeiss® DSM940, secador de ponto crítico Balzers® CPD-030, e metalizador Quorum® Q150T ES. Os reagentes/solventes utilizados foram: hipoclorito de sódio comercial (2%); formaldeído (formalina), ácido acético, álcool etílico, álcool butílico terciário, ácido periódico, e metabissulfito de sódio de procedência Synth® ou Merck®; parafina Histosec (Merck®); safranina, fucsina, e azul de astra procedência Vetec®; e resina sintética Permout (Fisher Scientific®).

Na execução dos estudos fitoquímicos empregou-se: estufa de secagem com circulação de ar tipo Marconi® MA035/5, moinho de facas Marconi® MA600, balança semi-analítica Shimadzu® BL3200H, balança analítica Shimadzu® AUY220, evaporador rotatório Laborota 4000 (Heidolph®), cromatógrafo a líquido de alta eficiência Varian® acoplado a detetor de arranjo de diodos Varian® ProStar, coluna LiChroCART® Purospher Star RP18-e (250 mm x 4,6 mm ; 5 µm), e equipamento de ressonância magnética nuclear Varian® modelo

Inova 500 MHz. Também utilizou-se: metanol, hexano, clorofórmio e acetato de etila grau analítico marca Merck<sup>®</sup> ou Synth<sup>®</sup>, ácido acético e acetonitrila grau HPLC da J.T.Baker<sup>®</sup>, filtro de membrana de celulose Millipore<sup>®</sup>, padrões com 96% pureza (orientina, isoorientina, vitexina, isovitexina) da Sigma-Aldrich<sup>®</sup>, gel de sílica 60 (diâmetro de partícula 0,063-0,200 µm) marca Merck<sup>®</sup>, Sephadex LH-20 (diâmetro de partícula 25-100 µm) da Sigma-Aldrich<sup>®</sup>, e placas cromatográficas de gel de sílica fluorescente a 254 nm (espessura de 200 µm) marca Whatman<sup>®</sup>.

Os testes de atividade biológica foram realizados com auxílio de espectrofotômetro leitor de microplacas Multiskan<sup>®</sup> GO 3.2. Tanto a 2,2-difenil-1-picrilhidrazila e o padrão propilgalato (96% pureza), quanto a enzima acetilcolinesterase e o padrão fisostigmina (99% pureza) foram de procedência Aldrich<sup>®</sup>.

### 4.3 CARACTERIZAÇÃO BOTÂNICA

#### 4.3.1 Estudo morfológico

No Laboratório de Taxonomia Vegetal da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), foram analisados com auxílio de microscópio estereoscópico e instrumental histológico alguns caracteres tais como forma e indumento do caule; forma, tamanho e indumento do pecíolo, glândulas peciolares; forma, tamanho e indumento das estípulas; e forma, tamanho, cor, base, ápice, margens, venação e indumento da lâmina foliar, correspondentes a diferentes partes da planta. Estes caracteres correspondem a descritores utilizados no estudo morfológico de espécies de *Passiflora* (PÉREZ; D'EECKENBRUGGE, 2017).

A morfologia foliar foi analisada conforme as classificações efetuadas por Ellis et al. (2009). Para o estudo da nervura, realizou-se uma modificação do procedimento feito por Dilcher (1974). Folhas frescas inteiras foram colocadas em placas de Petri em contato com hipoclorito de sódio 2% à temperatura ambiente, durante sete dias. Após esse período, o material vegetal foi lavado duas vezes com água. A determinação do tipo de nervura foi realizada segundo a classificação feita por Hickey (1973). O indumento foi analisado conforme as classificações de Gonçalves e Lorenzi (2007).

### 4.3.2 Estudo anatômico

Imediatamente após a coleta, o material vegetal foi fixado em FAA (formalina, ácido acético, álcool etílico 50%, 1:1:18 v/v) por 24 horas (JOHANSEN, 1940) e FNT (formalina neutra tamponada: tampão fosfato, formalina, 9:1 v/v) durante 48 horas (LILLIE, 1965). No Laboratório de Anatomia e Histoquímica Vegetal da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), porções do caule, da região média e distal do pecíolo, e da nervura central de folhas correspondentes ao terceiro nó, foram fixadas a vácuo e colocadas em álcool etílico 70%. Estas amostras logo foram desidratadas através de uma série de álcool butílico terciário para posteriormente serem colocadas em um mergulho de parafina, formando blocos (JOHANSEN, 1940). Com auxílio de micrótomo rotativo, estes blocos de parafina foram seccionados em forma transversal e longitudinal com uma espessura de 14-16  $\mu\text{m}$ . Os cortes foram corados com safranina 1,5% e azul de astra 1% (GERLACH, 1984) para logo serem montados em resina sintética.

Para a técnica de peeling, realizou-se uma modificação do procedimento feito por Zarlavsky (2014), onde foram retiradas porções de epiderme e colocadas em hipoclorito de sódio 1% durante 5 minutos. Logo, o material vegetal foi lavado com água e preparado para observação.

#### 4.3.2.1 Estudo das glândulas peciulares: reação do Ácido Periódico de Schiff (PAS)

Com o objetivo de avaliar a natureza das glândulas peciulares, cortes histológicos provenientes da região distal do pecíolo foram imersos em ácido periódico 1% durante 10 minutos. Logo foram lavados com água destilada e, após secagem, foram submetidos ao reagente de Schiff (2 g de fucsina básica + 60 mL de HCl 1N + 2 g de metabissulfito de sódio + 300 mL de água destilada + 1,2 g de carvão ativado) durante 15 minutos. Em seguida as lâminas foram lavadas com uma solução de metabissulfito de sódio (1 g de metabissulfito de sódio + 10 mL HCl 1N + 190 mL de água) durante 6 minutos. Finalmente foram lavadas com água destilada, secadas e montadas em resina sintética (MCMANUS, 1948).

### 4.3.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

No Laboratório de Microscopia da UFRB, porções do caule, da região distal do pecíolo, e de lâminas foliares foram colocadas em fixador contendo glutaraldeído 2,5% e formaldeído 2,5% em tampão cacodilato de sódio 0,05 M, pH 7,2. Em seguida foram pós-fixadas em tetróxido de ósmio 1%, desidratadas em soluções crescentes de álcool etílico e

secadas em aparelho de ponto crítico, usando dióxido de carbono líquido. Posteriormente, foram submetidas a um banho de ouro em metalizador para logo serem examinadas em microscópio eletrônico de varredura (CASTRO, 2002; BRASILEIRO 2014).

#### 4.4 ESTUDOS FITOQUÍMICOS

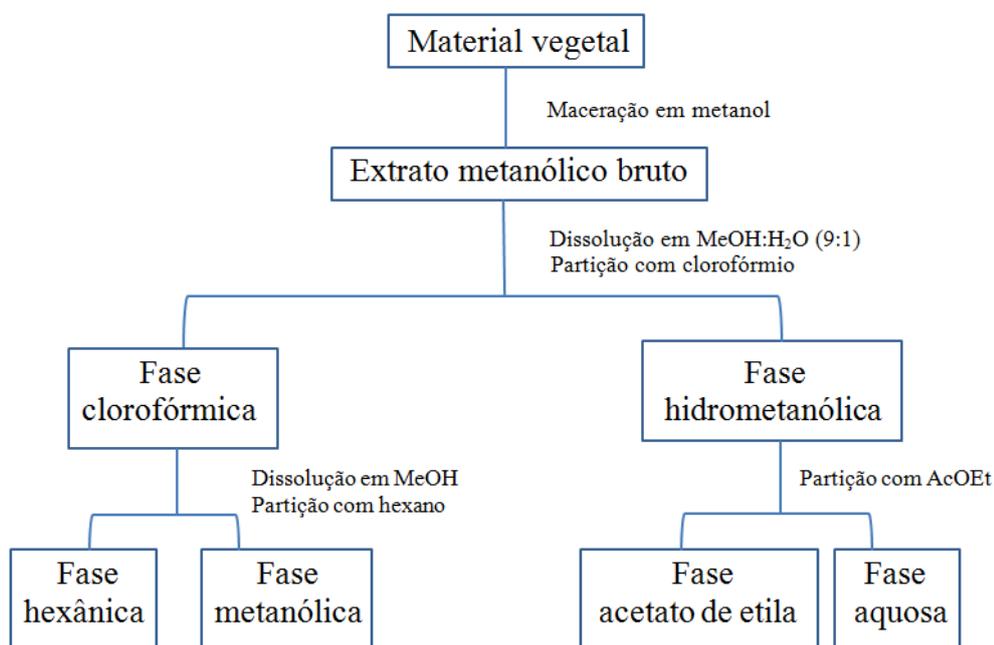
##### 4.4.1 Preparação do material vegetal

As partes aéreas vegetativas foram coletadas e submetidas à secagem em estufa com circulação de ar a uma temperatura de 40°C, durante 4 dias (folhas) e durante 7 dias (caules). Após secagem, os caules e as folhas foram triturados separadamente em macromoinho, no Laboratório de Extração de Produtos Naturais (LAEX), localizado na Unidade Experimental Horto Florestal (UEHF) da UEFS. Logo, o material foi pesado em balança semi-analítica.

##### 4.4.2 Preparação dos extratos

No Laboratório de Ciências Exatas da UEFS (LABEXA), os pós obtidos na moagem foram submetidos à extração com metanol (maceração) por 72 horas, por três vezes consecutivas, obtendo-se assim os extratos metanólicos brutos (EB) do caule e das folhas. Estes EB foram dissolvidos em MeOH:H<sub>2</sub>O (9:1) e posteriormente submetidos à partição líquido-líquido com solventes de diferentes polaridades: clorofórmio (CHCl<sub>3</sub>), hexano, e acetato de etila (AcOEt), visando conseguir a semipurificação das substâncias através de suas polaridades (Figura 12, p. 47) (FILHO; YUNES, 1998). Dessa forma obtiveram-se seis extratos vegetais, ou seja, três extratos semipurificados para cada órgão vegetal: extrato clorofórmico (EC), extrato hexânico (EH), e extrato acetato de etila (EAE). Prévia partição, todos os extratos foram concentrados em evaporador rotativo sob pressão reduzida até peso constante para cálculo do rendimento.

Figura 12 - Esquema geral de extração



#### 4.4.3 *Fingerprint* cromatográfico

Para comparar o perfil químico do caule e das folhas de *P. malacophylla*, se realizaram análises através de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) com detector de arranjo de diodos (DAD), acoplado a detector UV-Visível.

No Laboratório de Bioprospecção Vegetal da UEFS (LABIV), foram pesados 10 mg dos extratos brutos de ambos os órgãos vegetais e dissolvidos em 2 mL de uma mistura de solução aquosa de ácido acético 0,7% e acetonitrila (1:1). Estas soluções, cuja concentração final foi 5 mg/mL, foram filtradas com auxílio de membrana de celulose para logo serem injetadas no cromatógrafo. O volume de amostra injetada foi de 20  $\mu$ L.

Uma coluna C-18 foi utilizada como fase estacionária. Como fase móvel utilizou-se uma solução aquosa de ácido acético 0,7% (Fase A), e uma mistura de acetonitrila e solução aquosa de ácido acético 0,7% (8:2) (Fase B). O gradiente de eluição empregado durante a análise detalha-se na tabela 2 (p. 48).

Tabela 2 - Gradiente de eluição utilizado durante a análise dos extratos brutos por CLAE-DAD

TEMPO (min)	FASE A (%)	FASE B (%)
0:00	90	10
1:00	90	10
5:00	90	10
8:00	75	25
15:00	75	25
17:00	0	100
18:00	0	100
20:00	90	10

Fonte: AUTOR

Utilizou-se um fluxo de fase móvel de 1 mL/min, sendo a temperatura da coluna, de 30°C.

A detecção em UV foi realizada na faixa de comprimento de onda 200-400 nm, com aquisição de espectros a 280 nm.

Os tempos de retenção ( $t_R$ ) e os espectros de absorção UV-Vis das substâncias presentes nas amostras foram comparados com padrões comerciais com o objetivo de avaliar a presença de tais compostos nos extratos. Foram utilizados nesta comparação os flavonoides orientina, isorientina, vitexina e isovitexina.

#### 4.4.4 Separação e purificação das substâncias de *P. malacophylla*

Os extratos obtidos a partir do caule e das folhas foram submetidos à separação mediante dois tipos de Cromatografia em Coluna (CC):

- Cromatografia de adsorção (CA): Empregou-se uma coluna cromatográfica com filtro, na qual foi colocada sílica gel em pó (fase estacionária, adsorvente) dissolvida em solvente apropriado, formando uma pasta. A amostra (extrato ou fração) foi dissolvida em solvente apropriado e misturada com sílica gel, formando uma pastilha. Esta pastilha foi secada até evaporação completa do solvente e colocada dentro da coluna, por cima da pasta. Por sua vez, por cima da pastilha foi colocada uma pequena quantidade (1-2 cm) de sílica pura (Figura 13-A, p. 49).

Como fase móvel foram utilizados sistemas de solventes em grau crescente de polaridade: hexano:AcOEt e AcOEt:MeOH ; ou CHCl<sub>3</sub>:MeOH. Estes eluentes se

escolheram prévia análise dos extratos/frações mediante Cromatografia em Camada Delgada (CCD).

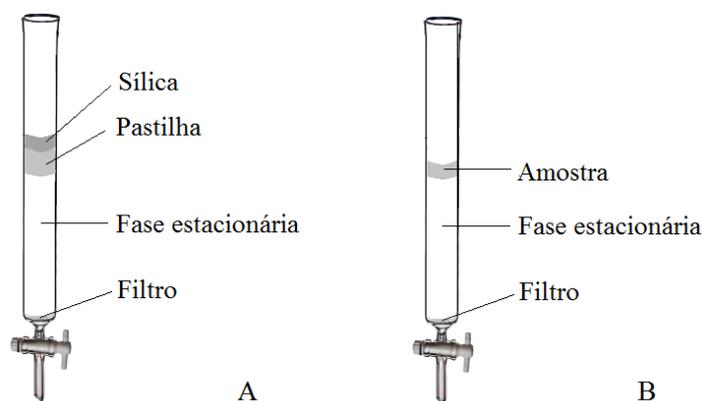
Desta forma, foram coletadas subfrações de 50 mL ou 100 mL, as quais foram evaporadas em rotavapor sob pressão reduzida para logo realizar a CCD das mesmas. Como reveladores, foram empregados: luz UV (254 e 365 nm), vapores de iodo e reagentes específicos. Aquelas subfrações que apresentaram fatores de retenção ( $R_f$ ) semelhantes foram posteriormente agrupadas, resultando assim em novas frações (Figura 14, p. 50).

- Cromatografia de exclusão (CE): Empregou-se Sephadex LH-20 como fase estacionária, e sistemas de solventes  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :MeOH (1:1); ou 100% MeOH (sistema isocrático), como fase móvel.

Na realização desta técnica, a amostra (fração) foi dissolvida em MeOH ou  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :MeOH (1:1) e posteriormente colocada na coluna cromatográfica, por cima da fase estacionária (Figura 13-B). Após obtenção das subfrações de 1 mL cada, foi realizada a CCD das mesmas. Como reveladores, foram empregados: luz UV (254 e 365 nm), vapores de iodo e reagentes específicos. Aquelas subfrações que apresentaram  $R_f$  semelhantes foram posteriormente agrupadas, resultando assim em novas frações (Figura 14, p. 50).

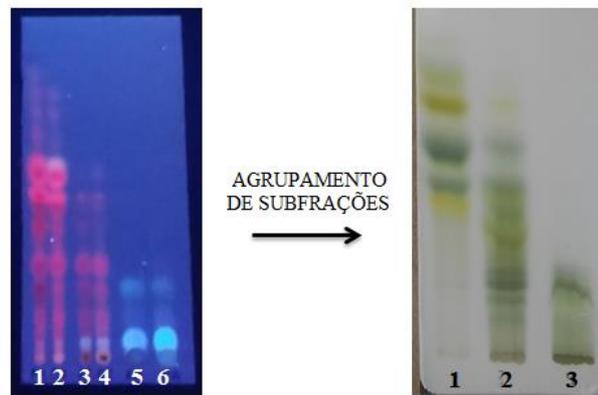
Em geral, a proporção de massa de adsorvente/massa de extrato utilizada deve ser aproximadamente 40:1 (CSEKE at al., 2006).

Figura 13 - Montagem das colunas cromatográficas: (A) Cromatografia de adsorção, (B) Cromatografia de exclusão



Fonte: AUTOR

Figura 14 - Agrupamento de sufrações baseado na semelhança dos Rf das substâncias



Fonte: AUTOR

Os extratos/frações submetidos a fracionamento foram escolhidos segundo sua massa, seu perfil cromatográfico (quantidade de substâncias e diferenças nos Rf), e presença de cristais ou precipitado.

#### 4.4.5 Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

As amostras correspondentes às substâncias isoladas de *P. malacophylla* foram dissolvidas em solvente deuterado apropriado e analisadas em espectrômetro de RMN no Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear (LabRMN) da Universidade Federal de Goiás (UFG). A análise efetuou-se a uma frequência de 500 MHz para  $^1\text{H}$  e 125 MHz para  $^{13}\text{C}$ , utilizando resquícios do solvente ou tetrametilsilano (TMS) como padrão interno.

#### 4.5 TESTES DE ATIVIDADE BIOLÓGICA

##### 4.5.1 Teste de atividade antioxidante - Sequestro do radical livre DPPH• (2,2-difenil-1-picrilhidrazila)

Para a realização deste teste, utilizou-se uma modificação da metodologia usada por Brand-Williams; Cuvelier; Berset (1995). Nas cavidades de uma microplaca foram colocados 250  $\mu\text{L}$  de uma solução de DPPH• (45  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) e 4,2  $\mu\text{L}$  da amostra a ser testada (solução metanólica do extrato bruto, do extrato clorofórmico, do extrato hexânico e do extrato acetato de etila, de ambos os órgãos vegetais; concentração final=5  $\text{mg}/\text{mL}$ ). Como padrão empregou-se uma solução metanólica de galato de propila (propilgalato) 5  $\text{mg}/\text{mL}$ , e para a preparação do controle negativo, o volume da amostra foi substituído pelo mesmo volume de metanol. Durante todo o procedimento, as soluções foram protegidas da luz.

A leitura das absorvâncias realizou-se com auxílio de um leitor de microplacas, efetuando a medição em 517 nm, no tempo inicial e após 30 minutos de incubação à temperatura ambiente. As análises foram feitas em triplicata.

Após a obtenção desses resultados, os extratos mais ativos foram selecionados para o cálculo da Concentração Eficiente Média ( $CE_{50}$ ), neste caso, os extratos acetato de etila do caule e das folhas. Para isso efetuou-se o mesmo procedimento, com amostras cujas concentrações finais foram: 0,25; 1; 2; 3; 4 e 5 mg/mL. Esta  $CE_{50}$  foi determinada por regressão não linear a partir do gráfico  $\text{Log [ I ] (mg/mL) versus \%SRL}$ .

#### **4.5.2 Teste de inibição da enzima Acetilcolinesterase**

Para a realização deste teste, utilizou-se uma modificação da metodologia usada por Ellman et al. (1961). Nas cavidades de uma microplaca foram adicionados 140  $\mu\text{L}$  de uma solução tampão fosfato de sódio 100 mM (pH 8) contendo albumina 0,1%, 20  $\mu\text{L}$  da enzima acetilcolinesterase (0,15 U/mL) e 20  $\mu\text{L}$  da amostra a ser testada (solução etanólica do extrato bruto, do extrato clorofórmico, do extrato hexânico, e do extrato acetato de etila de ambos os órgãos vegetais ; concentração final=10 mg/mL). Logo, a placa foi incubada a  $25\pm 1^\circ\text{C}$  com agitação durante 10 minutos para em seguida ser adicionado 10  $\mu\text{L}$  de ácido 5-5'-ditiobis-[2-nitrobenzóico] (10mM) e 10  $\mu\text{L}$  de iodeto de acetiltiocolina (14 mM). O branco foi preparado substituindo o volume de amostra pelo mesmo volume de tampão fosfato, enquanto que o controle negativo foi preparado substituindo o volume de amostra pelo mesmo volume de etanol. As absorvâncias foram medidas em leitor de microplacas em 405 nm, no tempo inicial e após 30 minutos. As análises foram feitas em octuplicata, e os resultados obtidos foram comparados com o padrão fisostigmina (500  $\mu\text{M}$ ) (AHMED; GILANI, 2009).

#### **4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA**

Os resultados foram tratados estatisticamente através do programa GraphPad Prism5<sup>®</sup> mediante análise de variância (ANOVA), e utilizando o método de Tukey para avaliar possíveis diferenças das amostras entre si.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 ASPECTOS MORFOANATÔMICOS

#### 5.1.1 Descrição morfológica

*Passiflora malacophylla* é uma liana (Figura 15-A, p. 55). De acordo com Deginani (2001), o subgênero *Passiflora* é constituído por lianas herbáceas a lenhosas.

O caule é flexuoso, subcilíndrico e oco, com indumento pubescente composto por tricomas incolores e ferrugíneos (Figuras 15-B a 15-D, p. 55). As folhas são simples e alternas (Figura 15-B, p. 55). Conforme Cervi (1997), as espécies de *Passiflora* sempre apresentam filotaxia alterna.

As estípulas são setáceas, decíduas e medem 0,7-1,1 mm de comprimento; suas margens são lobadas e apresentam tricomas (Figura 15-E, p. 55). No entanto, Nunes e Queiroz (2006) afirmaram que estas estruturas são persistentes e possuem margem lisa. Acredita-se que a principal função destes apêndices é a proteção de folhas e brotos durante seu desenvolvimento, no entanto, em muitos casos, sua forma e tamanho as tornam incapazes para cumprir esta função. Por esta razão, foram envolvidas na elaboração de seiva e na transformação em espinhas para a defesa da planta (DE CANDOLLE, 1827). Algumas estípulas são mais persistentes do que as folhas, o que permite proteger as folhas do ano seguinte (LUBBOCK, 1890).

O pecíolo é curvo a flexuoso e subcilíndrico, variando de 7 a 4,3 cm de comprimento (Figuras 16-A e 16-B, p.56); possui indumento piloso composto por tricomas incolores e ferrugíneos (Figura 16-B, p. 56), e um ou dois pares de glândulas pedunculadas, verde escuras, próximas à base foliar (Figuras 16-C a 16-F, p. 56). Segundo Durkee (1982) essas estruturas têm função de nectários extraflorais. Pecíolo do tipo cilíndrico é mais comum em espécies de *Passiflora* subg. *Passiflora*, enquanto que o do tipo subcilíndrico é mais comum entre espécies de *P.* subg. *Decaloba* (BRASILEIRO, 2014).

As lâminas são cartáceas, inteiras e elítico-lanceoladas a ovadas, medindo 2,8 cm de comprimento por 1,5 cm de largura, e podendo atingir até 17,8 cm de comprimento por 11,0 cm de largura (Figura 17-A, p. 57). A nervação é camptódroma, a base cordada, o ápice agudo e a margem serreada (Figuras 17-A e 17-B, p. 57). Nunes e Queiroz (2006) observaram nesta espécie, a ocorrência de glândulas nas terminações das nervuras. A face adaxial é brilhante e apresenta cor verde escuro e indumento piloso, enquanto que a face abaxial é opaca e

apresenta cor verde claro e indumento pubescente. Em ambos os casos, os tricomas são incolores (Figuras 17-C e 17-D, p. 57).

Brasileiro (2014) analisou a morfoanatomia de 43 espécies do gênero *Passiflora*, pertencentes aos quatro subgêneros. Todas elas apresentaram lâmina foliar peciolada, com filotaxia alterna. Porém, margem foliar do tipo serreada foi evidenciada apenas em representantes do subgênero *Passiflora*.

As medidas das lâminas foliares de *P. malacophylla* observadas neste estudo, diferem muito das medidas relatadas por Masters (1872) e Cervi (1997) para esta espécie. Embora saiba-se que fatores genéticos controlam o tamanho e a forma da folha, também estão envolvidos fatores ambientais tais como disponibilidade hídrica, duração do dia, estado nutricional, umidade do ar e temperatura (HALL, 1976; CAMERIK; WERGER, 1981; SILVA et al., 2014). Estímulos extrínsecos como a alta incidência luminosa podem induzir modificações morfoanatômicas tais como diminuição da área do limbo e aumento da espessura (JAMES; BELL, 2001). A influência destes fatores sobre a planta poderia explicar as diferenças observadas no tamanho da lâmina foliar.

As gavinhas são bem desenvolvidas e apresentam indumento piloso (Figuras 17-E e 17-F, p. 57). Darwin (1875) definiu estas estruturas como órgãos longos, delgados, filiformes e sensíveis ao toque, podendo derivar de caules, folhas ou pedúnculos florais. De acordo com este autor, na família Passifloraceae, estas gavinhas são pedúnculos florais modificados.

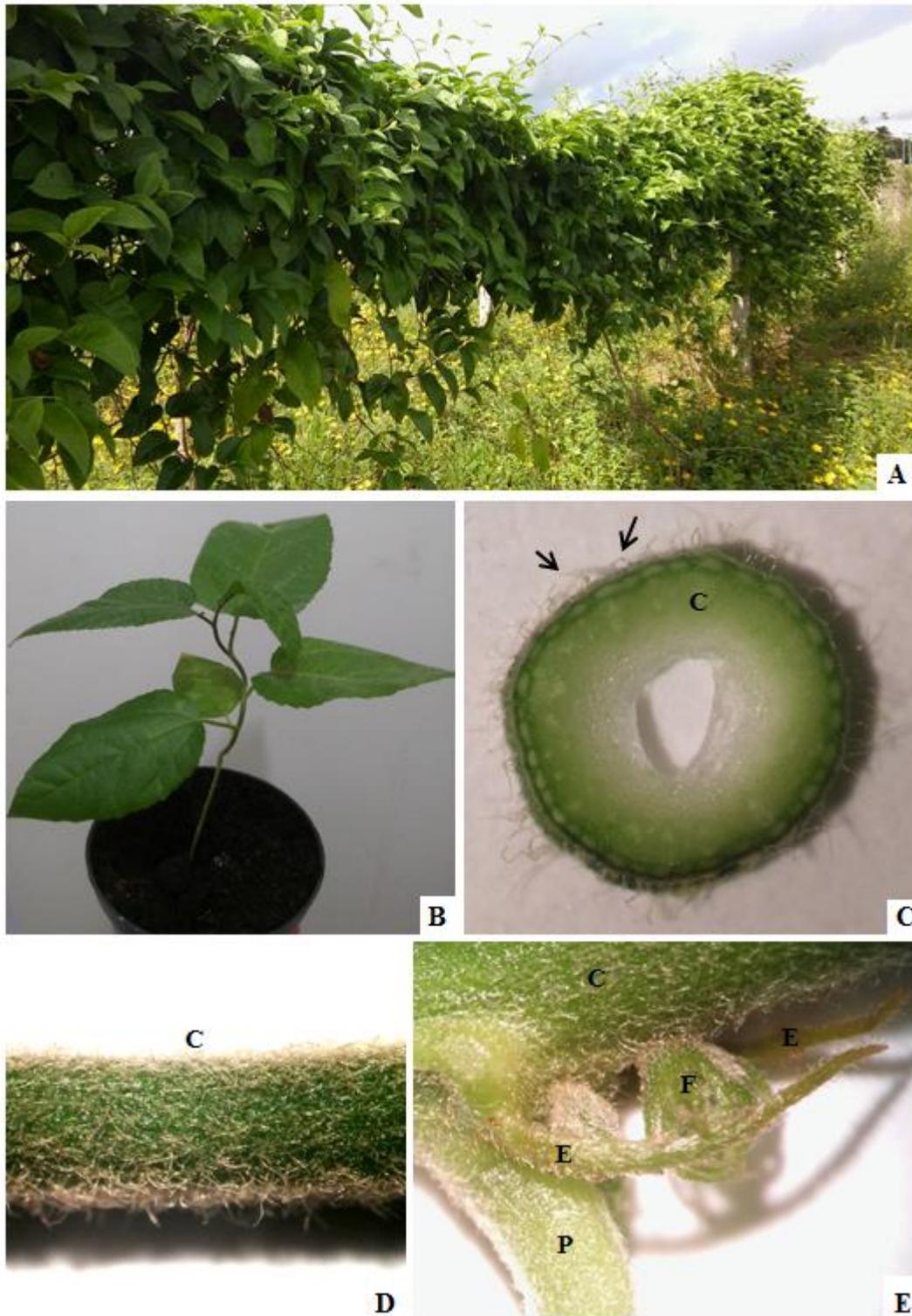
*P. malacophylla* pode ser confundida com *P. edulis* e com *P. bahiensis* Klotzsch, uma espécie muito próxima. Ambas as espécies diferenciam-se desta pelas glândulas peciolares (pedunculadas em *P. malacophylla* e sésseis em *P. edulis* e *P. bahiensis*). Por sua vez, *P. malacophylla* possui indumento pubescente, enquanto que *P. edulis* é totalmente glabra (NUNES, 2002; NUNES; QUEIROZ, 2006).

A tabela 3 (p. 54) exhibe as diferenças observadas em *P. malacophylla* por diferentes autores.

Tabela 3 - Tabela comparativa sobre a morfologia de *P. malacophylla* segundo diferentes autores

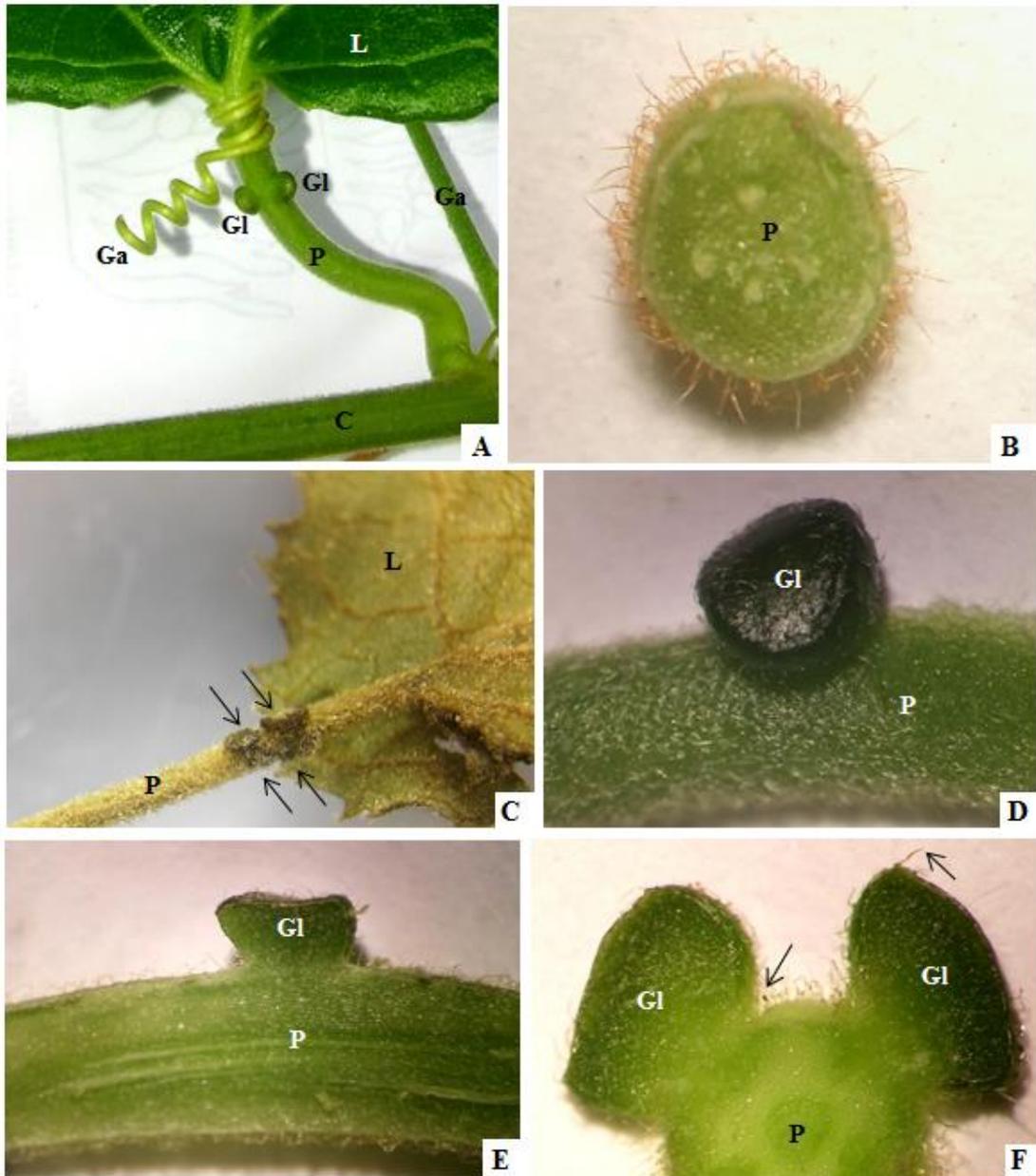
	<b>Autor</b>	<b>Masters (1872)</b>	<b>Cervi (1997)</b>	<b>Nunes e Queiroz (2006)</b>
<b>Hábito</b>	Liana	Subfruticoso	Escandente	Trepadeira herbácea
<b>Caule</b>	Flexuoso, subcilíndrico, liso, oco, com indumento pubescente	Liso	Flexuoso, cilíndrico	Cilíndrico, não alado, velutino
<b>Estípulas</b>	Decíduas, setáceas, 0,7 cm x 1,1 cm compr., margem lobada, com tricomas	Decíduas	Decíduas, setáceas, 3-4 mm	Persistentes, linear-setáceas, 0,7 cm x 1,2 cm compr., ápice agudo, não mucronado, base simétrica, margem lisa
<b>Gavinhas</b>	Bem desenvolvidas, ind. piloso		Tênues, bem desenvolvidas	
<b>Pecíolo</b>	Curvo a flexuoso, subcilíndrico 0,7 a 4,3 cm compr.; 2-4 glândulas pedunculadas na porção distal, ind. piloso	3-4 vezes mais curto do que a lâmina; 2 glândulas sésseis no ápice	5-10 mm, com duas glândulas na base da lâmina foliar	0,8 a 1,5 cm compr.; 2 glândulas pedunculadas, orbiculares, na porção apical
<b>Lâmina foliar</b>	Cartácea, inteira, 2,8 a 17,8 cm compr. x 1,5 a 11 cm larg., elíptico-lanceolada a ovada, base cordada, ápice agudo, margem serreada; face adaxial com ind. piloso; face abaxial com ind. pubescente	Subcoriácea, 5 a 10 cm compr. x 1,5 a 4 cm larg., elíptico-lanceolada, serreada, nervura central tomentosa e predominante na face abaxial	Membranácea, inteira, 4 a 10 cm compr. x 1,5 a 5 cm larg., elíptico-lanceolada, base arredondada, ápice subaguado, bordos serreados; hirsutas principalmente na face abaxial	Membranácea a subcoriácea, inteira, 5-11(-13) cm compr. x 2,8-4(-6) cm larg., oval-oblonga a elíptico-lanceolada, base truncada-cordada, ápice agudo, acuminado, margem irregularmente denteada, 3-nervada, velutina; glândulas nas terminações das nervuras

**Figura 15:** Caracteres morfológicos de *Passiflora malacophylla* Mast. **A** - Hábito. **B** - Vista geral da planta. **C** - Corte transversal do caule com setas pretas indicando tricomas ferrugíneos. **D** - Detalhe do indumento caulinar. **E** - Detalhe das estípulas. C: caule; P: pecíolo; E: estípula; F: flor; L: lâmina foliar.



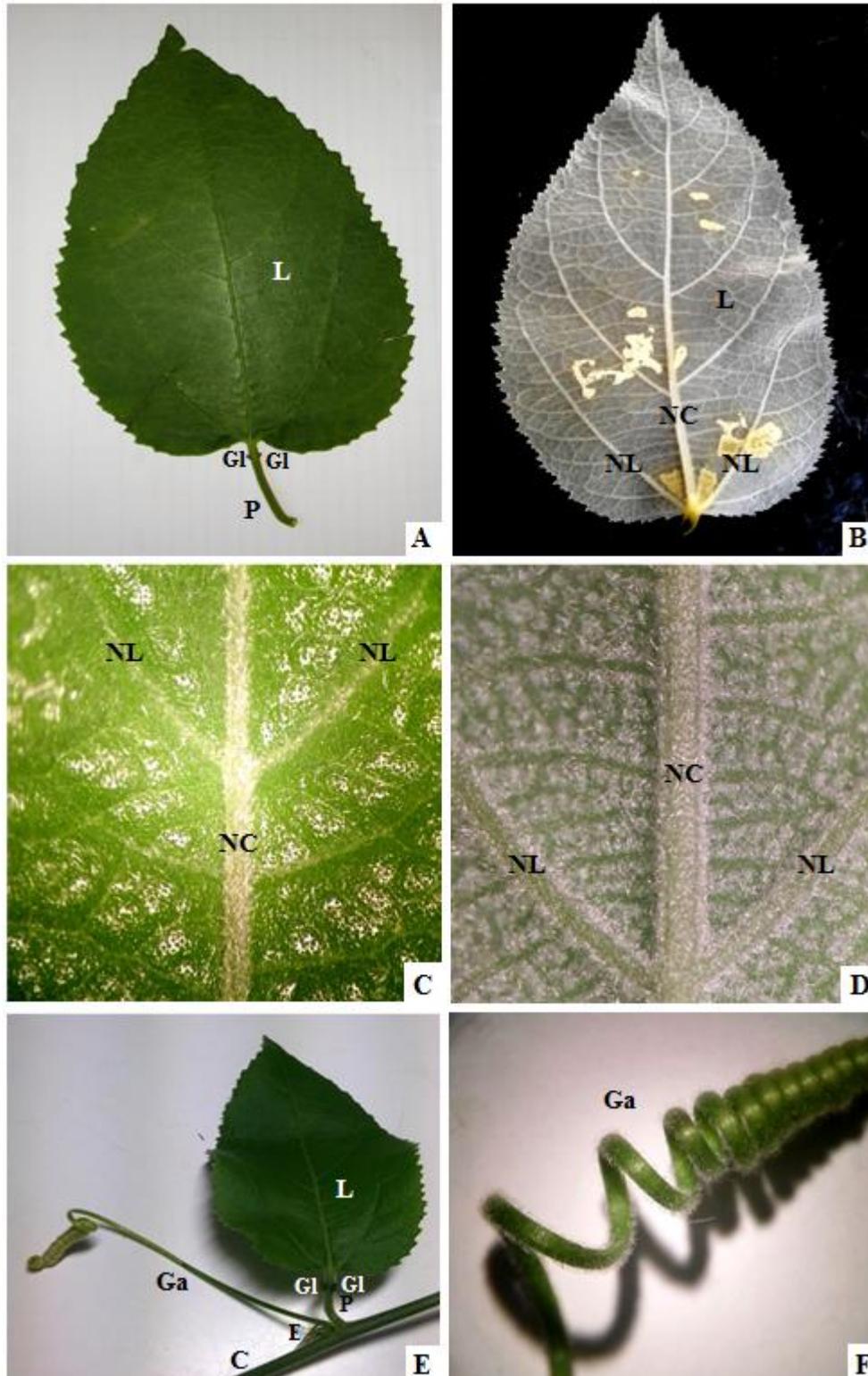
Fonte: AUTOR

**Figura 16:** Caracteres morfológicos de *Passiflora malacophylla* Mast. **A** - Forma do pecíolo. **B** - Corte transversal do pecíolo com abundantes tricomas ferrugíneos. **C** - Pecíolo com dois pares de glândulas (setas pretas). **D** - Detalhe da glândula. **E** - Corte longitudinal do pecíolo e a glândula. **F** - Corte transversal do pecíolo e das glândulas, com setas pretas indicando tricomas ferrugíneos. C: caule; Ga: gavinha; Gl: glândula; P: pecíolo; E: estípula; L: lâmina foliar.



Fonte: AUTOR

**Figura 17:** Caracteres morfológicos de *Passiflora malacophylla* Mast. **A** - Vista frontal da folha. **B** - Detalhe da nervação. **C** - Detalhe do indumento da lâmina (face adaxial). **D** - Detalhe do indumento da lâmina (face abaxial). **E** - Desenvolvimento da gavinha. **F** - Detalhe do indumento da gavinha. C: caule; Ga: gavinha; Gl: glândula; P: pecíolo; E: estípulas; L: lâmina foliar; NC: nervura central; NL: nervura lateral.



Fonte: AUTOR

## 5.1.2 Descrição anatômica

### 5.1.2.1 Caule

Cortes transversais demonstraram que o caule, em um estágio primário, apresenta forma subcilíndrica e eustela (Figura 18-A, p. 59). Ramos subcilíndricos também foram observados em *P. edulis*, *P. lonchophora* Harms (CERVI, 1997), *P. ischnoclada* Harms (BERNACCI, 2003), *P. miersii* Mast. (VITTA; PIRANI, 2015), e *P. luetzelburgii* Harms (COSTA; MELO, 2016).

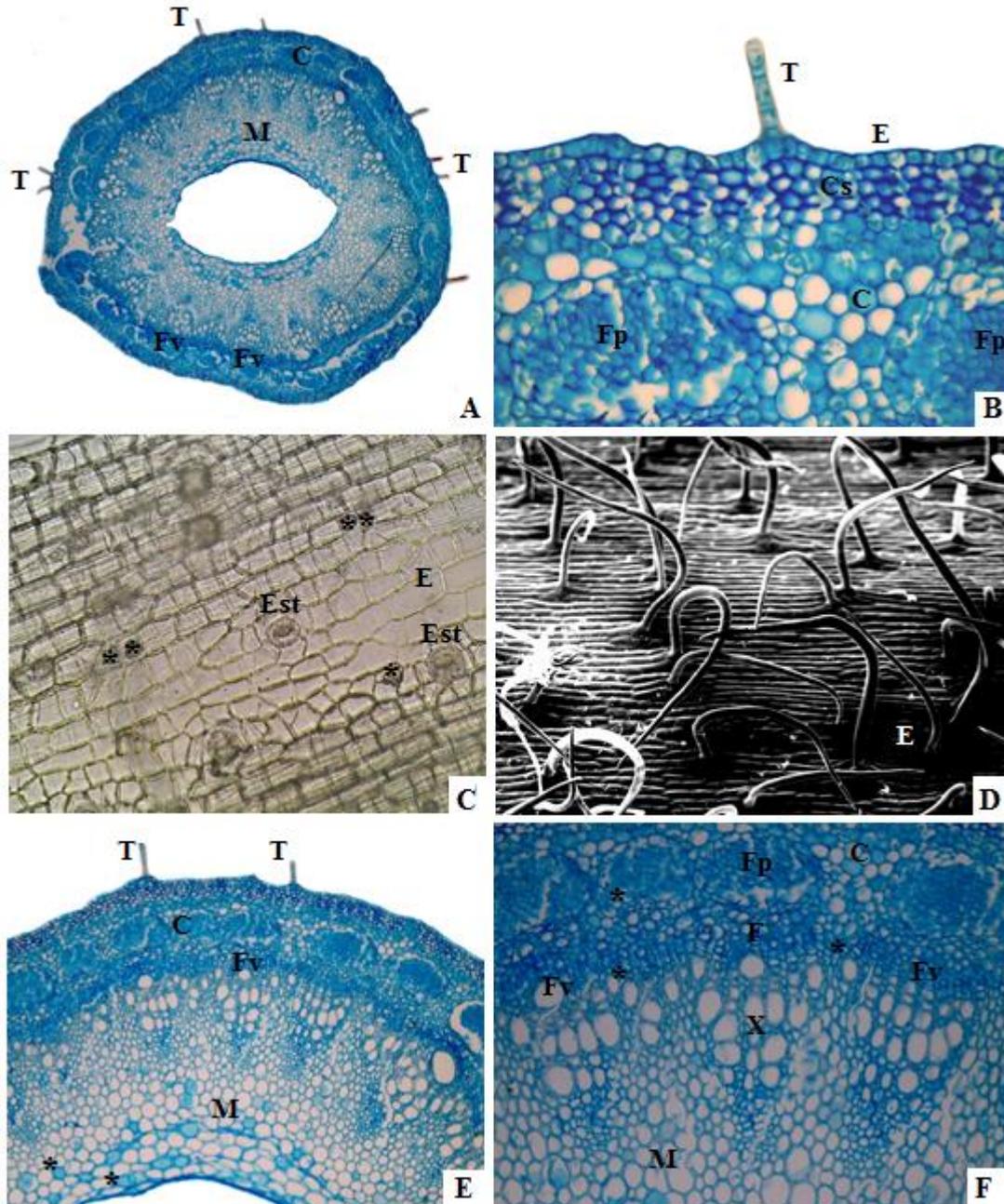
A epiderme é uniestratificada, composta por células quadradas a irregulares ou retangulares, alongadas periclinamente (Figuras 18-B e 18-C, p. 59). Os estômatos são de tipo anomocítico e os tricomas são não glandulares, multicelulares (1-13 células), unisseriados, com a célula apical arredondada ou em ponta, retos ou curvos (Figuras 18-B a 18-D, p. 59). Segundo Zerpa e Gómez (2014), *P. edulis* var. *flavicarpa*, *P. quadrangularis* e *P. ligularis* também apresentam epiderme uniestratificada, embora glabra.

O colênquima subepidérmico lacunar está disposto em 3-5 estratos (Figura 18-B, p. 59). O córtex é menor com relação à medula (Figura 18-A, p. 58). As células do parênquima cortical são esféricas a ovais ou poliédricas e dispõem-se em forma compacta (Figura 18-B, p. 59). Foram observados idioblastos contendo drusas de oxalato de cálcio, e 25-30 feixes vasculares abertos com agrupamento de fibras perivasculares (Figuras 18-A a 18-C, p. 59). Idioblastos com drusas também foram evidenciados no córtex de *P. ligularis*, *P. quadrangularis* (ZERPA; GÓMEZ, 2014), *P. alata*, *P. cincinnata* e *P. setacea* (VIEIRA et al., 2012). Por sua vez, *P. edulis*, *P. alata*, *P. cincinnata* e *P. setacea* também possuem calotas de fibras floemáticas (VIEIRA et al., 2012).

A medula é oca e o parênquima medular está composto por células esféricas a ovais ou poliédricas com disposição laxa e presença de idioblastos contendo drusas de oxalato de cálcio (Figuras 18-A, 18-E e 18-F, p. 59).

Desta forma, confirmou-se o afirmado por Solereder (1908), e Metcalfe e Chalk (1950) em relação à família Passifloraceae, dado que o colênquima subepidérmico associado ao córtex primário dispõe-se em vários estratos e apresenta cristais solitários. Também observou-se que o xilema arranja-se em forma de cilindro contínuo. No entanto, os grupos de fibras associadas ao floema para esta espécie poderiam não ser classificados como pequenos.

**Figura 18:** Caracteres anatômicos do caule de *Passiflora malacophylla* Mast. **A** - Vista geral, aumento 4x. **B** - Córtex, aumento 40x. **C** - Epiderme com estômatos e drusas do córtex, aumento 40x. **D** - Epiderme com tricomas, aumento 344x. **E** - Sistema vascular. **F** - Detalhe dos feixes vasculares, aumento 20x. T: tricoma; E: epiderme; Est: estômato; C: córtex; M: medula; Cs: colênquima subepidérmico; Fv: feixe vascular; X: xilema; F: floema; Fp: fibras perivasculares. (\*) indicam drusas.



Fonte: AUTOR

### 5.1.2.2 Pecíolo

Cortes transversais demonstraram que o pecíolo apresenta forma subcilíndrica (Figura 19-A, p. 61). A epiderme é uniestratificada e está composta por células quadradas a irregulares ou retangulares, periclinalmente alongadas, com tricomas não glandulares, multicelulares (1-13 células), unisseriados, incolores ou ferrugíneos, retos ou curvos (Figuras 19-B e 19-C, p. 61).

O córtex está composto por colênquima subepidérmico tipo lacunar, pluriestratificado (4-6 estratos) (Figuras 19-C e 19-D, p. 61). O parênquima fundamental está constituído por células esféricas a ovais ou poliédricas com disposição laxa e abundantes idioblastos contendo drusas de oxalato de cálcio (Figuras 19-D e 19-E, p. 61).

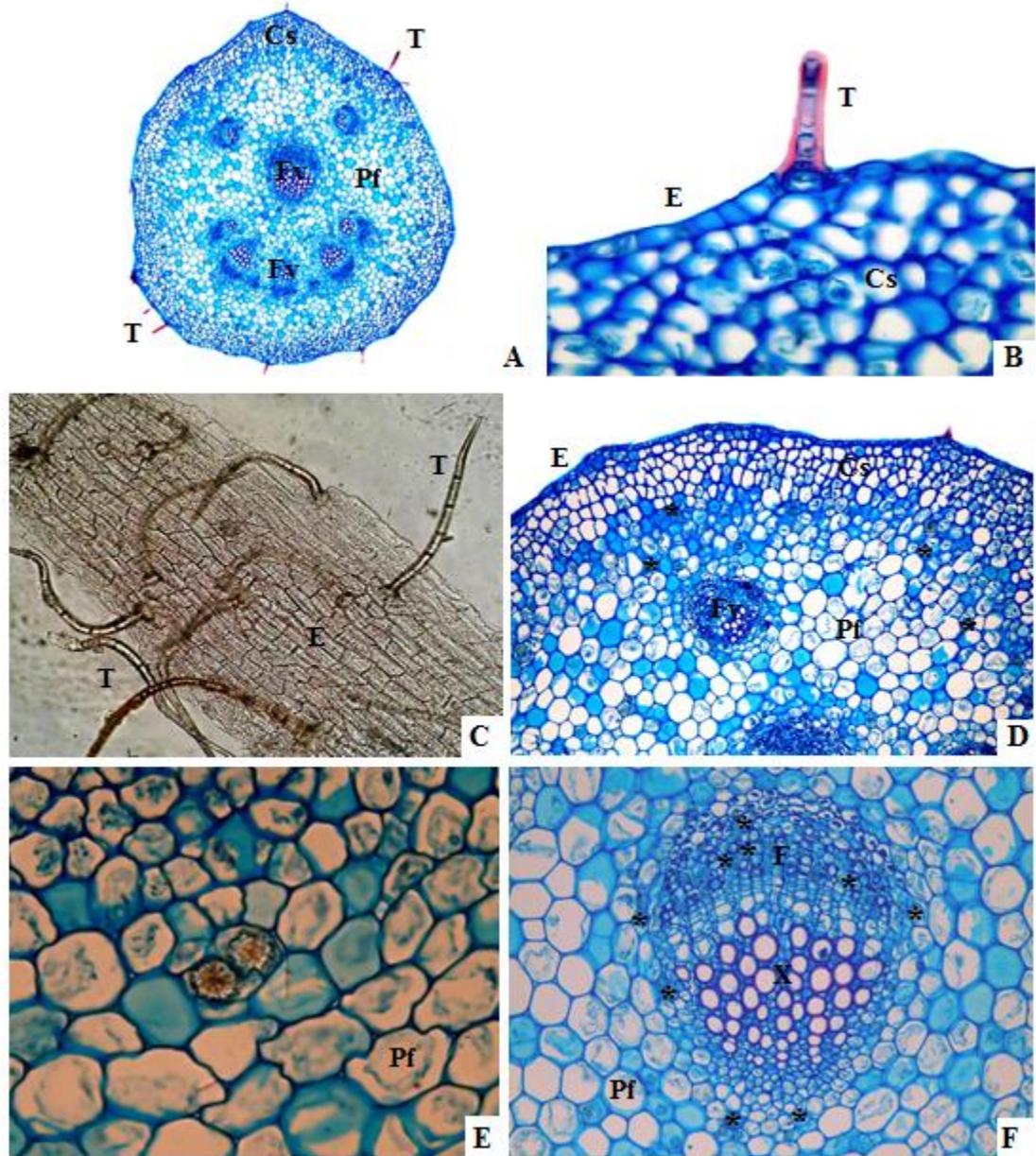
No estudo feito por Farias (2014) foi analisada a anatomia foliar de 45 espécies de *Passiflora*. Em todas elas observou-se que o colênquima subepidérmico do pecíolo é composto por uma faixa contínua de 3-5 camadas. Idioblastos contendo drusas foram evidenciados no córtex da maioria dessas espécies.

Existem inúmeras hipóteses sobre as funções dos cristais nas plantas: regulação de cálcio, proteção contra herbívoros, desintoxicação (por exemplo, metais pesados ou ácido oxálico), balanço iônico, suporte, reflexão de luz para otimização do processo fotossintético (FRANCESCHI; NAKATA, 2005).

Foram observados oito feixes vasculares de tipo colateral aberto dispostos em um anel descontínuo, sendo um deles o maior e central (Figuras 19-A, p. 61); porém o arranjo e o número de feixes variam ao longo do pecíolo. Evidenciaram-se abundantes idioblastos com drusas de oxalato de cálcio associados ao sistema vascular (Figura 19-F, p. 61).

Conforme Kurtz et al. (2003), o estudo anatômico do pecíolo é de importância em taxonomia, já que pode proporcionar informação sobre distintos padrões de feixes vasculares.

**Figura 19:** Caracteres anatômicos do pecíolo de *Passiflora malacophylla* Mast. **A** - Vista geral, aumento 4x. **B** - Epiderme uniestratificada, aumento 40x. **C** - Tricoma com tricomas, aumento 20x. **D** - Córtex, aumento 10x. **E** - Drusas no parênquima fundamental, aumento 40x. **F** - Feixe vascular, aumento 20x. T: tricoma; E: epiderme; Cs: colênquima subepidérmico; Pf: parênquima fundamental; Fv: feixe vascular; X: xilema; F: floema. (\*) indicam drusas.



Fonte: AUTOR

#### 5.1.2.2.1 Glândulas peciolares

Na região distal do pecíolo encontrou-se um par de glândulas pedunculadas que, de acordo com Durkee (1982), têm função de nectários extraflorais (Figura 20-A e 20-B, p. 64).

Muitos estudos têm comprovado que os NEFs em muitas espécies apresentam função de defesa indireta, atraindo formigas para combater herbívoros (PECK, 2015). A herbivoria pode afetar tanto a composição quanto o volume de néctar produzido pelo NEF (NICOLSON, 2007).

Cortes transversais destas glândulas mostraram que a epiderme é uniestratificada com células poliédricas a irregulares, de paredes retas ou levemente curvas. Também evidenciou-se a presença de abundantes tricomas não glandulares, multicelulares (1-6 células), unisseriados, retos ou curvos (Figuras 20-C e 20-D, p. 64).

A epiderme secretora é pluriestratificada (2-4 estratos) e está composta por células alongadas anticlinalmente com disposição em paliçada (Figuras 21-A, p. 65). Os tricomas são não glandulares, multicelulares (1-4 células), unisseriados, retos ou curvos (Figuras 20-B e 20-D, p. 64). A presença de epiderme secretora do tipo pluriestratificada também foi evidenciada em *P. actinia* Hooker, *P. tenuifila* e *P. edulis* por Moreira, Mastroberti e Mariath (2011).

As células do parênquima nectarífero são irregulares a poliédricas e arranjam-se em forma compacta (Figura 21-A, p. 65). O parênquima subnectarífero é composto por células irregulares com disposição laxa (Figuras 21-A a 21-C, p. 65). Nos dois tipos de parênquima evidenciou-se abundantes idioblastos contendo drusas de oxalato de cálcio (Figuras 21-B e 21-C, p. 65). Outras espécies que também apresentam drusas em ambos os tecidos são *P. alata*, *P. actinia*, *P. amethystina* J.C.Mikan e *P. edulis* (MOREIRA; MASTROBERTI; MARIATH, 2011).

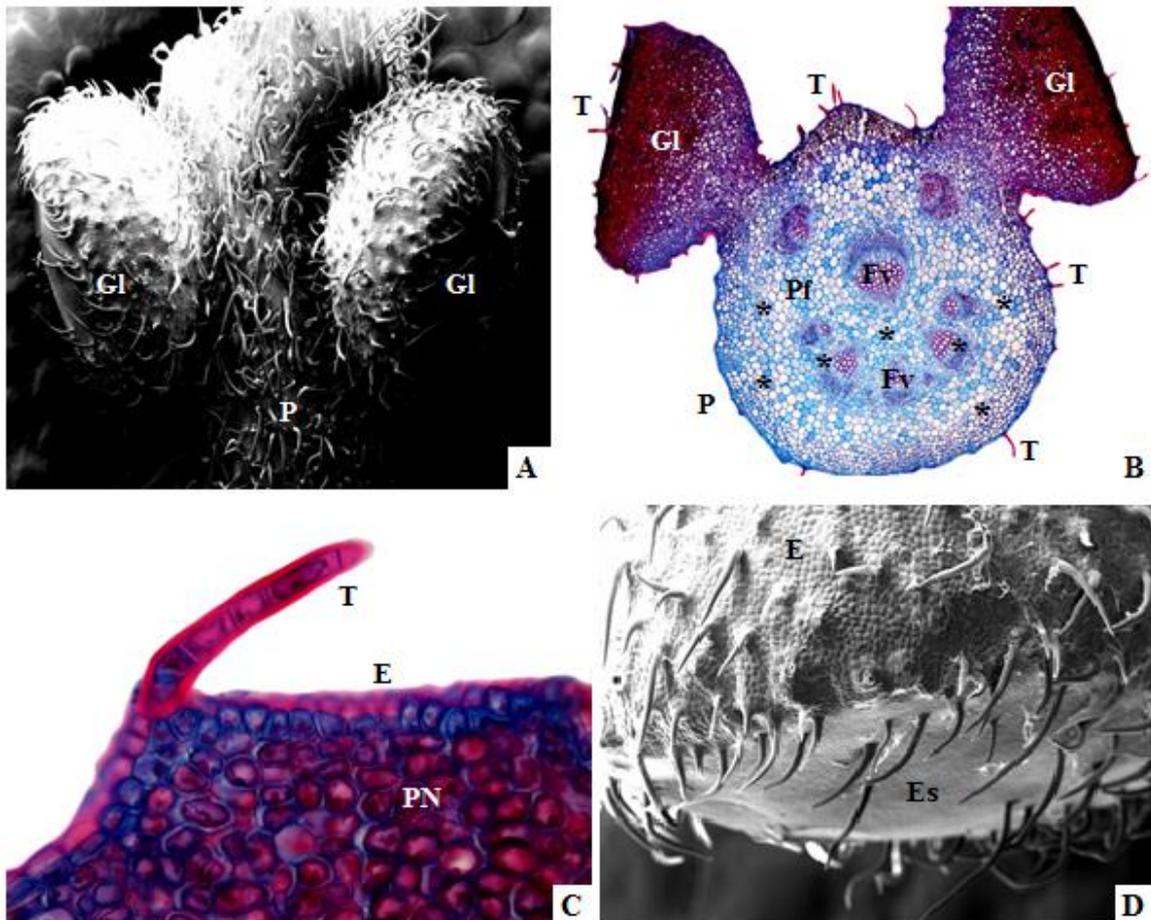
Tanto o parênquima nectarífero quanto o parênquima subnectarífero podem possuir diferentes tipos de inclusões. Nectários florais e extraflorais frequentemente apresentam cristais de oxalato de cálcio em forma de drusas ou rafídeos (FAHN, 2000; NEPI, 2007). Segundo Elias e Gelband (1977), a abundância destes cristais nos nectários pode ter uma relação com o metabolismo do floema.

Segundo o observado na reação PAS, o conteúdo deste parênquima é de natureza glicídica (Figuras 21-A e 21-B, p. 65), fato que permite confirmar que estas estruturas pertencem a nectários extraflorais, bem como relatado por Durkee (1982). O sistema vascular é constituído por xilema e floema (Figura 21-C e 21-D, p. 65). De acordo com Nepi (2007), os

feixes vasculares sempre estão presentes no parênquima subnectarífero, e geralmente, o xilema atinge apenas este tecido enquanto que o floema ramifica-se atingindo o parênquima nectarífero.

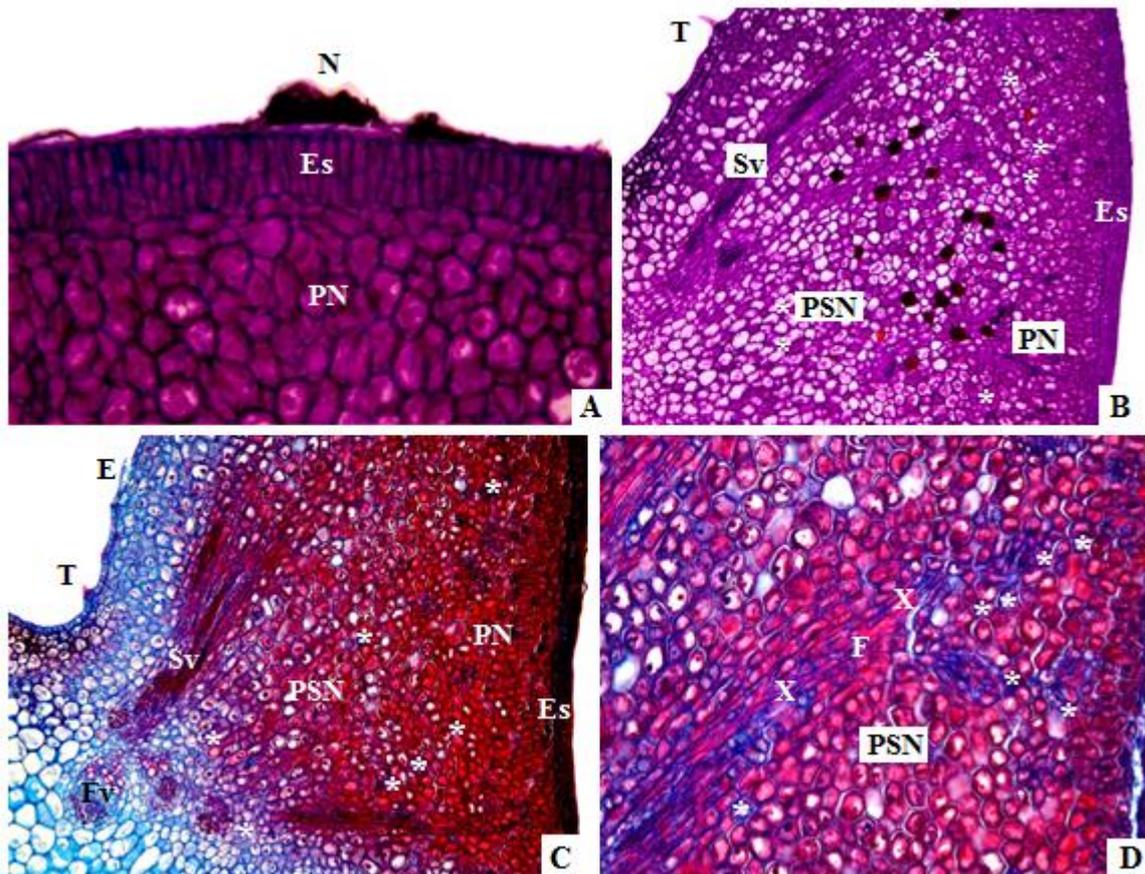
Weber e Keeler (2013) encontraram relatos sobre a ocorrência de NEFs em 3941 espécies de plantas vasculares, representando 745 gêneros em 108 famílias. A presença de NEFs acontece com mais frequência em eudicotiledôneas (3642 espécies, 654 gêneros, 89 famílias) que em monocotiledôneas (260 espécies, 82 gêneros, 15 famílias). As famílias com mais NEFs são: Fabaceae (1069 de aproximadamente 19.500 espécies em Fabales), Passifloraceae (438 de aproximadamente 935 espécies em Malpighiales) e Malvaceae (301 de aproximadamente 4225 espécies em Malvales), enquanto que os gêneros com mais NEFs são *Passiflora* (322 espécies), *Inga* Mill. (294 espécies) e *Acacia* Mill. (*sensu lato* 204 espécies).

**Figura 20:** Caracteres anatômicos das glândulas peciolares de *Passiflora malacophylla* Mast. **A** - Vista superior das glândulas, aumento 87x. **B** - Vista geral do pecíolo e das glândulas, aumento 4x. **C** - Epiderme com tricoma, aumento 40x. **D** - Detalhe da glândula com tricomas, aumento 253x. P: pecíolo; G: glândula; T: tricoma; Pf: parênquima fundamental; E: epiderme; Es: epiderme secretora; PN: parênquima nectarífero; Fv: feixe vascular. (\*) indicam drusas.



Fonte: AUTOR

**Figura 21:** Caracteres anatômicos das glândulas peciolares de *Passiflora malacophylla* Mast. **A** - Parênquima nectarífero, aumento 40x. **B** - Parênquima nectarífero e subnectarífero, aumento 10x. **C** - Sistema vascular, aumento 10x. **D** - Tecido vascular e parênquima nectarífero, aumento 20x. Setas brancas indicam drusas. Setas pretas indicam drusas associadas ao sistema vascular. N: néctar; Es: epiderme secretora; PN: parênquima nectarífero; PSN: parênquima subnectarífero; Sv: sistema vascular; Fv: feixe vascular; E: epiderme; T: tricoma. (\*) indicam drusas.



Fonte: AUTOR

### 5.1.2.3 Lâmina foliar

Cortes transversais evidenciaram a presença de lâmina foliar plana (Figura 22-A, p. 68). Em ambas as faces, a epiderme é uniestratificada (Figuras 22-B e 22-C, p. 68). As células da epiderme adaxial são poliédricas a irregulares, com paredes retas ou levemente curvas, enquanto que as da epiderme abaxial são irregulares com paredes sinuosas (Figuras 22-E e 22-F, p. 68).

Epiderme de tipo unisseriada foi observada por Farias (2014) na totalidade das 45 espécies de *Passiflora* estudadas na sua pesquisa. Em relação à epiderme foliar das espécies do subgênero *Passiflora*, Brasileiro (2014) relatou a presença de: células com contorno reto em ambas as faces, células com contorno sinuoso em ambas as faces, células com contorno sinuoso na face adaxial e com contorno reto na face abaxial, e células com contorno reto na face adaxial e com contorno sinuoso na face abaxial. Este último caso, de ocorrência em *P. malacophylla*, também observou-se em *P. galbana* Mast., *P. gardneri* Mast., *P. pilosicorona* Sacco, *P. tenuifila* Killip. e *P. vitifolia* Kunth.

*P. malacophylla* é uma espécie hipostomática com estômatos anomocíticos (Figuras 22-B a 22-D, e 22-F, p. 68) e tricomas não glandulares, bi ou tricelulares, unisseriados, retos ou curvos, com célula apical em ponta e com células basais em roseta (Figuras 22-C, 22-D, 23-A a 23-C, p. 68 e 69). De acordo com Solereder (1908) e Metcalfe e Chalk (1950), em espécies da família Passifloraceae, os estômatos encontram-se usualmente na face abaxial e são, em geral, de tipo anomocítico.

Estômatos do tipo anomocítico foram observados nas 43 espécies do gênero *Passiflora* estudadas por Brasileiro (2014), sendo a localização deles preferentemente na face abaxial da lâmina foliar. Já no estudo realizado por Farias (2014), além de estômatos anomocíticos evidenciou-se a ocorrência de estômatos paracíticos e anisocíticos para as espécies estudadas. Por sua vez, esta autora observou a presença de tricomas tectores unisseriados nas duas faces da lâmina foliar de muitas das espécies avaliadas.

O mesofilo é do tipo dorsiventral (Figuras 22-C a 22-D, p. 68). O parênquima paliçádico está formado apenas por um estrato, que em algumas regiões, pode ocupar até a metade do mesofilo. O parênquima lacunoso está formado por até 5 estratos (Figuras 22-B e 22-C, p. 68). Na maioria das 43 espécies de *Passiflora* analisadas por Brasileiro (2014), o parênquima paliçádico ocupa a maior parte ou metade da área do mesofilo.

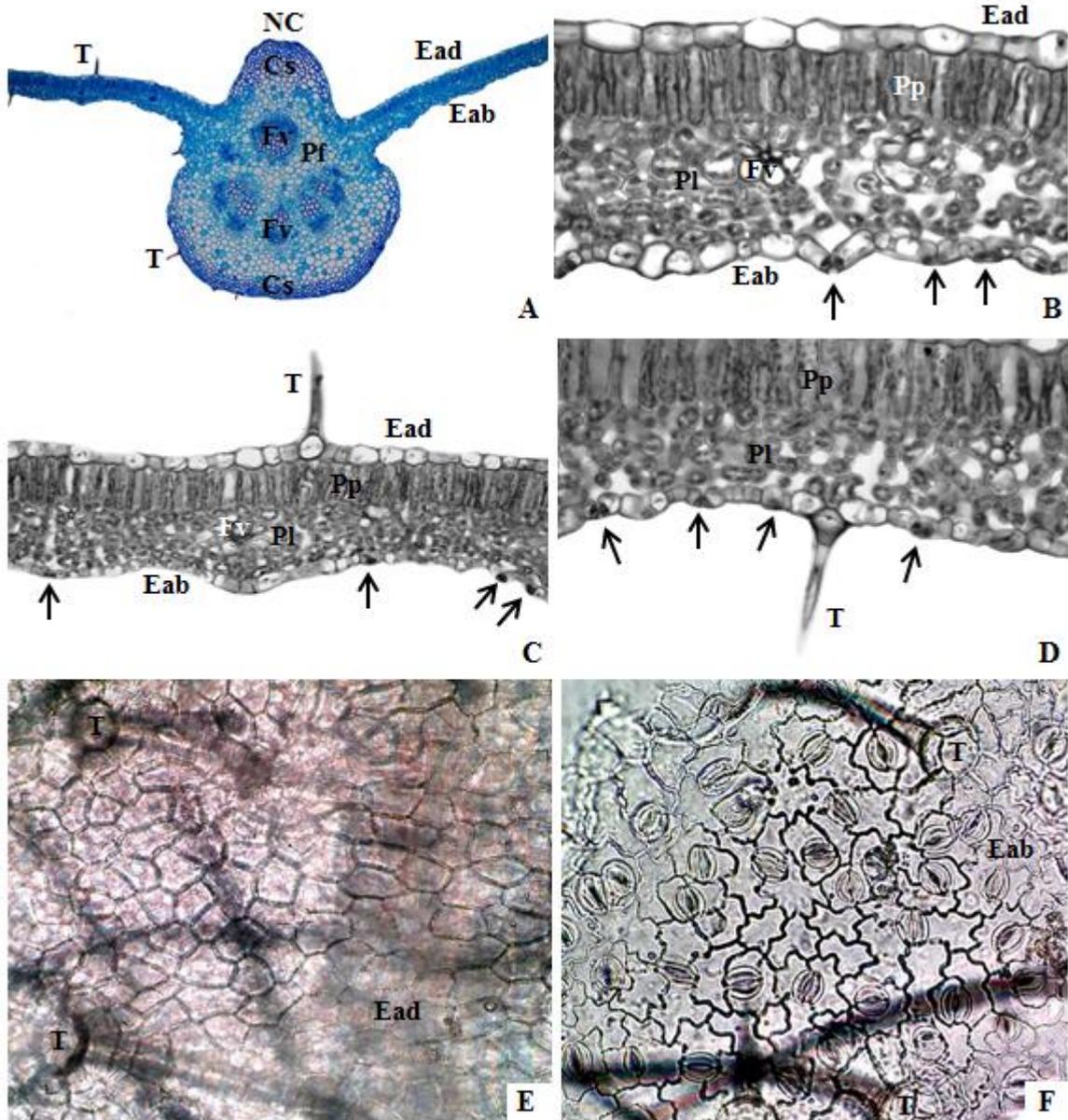
A nervura central apresenta colênquima subepidérmico de tipo anelar disposto em 8-9 estratos na face adaxial, e em 4-5 estratos na face abaxial (Figuras 22-A, 23-D e 23-E, p. 68 e

69). Na sua pesquisa, Brasileiro (2014) observou a ocorrência de tecido colenquimático em ambas as faces da região da nervura central, na totalidade das 43 espécies de *Passiflora* estudadas.

O parênquima fundamental apresenta células esféricas, poliédricas ou irregulares, e idioblastos contendo drusas de oxalato de cálcio (Figuras 22-A, 23-D a 23-F, p. 68 e 69).

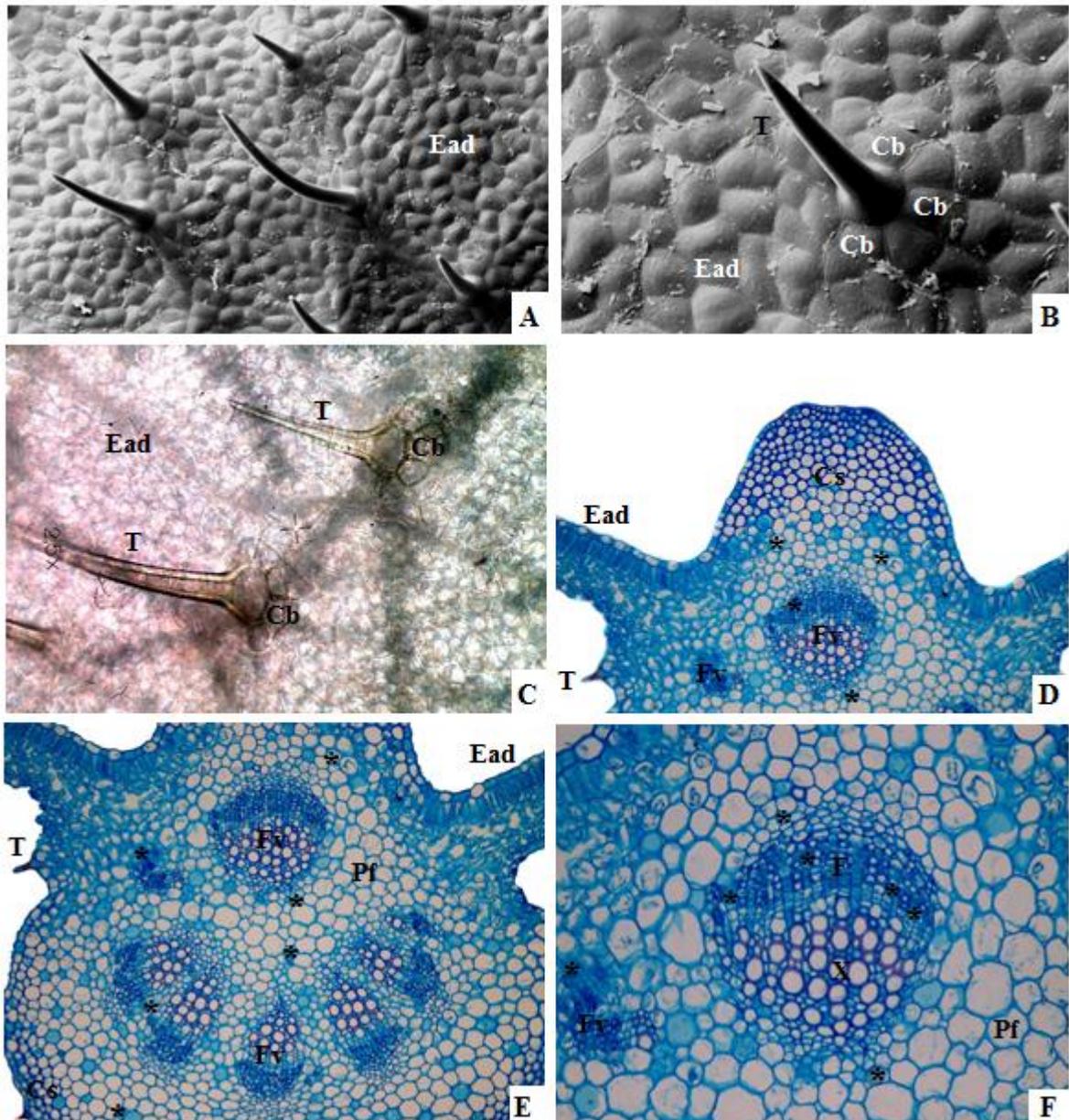
Foram observados 8 feixes vasculares de tipo colateral aberto dispostos em anel, sendo um deles o maior e superior (Figuras 22-A e 23-E, p. 68 e 69). Também evidenciou-se abundantes idioblastos com drusas de oxalato de cálcio associados ao sistema vascular (Figuras 23-F, p. 69).

**Figura 22:** Caracteres anatômicos da lâmina foliar de *Passiflora malacophylla* Mast. **A** - Vista geral, aumento 4x. **B** - Lâmina foliar, aumento 40x. **C** - Tricoma na face adaxial, aumento 20x. **D** - Tricoma na face abaxial, aumento 40x. **E** - Epiderme adaxial com tricomas, aumento 40x. **F** - Epiderme abaxial com estômatos e tricomas, aumento 40x. T: tricoma; NC: nervura central; Cs: colênquima subepidêmico; Pf: parênquima fundamental; Ead: epiderme adaxial; Eab: epiderme abaxial; Pp: parênquima paliádico; Pl: parênquima lacunoso; Fv: feixe vascular. Setas pretas indicam estômatos.



Fonte: AUTOR

**Figura 23:** Caracteres anatômicos da lâmina foliar de *Passiflora malacophylla* Mast. **A** - Epiderme adaxial com tricomas, aumento 453x. **B** - Detalhe do tricoma da face adaxial, aumento 998x. **C** - Tricomas na face adaxial, aumento 40x. **D** - Nervura central, aumento 10x. **E** - Nervura central, aumento 10x. **F** - Feixe principal na região da nervura central, aumento 20x. T: tricoma; Cs: colênquima subepidérmico; Cb: células basais dos tricomas; Pf: parênquima fundamental; Ead: epiderme adaxial; Eab: epiderme abaxial; Pp: parênquima paliádico; Pl: parênquima lacunoso; Fv: feixe vascular; X: xilema; F: floema. (\*) indicam drusas.



Fonte: AUTOR

De acordo com Farias (2014), são poucos os estudos anatômicos existentes tanto para a família Passifloraceae quanto para o gênero *Passiflora*. Neste sentido é importante salientar a importância destes resultados, pois *Passiflora malacophylla* carece de tais estudos.

## 5.2 ASPECTOS FITOQUÍMICOS

Foram obtidos 1530,26 g do pó do caule e 2260,77 g do pó das folhas. A partir destas massas calculou-se os percentuais de rendimento para cada um dos extratos do caule e das folhas (Tabelas 4 e 5).

Tabela 4 - Massas e percentuais de rendimento dos extratos do caule

EXTRATO	PESO (g)	RENDIMENTO (%)
Bruto	50,45	3,30
Clorofórmico	3,45	0,22
Hexânico	5,01	0,32
Acetato de etila	1,01	0,10

Fonte: AUTOR

Tabela 5 - Massas e percentuais de rendimento dos extratos das folhas

EXTRATO	PESO (g)	RENDIMENTO (%)
Bruto	132,94	5,90
Clorofórmico	17,59	0,80
Hexânico	24,57	1,10
Acetato de etila	1,43	0,10

Fonte: AUTOR

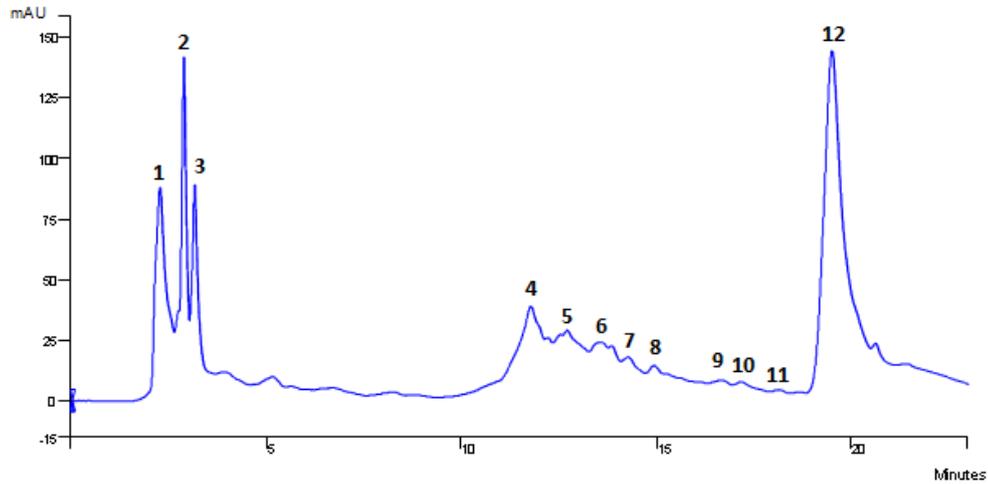
A partir desses dados obtidos é possível observar que para ambos os órgãos vegetais, o extrato das folhas apresentou maior rendimento, enquanto que, dentre as fases obtidas, o maior rendimento foi observado para a fase hexânica, seguida de clorofórmica e acetato de etila. Por sua vez, o extrato acetato de etila das folhas apresentou um rendimento igual ao extrato do caule, mesmo tendo utilizado uma maior quantidade de material vegetal.

### 5.2.1 *Fingerprint* cromatográfico

Os perfis cromatográficos dos extratos brutos de ambos os órgãos vegetais demonstraram diferenças tanto qualitativas quanto quantitativas em relação a sua composição química.

A figura 24 mostra o cromatograma do extrato bruto do caule.

Figura 24 - Cromatograma correspondente ao extrato bruto do caule



Fonte: AUTOR

Os  $t_R$  e as longitudes de onda de absorção máxima no UV ( $\lambda$  máx) dos picos do cromatograma se apresentam na tabela 6.

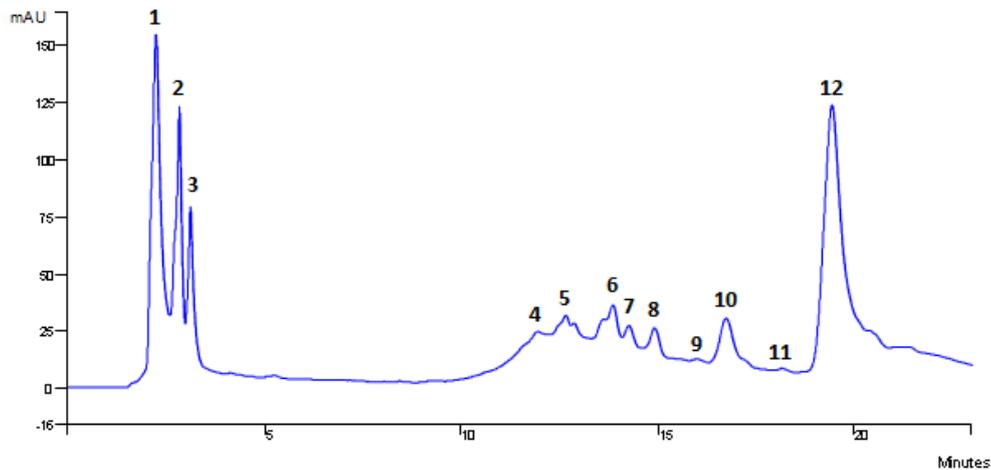
Tabela 6 -  $t_R$  e longitudes de onda de absorção máxima no UV do extrato bruto do caule

PICO	$t_R$ (min)	$\lambda$ máx (nm)
1	2,28	228,5 e 273,7
2	2,89	228,5 e 285,6
3	3,17	284
4	11,78	228,2 e 276,8
5	12,71	232 e 270
6	13,47	235,8 e 264,5
7	14,22	237,1 e 271,2
8	14,90	239,8 e 268,6
9	16,64	241,2 , 271,8 e 310,8
10	17,16	241,4 , 273,7 e 309,9
11	18,14	243,0 , 272,4 e 310,8
12	19,50	232,4 e 274,2

Fonte: AUTOR

Em relação à folha, a figura 25 mostra o cromatograma do extrato bruto.

Figura 25 - Cromatograma correspondente ao extrato bruto das folhas



Fonte: AUTOR

Os  $t_R$  e as longitudes de onda de absorção máxima no UV ( $\lambda$  máx) dos picos do cromatograma se apresentam na tabela 7.

Tabela 7 -  $t_R$  e longitudes de onda de absorção máxima no UV do extrato bruto das folhas

PICO	$t_R$ (min)	$\lambda$ máx (nm)
1	2,18	228,7 e 270,1
2	2,82	227,9 e 266,8
3	3,10	274,4
4	11,93	228,7 e 270,3
5	12,63	233 e 328,8
6	13,86	237 , 269,1 e 331,4
7	14,27	238,5 , 268,9 e 345,1
8	14,90	266,3 e 346,5
9	16,00	243,4 , 269,2 e 310,2
10	16,66	267,5 e 334,8
11	18,17	245,2 , 269,4 e 310,3
12	19,42	231,7 e 268,9

Fonte: AUTOR

A partir dos resultados obtidos, é possível observar que existem diferenças qualitativas nas composições químicas dos extratos devido a que nem todos os picos se correspondem. Os picos 1, 2, 3, 4, 9, 11 e 12 de ambos os extratos possuem  $t_R$  e  $\lambda$  máx muito próximos, podendo

pertencer às mesmas substâncias. No entanto, os  $t_R$  e as  $\lambda$  máx dos demais picos não se assemelham.

$t_R$  muito próximos sugerem que as estruturas de alguns flavonoides podem ser muito semelhantes, sendo estes provavelmente isômeros (PEREIRA et al., 2004).

Quanto aos padrões utilizados, obtiveram-se as seguintes informações (Tabela 8):

Tabela 8 -  $t_R$  e longitudes de onda de absorção máxima ( $\lambda$  máx) no UV dos padrões

<b>PADRÃO</b>	<b><math>t_R</math> (min)</b>	<b><math>\lambda</math> máx (nm)</b>
Isoorientina	14,36	241,4 , 267,1 e 356,4
Orientina	14,98	265,7 e 350,6
Vitexina	16,79	232,2 , 267,0 e 339,1
Isovitexina	16,83	235,9 , 268,2 e 347,0

Fonte: AUTOR

O apêndice A (p. 118) exhibe os cromatogramas e os espectros UV dos padrões.

Os flavonoides possuem duas bandas de absorção características na região ultravioleta: uma na região 240-285 nm (banda II) correspondente ao anel A, e outra na região 300-500 nm (banda I) correspondente ao anel B (ROBARDS; ANTOLOVICH, 1997). Tais posições, junto com suas intensidades relativas, proporcionam informação importante sobre a natureza do flavonoide e seu grau de oxigenação (MABRY; MARKHAM; THOMAS, 1970). No caso particular das flavonas, estas duas bandas se observam na região 250-280 nm (Banda II), e na região 310-350 nm (Banda I) (ROBARDS; ANTOLOVICH, 1997).

Os dados obtidos permitem evidenciar a presença dos flavonoides isoorientina (pico 7,  $t_R$ : 14,27 min), orientina (pico 8,  $t_R$ : 14,90 min) e vitexina (pico 10,  $t_R$ : 16,66 min) no extrato bruto da folha. O apêndice B (p. 120) exhibe os espectros UV correspondentes a tais picos.

Não foi possível detectar a presença de nenhum desses flavonoides no extrato bruto do caule, provavelmente devido à ausência deles na amostra, à sua baixa concentração ou à influência da matriz.

Segundo Pereira et al. (2004), as C-glicosilflavonas da apigenina e da luteolina ocorrentes em muitas espécies de *Passiflora*, se apresentam frequentemente na forma de isômeros. Estes compostos são utilizados como marcadores na avaliação da qualidade da matéria prima e de medicamentos à base de *Passiflora* (PEREIRA; VILEGAS, 2000; PEREIRA et al., 2004).

Gomes (2013) relatou a presença dos flavonoides orientina, isoorientina, vitexina e isovitexina no extrato hidroetanólico 64% (v/v) das folhas de *P. malacophylla*, após análise através de CLAE-DAD-UV.

No estudo realizado por Abourashed, Vanderplank e Khan (2002) avaliou-se o perfil cromatográfico de 115 espécies de *Passiflora* através da técnica CLAE-DAD-UV, utilizando diferentes flavonoides como marcadores. O trabalho permitiu concluir que, das 115 espécies analisadas: 51 continham orientina (44%), 55 continham isoorientina (48%), 38 continham vitexina (33%) e 60 continham isovitexina (52%).

A avaliação de *fingerprints* e de dados quantitativos possui certas vantagens tais como: verificação da autenticidade de uma amostra, determinação de marcadores quimiotaxonômicos, identificação de padrões de constituição química relacionados a locais geográficos específicos, identificação de possíveis substitutos de espécies de *Passiflora*, diferenciação entre espécies estreitamente relacionadas, e estudo da relação atividade biológica-perfil fitoquímico, entre outras (ABOURASHED; VANDERPLANK; KHAN, 2002).

## 5.2.2 Separação e purificação das substâncias de *Passiflora malacophylla*

### 5.2.2.1 Fracionamento do extrato clorofórmico do caule de *Passiflora malacophylla* (CCPM)

A partir do fracionamento do CCPM (3,453 g) utilizando sílica gel como fase estacionária, obtiveram-se 32 subfrações que foram agrupadas em 8 frações após análise do perfil cromatográfico em placas de CCD reveladas em câmara de UV e vapores de iodo (Tabela 9).

Tabela 9 - Frações obtidas do extrato clorofórmico do caule

CÓDIGO	SUBFRAÇÕES AGRUPADAS	MASSA (g)
CCPM 1	1 - 3	0,300
CCPM 2	4 - 5	0,038
CCPM 3	6	0,033
CCPM 4	7	0,118
CCPM 5	8	1,105
CCPM 6	9 - 13	0,760
CCPM 7	14 - 18	0,394
CCPM 8	19 - 32	0,164

Fonte: AUTOR

### 5.2.2.2 Fracionamento do extrato hexânico do caule de *Passiflora malacophylla* (HCPM)

A partir do fracionamento do HCPM (5,016 g) utilizando sílica gel como fase estacionária, obtiveram-se 46 subfrações que foram agrupadas em 21 frações após análise do perfil cromatográfico em placas de CCD reveladas em câmara de UV e vapores de iodo (Tabela 10).

Tabela 10 - Frações obtidas do extrato hexânico do caule

<b>CÓDIGO</b>	<b>SUBFRAÇÕES AGRUPADAS</b>	<b>MASSA (g)</b>
HCPM 1	1 - 2	0,031
HCPM 2	3	0,227
HCPM 3	4 - 5	0,243
HCPM 4	6	0,562
HCPM 5	7 - 9	0,239
HCPM 6	10 - 13	0,300
HCPM 7	14 - 16	0,098
HCPM 8	17	0,208
HCPM 9	18 - 21	0,134
HCPM 10	22	0,026
HCPM 11	23 - 24	0,209
HCPM 12	25 - 29	0,179
HCPM 13	30	0,021
HCPM 14	31 - 33	0,129
HCPM 15	34 - 37	0,071
HCPM 16	38	0,613
HCPM 17	39 - 40	0,053
HCPM 18	41	0,060
HCPM 19	42 - 43	0,057
HCPM 20	44 - 45	0,324
HCPM 21	46	0,160

Fonte: AUTOR

### 5.2.2.3 Fracionamento do extrato acetato de etila do caule de *Passiflora malacophylla* (ACPM)

A partir do fracionamento do ACPM (1,015 g) utilizando sílica gel como fase estacionária, obtiveram-se 36 subfrações que foram agrupadas em 6 frações após análise do perfil cromatográfico em placas de CCD reveladas em câmara de UV e vapores de iodo (Tabela 11, p. 76).

Tabela 11 - Frações obtidas do extrato acetato de etila do caule

<b>CÓDIGO</b>	<b>SUBFRAÇÕES AGRUPADAS</b>	<b>MASSA (g)</b>
ACPM 1	1 - 5	0,004
ACPM 2	6 - 10	0,029
ACPM 3	11 - 14	0,046
ACPM 4	15 - 22	0,423
ACPM 5	23 - 29	0,147
ACPM 6	30 - 36	0,060

Fonte: AUTOR

#### 5.2.2.4 Fracionamento do extrato clorofórmico das folhas de *Passiflora malacophylla* (CFPM)

A partir do fracionamento do EC das CFPM (17,595 g) utilizando sílica gel como fase estacionária, obtiveram-se 151 subfrações que foram agrupadas em 11 frações após análise do perfil cromatográfico em placas de CCD reveladas em câmara de UV e vapores de iodo (Tabela 12).

Tabela 12 - Frações obtidas do extrato clorofórmico das folhas

<b>CÓDIGO</b>	<b>SUBFRAÇÕES AGRUPADAS</b>	<b>MASSA (g)</b>
CFPM 1	1 - 8	0,022
CFPM 2	9 - 12	0,660
CFPM 3	13 - 19	1,038
CFPM 4	20 - 87	2,499
CFPM 5	88 - 93	0,481
CFPM 6	94 - 105	1,585
CFPM 7	106 - 113	2,886
CFPM 8	114 - 123	1,153
CFPM 9	124 - 136	1,451
CFPM 10	137 - 145	2,615
CFPM 11	146 - 151	0,223

Fonte: AUTOR

A fração CFPM 4 (2,499 g) foi submetida a novo fracionamento utilizando sílica gel como fase estacionária, onde foram obtidas 58 subfrações que foram agrupadas em 6 frações após análise do perfil cromatográfico em placas de CCD reveladas em câmara de UV e vapores de iodo (Tabela 13, p. 77).

Tabela 13 - Frações obtidas da fração CFPM 4

CÓDIGO	SUBFRAÇÕES AGRUPADAS	MASSA (g)
CFPM 4-A	1 - 9	0,033
CFPM 4-B	10 - 23	0,483
CFPM 4-C	24 - 29	0,231
CFPM 4-D	30 - 39	1,310
CFPM 4-E	40 - 48	0,170
CFPM 4-F	49 - 58	0,225

Fonte: AUTOR

A partir do fracionamento da fração CFPM 4-D (1,310 g) utilizando sílica gel como fase estacionária, obtiveram-se 34 subfrações que foram agrupadas em 4 frações após análise do perfil cromatográfico em placas de CCD reveladas em câmara de UV e vapores de iodo (Tabela 14).

Tabela 14 - Frações obtidas da fração CFPM 4-D

CÓDIGO	SUBFRAÇÕES AGRUPADAS	MASSA (g)
CFPM 4D-1	1 - 9	0,016
CFPM 4D-2	10 - 22	0,413
CFPM 4D-3	23 - 25	0,579
CFPM 4D-4	26 - 34	0,228

Fonte: AUTOR

As frações CFPM 4-D e CFPM 4D-2 apresentaram precipitados que foram analisados mediante CCD, o que permitiu concluir que trata-se do mesmo composto. Tais precipitados foram agrupados e identificados como substância **PM1**, a qual foi posteriormente analisada através de espectrometria de RMN.

#### 5.2.2.5 Fracionamento do extrato hexânico (EH) das folhas

A partir do fracionamento do EH das folhas (24,578 g) utilizando sílica gel como fase estacionária, obtiveram-se 93 subfrações que foram agrupadas em 18 frações após análise do perfil cromatográfico em placas de CCD reveladas em câmara de UV e vapores de iodo (Tabela 15, p. 78).

Tabela 15 - Frações obtidas do extrato hexânico das folhas

<b>CÓDIGO</b>	<b>SUBFRAÇÕES AGRUPADAS</b>	<b>MASSA (g)</b>
HFPM 1	1	0,286
HFPM 2	2	1,761
HFPM 3	3	3,060
HFPM 4	4 - 5	1,931
HFPM 5	6 - 8	0,046
HFPM 6	9 - 14	3,842
HFPM 7	15 - 21	2,319
HFPM 8	22 - 31	1,530
HFPM 9	32 - 41	0,975
HFPM 10	42 - 47	0,537
HFPM 11	48 - 51	0,409
HFPM 12	52 - 56	0,569
HFPM 13	57 - 59	0,306
HFPM 14	60 - 68	0,878
HFPM 15	69 - 73	0,227
HFPM 16	74 - 79	2,153
HFPM 17	80 - 90	3,132
HFPM 18	91 - 93	0,379

Fonte: AUTOR

#### 5.2.2.6 Fracionamento do extrato acetato de etila das folhas de *Passiflora malacophylla* (AFPM)

A partir do fracionamento do AFPM (1,436 g) utilizando sílica gel como fase estacionária, obtiveram-se 21 subfrações que foram agrupadas em 5 frações após análise do perfil cromatográfico em placas de CCD reveladas em câmara de UV e vapores de iodo (Tabela 16).

Tabela 16 - Frações obtidas do extrato acetato de etila das folhas

<b>CÓDIGO</b>	<b>SUBFRAÇÕES AGRUPADAS</b>	<b>MASSA (g)</b>
AFPM 1	1 - 2	0,047
AFPM 2	3 - 8	0,077
AFPM 3	9 - 13	0,425
AFPM 4	14 - 16	0,217
AFPM 5	17 - 21	0,145

Fonte: AUTOR

A fração AFPM 4 (0,217 g) foi submetida a novo fracionamento utilizando sílica gel como fase estacionária, onde foram obtidas 11 subfrações que foram agrupadas em 5 frações após análise do perfil cromatográfico em placas de CCD reveladas em câmara de UV e vapores de iodo (Tabela 17).

Tabela 17 - Frações obtidas da fração AFPM 4

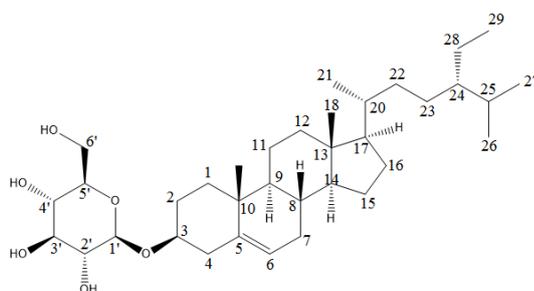
CÓDIGO	SUBFRAÇÕES AGRUPADAS	MASSA (g)
AFPM 4-A	1 - 3	0,016
AFPM 4-B	4 - 6	0,033
AFPM 4-C	7	0,016
AFPM 4-D	8 - 9	0,058
AFPM 4-E	10 - 11	0,021

Fonte: AUTOR

A fração AFPM 4-D apresentou um precipitado que foi identificado como substância **PM2**. Posteriormente, este composto foi analisado através de espectrometria de RMN.

### 5.2.3 Identificação das substâncias isoladas de *Passiflora malacophylla*

#### 5.2.3.1 Substância **PM1**



Daucoesterol

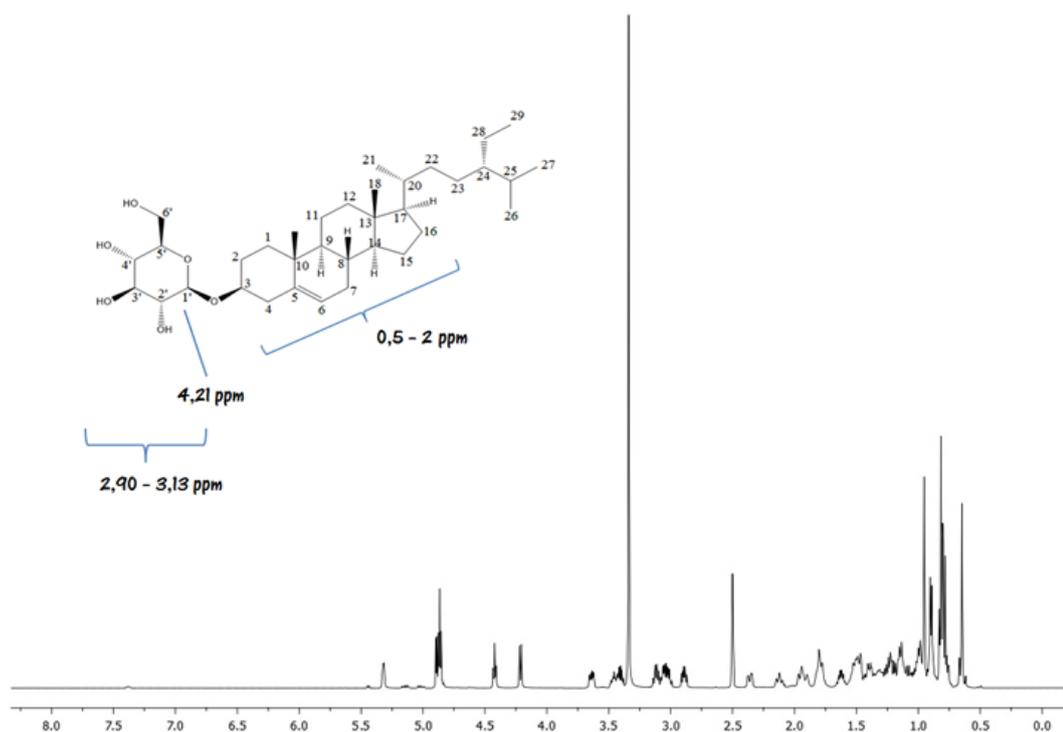
A substância **PM1**, isolada das frações CFPMF 4-D e CFPM 4D-2, apresentou-se como um sólido branco amorfo, insolúvel em metanol e em clorofórmio, entretanto solúvel em DMSO. Apresentou resultado positivo pós ser eluída em CCD e borrifada com reagente de Liebermann-Burchard, indicando tratar-se de um triterpeno ou fitoesteroide.

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 26, p. 80 e apêndice C, p. 121) foi possível observar sinais na região entre 0,50 e 2,00 ppm, característicos de hidrogênios de grupos  $\text{CH}_2$  e  $\text{CH}$  de fitoesteroides (MAKIN e GOWER, 2010). Os sinais observados na região entre

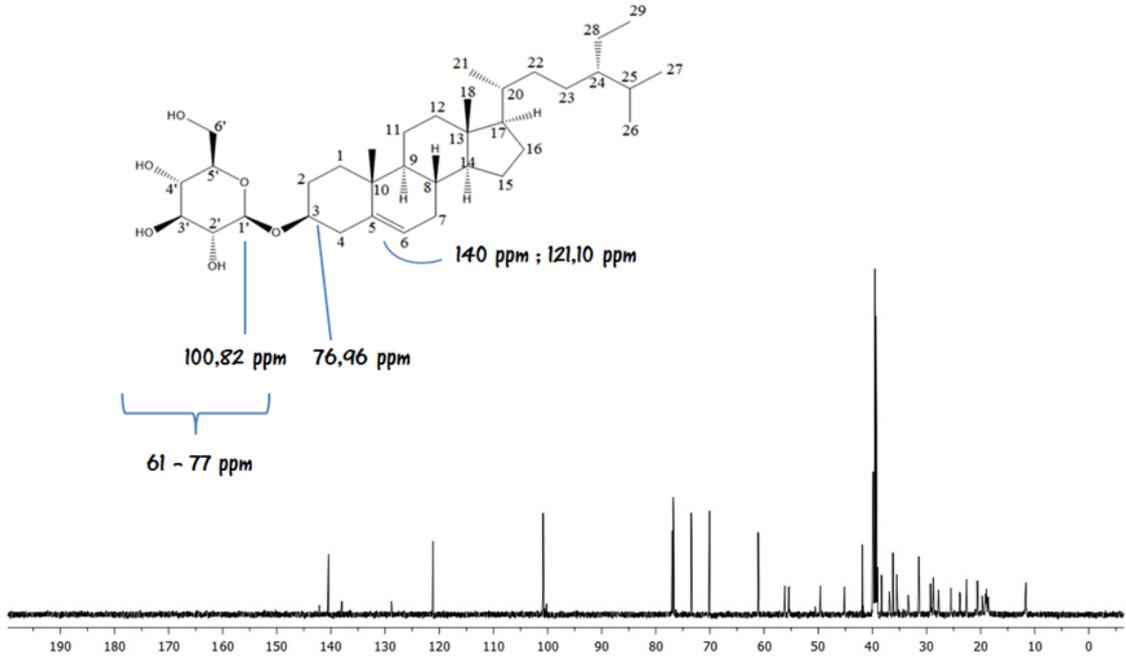
2,90 e 3,13 ppm, bem como o dubleto em  $\delta$  4,21, característico de hidrogênios ligados ao carbono anomérico de açucares, evidenciaram a presença de uma unidade glicosídica na molécula (OSMAN et al., 2015).

Através da análise do espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 27, p. 81 e apêndice C, p. 121) foi possível observar a presença de sinais em  $\delta$  121,19 e  $\delta$  140,45, característico de carbonos vinílicos, bem como o sinal em  $\delta$  76,96, típico de carbono oximetilênico ( $\text{C}_3$ ) de fitoesteroides. Os sinais na região entre 77,0 e 61,0 ppm, aliado ao sinal em 100,8 ppm, característico de carbono anomérico de açúcares, confirmaram a presença de um glicosídeo como parte da molécula. Comparação dos dados obtidos com os descritos na literatura (Tabela 18, p. 82) permitiram identificar **PM1** como sendo o  $\beta$ -sitosterol 3-O- $\beta$ -D-glicopiranosídeo conhecido como daucosterol (MOHAMMED, 2015).

Figura 26 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da substância **PM1** [500 MHz, DMSO,  $\delta$  (ppm)]



Fonte: AUTOR

Figura 27 - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  da substância **PM1** [125 MHz, DMSO,  $\delta$  (ppm)]

Fonte: AUTOR

Tabela 18 - Comparação dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  da substância **PM1** com dados da literatura

N°	$^1\text{H}$ Lit* $\delta$ (ppm)	$^1\text{H}$ PM1 $\delta$ (ppm)	$^{13}\text{C}$ Lit* $\delta$ (ppm)	$^{13}\text{C}$ PM1 $\delta$ (ppm)
1			36,60	36,84
2			31,10	31,37
3	3,44 (m)	3,47 (m)	77,90	76,96
4			36,90	
5			140,00	140,45
6	5,30 (m)	5,32 (d)	121,10	121,19
7			31,50	31,41
8			31,80	
9			49,70	49,61
10			36,70	
11			20,90	22,61
12			38,70	38,32
13			42,20	41,84
14			56,50	56,17
15			24,10	25,48
16			28,60	28,72
17			55,40	55,45
18	0,63 (s)	0,62 (s)	12,10	11,64
19	0,93 (s)	0,98 (s)	19,50	19,67
20			35,90	35,47
21	0,87 (d, $J = 6,5$ Hz)	0,90 (d, $J = 5$ Hz)	19,00	18,64
22			33,70	33,35
23			28,50	27,76
24			45,50	45,16
25			29,10	29,26
26	0,80 (d, $J = 6,5$ Hz)	0,81 (d, $J = 10$ Hz)	20,10	20,59
27	0,76 (d, $J = 6,5$ Hz)	0,76 (d, $J = 5$ Hz)	19,30	18,93
28			23,00	23,85
29	0,78 (t, $J = 7$ Hz)	0,79 (t, $J = 5$ Hz , $J = 5$ Hz)	12,20	
1'	4,18 (d, $J = 6,5$ Hz)	4,21 (d, $J = 5$ Hz)	101,10	100,82
2'	3,02 - 3,39 (m)	2,9 - 3,12 (m)	73,60	73,45
3'	3,02 - 3,39 (m)	2,9 - 3,12 (m)	76,90	76,71
4'	3,02 - 3,39 (m)	2,9 - 3,12 (m)	70,30	70,09
5'	3,02 - 3,39 (m)	2,9 - 3,12 (m)	76,90	76,77
6'a	3,61 (dd, $J = 10,7$ Hz , $J = 5,8$ Hz)	3,63 (dd, $J = 5$ Hz , $J = 5$ Hz)	61,20	61,09
6'b	3,41 (m)	3,41 (m)		

\* MOHAMMED (2015)

Fonte: AUTOR

A realização de RMN  $^{13}\text{C}$  permite uma melhor análise dos esteroides, eliminando o problema da baixa resolução dos sinais no espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (KASAL; BUDESINSKY; GRIFFITHS, 2010).

Os sinais fora da região 0,5-2 ppm no espectro de RMN de  $^1\text{H}$ , e os sinais com  $\delta > 60$  ppm no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ , indicam a presença de substituintes ou duplas ligações (MAKIN; GOWER, 2010).

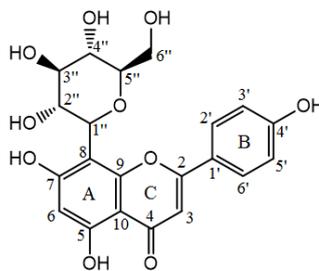
O daucosterol é o glicosídeo do  $\beta$ -sitosterol, um dos fitosteróis análogos do colesterol mais abundantes em plantas (LEE et al., 2007; DEWICK, 2009). A literatura relata para este composto, atividade anti-inflamatória, imunomoduladora, antineoplásica, e estimuladora da proliferação de neurônios *in vivo* e *in vitro* (LEE et al., 2007; ESMAEILI; FARIMANI, 2014; JIANG et al., 2014; ZHAO et al., 2015; RAJAVEL et al., 2017).

Vários pesquisadores têm estudado a atividade antioxidante do daucosterol (**PM1**) (DAI et al., 2005; HOU et al., 2012; DELNAVAZI et al., 2015; OSMAN et al. 2015). Porém, estes estudos são contraditórios.

Dai et al. (2005) avaliaram a capacidade antioxidante deste composto através do método de sequestro de radicais livres DPPH, comprovando que tal substância não apresenta atividade antioxidante. Entretanto, Hou et al. (2012) demonstraram que o daucosterol possui um %SRL de 26% e 35% em uma concentração de 0,04 mg/mL e 0,08 mg/mL, respectivamente. Em um estudo mais recente, Delnavazi et al. (2015) calcularam sua  $\text{CE}_{50}$ , atribuindo-lhe um valor de  $224,1 \pm 8,2 \mu\text{g/mL}$ . Contudo, Osman et al. (2015) asseguraram que este composto apresenta uma atividade pro-oxidante variável, fato que possibilita a geração excessiva de novos radicais livres.

Em relação à atividade anticolinesterase da substância **PM1** (daucosterol), existem na literatura dados contraditórios.

Na sua pesquisa, Carvalho (2008) avaliou a capacidade anticolinesterase de diferentes compostos isolados através da realização do teste qualitativo da inibição da enzima acetilcolinesterase. Neste estudo, o daucosterol não apresentou halo de inibição, fato que sugere que este composto não possui capacidade para inibir tal enzima em concentração de 2 mg/mL. Embora, Bahadori et al. (2016) compararam a capacidade de inibição do daucosterol e do  $\beta$ -sitosterol, concluindo que o daucosterol possui uma atividade anticolinesterase menor que o  $\beta$ -sitosterol, pois os valores de  $\text{CE}_{50}$  obtidos foram  $34,3 \pm 0,3 \mu\text{g/mL}$  ( $59,6 \pm 0,5 \mu\text{M}$ ) e  $24,1 \pm 0,7 \mu\text{g/mL}$  ( $58,1 \pm 1,6 \mu\text{M}$ ), respectivamente.

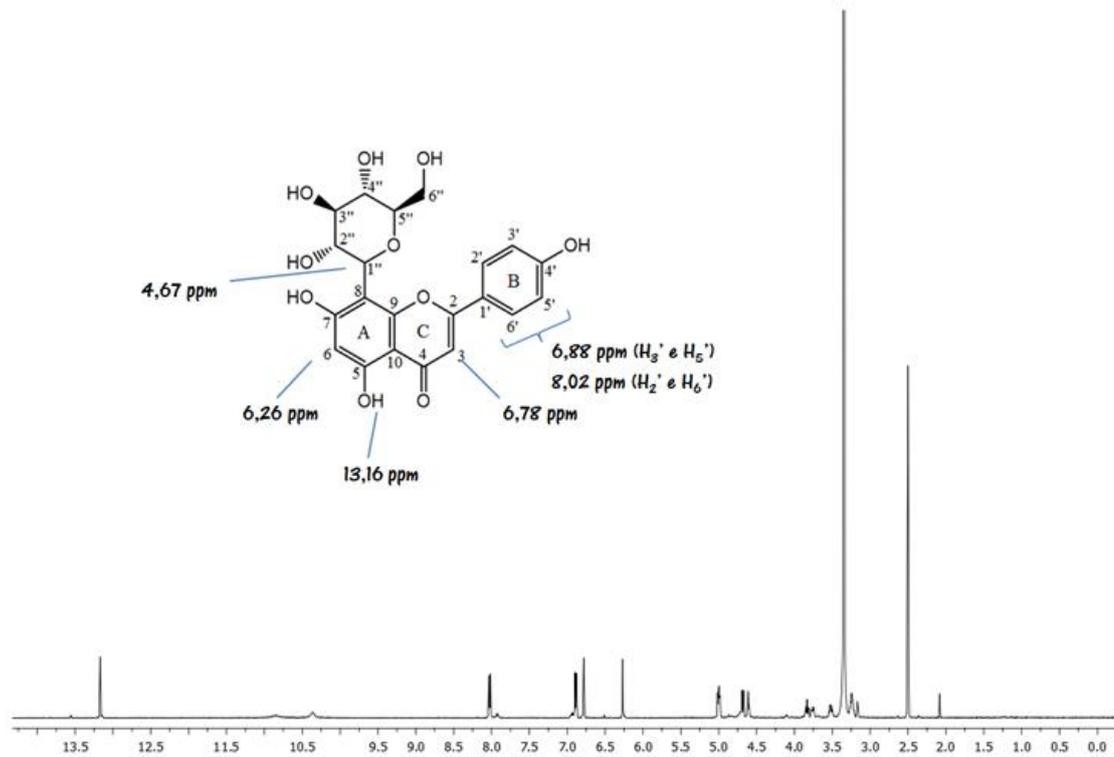
5.2.3.2 Substância **PM2**

Vitexina

A substância **PM2**, isolada da fração AFPM 4-D, apresentou-se como um sólido amarelo amorfo, insolúvel em metanol, porém solúvel em DMSO.

Através da análise dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 28, p. 85 e apêndice D, p. 124) foi possível evidenciar a presença de sinais característicos de hidrogênios ligados a anéis aromáticos em 6,26 ppm ( $\text{H}_6$ , *s*) e 6,78 ppm ( $\text{H}_3$ , *s*), correspondentes aos anéis A e C, respectivamente. Em relação ao anel B, os sinais característicos do  $\text{H}_{2'}$  e do  $\text{H}_{6'}$  aparecem em 8,02 ppm, enquanto que na região 6-7 ppm (~6,88 ppm) aparecem os sinais do  $\text{H}_{3'}$  e do  $\text{H}_{5'}$ , o que permite supor que este anel é mono-oxigenado e substituído na posição *para*. Este conjunto de sinais é próprio de flavonas. Em 13,16 ppm é possível observar um singlete correspondente ao hidrogênio do grupo hidroxila da posição  $\text{C}_5$  (OH), e cujo sinal é baixo devido à influência do grupo carbonila da posição  $\text{C}_4$ . O sinal correlato ao hidrogênio anomérico ( $\text{H}_{1''}$ ) ocorre em 4,67 ppm (BATTERHAM; HIGHET, 1964; HARBONE, 1994; FERNANDES, 2011).

Figura 28 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da substância **PM2** [500 MHz, DMSO,  $\delta$  (ppm)]



Fonte: AUTOR

A tabela 19 (p. 86) mostra a comparação dos resultados obtidos com os dados disponíveis na literatura.

Tabela 19 - Comparação dos espectros de RMN <sup>1</sup>H da substância **PM2** com dados da literatura

N°	<sup>1</sup> H Lit* δ (ppm)	<sup>1</sup> H PM2 δ (ppm)
3	6,76 (1H, s)	6,78 (1H, s)
5	13,15 (OH, s)	13,16 (OH, s)
6	6,26 (1H, s)	6,26 (1H, s)
2'	8,01 (2H, d, <i>J</i> = 8,7 Hz)	8,02 (2H, d, <i>J</i> = 8,7 Hz)
3'	6,87 (2H, d, <i>J</i> = 8,7 Hz)	6,88 (2H, d, <i>J</i> = 9 Hz)
5'	6,87 (2H, d, <i>J</i> = 8,7 Hz)	6,88 (2H, d, <i>J</i> = 9 Hz)
6'	8,01 (2H, d, <i>J</i> = 8,7 Hz)	8,02 (2H, d, <i>J</i> = 8,7 Hz)
1''	4,67 (1H, d, <i>J</i> = 9,8 Hz)	4,68 (1H, d, <i>J</i> = 10 Hz)
2''	3,81 (1H, t, <i>J</i> = 9,7 Hz)	3,83 (1H, t, <i>J</i> = 9,7 Hz, <i>J</i> = 9 Hz)
3''	3,29 (1H, m)	
4''	3,37 (1H, t, <i>J</i> = 9,2 Hz)	
5''	3,23 (1H, m)	3,24 (1H, m)
6a''	3,75 (1H, dd, <i>J</i> = 11,9 Hz, <i>J</i> = 2,2 Hz)	3,76 (1H, dd, <i>J</i> = 5 Hz, <i>J</i> = 5 Hz)
6b''	3,51 (1H, dd, <i>J</i> = 6,0 Hz, 11,7 Hz)	3,52 (1H, m)

\* KRAFCZYK; GLOMB, 2008

Fonte: AUTOR

Mediante comparação destes dados com os dados fornecidos pela literatura (KRAFCZYK; GLOMB, 2008), é possível supor que tal estrutura pertence ao flavonoide apigenina 8-β-*D*-glicopiranosídeo (vitexina).

A substância **PM2** (vitexina), também possui muitos estudos em relação a sua atividade antioxidante (KIM et al., 2005; WU et al., 2009; TSAI et al., 2011; HUANG et al., 2014).

Em um estudo recente, Hassan et al. (2014), avaliaram a atividade antioxidante de 3 flavonoides utilizando o método DPPH. Neste estudo os autores concluíram que a vitexina possui uma atividade antioxidante maior do que a apigenina e do que a isovitexina. Por sua vez, o flavonoide apigenina tem uma capacidade antioxidante maior do que a isovitexina. Os valores de CE<sub>50</sub> calculados pelos pesquisadores foram 8,95±0,04 µg/mL, 12,25±0,01 µg/mL e 13,30±0,02 µg/mL para vitexina, apigenina e isovitexina, respectivamente.

Estudos das propriedades anti-Alzheimer de derivados *C*-glicosilados da apigenina foram realizados por Choi et al. (2014). Tanto a vitexina (**PM2**) quanto a isovitexina foram comparados com a apigenina. Através desta pesquisa, os autores comprovaram que a vitexina possui uma atividade anticolinesterásica intermediária entre a apigenina e a isovitexina.

Assim, os valores de  $CE_{50}$  obtidos foram  $34,43 \pm 2,41 \mu\text{M}$ ,  $12,16 \pm 3,58 \mu\text{M}$  e  $6,24 \pm 1,15 \mu\text{M}$  para a apigenina, a vitexina e a isovitexina, respectivamente.

### 5.3 TESTES DE ATIVIDADE BIOLÓGICA

#### 5.3.1 Atividade antioxidante dos extratos

O percentual de sequestro do radical livre DPPH (%SRL) foi calculado segundo a equação 1:

Equação 1 - Cálculo do percentual de sequestro de radicais livres

$$\% \text{ SRL} = (\Delta_{Aa} / \Delta_{Ap}) \times 100$$

Fonte: MALTERUD et al. (1993)

Onde:

$\Delta_{Aa}$  é a diferença de absorbância da amostra no tempo inicial e no tempo de 30 min.

$\Delta_{Ap}$  é a diferença de absorbância do padrão no tempo inicial e no tempo de 30 min.

Visualmente, as amostras apresentaram o seguinte aspecto após execução do experimento (Figura 29):

Figura 29 - Teste DPPH: aspecto das amostras e do padrão após execução do ensaio



Fonte: AUTOR

Os resultados obtidos no tempo 30 minutos, se apresentam nas Tabelas 20 e 21.

Tabela 20 - Percentuais de SRL dos extratos do caule

<b>EXTRATO</b>	<b>CONCENTRAÇÃO</b> (mg/mL)	<b>%SRL</b>
Bruto	5	38,74 ± 0,95 <sup>a</sup>
Clorofórmico	5	61,01 ± 1,45 <sup>b</sup>
Hexânico	5	16,45 ± 1,78 <sup>c</sup>
Acetato de Etila	5	91,19 ± 0,64 <sup>d</sup>
Padrão	5	100

(p<0,05 ; R<sup>2</sup>=0,9986)

Fonte: AUTOR

Estes dados sugerem que os extratos do caule apresentam diferenças estatisticamente significativas<sup>a,b,c,d</sup>. Para a concentração estudada, e em ordem decrescente de %SRL encontra-se: extrato acetato de etila, extrato clorofórmico, extrato bruto e extrato hexânico.

Tabela 21 - Percentuais de SRL dos extratos das folhas

<b>EXTRATO</b>	<b>CONCENTRAÇÃO</b> (mg/mL)	<b>%SRL</b>
Bruto	5	36,62 ± 0,80 <sup>a</sup>
Clorofórmico	5	42,68 ± 2,45 <sup>b</sup>
Hexânico	5	18,47 ± 1,51 <sup>c</sup>
Acetato de Etila	5	73,16 ± 2,84 <sup>d</sup>
Padrão	5	100

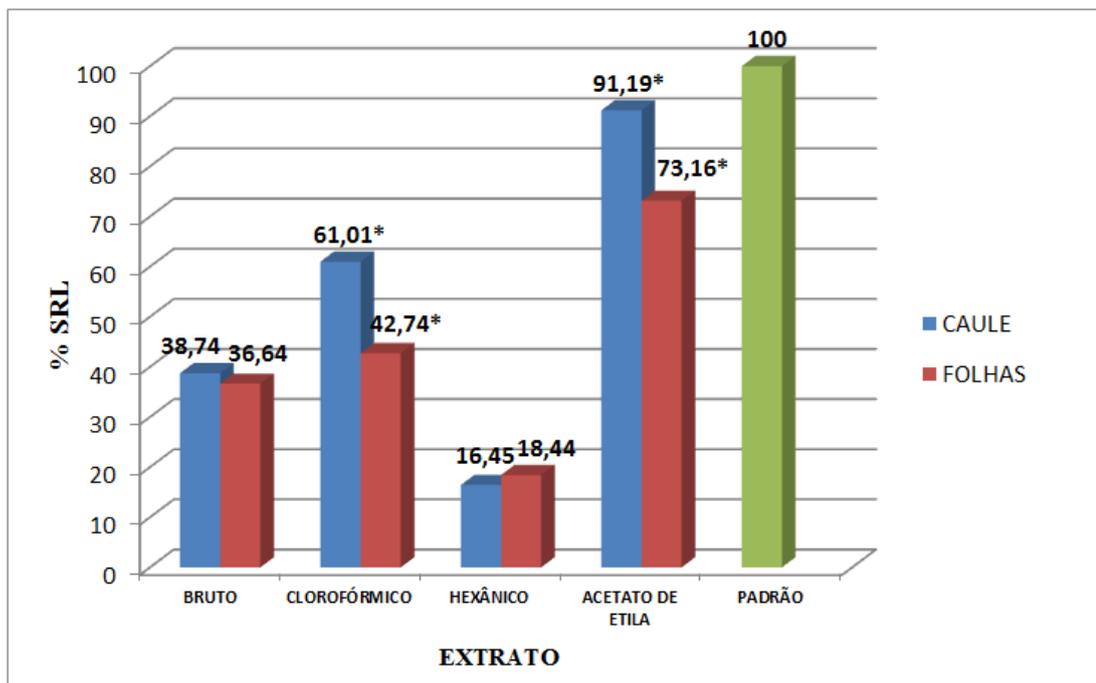
(p<0,05 ; R<sup>2</sup>=0,9928)

Fonte: AUTOR

Em relação aos extratos das folhas, é possível observar que estes também apresentam diferenças estatisticamente significativas<sup>a,b,c,d</sup>, exibindo um comportamento igual aos extratos do caule, pois em ordem decrescente de %SRL e para a concentração estudada, encontra-se: extrato acetato de etila, extrato clorofórmico, extrato bruto e extrato hexânico.

Todos os extratos do caule exibiram um %SRL maior que os extratos das folhas, com exceção do extrato hexânico. No entanto, só os extratos clorofórmico e acetato de etila do caule apresentaram diferenças estatisticamente significativas em relação aos extratos clorofórmico e acetato de etila das folhas. O gráfico 1 (p. 89) compara os valores de %SRL dos extratos do caule e das folhas.

Gráfico 1 - %SRL dos extratos do caule e das folhas



(\*) estatisticamente diferentes

Fonte: AUTOR

A atividade antioxidante de muitas plantas está provavelmente correlacionada à presença de compostos fenólicos, principalmente flavonoides (BRITO, 2012). Tais substâncias possuem uma estrutura molecular capaz de sequestrar radicais, sendo antioxidantes mais efetivos que as vitaminas C e E. Por sua vez, a capacidade antioxidante dos flavonoides depende da reatividade como agente doador de H e elétrons, da reatividade frente a outros antioxidantes, da estabilidade do radical flavanoil formado, da capacidade de quelação de metais de transição, e da solubilidade e interação com as membranas celulares (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006). Geralmente, quanto maior a quantidade de grupos hidroxilas, maior a atividade antioxidante (CAO; SOFIC; PRIOR, 1997).

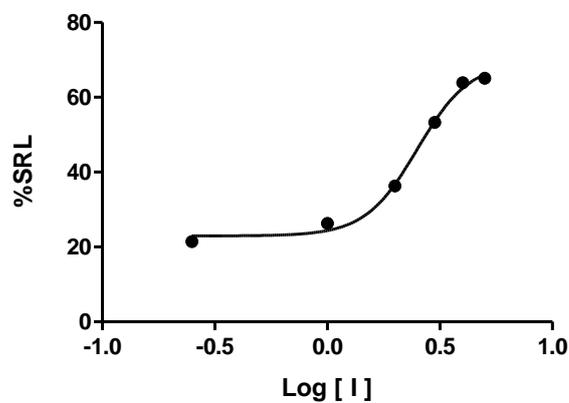
Conforme os dados obtidos, é possível concordar com Marroquín, Cruz e Cáceres (2012), que avaliaram a atividade antioxidante de extratos de *Passiflora* e observaram que a distribuição de compostos antioxidantes nas diferentes frações de uma mesma espécie, não é homogênea. Isto permite explicar a diferença no %SRL dos extratos. Quanto maior a polaridade do solvente, maior a atividade antioxidante do extrato (SANVIDO, 2015).

Em um estudo recente, Montero, Bonfim e Ming (2014) analisaram a atividade antioxidante de extratos etanólicos das folhas (5mg de pó de folhas/10mL etanol) de diferentes espécies de *Passiflora*, incluindo *P. incarnata*, *P. edulis* e *P. alata*. Neste estudo, os autores determinaram que o %SRL foi 50,62%, 61,25% e 38,03%, respectivamente.

A partir dos resultados deste teste, se decidiu calcular a Concentração Eficiente Média ( $CE_{50}$ ) dos extratos que apresentaram a maior atividade antioxidante, neste caso, os extratos acetato de etila de ambos os órgãos vegetais. Os gráficos 2 e 3 exibem os dados obtidos.

Segundo Sousa et al. (2007), a  $CE_{50}$  é a quantidade de antioxidante necessária para decrescer em 50% a concentração inicial de DPPH•. Quanto maior o consumo de DPPH• por uma amostra, menor será a sua  $CE_{50}$  e maior será a sua atividade antioxidante.

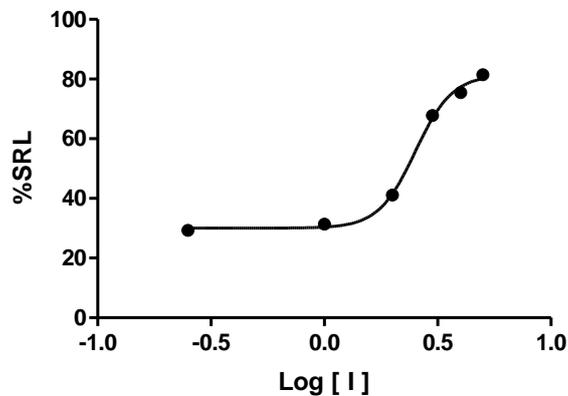
Gráfico 2 -  $CE_{50}$  do extrato acetato de etila do caule



**$CE_{50} = 2,51 \text{ mg/mL}$**   
 IC: (2.059 , 3.063) ;  $R^2=0,9488$

Fonte: AUTOR

Gráfico 3 -  $CE_{50}$  do extrato acetato de etila das folhas



**$CE_{50} = 2,52 \text{ mg/mL}$**   
 IC: (2.227 , 2.855) ;  $R^2=0,9570$

Os resultados obtidos indicam que os extratos acetato de etila do caule e das folhas possuem um comportamento semelhante em relação à atividade antioxidante, dado que exibiram uma  $CE_{50}$  igual a 2,51 mg/mL e 2,52 mg/mL, respectivamente, não apresentando diferenças estatisticamente significativas.

Gomes (2013) estudou a atividade antioxidante de dezessete espécies de *Passiflora*. Nessa pesquisa, o extrato hidroetanólico 64% (v:v) das folhas de *P. malacophylla* apresentou uma  $CE_{50}$  de  $1,52 \pm 0,001$  mg/mL.

De acordo com Mancini-Filho e Mancini (2008), e com Oroian e Escriche (2015), os principais grupos de compostos naturais com atividade antioxidante são as vitaminas C e E, os carotenoides (carotenos e xantofilas) e os polifenóis (flavonoides, ácidos fenólicos, lignanas e estilbenos). Ou seja, existem compostos não polifenólicos com ação antioxidante (MORAIS et al., 2013).

### 5.3.2 Atividade anticolinesterásica dos extratos

O percentual de inibição da enzima acetilcolinesterase (% IChE) foi calculada através das equações 2 e 3:

Equação 2 - Cálculo da atividade enzimática no tempo 30 minutos

$$\% \mathbf{AE}_{30} = (\Delta_{Aa} / \Delta_{Ab}) \times 100$$

Fonte: SANTOS et al. (2012)

Equação 3 - Cálculo do percentual de inibição da enzima acetilcolinesterase

$$\% \mathbf{IChE} = 100\% - \% \mathbf{AE}_{30}$$

Fonte: SANTOS et al. (2012)

Onde:

$\% \mathbf{AE}_{30}$  é o percentual de atividade enzimática no tempo de 30 min.

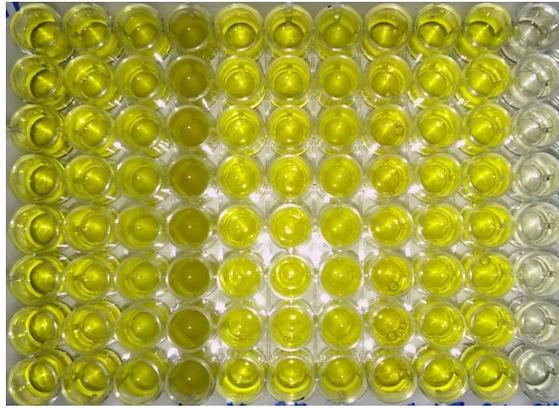
$\Delta_{Aa}$  é a diferença de absorvância da amostra no tempo de 30 min e no tempo inicial.

$\Delta_{Ab}$  é a diferença de absorvância do branco no tempo de 30 min e no tempo inicial.

$\% \mathbf{IChE}$  é o percentual de inibição da enzima acetilcolinesterase

Visualmente, as amostras apresentaram o seguinte aspecto após execução do experimento (Figura 30):

Figura 30 - Teste de inibição da AChE: aspecto das amostras e do padrão após 30 min de reação



Fonte: AUTOR

Os resultados obtidos no tempo 30 minutos, se apresentam nas Tabelas 22 e 23 (p. 92 e 93).

Tabela 22 - Percentuais de IChE dos extratos do caule

EXTRATO	CONCENTRAÇÃO (mg/mL)	%IChE
Bruto	1	39,55 ± 0,17 <sup>a</sup>
Clorofórmico	1	60,89 ± 1,14 <sup>b</sup>
Hexânico	1	41,92 ± 0,45 <sup>c</sup>
Acetato de Etila	1	18,76 ± 0,07 <sup>d</sup>
Padrão	0,14	99 ± 0,37

( $p < 0,05$  ;  $R^2 = 0,9989$ )

Fonte: AUTOR

Estes dados sugerem que os extratos do caule apresentam diferenças estatisticamente significativas<sup>a,b,c,d</sup>. Para a concentração estudada, e em ordem decrescente de %IChE encontra-se: extrato clorofórmico, extrato hexânico, extrato bruto e extrato acetato de etila.

Tabela 23 - Percentuais de IACHe dos extratos das folhas

EXTRATO	CONCENTRAÇÃO (mg/mL)	%IACHe
Bruto	1	40,27 ± 0,42 <sup>a</sup>
Clorofórmico	1	61,15 ± 0,97 <sup>b</sup>
Hexânico	1	34,21 ± 0,48 <sup>c</sup>
Acetato de Etila	1	42,18 ± 1,28 <sup>a</sup>
Padrão	0,14	99 ± 0,37

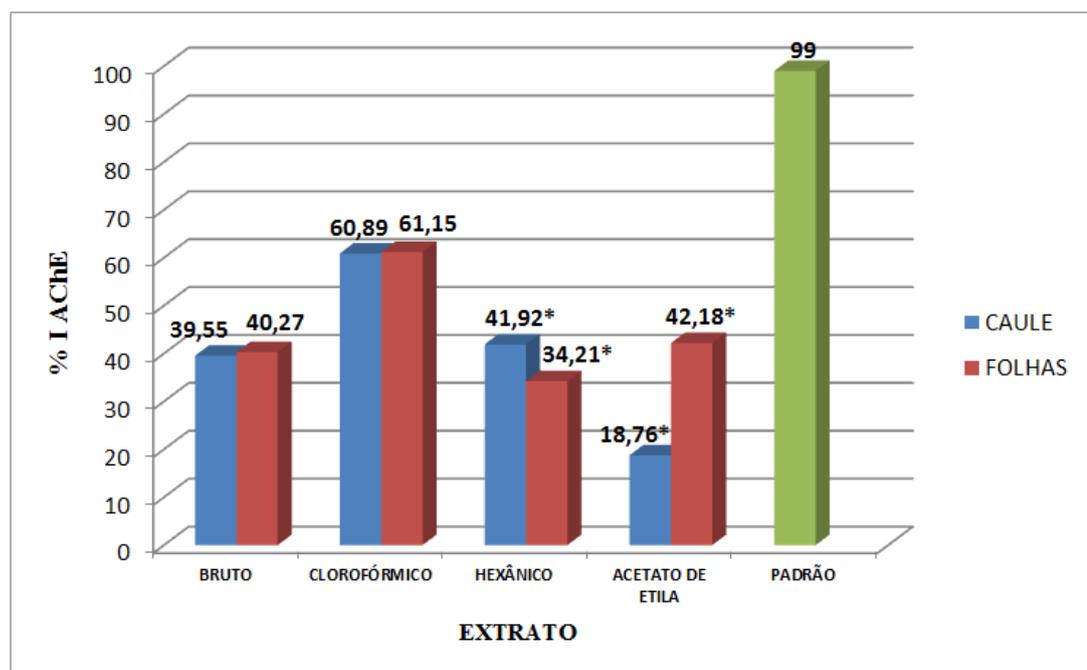
(p<0,05 ; R<sup>2</sup>=0,9951)

Fonte: AUTOR

Em relação aos extratos das folhas, é possível observar que estes apresentam diferenças estatisticamente significativas<sup>a,b,c</sup>, com exceção dos extratos bruto e acetato de etila. Em ordem decrescente de %IACHe e para a concentração estudada, encontra-se: extrato clorofórmico, extrato acetato de etila, extrato bruto e extrato hexânico.

Todos os extratos das folhas exibiram um %IACHe maior que os extratos do caule, com exceção do extrato hexânico. No entanto, só os extratos hexânico e acetato de etila das folhas apresentaram diferenças estatisticamente significativas em relação aos extratos hexânico e acetato de etila do caule. O gráfico 4 compara os valores de %IACHe dos extratos do caule e das folhas.

Gráfico 4 - %IACHe dos extratos do caule e das folhas



Fonte: AUTOR

A partir dos resultados obtidos na concentração testada é possível observar que tanto para o caule quanto para as folhas, o extrato clorofórmico foi o que apresentou maior atividade anticolinesterásica.

No estudo realizado por Gomes (2013), foi avaliada a atividade anticolinesterase de extratos hidroetanólicos 64% (v/v) das folhas de *P. alata*, *P. capsularis*., *P. cincinnata*, *P. edulis* f. *flavicarpa*, *P. edulis* f. *edulis*, *P. galbana* Mast., *P. gibertii* N. E. Br., *P. maliformis* L., *P. malacophylla*, *P. morifolia* Mast., *P. mucronata* Sessé & Moc., *P. quadrangularis*, *P. racemosa* Brot., *P. setacea* DC., *P. suberosa*, *P. vitifolia* Kunth e *P. tenuifila*, concluindo que nenhuma destas espécies apresenta capacidade inibitória da enzima acetilcolinesterase considerável, quando comparada ao padrão eserina.

Vinutha et al. (2007) classificaram a inibição da atividade acetilcolinesterásica como baixa quando for menor que 30%, moderada quando for de 30-50%, e potente quando for maior que 50%. Segundo esta classificação, os extratos de *P. malacophylla* possuem baixa, moderada, e potente inibição da atividade acetilcolinesterásica (Tabela 24).

Tabela 24 - Classificação da inibição da atividade acetilcolinesterásica dos extratos de *P. malacophylla*

EXTRATO	CAULE	FOLHAS
Bruto	Moderada	Moderada
Clorofórmico	Potente	Potente
Hexânico	Moderada	Moderada
Acetato de etila	Baixa	Moderada

Fonte: AUTOR

A fisostigmina, composto utilizado como padrão neste ensaio, é um alcaloide obtido a partir de *Physostigma venenosum* L. (Fabaceae). Foi o primeiro inibidor da AChE descoberto e possui efeitos conhecidos há muitos anos. Sua estrutura molecular ativa foi elucidada em 1923 (ARAÚJO; SANTOS; GONSALVES, 2016). De acordo com Seidl (2010), os alcaloides constituem o grupo de substâncias mais amplamente estudado para descoberta de novos protótipos de inibidores da acetilcolinesterase.

Filho et al. (2006) realizaram uma revisão de 309 plantas pertencentes a 92 famílias botânicas, nas quais foi testada a atividade inibidora da acetilcolinesterase. Dado que a maioria dos inibidores da acetilcolinesterase possui nitrogênio na sua estrutura, a elevada atividade destas espécies poderia estar relacionada com seu alto conteúdo de alcaloides. Neste trabalho, os autores encontraram citadas na literatura 260 moléculas de origem natural que

foram avaliadas segundo sua atividade anticolinesterásica. Estes compostos foram identificados como alcaloides (139), monoterpenos (27), cumarinas (18), triterpenos (17), flavonoides (14), benzenoides (13), diterpenos (8), compostos com nitrogênio heterocíclico (5), sesquiterpenos (5), estilbenos (3), lignanos (2), compostos com enxofre (2), protenoides (2), compostos policíclicos (1), quinoides (1), benzoxazinonas (1), carotenoides (1) e compostos alicíclicos (1).

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho fornece resultados inéditos sobre a anatomia de *Passiflora malacophylla*, contribuindo desta forma para a descrição da espécie e proporcionando conhecimentos para a taxonomia. Assim, estes dados, também poderiam ser utilizados no controle de qualidade botânico.

Do ponto de vista químico, o isolamento do fitoesteroide daucosterol e do flavonoide vitexina, marcador taxonômico e químico de espécies de *Passiflora*, foi realizado pela primeira vez nesta espécie.

*Passiflora malacophylla* pode ser uma fonte promissora de antioxidantes naturais, dado que extratos tanto do caule quanto das folhas apresentaram atividade antioxidante, sendo alta em alguns casos, quando comparada com o padrão utilizado.

Em relação à atividade anticolinesterásica, a maioria dos extratos exibiu capacidade inibidora da enzima acetilcolinesterase moderada a potente. Isto sugere que ambos os órgãos vegetais estudados possuem compostos com possível aplicação no tratamento de patologias neurodegenerativas.

Neste sentido, os resultados deste trabalho confirmaram a importância dos recursos genéticos vegetais, principalmente de espécies nativas com potencial aplicação na indústria farmacêutica.

## REFERÊNCIAS

- ABBASI, E.; NASSIRI-ASL, M.; SHAFEEI, M.; SHEIKHI, M. Neuroprotective effects of vitexin, a flavonoid, on pentylenetetrazole-induced seizure in rats. **Chemical Biology and Drug Design**, v. 80, n. 1, p. 274-278, 2012.
- ABOURASHED, E.A.; VANDERPLANCK, J.R.; KHAN, I.A. High-speed extraction and HPLC fingerprinting of medicinal plants - I. Application to *Passiflora* flavonoids. **Pharmaceutical Biology**, v. 40, n. 2, p. 81-91, 2002.
- ABRAMOVITCH, R.A.; SPENSER, I.D. The Carbolines. **Advances in Heterocyclic Chemistry**, v.3, n. 1, p. 79-207, 1964.
- AFANAS, I.B.; DOROZHKO, A.; BRODSKII, A.; KOSYUK, V.A.; POTAPOVITCH, A. Chelating and free radical scavenging mechanisms of inhibitory action of Rutin and Quercetin in lipid peroxidation. **Biochemical Pharmacology**, v. 38, n. 11, p. 1763-1769, 1989.
- AHMED, T.; GILANI, A. Inhibitory effect of curcuminoids on acetylcholinesterase activity and attenuation of scopolamine-induced amnesia may explain medicinal use of turmeric in Alzheimer's disease. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v. 91, n. 1, p. 554-559, 2009.
- AKANBI, B.O.; BODUNRIN, O.D.; OLAYANJU, S. Phytochemical screening and antibacterial activity of *Passiflora edulis*. **Researcher**, v. 3, n. 5, p. 9-12, 2011.
- ALLEN JR, L.V. **Introdução à Farmácia de Remington**, 1ra. ed. Porto Alegre: Artmed, 2016. 688 p.
- ALLEN, J.R.F.; HOLMSTEDT, R. The simple  $\beta$ -carboline alkaloids. **Phytochemistry**, v. 19, n.1, p. 1573-1582, 1980.
- ALMEIDA, M.Z. **Plantas medicinais**, 4ta. ed. Salvador: EDUFBA, 2016. 213 p.
- ALONSO-CASTRO, A.J.; ZAPATA-BUSTOS, R.; GÓMEZ-ESPINOSA, G.; SALAZAR-OLIVO, L.A. Isoorientin reverts TNF-induced insulin resistance in adipocytes activating the insulin signaling pathway. **Endocrinology**, v. 153, n. 11, p. 5222-5230, 2012.
- ALVES, A.R.; DA SILVA, M.J.P. O uso da fitoterapia no cuidado de crianças com até cinco anos em área central e periférica da cidade de São Paulo. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, v. 37, n. 4, p. 85-91, 2003.
- ALVES, C.Q. **Estudo químico e avaliação biológica de duas espécies de Leguminosae: *Dioclea virgata* e *Cenostigma macrophyllum***. 2012. 227 p. Tese (Doutorado em Química) - Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal da Bahia, Salvador, Bahia.
- ALVES, C.Q.; BRANDÃO, H.N.; DAVID, J.M.; DAVID, J.P.; LIMA, L.S. Avaliação da atividade antioxidante de flavonoides. **Dialogos e Ciencia - Revista da rede de Ensino da FTC**. v. 5, n. 12, p. 1-8, 2007. Disponível em: <[https://www.researchgate.net/profile/Juceni\\_David/publication/267203680\\_AVALIACAO\\_DA\\_ATIVIDADE\\_ANTIOXIDANTE\\_DE\\_FLAVONOIDEOS/links/554eab0f08ae12808b365241.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Juceni_David/publication/267203680_AVALIACAO_DA_ATIVIDADE_ANTIOXIDANTE_DE_FLAVONOIDEOS/links/554eab0f08ae12808b365241.pdf)>. Acesso em: 20 jul. 2017.

AN, F.; CAO, X.; QU, H.; WANG, S. Attenuation of oxidative stress of erythrocytes by the plant-derived flavonoids vitexin and apigenin. **Pharmazie**, v. 70, n. 1, p. 724-732, 2015.

AN, F.; WANG, S.; TIAN, Q.; ZHU, D. Effects of orientin and vitexin from *Trollius chinensis* on the growth and apoptosis of esophageal cancer EC-109 cells. **Oncology Letters**, v. 10, n. 1, p. 2627-2633, 2015.

APG (ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 181, n. 1, p. 1-20, 2016.

ANISZEWSKI, T. **Alkaloids - Secrets of life. Alkaloid chemistry, biological significance, applications and ecological role**, 1ra. ed. United Kingdom: Elsevier, 2007. 316 p.

ATOUI, A.K.; MANSOURI, A.; BOSKOU G.; KEFALAS, P. Tea and herbal infusions: Their antioxidant activity and phenolic profile. **Food Chemistry**, v. 89, n. 1, p. 27-36, 2005.

ARAÚJO, C.R.M.; SANTOS, V.L.A.; GONSALVES, A.A. Acetilcolinesterase - AChE: Uma enzima de interesse farmacológico. **Revista Virtual de Química**, v. 8, n. 6, p. 1819-1834, 2016.

ARUOMA, O.I. Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 75, n. 2, p. 199-212, 1998.

BAHADORI, M.B.; DINPARAST, L.; VALIZADEH, H.; FARIMANI, M.M.; EBRAHIMI, S.N. Bioactive constituents from roots of *Salvia syriaca* L.: Acetylcholinesterase inhibitory activity and molecular docking studies. **South African Journal of Botany**, v. 106, n. 1, p. 1-4, 2016.

BAKER, H.G. Non-sugar chemical constituents of nectar. **Apidologie**, v. 8, n. 4, pp.349-356, 1977.

BAKER, H.G.; BAKER, I. The occurrence and significance of amino acids in floral nectar. **Plant Systematics and Evolution**, v. 151, n. 1, p. 175-186, 1986.

BARBOSA, P.R. **Estudo da ação psicofarmacológica de extratos de *Passiflora alata* Dryander e *Passiflora edulis* Sims**. 2006. 79 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) - Programa de Pós Graduação em Ciências Ambientais, Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, Santa Catarina.

BARREIRO, E.J.; BOLZANI, V.S. Biodiversidade: Fonte potencial para a descoberta de fármacos. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 679-688, 2009.

BARREIROS, A.L.B.S.; DAVID, J.P.; DAVID, J.M. Estresse oxidativo: Relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, v. 29, n. 1, p. 113-123, 2006.

BATTELLO, C. **Efeito Antioxidante Ortomolecular em Homeopatia**. Disponível em: <[https://books.google.com.br/books?id=uv0ADQAAQBAJ&printsec=frontcover&hl=pt-BR&source=gbs\\_ge\\_summary\\_r&cad=0#v=onepage&q&f=false](https://books.google.com.br/books?id=uv0ADQAAQBAJ&printsec=frontcover&hl=pt-BR&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false)>. Acesso em: 25 nov. 2016.

BATTERHAM, T.J.; HIGHET, R.J. Nuclear magnetic resonance spectra of flavonoids. **Australian Journal of Chemistry**, v. 17, n. 1, p. 428-439, 1964.

BECK, L.Y. **Pedanius Dioscorides of Anazarbus. De Materia Medica**, 1ra. ed. Hildesheim: Olms-Weidmann. 2005. 540p.

BENINCÁ, J.P.; MONTANHER, A.B.; ZUCOLOTTI, S.M.; SCHENKEL, E.P.; FRÖDE, T.S. Evaluation of the anti-inflammatory efficacy of *Passiflora edulis*. **Food Chemistry**, v. 104, n. 1, p. 1097-1105, 2007.

BERNACCI, L.C. Passifloraceae. In: WANDERLEY, M.G.L.; SHEPHERD, G.J.; GIULIETTI, A.M.; MELHEM, T.S. **Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo**. Vol. 3, São Paulo: FAPESP/Rima, 2003. p. 247-274.

BERNACCI, L.C.; CERVI, A.C.; MILWARD-DE-AZEVEDO, M.A.; NUNES, T.S.; IMIG, D.C.; MEZZONATO, A.C. 2015. Passifloraceae In: **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB12506>>. Acesso em: 2 dic. 2017.

BFG (THE BRAZILIAN FLORA GROUP). Growing knowledge: an overview of seed plant diversity in Brazil. **Rodriguésia**, v. 55, n. 4, p. 1085-1113, 2015.

BIANCHI, M.L.P.; ANTUNES, L.M.G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição da Puccamp**, v. 12, n. 2, p. 123-130, 1999.

BIRK, C.D.; PROVENSI, G.; GOSMANN, G.; REGINATTO, F.H.; SCHENKEL, E. TLC fingerprint of flavonoids and saponins from *Passiflora* species. **Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies**, v. 28, n. 1, p. 2285-2291, 2005.

BORGHI, S.M.; CARVALHO, T.T.; STAURENGO-FERRARI, L.; HOHMANN, M.S.; PINGE-FILHO, P.; CASAGRANDE, R.; VERRI, W.A. Vitexin inhibits inflammatory pain in mice by targeting TRPV1, oxidative stress, and cytokines. **Journal of Natural Products**, v. 76, n. 6, p. 1141-1149, 2013.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology**, v. 28, n.1, p. 25-30, 1995.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. **Práticas integrativas e complementares: Plantas medicinais e fitoterapia na Atenção Básica**. Série A. Normas e manuais técnicos. Cadernos de Atenção Básica, n. 31. Brasília (DF): 2012.

BRASILEIRO, J.C.B. **Morfologia foliar comparada de *Passiflora* L. (Passifloraceae)**. 2014. 88 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas: Área de Botânica) - Programa de Pós-Graduação em Botânica, Universidade de São Paulo, São Paulo.

BRITO, N.J.N. Benefícios dos antioxidantes naturais no estresse oxidativo. **Revista Científica da Faculdade de Colíder (FACIDER)**, v.1, n. 1, p. 1-16, 2012.

BRUNETON, J. **Elementos de Fitoquímica y de Farmacognosia**. 1ra. ed. Zaragoza: Acribia, 1991. 594 p.

CAMERIK, A.M.; WERGER, M.J.A. Leaf characteristics of the flora of the high Plateau of Itatiaia, Brasil. **Biotropica**, v. 13, n. 1, p. 39-48, 1981.

CAMPOS, M.G. **Efeito da adubação orgânica na produção de fitomassa e nos compostos bioativos de *Passiflora incarnata* L.** 2015. 88 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista "Júlio Mesquita Filho", Botucatu, São Paulo.

CAN, Ö.D.; ÖZKAY, Ü.D.; ÜÇEL, U.I. Anti-depressant-like effect of vitexin in BALB/c mice and evidence for the involvement of monoaminergic mechanisms. **European Journal of Pharmacology**, v. 699, n. 1, p. 250-257, 2013.

CAO, G.; SOFIC, E.; PRIOR, R.L. Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structure-activity relationships. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 22, n. 5, p. 749-760, 1997.

CAO, R.; PENG, W.; WANG, Z.; XU, A.  $\beta$ -carboline alkaloids: Biochemical and pharmacological functions. **Current Medicinal Chemistry**, v. 14, n. 1, p. 479-500, 2007.

CAPASSO, F. **Farmacognosia. Botanica, chimica e farmacologia delle piante medicinali**. 2da. ed. Italia: Springer. 2011. 512 p.

CAPASSO, R.; BORELLI, F.; LONGO, R.; CAPASSO, F. **Farmacognosia applicata: Controllo di qualità delle droghe vegetali**. 1ra. ed. Italia: Springer, 2007. 176 p.

CARVALHO, J.C. **Formulário Medico-Farmacêutico de Fitoterapia**. 3ra. ed. São Paulo: Pharmabooks, 2012. 365 p.

CARVALHO, J.I.X. **Estudo fitoquímico e avaliação do potencial de inibição da enzima acetilcolinesterase de *Simarouba versicolor* (Simaroubaceae)**. 2008. 143 p. Dissertação (Mestrado em Química Orgânica) - Programa de Pós-Graduação em Química Orgânica, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Ceará.

CARVALHO, M.J. **Caracterização fitoquímica e atividades farmacológicas de extratos das folhas do maracujá-do-mato (*Passiflora nitida* Kunth)**. 108 p. Dissertação (Mestrado em Patologia Tropical) - Programa de Pós-Graduação em Patologia Tropical, Universidade Federal do Amazonas, Manaus.

CASTRO, L.A.S. **Processamento de amostras para Microscopia Eletrônica de Varredura**, 2002. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/32390/1/documento-93.pdf>>. Acesso em: 15 jul. 2017.

CAVALLAZZI, M.L. **Plantas medicinais na Atenção Primária à Saúde**. 2006. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina. 144 p.

CENTRE FOR AGRICULTURE AND BIOSCIENCES INTERNATIONAL (CABI). **Invasive Species Compendium**. 2017. Disponível em: <<https://www.cabi.org/isc/datasheet/116173>>. Acesso em: 30 nov. 2017.

CERQUEIRA-SILVA, C.B.M.; FALEIRO, F.G.; JESUS, O.N.; SANTOS, E.S.L.; SOUZA, P.A. The Genetic Diversity, Conservation, and use of Passion Fruit (*Passiflora* spp.). In: AHUJA, M.R.; MOHAN JAIN S. **Genetic Diversity and Erosion in Plants**. 1ra. ed. Suíça: Springer International Publishing, 2016. p. 215-231.

CERVI, A.C. Passifloraceæ do Brasil. Estudo do gênero *Passiflora* L., subgênero *Passiflora*. **Fontqueria**, v. 45, n.1, p. 1-92, 1997.

CERVI, A.C. Espécies de *Passiflora* L. (Passifloraceae) publicadas e descritas nos últimos 55 anos (1950-2005) na América do Sul e principais publicações brasileiras. **Estudos de Biologia: Ambiente e Diversidade**, v. 27, n. 61, p. 19-24, 2005.

CHOI, J.S.; ISLAM, M.N.; ALI, M.Y.; KIM, E.J.; KIM, Y.M. JUNG, H.A. Effects of C-glycosylation on anti-diabetic, anti-Alzheimer's disease and anti-inflammatory potential of apigenin. **Food and Chemical Toxicology**, v. 64, n. 1, p. 27-33, 2014.

CHOULANT, L. **Macer Floridus De Viribus Herbarum**. 1ra. ed. Leipzig: Leopoldi Vossii, 1832. 242 p.

CHRISTEN, S.; PETERHANS, E.; STOCKER, R. Antioxidant activities of some tryptophan metabolites: Possible implication for inflammatory diseases. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 87, n. 1, p. 2506-2510, 1990.

COOK, N.C; SAMMAN, S. Flavonoids - Chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. **Nutritional Biochemistry**, v. 7, n. 1, p. 66-76, 1996.

COSTA, E.C.S.; MELO, J.I.M. Passifloraceae Juss. ex Roussel do Parque Nacional do Catimbau, Pernambuco, Brasil. **Revista Nordestina de Biologia**, v. 24, n. 2, p. 13-22, 2016.

COSTA, G.M. **Estudo químico de espécies brasileiras e colobianas do gênero *Passiflora***. 2013. 291 p. Tese (Doutorado em Farmácia) - Programa de Pós-Graduação em Farmácia, Universidade Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Santa Catarina.

COUTINHO, I.A.C.; MEIRA, R.M.S.A. Structural diversity of extrafloral nectaries in *Chamaecrista* sect. *Apoucouita*. **Botany**, v. 93, n. 6, p. 1-10, 2015.

COUTINHO, M.A.S.; MUZITANO, M.F.; COSTA, S.S. Flavonoides: Potenciais agentes terapêuticos para o processo inflamatório. **Revista Virtual de Química**, v. 1, n. 3, p. 241-256, 2009.

CRAGG, G.M.; NEWMAN, D.J. Natural products: A continuing source of novel drug leads. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1830, n. 6, p. 3670-3695, 2013.

CROCHEMORE, M.L.; MOLINARI, H.B.; STENZEL, C.N.M. Caracterização agromorfológica do maracujazeiro (*Passiflora* spp.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 25, n. 1, p. 5-10, 2003.

CRUZ, M.T.; ALVIM, M.N. **Fitoterápicos: estudos com plantas para fins terapêutico e medicinal**. 2013. Disponível em: <<http://www3.izabelahendrix.edu.br/ojs/index.php/aic/issue/view/42>>. Acesso em: 30 nov. 2017.

CUNHA, P. A. **Aspectos históricos sobre plantas medicinais, seus constituintes activos e fitoterapia**, 2003. Disponível em: <[http://www.ppmac.org/sites/default/files/aspectos\\_historicos.pdf](http://www.ppmac.org/sites/default/files/aspectos_historicos.pdf)>. Acesso em: 7 jul. 2017.

CUTLER, S.J.; CUTLER, H.G. **Biologically active natural products: Pharmaceuticals**. 1ra. ed. Estados Unidos: CRC Press. 2000. 291 p.

CUTRI, L.; NAVE, N.; AMI, M.B.; CHAYUT, N.; SAMACH, A.; DORNELAS, M.C. Evolutionary, genetic, environmental and hormonal-induced plasticity in the fate of organs arising from axillary meristems in *Passiflora* spp. **Mechanisms of Development**, v. 130, n. 1, p. 61-69, 2013.

CSEKE, L.J.; SETZER, W.N.; VOGLER, B.; KIRAKOSYAN, A.; KAUFMAN, P.B. Traditional, Analytical, and Preparative Separations of Natural Products. In: CSEKE, L.J.; KIRAKOSYAN, A.; KAUFMAN, P.B.; WARBER, S.L.; DUKE, J.A.; BRIELMANN, H.L. **Natural Products from Plants**. 2da. ed. Florida: Taylor & Francis Group. 2006. p. 263-317.

DAI, Y.; THUONG, P.T.; HUNG, T.M.; JIN, W.; CUI, Z.; BAE, K. Constituents and their DPPH Scavenging Activities from the leaves of *Alnus hirsuta* (Spach) Rupr. **Korean Journal of Medicinal Crop Science**, v. 13, n. 2, p. 85-90, 2005.

DARWIN, C. **The movements and habits of climbing plants**, 1ra. ed. London: John Murray, 1875. 118p.

DA SILVA, J.A. **Efeitos da suplementação da *Passiflora incarnata* L. sobre a ansiedade em humanos**. 2015. 90 p. Dissertação (Mestrado em Nutrição) - Programa de Pós Graduação em Ciências da Nutrição - Universidade Federal da Paraíba, Paraíba.

DE CANDOLLE, A.P. **Organographie Végétale**, v. 1, 1ra. ed. Paris: Germer Bailliere, 1827. 558 p.

DEGINANI, N.B. Las especies Argentinas del género *Passiflora* (Passifloraceae). **Darwiniana**, v. 39, n. 1, p. 43-129, 2001.

DE MELO, G.O.; COSTA, S.S. Produtos naturais para o tratamento da doença de Alzheimer: Promessa e Desafio. **Fitos**, v. 1, n. 2, p. 41-47, 2005.

DELNAVAZI, M.; HADJIAKHOONDI, A.; DELAZAR, A.; AJANI, Y.; TAVAKOLI, S.; YASSA, N. Phytochemical and antioxidant investigation of the aerial parts of *Dorema glabrum* Fisch. & C.A. Mey. **Iranian Journal of Pharmaceutical Research**, v. 14, n. 3, p. 925-931, 2015.

DELPINO, F. Funzione mirmeccofile nel regno vegetale. **Memorie della Royale Accademia delle Scienze dell'Istituto di Bologna**, v. 4, n. 7, p. 215-392, 1886.

DESMARCHELIER, C. **Fitomedicina**. 2012. Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva de la República Argentina. Disponible em: <<http://www.argentinainnovadora2020.mincyt.gob.ar/wp-content/uploads/2013/03/Fitomedicina2016.pdf>>. Acesso em: 7 dic. 2017.

DEVI, P.U.; GANASOUNDARI, A.; VRINDA, B.; SRINIVASAN, K.K.; UNNIKRISHNAN, M.K. Radiation protection by the *Ocimum* flavonoids orientin and vicenin: Mechanisms of action. **Radiation Research**, v. 154, n. 1, p. 455-460, 2000.

DEVIENNE, K.F.; RADDI, M.S.G.; POZETTI, G.L. Das plantas medicinais aos fitofármacos. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, v. 6, n. 3, p. 11-14, 2004.

DEWICK, P.M. **Medicinal natural products. A biosynthetic approach**. 3ra. ed. United Kingdom: John Wiley & Sons, 2009. 539 p.

DHAWAN, K.; KUMAR, S.; SHARMA, A. Anxiolytic activity of aerial and underground parts of *Passiflora incarnata*. **Fitoterapia**, v. 72, n. 1, p. 922-926, 2001.

DHAWAN, K.; KUMAR, S.; SHARMA, A. Reversal of morphine tolerance and dependence by *Passiflora incarnata* - A traditional medicine to combat morphine addiction. **Pharmaceutical Biology**, v. 40, n. 8, p. 576-580, 2002.

DHAWAN, K.; KUMAR, S.; SHARMA, A. Antiasthmatic activity of the methanol extract of leaves of *Passiflora incarnata*. **Phytotherapy Research**, v. 17, n. 1, p. 821-822, 2003a.

DHAWAN, K.; KUMAR, S.; SHARMA, A. Aphrodisiac activity of the methanol extract of leaves of *Passiflora incarnata* in mice. **Phytotherapy Research**, v. 17, n. 1, p. 401-403, 2003b.

DHAWAN, K.; DHAWAN, S.; SHARMA, A. *Passiflora*: a review update. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 94, n. 1, p. 1-23, 2004.

DI GIORGIO, C.; DELMAS, F.; OLLIVIER, E.; ELIAS, R.; BALANSARD, G.; TIMON-DAVIDA, P. *In vitro* activity of the  $\beta$ -carboline alkaloids harmane, harmine, and harmaline toward parasites of the species *Leishmania infantum*. **Experimental Parasitology**, v. 106, n. 1, p. 67-74, 2004.

DILCHER, D.L. Approaches to the identification of angiosperm leaf remains. **The Botanical Review**, v. 40, n. 1, 1974.

DOHI, S.; TERASAKI, M.; MAKINO, M. Acetylcholinesterase inhibitory activity and chemical composition of commercial essential oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 1, p. 4313-4318, 2009.

DONG, L.; LI, S.; ZHEN, Y.; WANG, Y.; SHAO, X.; LUO, Z. Cardioprotection of vitexin on myocardial ischemia/reperfusion injury in rat via regulating inflammatory cytokines and MAPK pathway. **American Journal of Chinese Medicine**, v. 41, n. 6, p. 1251-1266, 2013.

DORNAS, W.C.; OLIVEIRA, T.T.; RODRIGUES-DAS-DORES, R.G.; SANTOS, A.F.; NAGEM, T.J. Flavonóides: Potencial terapêutico no estresse oxidativo. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 28, n. 3, p. 241-249, 2007.

DURKEE, L.T. The floral and extra-floral nectaries of *Passiflora* II. The extra-floral nectary. **American Journal of Botany**, v. 69, n. 9, p. 1420-1428, 1982.

DURKEE, L.T. The ultrastructure of floral and extrafloral nectaries. In: BENTLEY, B.; ELIAS, T. **The biology of nectaries**. 1ra. ed. New York: Columbia University Press. 1983. p. 1-29.

EAGLESON, M. **Concise encyclopedia chemistry**, 1ra. ed. Berlin : de Gruyter. 1994. 1202 p.

ELDIN, S.; DUNFORD, A. **Fitoterapia na atenção primária à saúde**, 1ra. ed. São Paulo: Manole. 2001. 165 p.

ELIAS, T.S. Extrafloral nectaries: their structure and distribution. In: BENTLEY, B.; ELIAS, T. **The biology of nectaries**. 1ra. ed. New York: Columbia University Press. 1983. p. 174-203.

ELIAS, T.S.; GELBAND, H. Morphology and anatomy of floral and extrafloral nectaries in *Campsis* (Bignoniaceae). **American Journal of Botany**, v. 63, n.10, p. 1349-1353, 1976.

ELIAS, T.S.; GELBAND, H. Morphology, anatomy, and relationship of extrafloral nectaries and hydathodes in two species of *Impatiens* (Balsaminaceae). **Botanical Gazette**, v. 138, n. 1, p. 206-212, 1977.

ELLIS, B.; DALY, D.C.; HICKEY, L.J.; JOHNSON, K.R.; MITCHELL, J.D.; WILF, P.; WING, S.L. **Manual of leaf architecture**, 1ra. ed. New York: Cornell University Press, 2009. 190 p.

ELLMAN, G.L.; COURTNEY, K.D.; ANDRES, V.; FEATHERSTONE, R.M. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochemical Pharmacology**, v. 7, n. 1, p. 88-95, 1961.

ESMAEILI, M.A.; FARIMANI, M.M. Inactivation of PI3K/Akt pathway and upregulation of PTEN gene are involved in daucosterol, isolated from *Salvia sahendica*, induced apoptosis in human breast adenocarcinoma cells. **South African Journal of Botany**, v. 93, n. 1, p. 37-47, 2014.

EVERETT, N.; GABRA, M. The pharmacology of medieval sedatives: The “Great Rest” of the Antidotarium Nicolai. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 155, n. 1, 2014.

FAHN, A. 1988. Secretory tissues and factors influencing their development. **New Phytologist**, v. 108, n. 3, p. 229-257, 1988.

FAHN, A. Structure and function of secretory cells. **Advances in Botanical Research**, v. 31, n. 1, p. 37-75, 2000.

FARIAS, V. **Anatomia foliar de *Passiflora L.* (Passifloraceae): Aspectos taxonômicos e evolutivos**. 2014. 65 p. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Programa de Pós-Graduação em Botânica, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná.

FERNANDES, R.S. **Avaliação da atividade antiofídica do extrato de *Serjania erecta* Radlk *in natura* e *in vitro*: isolamento e caracterização estrutural de compostos bioativos**. 2011. 104 p. Tese (Doutorado em Ciências) - Programa de Pós-Graduação em Toxicologia, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, São Paulo.

FERREIRA, A.L.A.; MATSUBARA, L.S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 43, n.1, p. 61-68. 1997.

FERREIRA, I.C.F.R.; ABREU, R.M.V. Stress oxidativo, antioxidantes e fitoquímicos. **Bioanálise**, v. 4, n. 2, p. 32-39, 2007.

FEUILLET, C.; MACDOUGAL, J.M. Passifloraceae. In: Kubitzki, K. **The families and genera of vascular plants**, v. IX. 1ra. ed. Berlin: Springer, 2007. p. 270-281.

FILHO, J.M.B.; MEDEIROS, K.C.P.; DINIZ, M.F.F.M.; BATISTA, L.M.; ATHAYDE-FILHO, P.F.; SILVA, M.S.; DA-CUNHA, E.V.L.; ALMEIDA, J.R.G.S.; QUINTANS-JÚNIOR, L. Natural products inhibitors of the enzyme acetylcholinesterase. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n. 2, p. 258-285, 2006.

FILHO, R.B. Contribuição da fitoquímica para o desenvolvimento de um país emergente. **Química Nova**, v. 33, n. 1, p. 229-239, 2010.

FILHO, V.C.; YUNES, R.A. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. **Química Nova**, v.2, p. 99-105, 1998.

**FLORA DO BRASIL 2020 em construção**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: < <http://floradobrasil.jbrj.gov.br>>. Acesso em: 28 fev. 2018.

FLORA DO BRASIL 2020 em construção. Passiflora In: **Flora do Brasil 2020 em construção**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB12506>>. Acesso em: 29 jan. 2018.

FOSTER, S.; TYLER, V.E. **Tyler's Honest Herbal: A Sensible Guide to the Use of Herbs and Related Remedies**. 3ra. ed. New York: Haworth Herbal Press, 1999. 442 p.

FRANCESCHI, V.R.; NAKATA, P.A. Calcium oxalate in Plants: formation and function. **Annual Review of Plant Biology**, v. 56, n.1, p. 41-71, 2005.

FREIRE, V.F **Estudo dos alcaloides  $\beta$ -carbolínicos dos frutos de *Passiflora alata* e de *Passiflora edulis* utilizando SBSE, LC/Flu e LC/MS**. 2017. 80 p. Dissertação (Mestrado em Química) - Programa de Pós Graduação em Química - Universidade de São Paulo, São Paulo.

FREITAS, L.B. História evolutiva das espécies de *Passiflora L.* de ocorrência no Rio Grande do Sul: aspectos genéticos, estrutura populacional e filogenia. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 9, n.1, p. 41-47, 2011.

FU, L.; XU, B.T.; GAN, R.Y.; ZHANG, Y.; XIA, E.Q.; LI, H.B. Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits. **Food Chemistry**, v. 129, n. 2, p. 345-350, 2011.

GARCÍA, E.C.; SOLÍS, I.M. **Manual de fitoterapia**. 1ra. ed. España: Elsevier, 2007. 506 p.

GARROS, I.C.; CAMPOS, A.C.L.; TÂMBARA, E.M.; TENÓRIO, S.B.; TORRES, O.J.M., AGULHAM, M.A.; ARAÚJO, A.C.F.; SANTIS-ISOLAN, P.M.B., OLIVEIRA, R.M., ARRUDA, E.C.M. Extrato de *Passiflora edulis* na cicatrização de feridas cutâneas abertas em ratos: estudo morfológico e histológico. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 21, n. 3, p. 55-65, 2006.

GELPI, R.J.; BOVERIS, A.; PODEROSO, J.J. **Biochemistry of oxidative stress. Physiopathology and clinical aspects**. 1ra. ed. Buenos Aires: Springer, 2016. 454 p.

GERLACH, D. **Botanische Mikrotechnik**. Stuttgart: Georg Thieme Verlag, 1984. 311 p.

GLENNON, R.A.; DUKAT, M.; BRELLA, B.; HONG, S.S.; CONSTANTINO, L.; TEITLER, M.; SMITH, C.; EGAN, C.; DAVIS, K.; MATTSON, M.V. Binding of  $\beta$ -carbolines and relating agents at serotonin (5-HT<sub>2</sub> and 5-HT<sub>1A</sub>), dopamine (D<sub>2</sub>) and benzodiazepines receptors. **Drug Alcohol Depend**, v. 60, n. 1, p. 121-32, 2000.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N.P. Medicinal plants: factors of influence on the content of secondary metabolites. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.

GOLÇALVES, E.G.; LORENZI, H. **Morfologia vegetal. Organografia e dicionário ilustrado de morfologia das plantas vasculares**, 1ra. ed. São Paulo: Instituto Plantarum, 2007. 448 p.

GOMES, S.V.F. **Aplicação do planejamento box-behnken na otimização de método de extração de flavonoides usando extração acelerada com solventes (ASE) e quantificação de marcadores químicos por clae-dad-uv em espécies do gênero *Passiflora***. 2013. 161 p. Tese (Doutorado em Química Orgânica) - Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal da Bahia, Salvador, Bahia.

GONZÁLES; N.C.J.; CRUZ, S.A. **Antioxidantes en los alimentos**. 1ra. ed. Lima: Editora da UNAB, 2017. 105 p.

GOSMANN, G.; PROVENSI, G.; NARDI COMUNELLO, L.; KUZE RATES, S.M. Composição química e aspectos farmacológicos de espécies de *Passiflora* L. (Passifloraceae). **Revista Brasileira de Biociências**, v. 9, s. 1, p. 88-99, 2011.

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

GUIMARÃES, C.C.; OLIVEIRA, D.D.; VALDEVITE, M.; SALTORATTO, A.L.F.; PEREIRA, S.I.V.; FRANÇA, S.C.; PEREIRA, A.M.S.; PEREIRA, P.S. The glycosylated flavonoids vitexin, isovitexin, and quercetrin isolated from *Serjania erecta* Radlk (Sapindaceae) leaves protect PC12 cells against amyloid- $\beta_{25-35}$  peptide-induced toxicity. **Food and Chemical Toxicology**, v. 86, n. 1, p. 88-94, 2015.

GUPTA, R.K.; KUMAR, D.; CHAUDHARY, A.K.; MAITHANI, M.; SINGH, R. Antidiabetic activity of *Passiflora incarnata* Linn. in streptozotocin-induced diabetes in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 139, n. 1, p. 801-806, 2012.

HALL, M.A. **Plant structure, function and adaptation**. 1ra. ed. London: Macmillan Press, 1976. 443 p.

HALLIWELL, B. Free radicals and antioxidants: a personal view. **Nutrition Reviews**, v.52, n.8, p.253-265, 1994.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C. **Free Radicals in Biology and Medicine**. 5ta. ed. Oxford: Clarendon Press, 2015. 896 p.

HARBONE, J.B. **The flavonoids: Advances in research since 1986**. 1ra ed. Grã-Bretanha: Springer Science. 1994. 681 p.

HASSAN, E.M.; HASSAN R.A.; EL-TOUMY S.A.; MOHAMED, S.M.; OMER, E.A. Phenolic metabolites and antioxidant activity of *Codiaeum variegatum* CV. spirale. **Journal of Pharmacy Research**, v. 8, n. 5, p. 619-623, 2014.

HERRAIZ, T.; CHAPARRO, C. Human monoamine oxidase is inhibited by tobacco smoke:  $\beta$ -carboline alkaloids act as potent and reversible inhibitors. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 326, n. 1, p. 378-386, 2005.

HE, M.; MIN, J.; KONG, W.; HE, X.; Li, J. A review on the pharmacological effects of vitexin and isovitexin. **Fitoterapia**, v. 115, n. 1, p. 74-85, 2016.

HICKEY, L.J. Classification of the architecture of dicotyledonous leaves. **American Journal of Botany**, v. 60, n. 1, p. 17-33, 1973.

HOU, J.; WU, H.; WANG, Y.; WENG, X. Isolation of some Compounds from Nutmeg and their antioxidant activities. **Czech Journal of Food Sciences**, v. 30, n. 2, p. 164-170, 2012.

HOU J.P. The development of Chinese Herbal Medicine and the Pen-Ts'ao. **Comparative Medicine East and West**, v. 5, n. 2, p. 117-122, 1977.

HUANG, Q.; GUO, Y.; FU, R.; PENG, T.; ZHANG, Y.; CHEN, F. Antioxidant activity of flavonoids from leaves of *Jatropha curcas*. **Science Asia**, v. 40, n. 1, p. 193-197, 2014.

HUANG, S.; CHEN, C.; CHIENG, K.; HUANG, S.; CHIANG, B.; WANG, L.; KUO, H.; LIN, C. Inhibitory effects of a rice hull constituent on Tumor Necrosis Factor, prostaglandin E2, and cyclooxygenase-2 production in lipopolysaccharide-activated mouse macrophages. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1042, n. 1, p. 387-395, 2005.

ICHIMURA, T.; YAMANAKA, A.; ICHIBA, T.; TOYOKAWA, T., KAMADA, Y.; TAMAMURA, T.; MARUYAMA, S. Antihypertensive effect of an extract of *Passiflora edulis* rind in spontaneously hypertensive rats. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 70, n. 3, p. 718-721, 2006.

JAMES, S.A.; BELL, D.T. Leaf morphological and anatomical characteristics of heteroblastic *Eucalyptus globulus* ssp. *globulus* (Myrtaceae). **Australian Journal of Botany**, v.49, n.2, p. 259-269. 2001.

JIANG, L.; YANG, N.; YUAN, X.; ZOU, Y.; ZHAO, F.; CHEN, J.; WANG, M.; LU, D. Daucosterol promotes the proliferation of neural stem cells. **Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 140, n. 1, p. 90-99, 2014.

JIMÉNEZ, J.; RIVERÓN-NEGRETE, L.; ABDULLAEV, F.; ESPINOSA-AGUIRRE, J.; RODRÍGUEZ-ARNAIZ, R. Cytotoxicity of the  $\beta$ -carboline alkaloids harmine and harmaline in human cell assays in vitro. **Experimental and Toxicologic Pathology**, v. 60, n. 1, p. 381–389, 2008.

JOHANSEN, D.A. **Plant Microtechnique**. 1ra. ed. New York: McGraw-Hill Book Company, 1940. 523 p.

JORGE, S.S.A. **Plantas Medicinais: Coletânea de Saberes**, 2009. Disponível em: <<https://www.vegetall.com.br/wp-content/uploads/2015/05/plantas-medicinais-coletanea-de-saberes.pdf>>. Acesso em: 9 jul. 2017.

JOVANOVIĆ, S.; SIMIĆ, M. Repair of tryptophan radicals by antioxidants. **Journal of Free Radicals in Biology and Medicine**, v. 1, n. 1, p. 125-129, 1985.

JÚNIOR, F.L.C.; ESTANISLAU, M.L.L., PAIVA, B.M. Aspectos econômicos da cultura do maracujá. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.21, n.206, p.10-17, 2000.

KILLIP, E.P. **The American species of Passifloraceae**, 1ra. ed. Chicago: Botanical Series, 1938. 613 p.

KIM, H.; SABLIN, S.O.; RAMSAY, R.R. Inhibition of Monoamine Oxidase A by  $\beta$ -Carboline derivatives. **Archives of biochemistry and biophysics**, v. 337, v. 1, p. 137-142, 1997.

KIM, J.H.; LEE, B.C.; KIM, J.H.; SIM, G.S.; LEE, D.H.; LEE, K.E.; YUN, Y.P.; PYO, H.B. The isolation and antioxidative effects of vitexin from *Acer palmatum*. **Archives of Pharmacal Research**, v. 28, n. 2, p. 195-202, 2005.

KLEIN-JÚNIOR; L.C.; HENRIQUES, A.T. Alcaloides: generalidades e aspectos básicos. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; DE MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. 2da. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. p. 305-315.

KOCH, A.C.; CARDOSO, A.L.R.; ILKIU-BORGES, A.L. Novelty in Passifloraceae from the Brazilian Amazon. **Journal of Species Lists and Distribution**, v. 10, n.2, p. 453-456, 2014.

KRAFCZYK, N.; GLOMB, M.A. Characterization of phenolic compounds in rooibos tea. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n.1, p. 3368-3379, 2008.

KREIS, W.; MUNKERT, J.; PÁDUA, R.M. Biossíntese de metabólitos primários e secundários. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; DE MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. 2da. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. p. 147-166.

KÜPELI, E.; ASLAN, M.; GÜRBÜZ, I.; YESILADA, E. Evaluation of in vivo biological activity profile of isoorientin. **Verlag der Zeitschrift für Naturforschung**, v. 59, n. 1, p. 787-790, 2004.

KURTZ, S.M.T.F.; SANTOS, C.A.M.; DUARTE, M.R.; SATO, M.E.O. Morfo-anatomia de folhas de maracujá: *Passiflora actinia* Hooker, Passifloraceae. **Acta Farmacéutica Bonaerense**, v. 22, n. 2, 2003.

LEAL, A.E.B.P.; OLIVEIRA JÚNIOR, R.G.; OLIVEIRA, A.P.; ALMEIDA, J.R.G.S.; LIMA, J.T. Atividade ansiolítica e sedativa de espécies do gênero *Passiflora* - um mapeamento científico e tecnológico. **Cadernos de Prospecção**, v.9, n. 3, p. 299-312, 2016.

LEE, C.; CHIEN, Y.; CHIU, T.; HUANG, W.; LU, C.; CHIANG, J.; YANG, J. Apoptosis triggered by vitexin in U937 human leukemia cells via a mitochondrial signaling pathway. **Oncology Reports**, v. 28, n. 1, p. 1883-1888, 2012.

LEE, J.; LEE, J.L.; PARK, J.H.; JUNG, H.S.; KIM, J.S.; KANG, S.S.; KIM, Y.S.; HAN, Y. Immunoregulatory activity by daucosterol, a  $\beta$ -sitosterol glycoside, induces protective Th1 immune response against disseminated Candidiasis in mice. **Vaccine**, v. 25, n. 1, p. 3834–3840, 2007.

LEE, W.; KU, S.; BAE, J. Vascular barrier protective effects of orientin and isoorientin in LPS-induced inflammation *in vitro* and *in vivo*. **Vascular Pharmacology**, v. 62, n. 1, p. 3-14, 2014.

LEE, W.; BAE, J. Antithrombotic and antiplatelet activities of orientin *in vitro* and *in vivo*. **Journal of Functional Foods**, v. 17, n. 1, p. 388-398, 2015.

LILLIE, R.D. **Histopathologic technic and practical histochemistry**. 3ra. ed. New York: McGraw-Hill Book Company, 1965. 751 p.

LING, T.; LING, W.; CHEN, Y.; WAN, X.; XIA, T.; DU, X.; ZHANG, Z. Antiseptic activity and phenolic constituents of the aerial parts of *Vitex negundo* var. *cannabifolia*. **Molecules**, v. 15, n. 1, p. 8469-8477, 2010.

LIU, L.; WU, Y.; HUANG, X. Orientin protects myocardial cells against hypoxia-reoxygenation injury through induction of autophagy. **European Journal of Pharmacology**, v. 776, n. 1, p. 90-98, 2016.

LIU, Y.; LAN, N.; REN, J.; WU, Y.; WANG, S.; HUANG, X.; YU, Y. Orientin improves depression-like behavior and BDNF in chronic stressed mice. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 59, n. 7, p. 1130-1142, 2015.

LUBBOCK, J. On stipules, their form and function. **Journal of Linnean Society**, v. 28, n.1, p. 217-243, 1890.

LUTOMSKI, V.J.; MALEK, B. Pharmakochemische untersuchungen von drogen der gattung *Passiflora*. **Planta Medica**, v. 27, n. 1, 1975.

LÜTTGE, U. Nectar composition and membrane transport of sugars and amino acids : a review on the present state of nectar research. **Apidologie**, v. 8, n. 4, pp.305-319, 1977.

MABRY, T.J.; MARKHAM, K.R.; THOMAS, M.B. **The systematic identification of flavonoids**. 1ra ed. New York: Springer. 1970. 361 p.

MADOGLIO, F.A. **Investigação fitoquímica das partes aéreas de *Passiflora alata* Curtis**. 2011. 219 p. Dissertação (Mestrado em Farmácia) - Programa de Pós-Graduação em Farmácia, Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina.

KASAL, A.; BUDESINSKY, M.; GRIFFITHS, W.J. Spectroscopic methods of steroid analysis. In: MAKIN, H.L.J.; GOWER, D.B. **Steroid Analysis**. 2da ed. Londres: Springer. 2010. p. 27-162.

MALTERUD, K.E.; FARBROT, T.L.; HUSE, A.E.; SUND, R.B. Antioxidant and radical effects of anthraquinones and anthrones. **Pharmacology**, v. 47, n. 1, p. 77-85, 1993.

MANCINI-FILHO, J.; MANCINI, D.A.P. **Prevenção de reações oxidativas: antioxidantes nos vegetais de consumo humano**. Disponível em: <<http://www.oleosegorduras.org.br/site/assets/arquivo/af311b171447de0cdd3f4a4093411270.pdf>>. Acesso em: 15 jul. 2017.

MARROQUÍN, M.N.; CRUZ, S.M.; CÁCERES, A. Antioxidant activity and phenolic compounds in three species of Passifloraceae (*Passiflora edulis*, *P. incarnata*, *P. ligularis*) from Guatemala. **Acta Horticulturae**, v. 964, n. 1, p. 93-98, 2012.

MASTERS, M.T. Passifloraceae: Passiflora. In: MARTIUS, C.F.P. von; EICHLER, A.W.; URBAN, I. **Flora Brasiliensis**, v. 13, 1872. p. 604.

MCMANUS, J.F.A. Histological and histochemical uses of periodic acid. **Stain Technology**, v. 23, n. 3, p. 99-108, 1948.

MELETTI, L.M.M. **Maracujá: produção e comercialização em São Paulo**. 1ra. ed. Campinas: Instituto Agronomico, 1996. 26 p.

MENGHINI, A.; MANCINI, L.A. TLC determination of flavonoid accumulation in clonal populations of *Passiflora incarnata* L. **Pharmacological Research Communications**, v. 20, n. 5, 1988.

METCALFE, C.R; CHALK, L. **Anatomy of the Dicotyledons**, v. 1, 2da. ed. Oxford: Clarendon Press. 1950. 724 p.

MIN, J.W.; HU, J.J.; HE, M.; SANCHEZ, R.M.; HUANG, W.X.; LIU, Y.Q.; BSOU, N.B.; HAN, S.; YIN, J.; LIU, WH.; HE, X.H.; PENG, B.W. Vitexin reduces hypoxia-ischemia neonatal brain injury by the inhibition of HIF-1alpha in a rat pup model. **Neuropharmacology**, v. 99, n. 1, p. 38-50, 2015.

MIRODDI, M.; CALAPAI, G.; NAVARRA, M.; MINCIULLO, P.L.; GANGEMI, S. *Passiflora incarnata* L.: Ethnopharmacology, clinical application, safety and evaluation of clinical trials. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 150, n. 1, p. 791-804, 2013.

MOHAMMED, A.E.I. Phytoconstituents and the study of antioxidant, antimalarial and antimicrobial activities of *Rhus tripartita* growing in Egypt. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 4, n. 2, p. 276-281, 2015.

MOLOUDIZARGARI, M.; MIKAILI, P.; AGHAJANSHAKERI, S.; ASGHARI, M.H.; SHAYEGH, J. Pharmacological and therapeutic effects of *Peganum harmala* and its main alkaloids. **Pharmacognosy Reviews**, v. 7, n. 14, 2013.

MONTERO, D.A.V. **Etnobotânica de *Passiflora* L., Uma aproximação na biogeografia, agroecologia e conservação dos maracujazeiros**. 2017. 189 p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista "Júlio Mesquita Filho", Botucatu, São Paulo.

MONTERO, D.A.V.; BONFIM, F.P.G.; MING, L.C. Comparison of free radical scavenging activity between seven species of *Passiflora* L. **International Journal of Applied Science and Technology**, v. 4, n. 4, p. 208-211, 2014.

MORAIS, S.M.; LIMA, K.S.B.; SIQUEIRA, S.M.C.; CAVALCANTI, E.S.B.; SOUZA, M.S.T.; MENEZES, J.E.S.A.; TREVISAN, M.T.S. Correlação entre as atividades antiradical, antiacetilcolinesterase e teor de fenóis totais de extratos de plantas medicinais de farmácias vivas. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n. 4, p. 575-582, 2013.

MOREIRA; I.B.; MASTROBERTI; A.A.; MARIATH, J.E.A. **Anatomia dos nectários extraflorais de três espécies de *Passiflora* L. ocorrentes no Rio Grande do Sul: Resultados preliminares**, 2011. Disponível em <<http://hdl.handle.net/10183/48182>>. Acesso em: 4 dic. 2017.

MOURA, D.J. **Estudo dos alcaloides  $\beta$ -carbolínicos em diferentes modelos biológicos**. 2006. 132 p. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular) - Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul.

MOURA, D.J.; RICHTER, M.F.; BOEIRA, M.; HENRIQUES, J.A.P.; SAFFI, J. Antioxidant properties of  $\beta$ -carboline alkaloids are related to their antimutagenic and antigenotoxic activities. **Mutagenesis**, v. 22, n. 4, p. 293-302, 2007.

MUKHERJEE, P.K.; KUMAR, V.; MAL, M. HOUGHTON, P.J. Acetylcholinesterase inhibitors from plants. **Phytomedicine**, v. 14, n. 1, p. 289-300, 2007.

MÜLLER, S.D. **Determinação de alcalóides e flavonóides através de CLAE e UV de extratos de *Passiflora alata* Curtis, Passifloraceae - maracujá doce**. 2006. 80 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade do Vale do Itajaí, Itajaí, Santa Catarina.

NEPI, M. Nectary structure and ultrastructure. In: NICOLSON, S.W.; NEPI, M.; PACINI, E. **Nectaries and Nectar**. 1ra. ed. The Netherlands: Springer. 2007. p. 129-166.

NEVES, J.M.; CUNHA, S. **Plantas medicinais**, 2006. Disponível em: <<http://bdigital.ufp.pt/bitstream/10284/528/1/50-57FCS2006-5.pdf>>. Acesso em: 23 jul. 2017.

NICOLSON, S. Nectar consumers. In: NICOLSON, S.W.; NEPI, M.; PACINI, E. **Nectaries and Nectar**. 1ra. ed. The Netherlands: Springer. 2007. p. 215-264.

NICOLSON, S.; THORNBURG, R.W. Nectar chemistry. In: NICOLSON, S.W.; NEPI, M.; PACINI, E. **Nectaries and Nectar**. 1ra. ed. The Netherlands: Springer. 2007. p. 215-264.

NOGUEIRA, L.J.; MONTANARI, C.A.; DONNICI, C.L. Histórico da evolução da química medicinal e a importância da lipofilia: de Hipócrates e Galeno a Paracelsus e as contribuições de Overton e de Hansch. **Revista Virtual de Química**, v. 1, n. 3, 2009.

NORDBERG, J.; ARNER, E.S.J. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 31, n. 1, p. 1287-1312, 2001.

NUNES, T.S. **A família Passifloraceae no Estado da Bahia, Brasil**. 2002. 190 p. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Programa de Pós-Graduação em Botânica, Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana.

NUNES, T.S. **Estudos sistemáticos em *Passiflora L.* subgênero *Deidamioides* (Harms) Killip (Passifloraceae)**. 2009. 214 p. Tese (Doutorado em Botânica) - Programa de Pós-Graduação em Botânica, Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana.

NUNES, T.S.; QUEIROZ, L.P. Flora da Bahia: Passifloraceae. **Sitientibus**, v. 6, n. 3, p. 194-226, 2006.

OGA, S.; FREITAS, P.C.; GOMES DA SILVA, A.; HANADA, S. Pharmacological trials of crude extract of *Passiflora alata*. **Planta Medica**, v. 50, n. 1, p. 303-306, 1984.

OLIVEIRA, G.L.S. Determinação da capacidade antioxidante de produtos naturais *in vitro* pelo método do DPPH•: Estudo de revisão. **Revista Brasileira de Planta Medicinai**s, v. 17, n. 1, p. 36-44, 2015.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). **Demencia**, 2016. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs362/es/>>. Acesso em: 23 jun. 2017.

OROIAN, M.; ESCRICHE, I. Antioxidants: Characterization, natural sources, extraction and analysis. **Food Research International**, v. 74, n. 1, p. 10-36, 2015.

OSMAN, S.M.; EL-KHALIK, S.M.A.; EL-HADDAD, A.E.; WINK, M. A new steroidal compound ( $\beta$ -sitosterol-3-O-butyl) isolated from *Caesalpinia gilliesii* flowers. **International Journal of Applied Research in Natural Products**, v. 8, n. 2, p. 14-19, 2015.

PACINI, E.; NEPI, M.; VESPRINI, J.L. Nectar biodiversity: a short review. **Plant Systematics and Evolution**, v. 238, n. 1, p. 7-21, 2003.

PACINI, E.; NICOLSON, S.W. Introduction. In: NICOLSON, S.W.; NEPI, M.; PACINI, E. **Nectaries and Nectar**. 1ra. ed. The Netherlands: Springer. 2007. p. 1-18.

PECK, R.L. **Nectar: production, chemical composition and benefits to animals and plants**, 1ra. ed. New York: Nova Science Publishers, 2015. 173 p.

PEREIRA, C.A.M.; VILEGAS, J.H.Y. Constituintes químicos e farmacologia do gênero *Passiflora* com ênfase a *P. alata* Dryander., *P. edulis* Sims e *P. incarnata* L. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, v. 3, n. 1, p. 1-12, 2000.

PEREIRA, C.A.M.; YARIWAKE J.H.; LANÇAS, F.M.; WANTERS, J.; TITS, M.; ANGENOT, L. A HPTLC Densitometric determination of flavonoids from *Passiflora alata*, *P. edulis*, *P. incarnata* and *P. caerulea* and comparison with HPLC method. **Phytochemical analysis**, v. 15, n. 1, p. 241-248, 2004.

PÉREZ, J.O; d'EECKENBRUGGE, G.C. Morphological characterization in the genus *Passiflora L.*: An approach to understanding its complex variability. **Plant Systematics and Evolution**, v. 303, n. 4, p. 531-558, 2017.

PÉREZ-CORTÉZ, S.; ESCALA, M.; TILLET, S. Morfoanatomia de la cubierta seminal en siete especies de *Passiflora L.*, subgênero *Passiflora* (Passifloraceae). **Hoehnea**, v. 36, n. 1, p. 131-137, 2009.

PICADA, J.N.; KATIA, V.C.L.; ERDTMANN, B.; HENRIQUES, A.T.; HENRIQUES, J.A.P. Genotoxic effects of structurally related  $\beta$ -carboline alkaloids. **Mutation Research**, v. 379, n. 1, p. 135-49, 1997.

PIMENTEL, V.; VIEIRA, V.; MITIDIERI, T.; FRANÇA, F.; PIERONI, J.P. Biodiversidade brasileira como fonte da inovação farmacêutica: uma nova esperança?. **Revista do Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social**, v. 43, n. 1, p. 41-89, 2015.

PINHEIRO, S.M.M. **Desenvolvimento de métodos para estudo de inibidores da acetilcolinesterase**. 2011. 110 p. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) - Programa de Pós-Graduação em Bioquímica, Universidade de Lisboa, Portugal.

PRINCE, M. **World Alzheimer Report**, 2009. Disponível em: <<https://www.alz.co.uk/research/files/WorldAlzheimerReport.pdf>>. Acesso em: 23 jun. 2017.

QIMIN, L.I.; HEUVEL, H.V.D.; DELORENZO, O.; CORTHOOT, J.; PIETERS, L.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, n. 1, p. 435-446, 1991.

RAJAVEL, T.; MOHANKUMAR, R.; ARCHUNAN, G.; RUCKMANI, K.; DEVI, K.P. Beta sitosterol and Daucosterol (phytosterols identified in *Grewia tiliaefolia*) perturbs cell cycle and induces apoptotic cell death in A549 cells. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 1-15, 2017.

REIMBERG, M.C.H. **Estudo de algumas variáveis que interferem na concentração de flavonoides do cultivo de folhas de *Passiflora incarnata* L.** 2006. 91 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Programa de Pós-Graduação em Ciências, Universidade de São Paulo, São Carlos, São Paulo.

REITER, J.M.W.; HEIDEN, C.F. **Maracujá**. 1ra. ed. Florianópolis: Instituto de Planejamento e Economia Agrícola de Santa Catarina. 1998. 61 p.

REZENDE, H.A.; COCCO, M.I.M. A utilização de fitoterapia no cotidiano de uma população rural. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, v. 36, n. 3, p. 282-288, 2002.

RIPA, F.A.; HAQUE, M.; NAHAR, L.; ISLAM, M. Antibacterial, cytotoxic and antioxidant activity of *Passiflora edulis* Sims. **European Journal of Scientific Research**, v. 31, n. 4, p.592-598, 2009.

ROBARDS, K.; ANTOLOVICH, M. Analytical chemistry of fruit bioflavonoids: A review. **Analyst**, v. 122, n. 1, p. 11-34, 1997.

RUGGY, G.H.; SMITH, C.S. A pharmacological study of the active principle of *Passiflora incarnata*. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 29, n. 6, p. 245-249, 1940.

SACCO, J.C. **Flora Ilustrada Catarinense: Passifloráceas**. Itajaí: Editora Herbário Barbosa Rodrigues, 1980. 132 p.

SALVADOR, M.; HENRIQUES, J.A.P. **Radicais livres e a resposta celular ao estresse oxidativo**. 1ra. ed. Canoas: ULBRA, 2004. 204 p.

SÁNCHEZ, A.C.; BARRACHINA, A.A.C. **A fruta romã cultivada em Espanha. Punicalagina antioxidante do sumo de romã e o extrato de romã, na alimentação funcional do futuro**. 1ra ed. Espanha: Universitas Miguel Hernández. 2017. 78 p.

SANTOS, W.P.; CARVALHO, A.C.S.; ESTEVAM, C.S.; SANTANA, A.E.G.; MARÇAL, R.M. *In vitro* and *ex vivo* anticholinesterase activities of *Erythrina velutina* leaf extracts. **Pharmaceutical Biology**, v.50, n.7, p.919-924, 2012.

SANVIDO, M.E. Avaliação de atividades biológicas de extratos não voláteis de *Baccharis uncinella* obtidos por maceração e por extração com CO<sub>2</sub> supercrítico. **Revista da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul**, v. 8, n. 2, p. 1-21, 2015.

SEIDL, C. **Pesquisa de substâncias naturais inibidoras da Acetilcolinesterase**. 2010. 89 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

SIES, H. Strategies of antioxidant defense. **European Journal of Biochemistry**, v. 215, n. 2, p. 213-219, 1993.

SILVA, C.R.A.; LEITE, K.R.B.; FERREIRA, L.M.S.L.; SILVA, M.S.; SILVA, L.B. Influência da altitude na plasticidade foliar de *Clusia obdeltifolia* Bittrich (Clusiaceae), **Revista Nordestina de Biologia**, v. 23, n. 1, p. 29-48, 2014.

SILVA, D.F. **Estudo fitoquímico e atividades biológicas de *Polygala boliviensis* A.W.BENN. (Polygalaceae)**. 2015b. 133 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, Bahia.

SILVA, J.A. Efeitos do Maracujá (*Passiflora* spp.) na ansiedade: Revisão da Literatura. **Revista COOPEX**, v. 6, n. 1, 2015a.

SILVA, R.Z.; YUNES, R.A.; SOUZA, M.M.; MONACHE, F.D.; FILHO, V.C. Antinociceptive properties of conocarpan and orientin obtained from *Piper solmsianum* C. DC. var. *solmsianum* (Piperaceae). **Journal of Natural Medicines**, v. 64, n. 1, p. 402-408, 2010.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; DE MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 2da. ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, 2000. 821 p.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; DE MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. 2da. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 486 p.

SOLEREDER, H. **Systematic anatomy of the Dicotyledons: A handbook for laboratories of pure and applied botany**. Oxford: Clarendon Press, 1908. 644 p.

SOUSA, C.M.M.; SILVA, H.R., VIEIRA-JR, G.M.; AYRES, M.C.C.; COSTA, C.L.S.; ARAÚJO, D.S.; CAVALCANTE, L.C.D.; BARROS, E.D.S.; ARAÚJO, P.B.M.; BRANDÃO, M.S.; CHAVES, M.H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.

SOUSA, J.S.I.; MELETTI, L.M.M. **Maracujá: espécies, variedades, cultivo**. Piracicaba: FEALQ, 1997. 179 p.

STEVENS, P.F. 2001 onwards. **Angiosperm Phylogeny Website**. Version 14, July 2017 [and more or less continuously updated since]. Disponível em: <<http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/welcome.html>>. Acesso em: 29 jan. 2018.

SUN, A.; REN, G.; DENG, C.; ZHANG, J.; LUO, X.; WU, X.; MANI, S.; DOU, W.; WANG, Z. C-glycosyl flavonoid orientin improves chemically induced inflammatory bowel disease in mice. **Journal of Functional Foods**, v. 21, n. 1, p. 418-430, 2016.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 819 p.

TEDESCHI, A.; D'ERRICO, G.; LAURO, M.R.; SANSONE, F.; DI MARINO, S.; D'URSI, A.M.; AQUINO, R.P. Effect of flavonoids on the A $\beta$ (25-35)-phospholipid bilayers interaction. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, n. 1, p. 3998-4003, 2010.

TEPE, B.; DAFERERA, D.; SOKMEN, A.; SOKMEN, M.; POLISSIOU, M. Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae). **Food Chemistry**, v. 90, n.1, p. 333-340, 2005.

THOM, R.A. **Greats moments in Pharmacy**, 2007. Disponível em: <[https://www.pharmacist.com/sites/default/files/Great\\_Moments\\_in\\_Pharmacy.pdf](https://www.pharmacist.com/sites/default/files/Great_Moments_in_Pharmacy.pdf)>. Acesso em: 9 jul. 2017.

TREVISAN, M.T.S.; MACEDO, F.V.V. Seleção de plantas com atividade anticolinesterase para tratamento da doença de Alzheimer. **Química Nova**, v. 28, n. 3, p. 301-304, 2003.

TSAI, J.; HUANG, G.; CHIU, T.; HUANG, S.; HUANG S.; HUANG, T.; LAI, S.; LEE, C. Antioxidant activities of phenolic components from various plants of *Desmodium* species. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 5, n. 4, p. 468-476, 2011.

TSE, S.Y.H.; MAK, I.T.; DICKENS, B.F. Antioxidative properties of harmane and  $\beta$ -carboline alkaloids. **Biochemical Pharmacology**, v. 42, n. 1, p. 459-464, 1991.

ULMER, T.; MACDOUGAL, J.M. 1ra. ed. **Passiflora: Passionflowers of the world**. Cambridge: Timber Press. 2004. 430 p.

VALLESPÍ, R.M.C.; MORALES, A.F.; GARCÍA, C.L.; TORRALBA, M.P.; GUTIÉRREZ, M.D.S.M. **Química Bioorgánica y Productos Naturales**. 1ra. ed. Madrid: UNED, 2013. 348 p.

VANACLOCHA, B.V.; FOLCARA, S.C. **Fitoterapia: Vademécum de prescripción**, 4ta. ed. España: Elsevier, 2003. 1092 p.

VELLOSA, J.C.R.; BARBOSA, V.F.; OLIVEIRA, O.M.M.F. Pesquisa de produtos naturais: Plantas e radicais livres. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 4, n. 2, p. 119-130, 2007.

VICHENEWSKI, W. Cromatografia por Adsorção. In: COLLINS, C.H.; BRAGA, G.L.; BONATO, P.S. **Introdução a métodos cromatográficos**. 7ma. ed. Campinas: Editora da UNICAMP. 1997. p. 59-70.

VIEIRA, L.M.; RIBEIRO, L.M.; PEREIRA, W.V.S.; MERCADANTE-SIMÕES, M.O. Avaliações anatômicas em caules de espécies de maracujazeiros utilizados como porta-enxertos na microenxertia. **Unimontes Científica**, v. 13, n. 1, 2012.

VIEIRA, M.A.R. **Caracterização dos ácidos graxos das sementes e compostos voláteis dos frutos de espécies do gênero *Passiflora***. 2006. 81 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Programa de Pós Graduação em Agronomia: Horticultura - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Botucatu, São Paulo.

- VINUTHA, B.; PRASHANTH, D.; SALMA, K.; SREEJA, S.L.; PRATITI, D.; PADMAJA, R.; RADHIKA, S.; AMIT, A.; VENKATESHWARLU, K.; DEEPAK, M. Screening of selected Indian medicinal plants for acetylcholinesterase inhibitory activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 109, n. 1, p. 359-363, 2007.
- VITTA, F.A.; PIRANI, J.R. Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais: Passifloraceae. **Boletim de Botânica da USP**, v. 33, n. 1, p. 29-38, 2015.
- WAKSMUNDZKA-HAJNOS, M.; SHERMA, J.; KOWALSKA, T. **Thin layer chromatography in phytochemistry**. 1ra. ed. Florida: CRC Press, 2008. 896 p.
- WANG, S.; YU, Y.; FENG, Y.; ZOU, F.; ZHANG, X.; HUANG, J.; ZHANG, Y.; ZHENG, X.; HUANG, X.; ZHU, Y.; LIU, Y. Protective effect of the orientin on noise-induced cognitive impairments in mice. **Behavioural Brain Research**, v. 296, n. 1, p. 290-300, 2015.
- WANG, Y.; ZHEN, Y.; WU, X.; JIANG, Q.; LI, X.; CHEN, Z.; ZHANG, G.; DONG L. Vitexin protects brain against ischemia/reperfusion injury via modulating mitogen-activated protein kinase and apoptosis signaling in mice. **Phytomedicine**, v. 22, n. 3, p. 379-84, 2015.
- WASICKY, A.; HERNANDES, L.S.; VETORE-NETO, A.; MORENO, P.R.H.; BACCHI, E.M.; KATO, E.T.M.; YOSHIDA, M. Evaluation of gastroprotective activity of *Passiflora alata*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 25, n. 1, p. 407-412, 2015.
- WATSON, R.R.; ZIBADI, S.; RAFATPANAH, H.; JABBARI, F.; GHASEMI, R.; GHAFARI, J.; AFRASIABI, H.; FOO, L.Y.; FARIDHOSSEINI, R. Oral administration of the purple passion fruit peel extract reduces wheeze and cough and improves shortness of breath in adults with asthma. **Nutrition Research**, v. 28, n. 1, p. 166-171, 2008.
- WEBER, M.G.; KEELER, K.H. The phylogenetic distribution of extrafloral nectaries in plants. **Annals of Botany**, v. 111, n. 1, p. 1251-1261, 2013.
- WEI-YANG, Y.; XIANG, L.; JIAN-WEI, C. Screening of eleven chemical constituents from *Radix isatidis* for antiviral activity. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 5, n. 16, p. 1932-1936, 2011.
- WOODMAN, R.L.; FERNANDES, G.W. Differential mechanical defense: herbivory, evapotranspiration, and leaf-hairs. **Oikos**, v. 60, n. 1, p. 11-19, 1991.
- WU, N.; FU, K.; FU, Y.; ZU, Y.; CHANG, F.; CHEN, Y.; LIU, X.; KONG, Y.; LIU, W.; GU, C. Antioxidant activities of extracts and main components of Pigeonpea [*Cajanus cajan* (L.Millsp.) leaves. **Molecules**, v. 14, n. 1, p. 1032-1043, 2009.
- YOCKTENG R.; d'EECKENBRUGGE, G.C.; SOUZA-CHIES, T.T. *Passiflora*. In: KOLE, C. **Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources. Tropical and Subtropical Fruits**. 1ra. ed. New York: Springer. 2011. p. 129-171.
- YU, L.; WANG, S.; CHEN, X.; YANG, H.; LI, X.; XU, Y.; ZHU, X. Orientin alleviates cognitive deficits and oxidative stress in A $\beta$ <sub>1-42</sub>-induced mouse model of Alzheimer's disease. **Life Sciences**, v. 121, n. 1, p. 104-109, 2015.
- YUAN, L.; WANG, J.; WU, W.; LIU, Q.; LIU, X. Effect of isoorientin on intracellular antioxidant defence mechanisms in hepatoma and liver cell lines. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 81, n. 1, p. 356-362, 2016.

YUAN, L.; WANG, J.; XIAO, H.; XIAO, C.; WANG, Y.; LIU, X. Isoorientin induces apoptosis through mitochondrial dysfunction and inhibition of PI3K/Akt signaling pathway in HepG2 cancer cells. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 265, n. 1, p. 83-92, 2012.

YUAN, L.; WEI, S.; WANG, J.; LIU, X. Isoorientin induces apoptosis and autophagy simultaneously by Reactive Oxygen Species (ROS)-related p53, PI3K/Akt, JNK, and p38 signaling pathways in HepG2 cancer cells. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 62, n. 1, p. 5390-5400, 2014a.

YUAN, L.; WU, Y.; REN, X.; LIU, Q.; WANG, J., LIU, X. Isoorientin attenuates lipopolysaccharide-induced pro-inflammatory responses through down-regulation of ROS-related MAPK/NF- $\kappa$ B signaling pathway in BV-2 microglia. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 386, n. 1, p. 153-165, 2014.

ZARLAVSKY, G.E. **Histología Vegetal. Técnicas simples y complejas**, 1ra. ed. Buenos Aires: Sociedad Argentina de Botánica, 2014. 198 p.

ZAVALETA, J.; MUÑOZ, A.M.; BLANCO, T.; ALVARADO-ORTIZ, C.; LOJA, B. Antioxidant capacity and main phenolic acids and flavonoids from some food. **Revista Horizonte Médico**, v. 5, n. 2, p. 81-85, 2005.

ZERPA, M.A.Z.; GÓMEZ, V.A.O. Morfoanatomía del tallo de tres especies del género *Passiflora* L. Passifloraceae. **Saber**, v. 26, n. 2, p. 114-124, 2014.

ZHAO, C.; SHE, T.; WANG, L.; SU, Y.; QU, L.; GAO, Y.; XU, S.; CAI, S.; SHOU, C. Daucosterol inhibits cancer cell proliferation by inducing autophagy through reactive oxygen species-dependent manner. **Life Sciences**, v. 137, n. 1, p. 37-43, 2015.

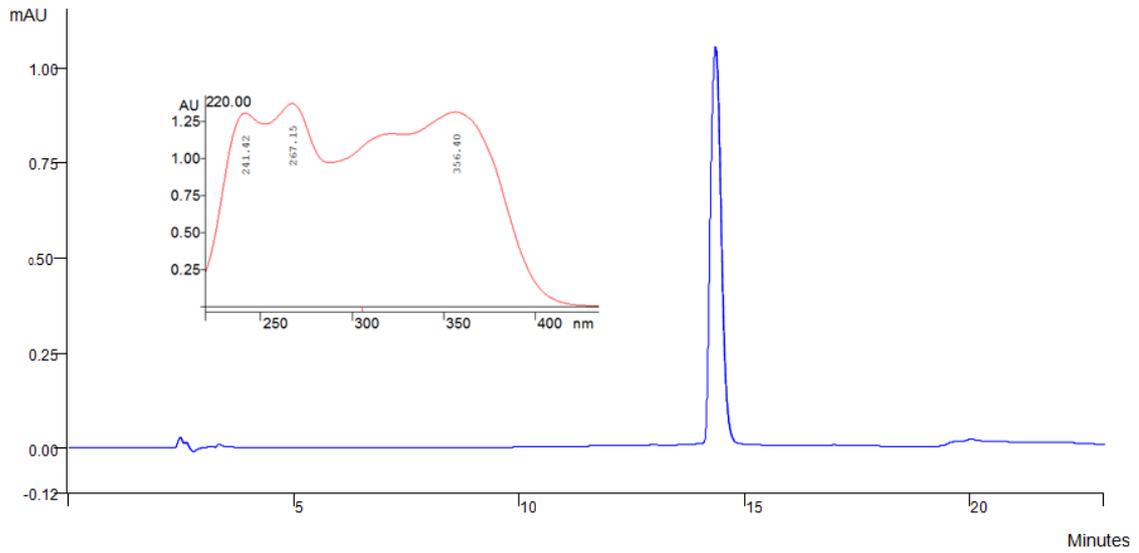
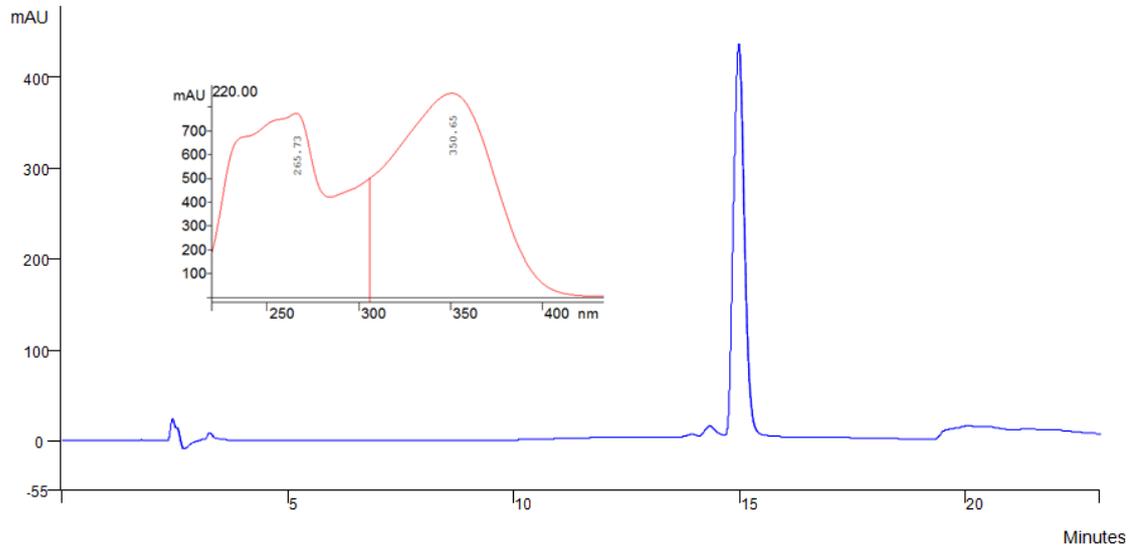
ZHAO, Y.; DOU, J.; WU, T.; AISA, H.A. Investigating the Antioxidant and Acetylcholinesterase: inhibition Activities of *Gossypium herbaceum*. **Molecules**, v. 18, n. 1, p. 951-962, 2013.

ZUANAZZI, J.A.S.; MONTANHA, J.A.; ZUCOLOTTI, S.M. Flavonoides. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; DE MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. 2da. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. p. 209-233.

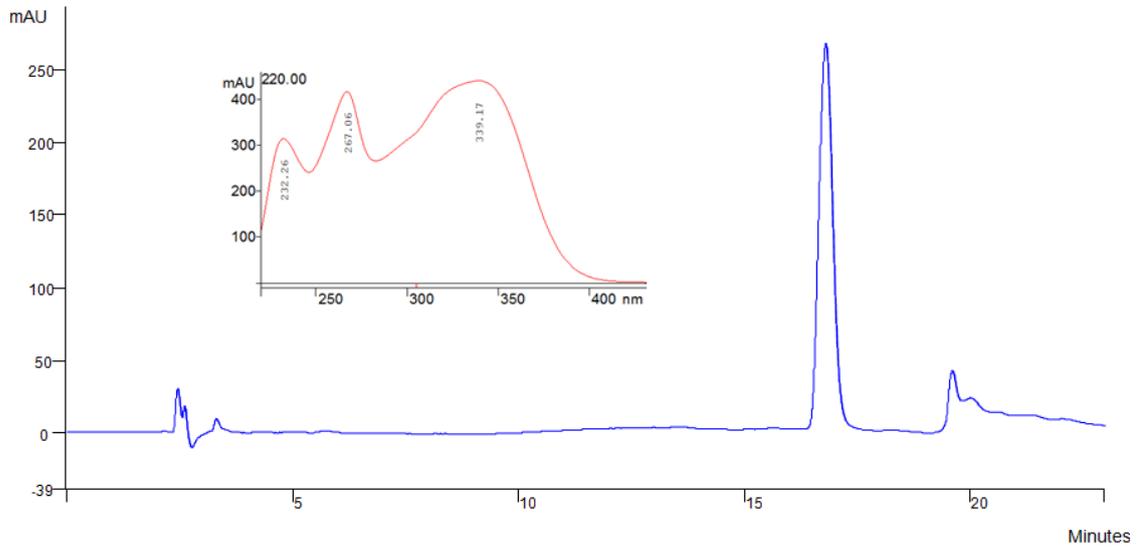
ZUCOLOTTI, S.M.; FAGUNDES, C.; REGINATTO, F.H.; RAMOS, F.A.; CASTELLANOS, L.; DUQUE, C.; SCHENKEL, E.P. **Analysis of C-glycosyl flavonoids from South American *Passiflora* species by HPLC-DAD and HPLC-MS**. 2011. Disponível em <file:///C:/Users/Nico/Downloads/Phytochemical%20Analysis%20Volume%2023%20issue%203%202012%20[doi%2010.1002%252Fpca.1348]%20Silvana%20Maria%20Zucolotto%3B%20Carize%20Fagundes%3B%20Fl%3%A1vio%20Henrique%20Regin%20--%20Analysis%20of%20Cglycosyl%20Flavonoids%20from%20South%20American%20Passiflo.pdf>. Acesso em: 28 out. 2017.

**APÊNDICE****APÊNDICE A**

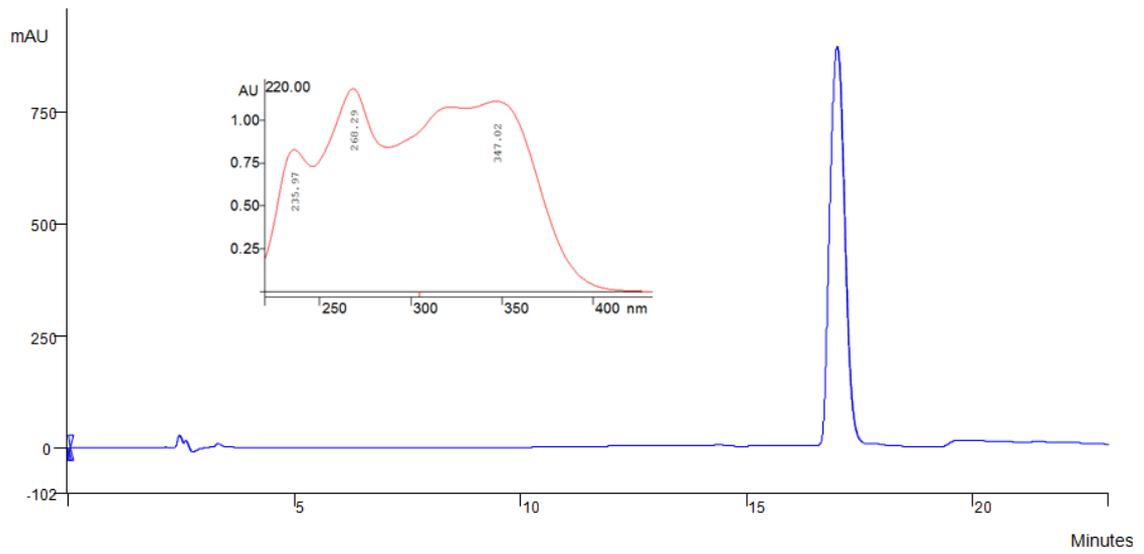
Cromatogramas e espectros UV dos padrões utilizados (280 nm):

**Isoorientina****Orientina**

## Vitexina



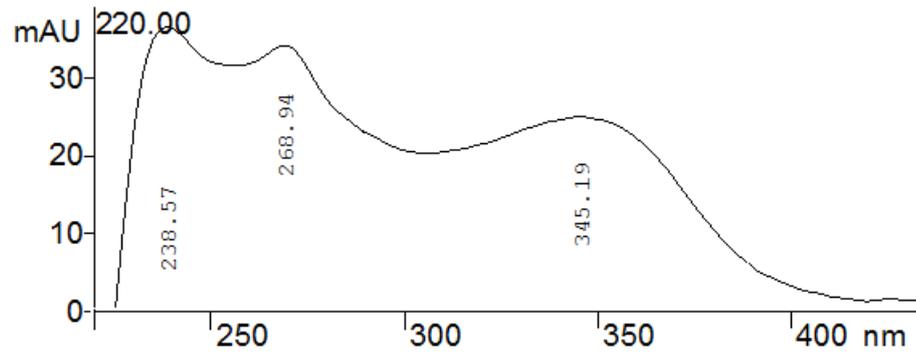
## Isovitexina



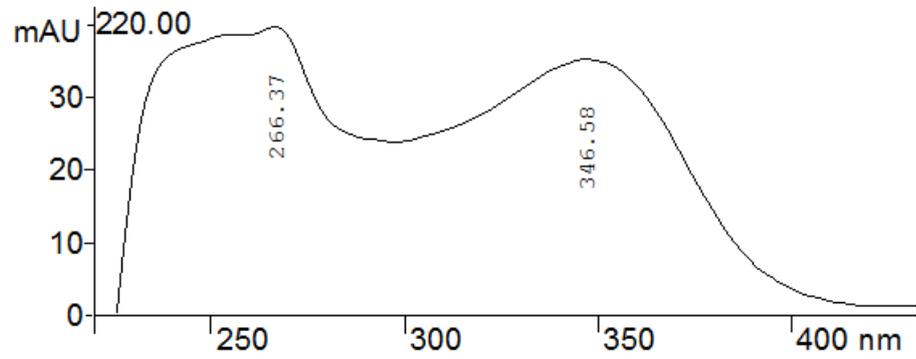
**APÊNDICE B**

Espectros UV dos picos correlatos com os padrões presentes no extrato bruto das folhas (280 nm):

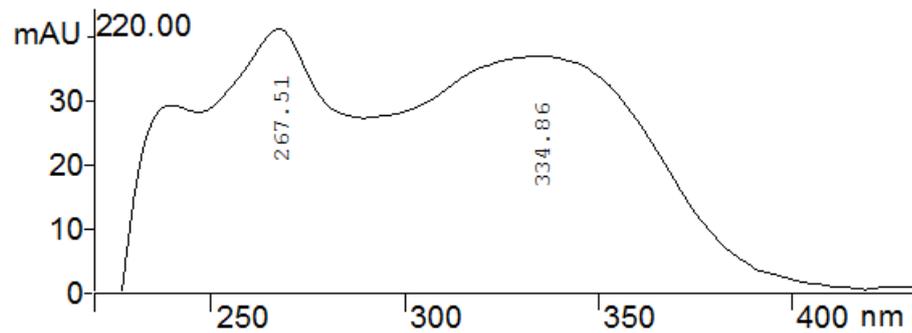
Pico 7 ( $t_R$ : 14,27 min) - Isoorientina



Pico 8 ( $t_R$ : 14,90 min) - Orientina

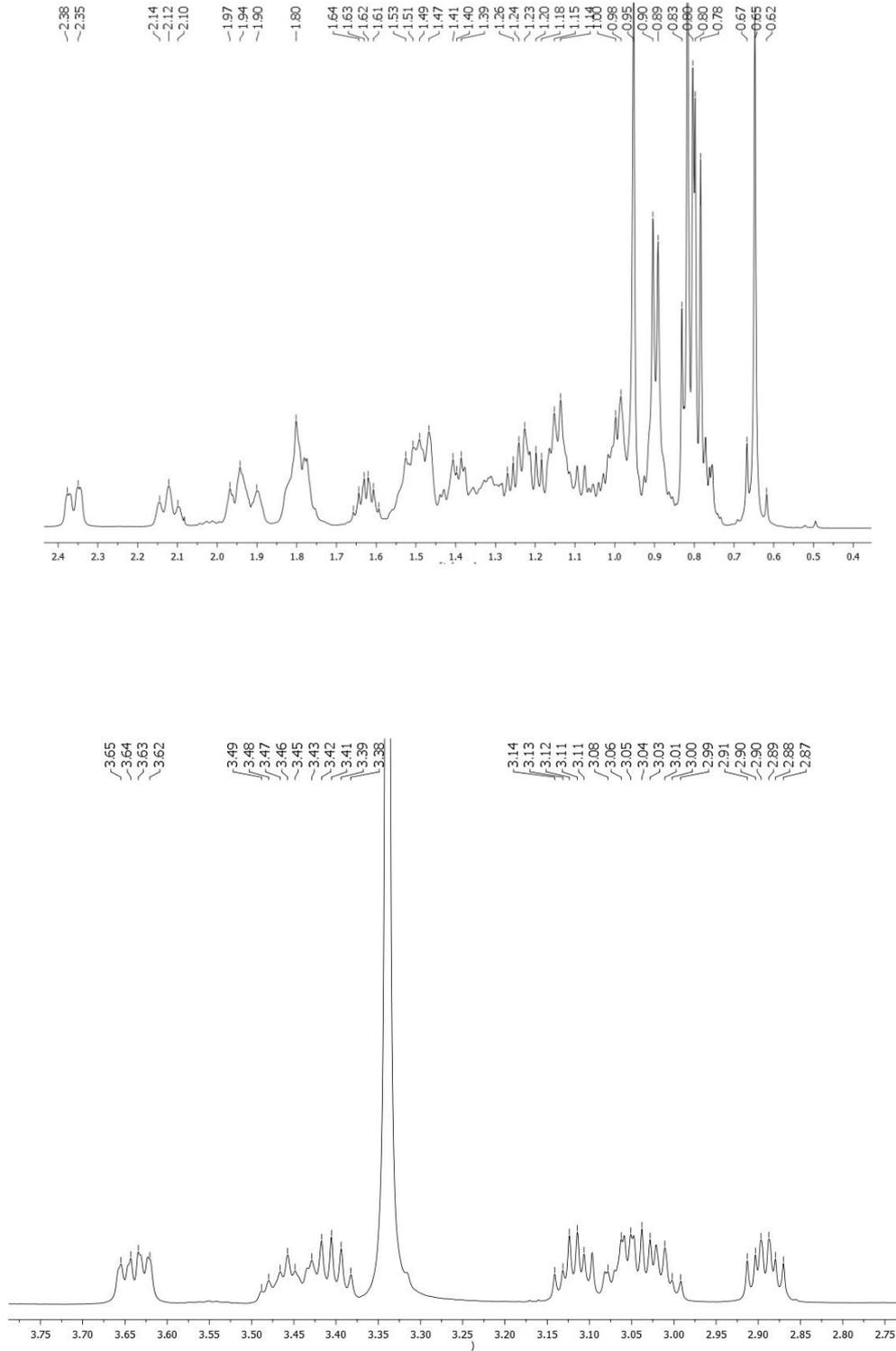


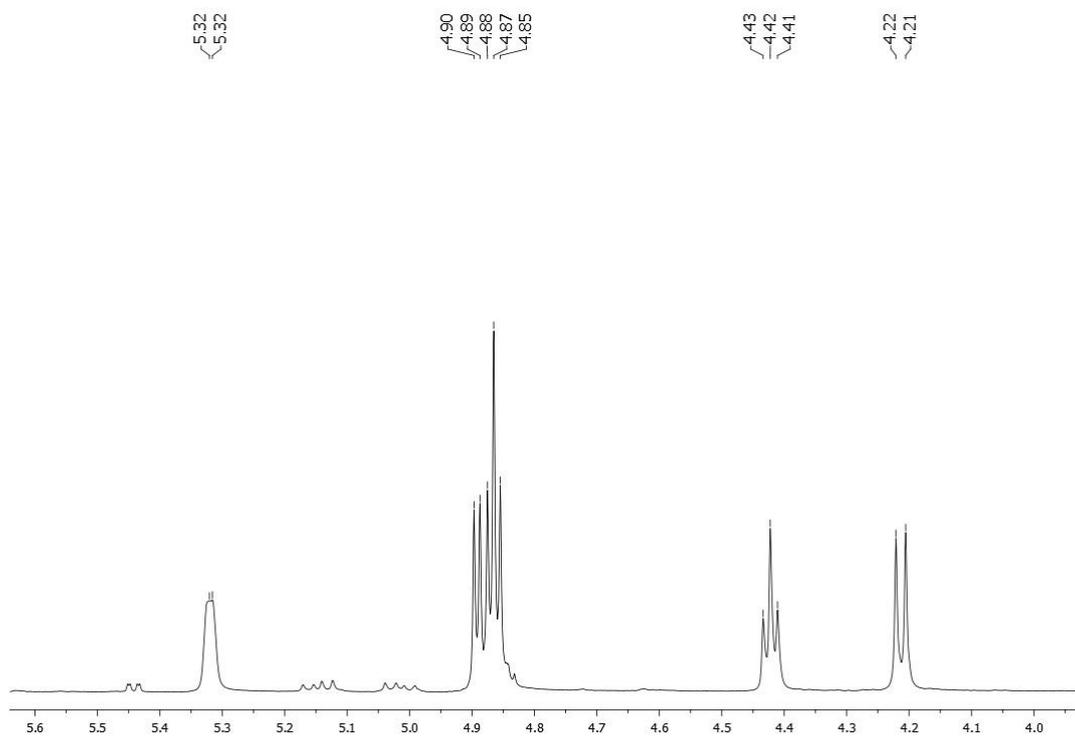
Pico 10 ( $t_R$ : 16,66 min) - Vitexina



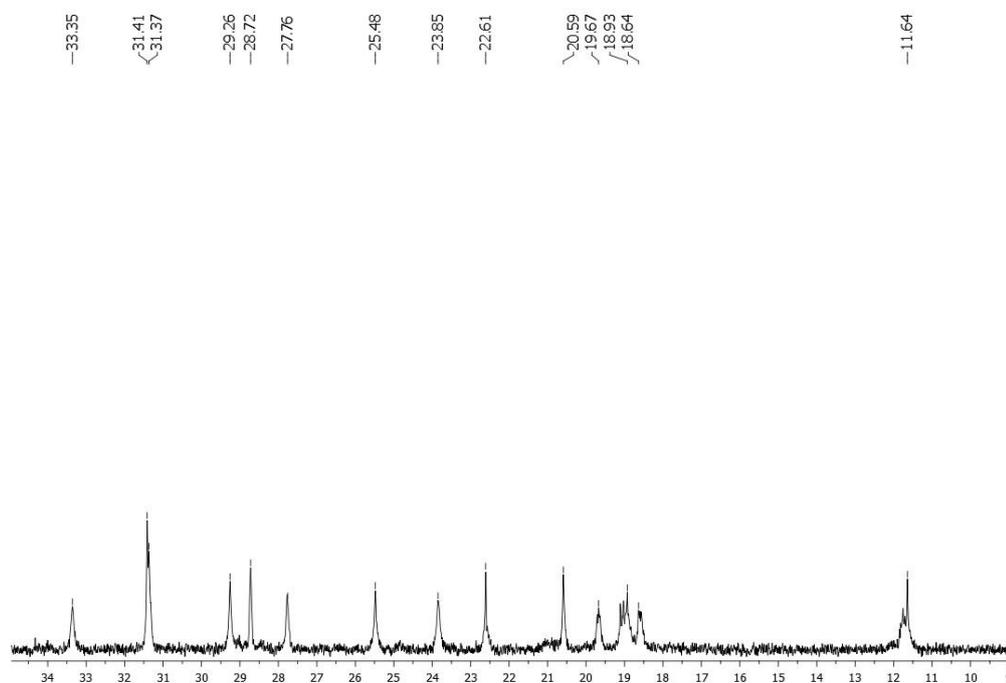
**APÊNDICE C**

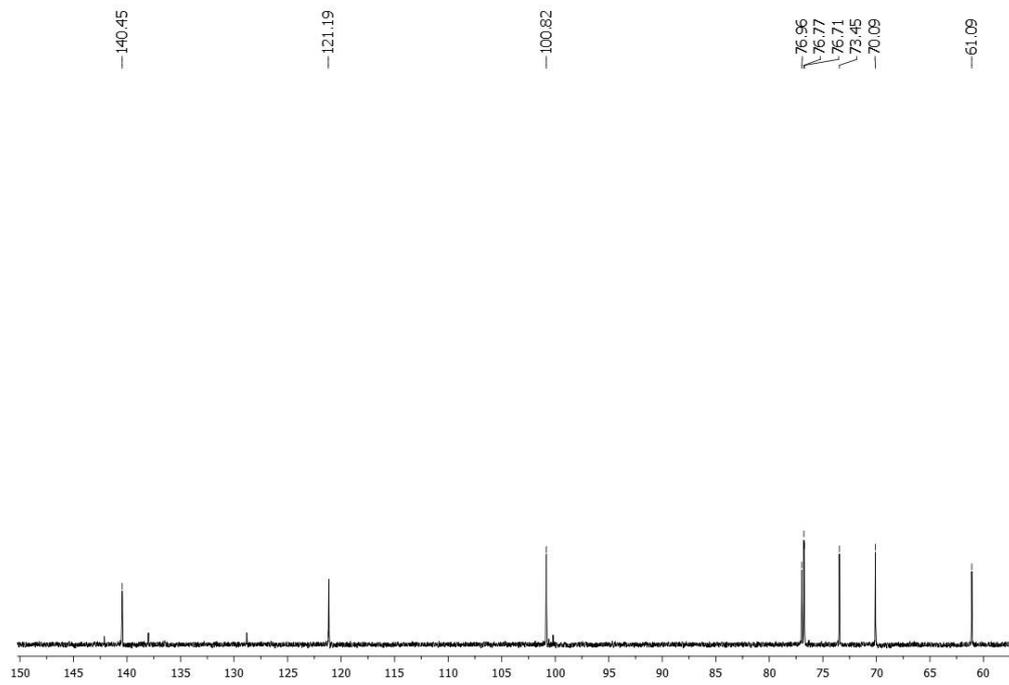
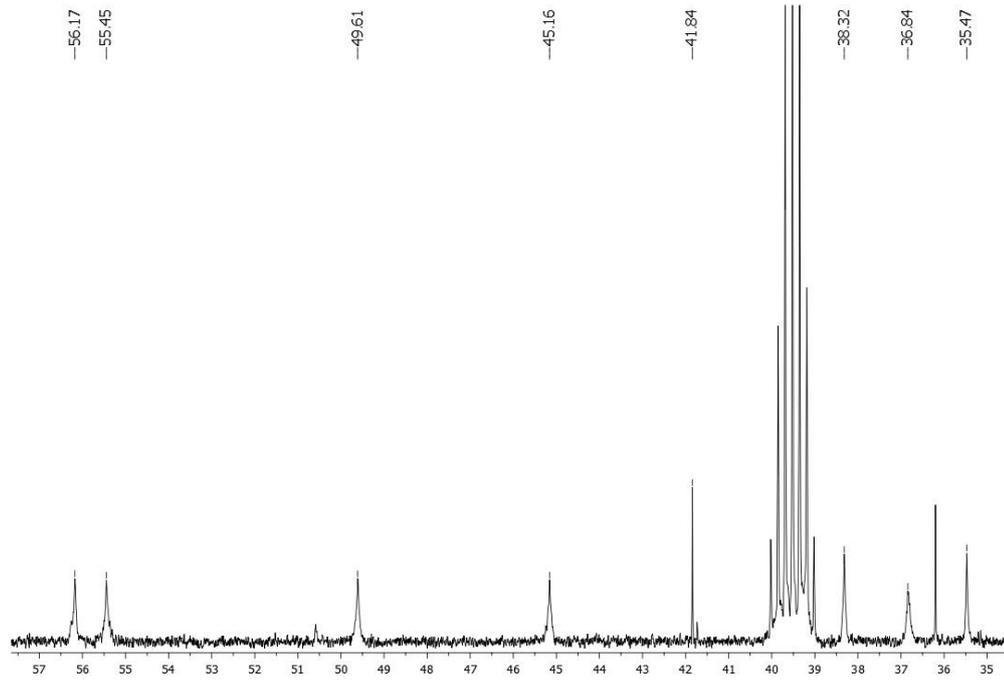
Ampliação do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da substância **PM1** [500 MHz, DMSO,  $\delta$  (ppm)]:





Ampliação do espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  da substância **PM1** [125 MHz, DMSO,  $\delta$  (ppm)]:





## APÊNDICE D

Ampliação do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da substância **PM2** [500 MHz, DMSO,  $\delta$  (ppm)]:

