

## Artigo

**Estudos Fitoquímicos e Biológicos de *Ocotea ceanothifolia* (Nees) Mez****Moita, I. S.; Yamaguchi, K. K. L.; Alcântara, J. M.; Silva, Y. C.; Fernandes, N. S.; Nakamura, C. V.; Veiga Junior, V. F.\****Rev. Virtual Quim.*, 2019, 11 (4), 1267-1276. Data de publicação na Web: 19 de agosto de 2019<http://rvq.sbq.org.br>**Phytochemical and Biological Studies on *Ocotea ceanothifolia* (Nees) Mez**

**Abstract:** The Amazon region is a fabulous source of bioactive molecules such as those produced by Lauraceae botanical family: essential oils, lignans, alkaloids and flavonoids. In the present study, the ethanolic extracts of leaves and branches of Amazonian Lauraceae *Ocotea ceanothifolia* were phytochemically studied. Antioxidant activity (DPPH) was observed in both extracts. Open column chromatography fractionation experiments were performed, enabling the isolation of the dihidrokaempferol 3-ramnosídeo, a flavonoide conhecido como engeletina, inédito nesta família, utilizando EM e RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  mono e bidimensionais. As análises por EM dos extratos possibilitaram a detecção da cassitina, nantenina e quercetina-3-*O*- $\beta$ -D-galactosídeo. A engeletina não apresentou atividade antioxidante. Entretanto, a análise *in vitro* da atividade tripomastigota mostrou efeito contra o parasito *Trypanosoma cruzi*.

**Keywords:** Engeletina; *Trypanosoma cruzi*; Amazonia.

**Resumo**

A região amazônica é uma fabulosa fonte de moléculas bioativas, como as produzidas pela família botânica Lauraceae: óleos essenciais, lignanas, alcaloides e flavonoides. No presente estudo, os extratos etanólicos de folhas e galhos da Lauraceae amazônica *O. ceanothifolia* foram estudados fitoquimicamente. Atividade antioxidante (DPPH) foi observada em ambos extratos. Experimentos de fracionamento cromatográfico em coluna aberta foram realizados, permitindo o isolamento dihidrokaempferol 3-ramnosídeo, flavonoide conhecido como engeletina, inédito nesta família, utilizando EM e RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  mono e bidimensionais. As análises por EM dos extratos possibilitaram a detecção da cassitina, nantenina e quercetina-3-*O*- $\beta$ -D-galactosídeo. A engeletina não apresentou atividade antioxidante. Entretanto, a análise *in vitro* da atividade tripomastigota mostrou efeito contra o parasito *Trypanosoma cruzi*.

**Palavras-chave:** Engeletina; *Trypanosoma cruzi*; Amazonia.

\* Instituto Militar de Engenharia, Seção de Engenharia Química, CEP 22290-270, Rio de Janeiro-RJ, Brasil.

✉ [valdir.veiga@gmail.com](mailto:valdir.veiga@gmail.com)

DOI: [10.21577/1984-6835.20190087](https://doi.org/10.21577/1984-6835.20190087)

## Estudos Fitoquímicos e Biológicos de *Ocotea ceanothifolia* (Nees) Mez

Isadora da S. Moita,<sup>a</sup> Klenicy K. de L. Yamaguchi,<sup>b</sup> Joelma M. Alcântara,<sup>a</sup> Yasmin C. da Silva,<sup>a</sup> Nilma de S. Fernandes,<sup>c</sup> Celso V. Nakamura,<sup>c</sup> Valdir Florêncio da Veiga Júnior<sup>a,d,\*</sup>

<sup>a</sup> Universidade Federal do Amazonas, Instituto de Ciências Exatas, Departamento de Química, Av. Rodrigo Otávio 6.200, CEP 69077-000, Manaus-AM, Brasil.

<sup>b</sup> Universidade Federal do Amazonas, Instituto de Saúde e Biotecnologia, Estrada Coari-Mamiá, Espírito Santo, CEP 69460-000, Coari-AM, Brasil.

<sup>c</sup> Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Ciências Básicas da Saúde, Av. Colombo 5790, CEP 87020-900, Maringá-PR, Brasil.

<sup>d</sup> Instituto Militar de Engenharia, Seção de Engenharia Química, CEP 22290-270, Rio de Janeiro-RJ, Brasil.

\* [valdir.veiga@gmail.com](mailto:valdir.veiga@gmail.com)

*Recebido em 1 de fevereiro de 2019. Aceito para publicação em 21 de junho de 2019*

### 1. Introdução

### 2. Parte Experimental

2.1. Material vegetal e obtenção dos extratos

2.2. Fracionamento dos extratos de folhas e galhos

2.3. Análise espectrométrica e espectroscópica das frações e substância isolada

2.4. Atividade antioxidante frente ao radical livre DPPH

2.5. Atividade antiparasitária frente a *Trypanosoma cruzi* na fase tripomastigota

### 3. Resultados e Discussão

3.1. Atividade antioxidante

3.2. Caracterização fitoquímica dos extratos de *O. ceanothifolia*

3.3. Fracionamento e isolamento de flavonoide

3.4. Atividade biológica

### 4. Conclusão

## 1. Introdução

O gênero *Ocotea* é composto por cerca de 350 espécies e é considerado um dos gêneros mais expressivos da família Lauraceae.<sup>1</sup> Espécies deste gênero, como *O. porosa* e *O.*

*odorifera*, as populares sassafrás, têm ampla distribuição no Brasil e um uso comercial tão extenso que quase gerou sua extinção.<sup>2</sup> Além do uso comercial, várias das espécies deste gênero são empregadas na medicina popular, como a *O. bullata* usada para dor de cabeça e infecção urinária; e *O. puchury-major* utilizada popularmente como sedativo e antirreumática. Diversas propriedades de metabólitos como alcaloides e flavonoides produzidos pelas espécies de *Ocotea* já foram relatadas.<sup>3-5</sup>

Estudos anteriores relataram o isolamento de alcaloides, esteroides, sesquiterpenos, benzopiranos, alquilfenóis, cumarinas, saponinas, lignoides, neolignanas, flavonoides e taninos em várias espécies do gênero *Ocotea*.<sup>4, 6-11</sup> A neolignana burchelina foi isolada das partes aéreas de *O. cymbarum* e demonstrou atividade larvicida contra o *Aedes aegypti*.<sup>12</sup> Candido e colegas (2016) isolaram vários metabólitos secundários de *O. pulchella*, como os sesquiterpenos: 1 $\beta$ ,6 $\alpha$ -dihidroxi-4-eudesm(5)-eneno, 1 $\beta$ -hidroxi-heudoma-5,11-dieno, T-cadinol, loliolide e espatulenol; os ésteres aromáticos: benzilsalicilato e benzoato de benzilo.<sup>13</sup> Substâncias da classe dos flavonoides também foram isoladas em espécies de *Ocotea*, a maioria dos quais são flavonóis e flavononas, principalmente derivados da quercetina. Entre estes estão a quercetina-7-*O*- $\beta$ -D-glucopiranosídeo, quercetina-3-*O*- $\beta$ -D-glucosídeo, rel-(2R,3R)-di-hidroquercetina-3-*O*- $\alpha$ -raminosídeo, quercetina, taxofolina, quercetina-3-*O*- $\beta$ -D-galactosídeo, epicatequina, catequina, afzelina, ácido quínico, kaempferol-4-*O*-ramnopiranosídeo, apigenina-6,8-di-C-glucosídeo.<sup>11, 13,14</sup>

Estudos preliminares demonstraram atividade antioxidante promissora e a presença de alcaloides e flavonoides em espécies de *Ocotea* coletadas no Amazonas.<sup>5</sup> Diante desse contexto, realizou-se este trabalho com a caracterização da composição química, isolamento da substância majoritária e avaliação das atividades biológicas dos extratos etanólicos de galhos e folhas e do isolado de *O. ceanothifolia*.

## 2. Parte Experimental

### 2.1. Material vegetal e obtenção dos extratos

O material vegetal foi coletado na Reserva Florestal Ducke, Manaus, Amazonas, Brasil. As espécies foram depositadas no herbário do Instituto Nacional de Pesquisas do Amazonas (INPA 185563).

As partes secas em pó de *O. ceanothifolia* foram sonicadas com etanol durante 20 min à temperatura ambiente e filtradas. O processo foi repetido 3 vezes e o extrato foi concentrado sob baixa pressão por evaporador rotatório.

### 2.2. Fracionamento dos extratos de folhas e galhos

Os extratos etanólicos de folhas (2,01 g) e galhos (2,00 g) foram submetidos à partição líquido-líquido e foram solubilizados em MeOH/H<sub>2</sub>O (8:2) com um volume de 40 mL. O extrato de folhas foi particionado com n-hexano (12 x 40 mL), já o extrato de galhos foi particionado com os solventes n-hexano, CHCl<sub>3</sub> e AcOEt (6 x 40 mL). O extrato metanólico de folhas assim como o extrato em acetato de galhos, obtidos da partição foram fracionados em coluna de sílica gel em fase normal (CCFN), eluídas em ordem crescente de polaridade: n-hexano/AcOEt/MeOH. As frações obtidas foram recristalizadas extensivamente com hexano, CHCl<sub>3</sub>, AcOEt e acetona. Durante todo o processo, as frações foram acompanhadas por cromatografia em camada delgada (CCD).

### 2.3. Análise espectrométrica e espectroscópica das frações e substância isolada

As análises e caracterização da substância isolada foi realizada em Espectrometria de Massas (EM) e Ressonância Magnética Nuclear (RMN).

As análises espectrométricas das frações e substância isolada foram obtidas pelo espectrômetro de massas *ion trap*, operando em modo positivo e negativo (LCQ FleetTM, Thermo Scientific), na Central Analítica-UFAM. As amostras, 1 µg/mL, foram diluídas em MeOH. Os dados foram analisados usando o software XCalibur.

Os espectros de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , DEPT, HSQC e HMBC da substância isolada foram obtidos com a substância solubilizada em 600 µl de metanol deuterado ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ). O equipamento (Bruker Advance III HD MHz MRI de 11,75 T) opera a 500 MHz para  $^1\text{H}$  e 125 MHz para  $^{13}\text{C}$ . Os ensaios de RMN foram realizados na Central Analítica-UFAM.

### 2.4. Atividade antioxidante frente ao radical livre DPPH

A atividade antioxidante dos extratos etanólicos foi medida pelo ensaio de DPPH, de acordo com Mensor.<sup>16</sup> Em suma, os extratos de folhas e galhos foram reagidos com o radical DPPH em uma solução de etanol. O DPPH é reduzido após reação com um composto antioxidante, altera a cor e a absorvância é lida a 517 nm, utilizando um

espectrofotômetro UV/VIS (DU 800; Beckman Coulter, Fullerton, CA, EUA) e como padrão a quercetina.

### 2.5 Atividade antiparasitária frente a *Trypanosoma cruzi* na fase tripomastigota

Os experimentos foram realizados com a cepa Y de *Trypanosoma cruzi*. Formas tripomastigotas, obtidas do sobrenadante de células LLCMK<sub>2</sub> infectadas, foram inoculadas ( $1 \times 10^7$  parasitos/mL) em DMEM e adicionadas a placas de 96 poços na presença ou ausência de concentrações crescentes do flavonoide (2-900 µM). Os parasitos foram incubados por 24 h a 37 °C em atmosfera com 5 % de  $\text{CO}_2$ . Após a incubação, a viabilidade dos parasitos foi examinada por meio da microscopia de luz (Olympus CX31), utilizando o método de Pizzi-Brener.<sup>17</sup> O mesmo experimento foi realizado três vezes. As concentrações que inibiram 50 % ( $\text{EC}_{50}$ ) da viabilidade do parasito foram determinadas pela análise de regressão dos dados.

## 3. Resultados e Discussão

### 3.1. Atividade antioxidante

O ensaio de 1,1-difenil-2-picril-hidrazil (DPPH) foi utilizado para avaliar o potencial de eliminação de radicais livres dos extratos etanólicos de folhas e galhos de *O. ceanothifolia* (Tabela 1).

**Tabela 1.** Atividade antioxidante quantitativa ( $\text{CE}_{50} \pm \text{DP}$ ) dos extratos em etanol

| Amostra             | DDPH (µg/mL±DP) |
|---------------------|-----------------|
| Folhas              | 37,39 ± 2,54    |
| Galhos              | 21,24 ± 0,58    |
| Padrão (quercetina) | 7,63 ± 0,04     |

As atividades de sequestro do radical livre DDPH foram inferiores à quercetina, mas, tratando-se de extratos, foram consideradas promissoras, estimulando o aprofundamento dos estudos destes extratos para a obtenção da substância responsável pela atividade.

### 3.2. Caracterização fitoquímica dos extratos de *O. ceanothifolia*

O extrato etanólico das folhas de *O. ceanothifolia* foi submetido a extração líquido-líquido e as frações hexânicas e metanólicas foram obtidas. A fração metanólica foi analisada por espectrometria de massas e os dados obtidos foram utilizados para sugerir o perfil químico e as possíveis

substâncias presentes nas folhas. Com base em dados da literatura, foi possível sugerir 4 compostos com peso molecular relacionado. Entre eles, 2 compostos são alcaloides e 2 flavonoides (Tabela 2).

Até o momento, as quatro substâncias não foram isoladas desta espécie. No entanto, os alcaloides cassitina e nantenina foram isolados de *O. brachybotra*, *O. macrophylla* e *O. variabilis*, respectivamente.<sup>19</sup> O flavonoide quercetina-3-O-β-D-galactosídeo foi isolado em *O. cymbrosa* e a engeletina foi isolada das folhas de *Engelhardia roxburghiana*.<sup>18,19</sup> Como o flavonoide engeletina mostrou alta intensidade no espectro de massas, prosseguiu-se o fracionamento para o isolamento da substância majoritária.

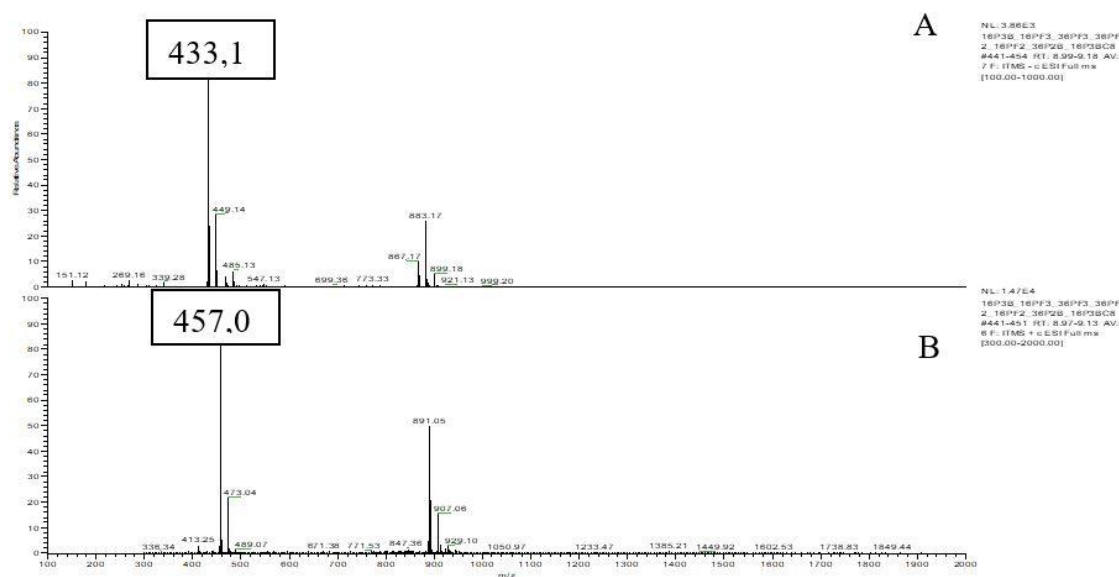
**Tabela 2.** Dados de Espectrometria de Massas da fração metanólica das folhas

| Massa ( <i>m/z</i> ) | Modo     | Intensidade | Nome da Substância              | Referência          |
|----------------------|----------|-------------|---------------------------------|---------------------|
| 325,26               | Positivo | 35 %        | Cassitina                       | Zanin <sup>19</sup> |
| 339,26               | Positivo | 54 %        | Nantenina                       | Zanin <sup>19</sup> |
| 433,15               | Negativo | 100 %       | Engeletina                      | Huang <sup>20</sup> |
| 473,20               | Negativo | 49 %        | quercetina-3-O-β-D-galactosídeo | Raggi <sup>21</sup> |

O extrato etanólico dos galhos também foi fracionado por extração líquido-líquido, sendo obtidas 4 frações (em hexano (A), clorofórmio (B), acetato de etila (C) e metanol (D)). Em seguida, os extratos foram submetidos à cromatografia em camada delgada (CCD) e corados com diferentes reagentes: cloreto férrico, ácido sulfúrico-vanilina, NP-PEG e DPPH. Como o interesse era no isolamento de flavonoides, os extratos positivos para cloreto férrico e NP-PEG (extratos B e C) foram selecionados.

### 3.3 Fracionamento e Isolamento de flavonoide

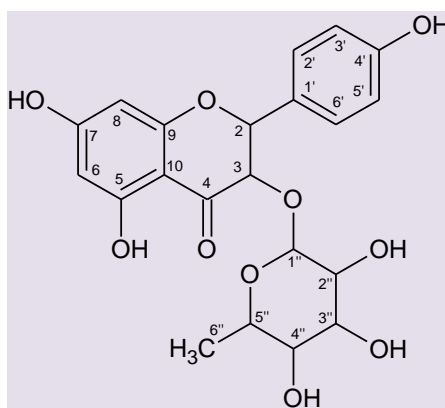
Após avaliar a composição química das folhas e galhos decidiu-se fracionar as frações de interesse para o isolamento dos constituintes majoritários. A fração metanólica das folhas foi submetida à coluna cromatográfica de fase normal (CCFN). Quatorze frações foram obtidas e 3 delas apresentaram uma banda na CCD e cristais. As frações foram recristalizadas com hexano, CHCl<sub>3</sub>, AcOEt e acetona e analisadas por espectrometria de massas. A fração 8 apresentou o perfil mais limpo no espectro de massas, como o íon *m/z* 433 no modo negativo e o íon *m/z* 457 no modo positivo, ambos com intensidade 100 % (Figura 1).



**Figura 1.** Espectros de massas da fração 8. (A) Modo negativo; (B) Modo positivo

Essa análise evidenciou a massa molecular de 434 g/mol da substância, fato que pode ser justificado pela formação do aduto de sódio [M+23] gerando o íon  $m/z$  457 no modo positivo. Esse dado quando comparado com a

literatura foi associado a um flavonoide glicosilado, nomeado de engeletina (dihidrokaempferol 3-ramnosídeo), que possui fórmula molecular  $C_{21}H_{22}O_{10}$  e sua estrutura é apresentada na Figura 2.



**Figura 2.** Estrutura do flavonoide engeletina

A fração foi 8 submetida à análise por RMN de  $^1H$ ,  $^{13}C$ , DEPT e bidimensionais como: COSY, HSQC e HMBC, para se obter mais informações sobre a estrutura da substância isolada (Tabela 3). Os dados obtidos foram comparados com a literatura, observando-se divergência somente nos deslocamentos dos carbonos do ramnosídeo (C-2'', C-3'', C-4'' e C-

5''), como podem ser observados na tTabela 3.<sup>20</sup>

Os dados obtidos por meio do mapa de contornos de HMBC (Tabela 3) confirmam as posições dos deslocamentos dos carbonos C-2'' ( $\delta$  70,3), C-3'' ( $\delta$  70,7), C-4'' ( $\delta$  72,3) e C-5'' ( $\delta$  69,1). A posição do C-5'' foi confirmada pela correlação ( $J^2$ ) no HMBC dos hidrogênios

$\delta$  1,18 (H-6'') e 3,30 (H-4'') com o carbono  $\delta$  69,1 (C-5''). A posição do C-4'' foi confirmada pela correlação ( $J^3$ ) do hidrogênio  $\delta$  1,18 (H-6'') e ( $J^2$ ) dos os hidrogênios  $\delta$  4,25 (H-5'') e 3,65 (H-3''), com o carbono  $\delta$  72,3 (C-4''). A posição do C-3'' foi confirmada pela correlação ( $J^2$ ) no HMBC dos hidrogênios  $\delta$  3,30 (H-4'') e 3,50 (H-2'') com o carbono  $\delta$  70,7 (C-3''). A posição do C-2'' foi confirmada pela correlação ( $J^2$ ) no HMBC do hidrogênio  $\delta$  3,65 (H-3'') com o carbono  $\delta$  70,3 (C-2'').

As frações B (fração em  $\text{CHCl}_3$ ) e C (fração em  $\text{AcOEt}$ ) de galhos foram submetidas à CCFN. Da fração B, 14 frações foram obtidas e 16 da fração C. Todas as frações foram analisadas por CCD, e aquelas que apresentaram perfil similar foram reunidas, sendo obtidas 11 frações, que foram analisadas por CCD e reveladas com cloreto férrico, vanilina sulfúrica e NP-PEG. Em algumas das frações, observou-se precipitados, e como nas folhas, estas foram recristalizadas com  $\text{AcOEt}$  e a suas CCD's apresentaram somente uma banda. Ao comparar este resultado com a CCD da fração 8 das folhas, observou-se o mesmo comportamento cromatográfico, sendo a engeletina confirmada por espectrometria de massas.

Este foi o primeiro relato de isolamento do flavonoide engeletina da família Lauraceae.

Curiosamente, a metodologia para o isolamento é eficiente, com alto rendimento e

sem consumir tempo, o que facilita estudos adicionais em relação aos ensaios químicos e biológicos com a molécula.

### 3.4. Atividade Biológica

Tendo em vista a escassez de dados sobre a substância isolada, foram realizados ensaios biológicos preliminares. Com a atividade moderada observada para os extratos frente ao radical livre DPPH, avaliou-se a atividade antioxidante quantitativa do flavonoide engeletina. No entanto, a substância não apresentou atividade antioxidante (dados não mostrados), assim o isolado não é o responsável pela atividade apresentada no extrato.

Além disso, o potencial antiprotozoário do flavonoide foi avaliado contra formas tripomastigotas de *T. cruzi*. Após 24 h de tratamento, o composto apresentou atividade moderada contra o parasito ( $\text{CE}_{50}$   $150,9 \pm 1,2$   $\mu\text{g/mL}$ ). Em um trabalho anterior do nosso grupo de pesquisa, extratos etanólicos de *O. ceanothifolia* mostraram maior atividade contra tripomastigotas.<sup>5</sup> Esses resultados podem nos levar a um estudo mais aprofundado de *O. ceanothifolia* e isolar substâncias responsáveis pela atividade biológica observada nos extratos e também avaliar a nova substância contra outros microrganismos.

**Tabela 3.** Dados de deslocamentos químicos experimentais e da literatura de RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , COSY e HMBC da fração 8<sup>20</sup>

| C       | Dados experimentais<br>(500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) |                            |                              |                                   | Dados da Literatura<br>(400 MHz, CD <sub>3</sub> OD) |                            |
|---------|--|----------------------------|------------------------------|-----------------------------------|--|----------------------------|
|         | $\delta_{\text{C}}$<br>(ppm)                         | $\delta_{\text{H}}$ (ppm)  | COSY                         | HMBC<br>$\delta_{\text{H}}$ (ppm) | $\delta_{\text{C}}$ (ppm)                            | $\delta_{\text{H}}$ (ppm)  |
| 2       | 82,4   | 5,14 (d, J = 10,8 Hz)      |                              | 4,62; 6,82; 7,35                  | 83,8   | 5,13 (d, J = 10,8 Hz)      |
| 3       | 77,3   | 4,62 (d, J = 10,8 Hz)      |                              | 5,14; 4,01                        | 78,6   | 4,62 (d, J = 10,8 Hz)      |
| 4       | 194,6  | -                          |                              | 4,62; 5,14                        | 196,0  | -                          |
| 5       | 164,1  | -                          |                              | 5,92                              | 165,4  | -                          |
| 6       | 96,0   | 5,92 (d, J = 2,0 Hz)       | H-2-H-3;                     | 5,90                              | 97,3   | 5,92 (d, J = 1,6 Hz)       |
| 7       | 167,2  | -                          |                              | 5,90; 5,92                        | 168,5  | -                          |
| 8       | 94,8   | 5,90 (d, J = 2,0 Hz)       |                              | 5,92                              | 96,2   | 5,89 (d, J = 1,6 Hz)       |
| 9       | 162,7  | -                          |                              | 5,90                              | 164,1  | -                          |
| 10      | 101,1  | -                          |                              | -                                 | 102,2  | -                          |
| 1'      | 127,2  | -                          |                              | 4,62; 5,14                        | 128,5  | -                          |
| 2' e 6' | 128,7  | 7,35 (d, J = 8,6 Hz)       | H-2'-H-3';                   | 5,14; 6,84; 7,35                  | 130,0  | 7,36 (d, J = 8,4 Hz)       |
| 3' e 4' | 115,0  | 6,84 (d, J = 8,6 Hz)       | H-5'-H-6'                    | 6,84; 7,35                        | 116,4  | 6,85 (d, J = 8,4 Hz)       |
| 5'      | 158,0  | -                          |                              | 6,84; 7,35                        | 159,4  | -                          |
| 1''     | 100,8  | 4,01 (d, J = 1,5 Hz)       |                              | 4,25; 4,62                        | 102,4  | 3,99 (s)                   |
| 2''     | 70,3   | 3,50 (dd, J = 3,2; 1,7 Hz) | H-6''-H-5'';                 | 3,65                              | 71,7   | 4,30 (m)                   |
| 3''     | 70,7   | 3,65 (dd, J = 9,5; 3,4 Hz) | H-6''-H-4'';<br>H-1''-H-2''; | 3,30; 3,50                        | 72,1   | 3,67 (dd, J = 9,2; 2,8 Hz) |
| 4''     | 72,3   | 3,30 (m)                   | H-3''-H-4'';<br>H-3''-H-2''  | 1,18; 3,65; 4,25                  | 73,7   | 3,50 (m)                   |
| 5''     | 69,1   | 4,25 (m)                   |                              | 1,18; 3,30                        | 70,5   | 3,34 (m)                   |
| 6''     | 16,4   | 1,18 (d, J = 6,3 Hz)       |                              | 4,25                              | 17,8   | 1,19 (d, J = 6,0 Hz)       |



## 4. Conclusão

A falta de conhecimento sobre o perfil químico das árvores da Amazônia é um dos obstáculos no rastreamento de novas moléculas com potencial terapêutico. Desta forma, este trabalho aprimorou os dados sobre o perfil químico de *O. ceanothifolia*, tendo em vista o isolamento inédito na família Lauraceae do flavonoide engeletina das folhas e galhos da espécie. A atividade antioxidante observada nos extratos etanólicos não é devido à presença do flavonoide, uma vez que a substância não apresentou propriedades antioxidantes. Considerando o ensaio anti-*T. cruzi*, o flavonoide isolado apresentou atividade fraca, com uma alta concentração de CE<sub>50</sub>. Este trabalho servirá como base para futuros estudos químicos e biológicos da espécie *O. ceanothifolia* na busca de metabólitos responsáveis pela atividade do extrato assim como incentivar o estudo do potencial biológico do flavonoide engeletina.

## Agradecimentos

Os autores agradecem o apoio financeiro do governo brasileiro, da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM) e da Universidade Federal do Amazonas.

## Referências Bibliográficas

- <sup>1</sup> Van der Werff, H. A revision of the genus *Ocotea* Aubl. (Lauraceae) in Madagascar and the Comoro Islands. *Adansonia* **2013**, *35*, 235. [[CrossRef](#)]
- <sup>2</sup> Lorenzi, H.; *Árvores Brasileiras – Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas Nativas do Brasil*, vol 1, 4a. ed., Instituto Plantarum: São Paulo, 2002.
- <sup>3</sup> Rakotondraibe L. H.; Graupner, P. R.; Xiong, Q.; Olson, M.; Wiley J. D.; Krai, P.; Brodie, P. J.; Callmender, M.W.; Rakotobe, E.; Ratovoson, F.; Rasamison, V. E.; Cassera, M. B.; Hahn, D. R.; Kingston, D. G.; Fotso, S. Neolignans and other metabolites from *Ocotea cymosa* from the Madagascar Rain Forest and their biological activities. *Journal of Natural Products* **2015**, *78*, 431. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)]
- <sup>4</sup> Yamaguchi, K. K. L.; Alcantara, J. M.; Lima, E. S.; Veiga-Junior, V. F. Chemical Composition and Platelet Aggregation Activity of Essential Oils of Two Species of the Genus *Ocotea* (Lauraceae). *Journal of Essential Oil Bearing Plants* **2013**, *16*, 518. [[CrossRef](#)]
- <sup>5</sup> Fernandes, N. S.; Desoti, V.; Nakamura, C.V.; Veiga, V. F. J. Atividade *in vitro* de extratos de *Ocotea* em *Trypanosoma cruzi* e *Leishmania amazonenses*. *Scientia Amazonia* **2016**, *5*, 93. [[Link](#)]
- <sup>6</sup> Camargo, M. J.; Miranda, M. L. D.; Kagamida, C. M.; Rodrigues, E. D.; Garcez, F. R.; Garcez, W. S. Sesquiterpenes of *Ocotea lancifolia* (Lauraceae). *Química Nova* **2013**, *36*, 1008. [[CrossRef](#)]
- <sup>7</sup> Castro, R. D.; Lima, E. O. Antifungal activity of Brazilian sassafras (*Ocotea odorifera* Vell.) and rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) essential oils against genus *Candida*. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais* **2011**, *13*, 203. [[CrossRef](#)]
- <sup>8</sup> Cuca, L. E.; Leon, P.; Coy, E. D. A bicyclo [3.2.1] octanoid neolignan and toxicity of the ethanol extract from the fruit of *Ocotea heterochroma*. *Chemistry of Natural Compounds* **2009**, *45*, 179. [[Link](#)]
- <sup>9</sup> Destryana, R. A.; Young, D. G.; Woolley, C. L.; Huang, T. C.; Wu, H. Y.; Shih, W. L. Antioxidant and anti-inflammation activities of *Ocotea*, Copaiba and Blue Cypress essential oils *in vitro* and *in vivo*. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **2014**, *91*, 1531. [[CrossRef](#)]
- <sup>10</sup> Garcez, F. R.; Silva, A. F. G.; Garcez, W. S.; Linck, G.; Matos, M. F. C.; Santos, E. C. S.; Queiroz, L. M. M. Cytotoxic aporphine alkaloids from *Ocotea acutifolia*. *Planta Medica* **2011**, *77*, 383. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)]
- <sup>11</sup> Garrett R.; Romanos, M. T. V.; Borges, R. M.; Santos, M. G.; Rocha, L.; Silva, A. J. R. Antiherpetic of a flavonoid fraction from

- Ocotea notata* leaves. *Revista Brasileira de Farmacognosia* **2012**, *22*, 306. [CrossRef]
- <sup>12</sup> Narciso, J. O. A.; Soares, R. O. A.; Mallet, J. R. S.; Guimarães, A. E.; Chaves, M. C. O.; Barbosa-Filho, J. M.; Maleck, M. Burchellin: study of bioactivity against *Aedes aegypti*. *Parasites & Vectors* **2014**, *7*, 1. [CrossRef]
- <sup>13</sup> Candido, L. P.; Varela, R. M.; Torres, A.; Molinillo, J. M. G.; Gualtieri, S. C. J.; Macías, F. A. Evaluation of the Allelopathic Potential of Leaf, Stem, and Root Extracts of *Ocotea pulchella* Nees et Mart. *Chemistry and Biodiversity* **2016**, *13*, 1058.
- <sup>14</sup> Batista, A. N. L.; Batista, J. M. J.; López, S. N.; Furlan, M.; Cavalheiro, A. J.; Silva, D. H. S.; Bolzani, V. S.; Nunomura, S. M.; Yoshida, M. Aromatic compounds from three brazilian Lauraceae species. *Química Nova* **2010**, *33*, 321. [CrossRef]
- <sup>15</sup> Yamaguchi, K. K. L.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal do Amazonas, Brasil, 2011. [Link]
- <sup>16</sup> Mensor, L. L. Screening of brazilian plant extract for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. *Phytotherapy Research* **2001**, *16*, 127. [PubMed]
- <sup>17</sup> Brenner, Z.; Andrade, Z. A.; Barral-Neto, M.; *Trypanosoma cruzi e Doença de Chagas*, 2a ed., Editora Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 2000.
- <sup>18</sup> Yamaguchi, K. K. L.; Alcantara, J. M.; Veiga-Junior, V. F. Investigação do potencial antioxidante e anticolinesterásico de 20 espécies da família Lauraceae. *Acta Amazônica* **2012**, *42*, 541. [CrossRef]
- <sup>19</sup> Zanin S. M.W.; Miguel, O. G.; Montrucchio, D. P.; Costa, C. K.; Lagos, J. B. Mudanças de *Ocotea puberula* (Lauraceae): Identificação e monitoramento de alcaloides aporfinoídeos. *Química Nova* **2011**, *34*, 743. [CrossRef]
- <sup>20</sup> Huang, H; Cheng, Z.; Shi, H.; Xin, W.; Wang, T. Y.; Yu, L. Isolation and Characterization of Two Flavonoids, Engeletin and Astilbin, from the Leaves of *Engelhardia roxburghiana* and Their Potential Anti-inflammatory Properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2011**, *59*, 4562. [PubMed] [CrossRef]
- <sup>21</sup> Raggi, L.; *Dissertação de Mestrado*, Instituto de Botânica de Secretaria de Estado do Meio Ambiente, Brasil, 2008. [Link]