



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**Estudo químico bioguiado das sementes de *Morinda citrifolia*
Linn (NONI) e suas aplicações**

Caroline de Goes Sampaio

Fortaleza – Ceará
2010

**Estudo químico bioguiado das sementes de *Morinda citrifolia*
Linn (NONI) e suas aplicações**

CAROLINE DE GOES SAMPAIO

**Dissertação submetida ao curso de
Mestrado em Química, com área de
concentração em Química Orgânica, do
Programa de Pós-graduação em Química da
Universidade Federal do Ceará.**

Orientadora: Maria Teresa Salles Trevisan – UFC

Co-orientador: Edy Sousa de Brito - EMBRAPA

FORTALEZA – CEARÁ

2010

S182e Sampaio, Caroline de Goes
Estudo químico bioguiado das sementes de *Morinda citrifolia* Linn
(NONI) e suas aplicações / Caroline de Goes Sampaio, 2010.
135 f; il. color. enc.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Teresa Salles Trevisan
Co-orientador: Prof. Dr. Edy Sousa de Brito
Área de concentração: Química Orgânica
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Ceará, Centro de
Ciências. Depto. de Química Orgânica e Inorgânica, Fortaleza, 2010.

1. Noni (Planta) 2. Adsorção 3. Ácidos graxos I. Trevisan, Maria Teresa Salles (orient.) II. Brito, Edy Sousa de (co-orient.) III. Universidade Federal do Ceará – Pós-Graduação em Química IV. Título

CDD 540

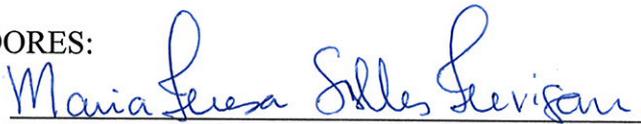
Esta Dissertação foi aprovada como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Mestre em Química, área de concentração Química Orgânica, outorgado pela Universidade Federal do Ceará, em cuja Biblioteca de Ciências e Tecnologia/UFC encontra-se à disposição dos interessados.



Caroline de Goes Sampaio

DISSERTAÇÃO APROVADA EM: 22/02/2010

EXAMINADORES:



Prof. Dra. Maria Teresa Salles Trevisan

Universidade Federal do Ceará – UFC



Prof. Dra. Helena Becker

Universidade Federal do Ceará – UFC



Dr. Edy Sousa de Brito

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA

*"Deus nos concede, a cada dia,
uma página de vida nova no livro do tempo.
Aquilo que colocarmos nela, corre por nossa conta."*

Chico Xavier

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus, o responsável por todas as conquistas em minha vida, mostrando-me o caminho da verdade e da certeza de que não estava sozinha.

Aos meus pais Ocimar e Raimunda, por acreditarem no meu potencial, investirem na minha carreira e destinar um amor sem limites para a nossa família ficar unida e feliz.

Aos meus irmãos Mayara e Vitor, pelo amor, companheirismo de todas as horas e boas risadas nos momentos familiares.

Ao companheiro Victor Emanuel, pelo carinho, amor e por estar ao meu lado me incentivando a enfrentar as dificuldades.

À professora Dra. Maria Teresa Salles Trevisan, por sua orientação, conhecimentos, acompanhamento durante o mestrado e pela confiança no meu trabalho.

Ao Edy Sousa de Brito, pela sua co-orientação, por ceder o espaço de seu laboratório na EMBRAPA e por me acompanhar desde a graduação.

À professora Dra. Helena Becker, por ser a minha fonte de conhecimentos e por ceder o seu laboratório de Química Ambiental para a realização desse trabalho.

À professora Dra. Maria Goretti de Vasconcelos Silva, por todo o carinho, conhecimento e ajuda fornecida ao longo desses anos de mestrado.

Aos professores do curso de Pós-graduação em Química da Universidade Federal do Ceará.

À Célia e ao Orlando, por me atenderem de forma majestosa todas as vezes que os procurei.

À grande amiga Juliana Gaspar, que vem batalhando comigo, desde a graduação, para ampliarmos os nossos conhecimentos de química. Hoje e sempre serei grata por sua amizade, alegria, horas e horas de estudos e confiança na nossa amizade.

Aos amigos Thiago e Flávio, que muito me ajudaram para que esse trabalho fosse concretizado e, acima de tudo, pelas horas a mais de trabalho para que tudo fosse concluído a tempo.

A todos os meus amigos do Laboratório de Produtos Naturais, minha família adquirida: Elayne, Jeison, Edângelo, Leandro, Írville, Jackeline, Manu, Ricardo, Cleoni, Sales, Diego, Amélia, Francly, Madalena, Zeca e Benício, que me proporcionaram um ambiente de alegria e de amizade.

Ao amigo Leonardo, que se tornou um amigo e que tornava a disciplina de Orgânica Avançada mais divertida.

Aos amigos de mestrado, Leonardo Carvalho, Leonardo Alcântara, Mariano, Thiciana, Regivaldo, Inaiara, Roberto e Francisco pelo carinho.

À EMBRAPA e CENAUREM, LANAGUA, LAQUA, pelo uso do espaço físico e equipamentos indispensáveis para esse trabalho.

Ao CNPq, pelo suporte financeiro e bolsa concedida.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	I
LISTA DE TABELAS.....	III
LISTA DE ESQUEMAS.....	III
LISTA DE FLUXOGRAMAS E GRÁFICOS.....	IV
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	IV
RESUMO.....	V
ABSTRACT.....	VI

CAPÍTULO 1

1. INTRODUÇÃO.....	1
--------------------	---

CAPÍTULO 2

2. CONSIDERAÇÕES BOTÂNCIAS.....	3
2.1 - Descrição do gênero <i>Morinda</i>	3
2.2 – Espécie em estudo: <i>Morinda citrifolia</i> Linn. (noni).....	3

CAPÍTULO 3

3. LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO.....	7
3.1 – ORIGEM E UTILIZAÇÃO DA PLANTA <i>Morinda citrifolia</i> L. (NONI).....	7
3.2 – ESTUDOS QUÍMICOS REALIZADOS COM A ESPÉCIE <i>Morinda citrifolia</i> L. (NONI).....	8
3.3 – ATIVIDADES BIOLÓGICAS DE <i>Morinda citrifolia</i> L. (NONI).....	22
3.4 – ESTUDOS QUÍMICOS COM AS SEMENTES DE <i>Morinda citrifolia</i> L. (NONI).....	23
3.5 – INIBIDORES DA ACETILCOLINESTERASE.....	24

3.5.1 – Doença de Alzheimer.....	24
3.5.2 – Ação da acetilcolinesterase e hipótese colinérgica.....	25
3.5.3 – Fármacos para o tratamento da Doença de Alzheimer.....	26
3.5.4 – Novos fármacos para o tratamento da doença.....	29
3.6 – ESTUDO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	33
3.6.1 – Espécies reativas do oxigênio e radicais livres.....	33
3.6.2 – Compostos Antioxidantes.....	35
3.6.3 – Atividade antioxidante de <i>Morinda citrifolia</i> L. (noni).....	36
3.7 – REMOÇÃO DE CROMO EM ÁGUA.....	38
3.7.1 – Metais pesados.....	38
3.7.2 – Cromo.....	39
3.7.3 – Remoção de metais em água.....	40

CAPÍTULO 4

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	42
4.1 – DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL.....	42
4.1.1 – Determinação estrutural de SMCH-311.....	42
4.1.2 – Determinação estrutural de SMCH-321.....	44
4.1.3 – Determinação estrutural de SMCE-243	51
4.2 – ESTUDO DA ESTABILIDADE TÉRMICA DO EXTRATO HEXÂNICO DE <i>Morinda citrifolia</i> L. (NONI).....	60
4.3 – DETERMINAÇÃO DOS CONSTITUINTES FIXOS DO ÓLEO DAS SEMENTES DE <i>Morinda citrifolia</i> L. (NONI), CASTANHA DE CAJU A, CASTANHA DE CAJU SP3 E DENDÊ.....	62

4.4 – ATIVIDADE LARVICIDA FRENTE ÀS LARVAS DE <i>AEDES AEGYPTI</i>	67
4.5 – AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DO RADICAL LIVRE DPPH DAS SEMENTES DE <i>Morinda citrifolia</i> L. (NONI).....	68
4.5.1 – Avaliação da atividade antioxidante pelo método do DPPH do extrato etanólico das sementes de <i>Morinda citrifolia</i> L. (noni) e as suas subfrações.....	68
4.5.2 – Avaliação da atividade antioxidante pelo método do DPPH dos extratos hexânico e metanólico das sementes não fermentada e fermentada de <i>Morinda citrifolia</i> L. (noni).....	69
4.6 – AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DOS EXTRATOS METANÓLICOS DAS SEMENTES NÃO FERMENTADA E FERMENTADA DE <i>Morinda citrifolia</i> L. (MÉTODO DA HIPOXANTINA/XANTINA OXIDASE).....	70
4.7 – CARACTERIZAÇÃO DAS SEMENTES NÃO FERMENTADA E FERMENTADA DE <i>Morinda citrifolia</i> L. (noni)	72
4.7.1 – Determinação do pH do Ponto de Carga Zero (pH _{PCZ})	72
4.7.2 – Determinação dos Grupos Superficiais.....	72
4.7.3 – Espectroscopia de Infravermelho (IV)	73
4.7.4 – Fluorescência de raio X	75
4.7.5 – Determinação da quantidade de matéria orgânica.....	76
4.8 – ESTUDO DA REMOÇÃO DO CROMO NAS SEMENTES NÃO FERMENTADAS DE <i>Morinda citrifolia</i> L. (NONI).....	76

CAPÍTULO 5

5 – PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	81
5.1 – MATERIAL BOTÂNICO.....	81
5.2 – MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS.....	81
5.3 – MÉTODOS ESPECTROSCÓPICOS	82

5.3.1 – Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ¹ H) e de carbono-13 (RMN ¹³ C).....	82
5.3.2 – Espectrometria de massa (EM).....	82
5.3.3 – Espectroscopia na região do Infravermelho (IV).....	82
5.4 – PONTO DE FUSÃO (PF).....	83
5.5 – EXTRATOS DAS SEMENTES DE <i>Morinda citrifolia</i> L. (NONI).....	83
5.6 – ENSAIO BIOGUIADO DOS EXTRATOS DAS SEMENTES DE <i>Morinda citrifolia</i> L. PARA A INIBIÇÃO DA ENZIMA ACETILCOLINESTERASE.....	83
5.7 – TRATAMENTO CROMATOGRÁFICO BIOGUIADO DO EXTRATO HEXÂNICO - SMCH - DAS SEMENTES DE <i>Morinda citrifolia</i> L. (NONI).....	85
5.8 – FRACIONAMENTO CROMATOGRÁFICO DA FRAÇÃO SMCH-3.....	86
5.9 – TRATAMENTO CROMATOGRÁFICO BIOGUIADO DO EXTRATO ETANÓLICO – SMCE – DAS SEMENTES DE <i>Morinda citrifolia</i> L. (NONI).....	87
5.10 – FRACIONAMENTO CROMATOGRÁFICO DA FRAÇÃO SMCE-2.....	87
5.11 – ESTUDO DA ESTABILIDADE TÉRMICA DOS ÓLEOS DAS SEMENTES DE <i>Morinda citrifolia</i> L. (NONI), DAS CASTANHAS DE CAJU A E SP3 E DO DENDÊ.....	89
5.12 – ESTUDO DOS ÁCIDOS GRAXOS DOS ÓLEOS DAS SEMENTES DE <i>MORINDA CITRIFOLIA</i> L. (NONI), DAS CASTANHAS DE CAJU A E SP3 E DO DENDÊ.....	90
5.13 – ESTUDO DA ATIVIDADE LARVICIDA DOS EXTRATOS HEXÂNICO E ETANÓLICO DAS SEMENTES DE <i>Morinda citrifolia</i> L. (NONI).....	91
5.14 - AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DO RADICAL LIVRE DPPH DAS SEMENTES DE <i>Morinda citrifolia</i> L. (NONI).....	91
5.14.1 – Avaliação da atividade antioxidante pelo método do DPPH do extrato etanólico das sementes de <i>Morinda citrifolia</i> L. (noni) e as suas frações.....	91
5.14.2 – Obtenção dos extratos das sementes não fermentada e fermentada de	

noni para o estudo da atividade antioxidante.....	92
5.14.3 – Avaliação da atividade antioxidante pelo método do DPPH dos extratos hexânico e metanólico das sementes não fermentada e fermentada de <i>Morinda citrifolia</i> L. (noni).....	93
5.15 - AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DA HIPOXANTINA/XANTINA OXIDASE.....	93
5.15.1 – Avaliação da atividade antioxidante dos extratos metanólicos não fermentada e fermentada das sementes de <i>Morinda citrifolia</i> L. (noni).....	94
5.16 - CARACTERIZAÇÃO DAS SEMENTES NÃO FERMENTADA E FERMENTADA DE <i>Morinda citrifolia</i> L. (NONI).....	95
5.16.1 – Determinação do pH do Ponto de Carga Zero (pH _{PCZ}).....	95
5.16.2 – Determinação dos Grupos Funcionais e Superficiais.....	96
5.16.3 – Espectroscopia de Infravermelho.....	96
5.16.4 – Fluorescência de raio X.....	97
5.16.5 – Determinação da quantidade de matéria orgânica.....	97
5.17 – ESTUDO DA REMOÇÃO DE CROMO NAS SEMENTES NÃO FERMENTADAS DE <i>Morinda citrifolia</i> L. (NONI).....	97
5.17.1 – Remoção de cromo pelas sementes de <i>Morinda citrifolia</i> L. (noni).....	97
5.17.2 – Estudo da quantidade de Cr (VI) utilizando o método da 1,5 difenilcarbazida.....	98
5.17.3 – Estudo da quantidade de Cr _{TOTAL} por absorção atômica.....	98
 CAPÍTULO 6	
6. CONCLUSÕES.....	99

CAPÍTULO 7

7 – CONSTANTES FÍSICAS.....	101
7.1 – SMCH-311.....	101
7.2 – SMCH-321.....	102
7.3 – SMCE-243.....	103

CAPÍTULO 8

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	104
------------------------------------	------------

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Árvore de noni, Hawaii.....	4
Figura 2 – Árvore entre rochas, Samoa.....	4
Figura 3 – <i>Morinda citrifolia</i> L. cultivada em Trairi (CE) – Frutas (A), folhas (B), sementes (C) e flores (D).....	5
Figura 4 – Tacrina.....	27
Figura 5 – Donepezil.....	27
Figura 6 – Rivastigmina.....	28
Figura 7 – Galantamina.....	28
Figura 8 – Flavonóides glicosilados (rutina, isoquercetrina, hiperosídeo e quercitrina).....	30
Figura 9 – 1,2,3,4,6 penta-O-galoil- β -D-glicose.....	31
Figura 10 – Fisostigmina e anidrolidocodolneo.....	32
Figura 11 – Berberina e Cloreto de 9-O-[4-(fenilol-1-iloxi)butil-berberina.....	32
Figura 12 – Estrutura do geraniol, 3-careno e limoneno.....	33
Figura 13 – Narcissosídeo e americanina A.....	37
Figura 14 – Isoscopoletina e quercetina.....	37
Figura 15 – Espectro de ^1H -RMN de SMCH-311 (em CDCl_3).....	43
Figura 16 – Espectro de Infravermelho de SMCH-311 (em KBr).....	43
Figura 17 – Estrutura do β -sitosterol e estigmasterol.....	44
Figura 18 – Espectro de massa de SMCH-321.....	46
Figura 19 – Espectro de ^1H -RMN de SMCH-321 ($\text{CDCl}_3:\text{CD}_3\text{OD}$).....	46
Figura 20 – Espectro de ^{13}C -RMN de SMCH-321 ($\text{CDCl}_3:\text{CD}_3\text{OD}$).....	47
Figura 21 – Espectro de ^{13}C -RMN DEPT 135 $^\circ$ de SMCH-321 ($\text{CDCl}_3:\text{CD}_3\text{OD}$).....	47
Figura 22 – Espectro de COSY (500, 125 MHz, $\text{CDCl}_3:\text{CD}_3\text{OD}$) de SMCH-321.....	48
Figura 23 – Espectro de HSQC (500, 125 MHz, $\text{CDCl}_3:\text{CD}_3\text{OD}$) de SMCH-321.....	49

Figura 24 – Ácido ursólico.....	51
Figura 25 – Espectro de RMN ^1H de SMCE-243, a 500 MHz, em $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$	53
Figura 26 – Espectro de RMN de ^{13}C -BB de SMCE-243, a 500 MHz, em $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$...	54
Figura 27 – Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° de SMCE-243, a 500 MHz, em $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$	54
Figura 28 – Espectro bidimensional COSY (500, 125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de SMCE-243	55
Figura 29 – Espectro bidimensional HSQC (500, 125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de SMCE-243	56
Figura 30 – Espectro bidimensional HMBC (500, 125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de SMCE-243.....	57
Figura 31 – Estrutura da americanina A.....	59
Figura 32 - Cromatograma dos ácidos graxos de noni.....	63
Figura 33 - Cromatograma dos ácidos graxos da castanha do caju A.....	64
Figura 34 - Cromatograma dos ácidos graxos da castanha do caju SP3.....	64
Figura 35 - Cromatograma dos ácidos graxos do óleo de dendê.....	65
Figura 36 – Espectro de massa do ácido hexadeca-9-enóico.....	65
Figura 37 – Espectro de massa do ácido hexadecanóico.....	65
Figura 38 – Espectro de massa do ácido octadeca-9,12-dienóico.....	66
Figura 39 – Espectro de massa do ácido octadeca-9-enóico.....	66
Figura 40 – Espectro de massa do ácido octadecanóico.....	66
Figura 41 – Espectro de massa do ácido eicosa-11-enóico.....	66
Figura 42 – Espectro de massa do ácido eicosanóico.....	67
Figura 43 – Espectro de massa do ácido docosanóico.....	67
Figura 44 – Espectro de massa do ácido tetracosanóico.....	67
Figura 45 – Análise de Infravermelho para as sementes fermentadas e não fermentadas. A. Deformação axial de O – H em ligação hidrogênio intermolecular, 3420 cm^{-1} . B. Deformação axial C – H, 2930 cm^{-1} . C. Deformação axial normal C=O, $1750 - 1630\text{ cm}^{-1}$. D. Deformação axial das ligações C=C do anel, $1650-1450\text{ cm}^{-1}$. E. Deformação axial de C – O, $1270 - 1040\text{ cm}^{-1}$	74

Figura 46 – Representação do mecanismo de adsorção do cromo.....	79
Figura 47 – Sementes de <i>Morinda citrifolia</i> L. (noni).....	81

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Metabólitos secundários isolados da espécie <i>Morinda citrifolia</i> L. (noni), destacando-se as partes da planta onde esses metabólitos foram isolados e sua atividade biológica.....	10
Tabela 2 – Outros metabólitos secundários isolados da espécie <i>Morinda citrifolia</i> L. (noni), destacando-se as partes da planta onde esses metabólitos moram isolados.....	14
Tabela 3 - Relação entre os carbonos dos ácidos oleanólico e ursólico obtidos da literatura (CD_3COCD_3) com os dados obtidos de SMCH-321.....	50
Tabela 4 – Relação entre os dados de ^{13}C (C_5D_5N) para SMCE-243 com dados de ^{13}C da literatura (CD_3OD^A e $DMSO^B$).....	58
Tabela 5 - Deslocamento químico de RMN ^{13}C e seus respectivos hidrogênios mostrados pelo espectro de HSQC, bem como as correlações a longa distância (HMBC) de SMCE-243.....	59
Tabela 6 – Variação do valor de peróxido para os óleos de noni, caju A, caju SP3 e dendê.....	61
Tabela 7 – Ácidos graxos dos óleos de noni, caju A, caju SP3 e dendê.....	63
Tabela 8 – Valores de IC_{50} para o extrato etanólico de noni e suas frações.....	69
Tabela 9 – Valores de IC_{50} para os extratos hexânico e metanólico não fermentadas e fermentadas de noni.....	70
Tabela 10 – Grupos funcionais superficiais das sementes fermentada e não fermentada.....	73
Tabela 11 – Resultado da Fluorescência para as sementes.....	75
Tabela 12 – Frações obtidas da coluna semifiltrante do extrato etanólico de noni..	89

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 – Equação da reação do teste de Ellman.....	84
Esquema 2 – Procedimento para a realização do teste de Ellman.....	85
Esquema 3 – Representação do ensaio antioxidante hipoxantina/xantina oxidase	94

LISTA DE FLUXOGRAMAS E GRÁFICOS

Fluxograma 1 – Fracionamento bioguiado do extrato hexânico de noni.....	86
Fluxograma 2 – Fracionamento bioguiado do extrato etanólico de noni.....	88
Gráfico 1 – Relação entre os valores de peróxidos nos óleos de noni, caju A e SP3 e dendê em função do tempo.....	62
Gráfico 2 – Relação entre a concentração do extrato hexânico e larvas (PAN) mortas.....	68
Gráfico 3 – Relação entre a massa dos extratos e o percentual de inibição de DHBA.....	71
Gráfico 4 – pH do ponto de carga zero para as sementes fermentadas (A) e para as sementes não fermentadas (B).....	72
Gráfico 5 – Variação da concentração de cromo em função do tempo.....	77
Gráfico 6 – Percentual de cromo removido pela semente de <i>M. citrifolia</i> L. (noni)..	74

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

δ	Deslocamento químico
ATCI	Iodeto de acetiltiocolina
DHBA	Ácido diidroxibenzóico
BB	Broad Band
BSA	Albumina sérica bovina
COSY	Correlated Spectroscopy
DTNB	Ácido 5,5'-ditiobis-(2-nitrobenzóico), reagente de Ellman
DEPT	Distorsionless Enhancement by Polarization Transfer
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Correlation
<i>J</i>	Constante de acoplamento
m/z	Relação massa/carga
RMN ¹ H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
RMN ¹³ C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono
SMCH-311	Beta-sitosterol e estigmasterol
SMCH-321	Ácido ursólico
SMCE-243	Americanina A
SMCH	Extrato hexânico de <i>Morinda citrifolia</i> Linn (noni)
SMCE	Extrato etanólico de <i>Morinda citrifolia</i> Linn (noni)

RESUMO

Neste trabalho foi avaliado o perfil químico dos extratos obtidos a partir das sementes de *Morinda citrifolia* L. (noni), utilizando o método bioguiado de inibição da enzima acetilcolinesterase, além disso, buscou-se encontrar aplicações para essas sementes. Para isso, foram observados diversos parâmetros, como: conteúdo de ácidos graxos e estabilidade térmica do óleo das sementes de noni, tendo os óleos de caju A, caju SP3 e dendê, como comparativos; investigação do potencial antioxidante dos extratos hexânico e etanólico dessas sementes; observar a capacidade larvicida dos extratos; estudar a capacidade dessas sementes de remover cromo (VI) em água e realizar uma caracterização química das sementes de noni não fermentada e fermentada. Devido ao pouco estudo das sementes de noni e por ser considerado um rejeito industrial, foi possível escolher esse material como objeto de estudo desse trabalho. O estudo cromatográfico do extrato hexânico desse material culminou no isolamento da mistura de β -sitosterol e estigmasterol, além do triterpeno ácido ursólico. Do extrato etanólico foi isolado a neolignana americanina A. O processo de identificação dessas substâncias ocorreu através da técnica de Ressonância Magnética Nuclear (RMN), cujas identidades químicas foram confirmadas pela comparação com os dados da literatura. O estudo do óleo fixo das sementes de noni resultou na identificação de cinco ácidos graxos, sendo majoritário o ácido octadeca-9,12-dienóico (76,8%). Os óleos de caju A, caju SP3 e dendê apresentaram o ácido graxo octadeca-9-enóico como o majoritário (73,7; 65,3 e 43,1%, respectivamente). O estudo da estabilidade térmica mostrou que o óleo de dendê apresenta-se com o menor valor de peróxido e que, juntamente com o óleo do caju SP3, estão nos padrões permitidos para o consumo, enquanto que o óleo de noni apresentou teor de peróxido de 13 meq O₂/kg de óleo, estando acima do permitido pela ANVISA. O estudo da atividade antioxidante apontou o extrato metanólico da semente de noni não fermentada com maior capacidade de capturar o radical livre DPPH, sendo seu valor de IC₅₀ (70 mg/L) menor, quando comparada ao da semente fermentada (210 mg/L). Quanto ao potencial de remoção de cromo, foi observado que, em pH1, parte do cromo é adsorvido (44,2%) e 42,6 %foi reduzido para Cr(III).

ABSTRACT

This work evaluated the chemical profile of extracts from the *Morinda citrifolia* L. (Noni) seeds, using the bioguided method of inhibiting the enzyme acetylcholinesterase and besides to attempt to find applications for these seeds. Thus, it evaluated different parameters such as: fatty acid content and thermal stability of noni seeds oil, and oils from the cashew nut A, cashew nut SP3 and palm, such as comparative; investigation of the antioxidant potential of these seeds; observe larvicidal capacity of the hexane and ethanol extract; study the capacity of these seeds to remove chromium (VI) in water and carry out a chemical characterization of seed of non-fermented and fermented noni. Due to the small study of noni seed and by being an industrial waste, it was possible to choose this material as a study object of this work. The chromatographic study of the hexane extract of this material resulted in the isolation of the mixture of β -sitosterol and stigmasterol, as well as triterpene ursolic acid. The ethanol extract was isolated americanin A. The identification of these substances occurred through the technique of nuclear magnetic resonance (NMR), whose chemical identities were confirmed by comparison with literature. The study of the fixed oil from noni seeds resulted in the identification of five fatty acids and the majority were octadec-9,12-dienoic acid (76.8%). The cashew nut A, cashew nut SP3 and palm oils showed the fatty acid octadec-9-enoic as the majority (73.7, 65.3 and 43.1%, respectively). The study of thermal stability showed that palm oil is presented with the least amount of peroxide and, together with the oil of cashew SP3, the patterns are allowed for consumption, while the oil content of noni presented peroxide 13 meq O₂/kg oil, being above those permitted by ANVISA. The study showed the antioxidant activity of methanol extracts of unfermented noni seeds with greater ability to capture the DPPH free radical, and its IC₅₀ value (70 mg/L) lower when compared to the seed fermented (210 mg/L). The potential to removal of chromium was observed that in pH1, part of chromium is adsorbed (44.2%) and 50% was reduced to Cr (III).

1. INTRODUÇÃO

A utilização de drogas obtidas a partir de plantas tem ocorrido desde a antiguidade para o tratamento de várias doenças. Observou-se, nas últimas décadas, a revalorização do emprego de preparações fitoterápicas uma vez que os medicamentos sintéticos, em sua maioria, apresentam efeitos colaterais indesejáveis (MÜLLER, 2007).

As plantas medicinais permaneceram como forma alternativa de tratamento em várias partes do mundo. De acordo com a WHO (*World Health Organization*), devido à pobreza e pouco acesso à medicina moderna, cerca de 65 a 80% da população mundial dependem essencialmente das plantas como forma primária de cuidar da saúde (CALIXTO, 2005). É nesse contexto social que as plantas medicinais e os fitoterápicos adquirem importância como agentes terapêuticos.

A *Morinda citrifolia* Linn, conhecida popularmente como noni, é uma planta da família Rubiaceae, usada por séculos na medicina popular dos povos da Polinésia. O fruto, especificamente o suco, é consumido por várias comunidades do mundo (CHAN-BLANCO *et al.*, 2006). Além da comercialização do suco de noni, também estão à venda cápsulas de extrato seco e cápsula do pó da planta através das farmácias de manipulação, sendo a divulgação de suas propriedades medicinais e curativas realizadas através dos meios de comunicação (MÜLLER, 2007).

O levantamento bibliográfico de *Morinda citrifolia* L. (noni) relata suas diversas propriedades terapêuticas, distribuídas por toda a planta. Estudos científicos têm confirmado algumas das atividades biológicas da noni descritas pelos povos polinésios como: atividade antioxidante, antiinflamatória, analgésica, antibacteriana e antitumoral, entre outros. Estudos detalhados acerca do isolamento de compostos fixos da planta já estão bastante avançados, cerca de 200 substâncias já foram isoladas, sendo predominante a presença de antraquinonas, triterpenos, iridóides, entre outros (PAWLUS E KINGHORN, 2007). Porém, estudos direcionados para a semente dessa planta apresentam-se escassos, nos quais em sua maioria são sobre valores de

ácidos graxos. No fruto, as sementes secas representam cerca de 2,5% do peso total do fruto (NELSON, 2005) e essas sementes são rejeitadas, sem nenhuma utilização. Na Polinésia Francesa, somente no ano de 2007, o rejeito das sementes do noni é superior a 150 toneladas por ano (WEST *et al.*, 2008).

Inibidores da enzima acetilcolinesterase (AChE) são utilizados no tratamento da doença de Alzheimer, procedimento esse baseado na hipótese colinérgica que tem como base a idéia de que, após o aumento da inibição da enzima, acarretará na diminuição da progressão dos sintomas da doença (DOOLEY E LAMB, 2000). Atualmente, existe uma atividade relativamente intensa na busca desses novos inibidores em extratos de plantas (TREVISAN *et al.* 2006). Dessa forma, o fracionamento bioguiado de extratos vegetais, abordando a inibição da enzima, já vem sendo utilizada em vários trabalhos científicos (KANG *et al.*, 2001).

Recentemente, maior atenção tem sido focalizada sobre a transformação e utilização de resíduos de alimentos para favorecer o aumento dos recursos disponíveis (NYAM *et al.*, 2009). Dessa forma, além dos benefícios causados de forma direta à saúde dos seres humanos, a noni (especificamente as sementes) podia ser utilizada de diversas maneiras em benefício à população e ao meio ambiente. Uma dessas maneiras seria no fornecimento de óleo vegetal de qualidade, rico em ácidos graxos essenciais. Outro modo de utilização desse rejeito de noni poderia ser na sua aplicação como adsorvente de metais, tais como o Cr (VI), que apresenta um elevado risco à saúde, como na perfuração do septo nasal e propriedades carcinogênicas (DAKIKY *et al.*, 2002).

Dessa forma, os objetivos desse trabalho são: avaliar os perfis químicos dos extratos obtidos a partir das sementes de *Morinda citrifolia* L. (noni); como também fazer o perfil de ácidos graxos e estabilidade térmica do óleo das sementes de noni. Além disso, investigar o potencial antioxidante e da inibição da enzima acetilcolinesterase frente aos extratos de noni, observar a capacidade larvicida desses extratos e estudar a adsorção do Cr(VI) nas sementes, obtendo informações relativas à cinética de adsorção, bem como a caracterização dessas sementes.

2. CONSIDERAÇÕES BOTÂNICAS

2.1 – Descrição do gênero *Morinda*

O gênero *Morinda* (Rubiaceae), incluindo a espécie em estudo *Morinda citrifolia* L., apresenta aproximadamente 80 espécies (CHAN-BLANCO *et al.*, 2006).

2.2 – Espécie em estudo: *Morinda citrifolia* Linn. (noni)

Abaixo está representada a classificação botânica de *Morinda citrifolia* L. (noni), segundo MÜLLER (2007):

- Reino: Plantae
- Divisão: Magnoliophyta
- Classe: Magnoliopsida
- Ordem Gentianales
- Família: Rubiaceae
- Gênero: *Morinda*
- Espécie: *M. citrifolia*
- Nome científico: *Morinda citrifolia* Linn

Morinda citrifolia L. (noni) é uma planta pertence à família Rubiaceae e nativa da região do sudeste asiático (DIXON *et al.*, 1999). Apresenta-se como uma árvore de pequeno porte e que, freqüentemente, cresce em regiões costeiras, ao nível do mar e em áreas florestais com cerca de 400 metros acima do nível do mar (LÜBERCK E HANNES, 2001). Desenvolve-se bem em solos vulcânicos ricos em minerais, apesar de também se desenvolverem em solos arenosos ou muito úmidos. Atualmente, encontra-se distribuída em muitas áreas tropicais, tais como Ásia, Hawaii e ilhas do Taiti (Figura 1 e 2) além de seu cultivo nas regiões norte e central da América do Sul. É uma planta conhecida em todo o mundo e popularmente chamada de noni, nono,

nonu, *indian mulberry*, *Ba Ji Tian*, *cheese fruit*, *nhau*, *east Indian mulberry*, *mengkudu* e *awl tree*; dependendo da cultura de cada país e região (NELSON, 2006; WANG *et al.*, 2002).



Figura 1 - Árvore de noni, Hawaii
Fonte: NELSON, (2006).



Figura 2 - Árvore entre rochas, Samoa

A *Morinda citrifolia* L. (noni) é considerada uma planta que apresenta, em geral, de 3 a 10 m de altura. Os galhos jovens são angulares e observam-se ranhuras (estrias). As folhas são elípticas, opostas e com margens onduladas, possuindo coloração verde brilhante na face superior e opaca na inferior, as quais apresentam de 10 a 40 cm de comprimento e 5 a 17 cm de largura (FIGURA 3B). As flores são pequenas, brancas, tubulares e todas ficam agrupadas no pedúnculo do fruto (Figura 3D) (DIXON *et al.*, 1999). As frutas do noni podem atingir 3 a 10 cm de comprimento e 3 a 6 cm de largura, apresentam-se ovais, carnosas, ligeiramente enrugadas, semi-translúcidas, com uma coloração que varia entre verde ao amarelo e, após a colheita, apresentam-se com odor forte e desagradável além de conterem muitas sementes (figura 3A) (CHAN-BLANCO *et al.*, 2006). As frutas cultivadas no Havaí apresentam, aproximadamente, 260 sementes por fruto e são necessários em torno de 10 kg de fruta para obter 250 g de sementes secas. Essas sementes são obtidas com uma coloração marrom e apresentam de 4 a 9 mm (figura 3C) (NELSON, 2005).

O período de florescência da planta compreende de novembro a fevereiro, sendo todas as suas partes (frutos, folhas, cascas, tronco e raízes)

destinadas para fins terapêuticos. As diversas partes da planta são coletadas em diferentes épocas do ano, sendo as raízes coletadas no inverno e as folhas na primavera (WANG *et al.*, 2002). *Morinda citrifolia* é uma planta perene, sendo comum encontrar frutas em diferentes estágios de maturidade na mesma planta (figura 3A).



(A)



(B)



(C)



(D)

Figura 3 – *Morinda citrifolia* L.cultivada em Trairí (CE) – Frutas (A), folhas (B), sementes(C) e flores (D).

Fonte: Imagem cedida pelo pesquisador Edy Sousa de Brito (EMBRAPA – Agroindústria Tropical)

No primeiro ano, a fruta apresenta tamanho inferior, mas já pode ser colhida. No Hawaii o noni é colhido de duas a três vezes por ano, no entanto, durante o inverno, a produção é reduzida (CHAN-BLANCO *et al.*, 2006). É considerada uma espécie muito resistente e de boa longevidade. Quando é cultivada exposta ao sol e sem a presença de ventos frios, dificilmente é infectada por doenças ou atacada por insetos. Após ter iniciado a fase de produção de frutos, a produção se torna constante, produzindo o ano inteiro (CHAN-BLANCO *et al.*, 2006).

3 – LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO

3.1 – ORIGEM E UTILIZAÇÃO DA PLANTA *Morinda citrifolia* L. (NONI)

A *Morinda citrifolia* L. (noni) é uma planta popular, cujo potencial relacionado às propriedades medicinais é relatado há mais de 2000 anos, principalmente devido ao seu vasto uso pelos povos da Polinésia. A planta é um arbusto que tem origem nas ilhas do oceano Pacífico, no sudeste da Ásia e em áreas tropicais e subtropicais (McCLATCHEY, 2002; WANG *et al.*; 2002). Seu cultivo ocorre na Polinésia, Índia, Caribe, regiões centro e norte da América do Sul, locais que oferecem condições adequadas de desenvolvimento (DIXON *et al.*, 1999).

As várias partes da planta (folhas, raízes, frutos, caules e cascas) são consumidas de diversas maneiras: como alimento, fitoterápico e ainda para tingimento de tecidos (WANG *et al.*, 2002). Essa utilização ocorre há muitos anos, principalmente com dois propósitos: as raízes e as cascas são utilizadas para tingir roupas e cerâmicas, e todas as partes da planta têm sido utilizadas como um suplemento alimentar (PALU *et al.*, 2008).

Conforme a medicina tradicional e popular, a planta tem a capacidade de prevenir ou curar diversas enfermidades: alergia, artrite, asma, infecções bacterianas, câncer, diabetes, hipertensão, distúrbios menstruais e musculares, obesidade, úlceras gástricas, cefaléias, insônia, depressão, estresse, problemas respiratórios, esclerose múltipla e até dependência química (LAVAUT E LAVAUT, 2003; McCLATCHEY, 2002; WANG *et al.*, 2002).

Nos Estados Unidos os produtos da fruta de *Morinda citrifolia* L. (noni) são comercializados desde 1990, sendo principalmente vendidos em lojas de produtos naturais ou pela internet (POTTERAT E HAMBURGER, 2007). Os principais meios de comercialização desses frutos são por meios de cápsulas, chás e sucos (McCLATCHEY, 2002).

O advento do suco de noni (TAHITIAN NONI® JUICE) deu-se em 1996 e, devido a sua grande procura, culminou no aumento das pesquisas acerca dos possíveis efeitos que esse material poderia promover com relação aos

seus benefícios à saúde (PALU *et al.*, 2008). Recentemente, no Japão, o suco da fruta e o chá das folhas de *Morinda citrifolia* L. (noni) foram lançados no mercado de alimentos funcionais e são ingeridos na expectativa de que eles possam ajudar a prevenir doenças (MASUDA *et al.*, 2009). O Brasil conta com mais de 18.000 distribuidores cadastrados dos produtos derivados da noni, e é considerado o quinto país, em relação ao mundo, no mercado do suco da fruta (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE EMPRESAS DE VENDAS DIRETAS, 2006). Porém, segundo ANVISA (2010b), os produtos contendo noni não devem ser comercializados no Brasil como alimento, até que os requisitos legais que exigem a comprovação de sua segurança de uso sejam atendidos.

No sudeste da Ásia o suco de *Morinda citrifolia* L. (noni) fermentado já é bastante popular. Para o processo de fermentação natural as frutas maduras são lavadas, e despulpadas ou inteiras são armazenadas em recipientes. Com o passar do tempo, o suco é separado naturalmente da polpa da fruta. O tempo mínimo de fermentação para a obtenção do produto é de 60 dias. Transcorrido o tempo, o suco é filtrado e engarrafado em recipientes de vidro ou plástico, armazenado em temperatura ambiente. Porém, não existe ainda nenhuma preocupação sanitária com esse produto, e a maioria desses sucos são comercializados sem pasteurização (NELSON, 2006).

3.2 – ESTUDOS QUÍMICOS REALIZADOS COM A ESPÉCIE *Morinda citrifolia* L. (NONI)

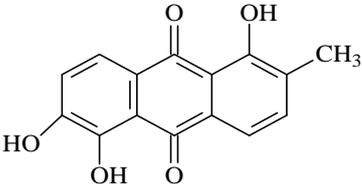
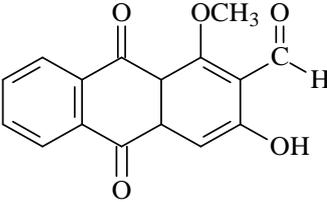
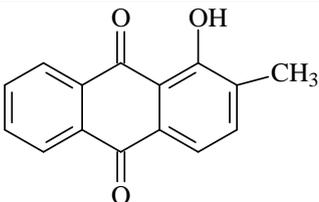
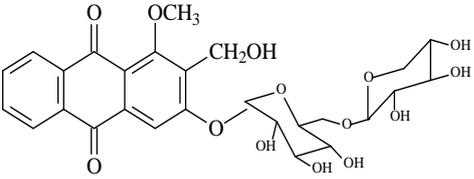
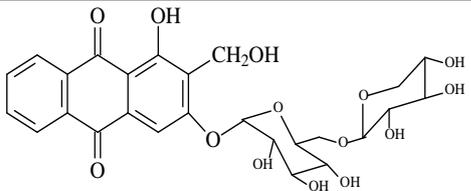
Nas últimas décadas, muitos trabalhos têm apresentado estudos sobre os constituintes químicos das diversas partes de *Morinda citrifolia* L. (noni). Aproximadamente 200 compostos já foram identificados na planta e a maioria desses são os compostos fenólicos, ácidos orgânicos, iridóides, lignanas, entre outros (WANG E SU, 2001). Dos grupos fenólicos presentes, a sua grande maioria encontra-se na forma das antraquinonas e seus glicosídeos (damnacantal, morindona, morindina, escopoletina, alizarina, austrocortinina, rubiadina). Estudos sugerem que as antraquinonas estão presentes

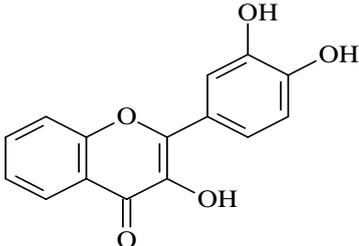
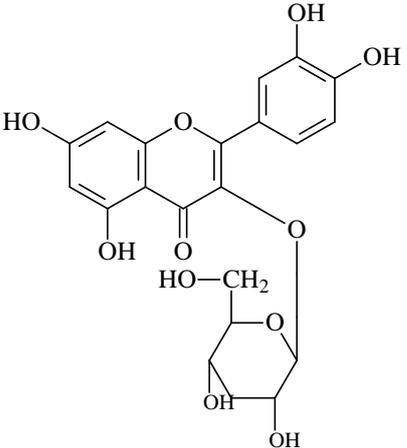
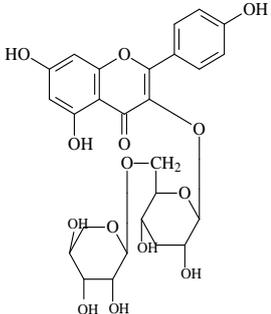
principalmente nas raízes (DENG *et al.*, 2007b) e caule (SRIVASTAVA E SINGH, 1993). No entanto, há relatos de traços de antraquinonas nas flores (TIWARI E SINGH, 1977), frutos (LIN *et al.*, 2007; KAMIYA *et al.*, 2005), e folhas (TAKASHIMA *et al.*, 2007). Todavia, a composição química difere grandemente de acordo com a parte da planta analisada.

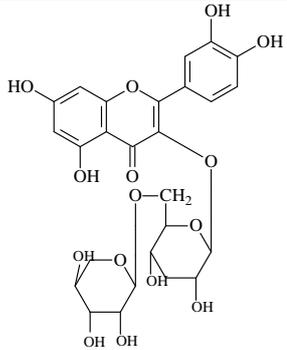
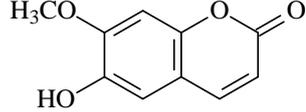
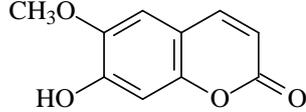
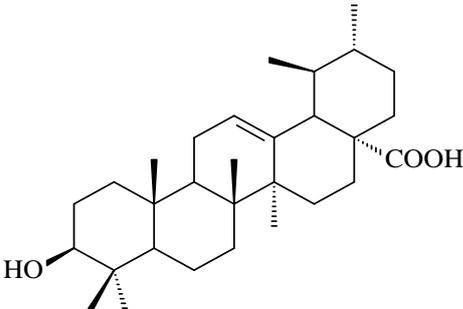
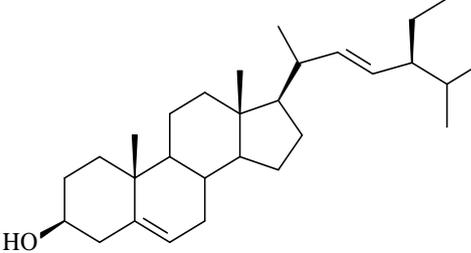
A composição química completa do fruto da noni ainda não foi descrita e apenas informação parcial do suco da noni está disponível (CHAN-BLANCO *et al.*, 2006). De acordo com esses autores, a fruta apresenta 90% de água, a quantidade de proteínas é muito elevada, representando 11,3% da matéria seca do suco, e os principais aminoácidos encontrados são o ácido aspártico, ácido glutâmico e isoleucina. Os minerais representam 8,4% da matéria seca, e os principais são o potássio, cálcio e fósforo. Traços de selênio têm sido descrito também no suco da *Morinda citrifolia* (noni) (CHUNHIENG, 2003). As principais vitaminas encontradas no fruto são o ácido ascórbico, variando de 24 – 158 mg/100 g matéria seca (SHOVIC E WHISTHER, 2001) e pró-vitamina A (DIXON *et al.*, 1999).

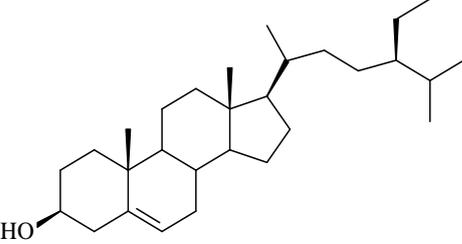
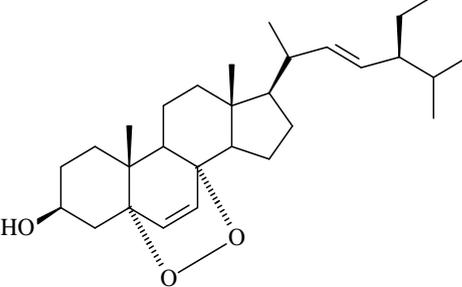
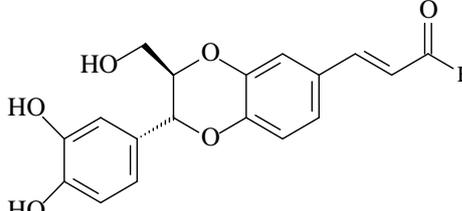
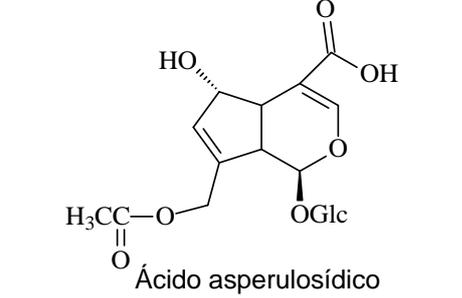
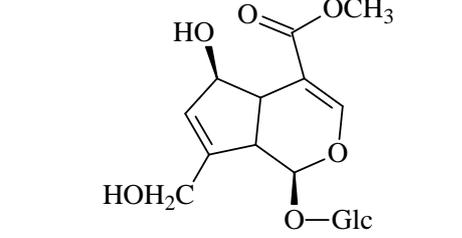
Alguns compostos isolados de *Morinda citrifolia* L. (noni) são relatados por apresentarem potencial biológico ativo. Foi realizado um levantamento bibliográfico utilizando as ferramentas de busca SciFinder® Scholar™ e Scopus, que revelaram os constituintes de noni com as suas respectivas atividades. Esse levantamento foi obtido com trabalhos dos últimos 10 anos e encontram-se expostos na tabela 1, onde esses constituintes estão apresentados com a(s) ação(s) farmacológica e sua localização na planta.

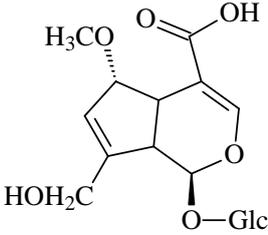
Tabela 1 – Metabólitos secundários isolados da espécie *Morinda citrifolia* L. (noni), destacando-se as partes da planta onde esses metabólitos foram isolados e sua atividade biológica.

Substâncias isoladas de <i>Morinda citrifolia</i> L. (noni) que apresentam atividades biológicas		
SUBSTÂNCIA	ATIVIDADE	LOCALIZAÇÃO
 <p>Morindona</p>	Anticâncer (KAMIYA <i>et al.</i> , 2010)	Raiz (KAMIYA <i>et al.</i> , 2010)
 <p>Damnacantal</p>	Anticâncer (KAMIYA <i>et al.</i> , 2010; WITAYASINTHANA E SHOTIPRUK, 2009) Larvicida (EE <i>et al.</i> , 2009)	Raiz (KAMIYA <i>et al.</i> , 2010; EE <i>et al.</i> , 2009; WITAYASINTHANA E SHOTIPRUK, 2009)
 <p>1-hidroxi-2-metilntraquinona</p>	Larvicida (EE <i>et al.</i> , 2009; PING <i>et al.</i> , 2009)	Raiz (EE <i>et al.</i> , 2009; PING <i>et al.</i> , 2009) Caule (SIDDIQUI <i>et al.</i> , 2007a)
 <p>damnacantol-3-O-b -D primeverosideo</p>	Hipoglicemiante (KAMIYA <i>et al.</i> , 2008)	Raiz (KAMIYA <i>et al.</i> , 2008)
 <p>lucidina 3-O-b -D-primeverosideo</p>	Hipoglicemiante (KAMIYA <i>et al.</i> , 2008)	Raiz (KAMIYA <i>et al.</i> , 2008)

 <p>Quercetina</p>	<p>Atividade inibitória da tirosinase (MASUDA <i>et al.</i>, 2009); Antiinflamatório (YU <i>et al.</i>, 2008); Antioxidante (MASUDA <i>et al.</i>, 2009); Anti-alérgico (SUBRAMANIAM <i>et al.</i>, 2003)</p> <p>Atividade imunomoduladora e antiviral (VOLONTE <i>et al.</i>, 2002)</p>	<p>Semente (MASUDA <i>et al.</i>, 2009)</p> <p>Fruta (YU <i>et al.</i>, 2008; DENG <i>et al.</i>, 2007b)</p>
 <p>Quercetina-3-O-D-glucopiranosídeo</p>	<p>Antioxidante (SANG <i>et al.</i> 2001)</p>	<p>Folha (SANG <i>et al.</i> 2001)</p>
 <p>Kaempferol-3-O-R-L-ramnopiranosil-(1-6)-D-glucopiranosídeo</p>	<p>Antioxidante (SANG <i>et al.</i> 2001)</p>	<p>Folha (SANG <i>et al.</i> 2001)</p>

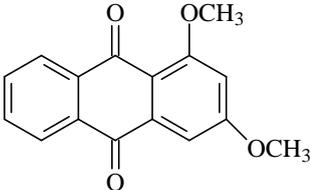
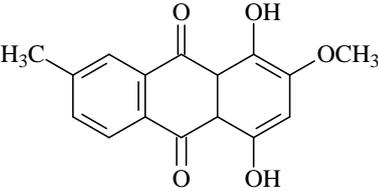
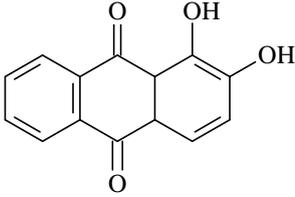
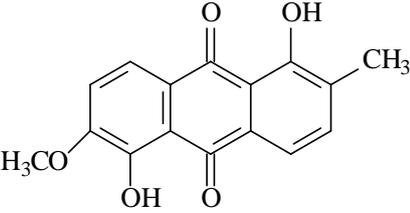
 <p>Quercetina-3-O-R-L-ramnopiranosil-(1-6)-D-glucopiranosídeo</p>	<p>Antioxidante (SANG <i>et al.</i>, 2001)</p>	<p>Folha (SANG <i>et al.</i>, 2001)</p>
 <p>Isoscopoletina</p>	<p>Antioxidante (LIU <i>et al.</i>, 2007)</p>	<p>Raiz (LIU <i>et al.</i>, 2007)</p>
 <p>Scopoletina</p>	<p>Antiinflamatório (YU <i>et al.</i>, 2008)</p>	<p>Fruta (YU <i>et al.</i>, 2008; LIN <i>et al.</i>, 2007; SIDDIQUI <i>et al.</i>, 2007b)</p>
 <p>Ácido ursólico</p>	<p>Antiinflamatório (YU <i>et al.</i>, 2008; ALBUQUERQUE, 2002); Antinefropático (WANG <i>et al.</i>, 2010); Antifúngico (KUREK <i>et al.</i>, 2010); Antileishmanial (SILVA FILHO <i>et al.</i>, 2009); Antiplasmodial (SILVA FILHO <i>et al.</i>, 2009)</p>	<p>Semente (MASUDA <i>et al.</i>, 2009; YANG <i>et al.</i>, 2009); Folha (TAKASHIMA <i>et al.</i>, 2007)</p>
 <p>estigmasterol</p>	<p>Antitubercular (SALUDES <i>et al.</i>, 2002)</p>	<p>Semente (WEST <i>et al.</i>, 2008) Folha (SALUDES <i>et al.</i>, 2002)</p>

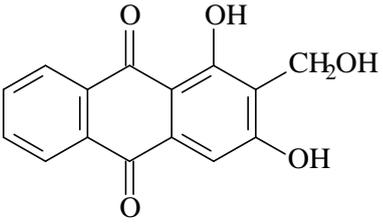
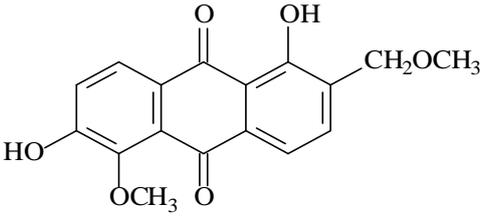
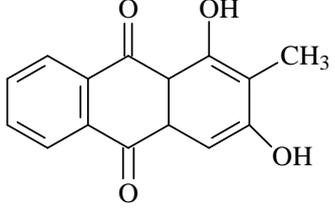
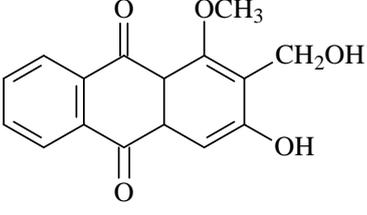
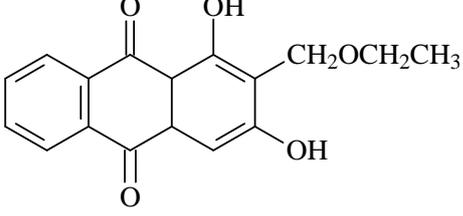
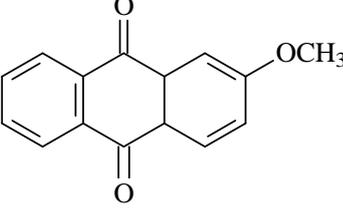
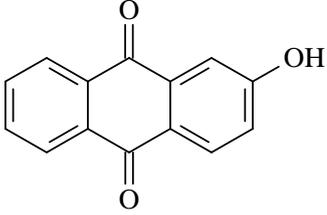
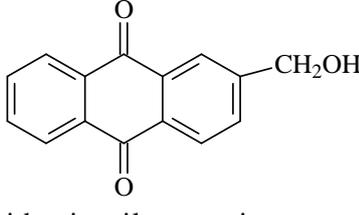
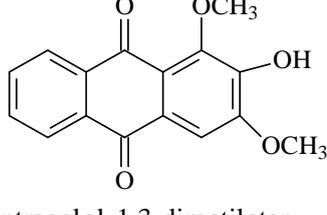
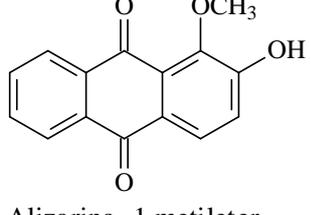
 <p>B-sitosterol</p>	<p>Antitubercular (SALUDES <i>et al.</i>, 2002)</p>	<p>Semente (WEST <i>et al.</i>, 2008) Folha (SALUDES <i>et al.</i>, 2002)</p>
 <p>epidioxisterol</p>	<p>Antitubercular (SALUDES <i>et al.</i>, 2002)</p>	<p>Folha (SALUDES <i>et al.</i>, 2002)</p>
 <p>Americanina A</p>	<p>Antioxidante (SU <i>et al.</i>, 2005)</p>	<p>Semente (MASUDA <i>et al.</i>, 2009) Fruta (LIN <i>et al.</i>, 2007; SU <i>et al.</i>, 2005)</p>
 <p>Ácido asperulosídico</p>	<p>Atividade inibitória de melanomas (AKIHISA <i>et al.</i>, 2010) Atividade inibitória de células tumorais (LIU <i>et al.</i>, 2001)</p>	<p>Fruta (AKIHISA <i>et al.</i>, 2010; AKIHISA <i>et al.</i>, 2007; KAMIYA <i>et al.</i>, 2005; LIU <i>et al.</i>, 2001) Raiz (KAMIYA <i>et al.</i>, 2008)</p>
 <p>Éster metil scandosídeo</p>	<p>Atividade inibitória de melanomas (AKIHISA <i>et al.</i>, 2010)</p>	<p>Fruta (AKIHISA <i>et al.</i>, 2010)</p>

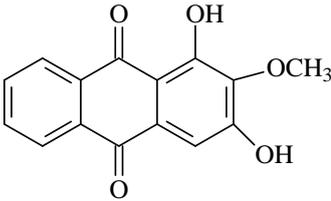
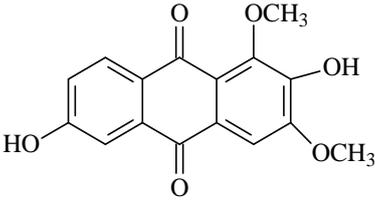
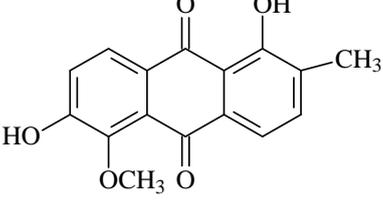
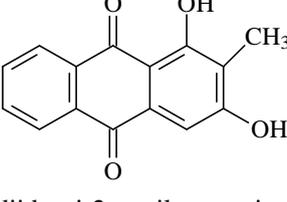
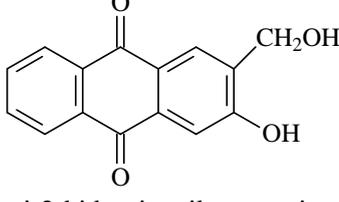
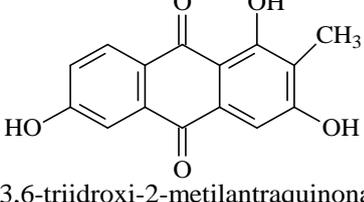
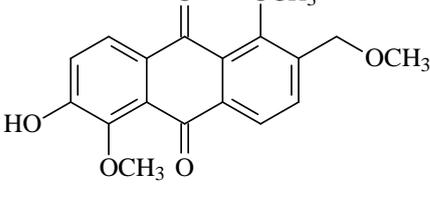
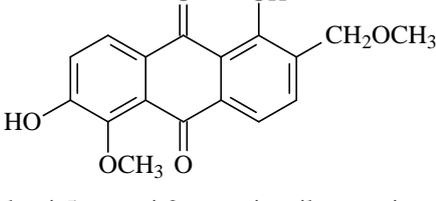
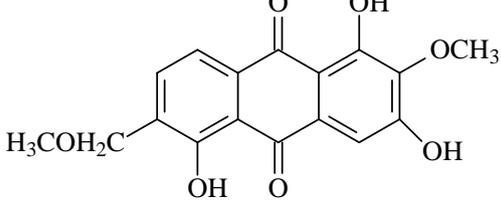
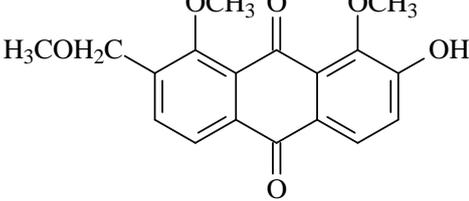
 <p>Ácido 9-epi-6-Metoxi geniposídico</p>	<p>Atividade inibitória de melanomas (AKIHISA et al., 2010)</p>	<p>Fruta (AKIHISA et al., 2010)</p>
----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------	-------------------------------------

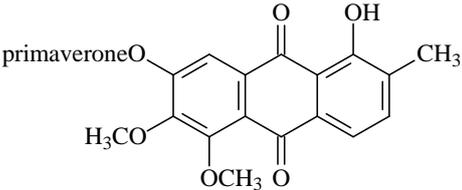
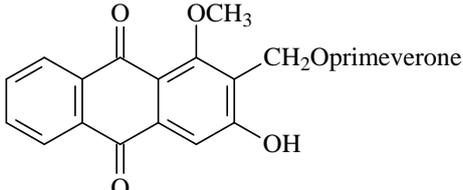
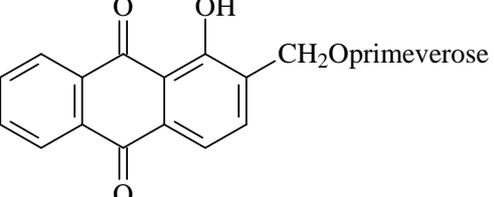
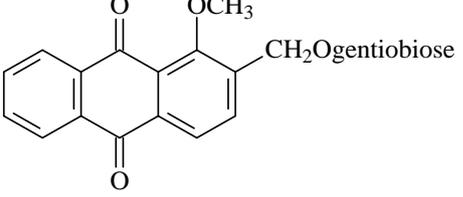
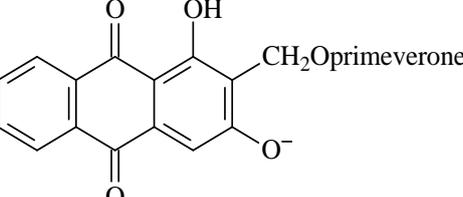
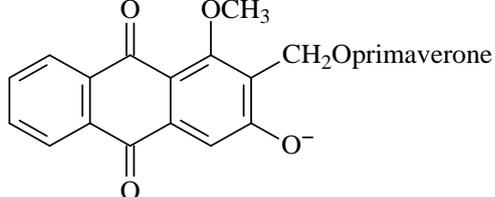
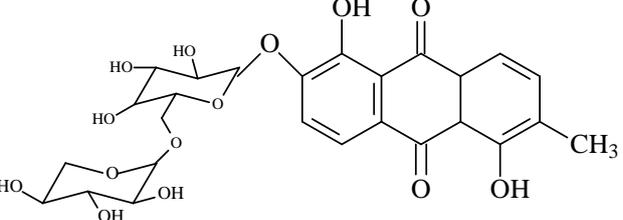
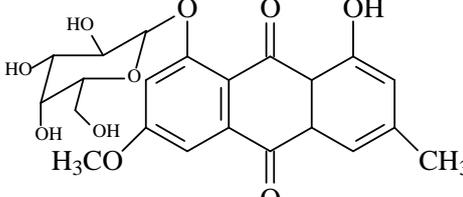
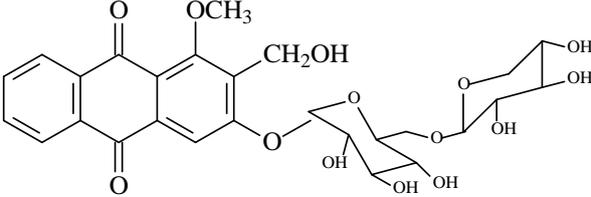
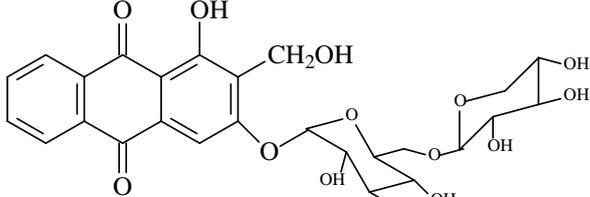
As atividades biológicas citadas na Tabela 1 estão diretamente relacionadas aos constituintes presentes em cada parte da *Morinda citrifolia* L. (noni). Desse modo, a Tabela 2 mostra os outros metabólitos secundários isolados dessa espécie, com as respectivas localizações de onde foram isoladas e a qual grupo elas são pertencentes.

Tabela 2 – Outros metabólitos secundários isolados da espécie *Morinda citrifolia* L. (noni), destacando-se as partes da planta onde esses metabólitos foram isolados.

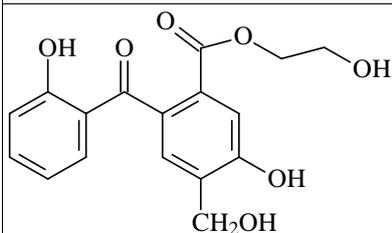
<p align="center">Substâncias isoladas da espécie <i>Morinda citrifolia</i> L. (noni)</p>	
<p align="center">1 – ANTRAQUINONAS</p>	
 <p>1,3-dimetoxiantraquinona Localização: fruta SIDDQUI et al., 2007b</p>	 <p>Austrocortinina Localização: fruta KIM et al., 2005</p>
 <p>Alizarina Localização: folha¹, fruta^{1,2}, raiz³ ¹DENG et al., 2009 ²SIDDQUI et al., 2007b ³DENG et al., 2007a</p>	 <p>Morindona-6-metiléter Localização: raiz EE et al., 2009</p>

 <p>Lucidina Localização: Folha e fruta DENG <i>et al.</i>, 2009</p>	 <p>5,15-dimetilmorindol Localização: Fruta¹, folha¹, semente² ¹DENG <i>et al.</i>, 2009 ²YANG <i>et al.</i>, 2009</p>
 <p>Rubiadina Localização: raiz SANG E HO, 2006</p>	 <p>Damnacantol Localização: raiz SANG E HO, 2006</p>
 <p>Ibericina Localização: raiz SANG E HO, 2006</p>	 <p>2 - metoxiantraquinona Localização: caule SIDDIQUI <i>et al.</i>, 2006</p>
 <p>2-hidroxiantraquinona Localização: caule SIDDIQUI <i>et al.</i>, 2006</p>	 <p>2-hidroximetil-antraquinona Localização: caule SIDDIQUI <i>et al.</i>, 2007 a</p>
 <p>Antragalol-1,3-dimetileter Localização: fruta KAMIYA <i>et al.</i>, 2005</p>	 <p>Alizarina - 1 metileter Localização: fruta KAMIYA <i>et al.</i>, 2005</p>

 <p>Antragalol-2-metileter Localização: fruta KAMIYA <i>et al.</i>, 2005</p>	 <p>6-hidroxi-antragalol-1,3-dimetileter Localização: fruta KAMIYA <i>et al.</i>, 2005</p>
 <p>Morindona-5-metileter Localização: fruta KAMIYA <i>et al.</i>, 2005</p>	 <p>1,3-diidroxi-2-metilantraquinona Localização: raiz DENG <i>et al.</i>, 2007 a</p>
 <p>3-hidroxi-2-hidroximetil-antraquinona Localização: raiz DENG <i>et al.</i>, 2007 a</p>	 <p>1,3,6-triidroxi-2-metilantraquinona Localização: raiz DENG <i>et al.</i>, 2007 a</p>
 <p>1,5,15-trimetil morindol Localização: folha², semente¹ ¹YANG <i>et al.</i>, 2009 ²TAKASHIMA <i>et al.</i>, 2007</p>	 <p>1,6-diidroxi-5-metoxi-2-metoximetilantraquinona Localização: fruta LIN <i>et al.</i>, 2007</p>
 <p>1,3,5-triidroxi-2-metoxi-6-metoximetilantraquinona Localização: fruta LIN <i>et al.</i>, 2007</p>	 <p>Morindicinona Localização: caule SIDDIQUI <i>et al.</i>, 2006</p>

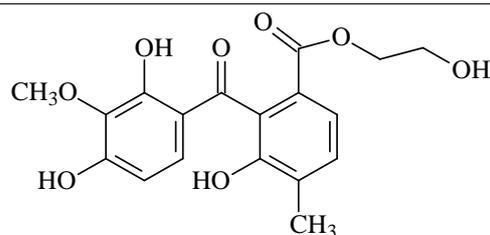
 <p>1-hidroxi-5,6-dimetoxi-2-metil-7-primeverosiloxiantraquinona Localização: raiz KAMIYA <i>et al.</i>, 2009</p>	 <p>damnacantol-11-O-B-primeveroside Localização: raiz KAMIYA <i>et al.</i>, 2009</p>
 <p>Digiferruginol-11-O-B-primeveroside Localização: raiz KAMIYA <i>et al.</i>, 2009</p>	 <p>Digiferruginol-1-metileter-11-O-B-gentiobioside Localização: raiz KAMIYA <i>et al.</i>, 2009</p>
 <p>1-hidroxi-2-primeverosiloximetil-antraquinona-3-olato Localização: raiz KAMIYA <i>et al.</i>, 2009</p>	 <p>1-metoxi-2-primeverosiloximetil-antraquinona-3-olato Localização: raiz KAMIYA <i>et al.</i>, 2009</p>
 <p>Morindina Localização: raiz SIMONSEN, 1918 INOUE <i>et al.</i>, 1981</p>	 <p>Fisciona-8-O-arabinopiranosil-D-galactopiranosideo Localização: caule SRIVASTAVA E SINGH, 1993</p>
 <p>damnacantol-3-O-b-D primeverosideo Localização: raiz DENG <i>et al.</i>, 2007a</p>	 <p>lucidina 3-O-b-D-primeverosideo Localização: raiz DENG <i>et al.</i>, 2007 a</p>

2 – BENZOFENONAS



morinrifolina A

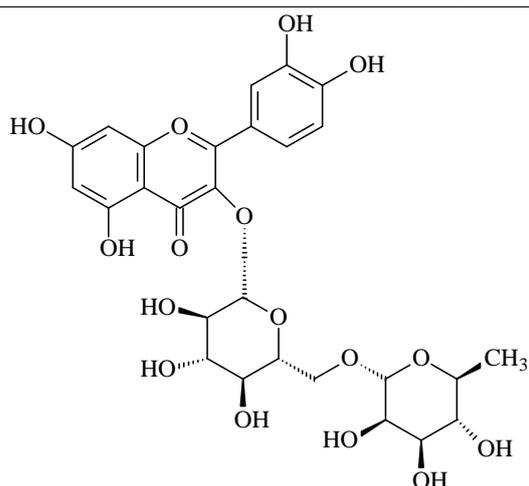
Localização: Raiz
DENG *et al.*, 2007a



morinrifolina B

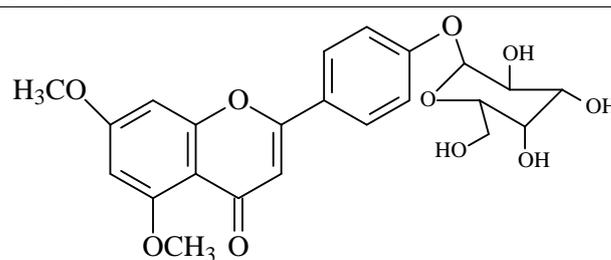
Localização: Raiz
DENG *et al.*, 2007 a

3 – FLAVONÓIDES



Quercetina-3-O-L-ranmpiranosil-(1-6)-D-glucopiranosídeo

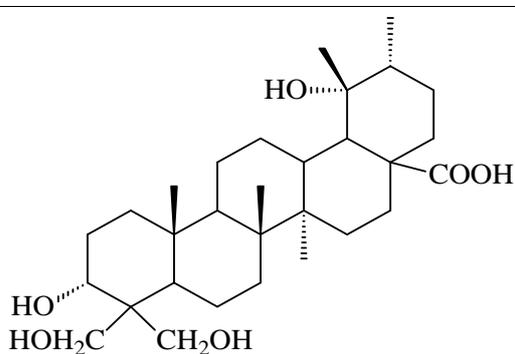
Localização: semente
YANG *et al.*, 2009



5,7-dimetil apigenin-4'-O-D-galactopiranosida

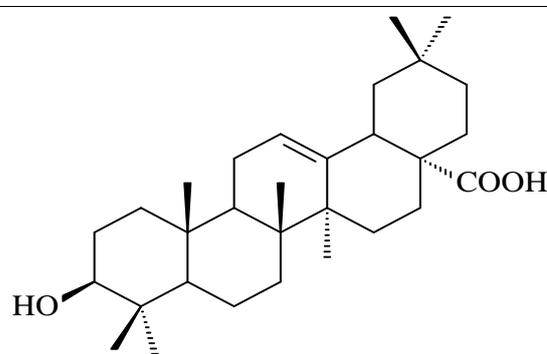
Localização: flor
SINGH E TIWARI, 1993

4 –TRITERPENOS



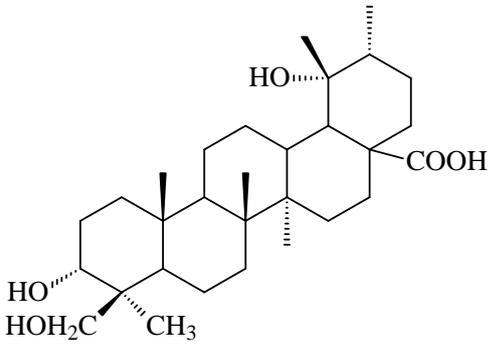
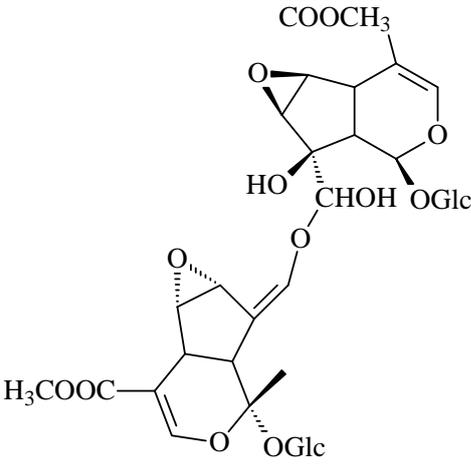
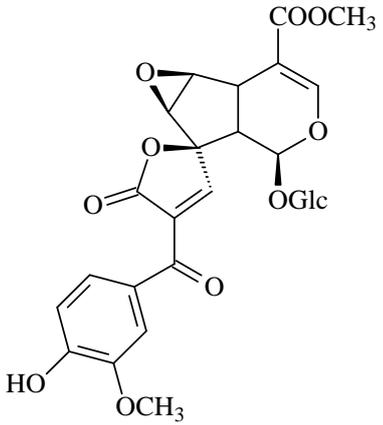
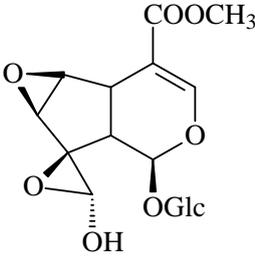
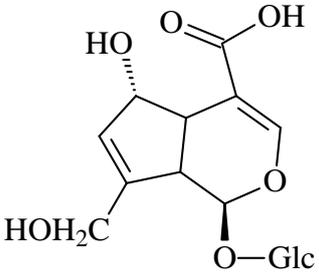
Ácido clétrico

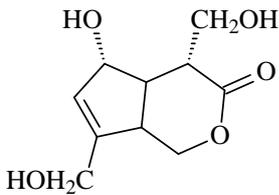
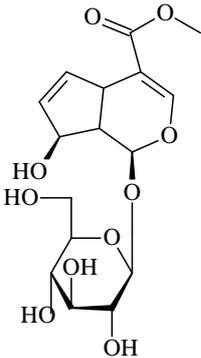
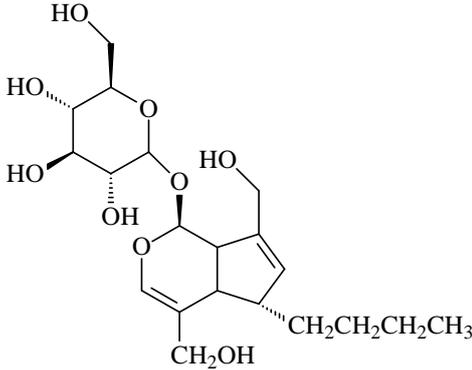
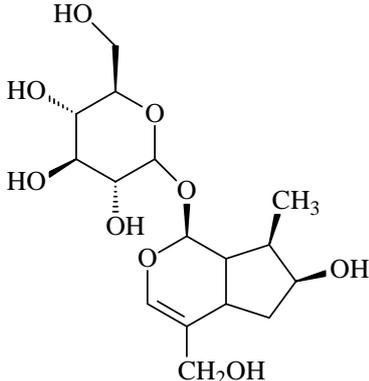
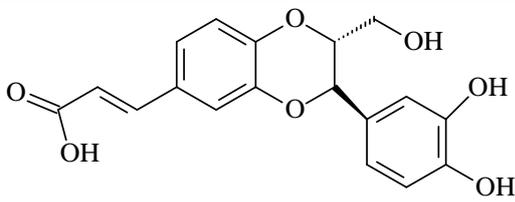
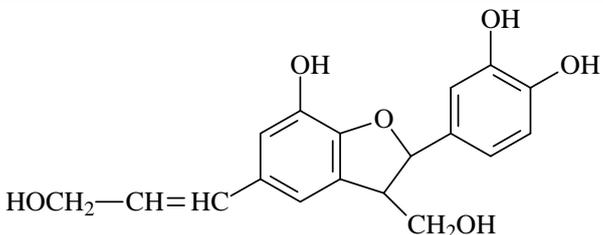
Localização: folha
TAKASHIMA *et al.*, 2007

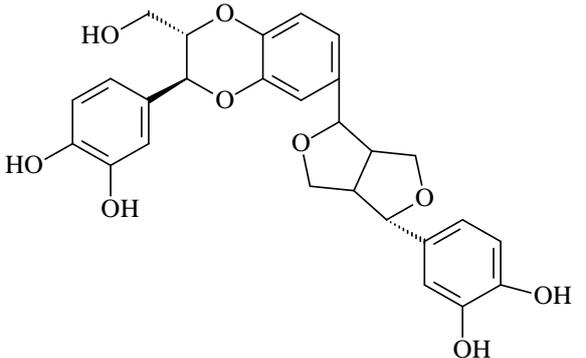
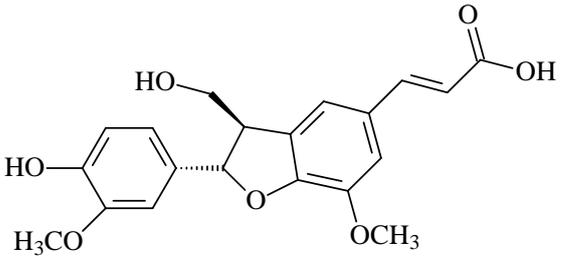
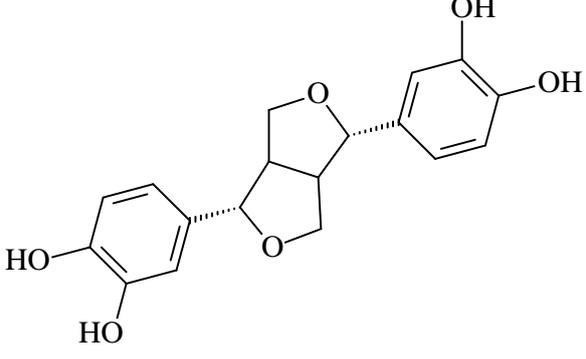
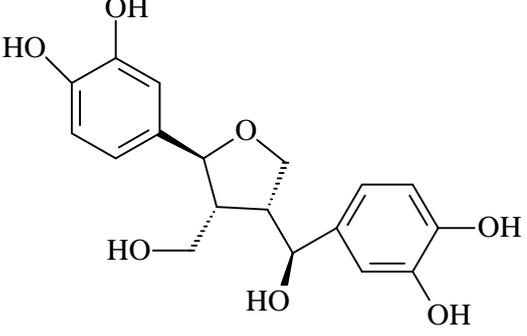
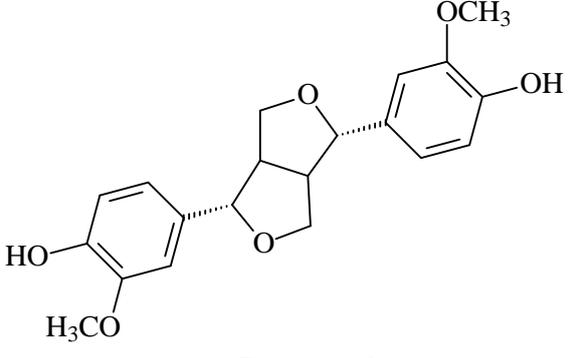
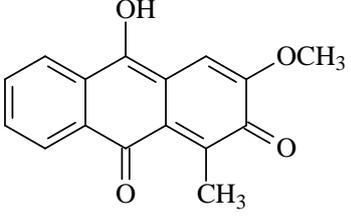


Ácido oleanólico

Localização: folha
TAKASHIMA *et al.*, 2007

 <p>Ácido barbinérvico</p> <p>Localização: folhas TAKASHIMA <i>et al.</i>, 2007</p>	
<p>5 – IRIDÓIDES</p>	
 <p>Citriofolinina A</p> <p>Localização: folha SANG <i>et al.</i>, 2001</p>	 <p>Deidroepoximetoxigaertnerosideo</p> <p>Localização: folha SANG <i>et al.</i>, 2001 SCHRIPEMA <i>et al.</i>, 2006</p>
 <p>Citriofolinina B</p> <p>Localização: Folha SANG <i>et al.</i>, 2001</p>	 <p>Ácido deacetilasperulosídico</p> <p>Localização: fruta^{1,4,5}, semente², raiz³ ¹AKIHISA <i>et al.</i>, 2010 ²YANG <i>et al.</i>, 2009 ³KAMIYA <i>et al.</i>, 2008 ⁴AKIHISA <i>et al.</i>, 2007 ⁵KAMIYA <i>et al.</i>, 2005</p>

 <p>Morindacina</p> <p>Localização: fruta KAMIYA <i>et al.</i>, 2005</p>	 <p>Citrifosídeo</p> <p>Localização: folha TAKASHIMA <i>et al.</i>, 2007</p>
 <p>Rodolatosídeo A</p> <p>Localização: semente YANG <i>et al.</i>, 2009</p>	 <p>Ácido logânico</p> <p>Localização: semente YANG <i>et al.</i>, 2009</p>
<p>6- LIGNANAS</p>	
 <p>Ácido isoamericanóico A</p> <p>Localização: folha LIN <i>et al.</i>, 2007</p>	 <p>Americanina D</p> <p>Localização: fruta², semente¹ ¹YANG <i>et al.</i>, 2009 ²LIN <i>et al.</i>, 2007</p>

 <p>Isoprincepino</p> <p>Localização: fruta², semente¹</p> <p>¹YANG <i>et al.</i>, 2009</p> <p>²KAMIYA <i>et al.</i>, 2004</p>	 <p>Balanofonina</p> <p>Localização: fruta</p> <p>PAWLUS <i>et al.</i>, 2005</p>
 <p>3,3' - bisdimetilpinoresinol</p> <p>Localização: fruta</p> <p>DENG <i>et al.</i>, 2007b</p> <p>KAMIYA <i>et al.</i>, 2004</p>	 <p>3,3' - bisdimetiltanegool</p> <p>Localização: fruta</p> <p>DENG <i>et al.</i>, 2007b</p>
 <p>Pinoresinol</p> <p>Localização: fruta</p> <p>DENG <i>et al.</i>, 2007b</p>	 <p>Morindiconina</p> <p>Localização: caule</p> <p>SIDDIQUI <i>et al.</i>, 2007a</p>

3.3 – ATIVIDADES BIOLÓGICAS DE *Morinda citrifolia* L. (NONI)

Existem diversas pesquisas relacionadas às atividades biológicas com *Morinda citrifolia* L. (noni), sejam através de ensaios *in vitro* ou *in vivo*, nos quais foram analisados extratos ou substâncias isoladas da mesma. Esses estudos têm revelado e confirmado algumas das atividades biológicas da planta, descritas pelos povos polinésios, como: atividade antioxidante, antiinflamatória, analgésica, imunomoduladora, antimicrobiana, antitumoral e anti-tubercular, entre outros (PAWLUS E KINGHORN, 2007).

YANG *et al.* (2007) estudaram a atividade antioxidante do suco de *Morinda citrifolia* L. (noni) não fermentado e fermentado, utilizando o método do radical livre DPPH. Os autores observaram que o suco não fermentado apresentava 210 mg de ácido gálico/ 100mL. Após o processo fermentativo, o suco fermentado apresentou uma redução de 90% dessa capacidade, mostrando que mesmo diante da grande popularidade do suco fermentado de noni, esse processo reduz significativamente a qualidade antioxidante. ZIN *et al.* (2002) investigaram a atividade antioxidante dos extratos das raízes, folhas e frutos da *M. citrifolia* L (noni). Os resultados mostraram que extratos não polares das três partes da planta possuem alta atividade antioxidante quando comparados com os antioxidantes α -tocoferol e 2,6-di-(tercbutil)-4-metil fenol (BHT). Ambos os extratos, polares e não polares, das raízes mostraram maiores atividades antioxidantes do que as folhas e os frutos.

SALUDES *et al.* (2002) estudaram o potencial antitubercular dos extratos hexânico e etanólico de *Morinda citrifolia* L. (noni) e foi observado que eles inibiram de 89-95% o crescimento de *Mycobacterium tuberculosis*. No extrato hexânico foram encontrados, predominantemente, E-fitol, cicloartenol, estigmasterol e β -sitosterol, podendo essas substâncias estar relacionadas com esse potencial.

WANG e SU (2001) investigaram o mecanismo do efeito preventivo do suco de *Morinda citrifolia* L. (noni) no estágio inicial da carcinogênese. Os resultados sugeriram que a prevenção de formação de adultos de DNA-

carcinogênicos e a atividade antioxidante do suco da fruta podem contribuir para o efeito quimiopreventivo.

KAMIYA *et al.* (2010) estudaram o potencial anticarcinogênico de diversas antraquinonas isoladas da raiz de *Morinda citrifolia* L. (noni) para confirmar a utilidade dessa parte da planta para fins terapêuticos. Foram encontradas 10 antraquinonas: rubiadina, 1-éter metílico rubiadina, lucidina, damnacantol, 1,3-diidroxi-2-etoximetilantraquinona, 3-hidroxi-1-metoxi-2-metoximetilantraquinona, nordamnacantal, damnacantal, sorandiol e morindona (as substâncias citadas encontram-se nas tabelas 1 e 2). Os compostos 1,3-diidroxi-2-etoximetilantraquinona, 3-hidroxi-1-metoxi-2-metoximetilantraquinona, nordamnacantal, damnacantal e morindona exibiram notável inibição contra o câncer ativo de animal, e o composto morindona foi o mais forte inibidor de todas as antraquinonas investigadas. Segundo o autor, estes resultados sugerem que as raízes de noni podem ser utilizadas como um alimento funcional com potencial anticancerígeno.

3.4 – ESTUDOS QUÍMICOS COM AS SEMENTES DE *Morinda citrifolia* L. (NONI)

Recentemente, MASUDA *et al.* (2009) realizaram ensaios *in vitro* da ação inibidora da tirosinase e a atividade antioxidante pelo método DPPH utilizando os extratos etanólicos das sementes, folhas e frutos da *Morinda citrifolia* L. (noni). Os resultados apontaram o extrato das sementes da planta com um maior potencial para essas duas variáveis, quando comparados aos da folha e frutos.

A partir dessa potente ação do extrato etanólico das sementes de noni, os autores realizaram um fracionamento bioguiado do mesmo, utilizando os ensaios *in vitro*. Com isso, levou ao isolamento do ácido ursólico, que se apresentou como um componente ativo da capacidade inibitória das células de leucócitos humanas. Já os compostos 3,30-bisdimetilpinoresinol, americanina A e quercetina também foram isolados e se apresentaram como elementos ativos no extrato, pois apresentaram ação inibitória da tirosinase e do radical

livre DPPH. Quando comparado os valores das substâncias com a enzima superóxido dismutase (SOD), a americanina A e a quercetina mostraram atividade semelhante. Estes compostos ativos foram isolados das sementes de noni pela primeira vez.

YANG *et al.* (2009) também trabalharam com as sementes de *Morinda citrifolia* L. (noni) e isolaram vinte compostos: daucosterol , ácido ursólico, ácido 19-hidroxi-ursólico, 1,5,15-trimetilmorindol, 5,15-dimetil-morindol, escopoletina, 3, 3'-bisdimetilpinoresinol, 3, 4, 3 '4'-tetra-9, 7'α-epoxilignano-7α 9'-lactona, americanina D, americanina A, americanina, isoprincepina , ácido diacetil asperulosídico, ácido logânico, ácido asperulosídico, rodolatusídeo, quercetina-3-O-α - L-ramnopiranosil-(1-6)-β-D-glicopiranosídeo, 4-etil-2-hidroxi-succinato, 5-hidroximetil-2-furancarboxaldeído, 3-metilbut-3-enil-6-O-β-D-glucopiranosil-β-D-glicopiranosídeo. Segundo os autores, os compostos americanina D, americanina, ácido logânico, rodolatusideo e 4-etil-2-hidroxi-succinato são relatados pela primeira vez nas sementes dessa planta.

3.5 – INIBIDORES DA ACETILCOLINESTERASE

3.5.1 – Doença de Alzheimer

A doença de Alzheimer (DA) é uma doença neurodegenerativa, que atinge primeiramente a memória, a capacidade de raciocínio e a comunicação. O quadro de sinais e sintomas dessa doença está associada à redução de neurotransmissores cerebrais, como acetilcolina (BERGMANN *et al.*, 1997), noradrenalina (COSTA *et al.*, 1994) e serotonina (BRYNE, 1998). O tratamento para essa doença consiste justamente na tentativa de restauração da função colinérgica; dessa forma, a elevação do nível da acetilcolina pode se mostrar útil na melhora da deficiência da aprendizagem, um dos sinais da doença (HERNANDEZ *et al.*, 2010).

A doença de Alzheimer é frequentemente associada à idade, cujos sintomas ocorrem de maneira progressiva afetando, principalmente, as funções cognitivas e neuropsiquiátricas (ZHAO E TANG, 2002). Além das dificuldades

de atenção e fluência verbal, outras funções cognitivas são deterioradas à medida que a patologia evolui entre elas a capacidade de fazer cálculos, as habilidades visuais, entre outras (LINDEBOOM E WEINSTEIN, 2004).

Segundo (HEINRICH E TEOH, 2004), a depressão também é um dos sintomas encontrados nos portadores da doença de Alzheimer. Para isso, um dos processos para aliviar o sintoma dessa doença é através de inibidores da acetilcolinesterase. Para o tratamento dessa patologia é necessária o uso de medicamentos, alvo principal de grandes pesquisas nos últimos 10 anos (HERNANDEZ *et al.*, 2010).

O estudo da atividade antioxidante também é um dos meios de se observar possíveis tratamentos para a DA (RESENDE *et al.*, 2008). NISHIDA *et al.* (2006) estudaram a relação entre a ausência de antioxidantes naturais em camundongos com a intensificação da doença. A explicação para essa relação pode ser possível devido à ação dos radicais livres contribuindo para processos inflamatórios (GOMES *et al.*, 2008), onde essas inflamações podem acarretar no surgimento da doença. Devido às relações entre os processos inflamatórios e a doença de Alzheimer, várias pesquisas também têm observado o uso de drogas antiinflamatórias como uma opção para o tratamento de pacientes portadores da doença de Alzheimer (TUPPO E ARIAS, 2005).

3.5.2 – Ação da acetilcolinesterase e hipótese colinérgica

A Acetilcolinesterase age como uma enzima catalisadora da hidrólise da acetilcolina (neurotransmissor). Esse neurotransmissor é encontrado no cérebro e nas junções neuromusculares, compondo parte do sistema nervoso parassimpático. Seus efeitos incluem a contração dos músculos lisos, dilatação dos vasos sanguíneos e regulação da taxa de batimentos cardíacos; no cérebro está envolvido nas sinapses associadas ao controle motor, memória e cognição (VIEGAS JR. *et al.*, 2004).

Sabe-se que uma das conseqüências da doença de Alzheimer é a redução do neurotransmissor acetilcolina (ACh). É a partir dessa redução de ACh, que se adotou a estratégia para a busca de novos fármacos que

apresentem a capacidade de retardar o desenvolvimento ou os sintomas dessa doença, principalmente, aprimorando a função colinérgica. O aumento da acetilcolina no organismo pode ocorrer através da inibição da enzima acetilcolinesterase (AChE) (MINETT E BERTOLUCCI, 2000).

3.5.3 – Fármacos para o tratamento da Doença de Alzheimer

Existe uma busca exaustiva para o tratamento e compreensão da doença de Alzheimer. Porém, uma terapia efetiva para a cura dessa doença ainda não foi observada (SERENIKI E VITAL, 2008). Embora o tratamento realizado através da administração de inibidores da enzima acetilcolinesterase (AChE) tenha consistentemente demonstrado eficácia sintomática e redução na progressão da patologia, esses medicamentos não foram eficientes para todos os tipos de pacientes, os quais a melhora ocorreu em aproximadamente 30-40% dos pacientes portadores da doença de Alzheimer leve a moderada (KIHARA *et al.*, 2004), ou seja, ainda no início da doença.

Existem diversos fármacos que apresentam a capacidade de ação anticolinérgica. Os medicamentos mais conhecidos são: tacrina®, donepezil®, rivastigmina® e a galantamina®. O potencial da tacrina (figura 4) para tratamento da doença de Alzheimer foi inicialmente descrito por SUMMERS *et al.* (1986). Essa droga foi o primeiro fármaco sintético aprovado pela Food and Drug Administration (FDA). Após o seu primeiro relato, vários estudos controlados foram realizados com a finalidade de verificar a real eficácia e segurança da tacrina no tratamento de pacientes com essa doença. Porém, KNAPP *et al.* (1994), que realizaram ensaios clínicos do uso da tacrina, observaram que muitos pacientes abandonaram o tratamento, devido ao surgimento de efeitos colaterais. Segundo DAVIS E POWCHIK (1995) o tempo de meia-vida dessa droga é de 3,5 horas e os principais efeitos colaterais são náuseas (28%) e diarreia (16%), embora a complicação mais temida seja a elevação das transaminases hepáticas (hepatite medicamentosa).

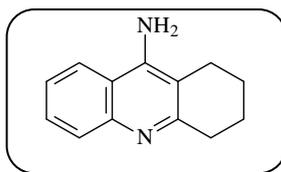


Figura 4 - Tacrina

O donepezil (Figura 5) foi a segunda medicação aprovada nos Estados Unidos para o tratamento da doença de Alzheimer. O estudo que serviu de base para a introdução da droga no mercado americano foi publicado por ROGERS E FRIEDHOFF (1996). O donepezil é um anticolinesterásico que apresenta meia-vida aproximada de 70 horas e que se mostrou eficaz no tratamento da doença em doses de 5 e 10 mg.

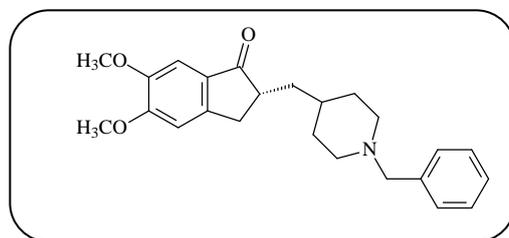


Figura 5 – Donepezil

A rivastigmina (Figura 6) é um dos medicamentos mais utilizados no tratamento da doença de Alzheimer, apresentando maior eficácia quanto ao aumento dos níveis cerebrais de acetilcolina (GROSSBERG, 2003). Entretanto, esse medicamento causou vários efeitos colaterais adversos quando a dose foi elevada abruptamente.

Estudos com animais de laboratório indicam que a rivastigmina inibe preferencialmente a acetilcolinesterase cerebral (ANAND E GHARABAWI, 1996). Além disso, a droga parece atuar de forma adequada no hipocampo e córtex cerebral, que são áreas significativamente comprometidas em pacientes com doença de Alzheimer.

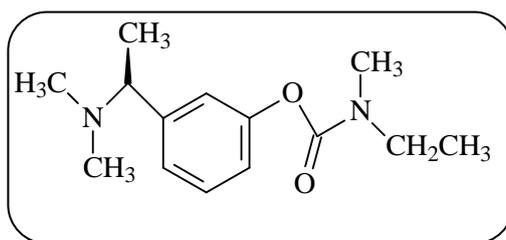


Figura 6 - rivastigmina

A galantamina (Figura 7), um alcalóide, é um produto natural isolado de várias espécies vegetais da família Amarillidaceae (principalmente da *Galanthus nivalis* L.) e que mostrou um grande potencial inibidor da AChE, apresentando uma ação longa, seletiva, reversível e competitiva, cujos efeitos terapêuticos permanecem mesmo após o término do tratamento (LÓPEZ *et al.*, 2002). O excelente perfil terapêutico dessa droga, que caracterizou um grande avanço no planejamento de fármacos para o tratamento da doença, é decorrente de seu mecanismo de ação duplo, como inibidor da AChE e como ligantes potencializadores alostéricos (APL) nos receptores nicotínicos cerebrais (QUIK E JEYARASASINGAM, 2002; MAELICKE *et al.*, 2000). A galantamina atua ligando-se ao sítio ativo da AChE cerebral e ainda estimula os receptores nicotínicos pré- e pós-sinápticos os quais podem, então, aumentar a liberação de neurotransmissores com ACh e glutamato, estimulando diretamente a função neuronal (FENNEL E VAN STADEN, 2001).

Em fevereiro de 2001, foi aprovada pelo FDA a disponibilidade do uso da galantamina no tratamento da doença de Alzheimer. No Brasil, esse medicamento encontra-se disponível a custos muito elevados (R\$ 316,00).

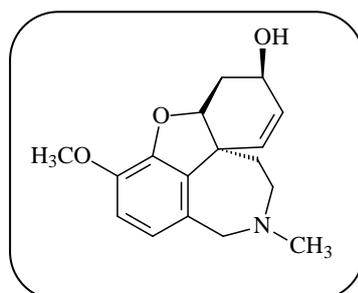


Figura 7 - galantamina

Existe uma grande utilização desses medicamentos no mercado, porém, está sendo reportados diversos efeitos prejudiciais à saúde. SCHULZ (2003) relata que esses medicamentos podem causar distúrbios gastrointestinais e problemas relacionados com a biodisponibilidade.

3.5.4 – Novos fármacos para o tratamento da doença de Alzheimer

Nos últimos 10 anos, a literatura revela atividade relativamente intensa na busca de novos inibidores da acetilcolinesterase em extratos de plantas (TREVISAN *et al.*, 2006), verificando-se expressivo interesse no isolamento e na identificação de novos inibidores da AChE. A utilização desses inibidores destaca-se como um dos bioensaios rápidos e sensíveis para a seleção de amostras com ação anticolinesterásica.

A diversidade estrutural dos inibidores da acetilcolinesterase conhecidos e a possibilidade de se explorar modos de ação distintos têm estimulado o estudo fitoquímico de várias espécies vegetais, que possam fornecer novos modelos de substâncias anticolinesterásicas. Estas substâncias são a alternativa terapêutica mais comumente empregada e que apresentam os melhores resultados para o controle da doença de Alzheimer (VIEGAS JR. *et al.*, 2004). Os trabalhos que se propõem a tais investigações apontam a preocupação com a descoberta de extratos orgânicos polares que apresentem essa atividade (HERNANDEZ *et al.*, 2010). Isolamento bio guiado de flavonóides (substâncias polares e conhecidos inibidores da acetilcolinesterase) em *Kalanchoe* estimula investigações adicionais com os extratos que contenham esses compostos (TREVISAN *et al.*, 2006). Alguns estudos utilizando pacientes tratados com o extrato padronizado de *Ginkgo biloba* revelaram que os efeitos foram comparáveis aos obtidos com o donepezil, que atualmente é um dos fármacos de escolha para o tratamento da doença de Alzheimer (GOLD *et al.*, 2002).

INGKANINAN *et al.* (2003) realizaram um “screen” dos extratos metanólicos de 32 plantas utilizadas tradicionalmente no Taiti como rejuvenescedor. Esse “screen” tinha como objetivo avaliar a capacidade que as

plantas apresentariam em inibir a enzima acetilcolinesterase (AChE). Os extratos das raízes de *Stephania suberosa* e *Tabernaemontana divaricata* apresentaram uma significativa atividade. Na Coréia, o estudo de sete ervas (*Acorus calamus*, *Acorus gramineus*, *Bupleurm facaltum*, *Dioscorea batatas*, *Epimedium koreanum*, *Poria cocos* and *Zizyphi jujuba*) utilizadas na medicina popular para a melhoria da memória e retardo das conseqüências da velhice apontaram a *Acorus calamus* e *Epimedium koreanum* como a mais potentes entre as plantas estudadas(OH *et al.*, 2004).

Segundo HERNANDEZ *et al.* (2010), que avaliaram as substâncias isoladas de plantas do gênero *Hypericum* quanto ao potencial inibitório de AChE, observaram que os flavanóides glicosilados isolados: rutina, isoquercitrina, hiperosídeo e quercitrina (Figura 8) têm esse potencial inibitório bastante elevados, comprovando a ação dos flavonóides encontrados em *Kalanchoe*, segundo TREVISAN *et al.*(2006). Além disso, o trabalho de HERNANDEZ *et al.* (2010) apontaram que não foram somente as substâncias isoladas que apresentaram essa atividade, mas os extratos aquosos de onde eles foram isolados também apresentaram um bom potencial. Com isso, pode-se dizer que esta atividade pode ser explicada pela presença dos compostos identificados, pois ficou demonstrado que todos eles têm atividade inibitória da AChE.

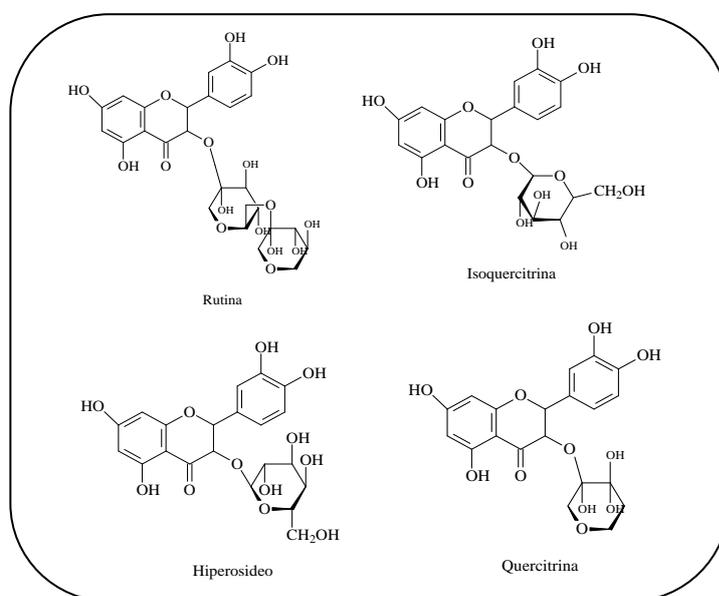


Figura 8 - Flavonóides glicosilados (rutina, isoquercetrina, hiperosídeo e quercitrina)

SANCHETI *et al.* (2009) estudaram as atividades anticolinesterásicas de cem plantas medicinais na Coréia. Os frutos da planta *Terminalia chebula* apresentaram significativa ação inibidora da acetilcolinesterase (AChE). O isolamento bioquímico desse extrato levou à substância 1,2,3,4,6-penta-O-galloil- β -D-glicose (Figura 9), que mostrou-se muito potente. O efeito inibitório dessa substância também foi avaliado utilizando o método em cromatoplaça, comparando com a tacrina (como o controle positivo), confirmando o seu efeito positivo. Com isso, o autor afirma que essa substância é um potente anti-Alzheimer obtido de fonte natural.

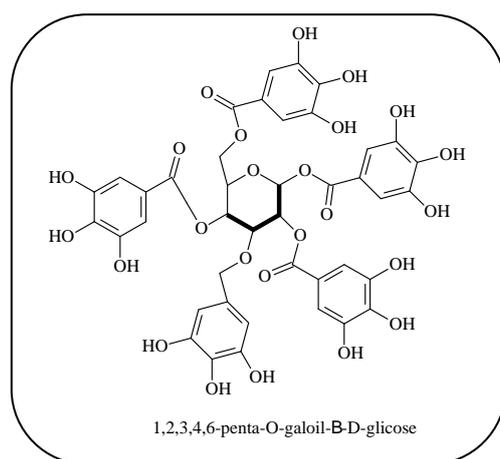


Figura 9 - 1,2,3,4,6 penta-O-galloil- β -D-glicose

Na *Physostigma venenosum*, planta usada na África, foi isolado o alcalóide indólico fisostigmina (Figura 10), apresentando-se como um potente inibidor da enzima AChE, inclusive em estudos *in vivo*. A fisostigmina, um inibidor reversível da AChE, é também reportado por apresentar significativos benefícios para pacientes com DA, mas o uso clínico pode ser limitado por sua meia-vida curta, o que exigiria doses diárias múltiplas (MUKHERJEE, 2001). O alcalóide anidrolidocodoneo (Figura 10), extraídos da *Lycopodium annotinum ssp. alpestre*, apresentou-se com maior potencial inibitório da enzima AChE (HALLDORSOTTIR *et al.*, 2010).

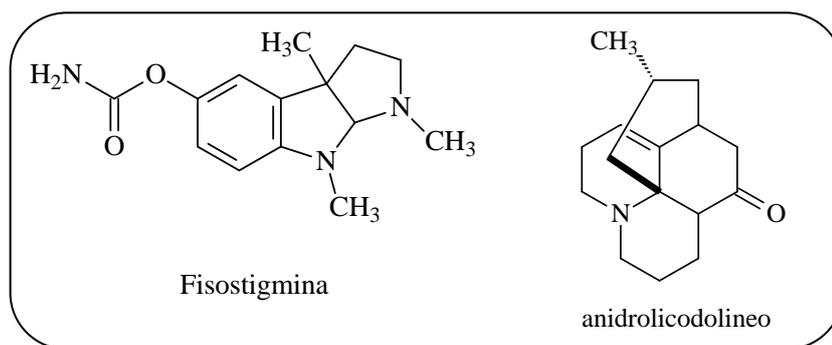


Figura 10 – Fisostigmina e anidrolcodoloneo

HUANG *et al.* (2010) observaram a atividade anticolinesterásica utilizando modelagem molecular com o núcleo básico da berberina (Figura 11), alcalóide isolada da erva *Coptis chinensis*, utilizada na China para o tratamento de diarreia e distúrbios gastrointestinais. A maioria dos derivados desse alcalóide inibem AChE, porém os autores apontaram o composto cloreto de 9-O-(4-(fenilol-1-iloxi)butil)-berberina (Figura 11), como o mais potente inibidor da AChE, até quando comparado com o padrão galantamina.

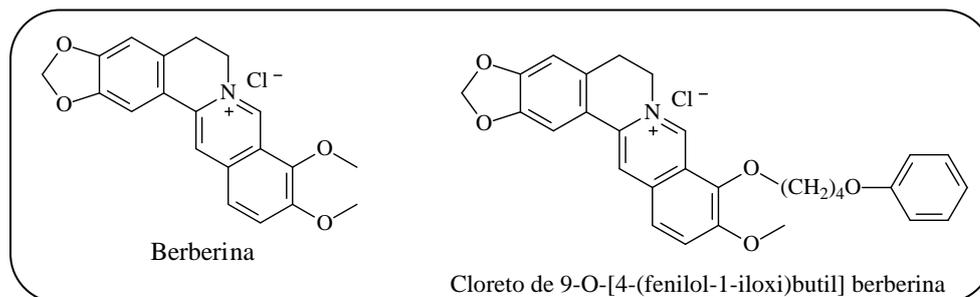


Figura 11 – Berberina e Cloreto de 9-O-[4-(fenilol-1-iloxi)butil] berberina

Por mais que a maioria dos estudos relacionados à busca de anticolinesterásicos em planta ocorra em extratos polares, existem também muitos estudos relacionando essa capacidade aos extratos apolares ou óleos essenciais. Vários óleos essenciais apresentam constituintes monoterpênicos que têm sido investigados quanto ao seu potencial inibidor da acetilcolinesterase (AChE). A maioria desses óleos tem apresentado excelentes atividades (MUKHERJEE *et al.*, 2007). Por exemplo, os óleos essenciais de *Melissa officinalis* e *Rosmarinus officinalis* têm sido reportados

por apresentarem ação inibitória *in vitro* contra a enzima (HOWES *et al.*, 2003a, b). Alguns monoterpenos já apresentam a sua atividade comprovada, como por exemplo, o geraniol, 3-careno e limoneno (Figura 12). Porém, apesar de muitos terpenos apresentarem essa capacidade, é complicado fazer uma correlação entre estrutura e atividade dessas substâncias, uma vez que existe uma grande diversidade entre esses compostos ativos. A única semelhança está na associação com a presença de ligantes hidrofóbicos.

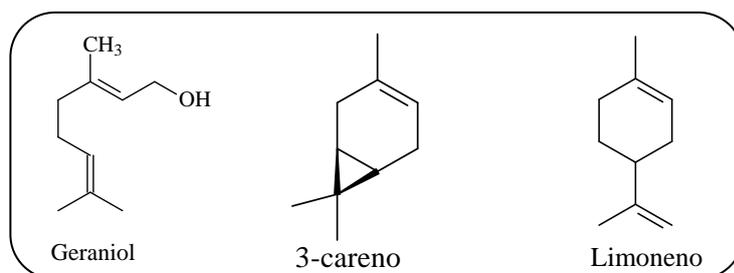


Figura 12 – Estrutura do geraniol, 3-careno e limoneno

3.6 – ESTUDO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

3.6.1 – Espécies reativas do oxigênio e radicais livres

Um radical livre é qualquer átomo ou grupo de átomos que pode existir independentemente, e que deve conter pelo menos um elétron livre (YOUNGSON, 1995) Os radicais livres são átomos ou moléculas produzidas continuamente durante os processos metabólicos e atuam como mediadores para a transferência de elétrons em várias reações bioquímicas, desempenhando funções relevantes no metabolismo (SHAMI E MOREIRA, 2004).

Os radicais livres do oxigênio podem atacar e danificar praticamente qualquer molécula encontrada no organismo. São tão ativos que, uma vez formados, passa-se apenas uma pequena fração de segundo antes que se liguem a alguma coisa. Ao fazê-lo, eles podem entregar seu elétron não-pareado ou eles podem capturar um elétron de outra molécula, a fim de formar um par. De uma forma ou de outra, os radicais acabam ficando estáveis, mas a molécula atacada, em si, transformou-se em um radical. Isso inicia uma reação

em cadeia que pode agir destrutivamente sobre um tecido, por exemplo (YOUNGSON, 1995).

As espécies reativas do oxigênio (EROs) relatadas são: ânion superóxido (O_2^-), radical hidroxila ($OH\cdot$), óxido nítrico ($NO\cdot$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), entre outros, que desempenham um papel vital em processos biológicos de produção de energia, fagocitose e transdução de sinais (BOREK, 1997). Destes, o radical hidroxila é o mais reativo na indução de lesões nas moléculas celulares e o peróxido de hidrogênio, apesar de não ser considerado um potente radical livre, é capaz de atravessar a membrana nuclear e induzir danos na molécula de DNA (ANDERSON, 2000).

Estresse redox é comumente definido como o desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio e a remoção destas pelos sistemas químicos e enzimáticos de defesa antioxidante e, também, pelo reparo enzimático das biomoléculas lesadas (VASCONCELOS *et al.*, 2007; RAHMAN *et al.*, 2006).

Há fatores de diversas ordens associados ao estresse redox nos organismos, como: hábitos de vida considerados inapropriados (consumo de álcool, tabagismo, dieta inadequada, exercício físico realizado de forma extrema e exposição à radiação não ionizante ultravioleta e outras ondas curtas), condições ambientais impróprias (temperatura elevada e poluição ambiental, domiciliar e ocupacional), envelhecimento e estados psicológicos que provoquem estresse emocional. Há também patologias crônicas (diabetes mellitus, hipertensão arterial, câncer, entre outras) e patologias degenerativas (Mal de Alzheimer e Mal de Parkinson) associadas a esse estresse (HALLIWELL E GUTTERIDGE 2007).

A produção excessiva de radicais livres pode conduzir a diversas formas de dano celular e sua cronicidade pode estar envolvida com o desenvolvimento de numerosas doenças (SPEISKY E JIMÉNEZ, 2000). Sabe-se que grande parte das principais doenças que matam as pessoas prematuramente ou destroem sua qualidade de vida o fazem através dos radicais livres. Se não forem detectados, eles atacam constantemente as proteínas, os carboidratos, as gorduras e o DNA, causando danos potencialmente sérios.

3.6.2 – Compostos Antioxidantes

Os antioxidantes podem ser definidos como qualquer substância que, presente em baixas concentrações, quando comparada a um substrato oxidável, atrasa ou inibe a oxidação desse substrato de maneira eficaz. O sistema de defesa antioxidante é formado por compostos enzimáticos e não-enzimáticos, estando presentes tanto no organismo (localizados dentro das células ou na circulação sanguínea) como nos alimentos ingeridos (SHAMI E MOREIRA, 2004).

De acordo com DEGÁSPARI E WASZCZYNSKYJ (2004), os organismos vivos estão constantemente sujeitos à ação do oxigênio, sendo que diversos estudos têm demonstrado que o consumo de substâncias antioxidantes na dieta diária, pode produzir uma ação protetora efetiva contra estes processos oxidativos que ocorrem no organismo. Foi descoberto que uma série de doenças entre as quais câncer, arterosclerose, diabetes, artrite, doenças do coração, podem estar ligadas aos danos causados por formas do oxigênio extremamente reativas. Estas substâncias também estão ligadas com processos responsáveis pelo envelhecimento do corpo.

RENAUD *et al.* (1998) afirmam ter aumentado o interesse em um maior conhecimento entre os consumidores e a comunidade científica sobre os antioxidantes naturais, particularmente os encontrados em frutas e vegetais, porque estudos farmacológicos mostram que o consumo desses antioxidantes está associado com os baixos riscos de doenças. De acordo com HALLIWELL (2007), os efeitos defensivos de antioxidantes naturais em frutas e plantas têm relatado três grandes grupos: vitaminas, fenólicos e carotenóides.

Atualmente, vários esforços têm sido feitos para identificar substâncias quimiopreventivas naturais capazes de inibir, retardar, ou inverter as múltiplas fases da carcinogênese. Uma grande variedade de compostos fenólicos, particularmente aqueles encontrados em plantas medicinais, foi relatada por possuírem atividades anticarcinogênica e antimutagênica. A maioria destes compostos fenólicos de ocorrência natural possui propriedades antioxidativas que parece contribuir para a quimioprevenção (OWEN *et al.*, 2001). O grande

interesse na substituição de antioxidantes alimentares sintéticos por naturais despertou intensa procura por materiais vegetais brutos para a identificação de novos antioxidantes (MOURE *et al.*, 2001).

A eficiência antioxidante dos compostos em alimentos de origem vegetal depende de sua estrutura e da sua concentração no alimento. Por sua vez, a quantidade destas substâncias em vegetais é amplamente influenciada por fatores genéticos e condições ambientais, além do grau de maturação e variedade da planta, entre outros aspectos (FRIEDMAN, 2003).

Em decorrência da grande diversidade química existente, em especial entre os compostos fenólicos, vários ensaios têm sido desenvolvidos para avaliação da capacidade antioxidante de amostras. Alguns deles determinam a habilidade dos antioxidantes em seqüestrar espécies reativas geradas no meio reacional. Outros avaliam a eficiência dos antioxidantes em inibir a peroxidação lipídica por meio de quantificação dos produtos da reação; quantificação dos produtos da decomposição da peroxidação lipídica, ou medição da inibição da oxidação do lipídio do sistema pelo antioxidante a ser testado (OLIVEIRA *et al.*, 2009).

3.6.3 – Atividade antioxidante de *Morinda citrifolia* L. (noni)

SU *et al.* (2005) isolaram 19 compostos das frutas de *Morinda citrifolia* L. (noni) e todos foram avaliados quanto a sua atividade antioxidante pelo método do DPPH e do ânion ONOO⁻. Desses compostos, somente a americanina A apresentou ação antioxidante com o método do DPPH, com IC₅₀ 16,9 µM. Já para o método do ânion ONOO⁻ a americanina A e o narcissosideo (Figura 13) apresentaram atividade, sendo os seus IC₅₀ de 3,3µM e 3,8 µM, respectivamente. SU *et al.* (2005) relataram que o isolamento da americanina A nos frutos de *Morinda citrifolia* L. (noni) pode ser uma das principais substâncias responsáveis pela boa ação antioxidante encontrada no suco de noni, fato também observado no estudo realizado por ZIN *et al.* (2002).

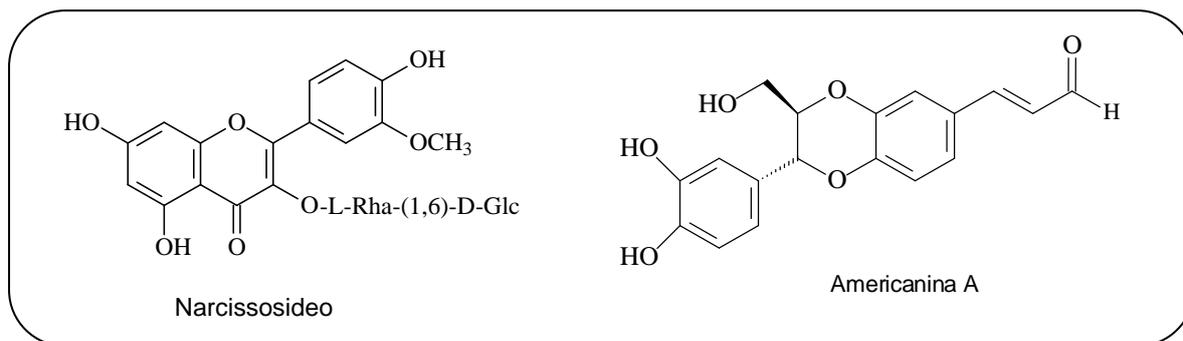


Figura 13 – Narcissosideo e americanina A.

A Isoscooletina e quercetina (Figura 14), substâncias pertencentes aos grupos dos compostos fenólicos, foram isoladas do suco fermentado da fruta de *Morinda citrifolia* L. (noni), indicando que as propriedades antioxidantes desse suco estar, possivelmente, atribuída a presença desses compostos fenólicos (LIU *et al.*, 2007). A quercetina apresenta diversas atividades biológicas, tais como anti-úlceras, anti-alérgico, antiviral, atividade imunomoduladora e inibição da peroxidação lipídica (SUBRAMANIAM *et al.*, 2003; VOLONTE *et al.*, 2002). O mecanismo da quercetina como um antioxidante é provado pela capacidade dessa substância de sequestrar espécies reativas de oxigênio e íons metálicos. No estudo de LIU *et al.* (2007) foi demonstrado que a atividade antioxidante da quercetina foi resultado de sua capacidade de sequestrar os radicais hidroxila.

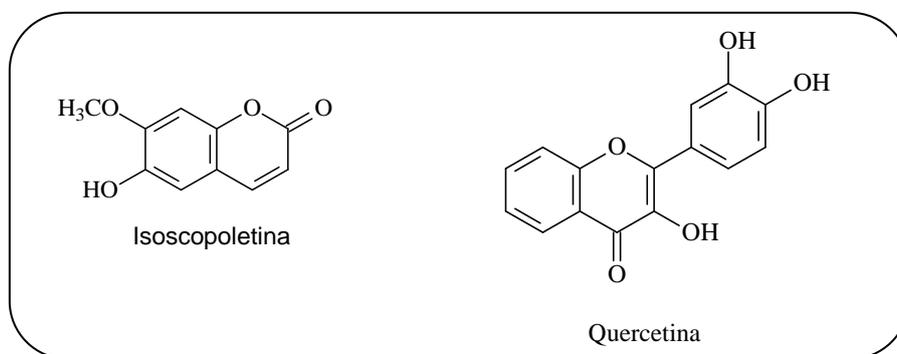


Figura 14 – Isoscooletina e quercetina

3.7 – REMOÇÃO DE CROMO EM ÁGUA

3.7.1 – Metais pesados

Átomos que apresentam número atômico maior que 20 e que têm densidade maior que 5 g.cm^{-3} são comumente chamadas de “metais pesados”. Embora esse termo seja bastante conhecido, não possui uma definição própria e que seja comum a todos os profissionais. Dependendo da área em que se atua, diferentes significados podem ser associados ao termo. Como muitos destes metais são comprovadamente tóxicos, tornou-se usual identificar qualquer metal tóxico, independentemente de sua densidade, como metal pesado (HOMEM, 2001).

Os metais pesados correspondem a um grupo de 65 elementos, e os que mais ocorrem em processos industriais são: Ag, Au, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Mo, Ni, Pb, V, Zn e elementos radioativos como Th, U, entre outros (GONÇALVES JR. *et al.*, 1999).

A preocupação e o interesse com as questões ambientais vêm aumentando com o passar das décadas (BABEL E KUMIAWAN, 2004). Cientistas do mundo inteiro vêm desenvolvendo pesquisas que visam avaliar e diminuir os impactos da poluição na biosfera, além de desenvolver tecnologias limpas, que geram menos resíduos. Dentre os vários poluentes, os metais têm recebido atenção especial, uma vez que alguns são extremamente tóxicos, para uma grande variedade de organismos, mesmo em concentrações extremamente baixas (BABEL E KUMIAWAN, 2004; DAKIKY *et al.*, 2002), o que tem promovido maior atenção e pesquisas, nos últimos anos, destinados aos efeitos causados por esses poluentes, principalmente, relacionado aos meios de remoção de tais metais (ELANGO VAN *et al.*, 2008).

As principais fontes de poluição por metais pesados são provenientes dos efluentes industriais, de mineração e das lavouras. Estes metais, quando lançados sem tratamento prévio, são altamente móveis no meio ambiente e acumulativo na cadeia alimentar (KUMAR E BANDYOPADHYAY, 2006). A presença destes íons metálicos, em excesso nos corpos d'água, é uma

ameaça potencial à saúde pública, à fauna e à flora, pois muitos são conhecidos pela natureza carcinogênica (GRUPTA E ALI, 2004).

3.7.2 – Cromo

Dentre as diversas formas de valência do cromo em solução, as mais usuais são as formas trivalente (Cr^{3+}) e hexavalente (Cr^{6+}). O Cromo trivalente (Cr^{3+}) é reconhecido atualmente como um elemento essencial no metabolismo de carboidratos e lipídeos, sendo a sua função diretamente relacionada com o mecanismo de ação da insulina (VINCENT, 2000). A quantidade recomendada de cromo (III) a ser consumida diariamente é de 50-200 μg , no entanto, a falta desse elemento na alimentação pode causar sérias complicações na saúde, como diabete e problemas cardiovasculares (ANDERSON, 1998). Segundo o CONAMA, Resolução nº 397/2008, o limite máximo de despejo dessa valência do metal é de 1,0 mg.L^{-1} , em efluentes.

Ao contrário do íon trivalente, o cromo no estado de oxidação hexavalente (Cr^{6+}) é classificado como composto mutagênico e carcinogênico em animais (ELANGO VAN *et al.*, 2008). Além disso, é um estado tóxico para plantas e animais, agindo como um potente oxidante (COSTA E KLEIN, 2006). O descarte de Cr (VI) em ambientes aquáticos é regulado para valores abaixo de 0,05 mg.L^{-1} , definido pela Environmental Protection Agency (EPA) U.E. (BARAL E ENGELKEN, 2002) e de 0,1 mg.L^{-1} pela CONAMA Resolução nº 397/2008. O dicromato ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{-2}$) e o ácido crômico estão entre os compostos de cromo (VI) economicamente mais importante e mais utilizados.

O cromo é um metal pesado e que esta sendo utilizadas em várias industriais, tais como curtumes, metalúrgicas, revestimentos, acabamentos metálicos (SINGH E SINGH, 2002), preservação de madeira, fabricação de tintas, corantes e papel (KHEZAMI E CAPART, 2005). Crescente atenção tem sido dada aos riscos de saúde causados pela existência desse metal em meio aquoso e sua acumulação em tecidos vivos, representando um grave problema para a saúde. O cromo (VI) foi considerado como um dos principais (entre os 16 maiores) poluentes tóxicos para o meio ambiente e, devido as suas

características carcinogênicas e teratogênicas, tornou-se um sério problema de saúde (GARDEA-TORRESDEY *et al.*, 2000). No entanto, a questão da contaminação por Cr (VI) não é um problema que se restringe aos limites industriais ou aos que trabalham diretamente com os compostos, mas é também um problema ambiental (JORDÃO *et al.*, 1999).

3.7.3 – Remoção de metais em água

Uma alternativa bastante utilizada na remoção de metais de águas residuais e de processos industriais (galvanoplásticos, metalúrgicos, etc.) envolve os métodos convencionais de tratamento físico-químico: coagulação, floculação, sedimentação e filtração (NGAH *et al.*, 2002). Entretanto, estes métodos são de baixa eficiência operacional e apresenta elevados custos, o que dificulta a sua aplicabilidade (RAO *et al.*, 2002).

Diante disso, vários outros métodos alternativos vêm sendo investigados, como, por exemplo, a eletrodialise, a osmose reversa, a ultrafiltração e a adsorção com biosorventes. A grande vantagem da adsorção sobre as outras é a baixa geração de resíduos, fácil recuperação dos metais e a possibilidade de reutilização do adsorvente (SPINELLI *et al.*, 2004).

A existência de processos de tratamento químico e eletroquímico para diminuir a concentração de Cr (VI) em soluções aquosas geralmente envolve a redução de Cr (VI) para Cr (III) e, subsequentemente, o ajuste do pH da solução para condições quase neutras e, dessa forma, promover a precipitação dos íons de Cr (III) produzidos (EARY E RAI, 1988). No entanto, estes métodos têm sido considerados indesejáveis, devido ao uso de produtos químicos caros, com pouca eficiência de remoção do metal para atingir o cumprimento das normas regulamentares (CABATINGAN *et al.*, 2001), além da produção de grandes quantidades de lama química (BISHNOI *et al.*, 2004).

A adsorção é um método bastante eficaz e versátil, já bastante utilizado na remoção de metais tóxicos em solução aquosa (SOUSA *et al.*, 2007; GRUPTA E ALI, 2000). O principal material utilizado para a remoção de íons metálicos é o carvão ativado, porém o alto custo deste material é um sério

problema (GRUPTA *et al.*, 2003). Diante dessas dificuldades, há um interesse crescente na utilização de adsorventes de baixo custo e de fácil disponibilidade (WARANUSANTIGUL *et al.*, 2003). Assim, o uso desses adsorventes de origem biológicos e/ou de fonte renovável, baixo custo, fácil manuseio e com menor impacto ambiental vem sendo incentivada (AGARWAL *et al.*, 2006; HORSFALL *et al.*, 2006; SAEED *et al.*, 2005).

Atualmente, pode-se citar a grande busca por adsorventes naturais que possam minimizar a quantidade de metais existente em efluentes. Alguns, tais como microrganismos (BAI E ABRAHAM, 2002), algas (GRUPTA *et al.*, 2001), vegetais (SEKRAR 2003), cascas de eucalipto (SARIN E PANT, 2006), cascas de amendoim (RICORDEL *et al.*, 2001) ,flores de palmeira (ELANGO VAN *et al.*, 2008), entre outros, já são relatados com tal propriedade.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 – DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL

4.1.1 - Determinação estrutural de SMCH-311

O fracionamento cromatográfico da fração acetato de etila do extrato hexânico das sementes de *Morinda citrifolia* L. (noni), segundo o procedimento experimental (item 5.8, página 87), resultou no isolamento de um sólido com a presença de cristais incolores. Esse sólido é solúvel em clorofórmio, apresentou faixa de fusão de 131,5-133,5°C e, após a análise em cromatografia em camada delgada (CCD) e revelação com vanilina, apresentou-se com uma única mancha rosada, sendo rotulada de SMCH-311 (10 mg).

O espectro de RMN ^1H (figura 15), obtido com CDCl_3 a 500 MHz, mostrou a presença de sinais em δ 0,69 (s); 1,01 (s) e 0,79 – 0,88 (m) referentes à absorção de hidrogênios de grupos metílicos (CH_3). Dois sinais em δ 5,15 (m) e δ 5,03 (m), característicos de prótons olefínicos. Sinais em δ 5,35 (s) de hidrogênio olefínico e δ 3,54 (m) de hidrogênio ligado a carbono oxigenado. Como esse espectro assemelhou-se ao de uma mistura bastante comum em plantas, pode-se concluir que se trata da mistura estigmasterol e β -sitosterol. O isolamento de cada componente dessa mistura é dificultado para uma separação em coluna de gel de sílica, pois se trata de uma mistura cujas estruturas são bastante semelhantes (a diferença existe somente na dupla ligação no carbono 22 do estigmasterol).

De acordo com o espectro de absorção na região do infravermelho (IV) (figura 16), foi possível observar uma banda em 3420 cm^{-1} referente a estiramento axial da ligação O-H, as absorções em 2937 e 2863 cm^{-1} características do estiramento axial da ligação C-H de grupamento metila além de se observar uma banda em 1463 cm^{-1} que se refere a deformação angular da ligação C-H de sistema cíclico, uma absorção em 1378 cm^{-1} relacionada a deformação angular da ligação C-H, e as bandas em 1057 e 963 cm^{-1} referentes a deformação angular da ligação C-H de alquenos. Essas

características do espectro de Infravermelho confirmaram a determinação da mistura, sendo dispensados os demais espectros para a sua confirmação.

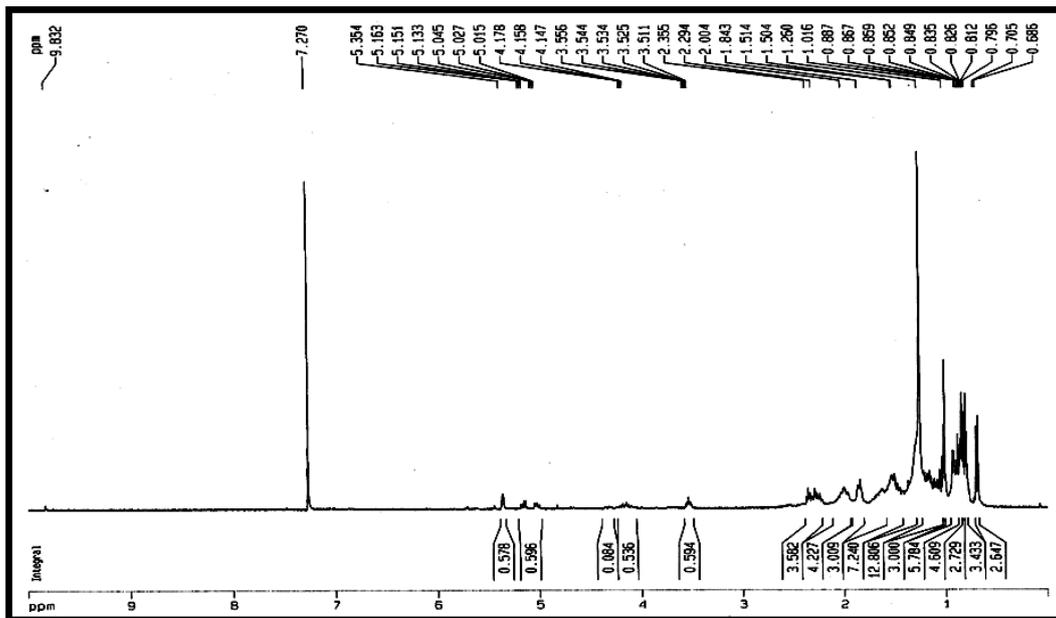


Figura 15 - Espectro de ^1H -RMN de SMCH-311 (em CDCl_3)

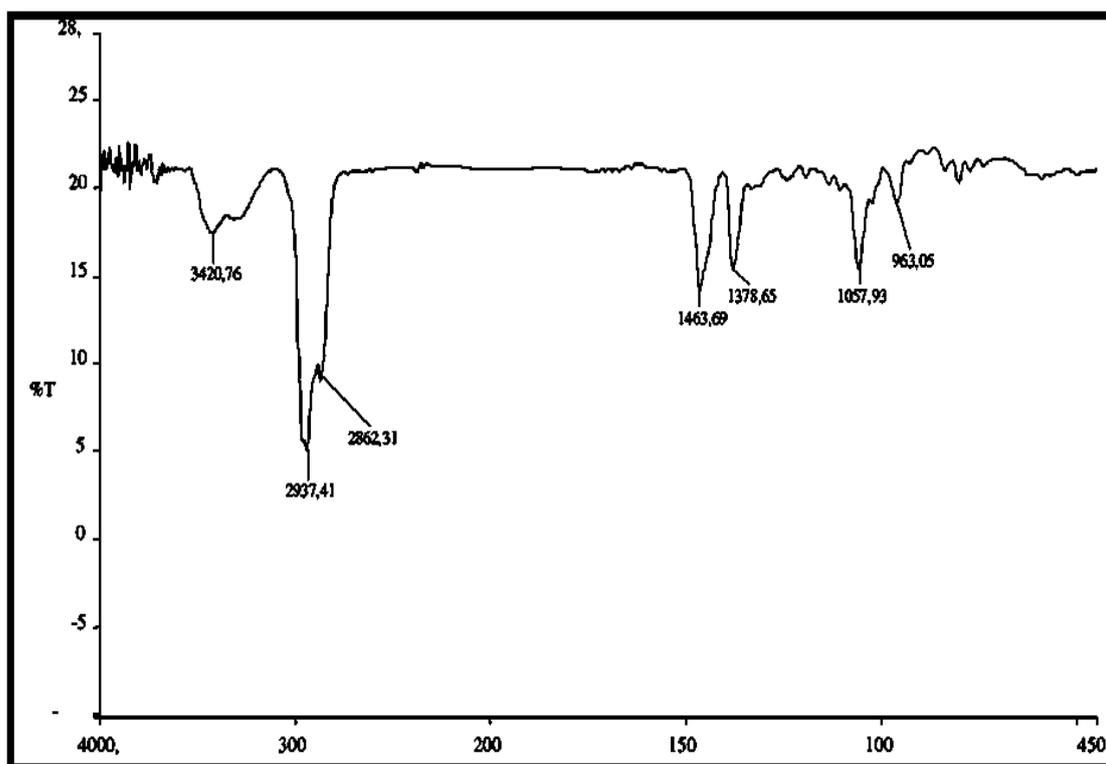


Figura 16 - Espectro de Infravermelho de SMCH-311 (em KBr)

Após análise dos dados citados acima, foi possível confirmar que a fração SMCH-311 trata-se de uma mistura bastante comum em plantas de grande porte, sendo denominador de β -sitosterol e estigmasterol (figura 17), os quais se apresentam na literatura com potencial antituberculoso (SALUDES *et al.*, 2002).

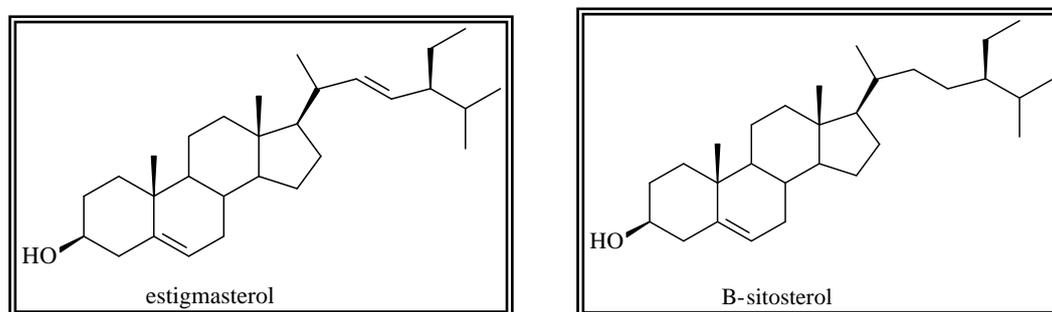


Figura 17 – Estrutura do β -sitosterol e estigmasterol

4.1.2 - Determinação estrutural de SMCH-321

O tratamento cromatográfico da fração acetato de etila do extrato hexânico das sementes de *Morinda citrifolia* L. (noni), segundo o procedimento experimental (item 5.8, página 87), culminou no isolamento de um sólido branco amorfo, solúvel em uma mistura de diclorometano:metanol (1:1) e com faixa de fusão de 233,2 a 235,70°C. Na sua análise em cromatografia em camada delgada (CCD), apresentou-se com uma única mancha de coloração azul escuro após revelação com vanilina, sendo rotulada como SMCH-321 (70 mg).

O espectro de massa de SMCH-321 (figura 18), obtido pela técnica de ionização por impacto eletrônico, mostrou pico base em $m/z = 248$ e pico do íon molecular de pequena intensidade em $m/z = 456$, sugerindo a fórmula molecular $C_{30}H_{48}O_3$.

O espectro de RMN 1H de SMCH-321 (figura 19), obtido com uma mistura de $CDCl_3:CD_3OD$ (1:1) a 500 MHz, apresentou um singlete largo em δ 4,98 (1H, s), característico de hidrogênio olefínico; absorção em δ 2,92 (1H, dd), característico de hidrogênio ligado a carbono oxigenado. O sinal em δ 1,93 (1H, d, $J=11,1$) é característico de hidrogênio presente em carbono alílico (sp^2). Na região atribuída à absorção de metilas, observaram-se sinais em δ 0,61 (3H,

d) e δ 0,69 (3H, d) referentes a dois grupos metilas vizinhos a carbonos monoidrogenados, além de sinais em δ 0,52 (3H, s), δ 0,57 (3H, s), δ 0,67 (3H, s), δ 0,75 (3H, s), δ 0,84 (3H, s) atribuídos a cinco grupos metilas ligados a carbonos quaternários. Em δ 0,47 é observado um dubleto (1H, $J=11,29$) de hidrogênio metínico (CH).

Analisando os dados do espectro de RMN ^{13}C -BB (figura 20), e RMN ^{13}C -DEPT 135° (figura 21) de SMCH-321, obtidos em $\text{CDCl}_3:\text{CD}_3\text{OD}$ (1:1) a 125 MHz, para posterior relação com os sinais de hidrogênio citados anteriormente, foi possível organizar a tabela 3 (página 50), na qual constam os valores de sete carbonos metílicos (CH_3), nove carbonos metilênicos (CH_2), sete metínicos (CH) e sete carbonos não hidrogenados (C), resultando em trinta linha espectrais de carbonos, característicos de triterpenos pentacíclicos. Existem três sinais bastante característicos para um esqueleto ursânico, esses sinais são: δ 180,36 de carbono de ácido carboxílico (não é hidrogenado), δ 138,03 de carbono não hidrogenado, característico de olefínicos (sp^2) e δ 125,34 de carbono olefínico hidrogenado. Esses sinais representam, respectivamente, os carbonos C-28, C-13 e C-12 do triterpeno ácido ursólico.

No espectro de RMN bidimensional COSY $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ (figura 22), observou-se as seguintes correlações: o hidrogênio H-3 (δ 2,92) com o H-2 (δ 1,24); H-12 (δ 4,98) com o hidrogênio H-11 (δ 1,75); hidrogênio H-18 (δ 1,93) com o H-19 (δ 1,00). Os espectros de RMN bidimensional HSQC demonstram correlações $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (figura 23), nas quais são observados acoplamentos entre carbonos e hidrogênios ligados entre si (SILVESTEIN, 2000). Foi possível observar os seguintes acoplamentos: hidrogênio metínico em δ 0,47 (H-5) com o carbono em δ 55,1 (C-5); hidrogênio alílico δ 1,93 (H-18) com o carbono em δ 52,7 (C-18); hidrogênio metínico em δ 2,92 (H-3) com o carbono em δ 78,47 (C-3); hidrogênio olefínico δ 4,98 (H-12) com o carbono em δ 125,34 (C-12).

É comum o isolamento da mistura ácido ursólico com o ácido oleanólico, devido à semelhança existente entre as moléculas, porém existe uma diferença entre eles que torna possível a sua identificação isoladamente, isso ocorre devido à diferença entre os deslocamentos químicos existentes entre os H-18, C-18, C-12 e C-13 (KONTOGIANNI *et al.* 2009). Na tabela 3 são observadas essas diferenças entre os carbonos do ácido oleanólico e ursólico.

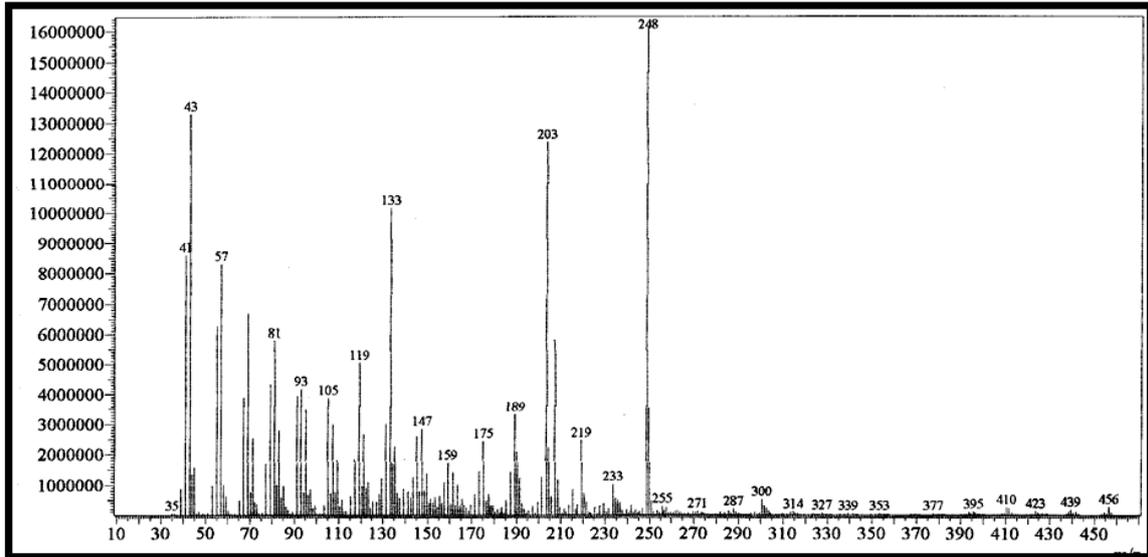


Figura 18 - Espectro de massa de SMCH-321

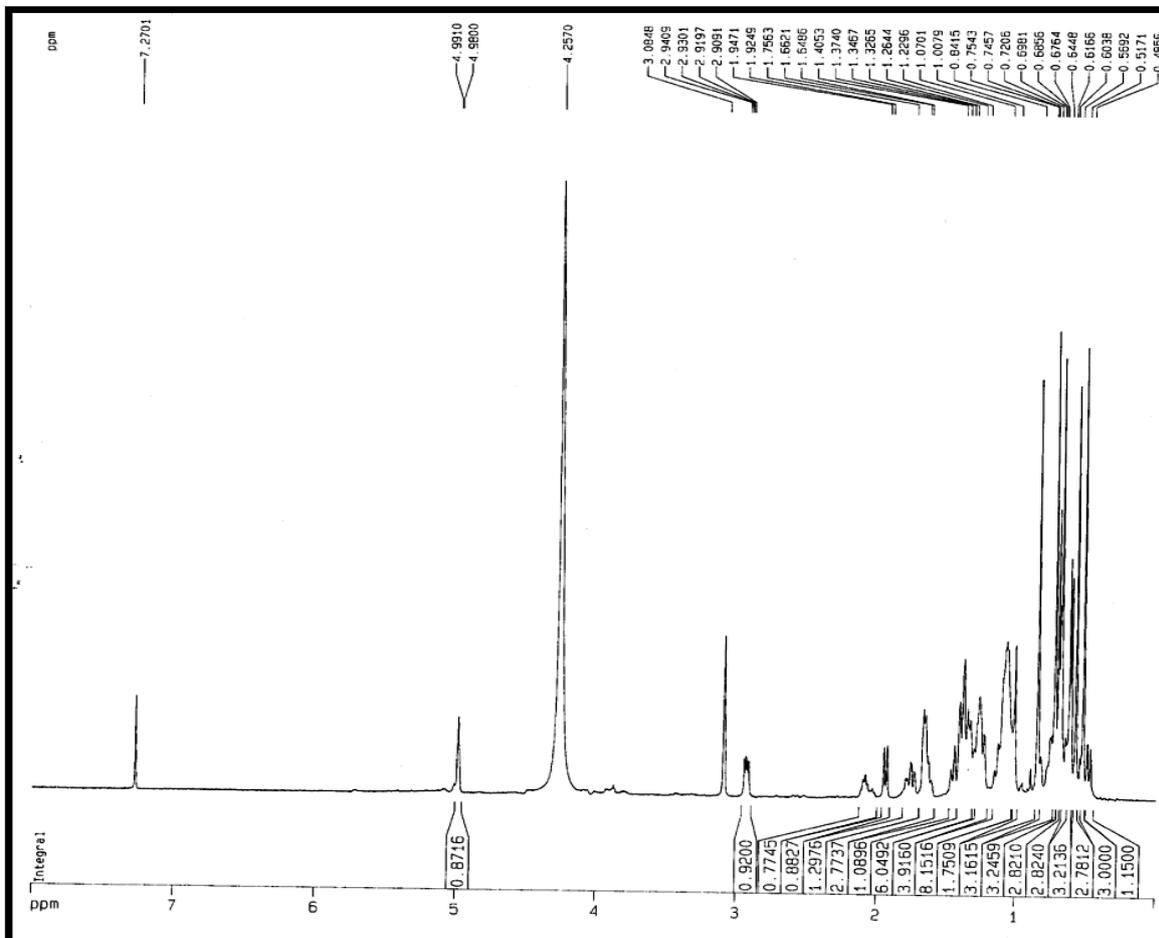


Figura 19 - Espectro de ¹H-RMN de SMCH-321 (CDCl₃:CD₃OD)

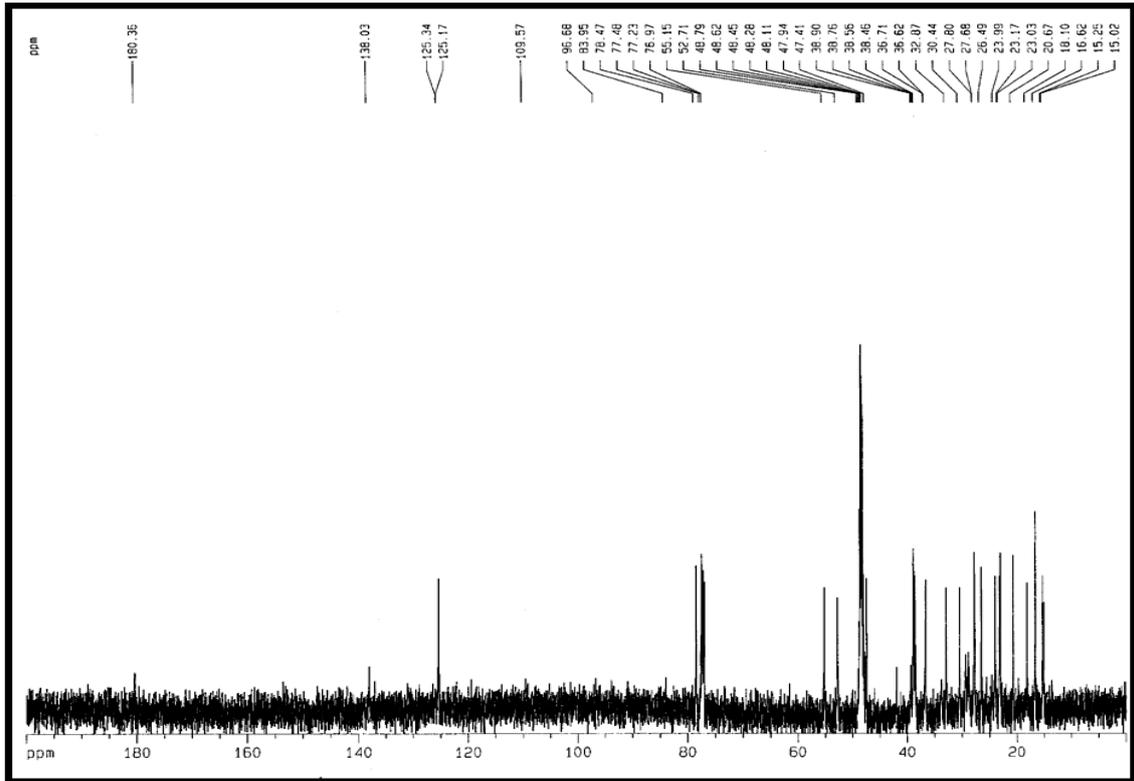


Figura 20 - Espectro de ^{13}C -RMN de SMCH-321 ($\text{CDCl}_3:\text{CD}_3\text{OD}$)

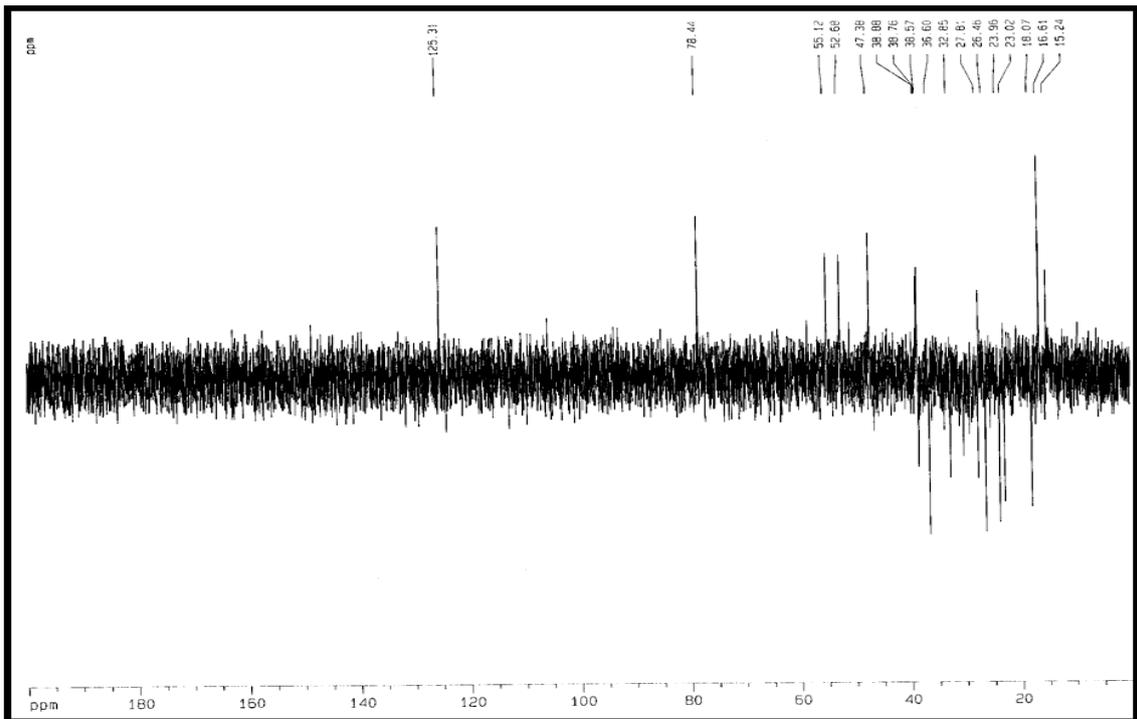


Figura 21 - Espectro de ^{13}C -RMN DEPT 135° de SMCH-321 ($\text{CDCl}_3:\text{CD}_3\text{OD}$)

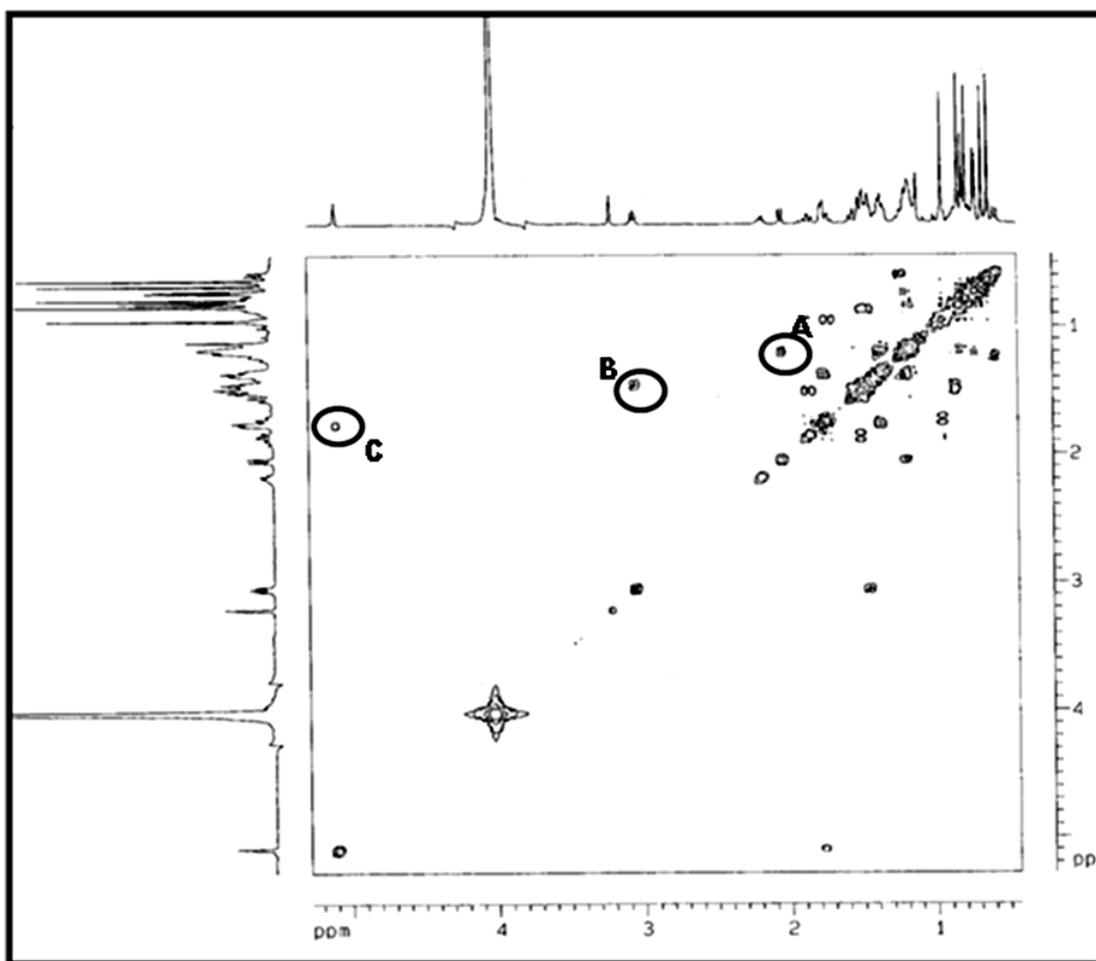
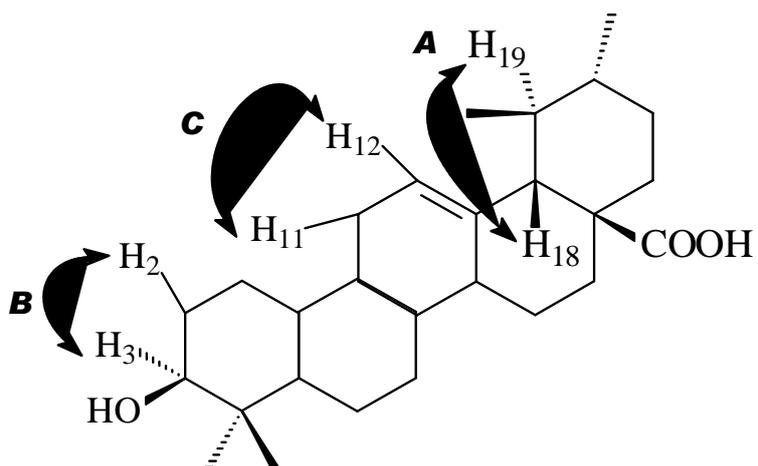


Figura 22 - Espectro de COSY (500, 125 MHz, CDCl₃:CD₃OD) de SMCH-321

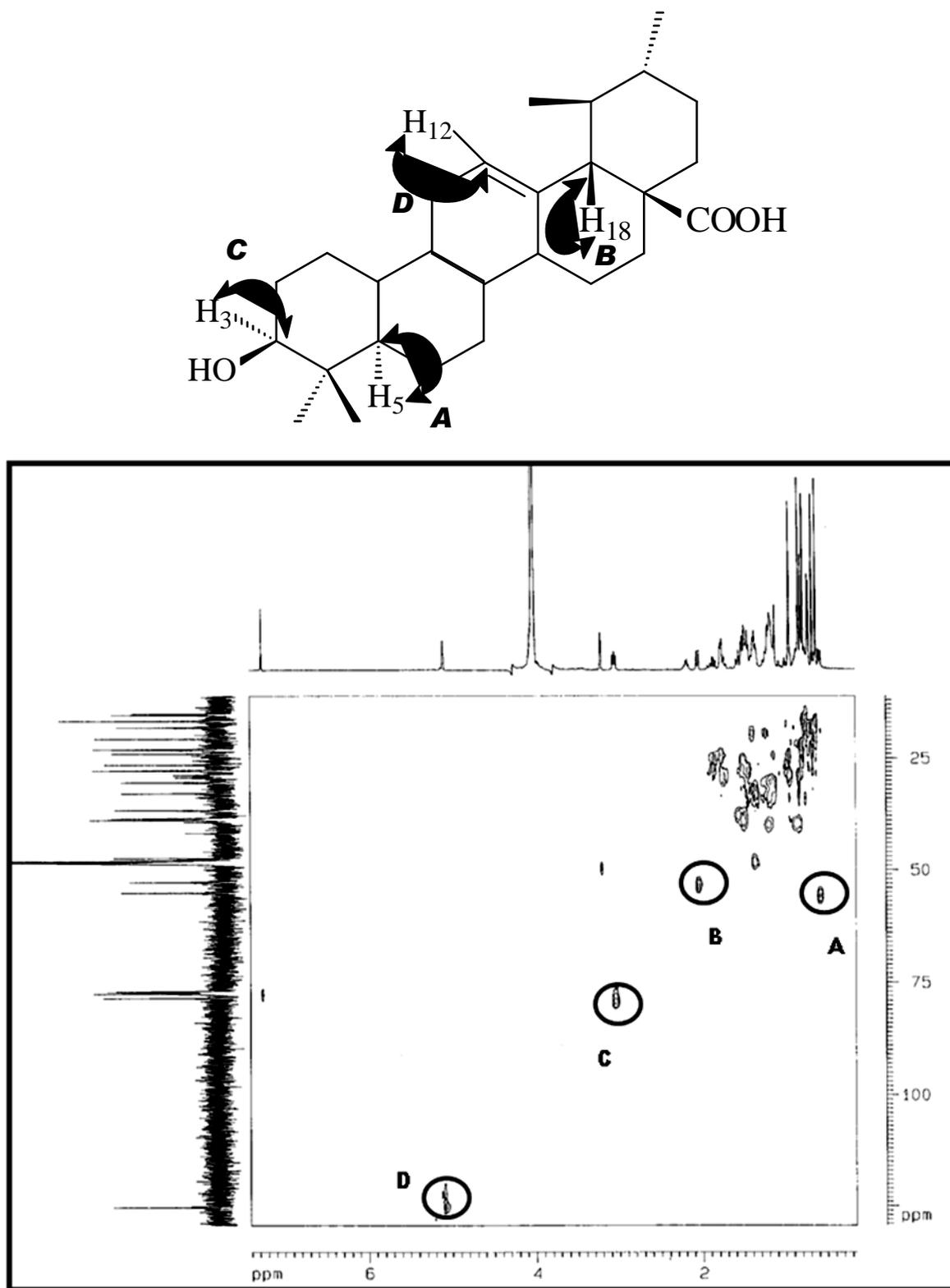


Figura 23 - Espectro de HSQC (500, 125 MHz, CDCl₃:CD₃OD) de SMCH-321

Tabela 3 - Relação entre os carbonos dos ácidos oleanólico e ursólico obtidos da literatura (CD₃COCD₃) com os dados obtidos de SMCH-321

C(n)	Ácido oleanólico	Ácido ursólico		SMCH 321
	Literatura ^A	Literatura ^B	Literatura ^C	
1 (CH ₂)	38,5	39,8	38,2	38,6
2(CH ₂)	27,4	28,9	26,9	26,5
3 (CH)	78,7	78,6	76,8	78,4
4 (C)	38,7	39,5	38,3	38,5
5 (CH)	55,2	56,3	54,7	55,1
6 (CH ₂)	18,3	19,2	17,9	18,0
7 (CH ₂)	32,6	34,0	32,6	32,9
8 (C)	39,3	40,4	40,0	39,3
9 (CH)	47,6	48,5	47,0	47,4
10 (C)	37,0	37,7	36,5	36,7
11 (CH ₂)	23,1	24,1	22,8	23,0
12 (CH)	122,1	126,1	124,5	125,3
13 (C)	143,4	139,7	138,2	138,0
14 (C)	41,6	43,0	41,6	41,8
15 (CH ₂)	27,7	29,1	27,5	27,8
16 (CH ₂)	23,4	25,4	23,8	24,0
17 (C)	46,6	48,5	46,8	48,7
18 (CH)	41,3	54,0	52,3	52,7
19 (CH)	45,8	39,9	38,5	38,9
20 (CH)	30,6	39,9	38,4	38,8
21 (CH ₂)	33,8	31,5	30,2	30,4
22 (CH ₂)	32,3	37,9	36,3	36,6
23 (CH ₃)	28,1	29,3	28,2	27,7
24 (CH ₃)	15,6	17,0	16,0	16,6
25 (CH ₃)	15,3	16,1	15,2	15,2
26 (CH ₃)	16,8	17,9	16,9	16,6
27 (CH ₃)	26,0	24,4	23,2	25,6
28 (COOH)	181,0	180,0	178,2	180,4
29 (CH₃)	33,1	18,0	17,0	16,6
30 (CH ₃)	23,6	21,9	21,0	16,6

A – MAHATO E KUNDU, 1994

B – ALVES *et al.*, 2000

C – SILVA, 2003

O ácido ursólico (figura 24) foi relatado nas sementes de *M. citrifolia* L. (noni), pela primeira vez, por MASUDA *et al.* (2009). Também já foi ocorrido o seu isolamento nas folhas (TAKASHIMA *et al.*, 2007). Estudos sobre as atividades biológicas dessa substância mostraram ter inúmeras aplicações como, por exemplo, antiinflamatório (YU *et al.*, 2008), antinefropático (WANG *et*

al., 2010), antifúngico (KUREK *et al.*, 2010), emulsificante na indústria farmacêutica e antileucêmica (SILVA, 2003; ALBUQUERQUE, 2002).

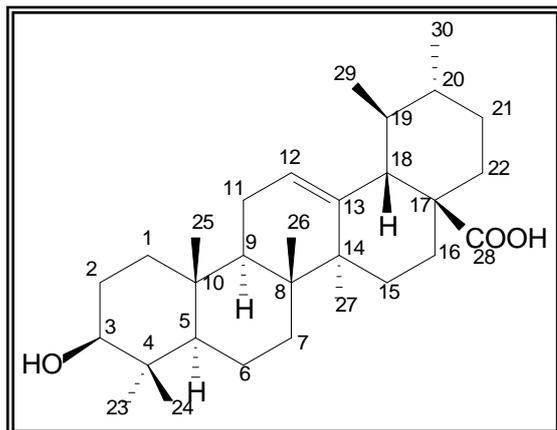


Figura 24 – Ácido ursólico

4.1.3 - Determinação estrutural de SMCE-243

O tratamento cromatográfico da fração diclorometano:acetato de etila (1:1) do extrato etanólico das sementes de *Morinda citrifolia* L. (noni), segundo o procedimento experimental (item 5.10, página 88), culminou no isolamento de um sólido amarelado, solúvel em piridina, com o faixa de fusão de 174 a 175,5°C e que foi rotulado como SMCE-243 (9 mg).

O espectro de RMN ^1H de SMCE-243 (figura 25), obtido em $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ a 500 MHz, apresentou um duplete, característico de hidrogênio de aldeído protegido por mesomeria, com sinal em δ 9,80 (1H, d, $J=7,99$). Na região dos hidrogênios de carbonos saturados e oxigenados, estão presentes os sinais em δ 3,96 (1H, d, $J=11,99$) e δ 4,19 (1H, d, $J=12,99$), que representam hidrogênios diasterotópicos. Além dos hidrogênios citados anteriormente, existem também mais dois hidrogênios referentes a carbonos saturados e oxigenados: o hidrogênio com sinal em δ 4,41 (1H, m, $J=7,99$) e o hidrogênio com sinal em δ 5,45 (1H, d, $J=7,99$). Na região entre δ 6,8 a δ 7,6, encontram-se sete sinais correspondentes a sinais de hidrogênios aromáticos.

O espectro de RMN ^{13}C -BB de SMCE-243 (figura 26), obtido em $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ a 125 MHz, mostrou dezoito sinais espectrais. Os deslocamentos químicos dos carbonos foram assinalados através da análise dos espectros do tipo BB,

DEPT 135°, HSQC, HMQC e por comparação com dados obtidos na literatura (tabela 4).

Através RMN ¹³C-DEPT 135° (figura 27), observou-se a presença de doze sinais espectrais, sendo apenas um sinal com amplitude negativa (δ 61,9); os demais se apresentaram com amplitude positiva, todos referentes a carbonos metínicos (δ 78,1; δ 80,4; δ 116,8; δ 117,2; δ 117,8; δ 118,6; δ 120,3; δ 123,6; δ 127,9; δ 153,5; δ 194,2). Entre os carbonos metínicos mencionados acima, apenas três se encontram na região de carbonos saturados (δ 61,9; δ 78,1; δ 80,4), os demais se apresentam na região dos carbonos olefínicos e aromáticos. Além disso, a comparação do espectro de RMN ¹³C-DEPT 135° com o RMN ¹³C-BB sugere a presença de seis carbonos não hidrogenados (δ 128,8; δ 129,0; δ 145,3; δ 148,2; δ 148,3; δ 148,7). Na tabela 4 foi possível organizar separadamente todos os sinais de carbonos presentes na amostras e comparados com valores encontrados na literatura.

A avaliação do espectro de RMN bidimensional COSY ¹H x ¹H (figura 28), foi possível observar a correlação entre os H-8' (δ 6,87) com o H-7' (δ 7,51). Além disso, é observada a correlação entre os hidrogênios H-9 (δ 3,97) com o próprio H-9 (δ 4,19), que é característico dos hidrogênios diasterotópicos, dos H-9 (δ 3,97 e 4,19) com o H-8 (δ 4,41), e do H-8 (δ 4,41) com H-7 (δ 5,45).

O espectro de HSQC de SMCE-243 (figura 29) possibilitou a observação das seguintes correlações: do hidrogênio aromático em δ 7,62 com o carbono em δ 116,8; do hidrogênio aromático em δ 7,33 com o carbono em δ 117,2; do hidrogênio aromático em δ 7,19 com o carbono em δ 120,3; do hidrogênio metínico oxigenado em δ 5,45 com o carbono em δ 78,1; do hidrogênio metínico oxigenado em δ 4,41 com o carbono em δ 80,4; dos hidrogênios metilênicos diasterotópicos em δ 3,96 e δ 4,19 com o carbono em δ 61,9; do hidrogênio aromático em δ 7,43 com o carbono em δ 117,8; do hidrogênio aromático em δ 7,13 com o carbono em δ 118,6; do hidrogênio olefínico em δ 7,51 com o carbono em δ 153,5; do hidrogênio olefínico em δ 6,87 com o carbono em δ 127,9 e do hidrogênio em δ 9,80 com o carbono em δ 194,2 (tabela 5).

O espectro HMBC (figura 30) fornece os acoplamentos $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ a longa distância, isto é, a duas ou mais ligações. Foram observados no espectro HMBC as seguintes correlações: H-7 com os carbonos C-1 (^2J), C-2 (^3J), C-6 (^3J) e **C-4'** (^3J) que representa a principal correlação para definir a estrutura da americanina A. Além dessas correlações, existem outras que estão expostas na tabela 5, cujo espectro bidimensional HMBC encontra-se na (figura 30).

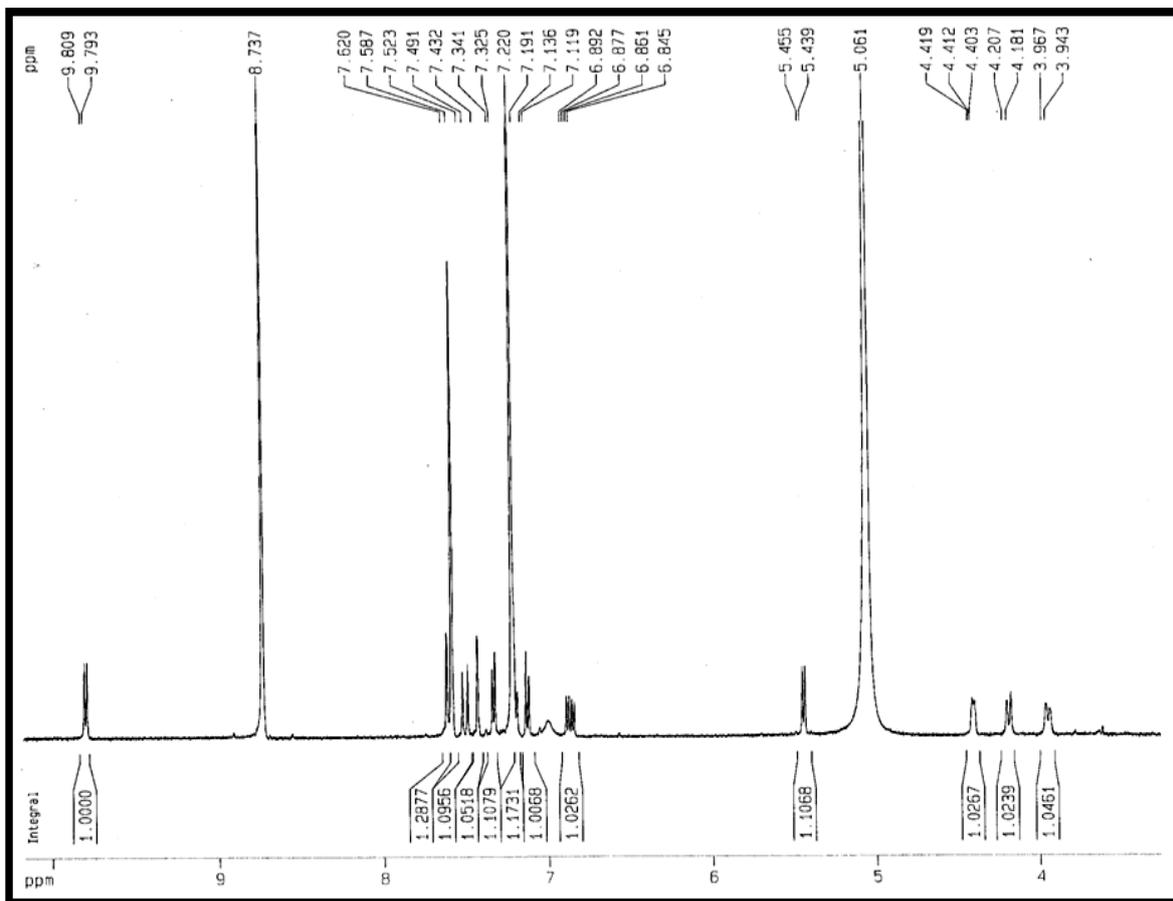


Figura 25 – Espectro de RMN ^1H de SMCE-243, a 500 MHz, em $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$

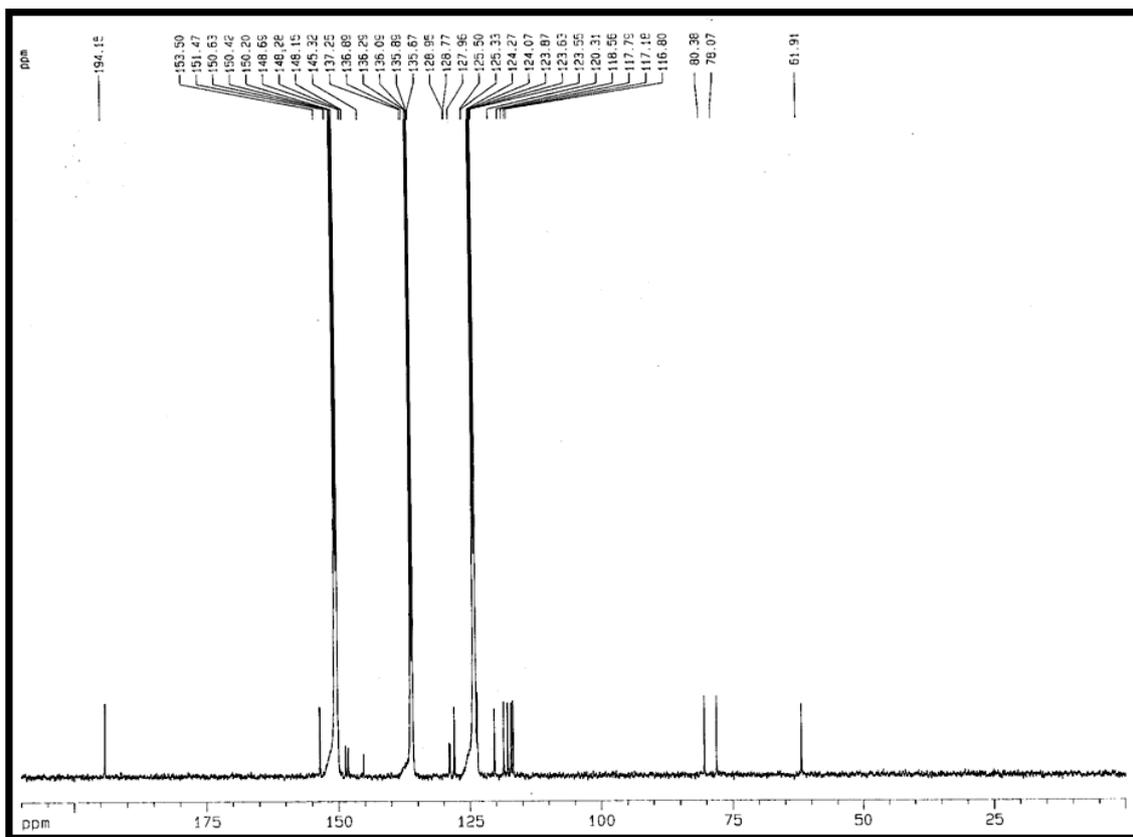


Figura 26 – Espectro de RMN de ^{13}C -BB de SMCE-243, a 500 MHz, em $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$

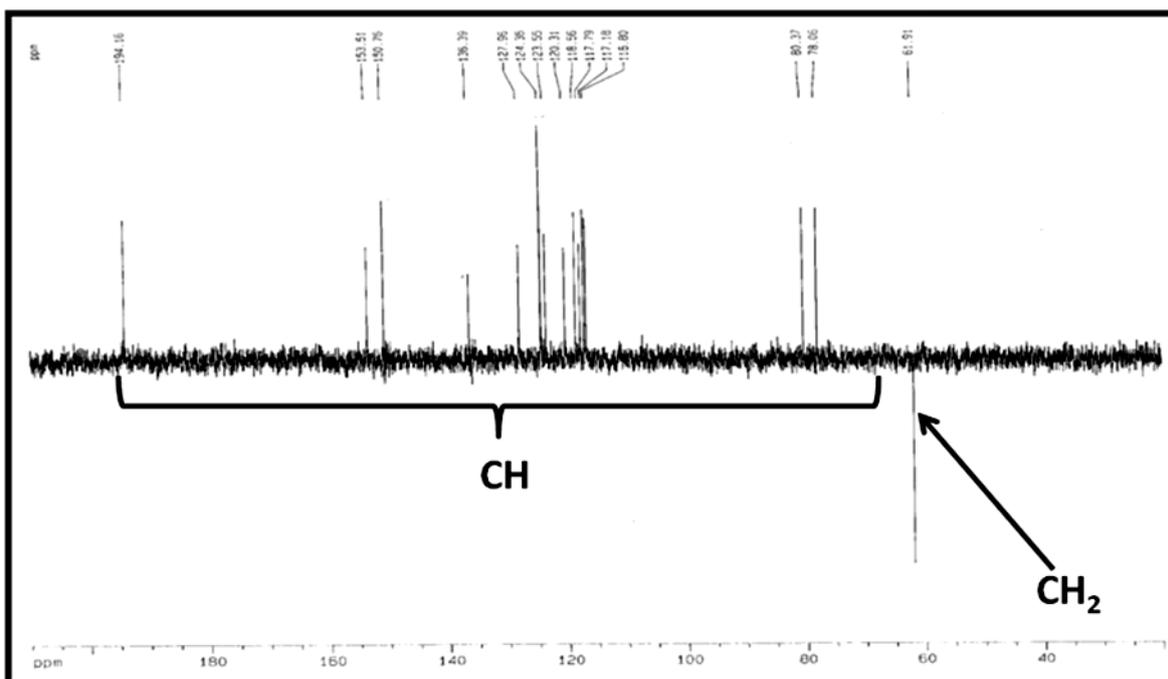


Figura 27 – Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° de SMCE-243, a 500 MHz, em $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$

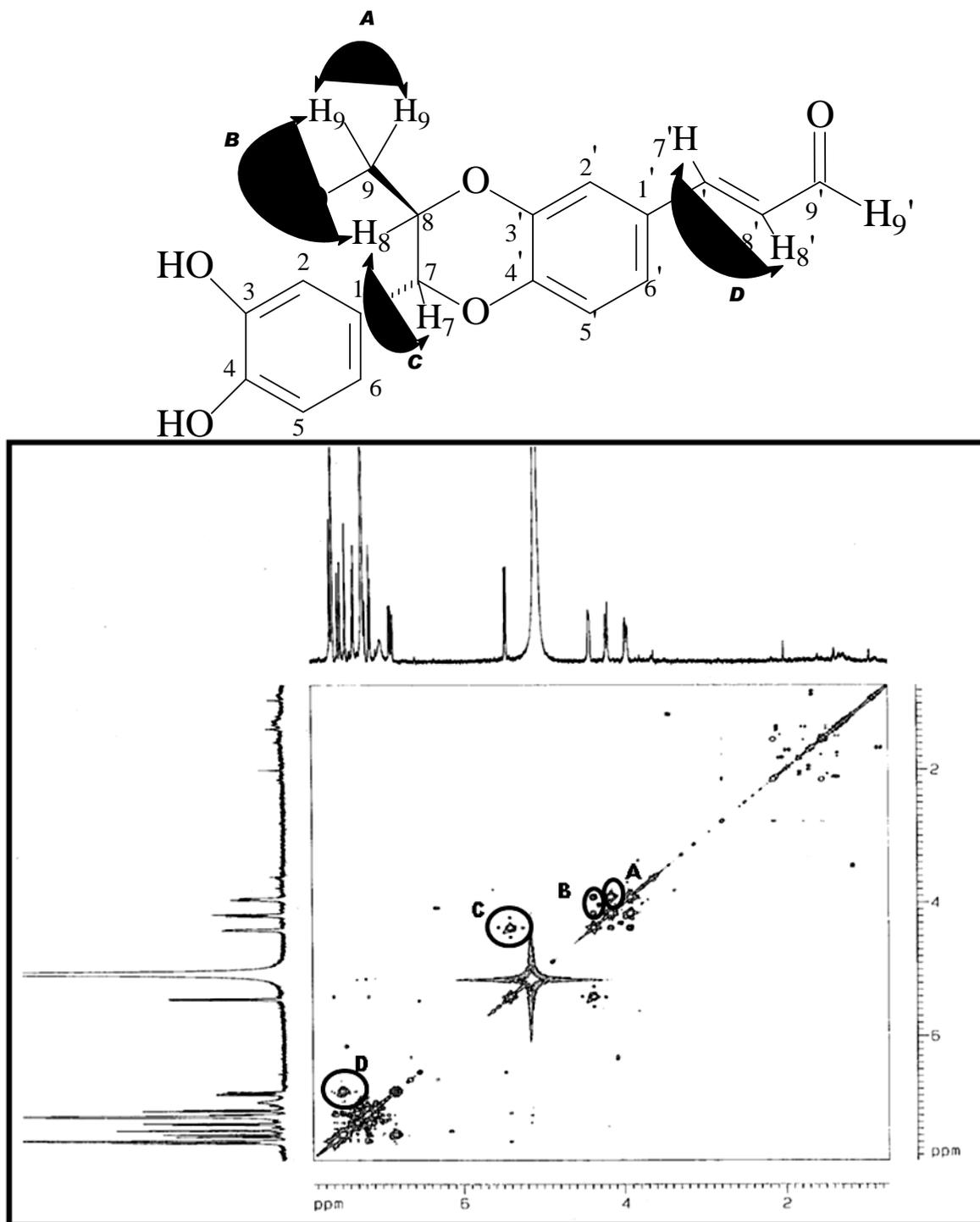


Figura 28 – Espectro bidimensional COSY (500, 125 MHz, C₅D₅N) de SMCE-243

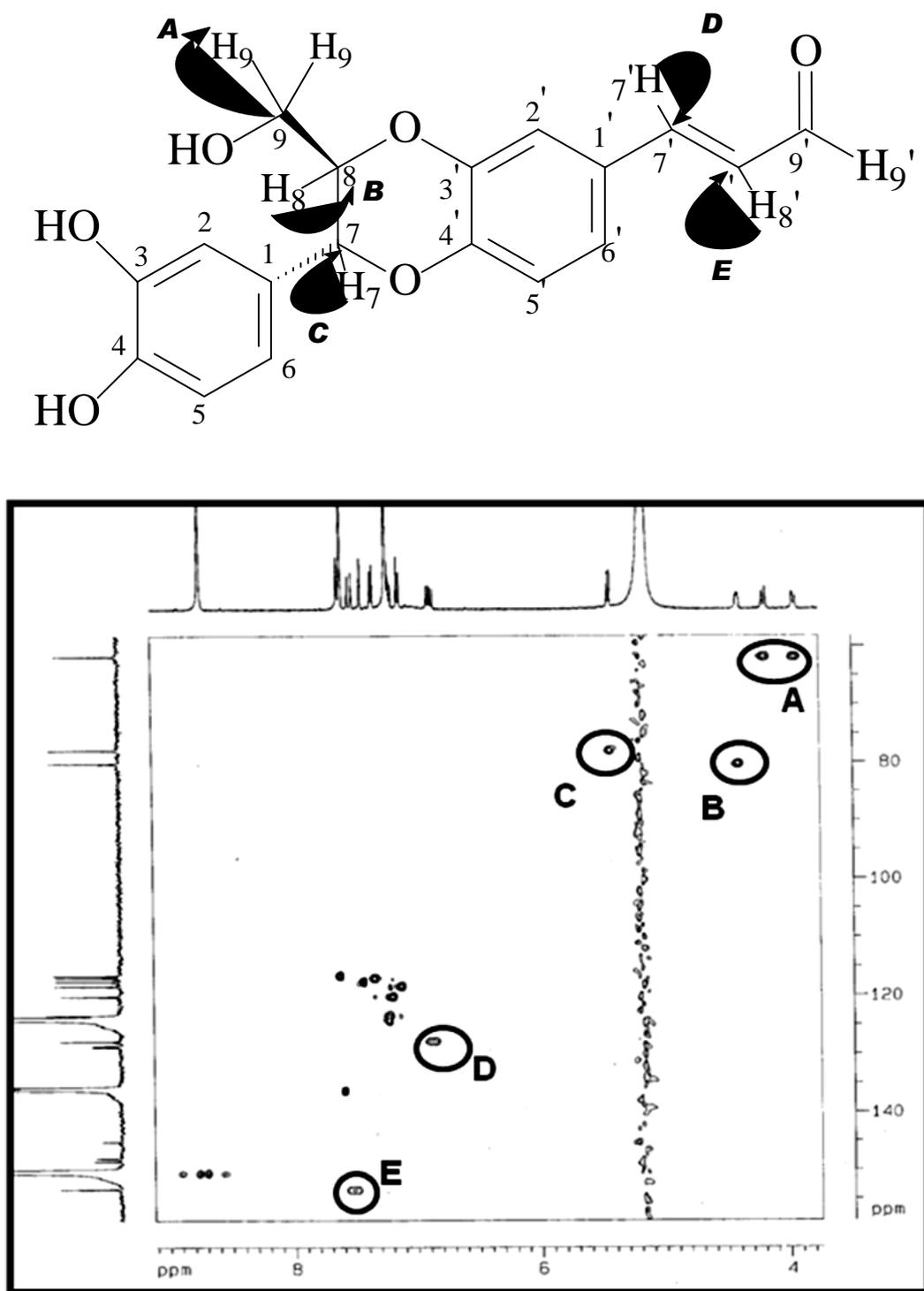


Figura 29 – Espectro bidimensional HSQC (500, 125 MHz, C₅D₅N) de SMCE-243

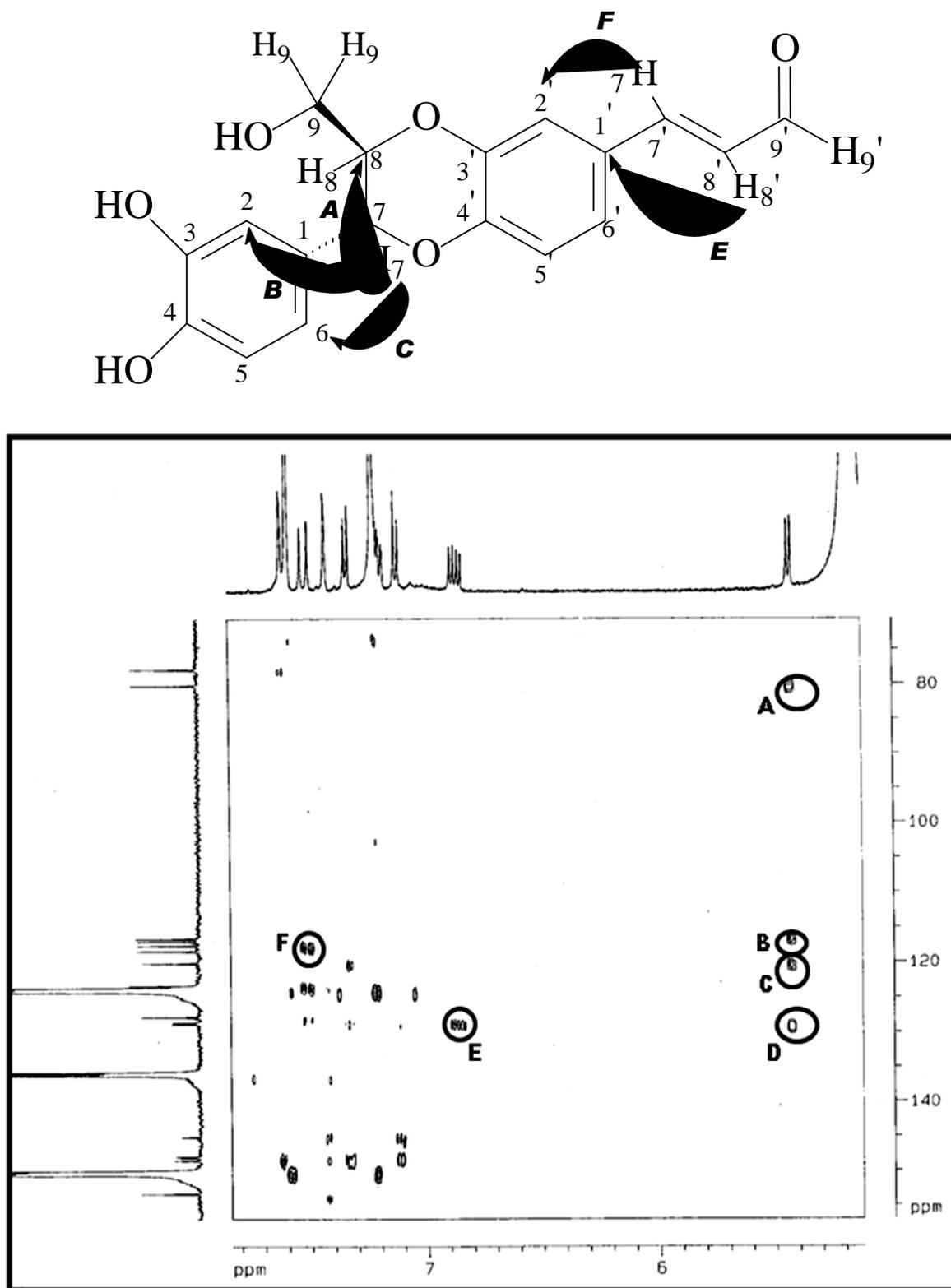


Figura 30 – Espectro bidimensional HMBC (500, 125 MHz, C₅D₅N) de SMCE-243

Tabela 4 – Relação entre os dados de ^{13}C ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) para SMCE-243 com dados de ^{13}C da literatura ($\text{CD}_3\text{OD}^{\text{A}}$ e DMSO^{B})

C (n)	Tipo de C	SMCE 243	Literatura ^A	Literatura ^B
1	C	128,9	129,2	129,1
2	CH	116,8	115,6	115,6
3	C	148,2	146,7	147,3
4	C	148,3	147,3	148,2
5	CH	117,2	116,4	116,4
6	CH	120,3	120,5	120,5
7	CH	78,1	77,6	77,6
8	CH	80,4	80,5	80,5
9	CH₂	61,9	62,0	62,0
1'	C	128,8	129,2	129,2
2'	CH	117,8	118,2	118,2
3'	C	145,3	145,8	145,7
4'	C	148,7	148,2	146,7
5'	CH	118,6	118,6	118,6
6'	CH	123,6	124,0	123,7
7'	CH	153,5	155,2	155,2
8'	CH	127,9	127,9	127,8
9'	CH	194,2	196,0	196,0

A – WAIBEL *et al.*, (2003)

B – KAMIYA *et al.*, (2004)

Diversas neolignanas, incluindo a americanina A, foram relatados nos frutos de *Morinda citrifolia* L. (noni) (KAMIYA *et al.*, 2004). A americanina A foi isolada pela primeira vez nas sementes de *Phytolacca americana*, no ano de 1978 (WOO *et al.*, 1978), e sua estrutura foi revisada em 1986 (ANTUS *et al.*, 1986). A estrutura da americanina A e seu isômero, isoamericanina A, foram confirmadas por síntese (TANKA *et al.*, 1987). Os seus espectros de ^1H e ^{13}C RMN são semelhantes, porém é observada uma correlação entre o H-7 e o C-4' no espectro bidimensional (HMBC) da americanina A, relação essa que foi observada nesse trabalho, confirmando a estrutura da neolignana. Americanina A é relatada na literatura como uma substância que apresenta algumas propriedades: antioxidante (SU *et al.*, 2005), antiinflamatório (LEE *et al.*, 1985), entre outras. Assim como o ácido ursólico, a americanina A foi relatada recentemente na literatura como um constituinte da semente de noni, além de o seu isolamento já ter ocorrido nos frutos (KAMIYA *et al.*, 2004).

Tabela 5 - Deslocamento químico de RMN ¹³C e seus respectivos hidrogênios mostrados pelo espectro de HSQC, bem como as correlações a longa distância (HMBC) de SMCE-243

Carbonos	δ_c	HSQC		HMBC	
		δ_H	2J	3J	
1	128,9	-	5,5		
2	116,8	7,6 (s)	-	5,5	
3	148,2	-	7,6	7,3	
4	148,3	-	7,3	7,6	
5	117,2	7,3 (d, $J=7,99$)	-		
6	120,3	7,19 (m)	7,3	5,5	
7	78,1	5,5 (d, $J=7,99$)	4,4	3,9; 4,2	
8	80,4	4,4 (m, $J=3,49$)	4,2		
9	61,9	3,9 (d, $J=11,99$) 4,2 (d, $J=12,99$)	- -		
1'	128,8	-	-	6,9	
2'	117,8	7,4 (s)	-	7,5	
3'	145,3	-	7,4		
4'	148,7	-	7,1	7,4; 5,5	
5'	118,6	7,1 (d, $J=8,49$)	-		
6'	123,6	-	7,1	7,5	
7'	153,5	7,5 (d, $J=15,99$)	-		
8'	127,9	6,9 (dd)	-		
9'	194,2	9,8 (d, $J=7,99$)	-		

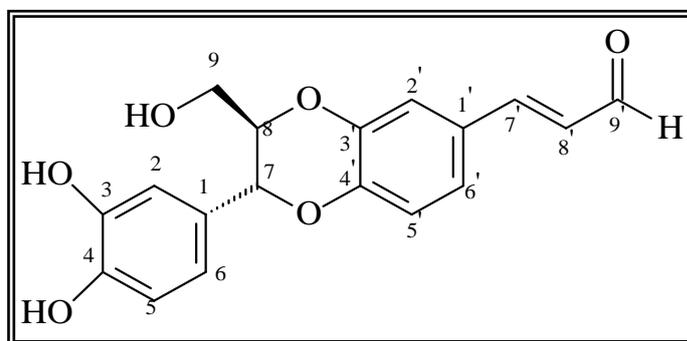


Figura 31 – Estrutura da americanina A

4.2 – ESTUDO DA ESTABILIDADE TÉRMICA DO EXTRATO HEXÂNICO DE *Morinda citrifolia* L. (NONI)

Recentemente, maior atenção tem sido focalizada sobre a transformação e utilização de resíduos de alimentos para favorecer o aumento dos recursos disponíveis e resultar na produção de diversos novos alimentos (NYAM *et al.*, 2009). Partes desses rejeitos poderiam ser convertidos em nutrientes tanto para alimentação humana quanto animal, ou na forma de adubo; com isso, poderiam ser realizadas uma importante contribuição para os recursos alimentares ou produtos industriais.

Com a grande produção do suco de noni comercializado em todo o mundo, as sementes são, em geral, descartadas. Dessa forma, elas são consideradas um rejeito industrial. A partir disso, é importante estudar a estabilidade do seu óleo a fim de, possivelmente, obter dessas sementes uma fonte de óleo vegetal barato e de qualidade. A oxidação lipídica não é somente responsável pelo aroma desagradável nos alimentos, mas também pode ser responsável pela produção das prejudiciais espécies reativas do oxigênio (ERO's), onde muitos são carcinogênicos, mutagênicos, maléficos para os humanos (FERRARI E TORRES, 2003). A rancificação ocorrida em óleos durante processos oxidativos é normalmente avaliada através do valor de peróxido - *P* (AOAC, 1990). Esse parâmetro tem sido freqüentemente usado para monitorar a qualidade de óleos comestíveis (NYAM *et al.*, 2009), embora o valor de *P* não possa refletir completamente a verdadeira dimensão da deterioração do óleo (AOAC, 1990).

Nesse trabalho, o valor inicial de peróxido (*P*) do óleo de *Morinda citrifolia* L. (noni) foi de 13,78 meqO₂/kg de óleo (tabela 6), encontrando-se acima dos valores recomendados pela CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION (1982) e ANVISA n° 482 (2010a), que limitam o nível máximo permitido de peróxido para 10 meq O₂/kg de óleo. Porém é importante observar que, através do estudo da estabilidade ao longo do tempo, a variação do valor de *P* não foi tão acentuada quando comparada aos valores encontrados por KHALLOUKI *et al.* (2008) que encontraram no óleo de argânia (*Argania*

spinosa) valores que variaram de, aproximadamente, 3 meq O₂/kg de óleo, no início, para 120 meq O₂/kg de óleo, após o período de 20 dias.

Tabela 6 – Variação do valor de peróxido para os óleos de noni, caju A, caju SP3 e dendê

Tempo (dia)	P (meq O ₂ /kg de óleo)			
	Noni	Caju A	Caju SP3	Dendê
0	13,8	15,6	8,4	1,9
5	17,5	16,5	8,5	8,5
10	22,2	16,3	7,2	12,1
20	32,6	16,5	7,0	19,6

Na tabela 6 é possível comparar os valores de *P* encontrados no óleo de noni com os óleos de caju A, caju SP3 e dendê. Foi observado que o óleo de noni apresentou valor de peróxido inferior apenas em relação ao óleo de caju A, estando os demais com valores inferiores e dentro do padrão permitido pela CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION (1982) e ANVISA nº 482 (2010a). Com relação ao óleo de dendê, também é observado que ele apresentou o menor valor de *P*, confirmando a sua boa qualidade, uma vez que já é um óleo bastante utilizado na culinária brasileira. O gráfico 1 apresenta uma comparação dos valores de peróxido em função do tempo (dias) para todos os óleos estudados.

NYAM *et al.* (2009) estudaram o valor de peróxido nos óleos de diversas sementes. Eles observaram que as sementes que apresentaram maior teor de ácido linoléico (C18:2) obtiveram o maior valor de peróxido. Já o óleo que apresentava menor valor de peróxido era predominante a presença de ácido oléico (C18:1).

A oxidação dos óleos ocorre quando o oxigênio atmosférico ou dissolvido no óleo reage com os ácidos graxos insaturados, que são tanto mais reativos quanto maior o número de insaturações em sua cadeia (MORETTO, 1998). A peroxidação de ácidos graxos poliinsaturados leva a formação de malonaldeídos, que podem provocar o acúmulo de colesterol nos vasos sanguíneos e, conseqüentemente, a problemas cardiovasculares e câncer (AMBRÓSIO *et al.*, 2003).

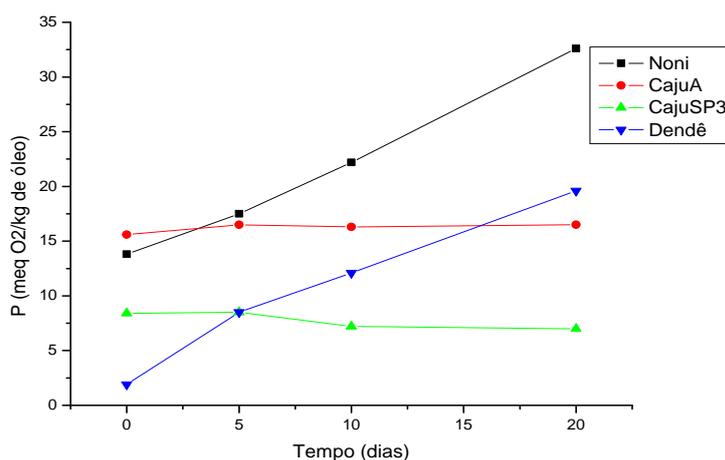


Gráfico 1 – Relação entre os valores de peróxidos nos óleos de noni, caju A e SP3 e dendê em função do tempo.

4.3 – DETERMINAÇÃO DOS CONSTITUINTES FIXOS DO ÓLEO DAS SEMENTES DE *Morinda citrifolia* L. (NONI), CASTANHA DE CAJU A, CASTANHA DE CAJU SP3 E DENDÊ

Os óleos das sementes de *Morinda citrifolia* L. (noni), caju A, caju SP3 e dendê foram submetidos às reações de saponificação e esterificação, resultando na obtenção dos ésteres metílicos segundo o procedimento experimental (item 5.12, página 91). Com os dados obtidos a partir da análise por CG/EM, foi possível caracterizar os ésteres metílicos referentes aos óleos de noni (Figura 32), caju A (Figura 33), caju SP3 (Figura 34), e dendê (Figura 35); os espectros de massa de cada éster metílico obtido (figuras 36 a 44). Na tabela 7 estão listados todos os ácidos graxos que são referentes aos ésteres observados no espectrômetro de massa.

O óleo da semente de *M. citrifolia* L. (noni) é rico em ácido octadeca-9,12-dienóico (ácido linoléico), ácido graxo popularmente chamado de ω -6 e que é considerado um ácido graxo essencial responsável por facilitar a rigidez das células, coagulação do sangue e respostas inflamatórias às agressões exteriores. WEST *et al.* (2008) quantificou ácidos graxos na semente de noni e também obteve elevados teores de ácido linoléico (59%). Em relação aos

demais óleos da tabela 7, o óleo de noni foi o que apresentou o mais elevado teor do ácido linoléico, sendo, para os demais, a presença predominante do ácido octadeca-9-enóico (ácido oléico).

Tabela 7 – Ácidos graxos dos óleos de noni, caju A, caju SP3 e dendê

Ácidos graxos	<i>Morinda citrifolia</i> L.(%)	Caju A (%)	Caju SP3 (%)	Dendê (%)
Ácido hexadecanóico (C16:0)	10,51	10,46	8,63	43,18
Ácido hexadeca-9-enóico (C16:1)	-	0,28	-	-
Ácido octadecanóico (C18:0)	3,97	6,89	8,76	5,46
Ácido octadeca-9-enóico (C18:1)	8,25	73,72	65,31	43,14
Ácido octadeca-9,12-dienóico (C18:2)	76,82	7,54	17,3	8,22
Ácido eicosanóico (C20:0)	0,45	0,55	-	-
Ácido eicosa-11-enóico (C20:1)	-	0,27	-	-
Ácido docosanóico (C22:0)	-	0,12	-	-
Ácido tetracosanóico (C24:0)	-	0,17	-	-

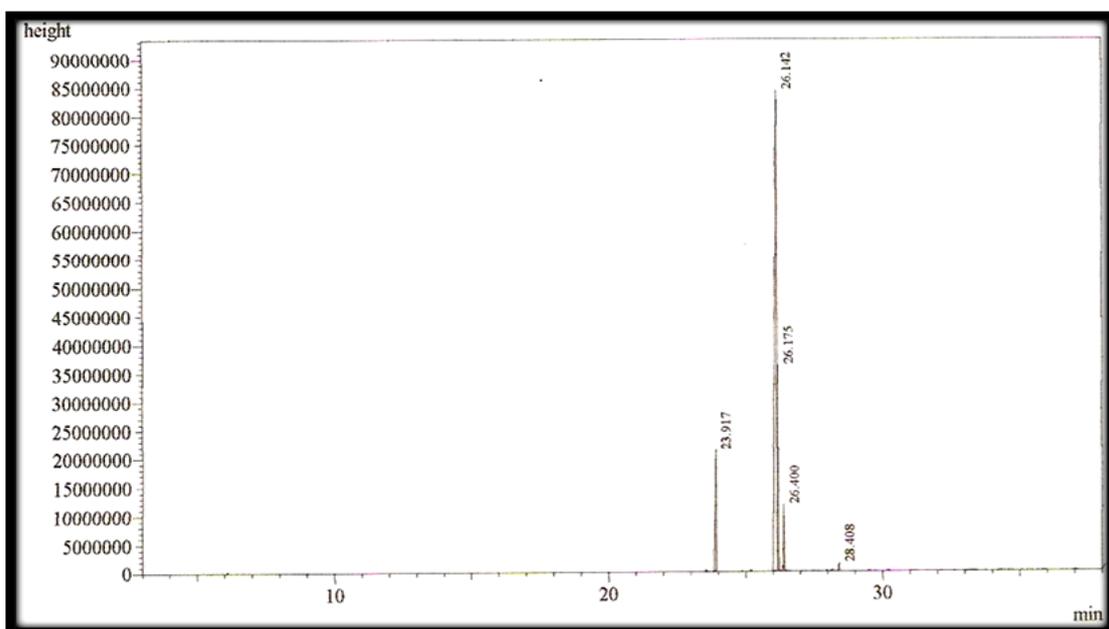


Figura 32 - Cromatograma dos ácidos graxos de noni

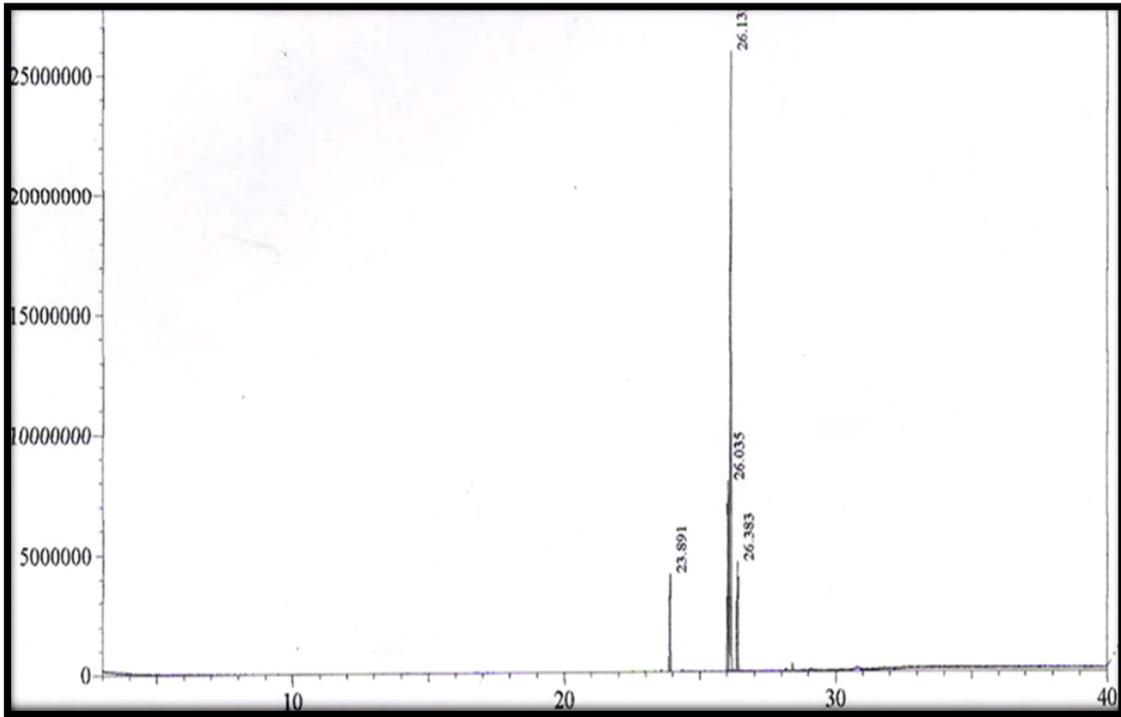


Figura 33 - Cromatograma dos ácidos graxos da castanha do caju A

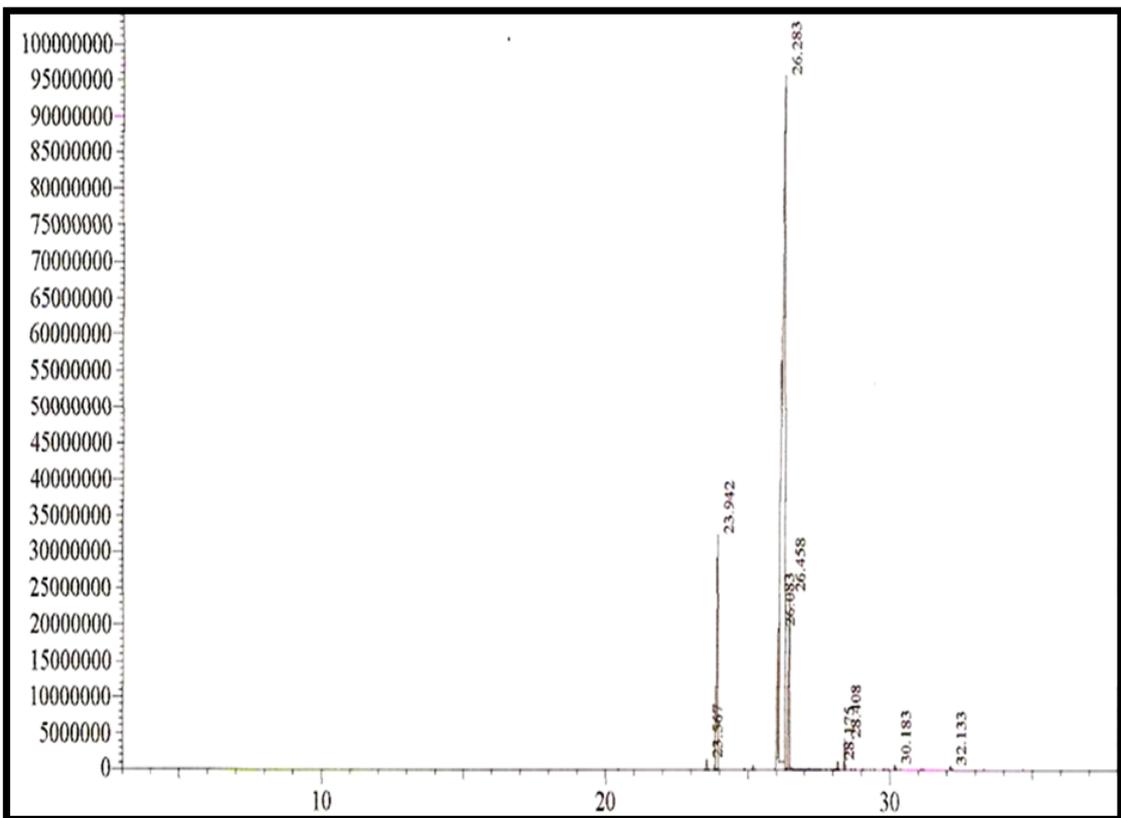


Figura 34 - Cromatograma dos ácidos graxos da castanha do caju SP3

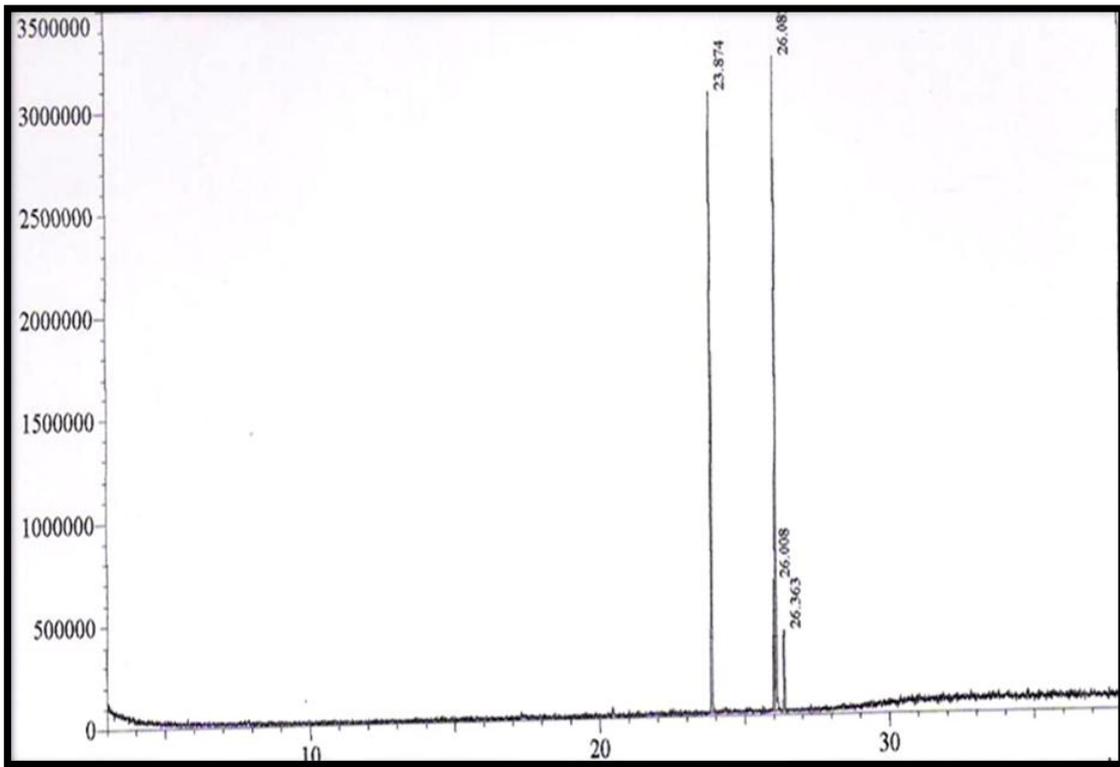


Figura 35 - Cromatograma dos ácidos graxos do óleo de dendê

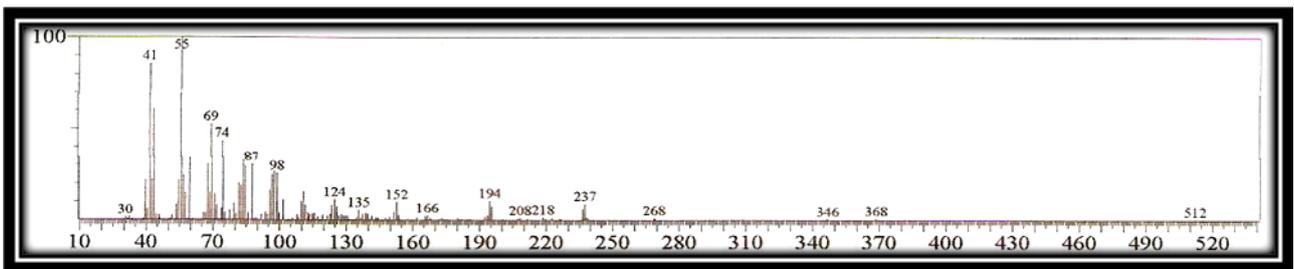


Figura 36 - Espectro de massa do ácido hexadeca-9-enóico

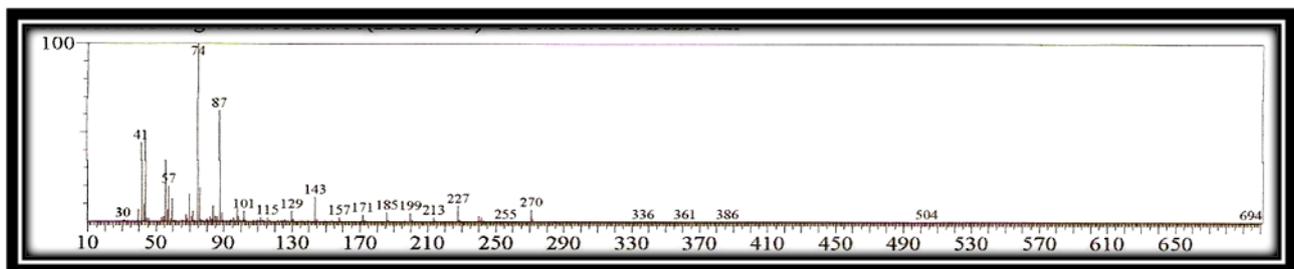


Figura 37 - Espectro de massa do ácido hexadecanóico

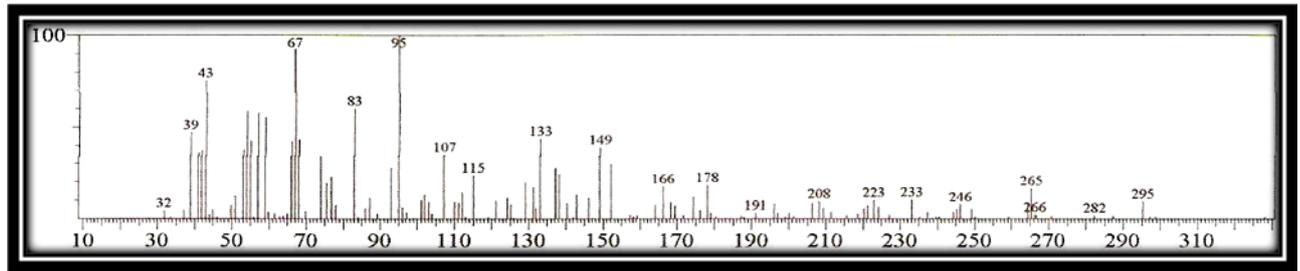


Figura 38 - Espectro de massa do ácido octadeca-9,12-dienóico

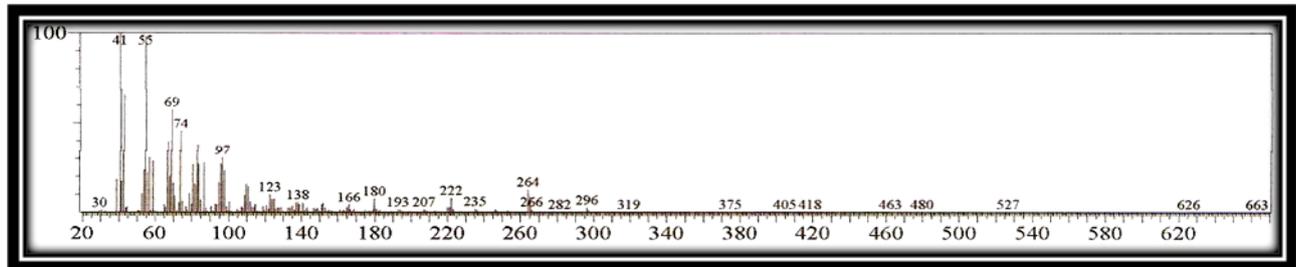


Figura 39 - Espectro de massa do ácido octadeca-9-enóico

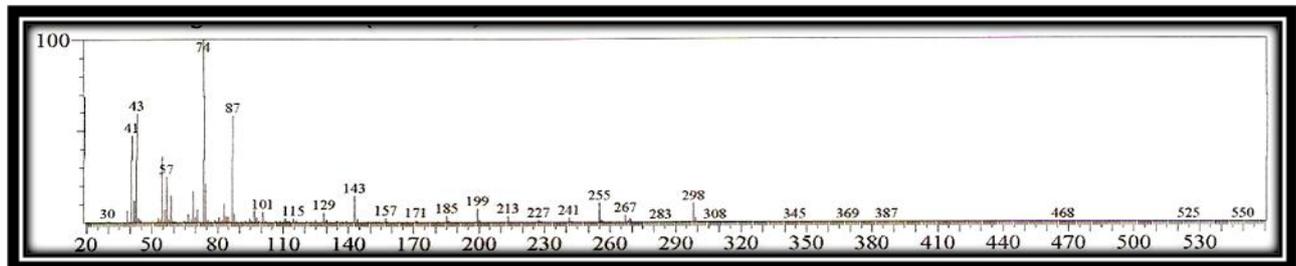


Figura 40 - Espectro de massa do ácido octadecanóico

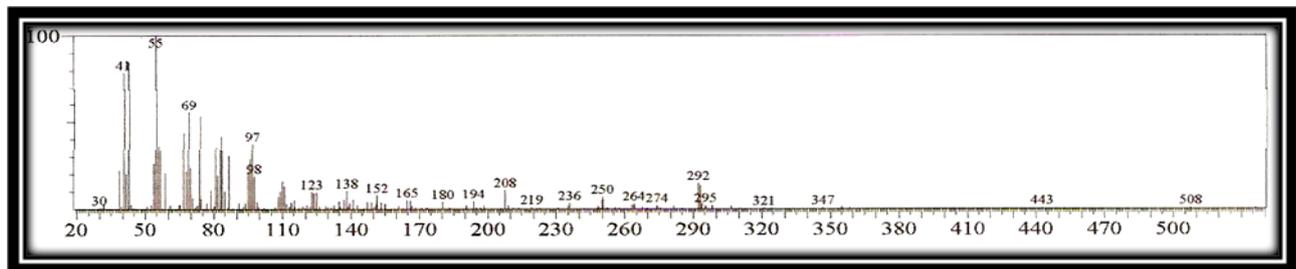


Figura 41 - Espectro de massa do ácido eicosa-11-enóico

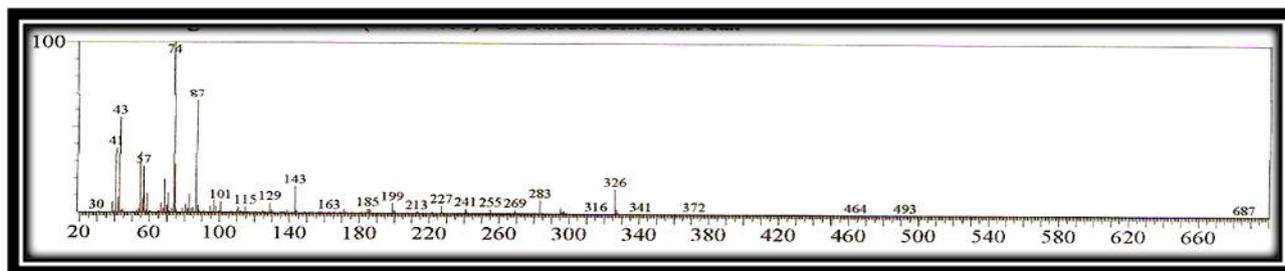


Figura 42 - Espectro de massa do ácido eicosanóico

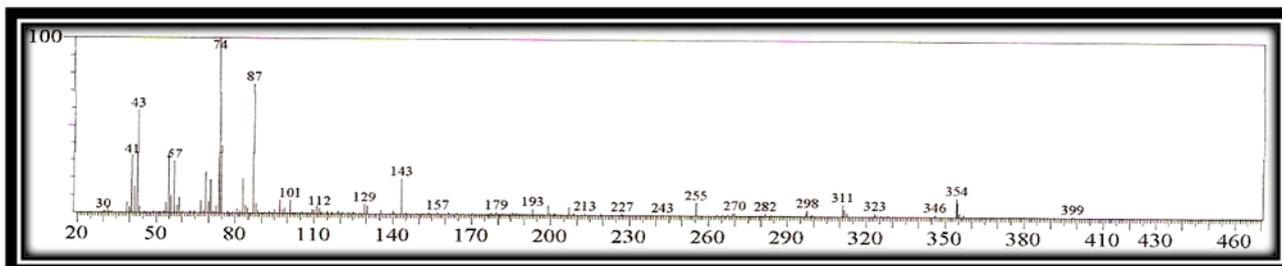


Figura 43 - Espectro de massa do ácido docosanoico

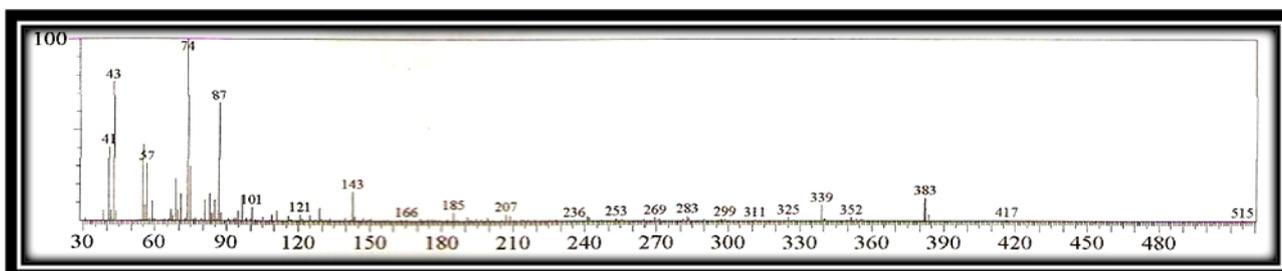


Figura 44 - Espectro de massa do ácido tetracosanoico

4.4 – ATIVIDADE LARVICIDA FRENTE ÀS LARVAS DE *Aedes aegypti*

O extrato hexânico das sementes de *Morinda citrifolia* L. (noni) apresentou CL_{50} de $518,6 \pm 20,8 \text{ mg.L}^{-1}$ para as larvas PAN (gráfico 2), porém para as larvas ROCK não apresentou atividade. O extrato etanólico testado também não apresentou atividade para ambos os tipos de larvas.

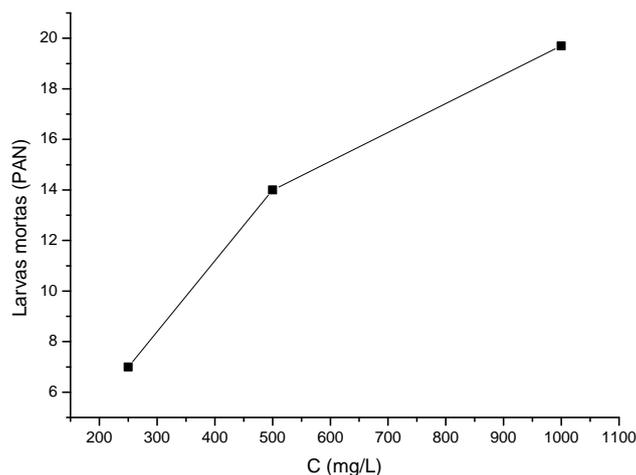


Gráfico 2 – Relação entre a concentração do extrato hexânico e larvas (PAN) mortas

PING *et al.* (2009) observaram o potencial larvicida contra as larvas do *aedes aegypti* dos extratos obtidos das raízes de noni e, com esse estudo, chegaram ao isolamento da 1-hidroxi-2metil-antraquinona. Tanto essa substância quanto o extrato apresentaram elevado potencial larvicida.

4.5 – AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DO RADICAL LIVRE DPPH DAS SEMENTES DE *Morinda citrifolia* L. (NONI)

4.5.1 – Avaliação da atividade antioxidante pelo método do DPPH do extrato etanólico das sementes de *Morinda citrifolia* L. (noni) e as suas subfrações

O extrato etanólico das sementes de noni e as suas frações (SMCE-1, SMCE-2, SMCE-3, SMCE-4), obtidas segundo o procedimento experimental (item 5.9, página 88), foram analisados quanto ao seu potencial antioxidante pelo método do radical livre DPPH. O extrato e as frações foram testados a uma concentração de 25 a 500 mg/L, realizados em duplicatas. O extrato etanólico das sementes de *Morinda citrifolia* L. (noni) mostrou um valor de IC₅₀ para a atividade antioxidante de 171,68 mg/L. A fração acetato de etila apresentou-se como a fração mais ativa entre as estudadas (tabela 8), cujo a atividade de capturar o radical livre DPPH foi mais eficiente que o próprio extrato etanólico. Possivelmente, essa fração pode conter uma grande

quantidade de substâncias com caráter fenólico, que conferem essa característica. A fração diclorometano também apresentou uma boa ação antioxidante (IC₅₀ de 85,21 mg/L), o que pode estar relacionado a substância americanina A (que foi isolada neste trabalho). Segundo SU *et al.* (2005), o isolamento da americanina A nos frutos de *Morinda citrifolia* L. (noni) pode ser uma das principais substâncias responsáveis pela boa ação antioxidante encontrada no suco de noni.

Tabela 8 - Valores de IC₅₀ para o extrato etanólico de noni e suas frações.

Material observado	IC₅₀ (mg/L)
Extrato etanólico	171,68 ± 6,39
Fração hexano	>500
Fração diclorometano	85,21 ± 4,35
Fração acetato de etila	48,15 ± 3,77
Fração aquosa	>500
Padrão BHT	80,16 ± 4,30

A partir dos valores de IC₅₀ listados na tabela 8, foi possível compará-los ao padrão BHT, que apresentou valor de IC₅₀ de 80,16 ± 4,30 mg/L. A fração diclorometano obteve resultado semelhante ao do padrão, enquanto que a fração acetato de etila apresentou um melhor resultado. A partir disso, um ensaio bioguiado acerca de compostos antioxidantes poderá ser realizado tendo como objetivo observar quais substâncias podem estar conferindo esse caráter.

MASUDA *et al.* (2009) também observaram a atividade antioxidante do extrato etanólico das sementes de *Morinda citrifolia* L. (noni) e destacaram essa parte da planta com maior capacidade seqüestradora de radicais livres, quando comparado às folhas e aos frutos. Segundo os autores, o valor de IC₅₀ para os extratos das sementes de noni é de 12 mg/L, estando esse valor diferente do encontrado nesse trabalho.

4.5.2 – Avaliação da atividade antioxidante pelo método do DPPH dos extratos hexânico e metanólico das sementes não fermentada e fermentada de *Morinda citrifolia* L. (noni)

Os extratos hexânico e metanólico das sementes não fermentada e fermentada de noni foram analisados quanto ao seu potencial antioxidante de acordo com a metodologia do radical livre DPPH, descrita no procedimento experimental (item 5.14.2, página 93). Os valores de IC₅₀ para esses extratos estão expostos na tabela 9. Para os extratos hexânicos, os valores de IC₅₀ foram maiores que 10000 mg/L, sendo considerados inativos quanto a esse potencial. Já os extratos metanólicos das sementes de noni apresentaram valores de IC₅₀ 70,0 e 210 mg/L, respectivamente, para a não fermentada e fermentada. Com esses resultados, foi possível concluir que existe uma diferença significativa na capacidade antioxidante após o processo de fermentação. Observa-se também que o valor da atividade antioxidante do extrato etanólico (item 4.5.1, página 68) apresentou, aproximadamente, um valor médio de IC₅₀ quando comparado aos valores de IC₅₀ dos extratos da semente não fermentada e fermentada de noni.

Tabela 9 - Valores de IC₅₀ para o extrato hexânicos e metanólico não fermentadas e fermentadas de noni

Material observado	IC₅₀ (mg/L)
Extrato hexânico não fermentada	>10000
Extrato hexânico fermentada	>10000
Extrato metanólico não fermentada	70,0
Extrato metanólico fermentada	210,0

Essa diferença observada na atividade antioxidante entre o material não fermentado e fermentado de noni também foi observado no trabalho de YANG *et al.* (2007), que estudaram a atividade antioxidante do suco de *Morinda citrifolia* L. (noni) não fermentado e fermentado. Foi observado que o suco da fruta não fermentado apresentou atividade antioxidante 90 % superior ao suco da fruta fermentada. Os autores ainda afirmam que, apesar da popularidade dos sucos fermentados de noni disponíveis comercialmente, o processo de fermentação diminuiu bastante a atividade antioxidante do produto, na qual essa ação é reduzida, significativamente, dentro de 2 semanas do processo fermentativo e de forma mais gradual de 2 semanas a cerca de 3 meses. Com

isso, pode-se justificar a significativa diferença do potencia antioxidante entre as sementes não fermentadas e fermentadas encontradas nesse trabalho.

4.6 – AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DOS EXTRATOS METANÓLICOS DAS SEMENTES NÃO FERMENTADA E FERMENTADA DE *Morinda citrifolia* L. (NONI)

Os extratos metanólicos das sementes não fermentada e fermentada foram novamente analisados quanto ao seu potencial antioxidante, dessa vez utilizando o método da hipoxantina/xantina oxidase. A metodologia esta descrita no procedimento experimental (item 5.15.1, página 95). Cada extrato foi testado a uma concentração de 0,5 a 4 mg/mL. Todos os testes foram realizados em duplicatas. Os cromatogramas de CLAE-UV obtidos para o ensaio foi calculado com base na quantidade dos difenóis produzidos a partir da variação da concentração dos extratos.

Pela análise do gráfico 3, foi observado que as sementes de noni apresentaram um bom resultado de atividade antioxidante. Contudo, foi obtida uma pequena diferença quanto aos seus valores relativos dos dois tipos de sementes. Após os cálculos para determinar os valores do IC₅₀, foi observado valores de 920 mg.L⁻¹ e 1140 mg.L⁻¹ para os extratos metanólico da semente não fermentada e fermentada, respectivamente. Dessa forma, para o ensaio da hipoxantina/xantina oxidase, também foi observada que a semente não fermentada apresentou a atividade antioxidante melhor que a fermentada.

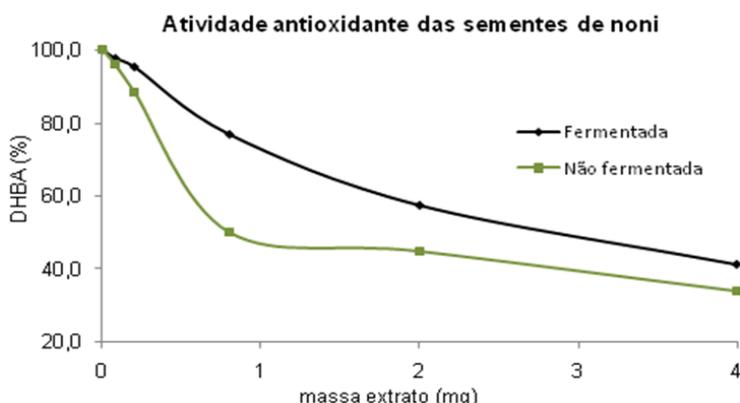


Gráfico 3 – Relação entre a massa dos extratos e o percentual de inibição de DHBA

4.7 – CARACTERIZAÇÃO DAS SEMENTES NÃO FERMENTADA E FERMENTADA DE *Morinda citrifolia* L. (noni)

4.7.1 – Determinação do pH do Ponto de Carga Zero (pH_{PCZ})

Os resultados obtidos do procedimento experimental 5.16.1 (página 96) estão expostos no gráfico 4 e mostram o pH_{PCZ} para as duas sementes: (A) Semente fermentada e (B) Semente não fermentada. Pode-se observar que, para os dois tipos de sementes, o pH do ponto de carga zero mostrou-se ser ácido, variando de 4,26 - 4,97 para as sementes fermentadas e de 5,08 – 5,53 para as não fermentadas. Isso significa que para a adsorção do Cr(VI), que está na forma de ânion ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ e CrO_4^{2-}), devem-se utilizar soluções com pH menor que 4,26 para as sementes fermentadas como adsorvente e, ao utilizar as não fermentadas, deve-se utilizar soluções com pH menor que 5,08.

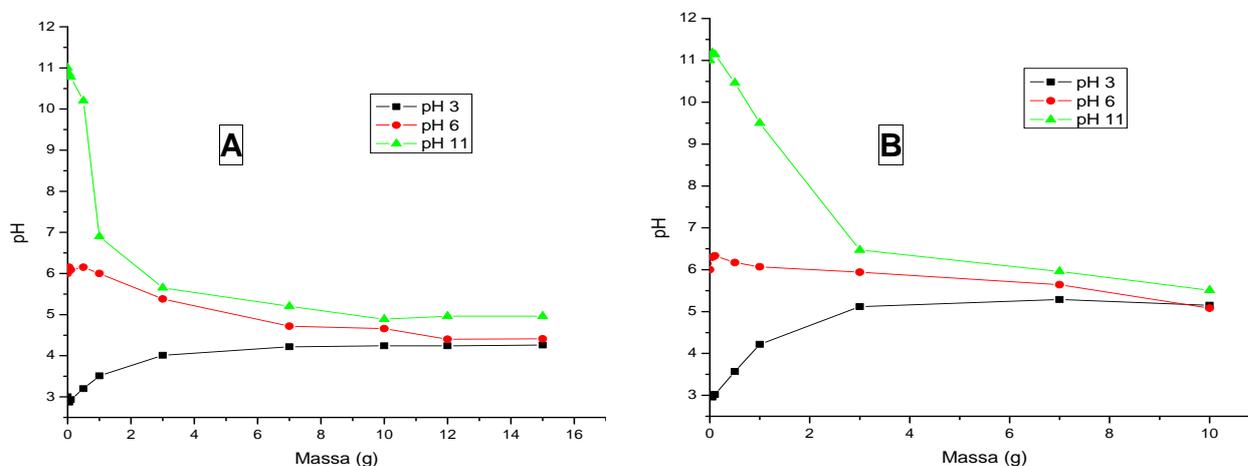


Gráfico 4 – pH do ponto de carga zero para as sementes fermentadas (A) e para as sementes não fermentadas (B)

4.7.2 – Determinação dos Grupos Superficiais

Nesse método, descrito no procedimento experimental 5.16.2 (página 97), o NaHCO_3 adicionado neutraliza somente os ácidos carboxílicos, o Na_2CO_3 neutraliza os grupos carboxílicos e lactônicos, o NaOH neutraliza os grupos carboxílicos, lactônicos e fenólicos. Os grupos carbonílicos são

determinados pela diferença de volumes consumidos entre a titulação com as soluções de 0,1 e 0,02 mol.L⁻¹ de NaOH.

Na tabela 10 estão expostos todos os resultados obtidos para os grupos presentes na superfície das sementes de noni. Nas sementes não fermentadas não foram encontrados grupos de ácidos fortes como, por exemplo, os carboxílicos. Elas são, especialmente, formadas por grupos fenólicos e carbonílicos. Ela se destaca por apresentar grupos lactônicos, enquanto que a semente fermentada não apresentou esse grupo.

Tabela 10 – Grupos Funcionais Superficiais da Semente Fermentada e Não fermentadas

Grupos Superficiais	Fermentada (mmol.g ⁻¹) ± DP	Não Fermentada (mmol.g ⁻¹) ± DP
Carboxílicos	0,038 ± 0,006	0,012 ± 0,00004
Lactônicos	-	0,037 ± 0,00014
Fenólicos	0,311 ± 0,006	0,177 ± 0,0031
Carbonílicos	0,207 ± 0,002	0,202 ± 0,0068
Básicos	0,05 ± 0,0021	0,061 ± 0,0021

Segundo PAGNANELLI *et al.* (2003), os grupos fenólicos e carbonílicos são responsáveis por grande parte da remoção de metais pesados, sendo esses grupos os predominantes nas sementes de noni.

4.7.3 – Espectroscopia de Infravermelho (IV)

A técnica de Espectroscopia de Infravermelho (IV) pode ser usada para investigar os grupos predominantes na composição de uma amostra. Com esses dados, foi possível fazer uma relação entre os dados obtidos do IV e dos grupos superficiais presentes e caracterizados no item 4.7.2 (página 72).

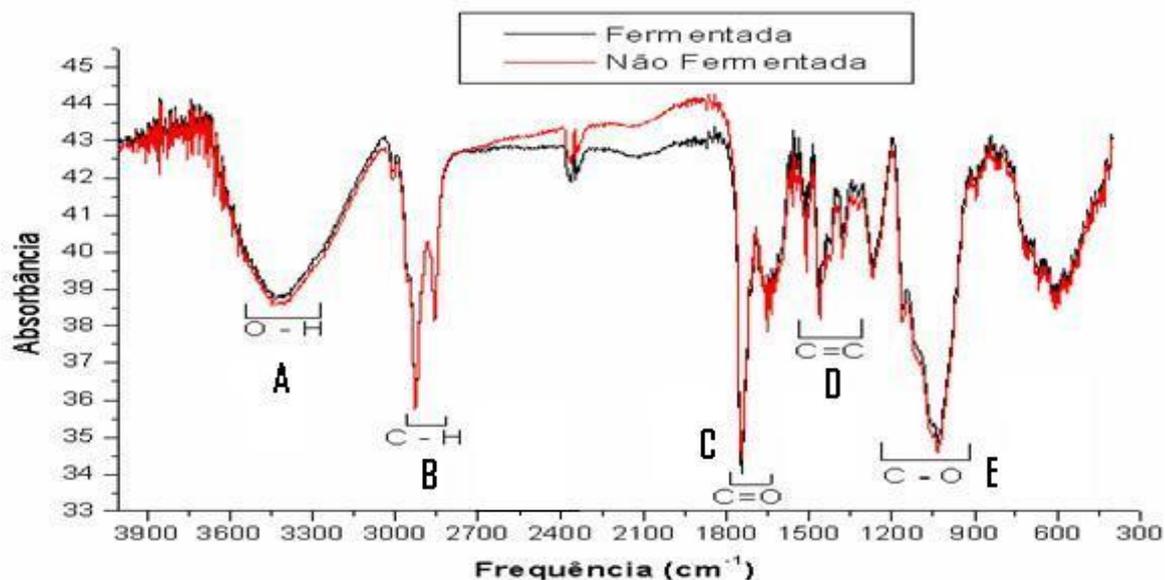


Figura 45 – Análise de Infravermelho para as sementes fermentadas e não fermentadas. **A.** Deformação axial de O – H em ligação hidrogênio intermolecular, 3420 cm^{-1} . **B.** Deformação axial C – H, 2930 cm^{-1} . **C.** Deformação axial normal C=O, $1750 - 1630\text{ cm}^{-1}$. **D.** Deformação axial das ligações C=C do anel, $1650-1450\text{ cm}^{-1}$. **E.** Deformação axial de C – O, $1270 - 1040\text{ cm}^{-1}$.

No espectro de infravermelho das sementes, gráfico 6, foi possível distinguir algumas regiões importantes:

- A primeira situada em 3420 cm^{-1} observa-se uma banda de absorção típica de OH. Essa absorção foi atribuída à presença de grupos OH de fenóis, pois, em geral, a presença significativa de deformação O–H de grupos carboxílicos se caracteriza por uma acentuada absorção, estendendo-se até 2500 cm^{-1} .

- As absorções localizadas na região de 3000 até 2800 cm^{-1} são características de vibrações simétricas e assimétricas de grupos metilas e metilenos.

- A região de 1650 até 1450 cm^{-1} do espectro é onde normalmente se observa a sobreposição de várias bandas de absorção, que podem ser deslocadas para valores menores de comprimento de onda, que é característico do estiramento da ligação C=C de grupos aromáticos.

- A absorção situada em $1750 - 1630\text{ cm}^{-1}$ é característica do estiramento de carbonila (C=O), que juntamente com vibração de deformação axial da ligação C-O, que aparece na região de 1270 até 1040 cm^{-1} , pode sugerir a

presença tanto de ácidos carboxílicos como de ésteres ou lactonas ligados a grupos aromáticos.

- Na faixa de 1200 até 900 cm^{-1} podemos observar bandas relacionadas à ligação C-OH, referentes às desdobramentos axiais C-O e angular O-H. Estas absorções podem confirmar a presença de estruturas fenólicas.
- Na região que vai de 750 até 450 cm^{-1} supostamente apresenta aromáticos com substituição no anel.

As regiões características encontradas acima foram citadas baseadas em SILVESTEIN (2000). Os resultados desta análise são concordantes com os obtidos no item 4.7.2 (página 74), onde grupos fenólicos e carbonílicos foram identificados e predominantes no material.

4.7.4 – Fluorescência de raio X

O espectrômetro de fluorescência de raios-X é um instrumento que determina, quantitativamente, os elementos presentes em uma determinada amostra. A tabela 11 apresenta a composição das sementes (%).

Tabela 11 - Resultado da Fluorescência para as sementes

Fermentada	(massa em %)	Não Fermentada	(massa em %)
Ca	46,77	Ca	42,24
K	26,47	K	27,72
P	7,54	P	9,89
Al	3,95	Al	6,53
Si	4,32	Si	5,87
S	4,25	S	5,38
Cl	4,15	Cl	2,36
Fe	2,56	Fe	Não detectado

Segundo os dados obtidos da caracterização química das sementes não fermentada e fermentada de *Morinda citrifolia* L. (noni), não foi observado uma diferença significativa entre as duas sementes, porém houve a ausência de grupos lactônicos nas sementes fermentadas e também houve a presença de ferro. Provavelmente, esse ferro estava complexionado com algum grupo

orgânico na semente não fermentada (talvez os lactônicos) e que, com a fermentação, esses grupos lactônicos foram modificados e liberados os átomos de ferro. Segundo RAM (2003), com o processo de fermentação, os açúcares ou outros grupos orgânicos no suco do noni são convertidos a ácidos orgânicos (aumento dos grupos carboxílicos na semente fermentada, resultado observado na caracterização química dos grupos superficiais) que resultam na redução do pH e elevação da acidez.

4.7.5 – Determinação da quantidade de matéria orgânica

Este parâmetro foi observado pelo método gravimétrico, segundo o procedimento experimental (item 5.16.5, página 99). A partir da diferença de massa antes e após o aquecimento, obtiveram-se os seguintes resultados: teor de matéria orgânica da semente fermentada de 98,68%, e um teor de matéria orgânica da semente não fermentada de 98,14%.

4.8 – ESTUDO DA REMOÇÃO DO CROMO NAS SEMENTES NÃO FERMENTADAS DE *Morinda citrifolia* L. (NONI)

O tratamento de efluentes a partir de resíduos agroindustriais vem sendo estudado para auxiliar empresas a se adequarem às leis ambientais vigentes, de tal forma que seus efluentes se enquadrem nos padrões exigidos, sem encarecer demasiadamente o processo produtivo e, principalmente, sem agressão ao meio ambiente. Nesse quadro pode se encontrar as sementes de noni (*Morinda citrifolia* L.) que em vários países, principalmente na Polinésia, as suas sementes são rejeitadas. Com isso, elas podem ser consideradas um produto de baixo custo e de fácil acesso. Além disso, os estudos químicos apontam a presença de substâncias fenólicas em todas as partes da planta, substâncias essas que podem agir como agente removedor de metais.

Segundo os resultados obtidos dos ensaios de remoção de cromo descritos no procedimento experimental (item 5.17, página 98); foi possível a

confeção do gráfico 7, no qual estão representadas as variações de Cr_{TOTAL} , $Cr(VI)$ e $Cr(III)$ em função da variação do tempo.

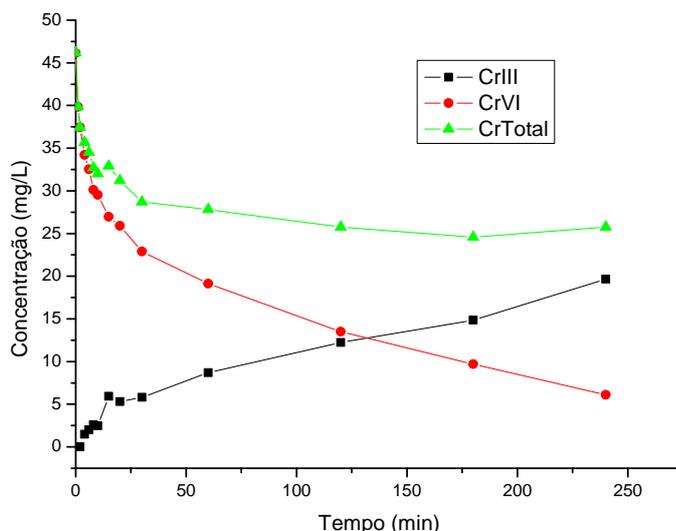


Gráfico 5 – Variação da concentração de cromo em função do tempo

Através do gráfico 5, foi observado que praticamente todo o $Cr(VI)$ foi removido da solução. Observa-se que, em 240 minutos, a concentração de $Cr(VI)$ presente na amostra é de, aproximadamente, 6,0 mg/L. Porém, na análise de Cr_{TOTAL} , essa mesma amostra apresentou uma quantidade de 25,76 mg/L. A partir desses resultados, foi possível concluir que parte desse $Cr(VI)$, presente na solução, é reduzido à $Cr(III)$. Essa concentração de $Cr(III)$ foi obtida pela diferença entre o Cr_{TOTAL} e $Cr(VI)$ e é possível observar o surgimento do $Cr(III)$ na medida que há o decréscimo de $Cr(VI)$.

GONZÁLEZ *et al.* (2006) investigaram a adsorção de $Cr(VI)$ utilizando *Agave lechuguilla*. Segundo os autores, o potencial adsorvente de *Agave lechuguilla*, em pH 2,0, pode ter ocorrido devido a atração eletrostática do ânion de $Cr(VI)$ com a carga positiva das aminas protonados presentes no biomaterial, ou também devido à redução de $Cr(VI)$ para $Cr(III)$, e subsequente ligação de $Cr(III)$ à biomassa. A adsorção de $Cr(III)$, pela *Agave lechuguilla*, foi devido às interações com grupos carboxilas localizados na superfície do adsorvente, fenômeno que também pode estar ocorrendo com as

sementes de noni, uma vez que, segundo a análise dos grupos superficiais, foram detectados grupos carboxílicos na mesma.

Nas últimas décadas, muitos trabalhos foram publicados sobre a adsorção de Cr (VI) a partir de biomateriais. Os estudos iniciais mostravam que o Cr (VI) era removido da fase aquosa através de uma adsorção aniônica entre o ânion cromato e o adsorvente. Porém, esta abordagem tem sido modificada. Recentemente, observou-se que estes resultados foram mal interpretados devido a erros na medição das concentrações de cromo em diferentes estágios de oxidação, o tempo de contacto insuficiente necessário para o equilíbrio e a falta de informações sobre o estado de oxidação do cromo ligado ao biomaterial (MOHAN E PITTMAN, 2006).

O gráfico 8 aponta a capacidade de remoção do cromo pelas sementes de *Morinda citrifolia* L. (noni). Observou-se que, após um período de 240 minutos, o percentual de remoção do metal foi de 44,2%. Porém, na solução houve uma redução de Cr(VI) para Cr(III) de 42,6%, sendo que 13,0% de Cr(VI) inicial permaneceu inalterado. PARK *et al.* (2007) observaram um percentual de remoção de Cr_{TOTAL} nas cascas de amendoim, folha da madeira e casca da laranja semelhante ao percentual encontrado nesse trabalho (aproximadamente 40%).

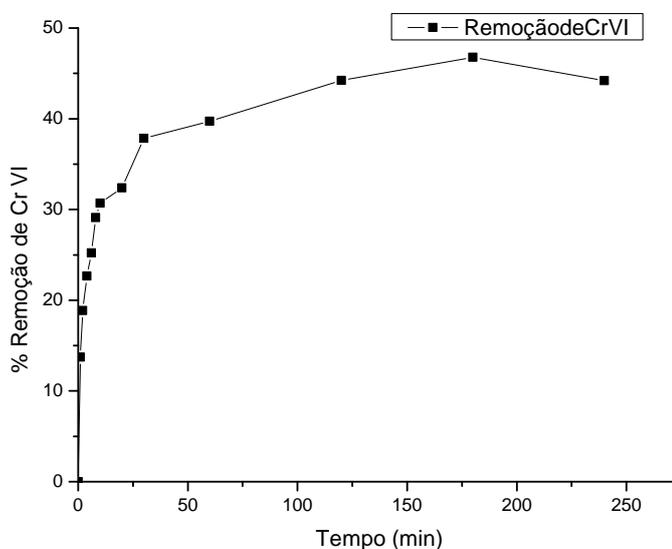


Gráfico 6 – Percentual de cromo removido pela semente de *M. citrifolia* L. (noni)

Segundo ELANGO VAN *et al.* (2008) a possível adsorção do Cr (VI) deu-se, primeiramente, com a sua redução para Cr (III) e, posteriormente, ele foi adsorvido pelo bioissorvente. Segundo os autores, esse fenômeno de redução pode ocorrer com a ajuda de taninos e compostos fenólicos, substâncias que estão presentes nas sementes devido a sua caracterização química dos grupos superficiais e também devido a substância que foi isolada (americanina A) que é um fenólico que apresenta um bom potencial de oxidação, podendo favorecer a redução do Cr (VI) para o Cr(III). O convertido Cr (III) ou fica presente na solução ou pode está ligado à biomassa. Na figura 45 estão representados dois mecanismos propostos por PARK *et al.* (2007) para o processo de adsorção do cromo em biomateriais.

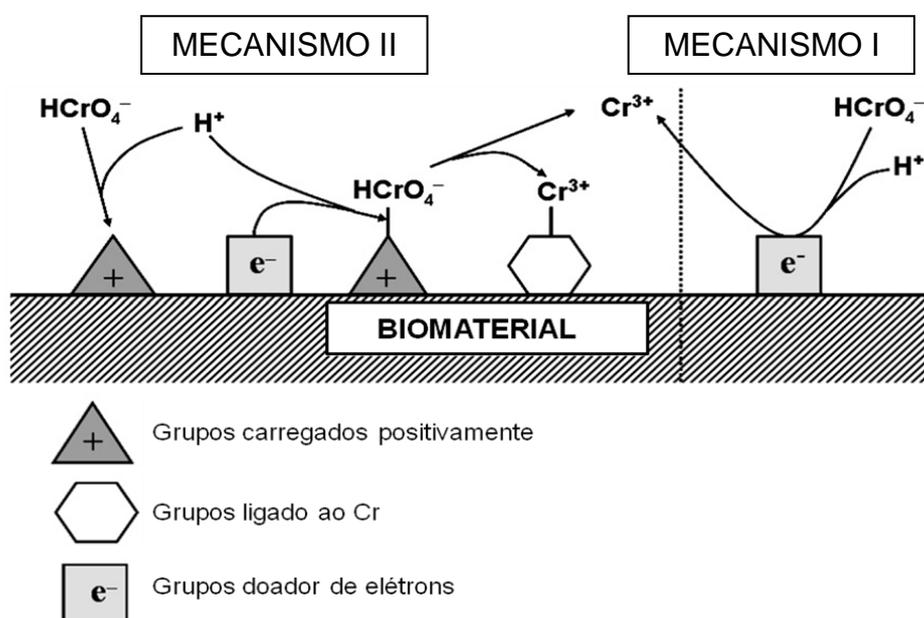


Figura 46 - Representação do mecanismo de adsorção do cromo.

FONTE: PARK *et al.*, 2007

No mecanismo I (mecanismo de redução direta), ocorrido em fase aquosa, o Cr (VI) é diretamente reduzido para Cr (III) devido à doação de elétrons por parte dos grupos doadores que estão presentes no biomaterial. Nesse caso, o Cr (III) reduzido forma complexos com o biomaterial ou permanece na fase aquosa. O mecanismo II (mecanismo de redução indireta)

consiste em três etapas: (i) a vinculação do ânion de Cr (VI) com os grupos positivamente carregados presentes na superfície do biomaterial, (ii) a redução de Cr (VI) para Cr (III) por elétrons provenientes de grupos doadores, e (iii) a liberação do reduzido Cr (III) na fase aquosa devido à repulsão eletrônica entre os grupos carregados positivamente e do Cr (III), ou a complexação do reduzido Cr(III) com os grupos adjacentes. Grupos carboxila podem tomar parte na reação (i) do mecanismo II (SAWALHA *et al.*, 2007). Com a redução do pH um grande número de íons de hidrogênio pode facilmente coordenar com os grupos amina e carboxila presentes na superfície biomaterial. Assim, um pH baixo faz com que a superfície do biomaterial fique carregada positivamente.

5. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

5.1- MATERIAL BOTÂNICO

As sementes de *Morinda citrifolia* L. – noni – (figura 47) foram fornecidas pela Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuárias (EMBRAPA) - Agroindústria Tropical. As frutas foram colhidas na fazenda da EMBRAPA no município de Trairi, no estado do Ceará, em janeiro de 2008. A identificação botânica da espécie foi realizada pelo Herbário Prisco Bezerra do departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará, local cujas exsiccatas encontram-se depositadas (n° 44.566).



Figura 47 – Sementes de *Morinda citrifolia* L. (noni)

5.2 - MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS

Para o fracionamento dos extratos das sementes de *Morinda citrifolia* L. empregou-se a técnica de adsorção em coluna, utilizando como fase estacionária gel de sílica da marca VETEC (70-230 mesh). A dimensão e o comprimento das colunas variaram de acordo com as quantidades de material a ser cromatografado e de gel de sílica utilizada. Para cromatografia em camada delgada (CCD), utilizou-se cromatoplaquetas de sílica gel 60 F 254 da Merck, com revestimento em sílica de 0,25 mm de espessura.

A revelação das substâncias analisadas em cromatoplaquetas foi obtida pela pulverização com vanilina. Após a pulverização dos reveladores, as

cromatoplaças foram colocadas em estufa a 110 °C por aproximadamente 5 minutos.

5.3 - MÉTODOS ESPECTROSCÓPICOS

5.3.1 - Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ¹H) e de carbono-13 (RMN ¹³C)

Os espectros de RMN ¹H e RMN ¹³C unidimensionais (1D) e bidimensionais (2D), foram obtidos em espectrômetros Bruker, modelo Avance DRX-300 e modelo DRX-500, do Departamento de Química da Universidade Federal do Ceará, operando na frequência do hidrogênio e do carbono a 500 MHz.

As multiplicidades das absorções em RMN ¹H foram indicadas segundo a convenção: singleto (s), dubleto (d), tripleto (t), quarteto (q) e multiplete (m) e as amostras analisadas foram dissolvidas em solventes deuterados: clorofórmio (CDCl₃), metanol (CD₃OD) e piridina (C₅D₅N).

5.3.2 - Espectrometria de massa (EM)

Os espectros de massas do óleo das sementes de noni e das substâncias isoladas foram obtidos por impacto eletrônico a 70 eV, em espectrômetro da marca Shimadzu, modelo QP 5050, DI-50, do Departamento de Química da Universidade Federal do Ceará.

5.3.3 – Espectroscopia na região do infravermelho (IV)

O espectro da absorção na região do infravermelho (IV) foi obtido em espectrômetro da marca Perckin Elmer, modelo FT-IR Spectrum 1000 do Departamento de Química da Universidade Federal do Ceará. Para a análise da amostra sólida utilizou-se pastilha de brometo de potássio (KBr).

5.4 - PONTO DE FUSÃO (PF)

O ponto de fusão das substâncias foi determinado em aparelho da marca Microquímica, modelo APF-301. A determinação foi realizada a uma velocidade de aquecimento de 2 °C/min.

5.5 - EXTRATOS DAS SEMENTES DE *Morinda citrifolia* L. (NONI)

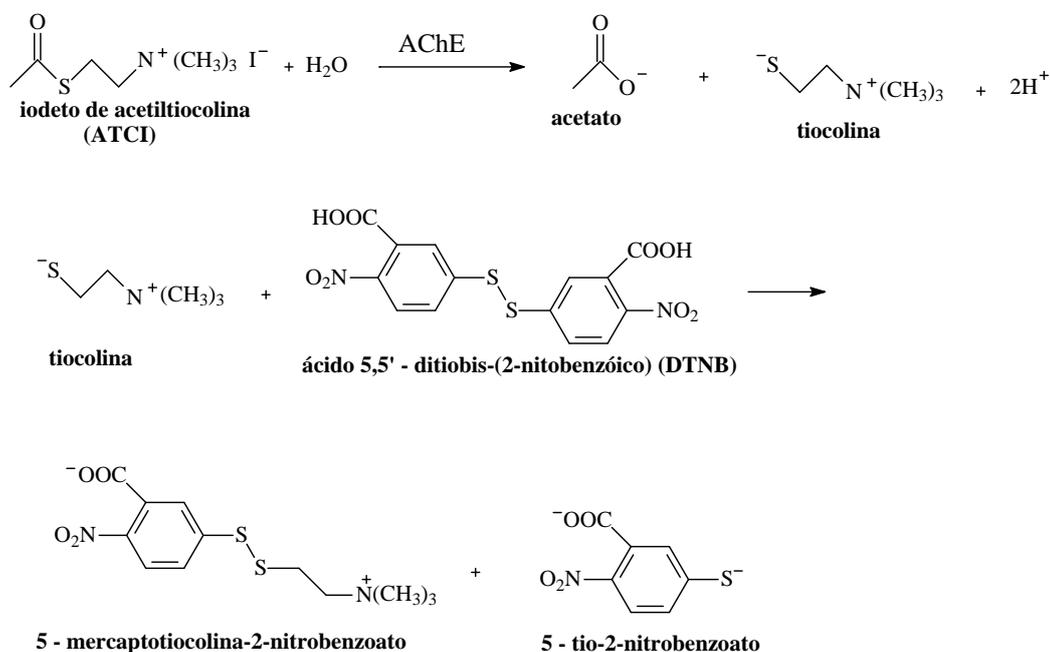
As sementes de *Morinda citrifolia* L. (noni) despulpadas, lavadas e secas em estufa (cedidas pela EMBRAPA Agroindústria Tropical), foram pulverizadas em moinho elétrico. A obtenção dos extratos deu-se a partir de 2,705kg de sementes. Inicialmente, elas foram exaustivamente extraídas com hexano, a temperatura ambiente, e, após a destilação do solvente em evaporador rotativo, foi obtido o extrato hexânico (129,11g; 4,77%). Em seguida, ao material restante, foi adicionado etanol (até total extração), a temperatura ambiente, para a obtenção do extrato etanólico (130,65g; 4,83%).

5.6 - ENSAIO BIOGUIADO DOS EXTRATOS DAS SEMENTES DE *Morinda citrifolia* L. PARA A INIBIÇÃO DA ENZIMA ACETILCOLINESTERASE

O fracionamento bioguiado é uma abordagem que já vem sendo utilizada em vários trabalhos científicos (KANG *et al.*, 2001), e nesse trabalho o fracionamento dos extratos foram realizados seguindo uma abordagem bioguiada pelo ensaio de Ellman. O objetivo desse ensaio é encontrar substâncias que apresentam a propriedade de inibir a enzima acetilcolinesterase, inibição essa que está diretamente ligada ao tratamento da doença de Alzheimer (RHEE *et al.*, 2001).

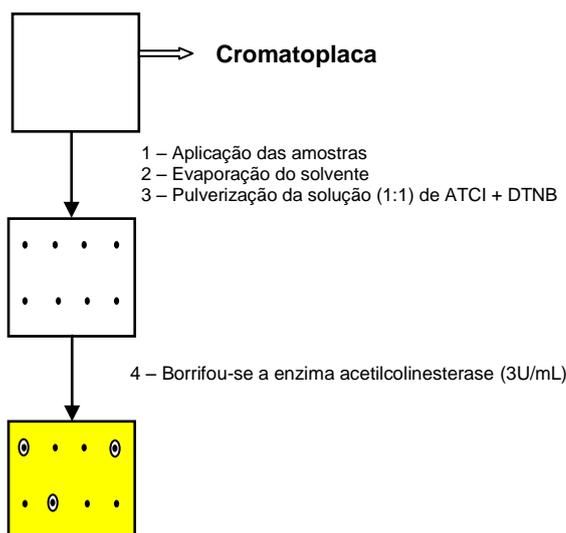
Este ensaio é baseado segundo ELLMAN *et al.* (1961), adaptado para Cromatografia em Camada Delgada (CCD), por RHEE *et al.* (2001). É considerado um método colorimétrico e que pode ser utilizado de forma qualitativa e quantitativa (no caso desse trabalho, foi utilizado apenas o modo qualitativo). É um método rápido e sensível para a seleção de amostras com

ação anticolinesterásica. As reações que estão envolvidas nesse método estão apresentadas no esquema 1.



Esquema 1 - Equação da reação do teste de Ellman

A metodologia de RHEE *et al.* (2001), utiliza uma alíquota de 2,5 μL dos extratos (10mg/mL) aplicados em uma cromatoplaça. Após a evaporação dos solventes, pulverizou-se uma mistura (1:1) de iodeto de acetiltiocolina (ATCI) 1mmol.L^{-1} com o reagente de Ellman [ácido 5,5' – Ditiobis-(2-nitrobenzóico, DTNB, 1mmol.L^{-1}], deixando em repouso por 3 min para a secagem da placa. Em seguida, borrifou-se a enzima acetilcolinesterase 3 U/mL. Após um período de 10 minutos, ocorre o surgimento de uma coloração amarela na placa, porém onde houve inibição da enzima, observou-se um halo branco em torno dos “spots” onde foram aplicadas as amostras. Em 20 - 30 min a coloração desapareceu. Como controle positivo foram utilizadas soluções dos padrões carbacol e cumarina (2 mg/mL) e controle negativo utilizados solventes. No esquema 2 estão apresentados as etapas desse método.

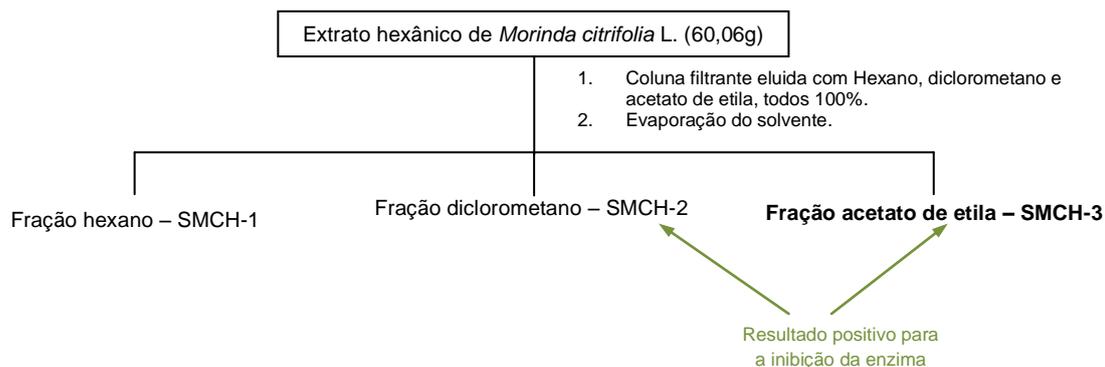


Esquema 2 – Procedimento para a realização do teste de Ellman

5.7 - TRATAMENTO CROMATOGRÁFICO BIOGUIADO DO EXTRATO HEXÂNICO - SMCH - DAS SEMENTES DE *Morinda citrifolia* L. (NONI)

O SMCH foi submetido ao ensaio de inibição da enzima acetilcolinesterase (AChE), utilizando o teste de Ellman, adaptado para CCD, de acordo com o procedimento experimental do item 5.6 (página 83). O extrato apresentou resultado positivo, evidenciado pelo halo inibitório branco em torno dos “spots” na placa de coloração amarela. Com isso, esse extrato (60,06 g) foi adsorvido em sílica gel, pulverizado em gral de porcelana e submetido a uma coluna filtrante, a qual foi eluída com os solventes orgânico hexano (SMCH-1), diclorometano (SMCH-2), acetato de etila (SMCH-3) e metanol (não apresentando material suficiente para posterior isolamento). A coluna filtrante obteve um rendimento de 96,46%.

As frações obtidas, SMCH-1, SMCH-2 e SMCH-3, foram novamente testadas frente ao potencial anticolinesterásico, apresentando-se ativa as frações SMCH-2 e SMCH-3, porém a que se apresentou mais potente (maior halo) foi a SMCH-3. Todos os dados obtidos dessa coluna estão presentes no fluxograma 1.



Fluxograma 1 – Fracionamento bioguiado do extrato hexânico de noni

5.8 – FRACIONAMENTO CROMATOGRÁFICO DA FRAÇÃO SMCH-3

Apresentando resultado positivo para a inibição da AChE, a fração SMCH-3 (2,24 g) foi adsorvida em gel de sílica, pulverizada em gral de porcelana, colocada no topo da coluna cromatográfica também de gel de sílica e eluída com os solventes hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol, puros ou em misturas binárias, resultando em 95 frações.

Após a análise cromatográfica (em CCD), as frações numeradas de 22-42 apresentaram-se semelhantes sendo reunidas e, dessa forma, chamada de SMCH-31 (0,13 g). Tratamento semelhante foi dado às frações de 75-80, que também se apresentaram semelhantes e, após serem reunidas, passou a ser chamada de SMCH-32 (0,24 g).

A fração 22-42 (SMCH-31) foi purificada em coluna de sílica gel utilizando os solventes hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol puro ou em misturas binárias. Após a finalização da coluna, no total de 55 frações, as que apresentaram numeração de 9-25 se apresentaram na forma de um sólido branco e, ao analisá-las em CCD, foi possível constatar que se tratava de uma única substância com ponto de fusão de 133,7-136,3 °C, sendo denominada de SMCH-311. Dados obtidos de RMN ¹H e comparação com padrão e dados da literatura constataram que SMCH-311 trata-se de uma mistura bastante comum de esteróides.

A fração 75-80 (SMCH-32) também foi purificada em coluna de gel de sílica utilizando os solventes hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol puro

ou em misturas binárias. A coluna obteve um total de 43 frações, das quais as de número 22-26 se apresentaram na forma de sólido branco amorfo, após análise em CCD, foram unificadas e, após recristalização com acetona, foi obtida uma fração com ponto de fusão de 233,2 a 235,70 °C. Após análise de RMN ¹H, RMN ¹³C e os bidimensionais, constataram-se o isolamento de um triterpeno.

5.9 – TRATAMENTO CROMATOGRÁFICO BIOGUIADO DO EXTRATO ETANÓLICO – SMCE – DAS SEMENTES DE *Morinda citrifolia* L. (NONI)

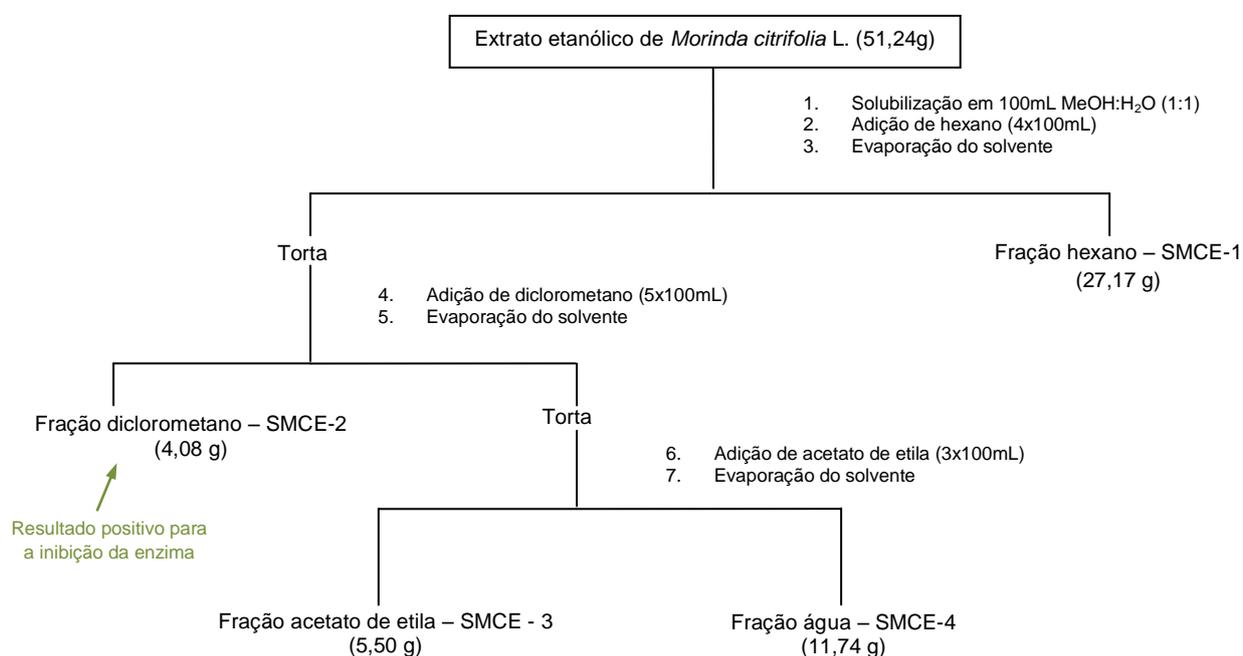
O SMCE apresentou resultado positivo para a inibição da AChE, seguindo a metodologia descrita no item 5.6 (página 83). A partir desse resultado positivo, 51,24g desse material foi solubilizado em 100 mL de uma mistura de metanol:água (1:1) e submetido a uma partição com hexano (4x100mL), diclorometano (5x100mL) e acetato de etila (3x100mL), segundo o fluxograma 3, obtendo um rendimento de 94,63%. Todas as frações foram testadas novamente através do ensaio de inibição da AChE e os resultados indicaram a fração diclorometano como a mais ativa frente essa atividade, observe o fluxograma 2.

5.10 – FRACIONAMENTO CROMATOGRÁFICO DA FRAÇÃO SMCE-2

Devido a potencial atividade da fração SMCE-2 para a inibição da enzima AChE, esse material (3,8911 g) foi adsorvido em sílica gel, pulverizado em gral de porcelana e submetido a uma coluna semi-filtrante, a qual foi eluída com os solventes orgânico hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol, puros ou em misturas binárias (sempre 50% de cada solvente). O material retirado com hexano e a mistura hexano:diclorometano (1:1) teve seu estudo descontinuado devido a escassez de material, porém as demais frações foram obtidas em quantidades significativas. Na tabela 12 estão descritos os solventes utilizados, juntamente com a quantidade de material obtido de cada um dessas sub-frações, o teor de cada uma, bem como os resultados de sua

ação anticolinesterásica. Esse tratamento cromatográfico obteve um rendimento de 95,2 %.

A fração SMCE-24 (1,65 g) foi submetida a uma coluna cromatográfica, utilizando sílica gel e, após a eluição com os solventes orgânicos hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol puro e em misturas binárias, obteve-se 53 frações. Após a rotaevaporação dos solventes, a fração 43 apresentou um precipitado levemente amarelo e insolúvel em acetato de etila. Dessa forma, essa fração foi lavada exaustivamente com esse solvente e centrifugado a cada lavagem, para a obtenção de um sólido cristalino amarelo, denominado de SMCE-243. Após os dados obtidos de RMN ^1H , RMN ^{13}C , espectros bidimensionais e comparação com dados da literatura, constaram-se que SMCE-243 trata-se de uma neolignana com ponto de fusão de 174-175,5 °C .



Fluxograma 2 – Fracionamento bioguiado do extrato etanólico de noni

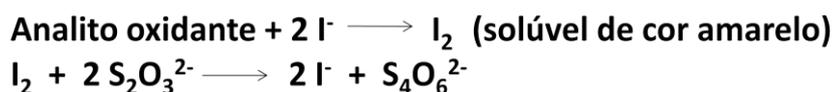
Tabela 12 - Frações obtidas da coluna semifiltrante do extrato etanólico de noni

Solvente	massa (g)	teor (%)	Ação anticolinesterásica
Hexano	-	-	-
Hexano:diclorometano (1:1)	-	-	-
diclorometano – SMCE-23	0,41	10,62	POSITIVO
diclorometano:acetato de etila (1:1) – SMCE-24	1,66	42,61	POSITIVO
acetato de etila – SMCE-25	0,56	14,45	-
acetato de etila:metanol (1:1) – SMCE-26	0,93	24,00	-
metanol – SMCE-27	0,14	3,52	-

5.11 – ESTUDO DA ESTABILIDADE TÉRMICA DOS ÓLEOS DAS SEMENTES DE *Morinda citrifolia* L. (NONI), DAS CASTANHAS DE CAJU A E SP3 E DO DENDÊ

O estudo da estabilidade térmica do óleo de *M. citrifolia* L. (noni) foi realizado na EMBRAPA Agroindústria Tropical. Para a comparação do valor de peróxido obtido no óleo de noni, tratamento semelhante foi feito para óleos de dois tipos de castanhas de caju, denominadas de caju A e caju SP3 (ambas cedidas pela empresa CIONE, Fortaleza) e o óleo de dendê, obtido no comércio de Salvador. Para a obtenção dos óleos das castanhas dos dois tipos de caju, 250 g de cada uma foram extraídas com hexano, em aparelho de Soxhlet, por um período de 6 horas. Após a extração e remoção do solvente, foi obtido o óleo bruto (caju A com 35% de óleo e caju SP3 com 29% de óleo).

Para a realização desse método, os óleos de noni, caju A, caju SP3 e dendê (aproximadamente 5g) foi acondicionado, separadamente, em diversos tubos Pyrex com rosca e envoltos com papel alumínio. Esses materiais foram armazenados em estufa a 60 °C por 30 dias. A estabilidade térmica do óleo foi avaliada através dos valores de peróxidos (VP) quantificados no período de 0, 5, 10 e 20 dias. O VP foi determinado através do método iodométrico, segundo AOAC (1990). Este procedimento determina a presença de substâncias capazes de oxidar o Iodeto de Potássio (KI). Estas substâncias são geralmente consideradas como peróxidos resultantes da oxidação da gordura. Observe a equação abaixo, que representa as reações envolvidas nesse método.



O método consiste na solubilização dos óleos em 30 mL de uma solução de ácido acético:clorofórmio (3:2, v/v) e adição de 0,5 mL de uma solução saturada de iodeto de potássio. Após 1 minuto, em ambiente escuro, adicionou-se 30 mL de água destilada, resultando em uma solução de coloração amarelada. A titulação foi procedida com uma solução 0,02mol.L⁻¹ de tiosulfato de sódio (Na₂S₂O₃) e os valores de peróxidos expressos em meq O₂.kg⁻¹.

5.12 – ESTUDO DOS ÁCIDOS GRAXOS DOS ÓLEOS DAS SEMENTES DE *Morinda citrifolia* L. (NONI), DAS CASTANHAS DE CAJU A E SP3, E DO DENDÊ

A esterificação dos óleos das sementes de noni, das castanhas do caju A e caju SP3 e do óleo de dendê foi seguida de acordo com HARTMAN E LAGO (1973), a qual se faz necessárias duas soluções: Reagente de saponificação (KOH em metanol 0,5 mol.L⁻¹) e Reagente de esterificação (Solução de ácido sulfúrico em metanol).

Os óleos (cerca de 200 a 500 mg) foram acondicionados em balões de fundo reto, contendo pedras de ebulição, e adicionado, em cada um, 5 mL do reagente de saponificação. A mistura foi aquecida e mantida em refluxo por 3-5 minutos. Em seguida, foram adicionados 15 mL do reagente de esterificação, à solução quente, e mantida novamente em refluxo por mais 3 minutos. Após o resfriamento, a mesma foi transferida para um funil de decantação, contendo 25 mL de éter de petróleo. Após a remoção da fase aquosa, a fração orgânica foi lavada com solução saturada de NaCl (3 lavagens), sendo novamente descartadas as fases aquosas. A fase orgânica foi guardada sob refrigeração para a injeção em cromatografia gasosa acoplado ao espectrômetro de massa (CG/EM). Essa técnica foi realizada no CG/EM da marca Shimadzu, modelo QP 5050, Coluna OV5 de dimetil polisiloxano com 30 m de comprimento, diâmetro interno de 0,25 mm e 0,25 µm de filme. O gradiente de análise foi de

20 °C/min (na variação de 80 – 180 °C) e elevado para 24 °C/min (na variação de 180 – 300 °C), sendo a temperatura do injetor de 280 °C e um fluxo de gás de 1 mL/min, com o gás Hélio como gás de arraste. As análises foram realizadas no CG/EM do Departamento de Química da Universidade Federal do Ceará.

5.13 – ESTUDO DA ATIVIDADE LARVICIDA DOS EXTRATOS HEXÂNICO E ETANÓLICO DAS SEMENTES DE *Morinda citrifolia* L. (NONI)

Foram realizados bioensaios para a determinação da atividade larvicida frente às larvas do mosquito vetor da dengue *Aedes aegypti*. Os ensaios foram realizados no laboratório de Produtos Naturais da Universidade Federal do Ceará. As larvas foram cedidas pelo Núcleo de Vetores do Estado do Ceará (NUVET), estando na forma de 3^o estágio, e sendo essas larvas em dois tipos: A larva denominada ROCK (isenta de contaminação) e a larva denominada PAN (colhidas no bairro Pan Americano, no município de Fortaleza, Ceará, sendo considerada mais resistente).

Os extratos hexânico e etanólico de *Morinda citrifolia* L. (noni) tiveram sua atividade larvicida testada frente às larvas, segundo CAVALCANTI *et al.* (2004), onde os extratos foram analisados em concentrações de 100, 250, 500 e 1000 mg.L⁻¹. São adicionados 300 µL de dimetilsulfóxido (DMSO) no extrato e completados com água até um volume de 20 mL. A essas soluções, foram adicionadas 25 larvas que, após um período de 24 horas, foram recontadas e observadas o número de larvas mortas. O ensaio foi realizado em triplicata e calculado o valor da DL₅₀. Paralelamente, foram realizados testes em branco, utilizando-se DMSO.

5.14 – AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DO RADICAL LIVRE DPPH DAS SEMENTES DE *Morinda citrifolia* L. (NONI)

5.14.1 – Avaliação da atividade antioxidante pelo método do DPPH do extrato etanólico das sementes de *Morinda citrifolia* L. (noni) e as suas frações.

A avaliação da atividade antioxidante do extrato etanólico das sementes de *Morinda citrifolia* L. (noni) e as suas frações foi realizada pelo método do radical livre DPPH, segundo BRAND-WILLIAMS *et al.* (1995). Os extratos foram testados de 25 a 500 mg/L, todas em duplicata. Em 20 μ L dessas soluções foram adicionados 180 μ L da solução de DPPH (20 μ g/mL), comparando a um controle negativo (metanol). As leituras foram realizadas 30 minutos após a mistura. O comprimento de onda utilizado pra detecção foi de 515nm, em espectrofotômetro UV/VIS. Os valores de IC₅₀ foram calculados através da relação: concentração de extrato versus percentual de DPPH remanescente.

5.14.2 – Obtenção dos extratos das sementes não fermentada e fermentada de noni para o estudo da atividade antioxidante.

Para a avaliação da atividade antioxidante das sementes de *Morinda citrifolia* L. (fornecidas pela EMBRAPA) foi feito um estudo separado das sementes não fermentadas e fermentadas da fruta, a fim de descobrir se existem diferenças entre esses materiais quanto a esse parâmetro. Dessa forma, 100 g de cada uma das sementes foram, inicialmente, extraídas com hexano (500 mL) em aparelho de Soxhlet, por um período de 6 horas. Após a remoção da gordura, foi adicionado metanol (500 mL) e, novamente, essas sementes foram extraídas com esse solvente por mais 6 horas. Os solventes foram removidos em evaporador rotativo e os extratos obtidos de cada semente apresentaram os seguintes rendimentos: sementes não fermentadas (8,3% de extrato hexânico e 4,45% de extrato metanólico) e sementes fermentadas (6,77% de extrato hexânico e 3,37% de extrato metanólico). Os extratos metanólicos foram submetidos ao teste antioxidante pelo método da hipoxantina/xantina oxidase descrita no item 5.15.1 (página 95), e o método do radical livre DPPH descrita no item 5.14.3 (página 94).

5.14.3 – Avaliação da atividade antioxidante pelo método do DPPH dos extratos hexânico e metanólico das sementes não fermentada e fermentada de *Morinda citrifolia* L. (noni)

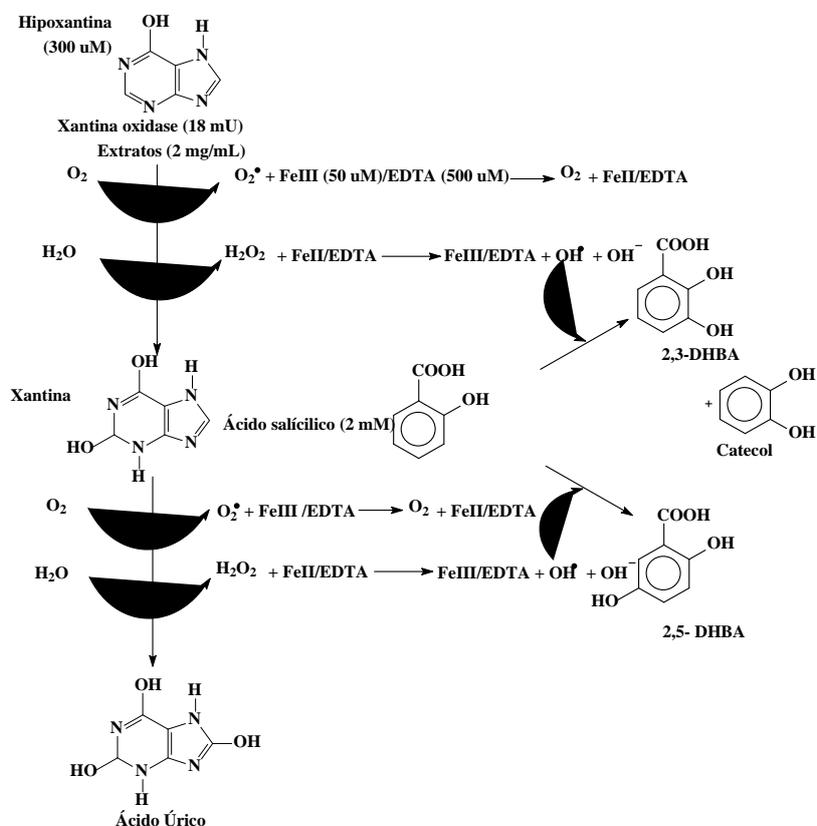
A avaliação da atividade antioxidante dos extratos hexânico e metanólico das sementes não fermentada e fermentada de noni pelo método do radical livre DPPH, segundo SILVA *et al.* (2006). As amostras foram analisadas nas seguintes concentrações: 50 a 1000 mg/L, todas em duplicata. Em 20 μ L dessas soluções, foram adicionados 180 μ L da solução de DPPH (20 μ g/mL), comparando-os a um controle negativo (DMSO). As leituras foram realizadas 15 minutos após a mistura. Em geral, para essa metodologia usa-se um tempo de 45 min, mas foi observado para os extratos de noni que em 15 minutos já era possível estimar o valor de IC₅₀. O comprimento de onda utilizado pra detecção foi de 515nm. Os valores de IC₅₀ foram calculados através da relação entre a concentração de extrato versus percentual de DPPH remanescente.

Os ensaios da atividade antioxidante foram realizados pelo aluno de Doutorado Ricardo Marques, na Division of Toxicology and Cancer Risk Factors – German Cancer Research Center, Heidelberg, Alemanha.

5.15 – AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DA HIPOXANTINA/XANTINA OXIDASE

O método da hipoxantina/xantina oxidase consiste em um sistema enzimático contendo a hipoxantina como substrato e a enzima xantina oxidase. Esta enzima atua sobre a hipoxantina, oxidando-a a ácido úrico. Nessa etapa há a liberação de radicais hidroxilas (OH \cdot), que por sua vez reagem com o ácido salicílico, presente no meio, e levam à formação dos ácidos benzóicos dihidroxilados [ácido 2,3-diidroxibenzóico (2,3-DHBA) e ácido 2,5-diidroxibenzóico (2,5- DHBA)]. A hipoxantina e o ácido salicílico, incluindo os produtos de oxidação de ambos, são previamente quantificados por um experimento padrão utilizando cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (OWEN *et al.*, 2001).

Portanto, é possível adicionar ao sistema uma amostra que tenha capacidade antioxidante para ser avaliada. Assim, se a referida amostra conseguir competir com o ácido salicílico na captura do radical hidroxila, menores quantidades de 2,3-DHBA, 2,5-DHBA serão formadas (OWEN *et al.*, 2001). No esquema 3 esta representado o ensaio da hipoxantina/xantina oxidase.



Esquema 3 - Representação do ensaio antioxidante hipoxantina/xantina oxidase

5.15.1 – Avaliação da atividade antioxidante dos extratos metanólicos não fermentada e fermentada das sementes de *Morinda citrifolia* L. (noni)

Para a avaliação da atividade antioxidante dos extratos metanólicos das sementes de *Morinda citrifolia* L. (noni) fermentada e não fermentada, utilizou-se o ensaio da hipoxantina/xantina oxidase, segundo OWEN *et al.* (2001). Uma solução inicial de 4mg/mL de cada extrato foi transferida em diferentes alíquotas (10µL a 500 µL), em duplicada. Após a adição da enzima, os tubos

são incubados por três horas a 37 °C. Após a incubação foi retirada 20 µL da mistura reacional para a análise por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). A fase móvel utilizada consistiu em solução aquosa 2% de ácido acético (solvente A) e metanol (solvente B), seguindo o tempo de eluição total de 45 min e gradiente de: inicialmente 95%A:5%B por dois minutos, 75%A:25%B por oito minutos, 60%A:40%B por dez minutos, 50%A:50%B por dez minutos e 0%A:100%B até o tempo final do experimento. A taxa de fluxo da fase móvel foi 1,0 mL/min.

As análises foram conduzidas no CLAE da Hewlett-Packard (HP) 1090, coluna de octadecilsilano (C-18), detector ultravioleta (UV), ajustado a 325 nm, para a detecção dos produtos da reação (ácidos 2,5-diidroxibenzóico e 2,3-diidroxibenzóico). As quantidades de difenóis produzidos foram calculadas a partir de curvas padrões de ambos difenóis- ácidos 2,5-diidroxibenzóico e 2,3-diidroxibenzóico- construídas a partir de cromatogramas obtidos a 325 nm, em concentrações de 0 a 1 mmol.L⁻¹. O tratamento dos dados foi realizado com um software HP Chemstation em um PC.

Os ensaios da atividade antioxidante foram realizados pela aluna de Doutorado Cleoni Virginio da Silveira, na Division of Toxicology and Cancer Risk Factors – German Cancer Research Center, Heidelberg, Alemanha.

5.16 – CARACTERIZAÇÃO DAS SEMENTES NÃO FERMENTADA E FERMENTADA DE *Morinda citrifolia* L. (NONI)

5.16.1 – Determinação do pH do Ponto de Carga Zero (pH_{PCZ})

O pH_{PCZ} é uma importante propriedade que deve ser verificada em adsorventes, pois, a partir dessa análise, sabe-se qual o melhor pH para adsorver os cátions ou os ânions, já que o pH influencia diretamente no processo de adsorção. Em pH baixo, a superfície do adsorvente fica carregada positivamente, causada pela presença dos íons H⁺ em solução. Já em pH alto, verifica-se uma carga superficial negativa.

O pH_{PCZ} foi determinado seguindo o método da titulação por adição de massa, segundo NOH E SCHWARZ (1990). Esse método consiste na adição de diferentes quantidades de material (semente de noni) a 100 mL de uma solução de $NaNO_3$ $0,01 \text{ mol.L}^{-1}$, em pH 3, 6 e 11 (essas soluções foram preparadas a partir de HNO_3 $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ com $NaOH$ $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$, dependendo do pH desejado, com o auxílio de um aparelho de medição de pH). Nesse ensaio, as quantidades de sementes variaram de 0,05 a 10 g. Após o contato dessas soluções com as sementes, o equilíbrio de pH foi medido após 24hs, sob agitação, a temperatura ambiente.

5.16.2 – Determinação dos Grupos Funcionais e Superficiais

As determinações dos grupos funcionais (grupos responsáveis pelo caráter adsorvente na superfície das sementes) foram realizadas através do método de neutralização seletiva, segundo BOEHM (1966). Esse método tem como objetivo quantificar os grupos (ácido e básico) que estão presentes na superfície do material. Para isso, soluções de $NaHCO_3$ ($0,02 \text{ mol.L}^{-1}$), Na_2CO_3 ($0,01 \text{ mol.L}^{-1}$), $NaOH$ ($0,02$ e $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$), e HCl ($0,02 \text{ mol.L}^{-1}$), foram misturadas (20mL) com as sementes (200 mg), separadamente. Paralelamente, foram feitos os brancos, no qual era misturada as sementes (200 mg) com as respectivas soluções (20 mL). Após um período de 24hs, sob agitação e a temperatura ambiente, foram separadas as sementes, por filtração, e colhido o sobrenadante. Nesse último, o excesso de ácido ou de base foi titulado com soluções padronizadas de HCl ou $NaOH$ $0,02 \text{ mol.L}^{-1}$.

5.16.3 – Espectroscopia de Infravermelho

A análise das duas sementes foi realizada pelo Laboratório de Bioinorgânica, do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica (UFC). O espectro de absorção na região do infravermelho (IV) foi obtido em um

espectrômetro Perkin-Elmer, modelo FT-IR SPECTRUM 1000, utilizando-se pastilhas de brometo de potássio (KBr) para a análise das amostras sólidas.

5.16.4 – Fluorescência de raio X

As amostras das duas sementes foram analisadas no aparelho de fluorescência de raios X no Laboratório de Raio X, do Departamento de Física (UFC).

5.16.5 – Determinação da quantidade de matéria orgânica

A análise quantitativa da matéria orgânica foi realizada pelo método gravimétrico, onde as sementes fermentadas e não fermentadas foram aquecidas em forno mufla, numa temperatura de 550°C, por um período de três horas.

5.17 – ESTUDO DA REMOÇÃO DE CROMO NAS SEMENTES NÃO FERMENTADAS DE *Morinda citrifolia* L. (NONI)

5.17.1 – Remoção de cromo pelas sementes de *Morinda citrifolia* L. (noni)

Os ensaios de adsorção de Cr (VI) foram realizados, primeiramente, com as sementes não fermentadas de *Morinda citrifolia* L. (noni), pois, segundo os dados obtidos da caracterização, essas sementes possivelmente se comportariam de maneira semelhante. A partir dos resultados obtidos nas sementes não fermentadas, será possível encontrar uma condição ideal para serem testadas nas sementes fermentadas da mesma planta.

As sementes de 0,25 cm foram lavadas com água de MilliQ e secadas em estufa a 105 °C. Foi utilizada uma solução estoque de 1000 mg.L⁻¹ de cromo (VI), preparada a partir de dicromato de potássio (K₂Cr₂O₇) em água milli-Q.

Para o ensaio de remoção de cromo, a solução estoque foi diluída para 50 mg.L⁻¹ de Cr(VI) e colocada em contato com 0,5 g da semente, em pH 1. Essa

mistura foi mantida sob agitação e foram colhidas alíquotas em cada intervalo de tempo para a obtenção da cinética da possível remoção. As concentrações de Cr(VI) foram detectadas pelo método colorimétrico da 1,5 difenilcarbazida.

5.17.2 – Estudo da quantidade de Cr (VI) utilizando o método da 1,5 difenilcarbazida

A metodologia utilizada para observar a concentração de cromo (VI) nas amostras foi o método espectrofotométrico que tem a 1,5-difenilcarbazida como reagente cromogênico, seguindo a metodologia descrita no APHA (2005). Esse reagente é seletivo para o Cr(VI), no qual nenhuma das outras espécies de cromo serão detectadas. Para isso, duas alíquotas de 200 µL são coletadas a cada intervalo de tempo (uma para a análise de cromo VI e outra para a análise de cromo total). A alíquota de cromo (VI) foi transferida para um balão de 25 mL, o pH foi ajustado para $1 \pm 0,3$ com H₂SO₄ P.A. (Merck), em seguida, foi adicionado 200 µL da difenilcarbazida (5 g/L) e aferido para 25 mL. O ajuste de pH ocorre devido ao complexo formado entre a 1,5-difenilcarbazida e Cr (VI) ocorrer melhor em pH $1,0 \pm 0,3$. As leituras foram feitas em um Espectrofotômetro UV/VIS (marca VARIAN modelo 1E), cubetas de 1 cm, e realizadas leituras a 540 nm.

5.17.3 – Estudo da quantidade de Cr_{TOTAL}

A redução do Cr(VI) para Cr(III) é relatado em vários trabalhos de adsorção de cromo por biomateriais. Para tal, foram também analisadas as concentrações de Cr_{TOTAL} (CrVI e CrIII) pela técnica de absorção atômica. A alíquota destinada a análise de Cr_{TOTAL} (200 µL) foi diluída para 10 mL e analisada em absorção atômica (VARIAN AAFS 240, no laboratório de análise de água – LANAGUA, UFC), onde é utilizada uma lâmpada de catodo oco específica para Cr, em comprimento de onda de 375,9 nm.

6. CONCLUSÕES

O estudo químico bioguiado das sementes de *Morinda citrifolia* Linn (noni) culminou no isolamento de quatro substâncias conhecidas na literatura, sendo estas uma mistura dos esteróides estigmasterol e β -sitosterol, além do triterpeno pentacíclico ácido ursólico, as quais foram isoladas do extrato hexânico. No extrato etanólico foi possível o isolamento da neolignana americanina A. Segundo o levantamento bibliográfico, recentemente essas substâncias foram citadas nas sementes de *Morinda citrifolia* Linn (noni).

No estudo do óleo fixo das sementes de *Morinda citrifolia* Linn (noni) foi possível identificar a predominância do ácido octadeca-9,12-dienóico (ácido linoléico-77%), sendo possível também a identificação do ácido palmítico, esteárico, oléico e aracdônico. Os óleos de caju A, caju SP3 e dendê apresentaram uma maior quantidade de o ácido octadeca-9-enóico (ácido oléico).

O estudo da atividade antioxidante das frações obtidas a partir do extrato etanólico das sementes de noni, pelo método do radical livre DPPH, apontou a fração acetato de etila com uma capacidade de capturar radicais livres maior do que as demais frações, a qual pode ser submetida a posteriores isolamentos de compostos com esse caráter. Com relação à atividade antioxidante dos extratos metanólicos das sementes não fermentada e fermentada de noni, observou-se que o processo fermentativo reduz o caráter antioxidante da semente.

O estudo da atividade antioxidante das sementes não fermentadas e fermentadas de *Morinda citrifolia* Linn (noni) pelo método da hipoxantina/xantina oxidase mostrou uma pequena diferença entre esses materiais, sendo os valores de IC₅₀ de cada uma de 1140 mg/L, para semente fermentada, e de 920 mg/L, para a não fermentada. Dessa forma, no método da hipoxantina também foi observado que a semente não fermentada

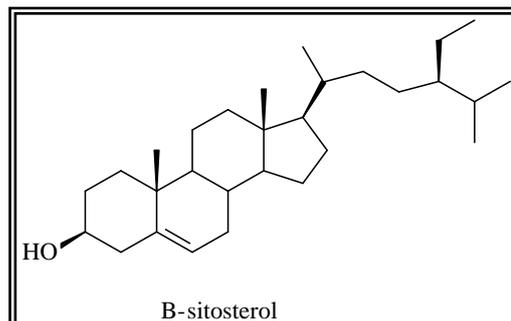
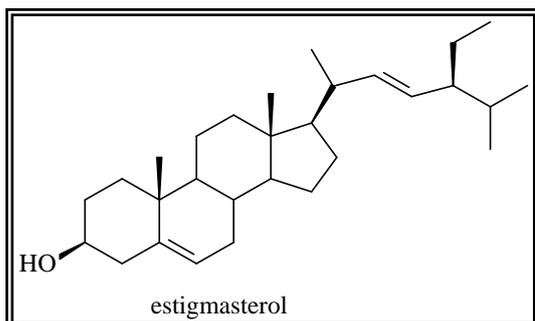
apresentou melhor atividade antioxidante, quando comparada com a fermentada.

Através das análises de caracterização das sementes não fermentada e fermentada, pode-se observar que ambas as sementes apresentam grupos semelhantes na sua superfície, diferenciando-se na presença dos grupos lactônicos nas sementes não fermentada e a presença de ferro na semente fermentada.

Para o estudo de remoção de cromo pela semente de noni, pode-se concluir que ela apresenta um bom caráter de remoção do metal em água. Sendo que, aproximadamente, 50% foi de remoção total desse metal e 44,2% de redução de cromo (VI) para cromo (III), uma forma menos nociva à saúde.

7. CONSTANTES FÍSICAS

7.1 – SMCH-311



P.F = 133,7-136,3 °C

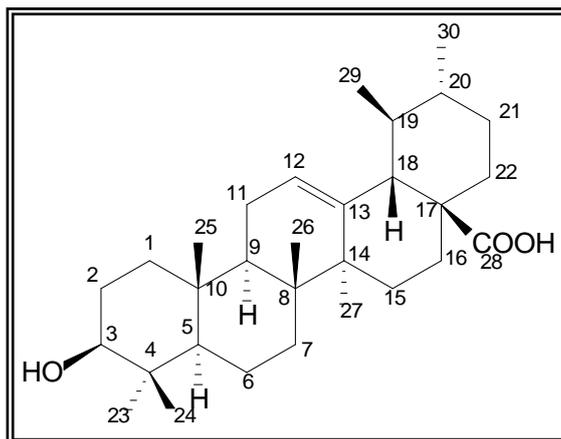
Aspecto = cristais incolores na forma de agulhas

Solubilidade = Clorofórmio

Espectrometria na região do IV, KBr (cm⁻¹): 3420, 2937 e 2863, 1463, 1378, 1057 e 963

Espectrometria de RMN 1H (500 Mhz, CD₃Cl₃), δ: 0,69 (s); 1,01 (s) e 0,79 – 0,88 (m); 5,03 (m); 5,15 (m) e 5,35 (s); 3,54 (m).

7.2 – SMCH-321



Ácido ursólico

F.M. = $C_{30}H_{48}O_3$

P.M. = 456 dalton

P.F. = 233,2 a 235,7 °C

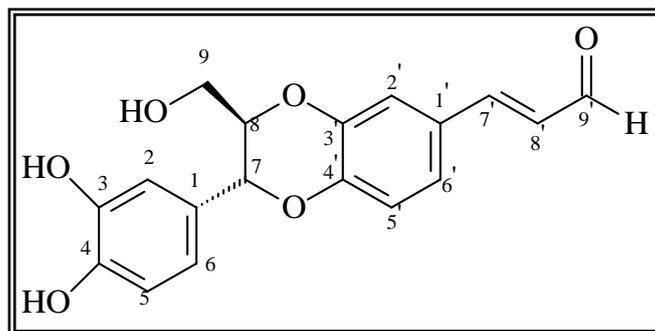
Aspecto = sólido amorfo branco

Solubilidade = mistura metanol:clorofórmio (1:1) e DMSO

Espectrometria de RMN 1H [500 Mhz, $CDCl_3:CD_3OD$ (1:1)], δ : 4,98 (1H, s); 2,92 (1H, dd); 1,93 (1H, d); 0,61 (3H, d); 0,69 (3H, d); 0,52 (3H, s), 0,57 (3H, s), 0,67 (3H, s), 0,75 (3H, s), 0,84 (3H, s); 0,47 (1H, d).

Espectrometria de RMN ^{13}C [125 Mhz, $CDCl_3: CD_3OD$ (1:1)], δ : 26,5; 38,6; 38,5; 78,4; 55,1; 18,0; 32,9; 47,4; 36,7; 23,0; 125,3; 180,36, 138,03; 41,8; 27,8; 24,0; 48,7; 52,7; 38,8; 38,9; 30,4; 36,6; 27,7; 16,6; 15,2; 25,6.

7.3 – SMCE-243



Americanina A

F.M. = $C_{18}H_{16}O_6$

P.F. = 174-175,5 °C

Aspecto = sólido amarelo em forma de agulha

Solubilidade = Piridina

Espectrometria de RMN 1H [500 Mhz, C_5D_5N], δ : 9,80; 3,96; 4,19; 4,41; 5,45

Espectrometria de RMN ^{13}C [125 Mhz, C_5D_5N], δ : 61,9; 78,1; 80,4; 116,8; 117,2; 117,8; 118,6; 120,3; 123,6; 127,9; 128,8; 129,0; 145,3; 148,2; 148,3; 148,7; 153,5; 194,2;.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGARWAL, G.S.; BHUPTAWAT, H. K.; CHAUDHARI, S. Biosorption of aqueous chromium(VI) by *Tamarindus indica* seeds. **Bioresource Technology**, v. 97, p. 949–956, 2006.

AHMAD, W., AHMAD, B., AHMAD, M., IQBAL, Z., NISAR, M., AHMAD, M. In vitro inhibition of cetylcholinesterase, butyrylcholinesterase and lipoxygenase by crude extract of *Myricaria elegans* Royle. **Journal of Biological Science**, v.3, p. 1046–1049, 2003.

AKIHISA, T.; MATSUMOTO, K.; TOKUDA, H.; YASUKAWA, K.; SEINO, K.; NAKAMOTO, K.; KUNINAGA, H.; SUZUKI, T.; KIMURA, Y. Anti-inflammatory and potential cancer chemopreventive constituents of the fruits of *Morinda citrifolia* (noni). **Journal of Natural Products**, v. 70, p. 754–757, 2007.

AKIHISA, T.; SEINO, K.; KANEKO, E.; WATANABE, K.; TOCHIZAWA, S.; FUKATSU, M.; BANNO, N.; METORI, K.; KIMURA, Y. Melanogenesis Inhibitory Activities of Iridoid-, Hemiterpene-, and Fatty Acid-glycosides from the Fruits of *Morinda citrifolia* (Noni). **Journal of Oleo Science**, v. 59, p. 49-57, 2010.

ALBUQUERQUE, I.L. Contribuição ao estudo químico de plantas do Nordeste: *Ocimum gratissimum* Lineu. Dissertação - UFC. Dissertação de mestrado (em química Orgânica) do Departamento de Química - **Universidade Federal do Ceará**, 2002.

ALVES, J.S.; CASTRA, J.C.M.; FREIRE, M.O.; DA-CUNHA, E.V.; SILVA, M.S. Complete assignment of the ¹H and ¹³C NMR spectra of four Triterpenes of the ursane, artane, lupine and fridelane groups. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 38, p. 201-206, 2000.

AMBRÓSIO, C.L.B.; GUERRA, N.B.; MANCINE FILHO, J. Características de identidade, qualidade e estabilidade da manteiga de garrafa. Parte II – estabilidade. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.23, p.351-354. 2003.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). Standard methods for the examination of water and wastewater. 20th .ed. **Baltimore**, Maryland, USA, APHA, AWWA, WEF, 2005.

ANAND, R., GHARABAWI G. Clinical development of Exelon™ (ENA-713): the ADENA® programme. **Journal of Drug and Developed Clinical Practice**, v. 8, p. 9-14, 1996.

ANDERSON, D. Antioxidant defences against reactive oxygen species causing genetic and other damage. **Mutation Research**, v. 350, n. 1, p. 103-108, 2000.

ANDERSON, R.A. Effects of chromium on body composition and weight loss. **Nutrition reviews**, v. 56, p. 266-270, 1998.

ANTUS, S.; SELIGMANN, O.; WAGNER, H. Die endgültige Struktur von Americanin-A und Hy- dnocarpin. **Justus Liebig's Annalen der Chemie**, v. 22, p. 647-654, 1986.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução nº 482, de 23 de setembro de 1999, republicada em 20 de junho de 2000. **Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de óleos e gorduras vegetais**. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/482_99.htm. Acesso em 10/02/2010a.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Informe Técnico nº. 25, de 29 de maio de 2007, atualizado em 18 de junho de 2008. **Esclarecimentos sobre as avaliações de segurança realizadas de produtos contendo *Morinda Citrifolia***. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/alimentos/informes/25_290507.htm. Acesso em: 14/05/2010b.

AOAC. American Oil Chemists' Society. Peroxide value of oils and fats acids. **Official method of analysis of the Association Analytic Chemistry**, v. 956-957, 1990.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE EMPRESAS DE VENDAS DIRETAS (ABEVD). **Cresce a venda em domicílio**. Disponível em: <http://www.abevd.org.br>. Acesso em: 29 mar. 2006.

BABEL, S.; KURNIAWAN, T.A. Chromium removal from electroplating wastewater using chemically treated zeolite. **Chemosphere**, v. 54, p. 951–967, 2004.

BAI, R.S.; ABRAHAM, T.E. Studies on chromium(VI) adsorption desorption using immobilized fungal biomass, **Bioresource Technology**, v. 87, p. 17–26, 2003.

BAI, R.S.; ABRAHAM, T.E. Studies on enhancement of Cr(VI) biosorption by hemically modified biomass of *Rhizopus nigricans*. **Water Research**, v. 36, p. 1224–1236, 2002.

BARAL, A., ENGELKEN, R.D. Chromium-based regulations and greening in metal finishing industries in the USA. **Environmental Science Policy**, v. 5, p. 121–133, 2002.

BARROS, A.R.B. Remoção de íons metálicos em água utilizando diversos adsorventes. Dissertação de Mestrado - **Engenharia Química – UFSC**, 2001.

BERGMANN, B.R.; COSTA, S.S; MORAES, V.L.G. Brazilian medicinal plants: a rich source of immunomodulatory substances. **Natural Products Research in Brazil**, v. 49, p. 395-402, 1997.

BISHNOI, N.R.; BAJAJ, M.; SHARMA, N.; GUPTA, A. Adsorption of Cr(VI) on activated rice husk carbon and activated alumina. **Bioresource Technology**, v. 91, p. 305–307, 2004.

BOEHM, H. P. **Advantese Catalise**, v. 16, p. 179-274, 1966.

BOREK, C. Antioxidants and cancer. **Science and Medicine**. p. 52-62, 1997.

BRAILE, P.M. E CAVALCANTI, J. E. W. A., Manual de tratamento de águas residuárias industriais, **CETESB**, 1993.

BRYNE, G. J. A. Treatment of cognitive impairment in Alzheimer's disease. **Australian Journal of Hospital Pharmacy**, v. 28, p. 261, 1998.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel-Wissenschaft Technologie**, v. 28, p. 25-30, 1995.

BUECHNER, W. Industrial Inorganic Chemistry; **VCH: Weinheim**, p.255, 1990.

CABATINGAN, L.K., AGAPAY, R.C., RAKELS, J.L.L., OTTENS, M., VAN DER WIELEN, L.A.M. Potential of biosorption for the recovery of chromate in industrial wastewaters. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 40, p. 2302–2309, 2001.

CALIXTO, J. B. Twenty-five years of research on medicinal plants in Latin America: a personal view. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 100, p. 131 –134, 2005.

CAVALCANTE, E.S.B.; MORAIS, S.M.; LIMA, A. A.L.; SANTANA, E.W.P. Larvicidal activity of essential oils from Brazilian Plants against *Aedes aegypti* L. **Men Institut of Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v.99, p.541-544, 2004.

CHAN-BLANCO, Y.; VAILLANT, F.; REYNES, M.; BRILLOUET, J.M.; BRAT, P. The noni fruit (*Morinda citrifolia* L.): A review of agricultural research, nutritional and therapeutic properties. Review. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, p. 645 – 654, 2006.

CHUNHIENG, M.T. Developpement de nouveaux aliments santé tropicale: application à la noix du Brésil *Bertholettia excelsa* et au fruit de Cambodge *Morinda citrifolia* L. PhD thesis, **INPL**, France, 2003.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION (1^o ed.). **Recommended internal standards edible fats and oils**, Roma, Italia, v. 11, 1982.

COSTA, M.; KLEIN, C.B. Toxicity and carcinogenicity of chromium compounds in humans. **Critical Reviews in Toxicology**, v. 36, p. 155–163, 2006.

COSTA, S.S.; JOSSANG, B.; BODO, B.; SOUZA, M.L.M.; MORAES, V.L.G. Patuletin acetylramnosides from *Kalanchoe brasiliensis* as inhibitors of human lymphocyte proliferative activity. **Journal of Natural Products**, v. 57, n. 11, p. 1503-1510, 1994.

DAKIKY, M.; KHAMIS, M.; MANASSRA, A.; MEREB, M. Selective adsorption of chromium (VI) in industrial wastewater using lowcost abundantly available adsorbents. **Advents Environmental**, v. 6, p. 533–540, 2002.

DAVIS, K.L.; POWCHIK, P. Tacrine. **Lancet**, v. 345, p. 625-630, 1995.

DEGÁSPARI, C.H.; WASZCZYNSKYJ, N. Propriedades Antioxidantes de compostos fenólicos. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 5, p. 33-40, 2004.

DENG, S.; WEST, B.J.; JENSEN, C.J.; BASAR, S.; WESTENDORF, J. Development and validation of an RP-HPLC method for the analysis of anthraquinones in noni fruits and leaves. **Food chemistry**, ARTICLE IN PRESS, p. 1-4, 2009.

DENG, Y.; CHIN, Y.; CHAI, H.; KELLER, W.J.; KINGHORN, A.D. Anthraquinones with Quinone Reductase-Inducing Activity and Benzophenones from *Morinda citrifolia* (Noni) Roots. **Journal of Natural Products**, v. 70, 2049–2052, 2007a.

DENG,S.; PALU, A.K.; WEST, B.J.; SU, C.X.; ZHOU, B.N.; JENSEN, J.C. Lipoxygenase inhibitory constituents of the fruits of noni (*Morinda citrifolia*) collected in Tahiti. **Journal of Natural Products**, v. 70, p. 859-862, 2007b.

DIXON, A.R.; McMILLEN, H.; ETKIN, N.L. Ferment this: the transformation of Noni, a traditional Polynesian medicine (*Morinda citrifolia*, Rubiaceae). **Ecological Botony**, v.53, p. 51–68, 1999.

DOOLEY, M.; LAMB, H.M. Donepezil: a review of its use in Alzheimer's disease. **Drugs & Aging**, v. 16:3, p. 199-226, 2000.

EARY, L.E., RAI, D. Chromate removal from aqueous wastes by reduction with ferrous ion. **Environmental Science Technology**, v. 22, p. 972–977, 1988.

EE, G. C. L.; WEN, Y. P.; SUKARI, M. A.; GO, R.; LEE, H. L. A new anthraquinone from *Morinda citrifolia* roots. **Natural Product Research.**, v. 23, p. 1322-1329, 2009.

ELANGOVAN, R.; PHILIP, L.; CHANDRARAJ, K. Biosorption of hexavalent and trivalent chromium by palm flower (*Borassus aethiopum*). **Chemical Engineering Journal**, v. 141, p. 99–111, 2008.

ELLMAN, G. L., COURTNEY, K. D., ANDRES, V. JR. & FEATHERSTONE, R. M. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biodiemedice Plutrmacty**, v. 7, p. 88-95, 1961.

FENNEL, C. W.; VAN STADEN, J. Crinum species in traditional and modern medicine. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 78, p. 15-26, 2001.

FERRARI, C.K.; TORRES, E.A. Biochemical pharmacology of functional foods and prevention of chronic diseases of ageing. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 57, p. 251-260, 2003.

FRANCIS, P. T.; PALMER, A. M.; SNAPE, M.; WILCOCK, G. K.; The cholinergic hypothesis of Alzheimer's disease: a review of progress. **Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry**, v. 66, p. 137-147, 1999.

FRIEDMAN, M. J. Chemical basis for biological effects of acrylamide: a review. **Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 4504, 2003.

GARDEA-TORRESDEY, J.L.; TIEMANN, K.J.; ARMENDARIZ, V. Characterization of Cr(VI) binding and reduction to Cr(III) by the agricultural byproducts of *Avena monida* (Oat) biomass. **Journal of of Hazardous Materials**, v. 80, p. 175–188, 2000.

GOLD, P.E.; CAHILL, L.; WENK, G.L. Ginkgo biloba: A cognitive enhancer. **Psychological Science in the Public Interest**, v. 3, p. 2-11, 2002.

GOMES, A., FERNANDES, E., LIMA, J. L. F. C., MIRA, L., CORVO, M. L. Molecular mechanism of anti-inflammatory activity mediated by flavonoids. **Current Medicinal Chemistry**, v. 15, p. 1586–1605, 2008.

GONÇALVES JÚNIOR, A. C., LUCHESE, E.B. e LENZI, E. Avaliação da fitodisponibilidade de cádmio, chumbo e crômio, em soja cultivada em latossolo vermelho escuro tratado com fertilizantes comerciais. **Química Nova**, v. 23, p. 173-177, 1999.

GONZÁLEZ, J.R.; VIDEA, J.R. P.; RODRÍGUEZ, E.; DELGADO, M.; TORRESDEY, J.L.G. Potential of *Agave lechuguilla* biomass for Cr(III) removal from aqueous solutions: thermodynamic studies, **Bioresource Technology**, v. 97, p. 178–182, 2006.

GOOCH, M. D.; STENNETT, D. J. Molecular basis of Alzheimer's disease. **American Journal of Health-System Pharmacy**, v. 53, p. 1545, 1996.

GROSSBERG, G.T. Cholinesterase inhibitors for the treatment of Alzheimer's disease: getting on and staying on. **Current Therapeutic Research**, v. 64, p. 216-235, 2003.

GUPTA, R.; GUPTA, A. **Phytochemistry**, v. 46, p. 827, 1997.

GUPTA, V.K.; SHRIVASTAVA, A.K.; JAIN, N. Biosorption of chromium(VI) from aqueous solution by green algae *Spirogyra* species. **Water Research**, v. 35, p. 4079–4085, 2001.

GUPTA, V.; ALI, I. Removal of lead and chromium from wastewater using bagasse fly ash-a sugar industry waste. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 271, p. 321-328, 2004.

HALLDORSÐOTTIR, E.S.; JAROSZEWSKI, J.W.; OLAFSDOTTIR, E.S. Acetylcholinesterase inhibitory activity of lycopodane-type alkaloids from the Icelandic *Lycopodium annotinum* ssp. *Alpestre*. **Phytochemistry**, v. 71, p. 149–157, 2010.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free Radicals in Biology and Medicine**, 4th ed.; Oxford University Press: Oxford, 851 p., 2007.

HARTMAN, L.; LAGO, R. C. A. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. **Laboratory Practices**, v. 22, p. 475-476, 1973.

HEINICKE R. The pharmacologically active ingredient of Noni. **Bulletin of the National Tropical Botanical Garden**, v. 15, p. 10-14, 1985.

HEINRICH, M.; TEOH, H. L. Galanthamine from snowdrop – The development of a modern drug against Alzheimer's disease from local Caucasian knowledge. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 92, p. 147–162, 2004.

HERNANDEZ, M.F.; FALÉ, P.L.V.; ARAÚJO, M.E.M.; SERRALHEIRO, M.L.M. Acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of the water extracts of several *Hypericum* species. **Food Chemistry**, v.120, p.1076-1082, 2010.

HINGSTON, F.J.; ATKINSON, R.J.; POSNER, A.M. e QUIRK, L.P. Specific adsorption of anions. **Nature**, v. 215, p. 1459-1461, 1967.

HINGSTON, F.J.; POSNER, A.M.; QUIRK, J.P. Anion adsorption by goethite and gibbsite. II. Desorption of anions by hydrous oxide surfaces. **Journal of Soil Science**, v.25, p.16-26, 1974.

HOMEM, E. M., Remoção de Chumbo, níquel e zinco em zeólita utilizando sistema de leite fluidizado, Tese (Mestrado), **UNICAMP**, 110p., 2001.

HOWES, M.J., HOUGHTON, P.J. Plants used in Chinese and Indian traditional medicine for improvement of memory and cognitive function *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, v. 75, p. 513–527, 2003a.

HOWES, M.R., PERRY, N.S.L., HOUGHTON, P.J. Plants with traditional uses and activities, relevant to the management of Alzheimer's disease and other cognitive disorders. *Phytotherapy Research*, v. 17, p. 1–18, 2003b.

HUANG, L.; SHI, A.; HE, F.; LI, X. Synthesis, biological evaluation, and molecular modeling of berberine derivatives as potent acetylcholinesterase inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, v. 18, p. 1244–1251, 2010.

IARC, IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans: Chromium, Nickel and Welding; **International Agency for Research on Cancer: Lyon**, v. 49, p. 49, 1990.

INGKANINAN, K., TEMKITTHAWON, P., CHUENCHOM, K., YUYAEM, T., THONGNOI, W. Screening for acetylcholinesterase inhibitory activity in plants used in Thai traditional rejuvenating and neurotonic remedies. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 89, p. 261–264, 2003.

JORDÃO, C. P.; SILVA, A. C.; PEREIRA, J. L.; BRUNE, W. Contaminação por crômio de águas de rios provenientes de curtumes em Minas Gerais. *Química Nova*, v. 22, p. 47-52, 1999.

KAMIYA, K.; HAMABE, W.; TOKUYAMA, S.; HIRANO, K.; SATAKE, T.; YONEZAWA, Y.K.; YOSHIDA, H.; MIZUSHINA, Y. Inhibitory effect of anthraquinones isolated from the Noni (*Morinda citrifolia*) root on animal A-, B- and Y-families of DNA polymerases and human cancer cell proliferation. *Food Chemistry*, v. 118, p. 725–730, 2010.

KAMIYA, K.; HAMABE, W.; TOKUYAMA, S.; SATAKE, T. New anthraquinone glycosides from the roots of *Morinda citrifolia*. *Fitoterapia*, v. 80, p. 196–199, 2009.

KAMIYA, K.; HAMABE, W.; HARADA, S.; MURAKAMI, R.; TOKUYAMA, S.; SATAKE, T. Chemical constituents of *Morinda citrifolia* roots exhibit hypoglycemic effects in streptozotocin-induced diabetic mice. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, v. 31, p. 935–938, 2008.

KAMIYA, K.; TANAKA, Y.; ENDANG, H.; UMAR, M.; SATAKE, T. New anthraquinone and iridoid from the fruits of *Morinda citrifolia*. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, v. 53, p. 1597-1599, 2005.

KAMIYA, K.; TANAKA, Y.; ENDANG, H.; UMAR, M.; SATAKE, T. Chemical constituents of *Morinda citrifolia* fruits inhibit copper-induced low-density lipoprotein oxidation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 52, p. 5843-5848, 2004.

KANG, S.Y.; LEE, K.Y.; SUNG, S.H.; PARK, M.J.; KIM, Y.C. Coumarins isolated from *Angelica gigas* inhibit Acetylcholinesterase: structure–activity relationships. *Journal of Natural Products*, v. 64, p. 683–685, 2001.

KHALLOUKI, F.; MANNINA, L.; VIEL, S.; OWEN, R.W. Thermal stability and long-chain fatty acid positional distribution on glycerol of argan oil, *Food Chemistry*, v. 110, p. 57-61, 2008.

KHEZAMI, L.; CAPART, R. Removal of chromium(VI) from aqueous solution by activated carbons: kinetic and equilibrium studies. **Journal of Hazard. Mater.**, v. 123, p. 223–231, 2005.

KIHARA, T.; SAWADA, H.; NAKAMIZO, T.; KANKI, R.; YAMASHITA, H.; MAELICKE, A. Galantamine modulates nicotinic receptor and blocks abeta-enhanced glutamate toxicity. **Biochem Biophys Res Commun.**, v. 325, p. 976-982, 2004.

KNAPP, M.J.; KNOPMAN, D.S.; SOLOMON, P.R.; PENDLEBURY, W.W.; DAVIS, C.S.; GRACON, S.I. A 30-Week randomized controlled trial of high-dose tacrine in patients with Alzheimer's disease. **Journal of the American Medical Association**, v. 271, p. 985-991, 1994.

KONTOGIANNI, V.G.; EXARCHOU, V.; TROGANIS, A.; GEROTHANASSIS, I.P. Rapid and novel discrimination and quantification of oleanolic and ursolic acids in complex plant extracts using two-dimensional nuclear magnetic resonance spectroscopy—Comparison with HPLC methods, **Analytica Chimica Acta**, v. 635, p. 188–195, 2009.

KOYAMA, J.; MORITA, I.; TAGAHARA, K.; OGATA, M.; MUKAINAKAB, T.; TOKUDA, H.; NISHINO, H. Inhibitory effects of anthraquinones and bianthraquinones, Epstein-Barr virus activation, **Cancer Lett.** v. 170, p. 15-18, 2001.

KUMAR, U., BANDYOPADHYAY, M. Sorption of cadmium from aqueous solution using pretreated rice husk. **Bioresource Technology**, v.97, p.104-109, 2006.

KUREK, A.; GRUDNIAK, A.M.; SZWED, M.; KLICKA, A.; SAMLUK, L.; WOLSKA, K.I.; JANISZOWSKA, W.; POPOWSKA, M. Oleanolic acid and ursolic acid affect peptidoglycan metabolism in *Listeria monocytogenes*. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 97, p. 61–68, 2010.

LAVAUT, N.E.G.; LAVAUT, J.A.G. *Morinda citrifolia* Linn.: potencialidades para su utilización em la salud humana. **Revista Cubana de Farmácia**, v. 37, p. 1, 2003.

LEE, E.B.; LEE, Y.S.; WOO, W.S. Antiinflammatory Activity of Americanin A, **Archives Pharmacol Research**, v. 8, p. 139-147, 1985.

LIN, C.F.; NI, C.L.; HUANG, Y.L.; SHEU, S.J.; CHEN, C.C. Lignans and anthraquinones from the fruits of *Morinda citrifolia*. **Natural Product Research**, v. 21, p. 1199-1204, 2007.

LINDEBOOM, J.; WEINSTEIN, H. Neuropsychology of cognitive ageing, minimal cognitive impairment, Alzheimer's disease, and vascular cognitive impairment. **European Journal Pharmacology**, v. 490, p. 83-86, 2004.

LIU, C.; XUE, Y.; YE, Y.; YUAN, F.; LIU, J.; SHUANG J. Extraction and Characterization of Antioxidant Compositions From Fermented Fruit Juice of *Morinda citrifolia* (Noni). **Agricultural Sciences in China**, v. 6, p. 1494-1501, 2007.

LIU, G.; BODE, A.; MA, W.; SANG, S.; HO, C.; DONG, Z. Two Novel Glycosides from the Fruits of *Morinda Citrifolia* (Noni) Inhibit AP-1 Transactivation and Cell Transformation in the Mouse Epidermal JB6 Cell Line. **Cancer Research**, v. 61, p. 5749–5756, 2001.

LÓPEZ, S.; BASTIDA, J.; VILADOMAT, F.; CODINA, C. Acetylcholinesterase inhibitory activity of some Amaryllidaceae alkaloids and Narcissus extracts. **Life Sciences**, v. 71, p. 2521-2529, 2002.

LÜBERCK, W.; HANNES, H. Noni. El Valioso Tesoro Curativo de los Mares del Sur., Editora **EDAF S.A.**, Madrid, 2001.

MAELICKE, A.; SCHRATTENHOLZ, A.; SAMOCHOCKI, M.; RADINA, M.; ALBUQUERQUE, E. X. Alzheimer's disease. **Behavioural Brain Research**, v. 113, p. 199-206, 2000.

MAHATO, S.B. e KUNDU, A.P. NMR Spectra of pentacyclic triterpenoids – A Compilation and some salient features. **Phytochemistry**, v. 37, p. 1517-1575, 1994.

MASUDA, M.; MURATA, K.; FUKUHAMA, A.; NARUTO, S.; FUJITA, T.; UWAYA, A.; ISAMI, F.; MATSUDA, H. Inhibitory effects of constituents of *Morinda citrifolia* seeds on elastase and tyrosinase. **Journal Natural of Medicine**, v. 63, p. 267–273, 2009.

McCLATHEY, W. From Polynesian Healers to Health Food Stores: Changing Perspectives of *Morinda citrifolia* (Rubiaceae). **Integrative Cancer Therapies**, v. 1, p. 110 – 120, 2002.

MINETT, T.S.C.; BERTOLUCCI, P.H.F. Terapia Colinérgica na Doença de Alzheimer. **Revista de Neurociências**, v. 8, p. 11-14, 2000.

MOHAN, D.; PITTMAN, C.U. Activated carbons and low cost adsorbents for remediation of tri- and hexavalent chromium from water. **Journal Hazardous Materials**, v. 137, p. 762–811, 2006.

MORETTO, Eliane. **Tecnologia de óleos e gorduras vegetais na indústria de alimentos**. 150p. São Paulo: Varela, 1998.

MOURE, A.; CRUZ, J.; FRANCO, D.; DOMINGUEZ, J.; SINEIRO, J.; DOMINGUEZ, H.; NÚÑEZ, M.; PARAJÓ, J. Natural antioxidants from residual sources. **Food Chemistry**, v.72, p. 145, 2001.

MÜLLER, J.C. Toxicidade reprodutiva da *Morinda citrifolia* Linn. **Dissertação de mestrado da Universidade Federal do Paraná**, Curitiba – Paraná. 87p. 2007.

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

MUKHERJEE, P.K. Evaluation of Indian traditional medicine. **Drug Information Journal**, v. 35, p. 620–623, 2001.

NAMASIVAYAM, C.; YAMUNA, R.T. Adsorption of chromium (VI) by a low-cost adsorbent: biogas residual slurry. **Chemosphere**, v. 30, p. 561-578, 1995.

NELSON, S.C. *Morinda citrifolia* L: Rubiaceae Coffee family. **Permanent Agriculture Resources (PAR)**, HI 96725 USA. Disponível em: <http://www.ctahr.hawaii.edu/noni/downloads/morinda_species_profile.pdf>. (Acesso em: 10/01/2010), 2006.

- NELSON, S. Noni seeds handling and seedling production. **Fruits and nuts**. Cooperative extension service/CTAHR, University of Hawaii at Mānoa. Documento da internet: <http://www.ctahr.hawaii.edu/noni/downloads/FN10.pdf>. (Acessado em: 01/08/2009), 2005.
- NGAH, W.S., ENDUD, C.S., MAYANAR, R. Removal of copper (II) ions from aqueous solution onto chitosan and cross-linked chitosan beads. **Reactive & Functional Polymers**, v. 50, p. 181-190, 2002.
- NISHIDA, Y., YOKOTA, T., TAKAHASHI, T., UCHIHARA, T., JISHAGE, K.-I., MIZUSAWA, H. Deletion of vitamin E enhances phenotype of Alzheimer disease model mouse. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 350, p. 530–536, 2006.
- NYAM, K.L.; TAN, C.P.; LAI, O.M.; LONG, K.; CHE MAN, Y.B. Physicochemical properties and bioactive compounds of selected seed oils, **Food Science and Technology**, v. 42, p. 1396–1403, 2009.
- NOH, J.S.; SCHWARZ, J.A. Effect of HNO₃ treatment on the surface acidity of activated carbons. **Carbon**, v. 28, p. 675–682, 1990.
- OH, M.H., HOUGHTON, P.J., WHANG, W.K., CHO, J.H. Screening of Korean herbal medicines used to improve cognitive function for anti-cholinesterase activity. **Phytomedicine**, v. 11, p. 544–548, 2004.
- OLIVEIRA, A.C.; VALENTIM, I.B.; GOULART, M.O.F.; SILVA, C.A.; BECHARA, E.J.H.; TREVISAN, M.T.S. Fontes vegetais naturais de antioxidantes, **Química Nova**, v. 32, p. 689-702, 2009.
- OLIVEIRA, L. S.; FRANCA, A.S.; ALVES, T. M.; ROCHA, S.D.F. Evaluation of untreated coffee husks as potential biosorbents for treatment of dye contaminated waters. **Journal of Hazardous Materials**, v. 155, p. 507–512, 2008.
- OWEN, R.W.; SPIEGELHALDER, B.; BARTSCH, H. Generation of reactive oxygen species by the faecal matrix, **Reprinted from GUT**, v.46, p. 225-232, 2001.
- PAGNANELLI, F.; MAINELLI, S.; VEGLIO F. e TORO L. Heavy metal removal by olive pomace: biosorbent characterisation and equilibrium modelling, **Chemical Engineering Science**, v. 58, p. 4709–4717, 2003.
- PALU, A.K.; JIM, A.H.; WEST, B.J.; DENG, S.; JENSEN, J.; WHITE, L. The effects of *Morinda citrifolia* L.(noni) on the immune system: Its molecular mechanisms of action. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 115, p. 502-506, 2008.
- PARK, D.; LIM,S.; YUN,Y.; PARK, J.M. Reliable evidences that the removal mechanism of hexavalente chromium by natural biomaterials is adsorption-coupled reduction. **Chemosphere**, v. 70, p. 298–305, 2007.
- PAWLUS, A.D.; KINGHORN, A.D. Review of ethnobotany, chemistry, biological activity and safety of the botanical dietary supplement *Morinda citrifolia* (noni), **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 59, p. 1587-1609, 2007.

PAWLUS, A.D.; SU, B-N; KELLER, W.J.; KINGHORN, A.D. An anthraquinone with potent quinine reductase-inducing activity and other constituents of the fruits of *Morinda citrifolia* (Noni). **Journal of Natural Product**, v. 68, p. 1720-1722, 2005.

PING, W.Y.; CHENG, EE; LIAN, G.; BONG, J.C.F.; SUKARI, M.A. Potential mosquito larvicides from morinda citrifolia root extract. **Malaysian Journal of Science**, v. 28,p. 39-43, 2009.

POTTERAT, O.; HAMBURGER, M. *Morinda citrifolia* (Noni) Fruit - Phytochemistry, Pharmacology, Safety. **Plant Medicine**, v. 73, p. 191-199, 2007.

QUIK, M.; JEYARASASINGAM, G. Nicotinic receptors and Parkinson's disease. **European Journal of Pharmacology**, v. 393, p. 223, 2002.

RAHMAN, I.; BISWAS, S.; KODE, A. Oxidant and antioxidant balance in the airways and airway diseases. **Europe Journal of Pharmacology**, v. 533, p. 222, 2006.

RAM, J. Noni processing and quality control: protecting the image of Hawaiian products. **Proceedings of the 2002 Hawai'i Noni Conference**. University of Hawaii at Manoa: College of Tropical Agriculture and Human Resources, p. 25-28, 2003.

RENAUD, S.C., GUEGUEN, R., SHENKER, J., D'HOUTAUD, A. Alcohol and mortality in middle-aged men from eastern France. **Epidemiology**, v. 9, p. 184-188, 1998.

RESENDE, R., MOREIRA, P. I., PROENÇA, T., DESHPANDE, A., BUSCIGLIO, J., PEREIRA, C. Brain oxidative stress in a triple-transgenic mouse model of Alzheimer disease. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 44, p. 2051–2057, 2008.

RHEE, I. K.; MEENT, M. V. D.; INGKANINAN, K.; VERPOORTE, R. Sreening for acetylcholinesterase inhibitors from Amaryllidaceae using gel thin-layer chromatography in combination with bioactivity staining. **Journal Chromatography**, v.915, p. 217-223, 2001.

RICORDEL, S.; TAHA, S.; CISSE, I.; DORANGE, G. Heavy metals removal by adsorption onto peanut husks carbon: characterization, kinetic study and modeling, **Separation and Purification Technology** , v. 24, p. 389–401, 2001.

ROGERS, S.L.; FRIEDHOFF, L.T. The efficacy and safety of donepezil in patients with Alzheimer's disease: results of a US multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. **Dementia**, v. 7, p. 293-303, 1996.

ROSS, I.A. Medicinal plants of the world: chemical constituents, traditional and modern medicinal uses, **Humana**, v. 2, p. 309–317, 2001.

SALUDES, J.P.; GARSON, M.J.; FRANZBLAU, S.G.; AGUINALDO, A.M. Antitubercular constituents from the hexane fraction of *Morinda citrifolia* Linn. (Rubiaceae). **Phytotherapy Research**, v. 16, p. 683-685, 2002.

SANG, S.; WANG, M.; HE, K.; LIU, G.; DONG, Z.; BADMAEV, V.; ZHENG, Q.Y.; GHAI, G.; ROSEN, R.T.; HO, C.T. Chemical components in noni fruits and leaves (*Morinda citrifolia*). In: HO, C.T.; ZHENG, Q.Y. (edt) Quality Management of Nutraceuticals. Ho C-T and Zheng QY (Eds.). ACS Symposium Series 803, **American Chemical Society**, p. 135-150, 2002.

SANG, S.; CHENG, X.; ZHU, N.; STARK, R.E.; BADMAEV, V.; GHAI, G.; ROSEN, R.T.; HO, C. Flavonol Glycosides and Novel Iridoid Glycoside from the Leaves of *Morinda citrifolia*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 4478-4481, 2001.

SARIN, V.; PANT, K.K. Removal of chromium from industrial waste by using eucalyptus bark. **Bioresource Technology**, v. 97, p. 15–20, 2006.

SANCHETI, S.; SANCHETI, S.; UM, B.-H.; SEO, S.-Y. 1,2,3,4,6-penta-O-galloyl- β -D-glucose: A cholinesterase inhibitor from *Terminalia chebula*. **South African Journal of Botany**, p. 1-4, 2009.

SAWALHA, M.F., PERALTA-VIDEA, J.R., SAUPE, G.B., DOKKEN, K.M., GARDEA-TORRESDEY, J.L. Using FTIR to corroborate the identity of functional groups involved in the binding of Cd and Cr to saltbush (*Atriplex canescens*) biomass. **Chemosphere**, v. 66, p. 1424–1430, 2007.

SCHULZ, V. Ginkgo extract or cholinesterase inhibitors in patients with dementia: what clinical trial and guidelines fail to consider. **Phytomedicine**, v. 10, p. 74–79, 2003.

SEKHAR, K.C.; KAMALA, C.T.; CHARY, N.S.; ANJANEYULU, Y. Removal of heavy metals using a plant biomass with reference to environmental control, **International Journal of Mineral Processing**, v. 68, p. 37–45, 2003.

SERENIKI, A.; VITAL, M. A.B.F. A doença de Alzheimer: aspectos fisiopatológicos e farmacológicos. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 30, 2008.

SHAMI, N.J.I.E.; MOREIRA, E.A.M. Licopeno como agente antioxidante. **Revista de Nutrição**, Campinas. v. 17, p. 227-236, 2004.

SHOVIC, A.C.; WHISTLER, W.A. Food sources of provitamin A and vitamin C in the American Pacific. **Tropical Science**, v. 41, p. 199-202, 2001.

SCHRIPSEMA, J.; CAPRINI, G.P.; DAGNINO, D. Revision of the Structures of Citrifolinin A, Citrifolinin B, Yopaaoside A, Yopaaoside B, and Morindacin, Iridoids from *Morinda citrifolia* L. and *Morinda coreia* Ham. **Organic Letters**, v. 8, p. 5337-5353, 2006.

SIDDIQUI, B.S.; SATTAR, F.A.; BEGUM, S.; GULZAR, T.; AHMAD, F. New anthraquinones from the stem of *Morinda citrifolia* Linn. **Natural Product Research**, v. 20, p. 1136-1144, 2006.

SIDDIQUI, B.S.; SATTAR, F.A.; BEGUM, S.; GULZAR, T.; AHMAD, F. Chemical constituents from the stems of *Morinda citrifolia* Linn. **Archives Pharmacal Research**, v. 30, p. 793-798, 2007a.

SIDDIQUI, B.S.; SATTAR, F.A.; AHMAD, F.; BEGUM, S. Isolation and Structural Elucidation of Chemical Constituents from the Fruits of *Morinda citrifolia* Linn. **Archives Pharmacal Research**, v. 30, p. 919-923, 2007b.

SILVA FILHO, A.A.; RESENDE, D.O.; FUKUI, M.J.; SANTOS, F.F.; PAULETTI, P.M.; CUNHA, W.R.; SILVA, M.L.A.; GREGÓRIO, L.E.; BASTOS, J.K.; NANAYAKKARA, N.P.D. In vitro antileishmanial, antiplasmodial and cytotoxic activities of phenolics and

triterpenoids from *Baccharis dracunculifolia* D. C. (Asteraceae). **Fitoterapia**, v. 80, p. 478–482, 2009.

SILVA, F.O. Contribuição ao estudo químico de plantas do Nordeste: *Ocimum micranthum* Willd. – UFC. Dissertação de mestrado em química Orgânica do Departamento de Química – Universidade Federal do Ceará, 2003.

SILVA, J.P.; AREIAS, F.M.; PROENÇA, F.M.; COUTINHO, O.P. Oxidative stress protection by newly synthesized nitrogen compounds with pharmacological potential. **Life Science**, v. 78, p. 1256–1267, 2006.

SILVESTEIN, R.M.; BASSLER, G.C.; MORRILL, T.C. Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos. 6ª Ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A., 2000.

SIMONSEN, J.L. Note on the constituents of *Morinda citrifolia*. **Journal of Chemical Society**, v. 117, p. 561-564, 1920.

SINGH, I.B.; SINGH, D.R. Cr(VI) removal in acidic aqueous solution using iron-bearing industrial solid wastes, their stabilization with cement. **Environmental Technology**, v. 23, p. 85–95, 2002.

SPEISKY, H.C.; JIMÉNEZ, I.T. Radicales libres y antioxidantes en la prevención de enfermedades III: evidencias clínico epidemiológicas de los riesgos y beneficios asociados al consumo de antioxidantes en la prevención de enfermedades cardiovasculares. **Revista Chilena de Nutrición**, v. 27, n. 3, p. 314-325, 2000.

SRIVASTAVA, M.; SINGH, J. A new anthraquinone glycoside from *Morinda citrifolia*. **International Journal of Pharmacognosy**, v. 31, p. 182-184, 1993.

SU, B.; PAWLUS, A. D.; JUNG, H.; KELLER, W.J.; MCLAUGHLIN, J.L.; KINGHORN, D. Chemical Constituents of the Fruits of *Morinda citrifolia* (Noni) and Their Antioxidant Activity, **Journal of Natural Products**, v. 68, p. 592-595, 2005.

SUBRAMANIAM, V.; ADENAN, M.I.; AHMAD, A.R.; SAHDAN, R. Natural antioxidants: *Piper sarmentosum* (Kadok) and *Morinda elliptica* (Mengkudu). **Malaysian Journal of Nutrition**, v. 9, p. 41 -5 1, 2003.

SUMMERS, W.K.; MAJOVSKI, L.V.; MARSH, G.M.; TACHIKI, K.; KLING, A. Oral tetrahydroaminoacridine in long-term treatment of senile dementia Alzheimer type. **New England Journal of Medicine**, v. 315, p. 1241-1245, 1986.

TAKASHIMA, J.; IKEDA, Y.; KOMIYAMA, K.; HAYASHI, M.; KISHIDA, A.; AHSAKI, A. New constituents from the leaves of *Morinda citrifolia*. **Chemical Plants Bulletin**, v. 55, p. 343-345, 2007.

TANKA, H.; KATO, I.; ITO, K. Total synthesis of neolignans, americanin A and isoamericanin A. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v. 35, p. 3603-3608, 1987.

TIWARI, R.D.; SINGH, J. Structural study of the anthraquinone glycoside from the flowers of *Morinda citrifolia*. **Journal Indian Chemistry Society**, v. 54, p. 429-430, 1977.

TREVISAN, M.T.S.; BEZERRA, M.Z.B.; SANTIAGO, G.M.P.; FEITOSA, C.M.; VERPOORTE, R.; BRAZ FILHO, R. Atividades larvívora e anticolinérgica de plantas do gênero *Kalanchoe*. **Química nova**, v.29,P. 415-418, 2006.

TUPPO, E.E.; ARIAS, H.R. The role of inflammation in Alzheimer's disease. **Int J Biochemistry Cell Biologic**, v. 37, p. 289-305, 2005.

VALDÉS, H.; SÁNCHEZ-POLO, M.; RIVERA-UTRILLA, J.; ZAROR, C.A. Effect of Ozone Treatment on Surface Properties of Activated Carbon. **Langmuir**, v. 18, p. 2111–2116, 2002.

VASCONCELOS, N.M.S.; LIBERATO, M.C.T.; MORAIS, S.M. Água e alimentos: Química e biotecnologia, **Fortaleza: edições Demócrito Rocha**, 120 p., 2007.

VIEGAS JUNIOR, C.; BOLZANI, V.S.; FURLAN, M.; FRAGA, C.A.M.; BARREIRO, E.J. Produtos naturais como candidatos a fármacos úteis no tratamento da mal de Alzheimer. **Química nova**, v. 27, p. 655-660, 2004.

VINCENT, J. B. Elucidating a biological role for chromium at a molecular level. **Accounts of Chemical Research**, v. 33, p. 503, 2000.

VOLONTE, D.; ZHANG, K.; LISANTI, M.P.; GALBIATI, F. Expression of caveolin- 1 induces premature cellular senescence in primary cultures of murine fibroblasts. **Molecular Biology of the Cell**, v. 13, p. 2502-2517, 2002.

WAIBEL, R.; BENIRSCHKE, G.; BENIRSCHKE, M.; ACHENBACH, H. Sesquiterpene and other constituents from the seeds of *Joannesia princeps*. **Phytochemistry**, v. 62, p. 805–811, 2003.

WANG, M. Y.; WEST, B. J.; JENSEN, C. J.; NOWICKI, D. *Morinda citrifolia* (Noni): A literature review and recent advances in Noni research. Review. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 23, p. 1127–1141, 2002.

WANG, M.Y.; SU, C. Cancer preventive effect of *Morinda citrifolia* (noni). **Annals of the New York Academic Sciences**, v. 952, p. 161-168, 2001.

WANG, Z.; HSU, C.; HUANG, C.; YIN, M. Anti-glycative effects of oleanolic acid and ursolic acid in kidney of diabetic mice. **European Journal of Pharmacology**, v. 628, p. 255-260, 2010.

WARANUSANTIGUL, P.; POKETHITIYOOK, P.; KRUATRACHUE, M.; UPATHAM, E.S. Kinetics of basic dye (methylene blue) biosorption by giant duckweed (*Spirodela polyrrhiza*), **Environmental Pollution**, v. 125, p. 385–392, 2003.

WEST, B.J.; JENSEN, C.J.; WESTENDORF, J. **J. food science and technology**, v.43, p. 1988-1992, 2008.

WHISTLER, W.A. Polynesian plant introductions. **Dioscorides Press**, p. 41-66, 1991.

WITAYASINTHANA, W.; SHOTIPRUK, A. Recovery of Anti-Cancer Damnacanthol from Roots of *Morinda citrifolia* by Microwave-Assisted Extraction. **Separation Science and Technology**, v. 44, p. 2942 – 2955, 2009.

WOO, W. S.; KANG, S. S.; WAGNER, H.; CHARI, V. M. The structure of americanin, a new neolignan from *Phytolacca americana*. **Tetrahedron Lett**, v. 35, p. 3239-3242, 1978.

YANG, J.; PAULINO, R.; JANKE-STEDRONSKY, S.; ABAWI, F. Free-radical-scavenging activity and total phenols of noni (*Morinda citrifolia* L.) juice and powder in processing and storage. **Food Chemistry**, v. 102, p. 302–308, 2007.

YANG, X.; JIANG, M.; Hsieh, K.; LIU, J. Chemical Constituents from the Seeds of *Morinda citrifolia*. **Chinese Journal of Natural Medicines**, v. 7, p. 119-122, 2009.

YOUNGSON, R. Como Combater os Radicais Livres: O Programa de Saúde dos Antioxidantes. **Rio de Janeiro: Campus**, 168 p., 1995.

YU, H.; LI, S.; HUANG, M.; HO, C. Antiinflammatory Constituents in Noni (*Morinda citrifolia*) Fruits. **American Chemical Society**, v. 987, p. 179-190, 2008.

ZHAO, Q.; TANG, X.C. Effects of huperzine A on an acetylcholinesterase isoforms in vitro: comparison with tacrine, donepezil, rivastigmine and physostigmine. **European Journal of Pharmacology**, v. 455, 101-107, 2002.

ZIN, Z. M.; ABDUL-HAMID, A.; OSMAN, A. Antioxidative activity of extracts from Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) root, fruit and leaf. **Journal of Food Chemistry**, v. 78, p. 227-231, 2002.