

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS

CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

ANÁLISE FITOQUÍMICA PRELIMINAR DE
Vasconcellea quercifolia A.St.-Hil.
(MAMOEIRO-DO-MATO)

Trabalho de Conclusão do curso de Ciências Biológicas

Aluno: EMERSON BITTENCOURT FERREIRA

Orientador: GILSANE LINO VON POSER

PORTO ALEGRE, 2015

Agradecimentos

Agradeço as pessoas que não só me fizeram acreditar que eu era capaz de atravessar essa jornada acadêmica, mas também aquelas que acreditaram em mim e me ajudaram a tornar realidade algo para mim parecia estar distante.

Agradeço aos meus pais, que me prepararam para o que antes chamávamos de futuro!

Agradeço aos meus amigos, que sempre me apoiaram de coração aberto!

Agradeço aos professores, que tive como mestres que me prepararam para o que me espera!

Agradeço à professora Gilsane, que me acolheu, acreditou na minha pessoa e me ajudou, mesmo tendo sua vida super atarefada!

Agradeço também a toda equipe do laboratório de farmacognosia, que sempre me ajudou com muita disponibilidade e generosidade!

Agradeço às pessoas que me receberam de bom grado em suas propriedades e aos meus colegas Luiz Henrique (jesus), Iana e Elisa que me ajudaram em minhas investidas a campo!

Agradeço à natureza, por me mostrar o caminho sempre e, principalmente, nos momentos mais difíceis!

A todos um muito obrigado por me orientarem nesse processo!

A espécie *Vasconcellea quercifolia* A.St.-Hil. (Caricaceae) é uma planta nativa da América do Sul. Sua ocorrência é citada desde o Peru, Bolívia e Brasil, até o sul da América do Sul, incluindo Paraguai e Argentina. No Brasil, tem sido registrada nos estados da Bahia, Ceará, Sergipe, Distrito Federal, Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Espírito Santo, Rio de Janeiro, São Paulo, Minas Gerais, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, sendo mais abundante nos estados da região sul, sobretudo em regiões de maiores altitudes das bacias dos rios Paraná e Uruguai e nas bacias que formam o lago Guaíba. No Rio Grande do Sul, ocorre na floresta do Alto Uruguai, nas florestas da encosta do planalto meridional e da serra do sudeste. Popularmente, sua medula caulinar é consumida em forma de doce e seus frutos são comestíveis tanto *in natura* quanto sob a forma de doces, geleias, sucos, licores e sorvetes. Devido seus valores promissores no aspecto nutricional, obteve o reconhecimento do governo federal como espécie de potencial importância econômica recebendo inclusão em projeto de conservação. Bromatologicamente, o mamão-do-mato (como também é conhecido) apresenta em sua constituição, altas concentrações de amido (7,03%), proteínas (3,17%), lipídios (3,31%) e fibra alimentar (3,80%). Fitoquimicamente, apresenta semelhanças com *Carica papaya* (A.St.-Hil.) Hieron., estando presentes os compostos fenólicos manghaslina e rutina (flavonoides derivados da quercetina); bem como glicosídeos cianogênicos e glicosinolatos, sendo de grande valia suas características nutracêuticas. Diante de tais observações, o presente trabalho tem por objetivos realizar o estudo fitoquímico desta espécie realizando pesquisas teóricas e práticas para obtenção de maiores conhecimentos desse caráter. Através de métodos cromatográficos, buscamos também caracterizar a presença de compostos bioativos nas folhas e frutos do mamão-do-mato e do mamão convencional (*Carica papaya*), tendo como resultados a detecção de alguns compostos terpênicos, carotenoides e produtos fenólicos. Estes compostos são citados na literatura como agentes antioxidantes e alguns inclusive como anticancerígenos.

Palavras chave: *Vasconcellea quercifolia*, *Carica papaya*, planta nativa da América do Sul, potencial importância econômica, compostos terpênicos, carotenoides, produtos fenólicos, glicosídeos cianogênicos, glicosinolatos, derivados e características nutracêuticas.

Durante o avançar das gerações humanas, a alimentação tem sido um fator decisivo para a sobrevivência. Com o passar dos séculos, a espécie evoluiu de hábitos de caça e coleta para agricultura e seleção dos alimentos. Esta cultura seletiva levou à predominância de certos tipos de alimentos, muitas vezes, negligenciando a própria variedade local de recursos em algumas civilizações. Em muitos países, esse recurso nativo é considerado inclusive como pragas em algumas monoculturas. No entanto, dentre essa fonte subutilizada, existe uma riqueza de espécies que apresentam grande valor nutricional e potencial valor econômico. Uma categoria que contempla boa parte conhecida destas espécies é o das plantas alimentícias não convencionais (PANC's). Em 2007, Kinupp *et al.* estimaram em seu trabalho 311 espécies de plantas com potencial alimentício da região metropolitana de Porto Alegre. Neste estudo, algumas espécies apresentaram valores potenciais destacados. Dentre elas está a *Vasconcellea quercifolia* (A.St.-Hil.) (Caricaceae), que destacou-se por apresentar altos valores nutritivos e potenciais usos medicinais.

Vasconcellea quercifolia é conhecida popularmente também como: mamoeiro-do-mato, mamão-do-mato, mamoeirinho, mamãozinho, mamoeiro-bravo, pau-de-doce, mamute, jaracatiá ou jacaratiá. Em 2000 foi reconhecida como gênero distinto de *Carica* (BADILLO, 2000). Dados moleculares de Caricaceae estimam a divisão da linhagem filogenética que deu origem aos gêneros sul americanos, em relação à que originou os da América Central, em 27,5 milhões de anos atrás (Ma), o que coincide com a datação da junção do istmo do Panamá. A diversificação do gênero *Vasconcellea* é estimada em 13,6 Ma, ocorrendo concomitantemente com o resfriamento do Mioceno em 14 Ma, a partir do norte dos Andes. A divergência da espécie estima-se em aproximadamente 5,9 Ma (CARVALHO & RENNER, 2012).

O mamoeiro-do-mato é uma árvore caducifólia (perde as folhas com a chegada do inverno), dioica, lactescente, de 4-8m de altura com tronco mais engrossado na base, com marcantes cicatrizes da queda das folhas e lenticelas evidentes. Suas folhas são alternas inteiras, hastadas ou, geralmente, lobadas, altamente discoloradas (verde brilhoso na face superior e branco-acinzentada na inferior). Apresenta flores masculinas e femininas com coloração creme-esverdeadas e frutos elipsoides ou piriformes, com cerca de 5 cm, sendo verdes e angulosos, quando imaturos e alaranjados, glabros e com muitas sementes, em estágio maduro (KINUPP *et al.*, 2011). Além disso, *V. quercifolia* é conhecida por ser uma planta seletiva higrófila e heliófila, sendo típica de bordas de

capoeiras, bordas de matas e margens de rodovias e estradas. Cresce, em geral, em solos úmidos e férteis (KINUPP *et al.*, 2007).



Figura 1: *V. quercifolia* sem a presença das folhas (E). Foto: V. Kinupp. Indivíduo adulto com a presença das folhas (D). Foto: Emerson Ferreira.

Sua ocorrência é citada desde o Peru, Bolívia e Brasil, até o sul da América do Sul, incluindo Paraguai e Argentina (CARVALHO & RENNERT, 2012; INCT-Herbário Virtual, 2015). No Brasil, tem sido registrada nos estados da Bahia, Ceará, Sergipe, Distrito Federal, Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Espírito Santo, Rio de Janeiro, São Paulo, Minas Gerais, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, sendo mais abundante nos estados da região sul, sobretudo em regiões de maiores altitudes das bacias dos rios Paraná e Uruguai e nas bacias que formam o lago Guaíba (INCT-Herbário Virtual, 2015; Lleras, 2015; Santos, 1970). No Rio Grande do Sul, ocorre na floresta do Alto Uruguai, nas florestas da encosta do planalto meridional e da serra do sudeste

(SOBRAL *et al.*, 2006). Popularmente, sua medula caulinar é consumida em forma de doce e seus frutos são comestíveis tanto *in natura* quanto sob a forma de doces, geleias, sucos, licores e sorvetes (KINUPP *et al.*, 2007; KINUPP *et al.*, 2011; KINUPP *et al.*, 2014). Na Província de Salta, no noroeste da Argentina, onde é conhecido como “Higo amarillo” ou “higuera del monte”, o fruto fresco da *V. quercifolia* é consumido pela população (HIRSCHMANN *et al.*, 2005). Suas sementes são citadas com vermífugas por Santos (1970). O mamoeiro-do-mato é uma planta de reconhecida importância econômica potencial. Em reflexo disto, foi incluída na lista de espécies alimentícias da região sul prioritizadas no âmbito do Projeto Plantas para o Futuro, do Ministério do Meio Ambiente (TEIXEIRA, 2011).

A análise bromatológica de seus frutos indica a presença, principalmente, de amido (7,03%), proteínas (3,17%), lipídios (3,31%) e fibra alimentar (3,80%). Em sua composição mineral, destaca-se a presença de potássio e nitrogênio, ambos 4% (KINUPP *et al.*, 2007). Fitoquimicamente, *V. quercifolia* caracteriza-se por apresentar compostos fenólicos, sendo que, dentre eles, manghaslina, um derivado triglicosilado da quercetina, e rutina, também derivado da quercetina, são os principais constituintes encontrados. Estes fenólicos têm sido reportados na literatura como agentes captadores de radicais livres e antioxidantes (QUISPE *et al.*, 2013).

A exemplo de *Carica papaya* (A.St.-Hil.) Hieron., está reportado que *V. quercifolia* apresenta como metabólitos secundários, além dos compostos fenólicos acima citados, tanto glicosídeos cianogênicos quanto glicosinolatos, sendo rara esta co-ocorrência (OLAFSDOTTIR *et al.*, 2002). Ambos não são tóxicos como tal, mas podem hidrolisar facilmente, liberando substâncias voláteis altamente tóxicas (SANTOS, 2010). Desta forma, a presença destes compostos nestas espécies acaba sendo de suma importância no que diz respeito ao seu consumo. *Carica papaya* tem despertado grande interesse da comunidade científica, devido aos resultados satisfatórios obtidos em pesquisas relacionadas à saúde humana. Estudos têm demonstrado suas atividades antibacteriana e antimicrobiana (EMERUWA, 1982; OSATO *et al.*, 1993). Kovendan *et al.* (2012) demonstraram a eficácia do extrato da folha contra larvas e pupas de *Aedes aegypti*. Pesquisadores da Índia sugerem o uso de extrato do mamão como uma nova opção no combate à dengue (SARALA *et al.*, 2014). Kermanshai *et al.* (2001) comprovaram a sua capacidade anti-helmíntica, verificada em modelo experimental utilizando *Caenorhabditis elegans* mantidos em meio contendo extrato obtido a partir de 1,2-2,4 mg de sementes. Estes atribuíram este efeito tóxico ao benzilisotiocianato (BITC), uma

das moléculas provenientes da hidrólise do benzilglicosinolato (também denominado como glucotropaeolina), realizada pela tioglicosidase mirosinase, caracterizada pela primeira vez em *C. papaya*, por Ettliger & Hodgkins (1955).

O mamoeiro-do-mato, carece de atenção em relação aos seus constituintes químicos. Em 1969, Gmelin e Kjaer, ao analisar cinco espécies de Caricaceae, detectaram a presença de um único benzilglicosinolato em *V. quercifolia*. Após adição de uma solução contendo a enzima mirosinase, todas as amostras desenvolveram um odor característico de BITC. Porém, não foi realizada nenhuma caracterização da substância para fins de identificação. Tang *et al.* (1972) quantificaram BITC em sete espécies da família Caricaceae, sendo que destes, cinco pertencem, atualmente, ao gênero *Vasconcellea* (citadas no artigo como gênero *Carica*): *V. cauliflora*, *V. goudotiana*, *V. horovitziana*, *V. monoica* e *V. pubescens*; apresentando, respectivamente, 1,72; 1,84; 1,86; 1,85 e 1,37 por cento da massa úmida das sementes. No mesmo trabalho é feita a comparação com *Jarilla heterophylla*, que BITC está presente em 1,76%, e *Carica papaya*, em 1,96%. Atualmente, esta substância tem sido amplamente investigada na área da oncologia, e seus resultados revelam que apresenta efeito anticarcinogênico tanto *in vitro* quanto *in vivo* (KIM *et al.*, 2013; ZHOU *et al.*, 2013; ZHU *et al.*, 2013).

Vasconcellea quercifolia, além de ser de uso popular em algumas comunidades, apresenta uma quantidade limitada de informação referente aos seus constituintes químicos. Com isto em vista, o presente trabalho visa aprofundar-se nos conhecimentos fitoquímicos relacionados à espécie, realizando um estudo comparativo com *C. papaya*, devido semelhanças metabólicas existentes entre as duas espécies e resultados importantes, de caráter nutracêutico, relatados para *C. papaya*.

1.2. Objetivos

- Realizar pesquisas teóricas e investigações práticas a respeito dos constituintes químicos da *Vasconcellea quercifolia*, tendo em vista a ampliação do conhecimento científico em relação a esta espécie e o melhor aproveitamento de suas propriedades.

- Desenvolver análise comparativa com *Carica papaya*.

- Caracterizar, através de métodos cromatográficos, a presença de compostos bioativos nas folhas e frutos (incluindo sementes) em ambas espécies.

- Elaborar uma discussão a respeito de suas propriedades nutracêuticas.

2.1. Material vegetal

O material vegetal, folhas e frutos de *V. quercifolia*, foi coletado em março de 2015 no município de Caçapava do Sul (coordenadas: *lat*: -30.512222 *long*: -53.491389 WGS84). Um exemplar da amostragem foi depositado no herbário da Universidade Federal do Rio Grande Do Sul (UFRGS) com ICN: 179895. Para solicitação de autorização de coleta, o projeto foi submetido ao SISBIO (registro número: 6193899. Anexo). Após coletados, as amostras foram mantidas sob congelamento a 0° até a extração.

Folhas e frutos de *C. papaya* foram coletados nas imediações do campus da agronomia da UFRGS (coordenadas: *lat*: -30.0331 *long*: -51.23 WGS84). Após coleta, o material foi tratado nas mesmas condições que *V. quercifolia*.



Figura 2: Folhas de *V. quercifolia* registrada em campo (E) comparadas com registro da flora digital da UFRGS (D).



Figura 3: Frutos de *V. quercifolia*. Fotos: Prof. Paulo Brack (E) e Emerson Ferreira (D).

2.2. Preparação dos extratos de *V. quercifolia* e *C. papaya*

2.2.1. Folhas

Para o preparo dos extratos das folhas, com o intuito de fazer uma caracterização química dos produtos advindos da hidrólise do benzilglicosinolato, seguimos um protocolo delineado a partir de trabalhos publicados que priorizaram a enzimólise natural realizada por tioglicosidases endógenas. Portanto, 10 g de folhas secas receberam a adição de 50 mL de água destilada em temperatura ambiente e subsequente agitação (NAKAMURA *et al.*, 2007). Em seguida, as misturas foram incubadas a 30 °C por 30 minutos para as mirosinases agirem em sua temperatura ótima de atividade (EYLEN *et al.*, 2008; SHEN *et al.*, 2009). Após a incubação e posterior filtração em papel filtro, os materiais passaram por uma extração com *n*-hexano, 3 x 150 mL (NAKAMURA *et al.*, 2007). Os extratos finais foram concentrados em rotavapor sob vácuo a 38 °C (Li *et al.*, 2014).

Para os extratos das folhas utilizados para realizar investigação a respeito da presença de compostos terpenoides, foram utilizados 3 g de folhas secas, que foram pistiladas até um estado de menor granulação. Após, iniciou-se a extração com solvente *n*-hexano, em uma quantidade suficiente para cobrir as amostras, que durou aproximadamente 10 minutos.

Para o preparo dos extratos das folhas utilizados para realizar investigação a respeito da presença de carotenoides, foram utilizados 3 g de folhas secas, que foram pistiladas até um estado de menor granulação. Após, iniciou-se a extração com solvente *n*-hexano, em uma quantidade suficiente para cobrir as amostras, que durou aproximadamente 10 minutos.

Para a investigação realizada no que diz respeito à presença de produtos fenólicos, foram utilizados 3 g de folhas secas, que foram pistiladas até um estado de menor granulação. Após, iniciou-se a extração com metanol, em uma quantidade suficiente para cobrir as amostras, que durou aproximadamente 30 minutos.

2.2.2. Frutos

No preparo dos extratos dos frutos, com o intuito de fazer uma caracterização química dos produtos advindos da hidrólise do benzilglicosinolato, também foi priorizada a hidrólise natural endógena. Portanto, 21 g de polpas e sementes foram pistilados em graal com água destilada até homogeneização da mistura. Em seguida, as amostras foram levadas a incubação de 35°C por 2h (Li *et al.*, 2014). A extração do material incubado foi realizada em *n*-hexano (NAKAMURA *et al.*, 2007).

No preparo do extrato dos frutos investigados quanto à presença de compostos terpenoides foram utilizados 5 g de polpas secas. A extração foi realizada com *n*-hexano, em uma quantidade suficiente para cobrir as amostras, e durou aproximadamente 10 minutos.

No preparo do extrato dos frutos investigados quanto à presença de carotenoides foram utilizados 5 g de polpas secas. A extração foi realizada com *n*-hexano, em uma quantidade suficiente para cobrir as amostras, e durou aproximadamente 10 minutos.

Para a investigação a respeito da presença de produtos fenólicos nos frutos, foram utilizados 5 g de polpas secas. A extração foi realizada com a utilização de metanol, em uma quantidade suficiente para cobrir as amostras, e durou aproximadamente 30 minutos.

2.3. Análise cromatográfica

2.3.1. Cromatografia em camada delgada (CCD) de V. quercifolia e C. papaya

2.3.1.1. Produtos advindos da hidrólise do benzilglicosinato:

Frações dos extratos concentrados das folhas, foram analisadas por cromatografia em camada delgada, com a utilização de placas de alumínio com gel de sílica (Merck). Como fase móvel foi utilizada mistura de *n*-hexano e acetato de etila em uma proporção de 9:1 (indicado para separação de benzilisotiocianato). Após a eluição, os cromatogramas foram revelados com os agentes cromogênicos vanilina e anisaldeído sulfurico, seguidos de aquecimento. A análise dos resultados obtidos foi baseada na informação constante na literatura (KREBS *et al.*, 1969; SOFRATA *et al.*, 2011). Os frutos foram analisados pelo mesmo método cromatográfico.

2.3.1.2. Compostos terpenoides:

Os analitos resultantes das extrações das amostras foram aplicados em placas de alumínio com gel de sílica (Merck). Como eluente foi utilizado solvente *n*-hexano a 50% em diclorometano. Após eluição, os cromatogramas foram revelados com anisaldeído sulfurico, seguidos de aquecimento. A análise dos resultados foi baseada na informação constante na literatura (KREBS *et*

2.3.1.3. Carotenoides:

Os analitos resultantes das extrações das amostras foram aplicados em placas de alumínio com gel de sílica (Merck). Como fase móvel foi utilizada mistura de *n*-hexano e diclorometano em uma proporção de 8:2. Para a análise dos compostos presentes, não foi necessária a adição de reagentes cromogênicos. Os resultados foram comparados com a literatura (BOLLINGER *et al.*, 1969).

2.3.1.4. Produtos fenólicos:

Os analitos resultantes das extrações das amostras foram aplicados em placas de alumínio com gel de sílica (Merck). A eluição foi realizada com a utilização com uma mistura de solventes acetato de etila, metanol e água destilada, em uma proporção de 100:13,5:10. Para interpretação dos resultados, foi feita a utilização de reagente natural (difenilborato de aminoetanol) seguida da visualização em luz U.V. no comprimento de 366nm (ZUANAZZI *et al.*, 2010).

2.3.2. Cromatografia gasosa (GC-MS)

Para análise cromatográfica o extrato obtido através da extração em *n*-hexano foi diluído a 2% em éter etílico (v/v) (Tédia®). As análises qualitativa e quantitativa foram realizadas em cromatógrafo a gás acoplado a um detector de massas (CG-MS), modelo Shimadzu QP5000, equipado com uma coluna capilar de sílica fundida Durabond-DB-5 (John Wiley & Sons Scientific, US, com 30 m x 0,25 mm e preenchida com um filme de 0,25 µm de espessura de polidimetildifenilsiloxano contendo 5% de grupamentos fenila) para separação dos constituintes. As temperaturas do injetor e do detector foram ajustadas a 200 °C e 250 °C, respectivamente e a temperatura da coluna foi programada com rampa de aquecimento de 60 °C a 300 °C com variação de 3 °C/min, com hélio como gás carreador a 80 kPa e fluxo de 1 mL/min.

3. Resultados

3.1. Desenvolvimento teórico (revisão da literatura)

Vasconcellea quercifolia caracteriza-se por apresentar rutina e manghaslina como principais compostos fenólicos encontrados. Estes metabólitos estão amplamente distribuídos no reino vegetal. No entanto, é desconhecida a síntese dos anéis aromáticos em animais, sendo a dieta o principal meio de aquisição destes para a produção de produtos fenólicos. De um modo geral, os nomes empregados aos flavonoides têm relação com a planta na qual foram identificados pela primeira vez (e.g., quercetina foi isolada de *Quercus sp.*) e, devido ao grande número de representantes deste grupo, estes compostos são agrupados por suas características químicas e biossintéticas (ZUANAZZI *et al.*, 2010), gerando dessa forma, uma diversidade de mais de 6.000 substâncias conhecidas (JÄGER *et al.*, 2011). A classificação de um composto fenólico se dá de acordo com o tipo do esqueleto principal e sua cadeia constituinte. Os flavonoides, produtos biossintetizados a partir da via dos fenilpropanoides, possuem um ou mais núcleos aromáticos contendo substituintes hidroxilados e/ou seus derivados funcionais (CARVALHO *et al.*, 2010). No caso dos flavonóis manghaslina e rutina, ambos caracterizam-se por apresentar em sua estrutura um esqueleto tricíclico, conhecido como quercetina (flavonoide de ampla distribuição na natureza), ligado a unidades de açúcar, apresentado as formas tri e diglicosilada, respectivamente (CARVALHO *et al.*, 2010; QUISPE *et al.*, 2013).

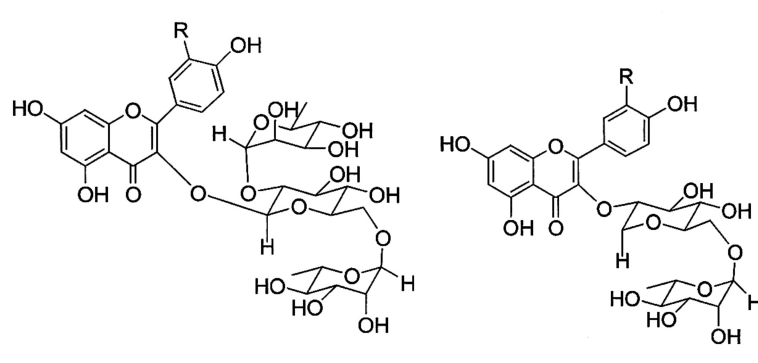


Figura 4: Derivados glicosilados da quercetina. Com R = OH, é dado origem à manghaslina (E) e rutina (D). Adaptado de Quispe *et al.*, 2013.

Estes compostos, frequentemente, tendem a apresentar solubilidade em água devido à ocorrência sob a forma conjugada com açúcar, formando glicosídeos. Normalmente, estão localizados nos vacúolos celulares (HARBORNE, 1984).

Assim como os compostos fenólicos, os glicosídeos cianogênicos e os glicosinolatos são conhecidos por fazerem parte da constituição química de *V. quercifolia* (OLAFSDOTTIR *et al.*, 2002). A cianogênese está citada para mais de 2.650 plantas pertencentes a mais de 550 gêneros e 130 famílias, sendo comum em Araceae, Asteraceae, Euphorbiaceae, Fabaceae, Flacourtiaceae, Malesherbiaceae, Papaveraceae, Passifloraceae, Poaceae, Proteaceae, Ranunculaceae, Rosaceae, Sapindaceae e Turneraceae (LOUDA *et al.*, 1991). A distribuição da produção de glicosinolatos está presente de forma expressiva em Brassicales, sendo dessa forma, um importante marcador quimiotaxonômico dessa ordem (APG-III, 2015).

Os glicosídeos cianogênicos, como também são chamados, foram reportados pela primeira vez em *V. quercifolia*, por Olafsdottir *et al.* (2002) sob a identificação de (R)-2-(β -D-Glicopiranosiloxi)-2-fenilacetoneitrila (prunasina). Estas substâncias formam ácido cianídrico (HCN) após decomposição espontânea, que também pode ser catalisada por hidroxinitrila liases, da α -hidróxi-nitrila formada na hidrólise realizada por uma β -glicosidase, que libera o açúcar ligado a uma aglicona derivada de aminoácidos alifáticos (SEIGLER, 1991; SANTOS, 2010).

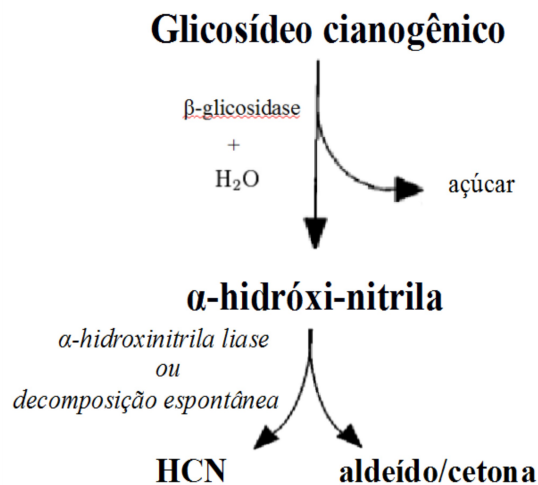


Figura 5: Rota de hidrólise dos glicosídeos cianogênicos. Adaptado de Gleadow *et al.*, 2002.

Naturalmente, esta reação pode ser provocada a partir de injúrias dos tecidos, ocasionadas por predação ou qualquer outro processo natural que leve a um dano do órgão onde este heterosídeo se encontra. Isto se dá porque os glicosídeos cianogênicos e as enzimas capazes de degradá-los encontram-se em compartimentos separados na célula (CONN, 1979; SANTOS, 2010). O odor semelhante a amêndoas amargas é característico do resultado desta hidrólise. A toxicidade de HCN

tem ocasionado envenenamentos mortais de gado e de algumas pessoas. Sua atuação ocorre por inibição dos citocromos da cadeia transportadora de elétrons, o que justifica seu efeito tóxico para um amplo espectro de organismos (HARBORNE, 1982). A dose letal para humanos é em torno de 0,5 – 3,5 mg/Kg de peso corporal para injeção oral. Porém muitos animais são capazes de realizar a detoxificação de HCN. Em mamíferos, a enzima rodanase desempenha este importante papel, catalisando a reação de cianeto com tiosulfato para produzir tiocianato e sulfito usando enxofre de cisteína, enquanto que o tiocianato gerado é eliminado gradativamente (SEIGLER, 1991).

Os glicosinolatos, por sua vez, são compostos organossulfurados que apresentam como base estrutural uma aglicona nitrogenada e sulfatada ligada a uma unidade de açúcar (β -D-tioglicose). Na natureza, ocorrem como ânions em forma de sais (VAN ETTEN *et al.*, 1979; HEINZMANN, 2010). Estes podem ser originados a partir de aminoácidos alifáticos, aromáticos e indólicos, mais especificamente, metionina, fenilalanina (ou tirosina) e triptofano, respectivamente (HEINZMANN, 2010). A nomenclatura de um glicosinolato é definida conforme a cadeia lateral que cada um apresenta, o que gera uma diversidade de formas que estes compostos podem se apresentar. A hidrólise destes tioglicosídeos é realizada por uma tioglicosidase conhecida como mirosinase, caracterizada pela primeira vez em *C. papaya*, por Ettliger & Hodgkins (1955), e assim como no caso dos glicosídeos cianogenéticos, encontra-se em compartimentos da célula separados do seu substrato. Portanto, esta enzimólise também só ocorre em situação de dano tecidual (VAN ETTEN *et al.*, 1979).

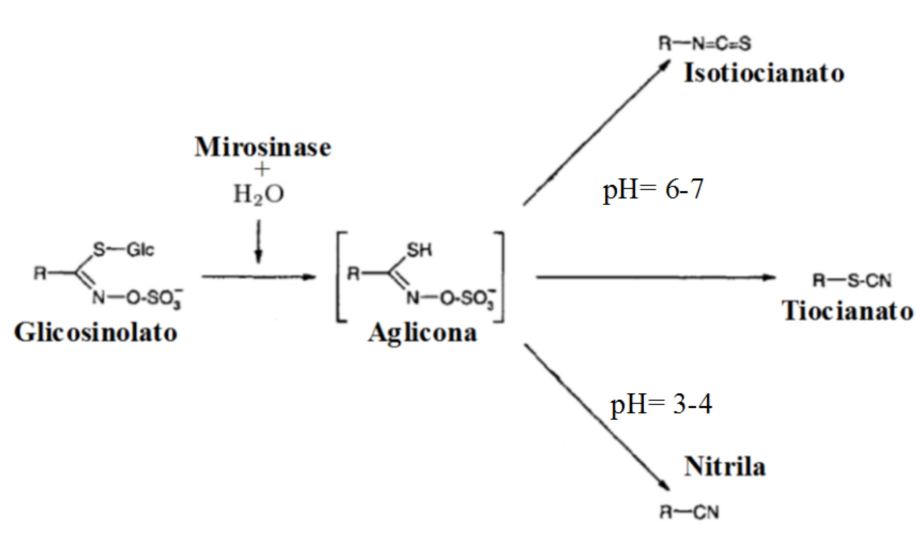


Figura 6: Rota de hidrólise dos glicosinolatos. Adaptado de Gershenzon *et al.*, 2003.

Como resultado desta reação, sob determinadas condições de pH, são gerados nitrilas e tiocianatos que, de acordo com a cadeia lateral que está ligada ao glicosinolato, apresentam diferentes características. À formação de nitrilas é dada pouca atenção devido ao fato de ser conhecida como uma substância inerte para o organismo (HEINZMANN, 2010). Já a produção de tiocianatos, principalmente em plantas de amplo consumo, têm manifestado uma maior preocupação. Isto, porque alguns destes compostos têm propriedades de grande valia para o uso antrópico. Um destes produtos é o benzilisotiocianato (BITC), molécula proveniente da hidrólise de um benzilglicosinolato. Este metabólito também está presente na semente da mostarda (caracterizando sua marcante picância), em plantas da ordem Capparales (isto inclui o grupo das crucíferas), e parece ser comum em alguns membros da família Caricaceae (LOUDA *et al.*, 1991).

3.2. Desenvolvimento prático

Para fins de investigação a respeito dos constituintes químicos presentes no mamão-do-mato, foi realizado um trabalho prático com a utilização de métodos cromatográficos. Devido à semelhança metabólica, *C. papaya* foi escolhido para ter seus dados comparados.

3.2.1. Cromatografia em camada delgada de *V. quercifolia* e *C. papaya*

3.2.1.1. Produtos advindos da hidrólise do benzilglicosinolato:

Nos testes cromatográficos realizados, não foi possível a identificação de nenhum produto com as características de um hidrolisado de benzilglicosinolato.

3.2.1.2. Compostos terpênicos:

Tendo como base a gama de colorações de resultados cromatográficos citados na literatura, foi possível caracterizar a presença de alguns compostos terpenoides nas folhas e frutos de *V. quercifolia* e *C. papaya*, conforme demonstrado na figura 7, estando estes revelados na cor violeta.

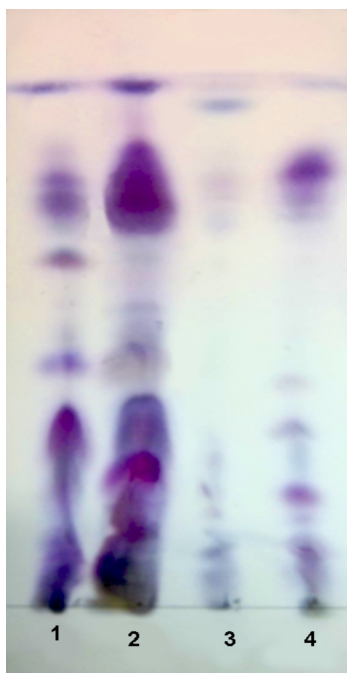


Figura 7: Teste cromatográfico realizado com: (1) folhas de *C. papaya*, (2) folhas de *V. quercifolia*, (3) fruto de *C. papaya* e (4) fruto de *V. quercifolia*.

Para *C. papaya*, é relatada a presença dos seguintes terpenos aromáticos: epóxi-linalool, óxido nerol, linalol, (E)-óxido linalol (piranoide), (Z)-óxido linalol (piranoide), 2,6-Dimetil-3,7-octadieno-2,6-diol e geranyl acetona (KELEBEK *et al.*, 2015).

3.2.1.3. Carotenoides:

Em comparação com os dados contidos na literatura, também foi possível detectar alguns carotenoides nos testes cromatográficos. Estes, marcam sua presença através da coloração amarela-alaranjada, como demonstrado na figura 8.



Figura 8: Análise cromatográfica realizado com: (1) folhas de *C. papaya*, (2) folhas de *V. quercifolia*, (3) fruto de *C. papaya* e (4) fruto de *V. quercifolia*.

Para *C. papaya*, estão descritos os compostos carotenoides β -criptoxantina, β -caroteno e licopeno (SANCHO *et al.*, 2011; PASTRANA *et al.*, 2010).

Os resultados obtidos na CCD elaborada para investigação de compostos fenólicos estão ilustrados na figura 9 mostrando bandas fluorescentes no comprimento de onda U.V. de 366 nm. Com base nos dados literários, podemos inferir que está marcada a presença de flavonóis, principalmente nas folhas de *V. quercifolia* e *C. papaya*, sendo que as bandas fluorescentes de coloração amarela, posicionadas na porção inferior do cromatograma (elipse branca), podem estar representando manghaslina, devido a sua triglicosilação, portanto de polaridade mais elevada; e as bandas fluorescentes posicionadas mais acima (elipse vermelha), podem estar representando rutina, que apresenta dois açúcares em sua estrutura, sendo assim, mais apolar em relação a manghaslina. No extrato dos frutos de *V. quercifolia* também se verifica a ocorrência de um produto de perfil cromatográfico de manghaslina, já relatada na literatura.

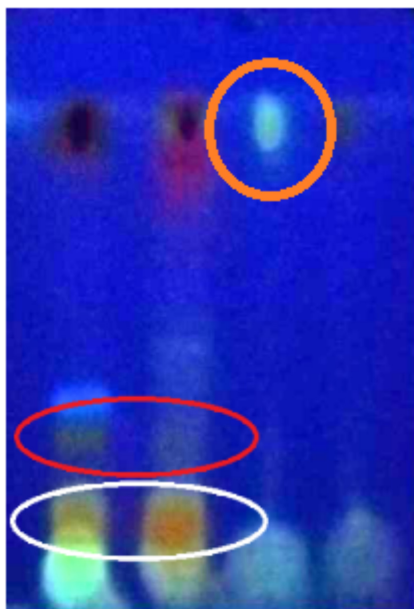


Figura 9: Análise cromatográfica realizado com folhas e frutos de *C. papaya* e *V. quercifolia*. Da esquerda para a direita estão dispostas as bandas dos extratos obtidos das folhas de *C. papaya*, folhas de *V. quercifolia*, fruto de *C. papaya* e fruto de *V. quercifolia*, respectivamente.

A amostra 3, extrato de frutos de *C. papaya*, não apresentou boa resolução, não sendo possível caracterizar a maioria dos compostos. Apesar disso, a literatura cita a presença dos seguintes produtos fenólicos: hexose-desoxi-hexosídeo cafeoil, rutina, kaempferol-O-glicosídeo, miricetina, ácido *p*-hidróxibenzoico, ácido-hexosídeo protocatecuico, ácido-desoxi-hexosídeo gálico, ácido protocatecuico, ácido clorogênico e ácido cafeico (KELEBEK *et al.*, 2015), sendo que este último parece estar presente nesta amostra evidenciada pela fluorescência azulada (círculo laranja).

3.2.2. Cromatografia gasosa

As análises realizadas em cromatógrafo a gás acoplado a espectrômetro de massas não mostraram resultados satisfatórios na detecção de qualquer produto advindo da hidrólise do benzilglicosinolato.

4. Discussão e análise

No trabalho de Kinupp *et al.*, em 2007, com plantas com potencial alimentício da região metropolitana de Porto Alegre, *Vasconcellea quercifolia* apresentou valores potenciais destacados no que diz respeito à composição bromatológica e mineral. Dentre estes elementos, a presença em quantidade expressiva de lipídeos e, tanto o uso terapêutico popular, quanto a constatação sensorial de traços semelhantes à *Carica papaya*, levaram a indagações a respeito do aspecto fitoquímico desta espécie.

Do ponto de vista natural, os lipídeos são conhecidos por ser uma rica fonte de energia condensada. A partir da metabolização destas moléculas, os organismos são capazes de sintetizar elementos que podem suprir desde necessidades básicas até mecanismos utilizados para defesa, no caso de muitas espécies vegetais. Seguida da oxidação lipídica, ocorrida nos peroxissomos das células vegetais, a formação de acetato (promovida via acetil-CoA) permite a produção de diversos produtos secundários a partir de sua condensação. Esta rota metabólica, conhecida como via do mevalonato, proporciona a geração de monômeros isoprênicos que, por intermédio de catálises enzimáticas, podem dar origem a diversos compostos terpênicos (HOLSTEIN *et al.*, 2004; NELSON *et al.*, 2004).

Na natureza, os terpenos desempenham considerável papel ecológico servindo de defesa contra herbivoria e patógenos, como atrativos para polinizadores e animais dispersores, bem como agentes alelopáticos (GERSHENZON *et al.*, 1991). Na comunidade científica, substâncias terpenoides têm despertado grande atenção devido as suas propriedades benéficas à saúde humana, que vão desde atividades antioxidantes até o efeito inibitório em carcinogênese (DILLARD *et al.*,

2000). Dentre os compostos terpênicos presentes em *C. papaya*, linalol tem apresentado resultados positivos como ação antioxidante, sedativa, larvicida e antitumorigênica (GUTIÉRREZ *et al.*, 2012; SENRA *et al.*, 2013; JANA *et al.*, 2014). A caracterização da presença de compostos terpênicos nas folhas e frutos de *V. quercifolia*, e a separação de alguns destes em bandas com graus de retenção semelhantes às de *C. papaya*, nos leva a fazer a inferência de que o mamão-do-mato pode apresentar derivados terpênicos comumente encontrados no mamão convencional.

Uma outra classe de compostos terpênicos contemplada neste estudo são os carotenoides. Estes, representam um grande grupo de pigmentos presentes na natureza, nos quais, são responsáveis pelas cores do amarelo ao vermelho em muitos organismos. Eles são caracterizados como tetraterpenoides (compostos de 40 carbonos) unidos por unidades opostas no centro da molécula, apresentando assim, um arranjo irregular. Estes, quando constituídos apenas de carbono e hidrogênio são chamados de carotenos e quando oxidados, apresentando grupos substituintes com oxigênio, denominam-se xantofilas. Os carotenoides encontram-se acumulados nos cloroplastos e podem apresentar de 3 a 15 ligações duplas conjugadas (UENOJO *et al.*, 2007). A denominação carotenoides é derivada da espécie *Daucus carota* (cenoura), primeira fonte de caroteno (β -caroteno) isolada por Wackenroder em 1831 (GROSS, 1991). A origem biossintética destes compostos segue-se a partir da condensação de acetato que, via rota metabólica do mevalonato, forma isoprenos (TASTALDI, 1966). Atualmente, existem mais de 600 estruturas caracterizadas e, mundialmente, são utilizados comercialmente como corantes alimentícios e em suplementos nutricionais (UENOJO *et al.*, 2007). Os carotenoides contidos em *C. papaya*, β -criptoxantina e β -caroteno, são conhecidos na literatura como agentes pró-vitâmicos A e antioxidantes, enquanto que o licopeno, além de sua atividade antioxidante, é reconhecida a sua ação na prevenção de câncer de próstata e seu efeito inibitório na proliferação de células cancerígenas em câncer de mama (KARAS *et al.*, 2000; CHANDRIKA *et al.*, 2003; ETMINAN *et al.*, 2004). A presença de carotenoides em *V. quercifolia*, detectada na cromatografia de camada delgada, desperta atenção com respeito à sua propriedade antioxidante. Uma análise mais aprofundada seria necessária para verificar se, dentre estes compostos, existe algum que seja pró-vitâmico A.

Na literatura, já é reconhecida a capacidade que os metabólitos presentes no mamão-do-mato apresentam de capturar espécies reativas. Hirschmann *et al.* (2005) comprovaram, utilizando o composto químico DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazil), sua atividade antioxidante e sugeriram

uma possível relação desta propriedade com os compostos fenólicos contidos nesta planta. Este mesmo ensaio foi realizado por Simirgiotis, *et al.* (2009) com *V. pubesens* que, assim como o mamãozinho, teve resultados positivos no que diz respeito à captação de agentes reativos. Neste trabalho, foram identificados como responsáveis por esta reação antioxidante os flavonóis manghaslina e rutina. Além disto, rutina e sua aglicona quercetina foram reportados como agentes anticonvulsionantes em modelo experimental com ratos, sendo sugeridas para o uso terapêutico em casos de epilepsia (NIEOCZYM *et al.*, 2014).

Segundo o trabalho de Olafsdottir *et al.* (2002), os glicosídeos cianogénicos são encontrados em todas as partes de *C. papaya*, com exceção das sementes, e a quantificação deste composto nas folhas secas do mamão-do-mato resultou em 4 mg de prunasina em 93 g (0,004%) e 0,005% do peso seco das folhas do mamão convencional. Realizando uma comparação com a dose letal para humanos (0,5 – 3,5 mg/Kg de massa corporal para injeção oral), estas concentrações equivaleriam a uma média de 2 Kg de matéria seca para um indivíduo de 50 quilos. Apesar da presença de mecanismo de detoxificação de HCN, realizada pela rodanase, há estudos que evidenciam a existência de polimorfismos que afetam sua atividade (LADEN *et al.*, 2006), existindo portanto, uma clara variação de capacidade de desintoxicação entre diferentes indivíduos.

Em 1997, Bennett *et al.* investigaram a rota de biossíntese de glicosídeos cianogénicos e glicosinolatos em *C. papaya* e a natureza das enzimas envolvidas. Segundo os autores, estes compostos são formados a partir da catálise enzimática do aminoácido fenilalanina realizada por uma monooxigenase L-Fen-dependente que, por intermédio de N-hidroxilações e descarboxilações, produz uma benzilaldoxima que dá origem a prunasina após glicosilação da hidroxila; e benzilglicosinolato quando sulfatada. Esta publicação, juntamente com os resultados de Olafsdottir *et al.* (2002) que, além de caracterizarem prunasina em *V. quercifolia*, determinaram sua origem a partir do mesmo precursor inicial presente em *C. papaya* (fenilalanina), mostra que existe uma grande semelhança metabólica entre as duas espécies. O que leva a reflexão de que o mamão-do-mato, assim como o convencional, pode ter presente BITC em sua constituição.

No desenvolvimento prático realizado com a utilização de métodos cromatográficos, um dos desafios foi a tentativa de caracterização do hidrolisado BITC, este sendo motivado, não só pela caracterização de prunasina, mas também pelo fato da presença de seu precursor, benzilglicosinolato, já ter sido reportado para *V. quercifolia*. Nos métodos de extração dos trabalhos

que realizaram pesquisas semelhantes, foi possível notar que esta molécula apresenta solubilidade em solventes como: *n*-hexano, acetato de etila e diclorometano. Com isto em vista, iniciou-se a montagem de alguns protocolos que visassem à separação e visualização de tal composto. No entanto, não houve detecção deste produto em nenhuma das amostras, o que nos leva a pensar que os métodos delineados no presente trabalho não foram adequados para responder esta questão, devido ao fato que também não foi possível observar sinal desta substância em *C. papaya*, cuja a presença de BITC já está bem estabelecida. Após reanálise dos experimentos e comparação com as informações constantes na literatura, notou-se que técnicas de separação por destilação a vapor têm sido utilizadas com frequência em extrações deste metabólito. Dessa forma, acreditamos que uma das explicações para esta não detecção seria o fato que a quantidade de matéria inicial foi muito pouca, pois, para execução desta metodologia é necessário um volume bem maior de material vegetal.

A constituição do látex não foi contemplada neste estudo devido a sua composição ser basicamente composta por enzimas proteolíticas. Estas são conhecidas como papaína e quercifoliaína I; e são utilizadas na indústria de laticínios como coagulantes de leite na produção de queijo, sendo que segundo a literatura quercifoliaína I apresenta um poder coagulante mais intenso do que a papaína (TORRES *et al.*, 2010).

5. Considerações finais

A relação do ser humano com as plantas como recursos e com o metabolismo destas, que muitas vezes estão direcionados para sua própria defesa, é uma preocupação que atravessa a nossa evolução nesse planeta. Conhecer e selecionar tem sido a estratégia adotada por nossa espécie nesta interação. Com a introdução dos avanços tecnológicos, tivemos a oportunidade de observar de forma mais aprofundada tanto a constituição dos alimentos que ingerimos, quanto o efeito que estes podem nos proporcionar. Durante um longo período na história da humanidade, este estudo foi realizado de forma empírica e testado em outros organismos vivos, podendo até mesmo, dependendo das condições de sobrevivência, obter estas experiências as custas de sua própria integridade. O presente trabalho, teve o propósito de participar dessa construção de conhecimento contínua, visando priorizar o uso consciente de um recurso nativo que apresenta propriedade

antioxidante, atribuídas à presença dos compostos terpenoides e flavonoides, e pode estar atuando como agente antitumorigênico, devido a uma possível presença de alguns compostos terpênicos específicos e hidrolisados do benzilglicosinolato contido em *V. quercifolia*. Além disso, a consciência no consumo das partes desta planta deve levar em conta a sua toxicidade dose-dependente relacionada aos glicosídeos cianogênicos, que em altas doses podem ocasionar sérios danos ao organismo.

No presente momento, o mamão-do-mato não se encontra na lista de espécies ameaçadas de extinção, porém, durante as investidas a campo, foi possível observar que, ao menos no Rio Grande do Sul e parte de Santa Catarina, esta espécie encontra-se meio a uma supressão antrópica, decorrente da ocupação de habitats e o seu desuso devido a falta de conhecimento desta. Além disso, *V. quercifolia* está presente em regiões onde há projetos de construção de barragens. Dessa forma, a ampliação do conhecimento em relação a esta espécie torna-se muito importante quanto a preservação de sua constituição genética.

6. Perspectivas

Diante dos resultados obtidos, análises realizadas e importância econômica e ecológica, vê-se necessário a realização de novos ensaios cromatográficos a fim de tentar caracterizar a presença de um produto da hidrólise do benzilglicosinolato contido em *V. quercifolia*. Estes deverão ser realizados em uma estação com maior disponibilidade frutífera para que se possa ter um volume maior de amostras, de modo que possibilitem a utilização de métodos mais adequados para realizar esse tipo de caracterização. Além disso, o conhecimento relacionado a esta espécie, carece da realização de um estudo de caráter químico de sua medula do caule, devido a ser uma parte de frequente consumo popular.

APG-III. Disponível em: <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>. Acesso em 2 de junho de 2015.

Badillo, V.M. *Carica* L. vs *Vasconcellea* St. Hil. (Caricaceae) con la rehabilitación de este ultimo. *Ernstia*, v. 10, p. 74-79, 2000.

Bennett, R.N.; Kiddle, G.; Wallsgrove, R.M. Biosynthesis of benzylglucosinolate, cyanogenic glucosides and phenylpropanoids in *Carica papaya*. *Phytochemistry*, v. 45, p. 59-66, 1997.

Bollinger, H.R.; Vitamins, including carotenoids, chlorophylls and biologically active quinones. In: E. Stahl (Ed.). *Thin-Layer Chromatography*. New York: Springer-Verlag, 1969, p. 259-311.

Carvalho, F.A.; Renner, S.S. A dated phylogeny of the papaya family (Caricaceae) reveals the crop's closest relatives and the family's biogeographic history. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, v. 65, p. 46-53, 2012.

Carvalho, J.C.T.; Gosmann, G.; Schenkel, E.P. Compostos fenólicos simples e heterosídicos. In: C.M.O. Simões [et al.]. *Farmacognosia da planta ao medicamento*. Porto Alegre: UFRGS; Florianópolis: UFSC, 2010, p. 519-535.

Chandrika, U.G.; Jansz, E.R.; Wickramasinghe, S.M.D.N.; Warnasuriya, N.D. Carotenoids in yellow- and red-fleshed papaya (*Carica papaya* L). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 83, p. 1279-1282, 2003.

Conn, E.E. Cyanide and Cyanogenic Glycosides. In: G.A. Rosenthal; D.H. Janzen (Ed.). *Herbivories: Their interactions with secondary plant metabolites*. Nova York: Academic Press, 1979, p. 387-412.

Dillard, C.J.; German, J.B. Phytochemicals: nutraceuticals and human health. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 80, p. 1744-1756, 2000.

Emeruwa, A.C. Antibacterial substance from *Carica papaya* fruit extract. *Journal of Natural Products*, v. 45, p. 123-127, 1982.

Etminan, M.; Takkouche, B.; Isorna, F.A. The Role of Tomato Products and Lycopene in the Prevention of Prostate Cancer: A Meta-Analysis of Observational Studies. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, v. 13 (3), p. 340-345, 2004.

Ettlinger, M.G.; Hodgkins, J.E. The mustard oil of papaya seed. *Journal of Organic Chemistry*, v. 21, p. 204-205, 1956.

Eylen, D.V.; Oey, I.; Hendrickx, M.; Loey, A.V. Behavior of mustard seed (*Sinapis alba* L.) myrosinase during temperature/pressure treatments: a case study on enzyme activity and stability. *European Food Research and Technology*, v. 226, p. 545-553, 2008.

Gleadow, R.M.; Woodrow, I.E. Constraints on effectiveness of cyanogenic glycosides in herbivore defense. *Journal of Chemical Ecology*, v. 28, p. 1301-1313, 2002.

Gershenzon, J.; Croteau, R. Terpenoids. In: G.A. Rosenthal; M.R. Berenbaum (Ed.). *Herbivories: Their interactions with secondary plant metabolites*. San Diego: Academic Press, 1991, p. 165-219.

Gershenzon, J.; Wittstock, U.; Kliebenstein, D.J.; Lambrix, V.; Reichelt, M. Chapter five Glucosinolate hydrolysis and its impact on generalist and specialist insect herbivores. *Recent Advances in Phytochemistry*, v. 37, p. 101-125, 2003.

Gmelin, R.; Kjaer, A. Glucosinolates in the Caricaceae. *Phytochemistry*, v. 9, p. 591-593, 1970.

Gross, J. Carotenoids – Definitions and nomenclature. In: *Pigments in Vegetables: Chlorophylls and Carotenoids*. Nova York: Springer Science, 1991, p. 75-77.

Gutiérrez, S.L.G.; Cansino, R.G.; Zebadúa, J.C.G.; Pérez, N.C.J.; Chilpa, R.R. Antidepressant activity of *Litsea glaucescens* essential oil: Identification of β -pinene and linalool as active principles. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 143, p. 673-679, 2012.

Harborne, J.B. Phenolic Compounds. In: *Phytochemical Methods a guide to modern techniques of plant analysis*. Nova York, Londres: Chapman and Hall, 1984, p. 37-99.

Harborne, J.B. Plant toxins and their effects on animals. In: *Introduction to Ecological Biochemistry*. Londres: Academic Press, 1982, p. 70.

Heidlas, J.; Lehr, M.; Idstein, H.; Schreier, P. Free and bound terpene compounds in papaya (*Carica papaya*, L.) fruit pulp. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, v. 32, p. 1020-1021, 1984.

Heinzmann, B.M. Compostos com enxofre. In: C.M.O. Simões *et al.* [Org.]. *Farmacognosia da planta ao medicamento*. Porto Alegre: UFRGS; Florianópolis: UFSC, 2010, p. 741-764.

Hirschmann, G.S.; Feresin, G.; Tapia, A., Hilgert, N.; Theodoluz, C. Proximate composition and free radical scavenging activity of edible fruits from the Argentinian Yungas. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 85, p. 1357-1364, 2005.

Holstein, S.A.; Hohl, R.J. Isoprenoids: remarkable diversity of form and function. *Lipids*, v. 39, p. 293-309, 2004.

INCT-Herbário Virtual. Disponível em: <http://inct.splink.org.br/>. Acesso em 27 de fevereiro de 2015.

Jana, S.; Patra, K.; Sarkar, S.; Jana, J.; Mukherjee, G.; Bahttacharjee, S.; Mandal, D.P. Antitumorigenic Potential of Linalool Is Accompanied by Modulation of Oxidative Stress: An In Vivo Study in Sarcoma-180 Solid Tumor Model. *Nutrition and Cancer*, v. 66 (5), p. 835-848, 2014.

Jäger, A.K.; Saaby, L. Flavonoids and the CNS. *Molecules*, v. 16, p. 1471-1485, 2011.

Karas, M.; Amir, H.; Fishman, D.; Danilenko, M.; Segal, S.; Nahum, A.; Koifmann, A.; Giat, Y.; Levy, J.; Sharony, Y. Lycopene interferes with cell cycle progression and insulin-like growth factor I signaling in mammary cancer cells. *Nutrition and Cancer*, v. 36 (1), p. 101-111, 2000.

Kelebek, H.; Selli, S.; Gubbuk, H.; Gunes, E. Comparative evaluation of volatiles, phenolics, sugars, organic acids and antioxidant properties of Sel-42 and Tainung papaya varieties. *Food Chemistry*, v. 173, p. 912-919, 2015.

Kermanchai, R.; McCarry, B.E.; Rosenfeld, J.; Summers, P.S.; Weretilnyk, E. A.; Sorger, G.J. benzyl isothiocyanate is the chief or sole anthelmintic in papaya seed extracts. *Phytochemistry*, v. 57, p. 427-435, 2001.

Kim, S.H.; Sehrawat, A.; Singh, S.V. Dietary chemopreventative benzyl isothiocyanate inhibits breast cancer stem cells *in vitro* and *in vivo*. *Cancer Prevention Research*, v. 6, p. 782-790, 2013.

Kinupp, V.F. Plantas alimentícias não-convencionais da região metropolitana de Porto Alegre, RS. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia. Universidade do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2007.

Kinupp, V.F; Lisbôa, G.N., Barros, I.B.I. *Vasconcella quercifolia*. In: Coradin, L.; Siminski, L.C.; reis, A. (Ed.). *Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro – região sul*. Brasília: MMA, 2011, p. 209-214.

Kinupp, V.F.; Lorenzi, H. *Vasconcellea quercifolia* A.St.-Hil. In: H. Lorenzi (Ed.). *Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANC) no Brasil: guia de identificação, aspectos nutricionais e receitas ilustradas*. Nova Odessa: Plantarum, 2014, p. 290-291.

Kovendan, K.; Murugan, K.; Kumar, A.N.; Vicent, S.; Hwang, J.S. Bioefficacy of larvicidal and pupicidal properties of *Carica papaya* (Caricaceae) leaf extract and bacterial insecticide, spinosad, against chikungunya vector, *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Parasitology Research*, v.110, p. 669–678, 2012.

Krebs, K.G.; Heusser, D.; Wimmer, H. Spray Reagents. In: E. Stahl (Ed.). *Thin-Layer Chromatography*. New York/Berlin: Springer-Verlag, 1969, p. 854-909.

Kyndt, T.; Peeters, E.R.; Droogenbroeck, B.V.; Motochi, J.P.R.; Gheysen, G; Goetguebeur, P. Species relationships in the genus *Vasconcellea* (Caricaceae) based on molecular and morphological evidence. *American Journal of Botany*, v. 92, p. 1033–1044, 2005.

Laden, I.B.; Allorge, D.; Thibaut, A.D.; Rat, E.; Cauffiez, C.; Chevalier, D.; Houdred, N.; Guidice, J.M.L.; Broly, F. Evidence for a functional genetic polymorphism of the human thiosulfate sulfurtransferase (Rhodanese), a cyanide and H₂S detoxification enzyme. *Toxicology*, v. 225, p. 1-11, 2006.

Li, W.Z.; Du, Y.D.; Zhang, Y.; Chi, Y.Z; Shi, Z.Y.; Chen, W.; Ruan, M.J.; Zhu, H.P. Optimized formation of benzyl isothiocyanate by endogenous enzyme and its extraction from *Carica papaya* seed. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, v. 13, p. 1303-1311, 2014.

Lleras, E. Caricaceae. In: *Lista de espécies da flora do Brasil*. Rio de Janeiro: Jardim botânico. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB103869>. Acesso em 29 de Junho de 2015.

Louda, S.; Mole, S. Glucosinolates: chemistry and ecology. In: G.A. Rosenthal; M.R. Berenbaum (Ed.). *Herbivories: Their interactions with secondary plant metabolites*. San Diego: Academic Press, 1991, p. 123-164.

Nelson, D.L.; Cox, M.M. Lipid biosynthesis. In: K. Ahr (Ed.). *Lehninger principles of biochemistry*. New York: W. H. Freeman, 2008, p. 805-850.

Nieoczym, D.; Socata, K.; Raszewski, G.; Wláz, P. Effect of quercetin and rutin in some acute seizure models in mice. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, v. 54, p. 50-58, 2014.

Okulicz, M.; Hertig, I. Benzyl isothiocyanate disturbs lipid metabolism in rats in a way independent of its thyroid impact following in vivo long-term treatment and in vitro adipocytes studies. *Journal of Physiology and Biochemistry*, v. 69, p.75–84, 2013.

Olafsdottir, E.S.; Jorgensen, L.B.; Jaroszewki, J.W. Cyanogenesis in glucosinolate-producing plants: *Carica papaya* and *Carica quercifolia*. *Phytochemistry*, v. 60, p. 269–273, 2002.

Osato, J.A.; Santiago, L.A.; Remo, G.M.; Cuadra, M.S.; Mori, A. Antimicrobial and antioxidant activities of unripe papaya. *Life Sciences*, v. 53, p. 1383-1389, 1983.

Pastrana, D.M.R.; Yahia, E.M., Aguilar, G.A.G. Phenolic and carotenoid profiles of papaya fruit (*Carica papaya* L.) and their contents under low temperature storage. *Society of Chemical Industry*, v. 90, p. 2358- 2365, 2010.

Quispe, C.; Valdez, E.Z.; Yarleque, J.A.; Arones, M.R.; Paniagua, J.C.; Hirschmann, G.S. High speed centrifugal countercurrent chromatography (HSCCC) isolation and identification by LC-MS analysis of the polar phenolics from *Vasconcellea quercifolia*. *Journal of the Chilean Chemical Society*, v. 58, p. 1830-1835, 2013.

Sancho, L.E.G.G.; Yahia, E.M., Aguilar, G.A.G. Identification and quantification of phenols, carotenoids, and vitamin C from papaya (*Carica papaya* L., cv. Maradol) fruit determined by HPLC-DAD-MS/MS-ESI. *Food Research International*, v. 44, p. 1284-1291, 2011.

Santos, E. Caricáceas. In: R. Reitz (Ed.). *Flora ilustrada catarinense*. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, 1970, p. 22.

Santos, R.I. Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. In: C.M.O. Simões [*et al.*]. *Farmacognosia da planta ao medicamento*. Porto Alegre: UFRGS; Florianópolis: UFSC, 2010, p. 403-434.

Sarala, N.; Paknikar, S.S. Papaya extract to treat dengue: a novel therapeutic option? *Annals of Medical and Health Sciences Research*, v. 4, p. 320-324, 2014.

Seigler, D.S. Cyanide and Cyanogenic Glycosides. In: G.A. Rosenthal; M.R. Berenbaum (Ed.). *Herbivories: Their interactions with secondary plant metabolites*. San Diego: Academic Press, 1991, p. 35-77.

Senra, T.O.S.; Zeringóta, V.; Monteiro, C.M.O.; Calmon, F.; Maturano, R; Gomes, G.A.; Faza, A.; Carvalho, M.G.; Daemon, E. Assessment of the acaricidal activity of carvacrol, (E)-cinnamaldehyde, trans-anethole, and linalool on larvae of *Rhipicephalus microplus* and *Dermacentor nitens* (Acari: Ixodidae). *Parasitology Research*, v. 112, p. 1461-1466, 2013.

Shen, L.; Su, G.; Wang, X.; Du, Q.; Wang, K. Endogenous and exogenous enzymolysis of vegetable-sourced glucosinolates and influencing factors. *Food Chemistry*, v. 119, p. 987-994, 2010.

Simirgiotis, M. J.; Hirschmann, G.S. Identification of phenolic compounds from the fruits of the mountain papaya *Vasconcellea pubescens* A. DC. grown in Chile by liquid chromatography–UV detection–mass spectrometry. *Food Chemistry*, v. 115, p. 775-784, 2009.

Sofrata, A.; Santangelo, E.M.; Azeem, M.; Karlson, A.K.B.; Gustafsson, A.; Pütsep, K. Benzyl isothiocyanate, a major component from the roots of *Salvadora persica* is highly active against gram-negative bacteria. *Plos One*, v. 6, p. 1-10, 2011.

Stahl, E.; Jork, H. Terpene derivatives, essential oils, balsams and resins. In: E. Stahl (Ed.). *Thin-Layer Chromatography*. New York/Berlin: Springer-Verlag, 1969, p. 206.

Sobral, M.; Jarenkow, J.A.; Brack, P.; Irgang, B.E.; Larocca, J.; Rodrigues, R.S. Flora arbórea e arborescente do Rio Grande do Sul, Brasil. São Carlos: RIMA: Novo ambiente, 2006, p. 350.

Tang, C.S. Benzil isothiocyanate of papaya fruit. *Phytochemistry*, v. 10, p. 117-121, 1971.

Tang, C.S.; Syed, M.M.; Hamilton, R.A. Benzyl isothiocyanate in the Caricaceae. *Phytochemistry*, v. 11, p. 2531-2533, 1972.

Tastaldi, H. Carotenóides. In: G.G. Villela [*et al.*] (Ed.). *Bioquímica*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 1966, p. 785-790.

Teixeira, I. Prefácio. In: L. Coradin; A. Siminski; A. Reis (Ed.). *Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro – Região Sul*. Brasília: MMA, 2011, p. 110

Torres, M.J.; Trejo, S.A.; Martín, M.I.; Natalucci, Avilés, F.X.; López, L.M.I. Purification and characterization of a cysteine endopeptidase from *vasconcellea quercifolia* a. St.-Hil. Latex displaying high substrate specificity. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, v. 58, p. 11027-11035, 2010.

Uenojo, M.; Maróstica, M.R.; Pastore, G.M. Carotenóides: propriedades, aplicações e biotransformação para formação de compostos de aroma. *Química Nova*, v. 30, p. 616-622, 2007.

Van Etten, C.H.; Tookey, H.L. Chemistry and biological effects of glucosinolates. In: G.A. Rosenthal; D.H. Janzen (Ed.). *Herbivories: Their interactions with secondary plant metabolites*. Nova York: Academic Press, 1979, p. 471-500.

Zhou, T.; Li, G.; Cao, B.; Liu, L.; Cheng, Q.; Kong, H.; Shan, C.; Huang, X.; Chen, J.; Gao, N. Downregulation of Mcl-1 through inhibition of translation contributes to benzyl isothiocyanate induced cell cycle arrest and apoptosis in human leukemia cells. *Cell Death and Disease*, v. 4, p. 1-11, 2013.

Zhu, Y.; Zhuang, J.X.; Wang, Q.; Zhang, H.Y.; Yang, P. Inhibitory effect of benzyl isothiocyanate on proliferation *in vitro* of human glioma cells. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, v. 14, p. 2607-2610, 2013.

Zuanazzi, J.A.S.; Montanha, J.A. Flavonóides. In: C.M.O. Simões [et al.]. *Farmacognosia da planta ao medicamento*. Porto Alegre: UFRGS; Florianópolis: UFSC, 2010, p. 577-614.

Anexo



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Comprovante de registro para coleta de material botânico, fúngico e microbiológico

Número: 48450-1	Data da Emissão: 21/03/2015 09:50
-----------------	-----------------------------------

Dados do titular

Nome: Emerson Bittencourt Ferreira	CPF: 995.709.980-91
------------------------------------	---------------------

SISBIO

Observações e ressalvas

1	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
2	A autorização não eximirá o pesquisador da necessidade de obter outras anuências, como: I) do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador quando as atividades forem realizadas em área de domínio privado ou dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso; II) da comunidade indígena envolvida, ouvido o órgão indigenista oficial, quando as atividades de pesquisa forem executadas em terra indígena; III) do Conselho de Defesa Nacional, quando as atividades de pesquisa forem executadas em área indispensável à segurança nacional; IV) da autoridade marítima, quando as atividades de pesquisa forem executadas em águas jurisdicionais brasileiras; V) do Departamento Nacional da Produção Mineral, quando a pesquisa visar a exploração de depósitos fossilíferos ou a extração de espécimes fósseis; VI) do órgão gestor da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, dentre outras.
3	O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
4	É necessário a obtenção de anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como de consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade.
5	Este documento não abrange a coleta de vegetais hidróbios, tendo em vista que o Decreto-Lei nº 221/1967 e o Art. 36 da Lei nº 9.605/1998 estabelecem a necessidade de obtenção de autorização para coleta de vegetais hidróbios para fins científicos.
6	A autorização para envio ao exterior de material biológico não consignado deverá ser requerida por meio do endereço eletrônico www.ibama.gov.br (Serviços on-line - Licença para importação ou exportação de flora e fauna - CITES e não CITES).
7	Este documento não é válido para: a) coleta ou transporte de espécies que constem nas listas oficiais de espécies ameaçadas de extinção; b) recebimento ou envio de material biológico ao exterior; e c) realização de pesquisa em unidade de conservação federal ou em caverna.
8	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bios prospecção e desenvolvimento tecnológico. Veja maiores informações em www.mma.gov.br/cgen .

Táxons autorizados

#	Nível taxonômico	Táxon(s)
1	ESPÉCIE	Vasconcellea quercifolia

Este documento (Comprovante de registro para coleta de material botânico, fúngico e microbiológico) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 31485191



Página 1/1