

Perfil de limonóides isolados da andiroba (*Carapa Guianensis* Aubl): Revisão sistemática

Profile of limonoids isolated from andiroba (*Carapa Guianensis* Aubl): Systematic review

Perfil de limonoides aislados de andiroba (*Carapa Guianensis* Aubl): Revisión sistemática

Recebido: 23/05/2023 | Revisado: 30/05/2023 | Aceitado: 30/05/2023 | Publicado: 04/06/2023

Álvaro Rogério Silva da Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3793-9527>

Centro Universitário Fametro, Brasil

E-mail: rogeriocdc157@gmail.com

Arieli Pereira de Azevedo

ORCID: <https://orcid.org/0009-0006-5454-6043>

Centro Universitário Fametro, Brasil

E-mail: arieliazevedo2015@gmail.com

Rodrigo Aguiar de Souza

ORCID: <https://orcid.org/0009-0006-2982-4945>

Centro Universitário Fametro, Brasil

E-mail: rodrigoaguiaribbk@gmail.com

Anne Cristine Gomes de Almeida

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6815-6680>

Centro Universitário Fametro, Brasil

E-mail: anne.almeida@fametro.edu.br

Resumo

Introdução: *Carapa guianensis* Aubl é um membro da família Meliaceae. Esta espécie contém alcaloides e terpenoides, em especial limonoides. Essas substâncias têm amplo espectro atividades biológicas, em particular, ação anti-inflamatória e inseticida. **Objetivo:** Caracterizar os principais limonóides extraídos da andiroba (*Carapa guianensis* Aubl), em relação a botânica, fitoquímica e ação biológica. **Metodologia:** Estudo de revisão sistemática. **Resultados:** Foram selecionados 16 artigos para responder os objetivos estabelecidos nesta revisão sistemática. Portanto, foram descritas informações que abordavam a ação biológica e determinação fitoquímica dos limonóides isolados, sendo esses estudos experimentais *in vitro*. Dentre estes artigos, houve um número expressivo que verificou a eficácia da atividade inibidora de NO (Óxido nítrico), tendo potencial anti-inflamatório na linhagem macrophage-like RAW 264.7. E em outros artigos foi possível identificar atividade citotóxica nas linhagens P388, L1210 e HL-60. **Conclusão:** Foi possível comparar os limonóides já existentes com os novos e identificar as suas diferenças na fórmula estrutural, e ação biológica dos limonoides isolados, as quais foram descritas e comprovadas pelos artigos encontrados na literatura. Embora haja estudos importantes e específicos nesta revisão, fica claro para os autores a necessidade de novos estudos e testes experimentais *in vitro* e *in vivo*, com a *Carapa guianensis*, já que ela mostra uma promissora ação analgésica e anti-inflamatória, além de apresentar atividade inseticida e antimalárica.

Palavras-chave: Isolamento; Limonoides; *Carapa*; *Guianensis*.

Abstract

Introduction: *Carapa guianensis* Aubl is a member of the Meliaceae family. This species contains alkaloids and terpenoids, especially limonoids. These substances have broad spectrum biological activities, in particular, anti-inflammatory and insecticidal action. **Objective:** To characterize the main limonoids extracted from andiroba (*Carapa guianensis* Aubl), in relation to botany, phytochemistry and biological action. **Methodology:** Systematic review study. **Results:** Sixteen articles were selected to respond to the objectives established in this systematic review. Therefore, information addressing the biological action and phytochemical determination of isolated limonoids was described, these being experimental *in vitro* studies. Among these articles, there was a significant number that verified the effectiveness of the inhibitory activity of NO (Nitric Oxide), having anti-inflammatory potential in the macrophage-like lineage RAW 264.7. And in other articles it was possible to identify cytotoxic activity in P388, L1210 and HL-60 strains. **Conclusion:** It was possible to compare existing limonoids with new ones and identify their differences in the structural formula and biological action of isolated limonoids, which were described and confirmed by articles found in the literature. Although there are important and specific studies in this review, it is clear to the authors the need for new studies and experimental tests *in vitro* and *in vivo*, with *Carapa guianensis*, since it shows a promising analgesic and anti-inflammatory action, in addition to presenting activity insecticide and antimalarial.

Keywords: Isolation; Limonoids; *Carapa*; *Guianensis*.

Resumen

Introducción: *Carapa guianensis* Aubl es miembro de la familia Meliaceae. Esta especie contiene alcaloides y terpenoides, especialmente limonoides. Estas sustancias tienen actividades biológicas de amplio espectro, en particular, acción antiinflamatoria e insecticida. **Objetivo:** Caracterizar los principales limonoides extraídos de la andiroba (*Carapa guianensis* Aubl), en relación con su acción botánica, fitoquímica y biológica. **Metodología:** Estudio de revisión sistemática. **Resultados:** Dieciséis artículos fueron seleccionados para responder a los objetivos establecidos en esta revisión sistemática. Por lo tanto, se describió información que aborda la acción biológica y la determinación fitoquímica de los limonoides aislados, siendo estos estudios experimentales *in vitro*. Entre estos artículos, hubo un número significativo que verificó la efectividad de la actividad inhibitoria del NO (Óxido Nítrico), con potencial antiinflamatorio en el linaje macrófago-like RAW 264.7. Y en otros artículos se logró identificar actividad citotóxica en las cepas P388, L1210 y HL-60. **Conclusión:** Fue posible comparar los limonoides existentes con los nuevos e identificar sus diferencias en la fórmula estructural y acción biológica de los limonoides aislados, las cuales fueron descritas y confirmadas por artículos encontrados en la literatura. Aunque hay estudios importantes y específicos en esta revisión, es clara para los autores la necesidad de nuevos estudios y pruebas experimentales *in vitro* e *in vivo*, con *Carapa guianensis*, ya que muestra una acción analgésica y antiinflamatoria prometedora, además de presentando actividad insecticida y antipalúdico.

Palabras clave: Aislamiento; Limonoides; Carapa; Guianensis.

1. Introdução

Carapa guianensis Aubl é um membro da família *Meliaceae*, família amplamente utilizada na medicina popular no Brasil e em outros países que abrangem a floresta Amazônica. Esta espécie contém alcaloides e terpenoides, em especial limonoides, que são constituintes químicos característicos de espécies da família *Meliaceae* (Penido *et al.*, 2006). Essas substâncias têm amplo espectro de atividades biológicas, em particular, a ação anti-inflamatória e inseticida (Ambrozin *et al.*, 2006).

Conhecida localmente como andiroba, é uma árvore de grande porte, com cerca de 30 metros de altura, podendo atingir 55 metros. Encontrada predominantemente em áreas alagadas, embora possa ser encontrada em locais secos, ocorre no sul da América Central, Colômbia, Venezuela, Surinami, Guiana Francesa, Brasil, Peru, Paraguai e nas ilhas do Caribe. No Brasil, ocorre em toda bacia Amazônica, preferencialmente nas várzeas e áreas alagáveis ao longo dos igapós (Peron 2017).

Das sementes da *Carapa guianensis* Aubl, é extraído o conhecido óleo de andiroba, que é utilizado na medicina popular, principalmente como analgésico e anti-inflamatório. Em estudos científicos, o óleo de andiroba apresentou atividade inseticida frente ao *Aedes aegypti*, propriedades repelentes, baixo potencial teratogênico, atividade acaricida, atividade antimalárica frente ao *Plasmodium falciparum*, atividade vermífida, efeitos antiedematogênicos, atividade antialérgica, analgésica e anti-inflamatória (Silva *et al.*, 2012).

Na literatura são encontrados diversos estudos relatando a presença de limonoides na andiroba. Os primeiros estudos relatam a descoberta dos limonoides 11 β -acetoxigedunina, 6 α ,11 β -diacetoxigedunina e 6 α -acetoxigedunina na madeira da andiroba. Nas sementes, foram encontrados os limonoides: andirobina, epoxiazadiradiona, 6 α -acetoxi-epoxiazadiradiona, 6 α -hidroxigedunina, 7-desacetoxi-7-oxogedunina e angolensato de metila. Posteriormente, o limonoide 6 α -acetoxigedunina, inicialmente encontrado na madeira, foi encontrado na semente. Ainda nas sementes, foram encontrados os limonoides gedunina, 17 β -hidroxiazadiradiona, 1,2-di-hidro-3 β -hidroxi-7-desacetoxi-7-oxogedunina, angolensato de metila, xilocesina k, 6-hidroxi-angolensato de metila, 6 α -acetoxi-7-desacetilgedunina (Connolly *et al.*, 1966; Marcelle & Mootoo 1975; Ollis *et al.* 1970; Lavie *et al.* 1972; Ambrozin *et al.* 2006; Silva *et al.* 2012, citados por Peron 2017).

A andiroba é uma alternativa econômica que concilia o desenvolvimento regional, a sustentabilidade ambiental e a inclusão social no Estado do Amazonas (Benchimol *et al.*, 2002). Esta já é explorada economicamente na região, principalmente por suas propriedades terapêuticas, apresentando um grande valor de mercado, sendo considerado o principal óleo vegetal comercializado na Amazônia, alcançando mercados no Centro-sul do país. A presença de limonoides na andiroba está associado a diferentes atividades biológicas e por isso, são necessários estudos que caracterizem estes limonoides, a fim de

descrever ação biológica e eficácia e distinguir a ação de cada um deles. O presente estudo tem como objetivo revisar a literatura acerca da descrição botânica da andiroba (*Carapa guianensis Aubl*); caracterização fitoquímica dos principais limonóides extraídos da andiroba (*Carapa guianensis Aubl*); descrição das principais ações biológicas dos limonóides extraídos da andiroba (*Carapa guianensis Aubl*).

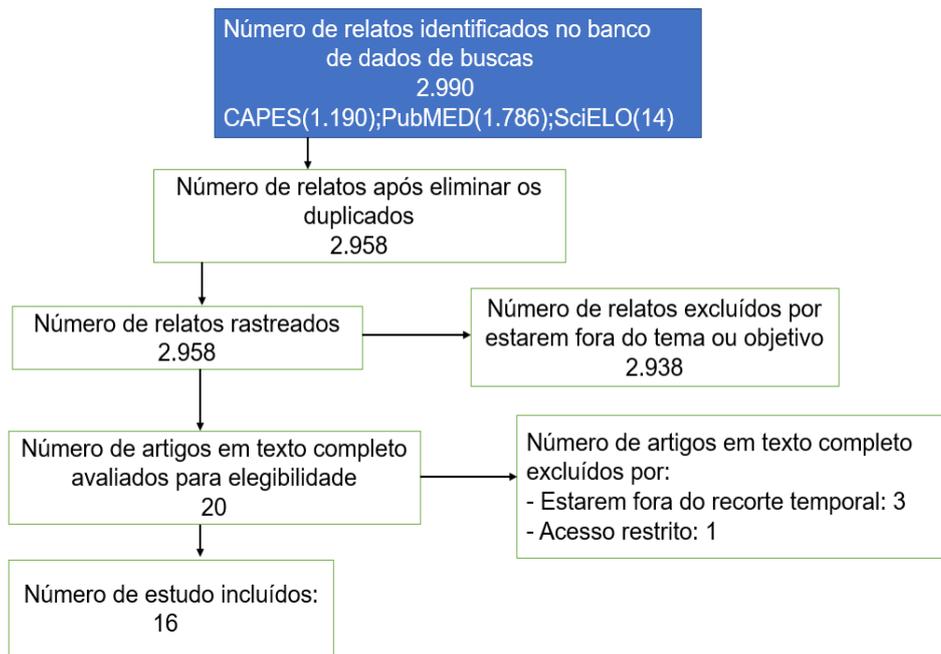
2. Metodologia

Foi realizada uma revisão sistemática da literatura científica de acordo com o PRISMA (*Preferred Reporting Items for Systematic reviews and MetaAnalyses*). Uma revisão sistemática de literatura (RSL) foi realizada de acordo com Tranfield, Denyer e Smart (2003) e Denyer e Tranfield (2006). A RSL, contrariamente das revisões de literatura tradicionais, tem como particularidades evitar que os resultados apontem para uma mesma vertente (Salim et al., 2019). A busca dos artigos foi realizada nas bases de dados PubMed, Scientific Electronic Library Online (SciELO) e na base de dados Periódicos CAPES. Foi feito cruzamento de palavras-chave nos idiomas português, inglês e espanhol. Para as buscas, as seguintes palavras-chave e cruzamentos utilizados foram: “isolamento”, “limonoides” e “carapa guianensis”, “isolation”, “limonoids” e “carapa guianensis”, na língua inglesa, e “aislamiento”, “limonoides” e “carapa guianensis”, na língua espanhola. A seleção dos estudos obedeceu o seguinte formato: na primeira etapa da busca, realizamos um levantamento de artigos encontrados com os descritores propostos nas bases de dados anteriormente mencionadas; em uma segunda etapa, ocorreu uma leitura e seleção criteriosa dos artigos e a formação de um banco de dados sistematizado, nesta etapa houve uma análise, através de um debate para estabelecer consensos e divergências sobre os estudos obtidos. Na terceira etapa houve a sistematização e análise dos artigos do banco de dados. A seleção dos artigos foi realizada conformes os critérios de inclusão e exclusão e por análise dos resultados procedentes da estratégia de pesquisa. A seleção dos artigos científicos, ocorreu pelo estabelecimento dos seguintes critérios de inclusão: a) apresentar estudos sobre o isolamento de limonoides presentes na *Carapa guianensis Aubl.*; b) abordar ações biológicas dos limonoides isolados; c) ser redigido em português, inglês ou espanhol; d) Estudos observacionais e experimentais realizados com a *Carapa guianensis Aubl.* e; e) Estudo publicados entre janeiro de 2012 e dezembro de 2022. Foram adotados os seguintes critérios de exclusão: a) estudo fora da temática estabelecida; b) artigos e estudos de revisão sistemática, revisão bibliográfica, metanálises, relatos de caso, artigo de experiência, artigos de opinião; c) artigos publicados fora do período determinado. d) artigos publicados em idiomas que não sejam português, inglês ou espanhol e; e) artigos com acesso restrito e não disponibilizados na íntegra.

3. Resultados e Discussão

A busca realizada resultou em um total de 2.990 trabalhos, sendo que 32 artigos foram excluídos por estarem duplicados, 2.938 foram descartados por não está de acordo com o tema ou objetivo proposto, restando apenas 20 artigos nos critérios de elegibilidade, dentre eles, 3 foram excluídos por estarem fora do recorte temporal e 1 acesso restrito, desse modo, sobrando os 16 artigos que foram utilizados nesta revisão sistemática (Figura 1).

Figura 1 - Fluxograma dos artigos selecionados.



Fonte: Autoria própria.

No Quadro 1, foram descritas as informações dos principais artigos selecionados que abordavam a ação biológica dos limonoides. Das literaturas selecionadas, todas eram estudos experimentais *in vitro*. Após a verificação dos 10 artigos utilizados para a composição desse estudo foi possível identificar que houve a determinação estrutural e isolamentos dos novos limonoides, bem como suas ações biológicas, sendo que em 80% dos artigos houveram testes *in vitro* nos novos limonoides isolados e que comprovaram a sua ação de acordo com o que foi proposto. Em apenas 20% (Andirolides W-Y e Carapanolides M-S) desses estudos não foram realizados os testes nos novos limonoides caracterizados. Dentre estes artigos selecionados houve um número expressivo que verificou a eficácia na atividade inibidora de NO (Óxido nítrico), tendo potencial anti-inflamatório na linhagem *macrophage-like* RAW 264.7. E em outros artigos foi possível identificar atividade citotóxica nas linhagens P388 (leucemia murina), HL-60 (leucemia humana) e HL-60 (leucemia murina). (Miyake *et al.* 2015, Inoue *et al.* 2014).

Quadro 1 - Corpus de pesquisa.

AUTORES/ ANO	TÍTULO/ARTIGO	TIPO DE ESTUDO	OBJETIVO
Tanaka; Sakamoto; Inoue et al. 2012	Andirolides H-P from the flower of andiroba (<i>Carapa guianensis</i> , <i>Meliaceae</i>)	Estudo Experimental <i>in vitro</i>	Avaliar os componentes da flor de <i>C. Guianensis</i> (<i>Meliaceae</i>), utilizando espectroscopia e raio-X análise cristalográfica.
Sakamoto; Tanaka; Inoue et al. 2013	Andirolides Q-V from the flower of andiroba (<i>Carapa guianensis</i> , <i>Meliaceae</i>)	Estudo Experimental <i>in vitro</i>	Isolamento e a determinação estrutural de seis novos limonóides denominados Andirolides Q-V (1-6), e suas atividades citotóxicas.
Sakamoto; Tanaka; Yamada et al. 2014	Andirolides W-Y from the flower oil of andiroba (<i>Carapa guianensis</i> , <i>Meliaceae</i>)	Estudo Experimental <i>in vitro</i>	O isolamento e determinação estrutural de três novos limonóides, denominados andirolides W-Y (1-3) do óleo da flor de <i>C. guianensis</i>
Kikuchi; Akita; Koike et al. 2020	Carapanins A-C: new limonoids from andiroba (<i>Carapa guianensis</i>) fruit oil	Estudo Experimental <i>in vitro</i>	Isolamento, elucidação estrutural e avaliação de os efeitos inibitórios na produção de óxido nítrico de novos limonóides (1-3), ou seja, carapaninas A-C.
Inoue; Nagai; Mitooka et al. 2012	Carapanolides A and B: unusual 9,10-seco-mexicanolides having a 2R,9S-oxygen bridge from the seeds of <i>Carapa guianensis</i>	Estudo Experimental <i>in vitro</i>	Descrição da estrutura e citotoxicidade contra três linhagens de células tumorais, P388, L1210 E HL-60.
Inoue; Matsui; Kikuchi et al. 2014	Carapanolides C-I from the seeds of andiroba (<i>Carapa guianensis</i> , <i>Meliaceae</i>)	Estudo Experimental <i>in vitro</i>	Descrever o isolamento e a determinação estrutural de sete novos limonóides, denominados carapanolides C-I (1-7), e suas atividades citotóxicas contra as linhagens celulares de leucemia murina P388, humana HL-60 e murina L1210.
Matsui; Kikuchi; Inoue et al. 2014	Carapanolides J-L from the Seeds of <i>Carapa guianensis</i> (Andiroba) and Their Effects on LPS-Activated NO Production	Estudo Experimental <i>in vitro</i>	Descrição do isolamento e a determinação estrutural de três novos limonóides, denominados carapanolides J-L, e os efeitos de epoxiazadiradiona (4) na produção de NO em macrófagos peritoneais de camundongos ativados por LPS.
Inoue; Matsui; Kikuchi et al. 2015	Carapanolides M-S from seeds of andiroba (<i>Carapa guianensis</i> , <i>Meliaceae</i>) and triglyceride metabolism-promoting activity in high glucose-pretreated HepG2 cells	Estudo Experimental <i>in vitro</i>	Isolamento e elucidação estrutural de novos limonóides, bem como as atividades promotoras do metabolismo de TG dos constituintes limonóides em pré-tratados com alto teor de glicose.
Miyake; Ishimoto; Ishimatsu et al. 2015	Carapanolides T-X from <i>Carapa guianensis</i> (Andiroba) Seeds	Estudo Experimental <i>in vitro</i>	Isolamento e determinação estrutural de cinco novos limonóides, carapanolides T-X(1-5)
Higuchi; Miyake; Ohmori et al. 2017	Carapanosins A-C from Seeds of Andiroba (<i>Carapa guianensis</i> , <i>Meliaceae</i>) and Their Effects on LPS-Activated NO Production	Estudo Experimental <i>in vitro</i>	Descrever o isolamento e elucidação estrutural dos novos limonóides(Carapanosins A-C), bem como seus efeitos inibitórios da produção de NO.

Fonte: Elaborado pelos autores.

Além dos trabalhos descritos na tabela 1, também encontramos resultados nas pesquisas de Silva *et al* 2012. Este estudo isolou limonóide 6-hidroxi-angolensato de metila pela primeira vez nessa espécie, não foram feitos nenhum tipo de experimento quanto a ação biológica do limonóide, somente o isolamento dele. Já o trabalho de Inoue *et al* 2013, isolou os limonoides guianolides A e B, e com um estudo experimental *in vitro* usando as linhagens celulares de leucemia murina P388 e L1210 e HL-60 humana, obtiveram resultados negativos, sendo que o guianolide A teve resposta fraca sobre a linhagem P-388 e foi inativo sobre as outras, e o guianolide B foi inativo contra todas as linhagens.

Inoue *et al.* 2018, fez o isolamento dos carapanosins D, E e F, em que os carapanosins E e F e mostraram atividades inibitórias *in vitro* de produção de óxido nítrico contra a linhagem celular RAW264.7, sugerindo assim alta potência de inibição de ativação de macrófagos Higuchi *et, al.* 2017, Isolaram os Limonoides guianolactones A e B e examinaram por meio de um estudo experimental *in vitro* que os 2 limonoides isolados exibiram efeitos inibitórios moderados na produção de óxido nítrico induzida por LPS (lipopolissacarídeo) em macrófagos. Sasayama *et al.* 2018, isolaram os limonoides guianofruits A e B, do raro tipo chukrasone. Através de seu estudo experimental *in vitro* observaram que o guianofruit A tem um efeito moderado na atividade inibitória de óxido nítrico contra a linhagem celular RAW264.7.e Logo após, outro estudo , realizado

por Tsukamoto *et al.* 2019, deu continuidade ao isolamento dos limonoides do tipo chukrasone e isolaram os limonoides guianofruits C, D, E, F, G, H e I, utilizando também os mesmos experimentos *in vitro* com a linhagem celular RAW264.7 e apenas os guainofruits C e D apresentaram atividades inibitórias moderadas de produção de óxido nítrico.

3.1 Descrição botânica da *carapa guianensis*

Carapa guianensis Aubl é um membro da família *Meliaceae*, família amplamente utilizada na medicina popular no Brasil e em outros países que abrangem a floresta amazônica (Penido *et al.* 2006). As árvores maiores de andiroba (*Carapa guianensis*) atingem dimensões próximas a 30 m de altura e 100 cm de DAP (diâmetro à altura do peito, medido a 1,30 m do solo), na idade adulta, embora já se tenham encontrado árvores com até 55 m de altura e 180 cm de DAP.

O tronco é reto e cilíndrico, geralmente com sapopemas ou raízes tabulares baixas, possuem ramificação cimosas ou dicotômica; com cascas medindo até 15 mm de espessura, onde o interior é amargo, rosa-escuro e, ao ser cortada, torna-se alaranjada. As folhas são longas, medindo até 80 cm de comprimento. Possuem flores com pétalas de cor creme, mede de 3 mm a 5 mm de comprimento. Apresentam frutos que são descritos como uma cápsula loculicida globosa, subglobosa ou fracamente quadrangular, medindo de 5 cm a 12 cm de comprimento e 6 cm a 10 cm de diâmetro, onde guardam sementes, as quais são arredondadas e cor de café, medindo de 3 cm a 5 cm de diâmetro (Carvalho. 2014).

A *Carapa guianensis* Aubl é encontrada predominantemente em áreas alagadas, embora possa ser encontrada em locais secos, ocorre no sul da América Central, Colômbia, Venezuela, Surinami, Guiana Francesa, Brasil, Peru, Paraguai e nas ilhas do Caribe. No Brasil, ocorre em toda bacia Amazônica, preferencialmente nas várzeas e áreas alagáveis ao longo dos igapós (Peron 2017).

3.2 Caracterização fitoquímica dos principais limonóides

Andirolides H e N: Têm como fórmulas moleculares C₂₈H₃₄O₈ e C₂₇H₃₃O₈, respectivamente. Foram identificados os grupos de hidroxila, acetoxila, α e β -cetona insaturado, anel furano δ -lactona em comum nos Andirolides H, N e limonóides do tipo gedunina, que são conhecidos por terem um efeito antimalárico relativamente potente em geral (Tanaka *et al.* 2012).

Andirolide S e T: Têm como fórmulas moleculares C₂₉H₃₆O₉ e C₃₄H₄₄O₁₂. Foi realizada a caracterização através da espectroscopia UV e RMN C e H, a identificação de γ -lactona, anel de seis membros γ , γ -insaturado cetona e éster metílico, grupos metil terciários, éster metílico, metileno, acetil, 3-metilbutanoil. Andirolide S e Andirolide T mostraram atividade citotóxica significativa contra a linhagem celular de leucemia murina P388 e a linhagem celular de leucemia humana HL-60 (Sakamoto *et al.*, 2013).

Carapanins B e C: Têm como fórmulas moleculares C₃₅H₄₆O₁₃ e C₃₄H₄₄O₁₁, foram utilizados espectroscopia IV e RMN C e H para a identificação. Foi possível identificar através destes métodos quatro grupos metil terciários, dois grupos metil secundários, dois grupos acetil, um grupo metoxi, um grupo hidróxi, um anel furano, dois carbonos terciários oxigenados, quatro carbonos da ligação dupla carbono-carbono, cinco grupos éster carbonila, um grupo cetocarbonilo, oito grupos metil, dois metinos sp³ oxigenados, quatro metinos sp², carbono hemiacetal e quatro grupos éster carbonil (Kikuchi *et al.* 2020).

Andirolides W, X e Y: Têm como fórmulas moleculares C₂₉H₃₈O₉, C₃₃H₄₂O₁₂ e C₃₈H₄₄O₁₇. Os espectros IV e UV identificaram a presença de grupos éster e uma cetona, γ -lactona. Espectro RMN C e H quatro metils terciários, um metil éster, um grupo etoxi, quatro metilenos, um exometileno, quatro metinos sp³, quatro carbonos quaternários sp³, um éster carbonil, um lactona carbonil, um anel de γ -lactona γ -etoxi- γ γ -insaturado, um grupo 2-metil propanol, um grupo acetilo, um éster metílico, três metilenos, cinco sp³ metinos, um anel furano, um metoxicarbonil, três grupos acetil, dois metilenos, seis metinos e uma lactona carbonilada. (Sakamoto *et al.* 2014)

Carapanolides A e B: Apresentam fórmulas moleculares C₃₁H₄₂O₁₁ e C₃₂H₄₂O₁₁, foram utilizados espectroscopia IV e UV para identificar grupos de hidroxila, um grupo metil secundário, um grupo 2-metil propanol, cinco grupos metileno, quatro grupos metino, um carbono acetal, um grupo 2-metilpropanol (Inoue et, al. 2012).

Carapanolides C, D, E, F, H e I: Têm como fórmulas moleculares C₃₄H₄₄O₁₁, C₃₄H₄₄O₁₂, C₃₇H₄₈O₁₂, C₃₃H₄₀O₁₂, C₃₅H₄₂O₁₃, respectivamente, sendo que a fórmula molecular D e E são as mesmas. Através do espectro IV e UV foram revelados um grupo hidroxila, s grupos éster, um grupo acetil, um grupo hidroxila, três metils angulares, um 2-metilpropanoil grupo, um grupo metoxicarbonil, um γ, γ - grupo γ -lactona insaturado, um ortoacetato, dois grupos hidroxilo terciários, e um anel furano. No espectro RMN C e H, foram identificados três metils terciários, um grupo 2-metilpropanol, um acetil metil, quatro metilenos, seis sp³ metinos, oito carbonos quaternários sp³, um carbono ortoacetal, um anel furano, uma γ -actona γ, γ -insaturada. (Inoue et, al. 2014).

Carapanolides J: Têm como fórmula molecular C₂₆H₃₀O₇. Com a utilização dos espectros IV e UV, foi possível identificar um grupo hidroxila, uma cetona de anel de seis membros, e uma cetona de anel de seis membros γ, γ -insaturada. Os espectros RMN C e exibiram dois grupos CH₂; cinco sp³ grupos metino, incluindo três oximetina, cinco carbonos quaternários sp³, uma cetona saturada, γ -lactona e anel furano (Matsui et, al. 2014).

Carapanolides M, N, O, P, Q, R e S: Têm como fórmulas moleculares C₃₆H₄₄O₁₆, C₄₁H₅₀O₁₉, C₃₉H₄₈O₁₈, C₃₈H₄₈O₁₈, C₃₈H₄₆O₁₇, C₃₃H₄₂O₁₂ e C₃₄H₄₂O₁₂ assim respectivamente. Os espectros IV e UV mostraram um hidroxila, grupos éster, grupos carbonila, um anel furano, um grupo acetil, α e β -lactona insaturada, δ -lactona saturada. Já com a utilização do espectro RMN C e H três metil, dois grupos acetil, um grupo propanol, um grupo ortoacetil, um grupo metoxicarbonil, uma δ -lactona, um grupo hidroxila terciário, e um anel furano, quatro grupos acetil, um 2-metilpropanoil, um éster metílico, um 1,8,9-ortoacetato, um sp³ metileno, oito sp³ metinos (Inoue et, al. 2015).

Carapanolides T e U: Têm como fórmulas moleculares C₃₁H₄₀O₁₀ e C₃₂H₄₀O₁₀. Os espectros de IV e UV e RMN C e H mostraram grupos de hidroxila, éster, e δ -lactona e α - β -insaturada, quatro metilas terciárias, um 2- metil propanol, éster metílico, quatro metilenos, quatro sp³ metinas, uma α, β -insaturada δ -lactona, cinco sp³ carbonos quaternários, e uma cetona (Miyake et, al. 2015).

Carapanosins C: Tem como fórmula molecular C₂₈H₃₄O₇. Através do espectro IV, foi possível identificar uns hidroxila, um éster, uma cetona de anel de seis membros α, β -insaturada e δ -lactona α, β -insaturada. Já o espectro RMN C e H identificou a presença de cinco grupos metil, um grupo acetoxi secundário, cetona de anel de seis membros $\alpha\beta$ -insaturada, uma δ - lactona $\alpha\beta$ -insaturada, um carbono acetal e um anel furano (Higuchi et, al. 2017).

Carapanosins E e F: Têm como fórmula molecular C₃₆H₄₈O₁₂ e C₃₇H₄₈O₁₂. Através dos espectros IV e IR, foi possível identificar em γ -lactona γ, γ -insaturada e hidroxila, éster e uma cetona de anel de seis membros. O espectro RMN C e H, identificaram quatro metils, 2-metilpropanol, 2-metilbutanol, um éster metílico, uma γ -lactona γ, γ -insaturada, um anel furano (Inoue et, al. 2018).

Guianofruits A: Têm como fórmula molecular C₃₂H₄₀O₉. Os espectros IV e UV mostraram a presença de grupo hidroxila, grupo éster, δ -lactona α - β -insaturada. O espectro RMN C e H identificaram grupos metil terciários, grupo 2-metilbutanol, éster metílico, três sp³ metilenos, quatro sp³ metinos, quatro carbonos quaternários, cetona, anel furano.

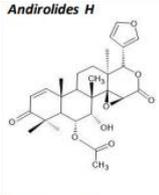
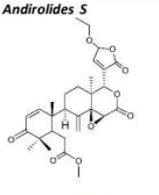
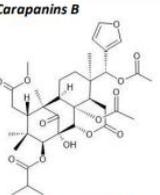
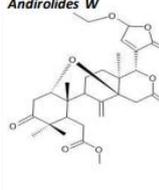
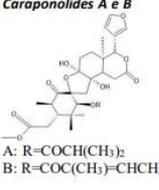
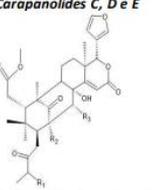
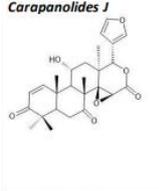
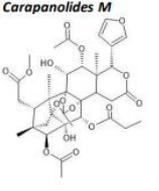
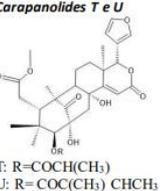
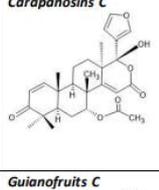
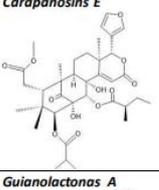
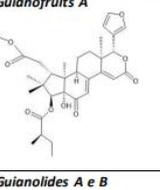
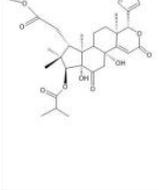
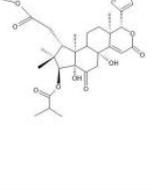
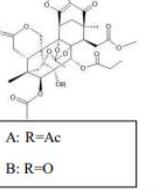
Guianofruits C e D: Têm como fórmulas moleculares C₃₁H₄₁O₁₀ e C₃₄H₄₃O₁₂. Com o espectro IV e UV, foi possível identificar um grupo hidroxila, grupos carbonila, e éster. O espectro RMN C e H mostraram quatro grupos metil terciários, grupo 2-metilpropanol, éster metílico, três metilenos, uma δ -lactona classificada como α - β -insaturada, cinco carbonos quaternários sp³, um anel furano (Tsukamoto et, al. 2019).

Guianolactonas A e B: tem como fórmulas moleculares C₂₉H₃₆O₁₀ e C₃₁H₃₈O₁₁. Através dos espectros IV e UV, identificaram-se grupos carbonila e hidroxila. Com o espectro RMN C e H, identificaram três carbonilas, seis metils,

quatro metilenos, 11 carbonos quaternários, quatro metils terciários, um éster metílico, e um anel furano (Higuchi et, al. 2017).

Guianolides A e B: Têm como fórmulas moleculares C₃₆H₄₀O₁₅ e C₃₄H₃₈O₁₄. Com espectro IV e UV, foram identificados grupo carbonila, seis aneis cetona. O espectro RMN C e H mostraram duas ligações duplas carbono-carbono e seis carbonilas, um propanol, um éster metílico, uma γ -lactona, uma cetona, um metil terciário, cinco metilenos, sete carbonos quaternários sp³ (Inoue et, al. 2012). (Tabela 1).

Tabela 1 - Estruturas moleculares dos limonóides.

Andirolides H 	Andirolides S 	Carapanins B 
Andirolides W 	Carapanolides A e B  A: R=COCH(CH ₃) ₂ B: R=COC(CH ₃)=CHCH ₃	Carapanolides C, D e E  C: R ₁ =CH ₂ , R ₂ =OAc, R ₃ =H D: R ₁ =CH ₃ , R ₂ =OH, R ₃ =OAc E: R ₁ =H, R ₂ =H, R ₃ =H
Carapanolides J 	Carapanolides M 	Carapanolides T e U  T: R=COCH(CH ₃) U: R=COC(CH ₃)CHCH ₃
Carapanosins C 	Carapanosins E 	Guianofruits A 
Guianofruits C 	Guianolactonas A 	Guianolides A e B  A: R=Ac B: R=O

Fonte: Adaptado de Peron (2017).

3.3 Mecanismo de ação biológica

3.3.1 Ensaio para atividade antimalárica

O trabalho de Tanaka et al. (2012) isolou os Andirolides H-P, foram realizados ensaios in vitro para a comprovação da ação biológica. Os seguintes procedimentos foram utilizados para o ensaio de atividade antimalárica: *P. falciparum* e foi cultivado de forma assíncrona. Várias concentrações de compostos em dimetil sulfoxido foram preparados. Cinco microlitros de cada solução foram adicionadas a poços individuais de uma multiplaca de 24 poços. Eritrócitos com 0,3% de parasitemia foram adicionados a cada poço contendo 995 μ L em meio de cultura para dar um hematócrito final nível de 3%. As placas foram incubadas a 37 °C por 72 horas em incubadora CO₂-O₂-N₂ (5% CO₂, 5% O₂ e 90% N₂ atmosfera). Para avaliar a

atividade antimalárica do composto de teste, foram preparadas lâminas de esfregaço sanguíneo de cada cultura, que foram coradas com Giemsa. Todos os compostos de teste foram testados em duplicata e em cada concentração. Culturas de controle sem drogas foram executadas simultaneamente. A parasitemia no controle atingiu entre 4% e 5% às 72h. O valor EC50% refere-se à concentração do composto necessário para inibir o aumento da densidade do parasita em 72 h por 50% do controle.

Os resultados foram expressos como a concentração efetiva que produziu redução de 50% na parasitemia em relação ao controle.

3.3.2 Ensaio Inibitório da produção de NO

O mecanismo de comprovação da inibição da produção de NO (óxido nítrico) nos trabalhos de Matsui et, al. 2014, Miyake et, al. 2015, Higuchi et, al. 2017, Inoue et, al. 2018, Sasayama et, al. 2018, Tsukamoto et, al. 2019, Kikuchi et, al. 2020, foram baseados segundo o método relatado no trabalho de Yamasaki et, al 2013. As células RAW264.7 foram cultivadas em meio D-MEM suplementado com 10% de soro fetal bovino e penicilina/estreptomicina. As células foram semeadas em uma microtitulação de placas de 96; 1,5 x 10⁵ células em 100 µL de solução por poço e foram pré-incubados por 12 h a 37°C em atmosfera umidificada contendo 5% de CO₂. As células foram cultivadas no meio contendo LPS (5 µg/mL) com amostras testes em diferentes concentrações por 24 h. A produção de NO foi então determinado pelo ensaio de Griess. O sobrenadante do meio cultivado foi transferido para uma placa de microtitulação de 96 poços e, em seguida, 100 µL de reagente de Griess (1% sulfanilamida, dicloridrato de N-(1-naftil) etilenodiamina a 0,1%, em H₃PO₄ a 2,5%) foi adicionado após a incubação em temperatura ambiente por 15 min, a absorbância em 540 e 620 nm foi medido com um leitor de microplacas. L-NMMA, um inibidor da NO sintase, foi usado como controle positivo (IC₅₀ % 13,8 µg/mL).

No ensaio inibitório da produção de NO, os compostos isolados apresentaram atividades inibitórias semelhantes ao controle positivo, L-NMMA sem citotoxicidades.

Estes resultados sugeriram que os compostos podem ser valiosos como potenciais inibidores da produção de NO.

Flora e Zilberstein (2000), afirmam que Óxido nítrico é um importante transmissor intercelular nos mamíferos superiores. O mecanismo de sinalização intercelular é realizado através de receptores de membrana celular na célula alvo, estes receptores geralmente são transmembranosos tendo contato com o citoplasma e desencadeando uma “cascata” de sinais intracelulares que no final irá causar uma mudança na célula. Pelas suas características químicas de alta difusibilidade, a sinalização do NO é transmitida diretamente em nível intracelular, sem receptores transmembranosos. Devido à sua penetração intracelular sem intermediários membranosos, o organismo utiliza o NO em funções fisiológicas em que é necessária uma resposta rápida. Sabe-se também que o NO também faz parte do arsenal de primeira defesa do organismo com poder microbicida. Está demonstrada sua ação antibactericida, antiparasítica e antiviral. Nestes casos, o NO atua em concentrações maiores do que as de transmissão, sendo tóxico aos microorganismos invasores. Além disso, tem ação vaso protetora, inibindo a ativação plaquetária e modificando a adesividade leucocitária e a diapedese dos neutrófilos.

3.3.3 Ensaio para citotoxicidade em linhagens celulares de leucemia murina P388 e L1210

Para a comprovação da atividade citotóxica nos trabalhos de Inoue et, al. 2012, Sakamoto et al, 2013, Inoue et, al. 2013, Inoue et, al. 2014, foram realizados testes in vitro, seguindo o método MTT [3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difenil brometo de tetrazolina] de Mosmann, (1983). As atividades citotóxicas foram examinadas com o método de brometo de 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5 difenil-2H-tetrazólio (MTT). As células P-388 e HL-60 foram cultivadas em RPMI-1640 (10% de soro fetal de vitela) a 37°C em 5% de CO₂. O material de teste foi dissolvido em dimetil sulfóxido (DMSO) para fazer uma concentração de 10 mM, e a solução foi diluída com meio para produzir concentrações de 200, 20 e 2 µM. Cada solução foi combinada com a suspensão de células (1 × 10⁵ células mL⁻¹) no meio. Após incubação a 37 °C por 72 h em 5% de CO₂, as

células cultivadas foram marcadas com 4 mg mL de MTT (em solução salina tamponada com fosfato (PBS) e a absorvância de formazan dissolvida em 20% de dodecil sulfato de sódio (SDS) em HCl 0,1 N, foi medido a 540 nm usando um leitor de microplacas. Cada valor de absorvância foi expresso como uma porcentagem em relação a da suspensão de células de controle preparada sem o teste de substância usadas no mesmo procedimento.

Como resultado para a inibição do crescimento de células cancerígenas, os limonoides foram examinados usando as linhagens celulares de leucemia murina P388, murina L1210 e humana HL-60. Sendo que uma grande maioria apresentou atividades moderadas nas linhagens celulares P388 e L1210. Por outro lado, alguns exibiram um forte efeito inibitório na linha celular HL-60.

3.3.4 Redução dos níveis de TG (Triglicérides) no fígado

Foi realizado um estudo exploratório, no intuito de verificar os efeitos inibitórios dos limonóides da *Carapa guianensis* sobre os níveis de triglicérides nas células HepG2. Esta célula é utilizada frequentemente como modelo in vitro de respostas biológicas do fígado humano. Os limonóides isolados do óleo da flor ou semente da *C. Guianensis*: guianolide A, carapanolide A, carapanolide C e limonoides do tipo gedunina, mostraram redução significativa nos níveis de TG nos hepatócitos e essas reduções foram iguais ou superiores das obtidas utilizando metformin.a (Knasmuller et al., 2004).

4. Conclusão

Os compostos naturais são usados desde os primórdios da humanidade na medicina popular, mas nas últimas décadas, com o avanço da ciência, foi permitido que as propriedades dos vegetais, minerais e animais, responsáveis pela ação terapêutica relatada historicamente, atualmente fossem elucidadas com respaldo científico. A *Carapa guianensis* conhecida popularmente como andiroba, sempre foi uma planta bastante presente no inventário das chamadas plantas com ação terapêutica.

Este estudo teve como foco a descrição botânica da andiroba, bem como as características fitoquímicas e ação biológica dos limonoides isolados descritos e comprovadas pelos artigos encontrados na literatura. A espectroscopia IV (Infravermelho), UV (ultravioleta), RMN C e H (ressonância magnética nuclear), foram utilizados para a determinação de grupos químicos orgânicos, carbonos e hidrogênios na fórmula estrutural dos limonoides, sendo então possível comparar os limonóides já existentes com os novos e identificar as suas diferenças na fórmula estrutural, e ação biológica.

Embora haja estudos importantes e específicos nesta revisão, fica claro para os autores a necessidade de novos estudos e testes experimentais in vitro e in vivo, com a *Carapa guianensis*, já que ela mostra uma promissora ação analgésica e anti-inflamatória, além de apresentar atividade inseticida e antimalárica.

Referências

- Ambrozin, A. R. P., Leite, A. C., Bueno, F. C., Vieira, P. C., Fernandes, J. B., Bueno, O. C., Silva, M. F. G. F., Pagnocca, F. C., Hebling, M. J. A., & Júnior, M. B. (2006). Limonoids from andiroba Oil and *Cedrela fissilis* and their Insecticidal Activity. *Journal Brazilian of Chemistry Soc.* 17, 542 – 547;
- Benchimol, S. & Zênite. Ecológico e Nadir Econômico-social. Análises e propostas para o desenvolvimento sustentável da Amazônia. Editora Valer Manaus, Amazonas.
- Carvalho, P. (2014). Andiroba: *Carapa guianensis*.
- Denyer, D. & Tranfield, D. (2006). Using qualitative research synthesis to build an actionable knowledge base. *Management Decision*, 44, 213-227. 10.1108 / 00251740610650201.
- Flora Filho, R., & B. Zilberstein. (2000). "Óxido nítrico: o simples mensageiro percorrendo a complexidade. Metabolismo, síntese e funções." *Revista da Associação Médica Brasileira* 46, 265-271.
- Higuchi, K., Miyake, T., Ohmori, S., Tani, Y., Minoura, K., et al. (2017). Carapanosins A–C from Seeds of Andiroba (*Carapa guianensis*, Meliaceae) and Their Effects on LPS-Activated NO Production. Academic Editor: Derek J. McPhee.

- Higuchi, K., et al. (2017). Guianolactones A and B, Two Rearranged Pentacyclic Limonoids from the Seeds of *Carapa guianensis*. *Chem. Asian J.* 12, 3000–3004.
- Inoue, T., Nagai, Y., Mitooka, A., Ujike, R., Muraoka, O., Yamada, T., & Tanaka, R. (2012). Carapanolides A and B: unusual 9,10-seco-mexicanolides having a 2R,9S-oxygen bridge from the seeds of *Carapa guianensis*. *Tetrahedron Lett.* 53, 6685–6688.
- Inoue, T., Matsui, Y., Kikuchi, T., In, Y., Yamada, T., Muraoka, O., Matsunaga, S., & Tanaka, R. (2013). Guianolides A and B, New Carbon Skeletal Limonoids from the Seeds of *Carapa guianensis*. *Org. Lett.* 15, 3018–3021.
- Inoue, T., Matsui, Y., Kikuchi, T., In, Y., Muraoka, O., Yamada, T., & Tanaka, R. (2014). Carapanolides C-I from the seeds of andiroba (*Carapa guianensis*, Meliaceae). *Fitoterapia*, 96, 56–64;
- Inoue, T., Matsui, Y., Kikuchi, T., Yamada, T., In, Y., Muraoka, O., et al. (2015). Carapanolides MeS from seeds of andiroba (*Carapa guianensis*, Meliaceae) and triglyceride metabolism-promoting activity in high glucose-pretreated HepG2 cells. *Tetrahedron* 71, 2753-2760.
- Inoue, A., Shoko Ohmori, T. K., et al. (2018). Carapanosins D–F from the Seeds of Andiroba (*Carapa guianensis*, Meliaceae) and Their Effects on LPS-Activated NO Production.
- Kikuchi; Akita; Koike.; et al. 2020. Carapanins A–C: new limonoids from andiroba (*Carapa guianensis*) fruit oil. *Org. Biomol. Chem.*, 2020, 18, 9268.
- Knasmuller, S. et al. (2004). Use of human-derived liver cell lines for the detection of environmental and dietary genotoxicants; current state of knowledge. *Toxicology*, 198, 1-3, 315-28.
- Limonoides isolados dos frutos Frutos de *Carapa guianensis* Aublet (Meliaceae). *Quim. Nova* 35, 1936–1939.
- Matsui, Y., Kikuchi, T., Inoue, T., Muraoka, O., Yamada, T., & Tanaka, R. (2014). Carapanolides J–L from the Seeds of *Carapa guianensis* (Andiroba) and Their Effects on LPS-Activated NO Production. *Molecules* 19, 17130-17140.
- Miyake, T., Ishimoto, S., Ishimatsu, N., Higuchi, K., et al. (2015). Carapanolides T–X from *Carapa guianensis* (Andiroba) Seeds. Academic Editor: Isabel C. F. R. Ferreira.
- Penido, C., Conte, F. P., Chagas, M. S. S., Rodrigues, C. A. B., Pereira, J. F. G., & Henriques, M. G. M. O. (2006). Antiinflammatory effects of natural tetranortriterpenoids isolated from *Carapa guianensis* Aublet on zymosan-induced arthritis in mice. *Inflammation Research*, 55(11), 457-464.
- Peron, L. M. (2017). Avaliação dos limonóides presentes no resíduo industrial de andiroba (*Carapa guianensis*) usando cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada à espectrometria de massas (CLUE-EM). Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas. Campinas, São Paulo.
- Sakamoto, A., Tanaka, Y., Inoue, T., Kikuchi, T., Kajimoto, T., Muraoka, O., Yamada, T., & Tanaka, R. (2013). Andiolides Q–V from the flower of andiroba (*Carapa guianensis*, Meliaceae). *Fitoterapia*, 90, 20–29.
- Salim, N., Rahman, M. N. A., & Wahab, D. A. (2019) A systematic literature review of internal capabilities for enhancing eco-innovation performance of manufacturing firms. *Journal of Cleaner Production*, v. 209, p. 1445-1460. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.11.105>
- Sakamoto; T., et al. (2014). Andiolides W–Y from the flower oil of andiroba (*Carapa guianensis*, Meliaceae) *Fitoterapia* 100, 81–87.
- Sasayama, A., et al. (2018). Guianofruits A and B from the Fruit Oil of Andiroba (*Carapa guianensis*, Meliaceae) and Their Effects on LPS-Activated NO Production. *ChemistrySelect* 3, 6056 – 6060.
- Silva, S. G. da, Nunomura, R. de C. S. & Nunomura, S. M. (2012). Limonóides Isolados dos
- Tanaka, Y., et al. 2012. Andiolides H-P from the flower of andiroba (*Carapa guianensis*, Meliaceae). *Tetrahedron* 68, 3669–3677.
- Tranfield, D., Denyer, D., & Smart, P. (2003). Towards a methodology for developing evidence-informed management knowledge by means of systematic review. *British Journal Management*, 14,207-222. <https://doi.org/10.1111/1467-8551.00375>
- Tsakamoto, Y., et al. (2019). Guianofruits Cel from fruit oil of andiroba (*Carapa guianensis*, Meliaceae). *Tetrahedron* 75 (2019) 1149-1156.