

ATIVIDADE ANTIRRADICALAR EM *LUDWIGIA REPENS*

Matheus Rocha Rosa (IC) e Edgard Antônio Ferreira (Orientador)

Apoio: PIBIC Mackenzie

Resumo

A família Onagraceae compreende cerca de 20 gêneros e aproximadamente 660 espécies. Entre eles destaca-se no Brasil o gênero *Ludwigia*, o mais rico em variedade de espécies. De suas 82 espécies, 45 delas estão presentes no Brasil. Há poucos relatos a respeito da composição química das espécies do gênero *Ludwigia*. Com isto, a espécie *Ludwigia repens* foi selecionada com a finalidade de avaliar o seu potencial antirradicalar. O extrato metanólico gerado a partir das partes aéreas foi fracionado em ordem crescente de polaridade utilizando hexano, acetato de etila e n-butanol, respectivamente. A partir da análise do espectro de RMN de ^1H , atividade preliminar antirradicalar e massa gerada do extrato butanólico esta fração foi submetida à coluna de filtração em gel Sephadex LH-20. Pela avaliação do potencial antirradicalar, sua massa gerada e o grau de pureza, as frações selecionadas foram submetidas à cromatografia de camada delgada preparativa levando ao isolamento de 11 substâncias. As substâncias purificadas foram submetidas ao ensaio com DPPH em que 5 delas apresentaram atividade antirradicalar. A partir da observação do espectro de RMN de ^1H do extrato butanólico e do espectro na região do UV-VIS das substâncias isoladas, há grande possibilidade de serem substâncias fenólicas, tal como flavonóides.

Palavras Chave: *Ludwigia repens*; DPPH; Antirradicalar

Abstract

The Onagraceae family comprises about 20 genera and about 660 species. Among them stands out, in Brazil, the genus *Ludwigia*, the richest in variety of species. From the 82 species, 45 of them are present in Brazil. There are few reports about the chemical composition of the species of the genus *Ludwigia*. With this, *Ludwigia repens* was selected in order to evaluate the antioxidant capacity. The methanol extract generated from the aerial parts of *Ludwigia repens* was partitioned in order of increasing polarity using hexane, ethyl acetate and n-butanol, respectively. From the ^1H NMR spectrum analysis, antioxidant preliminary capacity and mass generated of extract, the butanolic extract was selected and subjected to a gel filtration column Sephadex LH-20. Based on the analysis of antioxidant capacity, obtained mass and purity, selected fractions were selected to apply on preparative thin layer chromatography leading to 11 substances. The purified substances were selected to the DPPH

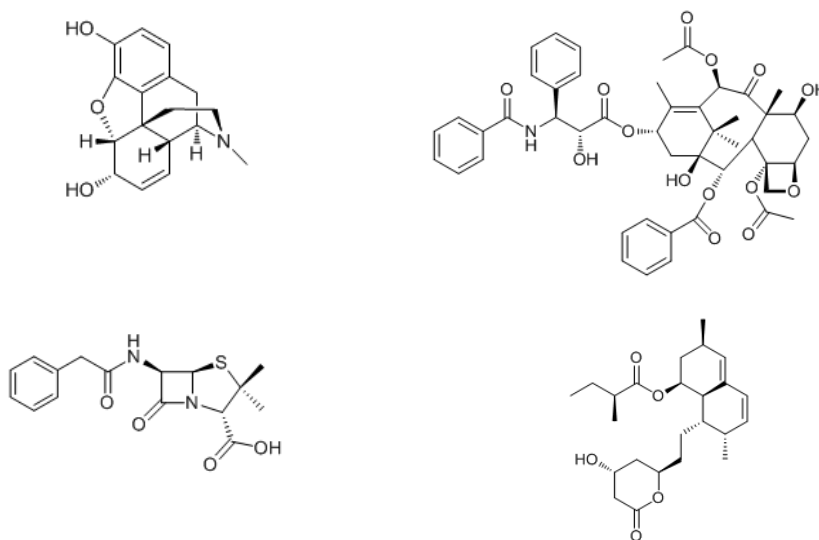
test in which 5 of them showed antioxidant activity. From the observation of ^1H NMR spectrum of butanolic extract and the spectrum in the UV-VIS region of the isolated compounds, there is great possibility of phenolic compounds, such as flavonoids.

Keywords: *Ludwigia repens*; DPPH; antioxidant

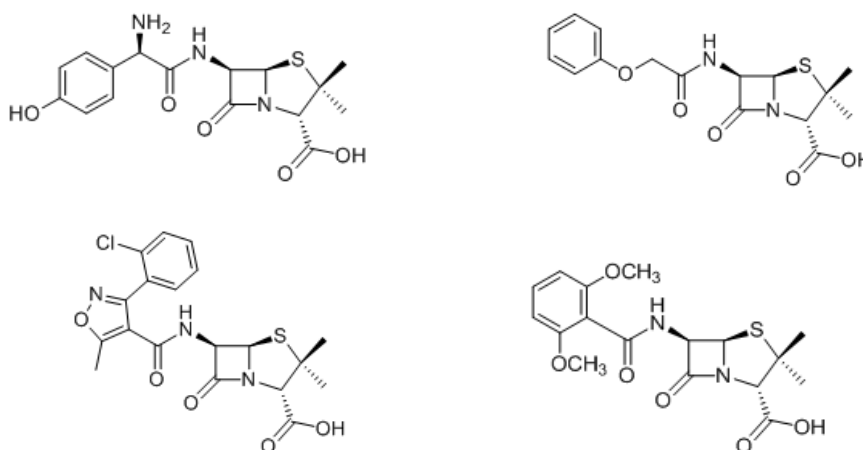
1. INTRODUÇÃO

Reconhecidamente os compostos obtidos a partir de fontes naturais são um dos principais métodos para a aquisição de moléculas biologicamente ativas. Entre os muitos compostos utilizados com êxito no que diz respeito às suas propriedades terapêuticas podem ser destacados a Morfina obtida a partir da Papoula (*Papaver somniferum*) que ainda é considerada um dos mais potentes analgésicos que se tem conhecimento (Luch, 2009; Beaudoin e Facchini, 2014); o Taxol extraído das cascas da árvore *Taxus brevifolia*, é um dos medicamentos mais utilizados no tratamento de câncer de mama (Wani *et al.*, 1971; Demain e Vaishnav, 2011); Lovastatina, obtida a partir da colônia de fungos *Aspergillus terreus* (Endo, 1979; Alberts *et al.*, 1980), é um dos principais medicamentos no tratamento a elevada taxa de colesterol, uma vez que atua na inibição da enzima HMG-redutase, responsável por uma das etapas da biossíntese do colesterol (Tobert, 2003) e a Penicilina extraída da colônia de fungos *Penicillium chrysogenum* é um potente antibiótico (Fleming, 1929; Chain *et al.*, 1940) (**Figura 1**). Devido à importância da descoberta da Penicilina, em 1945, o Prêmio Nobel de medicina e fisiologia foi concedido a Fleming, Florey e Chain.

Figura 1: Estruturas dos compostos utilizados com fins terapêuticos obtidos a partir de fontes naturais.



Além da utilização para fins terapêuticos, os compostos de origem natural, também podem atuar como protótipos para a síntese de novas moléculas biologicamente ativas. Um importante exemplo é a penicilina G, que foi o primeiro antibiótico da classe das β -lactamas e a partir da observação de que a atividade do composto estava na presença do anel β -lactâmico uma série de outros compostos, com atividade antibiótica, foram sintetizados mantendo-se a estrutura responsável pela atividade biológica (**Figura 2**).

Figura 2: Estruturas moleculares de antibióticos β -lactâmicos derivados da penicilina.

Com isto, a busca por novas moléculas biologicamente ativas é um processo incessante, tanto pela necessidade de encontrar novos compostos que apresentem maior atividade biológica, como pela busca da redução dos efeitos colaterais aos medicamentos já existentes.

Devido à ausência de estudos sobre a atividade biológica de substâncias obtidas a partir de *Ludwigia repens*, o objetivo será isolar e avaliar a atividade antirradicalar de substâncias a partir desta espécie.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

As plantas constituem-se uma das mais ricas fontes de novas moléculas, sendo que muitas destas têm um papel central no tratamento ou prevenção de várias doenças tais como diabetes, câncer e desordens inflamatórias crônicas (Rao et al., 2013; Mabou et al., 2014). Muitas espécies de plantas têm sido reconhecidas por ter propriedades medicinais, que fornecem um impacto benéfico na saúde humana. Hoje em dia, muitos relatórios confirmam uma relação positiva entre o consumo de frutas e legumes ricos em compostos fenólicos e a prevenção de doenças relacionadas com o envelhecimento causadas pelo estresse oxidativo.

2.1. Macrófitas Aquáticas

As macrófitas aquáticas são conhecidas popularmente como plantas aquáticas. As macrófitas aquáticas ao longo de seu processo evolutivo adaptaram-se ao ambiente aquático de forma muito eficiente. Apresentam aproximadamente 2600 espécies espalhadas por mais

de 450 gêneros e estão representadas por sete grandes grupos: cianobactérias, clorófitas, rodófitas, xantófitas, briófitas, pteridófitas e espermatófitas (Chambers *et al.*, 2008).

As macrófitas aquáticas apresentam uma grande versatilidade com relação ao seu habitat, assim sete classificações são atribuídas de acordo com suas características adaptativas ao ambiente aquático:

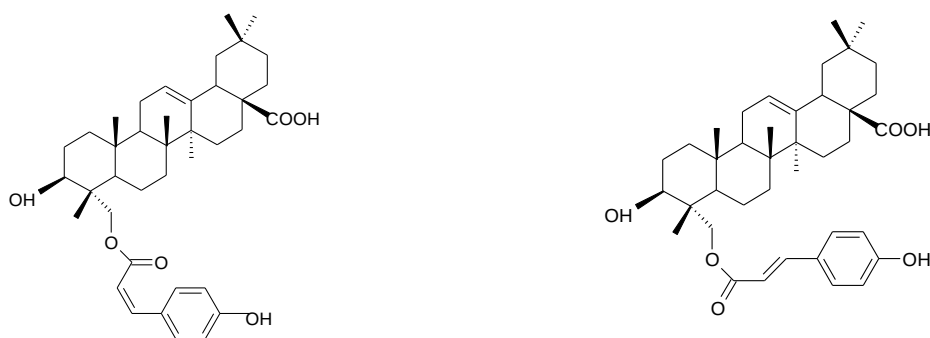
- a) Anfíbia: capaz de viver tanto na forma emersa quando imersa;
- b) Emergente: apresenta as raízes no fundo do ambiente aquático, e parte dos caules e folhas estão parcialmente emersos;
- c) Flutuante fixa: as raízes estão no fundo do ambiente aquático, mas os caules e folhas estão flutuando;
- d) Flutuante livre: não apresentam raízes fixas e podem ser levadas pela correnteza;
- e) Submersas fixas: as raízes estão fixas no fundo do ambiente aquático assim como todas as outras partes da planta;
- f) Submersas livres: As raízes não estão fixas no fundo dos lagos ou rios e todas as outras partes da planta também estão submersas;
- g) Epífitas: estão instaladas sobre outras plantas aquáticas.

2.2. Gênero *Ludwigia*

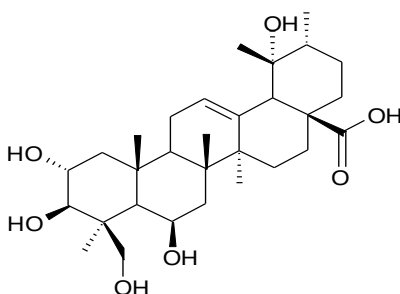
A família Onagraceae é representada por 22 gêneros e aproximadamente 657 espécies, sendo mais amplamente representada nas regiões tropicais e subtropicais do mundo. No Brasil ocorrem quatro gêneros sendo um deles o gênero *Ludwigia* que representa a maior quantidade de espécies, cerca de 80. Porém, o mesmo apresenta problemas referentes à diferenciação entre as espécies (Pesamosca, 2015).

Dentre os poucos estudos voltados à elucidação da composição química das espécies do gênero *Ludwigia*, estes apontam a presença de triterpenos, esteróides e cumarinas em suas composições (Rao *et al.*, 2013; Mabou *et al.*, 2014).

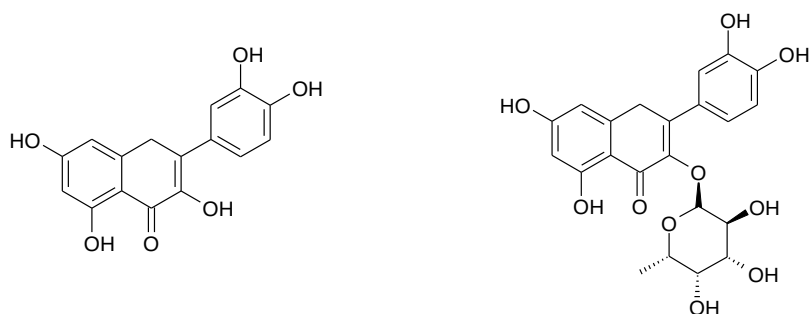
Ludwigia octovalvis, uma planta aquática vastamente encontrada em Taiwan, ganhou destaque por apresentar compostos com atividade citotóxica além de possuir outras aplicações como tratamentos populares de edemas, hipertensões (**Figura 3**) Estudos apontam que em seu extrato bruto possui atividade antidiabética e imunossupressora (Chang, 2003; Kuo, 2003).

Figura 3: Triterpenos isolados da *Ludwigia octovalvis*.

O gênero *Ludwigia* tem sido tratada como um gênero distinto na flora indiana. Espécies como *Ludwigia hyssopifolia*, vastamente utilizada na medicina indiana, possui em sua composição grande variedade de triterpenos (**Figura 4**) (Rao, 2013; Merugu, 2013; Atthapu, 2013).

Figura 4: Triterpeno pentacíclico isolado da *Ludwigia hyssopifolia*

Investigações fitoquímicas da composição da *L. adscendens* indicam a presença de diversos alcanos e flavanóides como a quercetina, quercitrin entre outras (**Figura 5**).

Figura 5: estrutura molecular da quercetina (direita) e quercitrin (esquerda).

O uso popular na Índia da planta envolve tratamentos antissépticos, anti-inflamatórios e principalmente doenças de pele (Shilpi, 2009; Gray, 2009; Seidel, 2009).

Outra espécie de destaque do gênero é a *L. leptocarpa*. Encontrada em território norte americano e africano tem-se conhecimento que é aplicado na medicina popular da Nigéria no tratamento de reumatismo e disenteria. Estudos anteriores apontam a presença de flavanóides. (Harakat, 2013; Mabou, 2013; Nazabadioko, 2013; Ngnokam, 2013; Tebou, 2013).

3. METODOLOGIA

3.1. Generalidades metodológicas

Os solventes utilizados nas extrações e nas eluições das colunas cromatográficas foram de grau PA da marca Synth.

Para CCDP foram utilizadas tanto placas de sílica gel comerciais como placas confeccionadas no laboratório. As placas de sílica gel comerciais utilizadas apresentavam espessura de 25 mm e tamanho das partículas de 17 μm , sobre suporte de vidro (20x20 cm) da Sigma-Aldrich. Já para a confecção das placas no laboratório, utilizou-se sílica 60 PF254 com partículas de 5-40 μm da Merck e espessura de 0,5 mm sobre suporte de vidro (20x20 cm).

Para CCDA, foram utilizadas placas comerciais de sílica gel 60 PF254 para cromatografia de camada fina, sobre suporte de alumínio da Merck.

As placas de CCDA e CCDP foram reveladas sob lâmpada ultravioleta (254 e 365 nm). Após este procedimento, as placas de CCDA foram reveladas com aspersão de uma solução a 2% de sulfato cérico em ácido sulfúrico (2 mol.L⁻¹) seguido de aquecimento.

A solução de sulfato cérico foi preparada utilizando 2,1 gramas de Ce(SO₄).5H₂O, 1,5 mililitros de ácido sulfúrico e 800 mililitros de água deionizada.

A solução de DPPH foi preparada em balão volumétrico de 50 mililitros utilizando 19,970 miligramas de DPPH (solução 0,5% em massa) e metanol.

Os espectros eletrônicos foram obtidos num espectrofotômetro UV-Visível da Agilent modelo 8453, na região de 190 a 1100 nm. As medidas foram efetuadas usando cubetas de quartzo de 1 cm de caminho óptico.

Os espectros de RMN de ¹H (300 MHz) e foram obtidos em um espectrômetro Bruker DRX 300.

As amostras submetidas aos experimentos de RMN foram solubilizadas em DMSO da Sigma-Aldrich.

3.2. Coleta do material vegetal e obtenção do extrato

A espécie *Ludwigia repens* foi obtida junto a um produtor de plantas para aquário situado na cidade de Suzano, estado de São Paulo. As plantas foram secas ao ar livre e depois em estufa sob ventilação a uma temperatura de 50° C visando à eliminação total da água. O material foi então moído em liquidificador comercial.

A massa de planta moída seca utilizada para obtenção do extrato bruto metanólico foi de 335 g. Estas então foram extraídas exaustivamente com metanol, para obtenção do extrato metanólico. Foram realizadas 22 extrações totalizando 12,3 Litros de metanol.

O extrato metanólico foi ressuspenso em uma solução de metanol e água (1:9) e submetido à partição, sendo extraído sucessivamente com hexano (3,7 Litros), em acetato de etila (1,4 Litros) e n-butanol (5,3 Litros). Após evaporação dos solventes sob pressão reduzida, foram obtidos os extratos das fases hexano (10,5962 gramas), acetato de etila (9,9621 gramas) e n-butanol (26,1985 gramas).

3.3. Fracionamento cromatográfico

Uma massa de 0,76 gramas do extrato butanólico foi solubilizado em metanol e submetido a uma coluna (72,0 cm x 2,5 cm) de filtração em gel Sephadex LH-20 e eluído com metanol gerando um total de 130 frações com 10 mililitros cada uma. Estas foram então agrupadas de acordo com a polaridade através da análise de CCDA utilizando como fase móvel uma mistura de acetato de etila, água deionizada e ácido fórmico na proporção 9:1:1, resultando em 15 frações.

Com o intuito de adquirir mais massa para obtenção das substâncias, uma nova filtração em gel Sephadex LH-20 foi realizada com uma massa de extrato butanólico de 1,01 grama. Esta massa foi novamente solubilizada em metanol e submetida a uma coluna (72,0 cm x 2,5 cm) e eluído com metanol gerando um total de 119 frações de 10 mililitros cada uma. Estas foram então agrupadas de acordo com a polaridade através da análise de CCDA utilizando como fase móvel uma mistura de acetato de etila, água deionizada e ácido fórmico na proporção 9:1:1, resultando em 12 frações.

Tabela 1: Distribuição das massas após filtração por gel Sephadex LH-20 e respectivas substâncias obtidas por CCDP.

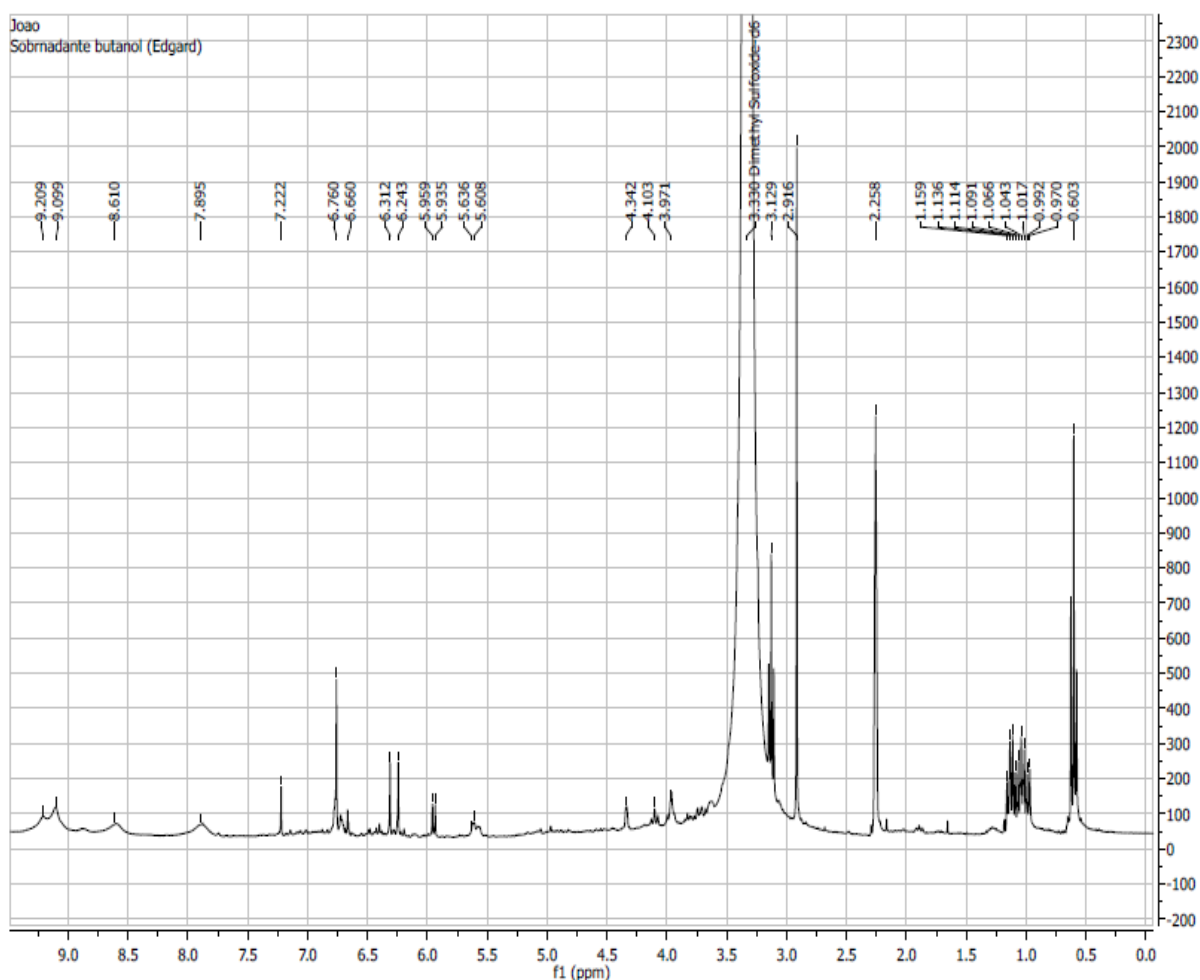
Primeira Coluna			Segunda Coluna		
Fração	Massa	Substâncias Isoladas	Fração	Massa	Substâncias Isoladas
F1	85,2 mg		F'1	143,8 mg	
F2	22 mg		F'2	44,7 mg	
F3	22,1 mg		F'3	53,6 mg	F'3
F4	38,8 mg	F4I e F4II	F'4	54,4 mg	
F5	14,2 mg		F'5	62,5 mg	F'5 I
F6	24,9 mg		F'6	55,7 mg	F'6I, F'6II, F'6III e F'6IV
F7	31,4 mg	F7I, F7II e F7III	F'7	228,8 mg	F'7I
F8	38,2 mg		F'8	66,5 mg	
F9	14,3 mg		F'9	16,8 mg	
F10	15,7 mg		F'10	7,7 mg	
F11	112,5 mg	F11I	F'11	5,6 mg	
F12	59,5 mg		F'12	0,1 mg	
F13	9,1 mg				
F14	5,4 mg				
F15	17,6 mg				

A partir comparação das massas obtidas e de acordo que o fator de retenção entre as substâncias constituintes das mesmas frações, as frações F4, F7 e F11 da primeira coluna e as frações F'3, F'5, F'6 e F'7 da segunda coluna foram submetidas a cromatografia de camada delgada preparativa utilizando placas comerciais de sílica gel 60 F254 0,5mm utilizando como fase móvel uma mistura de acetato de etila, água deionizada e ácido fórmico na proporção 9:1:1, gerando 13 substâncias.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As partes aéreas da espécie *L. repens* foram extraídas com metanol gerando uma massa de 97,82 gramas. Destas, 96,13 gramas foram submetidas a uma partição em ordem crescente de polaridade com hexano, acetato de etila e n-butanol respectivamente. Após análise dos espectros de RMN de ^1H , a fração butanólica mostrou-se atrativa do ponto de vista estrutural, pela elevada massa e principalmente pela atividade antirradicalar.

O espectro de RMN de ^1H do extrato butanólico apresentou sinais característicos de anel aromático δ 5,93-6,76 ppm, sinais de ligação dupla δ 5,61-5,64 ppm característicos de flavonóides (**Figura 6**).

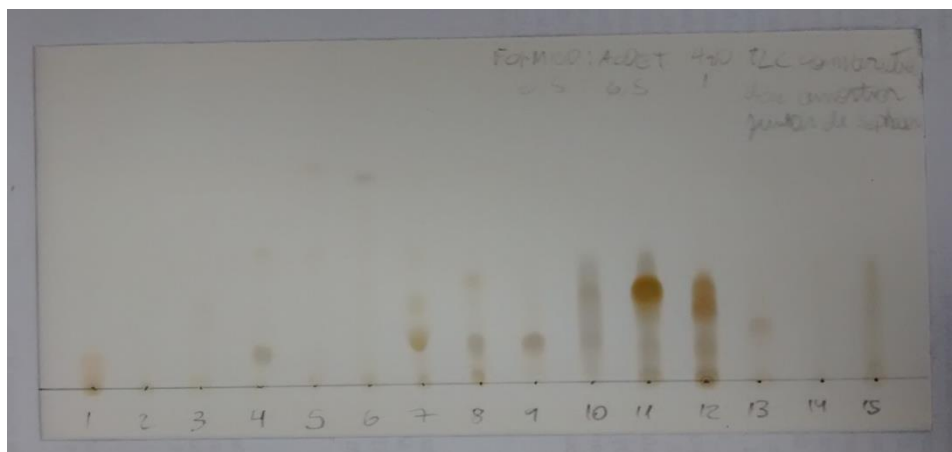
Figura 6: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, DMSO) do extrato butanólico.

Diante disto optou-se por trabalhar com o extrato butanólico.

O fracionamento do extrato butanólico resultou em 12 substâncias que tiveram sua atividade antirradicalar avaliada frente ao ensaio com DPPH.

Duas colunas de filtração a gel foram realizadas a fim de se obter massa suficiente para a realização dos ensaios e determinação estrutural.

Como resultado da primeira coluna cromatográfica, foram obtidas 15 frações que foram submetidas à cromatografia de camada delgada comparativa (**Figura 7**). Após a eluição a placa cromatográfica foi aspergida com uma solução de DPPH, onde das 15 frações, 14 apresentavam potencial atividade antirradicalar. Com base na massa da fração, atividade antirradicalar e grau de pureza as frações F4, F7 e F11 foram submetidas à cromatografia de camada delgada preparativa gerando 6 substâncias.

Figura 7: CCDA das frações agrupadas referentes à primeira coluna de cromatografia.

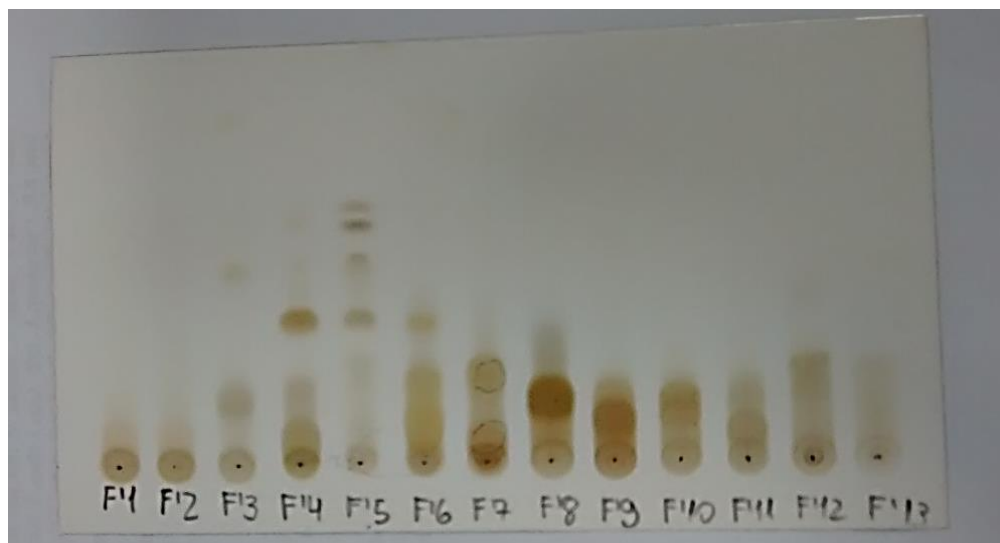
A fração F11 (112,5 miligramas) foi submetida à CCDP utilizando como fase móvel uma mistura de acetato de etila, água deionizada e ácido fórmico na proporção 9:1:1 levando ao isolamento de uma substância, mas no entanto esta degradou-se mesmo sob baixa temperatura e protegido de radiação luminosa.

A fração F4 (38,8 miligramas) foi submetida à CCDP utilizando como fase móvel uma mistura de acetato de etila, água deionizada e ácido fórmico na proporção 9:1:1 levando ao isolamento de duas substâncias, a F4I e a F4II, com 10,1 miligramas e 9,2 miligramas respectivamente.

A fração F7 (31,4 miligramas) foi submetida à CCDP utilizando como fase móvel uma mistura de acetato de etila, água deionizada e ácido fórmico na proporção 9:1:1 levando ao isolamento de três substâncias, a F7I, F7II e F7III, com 3,8 miligramas, 16 miligramas e 10,1 miligramas respectivamente.

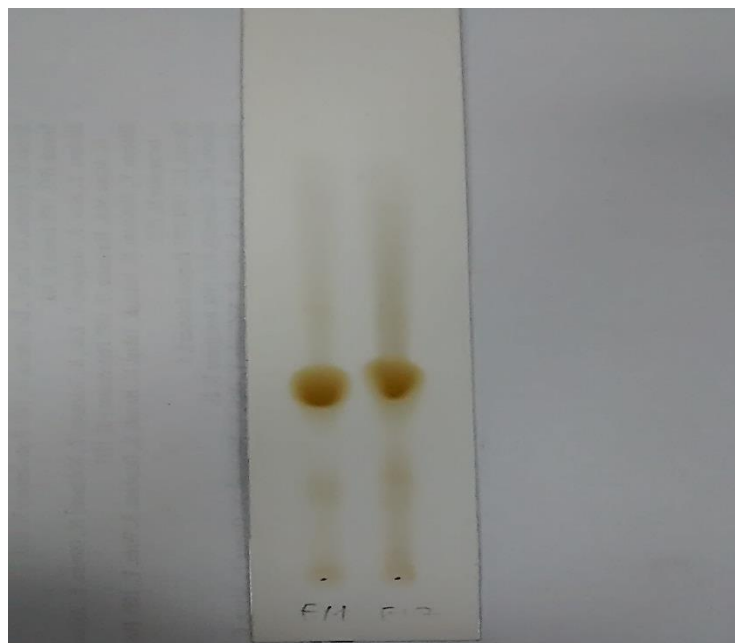
Após esgotar as frações de interesse que apresentavam alta atividade antirradicalar, outra coluna de filtração em gel Sephadex LH-20 foi realizada obtendo-se 13 frações, posteriormente reduzidas a 12 devido a união das frações F'1 e F'2. (**Figura 8**).

Figura 8: CCDA das frações agrupadas referentes à segunda coluna de cromatografia antes do agrupamento das frações F'1 e F'2.



A análise das duas placas cromatográficas apontou similaridades entre as substâncias presentes nas frações da primeira e da segunda coluna cromatográfica. A fração F'7 foi então selecionada ser aplicada, tendo em vista que essa apresentava o mesmo perfil que a F11, além do elevado potencial antirradicalar (**Figura 9**).

Figura 9: CCDA comparativo das frações F11 (esquerda) obtida da primeira coluna e a fração F'7 (direita) obtida da segunda coluna.



A fração F'7 (228,8 mg) foi submetida a CCDP utilizando como fase móvel uma mistura de acetato de etila, água deionizada e ácido fórmico na proporção 9:1:1 levando ao isolamento de uma substância, a F'7I com 35 miligramas. Sequencialmente, essas 35 miligramas foram

aplicadas em CCDP para segunda purificação, porém o mesmo se degradou durante o processo.

As subseqüentes frações submetidas à cromatográfica de camada delgada preparativa tiveram também sua escolha com base na atividade frente ao ensaio com DPPH e a suscetibilidade de isolar as substâncias por CCDP.

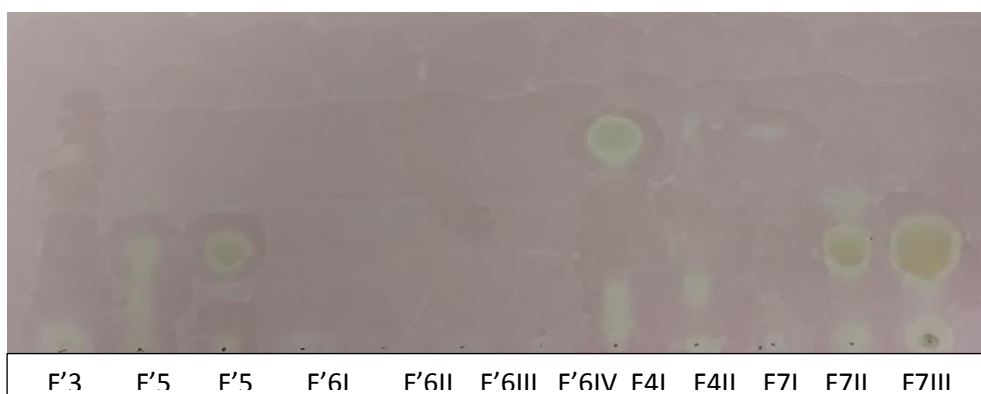
A fração F'5 (53,2 miligramas) foi submetida a CCDP utilizando como fase móvel uma mistura de acetato de etila, água deionizada e ácido fórmico na proporção 9:1:1 levando ao isolamento de uma substância, a F'5I com 39,92 miligramas.

A fração F'6 (55,7 miligramas) foi submetida a CCDP utilizando como fase móvel uma mistura de acetato de etila, água deionizada e ácido fórmico na proporção 9:1:1 levando ao isolamento de quatro frações, a F'6I, F'6II, F'6III e F'6IV com 21,7 miligramas, 7 miligramas, 8,6 miligramas e 11,5 miligramas respectivamente.

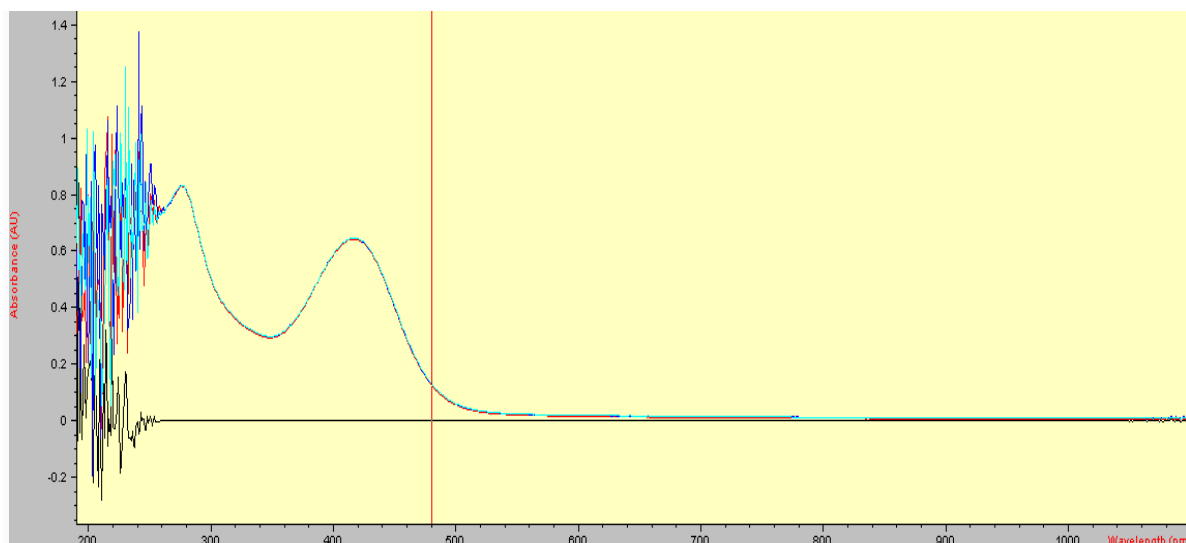
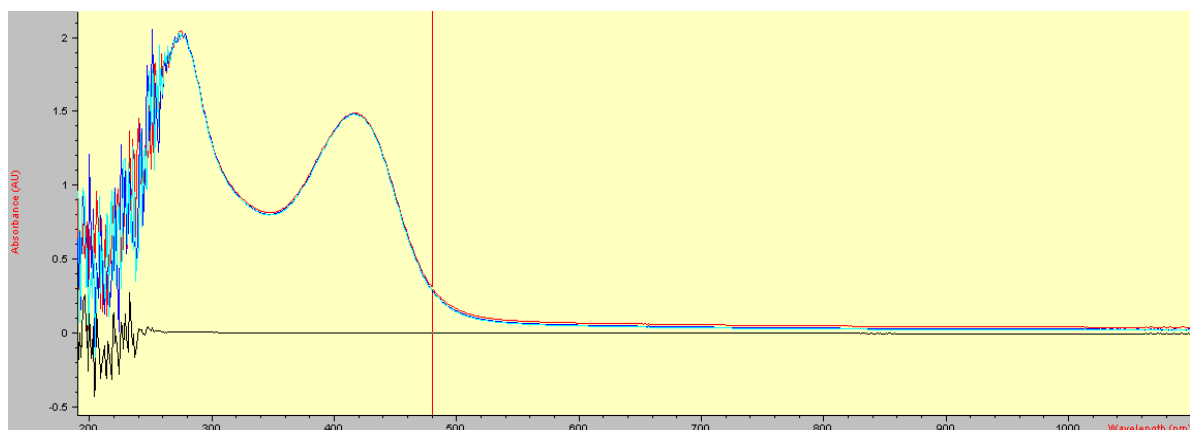
As substâncias isoladas foram aplicadas em CCDA para avaliar a atividade antirradicalar frente DPPH e (**Figura 10**).

As substâncias F'5I, F4I, F4II, F7II e F7III apresentaram atividade, enquanto as frações F'3, F'6I, F'6II, F'6III, F'6IV e F7I não apresentaram atividade.

Figura 10: CCDA comparativo das frações obtidas através de CCDC frente DPPH



A análise dos espectros na região do UV-VIS das substâncias F'5I e F'7III demonstraram máximos de absorbância característicos para substâncias fenólicas em 276 nm e 417 nm (**Figuras 11 e 12**).

Figura 11: Espectrograma da amostra F'5I com os picos de absorbância em 276nm e 417nm.**Figura 12:** Espectrograma da amostra F'7III com os picos de absorbância em 276nm e 417nm.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O extrato butanólico apresentou elevado potencial antirradicar tendo em vista que as substâncias isoladas foram ativas frente ao ensaio com DPPH. As substâncias isoladas ainda encontram-se em fase de determinação estrutural, mas ao que tudo indica, há uma forte tendência em serem substâncias fenólicas tais como flavonóides.

6. REFERÊNCIAS

ALBERTS, A. W., CHEN, J., KURON, G., HUNT, V., J.HUFF, HOFFMAN, C., J.ROTHROCK, LOPEZ, M., JOSHUA, H., HARRIS, E., A.PATCHETT, MONAGHAN, R., CURRIE, S., STAPLEY, E., ALBARS-SCHONBERG, G., HENSENS, O., J.HIRSHFIELD, K.HOOGSTEEN, J.LIESCH, SPRINGER, J. (1980). Mevinolin: a highly potent competitive inhibitor of

hydroxymethylglutaryl-coenzyme A reductase and a cholesterol-lowering agent. *Proceedings of the National Academy of Sciences of United States of America* **77**, 3957-3961.

AVERETT, J. E.; HOCH, P. C.; ZARDINI, E. M.; Flavanoid Systematics of Ten Sections of *Ludwigia* (Onagraceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, Vol. 18, No7/8, pp 529-532, 1990.

ATTTHAPU, T.; MERUGU, R.; SRIDHAR, A. R.; A New Triterpene from *Ludwigia hyssopifolia* (G. Don) Exell. *International journal of ChemTech Research* Vol.5, No1, pp 342-346.

BARUA, I. C. The Genus *Ludwigia*(Onagraceae) in India. *Rheedea* 2010. Vol. 20(1), pp 59-70.

BEAUDOIN, G. W., FACCHINI, P. (2014). Benzylisoquinoline alkaloid biosynthesis in opium poppy. *Planta*, 1-14.

CHAIN, E., FLOREY, H. W., GARDNER, A. D., HEATLEY, N. G., JENNINGS, M. A., ORR-EWING, J., SANDERS, A. G. (1940). Penicillin as a chemotherapeutic agent. *The Lancet* **236**, 226-228.

CHANG, C. I.; CHANG, J.Y.; KUO, C. C.; KUO, Y. H. Three New Oleanane –Type Triterpenes from *Ludwigia octovalvis* with Cytotoxic Activity against Two Cancer Cell Lines. *J. Nat. Prod.* 2004, 67, pp 91-93.

DEMAIN, A. L., VAISHNAV, P. (2011). Natural products for cancer chemotherapy. *Microbial Biotechnology* **4**, 687-699.

DEVI, R.; ELANCHERAN, R.; KOTOKY, J.; KUMARI, S. Rapid screening and identification of phenolic antioxidants in *Hydrocotyle sibthorpioides*. *Food Chemistry* 203 (2016), pp 521-529.

FLEMING, A. (1929). On the Antibacterial Action of Cultures of a Penicillium, with Special Reference to Their Use in the Isolation of B. influenzae. *Journal of Experimental Pathology* **10**, 226-236.

ENDO, A. (1979). Monacolin K, a new hypocholesterolemic agent produced by *Monascus* species. *The Journal of Antibiotics* **32**, 852-854.

GRAY, A. I.; SEIDEL, V.; SHILPI, J. A. Chemical Constituents from *Ludwigia adscendens*. *Biochemical Systematics and Ecology* **38** (2010) pp 106-109.

HARAKAT, D.; MABOU, F. D.; TEBOU, P. L. F.; VOUTQUENNE-NAZABADIOKO, L. Leptocarposide: a new triterpenoid glycoside from *Ludwigia leptocarpa* (Onagraceae). *Magn. Reson. Chem.* 2014, 52, pp 32-36.

LUCH, A. (2009). *Molecular, clinical and environmental toxicology*. Springer **1**, p. 20.

MABOU, F. D., TEBOU, P. L. F., NGNOKAM, D., HARAKAT, D., VOUTQUENNE-NAZABADIOKO, L. (2014). Leptocarposide: a new triterpenoid glycoside from *Ludwigia leptocarpa* (Onagraceae). *Magnetic Resonance in Chemistry* **52**, 32-36.

PESAMOSCA, S. C. O gênero *Ludwigia* L.(Onagraceae) no Rio Grande do Sul, Brasil.

RAO, A. S., MERUGU, R., ATTTHAPU, T. (2013). A New Triterpene from *Ludwigia hyssopifolia* (G.Don) Exell. *International Journal of ChemTech Research* **5**, 342-346.

TOBERT, J. A. (2003). Lovastatin and beyond: The history of the HMG-CoA reductase inhibitors. *Nature Reviews* **2**, 517-526.

WANI, M. C., TAYLOR, H. L., WALL, M. E., COGGON, P., MCPHAIL, A. T. (1971). Plant antitumor agents. VI. Isolation and structure of taxol, a novel antileukemic and antitumor agent from *Taxus brevifolia*. *Journal of the American Chemical Society* **93**, 2325-2327.