

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**  
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS  
COMISSÃO DE GRADUAÇÃO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

**Similaridade química:  
mais uma evidência para o esquema filogenético da  
origem de Asteraceae**

Monografia apresentada ao Instituto de Biociências da UFRGS como parte dos pré-requisitos para a obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas – Ênfase Molecular, Celular e Funcional.

**Aluna: PÂMELA PERINI**

**Orientador: Prof. Dr. Geraldo Luiz Gonçalves Soares**  
Departamento de Botânica/ IB/ UFRGS  
Laboratório de Ecologia Química e Quimiotaxonomia Vegetal

Porto Alegre, 9 de Dezembro de 2008.

BIO  
BIO  
443

RS - IBIO

  
GERALDO L. G. SOARES  
Professor Adjunto  
Departamento de Botânica  
IB/UFRGS

## *Agradecimentos...*

*A Deus, pela inspiração que nos concede... a Vida!*

*A meu pai, Rudi, por sempre me apoiar e acreditar em mim...*

*À minha mãe, Lurdes, por ser meu exemplo de mulher amante e guerreira...*

*À minha irmã, Roberta, pela companhia, cumplicidade e chocolates roubados...*

*A meu anjo, Cassiano, pelo carinho e partilha de angústias e ansiedades...*

*A meu Orientador, Geraldo, pela acolhida, ensinamentos e comum paixão pela química...*

*A meu colega de laboratório, Tiago, pela ajuda e incentivo...*

*A Dra. Mara R. Ritter e Msc. Luís Fernando P. Lima, pela atenção e colaboração a este trabalho...*

*Aos colegas e amigos, por me acompanharem dentro e fora do Campus da Academia, nos bons e maus momentos...*

*Sou daquelas pessoas que pensam que a Ciência guarda uma grande beleza. Um sábio em seu laboratório, não é apenas um técnico; é também uma criança, posto ante fenômenos naturais que o impressionam como um conto de fadas.*

*(Marie Curie)*

O presente trabalho foi escrito conforme instruções para publicação na revista científica  
**BIOCHEMICAL SYSTEMATICS AND ECOLOGY**, ISSN: 0305-1978,  
periódico ao qual pretende-se submetê-lo.

# Similaridade química: mais uma evidência para o esquema filogenético da origem de Asteraceae

Pâmela Perini<sup>a,\*</sup> e Geraldo L.G. Soares<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Laboratório de Ecologia Química e Quimiotaxonomia Vegetal, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 91501-970, Porto Alegre, Brasil.

---

## Resumo

A análise da ocorrência de metabólitos secundários de Barnadesioideae, subfamília basal de Asteraceae, além das famílias Calyceraceae e Goodeniaceae foi feita com o objetivo de elucidar suas relações de parentesco. O perfil químico micromolecular foi estabelecido a partir de pesquisa bibliográfica. Observa-se em todos esses grupos a retração progressiva da síntese de iridóides a partir das Calyceraceae. A análise de agrupamento por similaridade química via coeficiente de Jaccard revelou a distinção dos gêneros de Goodeniaceae e agrupou indiscriminadamente os gêneros de Calyceraceae e Barnadesioideae. Assim, a caracterização da química micromolecular desses dois últimos grupos não é suficiente para a delimitação precisa da origem das Asteraceae, pois não permitiu o posicionamento claro dos gêneros, mas corrobora a proposta da APG II apresentando mais um indício que sustenta Calyceraceae como grupo irmão de Asteraceae. Os dados químicos apresentados sustentam a inclusão das Calyceraceae na ordem Asterales.

*Palavras-chaves:* Calyceraceae; Goodeniaceae; Barnadesioideae; flavonóides; iridóides; similaridade química

---

## 1. Introdução

A família Asteraceae é considerada uma das mais diversas dentre as Eudicotiledôneas, abrigando espécies de importância alimentícia, agrícola, ornamental e farmacêutica. Contudo, apenas recentemente suas afinidades filogenéticas começaram a ser esclarecidas, especialmente sua relação com as famílias Campanulaceae, Goodeniaceae e Calyceraceae. A última família é evolutivamente associada à Asteraceae pela maioria dos estudos publicados, baseados tanto em dados morfológicos quanto macromoleculares. A investigação e comparação da química micromolecular desses grupos taxonômicos podem contribuir de forma substancial para o fortalecimento de suas relações de parentesco.

---

\*Autor para correspondência:

Av. Bento Gonçalves, 9500, Bl. IV, Prédio 43433, Sala 222, Agronomia, 91501-970, Porto Alegre, RS, Brasil.  
Fone: (51) 3308 7641. E-mail: [pamela.perini@ufrgs.br](mailto:pamela.perini@ufrgs.br)

### 1.1. Circunscrição dos grupos

A família Asteraceae, segundo o APG II, *Angiosperm Phylogeny Group II* (2003), pertence à ordem Asterales, juntamente com outras 11 famílias, incluindo principalmente Campanulaceae, Calyceraceae, Goodeniaceae (incluindo antiga Brunoniaceae), Menyanthaceae e Stylidaceae. Judd e colaboradores (1999), por lançarem mão de uma proposta de classificação botânica semelhante àquela do APG II, integrando caracteres morfológicos, genéticos e alguns químicos, apresenta a mesma circunscrição para essas famílias.

Em outras propostas, como no sistema de Cronquist (1988), Asteraceae aparece isoladamente na ordem Asterales, mas constituindo a subclasse Asteridae ao lado das ordens Campanulales (incluindo Campanulaceae, Goodeniaceae, Stylidaceae e Brunoniaceae), Rubiales, Dipsacales e Calycerales, dentre outras. Barroso et al. (1991) e Heywood (1993), para suas descrições, adotam a mesma classificação de Cronquist, a exceção de enquadrar Calyceraceae à ordem Dipsacales. Dahlgren (1995) dispôs as Asterales e as Campanulales na superordem Asteranae, e já citava similaridades químicas quanto aos seus padrões biossintéticos. Destacava, porém, que as famílias Calyceraceae (dentro da ordem Dipsacales), Goodeniaceae e Stylidaceae pertenciam à outra superordem, Gentiananae-Cornanae. Assim, a interpretação para a origem evolutiva das asteráceas levou a estudos de parentesco com Dipsacaceae, Calyceraceae, Rubiales-Dipsacales e Campanulaceae. Hoje, o principal grupo tido como potencial grupo-irmão de Asteraceae é Calyceraceae (Lundberg e Bremer, 2003).

### 1.2. Caracterização dos táxons estudados

A família **Asteraceae**, também conhecida pelo antigo nome Compositae, possui distribuição cosmopolita, sendo bem representada em regiões tropicais, subtropicais e temperadas, mas pouco comuns em florestas tropicais úmidas e raramente aquáticas verdadeiras (Cronquist, 1988; Barroso et al., 1991; Heywood, 1993). São ervas ou subarbustos, menos frequentemente arbustos, pequenas árvores ou lianas; canais resiníferos ou laticíferos estão às vezes presentes; geralmente com lactonas sesquiterpênicas, mas ausência de iridóide, e produtores do polissacarídeo inulina, ao invés de amido nas porções subterrâneas, além da presença eventual de poliacetilenos e óleos essenciais terpênicos. Caracterizadas pela inflorescência pseudântica, denominada capítulo, que imita uma flor única, com mecanismo especializado para apresentação de pólen (o pólen é liberado no interior do tubo formado pelas anteras unidas, empurrado para fora pelo posterior crescimento do estilete), e pelo fruto geralmente do tipo cipsela (Cronquist, 1988; Heywood, 1993; Judd et al., 1999).

Asteraceae compreende cerca de 23.600 espécies em 1.620 gêneros, agrupados, *sensu* APG II (2003), em 11 grupos, ou, em outros sistemas, em até 17 tribos, reunidas em 4 subfamílias, das quais a mais basal é Barnadesioideae, com uma tribo única, Barnadesieae. A divisão das demais tribos nas subfamílias Carduoideae e Cichorioideae, intermediárias, e Asteroideae, a mais derivada, é polifilética, mas ainda é mantida porque suas relações filogenéticas são complexas e não completamente conhecidas (Bremer, 1994; Judd et al., 1999). No Brasil, as asteráceas são muito comuns nas formações abertas, como no cerrado e nos campos, podendo também ser encontradas em florestas secundárias. No país, estima-se que ocorram, aproximadamente, 300 gêneros e 2.000 espécies (Souza e Lorenzi, 2005).

**Barnadesioideae** é considerada, filogeneticamente, a subfamília mais basal das asteráceas. É identificada pela presença de espinhos axilares e tricomas na corola, cipsela e pápus (Judd et al., 1999).

Por muito tempo, Barnadesioideae foi classificada como uma subtribo dentro da tribo Mutisieae. Contudo, pela evidência da falta de uma inversão de 22 kb no DNA cloroplastidial de seus representantes (Jansen e Palmer, 1987), esse grupo foi elevado à subfamília (Bremer e Jansen, 1992), sustentando as características de ser o grupo irmão de todas as demais Asteraceae.

Barnadesioideae é constituída por 94 espécies descritas atualmente, pertencentes a 9 gêneros que ocorrem na América do Sul, especialmente na região dos Andes: *Arnaldoa* Cabrera, *Barnadesia* Mutis ex L.f., *Chuquiraga* Juss., *Dasyphyllum* Kunth, *Doniophyton* Wedd., *Duseniella* K.Schum., *Fulcaldea* Poir., *Huarpea* Cabrera, e *Schlechtendalia* Less. (APG II, 2003). No Brasil, há representantes dos gêneros *Barnadesia*, *Dasyphyllum* e *Schlechtendalia* (Barroso et al., 1991).

**Calyceraceae** compreende ervas e subarbustos que possuem, como as Asteraceae, inflorescência do tipo capítulo e ovário uniovlado, diferenciadas pelo tipo de placentação, apical em Calyceraceae e basal em Asteraceae. As flores, bissexuadas ou unissexuadas, não são vistosas, e o fruto, cipsela, apresenta cálice persistente (Cronquist, 1988; Souza e Lorenzi, 2005).

Calyceraceae é uma família pequena, com aproximadamente 60 espécies descritas para seus 6 gêneros: *Acarpha* Griseb., *Acicarpha* Juss., *Boopis* Juss., *Calycera* Cav., *Gamocarpha* DC., e *Moschopsis* Phil. (APG II, 2003). É uma família exclusivamente sul-americana, sendo a maioria das espécies de regiões andina e antártica, ocorrendo em solos secos e sustentando vegetação arbustiva ou de estepe (Barroso et al., 1991; Heywood, 1993). A única espécie com importância econômica destacada parece ser *Acicarpha tribuloides*, que é usada na medicina popular e tem despertado interesse (Meragelman et al., 2006). No Brasil, os gêneros *Acicarpha*, *Boopis* e *Calycera* são nativos, ocorrendo no total 5 espécies concentradas na Região Sul do país, freqüentemente em dunas litorâneas (Souza e Lorenzi, 2005).

**Goodeniaceae**, por sua vez, é constituída por ervas perenes, arbustos ou árvores, de ramos e folhas carnosos. As flores são bissexuadas e geralmente vistosas, com ovário bilocular (raramente unilocular); reunidas em inflorescência do tipo capítulo ou aparecem como flores solitárias, e dão origem a fruto do tipo cápsula ou drupa carnosa (Barroso et al., 2001; Souza e Lorenzi, 2005). Muitas espécies são cultivadas como ornamentais.

Goodeniaceae inclui cerca de 440 espécies em 12 gêneros: *Anthotium* R. Br., *Brunonia* Sm., *Cooperia* Carolin, *Dampiera* R. Br., *Diaspasis* R. Br., *Goodenia* Sm., *Leschenaultia* R. Br., *Pentaptilon* E. Pritz, *Scaevola* L., *Selliera* Cav., *Velleia* Sm., e *Verreauxia* Benth. (APG II, 2003). A distribuição geográfica de Goodeniaceae concentra-se na Austrália, a exceção de *Selliera* que se estende para Nova Zelândia e Chile, e *Scaevola*, de distribuição pantropical (Heywood, 1993; Souza e Lorenzi, 2005). No Brasil, apenas uma espécie é encontrada como nativa, *Scaevola plumieri*, do Nordeste até o Sul do país, em solos arenosos ou fazendo parte de manguezais (Barroso et al., 1991). Por ocorrer em dunas litorâneas, áreas sob constante ameaça da ação humana, e por possuir populações geralmente bastante esparsas, *S. plumieri* é freqüentemente incluída em listas de espécies em extinção (Souza e Lorenzi, 2005). Outra espécie, *S. aemula*, é cultivada no sul do Brasil.

### 1.3. Rotas biossintéticas do chiquimato e do acetato-mevalonato

O metabolismo primário vegetal integra processos essenciais à vida, comuns aos seres vivos. O metabolismo secundário, por outro lado, envolve a síntese, transformação e acúmulo de substâncias não necessariamente essenciais ao seu produtor. São compostos restritos a um número limitado de organismos, com bioquímica e metabolismo específicos e únicos, caracterizando-se como elementos de diferenciação e

especialização (Gottlieb et al., 1996; Santos, 2004; Wink, 1999).

A origem de todos os metabólitos secundários pode ser resumida a partir do metabolismo da glicose, via dois intermediários principais: o ácido chiquímico e o ácido acético (Mann, 1994). O ácido chiquímico origina os aminoácidos aromáticos (triptofano, fenilalanina e tirosina), precursores da maioria dos metabólitos secundários aromáticos, incluindo diversos tipos de alcalóides (indólicos, quinolínicos, isoquinolínicos e benzilisoquinolínicos), taninos hidrolisáveis, fenilpropanóides e seus derivados (lignóides e cumarinas). Os derivados do acetato são formados através de diferentes rotas metabólicas, a partir de unidades acetila fornecidas para compor o intermediário ativo: acetil-tio-coenzima A (ou acetil-CoA). Os aminoácidos alifáticos e seus derivados originam-se no ciclo do ácido cítrico; os isoprenóides, precursores de terpenóides de óleos voláteis, saponinas e esteróides, são produtos da via do mevalonato. Os ácidos graxos e as acetogeninas (policetídeos), substâncias de longas cadeias carbonadas, derivam, por sua vez, da condensação de unidades de acetato. Ainda, alguns metabólitos secundários derivam de não apenas um desses intermediários, mas são resultantes da combinação de uma unidade de ácido chiquímico e uma ou mais unidades de acetato ou derivados deste. Esse é o caso de antroquinonas e flavonóides (incluindo os taninos condensados ou proantocianidinas).

A quimiotaxonomia micromolecular, isto é, baseada nos metabólitos secundários, compreende o emprego de caracteres químicos em sistemática vegetal, e sua utilização vem aumentando graças ao desenvolvimento de técnicas analíticas cada vez mais aprimoradas (Gottlieb et al., 1996; Von Poser e Mentz, 2004). A grande vantagem na criação de sistemas de classificação com base micromolecular é a previsibilidade da ocorrência de metabólitos secundários, o que torna esses sistemas uma ferramenta útil na racionalização de estudos farmacológicos (Gottlieb et al., 1996).

Do ponto de vista micromolecular, as asteráceas são notáveis por sua grande diversidade de metabólitos secundários, principalmente flavonóides, terpenóides e poliacetilenos. As lactonas sesquiterpênicas são a classe de compostos mais estudada e usada como marcador taxonômico (Da Costa et al., 2005; Emerenciano et al., 1986; Seaman, 1982), seguida dos diterpenos (Alvarenga et al., 2005; Seaman et al., 1990). Os flavonóides, por apresentarem diversidade estrutural e serem isolados em grande escala em Asteraceae, também podem ser usados como marcadores taxonômicos micromoleculares (Crawford, 1978; Emerenciano et al., 2001).

A subfamília Barnadesioideae, em especial, pode ser considerada como o grupo-chave para o questionamento quanto à origem das asteráceas e seu desenvolvimento, incluindo a evolução de estratégias bioquímicas apresentadas pelo grupo. Dessa forma, a investigação e a comparação da química micromolecular desse táxon e de seus potenciais grupos irmãos podem contribuir substancialmente para a verificação da validade de suas relações de parentesco sugeridas por outros caracteres.

É, portanto, objetivo deste trabalho, então, estabelecer e analisar o perfil químico micromolecular, a partir de uma ampla pesquisa bibliográfica, para Barnadesioideae, considerada a subfamília mais basal de Asteraceae, e para seus potenciais grupos irmãos: as famílias Calyceraceae e Goodeniaceae. Pretende-se assim aprofundar o conhecimento das relações entre esses grupos, contribuindo para a elaboração de um esquema filogenético com base química.

## **2. Material e Métodos**

### *2.1. Banco de dados*

Elaborou-se o perfil químico micromolecular de Barnadesioideae, considerada a subfamília mais basal de Asteraceae, e de seus potenciais grupos irmãos, as famílias Goodeniaceae e Calyceraceae. Para a elaboração de tais perfis, foi realizada uma ampla pesquisa bibliográfica, através de site de busca de periódicos científicos, como *ISI Web of Knowledge* (2008), e base de dados especializada, como *SciFinder Scholar*, software específico para consulta da versão *on-line* de *Chemical Abstracts Service*.

Com os dados obtidos da literatura foi construído um banco de dados acerca da ocorrência de compostos do metabolismo secundário vegetal dos três grupos analisados e seus representantes, e esses registros foram organizados em tabelas. O número de ocorrências (NO) de um determinado metabólito secundário, em um dado táxon, representa a soma do número de diferentes metabólitos secundários isolados para cada táxon pertencentes a uma determinada classe de compostos ou rota metabólica. Essa variável é um parâmetro extremamente útil em quimiotaxonomia a despeito de sua simplicidade matemática, pois favorece a escolha do(s) marcador(es) quimiosistemático(s) do táxon estudado. Relações numéricas entre diversos grupos de metabólitos permitem verificar como um determinado táxon explora as vias biossintéticas principais e permite tecer considerações de cunho evolutivo (Gottlieb et al., 1996; Soares, 1996).

## 2.2. Relações FO/FL, ITA e C/AM

A razão entre o NO de flavonas e o NO de flavonóis foi usada para o cálculo da relação flavona/flavonol (FO/FL), para o nível hierárquico de família (ou subfamília, quando Barnadesioideae), conforme Soares e Kaplan (2001). A ocorrência de um mesmo composto em dois ou mais gêneros distintos de uma dada família/subfamília é contabilizada uma única vez. Essa relação biossintética está intimamente relacionada com a exploração da via do chiquimato. De maneira geral, grupos lenhosos ou grupos basais de linhagens herbáceas tendem a apresentar valores de FO/FL menores do que 1 (um) (Soares e Kaplan 2001).

A especialização na utilização da rota biossintética dos flavonóides foi considerada para o índice de transformação do seu anel A (ITA) que é um bom índice para avaliar o status evolutivo de um grupo taxonômico. Táxons que exploram bem essa rota costumam apresentar substituições nas posições C6 e C8 e eventuais perdas na posição C5, o que corresponde a um aumento no valor do ITA (Soares, 1996).

Ainda, conforme a origem metabólica dos diferentes compostos secundários – vias do chiquimato ou do acetato-mevalonato –, calculou-se um índice para o uso preferencial de uma ou outra rota em cada grupo. A relação chiquimato/acetato-mevalonato (C/AM) é a razão entre o NO de metabólitos derivados da via do chiquimato e o NO de metabólitos derivados das rotas biossintéticas do acetato ou do mevalonato (Gottlieb et al., 1996). A ocorrência de um mesmo composto em dois ou mais gêneros distintos de uma dada família/subfamília será contabilizada uma única vez. Substâncias sintetizadas a partir de precursores de ambas as rotas de biossíntese serão consideradas ocorrência para cada uma delas.

## 2.3. Análises de similaridade química e agrupamentos

O banco de dados com as ocorrências de metabólitos foi, finalmente, transformado em matriz binária para análise da similaridade química e agrupamentos entre os gêneros e entre as famílias/subfamília usando o *software* NTSYS-PC versão 2.1 (*Numerical Taxonomy and Multivariate*

*Analysis System*) (Rohlf, 2000). O coeficiente de similaridade adotado foi o de Jaccard, que utiliza dados qualitativos e possui a peculiaridade de omitir combinações negativas para agrupar os táxons. Esse coeficiente é de baixa complexidade matemática e muito utilizado em análises fenéticas. A ocorrência de um caractere é representada por 1 (um) e sua ausência por 0 (zero). Cada gênero, ou cada família/subfamília em análise independente, é considerado uma unidade taxonômica operacional (*Operational Taxonomic Unit* ou OTU). O agrupamento foi conduzido usando o modo UPMGA (*unweighted pair group method with arithmetic averaging*). Para essas análises, foram ponderadas as categorias de substâncias consideradas marcadores quimiotaxonômicos para os gêneros em questão, conforme levantamento.

### 3. Resultados e Discussão

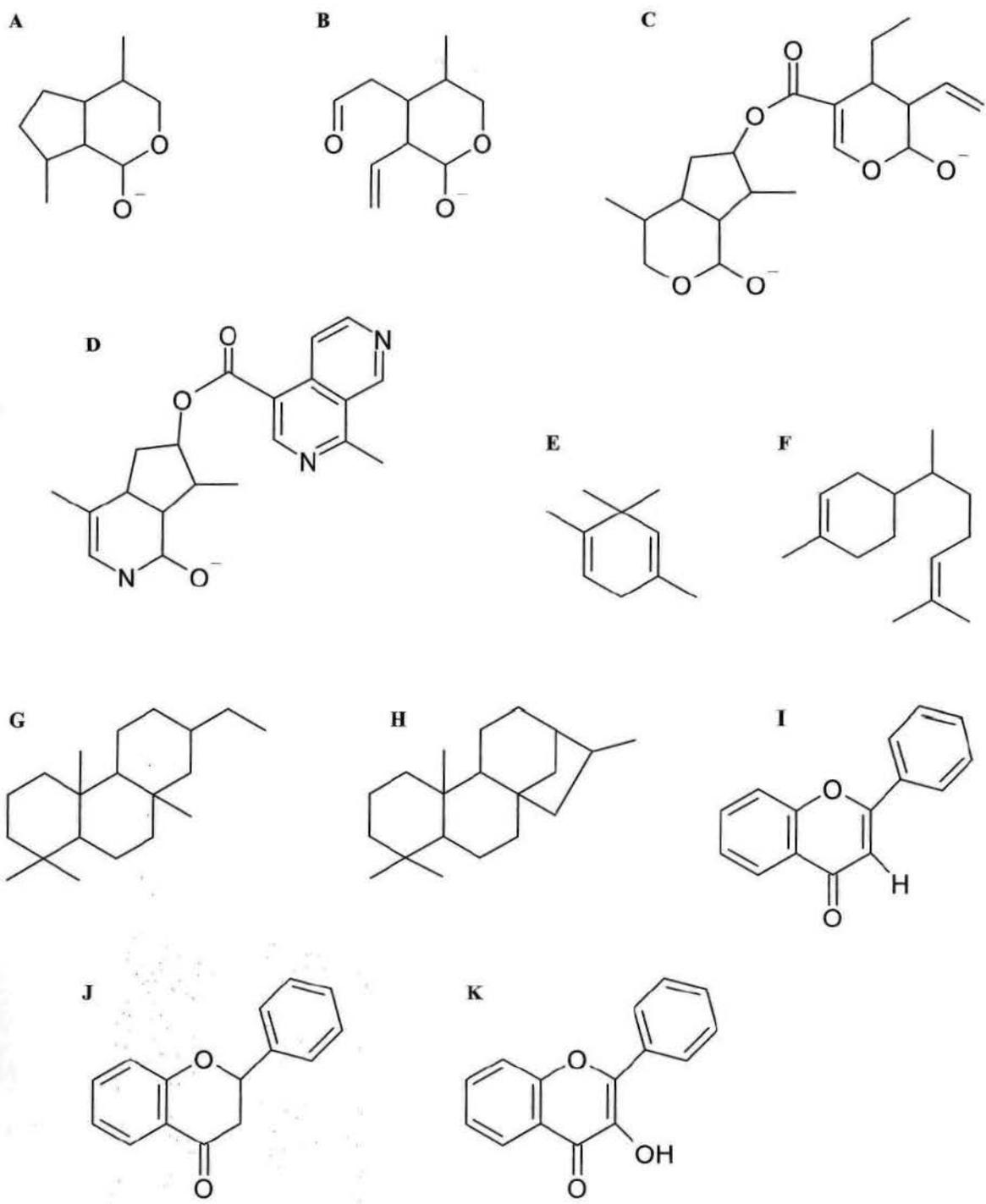
#### 3.1. Perfil Químico

Foram encontrados registros da investigação da composição química para um total de 70 espécies dos três grupos estudados: 41 espécies (pertencentes a 7 diferentes gêneros) de Barnadesioideae, 10 espécies (5 gêneros) de Calyceraceae, e 19 espécies (5 gêneros) de Goodeniaceae. Com tais estudos, cobriu-se representativamente cerca de 80% dos gêneros de Barnadesioideae e Calyceraceae, e cerca de 42% do total de gêneros descritos para Goodeniaceae. Para os seguintes gêneros não há descrições quanto à sua composição química: *Duseniella* e *Huarpea* (Barnadesioideae), *Moschopsis* (Calyceraceae), *Anthotium*, *Brunonia*, *Dampiera*, *Diaspasis*, *Leschenaultia* e *Pentaptilon* (Goodeniaceae). As informações foram compiladas em um banco de dados cuja análise permitiu a definição dos marcadores químicos para esses táxons a serem utilizados no estudo de similaridade química.

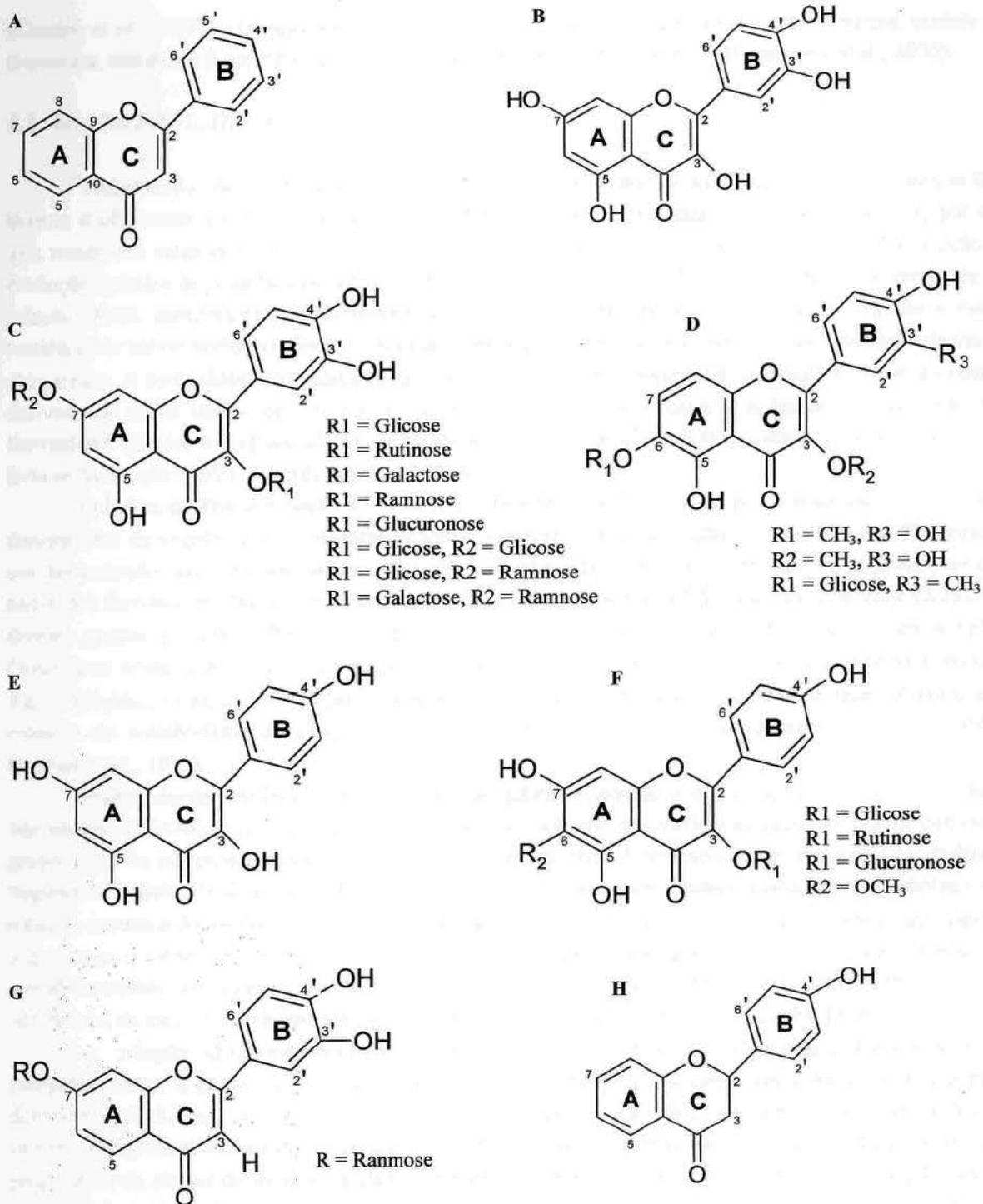
O número de ocorrências (NO) dos diferentes metabólitos secundários, pertencentes à determinada classe de compostos, encontrados nos gêneros de Goodeniaceae, Calyceraceae e Barnadesioideae, são apresentados na Tabela 1. Iridóides (monoterpenos lactônicos), terpenóides e flavonóides são as categorias de substâncias mais encontradas nesses táxons. A estrutura química básica desses compostos está ilustrada na Figura 1. Os padrões de substituição dos flavonóides encontrados nos grupos considerados estão ilustrados na Figura 2. Essas figuras foram desenhadas com o auxílio do software *ISIS Draw 2.3*.

Além desses metabólitos, há ocorrência esporádica de um derivado arilpropanoídico simples (vanilina) (Hoeneisen et al., 2000) e uma acetofenona (p-hidroxiacetofenona) (Senatore et al., 1999) em *Chuquiraga*, e duas cromonas em *Acicarpha* (6,7-dimethoxychromone e 7-hydroxy-6-methoxychromone) (Meragelman et al., 2006). Há o registro de uma cumarina em *Chuquiraga* (umbeliferona) (Hoeneisen et al., 2000) e 8 diferentes cumarinas em *Scaevola*: xantiletina e cumarina hidroxiacetato (Kikuchi et al., 1974); angelomalina e isoangelomalina (Bohlmann et al., 1975); imperatorina e nodakenetina (Wolrabe e Hansel, 1977); seselina e marmesina (Kerr et al., 1996), revisado em Ghisalberti (2004). O gênero *Velleia* (Goodeniaceae) recebe a descrição de ocorrência de somente duas cumarinas, veleina (Bottomley e White, 1951) e discoforidina (Bottomley, 1963), e por isso não foi incluído na tabela de dados para posterior análise de similaridade que contempla outras classes de compostos. Ainda, foram isolados triterpenos, ou seus derivados, de *Cooperookia* e *Goodenia*: ácido ursólico, revisado por Ghisalberti (2004); *Scaevola*:  $\alpha$ -amirina, taraxerol, miricadiol, friedeline e epifriedelanol (Kikuchi et al., 1974), acetato ursólico,  $\delta$ -aminira e seus derivados ésteres e acetato, lupano e betulina ou derivados destes





**Figura 1. Estrutura química fundamental de iridóides, terpenóides e flavonóides, classes representativas dos compostos encontrados em Goodeniaceae, Calyceraceae e Barnadesioideae. As classes e subclasses são: Iridóides:** iridóide propriamente dito (A), secoiridóide (B), bisiridóide (C), alcalóide iridóidico (D). **Terpenóides:** monoterpeno (E), sesquiterpeno (F), diterpeno (G), diterpeno tetracíclico (kaurano) (H). **Flavonóides:** flavona (I), dihidroflavona (J), flavonol (K).



**Figura 2. Padrões de substituição dos flavonóides encontrados em Goodeniaceae, Calyceraceae e Barnadesioideae.** (A) Núcleo fundamental dos flavonóides e sua numeração. (B) Quercetina (5,7,3',4'-tetra-OH), (C) derivados heterosídicos de quercetina, (D) outros derivados de quercetina. (E) Canferol (5,7,4'-tri-OH), (F) derivados de canferol. (G) Apigenina glicosídica, (H) Eriodictiol. Quando não indicado na legenda de cada estrutura, o radical corresponde a um átomo de H.

(Cambie et al., 1997); e *Chuquiraga*: lupeol, acetato de lupeol, betulina, eritrodiol,  $\beta$ -amirina, acetato de  $\alpha$ -amirina, acetato de  $\beta$ -amirina, taraxasterol e taraxas-20(21)-em-3 $\beta$ ,6-diol (Hoeneisen et al., 2000).

### 3.2. Relações FO/FL, ITA e C/AM

Trabalhando com os dados coletados, calculou-se a relação flavona/flavonol (FO/FL) para os três táxons, e obtivemos valores iguais a zero para Calyceraceae e Barnadesioideae. Goodeniaceae, por sua vez, mostra um valor muito baixo (0,143). Essa relação foi calculada pelo interesse de integrar o padrão de evolução química de cada família ou subfamília ao seu hábito e/ou posição em modelos filogenéticos. A relação FO/FL aumenta progressivamente em famílias de espécies com baixo teor de lignina e maior tendência de hábito herbáceo (Soares e Kaplan, 2001), evidenciando uma tendência de abandono da via do chiquimato. A herbacidade, considerada caráter derivado, porém, pode estar associada também ao caráter derivado de maior síntese de flavonas em detrimento de flavonóis, ou a uma baixa especialização dos flavonóides (Soares e Kaplan, 2001). A segunda condição associada à herbacidade parece sustentar os índices da relação FO/FL dos três táxons estudados.

O Índice de Transformação do Anel A de flavonóides (ITA) auxilia na caracterização da química flavonoídica de vegetais por representar quantitativamente a especialização do esqueleto dos flavonóides em determinado táxon. Goodeniaceae, pelo seu maior investimento em diversidade de substituições nos anéis dos flavonóides, foi a única família estudada que apresentou ITA maior do que zero (0,28). Os demais grupos produzem flavonóides pouco especializados, com padrões de substituições simples. Observa-se nesse aspecto a retração da química flavonoídica no sentido Goodeniaceae-Calyceraceae-Barnadesioideae, como o descrito por Barreiros (1990) e esse fato está possivelmente relacionado com a retração do metabolismo do chiquimato nas linhagens herbáceas das angiospermas (Gottlieb, 1982; Gottlieb et al., 1996).

Outra relação interessante nos estudos de quimiosistemática é a relação Chiquimato/Acetato-Mevalonato (C/AM), que exprime o padrão do metabolismo secundário empregado por determinado grupo vegetal e sua posição num contexto de evolução das rotas biossintéticas de compostos secundários. Segundo Gottlieb (1982) e Gottlieb et al. (1996), táxons derivados tendem a acumular metabólitos das rotas do acetato e do mevalonato, mantendo apenas o mínimo necessário provido pela rota do chiquimato, o que torna o valor dessa relação menor do que 1 (um). Destaca-se aqui que os flavonóides, por serem simultaneamente devidados das rotas do ácido chiquímico e do ácido acético, contribuem, pela sua ocorrência, da mesma forma para ambas as rotas, mantendo a relação em valor igual a 1 (um).

A relação chiquimato/acetato-mevalonato calculada para Goodeniaceae, Calyceraceae e Barnadesioideae, a partir do levantamento bibliográfico realizado, aumenta em direção ao táxon mais derivado (0,2, 0,5 e 1,0, respectivamente), contrastando, a princípio, com uma tendência global de substituição gradual da rota do chiquimato. Tal observação é suportada pelo fato de que há uma retração progressiva da síntese de iridóides e demais terpenóides parcialmente em Calyceraceae e completamente em Barnadesioideae. Essa retração projeta a evolução química micromolecular em Asteraceae, que mais adiante será marcada pela presença peculiar de lactonas sesquiterpênicas e diterpenos associada à ausência absoluta de iridóides (Heywood et al., 1977).

Ainda, quando esses dados são observados em conjunto com os demais, percebe-se que os valores nulos para a relação FO/FL e para o ITA são significativos na ordem em que representam uma retração também na química flavonoídica para essa subfamília. As retrações delinearão, assim, em uma família

derivada (Asteraceae), uma subfamília basal (Barnadesioideae) com indicadores quimioevolutivos similares aos observados em grupos basais de outros esquemas filogenéticos. Provavelmente essa retração química das Barnadesioideae seja um sinalizador do processo de diversificação química da rota do acetato/mevalonato que será observada nos táxons mais derivados de Asteraceae (Gottlieb et al., 1996; Soares e Kaplan, 2001).

### 3.3. Análises de similaridade química e agrupamentos

A pouca variedade de classes de compostos sintetizados por esses grupos representa um limitante para a definição de marcadores adequados a análises de similaridade. Investiu-se, então, na caracterização dos metabólitos dentro de cada classe.

Pela amplitude de ocorrência e diversidade químico-estrutural, foram selecionados como marcadores micromoleculares as seguintes categorias: A) Iridóides: iridóide propriamente dito, secoiridóide, bis-iridóide e alcalóide iridoídico; B) Terpenóides: monoterpene, sesquiterpene, diterpene e diterpene tetracíclico (kaurano); C) Flavonóides: flavona, dihidroflavona e flavonol; D) Substituição dos flavonóides: canferol, quercetina, 3-O-glicose, 3-O-rutinose, 3-O-galactose, 3-O-ramnose, 3-O-glucuronose, 3-O-glicose-7-O-glicose, 3-O-glicose-7-O-ramnose, 3-O-galactose-7-O-ramnose, 7-O-ramnose, 6-O-metila, 3-O-metila e 3-O-glicose-3'-metila.

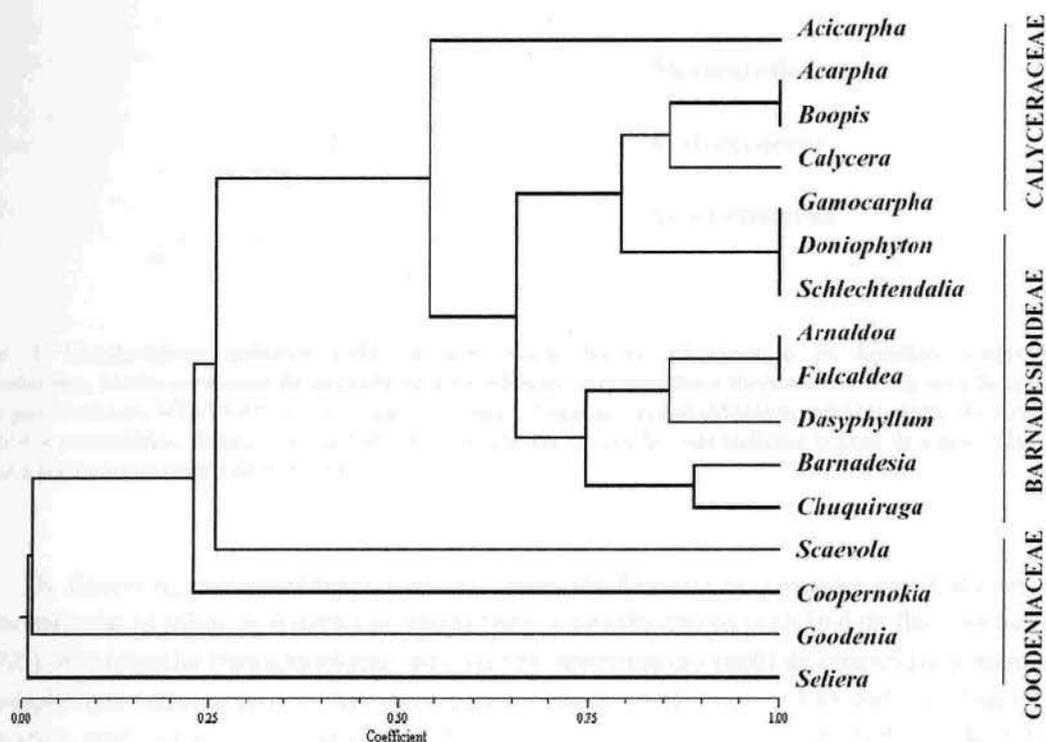
Usando as informações químicas para cada gênero, a análise de similaridade via coeficiente de Jaccard, realizada com o auxílio do *software* NTSYS-PC, chegou-se ao diagrama de agrupamento apresentado na Figura 3. O agrupamento por similaridade química reuniu, externamente aos demais, os gêneros de Goodeniaceae, e de forma indiscriminada, com um mínimo de 53% de semelhança, os gêneros de Calyceraceae e Barnadesioideae.

Claramente percebe-se a separação dos gêneros da família Goodeniaceae dos demais, confirmando a análise inicial que observava sua diferença devido à síntese de iridóides e terpenóides nesses vegetais. *Goodenia* e *Selliera* isolam-se dentro do grupo, provavelmente por não lhes ser registrada a ocorrência de compostos flavonoídicos.

Em Calyceraceae, é o gênero *Acicarpha* que se destaca dos demais. Tal posição é relativa à presença de iridóides em seu metabolismo secundário, não identificados no restante do grupo. Todas as descrições para o gênero são da mesma espécie, *Acicarpha tribuloides*, uma erva anual citada pelas suas propriedades medicinais, usada na medicina popular para tratamentos de infecções respiratórias e urinárias (Capasso et al., 1996). Extrato metanólico de *A. tribuloides*, porém, inibe a produção de óxido nítrico em macrófagos ativados por lipopolissacarídeos, o que instiga sua utilização como potencial fármaco para auxiliar na diminuição do estresse oxidativo e patofisiologia de várias doenças, como artrite, diabetes, doenças neurodegenerativas e auto-ímmunes (Meragelman et al., 2006).

A partir disso, os gêneros de Calyceraceae e de Barnadesioideae mesclam-se pelo agrupamento com similaridade mínima de 65%. Ou seja, a caracterização da química micromolecular desses dois grupos não é suficiente para a circunscrição taxonômica de seus respectivos gêneros.

Considerando apenas a distribuição dos gêneros de Barnadesioideae derivada de sua análise química, ainda é possível breves considerações a respeito de propostas filogenéticas atuais. Conforme revisão de Stuessy e Urtubey (2006), as comparações de parentesco mais produtivas entre os gêneros da subfamília Barnadesioideae são fornecidas por hipóteses recentes baseadas em caracteres morfológicos (Urtubey e Stuessy, 2001) e em seqüências moleculares (Gustafsson et al., 2001). Ambos os cladogramas

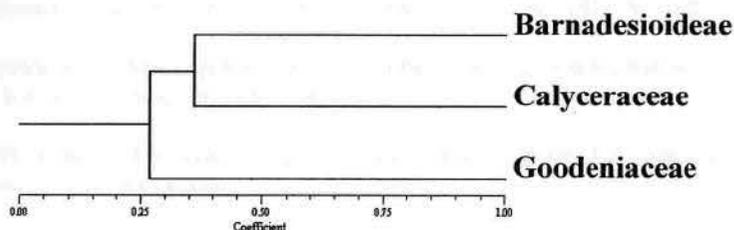


**Figura 3. Similaridade química entre gêneros de Goodeniaceae, Calyceraceae e Barnadesioideae conforme dados de ocorrência de iridóides, terpenóides e flavonóides.** Diagrama de agrupamento gerado pelo *software* NTSYS-PC v.2.1, a partir de matriz binária correspondente ao levantamento de ocorrências de metabólitos secundários sintetizadas na Tabela 1. Os valores do coeficiente indicam o grau de similaridade entre os gêneros a partir de um ponto de conexão.

revelam forte relação entre os gêneros *Barnadesia* e *Huarpea*, bem como entre *Chuquiraga* e *Doniophyton* (e possivelmente também entre *Duseniella*, considerada apenas no estudo morfológico).

Na análise quimiotaixonômica, os gêneros *Huarpea* e *Duseniella* não foram considerados, pois não há registros publicados de estudos químicos envolvendo seus representantes. Considerando suas relações filogenéticas descritas por tais trabalhos, podem esperar-se padrões químicos semelhantes aos gêneros com os quais são mais aparentados. *Barnadesia* e *Chuquiraga*, por outro lado, aparecem com perfis químicos muito similares e não tão próximos com *Doniophyton* como nos cladogramas morfológicos ou genéticos.

Todavia, o estudo de agrupamento químico confirma a íntima relação entre os táxons Calyceraceae e Barnadesioideae no que tange a proposta de evolução, como mostra a Figura 4. Essa informação vem reforçar o apresentado por Lundberg e Bremer (2003), cujos resultados para o estudo filogenético envolvendo caracteres genéticos e morfológicos para a ordem Asterales renderam altíssimos índices de suporte para o clado formado por Asteraceae e Calyceraceae, com Goodeniaceae colocado como seu grupo irmão. Complementarmente, Calabria e colaboradores (2007) descrevem a primeira análise filogenética de Asteraceae baseada em dados químicos, e revelam índice de suporte moderado para Barnadesioideae como irmã do restante da família.



**Figura 4. Similaridade química entre a subfamília Barnadesioideae e as famílias Calyceraceae e Goodeniaceae, conforme dados de ocorrência de iridóides, terpenóides e flavonóides.** Diagrama de agrupamento gerado pelo *software* NTSYS-PC v.2.1, a partir de matriz binária correspondente ao levantamento de ocorrências de metabólitos secundários sintetizadas na Tabela 1. Os valores do coeficiente indicam o grau de similaridade entre os gêneros a partir de um ponto de conexão.

Os flavonóis, que constituem a maior classe de flavonóides presentes em Calyceraceae, são comuns em todas as tribos de Asteraceae, assim como a substituição na posição 6 de flavonóides (Bohm et al., 1995). A subfamília Barnadesioideae, por sua vez, apresenta um perfil de pigmentos consistentemente mais simples que outros grupos de Asteraceae, a exemplo dos 3-O-mono- e 3-O-diglicoisídeos de canferol e quercetina, com infreqüente ocorrência de eriodictiol e um único exemplo de derivado de isoramnetina (Bohm et al., 1995).

Os flavonóides exigem a utilização da rota do chiquimato, e isso tem um custo energético muito alto, pois imobilizam os carbonos da glicose recém sintetizada via fotossíntese sem aproveitar a energia que guardam. As asteráceas começam a investir mais na via do acetato para a síntese de seus metabólitos secundários (Alvarenga et al., 2005; Da Costa et al., 2005). Para isso, foi necessário antes diminuir o uso e a especialização dos flavonóides, mantendo apenas o essencial para a sobrevivência das plantas. E essa é a retração que acontece em Calyceraceae, juntamente com a restrição da produção de iridóides e terpenóides, encontrada em Goodeniaceae. Assim, Calyceraceae entrega para Asteraceae uma química flavonoídica muito mais simplificada, já delapidada – que, inclusive, parece-se muito com as angiospermas basais. Mas, pelo fator tempo da evolução, as asteráceas mais tarde diversificam seus flavonóides e apresentam compostos que raramente aparecem em outros grupos vegetais, como as auronas e as lactonas sesquiterpênicas.

Dessa forma, a análise de agrupamento por similaridade química corrobora a proposta da APG II, apresentando mais um indício que sustenta Calyceraceae como grupo irmão de Asteraceae.

### Agradecimentos

Ao Tiago L. S. Alves, pela colaboração no estudo das estruturas químicas e apresentação do *software* de similaridade.

### Referências Bibliográficas

- Alvarenga, S.A.V., Ferreira, M.J.P., Rodrigues, G.V., Emerenciano, V.P., 2005. A general survey and some taxonomic implications of diterpenes in Asteraceae. *Bot. J. Linn. Soc.* 147, 291-308.
- APG II, 2003. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. *Bot. J. Linn. Soc.* 141, 399-436.
- Barreiros, E.L., 1990. Flavonóides como marcadores sistemáticos da família Leguminosae. Tese de Doutorado, Instituto de Química, USP, São Paulo.
- Barroso, G.M., Guimarães, E.F., Ichaso, C.L.F., Costa, C.G., Peixoto, A.L., Lima, H.C. de, 1991. Sistemática de angiospermas do Brasil, vol. 3: Asterideae. UFV Imp. Univ., Viçosa.
- Bohlmann, F., Jacob, J., Grenz, M. 1975. Naturally occurring terpene derivatives. 45. Constituents of *Scaevola lobelia* (Th) Murr. *Chem. Ber.* 108, 433-436.
- Bohm, B.A., Stuessy, T.F., 1995. Flavonoid chemistry of Barnadesioideae (Asteraceae). *Syst. Bot.* 20, 22-27.
- Bohm, B.A., Reid, A., Devore, M., Stuessy, T.F., 1995. Flavonoid chemistry of Calyceraceae. *Can. J. Bot.* 73, 1962-1965.
- Bottomley, W., White, D.E., 1951. The chemistry of western australian plants. 5. Vellein from *Velleia discophora*. *Aust. J. Sci. Res. Ser. A, Phys. Sci.* 4, 112-115.
- Bottomley, W., 1963. Discophoridin, a new coumarin from *Velleia discophora* F. Meull. *Aust. J. Chem.* 16, 143-&.
- Bremer, K., 1994. Asteraceae – cladistics and classification. Timber Press, Portland.
- Bremer, K., Jansen, R.K., 1992. A new subfamily of the Asteraceae. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 79, 414-415.
- Calabria, L.M., Emerenciano, V.P., Ferreira, M.J.P., SCotti, M.T., Mabry, T.J., 2007. A phylogenetic analysis of tribes of the Asteraceae based on phytochemical data. *Natural Products Communications* 2, 277-285.
- Cambie, R.C., Rutledge, P.S., Wellington, K.D., 1997. Chemistry of Fijian plants. 13. Floribundal, a nonglycosidic bisiridoid, and six novel fatty esters of delta-amyrin from *Scaevola floribunda*. *J. Natl. Prod.* 60, 1303-1306.
- Capasso, A., Urrunaga, R., Garofalo, L., Sorrentino, L., Aquino, R., 1996. Phytochemical and pharmacological studies on medicinal herb *Acicarpa tribuloides*. *Int. J. Pharmacogn.* 34, 255-261.
- Crawford, D.J., 1978. Flavonoid chemistry and angiosperm evolution. *Bot. Rev.* 44, 431-456.
- Cronquist, A., 1988. The evolution and classification of flowering plants, second ed. The New York Botanical Garden, New York.
- Da Costa, F.B., Terfloth, L., Gasteiger, J., 2005. Sesquiterpene lactone-based classification of three Asteraceae tribes: a study based on self-organizing neural networks applied to chemosystematics. *Phytochemistry* 66, 345-353.
- Dahlgren, G., 1995. On Dahlgrenograms: a system for the classification of angiosperms and its use in mapping characters. *An. Acad. Bras. Cienc.* 67, 383-404.
- Emerenciano, V.P., Kaplan, M.A.C., Gottlieb, O.R., Bonfanti, M.R. de M., Ferreira, Z.S., Comegno, L.M.A., 1986. Evolution of sesquiterpene lactones in Asteraceae. *Biochem. Syst. Ecol.* 14, 585-589.
- Emerenciano, V.P., Militão, J.S.L.T., Campos, C.C., Romoff, P., Kaplan, M.A.C., Zambon, M., Brant, A.J.C., 2001. Flavonoids as chemotaxonomic markers for Asteraceae. *Biochem. Syst. Ecol.* 29, 947-957.
- Ghisalberti, E.L., 2004. The Goodeniaceae. *Fitoterapia* 75, 429-446.

- Gottlieb, O.R., 1982. Micromolecular evolution, systematics and ecology. Springer-Verlag, Berlin.
- Gottlieb, O.R., Kaplan, M.A.C., Borin, M.R.deM.B., 1996. Biodiversidade: enfoque químico-biológico do funcionamento da natureza. Editora da UFRJ, Rio de Janeiro.
- Gustafsson, M.H.G., Pepper, A.S.R., Albert, V.A., Kallersjö, M., 2001. Molecular phylogeny of the Barnadesioideae (Asteraceae). Nord. J. Bot. 21, 149-160.
- Heywood, V.H., 1993. Flowering plants of the world, updated ed. Oxford University Press, New York.
- Heywood, V.H., Harborne, J.B., Turner, B.L., 1977. The biology and chemistry of the Compositae. Academic Press, Sheffield.
- Hoeneisen, M., Rojas, A., Bittner, M., Becerra, J., Silva, M., Jakupovic, J., 2000. Constituents of *Chuquiraga atacamensis* and *C. ulicina*. Bol. Soc. Chil. Quim. 45, 49-52.
- Jansen, R.K., Palmer, J.D., 1987. A chloroplast DNA inversion marks an ancient evolutionary split in the sunflower family (Asteraceae). Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 84, 5818-5822.
- Jensen, S.R., Nielsen, B.J., Dahlgren, R., 1975. Iridoid compounds, their occurrence and systematic importance in angiosperms. Bot. Not. 128, 148-180.
- Juarez, B.E., Mendiando, M.E., 2002. Flavonoid chemistry of *Chuquiraga* (Asteraceae). Biochem. Syst. Ecol. 30, 371-373.
- Judd, W.S., Campbell, C.S., Kellogg, E.A., Stevens, P.F., 1999. Plant Systematics: a phylogenetic approach. Sinauer Associates, Sunderland.
- Kerr, P.G., Longmore, R.B., Betts, T.J., 1996. Myricadiol and other taraxerenes from *Scaevola spinescens*. Planta Medica 62, 519-522.
- Kikuchi, T., Yokoi, T., Umemoto, K., Shingu, T., 1974. Constituents of *Scaevola frutescens* (Miller) Krause. Yakugaku Zasshi 94, 1616-1619.
- Lundberg, J., Bremer, K., 2003. A phylogenetic study of the order Asterales using one morphological and three molecular data sets. Int. J. Plant Sci. 164, 553-578.
- Mann, J., 1994. Chemical aspects of biosynthesis. Oxford University Press, Oxford.
- Mendiando, M.E., Juárez, B.E., 2001. Flavonoids of *Doniophyton patagonicum* (Phil.) Hieron. (Asteraceae). Biochem. Syst. Ecol. 29, 437-438.
- Mendiando, M.E., Juárez, B.E., Seeligmann, P., 1997. Flavonoid patterns of some Barnadesioideae (Asteraceae): eventual chemosystematic significance. Biochem. Syst. Ecol. 25, 673-674.
- Mendiando, M.E., Juárez, B.E. & Seeligmann, P., 2000. Flavonoid profiles of some Argentine species of *Chuquiraga* (Asteraceae). Biochem. Syst. Ecol. 28, 283-285.
- Meragelman, T.L., Renteria, B.S., Silva, G.L., Sotomayor, C., Gil, R.R., 2006. Modified secoiridoid from *Acicarpa tribuloides* and inhibition of nitric oxide production in LPS-activated macrophages. Phytochemistry 67, 1534-1538.
- Patterson, R., 1984. Flavonoid uniformity in diploid species of Hawaiian *Scaevola* (Goodeniaceae). Syst. Botany 9, 263-265.

- Rohlf, F.J., 2000. NTSYS-PC: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System, version 2.1. Exeter Software, Setauker.
- Santos, R.I. dos, 2004. Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários, in: Simões, C.M.O., Shenkel, E.P., Gosmann, G., Mello, J.C.P., Mentz, L.A., Petrovick, P.R. (Org.), Farmacognosia: da planta ao medicamento, quinta ed. Ed. UFRGS, Porto Alegre; Ed. UFSC, Florianópolis, pp. 75-89.
- Seaman, F.C., 1982. Sesquiterpene lactones as chemotaxonomic characters in the Asteraceae. Bot. Rev. 48, 123-551.
- Seaman, F.C., Bohlmann, F., Zdero, C., Mabry, T.J., 1990. Diterpenes of flowering plants – Compositae (Asteraceae). Freeman, San Francisco.
- Senatore, F., Nunziata, A., D'Agostino, M., De Feo, V., 1999. Flavonol glycosides and p-hydroxyacetophenone from *Chuquiraga spinosa*. Pharm. Biol. 37, 366-368.
- Soares, G.L.G., 1996. Polarizações da química flavonoídica em linhagens vegetais. Tese de Doutorado, Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais, UFRJ, Rio de Janeiro.
- Soares, G.L.G., Kaplan, M.A.C., 2001. Analysis of flavone-flavonol ratio in Dicotyledoneae. Bot. J. Linn. Soc. 135, 61-66.
- Souza, V.C., Lorenzi, H., 2005. Botânica Sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II. Instituto Plantarum, Nova Odessa.
- Stuessy, T.F., Urtubey, E., 2006. Phylogenetic implications of corolla morphology in subfamily Barnadesioideae (Asteraceae). Flora 201, 340-352.
- Urtubey, E., Stuessy, T.F., 2001. New hypotheses of phylogenetic relationships in Barnadesioideae (Asteraceae) based on morphology. Taxon 50, 1046-1066.
- Von Poser, G.L., Mentz, L.A., 2004. Diversidade biológica e sistemas de classificação, in: Simões, C.M.O., Shenkel, E.P., Gosmann, G., Mello, J.C.P., Mentz, L.A., Petrovick, P.R. (Org.), Farmacognosia: da planta ao medicamento, quinta ed. Ed. UFRGS, Porto Alegre; Ed. UFSC, Florianópolis, pp. 75-89.
- Wink, M., 1999. Biochemistry of plant secondary metabolism. Annual plant reviews, v. 2, Academic Press, Sheffield.
- Wohlrahe, K., Hansel, R., 1977. Coumarins from *Scaevola frutescens*. Arch. Pharm. 310, 972-974.

#### Sítio na Internet

ISI Web of Knowledge, 2008. Disponível em: <[http://apps.isiknowledge.com/UA\\_GeneralSearch\\_input.do?product=UA&search\\_mode=GeneralSearch&SID=X1DHgE8OoeHEBeP89HH&preferencesSaved=>](http://apps.isiknowledge.com/UA_GeneralSearch_input.do?product=UA&search_mode=GeneralSearch&SID=X1DHgE8OoeHEBeP89HH&preferencesSaved=>)>. Acesso em: 12 de novembro de 2008.