

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

Estudo fitoquímico e da atividade biológica de óleos essenciais,  
extratos e constituintes de *Magonia pubescens* A.St.-Hil.  
(Sapindaceae)

Acácio Raphael Aguiar Moraes

Belo Horizonte  
2021

UFMG/ICEx/DQ 1.457

T. 664

**Acácio Raphael Aguiar Moraes**

**ESTUDO FITOQUÍMICO E DA ATIVIDADE BIOLÓGICA DE  
ÓLEOS ESSENCIAIS, EXTRATOS E CONSTITUINTES DE  
*Magonia pubescens* A.ST.-HIL. (SAPINDACEAE)**

Tese apresentada ao Departamento de Química  
do Instituto de Ciências Exatas da Universidade  
Federal de Minas Gerais como requisito parcial  
para obtenção do grau Doutor em Ciências –  
Química.

Orientador: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Grasiely Faria de Sousa

Coorientador: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Lucienir Pains Duarte

Colaborador: Dr. Antônio Flávio de C. Alcântara

Belo Horizonte

2021

Ficha Catalográfica

M827e Moraes, Acácio Raphael Aguiar  
2021 Estudo fitoquímico e da atividade biológica de  
T óleos essenciais, extratos e constituintes de *Magonia pubescens* A.St.-Hil. (Sapindaceae) [manuscrito] / Acácio Raphael Aguiar Moraes. 2021. [xviii], 192 f. : il.

Orientadora: Grasiely Faria de Sousa.  
Coorientadora: Lucienir Pains Duarte.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Minas Gerais - Departamento de Química.  
Inclui bibliografia.

1. Química orgânica - Teses. 2. Sapindaceae - Teses. 3. Essências e óleos essenciais - Teses. 4. Análise cromatográfica - Teses. 5. Espectroscopia de infravermelho - Teses. 6. Espectrometria de massa - Teses. 7. Espectroscopia de ressonância nuclear - Teses. 8. Agentes antineoplásicos - Teses. 9. Produtos de ação antimicrobiana - Teses. I. Sousa, Grasiely Faria de, Orientadora. II. Duarte, Lucienir Pains, Coorientadora. III. Título.

CDU 043



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS



**"Estudo Fitoquímico e da Atividade Biológica de Óleos Essenciais, Extratos e Constituintes de *Magonia pubescens* A.st.-hil. (Sapindaceae)"**

**Acácio Raphael Aguiar Moraes**

Tese aprovada pela banca examinadora constituída pelos Professores:

Profa. Grasiely Faria de Sousa - Orientadora  
UFMG

Profa. Lucienir Pains Duarte - Coorientadora  
UFMG

Profa. Cássia Gonçalves Magalhães  
UEPG

Prof. Antonio Jacinto Demuner  
UFV

Prof. Diogo Montes Vidal  
UFMG

Profa. Rosemeire Brondi Alves  
UFMG

Belo Horizonte, 20 de agosto de 2021.



Documento assinado eletronicamente por **Lucienir Pains Duarte, Professora do Magistério Superior**, em 20/08/2021, às 18:14, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Grasiely Faria de Sousa, Professora do Magistério Superior**, em 20/08/2021, às 18:14, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Cassia Gonçalves Magalhaes, Usuário Externo**, em 20/08/2021, às 18:16, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Antonio Jacinto Demuner, Usuário Externo**, em 20/08/2021, às 18:16, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Rosemeire Brondi Alves, Professora do Magistério Superior**, em 20/08/2021, às 18:21, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Diogo Montes Vidal, Professor do Magistério Superior**, em 21/08/2021, às 11:12, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://sei.ufmg.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **0902512** e o código CRC **A770887E**.

*Dedico essa tese a meus pais,  
Isaac e Claudia Moraes*

## AGRADECIMENTOS

Não faltam pessoas às quais eu devo agradecer pelo suporte e apoio durante a escrita dessa tese. Vamos a elas.

À minha família, em especial, aos meus pais, Isaac da Silva Moraes e Claudia Aparecida Balieiro Aguiar Moraes, minha eterna gratidão. Foi a luta diária deles que me fez crescer e amadurecer. Agradeço também ao meu irmão, Leonardo Moraes. Tenho a sorte de ter um amigo como irmão. Agradeço aos meus avós, Mariana Balieiro e Orlandino de Souza Aguiar, que, mais que avós, foram (mãe)<sup>2</sup> e (pai)<sup>2</sup> para mim. Agradeço a todos meus familiares que acreditam em mim e apoiam as minhas escolhas.

Aos meus amigos de coração, pelos quais eu tenho um carinho imenso, também quero fazer um agradecimento especial. Vocês nunca deixaram de segurar minha mão, e jamais negarei se precisar segurar a de vocês. Esses anos provaram que a distância física, sintoma da vida adulta, não é o suficiente para nos afastar. Também preciso agradecer aos novos amigos que surgiram nesses últimos quatro anos. Em especial agradeço ao Maycon, que compartilhou comigo nosso apartamento durante todo esse tempo e, mais que ninguém, teve que conviver comigo no melhor e no pior. Agradeço também *mis niñas* que ficaram na Espanha e com quem vivi por um ano, Martuki Amendruki, Ague y Sandra.

Agradeço também ao Alison. Amor é coisa leve e natural, mas ainda assim faz a gente levantar voo. Agradeço muito por ser meu companheiro nessa etapa.

Agradeço à professora Grasiely, minha orientadora, por ter me acompanhado desde os meus primeiros passos no laboratório, como coorientadora naquela época, até o dia da defesa. A construção de uma tese não foi trabalho fácil, mas sem ela ao meu lado teria sido muito mais árduo. Enfrentamos os prazos e obstáculos e, para mim, é uma honra que hoje ela seja a minha orientadora.

Agradeço à professora Lucienir, que me recebeu muito bem no seu grupo de trabalho e sempre foi uma grande incentivadora. Agradeço a ela por ter acompanhado o meu percurso no doutorado e fiquei especialmente feliz quando ela topou me coorientar.

Agradeço imensamente e com especial carinho ao professor Tininha. Lembro a amabilidade com a qual ele me recebeu na UFMG, quando eu ainda era um recém-chegado do mato. Agradeço pelo carinho, disponibilidade, paciência, amizade e companheirismo ao longo desses anos todos. Espero que o professor saiba que é uma

grande inspiração para mim, tanto profissional como pessoalmente. Admiro a forma que ele está sempre pronto a estender uma mão amiga e a dividir um sorriso. Algumas pessoas são feitas de fôrma única e o Tininha com certeza é uma delas.

Também quero agradecer a todos do NEPLAM. Aos companheiros de pós-graduação com quem compartilhei laboratório, bancada, derrotas e vitórias. À Fernanda, à Josana, ao Rafael, ao Gregório, ao Luiz, à Mari, à Leila e ao Valtair. Em especial, para minha grande amiga, Karen, que sabe que desejo muito sucesso a ela. *Sat nam*. Agradeço também à todas as alunas de IC e estágio que passaram pelo nosso grupo nesses anos. Principalmente agradeço às minhas alunas, Maria Eduarda e Reislá. Aprender é muito bom e poder ensinar o que sabemos é ainda mais gratificante, e elas duas me ensinaram muita coisa. Ao professor Bibó também quero deixar meu muito obrigado por ser ao mesmo tempo um grande mestre e amigo excepcional.

Ahora voy a pedir perdón y agradeceré en español, porque quiero agradecer al grupo QUIMIOPLANT, que me ha recibido como familia en Tenerife. Agradezco a profesora Isabel Bazzocchi, por me haber dado la oportunidad de hacer una estancia en su laboratorio y por haber creído tanto en mí. A profesor Antonio, que es más que profesor, es un amigo querido, agradezco por todo lo enseñanza que me ha pasado. Agradezco a Daniela, Maria Giulia, Chiara, Francioso y a la profesora Caro por la compañía y amistad. En especial, agradezco a mi niña Libera, grande amiga que la vida me ha regalado. Por fin, agradezco a Martin, a Domingo y a toda equipa del IUBO-AG y todos que me han recibido con cariño. A todos les doy gracias.

Agradeço a todo o corpo docente do Departamento de Química da UFMG, aos professores que gentilmente compartilharam comigo e aos meus colegas o seu conhecimento, acadêmico e profissional. Agradeço aos profissionais técnicos, administrativos e todos os funcionários de serviços gerais que movimentam e acreditam no nosso departamento e na capacidade de nosso país fazer ciência.

Agradeço aos meus professores anteriores, que me colocaram no caminho da pesquisa, em especial à professora Alessandra Rufino, hoje uma grande amiga.

Agradeço a todos os colaboradores dessa tese. Tive a oportunidade trabalhar com pessoas extremamente profissionais e incrivelmente capacitadas, e sou um grande admirador do trabalho de todos eles. Agradeço ao Prof. Dr. Adriano e a Dr. Fernanda pelas análises de atividade citotóxica, à Dr.<sup>a</sup> Vany e à Mirra pelas análises de GC-MS e HPLC, ao Dr. Marcio Tadeu e a toda equipe do Laboratório de Irradiação Gama do CDTN, aos Dr. Ezequias e Dr. Markus do Instituto René Rachou pelas análises de





UHPLC-HRMS, ao Prof. Dr. Jacob Morales, Dr.<sup>a</sup> Ines Sifaoui, do Instituto Universitario de Enfermedades Tropicales y Salud de Canarias, da Universidad de La Laguna e toda sua equipe pela avaliação das atividades parasitárias e ao Prof. Dr. Raimundo Cabrera e ao Samuel Sabina, do Departamento de Botánica, Ecología y Fisiología da Universidad de La Laguna, pelos ensaios de atividades antifúngicas e inseticida.

Agradeço aos membros da banca de qualificação, da pré-banca e da banca de defesa por todas as contribuições dadas no desenvolvimento desse trabalho. Agradeço aos professores Dr. Gaspar, Dr. Tiago, Dr.<sup>a</sup> Rosemeire, Dr.<sup>a</sup> Dorila, Dr.<sup>a</sup> Roqueline e Dr. Antônio Demuner. Em especial agradeço ao professor Dr. Diogo Vidal, companheiro do NEPLAM, por quem tenho grande admiração e à professora Dr.<sup>a</sup> Cássia, que me abriu oportunidades e me permitiu construir *puentes*.

Agradeço à Minas Gerais e aos mineiros que me receberam com carinho. Agradeço a Universidade Federal de Minas Gerais, ao Departamento de Química e ao Programa de Pós-Graduação em Química. Agradeço às nossas agências de fomento, principalmente à CAPES e ao CNPq, pelas bolsas de estudo e pesquisa concedidas. Agradecemos, eu e a Prof.<sup>a</sup> Grasiely, à Pró-Reitoria de Pesquisa, que por meio do Programa Institucional de Auxílio à Pesquisa de Docentes Recém-contratados fomentou parte desse trabalho.

Por fim, a todas as pessoas que cruzaram a minha vida nesses anos e que contribuíram de maneira indireta ou direta na construção dessa tese.

 Gratidão 

*Science is not only a discipline of reason but also one of romance and passion. – Stephen Hawking*

## RESUMO

*Magonia pubescens* é uma espécie natural do cerrado brasileiro usada na medicina popular. As cascas de seus caules, por exemplo, são utilizadas pela população para a produção de sabões caseiros para tratar seborreias e problemas de pele. Além disso, suas raízes são empregadas para tinguijar, uma prática tradicional indígena de pesca, de onde surge seu nome popular tinguí. Esse trabalho descreve o estudo da composição química das inflorescências, raízes e galhos da *M. pubescens* por meio do emprego de técnicas de cromatografia, espectroscopia de absorção no UV, espectrometria de massas e espectroscopia de ressonância magnética nuclear. O óleo essencial das inflorescências da *M. pubescens* foi estudado pela primeira vez e foi avaliado o efeito da radiação gama, em diferentes doses, em sua integridade. Identificaram-se 14 componentes pertencentes às classes dos monoterpenos, sesquiterpenos e ácidos graxos. Todos os óleos essenciais, obtidos de material vegetal não irradiado ou irradiados, com doses de 1, 3, 5 ou 10 kGy, apresentaram atividade contra células de leucemia mieloide humana K562 e células de adenocarcinoma de mama humano MDA-MB-435. O óleo essencial obtido de material não irradiado (OE<sub>0</sub>) foi o mais ativo contra as células K562 (IC<sub>50</sub> 22,10 ± 1,98 µg/mL), enquanto o óleo essencial obtido de material irradiado com 3 kGy (OE<sub>3</sub>) foi o mais efetivo contra as células MDA-MB-435 (IC<sub>50</sub> 29,05 ± 2,70 µg/mL). Observou-se que a irradiação do material vegetal não alterou de forma significativa a atividade citotóxica desses óleos. O estudo fitoquímico do extrato etanólico das raízes permitiu o isolamento de sete metabólitos secundários (meleína, estigmasterol, escopoletina, eriodictiol, cleomiscosina A, lophirona A e proantocianidina A<sub>2</sub>), todos identificados pela primeira vez nessa espécie. Além disso, foi realizado um estudo biomonitorado do extrato etanólico buscando frações com atividades antiparasitárias. Foram identificadas frações com atividades amebicida (IC<sub>50</sub> 15,91 - 67,15 µg/mL contra *Naegleria fowleri*), leishmanicida (IC<sub>50</sub> 5,99 - 24,95 µg/mL) e tripanocida (IC<sub>50</sub> 22,11 - 51,15 µg/mL). Por fim, o fracionamento fitoquímico clássico dos extratos hexânico e diclorometânico obtidos dos galhos permitiu o isolamento e identificação de lapachol, estigmasterol, escopoletina e maniladiol, todos identificados pela primeira vez nessa espécie. Por meio da análise por UHPLC-HRMS dos extratos aquosos particionados dos galhos foram identificados 53 compostos que ainda não haviam sido descritos para a espécie, incluindo cumarinas, flavonoides, terpenos e saponinas. Além disso, na análise de citotoxicidade dessas frações foi possível identificar frações biologicamente ativas (IC<sub>50</sub> 32,68 µg/mL para THP-1, IC<sub>50</sub> 40,85 µg/mL para K562 e IC<sub>50</sub> 75,12 µg/mL para MDA-MB-231).

**Palavras-chave:** Sapindaceae, *Magonia pubescens* A.St.-Hil., óleos essenciais, citotoxicidade, atividade antiparasitária.

## ABSTRACT

*Magonia pubescens* is a natural species from the Brazilian cerrado which are employed in traditional medicine. For example, the trunk bark is used to produce homemade soaps to treat seborrhea and skin problems. Moreover, its roots are popularly used in a traditionally indigenous practice called “tingujar”, the source of its the popular name “tinguí”. This work describes the study of the chemical composition of inflorescences, roots and branches of *M. pubescens* through the use of chromatographic techniques, UV absorption spectroscopy, mass spectrometry and nuclear magnetic resonance spectroscopy. The essential oil from *M. pubescens* inflorescences was studied for the first time, and the effect of gamma radiation on its chemical integrity was evaluated at different radiation doses. In this oil, 14 components were identified, belonging to the classes of monoterpenes, sesquiterpenes and fatty acids. All essential oils obtained from plant material non-irradiated or irradiated, with doses of 1, 3, 5 or 10 kGy showed cytotoxic activity against myeloid leukemia K562 and human breast adenocarcinoma MDA-MB-435 strains. Non-irradiated material provided the most active oil (OE<sub>0</sub>) against K562 cells (IC<sub>50</sub> 22.10 ± 1.98 µg/mL), whereas the 3 kGy irradiated material furnished the most effective oil (OE<sub>3</sub>) against MDA-MB-231 (IC<sub>50</sub> 29.05 ± 2.70 µg/mL). However, no significant changes were observed for the cytotoxic activity of the oils between radiated and non-irradiated materials. The phytochemical study of the ethanolic extract of the roots yielded seven secondary metabolites (scopoletin, stigmasterol, eriodictyol, cleomiscosin A, lophirone A, proanthocyanidine A2 and mellein), all identified for the first time in this species. Furthermore, a biomonitored study was carried out with the ethanolic extract to obtain fractions with antiparasitic activities. Fractions were identified with amebicidal (IC<sub>50</sub> 15.91 - 67.15 µg/mL against *Naeglari fowleri*), leishmanicidal (IC<sub>50</sub> 5.99 - 24.95 µg/mL) and trypanocidal (IC<sub>50</sub> 22.11 - 51.15 µg/mL). Finally, the classical phytochemical study of the hexanic and dichloromethanic extracts from the branches led to the isolation lapachol, stigmasterol, maniladiol and scopoletin, all identified for the first time in this species. Fifty-three compounds were also identified through UHPLC-HRMS analysis of partitioned aqueous extracts from branches, including coumarins, flavonoids, terpenes and saponins. In addition, the cytotoxicity analysis of these aqueous extracts established biologically active fractions (IC<sub>50</sub> 32.68 µg/mL for THP-1, IC<sub>50</sub> 40.85 µg/mL for K562 and IC<sub>50</sub> 75.12 µg/mL for MDA-MB- 231).

**Keywords:** Sapindaceae, *Magonia pubescens* A.St.-Hil., essential oils, cytotoxicity, antiparasitic activity.

---

## ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

$\delta$  – deslocamento químico

$[\alpha]$  – rotação ótica

1D – Uma dimensão

2D – Duas dimensões

ACN – acetonitrila

ATCC – *American Type Culture Collection* (Coleção de Cultura Americana)

ATR – *Attenuated Total Reflection* (Reflexão Total Atenuada)

$c$  – concentração

CC – Cromatografia em Coluna

CCD – Cromatografia em Camada Delgada

CP – Cromatografia Preparativa

SisGen – Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado

col. – colaboradores

Cont. – continuação

COSY – *Correlation Spectroscopy* (Espectroscopia de Correlação)

DC – Doença de Chagas

DEPT – *Distortionless Enhancement by Polarization Transfer* (Intensificação sem Distorção por Transferência de Polarização)

DTGS – *Deuterated Triglycine Sulfate* (Sulfato de Triglicina Deuterado)

DTNs – Doenças Tropicais Negligenciadas

ESI – *Electrospray*

eV – elétron-volt

FTIR – *Fourier-transform infrared spectroscopy* (Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier)

GC-FID – *Gas Chromatography Mass Spectrometry Flame Ionization Detector* (Cromatografia a Gás Acoplado a Detector por Ionização de Chama)

GC-MS – *Gas Chromatography Mass Spectrometry* (Cromatografia a Gás Acoplado à Espectrometria de Massas)

HMBC – *Heteronuclear Multiple Bond Correlation Spectroscopy* (Espectroscopia de Correlação Heteronuclear a Múltiplas Ligações)

- 
- HSQC – *Heteronuclear Single Quantum Coherence Spectroscopy* (Espectroscopia de Correlação Heteronuclear de Quantum Único)
- IC<sub>50</sub> – *Half maximal inhibitory concentration* (concentração inibitória para 50% das células)
- IS – Índice de seletividade
- IV – Infravermelho
- J* – Constante de acoplamento escalar
- LC-MS – *Liquid Chromatography Mass Spectrometry* (Cromatografia Líquida Acoplada à Espectrometria de Massas)
- LIT – *Liver Infusion Tryptose* (Infusão de Triptose de Fígado)
- m/z* – Relação massa-carga
- MTT – Metiltetrazol
- OEs – Óleos essenciais
- OMS – Organização Mundial da Saúde
- q* – *quadrupole* (quadrupólo)
- R – Reflectância
- RMN – Ressonância Magnética Nuclear
- RMN de <sup>13</sup>C – Ressonância Magnética Nuclear de Carbono-13
- RMN de <sup>1</sup>H – Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
- TMS – Tetrametilsilano
- TOF – *Time of flight* (Tempo de voo)
- T<sub>R</sub> – Tempo de Retenção
- UHPLC-HRMS – *Ultra High Performance Liquid Chromatography High Resolution Mass Spectrometry* (Cromatografia Líquida de Ultra Performance Acoplada à Espectrometria de Massas de Alta Resolução)
- UV – Ultravioleta

## SUMÁRIO

Agradecimentos .....	ii
Resumo .....	vi
Abstract.....	vii
Abreviaturas, siglas e símbolos .....	viii
Sumário.....	x
Apresentação .....	xiii
Capítulo 1 – Introdução .....	1
1.1 - A família Sapindaceae .....	2
1.2 - Subfamília Dodonaeoideae e estudos fitoquímicos .....	8
1.3 - A espécie <i>Magonia pubescens</i> .....	10
Capítulo 2 – Estudo fitoquímico das inflorescências de <i>Magonia pubescens</i> .....	13
2.1 - Objetivos.....	15
2.2 - Experimental.....	16
2.2.1 - Coleta e identificação do material vegetal de <i>M. pubescens</i> .....	16
2.2.2 - Preparação e irradiação das inflorescências de <i>M. pubescens</i> .....	16
2.2.3 - Extração dos óleos essenciais .....	16
2.2.4 - Análise por GC-MS e GC-FID .....	17
2.2.5 – Identificação de compostos .....	17
2.2.6 – Ensaio MTT de citotoxicidade.....	18
2.3 – Resultados e discussão da análise da composição química dos óleos essenciais das inflorescências de <i>M. pubescens</i> .....	19
2.4 – Resultados e discussão de citotoxicidade dos óleos essenciais das inflorescências de <i>M. pubescens</i> contra linhagens de células tumorais de câncer de mama e leucemia.....	24
2.5– Considerações finais .....	26
Capítulo 3 – Estudo fitoquímico das raízes de <i>Magonia pubescens</i> .....	28

---

3.1 - Objetivos.....	30
3.2 – Experimental .....	31
3.2.1 – Métodos gerais .....	31
3.2.2 – Estudo fitoquímico das raízes de <i>Magonia pubescens</i> .....	33
3.2.3 – Atividade antiparasitária .....	39
3.2.4 – Atividade antifúngica .....	42
3.2.5 – Atividade inseticida.....	42
3.3 – Resultado e discussão do isolamento e caracterização de constituintes das raízes de <i>Magonia pubescens</i> .....	43
3.3.1 – Determinação estrutural de <b>MP01</b> .....	43
3.3.2 – Determinação estrutural de <b>MP02</b> .....	48
3.3.3 – Determinação estrutural de <b>MP03</b> .....	51
3.3.4 – Determinação estrutural de <b>MP04</b> .....	55
3.3.5 – Determinação estrutural de <b>MP05</b> .....	60
3.3.6 – Determinação estrutural de <b>MP06</b> .....	68
3.3.7 – Determinação estrutural de <b>MP07</b> .....	76
3.4 – Atividade antiparasitária dos compostos isolados .....	86
3.5 – Fracionamento bioguiado por atividade biológica.....	87
3.5.1 – Fracionamento bioguiado por atividade antifúngica .....	87
3.5.2 – Fracionamento bioguiado por atividade inseticida.....	90
3.5.3 – Fracionamento bioguiado por atividade antiparasitária .....	91
3.5 – Considerações finais .....	93
Capítulo 4 – Estudo fitoquímico dos galhos de <i>Magonia pubescens</i> .....	95
4.1 – Objetivos.....	97
4.2 – Experimental .....	98
4.2.1 – Coleta e identificação do material vegetal de <i>M. pubescens</i> .....	98
4.2.2 – Isolamento e determinação estrutural de constituintes dos galhos de <i>M. pubescens</i> .....	98



---

4.2.3 – Preparação do extrato aquoso e fracionamento por partição.....	101
4.2.4 – Análise por UHPLC–HRMS .....	102
4.2.5 – Ensaios MTT de citotoxicidade.....	103
4.3 – Resultado e discussão do isolamento e caracterização de constituintes dos galhos de <i>Magonia pubescens</i> .....	104
4.3.1 – Determinação estrutural de <b>MP02</b> e <b>MP03</b> .....	104
4.3.2 – Determinação estrutural de <b>MP08</b> .....	104
4.3.3 – Determinação estrutural de <b>MP09</b> .....	108
4.4 – Composição química dos extratos aquosos de <i>M. pubescens</i> .....	111
4.4.1 – Análise da composição da fração <b>EAqG2</b> .....	112
4.4.2 – Análise da composição da fração <b>EAqG3</b> .....	117
4.4.3 – Análise da composição da fração <b>EAqG4</b> .....	120
4.5 – Citotoxicidade das frações do extrato aquoso de <i>M. pubescens</i> .....	124
4.6 – Considerações finais .....	126
Conclusões.....	127
Referências Bibliográficas.....	129
Apêndice.....	130

## APRESENTAÇÃO

Nesse trabalho foi realizada a investigação fitoquímica em extratos obtidos de diferentes partes da espécie *Magonia pubescens*. Para facilitar a leitura e compreensão, essa tese foi organizada em capítulos de acordo com as diferentes partes (inflorescências, raízes e galhos) estudadas da planta. Cada capítulo, com exceção ao capítulo 1, conta com uma breve introdução, descrição experimental, discussão dos resultados e conclusão.

No **capítulo 1** é apresentada uma breve **revisão bibliográfica** sobre a família Sapindaceae com ênfase na espécie *M. pubescens*. Essa espécie é a única no gênero *Magonia* (subf. Dodonaeoideae, fam. Sapindaceae). Visto a familiaridade bioquímica de plantas taxonomicamente próximas, também são apresentadas as atividades biológicas encontradas para as Sapindaceae e para os compostos identificados em espécies pertencentes à subfamília Dodonaeoideae.

No **capítulo 2** são discutidos os estudos realizados com as **inflorescências** da planta. Nesses estudos, óleos essenciais foram obtidos a partir de amostras do vegetal não-irradiada e irradiadas com radiação gama, nas doses de 1, 3, 5 e 10 kGy. A identificação dos compostos presentes nos óleos essenciais foi realizada com uso de técnicas de GC-MS e GC-FID e a composição dos mesmos foi confirmada por meio do uso de bancos de dados e do Índice de Retenção. Foram identificados 14 metabólitos nos óleos essenciais de *M. pubescens*, dos quais nove não haviam sido descritos anteriormente para essa planta. Foram analisadas as atividades citotóxicas de todas as amostras de óleos essenciais frente a duas linhagens de câncer (leucemia mieloide humana K562 e adenocarcinoma de mama humano MDA-MB-231) e todas as amostras apresentaram atividade citotóxica. Observou-se que a irradiação do material vegetal tem pouco efeito sobre a citotoxicidade das amostras. Os resultados do estudo apresentado nesse capítulo foram publicados no periódico *Chemistry & Biodiversity*<sup>1</sup>.

O **capítulo 3** é dedicado ao estudo fitoquímico das **raízes** da *M. pubescens*. O extrato etanólico das raízes foi obtido por técnica de maceração, fracionado por partição líquido-líquido e elaborado em diferentes técnicas de cromatografia em coluna. A identificação dos compostos isolados foi feita por meio de técnicas espectrométrica (espectrometria de massas) e espectroscópicas (espectroscopia no infravermelho e

---

<sup>1</sup> Moraes, A. R. A., Camargo, K. C., Simões, M. O., Ferraz, V. P., Pereira, M. T., Evangelista, F. C., Sabino, A. P., Duarte, L. P., Alcântara, A. F., Sousa, G. F., 'Chemical Composition of *Magonia pubescens* Essential Oils and Gamma-Radiation Effects on Its Constituents and Cytotoxic Activity in Leukemia and Breast Cancer Model', *Chemistry and Biodiversity*, v.18, e2100094, **2021**.

---

ressonância magnética nuclear em uma e duas dimensões). Foram isolados sete metabólitos e todos foram relatados pela primeira vez para essa espécie. Os compostos isolados foram avaliados quanto à inibição do crescimento de diferentes parasitos. Também foi realizado, nesse trabalho, um estudo bioguiado visando a identificação de subfrações do extrato com alta atividade antifúngica, antiparasitária e inseticida, levando à identificação de extratos promissores.

No **capítulo 4** são descritos os resultados do estudo fitoquímico dos **galhos** da espécie. Foi obtido o extrato aquoso do material vegetal seco, que posteriormente foi fracionado em marcha química. As frações obtidas foram testadas contra duas linhagens de células de câncer (leucemia mieloide K562 e adenocarcinoma de mama MDA-MB-231) e apresentaram citotoxicidade. As frações ativas foram analisadas por um sistema UHPLC-HRMS, que permitiu a identificação putativa de 53 compostos presentes no extrato, todos descritos pela primeira vez para a espécie. Posteriormente foram obtidos os extratos hexânico e diclorometânico dos galhos que foram fracionados por coluna cromatográfica clássica. Foram isoladas quatro substâncias dos galhos, lapachol, escopoletina, maniladiol e estigmasterol, todas identificadas pela primeira vez nos galhos da espécie.

## CAPÍTULO 1

### INTRODUÇÃO

## CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO

O uso de plantas para fins terapêuticos é uma prática milenar, que surgiu ainda nas primeiras comunidades humanas da história. Antigas civilizações deixaram relatos de diversos tratamentos medicinais realizados à base de ervas (Neto *et al.*, 2020). Com o desenvolvimento da ciência e tecnologia, os produtos naturais passaram a ser manipulados para a produção de fármacos altamente eficientes na prevenção e no tratamento de doenças. Foi a descoberta de metabólitos com atividade biológica aliada aos métodos sintéticos laboratoriais que permitiram o desenvolvimento de fármacos de grande eficiência no combate a diferentes doenças (Newman e Cragg, 2020)

O Brasil é o país com a maior biodiversidade do planeta e abriga 15% das espécies da Terra (Valli *et al.*, 2018). Entre toda essa biodiversidade, estima-se que os povos originários brasileiros tenham conhecimento da aplicação medicinal de aproximadamente 1300 espécies de plantas do país (Funari e Ferro, 2005). Além disso, cerca de 25% da receita da indústria farmacêutica brasileira é obtida a partir do comércio de produtos derivados de plantas (Ferreira *et al.*, 2014, Valli *et al.*, 2018). Esses dados mostram que a fitoquímica possui perspectivas promissoras no Brasil, principalmente na busca por novos metabólitos que podem produzir avanços na área da fitoterapia e contribuir para o desenvolvimento da indústria farmacêutica brasileira.

### 1.1 - A família Sapindaceae

Sapindaceae é a principal família da ordem Sapindales e compreende entre 140 e 150 gêneros, que somam um total de quase 2000 espécies (Medina *et al.*, 2021). Esse grande número de espécies permite a existência das mais variadas estruturas vegetais, desde trepadeiras e arbustos até árvores de grande porte. Dentre os gêneros de Sapindáceas, 22 são encontrados nas regiões tropicais brasileiras, principalmente na floresta amazônica e no cerrado (Ferruci, 2000; Araújo e Costa, 2007; Acevedo-Rodríguez, 1990).

A principal característica fitoquímica dessa família é o alto teor de saponinas encontradas em seus indivíduos. Entretanto, muitos outros metabólitos secundários estão presentes em suas espécies. Na literatura foi relatada a presença de alcaloides, proantocianidinas, flavonas, poli-isoprenos, sesquiterpenos e esteroides, dentre outros, em espécies pertencentes às Sapindáceas (Umadevi e Daniel, 1991).

A família Sapindaceae gera impacto econômico e possui espécies com variados usos comerciais. Algumas dessas espécies são fontes de madeira para construção civil ou para

---

confeção de objetos, móveis e artesanatos, como a *Magonia pubescens*, *Paullinia cupana*, *Paullinia pinnata*, *Sapindus saponaria* e *Talisia cupularis*. Destacam-se também espécies com frutos comestíveis, que são representadas principalmente pelas *Paullinia cupana* (guaraná), *Litchi chinensis* (lichia) e a *Talisia esculenta* (pitomba). Existem ainda espécies com funções paisagísticas, como as *Allophylus edulis*, *Cardiospermum grandiflorum*, *Matayba guianensis* e *Tripterodendron filicifolium* (Guarim-Neto, 2000; Silva, 2011).

Levantamentos etnomedicinais revelaram que extratos de plantas da família Sapindaceae são comumente empregados no tratamento de febres, úlceras, dores, problemas dermatológicos, diarreias e desinterias, entre outros (Sofidiya *et al.*, 2012). Estudos de atividade biológica mostraram a grande versatilidade dos extratos dessas espécies. Na Tabela 1 (pág. 4-7) são apresentados alguns resultados, obtidos a partir de um levantamento bibliográfico realizado em bases de dados acadêmicas (SciFinder, Scielo e Google Scholar), das atividades biológicas descritas para espécies de Sapindaceae, compreendendo suas principais subfamílias, Dodonaeoideae e Sapindoideae.

Tabela 1 - Atividades biológicas descritas na literatura para espécies da família Sapindaceae

Espécie	Parte da Planta	Material	Atividade biológica	Referência
<b>Gênero <i>Xanthoceras</i></b>				
<i>X. sorbifolia</i>	cascas das sementes	extrato rico em saponinas	antioxidante	Zhang <i>et al.</i> , 2013;
	folhas	extrato etanólico	relaxação vascular	Jin <i>et al.</i> , 2010
	folhas	compostos fenólicos	inibidora de neuroinflamações	Li <i>et al.</i> , 2016
	cascas das frutas	triterpenoides	anti-Alzheimer	Li <i>et al.</i> , 2020
	cascas	triterpenoides	anti-tumoral	Wang <i>et al.</i> 2017
<b>Gênero <i>Harpullia</i></b>				
<i>H. arborea</i>	folhas	extrato metanólico	bactericida, fungicida	Kekuda e Vinayaka, 2017
	sementes	extrato metanólico	bactericida, fungicida	Gowri e Vasantha, 2009;
<i>H. ramiflora</i>	folhas, flores, caules e raízes	extrato metanólico	antimicrobiana	Khan <i>et al.</i> , 2001
<i>H. petiolaris</i>	folhas, flores, caules e raízes	extrato metanólico	antimicrobiana	Khan e Omoloso, 2002
<i>H. pentrandra</i>	folhas	extrato metanólico	fungicida	Kekuda e Vinayaka, 2017
<i>H. pendula</i>	folhas	extrato etanólico	inibidora de $\alpha$ -amilase	Souda <i>et al.</i> , 2021
	sementes	extrato butanólico	inibidora de $\alpha$ -amilase	Nabil <i>et al.</i> , 2019
<b>Gênero <i>Magonia</i></b>				
<i>M. pubescens</i>	raízes	extrato etanólico	inseticida, antimicrobiana, citotóxica	Valotto <i>et al.</i> , 2010; Arruda <i>et al.</i> , 2003; Guimarães <i>et al.</i> , 2001; Pimenta <i>et al.</i> , 2000, Mesquita <i>et al.</i> , 2009
<b>Gênero <i>Dodonaea</i></b>				
<i>D. viscosa</i>	folhas	extratos aquoso, metanólico e clorofórmico	bactericida, fungicida e larvicida	Prakashi <i>et al.</i> , 2012; Hossain, 2019; Al-Snafi, 2017;
<i>D. polyandra</i>	folhas	extrato hidroalcoólico	anti-inflamatória	Simpson <i>et al.</i> , 2010

Dodonaeoideae

Tabela 1 - Atividades biológicas descritas na literatura para espécies da família Sapindaceae (cont.)

<b>Espécie</b>	<b>Parte da Planta</b>	<b>Material</b>	<b>Atividade biológica</b>	<b>Referência</b>
<b>Gênero <i>Exothea</i></b>				
<i>E. paniculata</i>	cascas	extrato clorofórmico e metanólico	leishmanicida	Monzote <i>et al.</i> , 2014
<b>Gênero <i>Filicium</i></b>				
<i>F. decipiens</i>	cascas e caules --- folhas	extrato etanólico extrato hidroalcoólico extrato em éter de petróleo	antioxidante fitotóxica antimicrobiana, anti-inflamatória e anticancerígena	Duganath <i>et al.</i> , 2010 Bari e Kato-Noguchi, 2017 Basarikatii <i>et al.</i> , 2021
<b>Gênero <i>Ganophyllum</i></b>				
<i>G. falcatum</i>	caules	extrato alcoólico	termifticida	Yazaki, 1982
<b>Gênero <i>Hiperatum</i></b>				
<i>H. pauciflorus</i>	folhas	extrato acetônico e etanólico	antioxidante	Olorunnisola <i>et al.</i> , 2012
<b>Gênero <i>Doratoxylon</i></b>				
<i>D. apelatatum</i>	folhas folhas	extrato aquoso polifenóis	anti-inflamatória, analgésica e antipirética antioxidante	Pendota <i>et al.</i> , 2009 Marimoutou <i>et al.</i> , 2015
<b>Gênero <i>Zanha</i></b>				
<i>Z. africana</i>	cascas das raízes folhas cascas das raízes	extrato metanólico extrato aquoso extrato clorofórmico	anti-inflamatória, fungicida hipoglicêmica inseticida	Cúellar <i>et al.</i> , 1997; Fabry <i>et al.</i> , 1996 Abdirahman <i>et al.</i> , 2015 Stevenson <i>et al.</i> , 2016

Dodonaeoideae



Tabela 1 - Atividades biológicas descritas na literatura para espécies da família Sapindaceae (cont.)

<b>Espécie</b>	<b>Parte da Planta</b>	<b>Material</b>	<b>Atividade biológica</b>	<b>Referência</b>
<b>Gênero <i>Allophylus</i></b>				
<i>A. serratus</i>	folhas	extrato etanólico	prevenção de úlceras gástricas	Dharmani <i>et al.</i> , 2005
	folhas	extrato aquoso	antimicrobiano	Jemal <i>et al.</i> , 2017
<i>A. africanus</i>	frutos	extrato hidroalcoólico	antioxidante	Rachaiyah <i>et al.</i> , 2019
	partes aéreas	extrato etanólico	antimalárica	Oladosu <i>et al.</i> , 2013
	folhas	extrato hidrometanólico	anti-inflamatória	Sofidiya <i>et al.</i> , 2012
	cascas do caule	extrato em éter de petróleo	antitumoral	Biseko, 2019
<i>A. edulis</i>	folhas e cascas do caule	extrato aquoso	anti-inflamatório	Ferreres <i>et al.</i> , 2018
	frutos	extrato etanólico	antioxidante e anticolinesterásica	Umeo <i>et al.</i> , 2011
	folhas	extrato hidroalcoólico	antioxidante e antimicrobiana	Tirloni <i>et al.</i> , 2015
<i>A. cobbe</i>	folhas	óleos essenciais	anti-inflamatória	Santos <i>et al.</i> , 2021
	folhas e cascas do caule	extrato metanólico	antioxidante e antimicrobiana	Ankad <i>et al.</i> , 2016
<i>A. abyssinicus</i>	folhas	extrato hidroalcoólico	anti-inflamatória, analgésica e antioxidante	Jain <i>et al.</i> , 2014b
	folhas	extrato hidrometanólico	anti-inflamatória	Yesuf e Asres, 2013
<i>A. cominia</i>	folhas	extrato aquoso	antidiabética	Sanchez <i>et al.</i> , 2014
<b>Gênero <i>Cardiospermum</i></b>				
<i>C. halicacabum</i>	planta completa	extrato etanólico	antiulcerogênica, anti-inflamatória e analgésica	Sheeba e Asha, 2006; Malaviya <i>et al.</i> , 2009
	raízes	extrato aquoso	anti-inflamatória, analgésica e cardioprotetora	Malaviya <i>et al.</i> , 2009; Doss <i>et al.</i> , 2018
<i>C. canescens</i>	folhas	extratos etanólico e metanólico	antioxidante	Dowlath <i>et al.</i> , 2020
	planta completa	extrato metanólico	antioxidante, anti-inflamatória e anticancerígena	Ketha <i>et al.</i> , 2020

Sapindaceae

Tabela 1 - Atividades biológicas descritas na literatura para espécies da família Sapindaceae (cont.)

<b>Espécie</b>	<b>Parte da Planta</b>	<b>Material</b>	<b>Atividade biológica</b>	<b>Referência</b>
<b>Gênero <i>Paullinia</i></b>				
<i>P. cupana</i>	sementes	extrato alcoólico	antioxidante, antidepressiva, ansiolítica, antiaminiásica, quimioprofilaxia de carcinogênese	Hamerski <i>et al.</i> , 2013
	sementes	extrato alcoólico	antibacteriana, antifúngica	Hamerski <i>et al.</i> , 2013
	sementes	extrato aquoso	antioxidante, antienvelhecimento	Peixoto <i>et al.</i> , 2017
<i>P. pinnata</i>	pó comercial das sementes	extrato hidroalcoólico	neuroprotetora	Boasquivis <i>et al.</i> , 2018
	caules	extrato metanólico	analgésica	Ouattara <i>et al.</i> , 2019
	folhas	extrato etanólico	antimalárica	Maje <i>et al.</i> , 2007
	folhas e raízes	extrato metanólico	relaxação vascular	Zamble <i>et al.</i> , 2006
<b>Gênero <i>Serjania</i></b>				
<i>S. salzmanniana</i>	caules	saponinas	antifúngica e moluscicida	Ekabo e Farnsworth, 1996
	caules e folhas	extrato etanólico	anti-inflamatória	Gomig <i>et al.</i> , 2008
<i>S. erecta</i>	folhas	extrato clorofórmico	gastroprotetora	Arruda <i>et al.</i> , 2009
	partes aéreas	extrato metanólico	antifídica	Fernandes <i>et al.</i> , 2011
<i>S. marginata</i>	folhas	extrato hidroalcoólico	gastroprotetora	Perico <i>et al.</i> , 2019
	folhas	extrato aquoso	hepatoprotetora e gastroprotetora	Ota <i>et al.</i> , 2019
<i>S. caracasana</i>	partes aéreas	extrato hidroalcoólico	antiespasmódica	Silva <i>et al.</i> , 2017
	folhas e caules	extratos hexânico e clorofórmico	leishmanicida	Passos <i>et al.</i> , 2017
<b>Gênero <i>Talisia</i></b>				
<i>T. nervosa</i>	caules	extrato etanólico	prevenção à síndrome metabólica	Vasquez <i>et al.</i> , 2019
	frutas	extrato hidroalcoólico	antioxidante, antimutagênica	Neri-Numa <i>et al.</i> , 2014

Sapindaceae

## 1.2 - Subfamília Dodonaeoideae e estudos fitoquímicos

A subdivisão da família Sapindaceae foi proposta originalmente por Radlkofer, que a organizou em quatro principais subfamílias, Xanthoceroideae, Hippocastanoideae, Sapindoideae e Dodonaeoideae. Dentre elas, a Dodonaeoideae é a segunda maior subfamília, compreendendo pelo menos 29 gêneros de quatro diferentes tribos, totalizando 136 espécies (Harrington *et al.*, 2009). Apesar disso, muito pouco se conhece sobre a maioria de suas espécies e há muita dificuldade na classificação filogenética entre elas (Buijsen *et al.*, 2003). A prospecção fitoquímica dos membros dessa subfamília pode ajudar na compreensão da sua filogenia.

Na Tabela 2 (pág. 9) é apresentado um breve levantamento acerca da fitoquímica da subfamília Dodonaeoideae, a qual pertence a espécie *Magonia pubescens*. Como anteriormente mencionado, as saponinas constituem a classe mais popular de metabólitos secundários presentes em toda a família Sapindaceae (Umadevi e Daniel, 1991). São encontradas principalmente nas raízes dessas plantas, mas podem estar presentes em sementes, cascas e galhos. Terpenoides, principalmente os hopanos, também podem ser encontrados em alguns membros da subfamília Dodonaeoideae. Entre os compostos encontrados ainda se incluem flavonoides, fenóis e esteroides (Umadevi e Daniel, 1991).

Tabela 2 - Alguns metabólitos secundários identificados em espécies da subfamília Dodonaeoideae

<b>Espécie</b>	<b>Parte da planta</b>	<b>Constituintes</b>	<b>Referência</b>
<b>Gênero <i>Xanthoceras</i></b>			
<i>X. sorbifolia</i>	casca da semente	flavonoides	Rashmi e Nagatsu, 2011, Chen <i>et al.</i> , 2020
	casca do caule	triterpenos e saponinas	Ling <i>et al.</i> , 2011
	folhas	compostos fenólicos	Li <i>et al.</i> , 2016
	óleo das sementes	saponinas triterpenicas	Yu <i>et al.</i> , 2012
	sementes	cumarina <i>O</i> -glicosilada	Zhu <i>et al.</i> , 2019
	casca do caule	triterpenos, saponinas triterpenicas	Wang <i>et al.</i> , 2017, Ji <i>et al.</i> , 2017
<i>H. pendula</i>	flores	espiro-isoxazolininas	Li <i>et al.</i> , 2018
	frutos	esteroides	Yang <i>et al.</i> , 2020
	sementes	saponinas	Ghaly <i>et al.</i> , 2017
<b>Gênero <i>Harpullia</i></b>			
<i>H. pendula</i>	folhas	flavonoides, compostos fenólicos	Souda <i>et al.</i> , 2021; Abdelkader <i>et al.</i> , 2016
	sementes	saponinas	Ghaly <i>et al.</i> , 2017
<b>Gênero <i>Dodonaea</i></b>			
<i>D. viscosa</i>	folhas	fenólicos, diterpenos, saponinas e esteroides	Muhammad <i>et al.</i> , 2016; Siddiqui, 1998
<i>D. augustifolia</i>	folhas	flavonoides	Heerden <i>et al.</i> , 2000
<b>Gênero <i>Exothea</i></b>			
<i>E. paniculata</i>	casca do caule	triterpenos	Chhetri <i>et al.</i> , 2015
<b>Gênero <i>Filicium</i></b>			
<i>F. decipiens</i>	casca do caule	saponinas, flavonoides, fenólicos, esteroides	Lavaud <i>et al.</i> , 1998; Duganath <i>et al.</i> , 2010; Muthia <i>et al.</i> , 2015
<b>Gênero <i>Ganophyllum</i></b>			
<i>G. giganteum</i>	casca das raízes	saponinas	Montes <i>et al.</i> , 2014
<b>Gênero <i>Zanha</i></b>			
<i>Z. africana</i>	casca das raízes	saponinas, nor-hopanos	Cuéllar <i>et al.</i> , 1997; Stevenson <i>et al.</i> , 2016
<i>Z. golungensis</i>	casca das raízes	saponinas	Lavaud <i>et al.</i> , 2015

### 1.3 - A espécie *Magonia pubescens*

A espécie *Magonia pubescens* (sinonímia *Magonia glabrata*) pertence à família Sapindaceae (subf. Dodonaeoideae), e ao gênero monoespecífico *Magonia*, é endêmica do cerrado brasileiro, conhecida popularmente como tinguí ou timbó e possui diferentes aplicações populares. Na Figura 1 é apresentada a foto de um indivíduo dessa espécie.

*M. pubescens* está presente na região central do país, principalmente nos estados de Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e Minas Gerais. Ela é uma árvore de médio porte, que alcança cerca de 7 a 9 m de altura (Macedo *et al.*, 2009; Aguiar *et al.*, 2015).

Suas frutas e sementes são usadas popularmente para o preparo de sabões caseiros, utilizados no tratamento de dermatites e seborreias. Estas partes da planta também são usadas na medicina tradicional como inseticida e larvicida (Mesquita *et al.*, 2009; Arruda *et al.*, 2003). Infusões da raiz são empregadas como tranquilizante e as raízes também são usadas na pesca com a função de tinguíjar, técnica de uso popular que consiste no envenenamento da água de rios e lagos com chás e extratos que matam os peixes e facilitam a sua pesca (Aguiar *et al.*, 2015). As árvores de *M. pubescens* encontram também usos decorativos e para o reflorestamento. Sua madeira pode ser empregada na construção civil, na produção de móveis e na produção de carvão (Lima *et al.*, 2015).

Ainda se sabia muito pouco sobre a constituição química de *M. pubescens* e sobre os possíveis compostos biologicamente ativos associados ao uso popular da espécie para fins medicinais. Estudos relatam a presença de taninos condensados de unidades monoméricas da catequina flavan-3-ol (**1**) no córtex do caule de *M. pubescens* (Fig. 2, pág. 11) (Silva *et al.*, 2004). Uma fração enriquecida com esse material foi eficiente no combate contra a proliferação de larvas do mosquito *Aedes aegypti* (Valotto *et al.*, 2010). O extrato

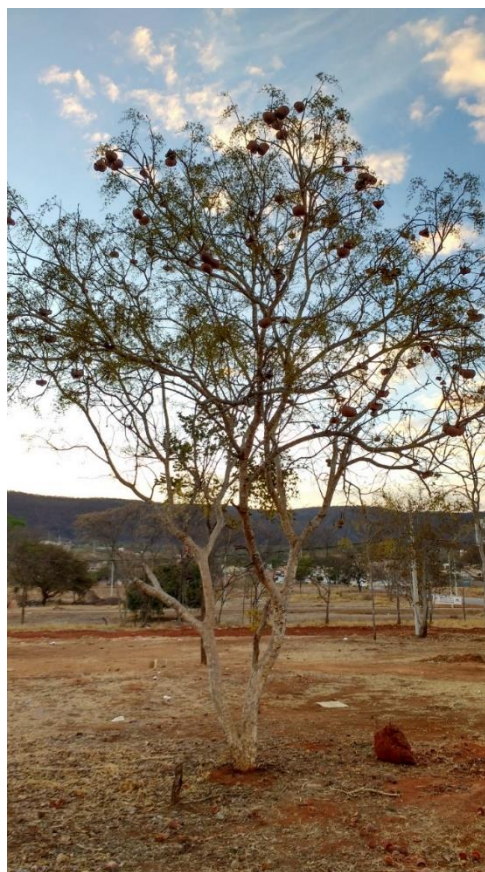


Figura 1 - Fotografia de exemplar *Magonia pubescens* (acervo pessoal).

etanólico bruto das raízes apresentou também toxicidade no combate a larvas desse inseto (Arruda *et al.*, 2003) e sobre as larvas do *Aedes aegyptus* (Guimarães *et al.*, 2001).

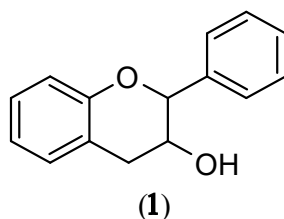


Figura 2 - Estrutura química de flavan-3-ol (1).

Extratos etanólicos das cascas do caule dessa espécie apresentaram atividade contra carrapatos. Estudos mostram que larvas de *Rhipicephalus sanguineus* (Carrapato-vermelho-de-cão) e de *Rhipicephalus microplus* (Carrapato-do-boi) têm seu crescimento inibido por esses extratos (Fernandes *et al.*, 2008a; Fernandes *et al.*, 2008b). As larvas do mosquito *Culex quinquefasciatus* também tiveram seu crescimento inibido com a presença de extratos etanólicos das cascas do caule de *M. pubescens* (Zanon *et al.*, 2006).

Quanto à atividade antimicrobiana, os extratos etanólicos brutos de cascas do caule, sementes e raízes dessa espécie foram avaliados na inibição de diversos fungos e bactérias, apresentando resultados positivos que apontam na direção de novos estudos para aplicação antisséptica desse material (Pimenta *et al.*, 2000). Um estudo sobre o emprego de extratos da casca do caule do tinguí em água clorificada na conservação de peixes após a pesca revelou resultados promissores (Miranda *et al.*, 2016).

Há poucos trabalhos publicados acerca do isolamento de constituintes químicos de *M. pubescens* (Araújo *et al.*, 1993; Silva *et al.*, 2010). Uma prospecção fitoquímica preliminar realizada para a espécie permitiu a identificação de esteroides, taninos, alcaloides, saponinas e flavonoides nas folhas e flavonoides e alcaloides nas cascas dos troncos da árvore (Silva *et al.*, 2010). Foram isolados o quebrachitol (2) e a proantocianidina A<sub>1</sub> (3) da casca dos frutos do tinguí (Fig. 3, pág. 12) (Araujo *et al.*, 1993). Constituintes voláteis das inflorescências de *M. pubescens* foram também identificados por GC-MS utilizando a técnica de extração por *headspace*. Entre os 20 compostos identificados foram encontrados furanoides, diterpenos e sesquiterpenos (Aguiar *et al.*, 2015).

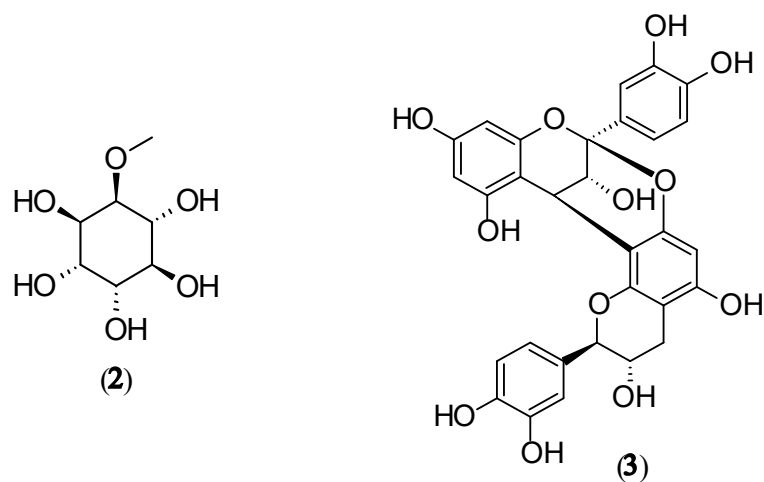


Figura 3 - Estrutura química do quebrachitol (2) e da proantocianidina A<sub>1</sub> (3) isolados da *M. pubescens*.

Sendo assim, uma nova investigação acerca da constituição química de *M. pubescens* pode contribuir não só para um melhor entendimento do gênero *Magonia*, como também para a descoberta e isolamento de potenciais substâncias com atividades biológicas.

CAPÍTULO 2

ESTUDO FITOQUÍMICO  
DAS INFLORESCÊNCIAS  
DE *Magonia pubescens*



## CAPÍTULO 2 – ESTUDO FITOQUÍMICO DAS INFLORESCÊNCIAS DE *Magonia pubescens*

Os óleos essenciais (OEs) podem ser obtidos de várias espécies vegetais, bem como de diferentes partes da planta, e são compostos principalmente de monoterpenos, sesquiterpenos e fenilpropanoides (Ma *et al.*, 2020). OEs não são apenas fundamentais na produção de perfumes e essências nas indústrias cosméticas e aditivos no setor alimentício, mas também são úteis em tratamentos medicinais. Eles apresentam diferentes propriedades biológicas, como antioxidante, antisséptica, expectorante, anti-inflamatória, analgésica e anestésica, entre outras (Wani *et al.*, 2021). Destacando a aplicação potencial desses extratos na indústria, um exemplo de medicamento anti-inflamatório brasileiro baseado em OE é o Acheflan®, obtido de *Cordia verbenacea*, comercializado no Brasil, EUA, Canadá e Japão (Bolzani *et al.*, 2012).

Os OEs apresentam, inclusive, atividade citotóxica, que pode ser explorada na medicina (Chen *et al.*, 2018; Spyridopoulou *et al.*, 2019; Xu *et al.*, 2018). Um estudo, que avaliou OEs de dezesseis espécies em uma triagem geral, mostrou que todos eles possuem atividade contra cinco linhagens de células de câncer testadas, sendo elas MCF7, T47D e MDA-MB-231 (câncer de mama), K562 (eritroleucemia mieloide crônica) e SH-SY5Y (neuroblastoma) (Najar *et al.*, 2020), confirmando a existência desse potencial citotóxico. Nessa triagem, os menores valores de IC<sub>50</sub> foram do OE obtido de *Cinnamomum zeylanicum*, para os ensaios com MCF7 (IC<sub>50</sub> = 20,8 ppm), MDA-MB-231 (IC<sub>50</sub> = 20,1 ppm), K562 (IC<sub>50</sub> = 5,2 ppm) e SH-SY5Y (IC<sub>50</sub> = 21,8 ppm), enquanto o OE de *Citrus limon* apresentou o melhor resultado contra a linhagem celular T47D (IC<sub>50</sub> = 19,6 ppm) (Najar *et al.*, 2020).

Existe relato da atividade citotóxica do extrato etanólico das raízes de *M. pubescens* (IC<sub>50</sub> = 7,9 µg/mL contra células MDA-MB-231), mas não há estudos sobre a citotoxicidade de seus óleos essenciais na literatura, destacando este componente como um alvo de pesquisa interessante (Mesquita *et al.*, 2009).

É importante também avaliar o efeito da radiação sobre a composição e atividade biológica dos OEs, uma vez que estes são obtidos principalmente de materiais vegetais frescos e a radiação gama é frequentemente empregada como uma alternativa para reduzir a brotação e/ou amadurecimento das plantas e pode eliminar microrganismos, parasitos e pragas (Sharma *et al.*, 2020).

A radiação de produtos naturais, principalmente de produtos alimentícios, é uma técnica amplamente difundida no cenário mundial. Após a aprovação da Organização Mundial da Saúde (OMS) na década de 1970, definindo doses mais baixas que 10 kGy como seguras para serem aplicadas em produtos naturais, mais de 50 países endossaram nova legislação de saúde e adotaram a radiação alimentar (Ravindran *et al.*, 2019). Embora um limite de doses de 10 kGy de radiação gama seja comprovadamente seguro, está demonstrado que o processo de irradiação pode causar alterações na composição química relativa do óleo extraído (Kim *et al.*, 2020).

Devido ao efeito sinérgico dos seus componentes, pequenas mudanças na composição dos OEs podem alterar suas atividades biológicas. Essas misturas complexas podem conter pequenas quantidades de substâncias que podem induzir fortemente a atividade biológica de todo o óleo. No estudo da atividade antibacteriana dos OEs de *Thymus vulgaris*, por exemplo, os óleos brutos apresentaram maior atividade contra o crescimento da cepa do que o carvacrol e timol isolados, principais componentes de seu óleo essencial, evidenciando que o sinergismo desempenha um papel importante na atividade dos OEs (Lemos *et al.*, 2017).

Há evidências de que a radiação gama causa alterações na atividade citotóxica dos OEs (Araújo *et al.*, 2017). No estudo dos OEs de *Solanum stipulaceum*, Osorio e colaboradores (2015) relataram um aumento da atividade antileucêmica relacionado à exposição à radiação gama. O OE não irradiado não apresentou citotoxicidade contra a linhagem de leucemia THP-1, enquanto as amostras irradiadas levaram à inibição do crescimento da linhagem celular. Os melhores resultados encontrados foram  $IC_{50} = 40,12 \pm 1,65 \mu\text{g/mL}$  para o OE obtido de material vegetal submetido a 10 kGy de radiação gama. Os autores concluíram que a irradiação de material vegetal causa alterações na composição que podem influenciar a citotoxicidade (Osorio *et al.*, 2015).

## 2.1 - Objetivos

O objetivo nesta parte do trabalho foi a obtenção dos óleos essenciais das inflorescências não-irradiadas e irradiadas de *Magonia pubescens*, estudar sua composição química e analisar o efeito de diferentes doses de radiação gama na integridade química e na atividade citotóxica desses extratos. Para atingir esses objetivos foram necessários:

- irradiar amostras de inflorescências de *M. pubescens* em diferentes doses (1, 3, 5 e 10 kGy) de radiação gama;
- obter óleos essenciais de amostras de inflorescências de *M. pubescens* irradiadas e não-irradiada;
- avaliar a composição química dos óleos essenciais empregando GC-MS e GC-FID;
- verificar alterações na composição química das amostras associadas ao uso de radiação gama;
- avaliar a citotoxicidade dos óleos essenciais, não-irradiado e irradiados, contra linhagens de câncer de mama (MDA-MB-231) e leucemia (K562) e avaliar o efeito da irradiação sobre a atividade biológica.

## 2.2 - Experimental

### 2.2.1 - Coleta e identificação do material vegetal de *M. pubescens*

As inflorescências de *M. pubescens* foram coletadas pela botânica Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Maria Olívia Mercadante-Simões, no município de Montes Claros, MG (coordenadas geográficas 16° 44' 13'' S, 43° 51' 53'' O) em novembro de 2018. Uma exsicata da espécie foi depositada no herbário da UFMG sob o nº 106750. A atividade de acesso ao Patrimônio Genético foi cadastrada no SisGen e recebeu o número AAC6C0E.

### 2.2.2 - Preparação e irradiação das inflorescências de *M. pubescens*

As inflorescências de *M. pubescens* foram secas a temperatura ambiente e moídas em moinho de martelo. Foram preparadas cinco frações de 100 g cada do material moído. Quatro destas foram armazenadas em sacos plásticos *zip-lock* e submetidas às doses de 1, 3, 5 e 10 kGy de radiação gama em um irradiador GammaBeam-127, modelo IR-214 (Nordion Inc.), equipado com fonte de <sup>60</sup>Co, à temperatura ambiente (22 °C). A taxa de dose foi de 2,81 kGy/h. O irradiador foi calibrado com um dosímetro padrão Fricke, e as doses absorvidas foram controladas pela distância de exposição de cada amostra à fonte. Uma fração de 100 g foi reservada sem radiação.

### 2.2.3 - Extração dos óleos essenciais

Os óleos essenciais foram obtidos individualmente para as diferentes amostras, não-irradiada e irradiadas, por meio de hidrodestilação, por três horas, em aparelho

Clevenger. O hidrolato obtido foi extraído com clorofórmio (3 repetições com 5 mL de solvente) e o solvente da fração orgânica foi evaporado a temperatura ambiente por 24 horas, obtendo-se os óleos essenciais OE<sub>0</sub>, OE<sub>1</sub>, OE<sub>3</sub>, OE<sub>5</sub> e OE<sub>10</sub>. O subíndice atribuído indica a dose de radiação recebida pelo material vegetal.

#### 2.2.4 - Análise por GC-MS e GC-FID

Todos os óleos essenciais obtidos foram analisados em GC-MS e GC-FID. Foram analisadas as amostras OE<sub>0</sub>, OE<sub>1</sub>, OE<sub>3</sub>, OE<sub>5</sub> e OE<sub>10</sub> e uma amostra contendo mistura de hidrocarbonetos C10 a C18 empregada com padrão de alcanos.

As análises em GC-MS foram realizadas em um cromatógrafo GCMS-QP2010 ULTRA (Shimadzu). Foi empregada uma coluna Rxi-1MS 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm (Restek) e gás hélio a 3,0 mL/min como gás de arraste. A rampa de temperatura empregada iniciou com 50 °C (5 min), até 220 °C com variação de 3 °C/min e o detector MS (impacto eletrônico a 70 eV) mantido a 300 °C. O volume de injeção foi de 1,0 µL.

As análises em GC-FID foram realizadas em um cromatógrafo a gás HP 7820A (Agilent) e coluna Rxi-1MS 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm (Restek). As amostras foram solubilizadas na concentração de 1% em clorofórmio e analisadas em rampa de temperatura de 50 °C (5 min), 3 °C /min, até 220 °C (detector a 250 °C) utilizando H<sub>2</sub> a 4 mL/min como gás de arraste (volume de injeção: 1,0 µL).

#### 2.2.5 – Identificação de compostos

Os componentes dos óleos essenciais foram identificados a partir de dados de massas e de tempo de retenção. A análise comparativa dos dados de fragmentação dos espectros de massas obtidos foi feita por *software* (GCMS Postrun Analisis, v.4.20, LabSolutions) por meio de comparação com os bancos de dados FFNSC2, NIST27, NIST147, SHIM1607, WILEY7. Foram selecionados compostos com mais de 90% de similaridade entre os espectros e os disponíveis nos bancos de dados.

Os compostos identificados putativamente por meio dos bancos de dados foram também avaliados por seus valores de Índice de Retenção (IR). O Índice de Retenção foi calculado ou pelo método de aproximação de van Den Dool e Kratz, feita pela linearização dos valores de  $\log t'_{R(n)}$  dos padrões de hidrocarbonetos com o número de átomos de carbono da molécula, ou pelo cálculo aritmético relativo ao índice de retenção segundo a equação de IR (pág. 18).

$$IR = 100z + 100.n \cdot \frac{(t_{TRx} - t_{TRz})}{(t_{TRx(z+n)} - t_{TRz})}$$

Na equação,  $t_{TR}$  corresponde aos tempos de retenção composto x e dos hidrocarbonetos  $C_z$  usados como referência. Os valores de Índice de Retenção calculados foram comparados com dados disponíveis na literatura para identificação dos componentes do óleo essencial. Quando possível, empregaram-se dados obtidos de colunas semelhantes àquela usada na análise do GC-FID, nomeadamente colunas do tipo DB-1, HP-1, Ultra-1 e SPB-1, seguindo informações do fabricante.

#### 2.2.6 – Ensaio MTT de citotoxicidade

A avaliação da atividade citotóxica das amostras OE<sub>0</sub>, OE<sub>1</sub>, OE<sub>3</sub>, OE<sub>5</sub> e OE<sub>10</sub> foi realizada utilizando linhagens de células humanas MDA-MB-231 (adenocarcinoma mamário), K562 (leucemia mieloide crônica) e WI-26VA4 (células saudáveis de fibroblastos pulmonares). Análises *in vitro* foram conduzidas por meio do método de plaqueamento de  $1 \times 10^7$  células em microplacas de 96 poços. Depois do plaqueamento das células, as microplacas foram incubadas por no mínimo 24 h a 37 °C na presença de 5% de CO<sub>2</sub>. Os poços foram lavados com meio de cultura (RPMI-1640 + 20% soro fetal bovino inativado + 2 mM L-glutamina + 100 U/L penicilina) e incubados com amostras nas concentrações de 0,1, 1,0, 10,0 e 100,0 µg/mL. Células sem tratamento foram usadas como controle negativo. Depois da incubação por 48 h, o meio em cada poço foi removido e descartado e 100,0 µL de 5% MTT (brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio) (Sigma-Aldrich, EUA) foram adicionados para determinar a viabilidade celular. Medidas colorimétricas foram realizadas a 550 nm empregando um equipamento Spectramax M5e (Thermo Fisher Scientific, EUA), como leitor de microplacas. Todos os experimentos foram realizados em triplicata. A densidade ótica do formazan formado em células controle não tratadas foram medidas como 100% de viabilidade. Os resultados foram expressos como medidas de IC<sub>50</sub> (a concentração letal de fármaco capaz de reduzir a viabilidade celular em 50%). Valores de IC<sub>50</sub> foram calculados utilizando o *software* OriginPro 8.0 (OriginLab Corporation, Northampton, MA, EUA). O Índice de Seletividade (IS) calculado corresponde à razão entre a atividade citotóxica frente às células WI-26VA4 (células dos fibroblastos pulmonares saudáveis) e a linhagem de tumor celular.

### 2.3 – Resultados e discussão da análise da composição química dos óleos essenciais das inflorescências de *M. pubescens*

Os óleos essenciais foram obtidos por hidrodestilação, em aparelho Clevenger, das inflorescências de *M. pubescens*, secas e moídas. Parte do material vegetal foi previamente submetido a diferentes doses de radiação, 1, 3, 5 e 10 KGy (levando à obtenção de OE<sub>1</sub>, OE<sub>3</sub>, OE<sub>5</sub> e OE<sub>10</sub>, respectivamente) e os resultados são analisados a seguir.

As hidrodestilações forneceram um material oleoso de cor amarelada. A extração do óleo obtido de material não-irradiado (OE<sub>0</sub>) levou ao rendimento de 0,11% (m/m) em relação à massa seca das inflorescências. Os óleos obtidos de materiais irradiados OE<sub>1</sub>, OE<sub>3</sub>, OE<sub>5</sub> e OE<sub>10</sub>, apresentaram rendimentos de 0,10%, 0,10%, 0,12% e 0,09%, respectivamente. Na Figura 4 (pág. 20) é apresentado o cromatograma GC-FID dos OEs extraídos. Um total de 30 picos foram observados nos cromatogramas obtidos, dos quais 14 corresponderam a compostos que puderam ser identificados por meio de comparação com os espectros de massa e índice de retenção da literatura (Tabela 3, pág. 21-22). Na Figura A1.a (Apêndice, pág. 160) estão apresentadas as estruturas químicas dos componentes identificados nos OEs de *M. pubescens*.

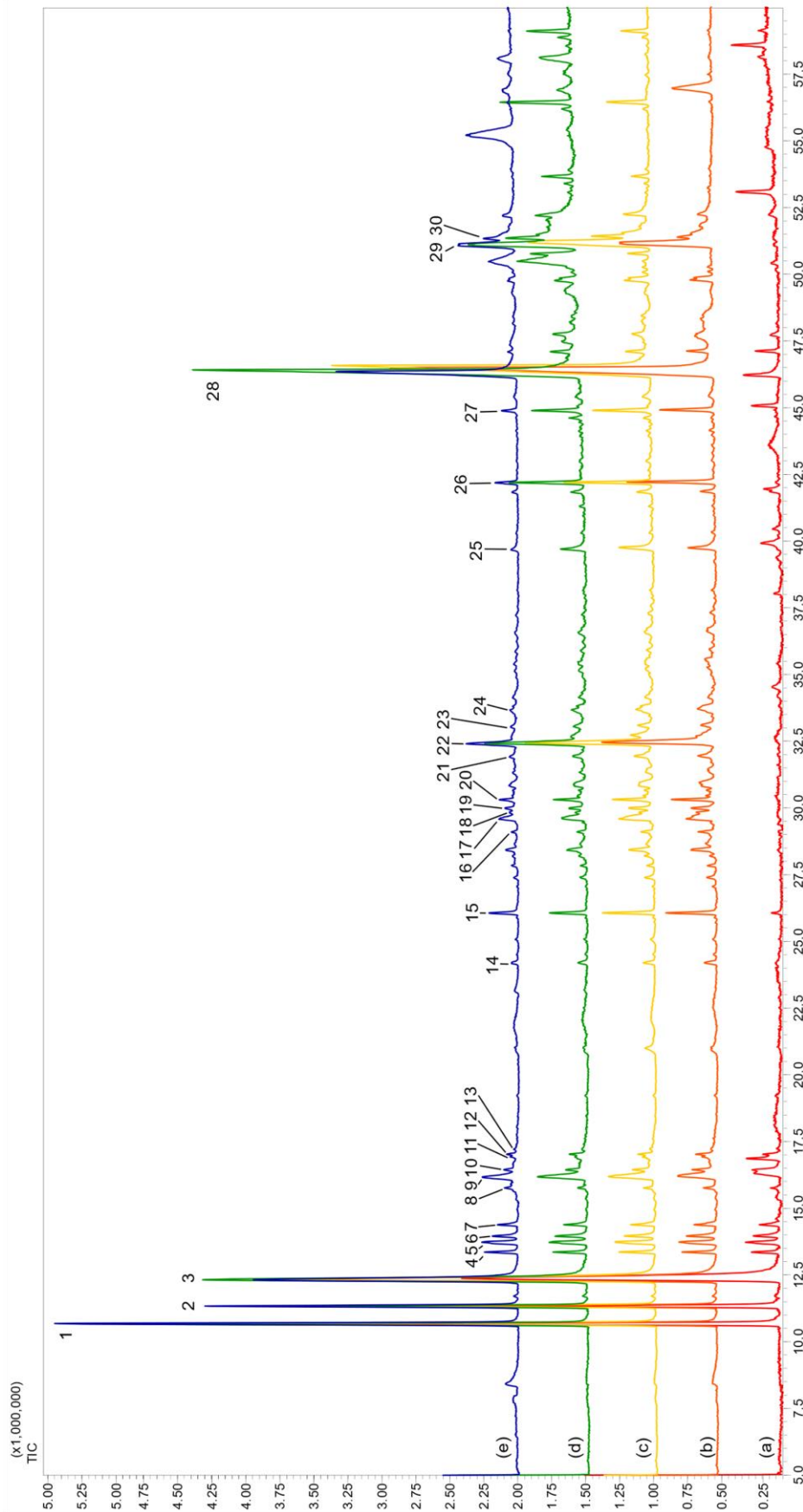


Figura 4 - Cromatograma de GC-FID dos óleos essenciais obtidos de *M. pubescens*. Os picos destacados correspondem aos apresentados na Tabela 3. (a) OE<sub>0</sub>, (b) OE<sub>1</sub>, (c) OE<sub>3</sub>, (d) OE<sub>5</sub>, (e) OE<sub>10</sub> (MORAES *et al.*, 2021).

Tabela 3 - Dados de GC dos componentes dos OEs: composto, fórmula molecular, tempo de retenção (T<sub>R</sub>), índice de Kovats calculado e obtido na literatura

Pico	Composto	Fórmula molecular	T <sub>R</sub> (min) <sup>1</sup>	IR <sup>2</sup>	IR <sup>2*</sup>	Composição (% área)				
						OE <sub>0</sub>	OE <sub>1</sub>	OE <sub>3</sub>	OE <sub>5</sub>	OE <sub>10</sub>
1	Óxido de <i>cis</i> -linalol <sup>3</sup> ( <b>101</b> )	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	10,665	1034	1047 <sup>[1]</sup>	17,0	9,8	8,1	9,7	15,2
2	Óxido de <i>trans</i> -linalol <sup>3</sup> ( <b>102</b> )	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	11,328	1051	1064 <sup>[1]</sup>	10,2	5,9	5,1	6,2	9,8
3	Hotrienol <sup>3</sup> ( <b>103</b> )	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	12,369	1074	1085 <sup>[2]</sup>	35,9	23,4	17,7	21,2	21,3
4	Aldeído lílaco A, B, C ou D <sup>†</sup>	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>	13,348	1102	--	1,0	0,7	0,7	0,7	1,1
5	Aldeído lílaco A, B, C ou D <sup>†</sup>	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>	13,726	1111	--	1,6	1,0	0,9	1,1	1,5
6	N.I.; MS: 85 (49,8), 71 (100), 68 (20,4), 57 (54,9)	--	13,964	1116	--	1,8	1,0	0,8	1,0	1,1
7	Aldeído lílaco A, B, C ou D <sup>†</sup>	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>	14,383	1127	--	0,8	0,5	0,4	0,5	0,7
8	Safranal <sup>3</sup> ( <b>104</b> )	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O	15,756	1163	1181 <sup>[3]</sup>	0,4	0,5	0,4	0,3	0,7
9	Álcool $\beta$ -fenchil <sup>3</sup> ( <b>105</b> )	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	16,313	1171	1168 <sup>[4]</sup>	2,5	2,3	2,1	2,4	2,6
10	N.I.; MS: 136 (28,9), 121 (37,5), 68 (100), 67 (61,2), 55 (51,4)	--	16,432	1178	--	1,3	0,8	0,7	0,9	0,9
11	N.I.; MS: 123 (100), 113 (33,3), 108 (37,6), 79 (56,2), 57 (68,7)	--	16,861	1185	--	1,7	0,2	0,3	0,4	0,2
12	N.I.; MS: 123 (100), 113 (31,7), 79 (25,4)	--	17,020	1190	--	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2
13	N.I.; MS: 108 (50,2), 83 (100), 79 (70,3), 77 (45,9), 55 (57,4)	--	17,241	11924	--	0,5	0,4	0,3	0,3	0,3
14	N.I.; MS: 207 (28,3), 121 (56,7), 105 (71,9), 91 (79,0), 69 (100)	--	24,182	1412	--	0,6	1,1	1,1	0,9	1,1
15	N.I.; MS: 147 (72,3), 105 (100), 91 (91,1), 55 (56,8)	--	26,063	1441	--	0,6	0,7	0,7	0,4	0,6
16	$\alpha$ -Selineno <sup>4</sup> ( <b>106</b> )	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	32,959	1488	1492 <sup>[5]</sup>	0,0	0,4	0,3	0,3	0,3
17	N.I.; MS: 137 (57,7), 124 (71,3), 81 (51,4), 55 (100)	--	32,838	1494	--	0,0	0,4	0,3	0,3	0,3
18	N.I.; MS: 161 (79,1), 124 (58,2), 105 (54,7), 93 (64,3), 55 (100)	--	32,959	1497	--	0,0	1,2	1,2	1,1	0,9



Tabela 3 - Dados de GC dos componentes dos OEs: composto, fórmula molecular, tempo de retenção (Tr), índice de Retenção calculado e obtido na literatura (cont.)

Pico	Composto	Fórmula molecular	Tr (min) <sup>1</sup>	IR <sup>2</sup>	IR <sup>2*</sup>	Composição (% área)				
						OE <sub>0</sub>	OE <sub>1</sub>	OE <sub>3</sub>	OE <sub>5</sub>	OE <sub>10</sub>
19	N.I.; MS: 151 (98,0), 93 (68,1), 69 (86,2), 55 (100)	--	33,249	1504	--	0,0	1,0	0,9	1,0	0,7
20	<i>d</i> -Cadieno <sup>4</sup> ( <b>I07</b> )	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	30,447	1515	1530 <sup>[6]</sup>	0,3	0,9	0,6	0,7	0,6
21	N.I.; MS: 123 (100), 109 (88,9), 93 (72,7), 69 (89,3), 55 (84,6)	--	35,170	1552	--	0,0	0,3	0,4	0,2	0,3
22	Nerolidol <sup>4</sup> ( <b>I08</b> )	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	32,608	1562	1566 <sup>[7]</sup>	0,4	5,6	5,6	4,8	3,5
23	N.I.; MS: 207 (25,6), 119 (88,2), 105 (80,4), 91 (88,3), 55 (100)	--	34,540	1579	--	0,0	0,4	0,3	0,3	0,3
24	N.I.; MS: 207 (22,2), 119 (92,8), 91 (90,3), 55 (100)	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	36,274	1596	--	0,4	0,5	0,5	0,6	0,5
25	Ácido mirfístico <sup>5</sup> ( <b>I09</b> )	C <sub>14</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>	39,917	1736	1748 <sup>[8]</sup>	1,3	1,7	1,7	1,7	1,0
26	Fitona <sup>5</sup> ( <b>I10</b> )	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O	41,954	1839	1845 <sup>[9]</sup>	0,9	2,2	2,2	2,2	1,0
27	Palmitato de metila <sup>5</sup> ( <b>I11</b> )	C <sub>17</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	45,072	1927	1908 <sup>[10]</sup>	1,1	1,2	1,3	1,4	0,8
28	Ácido palmítico <sup>5</sup> ( <b>I12</b> )	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	46,217	1974	1981 <sup>[11]</sup>	5,4	21,3	24,7	21,7	17,4
29	Ácido linoleico <sup>5</sup> ( <b>I13</b> )	C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	51,119	2129	2130 <sup>[12]</sup>	0,9	2,0	6,0	2,2	3,5
30	Ácido oleico <sup>5</sup> ( <b>I14</b> )	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	51,390	2137	2116 <sup>[13]</sup>	1,4	2,5	3,2	3,4	2,9

<sup>1</sup> Tempo de retenção; <sup>2</sup> Índice de Retenção; <sup>3</sup> Monoterpeno; <sup>4</sup> Sesquiterpeno; <sup>5</sup> Ácido graxo; N.I. Não identificado, espectro de massa da fração OE<sub>1</sub>; † Isômeros não identificados; \* Dados obtidos na literatura: <sup>[1]</sup> Fernández-Ocaña *et al.*, 2004; <sup>[2]</sup> Engel *et al.*, 1988; <sup>[3]</sup> Lee *et al.*, 1997; <sup>[4]</sup> Ramezani *et al.*, 2004; <sup>[5]</sup> Ramezani *et al.*, 2006; <sup>[6]</sup> Mevy *et al.*, 2006; <sup>[7]</sup> Stashenko *et al.*, 1996; <sup>[8]</sup> Paolini *et al.*, 2007; <sup>[9]</sup> Lazarevic *et al.*, 2010; <sup>[10]</sup> Blagojevic *et al.*, 2006; <sup>[11]</sup> Rezazadeh *et al.*, 2006; <sup>[12]</sup> Blazevic *et al.*, 2008; <sup>[13]</sup> Xu *et al.*, 2010b.

No total, 13 constituintes foram identificados na fração não irradiada (OE<sub>0</sub>) correspondendo a 77,7% do óleo extraído. Um composto adicional, o  $\alpha$ -selineno, foi identificado apenas a partir das frações irradiadas (OE<sub>1</sub>, OE<sub>3</sub>, OE<sub>5</sub> e OE<sub>10</sub>). Quatro isômeros, os aldeídos lílacos A, B, C e D (Figura A1.b, pág. 160), não puderam ser diferenciados pelo espectro de massas, nem pelo índice de retenção, mas sua presença foi indicada em três picos diferentes do cromatograma. No OE da amostra não-irradiada, OE<sub>0</sub>, os principais componentes foram hotrienol (35,9%), óxido de *cis*-linalol (17,0%) e óxido de *trans*-linalol (10,2%). Nas amostras irradiadas OE<sub>1</sub>, OE<sub>3</sub>, OE<sub>5</sub> e OE<sub>10</sub>, ácido palmítico (17,4%-24,7%), e nerolidol (3,5%-5,6%) também foram determinados como compostos voláteis principais, além do hotrienol (17,7%-23,4%), óxido de *cis*-linalol (8,1%-15,2%) e óxido de *trans*-linalol (5,1%-9,8%). Dos 14 compostos identificados, cinco (óxido de *trans*-linalol, hotrienol, e ácidos palmítico, linoleico e oleico) foram anteriormente descritos para esta planta (Aguiar *et al.*, 2015) e, portanto, nove constituintes estão sendo relatados pela primeira vez para *M. pubescens*.

Observaram-se variações nos teores de monoterpenos, sesquiterpenos e ácidos graxos dos OEs obtidos sob diferentes doses de radiação (Tabela 4, pág. 24). Houve uma queda na concentração total de monoterpenos (compostos majoritários) entre a fração não-irradiada e as frações irradiadas. Essa alteração pode ser consequência da extração mais eficiente de sesquiterpenos e ácidos graxos nas frações irradiadas, que passaram a compor uma porcentagem maior da massa total do extrato obtido. Para as frações irradiadas, observou-se o decréscimo da concentração de sesquiterpenos com o aumento da dose de radiação. A concentração de monoterpenos variou, com uma queda inicial em OEs que receberam doses de até 3 kGy e posterior aumento de concentração para doses mais altas, enquanto a concentração total de ácidos graxos apresentou aumento e se manteve constante para os OEs que receberam doses de até 5 kGy e mostrou uma queda para a dose de 10 kGy.

Tabela 4 - Concentrações relativas para as diferentes classes de compostos identificados na composição dos óleos extraídos da *M. pubescens* obtidos após diferentes doses de radiação

Classe	Concentração relativa (%)				
	OE <sub>0</sub>	OE <sub>1</sub>	OE <sub>3</sub>	OE <sub>5</sub>	OE <sub>10</sub>
Monoterpenos	66,0	41,9	33,4	39,8	49,6
Sesquiterpenos	0,7	6,0	5,9	5,1	3,8
Ácidos graxos	1,3	1,7	1,7	1,7	1,0

Na literatura, encontram-se evidências do efeito irregular da radiação gama sobre a obtenção de constituintes vegetais. Em um estudo dos efeitos da radiação gama para sucos de laranja armazenados, apenas a concentração relativa de alguns monoterpenos específicos (o limoneno e o linalol, principalmente) apresentaram redução na concentração para todas as doses de radiação empregadas no estudo, mas, de forma geral, o conteúdo de monoterpenos variou dentro dos limites aceitáveis para as diversas doses de radiação empregadas (Fan e Gates, 2001), o que indica que o efeito da radiação gama é complexo e não pode ser previsto por simples análise da classe de compostos. Tendências de alterações no conteúdo de sesquiterpenos devido à radiação gama também foram relatadas na literatura. No estudo com óleos essenciais dos frutos de *Piper guineense*, o conteúdo de sesquiterpenos, incluindo principalmente *D*-germacreno,  $\beta$ -farneseno, zingibereno e  $\beta$ -cariofileno, sofreu aumento significativo de concentração quando o material vegetal foi submetido à radiação gama (Onyenekwe, 1997).

#### 2.4 – Resultados e discussão da citotoxicidade dos óleos essenciais das inflorescências de *M. pubescens* contra linhagens de células tumorais de câncer de mama e leucemia

Com o objetivo de avaliar a citotoxicidade do óleo essencial de *M. pubescens* e verificar o efeito da radiação gama nesta atividade, OE<sub>0</sub>, OE<sub>1</sub>, OE<sub>3</sub>, OE<sub>5</sub> e OE<sub>10</sub> foram testados contra células humanas de câncer de mama (MDA-MB-231) e de leucemia mieloide crônica (K562). Para o cálculo do índice de seletividade, as amostras foram testadas frente à fibroblastos pulmonares saudáveis (WI-26VA4). Os fármacos etoposídeo e imatinibe foram empregados como controles (Tabela 5, pág. 25).

Todos os OEs testados apresentaram atividade contra ambas as linhagens celulares de câncer, com valores de IC<sub>50</sub> inferiores a 100 µg/mL. As amostras também apresentaram

bom índice de seletividade, variando de 1,72 a 2,97 contra a linhagem celular MDA-MB-231, maior que o fármaco de controle etoposídeo (IS 0,62).

Tabela 5 - Citotoxicidade e seletividade de OE<sub>0</sub>, OE<sub>1</sub>, OE<sub>3</sub>, OE<sub>5</sub> e OE<sub>10</sub> contra linhagens celulares MDA-MB-231 e K562

Amostras	IC <sub>50</sub> (µg/mL) ± DP*			Índice de Seletividade	
	MDA-MB-231 <sup>a</sup>	K562 <sup>b</sup>	WI-26 VA4 <sup>c</sup>	MDA-MB-231	K562
OE <sub>0</sub>	38,10 ± 3,85	22,10 ± 1,98	65,60 ± 3,70	1,72	2,97
OE <sub>1</sub>	33,25 ± 2,90	42,40 ± 3,10	98,70 ± 6,90	2,97	2,33
OE <sub>3</sub>	29,05 ± 2,70	32,40 ± 3,80	68,70 ± 4,45	2,36	2,12
OE <sub>5</sub>	41,10 ± 3,15	65,72 ± 4,90	86,90 ± 7,01	2,11	1,32
OE <sub>10</sub>	50,60 ± 6,92	27,55 ± 2,44	92,40 ± 5,85	1,83	3,35
Etoposídeo	14,03 ± 2,45	9,11 ± 1,3	8,63 ± 0,13	0,62	0,95
Imatinibe	ND	10,50 ± 1,05	69,63 ± 3,13	ND	6,63
Valor <i>p</i>	<0,05 <sup>a</sup>	<0,05 <sup>b</sup>	<0,05 <sup>c</sup>	ND	ND

\*Valores apresentados com média ± desvio padrão; ND não-determinado; <sup>a</sup>MDA-MB-231, Etoposídeo vs todas as amostras testadas; <sup>b</sup>K562 Imatinibe e etoposídeo vs todas as amostras testadas; <sup>c</sup>WI-26VA4 Imatinibe e etoposídeo vs todas as amostras testadas,

Quanto à citotoxicidade contra células da linhagem K562 de leucemia, OE<sub>0</sub> foi a amostra que exibiu a melhor atividade (IC<sub>50</sub> = 22,10 ± 1,98 µg/mL). Essa amostra apresentou a maior concentração de monoterpenos entre todos os OEs analisados (66,0% da composição total).

Sesquiterpenos e ácidos graxos, apesar de presentes em menor concentração, também podem contribuir para a atividade citotóxica observada contra as células K562. Existem relatos sobre óleos essenciais de folhas e sementes de *Laurus nobilis*, ricos em sesquiterpenos, que apresentaram citotoxicidade contra o crescimento de células K562 (IC<sub>50</sub> = 95 µM e 75 µg/mL, respectivamente) (Saab *et al.*, 2012). Há relatos de inibição moderada a alta no crescimento de células K562 promovida por diversos sesquiterpenos e derivados, obtidos de *L. nobilis*, sendo 3α-peroxiarmefolina o mais ativo (IC<sub>50</sub> = 4,57 ± 3,85 mM) (Juliantii *et al.*, 2012). Células K562 apresentaram também sensibilidade à presença de alguns ácidos graxos, especialmente ácidos graxos poli-insaturados, como o ácido linoleico (IC<sub>50</sub> = 101,9 µM) (Ge *et al.*, 2009) presente no OE de *M. pubescens*.

Os resultados de citotoxicidade indicaram que as amostras OE<sub>0</sub>, OE<sub>1</sub> e OE<sub>3</sub> apresentaram melhor atividade contra a linhagem celular MDA-MB-231 (IC<sub>50</sub> = 38,10 ±

3,85;  $33,25 \pm 2,90$ ;  $29,05 \pm 2,70$ , respectivamente). Considerando a baixa variação da citotoxicidade entre as amostras testadas, é possível inferir que a irradiação das inflorescências de *M. pubescens* não causou mudanças expressivas na atividade citotóxica contra nenhuma das linhagens estudadas.

Há relatos na literatura sobre ácido graxos, sesquiterpenos e monoterpenos com atividade contra células MDA-MB-23. Por exemplo, os ácidos linoleicos conjugados (mistura de isômeros dienóicos desses ácidos) são ácidos graxos capazes de induzir apoptose em células de câncer de mama da linhagem MDA-MB-231 (Miglietta *et al.*, 2006). Sesquiterpenos também exibiram potencial atividade anticancerígena em diversos estudos, com elevada citotoxicidade contra células MDA-MB-231. Quinze sesquiterpenos obtidos de *Parasenecio roborowskii* foram avaliados em relação a sua citotoxicidade, e o eudesmano apresentou o menor valor de  $IC_{50}$   $9,2 \mu\text{g/mL}$  (Pang *et al.*, 2017). Sesquiterpenos lactônicos obtidos de *Carpesium humile* apresentaram ainda maior citotoxicidade contra células MDA-MB-231 ( $IC_{50} < 8 \mu\text{g/mL}$ ) (Xu *et al.*, 2018). Os óleos essenciais de *M. pubescens* apresentaram sesquiterpenos e ácidos graxos na sua composição que podem contribuir com a atividade citotóxica observada. O conteúdo de monoterpenos dos extratos também pode ser parcialmente responsável pela citotoxicidade observada para os óleos essenciais de *M. pubescens*. Existem evidências da citotoxicidade de monoterpenos contra células MDA-MB-231, por exemplo, o álcool perilílico, que é capaz de inibir 90% do crescimento celular em uma concentração de  $3 \mu\text{M}$  (Rabi *et al.*, 2009).

## 2.5– Considerações finais

Nesse estudo pôde-se caracterizar a composição dos óleos extraídos das inflorescências da *M. pubescens*. Foram identificados 13 componentes no óleo extraído do material vegetal não-irradiado, compreendendo monoterpenos, sesquiterpenos e ácidos graxos. Além disso, na análise de amostras desses óleos obtidas de material vegetal submetido a radiação gama, um componente adicional foi identificado ( $\alpha$ -selineno). Do total dos 14 compostos identificados por meio de técnicas de GC-FID e GC-MS, nove não haviam sido identificados anteriormente na espécie *M. pubescens*.

Verificou-se também que houve algumas alterações causadas pela radiação na concentração relativa dos componentes do óleo essencial. Todas as amostras de OEs analisadas, não-irradiada ou irradiadas, apresentaram atividade citotóxica ( $IC_{50}$

---

< 100 µg/mL) contra linhagens celulares de câncer de mama humano (MDA-MB-231) e de leucemia (K562), indicando que a radiação não afetou de forma significativa a atividade citotóxica destes óleos. O óleo essencial não-irradiado foi a amostra mais efetiva contra células K562 ( $IC_{50} = 22,10 \pm 1,98$ ). Contra a linhagem MDA-MB-231, OE<sub>0</sub>, OE<sub>1</sub> e OE<sub>3</sub> apresentaram maior citotoxicidade ( $IC_{50} = 38,10 \pm 3,85, 33,25 \pm 2,90, 29,05 \pm 2,70$ , respectivamente).

CAPÍTULO 3

ESTUDO FITOQUÍMICO DAS  
RAÍZES DE *Magonia pubescens*

## CAPÍTULO 3 – ESTUDO FITOQUÍMICO DAS RAÍZES DE *Magonia pubescens*

*Magonia pubescens* é uma espécie promissora para estudos fitoquímicos por apresentar usos na medicina popular e na pesca. Infusões das raízes dessa espécie são empregadas como tranquilizante e o extrato etanólico das raízes é usado para tratar feridas e dores. As raízes também são usadas na pesca, com a função de tinguir, técnica de uso popular que consiste no envenenamento da água de rios e lagos com chás e extratos que matam os peixes e facilitam a sua pesca (Aguiar *et al.*, 2015).

Há também um relato sobre a atividade leishmanicida do extrato etanólico da casca do caule de *M. pubescens* (Mendes, 2006) o que mostra uma aplicação potencial de constituintes químicos de *M. pubescens* no controle de doenças tropicais negligenciadas (DTNs), um grande desafio enfrentado pelos países tropicais ao redor do globo.

As DTNs estão fortemente associadas à pobreza e têm alto impacto socioeconômico, sendo responsáveis pela incapacitação de 48 milhões de pessoas e de 152.000 mortes por ano (Zanella *et al.*, 2020). O Brasil tem ocorrências de 12 entre as DTNs reconhecidas pela OMS, sendo um dos países mais afetados pelas DTNs, sendo o país mais afetado da América Latina e região do Caribe. A Doença de Chagas (DC) é a principal DTN que afeta o Brasil. A DC é causada por um protozoário (*Trypanosoma cruzi*) e transmitida por vetores, podendo causar complicações cardíacas e morte súbita. Estima-se que há sete milhões de portadores da doença de Chagas no mundo, sendo de 1,3 a 3,2 milhões no Brasil. É relatado que a DC causa quase 6000 mortes por ano no Brasil, sendo uma das doenças de maior prioridade de controle pelo Ministério da Saúde (Zanella *et al.*, 2020). Leishmaniose é outra DTN reconhecida pelo Ministério da Saúde e também uma de suas prioridades (Ministério da Saúde, 2010). O Brasil é classificado pela OMS como um dos 25 países com alta incidência de leishmaniose. Entre 1999 e 2018, foram notificados 68.000 casos de leishmaniose visceral e 460.000 casos de leishmaniose tegumentar, com transmissão notificada em todo o território nacional (Luna e Campos 2020).

A administração dos medicamentos existentes para essas doenças é restrita devido aos seus graves efeitos adversos e ao surgimento de parasitos resistentes ao tratamento. Assim, há uma necessidade urgente de desenvolvimento de novos fármacos eficazes, seguros e de baixo custo para o tratamento de DTNs (WHO, 2021). Os produtos naturais



são fontes de compostos bioativos que podem ser candidatos no desenvolvimento de novos fármacos terapêuticos.

Estima-se que o mercado de produtos farmacêuticos de origem vegetal ou derivados movimentem cerca de US\$26 bilhões por ano em todo o planeta. Economias como os EUA e a Europa tiveram faturamentos de 38% e 28%, respectivamente, desse mercado em 2011. Todos esses fatores tornam interessante o desenvolvimento da área de produtos naturais, que começa com a descoberta da composição fitoquímica das plantas. Esse campo de investigação ainda é insuficiente no Brasil, onde a grande maioria das espécies de plantas é sequer conhecida (Pinto *et al.*, 2002; Joly *et al.*, 2011; Alves, 2013).

Os produtos naturais também podem oferecer soluções para reduzir a incidência de pragas em plantações. Os extratos vegetais contêm metabólitos secundários tais como compostos fenólicos, taninos, cumarinas, quinonas, flavonoides, saponinas, terpenoides e alcaloides, que têm se mostrado potencialmente significativos na proteção de plantas contra microrganismos e insetos (Yusoff *et al.*, 2020). Apesar do potencial da *M. pubescens*, ainda não existem estudos fitoquímicos publicados relatando o isolamento de constituintes das raízes dessa planta. Nesse contexto, foi realizado um estudo dos seus constituintes químicos e avaliação de atividades biológicas.

### 3.1 - Objetivos

O objetivo do trabalho relatado neste capítulo foi realizar o estudo fitoquímico de raízes da *Magonia pubescens* e analisar a atividade biológica de seus extratos e componentes. Para atingir esse objetivo, o trabalho foi desenvolvido com duas diferentes abordagens.

Primeira abordagem – Método clássico:

- obter extrato etanólico das raízes de *Magonia pubescens*;
- particionar o extrato etanólico por extração líquido-líquido;
- isolar metabólitos das frações mais apolares, obtidas após partição do extrato etanólico, por meio de fracionamento em coluna cromatográfica e guiado por análises de cromatografia em camada delgada;
- caracterizar os compostos isolados empregando métodos espectroscópicos (IV e RMN) e espectrometria de massas;
- avaliar a atividade biológica dos constituintes isolados.

Segunda abordagem – Fracionamento bioguiado:

- realizar ensaios de atividades antiparasitárias, inseticidas e antifúngicas dos extratos, bem como das frações e substâncias puras obtidas;
- selecionar frações com melhores atividades biológicas e fracioná-las utilizando técnicas cromatográficas.

## 3.2 – Experimental

A nomenclatura dos extratos foi feita da seguinte forma: letra E, para extrato; H para hexânico; D para diclorometânico; A para acetato etílico; B para butanólico; E para etanólico; Aq para aquoso e R para raízes. A notação empregada para codificar as substâncias ou misturas isoladas no estudo fitoquímico das raízes de *Magonia pubescens* tem as iniciais da planta seguida por ordem de isolamento.

### 3.2.1 – Métodos gerais

Algumas metodologias gerais foram utilizadas no fracionamento e identificação de compostos em diferentes etapas da tese e estão descritas a seguir.

#### 3.2.1.1 – Rotação ótica ( $[\alpha]_D$ )

A determinação do valor da atividade ótica foi realizada em polarímetro Perkin Elmer, modelo 343, usando a linha D do sódio, a 20 °C. Para a realização da medida, o composto foi dissolvido em metanol seco e foram utilizados 1 mL de volume e 1 dm de caminho ótico. A concentração  $c$  está expressa em g/100mL.

#### 3.2.1.2 – Espectroscopia no infravermelho (IV)

Foram realizados experimentos de espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR). Foi utilizado um espectrômetro Bruker IFS 66/S equipado com um detector de sulfato de triglicina deuterado (DTGS) e um módulo de reflexão total atenuada por cristal de diamante (ATR). Os espectros de FTIR foram adquiridos a partir de uma média de 64 varreduras obtidas com resolução de 8 cm<sup>-1</sup>. Foi calculada a razão de reflectância ( $R/R_0$ ), onde  $R$  e  $R_0$  são as reflectâncias medidas na amostra e no cristal limpo, respectivamente.

### 3.2.1.3 – Ressonância Magnética Nuclear

Os espectros de RMN foram obtidos em espectrofotômetros Bruker Avance DRX-400 (400 MHz para  $^1\text{H}$  e 100 MHz para  $^{13}\text{C}$ ), Bruker AMK 500 (500 MHz para  $^1\text{H}$  e 125 MHz para  $^{13}\text{C}$ ) e/ou Bruker Avance III 600 (600 MHz para  $^1\text{H}$  e 150 MHz para  $^{13}\text{C}$ ). Empregaram-se diferentes solventes deuterados (indicados no espectro) contendo tetrametilsilano (TMS) como referência interna. A escolha do solvente deuterado foi feita em função da solubilidade da substância. Os valores de deslocamento químico ( $\delta$ ) foram expressos em ppm e as constantes de acoplamento ( $J$ ) em Hz. Foram utilizados programas COSY, DEPT, HSQC e HMBC convencionais da biblioteca de pulsos de BRUKER.

### 3.2.1.4 – Espectrometria de massas

A análise de espectrometria de massas foi realizada em um espectrômetro VG AutoSpec FISON. O espectrômetro foi equipado com uma fonte de ionização por electrospray (ESI) e analisador q-TOF. As condições da fonte foram as seguintes: modo positivo e negativo; temperatura do gás 150 °C; fluxo de gás 10 L/min; nebulizador ( $\text{N}_2$ ) 35 psi; tensão capilar 1800 V; faixa de massa  $m/z$  50–1000.

### 3.2.1.5 – Cromatografia em camada delgada (CCD)

A cromatografia em camada delgada foi realizada sobre cromatoplasas (4 x 6,5 cm, aprox.) de sílica gel tipo G de 0,3 mm de espessura, com indicador de fluorescência a 254 nm. A detecção das substâncias sobre as placas foi realizada pela incidência de luz ultravioleta a 254 e/ou 360 nm, ou ainda utilizando revelador pulverizado sobre a placa seguido de aquecimento. Os reveladores utilizados foram solução de ácido sulfúrico (solução de  $\text{H}_2\text{O}/\text{H}_2\text{SO}_4/\text{AcOH}$  4:1:20) ou vanilina ( $\text{EtOH}/\text{H}_2\text{SO}_4/\text{AcOH}$  15:1:1,3)

### 3.2.1.6 – Cromatografia preparativa (CP)

Utilizaram-se placas (20 x 20 cm) de 1 mm de espessura de sílica-gel tipo G, com indicador de fluorescência a 254 nm. A quantidade de amostra máxima por placa foi de 40 mg. A detecção dos produtos sobre as placas foi realizada pela incidência de luz ultravioleta a 254 e/ou 360 nm ou pulverizando solução relevadora de ácido sulfúrico nas bordas recortadas.

### 3.2.1.7 – Cromatografia em coluna (CC)

Na realização de colunas cromatográficas se empregou sílica-gel de 0,063 – 0,200 nm. Na preparação da coluna, a sílica-gel foi suspensa em eluente e compactada em seguida. A amostra foi aplicada dissolvida ou adsorvida em sílica-gel. Foram usadas proporções de 30:1 a 50:1 entre a massa de fase estacionária e amostra. As colunas foram eluídas com gradiente de polaridade de solventes.

### 3.2.1.8 – Cromatografia de exclusão molecular

As colunas foram realizadas utilizando Sephadex LH-20 como fase estacionária. A Sephadex foi previamente estabilizada em suspensão com metanol (4,1 mL/g) durante 12 h no mínimo. Em seguida a coluna foi eluída com a mistura de solventes indicadas na descrição de cada coluna, a partir da eluição de 3x o volume morto da coluna. A amostra, após filtração, foi adicionada à coluna dissolvida no eluente, sem ultrapassar 5% do volume morto da coluna.

## 3.2.2 – Estudo fitoquímico das raízes de *Magonia pubescens*.

### 3.2.2.1 - Coleta e identificação do material vegetal

Raízes de *M. pubescens* foram coletados no município de Montes Claros (coordenadas geográficas 16° 25' 26'' S, 43° 32' 10'' O), no norte de Minas Gerais em outubro de 2019 pela Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Olívia Mercadante-Simões (UNIMONTES). Uma exsicata da amostra coletada encontra-se depositada no herbário da UFMG sob o nº 106750. A atividade de acesso ao Patrimônio Genético foi cadastrada no SisGen e recebeu o número AAC6C0E.

### 3.2.2.2 - Preparação dos extratos das raízes de *M. pubescens*

O material vegetal coletado secou a temperatura ambiente e foi pulverizado em moinho de martelos. Após a moagem foi obtido o pó das raízes. O extrato foi obtido por meio de maceração exaustiva em etanol de 1 kg desse material, a temperatura ambiente, por sete dias, com quatro repetições. Após a remoção do solvente em evaporador rotatório, obtiveram-se 123 g de extrato etanólico das raízes (**EER**).

O extrato bruto foi solubilizado em 1 L de mistura metanol/água (2:8) e fracionado por partição empregando 500 mL de hexano, 500 mL de diclorometano e 4x500 mL de acetato de etila. Após estas extrações o metanol foi removido e na fração resultante foram

adicionados 500 mL de água e esta foi particionada com 4x500 mL de *n*-butanol. Na Figura 5 (pág. 34) é apresentada um esquema do processo.

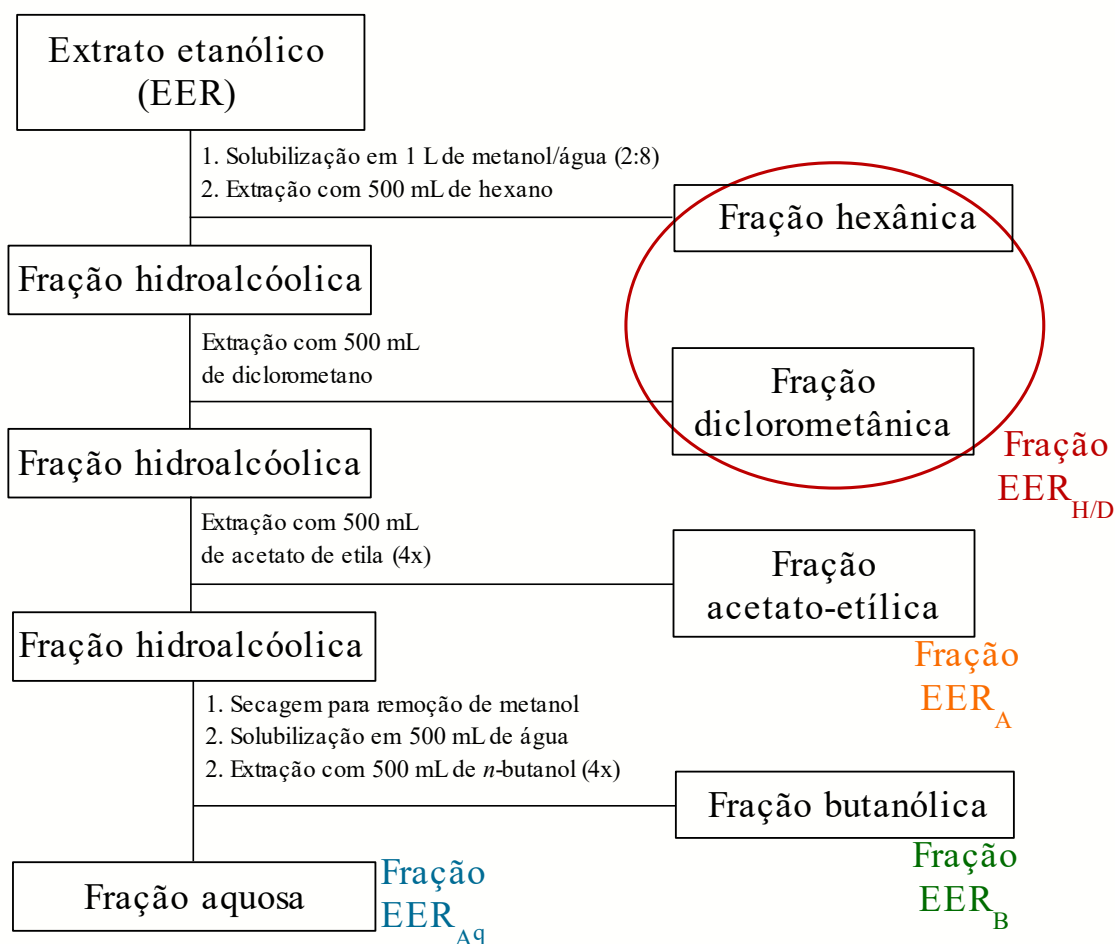


Figura 5 – Elaboração do extrato etanólico das raízes (**EER**) de *Magonia pubescens*.

Uma parte (250 mg) do extrato bruto e de cada fração foi reservada para realização de ensaios biológicos. O fracionamento do extrato etanólico das raízes deu origem à fração **EER<sub>H/D</sub>** (8,7 g) a partir das frações hexânica e diclorometânica agrupadas, por apresentarem o mesmo perfil cromatográfico em CCD. Além disso, foram obtidas as frações acetato-etílica (**EER<sub>A</sub>**, 46,0 g), butanólica (**EER<sub>B</sub>**, 47,6 g) e aquosa (**EER<sub>Aq</sub>**, 18,4 g).

### 3.2.2.3 - Elaboração da fração **EER<sub>H/D</sub>**

**EER<sub>H/D</sub>** (8,70 g) foi submetida a coluna de sílica-gel 60 (70-230 Mesh). Foram empregados hexano e acetato de etila como eluentes, em ordem crescente de polaridade. Obtiveram-se dez frações de aproximadamente 250 mL cada. Na Figura 6 (pág. 37) é

apresentado um esquema de fracionamento de **EER<sub>H/D</sub>** mostrando as frações que levaram ao isolamento de **MP01**, **MP02**, **MP03**, **MP04**, **MP05**, **MP06** e **MP07**. Foram selecionadas para purificação as frações de **EER<sub>H/D</sub>** que apresentaram massa suficiente e aparente simplicidade de composição de acordo com o perfil em CCD.

**A1** (1,09 g, eluída com hexano/AcOEt 7:3) – A fração **A1** foi purificada em coluna Sephadex LH-20 eluída com metanol, da qual foram coletadas 11 frações de aproximadamente 25 mL cada, que foram reunidas em duas frações, **A1.1** (86 mg) e **A1.2** (22,9 mg).

**A1.1** (86 mg) – Foi purificada em coluna de sílica-gel 60 (70-230 Mesh) empregando hexano, diclorometano e acetona como eluentes, em ordem crescente de polaridade. Obtiveram-se 15 frações. As frações 4 a 12 foram reunidas em **A1.1.1** (74,1 mg, eluída com hexano até diclorometano/acetona 9:1). Parte da fração **A1.1.1** (40 mg) foi submetida a uma placa preparativa de sílica-gel 60 (70-230 Mesh), empregando diclorometano/acetona (9,5:0,5) como eluente, de onde obteve-se, após elaboração, **MP01** (12,6 mg) como um sólido branco.

**A1.2** (22,9 mg) – Essa fração foi submetida a uma placa preparativa de sílica-gel 60 (70-230 Mesh), empregando diclorometano/acetona (9,5:0,5) como eluente obtendo **MP02** (7,5 mg) como um sólido branco.

**A2** (119,59 mg, eluída com hexano/AcOEt 4:6) – Foi purificada em coluna de sílica-gel 60 (70-230 Mesh), empregando diclorometano e acetona como eluentes, em ordem crescente de polaridade. Foram coletadas 34 frações de 10 mL cada, aproximadamente, reunidas em cinco frações, das quais apenas as frações mais promissoras foram purificadas, **A2.1** (26,8 mg) e **A2.2** (73,7 mg).

**A2.1** (26,8 mg, eluída com diclorometano até diclorometano/acetona 9:1) – Essa fração foi submetida a coluna de sílica-gel 60 (70-230 Mesh) empregando hexano e acetato de etila como eluentes, em ordem crescente de polaridade. As frações coletadas foram reunidas em três grupos. O grupo mais promissor **A2.1.2** (6,8 mg, eluído com acetato de etila) foi purificado por placa preparativa de sílica, eluída em hexano/acetato de etila (3:7) por duas vezes consecutivas, obtendo o composto **MP03** (3,3 mg) como um sólido branco.

**A2.2** (73,7 mg, eluída com diclorometano/acetona 8,5:1,5 até diclorometano/acetona 7:3) – Essa fração foi submetida a uma coluna de sílica-gel 60

(70-230 Mesh), empregando diclorometano e acetona como eluentes, em ordem crescente de polaridade. As frações coletadas foram reunidas em quatro grupos. O grupo mais promissor **A2.2.2** (45,7 mg, eluído com diclorometano/acetona 9:1 até diclorometano/acetona 1:1) foi fracionado por cromatografia em coluna de sílica-gel 60 (70-230 Mesh), empregando diclorometano e acetona como eluentes, em ordem crescente de polaridade. Obtiveram-se 12 frações reunidas em três grupos. A fração **A2.2.2.1** (17,9 mg, eluída com diclorometano até diclorometano/acetona 9,1:0,9) foi purificada em coluna de sílica-gel 60 (70-230 Mesh), empregando diclorometano e dioxano (8:2). Foram obtidos três grupos. Um dos grupos obtidos (**A2.2.2.1.2**, 8 mg) foi purificado por placa preparativa, utilizando diclorometano/acetona 7:3, levando a obtenção de um sólido branco identificado como **MP04** (1,5 mg).

**A3** (466,9 mg, eluída com hexano/AcOEt 2:8) – A fração **A3** foi purificada em coluna de sílica-gel 60 (70-230 Mesh), empregando diclorometano e acetona como eluentes, em ordem crescente de polaridade. Foram coletadas 12 frações de 50 mL cada, aproximadamente, reunidas em dois grupos, **A3.1** (165,5 mg) e **A3.2** (235,3 mg).

**A3.1** (165,5 mg, eluída com diclorometano) – A fração foi purificada em coluna Sephadex LH-20 com 250 mL de metanol. As 39 frações coletadas foram reunidas em quatro subfrações, sendo uma considerada promissora, **A3.1.1** (48,7 mg). Essa fração foi purificada por meio de solubilização parcial em acetona e diclorometano e filtração, obtendo-se o sólido branco **MP05** (15,6 mg).

**A3.2** (235,3 mg, eluída com diclorometano/acetona 9:1) – A fração foi purificada em coluna Sephadex LH-20 com 250 mL de metanol e 250 mL de mistura metanol/água (8:2). As 23 frações coletadas foram reunidas em duas subfrações, sendo elas **A3.2.1** (35,5 mg) e **A3.2.2** (41,0 mg).

**A3.2.1** (35,5 mg, eluída com metanol) – A fração foi purificada por meio de uma placa preparativa eluída com diclorometano/metanol (9:1), obtendo-se o composto **MP06** (5,2 mg).

**A3.2.2** (41,0 mg, eluída com metanol/água 8:2) - A fração foi purificada por meio de uma placa preparativa eluída com diclorometano/metanol (9:1), obtendo-se o composto **MP07** (8,1 mg).

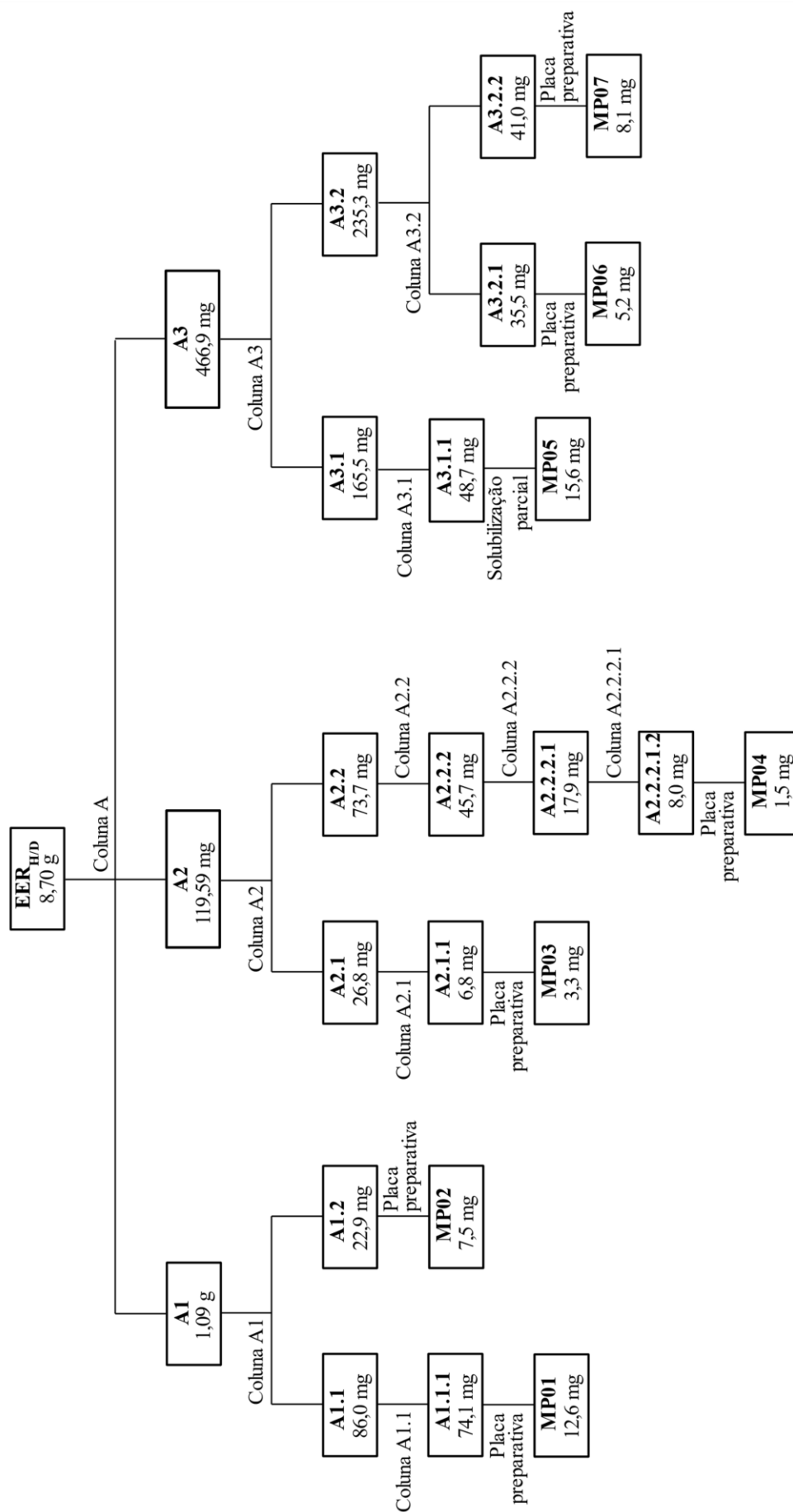


Figura 6 – Elaboração da fração **EER<sub>H/D</sub>**.



#### 3.2.2.4 - Elaboração da fração **EER<sub>A</sub>**

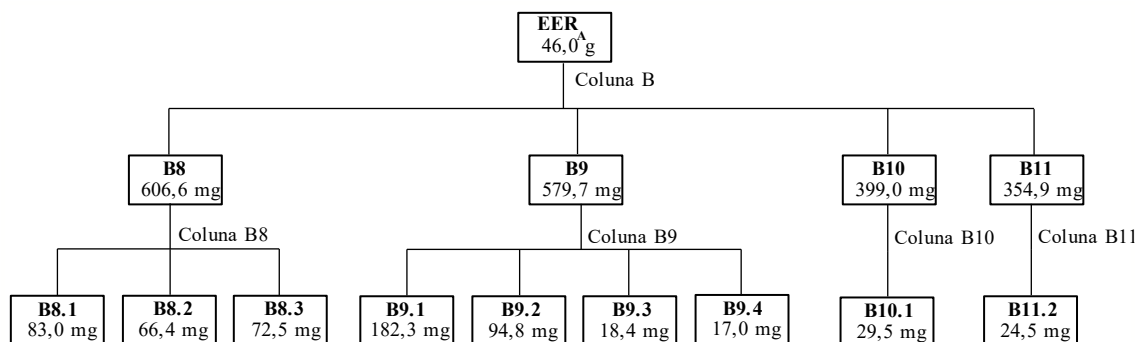
A fração **EER<sub>A</sub>** (46,0 g) foi submetida à cromatografia em coluna de Sephadex LH-20. Foi empregado metanol como eluente e obtiveram-se 12 frações (**B1** a **B12**) de aproximadamente 100 mL cada. A solubilidade limitada de **EER<sub>A</sub>** levou à perda de material retido na fase estacionária. Na Figura 7 (pág. 39) é apresentado um esquema do fracionamento de **EER<sub>A</sub>** indicando apenas as frações consideradas mais promissoras com base no fracionamento bioguiado. Foram selecionadas as frações com atividade biológica antifúngica, inseticida ou antiparasitária.

**B8 (606,6 mg)** – Essa fração foi submetida a purificação em coluna com Sephadex LH-20 como fase estacionária e 200 mL de metanol como fase móvel (coluna B8). As 20 frações coletadas foram reunidas em três subfrações (**B8.1** a **B8.3**). A massa total de **B8** não foi integralmente recuperada da coluna devido à baixa solubilidade deste extrato.

**B9 (579,7 mg)** – Essa fração foi submetida a uma coluna Sephadex LH-20 e eluída com 200 mL de metanol (coluna B9). As 20 frações coletadas foram reunidas em quatro subgrupos (**B9.1** a **B9.4**). A massa total de **B9** não foi integralmente recuperada da coluna devido à baixa solubilidade deste extrato.

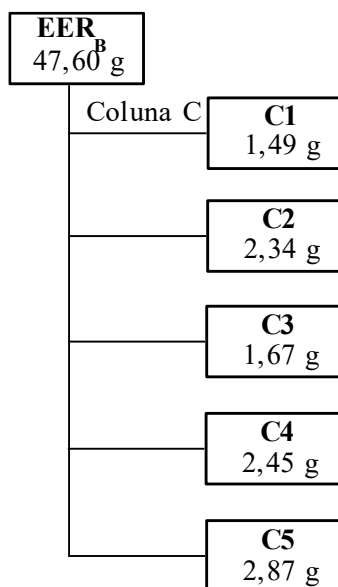
**B10 (399,0 mg)** – Foi purificado utilizando coluna Sephadex LH-20 com 120 mL de metanol (coluna B10). As 12 frações coletadas foram reunidas em dois subgrupos (**B10.1** e **B10.2**). A massa total de **B10** não foi integralmente recuperada da coluna devido à baixa solubilidade deste extrato. Apenas a subfração **B10.1** foi submetida a testes de atividade biológica, por ser a única com quantidade de massa suficiente.

**B11 (354,9 mg)** – Foi submetida a uma coluna Sephadex LH-20 com 100 mL de metanol como eluente (coluna B11). As dez frações coletadas foram reunidas em dois subgrupos (**B11.1** e **B11.2**). A massa total de **B11** não foi integralmente recuperada da coluna devido à baixa solubilidade deste extrato. Apenas o subgrupo **B11.2** foi submetido a testes de atividade biológica, por ser o único com quantidade de massa suficiente.

Figura 7 – Elaboração da fração **EER<sub>A</sub>**.

### 3.2.2.5 - Elaboração da fração **EER<sub>B</sub>**

A fração **EER<sub>B</sub>** (47,6 g) foi submetida a coluna de Sephadex LH-20 (coluna C). Foi empregado metanol como eluente e obtiveram-se cinco frações de aproximadamente 250 mL cada. Na Figura 8 é apresentado o esquema de fracionamento da fração **EER<sub>B</sub>**. Todas as frações foram submetidas à avaliação da atividade antifúngica.

Figura 8 – Elaboração da fração **EER<sub>B</sub>**.

### 3.2.3 – Atividade antiparasitária

Foram realizados diferentes ensaios para determinar a atividade antiparasitária de compostos/extratos ao longo desse trabalho. As amostras foram avaliadas frente à inibição contra parasitos das espécies *Acanthamoeba castellanii*, *Naegleria fowleri*, *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania amazonensis* e *L. donovani*

### 3.2.3.1 - Atividade contra *Acanthamoeba castellani*

A atividade antiacanthamoeba foi determinada por ensaio de Alamar Blue<sup>®</sup>. Microplacas de 96-poços foram plaqueadas em duplicata com 50  $\mu\text{L}$  de uma solução estoque de  $10^4$  de células/mL. As amebas foram deixadas por 15 min em descanso para aderir às microplacas e conferidas usando microscópio invertido Leika DMIL. Depois disso, 50  $\mu\text{L}$  de diluição em série das frações ou dos compostos puros foram adicionados em cada poço (em todos os testes, 1% DMSO). Finalmente, o reagente de ensaio Alamar Blue<sup>®</sup> foi adicionado a cada poço com concentração de 10% do volume do meio. As placas de teste contendo Alamar Blue<sup>®</sup> foram incubadas por 120 h a 28 °C com uma leve agitação. Subsequentemente, as placas foram analisadas, durante um intervalo de tempo entre 72 e 144 h, em um leitor de microplacas modelo 689 (Biorad, Hercules, CA) usando comprimento de onda de teste de 570 nm e comprimento de onda de referência 630 nm. Porcentagens de inibição de crescimento, concentração inibitória de 50% (IC<sub>50</sub>) foram calculados por análise de regressão linear com limite de confiança de 95%. Todos os experimentos foram executados em triplicatas e todos os valores médios foram calculados.

### 3.2.3.2 - Atividade contra *Naegleria fowleri*

As análises *in vitro* foram realizadas empregando o método Alamar Blue<sup>®</sup>. Trofozitas de *Naegleria fowleri* na fase de crescimento logarítmico foram contados por um contador celular automático Countess II FL para atingir uma concentração de  $10^5$  células por poço. Dessa suspensão preparada de células, 50  $\mu\text{L}$  foram adicionados por poço em uma microplaca de 96-poços. O experimento envolveu a incubação dos parasitos testados com diferentes concentrações dos extratos avaliados. Todas as amostras foram dissolvidas em 2% DMSO, como dose final máxima sem efeitos adversos ao parasito. Diluições seriadas de cada amostra foram preparadas em meio de cultura e 50  $\mu\text{L}$  foram adicionados à placa. Anfotericina B e metilfosina foram usadas como fármacos de referência e controle positivo. Como etapa final, o reagente Alamar Blue<sup>®</sup> foi adicionado às placas (10% do volume do meio), então as placas foram incubadas com leve agitação por 48 h a 37 °C. Em seguida, fizeram-se as leituras de placas no leitor EnSpire Multimode (PerkinElmer, Espanha) empregando comprimento de onda de 570 nm e comprimento de onda de referência de 630 nm. A atividade amebicida foi expressa como valores de IC<sub>50</sub>. Esses valores foram calculados por análise de regressão linear com limite de confiança

de 95% usando software SigmaPlot 12.0. Todos os ensaios foram realizados em triplicata e os resultados apresentados são baseados nos valores médios dos resultados.

#### 3.2.3.3 - Atividade tripanocida

Formas epimastigotas de *Trypanosoma cruzi* foram cultivadas a 26 °C em infusões de meio de infusão de triptose de fígado (LIT), suplementado (5%) com soro fetal desativado por aquecimento (56 °C por 30 min). Parasitos em fase de crescimento logarítmico foram distribuídos em microplacas de 96 poços. As amostras dissolvidas em DMSO foram diluídas em série em 100 µL de meio LIT e suplementadas com 10% de soro fetal bovino inativado por calor para obter as concentrações desejadas selecionadas na primeira triagem. Cada poço foi incubado por 72 h com aumento da concentração das amostras, variando de 10 µg/mL a 100 µg/mL. DMSO foi usado para dissolver a maior dose dos compostos sem induzir quaisquer efeitos nos parasitos. A placa foi verificada visualmente usando um microscópio invertido, em seguida, analisada por um leitor de placa multimodo EnSpire (PerkinElmer, MA, EUA) usando um comprimento de onda de teste de 570 nm e um comprimento de onda de referência de 630 nm. A atividade tripanocida foi expressa como valores de IC<sub>50</sub> (a concentração de uma amostra que causou uma redução de 50% na viabilidade do parasito). Esses valores foram calculados por análise de regressão linear com limites de confiança de 95%.

#### 3.2.3.4 - Atividade leishmanicida

A atividade leishmanicida *in vitro* foi avaliada contra formas promastigotas de *Leishmania amazonensis* e *L. donovani* que foram cultivados a 26 °C em meio RPMI 1640 modificado (Gibco) e suplementado com 20% de soro fetal bovino inativado pelo calor, vitaminas e aminoácidos. Os parasitos foram plaqueados a 1x10<sup>4</sup>/100 µL/poço em microplaca de 96 poços. As frações e compostos puros testados foram dissolvidos em DMSO e adicionadas posteriormente a 100 µL/poço para obter a concentração final de 100 µg/mL e submetidos a diluições posteriores. Todos os ensaios foram realizados em triplicata. A atividade foi medida com contador ótico de microscópio invertido, analisada estatisticamente da mesma maneira que o teste tripanocida e expressada em valores de IC<sub>50</sub>.

### 3.2.4 – Atividade antifúngica

A atividade antifúngica foi analisada como inibição do crescimento micelar. As espécies de fungo (*Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea* e *Fusarium oxysporum*) foram plaqueadas em placa de Petri contendo ágar modificado que inclui a adição de 0,05 mg/mL de sais de brometo de metiltetrazólio (MTT) e solução das amostras analisadas diluídas em metanol na concentração de 1 mg/mL. Foram utilizados ensaios sem amostra como controle. O crescimento de colônias em placas de Petri incubadas por 48 h foi digitalizado e medido. A atividade antifúngica foi expressa em valores de porcentagem de inibição (%I), calculada como  $\%I = (C - T/C) \times 100$ , onde C é o diâmetro da colônia de controle e T é o diâmetro das colônias testadas.

### 3.2.5 – Atividade inseticida

Os efeitos antirrepulsivos dos extratos da *M. pubescens* foram testados em larvas de *Chrysodeixis calcites* (Lepidoptera, Noctuidae) de acordo com tratamento em toda a planta e folhas cortadas em discos em um ambiente controlado. Apenas larvas adultas da mesma faixa etária foram usadas para os testes, depois de serem privadas de alimentação por uma hora. Para este propósito, a criação em massa de animais foi conduzida em laboratório. Os testes foram realizados empregando folhas de pimenta cultivadas em vasos no laboratório. As concentrações de 0,4 µg/mL, 2 µg/mL e 4 µg/mL de extratos dissolvidos em uma solução de etanol foram testadas em comparação com a amostra controle, que não recebeu extrato.

Para os testes repulsivos, as folhas de pimenta foram cortadas em discos com 1 cm de diâmetro. Quatro discos de folhas foram colocados equidistantes em um substrato de plástico em uma placa de Petri. Em seguida, 2 µL de cada uma das soluções preparadas foram uniformemente espalhados nos discos em caixas com dois tipos de distribuição: com escolha (dois discos tratados com os extratos e outros dois apenas com o mesmo volume de etanol da amostra de controle) e sem escolha (quatro discos tratados com os extratos, e como amostra controle quatro discos em outra caixa tratados apenas com etanol). Após os tratamentos, quatro larvas foram trancadas em cada caixa com cinco repetições por dispositivo. Após 24 h de exposição os discos foram escaneados e a área consumida pelas larvas foi calculada por meio de *software* OriginPro 8.0 (OriginLab Corporation, Northampton, MA, EUA). Extratos que levaram a valores de consumo acima de 60% foram considerados de alta atividade. Os resultados foram expressos com

base em análises qualitativas em termos de “forte antialimentício”, “fraco antialimentício” ou “supressor de apetite”.

### 3.3 – Resultados e discussão sobre o isolamento e caracterização de constituintes das raízes de *Magonia pubescens*

O estudo fitoquímico do extrato etanólico das raízes de *M. pubescens* permitiu o isolamento de sete metabólitos secundários: meleína (**MP01**), estigmasterol (**MP02**), escopoletina (**MP03**) eriodictiol (**MP04**), cleomiscosina A (**MP05**), lophirona A (**MP06**) e proantocianidina A<sub>2</sub> (**MP07**). O conjunto de dados físicos e espectroscópicos dos compostos isolados estão disponíveis no Apêndice (pág. 151-157).

#### 3.3.1 – Determinação estrutural de **MP01**

No espectro no IV de **MP01** (Fig. 9) destacam-se bandas de absorção de hidroxila ( $3348\text{ cm}^{-1}$ , estiramento de ligação O-H) e de carbonila de lactona com anel de seis membros ( $1732\text{ cm}^{-1}$ , estiramento de ligação C=O). As bandas de absorção em  $1670$  e  $1516\text{ cm}^{-1}$  (estiramento de ligação C=C), além da banda em  $814\text{ cm}^{-1}$  (deformação angular de ligação =C-H), são características de anéis aromáticos.

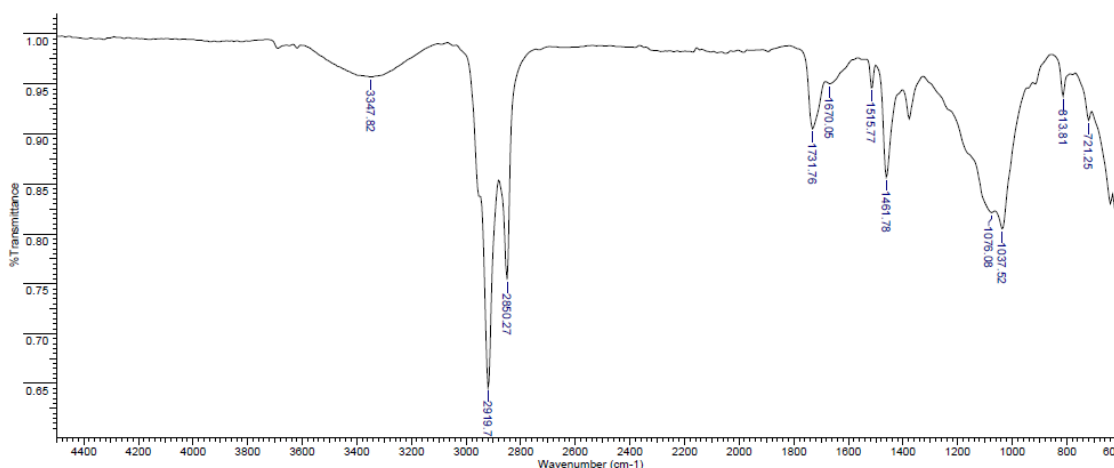


Figura 9 - Espectro no IV de **MP01** (ATR).

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Fig. 10, pág. 44) e no mapa de contornos COSY (Fig. 11, pág. 44) de **MP01** observaram-se um sistema de spin ABC formado por dupletos, em  $\delta_{\text{H}}$  6,68 (1H, d,  $J=7,5\text{ Hz}$ ) e 6,87 (1H, d,  $J=8,4\text{ Hz}$ ), e um multipeto em  $\delta_{\text{H}}$  7,37-7,41 (1H, m), que por suas características poderiam pertencer a um sistema aromático trissubstituído. Observam-se, também, um dupleto referente a hidrogênios metálicos em

$\delta_H$  1,52 (3H, d,  $J=6,4\text{Hz}$ ) e dois multipletos em  $\delta_H$  2,90-2,93 (2H, m) e  $\delta_H$  4,68-4,75 (1H, m) que sugerem uma cadeia  $\text{CH}_2\text{-CH-CH}_3$ . Ademais, foi observado um sinal em  $\delta_H$  11,01 (1H), característico de um hidrogênio de hidroxila envolvido em ligação de hidrogênio.

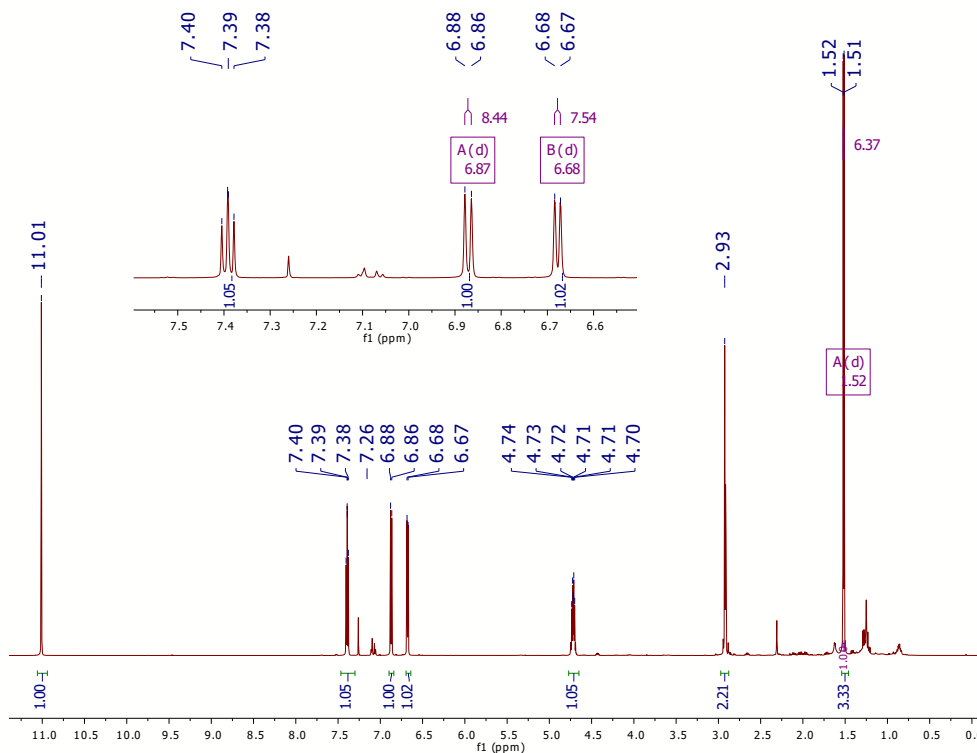


Figura 10 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de MP01 ( $\text{CDCl}_3$ , 600 MHz).

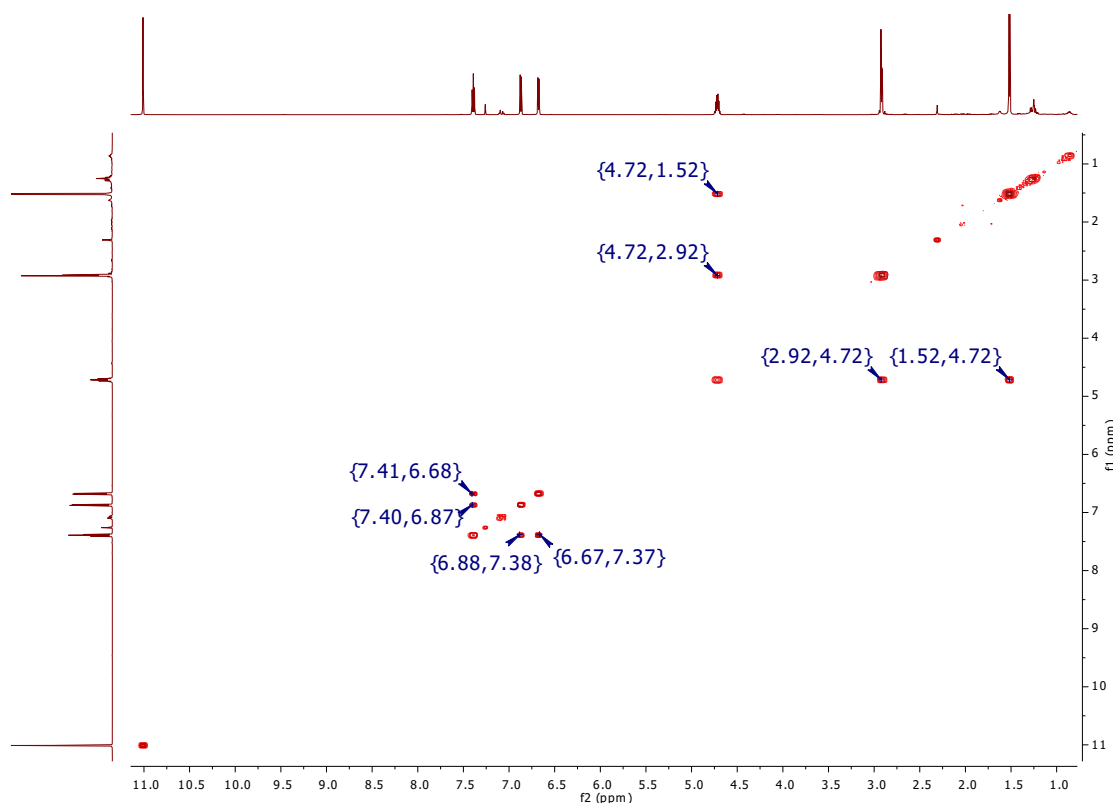


Figura 11 – Expansão do mapa de contornos COSY de MP01 ( $\text{CDCl}_3$ , 600 MHz).

A partir dos resultados anteriores e com a análise dos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  e do mapa de contornos HSQC (Fig. 12 e Fig. 13, pág. 46, respectivamente), identificaram-se sinais de dez átomos de carbono, compreendendo um átomo de carbono metílico, um átomo de carbono metilênico, cinco átomos de carbonos metínicos e quatro átomos de carbonos não hidrogenados, com destaque para o sinal em  $\delta_{\text{C}}$  170,2 referente à carbonila de um grupo éster ou lactona.

As análises dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  e dos mapas de contornos COSY e HSQC permitiram a identificação de sinais característicos de um anel aromático, de uma cadeia contendo três átomos de carbonos hidrogenados e de uma carbonila de grupo éster, que fornecem pistas sobre a natureza do metabólito secundário. A presença desses grupos aponta na direção de uma estrutura de esqueleto cumarínico para o composto **MP01**.

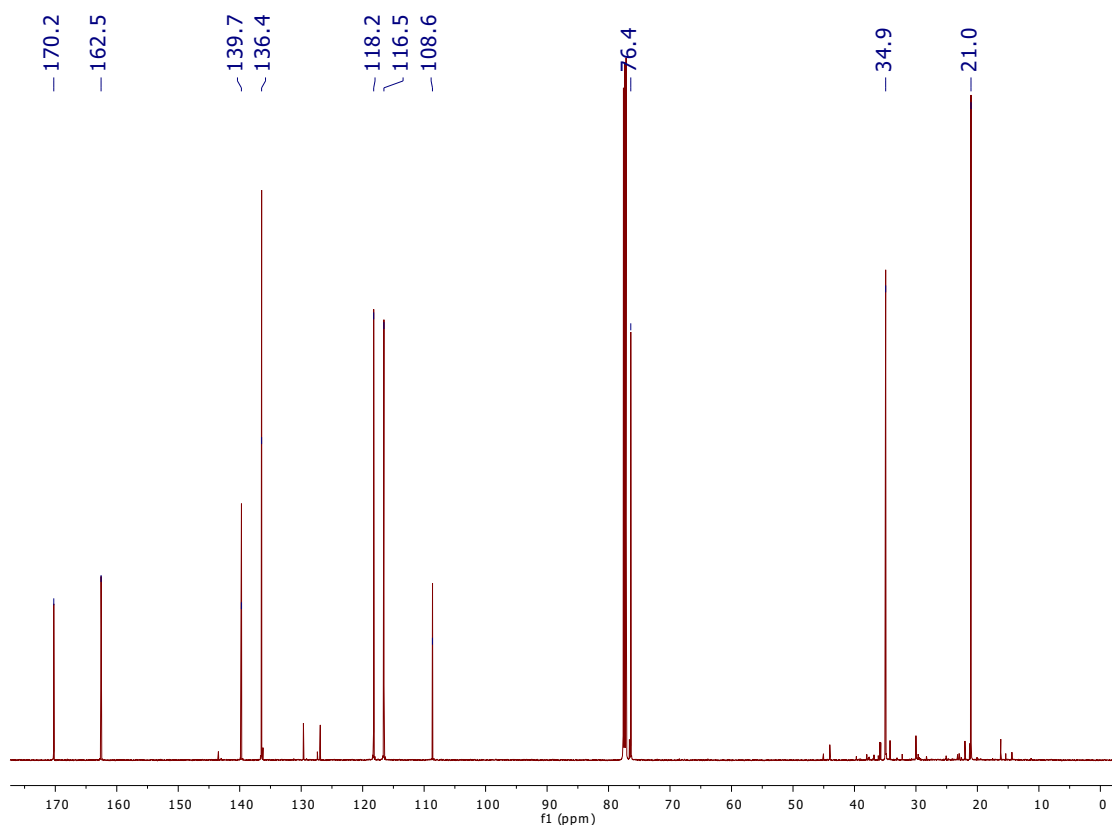


Figura 12 - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto **MP01** ( $\text{CDCl}_3$ ; 150 MHz).



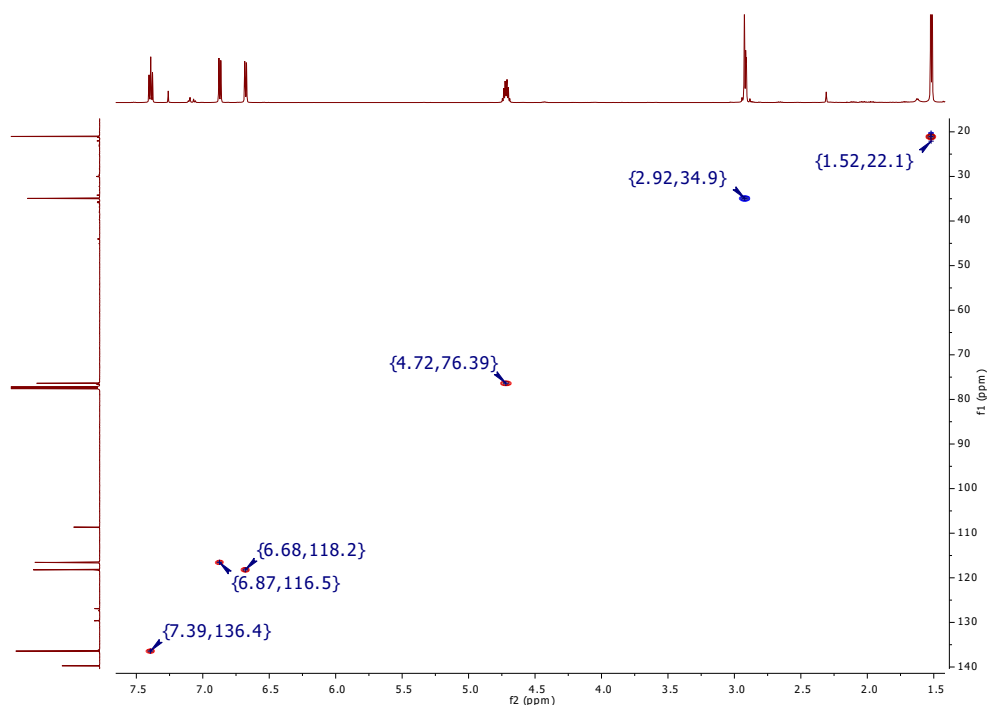


Figura 13 – Expansão do mapa de contornos HSQC do composto **MP01** (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz).

A partir da análise do mapa de contornos HMBC (Fig. 14) foi proposta a estrutura da meleína (Fig. 15, pág. 47) para o composto **MP01**. Entre as correlações observadas, destacaram-se as do hidrogênio metilênico **H4** ( $\delta_H$  2,93) com três átomos de carbono do anel aromático (**C9**  $\delta_C$  108,6, **C5**  $\delta_C$  118,2 e **C10**  $\delta_C$  139,7).

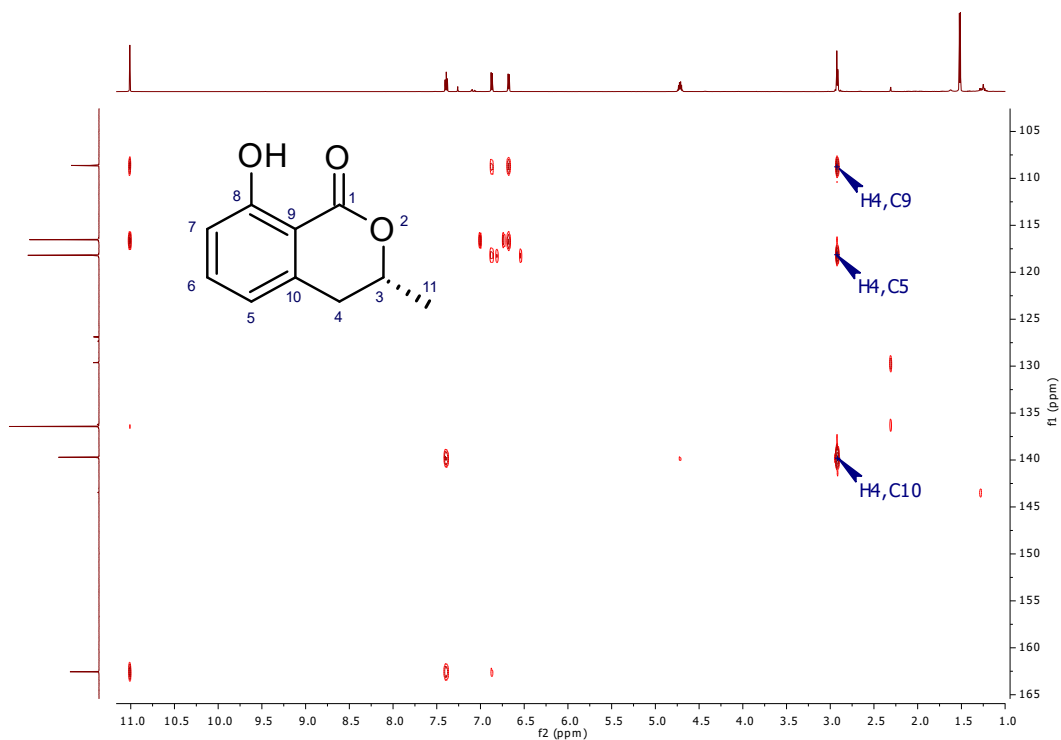


Figura 14 – Expansão do mapa de contornos HMBC do composto **MP01** (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz).

Devido a valores de deslocamento do hidrogênio **H3** ( $\delta_{\text{H}}$  4,72) e do carbono **C1** ( $\delta_{\text{C}}$  170,2), bem como a banda de absorção em  $1732\text{ cm}^{-1}$  no espectro no IV, foi proposta a existência de um segundo anel na molécula, esse lactônico.

Esses dados e a comparação dos mesmos com a literatura (Chacón-Morales *et al.*, 2013) permitiram confirmar **MP01** como a (-)-meleína (Fig. 15). A atribuição de todos os sinais é apresentada na Tabela 6. O valor absoluto da rotação ótica encontrado para **MP01** ( $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -87,9^{\circ}$  em metanol,  $c$  0,1) não foi o mesmo valor descrito na literatura para a (+)-meleína ( $[\alpha]_{\text{D}} = +92^{\circ}$  em metanol,  $c$  1,14) (Chacón-Morales *et al.*, 2013) devido à presença de impurezas e diferença das condições experimentais. No entanto, o valor encontrado indica o sentido oposto de rotação da luz plano-polarizada relatado para a (+)-meleína, que indica que **MP01** trata-se da *R*-(-)-meleína.

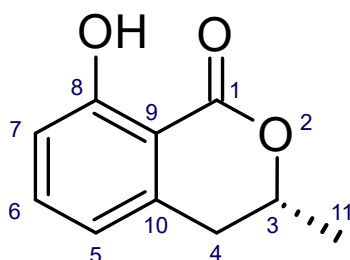


Figura 15 – Estrutura química da *R*-(-)-meleína.

Tabela 6 - Atribuição dos dados de  $\delta_{\text{H}}$  (600 MHz) e  $\delta_{\text{C}}$  (150MHz) para o composto **MP01**

N.	$\delta_{\text{H}}$ (ppm)	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)*
<b>1</b>	--	170,2	170,0
<b>3</b>	4,68-4,75 (1H, m)	76,4	76,2
<b>4</b>	2,90-2,93 (2H, m)	34,9	34,7
<b>5</b>	6,68 (1H, d, $J=7,5\text{Hz}$ )	118,2	118,0
<b>6</b>	7,37-7,41 (1H, m)	136,4	136,2
<b>7</b>	6,87 (1H, d, $J=8,4\text{Hz}$ )	116,6	116,4
<b>8</b>	--	162,6	162,3
<b>9</b>	--	108,6	108,4
<b>10</b>	--	139,7	139,5
<b>11</b>	1,52 (3H, d, $J=6,4\text{ Hz}$ )	21,0	20,9

\*dados obtidos da literatura. Análise em 100 MHz,  $\text{CDCl}_3$  (Chacón-Morales *et al.*, 2013)

A meleína e seus derivados formam uma subclasse de cumarinas. Embora sua principal fonte de obtenção sejam fungos, esses compostos podem ser obtidos a partir de

plantas e insetos (principalmente de formigas). A meleína foi isolada pela primeira vez em 1933 do fungo *Aspergillus melleus*. Esse composto possui atividade larvicida, citotóxica, inibidora de protease HCV, antifúngica e herbicida (Reveglie *et al.*, 2020).

### 3.3.2 – Determinação estrutural de **MP02**

O composto denominado **MP02** apresentou fórmula molecular  $C_{29}H_{48}O$ , determinada mediante espectrometria de massas ( $m/z$  413,3  $[M+H]^+$ ,  $m/z$  calc. 413, 3783). Segundo esse dado, **MP02** possui seis graus de insaturação. No espectro no IV de **MP02** (Fig. 16) foi observada banda em  $3410\text{ cm}^{-1}$  (estiramento de ligação O-H), característica de hidroxila, além de possíveis bandas de alcenos em  $1705\text{ cm}^{-1}$  (estiramento de ligação C=C) e  $968\text{ cm}^{-1}$  (deformação angular de ligação =C-H).

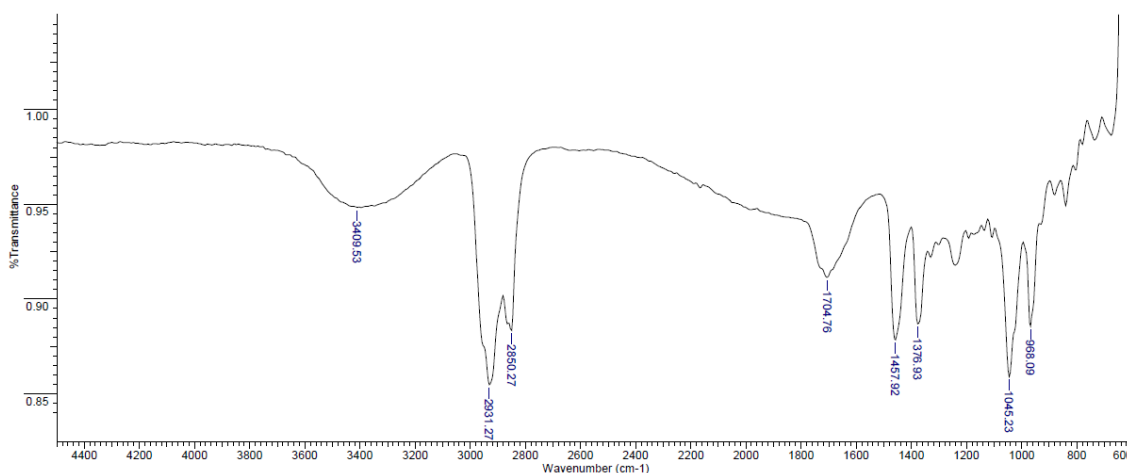


Figura 16 - Espectro de IV de **MP02** (ATR).

No espectro de RMN de  $^1H$  (Fig. 17, pág. 49) de **MP02** observou-se um multiplete em  $\delta_H$  3,48-3,56 (1H), com valor característico de sinal de átomos de hidrogênio ligado a carbono hidroxilado. Também se observaram três sinais de hidrogênios olefínicos em  $\delta_H$  5,03 (1H, dd,  $J=8,8\text{ Hz}$ ,  $J=15,1\text{ Hz}$ ),  $\delta_H$  5,16 (1H, dd,  $J=8,7\text{ Hz}$ ,  $J=15,1\text{ Hz}$ ) e  $\delta_H$  5,33-5,37 (1H, m), indicando a presença de ao menos duas ligações duplas.

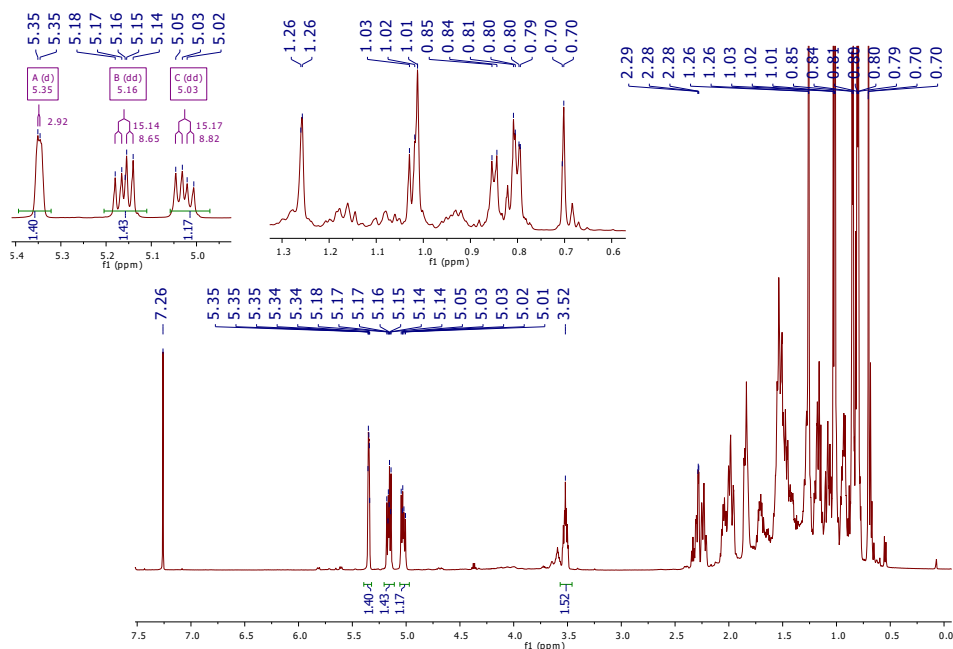


Figura 17 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do composto **MP02** ( $\text{CDCl}_3$ ; 500 MHz).

No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Fig. 18) observou-se sinais para 29 carbonos, com perfil indicativo da presença de esteroide. Os dados de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  permitiram supor a presença do estigmasterol (Fig. 19, pág. 50). Os sinais de átomos de carbono olefínicos em  $\delta_{\text{C}}$  140,7 e  $\delta_{\text{C}}$  121,7 permitiram inferir uma ligação dupla entre os carbonos **C5** e **C6**. Também se observaram os sinais característicos de átomos de carbonos olefínicos **C22** ( $\delta_{\text{C}}$  138,3) e **C23** ( $\delta_{\text{C}}$  129,3) e o carbono carbinólico (**C3**,  $\delta_{\text{C}}$  71,9). Além disso, foram observados sinais na região de metilas.

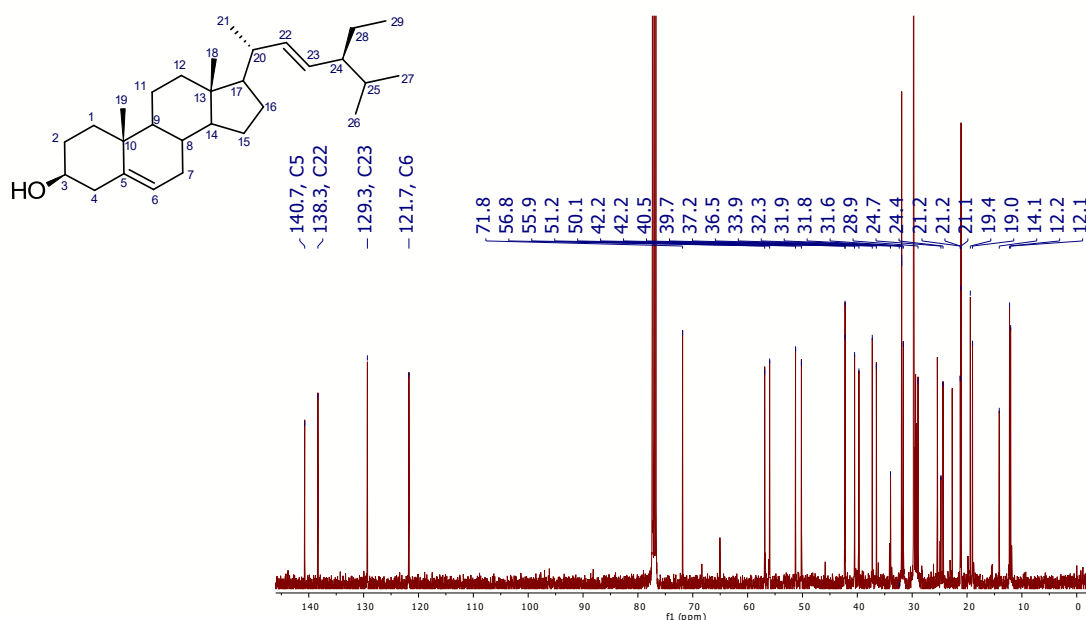


Figura 18 - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **MP02** ( $\text{CDCl}_3$ ; 150 MHz).

O conjunto dos dados de espectroscopia e a comparação dos dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  com os existentes na literatura (Forgo e Kover, 2004) permitiram a identificação do composto **MP02** como o estigmasterol (Fig. 19), um esteroide comumente isolado de fontes vegetais e amplamente conhecido. A atribuição de sinais é apresentada na Tabela 7.

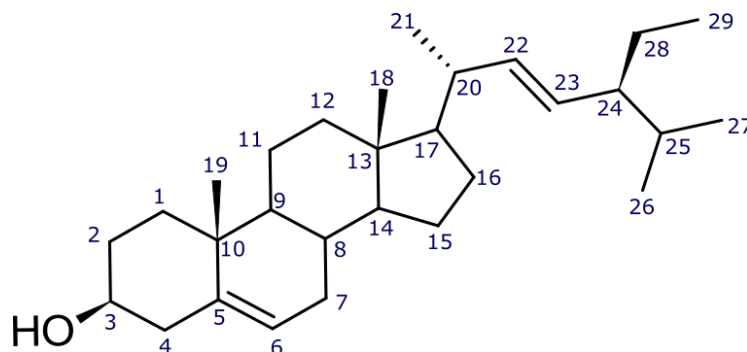


Figura 19 - Estrutura química do estigmasterol.

Tabela 7 - Atribuição dos dados  $\delta_{\text{C}}$  (150MHz) para o composto **MP02**

N.	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)*	N.	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)*
<b>1</b>	37,3	37,6	<b>16</b>	28,9	28,9
<b>2</b>	31,6	31,9	<b>17</b>	56,0	56,3
<b>3</b>	71,9	72,0	<b>18</b>	12,3	12,2
<b>4</b>	42,3	42,5	<b>19</b>	19,4	19,5
<b>5</b>	140,7	140,8	<b>20</b>	40,5	40,4
<b>6</b>	121,7	121,8	<b>21</b>	21,2	21,4
<b>7</b>	31,9	32,1	<b>22</b>	138,3	138,3
<b>8</b>	31,9	32,2	<b>23</b>	129,3	129,7
<b>9</b>	50,2	50,5	<b>24</b>	51,3	51,5
<b>10</b>	36,5	36,5	<b>25</b>	31,9	32,2
<b>11</b>	21,1	21,2	<b>26</b>	21,2	21,2
<b>12</b>	39,7	40,0	<b>27</b>	19,0	19,2
<b>13</b>	42,2	42,2	<b>28</b>	24,8	25,4
<b>14</b>	56,0	57,1	<b>29</b>	12,1	12,2
<b>15</b>	24,8	24,5			

\*dados obtidos da literatura. Análise em 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$  (Forgo e Kover, 2004)

O estigmasterol é um esteroide largamente disponível na natureza. Foi isolado pela primeira vez em 1906 de *Physostigma venenosum* e possui diversas atividades relacionadas na literatura, incluindo antiosteoartrítica, anti-hipercolesterolêmica, citotóxica, antitumoral, antimutagênica, antioxidante, anti-inflamatória, atividade sobre o sistema nervoso central, além de efeitos hipoglicemiantes. Em pesquisas mais recentes, foram demonstradas as atividades acaricida e antimicrobiana desse composto. O estigmasterol foi capaz de reduzir a proliferação de ácaros com efeitos semelhantes aos do fenolvalerato, um inseticida sintético (Kaur *et al.*, 2011, Nong *et al.*, 2017, Yusuf *et al.*, 2018).

### 3.3.3 – Determinação estrutural de **MP03**

**MP03** apresentou fórmula molecular  $C_{10}H_8O_4$ , determinada mediante espectrometria de massas ( $m/z$  215,0319  $[M+Na]^+$ ,  $m/z$  calc. 215,0309), o que indica sete graus de insaturação para essa molécula. No espectro no IV de **MP03** (Fig. 20) foi observada banda em  $3429\text{ cm}^{-1}$  de estiramento de ligação O-H, indicativa da presença de grupo hidroxila. Também se observaram bandas de intensidade média em  $1705\text{ cm}^{-1}$  (estiramento de ligação C=C) e fracas em  $802\text{ cm}^{-1}$  (deformação angular de ligação =C-H) e  $1597\text{ cm}^{-1}$  e  $1647\text{ cm}^{-1}$  (estiramento de ligação C=C de anel aromático), indicativas da presença de anel aromático.

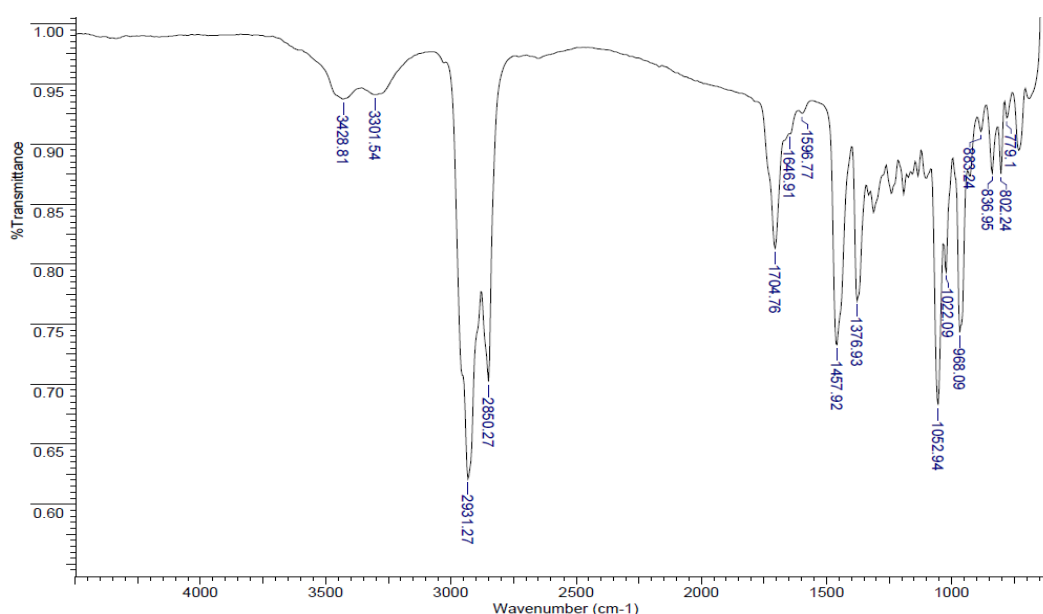


Figura 20 - Espectro de IV de **MP03** (ATR).

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Fig. 21) de **MP03** pode ser observado um sistema de spin AM, formado por dois dupletos em  $\delta_{\text{H}}$  6,27 (1H, d,  $J=9,5$  Hz) e  $\delta_{\text{H}}$  7,60 (1H, d,  $J=9,5$  Hz), característicos de átomos de hidrogênios vicinais à átomos de carbono de uma ligação dupla *cis*. Além disso, são observados sinais para dois hidrogênios aromáticos em  $\delta_{\text{H}}$  6,85 (1H, s) e  $\delta_{\text{H}}$  6,92 (1H, s), que sugere um sistema aromático tetrassubstituído, com hidrogênios em posição *para*. Também se observou um sinal em  $\delta_{\text{H}}$  3,96 (3H, s) característico de um grupo metoxila.

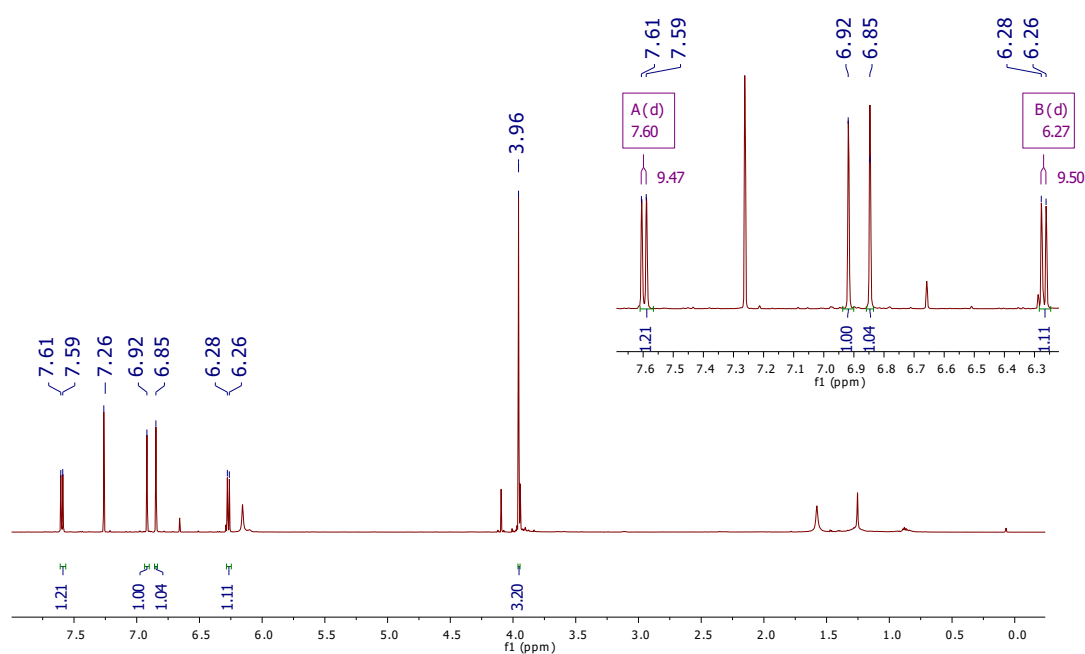


Figura 21 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **MP03** ( $\text{CDCl}_3$ ; 500 MHz).

No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **MP03** se observaram sinais referentes a dez átomos de carbono. A análise do espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  e do mapa de contornos HSQC (Fig. 22 e Fig. 23, pág. 53) permitiu identificar sinais referentes a um átomo de carbono metílico, quatro átomos de carbono metínicos e cinco átomos de carbonos não hidrogenados, incluindo um átomo de carbono carbonílico. Os deslocamentos de  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  permitiram inferir a presença de um anel aromático, um derivado de ácido carboxílico ( $\delta_{\text{C}}$  161,4) e uma ligação dupla ( $\delta_{\text{C}}$  113,4 e  $\delta_{\text{C}}$  143,3), somando sete graus de insaturação, indicando que **MP03** deve apresentar um anel aromático. A necessidade de um anel adicional, considerando o número de insaturações da molécula, e a análise de CCD, revelada com luz ultravioleta a 254 nm, que apresentou uma mancha azul claro, permitiram propor que **MP03** possui esqueleto básico de cumarina.

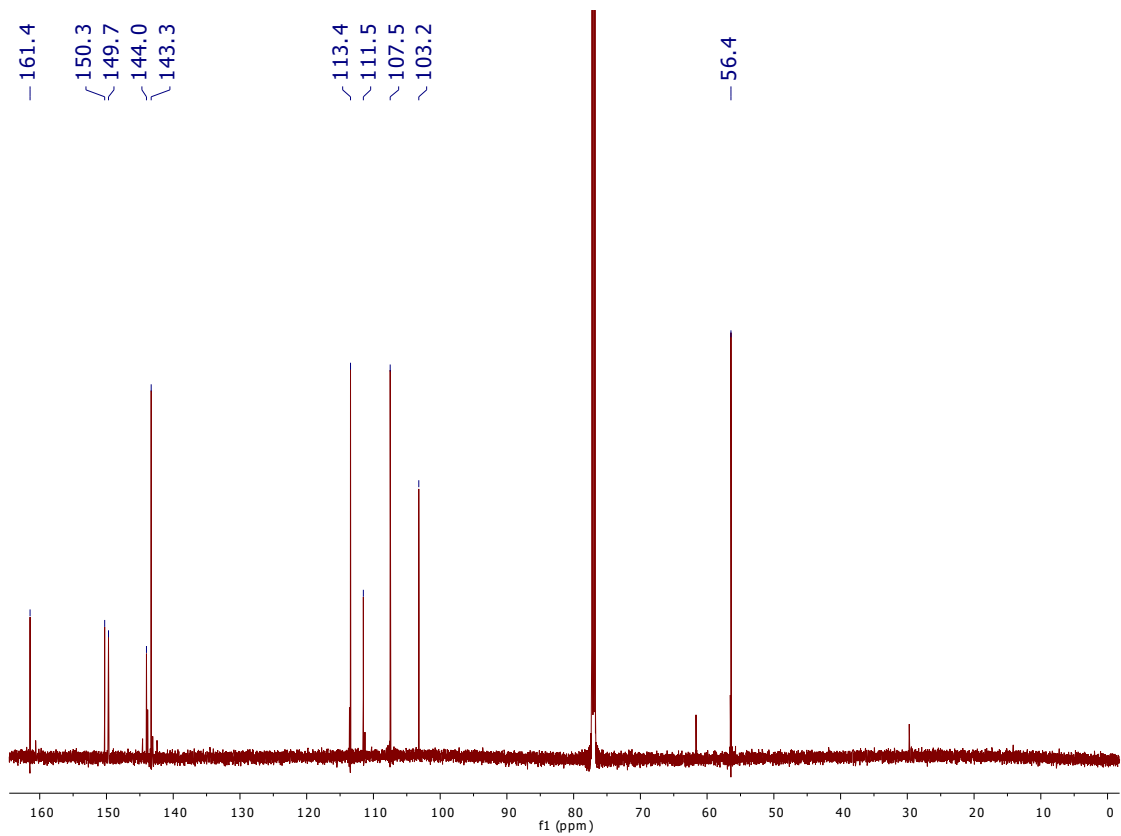


Figura 22 - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **MP03** ( $\text{CDCl}_3$ ; 150 MHz).

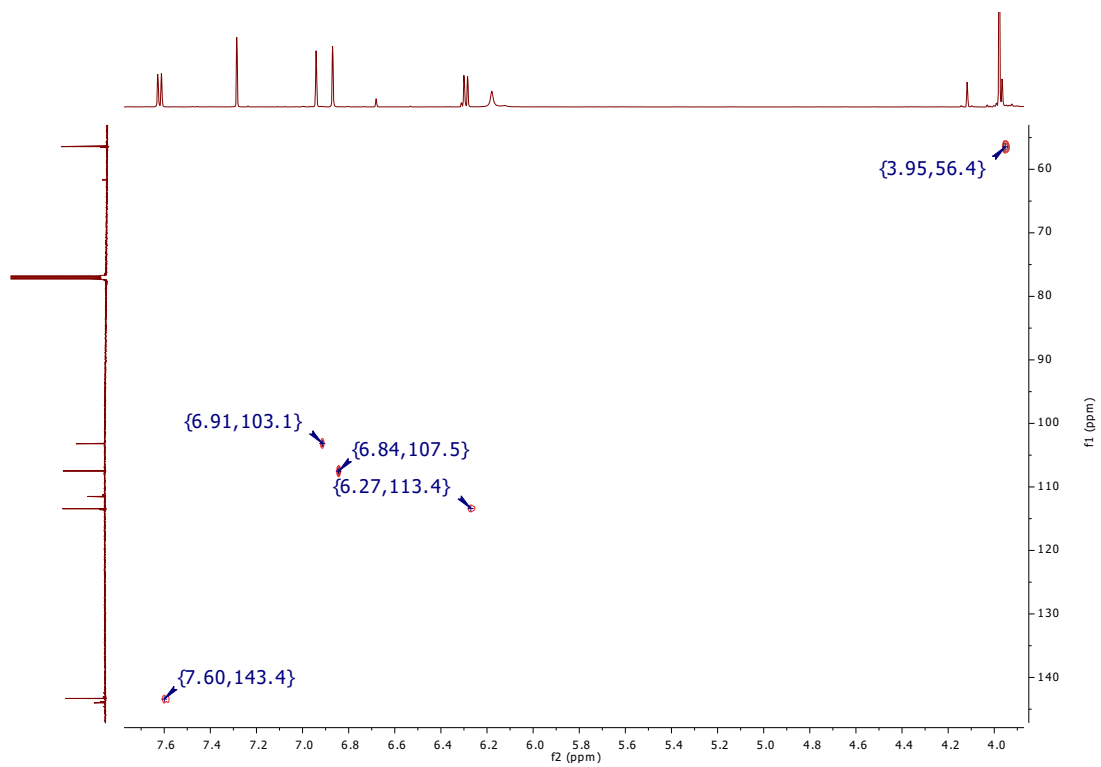


Figura 23 - Expansão do mapa de contornos HSQC de **MP03** ( $\text{CDCl}_3$ ; 600 MHz).



A análise do conjunto desses dados permitiu propor a estrutura do composto **MP03** como da cumarina monometoxilada (Fig. 25, pág. 55), estrutura confirmada a seguir pela análise do mapa de contornos HMBC. O esqueleto básico de cumarinas possui nove átomos de carbonos com esqueletos C6-C3. Na estrutura proposta, o sistema C6 é um anel aromático e a unidade C3 é uma lactona  $\alpha,\beta$ -insaturada.

No mapa de contornos HMBC (Fig. 24) observaram-se sinais referentes às correlações do átomo de hidrogênio **H4** ( $\delta_H$  7,60) com os átomos de carbono em  $\delta_C$  107,5 (**C5**) e  $\delta_C$  161,5 (**C2**). O átomo de hidrogênio **H5** ( $\delta_H$  6,85) apresentou correlações com os sinais em  $\delta_C$  143,3 (**C4**),  $\delta_C$  144,0 (**C6**),  $\delta_C$  149,7 (**C9**) e  $\delta_C$  150,3 (**C7**). Essas correlações permitiram determinar a ligação entre os dois anéis da molécula.

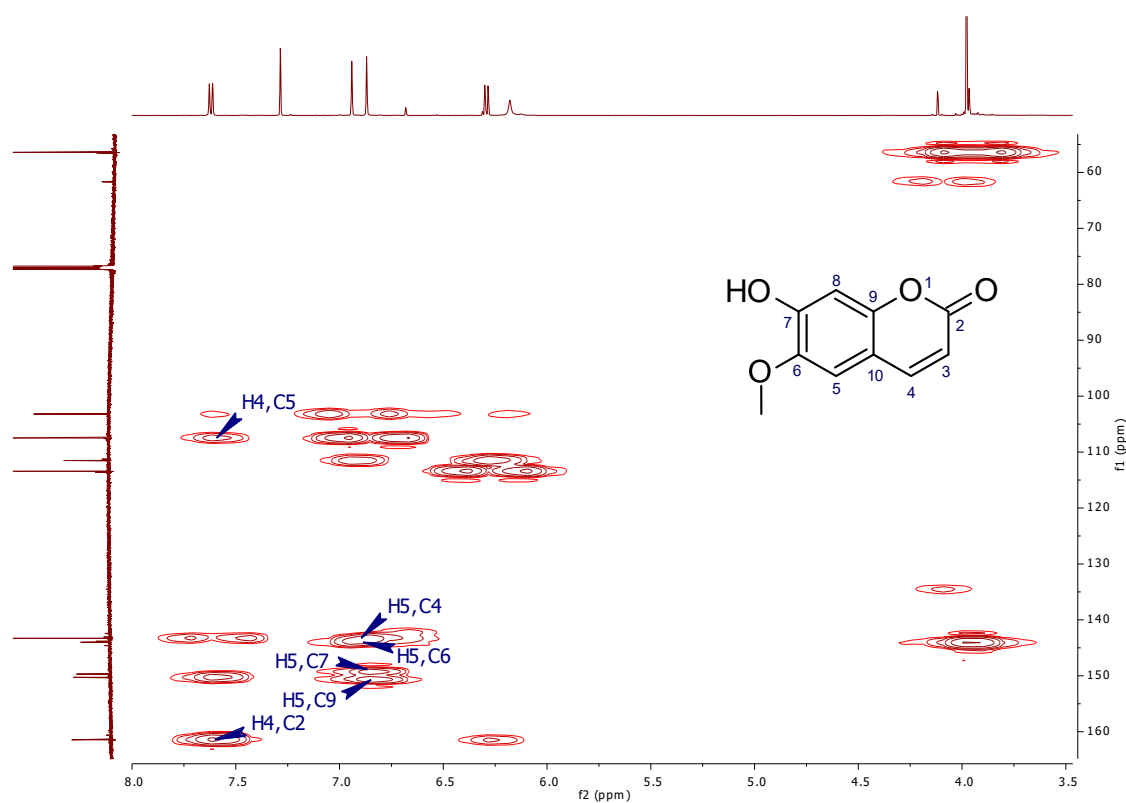


Figura 24 – Expansão do mapa de contornos HMBC de **MP03** (CDCl<sub>3</sub>; 600 MHz).

Esses dados e a comparação com os dados da literatura (Jerezano *et al.*, 2011) permitiram estabelecer a estrutura de **MP03** como escopoletina (Fig. 25, pág. 55). A atribuição de todos os sinais é apresentada na Tabela 8 (pág. 55).

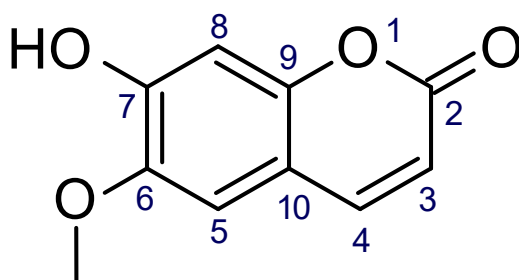


Figura 25 – Estrutura química da escopoletina.

Tabela 8 - Atribuição dos dados de  $\delta_H$  (600 MHz) e  $\delta_C$  (150MHz) para o composto **MP03**

N.	$\delta_H$ (ppm)	$\delta_C$ (ppm)	$\delta_C$ (ppm)*
2	---	161,5	161,5
3	6,27 (1H, d, $J=9,5$ Hz)	113,4	112,2
4	7,60 (1H, d, $J=9,5$ Hz)	143,3	143,5
5	6,85 (1H, s)	107,5	108,0
6	---	144,0	145,0
7	---	150,3	150,7
8	6,92 (1H, s)	103,2	103,2
9	---	149,7	149,9
10	---	111,5	110,8
OMe	3,96 (3H, s)	56,4	59,1

\*dados obtidos da literatura. Análise em 125 MHz, DMSO- $d_6$  (Jerezano *et al.*, 2011)

A escopoletina é uma cumarina fenólica isolada a partir de muitas plantas. A bioacumulação de escopoletina em vegetais é frequentemente correlacionada com ataques microbianos e outros fatores estressantes. Este composto possui algumas atividades biológicas relatadas, entre elas, antibacteriana, antifúngica, anticonvulsiva, anti-inflamatória e antirreumática. Além disso, em testes de apoptose de células SH-SY5Y, foi demonstrado que essa cumarina é capaz de atenuar efeitos de neurodegeneração (Gnonlonfin *et al.*, 2012, Zhou *et al.*, 2019b, Gay *et al.*, 2020).

### 3.3.4 – Determinação estrutural de **MP04**

**MP04** apresentou fórmula molecular  $C_{15}H_{12}O_6$ , determinada mediante espectrometria de massas ( $m/z$  287,0559  $[M-H]^+$ ,  $m/z$  calc. 287,0561). A fórmula leva a

uma substância que possui dez graus de insaturação. No espectro no IV de **MP04** (Fig. 26) observou-se a banda de hidroxilas ( $3336\text{ cm}^{-1}$ , estiramento de ligação O-H). Além disso, as bandas observadas em  $860\text{ cm}^{-1}$  e  $775\text{ cm}^{-1}$  (deformação angular de ligação =C-H) indicam a presença de anel aromático na estrutura da molécula.

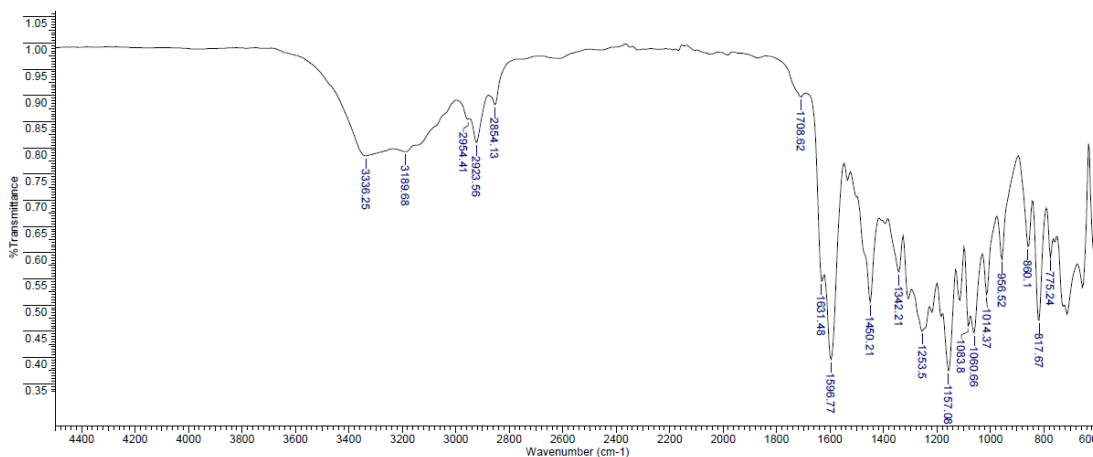


Figura 26 - Espectro de IV de **MP04** (ATR).

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **MP04** (Fig. 27, pág. 57) observou-se um sistema de spin  $\text{AX}_2$ , formado por átomos de hidrogênio com sinais em  $\delta_{\text{H}} 2,73$  (1H, dd,  $J=3,0$  Hz,  $J=17,1$  Hz),  $3,05$  (1H, dd,  $J=13,0$  Hz,  $J=17,1$  Hz) e  $\delta_{\text{H}} 5,26$  (1H, dd,  $J=3,0$  Hz,  $J=13,0$  Hz). Além disso, sinais de dois átomos de hidrogênio observados em  $\delta_{\text{H}} 6,02$  (1H, d,  $J=2,2$  Hz) e  $\delta_{\text{H}} 6,05$  (1H, d,  $J=2,2$  Hz) sugeriram um sistema aromático 1,2,4,6-tetrassubstituído, com hidrogênios em posições *meta*. No espectro também foram observados sinais pertencentes a um segundo anel aromático trissubstituído em  $\delta_{\text{H}} 6,82$  (1H, dd,  $J=2,2$  Hz,  $J=8,1$  Hz),  $\delta_{\text{H}} 6,91$  (1H, d,  $J=8,1$  Hz) e  $\delta_{\text{H}} 7,01$  (1H, d,  $J=2,2$  Hz). Ademais, se observou um sinal em  $\delta_{\text{H}} 12,07$  (1H, s). Esse sinal é característico de um hidrogênio fenólico desblindado por ligação de hidrogênio intramolecular em flavonoides com carbonila na posição C4. A presença de dois anéis aromáticos, do sistema  $\text{AX}_2$  e, sobretudo, do sinal em  $\delta_{\text{H}} 12,07$  do átomo de hidrogênio fenólico sugerem que **MP04** é um flavonoide com esqueleto básico de flavanona.

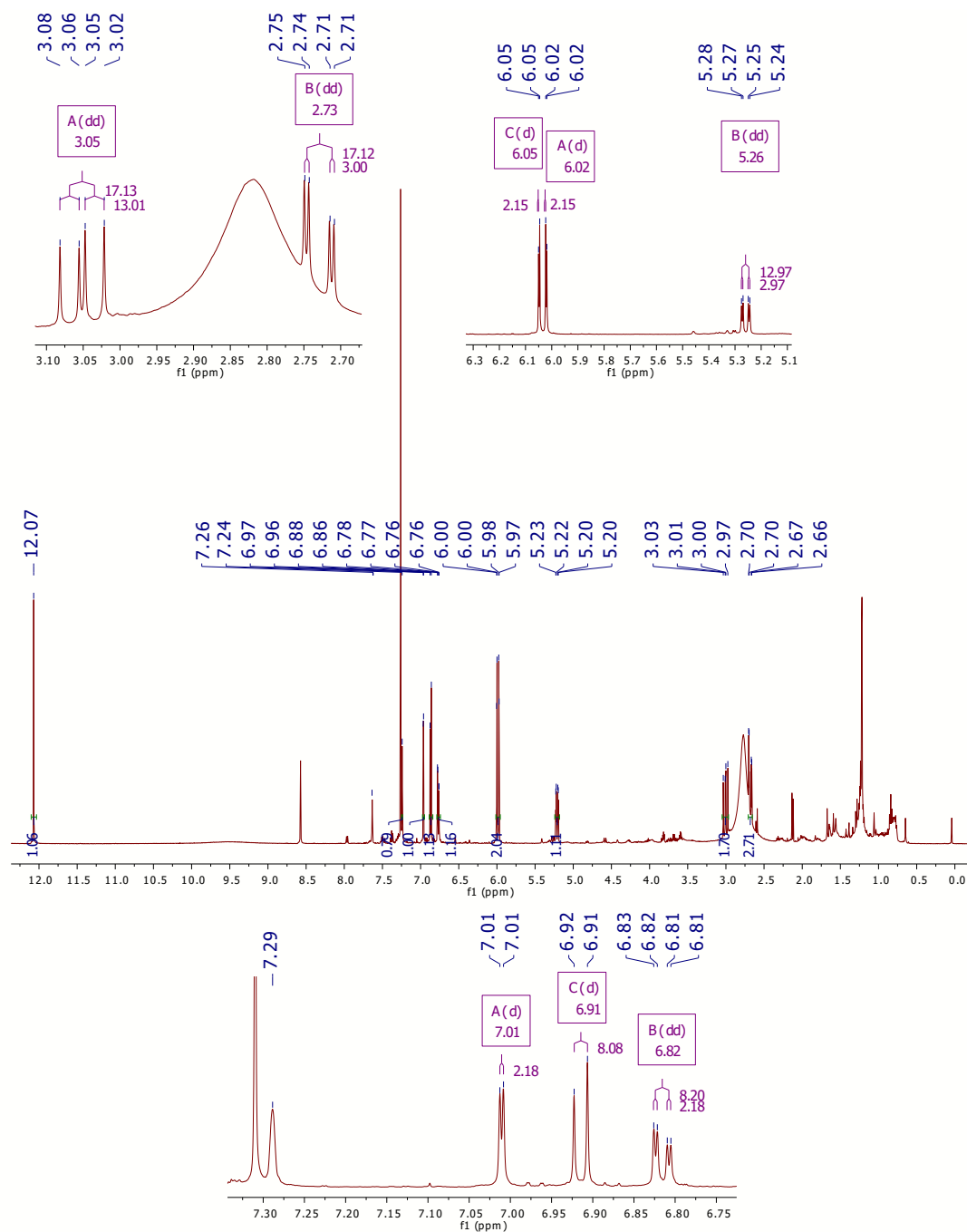


Figura 27 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **MP04** e expansões do espectro ( $\text{CDCl}_3$  + piridina- $d_5$ ; 600 MHz).

A análise do espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Fig. 28, pág. 58) e do mapa de contornos HSQC (Fig. 29, pág. 58) permitiu inferir e classificar 15 átomos de carbono, sendo, um átomo de carbono metilênico, seis átomos de carbonos metínicos e oito átomos de carbono não hidrogenados, incluindo um átomo de carbono carbonílico, destacando os sinais característicos da unidade C3, sendo a carbonila (**C4**) em  $\delta_{\text{C}}$  195,7, e os átomos de carbono **C2** e **C3** em  $\delta_{\text{C}}$  79,1 e  $\delta_{\text{C}}$  43,1.

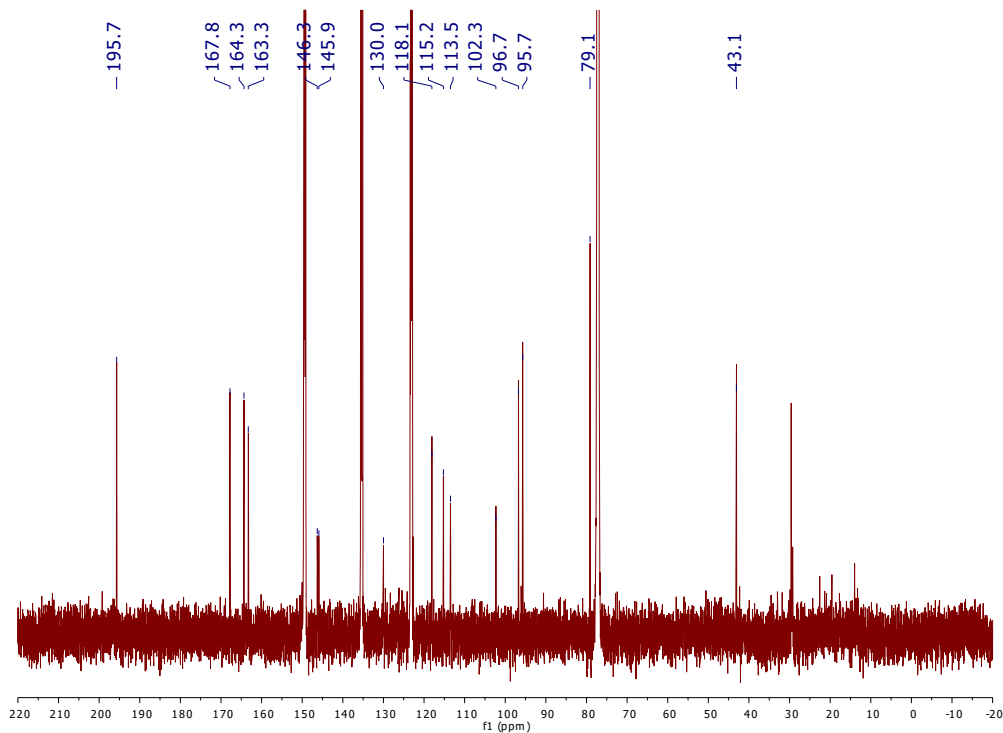


Figura 28 - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **MP04** ( $\text{CDCl}_3$  + piridina- $d_5$ ; 150 MHz).

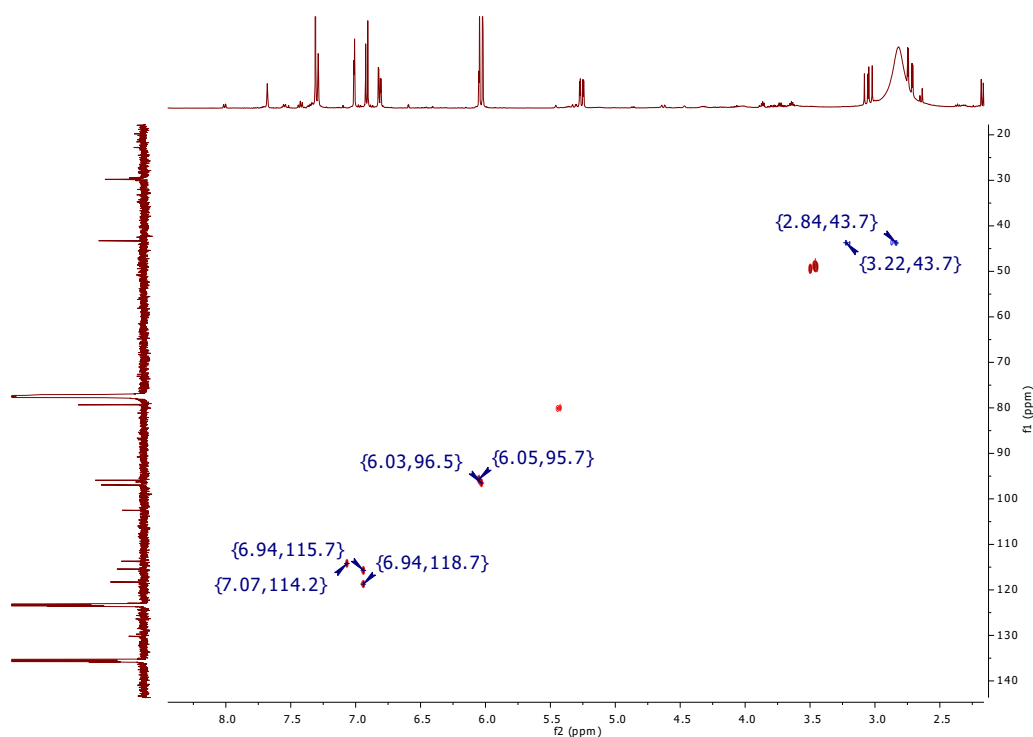


Figura 29 – Expansão do mapa de contornos HSQC do composto **MP04** ( $\text{CDCl}_3$  + piridina- $d_5$ ; 600 MHz).

O valor da rotação óptica encontrada para **MP04** ( $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -19,7^\circ$  em metanol,  $c$  0,1) não foi idêntico ao valor descrito na literatura para o eriodictiol ( $[\alpha]_{\text{D}} = -1,9^\circ$  em metanol,

*c* 0,5) (Zhang *et al.*, 2006) devido à presença de impurezas e diferença das condições experimentais. Apesar disso, os valores encontrados indicam o mesmo sentido de rotação da luz plano-polarizada, que sugerem a configuração *S* para o composto isolado. Esses dados e a comparação com os dados da literatura (Zhang *et al.*, 2006) permitiram estabelecer a estrutura de **MP04** como o *S*-(-)-eriodictiol (Fig. 30). A atribuição dos sinais é apresentada na Tabela 9.

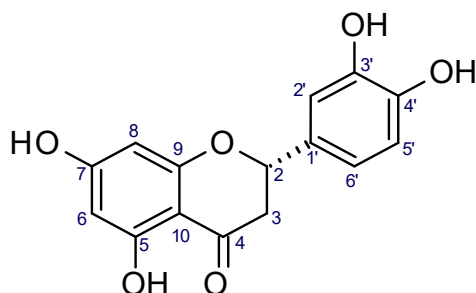


Figura 30 – Estrutura química do *S*-(-)-eriodictiol.

Tabela 9 - Atribuição dos dados de  $\delta_H$  (600 MHz) e  $\delta_C$  (150MHz) para o composto **MP04**

N.	$\delta_H$ (ppm)	$\delta_C$ (ppm)	$\delta_C$ (ppm)*
2	5,26 (dd, 1H, $J=3,0$ Hz, $J=13,0$ Hz)	79,1	79,5
3	2,73 (dd, 1H, $J=3,0$ Hz, $J=17,1$ Hz); 3,05 (dd, 1H, $J=13,0$ Hz, $J=17,1$ Hz)	43,1	43,1
4	---	195,7	196,8
5	---	164,3	164,3
6	6,05 (d, 1H, $J=2,2$ Hz)	95,7	95,1
7	---	167,8	167,3
8	6,02 (d, 1H, $J=2,2$ Hz)	96,7	96,1
9	---	163,3	163,8
10	---	102,3	102,3
1'	---	130,0	130,8
2'	7,01 (d, 1H, $J=2,2$ Hz)	113,5	113,7
3'	---	146,3	145,9
4'	---	145,9	145,5
5'	6,91 (d, 1H, $J=8,1$ Hz)	115,2	115,2
6'	6,82 (dd, 1H, $J=2,2$ Hz, $J=8,1$ Hz)	118,1	118,2
OH	12,07 (s)	---	---

\*dados obtidos da literatura. Análise em 150 MHz, CD<sub>3</sub>OD (Zhang *et al.*, 2006)

O eriodictiol é um flavonoide da subclasse das flavanonas. Estudos apontam que este composto possui ação antioxidante, anti-inflamatória, anticancerígena, neuroprotetora, cardioprotetora, antidiabética, antiobesidade e hepatoprotetora. Trabalhos recentes relatam que essa substância promove um efeito neuroprotetor, capaz de reduzir inflações induzidas por lipopolissacarídeos (He *et al.*, 2019, Islam *et al.*, 2020).

### 3.3.5 – Determinação estrutural de **MP05**

**MP05** apresentou fórmula molecular  $C_{20}H_{18}O_8$ , determinada mediante espectrometria de massas ( $m/z$  409,0901 [M + Na]<sup>+</sup>,  $m/z$  calc. 409,0894). Essa fórmula indica um composto com 12 graus de insaturação. No espectro no IV de **MP05** (Fig. 31) observa-se a banda em  $3440\text{ cm}^{-1}$  de estiramento de ligação O-H de grupo hidroxila. As bandas em  $3082\text{ cm}^{-1}$  e  $3008\text{ cm}^{-1}$  indicam a presença de alceno e/ou anel aromático. Bandas em  $852\text{ cm}^{-1}$  e  $818\text{ cm}^{-1}$  (deformação angular de ligação =C-H) indicam a presença de anel aromático. Também se observa a banda de estiramento da ligação C=O de carbonila em  $1697\text{ cm}^{-1}$ .

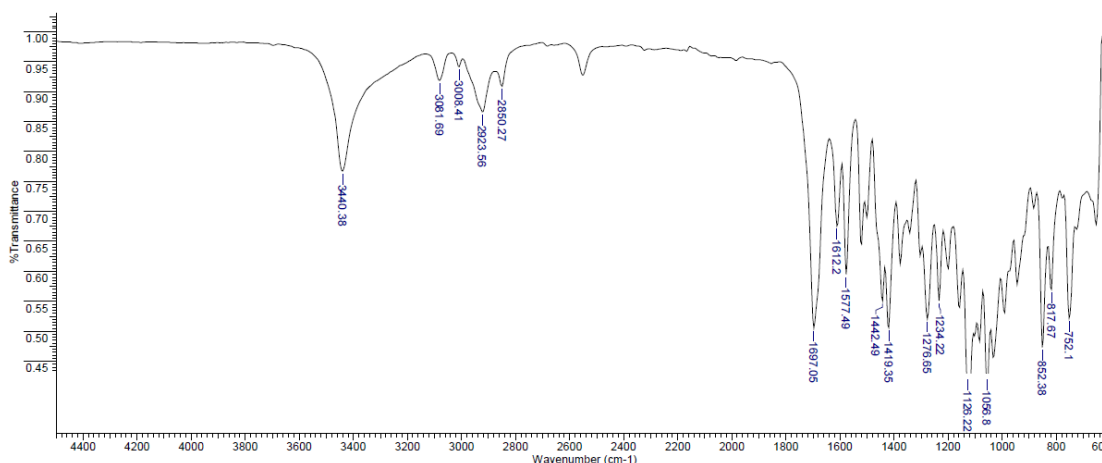


Figura 31 - Espectro no IV de **MP05** (ATR).

A análise do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  e do mapa de contornos COSY (Fig. 32 e Fig. 33, respectivamente, pág. 61-62) indicou a presença de três sistemas de spin. Primeiro, um sistema ABCM com sinais de átomos de hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  3,59 (1H, dd,  $J=3,8\text{ Hz}$ ,  $J=12,6\text{ Hz}$ ),  $\delta_{\text{H}}$  3,90 (1H, dd,  $J=2,6\text{ Hz}$ ,  $J=12,6\text{ Hz}$ ),  $\delta_{\text{H}}$  4,21-4,25 (1H, m) e  $\delta_{\text{H}}$  5,09 (1H, d,  $J=8,1\text{ Hz}$ ), e um segundo sistema ABC correspondente a um anel aromático 1,3,4-trissubstituído com sinais de átomos de hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  6,91 (1H, d,  $J=8,1\text{ Hz}$ ),  $\delta_{\text{H}}$  6,99 (1H, dd,  $J=2,0\text{ Hz}$ ,  $J=8,1\text{ Hz}$ ) e  $\delta_{\text{H}}$  7,09 (1H, d,  $J=2,0\text{ Hz}$ ). Uma análise comparativa desses dois sistemas com dados descritos na literatura indica a presença de

uma unidade C6-C3 correspondente ao álcool coniferílico. Por outro lado, sinais para dois hidrogênios de um sistema AM em  $\delta_H$  6,31 (1H, d,  $J=9,5$  Hz) e  $\delta_H$  7,87 (1H, d,  $J=9,5$  Hz) e o sinal para um hidrogênio aromático em  $\delta_H$  6,81 (1H, s) indicam a presença de uma unidade de cumarina. Todos esses dados indicam que **MP05** é formado por uma unidade de álcool coniferílico e uma unidade de cumarina (Fig. 40, pág. 67).

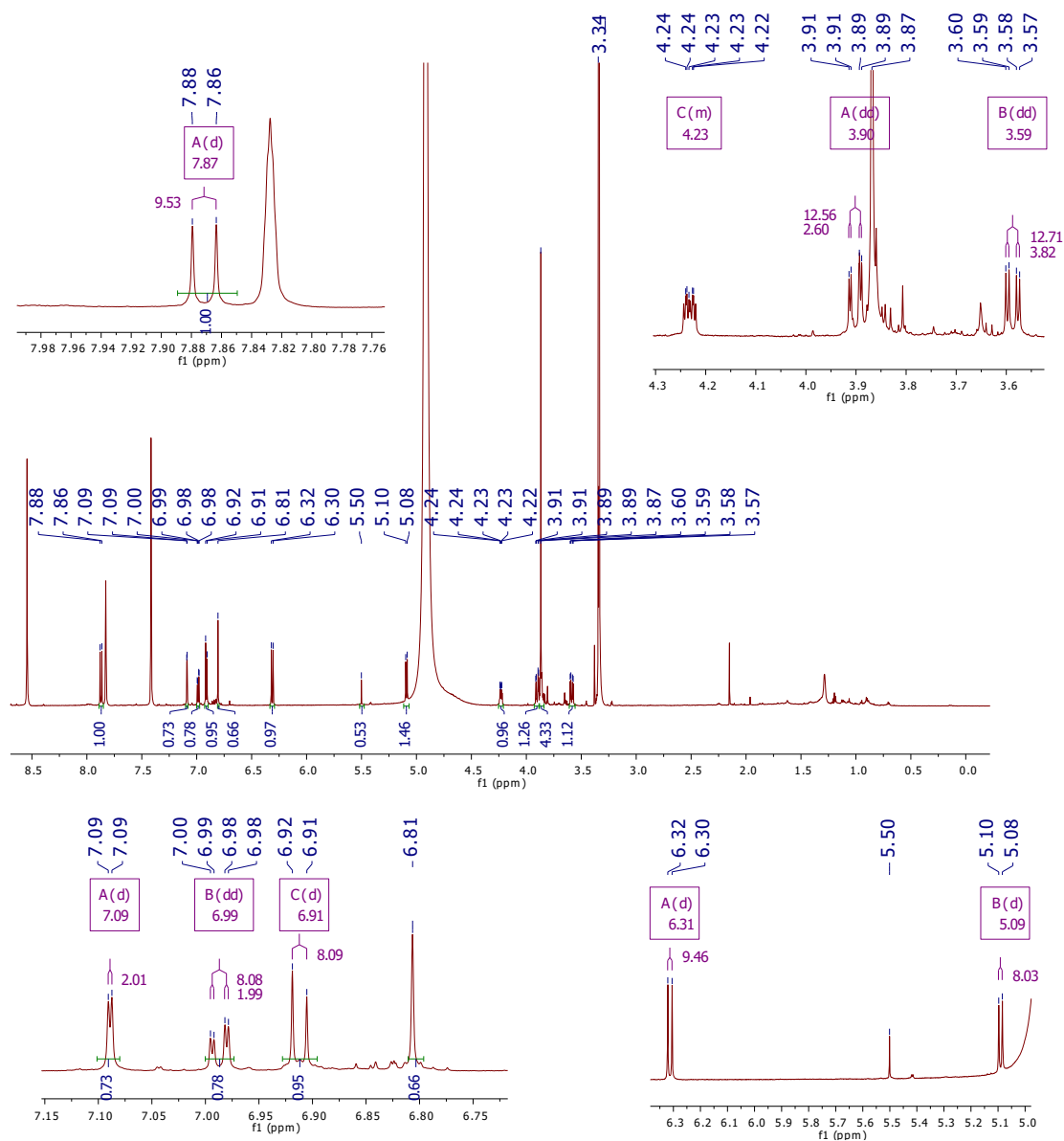


Figura 32 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de MP05 ( $\text{CD}_3\text{OD} + \text{piridina-}d_5$ ; 600 MHz).



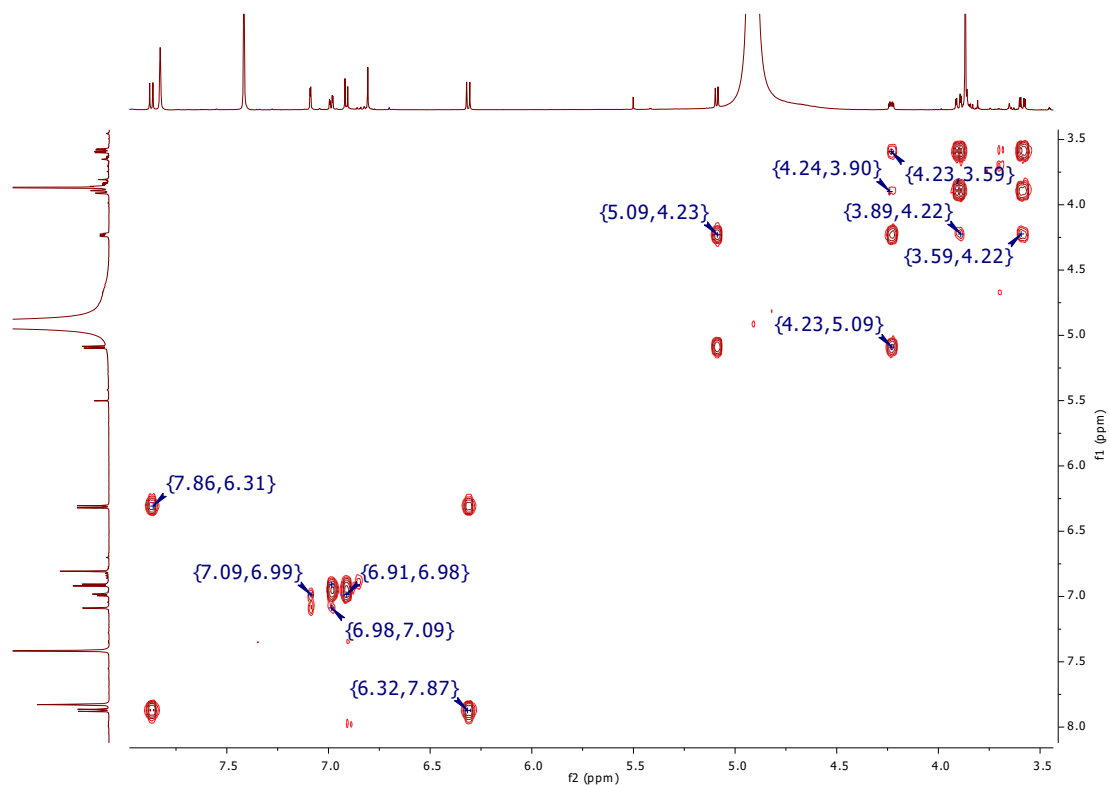


Figura 33 – Expansão do mapa de contornos COSY de **MP05** ( $\text{CD}_3\text{OD}$  + piridina- $d_5$ ; 600 MHz).

A análise do espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  e mapa de contornos HSQC (Fig. 34 e Fig. 35, pág. 63) permitiu a identificação de sinais para 20 carbonos, distribuídos da seguinte forma: um átomo de carbono carbonílico, dois átomos de carbono metílicos, um átomo de carbono metilênico, oito átomos de carbono metínicos e oito átomos de carbono não hidrogenados.

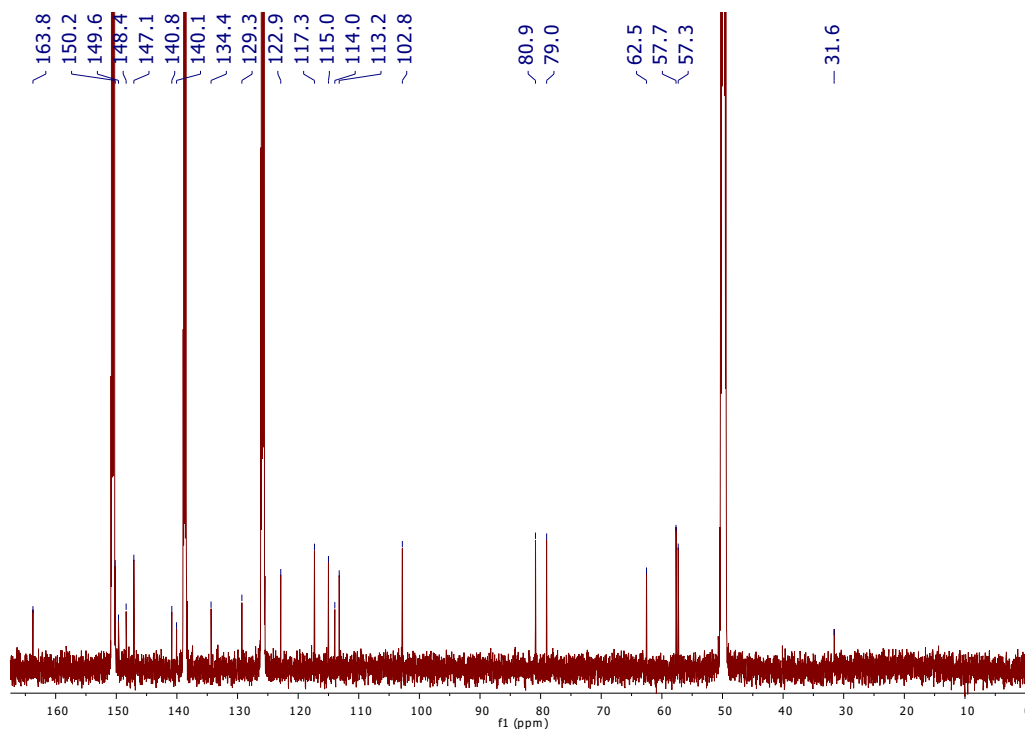


Figura 34 - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **MP05** ( $\text{CD}_3\text{OD}$  + piridina- $d_5$ ; 150 MHz).

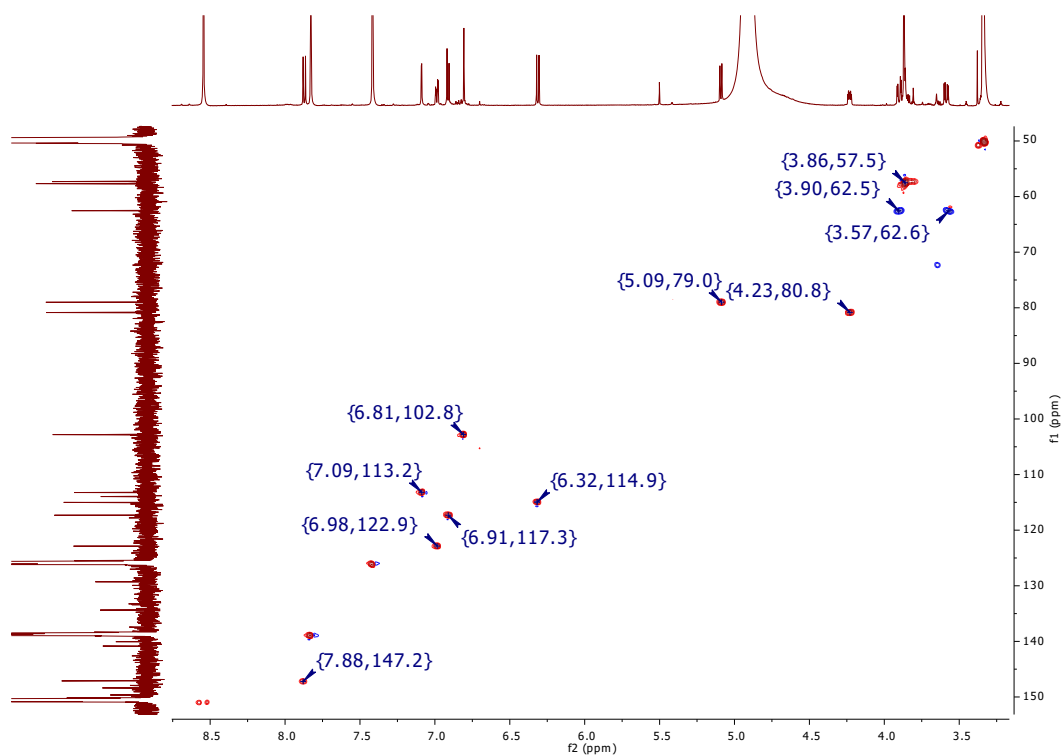


Figura 35 – Expansão do mapa de contorno HSQC de **MP05** ( $\text{CD}_3\text{OD}$  + piridina- $d_5$ ; 600 MHz).

Os resultados observados permitiram confirmar a estrutura que é constituída por um derivado do álcool coniferílico ligado a uma cumarina (Fig. 36, pág. 64) para o

composto **MP05**, reforçada pela análise do mapa de contornos HMBC, a seguir. O sinal do átomo de hidrogênio do sistema AM em  $\delta_H$  6,31 (**H3**) apresenta correlação com o sinal de átomo de carbono carbonílico ( $\delta_C$  163,7, **C2**) e com o carbono aromático em  $\delta_C$  113,9 (**C10**), dados que confirmam a estrutura da subunidade de cumarina. O sistema de cumarina proposto possui sete graus de insaturação e dez átomos de carbono, as correlações encontradas podem ser observadas em destaque na Figura 36 e no mapa de contornos HMBC (Fig. 37).

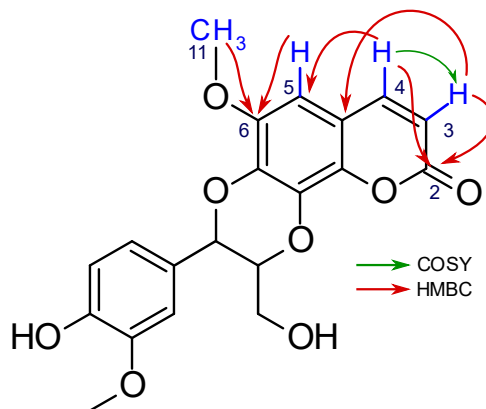


Figura 36 – Estrutura química de **MP05**, com destaque para correlações observadas em experimentos HMBC e COSY da-subunidade de cumarina.

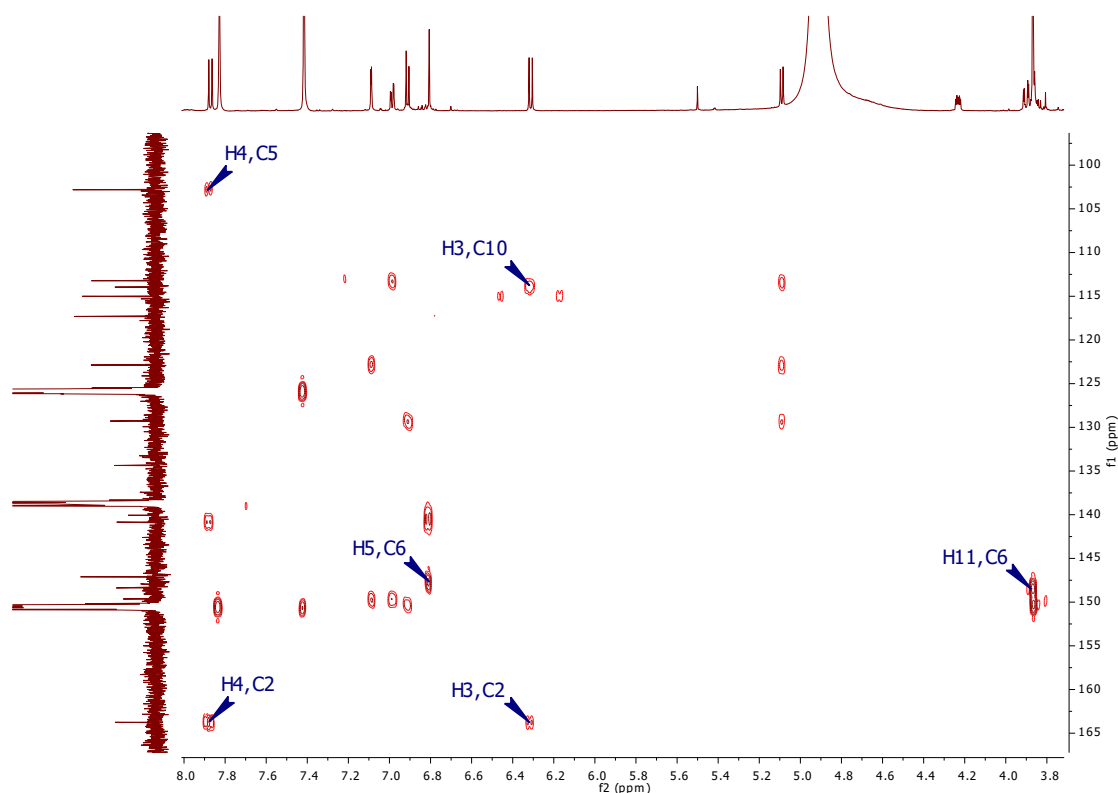


Figura 37 - Expansão do mapa de contornos HMBC de **MP05** ( $CD_3OD + \text{piridina-}d_5$ ; 600 MHz), com destaque para as correlações do sistema cumarina.

Os dados do mapa de contornos HMBC também confirmam a subunidade derivada do álcool coniferílico. Como correlações mais características destacam-se aquelas do sinal do átomo de hidrogênio benzílico **H7'** ( $\delta_H$  5,09) com os átomos de carbono **C1'** ( $\delta_C$  129,3), **C2'** ( $\delta_C$  113,2) e **C6'** ( $\delta_C$  122,9). Esses dados permitiram fixar a posição da unidade C3 no anel aromático. Essa subunidade C3 contém os átomos de hidrogênio do sistema ABCM, cujos sinais foram observados no mapa de contornos COSY ( $\delta_H$  3,59,  $\delta_H$  3,90,  $\delta_H$  4,23 e  $\delta_H$  5,09). Outro substituinte do anel aromático foi inferido a partir do acoplamento dos sinais dos átomos de hidrogênio da metoxila ( $\delta_H$  3,86, **H10'**) com **C3'** ( $\delta_C$  150,2) no mapa de contornos HMBC. Um grupo hidroxila foi proposto como terceiro substituinte do anel devido ao valor de deslocamento de um dos sinais dos átomos de carbono e à fórmula molecular do composto estabelecida a partir do espectro de massas. As correlações da subunidade derivada do álcool coniferílico podem ser observadas em destaque na Figura 38 e no mapa de contornos HMBC, na Figura 39 (pág. 66).

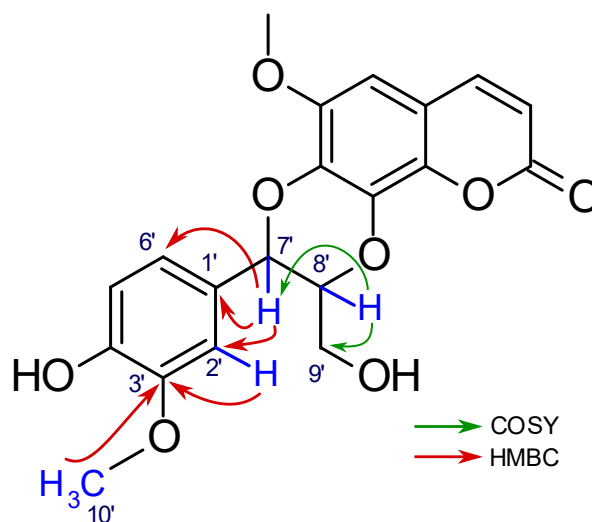


Figura 38 – Estrutura química de **MP05**, com destaque para correlações observadas em experimentos HMBC e COSY da-subunidade do derivado de álcool coniferílico.

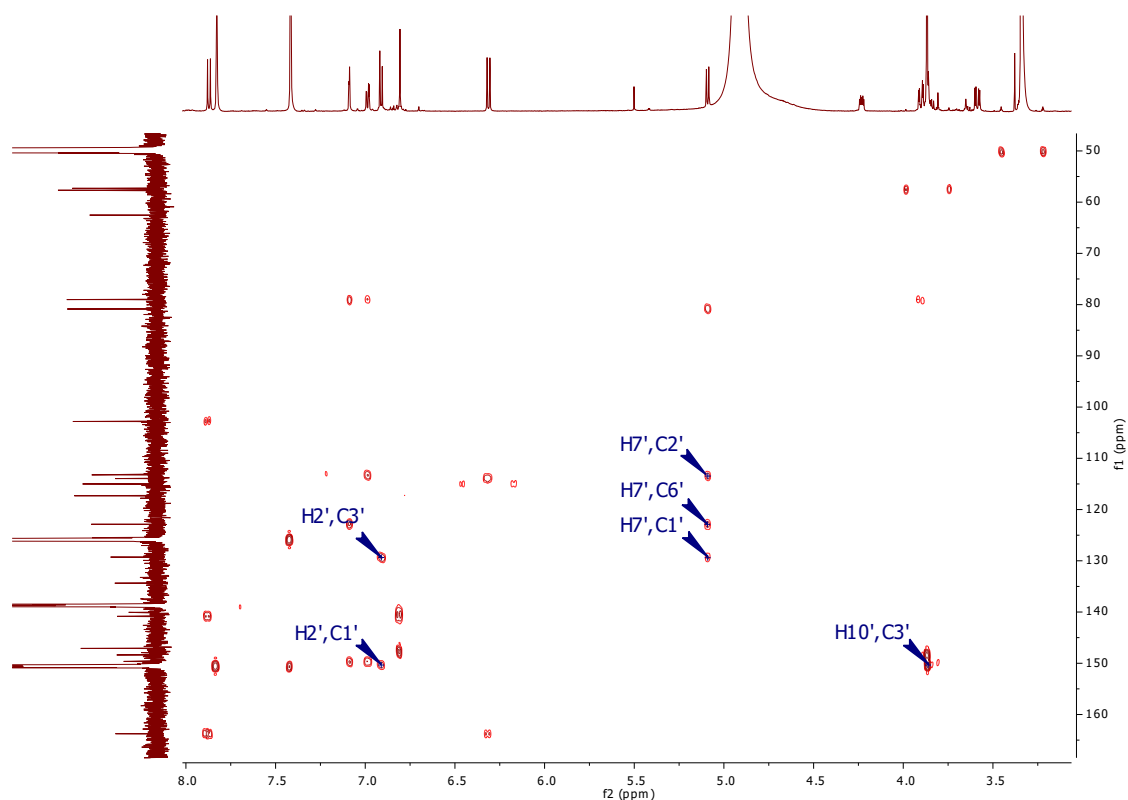


Figura 39 – Expansão do mapa de contornos HMBC de **MP05** ( $\text{CD}_3\text{OD} + \text{piridina-}d_5$ ; 600 MHz), com destaque para as correlações do sistema coníferílico.

Outra informação importante está relacionada a constante de acoplamento entre os hidrogênios  $\text{H7}'$  e  $\text{H8}'$  que foi de 8,1 Hz indicando uma configuração trans entre estes hidrogênios. A atribuição de todos os sinais é apresentada na Tabela 10 (pág. 67). O valor absoluto da rotação ótica encontrado para **MP05** ( $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +18,6^\circ$  em metanol,  $c$  0,1) não foi o mesmo valor absoluto descrito na literatura para o  $7'S,8'S$  ( $[\alpha]_{\text{D}} = -2,3^\circ$  em metanol,  $c$  0,2) (Yang *et al.*, 2014) provavelmente devido à presença de impurezas e diferença das condições experimentais. No entanto, o valor encontrado indica o sentido oposto de rotação da luz plano-polarizada descrito para o estereoisômero  $7'S,8'S$ , sugerindo que **MP05** apresenta a configuração inversa ao composto descrito por Yang *et al.* (2014). Esses dados e a comparação com os dados na literatura (Tuyen *et al.*, 2020) permitiram estabelecer a estrutura de **MP05** como  $7'R,8'R$ -(+)-cleomiscosina A (Fig. 40, pág. 67).

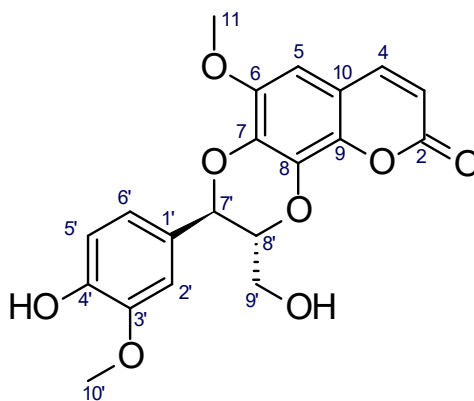


Figura 40 – Estrutura química da 7'R,8'R-(+)-cleomiscosina A.

Tabela 10 - Atribuição dos dados de  $\delta_H$  (600 MHz) e  $\delta_C$  (150MHz) para o composto **MP05**

N.	$\delta_H$ (ppm)	$\delta_C$ (ppm)	$\delta_C$ (ppm)*
2	---	163,8	163,1
3	6,31 (1H, d, $J=9,5$ Hz)	115,0	114,1
4	7,87 (1H, d, $J=9,5$ Hz)	147,1	146,3
5	6,81 (1H, s)	102,8	102,6
6	---	148,4	147,6
7	---	140,1	139,4
8	---	134,4	133,5
9	---	140,8	140,1
10	---	114,0	113,2
11	3,89 (3H, s)	57,7	56,7
1'	---	129,3	128,6
2'	7,09 (1H, d, $J=2,0$ Hz)	113,2	112,7
3'	---	150,2	149,4
4'	---	149,6	148,8
5'	6,91 (1H, d, $J=8,1$ Hz)	117,3	116,5
6'	6,99 (1H, dd, $J=2,0$ Hz, $J=8,1$ Hz)	122,9	122,1
7'	5,09 (1H, d, $J=8,1$ Hz)	79,0	78,2
8'	4,21-4,25 (1H, m)	80,9	80,1
9'	3,59 (1H, dd, $J=3,8$ Hz, $J=12,6$ Hz), 3,90 (1H, dd, $J=2,6$ Hz, $J=12,6$ Hz)	62,5	61,9
10'	3,87 (3H, s)	57,3	57,1

\*dados obtidos da literatura. Análise em 125 MHz, CD<sub>3</sub>OD (Tuyen *et al.*, 2020)

A cleomiscosina A é uma cumarinolignana isolada de diferentes espécies de plantas. Existem relatos de atividades hepatoprotetora e anti-inflamatória para este composto (Begum *et al.*, 2018).

### 3.3.6 – Determinação estrutural de **MP06**

**MP06** apresentou fórmula molecular  $C_{30}H_{22}O_8$ , determinada mediante espectrometria de massas ( $m/z$  533,1216  $[M+Na]^+$ ,  $m/z$  calc. 533,1207). Essa fórmula indica uma molécula com 20 graus de insaturação. No espectro de absorção na região do IV (Fig. 41) pode ser identificada a presença de hidroxila, revelada pela banda em  $3275\text{ cm}^{-1}$  (estiramento de ligação O-H). A banda em  $1624\text{ cm}^{-1}$  indica a presença de carbonila (estiramento de ligação C=O de cetona  $\alpha,\beta$ -insaturada). As bandas observadas em 1593 e  $1454\text{ cm}^{-1}$  (estiramento de ligação C=C de anel aromático) e em  $802\text{ cm}^{-1}$  (deformação angular de ligação =C-H) indicam a presença de anel aromático.

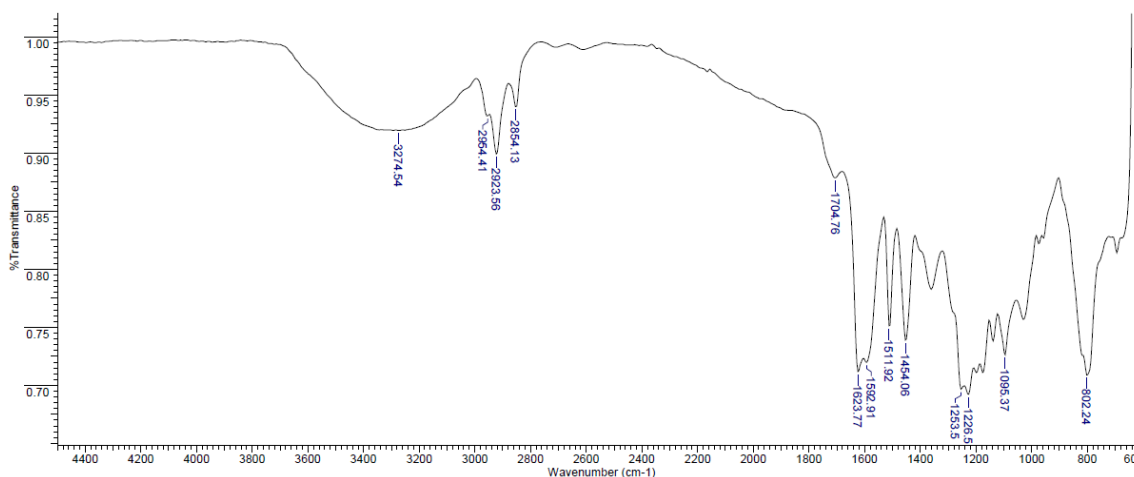


Figura 41 - Espectro de IV de **MP06** (ATR).

A análise do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  e do mapa de contornos COSY de **MP06** (Fig. 42 e Fig. 43, respectivamente, pág. 69-70) permitiu observar um sistema de spin AM formado por dupletos em  $\delta_{\text{H}}$  4,69 (1H, d,  $J=12,2$  Hz) e  $\delta_{\text{H}}$  6,02 (1H, d,  $J=12,2$  Hz). Observaram-se sinais característicos que indicam a presença de quatro anéis aromáticos. Dois deles indicaram estruturas aromáticas 1,4-dissubstituídas, formadas por dois sistemas de spin. O primeiro como  $A_2M_2$  com sinais em  $\delta_{\text{H}}$  6,58 (2H, d,  $J=8,6$  Hz) e 7,15 (2H, d,  $J=8,6$  Hz), e um segundo também  $A_2M_2$ , com sinais em  $\delta_{\text{H}}$  6,62 (2H, d,  $J=8,6$  Hz) e 7,18 (2H, d,  $J=8,6$  Hz). Os outros dois anéis aromáticos indicaram estruturas 1,2,4-trissubstituídas. Um desses anéis apresenta sinais em  $\delta_{\text{H}}$  6,75 (1H, d,  $J=2,3$  Hz),  $\delta_{\text{H}}$  6,87

(1H, dd,  $J=2,3$  Hz,  $J=8,9$  Hz) e  $\delta_H$  7,91 (1H, d,  $J=8,9$  Hz) e o outro apresenta sinais em  $\delta_H$  6,16 (1H, d,  $J=2,4$  Hz),  $\delta_H$  6,36 (1H, dd,  $J=2,4$  Hz,  $J=9,0$  Hz) e  $\delta_H$  8,17 (1H, d,  $J=9,0$  Hz). Além desses, se observou um simpleto em  $\delta_H$  8,25 (1H, s).

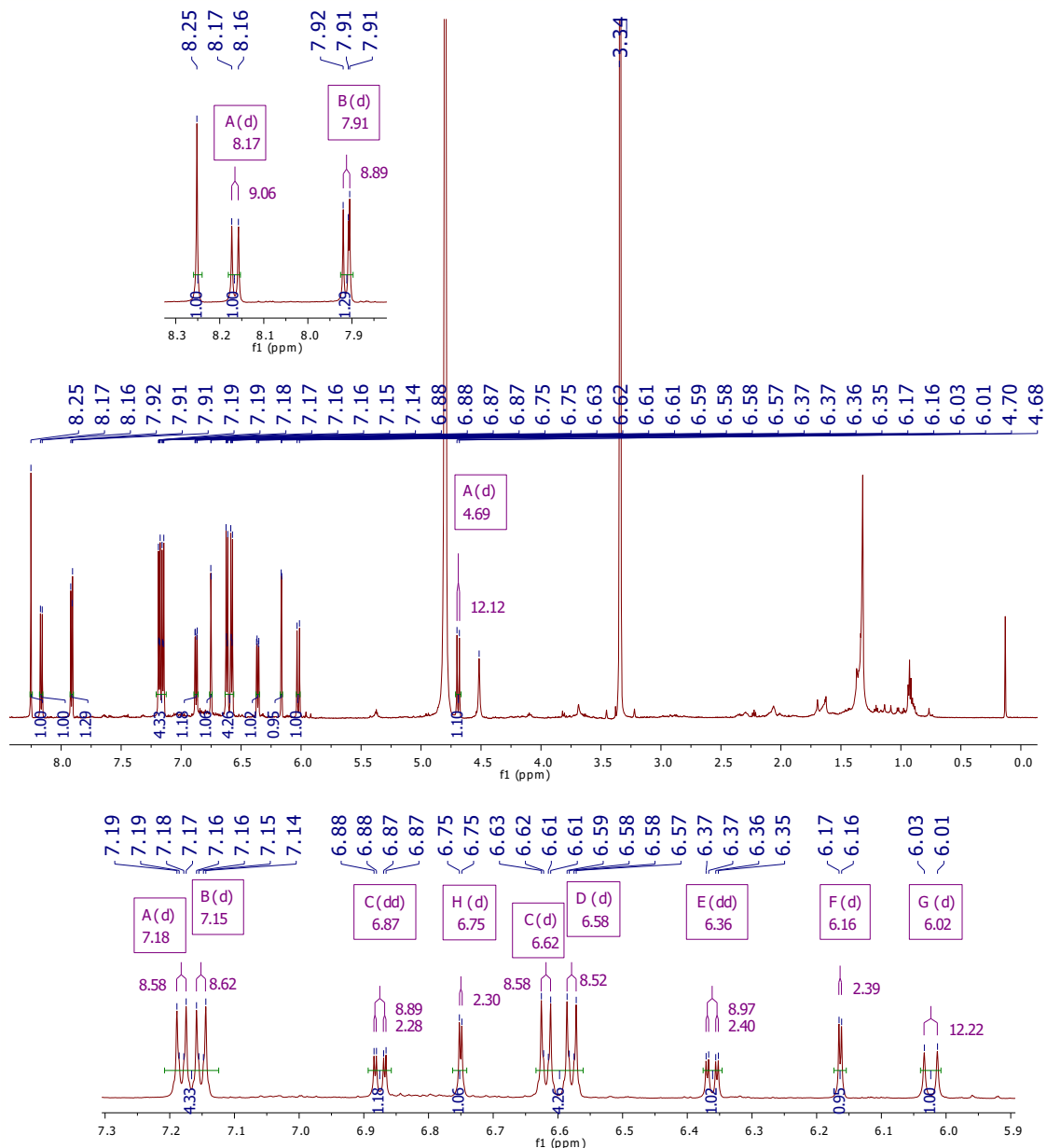


Figura 42 - Espectro de RMN de <sup>1</sup>H de MP06 (CD<sub>3</sub>OD; 600 MHz).



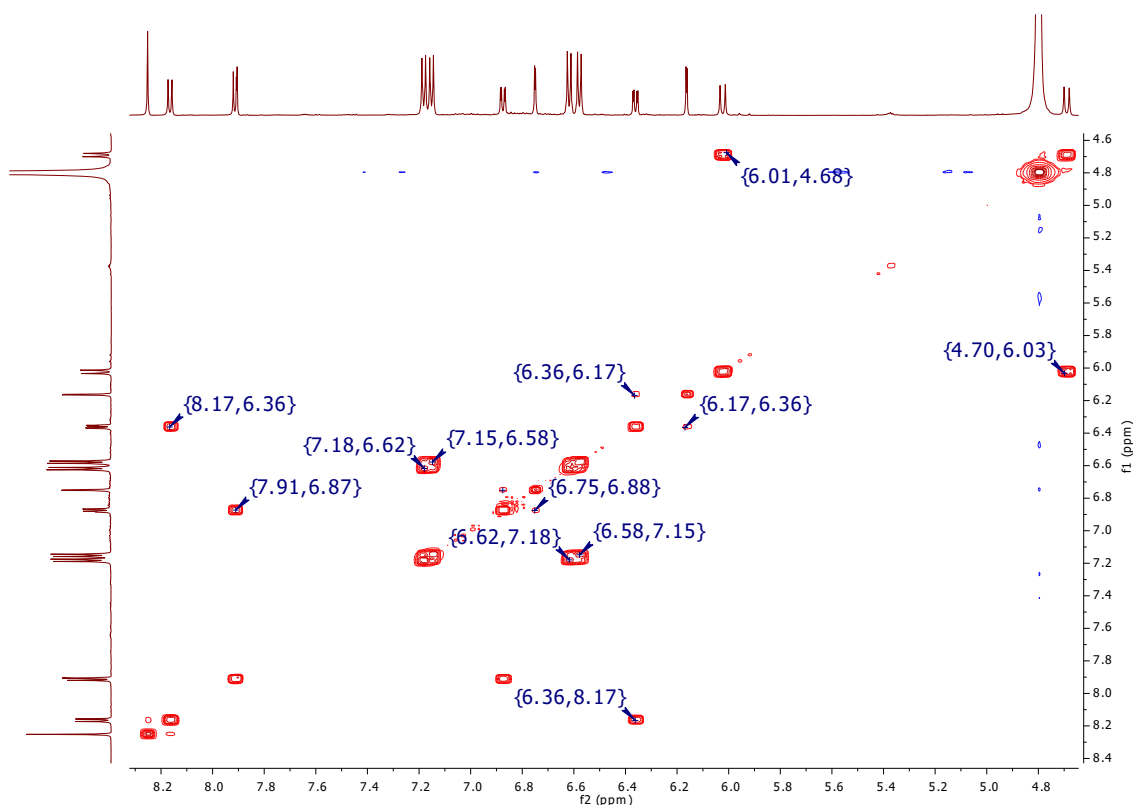


Figura 43 - Expansão do mapa de contornos COSY de **MP06** (CD<sub>3</sub>OD; 600 MHz).

No espectro de RMN de <sup>13</sup>C (Fig. 44, pág. 71) se observaram sinais de 30 átomos de carbono. A análise desse espectro combinado com os dados do mapa de contornos HSQC (Fig. 45, pág. 71) permitiu a identificação de 17 átomos de carbono metínicos, dois átomos de carbono carbonílicos e 11 átomos de carbono não hidrogenados. O conjunto dos dados de RMN anteriormente comentados está de acordo com uma possível estrutura de biflavonoide, que possua 30 carbonos, quatro anéis aromáticos e duas carbonilas ( $\delta_C$  178,0 e  $\delta_C$  205,7).

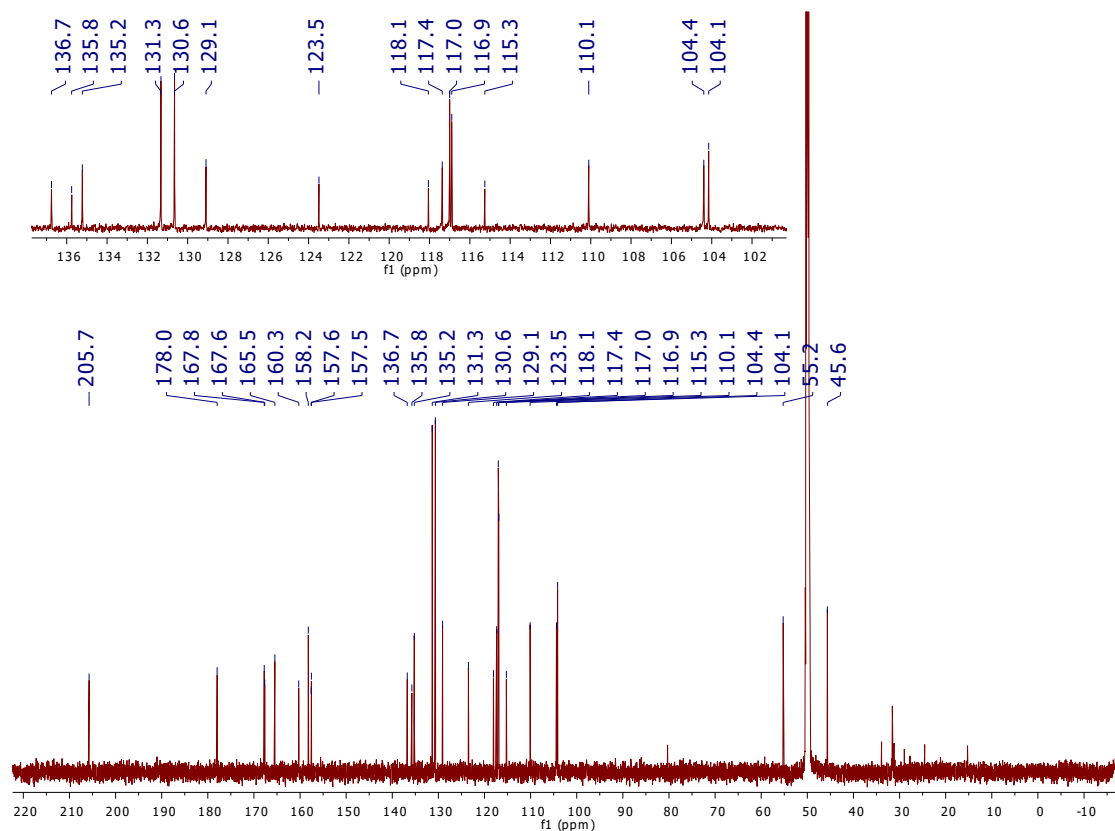


Figura 44 - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **MP06** ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ; 150 MHz).

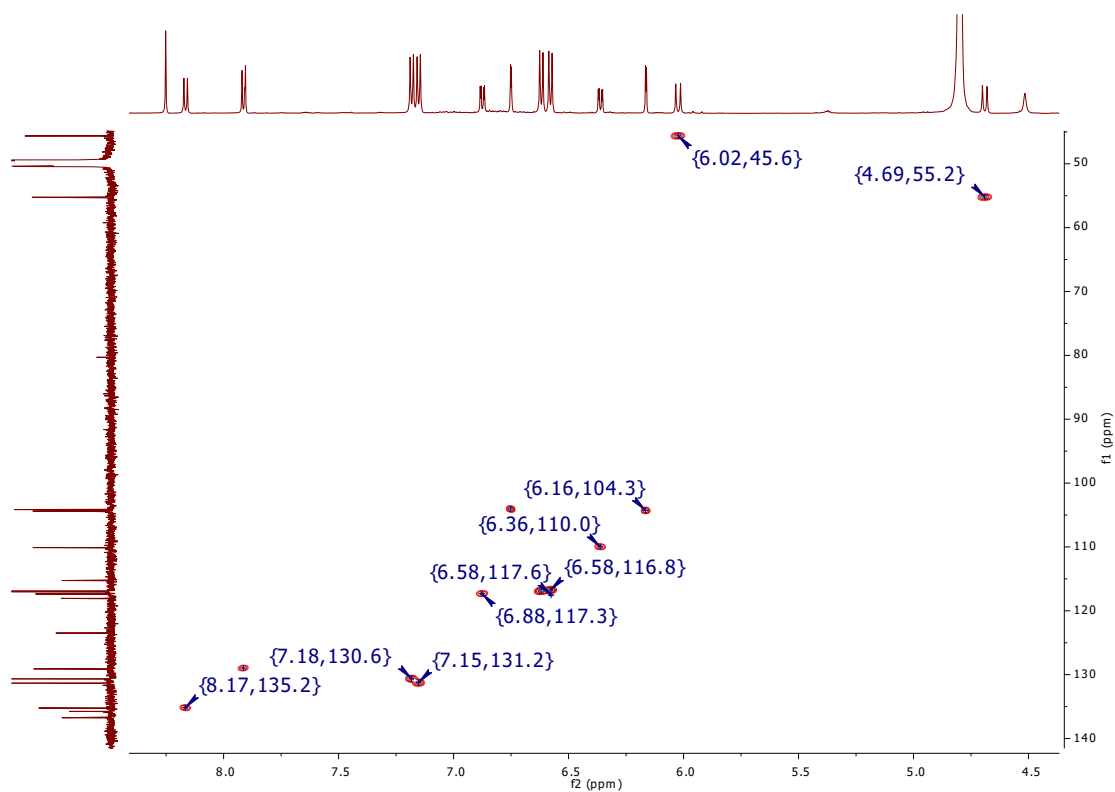


Figura 45 – Expansão do mapa de contornos HSQC de **MP06** ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ; 600 MHz).

A partir dos dados de ressonância descritos, e dados da literatura, foi proposto um esqueleto biflavonoide para o composto **MP06** (Fig. 46). Com a finalidade de confirmar a estrutura proposta, foi obtido o mapa de contornos HMBC para o composto. As correlações dos sinais do átomo de hidrogênio benzílico **H19** ( $\delta_H$  4,69) com os sinais dos átomos de carbono **C27/C31** ( $\delta_C$  131,3) e **C21/C25** ( $\delta_C$  130,6) permitiram estabelecer suas conexões com ambos os anéis aromáticos 1,4-dissubstituídos. O sinal atribuído a **H19** ( $\delta_H$  4,69) também apresentou correlações com os sinais da carbonila de cetona em  $\delta_C$  205,7 (**C12**), dos átomos de carbono **C11** ( $\delta_C$  45,7) e **C3** ( $\delta_C$  123,5) do anel da isoflavona. Essas correlações podem ser observadas em destaque na Figura 46 e no mapa de contornos HMBC (Fig. 47).

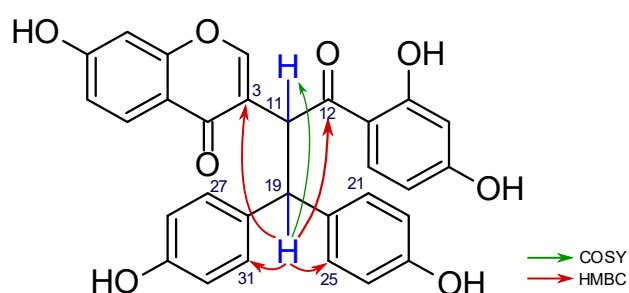


Figura 46 – Estrutura química de **MP06**, com destaque para algumas correlações observadas em experimentos HMBC e COSY.

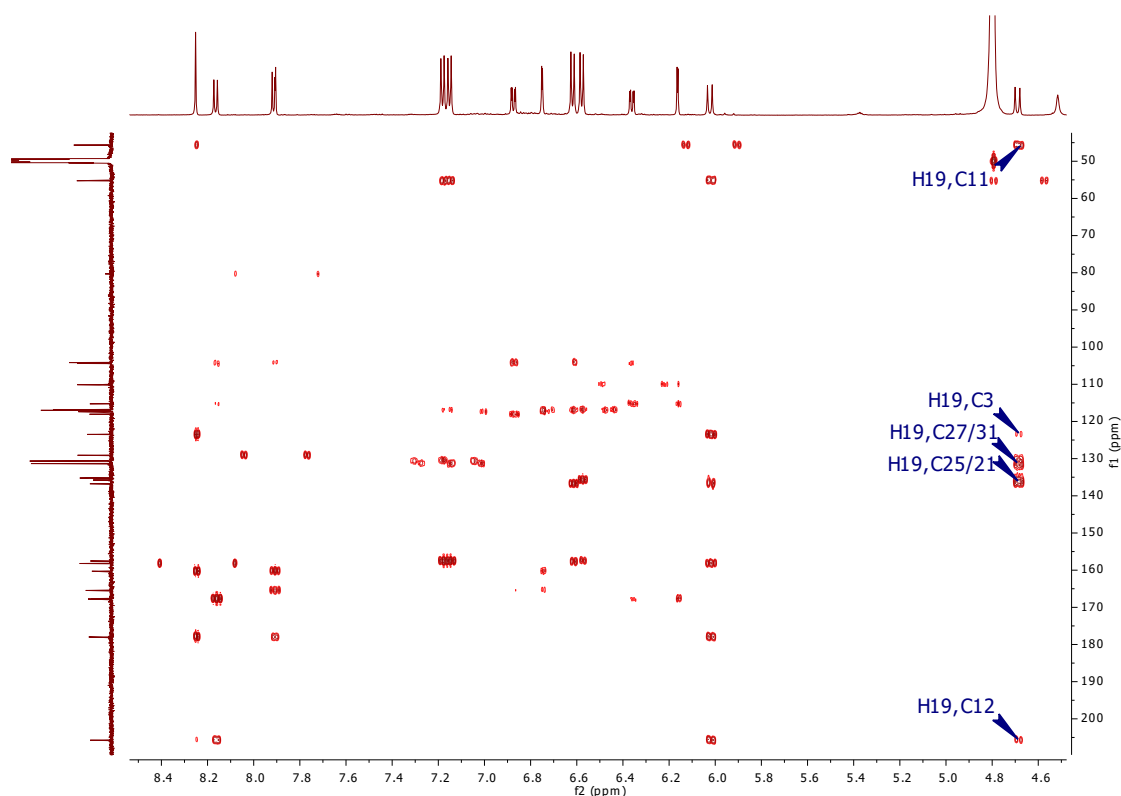


Figura 47 – Expansão do mapa de contornos HMBC de **MP06** ( $CD_3OD$ ; 600 MHz), com destaque para as correlações do hidrogênio **H19**.

No mapa de contornos HMBC também se observaram correlações do sinal do átomo de hidrogênio **H11** ( $\delta_H$  6,02) com o sinal do átomo de carbono não hidrogenado **C3** ( $\delta_C$  123,5) da isoflavona. O sinal do átomo de hidrogênio **H11** ( $\delta_H$  6,02) também se acopla com ambos os sinais dos átomos de carbono carbonílicos (**C4**,  $\delta_C$  178,0, e **C12**,  $\delta_C$  205,7) e com **C2** ( $\delta_C$  158,2). Essas conectividades confirmam a existência de uma unidade de C3 formada pelos carbonos **C2**, **C3** e **C4** ( $\delta_C$  158,2, 123,5 e 178,0, respectivamente). Essas correlações podem ser observadas em destaque na Figura 48 e no mapa de contornos HMBC da Figura 49.

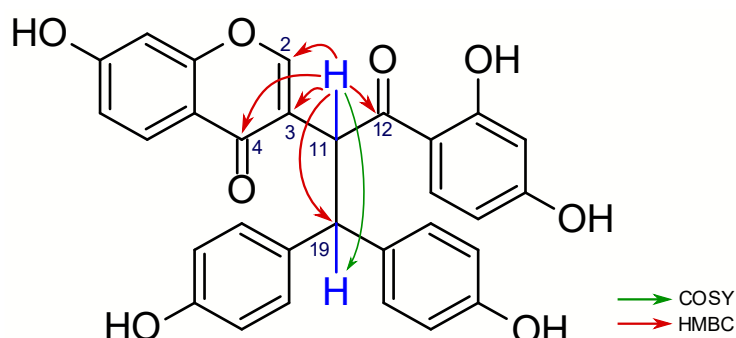


Figura 48 – Estrutura química de **MP06**, com destaque para algumas correlações observadas em experimentos HMBC e COSY.

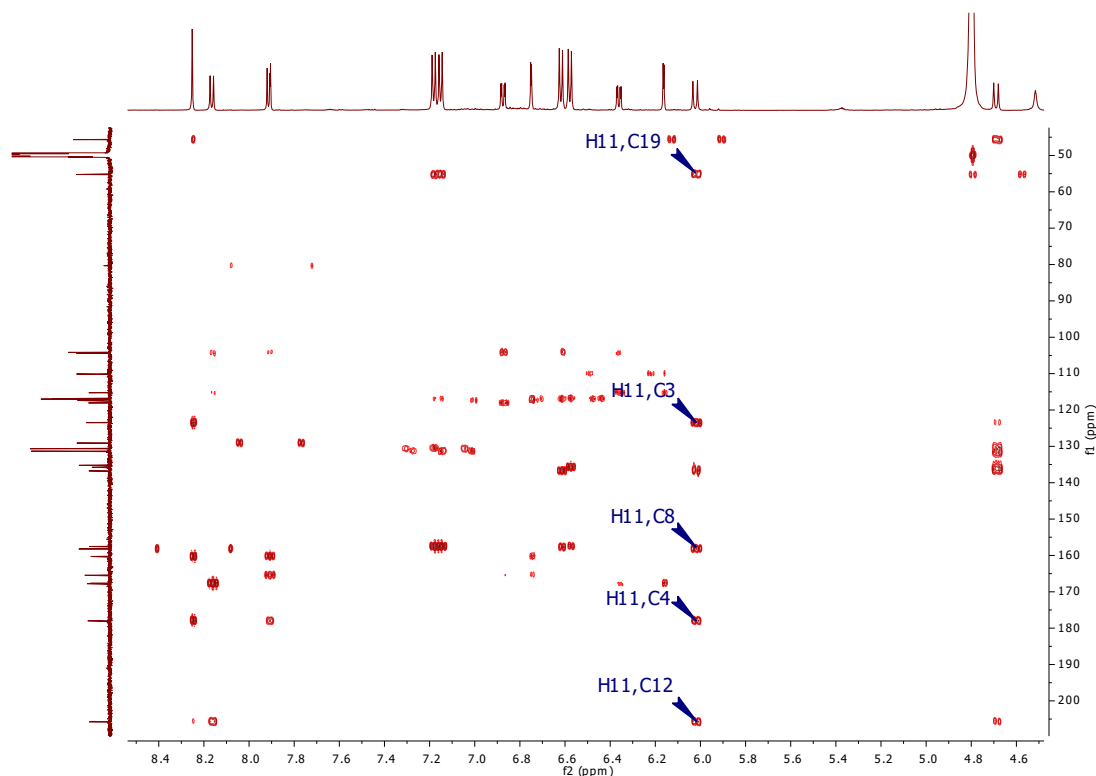


Figura 49 – Expansão do mapa de contornos HMBC de **MP06** (CD<sub>3</sub>OD; 600 MHz), com destaque para as correlações do hidrogênio **H11**.

O sinal do átomo de hidrogênio **H18** ( $\delta_H$  8,17) de um dos anéis aromáticos trissubstituídos apresenta correlação com a carbonila **C12** ( $\delta_C$  205,7). O sinal do átomo de hidrogênio aromático **H5** ( $\delta_H$  7,91), do anel trissubstituído restante, revela o acoplamento deste com o átomo de carbono da carbonila **C4** ( $\delta_C$  178,0). Esses dados permitem localizar os demais substituintes da estrutura. Essas correlações podem ser observadas em destaque na Figura 50 e no mapa de contornos HMBC da Figura 51. Considerando o valor de deslocamento químico do hidrogênio **H2** ( $\delta_H$  8,25) e para completar a substituição do átomo de carbono **C2** ( $\delta_C$  158,1), se propõe a formação do anel C por meio de um átomo de oxigênio, levando à estrutura final.

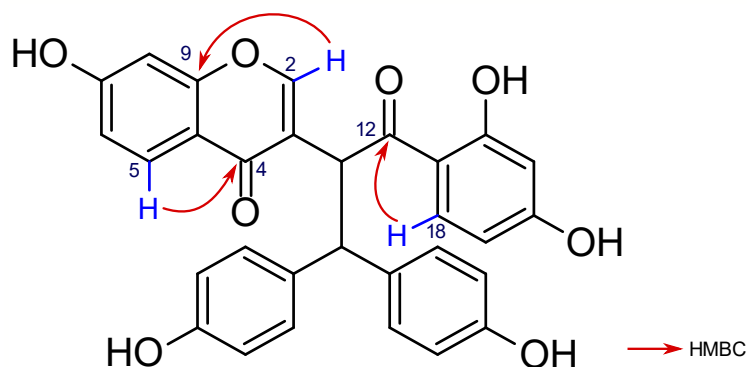


Figura 50 – Estrutura molecular proposta para o composto **MP06**, com destaque para algumas das correlações observadas no mapa de contornos HMBC.

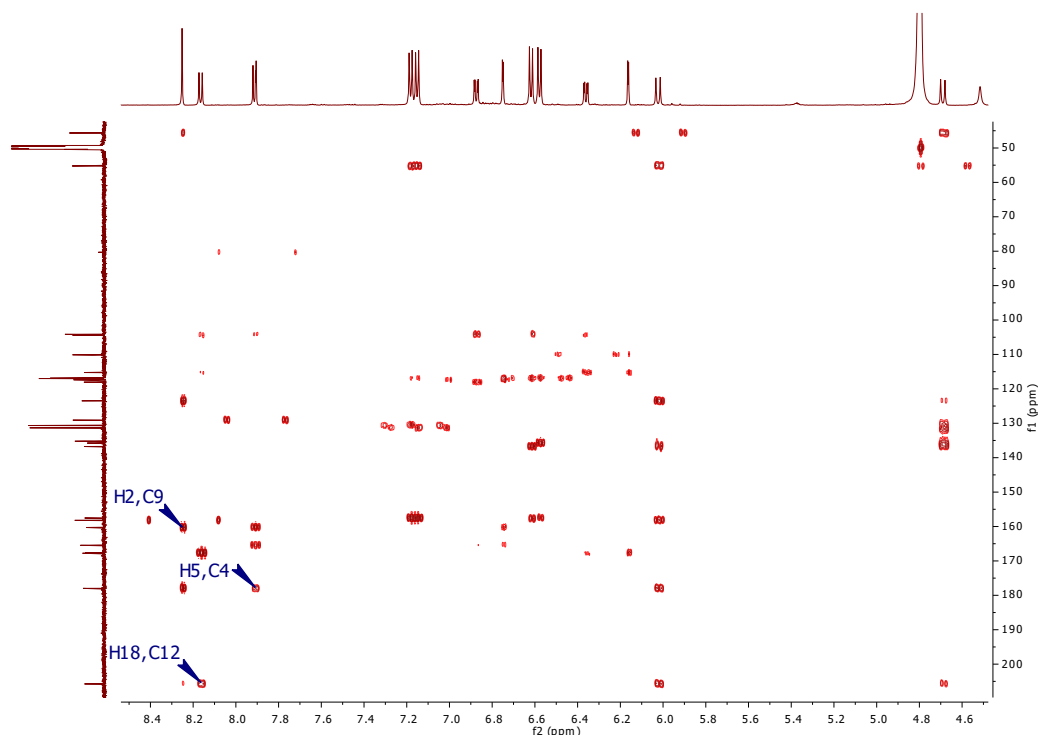


Figura 51 - Expansão do mapa de contornos HMBC de **MP06** (CD<sub>3</sub>OD; 600 MHz), com destaque para as correlações dos hidrogênios **H18** e **H5**.

A atribuição de todos os sinais é apresentada na Tabela 11. O valor da rotação ótica encontrado para **MP06** ( $[\alpha]_D^{20} = +32,8^\circ$  em metanol,  $c$  0,1) não foi o mesmo valor absoluto descrito na literatura para a lophirona A ( $[\alpha]_D^{20} = +65$  em metanol,  $c$  0,56) (Ghogomu *et al.*, 1987) devido à presença de impurezas e diferença das condições experimentais. Apesar disso, os valores encontrados indicam o mesmo sentido e rotação da luz plano-polarizada, que sugerem a configuração absoluta do composto como sendo *R*. Os dados de RMN e a comparação com dados da literatura (Ghogomu *et al.*, 1987) permitiram estabelecer a estrutura de **MP06** como a *R*-(+)-lophirona A (Fig. 52).

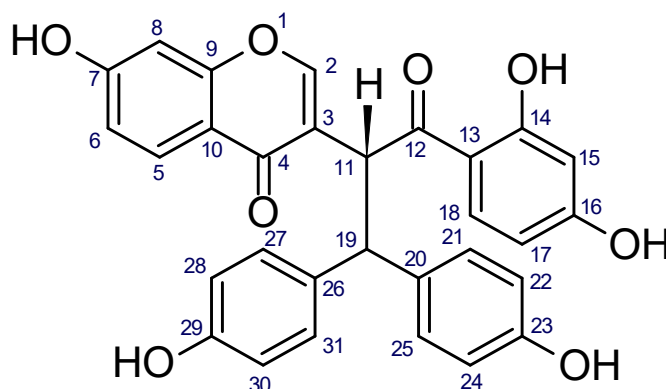


Figura 52 – Estrutura química da *R*-(+)-lophirona A.

Tabela 11 - Atribuição dos dados de  $\delta_H$  (600 MHz) e  $\delta_C$  (150MHz) para o composto **MP06**

Carbono	$\delta_H$ (ppm)	$\delta_C$ (ppm)	$\delta_C$ (ppm)*
2	8,25 (1H, s)	158,2	156,4
3	---	123,5	122,1
4	---	178,0	175,4
5	7,91 (1H, d, $J=8,9$ Hz)	129,1	128,2
6	6,87 (1H, dd, $J=2,3$ Hz, $J=8,9$ Hz)	117,4	115,9
7	---	165,5	163,4
8	6,75 (1H, d, $J=2,3$ Hz)	104,2	103,1
9	---	160,3	158,5
10	---	118,1	117,1
11	6,02 (1H, d $J=12,2$ Hz)	45,7	43,9
12	---	205,7	204,5
13	---	115,3	114,1
14	---	167,8	166,8

Tabela 11 - Atribuição dos dados de  $\delta_H$  (600 MHz) e  $\delta_C$  (150MHz) para o composto **MP06** (cont.)

N.	$\delta_H$ (ppm)	$\delta_C$ (ppm)	$\delta_C$ (ppm)*
15	6,16 (1H, d, $J=2,4$ Hz)	104,4	103,3
16	---	167,7	166,1
17	6,36 (1H, dd, $J=2,4$ Hz, $J=9,0$ Hz)	110,1	109,9
18	8,16 (1H, d, $J=9,0$ Hz)	135,2	134,5
19	4,69 (1H, d, $J=12,2$ Hz)	55,2	53,4
20	---	135,7	134,5
21	7,15 (1H, d, $J=8,6$ Hz)	130,6 <sup>a</sup>	129,4
22	6,58, (1H, d, $J=8,6$ Hz)	116,9 <sup>b</sup>	115,8
23	---	157,6	156,4
24	6,58, (1H, d, $J=8,6$ Hz)	116,9 <sup>b</sup>	115,8
25	7,15 (1H, d, $J=8,6$ Hz)	130,6 <sup>a</sup>	129,4
26	---	136,7	135,6
27	7,18 (1H, d, $J=8,6$ Hz)	131,6 <sup>a</sup>	130,0
28	6,62 (1H, d, $J=8,6$ Hz)	117,0 <sup>b</sup>	116,0
29	---	157,6	156,5
30	6,62 (1H, d, $J=8,6$ Hz)	117,0 <sup>b</sup>	116,0
31	7,18 (1H, d, $J=8,6$ Hz)	131,6 <sup>a</sup>	130,0

\*dados obtidos da literatura. Análise em 100 MHz, CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub> (Ghogomu *et al.*, 1987);

<sup>a, b</sup> valores determinados apenas por comparação com a literatura.

A lophirona A é um biflavonoide obtido a partir de diferentes espécies de plantas. Existem poucos estudos na literatura investigando as propriedades biológicas da lophirona A. Dentre as atividades atribuídas a esse composto, destacam-se as atividades antiplasmodial e antibacteriana (Eteme *et al.*, 2018).

### 3.3.7 – Determinação estrutural de **MP07**

**MP07** apresentou fórmula molecular C<sub>30</sub>H<sub>24</sub>O<sub>12</sub>, determinada por espectrometria de massas ( $m/z$  599,1160 [M+Na]<sup>+</sup>,  $m/z$  calc. 599,1160). Portanto, essa molécula possui 19 graus de insaturação. No espectro no IV de **MP07** (Fig. 53, pág. 77) pode ser identificada uma banda em 3271 cm<sup>-1</sup> (estiramento de ligação O-H), indicando a presença

de hidroxila. As bandas em  $1608\text{ cm}^{-1}$  (estiramento de ligação C=C), e em  $802\text{ cm}^{-1}$  (deformação angular de ligação =C-H) indicam a presença de ligação dupla de alceno e/ou anel aromático.

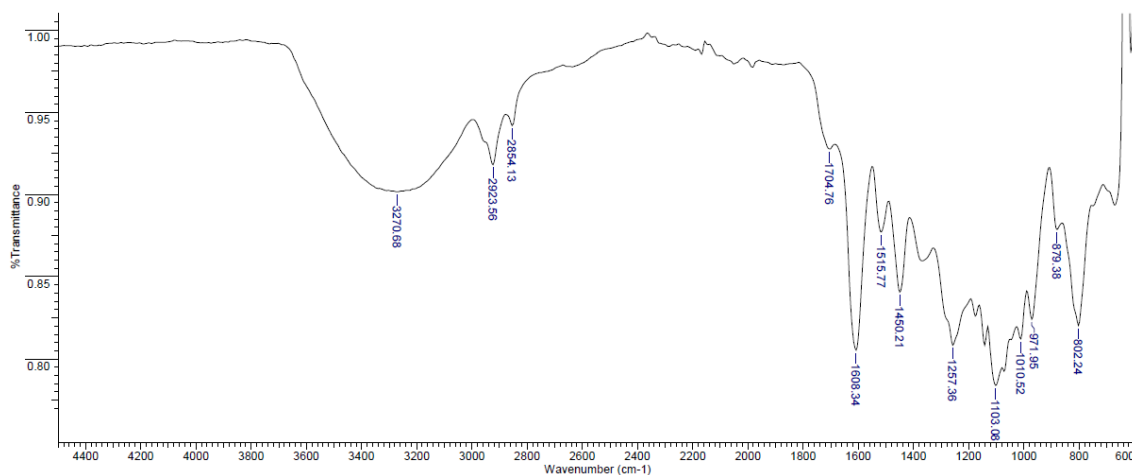


Figura 53 - Espectro no IV de **MP07** (ATR).

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  e no mapa de contornos COSY (Fig. 54 e Fig. 55, pág. 78-79) podem-se observar os sinais para um sistema de spin AB formado por dupletos em  $\delta_{\text{H}} 4,10$  (1H, d,  $J=3,4$  Hz) e  $\delta_{\text{H}} 4,44$  (1H, d,  $J=3,4$  Hz) que poderiam pertencer a uma cadeia C3. Também foram observados sinais de outra possível cadeia C3 formada por um sistema  $\text{ABX}_2$ , compreendendo dois dupletos duplos em  $\delta_{\text{H}} 2,79$  (1H, dd,  $J=2,8$  Hz,  $J=17,2$  Hz) e  $\delta_{\text{H}} 2,98$  (1H, dd,  $J=5,0$  Hz,  $J=17,2$  Hz), um multipletto em  $\delta_{\text{H}} 4,27$ - $4,30$  (1H, m) e um simpleto em  $\delta_{\text{H}} 4,97$  (1H, s). Foi identificado um sistema com sinais em  $\delta_{\text{H}} 6,04$  (1H, d,  $J=2,3$  Hz) e a  $\delta_{\text{H}} 6,11$  (1H, d,  $J=2,3$  Hz), possivelmente de um anel aromático tetrassubstituído com hidrogênios em posição meta. Um sinal em  $\delta_{\text{H}} 6,13$  (1H, s) foi atribuído a um anel aromático pentassubstituído. Os sinais em  $\delta_{\text{H}} 6,84$  (1H, d,  $J=8,3$  Hz),  $7,06$  (1H, dd,  $J=2,2$  Hz,  $J=8,3$  Hz) e  $\delta_{\text{H}} 7,19$  (1H, d,  $J=2,2$  Hz) foram atribuídos a um sistema aromático trissubstituído, por possuírem correlações no mapa de contornos COSY, assim como os sinais em  $\delta_{\text{H}} 6,86$  (1H, d,  $J=8,3$  Hz),  $\delta_{\text{H}} 7,02$  (1H, dd,  $J=2,1$  Hz,  $J=8,3$  Hz) e  $\delta_{\text{H}} 7,19$  (1H, d,  $J=2,2$  Hz), que foram atribuídos a um outro sistema aromático trissubstituído.



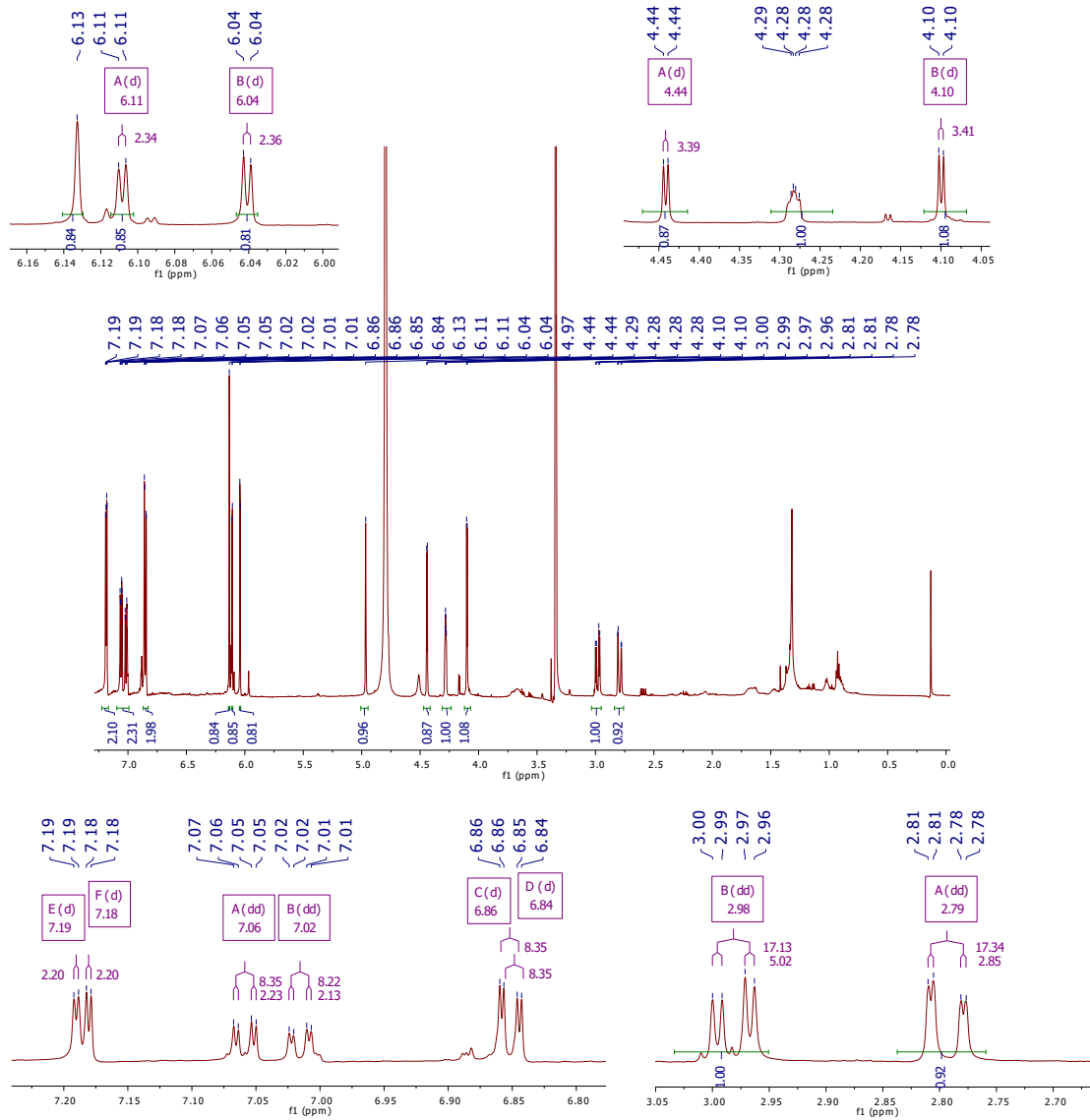


Figura 54 - Espectro de RMN de <sup>1</sup>H de MP07 (CD<sub>3</sub>OD; 600 MHz).

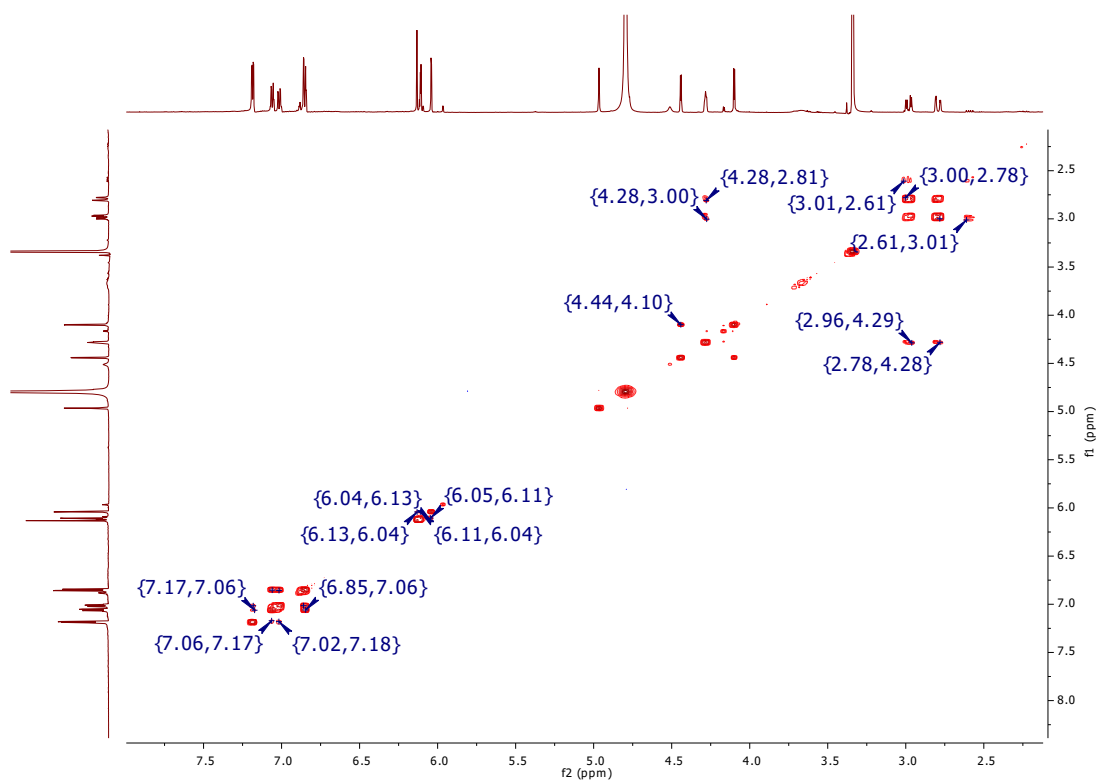


Figura 55 – Expansão do mapa de contornos COSY de **MP07** (CD<sub>3</sub>OD; 600 MHz).

No espectro de RMN de <sup>13</sup>C (Fig. 56, pág. 80) observaram-se sinais de 30 carbonos. A análise deste espectro combinado com os dados do mapa de contornos HSQC (Fig. 57, pág. 80) permitiram a identificação de 13 átomos de carbono metínicos, um átomo de carbono metilênico e 16 átomos de carbonos não hidrogenados. Esses sinais estão de acordo com uma estrutura com quatro anéis aromáticos e duas cadeias C3, levando a propor um composto formado por duas unidades de flavonoides.

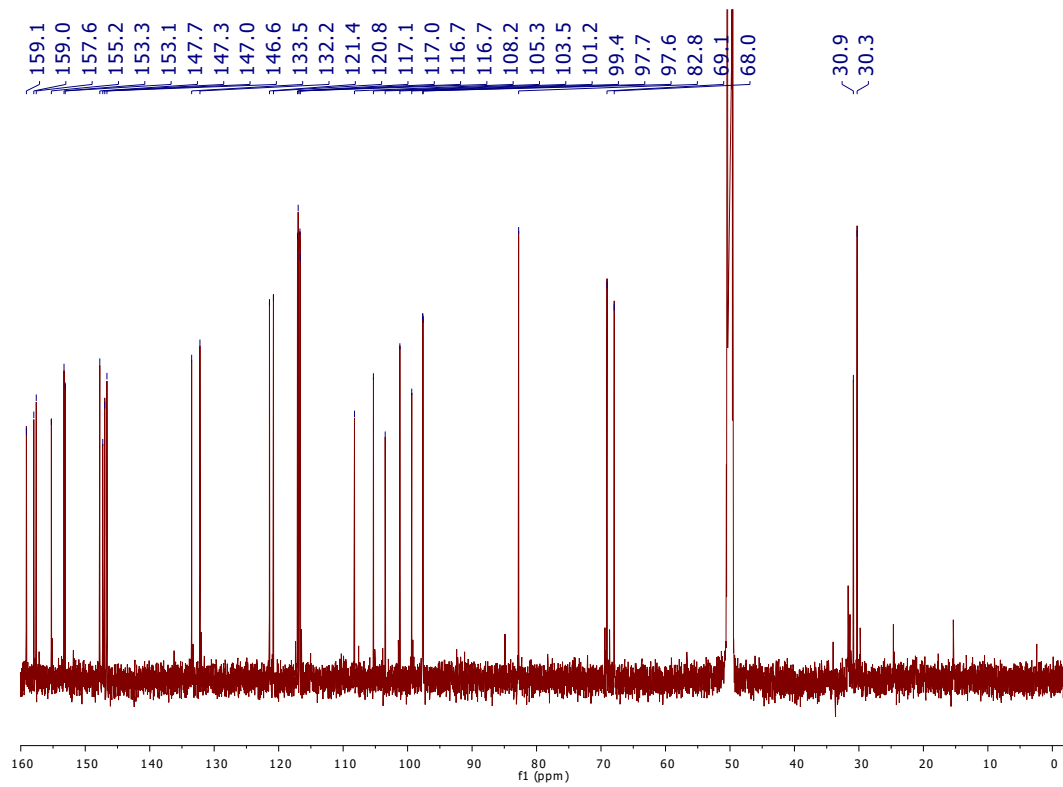


Figura 56 - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **MP07** ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ; 150 MHz).

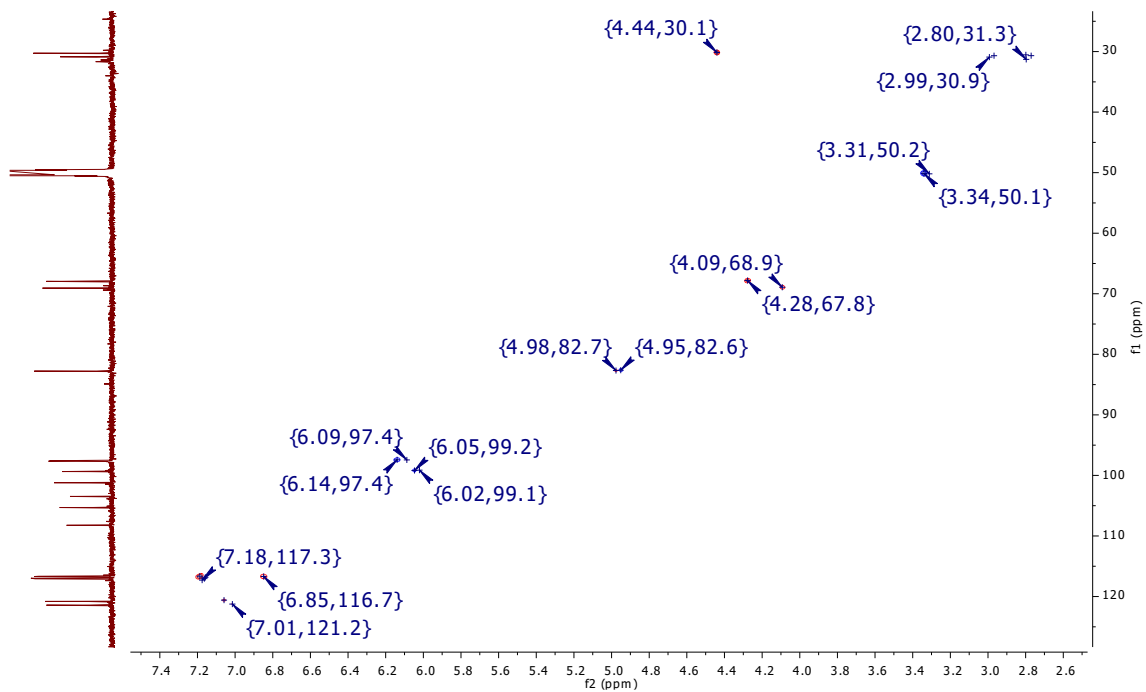


Figura 57 – Expansão do mapa de contornos HSQC de **MP07** ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ; 600 MHz).

As posições dos substituintes nos anéis aromáticos do biflavonoide foram determinadas mediante análise detalhada do mapa de contornos HMBC permitindo propor a estrutura química de **MP07** apresentada na Figura 58 (pág. 82).

A partir da correlação do sinal do átomo de carbono **UC10** ( $\delta_C$  105,3) do anel aromático tetrassubstituído com o sinal do átomo de hidrogênio **UH3** ( $\delta_H$  4,10), o sistema de spin do tipo AB foi identificado como um substituinte no anel. A união entre os átomos do sistema de spin AB foi previamente identificada no mapa de contornos COSY (**UH3** ( $\delta_H$  4,10) e **UH4** ( $\delta_H$  4,44)).

No mapa de contornos HBMC, o sinal do átomo de hidrogênio **UH3** ( $\delta_H$  4,10) apresentou correlação com o sinal do átomo de carbono **UC1'** ( $\delta_C$  133,5) de um anel aromático trissubstituído. Além disso, não foram observadas correlações entre os sinais do átomo de hidrogênio **UH4** ( $\delta_H$  4,44) da cadeia C3 e do átomo de carbono **UC1'** ( $\delta_C$  133,5), de modo que se pôde supor que a cadeia C3 desse flavonoide se completa com um átomo de carbono não hydrogenado **UC2** ( $\delta_C$  101,2), por meio do qual se une ao anel trissubstituído. O átomo de carbono **UC2** ( $\delta_C$  101,2) pôde ser identificado pelas correlações de seu sinal com os sinais do átomo de hidrogênio **UH4** ( $\delta_H$  4,44). A conexão entre os dois blocos de flavonoides (**U** e **L**) é indicada pelo acoplamento observado no mapa de contornos HMBC entre os sinais do átomo de hidrogênio **UH3** ( $\delta_H$  4,10) e do átomo de carbono **LC8** ( $\delta_C$  108,2). Essas correlações podem ser observadas em destaque na Figura 58 e no mapa de contornos HMBC da Figura 59 (pág. 82).

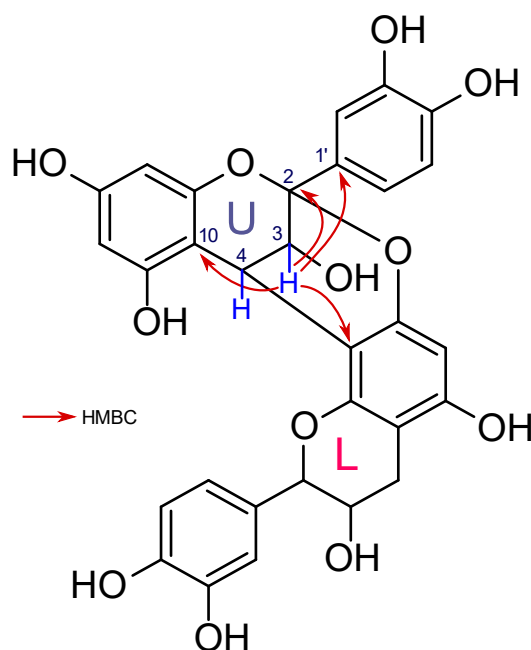


Figura 58 – Estrutura química de **MP07**, com destaque para as correlações observadas para o bloco superior (*upper*, **U**).

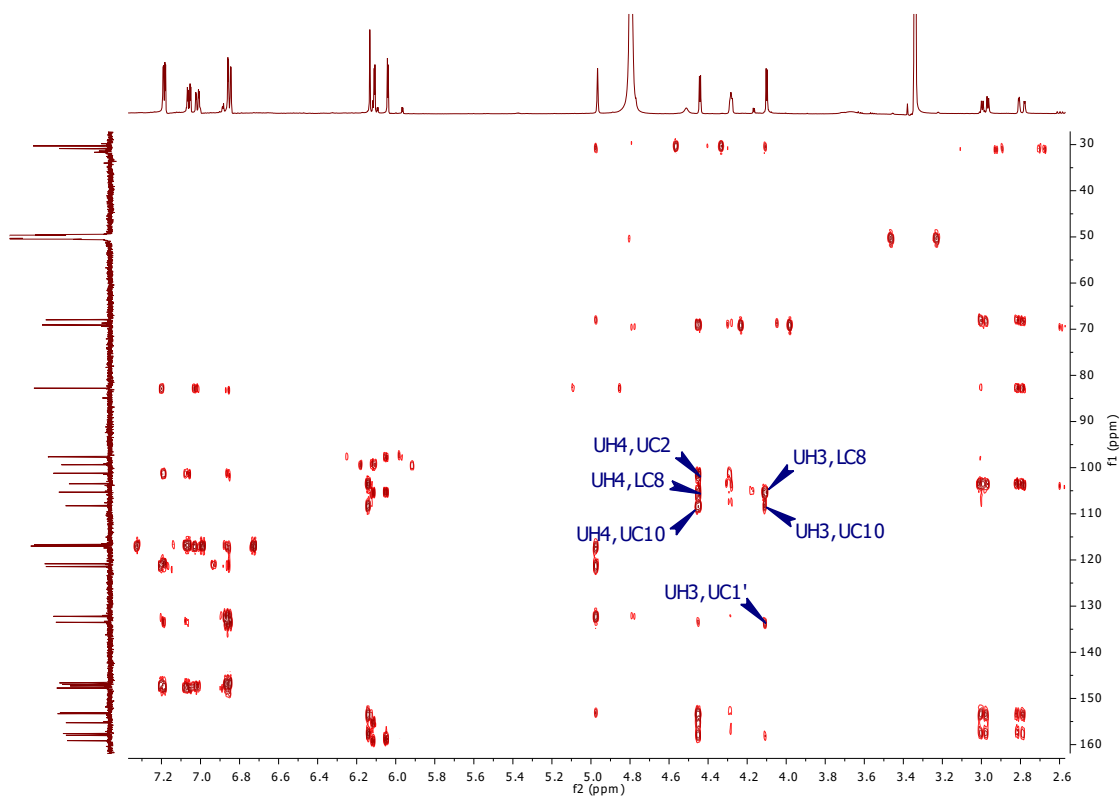


Figura 59 – Expansão do mapa de contornos HMBC de **MP07** (CD<sub>3</sub>OD; 600 MHz), com destaque para as correlações do bloco superior (*upper*, **U**).

No segundo bloco (**L**), o sinal do átomo de hidrogênio **LH6'** ( $\delta_{\text{H}}$  7,02) do segundo anel trissubstituído apresentou acoplamento, no HMBC, com o sinal do átomo de carbono **LC2** ( $\delta_{\text{C}}$  82,8). O átomo de carbono **LC2** pertence à cadeia C3, juntamente com os átomos de carbono **LC3** ( $\delta_{\text{C}}$  68,0) e **LC4** ( $\delta_{\text{C}}$  30,9), como foi observado pela análise de seus sinais no mapa de contornos COSY (sistema spin ABX<sub>2</sub>) e no mapa de contornos HSQC. Os sinais dos átomos de hidrogênio **LH3** ( $\delta_{\text{H}}$  4,29) e **LH4** ( $\delta_{\text{H}}$  2,79 e  $\delta_{\text{H}}$  2,98) correlacionam com o sinal do átomo de carbono **LC10** ( $\delta_{\text{C}}$  103,5) do anel aromático pentassubstituído. Ambos os átomos de carbono **LC2** ( $\delta_{\text{C}}$  82,8) e **LC3** ( $\delta_{\text{C}}$  68,0) apresentam deslocamentos que indicam estarem ambos ligados a um átomo de oxigênio cada. Essas correlações podem ser observadas em destaque na Figura 60 (pág. 83) e no mapa de contornos da Figura 61 (pág. 83).

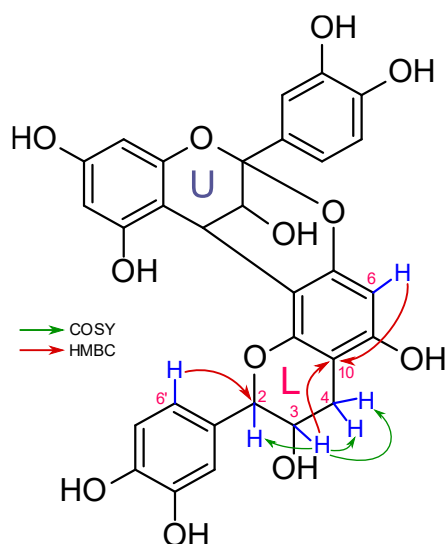


Figura 60 – Estrutura química de **MP07**, com destaque para as correlações observadas para o bloco inferior (*lower*, **L**).

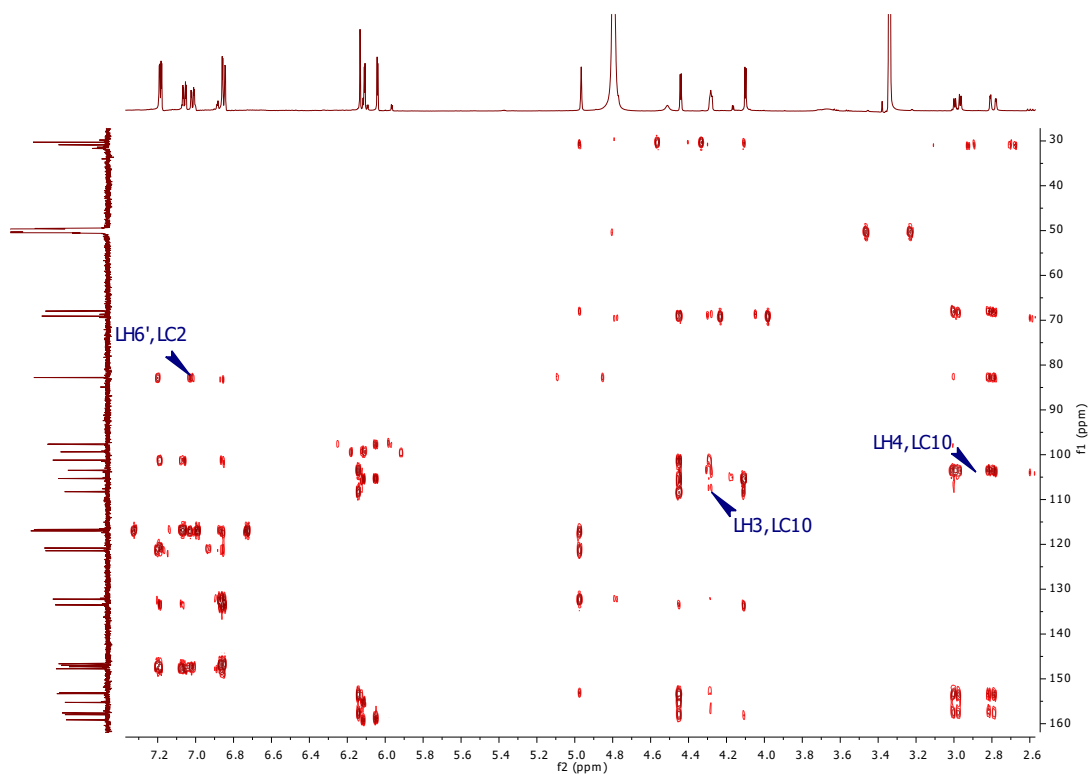


Figura 61 – Expansão do mapa de contornos HMBC de **MP07** ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ; 600 MHz), com destaque para as correlações do bloco inferior (*lower*, **L**).

Com os quatro anéis aromáticos identificados, somam-se 16 graus de insaturação na estrutura proposta. A partir do déficit de graus de insaturação, propõe-se que as estruturas de ambos os blocos de flavonoides possuem uma cadeia C3 ciclizada, característica de flavonóis. A formação do último anel foi deduzida de maneira a completar o número de graus de insaturação calculados para a molécula.

A atribuição de todos os sinais é apresentada na Tabela 12. A estereoquímica não pode ser confirmada uma vez que não foi obtido o mapa de contornos NOESY. O valor absoluto da rotação ótica encontrado para **MP07** ( $[\alpha]_D^{20} = +62,8^\circ$  em metanol,  $c$  0,1) não foi o mesmo valor descrito na literatura para a proantocianidina A<sub>2</sub> ( $[\alpha]_D^{20} = +58,9$  em metanol,  $c$  0,75) (Kamiya *et al.*, 2001) provavelmente devido à presença de impurezas e diferença das condições experimentais, mas sugere tratar-se do mesmo composto. Os dados espectroscópicos obtidos, comparados com resultados da literatura (Kamiya *et al.*, 2001), permitiram a identificação de **MP07** como a U2S,U3R,U4R,L2R,L3R-(+)-proantocianidina A<sub>2</sub> (Fig. 62).

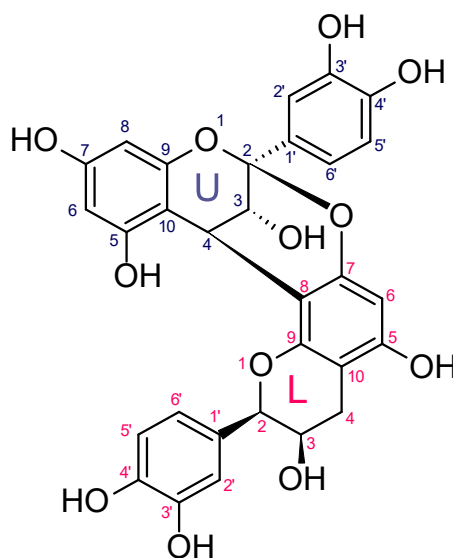


Figura 62 – Estrutura química da U2S,U3R,U4R,L2R,L3R-(+)-proantocianidina A<sub>2</sub>.

Tabela 12 - Atribuição dos dados de  $\delta_H$  (600 MHz) e  $\delta_C$  (150MHz) para **MP07**

N.	$\delta_H$ (ppm)	$\delta_C$ (ppm)	$\delta_C$ (ppm)*
<b>U2</b>	---	101,2	100,2
<b>U3</b>	4,10 (1H, d, $J=3,4$ Hz)	68,9	68,1
<b>U4</b>	4,44 (1H, d, $J=3,4$ Hz)	30,2	29,3
<b>U5</b>	---	155,3	157,0
<b>U6</b>	6,04 (1H, d, $J=2,3$ Hz)	99,2	98,3
<b>U7</b>	---	159,0	158,1
<b>U8</b>	6,11 (1H, d, $J=2,3$ Hz)	97,4	96,7
<b>U9</b>	---	158,0	154,2
<b>U10</b>	---	105,3	104,3

Tabela 12 - Atribuição dos dados de  $\delta_H$  (600 MHz) e  $\delta_C$  (150MHz) para **MP07** (cont.)

N.	$\delta_H$ (ppm)	$\delta_C$ (ppm)	$\delta_C$ (ppm)*
<b>U1'</b>	---	132,1	132,5
<b>U2'</b>	7,18 (1H, d, $J=2,2$ Hz)	116,7	115,7
<b>U3'</b>	---	146,5	145,6
<b>U4'</b>	---	147,2	146,8
<b>U5'</b>	6,84 (1H, d, $J=8,3$ Hz)	116,5	116,1
<b>U6'</b>	7,06 (1H, dd, $J=2,2$ Hz, $J=8,3$ Hz)	120,7	119,8
<b>L2</b>	4,97 (1H, s)	82,7	81,8
<b>L3</b>	4,27-4,30 (1H, m)	67,8	67,0
<b>L4</b>	2,79 (1H, dd, $J=2,8$ Hz, $J=17,2$ Hz), 2,98 (1H, dd, $J=5,0$ Hz, $J=17,2$ Hz)	30,7	29,9
<b>L5</b>	---	157,5	156,6
<b>L6</b>	6,13 (1H, s)	97,5	96,5
<b>L7</b>	---	153,2	152,3
<b>L8</b>	---	108,1	107,2
<b>L9</b>	---	153,0	152,1
<b>L10</b>	---	103,3	102,5
<b>L1'</b>	---	132,2	131,2
<b>L2'</b>	7,19 (1H, d, $J=2,2$ Hz)	116,9	116,0
<b>L3'</b>	---	146,8	146,0
<b>L4'</b>	---	147,6	146,3
<b>L5'</b>	6,86 (1H, d, $J=8,3$ Hz)	117,0	115,6
<b>L6'</b>	7,02 (1H, dd, $J=2,2$ Hz, $J=8,3$ Hz)	121,3	120,4

\*dados obtidos da literatura. Análise em 125 MHz, CD<sub>3</sub>OD (Kamiya *et al.*, 2001)

As proantocianidinas são uma classe de biflavonoides isolados de plantas. A principal atividade biológica relacionada à proantocianidina A<sub>2</sub> é sua capacidade antioxidante, que em alguns estudos foi maior do que a dos antioxidantes sintéticos hidroxitolueno butilado (BHT) e hidroxianisol butilado (BHA). Alguns estudos também relatam uma eficiente atividade anti-inflamatória promovida por essa substância (Xu *et al.*, 2010a, Oldoni *et al.*, 2016, Lu *et al.*, 2011).



### 3.4 – Atividade antiparasitária dos compostos isolados

A busca por substâncias com atividade antiparasitária está relacionada com a melhoria na qualidade da saúde do ser humano. A espécie de ameba *Acanthamoeba castellanii* é capaz de causar infecções de pele e de cérebro. É mais conhecida por causar queratites na córnea, capaz de levar a dores fortes e cegueira. Apesar dos esforços da comunidade científica, o tratamento de queratites causada por *A. castellanii* não é totalmente eficaz (Shing *et al.*, 2020). A espécie *Naegleria fowleri* é também uma ameba, e é responsável por casos de infecção cerebral e ainda não há cura para a enfermidade provocada por esse parasito (Zeouk *et al.*, 2021). A espécie *Trypanosoma cruzi* é responsável pela doença de Chagas, uma enfermidade infecciosa que pode evoluir e levar a casos de meningite e encefalite. Esse parasito é altamente adaptável e capaz de se disseminar com facilidade entre diferentes espécies de mamíferos. Por conta de sua adaptabilidade, é imprescindível a busca por maneiras de eliminar esse parasito (Jansen *et al.*, 2018). As espécies do gênero *Leishmania* são as causadoras da leishmaniose, uma doença infecciosa que está presente em quase 100 países do mundo – principalmente nos trópicos, incluindo o Brasil (Akhound *et al.*, 2017).

Alguns dos compostos isolados de *M. pubescens*, limitados pelas quantidades extraídas, foram testados frente a espécies de parasitos *Acanthamoeba castellanii*, *Naegleria fowleri*, *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania amazonensis* e *L. donovani*. Os resultados estão apresentados na Tabela 13.

Tabela 13 – Valores de IC<sub>50</sub> na avaliação de atividade antiparasitária de metabólitos isolados de *M. pubescens*

Código	IC <sub>50</sub> (µg/mL)				
	<i>A. castellanii</i>	<i>N. fowleri</i>	<i>T. cruzi</i>	<i>L. amazonensis</i>	<i>L. donovani</i>
<b>MP01</b>	>50	50 - 100	>100	>100	>100
<b>MP03</b>	>100	> 100	>100	>100	>100
<b>MP04</b>	>100	> 100	>100	>100	>100
<b>MP05</b>	100	100	>100	>100	>100
<b>MP06</b>	>100	> 100	>100	>100	>100

Os resultados de IC<sub>50</sub> mostram que a maioria dos compostos não possui atividade antiparasitária frente aos microrganismos testados. A exceção, é o composto **MP01** (meleína) que foi ativo contra amebas da espécie *Naegleria fowleri*. Amebas dessa

espécie são infecciosas e causam um tipo de meningoencefalite em contato com seres humanos. Não existem métodos de tratamentos seguros e eficazes contra a proliferação desse protozoário, mas estudos publicados mostram que há potencial no uso de produtos naturais para o tratamento. Substâncias como a inoloxina A e anfotericina B, por exemplo, apresentaram excelentes resultados na inibição dessa ameba (IC<sub>50</sub> 21,27 ± 2,25 µM e 0,12 ± 0,03 µM, respectivamente) (Zeouk *et al.*, 2021). O valor de IC<sub>50</sub> encontrado para a meleína, apesar de ser maior do que os de outras substâncias investigadas para o tratamento deste parasito, torna essa substância potencial para estudos futuros.

### 3.5 – Fracionamento bioguiado por atividade biológica

O fracionamento bioguiado consiste no acompanhamento das etapas de fracionamento por meio de ensaios de atividades biológicas das frações obtidas. Esses ensaios permitem a prévia seleção de frações mais promissoras, que podem levar ao isolamento de metabólitos bioativos frente à atividade testada. Nesse trabalho, o extrato etanólico das raízes de *M. pubescens* e suas frações e subfrações foram testados em relação a atividades antifúngicas, inseticidas e antiparasitárias.

#### 3.5.1 – Fracionamento bioguiado por atividade antifúngica

Diferentes amostras de *M. pubescens* foram testadas frente às espécies de fungos *Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea* e *Fusarium oxysporum*. A observação de atividade antifúngica dos extratos de *M. pubescens* é uma evidência de uma possível aplicação tecnológica desses extratos (Wenderoth *et al.*, 2019).

Existem mais de 400 espécies de fungos do gênero *Alternaria* que podem atacar mais de 100 espécies diferentes de cultivares. A contaminação por fungos *A. alternata* pode levar à perda da colheita e até a intoxicação do consumidor por micotoxinas. Por isso, é necessária a busca de substâncias capazes de inibirem o crescimento dessa praga.

*Botrytis cinerea* está classificado em segundo lugar entre os principais patógenos fúngicos do mundo em patologia molecular de plantas, em termos econômicos, sendo a principal causa biológica de problemas pós-colheita, uma vez que é responsável pela formação de mofo cinzento. Os esporos desses fungos estão geralmente presentes na superfície de frutas, que, durante o manuseio pós-colheita, podem fornecer um ambiente adequado para a germinação de esporos, principalmente em frutos danificados (Simone *et al.*, 2020).

O fungo *Fusarium oxysporum* causa a murcha de *Fusarium* da banana, uma pandemia que tem ameaçado o cultivo e o comércio de exportação dessa fruta. Esse é um dos principais fatores de estresse biótico que afeta as bananas e a murcha de *Fusarium* é considerada a doença mais destrutiva e amplamente disseminada nas regiões produtoras de banana em todo o mundo. O fungo é transmitido pelo solo e inicialmente se estabelece em uma relação biotrófica interagindo com células vegetais vivas do hospedeiro para, em seguida, em sua fase necrotrófica, atacar esses tecidos. Frequentemente, o fungo persiste em áreas cultivadas por anos devido à sua fase de sobrevivência, além de sobreviver e se multiplicar em hospedeiros alternativos. A doença é caracterizada pelo amarelecimento das folhas jovens e divisão do pseudocaule e, eventualmente, morte da planta (Rocha *et al.*, 2021)

Os resultados das análises preliminares do extrato etanólico das raízes (**EER**) e suas frações **EER<sub>H/D</sub>**, **EER<sub>A</sub>**, **EER<sub>B</sub>** e **EER<sub>Aq</sub>** estão apresentados na Tabela 14.

Tabela 14 – Atividade antifúngica do extrato etanólico de raízes e frações obtidas de *M. pubescens*

Código	% de inibição ± DP*		
	<i>A. alternata</i>	<i>B. cinerea</i>	<i>F. oxysporum</i>
<b>EER</b>	22,88 ± 8,37	29,44 ± 11,71	9,16 ± 8,32
<b>EER<sub>H/D</sub></b>	13,73 ± 12,89	28,67 ± 6,44	21,06 ± 7,64
<b>EER<sub>A</sub></b>	41,36 ± 1,86	49,08 ± 6,88	11,60 ± 8,17
<b>EER<sub>B</sub></b>	32,94 ± 1,69	44,41 ± 5,28	25,03 ± 4,51
<b>EER<sub>Aq</sub></b>	14,75 ± 11,04	15,40 ± 5,04	--

\* concentração testada 1 mg/mL

Nesse teste preliminar foram selecionadas apenas frações com capacidade de inibição superior a 40% contra pelo menos um dos organismos testados. Assim, as frações **EER<sub>A</sub>** e **EER<sub>B</sub>** foram fracionadas em coluna cromatográfica Sephadex LH-20 e suas subfrações submetidas a novos testes. As 12 frações obtidas da fração **EER<sub>A</sub>** (**B1** a **B12**) foram testadas frente às espécies *A. alternata* e *B. cinerea*, enquanto as cinco frações obtidas a partir de **EER<sub>B</sub>** (**C1** a **C5**) foram testadas apenas para a inibição de *B. cinerea*. Os resultados estão apresentados na Tabela 15 (pág. 89).

Tabela 15 – Atividade antifúngica de subfrações de **EER<sub>A</sub>** e **EER<sub>B</sub>**

Código	% de inibição ± DP*	
	<i>A. alternata</i>	<i>B. cinerea</i>
<b>B1</b>	15,71 ± 6,32	14,94 ± 20,42
<b>B2</b>	14,04 ± 2,65	14,33 ± 14,23
<b>B3</b>	23,23 ± 4,47	12,95 ± 11,74
<b>B4</b>	24,29 ± 4,29	12,38 ± 19,26
<b>B5</b>	18,61 ± 5,74	0,23 ± 24,29
<b>B6</b>	20,93 ± 5,04	8,01 ± 23,61
<b>B7</b>	31,02 ± 5,56	--
<b>B8</b>	45,08 ± 3,59	15,19 ± 13,04
<b>B9</b>	51,30 ± 4,93	23,02 ± 18,20
<b>B10</b>	45,66 ± 6,39	36,16 ± 15,13
<b>B11</b>	55,47 ± 4,44	38,50 ± 12,08
<b>B12</b>	55,52 ± 6,56	28,99 ± 17,54
<b>C1</b>	--	20,89 ± 12,62
<b>C2</b>	--	5,87 ± 14,71
<b>C3</b>	--	17,97 ± 6,33
<b>C4</b>	--	12,12 ± 12,54
<b>C5</b>	--	15,13 ± 9,09

\* concentração testada 1 mg/mL

Novamente foram selecionadas frações que apresentaram inibição de pelo menos 40% dos indivíduos para posterior fracionamento. Os ensaios de inibição do fungo *B. cinerea* apresentaram altos valores de desvio padrão, mostrando uma grande variação nos valores obtidos. Estatisticamente esses resultados não são conclusivos, e nenhuma fração foi selecionada segundo a sua atividade inibitória frente a esse fungo.

As frações **B8**, **B9**, **B10** e **B11** foram fracionadas e testadas frente às linhagens de fungo *A. alternata*. **B12** não foi fracionada devido a pequena quantidade obtida.

Todas as frações obtidas de **B8** (**B8.1** a **B8.3**), **B9** (**B9.1** a **B9.4**), **B10** (**B10.1**) e **B11** (**B11.2**) foram testadas frente à espécie *A. alternata*. Os resultados estão apresentados na Tabela 16 (pág. 90).

Tabela 16 – Atividade antifúngica de subfrações obtidas de **B8, B9, B10 e B11**

Código	% de inibição ± DP*
	<i>A. alternata</i>
<b>B8.1</b>	19,57 ± 3,51
<b>B8.2</b>	44,77 ± 3,99
<b>B8.3</b>	31,84 ± 2,25
<b>B9.1</b>	45,70 ± 1,31
<b>B9.2</b>	49,82 ± 3,65
<b>B9.3</b>	41,95 ± 0,99
<b>B9.4</b>	45,97 ± 2,59
<b>B10.1</b>	51,18 ± 1,93
<b>B11.2</b>	48,32 ± 3,45

\* concentração testada 1 mg/mL

Com exceção das frações **B8.1** e **B8.3**, todas as demais levaram à inibição do crescimento de mais de 40% dos indivíduos do fungo estudado, comprovando a atividade das frações.

Entretanto, as massas das frações ativas não foram suficientes para realizar posteriores testes de atividade antifúngica e por isso o acompanhamento bioguiado foi interrompido nessa etapa.

### 3.5.2 – Fracionamento bioguiado por atividade inseticida

*Chrysodeixis chalcites* é uma espécie de traça que pode afetar o crescimento das plantações de banana e tomate. As larvas dessas moscas se alimentam da casca do fruto da banana, prejudicando o comércio da fruta. O tratamento da plantação é feito com grandes quantidades de pesticidas, que por sua vez, podem ser danosos ao meio ambiente e a saúde das comunidades que vivem próximas às plantações (Fuentes *et al.*, 2018). Sendo assim, foi realizada a avaliação da atividade do extrato etanólico das raízes de *M. pubescens* (**EER**) e de frações obtidas desse extrato (**EER<sub>H/D</sub>**, **EER<sub>A</sub>**, **EER<sub>B</sub>** e **EER<sub>Aq</sub>**) contra *Chrysodeixis chalcites*. Os resultados observados estão apresentados na Tabela 17 (pág. 91).

Tabela 17 – Atividade inseticida do extrato etanólico de raízes e frações obtidas de *M. pubescens*

Código	Resultados		Conclusão
	C/ escolha (%)	S/ escolha (%)	
<b>EER</b>	92,14	95,16	Forte antialimentício
<b>EER<sub>H/D</sub></b>	60,52	-27,67	Fraco antialimentício
<b>EER<sub>A</sub></b>	-108,09	61,10	Supressor de apetite
<b>EER<sub>B</sub></b>	-6,69	60,71	Supressor de apetite
<b>EER<sub>Aq</sub></b>	-74,57	44,73	Supressor de apetite

A atividade inseticida foi calculada com base na alimentação de insetos com folhas tratadas/não tratadas com os extratos (teste de herbivoría). A área consumida das folhas foi usada como base de cálculo e os resultados foram fornecidos por *software* OriginPro 8.0. Valores positivos indicam que o vegetal não foi consumido pelos insetos. Valores negativos indicam que o vegetal foi consumido, inclusive em proporção maior ao controle sem tratamento. Extratos que levaram a valores acima de 60% foram considerados de alta atividade. A análise qualitativa dos resultados levou à determinação dos extratos como forte antialimentício, fraco antialimentício ou supressor de apetite.

Os resultados mostraram que o extrato etanólico das raízes da *M. pubescens* possui atividade inseticida. A fração desse extrato que apresentou melhores resultados foi **EER<sub>H/D</sub>**, que se revelou como supressora alimentar, indicando que o uso dessa fração impede que os insetos consumam o vegetal.

A fração ativa **EER<sub>H/D</sub>** foi fracionada, porém as massas obtidas para cada metabólito (**MP01-MP07**) não foram suficientes para realizar ensaios de atividade inseticida.

### 3.5.3 – Fracionamento bioguiado por atividade antiparasitária

O extrato etanólico (**EER**) das raízes de *M. pubescens* e algumas frações obtidas (**EER<sub>H/D</sub>**, **EER<sub>A</sub>**, **EER<sub>B</sub>** e **EER<sub>Aq</sub>**) foram testados frente a espécies de parasitos *Acanthamoeba castellanii*, *Naegleria fowleri*, *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania amazonensis* e *L. donovani*. Os resultados das análises estão apresentados na Tabela 18 (pág. 92).

Tabela 18 – Valores de IC<sub>50</sub> na avaliação de atividade antiparasitária do extrato etanólico de raízes e frações obtidas de *M. pubescens*

Código	IC <sub>50</sub> (µg/mL)				
	<i>A. castellanii</i>	<i>N. fowleri</i>	<i>T. cruzi</i>	<i>L. amazonensis</i>	<i>L. donovani</i>
<b>EER</b>	100-50	95,31	36,11	30,56	30,20
<b>EER<sub>H/D</sub></b>	>100	185,36	NT	NT	NT
<b>EER<sub>A</sub></b>	<50	71,64	45,44	27,73	28,77
<b>EER<sub>B</sub></b>	<50	91,55	44,27	32,95	48,40
<b>EER<sub>Aq</sub></b>	>100	S/A a 200	>200	>200	>200

S/A – Sem atividade, NT – não testado

Nesse teste preliminar foram selecionadas apenas frações com valores de IC<sub>50</sub> inferiores a 50 µg/mL. Assim, as frações **EER<sub>A</sub>** e **EER<sub>B</sub>** foram fracionadas e suas subfrações foram submetidas a novos testes. As 12 frações obtidas da fração **EER<sub>A</sub>** (**B1** a **B12**) e as cinco frações obtidas a partir de **EER<sub>B</sub>** (**C1** a **C5**) foram testadas para todos os cinco parasitos estudados. Os resultados estão apresentados na Tabela 19.

Tabela 19 – Valores de IC<sub>50</sub> na avaliação de atividade antiparasitária de subfrações obtidas do fracionamento bioguiado de *M. pubescens*

Código	IC <sub>50</sub> (µg/mL)				
	<i>A. castellanii</i>	<i>N. fowleri</i>	<i>T. cruzi</i>	<i>L. amazonensis</i>	<i>L. donovani</i>
<b>B1</b>	49,35 ± 14,11	S/A a 200	>100	>100	>100
<b>B2</b>	45,36 ± 11,20	S/A a 200	>100	>100	>100
<b>B3</b>	49,32 ± 11,18	S/A a 200	>100	>100	>100
<b>B4</b>	43,95 ± 9,65	S/A a 200	>100	>100	>100
<b>B5</b>	53,57 ± 12,58	S/A a 200	>100	>100	>100
<b>B6</b>	50,19 ± 6,93	S/A a 200	>100	>100	>100
<b>B7</b>	46,94 ± 6,25	S/A a 200	>100	>100	>100
<b>B8</b>	56,61 ± 14,51	67,15 ± 13,46	51,09 ± 4,28	>50	>100
<b>B9</b>	52,05 ± 8,34	19,39 ± 3,29	24,59 ± 2,61	20,8 ± 1,36	21,21 ± 0,96
<b>B10</b>	52,00 ± 11,35	15,91 ± 0,38	22,11 ± 3,44	24,95 ± 1,52	24,52 ± 3,56
<b>B11</b>	50,94 ± 4,46	23,44 ± 4,75	22,82 ± 0,23	19,75 ± 3,87	23,01 ± 4,59
<b>B12</b>	72,69 ± 0,41	26,57 ± 1,06	30,92 ± 2,27	27,91 ± 3,97	48,01 ± 6,21

Tabela 19 – Valores de IC<sub>50</sub> na avaliação de atividade antiparasitária de subfrações obtidas do fracionamento bioguiado de *M. pubescens* (cont.)

Código	IC <sub>50</sub> (µg/mL)				
	<i>A. castellanii</i>	<i>N. fowleri</i>	<i>T. cruzi</i>	<i>L. amazonensis</i>	<i>L. donovani</i>
<b>C1</b>	66,07 ± 4,29	35,20 ± 2,64	40,2 ± 0,51	5,99 ± 0,55	>50
<b>C2</b>	68,92 ± 15,21	37,40 ± 6,65	51,15 ± 3,52	27,39 ± 4,9	49,25 ± 5,09
<b>C3</b>	57,39 ± 3,00	29,11 ± 4,24	33,98 ± 6,08	6,68 ± 1,6	49,93 ± 1,36
<b>C4</b>	60,47 ± 3,29	31,77 ± 4,76	50,9 ± 2,13	7,52 ± 1,37	>50
<b>C5</b>	63,57 ± 1,58	39,78 ± 2,08	41,05 ± 4,06	6,76 ± 1,59	>50

S/A – Sem atividade

Todas as frações apresentaram atividade antiparasitária em pelo menos um dos microrganismos testados. As subfrações obtidas da fração **EER<sub>A</sub>** (**B1 a B11**) apresentaram valores similares de IC<sub>50</sub> (43,95 ± 9,65 a 56,61 ± 14,51) contra a ameba *Acanthamoeba castellanii*, considerando o desvio padrão. Além disso, as frações **B9**, **B10** e **B11** apresentaram os melhores valores de IC<sub>50</sub> na inibição do desenvolvimento de *N. fowleri* (IC<sub>50</sub> = 19,39 ± 3,29, 15,91 ± 0,38 e 23,44 ± 4,75, respectivamente), *T. cruzi* (IC<sub>50</sub> = 24,59 ± 2,61, 22,11 ± 3,44 e 22,82 ± 0,23, respectivamente) e *L. donovani* (IC<sub>50</sub> = 21,21 ± 0,96, 24,52 ± 3,56 e 23,01 ± 4,59, respectivamente). As subfrações obtidas da fração **EER<sub>B</sub>** (**C1**, **C3**, **C4** e **C5**) apresentaram alta atividade antiparasitária contra a espécie *L. amazonensis* (IC<sub>50</sub> de 5,99 ± 0,55 a 7,52 ± 1,37).

As frações ativas estão sendo analisadas com o objetivo de identificar seus componentes a fim de compreender a atividade antiparasitária observada. Esse trabalho está sendo continuado em parceria com a Universidad de La Laguna (Espanha) e Università de Roma La Sapienza (Itália). Os extratos serão fracionados utilizando equipamentos de HPLC e UHPLC e analisados por meio de técnicas de espectrometria de massas e RMN.

### 3.6 – Considerações finais

O estudo fitoquímico do extrato etanólico das raízes permitiu o isolamento de sete metabólitos secundários: meleína (**MP01**), estigmasterol (**MP02**), escopoletina (**MP03**) eriodictiol (**MP04**), cleomiscosina A (**MP05**), lophirona A (**MP06**) e proantocianidina A<sub>2</sub> (**MP07**). Todas as sete substâncias foram isoladas pela primeira vez de *M. pubescens* e suas identificações contribuirão para o conhecimento do perfil quimiotaxônomico da



---

espécie. Os metabólitos isolados foram testados frente a diferentes linhagens de parasitos para avaliar o potencial inibitório dessas substâncias. A meleína apresentou atividade ( $IC_{50} = 50-100 \mu\text{g/mL}$ ) contra amebas da espécie *Naegleria fowleri*.

O estudo bioguiado das frações do extrato etanólico das raízes da *M. pubescens* permitiu a identificação de frações com promissoras atividades biológicas. Destacam-se as atividades antifúngicas contra a proliferação de *A. alternata* apresentadas pelas subfrações **B8.2**, **B9.1**, **B9.2**, **B9.3**, **B9.4**, **B10.1** e **B11.2**. Também foi observado que o extrato etanólico das raízes e a subfração **EER<sub>HD</sub>** atuam como supressores alimentares no combate às moscas *Chrysodeixis chalcites*. Por fim, foi identificada atividade antiparasitária nesses extratos, visto que foi observado para diferentes subfrações a capacidade de inibição do crescimento de amebas (*Acanthamoeba castellanii* e *Naegleria fowleri*) e protozoários (*Trypanosoma cruzi*, *L. donovani* e *L. amazonensis*). Os resultados dessas investigações apontam caminhos promissores para pesquisas futuras com esta espécie.

CAPÍTULO 4

ESTUDO FITOQUÍMICO DOS  
GALHOS DE *Magonia pubescens*

## CAPÍTULO 4 – ESTUDO FITOQUÍMICO DOS GALHOS DE *Magonia pubescens*

Apesar do potencial biológico relatado na literatura para *Magonia pubescens*, não foram encontrados relatos sobre o estudo fitoquímico ou citotoxicidade dos galhos desta espécie. No entanto, há relatos sobre a atividade citotóxica de extratos de outras partes da planta. Mesquita e col. (2009), por exemplo, avaliaram a citotoxicidade de extratos etanólicos de raízes de *M. pubescens* e encontraram o valor de IC<sub>50</sub> de 7,9 µg/µL contra linhagens de células de câncer de mama MDA-MB-231. Portanto é interessante analisar a composição química dos extratos ativos dos galhos de *M. pubescens*, bem como avaliar sua atividade na inibição do crescimento de células tumorais.

Todos os anos, cerca de 14,1 milhões de pessoas recebem o diagnóstico de câncer em todo o mundo. O câncer é uma doença que pode afetar muitos tecidos humanos diferentes. Atualmente, os principais tratamentos para a doença incluem quimioterapia, radioterapia, imunoterapia ou terapia com células-tronco. Os efeitos adversos desses tratamentos, no entanto, podem ter danos duradouros (Ahmed *et al.*, 2020, Khoury *et al.*, 2020). Além disso, o tratamento do câncer enfrenta dificuldades em sua eficácia, sendo a resistência aos medicamentos, a toxicidade e a baixa especificidade as mais frequentes. Entretanto, evidências de usos tradicionais de plantas mostram que elas têm grande potencial para o desenvolvimento de novas curas para doenças conhecidas (Khoury *et al.*, 2020, Ly *et al.*, 2020). Extratos de plantas têm sido usados há muito tempo como fonte de novos compostos para o tratamento do câncer e hoje em dia são a principal fonte de fármacos para essa finalidade.

Um tipo de câncer com alta incidência é a leucemia, termo genérico que pode designar quatro diferentes doenças. O tratamento da leucemia é feito por meio de quimioterapia intensiva ou transplante de células-tronco, mas esses são tratamentos com efeitos adversos graves. É necessário encontrar medicamentos não tóxicos com efeitos colaterais mínimos para o tratamento da leucemia, e a atividade citotóxica demonstrada por muitos extratos vegetais é um caminho próspero (Huang *et al.*, 2019). Maher e col. (2021) descrevem os usos tradicionais de 20 plantas de diferentes regiões do mundo que podem ser utilizadas para o tratamento da leucemia, destacando entre elas *Litchi chinensis*, uma espécie da família Sapindaceae (Maher *et al.*, 2021). O câncer de mama é outra enfermidade preocupante, e é a principal causa de mortalidade feminina em todo o

mundo. O tratamento, que consiste principalmente em quimioterapia, cirurgia e radioterapia, é ineficaz em alguns casos, levando a necessidade da busca de novos compostos bioativos (Pathiranage *et al.*, 2020). Muitos extratos de plantas da família Sapindaceae apresentam atividade citotóxica contra câncer de mama, como *Litchi chinensis* (Wang *et al.*, 2006), *Majidea zaquebarica* (Gowri, 2020) e *Sapindus trifoliatus* (Rao e Lakshimi, 2012).

Como não há estudos de citotoxicidade para os extratos dos galhos da *Magonia pubescens*, apesar do potencial avaliado a partir da literatura, é interessante realizar a avaliação desses extratos na inibição do crescimento de células tumorais, bem como analisar a composição dos extratos ativos dessa espécie.

#### 4.1 – Objetivos

O trabalho descrito neste capítulo teve como objetivo isolar e identificar os compostos de extratos dos galhos de *Magonia pubescens* A. St.-Hil. Além disso, realizar estudos para investigar a composição química por meio de análises por UHPLC-HRMS e avaliar a citotoxicidade de extratos aquosos de galhos. Para atingir esses objetivos o trabalho foi desenvolvido com duas diferentes abordagens.

Primeira abordagem – Método clássico:

- preparar extratos hexânico, diclorometânico, acetato etílico e etanólico dos galhos de *M. pubescens*;
- isolar metabólitos dos extratos hexânico e diclorometânico dos galhos por meio de fracionamento em coluna cromatográfica e guiado por análises de CCD;
- determinar a estrutura química dos compostos isolados empregando métodos espectroscópicos (IV e RMN).

Segunda abordagem – *Screening* fitoquímico:

- obter o extrato aquoso de galhos de *Magonia pubescens*;
- fracionar o extrato obtido por meio de marcha química utilizando partições líquido-líquido sucessivas;
- realizar análises de citotoxicidade das frações do extrato aquoso frente a células humanas de leucemia e câncer de mama;
- identificar, empregando sistema UHPLC-HRMS, compostos presentes nas frações do extrato aquoso.

## 4.2 – Experimental

O estudo fitoquímico foi desenvolvido a partir dos galhos secos e moídos de *M. pubescens*. Os extratos hexânico, diclorometânico, acetato etílico e etanólico foram obtidos por maceração com os respectivos solventes. Dois destes extratos (hexânico e diclorometânico) foram submetidos a fracionamento por coluna cromatográfica de sílica e foram isolados quatro metabólitos secundários. Em uma segunda abordagem, o extrato aquoso, obtido por decocção, foi particionado e as três frações obtidas foram testadas frente a três linhagens celulares de câncer. Essas frações foram também analisadas por UHPLC-HRMS para identificação de metabólitos secundários.

### 4.2.1 – Coleta e identificação do material vegetal de *M. pubescens*

Os galhos de indivíduos da espécie *M. pubescens* foram coletados pela botânica Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Maria Olívia Mercadante-Simões (UNIMONTES) no município de Montes Claros, MG (coordenadas geográficas 16° 25' 26'' S, 43° 32' 10'' O) em setembro de 2017. Uma exsicata da espécie encontra-se depositada no herbário da UFMG sob o nº 106750. A atividade de acesso ao Patrimônio Genético foi cadastrada no SisGen e recebeu o número AAC6C0E.

### 4.2.2 – Isolamento e determinação estrutural de constituintes dos galhos de *M. pubescens*

Os métodos gerais aplicados ao estudo fitoquímico dos galhos foram semelhantes aos métodos descritos no “Capítulo 3 – Raízes”, e podem ser conferidos no item “3.2.1 – Métodos gerais”, na página 31.

A nomenclatura dos extratos foi feita da seguinte forma: letra E, para extrato; H para hexânico; D para diclorometânico; A para acetato etílico; E para etanólico; e G para galhos. A notação empregada para codificar os compostos isolados dos galhos de *M. pubescens* tem as iniciais da planta seguida por ordem de isolamento, enumerados em sequências aos compostos descritos no capítulo 3.

O material vegetal coletado secou a temperatura ambiente e foi pulverizado em moinho de martelos. Após a moagem, parte do material (1,298 kg do pó dos galhos) foi submetido ao processo de maceração exaustiva, a temperatura ambiente, por sete dias, com quatro repetições, levando à obtenção dos extratos. Foram obtidos extratos com os seguintes solventes: hexano (**EHG**), diclorometano (**EDG**), acetato de etila (**EAG**) e etanol (**EEG**). Na Figura 63 (pág. 99) é apresentado um esquema dos processos de

maceração realizados. Os extratos foram obtidos após filtração e remoção dos solventes, por meio de destilação sob pressão reduzida em evaporador rotatório.

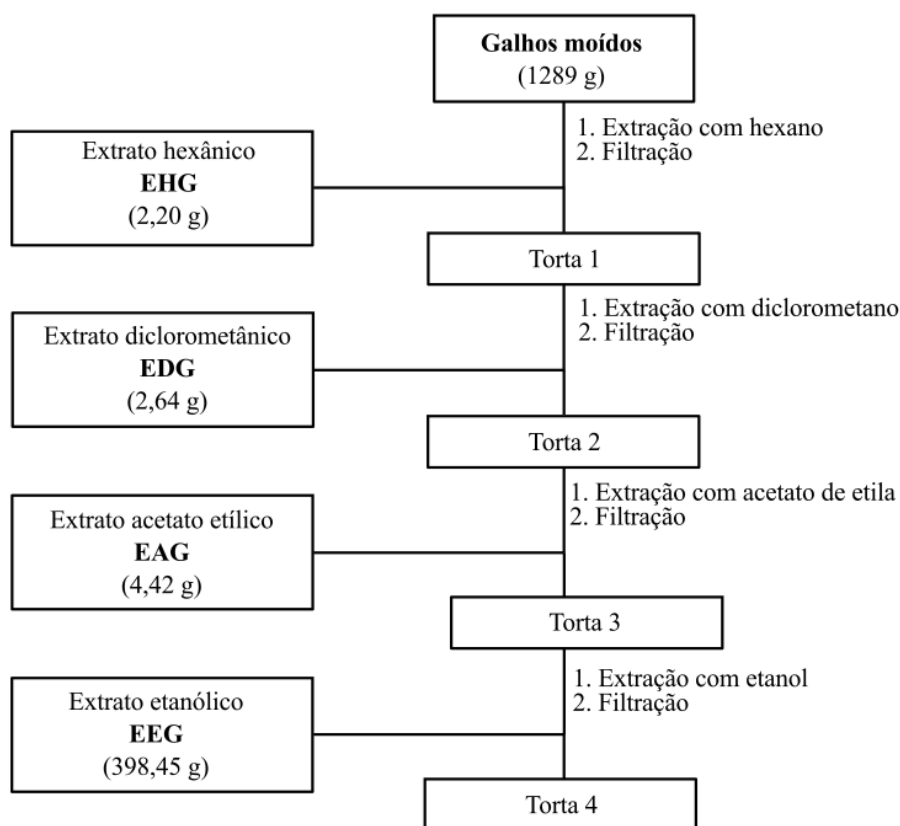
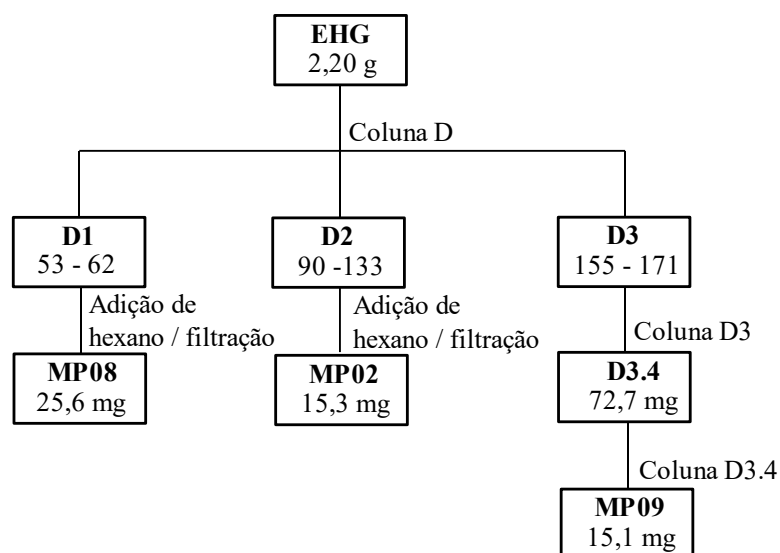


Figura 63 – Preparação dos extratos dos galhos de *Magonia pubescens*.

#### 4.2.2.1 – Elaboração do extrato hexânico (**EHG**)

O extrato hexânico (2,20 g) foi submetido ao fracionamento por meio de coluna cromatográfica (coluna D) em sílica-gel 60 (70-230 Mesh). Foram empregados hexano, clorofórmio, acetato de etila e etanol como eluentes, em ordem crescente de polaridade. Obtiveram-se 244 frações de aproximadamente 30 mL cada, que foram reunidas em 18 grupos, após análise por CCD. Na Figura 64 (pág. 100) é apresentado um esquema de fracionamento de **EHG** mostrando apenas as frações **D1**, **D2** e **D3** que levaram à obtenção dos compostos **MP02**, **MP08** e **MP09**, respectivamente. As demais frações foram investigadas, mas não levaram ao isolamento e identificação de metabólitos pela sua complexidade. Análises de TLC mostraram a presença de muitos compostos nessas frações, revelando a riqueza que metabólitos biossintetizados pela espécie. Estudos futuros com maior massa de material vegetal devem ser realizados para o isolamento de outros metabólitos.

Figura 64 – Elaboração da fração **EHG**.

**D1** (74,9 mg, hexano/ $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  3:2) – apresentou-se como um sólido amarelo alaranjado solúvel em clorofórmio. Após a adição de hexano, cristais alaranjados do composto **MP08** foram obtidos com massa de 25,6 mg e foram submetidos à análise por RMN de  $^1\text{H}$ , de  $^{13}\text{C}$  e DEPT135.

**D2** (88,2 mg, hexano/ $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  2:8) – apresentou-se como um sólido amarelado solúvel em clorofórmio. Após a adição de hexano, um precipitado branco do composto **MP02** foi obtido com massa de 15,3 mg e foi submetido à análise por RMN de  $^1\text{H}$ , de  $^{13}\text{C}$  e DEPT135.

**D3** (272,0 mg,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$  9:1) – apresentou-se como sólido amarelo esverdeado solúvel em clorofórmio. Adicionou-se hexano e o precipitado obtido (204,0 mg) foi fracionado em nova coluna cromatográfica (coluna D3) de sílica-gel 60 (70-230 Mesh), empregando clorofórmio e acetato de etila em gradiente de polaridade. Foram obtidas 42 frações de 15 mL, que foram reunidas em sete subfrações. A subfração D3.4 (72,7 mg,  $\text{CHCl}_3/\text{AcOEt}$  9:1) foi purificada em coluna cromatográfica de sílica-gel 60 (70-230 Mesh) (coluna D3.4) utilizando clorofórmio como eluente. Um sólido branco, denominado **MP09** de massa 15,1 mg foi obtido e analisado por RMN de  $^1\text{H}$ , de  $^{13}\text{C}$  e DEPT135.

4.2.2.2 – Elaboração do extrato diclorometânico (**EDG**)

O extrato diclorometânico (2,64 g) foi submetido ao fracionamento por coluna cromatográfica de sílica-gel 60 (70-230 Mesh) (coluna E). Foram empregados clorofórmio, acetato de etila e metanol como eluentes, em ordem crescente de polaridade. Obtiveram-se 220 frações de aproximadamente 30 mL cada, que foram reunidas em 20 grupos após análise por CCD. Estes grupos foram recromatografados. No entanto, apenas **E1** levou ao isolamento de substância. Na Figura 65 é apresentado um esquema de fracionamento que levou à obtenção de **MP03**.

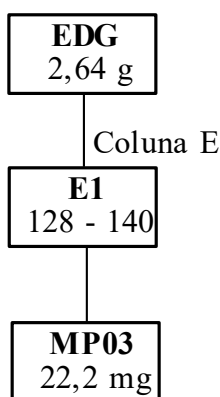


Figura 65 – Elaboração da fração **EDG**.

**E1** (166,6 mg, CHCl<sub>3</sub>/AcOEt 7:3) – apresentou-se como um sólido ligeiramente esverdeado solúvel em clorofórmio. Este sólido foi tratado com hexano, filtrado levando a obtenção de **MP03**, 22,2 mg, que foi analisado por RMN de <sup>1</sup>H, de <sup>13</sup>C e DEPT135.

O estudo fitoquímico dos extratos hexânico e diclorometânico dos galhos de *M. pubescens* permitiram a identificação de quatro metabólitos secundários, sendo eles lapachol (**MP08**), maniladiol (**MP09**), estigmasterol (**MP02**) e escopoletina (**MP03**). Os extratos acetato etílico e etanólico não foram trabalhados. A numeração dos compostos foi feita em sequência aos compostos isolados das raízes e descritos no capítulo 3.

## 4.2.3 – Preparação do extrato aquoso e fracionamento por partição

Foi realizada extração por decocção com outra parte do pó dos galhos obtidos no item 4.2.2 (pág. 98). Para isso 20 g do material moído foram aquecidos a 60 °C em água com agitação por 2 h. O extrato obtido (**EAqG**) foi elaborado utilizando marcha química (Silva *et al.*, 2012). para obter as frações **EAqG1**, **EAqG2**, **EAqG3** e **EAqG4** (Fig. 66).



Para a realização da marcha química, **EAqG** foi alcalinizado com hidróxido de amônio até atingir aproximadamente pH 10. Em seguida foram realizadas extrações com 100 mL de acetato de etila e éter etílico (3:1) por três vezes. Ambas as frações obtidas, aquosa (FAq) e orgânica (FO), foram acidificadas com HCl até aproximadamente pH 2. Após acidificação, a fração aquosa (FAq) foi extraída com 100 mL da mistura de acetato de etila e éter etílico (3:1) por três vezes, gerando uma fase aquosa (**EAqG1**) e uma fase orgânica (**EAqG2**). A fração orgânica (FO) acidificada foi extraída por três vezes com 100 mL de solução aquosa de HCl (pH 2), dando origem à fase aquosa (**EAqG3**) e à fase orgânica (**EAqG4**). O diagrama apresentado na Figura 66 resume a marcha química utilizada. Os solventes orgânicos foram eliminados utilizando evaporador rotatório e os extratos aquosos foram liofilizados.

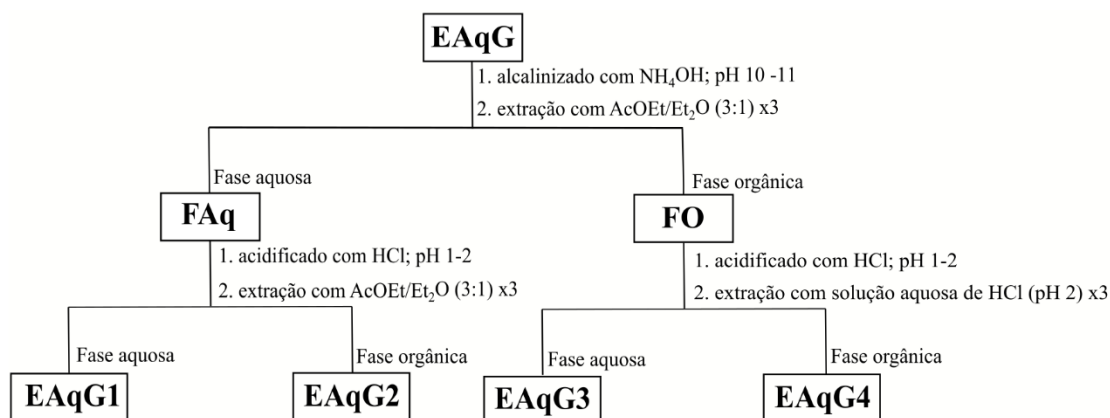


Figura 66 – Marcha química para o particionamento do extrato aquoso dos galhos de *M. pubescens*.

#### 4.2.4 – Análise por UHPLC–HRMS

**EAqG2**, **EAqG3** e **EAqG4** foram analisadas qualitativamente por cromatografia líquida de ultra-performance (UHPLC) - ionização por eletrospray (ESI) - espectrometria de massa em tandem (MS<sup>2</sup>). As amostras foram solubilizadas em 5 mg/mL em metanol. Uma amostra de metanol foi analisada como branco. As análises de UHPLC-HRMS foram realizadas em um sistema Nexera UHPLC (Shimadzu) acoplado a um espectrômetro de massa ES/IQ/TOF de alta resolução maXis ETD (Bruker, EUA) e controlado pelo pacote de software Compass 1.5 (Bruker). As frações (20 µL) foram injetadas em uma coluna Shim-Pack XR–ODS III (C18, 2,2 µm, 2,2 × 200 mm, Shimadzu) a 40 °C usando uma taxa de fluxo de 200 µL/min. O gradiente de eluente foi formado por duas fases móveis, A e B (0,1% de ácido fórmico em água e ACN,

respectivamente), começando com solução de B a 5% durante os 0,5 min iniciais, seguido por um aumento linear até uma solução de 100% de B durante 12,5 min, e uma retenção final por 1 min da solução 100% de B. Os cromatogramas foram monitorados por ultravioleta nos comprimentos de onda de 214 e 254 nm. Os espectros de massa foram adquiridos no modo positivo a uma taxa de espectros de 5 Hz. Os parâmetros da fonte de íons foram definidos para deslocamento da placa final de 500 V, voltagem capilar de 4.500 V, pressão do nebulizador de 2,0 bar e fluxo de gás de 8,0 L/min e 200 °C. Os dados dependentes da fragmentação do precursor foram realizados em energias de colisão de 40 eV. A análise foi feita por ESI mod+, com varreduras de 100 a 1500 *m/z*. Os compostos foram detectados por análise cromatográfica de pico com subsequente determinação da fórmula de acordo com a massa exata e padrão de isótopo (MS<sup>1</sup>) e comparação de bancos de dados de espectros de fragmento do composto (MS<sup>2</sup>). Um banco de dados interno de compostos padrão, o banco de dados de espectros públicos MassBank (Horai *et al.* 2010), e o banco de dados calculados *in silico* serviram como fontes de espectros de fragmentos ESI de referência.

#### 4.2.5 – Ensaios MTT de citotoxicidade

A avaliação da atividade citotóxica das amostras **EAqG2**, **EAqG3** e **EAqG4** foi realizada com linhagens de células humanas MDA-MB-231 (adenocarcinoma mamário), K562 (leucemia mieloide crônica), THP-1 (leucemia monocítica aguda) e Wi-26VA4 (células saudáveis de fibroblastos pulmonares). Análises *in vitro* foram conduzidas por meio do método de plaqueamento de  $1 \times 10^7$  células em microplacas de 96 poços. Depois do plaqueamento das células, as microplacas foram incubadas por no mínimo 24 h a 37 °C na presença de 5% de CO<sub>2</sub>. Os poços foram lavados com meio de cultura (RPMI-1640 + 20% soro fetal bovino inativado + 2 mM L-glutamina + 100 U/L penicilina) e incubados com amostras a concentrações de 0,1, 1,0, 10,0 e 100,0 µg/mL. Células sem tratamento foram usadas como controle negativo. Os fármacos etoposídeo, citarabina e imatinibe, empregados no tratamento do câncer, foram usadas como controle positivo. Depois da incubação por 48 h, o meio em cada poço foi removido, descartado, e 100,0 µL de 5% MTT (brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio, Sigma-Aldrich, EUA) foram adicionados para determinar a viabilidade celular. Medidas colorimétricas foram realizadas a 550 nm empregando um equipamento Spectramax M5e (Thermo Fisher Scientific, EUA), como leitor de microplacas. Todos os experimentos foram realizados em triplicata. A densidade ótica do formazan formado em células controle não tratadas

foram medidas como 100% de viabilidade. Os resultados foram expressos como medidas de IC<sub>50</sub> (a concentração letal de fármaco capaz de reduzir a viabilidade celular em 50%). Valores de IC<sub>50</sub> foram calculados utilizando o *software* OriginPro 8.0 (OriginLab Corporation, Northampton, MA, EUA). O Índice de Seletividade (IS) calculado corresponde à razão entre a atividade citotóxica frente às células WI-26VA4 (células dos fibroblastos pulmonares saudáveis) e a linhagem de tumor celular.

#### 4.3 – Resultado e discussão do isolamento e caracterização de constituintes dos galhos de *Magonia pubescens*

O isolamento dos metabólitos dos galhos dessa planta constitui uma frente de trabalho desse capítulo. Para isso, foram fracionados, por cromatografia em coluna, os extratos hexânico e diclorometânico. Foram isolados o lapachol (**MP08**), o maniladiol (**MP09**), estigmasterol (**MP02**) e escopoletina (**MP03**). Todos os compostos foram isolados pela primeira vez da *M. pubescens*. **MP02** e **MP03** também foram isolados das raízes da espécie e **MP03** e **MP08** foram identificados posteriormente nas análises de UHPLC-HRMS. A determinação estrutural dos compostos **MP08** e **MP09** está descrita a seguir. O conjunto de dados físicos e espectroscópicos dos compostos isolados estão disponíveis no Apêndice (pág. 152, 153, 158 e 159).

##### 4.3.1 – Determinação estrutural de **MP02** e **MP03**

Os compostos **MP02** e **MP03** também foram identificados nas raízes da espécie e a elucidação estrutural está apresentada em itens próprios no capítulo 3 (pág. 48 e pág. 51, respectivamente). A presença desses metabólitos foi identificada por comparação dos dados de RMN com a literatura.

##### 4.3.2 – Determinação estrutural de **MP08**

**MP08** foi obtido como um sólido alaranjado cristalino. Em seu espectro de RMN de <sup>1</sup>H (Fig. 68, pág. 105) são observados sinais característicos de um sistema aromático dissustituído, em:  $\delta_H$  7,67 (1H, dt,  $J=7,5$  Hz,  $J=1,4$  Hz),  $\delta_H$  7,75 (1H, dt,  $J=1,4$  Hz,  $J=7,5$  Hz),  $\delta_H$  8,07 (1H, dd,  $J=1,4$  Hz,  $J=7,5$  Hz) e  $\delta_H$  8,12 (1H, dd,  $J=1,4$  Hz,  $J=7,5$  Hz). No espectro também são observados dois simpletos em  $\delta_H$  1,68 e 1,79, integrados para três hidrogênios cada, que foram atribuídos à presença de duas metilas no composto. Também se observaram outros dois sinais, sendo um duplete em  $\delta_H$  3,31 (2H, d,  $J=7,4$  Hz) e um

triplete em  $\delta_H$  5,21 (1H, m), este último indicando a presença de uma ligação dupla de alceno.

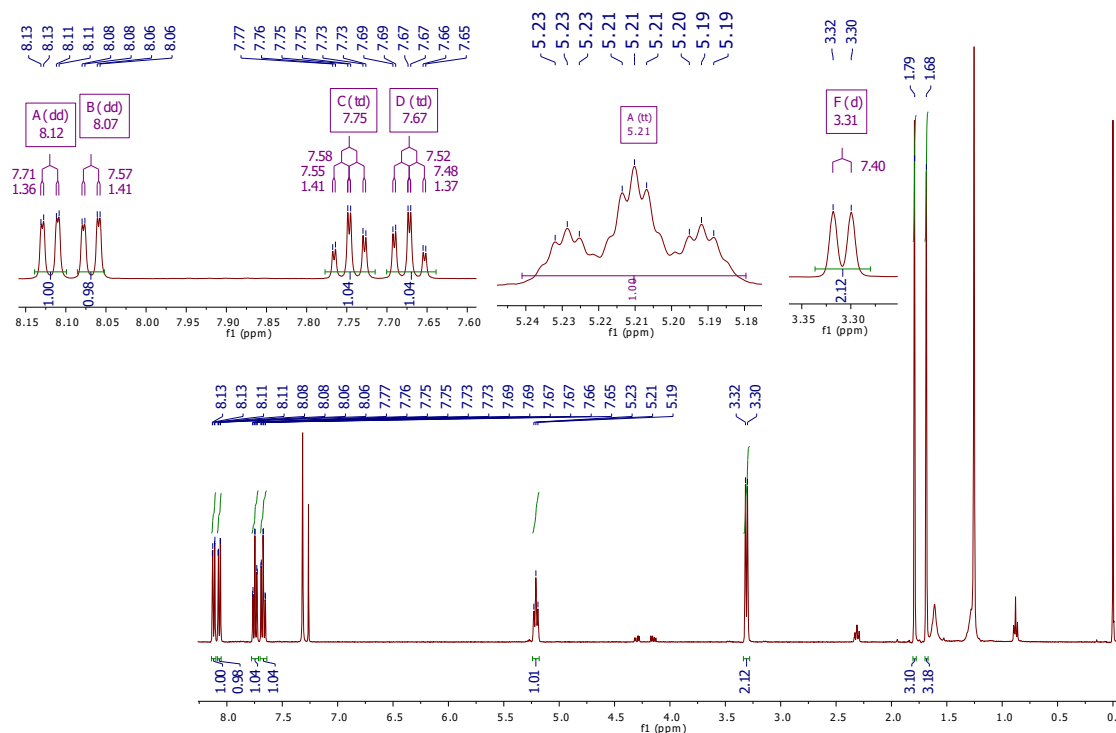


Figura 68 – Espectro de RMN de <sup>1</sup>H de **MP08** (CDCl<sub>3</sub>; 400 MHz).

Nos espectros de RMN de <sup>13</sup>C e DEPT135 (Fig. 69 e Fig. 70, pág. 106, respectivamente) observam-se os sinais de 15 átomos de carbono, sendo atribuídos a dois de átomos de carbono metílico, dois átomos de carbono metilênico, cinco de átomos de carbono metínico e sete átomos de carbono não hidrogenado (o carbono metilênico com deslocamento em  $\delta_C$  29,7 foi atribuído a impureza). Observam-se dois sinais em  $\delta_C$  181,7 e 184,6 característicos de átomos de carbono de carbonila. Os sinais em  $\delta_C$  119,7, 123,5, 133,9 e 152,7 indicam a presença de duas ligações duplas, com destaque ao sinal registrado em  $\delta_C$  152,7 que pode ser atribuído a um átomo de carbono pertencente a um sistema enólico. Também se observaram dois sinais de carbonos relacionados a duas metilas em  $\delta_C$  17,9 e 25,8 e um sinal de CH<sub>2</sub> em  $\delta_C$  22,6.

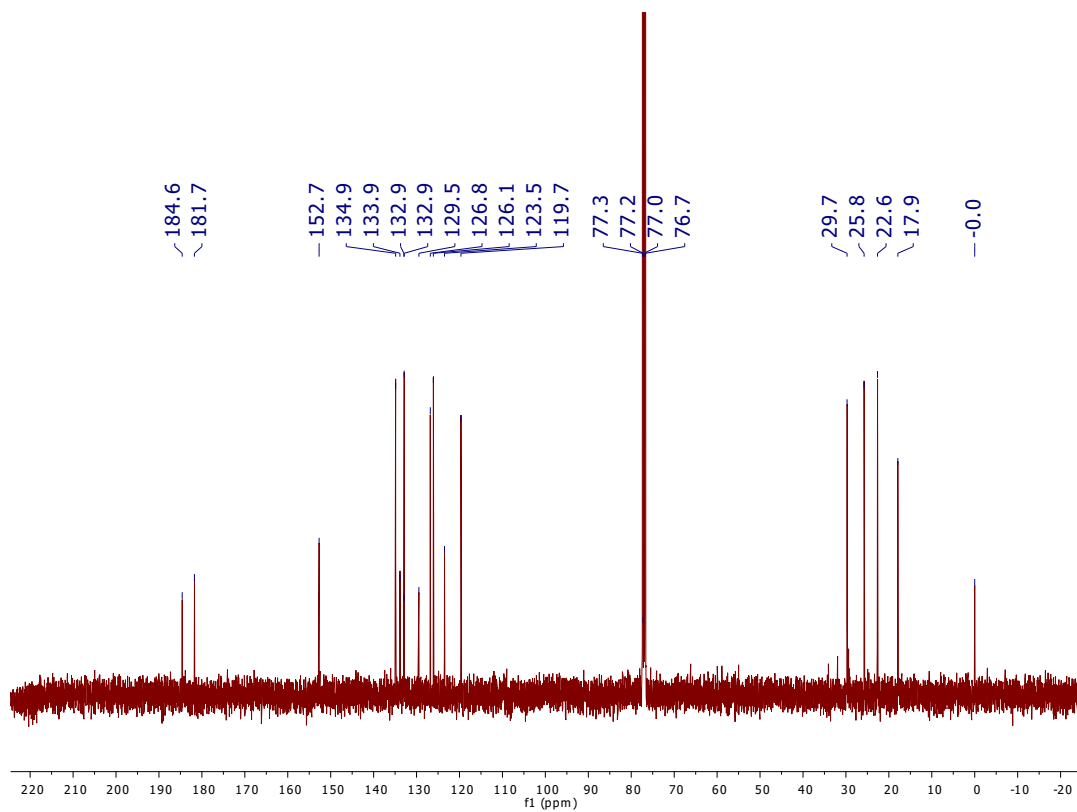


Figura 69 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **MP08** ( $\text{CDCl}_3$ ; 100 MHz).

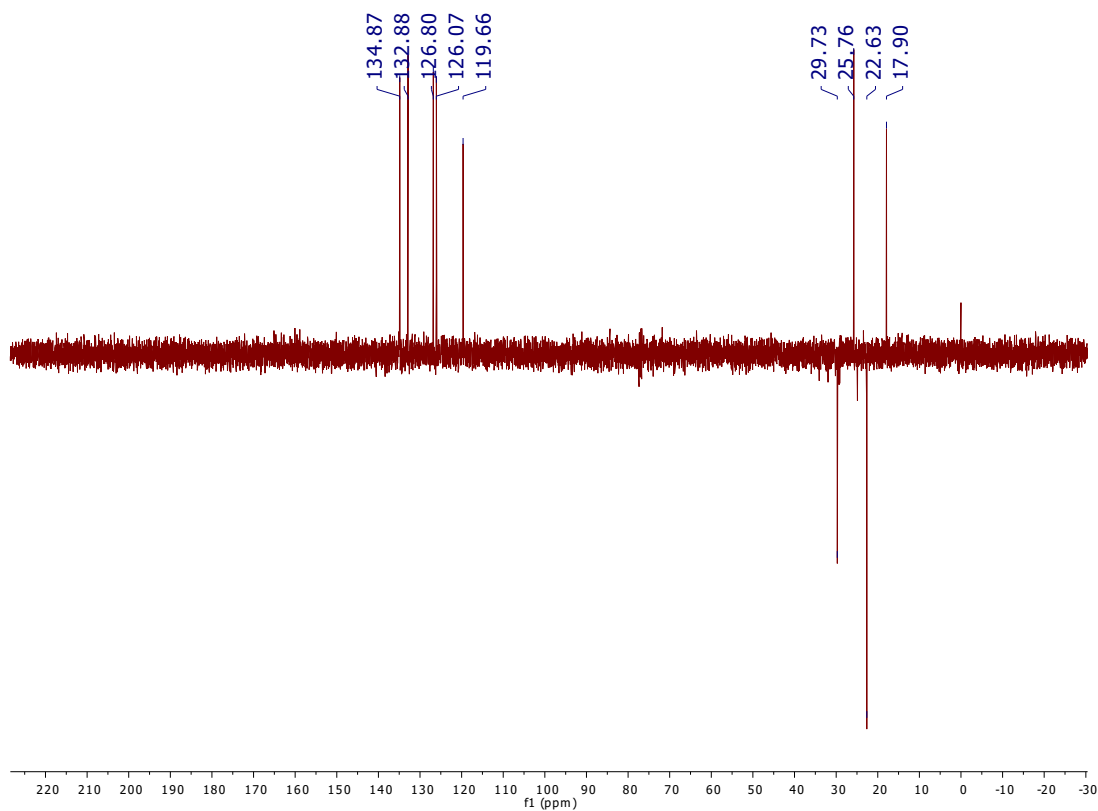


Figura 70 – Espectro DEPT 135 de **MP08** ( $\text{CDCl}_3$ ; 100 MHz).

Os dados de RMN e a comparação com dados da literatura (Dawson *et al.*, 1989) permitiram estabelecer a estrutura do **MP08** como o **lapachol** (Fig. 71). As atribuições de sinais são apresentadas na Tabela 20.

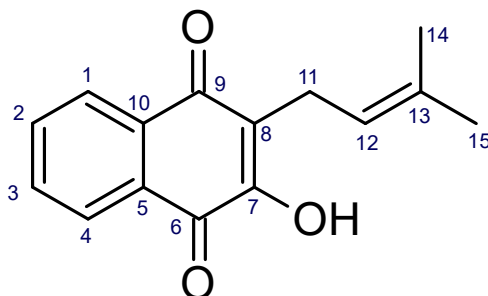


Figura 71 – Estrutura química do lapachol.

Tabela 20 – Atribuição dos dados de  $\delta_H$  (400 MHz) e  $\delta_C$  (100 MHz) para **MP08**

N.	$\delta_H$ (ppm)	$\delta_C$ (ppm)	$\delta_C$ (ppm)*
1	8,07 (1H, dd, $J=1,4$ Hz, $J=7,5$ Hz)	126,8	126,7
2	7,67 (1H, dt, $J=1,4$ Hz, $J=7,5$ Hz, $J=7,5$ Hz)	134,9	134,7
3	7,75 (1H, dt, $J=1,4$ Hz, $J=7,5$ Hz, $J=7,5$ Hz)	132,9	132,8
4	8,12 (1H, dd, $J=1,4$ Hz, $J=7,5$ Hz)	126,1	126,0
5	—	129,5	129,4
6	—	181,7	181,6
7	—	152,7	152,7
8	—	123,5	123,4
9	—	184,6	184,5
10	—	132,9	132,9
11	3,31 (2H, d, $J=7,4$ Hz)	22,6	22,6
12	5,21 (1H, m)	119,7	119,6
13	—	133,9	133,7
14	1,68 (3H, s)	25,8	25,7
15	1,79 (3H, s)	17,9	17,8

\*dados obtidos da literatura. Análise em 100 MHz,  $CDCl_3$  (Dawson *et al.*, 1989)

O lapachol é uma naftoquinona largamente descrita na literatura. Foi primeiro isolado em 1882 da árvore *Tabebuia avellanae*, e seu nome é derivado do nome popular dessa espécie, “lapacho” (Hussain *et al.*, 2007). O lapachol possui comprovada atividade antitumoral e antiproliferativa. Além disso, possui também atividade antiangiogênica, leishmanicida, antiabscesso, antiúlcera, antiédêmica, anti-inflamatória, antimalárica, antisséptica, antiviral, bactericida, fungicida, inseticida, pesticida, protosticida, esquistossomicida, termiticida e viricida (Hussain *et al.*, 2007, Epifano *et al.*, 2014, Lima *et al.*, 2004).

#### 4.3.3 – Determinação estrutural de **MP09**

**MP09** foi obtido como um sólido cristalino. No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Fig. 72) são observados oito simpletos referentes a oito metilas em  $\delta_{\text{H}}$  0,79, 0,80, 0,89, 0,91, 0,94, 0,99, 1,00 e 1,22, indicando a possibilidade de o composto possuir um esqueleto terpênico. Além dos sinais das metilas, observou-se um sinal de hidrogênio de carbono de ligação dupla ( $\delta_{\text{H}}$  5,25) e sinais de dois hidrogênios ligados a carbonos carbinólicos ( $\delta_{\text{H}}$  4,20 e  $\delta_{\text{H}}$  3,21).

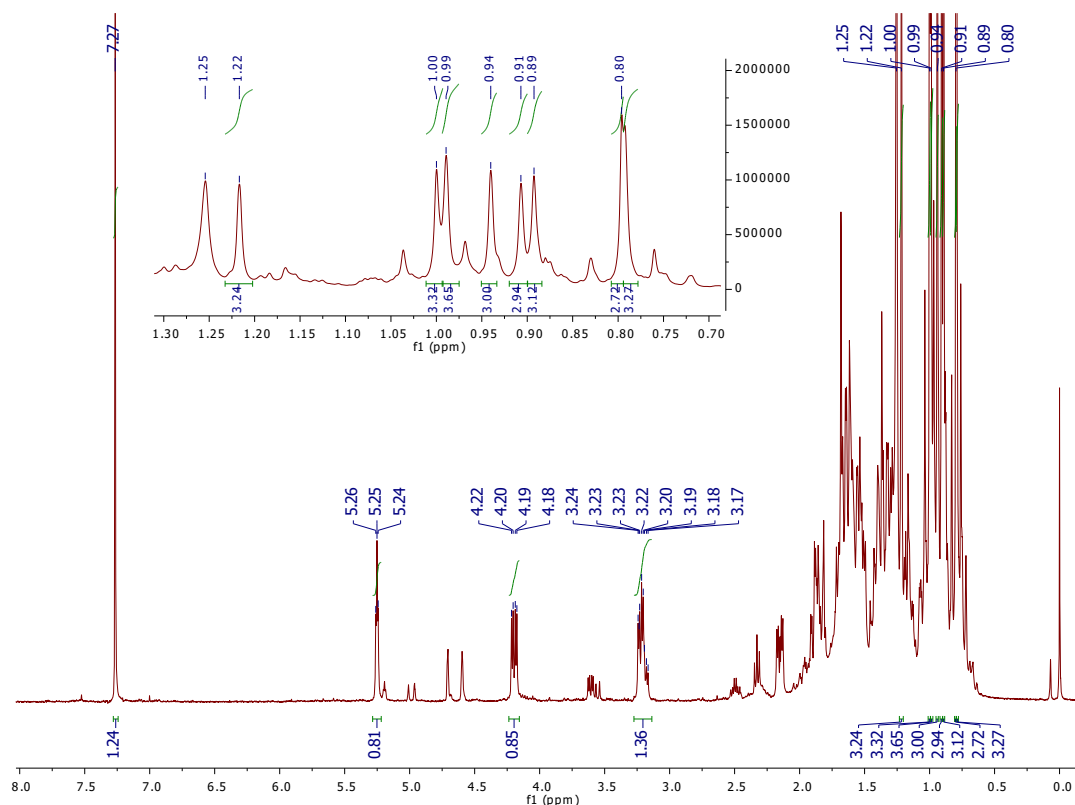


Figura 72 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **MP09** ( $\text{CDCl}_3$ ; 400 MHz).

Nos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  e DEPT135 (Fig. 73 e Fig. 74, pág. 110, respectivamente) foram observados sinais referentes a oito átomos de carbono metílico, nove átomos de carbono metilênico, seis átomos de carbono metínico e sete átomos de carbono não-hidrogenado, totalizando 30 sinais de átomos de carbono. Os sinais em  $\delta_{\text{C}}$  15,5, 15,6, 16,9, 21,5, 24,0, 27,1, 28,1 e 33,3 são referentes aos oito grupos metila da molécula detectados no espectro de RMN de  $^1\text{H}$ . Os sinais em  $\delta_{\text{C}}$  79,0 e 66,1 são característicos dos átomos de carbono ligados a grupo hidroxila, enquanto os sinais em  $\delta_{\text{C}}$  143,6 e 122,3 correspondem a uma ligação dupla, com valores típicos de triterpenos da classe dos oleananos (Mahato e Kundu, 1994).

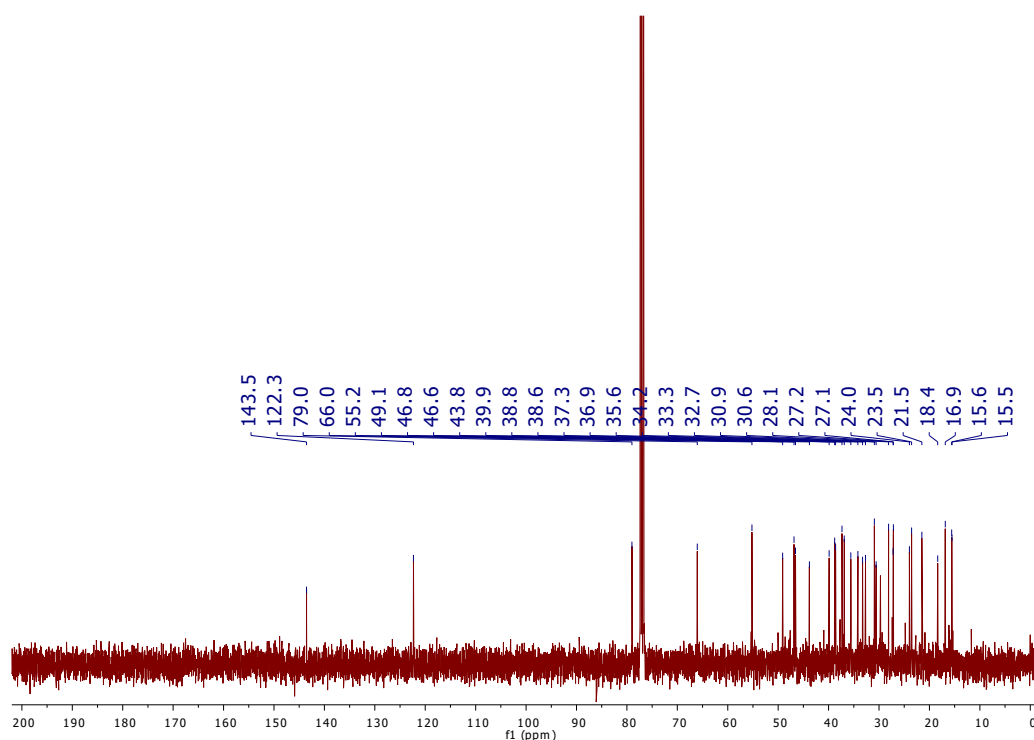
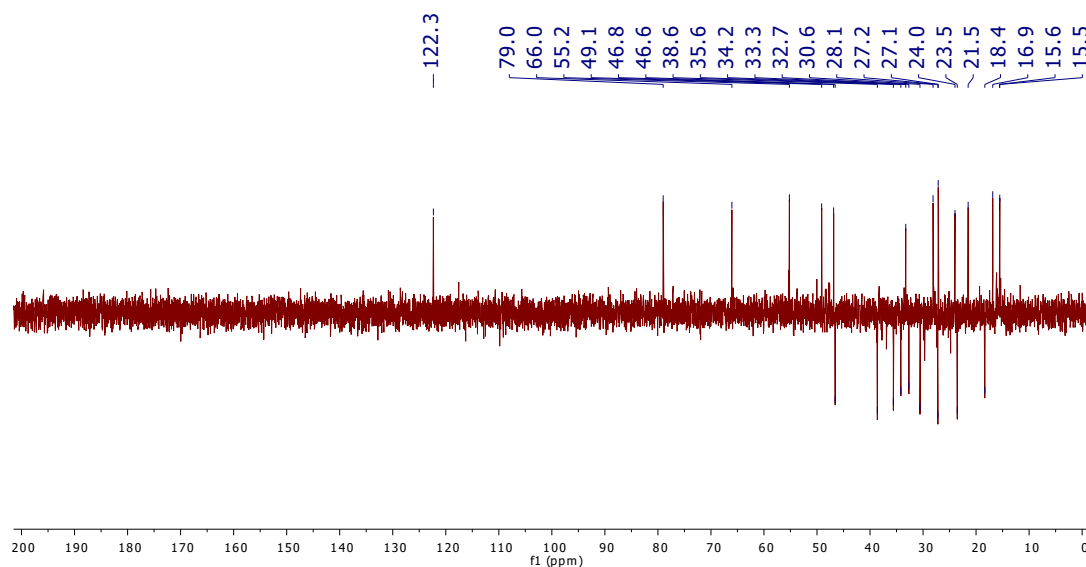


Figura 73 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **MP09** ( $\text{CDCl}_3$ ; 100 MHz).



Figura 74 – Espectro DEPT135 do composto **MP09** (CDCl<sub>3</sub>; 100 MHz).

Os dados de RMN e a comparação com dados publicados (Maia *et al.*, 2000) permitiram estabelecer a estrutura do **MP09** como o **maniladiol** (Fig. 75). A atribuição dos sinais é apresentada na Tabela 21 (pág. 111).

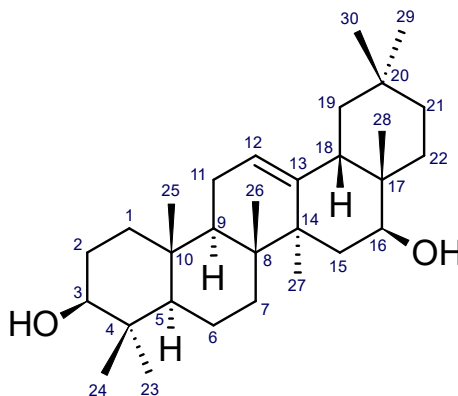


Figura 75 – Estrutura química do maniladiol.

Tabela 21 – Atribuição dos dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\delta_{\text{C}}$ , 100 MHz) para o composto **MP09**

N.	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)*	N.	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)*
<b>1</b>	38,6	38,0	<b>16</b>	66,1	65,4
<b>2</b>	27,2	26,7	<b>17</b>	36,9	36,8
<b>3</b>	79,0	78,4	<b>18</b>	49,1	48,6
<b>4</b>	38,8	38,3	<b>19</b>	46,6	46,1
<b>5</b>	55,2	54,7	<b>20</b>	30,9	30,4
<b>6</b>	18,4	17,8	<b>21</b>	34,2	33,7
<b>7</b>	32,7	32,2	<b>22</b>	30,6	29,1
<b>8</b>	39,9	39,4	<b>23</b>	28,1	27,6
<b>9</b>	46,9	46,4	<b>24</b>	15,6	15,1
<b>10</b>	37,3	36,8	<b>25</b>	15,5	15,0
<b>11</b>	23,5	23,0	<b>26</b>	16,9	17,1
<b>12</b>	122,3	121,8	<b>27</b>	27,1	26,7
<b>13</b>	143,6	143,0	<b>28</b>	21,5	21,0
<b>14</b>	43,8	43,3	<b>29</b>	24,0	23,7
<b>15</b>	35,6	35,1	<b>30</b>	33,3	32,7

\*dados obtidos da literatura. Análise em  $\text{CDCl}_3$  (Maia *et al.*, 1989)

O triterpeno maniladiol foi isolado pela primeira vez de *Manila elemi*, em 1940 (Quijano *et al.*, 1998). Um estudo recente relatou que esse triterpeno possui atividade antissalmonela, apresentando potencial bactericida (Sokodjou *et al.*, 2020).

#### 4.4 – Composição química dos extratos aquosos de *M. pubescens*

O extrato **EAqG** foi particionado por marcha química em quatro frações (**EAqG1**, **EAqG2**, **EAqG3** e **EAqG4**) (Silva *et al.*, 2012). A fração **EAqG1**, muito polar, não foi investigada por limitações de solubilidade. As demais frações apresentaram solubilidade adequada para o estudo. Considerando a marcha química empregada, espera-se que a fração **EAqG2** concentre os constituintes de caráter ácido, **EAqG3** concentre os compostos básicos e **EAqG4**, os compostos solúveis em solvente orgânico. Entretanto, não foram feitas análises quantitativas para confirmar a eficácia da separação por marcha química proposta.

**EAqG2**, **EAqG3** e **EAqG4** foram analisadas em um sistema UHPLC-HRMS. Os cromatogramas obtidos estão apresentados na Figura 76 (pág. 113). Os valores de massa exata e os perfis de fragmentação obtidos para as substâncias dos picos presentes nos cromatogramas das frações **EAqG2**, **EAqG3** e **EAqG4** foram usados para identificar os compostos presentes nos diferentes extratos. Os dados obtidos nessa análise foram comparados com os dados de três bancos de dados: (i) CPqRR – banco de dados do Instituto René Rachou, Fiocruz Minas; (ii) MassBank – banco de dados público (Horai et al., 2010); e (iii) UNPD – banco de dados com espectros obtidos in silico. Foram excluídos os picos que não obtiveram correspondência com os espectros dos bancos de dados consultados.

#### 4.4.1 – Análise da composição da fração **EAqG2**

Na Tabela 22 (pág.114-115) estão apresentados os compostos identificados putativamente para a fração **EAqG2**, por UHPLC-HRMS, a partir da comparação com os bancos de dados. As estruturas químicas dos compostos estão apresentadas no Apêndice (Fig. A2, pág. 161).

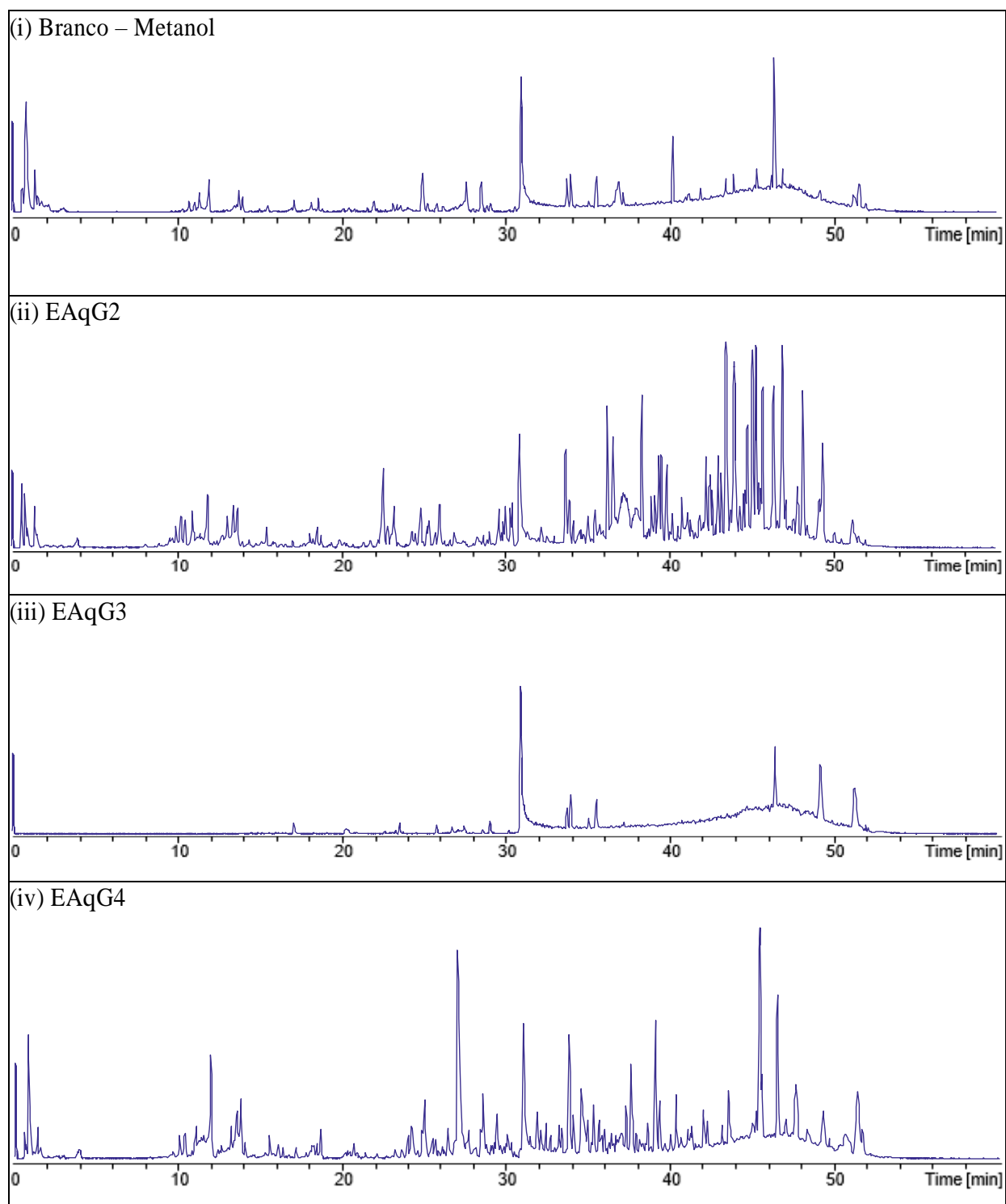


Figura 76 – Cromatogramas obtidos em UHPLC–HRMS para as frações **EAqG2** (ii), **EAqG3** (iii) e **EAqG4** (iv) e branco em metanol (i).

Tabela 22 – Compostos identificados putativamente na fração EAqG2 dos galhos de *M. pubescens* por UHPLC–HRMS\*

Nº	TR (min)	Identidade assinalada**	[M+H] <sup>+</sup> m/z	[M+H] <sup>+</sup> m/z calc.	UHPLC/ESI-MS <sup>2</sup> m/z (% pico base)
1	11,0	Fraxetina <sup>[1]</sup> (G1)	209,0422	209,0445	MS <sup>2</sup> [209]: 210(9,7), 209(100)
2	13,6	Escopoletina <sup>[1]</sup> (G2)	193,0476	193,0495	MS <sup>2</sup> [193]: 195(2,7), 194(15,4), 193(100), 179(2,6), 178 (2,6), 150(5,1)
3	15,6	Ácido 3-O-metilelágico-4'-O-α-L-ramnopiranosídeo <sup>[2]</sup> (G3)	463,0828	463,0871	MS <sup>2</sup> [463]: 464(3,8), 463(14,1), 319(3,6), 318(16,6), 317(100), 302(7,5), 301(3), 286(3,9), 285(22,5), 257(9,6)
4	16,4	7-Multijuguinona <sup>[2]</sup> (G4)	292,2247	292,2271	MS <sup>2</sup> [292]: 292(100)
5	18,2	Quercetina <sup>[3]</sup> (G5)	303,0470	303,0499	MS <sup>2</sup> [303]: 303(100), 304(20,2)
6	18,2	Afzelina <sup>[3]</sup> (G6)	433,1090	433,1129	MS <sup>2</sup> [433]: 433(12,6), 288(16,7), 187(100)
7	18,5	Aleuritina <sup>[2]</sup> (G7)	417,1141	417,1180	MS <sup>2</sup> [417]: 418(19,2), 419(100), 399(23,7), 367(51,9), 192(28,3), 161(17,7)
8	25,0	Lapachol <sup>[3]</sup> (G8)	243,0983	243,1016	MS <sup>2</sup> [243]: 244(17,3), 243(100), 228(7,4), 225(12,1), 205(10,3), 201(11,5), 188(10,5), 187(72,3), 183(9,2), 159(43,4)
9	27,4	Cinchonina <sup>[1]</sup> (G9)	295,1858	295,1805	MS <sup>2</sup> [295]: 295(94,6), 221(100)
10	29,1	Resveratrol <sup>[1]</sup> (G10)	229,0825	229,0859	MS <sup>2</sup> [229]: 230(25,6), 229(199), 151(31,2)
11	31,5	Ácido glicirretínico <sup>[1]</sup> (G11)	471,3392	471,3469	MS <sup>2</sup> [471]: 473(15,5), 472(39,7), 471(100), 425(10,1)
12	31,7	(+)-Di-hidro-epi-deoxiarctannum B <sup>[2]</sup> (G12)	235,1657	235,1693	MS <sup>2</sup> [235]: 236(19,4), 235(100), 179(18,0)

Tabela 22 – Compostos identificados putativamente fração EAqG2 dos galhos de *M. pubescens* por UHPLC–HRMS\* (cont.)

Nº	TR (min)	Identidade assinalada**	[M+H] <sup>+</sup> m/z	[M+H] <sup>+</sup> m/z calc.	UHPLC/ESI-MS <sup>2</sup> m/z (% pico base)
13	35,1	Swertialactona D <sup>[2]</sup> (G13a)	455,3449	455,3520	MS <sup>2</sup> [455]: 455(100)
14	35,1	Tisanolactona <sup>[2]</sup> (G13b)	455,3449	455,3520	MS <sup>2</sup> [455]: 455(100)
15	35,1	Swertialactona C <sup>[2]</sup> (G13c)	455,3449	455,3520	MS <sup>2</sup> [455]: 455(100)
16	35,3	1-Metil-2-dodecil-4(1H)quinolona <sup>[2]</sup> (G14)	328,2586	328,2635	MS <sup>2</sup> [328]: 329(34,2), 328(100), 173(7,8), 159(4,3)
17	39,2	Ácido 4-metoxi-cinâmico <sup>[1]</sup> (G15)	179,0669	179,0703	MS <sup>2</sup> [179]: 179(100)
18	39,3	Ácido 2-metoxi-cinâmico <sup>[1]</sup> (G16)	179,0669	179,0703	MS <sup>2</sup> [179]: 179(100)
19	41,0	8,15R-Epoxipimaran-16-ol <sup>[2]</sup> (G17)	307,2578	307,2632	MS <sup>2</sup> [307]: 307(100)
20	48,2	(+)-N-Benzoilcicloxobuxina F <sup>[2]</sup> (G18)	505,372	505,3789	MS <sup>2</sup> [505]: 505 (100)

\*Dados da biblioteca: <sup>[1]</sup>MassBank\_ESI\_MS<sup>2</sup>; <sup>[2]</sup>UNPD\_ISDB; <sup>[3]</sup>CPqRR\_CompoundBank; \*\* Estruturas químicas apresentadas na Fig. A2, pág.

161.

No total, 18 compostos foram identificados putativamente para a fração **EAqG2** por UHPLC–HRMS. Em  $T_R$  igual a 35,1 min o espectro de massas obtido para o composto correspondente apresentou valores de  $m/z$  e dados de fragmentação compatíveis com três isômeros, a swertilactona D (**G13a**), a tisanolactona (**G13b**) e a swertilactona C (**G13c**). Por limitação da técnica aplicada, não foi possível distinguir entre esses isômeros, mas permite inferir a presença de composto da classe de triterpenos no extrato. Os compostos com  $T_R$  39,2 min e 39,3 min (derivados do ácido cinâmico, **G15** e **G16**) também são isômeros e os picos nesses tempos podem ter sido gerados pelo mesmo composto, em alta concentração. Compostos concentrados, nas análises de cromatografia, podem levar mais tempo para percorrer o espaço da coluna e serem identificados em tempos de retenções próximos. Por fim, em  $T_R$  18,2 min foram identificados ambos os compostos quercetina (**G5**) e afzelina (**G6**), que neste caso coeluíram, mas cada um gerou um pico  $[M+H]^+$  próprio. Como esses compostos não são isômeros, é plausível presumir a presença putativa de ambas as substâncias na amostra.

Nenhum composto identificado putativamente foi descrito anteriormente na literatura para a *M. pubescens*. Apesar disso, alguns deles foram descritos para espécies da família Sapindaceae. A escopoletina (**G2**) foi encontrada na espécie *Cardiospermum corindum* L. (Silva *et al.*, 2014) e a afzelina (**G6**) foi registrada em espécies como *Koelreuteria paniculata* e *Dimocarpus longan* (Mostafa *et al.*, 2016; Xue *et al.*, 2015). Outras plantas desta família apresentam também a quercetina (**G5**) em sua composição, como *Allohyllus serratus*, *Litchi chinensis* e *Dodonea viscosa* (Umadevi e Daniel, 1991), e o ácido glicirretínico (**G11**) ocorre na espécie *Filicium decipiens* (Bari e Kato-Noguchi, 2017).

Alguns compostos identificados possuem atividades biológicas conhecidas na literatura. Na Tabela 23 (pág. 117) são apresentadas essas substâncias e as atividades a elas atribuídas.

Tabela 23 – Atividades biológicas relatadas para os compostos identificados putativamente para a fração **EAqG2**

<b>Composto</b>	<b>Atividade biológica</b>	<b>Referência</b>
Fraxetina ( <b>G1</b> )	antioxidante	Fernandez–Punero <i>et al.</i> , 2001
Escopoletina ( <b>G2</b> )	antioxidante, anti-inflamatória, vasodilatadora	Yang <i>et al.</i> , 2015, Jamuna <i>et al.</i> , 2015, Ruphin <i>et al.</i> , 2016
Ácido 3- <i>O</i> -metilelágico 4'- <i>O</i> - $\alpha$ -L-ramnopiranosídeo ( <b>G3</b> )	antiviral, antibacteriana e antioxidante	Ha <i>et al.</i> , 2016, Jain <i>et al.</i> , 2014a
7'-Multijuguinona ( <b>G4</b> )	inibidora de acetilcolesterase	Serrano <i>et al.</i> , 2010
Quercetina ( <b>G5</b> )	neuroprotetora, antioxidante	Xu <i>et al.</i> , 2019
Afzelina ( <b>G6</b> )	inibidora de $\alpha$ -amilase e $\alpha$ -glicosidade, citotóxica	Torres–Naranjo <i>et al.</i> , 2016, Fouseki <i>et al.</i> , 2016
Lapachol ( <b>G8</b> )	tripanocida, antifúngica, microbicida, anti-inflamatória, antiproliferativa	Salas <i>et al.</i> , 2008, Souza <i>et al.</i> , 2008, Peres <i>et al.</i> , 2017
Cinchonina ( <b>G9</b> )	antimalárica	Weselucha–Birczynska e Nakamoto, 1996, Zhou <i>et al.</i> , 2019a, Jiang <i>et al.</i> , 2014, Radwan <i>et al.</i> , 2016, Mohammed <i>et al.</i> , 2015, Langer <i>et al.</i> , 2016
Ácido glicirretínico ( <b>G11</b> )	antitumoral, anticoagulante, anti-inflamatória, antidiabético, antiviral, bactericida, antiparasito	
Resveratrol ( <b>G10</b> )	antiglicante, antioxidante, anti-inflamatória, neuroprotetora, anticancerígena, antileucêmica	Galiniak <i>et al.</i> , 2019, Huang <i>et al.</i> , 2019
1-Metil-2-dodecil-4(1H)quinolona ( <b>G14</b> )	bactericida, anticarcinogênica	Wang <i>et al.</i> , 2013, Huang <i>et al.</i> , 2012
Ácido 4-metoxi-cinâmico ( <b>G15</b> )	anti-inflamatória, inibidora de $\alpha$ -glicosidase	Soujanya <i>et al.</i> , 2018, Ernawati <i>et al.</i> , 2017

4.4.2 – Análise da composição da fração **EAqG3**

Na Tabela 24 (pág. 118-119) são apresentados os compostos de **EAqG3** identificados putativamente por UHPLC-HRMS a partir da comparação com os bancos de dados. As estruturas químicas dos compostos estão apresentadas no Apêndice (Fig. A3, pág. 162).



Tabela 24 – Compostos identificados putativamente na fração EAqG3 dos galhos da *M. pubescens* por UHPLC–HRMS\*

Nº	TR (min)	Identidade assinalada**	[M+H] <sup>+</sup> m/z	[M+H] <sup>+</sup> m/z	UHPLC/ESI-MS <sup>2</sup> m/z (% pico base)
1	0,9	2,3a,4,5,6,6a-Hexahidro(1H)-ciclopenta[b]pirrol-3a,4,5,6-tetrol-2-metil <sup>[2]</sup> ( <b>G19</b> )	190,1071	190,1074	MS <sup>2</sup> [190]: 192(1,8), 191(8,3), 190(100)
2	13,7	Escopoletina <sup>[1]</sup> ( <b>G2</b> )	193,0490	193,0495	MS <sup>2</sup> [193]: 193(100), 178(28,9)
3	15,6	Ovafolina D <sup>[2]</sup> ( <b>G20</b> )	417,1531	417,1544	MS <sup>2</sup> [417]: 417(100)
4	17,3	(-)-Δ-Cuparenol <sup>[2]</sup> ( <b>G21a</b> )	219,1726	219,1743	MS <sup>2</sup> [209]: 220(17,2), 209(100), 203(30,5)
5	17,3	α-Isocomeno <sup>[2]</sup> ( <b>G21b</b> )	219,1726	219,1743	MS <sup>2</sup> [209]: 220(17,2), 209(100), 203(30,5)
6	17,3	(+)-Plagiochilina W <sup>[2]</sup> ( <b>G21c</b> )	219,1726	219,1743	MS <sup>2</sup> [209]: 220(17,2), 209(100), 203(30,5)
7	18,8	(-)-Cleomiscosina B <sup>[2]</sup> ( <b>G22</b> )	387,1064	387,1074	MS <sup>2</sup> [387]: 388(22,3), 387(100), 369(20,2), 338(15,3), 337(57,0), 207(15,7), 179(12,6), 162(35,6)
8	20,6	Policartina A <sup>[2]</sup> ( <b>G23</b> )	187,1248	187,1230	MS <sup>2</sup> [187]: 187(100)
9	21,7	Ácido 3-O-β-D-glucopiranosil-olean-12-en-3β,28,29-triol-27-oico <sup>[2]</sup> ( <b>G24</b> )	651,4080	651,4103	MS <sup>2</sup> [651]: 490(30,4), 489(100), 472(31,7), 471(98,9), 453(33,2), 441(33,4), 435(24,8), 423(43,2)
10	22,2	Formononetina <sup>[3]</sup> ( <b>G25</b> )	269,0800	269,0808	MS <sup>2</sup> [269]: 270(18,5), 269(100), 254(13,9), 253(9,5), 237(6,3), 226(9,4), 225(8,2), 213(7,4), 198(5,4), 197(15,1)
11	23,5	Saponina kizuta K5 <sup>[2]</sup> ( <b>G26</b> )	637,4294	637,4310	MS <sup>2</sup> [637]: 458(34,0), 457(100), 440(33,1), 439(68,4), 421(26,5)
12	26,4	Ácido hovênico <sup>[2]</sup> ( <b>G27a</b> )	489,3556	489,3575	MS <sup>2</sup> [489]: 489(53,8), 472(46,1), 471(100), 453(62,3), 441(49,8), 423(81,9)

Tabela 24 – Compostos identificados putativamente na fração **EaQg3** dos galhos da *M. pubescens* por UHPLC–HRMS\* (cont.)

Nº	TR (min)	Identidade assinalada**	[M+H] <sup>+</sup> m/z	[M+H] <sup>+</sup> m/z	UHPLC/ESI-MS <sup>2</sup> m/z (% pico base)
13	26,4	Ácido 2,6-di-hidroxibetulínico <sup>[2]</sup> ( <b>G27b</b> )	489,3556	489,3575	MS <sup>2</sup> [489]: 489(53,8), 472(46,1), 471(100), 453(62,3), 441(49,8), 423(81,9)
14	26,4	Ácido esculentínico <sup>[2]</sup> ( <b>G27e</b> )	489,3556	489,3575	MS <sup>2</sup> [489]: 489(53,8), 472(46,1), 471(100), 453(62,3), 441(49,8), 423(81,9)
15	28,7	Ácido lansiólico <sup>[2]</sup> ( <b>G28a</b> )	457,3662	457,3676	MS <sup>2</sup> [457]: 458(23,4), 457(84,3), 440(19,1), 439(100), 427(20,9), 421(31,5), 231(21,1), 203,17(22,2), 203,14(29,8), 191(27,9)
16	28,7	Petatrícol A <sup>[2]</sup> ( <b>G28b</b> )	457,3662	457,3676	MS <sup>2</sup> [457]: 458(23,4), 457(84,3), 440(19,1), 439(100), 427(20,9), 421(31,5), 231(21,1), 203,17(22,2), 203,14(29,8), 191(27,9)
17	30,9	Ácido glicirretínico <sup>[1]</sup> ( <b>G11</b> )	471,3428	471,3469	MS <sup>2</sup> [471]: 471(100)
18	36,6	1,3-Dioxo-24-hidroxi-friedelano <sup>[2]</sup> ( <b>G29</b> )	457,3617	457,3676	MS <sup>2</sup> [457]: 439(100)
19	37,2	Litseaolídeo L <sup>[2]</sup> ( <b>G30</b> )	341,2639	341,2686	MS <sup>2</sup> [341]: 342(17,8), 341(100)
20	45,2	Kiritiquinona <sup>[2]</sup> ( <b>G31</b> )	447,3419	447,3469	MS <sup>2</sup> [447]: 448(28,2), 447(100)
21	49,7	Ácido liquidambarico <sup>[2]</sup> ( <b>G32</b> )	469,3245	469,3312	MS <sup>2</sup> [469]: 470(52,1), 469(100)

\*Dados da biblioteca: <sup>[1]</sup>MassBank\_ESI\_MS<sup>2</sup>; <sup>[2]</sup>UNPD\_ISDB; <sup>[3]</sup>CPqRR\_CompoundBank; \*\* Estruturas químicas apresentadas na Fig. A3, pág.

Para a fração **EAqG3** analisada por UHPLC-HRMS foram identificados putativamente 21 compostos. Desses, dois também estavam presentes na fração **EAqG2**, a escopoletina (**G2**) e o ácido glicirretínico (**G11**). Existem três tempos de retenção nos quais não foi possível distinguir entre os isômeros identificados putativamente pelos bancos de dados. Em  $T_R$  17,3 min, o (-)-*A*-cuparenol (**G21a**), o  $\alpha$ -isocomeno (**G21b**) e a (+)-plagiochilina W (**G21c**) foram identificados, não sendo possível, com os dados disponíveis, precisar qual seria o composto presente. Em  $T_R$  26,4 min, também houve correspondência para três substâncias, o ácido hovênico (**G27a**), o ácido 2,6-dihidroxibetulínico (**G27b**) e o ácido esculêntico (**G27c**). Em  $T_R$  28,7 min houve correspondência nos bancos de dados para os isômeros ácido lansiolico (**G28a**) e petatrichol A (**G28b**). Nenhum dos compostos identificados na fração **EAqG3** (com exceção a **G2** e **G11**, anteriormente citados para a fração **EAqG2**), foram descritos na literatura como metabólitos da *M. pubescens* ou outra planta da família Sapindaceae. Alguns compostos identificados possuem atividades biológicas conhecidas. Na Tabela 25 estão apresentadas essas substâncias e as atividades a elas atribuídas (exceto para **G2** e **G11** que foram apresentados na Tabela 23, pág. 117).

Tabela 25 – Atividades biológicas relatadas para compostos identificados putativamente para a fração **EAqG3**

Composto	Atividade biológica	Referência
Formononetina ( <b>G25</b> )	neuroprotetora, antioxidante, antidiabética, antinociceptiva, anti-inflamatória, anti-hiperglicêmica, hepatoprotetora	Yu <i>et al.</i> , 2009; Wang <i>et al.</i> , 2012; Cavendish <i>et al.</i> , 2015; Qiu <i>et al.</i> , 2016; Jin <i>et al.</i> , 2017
Ácido esculêntico ( <b>G27c</b> )	anti-inflamatória, anti-hiperglicêmica	Niu <i>et al.</i> , 2014; Forino <i>et al.</i> , 2016; Jin <i>et al.</i> , 2019
Ácido lansiolico ( <b>G28a</b> )	antimutagênico, inseticida	Matsumoto <i>et al.</i> , 2018
Litseacolídeo L ( <b>G30</b> )	antituberculosa	Pan <i>et al.</i> , 2010
Ácido liquidambárico ( <b>G32</b> )	moderador de sistema imunológico	Dat <i>et al.</i> , 2004

#### 4.4.3 – Análise da composição da fração **EAqG4**

Na Tabela 26 (pág. 121-122) são apresentados os compostos de **EAqG4** identificados putativamente por UHPLC-HRMS a partir da comparação com os bancos de dados. As estruturas químicas dos compostos estão apresentadas no Apêndice (Fig. A4, pág. 163).

Tabela 26 – Compostos identificados putativamente na fração **EAqG4** dos galhos da *M. pubescens* por UHPLC–HRMS\*\*

N°	TR (min)	Identidade assinalada**	[M+H] <sup>+</sup> m/z	[M+H] <sup>+</sup> m/z	[M+H] <sup>+</sup> m/z	UHPLC/ESI-MS <sup>2</sup> m/z (% pico base)
1	18,1	Quercetina <sup>[3]</sup> ( <b>G5</b> )	303,0489	303,0499	303,0499	MS <sup>2</sup> [303]: 303(100)
2	18,2	Afzelina <sup>[3]</sup> ( <b>G6</b> )	433,1113	433,1129	433,1129	MS <sup>2</sup> [433]: 433(9,3), 387(3,5), 288(16,9), 287(100)
3	18,7	(-)-Cleomiscosina B <sup>[2]</sup> ( <b>G22</b> )	387,1053	387,1074	387,1074	MS <sup>2</sup> [387]: 388(26,4), 387(100), 369(22,3), 338(11,0), 337(60,3), 209(11,1), 207(16,8), 179(12,3), 162(25,8), 147(8,3)
4	20,2	Fisetina <sup>[3]</sup> ( <b>G33</b> )	287,0525	287,0550	287,0550	MS <sup>2</sup> [287]: 288(12,0), 287(100)
5	20,3	Tricina <sup>[3]</sup> ( <b>G34</b> )	331,0788	331,0812	331,0812	MS <sup>2</sup> [331]: 332(18,5), 331(100), 316(12,7), 315(36,2), 287(8,2), 270(8,8), 258(6,2)
6	25,0	Lapachol <sup>[3]</sup> ( <b>G8a</b> )	243,0999	243,1016	243,1016	MS <sup>2</sup> [243]: 244(20,5), 243(100), 228(8,0), 225(19,5), 205(10,2), 201(13,4), 188(9,0), 187(76,3), 183(8,7), 159(36,7)
7	25,0	$\beta$ -Lapachona <sup>[3]</sup> ( <b>G8b</b> )	243,0999	243,1016	243,1016	MS <sup>2</sup> [243]: 244(20,5), 243(100), 228(8,0), 225(19,5), 205(10,2), 201(13,4), 188(9,0), 187(76,3), 183(8,7), 159(36,7)
8	25,0	$\alpha$ -Lapachona <sup>[3]</sup> ( <b>G8c</b> )	243,0999	243,1016	243,1016	MS <sup>2</sup> [243]: 244(20,5), 243(100), 228(8,0), 225(19,5), 205(10,2), 201(13,4), 188(9,0), 187(76,3), 183(8,7), 159(36,7)
9	25,6	Ácido 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -di-hidroxi-urs-12-en-28-oico <sup>[2]</sup> ( <b>G35</b> )	473,3585	473,3625	473,3625	MS <sup>2</sup> [473]: 474(32,7), 473(100), 456(18,7), 455(49,5), 438(23,7), 437(46,7), 229(24,6), 215(18,8)

Tabela 26 – Compostos identificados putativamente na fração EAqG4 dos galhos da *M. pubescens* por UHPLC–HRMS\* (cont.)

Nº	TR (min)	Identidade assinalada**	[M+H] <sup>+</sup> m/z	[M+H] <sup>+</sup> m/z	UHPLC/ESI-MS <sup>2</sup> m/z (% pico base)
10	25,7	Ácido 2β-Hidroxibronolico <sup>[2]</sup> ( <b>G36</b> )	473,3588	473,3625	MS <sup>2</sup> [473]: 474(32,7), 473(100), 456(18,7), 455(23,7), 438(23,7), 437(46,7), 229(24,6), 215(18,8)
11	34,3	(-)-Isochondodendrina <sup>[2]</sup> ( <b>G37</b> )	595,2872	595,2803	MS <sup>2</sup> [595]: 595(100)
12	37,1	Litsecolídeo L <sup>[2]</sup> ( <b>G30</b> )	341,2628	341,2686	MS <sup>2</sup> [341]: 342(22,7), 341(100)
13	38,8	Lup-1-en-3-ona <sup>[2]</sup> ( <b>G38a</b> )	425,3731	425,3778	MS <sup>2</sup> [425]: 426(29,9), 425(100), 407(43,8)
14	38,8	Isomultifloreona <sup>[2]</sup> ( <b>G38b</b> )	425,3731	425,3778	MS <sup>2</sup> [425]: 426(29,9), 425(100), 407(43,8)
15	38,8	Taraxer-14-en-3β-ol <sup>[2]</sup> ( <b>G38c</b> )	425,3731	425,3778	MS <sup>2</sup> [425]: 426(29,9), 425(100), 407(43,8)
16	42,7	Cichoriol A <sup>[2]</sup> ( <b>G39</b> )	405,373	405,3727	MS <sup>2</sup> [405]: 405(100)
17	43,5	1-Hexadecanoilpirrolidina <sup>[2]</sup> ( <b>G40</b> )	310,3066	310,3104	MS <sup>2</sup> [310]: 310(100)
18	45,0	(+)-N-Formil-harapamina <sup>[2]</sup> ( <b>G41</b> )	441,3488	441,3476	MS <sup>2</sup> [441]: 442(38,4), 441(100)
19	51,0	(9Z)-Licopeno <sup>[2]</sup> ( <b>G42</b> )	537,4427	537,4455	MS <sup>2</sup> [537]: 538(43,9), 537(100)

\*Dados da biblioteca: <sup>[1]</sup>MassBank\_ESI\_MS<sup>2</sup>; <sup>[2]</sup>UNPD\_ISDB; <sup>[3]</sup>CPqRR\_CompoundBank; \*\* Estruturas químicas apresentadas na Fig. A4,

Na análise da fração **EAqG4** por UHPLC–HRMS foram identificadas putativamente 19 substâncias químicas. Dessas, três estavam presentes na fração **EAqG2** (o lapachol, **G8a**, a quercetina, **G5**, e a afzelina, **G6**) e duas foram identificadas na fração **EAqG3** (cleomiscosina B, **G22**, e litseacolídeo L, **G30**).

Pode-se observar que em quatro tempos de retenção distintos não foi possível diferenciar, por meio da espectrometria de massas, isômeros. Em  $T_R$  25,0 min o espectro pode corresponder ao lapachol (**G8**), à  $\beta$ -lapachona (**G8b**) ou à  $\alpha$ -lapachona (**G8c**). No tempo de retenção 38,8 min são identificados outros três isômeros, a lup-1-en-3-ona (**G38a**), a isomultiflorenona (**G38b**) e o taraxer-14-en-3 $\beta$ -ol (**G38c**). Nos  $T_R$  25,6 min e 25,7 min foram detectados outros dois isômeros, o ácido 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -di-hidroxi-urs-12-en-28-oico (**G35**) e o ácido 2 $\beta$ -hidroxibriônico (**G36**), que podem corresponder ao mesmo composto, presente em alta concentração na amostra, gerando saturação da coluna.

Entre os 14 compostos identificados putativamente, além dos cinco presentes nas frações anteriores (**G8a**, **G5**, **G6**, **G22** e **G30**), nenhum havia sido relatado para *M. pubescens* na literatura. Alguns compostos identificados têm atividades biológicas conhecidas. Na Tabela 27 estão apresentadas essas substâncias e as atividades a elas atribuídas.

Tabela 27 – Atividades biológicas relatadas para os compostos identificados putativamente na fração **EAqG4**

Composto	Atividade biológica	Referência
Fisetina ( <b>G33</b> )	antioxidante, anticancerígena, neuroprotetora, anti-inflamatória	Zheng <i>et al.</i> , 2017; Naeimi <i>et al.</i> , 2017; Wang <i>et al.</i> , 2018, Liu <i>et al.</i> , 2017; Zhang <i>et al.</i> , 2019
Tricina ( <b>G34</b> )	antialérgica, antiangiogênica, anti-inflamatória, hepatoprotetora	Lee <i>et al.</i> , 2016; Lee <i>et al.</i> , 2017; Han <i>et al.</i> , 2016; Seki <i>et al.</i> , 2012
$\beta$ -lapachona ( <b>G8b</b> )	tripanocida, antifúngica	Salas <i>et al.</i> , 2008; Souza <i>et al.</i> , 2008
$\alpha$ -lapachona ( <b>G8c</b> )	tripanocida, antifúngica	Salas <i>et al.</i> , 2008; Souza <i>et al.</i> , 2008
Ácido 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -di-hidroxi-urs-12-en-28-oico ( <b>G35</b> )	antiviral, anti-inflamatória, antioxidante, antileucêmica	Ryu <i>et al.</i> , 1993; Sosa <i>et al.</i> , 2002; Chan <i>et al.</i> , 2011; Woo <i>et al.</i> , 2011
Taraxer-14-en-3 $\beta$ -ol ( <b>G38c</b> )	anti-inflamatória	Naik <i>et al.</i> , 2004
(9Z)-Licopeno ( <b>G42</b> )	antioxidante	Gamez <i>et al.</i> , 2014

4.5 – Citotoxicidade das frações do extrato aquoso de *M. pubescens*

As frações **EAqG2**, **EAqG3** e **EAqG4** foram ensaiadas contra a proliferação de duas linhagens de leucemia (K562 e THP-1) e uma linhagem de câncer de mama (MDA-MB-231). Foram usados fibroblastos pulmonares saudáveis (WI-26VA4) para fins de cálculos de seletividade. Os fármacos etoposídeo, citarabina e imatinibe, empregados no tratamento do câncer, foram usadas como controle. Os resultados obtidos a partir dos ensaios de citotoxicidade empregando MTT são apresentados na Tabela 28.

Tabela 28 – Valores de IC<sub>50</sub> nas análises de citotoxicidade dos compostos **EAqG2**, **EAqG3** e **EAqG4**

Amostra	IC <sub>50</sub> (µg/mL) ± DP *			
	THP-1	K562	MDA-MB-231	WI-26 VA4
<b>EAqG2</b>	37,50 ± 1,90	40,85 ± 2,25	38,10 ± 2,10	82,02 ± 4,25
<b>EAqG3</b>	42,28 ± 2,64	56,18 ± 3,02	30,72 ± 1,66	76,11 ± 3,80
<b>EAqG4</b>	32,68 ± 1,62	52,78 ± 3,45	51,62 ± 3,00	75,12 ± 3,95
<b>Etoposídeo</b>	12,04 ± 2,32	9,11 ± 1,33	12,00 ± 0,63	8,63 ± 0,13
<b>Citarabina</b>	12,70 ± 1,20	ND	ND	58,70 ± 3,76
<b>Imatinibe</b>	ND	10,50 ± 1,05	ND	69,63 ± 3,13
<b>Valor P</b>	<0,05 <sup>a</sup>	<0,05 <sup>b</sup>	<0,05 <sup>c</sup>	<0,05 <sup>d</sup>

Amostra	Índice de Seletividade (IS)		
	THP-1	K562	MDA-MB-231
<b>EAqG2</b>	2,19	2,00	2,15
<b>EAqG3</b>	1,80	1,35	<b>2,48</b>
<b>EAqG4</b>	2,30	1,42	1,46
<b>Etoposídeo</b>	0,72	0,95	0,72
<b>Citarabina</b>	5,97	ND	ND
<b>Imatinibe</b>	ND	7,48	ND

\*DP – desvio padrão; ND – Não ensaiados; a: THP-1, citarabina e etoposídeo vs todos os compostos testados; b: K562, imatinibe e etoposídeo vs todos os compostos testados; c: MDA-MB-231, etoposídeo vs todos os compostos testados; d: WI-26VA4, etoposídeo, citarabina e imatinibe vs todos os compostos testados.

Todas as frações ensaiadas apresentaram boa atividade citotóxica, com valores de IC<sub>50</sub> inferior a 60 µg/mL para qualquer uma das linhagens de células cancerosas testadas.

O melhor resultado observado foi para a fração **EAqG3** ( $IC_{50} = 30,72 \pm 1,66$ ), ativa contra as células de câncer de mama (MDA-MB-231) e com índice de seletividade ( $IS = 2,48$ ) superior ao fármaco controle etoposídeo ( $IS = 0,72$ ). A fração **EAqG2** apresentou a melhor atividade contra a linhagem de células K562 de leucemia ( $IC_{50} = 40,85 \pm 2,25$ ) e a fração **EAqG4** foi mais ativa contra as linhagens de células THP-1 ( $IC_{50} = 32,68 \pm 1,62$ ). Os valores de  $IS$  de todas as amostras contra as linhagens de leucemia THP-1 ( $IS$  de 1,80 até 2,30) e K562 ( $IS$  de 1,35 até 2,00) foram relativamente baixos, em comparação com os fármacos controle citarabina ( $IS = 5,97$  para THP-1) e imatinibe ( $IS = 7,48$  para K562)

Analisando os compostos identificados putativamente pela análise de UHPLC-HRMS para **EAqG2**, é possível atribuir essa atividade, ao menos parcialmente, a alguns compostos. O lapachol (**G8**), por exemplo, possui comprovada atividade anticancerígena (Epifano *et al.*, 2014), inclusive contra a linhagem K562 (Salustiano *et al.*, 2010). Outros compostos identificados que possuem atividade citotóxica incluem a quercetina (**G5**) (Altundag *et al.*, 2019), a cinchonina (**G9**) (Genne *et al.*, 1994), derivados do ácido cinâmico (**G15** e **G16**) (De *et al.*, 2011) e o ácido glicirretínico (**G11**) (Yuan *et al.*, 2008).

Considerando os compostos identificados putativamente por meio de UHPLC-HRMS para **EAqG3**, também é possível sugerir os possíveis responsáveis pela atividade biológica observada. Entre os compostos identificados putativamente para a fração **EAqG3**, destacam-se a escopoletina (**G2**) (Liu *et al.*, 2012), os derivados do ácido betulínico (**G27b**) (Gao *et al.*, 2008) e a formononetina (**G25**) (Zhou *et al.*, 2014) com atividade inibitória de células da linhagem MDA-MB-231 relatada. Além desses compostos, alguns compostos da classe dos litseacolídeos, possuem também atividade citotóxica relatada. Não existem estudos que indiquem se o litseacolídeo L (**G30**) possui atividade citotóxica, mas por familiaridade, é possível que essa substância também seja citotóxica (Cheng *et al.*, 2001).

Por fim, entre os compostos identificados pela análise de UHPLC-HRMS para a fração **EAqG4** destacam-se alguns com atividade citotóxica citados anteriormente, como o lapachol (**G8**) (Epifano *et al.*, 2014) e seus derivados ( $\alpha$ -lapachona, **G8b** e  $\beta$ -lapachona, **G8a**), a quercetina (**G5**) (Altundag *et al.*, 2017), e os litseacolídeos (**G30**) (Cheng *et al.*, 2001). Além desses, a fisetina (**G33**) (Kumar *et al.*, 2019), a tricina (**G34**) (Moheb *et al.*, 2013), a isochondodendrina (**G37**) (Uche *et al.*, 2017) e o lup-1-en-3-ona (**G38a**) (Koohang *et al.*, 2009) também foram relatados na literatura por apresentarem atividade citotóxica.



#### 4.6 – Considerações finais

O estudo fitoquímico dos extratos hexânico (2,20 g) e diclorometânico (2,64 g) dos galhos da *M. pubescens* permitiu o isolamento e identificação de quatro substâncias isoladas pela primeira vez dos galhos de *M. pubescens*, lapachol (**MP08**), maniladiol (**MP09**), estigmasterol (**MP02**) e escopoletina (**MP03**).

A identificação putativa de componentes das frações **EAqG2**, **EAqG3** e **EAqG4** permitiu traçar o perfil fitoquímico do extrato aquoso dos galhos da *M. pubescens*. O *screening* fitoquímico revelou a presença de uma variedade de classes de compostos diferentes, como cumarinas, flavonoides, triterpenos e saponinas. Nenhum dos compostos identificados putativamente havia sido isolado da espécie *M. pubescens*, e poucos foram identificados em plantas da família Sapindaceae.

As frações dos extratos aquosos dos galhos de *M. pubescens* apresentaram atividade citotóxica contra diferentes linhagens de câncer. A fração **EAqG3** foi a mais ativa contra o câncer de mama da linhagem MDA-MB-231 ( $IC_{50} = 30,72 \pm 1,66$ ), enquanto a fração **EAqG2** teve a maior atividade contra células K562 de leucemia ( $IC_{50} = 40,85 \pm 2,25$ ) e a fração **EAqG4** contra as linhagens THP-1 ( $IC_{50} = 32,68 \pm 1,62$ ). Vários compostos presentes nas frações ativas foram identificados por UHPLC-HRMS. No total, foram identificados putativamente 53 componentes, sendo que em oito tempos de retenção mais de um isômero foi sugerido, e estes não puderam ser distinguidos por limitações da técnica empregada.

## CONCLUSÕES

Nesse trabalho foi realizado o estudo fitoquímico de inflorescências, raízes e galhos de *Magonia pubescens* A. St.-Hil. Nos óleos essenciais das **inflorescências** foram identificados 14 componentes no óleo essencial obtido do material vegetal não irradiado, dentre estes, nove foram descritos pela primeira vez nesta espécie. Os óleos essenciais da espécie apresentaram atividade inibitória no crescimento de linhagens de células K562 de leucemia mieloide e células MDA-MB-231 de câncer de mama. O óleo essencial não-irradiado foi a amostra mais ativa contra células K562 ( $IC_{50} 22,10 \pm 1,98$ ). Contra a linhagem MDA-MB-231, os óleos OE<sub>0</sub>, OE<sub>1</sub> e OE<sub>3</sub> apresentaram maior citotoxicidade ( $IC_{50} 38,10 \pm 3,85$ ,  $33,25 \pm 2,90$ ,  $29,05 \pm 2,70$ , respectivamente). Além disso, observou-se que o uso de radiação gama não afetou significativamente a composição e a citotoxicidade desses óleos.

As frações hexânica e diclorometânica, combinadas, obtidas por partição líquido-líquido do extrato etanólico das **raízes** de *Magonia pubescens*, permitiram o isolamento de sete metabólitos, meleína, estigmasterol, escopoletina, eriodictiol, cleomiscosina A, lophirona A e proantocianidina A<sub>2</sub>. Todos os sete compostos foram isolados pela primeira vez de *M. pubescens* nesse trabalho, o que contribui para o conhecimento do perfil quimiotaxonômico da espécie. Esses compostos foram avaliados quanto à atividade antiparasitária contra cinco diferentes espécies de parasitos (amebas *Acanthamoeba castellani* e *Naegleria fowleri*, e parasitos *Leishmania amazonensis*, *L. donovani* e *Trypanosoma cruzi*). A meleína apresentou moderada atividade ( $IC_{50} = 50-100 \mu\text{g/mL}$ ) contra amebas da espécie *Naegleria fowleri*.

Também foi realizado o estudo bioguiado do extrato etanólico das **raízes** e suas frações obtidas por partição líquido-líquido. As frações foram avaliadas quanto a sua atividade antifúngica (contra os fungos *Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea* e *Fusarium oxysporum*), atividade inseticida (contra moscas *Chrysodeixis chalcites*) e atividade antiparasitária (contra amebas *Acanthamoeba castellani* e *Naegleria fowleri* e parasitos *Leishmania amazonensis*, *L. donovani* e *Trypanosoma cruzi*). Esse estudo permitiu identificar que a fração combinada de hexano e diclorometano é supressora alimentar para moscas da espécie *Chrysodeixis chalcites*. Também se observou que subfrações das frações acetato etílica e butanólica possuem atividade contra fungos do gênero *A. alternata* ( $IC_{50} 19,57 \pm 3,51$  a  $51,18 \pm 1,93$  para subfrações da fração acetato etílica e  $IC_{50} 5,87 \pm 14,71$  a  $20,89 \pm 12,62$  para subfrações da fração butanólica). Por fim, observou-se

o potencial antiparasitário desses extratos, por meio da capacidade de inibição do crescimento de amebas: *Acanthamoeba castellanii* (IC<sub>50</sub> de 43,95 ± 9,65 a 56,61 ± 14,51) e *Naegleria fowleri* (IC<sub>50</sub> de 15,91 ± 0,38 a 23,44 ± 4,75); e protozoários: *Trypanosoma cruzi* (IC<sub>50</sub> de 22,11 ± 3,44 a 24,59 ± 2,61), *Leishmania. donovani* (IC<sub>50</sub> de 21,21 ± 0,96 a 24,52 ± 3,56) e *L. amazonensis* (IC<sub>50</sub> de 5,99 ± 0,55 a 7,52 ± 1,37). Os resultados dessas investigações permitiram estabelecer e consolidar parcerias com laboratórios no exterior.

Os **galhos** da espécie *M. pubescens* foram investigados em duas linhas de trabalho, uma clássica e outra bioguiada. A partir dos extratos hexânico e diclorometânico foi possível o isolamento de quatro substâncias: lapachol, maniladiol, estigmasterol e escopoletina. Todos os compostos isolados foram identificados pela primeira vez nos galhos dessa espécie. Foi possível observar que as frações obtidas possuem atividade citotóxica contra linhagens de leucemia THP-1 e K562 e câncer de mama MDA-MB-231. A fração **EAqG3** foi a mais ativa contra o câncer de mama da linhagem MDA-MB-231 (IC<sub>50</sub> = 30,72 ± 1,66), enquanto a fração **EAqG2** teve a maior atividade contra células K562 de leucemia (IC<sub>50</sub> = 40,85 ± 2,25) e a fração **EAqG4** contra as linhagens THP-1 (IC<sub>50</sub> = 32,68 ± 1,62). O *screening* fitoquímico, utilizando a técnica de UHPLC-HRMS, realizado para essas frações mostrou a diversidade de compostos presentes nos extratos dessa espécie, que incluem triterpenos, saponinas, flavonoides, cumarinas, entre outros. No total, foram identificados putativamente 53 metabólitos por meio dessa técnica.

Os resultados da presente tese revelam que os extratos da *Magonia pubescens* A. St.-Hil. possuem um potencial fitoquímico ainda pouco investigado. Os variados extratos e compostos isolados apresentam uma gama de atividades biológicas, inclusive atividades citotóxicas que podem contribuir para o isolamento futuro de novas substâncias com potencial farmacológico e para a caracterização quimotaxonômica do gênero *Magonia* e da família Sapindaceae.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDELKADER, M. S.; RATEB, M. E.; MOHAMED, G. A.; JASPARS, M.; Harpulliasides A and B: two new benzenecetic acid derivatives from *Harpullia pendula*; *Phytochemistry Letters*, v.15, p.131-135; **2016**;

ABDIRAHMAN, Y. A.; JUMA K. K.; MAKORI, W. A.; AGYIRIFO, D. S.; NGUGI, M. P.; GATHUMBI, P. K.; NGERANWA, J. J. N.; NJAGI, E. N. M.; Blood glucose lowering effect and safety of the aqueous leaf extracts of *Zanha Africana*; *Pharmaceutica Analytica Acta*; v.6 (9), 1000422; **2015**;

ACEVEDO-RODRÍGUEZ, P.; Distributional Patterns in Brazilian *Serjania* (Sapindaceae); *Acta Botanica Brasileira*, v.4 (1), p.69-82; **1990**;

AGUIAR, M. M.; SANTOS, K. T.; ROYO, V. A.; FONSECA, F. S.; MENEZES, E. V.; MERCADANTE-SIMÕES, M. O.; OLIVEIRA, D. A.; JUNIOR, A. F.; Antioxidant activity, total flavonoids and volatile constituents of *Magonia pubescens* A. St.-Hil; *Journal of Medicinal Plants Research*, v.9 (43), p.1089-1097; **2015**;

AHMED, F.; IJAZ, B.; AHMAD, Z.; FAROOQ, N.; MUHAMMAD, B. S.; HUSNAIN, T.; Modification of miRNA Expression through plant extracts and compounds against breast cancer: Mechanism and translational significance; *Phytomedicine*, v.68, p.153168; **2020**;

AKHOUND, M.; DOWNING, T.; VOTYPKA, J.; KULHS, K.; LUKES, J.; CANNET, A.; RAVEL, C.; MARTY, P.; DELAUNY, P.; KASBARI, M.; GRANOULLAC, B.; GRADONI, L.; SERENO, D.; Leishmania infections: Molecular targets and diagnosis; *Molecular Aspects of Medicine*, v.57, p. 1-29; **2017**;

AL-SNAFI, A. E.; A review on *Dodonaea viscosa*: A potential medicinal plant; *IOSR Journal of Pharmacy*, v.7 (2), p.10-21; **2017**;

ALTUNDAG, E. M.; YILMAZ, A. M.; KOCTURK, S.; TAGA, Y.; YALCIN, A. S.; Synergistic Induction of Apoptosis by Quercetin and Curcumin in Chronic Myeloid Leukemia (K562) Cells; *Nutrition and Cancer*, v.73, p.703-712; **2019**;

ALVES, L. F.; Produção de Fitoterápicos no Brasil: História, Problemas e Perspectivas; *Revista Virtual de Química*, v.5 (3), p.450-513; **2013**;

ANKAD, G. M.; UPADHYA, V.; PAI, S. R.; HEGDE, H. V.; ROY, S.; KHOLKUTE, S. D.; Total polyphenols, antioxidant and antimicrobial activity of leaves and stem bark extracts of *Allophylus cobbe* (L.) Raeusch; *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B*, v.86 (1), p.145-149; **2016**;

ARAÚJO, C. R.; CORRÊA, G. M.; ABREU, V. G.; SILVA, T. M.; OSORIO, A. M.; OLIVEIRA, P. M.; ALCÂNTARA, A. F.; Effects of gamma radiation on essential oils: A review; *New insights on gamma rays*, p.179; **2017**;

ARAUJO, F. W.; LEMOS, T. L.; MILITAO, J. S.; FILHO, R. B.; 2-O-metilinositol e Proantocianidina de *Magonia glabrata* St. Hill; *Química Nova*, v.17 (2), p.128-136; **1993**;

ARAUJO, G. U.; COSTA, C. G.; Anatomia do caule de *Serjania corrugata* Radlk. (Sapindaceae); *Acta Botanica Brasileira*, v.21 (2), p.489-497; **2007**;

ARRUDA, A. P.; COELHO, R. G.; HONDA, N. K.; FERRAZOLI, C.; POTT, A.; HIRUMA-LIMA, C. A.; Gastroprotective effect of *Serjania erecta* Radlk (Sapindaceae):

Involvement of sensory neurons, endogenous nonprotein sulfhydryls, and nitric oxide; *Journal of Medicinal Food*, v.12 (6), p.1411-1415; **2009**;

ARRUDA, W.; OLIVEIRA, G. M.; SILVA, I. G.; Toxicidade do Extrato Etanólico de *Magonia pubescens* sobre Larvas de *Aedes aegypti*; *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v.36 (1), p.17-25; **2003**;

BARI, I. N.; KATO-NOGUCHI, H.; Phytotoxic effect of *Filicium decipiens* leaf extract; *American-Eurasian Journal of Agriculture Environment Sciences*, v.17 (4), p.288-292; **2017**;

BASARIKATII, A. I.; MISHRA, S.; UPPAR, V.; PADMASHALI, B.; Antimicrobial, anti-inflammatory, and anticancer activities of leaves extracta of *Filicium decipiens*; *Journal of Applied Biology Biotechnology*, v.9 (1), p.83-87; **2021**;

BEGUM, A. S.; KUMAR, S. S.; GOTTAPU, S.; HIRA, K.; O-Glucoside of natural cleomiscosin-A: An attenuator of pro-inflammatory cytokine production; *Phytochemistry Letter*, v.26, p.83-87; **2018**;

BISEKO, E. Z.; *In vitro* antiproliferative potential of *Annona senegalensis* Pers. and *Allophylus africanus* P Beauv. plant extracts against selected cancer cell lines, *Journal of Medicinal Plants Research*, v.13 (3), p.304-311; **2019**;

BLAGOJEVIC, P.; RADULOVIC, N.; PALIC, R.; STOJANOVIC, G., Chemical composition of the essential oils of Serbian wild-growing *Artemisia absinthium* and *Artemisia vulgaris*; *Journal of Agriculture Food Chemistry*, p.54 (13), p.4780-4789; **2006**;

BLAZEVIC, I.; MASTELIC, J.; Free and bounded volatiles of rocket (*Eruca sativa* Mill.); *Flavour and Fragrances Journal*., v.23 (4), p.278-285; **2008**;

BOASQUIVIS, P. F.; SILVA, G. M.; PAIVA, F. A.; CAVALCANTI, R. M.; NUNEZ, C. V.; OLIVEIRA, R. P.; Guarana (*Paullinia cupana*) Extract Protects *Caenorhabditis elegans* Models for Alzheimer Disease and Huntington Disease through Activation of Antioxidant and Protein Degradation Pathways; *Oxidative Medicina and Cellular Longevity*, Article ID 9241308; **2018**;

BOLZANI, V. S.; VALLI, M.; PIVATTO, M.; VIEGAS, C.; Natural products from Brazilian biodiversity as a source of new models for medicinal chemistry; *Pure Applied Chemistry*, v.84, p.1837-1846; **2012**;

BUIJSEN, J. R.; WELZEN, P. C.; HAM, R. W.; A phylogenetic analysis of *Harpullia* (Sapindaceae) with notes on historical biogeography; *Systematic Botany*, v.28 (1), p.106-117; **2003**;

CAVENDISH, R. L.; SANTOS, J. S.; NETO, R. B.; PAIXÃO, A. O.; OLIVEIRA, J. V.; ARAUJO, E. D.; SILVA, A. A.; THOMAZZI, S. M.; CARDOSO, J. C.; GOMES, M. Z.; Antinociceptive and anti-inflammatory effects of Brazilian red propolis extract and formononetin in rodents; *Journal of Ethnopharmacology*, v.173, p.127-133; **2015**;

CHACÓN-MORALES, P.; AMARO-LUIS, J. M.; BAHSAS, A.; Isolation and characterization of (+)-mellein, the first isocoumarin reported in *Stevia* genus; *Avances em Química*, v.8 (3), p.145-151; **2013**;

CHAN, H.; HWANG, T.; SU, C.; REDDY, M. V.; WU, T.; Anti-inflammatory, anticholinesterase and antioxidative constituents from the roots and the leaves of *Salvia nipponica* Miq. Var. *formosana*; *Phytomedicine*, v.18, p.148-150; **2011**;

CHEN, G.; XIE, Y.; ZHOU, D.; YANG, Y.; LIU, J.; HOU, Y.; CHENG, M.; LIU, Y.; LI, N.; Chemical constituents from shells of *Xanthoceras sorbifolium*; *Phytochemistry*, v.172, p.112288-112297; **2020**;

CHEN, H.; ZHOU, B.; MA, X.; DENG, S.; HUANG, Y.; WEN, Y.; YUAN, J.; YANG, X.; Essential Oil Derived From *Eupatorium adenophorum* Spreng. Mediates Anticancer Effect by Inhibiting STAT3 and AKT Activation to Induce Apoptosis in Hepatocellular Carcinoma; *Frontier Pharmacology*, v.9, p.1-17; **2018**;

CHENG, H. I.; LIN, W. Y.; DUH, C. Y.; LEE, K. H.; TSAI, I. L.; CHEN, I. S.; New Cytotoxic Butanolides from *Litsea acutivena*; *Journal of Natural Products*, v.64, p.1502-1505; **2001**;

CHHETRI, B. K.; DOSOKY, N. S.; SETZER, W. N.; Cytotoxic norhopene triterpenoids from the barks of *Exothea paniculata* from Abaco Islands, Bahamas; *Plants Medicinal Letter*, v.2, p.73-77; **2015**;

CUÉLLAR, M. J.; GINER, R. M.; RECIO, M. C.; JUST, M. J.; MÁNEZ, S.; CERDÁ, M.; HOSTETTMANN, K.; RÍOS, J. L.; Zanthasaponins A and B, antiphospholipase A2 saponins from an anti-inflammatory extract of *Zanha Africana* Root Bark.; *Journal of Natural Products*, v.60, p.1158-1160; **1997**;

DAT, N. T.; LEE, I. S.; CAI, X. F.; SHEN, G.; KIM, Y. H.; Oleanane Triterpenoids with Inhibitory Activity against NFAT Transcription Factor from *Liquidambar formosana*; *Biological Pharmaceutical Bulletin*, v.27 (3), p.426-428; **2004**;

DAWSON, B. A.; GIRARD, M.; KINDACK, D.; FILLION, J. AWANG, D. V.; <sup>13</sup>C NMR of lapachol and some related naphthoquinones; *Magnetic Resonance in Chemistry*, v.27, p.1176-1183; **1989**;

DE, P.; BALTAS, M.; BEDOS-BELVAL, F.; Cinnamic Acid Derivatives as Anticancer Agents-A Review; *Current Medicinal Chemistry*, v.18, p.1672-1703; **2011**;

DHARMANI, P.; MISHRA, P. K.; MAURYA, R.; CHAUHAN, V. S.; PALIT, G.; *Allophylus serratus*: A plant with potential anti-ulcerogenic activity; *Journal of Ethnopharmacology*, v.99, p.361-366; **2005**;

DOSS, V. A.; KRISHNAMOORTHY, V.; KUBERAPANDIAM, D.; Cardioprotective effect of *Cardiospermum halicacabum* on isoproterenol induced cardiac hypertrophic rats; *European Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*, v.5 (7), p.702-705; **2018**;

DOWLATH, M. J.; KARUPPANNAN, S. K.; RAIYAAN, D.; KHALITH, M.; SUBRAMANIA, S.; ARUNACHALAM, K. D.; Effect of Solvents on Phytochemical Composition and Antioxidant Activity of *Cardiospermum halicacabum* (L.) Extracts; *Pharmacognosy Journal*, v.12 (6), p.1241-1251; **2020**;

DUGANATH, N.; REDDY, K. N.; NAGASOWJANYA, J.; SRIDHAR; SUSHMA; JAYAVEERA, K. N.; Evaluation of phytochemical and *in-vitro* antioxidant activity of *Filicium decipiens*; *Annals of Biological Research*, v.1 (1), p.134-140; **2010**;

EKABO, O. A.; FARNSWORTH, N. R.; Antifungal and molluscicidal saponins from *Serjania salzmanniana*; *Journal of Natural Products*, v.59, p.431-435; **1996**;

ENGEL, K.H.; FLATH, R. A.; BUTTERY, R. G.; MON, T. R.; RAMMING, D. W.; TERANISHI, R.; Investigation of volatile constituents in nectarines. 1. Analytical and sensory characterization of aroma components in some nectarine cultivars, *Journal of Agriculture Food Chemistry*, v.36 (3), p.549-553; **1988**;

EPIFANO, F.; GENOVESE, S.; FIORITO, S.; MATHIEU, V.; KISS, R.; Lapachol and its congeners as anticancer agents: a review; *Phytochemistry Reviews*, v.13, p.37-49; **2014**;

ERNAWATI, T.; RADJI, M.; HANAFI, M.; MUN'IM, A.; YANUAR, A.; Cinnamic acid derivatives as  $\alpha$ -glucosidase inhibitor agents; *Indonesian Journal of Chemistry*, v.17 (1), p.151-160; **2017**;

ETEME, O. N.; DITCHOU, Y. O.; ZONDEGOUNBA, E.; TORRE, B. G.; ALBERICIO, F.; NGUEFEU, C. N.; KANYE, D. S.; NYASSE, B.; New Derivative of Lophirone A from the Roots of *Allaxis Batangae* (Violaceae) and Evaluation of Antibacterial, Antioxidant and Antiplasmodial Activities, *International Journal of Recent Scientific Research*, v.9 (6E), p.27541-27544; **2018**;

FABRY, W.; OKEMO, P.; ANSORG, R.; Fungistatic and fungicidal activity of East African medicinal plants; *Mycoses*, v.39, p.67-70; **1996**;

FAN, X.; GATES, R. A.; Degradation of monoterpenes in orange juice by gamma radiation; *Journal of Agriculture Food Chemistry*, v.49, p.2422-2426; **2001**;

FERNANDES, F. F.; ALESSANDRO, W. B.; FREITAS, E. P.; Toxicity of extract of *Magonia pubescens* (Sapindales:Sapindeceae) St. Hil. to control the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille) (Acari:Ixodidae); *Neotropical Entomology*, v.37 (2), p.205-208; **2008a**;

FERNANDES, F. F.; BESSA, P. A.; FREITAS, E. P.; Evaluation of activity of the crude ethanolic extract of *Magonias pubescens* St. Hil. (Sapindaceae) against larvae of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887) (Acari:Ixodidae); *Brazilian Archives Of Biology And Technology*, v.51 (6), p.1147-1152; **2008b**;

FERNANDES, R. S.; COSTA, T. R.; MARCUSSI, S.; BERNARDES, C. P.; MENALDO, D. L.; GONZALÉZ, R.; PEREIRA, P. S.; SOARES, A. M.; Neutralization of pharmacological and toxic activities of *Bothrops jararacussu* snake venom and isolates myotoxins by *Serjania erecta* methanolic extract and its fractions; *The Journal Of Venomous Animals And Toxins Including Tropical Diseases*; v.17 (1), p.85-93; **2011**;

FERNÁNDEZ-OCAÑA, A. M.; GÓMEZ-RODRÍGUEZ, M. V.; VELASCO-NEGUERUELA, A.; CAMANCHO-SIMARRO, A. M.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, C.; ALTAREJOS, J.; In vivo antifungal activity of the essential oil of *Bupleurum gibraltarium* against *Plasmopara halstedii* in sunflower; *Journal of Agriculture Food Chemistry*, v.52 (21), p.6414-6417; **2004**;

FERNANDEZ-PUNTERO, B.; BARROSO, I.; IGLESIAS, I.; BENEDI, J.; VILLAR, A.; Antioxidant activity of fraxetin: *in vivo* and *ex vivo* parameters in normal situation versus induced stress; *Biological Pharmacology Bulletin*, v.24 (7), p.777-784; **2001**;

FERREIRA, T. S.; MOREIRA, C. Z.; CÁRIA, N. Z.; VICTORIANO, G.; SILVA Jr.; W. F.; MAGALHÃES, J. C.; Phytotherapy: na introduction to its history, use and application; *Revista Brasileira de Planta Medicinai*s, v.16 (2), p. 290-298; **2014**;

FERRERES, F.; GOMES, N. G.; VALENTAO, P.; PEREIRA, D. M.; GIL-IZQUIERDO, A.; ARAUJO, L.; SILVA, T. C.; ANDRADE, P. B.; Leaves and stem bark from *Allophylus africanus* P. Beauv.: An approach to anti-inflammatory properties and characterization of their flavonoid profile; *Food and Chemical Toxicology*, v.118, p.430-438; **2018**;

FERRUCI, M. S.; Cytotaxonomy of Sapindaceae with special reference to the tribe Paullinieae; *Genetics and Molecular Biology*, v.23 (4), p.941-946; **2000**;

FORGO, P.; KOVER, K. E.; Gradient enhanced selective experiments in the  $^1\text{H}$  NMR chemical shift assignment of the skeleton and side-chain resonances of stigmasterol, a phytosterol derivative; *Steroids*, v.69, p.43-50; **2004**;

FORINO, M.; STIUSO, P.; LAMA, S.; CIMINIELLO, P.; TENORE, G. C.; NOVELLINO, E.; TAGLIALATELA-SCAFATI, O.; Bioassay-guided identification of the antihyperglycaemic constituents of walnut (*Juglans regia*) leaves; *Journal of Functional Foods*, v.26, p.731-738; **2016**;

FOUSEKI, M. M.; DAMIANAKOS, H.; KARIKAS, G. A.; ROUSSAKIS, C.; GUPTA, M. P.; CHINO, I.; Chemical constituents from *Cordia alliodora* and *C. collococa* (Boraginaceae) and their biological activities; *Fitoterapia*, v.115, p.9-14; **2016**;

FUENTES, E. G.; HERNANDEZ-SUAREZ, E.; SIMON, O.; WILLIAMS, T.; CABELLERO, P.; *Chrysodeixis chalcites*, a pest of banana crops on the Canary Islands: Incidence, economic losses and current control measures; *Crop Protection*, v.108, p. 137-145; **2018**;

FUNARI, C. S.; FERRO, V. O.; Uso ético da biodiversidade brasileira: necessidade e oportunidade; *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, v.15 (2), p. 178-182; **2005**;

GALINIAK, S.; AEBISHER, D.; BARTUSIK-AEBISHER, D.; Health benefits of resveratrol administration; *Acta Biochimica Polonica*, v.66 (1), p.13-21; **2019**;

GAMEZ, M. C.; CALVO, M. M.; SELGAS, M. D.; GARCIA, M. L.; ERLER, K.; BÖHM, V.; CATALANO, A.; SIMONE, R.; PALOZZA, P.; Effect of E-Beam treatment on the chemistry and on the antioxidant activity of lycopene from dry tomato peel and tomato powder; *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.67, p.1557-1563; **2014**;

GAO, Y.; MA, Q.; MA, Y. B.; DING, L.; XU, X. L.; WEI, D. F.; WEI, L.; ZHANG, J.W.; Betulinic acid induces apoptosis and ultrastructural changes in MDA-MB-231 breast cancer cells; *Ultrastructural Pathology*, v.42, p.49-54; **2008**;

GAY, N. H.; SUWANJANG, W.; RUANKHA, W.; SONGTAWEE, N.; WONGCHITRAT, P.; PRACHAYASITTIKUL, V.; PRACHAYASITTIKUL, S.; PHOPIN, K.; Butein, isoliquiritigenin, and scopoletin attenuate neurodegeneration via antioxidant enzymes and SIRT1/ADAM10 signaling pathway, *RSC Advances*, v.10, p.16593-16606; **2020**;

GE, H.; KONG, X.; SHI, L.; HOU, L.; LIU, Z.; LIU, P.; Gamma-linolenic acid induces apoptosis and lipid peroxidation in human chronic myeloid leukemia K562 cells; *Cell Biology International*, v.33, p.402-410; **2009**;

GENNE, P.; DUCHAMP, O.; SOLARY, E.; PINARD, D.; BELON, J. P.; DIMANCHE-BOITREL, M. T.; CHAUFFERT, B.; Comparative effects of quinine and cinchonine in reversing multidrug resistance on human leukemic cell line K562/ADM; *Leukemia*, v.8 (1), p.160-164; **1994**;

GHALY, N. S.; NABIL, M.; GRACE, M. H.; MELEK, F. R.; Pendulaosides A and B: two acylated triterpenoid saponins from *Harpullia pendula* seed extract; *Phytochemistry Letters*, v.21, p.278-282; **2017**;

GHOZOMU, R.; SONDEGAM, B. L.; MARTIN, M. T.; BODO, B.; Lophirone A, a biflavonoid with unusual skeleton from *Lophira lanceolata*; *Tetrahedron Letters*, v. 28 (26), p.2967-2968, **1987**;

GNONLONFIN, G. J.; SANNI, A.; BRIMER, L.; Review Scopoletin - A Coumarin Phytoalexin with Medicinal Properties; *Critical Reviews in Plant Sciences*, v.31, p.47-56; **2012**;



GOMIG, F.; PIETROVSKI, E. F.; GUEDES, A.; DALMARCO, E. M.; CALDERANI, M. T.; GUIMARÃES, C. L.; PINHEIRO, R. M.; CARBINI, D. A.; OTUKI, M. F.; Topical antiinflammatory activity of *Serjania erecta* Radlk (Sapindaceae) extracts; *Journal of Ethnopharmacology*, v. 118, p.220-224; **2008**;

GOWRI, S. S.; In vitro Anticancer activity of *Majidea zaquebarica* J. Krik. ex Oliv. (Sapindaceae); *Research Journal of Science and Technology*, v.12(3), p.173-176; **2020**;

GOWRI, S. S.; VASANTHA, K.; Solvent based effectiveness of antibacterial and phytochemical derivatized from the seeds of *Harpullia arborea* (Blanco) Radlk. (Sapindaceae); *Journal of Applied Scientific Environment Management*, v.13 (4), p.99-101; **2009**;

GUARIM-NETO, G., SANTANA, S. R.; SILVA, J. V.; Notas etnobotânicas de espécies de *Sapindaceae jussieu*; *Acta Botanica Brasileira*, v.14 (3), p.327-334; **2000**;

GUIMARÃES, V. P.; SILVA, I. G.; SILVA, H. H.; ROCHA, C.; Atividade larvicida do extrato bruto etanólico da casca do caula de *Magonia pubescens* St. Hil. sobre *Aedes albopictus* (Skuse, 1894) (Diptera, Culicidae); *Revista de Patologia Tropical*, v.30 (2), p.243-249; **2001**;

HA, T. K.; DAO, T. T.; NGUYEN, N. H.; KIM, J. KIM, E.; CHO, T. O.; OH W. K.; Antiviral phanolics from the leaves of *Cleistocalyx operculatus*; *Fitoterapia*, v.110, p.135-141; **2016**;

HAMERSKI, L. SOMNER, G. V.; TAMAIO, N.; *Paullinia cupana* Kunth (Sapindaceae): A review of its ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology; *Journal of Medicinal Plants Research*, v.7 (30), p.2221-2229; **2013**;

HAN, J. M.; KWON, H. J.; JUNG, H. J.; Tricin, 4',5,7-trihydroxy-3',5'-dimethoxyflavone, exhibits potent antiangiogenic activity in vitro; *International Journal of Oncology*, v.49, p.1487-1504; **2016**;

HARRINGTON, M. G.; BIFFIN E.; GADEK, P. A.; Comparative study of the evolution of nuclear ribosomal spacers incorporating secondary structure analyzes within Dodonaeoideae, Hippocastanoideae and Xanthoceroideae (Sapindaceae); *Molecular Phylogenetics and Evolution*, v.50, p.364-375; **2009**;

HE, P.; YAN, S.; WEN, X.; ZHANG, S.; LIU, Z.; LIU, X.; XIAO, C.; Eriodictyol alleviates lipopolysaccharide-triggered oxidative stress and synaptic dysfunctions in BV-2 microglial cells and mouse brain; *Journal of Cellular Biochemistry*, v.120, p.14756-17770; **2019**;

HEERDEN, F. R.; VILJOEN, A. M.; WYK, B. E.; The major flavonoid of *Dodonaea angustifolia*; *Fitoterapia*, v.71, p.602-604; **2000**;

HORAI, H.; ARITA, M.; KANAYA, S.; *et al.*; MassBank: A public repository for sharing mass spectral data for life sciences. *Journal of Mass Spectrometry*, v.45, p.703-714; **2010**;

HOSSAIN, M. A.; Biological and phytochemicals review of Omani medicinal plant *Dodonaea viscosa*; *Journal of King Saud Universitu - Science*, v.31, p1089-1094; **2019**;

HUANG, X.; LI, W.; YANG, X.; New cytotoxic quinolone alkaloids from fruits of *Evodia rutaecarpa*; *Fitoterapia*, v.83, p.709-714; **2012**;

HUANG, X.; LI, X.; XIE, M.; HUANG, Z.; HUANG, Y.; WU, G.; PENG, Z.; SUN, Y.; MING, Q.; LIU Y.; CHEN, J.; XU, S.; Resveratrol: review on its discovery, anti-leukemia effects and pharmacokinetics; *Chemico-Biological Interactions*, v.306, p.29-38; **2019**;

HUSSAIN, H.; KROHN, K.; AHMAD, V. U.; MIANA, G. A.; GREEN, I. R.; Lapachol: an overview; *Arkivoc*, SI (2), p.145-171; **2007**;

ISLAM, A.; ISLAM, M. S.; RAHMAN, M. K.; UDDIN, M. N.; AKANDA, M. R.; The pharmacological and biological roles of eriodictyol; *Archives of Pharmacal Research*, v.43, p.582-592; **2020**;

JAIN, P. K.; PATRA, A.; JAIN, S.; SALEEMULLA, K.; SATPATHY, S.; Antibacterial and antioxidant activities of 3-O-methyl ellagic acid 4'-rhamnoside from stem bark of *Polyalthia longifolia* Thw; *International Electronic Conference on Synthetic Organic Chemistry*, 18<sup>th</sup>, 18P.; **2014a**;

JAIN, P.; HOSSAIN, M. S.; FATEMA, K.; HOSSAIN, N. A.; MAXUMDER, K. U.; HOSSAIN, M.; ALAM, A.; REZA, H. M.; Anti-inflammatory, analgesic and antioxidant activities of *Allophylus cobbe* leaves; *American Journal of Pharmacology and Toxicology*, v.9 (4), p.223-231; **2014b**;

JAMUNA, S.; KARTHIKA, K.; PAULSAMY, S.; THENMOZHI, K.; KATHIRAVAN, S.; VENKATESH, R.; Confertin and scopoletin from leaf and root extracts of *Hypochaeris radicata* have anti-inflamaroty and antioxidant activities; *Industrial Crops and Products*, v.70, p.221-230; **2015**;

JANSEN, A. M.; XAVIER, S. C.; ROQUE, A. L.; *Trypanosoma cruzi* transmission in the wild and its most important reservoir hosts in Brazil; *Parasite & Vectors*, v.11, p.502-527; **2018**;

JEMAL, K.; SANDEEP, B. V.; POLA, S.; Synthesis, Characterization, and Evaluation of the Antibacterial Activity of *Allophylus serratus* Leaf and Leaf Derived Callus Extracts Mediated Silver Nanoparticles; *Journal of Nanomaterials*, Article ID 4213275; **2017**;

JEREZANO, A.; JIMENEZ, F.; CRUZ, M. C.; MONTIEL, L. E.; DELGADO, F.; TAMARIZ, J.; New approach for the construction of the coumarin frame and application in the total synthesis of natural products; *Helvetica Chimica Acta*, v.94, p.185-198; **2011**;

JI, X.; CHI, T.; LIU, P.; LI, L.; XU, J.; XU, Q.; ZOU, L.; MENG, D.; The total triterpenoid saponins of *Xanthoceras sorbifolia* improve learning and memory impairments through against oxidative stress and synaptic damage; *Phytomedicine*, v.25, p.15-24; **2017**;

JIANG, L.; WANG, Q.; SHEN, S.; XIAO, T.; LI, T.; Discovery of glycyrrhetic acid as an orally active, direct inhibitor of blood coagulation factor xa; *Thrombosis Research*, v.133, p.501-506; **2014**;

JIN, F.; WAN, C.; LI, W.; YAO, L.; ZHAO, H.; ZOU, Y.; PENG, D.; HUANG, W.; Formononetin protects against acetaminophen-induced hepatotoxicity through enhanced NFR2 activity; *Plos One*, v.12 (2), p.1-13; **2017**;

JIN, M. ZHOU, W.; JIN, C.; JIANG, Z.; DIAO, S.; JIN, Z.; LI, G.; Anti-inflammatory activities of the chemical constituents isolated from *Trametes versicolor*; *Natural Product Research*, v.22 (16), p.2422-2425; **2019**;

JIN, S. N.; WEN, J. F.; KIM, H. Y.; KANG, D. G.; LEE, H. S.; CHO, K. W.; Vascular relaxation by ethanol extract of *Xanthoceras sorbifolia* via Atk- and SOC-eNOS-cGMP pathways; *Journal of Ethnopharmacology*, v.132, p. 240-245; **2010**;

JOLY, C. A.; HADDAD, C. F.; VERDADE, L. M.; OLIVEIRA, M. C.; BOLZANI, V. S.; BERLINCK, R. G.; Diagnóstico da pesquisa em biodiversidade no Brasil; *Revista USP*, v.89, p.114-133; **2011**;

JULIANTII, E.; JANG, K. H.; LEE, S.; LEE, D.; MAR, W.; OH, K.; SHIN, J.; Sesquiterpenes from the leaves of *Laurus nobilis* L.; *Phytochemistry*, v.80, p.70-76; **2012**;

KAMIYA, K.; WATANABE, C.; ENDANG, H.; UMAR, M.; SATAKE, T.; Studies on the Constituents of Bark of *Parameria laevigata* Moldenke; *Chemical Pharmaceutical Bulletin*, v.49 (5), p.551-557; **2001**;

KAUR, N.; CHAUDHARY, J.; JAIN, A.; KISHORE, L.; Stigmasterol: A Comprehensive Review; *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, v.2 (9), p.2259-2265; **2011**;

KEKUDA, P.; VINAYAKA, K. S; Inhibitory activity of *Harpullia arborea* (Blanco) Radlk. And *Hydnocarpus pentadra* (Buch.-Ham.) Oken against seed-borne fungi; *Journal of Medicinal Plant Studies*, v.5 (4), p.114-117; **2017**;

KETHA, A.; VEDULA, G. S.; SASTRY, A. V.; In vitro antioxidant, anti-inflammatory, and anticancer activities of methanolic extract and its metabolites of whole plant *Cardiospermum canescens* Wall, *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, v.6, p.11-21; **2020**;

KHAN, M. R.; KIHARA, M.; OMOLOSO, A. D.; Antimicrobial activity of *Harpullia ramiflora*; *Fitoterapia*, v.72, p.298-300; **2001**;

KHAN, M. R.; OMOLOSO, A. D.; Antibacterial, antifungal activity of *Harpullia petiolaris*; *Fitoterapia*, 73, p.331-335; **2002**;

KHOURY, M. E.; HAYKAL, T.; HODROJ, M. H.; NAJEM, S. A.; SARKIS, R.; TALEB, R. I.; RIZK, S.; *Malva pseudolavatera* Leaf Extract Promotes ROS Induction Leading to Apoptosis in Acute Myeloid Leukemia Cells In Vitro; *Cancers*, v.12, p.435; **2020**;

KIM, G. R.; RAMAKRISHNAN, S. R.; AMEER, K.; CHUNG, N.; KIM, Y. R.; KWON, J. H.; Irradiation effects on chemical and functional qualities of ready-to-eat Saengshik, a cereal health food; *Radiation Physics and Chemistry*, v.171, p.108692; **2020**;

KOOHANG, A.; MAJEWSKI, N. D.; SZOTEK, E. L. MAR, A. A. EIZNHAMER, D. A.; FLAVIN, M. T.; XU, Z. Q.; Synthesis and cytotoxicity of 2-cyano-28-hydroxy-lup-1-en-3-ones; *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, v.19, p.2168-2171; **2009**;

KUMAR, R.; KHURSHEED, R.; KUMAR, R.; AWASTHI, A.; SHARMA, N.; KHURANA, S.; KAPOOR, B.; KHURANA, N.; SINGH, S. K.; GOWTHAMARAJAN, G.; WADHWANI, A.; Self-nanoemulsifying drug delivery system of fisetin: Formulation, optimization, characterization and cytotoxicity assessment; *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, v.54, p.101252; **2019**;

LANGER, D.; CZARCZYNSKA-GOSLINSKA, B.; GOSLINSKI, T.; Glycyrrhetic acid and its derivatives in infectious diseases; *Current Issue in Pharmacy and Medical Sciences*, v.29 (3), p.118-123; **2016**;

LAVAUD, C.; SAYAGH, C.; HUMBERT, F.; POUNY, I.; DELAUDE, C.; Triterpenoid saponins from root bark of *Zanha golungensis* (Sapindaceae); *Carbohydrate Research*, v.402, p.225-231; **2015**;

LAVAUD, S. C.; VOUTQUENNE, L.; MASSIOT, G.; MEN-OLIVIER, L.; BHUPESH, C.; LAPREVOTE, O.; SERANI, L.; DELAUDE, C.; BECCHI, M.; Saponins from the stem bark of *Filicium decipiens*; *Phytochemistry*, v.47 (3), p.441-449; **1998**;

LAZAREVIC, J. S.; PALIC, R. V.; RADULOVIC, N. S.; RISTIC, N. R.; STOJANOVIC, G. S., Chemical composition and screening of the antimicrobial and antioxidative activity of extracts of *Stachys* species, *Journal of Serbian Chemistry Society*, v.75 (10), p.1347-1359; **2010**;

- LEE, C. J.; DEMILO, A. B.; MORENO, D. S.; MANGAN, R. L.; Identification of the volatile components of E802 *Mazoferm steepwater*, a condensed fermented corn extractive highly attractive to the Mexican fruit fly (Diptera: Tephritidae); *Journal of Agriculture Food Chemistry*, v.45 (6), p.2327-2331; **1997**;
- LEE, D.; IMM, J.; AMP kinase activation and inhibition of nuclear factor-kappa B (NF-KB) translocation contribute to the anti-inflammatory effect of triclin; *Journal of Food Biochemistry*, v.41, e12293; **2016**;
- LEE, S.; BAEK, Y.; EUN, C.; YU, M.; BAEK, N.; CHUNG, D.; BANG, M.; YANG, S.; Tricin derivatives as anti-inflammatory and anti-allergic constituents from the aerial part of *Zizania latifolia*; *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, v.79 (5), p.700-706; **2017**;
- LEMO, M. F.; PACHECO, H. P.; GUIMARÃES, A. C.; FRONZA, M.; ENDRINGER, D. C.; SCHERER, R.; Seasonal variation affects the composition and antibacterial and antioxidant activities of *Thymus vulgaris*; *Industrial Crop Production*, v.95, p.543-548; **2017**;
- LI, N.; WANG, Y.; LI, X.; ZHANG, H.; ZHOU, D.; WANG, W.; LI, W.; ZHANG, X.; LI, X.; HOU, Y.; MENG, D.; Bioactive phenols as potential neuroinflammations inhibitors from the leaves of *Xanthoceras sorbifolia* Bunge; *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, v.26, p.5018-5023; **2016**;
- LI, W.; LU, Q.; LI, X.; LIU, H.; SUN, L.; LU, X.; ZHAO, Y.; LIU, P.; Anti-Alzheimer's disease activity of secondary metabolites from *Xanthoceras sorbifolia* Bunge; *Food & Function*, v.11, p.2067-2079; **2020**;
- LI, Z.; ZHAO, D.; LI, D.; Spiro-isoxazolines from the flowers of *Xanthoceras sorbifolia*; *Phytochemistry Letters*, v.28, p.149-152; **2018**;
- LIMA, N. M.; CORREIO, C. S.; LEON, L. L.; MACHADO, G. M.; MADEIRA, M. F.; SANTANA, A. E.; GOULART, M. O.; Antileishmanial Activity of Lapachol Analogues; *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v.99 (7), p. 757-761; **2004**;
- LIMA, S. L.; TAMIOZZO, S.; PALOMINO, E. C.; PETTER, F. A.; MARIMON-JUNIOR, B. H.; Interactions of Biochar and Organic Compound for Seedlings Production of *Magonia pubescens* A. St.-Hil.; *Revista Árvore*; v.39(4), p. 655-661; **2015**;
- LING, J.; LIU, L.; WANG, Y.; LI, Z.; LIU, R.; LI, Q.; WANG, Y.; YANG, B.; CHEN, X.; BI, K.; Characterization and quantification of the triterpenoids in different parts of *Xanthoceras sorbifolia* by HPLC-ESI-MS; *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v.55, p.259-264; **2011**;
- LIU, W.; HUA, J.; ZHOU, J.; ZHANG, H.; ZHU, H.; CHENG, Y.; GUST, R.; Synthesis and in vitro antitumor activity of novel scopoletin derivatives, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, v.22, p.5008-5012; **2012**;
- LIU, X.; LONG, H.; MIAO, X.; LIU, G.; YAO, H.; Fisetin inhibits cancer growth in a mouse model: relation to dopamine receptor; *Oncology Reports*, v.38, p.53-62; **2017**;
- LU, W. C.; HUNAG, W. T.; KUMARAN, A.; HO, C. T.; HWANG, L. S.; Transformation of Proanthocyanidin A2 to Its Isomers under Different Physiological pH Conditions and Common Cell Culture Medium, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.59, p.6214-6220; **2011**;
- LUNA, E. J.; CAMPOS, S. R.; Vaccine development against neglected tropical diseases, *Cadernos de Saúde Pública*, v.36, e00215720; **2020**;

LY, B. T.; LY, D. M.; LINH, P. H.; SON H. K.; HÁ, N. L.; CHI, H. T.; Screening of medicinal herbs for cytotoxic activity to leukemia cells; *Journal of the Balkan Union of Oncology*, v.25(4), p.1990; **2020**;

MA, S.; JIA, R.; GUO, M.; QIN, K.; ZHANG, L.; Insecticidal activity of essential oil from *Cephalotaxus sinensis* and its main components against various agricultural pests; *Industrial Crop Production*, v.150, p.112403; **2020**;

MACEDO, M. C.; SCALON, S. P.; SARI, A. P.; Biometria de Frutos e Sementes e Germinação de *Magonia pubescens* St.Hil (Sapindaceae); *Revista Brasileira de Sementes*, v.31(2), p.202-211; **2009**;

MAHATO, S. B.; KUNDU, A. P.; <sup>13</sup>C NMR Spectra of Pentacyclic triterpenoids - a compilation and some salient features; *Phytochemistry*, v.37(6), p.1517-1575; **1994**

MAHER, T.; RAUS, R. A.; DADDIOUAISSA, AHMAD, F.; ADZHAR, N. S.; LATIF, E. S.; ABDULHAFIZ, F.; MOHAMMED, A.; Medicinal Plants with Anti-Leukemic Effects: A Review, *Molecules*, v.26, p.2741; **2021**;

MAIA, R. M.; BARBOSA, P. R.; CRUZ, F. G.; ROQUE, N. F.; FASCIO, M.; Triterpenos da resina de *Protium heptaphyllum* March (Boursearaceae): caracterização em misturas binárias; *Química Nova*, v.23 (5), p.623-626; **1989**;

MAJE, I. M.; ANUKA, J. A.; HUSSAINI, I. M.; KATSAYAL, U. A.; YARO, A. H.; MAGAI, M. G.; JAMILU, Y.; SANI, M.; MUSA, Y.; Evaluation of the anti-malarial activity of the ethanolic leaves extract of *Paullinia pinnata* Linn (Sapindaceae); *Nigerian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v.6 (2), p.67-72; **2007**;

MALAVIYA, S.; NANDAKUMAR, K.; VAGHASIYA, J. D. et al.; Anxiolytic activity of root extracts of *Cardiospermum halicacabum* in mice; *The Internet Journal of Pharmacology*, v.7 (1), 6 p.; **2009**;

MARIMOUTOU, M.; SAGE, F. L.; SMADJA, J.; HELLENCOURT, C. L.; GONTHIER, M. P.; SILVA, C. R.; Antioxidant polyphenol-rich extracts from the medicinal plants *Antirhea borbonica*, *Doratoxylon apetalum* and *Gouania mauritiana* protect 3T3-L1 preadipocytes against H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, TNF $\alpha$  and LPS inflammatory mediators by regulating the expression of superoxide dismutase and NF-kB genes; *Journal of Inflammation*, v.12 (10), 15 p.; **2015**;

MATSUMOTO, T.; KITAGAWA, T.; TEO, S.; ANAI, Y.; IKEDA, R.; IMAHORI, D.; AHMAD, H. S.; WATANABE, T.; Structures and Antimutagenic Effects of Onoceranoid-Type Triterpenoides from the Leaves of *Lansium domesticum*; *Journal of Natural Products*, v.81, p.2187-2194; **2018**;

MEDINA, M. C.; SOUSA-BAENA, M. S.; PRADO, E.; ACEVEDO-RODRIGUEZ, P.; DIAS, P.; DEMARCO, D.; Laticifers in Sapindaceae: Structure, Evolution and Phylogenetic Importance; *Frontiers in Plant Science*, v.11, 612985; **2021**;

MENDES, J. M.; Ação leishmanicida de extratos de plantas no desenvolvimento de promastigotas de *Leishmania amazonensis* e estudo do perfil metabólico utilizando a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE); Dissertação de Mestrado; Universidade Federal de Goiás; 2006;

MESQUITA, M. L.; PAULA, J. E.; PESSOA, C.; MORAES, M. O.; COSTA-LOTUFO, L. V.; GOURGNET, R.; MICHEL, S.; TILLEQUIN, F.; ESPINDOLA, L.; Cytotoxic Activity of Brazilian Cerrado Plants Used in Tradicional Medicina against Cancer Cell Lines; *Journal of Ethnopharmacology*, v.123, p.439-445; **2009**;

MEVY, J. P.; BESSIERE, J. M.; RABIER, J.; DHERBOMEZ, M.; RUZZIER, M.; MILLOGO, J.; VIANO, J.; Composition and antimicrobial activities of the essential oil of *Triumfetta rhomboidea* Jacq., *Flavour Fragrances Journal*, v.21 (1), p.80-83; **2006**;

MIGLIETTA, A.; BOZZO, F.; BOCCA, C.; GABRIEL, L.; TROMBETTA, A.; BELOTTI, S.; CANUTO, R. A.; Conjugated linoleic acid induces apoptosis in MDA-MB-231 breast cancer cells through ERK/MAPK signalling and mitochondrial pathway; *Cancer Letters*, v.234, p.149-157; **2006**;

MINISTÉRIO DA SAÚDE (BRASIL); Neglected diseases: the strategies of the Brazilian Ministry of Health, *Revista de Saúde Pública*, v.44(1), p.200-202; **2010**;

MIRANDA, A. D.; DELVAUX JUNIOR, N. A.; AIURA, F. S.; AIURA, A. L.; MACIEL, M. P.; AROUCA, C. L.; Extrato de Tinguí na Conservação da Tilápia-Do-Nilo; *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, v.17(4), p.763-771; **2016**;

MOHAMMED, F. Z.; AL-HUSSAINI, A. S.; EL-SHEHABI, M. E.; Antidiabetic activity of caffeic acid and 18 $\beta$ -glycyrrhetic acid and its relationship with the antioxidant property; *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, v.8 (1), p.229-234; **2015**;

MOHEB, A.; GRONDIN, M.; IBRAHIM, R. K.; ROY, R.; SARHAN, F.; Winter wheat hull (husk) is a valuable source for tricin, a potential selective cytotoxic agent; *Food Chemistry*, v.138, p.931-937; **2013**;

MONTES, E. G.; MITAINE-OFFER, A.; AMARO-LUIS, J. M.; PAULULAT, T.; DELAUDE, C.; POUYSEGU, L.; QUIDEAU, S.; ROJAS, L. B.; DELEMASURE, S.; DUTARTRE, M.; LACAILLE-DUBOIS; Acylated oleanane-type saponins from *Ganophyllum giganteum*; *Phytochemistry*, v.98, p.236-242; **2014**;

MONZOTE, L.; PIÑÓN, A.; SETZER, W. N.; Antileishmanial Potential of Tropical Rainforest Plant Extracts; *Medicines*, v.1, p.32-55; **2014**;

MORAES, A. R. A., CAMARGO, K. C., SIMÕES, M. O., FERRAZ, V. P., PEREIRA, M. T., EVANGELISTA, F. C., SABINO, A. P., DUARTE, L. P., ALCÂNTARA, A. F., SOUSA, G. F., Chemical Composition of *Magonia pubescens* Essential Oils and Gamma-Radiation Effects on Its Constituents and Cytotoxic Activity in Leukemia and Breast Cancer Model, *Chemistry and Biodiversity*, v.18, e2100094; **2021**;

MOSTAFA, A. E.; EL-HELA, A. A.; MOHAMMAD, A. I.; CUTLER, S. J.; ROSS, S. A.; New triterpenoids saponins from *Koelreuteria paniculate*; *Phytochemistry Letters*, v.17, p.213-218; **2016**;

MUHAMMAD A.; TEL-ÇAYAN, G.; ÖZTÜRK, M.; DURU, M. E.; NADEEM, S.; ANIS, I.; NG, S. W.; SHAH, M. R.; Phytochemicals from *Dodoneae viscosa* and their antioxidant and anticholinesterase activities with structure-activity relationships; *Pharmaceutical Biology*, v.54 (9), p.1649-1655; **2016**;

MUTHIA, A.; SANTONI, A. DARWIS, D.; Spinasterol: Steroids from *Filicium decipiens* stem bark; *International Journal of Chemical and Pharmaceutical Analysis*, v.3 (1), Article ID 773; **2015**;

NABIL, A.; GHALY, N. S.; KASSEM, I. A.; GRACE, M. H.; MELEK, F. R.; Two Triterpenoid Saponins with  $\alpha$ -glucosidase Inhibitory Activity from *Harpullia pendula* Seed Extract; *Pharmacognosy Journal*, v.11 (6), p.1386-1390; **2019**;

NAEIMI, A. F.; ALIZADEH, M.; Antioxidant properties of the flavonoid fisetin: an update review of in vivo and in vitro studies; *Trends in Food Science & Technology*, v.70, p.34-44; **2017**;

NAIK, D. G.; MUJUMDAR, A. M.; WAGHOLE, R. J.; MISAR, A. V.; BLIGH, S. W.; BASHALL, A.; CROWDER, J.; Taraxer-14-en-3 $\beta$ -ol, an anti-inflammatory compound from *Scutelia foetida* L.; *Planta Medica Letters*, v.70, p.68-69; **2004**;

NAJAR, B.; SHORTREDE, J. E.; PISTELLI, L.; BUHAGIAR, J.; Chemical Composition and *in Vitro* Cytotoxic Screening of Sixteen Commercial Essential Oils on Five Cancer Cell Lines; *Chemistry & Biodiversity*, v.17, e1900478; **2020**;

NERI-NUMA, E. A.; CARVALHO-SILVA, L. B.; FERREIRA, J. E.; MACHADO, A. R.; MALTA, L. G.; RUIZ, A. L.; CARVALHO, J. E.; PASTORE, G. M.; Preliminary evaluation of antioxidant, antiproliferative and antimutagen activities of pitomba (*Talisia esculenta*); *LWT - Food Science And Technology*, v.59, p.1233-1238; **2014**;

NETO, J. A. R.; TAROCO, B. R., SANTOS, H. B.; THOME, R. G.; WOLFRAM, E.; RIBEIRO, R. I.; Using the plants of Brazilian Cerrado for wound healing: From traditional use to scientific approach; *Journal of Ethnopharmacology*, v.260, p.112547; **2020**;

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M.; Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019; *Journal of Natural Products*, v.83, p.770-803; **2020**;

NIU, X.; MU, Q.; LI, W.; YAO, H.; LI, H.; HUANG, H.; Esculentic acid, a novel and selective COX-2 inhibitor with anti-inflammatory effect in vivo and in vitro; *European Journal of Pharmacology*, v.740, p.532-538; **2014**;

NONG, X.; YANG, Y.; YANG, G.; CHEN, F.; TANG, M.; WANG, G.; Toxicity of Stigmasterol Isolated from Crofton Weed, *Eupatorium adenophorum* Spreng. Against a Rabbit Ear Mite, *Psoroptes cuniculi*; *Pakistan Journal of Zoology*, v.49 (4), p.1197-1200; **2017**;

OLADOSU, I. A.; BALOGUN, S. O.; ADEMOWO, G. O.; Phytochemical screening, antimalarial and histopathological studies of *Allophylus africanus* and *Tragia benthamii*; *Chinese Journal of Natural Medicines*, v.11 (4), p.371-376; **2013**;

OLDONI, T. L.; MELO, P. S.; MASSARIOLI, A. P.; MORENO, I. A.; BEZERRA, R. M.; ROSALEN, P. L.; SILVA, G. V.; NASCIMENTO, A. M.; ALENCAR, S. M.; Bioassay-guided isolation of proanthocyanidins with antioxidant activity from peanut (*Arachis hypogaea*) skin by combination of chromatography techniques; *Food Chemistry*, v.192, p.306-312; **2016**;

OLORUNNISOLA, O. S.; BRADLEY, G.; AFOLAYAN, A. J.; Antioxidant activity of acetone and ethanolic leaves extracts of *Hippobromus pauciflorus* (L.f.) Radlk.; *African Journal of Biotechnology*, v.11 (5), p.1206-1213; **2012**;

ONYENEKWE, P. C.; OGBADU, G. H.; HASHIMOTO, S.; The effect of gamma radiation on the microflora and essential oil of Ashanti pepper (*Piper guineense*) berries; *Postharvest Biology and Technology*, v.10, p.161-167; **1997**;

OSORIO, A. M.; SILVA, T. M.; DUARTE, L. P.; FERRAZ, V. P.; PEREIRA, M. T.; MERCADANTE-SIMÕES, M. O.; EVANGELISTA, F. C.; SABINO, A. P.; ALCANTARA, A. F.; Essential Oil from Flowebys of *Solanum stipulaceum*: Composition, Effects of g-Radiation, and Antileukemic Activity; *Journal of Brazilian Chemical Society*, v.26, p.2233-2244; **2015**;

OTA, E. C.; HONORATO, C. A.; HEREDIA.VIEIRA, S. C.; FLORES-QUINTANA, C. I.; SOLVA, T. S.; INOUE, L. A.; CARDOSO, C. A.; Hepatic and gastroprotective activity of *Serjania marginata* leaf aqueous extract in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*); *Fish Physiology and Biochemistry*, v.45, p.1051-1065; **2019**;

OUATTARA, L. H.; KABRAN, G. R.; KONAN, K. M.; KOFFI, K. L.; KOFFI, K. E.; MAMYRBEKOVA-BEKRO, J. A.; BEKRO, Y. A.; Biological Activities and Phytochemical

Composition of the Methanol Extract of *Paullinia pinnata* Linn Stems from Cote D'Ivoire; *International Journal of Current Research*, v.11 (10), p.7728-7733; **2019**;

PAN, P.; CHENG, M.; PENG, C.; HUANG, H.; CHEN, J.; CHEN, I.; Secondary Metabolites from the Roots of *Litsea hypophaea* and Their Antitubercular Activity; *Journal of Natural Products*, v.73, p.890-896; **2010**;

PANG, X.; LI, Y.; GONG, Y.; YAN, Y.; LI, H.; ZHU, Y.; Sesquiterpenes from the whole plants of *Parasenecio roborowskii*; *Fitoterapia*, v.116, p.24-33; **2017**;

PAOLINI, J.; MUSELLI, A.; BERNARDINI, A.-F.; BIGHELLI, A.; CASANOVA, J.; COSTA, J.; Thymol derivatives from essential oil of *Doronicum corsicum* L., *Flavour and Fragrances Journal*, v.22 (6) p.479-487; **2007**;

PASSOS, C. L.; RODRIGUEZ, R.; FERREIRA, C.; SOARES, D. C.; SOMNER, G. V.; HAMERSKI, L.; PINTO, A. C.; REZENDE, C. M.; SARAIVA, E. M.; Anti-*Leishmania amazonensis* activity of *Serjania lethalis* A. St.-Hil; *Parasitology International*, v.66, p.940-947; **2017**;

PATHIRANAGE, V. C.; LOWE, J. N.; RAJAGOPALAN, U.; EDIRIWEERA, M. K.; SENATHILAKE, K.; PIYATHILAKA, P.; TENNEKOON, K. H.; SAMARAKOON, S. R.; Hexane Extract of *Garcinia quaesita* Fruits Induces Apoptosis in Breast Cancer Stem Cells Isolated from Triple Negative Breast Cancer Cell Line MDA-MB-231; *Nutrition and Cancer*, v.73 (5), p.845-855; **2020**;

PEIXOTO, H.; ROXO, M.; ROHRIG, T.; RICHLING, E.; WANG, X.; WINK, M.; Anti-Aging and Antioxidant Potential of *Paullinia cupana* var. *sorbilis*: Findings in *Caenorhabditis elegans* Indicate a New Utilization for Roasted Seeds of Guarana; *Medicines*, v.4, p.61; **2017**;

PENDOTA, S. C.; YAKUBU, M. T.; GRIERSON, D. S.; AFOLAYAN, A. J.; Anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activities of the aqueous extract of *Hippobromus pauciflorus* (L.f.) Radlk leaves in male Wistar rats; *African Journal of Biotechnology*, v.8 (10), p.2036-2041; **2009**;

PERES, R. S.; SANTOS, G. B.; CECILIO, N. T.; JABOR, V. A.; NIEHUES, M.; TORRES, B. G.; BUQUI, G.; SILVA, C. H.; COSTA, T. D.; LOPES, N. P.; NONATO, M. C.; RAMALHO, F. S.; LOUZADA-JUNIOR, P.; CUNHA, T. M.; CUNHA, F. Q.; EMERY, F. S.; ALVES-FILHOS, J. C.; Lapachol, a compound targeting pyrimidine metabolism, ameliorates experimental autoimmune arthritis; *Arthritis Research & Therapy*, v.19, p.47-59; **2017**;

PERICO, L. L.; HEREDIA-VIEIRA, S. C.; BESERRA, F. P. et al.; Does the gastroprotective action of a medicinal plant ensure healing effects? An integrative study of the biological effects of *Serjania marginata* Casar. (Sapindaceae) in rats; *Journal of Ethnopharmacology*, in press; 2019;

PIMENTA, F. C.; SILVA, H. H.; ITO, I. Y.; GUIMARÃES, V. P.; SILVA, I. G.; Avaliação da atividade antimicrobiana do extrato bruto etanólico de *Magonia pubescens* St. Hil. (Sapindaceae); *Revista de Patologia Tropical*, v.29 (1), p.35-43; **2000**;

PINTO, A. C.; SILVA, D. H.; BOLZANI, V. S.; LOPES, N. P.; EPIFANIO, E. A.; Produtos naturais: atualidades, desafios e perspectivas; *Química Nova*, v.25 (1), p.45-61; **2002**.

PRAKASHI, N. K.; SELVI, C. R.; SASIKALA, V.; DHANALAKSHMI, S.; PRAKASHI, B.; Phytochemistry and bio-efficacy of a weed, *Dodonaea viscosa*; *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, v. 4 (2), p.509-512; **2012**;



QIU, G.; TIAN, W.; HUAN, M.; CHEN, J.; FU, H.; Formononetin exhibits anti-hyperglycemic activity in alloxan-induced type 1 diabetic mice; *Experimental Biology and Medicine*, v.0, p.1-8; **2016**;

QUIJANO, L.; RIOS, T.; FRONCZEK, F. R.; FISCHER, N. H.; The Molecular Structure of Maniladiol from *Baccharis salicina*; *Phytochemistry*, v.49 (7), p.2065-2068, **1998**;

RABI, T.; BISHAYEE, A.; Terpenoids and breast cancer chemoprevention; *Breast Cancer Research and Treatment*, v.115, p.223-239; **2009**;

RADHAIHAH, A.; PADMAVATHI, S.; RANI, V. J.; Phytochemical Screening and Antioxidant Activity of Aqueous Extract of *Allophylus serratus* fruit; *International Journal of Bio-Pharma Research*, v.8 (1), p.2476-2481; **2019**;

RADWAN, M. O.; ISMAIL, M. A.; EL-MEKKAWY, S.; ISMAIL, N. S.; HANNA, A. G.; Synthesis and biological activity of new 18 $\beta$ -glycyrrhetic acid derivatives; *Arabian Journal of Chemistry*, v.9, p.390-399; **2016**;

RAMEZANI, M.; BEHRAVAN, J.; YAZDINEZHAD, A.; Chemical composition and antimicrobial activity of the volatile oil of *Artemisia khorassanica* from Iran; *Pharmaceutical Biology*, v.42 (8), p.599-602; **2004**;

RAMEZANI, M.; BEHRAVAN, J.; YAZDINEZHAD, A.; Composition and antimicrobial activity of the volatile oil of *Artemisia kopetdaghensis* Krasch., M.Pop. Linecz ex Poljak from Iran, *Flavour and Fragrances Journal*, v.21 (6), p.869-871; **2006**;

RAO, D. B.; LAKSHMI, P.; *Sapindus trifoliatus*: A Review; *International Journal Of Pharmacy & Technology*, v.4, p.2201-2214; **2012**;

RASHMI; NAGATSU, A.; New flavonoids from seed skin of *Xanthoceras sorbifolia*; *Journal of Medicinal Plants Research*, v.5 (6), p.1034-1036; **2011**;

RAVINDRAN, R.; JAISWAL, A. K.; Wholesomeness and safety aspects of irradiated foods; *Food Chemistry*; v.285, p.363-368; **2019**;

REVEGLIE, P.; MASI, M.; EVIDENTE, A.; Melleins—Intriguing Natural Compounds, *Biomolecules*, v.10, p.772; **2020**;

REZAZADEH, S.; HAMEDANI, M. P.; DOWLATABADI, R.; YAZDANI, D.; SHAFIEE, A.; Chemical composition of the essential oils of *Stachys schtschegleevii* Sosn. and *Stachys balansae* Boiss Kotschy from Iran; *Flavour Fragrances Journal*, v.21 (2), p.290-293; **2006**;

ROCHA, A. J.; SOARES, J. M.; NASCIMENTO, F. S.; SANTOS, A. S.; AMORIM, V. B.; FERREIRA, C. F.; HADDAD, F.; SANTOS-SEREJO, J. A.; AMORIM, E. P.; Improvements in the Resistance of the Banana Species to Fusarium Wilt: A Systematic Review of Methods and Perspectives; *Journal of Fungi*, v.7, p.249; **2021**;

RUPHIN, F. P.; BARTHELEMY, F.; GUY, R.; OSCAR, R. A.; ADOLPHE, R.; CHARLES, A.; ZHAO, M.; MARCHIONI, E.; BAHOLY, R.; MARCELIN, S.; NGBOLUA, K. N.; Vasodilatador effects of *Cymbopogon pruinosis* (Poaceae) from Madagascar on isolated rat thoracic aorta and structural elucidation of its two bioactive compounds; *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, v.5 (1), p.46-55; **2016**;

RYU, S. Y.; LEE, C.; AHN, J. W.; LEE, S. H.; ZEE, O. P.; Antiviral Activity of Triterpenoid Derivatives; *Archives of Pharmacal Research*, v.16 (4), p.339-342; **1993**;

SAAB, A. M.; TUNDIS, R.; LOIZZO, M. R.; LAMPRONTI, I.; BORGATTI, M.; GAMBARI, R.; MENICHINI, F.; ESSEILY, F.; MENICHINI, F.; Antioxidant and antiproliferative activity of *Laurus nobilis* L. (Lauraceae) leaves and seeds essential oils against K562 human chronic myeloid leukaemia cells; *Natural Products Research*, v.18, p.1741-1745; **2012**;

SALAS, C.; TAPIA, R. A.; CIUDAD, K.; ARMSTRONG, V.; ORELLANA, M.; KEMMERLING, U.; FERREIRA, J.; MAYA, J. D.; MORELLO, A.; *Trypanosoma cruzi*: activities of lapacho and  $\alpha$ - and  $\beta$ -lapachone derivatives against epimastigote and trypomastigote forms; *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, v.16, p.668-674; **2008**;

SALUSTIANO, E. J.; NETTO, C. D.; FERNANDES, R. F.; SILVA, A. J.; BACELAR, T. S.; CASTRO, C. P.; BUARQUE, C. D.; MAIA, R. C.; RUMJANEK, V. M.; COSTA, P. R.; Comparison of the cytotoxic effect of lapachol,  $\alpha$ -lapachone and pentacyclic 1,4-naphthoquinones on human leukemic cells; *Investigation on New Drugs*, v.28, p.139-144; **2010**;

SANCHEZ, J.; OLIVIA, Y.; MARRERO, E.; Hypoglycemic effect of *Allophylus cominia* (L.) Sw leaves aqueous extract in a rat model type 2 diabetes; *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, v.13 (2), p.198-204; **2014**;

SANTOS, S. M.; OLIVEIRA, P. C.; BALSALOBRE, N. M.; KASSUYA, C. A.; CARDOSO, C. A.; PEREIRA, Z. V.; SILVA, R. M.; FORMAGIO, A. S.; Variation in essential oil components and anti-inflammatory activity of *Allophylus edulis* leaves collected in central-western Brazil; *Journal of Ethnopharmacology*, v.267, p.113495; **2021**;

SEKI, N.; TOH, U.; KAWAGUCHI, K.; NINOMIYA, M.; KOKETSU, M.; WATANABE, K.; AOKI, M.; FUJII, T.; NAKAMURA, A.; AKAGI, Y.; KUSUKAWA, J.; KAGE, M.; SHIROUZU, K.; YAMANA, H.; Tricin inhibits proliferation of human hepatic stellate cells in vitro by blocking tyrosine phosphorylation of PDGF receptor and its signaling pathways; *Journal of Cellular Biochemistry*, v.113, p.2346-2355; **2012**;

SERRANO, M. A.; PIVATTO, M.; FRANCISCO, W.; DANUELLO, A.; REGASINI, L. O.; LOPES, E. M.; LOPES, M. N.; YOUNG, M. C.; BOLZANI, V. S.; Acetylcholinesterase inhibitory pyridine alkaloids of the leaves of *Senna multijuga*; *Journal of Natural Products*, v.73, p.482-484; **2010**;

SHARMA, P.; SHARMA, S. R.; DHALL, R. K.; MITTAL, T. C.; Effect of  $\gamma$ -radiation on post-harvest storage life and quality of onion bulb under ambient condition; *Journal of Food Science and Technology*, v.57, p.2534-2544; **2020**;

SHEEBA, M. S.; ASHA, V. V.; Effect of *Cardiospermum halicacabum* on ethanol-induced gastric ulcers in rats; *Journal of Ethnopharmacology*, v.106, p.105-110; **2006**;

SHING, B.; SINGH, S.; PODUST, L. M.; MCKERROW, J. H.; DEBNATH, A.; The Antifungal Drug Isavuconazole Is both Amebicidal and Cysticidal against *Acanthamoeba castellanii*; *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v.64 (5), e02223-19; **2020**;

SIDDIQUI, A.; Chemical and pharmacological evaluation of *Dodoneae viscosa* Linn; *Asian Journal of Chemistry*, v.10 (1), p.14-16; **1998**;

SILVA, F. L.; MORENO, P. R.; BRAZ-FILHO, R.; TAVARES, J. F.; BARBOSA-FILHO, J. M.; Chemical constituents of *Cardiospermum corindum* L. and their distribution in Sapindaceae; *Biochemical Systematics and Ecology*, 57, p.137-140; **2014**;

SILVA, F. L.; SILVA, J. L.; SILVA, J. M.; MARCOLIN, L. S.; NOUAILHETAS, V. L.; YOSHIDA, M.; VENDRAMINI, P.; EBERLIN, M. N.; BARBOSA-FILHO, J. M.; MORENO,

P. R.; Antispasmodic activity from *Serjania caracasana* fractions and their safety; *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.27, p.346-352; **2017**;

SILVA, H. H.; SILVA, I. G.; SANTOS, R. M.; FILHO, E. R.; ELIAS, C. N.; Larvicidal activity of tannins isolates of *Magonia pubescens* St. Hil. (Sapindaceae) against *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae); *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v.37 (5), p.396-399; **2004**;

SILVA, K. F.; Sapindaceae na Serra do Cipó, Minas Gerais, Brasil; *Dissertação de Mestrado*, Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, 148 p.; **2011**;

SILVA, N. L.; MIRANDA, F. A.; CONCEIÇÃO, G. M.; Triagem Fitoquímica de Plantas de Cerrado, da Área de Proteção Ambiental Municipal do Inhamum, Caxias, Maranhão; *Scientia Plena*, v.2, p.1-17; **2010**;

SILVA, T. M.; DIAS, M. D.; PEREIRA, M. T.; TAKAHASHI, J. A.; FERRAZ, V. P.; PILÓ-VELOSO, D.; ALCANTARA, A. F.; Effect of the gamma-radiation on phenol fractions obtained from the leaves of *Echinodorus macrophyllus* Mich.; *Radiation Physics and Chemistry*, v.81, p.22-26; **2012**;

SIMONE, N.; PACE, B.; GRIECO, F.; CHIMIANTI, M.; TYIBILIKA, V.; SANTORO, V.; CAPOZZI, V.; COLELLI, G.; SPANO, G.; RUSSO, P.; *Botrytis cinerea* and Table Grapes: A Review of the Main Physical, Chemical, and Bio-Based Control Treatments in Post-Harvest; *Foods*, v.9, p.1138; **2020**;

SIMPSON, B.; CLAUDIE, D.; SMITH, N.; WANG, J.; MCKINNON, R.; SEMPLÉ, S.; Evaluation of the anti-inflammatory properties of *Dodonaea polyandra*, a Kaanju traditional medicine; *Journal of Ethnopharmacology*, v.132, p.340-343; **2010**;

SOFIDIYA, M. O.; JIMOH, F. O.; ALIERO, A. A.; AFOLAYAN, A. J.; ODUKOYA, O. A.; FAMILONI, O. B.; Evaluation of antioxidant and antibacterial properties of six Sapindaceae members; *Journal of Medicinal Plants Research*, v.6 (1), p.154-160; **2012**;

SOKODJOU, J. B.; ATOLANI, O.; NJATENG, G. S.; KHAN, A.; TAGOUSOP, C. N.; BITOMBO, A. N.; KODJIO, N.; GATSING, D.; Isolation, characterization and in vitro antisalmonellal activity of compounds from stem bark extract of *Canarium schweinfurthii*; *BMC Complementary Medicine and Therapies*, v.20, p.316-326; **2020**;

SOSA, S.; BRACA, A.; ALTINIER, G.; LOGGIA, R. D.; MORELLI, I.; TUBARE, A.; Topical anti-inflammatory activity of *Bauhinia tarapotensis* leaves; *Phytomedicine*, v.9, p.646-653; **2002**;

SOUDA, S. S.; MOHAMMED, R. S.; IBRAHIM, F. M.; MATLOUB, A. A.; *Harpullia pendula* Planch leaves: phenolics, in vitro antioxidant and  $\alpha$ -amylase inhibitory activity; *Egyptian Pharmaceutical Journal*, v.16, p.103-111; **2021**;

SOUJANYA, M.; RAMAKRISHNA, A. V.; RAGINI, P.; JYOTHSNA, V.; Microwave assisted synthesis, characterization, molecular docking and anti-inflammatory activity of *p*-methoxy cinnamic acid derivatives; *Asian Journal of Chemistry*, v.30 (8), p.1781-1786; **2018**;

SOUZA, M. A.; SILVA, A. R.; FERREIRA, M. A.; LEMOS, M. J.; RAMOS, R. G.; FERREIRA, A. B.; SOUZA, S. R.; Atividade biológica do lapachol e de alguns derivados sobre o desenvolvimento fúngico em germinação de sementes; *Química Nova*, v.31 (7), p.1670-1671; **2008**;

SPYRIDOPOULOU, K.; FITSIOU, E.; BOULOUKOSTA, E.; TIPITIRI-KOURPETI, A.; VAMVAKIAS, M.; OREOPOULOU, A.; PAPAVALASSILOPOULOU, E.; PAPPA, A.;

CHLICHLIA, K.; Extraction; Chemical Composition, and Anticancer Potential of *Origanum onites* L. Essential Oil, *Molecules*, v.24, p.2612; **2019**;

STASHENKO, E. E.; PRADA, N. Q.; MARTÍNEZ, J. R.; HRGC/FID/NP and HRGC/MSD study of Colombian Ylang-Ylang (*Cananga odorata*) oils obtained by different extraction techniques; *Journal of High Resolution Chromatography*, v.19 (6), p.353-358; **1996**;

STEVENSON, P. C.; GREEN, P. W.; VEITCH, N. C.; FARRELL, I. W.; KUSOLWA, P.; BELMAIN, S. R.; Nor-hopanes from *Zanha Africana* root bark with toxicity to bruchid beetles; *Phytochemistry*, v.123, p.25-32; **2016**;

TIRLONI, C. A.; MAROCINI, L. F.; SANTOS, U. P.; ROCHA, P. S. BARROS, S. V.; MELO, A. M.; VIEIRA, M. C.; SOUZA, K. P.; SANTOS, E. L.; Evaluation of the antioxidante activity, antimicrobial effect and acute toxicity of leaves from *Allophylus edulis* (A. St-Hil., A. Juss. Cambess &) Hieron. Ex Nierderl; *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, v.9 (1), p.353-362; **2015**;

TORRES-NARANJO, M.; SUAREZ, A.; GILARDONI, G.; CARTUCHE, L.; FLORES, P.; MOROCHO, V.; Chemical constituents of *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn (Polygonaceae) and its in vitro  $\alpha$ -amilase and  $\alpha$ -glucosidade inhibitory activites; *Molecules*, v.21, p.1461-1471; **2016**;

TUYEN, P. N.; LIHN, T. T.; SON, D. V.; THANG, N. V.; SON, D. V.; TRANG, N. T.; CHI, H. B.; KY, N. D.; PHAT, N. T.; HUY, D. T.; Phenolic compounds from the leaves of *Ricinus communis* Linn.; *Science & Technology Development Journal*, v.23, p.694-698; 2020;

UCHE, F. I.; ABED, M. N.; ABDULLAH, M. I.; DRIJFHOUT, F. P.; MCCULLAGH, J.; CLARIDGE, T. W.; RICHARDSON, A.; LI, W. W.; Isochondodendrine and 20-norcocculine: additional alkaloids from *Triclisia subcordata* induce cytotoxicity and apoptosis in ovarian cancer cell lines; *RSC Advances*, v. 70, p.44154; **2017**;

UMADEVI, I.; DANIEL, M.; Chemosystematics of Sapindaceae; *Feddes Repertorium*, v.102, (7-8), p.607-612; **1991**;

UMEO, S. H.; ITO, T. M.; YOKOTA, M. E.; RAMOGNOO, M. B.; LAVERDE Jr.; A.; Avaliação das propriedades antioxidantes, anticolinesterásicas e citotóxicas dos frutos de *Allophylus edulis* (A.St-Hil.; Cambess & A. Juss.) Radlk. (Sapindaceae); *Arquivos de Ciências da Saúde UNIPAR*, v.15 (2), p. 167-171; **2011**;

VALLI, M.; RUSSO, H. M.; BOLZANI, V. S.; The Potential Contribution of the Natural Products from Brazilian Biodiversity to Bioeconomy; *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v.90 (1), p.763-778; **2018**;

VALOTTO, C. F.; SILVA, H. H.; CAVASIN, G.; GERIS, R.; FILHO, E. R.; SILVA, I. G.; Alterações ultraestruturais em larvas de *Aedes aegypti* submetidas ao diterpeno lábdano, isolado de *Copaifera reticulata* (Leguminosae), e à uma fração rica em taninos de *Magonia pubescens* (Sapindaceae); *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v.44 (2), p.194-200; **2010**;

VASQUEZ, Y.; ZHAO, J.; KHAN, S. I.; GUPTA, M. P.; KHAN, I. A.; Constituents of *Talisia nervosa* with Potential Utility against Metabolic Syndrome; *Natural Product Communications*, v.14 (1), p.51-54; **2019**;

WANG, D.; SU, D.; YU, B.; CHEN, C.; CHENG, L.; LI, X.; XI, R.; GAO, H.; WANG, X.; Novel anti-tumour barringenol-like triterpenoids from the husks of *Xanthoceras sorbifolia*

Bunge and their three dimensional quantitative structure activity relationships analysis, *Fitoterapia*, v.116, p.51-60; **2017**;

WANG, T. H.; WANG, S. Y.; WANG, X. D.; JIANG, H. Q.; YANG, Y. Q.; WANG, Y.; CHENG, J. L.; ZHANG, C. T.; LIANG, W. W.; FENG, H. L.; Fisetin exerts antioxidant and neuroprotective effects in multiple mutant hSOD1 models of amyotrophic lateral sclerosis by activating ERK; *Neuroscience*, v.379, p.152-166; **2018**;

WANG, X.; YUAN, S.; WANG, J.; LIN, P.; LIU, G.; LU, Y.; ZHANG, J.; WANG, W.; WEI, Y.; Anticancer activity of litchi fruit pericarp extract against human breast cancer in vitro and in vivo; *Toxicology and Applied Pharmacology*, v.215, p.168-178; **2006**;

WANG, X.; ZAN, K. SHI, S.; ZENG, K.; JIANG, Y.; GUAN, Y.; XIAO, C.; GAO, H.; WU, L.; TU, P.; Quinolone alkaloids with antibacterial and cytotoxic activities from the fruits of *Evodia rutaecarpa*; *Fitoterapia*, v.89, p.1-7; **2013**;

WANG, Y.; ZHU, Y.; GAO, L.; YIN, H.; XIE, Z.; WANG, D.; ZHU, Z.; HAN, X.; Formononetin Attenuates IL-1 $\beta$ -Induced Apoptosis and NF-KB Activation in INS-1 Cells; *Molecules*, v.17, p.10052-10064; **2012**;

WANI, A. R.; YADAV, K.; KHURSHEED, A.; RATHER, M. A.; An updated and comprehensive review of the antiviral potential of essential oils and their chemical constituents with special focus on their mechanism of action against various influenza and coronaviruses; *Microbiological Pathogenesis*; v.152, p.104620; **2021**;

WENDEROTH, M.; GARGANESE, F.; SCHIMDT-HEYDT, M.; SOUKUP, S. T.; IPPOLITO, A.; SANZANI, S. M.; FISCHER, R.; Alternariol as virulence and colonization factor of *Alternaria alternata* during plant infection; *Molecular Microbiology*, v.112 (1), p.131-146; **2019**;

WESELUCHA-BIRCZYNSKA, A.; NAKAMOTO, K.; Study of the interaction of the antimalarial drug cinchonine with nucleic acids by Raman spectroscopy; *Journal of Raman Spectroscopy*, v.27, p.915-919; **1996**;

WOO, H. J.; JUN, D. Y.; LEE, J. Y.; WOO, M. H.; YANG, C. H.; KIM, Y. H.; Apoptogenic activity of 2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -dihydroxyurs-12-ene-28-oic acid from *Prunella vulgaris* var. *lilacina* is mediated via mitochondria-dependent activation of caspase cascade regulated by Bcl-2- in human acute leukemia Jurkat T cells; *Journal of Ethnopharmacology*, v.135, p.626-635; **2011**;

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO); Ending the neglect to attain the Sustainable Development Goals: a road map for neglected tropical diseases 2021-2030. Overview; 7p.; **2021**;

XU, D.; HU, M.; WANG, Y.; CUI, Y.; Antioxidant activities of quercetin and its complexes for medicinal application; *Molecules*, v.24, p.1123-1138; **2019**;

XU, D.; YAN, Y.; JIANG, C.; LIANG, J.; LI, H.; WU, Q.; ZHU, Y.; Sesquiterpenes and diterpenes with cytotoxic activities from the aerial parts of *Carpesium humile*; *Fitoterapia*, v.128, p.50-56; **2018**;

XU, X.; XIE, H. H.; WANG, Y. F.; WEI, X. Y.; A-Type Proanthocyanidins from Lychee Seeds and Their Antioxidant and Antiviral Activities; *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, v.58, p.11667-11672; **2010a**;

XU, X.; TANG, Z.; LIANG, Y.; Comparative analysis of plant essential oils by GC-MS coupled with integrated chemometric resolution methods; *Analytical Methods*, v.2 (4), p.359-367; **2010b**;

XUE, Y. WANG, W.; LIU, Y.; ZHAN, R.; CHEN, Y.; Two new flavonol glycosides from *Dimocarpus longan* leaves; *Natural Products Research*, v.29 (2), p.163-168; **2015**;

YANG, A.; ZHANG, F.; MA, S.; QI, G.; SHANG, H.; ZHENG, Z.; YUAN, H.; YANG, L.; Chemical Constituents of the Fruti Husk of *Xanthoceras sorbifolia*; *Chemistry of Natural Compounds*, v.56 (2), p.325-327; **2020**;

YANG, I. J.; LEE, D. U.; SHIN, H. M.; Anti-inflammatory and antioxidant effects of coumarins isolated from *Foeniculum vulgare* in lipopolysaccharide-stimulated macrophages and 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate-stimulated mice; *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, DOI: 10.3109/08923973.2015.1038751, 10p.; **2015**;

YANG, J.; LIU, W.; LI, S.; YE, H.; TANG, H.; CHEN, L.; PENG, A.; Coumarinolignans Isolated from the Seeds of *Brucea javanica*; *Helvetica Chimica Acta*, v.97, p.278-282; **2014**;

YAZAKI, Y.; Termiticidal Extracts from the Wood of *Ganophyllum falcatum* Bl.; *Holzforschung*, v.36 (5), p.249-253; **1982**;

YESUF, A.; ASRES, K.; Wound healing and anti-inflammatory properties of *Allophylus abyssinicus* (Hochst.) Radlk; *Phytopharmacology*, v.4 (2), p.442-453; **2013**;

YU, D.; BAO, Y.; AN, L.; YANG, M.; Protection of PC12 cells against superoxide-induced damage by isoflavonoids from *Astragalus mongholicus*; *Biomedical and Environmental Sciences*, v.22, p.50-54; **2009**;

YU, L. TANG, X.; CHEN, L.; WANG, M.; JIAN, J.; CAO, S.; WANG, X.; KANG, N.; QIU, F.; Oleanane-type triterpenoid saponins from *Xanthoceras sorbifolia* Bunge; *Fitoterapia*, v.83, p.1636-1642; **2012**;

YUAN, L.; SHENTU, Y.; WANG, J.; Effects of glycyrrhetic acid on proliferation and differentiation of K562 leukemia cells. *Zhejiang Medical Journal*, 28 (10), p.903-906; **2008**;

YUSOFF, S. F.; HARON, F. F. MOHAMED, M. T.; ASIB, N.; SAKIMIN, S.; KASSIM, F. A.; ISMAIL, S. I.; Antifungal Activity and Phytochemical Screening of *Vernonia amygdalina* Extract against *Botrytis cinerea* Causing Gray Mold Disease on Tomato Fruits; *Biology*, v.9, p.286; **2020**;

YUSUF, A. J.; ADBULLAHI, M. I.; ALEKU, G. A.; IBRAHIM, I. A.; ALEBIOSU, C. O.; YAHAYA M.; ADAMU, H. W.; SANUSI, A.; MAILAFIYA, M. M.; ABUBAKAR, H.; Antimicrobial activity of stigmaterol from the stem bark of *Neocarya macrophylla*; *Journal of Medicinal Plants for Economic Development*, v.2 (1), p.1-5; **2018**;

ZAMBLE, A.; CARPENTIER, M.; KANDOUSSI, A.; SAHPAZ, S.; PETRAULT, O.; OUK, T.; HENNUYER, N.; FRUCHAT, J. C.; STAELS, B.; BORDET, R.; DURIEZ, P.; BAILLEUL, F.; MARTIN-NIZARD, F.; *Paullinia pinnata* extracts rich in polyphenols promote vascular relaxation via endothelium-dependent mechanisms; *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, v.47 (4), p.599-608; **2006**;

ZANELLA, L. G.; GALIANO, I. W.; MARTINS, C. P.; TOKUMO, M. O.; SUZUKI, R. B.; CHAGAS, E. F.; MARTINS, L. P.; Clinical and epidemiological profile of patients in the chronic phase of Chagas disease treated at a reference center in Southeastern Brazil, *Revista da Faculdade de Medicina*, v.3, p.391-398; **2020**;

ZANON, V. O.; SILVA, H. H.; SANTOS, R. M.; SILVA, I. G.; Atividade larvívica do extrato etanólico bruto da casca do caule de *Magonia pubescens* St. Hil. sobre *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera, Culidae); *Acta Biologica Paranaense*, v.35 (3-4), p.185-195; **2006**;

ZEOUK, I. SIFAOU, I.; RIZO-LIENDO, A.; ARBERA-JIMENEZ, I.; REYES-BATLLE, M.; BAZZOCCHI, I. L.; BEKTHI, K.; PIÑERO, J. E.; JIMENEZ, I. A.; LORENZO-MORALES, J.; Exploring the Anti-Infective Value of Inoloxin A Isolated from *Inula viscosa* Against the Brain-Eating Amoeba (*Naegleria fowleri*) by Activation of Programmed Cell Death; *ACS Chemical Neuroscience*, v.12, p.195-202; **2021**;

ZHANG, H.; ZHENG, W.; FENG, X.; YANG, F.; QIN, H.; WU, S.; HOU, D.; CHEN, J.; Nrf2-ARE signaling acts as master pathway for the cellular antioxidant activity of fisetin; *Molecules*, v.24, p.708-24; **2019**;

ZHANG, H.; ZHOU, Q.; Tyrosinase inhibitory effects and antioxidative activities of saponins from *Xanthoceras sorbifolia* nutshell; *Plos One*, v.8 (8), e70090; **2013**;

ZHANG, X. F.; HUNG, T. M.; PHOUNG, P. T.; NGOC, T. M.; MIN, B.; SONG, K.; SEONG, Y. H.; BAE, K. H.; Anti-inflammatory Activity of Flavonoids from *Populus davidiana*; *Archives of Pharmacal Research*, v.29 (12), p.1102-1108; **2006**;

ZHAO, L.; LI, X.; YE, Z.; ZHANG, F.; HAN, J.; YANG, T.; WANG, Z.; Nutshell Extracts of *Xanthoceras sorbifolia*: A New Potential Source of Bioactive Phenolic Compounds as a Natural Antioxidant and Immunomodulator; *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.66, p.3783-3792; **2018**;

ZHENG, W.; FENG, Z.; YOU, S.; ZHANG, H.; TAO, Z.; WANG, Q.; CHEN, H.; WU, Y.; *International Immunopharmacology*, v.45, p.135-147; **2017**;

ZHOU, F.; WU, G.; CAI, D.; XU, B.; YAN, M.; MA, T.; GUO, W.; ZHANG, W.; HUANG, X.; JIA, H.; YANG, Y.; GAO, F.; WANG, P.; LEI, H.; Synthesis and biological activity of glycyrrhetic acid derivatives as antitumor agents; *European Journal of Medicinal Chemistry*, v.178, p.623-635; **2019a**;

ZHOU, H.; ZHANG, Y.; LAI, T.; LIU, X.; GUO, F.; GUO, T.; DING, W.; Acaricidal Mechanism of Scopoletin Against *Tetranychus cinnabarinus*; *Frontiers in Physiology*, v.10, p.164; **2019b**;

ZHOU, R.; XU, L.; YE, M.; LIAO, M.; DU, H.; CHEN, H.; Formononetin Inhibits Migration and Invasion of MDA-MB-231 and 4T1 Breast Cancer Cells by Suppressing MMP-2 and MMP-9 Through PI3K/AKT Signaling Pathways; *Hormone and Metabolic Research*, v.46, p.753-760; **2014**;

ZHU, H.; YU, L.; LIU, J.; WANG, M.; ZHANG, T.; QIU, F.; A new coumarin glucoside ester from seeds oil leavings of *Xanthoceras sorbifolia*; *Chinese Herbal Medicines*, v.11, p.113-115; **2019**.

# APÊNDICE



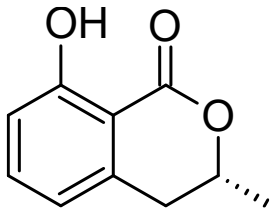
## APÊNDICE

1. Dados físicos e espectroscópicos .....	151
1.1 – <b>MP01</b> .....	151
1.2 – <b>MP02</b> .....	152
1.3 – <b>MP03</b> .....	153
1.4 – <b>MP04</b> .....	154
1.5 – <b>MP05</b> .....	155
1.6 – <b>MP06</b> .....	156
1.7 – <b>MP07</b> .....	157
1.8 – <b>MP08</b> .....	158
1.9 – <b>MP09</b> .....	159
Figura A1 - Estrutura química <i>a)</i> dos compostos identificados por CG-FID e CG-MS na composição do óleo extraído de <i>M. pubescens</i> (OE <sub>0</sub> ); <i>b)</i> dos isômeros não diferenciados pelas técnicas empregadas .....	160
Figura A2 – Estruturas químicas dos compostos identificados putativamente por UHPLC–HRMS para a fração <b>EAqG2</b> .....	161
Figura A3– Estruturas químicas dos compostos identificados putativamente por UHPLC– HRMS para a fração <b>EAqG3</b> .....	162
Figura A4 – Estruturas químicas dos compostos identificados putativamente por UHPLC–HRMS para a fração <b>EAqG4</b> .....	163
2. Espectros de massas identificados para a fração <b>EAqG2</b> .....	163
3. Espectros de massas identificados para a fração <b>EAqG3</b> .....	172
4. Espectros de massas identificados para a fração <b>EAqG4</b> .....	180
5. Espectros de massas para substâncias isoladas das raízes de <i>Magonia pubescens</i> ( <b>MP02</b> a <b>MP07</b> ) .....	188

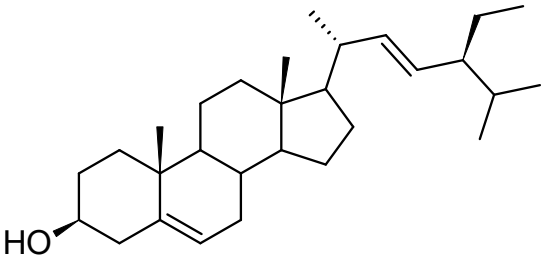
## 1. Dados físicos e espectroscópicos

Os dados físicos e espectroscópicos obtidos para os compostos isolados estão sumariados a seguir.

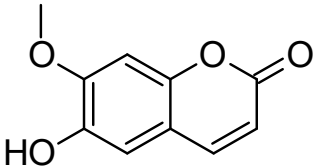
## 1.1 – MP01

Metabólito <b>MP01</b>		
R-(+)-Meleína		
Sólido branco		
$[\alpha]_D^{20}$ (c 0,1, metanol)	-87,9°	
IV $\nu_{\max}$	3348, 2920, 2850, 1732, 1670, 1516, 1462, 1076, 1038, 814, 721 $\text{cm}^{-1}$	
RMN de $^1\text{H}$ ( $\delta$ , 600 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	1,52 (3H, d, $J=6,5$ Hz), 2,90-2,93 (2H, m), 4,68-4,75 (1H, m), 6,68 (1H, d, $J=7,5$ Hz), 6,87 (1H, d, $J=8,4$ Hz), 7,37-7,41 (1H, t), 11,01 (1H, s)	
RMN de $^{13}\text{C}$ ( $\delta$ , 150 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	21,0, 34,9, 76,4, 108,6, 116,5, 118,2, 136,4, 139,7, 162,5, 170,2	

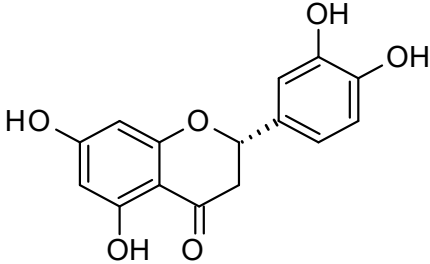
## 1.2 – MP02

Metabólito <b>MP02</b>	
Estigmasterol	
Sólido branco	
$[\alpha]_D^{20}$ (c 0,1, metanol)	-49,5°
IV $\nu_{\max}$	3410, 2931, 2850, 1705, 1458, 1377, 1045, 968 $\text{cm}^{-1}$
RMN de $^1\text{H}$ ( $\delta$ , 600 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	0,70, 0,80, 0,81, 0,85, 1,01, 1,03, 3,48-3,56 (1H, m) 5,03 (1H, dd, $J=8,8$ Hz, $J=15,1$ Hz), 5,16 (1H, dd, $J=8,6$ Hz, $J=15,1$ Hz), 5,33-5,37 (1H, m)
RMN de $^{13}\text{C}$ ( $\delta$ , 150MHz, $\text{CDCl}_3$ )	12,1, 12,2, 19,0, 19,4, 21,1, 21,2, 21,2, 24,4, 24,7, 28,9, 31,6, 31,9, 31,9, 33,9, 36,5, 37,3, 39,7, 40,5, 42,2, 42,2, 50,2, 51,3, 56,0, 56,9, 71,8, 121,7, 129,3, 138,3, 140,7
EM $m/z$ (%)	413,3 Da $[\text{M}+\text{H}]^+$ , calc. 413, 3778 Da

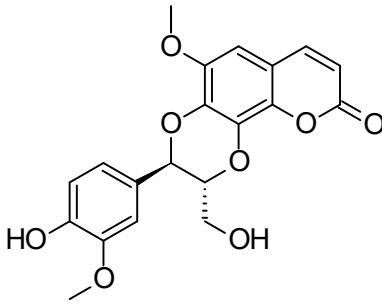
## 1.3 – MP03

Metabólito <b>MP03</b>	
Escopoletina	
Sólido branco	
<b>IV</b> $\nu_{\max}$	3336, 3190, 2954, 2923, 2854, 1709, 1631, 1597, 1450, 1342, 1253, 1157, 1084, 1061, 1014, 957, 860, 818, 775 $\text{cm}^{-1}$
<b>RMN de <math>^1\text{H}</math></b> ( $\delta$ , 600 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	3,96 (3H, s), 6,27 (1H, d, $J=9,5$ Hz), 6,85 (1H, s), 6,92 (1H, s), 7,60 (1H, d, $J=9,5$ Hz)
<b>RMN de <math>^{13}\text{C}</math></b> ( $\delta$ , 150 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	56,4, 103,2, 107,5, 111,5, 113,4, 143,3 144,0, 149,7, 150,3 161,4
<b>EM <math>m/z</math></b> (%)	215,0319 Da $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , calc. 215,0309 Da

## 1.4 – MP04

Metabólito <b>MP04</b>		
R-(+)-Eriodictiol		
Sólido branco		
$[\alpha]_D^{20}$ (c 0,1, metanol)	-19,7°	
<b>IV</b> $\nu_{\max}$	3336, 3190, 2954, 2924, 2854, 1709, 1631, 1597, 1450, 1342, 1253, 1157, 1084, 1061, 1014, 957, 860, 818, 775 $\text{cm}^{-1}$	
<b>RMN de <math>^1\text{H}</math> (<math>\delta</math>, 600 MHz, <math>\text{CDCl}_3</math> + piridina-<math>d_5</math>)</b>	2,73 (1H, dd, $J=3,0$ Hz, $J=17,1$ Hz), 3,05 (1H, dd, $J=13,0$ Hz, $J=17,1$ Hz), 5,26 (1H, dd, $J=3,0$ Hz, $J=13,0$ Hz), 6,02 (1H, d, $J=2,1$ Hz), 6,05 (1H, d, $J=2,1$ Hz), 6,82 (1H, dd, $J=2,2$ Hz, $J=8,2$ Hz), 6,91 (1H, d, $J=8,1$ Hz), 7,01 (1H, d, $J=2,2$ Hz)	
<b>RMN de <math>^{13}\text{C}</math> (<math>\delta</math>, 150 MHz, <math>\text{CDCl}_3</math> + piridina-<math>d_5</math>)</b>	43,1, 79,1, 95,7, 96,7 102,3, 113,5, 115,2, 118,0, 130,0 145,9, 146,3, 163,2, 164,3, 167,8, 195,7	
<b>EM <math>m/z</math> (%)</b>	287,0559 Da $[\text{M}-\text{H}^+]$ calc. 287,0561 Da	

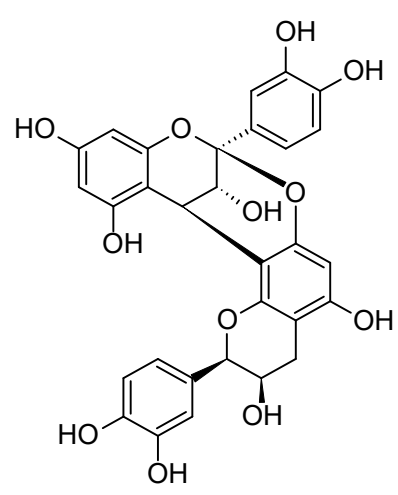
## 1.5 – MP05

Metabólito <b>MP05</b>		
7'R,8'S-(+)-Cleomiscosina A		
Sólido branco		
$[\alpha]_D^{20}$ (c 0,1, metanol)	+18,6°	
IV $\nu_{\max}$	3440, 3082, 3008, 2924, 2850, 1697, 1612, 1577, 1442, 1419, 1277, 1234, 1126, 1057, 852, 818, 752 $\text{cm}^{-1}$	
RMN de $^1\text{H}$ ( $\delta$ , 600 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ + piridina- $\text{d}_6$ )	3,59 (1H, dd, $J=3,8$ Hz, $J=12,7$ Hz); 3,86 (3H, s); 3,89 (3H, s); 3,90 (1H, dd, $J=2,6$ Hz, $J=12,6$ Hz); 4,21-4,25 (1H, m); 5,09 (1H, d, $J=8$ Hz); 6,31 (1H, d, $J=9,5$ Hz), 6,81 (1H, s), 6,91 (1H, d, $J=8,1$ Hz), 6,99 (1H, dd, $J=2$ Hz, $J=8,1$ Hz); 7,09 (1H, d, $J=2$ Hz); 7,87 (1H, d, $J=9,5$ Hz)	
RMN de $^{13}\text{C}$ ( $\delta$ , 150 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ + piridina- $\text{d}_6$ )	57,3, 57,7, 62,5, 79,0, 80,8, 102,8, 113,2, 113,9, 115,0, 117,3, 122,9, 129,3, 134,3, 140,1, 140,8, 147,1, 148,8, 149,6, 150,2, 163,7	
EM $m/z$ (%)	409,0901 Da $[\text{M} + \text{Na}]^+$ , calc. 409,0894 Da	

## 1.6 – MP06

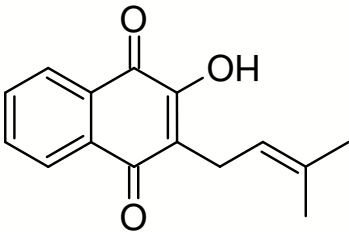
Metabólito <b>MP06</b>		
R-(-)-Lophirona A		
Sólido branco		
$[\alpha]_D^{20}$ (c 0,1, metanol)	+32,8°	
<b>IV</b> $\nu_{\max}$	3274, 2954, 2923, 2854, 1704, 1623, 1593, 1511, 1454, 1253, 1226, 1095, 802 $\text{cm}^{-1}$	
<b>RMN de <math>^1\text{H}</math></b> ( $\delta$ , 600 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ )	4,69 (1H, d, $J=12,1$ Hz), 6,02 (1H, d, $J=12,2$ Hz), 6,16 (1H, d, $J=2,4$ Hz), 6,36 (1H, dd, $J=2,4$ Hz, $J=9,0$ Hz), 6,58, (2H, d, $J=8,5$ Hz), 6,62 (2H, d, $J=8,6$ Hz), 6,75 (1H, d, $J=2,3$ Hz), 6,87 (1H, dd, $J=2,3$ Hz, $J=8,9$ Hz), 7,15 (2H, d, $J=8,6$ Hz), 7,18 (2H, d, $J=8,6$ Hz), 7,91 (1H, d, $J=8,9$ Hz), 8,16 (1H, d, $J=9,1$ Hz), 8,25 (1H, s)	
<b>RMN de <math>^{13}\text{C}</math></b> ( $\delta$ , 150 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ )	45,6, 55,2, 104,1, 104,4, 110,1, 115,2, 116,9, 116,9, 117,0, 117,0, 117,4, 118,0, 123,5, 129,0, 130,6, 130,6, 131,3, 131,3, 135,2, 135,7, 136,7, 157,6, 157,6, 158,1, 160,3, 165,4, 167,6, 167,7, 177,9, 205,7	
<b>EM <math>m/z</math></b> (%)	533,1216 Da $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , calc. 533,1207 Da	

## 1.7 – MP07

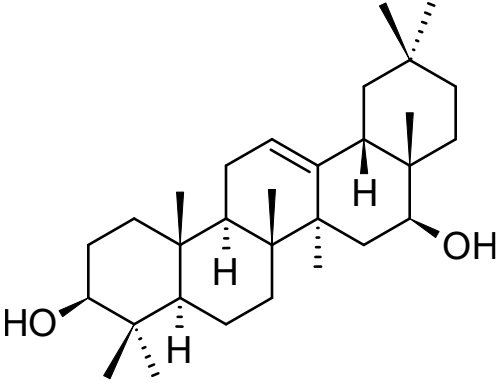
Metabólito <b>MP07</b>	
U2S,U3R,U4R,L2R,L3R-(+)- Proantocianidina A2	
	
Sólido branco	
$[\alpha]_D^{20}$ (c 0,1, metanol)	+62,8°
IV $\nu_{max}$	3271, 2924, 2854, 1705, 1608, 1516, 1450, 1257, 1103, 1011, 972, 879, 802 $cm^{-1}$
RMN de $^1H$ ( $\delta$ , 600 MHz, $CD_3OD$ )	2,79 (1H, dd, $J=2,8$ Hz, $J=17,3$ Hz), 2,98 (1H, dd, $J=5,0$ Hz, $J=17,1$ Hz), 4,10 (1H, d, $J=3,4$ Hz), 4,27-4,30 (1H, m), 4,44 (1H, d, $J=3,4$ Hz), 4,97 (1H, s), 6,04 (1H, d, $J=2,4$ Hz), 6,11 (1H, d, $J=2,3$ Hz), 6,13 (1H, s), 6,84 (1H, d, $J=8,3$ Hz), 6,86 (1H, d, $J=8,3$ Hz), 7,02 (1H, dd, $J=2,1$ Hz, $J=8,2$ Hz), 7,06 (1H, dd, $J=2,2$ Hz, $J=8,3$ Hz), 7,18 (1H, d, $J=2,2$ Hz), 7,19 (1H, d, $J=2,2$ Hz)
RMN de $^{13}C$ ( $\delta$ , 150 MHz, $CD_3OD$ )	30,2, 30,7, 67,8, 68,9, 82,7, 97,4, 97,5, 99,2, 101,2, 103,3, 105,3, 108,1, 116,5, 116,6, 116,8, 116,9, 120,7, 121,3, 132,1, 133,4, 146,5, 146,8, 147,2, 147,6, 153,0, 153,2, 155,3, 157,5, 157,8, 159,0
EM $m/z$ (%)	599,1160 Da $[M+Na]^+$ , calc. 599,1160 Da



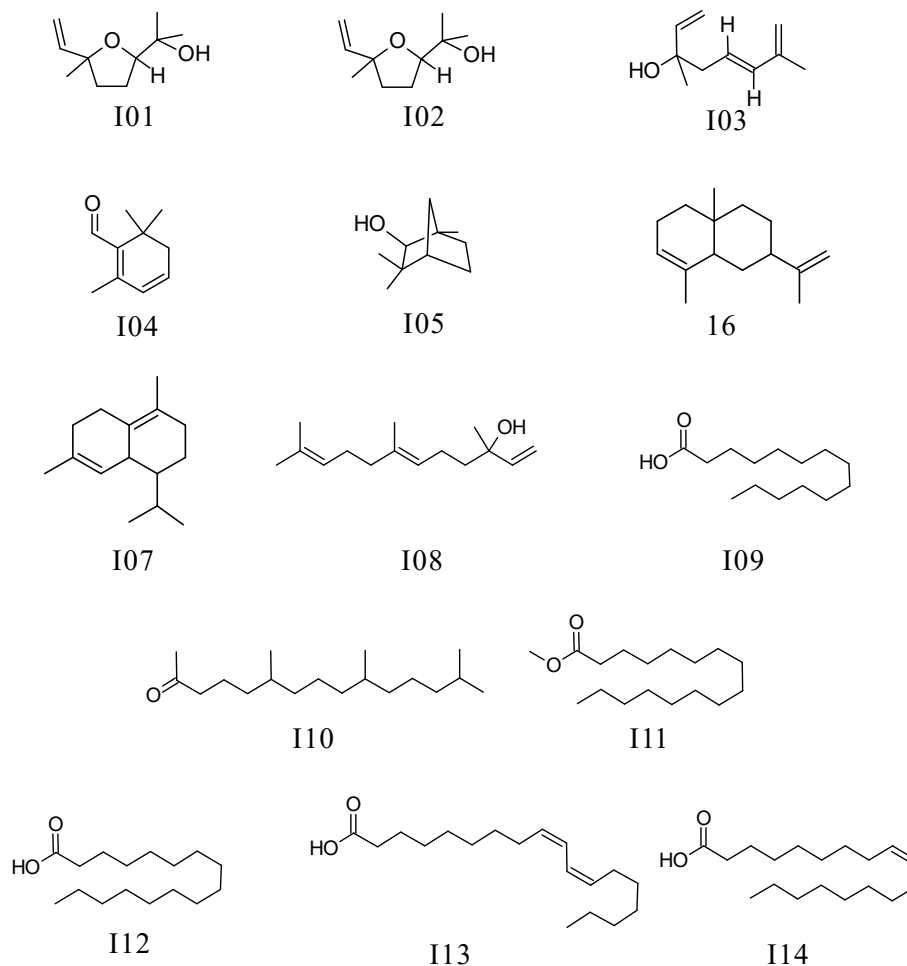
## 1.8 – MP08

Metabólito <b>MP08</b>	
Lapachol	
Sólido amarelo alaranjado	
<b>RMN de <sup>1</sup>H</b> ( $\delta$ , 400 MHz, CDCl <sub>3</sub> )	1,69 (3H, s), 1,79 (3H, s), 3,31 (2H, d, $J=7,4$ Hz) 5,21 (1H, m), 7,67 (1H, dt), 7,75 (1H, dt, $J=1,4$ Hz, $J=7,6$ Hz), 8,07 (1H, dd, $J=1,4$ Hz, $J=7,6$ Hz), 8,12 (1H, dd, $J=1,4$ Hz, $J=7,7$ Hz)
<b>RMN de <sup>13</sup>C</b> ( $\delta$ , 100 MHz, CDCl <sub>3</sub> )	17,9, 22,7, 25,8, 119,7, 123,5, 126,1, 126,8, 129,5, 132,9, 132,9, 133,9 134,9, 152,7, 181,7, 184,6

## 1.9 – MP09

Metabólito <b>MP09</b>	
Maniladiol	
Sólido branco	
<b>RMN de <sup>1</sup>H</b> ( $\delta$ , 400 MHz, CDCl <sub>3</sub> )	0,79 (3H, s), 0,80 (3H, s), 0,89 (3H, s), 0,91 (3H, s), 0,94 (3H, s), 0,99 (3H, s), 1,00 (3H, s) e 1,22 (3H, s), $\delta_H$ 3,21 (1H, m), $\delta_H$ 4,20 (1H, m), $\delta_H$ 5,25 (1H, t)
<b>RMN de <sup>13</sup>C</b> ( $\delta$ , 100 MHz, CDCl <sub>3</sub> )	15,5, 15,6, 16,9, 18,4, 21,5, 23,5, 24,0, 27,1, 27,2, 28,1, 30,6, 30,9, 32,7, 33,3, 34,2, 35,6, 36,9, 37,3, 38,6, 38,8, 39,9, 43,8, 46,6, 46,9, 49,1, 55,2, 66,0, 79,0, 122,3, 143,5

a)



b)

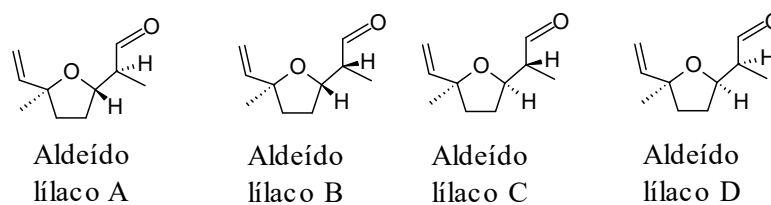


Figura A1 - Estruturas químicas a) dos compostos identificados por CG-FID e CG-MS na composição do óleo extraído de *M. pubescens* (OE); b) dos isômeros não diferenciados pelas técnicas empregadas.

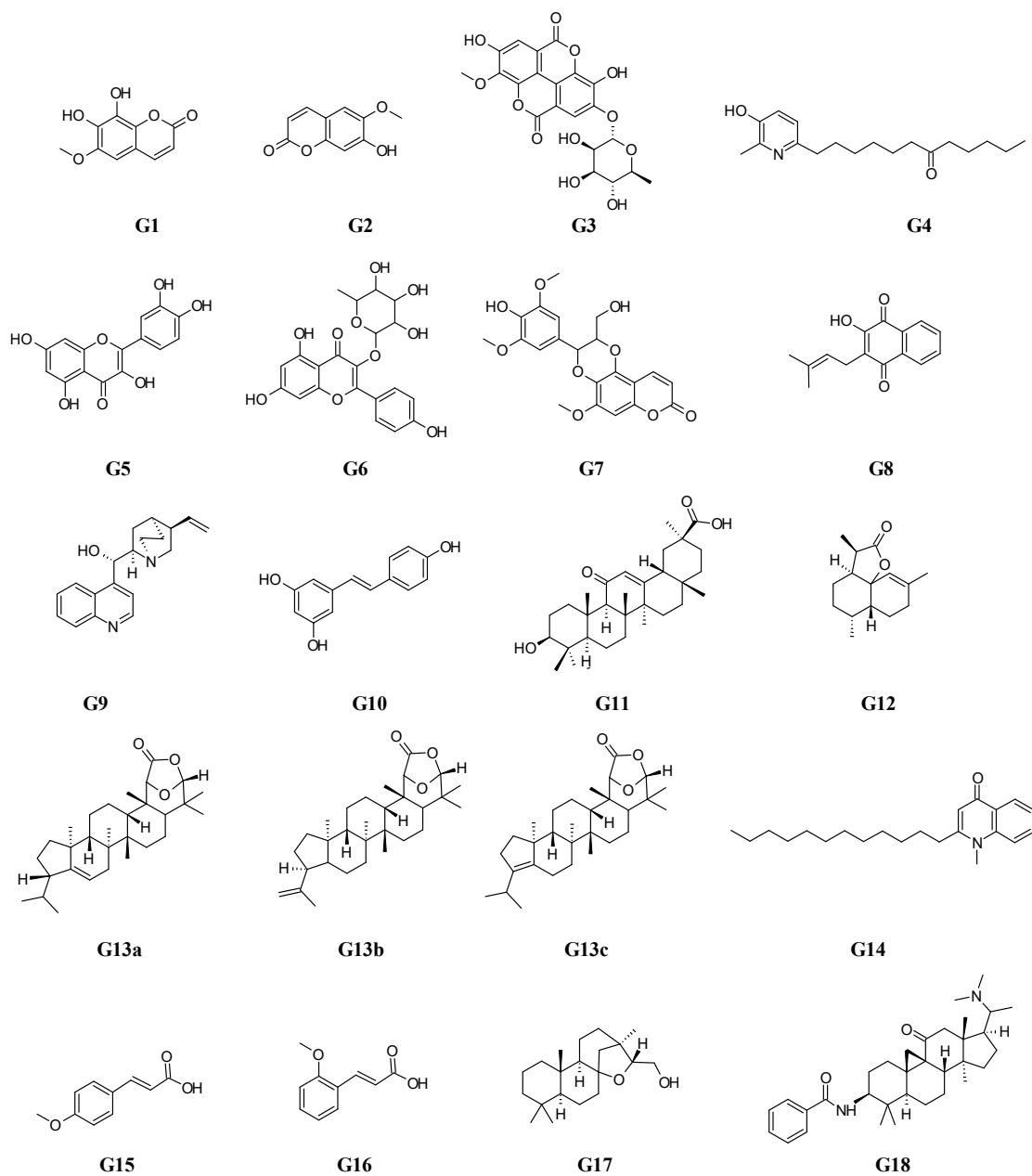


Figura A2 – Estruturas químicas dos compostos identificados putativamente por UHPLC–HRMS para a fração **EAqG2**.

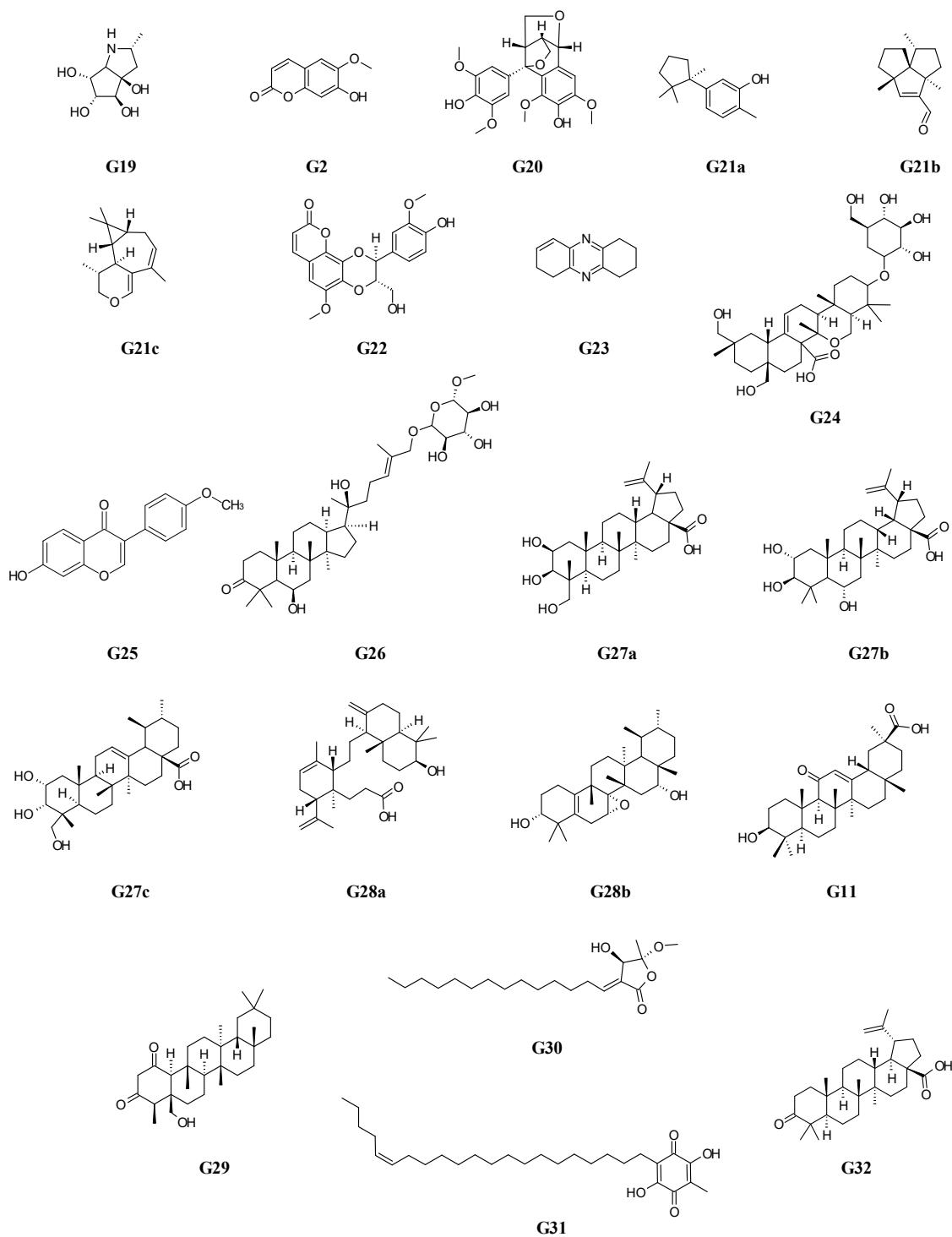


Figura A3– Estruturas químicas dos compostos identificados putativamente por UHPLC–HRMS para a fração EAqG3.

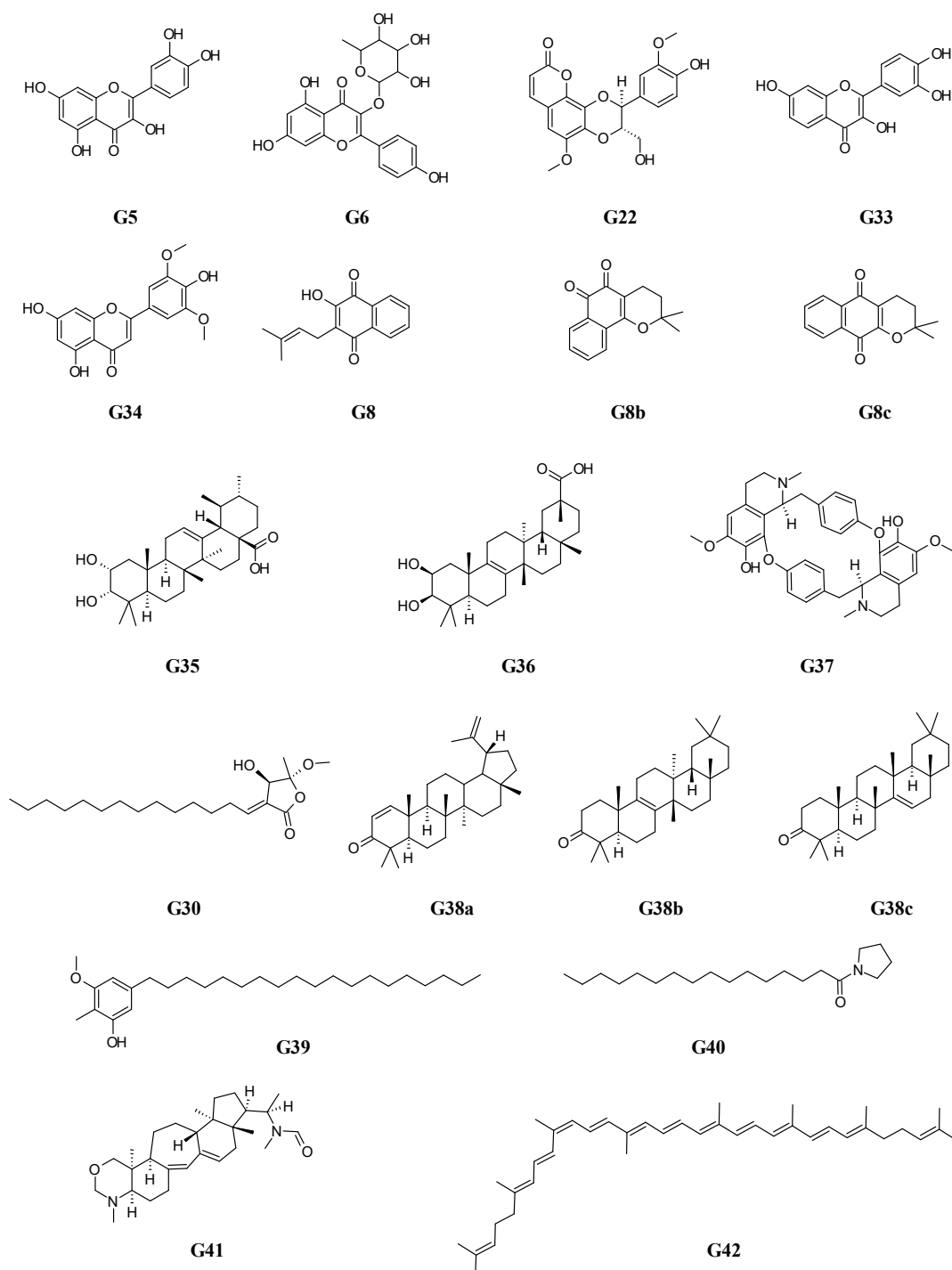


Figura A4 – Estruturas químicas dos compostos identificados putativamente por UHPLC–HRMS para a fração **EAqG4**.

## 2. Espectros de massas identificados para a fração **EAqG2**

Os compostos descritos no Capítulo 4 foram determinados por meio de espectrometria de massas. São apresentadas aqui os espectros de massa para os tempos de retenção relevantes (Espectro MS) e os espectros de massa de fragmentação que

correspondem aos compostos identificados (Espectro MS<sup>2</sup>) das análises da fração EAqG2.

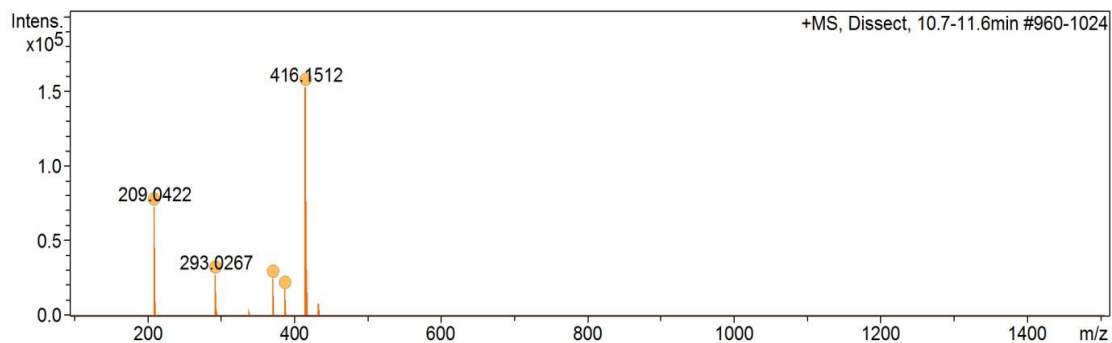


Figura A2.1 - Espectro de massas (HR-ESI, modo positivo) do pico com T<sub>R</sub> 11,0 min.

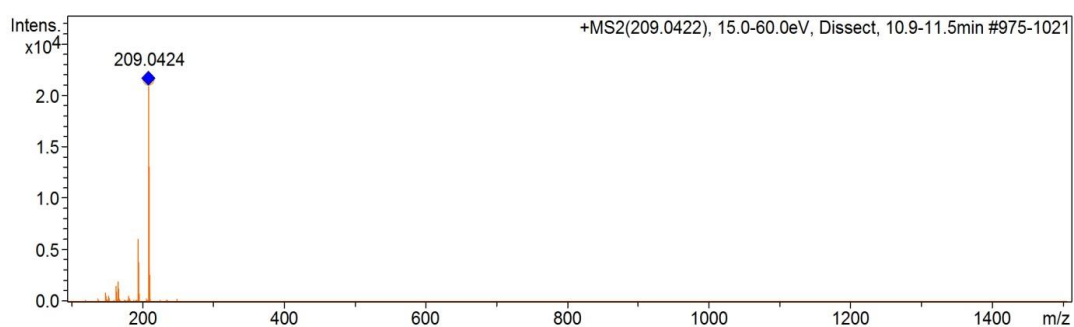


Figura A2.2 - Espectro de massas MS<sup>2</sup> obtido a partir da fragmentação do íon  $m/z$  209,0422.

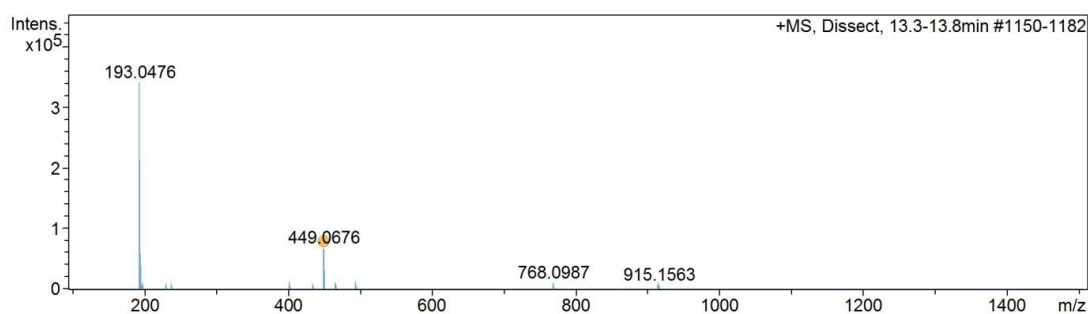


Figura A2.3 - Espectro de massas (HR-ESI, modo positivo) do pico com T<sub>R</sub> 13,6 min.

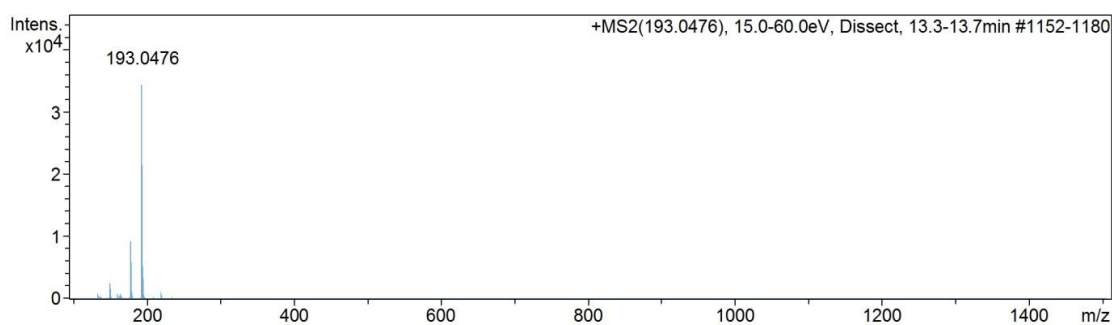
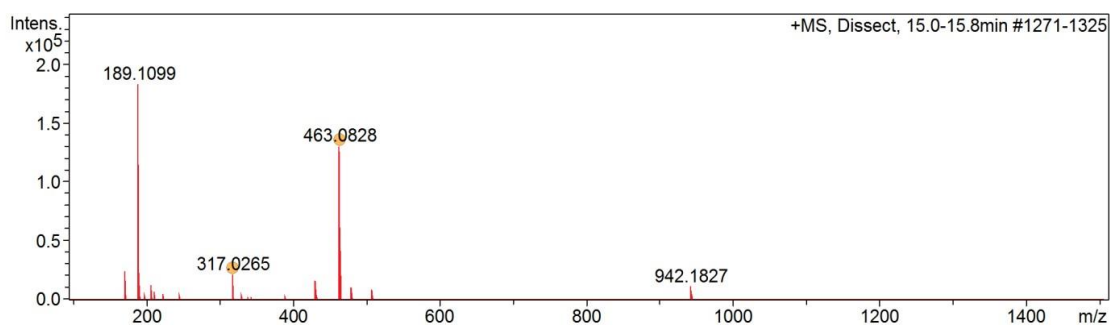
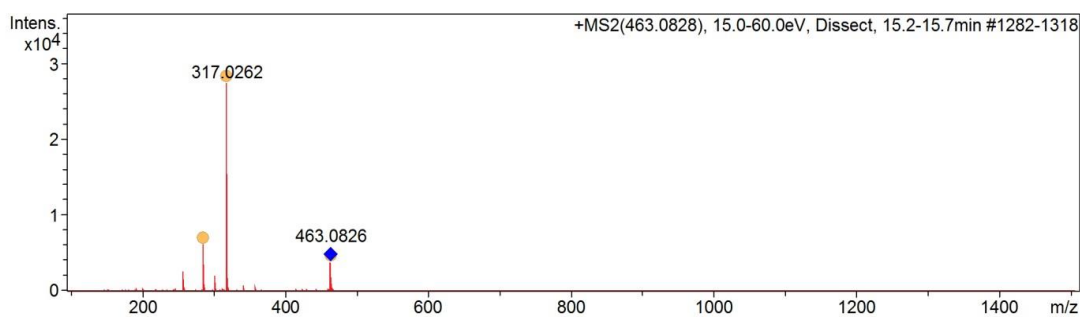
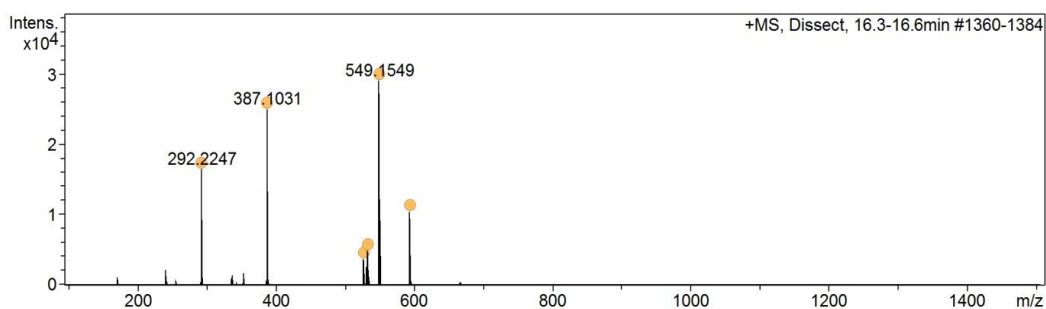
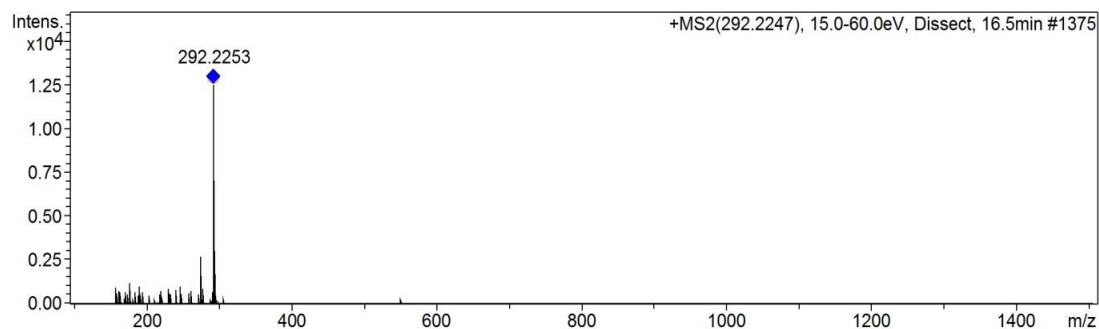
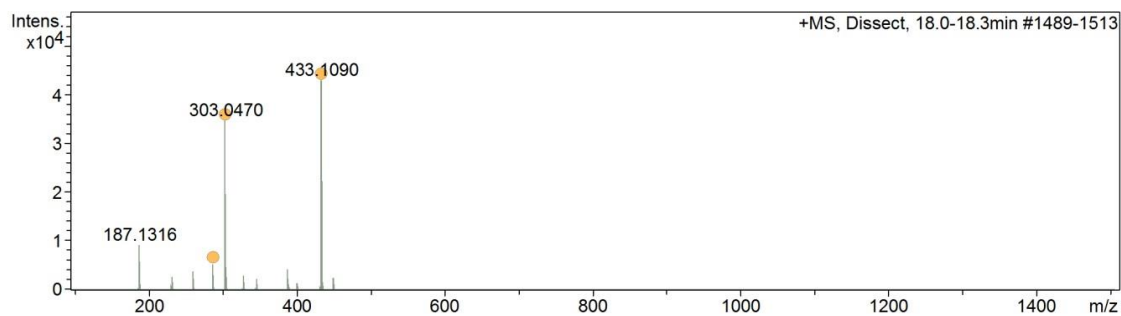
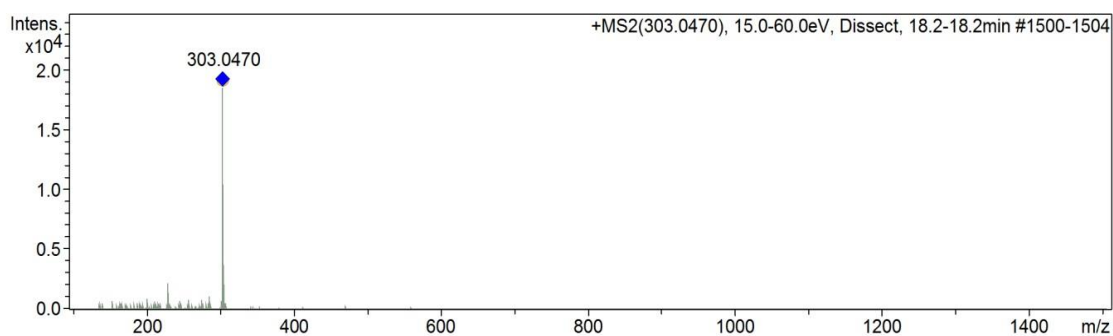
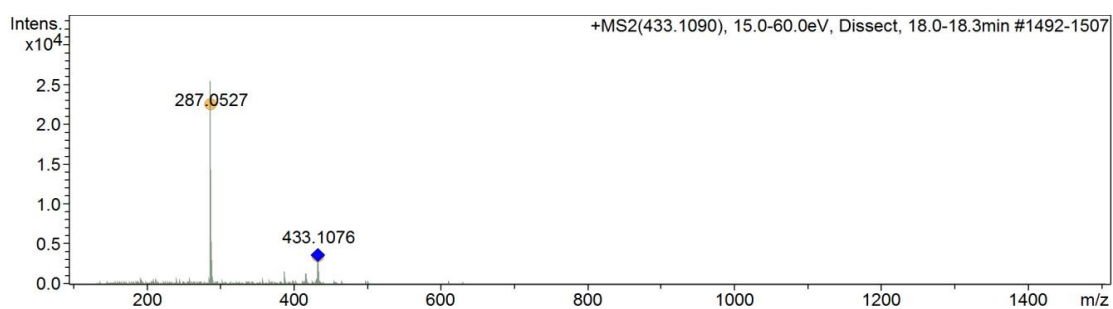
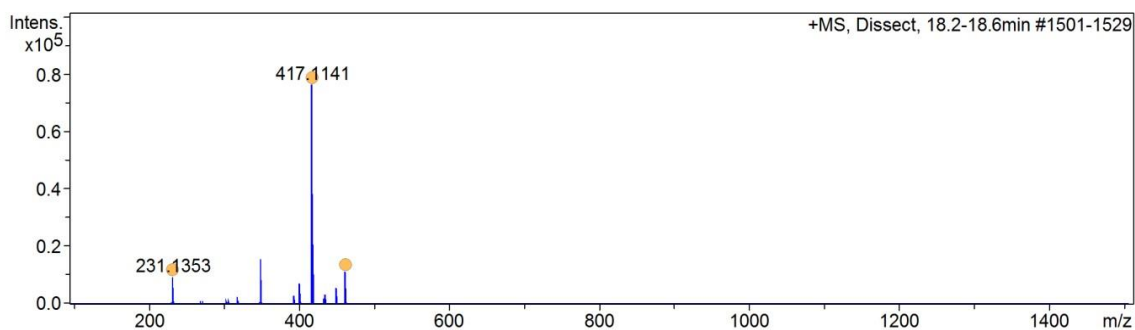
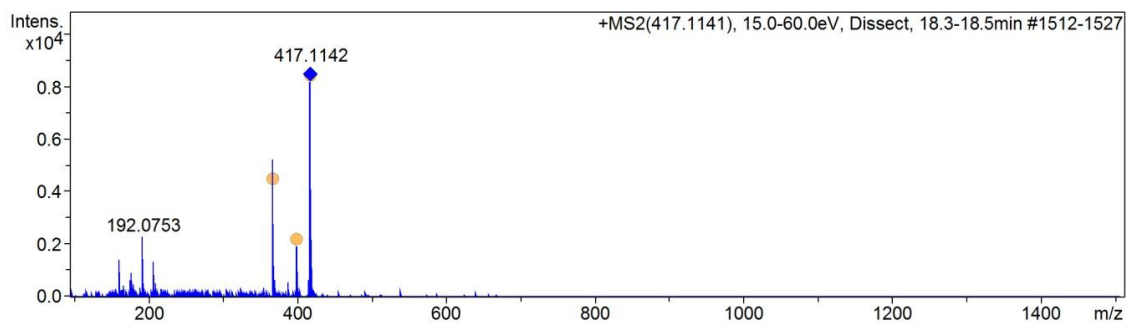
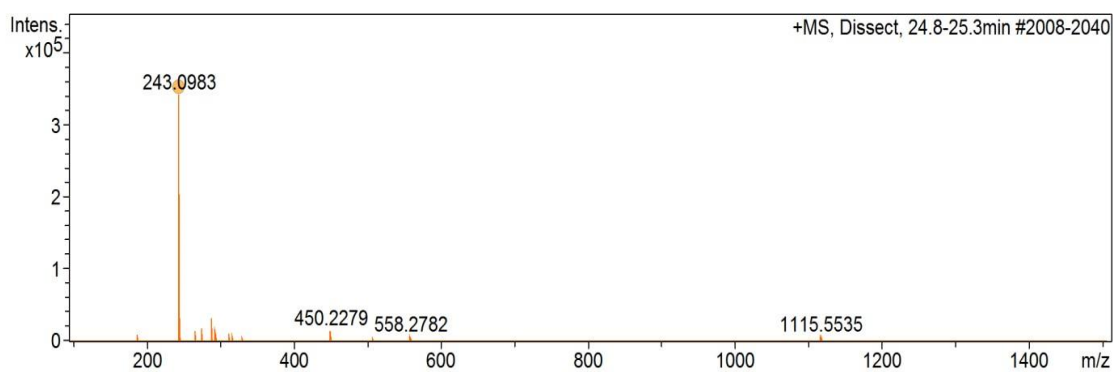
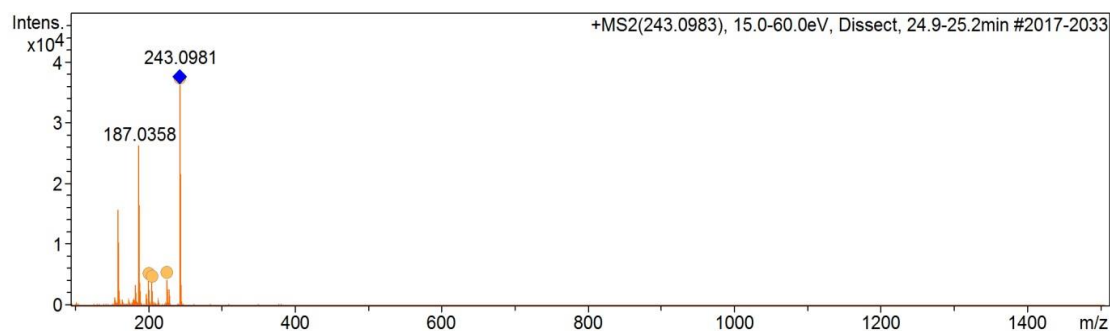
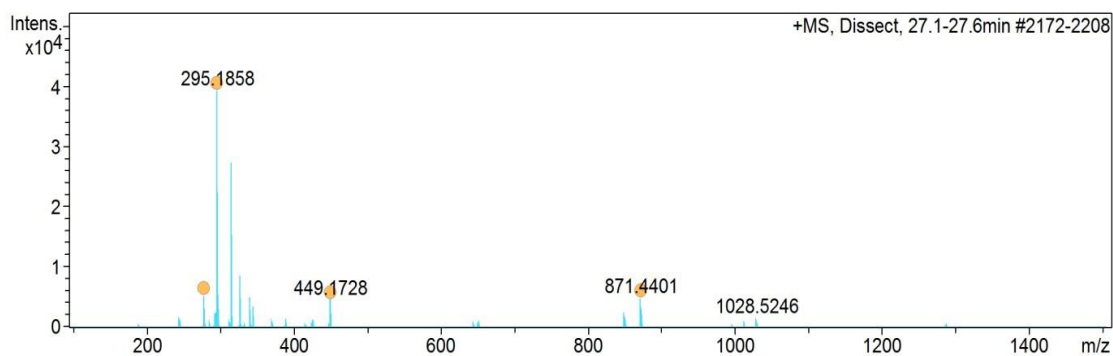


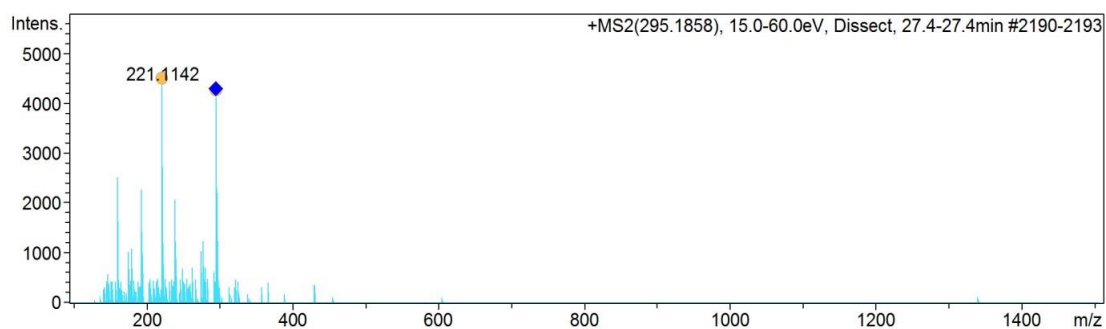
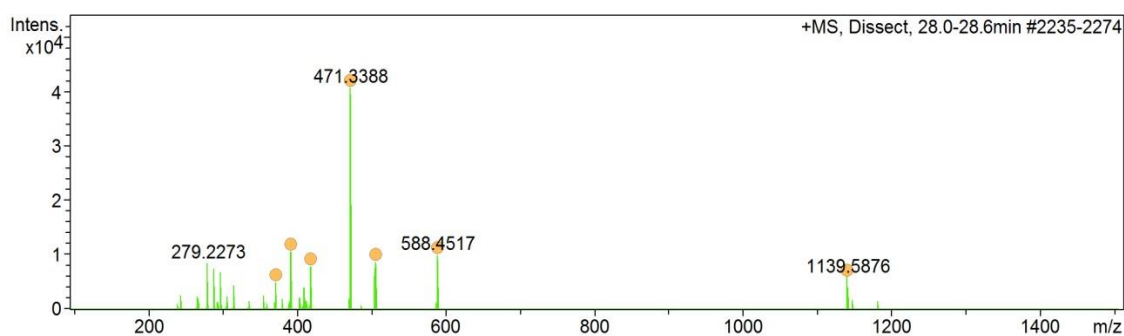
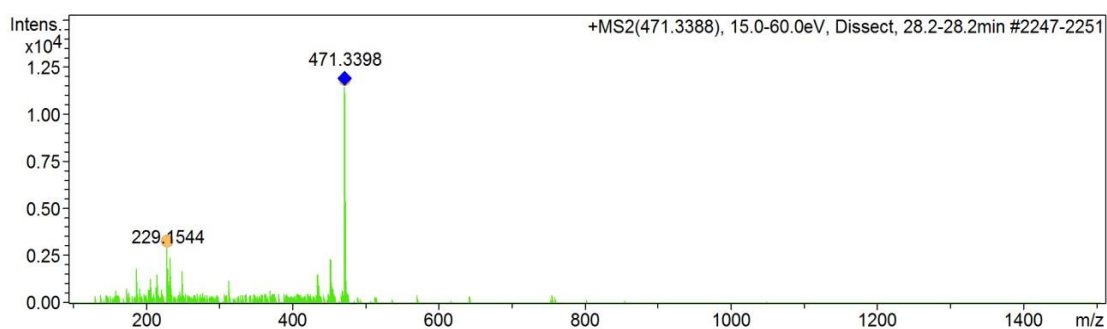
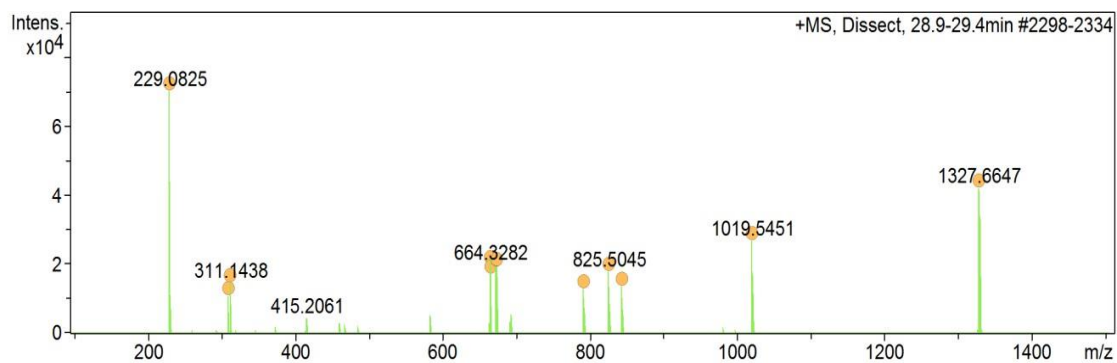
Figura A2.4 - Espectro de massas MS<sup>2</sup> obtido a partir da fragmentação do íon  $m/z$  193,0476.

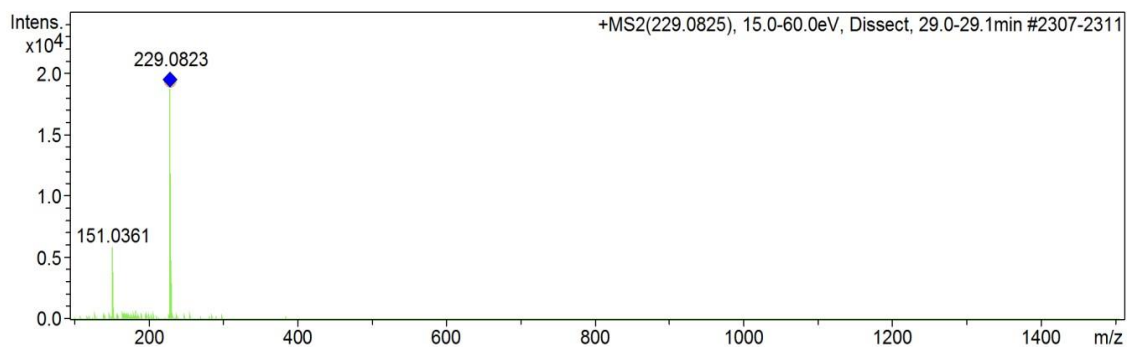
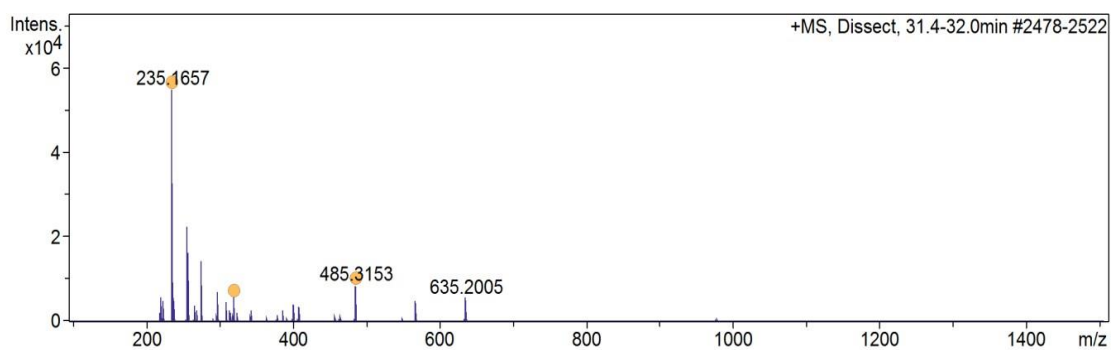
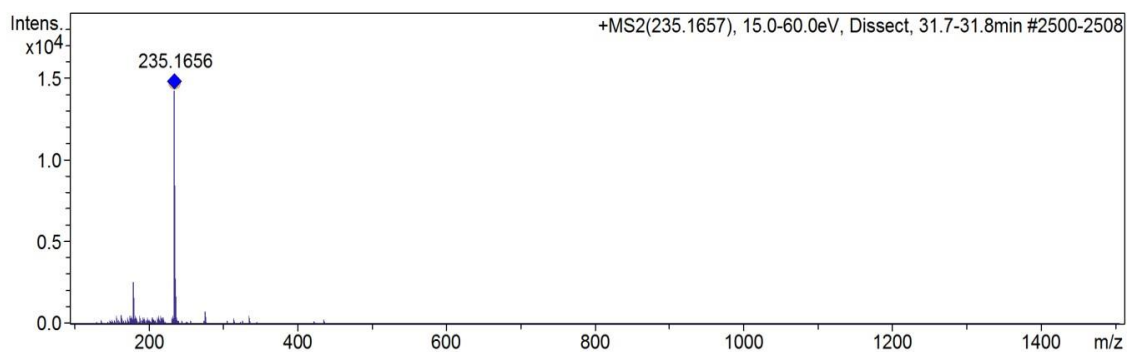
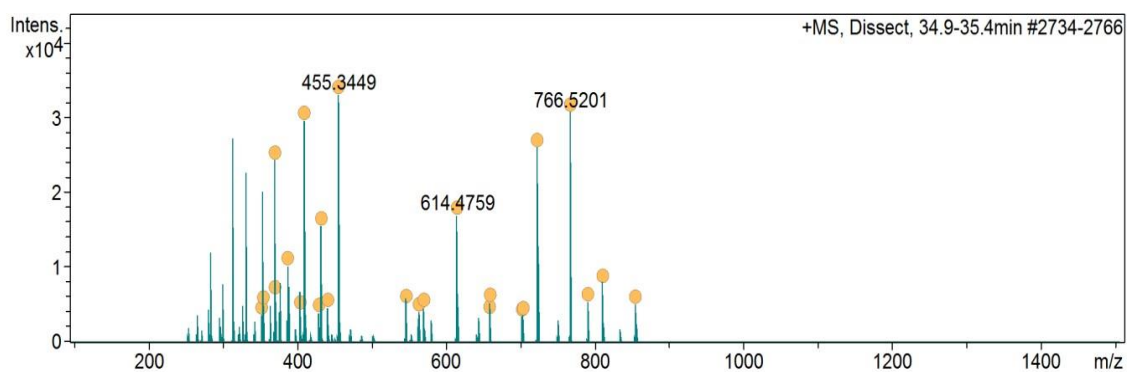
Figura A2.5 - Espectro de massas (HR-ESI, modo positivo) do pico com  $T_R$  15,6 min.Figura A2.6 - Espectro de massas  $MS^2$  obtido a partir da fragmentação do íon  $m/z$  463,0828.Figura A2.7 - Espectro de massas (HR-ESI, modo positivo) do pico com  $T_R$  16,4 min.Figura A2.8 - Espectro de massas  $MS^2$  obtido a partir da fragmentação do íon  $m/z$  292,2247.

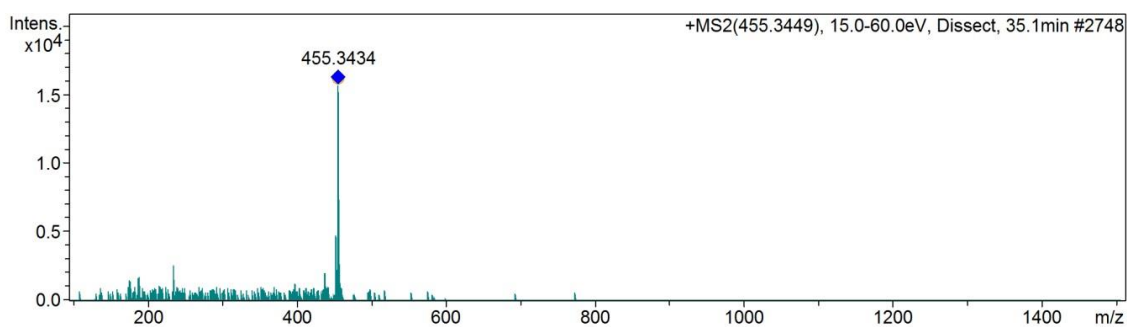
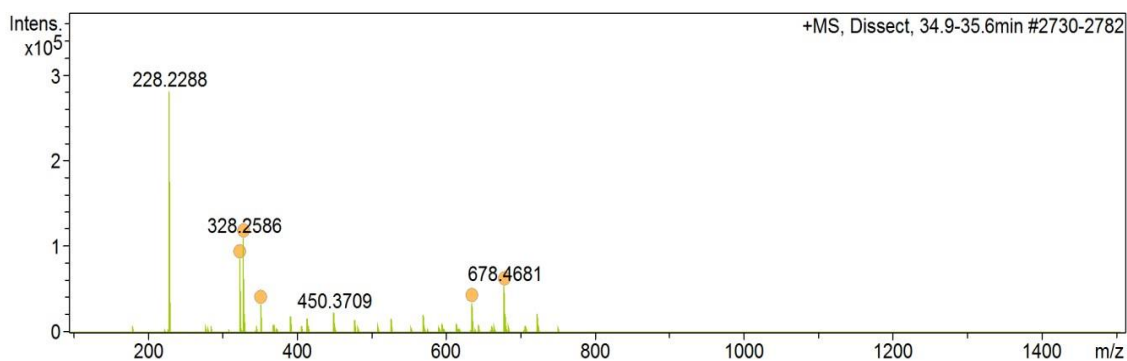
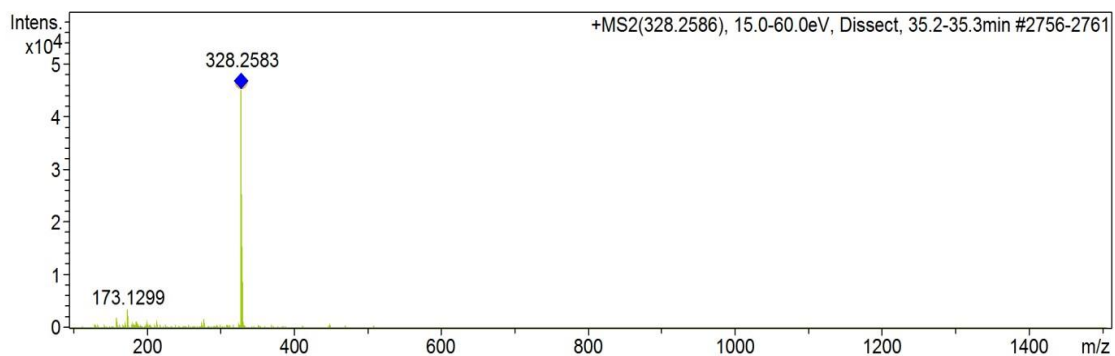
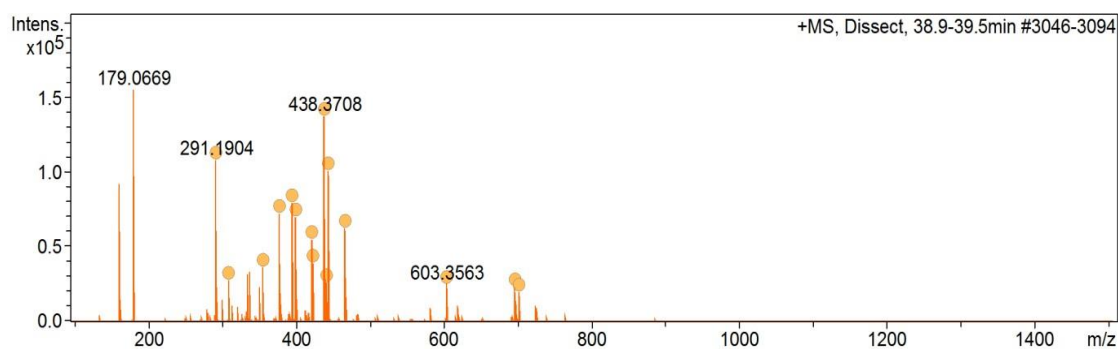


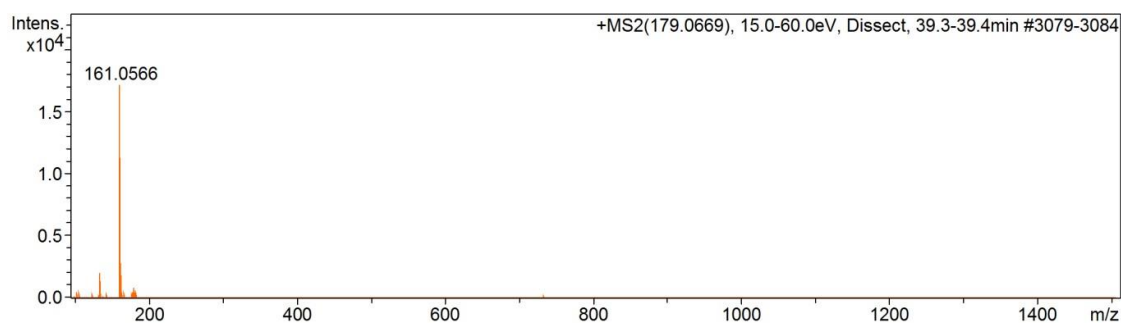
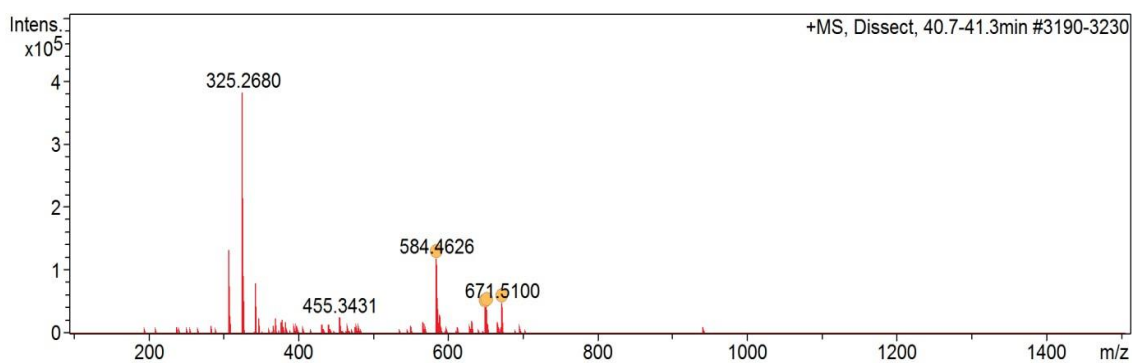
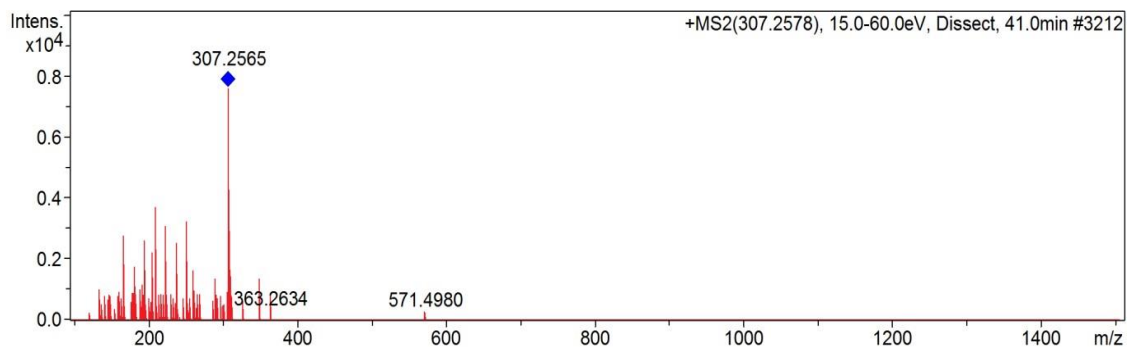
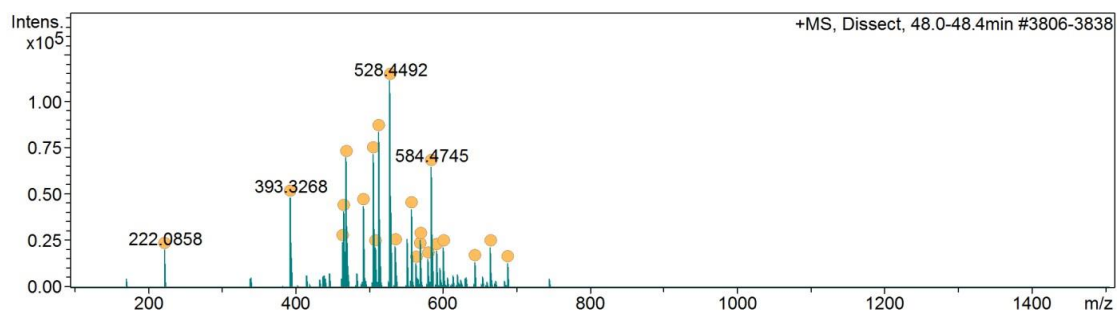
Figura A2.9 - Espectro de massas (HR-ESI, modo positivo) do pico com  $T_R$  18,2 min.Figura A2.10 - Espectro de massas  $MS^2$  obtido a partir da fragmentação do íon  $m/z$  303,0470.Figura A2.11 - Espectro de massas  $MS^2$  obtido a partir da fragmentação do íon  $m/z$  433,1090.Figura A2.12 - Espectro de massas (HR-ESI, modo positivo) do pico com  $T_R$  18,5 min.

Figura A2.13 - Espectro de massas MS<sup>2</sup> obtido a partir da fragmentação do íon  $m/z$  417,1141.Figura A2.14 - Espectro de massas (HR-ESI, modo positivo) do pico com  $T_R$  25,0 min.Figura A2.15 - Espectro de massas MS<sup>2</sup> obtido a partir da fragmentação do íon  $m/z$  243,0983.Figura A2.16 - Espectro de massas (HR-ESI, modo positivo) do pico com  $T_R$  27,4 min.

Figura A2.17 - Espectro de massas  $MS^2$  obtido a partir da fragmentação do íon  $m/z$  295,1858.Figura A2.18 - Espectro de massas (HR-ESI, modo positivo) do pico com  $T_R$  28,2 min.Figura A2.19 - Espectro de massas  $MS^2$  obtido a partir da fragmentação do íon  $m/z$  471,3388.Figura A2.20 - Espectro de massas (HR-ESI, modo positivo) do pico com  $T_R$  29,1 min.

Figura A2.21 - Espectro de massas MS<sup>2</sup> obtido a partir da fragmentação do íon  $m/z$  229,0825.Figura A2.22 - Espectro de massas (HR-ESI, modo positivo) do pico com  $T_R$  31,7 min.Figura A2.23 - Espectro de massas MS<sup>2</sup> obtido a partir da fragmentação do íon  $m/z$  235,1657.Figura A2.24 - Espectro de massas (HR-ESI, modo positivo) do pico com  $T_R$  35,1 min.

Figura A2.25 - Espectro de massas MS<sup>2</sup> obtido a partir da fragmentação do íon  $m/z$  455,3449.Figura A2.26 - Espectro de massas (HR-ESI, modo positivo) do pico com  $T_R$  35,3 min.Figura A2.27 - Espectro de massas MS<sup>2</sup> obtido a partir da fragmentação do íon  $m/z$  328,2586.Figura A2.28 - Espectro de massas (HR-ESI, modo positivo) do pico com  $T_R$  39,2 min.

Figura A2.29 - Espectro de massas MS<sup>2</sup> obtido a partir da fragmentação do íon  $m/z$  179,0669.Figura A2.30 - Espectro de massas (HR-ESI, modo positivo) do pico com  $T_R$  41,0 min.Figura A2.31 - Espectro de massas MS<sup>2</sup> obtido a partir da fragmentação do íon  $m/z$  307,2578.Figura A2.32 - Espectro de massas (HR-ESI, modo positivo) do pico com  $T_R$  48,2 min.

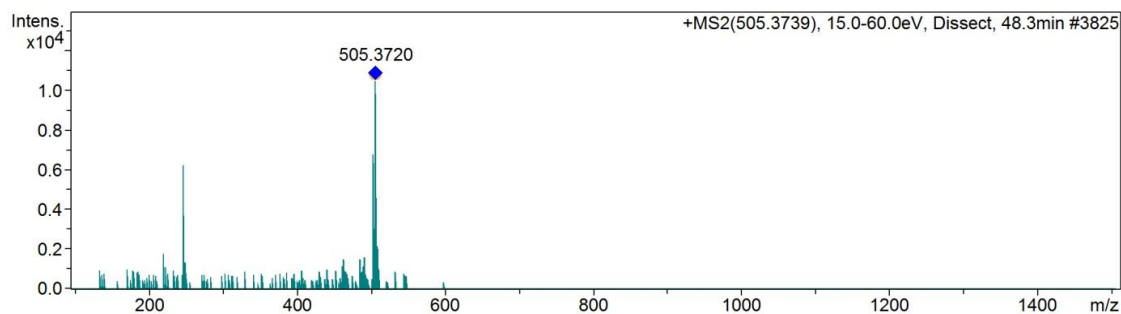


Figura A2.33 - Espectro de massas MS<sup>2</sup> obtido a partir da fragmentação do íon  $m/z$  505,3739.

### 3. Espectros de massas identificados para a fração **EAqG3**

Os compostos descritos no Capítulo 4 foram determinados por meio de espectrometria de massas. São apresentadas aqui os espectros de massa para os tempos de retenção relevantes (Espectro MS) e os espectros de massa de fragmentação que correspondem aos compostos identificados (Espectro MS<sup>2</sup>) das análises da fração **EAqG3**.

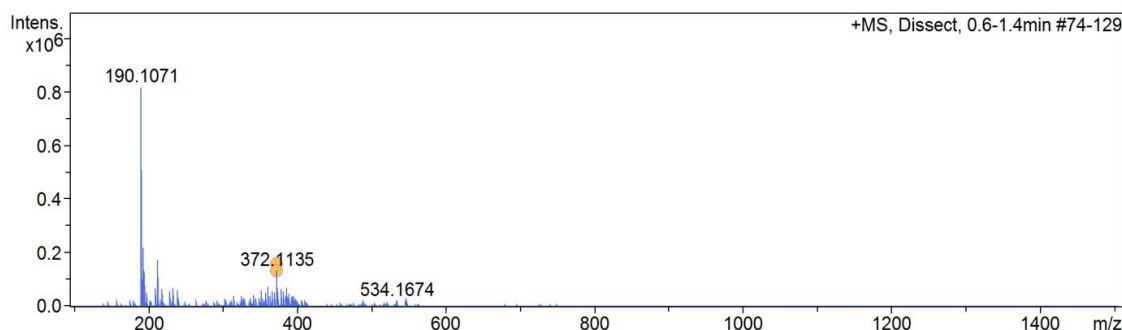


Figura A3.1 - Espectro de massas (HR-ESI, modo positivo) do pico com TR 0,9 min.

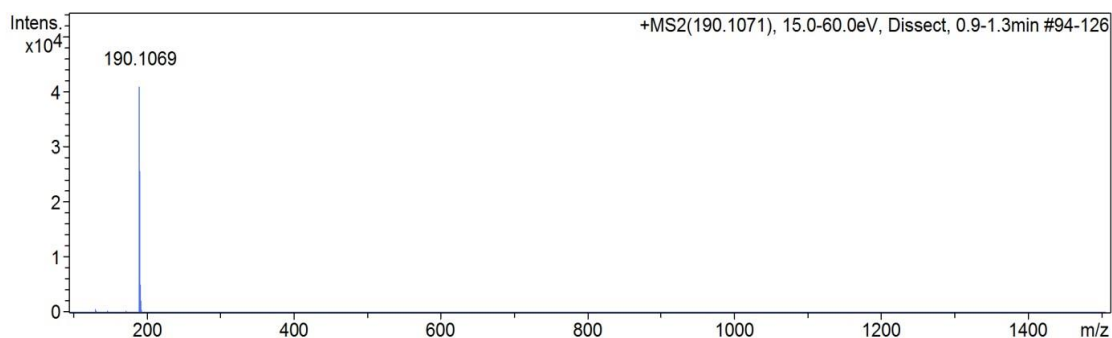


Figura A3.2 - Espectro de massas MS<sup>2</sup> obtido a partir da fragmentação do íon  $m/z$  190,1071.

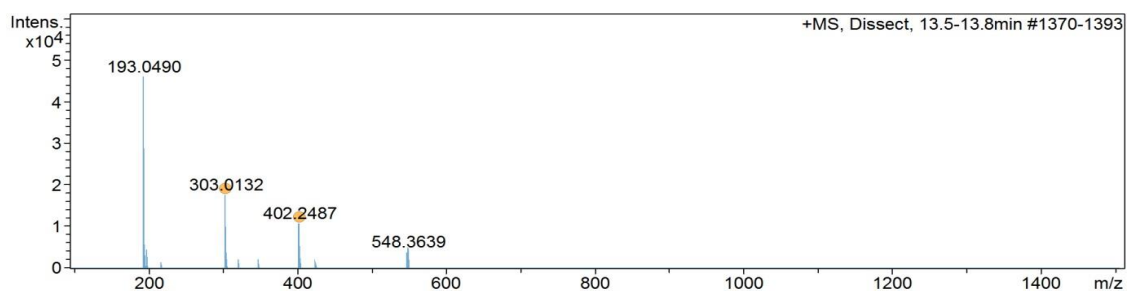


Figura A3.3 - Espectro de massas (HR-ESI, modo positivo) do pico com TR 13,7 min.

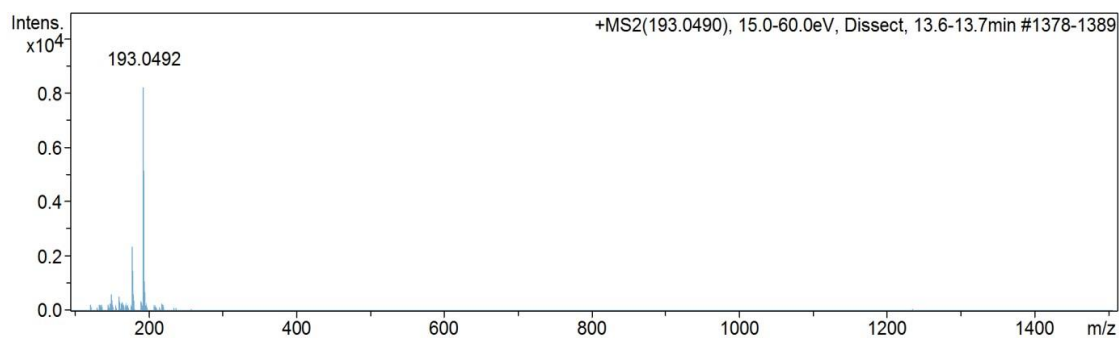
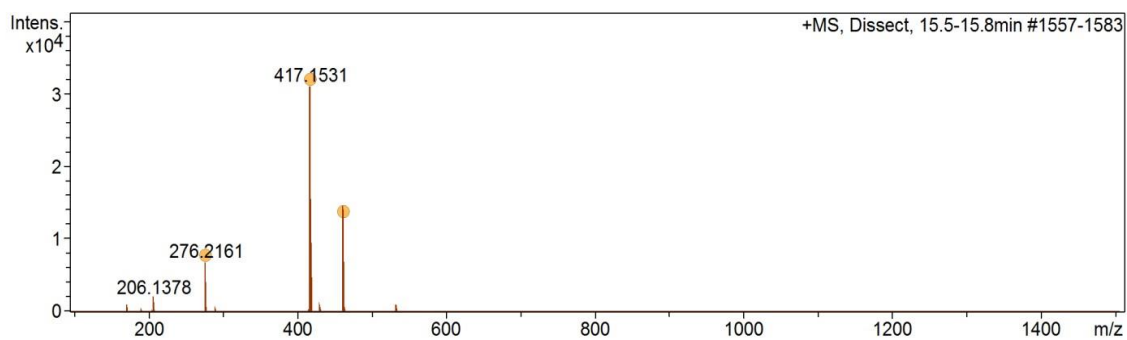
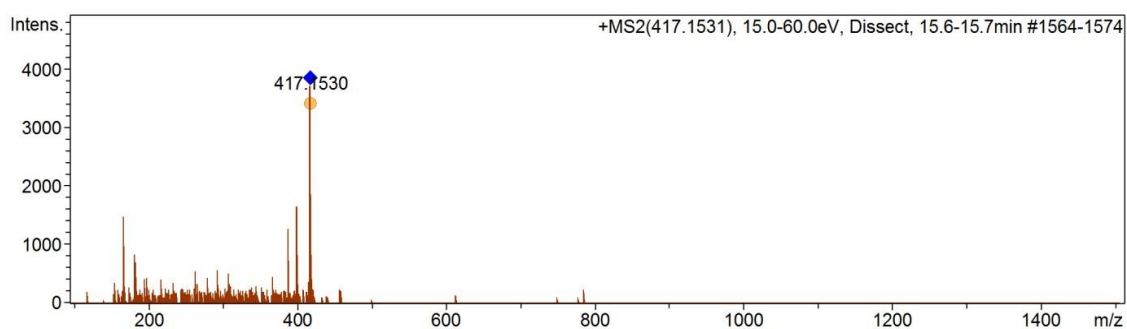
Figura A3.4 - Espectro de massas MS<sup>2</sup> obtido a partir da fragmentação do íon  $m/z$  193,0490.

Figura A3.5 - Espectro de massas (HR-ESI, modo positivo) do pico com TR 15,6 min.

Figura A3.6 - Espectro de massas MS<sup>2</sup> obtido a partir da fragmentação do íon  $m/z$  417,1531.



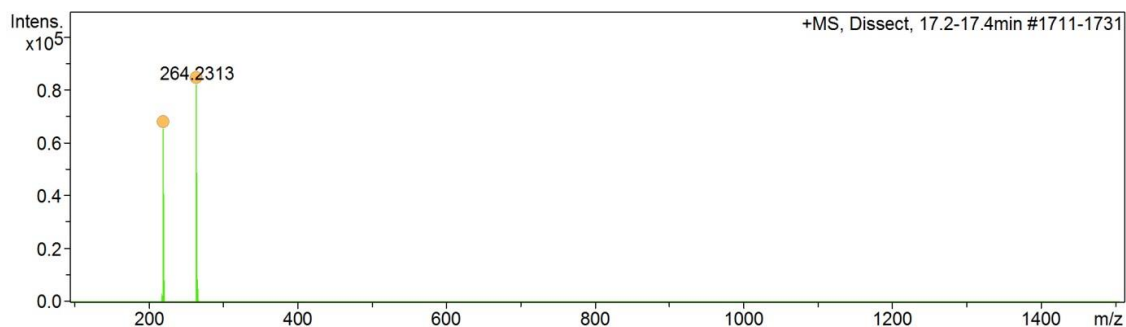


Figura A3.7 - Espectro de massas (HR-ESI, modo positivo) do pico com TR 17,3 min.

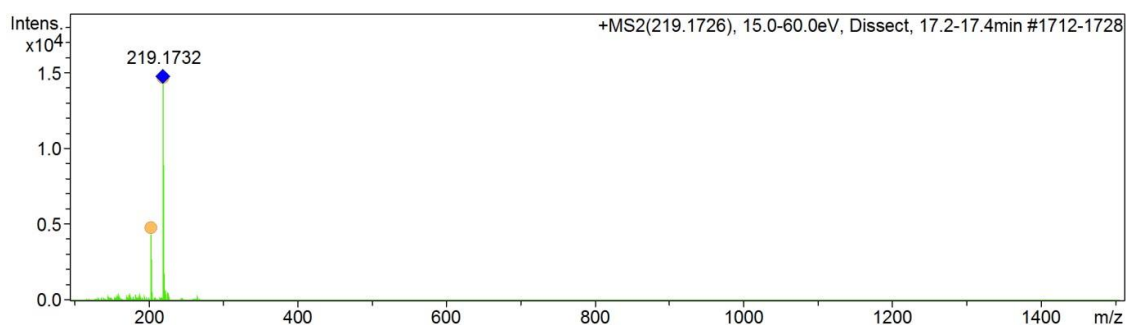


Figura A3.8 - Espectro de massas MS<sup>2</sup> obtido a partir da fragmentação do íon  $m/z$  219,1726.

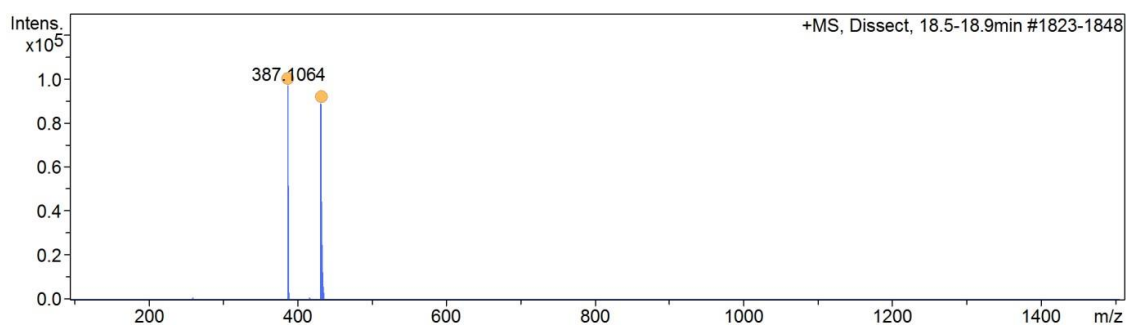


Figura A3.9 - Espectro de massas (HR-ESI, modo positivo) do pico com TR 18,8 min.

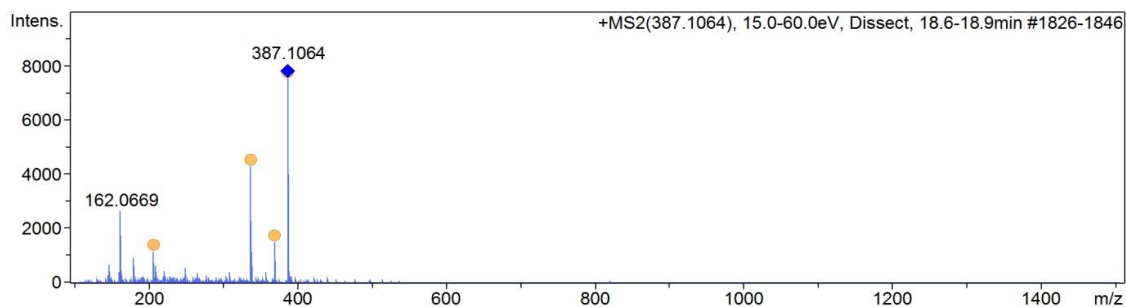


Figura A3.10 - Espectro de massas MS<sup>2</sup> obtido a partir da fragmentação do íon  $m/z$  387,1064.

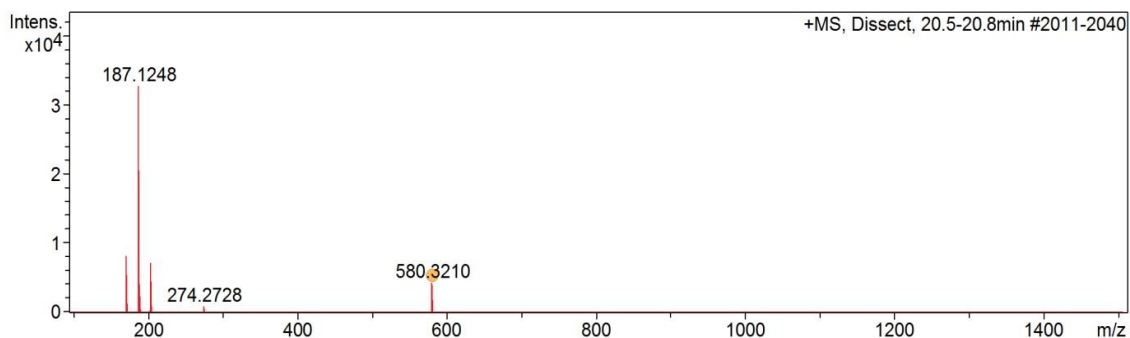


Figura A3.11 - Espectro de massas (HR-ESI, modo positivo) do pico com TR 20,6 min.

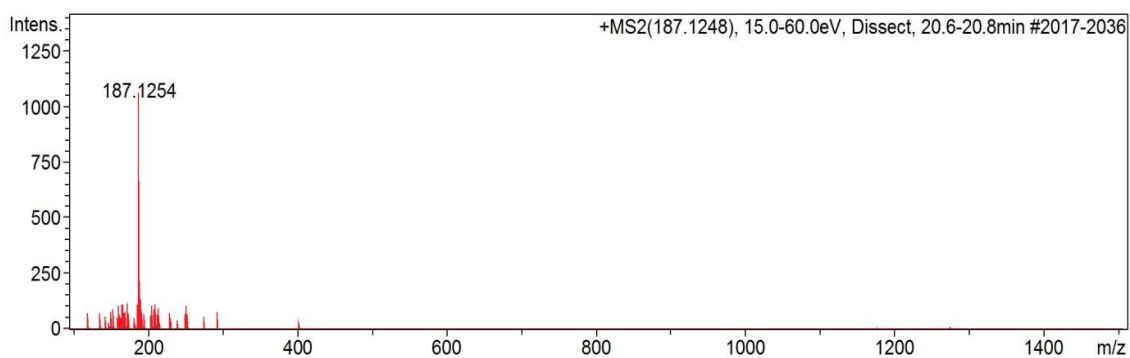


Figura A3.12 - Espectro de massas MS<sup>2</sup> obtido a partir da fragmentação do íon  $m/z$  187,1248.

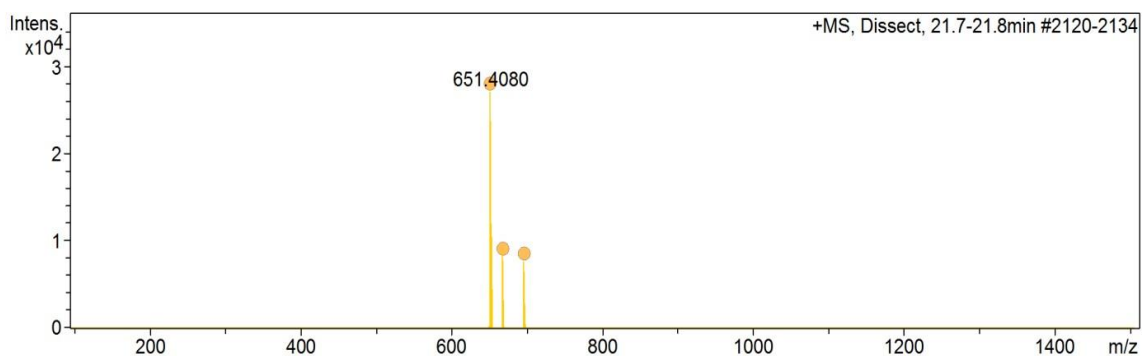


Figura A3.13 - Espectro de massas (HR-ESI, modo positivo) do pico com TR 21,7 min.

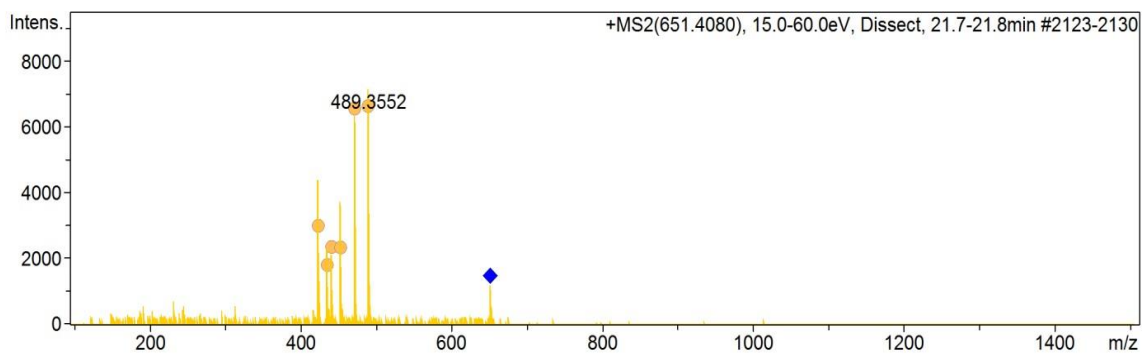


Figura A3.14 - Espectro de massas MS<sup>2</sup> obtido a partir da fragmentação do íon  $m/z$  651,4080.

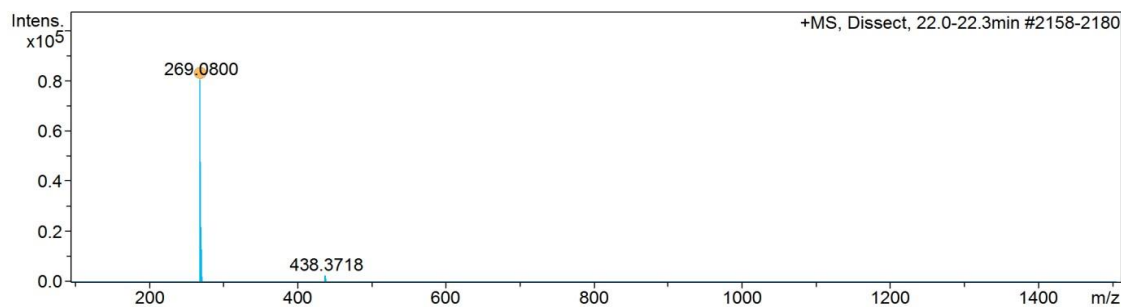


Figura A3.15 - Espectro de massas (HR-ESI, modo positivo) do pico com TR 22,2 min.

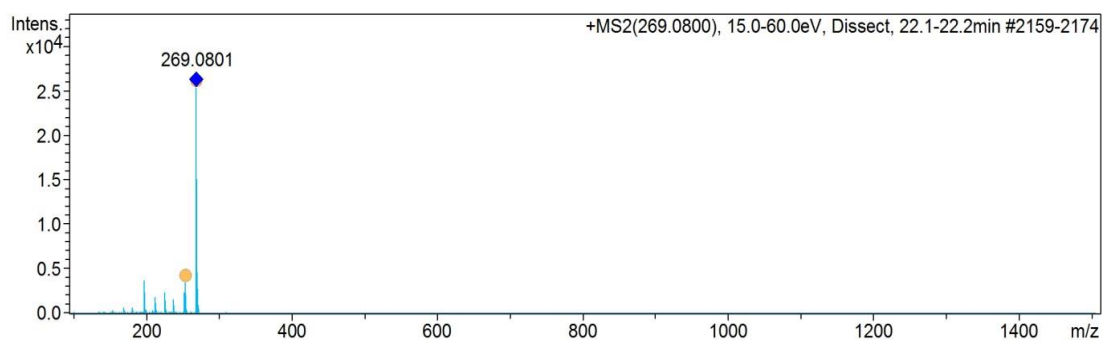
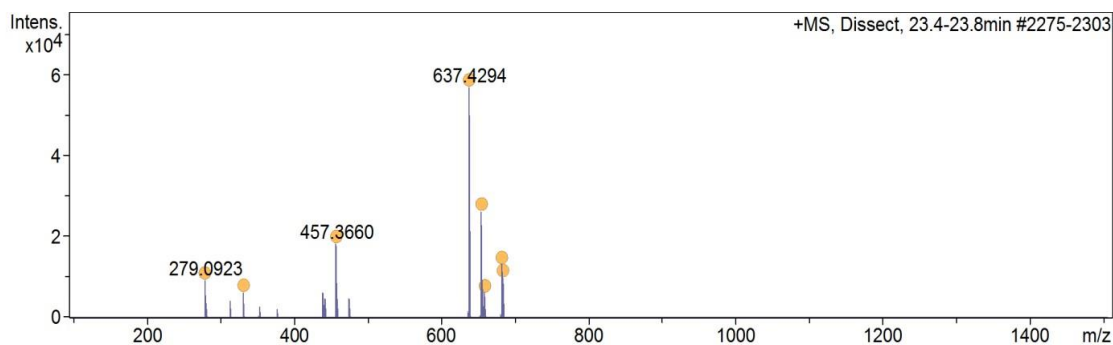
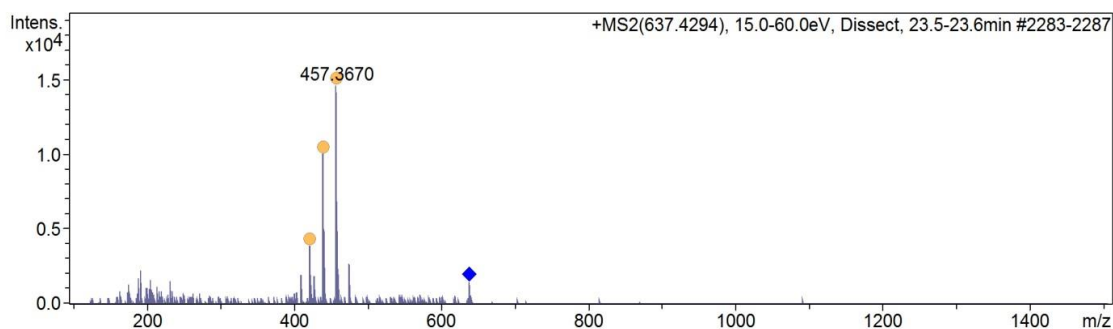
Figura A3.16 - Espectro de massas MS<sup>2</sup> obtido a partir da fragmentação do íon  $m/z$  269,0800.

Figura A3.17 - Espectro de massas (HR-ESI, modo positivo) do pico com TR 23,5 min.

Figura A3.18 - Espectro de massas MS<sup>2</sup> obtido a partir da fragmentação do íon  $m/z$  637,4294.

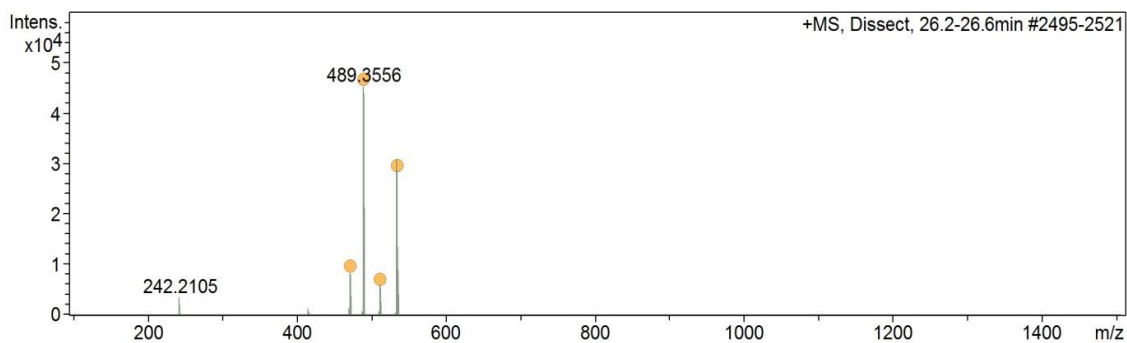


Figura A3.19 - Espectro de massas (HR-ESI, modo positivo) do pico com TR 26,4 min.

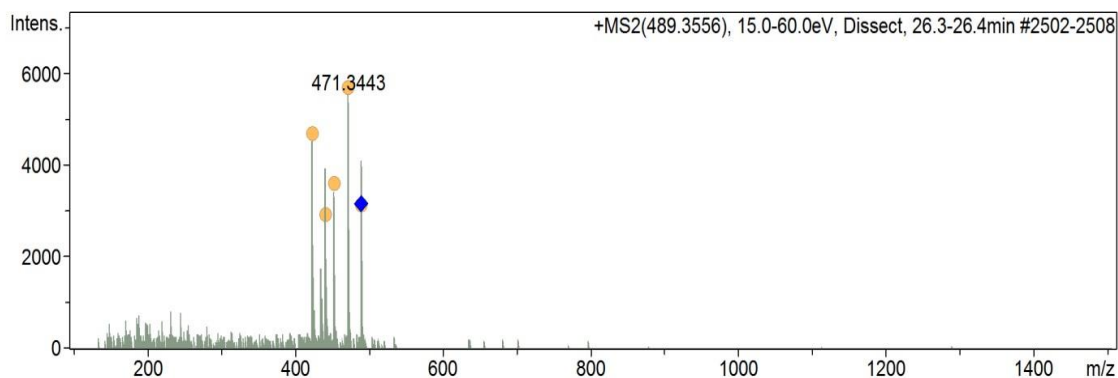


Figura A3.20 - Espectro de massas MS<sup>2</sup> obtido a partir da fragmentação do íon  $m/z$  489,3556.

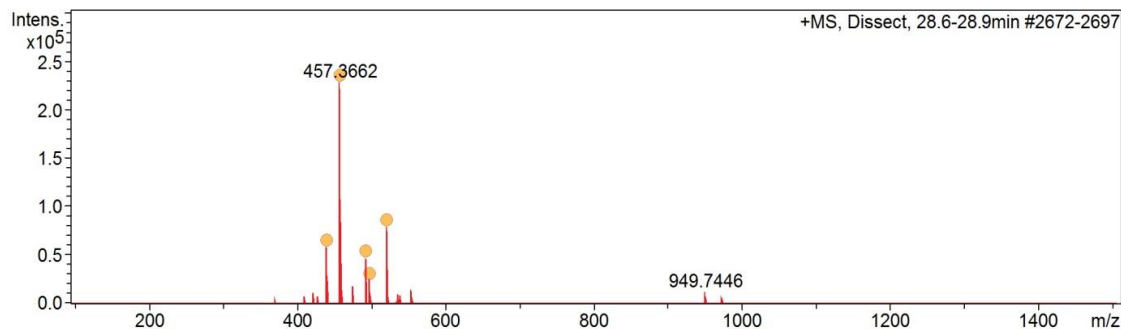


Figura A3.21 - Espectro de massas (HR-ESI, modo positivo) do pico com TR 28,7 min.

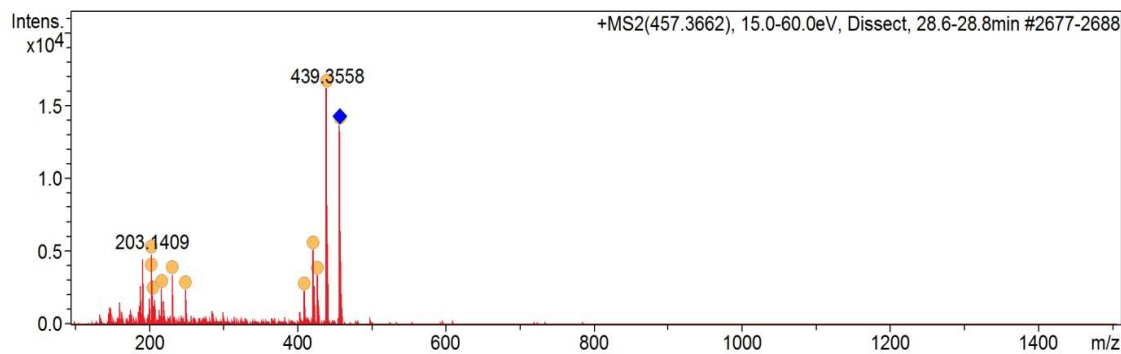


Figura A3.22 - Espectro de massas MS<sup>2</sup> obtido a partir da fragmentação do íon  $m/z$  457,3662.

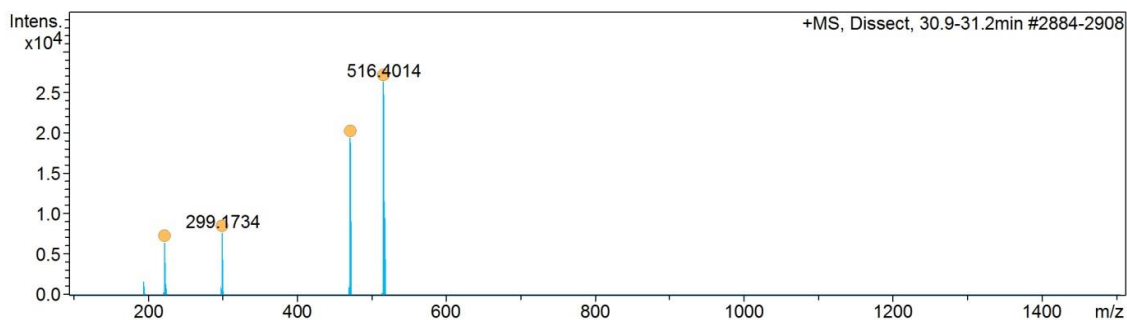


Figura A3.23 - Espectro de massas (HR-ESI, modo positivo) do pico com TR 30,9 min.

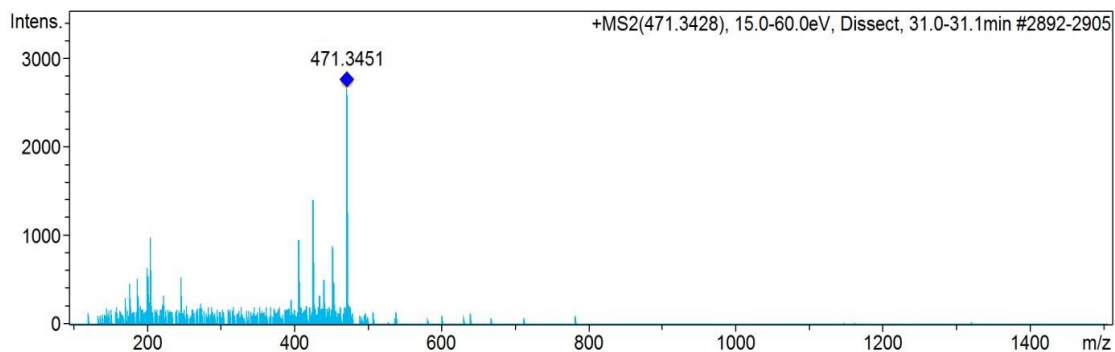


Figura A3.24 - Espectro de massas MS<sup>2</sup> obtido a partir da fragmentação do íon  $m/z$  471,3428.

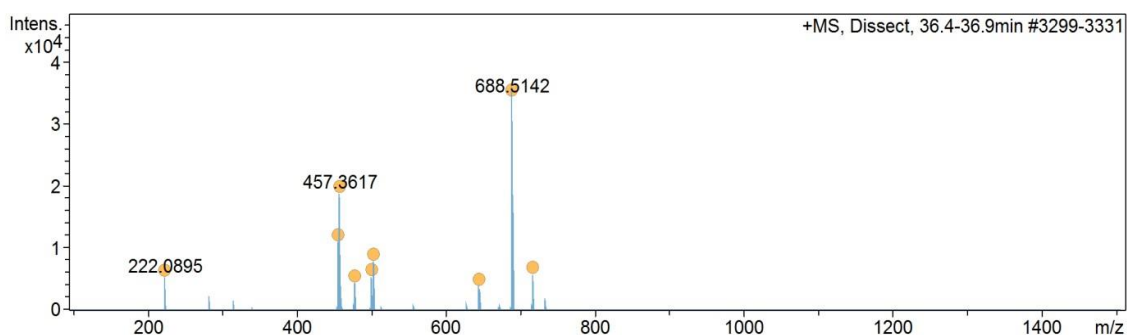


Figura A3.25 - Espectro de massas (HR-ESI, modo positivo) do pico com TR 36,6 min.

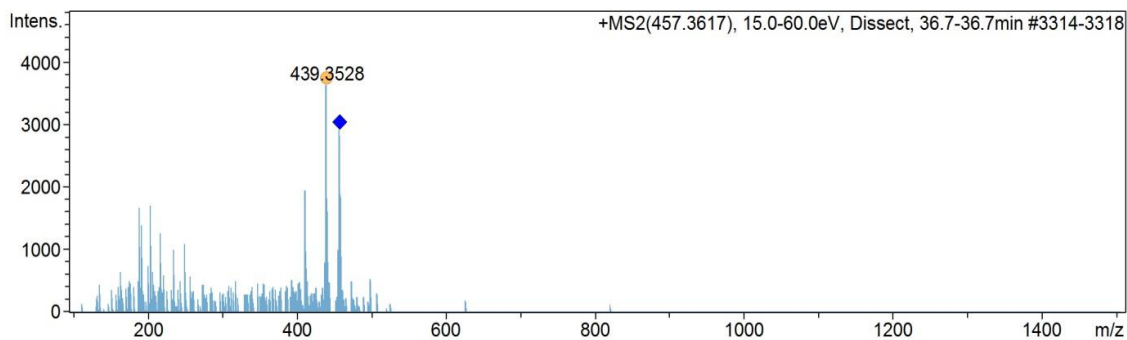


Figura A3.26 - Espectro de massas MS<sup>2</sup> obtido a partir da fragmentação do íon  $m/z$  457,3617.

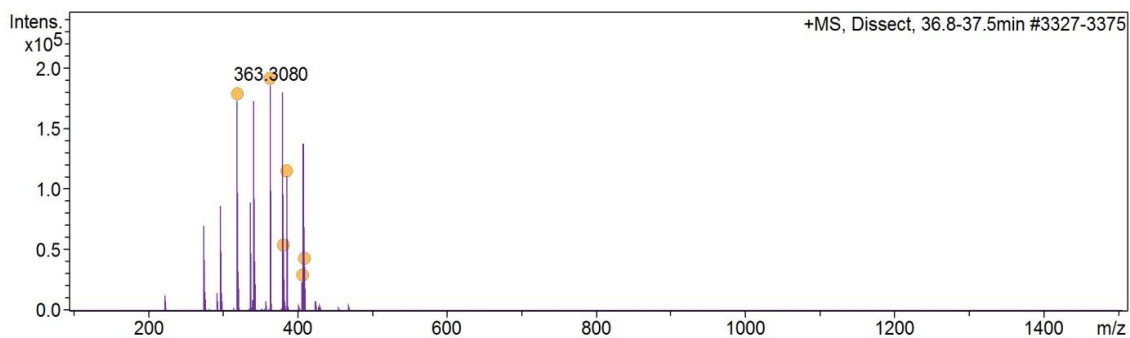


Figura A3.27 - Espectro de massas (HR-ESI, modo positivo) do pico com TR 37,2 min.

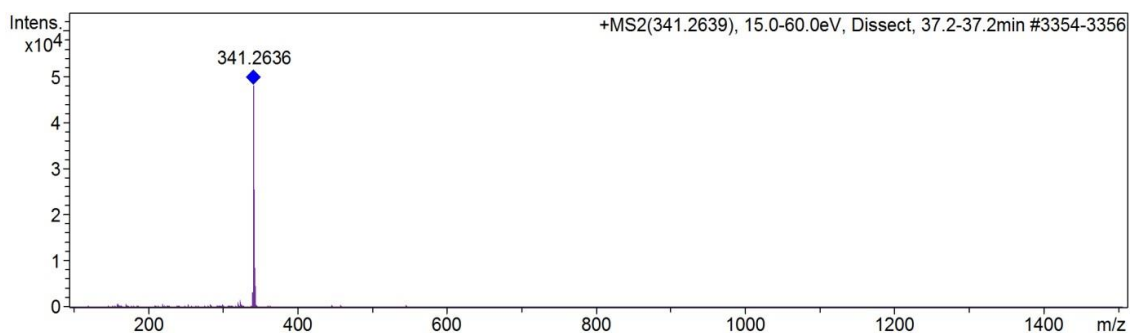
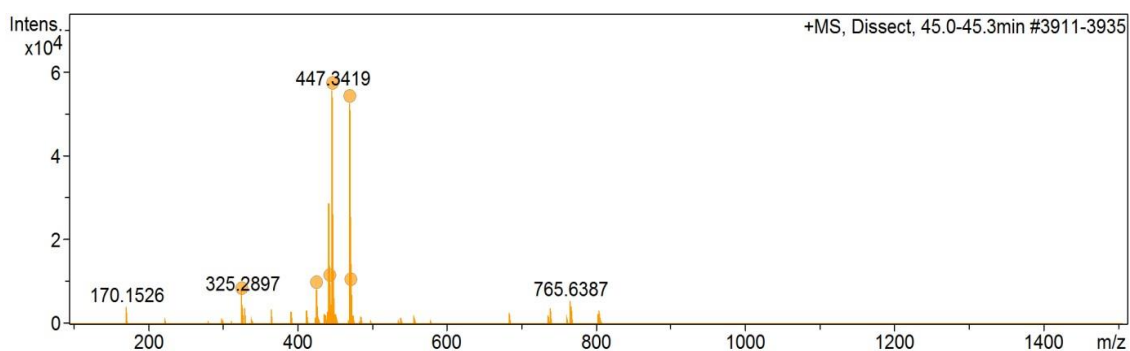
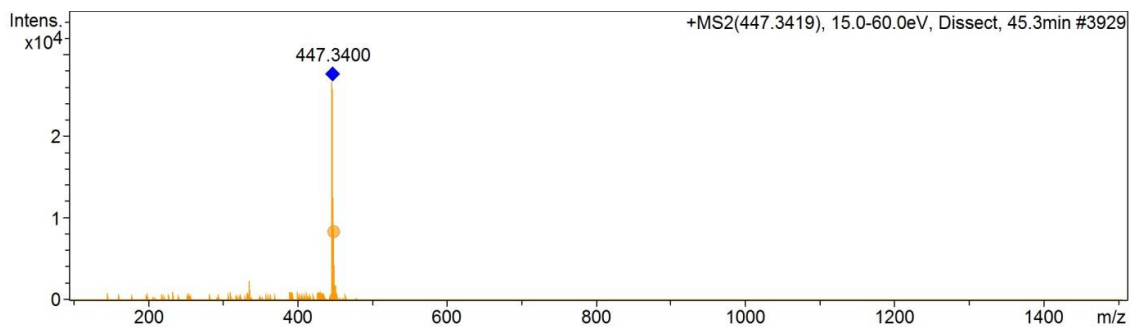
Figura A3.28 - Espectro de massas MS<sup>2</sup> obtido a partir da fragmentação do íon  $m/z$  341,2639.

Figura A3.29 - Espectro de massas (HR-ESI, modo positivo) do pico com TR 45,2 min.

Figura A3.30 - Espectro de massas MS<sup>2</sup> obtido a partir da fragmentação do íon  $m/z$  447,3419.

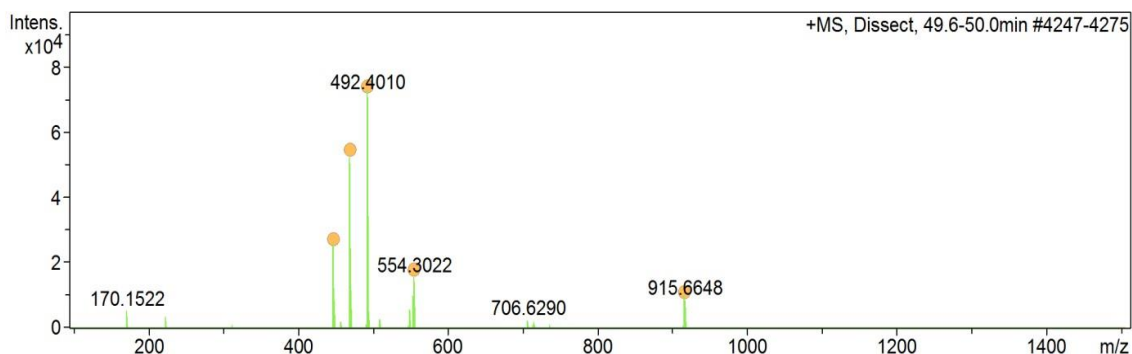


Figura A3.31 - Espectro de massas (HR-ESI, modo positivo) do pico com TR 49,7 min.

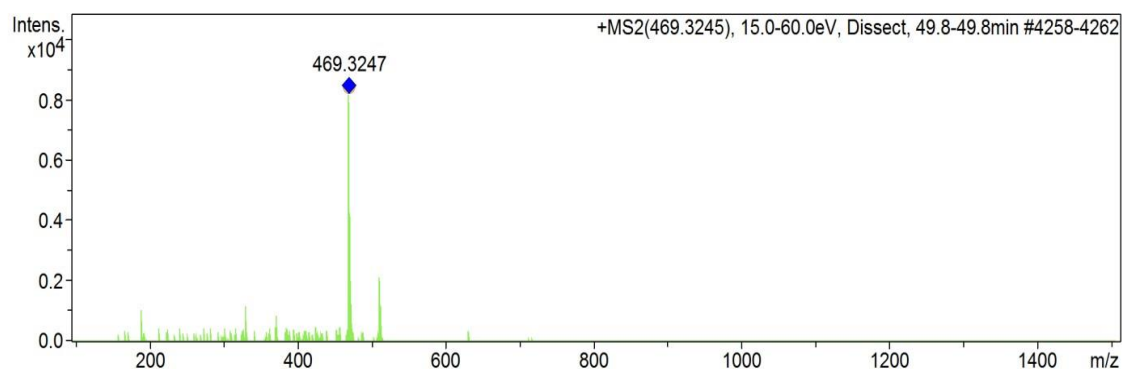


Figura A3.32 - Espectro de massas MS<sup>2</sup> obtido a partir da fragmentação do íon  $m/z$  469,3245.

#### 4. Espectros de massas identificados para a fração **EAqG4**

Os compostos descritos no Capítulo 4 foram determinados por meio de espectrometria de massas. São apresentadas aqui os espectros de massa para os tempos de retenção relevantes (Espectro MS) e os espectros de massa de fragmentação que correspondem aos compostos identificados (Espectro MS<sup>2</sup>) das análises da fração **EAqG4**.

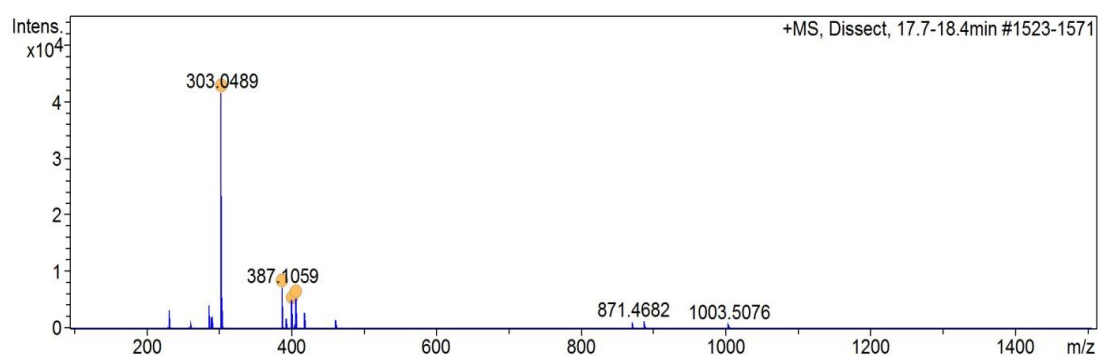


Figura A4.1 - Espectro de massas (HR-ESI, modo positivo) do pico com TR 18.1 min.

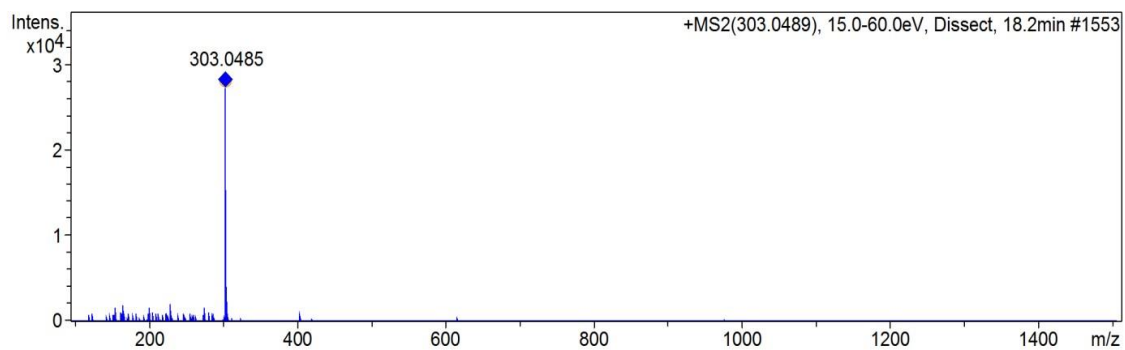
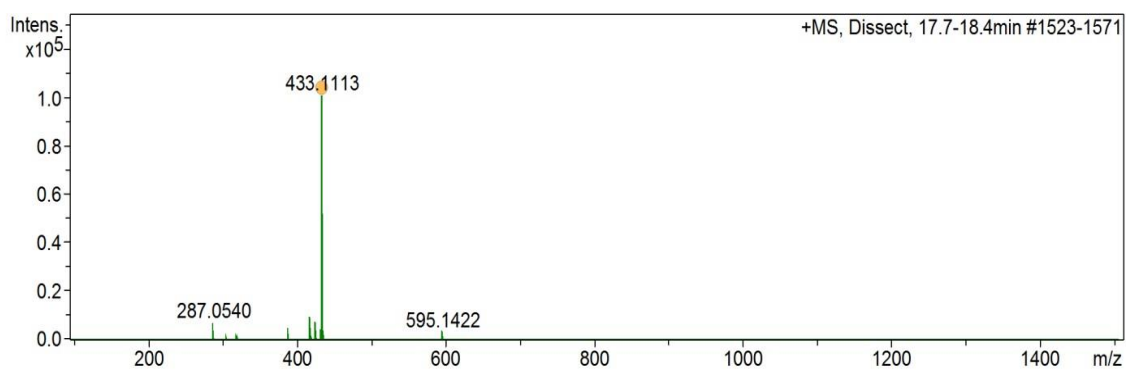
Figura A4.2 - Espectro de massas MS<sup>2</sup> obtido a partir da fragmentação do íon  $m/z$  303,0489.

Figura A4.3 - Espectro de massas (HR-ESI, modo positivo) do pico com TR 18,2 min.

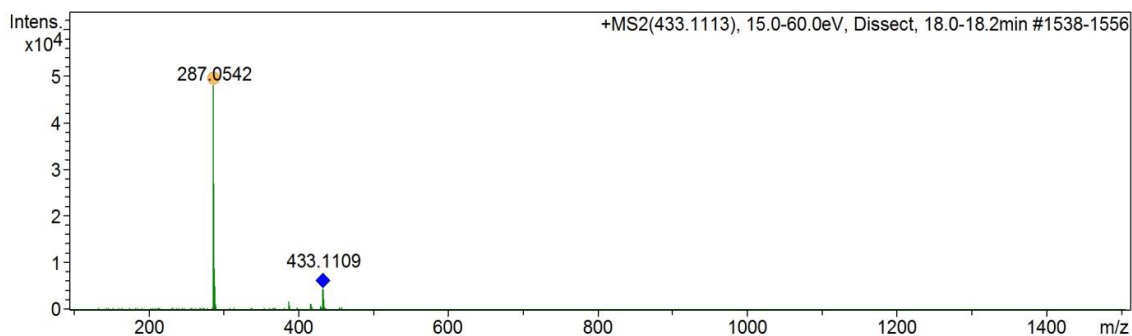
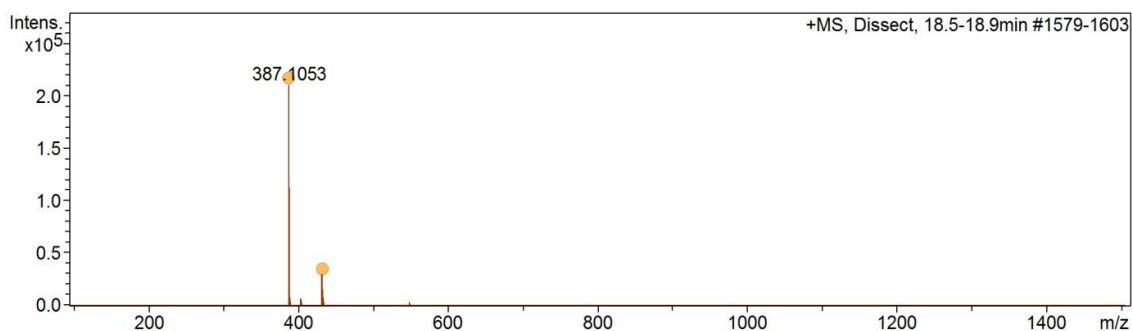
Figura A4.4 - Espectro de massas MS<sup>2</sup> obtido a partir da fragmentação do íon  $m/z$  303,0489.

Figura A4.5 - Espectro de massas (HR-ESI, modo positivo) do pico com TR 18,7 min.



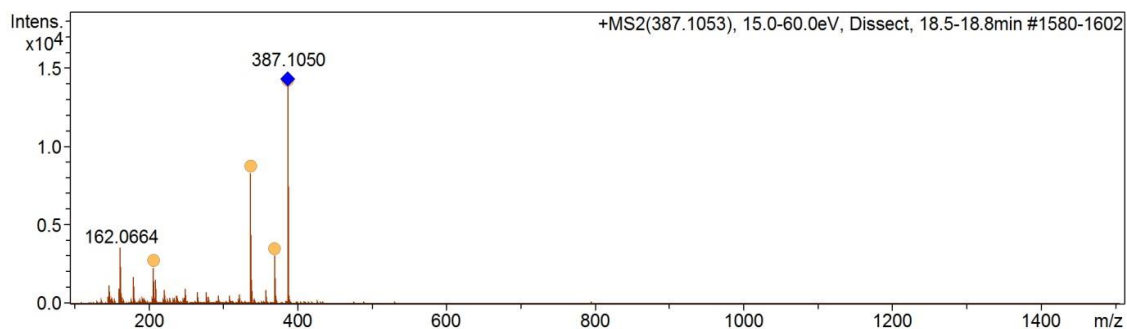
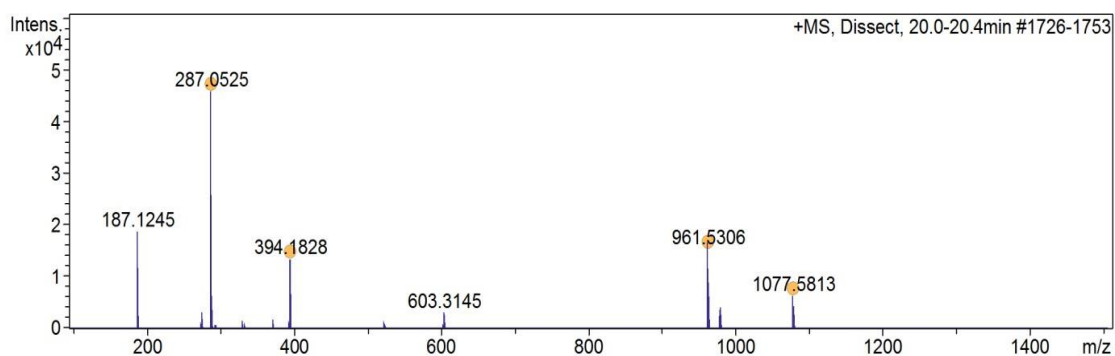
Figura A4.6 - Espectro de massas  $MS^2$  obtido a partir da fragmentação do íon  $m/z$  387,1053.

Figura A4.7 - Espectro de massas (HR-ESI, modo positivo) do pico com TR 20.2 min.

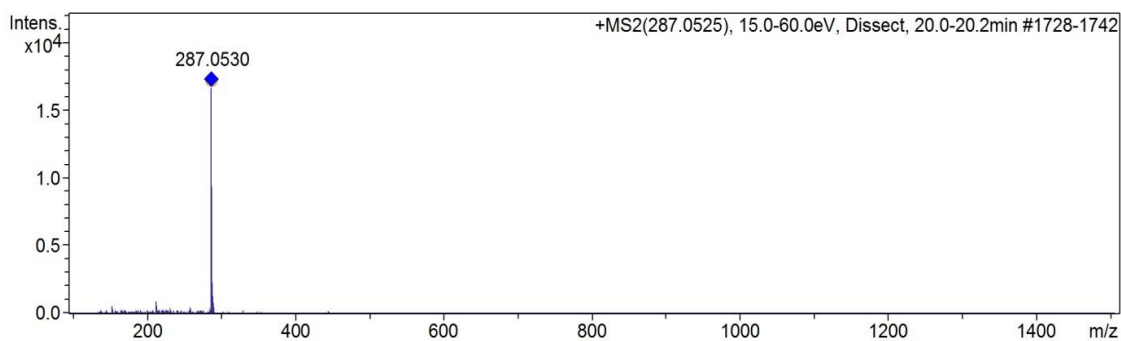
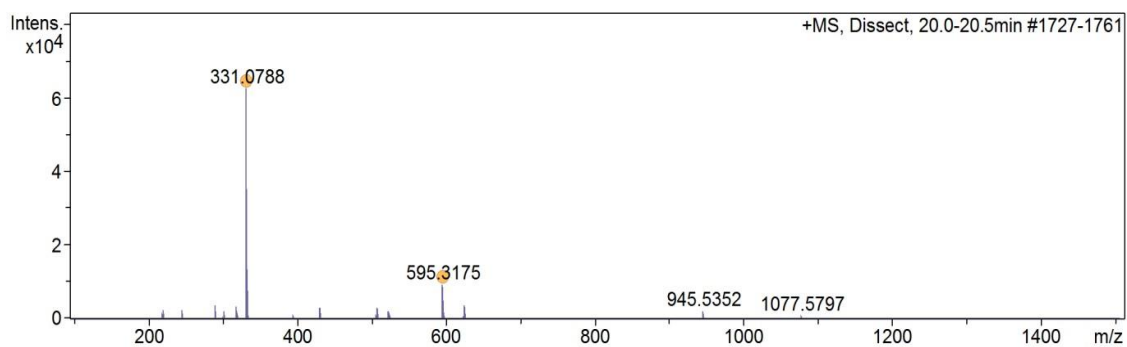
Figura A4.8 - Espectro de massas  $MS^2$  obtido a partir da fragmentação do íon  $m/z$  287,0525.

Figura A4.9 - Espectro de massas (HR-ESI, modo positivo) do pico com TR 20,3 min.

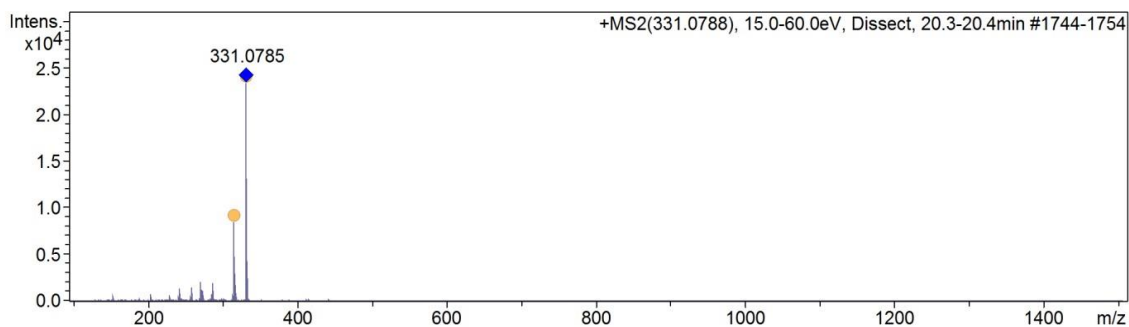
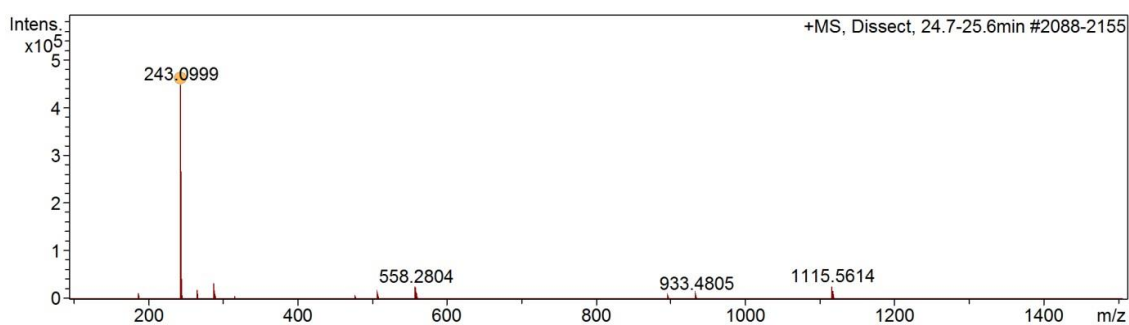
Figura A4.10 - Espectro de massas MS<sup>2</sup> obtido a partir da fragmentação do íon  $m/z$  331,0788.

Figura A4.11 - Espectro de massas (HR-ESI, modo positivo) do pico com TR 25,0 min.

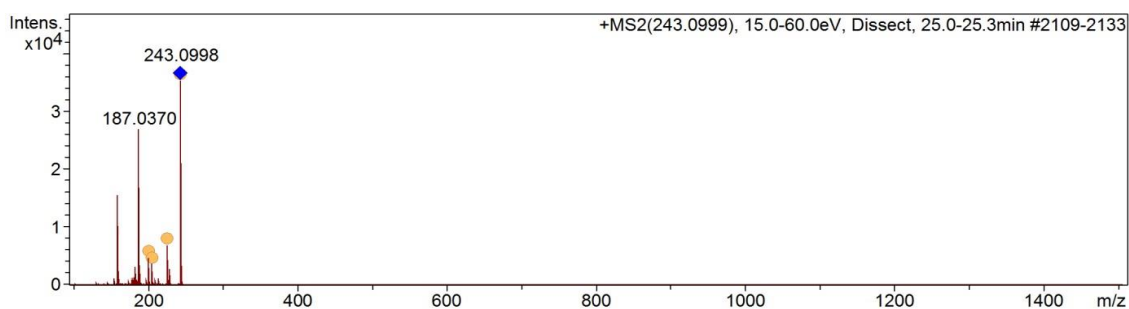
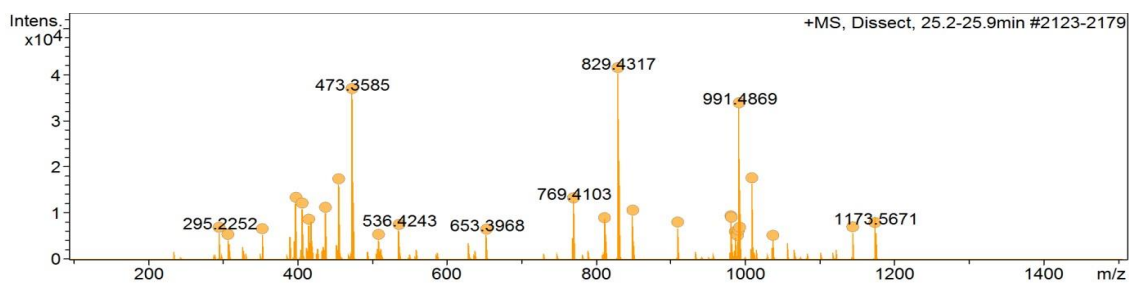
Figura A4.12 - Espectro de massas MS<sup>2</sup> obtido a partir da fragmentação do íon  $m/z$  243,0999.

Figura A4.13 - Espectro de massas (HR-ESI, modo positivo) do pico com TR 25,6 min.

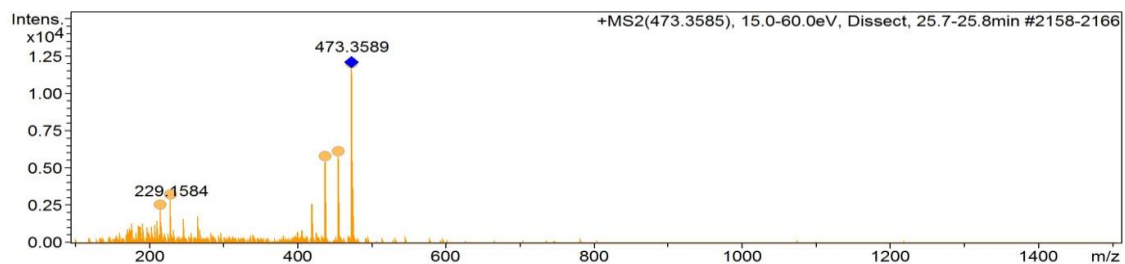
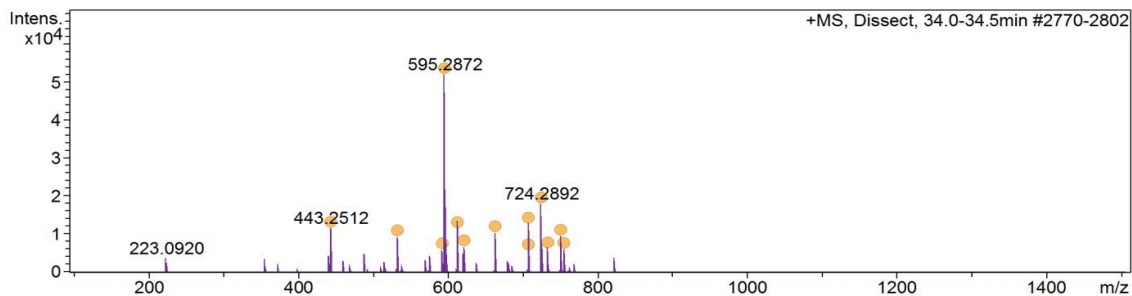
Figura A4.14- Espectro de massas MS<sup>2</sup> obtido a partir da fragmentação do íon  $m/z$  473,3585.

Figura A4.15 - Espectro de massas (HR-ESI, modo positivo) do pico com TR 34,3 min.

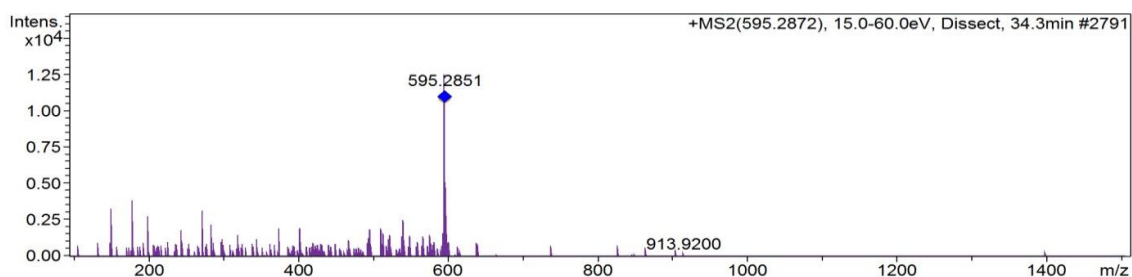
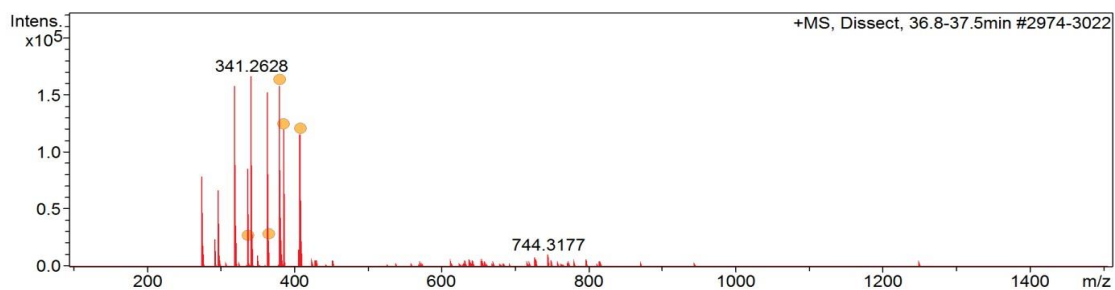
Figura A4.16 - Espectro de massas MS<sup>2</sup> obtido a partir da fragmentação do íon  $m/z$  595,2872.

Figura A4.17 - Espectro de massas (HR-ESI, modo positivo) do pico com TR 37,1 min.

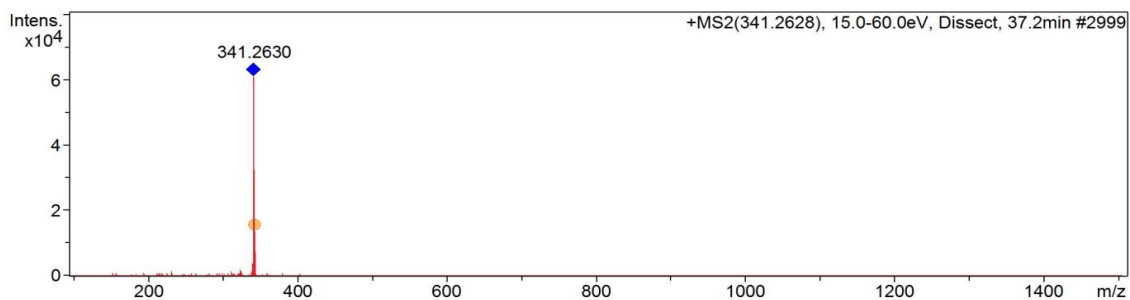
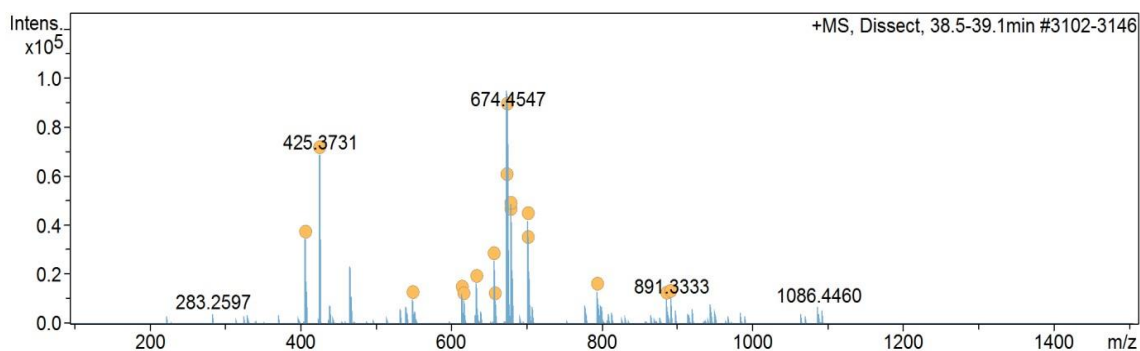
Figura A4.18 - Espectro de massas MS<sup>2</sup> obtido a partir da fragmentação do íon  $m/z$  341,2628.

Figura A4.19 - Espectro de massas (HR-ESI, modo positivo) do pico com TR 38.8 min.

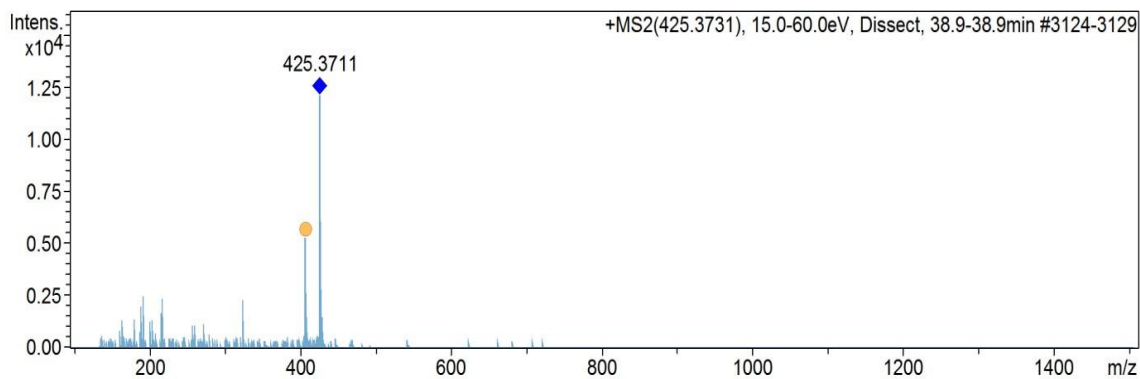
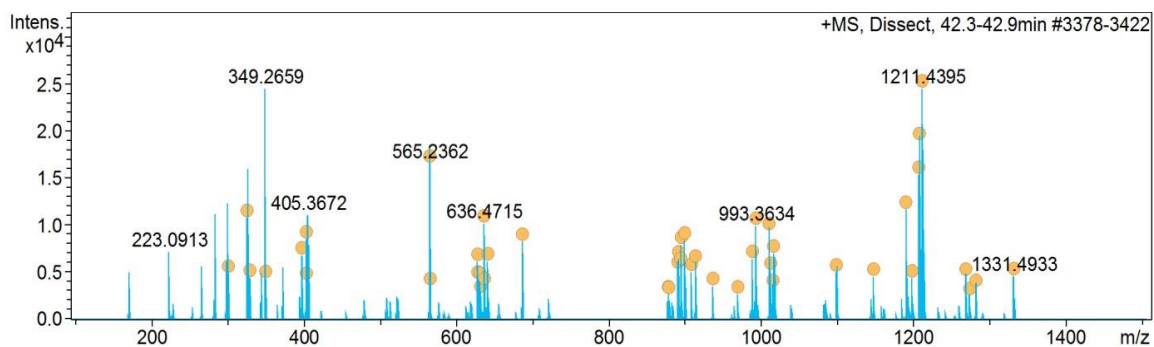
Figura A4.20 - Espectro de massas MS<sup>2</sup> obtido a partir da fragmentação do íon  $m/z$  425,3731.

Figura A4.21 - Espectro de massas (HR-ESI, modo positivo) do pico com TR 42,7 min.

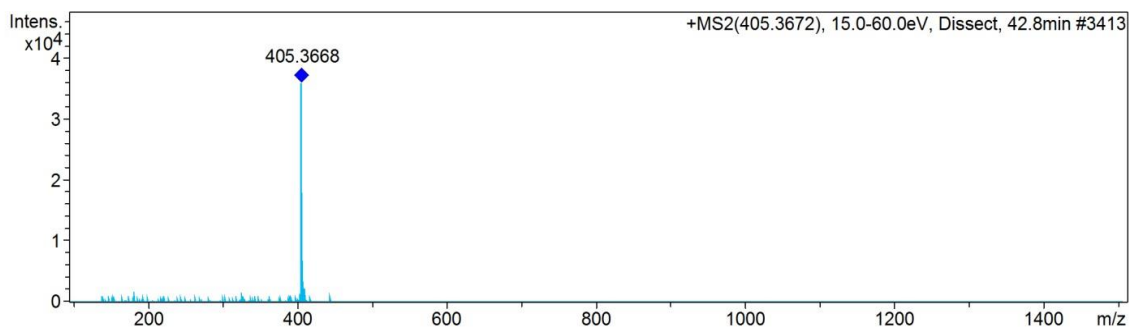
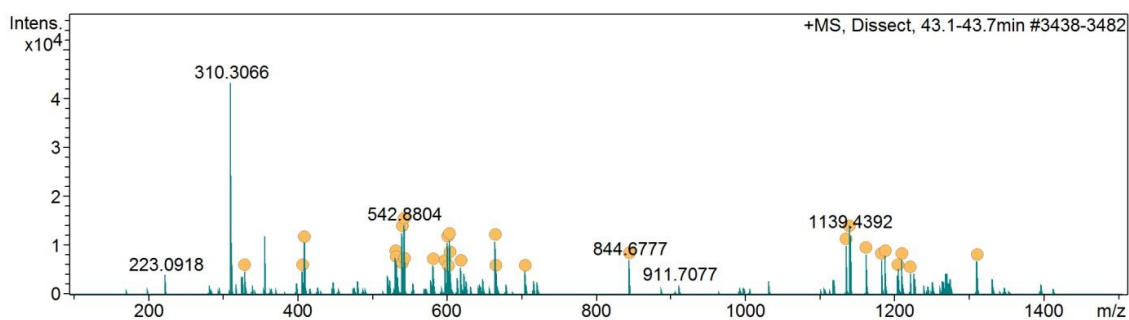
Figura A4.22 - Espectro de massas MS<sup>2</sup> obtido a partir da fragmentação do íon  $m/z$  405,3672.

Figura A4.23 - Espectro de massas (HR-ESI, modo positivo) do pico com TR 43,5 min.

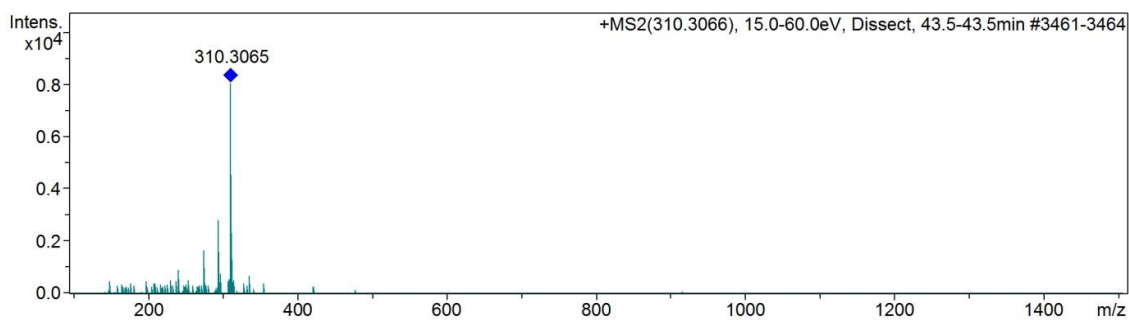
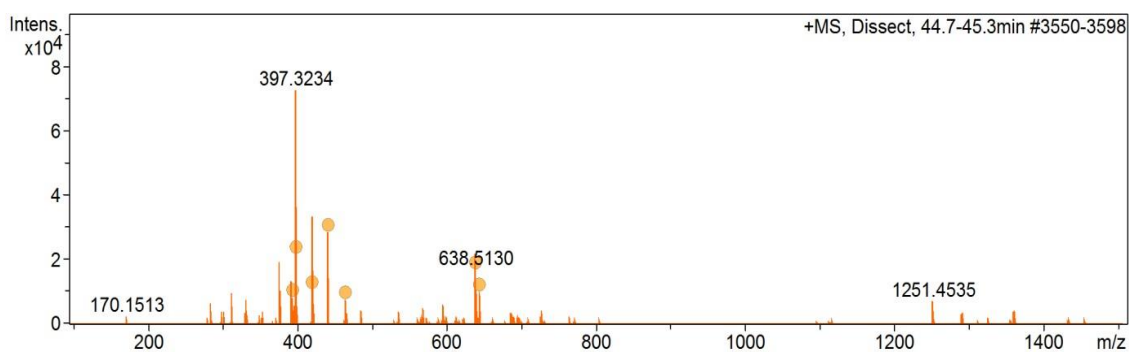
Figura A4.24 - Espectro de massas MS<sup>2</sup> obtido a partir da fragmentação do íon  $m/z$  310,3066.

Figura A4.25 - Espectro de massas (HR-ESI, modo positivo) do pico com TR 45,0 min.

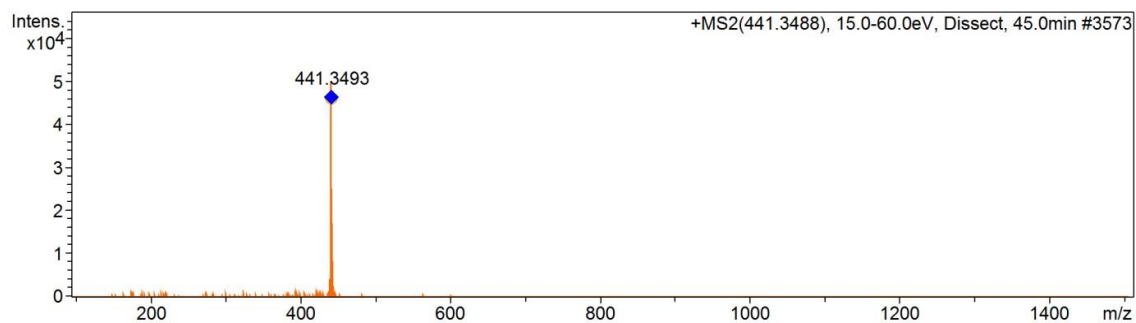
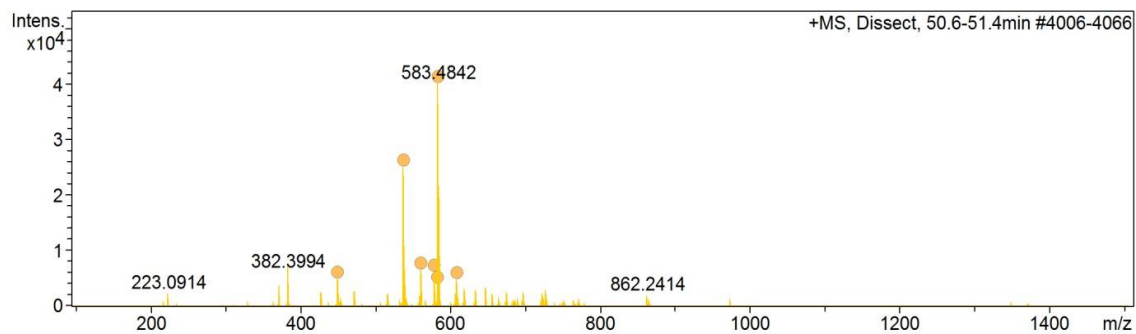
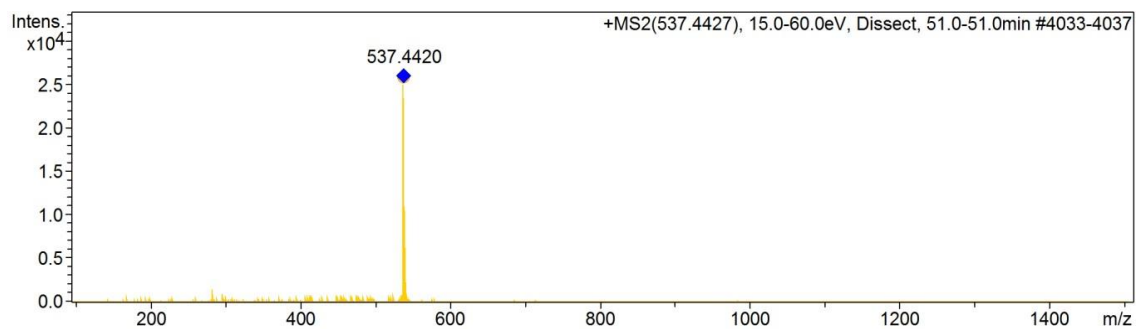
Figura A4.26 - Espectro de massas MS<sup>2</sup> obtido a partir da fragmentação do íon  $m/z$  441,3488.

Figura A4.27 - Espectro de massas (HR-ESI, modo positivo) do pico com TR 51,0 min.

Figura A4.28 - Espectro de massas MS<sup>2</sup> obtido a partir da fragmentação do íon  $m/z$  537,4427.

5. Espectros de massas para substâncias isoladas das raízes de *Magonia pubescens* (MP02 a MP07)

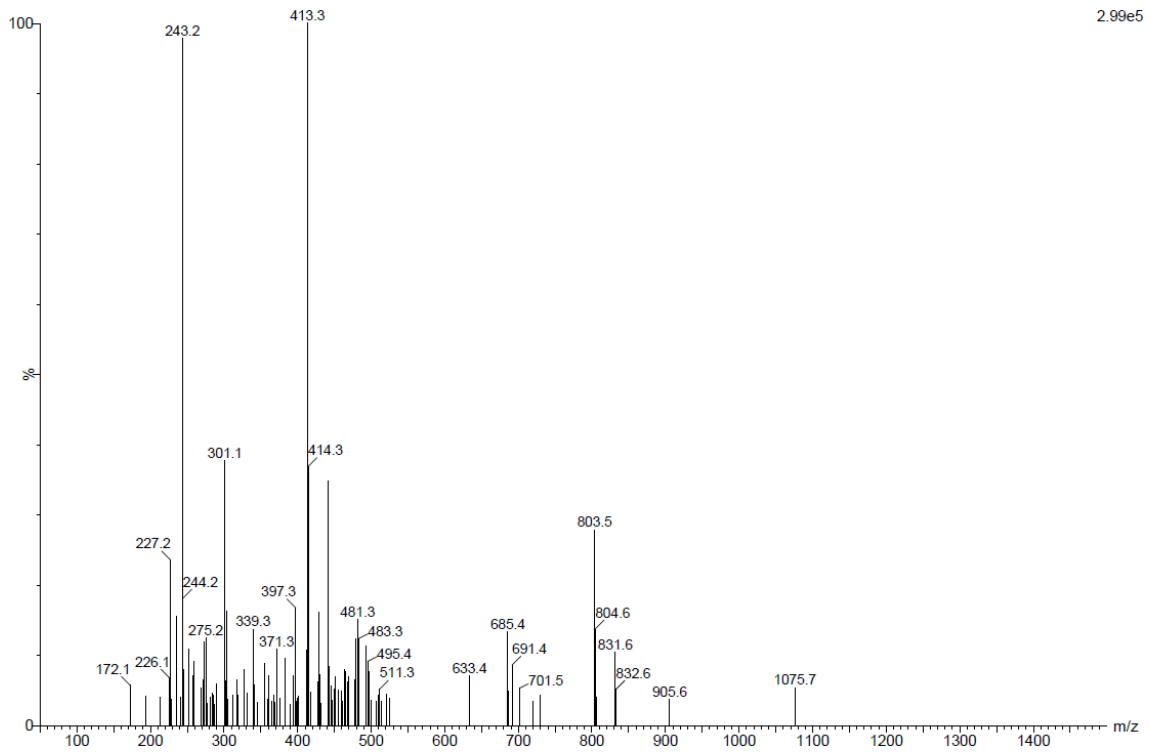


Figura A5.1 - Espectro de massas obtido para MP02.

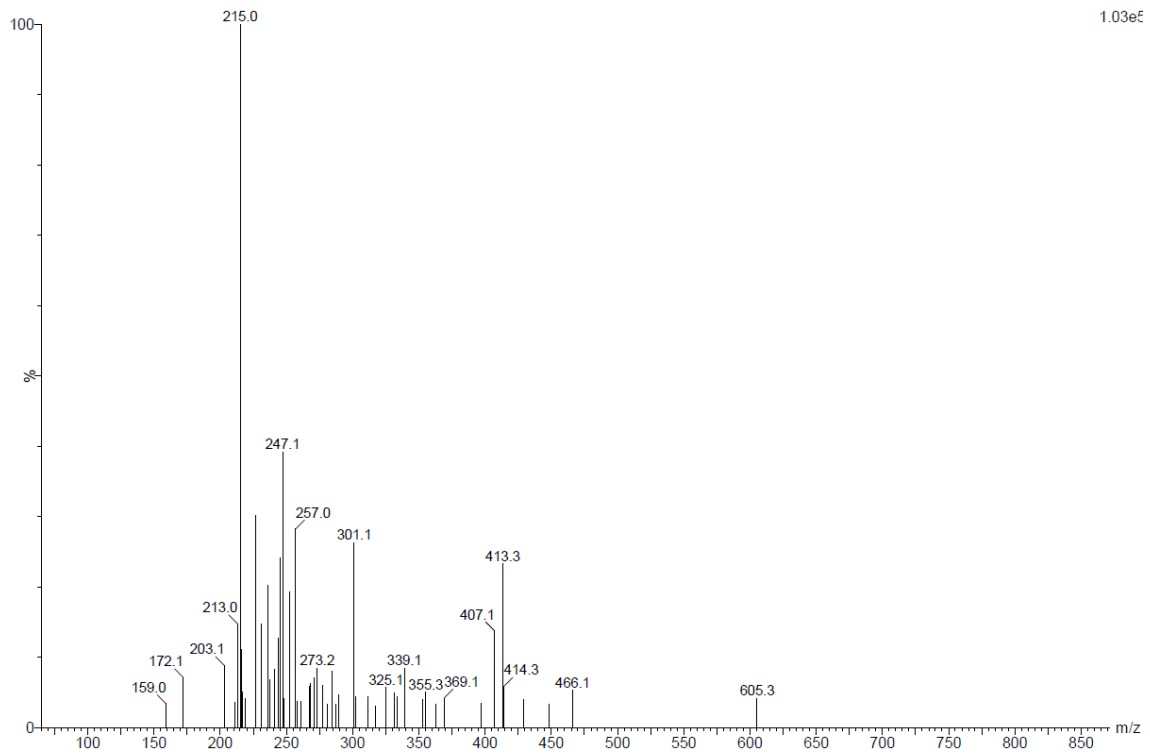


Figura A5.2 - Espectro de massas obtido para MP03.

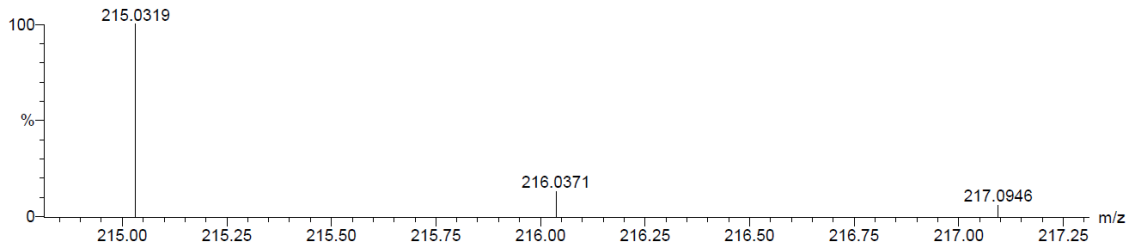


Figura A5.3 - Espectro de massas de alta resolução obtido para **MP03**.

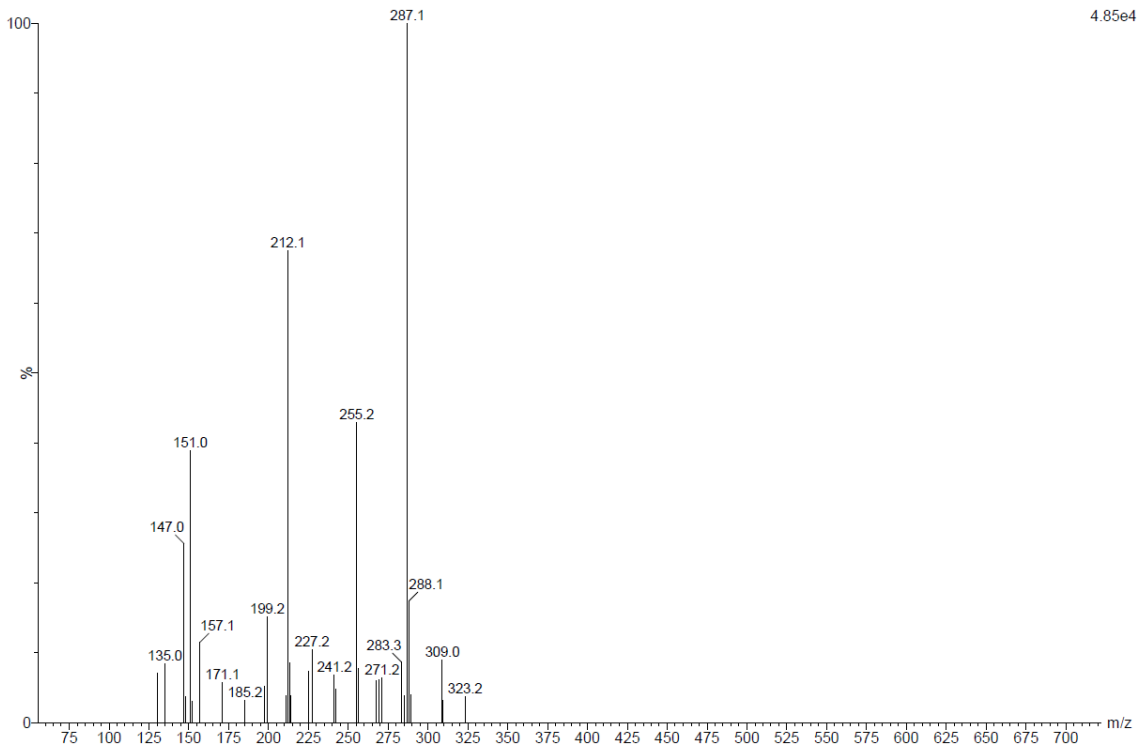


Figura A5.4 - Espectro de massas obtido para **MP04**.

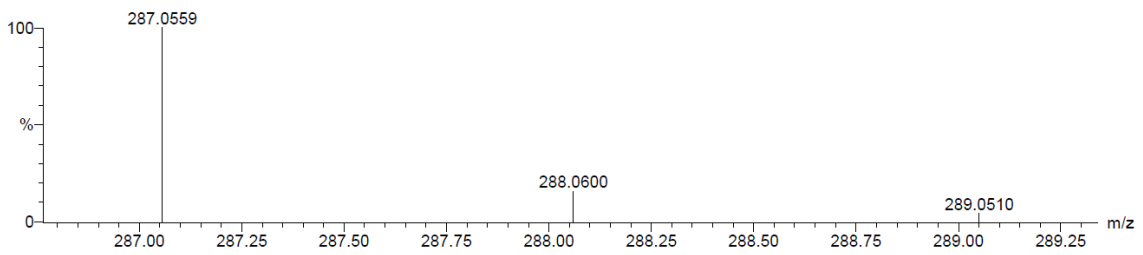


Figura A5.5 - Espectro de massas de alta resolução obtido para **MP04**.



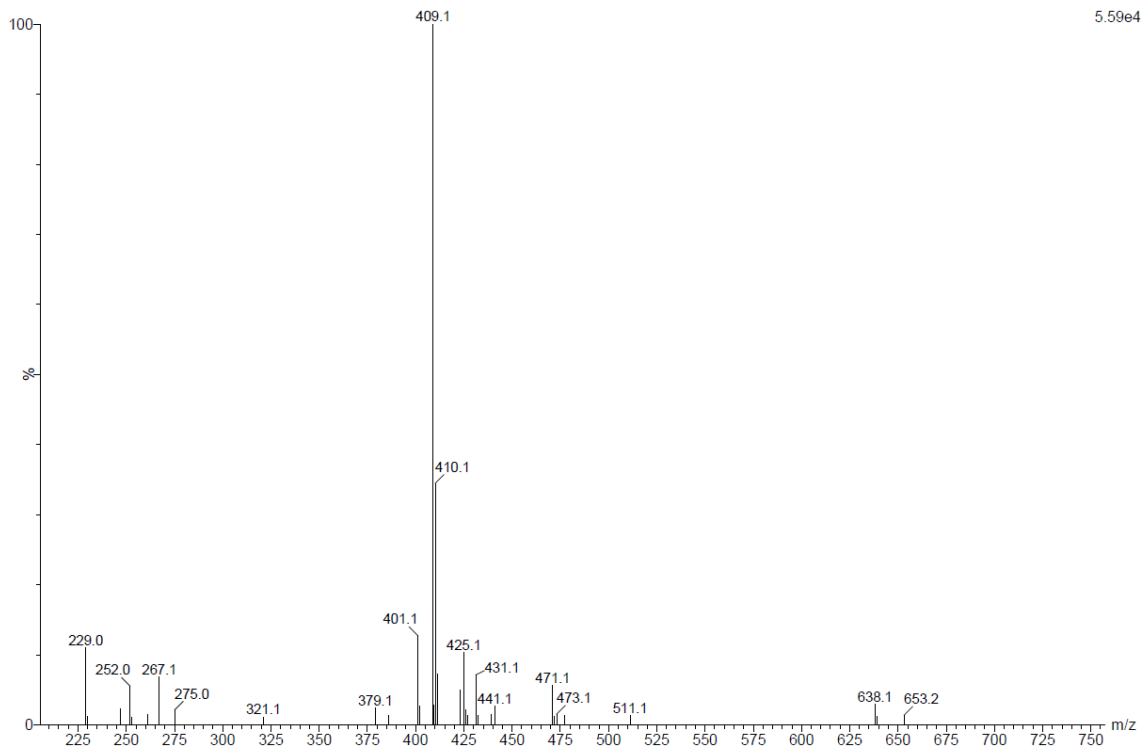


Figura A5.6 - Espectro de massas obtido para **MP05**.

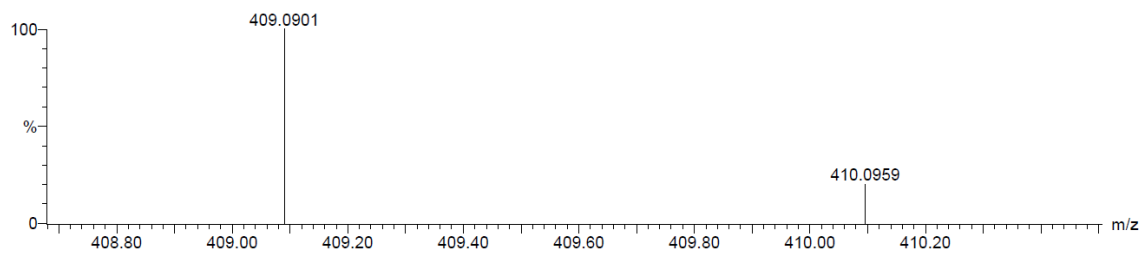


Figura A5.7 - Espectro de massas de alta resolução obtido para **MP05**.

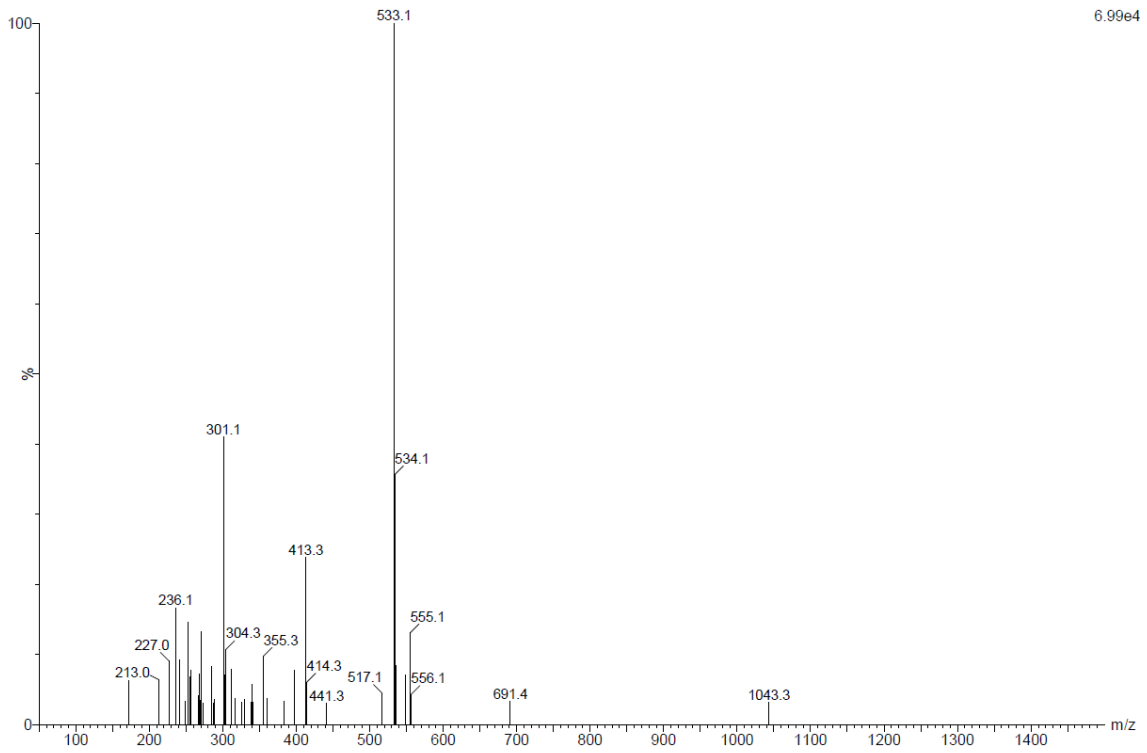


Figura A5.8 - Espectro de massas obtido para **MP06**.

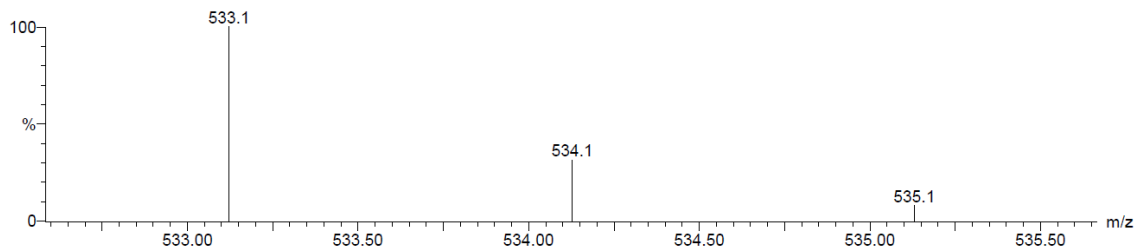


Figura A5.9 - Espectro de massas de alta resolução obtido para **MP06**.

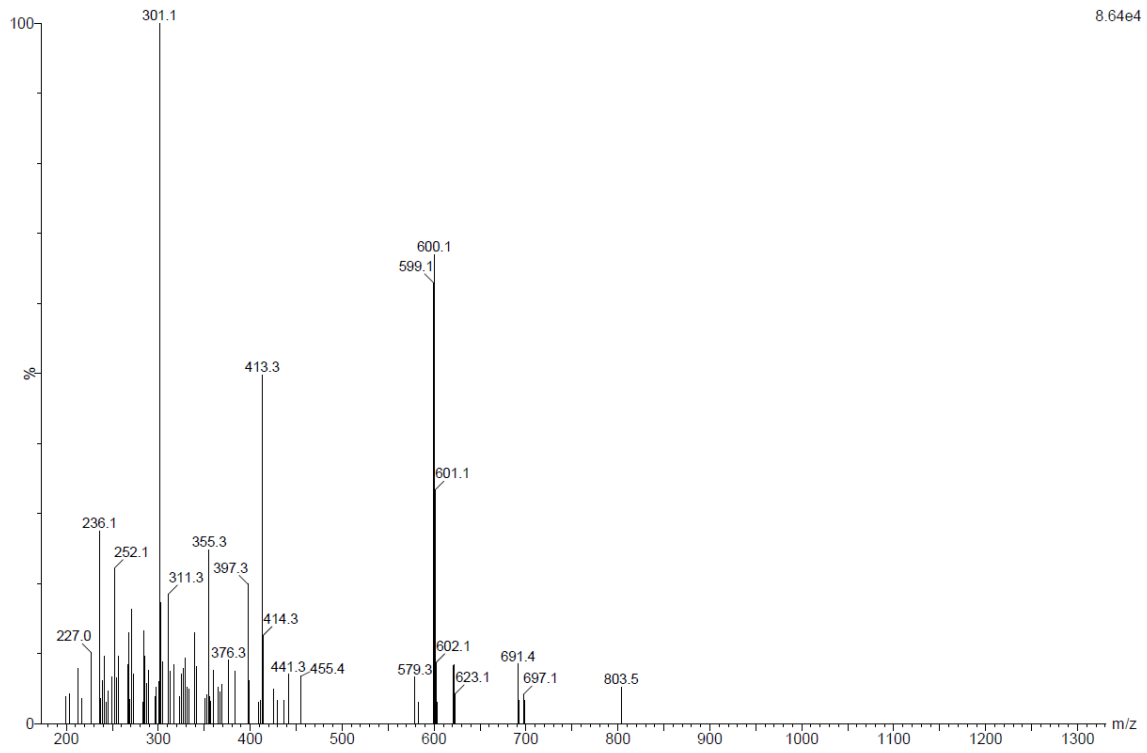


Figura A5.10 - Espectro de massas obtido para MP07.

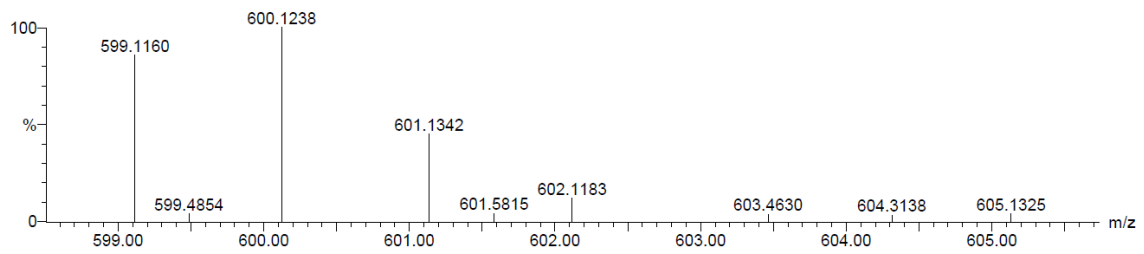


Figura A5.11 - Espectro de massas de alta resolução obtido para MP07.