

ESTUDO FITOQUÍMICO DA ESPÉCIE *Pourouma guianensis*
(URTICACEAE)

QUEITILANE DE SOUZA SALES

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY
RIBEIRO
CAMPOS DOS GOYTACAZES-RJ
JULHO – 2019

ESTUDO FITOQUÍMICO DA ESPÉCIE *Pourouma guianensis*
(URTICACEAE)

QUEITILANE DE SOUZA SALES

Tese apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologia da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Doutora em Ciências Naturais.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Rodrigues de Oliveira

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY
RIBEIRO
CAMPOS DOS GOYTACAZES-RJ
JULHO – 2019

FICHA CATALOGRÁFICA

UENF - Bibliotecas

Elaborada com os dados fornecidos pela
autora.

S163 Sales, Queitilane de Souza.

Estudo Fitoquímico da espécie *Pourouma guianensis* (*Urticaceae*) / Queitilane de Souza Sales. - Campos dos Goytacazes, RJ, 2019.

151 f. : il.

Bibliografia: 143 - 151.

Tese (Doutorado em Ciências Naturais) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciência e Tecnologia, 2019.

Orientador: Rodrigo Rodrigues de Oliveira.

1. *Pourouma guianensis*. 2. Cromatografia a Líquido de Ultra Eficiência. 3. Cromatografia Contracorrente. 4. Norsesqueterpenos. 5. Triterpeno. I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. II. Título.

CDD - 500

ESTUDO FITOQUÍMICO DA ESPÉCIE *Pourouma guianensis*
(URTICACEAE)

QUEITILANE DE SOUZA SALES

Tese apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologia da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Doutora em Ciências Naturais.

Aprovada em Julho de 2019.

Comissão examinadora:

Prof^a: Adriana Lima de Sousa (D. Sc., Ciências Naturais) – IFFluminense

Prof^a: Daniela Barros de Oliveira (D. Sc., Química de Produtos Naturais) – CCTA - UENF

Prof^o: Carlos Roberto Ribeiro Matos (D. Sc., Química) – CCT – UENF

Prof^o: Rodrigo Rodrigues de Oliveira (D. Sc., Química Orgânica) – UENF
(Orientador)

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, quero agradecer a DEUS, pelo dom da vida e por ter me proporcionado todas as coisas que alcancei até hoje e que espero alcançar futuramente.

Aos meus pais, pelo apoio que sempre me deram. Em especial ao meu pai por todo ensinamento que me deu que levarei por toda minha vida, infelizmente não está mais presente entre nós, mas sei que está muito orgulhoso por eu me tornar Doutora.

Ao Professor Rodrigo Rodrigues de Oliveira por me orientar durante todo tempo no laboratório para realizar essa pesquisa e construir este trabalho, e a pela sua amizade nesses dez anos.

Aos amigos de laboratório, Adriana Lima, Amaro Ramos, Isabela Pereira, Fernanda Braga, Carolina Ramos, Gabriela Vigneron, Luana Batista e Marcelo Mathias pela amizade que construímos ao longo de todo esse tempo, a motivação, a ajuda oferecida quando necessária e toda a força que me deram nos momentos difíceis que passei.

Aos colegas e amigos que tenho desde a turma da graduação por todo apoio e carinho oferecidos durante todo esse tempo.

Às minhas primas Larissa Manhães e Claudia Gonçalves e aos amigos da vida que sempre me motivaram e me proporcionaram muitas alegrias.

A todos que de alguma forma me ajudaram a construir este trabalho, o meu muito obrigado!

RESUMO

SALES, Queitilane Souza; D.Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Julho, 2019. **Estudo fitoquímico da espécie *Pourouma guianensis* (Urticaceae)**. Professor Orientador: Prof. Rodrigo Rodrigues de Oliveira.

A espécie *Pourouma guianensis*, pertencente à família Urticaceae, é encontrada em toda bacia Amazônica e Mata Atlântica, principalmente, em florestas de terra firme. Apresenta relatos de atividade leishmanicida, larvicida, antimicrobiana e antioxidante. Na medicina popular os frutos verdes são utilizados para curar feridas e a infusão da casca do caule é usada para o tratamento de disenteria. Seu perfil químico é caracterizado por substâncias da classe de triterpenos, flavonoides e esteroides. Os triterpenos e flavonoides apresentam um vasto campo de estudo, especialmente como candidatos ou protótipos de novos fármacos. O presente estudo teve como objetivo contribuir para o esclarecimento da composição química presente nas folhas e caule da *P. guianensis*. O material botânico, folhas e caule, após coleta, foram secos, triturados e submetidos à maceração contínua pelo extrator Soxhlet, utilizando diclorometano e metanol para o caule e apenas metanol para as folhas. O extrato em diclorometano do caule foi fracionado pela Cromatografia Contracorrente de Alto Desempenho (CCCAD) e pela Cromatografia em Coluna (CC), as frações obtidas foram analisadas por técnicas espectroscópicas de RMN unidimensional e bidimensional e Massas. O extrato metanólico das folhas foi analisado pela Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência (CLUE-DAD-EM) e fracionado por partições sucessivas com solventes imiscíveis em ordem crescente de polaridade (diclorometano, acetato de etila e n-butanol). O fracionamento da fração em acetato de etila também foi realizado por CCCAD e analisado por RMN e CG-MS. Esse trabalho resultou na identificação de nove substâncias no caule, sendo duas descritas pela primeira vez na espécie (vomifoliol e ácido $2\beta,3\alpha,19\alpha,23$ -tetraidroxiurs-12-en-28-óico) e duas inéditas na literatura (5,8;3,6-diepóxidotetraidromegastigman-9,7-diona e ácido 23- β -D-xilopiranosídeo-3 β ,23-diidroxiurs-12-en-28-óico). Já nas folhas, a análise por CLUE-DAD-EM permitiu identificar 10 substâncias: dois aril propanóides e oito flavonas glicosiladas com aglicona derivada de apigenina, luteonina e crisoeriol, relatados pela primeira vez no gênero. Três flavonoides foram identificados na fração em acetato de etila, oriunda

do extrato metanólico das folhas, sendo esses descritos pela primeira vez na espécie. Esses resultados corroboram com o perfil químico das espécies pertencentes à mesma subfamília e apontam as flavonas C-glicosiladas como marcadores quimiotaxonômicos.

Palavras-chave: *Pourouma guianensis*, Cromatografia a Líquido de Ultra Eficiência, Cromatografia Contracorrente, norsesqueterpenos, triterpeno.

ABSTRACT

SALES, Queitilane Souza; D. Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, July, 2019. **Phytochemical study of *Pourouma guianensis* (Urticaceae)**. Campos dos Goytacazes, RJ. Advisor: Prof. D. Sc. Rodrigo Rodrigues de Oliveira.

Pourouma guianensis (Urticaceae) is found all over the Amazon basin and the Atlantic Forest, mainly in solid ground forest. Biological activities such as leishmanicide, larvicide, antimicrobial and antioxidant are reported for *P. guianensis*. In folk medicine, its immature fruits are used to treat wounds and stem bark infusion for dysentery treatment. *P. guianensis* chemical profile is characterized by triterpenes, flavonoids and steroids. Triterpenes and flavonoids are candidates or prototypes for new drugs, since these metabolites present a vast field of study. The aim of this study was to contribute for the knowledge of *P. guianensis* chemical composition. Collected leaves and stems were dried, ground and extracted using Soxhlet apparatus. Stems were extracted with dichloromethane and methanol, while leaves were extracted with methanol. Stems dichloromethane extract were fractionated by High Performance Counter Current Chromatography (HPCCC) and Column Chromatography (CC). Obtained fractions were analyzed by uni and bidimensional NMR and Mass Spectrometry (MS). Leaves methanolic extract were analyzed by Ultra High Performance Liquid Chromatography (UPLC-DAD-MS) and were fractionated by liquid-liquid extraction using immiscible solvents in rising polarity order (dichloromethane, ethyl acetate and n-butanol). Ethyl acetate fraction were also fractionated by HPCCC and analyzed by NMR and MS. Nine substances were identified in the stem extract, with two substances being reported for the first time in *P. guianensis* (vomifoliol and $2\alpha,3\beta,19\alpha,23$ -tetrahydroxyurs-12-en-28-oic acid), besides two substance unpublished in the literature (5,8;3,6-diepoxytetrahydromegastigman-9,7-dione and 23- β -D-xylopyranoside-3 β ,23-dihydroxyurn-12-en-28-oic acid). Ten substances were identified in the leaves methanol extract by UPLC-DAD-MS, two arylpropanoids and eight glycosylated flavones with derived aglycone from apigenin, luteonin and crysoeriol, first time reported in the genus. Three flavonoids were identified in ethyl acetate fraction of leaves methanolic extract, being first time described in *P. guianensis*. The results

corroborate with reported studies of other species belonging to the same subfamily and indicate the C-glycosylated flavones as chemotaxonomic markers.

Key-words: *Pourouma guianensis*, Ultra High Performance Liquid Chromatography, Countercurrent Chromatography, norketerpenes, triterpene.

Lista de Figura

| | |
|--|----|
| Figura 1. Imagem da espécie <i>Pourouma guianensis</i> | 30 |
| Figura 2. Estrutura das substâncias identificadas na espécie <i>P. guianensis</i> | 35 |
| Figura 3. Fluxograma de obtenção inicial dos extratos em diclorometano e metanol do caule da <i>P. guianensis</i> (PGCD e PGCM)..... | 41 |
| Figura 4. Fluxograma do fracionamento do extrato PGCD..... | 40 |
| Figura 5. Fluxograma de isolamento de G1 e G2 oriundas da fração PGCD 3..... | 44 |
| Figura 6. Fluxograma de isolamento de G3 e G4 oriundo da fração PGCD 5..... | 45 |
| Figura 7. Fluxograma de isolamento de G5 oriundo da fração PGCD 8. | 46 |
| Figura 8. Fluxograma de isolamento das substâncias G6 , G7 , G8 , G9 , G10 e G11 | 47 |
| Figura 9. Fluxograma de obtenção do extrato metanólico das folhas da <i>P. guianensis</i> (PGM) através do aparelho de Soxhlet. | 49 |
| Figura 10. Fluxograma do fracionamento inicial do extrato metanólico das folhas da <i>P. guianensis</i> (PGFM). | 49 |
| Figura 11. Fluxograma de purificação da fração em acetato de etila (PGFA). | 51 |
| Figura 12. Fluxograma de isolamento das substâncias G12 , G13 e G14 | 52 |
| Figura 13. Espectro de RMN ¹ H (500 MHz) em CDCl ₃ de G1 | 59 |
| Figura 14. Ampliação da região de δ _H 0,7- 2,4 do espectro de RMN ¹ H (500 MHz) em CDCl ₃ de G1 | 59 |
| Figura 15. Espectro de RMN ¹³ C (125 MHz) em CDCl ₃ de G1 | 60 |
| Figura 16. Espectro de RMN ¹³ C DEPT Q (125 MHz) em CDCl ₃ de G1 | 60 |
| Figura 17. Mapa de correlação heteronuclear HSQC em CDCl ₃ de G1 | 61 |
| Figura 18. Mapa de correlação heteronuclear HMBC em CDCl ₃ de G1 | 61 |
| Figura 19. Cromatograma da substância G1 | 62 |
| Figura 20. Espectro da substância G1 | 62 |
| Figura 21. Espectro de RMN ¹ H (500 MHz) em CDCl ₃ de G2 | 66 |
| Figura 22. Ampliação da região de δ _H 0,8- 3,7 do espectro de RMN ¹ H (500 MHz) em CDCl ₃ de G2 | 66 |
| Figura 23. Espectro de RMN ¹³ C (125 MHz) em CDCl ₃ de G2 | 67 |
| Figura 24. Espectro de RMN ¹³ C DEPT Q (125 MHz) em CDCl ₃ de G2 | 67 |
| Figura 25. Mapa de correlação heteronuclear HSQC em CDCl ₃ de G2 | 68 |
| Figura 26. Mapa de correlação heteronuclear HMBC em CDCl ₃ de G2 | 68 |
| Figura 27. Cromatograma da substância G2 | 69 |
| Figura 28. Espectro da substância G2 | 69 |
| Figura 29. Espectro de RMN ¹ H (500 MHz) em CDCl ₃ de G5 | 73 |
| Figura 30. Espectro de RMN ¹³ C (125 MHz) em CDCl ₃ de G5 | 73 |
| Figura 31. Espectro de RMN ¹³ C DEPT Q (125 MHz) em CDCl ₃ de G5 | 74 |
| Figura 32. Mapa de correlação heteronuclear HSQC em CDCl ₃ de G5 | 74 |
| Figura 33. Cromatograma da substância G5 | 75 |
| Figura 34. Espectro da substância G5 | 75 |
| Figura 35. Simulação realizada pelo programa ACD/3D para confirmação da estereoquímica da substância G6 | 77 |
| Figura 36. Espectro de RMN ¹ H (500 MHz) em DMSO de G6 | 79 |

| | |
|---|-----|
| Figura 37. Espectro de DEPT Q (125 MHz) em DMSO de G6 | 79 |
| Figura 38. Mapa de correlação heteronuclear HSQC em DMSO de G6 | 80 |
| Figura 39. Mapa de correlação heteronuclear HMBC em DMSO de G6 | 80 |
| Figura 40. Mapa de correlação homonuclear ¹ H- ¹ H-NOESY em DMSO de G6 | 81 |
| Figura 41. Cromatograma da substância G6 | 81 |
| Figura 42. Espectro da substância G6 | 81 |
| Figura 43. Espectro de RMN ¹ H (500 MHz) em CDCl ₃ de G7 | 85 |
| Figura 44. Espectro de RMN ¹³ C (125 MHz) em CDCl ₃ de G7 | 85 |
| Figura 45. Espectro de RMN DEPT Q (125 MHz) em CDCl ₃ de G7 | 86 |
| Figura 46. Mapa de correlação heteronuclear HSQC em CDCl ₃ de G7 | 86 |
| Figura 47. Mapa de correlação heteronuclear HMBC em CDCl ₃ de G7 | 87 |
| Figura 48. Cromatograma da substância G7 | 87 |
| Figura 49. Espectro da substância G7 | 88 |
| Figura 50. Espectro de RMN ¹ H (500 MHz) em DMSO de G8 | 92 |
| Figura 51. Espectro de RMN ¹³ C (125 MHz) em DMSO de G8 | 92 |
| Figura 52. Espectro de DEPT Q (125 MHz) em DMSO de G8 | 93 |
| Figura 53. Mapa de correlação heteronuclear HSQC em DMSO de G8 | 93 |
| Figura 54. Mapa de correlação heteronuclear HSQC em DMSO de G8 | 94 |
| Figura 55. Espectro de massas de alta resolução ESI-EM referente ao íon m/z 603 e sua respectiva estrutura química..... | 97 |
| Figura 56. Espectro de RMN ¹ H (500 MHz) em DMSO de G9 | 99 |
| Figura 57. Mapa de correlação heteronuclear HSQC em DMSO de G9 | 99 |
| Figura 58. Mapa de correlação heteronuclear HMBC em DMSO de G9 | 100 |
| Figura 59. Espectro de RMN ¹ H (500 MHz) em DMSO de G10 | 104 |
| Figura 60. Espectro de DEPT Q (125 MHz) em DMSO de G10 | 104 |
| Figura 61. Mapa de correlação heteronuclear HSQC em DMSO de G10 | 105 |
| Figura 62. Mapa de correlação heteronuclear HMBC em DMSO de G10 | 105 |
| Figura 63. Espectro de RMN ¹ H (500 MHz) em DMSO de G11 | 110 |
| Figura 64. Espectro de RMN ¹³ C (125 MHz) em DMSO de G11 | 110 |
| Figura 65. Espectro de DEPT Q (125 MHz) em DMSO de G11 | 111 |
| Figura 66. Mapa de correlação heteronuclear HSQC em DMSO de G11 | 111 |
| Figura 67. Mapa de correlação heteronuclear HMBC em DMSO de G11 | 112 |
| Figura 68. Cromatograma CLUE-UV do extrato metanólico da <i>P. guianensis</i> em 345 nm..... | 113 |
| Figura 69. Espectro de massas de alta resolução ESI-EM do pico 1 referente ao ácido clorogênico (m/z 353) e sua respectiva estrutura química..... | 115 |
| Figura 70. Espectro de massas de alta resolução ESI-EM do pico 2 referente ao ácido 3-O-feruloilquínico (m/z 367) e sua respectiva estrutura química..... | 115 |
| Figura 71. Espectro de massas de alta resolução ESI-EM do pico 3 referente a apigenina 6,8-di-C-glucosídeo (m/z 593) e sua respectiva estrutura química..... | 116 |
| Figura 72. Espectro de massas de alta resolução ESI-EM do pico 4 referente a apigenina 6-C-glicosil-7-O-glucosídeo (m/z 593) e sua respectiva estrutura química..... | 117 |
| Figura 73. Espectro de massas de alta resolução ESI-EM do pico 5 referente a luteolina 8-C-glucosídeo (m/z 447) e sua respectiva estrutura química..... | 117 |

| | |
|--|-----|
| Figura 74. Espectro de massas de alta resolução ESI-EM do pico 6 referente a luteonina 6-C-glucosídeo (m/z 447) e sua respectiva estrutura química. | 118 |
| Figura 75. Espectro de massas de alta resolução ESI-EM do pico 7 referente a apigenina 6-C-arabinosídeo-8-C-glucosídeo (m/z 563) e sua respectiva estrutura química. | 118 |
| Figura 76. Espectro de massas de alta resolução ESI-EM do pico 8 referente a apigenina 6-C-glucosídeo-8-C-arabinosídeo (m/z 563) e sua respectiva estrutura química. | 119 |
| Figura 77. Espectro de massas de alta resolução ESI-EM do pico 9 referente a apigenina 6-C-glucosídeo (m/z 431) e sua respectiva estrutura química. | 119 |
| Figura 78. Espectro de massas de alta resolução ESI-EM do pico 10 referente a chrisoeriol 8-C-glucosídeo (m/z 461) e sua respectiva estrutura química. | 120 |
| Figura 79. Espectro de RMN ¹ H (500 MHz) em DMSO de G12 | 126 |
| Figura 80. Ampliação da região de δ_H 4,5 – 7,9 do espectro de RMN ¹ H (500 MHz) em DMSO de G12 | 126 |
| Figura 81. Espectro de RMN ¹³ C (125 MHz) em DMSO de G12 | 127 |
| Figura 82. Mapa de correlação heteronuclear HSQC em DMSO de G12 | 127 |
| Figura 83. Mapa de correlação heteronuclear HMBC em DMSO de G12 | 128 |
| Figura 84. Espectro de RMN ¹ H (500 MHz) em DMSO de G13 | 132 |
| Figura 85. Ampliação da região de δ_H 4,5 – 7,9 do espectro de RMN ¹ H (500 MHz) em DMSO de G13 | 132 |
| Figura 86. Espectro de RMN ¹³ C (125 MHz) em DMSO de G13 | 133 |
| Figura 87. Mapa de correlação heteronuclear HSQC em DMSO de G13 | 133 |
| Figura 88. Mapa de correlação heteronuclear HMBC em DMSO de G13 | 134 |
| Figura 89. Espectro de RMN ¹ H (500 MHz) em DMSO de G14 | 138 |
| Figura 90. Ampliação da região de δ_H 6,4 – 7,4 do espectro de RMN ¹ H (500 MHz) em DMSO de G14 | 138 |
| Figura 91. Espectro de RMN ¹³ C (125 MHz) em DMSO de G14 | 139 |
| Figura 92. Mapa de correlação heteronuclear HSQC em DMSO de G14 | 139 |
| Figura 93. Mapa de correlação heteronuclear HMBC em DMSO de G14 | 140 |

Lista de Tabela

| | |
|--|----|
| Tabela 1. Os gêneros e espécies da família Urticaceae com distribuição no Brasil (FLORA DO BRASIL, 2019)..... | 21 |
| Tabela 2. Gêneros da Urticaceae inclusos nas tribos (WU et al., 2013; APG IV, 2016)..... | 27 |
| Tabela 3. Substâncias identificadas na espécie <i>P. guianensis</i> | 32 |
| Tabela 4. Atividades biológicas apresentadas pela espécie <i>P. guianensis</i> | 38 |
| Tabela 5. Estudo cromatográfico do extrato PGCD (3g)..... | 44 |
| Tabela 6. Estudo cromatográfico da fração PGCD 3 (167,2 mg)..... | 44 |
| Tabela 7. Estudo cromatográfico da fração PGCD 5 (167,7mg)..... | 45 |
| Tabela 8. Estudo cromatográfico da fração PGCD 8 (539,6 mg)..... | 46 |
| Tabela 9. Estudo cromatográfico da fração PGCD13 (207,8 mg)..... | 48 |
| Tabela 10. Massas dos extratos brutos e frações obtidas das folhas da <i>P. guianensis</i> pela extração em Soxhlet..... | 50 |
| Tabela 11. Estudo cromatográfico da fração PGFA2* (901,6 mg)..... | 52 |
| Tabela 12. Dados de RMN ¹ H (500 MHz) e RMN ¹³ C (125 MHz) de G1 em CDCl ₃ , correlações observadas no espectro de HSQC e HMBC e comparação com os valores de referência do modelo Mo-1, em CDCl ₃ . Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm e as constantes de acoplamento (<i>J</i>), em Hz..... | 58 |
| Tabela 13. Dados de RMN ¹ H (500 MHz) e RMN ¹³ C (125 MHz) de G2 em CDCl ₃ , correlações observadas no espectro de HSQC e HMBC e comparação com os valores de referência do modelo Mo-2, em CDCl ₃ . Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm e as constantes de acoplamento (<i>J</i>), em Hz..... | 65 |
| Tabela 14. Dados de RMN ¹ H (500 MHz) e RMN ¹³ C (125 MHz) de G5 em CDCl ₃ , correlações observadas no espectro de HSQC e HMBC e comparação com os valores de referência do modelo Mo-3, em CDCl ₃ . Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm e as constantes de acoplamento (<i>J</i>), em Hz..... | 72 |
| Tabela 15. Dados de RMN ¹ H (500 MHz) e RMN ¹³ C (125 MHz) de G6 em DMSO, correlações observadas no espectro de HSQC, HMBC e NOESY. Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm e as constantes de acoplamento (<i>J</i>), em Hz..... | 78 |
| Tabela 16. Dados de RMN ¹ H (500 MHz) e RMN ¹³ C (125 MHz) de G7 em CDCl ₃ , correlações observadas no espectro de HSQC e HMBC e comparação com os valores de referência do modelo Mo-4, em CDCl ₃ . Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm e as constantes de acoplamento (<i>J</i>), em Hz..... | 84 |

| | |
|---|-----|
| Tabela 17. Possíveis configurações relativas e valores de deslocamentos químicos para triterpeno 2,3-diidroxilados (MAHATO & KUNDU, 1994). | 90 |
| Tabela 18. Dados de RMN ^1H (500 MHz) e RMN ^{13}C (125 MHz) de G8 em DMSO, correlações observadas no espectro de HSQC e HMBC e comparação com os valores de referência do modelo Mo-5, em Piridina. Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm e as constantes de acoplamento (J), em Hz..... | 91 |
| Tabela 19. Dados de valores de açúcares ligados a triterpenos..... | 96 |
| Tabela 20. Dados de RMN ^1H (500 MHz) e RMN ^{13}C (125 MHz) de G9 em DMSO, correlações observadas no espectro de HSQC e HMBC e comparação com os valores de referência do modelo Mo-6, em Piridina. Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm e as constantes de acoplamento (J), em Hz..... | 98 |
| Tabela 21. Dados de RMN ^1H (500 MHz) e RMN ^{13}C (125 MHz) de G10 em DMSO, correlações observadas no espectro de HSQC e HMBC e comparação com os valores de referência do modelo Mo-7, em Piridina. Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm e as constantes de acoplamento (J), em Hz..... | 103 |
| Tabela 22. Dados de RMN ^1H (500 MHz) e RMN ^{13}C (125 MHz) de G11 em DMSO, correlações observadas no espectro de HSQC e HMBC e comparação com os valores de referência do modelo Mo-8, em MeOD. Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm e as constantes de acoplamento (J), em Hz..... | 109 |
| Tabela 23. Aril propanoides e flavonoides glicosilados identificados no extrato metanólico de <i>P. guianensis</i> utilizando CLUE-DAD-ESI-Q-TOF-EM..... | 114 |
| Tabela 24. Dados de RMN ^1H (500 MHz) e RMN ^{13}C (125 MHz) de G12-A em DMSO, correlações observadas no espectro de HSQC e HMBC e comparação com os valores de referência do modelo Mo-9, em DMSO. Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm e as constantes de acoplamento (J), em Hz. | 124 |
| Tabela 25. Dados de RMN ^1H (500 MHz) e RMN ^{13}C (125 MHz) de G12-B em DMSO, correlações observadas no espectro de HSQC e HMBC e comparação com os valores de referência do modelo Mo-10, em DMSO. Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm e as constantes de acoplamento (J), em Hz. | 125 |
| Tabela 26. Dados de RMN ^1H (500 MHz) e RMN ^{13}C (125 MHz) de G13 em DMSO, correlações observadas no espectro de HSQC e HMBC e comparação com os valores de referência do modelo Mo-10, em DMSO. Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm e as constantes de acoplamento (J), em Hz..... | 131 |

Tabela 27. Dados de RMN ^1H (500 MHz) e RMN ^{13}C (125 MHz) de G14 em DMSO, correlações observadas no espectro de HSQC e HMBC e comparação com os valores de referência do modelo Mo-9, em DMSO. Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm e as constantes de acoplamento (J), em Hz..... 137

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| 1 INTRODUÇÃO | 17 |
| 2 OBJETIVOS | 18 |
| 2.1 OBJETIVO GERAL | 19 |
| 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 19 |
| 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 19 |
| 3.1 FAMÍLIA URTICACEAE JUSS. | 20 |
| 3.1.1 O gênero <i>Pourouma Aubl.</i> | 28 |
| 3.2 A ESPÉCIE <i>POUROUMA GUIANENSIS</i> AUBL. | 29 |
| 4 MATERIAIS E MÉTODOS | 39 |
| 4.1 MATERIAIS DO ENSAIO FITOQUÍMICO | 39 |
| 4.1.1 Reagentes, solventes e soluções | 39 |
| 4.1.2 Instrumentação | 39 |
| 4.1.2.1 <i>Cromatografia Contracorrente de Alto Desempenho (CCCAD)</i> | 39 |
| 4.1.2.2 <i>Cromatografia a Gás</i> | 40 |
| 4.1.2.3 <i>Cromatografia a Líquido de Ultra Eficiência</i> | 40 |
| 4.1.2.4 <i>Espectrometria de Massas de Alta Resolução</i> | 40 |
| 4.1.2.5 <i>Ressonância Magnética Nuclear (RMN)</i> | 40 |
| 4.1.2.6 <i>Outros equipamentos</i> | 40 |
| 4.2 MATERIAL BOTÂNICO | 41 |
| 4.3 METODOLOGIAS DO ESTUDO FITOQUÍMICO | 41 |
| 4.3.1 Obtenção dos extratos brutos do caule da <i>P. guianensis</i> | 41 |
| 4.3.1.1 <i>Análise preliminar dos extratos brutos</i> | 42 |
| 4.3.1.2 <i>Escolha do sistema de solvente para a Cromatografia Contracorrente de Alto Desempenho (CCCAD)</i> | 42 |
| 4.3.1.3 <i>Purificação e isolamento dos constituintes químicos do extrato em diclorometano do caule de <i>P. guianensis</i> (PGCD)</i> | 42 |
| 4.3.1.4 <i>Procedimento cromatográfico da fração PGCD 3: isolamento de G1 e G2</i> | 44 |
| 4.3.1.5 <i>Procedimento cromatográfico da fração PGCD5: isolamento de G3 e G4</i> | 45 |
| 4.3.1.6 <i>Procedimento cromatográfico da fração PGCD 8: isolamento de G5</i> | 45 |
| 4.3.1.7 <i>Procedimento cromatográfico da fração PGCD13: isolamento de G6, G7, G8, G9, G10 e G11</i> | 46 |
| 4.3.2 Obtenção do extrato bruto e frações das folhas da <i>P. guianensis</i> | 48 |
| 4.3.2.1 <i>Análise cromatográfica do extrato bruto metanólico por Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência (CLUE)</i> | 50 |
| 4.3.2.2 <i>Análise das frações obtidas a partir do extrato bruto metanólico</i> | 51 |
| 4.3.2.3 <i>Purificação e isolamento dos constituintes químicos da fração em acetato de etila das folhas de <i>P. guianensis</i> (PGFA)</i> | 51 |

| | |
|---|-----|
| 4.3.2.4 Procedimento cromatográfico da fração PGFA2*: isolamento e / ou identificação de G12 , G13 e G14 | 52 |
| 5 SUBSTÂNCIAS IDENTIFICADAS | 53 |
| 6 RESULTADOS E DISCUSSÃO | 56 |
| 6.1 ESTUDO QUÍMICO | 56 |
| 6.1.1 Caule | 56 |
| 6.1.1.1 Fração em diclorometano do caule PGCD 3 | 56 |
| 6.1.1.1.1 Determinação estrutural de G1 | 56 |
| 6.1.1.1.2 Determinação estrutural de G2 | 62 |
| 6.1.1.2 Fração em diclorometano do caule PGCD 8 | 69 |
| 6.1.1.2.1 Determinação estrutural de G5 | 69 |
| 6.1.1.3 Fração em diclorometano do caule PGCD 13 | 75 |
| 6.1.1.3.1 Determinação estrutural de G6 | 75 |
| 6.1.1.3.2 Determinação estrutural de G7 | 82 |
| 6.1.1.3.3 Determinação estrutural de G8 | 88 |
| 6.1.1.3.4 Determinação estrutural de G9 | 94 |
| 6.1.1.3.5 Determinação estrutural de G10 | 94 |
| 6.1.1.3.6 Determinação estrutural de G11 | 106 |
| 6.1.2 Folhas | 113 |
| 6.1.2.1 Análise cromatográfica por CLUE-DAD-EM | 113 |
| 6.1.2.1.1 Aril propanoídes | 115 |
| 6.1.2.1.2 Flavonoides | 116 |
| 6.1.2.2 Fração em acetato de etila das folhas PGFA2* | 120 |
| 6.1.2.2.1 Determinação estrutural de G12 | 120 |
| 6.1.2.2.2 Determinação estrutural de G13 | 128 |
| 6.1.2.2.3 Determinação estrutural de G14 | 134 |
| 7 CONCLUSÃO | 141 |
| 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 143 |

1 INTRODUÇÃO

O planeta Terra possui uma vasta biodiversidade que pode ser definida como o conjunto de organismos vivos de todas as origens em vários ecossistemas de que fazem parte. O Brasil possui uma enorme biodiversidade é a flora mais rica e diversificada do mundo, representando quase 19% das espécies vegetais mundiais (BOLZANI; JÚNIOR; VALLI, 2014; PIOVESAN & VIERA, 2018).

O conhecimento sobre a diversidade vegetal, o cultivo e os benefícios medicinais que inúmeras espécies vegetais podem proporcionar, ainda são incompletos. Dessa forma vale ressaltar a importância de se continuar a explorar e conhecer o potencial que a flora brasileira possui (SIMÕES et al., 2017; PIOVESAN & VIERA, 2018).

Os produtos naturais, oriundos das plantas, por sua vez, detêm uma enorme variabilidade química tanto estrutural quanto funcional. Essa diversidade metabólica é oriunda de processos evolutivos de adaptação ao meio ambiente e apresentam um papel importantíssimo para reprodução, proteção e fixação dessas espécies (RODRIGUES, 2018).

A riqueza da flora brasileira contribui significativamente para a diversidade desses metabolitos, proporcionando assim, um argumento irrefutável em favor de cada vez mais avançar os estudos na área de produtos naturais, visto que inúmeros metabolitos secundários são utilizados pela indústria farmacêutica (BOLZANI; JÚNIOR; VALLI, 2014).

Ao passo que aproximadamente 64% dos medicamentos encontrados no mercado teve origem direta ou indiretamente de fontes naturais. Esses fármacos obtidos podem sofrer modificações estruturais através de síntese parcial, tendo como objetivo melhorar as propriedades farmacológicas, ou podem ser usados como modelos moleculares para a síntese total, obtendo novos medicamentos (PINTO et al., 2002; MACIEL et al., 2002; VALLI et al., 2013, SIMÕES et al., 2017).

Os triterpenos e flavonoides são metabolitos naturais de grande interesse por apresentarem diversas atividades biológicas. Ambas as classes apresentam um vasto campo de estudo, incluindo potenciais candidatos a protótipos de novos fármacos. Essas classes são encontradas na espécie

Pourouma guianensis que pertence à família Urticaceae (FENG et al., 2014; SILVA; DUARTE; VIEIRA FILHO, 2014) .

Até o momento a espécie *P. guianensis* apresenta relatos relacionados à atividade leishmanicida, larvicida, antimicrobiana e antioxidante. Na medicina popular os frutos verdes são utilizados para curar feridas e a infusão da casca do caule é usada para o tratamento de disenteria (TORRES-SANTOS et al., 2004; LORENZI, 2009; GAGLIOTI et al., 2013; ALMEIDA, 2014).

A necessidade de esclarecimento quanto à composição química somado a atividade biológica/farmacológica observada para extratos e frações de *P. guianensis* estimularam a investigação relacionada às substâncias encontradas nas folhas e caule dessa espécie vegetal.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Realizar a pesquisa fitoquímica da espécie *Pourouma guianensis* de modo a contribuir com o conhecimento sobre os metabólitos secundários de plantas pertencentes ao bioma Mata Atlântica.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Analisar o perfil cromatográfico do extrato metanólico das folhas da espécie *P. guianensis* através da Cromatografia à Líquido de Ultra Eficiência Acoplada a Espectrometria de Massas (CLUE-EM/EM);
- ✓ Isolar e identificar os metabólitos secundários presentes no caule e nas folhas da espécie *P. guianensis*.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 FAMÍLIA URTICACEAE JUSS.

A família Urticaceae Juss., catalogada por Jussieu em 1789, contém 56 gêneros e cerca de 1200 espécies com distribuição cosmopolita e concentradas nas regiões tropicais úmidas. No Brasil, é possível encontrar 13 gêneros e 102 espécies, sendo 25 endêmicas, conforme a **Tabela 1, p. 21** (SOUZA & LORENZI, 2005; WU et al., 2013; ROMANIUC-NETO & GAGLIOTI, 2015; FLORA DO BRASIL, 2019).

Segundo o APG IV (2016), essa família pertence à ordem Rosales e seus gêneros são subdivididos em seis tribos, conforme a **Tabela 2, p. 27**.

Tabela 1. Os gêneros e espécies da família Urticaceae com distribuição no Brasil (FLORA DO BRASIL, 2019).

| Tribos | Espécie | Distribuição Geográfica | Domínios Fitogeográficos | Origem/ Endemismo |
|-----------------------------------|---------------------------------------|---|---|-----------------------|
| Boehmeria Jacq. | <i>B. caudata</i> Sw. | Centro-Oeste (MS, GO), Sudeste (MG, ES, SP, RJ), Sul (PR, SC, RS). | Cerrado, Mata Atlântica e Pantanal | Nativa / Não Endêmica |
| | <i>B. cylindrica</i> (L.) Sw. | Norte (RO), Nordeste (AL, MA, CE, PB, PI, PE, RN, SE, BA), Centro-Oeste (MT, MS, GO, DF), Sudeste (MG, ES, SP, RJ), Sul (PR, SC, RS). | Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica e Pantanal | Nativa / Não Endêmica |
| | <i>B. pavonii</i> Wedd. | Norte (AC), Centro-Oeste (MT, MS), Sudeste (RJ). | Amazônia, Cerrado e Mata Atlântica | Nativa / Não Endêmica |
| | <i>B. ramiflora</i> Jacq. | Sul (PR). | Mata Atlântica | Nativa / Não Endêmica |
| | <i>B. ulmifolia</i> Wedd. | Norte (BA, CE), Sudeste (MG, ES, RJ, SP) | Mata Atlântica | Nativa / Não Endêmica |
| Cecropia Loefl. | <i>C. concolor</i> Willd. | Norte (AP, PA, AM, AC, RO), Nordeste (MA), Centro-Oeste (MT, MS) | Amazônia, Cerrado e Pantanal | Nativa / Endêmica |
| | <i>C. distachya</i> Huber | Norte (PA, AM, AC, AP, RR, RO), Centro-Oeste (MT) | Amazônia e Cerrado | Nativa / Não endêmica |
| | <i>C. engleriana</i> Snethl. | Norte (AM, AC, RO), Centro-Oeste (MS). | Amazônia e Pantanal | Nativa / Não Endêmica |
| | <i>C. ficifolia</i> Warb. Ex. Snethl. | Norte (AM, AC, RO, RR, AP), Centro-Oeste (MT). | Amazônia | Nativa / Não endêmica |
| | <i>C. glaziovii</i> Snethl. | Nordeste (BA), Sudeste (MG, ES, SP, RJ) Sul (PR, SC, RS) | Mata Atlântica | Nativa / Endêmica |
| | <i>C. hololeuca</i> Miq. | Nordeste (BA), Sudeste (MG, ES, SP, RJ). | Cerrado e Mata Atlântica | Nativa / Endêmica |
| | <i>C. kavanayensis</i> Cuatrec. | Norte (RR) | Amazônia | Nativa / Não endêmica |
| | <i>C. latiloba</i> Miq. | Norte (RR, AP, PA, AM, AC, RO) | Amazônia | Nativa / Não endêmica |
| | <i>C. membranacea</i> Trécul | Norte (PA, AM, AC) | Amazônia | Nativa / Não endêmica |
| | <i>C. metensis</i> Cuatrec. | Norte (RR). | Amazônia | Nativa / Não endêmica |
| | <i>C. obtusa</i> Trécul | Norte (AP, PA), Nordeste (MA). | Amazônia, Cerrado | Nativa / Não endêmica |
| | <i>C. pachystachya</i> Trécul | Norte (PA, AM, TO), Nordeste (MA, PI, CE, PB, PE, BA, AL, RN, SE), Sudeste (MG, ES, SP, RJ), Sul (PR, SC, RS). | Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica, Pantanal | Nativa/ Não endêmica |
| | <i>C. palmata</i> Willd. | Norte (RR, PA, AM, RO), Nordeste (CE, PB, PE, SE, PI, AL, MA) Centro-Oeste (MT) | Amazônia, Cerrado, Mata Atlântica | Nativa / Não endêmica |
| | <i>C. peltada</i> L. | Norte (AC, RR, AM, PA) | Amazônia | Nativa / Não endêmica |
| | <i>C. polystachya</i> Trécul | Norte (AC, RO) | Amazônia | Nativa / Não endêmica |
| <i>C. purpurascens</i> C. C. Berg | Norte (AM) | Amazônia | Nativa / Não endêmica | |

| | | | | |
|--|---|---|-------------------------|-----------------------|
| Coussapoa Aubl. | <i>C. saxtilis</i> Snethl. | Nordeste (PI, BA), Centro-Oeste (MT, GO), Sudeste (MG) | Caatinga, Cerrado | Nativa / Não endêmica |
| | <i>C. sciadophylla</i> Mart. | Norte (RR, AP, PA, AM, AC, RO), Nordeste (MA), Centro-Oeste (MT) | Amazônia | Nativa / Não endêmica |
| | <i>C. silvae</i> C. C. Berg | Norte (PA, AM) | Amazônia | Nativa / Não endêmica |
| | <i>C. ulei</i> Snethl. | Norte (PA, AM) | Amazônia | Nativa / Endêmica |
| | <i>C. angustifolia</i> Aubl. | Norte (AP, PA), Nordeste (MA) | Amazônia | Nativa / Endêmica |
| | <i>C. arachnoidae</i> Akkermans & C. C. Berg | Norte (AP) | Amazônia | Nativa / Não endêmica |
| | <i>C. asperifolia</i> Trécul | - | - | Nativa / Não endêmica |
| | <i>C. asperifolia</i> Trécul subsp. <i>asperifolia</i> | Norte (AP, PA, AM) | Amazônia | Nativa / Não endêmica |
| | <i>C. asperifolia</i> subsp. <i>magnifolia</i> (Trécul) Akkermans & C. C. Berg | Norte (RR, PA, AM, AC, RO) Centro-Oeste (MT) | Amazônia | Nativa / Não endêmica |
| | <i>C. asperifolia</i> subsp. <i>rhamnideos</i> (Standl.) Akkermans & C. C. Berg | Norte (RR, AM) | Amazônia | Nativa / Não endêmica |
| | <i>C. crassivenosa</i> Mildbr. | Norte (RR, AM) | Amazônia | Nativa / Não endêmica |
| | <i>C. cupularis</i> Akkermans & C. C. Berg | Norte (RO) | Amazônia | Nativa / Não endêmica |
| | <i>C. curranii</i> S. F. Blake | Nordeste (BA), Sudeste (MG, ES, RJ) | Cerrado, Mata Atlântica | Nativa / Endêmica |
| | <i>C. ferruginea</i> Trécul | Norte (RR, AP) | Amazônia | Nativa / Não endêmica |
| | <i>C. floccosa</i> Akkermans C. C. Berg | Sudeste (MG) | Mata Atlântica | Nativa / Endêmica |
| | <i>C. latifolia</i> Aubl. | Norte (AP, PA, AM, AC, RR), Nordeste (MA) | Amazônia | Nativa / Não endêmica |
| | <i>C. microcarpa</i> (Schott) Rizzini | Nordeste (PB, PE, BA, PI, AL, CE, SE), Sudeste (MG, ES, SP, RJ), Sul (PR, SC, RS) | Cerrado, Mata Atlântica | Nativa / Endêmica |
| | <i>C. microcephala</i> Trécul | Norte (AM) | Amazônia | Nativa / Não endêmica |
| | <i>C. nitida</i> Miq. | Norte (AP, PA, AM, AC) | Amazônia | Nativa / Não endêmica |
| | <i>C. orthoneura</i> Standl. | Norte (AM, RO, RR) | Amazônia | Nativa / Não endêmica |
| <i>C. ovalifolia</i> Trécul | Norte (AC, AM) | Amazônia | Nativa / Não endêmica | |
| <i>C. pachyphylla</i> Akkermans & C. C. Berg | Nordeste (BA), Sudeste (ES) | Mata Atlântica | Nativa / Endêmica | |
| <i>C. parvifolia</i> Standl | Norte (PA, AM) | Amazônia | Nativa / Não endêmica | |

| | | | | |
|--------------------------|---|--|---|------------------------------|
| | <i>C. scabra</i> Akkermans & C. C. Berg | Norte (RO, AC) | Amazônia | Nativa / Endêmica |
| | <i>C. sprucei</i> Mildbr. | Norte (PA, AM, RR) | Amazônia | Nativa / Endêmica |
| | <i>C. tessmannii</i> Mildbr. | Norte (PA, AM, RO) | Amazônia | Nativa / Não endêmica |
| | <i>C. trinervia</i> Spruce ex Mildbr. | Norte (PA, AM), Nordeste (MA), Centro-Oeste (MT) | Amazônia | Nativa / Não endêmica |
| | <i>C. villosa</i> Poepp. & Endl. | Norte (RR, PA, AM, AC), Nordeste (MA), Centro-Oeste (MT) | Amazônia | Nativa / Não endêmica |
| | <i>C. viridifolia</i> Cuatrec. | Norte (AM, RR) | Amazônia | Nativa / Não endêmica |
| Hemistylus Benth. | <i>H. brasiliensis</i> Wedd | Centro-Oeste (DF, GO), Sudeste (MG) | Cerrado | Nativa / Não endêmica |
| Laportea Gaudich | <i>L. aestuans</i> (L.) Chew | Norte (PA, AM, AC, RO, TO), Nordeste (PI, CE, RN, PB, BA, AL, MA, PE, SE), Centro-Oeste (GO, MT), Sudeste (MG, SP, RJ), Sul (PR, SC) | Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica | Nativa / Não endêmica |
| Myriocarpa Benth. | <i>M. cordifolia</i> Liebm. | Norte (AC, RO), Nordeste (BA), Centro-Oeste (GO, MT) | Amazônia, Cerrado, Mata Atlântica | Nativa / Não endêmica |
| | <i>M. stipitada</i> Benth. | Nordeste (BA), Centro-Oeste (GO, MS, MT), Sudeste (SP, RJ, ES, MG), Sul (PR) | Cerrado, Mata Atlântica e Pantanal | Nativa / Não endêmica |
| Parietaria L. | <i>P. debilis</i> G. Forst. | Sudeste (SP, RJ, MG), Sul (PR, SC, RS) | Mata Atlântica | Subespontânea / Não endêmica |
| | <i>P. officinalis</i> L. | Nordeste (BA), Sudeste (ES, MG, SP, RJ), Sul (PR, SC) | Mata Atlântica | Subespontânea / Não endêmica |
| Phenax Wedd. | <i>P. angustifolius</i> (Kunth) Wedd. | Norte (AC), Sudeste (ES, MG, RJ, SP) | Amazônia, Mata Atlântica | Nativa / Não endêmica |
| | <i>P. sonneratii</i> (Poir.) Wedd. | Norte (RO), Nordeste (CE, PE, BA, AL, SE), Centro-Oeste (GO, MS, MT), Sudeste (ES, MG, SP, RJ) Sul (PR, SC, RS) | Amazônia, Cerrado, Mata Atlântica | Nativa / Não endêmica |
| Pilea Lindl. | <i>P. aparadensis</i> P. Brack | Sul (SC, RS) | Mata Atlântica | Nativa / Endêmica |
| | <i>P. apiculata</i> Killip | Sudeste (RJ) | Mata Atlântica | Nativa / Não endêmica |
| | <i>P. astrogramma</i> Miq. | Sul (PR, SC) | Mata Atlântica | Nativa / Endêmica |
| | <i>P. brasiliensis</i> Gaglioti, Romanus, A. K. Monro | Centro-Oeste (DF, GO, MT), Sudeste (MG) | Cerrado | Nativa / Endêmica |

| | | | | |
|-----------------------|--|---|---|------------------------------|
| | <i>P. cadierei</i> Gagnep. & Guillaumin | Nordeste (BA), Sudeste (ES, MG, RJ, SP), Sul (PR, SC) | Mata Atlântica | Subespontânea / Não endêmica |
| | <i>P. dauciodora</i> Wedd. ex Pav. | Norte (AC) | Amazônia | Nativa / Não endêmica |
| | <i>P. flammula</i> P. Brack | Sul (SC, RS) | Mata Atlântica | Nativa / Endêmica |
| | <i>P. hilariana</i> Wedd. | Sudeste (RJ, SP), Sul (PR, SC, RS) | Mata Atlântica | Nativa / Endêmica |
| | <i>P. hyalina</i> Fenzl | Norte (TO), Nordeste (PB, BA, AL, SE), Centro-Oeste (GO) Sudeste (ES, MG, SP, RJ), Sul (PR) | Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica | Nativa / Não endêmica |
| | <i>P. hydra</i> P. Brack | Sul (SC, RS) | Mata Atlântica | Nativa / Não endêmica |
| | <i>P. imparifolia</i> Wedd. | Norte (AM, AC) | Amazônia | Nativa / Não endêmica |
| | <i>P. microphylla</i> (L.) Liebm. | Norte (AC, AM, AP, PA, RO, RR, TO), Nordeste (AL, BA, CE, MA, RN, PB, PE, PI, SE) Centro-Oeste (GO, DF, MT, MS), Sudeste (MG, ES, SP, RJ), Sul (PR, SC, RS) | Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica | Subespontânea / Não endêmica |
| | <i>P. nummularifolia</i> (Sw.) Wedd. | Norte (PA), Nordeste (BA, MA, PI), Sudeste (ES, MG, SP, RJ), Sul (PR, SC) | Amazônia, Caatinga, Mata atlântica | Nativa / Não endêmica |
| | <i>P. pubescens</i> Liebm. | Norte (AC, RO), Nordeste (BA), Centro-Oeste (DF, GO, MS, MT), Sudeste (ES, MG SP, RJ), Sul (PR, SC, RS) | Amazônia, Cerrado, Mata Atlântica, Pantanal | Nativa / Não endêmica |
| | <i>P. rhizobola</i> Miq. | Norte (PA), Nordeste (BA), Sudeste (ES, MG, RJ, SP), Sul (PR, SC) | Amazônia, Mata Atlântica | Nativa / Endêmica |
| Pourouma Aubl. | <i>P. acuminata</i> Mart. ex Miq. | Norte (AM) | Amazônia | Nativa / Não endêmica |
| | <i>P. apiculata</i> Spruce ex Benoist | Norte (AM, RR, RO), Centro-Oeste (MT) | Amazônia | Nativa / Não endêmica |
| | <i>P. bicolor</i> Mart. | - | - | Nativa / Não endêmica |
| | <i>P. bicolor</i> Mart. subsp. <i>bicolor</i> | Norte (RR, AP, PA, AM, AC, RO) Centro-Oeste (MT) | Amazônia, Pantanal | Nativa / Não endêmica |
| | <i>P. bicolor</i> subsp. <i>digitata</i> (Trécul) C. C. Berg Heusden | Norte (AP, PA) | Amazônia | Nativa / Não endêmica |
| | <i>P. cecropiifolia</i> Mart. | Norte (AM, AC) | Amazônia, Mata Atlântica | Nativa / Não endêmica |
| | <i>P. cordata</i> C. C. Berg | Norte (AC) | Amazônia | Nativa / Não endêmica |
| | <i>P. cucura</i> Standl. & Cuatrec. | Norte (RR, RO, AM, AC), Centro-Oeste (MT) | Amazônia | Nativa / Não endêmica |
| | <i>P. cuspidata</i> Mildbr. | Norte (AM, AC) | Amazônia | Nativa / Endêmica |
| | <i>P. digitata</i> Trécul | Norte (AM, PA) | - | Nativa / - |
| | <i>P. elliptica</i> Standl. | Norte (AM) | Amazônia | Nativa / Não endêmica |

| | | | |
|--|--|--------------------------|-----------------------|
| <i>P. essequiboensis</i> Standl. | Norte (AM, PA) | Amazônia | Nativa / Não endêmica |
| <i>P. ferruginea</i> Standl. | Norte (AM) | Amazônia | Nativa / Não endêmica |
| <i>P. formicarum</i> Ducke | Norte (AM) | Amazônia | Nativa / Endêmica |
| <i>P. guianensis</i> Aubl. | - | - | Nativa / Não endêmica |
| <i>P. guianensis</i> aubl. Subsp. <i>Guianensis</i> | Norte (RR, PA, AM, AC, AP, RO) Nordeste (CE, PE, BA) Centro-Oeste (MT), Sudeste (MG, ES, SP, RJ), Sul (PR, SC) | Amazônia, Mata Atlântica | Nativa / Não endêmica |
| <i>P. maroniensis</i> Benoist | Norte (AP) | - | Nativa / Endêmica |
| <i>P. melinonii</i> Benoist | - | - | Nativa / Não endêmica |
| <i>P. melinonii</i> Benoist subsp. <i>Melinonii</i> | Norte (AP, PA, AM), Centro-Oeste (MT) | Amazônia | Nativa / Não endêmica |
| <i>P. minor</i> Benoist | Norte (RR, AP, PA, AM, AC, RO), Nordeste (MA), Centro-Oeste (MT) | Amazônia | Nativa / Não endêmica |
| <i>P. mollis</i> Trécul | - | - | Nativa / Não endêmica |
| <i>P. mollis</i> Trécul subsp. <i>mollis</i> | Norte (AP, PA), Nordeste (BA), Sudeste (ES) | Amazônia, Mata Atlântica | Nativa / Não endêmica |
| <i>P. mollis</i> subsp. <i>triloba</i> (Trécul) C. C. Berg & Heusden | Norte (AC) | Amazônia | Nativa / Não endêmica |
| <i>P. myrmecophila</i> Ducke | Norte (AM) | Amazônia | Nativa / Não endêmica |
| <i>P. ovata</i> Trécul | Norte (PA, AM, AC, AP, RR, RO) | Amazônia | Nativa / Não endêmica |
| <i>P. persecta</i> (C.C. Bergaglioti & Romaniuc | Norte (AC, AM) | Amazônia | Nativa / Endêmica |
| <i>P. phaeotricha</i> Mart. ex Miq. | Norte (AM) | Amazônia | Nativa / Não endêmica |
| <i>P. tomentosa</i> mart. ex. Miq. | - | - | Nativa / Não endêmica |
| <i>P. tomentosa</i> subsp. <i>apiculata</i> (Spruce ex Benoist) C. C. Berg & Heusden | Norte (RR, AM, RO), Centro-Oeste (MT) | Amazônia, Cerrado | Nativa / Não endêmica |
| <i>P. tomentosa</i> subsp. <i>essequiboensis</i> (Standl.) C. C. Berg & Heusden | Norte (PA, AM) | Amazônia | Nativa / Não endêmica |
| <i>P. tomentosa</i> subsp. <i>maroniensis</i> (Benoist) C. C. Berg & Heusden | Norte (AP, PA) | Amazônia | Nativa / Não endêmica |

| | | | | |
|--------------------------|---|--|---|------------------------------|
| | <i>P. tomentosa</i> subsp <i>persecta</i> Standl. ex C. C. Berg & Heusden | Norte (AM, AC), Centro-Oeste (MT) | Amazônia | Nativa / Não endêmica |
| | <i>P. tomentosa</i> Mart. ex Miq. Subsp. <i>tomentosa</i> | Norte (AM) | Amazônia | Nativa / Não endêmica |
| | <i>P. triloba</i> Trécul | Norte (AC) | - | Nativa / Não endêmica |
| | <i>P. velutina</i> Mart. ex Miq. | Norte (AP, PA, AM, RO), Nordeste (BA), Centro-Oeste (MT), Sudeste (ES) | Amazônia, Mata Atlântica | Nativa / Não endêmica |
| | <i>P. villosa</i> Trécul | Norte (AP, PA, AM, RO), Nordeste (MA) | Amazônia | Nativa / Não endêmica |
| Pouzolzia Gaudich | <i>P. formicaria</i> (Poepp.) Wedd. | Norte (AM, AC) | Amazônia | Nativa / Não endêmica |
| | <i>P. laevis</i> (Wedd.) Wedd. | Norte (AC, AM, PA, RO, TO), Centro-Oeste (MT, GO) | Amazônia, Cerrado | Nativa / Endêmica |
| Urera Gaudich. | <i>U. aurantiaca</i> Wedd. | Norte (AC, AM, PA, RO), Centro-Oeste (MS, MT), Sul (PR, RS, SC) | Amazônia, Cerrado, Mata Atlântica | Nativa / Não endêmica |
| | <i>U. baccifera</i> (L.) Gaudich. ex Wedd. | Norte (AC, AM, AP, PA, RO, RR, TO), Nordeste (AL, BA, CE, MA, PB, PE, PI, RN, SE), Centro-Oeste (MT, MS, GO, DF), Sudeste (MG, ES, SP, RJ), Sul (PR, SC, RS) | Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica | Nativa / Não endêmica |
| | <i>U. caracasana</i> (Jacq.) Griseb. | Norte (PA, AM, AC, RO, RR, TO), Nordeste (AL, CE, MA, PE, PI, BA, SE), Centro-Oeste (MT, GO, MS), Sudeste (ES, MG, SP, RJ), Sul (PR, SC) | Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica | Nativa / Não endêmica |
| | <i>U. laciniata</i> Goudot ex Wedd. | Norte (PA, AC, AM, AP, RO, RR, TO) | Amazônia | Nativa / Não endêmica |
| | <i>U. nitida</i> (Vell.) P. Brack | Nordeste (PE, BA, AL, BA, CE, PB, RN, SE), Sudeste (MG, ES, SP, RJ), Sul (PR, SC, RS) | Mata Atlântica | Nativa / Endêmica |
| | <i>U. simplex</i> wedd. | Nordeste (AL, BA, CE, PB, PE, RN, SE), Sudeste (ES, MG, RJ, SP), Sul (PR, RS, SC) | Mata Atlântica | Nativa / Endêmica |
| Urtica L. | <i>U. dioica</i> L. | Nordeste (AL, BA, PB, PE, RN, SE) Sudeste (ES, MG, RJ, SP), Sul (PR, RS, SC) | Mata Atlântica | Subespontânea / Não endêmica |
| | <i>U. spathulata</i> Sm. Var. <i>circularis</i> Hicken | Sul (PR, RS, SC) | Mata Atlântica | Nativa / Não endêmica |
| | <i>U. urens</i> L. | Sudeste (ES, MG, RJ, SP), Sul (PR, RS, SC) | Mata Atlântica | Subespontânea / Não endêmica |

Tabela 2. Gêneros da Urticaceae inclusos nas tribos (WU et al., 2013; APG IV, 2016).

| TRIBOS | | | | | | |
|--------------------------------------|---------------------------------------|------------------------------|-----------------------------|----------------------------|----------------------------|-------------------------------------|
| G Ê N E R O S | Boehmerieae | Cecropiaeeae | Elatostemateae | Forsskaoleeae | Parietarieae | Urticeae |
| | <i>Astrothalamus</i> C. B. Robinson | <i>Cecropia</i> Loefl. | <i>Achudemia</i> Blume | <i>Australina</i> Gaudich. | <i>Gesnouinia</i> Gaudich. | <i>Dendrocnide</i> Miq. |
| | <i>Boehmeria</i> Jacq. | <i>Coussapoa</i> Aubl. | <i>Elatostema</i> Forster | <i>Didymodoxa</i> Gaudich. | <i>Hemistylus</i> Benth. | <i>Discocnide</i> Chew |
| | <i>Boehmeriopsis</i> Kom. | <i>Pourouma</i> Aubl. | <i>Lecanthus</i> Wedd. | <i>Droguetia</i> Gaudich. | <i>Parietaria</i> L. | <i>Girardinia</i> Gaudich. |
| | <i>Chamabainia</i> Wight | | <i>Meniscogyne</i> Gagnep. | <i>Forskohlea</i> L. | <i>Rousselia</i> Gaudich. | <i>Gyrotaenia</i> Griseb. |
| | <i>Cypholophus</i> Wedd. | | <i>Neopilea</i> Leandri | | <i>Soleirolia</i> Gaudich. | <i>Hesperocnide</i> Torr. |
| | <i>Debregeasia</i> Gaudich. | | <i>Pellionia</i> Gaudich. | | | <i>Laportea</i> Gaudich. |
| | <i>Gibbsia</i> Rendle | | <i>Petelotiella</i> Gagnep. | | | <i>Nanocnide</i> Blume |
| | <i>Gonostegia</i> Turcz. | | <i>Pilea</i> Lindl. | | | <i>Obetia</i> Gaudich. |
| | <i>Leucosyke</i> Zoll. & Mor. | | <i>Procris</i> Juss. | | | <i>Parsana</i> Parsa & Maleki |
| | <i>Maoutia</i> Wedd. | | <i>Sarcopilea</i> Urb. | | | <i>Poikilospermum</i> Zipp. Ex Miq. |
| | <i>Myriocarpa</i> Benth. | | <i>Smithiella</i> Dunn | | | <i>Urea</i> Gaudich. |
| | <i>Neodistemon</i> Babu & A. N. Henry | | | | | <i>Urtica</i> L. |
| | <i>Neraudia</i> Gaudich. | | | | | |
| | <i>Nothocnide</i> Blume | | | | | |
| | <i>Oreocnide</i> Miq. | | | | | |
| | <i>Phenax</i> Wedd. | | | | | |
| | <i>Pipturus</i> Wedd. | | | | | |
| | <i>Pouzolzia</i> Gaudich. | | | | | |
| | <i>Pseudopipturus</i> Skottsb. | | | | | |
| <i>Sarcochlamys</i> Gaudich. | | | | | | |
| <i>Touchardia</i> Gaudich. | | | | | | |
| <i>Villebrunea</i> Gaudich. Ex Wedd. | | | | | | |

As espécies dessa família possuem hábitos herbáceos e arbóreos, podendo encontrar várias espécies com características subarbustivas e arbustivas. A chave para identificação dessa família está nas folhas que são alternadas ou opostas, nas inflorescências cimosas e espiciformes e nos frutos que são geralmente aquênios (SOUZA & LORENZI, 2005; GAGLIOTI, 2015; FLORA DO BRASIL, 2019).

Algumas espécies da família Urticaceae são utilizadas para fins econômicos com a fabricação de cordas e fibras têxteis, como exemplo, pode-se destacar as espécies *Boehmeria nivea*, conhecida como rami e *Urtica dioica*, conhecida como cânhamo sueco. Plantas pertencentes aos gêneros *Elatostema* e *Pilea* são cultivadas como ornamentais pela beleza de suas folhagens fazendo parte do paisagismo urbano (SOUZA & LORENZI, 2005; PÉREZ, 2013).

Na natureza, essa família mostra um papel importante como alimento de algumas espécies de aves e mamíferos que, por sua vez, promovem a dispersão de sementes. Algumas espécies são usadas na alimentação humana como a *Cecropia sp*, cujas espigas são vendidas como iguaria local na Bolívia e a *Pourouma cecropiifolia*, cujos frutos são apreciados na região amazônica para fabricação de vinho doce (SOUZA & LORENZI, 2005; COSTA, 2011; PÉREZ, 2013).

Estudos etnofarmacológicos mostram que as espécies da família Urticaceae são usadas pela população para o tratamento de asma, bronquite, diabetes, reumatismo, hemorróidas, disenteria, infecções na pele, febre e dor de cabeça, além de ser utilizada como diurético e no controle de hemorragias (PEREZ, 2004; CARVALHO, 2006; LIMA, 2008; MELIM, 2011; CARBONÓ-DELAHOZ, 2013; FEIJÓ, 2013; CORRADO, 2014; JIMENEZ, 2015).

3.1.1 O gênero *Pourouma* Aubl.

O gênero *Pourouma*, catalogado por Aublet em 1775, pertence à tribo Cecropieae. O primeiro estudo molecular de *Pourouma* foi realizado por Gaglioti (2015) e englobou todos os gêneros de Cecropieae. A análise filogenética das regiões do plastídio *psbA-trnH* e nuclear 26S e *FA16180b* confirmou a inclusão do gênero na tribo, devido a proximidade molecular entre os gêneros. (BERG; AKKERMANS; HEUSDEN, 1990).

Esse gênero é formado por 43 espécies, que ocorrem preferencialmente, em áreas de florestas úmidas da América do Sul e Central. Essas espécies possuem hábito arbóreo, com inflorescências em fascículos ou cimeiras e estípulas terminais amplexicaules. No Brasil, são encontradas 25 espécies, concentradas principalmente na região amazônica (**Tabela 1, p. 21**) (BERG; AKKERMANS; HEUSDEN, 1990; GAGLIOTI, 2011; GAGLIOTI et al., 2013).

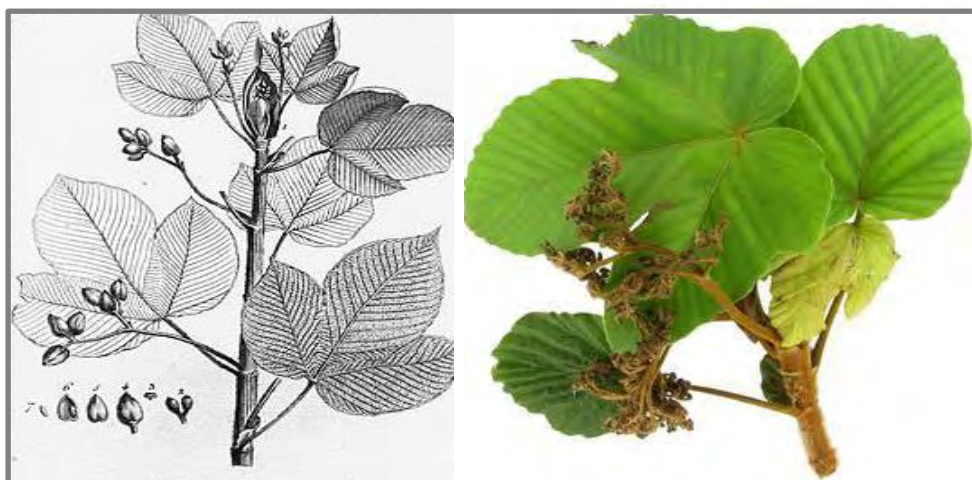
Os principais constituintes químicos encontrados no gênero são flavonoides, antocianinas e terpenóides (TORRES-SANTOS et al., 2004; GUIO, LEON, PERZ, 2010; LOPEZ-LUTZ et al., 2010).

3.2 A ESPÉCIE *POUROUMA GUIANENSIS* AUBL.

A espécie *Pourouma guianensis* Aubl. (sinonímia: *P. acutiflora* Trécul, *P. cinerascens* Mart ex Miq, *P. fuliginea* Miq. In Mart., *P. heterophylla* Mart. ex Miq., *P. mildbraediana* Standl., *P. palmata* Poepp. & Endl.), é encontrada em toda a bacia Amazônica e Mata Atlântica, principalmente, em floresta de terra firme. Essa espécie foi descrita por Aublet em 1775 e possui alguns nomes populares como amapati, embaúba-benguê, imbaubarana, imbaúba-da-mata, inharé, mapati, uva-de-macaco e pau-de-jacu (BERG; AKKERMANS; HEUSDEN, 1990; GAGLIOTI et al., 2013; FLORA DO BRASIL, 2019).

P. guianensis é uma árvore considerada de grande porte, podendo variar de 10 a 30 m de altura e o seu tronco é reto, e cilíndrico, com a casca quase lisa e lenticelada. As estípulas possuem pelos (tricomos) de coloração amarela a esbranquiçados. As folhas de forma variável, inteiras, com 3 a 5 lobos. As inflorescências masculinas globosas e femininas ramificadas que florescem nos meses de agosto a setembro. Seu fruto é aquênio, de formato ovoide a elipsoide, contendo uma única semente, que amadurece a partir de novembro (**Figura 1, p. 30**) (LORENZI, 2009; GAGLIOTI, 2011).

Figura 1. Imagem da espécie *Pourouma guianensis*.



Fonte: AUBLET, 1775; GAGLIOTI et al., 2013.

Além das características morfológicas mostradas anteriormente, essa espécie é facilmente reconhecida pelas raízes entrelaçadas que ficam acima do solo (adventícias ou escoras) (GAGLIOTI et al., 2013).

Outro aspecto marcante dos seus exemplares é o odor de cânfora quando o tecido vegetal é cortado ou fragmentado. Esse fato é corroborado com o estudo realizado por Lopes e colaboradores (1999) que identificaram 58 substâncias dos óleos essenciais das flores, das folhas e das cascas do caule. A composição química desses óleos é marcada pela presença de monoterpenos e sesquiterpenos, além de ésteres graxos e derivados benzoicos (**Tabela 3, p. 32, Figura 2, p. 35**) (GAGLIOTI et al., 2013).

Embora existam poucos trabalhos na literatura é possível observar a mesma tendência de biossíntese para a produção de flavonas e ácidos triterpênicos (**Tabela 3, p. 32, Figura 2, p. 35**), conforme verificado para outros gêneros dessa subfamília (TORRES-SANTOS et al., 2004).

Os ácidos triterpênicos isolados *P. guianensis* foram testados contra as formas promastigotas e amastigotas de *Leishmania amazonensis*. Nesse trabalho os ácidos ursólico, 2 α ,3 β -diidroxiolean-12-en-28-oico e o tormêntico apresentaram atividade frente às formas promastigotas a 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e somente os ácidos ursólico e oleanólico apresentaram alta atividade frente às formas amastigotas intracelular (**Tabela 4, p. 38**) (TORRES-SANTOS et al., 2004).

Estudos etnofarmacológicos para a espécie não confirmam o emprego medicinal para o tratamento da leishmania, mas a existência de relatos sobre o emprego medicinal dos frutos verdes na cicatrização de feridas pode está relacionado com a forma tegumentar dessa doença. Além da utilização dos frutos para o tratamento de feridas, as cascas dessa planta são utilizadas pelos índios Waimiri Atroari para o tratamento dos sintomas da gripe e da disenteria (LORENZI, 2009; GAGLIOTI et al., 2013; GAGLIOTI et al., 2013; ALMEIDA, 2014).

No trabalho realizado por Almeida (2014) foi verificado algumas aplicações biológicas para essa espécie como: a atividade larvicida para larvas do 4^o estágio do *A. Aegypti*, a avaliação da atividade antimicrobiana frente às bactérias *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis* e a atividade antioxidante frente ao radical livre (DPPH). Dependendo do extrato e da fração estudada essas atividades podem estar vinculadas às substâncias triterpenoídicas e flavonoídicas, encontradas na espécie, conforme detalhado na **Tabela 4, p. 38**.

Tabela 3. Substâncias identificadas na espécie *P. guianensis*.

| Nome da substância | Parte da planta | Extrato / Fração / Óleo essencial | Local de coleta | Referência |
|--|--------------------------------|--|---|----------------------------|
| Flavonoides | | | | |
| Apigenina (1) | Folhas | Extrato em Diclorometano | Margem do Rio Bagre, Mangaratiba/RJ | TORRES-SANTOS et al., 2004 |
| Terpenoides | | | | |
| Ácido arjunólico (Ácido 2 α ,3 β ,23-trihidroxi-olean-12-em-28-28-óico) (2) | Folhas | Fração em Diclorometano | Margem do Rio Bagre, Mangaratiba/RJ | TORRES-SANTOS et al., 2004 |
| Ácido hiptático (Ácido 2 α ,3 β ,19 α ,24-tetra-hidroxi-urs-12-em-28-óico) (3) | | | | |
| Ácido ursólico (4) | | | | |
| Ácido oleanólico (5) | | | | |
| Ácido 2 α ,3 β -dihidroxiurn-12-en-28-óico (6) | | | | |
| Ácido 2 α ,3 β -dihidroxiolean-12-en-28-óico (7) | | | | |
| Ácido tormêntico (Ácido 2 α ,3 β ,19 α -trihidroxiurn-12-en-28-óico) (8) | Caule | Fração em Clorofórmio-Acetato de etila | Área Relevante de Interesse Ecológico Fleixeiras/AL | ALMEIDA, 2014 |
| Ácido pomólico (Ácido 3 β ,19 α -dihidroxiurs-12-em-28-óico) (9) | | | | |
| Ácido euscáfico (Ácido 2 α ,3 α ,19 α -trihidroxiurs-12-em-28-óico) (10) | | Fração em Acetato de etila | | |
| Epi-friedelinol (11) | Folhas | Fração em Diclorometano | Margem do Rio Bagre, Mangaratiba/RJ | TORRES-SANTOS et al., 2004 |
| Friedelina (12) | | | | |
| Sitosterol (13) | | | | |
| Estigmasterol (14) | | | | |
| Estigmasterol 3-O- β -D-glicopiranosideo (15) | | | | |
| Sitosterol 3-O- β -D-glicopiranosideo (16) | | | | |
| Fitol (17) | Folhas, Casca do caule, Flores | Óleo essencial | | LOPES et al., 1999 |
| α -Bergamoteno (18) | Folhas, Casca do caule | Óleo essencial | Margem do Rio Bagre, Mangaratiba/RJ | LOPES et al., 1999 |
| Cadaleno (19) | | | | |
| δ -Cadineno (20) | | Óleo essencial | Margem do Rio Bagre, | LOPES et al., 1999 |

| | | | | |
|---|--------------------------------|----------------|-------------------------------------|--------------------|
| α -Calacorene (21) | Folhas, Casca do caule, Flores | | Mangaratiba/RJ | |
| Calameneno (22) | | | | |
| β -Cariofileno (23) | Folhas, Casca do caule | | | |
| α -Cedreno (24) | Flores | | | |
| α -Copaene (25) | Folhas, Casca do caule, Flores | | | |
| α -Muuroleno (26) | Casca do caule | | | |
| 1,8-Cineol (27) | | | | |
| p -Cimeno (28) | Folhas, Casca do caule, Flores | | | |
| β -Ciclocitral (29) | | | | |
| Fenchona (30) | Folhas, Casca do caule | | | |
| Geraniol (31) | Flores | | | |
| α -Ionone (32) | Folhas, | | | |
| β -Ionone (33) | Folhas, Flores | | | |
| Isomentona (34) | | | | |
| Limoneno (35) | Folhas, Casca do caule, Flores | | | |
| Linalol (36) | | | | |
| Mentona (37) | | | | |
| Nerol (38) | Flores | | | |
| (<i>E</i>)-Nerolidol (39) | Folhas, Flores | | | |
| (<i>E</i>)- β -Ocimeno (40) | | | | |
| Óxido de <i>cis</i> -linalol (41) | Folhas, Casca do caule, Flores | | | |
| Óxido de <i>trans</i> -linalol (furanoide) (42) | | | | |
| Terpinen-4-ol (43) | Folhas, Casca do caule, Flores | | | |
| α -Terpineol (44) | Folhas | | | |
| Ácidos carboxílicos, Ésteres e Álcoois | | | | |
| Ácido hexadecanóico (45) | Folhas, Casca do caule, Flores | | | |
| Ácido heptadecanóico (46) | Folhas, Casca do caule | Óleo essencial | Margem do Rio Bagre, Mangaratiba/RJ | LOPES et al., 1999 |
| Ácido octadecanóico (47) | | | | |
| Ácido (Z,Z)-octadeca-9,12-dienóico (48) | Folhas, Casca do caule, Flores | | | |
| Ácido pentadecanóico (49) | Folhas, Casca | Óleo essencial | Margem do Rio Bagre, | LOPES et al., 1999 |

| | | | | |
|---|--------------------------------|----------------------------|---|--------------------|
| Ácido tetradecanóico (50) | do caule | Óleo essencial | Mangaratiba/RJ | LOPES et al., 1999 |
| Ácido vanílico (Ácido 3-metoxi-4-hidroxibenzóico) (51) | Caule | Fração em Acetato de etila | Área Relevante de Interesse Ecológico Fleixeiras/AL | ALMEIDA, 2014 |
| Ácido protocatequico (Ácido 3,4-dihidroxibenzóico) (52) | Folhas | | | |
| Acetato de hexila (53) | Folhas, Casca do caule, Flores | Óleo essencial | Margem do Rio Bagre, Mangaratiba/RJ | LOPES et al., 1999 |
| Acetato de (Z)-3-hexenila (54) | Folhas, Casca do caule | | | |
| Benzoato de benzila (55) | Flores | | | |
| Butanoato de hexila (56) | Folhas | | | |
| Butanoato de (Z)-hex-3-enila (57) | | | | |
| Fomiato de (Z)-hex-3-enila (58) | Flores | | | |
| Salicilato de benzila (59) | Folhas, Casca do caule, Flores | | | |
| Salicilato de etila (60) | Folhas | | | |
| Salicilato de metila (61) | | | | |
| 2-Metilbutanoato de hex-3-enila (62) | Flores | | | |
| <i>n</i> -Hexanol (63) | Folhas, Flores | | | |
| (Z)-3-Hexenol (64) | Folhas, Casca do caule | | | |
| 3-Octanol (65) | Folhas, Casca do caule, Flores | | | |
| 1-Octen-3-ol (66) | | | | |
| Aldeídos e Éter | | | | |
| Benzaldeído (67) | Flores | Óleo essencial | Margem do Rio Bagre, Mangaratiba/RJ | LOPES et al., 1999 |
| (E)-Dec-2-enal (68) | Casca do caule | | | |
| (E,E)-2,4-Decandienal (69) | Folhas, Casca do caule, Flores | | | |
| <i>n</i> -Heptanal (70) | | | | |
| <i>n</i> -Hexanal (71) | Folhas | | | |
| (E)-2-Hexenal (72) | Folhas, Casca do caule, Flores | | | |
| <i>n</i> -Nonanal (73) | Folhas, Casca do caule | | | |
| <i>n</i> -Octanal (74) | | | | |
| (E)-Undec-2-enal (75) | Folhas, Casca do caule | | | |
| Safrol (76) | Folhas | | | |

Figura 2. Estrutura das substâncias identificadas na espécie *P. guianensis*.

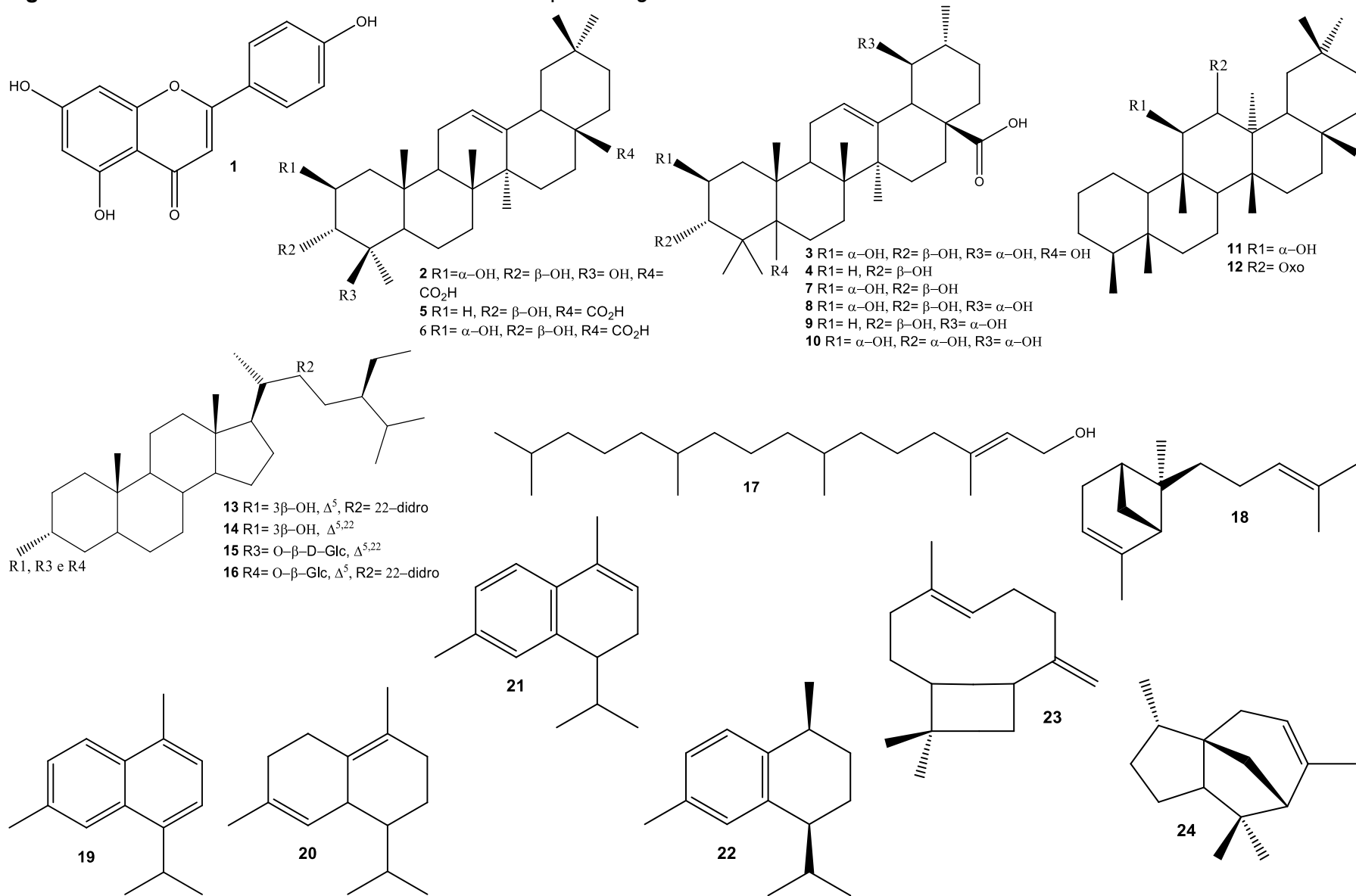


Figura 2. Estrutura das substâncias identificadas na espécie *P. guianensis*. (Continuação)

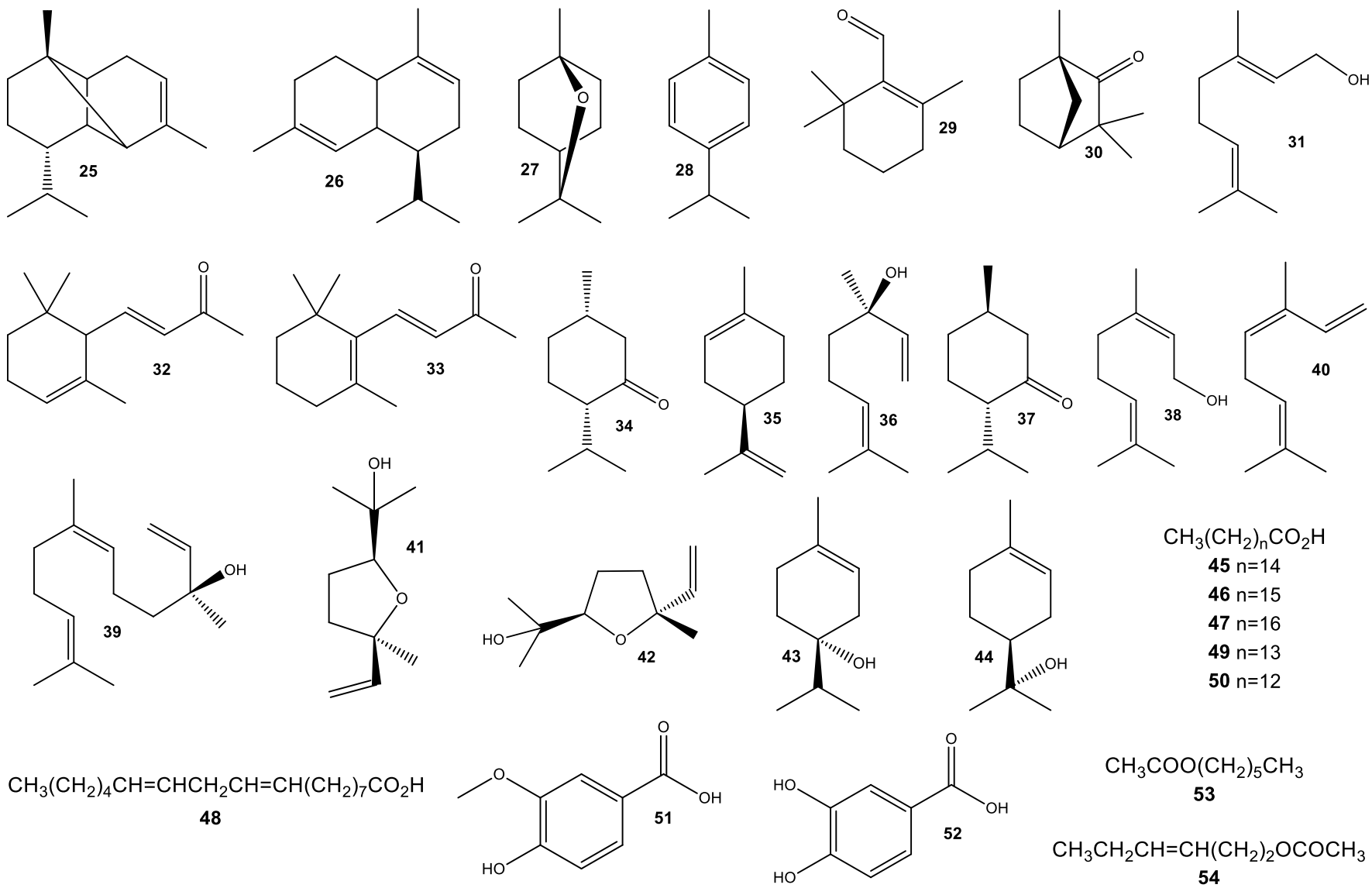


Figura 2. Estrutura das substâncias identificadas na espécie *P. guianensis*. (Continuação)

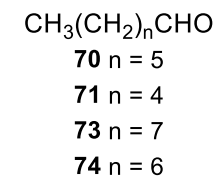
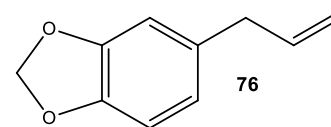
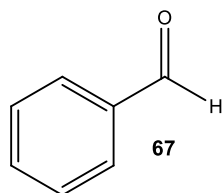
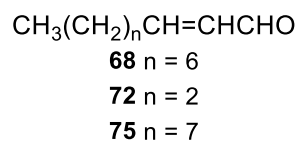
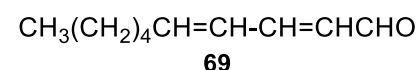
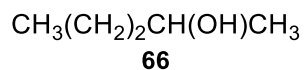
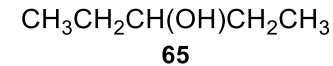
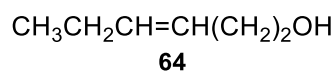
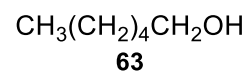
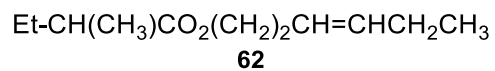
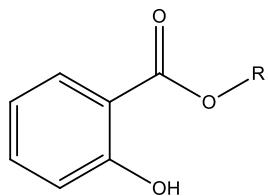
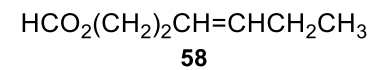
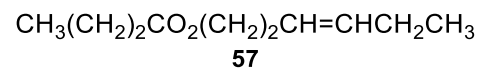
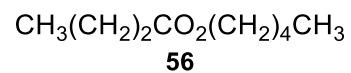
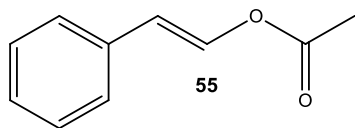


Tabela 4. Atividades biológicas apresentadas pela espécie *P. guianensis*.

| Atividade Biológica | Parte da Planta | Extrato / Fração / Partição / Substância | Resultado da atividade | Referência |
|--|-----------------|---|---|----------------------------|
| Leishmanicida | Folhas | Ácido ursólico | Potentes em inibir o crescimento de formas promastigotas a 100 µg/mL | TORRES-SANTOS et al., 2004 |
| | | Ácido 2α, 3β-dihidroiolean-12-en-28-oico | | |
| | | Ácido tormêntico | | |
| | | Ácido ursólico | Alta atividade frente formas amastigotas intracelular IC ₅₀ 27 µg/mL e 11 µg/mL, respectivamente | |
| | | Ácido oleanólico | | |
| Atividade larvicida | Caule | Partição - Hexano-Clorofórmio (1:1) | Atividade moderada 58,5% mortalidade | ALMEIDA, 2014 |
| | | Filtração - Clorofórmio | Atividade moderada 71,11% mortalidade | |
| | | Filtração - Acetato de etila | Atividade moderada 60% mortalidade | |
| | | Filtração - Acetato de etila | Atividade moderada 53,3% mortalidade | |
| Capacidade sequestradora de radicais livres (DPPH) | Caule | Clorofórmio | CI ₅₀ 372,47 ± 4,28 µg/mL | ALMEIDA, 2014 |
| | | Acetato de etila-Metanol (1:1) | CI ₅₀ 360,68 ± 1,05 µg/mL | |
| | Folhas | Partição – Clorofórmio | CI ₅₀ 312,01 ± 1,55 µg/mL | |
| | | Partição - Acetato de etila | CI ₅₀ 120,76 ± 1,85 µg/mL | |
| Atividade Antibacteriana | Folhas | Extrato em Acetona | <i>S. aureus</i> – CIM 250 µg/mL <i>E. faecalis</i> – CIM 500 µg/mL | ALMEIDA, 2014 |
| | | Clorofórmio | <i>S. aureus.</i> – CIM 125 µg/mL | |
| | Caule | Fração em Acetato de etila filtração | <i>S. aureus.</i> – CIM 125 µg/mL <i>E. faecallis.</i> – CIM 250 µg/mL | |
| | | Fração em Acetato de etila filtração por partição | <i>S. aureus.</i> e <i>E. faecallis.</i> – CIM 125 µg/mL | |
| | | Fração em acetato de Etila filtração por Sephadex | <i>S. aureus.</i> e <i>E. faecallis.</i> – CIM 250 µg/mL | |

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 MATERIAIS DO ENSAIO FITOQUÍMICO

4.1.1 Reagentes, solventes e soluções

Os solventes e reagentes utilizados neste trabalho, com grau de pureza analítica (P.A.), foram adquiridos da LabSynth (São Paulo, Brasil). A análise no UPLC utilizou solventes com grau espectroscópico e foram adquiridos da Tedia (São Paulo, Brasil).

A Cromatografia em Coluna (CC) foi realizada com sílica gel 60 (60 – 200 μm – Silicycle- Canadá) e a Cromatografia em Camada Delgada Analítica (CCDA) foi realizada em cromatoplasmas de alumínio contendo sílica gel 60 GF254, Silicycle - Canadá.

A solução reveladora (vanilina sulfúrica) foi preparada adicionando 3 g de vanilina em 135 mL de água destilada, 135 mL de etanol e 30 mL de ácido sulfúrico concentrado.

A solução reveladora (NP/PEG - Natural Product Reagente) foi preparada adicionando 100 mg de difenilaminoborato (NP), 500 mg de polietilenoglicol 2000 (PEG) e 20 mL de metanol.

A solução reveladora (orcinol) foi preparada adicionando 200 mg de orcinol em uma solução 20% de ácido sulfúrico em água.

4.1.2 Instrumentação

4.1.2.1 Cromatografia Contracorrente de Alto Desempenho (CCCAD)

O sistema CCCAD utilizado é formado pelo cromatógrafo Spectrum HPCCC da marca Dynamic Extractions (Berkshire, Reino Unido) equipado com um par de colunas preparativas (142 mL de capacidade) e um par de colunas analíticas (11,4 mL de capacidade). Os valores de β (raio da bonina) variam de 0,52 a 0,86 e a velocidade de rotação pode ser ajustada até 1600 rpm. O sistema contém duas bombas Smartline 100 V5010 (Knauer – Berlim, Alemanha), um coletor automático de frações C-660 (Büchi – Suíça), um detector de ultravioleta Smartline 2500 V7604 (Knauer – Berlim, Alemanha), um refrigerador Smart H-150-1500 (LabTech – Itália) e uma válvula de injeção manual de 5 mL de capacidade (HiChrom – EUA).

4.1.2.2 Cromatografia a Gás

O sistema de Cromatografia à Gás acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM) é formado pelo cromatógrafo GCMS-QP5050A da marca Shimadzu (Kyoto, Japão).

4.1.2.3 Cromatografia à Líquido de Ultra Eficiência

O cromatógrafo com fase líquida Shimadzu® (*UFLC Prominence*) é constituído por uma bomba desgaseificadora DGU-20A3, duas bombas para a fase móvel LC-20AD, injetor automático SIL-20A HT, forno de coluna CTO-20A, detector de arranjo de diodos (DAD) SPD-M20A e controladora CBM-20A.

O cromatógrafo foi equipado com uma coluna cromatográfica de fase inversa Phenomenex Kinetex XB C-18 (75 mm x 2,1 mm x 1,7 µm) contendo uma pré-coluna de C-18 (2,1 mm x 2,1 µm) Phenomenex.

4.1.2.4 Espectrometria de Massas de Alta Resolução

O Espectrômetro de Massas de Alta Resolução com analisador tipo quadrupolo-tempo de voo (Q-TOF) e fonte de ionização por electrospray (ESI) Bruker Daltonics, equipado com bomba de injeção por seringa KD Scientific, gerador de nitrogênio gasoso PEAK Scientific NM32LA e bomba de alto vácuo, externa Agilent HS-602.

4.1.2.5 Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Foi utilizado o aparelho de RMN modelo AVANCE-III da Bruker (Alemanha), RMN ^1H (500 MHz) e RMN ^{13}C (125 MHz).

4.1.2.6 Outros equipamentos

Nesse trabalho também foram utilizados os seguintes equipamentos: Balança Analítica Shimadzu AY 220V; Balança Semi-analítica Bioprecisa AY 220V; Evaporador Rotativo Marconi MA 120/V; Banho ultrassônico Kondortech 220V; Estufa de secagem Marconi MA 033/3; Placa de aquecimento Fisatom 752 A, 110V; Manta de aquecimento Fisatom 220V; Câmara escura de UV 254 e 365 nm; Liofilizador L101 LIOTOP 220V.

4.2 MATERIAL BOTÂNICO

A espécie *Pourouma guianensis* foi coletada em 27 de Julho de 2015 na Reserva União, localizada na Rodovia BR 101, km 185, Rocha Leão, Rio das Ostras – RJ. O exemplar está depositado no herbário da UENF sob o número de exsicata HUENF 10198 e foi identificado por André Luiz Gaglioti.

4.3 METODOLOGIAS DO ESTUDO FITOQUÍMICO

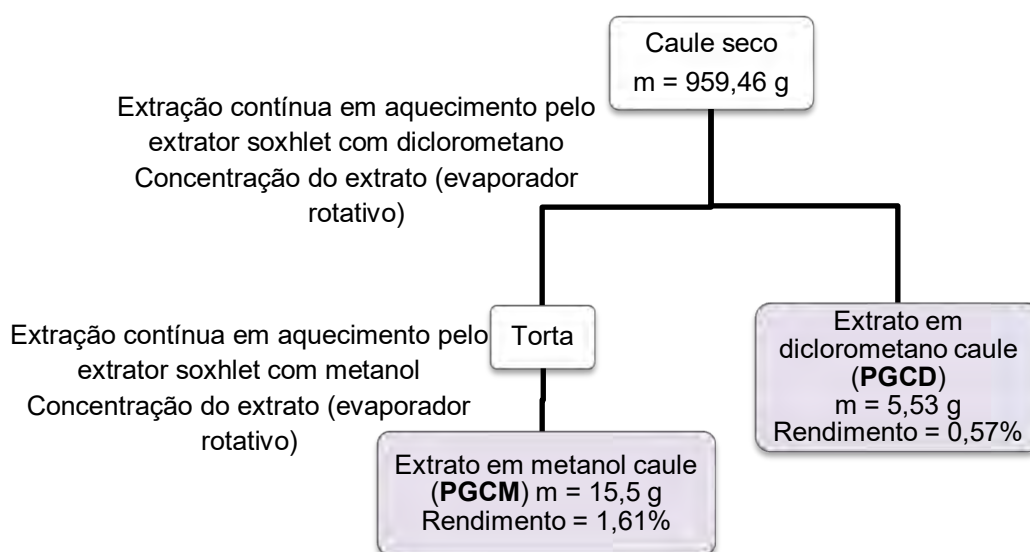
4.3.1 Obtenção dos extratos brutos do caule da *P. guianensis*

Após a coleta, a secagem do material foi realizada em estufa com circulação de ar à 40°C e posteriormente, o mesmo foi submetido à trituração em moinho de martelo obtendo a massa 1010,0 g.

O caule seco e moído (959,46 g) foi submetido à extração contínua em aquecimento pelo extrator Soxhlet. Primeiramente, o material foi extraído com diclorometano até total exaustão e, em seguida, após remoção do solvente, o mesmo foi submetido à extração com metanol até exaustão.

As soluções obtidas foram destiladas a pressão reduzida em evaporador rotativo e, posteriormente, submetido ao processo de liofilização, a fim de remover todo resíduo de água (**Figura 3**).

Figura 3. Fluxograma de obtenção inicial dos extratos em diclorometano e metanol do caule da *P. guianensis* (PGCD e PGCM).



4.3.1.1 *Análise preliminar dos extratos brutos*

Os extratos obtidos do caule foram analisados por CCDA utilizando diversos sistemas de solvente como eluente. Após eluição, as placas foram visualizadas com luz com ultravioleta (254 nm) e reveladas com a solução de vanilina sulfúrica. Tal procedimento possibilitou ordenar a sequência do trabalho, priorizando o extrato que continha um grande número de substâncias terpenoídicas. Desta forma, o extrato em diclorometano (PGCD) foi selecionado para ser trabalhado.

4.3.1.2 *Escolha do sistema de solvente para a Cromatografia Contracorrente de Alto Desempenho (CCCAD)*

Todos os sistemas de solventes utilizados nesse trabalho para CCCAD foram escolhidos pelo método de agitação em tubo de ensaio, conforme descreveu Berthod & Carda-Broch, 2004, que consiste na solubilização de uma alíquota de 1,0 mg em 2 mL do sistema de solvente analisado (1 mL de cada fase). Em seguida, o material é vigorosamente agitado e após o equilíbrio das fases uma alíquota de cada fase é retirada e aplicada em uma placa de CCDA. A visualização qualitativa da distribuição das substâncias nas fases do sistema de solvente foi feita por CCDA.

4.3.1.3 *Purificação e isolamento dos constituintes químicos do extrato em diclorometano do caule de *P. guianensis* (PGCD)*

O extrato PGCD foi fracionado por CC utilizando gel de sílica como fase estacionária e eluída com a fase inferior dos sistemas de solvente clorofórmio: acetato de etila: metanol: água, primeiro nas concentrações 7: 0,10: 3: 7, depois 7: 0,25: 3: 7 e por fim 7: 0,5: 3: 7. Desse fracionamento foram obtidas 77 frações e após análise em CCDA foram reunidas em 13 frações. As frações PGCD3, PGCD5, PGCD8 e PGCD13 foram trabalhadas (**Tabela 5, p. 44**). A **Figura 4 (p. 43)** demonstra um resumo do fracionamento realizado.

Figura 4. Fluxograma do fracionamento do extrato PGCD.

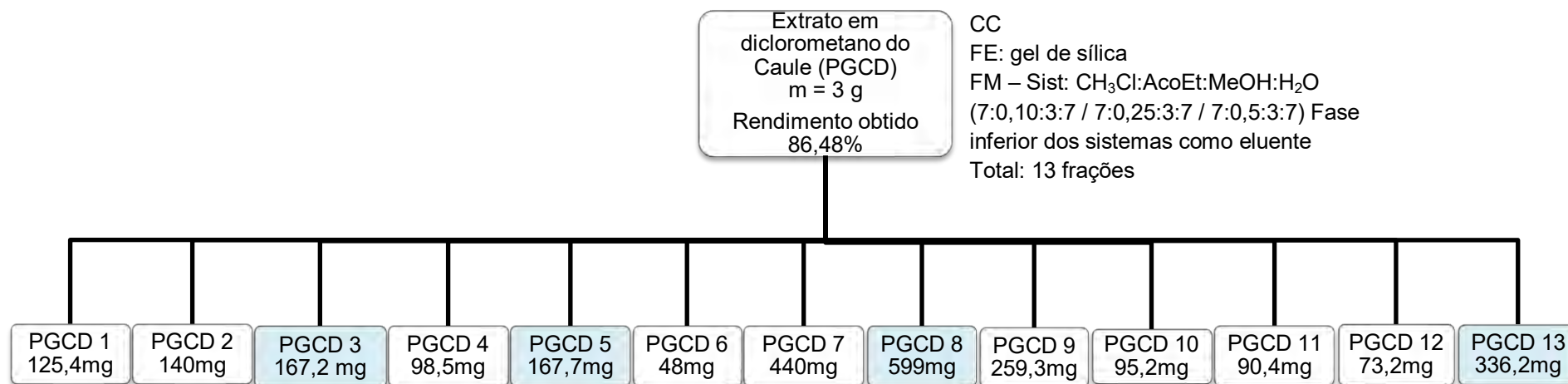
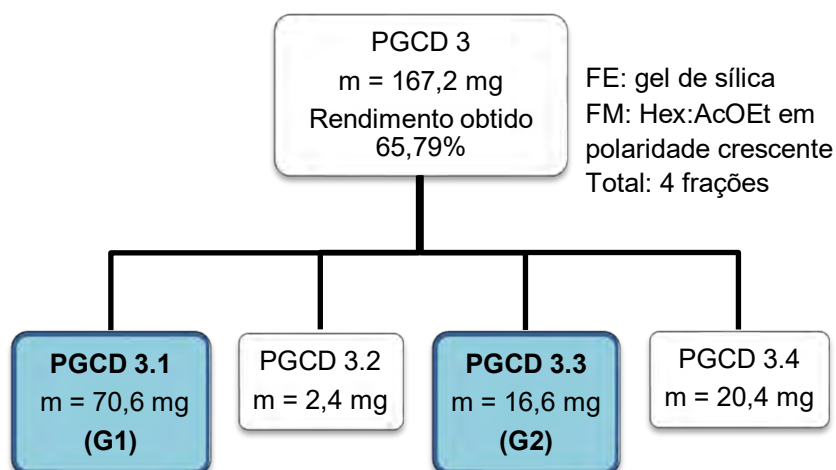


Tabela 5. Estudo cromatográfico do extrato PGCD (3g).

| Frações reunidas | Códigos | Massa (mg) | Observações |
|------------------|---------|------------|-------------|
| 9-11 | PGCD 3 | 167,2 | Trabalhada |
| 15-24 | PGCD 5 | 167,7 | Trabalhada |
| 38-43 | PGCD 8 | 599 | Trabalhada |
| 77 | PGCD 13 | 336,2 | Trabalhada |

4.3.1.4 Procedimento cromatográfico da fração PGCD 3: isolamento de **G1** e **G2**.

A fração PGCD 3 foi purificada por CC utilizando gel de sílica como fase estacionária e eluída inicialmente com hexano (100%) e, na sequência, com gradientes de polaridade crescentes contendo acetato de etila, até a concentração de 4%. As frações coletadas foram analisadas por CCDA e reunidas em 4 frações. As frações PGCD 3.1 e PGCD 3.3 apresentaram uma única mancha na CCDA, sendo denominadas de **G1** e **G2** (Figura 5 e Tabela 6).

Figura 5. Fluxograma de isolamento de **G1** e **G2** oriundas da fração PGCD 3.**Tabela 6.** Estudo cromatográfico da fração PGCD 3 (167,2 mg).

| Frações reunidas | Códigos | Massa (mg) | Observações |
|------------------|----------|------------|--------------------------|
| 1-38 | PGCD 3.1 | 70,6 | Substância PGCD 3.1 (G1) |
| 44-78 | PGCD 3.3 | 16,6 | Substância PGCD 3.3 (G2) |

4.3.1.5 Procedimento cromatográfico da fração PGCD5: isolamento de **G3** e **G4**.

A fração PGCD 5 foi purificada por CC utilizando gel de sílica como fase estacionária e eluída inicialmente com hexano (100%) e, na sequência, com gradientes de polaridade crescentes contendo acetato de etila, até a concentração de 10%. As frações coletadas foram analisadas por CCDA e reunidas em 15 frações. As frações PGCD 5.3 e PGCD 5.5 apresentaram uma única mancha na CCDA, sendo denominadas de **G3** e **G4** que, por sua vez, apresentou o mesmo perfil cromatográfico de **G1** e **G2**, respectivamente (**Figura 6** e **Tabela 7**).

Figura 6. Fluxograma de isolamento de **G3** e **G4** oriundo da fração PGCD 5.

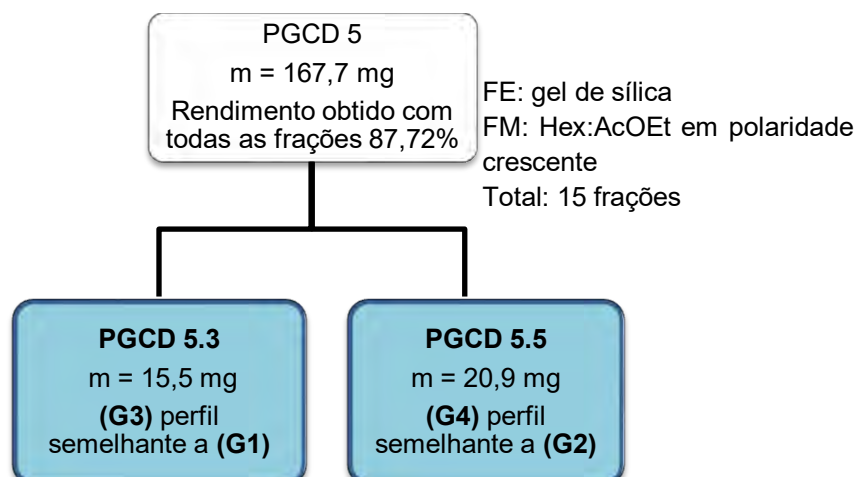


Tabela 7. Estudo cromatográfico da fração PGCD 5 (167,7mg).

| Frações reunidas | Códigos | Massa (mg) | Observações |
|------------------|----------|------------|---------------------------------|
| 26-37 | PGCD 5.3 | 15,5 | Substância PGDC 5.3 (G3) |
| 40-61 | PGCD 5.5 | 20,9 | Substância PGCD 5.5 (G4) |

4.3.1.6 Procedimento cromatográfico da fração PGCD 8: isolamento de **G5**.

A fração PGCD 8 foi submetida CCCAD realizando um gradiente com o sistema heptano: acetonitrila: *iso*-butanol, na concentração (3:3:1). A fase estacionária foi a fase superior do sistema e a fase móvel foi a fase inferior. Inicialmente, cerca de 1 litro do sistema foi preparado e submetido à agitação por 30 minutos. Após esse processo o sistema foi desgaseificado em banho ultrassônico por 10 minutos e reservado para introdução no cromatógrafo. A

fase estacionária foi introduzida no aparelho e após preenchimento de todo o sistema, a rotação foi ligada e ajustada até atingir 1200 rpm. Nesse mesmo instante, a fase móvel foi bombeada a um fluxo de 1,5 mL/min no sentido cabeça para cauda. Quando o equilíbrio hidrodinâmico foi atingido (85,2% de retenção de fase estacionária) 539,6 mg da amostra foram injetadas com o auxílio de uma válvula de injeção.

Desse fracionamento foram obtidas 151 frações, que após análise por CCDA foram reunidas em 23 frações. A fração PGCD 8.21 apresentou uma única mancha na CCDA, sendo denominada **G5** (Figura 7 e Tabela 8).

Figura 7. Fluxograma de isolamento de **G5** oriundo da fração PGCD 8.

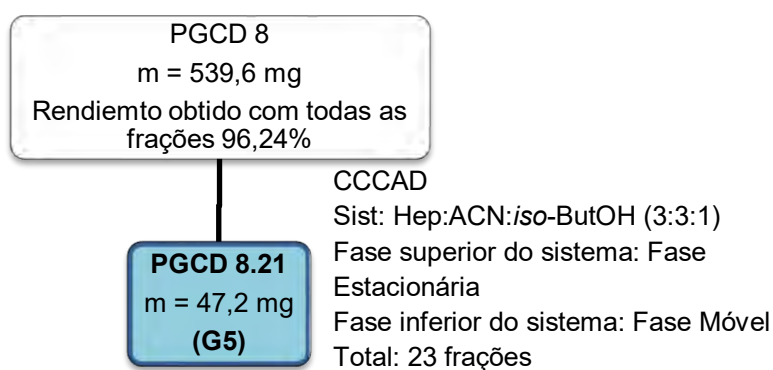


Tabela 8. Estudo cromatográfico da fração PGCD 8 (539,6 mg).

| Frações reunidas | Códigos | Massa (mg) | Observações |
|------------------|-----------|------------|----------------------------------|
| 117-126 | PGCD 8.21 | 47,2 | Substância PGCD 8.21 (G5) |

4.3.1.7 Procedimento cromatográfico da fração PGCD13: isolamento de **G6**, **G7**, **G8**, **G9**, **G10** e **G11**.

A fração PGCD 13 foi submetida ao método de eluição por gradiente em CCCAD utilizando o sistema hexano: acetato de etila: metanol: água, variando a proporção de metanol (1: 2: 1: 1, sistema 1), (1: 2: 1,5: 1, sistema 2) e (1: 2: 2: 1, sistema 3). A fase estacionária foi a fase superior do sistema 1 e a fase móvel foi a fase inferior dos outros sistemas. Inicialmente cerca de 1 litro dos sistemas foram preparados e submetidos à agitação por 30 minutos. Após esse processo os sistemas foram desgaseificados em banho ultrassônico por 10 minutos e reservados para posterior utilização.

O cromatógrafo foi ajustado à temperatura de 25°C e a coluna preenchida com a fase estacionária e em seguida, a rotação foi ligada e ajustada até atingir 1200 rpm, enquanto a fase móvel foi bombeada a um fluxo de 1,5 mL/min no sentido da cabeça para cauda. Ao atingir o equilíbrio hidrodinâmico a retenção da fase estacionária foi mensurada (67,2%) e a fração (207,8 mg) foi injetada com o auxílio de uma válvula de injeção. A troca da fase móvel do sistema 1 para o sistema 2 foi realizada quando atingido o volume de eluição de 244 mL, que representa o K2. A fase inferior do sistema 2 foi substituída pela fase inferior do sistema 3, quando atingido o volume de 102 mL.

O fracionamento resultou em 223 frações, que após análise por CCDA foram reunidas em 48 frações. As frações PGCD13-6, PGCD13-8, PGCD13-15, PGCD13-17 PGCD13-19 e PGCD13-21 apresentaram uma única mancha na CCDA e foram submetidas ao processo de elucidação estrutural, sendo denominadas **G6**, **G7**, **G8**, **G9**, **G10** e **G11** (Figura 8 e Tabela 9, p. 48).

Figura 8. Fluxograma de isolamento das substâncias **G6**, **G7**, **G8**, **G9**, **G10** e **G11**.

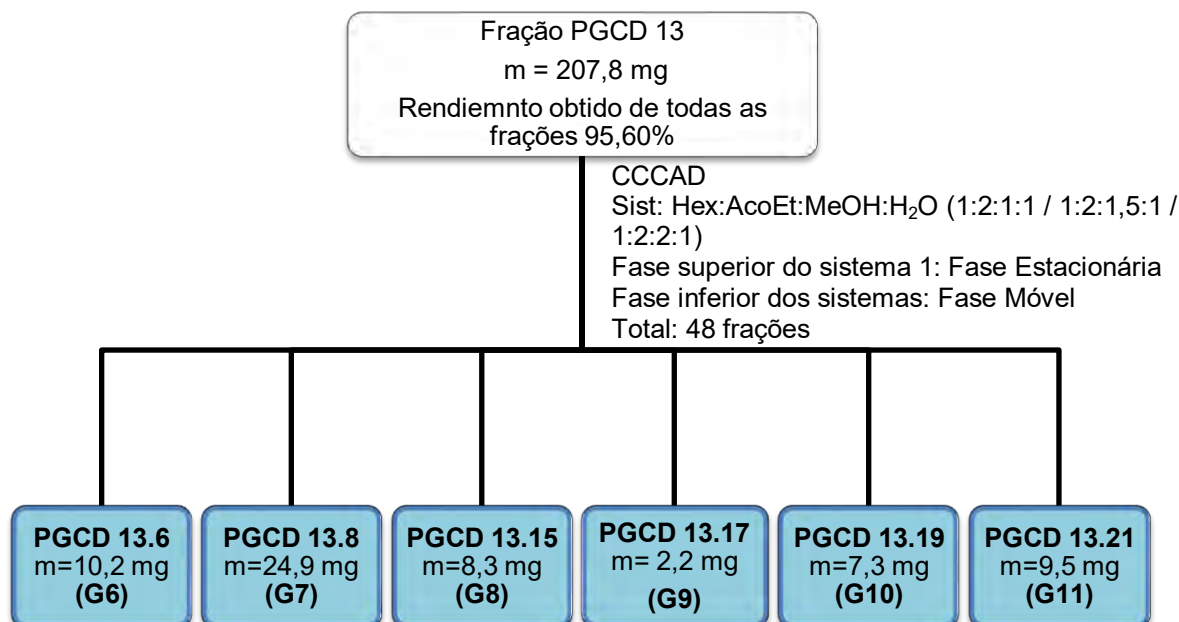


Tabela 9. Estudo cromatográfico da fração PGCD13 (207,8 mg).

| Frações reunidas | Códigos | Massa (mg) | Observações |
|------------------|-----------|------------|-----------------------------------|
| 18-22 | PGCD13-6 | 10,2 | Substância PGCD13-6 (G6) |
| 26-30 | PGCD13-8 | 24,9 | Substância PGCD13-8 (G7) |
| 60-67 | PGCD13-15 | 8,3 | Substância PGCD13-15 (G8) |
| 75-81 | PGCD13-17 | 2,2 | Substância PGCD13-17 (G9) |
| 86-88 | PGCD13-19 | 7,3 | Substância PGCD13-19 (G10) |
| 106-120 | PGCD13-21 | 9,5 | Substância PGCD13-21 (G11) |

4.3.2 Obtenção do extrato bruto e frações das folhas da *P. guianensis*

Após a coleta, a secagem do material foi realizada em estufa com circulação de ar à 40°C e, posteriormente, submetido à trituração em moinho de facas (1203,68 g).

As folhas secas e trituradas (1134,92 g) foram submetidas à extração contínua em aquecimento por Soxhlet. O procedimento foi realizado em um cartucho de papel de filtro, onde foram adicionados 200 g de folhas processadas. O cartucho foi colocado no aparelho de Soxhlet e submetido à extração com metanol até total exaustão (**Figura 9, p. 49**).

Uma alíquota de 56,89 g do extrato seco foi solubilizada em água/metanol 30% e posteriormente, fracionada por partição em solventes imiscíveis em ordem crescente de polaridade (diclorometano, acetato de etila e n-butanol) (**Figura 10, p. 49 e Tabela 10, p. 50**).

As soluções obtidas foram destiladas a pressão reduzida em evaporador rotativo para remoção do solvente e posteriormente, submetido ao processo de liofilização, a fim de remover todo resíduo de água.

Figura 9. Fluxograma de obtenção do extrato metanólico das folhas da *P. guianensis* (PGM) através do aparelho de Soxhlet.

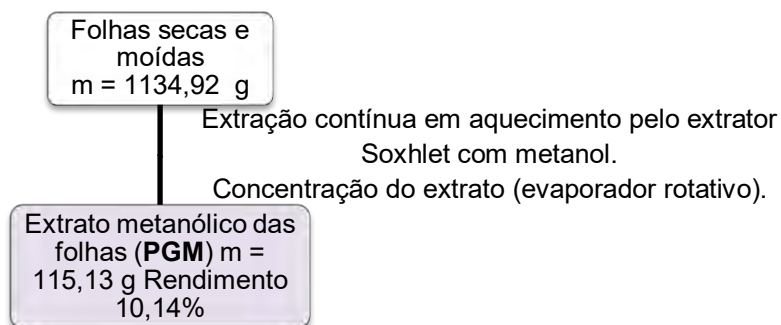


Figura 10. Fluxograma do fracionamento inicial do extrato metanólico das folhas da *P. guianensis* (PGFM).

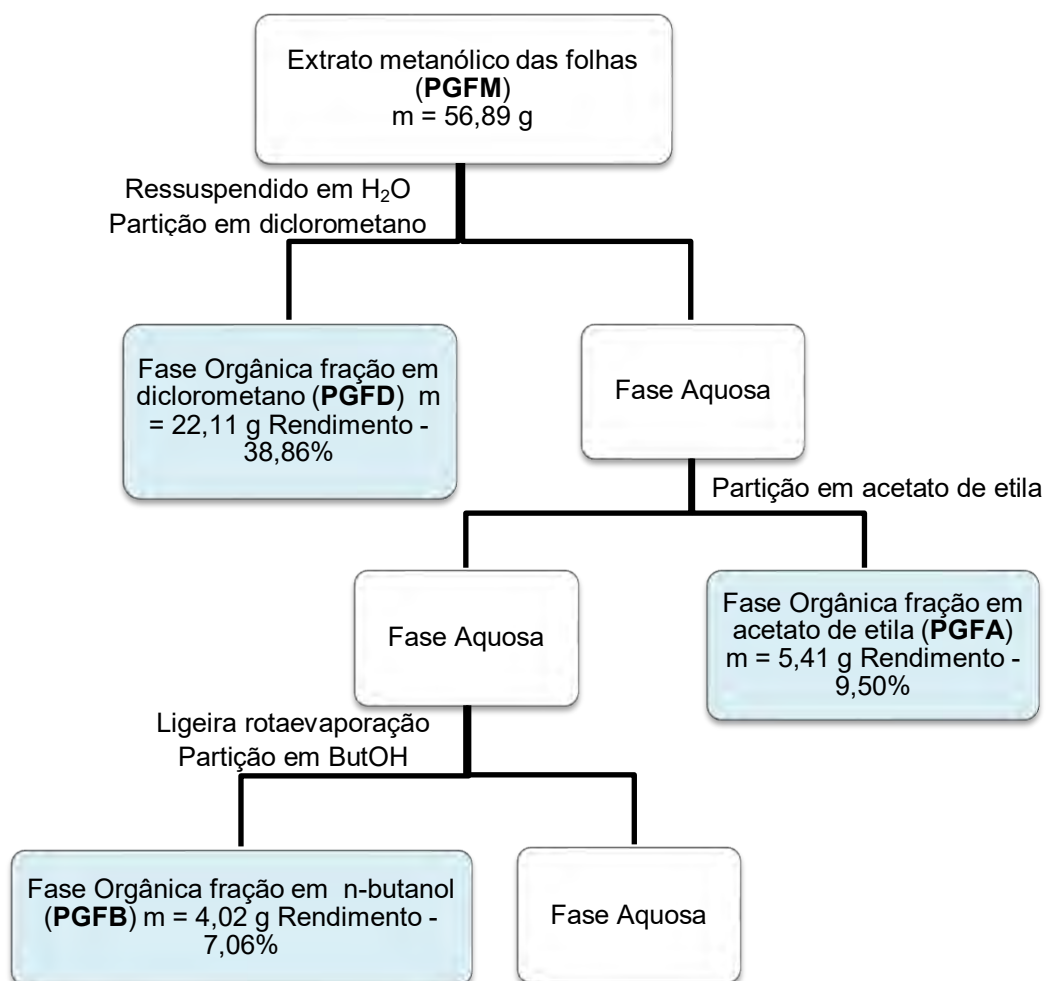


Tabela 10. Massas dos extratos brutos e frações obtidas das folhas da *P. guianensis* pela extração em Soxhlet.

| Espécie Vegetal | Parte do Vegetal | Extratos e Frações | Peso dos extratos e frações |
|----------------------|------------------|--------------------------------|-----------------------------|
| <i>P. Guianensis</i> | Folhas | Extrato metanólico (PGFM) | 115,13 g |
| | | Fração diclometânica (PGFD) | 22,11 g |
| | | Fração acetato de etila (PGFA) | 5,41 g |
| | | Fração butanólica (PGFB) | 4,02 g |

4.3.2.1 Análise cromatográfica do extrato bruto metanólico por Cromatografia à Líquido de Ultra Eficiência (CLUE).

O extrato bruto em metanol de *P. guianensis* foi submetido à análise por CLUE, a fim de se obter o perfil cromatográfico dessa espécie.

A solução para aplicação no cromatógrafo foi preparada, solubilizando 20 mg de extrato em 1 mL de uma solução contendo 5% de acetonitrila em água desionizada ultrapura. Os microtubos contendo as soluções foram colocados em banho ultrassônico por cinco minutos e em seguida, centrifugadas para remoção de substâncias insolúveis. O sobrenadante foi filtrado em membrana de 0,45 µm (13 mm, Tedia) e transferido para frasco *via* de vidro de 1,5 mL para a análise cromatográfica.

A fase móvel foi formada pelo eluente A, água desionizada ultrapura com 0,1% de ácido fórmico e pelo eluente B, acetonitrila com 0,1% de ácido fórmico. Ambos os sistemas foram desgaseificados em banho ultrassônico por 30 minutos.

O fluxo total da fase móvel foi de 0,25 mL. min⁻¹ com volume de injeção de 20 µL e temperatura do forno a 40 °C.

A metodologia de eluição desenvolvida foi baseada principalmente na separação dos picos e realizada por um sistema de gradiente entre os sistemas A e B, consistindo nas seguintes etapas: gradiente de 0-1 min a 3% de B, 1-121 min 3 a 10% de B, 121-126 min 10% B, 126-131 min 10 a 100% B, 131-136 min 100% B, 136-141 min de 100^a 3% B, 141-145 min 3%B. No total, a metodologia teve duração de 145 minutos.

O detector de arranjo de diodos foi programado para varredura de 190 a 400 nm. O comprimento de onda de 345 nm foi escolhido para obtenção dos cromatogramas, em virtude da melhor detecção de flavonoides e aril propanoides.

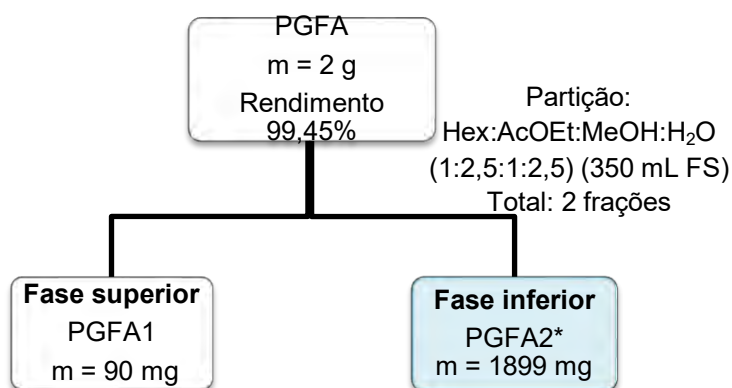
4.3.2.2 *Análise das frações obtidas a partir do extrato bruto metanólico.*

As frações (PGFD, PGFA e PGFB) obtidas foram analisadas por CCDA e eluídas com diversos sistemas de solvente. As placas foram visualizadas pela luz ultravioleta (254nm e 365nm) e reveladas com NP/PEG, orcinol e a vanilina sulfúrica. Tal procedimento possibilitou ordenar a sequência do trabalho, priorizando as frações que continham um grande número de flavonoides. Desta forma, a fração em acetato de etila (PGFA) foi escolhida para ser trabalhada.

4.3.2.3 *Purificação e isolamento dos constituintes químicos da fração em acetato de etila das folhas de P. guianensis (PGFA).*

O isolamento e purificação das substâncias presentes na fração em acetato de etila (PGFA) foram feitos por partição utilizando um sistema formado pelos solventes: hexano: acetato de etila: metanol: água (1: 2,5: 1: 2,5). Nesse procedimento, 2 g da fração em acetato de etila foram solubilizados com a fase inferior do sistema e fracionados com a fase superior. **(Figura 11).**

Figura 11. Fluxograma de purificação da fração em acetato de etila (PGFA).



4.3.2.4 Procedimento cromatográfico da fração PGFA2*: isolamento e / ou identificação de **G12**, **G13** e **G14**.

A fração PGFA2* foi submetida à CCCAD utilizando o sistema clorofórmio: n-butanol: metanol: água (7: 3: 3: 4). Inicialmente, cerca de 1 litro do sistema foi preparado e submetido à agitação por 30 minutos. Após esse processo, o sistema foi desgaseificado em banho ultrassônico por 10 minutos e reservado para introdução no cromatógrafo.

A fase estacionária foi introduzida no aparelho e após preenchimento de todo o sistema a rotação foi ligada e ajustada até atingir 1200 rpm. Nesse mesmo instante, a fase móvel foi bombeada a um fluxo de 1,5 mL/min no sentido da cabeça para cauda. Quando o equilíbrio hidrodinâmico foi atingido (85,21% de retenção de fase estacionária) 901,6 mg da amostra foram injetadas com o auxílio de uma válvula de injeção.

Desse fracionamento foram obtidas 206 frações, que após análise por CCDA foram reunidas em 33 frações. As frações PGFA2*11, PGFA2*18 e PGFA2*23 apresentaram uma única mancha na CCDA e foram submetidas ao processo de elucidação estrutural, sendo denominadas **G12**, **G13** e **G14** (Figura 12 e Tabela 11).

Figura 12. Fluxograma de isolamento das substâncias **G12**, **G13** e **G14**.

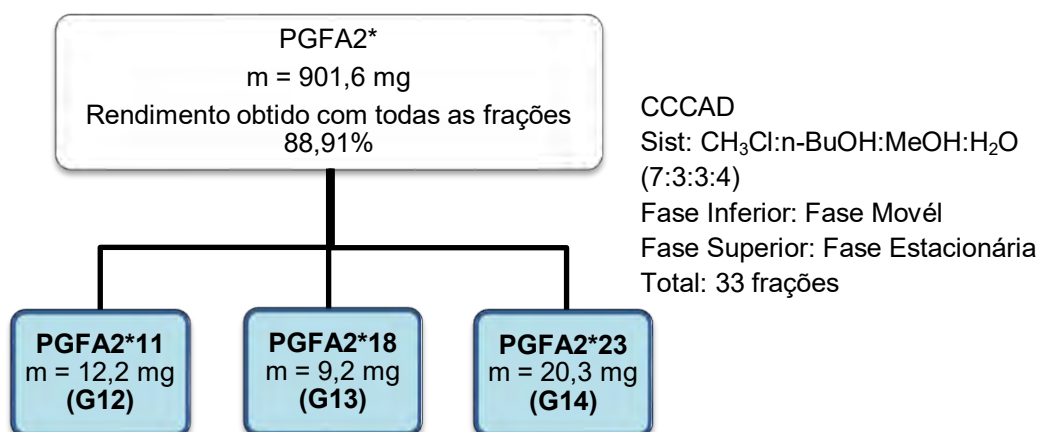
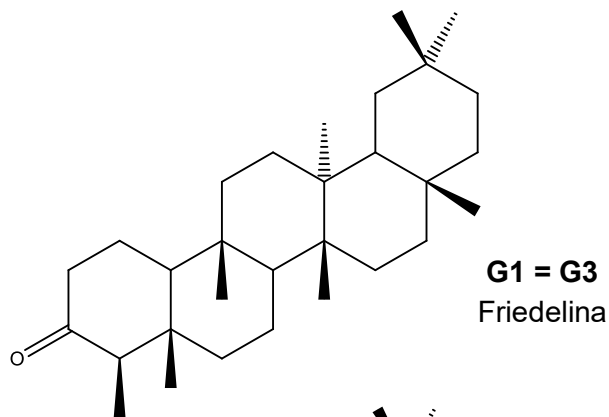


Tabela 11. Estudo cromatográfico da fração PGFA2* (901,6 mg).

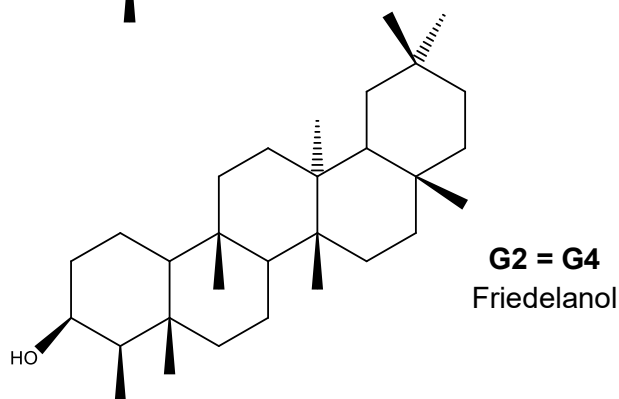
| Frações reunidas | Códigos | Massa (mg) | Observações |
|------------------|-----------|------------|----------------------------|
| 67-70 | PGFA2* 11 | 12,2 | Substância PGFA2* 11 (G12) |
| 92-94 | PGFA2* 18 | 9,2 | Substância PGFA2* 18 (G13) |
| 107-110 | PGFA2* 23 | 20,3 | Substância PGFA2* 23 (G14) |

5 SUBSTÂNCIAS IDENTIFICADAS

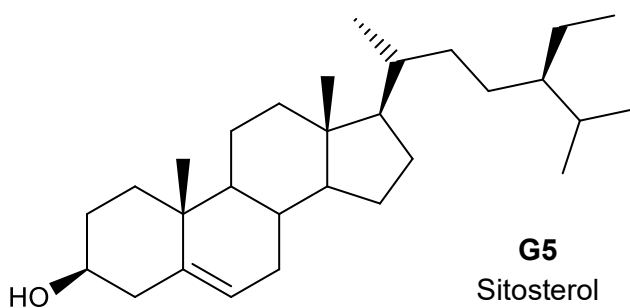
A seguir, estão representadas as estruturas das substâncias identificadas no caule (9 substâncias) e nas folhas (3 substâncias) da *P. guianensis*.



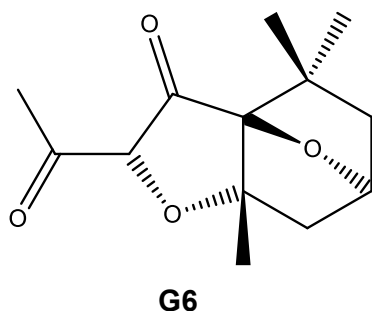
P. guianensis
Caule
Extrato em diclorometano
Isolamento: p. 44
Identificação: p. 56
Massa: 70,6mg



P. guianensis
Caule
Extrato em diclorometano
Isolamento: p. 44
Identificação: p. 62
Massa: 16,6mg

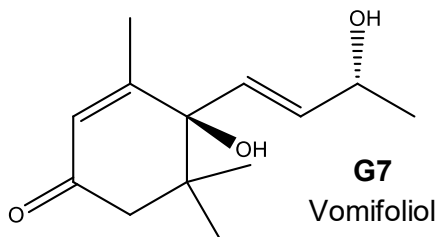


P. guianensis
Caule
Extrato em diclorometano
Isolamento: p. 45
Identificação: p. 69
Massa: 47,2mg



5,8;3,6-diepóxidotetraidromegastigman-9,7-diona

P. guianensis
Caule
Extrato em diclorometano
Isolamento: p. 46
Identificação: p. 75
Massa: 10,2mg



P. guianensis

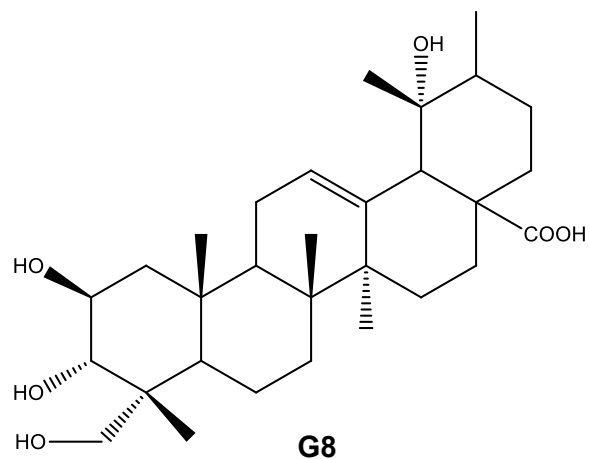
Caule

Extrato em diclorometano

Isolamento: p. 46

Identificação: p. 82

Massa: 24,9mg



Ácido 2 β ,3 α ,19 α ,23-tetraidroxiurs-12-en-28-óico

P. guianensis

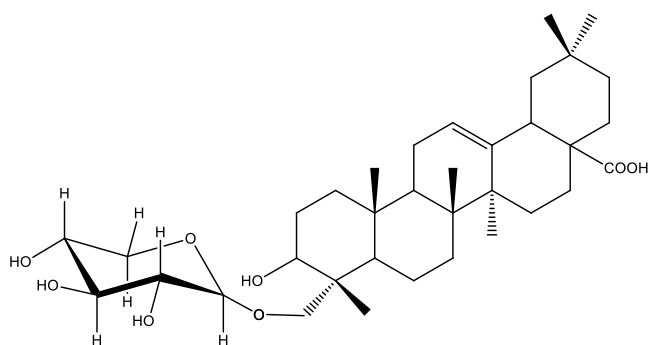
Caule

Extrato em diclorometano

Isolamento: p. 46

Identificação: p. 88

Massa: 8,3mg



Ácido 23- β -xilopiranosídeo-3 β ,23-diidroxiurs-12-en-28-óico

P. guianensis

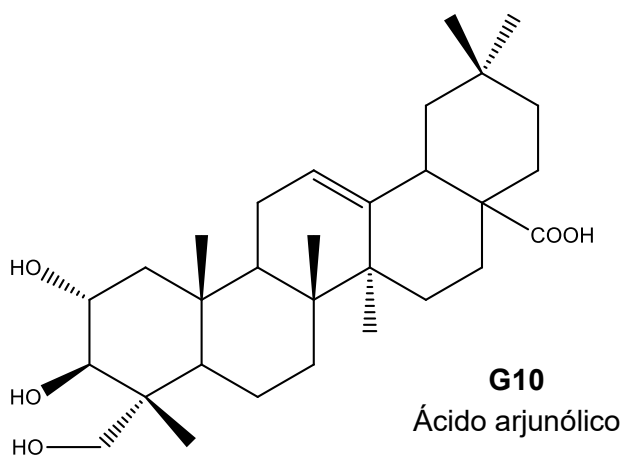
Caule

Extrato em diclorometano

Isolamento: p. 46

Identificação: p. 94

Massa: 2,2mg



P. guianensis

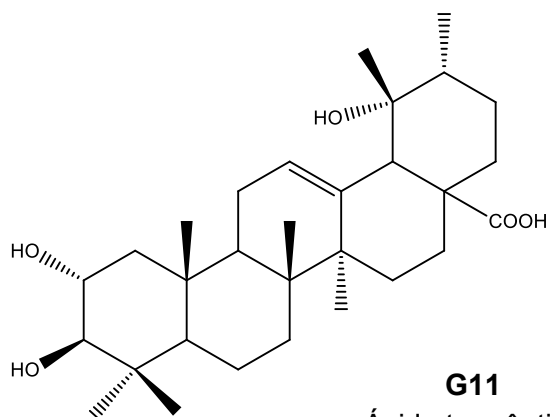
Caule

Extrato em diclorometano

Isolamento: p. 46

Identificação: p. 100

Massa: 7,3mg



P. guianensis

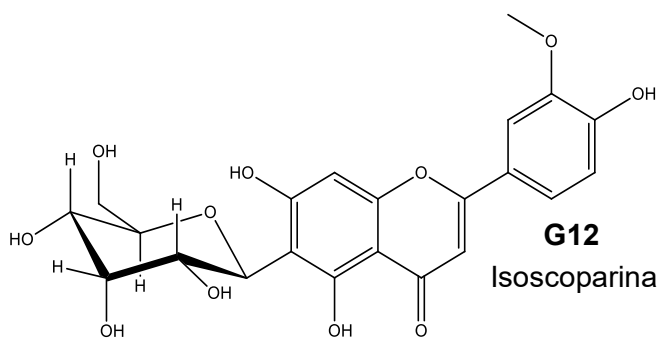
Caule

Extrato em diclorometano

Isolamento: p. 46

Identificação: p. 106

Massa: 9,5mg



P. guianensis

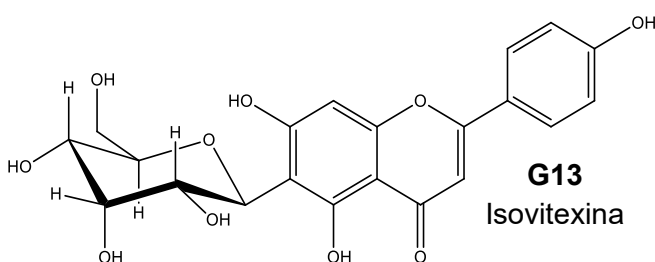
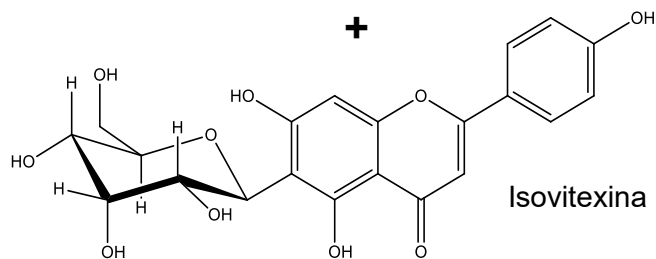
Folhas

Fração em Acetato de etila

Isolamento: p. 52

Identificação: p. 120

Massa: 12,2mg



P. guianensis

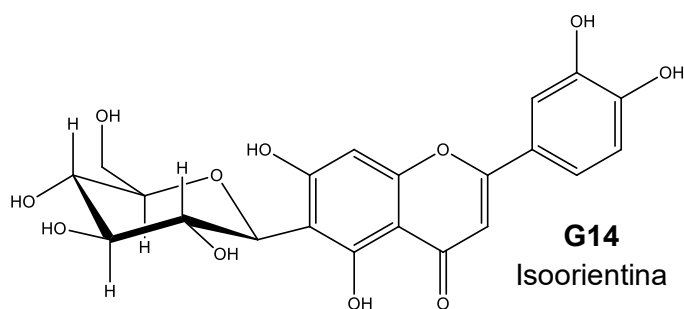
Folhas

Fração em Acetato de etila

Isolamento: p. 52

Identificação: p. 128

Massa: 9,2mg



P. guianensis

Folhas

Fração em Acetato de etila

Isolamento: p. 52

Identificação: p. 134

Massa: 20,3mg

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 ESTUDO QUÍMICO

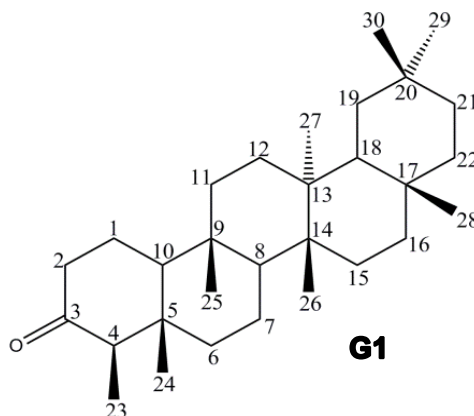
A determinação estrutural das substâncias obtidas da espécie *P. guianensis* foi realizada pelas técnicas instrumentais de Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN), Espectrometria de Massas de Alta Resolução (ESI-EM) e Espectrometria de Massas (EM).

As técnicas supracitadas foram utilizadas de maneira articulada e complementares e permitiram a elucidação das substâncias que serão descritas a seguir.

6.1.1 Caule

6.1.1.1 Fração em diclorometano do caule PGCD 3

6.1.1.1.1 Determinação estrutural de **G1**



A amostra codificada como **G1**, obtida do extrato em diclorometano do caule da *P. guianensis*, apresentou-se como um cristal branco em formato de agulha e, quando submetido à eluição em CCDA, utilizando o sistema de solvente hexano: acetato de etila foi observada uma única mancha de cor amarela, com $R_f = 0,65$ quando revelada com vanilina sulfúrica. A análise realizada por CG-EM, o cromatograma revelou uma única substância pertencente à classe triterpenoídica. A amostra **G3** também foi submetida a essa análise, onde foi possível verificar o mesmo tempo de retenção e fragmentograma da **G1**.

No espectro de RMN ^1H e ^{13}C (**Figura 13 e 14, p. 59 e Figura 15, p. 60**) pode-se observar uma riqueza de sinais entre δ_{H} 0,74-2,46 e δ_{C} 6,83-42,80, respectivamente. Essas evidências indicam que a substância pertence à classe dos triterpenos ou esteroides. No espectro de RMN ^{13}C (**Figura 15, p. 60**)

foram observados sinais com deslocamentos químicos que permitiram o assinalamento dos átomos de carbono que compõem a substância **G1**.

O espectro DEPT Q (**Figura 16, p. 60**) indicou a presença de trinta átomos de carbono, sendo oito sinais para grupos metílicos (CH₃) em δ_c 6,83 (CH₃-23), δ_c 14,66 (CH₃-24), δ_c 17,96 (CH₃-25), δ_c 20,27 (CH₃-26), δ_c 18,67 (CH₃-27), δ_c 32,10 (CH₃-28), δ_c 35,04 (CH₃-29) e δ_c 31,79 (CH₃-30) onze sinais para grupos metilênicos (CH₂) em δ_c 22,29 (CH₂-1), δ_c 41,53 (CH₂-2), δ_c 41,29 (CH₂-6), δ_c 18,24 (CH₂-7), δ_c 35,63 (CH₂-11), δ_c 30,51 (CH₂-12), δ_c 32,77 (CH₂-15), δ_c 36,02 (CH₂-16), δ_c 35,35 (CH₂-19), δ_c 32,42 (CH₂-21) e δ_c 39,26 (CH₂-22), quatro sinais para grupos metínicos (CH) δ_c 58,22 (CH-4), δ_c 53,10 (CH-8), δ_c 59,47 (CH-10) e δ_c 42,80 (CH-18) e sete sinais para átomos de carbono não hidrogenados (C) em δ_c 213,21 (C-3), δ_c 42,15 (C-5), δ_c 37,45 (C-9), δ_c 39,70 (C-13), δ_c 38,30 (C-14), δ_c 30,00 (C-17) e δ_c 28,17 (C-20).

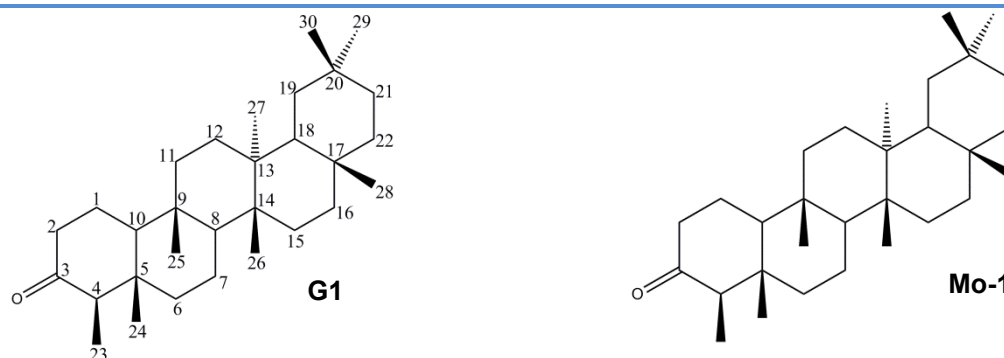
O sinal em δ_c 213,21, sugeriu a presença de um triterpeno com grupo cetona.

Com base nos dados apresentados pelo RMN ¹H, ¹³C e CG-EM a fórmula molecular proposta para a substância com tempo de retenção 29,15 minutos é: (C)₆(C=O)(CH)₄(CH₂)₁₁(CH₃)₈ = C₃₀H₅₀O.

A análise conjunta dos espectros HSQC e HMBC (**Figura 17 e Figura 18, p. 61**) confirmaram as atribuições dos átomos de hidrogênio e carbono da substância **G1**. Os dados espectrais de RMN descritos acima foram comparados com os dados da literatura (DAVID et al., 2003) e permitiu atribuir a essa substância a estrutura do triterpeno pentacíclico friedelina (**Mo-1**) sendo esses dados encontrados na **Tabela 12, p. 58**.

A substância com tempo de retenção 29,15 min. (**Figura 19, p. 62**), obtida por CG-EM, exibiu um sinal em m/z 426 daltons (**Figura 20, p. 62**), que é coerente com o íon molecular da friedelina, cuja fórmula molecular é C₃₀H₅₀O. Outros sinais oriundos da fragmentação de **G1** foram observados, sendo destacados os de maior intensidade como: m/z 411; m/z 341; m/z 302; m/z 287; m/z 273; m/z 246; m/z 231; m/z 218; m/z 205; m/z 191; m/z 179; m/z 163; m/z 123; m/z 109 e m/z 95 daltons (**Figura 20, p. 62**), esses dados coincidem com os valores dos íons moleculares observados na literatura para a friedelina (SEUPEL et al., 2015).

Tabela 12. Dados de RMN ^1H (500 MHz) e RMN ^{13}C (125 MHz) de **G1** em CDCl_3 , correlações observadas no espectro de HSQC e HMBC e comparação com os valores de referência do modelo **Mo-1**, em CDCl_3 . Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm e as constantes de acoplamento (J), em Hz.



| Nº C | HSQC | | HMBC | | Mo-1 (DAVID et al., 2003) |
|-----------------------|------------|-----------------|--------------|------------------------|---------------------------|
| | δ_c | δ_H | J^2 | J^3 | δ_c |
| C | | | | | |
| 3 | 213,21 | - | | | 213,32 |
| 5 | 42,15 | - | | | 42,09 |
| 9 | 37,45 | - | | | 37,47 |
| 13 | 39,70 | - | | | 39,71 |
| 14 | 38,30 | - | | | 38,22 |
| 17 | 29,99 | - | | | 29,99 |
| 20 | 28,17 | - | | | 28,14 |
| CH | | | | | |
| 4 | 58,22 | 2,27 | 6,83; 213,21 | 14,66; 41,29; 59,47 | 58,23 |
| 8 | 53,10 | 1,45 | | | 53,12 |
| 10 | 59,47 | 1,59 | | | 59,54 |
| 18 | 42,79 | 1,62 | | | 42,87 |
| CH₂ | | | | | |
| 1 | 22,29 | 2,00 | | | 22,25 |
| 2 | 41,53 | 2,42 | 213,21 | | 41,48 |
| 6 | 41,29 | 2,35 | | | 41,33 |
| 7 | 18,24 | 1,56 | | | 18,24 |
| 11 | 35,63 | 1,44 | | | 35,65 |
| 12 | 30,51 | 1,36 | | | 30,50 |
| 15 | 32,10 | 1,45 | | | 32,10 |
| 16 | 36,02 | 1,63 | | | 36,05 |
| 19 | 35,04 | 1,02 d, $J=3,2$ | 28,17 | 29,99; 32,42 | 35,35 |
| 21 | 32,42 | 1,24 | | | 32,49 |
| 22 | 39,26 | 1,57 | | | 39,24 |
| CH₃ | | | | | |
| 23 | 6,83 | 0,97 s | | | 6,75 |
| 24 | 14,66 | 0,74 s | | | 14,63 |
| 25 | 17,96 | 0,89 s | | | 17,92 |
| 26 | 20,27 | 1,07 s | | | 20,12 |
| 27 | 18,68 | 0,90 s | | | 18,61 |
| 28 | 31,80 | 1,27 s | | | 31,78 |
| 29 | 35,04 | 1,02 d, $J=3,2$ | | | 34,98 |
| 30 | 31,79 | 1,20 s | | | 31,71 |

Figura 13. Espectro de RMN ^1H (500 MHz) em CDCl_3 de **G1**.

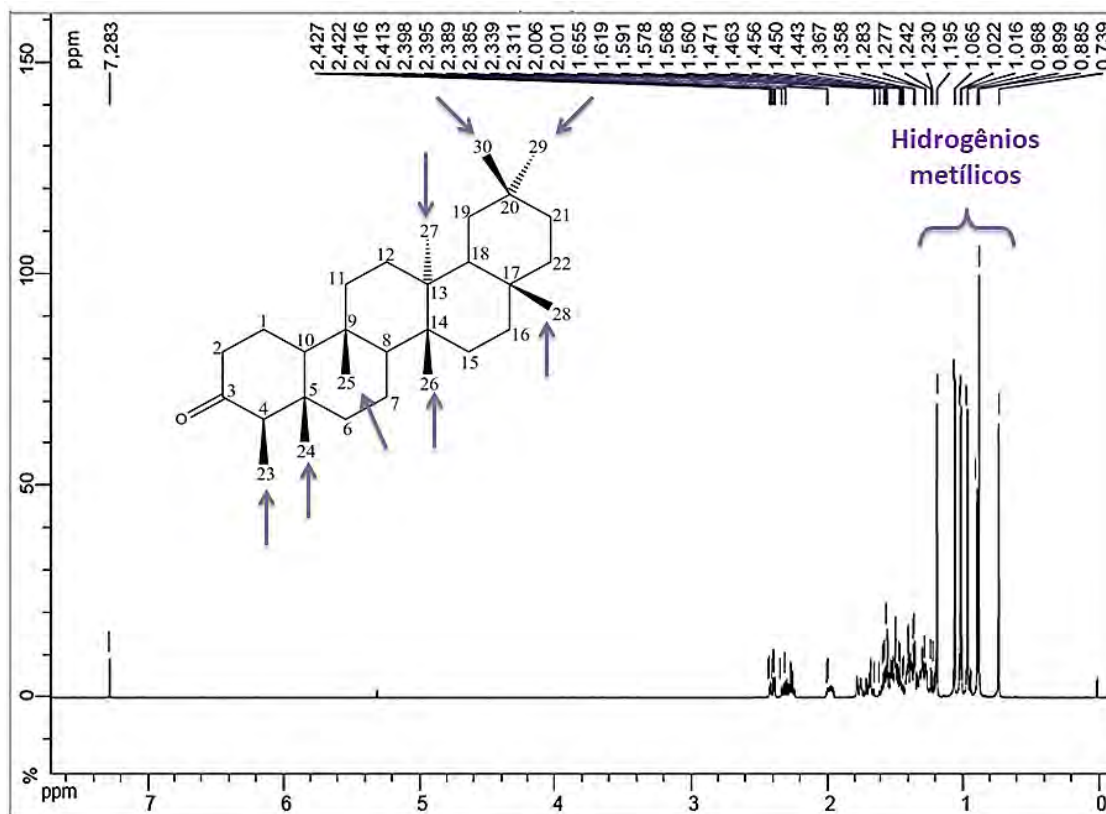


Figura 14. Ampliação da região de δ_{H} 0,7- 2,4 do espectro de RMN ^1H (500 MHz) em CDCl_3 de **G1**.

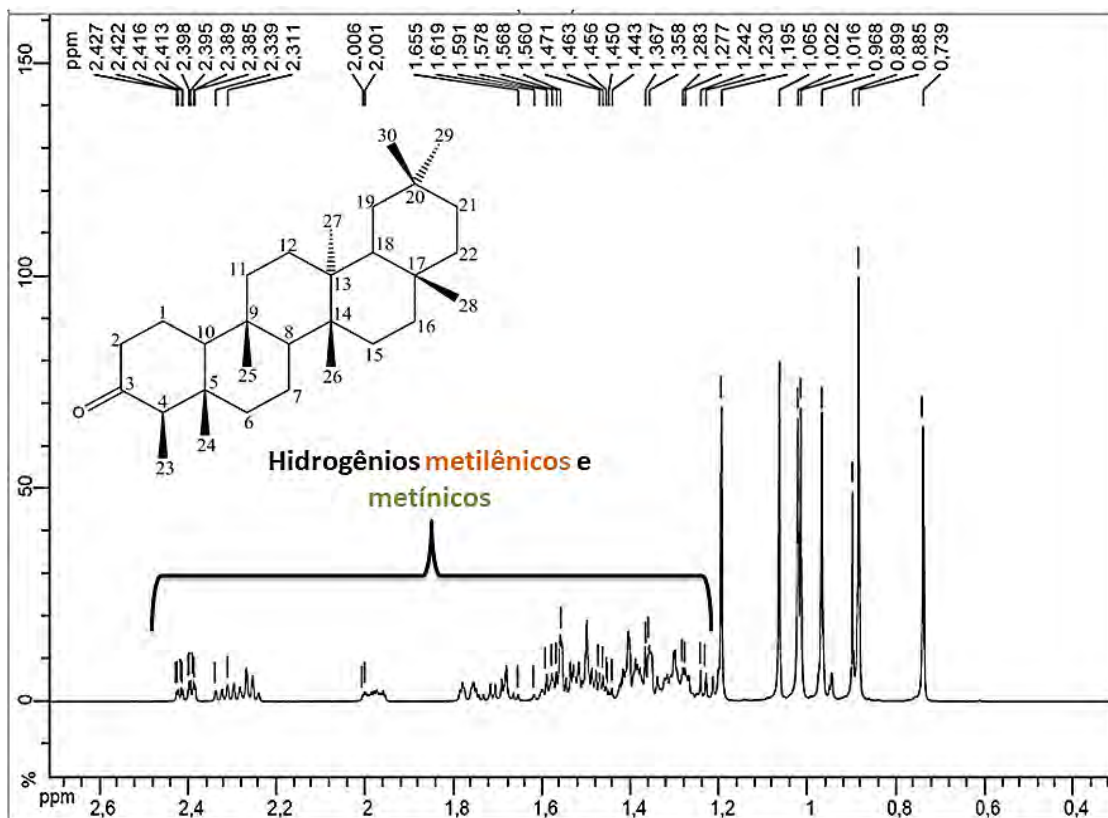


Figura 15. Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz) em CDCl_3 de **G1**.

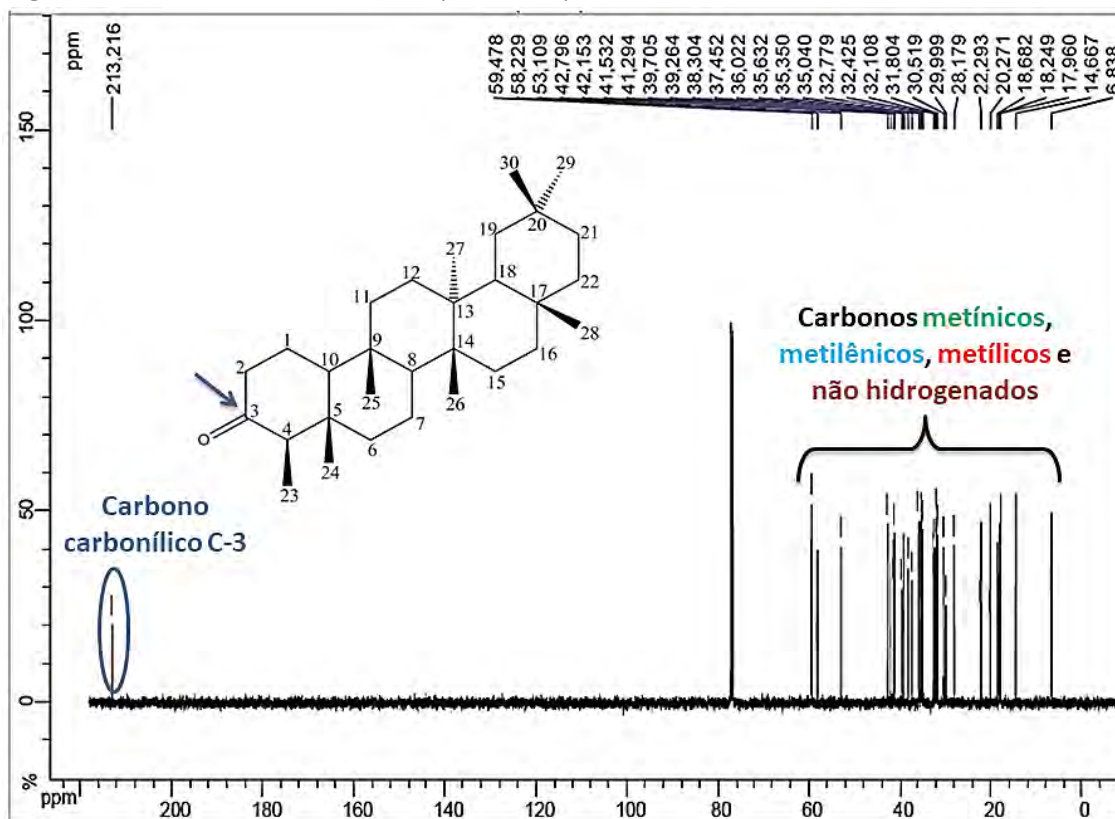


Figura 16. Espectro de RMN ^{13}C DEPT Q (125 MHz) em CDCl_3 de **G1**.

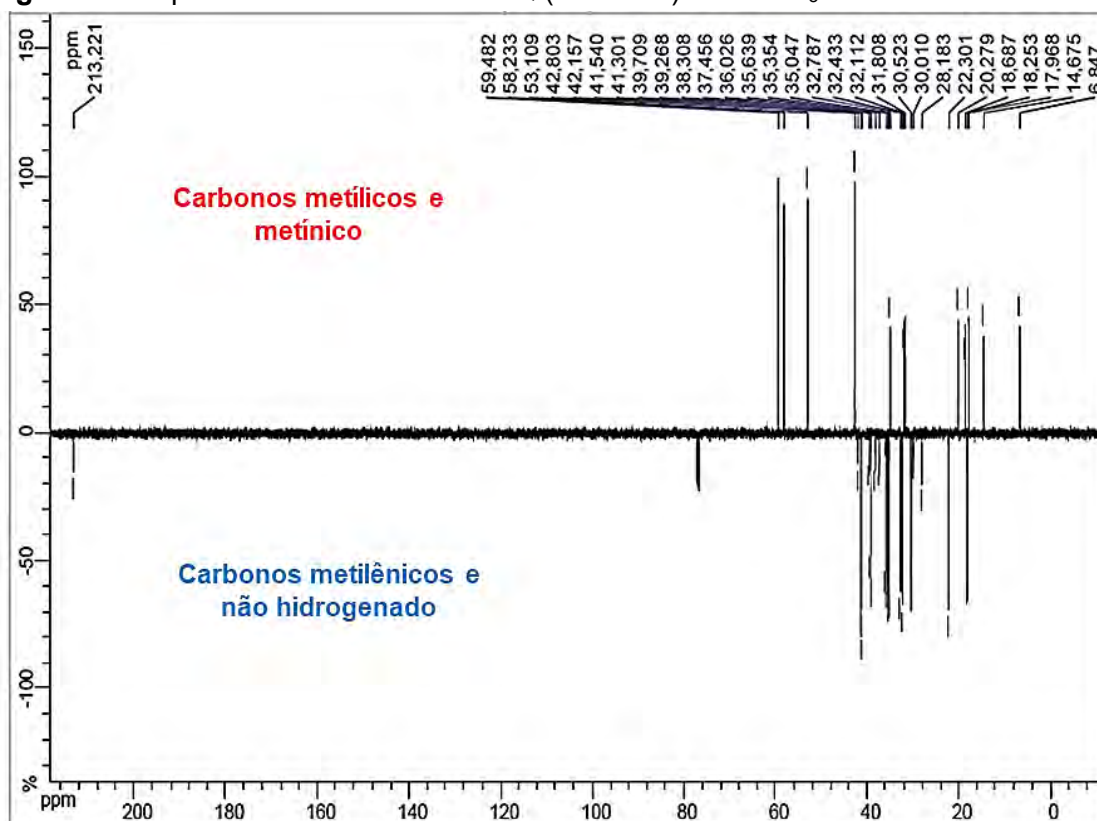


Figura 17. Mapa de correlação heteronuclear HSQC em CDCl_3 de **G1**.

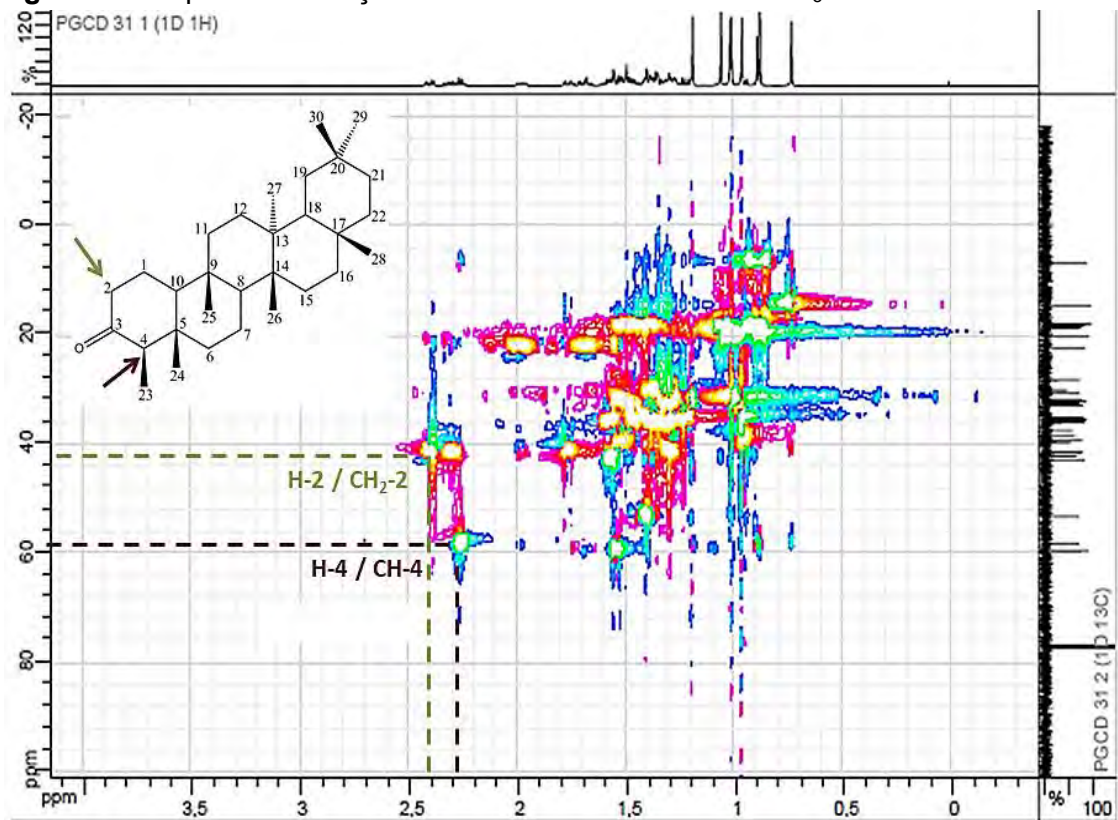


Figura 18. Mapa de correlação heteronuclear HMBC em CDCl_3 de **G1**.

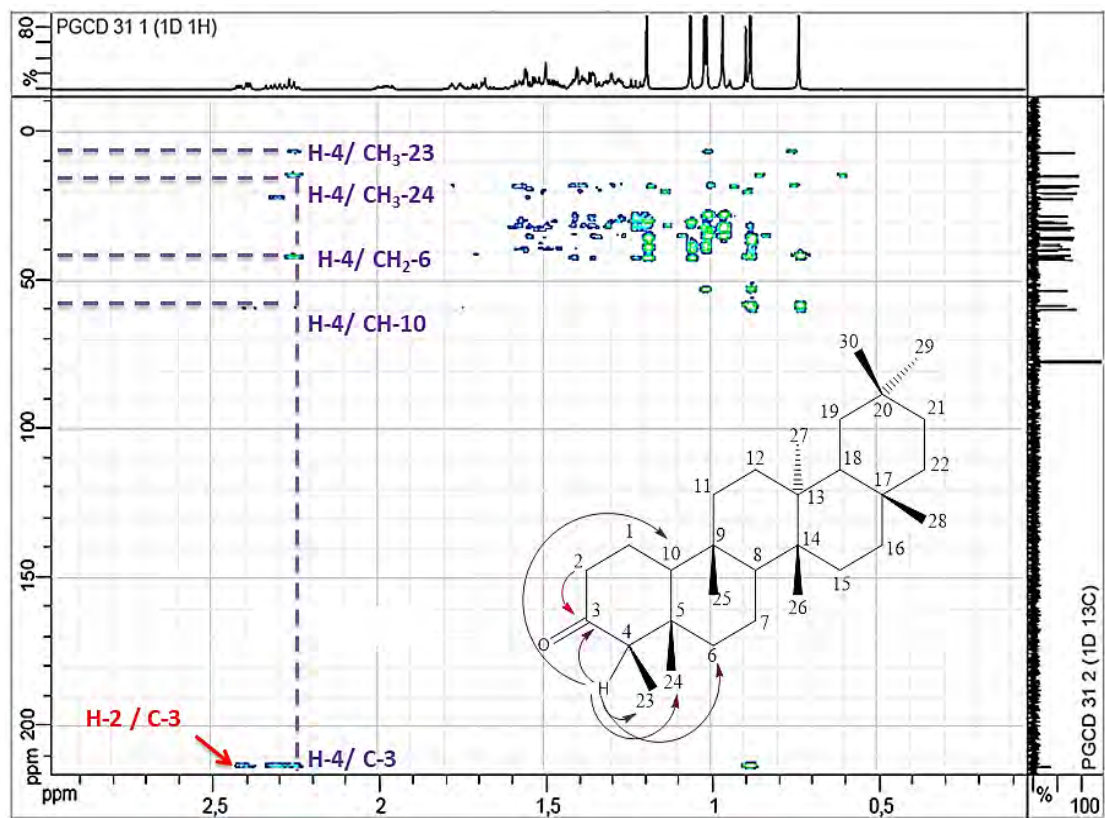


Figura 19. Cromatograma da substância **G1**.

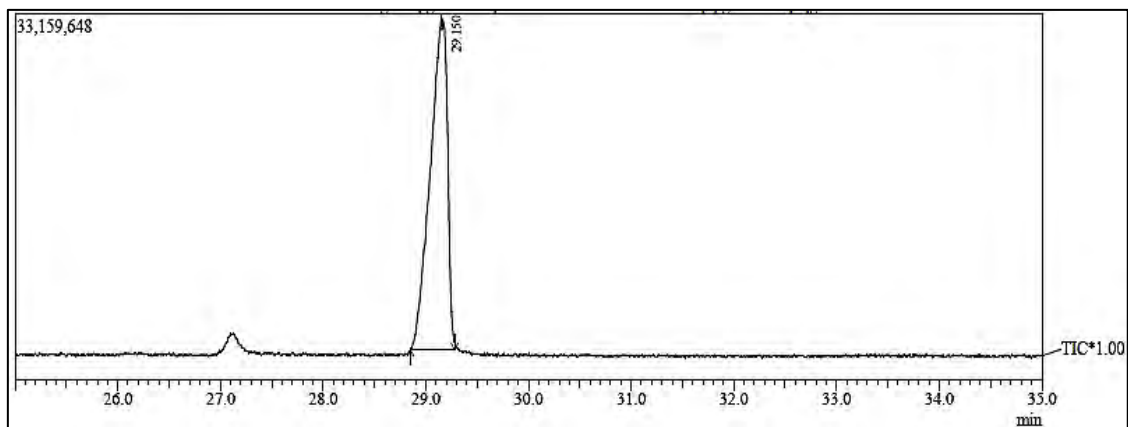
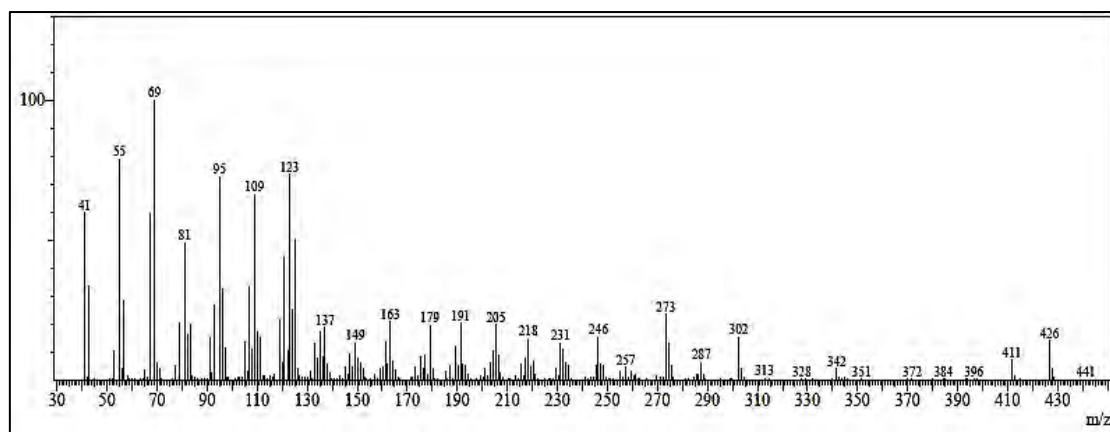
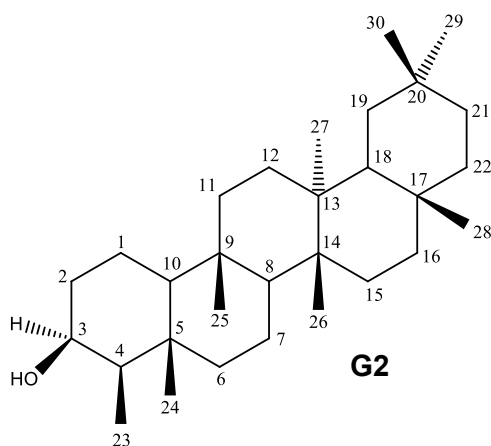


Figura 20. Espectro da substância **G1**.



6.1.1.1.2 Determinação estrutural de **G2**



A amostra codificada como **G2**, obtida do extrato em diclorometano do caule da *P. guianensis*, apresentou-se como um cristal branco em formato de agulha e, quando submetido à eluição em CCDA, utilizando o sistema de solvente hexano: acetato de etila foi observada uma única mancha de cor roxa,

com $R_f = 0,45$ quando revelada com vanilina sulfúrica. A análise preliminar feita por CG-EM mostrou um único sinal com mapa de fragmentação coerente com a classe dos triterpenos. Através dessas análises e por CCDA foi verificado que a amostra **G4** apresentava o mesmo perfil cromatográfico e de fragmentação da **G2**.

No espectro de RMN ^1H e ^{13}C (**Figura 21 e 22, p. 66 e Figura 23, p. 67**) pode-se observar uma riqueza de sinais entre δ_{H} 0,87-3,76 e δ_{C} 11,63-72,77 que são evidências que corroboram com os dados de massas e apontam para a classe dos triterpenos.

No espectro de RMN ^{13}C (**Figura 23, p. 67**) foram observados sinais com deslocamentos químicos que permitiram o assinalamento dos átomos de carbono que compõem a substância **G2**. O espectro DEPT Q (**Figura 24, p. 67**) indicou a presença de trinta átomos de carbono, sendo oito sinais para grupos metílicos (CH_3) em δ_{C} 11,63 (CH_3 -23), δ_{C} 16,40 (CH_3 -24), δ_{C} 18,25 (CH_3 -25), δ_{C} 18,66 (CH_3 -26), δ_{C} 20,13 (CH_3 -27), δ_{C} 32,10 (CH_3 -28), δ_{C} 31,80 (CH_3 -29) e δ_{C} 35,04 (CH_3 -30) onze sinais para grupos metilênicos (CH_2) em δ_{C} 15,80 (CH_2 -1), δ_{C} 35,19 (CH_2 -2), δ_{C} 41,72 (CH_2 -6), δ_{C} 17,55 (CH_2 -7), δ_{C} 35,56 (CH_2 -11), δ_{C} 30,64 (CH_2 -12), δ_{C} 32,33 (CH_2 -15), δ_{C} 36,08 (CH_2 -16), δ_{C} 35,34 (CH_2 -19), δ_{C} 32,81 (CH_2 -21) e δ_{C} 39,29 (CH_2 -22), cinco sinais para grupos metínicos (CH) δ_{C} 72,77 (CH -3), δ_{C} 49,17 (CH -4), δ_{C} 53,20 (CH -8), δ_{C} 61,34 (CH -10) e δ_{C} 42,82 (CH -18) e seis sinais para átomos de carbono não hidrogenados (C) em δ_{C} 37,84 (C-5), δ_{C} 37,10 (C-9), δ_{C} 39,68 (C-13), δ_{C} 38,37 (C-14), δ_{C} 30,03 (C-17) e δ_{C} 28,18 (C-20).

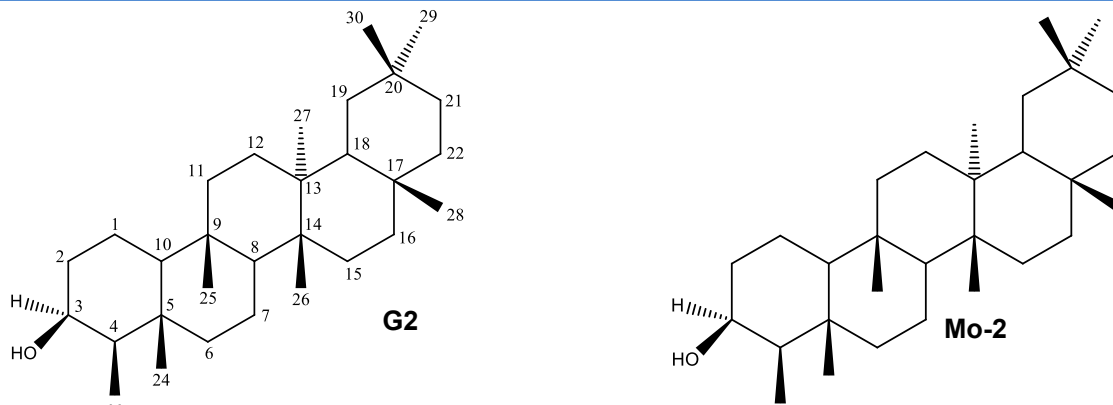
O sinal em δ_{C} 72,77 (CH -3), sugeriu a presença de um triterpeno com grupo hidroxila.

Com base nos dados apresentados pelo RMN ^1H , ^{13}C e CG-EM a fórmula molecular proposta para a substância com tempo de retenção 28,21 min é: $(\text{C})_6(\text{CH-OH})(\text{CH})_4(\text{CH}_2)_{11}(\text{CH}_3)_8 = \text{C}_{30}\text{H}_{52}\text{O}$.

A análise conjunta dos espectros HSQC e HMBC (**Figura 25 e 26, p. 68**) confirmaram as atribuições dos átomos de hidrogênio e carbono da substância **G2**. Os dados espectrais de RMN descritos acima foram comparados com os dados da literatura (GUIMARÃES & SINAI, 2007) e permitiu atribuir a essa substância a estrutura do triterpeno pentacíclico friedelanol (**Mo-2**) sendo esses dados encontrados na **Tabela 13, p. 65**.

A análise dos dados obtidos por CG-EM, confirmou a presença de uma única substância, como mostra o cromatograma na **Figura 27, p. 69**. A substância com tempo de retenção 28,21 min., exibiu um sinal em m/z 428 daltons (**Figura 28, p. 69**), que é coerente com o íon molecular do friedelanol, cuja fórmula molecular é $C_{30}H_{52}O$. Outros sinais oriundos da fragmentação de **G2** foram observados, sendo destacados os de maior intensidade como: m/z 413; m/z 315; m/z 275; m/z 257; m/z 248; m/z 231; m/z 220; m/z 206; m/z 191; m/z 177; m/z 165; m/z 149; m/z 135, m/z 123 e m/z 109 daltons (**Figura 28, p. 69**), esses são condizentes com os valores dos íons moleculares observados na literatura para o friedelanol (GUIMARÃES & SINAI, 2007).

Tabela 13. Dados de RMN ^1H (500 MHz) e RMN ^{13}C (125 MHz) de **G2** em CDCl_3 , correlações observadas no espectro de HSQC e HMBC e comparação com os valores de referência do modelo **Mo-2**, em CDCl_3 . Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm e as constantes de acoplamento (J), em Hz.



| Nº C | HSQC | | HMBC | | Mo-2 (GUIMARÃES & SINAI, 2007) |
|-----------------------|---------------------|---------------------|-------|--------------|---|
| | δ_{C} | δ_{H} | J^2 | J^3 | δ_{C} |
| C | | | | | |
| 5 | 37,84 | - | | | 37,92 |
| 9 | 37,10 | - | | | 37,19 |
| 13 | 39,68 | - | | | 39,74 |
| 14 | 38,37 | - | | | 38,45 |
| 17 | 30,03 | - | | | 30,08 |
| 20 | 28,18 | - | | | 28,19 |
| CH | | | | | |
| 3 | 72,77 | 3,76 d $J=2,6$ | | 15,80; 37,84 | 72,77 |
| 4 | 49,17 | 3,51 s | | | 49,27 |
| 8 | 53,20 | 1,27 s | | | 53,27 |
| 10 | 61,34 | 0,91 | | | 61,50 |
| 18 | 42,82 | 1,57 s | | | 42,96 |
| CH₂ | | | | | |
| 1 | 15,80 | 0,96 s | | | 15,85 |
| 2 | 35,19 | 1,91 s | 72,77 | 49,17; 61,34 | 35,30 |
| 6 | 41,72 | 1,76 | | 53,20; 61,34 | 41,85 |
| 7 | 17,55 | 1,40 | | | 17,59 |
| 11 | 35,56 | 1,55 | 30,64 | 61,34 | 35,64 |
| 12 | 30,64 | 1,29 | | | 30,67 |
| 15 | 32,33 | 1,26 | | | 32,41 |
| 16 | 36,08 | 1,56 | | | 36,17 |
| 19 | 35,34 | 1,14 | | | 35,40 |
| 21 | 32,81 | 1,19 s | | | 32,92 |
| 22 | 39,29 | 1,54 | | | 39,33 |
| CH₃ | | | | | |
| 23 | 11,63 | 0,95 s | | | 11,58 |
| 24 | 16,40 | 0,99 s | | | 16,40 |
| 25 | 18,25 | 0,88 s | | | 18,25 |
| 26 | 18,66 | 1,02 s | | | 18,61 |
| 27 | 20,13 | 1,03 s | | | 20,12 |
| 28 | 32,10 | 1,19 s | | | 32,12 |
| 29 | 31,80 | 1,47 s | | | 31,81 |
| 30 | 35,04 | 1,15 s | | | 35,01 |

Figura 21. Espectro de RMN ^1H (500 MHz) em CDCl_3 de **G2**.

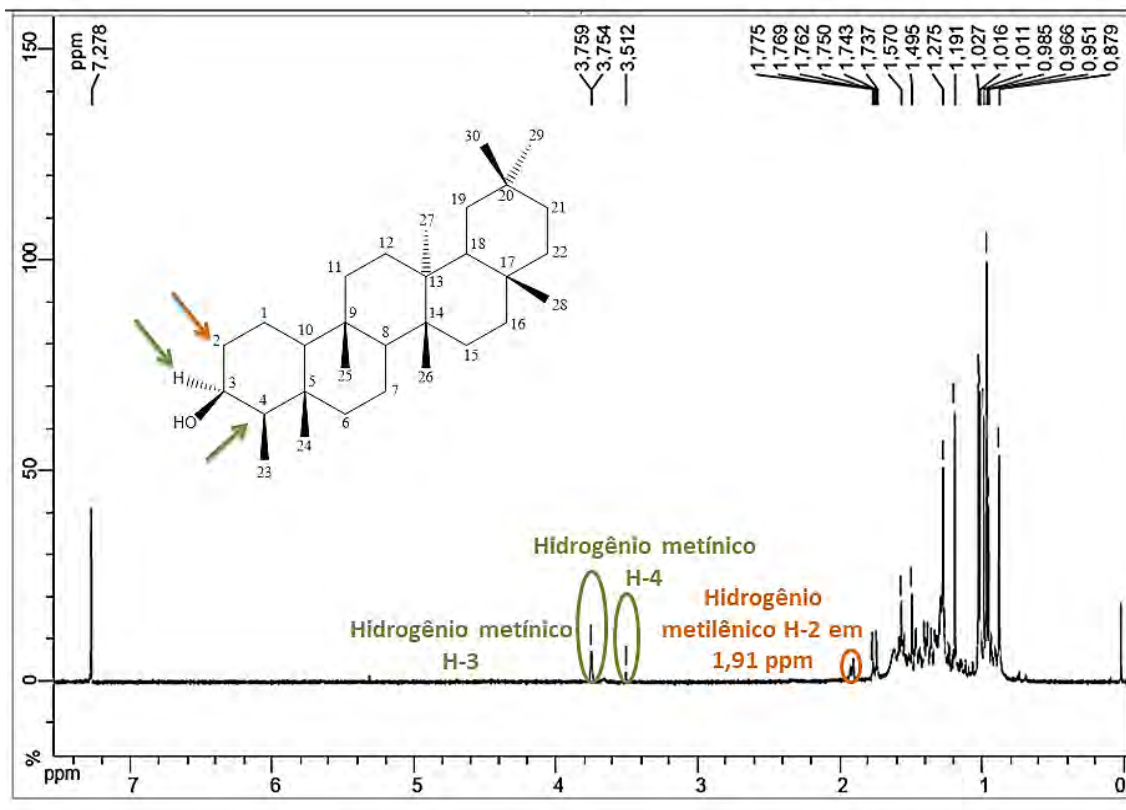


Figura 22. Ampliação da região de δ_{H} 0,8- 3,7 do espectro de RMN ^1H (500 MHz) em CDCl_3 de **G2**.

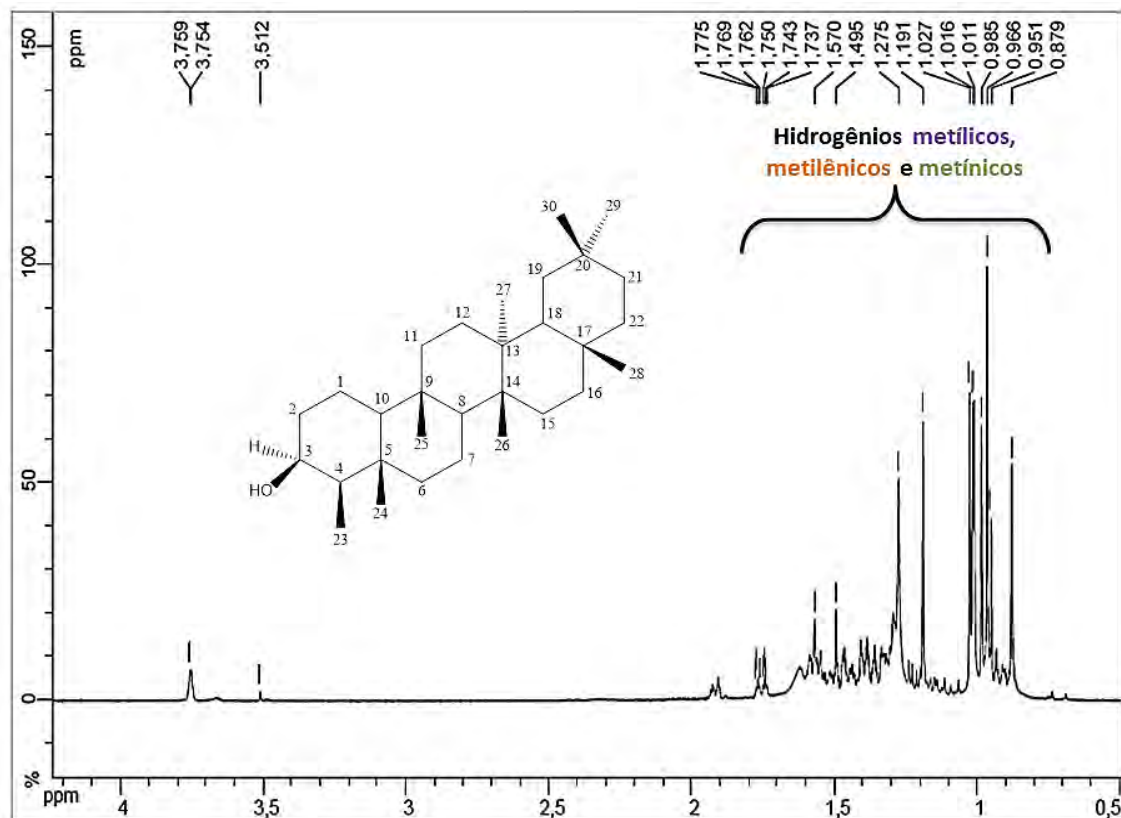


Figura 23. Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz) em CDCl_3 de **G2**.

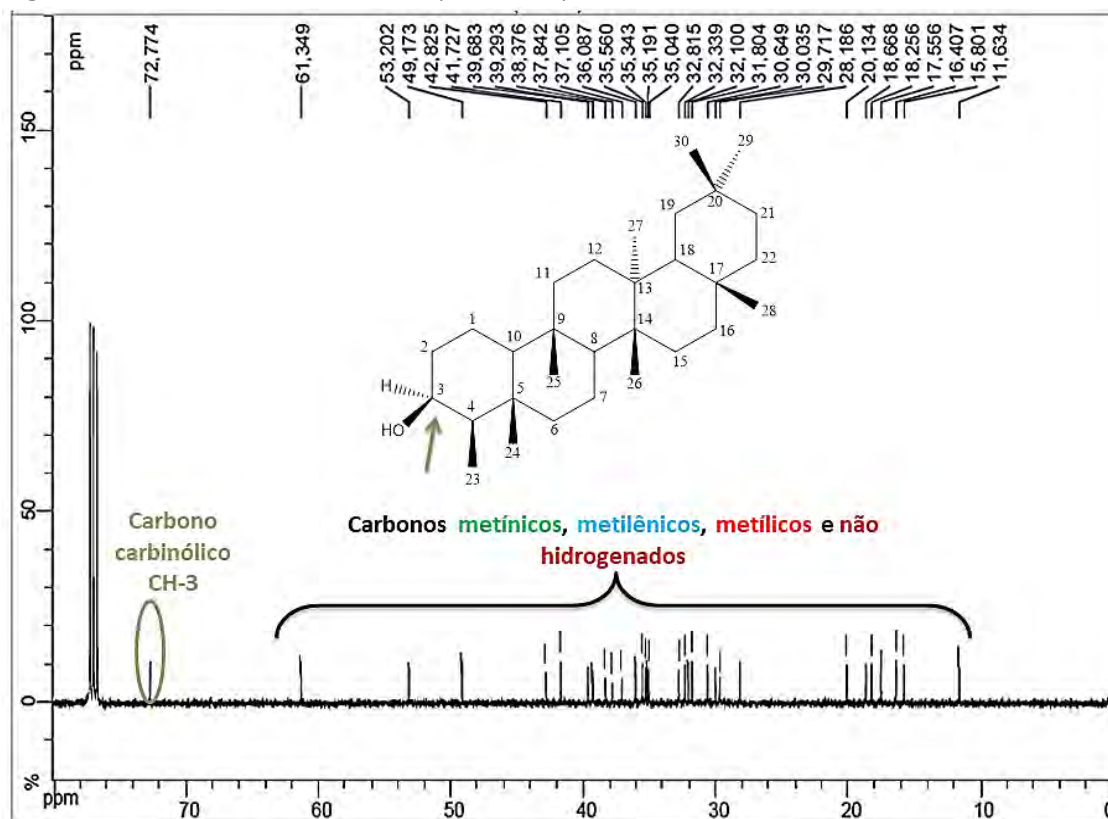


Figura 24. Espectro de RMN ^{13}C DEPT Q (125 MHz) em CDCl_3 de **G2**.

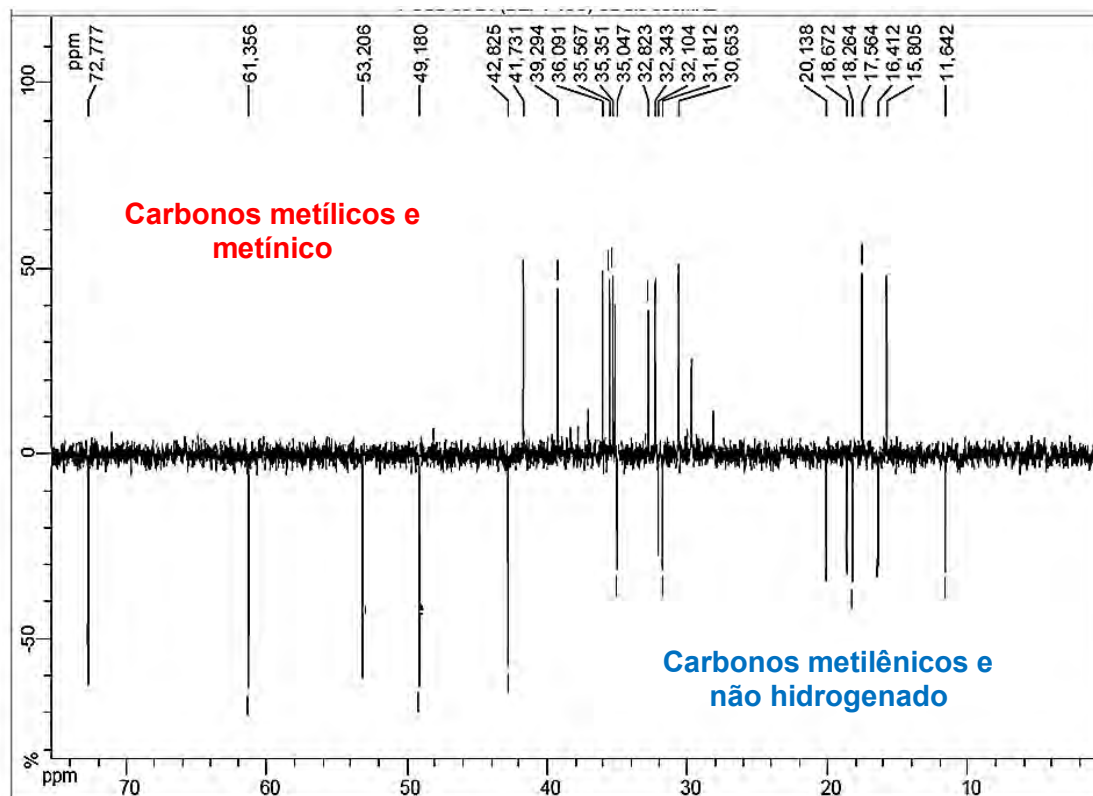


Figura 25. Mapa de correlação heteronuclear HSQC em CDCl_3 de **G2**.

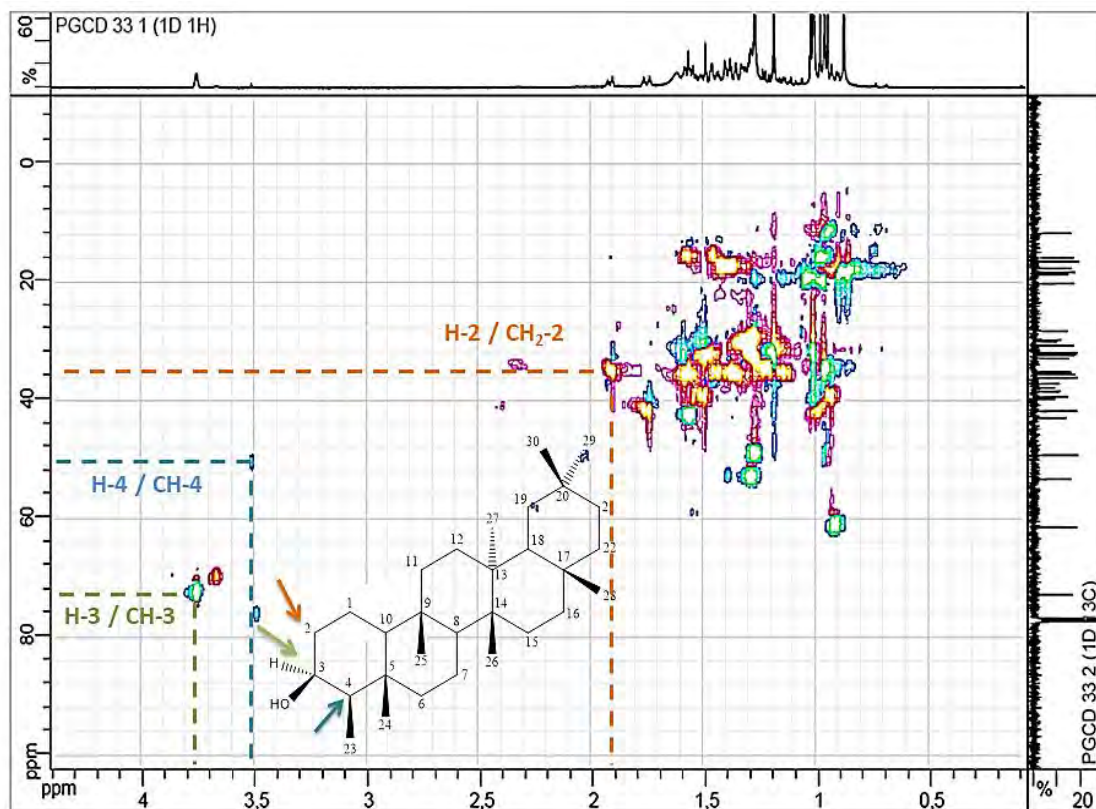


Figura 26. Mapa de correlação heteronuclear HMBC em CDCl_3 de **G2**.

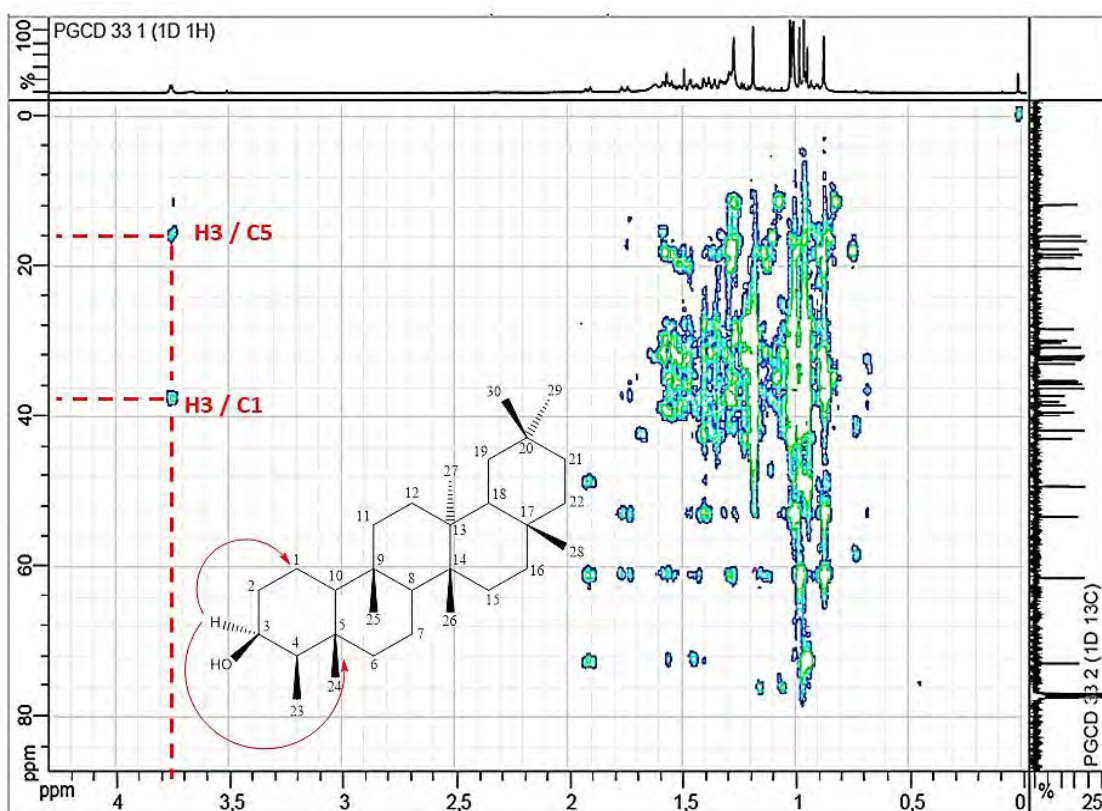


Figura 27. Cromatograma da substância **G2**.

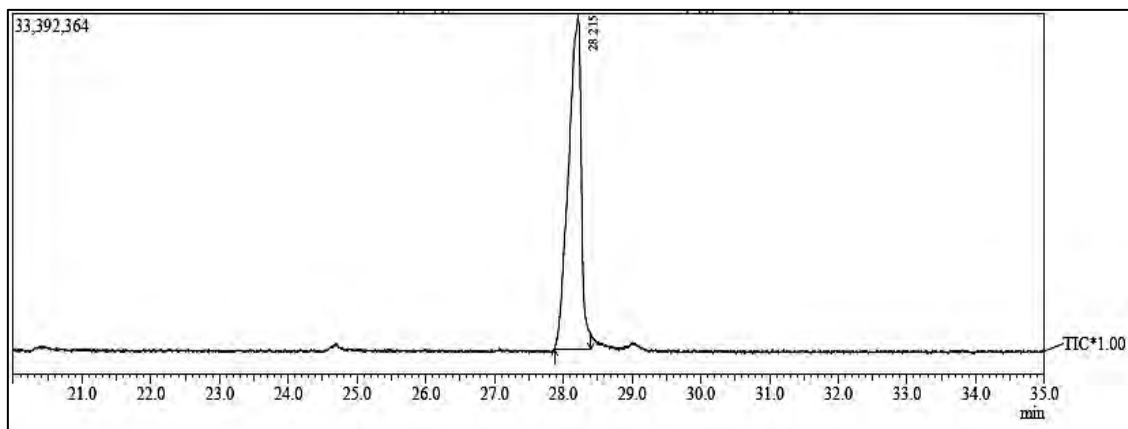
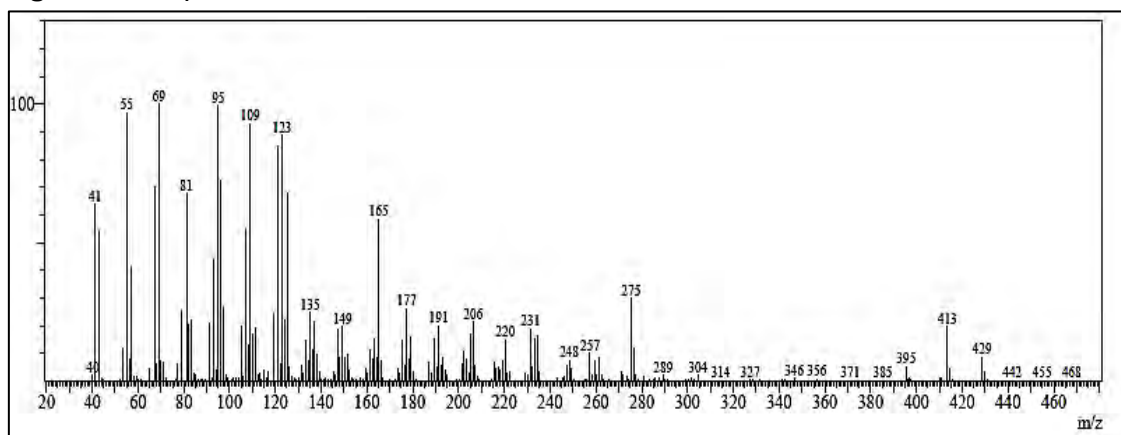
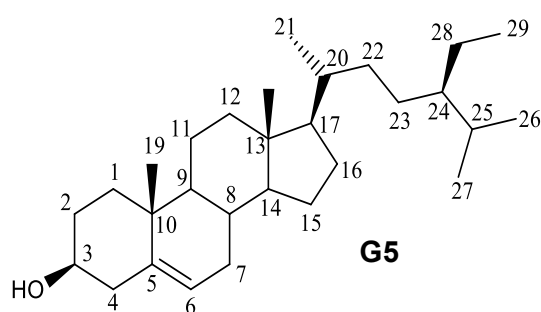


Figura 28. Espectro da substância **G2**.



6.1.1.2 Fração em diclorometano do caule PGCD 8

6.1.1.2.1 Determinação estrutural de **G5**



A amostra codificada como **G5**, obtida do extrato em diclorometano do caule da *P. guianensis*, apresentou-se como um cristal branco em formato de agulha e, quando submetido à eluição em CCDA, utilizando a fase inferior do sistema clorofórmio: acetato de etila: água (7:1:7) foi observada uma única mancha de cor roxa, com $R_f = 0,64$ quando revelada com vanilina sulfúrica.

Os espectros de RMN ^1H e ^{13}C (**Figura 29 e 30, p. 73**), apresentaram um acúmulo de sinais intensos na região de δ_{H} 0,70 a 2,0 e δ_{C} 11,8 a 56,7, respectivamente, que podem ser atribuídos aos vários grupamentos metílicos, metilênicos e metínicos, o que sugeri a presença de um esqueleto esteroidal ou triterpenoídico.

A análise realizada no espectro de DEPT Q (**Figura 31, p. 74**) permitiu identificar um conjunto de 29 sinais, divididos em: seis sinais para grupos metílicos (CH_3) em δ_{C} 11,8 (CH_3 -18), 19,4 (CH_3 -19), 19,0 (CH_3 -21), 19,8 (CH_3 -26), 18,7 (CH_3 -27) e 11,9 (CH_3 -29), onze sinais para grupos metilênicos (CH_2) em δ_{C} 37,2 (CH_2 -1), 31,9 (CH_2 -2), 42,3 (CH_2 -4), 31,6 (CH_2 -7), 21,1 (CH_2 -11), 39,8 (CH_2 -12), 24,3 (CH_2 -15), 28,2 (CH_2 -16), 33,9 (CH_2 -22), 26,1 (CH_2 -23), 23,0 (CH_2 -28), nove sinais para grupos metínicos (CH) em δ_{C} 71,8 (CH -3), 121,7 (CH -6), 31,9 (CH -8), 50,1 (CH -9), 56,7 (CH -14), 56,0 (CH -17), 36,5 (CH -20), 45,8 (CH -24), 28,2 (CH -25). Os sinais para átomos de carbonos não hidrogenados em δ_{C} 140,7 (C-5), 36,1 (C-10) e 42,3 (C-13) foram localizados no espectro de RMN ^{13}C .

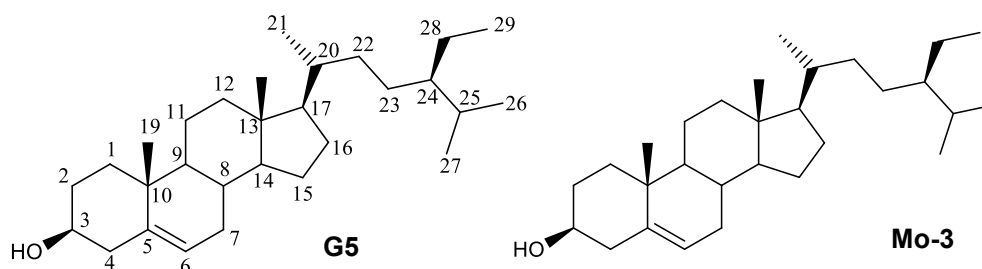
Entre os sinais, pode-se destacar o multiplete em δ_{H} 3,54 que acopla a uma ligação com o sinal δ_{C} 71,8, de acordo com o espectro HSQC (**Figura 32, p. 74**). Os deslocamentos químicos são condizentes com a presença de um grupo hidroxila em CH-3 na estrutura.

A análise dos espectros de RMN ^1H (**Figura 29, p. 73**), para o primeiro conjunto de sinais mostra que a região olefínica contém um sinal para átomo de hidrogênio metínico em δ_{H} 5,37 (d, $J = 5,2$ Hz, H-6) que acopla com o átomo de carbono em δ_{C} 121,7 (CH-6), a uma ligação e com o átomo de carbono em δ_{C} 140,7 (C-5) a duas ligações. Esses dados, somados aos dados de deslocamento químico encontrados na literatura confirmam uma insturação na estrutura do esteroide na posição $\Delta_{5,6}$ (KOJIMA et al., 1999) (**Tabela 14, p. 72**).

Com base nos dados apresentados pelo RMN ^1H e ^{13}C e CG-EM a fórmula molecular proposta para a substância com tempo de retenção 31,7 min. é: $(\text{C})_3(\text{CH-OH})(\text{CH})_7(=\text{CH})(\text{CH}_2)_{11}(\text{CH}_3)_6 = \text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{O}$, sendo está identificada como estigmast-5-eno-3 β -ol (β -sitosterol) **Mo-3**, com base nas técnicas bidimensionais e confirmada com o auxílio dos dados da literatura (SALES, 2015).

A análise dos dados apresentados pelo CG-EM, confirmou a presença de uma única substância, como mostra o cromatograma na **Figura 33, p. 75**. A substância com tempo de retenção 31,77 min., exibiu um sinal em m/z 414 daltons (**Figura 34, p. 75**), que é coerente com o íon molecular do β -sitosterol, cuja fórmula molecular é $C_{29}H_{50}O$. Outros sinais oriundos da fragmentação de **G5** foram observados, sendo destacados os de maior intensidade como: m/z 396; m/z 329; m/z 303; m/z 273; m/z 255; m/z 231 e m/z 213 daltons (**Figura 34, p. 75**), esses dados coincidem com os valores observados na literatura para β -sitosterol (SALES, 2015).

Tabela 14. Dados de RMN ^1H (500 MHz) e RMN ^{13}C (125 MHz) de **G5** em CDCl_3 , correlações observadas no espectro de HSQC e HMBC e comparação com os valores de referência do modelo **Mo-3**, em CDCl_3 . Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm e as constantes de acoplamento (J), em Hz.



| Nº C | HSQC | | Mo-3 (SALES, 2015) |
|-----------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| | δ_{C} | δ_{H} | δ_{C} |
| C | | | |
| 5 | 140,7 | - | 140,7 |
| 10 | 36,1 | - | 36,1 |
| 13 | 42,3 | - | 42,3 |
| CH | | | |
| 3 | 71,8 | 3,54 (m) | 71,7 |
| 6 | 121,7 | 5,37 (d, $J=5,3$) | 121,7 |
| 8 | 31,9 | 1,52 | 31,9 |
| 9 | 50,1 | 0,94 (d, $J=6,6$) | 50,1 |
| 14 | 56,7 | 1,02 | 56,8 |
| 17 | 56,0 | 1,12 | 56,1 |
| 20 | 36,5 | 1,35 | 36,5 |
| 24 | 45,8 | | 45,8 |
| 25 | 28,2 | | 28,2 |
| CH₂ | | | |
| 1 | 37,2 | | 37,2 |
| 2 | 31,9 | | 31,9 |
| 4 | 42,3 | | 42,3 |
| 7 | 31,6 | | 31,6 |
| 11 | 21,1 | | 21,1 |
| 12 | 39,8 | | 39,9 |
| 15 | 24,3 | | 24,3 |
| 16 | 28,2 | | 28,2 |
| 22 | 33,9 | | 34,2 |
| 23 | 26,1 | | 26,0 |
| 28 | 23,0 | | 23,0 |
| CH₃ | | | |
| 18 | 11,8 | 0,70 | 11,8 |
| 19 | 19,4 | 1,11 | 19,4 |
| 21 | 19,0 | 1,02 | 19,0 |
| 26 | 19,8 | 1,11 | 19,8 |
| 27 | 18,7 | 1,12 | 18,9 |
| 29 | 11,9 | 0,70 | 12,0 |

Figura 29. Espectro de RMN ^1H (500 MHz) em CDCl_3 de **G5**.

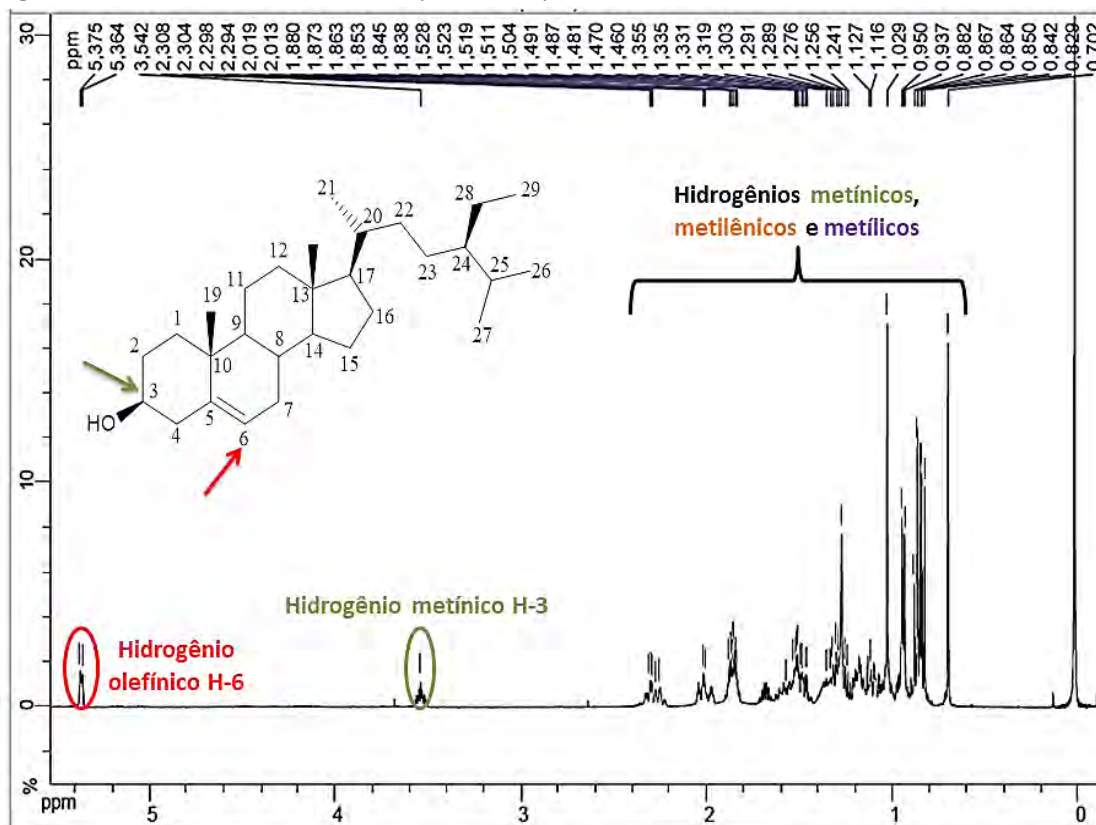


Figura 30. Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz) em CDCl_3 de **G5**.

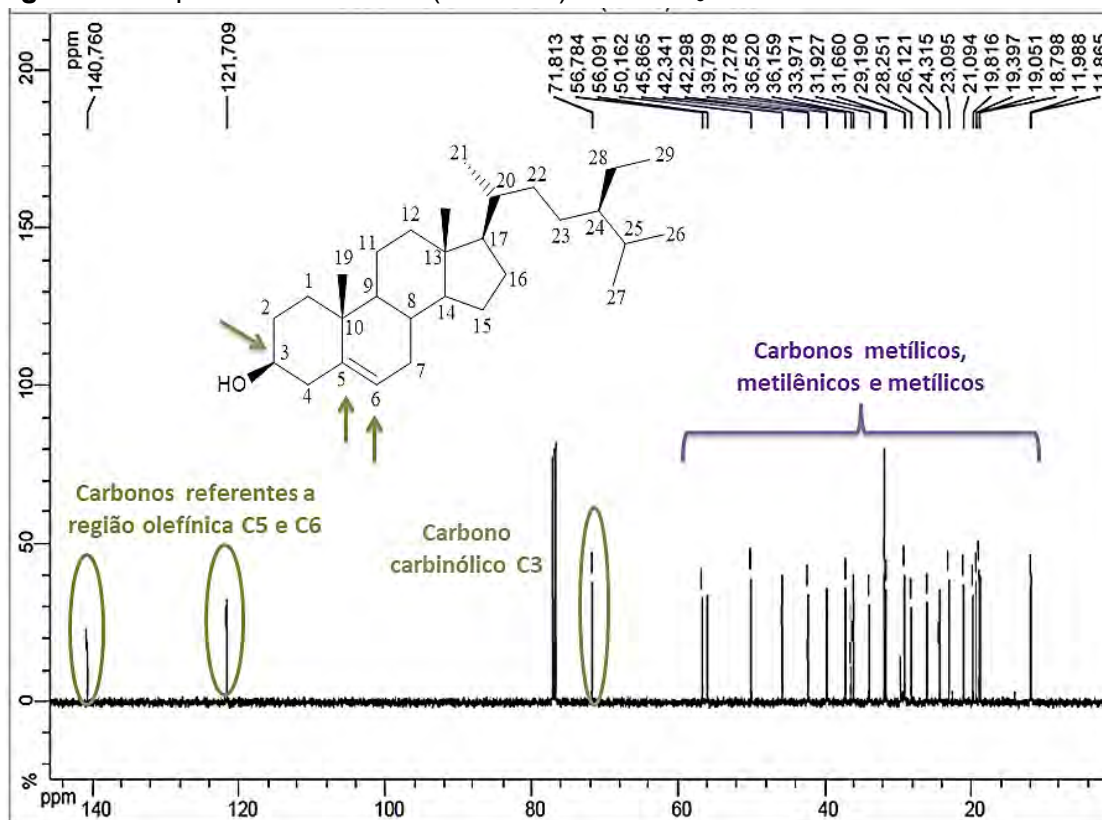


Figura 31. Espectro de RMN ^{13}C DEPT Q (125 MHz) em CDCl_3 de **G5**.

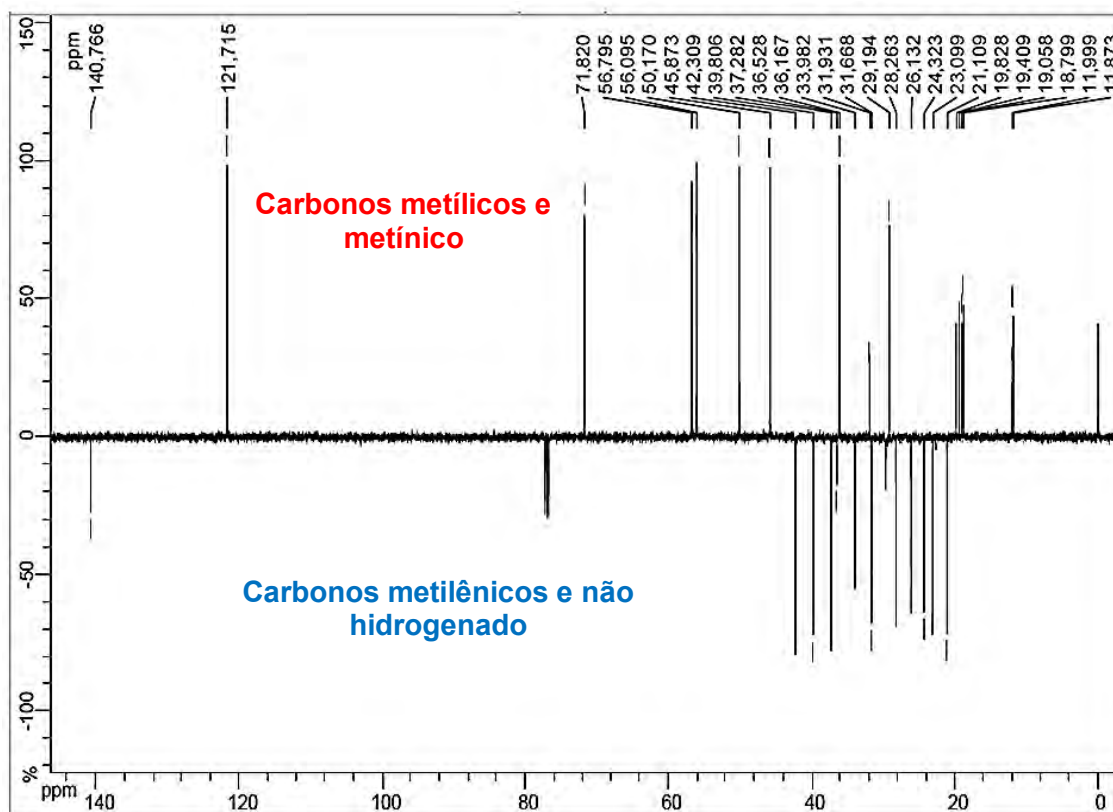


Figura 32. Mapa de correlação heteronuclear HSQC em CDCl_3 de **G5**.

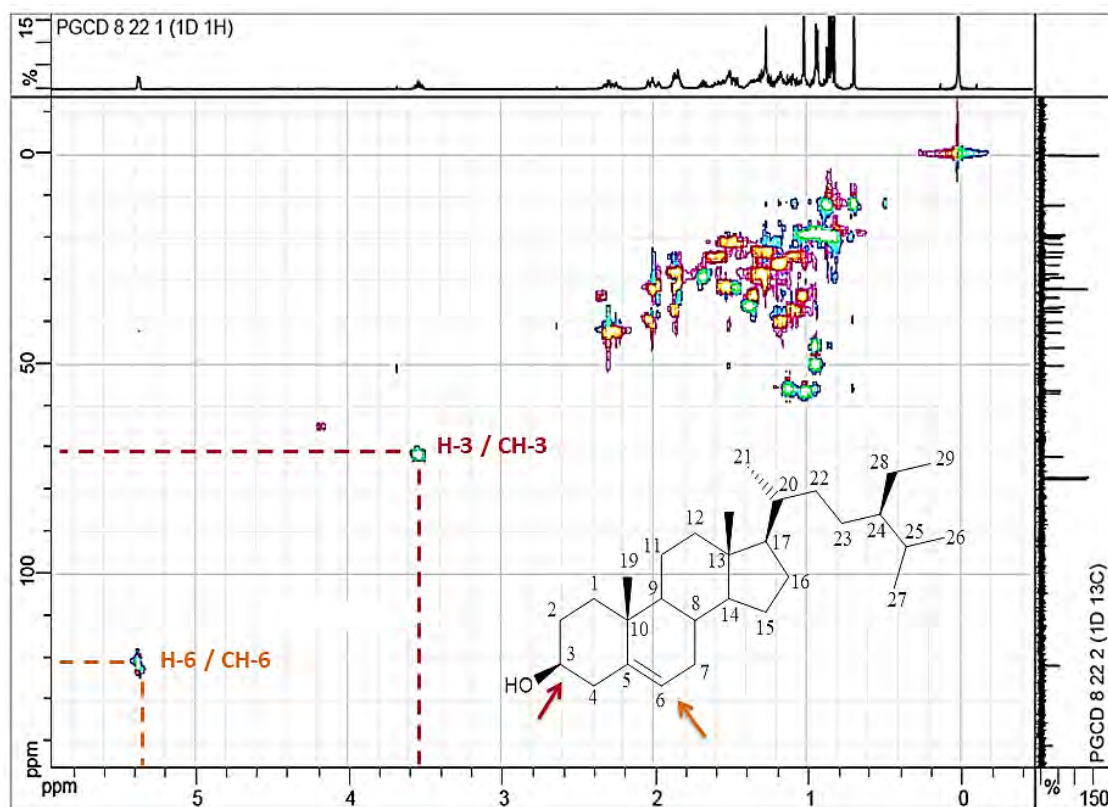


Figura 33. Cromatograma da substância **G5**.

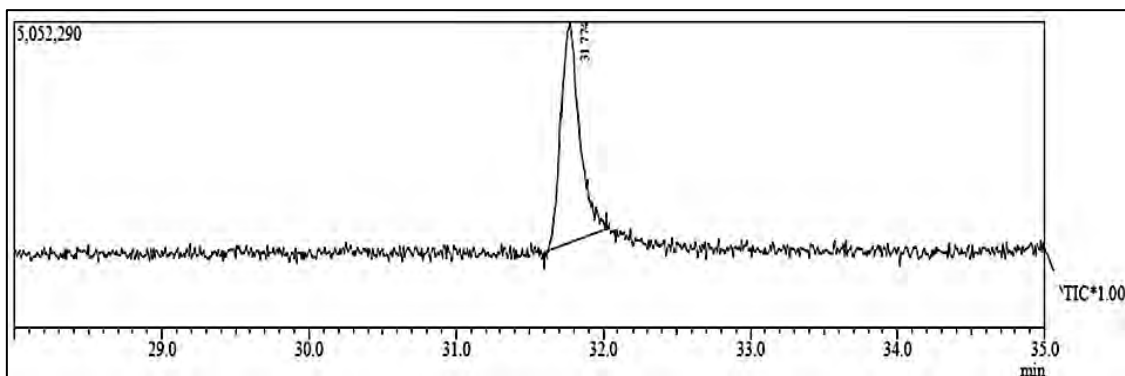
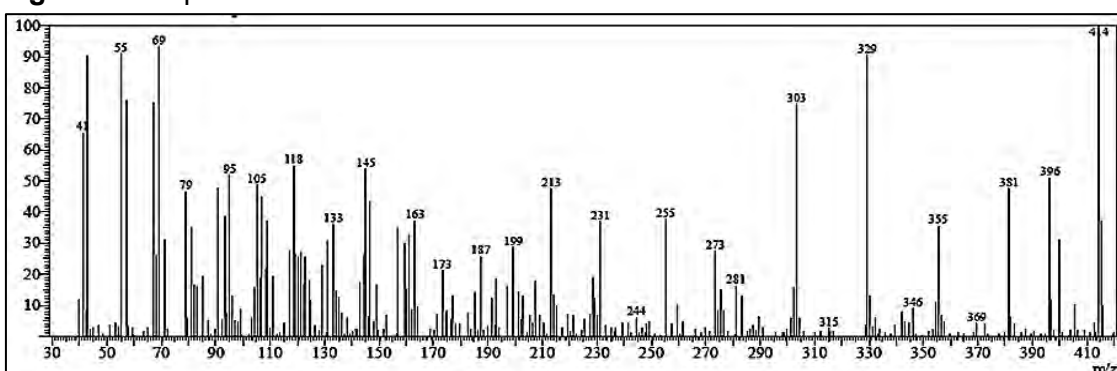
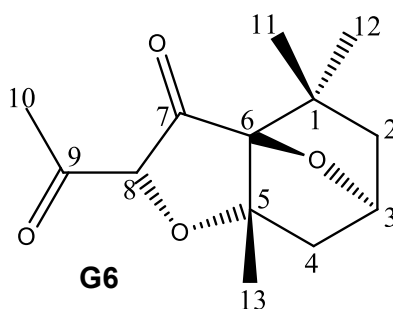


Figura 34. Espectro da substância **G5**.



6.1.1.3 Fração em diclorometano do caule PGCD 13

6.1.1.3.1 Determinação estrutural de **G6**



A amostra codificada como **G6**, obtida do extrato em diclorometano do caule da *P. guianensis*, apresentou-se como um sólido amarelo e quando submetida à eluição em CCDA utilizando a fase inferior do sistema clorofórmio: acetato de etila: metanol: água (7:3:7:7), como eluente, foi observado uma única mancha com $R_f = 0,41$, quando revelada com vanilina sulfúrica.

Na análise do espectro DEPT Q (**Figura 37**, p. 79) foi possível observar a presença de 13 sinais, divididos em: quatro sinais para grupos metílicos (CH_3) em δ_C 26,58 (CH_3 -10), 32,07 (CH_3 -11), 29,17 (CH_3 -12) e 30,81 (CH_3 -13),

dois sinais para grupos metilênicos (CH_2) em δ_c 50,04 (CH_2 -2) e 49,75 (CH_2 -4), dois sinais para grupos metínicos (CH) em δ_c 62,47 (CH -3) e 100,02 (CH -8) e cinco sinais para átomos carbono não hidrogenado (C) em δ_c 36,02 (C -1), 71,06 (C -5), 119,18 (C -6), 198,25 (C -7) e 209,60 (C -9).

No espectro de RMN ^1H (**Figura 36, p. 79**) foi observado um multipletto em δ_H 4,03 (H -3), que não apresentou correlações no HMBC. Outros sinais importantes foram observados no espectro de RMN ^1H como: o simpleto em δ_H 2,11 (H -10), que correlaciona como átomo de carbono δ_c 198,18 (C -7) e o simpleto em δ_H 5,75 (H -8), que correlaciona com dois átomos de carbono não hidrogenados em δ_c 198,18 (C -7) e 209,60 (C -9) (**Figura 39, p. 80**).

A multiplicidade dos sinais dos átomos de hidrogênio metílicos δ_H 1,06 (CH_3 -11) e δ_H 1,31 (CH_3 -12) observados no espectro de RMN ^1H somado a correlação no mapa HMBC, possibilitou a correta atribuição dessas metilas no átomo de carbono não hidrogenado em δ_c 36,02 (C -1).

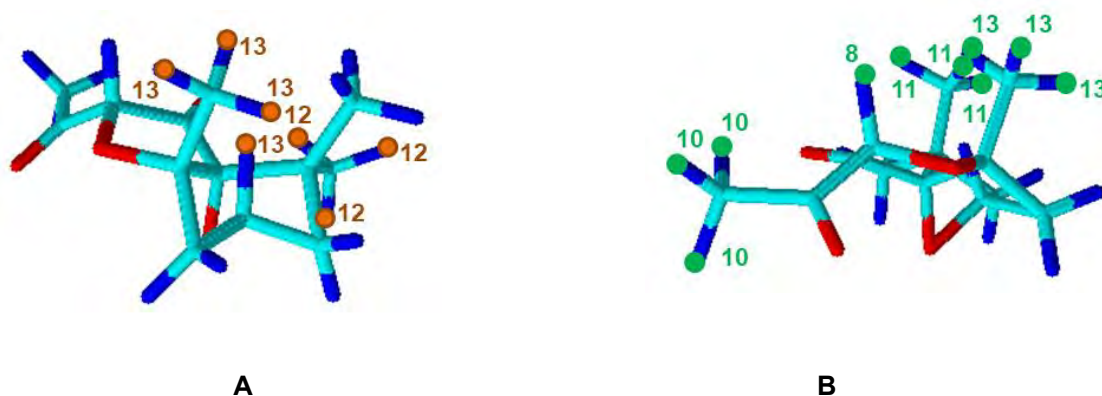
Os sinais em δ_c 198,18 (C -7) e δ_c 209,60 (C -9), correspondem a duas carbonilas cetônicas e foram confirmadas com os acoplamentos no mapa de correlação HMBC (**Figura 39, p. 80**). O sinal do átomo de carbono em δ_c 119,18 (C -6) é referente ao átomo de carbono não hidrogenado e a proposta de um anel epóxido é sustentada pelo valor atípico do deslocamento químico para esse átomo, uma vez que ele não faz parte de uma estrutura anomérica ou está ligado a um sistema aromático. A confirmação desse anel e o seu posicionamento na estrutura foram dados pelos acoplamentos entre a metila em δ_H 1,26 (δ_c 30,81, CH_3 -13) com os átomos de carbono em δ_c 49,75 (CH_2 -4) e 119,18 (C -6) (**Figura 38, p. 80**) (CHÁVEZ et al., 1997).

Outro sinal em δ_c 100,02 (C -8) também é referente ao outro grupamento epóxido, presente na estrutura. Essa proposta é sustentada também pelo deslocamento químico somado às correlações entre o átomo de hidrogênio em δ_H 5,75 (H -8) (**Figura 38, p. 80**) com os átomos de carbono em δ_c 198,25 (C -7), 209,60 (C -9), 119,18 (C -6), 71,06 (C -5) e 26,58 (CH_3 -10) no mapa de correlação HMBC (**Figura 39, p. 80**) (CHÁVEZ et al., 1997).

Esse conjunto de sinais observados nos espectros de RMN é característico da estrutura do norsesquiterpeno, de esqueleto megastigmano (**Tabela 15, p. 78**) (HUYNH, 2013).

O mapa de correlação NOESY (**Figura 40, p. 81**) mostra o acoplamento espacial entre o átomo de hidrogênio em H-3 com os átomos de hidrogênio em H-12 e H-13 (**Figura 35a**), além do acoplamento do átomo de hidrogênio em H-8 com os átomos de hidrogênio em H-10, H-11 e H-13 (**Figura 35b**) essas correlações confirmam a estereoquímica proposta para a substância.

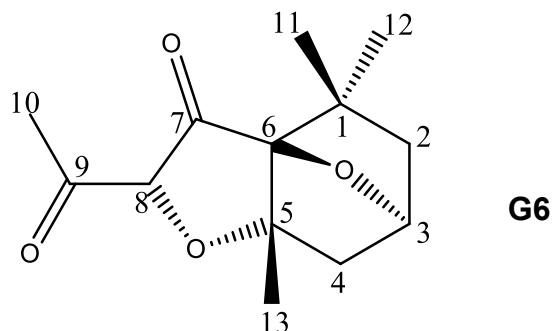
Figura 35. Simulação realizada pelo programa ACD/3D para confirmação da estereoquímica da substância **G6**.



A análise dos dados apresentados pelo CG-EM, confirmou a presença de uma única substância, como mostra o cromatograma **Figura 41, p. 81**.

A substância com tempo de retenção 12,19 min., exibiu um sinal em m/z 238 daltons (**Figura 42, p. 81**), que é coerente com o íon molecular do 5,8;3,6-diepóxidotetrahidromegastigman-9,7-diona, cuja fórmula molecular é $C_{13}H_{18}O_4$. Outros sinais oriundos da fragmentação de **G6** foram observados, sendo destacados os de maior intensidade como: m/z 209; m/z 163; m/z 151; m/z 131; m/z 123; m/z 107; m/z 91; m/z 79; m/z 77 e m/z 43 daltons (**Figura 42, p. 81**). Essa substância é inédita na literatura.

Tabela 15. Dados de RMN ^1H (500 MHz) e RMN ^{13}C (125 MHz) de **G6** em DMSO, correlações observadas no espectro de HSQC, HMBC e NOESY. Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm e as constantes de acoplamento (J), em Hz.



| N $^{\circ}$ C Dept | HSQC | | HMBC | | NOESY |
|--------------------------|------------|--|---------------------------|----------------|-------------------|
| | δ_c | δ_H | J^z | J^s | |
| C | | | | | |
| 1 | 36,02 | - | - | - | |
| 5 | 71,06 | - | - | - | |
| 6 | 119,18 | - | - | - | |
| 7 | 198,25 | - | - | - | |
| 9 | 209,60 | - | - | - | |
| CH | | | | | |
| 3 | 62,47 | 4,03 (m) | Não mostrou correlação | | H12 e H13 |
| 8 | 100,02 | 5,75 (s) | 198,25; 209,60 e 26,58 | 119,18; 71,06 | H10; H11 e H13 |
| CH$_2$ | | | | | |
| 2 | 50,04 | 1,21 (m) | 29,17 | 62,47 e 36,02 | |
| 4 | 49,75 | 2,05 (dd) $J=3,6;$ 2,0 1,80 (dd) $J=3,7;$ 2,3 | 62,47 e 71,06 | 119,18 | |
| CH$_3$ | | | | | |
| 10 | 26,58 | 2,11 (s) | | 100,02 | |
| 11 | 32,07 | 1,06 (s) | 36,02 | 119,18 e 29,18 | |
| 12 | 29,17 | 1,31 (s) | 36,02 | 32,07 e 119,18 | |
| 13 | 30,81 | 1,26 (s) | 71,06 | 119,18 e 49,75 | |

Figura 36. Espectro de RMN ^1H (500 MHz) em DMSO de G6.

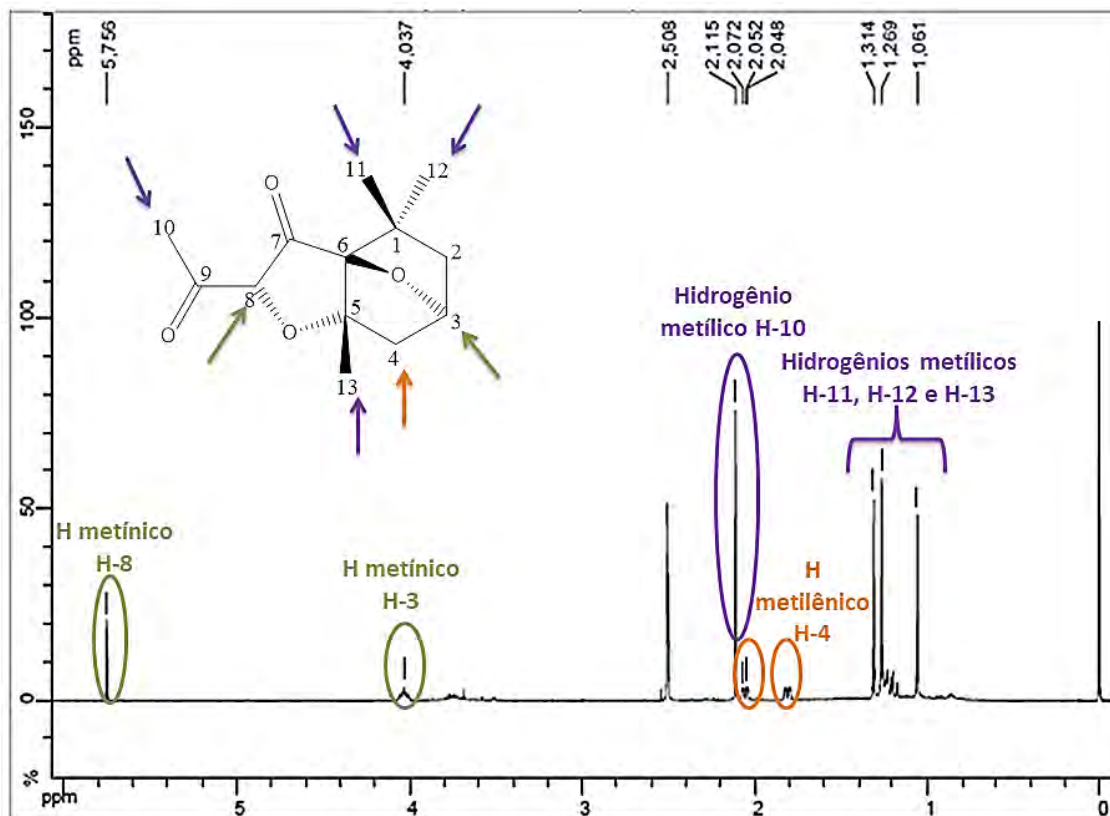


Figura 37. Espectro de DEPT Q (125 MHz) em DMSO de G6.

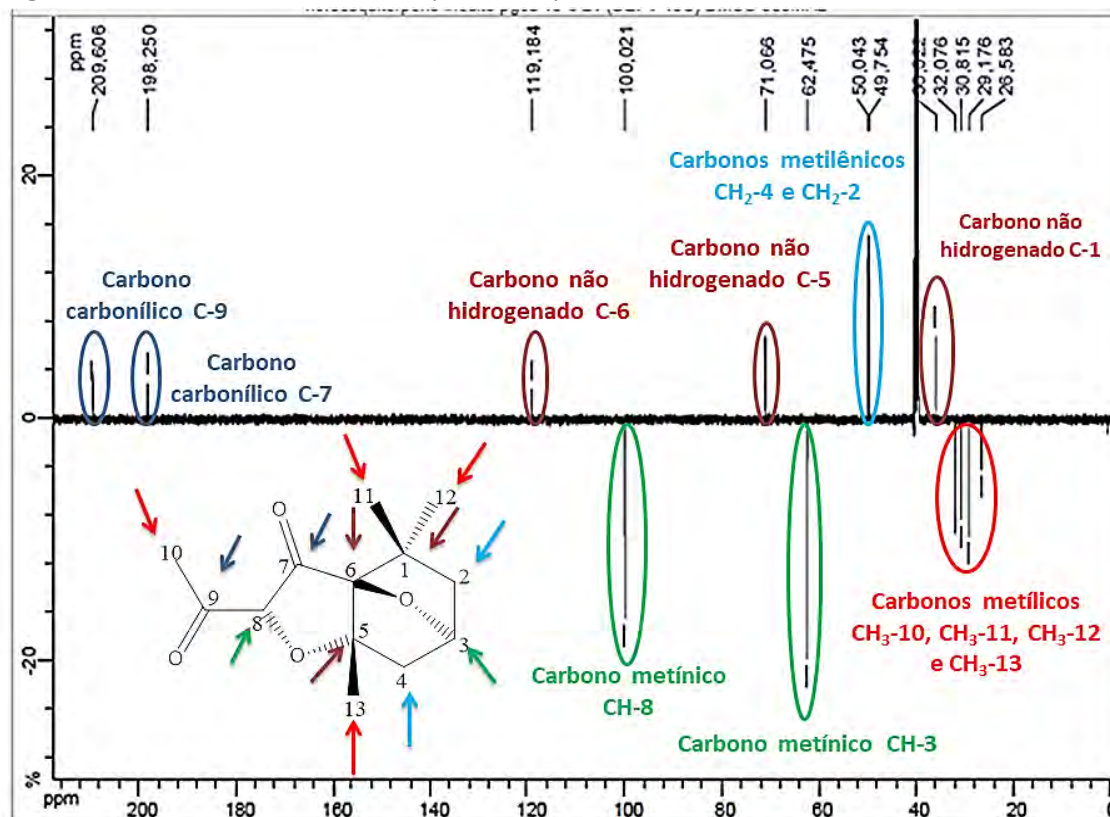


Figura 38. Mapa de correlação heteronuclear HSQC em DMSO de **G6**.

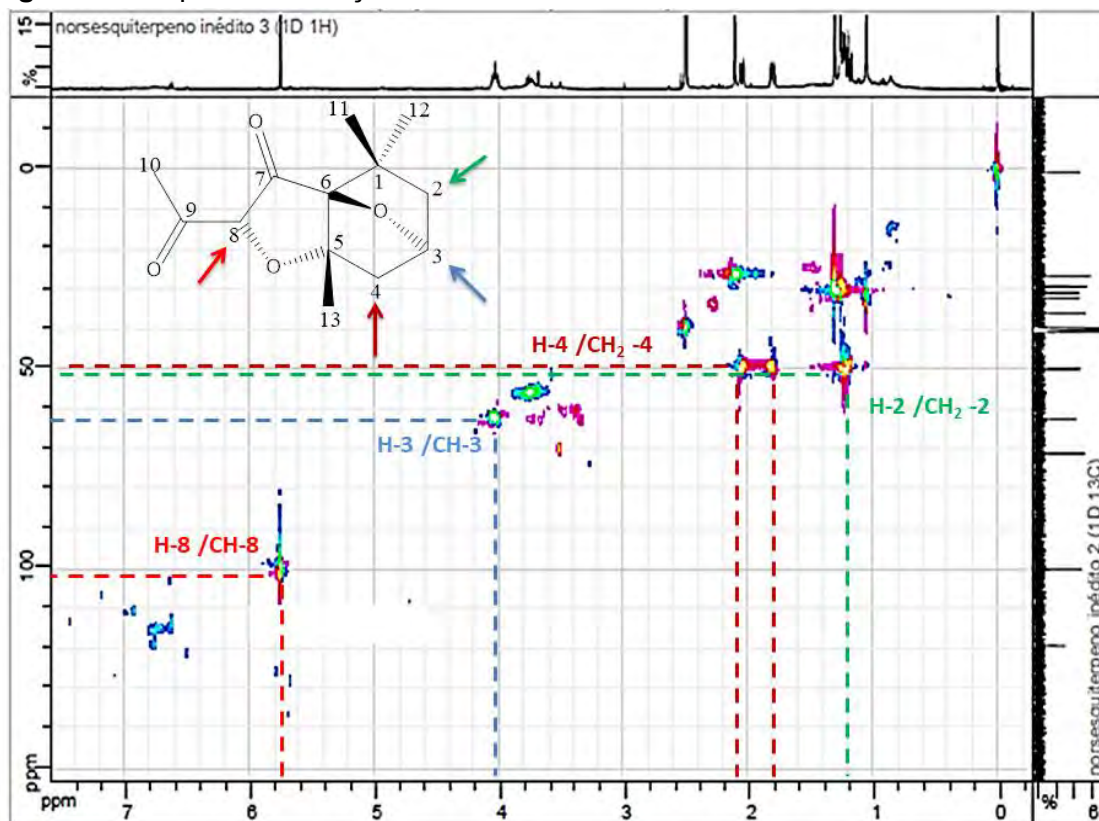


Figura 39. Mapa de correlação heteronuclear HMBC em DMSO de **G6**.

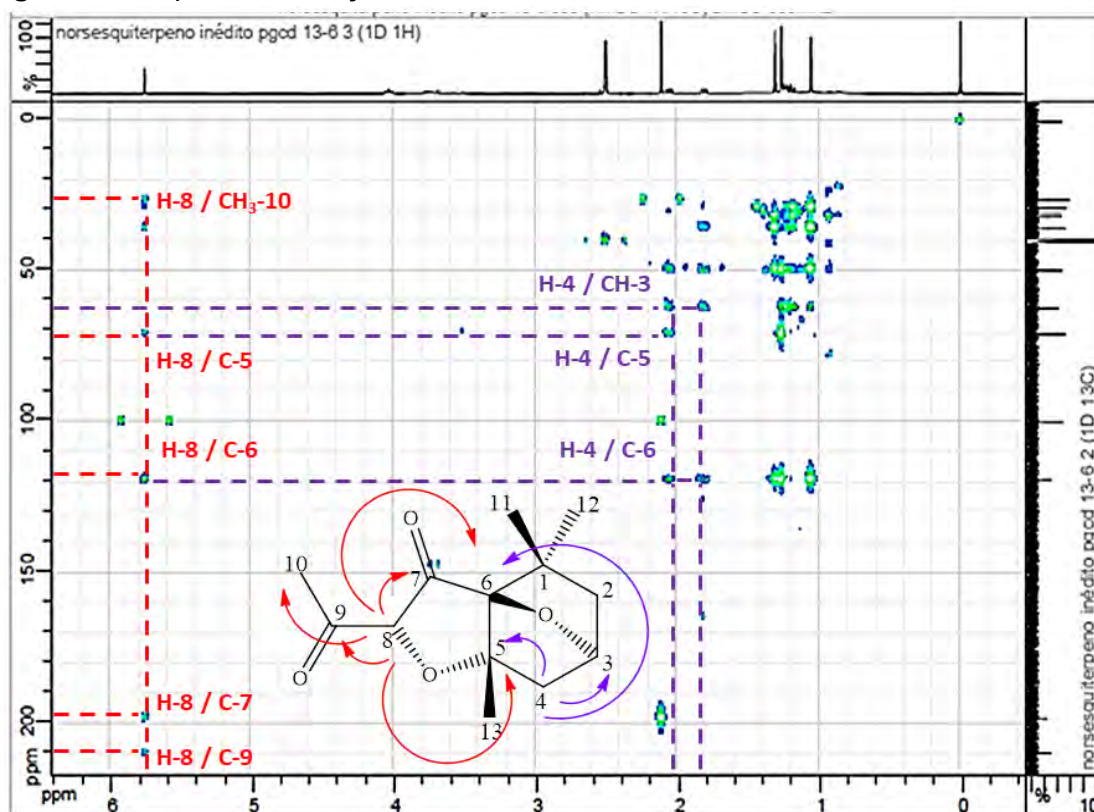


Figura 40. Mapa de correlação homonuclear ^1H - ^1H -NOESY em DMSO de **G6**.

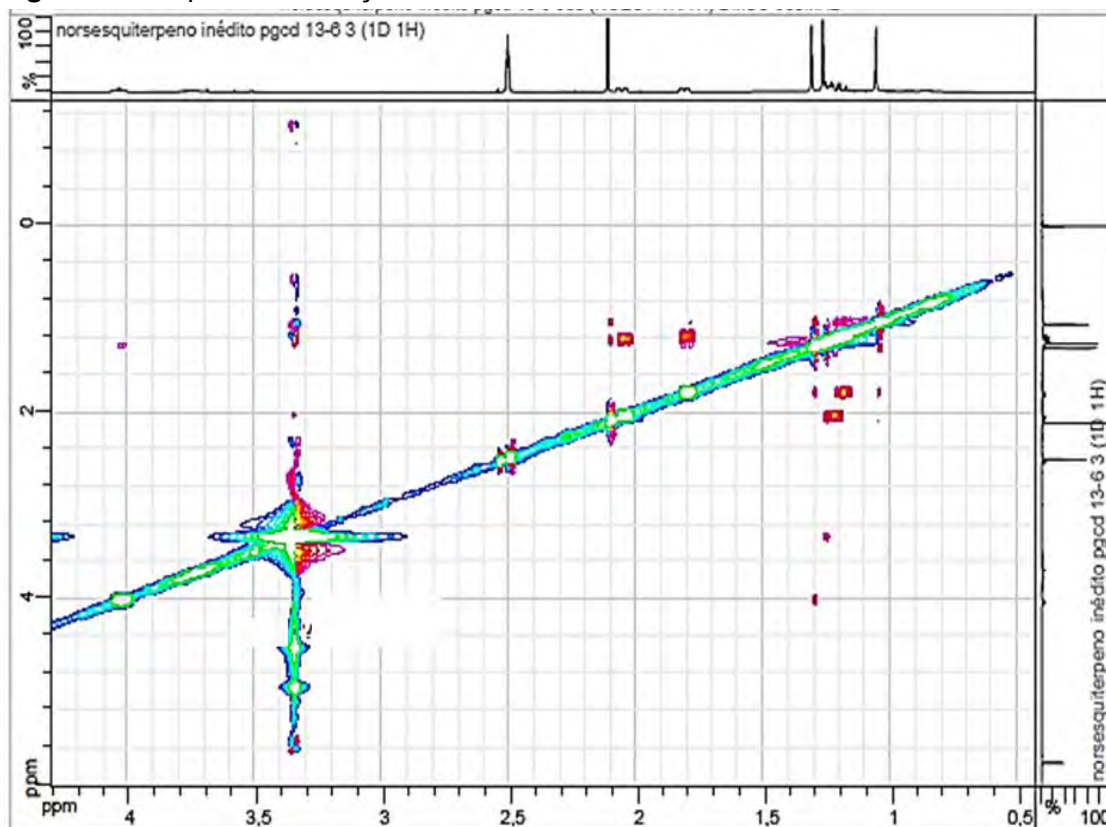


Figura 41. Cromatograma da substância **G6**.

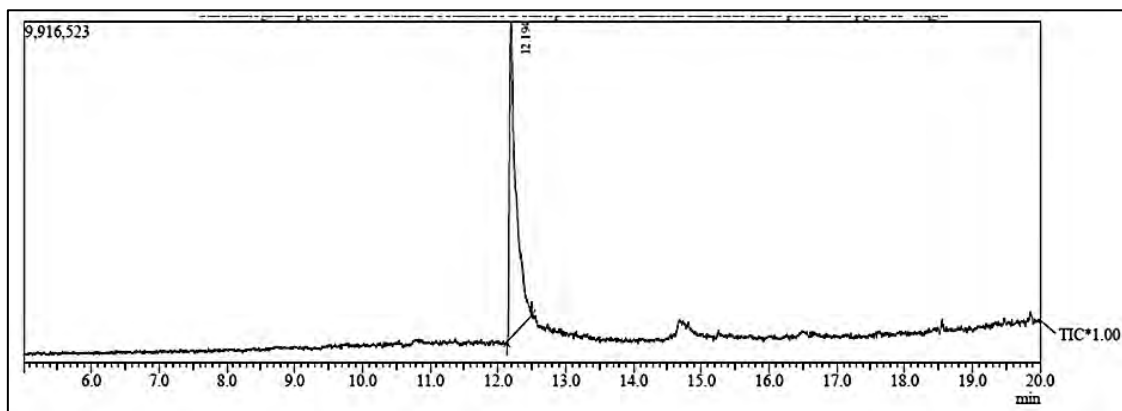
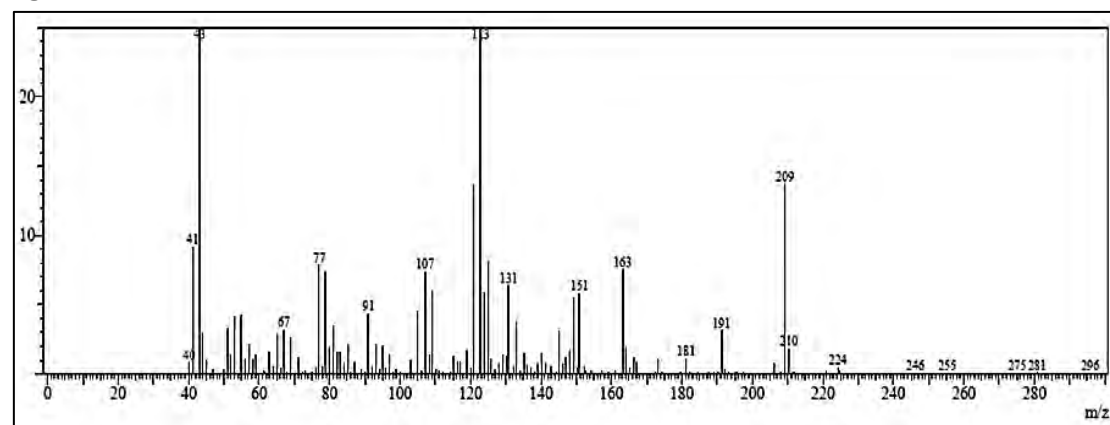
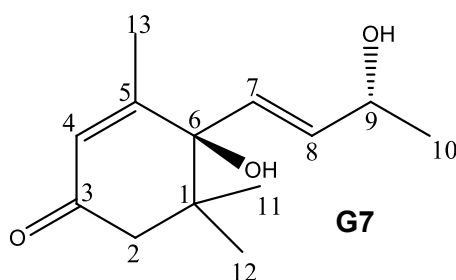


Figura 42. Espectro da substância **G6**.



6.1.1.3.2 Determinação estrutural de **G7**



A amostra codificada como **G7**, obtida do extrato em diclorometano do caule da *P. guianensis*, apresentou-se como um sólido amarelo e quando submetida à eluição em CCDA, utilizando a fase inferior do sistema clorofórmio: acetato de etila: metanol: água (7:3:7:7), como eluente, foi observada uma única mancha com $R_f = 0,45$ quando revelada com vanilina sulfúrica.

Na análise do espectro RMN ^{13}C e DEPT Q (**Figura 44, p. 85** e **Figura 45, p. 86**) foi possível observar a presença de 13 sinais, divididos em: quatro sinais para grupos metílicos (CH_3) em δ_c 22,91 (CH_3 -10), 24,05 (CH_3 -11), 23,76 (CH_3 -12) e 18,92 (CH_3 -13), um sinal para grupo metilênico (CH_2) em δ_c 49,72 (CH_2 -2), quatro sinais para grupos metínicos (CH) em δ_c 126,88 (CH -4), 128,94 (CH -7), 135,74 (CH -8) e 67,97 (CH -9) e quatro sinais para átomos de carbono não hidrogenado e (C) em δ_c 41,17 (C-1), 198,02 (C-3), 162,77 (C-5) e 79,06 (C-6).

Pela multiplicidade dos sinais dos átomos de hidrogênio metílicos δ_H 1,10 (H-11) e δ_H 1,03 (H-12, d, $J = 5,9$ Hz), observados no espectro de RMN de ^1H (**Figura 43, p. 85**) e correlação no mapa de correlação HMBC (**Figura 47, p. 87**) foi atribuída à ligação de duas metilas, 24,05 (C-11), 23,76 (C-12), ao átomo de carbono não hidrogenado δ_c 41,77 (C-1).

No espectro de RMN ^1H (**Figura 43, p. 85**) foi observado um duplo-duplete em δ_H 1,92 (H-13, dd, $J = 3; 3,31$ Hz) que correlaciona com os dois átomos de carbono em δ_c 126,88 (C-4) e 162,77 (C-5) (**Figura 47, p. 87**), indicando a presença de uma ligação dupla substituída por uma metila. Também foi observada a presença de outros átomos de hidrogênio olefínicos em δ_H 5,82-5,91, atribuídos a H-7 e H-8, correlacionados com sinais de átomo de carbono em δ_c 128,94 e δ_c 135,74, indicando a presença de uma ligação dupla adicional na estrutura.

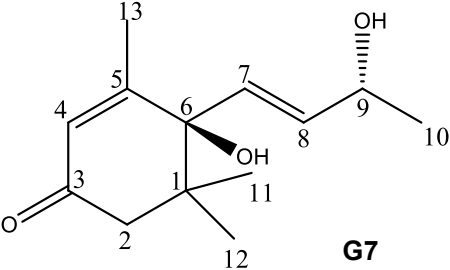
Foi possível verificar no mapa de correlação HSQC e no espectro de RMN ^{13}C (**Figura 46, p. 86** e **Figura 44, p. 85**) a presença de uma hidroxila no átomo de carbono metínico δ_{C} 67,97 (C-9), pela presença de um multiplete em δ_{H} 4,43 (H-9) (**Figura 46, p. 86**) e além de outro grupo hidroxila ligado no átomo de carbono não hidrogenado em δ_{C} 79,06 (C-6). O sinal simples foi observado em δ_{H} 2,28 e atribuído ao átomo de hidrogênio na posição 2.

Esse conjunto de sinais observados nos espectros de RMN é característico de um núcleo derivado de norsesquiterpeno como esqueleto base megastigmano. Os dados espectrais de RMN descritos acima foram comparados com os dados da literatura (HUYNH et al., 2013) e permitiu atribuir a essa substância a estrutura do norsesquiterpeno 6,9-dihidroximegastigman-3-ona (vomifoliol) (**Mo-7**) sendo essa substância descrita pela primeira vez na espécie e seus dados estão na **Tabela 16, p. 84**.

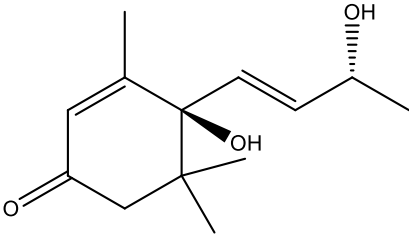
A análise dos dados apresentados pelo CG-EM, confirmou a presença de uma única substância, como mostra o cromatograma na **Figura 48, p. 87**.

A substância com tempo de retenção 12,93 min., exibiu um sinal em m/z 224 daltons (**Figura 49, p. 88**) que é coerente com o íon molecular do vomifoliol, cuja fórmula molecular é $\text{C}_{13}\text{H}_{20}\text{O}_3$. Outros sinais oriundos da fragmentação de **G7** foram observados, sendo destacados os de maior intensidade como: m/z 206; m/z 168; m/z 150; m/z 135; m/z 125; m/z 124; m/z 111; m/z 107; m/z 79; m/z 77 e m/z 69 daltons (**Figura 49, p. 88**). Esses dados coincidem com os valores dos íons moleculares observados na literatura para vomifoliol (BERCHT et al., 1976; SIDDIQUI et al., 2003).

Tabela 16. Dados de RMN ^1H (500 MHz) e RMN ^{13}C (125 MHz) de **G7** em CDCl_3 , correlações observadas no espectro de HSQC e HMBC e comparação com os valores de referência do modelo **Mo-4**, em CDCl_3 . Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm e as constantes de acoplamento (J), em Hz.



G7



Mo-4

| Nº C | HSQC | | HMBC | | Mo-4 (HUYNH et al., 2013) |
|-----------------------|------------|-----------------------|--------|--------------|------------------------------|
| | δ_c | δ_H | J^2 | J^3 | δ_c |
| C | | | | | |
| 1 | 41,17 | - | | | 41,2 |
| 3 | 198,02 | - | | | 198,4 |
| 5 | 162,77 | - | | | 163,4 |
| 6 | 79,06 | - | | | 79,0 |
| CH | | | | | |
| 4 | 126,88 | 5,92 s | | 79,06 | 126,8 |
| 7 | 128,94 | 5,82 s | 135,7 | | 128,9 |
| 8 | 135,74 | 5,91 s | 67,97 | | 135,8 |
| 9 | 67,97 | 4,43 m | 135,7 | | 67,9 |
| CH₂ | | | | | |
| 2 | 49,72 | 2,28 e 2,51 | | | 49,7 |
| CH₃ | | | | | |
| 10 | 22,91 | 1,32 dd, $J=6,5; 2,5$ | | | 22,9 |
| 11 | 24,05 | 1,10 s | 41,17 | 49,72; 79,06 | 24,0 |
| 12 | 23,76 | 1,03 d, $J=5,9$ | | | 23,7 |
| 13 | 18,92 | 1,92 dd, $J=3,3; 1,4$ | 162,77 | 126,88 | 19,0 |

Figura 43. Espectro de RMN ^1H (500 MHz) em CDCl_3 de **G7**.

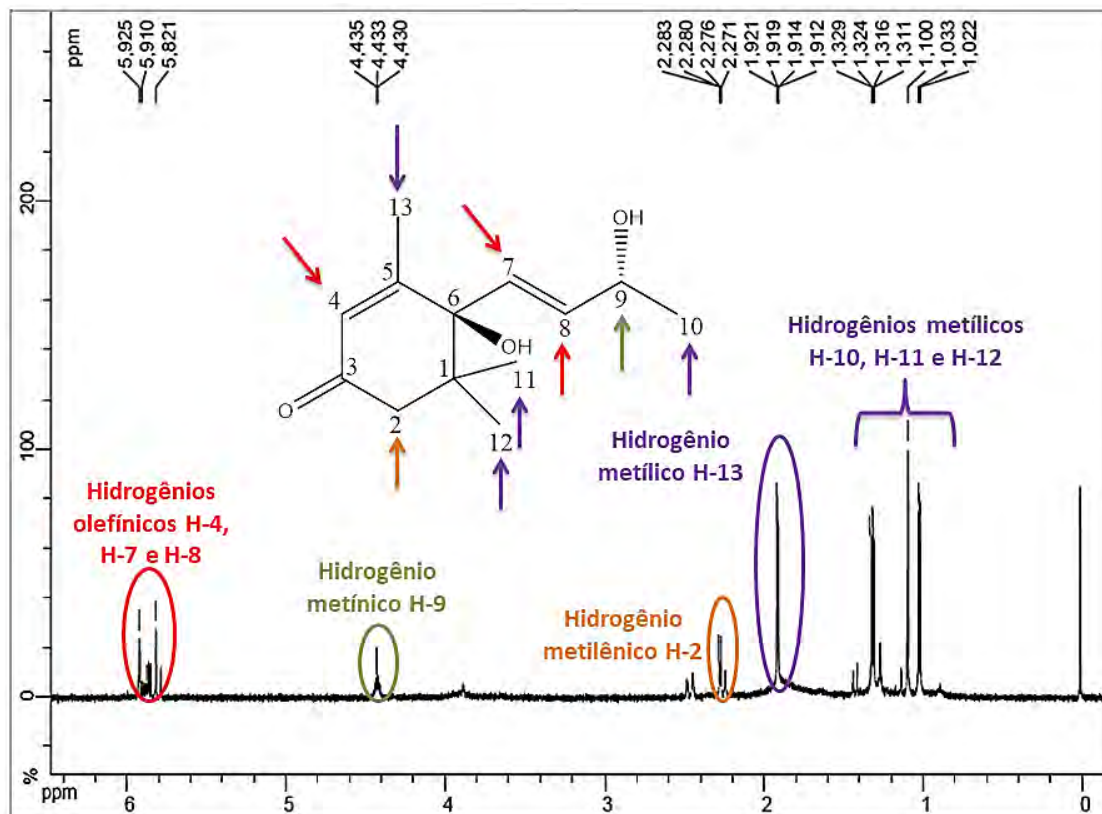


Figura 44. Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz) em CDCl_3 de **G7**.

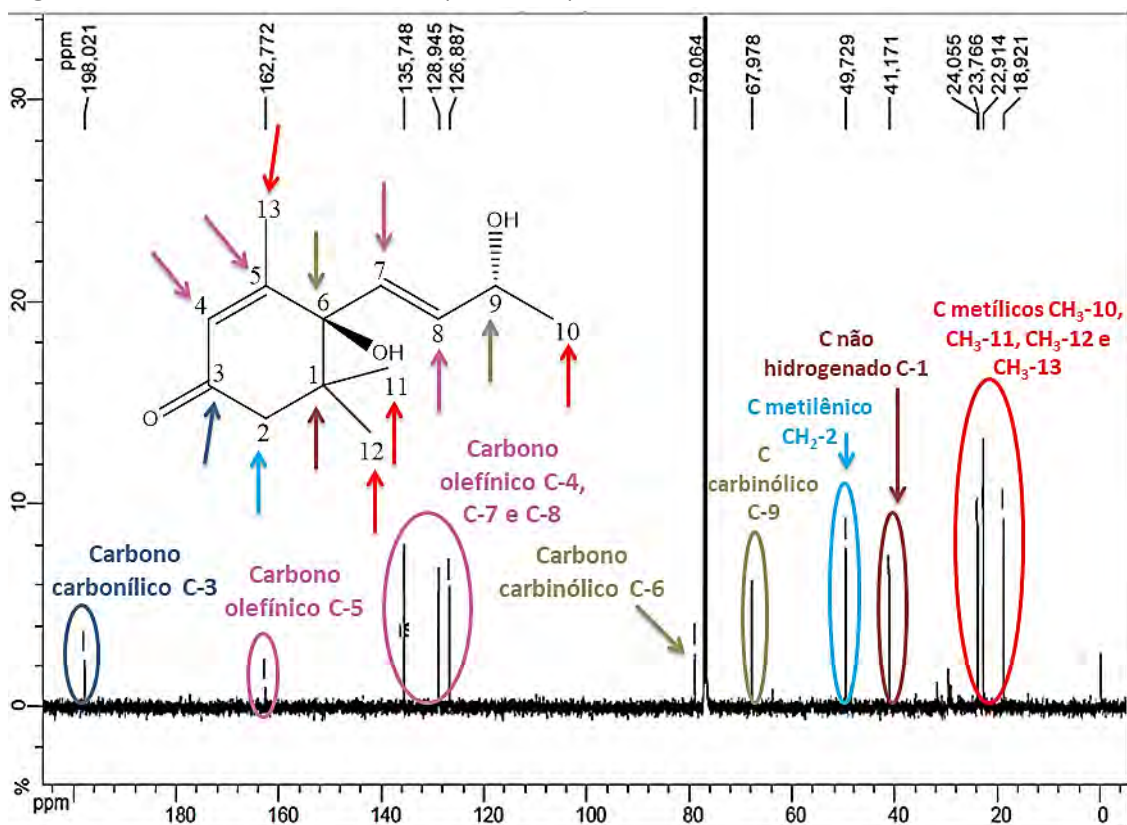


Figura 45. Espectro de RMN DEPT Q (125 MHz) em CDCl_3 de **G7**.

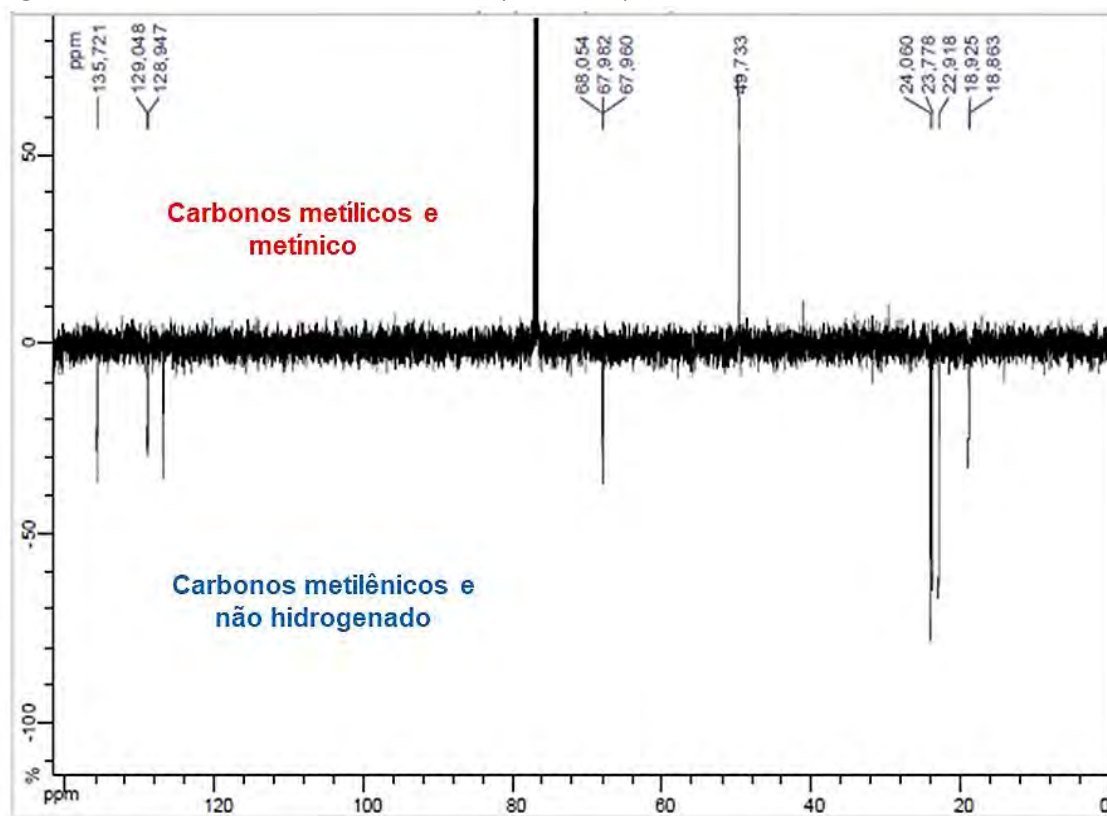


Figura 46. Mapa de correlação heteronuclear HSQC em CDCl_3 de **G7**.

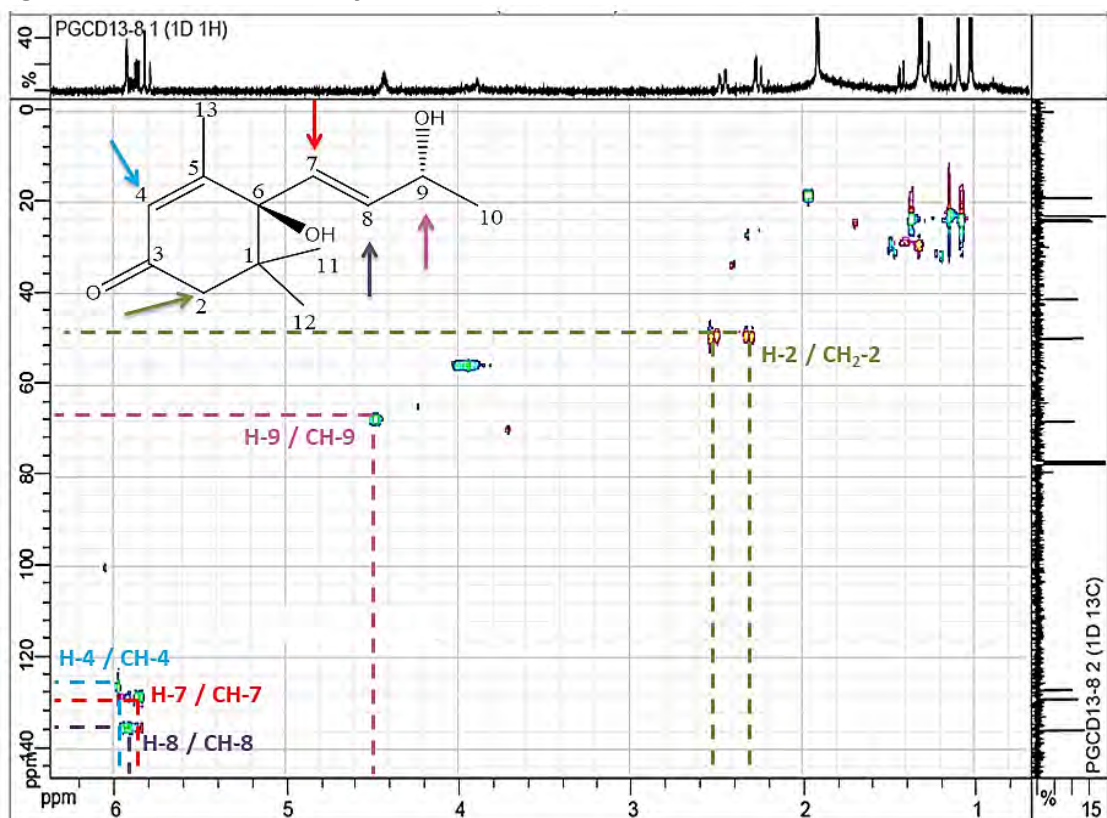


Figura 47. Mapa de correlação heteronuclear HMBC em CDCl_3 de **G7**.

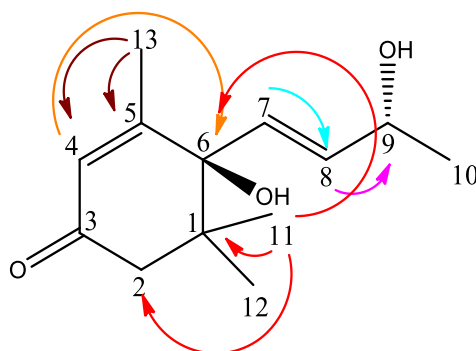
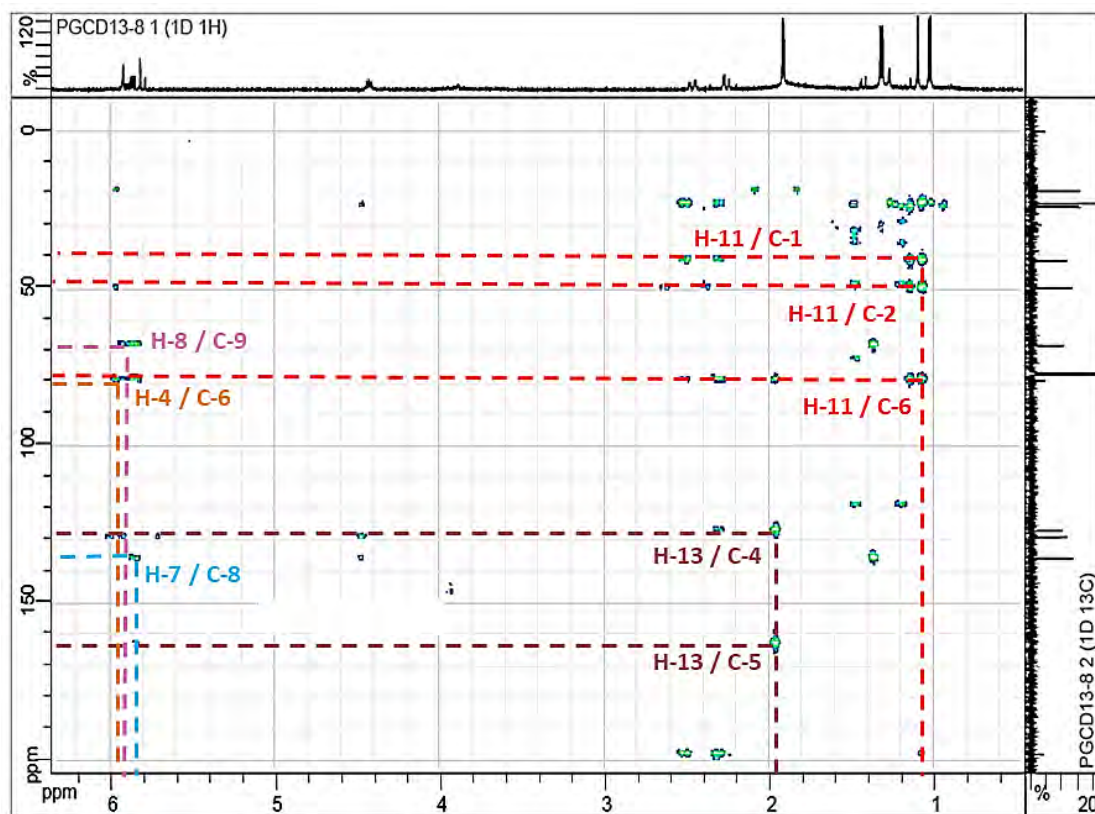


Figura 48. Cromatograma da substância **G7**.

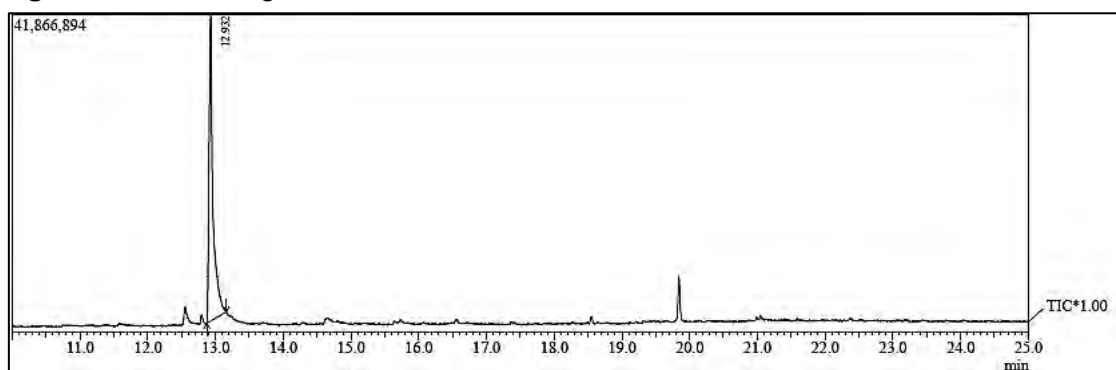
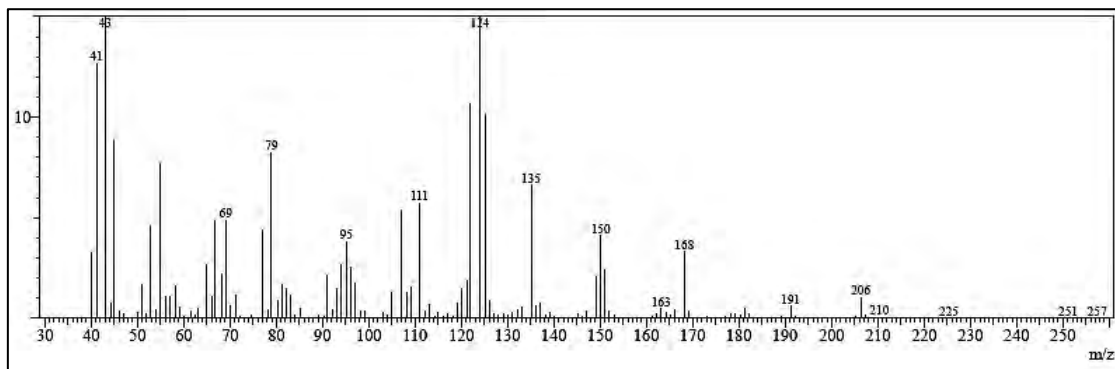
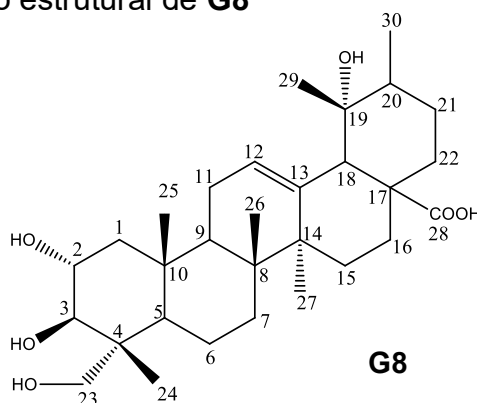


Figura 49. Espectro da substância **G7**.



6.1.1.3.3 Determinação estrutural de **G8**



A amostra codificada como **G8**, obtida do extrato em diclorometano do caule da *P. guianensis*, apresentou-se como um cristal branco e quando submetida à eluição em CCDA, utilizando a fase inferior do sistema de solvente clorofórmio: acetato de etila: metanol: água (7:3:7:7), como eluente, foi observada uma única mancha com $R_f = 0,35$ quando revelada com vanilina sulfúrica.

Na análise dos dados obtidos do espectro de RMN ^{13}C (**Figura 51**, p. **92**), foi possível observar sinais com deslocamentos químicos que permitiram o assinalamento dos átomos de carbono que compõem a substância **G8**. O espectro DEPT Q (**Figura 52**, p. **93**) indicou a presença de trinta átomos de carbono, sendo seis sinais para grupos metílicos (CH_3) em δ_c 14,41 (CH_3 -24), δ_c 17,20 (CH_3 -25), δ_c 16,95 (CH_3 -26), δ_c 24,57 (CH_3 -27), δ_c 26,46 (CH_3 -29) e δ_c 16,79 (CH_3 -30) nove sinais para grupos metilênicos (CH_2) em δ_c 47,70 (CH_2 -1), δ_c 18,04 (CH_2 -6), δ_c 32,83 (CH_2 -7), δ_c 23,67 (CH_2 -11), δ_c 28,66 (CH_2 -15), δ_c 26,92 (CH_2 -16), δ_c 27,73 (CH_2 -21), δ_c 38,14 (CH_2 -22) e δ_c 65,21 (CH_2 -23), seis sinais para grupos metínicos (CH) em δ_c 69,58 (CH -2), δ_c 76,28 (CH -3), δ_c

49,06 (CH-5), δ_c 47,36 (CH-9), δ_c 127,12 (CH-12) e δ_c 53,70 (CH-18) e oito sinais para átomos de carbono não hidrogenado (C) em δ_c 43,80 (C-4), δ_c 41,90 (C-8), δ_c 38,33 (C-10), δ_c 139,25 (C-13), δ_c 41,97 (C-14), δ_c 47,10 (C-17), δ_c 72,13 (C-19) e δ_c 179,34 (C-28).

Os dados obtidos do espectro de RMN ^1H (**Figura 50, p. 92**) permitiram identificar sinais, cujos valores de deslocamentos químicos e multiplicidade estão condizentes com o átomo de hidrogênio olefínico δ_H 5,22 (s, H-12), átomos de hidrogênio carbinólico δ_H 3,47 (m, H-3); 3,76 (H-2), átomos de hidrogênio metilênicos δ_H 1,75 (H-1); 1,32 (H-6), 1,50 (H-7), 1,93 (H-11), 1,09 (H-15), 1,16 (H-16), 2,08 (H-21), 2,51 (H-22), δ_H 3,37 e 3,20 (m, s, H-23), átomos de hidrogênio metínicos 3,37 e 3,20 (H-2), 3,47 (H-3) 3,20 (H-5), 1,74 (H-9), 5,22 (H-12), 2,38 (H-18) e 1,44 (H-20) e vários sinais atribuídos aos átomos de hidrogênio de grupos metílicos δ_H 0,71 a δ_H 1,29 (**Tabela 20, p. 98**). O sinal duplo em δ_H 2,38, atribuído ao H-18, indica que o esqueleto do triterpeno pertence à série urs-12-eno.

Dentre os átomos de carbono, foram observados sinais referentes a carbonos sp^2 de ligação dupla δ_c 127,12 (CH-12) e δ_c 139,25 (C-13), cujos valores de deslocamentos químicos definiram o tipo estrutural como sendo o triterpeno pentacíclico da série urs-12-eno (MAHATO & KUNDU, 1994). Adicionalmente, foram observados sinais para quatro carbonos sp^3 oxigenados em δ_c 69,58 (CH-2), δ_c 76,28 (CH-3), δ_c 72,13 (C-19) e δ_c 65,21 (CH₂-23), além do grupo carboxílico em δ_c 179,34 (C-28).

A presença do sinal em δ_c 72,13 (C-19) é referente ao átomo de carbono carbinólico terciário e as diferenças de deslocamentos químicos observados para C-12, C-13, C-19, C-20, C-29 e C-30, somado a presença do duplete mal resolvido atribuído ao H-18 no espectro de RMN ^1H , possibilitou atribuir o grupo hidroxila em C-19.

A presença do sinal em δ_c 65,21, sugeriu a presença de uma hidroxila em C-23, que sofre efeito γ -gaúche da hidroxila em C-3. Foi observado um efeito de proteção na metila 24 que é referente ao efeito anti γ ocasionado pela hidroxila na posição 23. A localização das hidroxilas em C-2 e C-3 e suas respectivas configurações relativas foram definidas, principalmente, por comparação com os dados de RMN ^{13}C de triterpeno contendo os mesmos esqueletos. Mahato e Kundu (1994), relatam que a introdução de um grupo

hidroxila em esqueletos de triterpenos resulta na desproteção dos átomos de carbono alfa (34-50 ppm) e beta (2-10 ppm) e na proteção do átomo de carbono gama (0-9 ppm). Assim o sinal em δ_C 76,28 foi atribuído ao átomo de carbono C-3, que apesar de sofrer efeito de desproteção pela vizinhança do átomo de carbono carbinólico C-2 em β também sofre efeito de proteção devido ao efeito γ -gaúche da hidroxila em C-23.

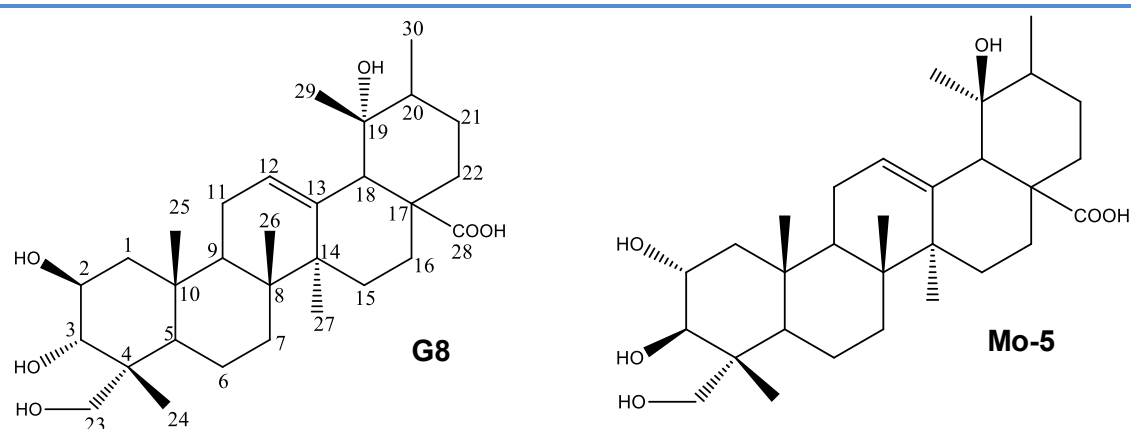
A multiplicidade do sinal atribuído ao H-3 indica que o mesmo é um duplete e embora não seja possível visualizar a constante de acoplamento, devido a problemas de fase do espectro de hidrogênio, os sinais observados no RMN ^{13}C (δ_C 69,58 C-2; δ_C 76,28 C-3 e δ_C 65,21 C-23) são compatível com a proposta de estereoquímica apresentada $2\alpha,3\beta$ devido ao efeito γ -gaúche de blindagem do grupo hidroxila na posição C-23, que reduz o deslocamento químico em aproximadamente 5 ppm (**Tabela 17**) (MAHATO & KUNDU, 1994).

Tabela 17. Possíveis configurações relativas e valores de deslocamentos químicos para triterpeno 2,3-diidroxilados (MAHATO & KUNDU, 1994).

| Configurações relativas | Valores de deslocamentos químicos |
|-------------------------|-----------------------------------|
| $2\alpha,3\beta$ | 68,8; 83,8 |
| $2\alpha,3\alpha$ | 66,5; 78,9 |
| $2\beta,3\alpha$ | 68,9; 78,2 |
| $2\beta,3\beta$ | 71,0; 78,4 |

A análise conjunta dos espectros HSQC e HMBC (**Figura 53, p. 93** e **Figura 54, p. 94**) confirmaram as atribuições dos átomos de hidrogênio e carbono da substância **G8**. Os dados espectrais de RMN descritos acima foram comparados com os dados da literatura **Mo-5** (MAHATO & KUNDU, 1994) e permitiu atribuir a essa substância a estrutura do triterpeno pentacíclico da série ursano ácido $2\alpha,3\beta,19\alpha,23$ -tetrahidroxiurs-12-en-28-óico, substância descrita pela primeira vez na espécie (**Tabela 18, p. 91**).

Tabela 18. Dados de RMN ^1H (500 MHz) e RMN ^{13}C (125 MHz) de **G8** em DMSO, correlações observadas no espectro de HSQC e HMBC e comparação com os valores de referência do modelo **Mo-5**, em Piridina. Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm e as constantes de acoplamento (J), em Hz.



| Nº C | HSQC | | HMBC | | Mo-5 (MAHATO & KUNDU, 1994) |
|-----------------------|---------------------|---------------------|---------------------------------|-------------------------|-----------------------------|
| | δ_{C} | δ_{H} | J^{α} | J^{β} | δ_{C} |
| C | | | | | |
| 4 | 43,80 | - | | | 43,5 |
| 8 | 41,90 | - | | | 39,9 |
| 10 | 38,33 | - | | | 38,3 |
| 13 | 139,25 | - | | | 139,5 |
| 14 | 41,97 | - | | | 42,5 |
| 17 | 47,10 | - | | | 48,5 |
| 19 | 72,13 | - | | | 75,0 |
| 28 | 179,34 | - | | | 179,2 |
| CH | | | | | |
| 2 | 69,58 | 3,76 | | | 68,8 |
| 3 | 76,28 | 3,47 | 43,80 | 65,21; 49,06; 14,41 | 78,3 |
| 5 | 49,06 | 3,20 | 43,80 | 76,28 | 48,0 |
| 9 | 47,36 | 1,74 | 38,33; 41,90 | 16,95 | 48,0 |
| 12 | 127,12 | 5,22 | 41,97; 53,70 | | 126,5 |
| 18 | 53,70 | 2,38 | 47,10; 72,13; 139,25; 179,34 | 26,46; 41,97; 127,12 | 49,5 |
| 20 | 41,63 | 1,44 | | | 35,7 |
| CH₂ | | | | | |
| 1 | 47,70 | 1,75 | | | 47,7 |
| 6 | 18,04 | 1,32 | | | 18,5 |
| 7 | 32,83 | 1,50 | | | 33,0 |
| 11 | 23,67 | 1,93 | | | 25,2 |
| 15 | 28,66 | 1,09 | | | 28,2 |
| 16 | 26,92 | 1,16 | | | 24,0 |
| 21 | 27,73 | 2,08 | | | 32,7 |
| 22 | 38,14 | 2,51 | | | 35,0 |
| 23 | 65,21 | 3,37 e 3,20 | 43,80 | 76,28 | 66,7 |
| CH₃ | | | | | |
| 24 | 14,41 | 0,95 | | | 14,2 |
| 25 | 17,20 | 0,71 | | | 17,5 |
| 26 | 16,95 | 0,99 | | | 17,3 |
| 27 | 24,57 | 1,29 | 41,97 | 139,25; 41,90 | 24,8 |
| 29 | 26,46 | 1,13 | 72,13 | 53,70; 41,63 | 30,6 |
| 30 | 16,79 | 0,83 | | 27,73; 72,13 | 17,8 |

Figura 50. Espectro de RMN ^1H (500 MHz) em DMSO de G8.

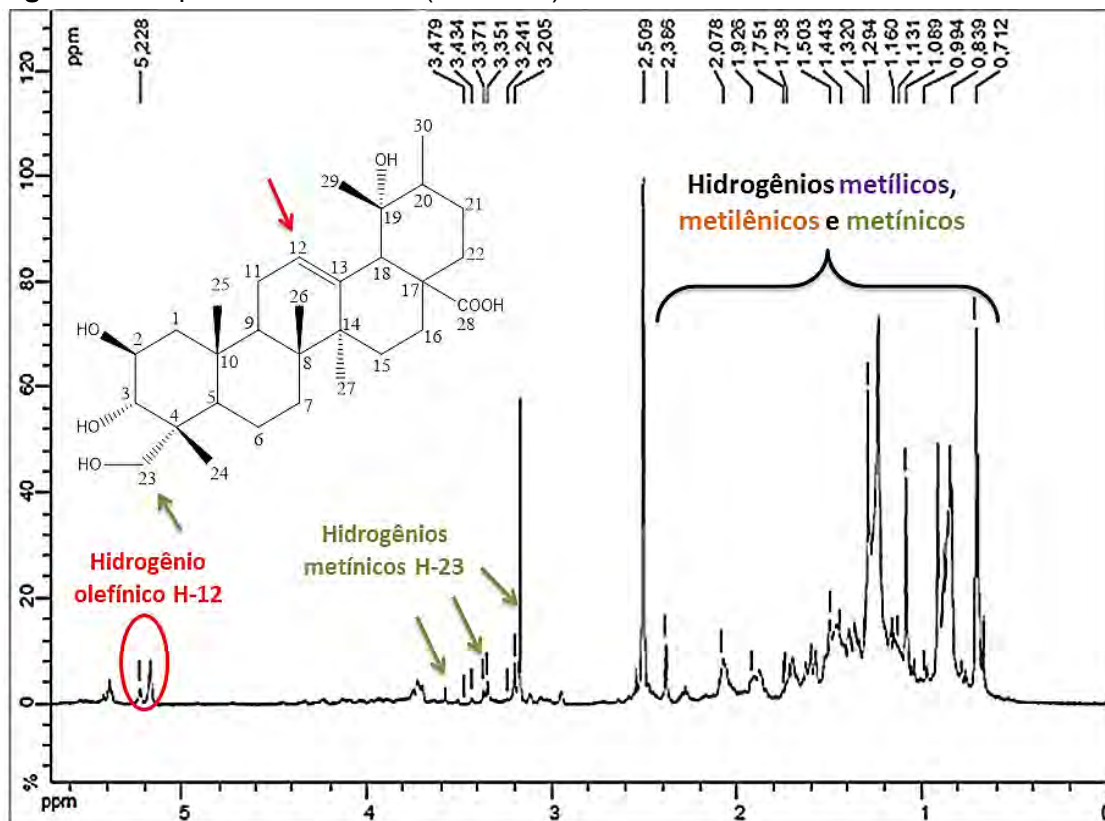


Figura 51. Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz) em DMSO de G8.

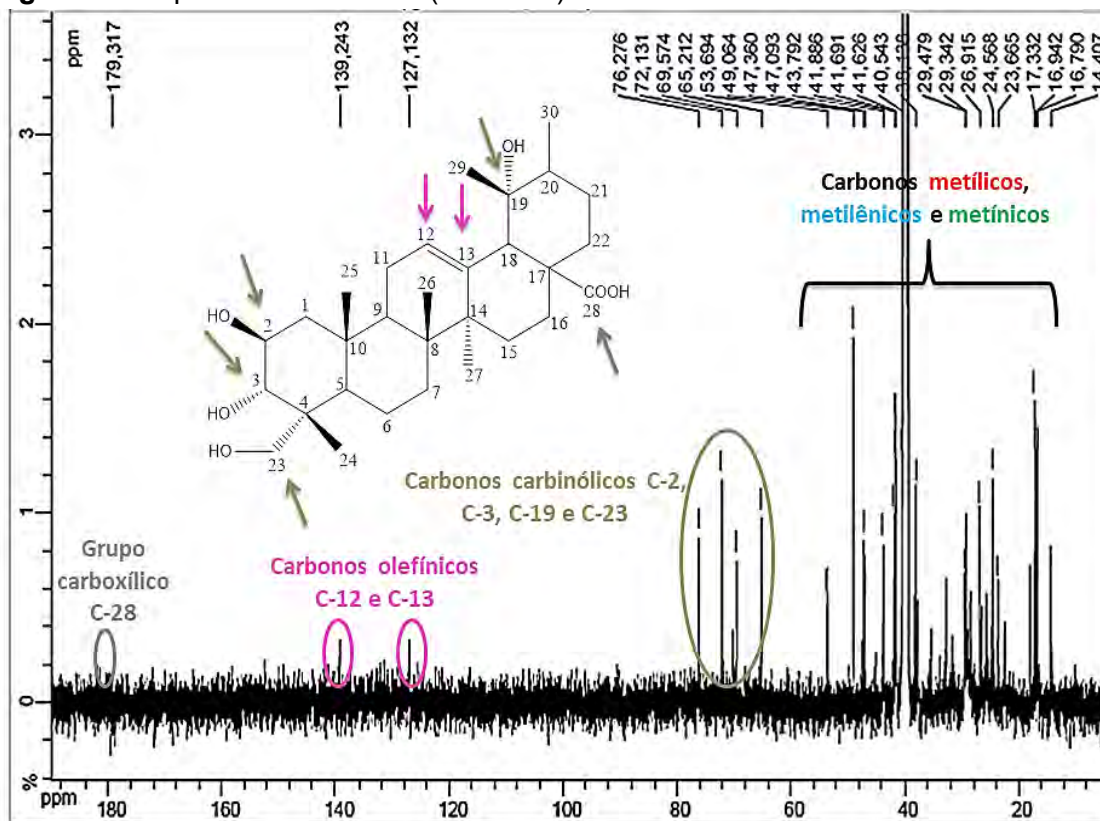


Figura 52. Espectro de DEPT Q (125 MHz) em DMSO de G8.

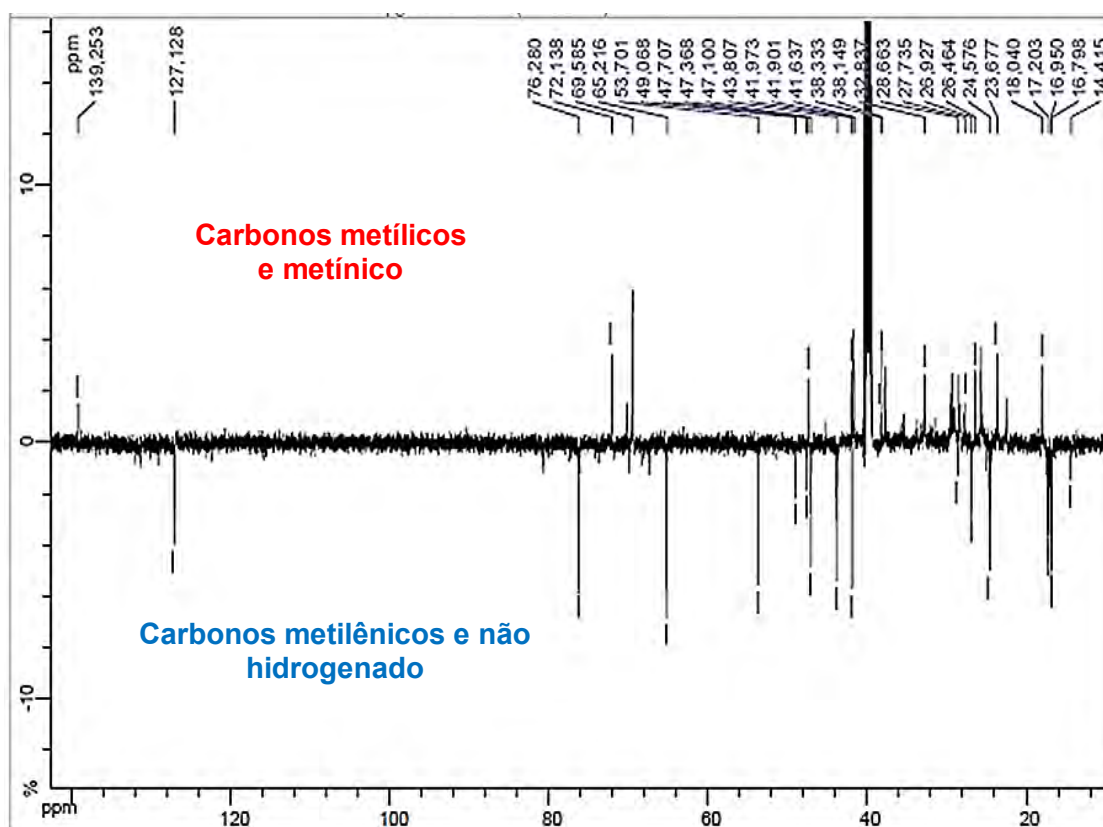


Figura 53. Mapa de correlação heteronuclear HSQC em DMSO de G8.

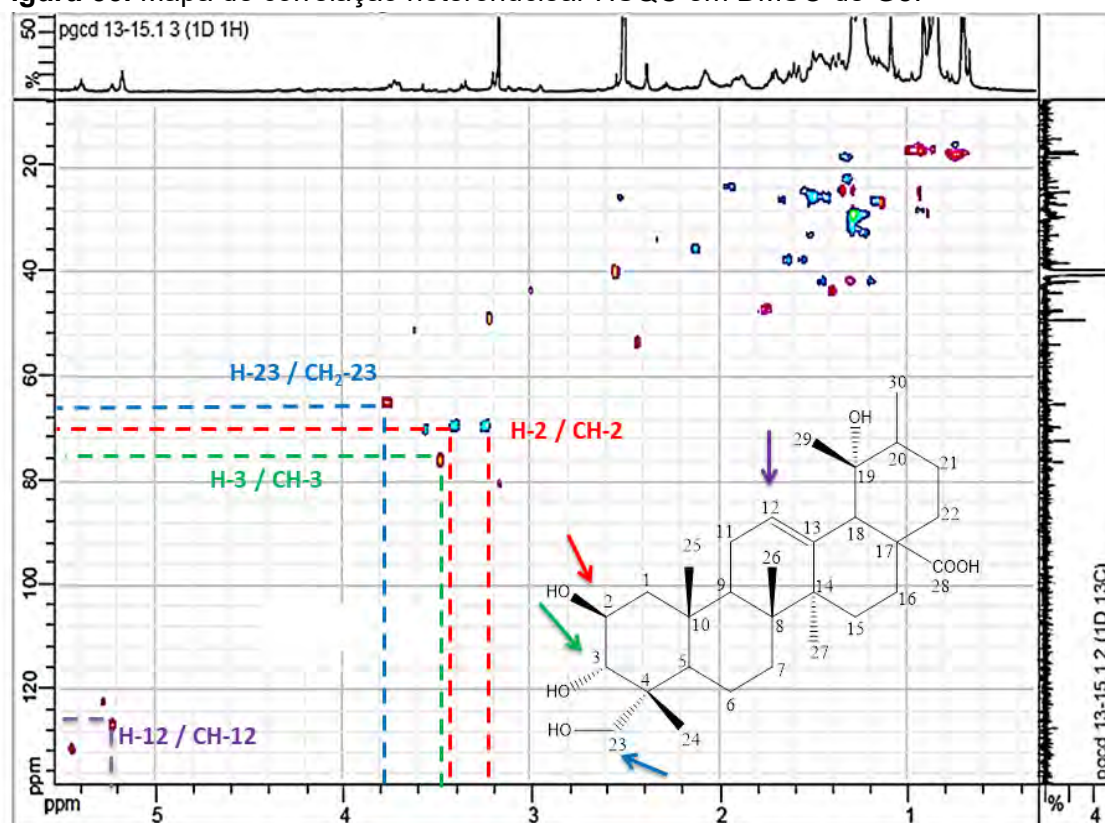
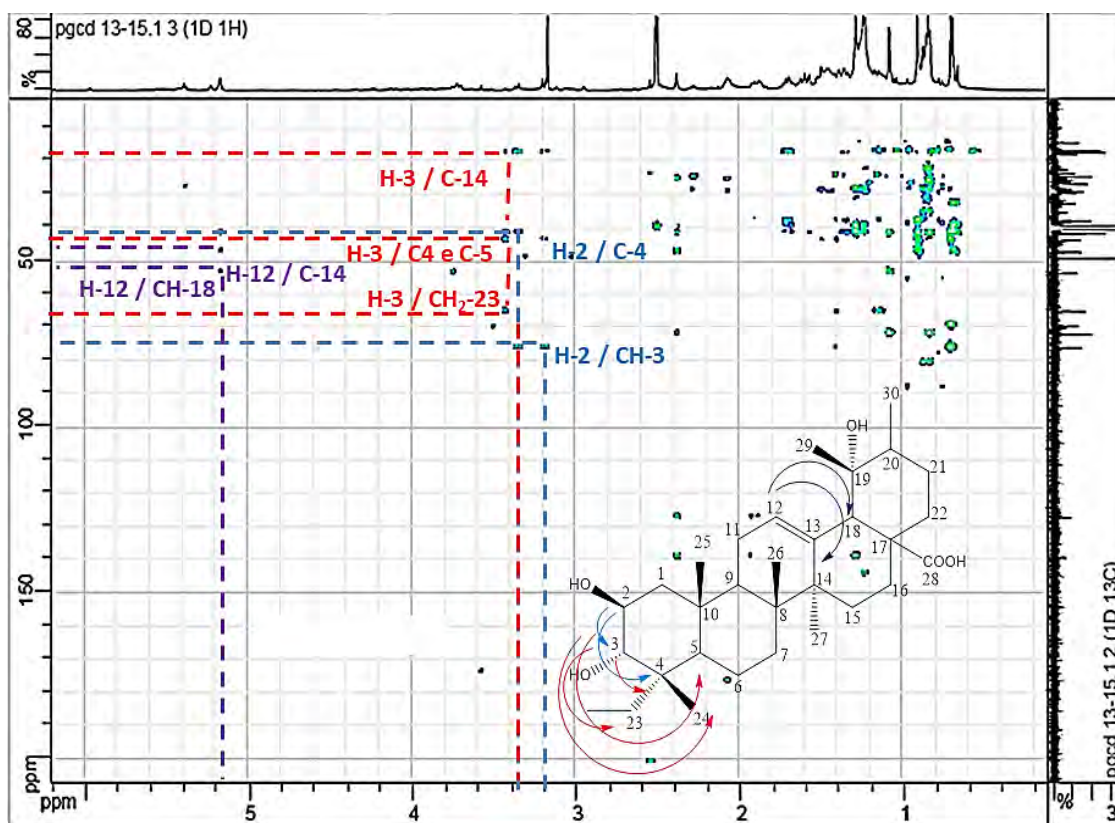
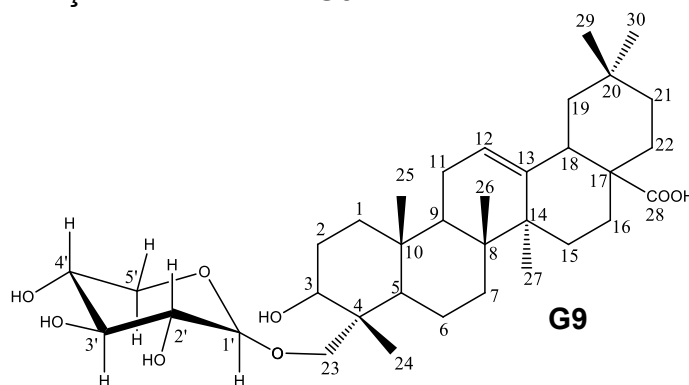


Figura 54. Mapa de correlação heteronuclear HSQC em DMSO de **G8**.



6.1.1.3.4 Determinação estrutural de **G9**



A amostra codificada como **G9**, obtida do extrato em diclorometano do caule da *P. guianensis* é um sólido branco amorfo e quando submetida à eluição em CCDA, utilizando a fase inferior do sistema de solvente clorofórmio: acetato de etila: metanol: água (7:3:7:7) como eluente, foi observada uma única mancha com $R_f = 0,19$ quando revelada com vanilina sulfúrica.

Na análise conjunta do espectro de RMN ^1H e dos mapas de correlação HSQC e HMBC (**Figura 56**, **57**, p. 99 e **Figura 58**, p. 100) foi possível verificar

a presença de trinta e quatro átomos de carbono, sendo seis sinais para grupos metílicos (CH₃) em δ_c 15,13 (CH₃-24), δ_c 15,66 (CH₃-25), δ_c 16,73 (CH₃-26), δ_c 24,29 (CH₃-27), δ_c 26,59 (CH₃-29) e δ_c 26,02 (CH₃-30), treze sinais para grupos metilênicos (CH₂) em δ_c 38,46 (CH₂-1), δ_c 27,80 (CH₂-2), δ_c 17,37 (CH₂-6) δ_c 26,20 (CH₂-7), δ_c 23,80 (CH₂-11), δ_c 25,93 (CH₂-15), δ_c 24,32 (CH₂-16), δ_c 46,97 (CH₂-19), δ_c 36,77 (CH₂-21), δ_c 27,50 (CH₂-22), δ_c 69,57 (CH₂-23) e δ_c 66,06 (CH₂-5') e dez sinais para grupos metínicos (CH) em δ_c 88,23 (CH-3), δ_c 46,97 (CH-5), δ_c 55,65 (CH-9), δ_c 127,21 (CH-12), δ_c 41,89 (CH-18), δ_c 28,06 (CH-20), δ_c 106,62 (CH-1'), δ_c 73,86 (CH-2'), δ_c 77,24 (CH-3') e δ_c 73,83 (CH-4') e seis sinais para átomos de carbono não hidrogenado (C) em δ_c 41,56 (C-4), δ_c 39,26 (C-8), δ_c 36,77 (C-10), δ_c 138,99 (C-13), δ_c 41,79 (C-14) e δ_c 47,14 (C-17).

Os dados obtidos do espectro de RMN ¹H (**Figura 56, p. 101**) permitiram identificar sinais, cujos valores de deslocamentos químicos e multiplicidade estão condizentes com a proposta, como: o átomo de hidrogênio olefínico δ_H 5,15 (s, H-12), átomos de hidrogênio metilênicos δ_H 1,58 (H-1), 1,03 (H-2) 0,70 (H-6), 1,16 (H-7), 1,94 (H-11), 1,42 (H-15), 1,28 (H-16), 1,64 (H-19), 1,63 (H-21), 1,03 (H-22), 3,06 e 3,69 (H-5'), átomos de hidrogênio metínicos 3,00 (H-3), 1,64 (H-5), 0,76 (H-9), 1,31 (H-18), 1,29 (H-20), 3,30 (H-23), 4,13 (d, $J=7,7$ Hz; H-1'), 3,00 (H-2'), 3,12 (H-3') e 3,01 (H-4') e vários sinais atribuídos aos átomos de hidrogênio de grupos metílicos δ_H 0,87 a δ_H 1,33 (**Tabela 19, p. 96**).

Sinais de RMN de ¹H em torno de 4,1 a 5,0 ppm são indicativos de átomos de hidrogênio anomérico e a presença do açúcares é corroborada com sinais múltiplos de 3,0 a 4,0 ppm. A constante de acoplamento mostra a configuração da ligação glicosídica entre o esqueleto triterpênico e o açúcar. Segundo dados da literatura a configuração α mostra uma constante de acoplamento de 1 a 4 Hz e a β de 6 a 8 Hz. (BORGES, 2006). Através dessa informação foi possível observar a presença de um sinal de átomo de hidrogênio anomérico em δ_H 4,13, com constante de acoplamento (J) de 7,4 Hz, confirmando assim uma configuração β para o hidrogênio anomérico (**Figura 56, p. 101**).

Também foi observado dois sinais em δ_H 3,06 e em δ_H 3,69 atribuídos ao átomo de hidrogênio do C-5'. Os sinais dos átomos de hidrogênios em C-5' aparecem separados no espectro de RMN ¹H, porque esses átomos de

hidrogênio estão em ambientes químicos diferentes, portanto são diastereotópicos.

Dentre esses átomos de carbono foram observados sinais referentes aos átomos de carbono olefínico em δ_C 127,21 (CH-12) e δ_C 138,99 (C-13), cujas naturezas e os valores de deslocamentos químicos definem o tipo estrutural do esqueleto pertencente à série urs-12-eno (MAHATO & KUNDU, 1994).

Adicionalmente, foram observados sinais para dois átomos de carbono carbinólicos em δ_C 77,24 (CH-3) e δ_C 66,06 (CH₂-23). O sinal característico do ácido carboxílico no átomo de carbono 28 que seria por volta de δ_C 179,7, não foi observado no mapa de correlação HMBC, devido a quantidade de amostra isolada para análise. O sinal δ_C 69,50 ppm foi atribuído ao carbono C-23, que sofre efeito γ -gaúche em C-3. Também foi observado um efeito de proteção na metila 24 que é referente ao efeito anti γ ocasionado pela hidroxila na posição 23.

Ao comparar os dados de RMN de ¹³C e ¹H foi possível verificar a presença de uma molécula de açúcar. Com os dados de RMN de ¹³C comparados com os dados de moléculas de açúcar apresentados na **Tabela 19**, foi possível confirmar a presença realmente de uma molécula de xilopiranosídeo ligado ao ácido triterpênico. A análise com outros espectros seria necessária para real confirmação da estrutura, porém não pode ser realizada devido a problemas do equipamento de RMN.

Tabela 19. Dados de valores de açúcares ligados a triterpenos.

| Substância | C1' | C2' | C3' | C4' | C5' | Referência |
|--------------------------------|-------|------|------|------|------|-------------------------|
| β -D-Xilopiranosídeo | 107,5 | 75,5 | 78,6 | 71,2 | 67,1 | MU et al., 2014 |
| β -D-Xilopiranosídeo | 107,5 | 75,4 | 78,7 | 71,2 | 67,1 | SAKURAI et al., 1994 |
| α -L-Arabinopiranosídeo | 106,4 | 72,9 | 74,6 | 69,4 | 66,6 | |
| α -L-Arabinopiranosídeo | 106,4 | 72,8 | 74,1 | 68,8 | 65,7 | ALI et al., 2006 |

A análise conjunta dos espectros HSQC e HMBC (**Figura 57 e 58, p. 99 e 100**) confirmaram as atribuições dos átomos de hidrogênio e carbono da substância **G9**. Os dados espectrais de RMN descritos acima foram comparados com os dados da literatura **Mo-6** (MAHATO & KUNDU, 1994) e permitiu atribuir a essa substância a estrutura do ácido 23- β -xilopiranosídeo-

3 β ,23-dihidroxiurs-12-en-28-óico, sendo essa substância inédita na literatura, os dados estão dispostos na **Tabela 20, p. 98**.

A análise de massas apresentou o íon molecular m/z 603 (**Figura 55**). A fragmentação desse íon resultou nos fragmentos de massas em m/z 585 ([MH-18]⁻) indicando a perda de uma molécula de água e o fragmento em m/z 453 ([MH-132]⁻) indicando a perda de um resíduo de xilose que foi gerado a partir do fragmento intraglicosídico entre a xilose e o átomo de carbono do triterpeno (FERRERES et al., 2003).

Figura 55. Espectro de massas de alta resolução ESI-EM referente ao íon m/z 603 e sua respectiva estrutura química.

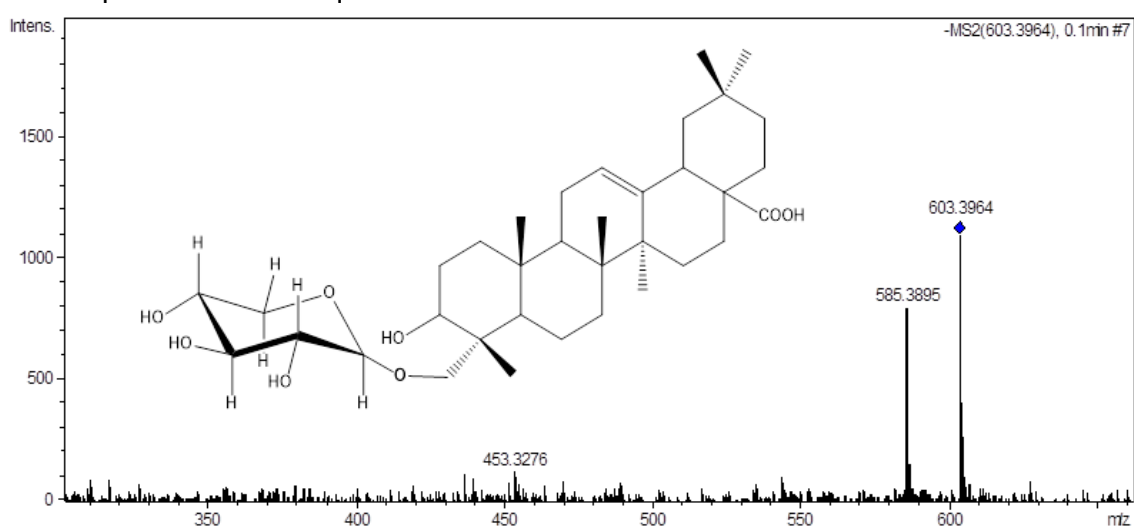
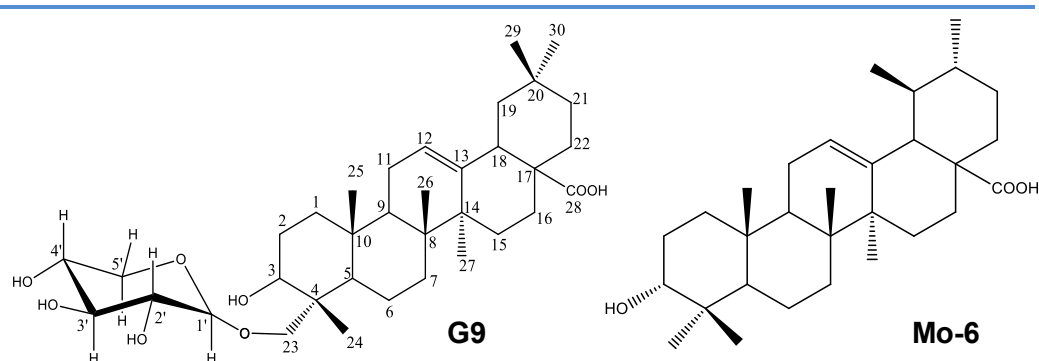


Tabela 20. Dados de RMN ^1H (500 MHz) e RMN ^{13}C (125 MHz) de **G9** em DMSO, correlações observadas no espectro de HSQC e HMBC e comparação com os valores de referência do modelo **Mo-6**, em Piridina. Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm e as constantes de acoplamento (J), em Hz.



| Nº C | HSQC | | HMBC | | Mo-6 (MAHATO & KUNDU, 1994) |
|-----------------------|------------|--------------------------|-------|--------------|--------------------------------------|
| | δ_c | δ_H | J^2 | J^3 | δ_c |
| C | | | | | |
| 4 | 41,56 | - | - | - | 43,8 |
| 8 | 39,26 | - | - | - | 40,0 |
| 10 | 36,77 | - | - | - | 37,1 |
| 13 | 138,99 | - | - | - | 139,2 |
| 14 | 41,79 | - | - | - | 43,0 |
| 17 | 47,14 | - | - | - | 47,5 |
| 28 | - | - | - | - | 179,7 |
| CH | | | | | |
| 3 | 88,23 | 3,00 | | | 74,2 |
| 5 | 46,97 | 1,64 | | | 48,0 |
| 9 | 55,65 | 0,76 | | | 48,5 |
| 12 | 127,21 | 5,15 | | | 125,5 |
| 18 | 41,89 | 1,31 | | | 52,2 |
| 20 | 28,06 | 1,29 | | | 30,9 |
| 1' | 106,62 | 4,13 d, $J=7,4\text{Hz}$ | | 88,23 | - |
| 2' | 73,86 | 3,00 | | | - |
| 3' | 77,24 | 3,12 | | | - |
| 4' | 73,83 | 3,01 | | | - |
| CH₂ | | | | | |
| 1 | 38,46 | 1,58 | | | 39,0 |
| 2 | 27,80 | 1,03 | | | 26,3 |
| 6 | 17,37 | 0,70 | | | 18,3 |
| 7 | 26,20 | 1,16 | | | 33,0 |
| 11 | 23,80 | 1,94 | | | 24,2 |
| 15 | 25,93 | 1,42 | | | 27,3 |
| 16 | 24,32 | 1,28 | | | 24,0 |
| 19 | 46,97 | 1,64 | | | 39,2 |
| 21 | 36,77 | 1,63 | | | 37,0 |
| 22 | 27,50 | 0,98 | | | 33,0 |
| 23 | 69,57 | 3,01 | | | 64,6 |
| 5' | 66,06 | 3,01 e 3,69 | | | - |
| CH₃ | | | | | |
| 24 | 15,13 | 0,84 | | | 12,7 |
| 25 | 15,88 | 0,87 | 36,77 | 46,97; 55,65 | 15,6 |
| 26 | 16,73 | 0,85 | | | 17,5 |
| 27 | 24,29 | 1,33 | | | 24,2 |
| 29 | 26,59 | 1,08 | | | 17,1 |
| 30 | 26,02 | 1,24 | | | 21,1 |

Figura 56. Espectro de RMN ^1H (500 MHz) em DMSO de G9.

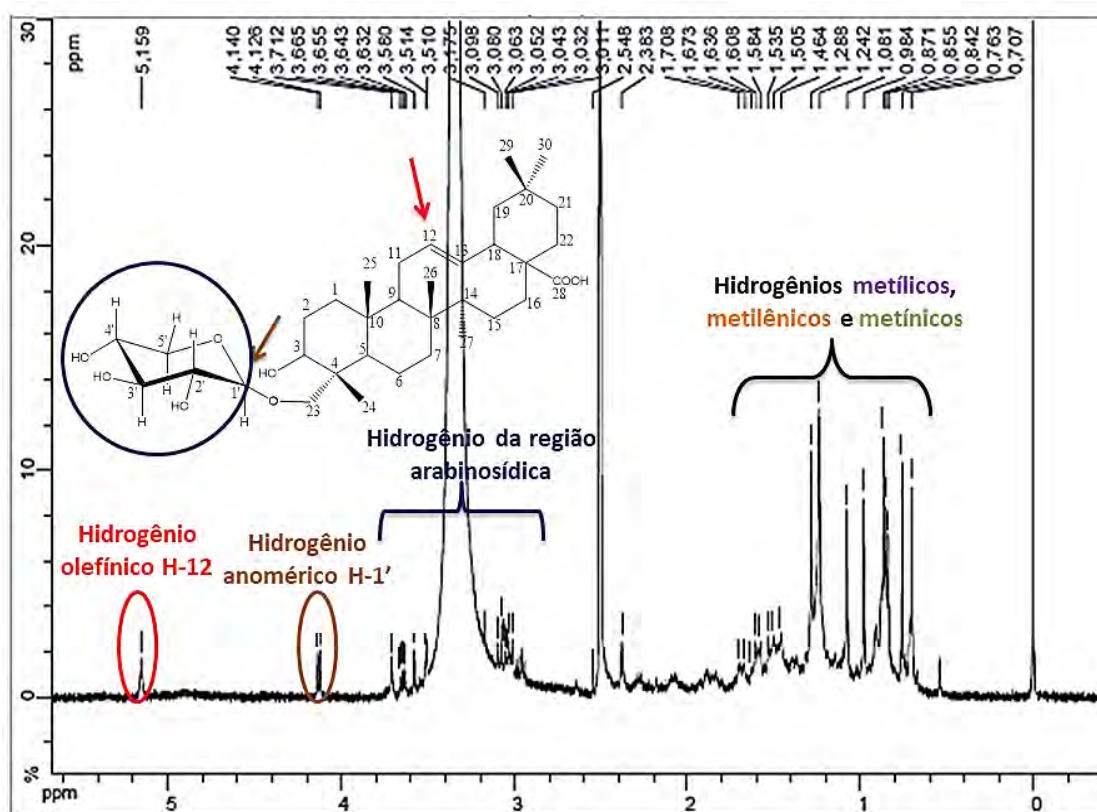


Figura 57. Mapa de correlação heteronuclear HSQC em DMSO de G9.

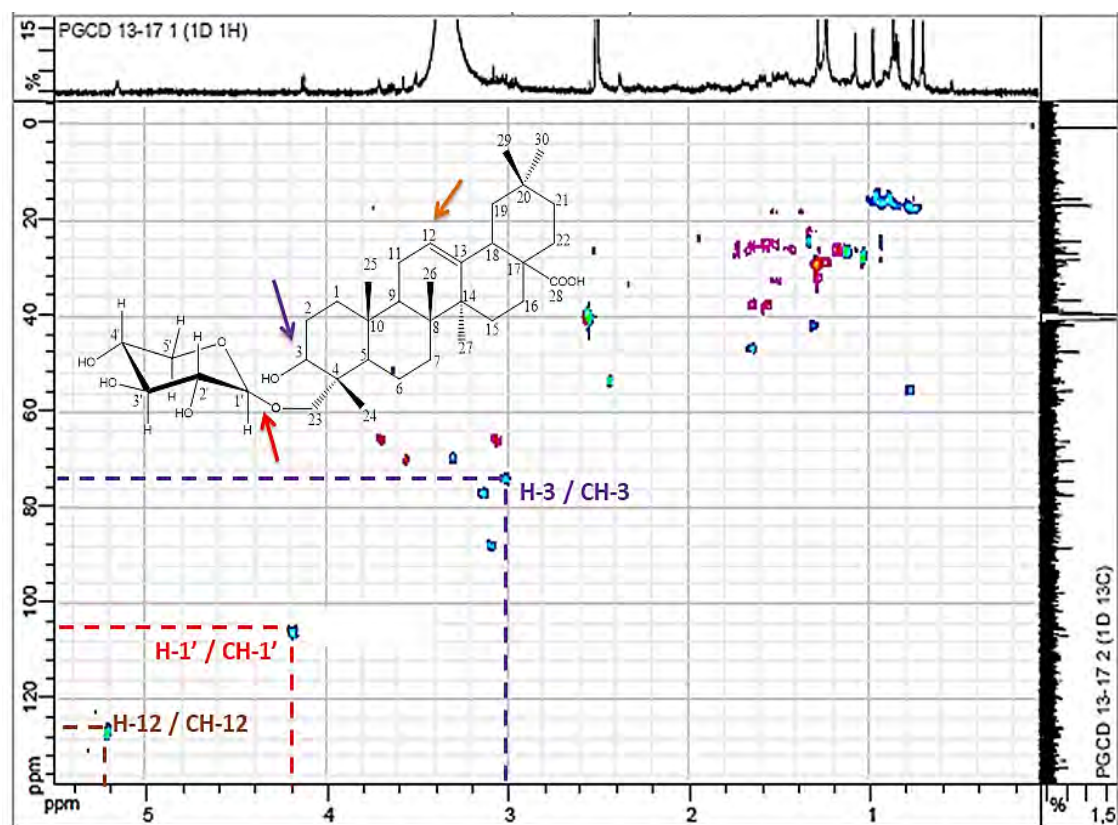
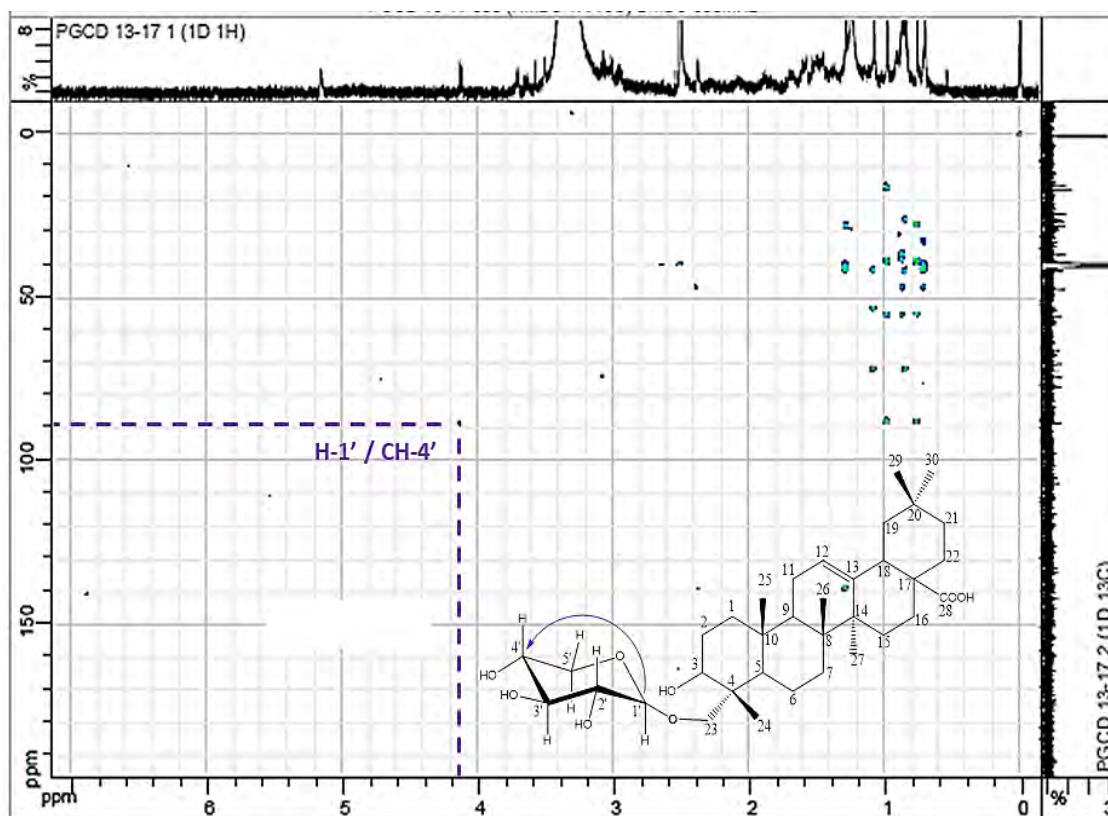
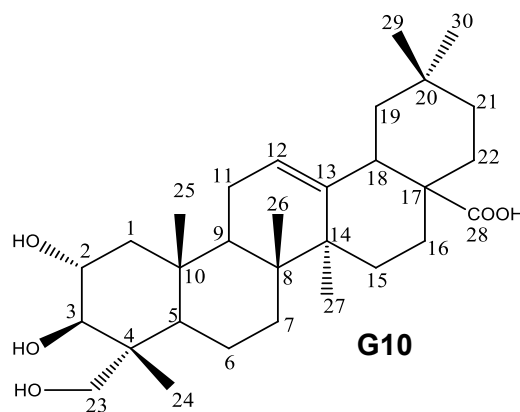


Figura 58. Mapa de correlação heteronuclear HMBC em DMSO de **G9**.



6.1.1.3.5 Determinação estrutural de **G10**



A amostra codificada como **G10**, obtida do extrato em diclorometano do caule da *P. guianensis*, apresentou-se como um sólido branco e quando submetida à eluição em CCDA, utilizando a fase inferior do sistema de solvente clorofórmio: acetato de etila: metanol: água (7:3:7:7) como eluente, foi observada uma única mancha com $R_f = 0,29$ quando revelada com vanilina sulfúrica. A análise preliminar feita nos espectros de RMN ^1H , ^{13}C , mostrou ser uma única substância pertencente à classe de triterpenos pentacíclicos.

A análise do espectro DEPT Q (**Figura 60, p. 104**) indicou a presença de trinta átomos de carbono, sendo seis sinais para grupos metílicos (CH₃) em δ_c 14,18 (CH₃-24), δ_c 17,46 (CH₃-25), δ_c 17,24 (CH₃-26), δ_c 26,16 (CH₃-27), δ_c 33,36 (CH₃-29) e δ_c 23,88 (CH₃-30) dez sinais para grupos metilênicos (CH₂) em δ_c 45,92 (CH₂-1), δ_c 17,95 (CH₂-6), δ_c 32,66 (CH₂-7), δ_c 23,14 (CH₂-11), δ_c 27,68 (CH₂-15), δ_c 23,50 (CH₂-16), δ_c 46,28 (CH₂-19), δ_c 32,39 (CH₂-21), δ_c 30,91 (CH₂-22) e δ_c 64,36 (CH₂-23), seis sinais para grupos metínicos (CH) em δ_c 67,86 (CH-2), δ_c 75,95 (CH-3), δ_c 46,47 (CH-5), δ_c 47,56 (CH-9), δ_c 121,77 (CH-12) e δ_c 41,33 (CH-18) e oito sinais para átomos de carbono não hidrogenado (C) em δ_c 42,99 (C-4), δ_c 39,34 (C-8), δ_c 37,85 (C-10), δ_c 144,63 (C-13), δ_c 41,87 (C-14), δ_c 47,15 (C-17), δ_c 33,88 (C-20) e δ_c 173,74 (C-28).

Os dados obtidos do espectro de RMN ¹H (**Figura 59, p. 104**) permitiram identificar sinais, cujos valores de deslocamentos químicos e multiplicidade estão condizentes com a proposta, como: o átomo de hidrogênio olefínico δ_H 5,15 (s, H-12), átomos de hidrogênio carbinólico em δ_H 3,50 (H-2); δ_H 3,18 (d, $J=6,8$ Hz, H-3), átomos de hidrogênio metilênicos δ_H 1,65 (H-1); 1,44 (H-6), 1,65 (H-7), 1,94 (H-11), 1,02 (H-15), 1,87 (H-16), 1,10 (H-19), 1,49 (H-21), 1,28 (H-22), 3,31 e 3,04 (d, $J=10$ Hz; H-23), átomos de hidrogênio metínicos 3,50 (H-2), 3,18 (d, $J=6,8$ Hz; H-3) 1,23 (H-5), 1,57 (H-9), 5,15 (H-12) e 2,76 (ddd, $J=10,9$ Hz; H-18) e vários sinais atribuídos aos átomos de hidrogênio de grupos metílicos δ_H 0,54 a δ_H 2,36 (**Tabela 21, p. 103**). Essa análise também mostrou o átomo de hidrogênio metínico em δ_H 2,76, duplo duplo duplo mal resolvido, com constante de acoplamento de $J=10,9$ Hz, que foi atribuído ao H-18. A multiplicidade desse sinal é compatível com a proposta de esqueleto triterpeno pentacíclico da série olean-12-eno.

Também foi observado dois duplo em δ_H 3,31 (d, $J=10$ Hz) e em δ_H 3,04 (d, $J=10$ Hz) atribuídos ao átomo de hidrogênio do C-23. Os sinais dos átomos de hidrogênio em C-23 aparecem separados no espectro de RMN ¹H (**Figura 59, p. 104**), por que esses átomos de hidrogênio estão ligados a um carbono diretamente ligado a um centro quiral, portanto são diastereotópicos.

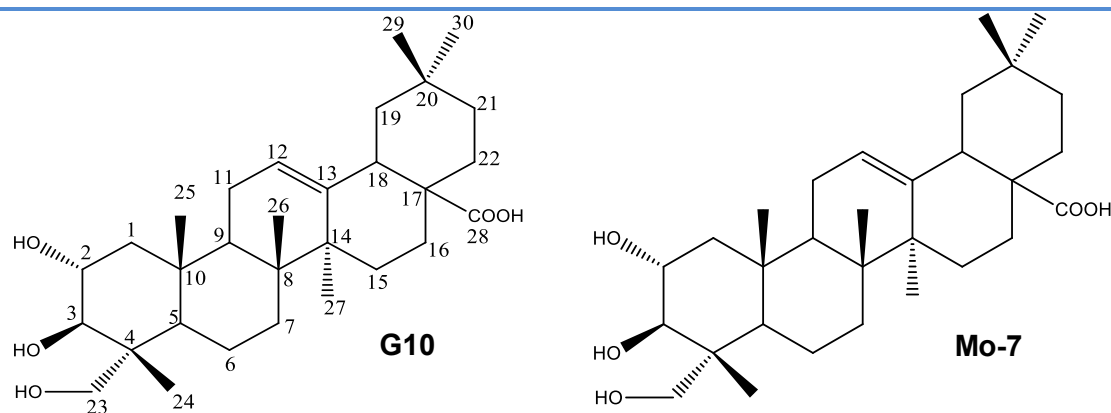
Dentre os átomos de carbonos foram observados sinais referentes aos átomos de carbono olefínico em δ_c 121,77 (CH-12) e δ_c 144,63 (C-13), cujas naturezas e os valores de deslocamentos químicos definem o tipo estrutural do esqueleto pertencente à série olean-12-eno (MAHATO & KUNDU, 1994).

Adicionalmente, foram observados sinais para três átomos de carbono carbinólicos em δ_C 67,86 (CH-2), δ_C 75,95 (CH-3) e δ_C 64,36 (CH₂-23), além do grupo carboxílico em δ_C 173,74 (C-28). O sinal δ_C 75,95 foi atribuído ao átomo de carbono C-3, que apesar de sofrer efeito de desproteção pela vizinhança do carbono carbinólico C-2 também sofre efeito de proteção devido ao efeito γ da hidroxila em C-23. O sinal δ_C 64,36 foi atribuído ao carbono C-23, que sofre efeito γ -gaúche da hidroxila em C-3. Foi observado um efeito de proteção na metila 24 que é referente ao efeito anti γ ocasionado pela hidroxila na posição 23.

A multiplicidade do sinal atribuído ao H-3 indica um duplete com valor de constante de acoplamento H-3 (d, $J= 6,8$ Hz) sugerindo, portanto, uma relação de acoplamento *axial-axial* entre o H-3 e o H-2, definindo assim as configurações para os grupos hidroxilas em C-2 α e C-3 β . No espectro de RMN ¹³C também foram observados um sinal em δ_C 67,86 compatível com um grupo hidroxila em C-2 e um sinal em δ_C 75,95 compatível com o grupo hidroxila em C-3, com uma configuração relativa de $2\alpha,3\beta$ (**Tabela 17, p. 90**) (MAHATO & KUNDU, 1994).

A análise conjunta dos espectros HSQC e HMBC (**Figura 61 e 62, p. 105**) confirmaram as atribuições dos átomos de hidrogênio e carbono da substância **G10**. Os dados espectrais de RMN descritos acima foram comparados com os dados da literatura (MAHATO & KUNDU, 1994) e permitiu atribuir a essa substância a estrutura do ácido $2\alpha,3\beta,23$ -trihidroiolean-12-en-28-óico **Mo-7**, também conhecido como ácido arjunólico, os dados estão dispostos na **Tabela 21, p. 103**.

Tabela 21. Dados de RMN ^1H (500 MHz) e RMN ^{13}C (125 MHz) de **G10** em DMSO, correlações observadas no espectro de HSQC e HMBC e comparação com os valores de referência do modelo **Mo-7**, em Piridina. Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm e as constantes de acoplamento (J), em Hz.



| Nº C | HSQC | | HMBC | | Mo-7 (MAHATO & KUNDU, 1994) |
|-----------------------|------------|--|--------------|------------------------|-----------------------------------|
| | δ_c | δ_H | J^2 | J^3 | δ_c |
| C | | | | | |
| 4 | 42,99 | - | | | 43,5 |
| 8 | 39,34 | - | | | 40,1 |
| 10 | 37,85 | - | | | 38,5 |
| 13 | 144,63 | - | | | 144,1 |
| 14 | 41,87 | - | | | 42,4 |
| 17 | 47,15 | - | | | 47,0 |
| 20 | 33,88 | - | | | 33,7 |
| 28 | 173,74 | - | | | 178,6 |
| CH | | | | | |
| 2 | 67,86 | 3,50 | | | 68,9 |
| 3 | 75,95 | 3,18; d ($J=6,8$) | 42,99; 67,86 | 14,18; 64,36 | 78,7 |
| 5 | 46,47 | 1,23 | | | 48,4 |
| 9 | 47,56 | 1,57 | | | 48,5 |
| 12 | 121,77 | 5,15 | | 41,33; 47,56 | 123,5 |
| 18 | 41,33 | 2,76; ddd ($J=10,9$) | 144,63 | 121,77 | 43,5 |
| CH₂ | | | | | |
| 1 | 45,92 | 1,65 | | | 47,1 |
| 6 | 17,95 | 1,44 | | | 18,6 |
| 7 | 32,66 | 1,65 | | | 33,1 |
| 11 | 23,14 | 1,94 | | | 23,8 |
| 15 | 27,68 | 1,02 | | | 28,3 |
| 16 | 23,50 | 1,87 | | | 23,9 |
| 19 | 46,28 | 1,10 | | 144,63 | 46,3 |
| 21 | 32,39 | 1,49 | | | 34,2 |
| 22 | 30,91 | 1,28 | | | 33,0 |
| 23 | 64,36 | 3,31; d ($J=10$) 3,04; d ($J=10$) | 42,99 | 75,95; 46,47 | 67,2 |
| CH₃ | | | | | |
| 24 | 14,18 | 0,54 | 42,99 | 46,47; 64,36; 75,95 | 14,0 |
| 25 | 17,46 | 0,76 | | | 17,6 |
| 26 | 17,24 | 0,98 | | | 17,2 |
| 27 | 26,16 | 1,14 | | | 26,1 |
| 29 | 33,36 | 2,36 | | | 32,9 |
| 30 | 23,88 | 0,93 | | | 23,7 |

Figura 59. Espectro de RMN ^1H (500 MHz) em DMSO de **G10**.

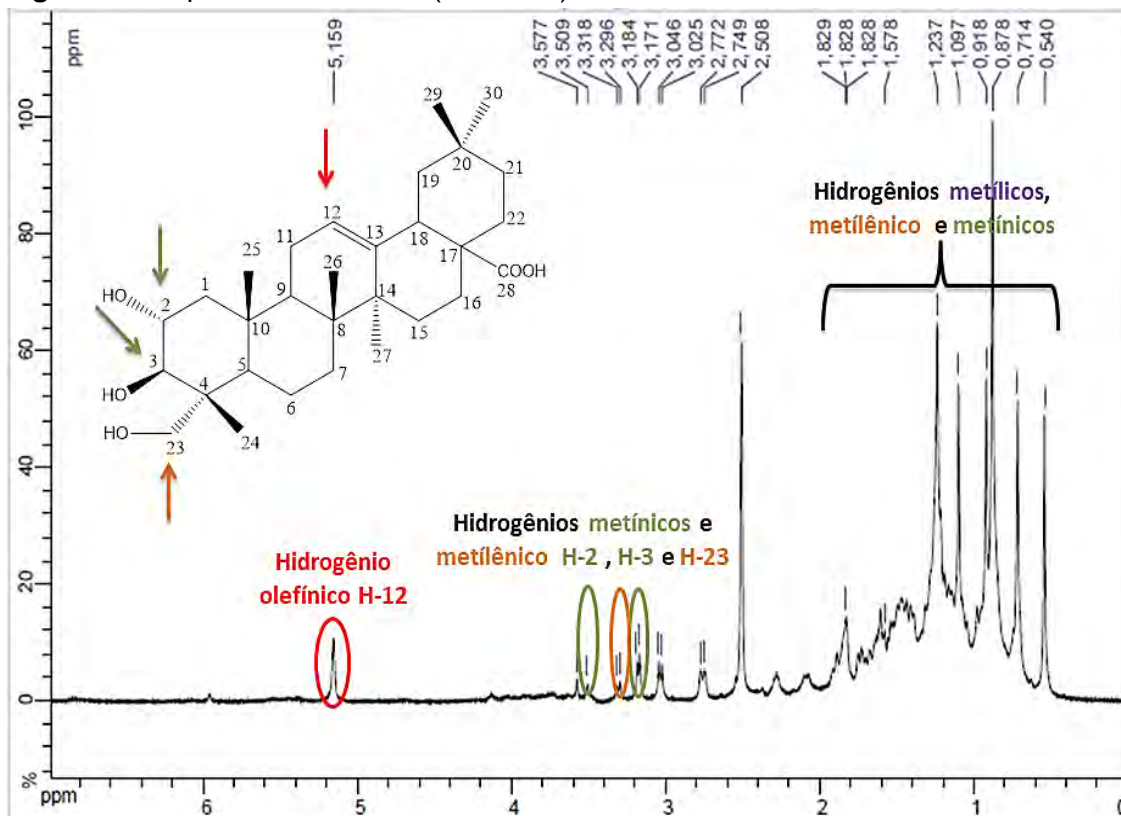
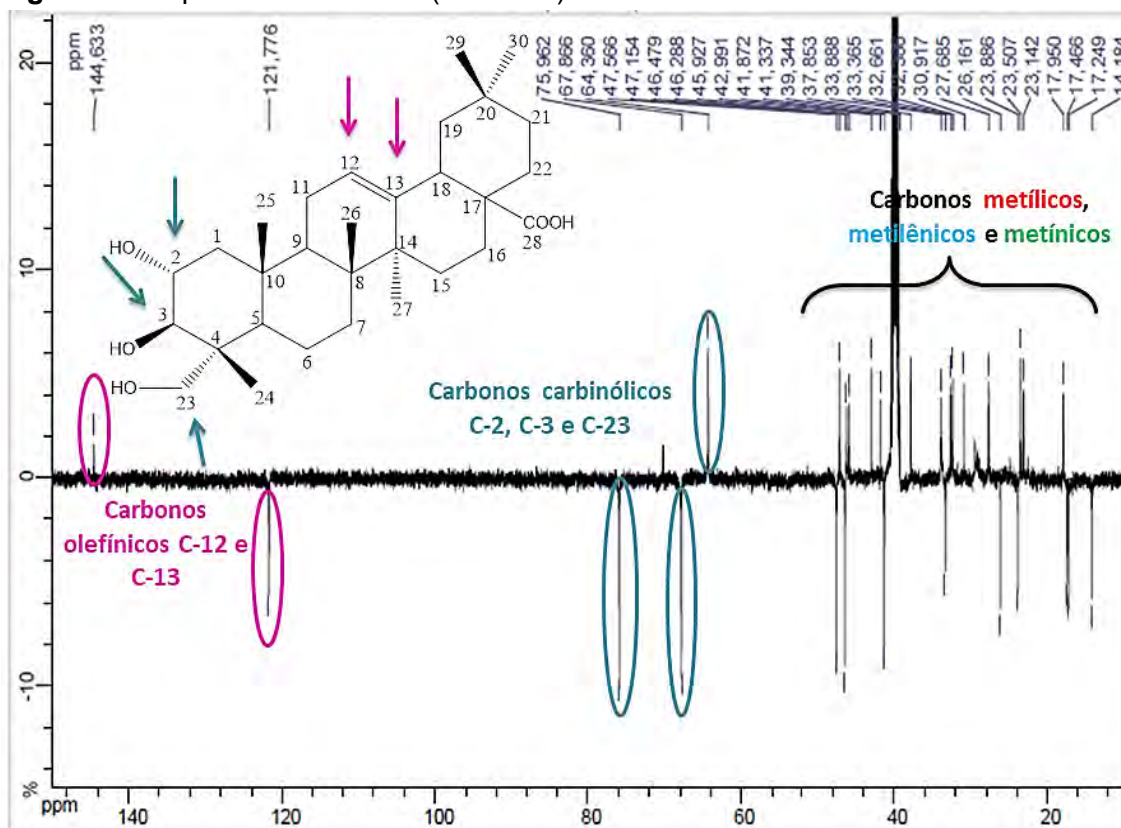
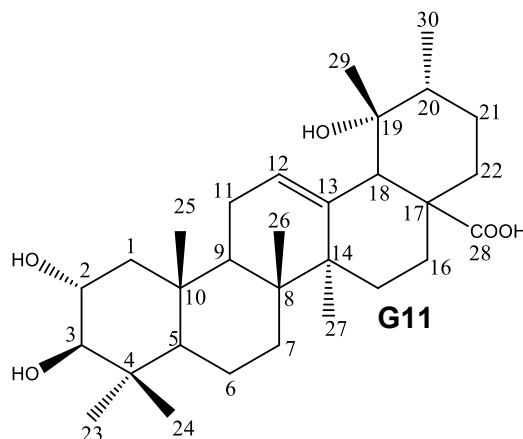


Figura 60. Espectro de DEPT Q (125 MHz) em DMSO de **G10**.



6.1.1.3.6 Determinação estrutural de **G11**



A amostra codificada como **G11**, obtida do extrato em diclorometano do caule da *P. guianensis*, apresentou-se como um sólido branco e quando submetida à eluição em CCDA, utilizando a fase inferior do sistema de solvente clorofórmio: acetato de etila: metanol: água (7:3:7:7) como eluente, foi observada uma única mancha com $R_f = 0,22$ quando revelada com vanilina sulfúrica. A análise preliminar feita nos espectros de RMN ^1H , ^{13}C mostrou ser uma única substância pertencente à classe triterpeno pentacíclico.

A análise do espectro DEPT Q (**Figura 65, p. 111**) indicou a presença de trinta átomos de carbono, sendo sete sinais para grupos metílicos (CH_3) em δ_c 29,28 (CH_3 -23), δ_c 17,59 (CH_3 -24), δ_c 17,09 (CH_3 -25), δ_c 17,39 (CH_3 -26), δ_c 24,44 (CH_3 -27), δ_c 26,87 (CH_3 -29) e δ_c 16,76 (CH_3 -30), oito sinais para grupos metilênicos (CH_2) em δ_c 47,36 (CH_2 -1), δ_c 18,61 (CH_2 -6), δ_c 33,08 (CH_2 -7), δ_c 23,66 (CH_2 -11), δ_c 29,49 (CH_2 -15), δ_c 26,40 (CH_2 -16), δ_c 28,51 (CH_2 -21) e δ_c 38,06 (CH_2 -22), seis sinais para grupos metínicos (CH) em δ_c 67,62 (CH -2), δ_c 82,78 (CH -3), δ_c 55,29 (CH -5), δ_c 47,17 (CH -9), δ_c 127,18 (CH -12), δ_c 53,65 (CH -18) e δ_c 43,77 (CH -20) e oito sinais para átomos de carbono não hidrogenado (C) em δ_c 41,67 (C-4), δ_c 41,59 (C-8), δ_c 38,18 (C-10), δ_c 139,12 (C-13), δ_c 41,82 (C-14), δ_c 47,45 (C-17), δ_c 72,10 (C-19) e δ_c 179,43 (C-28). Dentre esses átomos de carbono foram observados sinais referentes aos átomos de carbono olefínico em δ_c 127,18 (CH-12) e δ_c 139,12 (C-13), cujos valores de deslocamentos químicos corroboram como a proposta urs-12-eno (MAHATO & KUNDU, 1994). Adicionalmente, foram observados sinais para quatro átomos de carbono carbinólico em δ_c 67,62 (CH-2), δ_c 82,78 (CH-3) e δ_c 72,10 (C-19), além do grupo carboxílico em δ_c 179,43 (C-28).

Os dados obtidos do espectro de RMN ^1H (**Figura 63, p. 110**) permitiram identificar sinais, cujos valores de deslocamentos químicos e multiplicidade estão condizentes com a proposta, como o átomo de hidrogênio olefínico δ_{H} 5,22 (H-12, t, $J=3,5$ Hz,) átomos de hidrogênio carbinólico em δ_{H} 3,17 (H-2) e δ_{H} 2,75 (d, $J=9,6$ Hz, H-3), átomos de hidrogênio metilênicos δ_{H} 0,83 (H-1); 1,51 (H-6), 1,28 (H-7), 1,95 (H-11), 1,29 (H-15), 1,12 (H-16), 1,23 (H-21) e 2,54 (H-22), átomos de hidrogênio metínicos 3,17 (H-2), 2,75 (d, $J=9,6\text{Hz}$; H-3) 0,85 (d, $J=7,0\text{Hz}$; H-5), 1,66 (H-9), 5,17 (t, $J=3,5\text{Hz}$; H-12) e 2,51 (d, $J=2,4\text{Hz}$; H-18), 1,38 (H-20) e sinais atribuídos aos átomos de hidrogênio de grupos metílicos δ_{H} 0,75 a δ_{H} 1,33 (**Tabela 22, p. 109**). O sinal duplo em δ_{H} 2,5, atribuído ao H-18, indica que o esqueleto do triterpeno pertence à série urs-12-eno.

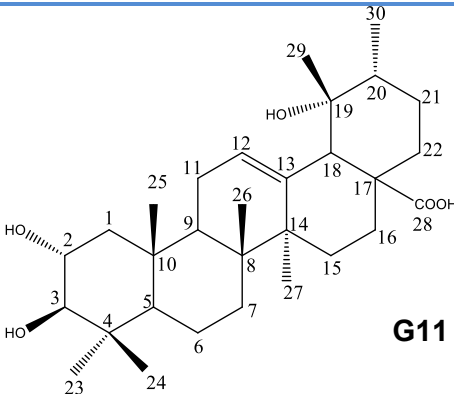
A presença do sinal em δ_{C} 72,10 (C-19) (**Figura 64, p. 110**), referente ao átomo de carbono carbinólico terciário, e as diferenças de deslocamentos químicos observados para C-12, C-13, C-19, C-20, C-29 e C-30, além da presença do átomo de hidrogênio δ_{H} 2,51 atribuído ao H-18 no espectro de RMN ^1H , permitiu a atribuição do grupo hidroxila em C-19.

A localização das hidroxilas em C-2 e C-3 e suas respectivas configurações relativas foram definidas principalmente por comparação com os dados de RMN ^{13}C de triterpeno contendo os mesmos esqueletos. Mahato e Kundu (1994), relatam que a introdução de um grupo hidroxila em esqueletos de triterpenos resulta em desproteção dos átomos de carbono alfa (34-50 ppm) e beta (2-10 ppm) e proteção do átomo de carbono gama (0-9 ppm). Assim o sinal em δ_{C} 82,78 foi atribuído ao átomo de carbono C-3, que apesar de sofrer efeito de desproteção pela vizinhança do átomo de carbono carbinólico C-2 também sofre efeito de proteção da metila em C-23. Essas atribuições são compatíveis com os valores encontrados na literatura (**Tabela 22, p. 109**).

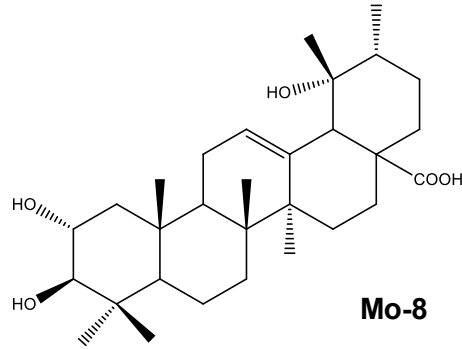
A multiplicidade do sinal atribuído ao H-3 indica um duplete com valor de constante de acoplamento H-3 (d, $J=9,6$ Hz) sugerindo, portanto, uma relação de acoplamento *axial-axial* entre o H-3 e o H-2, definindo assim as configurações para os grupos hidroxilas em C-2 α e C-3 β . No espectro de RMN ^{13}C apresentou um sinal em δ_{C} 67,62 compatível com um grupo hidroxila em C-2 e um sinal em δ_{C} 82,78 compatível com o grupo hidroxila em C-3, com uma configuração relativa de $2\alpha, 3\beta$ (**Tabela 17, p. 90**).

A análise conjunta dos espectros HSQC e HMBC (**Figura 66, p. 111** e **Figura 67, p. 112**) confirmaram as atribuições dos átomos de hidrogênio e carbono da substância **G11**. Os dados espectrais de RMN descritos acima foram comparados com os dados da literatura (COSTA et al., 2008) e permitiu atribuir a essa substância a estrutura do triterpeno pentacíclico da série ursano, ácido $2\alpha,3\beta,19\alpha$ -trihidroxiurs-12-en-28-óico **Mo-8**, também conhecido como ácido tormêntico (**Tabela 22, p. 109**).

Tabela 22. Dados de RMN ^1H (500 MHz) e RMN ^{13}C (125 MHz) de **G11** em DMSO, correlações observadas no espectro de HSQC e HMBC e comparação com os valores de referência do modelo **Mo-8**, em MeOD. Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm e as constantes de acoplamento (J), em Hz.



G11



Mo-8

| Nº C | HSQC | | HMBC | | Mo-8 (COSTA et al., 2008) |
|-----------------------|---------------------|---------------------|--------------|--------------|------------------------------|
| | δ_{C} | δ_{H} | J^z | J^s | δ_{C} |
| C | | | | | |
| 4 | 41,67 | - | | | 40,7 |
| 8 | 41,59 | - | | | 41,3 |
| 10 | 38,18 | - | | | 39,4 |
| 13 | 139,12 | - | | | 140,3 |
| 14 | 41,82 | - | | | 42,6 |
| 17 | 47,45 | - | | | 48,8 |
| 19 | 72,10 | - | | | 73,8 |
| 28 | 179,43 | - | | | 181,1 |
| CH | | | | | |
| 2 | 67,62 | 3,17 | | | 69,7 |
| 3 | 82,78 | 2,75; d ($J=9,6$) | 67,62 | 29,28; 17,59 | 84,3 |
| 5 | 55,29 | 0,85; d ($J=7,0$) | 41,25 | 29,28 | 56,9 |
| 9 | 47,17 | 1,66 | 38,18 | 17,09 | 48,7 |
| 12 | 127,18 | 5,17; t ($J=3,5$) | | 53,65; 41,82 | 129,4 |
| 18 | 53,65 | 2,51; d ($J=2,4$) | | 38,06 | 55,3 |
| 20 | 43,77 | 1,38 | | | 43,2 |
| CH₂ | | | | | |
| 1 | 47,36 | 0,83 | | | 48,3 |
| 6 | 18,61 | 1,51 | | | 19,8 |
| 7 | 33,08 | 1,28 | 41,59 | 41,82 | 34,3 |
| 11 | 23,66 | 1,95 | | | 24,9 |
| 15 | 29,49 | 1,29 | 41,87; 26,40 | 139,12 | 29,7 |
| 16 | 26,40 | 1,12 | | | 26,8 |
| 21 | 28,51 | 1,23 | | | 27,4 |
| 22 | 38,06 | 2,54 | | | 39,2 |
| CH₃ | | | | | |
| 23 | 29,28 | 0,98 | | 17,59; 55,29 | 28,8 |
| 24 | 17,59 | 0,75 | 41,25 | | 17,7 |
| 25 | 17,09 | 0,88 | | 47,36 | 17,1 |
| 26 | 17,39 | 0,93 | | | 17,6 |
| 27 | 24,44 | 1,33 | | | 25,0 |
| 29 | 26,87 | 1,28 | | | 27,2 |
| 30 | 16,76 | 0,86 | | | 16,7 |

Figura 63. Espectro de RMN ^1H (500 MHz) em DMSO de G11.

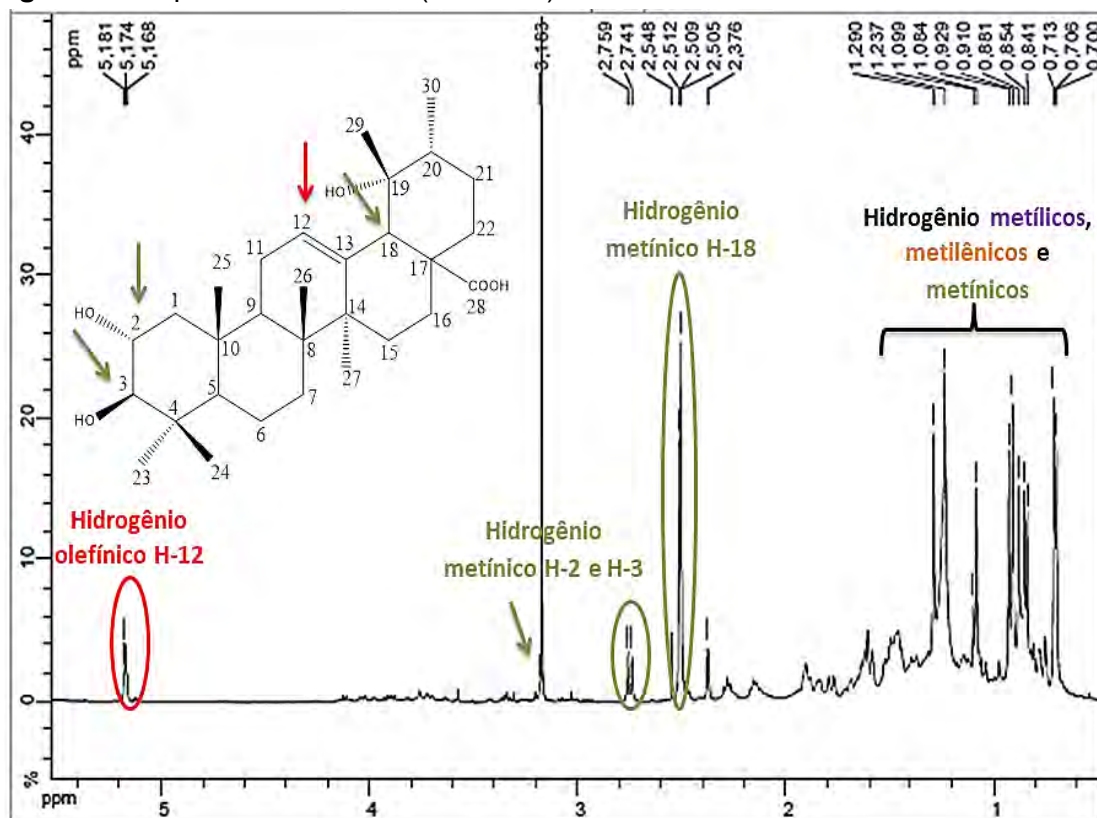


Figura 64. Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz) em DMSO de G11.

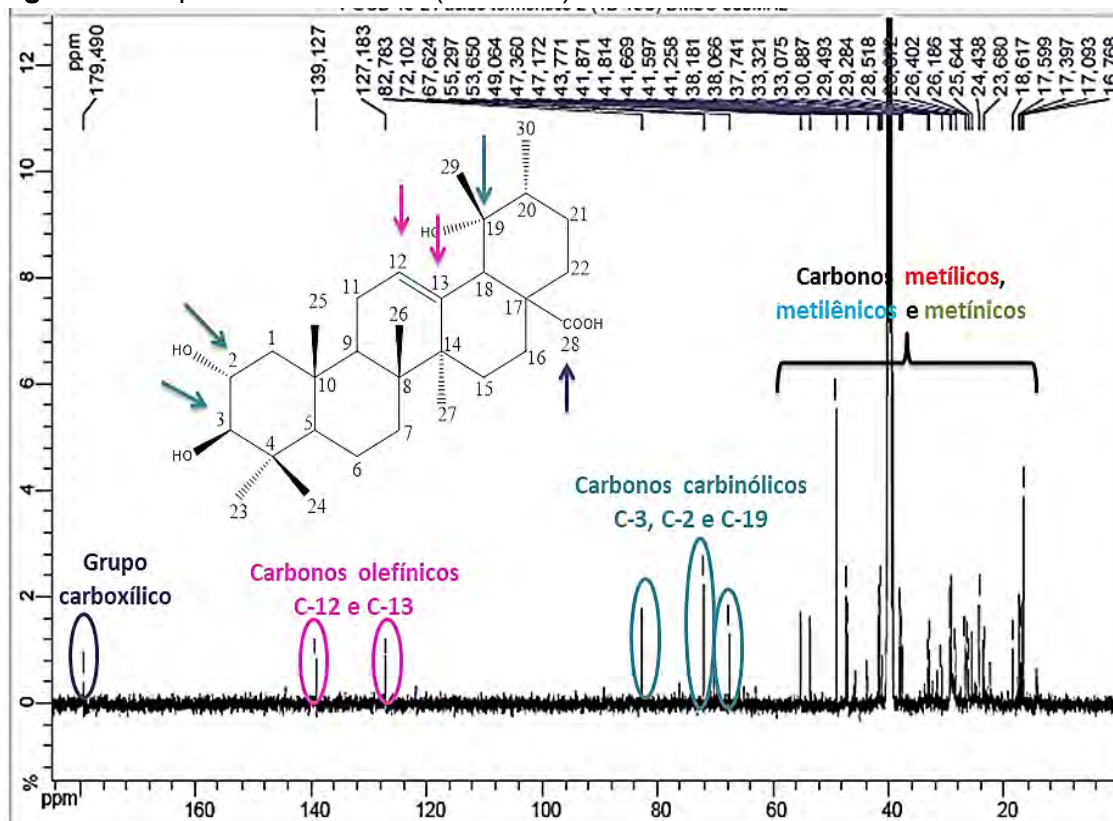


Figura 65. Espectro de DEPT Q (125 MHz) em DMSO de G11.

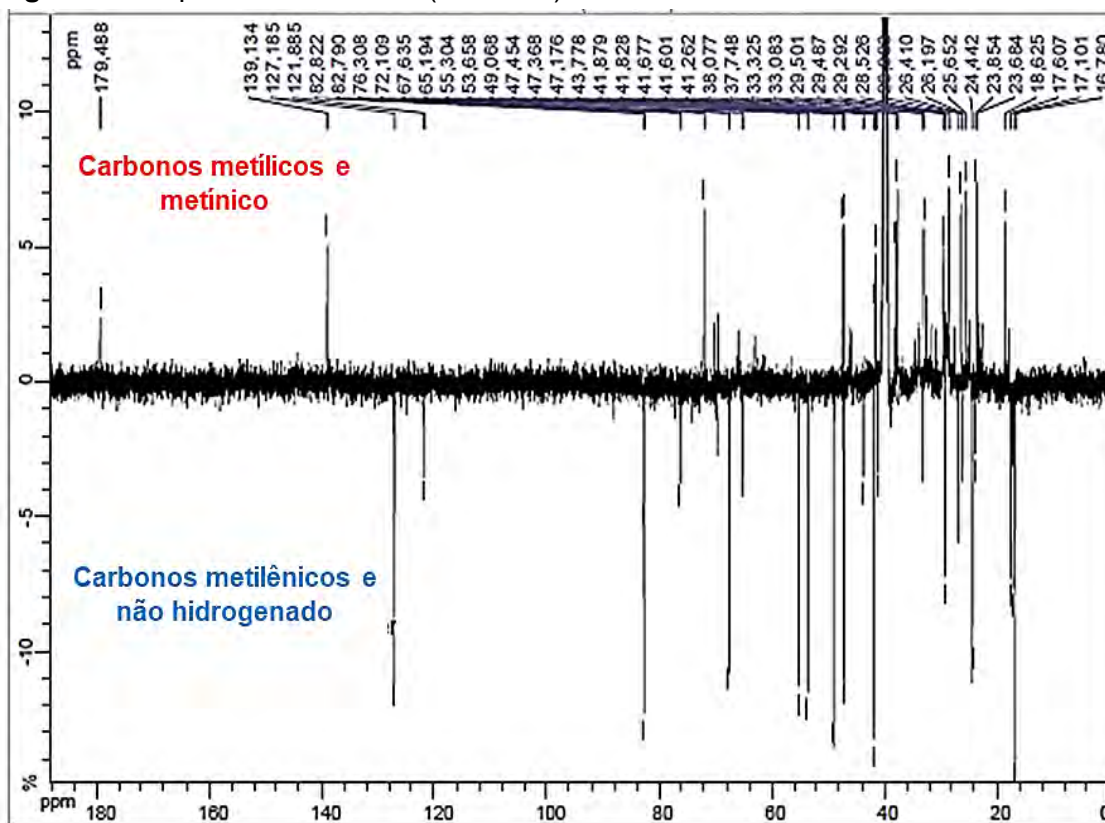


Figura 66. Mapa de correlação heteronuclear HSQC em DMSO de G11.

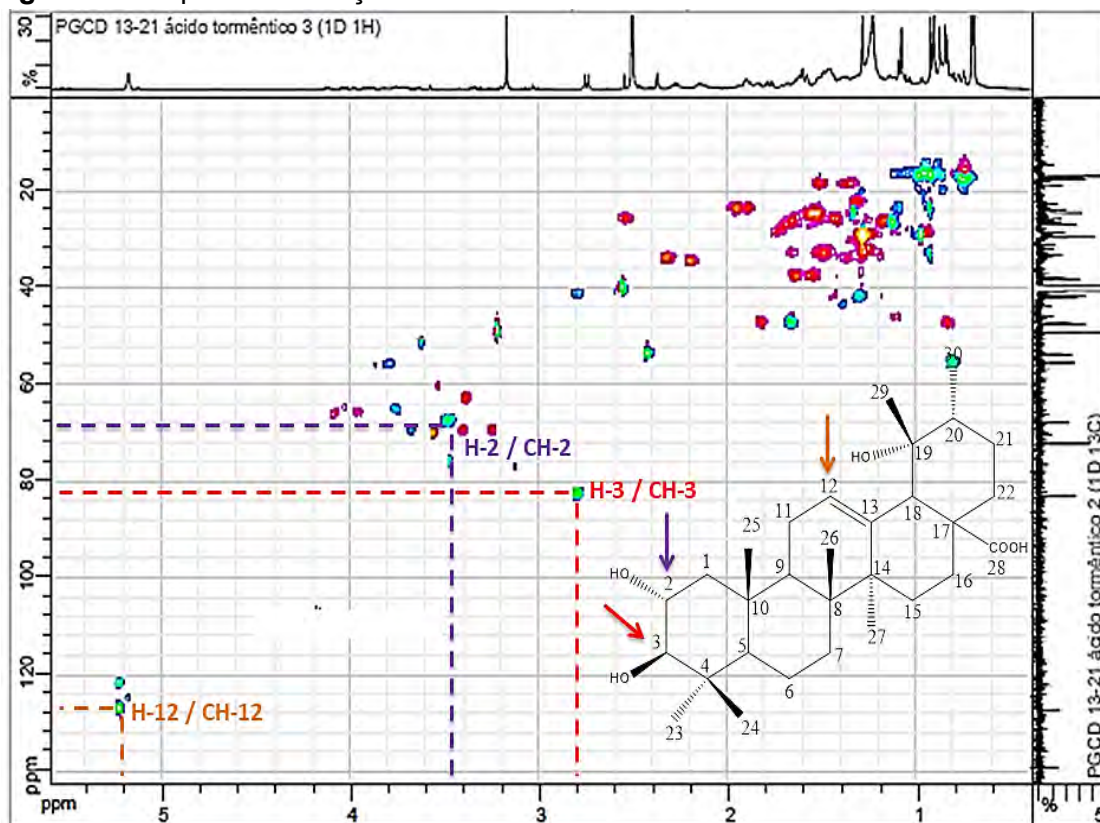
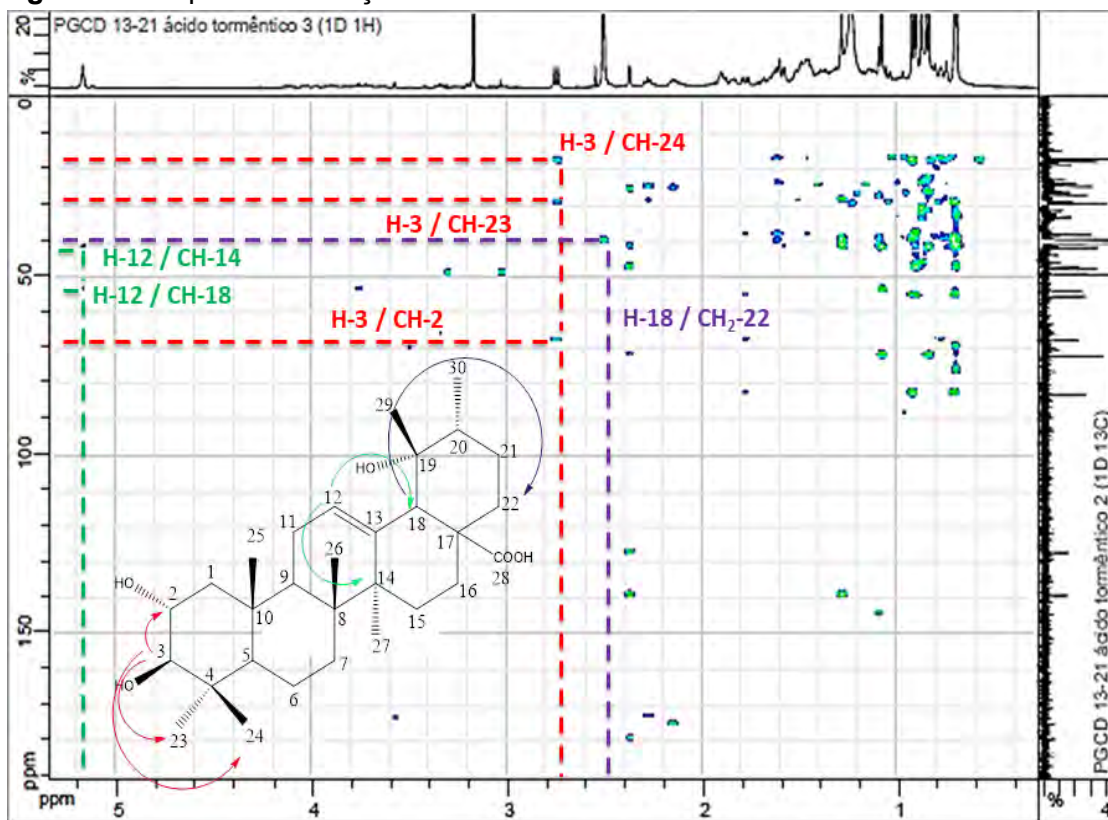


Figura 67. Mapa de correlação heteronuclear HMBC em DMSO de **G11**.

6.1.2 Folhas

6.1.2.1 Análise cromatográfica por CLUE-DAD-EM

O extrato metanólico da *P. guianensis* foi analisado por CLUE-DAD-EM a fim de se obter o perfil químico presente na espécie. A análise dos espectros de UV e EM/EM comparados com dados da literatura possibilitou a identificação de 10 substâncias (**Figura 68**). O sistema de eluição cromatográfica possibilitou a separação de 10 substâncias, incluindo os derivados da apigenina e da luteolina, que são comuns na família Urticaceae. Essas substâncias foram identificadas pela comparação entre os perfis de fragmentação na literatura e em bancos de dados como o MassBank (<http://www.massbank.jp>), sempre levando em consideração a massa molecular teórica. A **Tabela 23**, (p. 114) sumariza todo o processo de identificação do perfil químico do extrato metanólico.

Figura 68. Cromatograma CLUE-UV do extrato metanólico da *P. guianensis* em 345 nm.

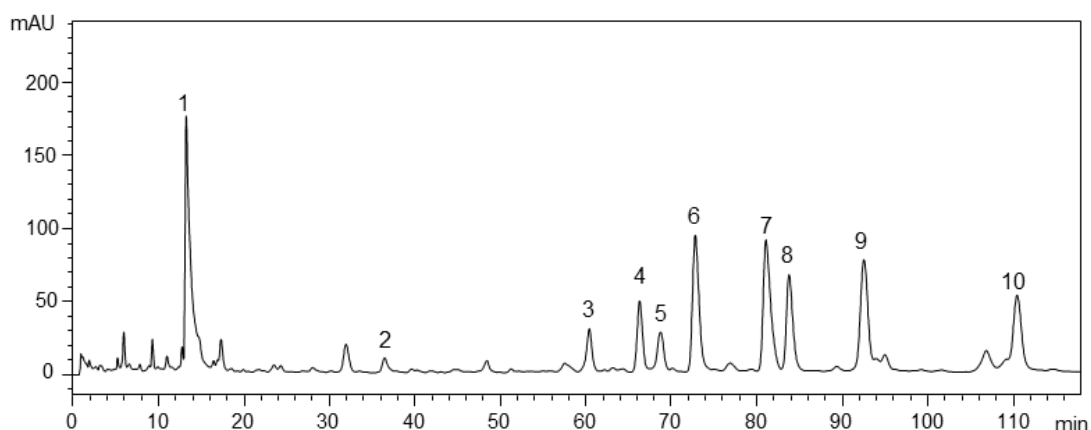


Tabela 23. Aril propanoides e flavonoides glicosilados identificados no extrato metanólico de *P. guianensis* utilizando CLUE-DAD-ESI-Q-TOF-EM.

| Pico | TR (min) | $\lambda_{m\acute{a}x}$ (nm) | Massa teórica (m/z) | [M-H] ⁻ | Erro (ppm) | Fórmula Molecular | EM/EM (%) abundância | Composto | Referência |
|------|----------|------------------------------|---------------------|--------------------|------------|---|--|---|--|
| 1 | 13,2 | 215, 324 | 353.0878 | 353.0895 | 4.8 | C ₁₆ H ₁₈ O ₉ | 191(100.0) | Ácido 5-O-cafeoilquínico (ácido clorogênico) | MOCAN et al., 2016 |
| 2 | 36,4 | 288, 321 | 367.1034 | 367.1065 | 8.4 | C ₁₇ H ₂₀ O ₉ | 191 (100.0), 173 (9.5) | Ácido 3-O-feruloilquínico | |
| 3 | 59,5 | 271, 332 | 593.1511 | 593.1552 | 6.9 | C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅ | 503(5.7), 473(23.8), 383(3.3), 353(9.0) | Apigenina 6,8-di-C-glucosídeo (vicenina-2) | FERRERES et al., 2003 |
| 4 | 65,4 | 270, 335 | 593.1511 | 593.1558 | 7.9 | C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅ | 431(10.1), 311(4.3) | Apigenina 6-C-glucosil-7-O-glucosídeo (saponarina) | ZHANG et al., 2011 |
| 5 | 68,2 | 268, 345 | 447.0932 | 447.0964 | 7.1 | C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁ | 357(61.6), 327(100.0) | Luteolina 8-C-glucosídeo (orientina) | WARIDEL et al., 2001 ; TAMMALLI et al., 2015 |
| 6 | 72,6 | 269, 347 | 447.0932 | 447.0951 | 4.2 | C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁ | 429(13.2), 357(100.0), 327(88.8) | Luteolina 6-C-glucosídeo (isorientina) | |
| 7 | 80,8 | 271, 335 | 563.1406 | 563.1433 | 4.7 | C ₂₆ H ₂₈ O ₁₄ | 503(5.8), 473(12.0), 443(10.0), 383(4.8), 353(6.7) | Apigenina 6-C-arabinosídeo-8-C-glucosídeo (isoschaftosídeo) | FERRERES et al., 2003; IBRAHIM et al., 2015; QIAO et al., 2016 |
| 8 | 83,4 | 271, 334 | 563.1406 | 563.1410 | 0.7 | C ₂₆ H ₂₈ O ₁₄ | 473(9.3), 443(14.6), 383(1.9), 353(2.5) | Apigenina 6-C-glucosídeo-8-C-arabinosídeo (schaftosídeo) | |
| 9 | 91,9 | 269, 336 | 431.0983 | 431.1017 | 7.8 | C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀ | 353(4.4), 341(50.4), 311(100.0) | Apigenina 6-C-glucosídeo (isovitexina) | IBRAHIM et al., 2015 |
| 10 | 110,1 | 270, 346 | 461.1089 | 461.1117 | 6.0 | C ₂₂ H ₂₂ O ₁₁ | 371(35.4), 341(100) | Chrisoeriol-8-C-glucosídeo (scoparina) | GATTUSO, et al., 2006 |

6.1.2.1.1 Aril propanoides

No cromatograma (**Figura 68, p. 113**) foram identificados dois sinais com tempo de retenção de 13,2 min. e 36,4 min.. Essas substâncias mostram um perfil no UV característico de aril propanoides (215 nm e 324 nm; 288 nm e 321 nm). A análise realizada pelo massas (**Tabela 23, p. 116**) mostra que o pico 1, m/z 353 ($[MH]^-$), refere-se ao ácido 5-O-cafeoilquínico, também conhecido como ácido clorogênico (**Figura 69**). Essa substância foi caracterizada por um único fragmento m/z 191, ácido quínico, resultante da perda do grupo cafeoil ($[MH-162]^-$) característico de aril propanoide esterificado com o ácido quínico. O pico 2, m/z 367 ($[M-H]^-$), foi identificado como ácido 3-O-feruloilquínico (**Figura 70**) devido ao fragmento do íon m/z 191 relacionado com a perda de 176 Da (feruloil desidratado).

Figura 69. Espectro de massas de alta resolução ESI-EM do pico 1 referente ao ácido clorogênico (m/z 353) e sua respectiva estrutura química.

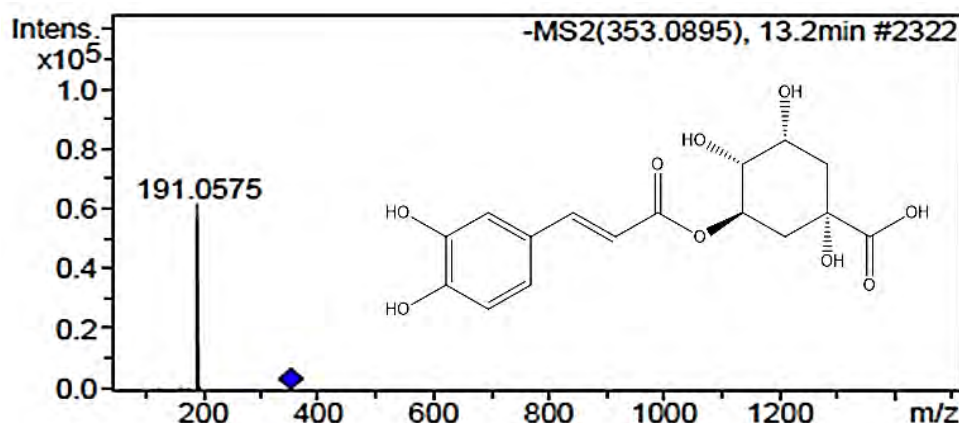
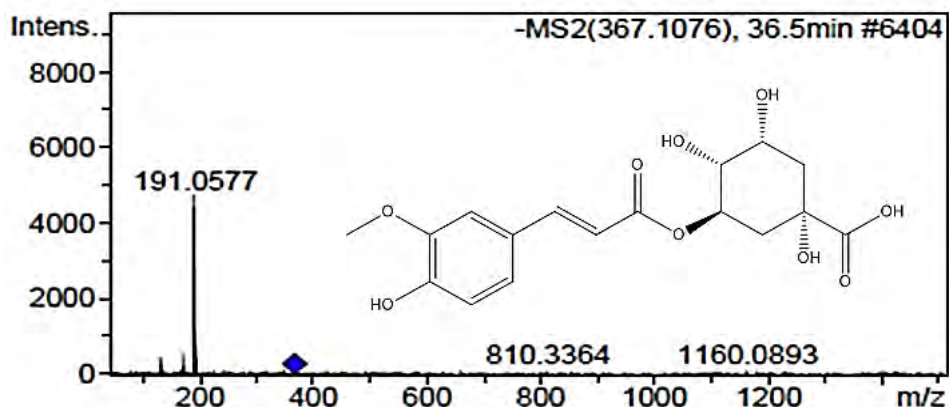


Figura 70. Espectro de massas de alta resolução ESI-EM do pico 2 referente ao ácido 3-O-feruloilquínico (m/z 367) e sua respectiva estrutura química.

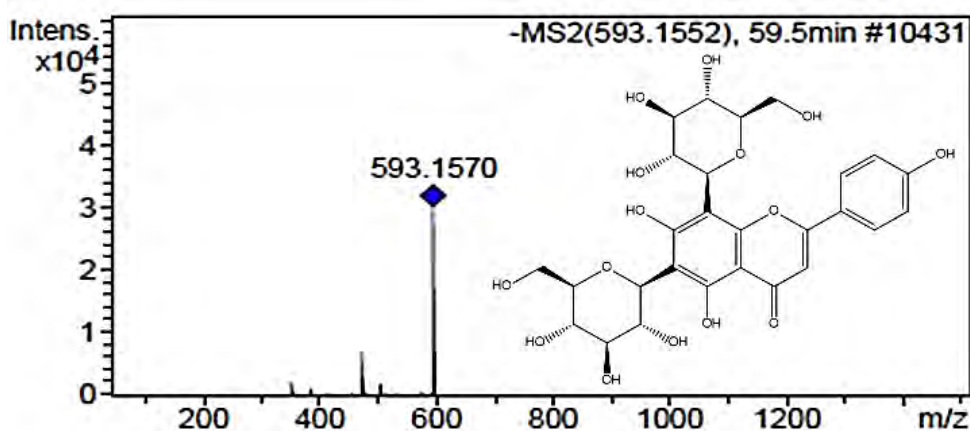


6.1.2.1.2 Flavonoides

Essa classe de produto natural tem uma ocorrência expressiva no extrato metanólico de *P. guianensis*, sendo identificadas oito substâncias. A eluição cromatográfica hifenada pela espectrometria de massas mostra que essas substâncias são flavonas C-glicosiladas cujas agliconas são a luteolina e a apigenina. A diversidade evidenciada é referente ao número de glicosilações sendo observado mono e diglicosídeos.

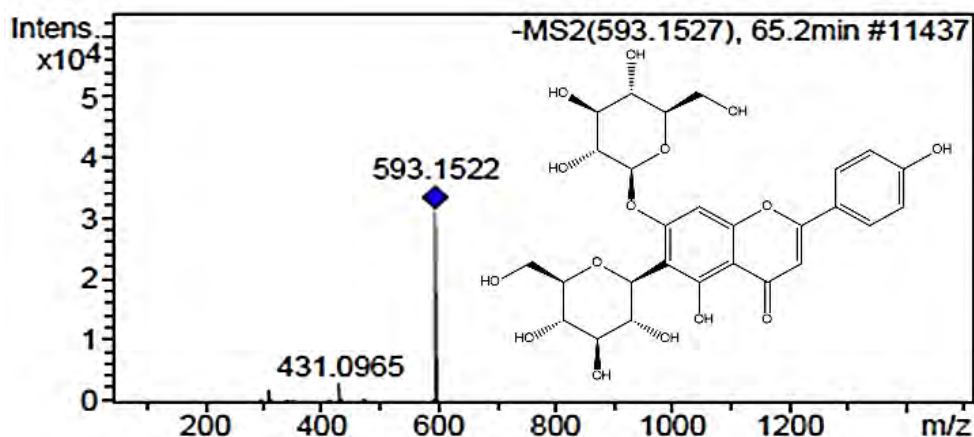
A análise realizada do pico 3 (59,6 min.) apresentou o íon molecular m/z 593 (**Figura 71**). A fragmentação desse íon resultou nos fragmentos de massas em m/z 503 ($[MH-90]^-$), m/z 473 ($[MH-120]^-$), m/z 383 ($[MH-210]^-$), m/z 353 ($[MH-239]^-$) indicando a perda de um resíduo de glicose que foi gerado a partir do fragmento intraglicosídico entre a glicose e o átomo de carbono da flavona. Esses fragmentos são condizentes com a estrutura vicenina 2, uma di-C-glicosilflavona com apigenina como aglicona.

Figura 71. Espectro de massas de alta resolução ESI-EM do pico 3 referente a apigenina 6,8-di-C-glicosídeo (m/z 593) e sua respectiva estrutura química.



O pico 4 (65,4 min.) também mostrou íon molecular m/z 593 ($[MH]^-$) (**Figura 72, p. 117**), só que a fragmentação foi diferente em relação ao seu isômero constitucional no pico 3. A ausência de alguns fragmentos, somado a presença dos íons m/z 431 ($[MH-162]^-$) e m/z 311 ($[MH-120 -162]^-$) foram assertivos para a proposta da apigenina de 6-C-glicosil-7-O-glucosídeo (saponarina).

Figura 72. Espectro de massas de alta resolução ESI-EM do pico 4 referente a apigenina 6-C-glicosil-7-O-glucosídeo (m/z 593) e sua respectiva estrutura química.



Os picos 5 (68,2 min.) e 6 (72,6 min.) mostraram o íon molecular m/z 447 ($[MH]^+$) com padrões de fragmentação m/z 357 ($[MH-90]^+$) e m/z 327 ($[MH-120]^+$), característicos da perda dos resíduos de glicose pela clivagem intraglicosídica entre a glicose e o átomo de carbono da flavona (**Figura 73** e **Figura 74**, p. 118). Os fragmentogramas desses picos são característicos para as flavonas luteolina 8-C-glucosídeo (orientina) e luteolina 6-C-glucosídeo (isorientina). Esses fragmentogramas podem ser diferenciados através da perda sucessiva de uma molécula de água gerando o fragmento m/z 429, que é característico da C-glicosilação na posição 6, além da abundância do sinal em m/z 327, que na orientina (8-C-glucosídeo) é maior do que o m/z 357, enquanto que na isorientina esse sinal é menos abundante.

Figura 73. Espectro de massas de alta resolução ESI-EM do pico 5 referente a luteolina 8-C-glucosídeo (m/z 447) e sua respectiva estrutura química.

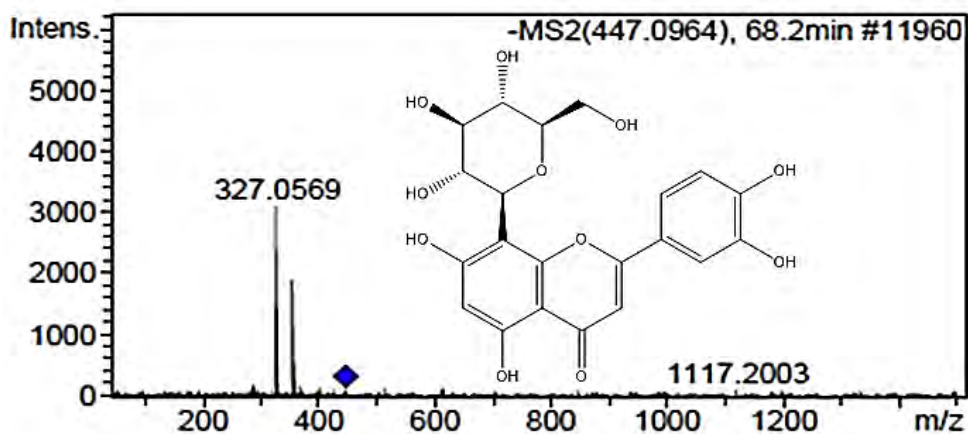
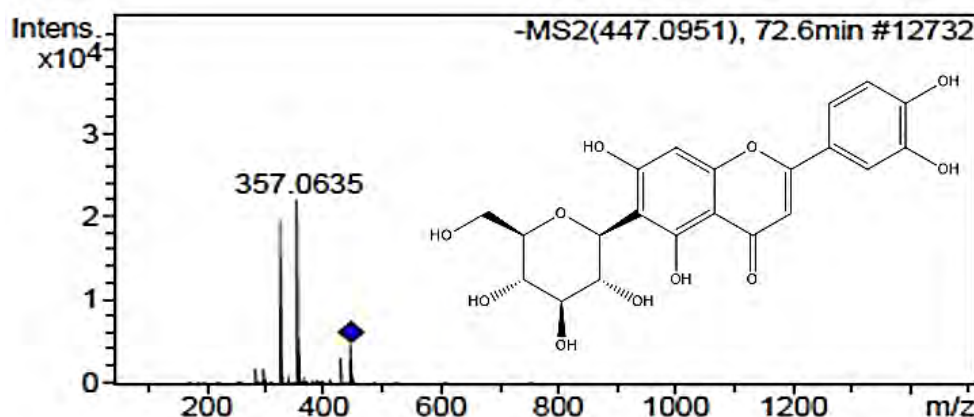


Figura 74. Espectro de massas de alta resolução ESI-EM do pico 6 referente a luteonina 6-C-glucosídeo (m/z 447) e sua respectiva estrutura química.



Os picos 7 (80,8 min.) e 8 (83,4 min.) mostraram o mesmo íon molecular m/z 563 ($[M-H]^-$) (**Figura 75 e Figura 76, p. 119**), além dos fragmentos m/z 473 ($[M-H-90]^-$) e m/z 443 ($[M-H-120]^-$) característico de perda de resíduos de glicose. Os fragmentos de massa em m/z 353 ($[M-H-120-90]^-$) e m/z 383 ($[M-H-120-60]^-$) são indicativos da perda de um resíduo de pentose e suportam a proposta para os isômeros: apigenina 6-C-arabinosídeo-8-C-glucosídeo (isochaftosídeo) e apigenina 6-C-glucosídeo-8-C-arabinosídeo (schaftosídeo). A diferença entre os isômeros isochaftosídeo e schaftosídeo foi observada nos fragmentos da unidade intraglicosídica, m/z 473 e m/z 443. A abundância relativa desses sinais são diferentes para cada isômero, sendo m/z 473 mais intenso no schaftosídeo, enquanto o m/z 443 é mais abundante para isochaftosídeo. Outra diferença entre estes isômeros foi a presença do íon m/z 503 ($[M-H-60]^-$) característico de derivados de pentose, sendo encontrado apenas para o isochaftosídeo.

Figura 75. Espectro de massas de alta resolução ESI-EM do pico 7 referente a apigenina 6-C-arabinosídeo-8-C-glucosídeo (m/z 563) e sua respectiva estrutura química.

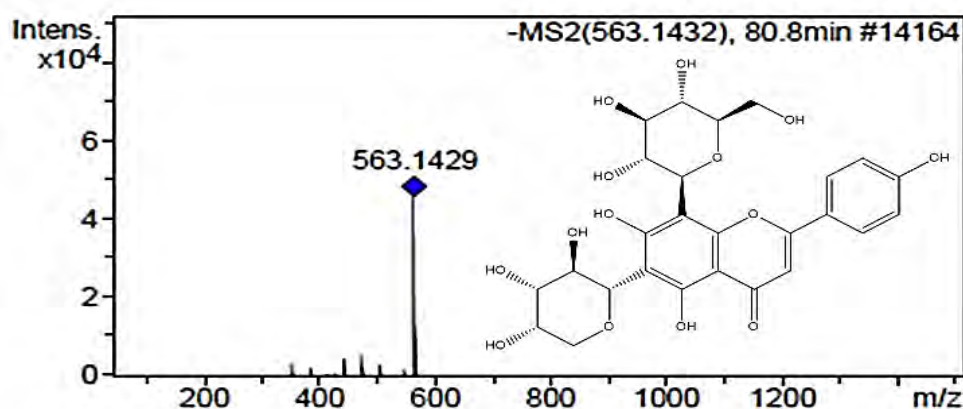
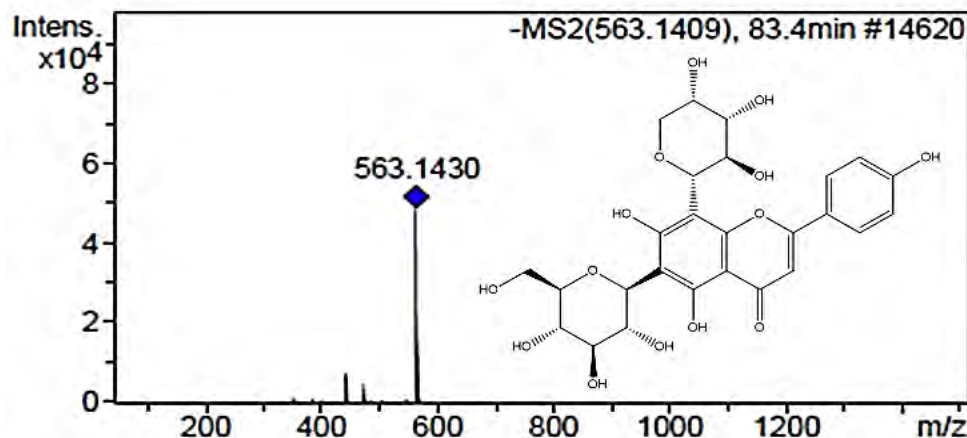
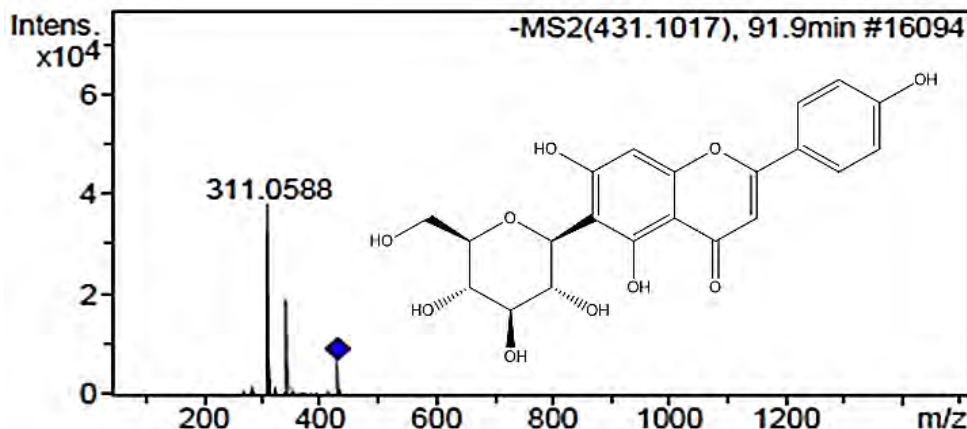


Figura 76. Espectro de massas de alta resolução ESI-EM do pico 8 referente a apigenina 6-C-glucosídeo-8-C-arabinosídeo (m/z 563) e sua respectiva estrutura química.



O pico 9, (91,9 min.), íon molecular m/z 431($[MH]^-$) (**Figura 77**), mostrou fragmentos referente às quebras intraglicosídicas em m/z 311 ($[MH-90]^-$), m/z 341 ($[MH-120]^-$) além do íon em m/z 353 esses dados suportam a atribuição desse pico como sendo a apigenina 6-C-glucosídeo, também conhecida como isovitexina.

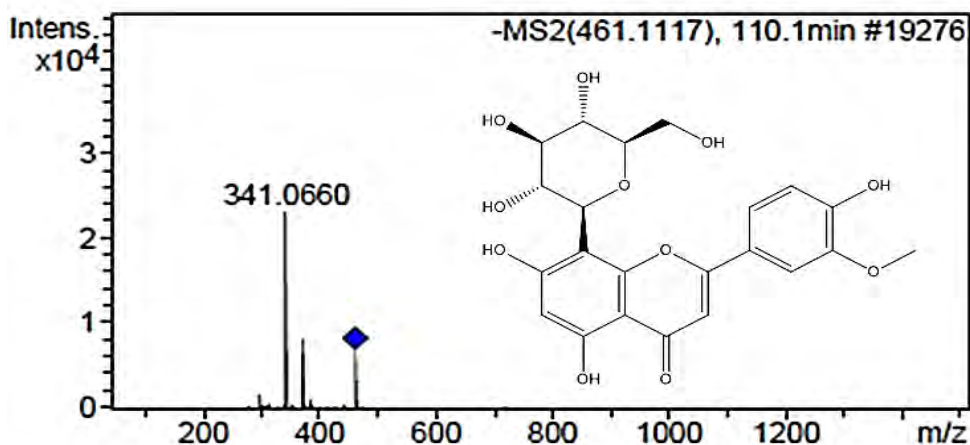
Figura 77. Espectro de massas de alta resolução ESI-EM do pico 9 referente a apigenina 6-C-glucosídeo (m/z 431) e sua respectiva estrutura química.



O pico 10 (110,1 min.), m/z 461($[M-H]^-$) (**Figura 78, p. 120**) que corresponde ao chrisoeriol 8-C-glucosídeo, também conhecido como scoparina é diferente da orientina por conter um grupamento metóxi na posição em 3'. O padrão de fragmentação intraglicosídica e abundância dos sinais com m/z 371 ($[M-H-90]^-$) e 341 ($[M-H-120]^-$) é semelhante à orientina, sendo diferente em 14

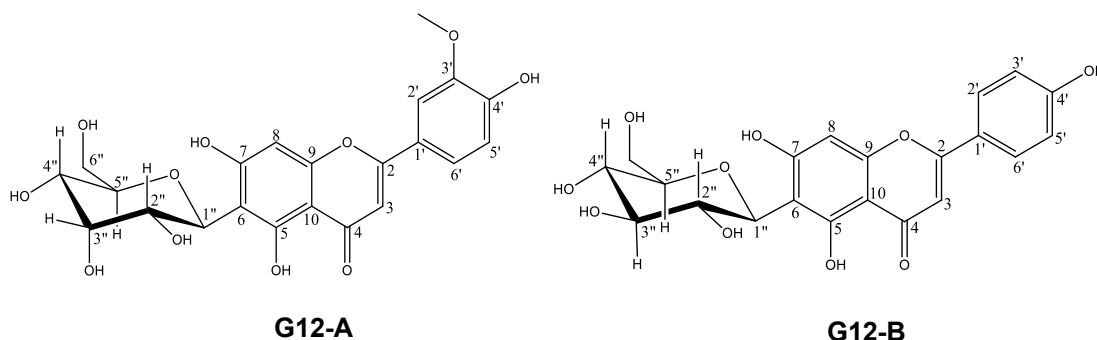
unidades para ambos fragmentos, confirmando a metilação da hidroxila fenólica.

Figura 78. Espectro de massas de alta resolução ESI-EM do pico 10 referente a chrisoeriol 8-C-glucosídeo (m/z 461) e sua respectiva estrutura química.



6.1.2.2 Fração em acetato de etila das folhas PGFA2*

6.1.2.2.1 Determinação estrutural de **G12**



A amostra codificada como **G12**, obtida da fração em acetato de etila das folhas da *P. guianensis*, apresentou-se como um sólido amarelo e, quando submetida à eluição em CCDA, utilizando a fase inferior do sistema de solvente clorofórmio: n-butanol: metanol: água (7:3:3:4) como eluente, foi possível verificar uma única mancha com $R_f = 0,41$, quando revelada com NP-PEG e com orcinol. A análise preliminar nos espectros de RMN ^1H , e ^{13}C , mostrou ser uma mistura contendo dois flavonoides glicosilados.

O espectro de RMN ^1H da **G12** (Figura 80, p. 126) apresentou um acúmulo de sinais na região entre δ_{H} 6,5-7,9 que aponta para a proposta de uma estrutura aromática de esqueleto flavonoídico além dos sinais acima, no espectro de RMN ^{13}C também ocorreu um acúmulo de sinais na região entre δ_{C} 94,1-163,9, corroborando com a observação no espectro de hidrogênio. Essa

observação, associada à análise conjunta entre os mapas de correlação (HMBC e HSQC), confirmam a presença de duas flavonas.

A presença de um sinal de átomo de hidrogênio anomérico em δ_H 4,60, apresentando um duplete de constante de acoplamento (J) igual a 9,7 Hz, que indica um acoplamento axial-axial revelando uma configuração β para o açúcar (SILVERSTEIN et al., 1994) e, demais sinais na região glicosídica entre δ_H 3,1-4,0 (**Figura 79, p. 126**).

Analisando o espectro de RMN ^{13}C (**Figura 81, p. 127**) foi possível confirmar a ocorrência da unidade glicosídica através de seis sinais de átomos de carbono, sendo um metilênico δ_C 61,94 (CH₂-6'') e cinco metínicos: δ_C 73,51 (CH-1''); δ_C 71,07 (CH-2''); δ_C 79,41 (CH-3''); δ_C 70,66 (CH-4'') e δ_C 82,03 (CH-5'').

De acordo, com os sinais acima citados, referentes à porção glicosídica, o espectro de RMN de ^{13}C (**Figura 81, p. 127**) e o mapa de correlação bidimensional (HSQC e HMBC) revelaram 15 sinais com deslocamentos característicos para flavona da estrutura **G12-A**: dez sinais atribuídos a átomos de carbono não hidrogenados em δ_C 121,89 (C-1'); δ_C 148,50 (C-3'); δ_C 149,10 (C-4'); δ_C 163,90 (C-2); δ_C 182,46 (C-4); δ_C 160,85 (C-5); δ_C 109,25 (C-6); δ_C 163,81 (C-7); δ_C 156,71 (C-9); δ_C 103,63 (C-10); e cinco sinais atribuídos a átomos de carbono metínicos em δ_C 103,87 (CH-3); δ_C 94,10 (CH-8); δ_C 110,61 (CH-2'), δ_C 116,24 (CH-5') e δ_C 120,84 (CH-6'). E para estrutura **G12-B**: dez sinais atribuídos a átomos de carbono não hidrogenados em δ_C 121,55 (C-1'); δ_C 161,12 (C-4'); δ_C 163,97 (C-2); δ_C 182,41 (C-4); δ_C 161,65 (C-5); δ_C 110,61 (C-6); δ_C 163,81 (C-7); δ_C 156,69 (C-9); δ_C 103,84 (C-10); e cinco sinais atribuídos a átomos de carbono metínicos em δ_C 103,24 (CH-3); δ_C 94,10 (CH-8); δ_C 128,93 (CH-2'/CH-6') e δ_C 116,45 (CH-3'/CH-5').

A ausência de sinais no mapa de correlação HSQC (**Figura 82, p. 127**), nas regiões referentes aos átomos de carbono C-1', C-3', C-4', C-2, C-4, C-5, C-6, C-7, C-9 e C-10, associada às correlações a longa distância apresentadas no mapa de correlação HMBC confirmam a proposta de uma estrutura com dez átomos de carbono não hidrogenados.

O espectro de RMN de 1H (**Figura 80, p. 126**) mostrou para o anel A, os deslocamentos e multiplicidades característicos de flavona 5-6-7-trissubstituída

(δ_{H} 6,78; H-3; s, δ_{H} 6,53; H-8; d (**G12-A**) e δ_{H} 6,53; H-8; d (**G12-B**)), que são descritos abaixo:

- Substituinte oxílicos: o valor do deslocamento químico apresentado por C-5 (δ_{C} 160,85 e δ_{C} 161,65), assim como C-7 (δ_{C} 163,81) e C-9 (δ_{C} 156,71 e δ_{C} 156,69), corroboram para a presença de um grupo de átomos de oxigênio ligados a esses átomos de carbono (**Figura 81, p. 127**).
- Substituinte em C-6: as correlações J^2 do hidrogênio H-1" (δ_{H} 4,60) com o átomo de carbono C-6 (109,35 e 110,61) e J^3 com o átomo de carbono C-7 (δ_{C} 163,81), associado ao baixo valor de deslocamento atribuído a C-6 confirma a proposta de uma C-glicosilação em C-6 (**Figura 83, p. 128**).
- Substituinte em C-7: o valor de deslocamento químico apresentado por C-7 (δ_{C} 163,81), assim como C-5 (δ_{C} 160,85 e δ_{C} 161,65) e C-9 (δ_{C} 156,71 e δ_{C} 156,69), corroboram para a presença de um grupo hidroxila em C-7, visto que este substituinte provoca um efeito de desproteção ao átomo de carbono ao qual está ligado. Em contrapartida, átomos de carbono localizados em posição *orto* à função oxigenada sofrem proteção mesomérica que desloca o sinal para região mais protegida (SILVA et al., 2009): δ_{C} 109,25 e δ_{C} 110,61 (C-6), δ_{C} 94,10 (CH-8) e δ_{C} 103,63 e δ_{C} 103,84 (C-10).

A ausência de valores simétricos no espectro de RMN de ^{13}C sugeriu a presença de substituintes no anel B. A análise do espectro de RMN de ^1H (**Figura 79, p. 126**) revelou, através dos valores da constante de acoplamento associado à multiplicidade dos sinais atribuídos a CH-2'/CH-6' (d, δ_{H} 7,57; $J = 7,6\text{Hz}$) e CH-5' (d, δ_{H} 6,93; $J = 8,9\text{Hz}$), um anel B dissustituído para estrutura **G12-A**. Já para estrutura **G12-B**, na análise do espectro de RMN ^1H (**Figura 80, p. 126**) verificou-se os sinais atribuídos a CH-2'/CH-6' (d, δ_{H} 7,93; $J = 9,0\text{Hz}$) e CH-5'/CH-3' (d, δ_{H} 6,93; $J = 8,9\text{Hz}$), um anel B monossustituído.

No espectro de RMN de ^{13}C (**Figura 81, p. 127**) os sinais mais desprotegidos (δ_{C} 182,46 e δ_{C} 182,41) foram atribuídos ao grupo carbonila O=C-4 da cada estrutura (**G12-A** e **G12-B**), função característica do anel C de flavonoides.

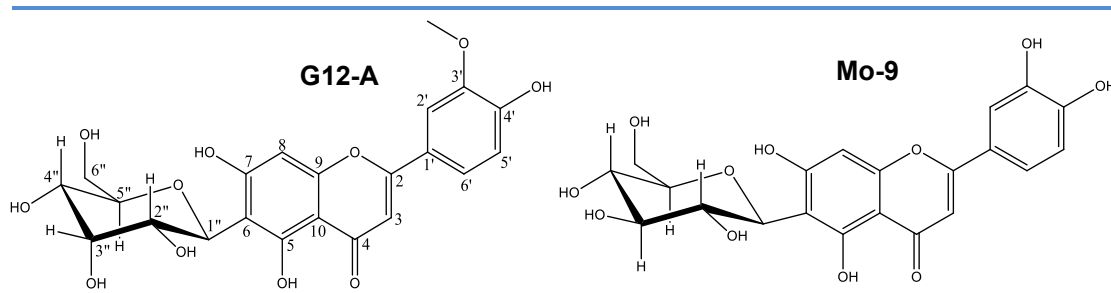
A presença da insaturação α , β carbonila e a ausência do substituinte no átomo de carbono C-3 são confirmadas pelos valores atribuídos a C-2 (δ_{C} 163,90 e δ_{C} 163,97) e CH-3 (δ_{C} 103,87 e δ_{C} 103,24), típicos do anel C de flavona (**Figura 81, p. 127**). Com a análise conjunta do espectro de RMN ^{13}C e

mapa de correlação HSQC confirmam a proposta de C-2 não hidrogenado e CH-3 metínico (**Figura 82, p. 127**).

A análise conjunta dos espectros de HSQC (**Figura 82, p. 127**) e HMBC (**Figura 83, p. 128**) confirmaram as atribuições dos átomos de hidrogênio e carbono acima descritos.

Outras correlações encontram-se sumarizadas na **Tabela 24** e **Tabela 25, p. 124** e **125**, cujos dados espectrais de RMN foram comparados com dados da literatura (LEONG et al., 2010; MOREIRA; GUIMARÃES; KAPLAN, 2000) e permitiu atribuir a substância **G12-A** a estrutura da isoscoparina (**Mo-9**) (LEONG et al., 2010) e a substância **G12-B** a estrutura da isovitexina (**Mo-10**) (MOREIRA; GUIMARÃES; KAPLAN, 2000).

Tabela 24. Dados de RMN ^1H (500 MHz) e RMN ^{13}C (125 MHz) de **G12-A** em DMSO, correlações observadas no espectro de HSQC e HMBC e comparação com os valores de referência do modelo **Mo-9**, em DMSO. Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm e as constantes de acoplamento (J), em Hz.



| Nº C | HSQC | | HMBC | | Mo-9 (LEONG et al., 2010) |
|-----------------------|------------|----------------|----------------|---------------------------------|------------------------------|
| | δ_c | δ_H | J^z | J^y | δ_c |
| C | | | | | |
| 2 | 163,90 | - | | | 163,7 |
| 4 | 182,46 | - | | | 182,0 |
| 5 | 161,11 | - | | | 160,7 |
| 6 | 109,35 | - | | | 108,9 |
| 7 | 163,81 | - | | | 163,3 |
| 9 | 156,71 | - | | | 156,3 |
| 10 | 103,63 | - | | | 103,5 |
| 1' | 121,89 | - | | | 121,5 |
| 3' | 148,50 | - | | | 145,8 |
| 4' | 149,10 | - | | | 149,8 |
| CH | | | | | |
| 3 | 103,87 | 6,78 s | 163,90; 182,46 | 103,63; 121,89 | 102,7 |
| 8 | 94,10 | 6,53 s | 163,81; 156,71 | 109,25; 103,63 | 93,6 |
| 2' | 110,61 | 7,57 d $J=7,6$ | 148,50 | 120,84; 163,90 | 113,3 |
| 5' | 116,24 | 6,93 d $J=8,9$ | 120,84 | 148,50; 121,89 | 116,1 |
| 6' | 120,84 | 7,57 d $J=7,6$ | | 110,61; 163,90 | 119,1 |
| 1'' | 73,51 | 4,60 d $J=9,7$ | 109,35; 71,07 | 79,41; 82,03; 161,11; 163,81 | 73,1 |
| 2'' | 71,07 | 3,14 m | | | 70,7 |
| 3'' | 79,41 | 3,22 m | | | 79,0 |
| 4'' | 70,66 | 4,05 t $J=8,8$ | | | 70,2 |
| 5'' | 82,03 | 3,16 m | | | 81,6 |
| CH₂ | | | | | |
| 6'' | 61,94 | 3,68 e 3,41 | | | 61,6 |
| CH₃ | | | | | |
| OCH ₃ | 56,43 | 3,90 s | | 148,50 | - |

Tabela 25. Dados de RMN ^1H (500 MHz) e RMN ^{13}C (125 MHz) de **G12-B** em DMSO, correlações observadas no espectro de HSQC e HMBC e comparação com os valores de referência do modelo **Mo-10**, em DMSO. Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm e as constantes de acoplamento (J), em Hz.

| Nº C | HSQC | | HMBC | | Mo-10 (MOREIRA; GUIMARÃES; KAPLAN, 2000) |
|-----------------------|---------------------|---------------------|----------------|---------------------------------|--|
| | δ_{C} | δ_{H} | J^z | J^s | δ_{C} |
| C | | | | | |
| 2 | 163,97 | - | | | 163,9 |
| 4 | 182,41 | - | | | 182,1 |
| 5 | 161,65 | - | | | 160,8 |
| 6 | 109,35 | - | | | 109,0 |
| 7 | 163,81 | - | | | 163,3 |
| 9 | 156,69 | - | | | 156,3 |
| 10 | 103,84 | - | | | 103,5 |
| 1' | 121,55 | - | | | 121,1 |
| 4' | 161,12 | - | | | 161,4 |
| CH | | | | | |
| 3 | 103,24 | 6,78 s | 163,97; 182,41 | 121,55 | 102,9 |
| 8 | 94,10 | 6,53 s | 163,97; 156,69 | 109,35; 103,84 | 93,7 |
| 2' | 128,93 | 7,93 d, $J=9,0$ | | 163,97; 161,65; 128,93 | 128,6 |
| 3' | 116,45 | 6,93 d, $J=8,9$ | | 121,55; 116,45 | 116,0 |
| 5' | 116,45 | 6,93 d, $J=8,9$ | | | 116,0 |
| 6' | 128,93 | 7,93 d, $J=9,0$ | | | 128,6 |
| 1'' | 73,51 | 4,60 d, $J=9,7$ | 109,35; 71,07 | 79,41; 82,03; 161,65; 163,81 | 73,3 |
| 2'' | 71,07 | 3,18 m | | 70,66 | 70,6 |
| 3'' | 79,41 | 3,22 m | | | 78,4 |
| 4'' | 70,66 | 4,05 t, $J=8,8$ | | | 70,5 |
| 5'' | 82,03 | 3,20 m | | | 81,7 |
| CH₂ | | | | | |
| 6'' | 61,94 | 3,68 e 3,41 | | | 61,4 |

Figura 79. Espectro de RMN ^1H (500 MHz) em DMSO de **G12**.

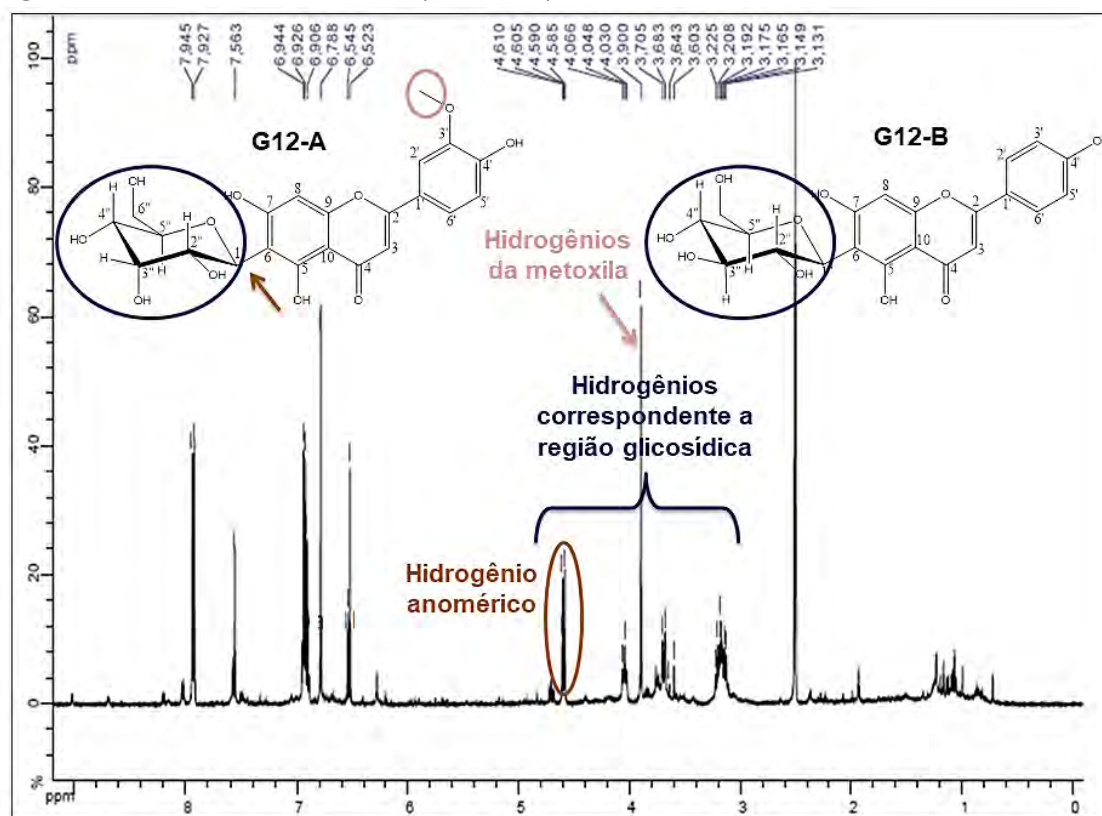


Figura 80. Ampliação da região de δ_{H} 4,5 – 7,9 do espectro de RMN ^1H (500 MHz) em DMSO de **G12**.

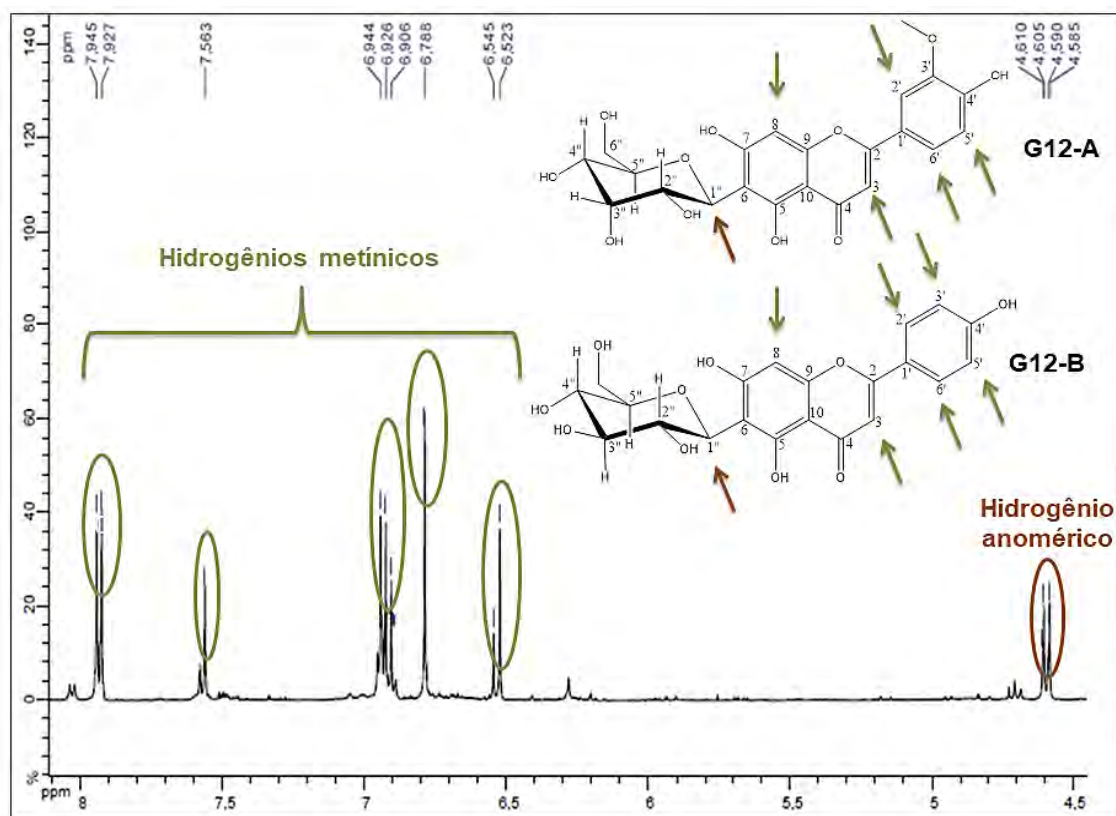


Figura 81. Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz) em DMSO de G12.

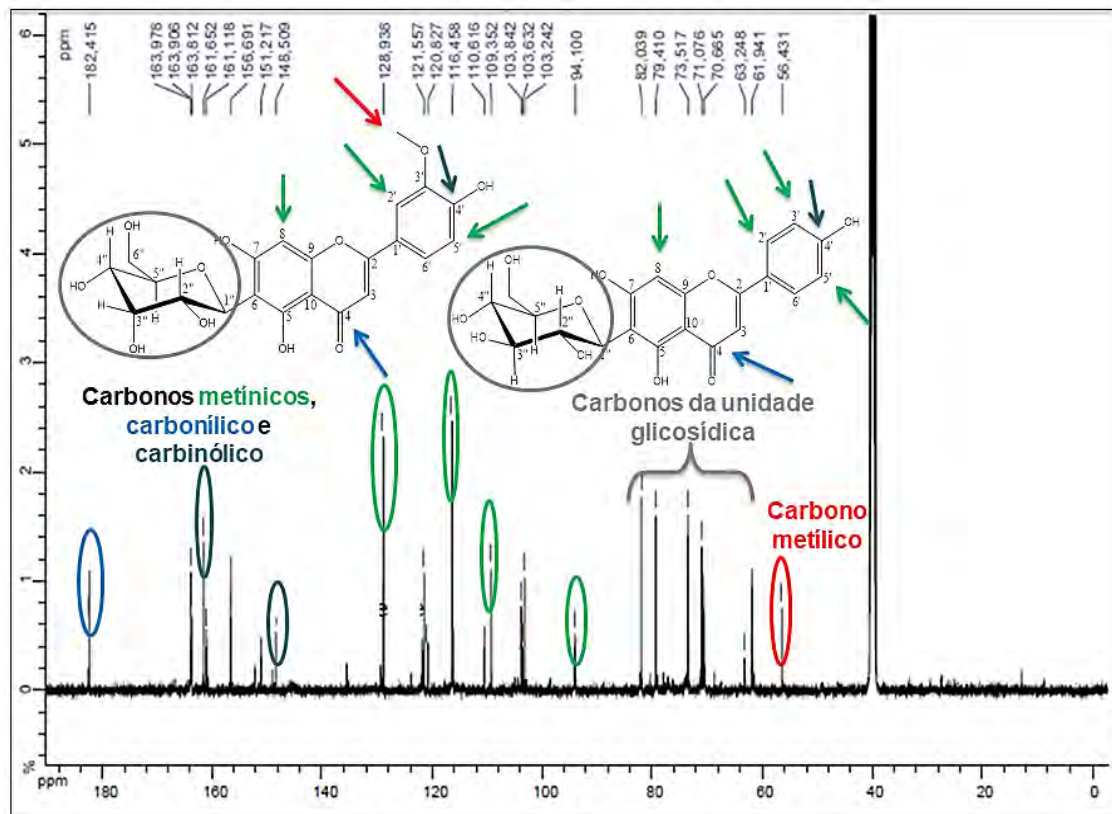


Figura 82. Mapa de correlação heteronuclear HSQC em DMSO de G12.

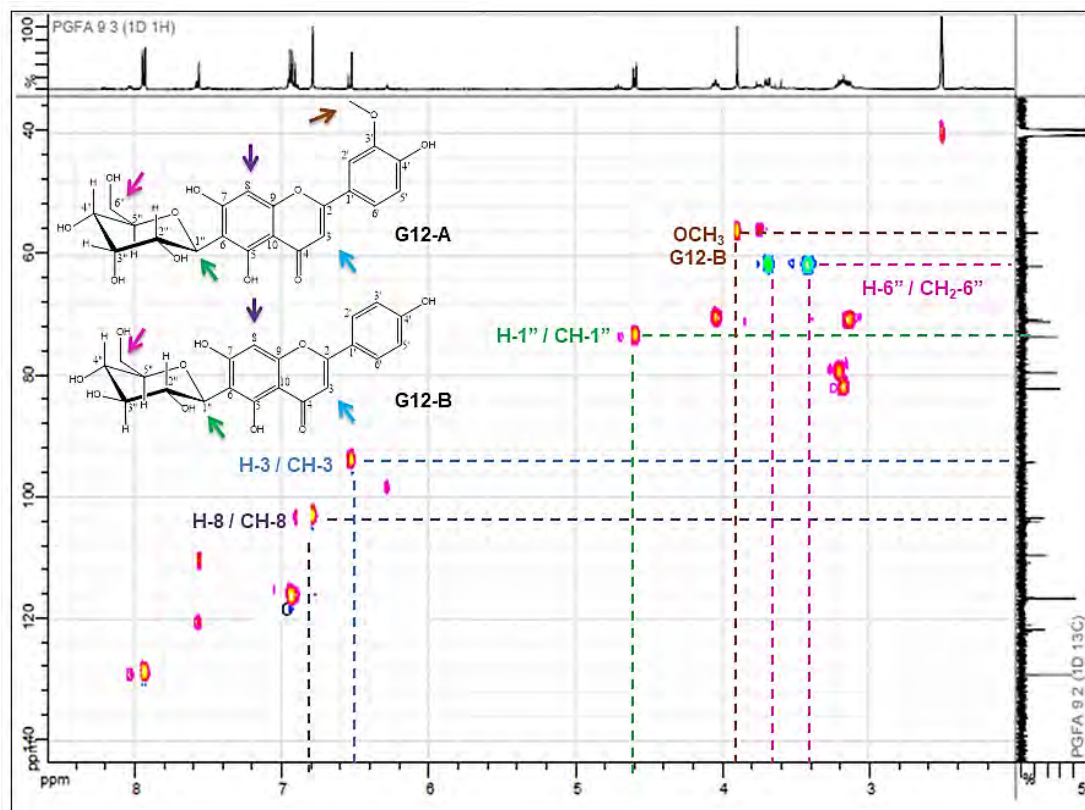
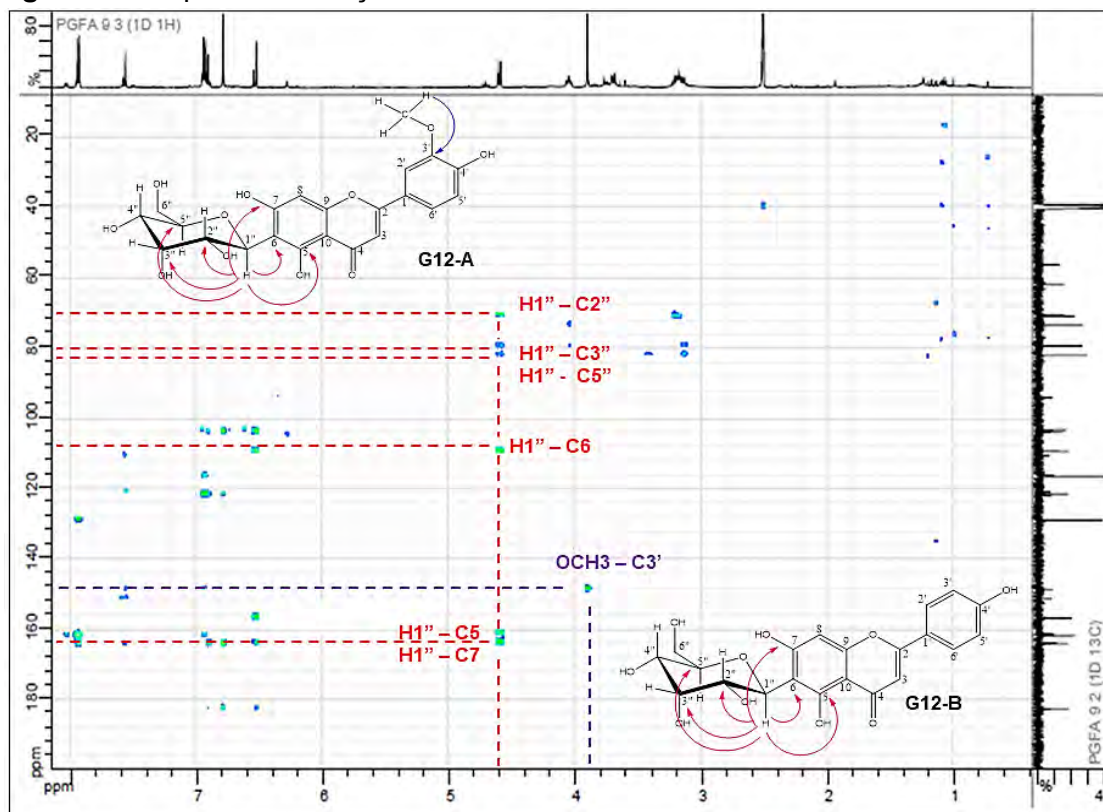
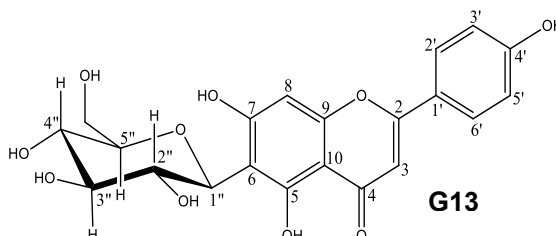


Figura 83. Mapa de correlação heteronuclear HMBC em DMSO de **G12**.



6.1.2.2.2 Determinação estrutural de **G13**



A amostra codificada como **G13**, obtida da fração em acetato de etila das folhas da *P. guianensis*, apresentou-se como um sólido amarelo e, quando submetida à eluição em CCDA, utilizando a fase inferior do sistema de solvente clorofórmio: n-butanol: metanol: água (7:3:3:4) como eluente, foi verificada uma única mancha com $R_f = 0,48$, quando revelada com NP-PEG e orcinol.

A análise preliminar do espectro de RMN ^1H de **G13** (Figura 84, p. 132) mostrou a presença de um acúmulo de sinais na região entre δ_{H} 6,5-7,9 ppm que aponta para a proposta de uma estrutura flavonoídica. Essa observação associada à análise do espectro de RMN ^{13}C e mapas de correlação (HMBC e HSQC), é indicativo para a estrutura de uma flavona com anel A trissubstituído e anel B dissustituído.

A presença de um sinal em δ_H 4,59 é indicativo de átomo de hidrogênio anomérico e a sua multiplicidade somada à constante de acoplamento (J) igual a 10,0 Hz, é referente ao acoplamento axial-axial revelando uma configuração β para o açúcar (SILVERSTEIN et al., 1994). Analisando o espectro de RMN ^{13}C (**Figura 86, p. 133**) foi possível confirmar a ocorrência da unidade glicosídica através de seis sinais de átomos de carbono, sendo um metilênico δ_C 61,94 (CH₂-6'') e cinco metínicos: δ_C 73,52 (C-1''); δ_C 71,07 (C-2''); δ_C 79,41 (C-3''); δ_C 70,66 (C-4'') e δ_C 82,03 (C-5'').

Além dos sinais referentes à porção glicosídica, o espectro de RMN de ^{13}C (**Figura 86, p. 133**) mostrou 15 sinais com deslocamentos característicos para o esqueleto da flavona: nove sinais atribuídos a átomos de carbono não hidrogenados em δ_C 121,55 (C-1'); δ_C 161,66 (C-4'); δ_C 163,94 (C-2); δ_C 182,39 (C-4); δ_C 161,12 (C-5); δ_C 109,36 (C-6); δ_C 163,94 (C-7); δ_C 156,69 (C-9); δ_C 103,80 (C-10); e cinco sinais atribuídos a átomos de carbono metínicos em δ_C 103,22 (CH-3); δ_C 94,11 (CH-8); δ_C 128,93 (CH-2'); δ_C 116,43 (CH-3'), δ_C 116,55 (CH-5') e δ_C 128,93 (CH-6').

A ausência de sinais no mapa de correlação HSQC (**Figura 87, p. 133**), nas regiões referentes aos átomos de carbono C-1', C-4', C-2, C-4, C-5, C-6, C-7, C-9 e C-10, associada às correlações a longa distância apresentadas no mapa de correlação HMBC (**Figura 88, p. 134**) confirmam a proposta de uma estrutura com nove átomos de carbono não hidrogenados.

O espectro de RMN 1H (**Figura 85, p. 132**) apresentou para o anel A, deslocamentos e multiplicidades característicos de flavona 5-6-7-trissubstituída (δ_H 6,78; H-3; s e δ_H 6,51; H-8; s) que são descritos abaixo:

- Substituinte oxílicos: o valor do deslocamento químico apresentado por C-5 (δ_C 161,12), assim como C-7 (δ_C 163,94) e C-9 (δ_C 156,69), corroboram para a presença de um grupo de átomos de oxigênio ligados a esses átomos de carbono (**Figura 86, p. 133**).
- Substituinte em C-6: as correlações J^2 do hidrogênio H-1'' (δ_H 4,59) com o átomo de carbono C-6 (δ_C 109,36) e J^3 com o átomo de carbono C-7 (δ_C 163,94), associado ao baixo valor de deslocamento atribuído a C-6 confirma a proposta de uma C-glicosilação em C-6 (**Figura 87, p. 133**).
- Substituinte em C-7: O valor de deslocamento químico apresentado por C-7 (δ_C 163,84), assim como C-5 (δ_C 161,12) e C-9 (δ_C 156,69), corroboram para a

presença de um grupo hidroxila em C-7, visto que este substituinte provoca um efeito de desproteção ao átomo de carbono ao qual está ligado. Em contrapartida, átomos de carbono localizados em posição *orto* à função oxigenada sofrem proteção mesomérica que desloca o sinal para região mais protegida (SILVA et al., 2009): δ_C 109,36 (C-6), δ_C 94,11 (CH-8) e δ_C 103,80 (C-10).

O anel B de acordo com o espectro de RMN de ^1H (**Figura 85, p. 132**), revelou a presença de sinais característicos de um sistema aromático *para* dissubstituído, sendo representado por dois dupletos correspondentes aos dois pares de átomos de hidrogênio (H-2'/H-6': δ_H 7,93; e H-3'/H-5': δ_H 6,93) acoplados através de interação spin-spin em *orto* ($J = 9,0-8,9$ Hz), constituindo um típico sistema AA'BB'.

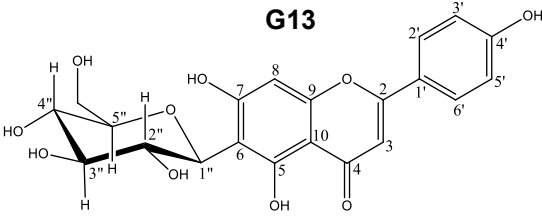
No espectro de RMN de ^{13}C (**Figura 86, p. 133**), o sinal mais desprotegido (δ_C 182,31) foi atribuído ao grupo carbonila O=C-4, função característica do anel C de flavonoides.

A presença da insaturação α , β carbonila e a ausência do substituinte no átomo de carbono C-3 são confirmadas pelos valores atribuídos a C-2 (δ_C 163,94) e CH-3 (δ_C 103,22), típicos do anel C de flavona (**Figura 86, p. 133**). Com a análise conjunta do espectro de RMN ^{13}C e mapa de correlação HSQC confirmam a proposta de C-2 não hidrogenado e CH-3 metínico (**Figura 87, p. 133**).

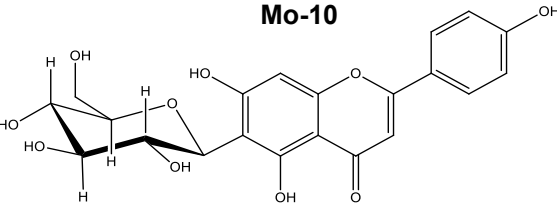
A análise conjunta dos espectros de HSQC (**Figura 87, p. 133**) e HMBC (**Figura 88, p. 134**) confirmaram as atribuições dos átomos de hidrogênio e carbono descritos anteriormente.

Outras correlações encontram-se sumarizadas na **Tabela 26, p. 131** cujos dados espectrais de RMN foram comparados com dados da literatura (MOREIRA; GUIMARÃES; KAPLAN, 2000) e permitiu atribuir para esta substância a estrutura da isovitexina (**Mo-10**).

Tabela 26. Dados de RMN ^1H (500 MHz) e RMN ^{13}C (125 MHz) de **G13** em DMSO, correlações observadas no espectro de HSQC e HMBC e comparação com os valores de referência do modelo **Mo-10**, em DMSO. Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm e as constantes de acoplamento (J), em Hz.



G13



Mo-10

| Nº C | HSQC | | HMBC | | Mo-10 (MOREIRA; GUIMARÃES; KAPLAN, 2000) |
|-----------------------|------------|-----------------|----------------|---|--|
| | δ_c | δ_H | J^2 | J^3 | δ_c |
| C | | | | | |
| 2 | 163,94 | - | | | 163,9 |
| 4 | 182,39 | - | | | 182,1 |
| 5 | 161,12 | - | | | 160,8 |
| 6 | 109,36 | - | | | 109,0 |
| 7 | 163,94 | - | | | 163,3 |
| 9 | 156,69 | - | | | 156,3 |
| 10 | 103,80 | - | | | 103,5 |
| 1' | 121,55 | - | | | 121,1 |
| 4' | 161,66 | - | | | 161,4 |
| CH | | | | | |
| 3 | 103,22 | 6,78 s | 163,94; 182,39 | 121,55 | 102,9 |
| 8 | 94,11 | 6,51 s | 163,94; 156,69 | 109,36; 103,80 | 93,7 |
| 2' | 128,93 | 7,93 d, $J=9,0$ | | 163,94; 161,66; 128,93 | 128,6 |
| 3' | 116,45 | 6,93 d, $J=8,9$ | | 121,55; 116,45 | 116,0 |
| 5' | 116,45 | 6,93 d, $J=8,9$ | | | 116,0 |
| 6' | 128,93 | 7,93 d, $J=9,0$ | | | 128,6 |
| 1'' | 73,52 | 4,59 d $J=10,0$ | 109,36 | 71,07; 79,41; 82,03; 161,12; 163,94 | 73,3 |
| 2'' | 71,07 | 3,18 m | | 70,66 | 70,6 |
| 3'' | 79,41 | 3,22 m | | | 78,4 |
| 4'' | 70,66 | 4,05 t, $J=8,8$ | | | 70,5 |
| 5'' | 82,03 | 3,20 m | | | 81,7 |
| CH₂ | | | | | |
| 6'' | 61,94 | 3,68 e 3,74 | | | 61,4 |

Figura 84. Espectro de RMN ^1H (500 MHz) em DMSO de **G13**.

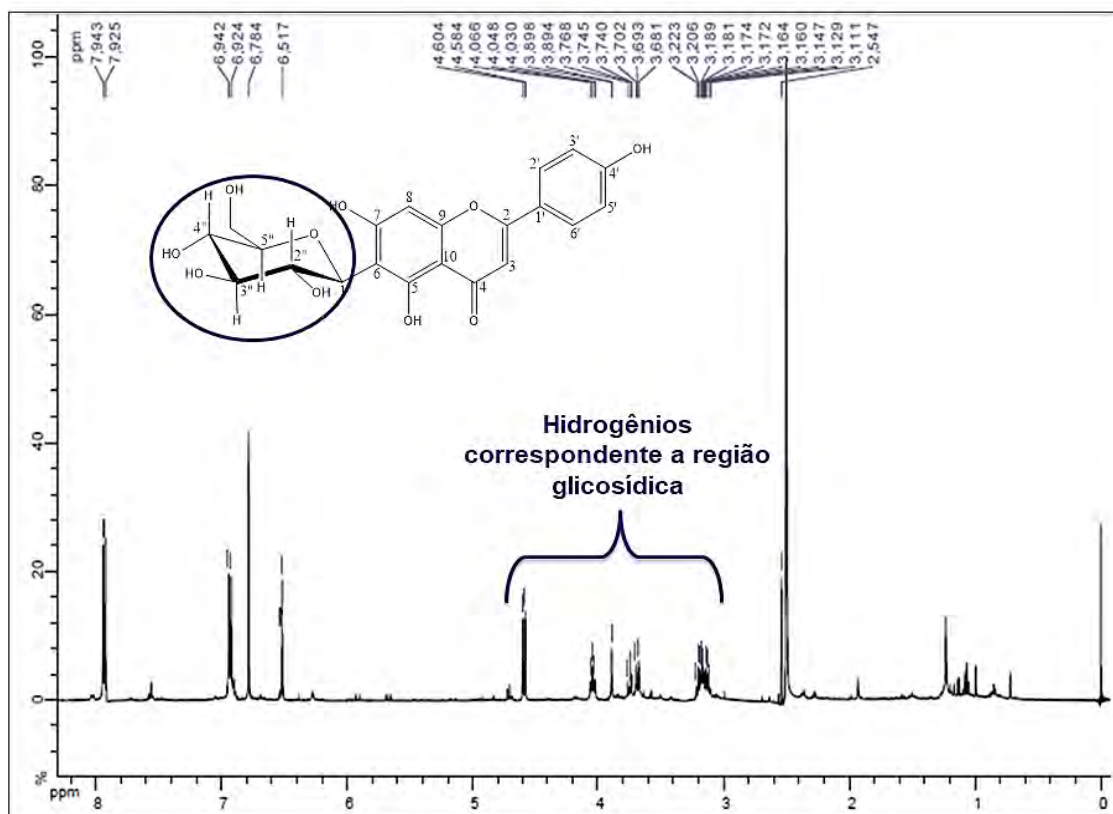


Figura 85. Ampliação da região de δ_{H} 4,5 – 7,9 do espectro de RMN ^1H (500 MHz) em DMSO de **G13**.

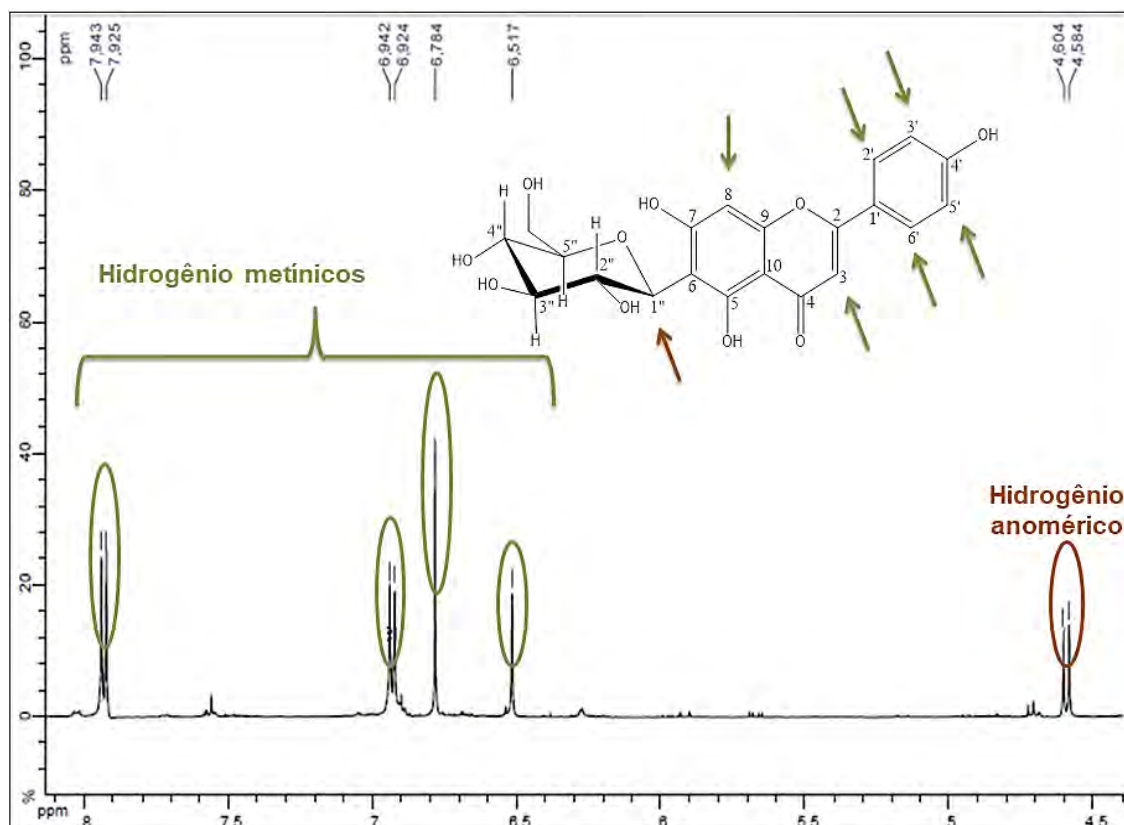


Figura 86. Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz) em DMSO de G13.

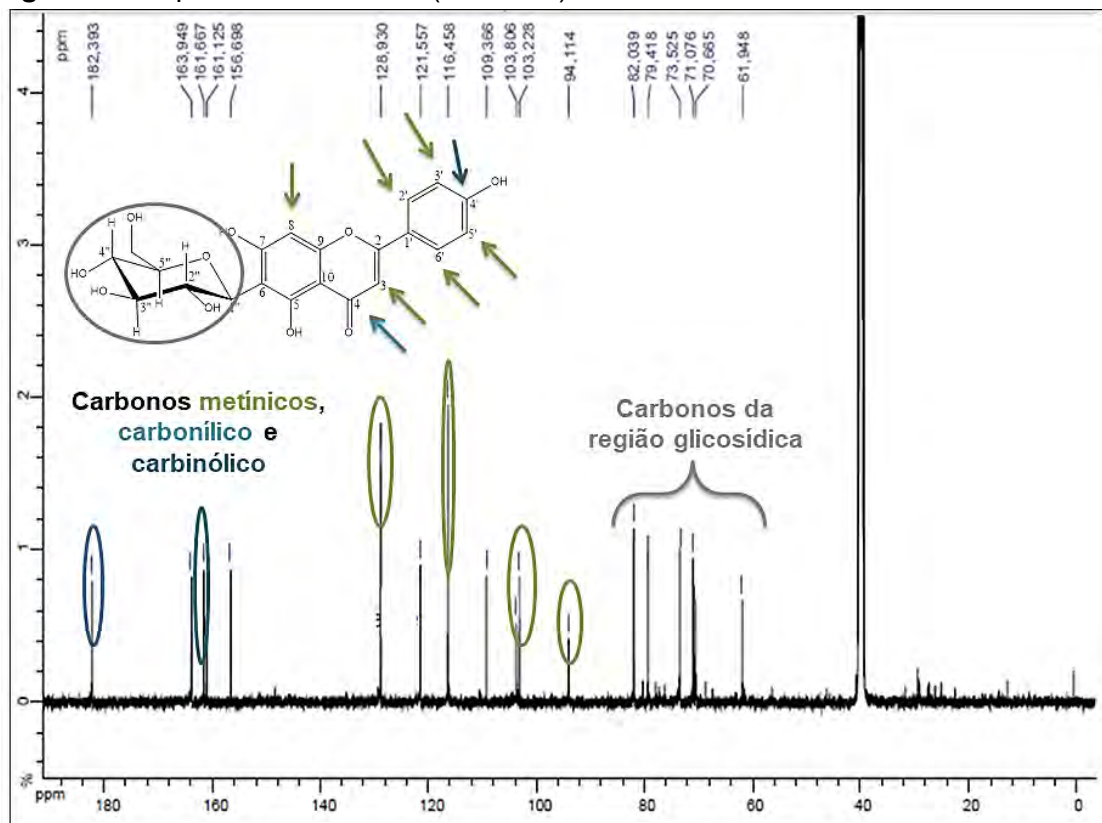


Figura 87. Mapa de correlação heteronuclear HSQC em DMSO de G13.

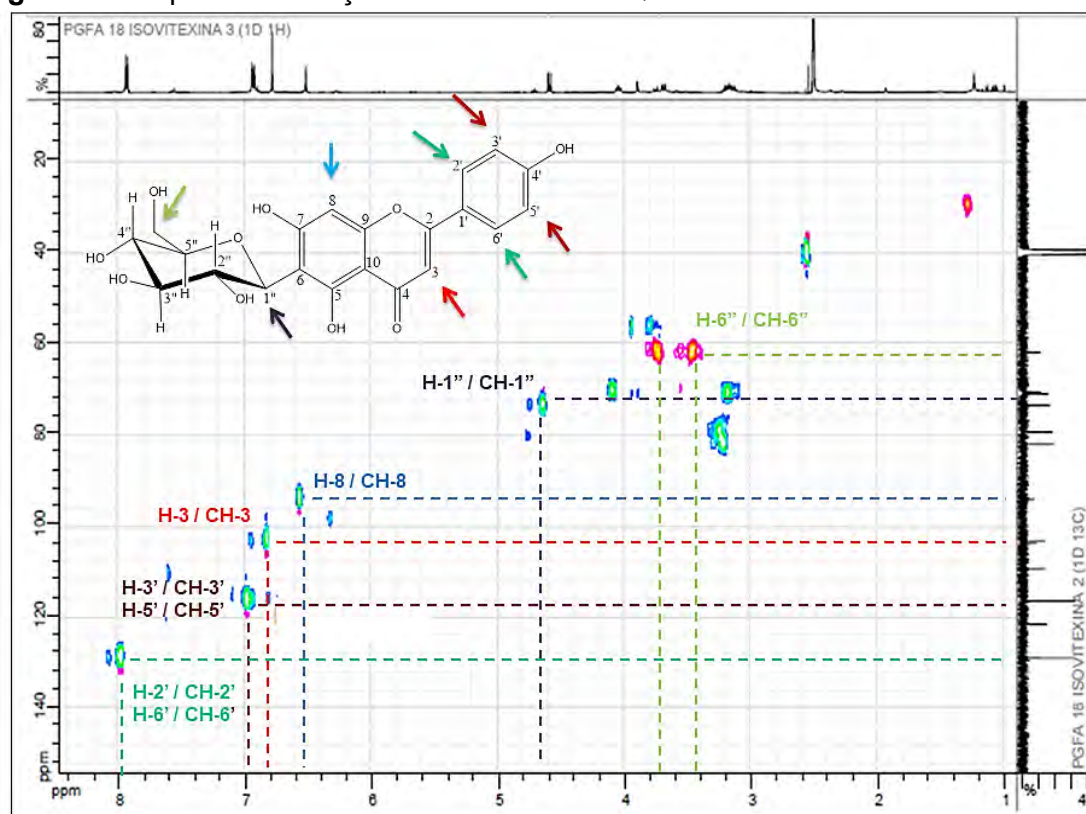
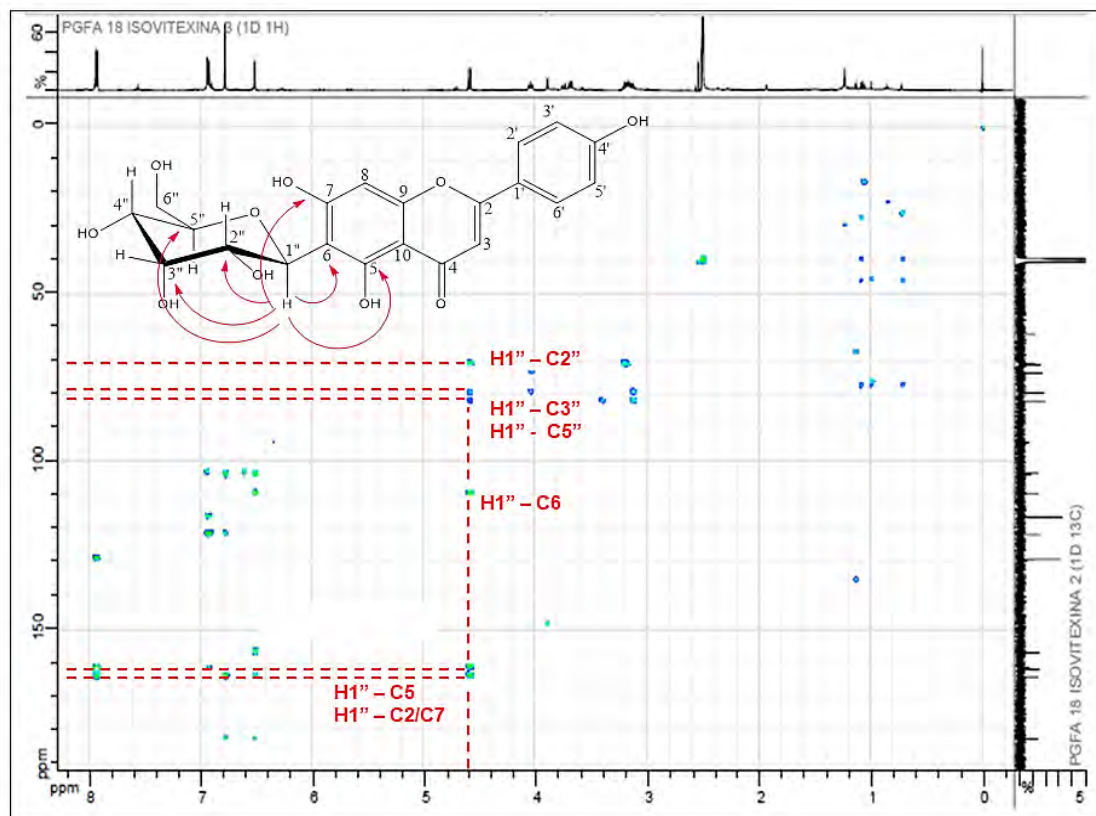
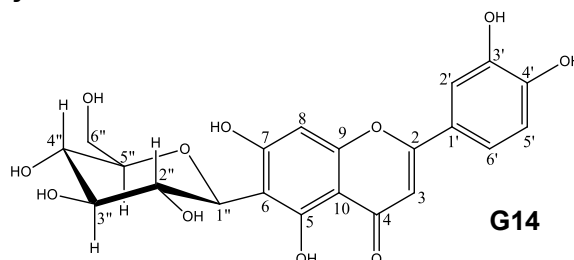


Figura 88. Mapa de correlação heteronuclear HMBC em DMSO de **G13**.



6.1.2.2.3 Determinação estrutural de **G14**



A amostra codificada como **G14**, obtida da fração em acetato de etila das folhas da *P. guianensis*, apresentou-se como um sólido amarelo e, quando submetida à eluição em CCDA, utilizando a fase inferior do sistema de solvente clorofórmio: n-butanol: metanol: água (7:3:3:4) como eluente, foi verificada uma única mancha com $R_f = 0,45$, quando revelada com NP-PEG e orcinol.

A análise preliminar do espectro de RMN ^1H (**Figura 90**, p. 138) de **G14** evidenciou a presença de um acúmulo de sinais na região entre $\delta_{\text{H}} 6,2\text{-}7,5$ que aponta para a proposta de uma estrutura flavonoídica. Essa observação, associada à análise do espectro de RMN ^{13}C em conjunto com os mapas de correlação (HMBC e HSQC), apontam para uma flavona com anel A trissubstituído e anel B dissustituído.

A presença de um conjunto de sinais entre δ_H 3,1-4,0 além do sinal referente ao átomo de hidrogênio anomérico em δ_H 4,59 aponta para uma C-glicosilação da estrutura flavonoídica. A análise da multiplicidade do sinal anomérico somada a constante de acoplamento de 10 Hz, indica um acoplamento axial-axial revelando uma configuração β para o açúcar (SILVERSTEIN et al., 1994) (**Figura 89, p. 138**).

Analisando o espectro de RMN ^{13}C (**Figura 91, p. 139**) foi possível confirmar a ocorrência da unidade glicosídica através de seis sinais de átomos de carbono, sendo um metilênico δ_C 61,96 (CH₂-6'') e cinco metínicos: δ_C 73,51 (C-1''); δ_C 71,08 (C-2''); δ_C 79,41 (C-3''); δ_C 70,65 (C-4'') e δ_C 82,03 (C-5'').

Além dos sinais referentes à porção glicosídica, o espectro de RMN de ^{13}C (**Figura 91, p. 139**) mostrou 15 sinais com deslocamentos característicos para o esqueleto da flavona: dez sinais atribuídos a átomos de carbono não hidrogenados em δ_C 121,84 (C-1'); δ_C 150,22 (C-4'); δ_C 146,22 (C-5'); δ_C 164,09 (C-2); δ_C 182,31 (C-4); δ_C 161,14 (C-5); δ_C 109,33 (C-6); δ_C 163,81 (C-7); δ_C 156,66 (C-9); δ_C 103,82 (C-10); e cinco sinais atribuídos a átomos de carbono metínicos em δ_C 103,23 (CH-3); δ_C 93,97 (CH-8); δ_C 113,73 (CH-2'); δ_C 116,52 (CH-3') e δ_C 119,43 (CH-6') (**Figura 91, p. 139**).

A ausência de sinais no mapa de correlação HSQC (**Figura 92, p. 139**), nas regiões referentes aos átomos de carbono C-1', C-4', C-5', C-2, C-4, C-5, C-6, C-7, C-9 e C-10, associada às correlações a longa distância apresentadas no mapa de correlação HMBC (**Figura 93, p. 140**), confirmam a proposta de uma estrutura com dez átomos de carbono não hidrogenados.

O espectro de RMN de 1H (**Figura 90, p. 138**) apresentou para o anel A, deslocamentos e multiplicidades característicos de flavona 5-6-7-trissubstituída (δ_H 6,67; H-3; s e δ_H 6,49; H-8; s), que são descritos abaixo:

- Substituinte oxílicos: o valor do deslocamento químico apresentado por C-5 (δ_C 160,59), assim como C-7 (δ_C 163,48) e C-9 (δ_C 157,28), corroboram para a presença de um grupo de átomos de oxigênio ligados a esses átomos de carbono (**Figura 91, p. 139**).
- Substituinte em C-6: as correlações J^2 do hidrogênio H-1'' (δ_H 4,59) com o átomo de carbono C-6 (δ_C 109,33) e J^3 com o átomo de carbono C-7 (δ_C 163,84), associado ao baixo valor de deslocamento atribuído a C-6 confirma a proposta de uma C-glicosilação em C-6 (**Figura 93, p. 140**).

- Substituinte em C-7: o valor de deslocamento químico apresentado por C-7 (δ_C 163,84), assim como C-5 (δ_C 161,14) e C-9 (δ_C 156,66), corroboram para a presença de um grupo hidroxila em C-7, visto que este substituinte provoca um efeito de desproteção ao átomo de carbono ao qual está ligado. Em contrapartida, átomos de carbono localizados em posição *orto* à função oxigenada sofrem proteção mesomérica que desloca o sinal para região mais protegida (SILVA et al., 2009): δ_C 109,33 (C-6), δ_C 93,97 (CH-8) e δ_C 103,82 (C-10) (**Figura 91, p. 139**).

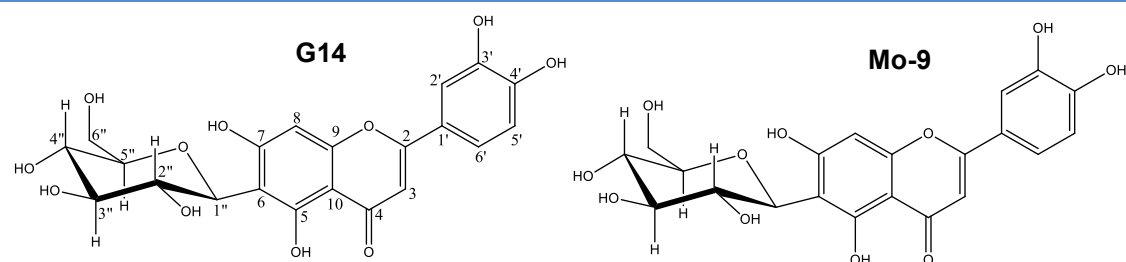
A ausência de valores simétricos no espectro de RMN de ^{13}C sugeriu a presença de mais um substituinte no anel B. A análise do espectro de RMN de ^1H (**Figura 90, p. 138**) permitiu identificar o padrão de dissustituição do anel B através dos valores da constante de acoplamento associado à multiplicidade dos sinais atribuídos em CH-2' (dd, δ_H 7,41; $J = 5,9$ e $2,2$ Hz), CH-3' (d, δ_H 6,90; $J = 8,1$ Hz) e em CH-6' (d, δ_H 7,43; $J = 2,5$ Hz).

No espectro de RMN de ^{13}C (**Figura 91, p. 139**) o sinal mais desprotegido (δ_C 182,31) foi atribuído ao grupo carbonila O=C-4, função característica do anel C de flavonoides.

A presença da insaturação α , β carbonila e a ausência do substituinte no átomo de carbono C-3 são confirmadas pelos valores atribuídos a C-2 (δ_C 164,09) e CH-3 (δ_C 103,23), típicos do anel C de flavona (**Figura 91, p. 139**). Com a análise conjunta do espectro de RMN ^{13}C e mapa de correlação HSQC confirmam a proposta de C-2 não hidrogenado e CH-3 metínico (**Figura 91, p. 139**).

Outras correlações encontram-se sumarizadas na **Tabela 27, p. 137**, cujos dados espectrais de RMN foram comparados com dados da literatura (LEONG et al., 2010) e permitiu atribuir para esta substância a estrutura da isoorientina (**Mo-9**).

Tabela 27. Dados de RMN ^1H (500 MHz) e RMN ^{13}C (125 MHz) de **G14** em DMSO, correlações observadas no espectro de HSQC e HMBC e comparação com os valores de referência do modelo **Mo-9**, em DMSO. Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm e as constantes de acoplamento (J), em Hz.



| Nº C | HSQC | | HMBC | | Mo-9 (LEONG e al., 2010) |
|-----------------------|------------|--------------------|----------------|---|--------------------------------|
| | δ_c | δ_H | J^2 | J^3 | δ_c |
| C | | | | | |
| 2 | 164,09 | - | | | 163,7 |
| 4 | 182,31 | - | | | 182,0 |
| 5 | 161,14 | - | | | 160,7 |
| 6 | 109,33 | - | | | 108,9 |
| 7 | 163,84 | - | | | 163,3 |
| 9 | 156,66 | - | | | 156,3 |
| 10 | 103,82 | - | | | 103,5 |
| 1' | 121,84 | - | | | 121,5 |
| 3' | 146,22 | - | | | 145,8 |
| 4' | 150,22 | - | | | 149,8 |
| CH | | | | | |
| 3 | 103,23 | 6,67 s | 164,09; 182,31 | 121,84 | 102,7 |
| 8 | 93,97 | 6,48 s | 156,66; 163,84 | 109,33 | 93,6 |
| 2' | 113,73 | 7,41 dd J=5,9, 2,2 | | 119,43 | 113,3 |
| 5' | 116,52 | 6,9 d J=8,1 | 150,22 | 121,84; 146,22 | 116,1 |
| 6' | 119,43 | 7,43 d J=2,5 | | 150,22; 113,73 | 119,1 |
| 1'' | 73,51 | 4,59 d J=10 | 109,33 | 71,08; 79,41; 82,03; 73,1 161,14; 163,84 | |
| 2'' | 71,08 | 3,16 m | | | 70,7 |
| 3'' | 79,41 | 3,19 m | | | 79,0 |
| 4'' | 70,65 | 4,05 t J=9,0Hz | 79,41 | 82,03; 61,96 | 70,2 |
| 5'' | 82,03 | 3,17 m | | | 81,6 |
| CH₂ | | | | | |
| 6'' | 61,96 | 3,68 e 3,42 | | | 61,6 |

Figura 89. Espectro de RMN ^1H (500 MHz) em DMSO de **G14**.

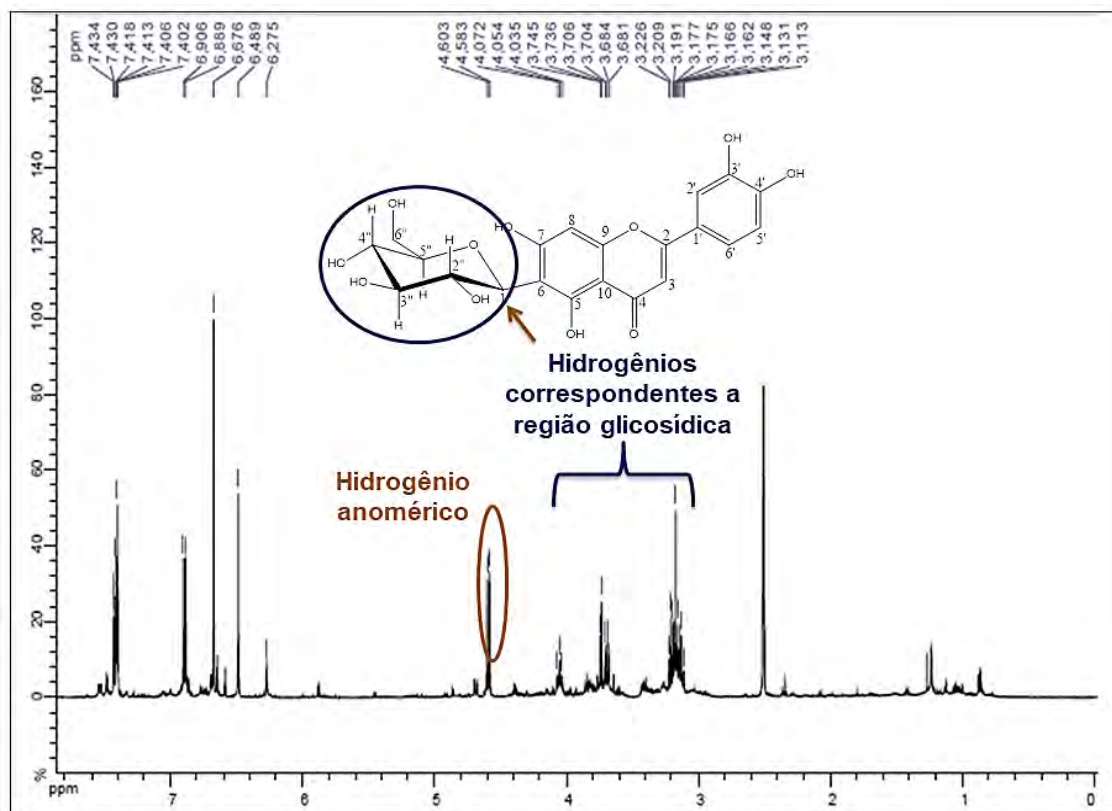


Figura 90. Ampliação da região de δ_{H} 6,4 – 7,4 do espectro de RMN ^1H (500 MHz) em DMSO de **G14**.

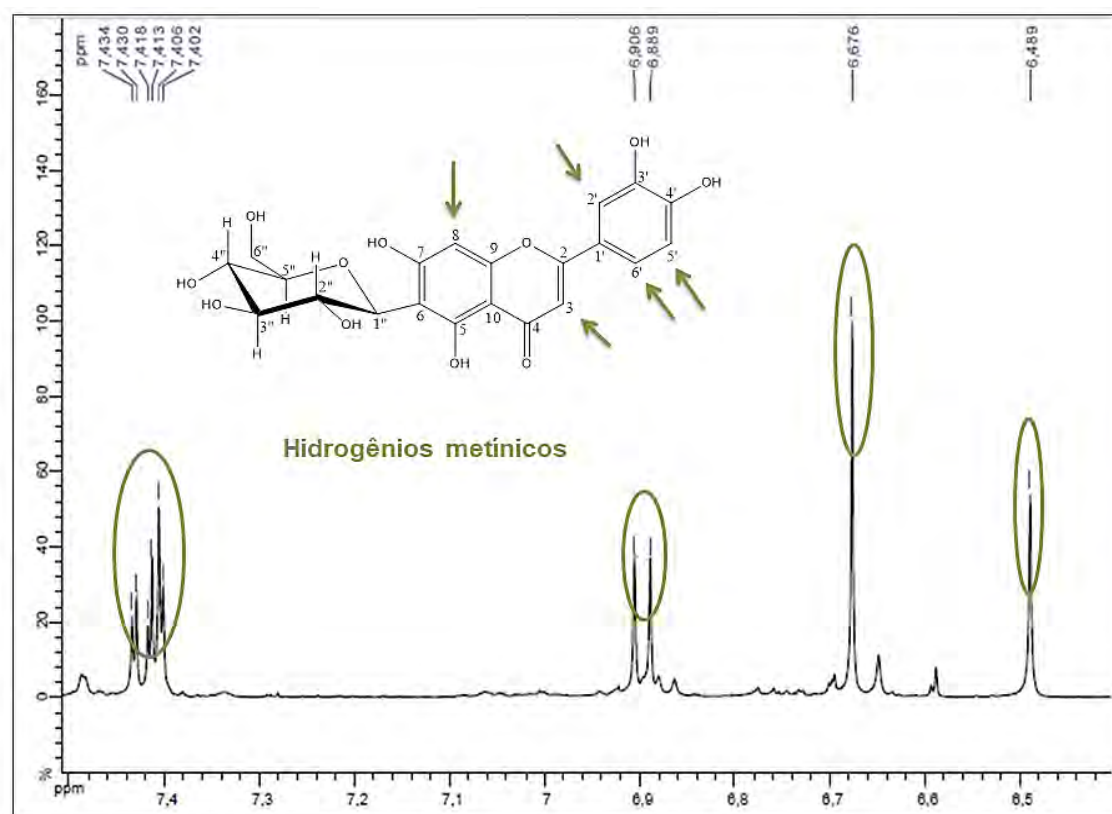


Figura 91. Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz) em DMSO de G14.

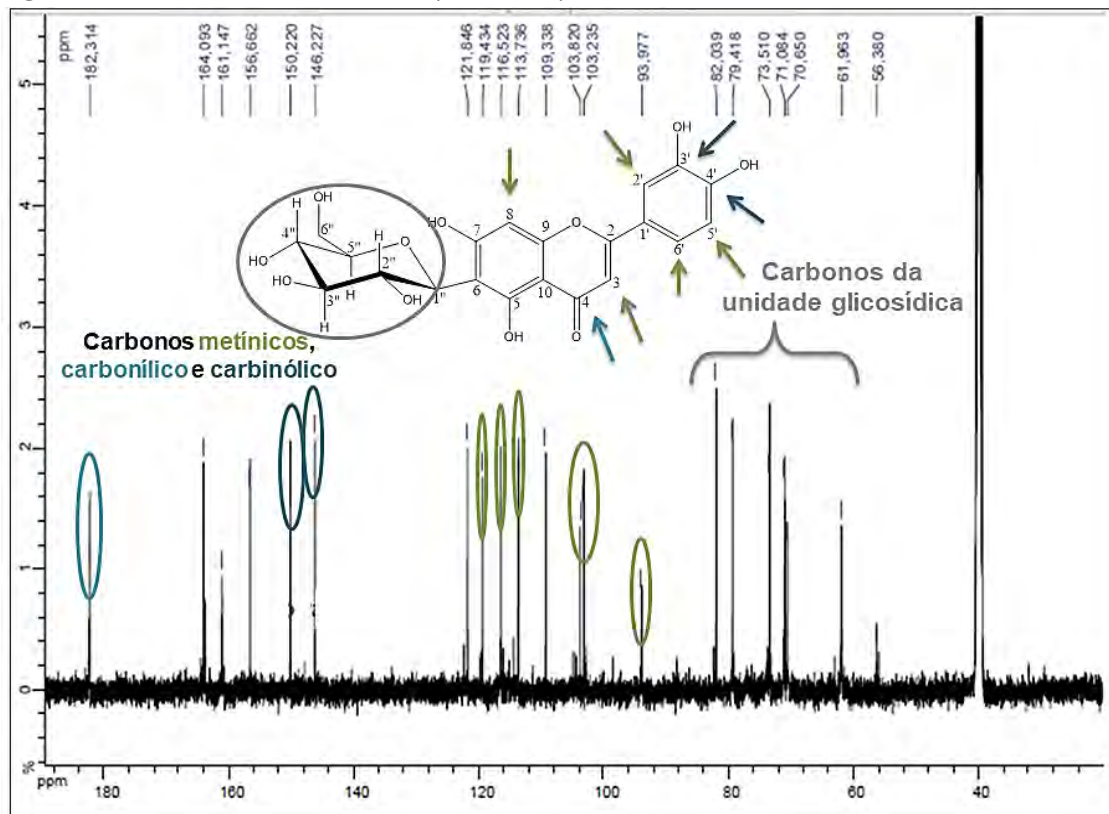


Figura 92. Mapa de correlação heteronuclear HSQC em DMSO de G14.

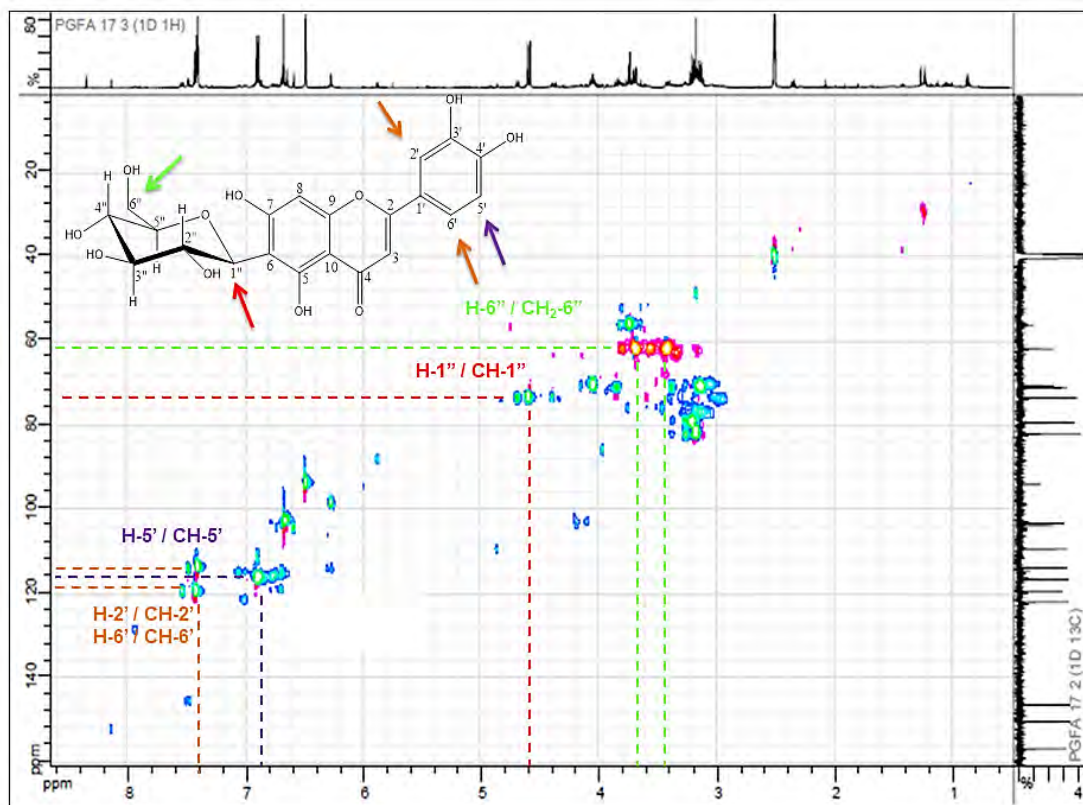
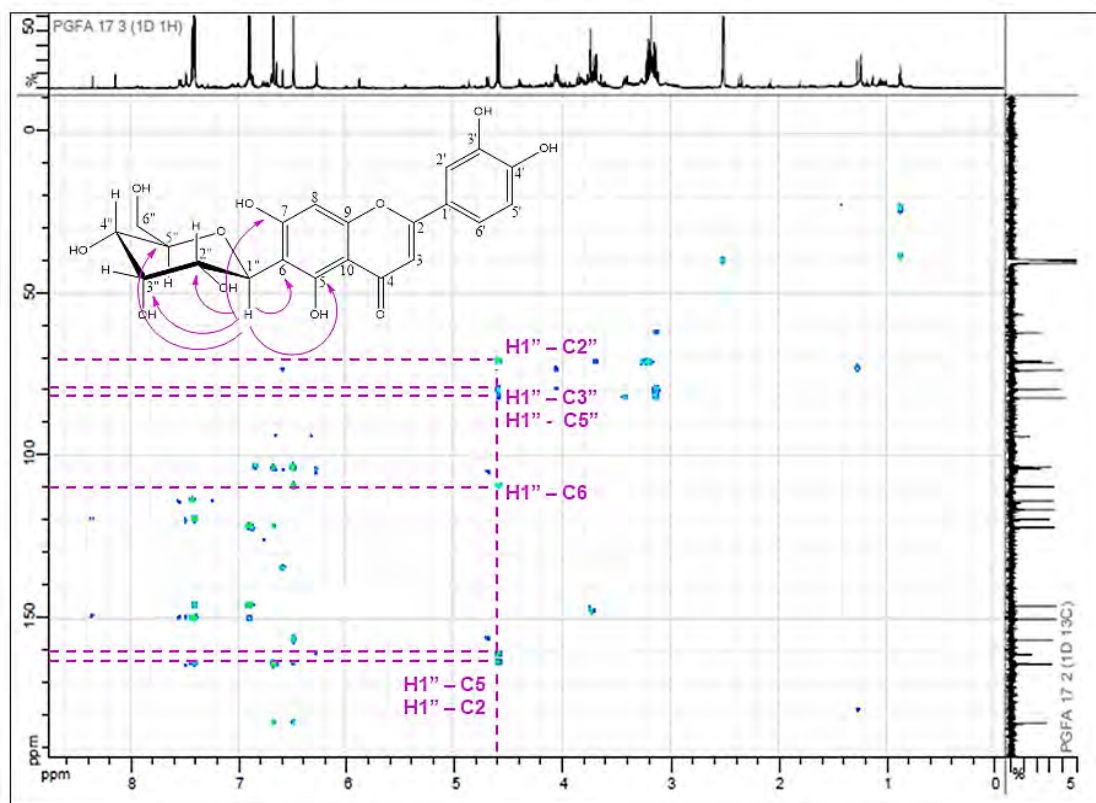


Figura 93. Mapa de correlação heteronuclear HMBC em DMSO de **G14**.

7 CONCLUSÃO

O presente trabalho mostrou, diante dos resultados apresentados, que a espécie *P. guianensis* produz flavonas C-glicosiladas, norsesquiterpenos e triterpeno com esqueleto ursano e oleanano com diferentes padrões de oxidação.

No estudo fitoquímico realizado no extrato em diclorometano do caule, foram identificadas nove substâncias, sendo dois triterpenos friedelanos, três ácidos triterpênicos, um ácido triterpênico com um arabinofuranosídeo, dois norsesquiterpenos e um esteroide. Dessas nove substâncias, duas são descritas pela primeira vez na espécie: vomifoliol, ácido $2\alpha,3\beta,19\alpha,23$ -tetraidroxiurs-12-en-28-óico e duas, inéditas na literatura: 5,8;3,6-diepoxidotetraidromegastigman-9,7-diona, ácido $23\text{-}\beta\text{-D}$ -xilopiranosídeo- $3\beta,23$ -diidroxiurn-12-en-28-óico.

Foi possível verificar também que a utilização da Cromatografia Contracorrente de Alto Desempenho submetida ao método de eluição por gradiente não linear mostrou ser bastante eficiente, possibilitando o isolamento de seis substâncias de diferentes polaridades (5,8;3,6-diepóxidotetraidromegastigman-9,7-diona, vomifoliol, os ácido $2\alpha,3\beta,19\alpha,23$ -tetraidroxiurs-12-en-28-óico, $23\text{-}\beta\text{-D}$ -xilopiranosídeo- $3\beta,23$ -diidroxiurn-12-en-28-óico, arjunólico, tormêntico).

Este trabalho marca o primeiro estudo de compostos fenólicos de folhas de *P. guianensis*. O método desenvolvido UPLC-DAD mostrou ser uma ferramenta eficiente para a identificação de misturas fenólicas. A análise UPLC-DAD-EM permitiu a identificação de 10 substâncias: dois aril propanóides e oito flavonas glicosiladas com aglicona derivada de apigenina, luteonina e crisoeriol, relatados pela primeira vez no gênero.

Já no estudo fitoquímico realizado com a fração em acetato de etila, oriunda do extrato metanólico das folhas, foram obtidos três flavonoides: isovitexina, isoscoparina e isoorientina, sendo estes descritos também pela primeira vez na espécie *P. guianensis*.

Esses resultados corroboram com os resultados de outras espécies pertencentes à mesma subfamília e apontam essas substâncias como marcadores quimiotaxonômicos. Além de evidenciar a importância dos

produtos naturais como fonte promissora para produção de novos fármacos, visto que as classes e substâncias isoladas exibem atividade farmacológica.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALI, Z.; KHAN, S. I.; FERREIRA, D.; KHAN, I. A. Podocarpaside, a triterpenoid possessing a new backbone from *Actaea podocarpa*. **Organic Letters**. v. 8, n. 24, p. 5529-5532, 2006.

ALMEIDA, J. S. **Estudo químico e atividades larvicida, antioxidante e antibacteriana de *Porouma guianensis* Aubl. (Urticaceae)**. Maceió, AL. Dissertação de mestrado em Ciências, Universidade Federal de Alagoas, 2014, 113f.

APG IV, BYNG, J. W.; CHASE, M. W.; CHRISTENHUSZ, M. J. M.; FAY, M. F.; JUDD, W. S.; MABBERLEY, D. J.; SENNIKOV, A. N.; SOLTIS, D. E.; SOLTIS, P. S.; STEVENS, P. F. Na update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. **Botanical Journal of the Linnean Society**. v. 181, p. 1-20, 2016.

AUBLET, J. B. C. F. **Histoire des Plantes de la Guiane francoise**: rangées suivant la méthode sexuelle, avec plusieurs mémoires sur différens objects intéressans, relatifs à la culture & au commerce de la Guiane Française, & une notice des plantes de l'Isle-de-France. Pierre-François Didotjeune, London and Paris, 1775.

BERCHT, C. A. L.; SAMARAH, H. M.; LOUSBERG, R. J. J. CH.; THEUNS, H.; SALEMENK, C. A. Isolation of vomifoliol and dihydrovomifoliol from *Cannabis*. **Phytochemistry**, v. 15, p. 830-831, 1976.

BERG, C. C.; AKKERMANS, R. W. A. P.; HEUSDEN, E. C. H. Flora Neotropica. Cecropiaceae: Coussapoa and Pourouma, with an introduction to the family. The New York Botanical Garden: NY. 1990; p 208.

BERTHOD, A.; CARDA-BROCH, S. Determination of liquid-liquid partition coefficients by separation methods. **Journal of Chromatography A**, v. 1037, p. 3-14, 2004.

BOLZANI, V. S.; JÚNIOR, O. F.; VALLI, M. Biodiversidade brasileira: uma fonte potencial de agentes terapêuticos ainda inexplorada. In: YUNES, R. A.; CECHINEL FILHO, V. (Org.). **Química de produtos naturais novos fármacos e a moderna farmacognosia**. 4 ed. rev. e ampl. Itajaí, SC. : Univali, 2014. p. 397-429.

BORGES, R. M. **Estudo fitoquímico das raízes de *Chiococa alba* (L.) Histchc. (Rubiaceae)**. Rio de Janeiro, RJ. Dissertação mestrado em Ciências, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2006, 171f.

CARBONÓ-DELAHOZ, E. Plantas medicinales usadas por los cogui em el Río Palomino, Sierra Nevada de Santa Marta (Colombia) Medicinal plants used by the Cogui at Palomino river, Sierra Nevada of Santa Marta (Colombia). **Etnobotánica**. v. 35, n. 2, p. 333-350, 2013.

CARVALHO, L. M. M. **Estudos de etnobotânica e botânica económica no Alentejo**. Coimbra. Dissertação de Doutorado em Biologia – Sistemática e Morfologia, Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra, 2006, 569f.

CHAVÉZ, J. P.; SANTOS, I. D.; CRUZ, F. G.; DAVID, J. M.; YANG, S. W.; CORDELL, G. A. A quinoline alkaloid from *acanthosyris* Paulo-Alvini. **Phytochemistry**, v. 46, n. 5, p. 967-968, 1997.

CORRADO, A. R. **Historiografia de espécies da família Urticaceae coletadas no Brasil e depositadas nos herbários de Kew, New York e Paris**. Botucatu / SP. Dissertação de Mestrado em Agronomia (Horticultura), Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP – Campus de Botucatu, 2014, 75f.

COSTA, H. N. R.; SANTOS, M. C.; ALCÂNTARA, A. F. C.; SILVA, M. C.; FRANÇA, R. C.; PILÓ-VELOSO, D. Constituintes químicos e atividade antiedematogênica de *Peltodon radicans* (Lamiaceae). **Química Nova**. v. 31, n. 4, p. 744-750, 2008.

COSTA, G. M.; SCHENKEL, E. P.; REGINATTO, F. H. Chemical and pharmacological aspects of the genus *Cecropia*. **Natural Product Communications**. v. 6, n. 6, p. 913-920, 2011.

DAVID, J. M.; SANTOS, F. A.; GUEDES, M. L. S.; DAVID, J. P. Flavonóides e triterpenos de *Stigmaphyllon paralias*. **Química Nova**. v. 26, n. 4, p. 484-487, 2003.

FEIJÓ, E. V. R. S.; PEREIRA, A. S.; SOUZA, L. R. SILVA, L. A. M.; COSTA, L. C. B. Levantamento preliminar sobre plantas medicinais utilizadas no bairro Salobrinho no município de Ilhéus, Bahia. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. v. 15, n. 4, p. 595-604, 2013.

FENG, Z.; HAO, W.; LIN, X.; FAN, D., ZHOU, J. Antitumor activity of total flavonoids from *Tetrastigma hemsleyanum* Diels et Gilg is associated with the inhibition of regulatory T cells in mice. **OncoTargets and Therapy**, v. 7, p. 947-956, 2014.

FERRERES, F.; SILVA, B. M.; ANDRADE, P. B.; SEABRA, R. M.; FERREIRA, M. A. Approach to the Study of C-Glycosyl Flavones by Ion Trap HPLC-PAD-ESI/MS/MS: Application to Seeds of Quince (*Cydonia oblonga*). **Phytochemistry Analysis**. n. 14, p. 352-359, 2003.

FLORA DO BRASIL, 2019 *Urticaceae in Flora do Brasil 2020 em construção*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB243>. Acesso em: 14 Mar. 2019.

GAGLIOTI, A. L. **Urticaceae Juss, no estado de São Paulo, Brasil**. São Paulo, SP. Dissertação de Mestrado em Biodiversidade Vegetal e meio Ambiente, Instituto de Botânica da Secretária de Estado do Meio Ambiente, 2011, 195f.

GAGLIOTI, A. L.; ROMANIUC-NETO, D. Urticaceae. In *Flora fanerogâmica do Estado de São Paulo*; Wanderley, M. G. L., Martins, S. E., Romanini, R. P., Melhem, T. S., Shepherd, G. J., Giulietti, A. M., Pirani, J. R., Kirizawa, M., Melo, M. M. R. F., Cordeiro, I., Kinoshita, L. S., Eds.; Instituto de Botânica: São Paulo, 2012; Vol. 7, pp 331-362.

GAGLIOTI, A. L.; CARVALHO, L. T.; MARGALHO, L.; MARTINS-DA-SILVA, R. C. V.; GOMES, J. I.; COSTA, C. C. Conhecendo espécies de plantas da Amazônia: mapati (*Pourouma guianensis* Aubl. Urticaceae). **Comunicado Técnico**, p. 1-4, 2013.

GAGLIOTI, A. L. **Sistemática, filogenia, biogeografia de *Pourouma* Aubl. (Urticaceae)**. São Paulo, SP. Tese de Doutorado em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente, Instituto de Botânica da Secretária do Meio Ambiente, 2015, 539f.

GATTUSO, G.; CARISTI, C.; GARGIULLI, C.; BELLOCCO, E.; TOSCANO, G.; LEUZZI, U. Flavonoid Glycosides in Bergamot Juice (*Citrus bergamia* Risso). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. n. 54, p. 3929-3935, 2006.

GUIMARÃES, A. C.; SIANI, A. C. Triterpenos das folhas de *Protium strumosum*. **Revista Fitos**, v. 3, n. 1, p. 67-76, 2007.

GUIO, J. C. B.; LEON, D. C. S.; PEREZ, A. L. M. Compuestos volátiles libres y enlazados glicosídicamente em la pulpa de la uva Caimarona (*Pourouma cecropiifolia* Mart.). **Acta Amazonica**. v. 40, n. 1, p. 189-198, 2010.

HUYNH, N. V.; NGUYEN, T. H. T.; NGUYEN, K. P. P.; HANSEN, P. E. Structural Studies of the Chemical constituents of *Tithonia tagetiflora* Desv. (Asteraceae). **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 51, p. 439-443, 2013.

IBRAHIM, R. M.; EL-HALAWANY, A. M.; SALEH, D. O.; NAGGAR, E. M. B. E.; EL-SHABRAWY, A. E. R. O.; EL-HAWARY, S. S. HPLC-DAD-MS/MS profiling of phenolics from *Securigera securidaca* flowers and its anti-hyperglycemic and

anti-hyperlipidemic activities. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. n. 25, p. 134-141, 2015.

JIMÉNEZ, N.; CARRILLO-HORMAZA, L.; PUJOL, A.; ÁZATE, F.; OSORIO, E.; LARA-GUZMAN, O. Antioxidant capacity and phenolic content of commonly used anti-inflammatory medicinal plants in Colombia. **Industrial Crops and Products**. v. 70, p. 272-279, 2015.

KOJIMA, H.; SATO, N.; HATANO, A.; OGURA, H. Sterol glucosides from *Prunella vulgaris*. **Phytochemistry**, v. 29, p. 2351-2355, 1999.

LEONG, A. C. N.; KINJO, Y.; TAKO, M.; IWASAKI, H.; OKU, H.; TAMAKI, H. Flavonoid glycosides in the shoot system of Okinawa Taumu (*Colocasia esculenta* S.). **Food Chemistry**. v. 119, p. 630-635, 2010.

LIMA, N. G. P. B.; CABRAL, A. G. S.; FURTADO, F. F.; LIMA, I. P. B.; MACEDO, R. O. *Urtica dioica*: uma revisão dos estudos das suas propriedades farmacológicas. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 89, n. 3, p. 199-206, 2008.

LOPES, D.; KOKETSU, M.; CARAUTA, J. P. P.; OLIVEIRA, KAPLAN, M. A. C. Chemical composition of *Pourouma guianensis* Aublet essential oils. **Flavour and Fragrance Journal**. v. 14, p. 233-236, 1999.

LOPES, D.; KOKETSU, M.; CARAUTA, J. P. P.; OLIVEIRA, KAPLAN, M. A. C. Essential oil composition of Brazilian *Pourouma* species. **Journal of Essential Oil Research**. v. 14, p. 402-406, 2002.

LOPES-LUTZ, D.; DETTMANN, J.; NIMALARATNE, C.; SCHIEBER, A. Characterization and quantification of polyphenols in Amazon Grape (*Pourouma cecropiifolia* Martius). **Molecules**. v. 15, p. 8543-8552, 2010.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. São Paulo: Instituto Plantarum de estudos da Flora, 2009, 384p.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; VEIGA JR, V. F. Plantas medicinais: A necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, v. 25, n. 3, p. 429-438, 2002.

MAHATO, S. B.; KUNDU, A. P. ^{13}C NMR spectr of pentacyclic triterpenoids – A compilation and some saliente features. **Phytochemistry**. v. 37, n. 6, p. 1517-1575, 1994.

MELIM, C. **Avaliação do potencial antimicrobiano de quatro espécies de plantas medicinais da flora brasileira**. Itajaí, SC, Dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas. Universidade do Vale do Itajaí, 2011, 89p.

MOCAN, A.; SCHAFBERG, M.; CRISAN, G.; ROHN, S. Determination of lignans and phenolic components of *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. using HPLC-ESI-ToF-MS and HPLC-online TEAC: Contribution of individual components to overall antioxidant activity and comparison with traditional antioxidant assays. **Journal Fuct Foods**, n. 24, p. 579-594, 2016.

MOREIRA, D. L.; GUIMARÃES, E. F.; KAPLAN, M. A. A C-glucosylflavone from leaves of *Piper Ihotzkyanum*. **Phytochemistry**, v. 55, p. 783-786, 2000.

MU, L. H.; LI, H. J.; GUO, D. H.; ZHAO, J. Y.; LIU, P. Cycloartane triterpenes from *Beesia calthaefolia* (Maxim). **Fitoterapia**, v. 92, p. 41-45, 2014.

PEREZ, J. E.; ISAZA, G.; BUENO, J. G.; ARANJO, M. C.; HINCAPIÉ, B. L.; NIETO, A. M.; LONDOÑO, D. P. Efecto de los extrctos de *Phenax rugosus*, *Tabebuia chrysantha*, *Althernantera williamsii* y *Solanum dolichosepalum* sobre el leucograma y la producción de anticuerpos em ratas. **Revista Médica de Risaralda**. v. 10, n. 2, p. 13-21, 2004.

PÉREZ, A.; WENCOMO, H. B.; ARMENGOL, N.; REYES, F. *Boehmeria nivea* (L.) Gaud. **Pastos y Forrajes**. v. 36, n. 4, p. 398-403, 2013.

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

PIOVESAN, N.; VIERA, V. B. **Produções e Controle de Produtos Naturais**. Ed. Atena, 2018, 169p.

QIAO, X.; LI, R.; SONG, W.; MIAO, W. J.; LIU, J.; CHEN, H. B.; GUO, D. A.; YE, M. A targeted strategy to analyze untargeted mass spectral data: Rapidchemical profiling of *Scutellaria baicalensis* using ultra-highperformance liquid chromatography coupled with hybrid quadrupoleorbitrap mass spectrometry and key ion filtering. **Journal of Chromatography A**. n. 1441, p.83-85. 2016.

RODRIGUES, A. R. M. **Produtos naturais na descoberta de fármacos**. Porto, Dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas. Universidade Fernando Pessoa, 2018, 49f.

ROMANIUC-NETO, S.; GAGLIOTI, A.L. 2015. *Urticaceae* in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB243>. Acesso em 24 de Janeiro de 2019.

SALES, Q. S. **Estudo fitoquímico e avaliação do potencial de atividade citotóxica da espécie *Petiveria alliacea* (Phytolaccaceae)**. Campos dos Goytacazes, RJ. Dissertação de mestrado em Ciências Naturais, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, 2015, 134f.

SEUPEL, R.; ROTH, A.; STEINKE, K.; SICKER, D.; SIEHL, H. U.; ZELLER, K. P.; BERGER, S. Friedelin natuestoffe isolieren und charakterisieren. **Chemie in unserer zeit**. v. 49, p. 60-72, 2015.

SIDDIQUI, B. S.; KARDAR, M. N.; ALI, S. T.; KHAN, S. Two new and a known compounds from *Lawsonia inermis*. **Helvetica Chimica Acta**. v. 86, p. 2164-2169, 2003.

SILVERSTEIN, R. M.; BASSLER, G. C.; MORRIL, T. C. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 5 ed., Ed. Guanabara Koogan, 1994, 387p.

SILVA, T. M. S.; CARVALHO, M. G. C.; BRAZ-FILHO, R. Estudo espectroscópico em elucidação estrutural de flavonoides de *Solanum jabrense* Agra & Nee E *S. poludosum* Moric. **Química Nova**, v. 32, n. 5, p. 1119-1128, 2009.

SILVA, F. C.; DUARTE, L. P.; VIEIRA FILHO, S. A. Celastráceas: Fontes de triterpenos pentacíclicos com potencial atividade biológica. **Revista Virtual de Química**, v. 6, n. 5, p. 1205-1220, 2014.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A. **Farmacognosia do produto natural ao medicamento**. Ed. Artmed, Porto Alegre, 2017, 537p.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado no APG II**. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2005, 640p.

SAKURAI, N.; KOEDA, M.; INOUE, T.; NAGAI, M. Studies on the chinese crude drug "Shoma." VIII. Two new triterpenol Bisdesmosides, 3-Arabinosyl-24-O-acetylhydroshengmanol 15-Glucoside and 3-Xylosyl-24-O-acetylhydroshengmanol 15-Glucoside, from *Cimicifuga dahurica*. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**. v. 42, n. 1, p. 48-51, 1994.

TAAMALLI, A.; ARRÁEZ-ROMÁN, D.; ABAZA, L.; ISWALDI, I.; FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ, A.; ZARROUK, M.; SEGURA-CARRETERO, A. LC-MS-based metabolite profiling of methanolic extracts from the medicinal and aromatic

species *Mentha pulegium* and *Origanum majorana*. **Phytochemical Analysis**, n. 26, p. 320-330, 2015.

TORRES-SANTOS, E. C.; LOPES, D.; OLIVEIRA, R. R.; CARAUTA, J. P. P.; FALCÃO, C. A. B.; KAPLAN, M. A. C.; ROSSI-BERGMANN, B. Antileishmanial activity of isolated triterpenoids from *Pourouma guianensis*. **Phytomedicine**, v. 11, p. 114-120, 2015.

VALLI, M.; DOS SANTOS, R. N.; FIQUEIRA, L. D.; NAKAJIMA, C. H.; CASTRO-GAMBOA, I.; ANDRICOPULO, A. D.; BOLZANI, V. S. Development of a natural products database from the biodiversity of Brazil. **Journal of Natural Products**, v. 76, p. 439-444, 2013.

WARIDEL, P.; WOLFENDER, J. L.; NDJOKO, K.; HOBBY, K. R.; MAJOR, H. J.; HOSTETTMANN, K. Evaluation of quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry and ion-trap multiple-stage mass spectrometry for the differentiation of C-glycosidic flavonoid isomers. *Journal of Chromatography A*, n. 926, p. 29-41, 2001.

WU, Z. Y. et al. Molecular phylogeny of the nettle family (Urticaceae) inferred from multiple loci of three genomes and extensive generic sampling. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 69, p. 814–827, 2013.

ZHANG, M.; DUAN, C.; ZANG, Y.; HUANG, Z.; LIU, G. The flavonoid composition of flavedo and juice from the pummelo cultivar (*Citrus grandis* (L.) Osbeck) and the grapefruit cultivar (*Citrus paradisi*) from China. **Food Chemistry**, n. 129, p. 1530-536, 2011.