

CONSTITUINTES QUÍMICOS DAS ESPÉCIES *Simira sampaioana*,  
*Simira walteri* e *Simira pikia* (RUBIACEAE)

**VINICIUS FERNANDES MOREIRA**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO  
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA  
CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ**

**Novembro de 2015**

CONSTITUINTES QUÍMICOS DAS ESPÉCIES *Simira sampaioana*,  
*Simira walteri* e *Simira pikia* (RUBIACEAE)

**VINICIUS FERNANDES MOREIRA**

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

Orientador: Prof. Dr. Ivo José Curcino Vieira  
Coorientador: Raimundo Braz-Filho

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO  
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA  
CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ  
NOVEMBRO DE 2015

CONSTITUINTES QUÍMICOS DAS ESPÉCIES *Simira sampaioana*,  
*Simira walteri* e *Simira pikia* (RUBIACEAE)

**VINICIUS FERNANDES MOREIRA**

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

Aprovado em 19 de Novembro de 2015.

Comissão Examinadora:

---

Prof<sup>a</sup> Maria Raquel G. Vega (D. Sc. Química de Produtos Naturais) – UENF

---

Prof<sup>a</sup> Jucimar Jorgeane de Souza (D. Sc., Ciências Naturais) – UNESA

---

Prof<sup>o</sup> Marcelo Francisco de Araújo (D. Sc., Química de Produtos Naturais) – IFF

---

Prof<sup>o</sup> Ivo José Curcino Vieira (D. Sc., Química Orgânica) – UENF  
(Orientador)

Dedico este trabalho aos meus pais, à minha irmã, à minha esposa  
e aos meus amigos.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por tudo que tem me dado até aqui;

A meus pais: Julio e Elisete;

À minha esposa Fernanda;

Aos amigos e companheiros de laboratório;

Aos professores Ivo José Curcino Vieira e Raimundo Braz-Filho pela orientação e ensinamentos;

Ao DEQUIM/UFRRJ e ao QEFPN/UFC

A todos,  
obrigado por tudo.

## SUMÁRIO

<b>Lista de figuras</b>	viii
<b>Lista de tabelas</b>	xvi
<b>Lista de fluxogramas</b>	xx
<b>Lista de esquemas</b>	xxi
<b>Lista de gráficos</b>	xxi
<b>Lista de Abreviaturas e Símbolos</b>	xxii
<b>Abstract</b>	xxiv
<b>Resumo</b>	xxv
<b>1. INTRODUÇÃO</b>	1
<b>2. OBJETIVOS</b>	5
<b>3. REVISÃO DE LITERATURA</b>	6
3.1 Família Rubiaceae	6
3.2 O Gênero <i>Simira</i>	8
3.3 Atividades Biológicas do Gênero <i>Simira</i>	15
3.4 Atividade etnofarmacológica	17
3.5 Outros estudos para <i>Simira</i>	17
3.6 <i>Simira sampaioana</i>	18
3.7 <i>Simira walteri</i>	20
3.8 <i>Simira pikia</i>	22
<b>4. METODOLOGIA</b>	22
4.1 Coleta do material vegetal e classificação botânica	22
4.2 A secagem e moagem do material.	23
4.3 A extração dos constituintes químicos do material botânico.	23
4.4 Identificação das substâncias isoladas	23
4.5 Análises cromatográficas	23
4.6 Análises espectroscópicas	24
4.7 Testes de Atividade Inseticida	24
4.8 Atividade Antifúngica	24
4.9 Atividade antitumoral, <i>in vitro</i> , dos compostos SV-40 e SV-74	24
<b>5. PARTE EXPERIMENTAL</b>	25

5.1 A extração dos constituintes químicos do material botânico	25
5.2 Isolamento e purificação dos constituintes químicos de <i>Simira sampaioana</i>	25
5.2.1 Estudo fitoquímico da fração SIC (1,3448g)	28
5.2.1.1 Estudo fitoquímico da fração SIC-4 (96,7mg)	28
5.2.1.2 Estudo fitoquímico da fração SIC-5 (145,0mg)	29
5.2.2 Estudo fitoquímico da fração SIB (0,9308g)	30
5.2.2.1 Estudo fitoquímico da fração SIB-2 (97,5mg)	31
5.2.3 Estudo fitoquímico da fração SSFC (175,7mg)	32
5.2.4 Estudo fitoquímico do extrato SFM	33
5.2.4.1 Estudo fitoquímico da fração SFM-11 (131,2mg)	33
5.2.5 Estudo do extrato hexânico da madeira de <i>S. sampaioana</i>	35
5.2.5.1 Estudo fitoquímico da fração SHM-5 (515,2mg)	35
5.2.5.2 Estudo fitoquímico da fração SHM-7 (522,3mg)	36
5.2.5.3 Estudo fitoquímico da fração SHM-8 (38,5mg)	37
5.2.5.4 Estudo fitoquímico da fração SHM-9 (333,7mg)	38
5.3 Isolamento e purificação dos constituintes químicos de <i>Simira walteri</i>	40
5.3.1 Estudo fitoquímico da fração SWM-5 (4047,4mg)	40
5.3.2 Estudo fitoquímico da fração SWM-6 (5938,8)	43
5.4 Isolamento e purificação dos constituintes químicos de <i>Simira pikia</i>	44
5.4.1 Estudo fitoquímico da fração SPM-4 (151,6mg)	45
5.4.2 Estudo fitoquímico da fração SPM-11 (1915,6mg)	47
5.4.3 Estudo fitoquímico da fração SPC (869,1mg)	47
5.4.3.1 Estudo fitoquímico da fração SPC-7 (328,6mg)	48
5.4.4 Estudo fitoquímico da fração SPA (3,5319mg)	50
5.4.4.1 Estudo fitoquímico da fração SPA-8 (96,1mg)	50
5.4.4.2 Estudo fitoquímico da fração SPA-9 (212,5mg)	51
5.4.5 Estudo fitoquímico da fração SPFA (577,1mg)	52
5.4.5.1 Estudo fitoquímico da fração SPFA-1	53

(206,7mg)	
5.5 Testes de Atividade Biológica	55
5.5.1 Teste de Atividade Inseticida	55
5.5.1.1 Manutenção dos mosquitos	55
5.5.1.2 Preparo das soluções estoque e dos testes	55
5.5.1.3 Bioensaios	55
5.5.2 Atividade anticancerígena, <i>in vitro</i> , dos compostos SV-40 e SV-74	56
5.5.2.1 Cultura das linhagens de células de origem tumoral	56
5.5.2.2 Ajustes das culturas Celulares	56
5.5.2.3 Ensaio Metabólico com MTT (3-(4,5-dimetil tiazol-2-il)-2,5-brometo de difeniltetrazolium)	57
5.5.3 Atividade Antifúngica:	58
5.5.3.1 Obtenção dos extratos:	58
5.5.3.2 Obtenção das leveduras:	58
5.5.3.3 Análise da inibição do crescimento de leveduras:	58
5.5.3.4 Análise por microscopia óptica:	59
5.5.3.5 Análise por Microscopia Eletrônica de Varredura:	59
<b>6. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	60
6.1 Substâncias identificadas de <i>Simira sampaioana</i>	60
6.2 Determinação Estrutural das substancias de <i>S. sampaioana</i>	61
6.2.1 Identificação da substância SV-1	61
6.2.2 Identificação da substância SV-11	72
6.2.3 Identificação da substância SV-20	81
6.2.4 Identificação da mistura SV-37	92
6.2.5 Identificação da substancia SV-21	103
6.2.6 Identificação da substancia SV-24	115
6.2.7 Identificação da mistura SV-25	126
6.2.8 Identificação da mistura SV-26	133
6.2.9 Identificação da mistura SV-27	140



6.2.10 Identificação da mistura SV-28	146
6.3 Substâncias identificadas de <i>Simira walteri</i>	152
6.4 Determinação estrutural das substancias de <i>S. walteri</i>	153
6.4.1 Identificação da mistura SV-86	153
6.4.2 Identificação da mistura SV-83	162
6.4.2.1 Determinação estrutural de SV-83a	162
6.4.2.2 Determinação estrutural de SV-83b	163
6.4.3 Identificação da substancia SV-84	169
6.5 Substâncias identificadas de <i>Simira pikia</i>	173
6.6 Determinação estrutural das substancias de <i>S. pikia</i>	174
6.6.1 Identificação da substancia SV-67	174
6.6.2 Identificação da substancia SV-74	182
6.6.3 Identificação da mistura SV-88	191
6.6.4 Identificação da substancia SV-94	204
6.6.5 Identificação da substancia SV-100	213
6.6.6 Identificação do derivado acetilado SV-103	217
6.7. Resultado dos Testes de Atividade Biológica	226
6.7.1 Resultados do bioensaio larvicida	226
6.7.2 Resultados da atividade anticancerígena	226
6.7.3 Resultados da inibição do crescimento de leveduras	228
6.7.3.1. Análise da inibição do crescimento de leveduras em meio líquido na presença dos extratos brutos de <i>Simira pikia</i> e <i>S. walteri</i>	228
<b>7. CONCLUSÃO</b>	<b>231</b>
<b>8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>233</b>
<b>ANEXOS</b>	<b>242</b>

**LISTA DE FIGURAS**

<b>Figura 1:</b> Estruturas dos alcalóides Vimblastina e Vincristina	3
<b>Figura 2:</b> Iridoides nas subfamílias de Rubiaceae	7
<b>Figura 3:</b> Substâncias isoladas do gênero <i>Simira</i> .	12
<b>Figura 4:</b> <i>Simira sampaioana</i>	19
<b>Figura 5:</b> <i>Simira walteri</i>	21
<b>Figura 6:</b> Esquema da redução do MTT a formazan pela succinato desidrogenase mitocondrial	57
<b>Figura 7:</b> Substâncias identificadas de <i>Simira sampaioana</i>	60
<b>Figura 8:</b> Espectro de massas de <b>SV-1</b>	65
<b>Figura 9:</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz) em CDCl <sub>3</sub> de <b>SV-1</b>	66
<b>Figura 10:</b> Ampliação da região de $\delta_H$ 7.4 – $\delta_H$ 8.9 do espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz) em CDCl <sub>3</sub> de <b>SV-1</b>	67
<b>Figura 11:</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C DEPT Q (125 MHz) em CDCl <sub>3</sub> de <b>SV-1</b>	68
<b>Figura 12:</b> Espectro de correlação homonuclear <sup>1</sup> H- <sup>1</sup> H-COSY em CDCl <sub>3</sub> de <b>SV-1</b>	69
<b>Figura 13:</b> Ampliação do espectro de correlação homonuclear <sup>1</sup> H- <sup>1</sup> H-COSY em CDCl <sub>3</sub> de <b>SV-1</b>	69
<b>Figura 14:</b> Espectro de correlação heteronuclear HSQC em CDCl <sub>3</sub> de <b>SV-1</b>	70
<b>Figura 15:</b> Ampliação do espectro de correlação HSQC em CDCl <sub>3</sub> de <b>SV-1</b>	70
<b>Figura 16:</b> Espectro de correlação heteronuclear HMBC em CDCl <sub>3</sub> de <b>SV-1</b>	71
<b>Figura 17:</b> Ampliação do espectro de correlação HMBC em CDCl <sub>3</sub> de <b>SV-1</b>	71
<b>Figura 18:</b> Cromatograma e espectro de massas da substancia <b>SV-11</b>	75
<b>Figura 19:</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz) em CDCl <sub>3</sub> de <b>SV-11</b>	76
<b>Figura 20:</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C (125 MHz) em CDCl <sub>3</sub> de <b>SV-11</b>	77
<b>Figura 21:</b> Espectro de correlação homonuclear <sup>1</sup> H- <sup>1</sup> H-COSY em CDCl <sub>3</sub> de <b>SV-11</b>	78

<b>Figura 22:</b> Ampliação do espectro de correlação homonuclear $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY em $\text{CDCl}_3$ de <b>SV-11</b>	78
<b>Figura 23:</b> Espectro de correlação heteronuclear HSQC em $\text{CDCl}_3$ de <b>SV-11</b>	79
<b>Figura 24:</b> Ampliação do espectro de correlação heteronuclear HSQC em $\text{CDCl}_3$ de <b>SV-11</b>	79
<b>Figura 25:</b> Espectro de correlação heteronuclear HMBC em $\text{CDCl}_3$ de <b>SV-11</b>	80
<b>Figura 26:</b> Ampliação do espectro de correlação heteronuclear HMBC em $\text{CDCl}_3$ de <b>SV-11</b>	80
<b>Figura 27:</b> Espectro de HRESI-MS de <b>SV-20</b>	84
<b>Figura 28:</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz) em MeOD de <b>SV-20</b>	85
<b>Figura 29:</b> Ampliação da região de $\delta_{\text{H}}$ 7.0 – $\delta_{\text{H}}$ 8.7 do espectro de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz) em MeOD de <b>SV-20</b>	86
<b>Figura 30:</b> Ampliação da região de $\delta_{\text{H}}$ 3.0 – $\delta_{\text{H}}$ 5.5 do espectro de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz) em MeOD de <b>SV-20</b>	87
<b>Figura 31:</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ DEPT Q (125 MHz) em MeOD de <b>SV-20</b>	88
<b>Figura 32:</b> Espectro de correlação homonuclear $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ COSY em MeOD de <b>SV-20</b>	89
<b>Figura 33:</b> Ampliação do espectro de correlação homonuclear $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY em MeOD de <b>SV-20</b>	89
<b>Figura 34:</b> Espectro de correlação heteronuclear HSQC em MeOD de <b>SV-20</b>	90
<b>Figura 35:</b> Ampliação do espectro de correlação heteronuclear de HSQC em MeOD de <b>SV-20</b>	90
<b>Figura 36:</b> Espectro de correlação heteronuclear HMBC em MeOD de <b>SV-20</b>	91
<b>Figura 37:</b> Ampliação espectro de correlação heteronuclear HMBC em MeOD de <b>SV-20</b>	91
<b>Figura 38:</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz) em MeOD de <b>SV-37</b>	95
<b>Figura 39:</b> Ampliação da região $\delta_{\text{H}}$ 7.0 - $\delta_{\text{H}}$ 8.8 do espectro de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz) em MeOD de <b>SV-37</b>	96

<b>Figura 40:</b> Ampliação da região $\delta_H$ 3.9 - $\delta_H$ 6.1 do espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz) em MeOD de <b>SV-37</b>	96
<b>Figura 41:</b> Ampliação da região $\delta_H$ 2.8 - $\delta_H$ 3.8 do espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz) em MeOD de <b>SV-37</b>	97
<b>Figura 42:</b> Ampliação da região $\delta_H$ 3.9 - $\delta_H$ 6.1 do espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz) em MeOD de <b>SV-37</b>	97
<b>Figura 43:</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C DEPT Q (125 MHz) em MeOD de <b>SV-37</b>	98
<b>Figura 44:</b> Espectro de correlação homonuclear <sup>1</sup> H- <sup>1</sup> H-COSY em MeOD de <b>SV-37</b>	99
<b>Figura 45:</b> Ampliação do espectro de correlação homonuclear <sup>1</sup> H- <sup>1</sup> H-COSY em MeOD de <b>SV-37</b>	99
<b>Figura 46:</b> Espectro de correlação heteronuclear HSQC em MeOD de <b>SV-37</b>	100
<b>Figura 47:</b> Ampliação do espectro de correlação heteronuclear HSQC em MeOD de <b>SV-37</b>	100
<b>Figura 48:</b> Espectro de correlação heteronuclear HMBC em MeOD de <b>SV-37</b>	101
<b>Figura 49:</b> Ampliação do espectro heteronuclear HMBC em MeOD de <b>SV-37</b>	101
<b>Figura 50:</b> Espectro de correlação homonuclear <sup>1</sup> H- <sup>1</sup> H-NOESY em MeOD de <b>SV-37</b>	102
<b>Figura 51:</b> Espectro de massas de <b>SV-21</b>	106
<b>Figura 52:</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz) em CDCl <sub>3</sub> de <b>SV-21</b>	107
<b>Figura 53:</b> Ampliação da região de $\delta_H$ 5,7 - $\delta_H$ 7,5 do espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz) em CDCl <sub>3</sub> de <b>SV-21</b>	108
<b>Figura 54:</b> Ampliação da região de $\delta_H$ 3,4 - $\delta_H$ 5,4 do espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz) em CDCl <sub>3</sub> de <b>SV-21</b>	109
<b>Figura 55:</b> Ampliação da região de $\delta_H$ 0,7 - $\delta_H$ 2,8 do espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz) em CDCl <sub>3</sub> de <b>SV-21</b>	110
<b>Figura 56:</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C DEPT Q (125 MHz) em CDCl <sub>3</sub> de <b>SV 21</b>	111
<b>Figura 57:</b> Espectro de correlação homonuclear <sup>1</sup> H- <sup>1</sup> H-COSY em CDCl <sub>3</sub> de <b>SV-21</b>	112

<b>Figura 58:</b> Espectro de correlação heteronuclear HSQC em CDCl <sub>3</sub> de <b>SV-21</b>	113
<b>Figura 59:</b> Ampliação do espectro de correlação heteronuclear HSQC em CDCl <sub>3</sub> de <b>SV-21</b>	113
<b>Figura 60:</b> Espectro de correlação heteronuclear HMBC em CDCl <sub>3</sub> de <b>SV-21</b>	114
<b>Figura 61:</b> Ampliação do espectro de correlação heteronuclear HMBC em CDCl <sub>3</sub> de <b>SV-21</b>	116
<b>Figura 62:</b> Espectro de HRESI-MS da <b>SV-24</b>	118
<b>Figura 63:</b> Espectro na região do infravermelho de <b>SV-24</b>	119
<b>Figura 64:</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz) em CDCl <sub>3</sub> de <b>SV-24</b>	120
<b>Figura 65:</b> Ampliação da região de $\delta_{\text{H}}$ 1.0 - $\delta_{\text{H}}$ 3.5 do espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz) em CDCl <sub>3</sub> de <b>SV-24</b>	121
<b>Figura 66:</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C DEPT Q (125 MHz) em CDCl <sub>3</sub> de <b>SV-24</b>	122
<b>Figura 67:</b> Espectro de correlação homonuclear <sup>1</sup> H- <sup>1</sup> H-COSY em CDCl <sub>3</sub> de <b>SV-24</b>	123
<b>Figura 68:</b> Espectro de correlação heteronuclear HSQC em CDCl <sub>3</sub> de <b>SV-24</b>	125
<b>Figura 69:</b> Ampliação do espectro de correlação heteronuclear HSQC em CDCl <sub>3</sub> de <b>SV-24</b>	124
<b>Figura 70:</b> Espectro de correlação heteronuclear HMBC em CDCl <sub>3</sub> de <b>SV-24</b>	124
<b>Figura 71:</b> Ampliação do espectro de correlação HMBC em CDCl <sub>3</sub> de <b>SV-24</b>	125
<b>Figura 72:</b> Espectro de correlação homonuclear <sup>1</sup> H- <sup>1</sup> H-NOESY em CDCl <sub>3</sub> de <b>SV-24</b>	125
<b>Figura 73:</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz) em CDCl <sub>3</sub> de <b>SV-25</b>	129
<b>Figura 74:</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C DEPT Q (125 MHz) em CDCl <sub>3</sub> de <b>SV-25</b>	130
<b>Figura 75:</b> Cromatograma e Espectro de massas de <b>SV-25</b>	131
<b>Figura 76:</b> Espectros de massas de <b>SV-26</b>	136
<b>Figura 77:</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz) em CDCl <sub>3</sub> de <b>SV-26</b>	138

<b>Figura 78:</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C DEPT Q (125 MHz) em CDCl <sub>3</sub> de <b>SV-26</b>	139
<b>Figura 79:</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz) em CDCl <sub>3</sub> de <b>SV-27</b>	142
<b>Figura 80:</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C DEPT Q (125 MHz) em CDCl <sub>3</sub> de <b>SV-27</b>	143
<b>Figura 81:</b> Espectros de massas de <b>SV-27</b>	144
<b>Figura 82:</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz) em CDCl <sub>3</sub> de <b>SV-28</b>	148
<b>Figura 83:</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C DEPT Q (125 MHz) em CDCl <sub>3</sub> de <b>SV-28</b>	149
<b>Figura 84:</b> Cromatograma e espectros de massas de <b>SV-28</b>	150
<b>Figura 85:</b> Substancias isoladas de <i>Simira walteri</i>	152
<b>Figura 86:</b> Espectro de massas de <b>SV-86</b>	157
<b>Figura 87:</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz) em CDCl <sub>3</sub> de <b>SV-86</b>	158
<b>Figura 88:</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C DEPT Q (125 MHz) em CDCl <sub>3</sub> de <b>SV-86</b>	159
<b>Figura 89:</b> Espectro de correlação homonuclear <sup>1</sup> H- <sup>1</sup> H-COSY em CDCl <sub>3</sub> de <b>SV-86</b>	160
<b>Figura 90:</b> Espectro de correlação heteronuclear HSQC em CDCl <sub>3</sub> de <b>SV-86</b>	160
<b>Figura 91:</b> Espectro de correlação heteronuclear HMBC em CDCl <sub>3</sub> de <b>SV-86</b>	161
<b>Figura 92:</b> Ampliação do espectro de correlação heteronuclear HMBC em CDCl <sub>3</sub> de <b>SV-86</b>	161
<b>Figura 93:</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz) em CDCl <sub>3</sub> de <b>SV-83</b>	165
<b>Figura 94:</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C DEPT Q (125 MHz) em CDCl <sub>3</sub> de <b>SV-83</b>	166
<b>Figura 95:</b> Espectro de correlação homonuclear <sup>1</sup> H- <sup>1</sup> H-COSY em CDCl <sub>3</sub> de <b>SV-83</b>	167
<b>Figura 96:</b> Espectro de correlação heteronuclear HSQC em CDCl <sub>3</sub> de <b>SV-83</b>	167
<b>Figura 97:</b> Espectro de correlação heteronuclear HMBC em CDCl <sub>3</sub> de <b>SV-83</b>	168
<b>Figura 98:</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz) em C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N de <b>SV-84</b>	171

<b>Figura 99:</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C DEPT Q (125 MHz) em C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N de <b>SV-84</b>	172
<b>Figura 100:</b> Substancias isoladas de <i>Simira pikia</i>	173
<b>Figura 101:</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz) em MeOD de <b>SV-67</b>	177
<b>Figura 102:</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C DEPT Q (125 MHz) em MeOD de <b>SV-67</b>	178
<b>Figura 103:</b> Espectro de correlação homonuclear <sup>1</sup> H - <sup>1</sup> H-COSY em MeOD de <b>SV-67</b>	179
<b>Figura 104:</b> Espectro de correlação heteronuclear HSQC em MeOD de <b>SV-67</b>	179
<b>Figura 105:</b> Ampliação do espectro de correlação heteronuclear HSQC em MeOD de <b>SV-67</b>	180
<b>Figura 106:</b> Espectro de correlação heteronuclear HMBC em MeOD de <b>SV-67</b>	180
<b>Figura 107:</b> Ampliação do espectro de correlação heteronuclear HMBC em MeOD de <b>SV-67</b>	181
<b>Figura 108:</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz) em MeOD de <b>SV-74</b>	185
<b>Figura 109:</b> Ampliação da região $\delta_{\text{H}}$ 6,4- $\delta_{\text{H}}$ 8,6 do espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz) em MeOD de <b>SV-74</b>	186
<b>Figura 110:</b> Ampliação da região $\delta_{\text{H}}$ 4.4 - $\delta_{\text{H}}$ 6.6 do espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz) em MeOD de <b>SV-74</b>	187
<b>Figura 111:</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C DEPT Q (125 MHz) em MeOD de <b>SV-74</b>	188
<b>Figura 112:</b> Espectro de correlação homonuclear <sup>1</sup> H- <sup>1</sup> H-COSY em MeOD de <b>SV-74</b>	189
<b>Figura 113:</b> Espectro de correlação heteronuclear HSQC em MeOD de <b>SV-74</b>	189
<b>Figura 114:</b> Espectro de correlação heteronuclear HMBC em MeOD de <b>SV-74</b>	190
<b>Figura 115:</b> Cromatograma e espectro de massas de <b>SV- 88</b>	195
<b>Figura 116:</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz) em CDCl <sub>3</sub> de <b>SV-88</b>	197
<b>Figura 117:</b> Ampliação da região $\delta_{\text{H}}$ 6,1- $\delta_{\text{H}}$ 8,4 do espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz) em CDCl <sub>3</sub> de <b>SV-88</b>	198

<b>Figura 118:</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ DEPT Q (125 MHz) em $\text{CDCl}_3$ de <b>SV-88</b>	199
<b>Figura 119:</b> Ampliação da região $\delta_{\text{C}}$ 5.0 - $\delta_{\text{C}}$ 65.0 do espectro de RMN $^{13}\text{C}$ DEPT Q (125 MHz) em $\text{CDCl}_3$ de <b>SV-88</b>	200
<b>Figura 120:</b> Espectro de correlação homonuclear $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY em $\text{CDCl}_3$ de <b>SV-88</b>	201
<b>Figura 121:</b> Espectro de correlação heteronuclear HSQC em $\text{CDCl}_3$ de <b>SV-88</b>	201
<b>Figura 122:</b> Ampliação do espectro de correlação heteronuclear HSQC em $\text{CDCl}_3$ de <b>SV-88</b>	202
<b>Figura 123:</b> Espectro de correlação heteronuclear HMBC em $\text{CDCl}_3$ de <b>SV-88</b>	202
<b>Figura 124:</b> Ampliação do espectro de correlação heteronuclear HMBC em $\text{CDCl}_3$ de <b>SV-88</b>	203
<b>Figura 125:</b> Espectro de correlação homonuclear $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -NOESY em $\text{CDCl}_3$ de <b>SV-88</b>	203
<b>Figura 126:</b> Cromatograma e espectro de massas para <b>SV-94</b>	206
<b>Figura 127:</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz) em $\text{CDCl}_3$ de <b>SV-94</b>	207
<b>Figura 128:</b> Ampliação da região $\delta_{\text{H}}$ 6.0 - $\delta_{\text{H}}$ 8.5 do espectro de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz) em $\text{CDCl}_3$ de <b>SV-94</b>	208
<b>Figura 129:</b> Ampliação da região $\delta_{\text{H}}$ 1.5 - $\delta_{\text{H}}$ 3.8 do espectro de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz) em $\text{CDCl}_3$ de <b>SV-94</b>	209
<b>Figura 130:</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ DEPT Q (125 MHz) em $\text{CDCl}_3$ de <b>SV-94</b>	210
<b>Figura 131:</b> Espectro de correlação homonuclear $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ COSY em $\text{CDCl}_3$ de <b>SV-94</b>	211
<b>Figura 132:</b> Espectro de correlação heteronuclear HSQC em $\text{CDCl}_3$ de <b>SV-94</b>	211
<b>Figura 133:</b> Espectro de correlação heteronuclear HMBC em $\text{CDCl}_3$ de <b>SV-94</b>	212
<b>Figura 134:</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz) em $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ de <b>SV-100</b>	215
<b>Figura 135:</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ DEPT Q (125 MHz) em $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ de <b>SV-100</b>	216



<b>Figura 136:</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz) em MeOD de <b>SV-103</b>	220
<b>Figura 137:</b> Ampliação da região de $\delta_{\text{H}}$ 4.1 – $\delta_{\text{H}}$ 5.7 do espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz) em MeOD de <b>SV-103</b>	221
<b>Figura 138:</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C DEPT Q (125 MHz) em MeOD de <b>SV-103</b>	222
<b>Figura 139:</b> Espectro de correlação homonuclear <sup>1</sup> H - <sup>1</sup> H-COSY em MeOD de <b>SV-103</b>	223
<b>Figura 140:</b> Ampliação do espectro <sup>1</sup> H - <sup>1</sup> H-COSY em MeOD de <b>SV-103</b>	223
<b>Figura 141:</b> Espectro de correlação heteronuclear HSQC em MeOD de <b>SV-103</b>	224
<b>Figura 142:</b> Ampliação do espectro de correlação heteronuclear HSQC em MeOD de <b>SV-103</b>	224
<b>Figura 143:</b> Espectro de correlação heteronuclear HMBC em MeOD de <b>SV-103</b>	225
<b>Figura 144:</b> Ampliação do espectro de correlação heteronuclear HMBC em MeOD de <b>SV-103</b>	225
<b>Figura 145:</b> Ensaio de inibição do crescimento das leveduras <i>C. tropicalis</i> e <i>C. buinensis</i> na ausência e na presença do extrato bruto metanólico da madeira de <i>S. pikia</i> e <i>S. Walteri</i> .	229
<b>Figura 146:</b> Ensaio de inibição do crescimento da levedura <i>C. tropicalis</i> , <i>C. buinensis</i> na ausência; na presença do extrato bruto <i>S. pikia</i> ; na presença do extrato bruto <i>S. walteri</i> .	230

**LISTA DE TABELAS**

<b>Tabela 1:</b> Substâncias isoladas do gênero <i>Simira</i>	10
<b>Tabela 2:</b> Quantidade dos extratos obtidos	25
<b>Tabela 3:</b> Massa das frações obtidas da partição do extrato metanólico da madeira de <i>S. sampaioana</i> .	26
<b>Tabela 4:</b> Massas das frações obtidas na extração ácido-base	27
<b>Tabela 5:</b> Estudo cromatográfico das frações obtidas da fração SIC	28
<b>Tabela 6:</b> Estudo cromatográfico das frações obtidas da fração SIB	31
<b>Tabela 7:</b> Estudo cromatográfico das frações obtidas da fração SSFC	32
<b>Tabela 8:</b> Estudo cromatográfico das frações obtidas do extrato SFM	34
<b>Tabela 9:</b> Estudo cromatográfico das frações obtidas do extrato SHM	35
<b>Tabela 10:</b> Estudo cromatográfico das frações obtidas do extrato SWM	40
<b>Tabela 11:</b> Estudo cromatográfico das frações obtidas de SWM-5	41
<b>Tabela 12:</b> Estudo cromatográfico das frações obtidas do extrato SPM	44
<b>Tabela 13:</b> Massa das Frações obtidas da Partição do extrato metanolico da madeira de <i>S. pikia</i> .	45
<b>Tabela 14:</b> Estudo cromatográfico das frações obtidas da fração SPC	48
<b>Tabela 15:</b> Estudo cromatográfico das frações obtidas da fração SPC	50
<b>Tabela 16:</b> Estudo cromatográfico das frações obtidas da fração SPFA	53
<b>Tabela 17:</b> Dados de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz) e <sup>13</sup> C (125 MHz) em CDCl <sub>3</sub> e as correlações observadas no espectro de HMQC e HMBC da substancia <b>SV-1</b> e comparação com valores de literatura para os modelos <b>Mo-1</b> (HASBUN et al,1989).	64

<b>Tabela 18:</b> Dados de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz) e $^{13}\text{C}$ (125 MHz) em $\text{CDCl}_3$ e as correlações observadas no espectro de HMQC e HMBC da substancia <b>SV-11</b> e comparação com valores de literatura para o modelo <b>Mo-1</b> (SEKI,1993).	74
<b>Tabela 19:</b> Dados de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz) e $^{13}\text{C}$ (125 MHz) em MeOD e as correlações observadas nos espectro de HMQC e HMBC da substancia <b>SV-20</b> e comparação com os dados de <b>SV-1</b> e valores da literatura para o modelo <b>Mo-1</b> (HASBUN et al,1989).	83
<b>Tabela 20.</b> Dados de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz) e $^{13}\text{C}$ (125 MHz) em MeOD da substancias <b>SV-37a</b> e <b>SV-37b</b> , e comparação com dados de $^{13}\text{C}$ do <b>SV-20</b> e valores da literatura para o modelo e <b>Mo-1</b> (HASBUN et al,1989).	94
<b>Tabela 21:</b> Dados de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz) e $^{13}\text{C}$ (100 MHz) em $\text{CDCl}_3$ e as correlações observadas no espectro de HMQC e HMBC da substancia SV-21 e comparação com valores da literatura para os modelos <b>Mo-1</b> e <b>Mo-2</b> (ARAUJO et al, 2011b ).	105
<b>Tabela 22:</b> Dados de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz) e $^{13}\text{C}$ (125 MHz) em $\text{CDCl}_3$ e as correlações observadas no espectro de HMQC e HMBC da substancias <b>SV-24</b> , comparação com valores da literatura para os modelos <b>Mo-1</b> e <b>Mo-2</b> (ARAUJO et al, 2011b ).	117
<b>Tabela 23:</b> Dados de RMN $^{13}\text{C}$ (125 MHz) em $\text{CDCl}_3$ e as correlações observadas no espectro de HMQC e HMBC da mistura <b>SV-25</b> e a comparação com valores da literatura para os modelos <b>Mo-1</b> (CORREIA et al, 2003), <b>Mo-2</b> (GRECA et al, 1990) e <b>Mo-3</b> (FERREIRA, 2014).	128
<b>Tabela 24:</b> Dados de RMN $^{13}\text{C}$ (100 MHz) em $\text{CDCl}_3$ da mistura <b>SV-26</b> e comparação com valores da literatura para os modelos de <b>Mo-1</b> e <b>Mo-2</b> (150 MHz) e $\text{CDCl}_3$ (CHATURVEDULA & PRAKASH, 2012).	135

<b>Tabela 25:</b> Dados de RMN $^{13}\text{C}$ (125 MHz) em $\text{CDCl}_3$ da mistura <b>SV-27</b> e comparação com valores da literatura para os modelos <b>Mo-1</b> (FERREIRA, 2014), <b>Mo-2</b> e <b>Mo-3</b> (150 MHz) em $\text{CDCl}_3$ (CHATURVEDULA & PRAKASH, 2012)..	141
<b>Tabela 26:</b> Dados de RMN $^{13}\text{C}$ (100 MHz) em $\text{CDCl}_3$ da mistura <b>SV-28</b> e a comparação com valores da literatura para os modelos <b>Mo-1</b> (FERREIRA, 2014), <b>Mo-2</b> e <b>Mo-3</b> (150 MHz) em $\text{CDCl}_3$ (CHATURVEDULA & PRAKASH., 2012).	147
<b>Tabela 27:</b> Dados de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz) e $^{13}\text{C}$ (100 MHz) em $\text{CDCl}_3$ e as correlações observadas no espectro de HMQC e HMBC da substancia <b>SV-86a</b> , e comparação com valores da literatura para o modelo <b>Mo-1</b> (MACRAE & TOWERS, 1985).	155
<b>Tabela 28:</b> Dados de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz) e $^{13}\text{C}$ (125 MHz) em $\text{CDCl}_3$ da mistura <b>SV-83</b> e as correlações observadas no espectro de HMQC e HMBC para <b>SV-83a</b> , e comparação com valores da literatura pra o modelo <b>Mo-1</b> (BADERSCHNEIDER & WINTERHALTER, 2001)..	164
<b>Tabela 29:</b> Dados de RMN $^{13}\text{C}$ (125 MHz) em piridina- $d_5$ da substancia <b>SV-84</b> e comparação com valores de literatura para os modelos <b>Mo-1</b> (MACARI et al., 1990) e <b>Mo-2</b> (CHATURVEDULA & PRAKASH, 2012).	170
<b>Tabela 30:</b> Dados de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz) e $^{13}\text{C}$ (125 MHz) em MeOD e as correlações observadas no espectro de HMQC e HMBC da substancia <b>SV-67</b> , e a comparação com valores de literatura para o modelo <b>Mo-1</b> (ZHANG et al, 1997).	176
<b>Tabela 31:</b> Dados de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz) e $^{13}\text{C}$ (125 MHz) em MeOD e as correlações observadas no espectro de HMQC e HMBC de <b>SV-74</b> , e comparação com valores da literatura para os modelos <b>Mo-1</b> e <b>Mo-2</b> (AIMI et al, 1985).	184

<b>Tabela 32:</b> Dados de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz) e $^{13}\text{C}$ (125 MHz) em $\text{CDCl}_3$ e as correlações observadas no espectro de HMQC e HMBC da substancia <b>SV-88a</b> e comparação com valores da literatura para o modelo <b>Mo-1</b> (BRANDT et al,2001).	193
<b>Tabela 33:</b> Dados de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz) e $^{13}\text{C}$ (125 MHz) em $\text{CDCl}_3$ da substancia <b>SV-88b</b> e comparação com os dados de <b>SV-88a</b> e valores da literatura para o modelo <b>Mo-1</b> (BRANDT et al,2001).	194
<b>Tabela 34:</b> Dados de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz) e $^{13}\text{C}$ (125 MHz) em $\text{CDCl}_3$ e as correlações observadas no espectro de HMQC e HMBC da substancia <b>SV-94</b> , e a comparação com valores da literatura para o modelo <b>Mo-1</b> (BRANDT et al,2001).	205
<b>Tabela 35:</b> Dados de RMN $^{13}\text{C}$ (125 MHz) em piridina- $d_5$ da substancia <b>SV-100</b> e a comparação com os dados de <b>SV-84</b> , e valores da literatura para os modelos <b>Mo-1</b> (MACARI et al,1990) e <b>Mo-2</b> (CHATURVEDULA & PRAKASH, 2012).	214
<b>Tabela 36:</b> Dados de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz) e $^{13}\text{C}$ (125 MHz) em MeOD e as correlações observadas no espectro de HMQC e HMBC de <b>SV-103Ac</b> e a comparação com valores da literatura para os modelos <b>Mo-1</b> (BREITMEIR, 1987) e <b>Mo-2</b> (POUCHERT e BEHNKE, 1993).	219
<b>Tabela 37:</b> Resultados de $\text{IC}_{50}$ dos alcalóides <b>SV-40</b> e <b>SV-74</b>	227

**LISTA DE FLUXOGRAMAS**

<b>Fluxograma 1:</b> Partição do extrato metanólico da madeira de <i>S. sampaioana</i>	26
<b>Fluxograma 2:</b> Frações obtidas na extração ácido-base	27
<b>Fluxograma 3:</b> Análise Cromatográfica da fração SIC-4	29
<b>Fluxograma 4:</b> Análise Cromatográfica da fração SIC-5	30
<b>Fluxograma 5:</b> Análise Cromatográfica da fração SIB-2	31
<b>Fluxograma 6:</b> Análise Cromatográfica da fração SSFC-3	33
<b>Fluxograma 7:</b> Análise Cromatográfica da fração SFM-11	34
<b>Fluxograma 8:</b> Análise Cromatográfica da fração SHM-5	36
<b>Fluxograma 9:</b> Análise Cromatográfica da fração SHM-7	37
<b>Fluxograma 10:</b> Análise Cromatográfica da fração SHM-8	38
<b>Fluxograma 11:</b> Análise Cromatográfica da fração SHM-9	39
<b>Fluxograma 12:</b> Análise Cromatográfica da fração SWM-5	42
<b>Fluxograma 13:</b> Análise Cromatográfica da fração SWM-6	43
<b>Fluxograma 14:</b> Partição do extrato metanolico da madeira de <i>S. pikia</i>	45
<b>Fluxograma 15:</b> Análise Cromatográfica da fração SPM-4	46
<b>Fluxograma 16:</b> Análise Cromatográfica da fração SPM-11	47
<b>Fluxograma 17:</b> Análise Cromatográfica da fração SPC-7	49
<b>Fluxograma 18:</b> Análise Cromatográfica da fração SPA-8	51
<b>Fluxograma 19:</b> Análise Cromatográfica da fração SPA-9	52
<b>Fluxograma 20:</b> Análise Cromatográfica da fração SPFA-1	54

## LISTA DE ESQUEMAS

<b>Esquema 1:</b> Proposta mecanística de fragmentação para <b>SV-1</b>	65
<b>Esquema 2:</b> Proposta mecanística de fragmentação para <b>SV-11</b>	75
<b>Esquema 3:</b> Proposta mecanística de fragmentação para <b>SV-20</b>	84
<b>Esquema 4:</b> Proposta mecanística de fragmentação para <b>SV-21</b>	106
<b>Esquema 5:</b> Propostas mecanística de fragmentação para <b>SV-24</b>	118
<b>Esquema 6:</b> Proposta mecanística de fragmentação para <b>SV-25</b>	132
<b>Esquema 7:</b> Proposta mecanística de fragmentação para <b>SV-26</b>	137
<b>Esquema 8:</b> Proposta mecanística de fragmentação para <b>SV-27</b>	145
<b>Esquema 9:</b> Proposta mecanística de fragmentação para <b>SV-28</b>	151
<b>Esquema 10:</b> Proposta mecanística de fragmentação para <b>SV-86</b>	157
<b>Esquema 11:</b> Proposta mecanística de fragmentação para <b>SV-88</b>	196
<b>Esquema 12:</b> Proposta mecanística de fragmentação para <b>SV-94</b>	206

## LISTA DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1:</b> Efeito citotóxico do alcaloide <b>SV-74</b>	226
<b>Gráfico 2:</b> Efeito citotóxico do alcaloide <b>SV-40</b>	227

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

CC	Cromatografia em Coluna
CCDA	Cromatografia em Camada Delgada Analítica
CCDP	Cromatografia em Camada Delgada em escala Preparativa
CG/EM	Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrômetro de Massas
COSY	Correlation Spectroscopy
$\delta$	Deslocamento químico em parte por milhão
<i>d</i>	Dupleto
<i>dd</i>	Duplo dupleto
<i>dl</i>	Dupleto largo
<i>dt</i>	Duplo tripleto
DEPT Q	Distortionless Enhancement Polarization Transfer
DMSO	Dimetilsulfóxido
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazil
EM	Espectro de Massa
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Connectivity
HMQC	Heteronuclear Multiple Quantum Coherence
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence
HRESI-MS	High Resolution Electrospray Ionization Mass Spectrometry
Hz	Hertz
IV	Infravermelho
<i>J</i>	Constante de acoplamento medida em Hertz
<i>m</i>	Multiplete
MHz	Megahertz
MS	Mass Spectrometry
<i>m/z</i>	Relação massa/carga
NOESY	Nuclear Overhauser Effect Correlation Spectroscopy
Rf	Fator de Retenção
RMN <sup>1</sup> H	Ressonância Magnética Nuclear de hidrogênio
RMN <sup>13</sup> C	Ressonância Magnética Nuclear de carbono 13
<i>s</i>	Sinal simples
<i>sl</i>	Sinal simples largo
<i>t</i>	Tripleto



$t_l$	Tripleto largo
$t_R$	Tempo de retenção

## ABSTRACT

The Rubiaceae family has many pharmaceutically important plants. The species *Simira sampaioana*, *Simira walteri* and *Simira pikia* belong to this family and are found in the Southeast, two of which occur only in the of Rio de Janeiro State. Phytochemicals previous studies of this species showed the presence of indole alkaloids and terpenoids. In the present study, we investigated the chemical constituents present in specimens collected in Espirito Santo and Rio de Janeiro States, Brazil. A new diterpene eritroxileno, 11 $\beta$ , 12 $\alpha$ -dihydroxy-2,4 (18), 15-eritroxilatrien-1-one, named Angelocunhol (**SV-24**) was identified along other 24 compounds already known: the alkaloids maxonine (**SV -1**), isomalindine (**SV-20**), malindine (**SV-37a**), *N*-feruloyl serotonin (**SV-67**), akagerine (**SV-88a**) and (**SV-88b**), ofiorine (**SV-74**) and the harman (**SV-11**), corroborating the proposition of this alkaloid as taxonomic marker of genus; the diterpene simirano B (**SV-21**); steroids sitost-4-en-6-ol-3-one (**SV-25a**), estigmast-4,22-dien-6-ol-3-one (**SV-25b**), campest-4-en-6-ol-3-one (**SV-25c**),  $\beta$ -sitosterol (**SV-26a**), stigmasterol (**SV-26b**), sitost-4-en-3-one (**SV-27a**), stigmast-4,22-dien-3-ol (**SV-27b**), stigmast-4,22-dien-3-one (**SV-28b**), campest-4-en-3-one (**SV-28c**), *O*- $\beta$ -D-glycopiranosylsitosterol (**SV-84**); the siringaresinol lignans (**SV-86a**) and (**SV-86b**); the phenylpropanoid 3-hydroxy-1-(4-hydroxy-3-methoxy-phenyl)-propan-1-one (**SV-83a**) and peracetylsucrose derivative (**SV-103**). In addition, evaluations of biological activity of extracts and isolated compounds were performed. Being the best results obtained for the methanolic extracts of the woods *S. pikia* and *S. walteri*, with 98% inhibition of growth of yeast of genus *Candida*.

## RESUMO

A família Rubiaceae tem muitas plantas farmacologicamente importantes. As espécies *Simira sampaioana*, *Simira walteri* e *Simira pikia* pertencem a esta família e são encontradas na região sudeste, sendo que duas delas ocorrem somente no estado do Rio de Janeiro. Estudos fitoquímicos anteriores desta espécie mostraram a presença de alcaloides indólicos e terpenoides. No presente estudo, investigamos os constituintes químicos presentes em espécimes coletados nos Estados do Espírito Santo e Rio de Janeiro, Brasil. Um novo diterpeno eritroxileno, 11 $\beta$ ,12 $\alpha$ -dihidroxi-2,4(18),15-eritroxilatrien-1-ona, denominado Angelocunhol (**SV-24**) foi identificado, juntamente com outras 24 substâncias já conhecidas: os alcaloides maxonina (**SV-1**), isomalindina (**SV-20**), malindina (**SV-37a**), *N*-feruloilserotonina (**SV-67**), akagerina (**SV-88a**) e (**SV-88b**), ofiorina (**SV-74**) o alcaloide harmana (**SV-11**), corroborando para a proposição deste alcaloide como marcador taxonômico do gênero; o diterpeno simirano B (**SV-21**), os esteroides sitost-4-en-6-ol-3-ona (**SV-25a**), estigmast-4,22-dien-6-ol-3-ona (**SV-25b**), campest-4-en-6-ol-3-ona (**SV-25c**),  $\beta$ -sitosterol (**SV-26a**), estigmasterol (**SV-26b**) sitost-4-en-3-ona (**SV-27a**) estigmast-4,22-dien-3-ol (**SV-27b**), estigmast-4,22-dien-3-ona (**SV-28b**), campest-4-en-3-ona (**SV-28c**), O- $\beta$ -D-glicopiranosil-sitosterol (**SV-84**), as lignanas siringaresinol (**SV-86a**) e (**SV-86b**), o fenilpropanoide 3-hidroxi-1-(4-hidroxi-3-metoxi-fenil)-propan-1-ona (**SV-83a**) e o derivado peracetilsucrose (**SV-103**). Além disso, foram realizadas avaliações de atividades biológicas dos extratos e substâncias isoladas. Sendo os melhores resultados obtidos para os extratos metanólicos das madeiras de *S. pikia* e *S. walteri*, apresentando inibição de 98% do crescimento de leveduras do gênero *Candida*.

## 1. INTRODUÇÃO

O conhecimento sobre as plantas sempre tem acompanhado a evolução do homem através dos tempos (CUNHA, 2005). Citações a respeito da utilização de plantas medicinais são encontradas em diversos documentos antigos de culturas, como: sumérios, chineses e egípcios (VALLADÃO, 2011). Durante séculos, a população vem utilizando espécies vegetais para vários fins, tais como, alucinógenos, venenos, droga, estimulantes, especiarias, perfumes e pigmentos (DI STASI, 1996).

A necessidade de classificar corretamente os diversos grupos de plantas e suas aplicações sempre foi uma preocupação relevante. Em meio a essa necessidade, e visando o melhor conhecimento das plantas em geral, os taxonomistas utilizaram parâmetros diversos para a classificação das espécies. Assim, na função genômica dos organismos vivos, o fenótipo pode ser definido pelas características morfológicas, pelas medições fisiológicas e pelas análises bioquímica (proteômicas) e química (metabolômicas) (BRAZ- FILHO, 2010).

Nos últimos anos verificou-se um crescimento envolvendo a caracterização química de fenótipo. As características químicas como a presença ou ausência de pigmentos e a ocorrência de cristais de natureza orgânica e inorgânica foram e ainda são usados como critério na identificação de várias famílias (VALLADÃO, 2011).

Tal caracterização química pode ser realizada através de análise de macromoléculas (e.g. proteômicas e caracterização de polissacarídeos e ligninas) e de moléculas (micromoléculas) de baixo peso molecular (o metaboloma). O metaboloma consiste de dois tipos de substâncias, os metabólitos primários e os secundários. O metabolismo primário fornece as substâncias envolvidas nas funções básicas essenciais da vida celular – respiração e biossíntese de aminoácidos e outras substâncias necessárias para a vida da célula, basicamente, todos os organismos convivem com os mesmos tipos de metabólitos primários. Os metabólitos secundários são específicos das espécies e participam das interações intra- e intercelular do próprio organismo ou com células de outros organismos (BRAZ -FILHO, 2010).

Os metabólitos secundários compõem substâncias que possuem estruturas químicas e propriedades biológicas diversas, desempenhando um papel

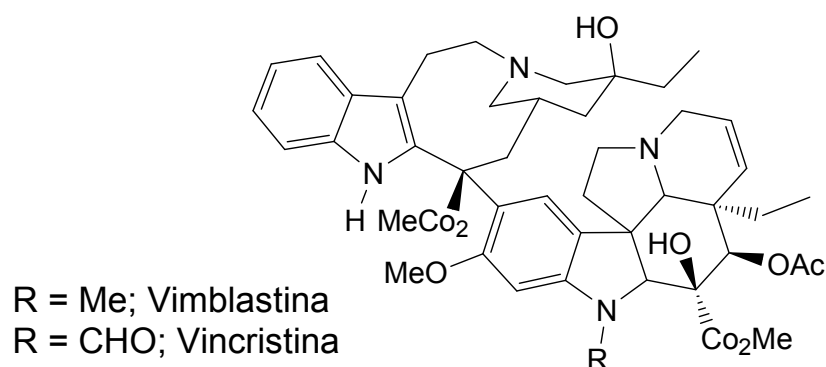
importante na adaptação das plantas aos seus ambientes como defesa contra microrganismos e parasitas (SILVA et al, 2010) proteção da radiação solar e proteção contra herbívoros (GRANATO et al, 2013).

A química de produtos naturais (QPN) de vegetais – fitoquímica, como é aceita atualmente, se dedica principalmente à caracterização estrutural, avaliação de propriedades e investigações biossintéticas de substâncias naturais produzidas pelo metabolismo secundário de organismos vivos (TORSSELL, 1997; BRAZ- FILHO, 2010).

Dentro deste contexto, o termo fitoquímica abrange o levantamento e o estudo de componentes químicos de vegetais representando importância fundamental para o desenvolvimento científico da própria química de produtos naturais e contribuem para o avanço de outras atividades científicas de outras áreas do conhecimento: biologia molecular, botânica ecológica, sistemática e evolutiva, farmacologia, biotecnologia, química orgânica (novos modelos para síntese, novas reações), medicina (descoberta de novos medicamentos), agricultura (defensivos agrícolas) e veterinária (medicamentos para outros animais) (ASSUNÇÃO, 2010; BRAZ- FILHO, 2010).

O estudo fitoquímico, dentre outras funções, possibilita a validação de plantas medicinais consagradas pela medicina popular, contribui para a determinação de alvos biológicos de importância farmacológica e contribui para o esclarecimento de rotas biossintéticas de diversos constituintes, com a finalidade de aperfeiçoar a produção de metabólitos secundários de interesse industrial. Além de fornecer novos compostos com atividade biológica ou protótipos para novos fármacos (YUNES, 2001; BOLZANI et al, 2001 ; VALLADÃO, 2011).

Dessa forma, alguns potentes fármacos foram descobertos, e muitos deles ainda são usados na terapêutica atual. Como exemplo, os alcaloides vincristina e vimblastina (Figura 1), isolados da espécie *Catharanthus roseus*, e que destacam-se como dois dos mais importantes agentes quimioterapêuticos de uso clínico corrente contra o câncer (CRAGG,2005; BRAZ- FILHO, 2010).



**Figura 1:** Estruturas dos alcaloides Vinblastina e Vincristina

As plantas superiores constituem uma das fontes mais importantes de substâncias utilizadas diretamente como agentes medicinais. Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) cerca de 80% da população de países em desenvolvimento faz uso de práticas tradicionais como primeiro recurso na atenção à saúde, sendo que destes, 85% fazem uso de plantas medicinais (ROSA et al., 2011) e a taxa de crescimento é de 7% ao ano. Outro dado importante é que 25% dos fármacos prescritos são derivados de plantas (ASSUNÇÃO, 2010). No Brasil esta situação se assemelha, sendo o uso de plantas medicinais, muitas vezes, o único recurso terapêutico de inúmeras comunidades e grupos étnicos (GONÇALVES et al, 2011; GRANATO et al, 2013).

Embora, o Brasil detenha um dos maiores estoques da biodiversidade do planeta, a utilização de dados obtidos da prospecção fitoquímica em classificação taxonômica enfrenta grandes problemas. Um deles é que, apesar do aumento das pesquisas, o número de espécies de plantas investigadas quimicamente é muito pequeno, levando à insuficiência de dados disponíveis sobre alguns gêneros ou espécies (VALLADÃO, 2011).

Com relação aos constituintes químicos, a família Rubiaceae apresenta grande diversidade de metabólitos secundários, tais como: iridoídeos, alcaloides indólicos, antraquinonas, flavonoides, outros derivados fenólicos e terpenoides (BOLZANI et al, 2001). Contribuindo com a bioprodução de metabólitos secundários com um grande potencial farmacológico (HEITZMAN, 2005).

Considerando a importância biológica dos metabólitos secundários isolados de espécies da família Rubiaceae, propõe-se neste trabalho, desenvolver um estudo fitoquímico, conduzindo trabalhos de isolamento, purificação e determinação estrutural e avaliação de atividades biológicas de extratos e

substâncias isoladas das espécies vegetais *Simira sampaioana*, *Simira walteri* e *Simira pikia* a fim de contribuir com a quimiotaxonomia do gênero e descoberta de metabólitos bioativos.

## 2. OBJETIVOS

Este trabalho teve como objetivo:

- Isolar e identificar estruturalmente os constituintes químicos do caule e folhas das espécies vegetais *Simira sampaioana*, *S. walteri* e *S. pikia*;
- Realizar testes biológicos, devido ao grande potencial biológico que a família Rubiaceae apresenta, e relato de propriedades tóxicas de outras espécies do gênero.
- Colaborar com a classificação do gênero *Simira* dentro da família Rubiaceae.



### 3. REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1. Família Rubiaceae

A família Rubiaceae inclui aproximadamente 660 gêneros e cerca de 11.150 espécies (ROBBRECHT & MANEN, 2006). Para Verdecourt (1958), a família compreende-se em três subfamílias, Rubioideae, Cinchonoideae e Guettardoideae. Em 1988, Robbrecht, reconheceu quatro subfamílias, Cinchonoideae, Ixoroideae, Rubioideae e Antirrhoideae, com 44 tribos. Em 1999, estudos filogenéticos moleculares, como os de Bremer et al. (1999), reconhecem apenas três subfamílias: Cinchonoideae, Ixoroideae e Rubioideae. Atualmente, Robbrecht & Manen (2006) reconhecem apenas duas subfamílias, Cinchonoideae e Rubioideae, e quatro supertribos.

Ocupando o quarto lugar em diversidade entre as Angiospermas, ficando atrás apenas das famílias, Asteraceae, Orchidaceae e Leguminosae (DELPRETE, 2004), a família apresenta ampla distribuição, principalmente nas regiões tropicais e subtropicais atingindo, também, as regiões temperadas e frias da Europa e Norte do Canadá (JUDD et al, 2007).

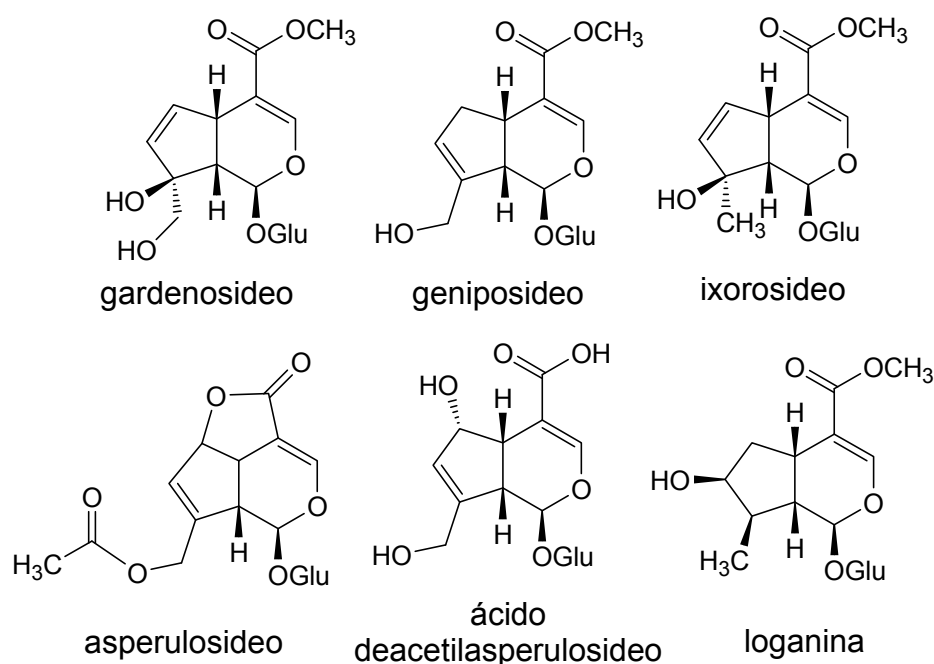
No Brasil, de acordo com os primeiros trabalhos taxonômicos sobre Rubiaceae apresentados na “*Flora Brasiliensis*”, Mueller (1881) e Schumann (1889) relataram 99 gêneros e 1.002 espécies. Atualmente, no Brasil, ocorrem cerca de 130 gêneros e 1.500 espécies, correspondendo a uma das principais famílias de nossa flora, destacando-se como um importante elemento em quase todas as formações naturais (SOUZA, 2005).

Esta vasta família possui uma química pouco variável, mas com potencial farmacológico muito significativo. Dentre essas classes de metabólitos secundários destacam-se os iridoides, as antraquinonas, os triterpenos e os alcaloides indólicos, sendo estes considerados como marcadores quimiotaxonômicos da família (CARDOSO, 2008).

Diversos constituintes químicos como flavonoides e outros derivados fenólicos e terpenoides (diterpenos), também são encontrados nesta família. Na subfamília Ixoroideae, os iridoides apresentam-se como marcadores quimiotaxonômicos, enquanto em Cinchonoideae há a predominância de alcaloides indólicos, em Rubioideae, as antraquinomas são a principal classe de metabólitos secundários encontrados. Entretanto, na subfamília Antirrhoideae

não há registro da ocorrência de nenhum destes marcadores químicos (BOLZANI, 2001).

Embora sejam os marcadores quimiotaxômicos de Ixoroideae, também é observada a ocorrência de iridoides nas demais subfamílias. Porém, segundo estudos de Inouye et al (1988), é possível classificar as subfamílias de Rubiaceae em três grupos, de acordo com a ocorrência de diferentes iridoides glicosilados. A subfamília Ixoroideae é constituída por espécies que contêm os iridoides gardenosídeo, geniposídeo e ixorosídeo (Figura 2). A subfamília Rubioideae é constituída por espécies que contêm asperulosídeo e ácido deacetilasperulosídeo (Figura 2). Enquanto que as subfamílias Cinchonoideae e Antirheoideae são constituídas por espécies que contêm loganina (Figura 2) ou secoiridoides e alcalóides indólicos (DUARTE, 2012).



**Figura 2:** Iridoides nas subfamílias de Rubiaceae

Considerando-se o perfil químico desta família, existem muitas espécies sem qualquer estudo, o que não permite a realização e organizações dentro da família e subfamílias destas espécies, pela influencia de estudos quimiotaxonômicos (BOLZANI, 2001).

Pertencente à família Rubiaceae, o gênero *Simira* foi classificado na subfamília Cinchonoideae e tribo Rondeletieae com base em dados morfológicos.

Estudos baseados em dados de filogenética molecular, no entanto, colocam o gênero *Simira* na tribo Simireae dentro da subfamília Ixoroideae (MORAES, 2009). Recentemente, Kainulainen et al (2010), utilizando a reconstrução de dados de filogenética molecular, reclassifica o gênero *Simira* na subfamília Ixoroideae na tribo Condamineae.

Diante dessas alterações na classificação do gênero dentro de subfamílias e de tribos, faz-se necessário reunir dados de diversas áreas de estudo, a fim de confirmar a posição desse gênero dentro da família. Neste trabalho buscou-se principalmente, a geração de dados químicos e avaliações de atividades biológicas.

### **3.2. O Gênero *Simira***

O gênero *Simira* compreende 45 espécies distribuídas pela região neotropical, distribuindo-se desde o México até a Bolívia, Paraguai e Brasil, com espécies relatadas nas floras da Colômbia, Venezuela, Costa Rica, Panamá, Belize, Equador, Peru, Guiana e Argentina. Sendo representado no Brasil por aproximadamente 19 espécies distribuídas entre os estados do Amazonas, Pará, Goiás, Espírito Santo, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná e Santa Catarina, inseridas na Mata Atlântica. Oito espécies são encontradas na região sudeste, sendo que cinco ocorrem no estado do Rio de Janeiro (SILVA NETO & CALLADO, 2008; SILVA NETO, 2000; GOMES & BARBOSA, 2014; BARBOSA, 2014; TROPICOS.ORG.).

O nome *Simira* é popular na Guiana. No Brasil, espécies desse gênero são conhecidas como araribá, araribá-vermelha, araribá-rosa, araribá-branca, quina-rosa, canela-samambaia, maiate e marfim (SILVA NETO & CALLADO, 2008).

O gênero é representado por árvores de pequeno a grande porte com espécies de interesse econômico, reconhecidas pelo valor tintorial, madeireiro, artesanal e paisagístico para a arborização de ruas. Caracteriza-se por apresentar cerne marrom ou acinzentado, alburno amarelado ou acinzentado quando recém cortado, adquirindo geralmente coloração vermelha, rósea ou violácea quando exposto ao ar e/ou à luminosidade e que desaparece alguns meses após a coleta

(CALLADO & SILVA NETO, 2003; PEIXOTO & BARBOSA, 1989; PEIXOTO, 1982).

O interesse sobre o estudo químico de espécies de *Simira* baseia-se principalmente nas atividades e substâncias de valor farmacológico já identificadas neste gênero, sendo que muitas das espécies são usadas por nativos como produtoras de substâncias corantes, antifebris, tônicas e purgativas (PEIXOTO, 1982).

O gênero *Simira* apresenta como característica marcante a presença de alcaloides  $\beta$ -carbolínicos, que estão presentes em plantas conhecidas por afetar o sistema nervoso central (CAPASSO et al, 2002). Outra característica do gênero *Simira* é a presença de substâncias fototóxicas, apresentadas por alguns de seus constituintes químicos, que funcionam como mecanismo de defesa para a planta, causando fotodermatites em humanos e animais predadores, conferindo uma vantagem evolutiva às plantas que possuem essas substâncias (ARNASON et al, 1983).

As espécies de *Simira* que apresentam estudos fitoquímicos até o momento são apresentadas na Tabela 1, onde estão listadas as substâncias isoladas, as espécies estudadas e as referências bibliográficas originais referentes às substâncias. As estruturas para essas substâncias estão representadas na Figura 3.

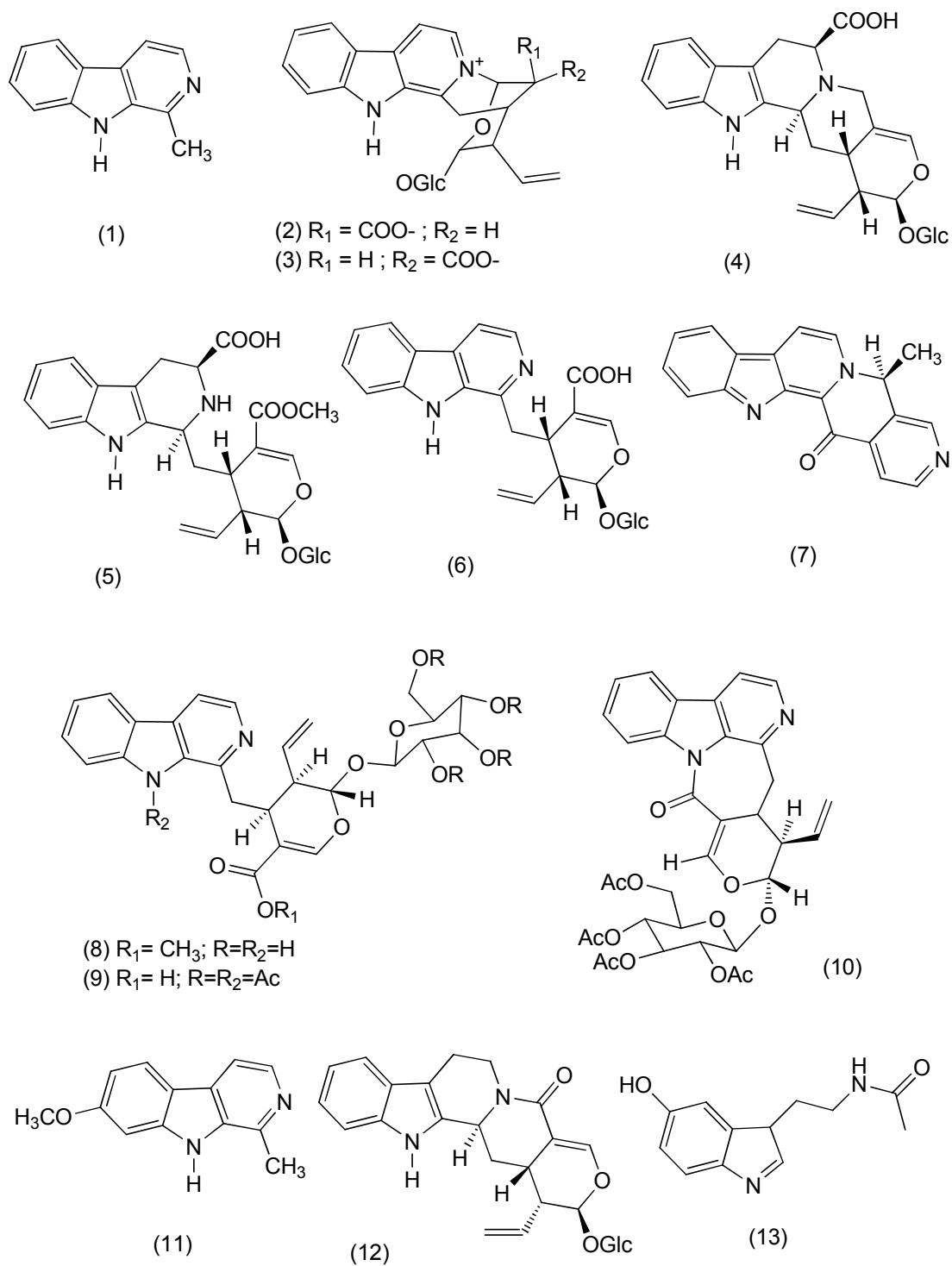
**Tabela 1:** Substâncias isoladas do gênero *Simira*

Substâncias	Espécie	Referências
<i>Alcaloides</i>		
harmana (1)	<i>S. mexicana</i> , <i>S. glaziovii</i> , <i>S. rubra</i> , <i>S. salvadorensis</i> , <i>S. eliezeriana</i> , <i>S.</i> <i>grazielae</i>	b, d, e, j
ofiorina A (2)	<i>S. glaziovii</i> , <i>S. tinctoria</i> , <i>S. williamsii</i> , <i>S.</i> <i>grazielae</i>	a, c, j
ofiorina B (3)	<i>S. glaziovii</i> , <i>S. tinctoria</i> , <i>S. williamsii</i>	a, c
sickingina (4)	<i>S. tinctoria</i> , <i>S. williamsii</i>	C
5 $\alpha$ -carboxistrictosidina (5)	<i>S. tinctoria</i> , <i>S. williamsii</i>	C
ácido lianosídico (6)	<i>S. tinctoria</i> , <i>S. williamsii</i>	C
maxonina (7)	<i>S. maxonii</i>	f, g, h
lialosilato de metila (8)	<i>S. glaziovii</i>	A
ácido pentaacetillianosídico (9),	<i>S. glaziovii</i>	A
1,22-lactamlialosídeo (10)	<i>S. glaziovii</i>	A
harmina (11)	<i>S. tinctoria</i> , <i>S. williamsii</i>	C
estrictosamida (12)	<i>S. mexicana</i>	D
<i>N</i> -acetil-serotonina (13)	<i>S. grazielae</i>	J
<i>Cumarinas</i>		
isofraxidina (14)	<i>S. glaziovii</i> , <i>S. grazielae</i>	b, j
escopoletina (15)	<i>S. glaziovii</i> , <i>S. tinctoria</i> , <i>S. williamsii</i> , <i>S.</i> <i>grazielae</i>	b, c, j
dimetilfratexina (16)	<i>S. glaziovii</i> , <i>S. grazielae</i>	b, j
7-hidroxi-8-metoxicumarina (17)	<i>S. grazielae</i>	J
5,7-dimetoxicumarina (18)	<i>S. grazielae</i>	J
<i>Terpenoides</i>		
simirano A (19)	<i>S. eliezeriana</i>	B
simirano B (20)	<i>S. glaziovii</i> , <i>S. eliezeriana</i>	B
lupeol (21),	<i>S. glaziovii</i>	B
lupenona (22)	<i>S. glaziovii</i>	B
1 $\beta$ ,3 $\beta$ -dihidróxiolean-12-eno (23)	<i>S. glaziovii</i>	a,
ácido oleanoico (24)	<i>S. tinctoria</i> , <i>S. williamsii</i>	C
eufol (25),	<i>S. glaziovii</i>	I
butirospermol (26),	<i>S. glaziovii</i>	I

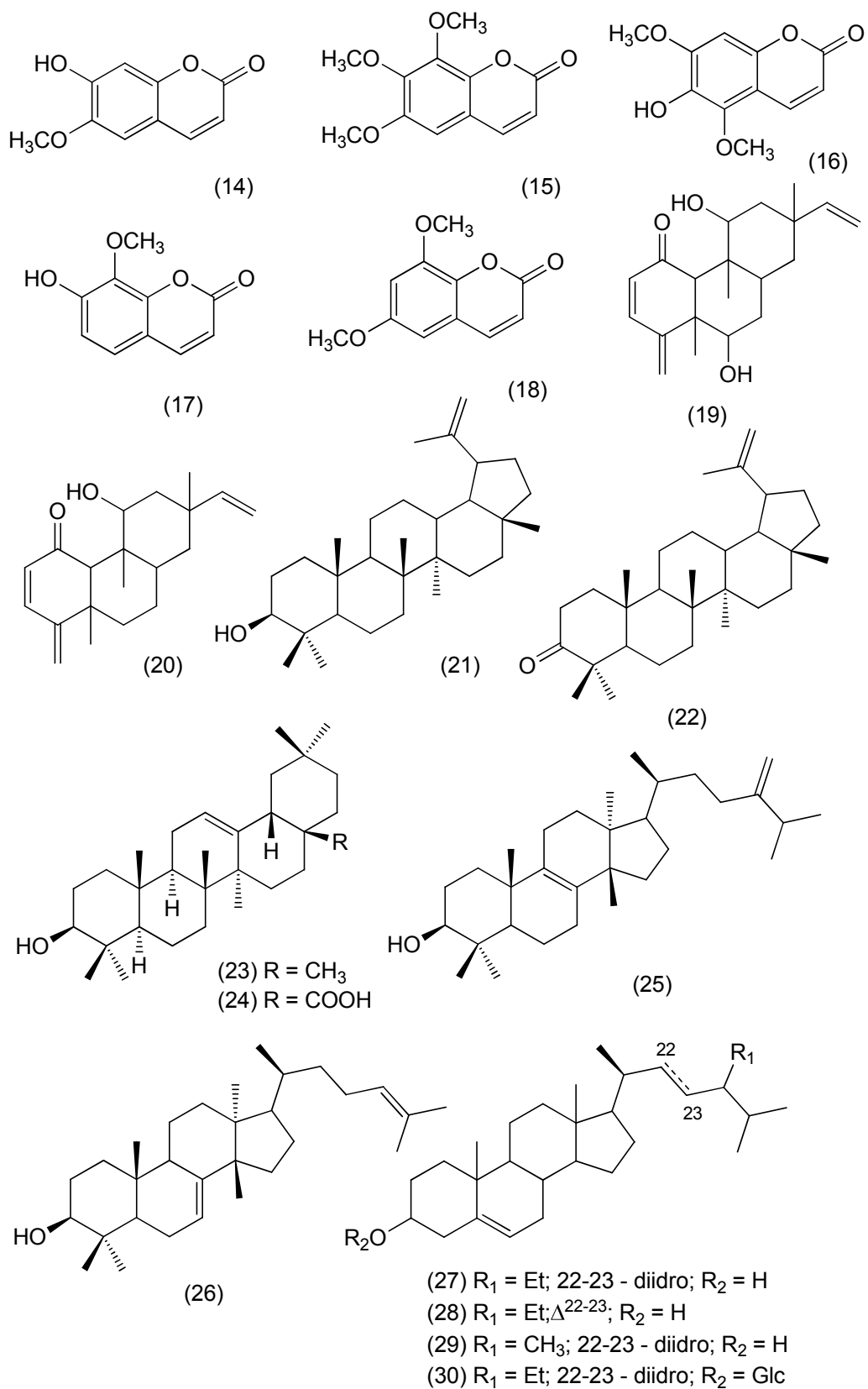
**Tabela 1:** Substâncias isoladas do gênero *Simira* (continuação)

Substâncias	Espécie	Referências
<i>Esteroides</i>		
sitosterol (27)	<i>S. glaziovii</i> , <i>S. eliezeriana</i> , <i>S. grazielae</i>	a, b, i, j
estigmasterol (28)	<i>S. glaziovii</i> , <i>S. eliezeriana</i> , <i>S. grazielae</i>	b, j
campesterol (29)	<i>S. glaziovii</i> , <i>S. eliezeriana</i>	B
3 $\beta$ -O- $\beta$ -D-glicopiranosil-sitosterol (30)	<i>S. glaziovii</i> , <i>S. grazielae</i>	a, j
$\beta$ -sitostenona (31),	<i>S. glaziovii</i>	B
estigmastenona (32)	<i>S. glaziovii</i>	B
3-O-glicopiranosil-(6,1)-acil-sitosterol (33)	<i>S. glaziovii</i>	B
<i>Iridoides</i>		
loganina (34)	<i>S. tinctoria</i> , <i>S. williamsii</i>	C
swerosideo (35)	<i>S. tinctoria</i> , <i>S. williamsii</i>	C
secoxiloganina (36)	<i>S. tinctoria</i> , <i>S. williamsii</i>	C
<i>Lignanas</i>		
pinoresinol (37)	<i>S. eliezeriana</i> , <i>S. grazielae</i>	b, j
siringaresinol (38)	<i>S. glaziovii</i>	B
<i>Outras substâncias</i>		
hexadecanoato de metila (39)	<i>S. glaziovii</i>	A
ácido hexadecanoico (40)	<i>S. glaziovii</i>	A
ácido octadecanoico (41)	<i>S. glaziovii</i>	A
ácido eicosanoico (42)	<i>S. glaziovii</i>	A
inositol (43)	<i>S. glaziovii</i>	I
ácido cinâmico 3,4-dimetoxicinamato de metila (44)	<i>S. glaziovii</i>	A
coniferaldeído (45)	<i>S. eliezeriana</i>	B
serigaldeído (46)	<i>S. eliezeriana</i> , <i>S. grazielae</i>	b, j
3,4,5-trimetoxifenol (47)	<i>S. grazielae</i>	J
6'-O-vaniloilchioside (48)	<i>S. grazielae</i>	J

a – BASTOS et al, 2002; b - ARAUJO, 2011a; c – AQUINO et al, 1994; d – CASTANEDA et al, 1989; e – ARNASON et al, 1983; f – CASTRO & LOPES, 1986; g – HASBUN et al, 1989; h – KELLY et al, 1993; i – ALVES et al, 2001; j – SANCHES, 2013.

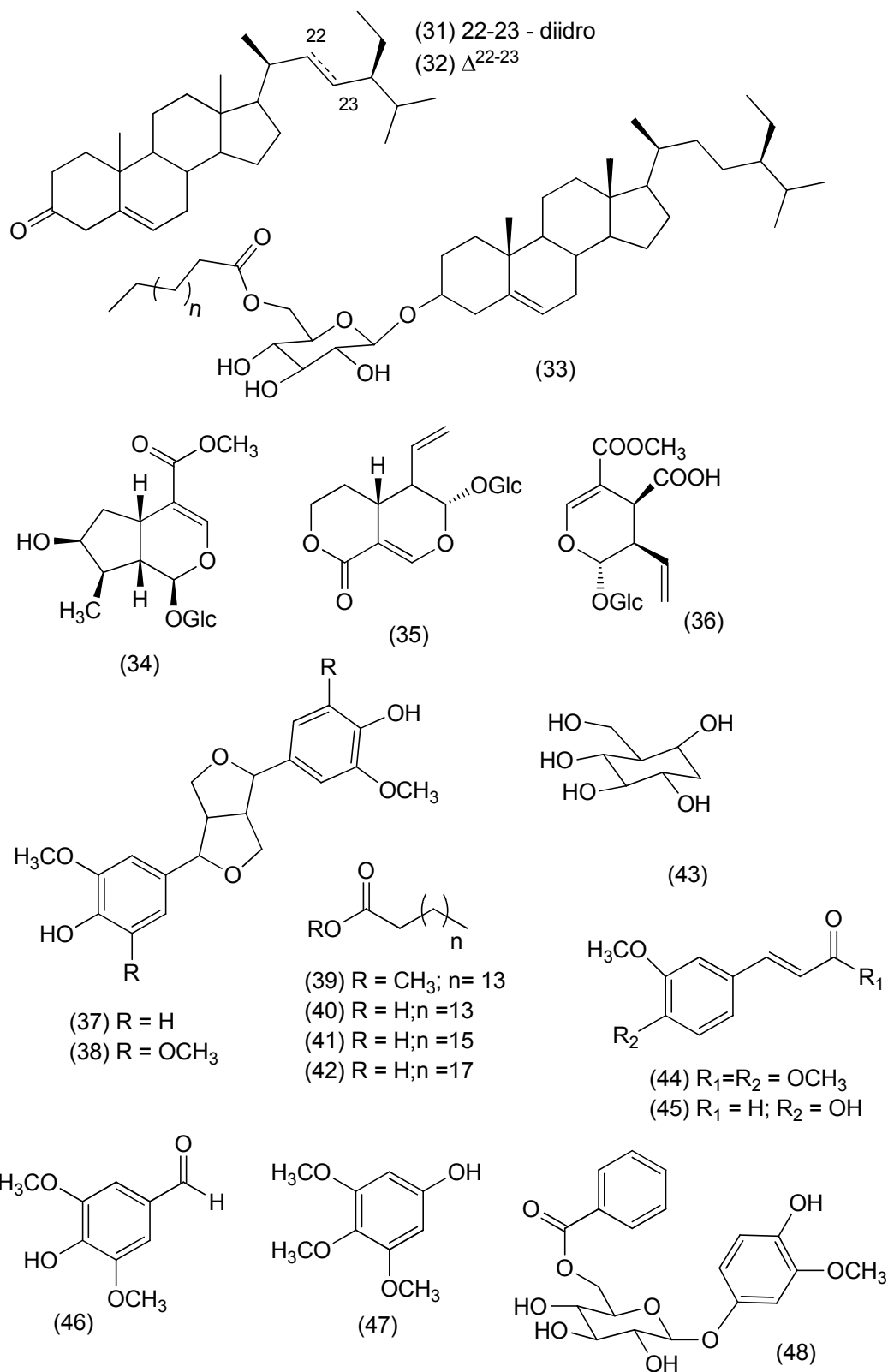


**Figura 3:** Substâncias isoladas do gênero *Simira*.



**Figura 3:** Substâncias isoladas do gênero *Simira* (continuação)





**Figura 3:** Substâncias isoladas do gênero *Simira* (continuação)

### 3.3. Atividades Biológicas do Gênero *Simira*

O levantamento bibliográfico destacou estudos sobre avaliação de atividades biológicas de extratos das espécies *Simira glaziovii* e *S. sampaioana* contra *Mycobacterium fortuitum* e *M. malmoeense*. Foi realizado um *screening* de suscetibilidade, para a determinação da atividade dos extratos e partições de extratos vegetais em concentrações fixas de 100 µg/mL, onde as espécies de *Simira* não foram efetivas contra as micobactérias em estudo nessa concentração (FONSECA et al, 2008),

Os extratos metanólicos de casca, flores, frutos, folhas e galhos das espécies *S. glaziovii* e *S. sampaioana* foram avaliados contra antracnose, causada pelo fungo *Colletotrichum lindemuthianum* em feijões. O ensaio foi realizado em placas de microtitulação, cada extrato foi dissolvido em 500 µL de Tween 80 a 0,01g/mL e adicionou-se 20 µL de uma suspensão de conídios de *C. lindemuthianum* na concentração de  $1,2 \times 10^6$  conídios/mL e as placas foram incubadas a 22 ° C, durante 72h. Os extratos foram considerados inativos por não apresentar inibição visual do crescimento dos fungos, de acordo com os parâmetros adotados para esta avaliação (PINTO et al, 2010).

Ainda para extratos de *S. glaziovii* e *S. sampaioana*, foi realizado a avaliação de atividade contra *Mycobacterium tuberculosis* e *Mycobacterium kansasii*, apresentando concentrações mínimas inibitórias (MIC) superior a 100 µg/mL, resultados considerados não significativos em um *screening* de suscetibilidade, realizado para a determinação da atividade dos extratos e partições de extratos vegetais (RAMOS et al, 2008).

A avaliação do potencial antioxidante, usando o método com DPPH, apresentou maior atividade a partição hidrometanólica dos galhos de *S. glaziovii* ( $EC_{50}$  21,50 ± 0,30 ppm), a partição em acetato de etila dos galhos de *S. eliezeriana* ( $EC_{50}$  12,03 ± 0,07 ppm) e a hidrometanólica ( $EC_{50}$  1,200 ± 0,003 ppm) dos galhos de *S. grazielae*, quando comparados com o controle positivo rutina ( $EC_{50}$  27,00 ± 0,19 ppm) (ARAUJO et al, 2009).

Neste mesmo estudo, foi avaliado o grau de toxidez frente à larvas de *Artemia salina*. Apresentaram atividade as partições em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> dos galhos de *S. eliezeriana* ( $DL_{50}$  169,70 ± 3,20 ppm) e CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> dos galhos de *S. grazielae* ( $DL_{50}$  148,80 ± 2,35 ppm) (ARAUJO et al, 2009). Segundo McLaughlin et al (1991)

extratos ou partições são considerados ativos quando apresentam  $DL_{50} \leq 1000$  ppm. E avaliação do potencial antifúngico, usando a técnica de difusão em agar, apresentando inibição frente *Candida inconspicua*, as partições em  $CH_2Cl_2$  ( $17 \pm 0,06$  mm) e acetato de etila ( $20 \pm 0,1$  mm) dos galhos de *S. glaziovii*, quando comparados com o controle nitrato de miconazol ( $37 \pm 0,3$  mm) (ARAUJO et al, 2009).

Os extratos da madeira de *S. grazielae*, foram testados quanto a atividade antinociceptiva, injetando-se 0,02mL de solução de formalina 2,5% em patas de camundongos e os resultados expressos como média  $\pm$  E. P. M. (n = 6) do tempo de lambadura. O extrato metanólico com tempo de aproximadamente 25s ( $p < 0,01$ ) e a partição de acetato de etila com tempo de aproximadamente 25s ( $p < 0,05$ ) apresentaram melhores resultados na fase neurogênica, em comparação com os dados para morfina com tempo de aproximadamente 38s ( $p < 0,05$ ). E na fase inflamatória, o extrato metanólico, a partição de acetato de etila e a partição de diclorometano com tempo de aproximadamente 75s ( $p < 0,05$ ) apresentaram melhores resultados em comparação com os dados para morfina com tempo de aproximadamente 75s ( $p < 0,05$ ). Neste mesmo estudo, foram avaliados os potenciais antioxidante, usando o método com DPPH, apresentando melhores resultados a partição com diclorometano ( $EC_{50}$  11,0  $\mu$ g/mL) e a partição com acetato de etila ( $EC_{50}$  12,9  $\mu$ g/mL), sendo inferiores a ácido ascórbico ( $EC_{50}$  7,1  $\mu$ g/mL) utilizado como referência, porém considerados promissores (SANCHES, 2013).

Em estudos realizados com *S. williamsii* e *S. tinctoria*, os perfis farmacológicos dos extratos de éter de petróleo, clorofórmio, clorofórmio-metanol e de metanol destas espécies, foram avaliados *in vitro* com contrações elétricas induzidas (ECI), em concentrações de 300 à 30  $\mu$ g/mL dissolvidos em DMSO com um tempo de contato de 15 minutos em banho de órgãos isolados. O extrato clorofórmio-metanol foi o mais ativo ( $IC_{50} = 116,1 \mu$ g) e o extrato em clorofórmio ( $IC_{50} = 400,9 \mu$ g), os extratos de éter de petróleo e metanol não apresentaram atividade (CAPASSO et al, 1996; CAPASSO et al, 2002).

As substâncias isoladas das espécies *S. williamsii* e *S. tinctoria*, foram testadas sob as mesmas condições experimentais em concentrações de 500, 250 e 100  $\mu$ g/mL em banho de órgãos, dissolvido em água destilada, com um tempo de contato de 15 min. As substâncias (4) com  $IC_{50} = 1,0 \times 10^{-4}$  mol/L, (5) (Tabela

1, Figura 3) com  $IC_{50} = 1,3 \times 10^{-4}$  mol/L, (3) com  $IC_{50} = 5,3 \times 10^{-5}$  mol/L, (6) com  $IC_{50} = 1,3 \times 10^{-4}$  mol/L, (34) com  $IC_{50} = 1,0 \times 10^{-4}$  mol/L e (35) com  $IC_{50} = 4,0 \times 10^{-4}$  mol/L, apresentaram efeito inibidor significativo em ECI. Os resultados sugerem que essas substâncias possuem propriedades neurosedativas (efeito neurofarmacológico). As demais substâncias isoladas nestas duas espécies não apresentaram atividade (CAPASSO et al, 1996; CAPASSO et al, 2002).

O alcaloide harmana (1) (Tabela 1, Figura 3) isolado da espécie *Simira mexicana* foi testado e apresentou toxicidade frente à *Artemia salina* ( $LC_{50}$  25 $\mu$ g/mL), e exibiu moderada atividade *in vitro* contra *Plasmodium falsiparum* ( $IC_{50}$  0,97 $\mu$ g/mL) (CASTANEDA et al, 1989). O mesmo alcalóide isolado de *S. salvadorensis*, foi testado quanto a fototoxicidade, apresentando inibição do crescimento de *Sacharomyces cereviceae*, com zona de inibição de 4mm (50 $\mu$ g/disco), resultado que indica atividade fototóxica (ARNASON et al, 1983).

### 3.4. Atividade etnofarmacológica

As flores da espécie *S. rubescens* são utilizadas para tratar infecções na pele, através de macerações e aplicação local, e as cascas frescas são usadas no tratamento de manchas na cavidade oral e dentária (JOVEL et al, 1996; LEWIS & ELVIN-LEWIS, 1984).

Estudos realizados com *S. williamsii* e *S. tinctoria*, mostram que essas espécies são utilizadas na medicina popular do Peru por sua atividade analgésica e antiinflamatória (CAPASSO et al, 1996; CAPASSO et al, 2002).

### 3.5. Outros estudos para *Simira*

Para as espécies *Simira glaziovii* e *S. sampaioana*, encontrou-se estudos botânicos com finalidades taxonômicas e de composição florística (ALMEIDA & MACHADO, 2007; BACIGALUPO & CABRAL, 2003; CARVALHO et al, 1996; GOMIDE et al, 2006; MORAES et al, 2009; PITTA & ANDRADE, 2011; SILVA & SCARIOT, 2004). Trabalhos de conservação florestal regional e restauração de sistemas agroflorestais da Mesoamérica com *Simira salvadorensis* (DIEMONT et al, 2004).

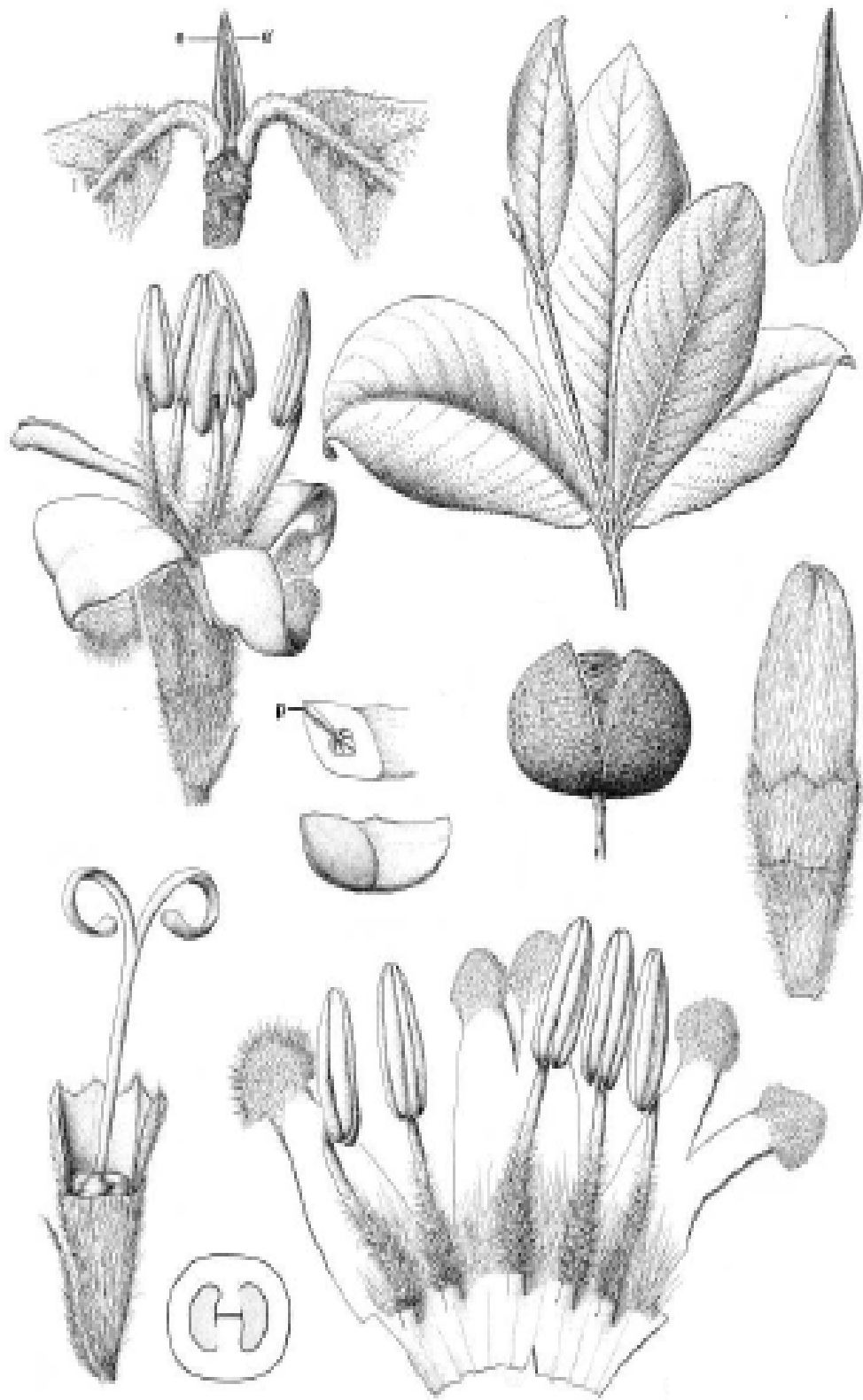
Foram encontrados apenas trabalhos de classificação e morfologia botânica envolvendo a espécie *S. pikia* (CALLADO & SILVA NETO, 2003; MORAES et al, 2009), não apresentando nenhum trabalho fitoquímico publicado até o presente momento.

Encontrou-se também, estudos de propriedades anti-corrosivas de extratos ricos em alcaloides de *S. tinctoria* em aço de baixo carbono, mostrando-se promissores os resultados obtidos para inibidores de corrosão (LECANTE et al, 2011).

### **3.6 *Simira sampaioana***

O nome da espécie *Simira sampaioana* homenageia o botânico brasileiro Alberto José Sampaio, que trabalhou no Museu Nacional do Rio de Janeiro e se destacou pelos trabalhos em taxonomia e fitogeografia. Apresenta os nomes vulgares de arariba, canela-samambaia, marfim e maiate, e a sinonímia *Sickingia sampaioana*. Apresenta-se como árvores de 20 à 30 m de altura (ABRAMIDES et al, 2002; [www.cvrd.com.br](http://www.cvrd.com.br)) que em geral floresce de dezembro a janeiro e frutifica de agosto a outubro (PEIXOTO, 1982) Figura 4.

No Brasil registra-se a ocorrência da espécie *S. sampaioana* nos estados de Minas Gerais, Espírito Santo, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná e Santa Catarina. Esta espécie parece ter sido abundante nas proximidades do Rio Doce; entretanto, com a derrubada indiscriminada de florestas, tornou-se escassa nessa região (PEIXOTO, 1982).



**Figura 4:** *Simira sampaioana* (BACIGALUPO & CABRAL, 2003)

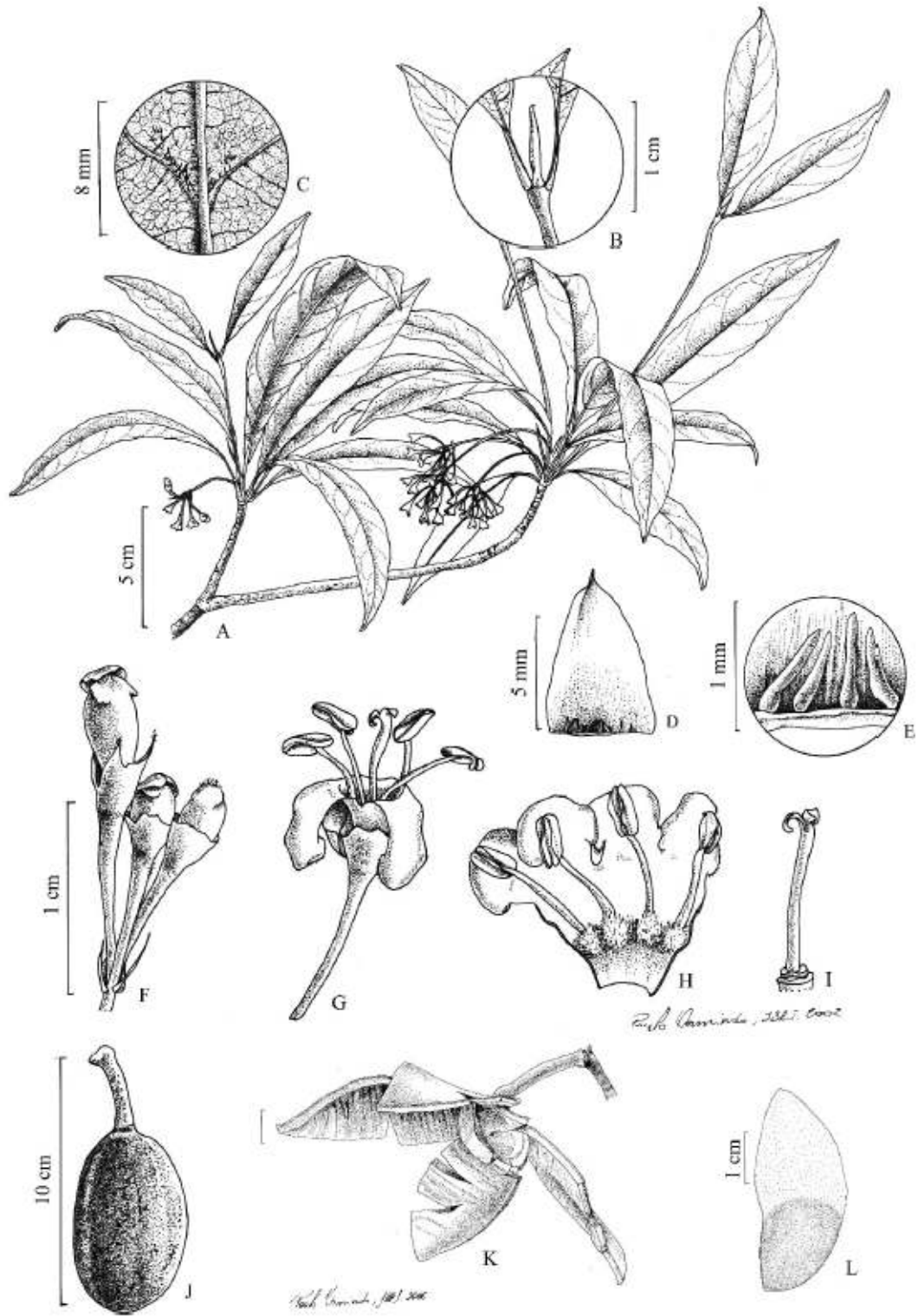
### 3.7 *Simira walteri*

A espécie *Simira walteri* foi descoberta recentemente na Reserva Biológica do Tinguá, município de Nova Iguaçu, no estado do Rio de Janeiro. Onde indivíduos da espécie foram encontrados em trechos bem preservados de Mata Atlântica na Reserva. A descoberta foi feita pelo pesquisador Sebastião José da Silva Neto, do Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro; pela professora Cátia Henriques Callado, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro e pelo auxiliar de campo Walter da Silva (SILVA NETO & CALLADO, 2008).

Os pesquisadores nomearam a planta prestando uma homenagem ao Sr. Walter da Silva, auxiliar de campo que mora em Tinguá e que tem contribuído para o êxito das pesquisas desenvolvidas na Reserva Biológica do Tinguá, na Reserva Biológica de Poço das Antas, no Parque Nacional de Itatiaia, e no Parque Estadual da Ilha Grande, onde acompanha estudantes, professores e pesquisadores da UERJ, JBRJ, UFRRJ, UENF, entre outras instituições (BRASIL, 2008).

A espécie é uma árvore que atinge até 25 metros de altura, ocorrendo em altitudes de até 600 m. Assemelha-se a *S. viridiflora* Steyermark, que também ocorre na Floresta Atlântica de todo o sudeste do Brasil, da qual *S. walteri* difere, principalmente, por apresentar folhas elípticas, ápice agudo a levemente acuminado, base aguda, domácia em bolsa com pelos e uma única fileira de coléteres na base interna da estípula, Figura 5 (SILVA NETO & CALLADO, 2008).

Embora *Simira walteri* tenha sido descrita recentemente, já faz parte da lista de espécies vulneráveis à extinção, isso porque indivíduos da espécie só foram encontrados em pequenos grupos isolados na Reserva Biológica do Tinguá, o que a caracteriza esta espécie como endêmica da região. Estudos têm sido realizados em outras áreas de Mata Atlântica com o objetivo de localizar espécimes de *S. walteri*, mas sem sucesso até o momento (BRASIL, 2008).



**Figura 5:** *Simira walteri* (SILVA NETO & CALLADO, 2008).



### 3.8 *Simira pikia*

Sinonímia *Sickingia pikia* K.Schum. Árvore com até 25 m de altura. Folhas largo-lanceoladas, acuminadas a brevemente cuspidadas no ápice. Não era coletada havia mais de 100 anos, até ser redescoberta em 1997. Encontrada com flores em novembro (SILVA NETO, 2000).

A espécie apresenta madeira de coloração amarela muito intensa. Não apresentando a característica comum dentre as espécies do gênero *Simira*, que adquirem coloração vermelha imediatamente após o corte (CALLADO & SILVA NETO, 2003).

Após levantamento bibliográfico, tendo como ferramenta principal sites de pesquisa de artigos científicos e trabalhos acadêmicos, foram encontrados apenas trabalhos de classificação e morfologia botânica envolvendo a espécie *S. pikia* (CALLADO & SILVA NETO, 2003; MORAES, 2009)

## 4. METODOLOGIA

### 4.1 Coleta do material vegetal e classificação botânica

Os critérios adotados para a escolha das espécies vegetais *Simira sampaioana*, *Simira pikia* e *Simira walteri* foram baseados na posição taxonômica, onde espécies do gênero *Simira* como descrito na literatura, são ricas em alcaloides, substâncias estas, com uma grande gama de atividades biológicas já comprovadas experimentalmente.

O material vegetal de *S. sampaioana* (folhas e madeira) foi coletado Reserva Florestal da Companhia Vale, no Distrito Municipal de Linhares, Espírito Santo, Brasil no período de maio de 2011.

As espécies *S. walteri* e *S. pikia* tiveram seus materiais (folhas e madeira) coletados na Reserva Biológica do Tinguá, município de Nova Iguaçu, Rio de Janeiro, no período de dezembro de 2012.

A classificação botânica das espécies foi confirmada pelo Prof. Dr. Sebastião José da Silva Neto, sendo adotada para este estudo a classificação segundo Kainulainen et al (2010).

#### **4.2 Secagem e moagem do material.**

A secagem do material botânico feita ao ar livre, e o material após seco foi triturado usando-se moinho de martelos.

#### **4.3 Extração dos constituintes químicos do material botânico.**

A extração dos componentes fixos foi feita a frio (maceração) usando-se em ordem crescente de polaridade os solventes orgânicos hexano e metanol. As soluções obtidas foram destiladas a pressão reduzida em evaporador rotativo, fornecendo os extratos brutos.

#### **4.4 Identificação das substâncias isoladas**

Foram utilizados métodos espectrométricos, tais como, espectroscopia na região do infravermelho (IV), de ressonância magnética nuclear (RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ ) uni e bi dimensional, e de massas (EM); e métodos cromatográficos clássicos como, cromatografia em coluna e em camada delgada (SOUZA et al, 2012).

#### **4.5 Análises cromatográficas**

As análises de cromatografia em coluna foram realizadas utilizando-se gel de sílica, da marca Merck, Darmstadt 60 (0,063–0,200 mm), Sephadex LH 20 e C-18 (fase reversa).

As análises de cromatografia em camada delgada analítica foram realizadas em cromatofolhas de alumínio com gel de sílica 60 F<sub>254</sub> Merck. As substâncias foram visualizadas por irradiação com lâmpada ultravioleta (Aldrich) a 254 nm e 365 nm e/ou pulverizadas com o seguinte reagente cromogênicos H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> conc./ Vanilina, seguido de aquecimento, e Dragendorff (solução de nitrato de bismuto básico II em ácido acético diluído com iodeto de potássio).

As análises em cromatografia em camada delgada, em escala preparativa foram realizadas utilizando-se placas de vidro 20 x 20 cm, com gel de sílica 60 GF254. Para obtenção dessas placas, diluiu-se 20 g de gel de sílica em 70 mL de água destilada, em seguida, distribuiu-se manualmente essa solução sobre as placas de vidro.

#### **4.6 Análises espectrométricas**

As análises espectrométricas foram realizadas em aparelhos dos Laboratórios de Ciências Químicas da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, DEQUIM – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro e QEFPN - Universidade Federal do Ceará.

Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN  $^1\text{H}$ ) e carbono-13 (RMN  $^{13}\text{C}$ ) foram obtidos em espectrômetros da marca Bruker, modelo DRX-500 e modelo Avance IIIH (ambos 500 MHz para  $^1\text{H}$  e 125 MHz para  $^{13}\text{C}$ ). Os espectros de massas (EM) foram obtidos em espectrômetro de massas acoplado ao cromatógrafo gasoso modelo CG/EM–QP–5050, marca Shimadzu, utilizando impacto de elétrons a 70 eV. E espectrômetro de massas de alta resolução MicroTOF (ESI-TOF-MS) da marca Bruker.

Os espectros na região do infravermelho (IV) foram obtidos em um aparelho Shimadzu IRA ffinity-1, e as amostras foram analisadas em filme sob pastilha de KBr.

#### **4.7 Testes de Atividade Inseticida**

Os testes de atividade inseticida foram realizados no Laboratório de Química de Biotecnologia (LBT – CBB – UENF) sob a supervisão do Prof. Dr. Francisco José A. Lemos.

#### **4.8 Atividade Antifúngica**

Os ensaios de atividade antifúngica foram realizados no Laboratório Fisiologia e Bioquímica de Microorganismos (CBB/UENF), sob a orientação da Professora Doutora Valdirene Moreira Gomes e execução do Doutorando Gabriel Bonan Taveira.

#### **4.9 Atividade antitumoral, *in vitro*, dos compostos SV-40 e SV-74**

Os ensaios de atividade antitumoral foram realizados no Laboratório de Biologia do Reconhecer (LBR - CBB – UENF) sob a orientação do Professor Doutor Milton Masahiko Kanashiro e execução do Doutorando Wagner Terra.

## 5. PARTE EXPERIMENTAL

### 5.1 Extração dos constituintes químicos do material botânico

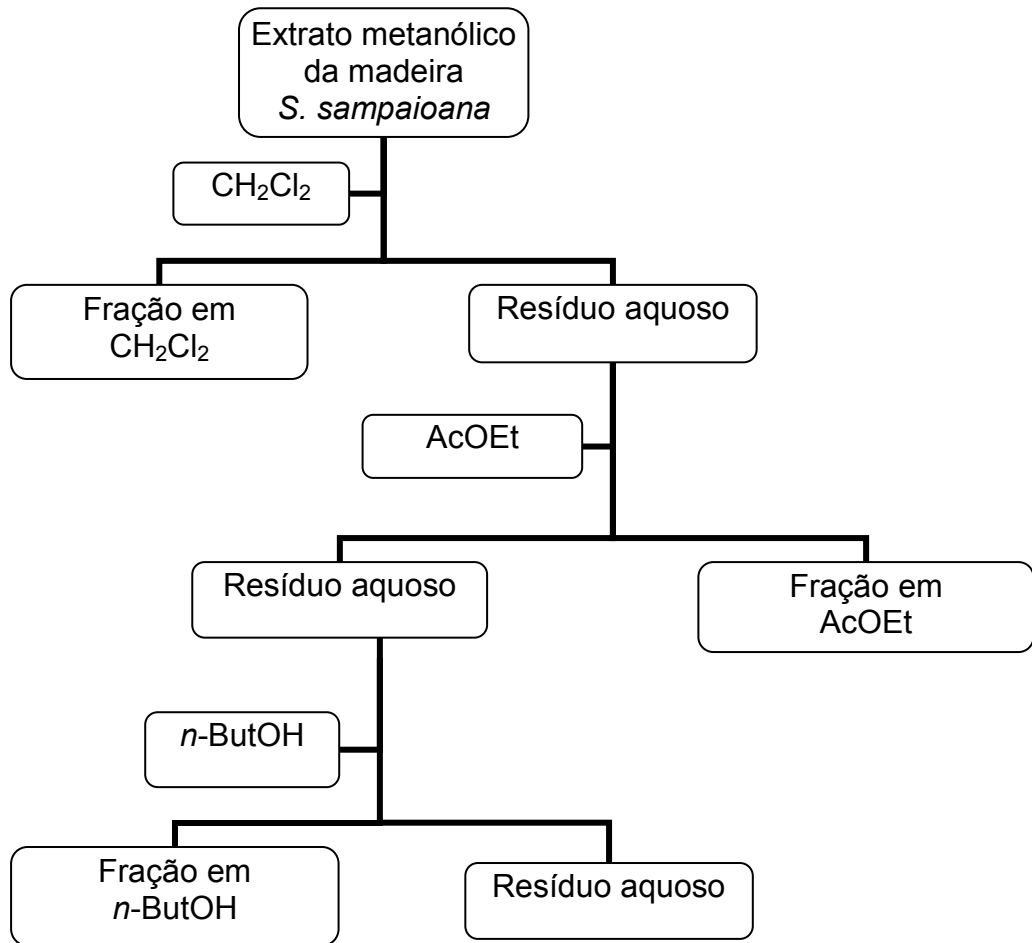
As partes botânicas das espécies estudadas, solventes utilizados e massas dos extratos obtidos encontram-se sumarizadas na Tabela 2.

Tabela 2: Quantidade dos extratos obtidos

<b>Espécie Botânica</b>	<b>Parte Botânica</b>	<b>Peso do material (g)</b>	<b>Solventes</b>	<b>Peso dos extratos (g)</b>
<i>S. sampaioana</i>	Folhas	400,0	Hexano	6,3196
			Metanol	40,5162
	Madeira	6000,0	Hexano	3,7810
			Metanol	499,5842
<i>S. walteri</i>	Folhas	393,5	Hexano	5,0067
			Metanol	37,3621
	Madeira	4130,5	Hexano	12,0576
			Metanol	299,5606
<i>S. pikia</i>	Folhas	215,5	Hexano	2,8982
			Metanol	31,2346
	Madeira	5688,5	Hexano	1,6886
			Metanol	146,1863

### 5.2 Isolamento e purificação dos constituintes químicos de *Simira sampaioana*

Após obtenção dos extratos brutos, aproximadamente 2,5g do extrato metanólico da madeira de *S. sampaioana*, foi solubilizada em MeOH/H<sub>2</sub>O (8:2) e submetidas a partição com CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, AcOEt e *n*-ButOH (Fluxograma 1). A realização da partição forneceu 3 frações e a massa das mesmas estão ilustradas na Tabela 3.



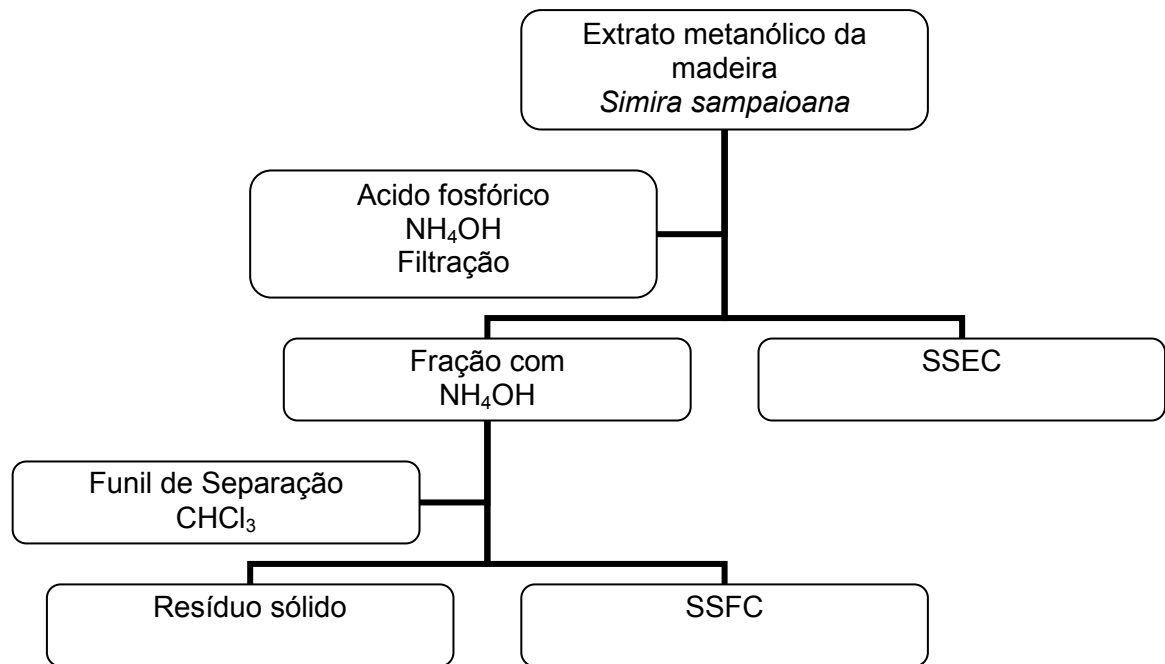
**Fluxograma 1:** Partição do extrato metanólico da madeira de *S. sampaioana*

**Tabela 3:** Massa das frações obtidas da partição do extrato metanólico da madeira de *S. sampaioana*.

Fração	Código	Massa (g)
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	SIC	1,3448
AcOEt	SIA	0,1894
<i>n</i> -ButOH	SIB	0,9308

Do extrato metanólico da madeira de *S. sampaioana*, também foram separados aproximadamente 300 mg de extrato bruto para a realização de extração ácido-base. A extração foi realizada com a adição de ácido fosfórico 4% e NH<sub>4</sub>OH até obtenção de pH 13. Em seguida, foi realizada filtração, e os sólidos obtidos foram lavados com CHCl<sub>3</sub>, fornecendo a fração SSEC. A fração com NH<sub>4</sub>OH foi submetida à extração com CHCl<sub>3</sub> em funil de separação obtendo-se a

fração SSFC (Fluxograma 2). As massas das frações obtidas encontram-se na Tabela 4.



**Fluxograma 2:** Frações obtidas na extração ácido-base

**Tabela 4:** Massas das frações obtidas na extração ácido-base

Frações	Massa (mg)
SSEC*	89,8
SSFC**	175,7

\*(SSEC) – *Simira sampaioana* extração  $\text{CHCl}_3$ ; \*\* (SSFC) - *Simira sampaioana* funil de separação  $\text{CHCl}_3$

Após a obtenção das frações, as mesmas foram analisadas primeiramente por cromatografia em camada delgada analítica (CCDA) para se identificar as partições com maior diversidade de substâncias, seguido do início do fracionamento cromatográfico das frações mais promissoras.

### 5.2.1 Estudo fitoquímico da fração SIC (1,3448g)

A fração **SIC** (Partição do extrato metanólico da madeira *S. sampaioana* – fração CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) foi submetida a uma coluna cromatográfica usando gel de sílica como fase estacionária e como eluentes CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> e MeOH em modo de gradiente de polaridade até 100% de MeOH, fornecendo 47 frações que posteriormente foram reunidas em 9 frações, através de comparação por cromatografia em camada delgada analítica. O estudo cromatográfico das frações encontra-se na Tabela 5.

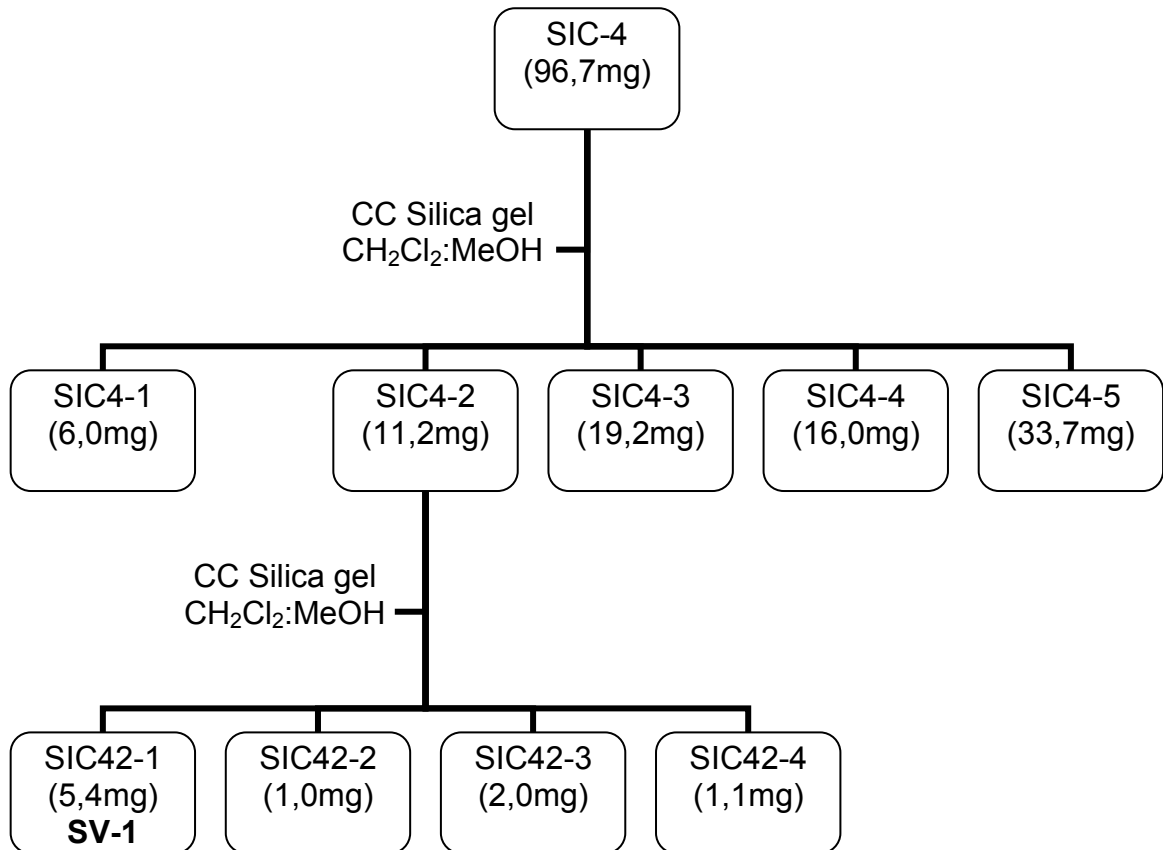
**Tabela 5:** Estudo cromatográfico das frações obtidas da fração SIC

Frações Reunidas	Código	Massa (mg)
0	SIC-0	203,4
1-2	SIC-1	68,1
3-7	SIC-2	38,9
8-11	SIC-3	456,2
12-17	SIC-4	96,7
18-37	SIC-5	145,6
28-45	SIC-6	76,3
46	SIC-7	21,2
47	SIC-8	203,5

#### 5.2.1.1 Estudo fitoquímico da fração SIC-4 (96,7mg)

Após a realização de teste para a presença de alcaloides com reagente de Dragendorff, a fração SIC-4 foi submetida a sucessivas colunas cromatográficas até o isolamento da substância **SV-1**. A análise da fração SIC-4 encontra-se sumarizada no Fluxograma 3.

As frações trabalhadas foram selecionadas após obtenção de cromatogramas com manchas de coloração característica para alcaloides, quando reveladas com vanilina sulfúrica e Dragendorff.



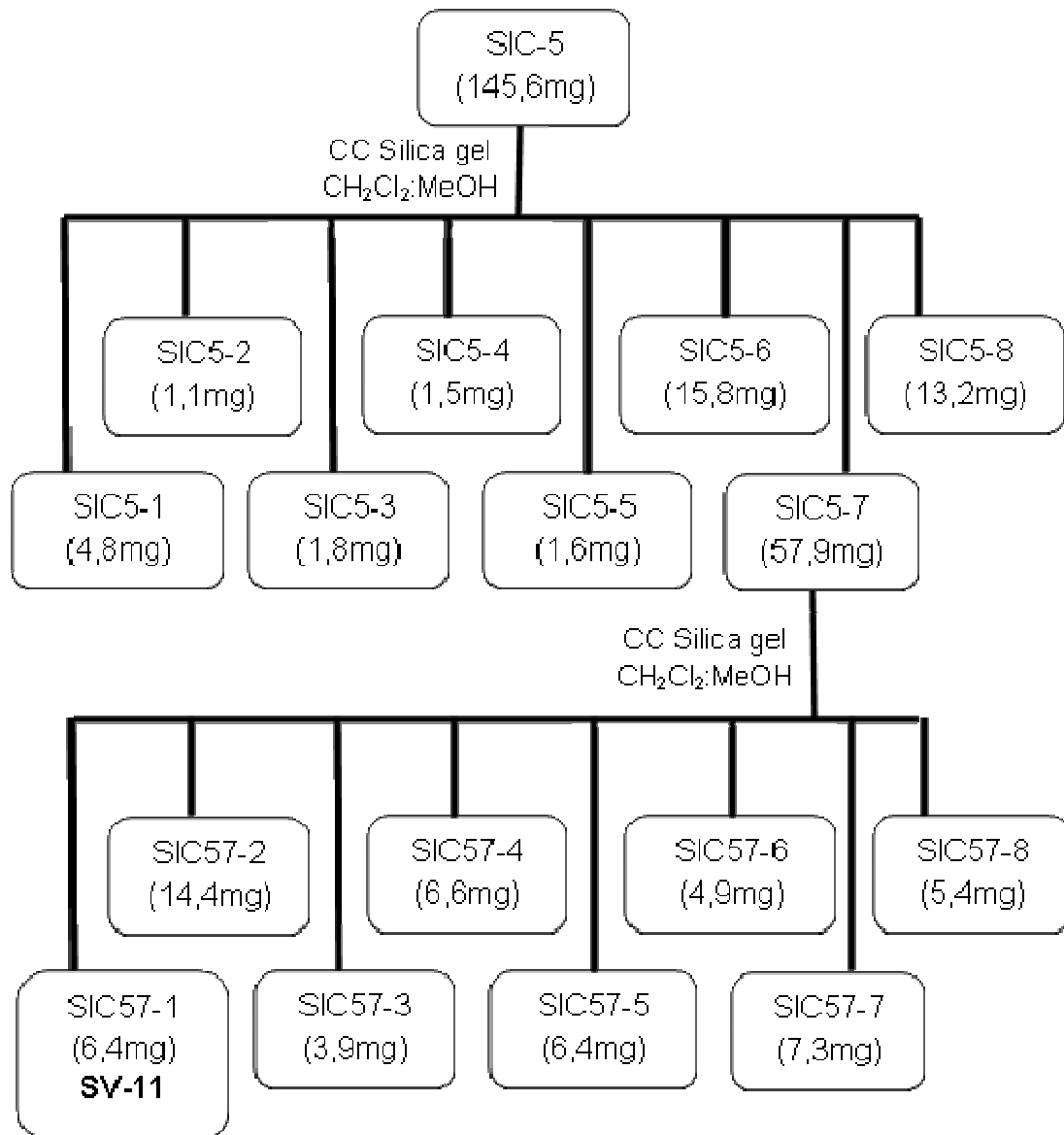
**Fluxograma 3:** Análise Cromatográfica da fração SIC-4

### 5.2.1.2 Estudo fitoquímico da fração SIC-5 (145,0mg)

Após a realização de teste para a presença de alcaloides com reagente de Dragendorff, a fração SIC-5 foi submetida a sucessivas colunas cromatográficas até o isolamento da substância **SV-11**. A análise da fração SIC-5 encontra-se sumarizada no Fluxograma 4.

As frações trabalhadas foram selecionadas após obtenção de cromatogramas com manchas de coloração característica para alcaloides, quando reveladas com vanilina sulfúrica e Dragendorff.





**Fluxograma 4:** Análise Cromatográfica da fração SIC-5

### 5.2.2 Estudo fitoquímico da fração SIB (0,9308g)

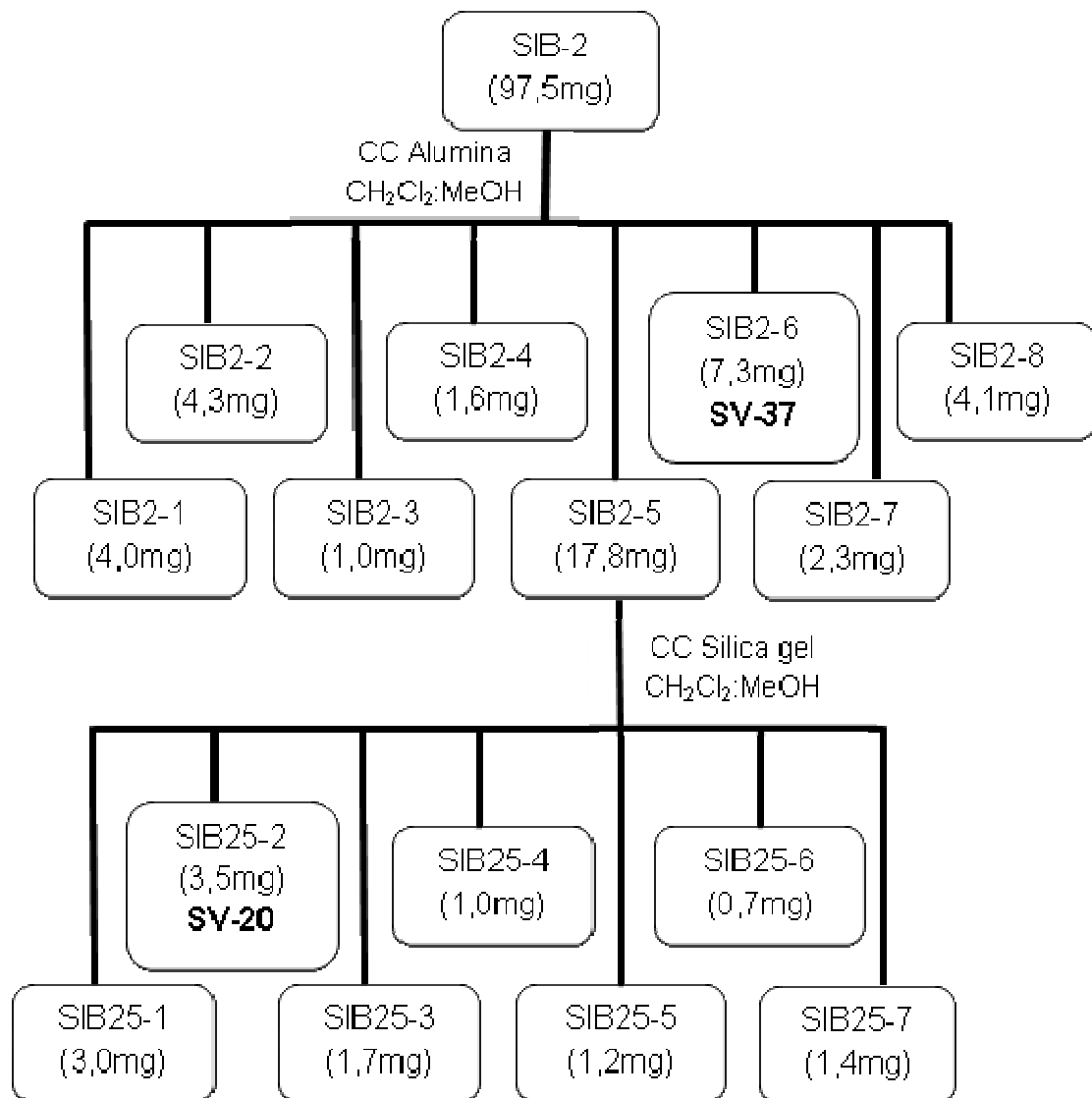
Da fração SIB (Partição do extrato metanólico da madeira *S. sampaioana* – fração *n*-ButOH) 350,4mg foram submetidos a coluna cromatográfica usando alumina neutra como fase estacionária e como eluentes  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  e MeOH em modo gradiente de polaridade até 100% de MeOH, fornecendo 32 frações que posteriormente foram reunidas em 3 frações, através de comparação por cromatografia em camada delgada analítica. O estudo cromatográfico das frações encontra-se na Tabela 6.

**Tabela 6:** Estudo cromatográfico das frações obtidas da fração SIB

Frações Reunidas	Código	Massa (mg)
0-21	SIB-1	21,6
22-26	SIB-2	97,5
27-32	SIB-3	67,7

### 5.2.2.1 Estudo fitoquímico da fração SIB-2 (97,5mg)

Após a realização de teste para a presença de alcaloides com reagente de Dragendorff, a fração SIB-2 foi submetida a sucessivas colunas cromatográficas até o isolamento das substâncias **SV-20** e **SV-37**. A análise da fração SIB-2 encontra-se resumida no Fluxograma 5.

**Fluxograma 5:** Análise Cromatográfica da fração SIB-2

As frações trabalhadas foram selecionadas após obtenção de cromatogramas com manchas de coloração característica para alcaloides, quando reveladas com vanilina sulfúrica e Dragendorff.

### 5.2.3 Estudo fitoquímico da fração SSFC (175,7mg)

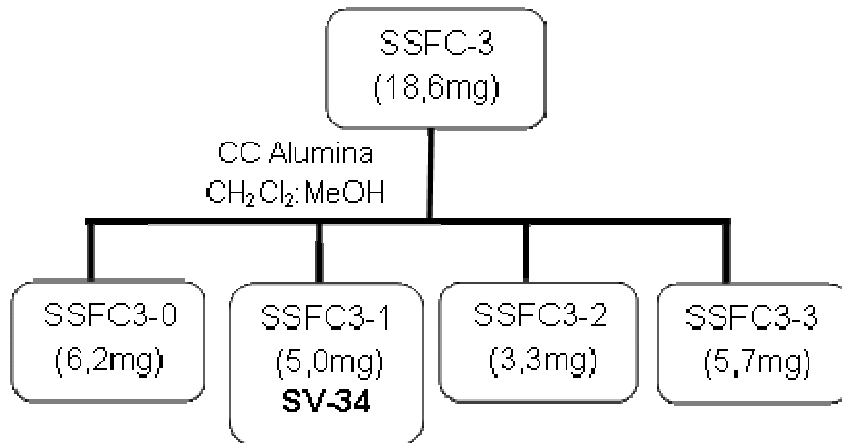
A fração **SSFC** obtida na extração ácido-base, foi submetida à coluna cromatográfica usando gel de sílica como fase estacionária e como eluentes  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  e MeOH em modo gradiente de polaridade até 100% de MeOH, fornecendo 127 frações que posteriormente foram reunidas em 6 frações, através de comparação por cromatografia em camada delgada analítica. O estudo cromatográfico das frações encontra-se na Tabela 8.

**Tabela 8:** Estudo cromatográfico das frações obtidas da fração SSFC

Frações Reunidas	Código	Massa (mg)
1-29	SSFC-0	3,4
30-32	SSFC-1	6,6
33-46	SSFC-2	5,2
47-119	SSFC-3	18,6
120-126	SSFC-4	3,9
127	SSFC-5	34,2

#### 5.2.3.1 Estudo fitoquímico da fração SSFC-3 (18,6mg)

Após a realização de teste para a presença de alcaloides com reagente de Dragendorff, a fração SSFC-3 foi submetida a coluna cromatográfica usando gel de alumina como fase estacionária e como eluentes diclorometano e Metanol em modo gradiente de polaridade, obtendo-se o isolamento da substância **SV-34**. A análise da fração SSFC-3 encontra-se sumarizada no Fluxograma 10.



**Fluxograma 6:** Análise Cromatográfica da fração SSFC-3

As frações trabalhadas foram selecionadas após obtenção de cromatogramas com manchas de coloração característica para alcaloides, quando reveladas com vanilina sulfúrica e Dragendorff.

#### 5.2.4 Estudo fitoquímico do extrato SFM

Aproximadamente 3,600g do extrato bruto metanólico das folhas de *S. sampaioana* (SFM), foi submetido à coluna cromatográfica usando gel de sílica como fase estacionária e como eluentes  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  e MeOH, em modo gradiente de polaridade até 100% de MeOH, fornecendo 41 frações que posteriormente foram reunidas em 13 frações, através de comparação por cromatografia em camada delgada analítica. O estudo cromatográfico das frações encontra-se na Tabela 9.

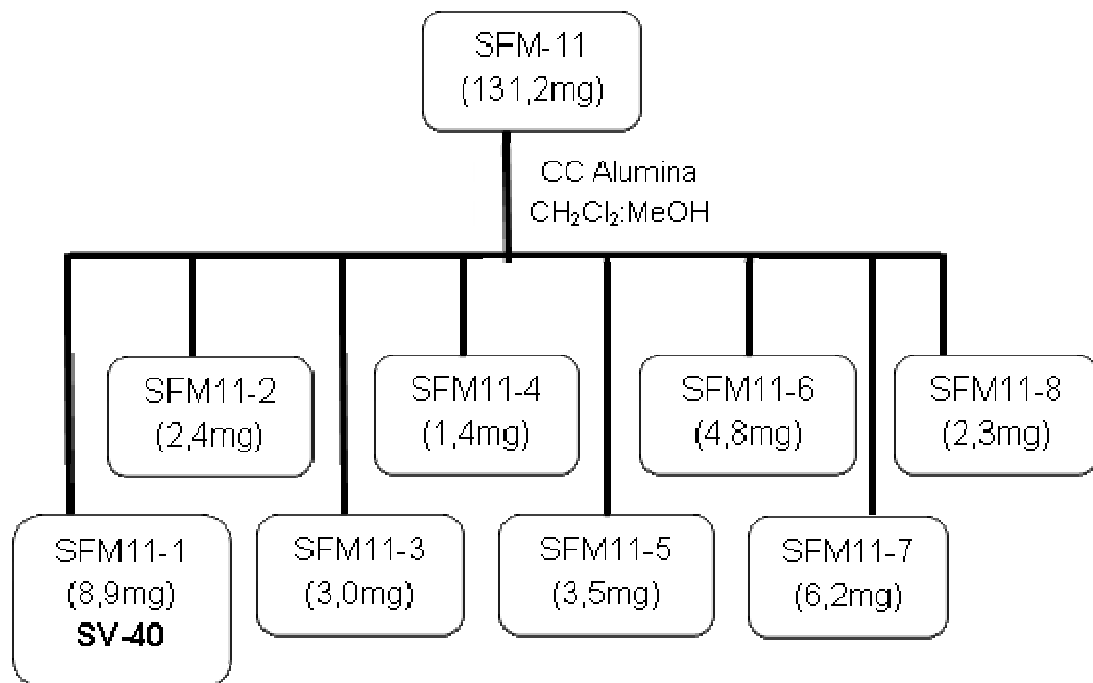
##### 5.2.4.1 Estudo fitoquímico da fração SFM-11 (131,2mg)

Após a realização de teste para a presença de alcaloides com reagente de Dragendorff, a fração SFM-11 foi submetida a coluna cromatográfica usando gel de alumina como fase estacionária e como eluentes diclorometano e metanol em modo gradiente de polaridade, obtendo-se o isolamento da substância **SV-40**. A análise da fração SFM-11 encontra-se sumarizada no Fluxograma 11.

As frações trabalhadas foram selecionadas após obtenção de cromatogramas com manchas de coloração característica para alcaloides, quando reveladas com vanilina sulfúrica e Dragendorff.

**Tabela 8:** Estudo cromatográfico das frações obtidas do extrato SFM

Frações Reunidas	Código	Massa (mg)
1-2	SFM-0	405,8
3-4	SFM-1	205,3
5-6	SFM-2	57,9
7-9	SFM-3	83,1
10-12	SFM-4	69,4
13-19	SFM-5	219,2
20-21	SFM-6	673,6
22-23	SFM-7	229,8
24-26	SFM-8	164,3
27-31	SFM-9	373,8
32-34	SFM-10	271,9
35-39	SFM-11	131,2
40-41	SFM-12	681,3

**Fluxograma 7:** Análise Cromatográfica da fração SFM-11

### 5.2.5 Estudo do extrato hexânico da madeira de *S. sampaioana*

O extrato hexânico da madeira de *S. sampaioana* (**SHM**) foi submetido a coluna cromatográfica usando gel de sílica como fase estacionária e como eluentes Hexano e AcOEt em modo gradiente de polaridade, até 100% de AcOEt, fornecendo 42 frações que posteriormente foram reunidas em 11 frações, através de comparação por cromatografia em camada delgada analítica. O estudo cromatográfico das frações encontra-se na Tabela 7.

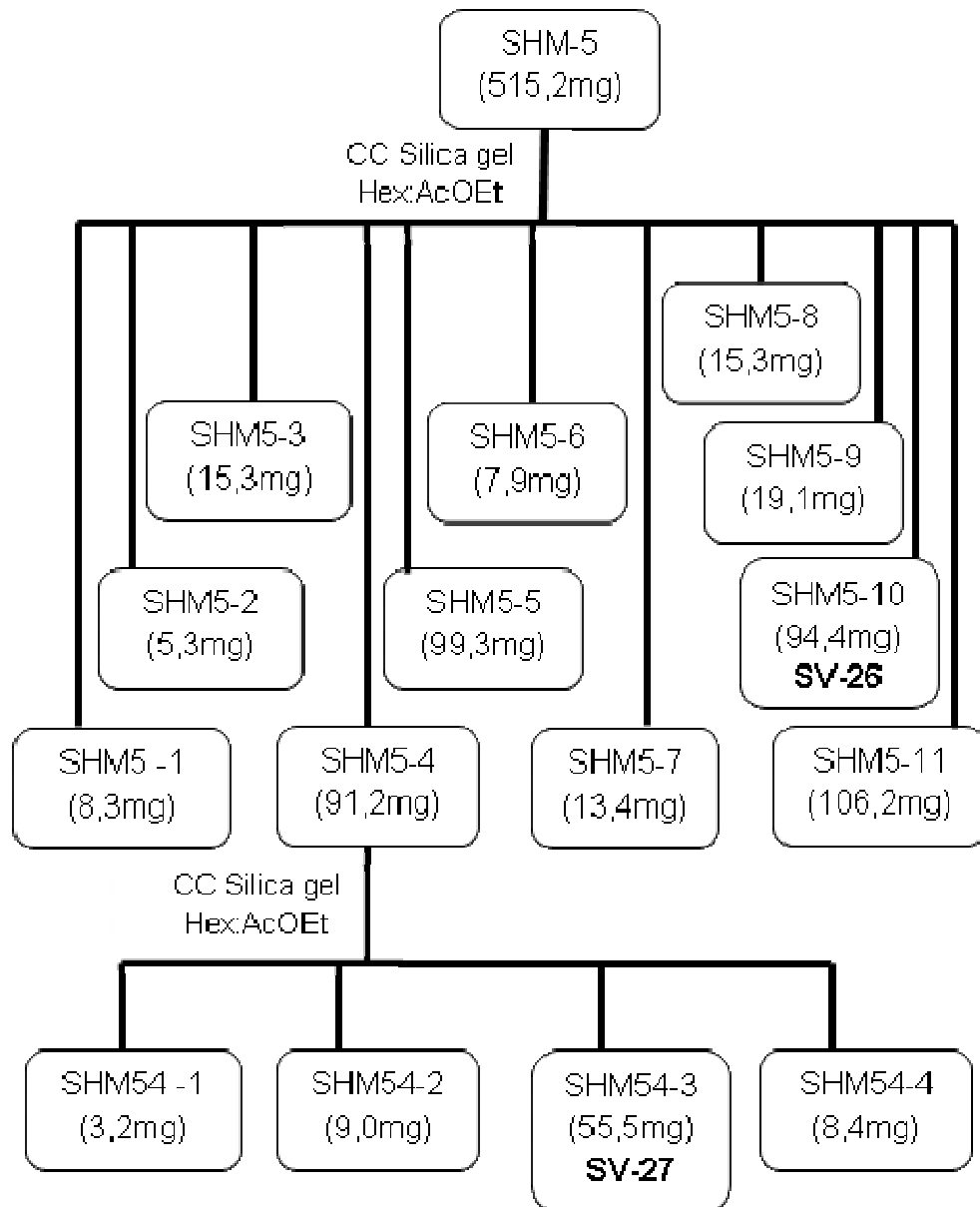
**Tabela 9:** Estudo cromatográfico das frações obtidas do extrato SHM (3,7810g)

Frações Reunidas	Código	Massa (mg)
0-9	SHM-1	101,5
10-12	SHM-2	720,0
13-14	SHM-3	243,2
15-16	SHM-4	343,7
17	SHM-5	515,2
18-19	SHM-6	125,3
20-22	SHM-7	522,3
23-29	SHM-8	138,5
30-34	SHM-9	333,7
35-36	SHM-10	105,9
37-42	SHM-11	137,4

As frações trabalhadas foram selecionadas após obtenção de cromatogramas com manchas de coloração característica para terpenóides e esteróides, quando reveladas com vanilina sulfúrica.

#### 5.2.5.1 Estudo fitoquímico da fração SHM-5 (515,2mg)

A fração SHM-5 foi submetida a sucessivas colunas cromatográficas usando gel de sílica como fase estacionária e como eluentes Hexano e AcOEt em modo gradiente de polaridade, até o isolamento das substâncias **SV-26** e **SV-27**. O estudo cromatográfico das frações encontra-se sumarizado no Fluxograma 6.



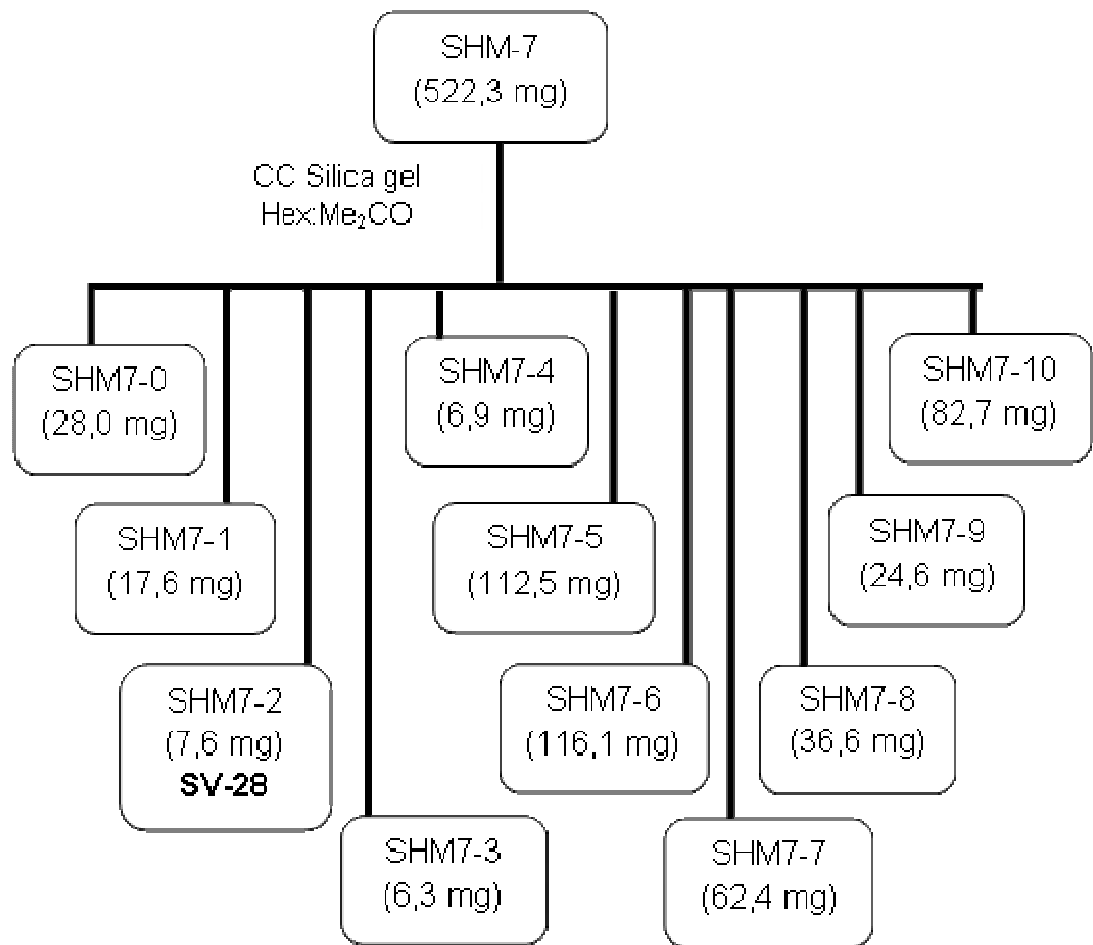
**Fluxograma 8:** Análise Cromatográfica da fração SHM-5

As frações trabalhadas foram selecionadas após obtenção de cromatogramas com manchas de coloração característica para terpenóides e esteróides, quando reveladas com vanilina sulfúrica.

#### 5.2.5.2 Estudo fitoquímico da fração SHM-7 (522,3mg)

A fração SHM-7 foi submetida a coluna cromatográfica usando gel de sílica como fase estacionária e como eluentes Hexano e Acetona em modo gradiente de polaridade até 100% de Acetona, obtendo-se o isolamento da substancia **SV-**

28. O estudo cromatográfico das frações encontra-se sumarizado no Fluxograma 7.

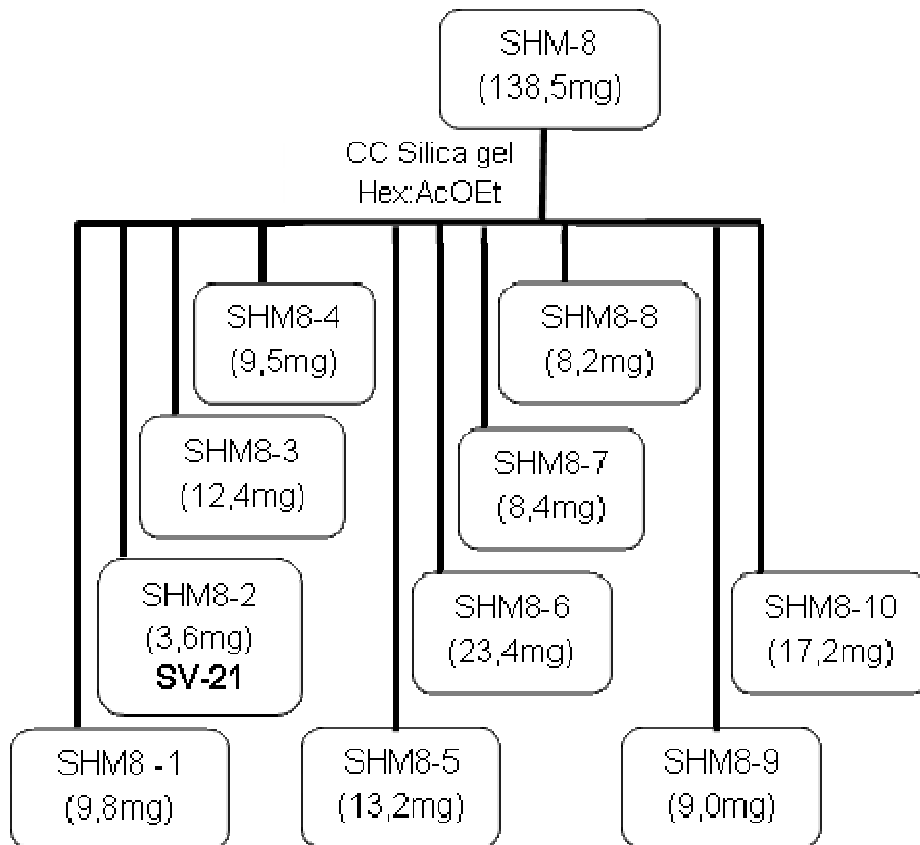


**Fluxograma 9:** Análise Cromatográfica da fração SHM-7

### 5.2.5.3 Estudo fitoquímico da fração SHM-8 (138,5mg)

A fração SHM-8 foi submetida a sucessivas colunas cromatográficas usando gel de sílica como fase estacionária e como eluentes Hexano e AcOEt em modo gradiente de polaridade, até o isolamento da substância **SV-21**. O estudo cromatográfico das frações encontra-se sumarizado no Fluxograma 8.



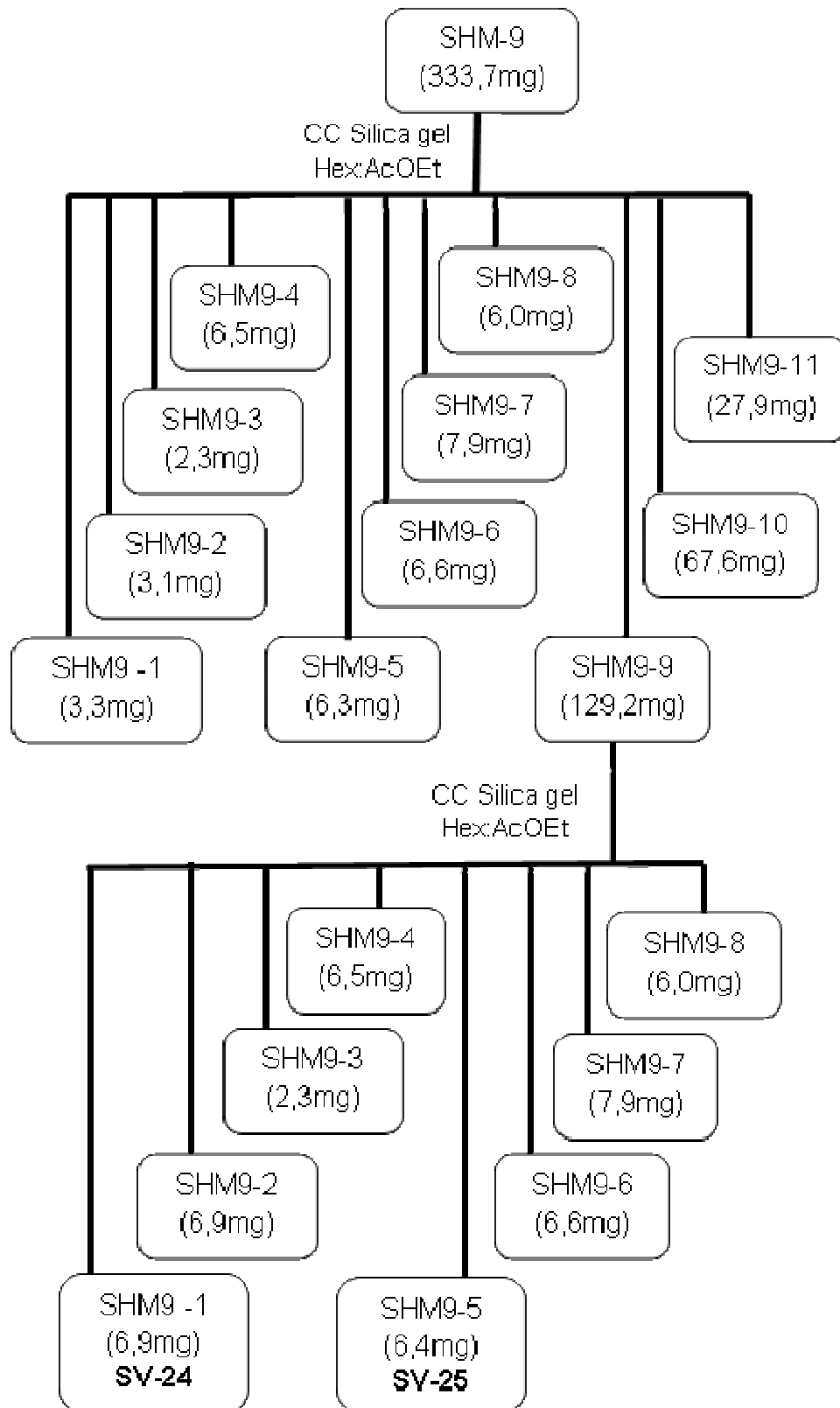


**Fluxograma 10:** Análise Cromatográfica da fração SHM-8

As frações trabalhadas foram selecionadas após obtenção de cromatogramas com manchas de coloração característica para terpenoides e esteroides, quando reveladas com vanilina sulfúrica e valores de Rf indicando substâncias polares

#### 5.2.3.4 Estudo fitoquímico da fração SHM-9 (333,7mg)

A fração SHM-9 foi submetida a sucessivas colunas cromatográficas usando gel de sílica como fase estacionária e como eluentes Hexano e AcOEt em modo gradiente de polaridade, até o isolamento das substâncias **SV-24** e **SV-25**. O estudo cromatográfico das frações encontra-se sumarizado no Fluxograma 9.



**Fluxograma 11:** Análise Cromatográfica da fração SHM-9

As frações trabalhadas foram selecionadas após obtenção de cromatogramas com manchas de coloração característica para terpenoides e

esteroides, quando reveladas com vanilina sulfúrica e valores de Rf indicando substancias polares.

### 5.3 Isolamento e purificação dos constituintes químicos de *Simira walteri*

Aproximadamente 23,7680g do extrato bruto metanólico da madeira de *S. walteri* (SWM) foi submetido à coluna cromatográfica usando gel de sílica como fase estacionária e como eluentes CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> e MeOH em modo gradiente de polaridade fornecendo 26 frações que posteriormente foram reunidas em 9 frações, através de comparação por cromatografia em camada delgada analítica. O estudo cromatográfico das frações encontra-se na Tabela 10.

**Tabela 10:** Estudo cromatográfico das frações obtidas do extrato SWM

Frações Reunidas	Código	Massa (mg)
1	SWM-1	544,3
2	SWM-2	134,3
3-4	SWM-3	416,3
5-8	SWM-4	630,7
9-10	SWM-5	4047,4
11-16	SWM-6	5938,8
17-21	SWM-7	5253,9
22-25	SWM-8	6145,7
26	SWM-9	571,7

#### 5.3.1 Estudo fitoquímico da fração SWM-5 (4047,4mg)

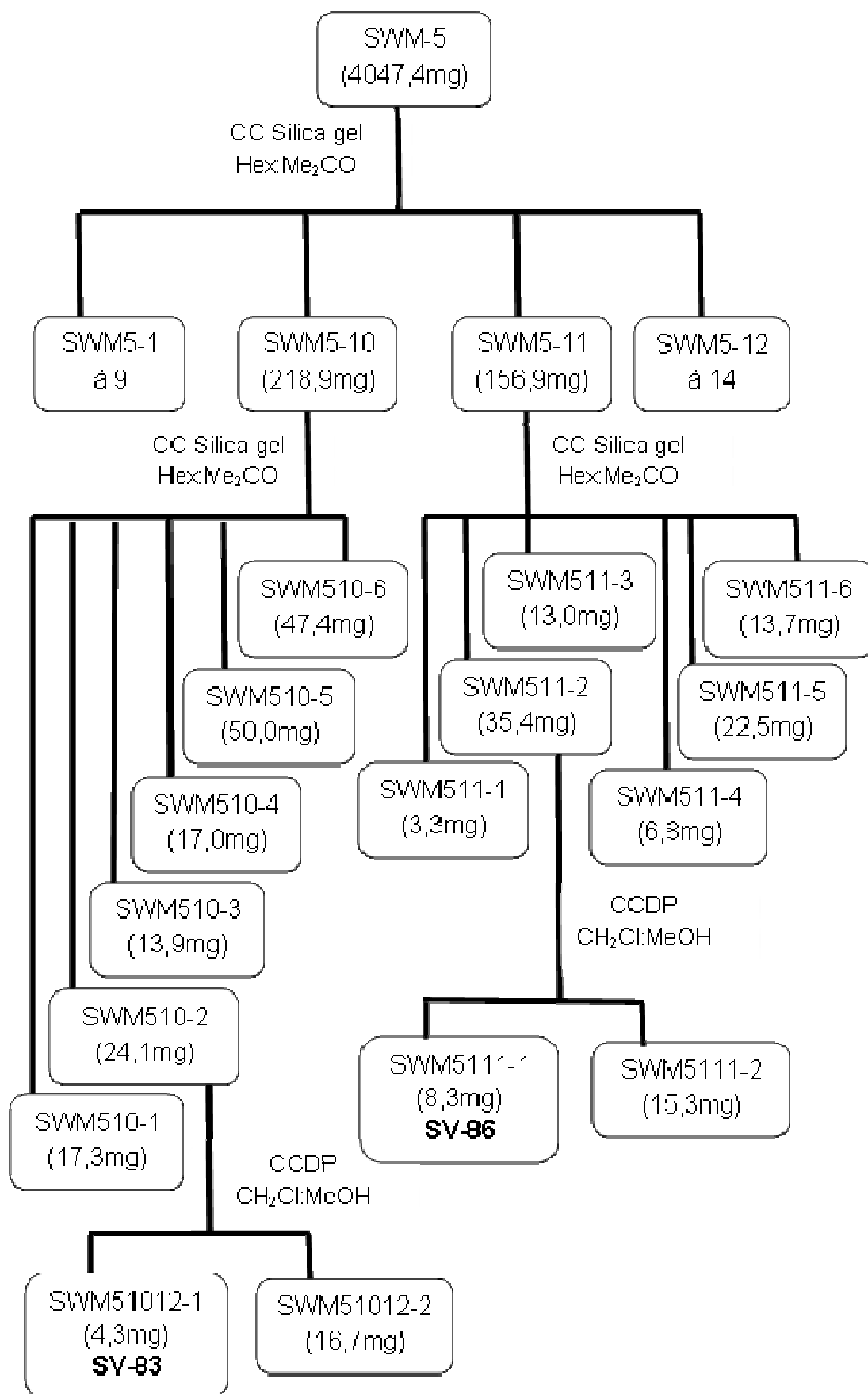
A fração SWM-5 foi submetida à coluna cromatográfica usando gel de sílica como fase estacionária e como eluentes hexano e acetona em modo gradiente de polaridade fornecendo 100 frações que posteriormente foram reunidas em 14 frações, através de comparação por cromatografia em camada delgada analítica. O estudo cromatográfico das frações encontra-se na Tabela 11.

As frações trabalhadas foram selecionadas após obtenção de cromatogramas com manchas de coloração característica para esteroides, e manchas de coloração azul escuro, quando reveladas com vanilina sulfúrica.

**Tabela 11:** Estudo cromatográfico das frações obtidas de SWM-5

Frações Reunidas	Código	Massa (mg)
1-15	SWM5-1	178,9
16-27	SWM5-2	228,8
28-30	SWM5-3	77,2
31-34	SWM5-4	124,8
35-38	SWM5-5	133,8
39-42	SWM5-6	180,8
43-47	SWM5-7	135,9
48-54	SWM5-8	290,7
55-60	SWM5-9	193,7
61-74	SWM5-10	218,9
75-79	SWM5-11	156,9
80-85	SWM5-12	378,4
86-93	SWM5-13	566,0
94-100	SWM5-14	469,6

As frações SWM5-10 e SWM5-11 foram submetidas a sucessivas colunas cromatográficas usando gel de sílica como fase estacionária e como eluentes hexano e acetona em modo gradiente de polaridade, sendo, posteriormente, as frações SWM510-2 e SWM511-2, submetidas a cromatografia em camada delgada em escala preparativa usando como eluentes diclorometano e metanol, obtendo-se o isolamento das substâncias **SV-83** e **SV-86**. O estudo cromatográfico das frações encontra-se sumarizado no Fluxograma 12.

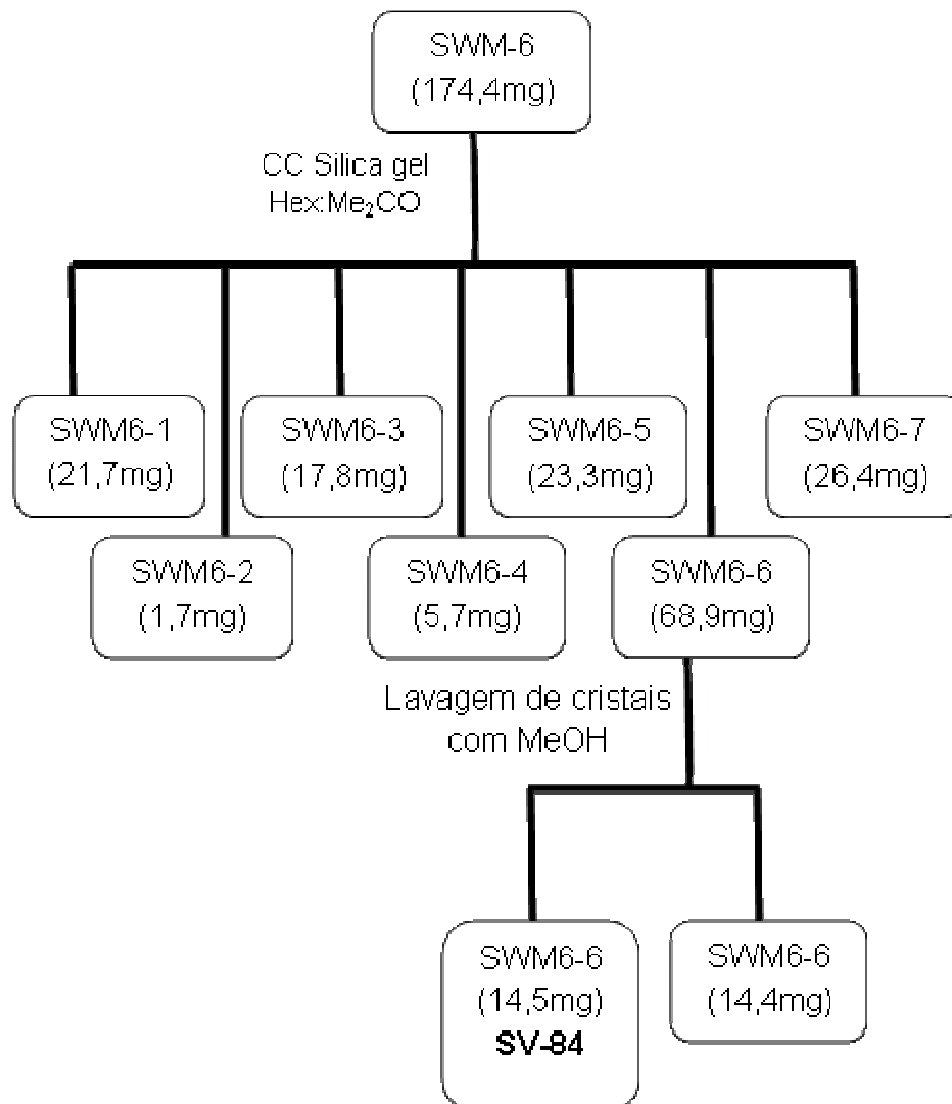


**Fluxograma 12:** Análise Cromatográfica da fração SWM-5

### 5.3.2 Estudo fitoquímico da fração SWM-6 (5938,8)

Da fração SWM-6, 174,4 mg foram submetidas à coluna cromatográfica usando alumina neutra como fase estacionária e como eluentes  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  e MeOH em modo gradiente de polaridade fornecendo 65 frações que posteriormente foram reunidas em 7 frações, através de comparação por cromatografia em camada delgada analítica. O estudo cromatográfico das frações encontra-se no Fluxograma 13.

Da fração SWM6-6, 40 mg foram cristalizados com metanol e após purificação dos cristais com filtração e lavagem com metanol obteve-se a substância **SV-84**.



**Fluxograma 13:** Análise Cromatográfica da fração SWM-6

#### 5.4 Isolamento e purificação dos constituintes químicos de *Simira pikia*

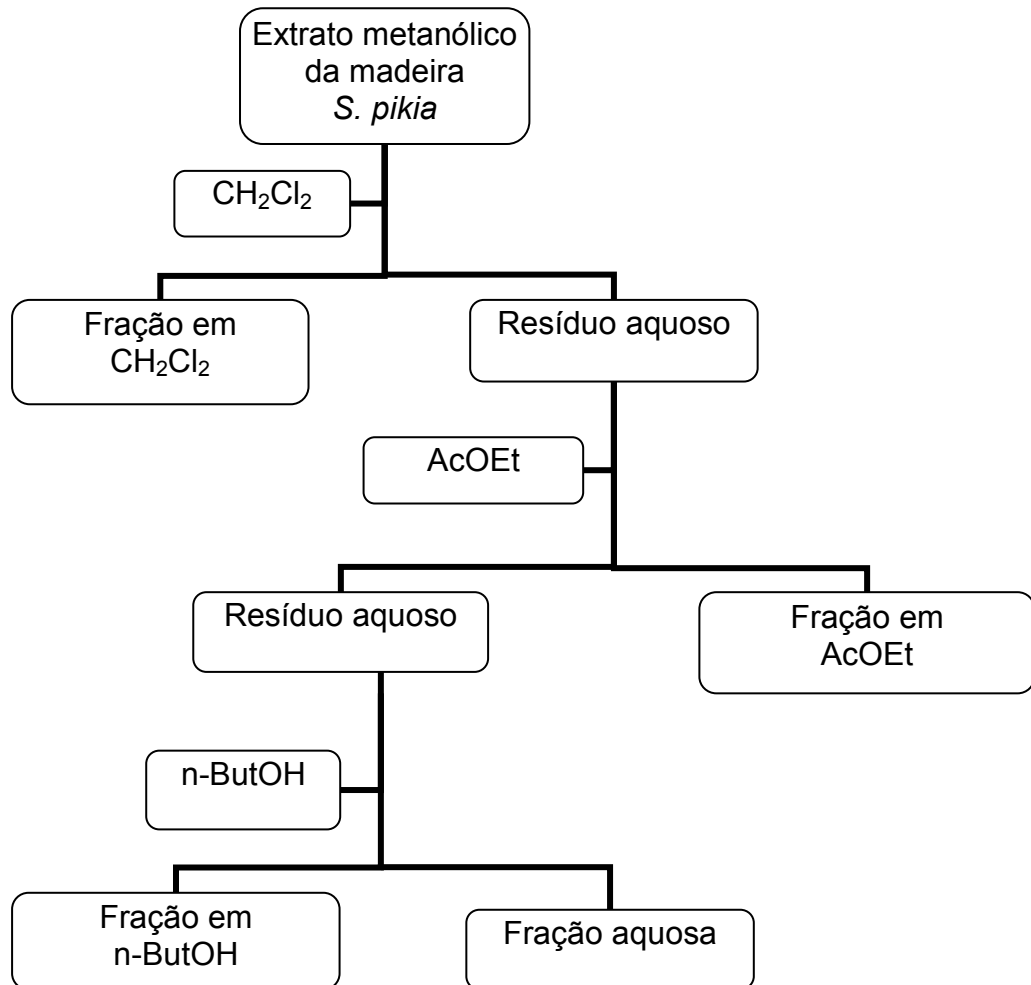
Aproximadamente 23,1621g do extrato bruto metanólico da madeira de *S. pikia* (SPM) foi submetido à coluna cromatográfica usando gel de sílica como fase estacionária e como eluentes CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> e MeOH em modo gradiente de polaridade até 100% de MeOH, fornecendo 29 frações que posteriormente foram reunidas em 12 frações, através de comparação por cromatografia em camada delgada analítica. O estudo cromatográfico das frações encontra-se na Tabela 12.

**Tabela 12:** Estudo cromatográfico das frações obtidas do extrato SPM

Frações Reunidas	Código	Massa (mg)
1-4	SPM-1	78,7
5-6	SPM-2	26,5
7-9	SPM-3	565,9
10	SPM-4	151,6
11-12	SPM-5	259,6
13-14	SPM-6	335,8
15-16	SPM-7	387,3
17-18	SPM-8	311,7
19-20	SPM-9	549,1
21-24	SPM-10	1018,7
25-27	SPM-11	1915,6
28-29	SPM-12	3020,4

Aproximadamente 27,8g do extrato metanólico da madeira de *S. pikia*, foi solubilizada em MeOH/H<sub>2</sub>O (8:2) e submetidas a partição com CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, AcOEt e *n*-ButOH, fornecendo 4 frações (Fluxograma 14) Tabela 13.

Do extrato metanólico da madeira de *S. pikia*, também foram separados aproximadamente 900 mg de extrato bruto para a realização de extração em funil de separação com CHCl<sub>3</sub>, fornecendo a fração SPC. As massas das frações obtidas na extração e na partição encontram-se na Tabela 13.



**Fluxograma 14:** Partição do extrato metanólico da madeira de *S. pikia*

**Tabela 13:** Massa das Frações obtidas da Partição do extrato metanólico da madeira de *S. pikia*.

Fração	Código	Massa (g)
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	SPD	18,2519
AcOEt	SPA	3,5319
<i>n</i> -ButOH	SPB	5,4310
Fração aquosa	SPFA	0,5771
CHCl <sub>3</sub>	SPC	0,8691

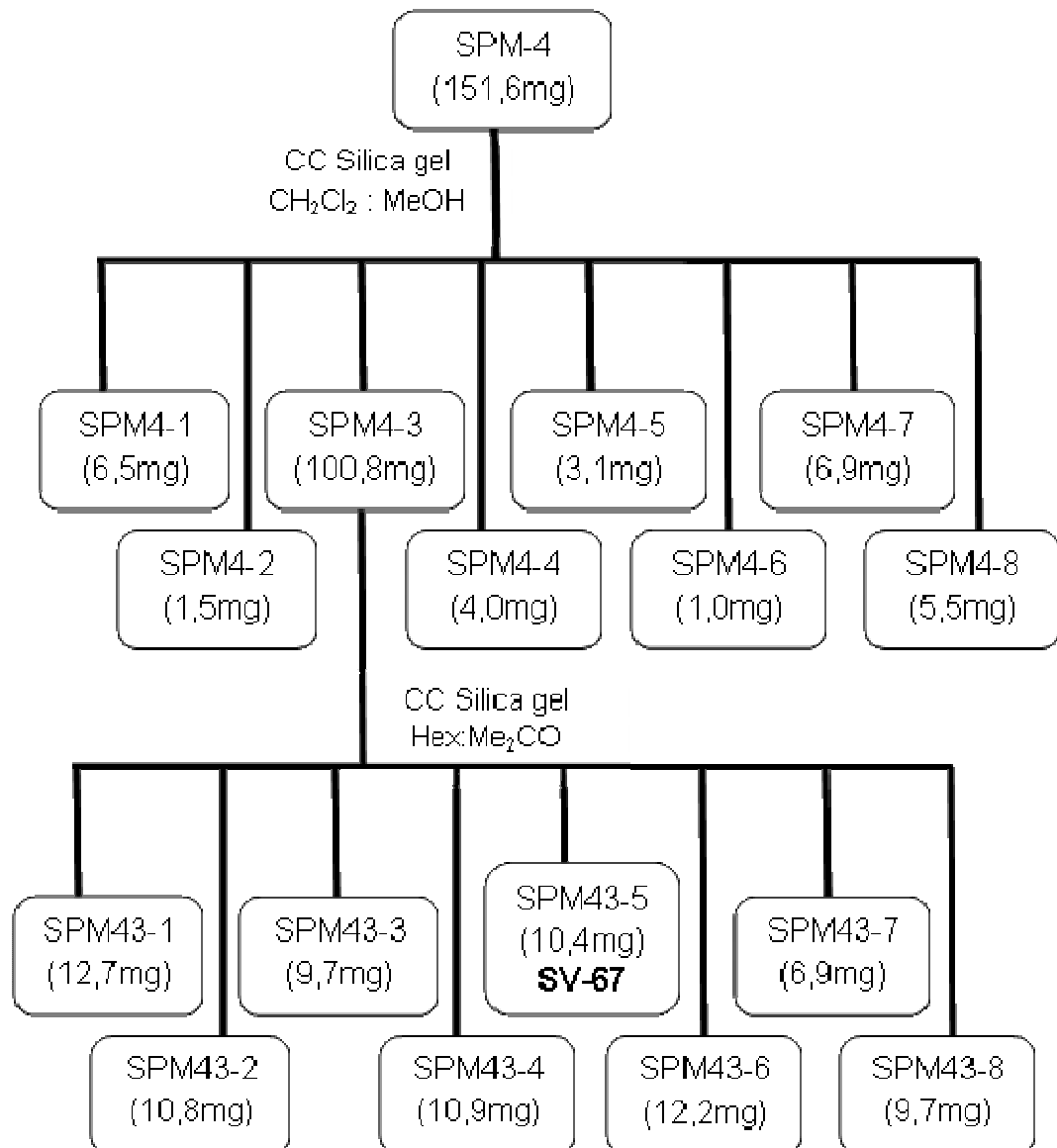
#### 5.4.1 Estudo fitoquímico da fração SPM-4 (151,6mg)

A fração SPM-4 foi submetida à coluna cromatográfica usando gel de sílica como fase estacionária e como eluentes CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> e MeOH em modo gradiente de polaridade até 100% de MeOH, fornecendo 100 frações que posteriormente foram reunidas em 8 frações, através de comparação por cromatografia em camada



delgada analítica. A fração SPM4-3 foi submetida a coluna cromatográfica usando gel de sílica como fase estacionária e como eluentes  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  e MeOH em modo gradiente de polaridade até 100% de MeOH, sendo posteriormente, a fração SPM4-3 submetida a uma nova coluna cromatográfica usando gel de sílica como fase estacionária e como eluentes hexano e acetona em modo gradiente de polaridade até 100% de acetona, obtendo-se o isolamento da substância **SV-67**. O estudo cromatográfico das frações encontra-se no Fluxograma 15.

As frações trabalhadas foram selecionadas após obtenção de cromatogramas com manchas de coloração azul escuro, quando reveladas com vanilina sulfúrica.

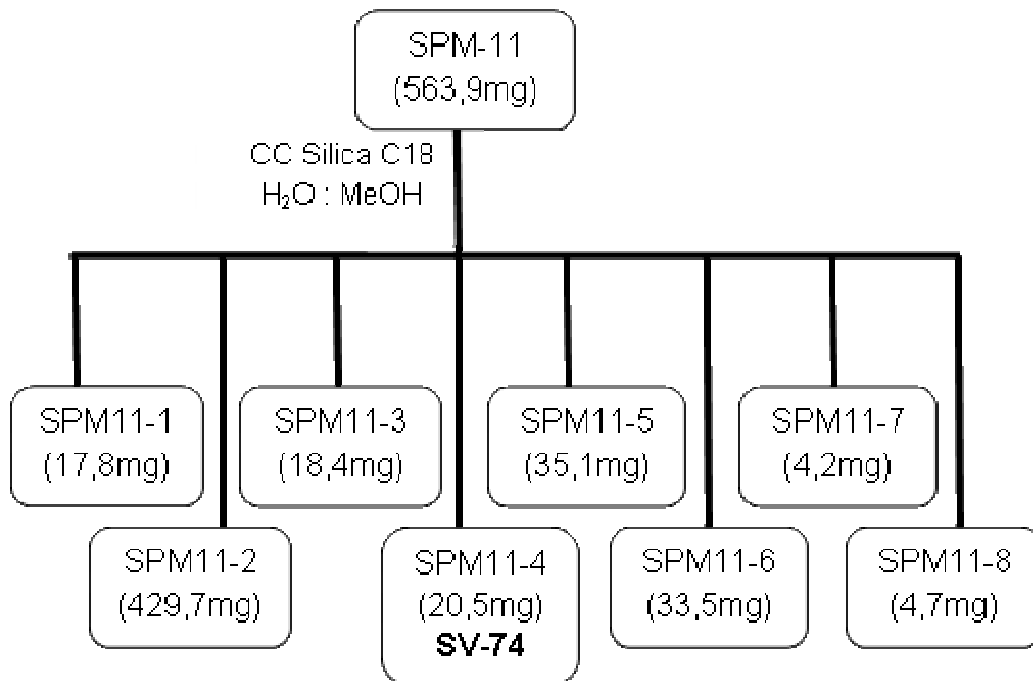


**Fluxograma 15:** Análise Cromatográfica da fração SPM-4

#### 5.4.2 Estudo fitoquímico da fração SPM-11 (1915,6mg)

Uma amostra de 563,9mg da fração SPM-11 foi submetida à coluna cromatográfica usando RP-18 como fase estacionária (cromatografia em fase reversa) e como eluentes H<sub>2</sub>O e MeOH (1:1) fornecendo 18 frações que posteriormente foram reunidas em 8 frações, através de comparação por cromatografia em camada delgada analítica.

A fração SPM11-4 foi selecionadas após obtenção de cromatogramas com manchas de coloração característica para alcaloides, quando reveladas com vanilina sulfúrica e Dragendorff, e valores de R<sub>f</sub> indicando substancia polar, obtendo-se o isolamento da substancia **SV-74**. O estudo cromatográfico das frações encontra-se no Fluxograma 16.



**Fluxograma 16:** Análise Cromatográfica da fração SPM-11

#### 5.4.3 Estudo fitoquímico da fração SPC (869,1mg)

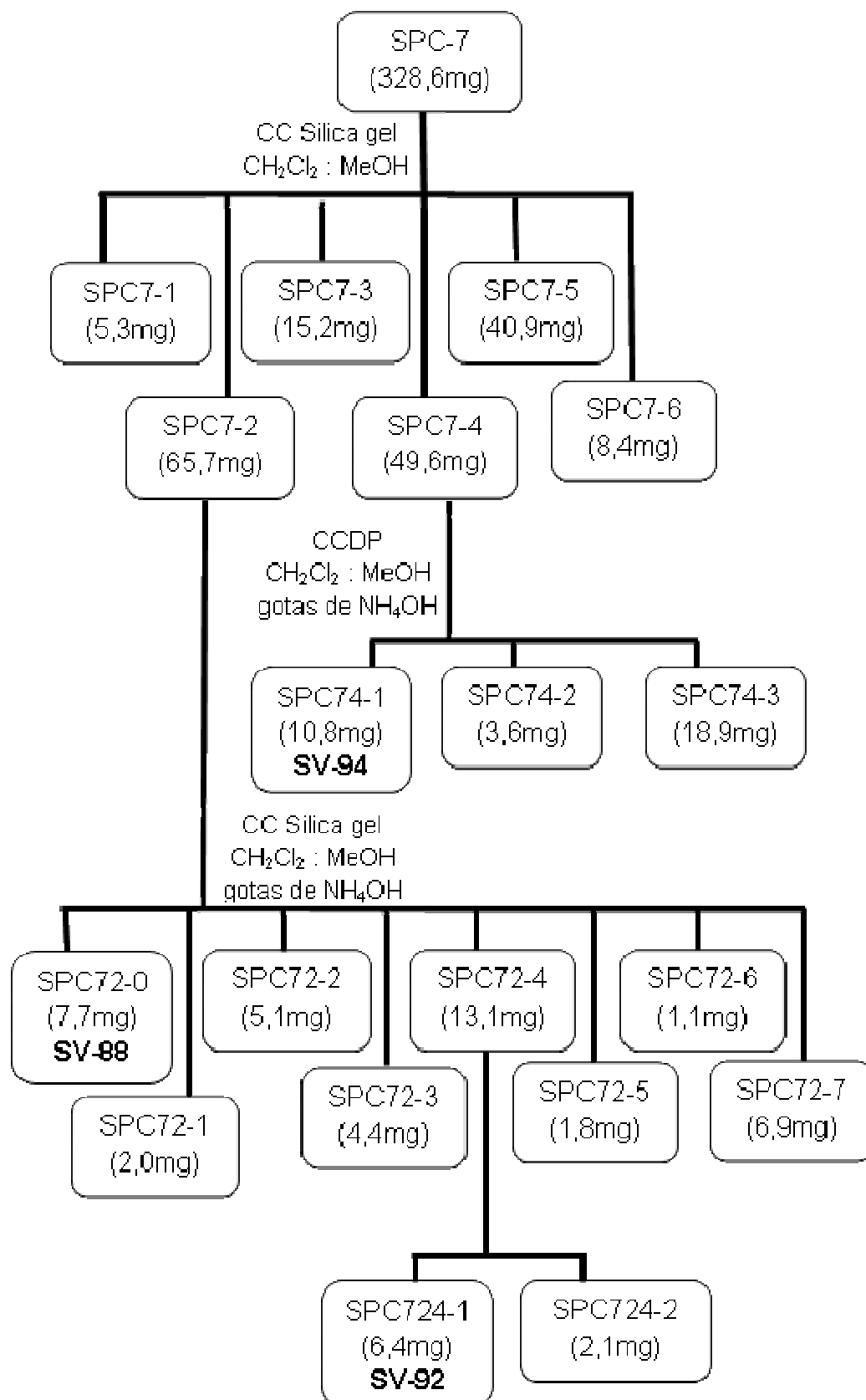
A fração **SPC** obtida na extração, foi submetida à coluna cromatográfica usando gel de sílica como fase estacionária e como eluentes CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> e MeOH, em modo gradiente de polaridade até 100% de MeOH, fornecendo 39 frações que posteriormente foram reunidas em 11 frações, através de comparação por cromatografia em camada delgada analítica. O estudo cromatográfico das frações encontra-se na Tabela 14.

**Tabela 14:** Estudo cromatográfico das frações obtidas da fração SPC

Frações Reunidas	Código	Massa (mg)
1	SPC-1	27,5
2	SPC-2	22,7
3-4	SPC-3	29,4
5-9	SPC-4	70,3
10-11	SPC-5	82,5
12-13	SPC-6	105,4
14-16	SPC-7	328,6
17-20	SPC-8	162,2
21-24	SPC-9	40,7
25-29	SPC-10	19,3
30-39	SPC-11	20,5

#### 5.4.3.1 Estudo fitoquímico da fração SPC-7 (328,6mg)

Após a realização de teste para a presença de alcaloides com reagente de Dragendorff, a fração SPC-7 foi submetida à coluna cromatográfica obtendo-se 6 frações, reunidas através de comparação por cromatografia em camada delgada analítica. A fração SPC7-2, foi submetida à cromatografia em coluna com sistema isocrático, usando como eluentes  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  e MeOH (95:5) e gotas de  $\text{NH}_4\text{OH}$ , obtendo-se o isolamento das substancias **SV-88** e **SV-92**. A fração SPC7-4 apresentou formação de cristais, que foram solubilizados com MeOH permitindo a obtenção da substancia **SV-94**. A análise da fração SPC-7 encontra-se sumarizada no Fluxograma 17.



**Fluxograma 17:** Análise Cromatográfica da fração SPC-7

#### 5.4.4 Estudo fitoquímico da fração SPA (3,5319mg)

Uma amostra de 2,3413g da fração **SPA** obtida na partição, foi submetida à coluna cromatográfica usando gel de sílica como fase estacionária e como eluentes  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  e MeOH, em modo gradiente de polaridade até 100% de MeOH, fornecendo 29 frações que posteriormente foram reunidas em 12 frações, através de comparação por cromatografia em camada delgada analítica. O estudo cromatográfico das frações encontra-se na Tabela 15.

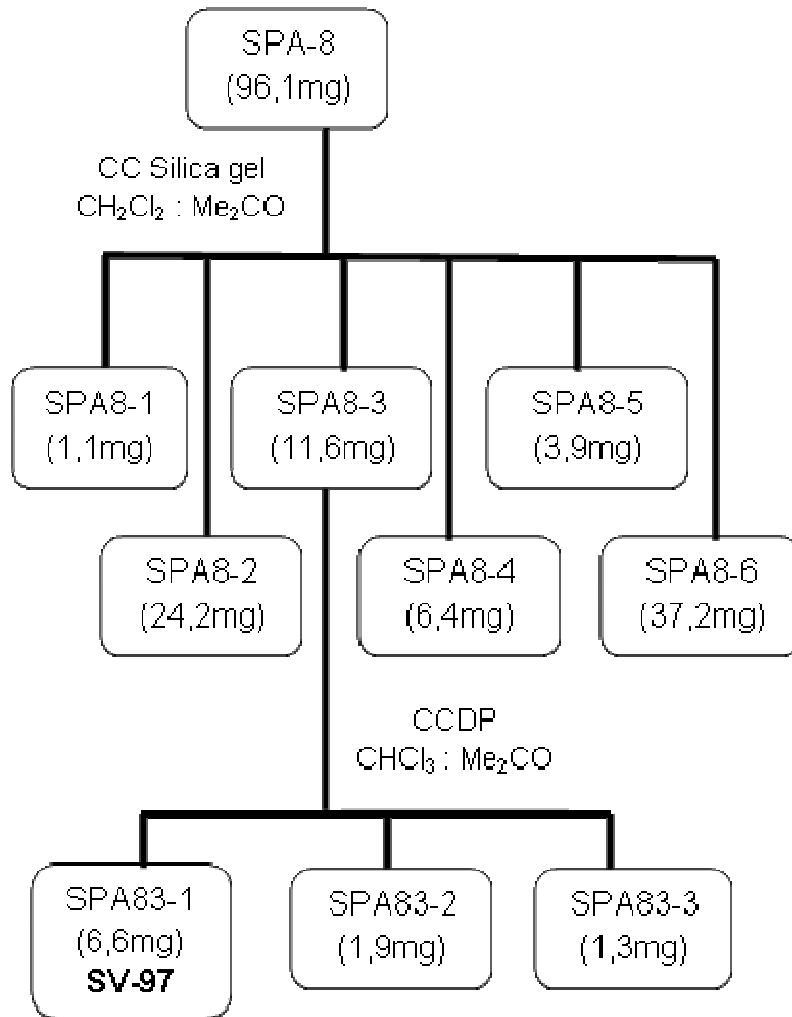
**Tabela 15:** Estudo cromatográfico das frações obtidas da fração SPC

Frações Reunidas	Código	Massa (mg)
1-2	SPA-0	68,4
3-4	SPA-1	101,1
5	SPA-2	8,4
6-7	SPA-3	15,8
8-9	SPA-4	400,6
10	SPA-5	79,8
11-12	SPA-6	137,6
13-14	SPA-7	249,7
15	SPA-8	96,1
16-17	SPA-9	212,5
18-19	SPA-10	126,1
20-29	SPA-11	334,1

As frações trabalhadas foram selecionadas após obtenção de cromatogramas com manchas de coloração azul escuro, quando reveladas com vanilina sulfúrica.

##### 5.4.4.1 Estudo fitoquímico da fração SPA-8 (96,1mg)

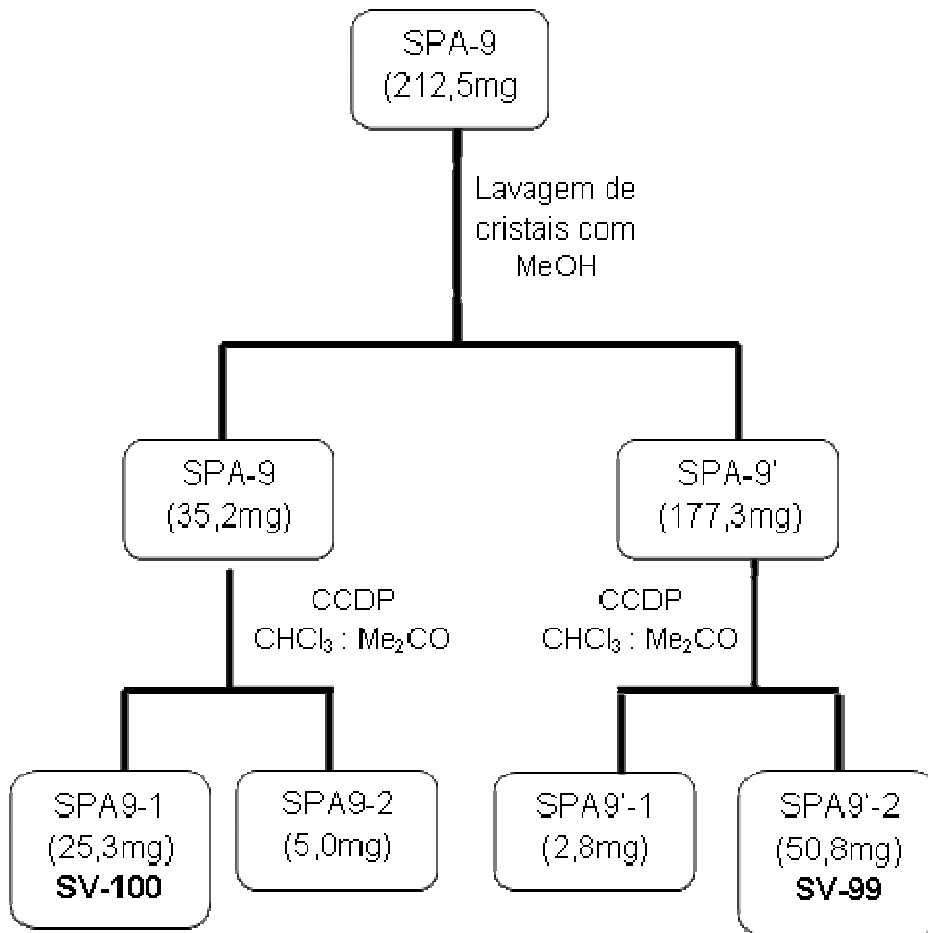
A fração SPA-8 foi submetida à coluna cromatográfica obtendo-se 6 frações, reunidas através de comparação por cromatografia em camada delgada analítica. A fração SPA8-3, foi submetida à cromatografia em camada delgada em escala preparativa, usando como eluentes  $\text{CHCl}_3$  e acetona (1:1), obtendo-se o isolamento da substância **SV-97**. As análises da fração SPA-8 encontram-se sumarizadas no Fluxograma 18.



**Fluxograma 18:** Análise Cromatográfica da fração SPA-8

#### 5.4.4.2 Estudo fitoquímico da fração SPA-9 (212,5mg)

A fração SPA-9 foi solubilizada com MeOH e as frações resultantes submetidas à cromatografia em camada delgada em escala preparativa, usando como eluentes CHCl<sub>3</sub> e acetona (1:1), obtendo-se dessa forma as substâncias **SV-99** e **SV-100**. As análises da fração SPA-9 encontram-se sumarizadas no Fluxograma 19.



**Fluxograma 19:** Análise Cromatográfica da fração SPA-9

#### 5.4.5 Estudo fitoquímico da fração SPFA (577,1mg)

A fração **SPFA** obtida na partição foi analisada através de cromatografia em camada delgada analítica, apresentando quando reveladas com vanilina sulfúrica, indicando substâncias muito polares. A fração foi então submetida à uma acetilação com piridina e anidrido acético (1:2, v/v, 24h), afim de reduzir a polaridade das substâncias presentes na fração. Posteriormente, a fração SPFA acetilada (753,2 mg), foi submetida à coluna cromatográfica usando gel de sílica como fase estacionária e como eluentes  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  e MeOH, com eluição em modo gradiente de polaridade até 100% de MeOH, fornecendo 121 frações que posteriormente foram reunidas em 11 frações. O estudo cromatográfico das frações encontra-se na Tabela 16.

**Tabela 16:** Estudo cromatográfico das frações obtidas da fração SPFA

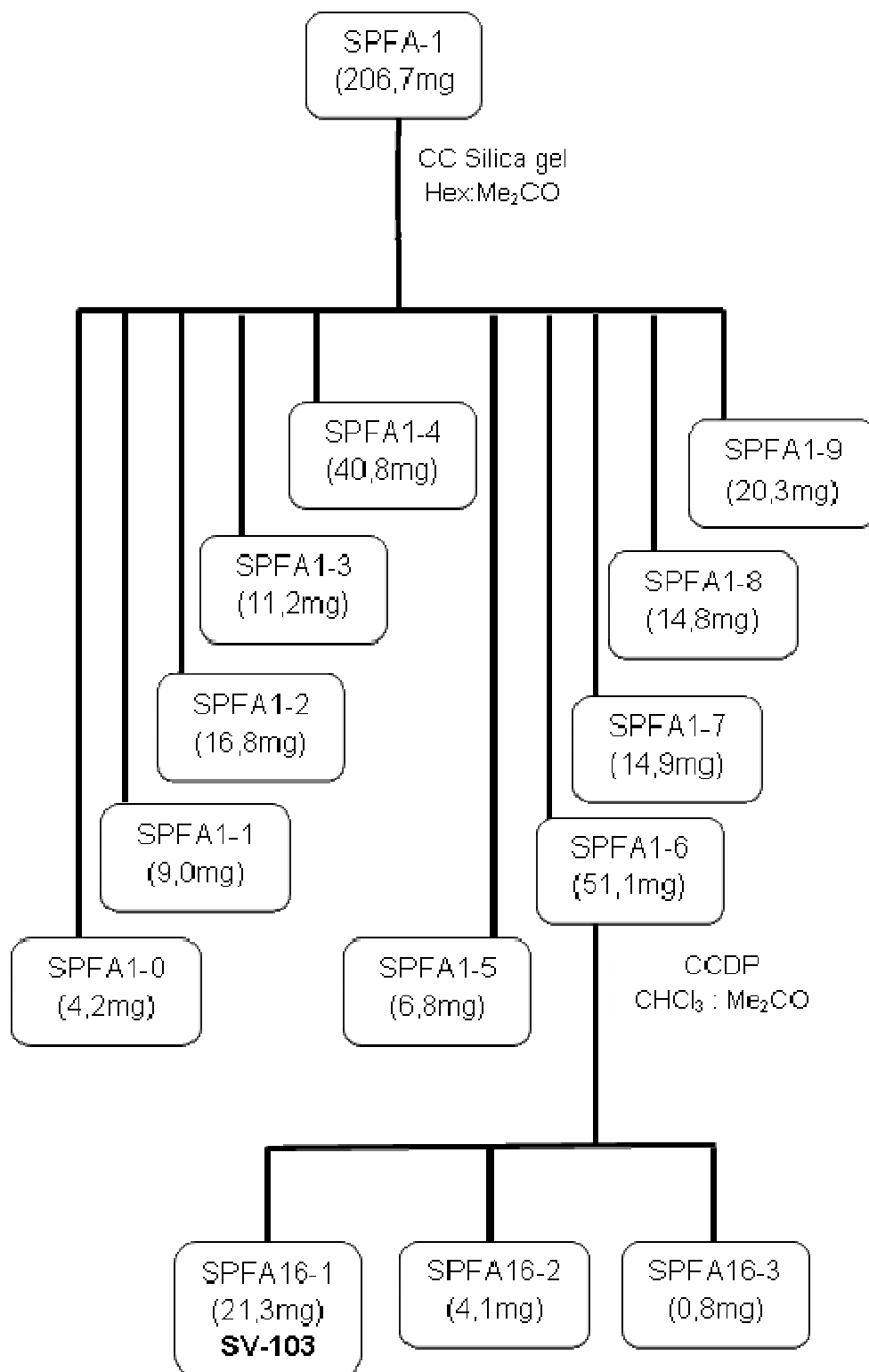
Frações Reunidas	Código	Massa (mg)
1-14	SPFA-1	206,7
15-18	SPFA-2	19,9
19-32	SPFA-3	21,3
33-54	SPFA-4	12,1
55-74	SPFA-5	17,8
75-86	SPFA-6	15,9
87-97	SPFA-7	18,0
98-106	SPFA-8	17,7
107-112	SPFA-9	20,4
113-116	SPFA-10	18,9
117-121	SPFA-11	42,9

As frações trabalhadas foram selecionadas após obtenção de cromatogramas com manchas de coloração azul escuro, quando reveladas com vanilina sulfúrica.

#### 5.4.5.1 Estudo fitoquímico da fração SPFA-1 (206,7mg)

A fração SPFA-1 foi submetida à coluna cromatográfica obtendo-se 10 frações, reunidas através de comparação por cromatografia em camada delgada analítica. A fração SPFA1-6 foi submetida à cromatografia em camada delgada em escala preparativa, usando como eluentes hexano e acetona (3:1), obtendo-se o isolamento da substância **SV-103**. As análises da fração SPFA-1 encontram-se sumarizadas no Fluxograma 20.





**Fluxograma 20:** Análise Cromatográfica da fração SPFA-1

## **5.5 Testes de Atividade Biológica**

### **5.5.1 Teste de Atividade Inseticida**

#### **5.5.1.1 Manutenção dos mosquitos**

Os mosquitos *A. aegypti* da linhagem Rockefeller foram obtidos da colônia do Setor de Entomologia do Instituto de Biologia do Exército (IBEX-RJ) e foram mantidos no insetário do Laboratório de Biotecnologia da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF).

As larvas utilizadas nos experimentos foram criadas em bandejas com água destilada a temperatura ambiente. A dieta das larvas consistiu de ração de camundongo. Os mosquitos adultos foram mantidos a temperatura ambiente em gaiolas umidificadas contendo uma solução de sacarose 10%. A produção de ovos foi induzida a partir do oferecimento de sangue de camundongo às fêmeas. Os ovos foram depositados em papel de filtro umedecido dois dias após a dieta sangüínea. Os ovos foram colocados em água destilada para a eclosão das larvas.

#### **5.5.1.2 Preparo das soluções estoque e dos testes**

A solução do extrato de *S. sampaioana*, de volume de 20 mL e concentração de 1% (10,000 ppm), foi diluída inicialmente em solvente apropriado (DMSO) e depois acrescentado água destilada para se obter as diferentes soluções usadas nos testes, com concentrações entre 200 até 0,01 ppm. (WHO, 2005).

#### **5.5.1.3 Bioensaios**

As larvas do mosquito foram expostas às varias soluções testes com concentrações definidas a fim de descobrir a faixa de concentração que apresenta atividade. Um controle foi usado paralelamente. Após determinar a mortalidade das larvas nestas variadas soluções, concentrações que obtivessem mortalidade entre 10 % e 95 % em 24 h ou 48 h seriam usadas para determinar os valores de LC<sub>50</sub> e LC<sub>90</sub> utilizando o software Log-Probit (WHO, 2005).

Lotes de 15 larvas de terceiro e quarto estágio foram transferidos para copos descartáveis contendo de 100 a 200 mL de água. A solução teste com a concentração desejada foi adicionada aos copos, da maior para a menor concentração. Quatro réplicas foram utilizadas para cada concentração e um

número igual de controles foi usado simultaneamente com água e o solvente usado na dissolução da amostra (DMSO). Cada amostra foi repetida, pelo menos, três vezes em dias diferentes.

Os recipientes dos testes foram mantidos entre 25 e 28 °C e num fotoperíodo de 12 h de luz seguido por 12 h de escuro. Após 24 h de exposição, a mortalidade das larvas foi registrada.

## **5.5.2 Atividade anticancerígena, *in vitro*, dos compostos SV-40 e SV-74**

### **5.5.2.1 Cultura das linhagens de células de origem tumoral**

As linhagens de células leucêmicas (U937 e MOLT-04), de pulmão (H460) e de colo (Colo-205) foram adquiridas da *American Type Culture Collection* (ATCC). As células foram cuidadosamente armazenadas em garrafas estéreis com meio de cultura trocado rigidamente a cada dois dias e estufa a temperatura corporal humana de forma que estas estivessem livres de contaminação e crescendo constantemente. As garrafas foram mantidas em estufa (Forma Scientific Inc., modelo 3159) com 5 % de CO<sub>2</sub> e umidade controlada.

### **5.5.2.2 Ajustes das culturas Celulares**

Antes de se iniciar qualquer processo de análise biológica a integridade das células foi verificada através de microscópio Axiovert 135M.

Confirmada a integridade das células sua quantificação foi feita em câmara de Neubauer (Boeco) com coloração vital por Trypan Azul (Sigma, T6146) na concentração de 0,4 mmol/L (50 µL do meio de cultura com células + 50 µL do corante em um ependorf). Uma alíquota das células de cada cultura foi quantificada e sua concentração foi verificada de forma que se utilizou a centrífuga (1500 rpm durante 5 min), a fim de ressuspender as células em novo volume de meio de cultura DMEM/F12 completo, de modo a obter-se a concentração de  $1,0 \times 10^6$  células/mL. Além disso, esse procedimento visa adicionar um novo meio de cultura às células, evitando assim a ausência de nutrientes e consequentes mortes por inanição.

Às células do tipo H460 e Colo-205, aderentes, foi necessário o uso de tripsina completa (2,0 mL EDTA 2,5 %, 7,0 mL de PBS e 1,0 mL de tripsina) a fim de desaderir as células da parede da garrafa MED (1 mL de tripsina completa para uma garrafa média com 15 mL de células, após retirada do sobrenadante).

Movimentos repetidos foram feitos de forma a desaderir as células do fundo da garrafa. Por fim acrescentou-se meio de cultura e, em seguida, centrifugou-se as células a 1500 rpm durante 5 minutos.

### 5.5.2.3 Ensaio Metabólico com MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-brometo de difeniltetrazolium)

O ensaio metabólico com MTT foi realizado de acordo com metodologia descrita por Lopes (2012), que tem por base a redução do 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-brometo de difeniltetrazolium, chamado MTT, a formazan, um composto de cor púrpura, através da enzima succinato desidrogenase mitocondrial (Figura 6).



**Figura 6:** Esquema da redução do MTT a formazan pela succinato desidrogenase mitocondrial (LOPES, 2012)

Para os testes utilizou-se placas de 96 poços onde em cada poço colocou-se 100  $\mu$ L de células em meio de cultura com a concentração ajustada para  $1,0 \times 10^6$  células/mL. As placas foram deixadas em repouso na estufa, a fim de que as células voltassem à atividade normal.

A diluição das soluções em PBS dos compostos foi realizada em meio D-MEM/F12 (Gibco, BRL) suplementado com 10 mL de soro fetal bovino e 100  $\mu$ L de gentamicina (Gibco, BRL) para cada 100 mL de meio de cultura. Os compostos foram então diluídos até as concentrações de trabalho de 200; 100; 50; 25; e 12,5  $\mu$ mol/L.

Após quatro horas para as células leucêmicas e seis horas para as células de câncer de pulmão e colo foram acrescentadas cinco concentrações de cada amostra aos poços contendo o meio de cultura.

As células foram submetidas ao tratamento por 36 horas e a seguir a viabilidade foi avaliada pelo teste de metabolização do MTT. A cada poço foram acrescentados 20  $\mu$ L de uma solução de MTT (5,0 mg/mL dissolvido em tampão

fosfato salino pH 7,2). Após 4 horas de incubação, foram retirados 120 µL do sobrenadante das culturas de células tumorais e os cristais púrpuras precipitados de formazan foram solubilizados em 150 µL de solução de isopropanol P.A. com HCl fumegante em proporção de 0,6 v/v de HCl.

As placas foram submetidas à centrifugação por 10 min a 1500 rpm e 100 µL do sobrenadante foram transferidos para outra placa de cultura de 96 poços e lida na sequência em espectrofotômetro multicanal com comprimento de onda ajustado para 570 nm.

### **5.5.3 Atividade Antifúngica**

#### **5.5.3.1 Obtenção dos extratos**

Foram separadas alíquotas de 4mg do extrato bruto metanólico da madeira das espécies *Simira pikia* e *S. walteri*. As mesmas foram solubilizadas em 10% de DMSO (Dimetilsulfoxido - MERCK) e o volume final da amostra foi ajustado, com água ultra pura para 1 ml.

O extrato bruto metanólico da madeira das espécies *Simira samapaioana* não foi utilizados nesse teste, pois sua intensa coloração avermelhada poderia comprometer a leitura dos resultados.

#### **5.5.3.2 Obtenção das leveduras**

Inóculos das células das leveduras *Candida tropicalis* e *Candida buinensis* foram retirados dos tubos contendo ágar Sabouraud inclinado e transferidos para placas de Petri contendo ágar Sabouraud. As células foram mantidas por um período de 24h a 30 °C. Após este período, as células foram utilizadas no ensaio no qual, com o auxílio de uma alça de sementeira, colônias foram retiradas e adicionadas a 10 mL de meio de cultura (caldo Sabouraud), para que se fizesse a quantificação das mesmas em câmara de Neubauer através do uso de um microscópio óptico (Axiovison 4, Zeiss).

#### **5.5.3.3 Análise da inibição do crescimento de leveduras**

Após quantificação, as células das leveduras *Candida tropicalis* e *Candida buinensis* ( $1,0 \times 10^4$  células/mL) foram incubadas em 200 µL de caldo Sabouraud contendo 100 µL do extrato bruto metanólico da madeira das espécies *S. pikia* ou

*S. walteri*. O ensaio foi realizado em placas de cultura de células (96 poços) a 30°C por um período de 24h. O reflexo do crescimento celular foi determinado pela densidade ótica, monitorada a cada 6h, por espectrofotômetro, num comprimento de onda de 620nm. Todo ensaio foi feito em triplicata. Todo o procedimento foi realizado sob condições de assepsia, em capela de fluxo laminar, segundo metodologia adaptada de Broekaert *et al.* (1990). Após ensaio, as células das leveduras, crescidas na ausência e na presença dos extratos, foram visualizados através de microscopia óptica de contraste de fase (Axiovision 4, Zeiss) e em microscopia eletrônica de varredura (ZEISS - DSEM 962).

#### **5.5.3.4 Análise por microscopia óptica**

Após a última leitura por espectrofotômetro foram retiradas alíquotas dos poços (controle e teste) e dispostas em lâminas e cobertas com lamínulas e observadas em microscopia óptica de contraste de fase (Axiovision 4, Zeiss).

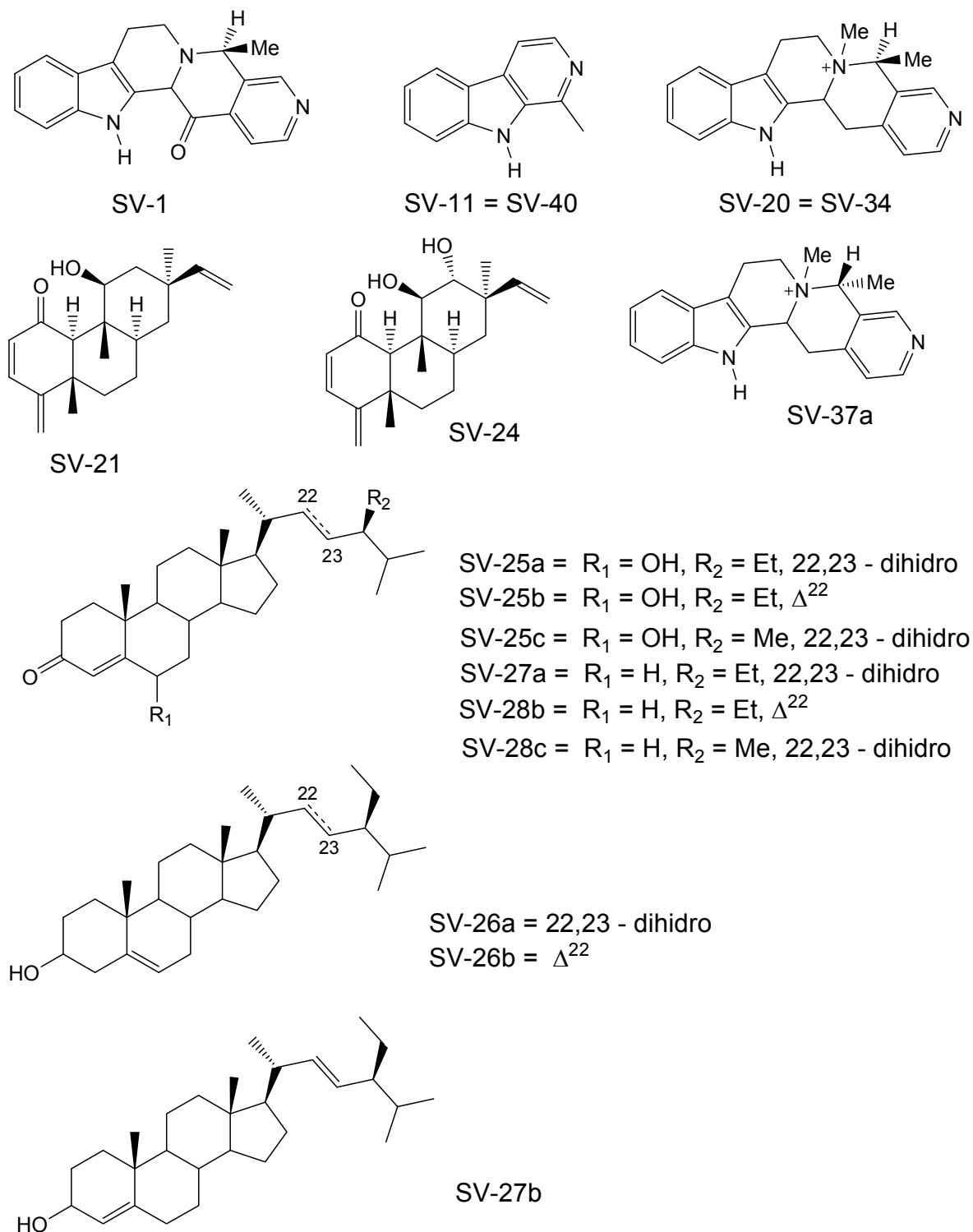
#### **5.5.3.5 Análise por Microscopia Eletrônica de Varredura**

As células de leveduras oriundas do ensaio de inibição do crescimento foram fixadas em uma solução de glutaraldeído 2,5%, paraformaldeído 4,0% e tampão cacodilato de sódio 0,1M em pH 7,2.

Posteriormente as amostras sofreram três lavagens (20min cada) com o mesmo tampão, e foram pós-fixadas em uma solução de tetróxido de Ósmio 1 % e tampão cacodilato de sódio 0,1 M, à temperatura ambiente por uma hora. Em seguida as amostras foram submetidas novamente a três lavagens com o mesmo tampão. Posteriormente, as amostras foram desidratadas em série alcoólica crescente (30%, 50 %, 70 %, 90 % e três vezes 100%), e foram secas com o auxílio do aparelho ponto crítico (Bal-Tec Critical Point Dryer CPD 030). Em seguida, os fragmentos secos foram afixados com fita adesiva de carbono em suportes próprios e metalizados com uma fina camada de ouro de 20 nm (Bal-Tec Sputer Coater SCD 050). As amostras foram observadas e documentadas no microscópio eletrônico de varredura ZEISS - DSEM 962 a uma voltagem de 10 a 25 KV.

## 6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

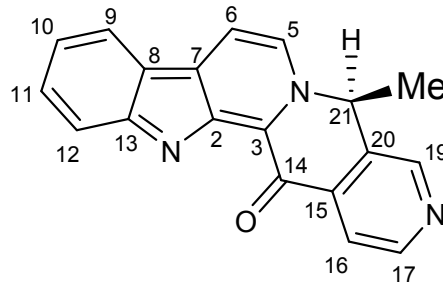
### 6.1 Substâncias identificadas de *Simira sampaioana*



**Figura 7:** Substâncias identificadas de *Simira sampaioana*

## 6.2 Determinação Estrutural das substâncias de *S. sampaioana*

### 6.2.1 Identificação da substância SV-1



A substância **SV-1** foi isolada do extrato em MeOH da madeira de *S. sampaioana* como um sólido amarelo amorfo, apresentando teste positivo para alcaloides com reagente de Dragendorff.

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  da substância **SV-1** (Figura 9, pag. 66; Figura 10, pag. 68) apresenta sinais característicos de hidrogênios aromáticos entre  $\delta_{\text{H}}$  7,45 – 8,24. Os sinais de hidrogênio foram atribuídos com auxílio do espectro de correlação bidimensional homonuclear  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY (Figuras 12 e 13, pag. 69) que permitiu identificar as interações de acoplamentos entre o sinal em  $\delta_{\text{H}}$  7,45 (1H, *ddd*, 7,1; 7,9 e 2,0 Hz, H-10) com os sinais em  $\delta_{\text{H}}$  8,24 (1H, *d*, 7,1Hz, H-9) e em  $\delta_{\text{H}}$  7,78 (1H, *d*, 7,1Hz, H-11). Observou-se também o acoplamento entre o sinal em  $\delta_{\text{H}}$  7,78 com o sinal em  $\delta_{\text{H}}$  7,77 (1H, *d*, 7,9Hz, H-12), sinais característicos de um anel benzênico livre de substituintes de um núcleo indólico (SILVERTEIN et al, 2007).

A presença do anel aromático livre de substituintes foi corroborada pela análise dos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  - DEPT Q (Figura 11, pag. 68) e do espectro de correlação bidimensional heteronuclear HSQC (Figuras 14 e 15, pag. 70), apresentando as correlações à  $^1J$  entre o sinal em  $\delta_{\text{C}}$  121,52 (CH-10) com o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  7,45 (H-10), o sinal em  $\delta_{\text{C}}$  122,50 (CH-9) com o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  8,24 (H-9), o sinal em  $\delta_{\text{C}}$  129,98 (CH-11) com o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  7,78 (H-11) e o sinal em  $\delta_{\text{C}}$  109,47 (CH-12) com o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  7,77 (H-12). E através das correlações a longa distância, apresentadas no espectro de correlação bidimensional heteronuclear HMBC (Figuras 16 e 17, pag. 71), observa-se as correlações à  $^2J$  entre os sinais em  $\delta_{\text{C}}$  121,52 (CH-10) com o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  8,24 (H-9), e à  $^3J$  entre os sinais em  $\delta_{\text{C}}$  122,50 (CH-9) com o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  7,78 (H-11), o sinal em  $\delta_{\text{C}}$  121,52 (CH-10) com o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  7,77 (H-12),  $\delta_{\text{C}}$



129,98 (CH-11) com o hidrogênio em  $\delta_H$  8,24 (H-9) e o sinal em  $\delta_C$  109,47 (CH-12) com o hidrogênio em  $\delta_H$  7,45 (H-10).

O espectro de correlação heteronuclear  $J^1$  HSQC (Figuras 14 e 15, pag. 70), permitiu ainda, atribuir os sinais  $\delta_C$  119,21 (CH-6) e  $\delta_C$  141,87 (CH-5) que se correlacionam com os hidrogênios em  $\delta_H$  8,23 (1H, *d*, 4,0Hz, H-6) e  $\delta_H$  8,82 (1H, *d*, 4,8Hz, H-5) respectivamente. Juntamente com as correlações  $J^2$  (Figuras 16 e 17, pag. 71), entre os sinais em  $\delta_C$  133,70 (C-7) com o hidrogênio em  $\delta_H$  8,23 (H-6), e  $J^3$  com o hidrogênio em  $\delta_H$  8,82 (H-5). Observou-se também as correlações  $J^3$  entre os sinais em  $\delta_C$  135,75 (C-3) com o hidrogênio H-5 e entre o sinal  $\delta_C$  135,32 (C-2) com o hidrogênio H-6, confirmando a presença de um anel piridínico. As demais correlações estão descritas na Tabela 17, pag 65.

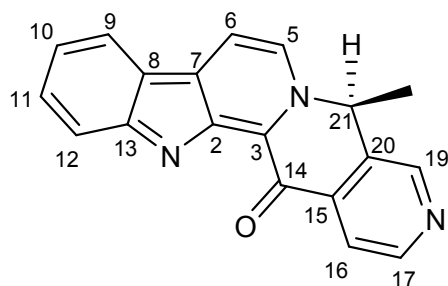
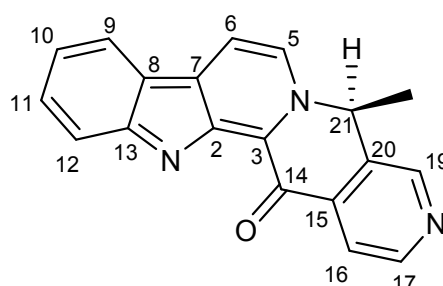
A presença de um segundo anel piridínico é apoiada pela análise das correlações  $J^1$  (Figuras 14 e 15, pag. 70) dos sinais  $\delta_C$  123,83 (CH-16) com o hidrogênio em  $\delta_H$  7,88 (1H, *d*, 4,9Hz, H-16),  $\delta_C$  151,03 (CH-17) com o hidrogênio em  $\delta_H$  8,83 (1H, *d*, 4,9Hz, H-17) e  $\delta_C$  148,84 (CH-19) com o hidrogênio em  $\delta_H$  8,90 (1H, *s*, H-19). Corroborada pelas correlações  $J^2$  entre os sinais  $\delta_C$  123,83 (CH-16) com o hidrogênio em  $\delta_H$  8,83 (H-17) e  $\delta_C$  151,03 (CH-17) com o hidrogênio em  $\delta_H$  7,88 (H-16), e  $J^3$  entre os sinais  $\delta_C$  148,84 (CH-19) com o hidrogênio em  $\delta_H$  8,83 (H-17) (Figuras 16 e 17, pag. 71).

Além disso, a análise dos espectros de correlações heteronucleares permitiram observar as correlações entre o sinal em  $\delta_C$  54,70 (CH-21) à  $J^1$  com o hidrogênio em  $\delta_H$  5,99 (1H, *q*, 7,3Hz, H-21), e à  $J^3$  com  $\delta_H$  8,90 (H-19). Também o sinal em  $\delta_C$  21,32, característico de carbono metílico, correlacionando-se à  $J^1$  com os hidrogênios em  $\delta_H$  1,66 (3H, *d*, 6,9 z 3H-22), e  $J^2$  com o hidrogênio em  $\delta_H$  5,99 (H-21). Essas correlações sugerem a presença de um anel entre os anéis piridínicos, sendo confirmado através das correlações à  $J^3$   $\delta_C$  135,75 (C-3) com o hidrogênio em  $\delta_H$  5,99 (H-21). As demais correlações encontram-se descritas na Tabela 17, pag 64.

E por fim, a análise do espectro de  $^{13}\text{C}$ -DEPT Q (Figura 11, pag. 68) revela a presença de um sinal em  $\delta_C$  191,21 (C-14) referente a um grupo cetona. A confirmação da posição deste carbono é reforçada com as correlações à  $J^3$  entre o C-14 com o hidrogênio em  $\delta_H$  7,88 (H-16) (Figuras 16 e 17, pag. 71).

Os espectros de CG/EM (Figura 8, pag. 65), permitem deduzir íon molecular  $m/z$  299 ( $[M]^{*+}$ ) a fórmula molecular  $C_{19}H_{13}N_3O$ . As propostas de fragmentações para os principais picos observados encontram-se no Esquema 1, pag. 66.

A comparação destes dados com os valores encontrados na literatura (HASBUN et al,1989) permitem identificar a substância **SV-1** como sendo o alcaloide maxonina (**7**).

**SV-1****Mo-1**

**Tabela 17:** Dados de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz) e  $^{13}\text{C}$  (125 MHz) em  $\text{CDCl}_3$  e as correlações observadas no espectro de HMQC e HMBC da substância **SV-1** e comparação com valores de literatura para os modelos **Mo-1** em  $^1\text{H}$  (400 MHz) e  $^{13}\text{C}$  (100 MHz) (HASBUN et al,1989). Os valores das constantes de acoplamento ( $J$ ) em Hz, estão entre parêntesis e os deslocamentos químicos em ppm.

	HMQC		HMBC		Mo-1	
	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$^2J_{\text{HC}}$	$^3J_{\text{HC}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$
C						
2	135,32	-		H-6	135,02	-
3	135,75	-		H-5; H-21	135,13	-
7	133,70	-	H-6	H-5	133,46	-
8	121,33	-		H-6; H-10; H-12	121,16	-
13	140,75	-		H-9; H-11	140,84	-
14	191,21	-		H-16	190,64	-
15	145,40	-	H-16	H-17; H-19	145,25	-
20	132,19	-	H-19; H-21	H-16; 3H-22	132,78	-
CH						
5	141,87	8,82 ( <i>d</i> , 4,8)	H-6	H-21	140,63	8,83 ( <i>d</i> , 5,0)
6	119,21	8,23 ( <i>d</i> , 4,0)	H-5		119,23	8,26 ( <i>d</i> , 5,0)
9	122,50	8,24 ( <i>d</i> , 7,1)		H-11	122,50	8,23 ( <i>d</i> , 8,0)
10	121,52	7,45 ( <i>ddd</i> , 7,1, 7,9, 2,0)	H-9	H-12	121,57	7,44 ( <i>m</i> )
11	129,98	7,78 ( <i>dt</i> , 2,9)		H-9	130,15	7,78
12	109,47	7,77 ( <i>dl</i> , 7,9)		H-10	109,51	7,78
16	123,83	7,88 ( <i>d</i> , 4,9)	H-17		123,84	7,87 ( <i>d</i> , 5,0)
17	151,03	8,83 ( <i>d</i> , 4,9)	H-16	H-19	150,74	8,82 ( <i>d</i> , 5,0)
19	148,84	8,90 ( <i>s</i> )		H-17; H-21	148,73	8,94 ( <i>s</i> )
21	54,70	5,99 ( <i>q</i> , 7,3)	3H-22	H-19	54,09	6,02 ( <i>q</i> , 6,8)
CH <sub>3</sub>						
22	21,32	1,66 ( <i>d</i> , 6,9)	H-21		21,29	1,65 ( <i>d</i> , 6,8)

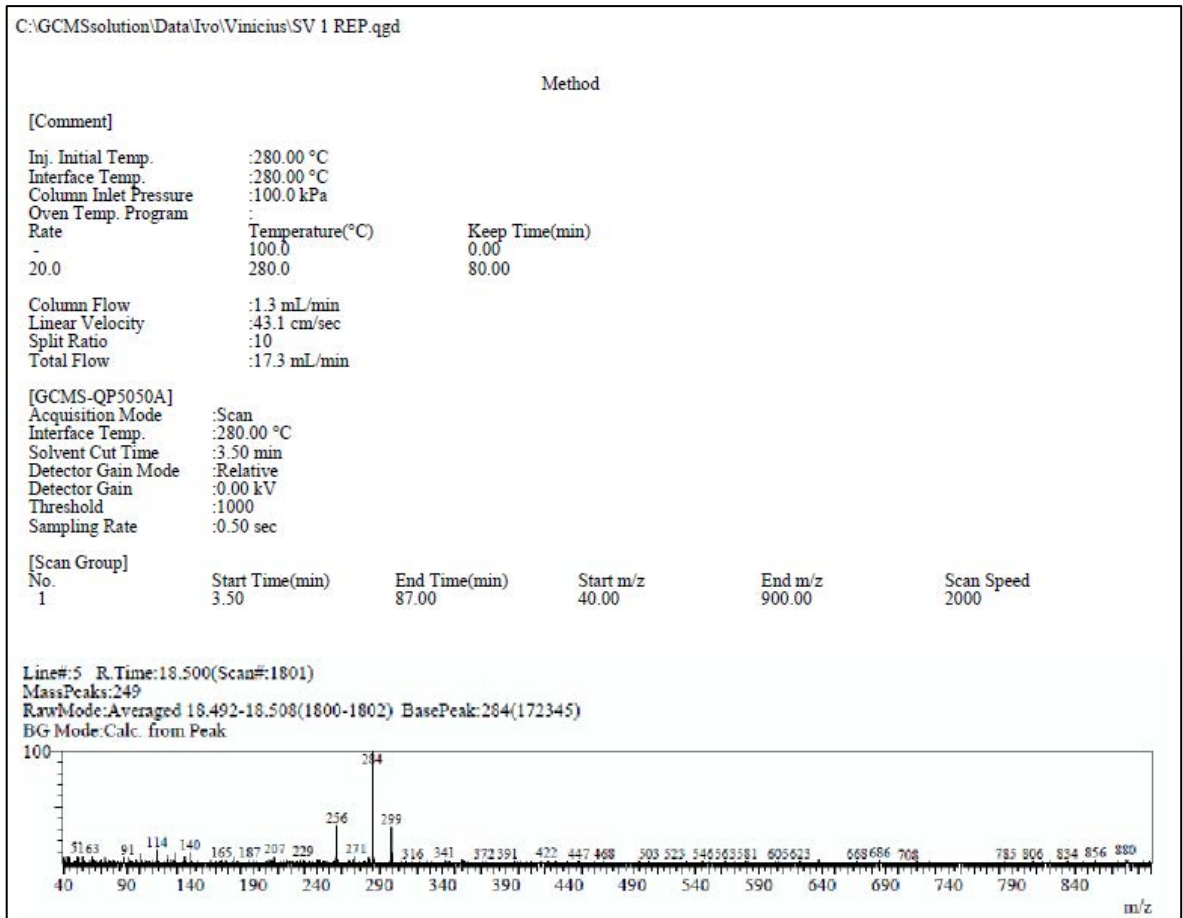
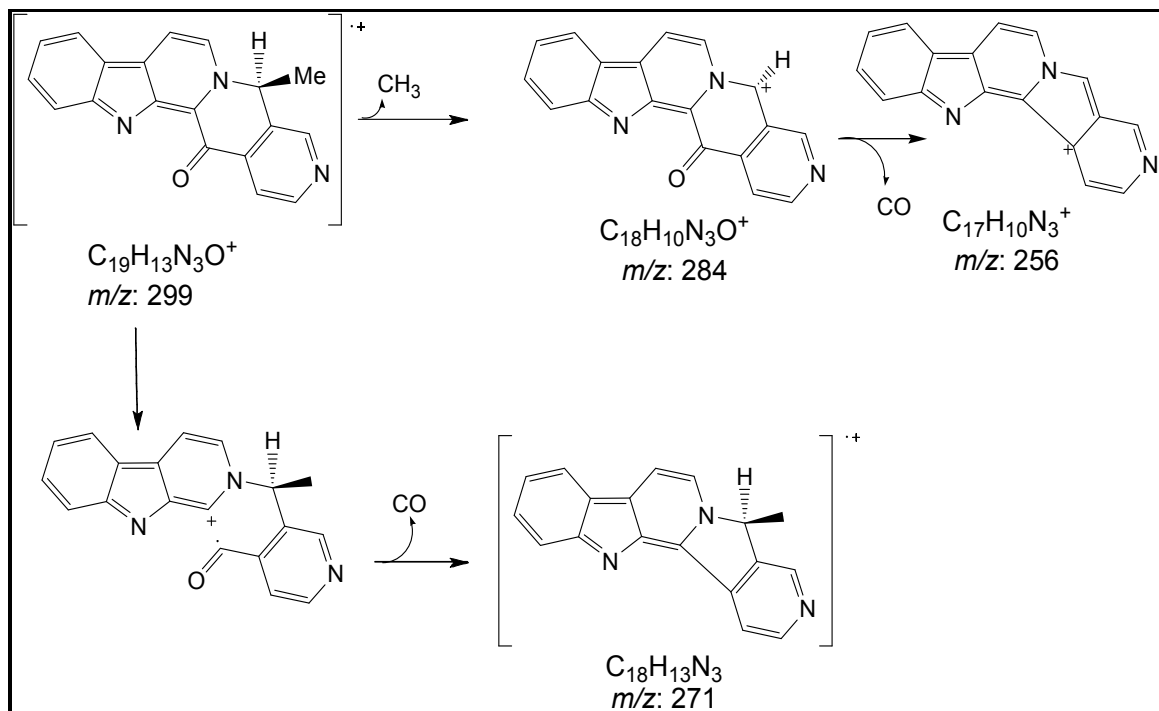


Figura 8: Espectro de massas de SV-1



Esquema 1: Proposta mecanistica de fragmentação para SV-1

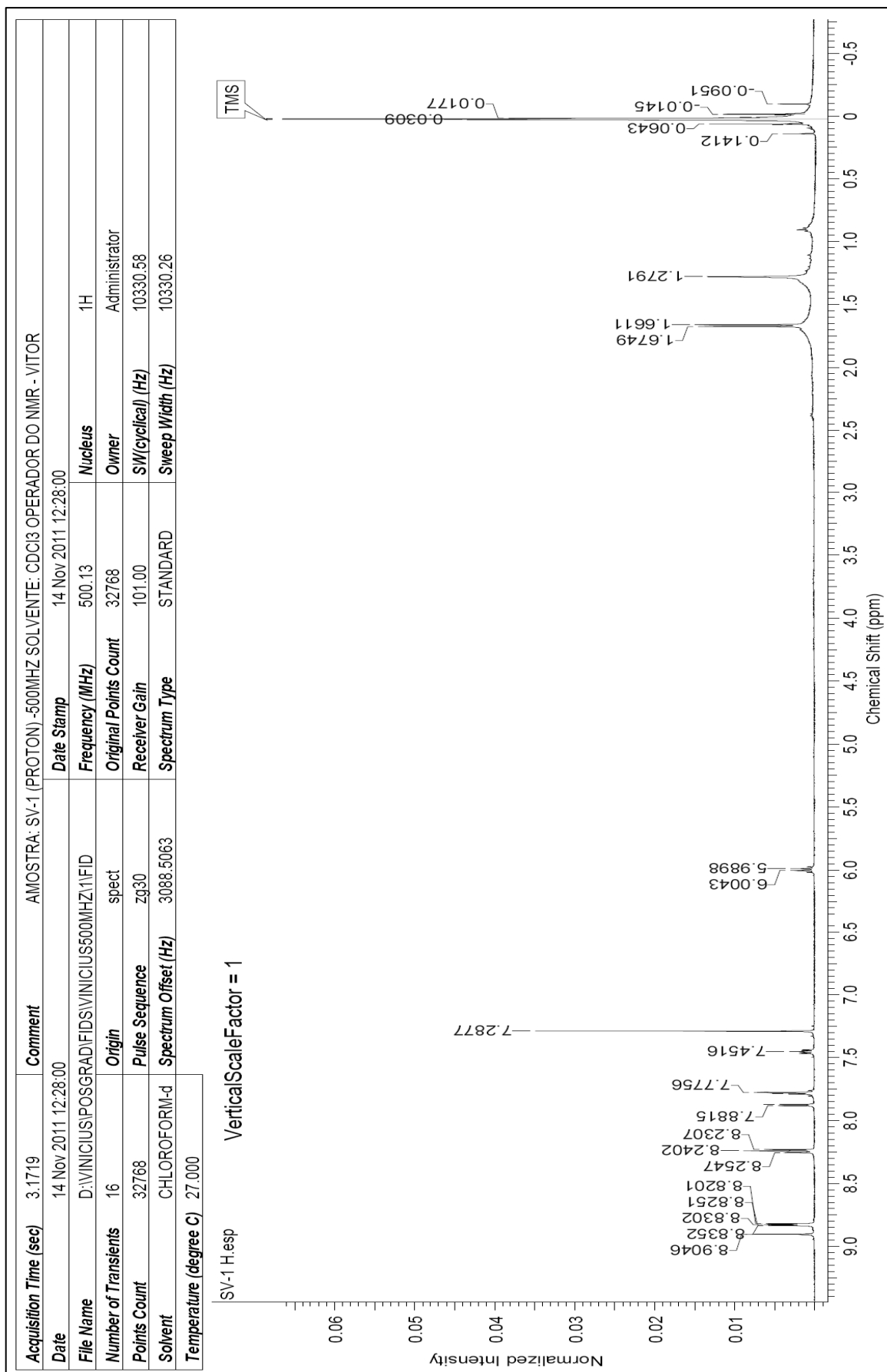
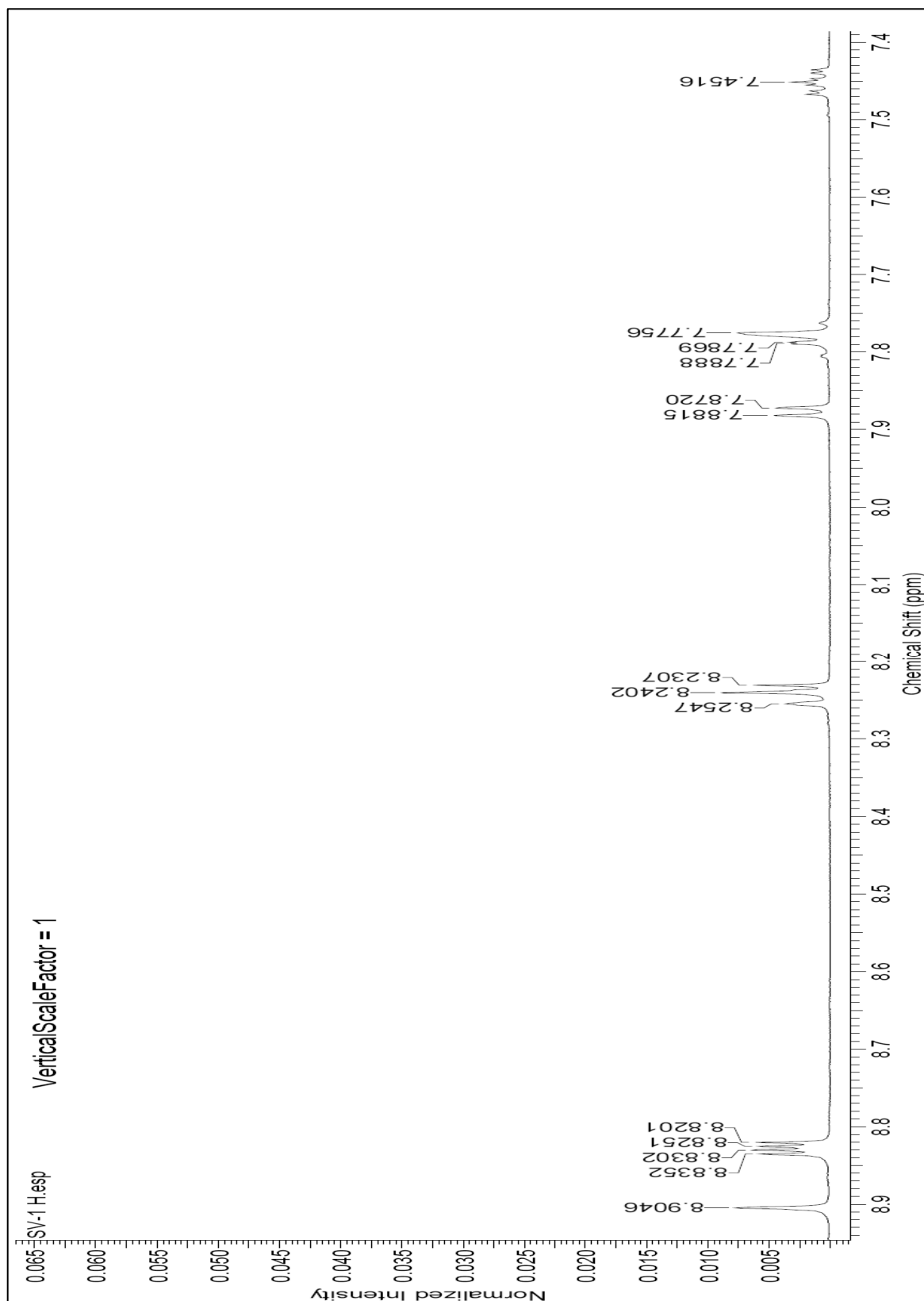


Figura 9: Espectro de RMN<sup>1</sup>H (500 MHz) em CDCl<sub>3</sub> de SV-1



**Figura 10:** Ampliação da região de  $\delta_{\text{H}}$  7.4 –  $\delta_{\text{H}}$  8.9 do espectro de RMN<sup>1</sup>H (500 MHz) em CDCl<sub>3</sub> de SV-1

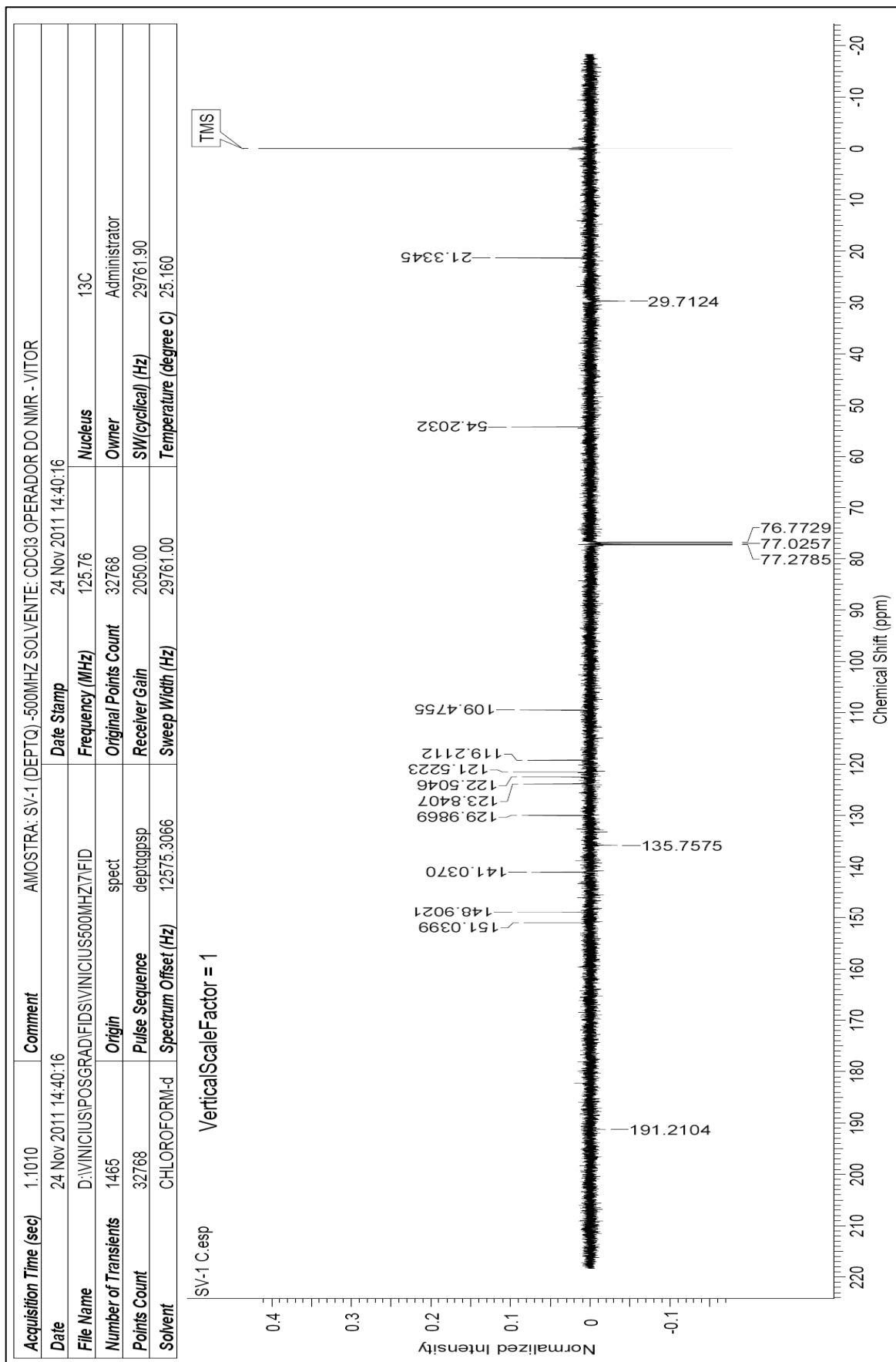


Figura 11: Espectro de RMN<sup>13</sup>C DEPT Q (125 MHz) em CDCl<sub>3</sub> de SV-1

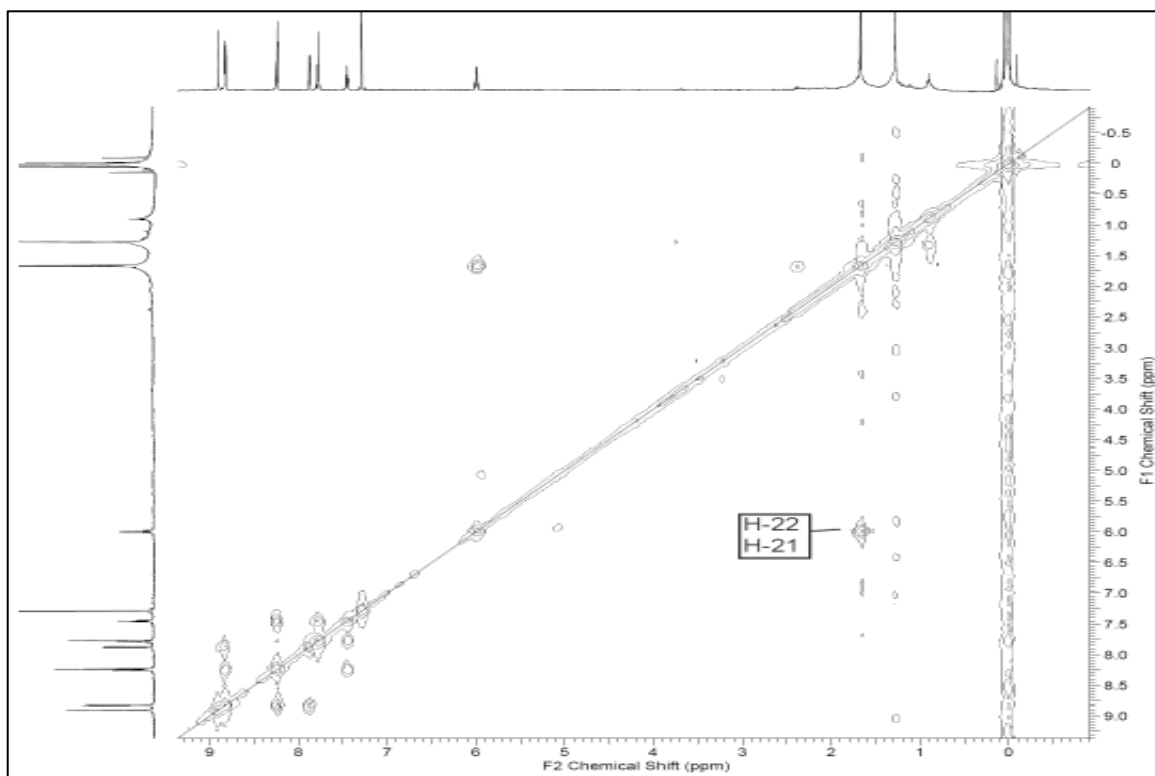


Figura 12: Espectro de correlação homonuclear  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY em  $\text{CDCl}_3$  de SV-1

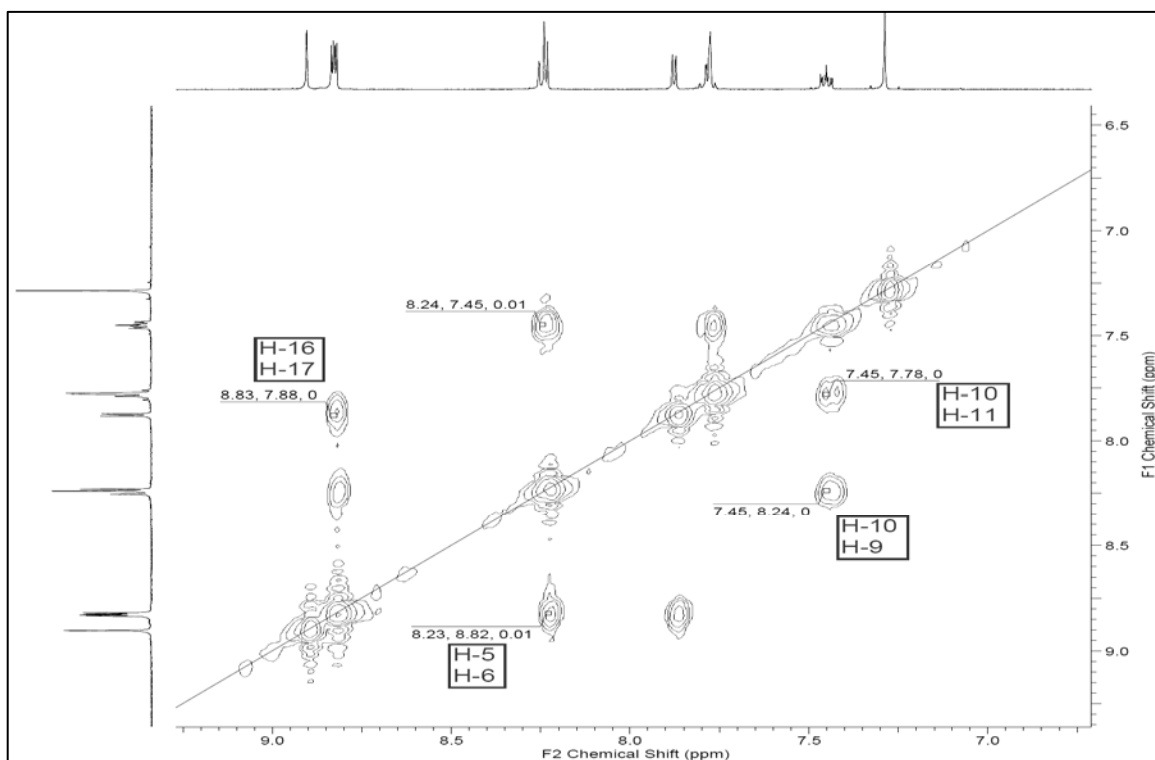


Figura 13: Ampliação do espectro de correlação homonuclear  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY em  $\text{CDCl}_3$  de SV-1



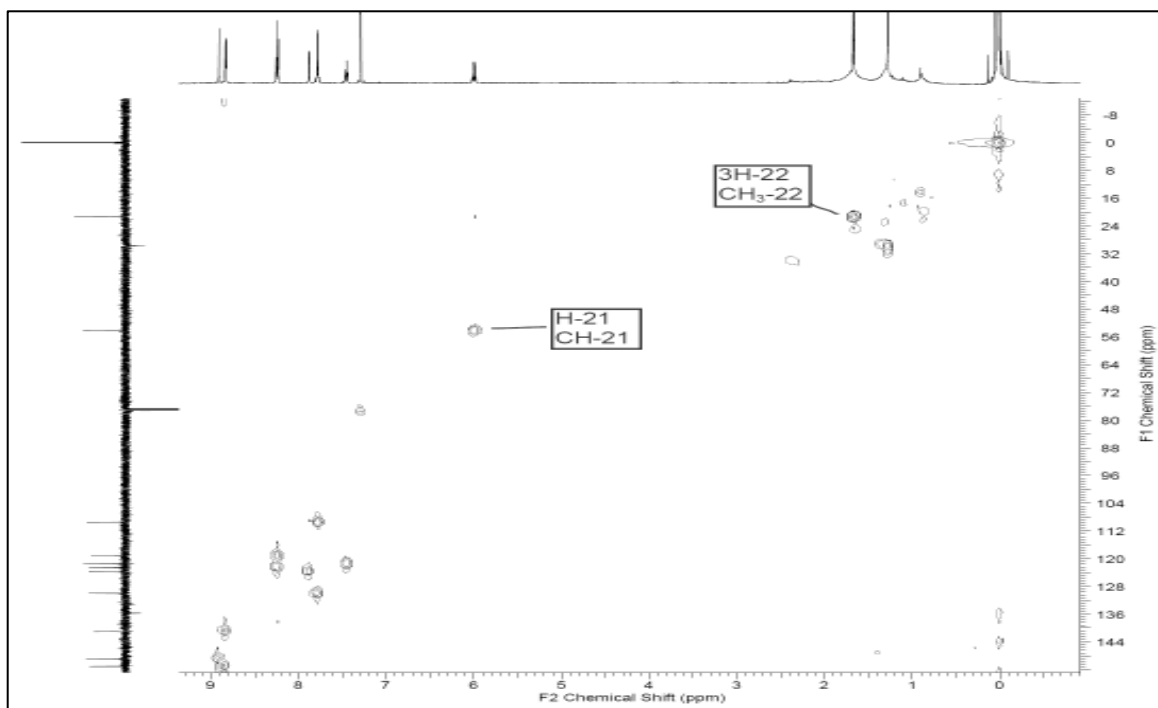


Figura 14: Espectro de correlação heteronuclear HSQC em  $\text{CDCl}_3$  de **SV-1**

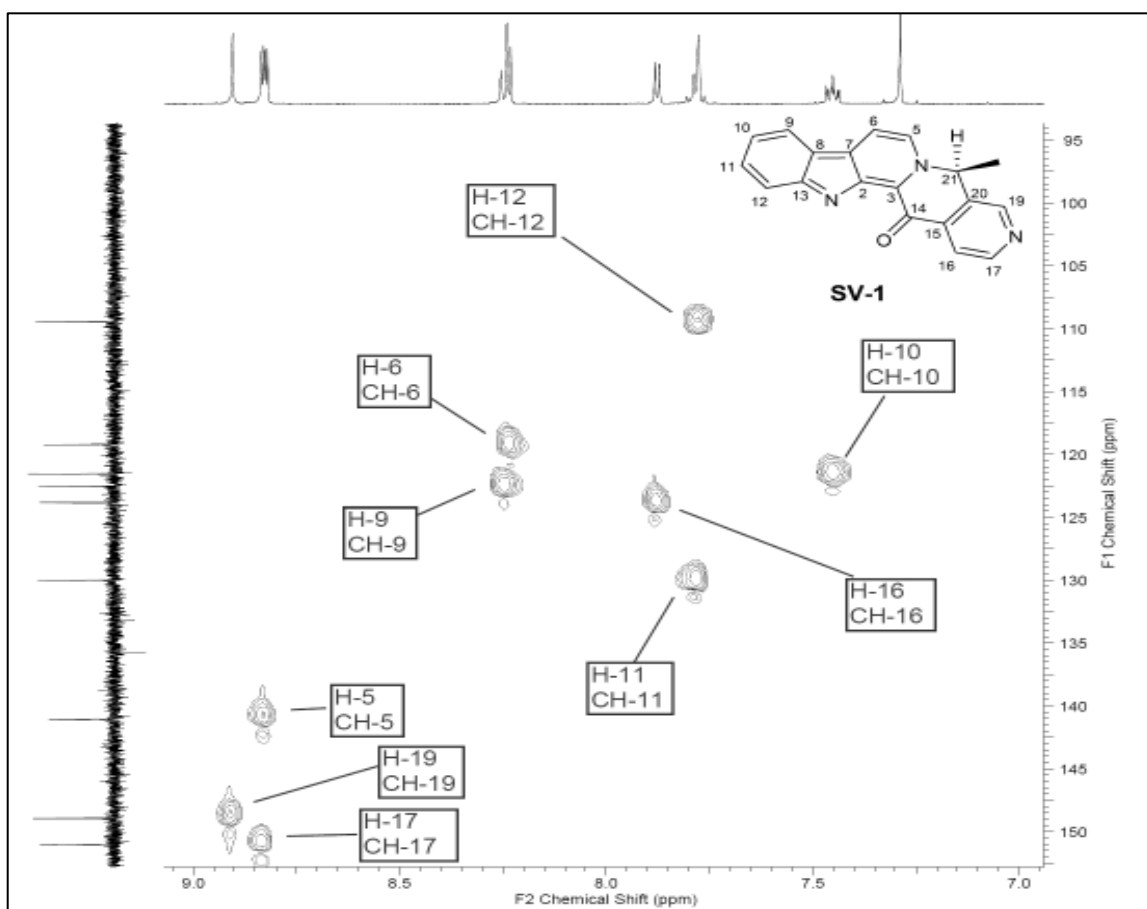


Figura 15: Ampliação do espectro de correlação HSQC em  $\text{CDCl}_3$  de **SV-1**

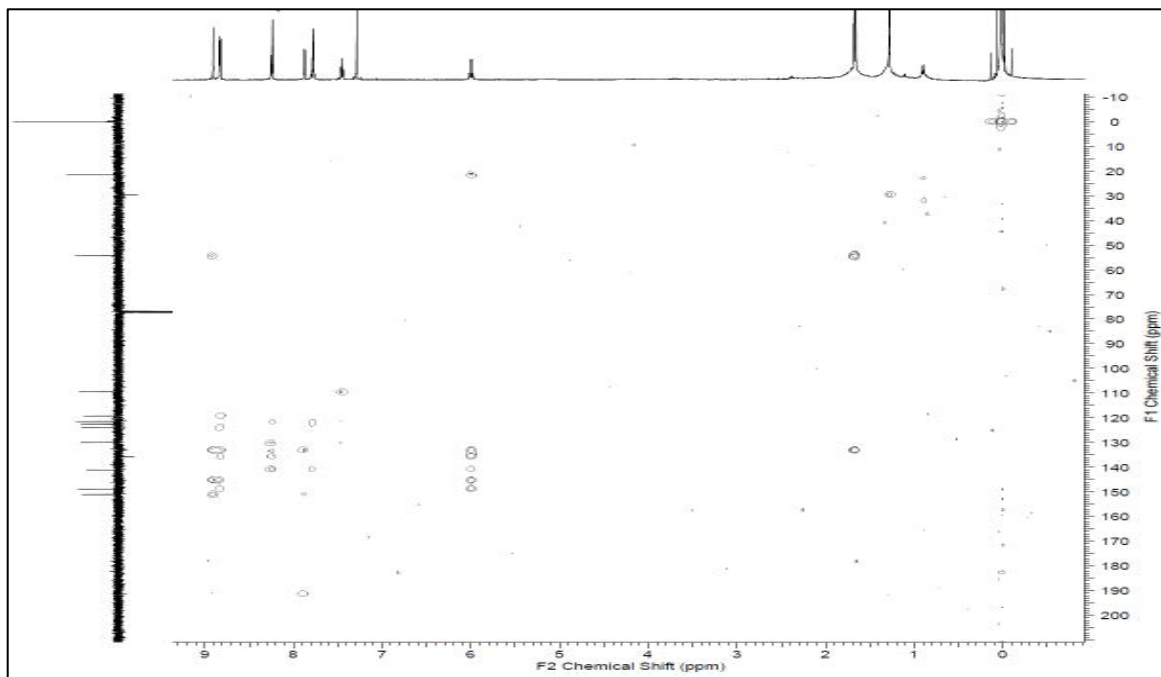


Figura 16: Espectro de correlação heteronuclear HMBC em  $\text{CDCl}_3$  de **SV-1**

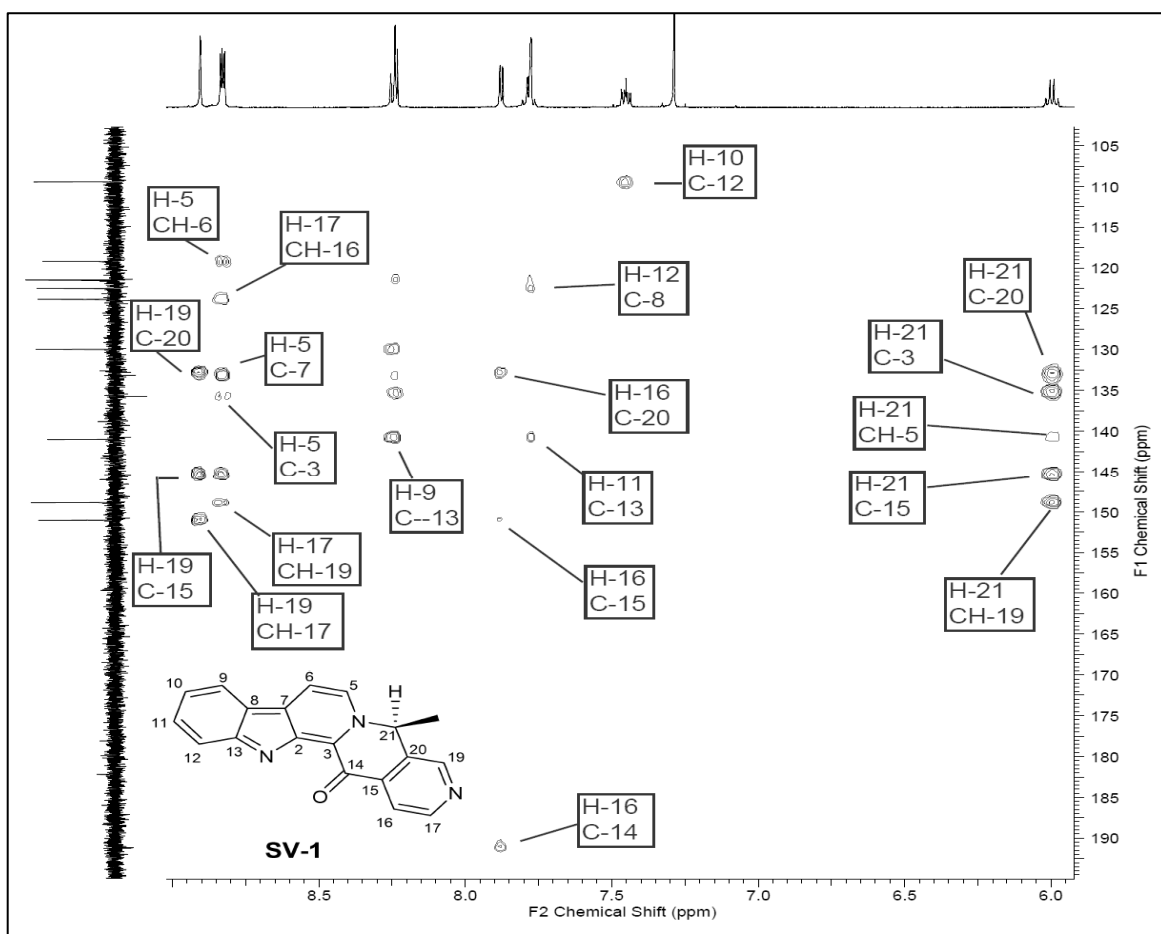
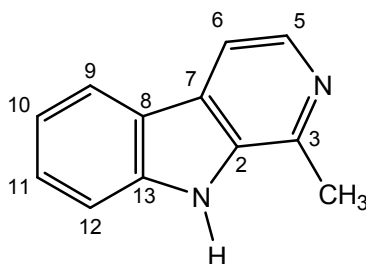


Figura 17: Ampliação do espectro de correlação HMBC em  $\text{CDCl}_3$  de **SV-1**

### 6.2.2 Identificação da substância SV-11



A substância **SV-11** foi isolada do extrato em MeOH da madeira de *S. sampaioana* como um sólido amarelo amorfo, apresentando teste positivo para alcaloides com reagente de Dragendorff.

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  da substância **SV-11** (Figura 19, pag. 76) apresenta sinais característicos de hidrogênios aromáticos entre  $\delta_{\text{H}}$  7,32 – 8,37. Os sinais de hidrogênio foram atribuídos com auxílio do espectro de correlação bidimensional homonuclear ( $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY) (Figuras 21 e 22, pag. 78) que permitiram identificar as interações de acoplamento entre o triplo duplete em  $\delta_{\text{H}}$  7,32-7,34 (1H, *td*, 7,99, 2,2 H-10) com sinais em  $\delta_{\text{H}}$  7,57-7,59 (1H, *dl*, 9,6 Hz, H-11) e  $\delta_{\text{H}}$  8,14 (1H, *dl*, 7,8 Hz; H-9). Também o acoplamento entre o duplete em  $\delta_{\text{H}}$  7,57-7,59 (1H, *dl*, 9,6 Hz, H-11) com o hidrogênio H-9, e os acoplamentos entre si dos dupletos em  $\delta_{\text{H}}$  7,85 (1H, *d*, 5,3 Hz; H-6) e  $\delta_{\text{H}}$  8,37 (1H, *d*, 5,3 Hz; H-5).

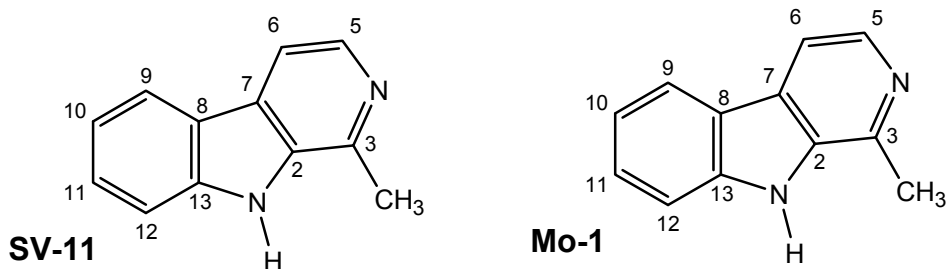
A análise do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT Q (Figura 20, pag. 77) da substância **SV-11** permitiu identificar sinal em  $\delta_{\text{C}}$  20,08 que se correlaciona no espectro de correlação bidimensional heteronuclear HSQC (Figuras 23 e 24, pag. 79) com o sinal em  $\delta_{\text{H}}$  2,86 (3H, *s*, 3H-14) característico de grupo metila ligado ao anel piridínico. Também foram observados seis sinais na região de  $\delta_{\text{C}}$  111,59 – 138,41 atribuídos aos carbonos  $\text{sp}^2$  metínicos, sendo os sinais  $\delta_{\text{C}}$  138,41 e  $\delta_{\text{C}}$  112,98 com correlações no espectro de correlação bidimensional heteronuclear ( $J^1$ ) com os sinais para H-6 ( $\delta_{\text{H}}$  7,85) e H-5 ( $\delta_{\text{H}}$  8,37) respectivamente, atribuídos ao anel piridínico. Os sinais em  $\delta_{\text{C}}$  111,59 correlacionando-se  $^1J$  com o H-12 ( $\delta_{\text{H}}$  7,56), o sinal em  $\delta_{\text{C}}$  128,46 correlacionando-se  $^1J$  com H-11 ( $\delta_{\text{H}}$  7,57) e os sinais em  $\delta_{\text{C}}$  120,24 correlacionando-se  $^1J$  com H-10 ( $\delta_{\text{H}}$  7,32) e  $\delta_{\text{C}}$  121,87 correlacionando-se  $^1J$  com H-9 ( $\delta_{\text{H}}$  8,14) foram assinalados para os carbonos do anel aromático dissustituído da unidade indólica (SILVERTEIN et al, 2007).

A análise do espectro de correlação bidimensional heteronuclear HMBC (Figura 25 e 26, pag. 80) mostrou as correlações  $^2J$  entre os sinais em  $\delta_C$  141,59 (C-3) com os hidrogênios 3H-14 ( $\delta_H$  2,86) e com  $^3J$  com o hidrogênio H-5 ( $\delta_H$  8,37). O sinal em  $\delta_C$  128,46 (C-7) apresentou correlações  $^3J$  com os sinais para H-5 ( $\delta_H$  8,37) e H-9 ( $\delta_H$  8,14). O sinal em  $\delta_C$  122,01 (C-8) apresentou correlação  $^2J$  com H-9 ( $\delta_H$  8,14), e correlações  $^3J$  com os sinais para H-6 ( $\delta_H$  7,85), e H-12 ( $\delta_H$  7,56). O sinal em  $\delta_C$  140,12 (C-13) apresentou correlações  $^3J$  com os sinais para H-9 ( $\delta_H$  8,14) e H-11 ( $\delta_H$  7,57). E o sinal em  $\delta_C$  134,50 (C-2) apresentou correlações  $^3J$  com os sinais para H-6 ( $\delta_H$  7,85) e com os hidrogênios 3H-14 ( $\delta_H$  2,86). As demais correlações estão apresentadas na Tabela 18, pag. 74.

O cromatograma CG/EM (Figura 18, pag. 75) apresentou sinal com tempo de retenção  $t_{R1} = 8,17$  min. e área de 84,5% sendo que o espectro de massas obtido permitiu identificar o pico do íon molecular em  $m/z$  182, compatível com a fórmula molecular  $C_{12}H_{10}N_2$ . As propostas de fragmentação para identificar os principais picos observados no espectro de massas estão resumidas no Esquema 2, pag 76.

A análise do conjunto de dados comparados com a literatura (SEKI et al,1993) conduziu a identificação da substancia **SV-11** como sendo o alcaloide harmana (**1**).

A substância **SV-40** isolada do extrato em MeOH das folhas de *S. sampaioana* como um sólido amarelo amorfo, apresentando teste positivo para alcaloides com reagente de Dragendorff, também foi identificada como o alcaloide harmana.



**Tabela 18:** Dados de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz) e  $^{13}\text{C}$  (125 MHz) em  $\text{CDCl}_3$  e as correlações observadas no espectro de HMQC e HMBC da substância **SV-11** e comparação com valores de literatura para o modelo **Mo-1**,  $^1\text{H}$  (500 MHz) e  $^{13}\text{C}$  (125 MHz) em  $\text{CDCl}_3$  (SEKI et al,1993). Os valores das constantes de acoplamento ( $J$ ) em Hz, estão entre parêntesis e os deslocamentos químicos em ppm.

	HMQC		HMBC		Mo-1	
	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$
C						
2	134,50			H-4;3H-1'	134,90	
3	141,59		3H-1'	H-3	141,76	
7	128,46			H-3;H-5	128,33	
8	122,01			H-4;H-5;H-8	122,10	
13	140,12			H-5;H-7	140,09	
CH						
5	138,41	8,37 ( <i>d</i> , 5,3)	H-4		137,74	8,37 ( <i>d</i> , 5,2)
6	112,98	7,85 ( <i>d</i> , 5,3)	H-3		112,91	7,83 ( <i>d</i> , 5,2)
9	121,87	8,14 ( <i>dl</i> , 7,8)		H-7	121,84	8,12 ( <i>dl</i> , 8,0)
10	120,24	7,32 ( <i>td</i> ,7,9, 2,2)	H-5	H-8	120,16	7,29 ( <i>td</i> ,6,9, 2,2)
11	128,46	7,57-7,59 ( <i>dl</i> , 9,6)			128,23	7,54 ( <i>m</i> )
12	111,59	7,55-7,56 ( <i>dl</i> , 5,7)		H-6	111,58	7,54 ( <i>m</i> )
$\text{CH}_3$						
14	20,08	2,86( <i>s</i> )			20,35	2,84 ( <i>s</i> )

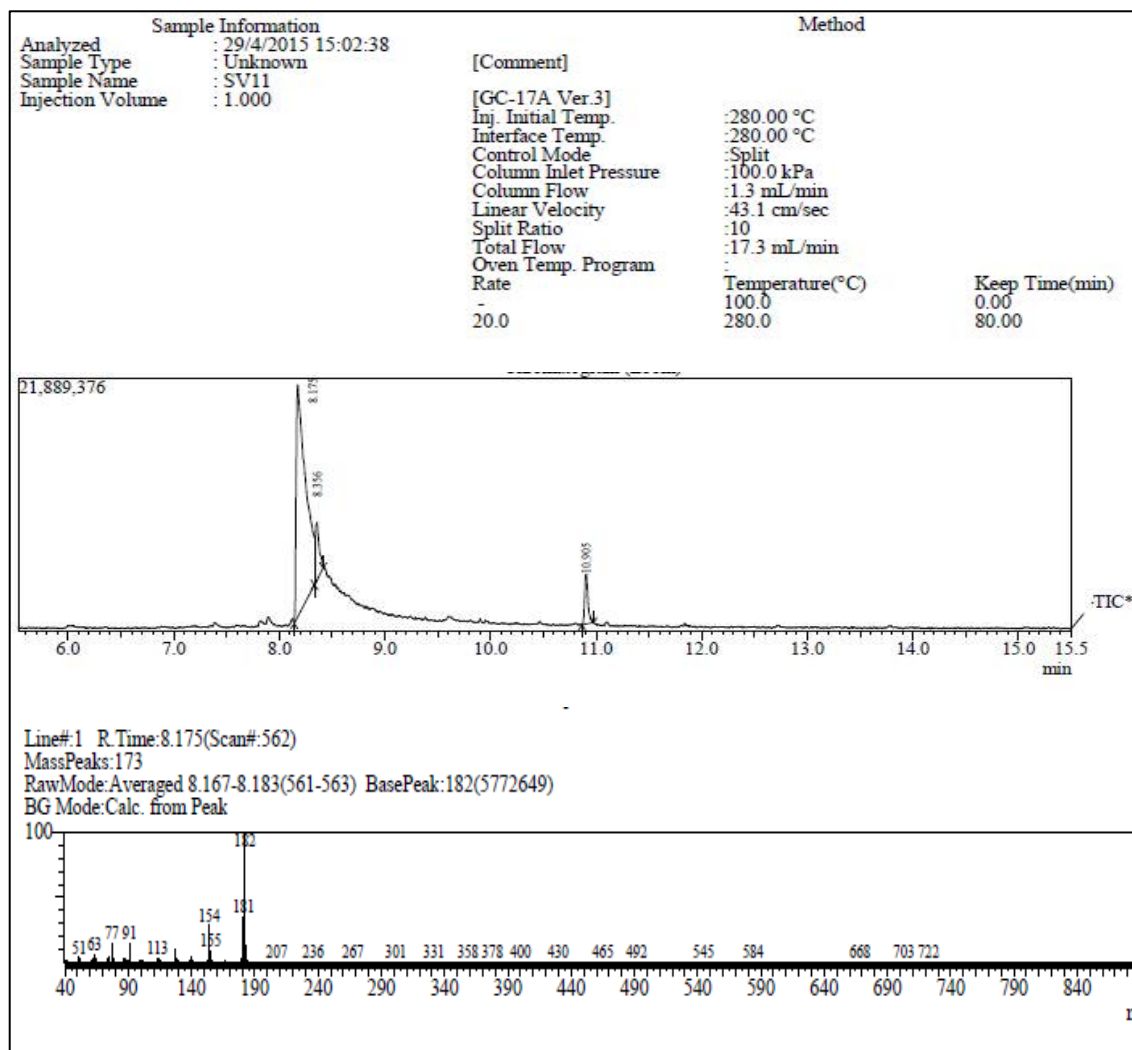
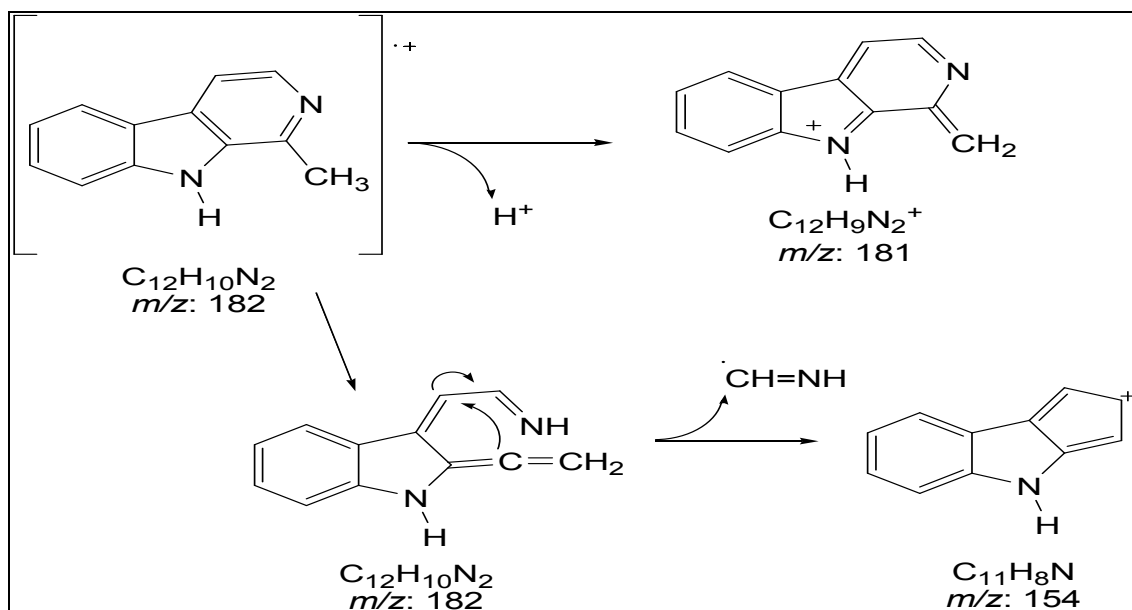


Figura 18: Cromatograma e espectro de massas da substancia SV-11



Esquema 2: Proposta mecanistica de fragmentação para SV-11

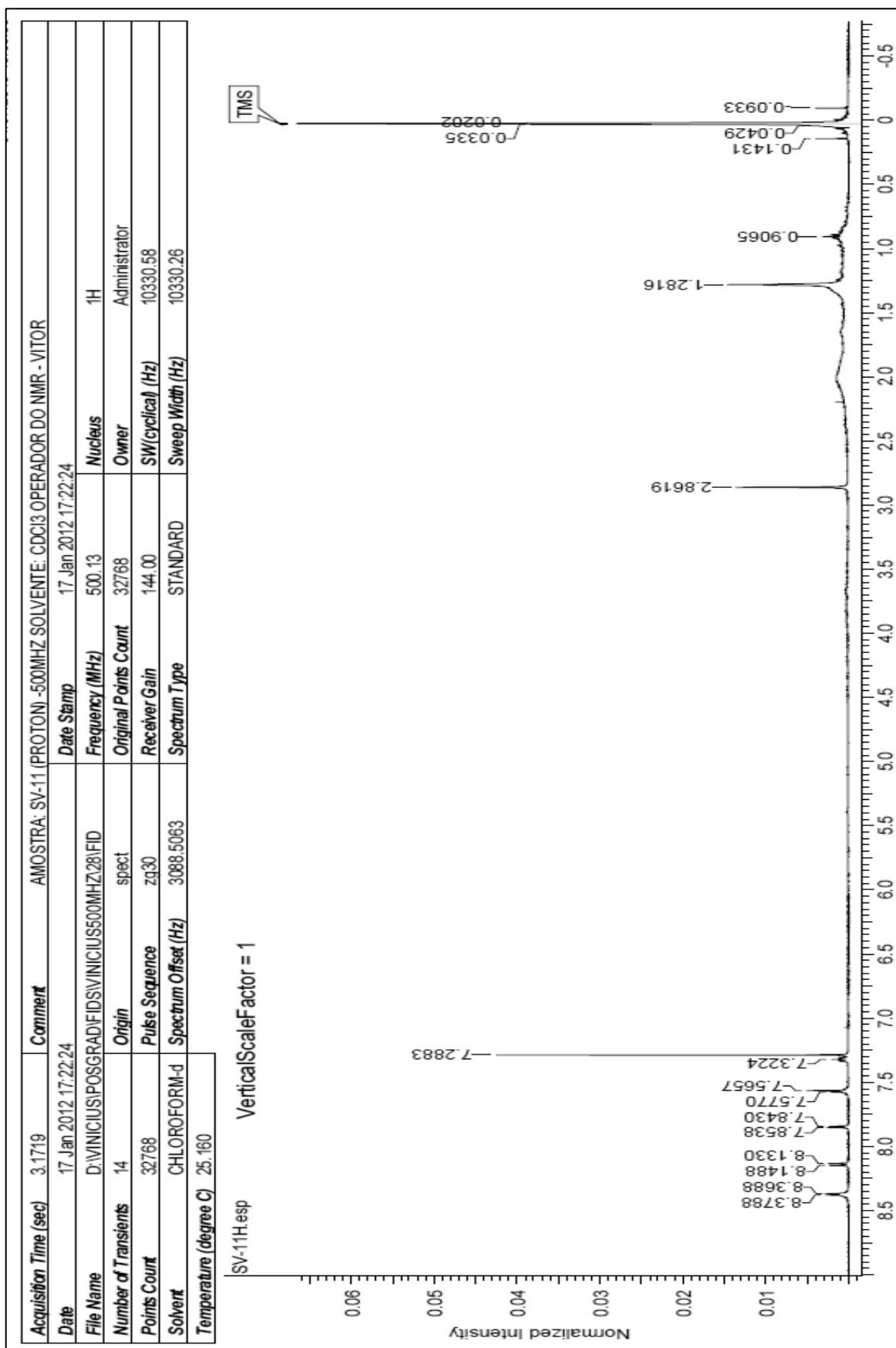


Figura 19: Espectro de RMN<sup>1</sup>H (500 MHz) em CDCl<sub>3</sub> de SV-11

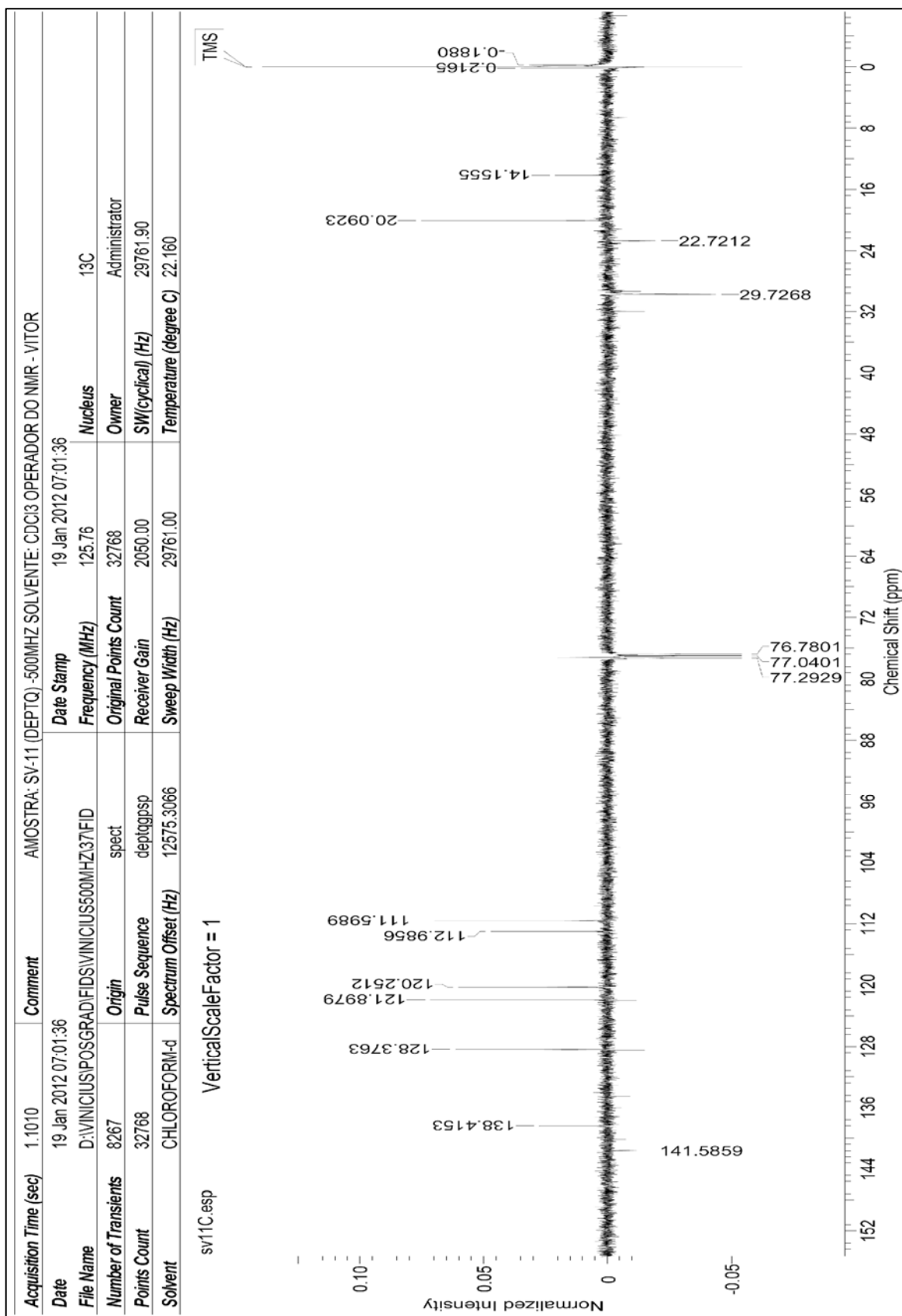


Figura 20: Espectro de RMN<sup>13</sup>C (125 MHz) em CDCl<sub>3</sub> de SV-11



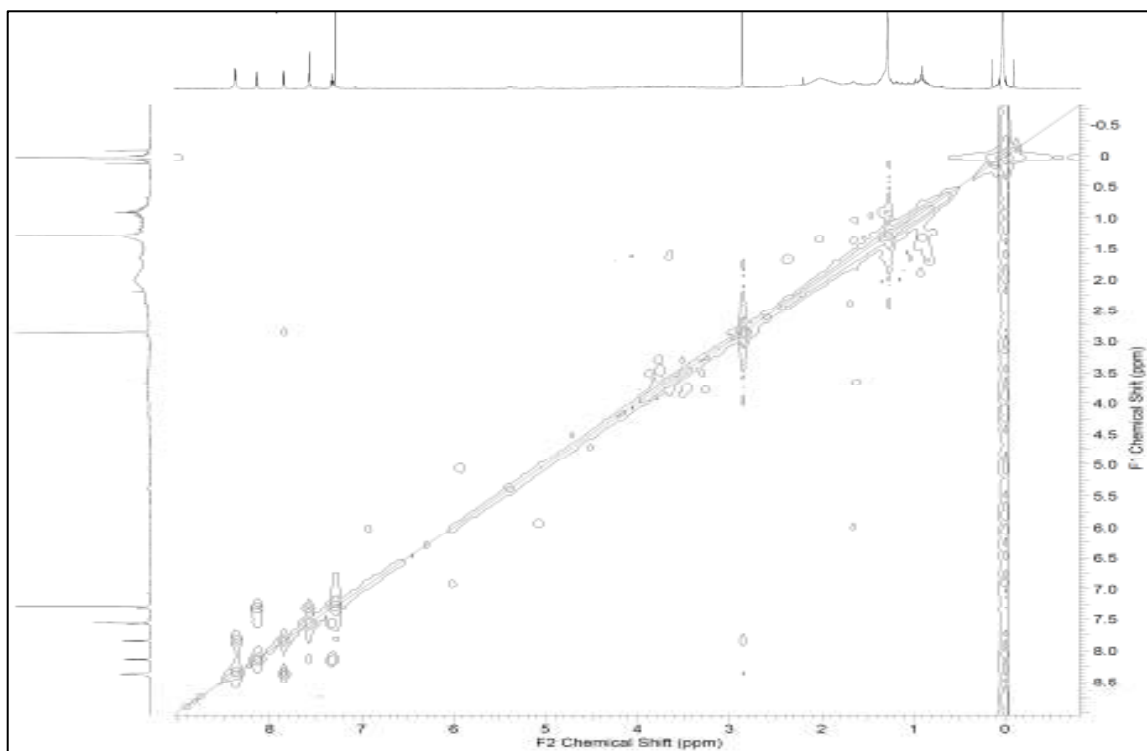


Figura 21: Espectro de correlação homonuclear  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY em  $\text{CDCl}_3$  de **SV-11**

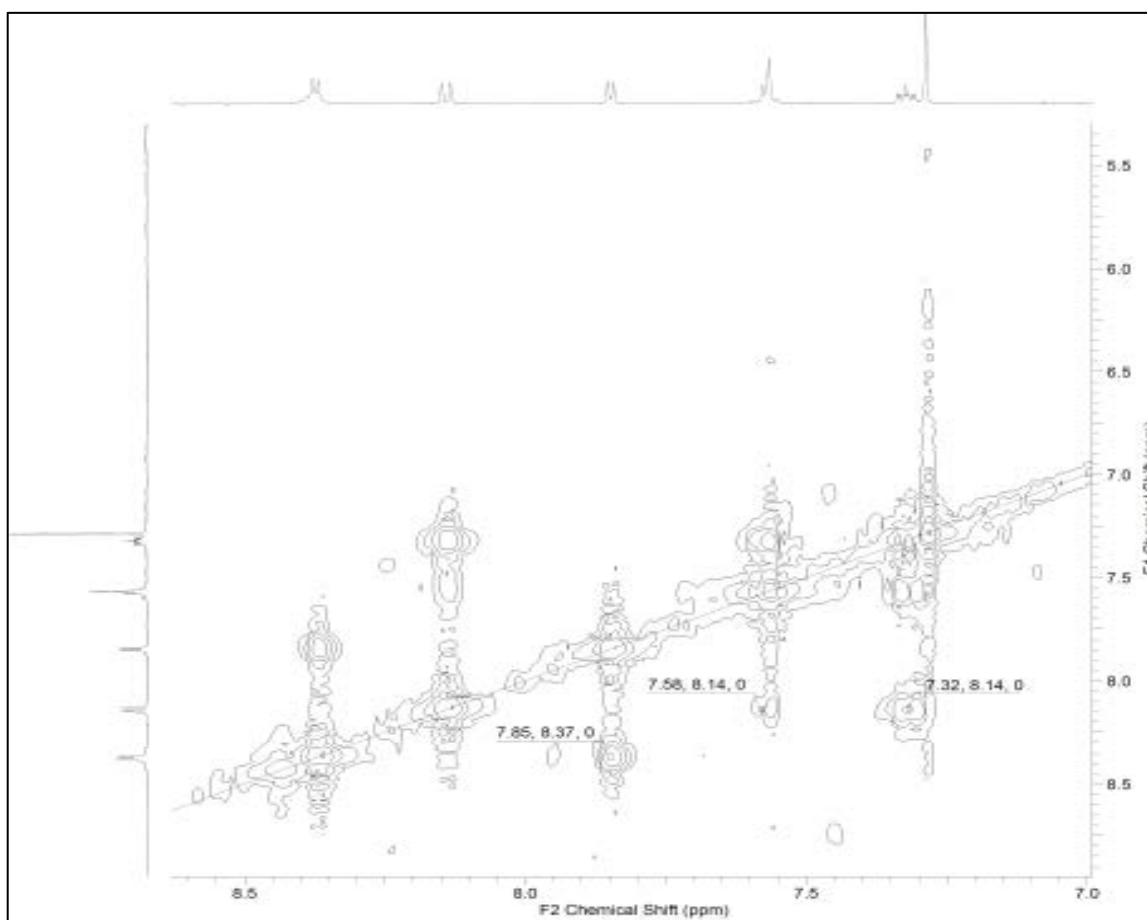
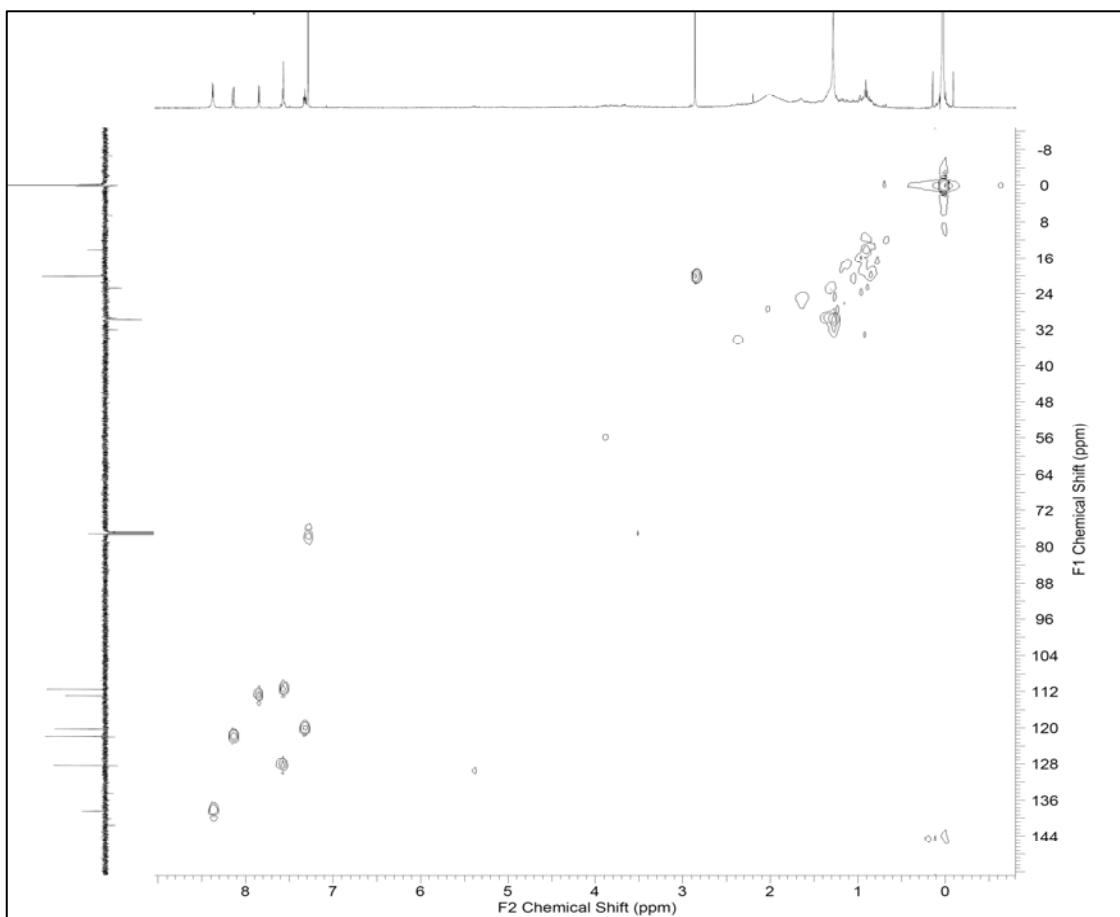
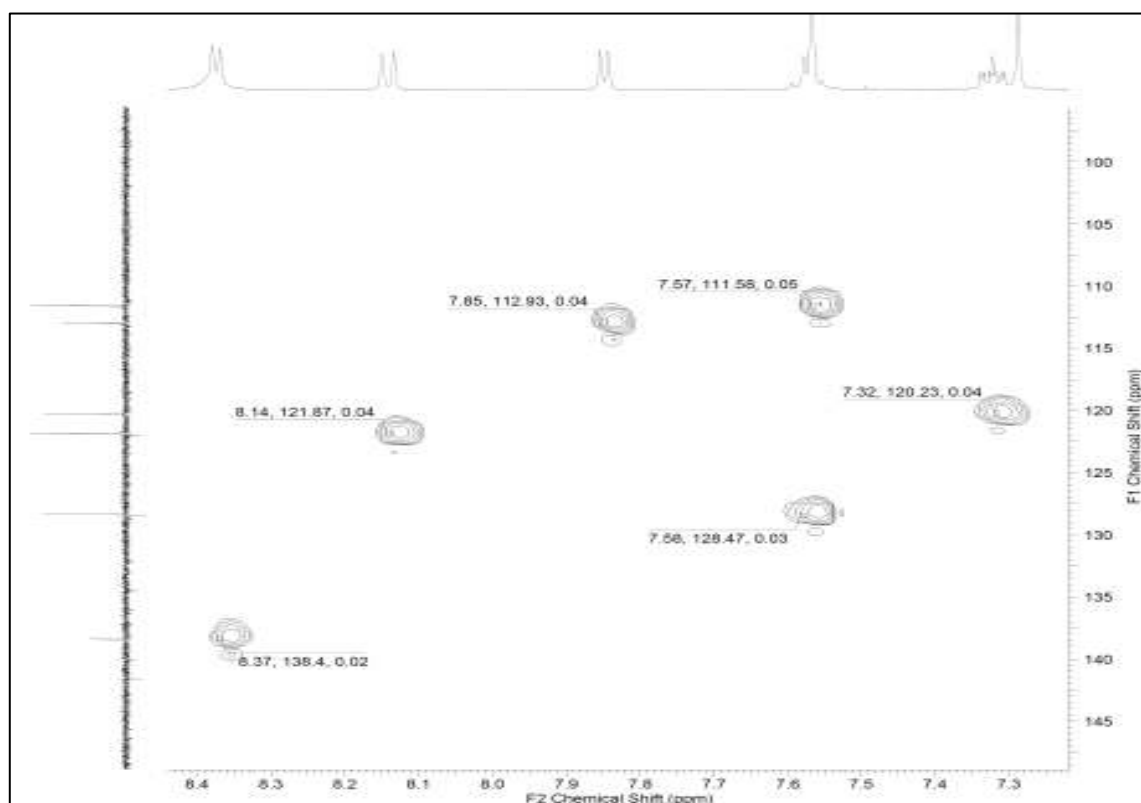


Figura 22: Ampliação do espectro de correlação homonuclear  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY em  $\text{CDCl}_3$  de **SV-11**



**Figura 23:** Espectro de correlação heteronuclear HSQC em  $\text{CDCl}_3$  de **SV-11**



**Figura 24:** Ampliação do espectro de correlação heteronuclear HSQC em  $\text{CDCl}_3$  de **SV-11**

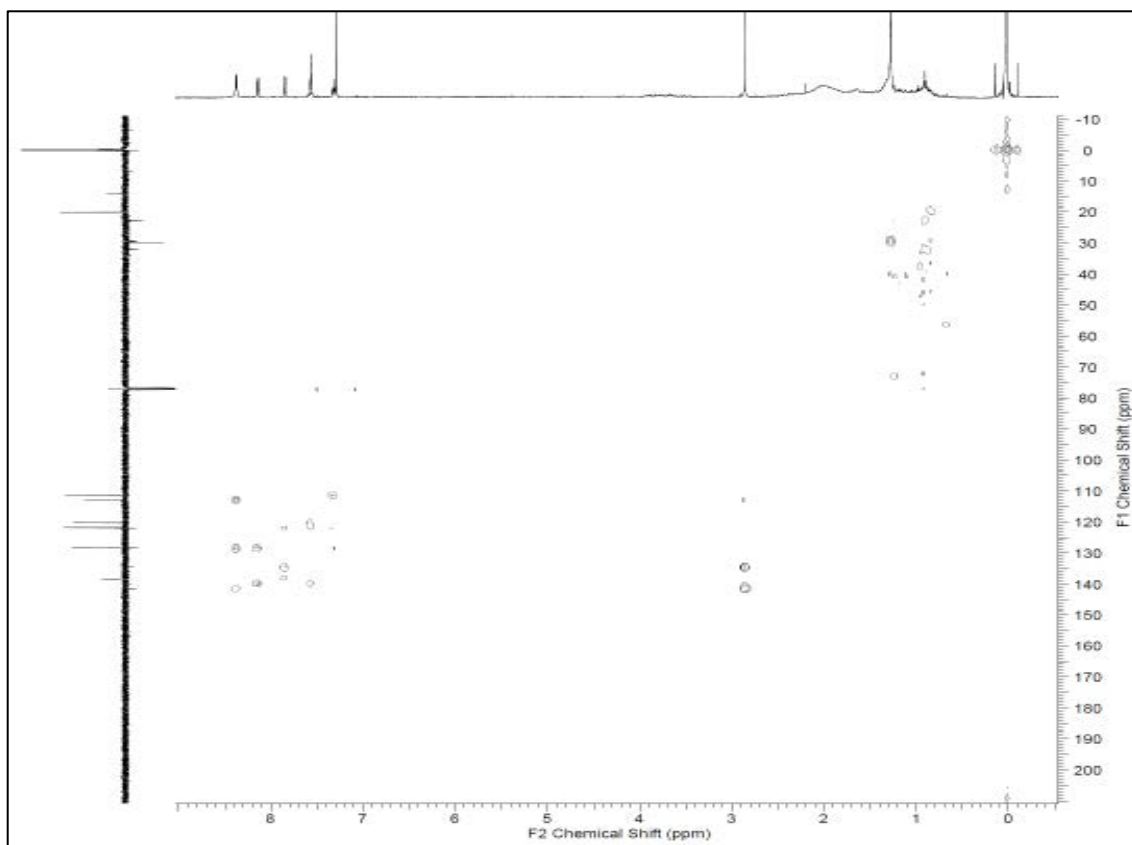


Figura 25: Espectro de correlação heteronuclear HMBC em  $\text{CDCl}_3$  de **SV-11**

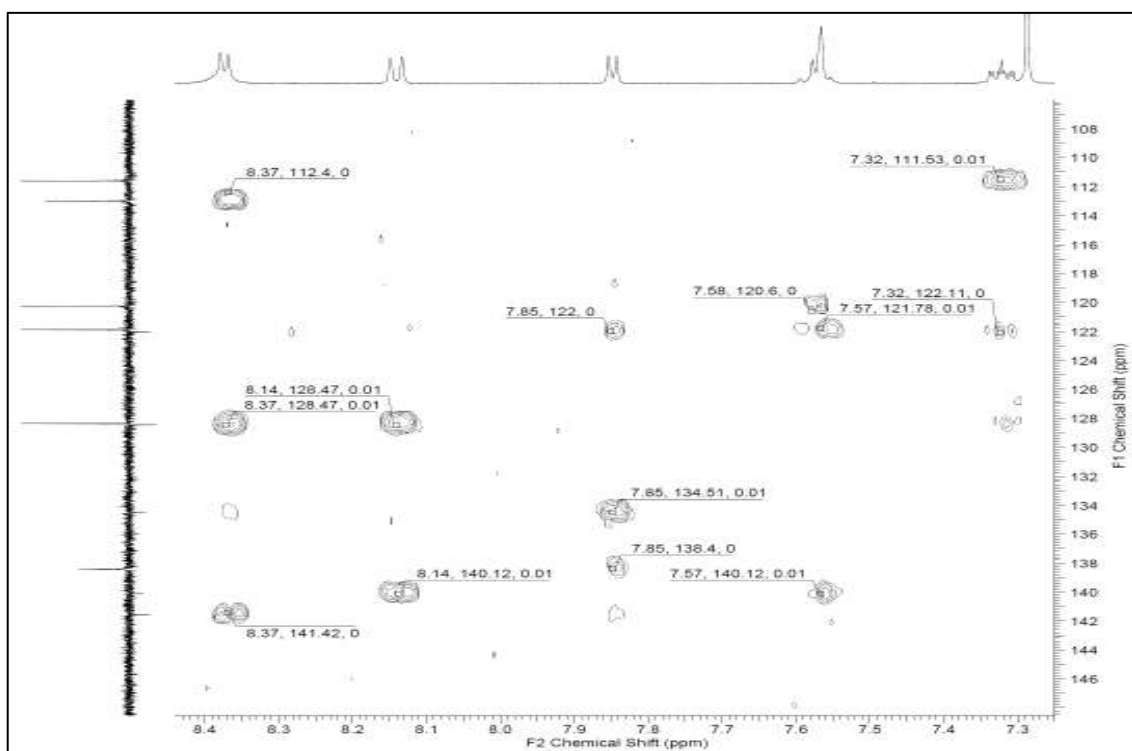
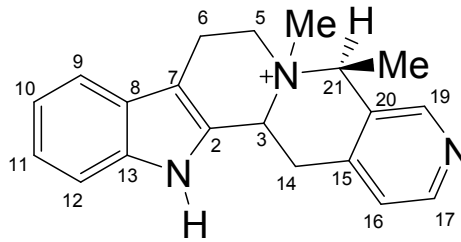


Figura 26: Ampliação do espectro de correlação heteronuclear HMBC em  $\text{CDCl}_3$  de **SV-11**

### 6.2.3 Identificação da substância SV-20



A substância **SV-20** foi isolada do extrato em MeOH da madeira de *S. sampaioana* como um sólido amarelo amorfo, apresentando teste positivo para alcaloides com reagente de Dragendorff.

O espectro de RMN<sup>1</sup>H (Figuras 28-30, pag. 85-87) apresentou sinais de hidrogênios na região de aromáticos referentes à unidade indólica, que foram confirmados pelas interações de acoplamentos presentes no espectro de correlação homonuclear <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY (Figuras 32 e 33, pag. 89). Sinais de correspondência às interações de átomos de carbono e hidrogênio observados nos espectros de correlações heteronucleares HSQC (Figuras 34 e 35, pag. 90) e HMBC (Figuras 36 e 37, pag. 91) permitiram identificar os sinais dos carbonos hidrogenados e quaternários desta unidade aromática, semelhante ao alcaloide **SV-1** (Tabela 17, pag. 65), já descrito neste trabalho.

A análise dos espectros de RMN<sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C - DEPT Q (Figuras 28 e 31, pag. 85 e 88) e dos espectros de correlação homo e heteronucleares conduziram à observação dos carbonos metilênicos através dos deslocamentos em  $\delta_c$  59,76 (CH<sub>2</sub>-5),  $\delta_c$  17,39 (CH<sub>2</sub>-6) e  $\delta_c$  27,38 (CH<sub>2</sub>-14). Observa-se também sinais característicos de carbonos metílicos em  $\delta_c$  18,57 (CH<sub>3</sub>-22) e do carbono metílico ligado a nitrogênio em  $\delta_c$  40,95 (CH<sub>3</sub>-N-4) (SILVERTEIN et al, 2007).

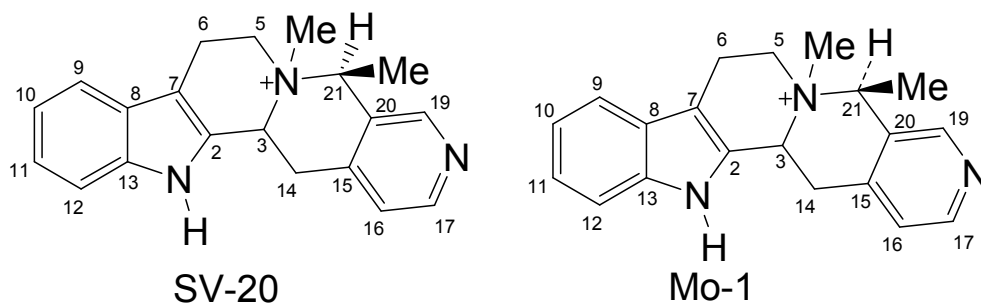
O espectro de correlação heteronuclear HSQC (Figuras 34 e 35, pag. 91) apresentou as correlações à <sup>1</sup>J entre o carbono em  $\delta_{CH}$  118,09 (CH-9) com o hidrogênio em  $\delta_H$  7,60 (1H, *d*, 7,9 Hz, H-9), entre o carbono em  $\delta_{CH}$  119,62 (CH-10) com o hidrogênio em  $\delta_H$  7,14 (1H, *dt*, 7,9 Hz, H-10), entre o carbono em  $\delta_{CH}$  122,58 (CH-11) com o hidrogênio em  $\delta_H$  7,24 (1H, *dt*, 8,2 Hz, H-11) e entre o carbono em  $\delta_{CH}$  111,28 (CH-12) com o hidrogênio em  $\delta_H$  7,44 (1H, *d*, 8,2 Hz, H-12), confirmando o anel aromático da unidade indólica. Um anel piridínico pôde ser confirmado pelas correlações observadas entre o carbono em  $\delta_{CH}$  123,78 (CH-

16) com o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  7,49 (1H, *d*, 4,8 Hz, H-16), entre o carbono em  $\delta_{\text{CH}}$  148,06 (CH-17) com o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  8,56 (1H, *d*, 4,8 Hz, H-17) e entre o carbono em  $\delta_{\text{CH}}$  148,82 (CH-19) com o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  8,62 (1H, *s*, H-19).

O espectro de correlação heteronuclear HMBC (Figuras 36 e 37, pag. 91) apresentou as correlações a  $^2J$  entre o carbono em  $\delta_{\text{C}}$  126,17 (C-20) com os hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  8,62 (H-19) e  $\delta_{\text{H}}$  5,19 (1H, *d*, 6,9 Hz, H-21), e entre o carbono em  $\delta_{\text{C}}$  140,96 (C-15) com os hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  4,06 – 3,48 (2H, *m*, 2H-14); e a  $^3J$  entre o carbono em  $\delta_{\text{C}}$  126,17 (C-20) com os hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  1,96 (3H, *d*, 6,9 Hz, 3H-22), e entre os carbonos em  $\delta_{\text{CH}}$  57,23 (CH-3),  $\delta_{\text{CH}}$  68,22 (CH-21) e  $\delta_{\text{CH}_2}$  59,76 (CH<sub>2</sub>-5) com os hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  3,12 (3H, *s*, 3H-MeN-4). As demais correlações estão descritas na Tabela 19, pag 83.

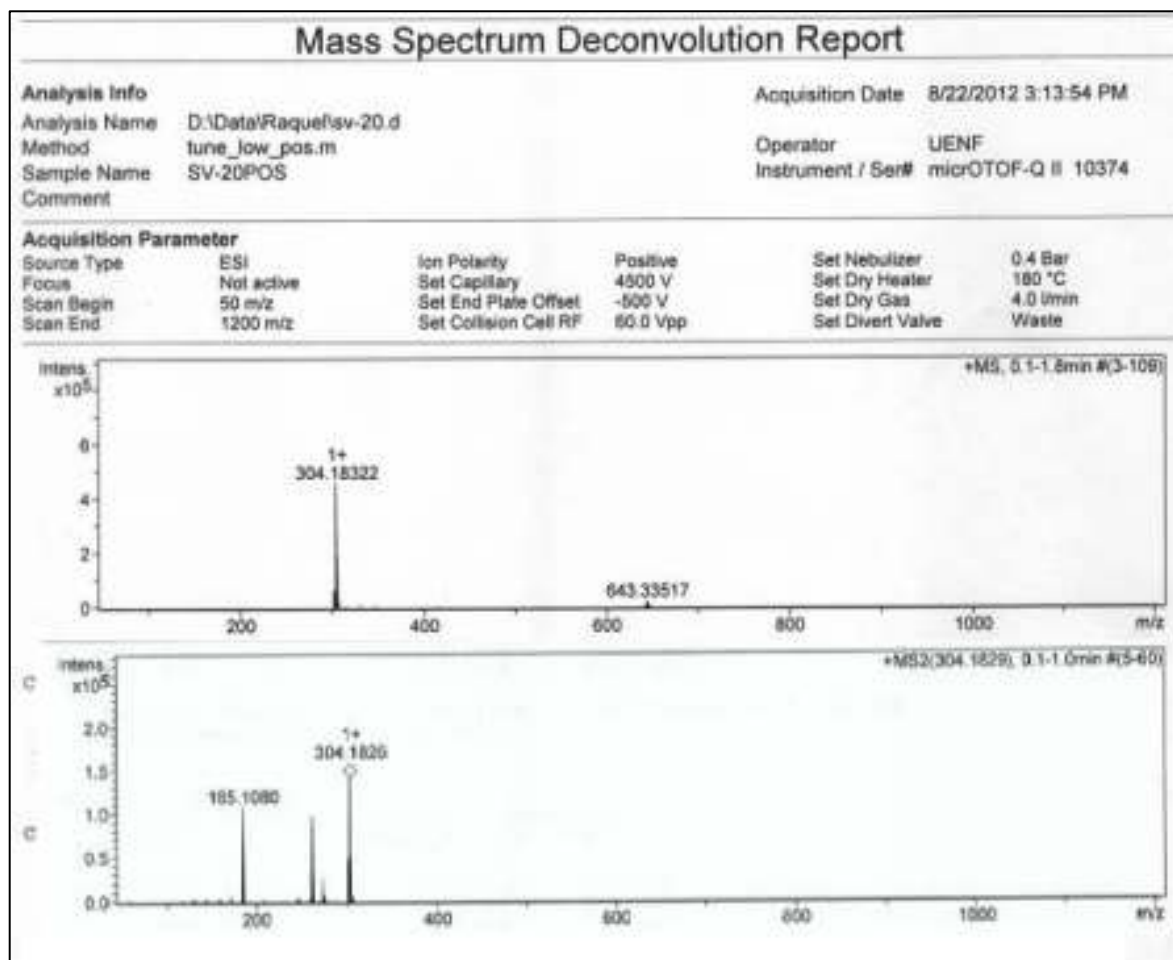
O espectro de HRESI-MS permitiu deduzir o íon molecular  $m/z$  304,1823 ( $[M]^+$ ) compatível com a fórmula molecular C<sub>20</sub>H<sub>22</sub>N<sub>3</sub> (Figura 27, pag. 84). As principais propostas de fragmentações observadas encontram-se no Esquema 3, pag. 84.

A comparação destes dados com valores encontrados na literatura (HASBUN et al, 1989) permitiram a identificação da substância **SV-20** como sendo o alcaloide isomalindina.

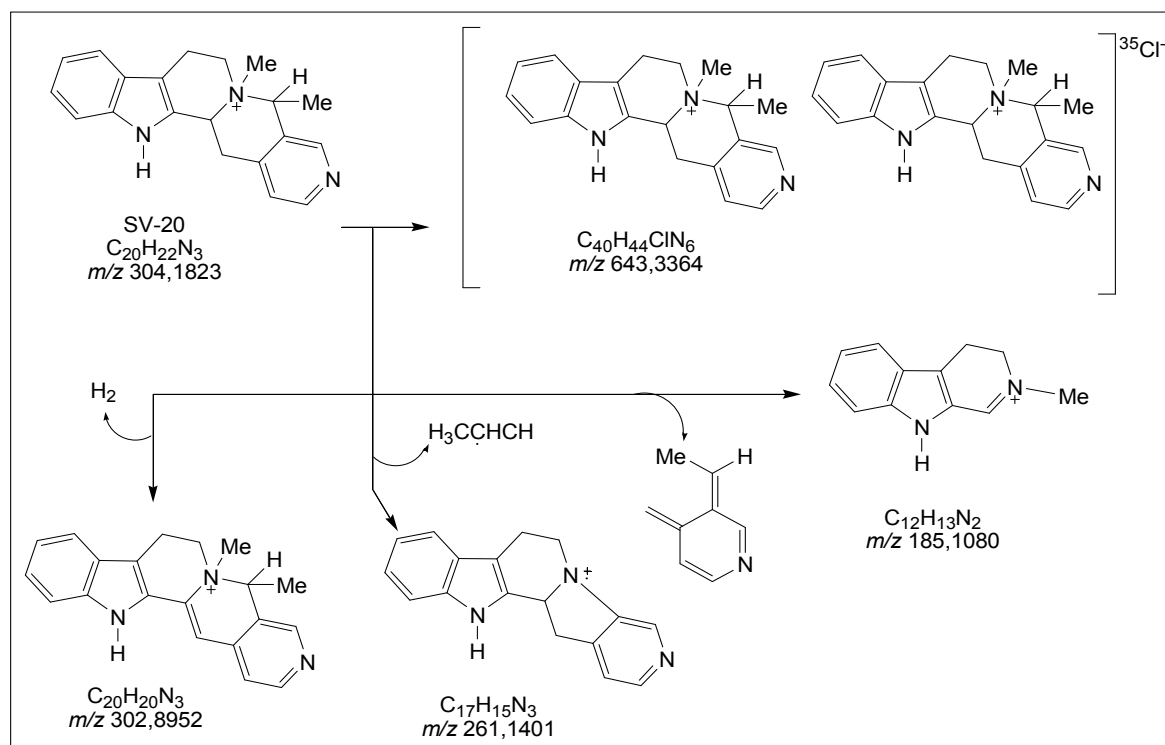


**Tabela 19:** Dados de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz) e  $^{13}\text{C}$  (125 MHz) em MeOD e as correlações observadas nos espectro de HMQC e HMBC da substancia **SV-20** e comparação com os dados de **SV-1** e valores da literatura para o modelo **Mo-1**  $^1\text{H}$  (400 MHz) e  $^{13}\text{C}$  (100 MHz) em  $\text{CDCl}_3$  (HASBUN et al,1989). Os valores das constantes de acoplamento ( $J$ ) em Hz estão entre parêntesis. Deslocamentos químicos em ppm.

	HMQC		HMBC		Sv-1	Mo-1
	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$^2J_{\text{HC}}$	$^3J_{\text{HC}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{C}}$
C						
2	137,59	-	-	-	134,90	135,02
3	-	-	-	-	141,76	135,13
7	104,55	-	-	H-9	128,33	133,46
8	125,91	-	-	H-10;H-12	122,10	121,16
13	128,93	-	-	H-9;H-11	140,09	140,84
14	-	-	-	-	-	190,64
15	140,96	-	H-14b	H-17;H-19;H-21	137,74	145,25
20	126,17	-	H-19; H-21	H-16;3H-22	112,91	132,78
CH						
3	57,21	5,66 ( <i>dd</i> , 12,3, 4,9)	H-14b	H-21;MeN-4	121,84	-
5	-	-	-	-	120,16	140,63
6	-	-	-	-	128,23	119,23
9	118,09	7,60 ( <i>d</i> , 7,9)	-	H-11	111,58	122,50
10	119,62	7,14 ( <i>dt</i> ,7,9)	-	H-12	-	121,57
11	122,58	7,24 ( <i>dt</i> , 8,2)	-	H-9	-	130,15
12	111,28	7,44 ( <i>d</i> , 8,2)	-	H-10	-	109,51
16	123,78	7,49 ( <i>d</i> , 4,8)	-	-	-	123,84
17	148,06	8,56 ( <i>d</i> , 4,8)	H-16	H-19	-	150,74
19	148,82	8,62 ( <i>s</i> )	-	H-17;H-21	-	148,73
21	68,22	5,19 ( <i>d</i> , 6.9)	3H-22	MeN-4	-	54,09
CH <sub>2</sub>						
5	59,76	4,17 ( <i>dt</i> , 11.6, 6.0)	-	MeN-4	-	-
		3,97-4,00 ( <i>m</i> )	-	-	-	-
6	17,39	3,96, 3,50 ( <i>m</i> )	-	-	-	-
14	27,38	4,06, 3,48 ( <i>m</i> )	-	H-1	-	-
CH <sub>3</sub>						
22	18,57	1,96 ( <i>d</i> , 6.9)	-	-	-	21,29



**Figura 27:** Espectro de HRESI-MS de **SV-20**



**Esquema 3:** Proposta mecanística de fragmentação para **SV-20**

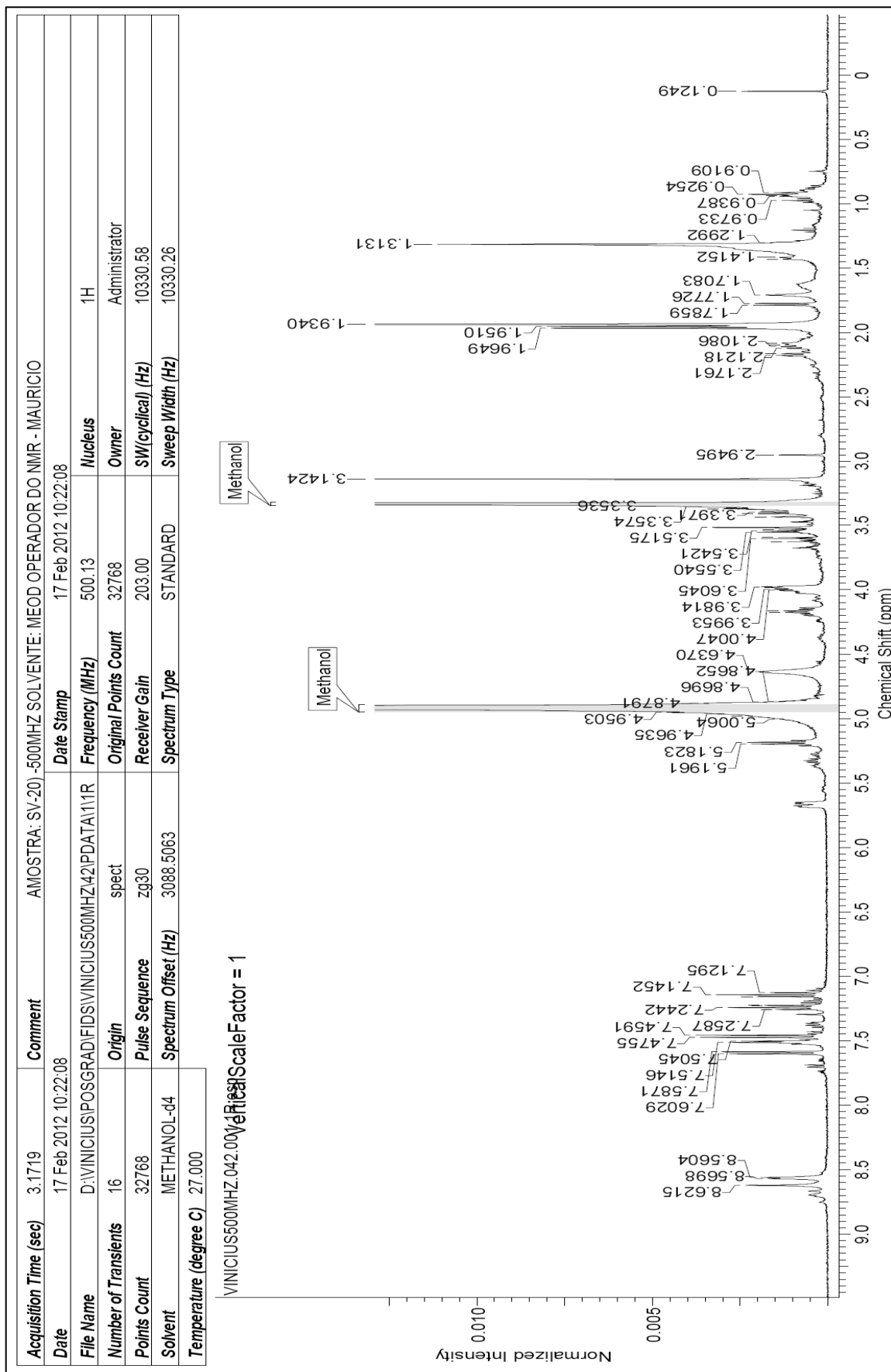
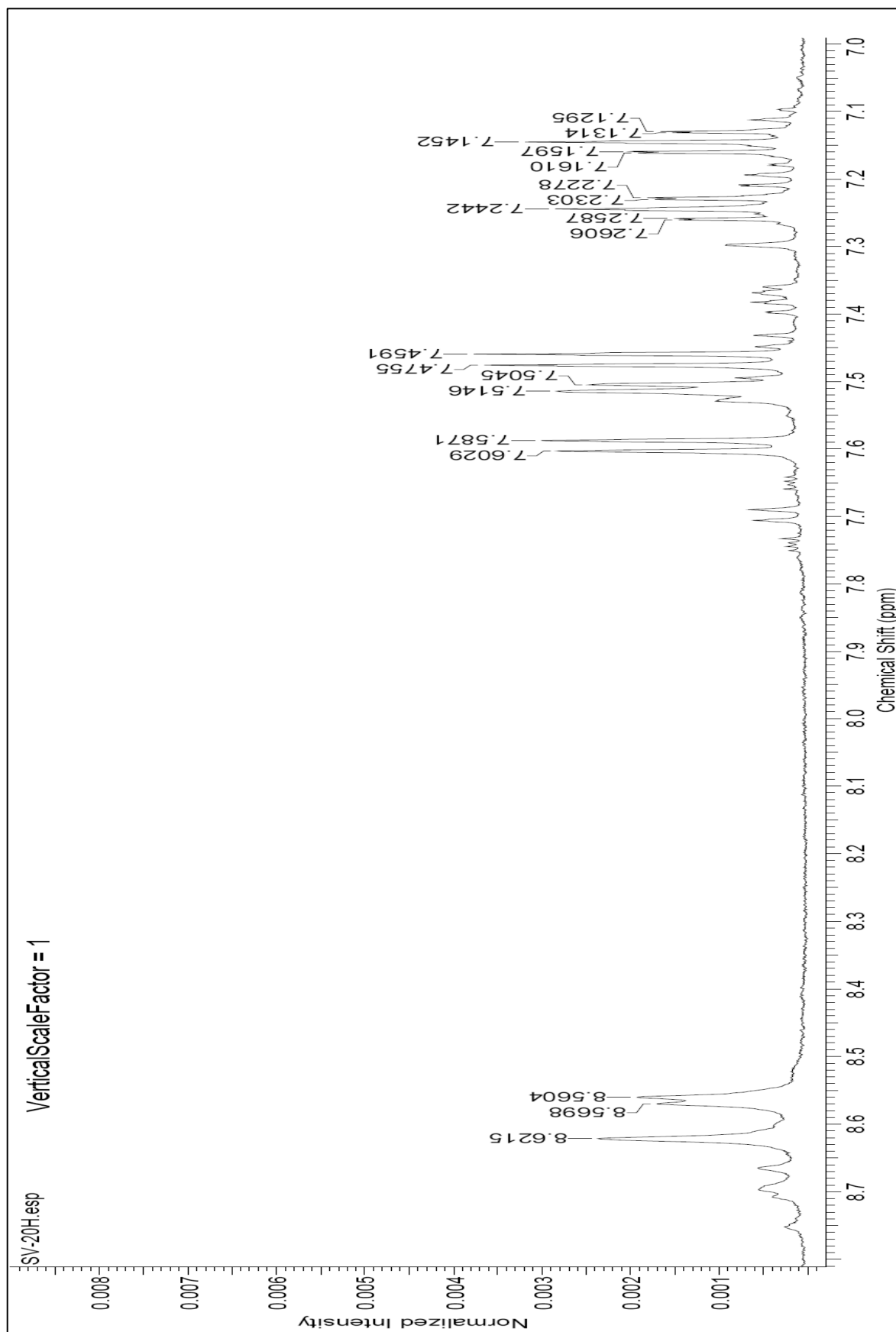
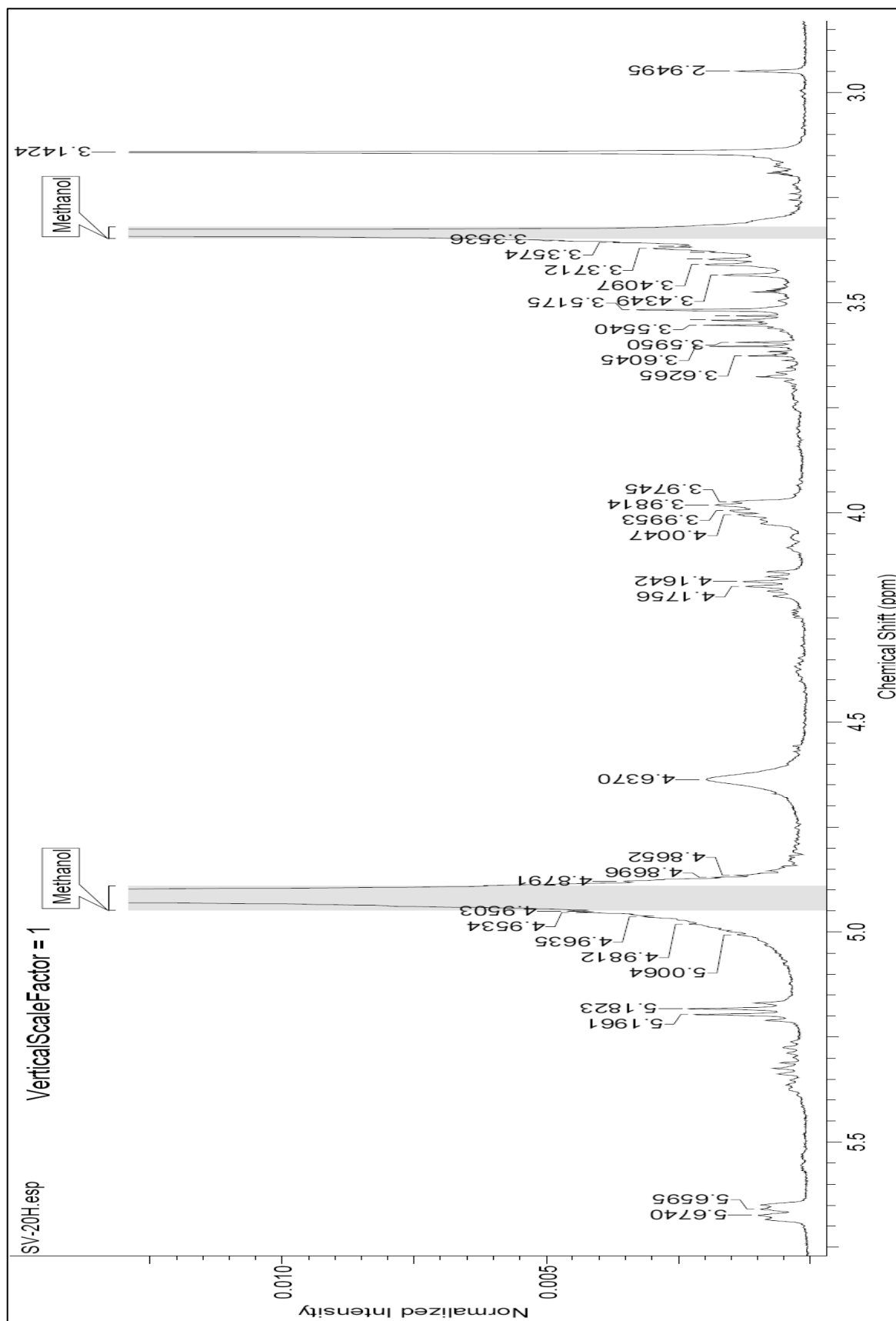


Figura 28: Espectro de RMN<sup>1</sup>H (500 MHz) em MeOD de SV-20





**Figura 29:** Ampliação da região de  $\delta_{\text{H}} 7.0 - \delta_{\text{H}} 8.7$  do espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  (500 MHz) em MeOD de SV-20



**Figura 30:** Ampliação da região de  $\delta_{\text{H}}$  3.0 –  $\delta_{\text{H}}$  5.5 do espectro de RMN<sup>1</sup>H (500 MHz) em MeOD de SV-20

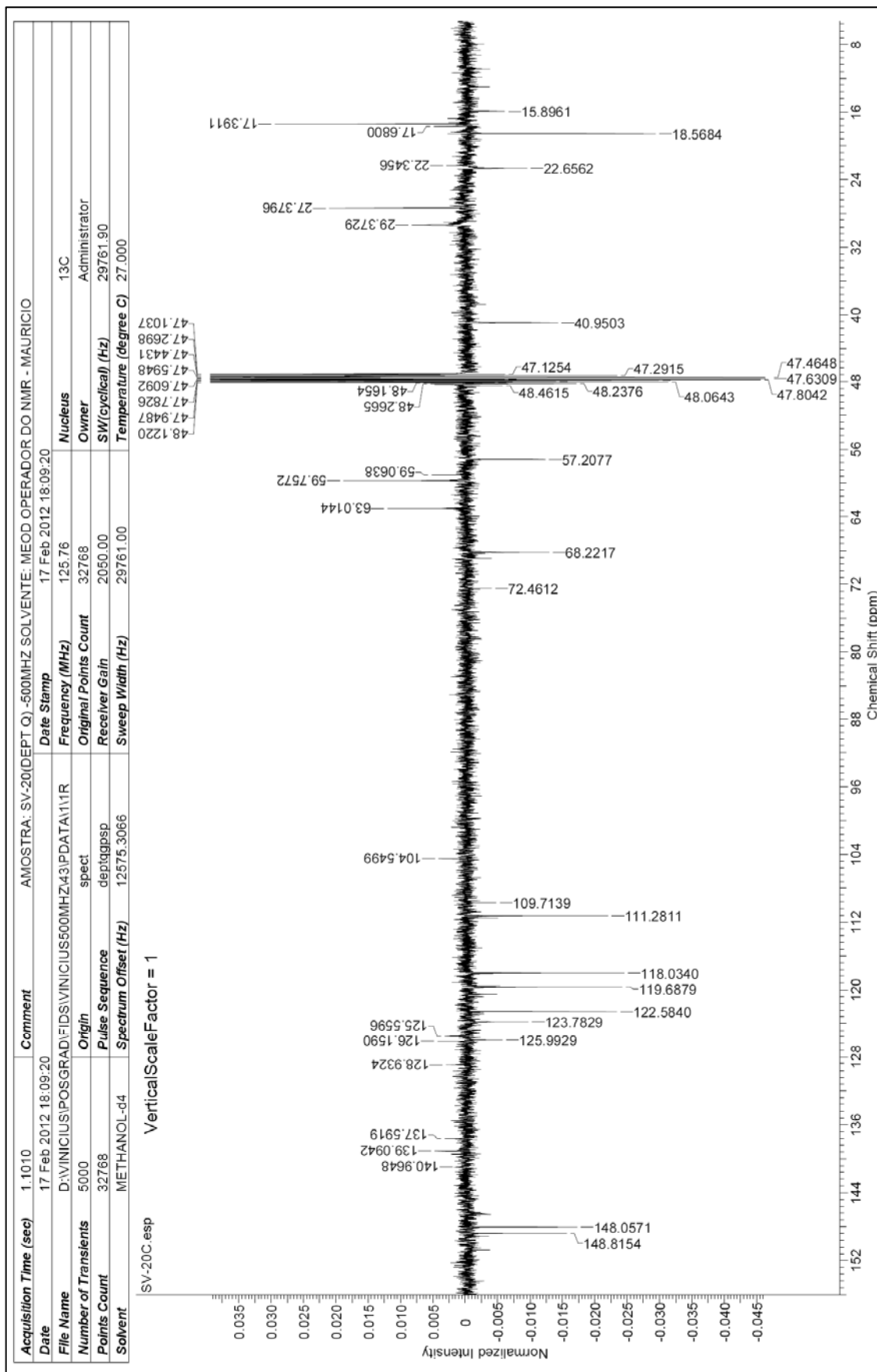
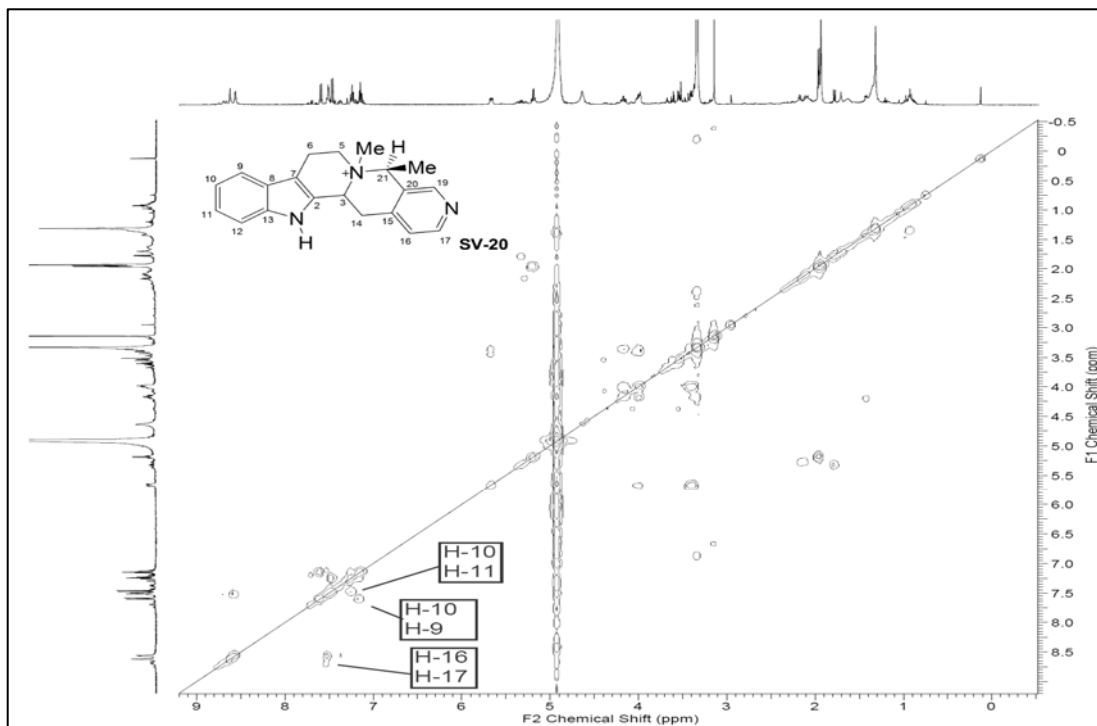
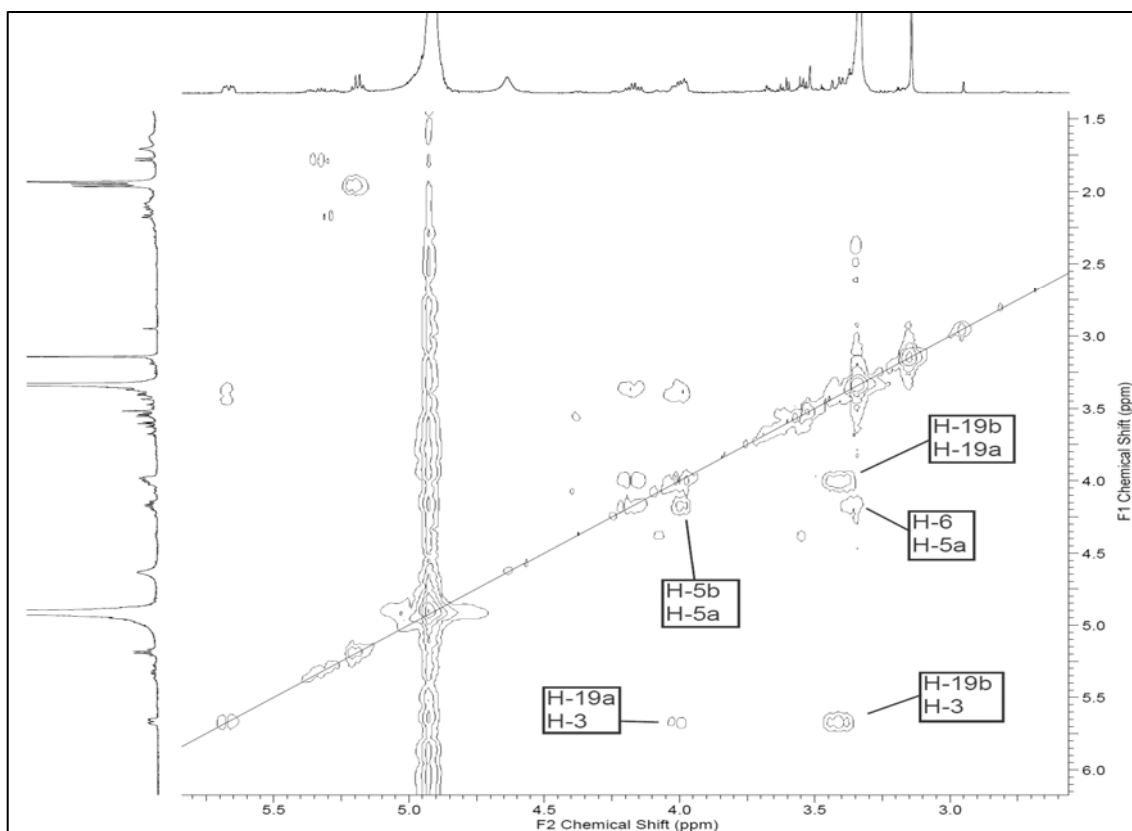


Figura 31: Espectro de RMN<sup>13</sup>C DEPT Q (125 MHz) em MeOD de SV-20



**Figura 32:** Espectro de correlação homonuclear  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY em MeOD de **SV-20**



**Figura 33:** Ampliação do espectro de correlação homonuclear  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY em MeOD de **SV-20**

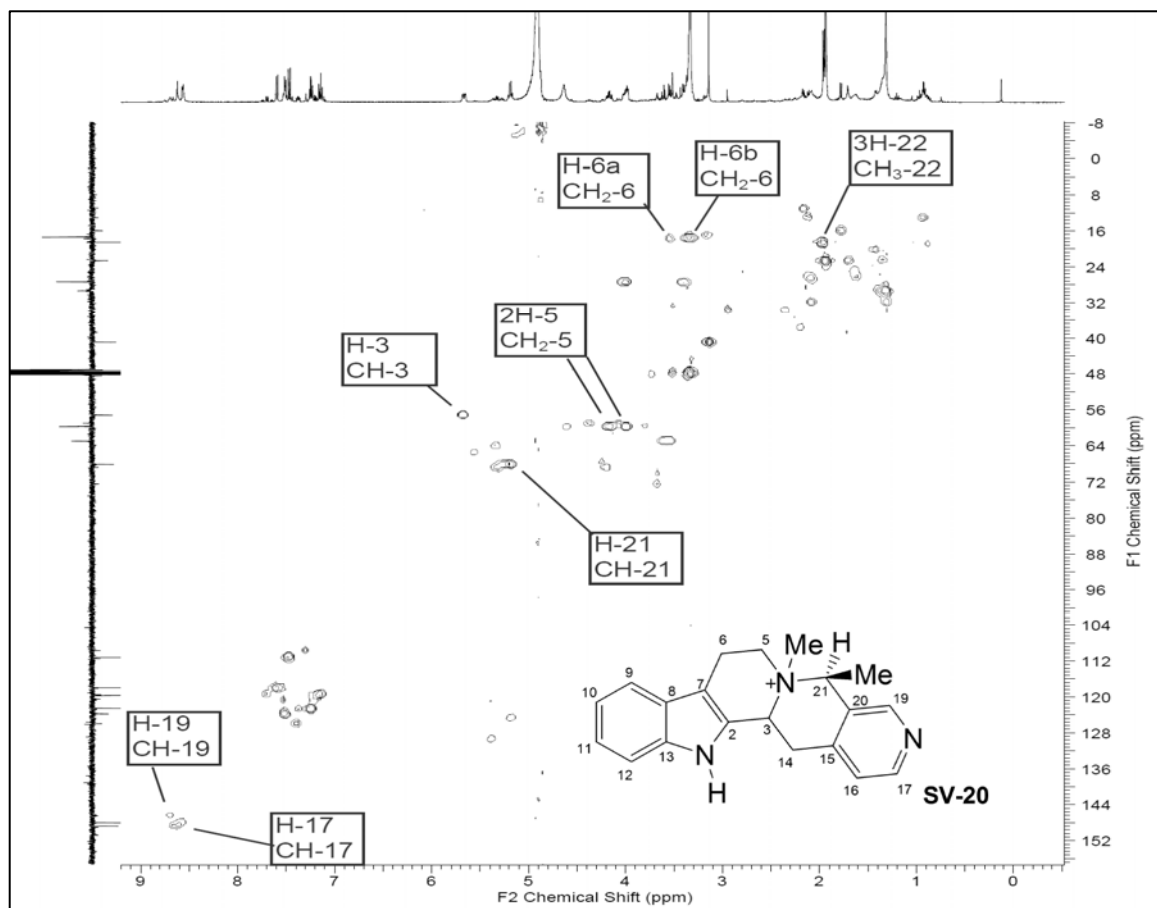


Figura 34: Espectro de correlação heteronuclear HSQC em MeOD de **SV-20**

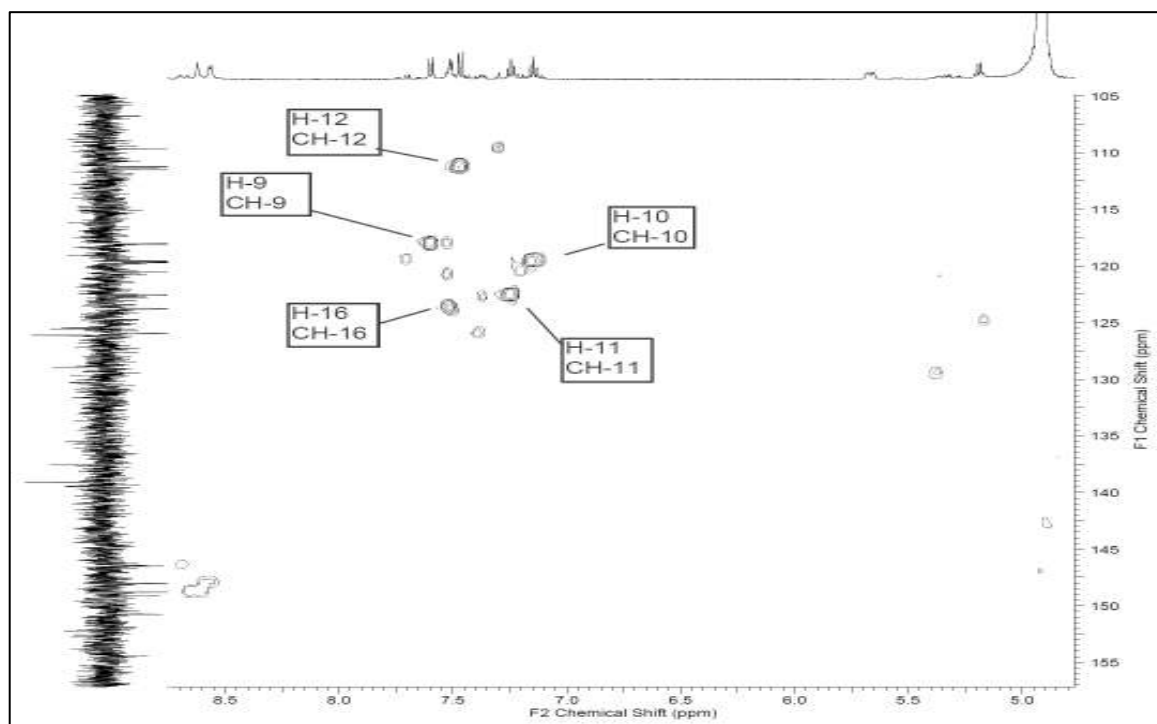


Figura 35: Ampliação do espectro de correlação heteronuclear de HSQC em MeOD de **SV-20**

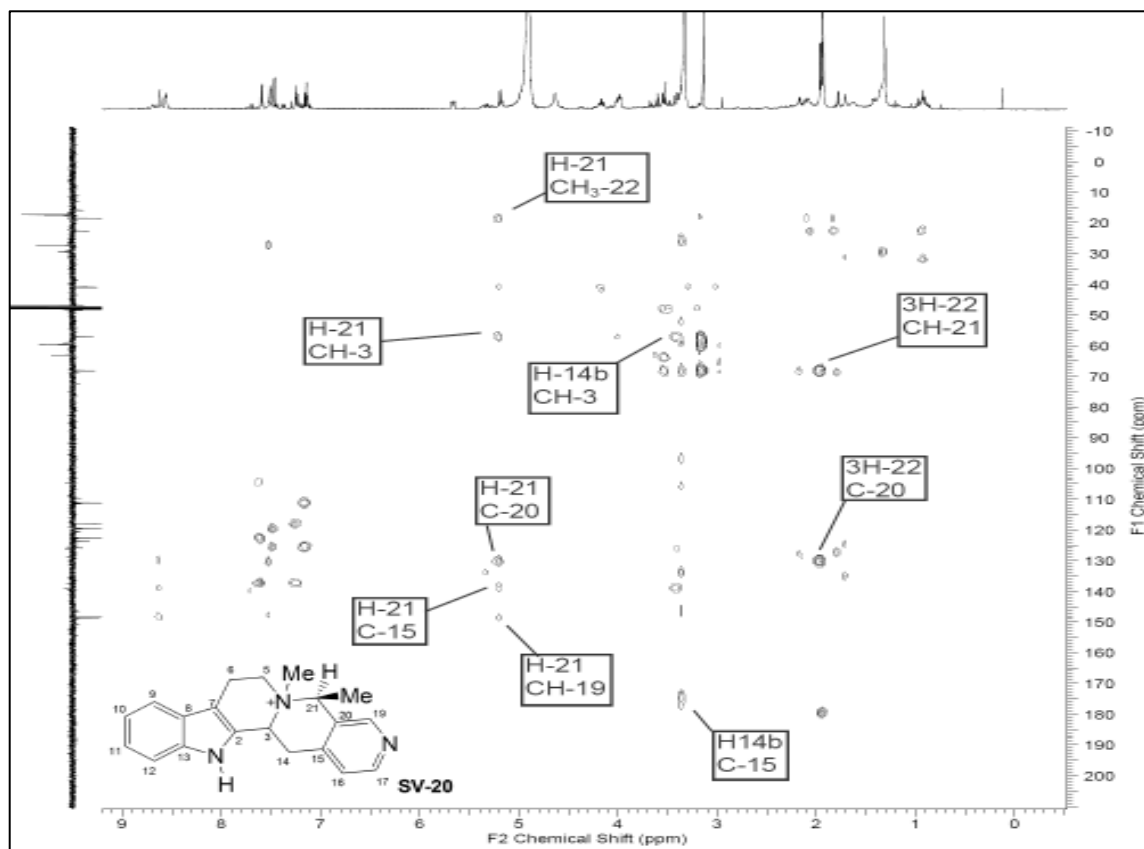


Figura 36: Espectro de correlação heteronuclear HMBC em MeOD de **SV-20**

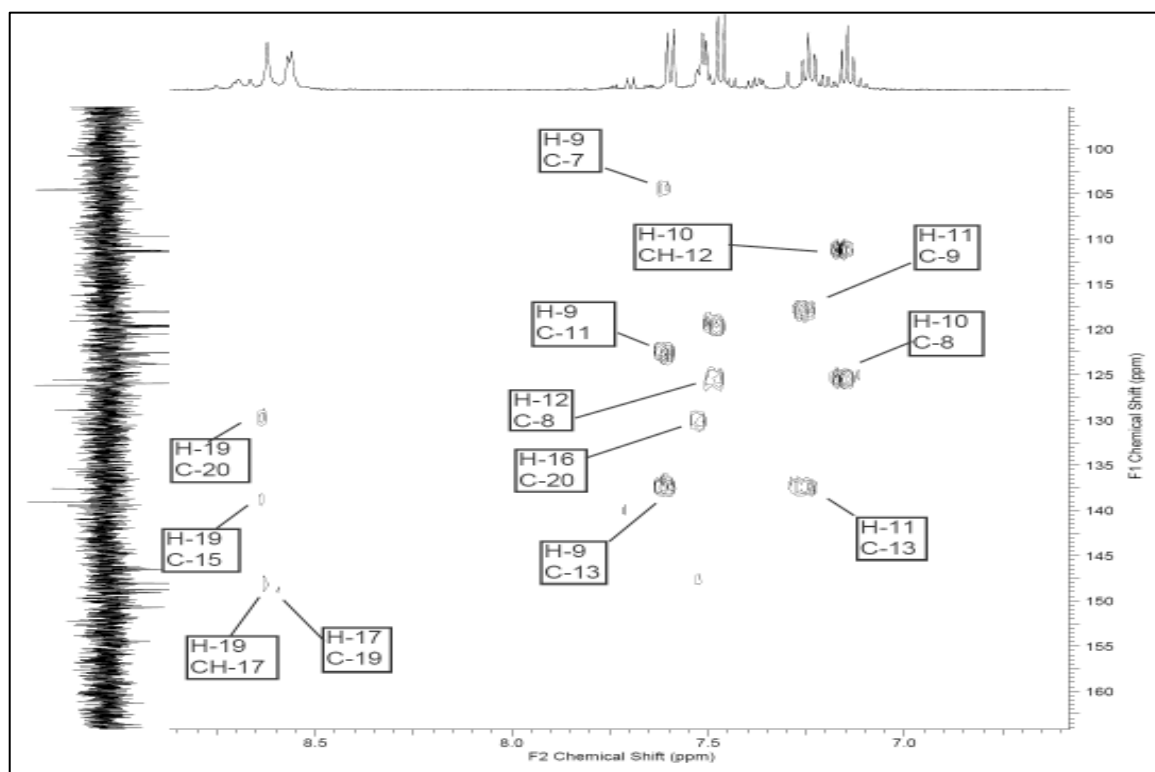
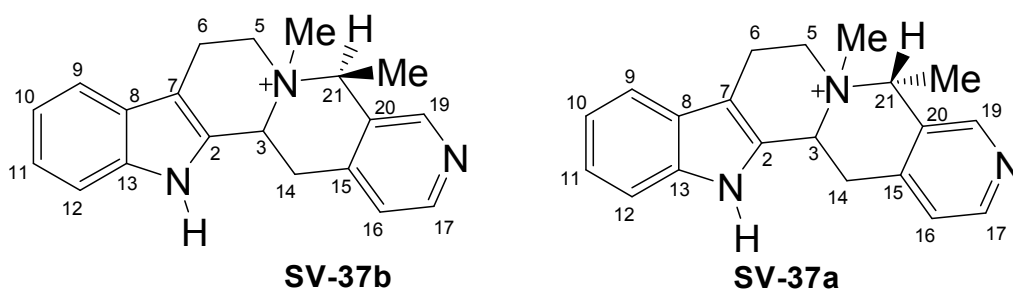


Figura 37: Ampliação espectro de correlação heteronuclear HMBC em MeOD de **SV-20**

### 6.2.4 Identificação da mistura SV-37



A mistura de substâncias **SV-37** foi obtida do extrato em MeOH da madeira de *S. sampaioana* como um sólido amarelo amorfo, apresentando teste positivo para alcaloides com reagente de Dragendorff.

O espectro de RMN<sup>1</sup>H (Figuras 38-42, pag. 95-97) apresentou sinais de hidrogênios na região de aromáticos referentes à unidade indólica, que foram confirmados pelas interações de acoplamentos presentes no espectro de correlação homonuclear <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY (Figuras 44 e 45, pag. 99). Sinais de correspondência às interações de átomos de carbono e hidrogênio observados nos espectros de correlações heteronucleares HSQC (Figuras 46 e 47, pag. 100) e HMBC (Figuras 48 e 49, pag. 101) permitiram identificar os sinais dos carbonos hidrogenados e não hidrogenados desta unidade aromática, semelhante ao alcaloide **SV-20** (Tabela 19, pag. 83), já descrito neste trabalho.

As análises dos espectros de RMN<sup>1</sup>H (Figuras 38-42, pag. 95-97), RMN <sup>13</sup>C DEPTQ (Figura 43, pag. 98) e dos espectros de correlação para **SV-37** sugerem uma mistura de isômeros, **SV-37a** e **Sv-37b** (Tabela 20, pag. 94).

O espectro de correlação heteronuclear HSQC (Figuras 46 e 47, pag. 100) apresentou as correlações à <sup>1</sup>J entre o carbono em  $\delta_{CH}$  118,05 (CH-9a) com o hidrogênio em  $\delta_H$  7,59 (1H, *d*, 7,9 Hz, H-9a), entre o carbono em  $\delta_{CH}$  120,50 (CH-10a) com o hidrogênio em  $\delta_H$  7,18 (1H, *d*, 7,8 Hz, H-10a), entre o carbono em  $\delta_{CH}$  125,99 (CH-11a) com o hidrogênio em  $\delta_H$  7,37 (1H, *t*, 7,9 Hz H-11a) e entre o carbono em  $\delta_{CH}$  111,52 (CH-12a) com o hidrogênio em  $\delta_H$  7,47 (1H, *d*, 8,8 Hz, H-12a), confirmando um anel aromático de unidade indólica (HASBUN et al,1989). Um anel piridínico pôde ser confirmado pelas correlações observadas entre o carbono em  $\delta_{CH}$  120,92 (CH-16a) com o hidrogênio em  $\delta_H$  7,52 (1H, *d*, 5,7 Hz, H-16a), entre o carbono em  $\delta_{CH}$  146,48 (CH-17a) com o hidrogênio em  $\delta_H$  8,62 (1H,

*sl*, H-17a) e entre o carbono em  $\delta_{\text{CH}}$  148,80 (CH-19a) com o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  8,67 (1H, *sl*, H-19a).

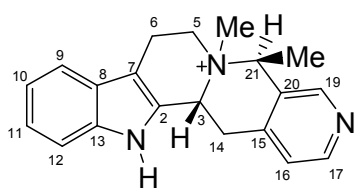
O espectro de correlação heteronuclear HSQC apresentou também as correlações à  $^1J$  entre o carbono em  $\delta_{\text{CH}}$  119,56 (CH-9b) com o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  7,69 (1H, *d*, 8,2 Hz, H-9b), entre o carbono em  $\delta_{\text{CH}}$  119,68 (CH-10b) com o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  7,14 (1H, *t*, 7,6 Hz, H-10b), entre o carbono em  $\delta_{\text{CH}}$  122,57 (CH-11b) com o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  7,24 (1H, *t*, 7,6 Hz, H-11b) e entre o carbono em  $\delta_{\text{CH}}$  109,75 (CH-12b) com o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  7,31 (1H, *s*, H-12b), confirmando outro anel aromático de unidade indólica. Outro anel piridínico pôde ser confirmado pelas correlações observadas entre o carbono em  $\delta_{\text{CH}}$  123,82 (CH-16b) com o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  7,49 (1H, *d*, 5,0 Hz, H-16b), entre o carbono em  $\delta_{\text{CH}}$  147,98 (CH-17b) com o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  8,56 (1H, *sl*, H-17b) e entre o carbono em  $\delta_{\text{CH}}$  150,66 (CH-19b) com o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  8,69 (1H, *sl*, H-19b).

O espectro de correlação heteronuclear HMBC (Figuras 48 e 49, pag. 101) apresentou as correlações a  $^3J$  entre o carbono em  $\delta_{\text{C}}$  126,20 (C-20a) com os hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  1,78 (3H, *d*, 6,6 Hz, 3H-22a), e entre o carbono em  $\delta_{\text{C}}$  143,05 (C-15a) com o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  5,34 (H, *q*, 6,6 Hz, H-21a), e entre o carbono em  $\delta_{\text{CH}}$  148,80 (C-19a) com o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  5,34 (H-21a); apresentou também correlações entre o carbono em  $\delta_{\text{C}}$  125,57 (C-20b) com os hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  1,96 (3H, *d*, 6,9 Hz, 3H-22b), e entre o carbono em  $\delta_{\text{C}}$  139,78 (C-15b) com o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  5,20 (H, *q*, 6,9 Hz, H-21b), e entre o carbono em  $\delta_{\text{CH}}$  150,66 (C-19b) com o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  5,20 (H-21b).

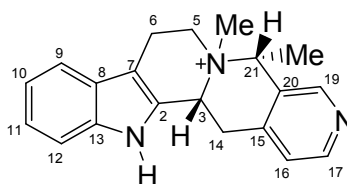
As configurações relativas dos carbonos quirais foram estabelecidas após análise do espectro de correlação homonuclear  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -NOESY (Figura 50, pag. 102) Foram observadas interações NOE entre hidrogênios do grupo metila 3H-22b e o hidrogênio em H-3b. Da mesma forma, foram observadas interações NOE entre H-21b e os hidrogênios do grupo metila 3H-23b. Essa interações não são observadas para os sinais em **SV-37a**.

A comparação destes dados com valores encontrados na literatura (HASBUN et al,1989) permitiram a identificação das substancias em **SV-37** como sendo os alcaloides epímeros isomalindina (**SV-37b**) e malindina (**SV-37a**) relatados pela primeira vez no gênero.

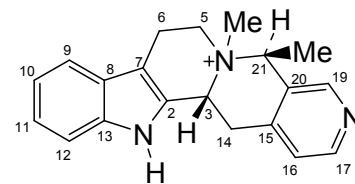




SV-37b



SV-37a



Mo-1

**Tabela 20.** Dados de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz) e  $^{13}\text{C}$  (125 MHz) em MeOD da substâncias **SV-37a** e **SV-37b**, e comparação com dados de  $^{13}\text{C}$  do **SV-20** e valores da literatura para o modelo e **Mo-1**  $^1\text{H}$  (400 MHz) e  $^{13}\text{C}$  (100 MHz) em  $\text{CDCl}_3$  (HASBUN et al,1989). Os valores das constantes de acoplamento ( $J$ ) em Hz estão entre parêntesis. Deslocamentos químicos em ppm.

	SV-37a		SV-37b		Sv-20	Mo-1
	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{C}}$
C						
2	134,80	-	134,19	-	137,00	135,02
3	-	-	-	-	-	135,13
7	106,86	-	104,56	-	104,55	133,46
8	127,96	-	127,45	-	125,91	121,16
13	139,21	-	138,52	-	129,09	140,84
14	-	-	-	-	-	190,64
15	143,05	-	138,52	-	140,00	145,25
20	126,20	-	125,57	-	126,17	132,78
CH						
3	57,22	5,64-5,67 ( <i>m</i> )	57,22	5,64-5,67 ( <i>m</i> )	57,21	-
5	-	-	-	-	-	140,63
6	-	-	-	-	-	119,23
9	118,05	7,59 ( <i>d</i> , 7,9)	119,56	7,69 ( <i>d</i> , 8,2)	118,09	122,50
10	120,50	7,18 ( <i>d</i> , 7,8)	119,68	7,14 ( <i>d</i> , 7,6)	119,62	121,57
11	125,99	7,37 ( <i>d</i> , 7,9)	122,57	7,24 ( <i>d</i> , 7,6)	122,58	130,15
12	111,52	7,47 ( <i>d</i> , 8,8)	109,75	7,31 ( <i>s</i> )	111,28	109,51
16	120,92	7,52 ( <i>d</i> , 5,7)	123,82	7,49 ( <i>d</i> , 5,7)	123,78	123,84
17	146,48	8,62 ( <i>sl</i> )	147,98	8,56 ( <i>sl</i> )	148,06	150,74
19	148,80	8,67 ( <i>sl</i> )	150,66	8,69 ( <i>sl</i> )	148,82	148,73
21	68,87	5,34( <i>q</i> , 6,6)	68,20	5,20( <i>q</i> , 6,9)	68,22	54,09
CH <sub>2</sub>						
5	59,07	4,36-4,10 ( <i>m</i> )	59,75	4,15-4,08 ( <i>m</i> )	59,76	-
6	17,70	3,56-3,36 ( <i>d</i> , 6,0)	17,41	3,56-3,36 ( <i>d</i> , 5,3)	17,39	-
14	27,42	4,10-4,01 ( <i>d</i> , 4,1)	27,42	4,08-3,99 ( <i>d</i> , 4,1)	27,38	-
CH <sub>3</sub>						
22	15,92	1,78 ( <i>d</i> , 6,6)	18,61	1,96 ( <i>d</i> , 6,9)	18,57	21,29
MeN-4	48,26	3,35 ( <i>s</i> )	40,96	3,14 ( <i>s</i> )		

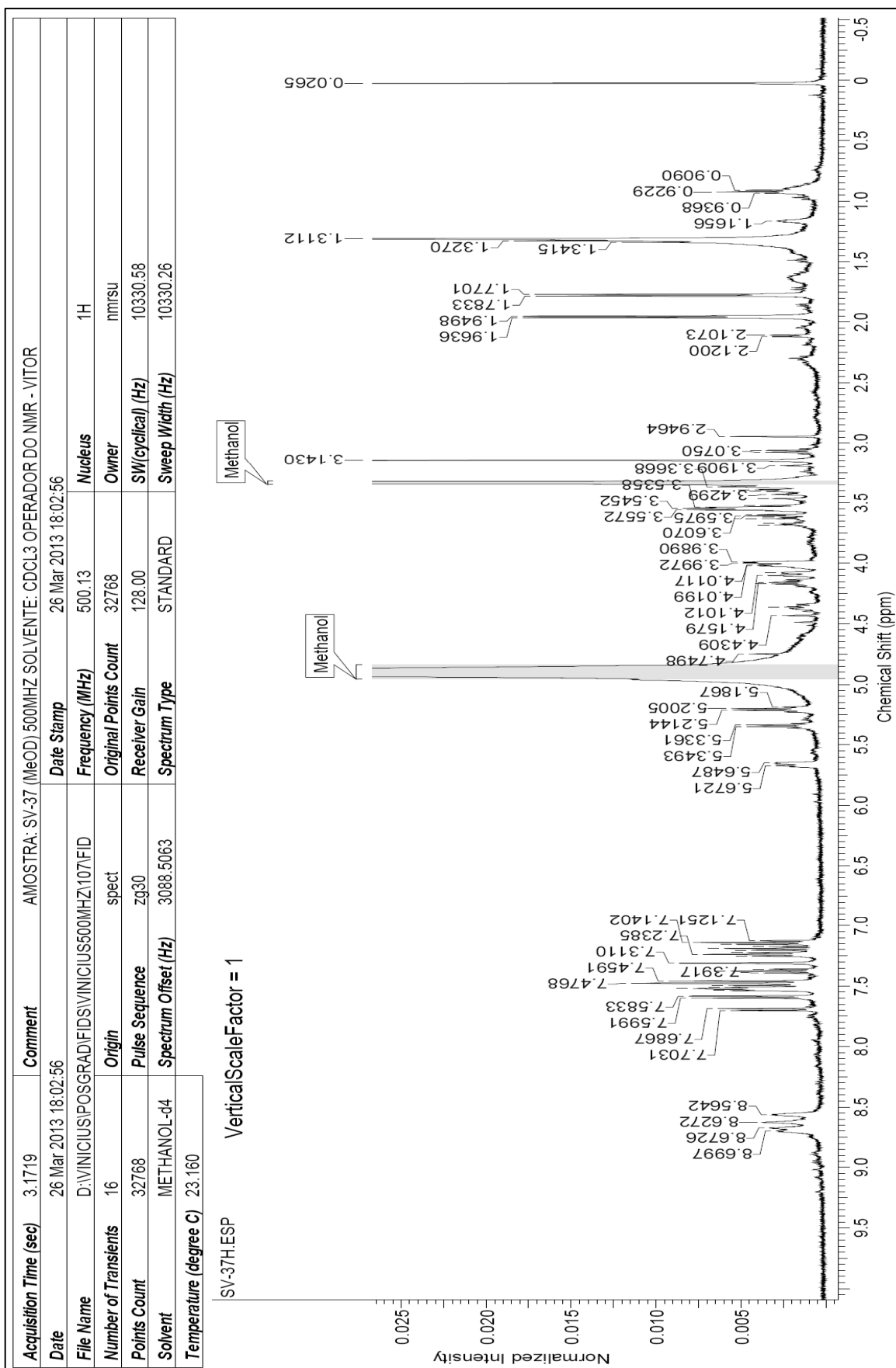
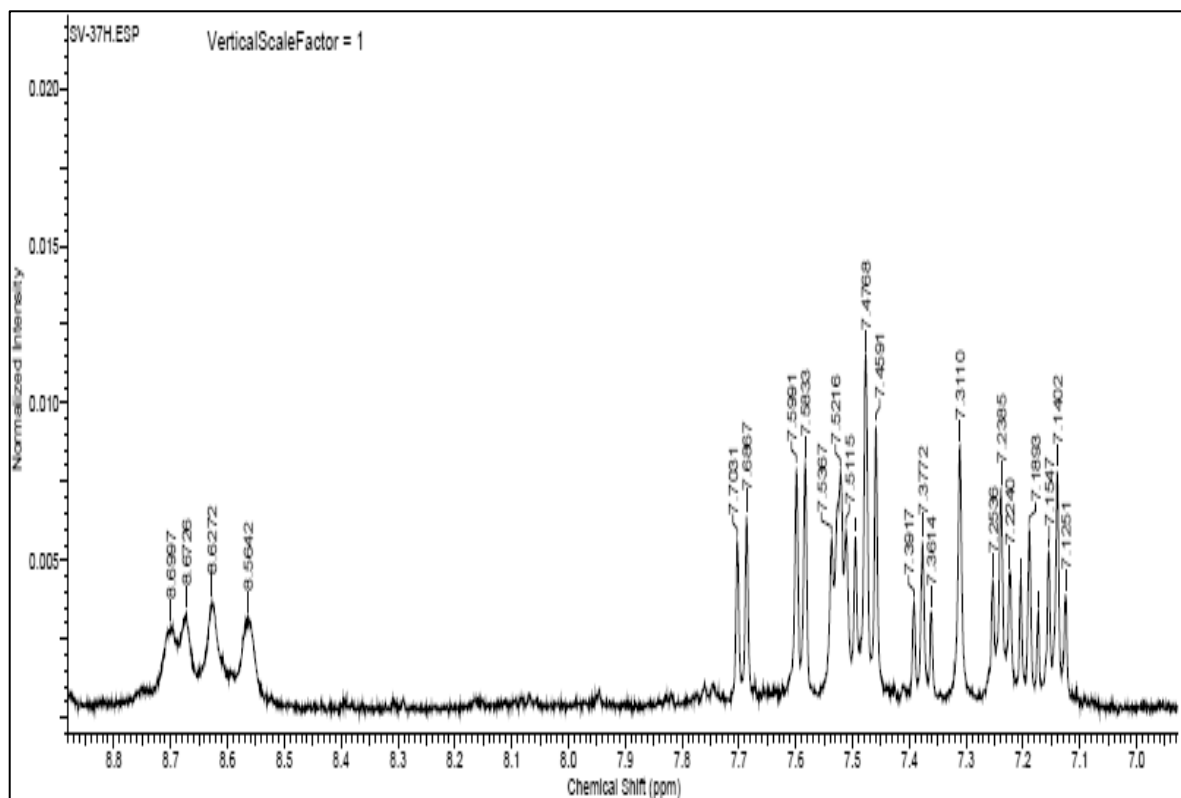
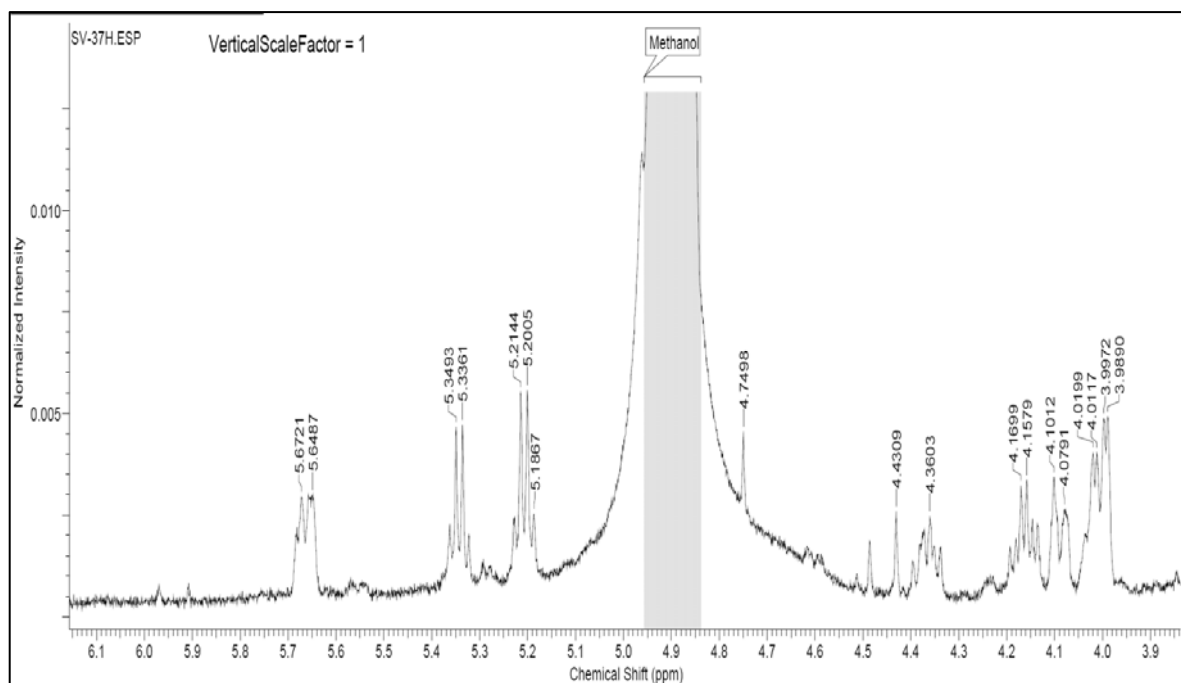


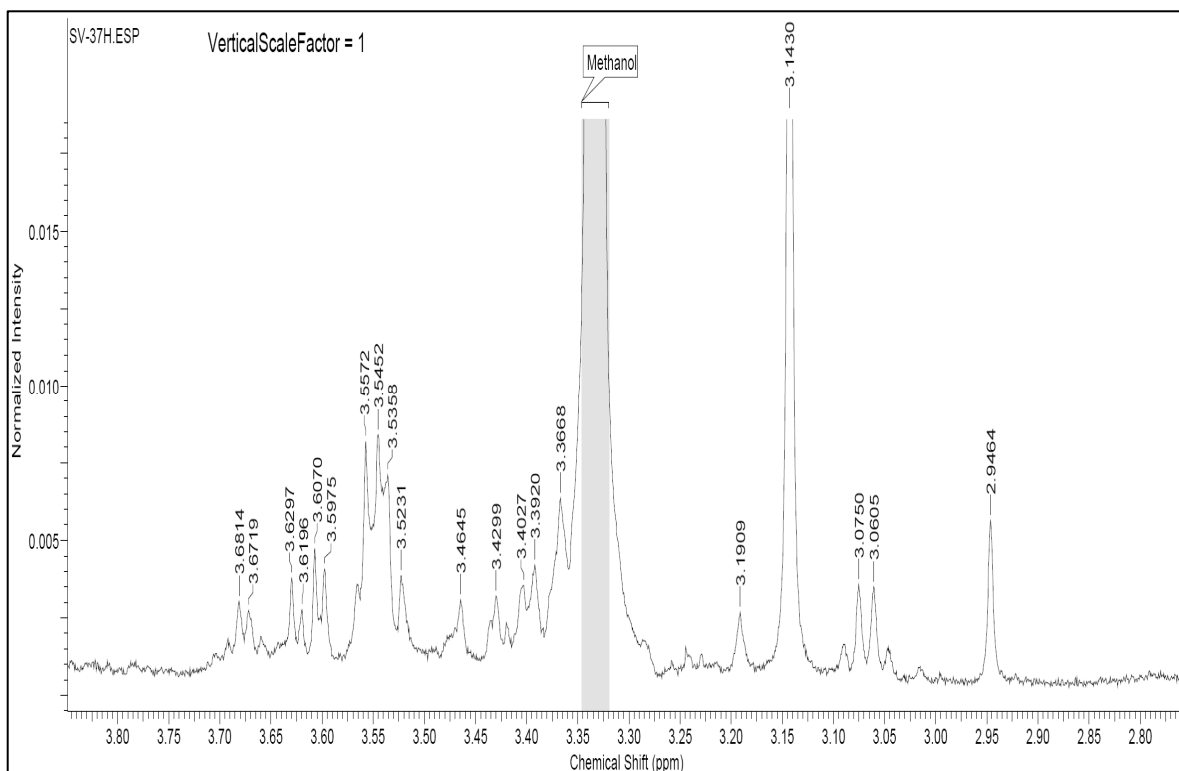
Figura 38: Espectro de RMN<sup>1</sup>H (500 MHz) em MeOD de SV-37



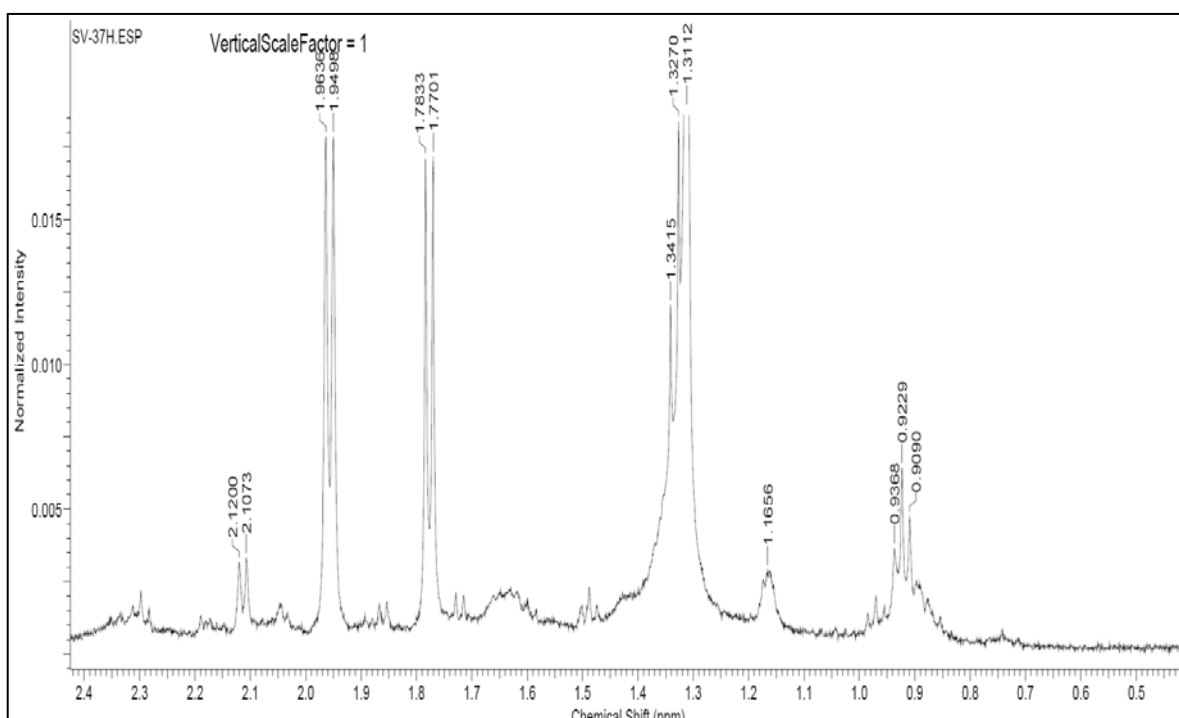
**Figura 39:** Ampliação da região  $\delta_H$  7.0 -  $\delta_H$  8.8 do espectro de RMN<sup>1</sup>H (500 MHz) em MeOD de SV-37



**Figura 40:** Ampliação da região  $\delta_H$  3.9 -  $\delta_H$  6.1 do espectro de RMN<sup>1</sup>H (500 MHz) em MeOD de SV-37



**Figura 41:** Ampliação da região  $\delta_H$  2.8 -  $\delta_H$  3.8 do espectro de RMN<sup>1</sup>H (500 MHz) em MeOD de SV-37



**Figura 42:** Ampliação da região  $\delta_H$  3.9 -  $\delta_H$  6.1 do espectro de RMN<sup>1</sup>H (500 MHz) em MeOD de SV-37

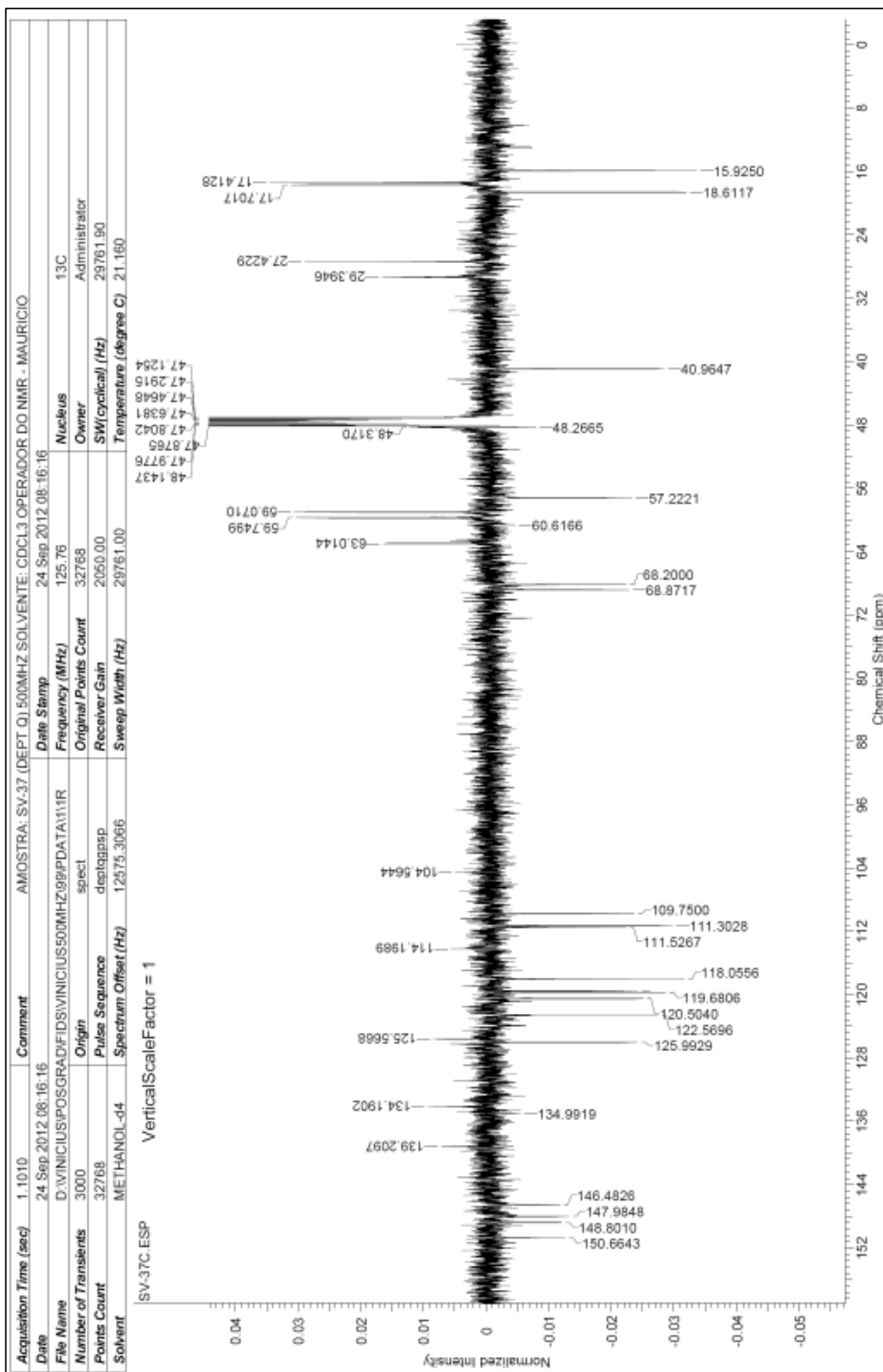


Figura 43: Espectro de RMN<sup>13</sup>C DEPT Q (125 MHz) em MeOD de SV-37

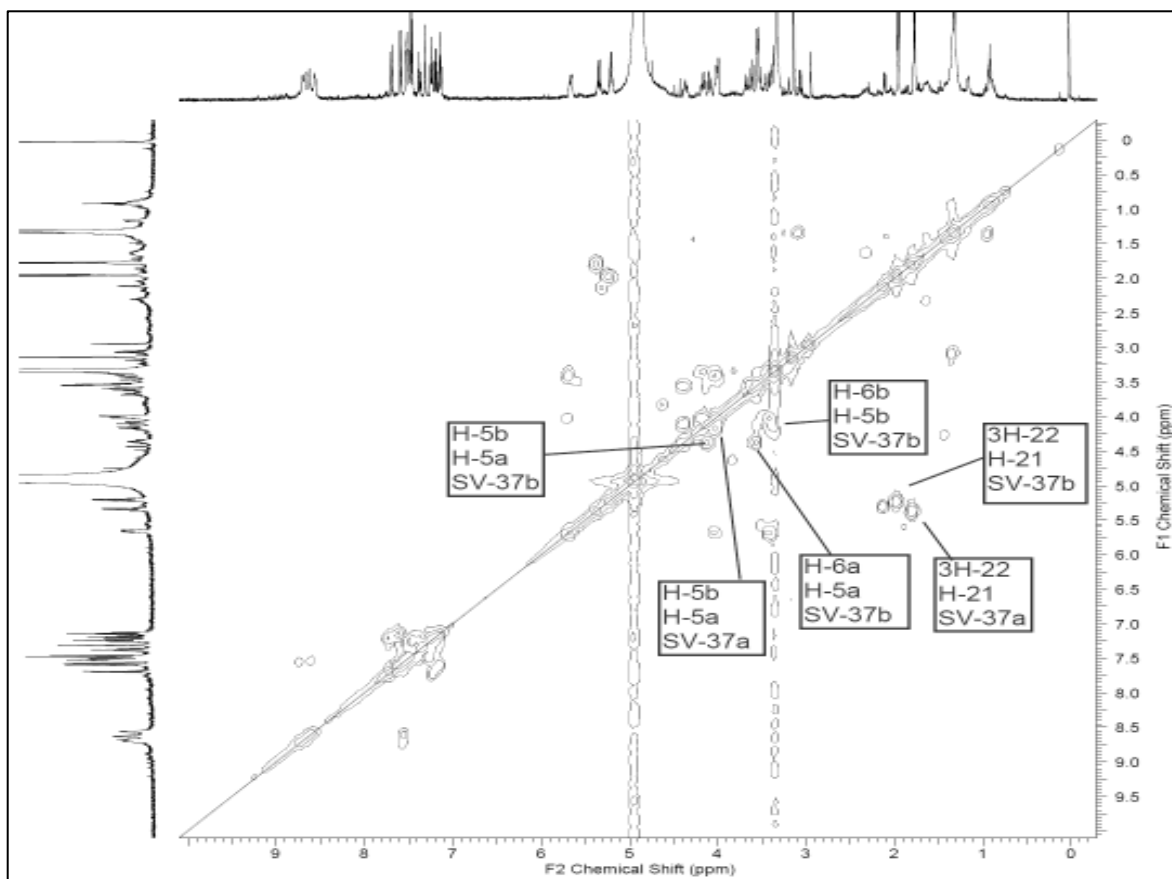


Figura 44: Espectro de correlação homonuclear  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY em MeOD de **SV-37**

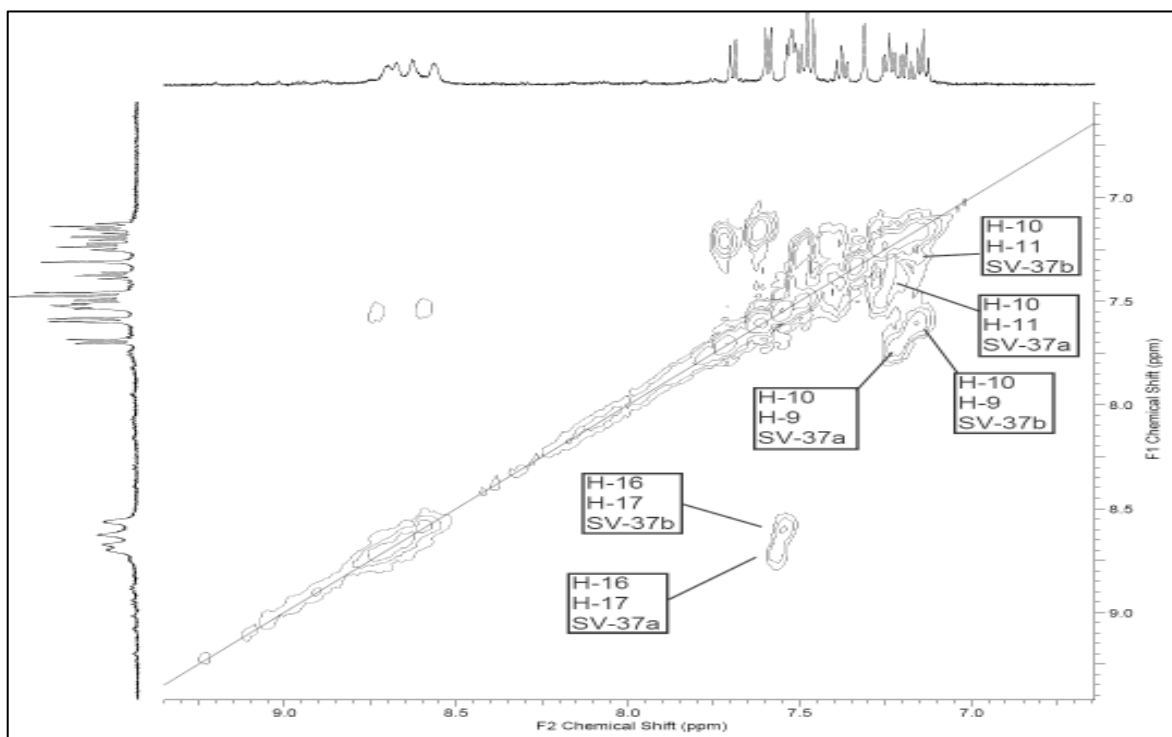


Figura 45: Ampliação do espectro de correlação homonuclear  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY em MeOD de **SV-37**

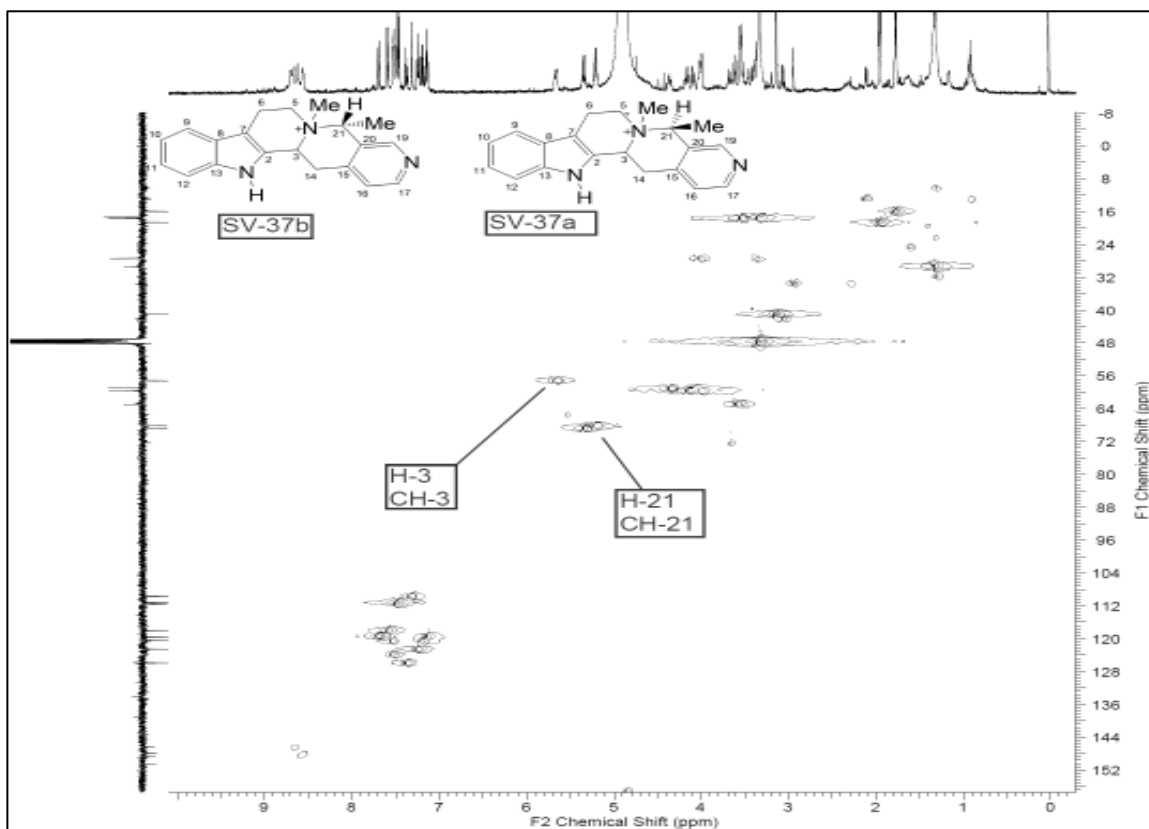


Figura 46: Espectro de correlação heteronuclear HSQC em MeOD de **SV-37**

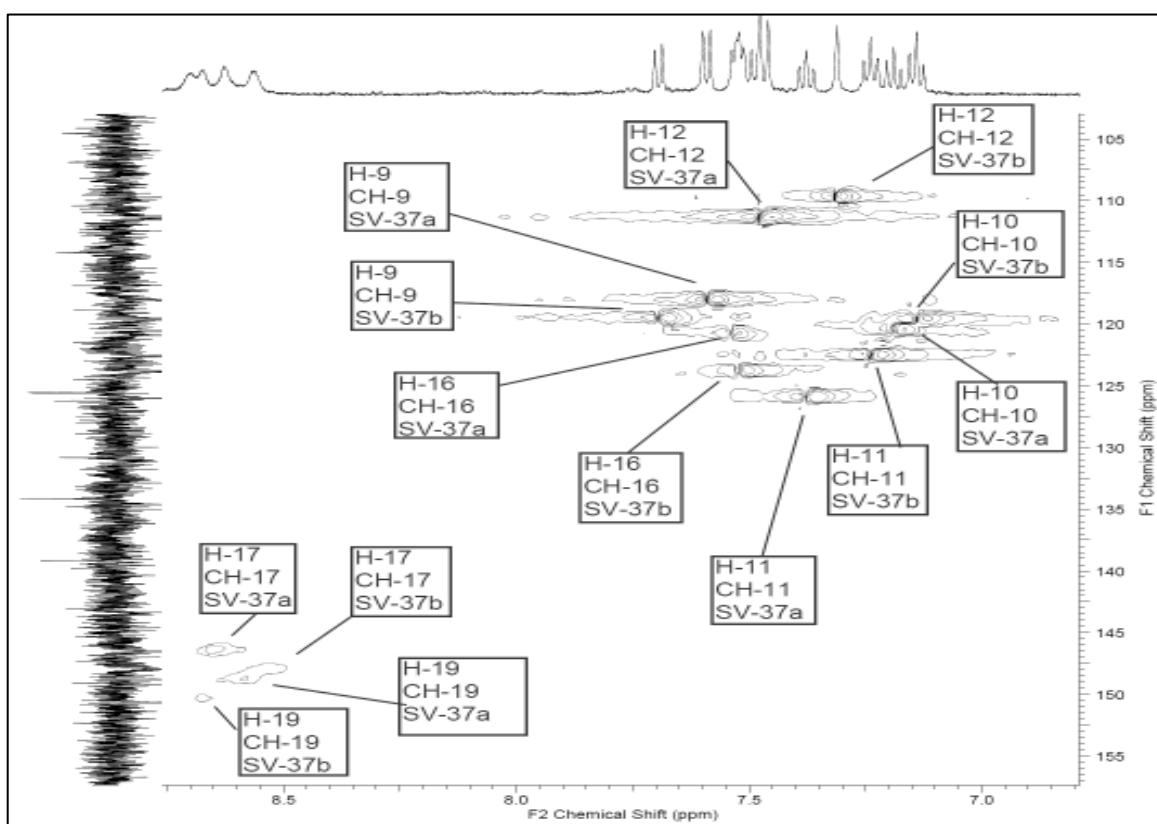


Figura 47: Ampliação do espectro de correlação heteronuclear HSQC em MeOD de **SV-37**

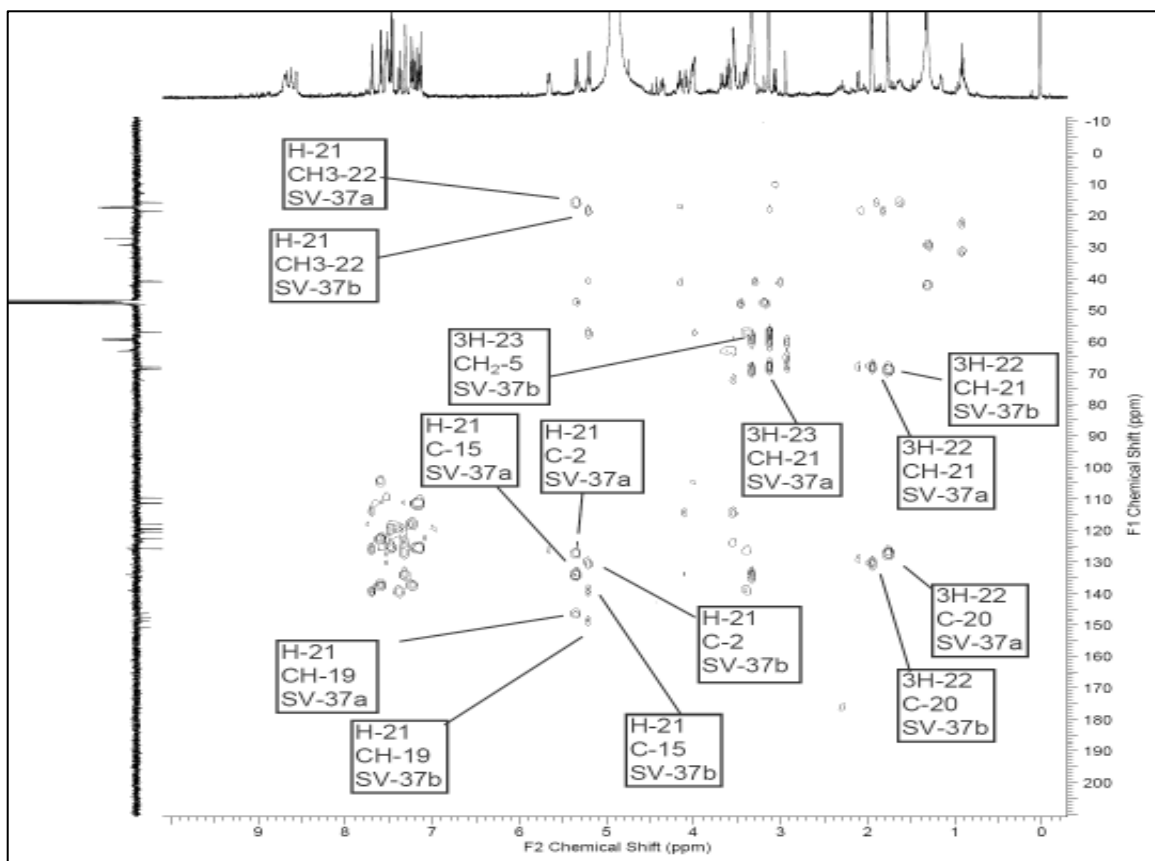


Figura 48: Espectro de correlação heteronuclear HMBC em MeOD de **SV-37**

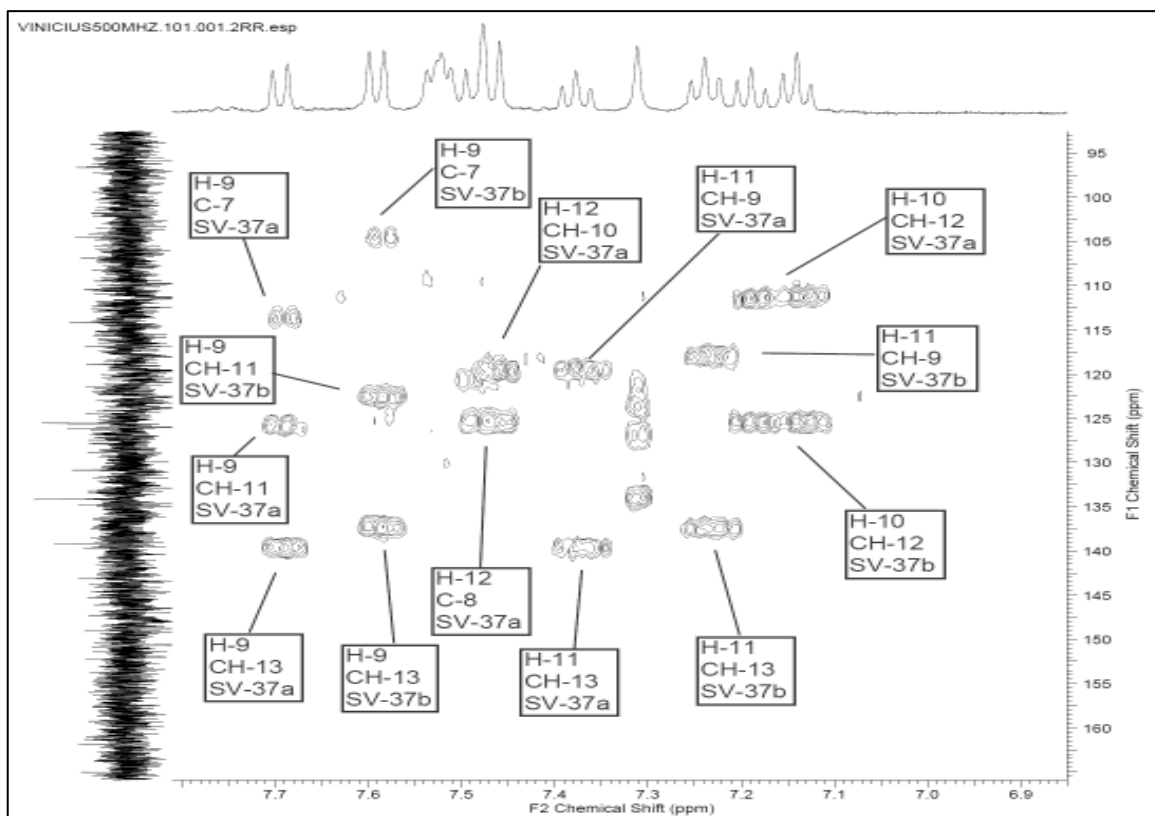
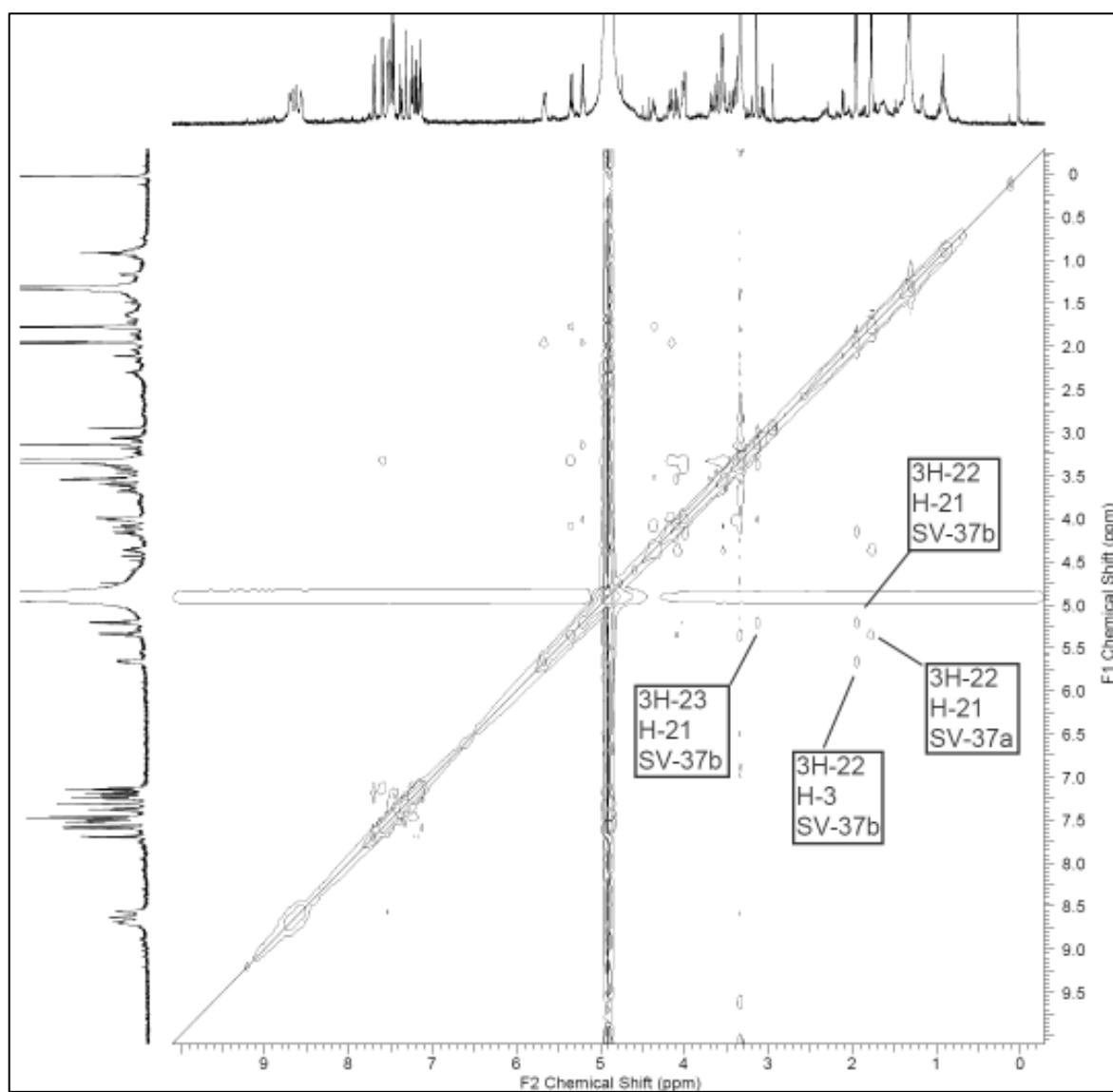


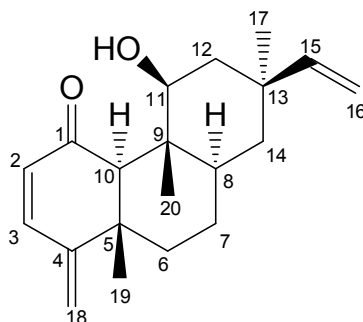
Figura 49: Ampliação do espectro heteronuclear HMBC em MeOD de **SV-37**





**Figura 50:** Espectro de correlação homonuclear  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -NOESY em MeOD de SV-37

### 6.2.5 Identificação da substancia SV-21



A substancia **SV-21** foi isolada do extrato hexânico da madeira de *S. sampaioana*, como um óleo de coloração amarelada, solúvel em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  e coloração roxa quando aquecida com vanilina sulfúrica em CCDA.

O espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  (Figuras 52-55, pag. 107-110) exibiu sinais característicos de diterpenos da classe eritroxilenos (ARAUJO et al, 2011), com três simpletos em  $\delta_{\text{H}}$  1,06 (3H, s, 3H-17),  $\delta_{\text{H}}$  1,24 (3H, s, 3H-19) e  $\delta_{\text{H}}$  1,16 (3H, s, 3H-20), atribuídos aos hidrogênios dos grupos metila. E os sinais dos hidrogênios vinílicos em  $\delta_{\text{H}}$  5,81 (1H, *dd*, 17,4, 10,7 Hz, H-15),  $\delta_{\text{H}}$  4,98 (1H, *d*, 17,4Hz, H-16a) e  $\delta_{\text{H}}$  4,90 (1H, *d*, 10,7 Hz, H-16b), e o simpleto em  $\delta_{\text{H}}$  5,32 (2H, s, 2H-18). O tripleto em  $\delta_{\text{H}}$  3,53 (1H, *t*, 15,7Hz, H-11) foi atribuído a um hidrogênio ligado a um carbono carbinólico. A presença de outra instauração foi confirmada pelos sinais em  $\delta_{\text{H}}$  5,98 (1H, *d*, 9,7Hz, H-2) e  $\delta_{\text{H}}$  6,98 (1H, *d*, 9,7Hz, H-3). O sinal em  $\delta_{\text{H}}$  2,60 (1H, s, H-10) sugere a presença de hidrogênio ligado a carbono  $\alpha$  carbonila (SILVERSTEIN et al,2007). A análise do espectro de correlação homonuclear  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY (Figuras 57, pag. 112) corrobora para a proposta do esqueleto eritroxileno.

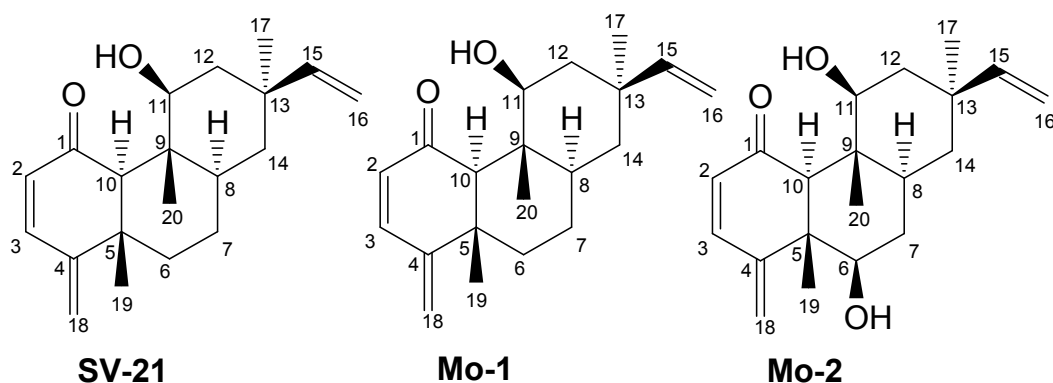
O espectro de  $\text{RMN}^{13}\text{C}$  DEPT Q (Figura 56, pag. 111) e o espectro de correlação heteronuclear HSQC (Figuras 58 e 59, pag. 113) ajudam a confirmar a proposta do diterpeno através das correlações à  $^1J$  entre os sinais  $\delta_{\text{CH}_3}$  23,84 ( $\text{CH}_3$ -17) com os hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  1,06 (3H-17), o sinal em  $\delta_{\text{CH}_3}$  24,63 ( $\text{CH}_3$ -19) com os hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  1,24 (3H-19) e o sinal em  $\delta_{\text{CH}_3}$  8,97 ( $\text{CH}_3$ -20) com os hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  1,16 (3H-20), confirmando a presença dos grupos metila. O sistema vinílico na cadeia lateral também é confirmado através das correlações entre o sinal de carbono em  $\delta_{\text{CH}}$  149,85 (CH-15) com o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  5,81 (H-15) e o carbono e m  $\delta_{\text{CH}_2}$  109,21( $\text{CH}_2$ -16) com os hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  4,98 (H-16a) e  $\delta_{\text{H}}$  4,90 (H-16b). Também o carbono vinílico em  $\delta_{\text{CH}_2}$  117,46 ( $\text{CH}_2$ -18) com os

hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  5,32 (H-18a) e  $\delta_{\text{H}}$  5,31 (H-18b). E a presença de um sistema  $\alpha,\beta$  - insaturado com as correlações entre o carbono em  $\delta_{\text{CH}}$  127,95 (CH-2) com o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  5,98 (H-2) e o carbono em  $\delta_{\text{CH}}$  145,52 (CH-3) com o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  6,98 (H-3). E por fim, a presença do carbono carbinólico foi confirmada através da correlação do carbono em  $\delta_{\text{CH}}$  76,56 (CH-11) com o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  3,53 (H-11).

A análise do espectro de correlação heteronuclear HMBC (Figuras 60 e 61, pag. 114) apresentou o sinal de carbono em  $\delta_{\text{C}}$  205,87 (C-1), característico de carbono carbonílico, correlacionando-se à  $^3J$  com os hidrogênios em H-3, e o sinal de carbono em  $\delta_{\text{C}}$  154,15 (C-4) correlacionando-se à  $^2J$  com os hidrogênios em 2H-18, justificando a proposta para o diterpeno. As demais correlações encontram-se na Tabela 21, pag 106.

Os espectros de CG/EM (Figura 51, pag. 106) permitiram determinar o íon molecular ( $[M]^+$ )  $m/z$  300 compatível com a fórmula molecular  $\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{O}_2$ . As propostas para as principais fragmentações observadas encontram-se no Esquema 4, pag. 106.

O conjunto desses dados em comparação com dados da literatura (ARAUJO et al, 2011), permitiram identificar a substância **SV-21** como sendo o diterpeno da classe eritroxileno, denominado simirano B (**20**).



**Tabela 21:** Dados de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz) e  $^{13}\text{C}$  (100 MHz) em  $\text{CDCl}_3$  e as correlações observadas no espectro de HMQC e HMBC da substância SV-21 e comparação com valores da literatura para os modelos **Mo-1** e **Mo-2**,  $^1\text{H}$  (400 MHz) e  $^{13}\text{C}$  (100 MHz) em  $\text{CDCl}_3$  (ARAUJO et al, 2011). Os valores das constantes de acoplamento ( $J$ ) em Hz estão entre parêntesis. Deslocamentos químicos em ppm.

	HMQC		HMBC		Mo-1	Mo-2
	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{C}}$
C						
1	205,87	-		H-3	205,73	204,54
4	154,15	-	H-18		154,46	151,97
5	43,60	-	H-10	H-18	43,38	48,67
9	43,36	-		H-12	43,55	43,47
13	40,80	-	H-12;H-17		39,06	39,58
CH						
2	127,95	5,98 ( <i>d</i> , 9,7)			127,94	128,19
3	145,52	6,98 ( <i>d</i> , 9,7)		H-18;H-5	145,48	147,14
6	-	-	-	-	-	73,94
8	41,02	1,36-1,38 ( <i>m</i> )			41,11	37,96
10	64,50	2,61 ( <i>s</i> )		H-20;3H-19	64,50	65,02
11	76,56	3,53 ( <i>t</i> , 15,7)	H-12	H-10	76,66	75,11
15	149,85	5,81 ( <i>dd</i> , 17,4, 10,7)			149,81	149,14
CH <sub>2</sub>						
6	37,83	1,88-1,91 ( <i>m</i> )		3H-19	37,89	-
7	24,58	1,70-1,00 ( <i>m</i> )			24,71	38,60
12	41,37	1,59 ( <i>d</i> , 8,2)	H-17		41,48	41,99
14	38,97	1,44 ( <i>d</i> , 12,9)			36,44	34,74
16	109,21	0,98 ( <i>d</i> , 12,6)			109,39	109,61
18	117,46	4,98 ( <i>d</i> , 17,4)				
		4,90 ( <i>d</i> , 10,7)				
		5,31 ( <i>s</i> ); 5,32 ( <i>s</i> )			117,39	120,39
CH <sub>3</sub>						
17	23,84	1,06 ( <i>s</i> )			23,87	23,78
19	24,63	1,24 ( <i>s</i> )			24,57	17,46
20	8,97	1,16 ( <i>s</i> )			8,93	8,92

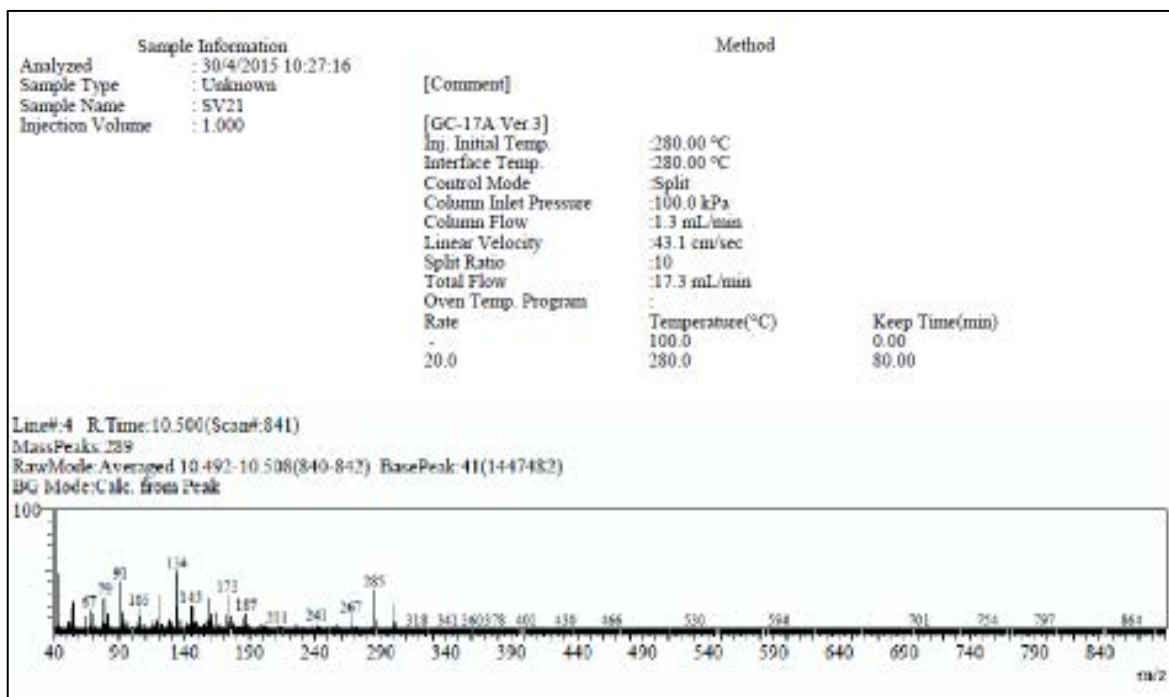
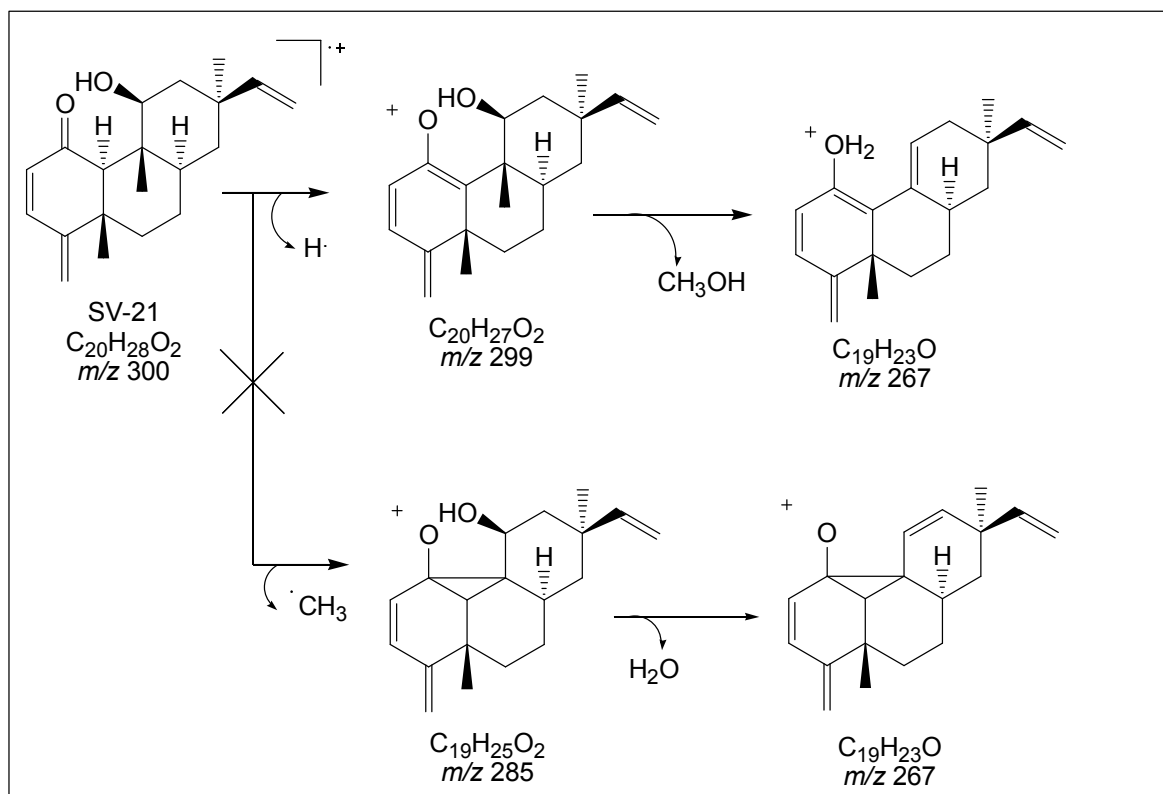


Figura 51: Espectro de massas de SV-21



Esquema 4: Proposta mecanistica de fragmentação para SV-21

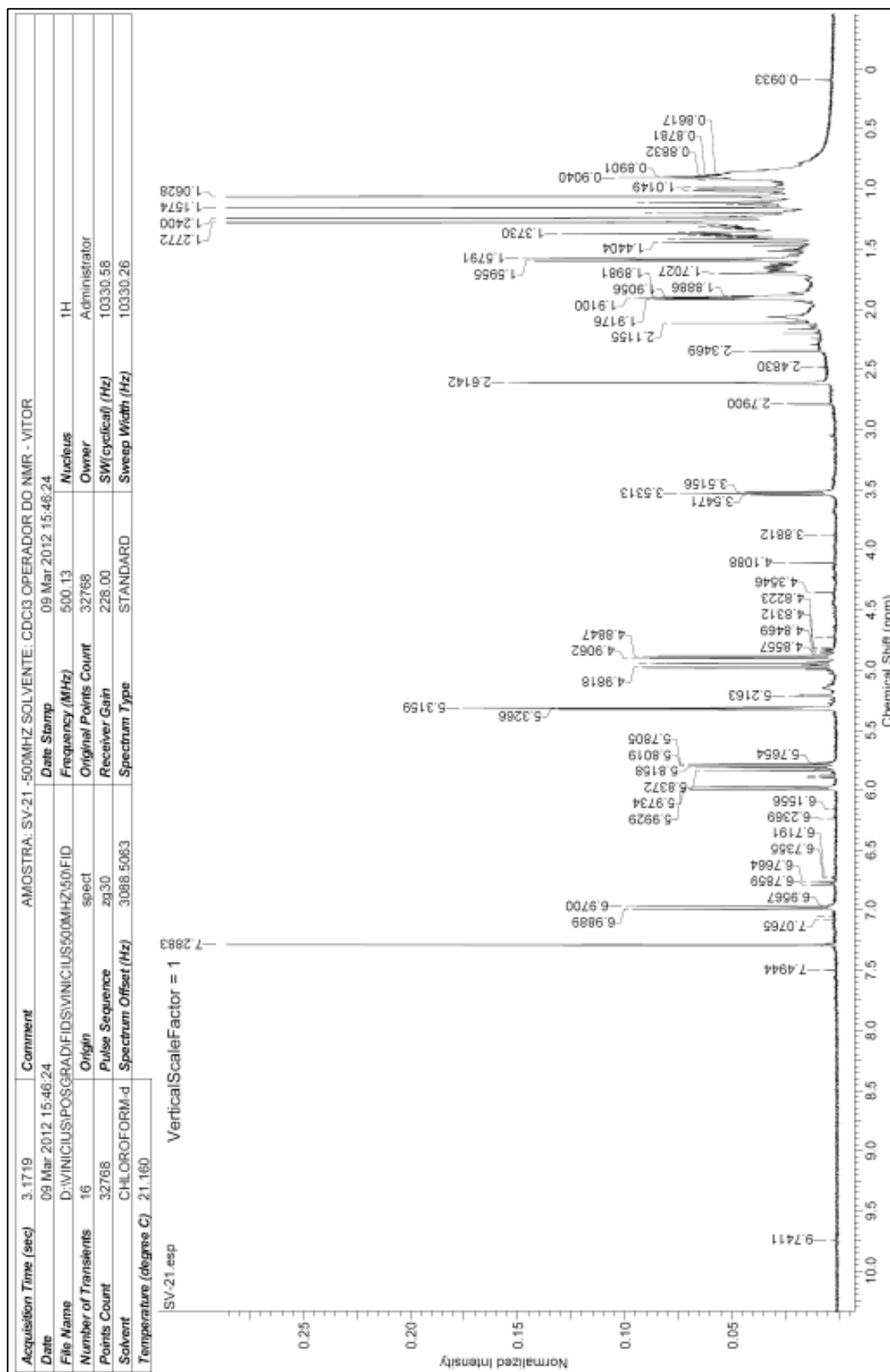
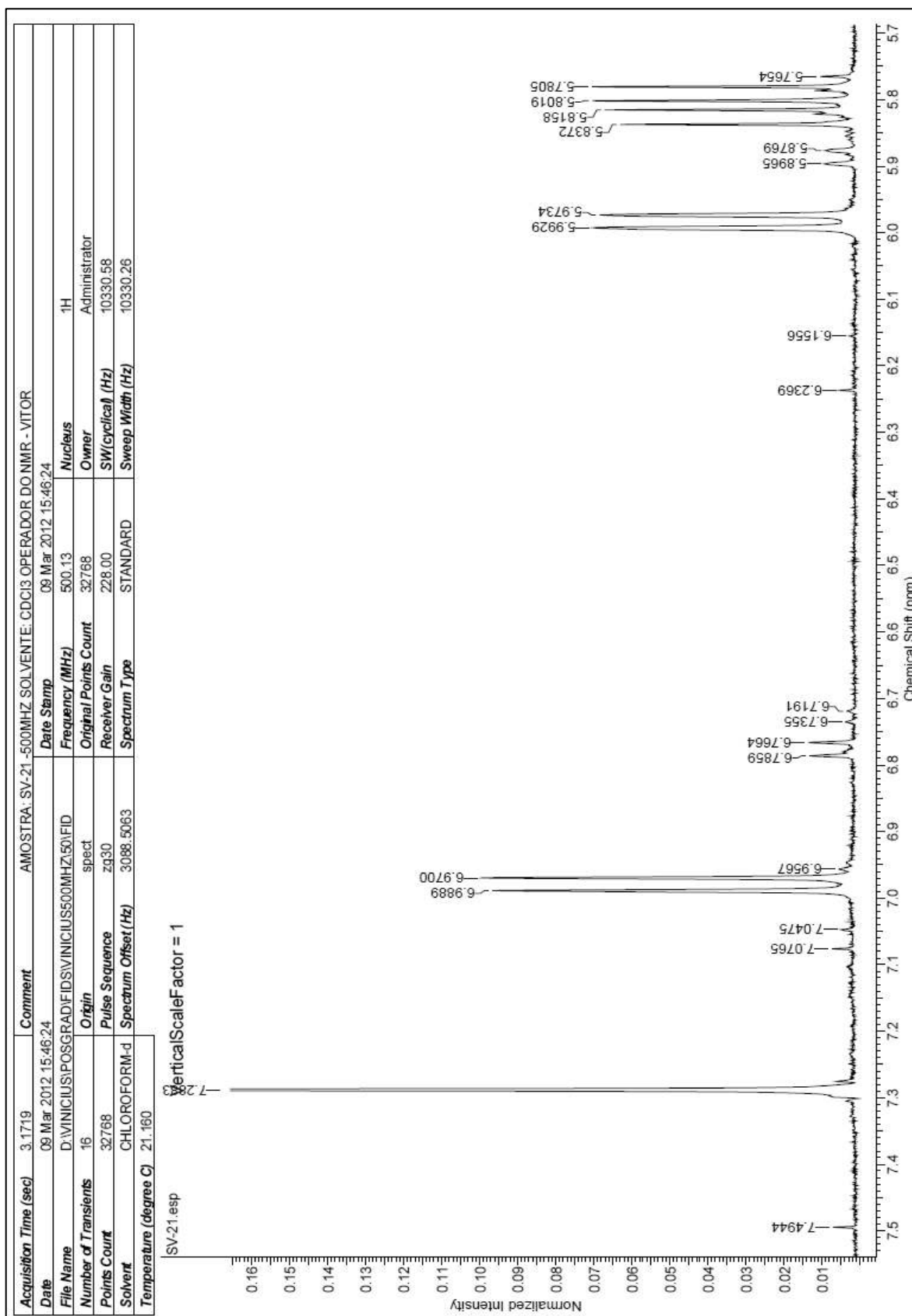
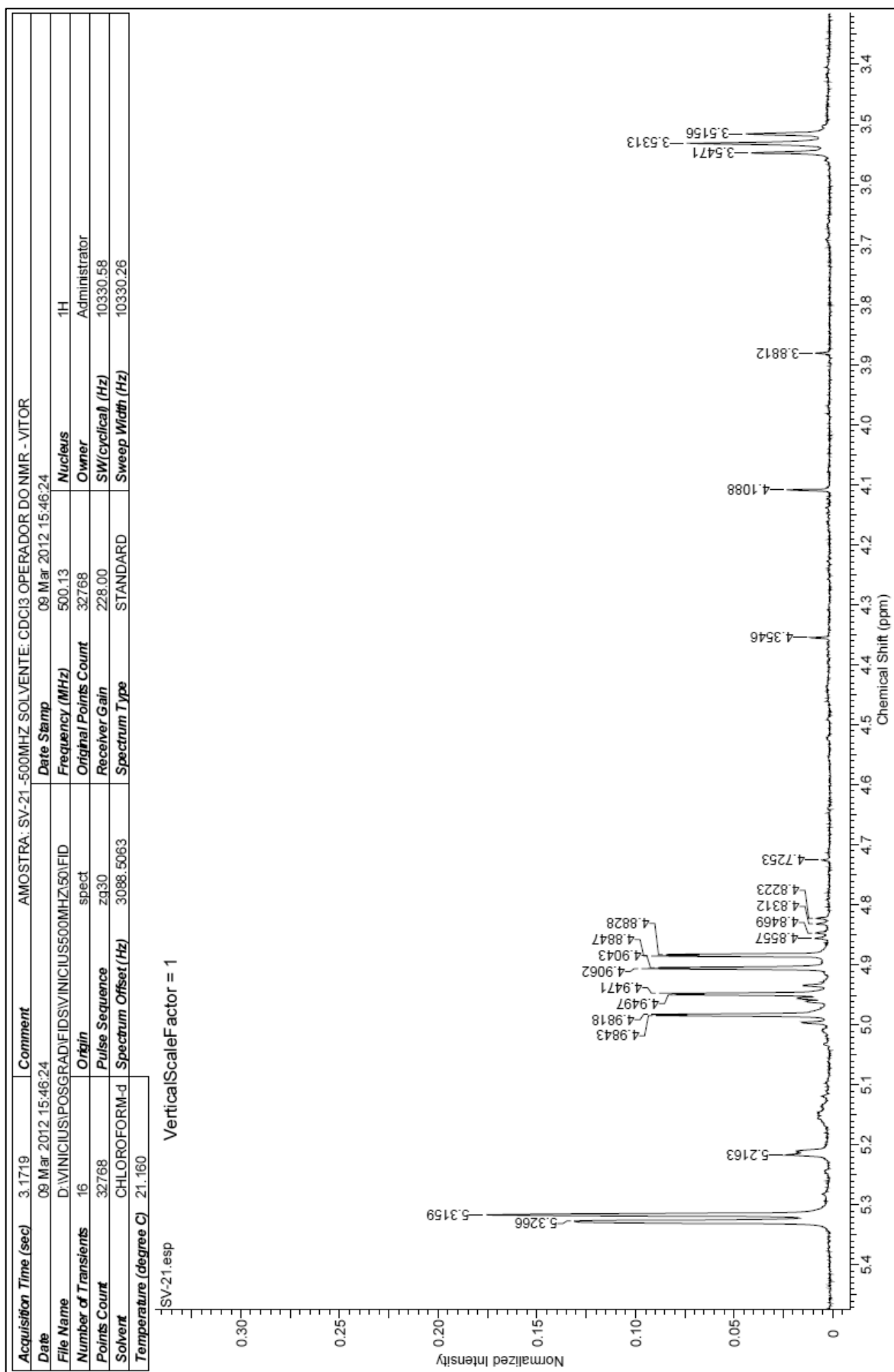


Figura 52: Espectro de RMN<sup>1</sup>H (500 MHz) em CDCl<sub>3</sub> de SV-21



**Figura 53:** Ampliação da região de  $\delta_{\text{H}}$  5,7 -  $\delta_{\text{H}}$  7,5 do espectro de RMN<sup>1</sup>H (500 MHz) em CDCl<sub>3</sub> de SV-21



**Figura 54:** Ampliação da região de  $\delta_{\text{H}}$  3,4 -  $\delta_{\text{H}}$  5,4 do espectro de RMN<sup>1</sup>H (500 MHz) em CDCl<sub>3</sub> de SV-21



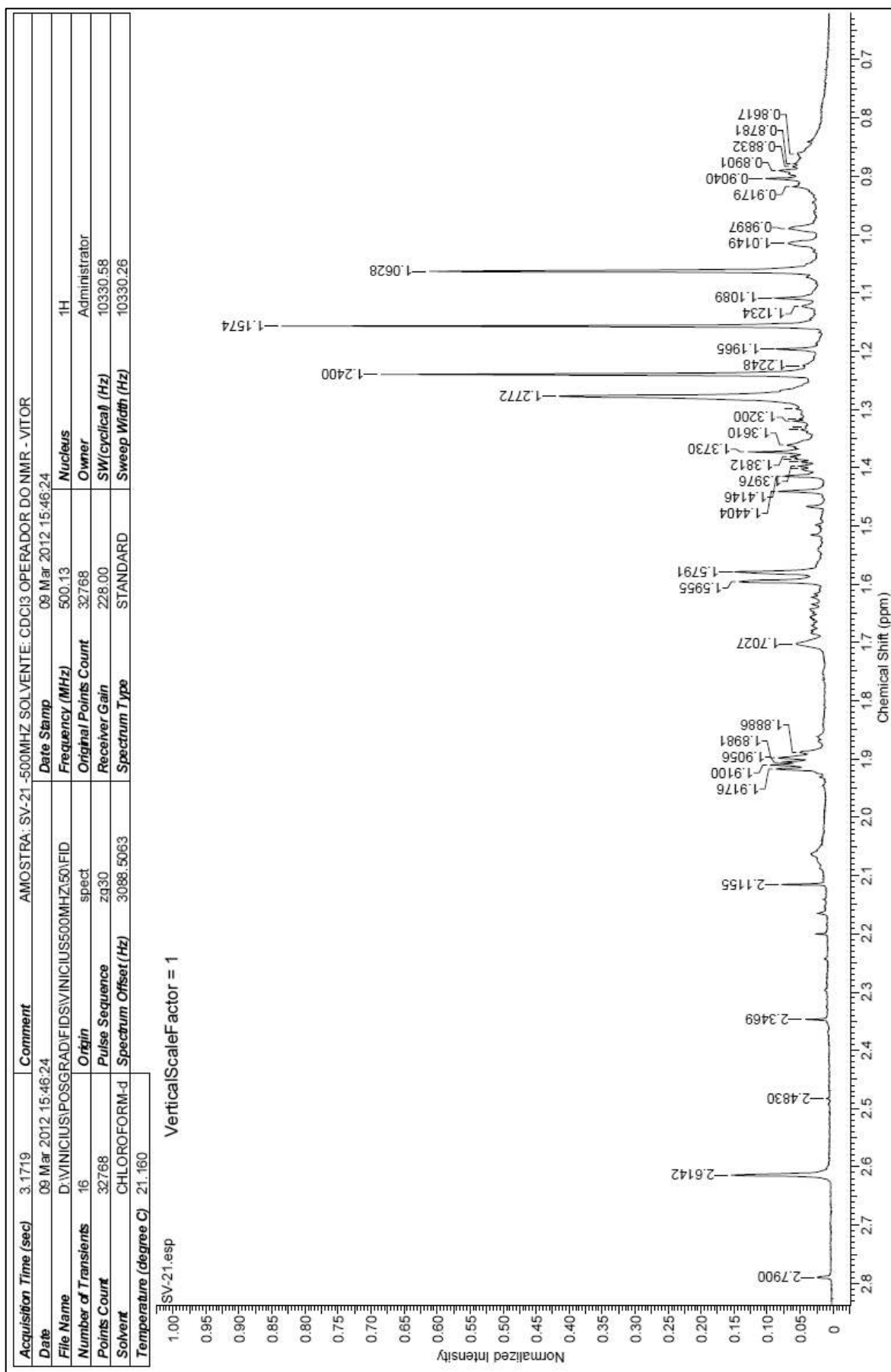


Figura 55: Ampliação da região de  $\delta_{\text{H}}$  0,7 -  $\delta_{\text{H}}$  2,8 do espectro de RMN<sup>1</sup>H (500 MHz) em CDCl<sub>3</sub> de SV-21

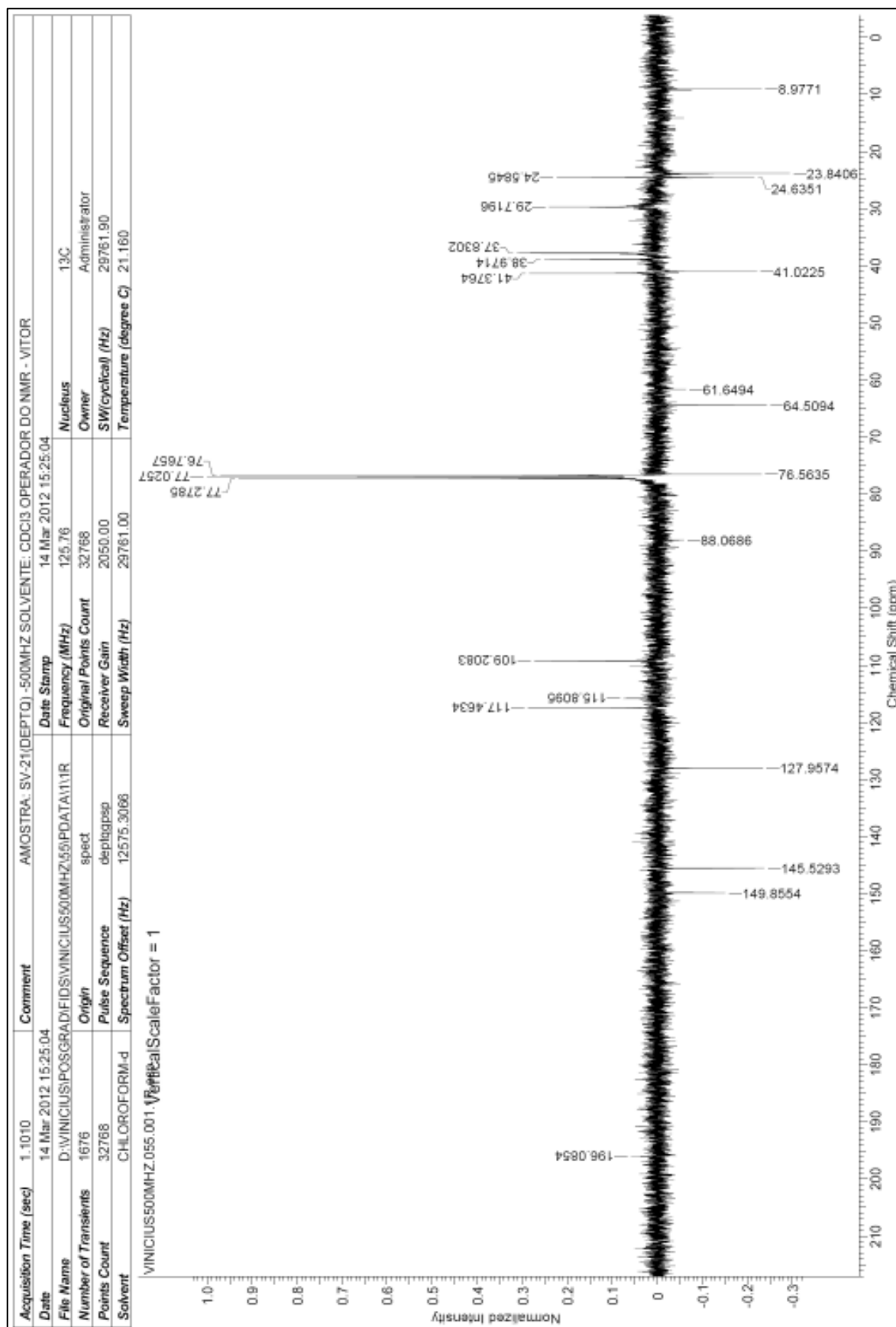
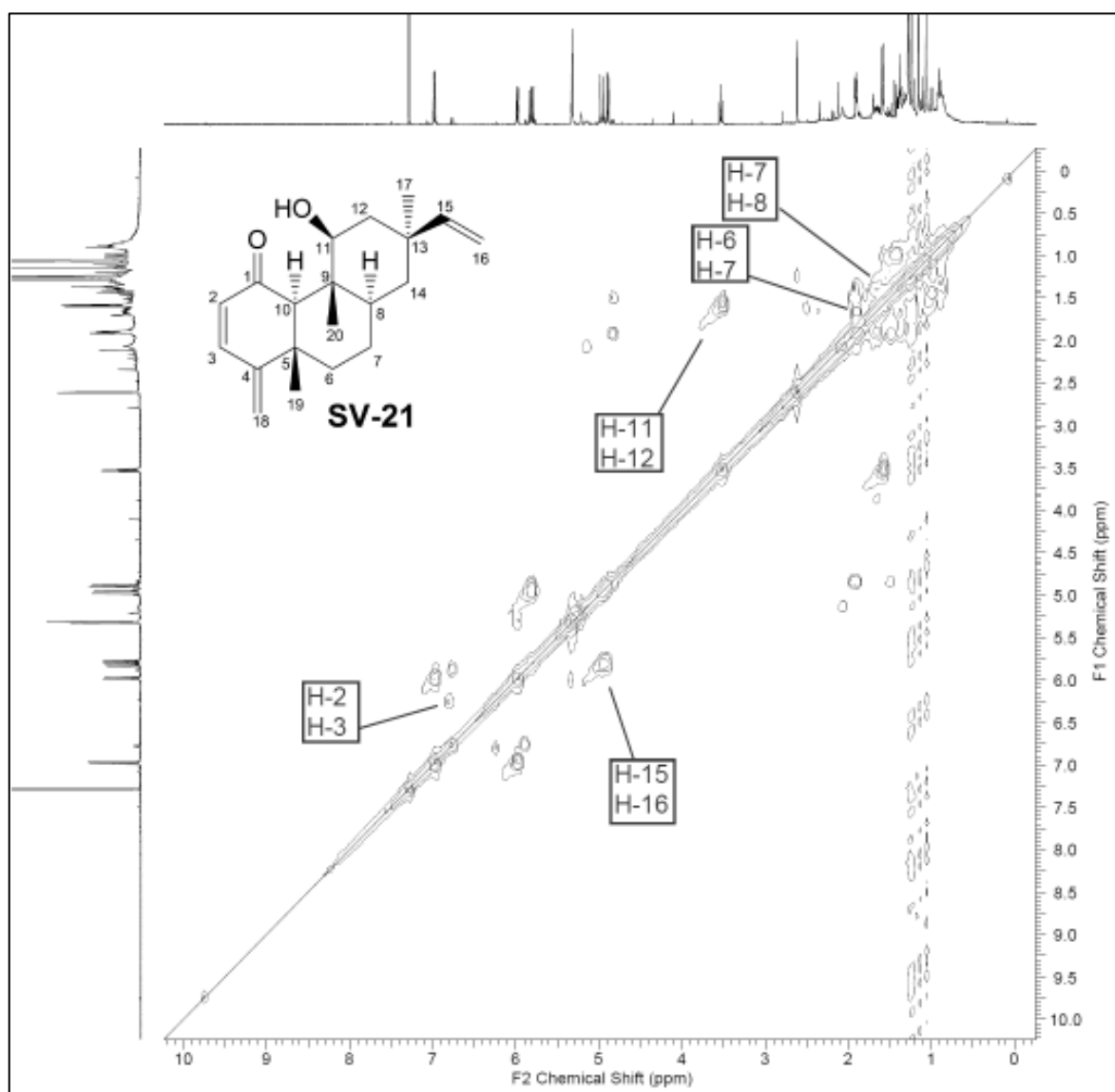


Figura 56: Espectro de RMN<sup>13</sup>C DEPT Q (125 MHz) em CDCl<sub>3</sub> de SV-21



**Figura 57:** Espectro de correlação homonuclear  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY em  $\text{CDCl}_3$  de **SV-21**

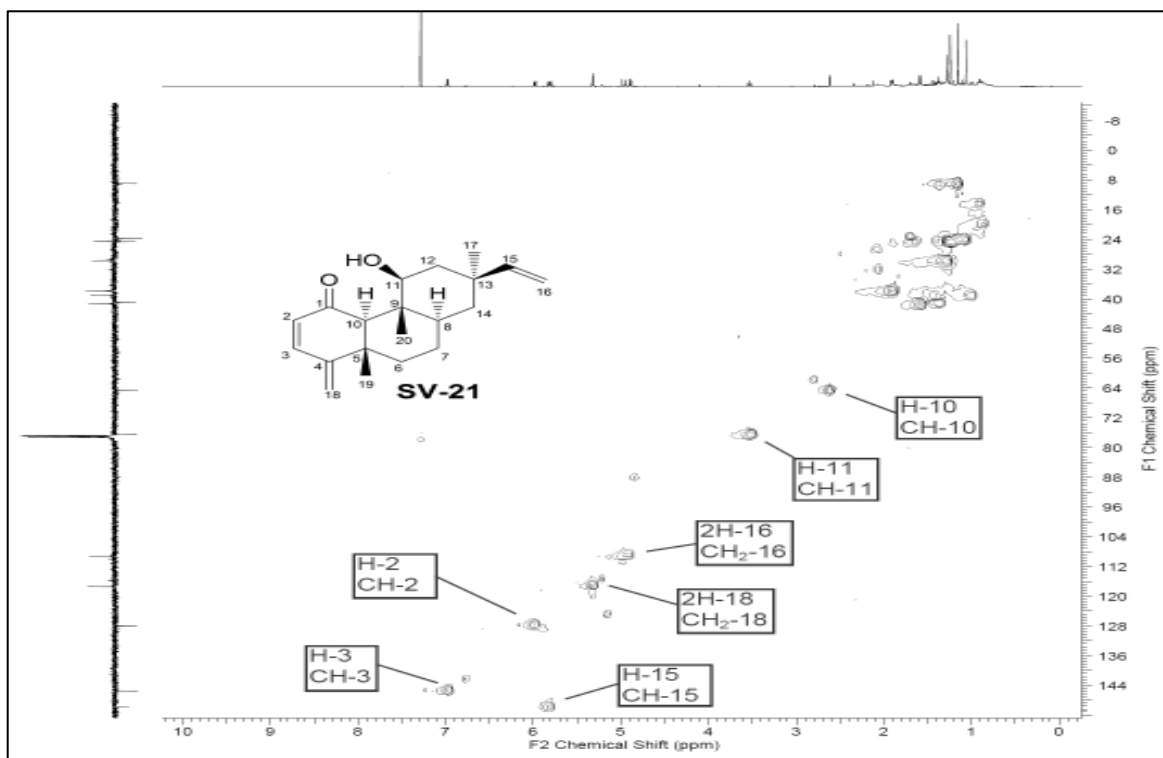


Figura 58: Espectro de correlação heteronuclear HSQC em CDCl<sub>3</sub> de SV-21

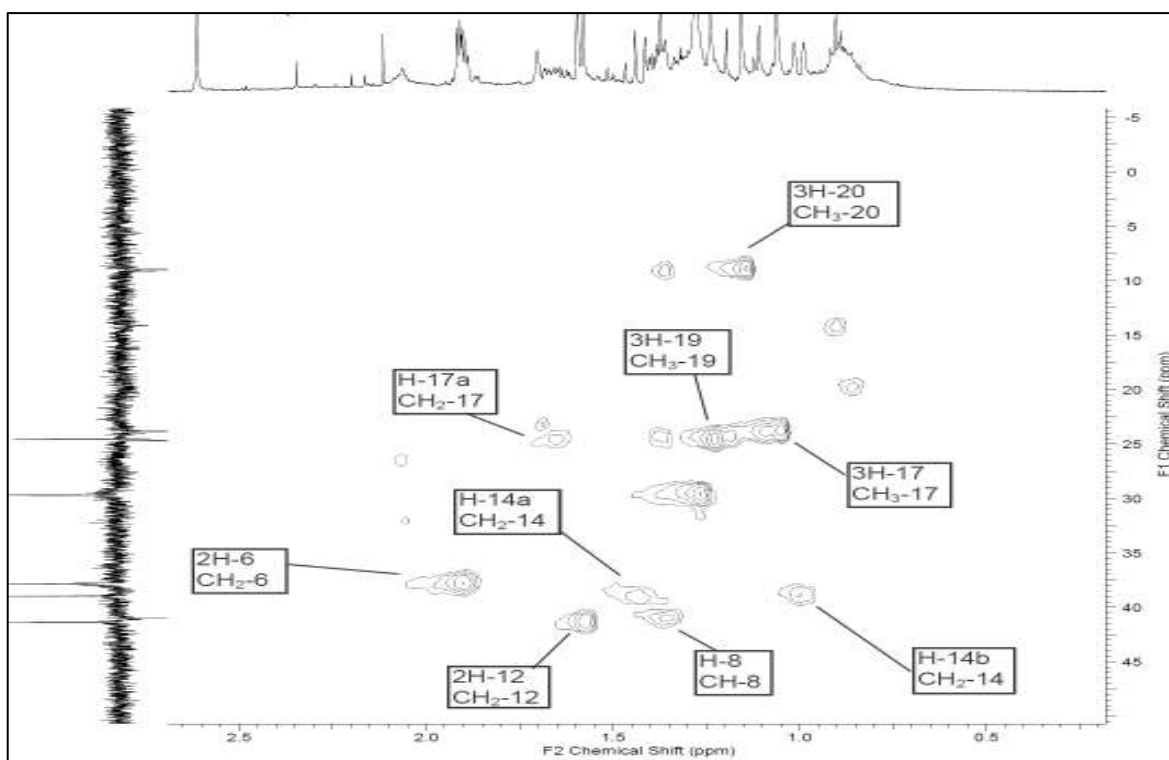


Figura 59: Ampliação do espectro de correlação heteronuclear HSQC em CDCl<sub>3</sub> de SV-21

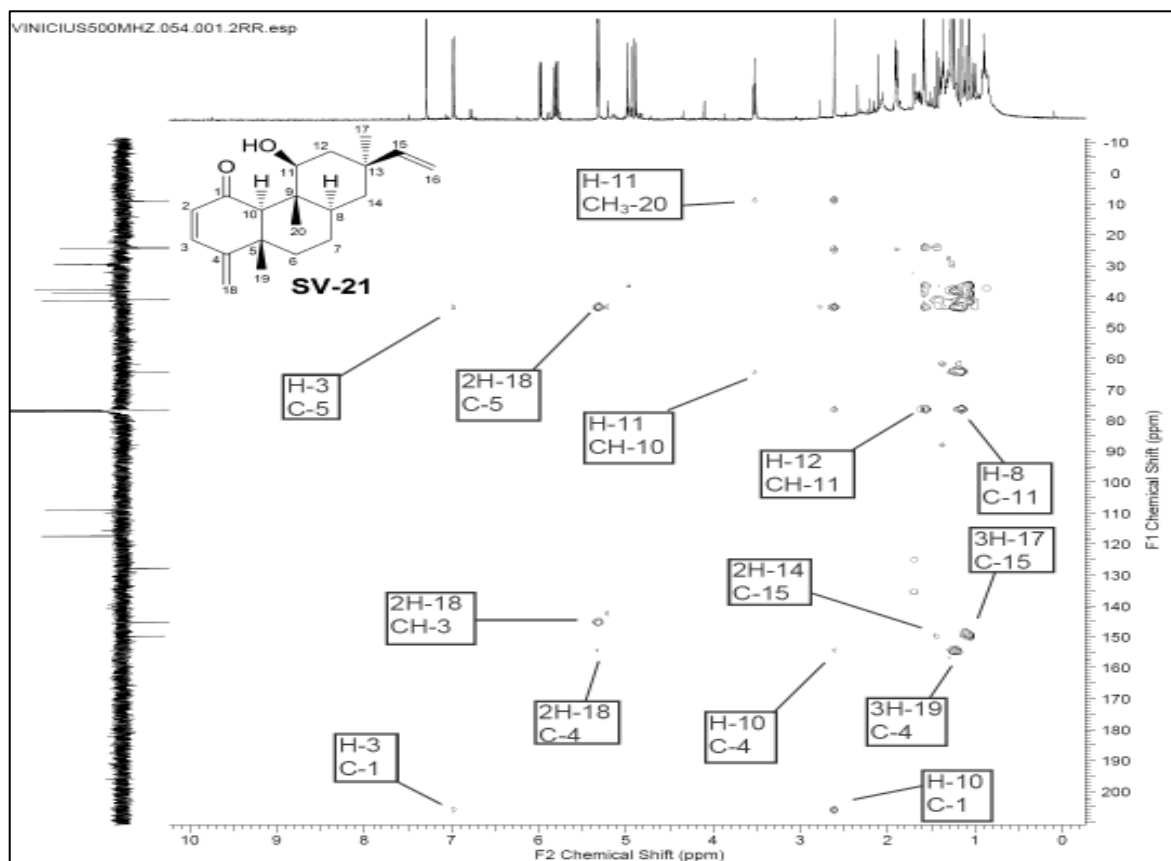


Figura 60: Espectro de correlação heteronuclear HMBC em CDCl<sub>3</sub> de **SV-21**

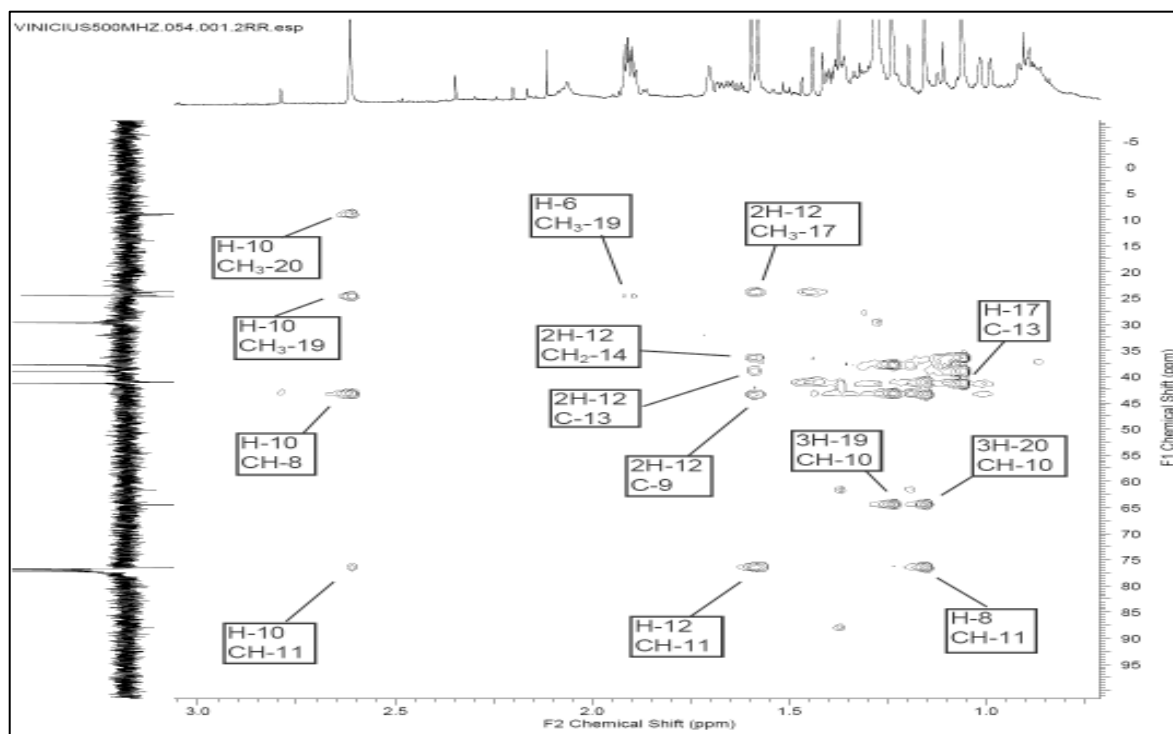
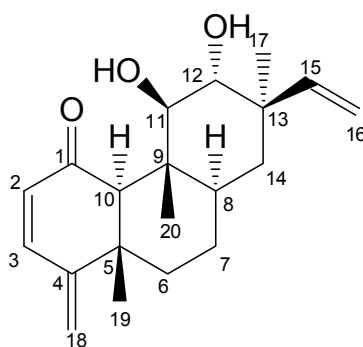


Figura 61: Ampliação do espectro de correlação heteronuclear HMBC em CDCl<sub>3</sub> de **SV-21**

### 6.2.6 Identificação da substância SV-24



A substância **SV-24** foi isolada do extrato hexânico da madeira de *S. sampaioana*, como um óleo de coloração amarelada, solúvel em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  e coloração rósea quando aquecida com vanilina sulfúrica em CCDA.

O espectro de IV (Figura 63, pag. 119) exibiu bandas de absorção que foram atribuídas a estiramentos de grupos metilênicos  $\nu_{\text{CH}_2}$   $2922\text{ cm}^{-1}$  e metínicos  $\nu_{\text{CH}}$   $2853\text{ cm}^{-1}$ , além de uma banda intensa e larga atribuída a grupo hidroxila em  $\nu_{\text{OH}}$   $3362\text{ cm}^{-1}$ . A banda intensa em  $\nu_{\text{C=O}}$   $1649\text{ cm}^{-1}$  foi atribuída a grupo carbonila  $\alpha,\beta$ -insaturado. E a banda em  $\nu_{\text{CH}_3}$   $1464\text{ cm}^{-1}$  foi atribuída a estiramento simétrico de grupo metila.

O espectro de RMN<sup>1</sup>H (Figuras 64 e 65, pag. 120 e 121) exibiu sinais característicos de diterpenos da classe eritroxilenos (ARAÚJO et al, 2011) e confirmados através da análise do espectro de correlação heteronuclear HSQC (Figura 68 e 69, pag. 123 e 124) através das correlações à  $^1J$  entre os sinais  $\delta_{\text{CH}_3}$  17,25 ( $\text{CH}_3$ -17) com os hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  1,09 (3H, s, 3H-17), o sinal em  $\delta_{\text{CH}_3}$  24,74 ( $\text{CH}_3$ -19) com os hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  1,24 (3H, s, 3H-19) e o sinal em  $\delta_{\text{CH}_3}$  10,65 ( $\text{CH}_3$ -20) com os hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  1,21 (3H, s, 3H-20), confirmando a presença dos três grupos metila. O sistema vinílico na cadeia lateral também é confirmado através das correlações entre o sinal de carbono em  $\delta_{\text{CH}}$  147,64 (CH-15) com o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  5,90-5,97 (1H, *m*, H-15) e o carbono em  $\delta_{\text{CH}_2}$  111,26 ( $\text{CH}_2$ -16) com os hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  5,08 (1H, *dd*, 17,5, 1,1 Hz, H-16a) e  $\delta_{\text{H}}$  5,03 (1H, *dd*, 10,8, 1,1 Hz, H-16b). Também o carbono vinílico em  $\delta_{\text{CH}_2}$  117,60 ( $\text{CH}_2$ -18) com os hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  5,33 (1H, *m*, H-18a) e  $\delta_{\text{H}}$  5,32 (1H, s, H-18b). E a presença de um sistema  $\alpha,\beta$ -insaturado com as correlações entre o carbono em  $\delta_{\text{CH}}$  127,84 (CH-2) com o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  5,98 (1H, *d*, 9,8 Hz, H-2) e o carbono em  $\delta_{\text{CH}}$  145,79 (CH-3) com o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  6,98 (1H, *d*, 9,8 Hz, H-3).

O espectro de correlação HSQC mostra ainda, sinais referentes a carbonos carbinólicos em  $\delta_{\text{CH}}$  79,83 (CH-11) e  $\delta_{\text{CH}}$  76,91 (CH-12) correlacionando-se, respectivamente, com os hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  3,23 (1H, *d*, 9,0 Hz, H-11) e  $\delta_{\text{H}}$  3,52 (1H, *d*, 9,0 Hz, H-12). A análise do espectro de correlação homonuclear  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY (Figura 67, pag. 123) mostra que os hidrogênios H-11 e H-12, ligados á carbonos carbinólicos, encontram-se em posições adjacentes.

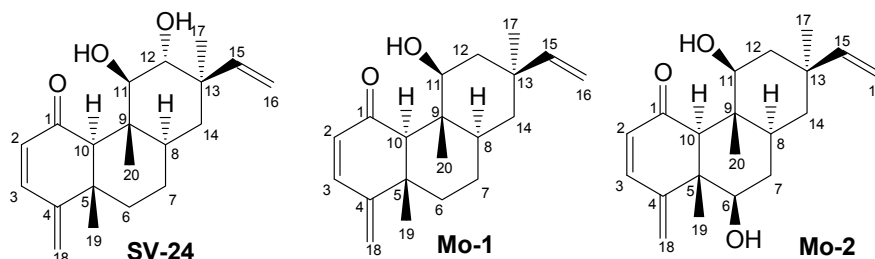
A análise do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  DEPT Q (Figura 66, pag. 122) e do espectro de correlação heteronuclear HMBC (Figuras 70 e 71, pag. 124 e 125) apresentou o sinal de carbono carbonílico em  $\delta_{\text{C}}$  205,29 (C-1) correlacionando-se à  $^2J$  com o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  2,60 (1H, *s*, H-10) e  $^3J$  com o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  6,98 (H-3). Também as correlações à  $^2J$  entre o carbono em  $\delta_{\text{C}}$  154,30 (C-4) com os hidrogênios H-3 e 2H-18, e à  $^3J$  com os hidrogênios H-10, H-2 e 3H-19. O espectro de correlação HMBC confirma ainda as posições das hidroxilas através das correlações entre o carbono em  $\delta_{\text{CH}}$  79,83 (CH-11) correlacionando-se à  $^3J$  com o hidrogênio H-10 e 3H-20, e entre o carbono em  $\delta_{\text{CH}}$  76,91 (CH-12) correlacionando-se à  $^2J$  com o hidrogênio H-11 e à  $^3J$  com os hidrogênios H-15 e H-17. E por correlações à  $^2J$  do carbono em  $\delta_{\text{C}}$  40,69 (C-13) com o hidrogênio H-12, e à  $^3J$  dos carbonos em  $\delta_{\text{CH}}$  147,64 (CH-15) e  $\delta_{\text{CH}_3}$  17,25 (CH<sub>3</sub>-17) com o hidrogênio H-12. As demais correlações encontram-se na Tabela 22, pag. 117.

A configuração relativa dos carbonos quirais foi estabelecida após análise do espectro de correlação homonuclear  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -NOESY (Figura 72, pag. 125), o qual apresentou interação entre os hidrogênios H-12 e 3H-20, o que indica posições axiais para esses hidrogênios. Além disso, os valores de acoplamento observados no espectro de RMN $^1\text{H}$  para esses hidrogênios indicam interação axial-axial (SILVERSTEIN et al, 2007).

O espectro de HRESI-MS (Figura 62, pag. 118), permitiu determinar o íon em  $m/z$  339.1934 ( $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , calcd for  $\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{O}_3\text{Na}$ ,  $m/z$  339.1951,  $\Delta_{m/z}$  0.0017) compatível com a fórmula molecular  $\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{O}_3$ . As propostas para as principais fragmentações observadas encontram-se no Esquema 5, pag 118.

O conjunto desses dados em comparação com dados da literatura (ARAUJO et al, 2011) permitiram identificar a substancia **SV-24** como sendo o diterpeno inédito da classe eritroxileno,  $11\beta,12\alpha$ -dihidroxi-2,4(18),15-eritroxilatrien-1-ona, denominado Angelocunhol em homenagem ao Professor Ângelo da Cunha Pinto, pelo reconhecimento meritório e consagrado como um

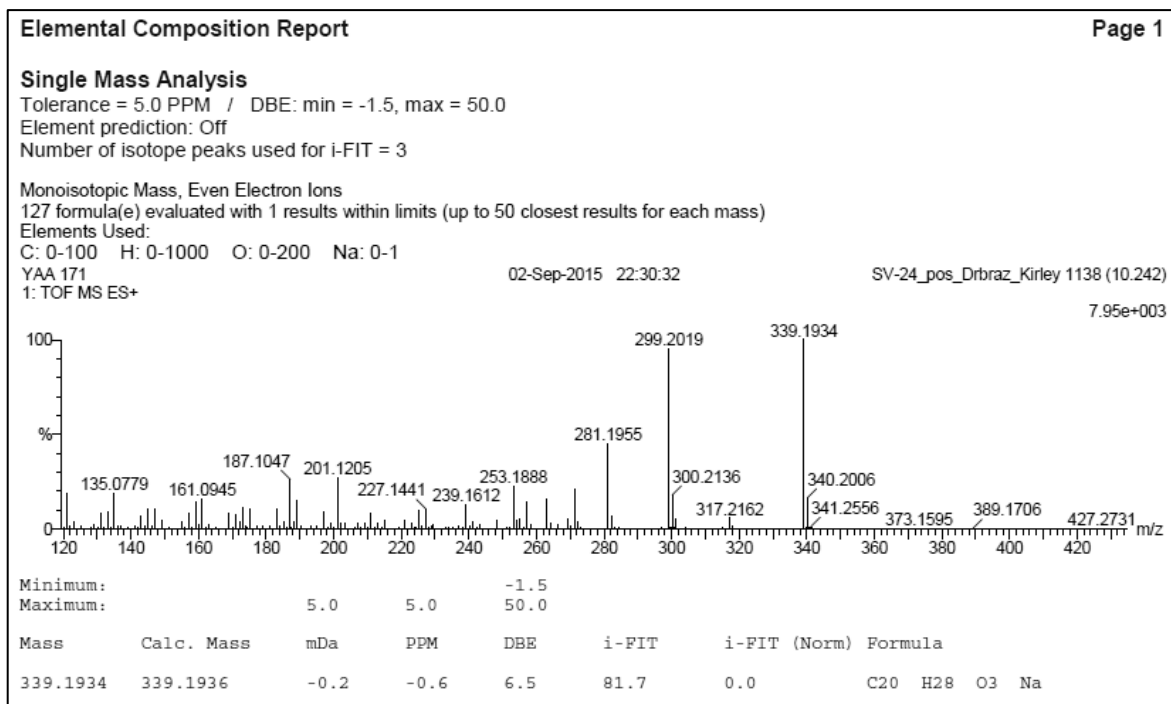
dos mais influentes cientistas brasileiros, com expressiva contribuição na geração de novos conhecimentos, formação de recursos humanos qualificados e participação no desenvolvimento da química de produtos naturais com dedicação especial aos diterpenos.



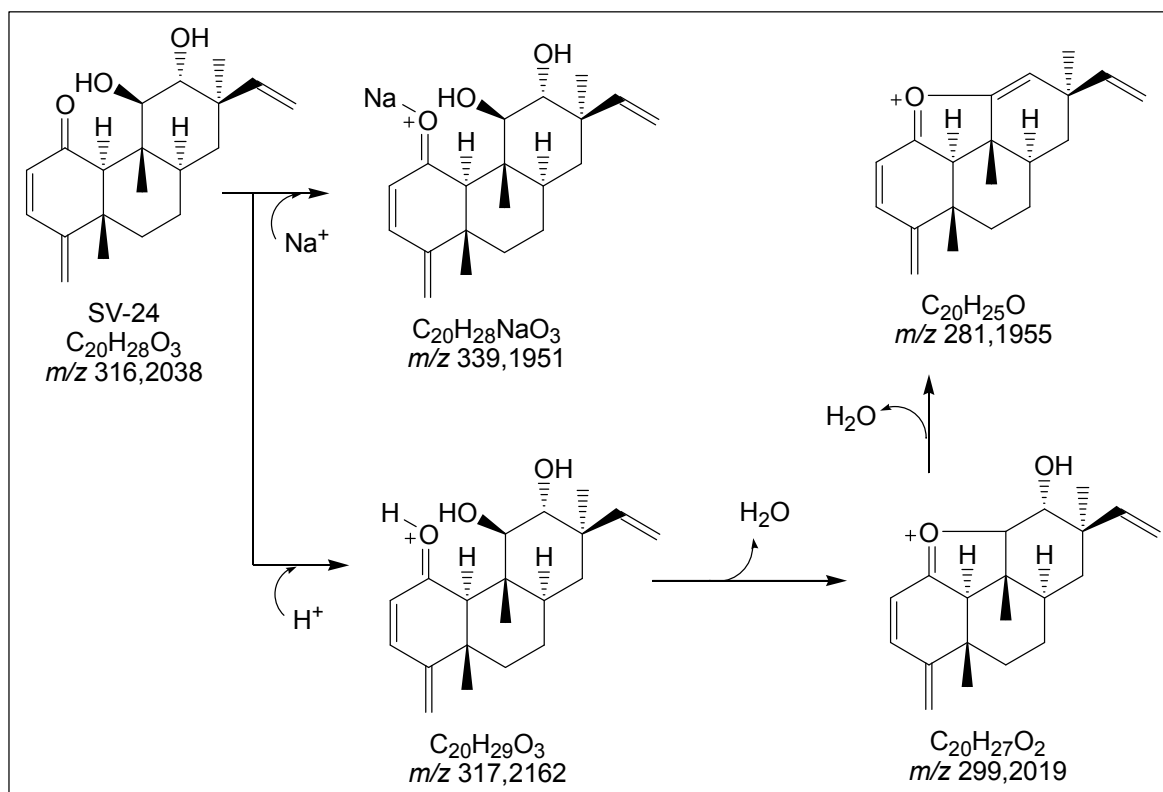
**Tabela 22:** Dados de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz) e  $^{13}\text{C}$  (125 MHz) em  $\text{CDCl}_3$  e as correlações observadas no espectro de HMQC e HMBC da substância **SV-24**, comparação com valores da literatura para os modelos **Mo-1** e **Mo-2**,  $^1\text{H}$  (400 MHz) e  $^{13}\text{C}$  (100 MHz) em  $\text{CDCl}_3$  (ARAUJO et al, 2011). Os valores das constantes de acoplamento ( $J$ ) em Hz estão entre parêntesis. Deslocamentos químicos em ppm.

	HSQC		HMBC		Mo-1	Mo-2
	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$^2J_{\text{HC}}$	$^3J_{\text{HC}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{C}}$
C						
1	205,29	-	H-10	H-3	205,73	204,54
4	154,30	-	H-3;2H-18	H-2;H-10;3H-19	154,46	151,97
5	43,33	-	H-10;3H-20	H-3;2H-18	43,38	48,67
9	42,86	-	H-10		43,55	43,47
13	40,69	-	H-12;H-15	2H-16	39,06	39,58
CH						
2	127,84	5,98 ( <i>d</i> , 9,8)			127,94	128,19
3	145,79	6,98 ( <i>d</i> , 9,8)			145,48	147,14
6	-	-	-	-	-	73,94
8	40,58	1,44-1,45 ( <i>m</i> )		3H-20	41,11	37,96
10	64,45	2,60 ( <i>s</i> )		H-2;H-11; 3H-19;3H-20	64,50	65,02
11	79,83	3,23 ( <i>d</i> , 9,0)		H-10;3H-20	76,66	75,11
12	76,91	3,52 ( <i>d</i> , 9,0)	H-11	H-15;3H-17	-	-
15	147,64	5,90-5,97 ( <i>m</i> )	2H-16	H-12;H-14a;3H-17	149,81	149,14
CH <sub>2</sub>						
6	39,15	1,59 ( <i>t</i> , 13,2) 1,09 ( <i>s</i> )		3H-19	37,89	-
7	24,34	1,63-1,64 ( <i>m</i> ) 1,41-1,42 ( <i>m</i> )			24,71	38,60
12	-	-	-	-	41,48	41,99
14	37,76	1,89-1,92 ( <i>m</i> ) 1,23 ( <i>s</i> )		3H-17	36,44	34,74
16	111,26	5,08 ( <i>d</i> , 17,4) 5,03 ( <i>d</i> , 10,7)			109,39	109,61
18	117,60	5,33 ( <i>s</i> ), 5,32 ( <i>s</i> )		H-3	117,39	120,39
CH <sub>3</sub>						
17	17,25	1,09 ( <i>s</i> )		H-12;H-15	23,87	23,78
19	24,74	1,24 ( <i>s</i> )		H-10	24,57	17,46
20	10,65	1,21 ( <i>s</i> )		H-10;H-1	8,93	8,92





**Figura 62:** Espectro de HRESI-MS da **SV-24**



**Esquema 5:** Propostas mecanística de fragmentação para **SV-24**

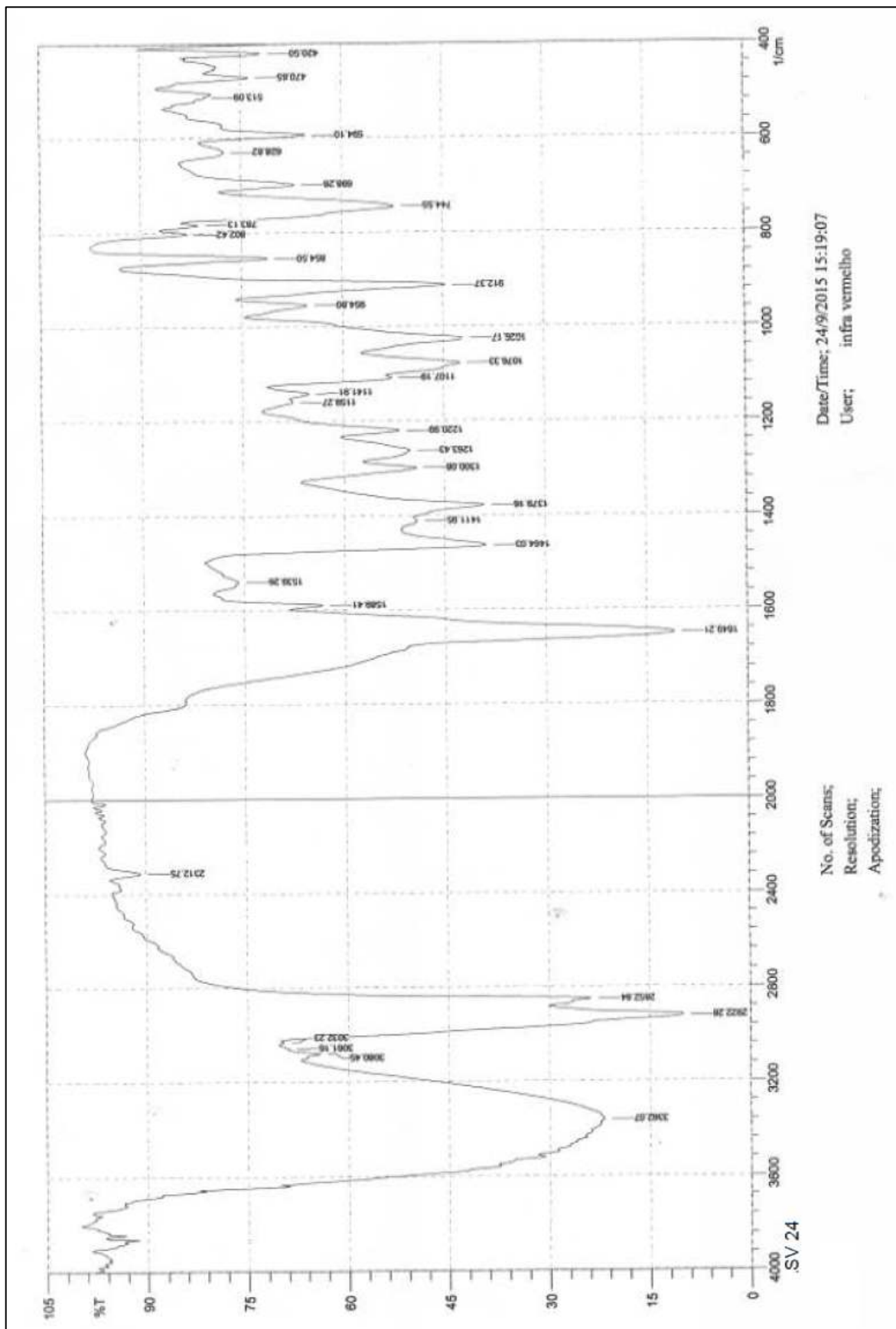
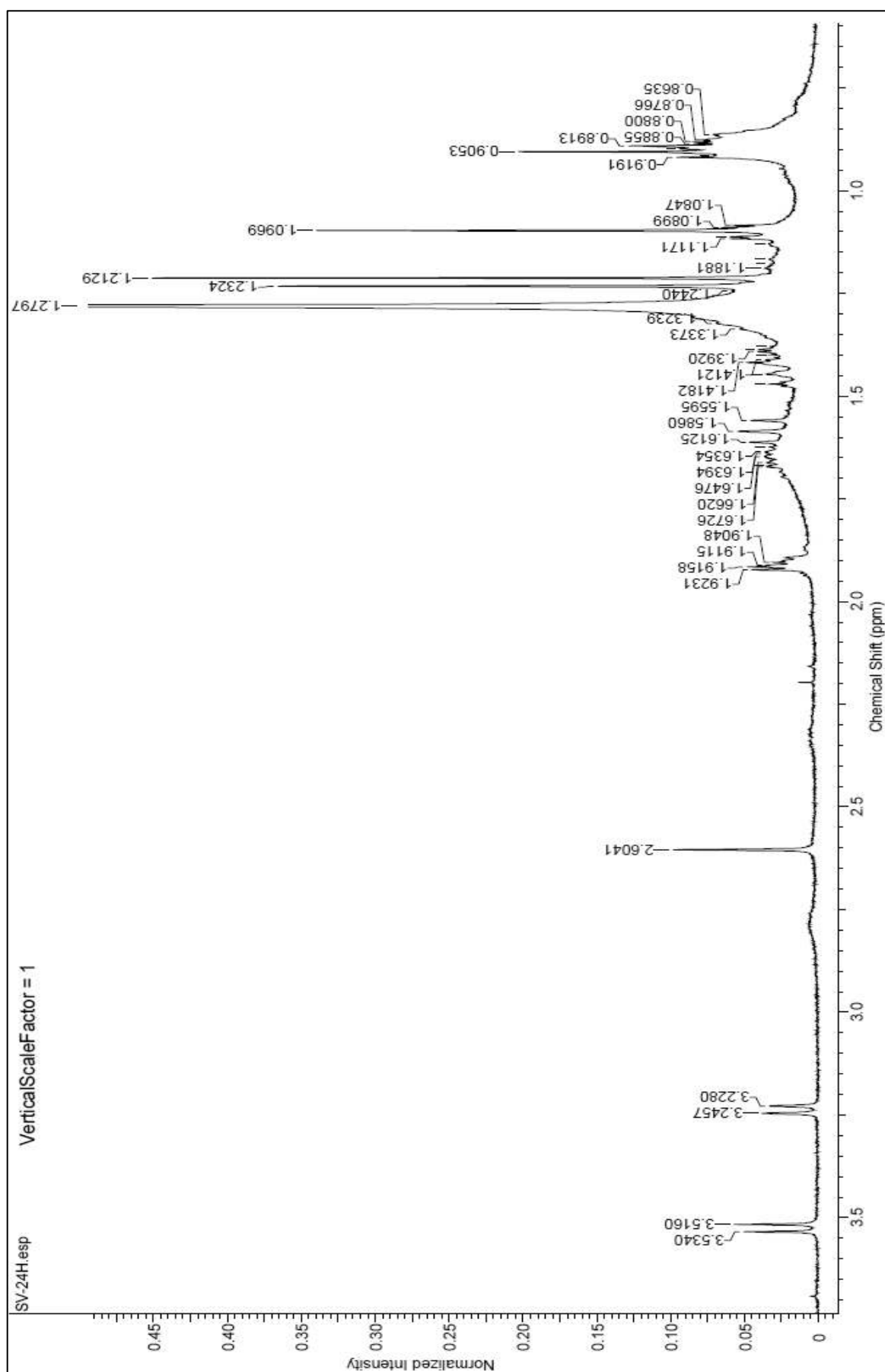


Figura 63: Espectro na região do infravermelho de SV-24





**Figura 65:** Ampliação da região de  $\delta_{\text{H}}$  1.0 -  $\delta_{\text{H}}$  3.5 do espectro de RMN<sup>1</sup>H (500 MHz) em CDCl<sub>3</sub> de SV-24

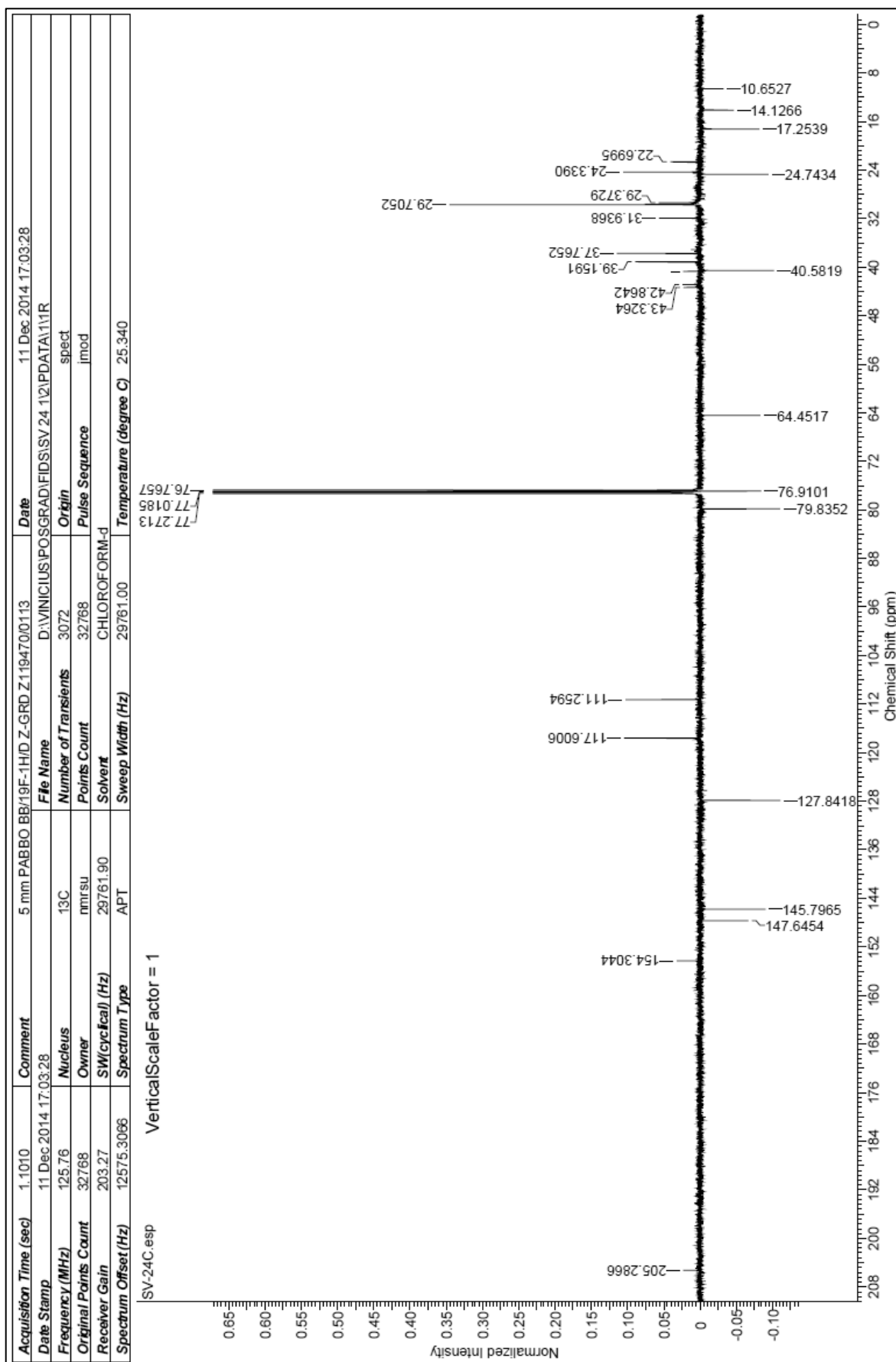


Figura 66: Espectro de RMN<sup>13</sup>C DEPT Q (125 MHz) em CDCl<sub>3</sub> de SV-24

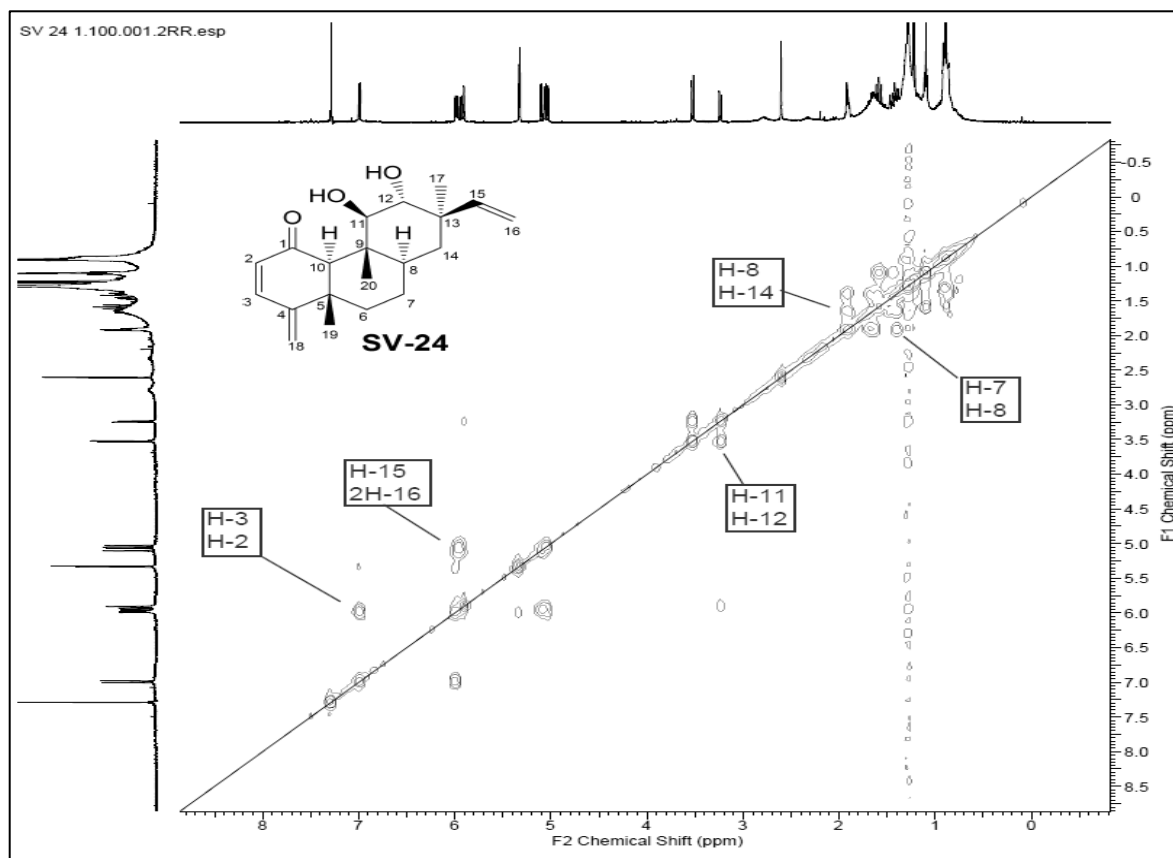


Figura 67: Espectro de correlação homonuclear  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY em  $\text{CDCl}_3$  de SV-24

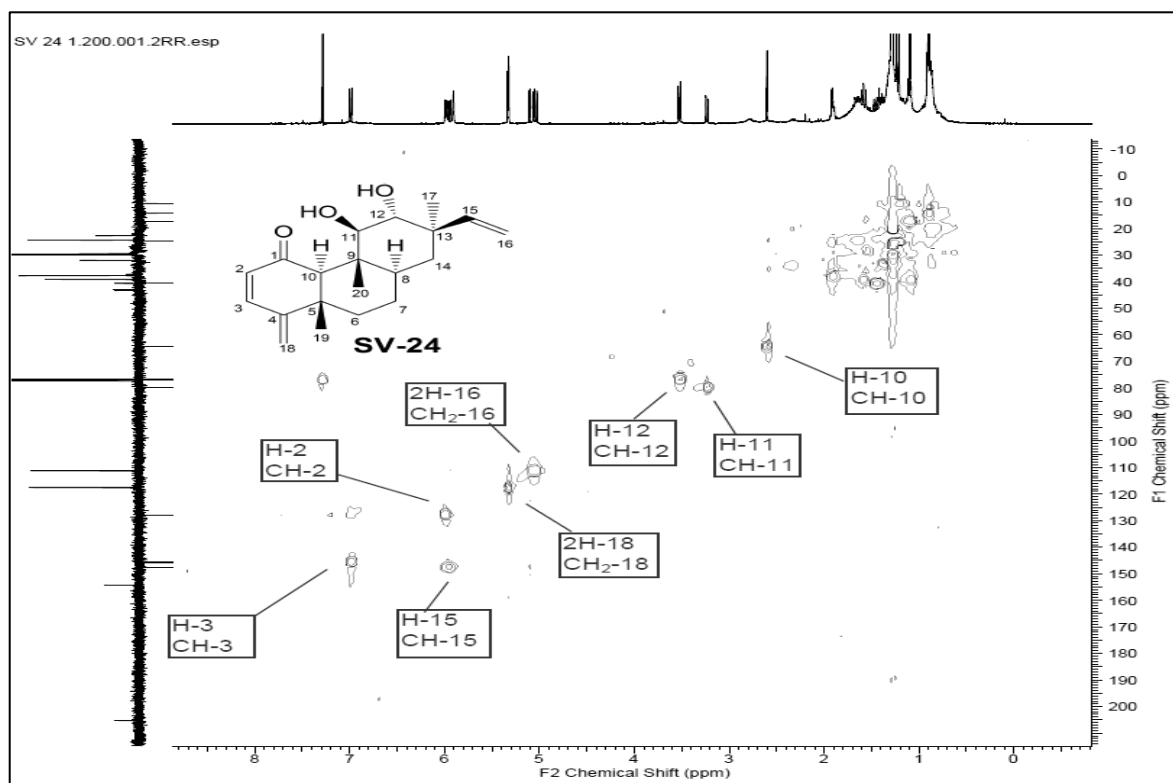


Figura 68: Espectro de correlação heteronuclear HSQC em  $\text{CDCl}_3$  de SV-24

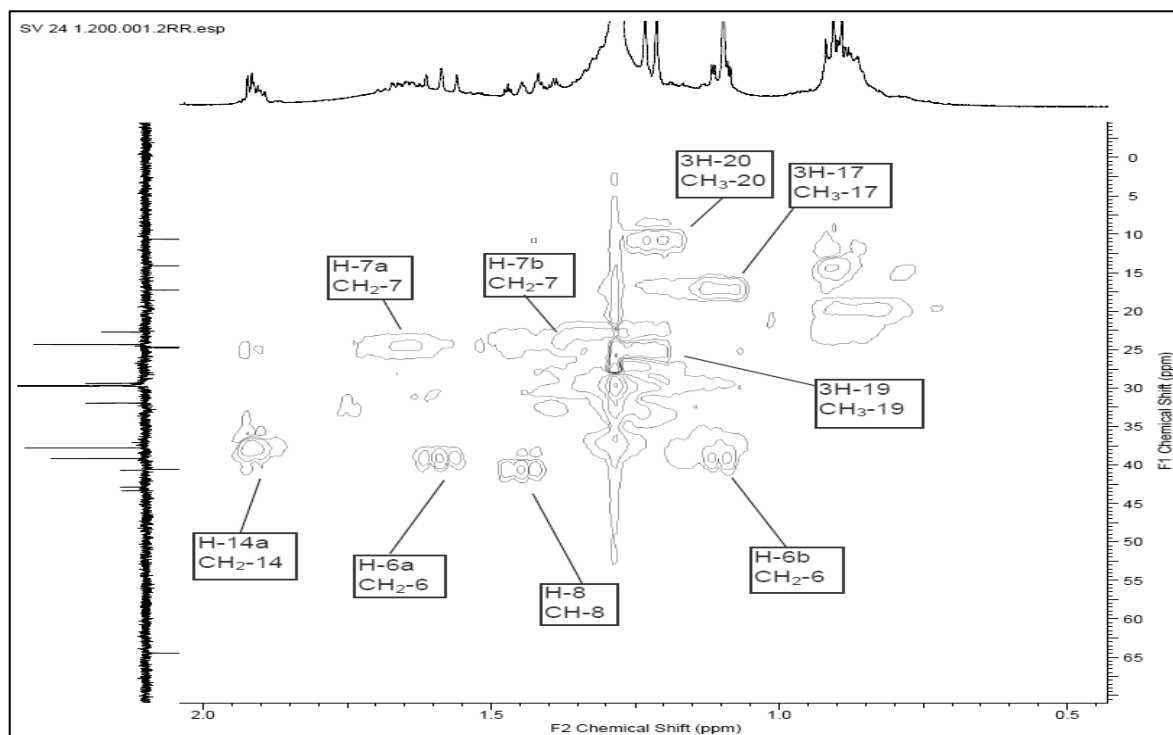


Figura 69: Ampliação do espectro de correlação heteronuclear HSQC em  $\text{CDCl}_3$  de **SV-24**

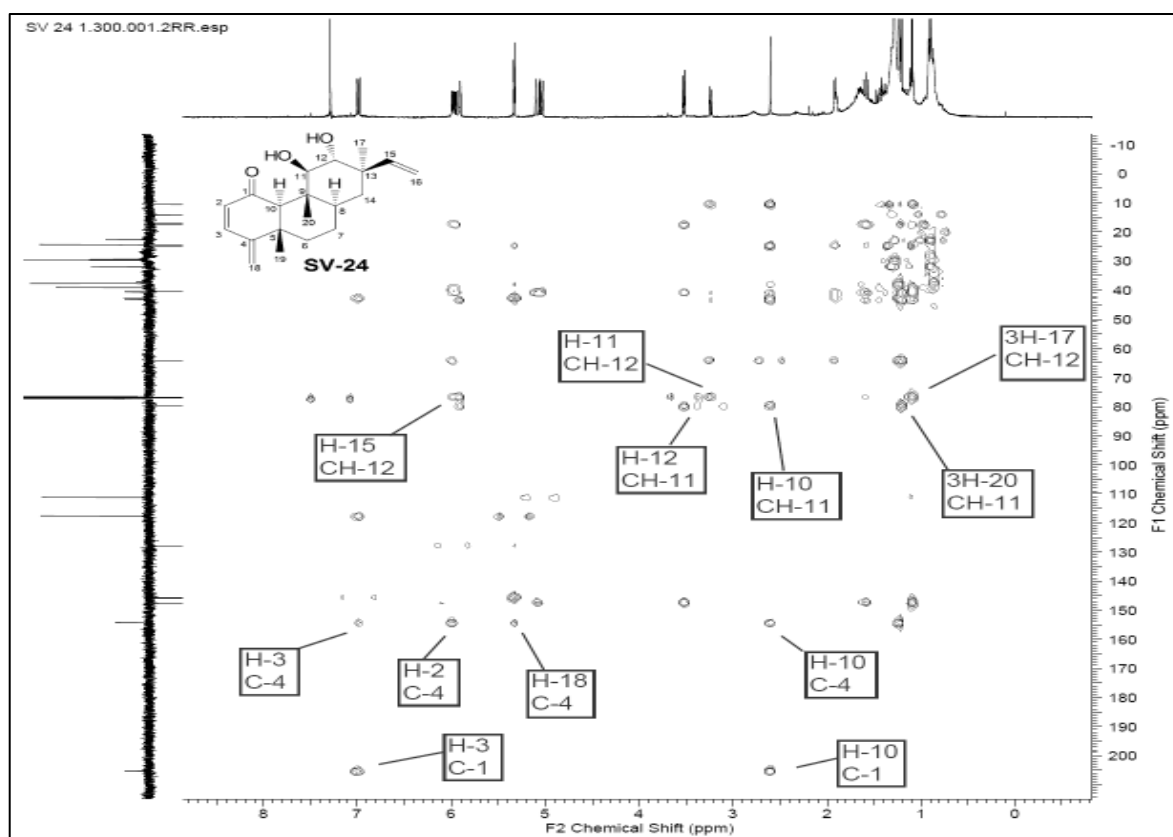


Figura 70: Espectro de correlação heteronuclear HMBC em  $\text{CDCl}_3$  de **SV-24**

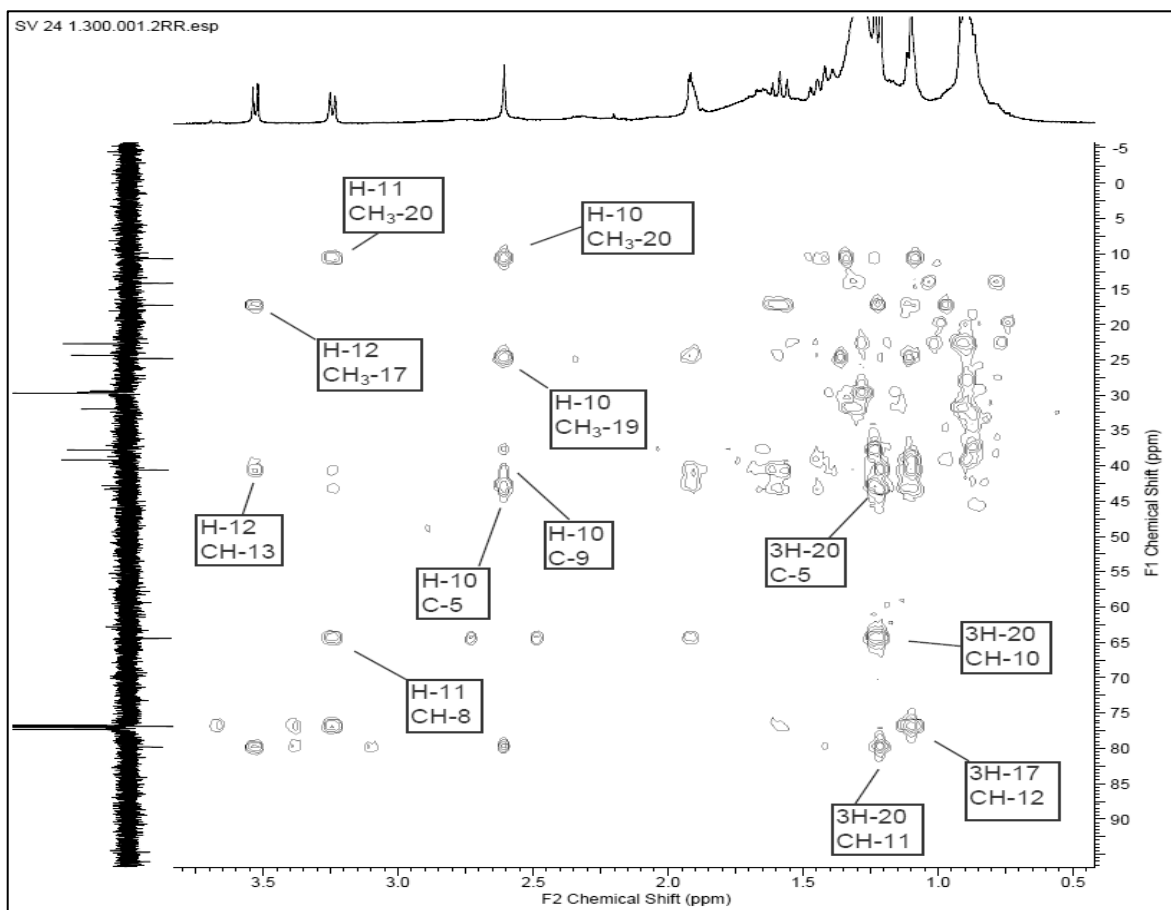


Figura 71: Ampliação do espectro de correlação HMBC em  $\text{CDCl}_3$  de **SV-24**

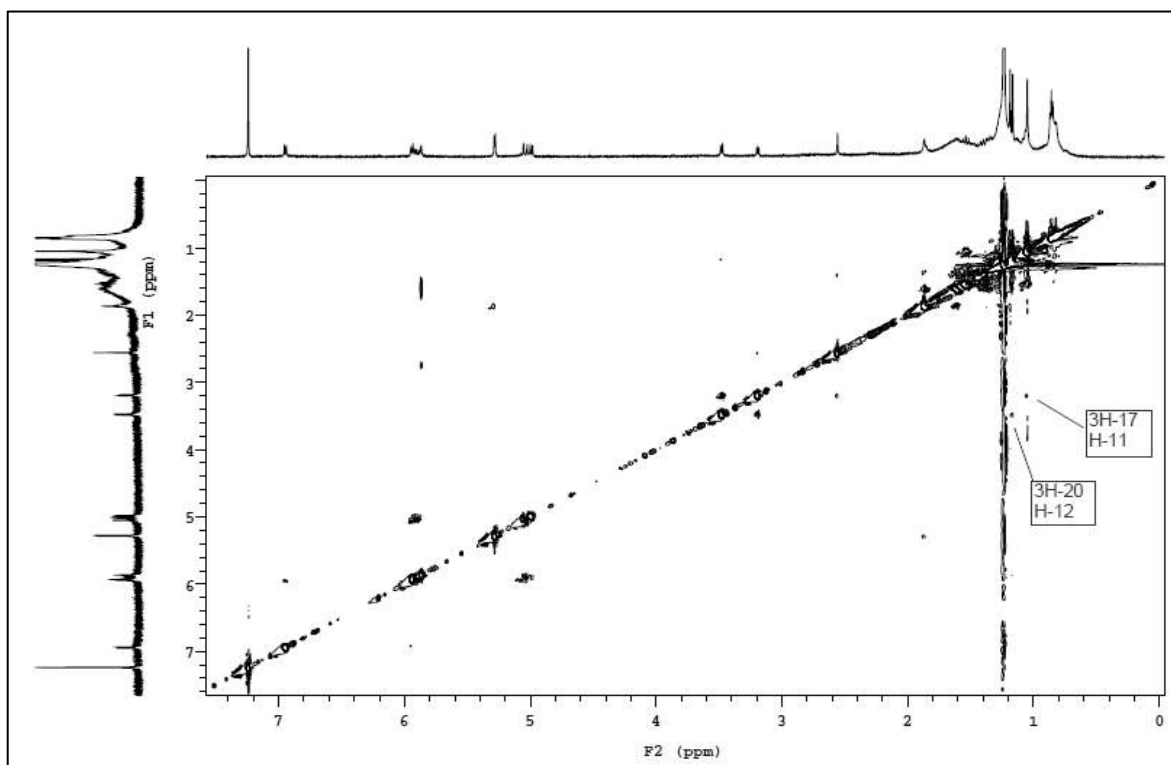
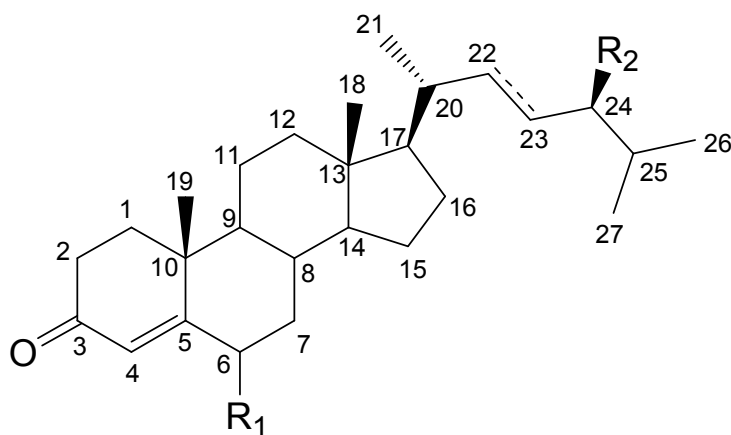


Figura 72: Espectro de correlação homonuclear  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -NOESY em  $\text{CDCl}_3$  de **SV-24**



### 6.2.7 Identificação da mistura SV-25



**SV-25a** =  $R_1 = \text{OH}$ ,  $R_2 = \text{Et}$ , 22,23 - dihidro

**SV-25b** =  $R_1 = \text{OH}$ ,  $R_2 = \text{Et}$ ,  $\Delta^{22}$

**SV-25c** =  $R_1 = \text{OH}$ ,  $R_2 = \text{Me}$ , 22,23 - dihidro

Os fitoesteróides são metabólitos secundários onipresentes em plantas. No entanto quase sempre estas substâncias ocorrem em misturas, devido as suas semelhanças estruturais, dificultando suas separações através de técnicas cromatográficas usuais. Por isso na maioria das vezes, suas identificações são feitas em misturas, através da análise de dados obtidos utilizando-se as técnicas de cromatografia à gás acoplada ao espectrômetro de massas (CG/EM) e RMN<sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C.

A amostra **SV-25** foi obtida do extrato hexânico da madeira de *S. sampaioana*, na forma de um cristal esbranquiçado, solúvel em CHCl<sub>3</sub> e de coloração roxa quando aquecida com vanilina sulfúrica em CCDA.

A análise do espectro de RMN<sup>1</sup>H (Figura 73, pag. 129) da amostra, apresentou um grande acúmulo de sinais intensos na região de  $\delta_{\text{H}}$  0,50 a 2,55 relativos aos vários grupos de hidrogênios de grupos metílicos, metilênicos e metínicos de um esqueleto esteroidal. Observou-se também, um tripleto em  $\delta_{\text{H}}$  4,37 (1H, *t*, 2,5Hz, H-6), característico de hidrogênio ligado a carbono carbinólico, e um singleto em  $\delta_{\text{H}}$  5,84 (1H, *s*, H-4) característico de hidrogênio olefínico.

A presença do esteroide **SV-25b** foi observada no espectro de RMN<sup>1</sup>H da mistura, pelos sinais de hidrogênio olefínicos da cadeia lateral em  $\delta_{\text{H}}$  5,05 (1H, *dd*, 15,4; 9,0 Hz, H-23) e  $\delta_{\text{H}}$  5,16 (1H, *dd*, 15,4; 8,8 Hz, H-22).

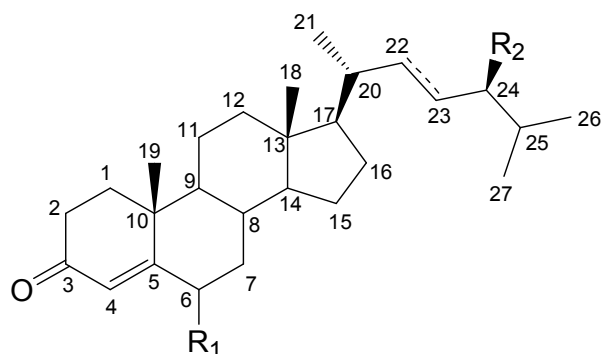
A distinção entre os esteroides **SV-25a** e **SV-25b**, foi confirmada pelos sinais observados no espectro de RMN<sup>13</sup>C DEPT Q (Figura 74, pag. 130) em  $\delta_{\text{CH}}$

126,34 (CH-4) e  $\delta_C$  168,55 (C-5) comuns para ambas as estruturas, e em  $\delta_{CH}$  129,44 (CH-23) e  $\delta_{CH}$  138,16 (CH-22), presentes somente no esteroide **SV-25b**. Observou-se ainda, o sinal característico de carbono carbinólico em  $\delta_{CH}$  73,30 que indica a presença de uma hidroxila ligada ao átomo de carbono CH-6, e um sinal característico de carbonila em  $\delta_C$  200,53 (C-3) para todas as substâncias presentes na mistura.

A análise por CG/EM (Figura 75, pag. 131) da mistura **SV-25** apresentou três sinais com tempos de retenção  $t_{R1} = 39,07$  min (24,78%),  $t_{R2} = 40,33$  min (14,86%) e  $t_{R3} = 43,45$  min (60,37%), sendo que o espectro de massas obtido a partir de cada sinal permitiu atribuir  $t_{R1}$  para a substância **SV-25c**, com  $m/z = 414$ ;  $t_{R2}$  para a substância **SV-25b**, com  $m/z = 426$ ; e  $t_{R3}$  para a substância **SV-25a**, com  $m/z = 428$ . As propostas para as principais fragmentações observadas encontram-se no Esquema 6, pag. 132.

O conjunto desses dados em comparação com dados da literatura (GRECA et al, 1990; CORREIA et al, 2003; FERREIRA, 2014) permitiram identificar a mistura de esteroides **SV-25** como sendo sitost-4-en-6-ol-3-ona (**SV-25a**), estigmast-4,22-dien-6-ol-3-ona (**SV-25b**) e campest-4-en-6-ol-3-ona (**SV-25c**). Os dados obtidos para a mistura **SV-25** e a comparação com dados da literatura encontram-se sumarizados na Tabela 23, pag. 128.

- SV-25a** = R<sub>1</sub> = OH, R<sub>2</sub> = Et, 22,23 - dihidro  
**SV-25b** = R<sub>1</sub> = OH, R<sub>2</sub> = Et, Δ<sup>22</sup>  
**SV-25c** = R<sub>1</sub> = OH, R<sub>2</sub> = Me, 22,23 - dihidro  
**Mo-1= Mo-2** = R<sub>1</sub> = OH, R<sub>2</sub> = Et, 22,23 - dihidro  
**Mo-3** = R<sub>1</sub> = H, R<sub>2</sub> = Et, Δ<sup>22</sup>



**Tabela 23:** Dados de RMN <sup>13</sup>C (125 MHz) em CDCl<sub>3</sub> e as correlações observadas no espectro de HMQC e HMBC da mistura **SV-25** e a comparação com valores da literatura para os modelos **Mo-1** <sup>13</sup>C (75 MHz) em CDCl<sub>3</sub> (CORREIA et al, 2003), **Mo-2** <sup>13</sup>C (100 MHz) em CDCl<sub>3</sub> (GRECA et al, 1990) e **Mo-3** <sup>13</sup>C (100 MHz) em CDCl<sub>3</sub> (FERREIRA, 2014). Deslocamentos químicos em ppm.

	<b>SV-25a</b>	<b>SV-25b</b>	<b>SV-25c</b>	<b>Mo-1</b>	<b>Mo-2</b>	<b>Mo-3</b>
	δ <sub>C</sub>	δ <sub>C</sub>	δ <sub>C</sub>	δ <sub>C</sub>	δ <sub>C</sub>	δ <sub>C</sub>
C						
3	200,53	200,53	200,53	200,30	200,11	199,80
5	168,55	168,55	168,55	168,30	168,55	171,80
10	37,09	37,09	37,09	37,90	37,97	38,80
13	42,51	42,51	42,51	42,20	42,49	42,30
CH						
4	126,34	126,34	126,34	126,20	126,26	124,00
6	73,30	73,30	73,30	73,20	73,22	34,20
8	29,73	29,73	29,73	29,60	29,70	35,80
9	53,62	53,62	53,62	53,50	53,61	51,40
14	55,89	55,89	55,89	55,80	55,87	55,90
17	56,05	56,05	56,05	56,00	56,05	56,20
20	36,20	36,20	36,20	36,00	36,08	40,70
22	-	138,16	-	-	-	138,30
23	-	129,44	-	-	-	129,70
24	45,82	45,82	45,82	45,70	45,81	54,00
25	29,13	29,13	29,13	29,10	29,15	32,10
CH <sub>2</sub>						
1	37,10	37,10	37,10	37,90	37,06	35,90
2	34,29	34,29	34,29	34,20	34,22	32,20
4	-	-	-	-	-	-
7	38,55	38,55	38,55	38,50	38,56	33,20
11	20,98	20,98	20,98	20,90	20,95	21,20
12	39,60	39,60	39,60	39,50	39,58	39,60
15	24,17	24,17	24,17	24,10	24,12	24,30
16	28,21	28,21	28,21	28,10	28,14	29,10
22	33,01	-	33,01	33,80	33,88	-
23	26,05	-	26,05	26,00	26,09	-
28	23,07	23,07	-	23,00	23,06	25,60
CH <sub>3</sub>						
18	12,03	12,03	12,03	11,90	11,98	12,30
19	19,84	19,84	19,84	19,40	19,46	17,60
21	18,28	18,28	18,28	18,60	18,70	19,20
26	19,53	19,53	19,53	19,70	19,77	21,30
27	18,75	18,75	18,75	18,90	19,00	21,40
28	-	-	19,04	-	-	-
29	12,00	12,00	-	11,90	11,98	12,40

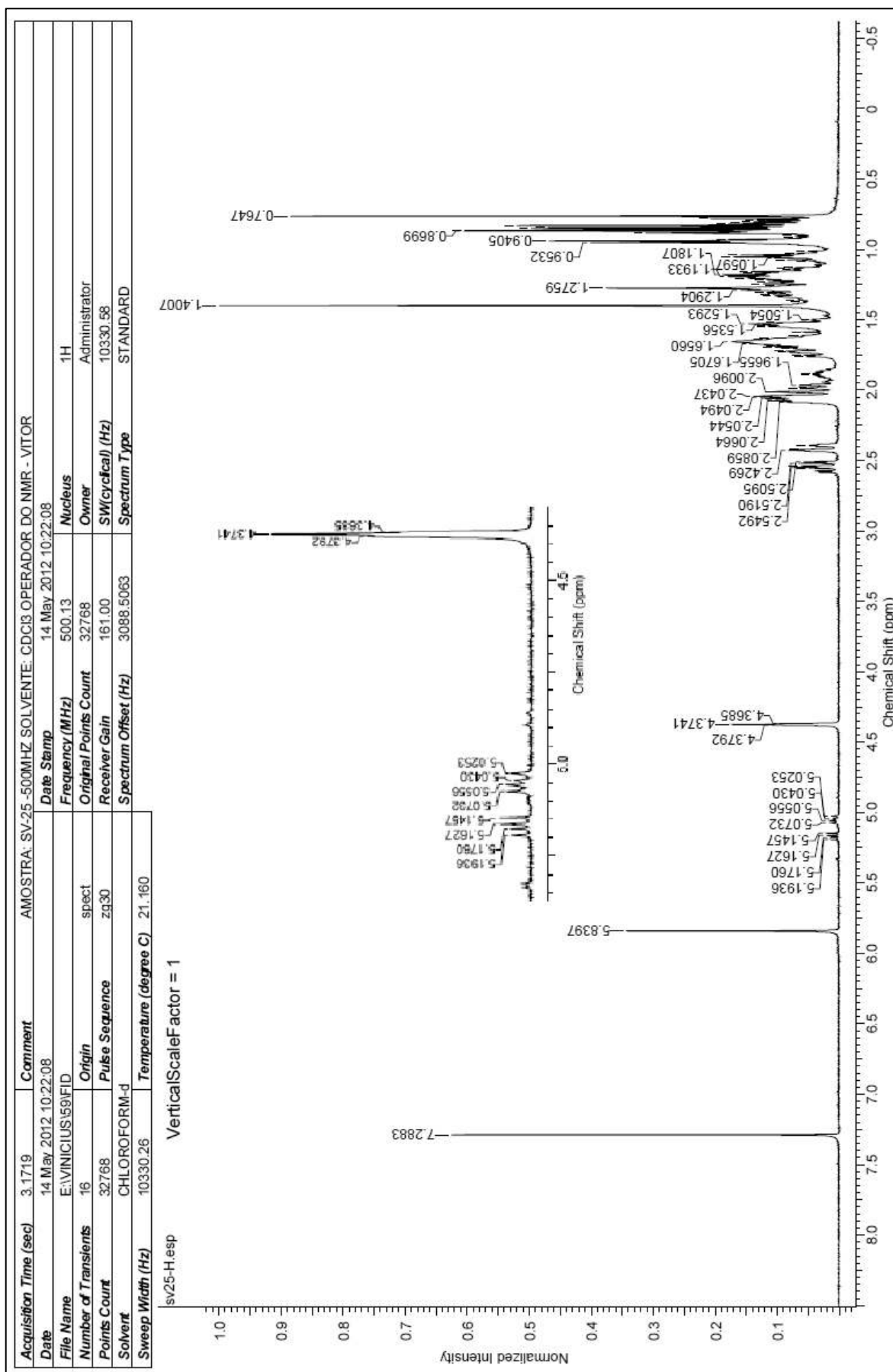


Figura 73: Espectro de RMN<sup>1</sup>H (500 MHz) em CDCl<sub>3</sub> de SV-25

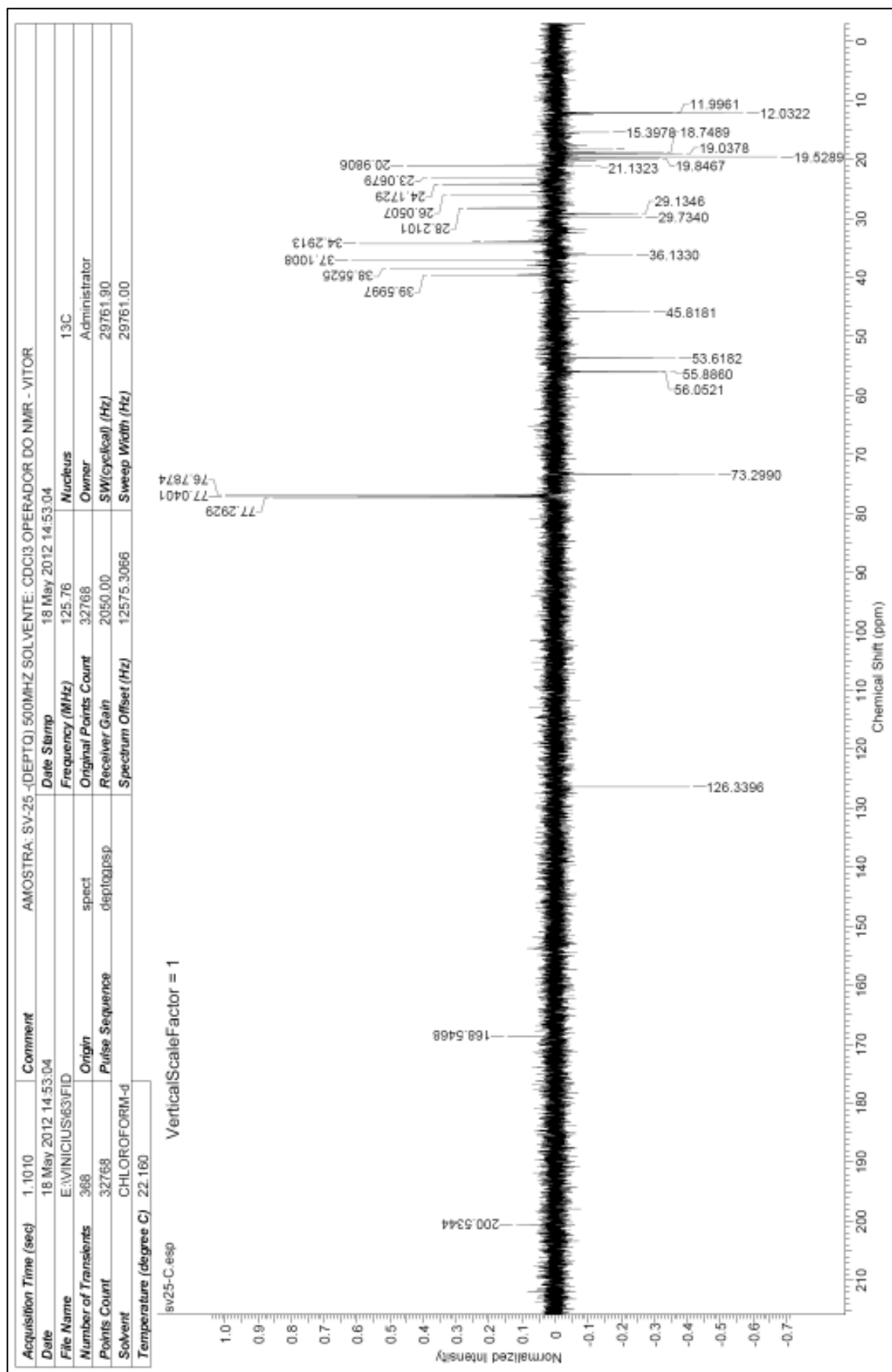


Figura 74: Espectro de RMN<sup>13</sup>C DEPT Q (125 MHz) em CDCl<sub>3</sub> de SV-25

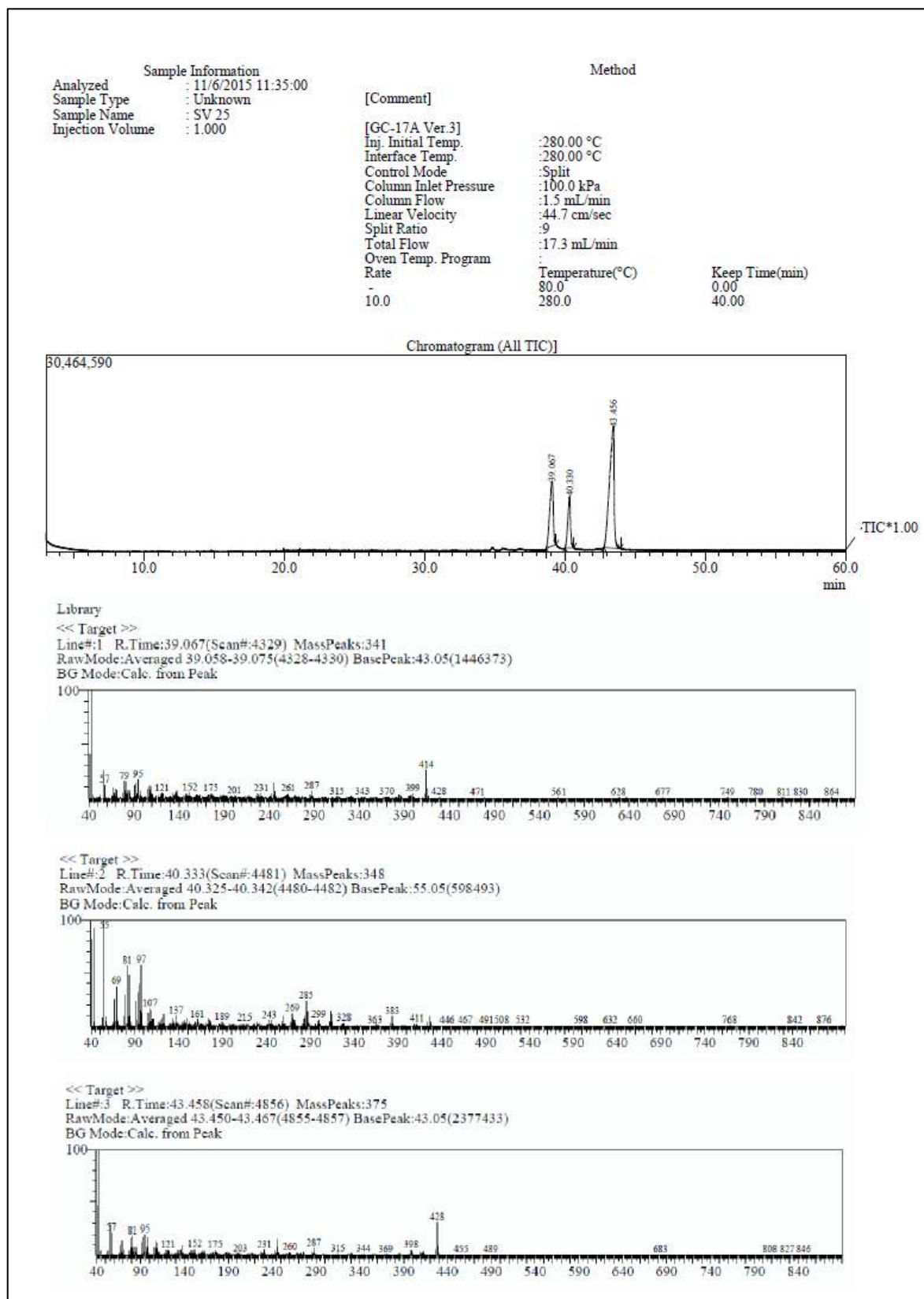
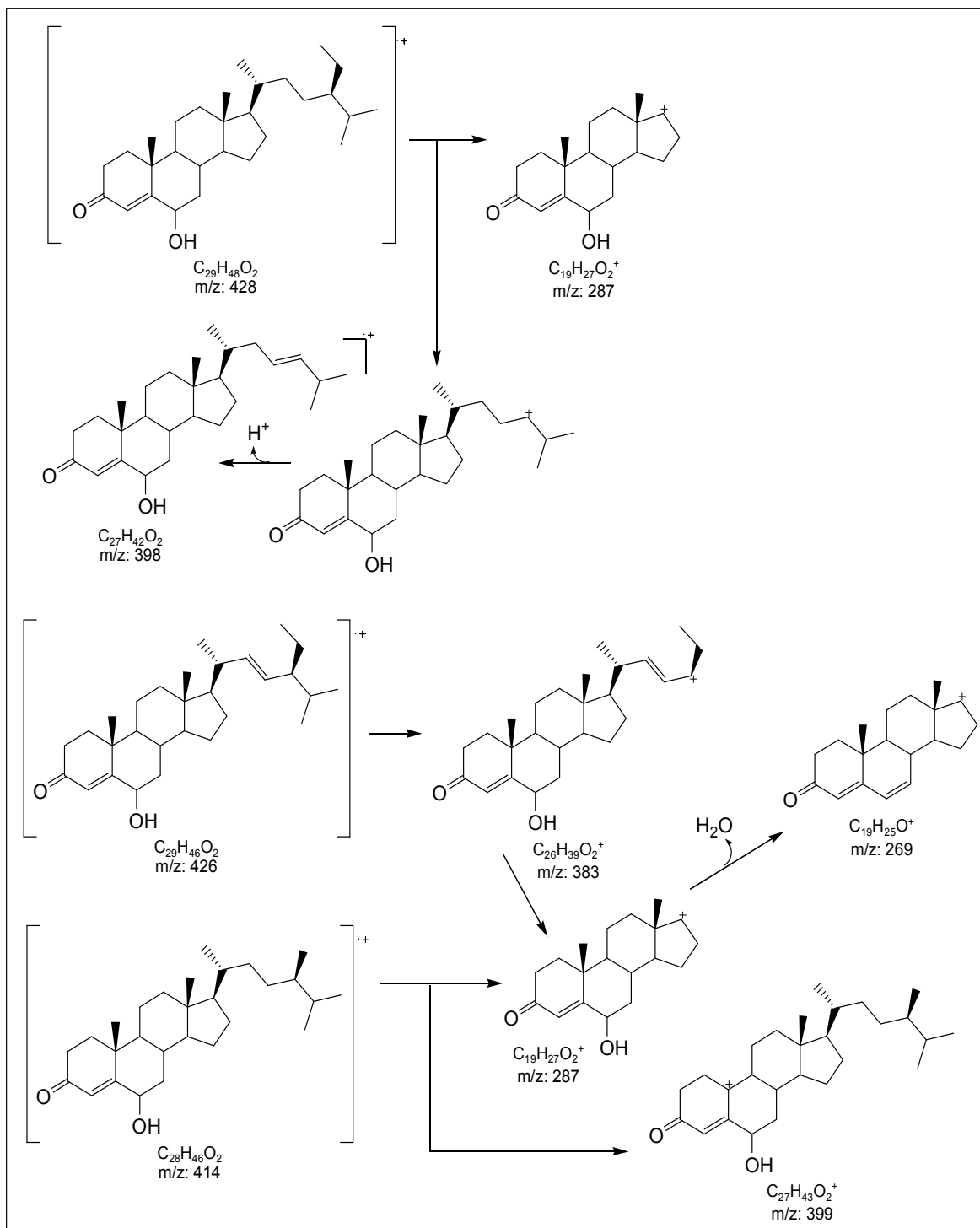
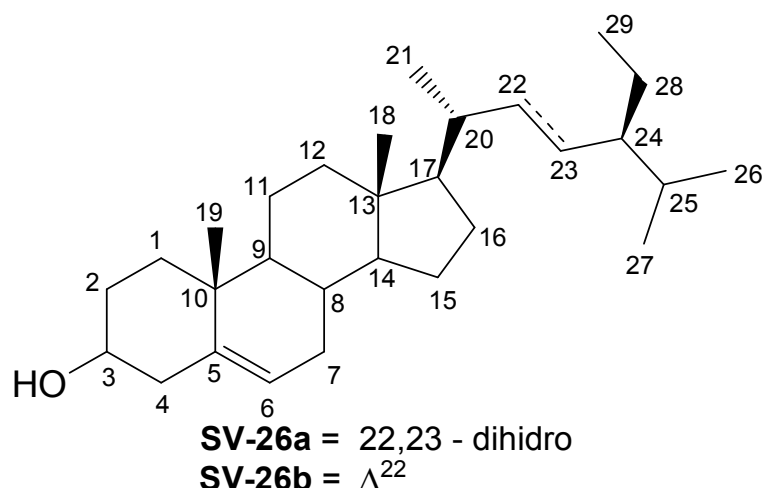


Figura 75: Cromatograma e Espectro de massas de SV-25



**Esquema 6:** Proposta mecanística de fragmentação para SV-25

### 6.2.8 Identificação da mistura SV-26



A amostra **SV-26** foi obtida do extrato hexânico da madeira de *S. sampaioana*, na forma de um cristal esbranquiçado, solúvel em  $\text{CHCl}_3$  e de coloração roxa quando aquecida com vanilina sulfúrica em CCDA.

A análise do espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  (Figura 77, pag. 138) da amostra, apresentou um grande acúmulo de sinais intensos na região de  $\delta_{\text{H}}$  0,50 a 2,55 relativos aos vários hidrogênios de grupos metílicos, metilênicos e metínicos de um esqueleto esteroidal. Observou-se também, um multiplete em  $\delta_{\text{H}}$  3,53-3,54 (1H, *m*, H-3), característico de hidrogênio ligado a carbono carbinólico, e um duplete em  $\delta_{\text{H}}$  5,37 (1H, *d*, 1,9Hz, H-6) característico de hidrogênio olefínico.

A presença de hidrogênios olefínicos da cadeia lateral foi observada pelos sinais em  $\delta_{\text{H}}$  5,04 (1H, *dd*, 15,1, 8,8Hz, H-23) e  $\delta_{\text{H}}$  5,14 (1H, *dd*, 15,1, 8,8Hz, H-22).

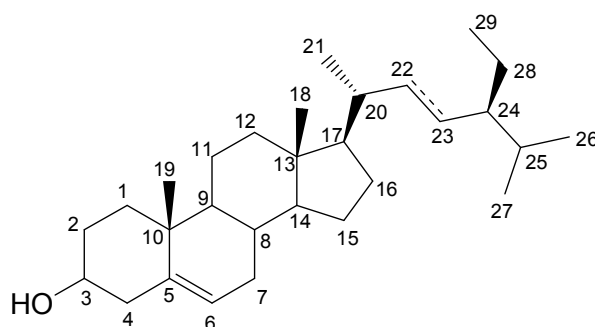
A distinção entre os esteroides **SV-26a** e **SV-26b**, foi confirmada pelos sinais observados no espectro de  $\text{RMN}^{13}\text{C}$  DEPT Q (Figura 78, pag. 139) em  $\delta_{\text{CH}}$  121,72 (CH-6) e  $\delta_{\text{C}}$  140,76 (C-5) comuns para ambas as estruturas, e em  $\delta_{\text{CH}}$  129,26 (CH-23) e  $\delta_{\text{CH}}$  138,34 (CH-22), presentes somente no esteroide **SV-26b**. Observou-se ainda, o sinal característico de carbono carbinólico em  $\delta_{\text{CH}}$  71,79 que indica a presença de uma hidroxila ligada ao átomo de carbono CH-3.

A análise por CG/EM (Figura 76, pag. 136) da mistura **SV-26** apresentou impurezas, mas permitiu a observação de dois sinais com tempos de retenção  $t_{\text{R1}} = 27,80$  min (17,69%) e  $t_{\text{R2}} = 29,48$  min (20,36%), sendo que o espectro de massas obtido a partir de cada sinal permitiu atribuir  $t_{\text{R1}}$  para a substância **SV-**



**26a**, com  $m/z = 414$ , e  $t_{R2}$  para a substância **SV-26b**, com  $m/z = 412$ . As propostas para as principais fragmentações observadas encontram-se no Esquema 7, pag. 137.

O conjunto desses dados em comparação com dados da literatura (CHATURVEDULA & PRAKASH, 2012) permitiram identificar a mistura de esteroides **SV-26** como sendo  $\beta$ -sitosterol (**SV-26a**) e estigmasterol (**SV-26b**). Os dados obtidos para a mistura **SV-26** e a comparação com dados da literatura encontram-se sumarizados na Tabela 24, pag. 135.



**SV-26a** = 22,23 - dihidro

**SV-26b** =  $\Delta^{22}$

**Mo-1** = 22,23 - dihidro

**Mo-2** =  $\Delta^{22}$

**Tabela 24:** Dados de RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz) em  $\text{CDCl}_3$  da mistura **SV-26** e comparação com valores da literatura para os modelos de **Mo-1** e **Mo-2** (150 MHz) em  $\text{CDCl}_3$  (CHATURVEDULA & PRAKASH, 2012). Deslocamentos químicos em ppm.

	<b>SV-26a</b>	<b>SV-26b</b>	<b>Mo-1</b>	<b>Mo-2</b>
	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{C}}$
C				
5	140,76	140,76	140,9	141,1
10	36,51	36,51	36,7	36,6
13	42,32	42,32	42,6	42,4
CH				
3	71,79	71,79	72,0	72,1
6	121,72	121,72	121,9	121,8
8	36,16	36,16	32,1	31,8
9	50,13	50,13	50,3	50,2
14	56,77	56,77	56,9	56,8
17	56,06	56,06	56,3	56,2
20	38,83	38,83	36,3	40,6
22	-	138,34	-	138,7
23	-	129,26	-	129,6
24	45,82	45,82	46,1	46,1
25	29,14	29,14	29,4	29,6
CH <sub>2</sub>				
1	37,26	37,26	37,5	37,6
2	31,92	31,92	31,9	32,1
4	42,28	42,28	42,5	42,4
7	33,94	33,94	32,1	31,8
11	21,08	21,08	21,3	21,5
12	39,78	39,78	39,9	39,9
15	24,32	24,32	26,3	24,4
16	28,94	28,94	28,5	29,3
22	31,92	-	34,2	-
23	26,06	-	26,3	-
28	23,06	23,06	23,3	25,4
CH <sub>3</sub>				
18	11,99	11,99	12,0	12,2
19	19,41	19,41	19,0	18,9
21	21,24	21,24	19,2	21,7
26	19,84	19,84	20,1	20,2
27	20,23	20,23	19,6	19,8
29	11,87	11,87	12,2	12,1

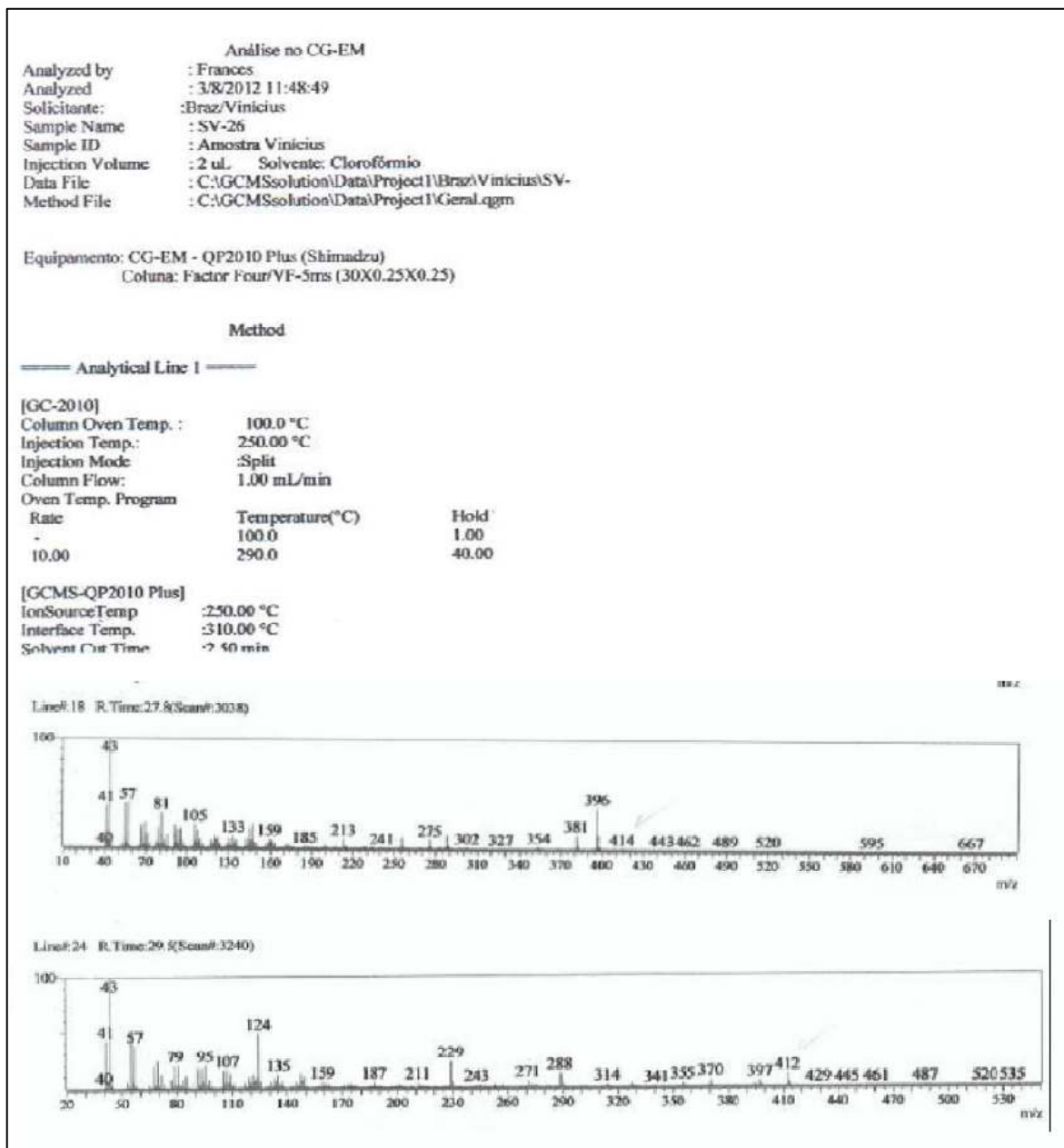
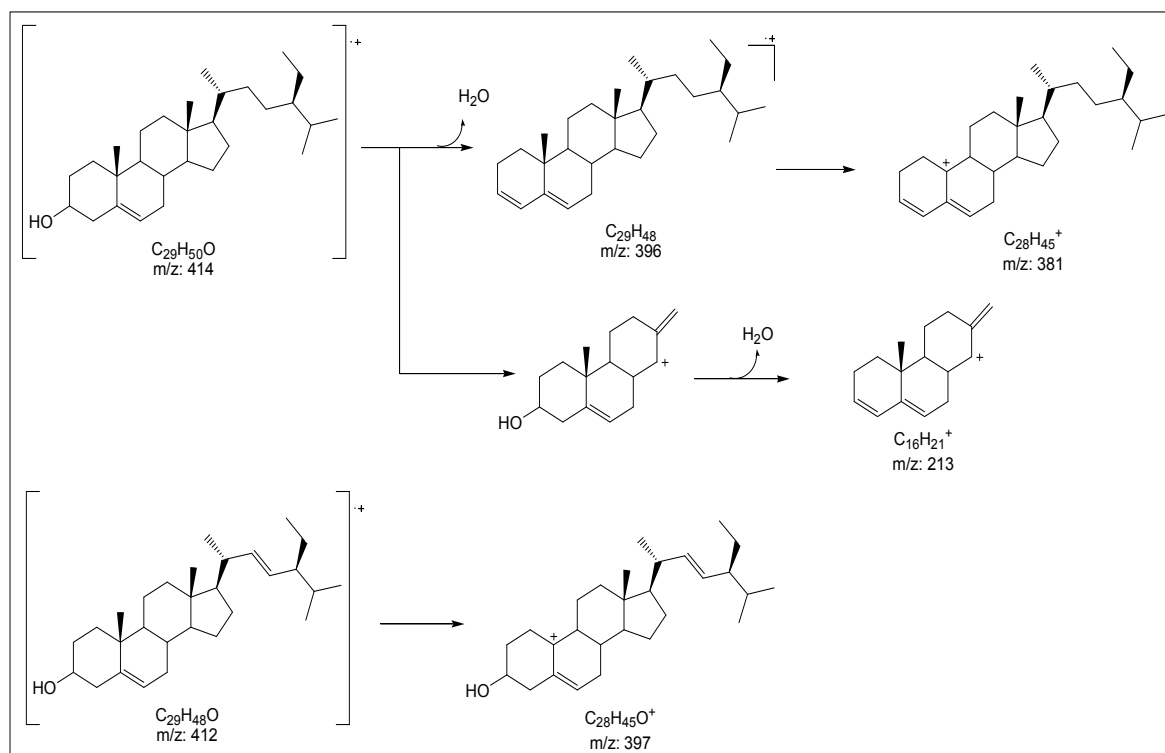


Figura 76: Espectros de massas de SV-26



**Esquema 7:** Proposta mecanística de fragmentação para **SV-26**

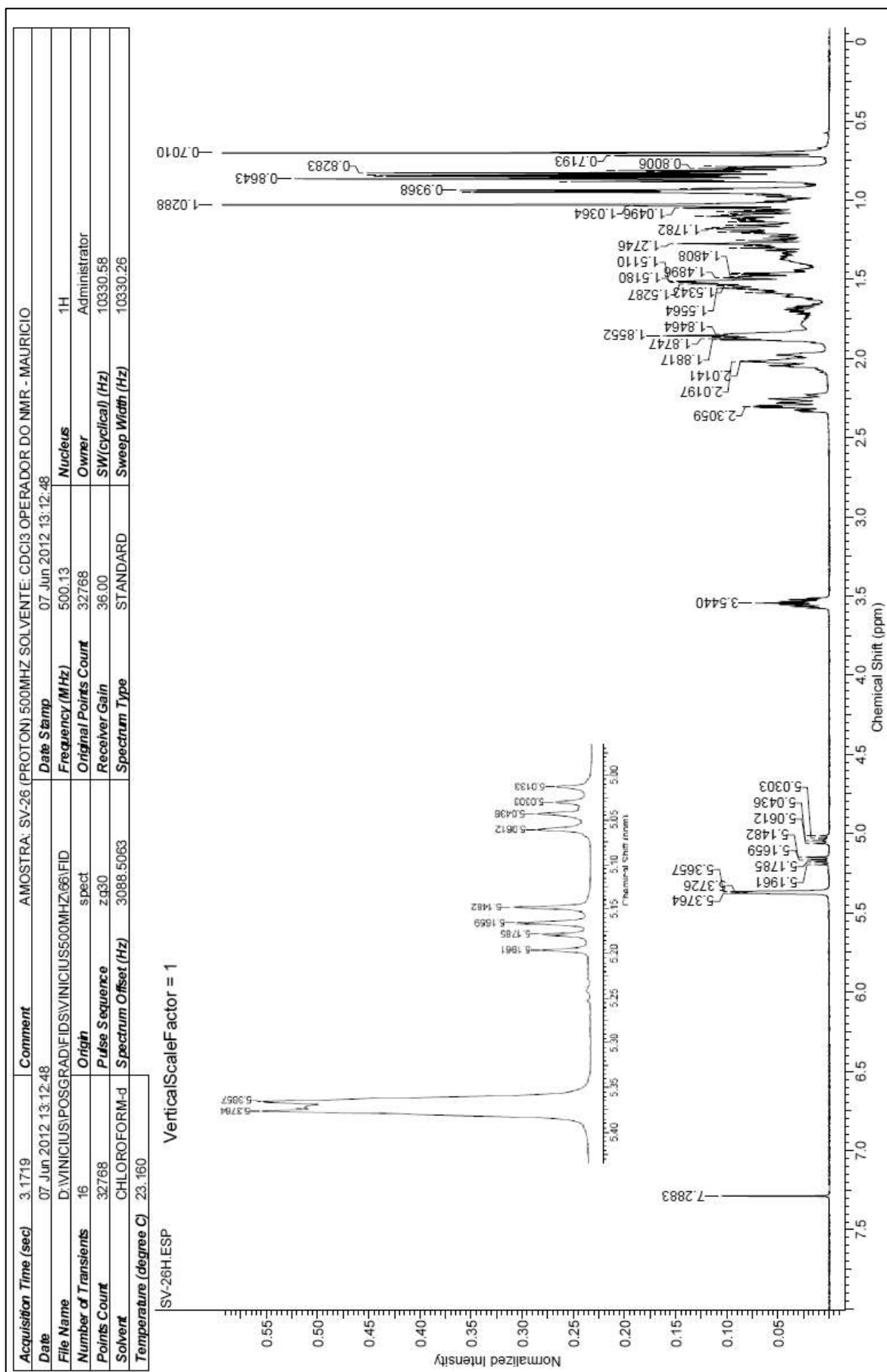


Figura 77: Espectro de RMN<sup>1</sup>H (500 MHz) em CDCl<sub>3</sub> de SV-26

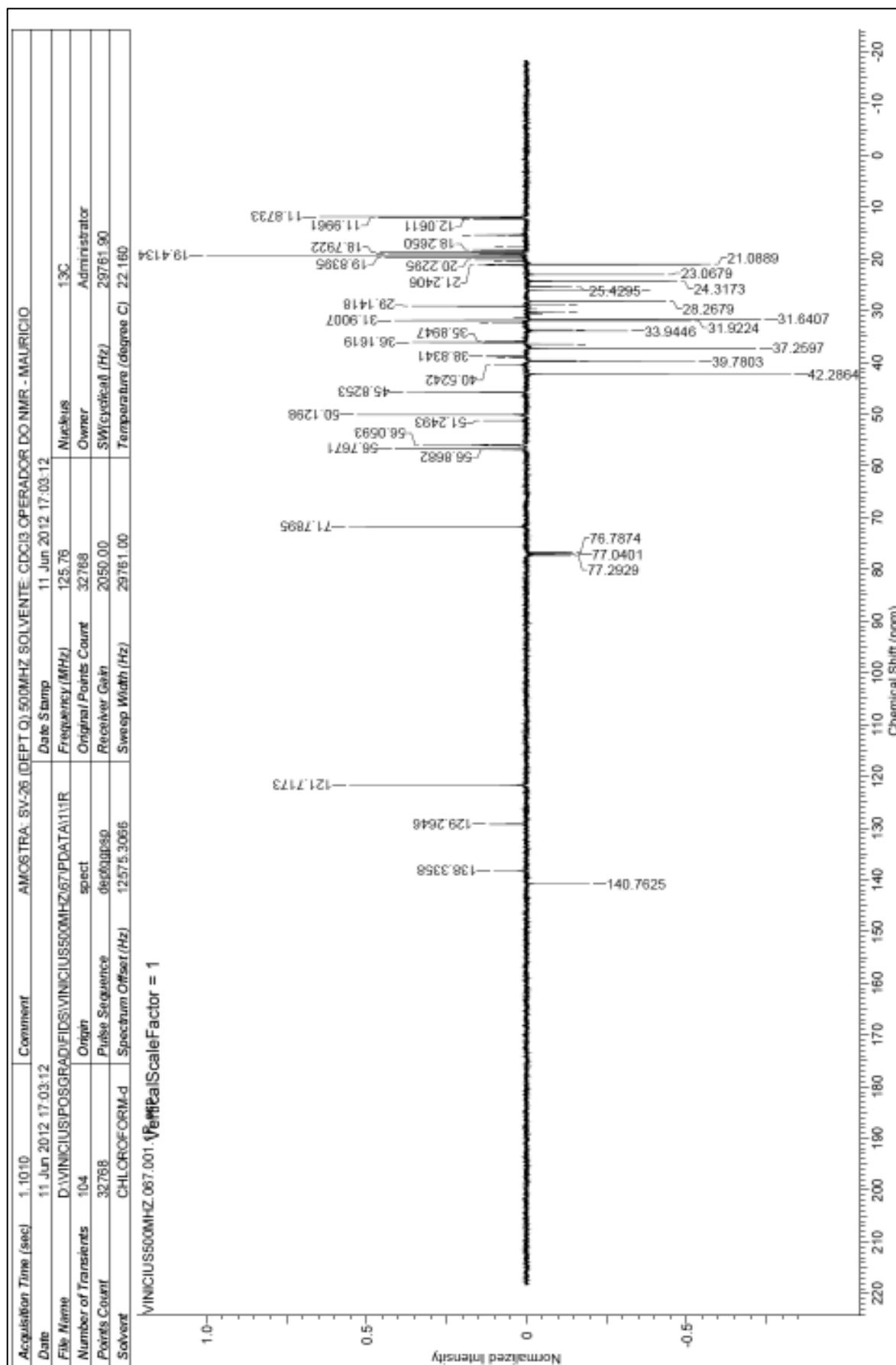
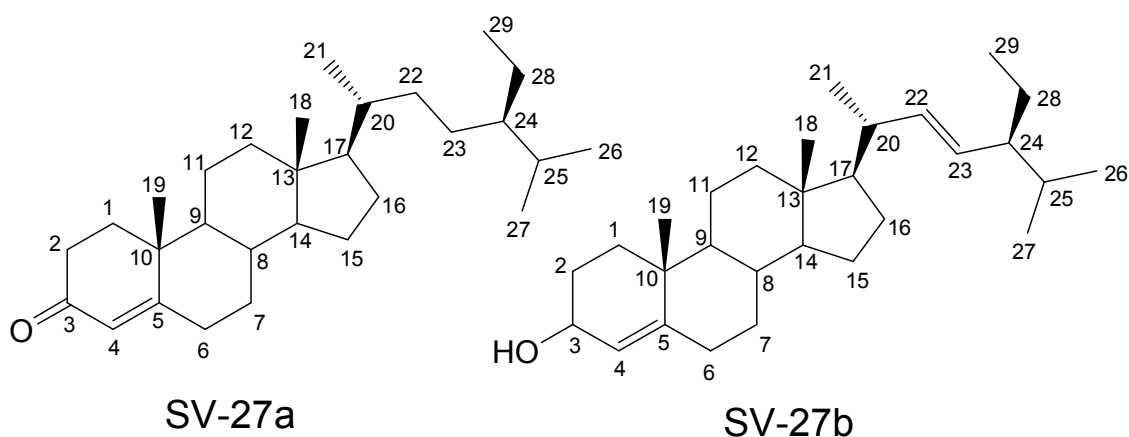


Figura 78: Espectro de RMN<sup>13</sup>C DEPT Q (125 MHz) em CDCl<sub>3</sub> de SV-26

### 6.2.9 Identificação da mistura **SV-27**



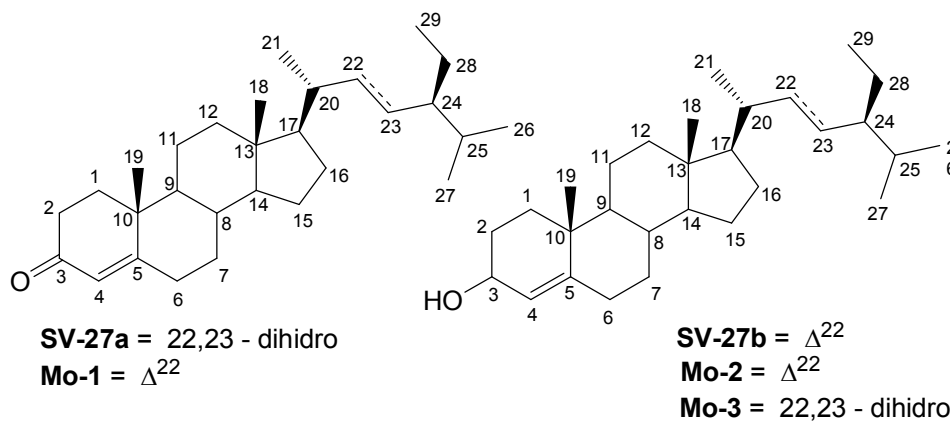
A amostra **SV-27** foi obtida do extrato hexânico da madeira de *S. sampaioana*, na forma de um cristal esbranquiçado, solúvel em  $\text{CHCl}_3$  e de coloração roxa quando aquecida com vanilina sulfúrica em CCDA.

A análise por CG/EM (Figura 81, pag. 144) da mistura **SV-27** apresentou impurezas, mas permitiu a observação de dois sinais com tempos de retenção  $t_{R1} = 29,92$  min (34,02%) e  $t_{R2} = 30,93$  min (20,36%), sendo que o espectro de massas obtido a partir de cada sinal permitiu atribuir  $m/z = 412$  para ambas as substâncias. As propostas para as principais fragmentações observadas encontram-se no Esquema 8, pag. 145.

A análise do espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  (Figura 79, pag. 142) da amostra apresentou, além de um grande acúmulo de sinais intensos na região de  $\delta_{\text{H}}$  0,50 a 2,55 característicos de um esqueleto esteroidal, sinais característicos de hidrogênios olefínicos em  $\delta_{\text{H}}$  5,04 (1H, *dd*, 15,1; 8,8Hz, H-23) e  $\delta_{\text{H}}$  5,14 (1H, *dd*, 15,1, 8,8Hz, H-22), e também um singlete fraco em  $\delta_{\text{H}}$  3,67 característico de hidrogênio ligado a carbono carbinólico.

O espectro de  $\text{RMN}^{13}\text{C}$  DEPT Q (Figura 80, pag. 143) apresentou os sinais em  $\delta_{\text{CH}}$  123,75 e  $\delta_{\text{C}}$  171,76 característicos de instauração entre os carbonos CH-4 e C-5. Também foi observado um sinal característico de carbonila de grupo cetona em  $\delta_{\text{C}}$  199,69.

O conjunto desses dados em comparação com dados da literatura (CHATURVEDULA & PRAKASH, 2012; FERREIRA, 2014) permitiram identificar a mistura de esteroides **SV-27** como sendo sitost-4-en-3-ona (**SV-27a**) e stigmaster-4,22-dien-3-ol (**SV-27b**). Os dados obtidos para a mistura **SV-27** e a comparação com dados da literatura encontram-se sumarizados na Tabela 25, pag. 141.



**Tabela 25:** Dados de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz) em  $\text{CDCl}_3$  da mistura **SV-27** e comparação com valores da literatura para os modelos **Mo-1** (100 MHz) em  $\text{CDCl}_3$  (FERREIRA, 2014), **Mo-2** e **Mo-3** (150 MHz) em  $\text{CDCl}_3$  (CHATURVEDULA & PRAKASH, 2012). Deslocamentos químicos em ppm.

	<b>SV-27a</b>	<b>SV-27b</b>	<b>Mo-1</b>	<b>Mo-2</b>	<b>Mo-3</b>
	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{C}}$
C					
3	199,69	-	199,80	-	-
5	171,76	171,76	171,80	141,1	140,9
10	35,67	35,67	38,80	36,6	36,7
13	42,38	42,38	42,30	42,4	42,6
CH					
3	-	70,99	-	72,1	72,0
4	123,73	123,73	124,00	-	-
6	32,41	32,41	34,20	121,8	121,9
8	35,60	35,60	35,80	31,8	32,1
9	51,23	51,23	51,40	50,2	50,3
14	55,87	55,87	55,90	56,8	56,9
17	55,98	55,98	56,20	56,2	56,3
20	40,49	40,49	40,70	40,6	36,3
22	-	138,14	138,30	138,7	-
23	-	129,42	129,70	129,6	-
24	53,80	53,80	54,00	46,1	29,4
25	32,41	32,41	32,10	29,6	46,1
CH <sub>2</sub>					
1	38,59	38,59	35,90	37,6	37,5
2	39,51	39,51	32,20	32,1	31,9
4	-	-	-	42,4	42,5
7	32,90	32,90	33,20	31,8	32,1
11	21,02	21,02	21,20	21,5	21,3
12	39,61	39,61	39,60	39,9	39,9
15	24,18	24,18	24,30	24,4	26,3
16	30,24	30,24	29,10	29,3	28,5
22	32,04	32,04	-	-	34,2
23	26,02	26,02	-	-	26,3
28	23,04	23,04	25,60	25,4	23,3
CH <sub>3</sub>					
18	12,14	12,14	12,30	12,2	12,0
19	19,03	19,03	17,60	18,9	19,0
21	21,17	21,17	19,20	21,7	19,2
26	19,83	19,83	21,30	20,2	20,1
27	20,21	20,21	21,40	19,8	19,6
29	11,95	11,95	12,40	12,1	12,2



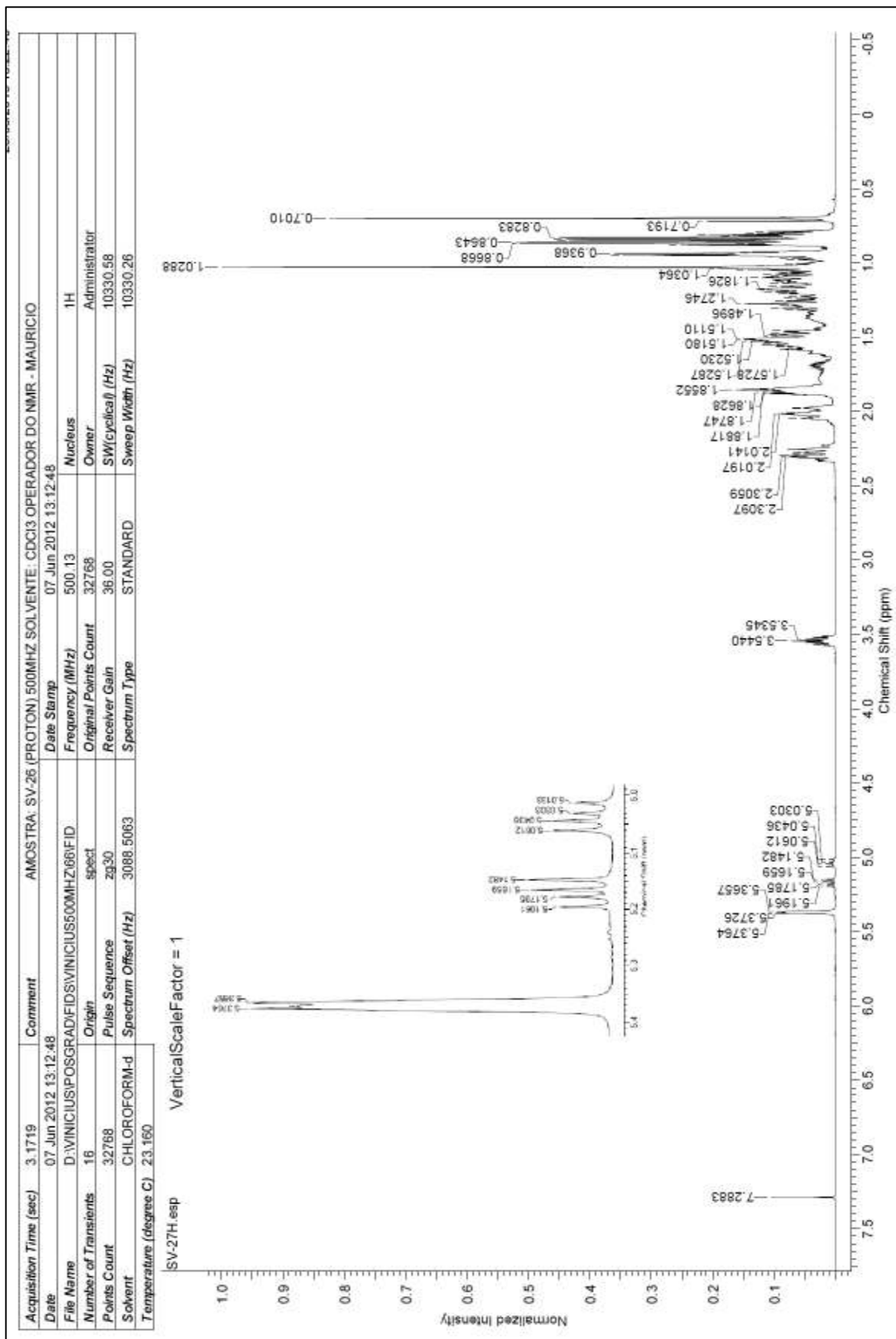


Figura 79: Espectro de RMN<sup>1</sup>H (500 MHz) em CDCl<sub>3</sub> de SV-27

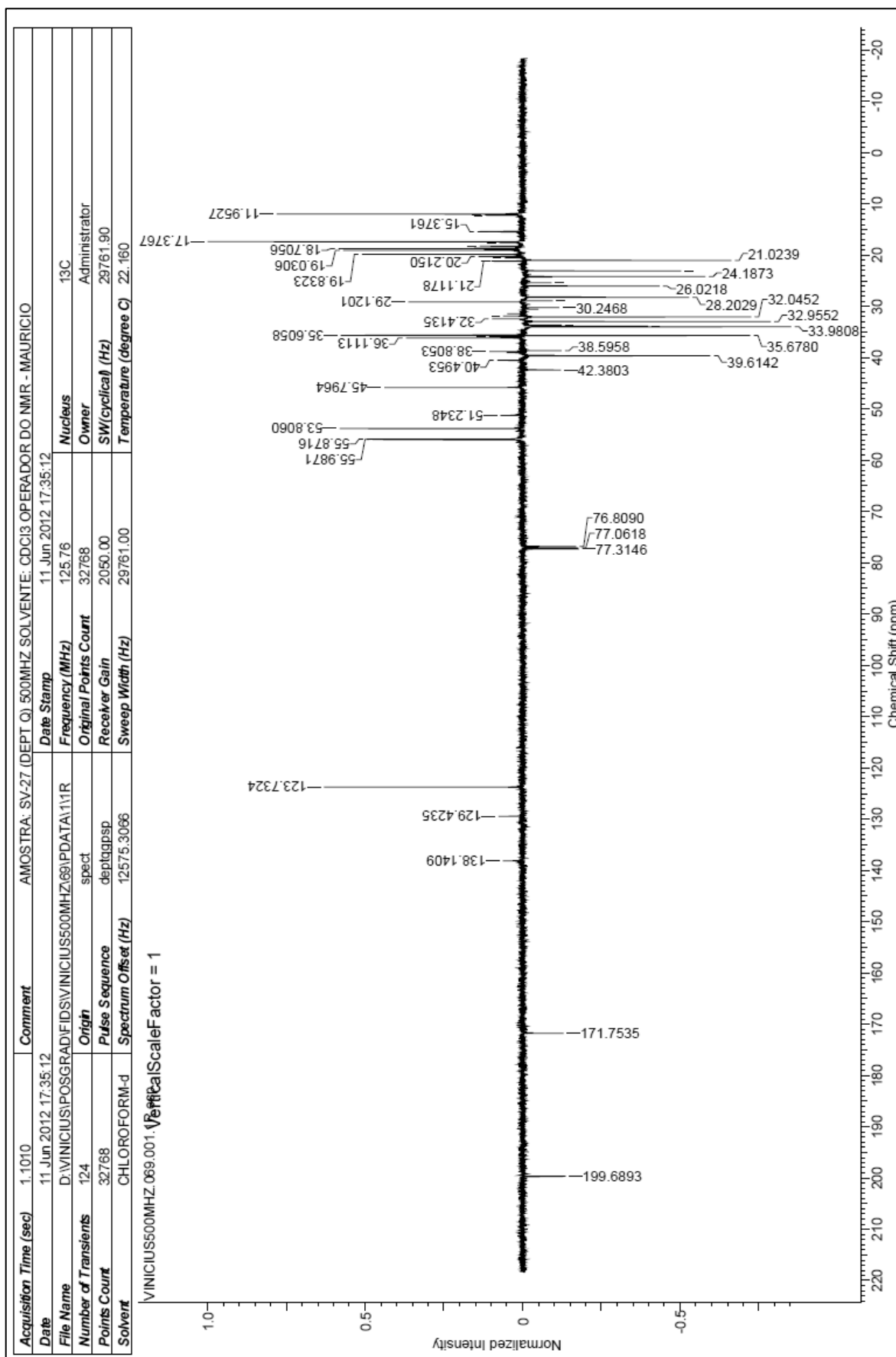


Figura 80: Espectro de RMN<sup>13</sup>C DEPT Q (125 MHz) em CDCl<sub>3</sub> de SV-27

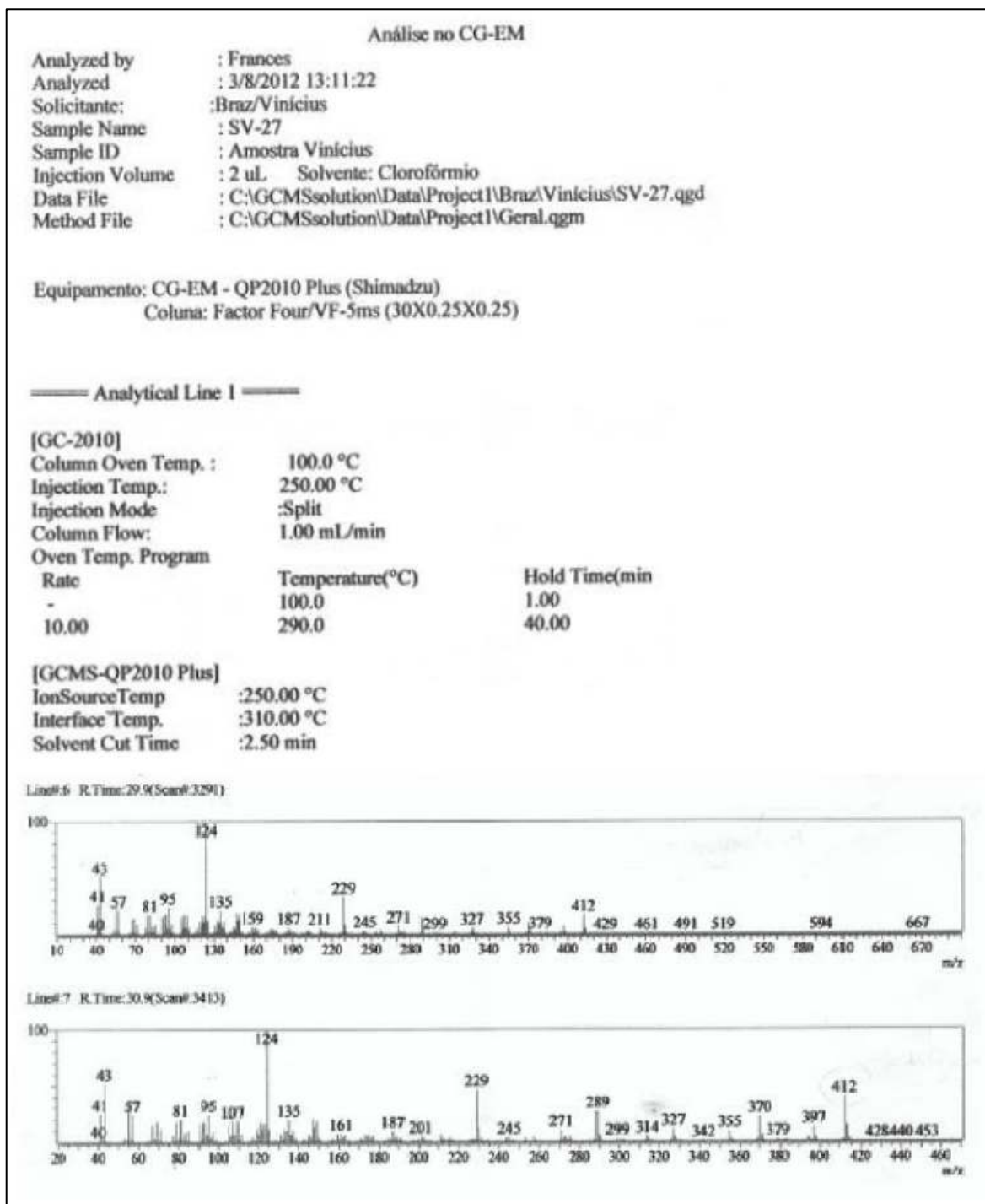
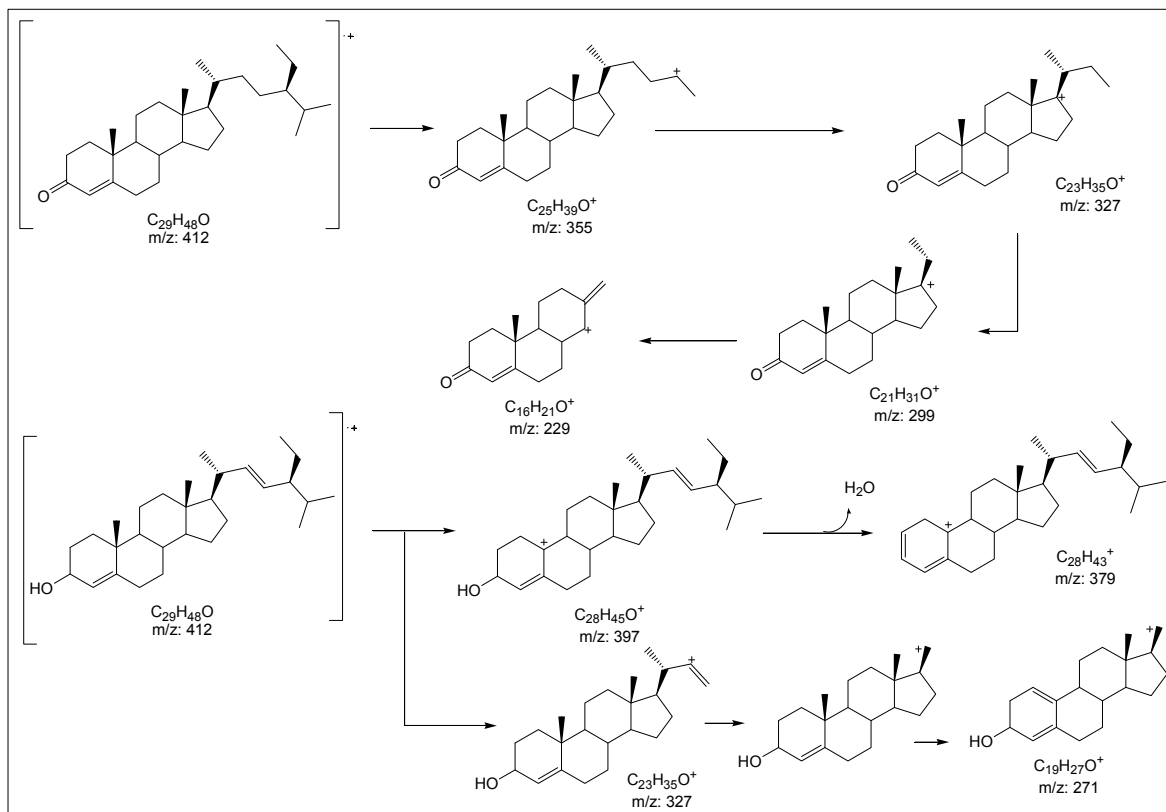
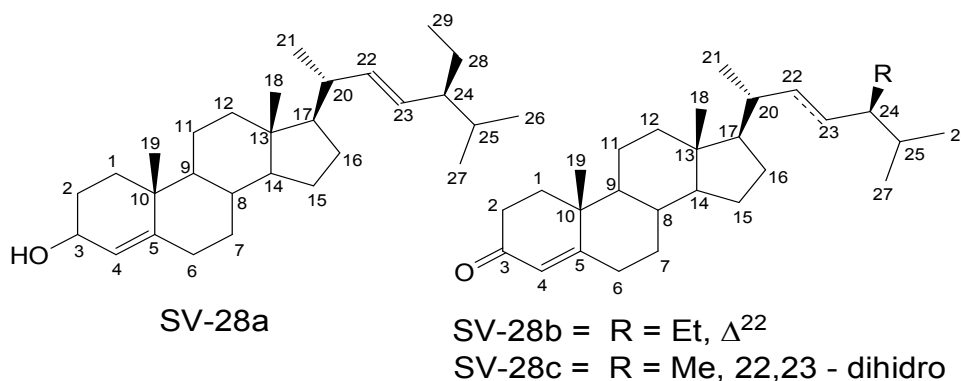


Figura 81: Espectros de massas de SV-27



**Esquema 8:** Proposta mecanística de fragmentação para SV-27

### 6.2.10 Identificação da mistura SV-28

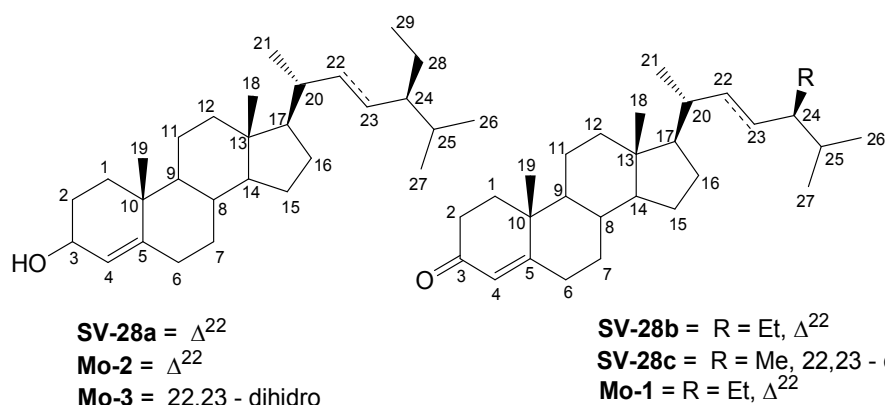


A amostra **SV-28** foi obtida do extrato hexânico da madeira de *S. sampaioana*, na forma de um cristal esbranquiçado, solúvel em  $\text{CHCl}_3$  e de coloração roxa quando aquecida com vanilina sulfúrica em CCDA.

A análise do espectro de RMN<sup>1</sup>H (Figura 82, pag. 148) da amostra apresentou, além de um grande acúmulo de sinais intensos na região de  $\delta_{\text{H}}$  0,50 a 2,55 característicos de um esqueleto esteroidal, sinais característicos de hidrogênios olefínicos em  $\delta_{\text{H}}$  5,07 (1H, *dd*, 15,1, 8,6 Hz, H-23) e  $\delta_{\text{H}}$  5,14 (1H, *dd*, 15,1, 8,8 Hz, H-22), e também um sinal em  $\delta_{\text{H}}$  3,69 característico de hidrogênio ligado a carbono carbinólico. O espectro de RMN<sup>13</sup>C DEPT Q (Figura 83, pag. 150) apresentou os sinais em  $\delta_{\text{CH}}$  123,74 e  $\delta_{\text{C}}$  171,84 característicos de instauração entre os carbonos CH-4 e C-5. Também foi observado um sinal característico de carbonila de grupo cetona  $\alpha,\beta$  insaturada em  $\delta_{\text{C}}$  199,78.

A análise por CG/EM (Figura 84, pag. 150) da mistura **SV-28** apresentou impurezas, mas permitiu a observação de três sinais com tempos de retenção  $t_{\text{R}1}$  = 27,61 min (23,98%),  $t_{\text{R}2}$  = 28,03 min (22,03%) e  $t_{\text{R}3}$  = 29,45 min (45,13%), sendo que o espectro de massas obtido a partir de cada sinal permitiu atribuir  $t_{\text{R}1}$  para a substância **SV-28c**, com  $m/z$  = 398;  $t_{\text{R}2}$  para a substância **SV-28b**, com  $m/z$  = 410; e  $t_{\text{R}3}$  para a substância **SV-28a**, com  $m/z$  = 412. As propostas para as principais fragmentações observadas encontram-se no Esquema 9, pag. 151.

O conjunto desses dados em comparação com dados da literatura (CHATURVEDULA & PRAKASH, 2012; FERREIRA, 2014) permitiram identificar a mistura de esteroides **SV-28** como sendo estigmast-4,22-dien-3-ol (**SV-28a** idêntica à **SV-27b**), estigmast-4,22-dien-3-ona (**SV-28b**) e campest-4-en-3-ona (**SV-28c**). Os dados obtidos para a mistura **SV-28** e a comparação com dados da literatura encontram-se sumarizados na Tabela 26, pag. 147.



**Tabela 26:** Dados de RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz) em  $\text{CDCl}_3$  da mistura **SV-28** e a comparação com valores da literatura para os modelos **Mo-1**  $^{13}\text{C}$  (100 MHz) em  $\text{CDCl}_3$  (FERREIRA, 2014), **Mo-2** e **Mo-3** (150 MHz) em  $\text{CDCl}_3$  (CHATURVEDULA & PRAKASH., 2012). Deslocamentos químicos em ppm.

	<b>SV-28a</b>	<b>SV-28b</b>	<b>SV-28c</b>	<b>Mo-1</b>	<b>Mo-2</b>	<b>Mo-3</b>
	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{C}}$
C						
3	-	199,78	199,78	199,80	-	-
5	171,84	171,84	171,84	171,80	141,1	140,9
10	35,68	35,68	35,68	38,80	36,6	36,7
13	42,38	42,38	42,38	42,30	42,4	42,6
CH						
3	71,61	71,61	71,61	-	72,1	72,0
4	123,74	123,74	123,74	124,00	-	-
6	32,42	32,42	32,42	34,20	121,8	121,9
8	31,88	31,88	31,88	35,80	31,8	32,1
9	51,24	51,24	51,24	51,40	50,2	50,3
14	55,98	55,98	55,98	55,90	56,8	56,9
17	55,87	55,87	55,87	56,20	56,2	56,3
20	40,05	40,05	40,05	40,70	40,6	36,3
22	138,15	138,15	-	138,30	138,7	-
23	129,43	129,43	-	129,70	129,6	-
24	51,24	51,24	45,80	54,00	46,1	29,4
25	29,11	29,11	29,11	32,10	29,6	46,1
CH <sub>2</sub>						
1	39,61	39,61	39,61	35,9	37,6	37,5
2	32,04	32,04	32,04	32,2	32,1	31,9
4	-	-	-	-	42,4	42,5
7	34,00	34,00	34,00	33,20	31,8	32,1
11	21,02	21,02	21,02	21,20	21,5	21,3
12	39,61	39,61	39,61	39,60	39,9	39,9
15	24,19	24,19	24,19	24,30	24,4	26,3
16	28,21	28,21	28,21	29,10	29,3	28,5
22	-	-	32,97	-	-	34,2
23	-	-	26,01	-	-	26,3
28	23,05	23,05	23,05	25,60	25,4	23,3
CH <sub>3</sub>						
18	12,27	12,27	12,27	12,30	12,2	12,0
19	19,02	19,02	19,02	17,60	18,9	19,0
21	17,39	17,39	17,39	19,20	21,7	19,2
26	21,17	21,17	21,17	21,30	20,2	20,1
27	19,84	19,84	19,84	21,40	19,8	19,6
28	-	-	18,71	-	-	-
29	11,96	11,96	-	12,40	12,1	12,2

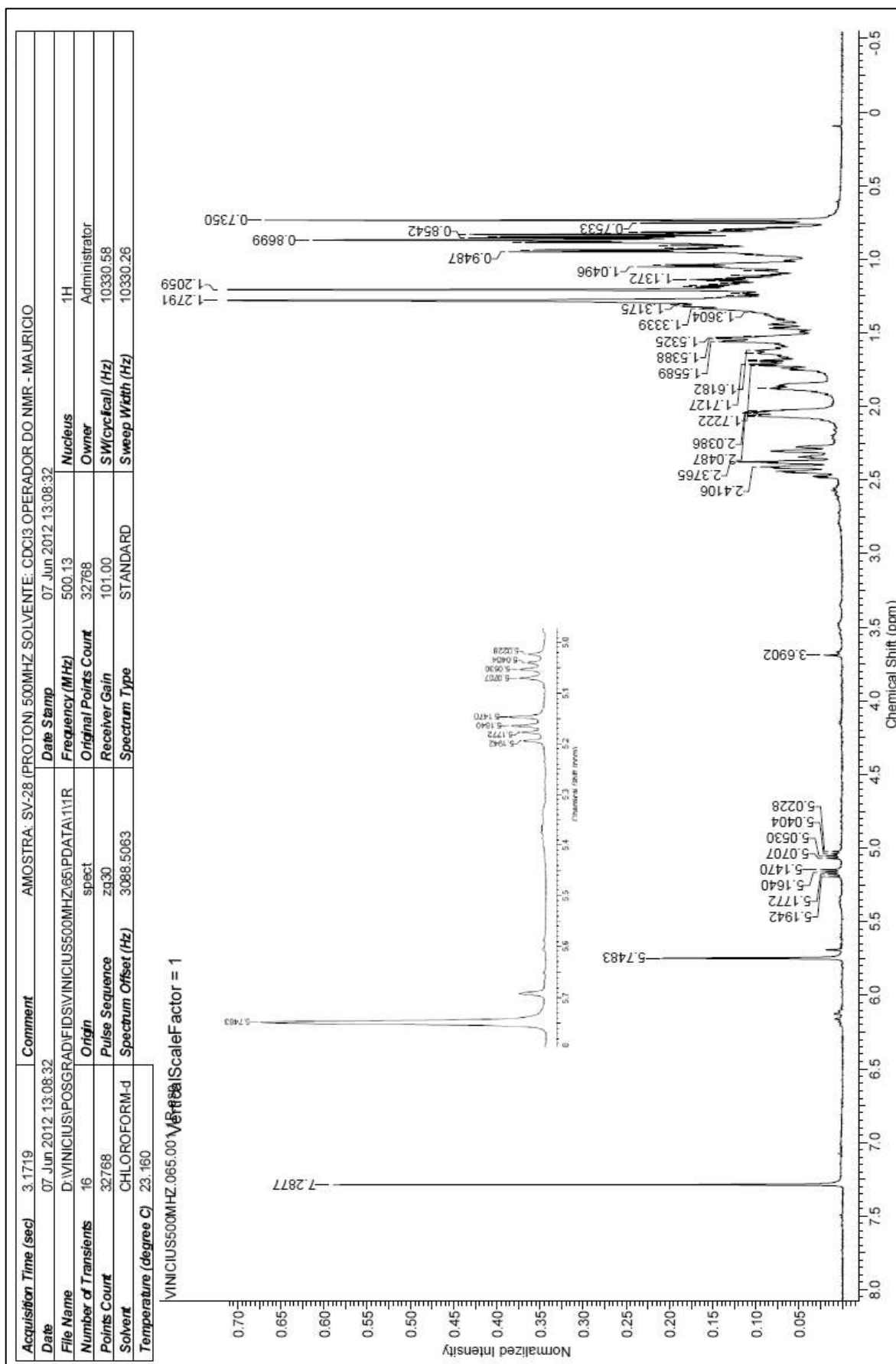


Figura 82: Espectro de RMN<sup>1</sup>H (500 MHz) em CDCl<sub>3</sub> de SV-28

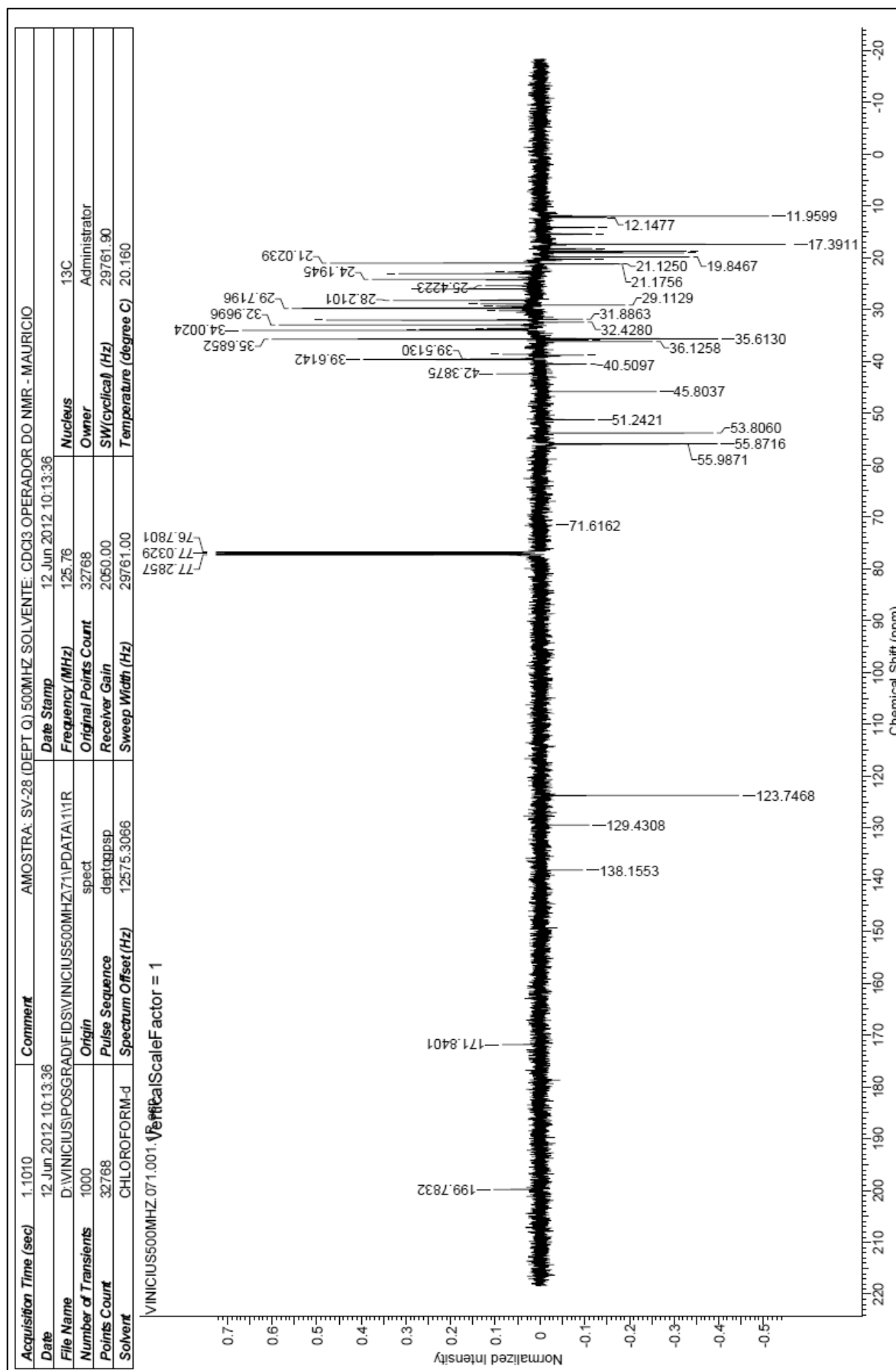


Figura 83: Espectro de RMN<sup>13</sup>C DEPT Q (125 MHz) em CDCl<sub>3</sub> de SV-28



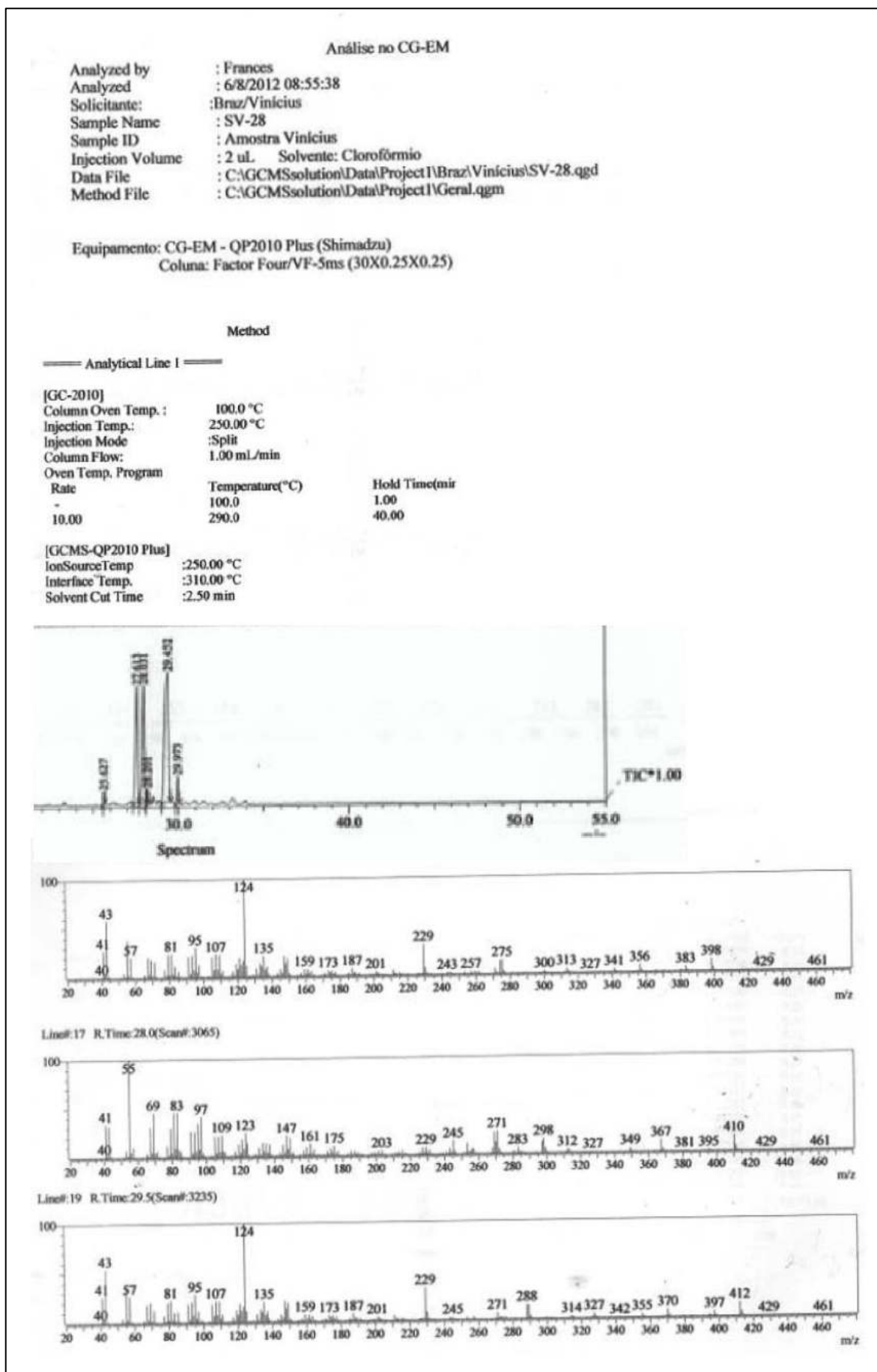
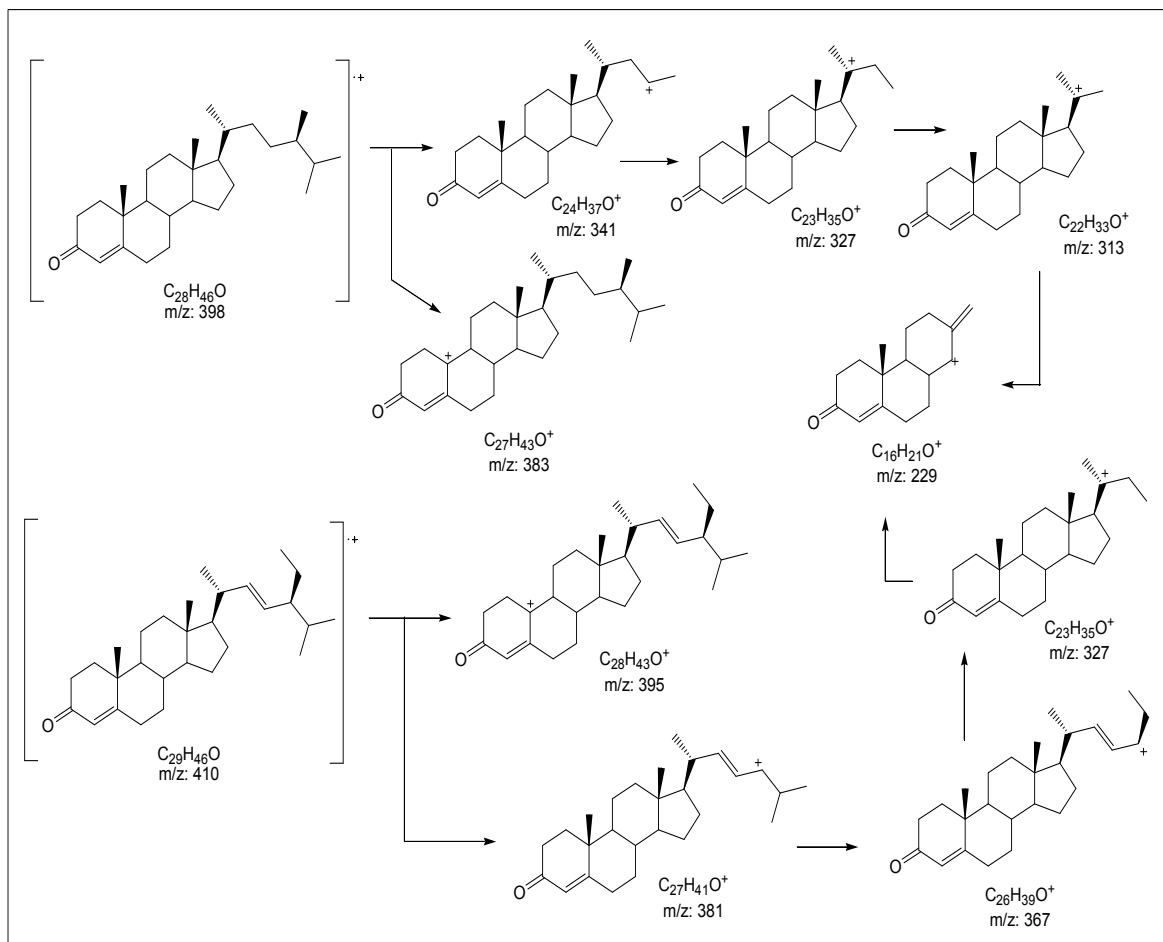
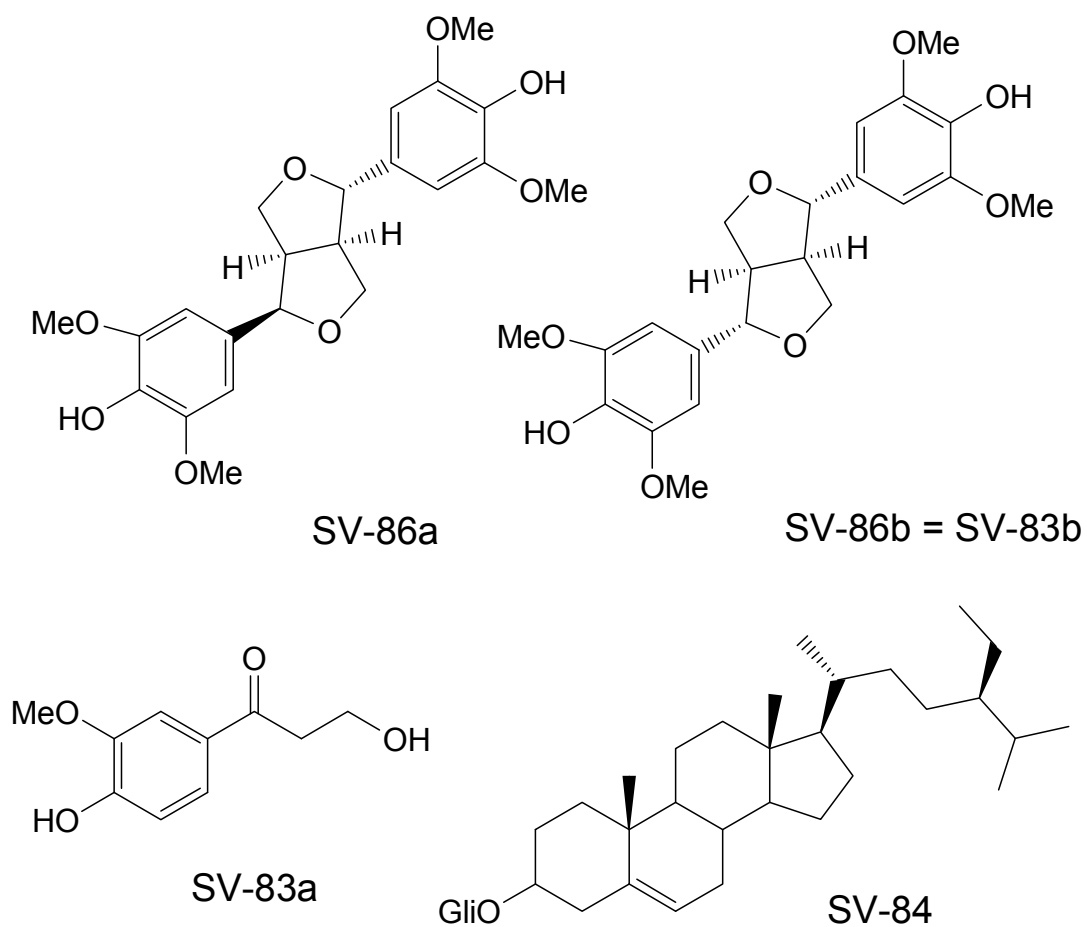


Figura 84: Cromatograma e espectros de massas de SV-28



**Esquema 9:** Proposta mecanística de fragmentação para SV-28

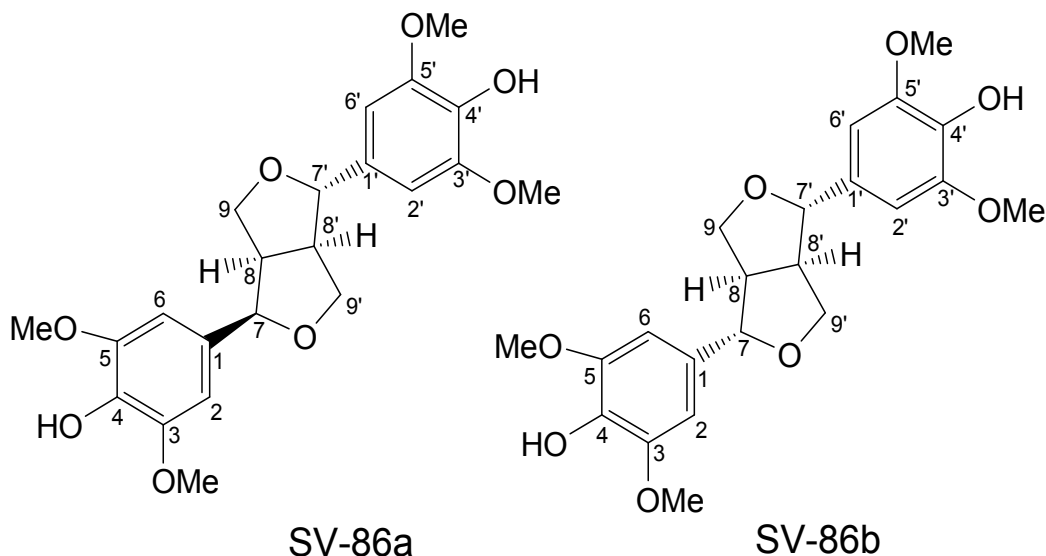
### 6.3 Substâncias identificadas de *Simira walteri*



**Figura 85:** Substâncias isoladas de *Simira walteri*

## 6.4 Determinação estrutural das substâncias de *S. walteri*

### 6.4.1 Identificação da mistura SV-86



A amostra **SV-86** foi obtida do extrato metanólico da madeira de *S. walteri* como um sólido amorfo de coloração amarelada, apresentando coloração escura quando aquecida com vanilina sulfúrica em CCDA.

O espectro de RMN<sup>1</sup>H (Figura 87, pag. 158) apresentou sinais característicos de unidades furofurânicas em  $\delta_{\text{H}}$  4,75 (1H, *d*, 4,0 Hz, H-7b/H-7'b),  $\delta_{\text{H}}$  3,11- 3,13 (1H, *m*, H-8b/H-8'b) e  $\delta_{\text{H}}$  3,90 - 3,92 (2H, *m*, 2H-9b/2H-9'b). O espectro de correlação homonuclear COSY (Figura 89, pag. 160) confirma a presença da unidade furânica pelos acoplamentos de H-8b/H-8'b com H-7b/H-7'b e 2H-9b/2H-9'b. O espectro de RMN<sup>1</sup>H apresentou ainda, um sinpleto em  $\delta_{\text{H}}$  3,89 integrando para 12 hidrogênios, indicando à presença de quatro grupos metoxila. E um sinpleto em  $\delta_{\text{H}}$  6,60 atribuído à hidrogênios aromáticos, sugerindo um plano de simetria na molécula.

A análise do espectro de RMN<sup>13</sup>C DEPT Q (Figura 88, pag. 159) apresentou 8 sinais, cada um correspondendo à dois carbonos, devido a simetria da molécula. A comparação desses dados com dados da literatura, conduziram à fórmula estrutural **SV-86b** (Tabela 27, pag.155).

A subtração dos sinais referentes à **SV-86b** do espectro de RMN<sup>1</sup>H, permitiu a observação de outra unidade furofurânica através dos deslocamentos

$\delta_{\text{H}}$  4,44 (1H, *d*, 7,0 Hz, H-7a),  $\delta_{\text{H}}$  4,88 (1H, *d*, 5,2 Hz, H-7'a),  $\delta_{\text{H}}$  2,99 (1H, *q*, 7,5Hz, H-8a),  $\delta_{\text{H}}$  3,36-3,37 (1H, *m*, H-8'a),  $\delta_{\text{H}}$  3,88-3,89 (2H, *m*, 2H-9a), e  $\delta_{\text{H}}$  3,35 (2H, *s*, 2H-9'a).

Dos sinais restantes, observados no espectro de RMN<sup>13</sup>C DEPT Q (Figura 88, pag. 160), os sinais em  $\delta_{\text{C}}$  129,44 (C-1a/C-1'a) e  $\delta_{\text{C}}$  146,98 (C-3/5a/C-3'/5'a) foram atribuídos com base na comparação com sinais observados para **SV-86b**. Os demais sinais observados, com pequenas variações de valores entre carbonos semelhantes, sugerem uma conformação espacial diferente da observada para **SV-86b**.

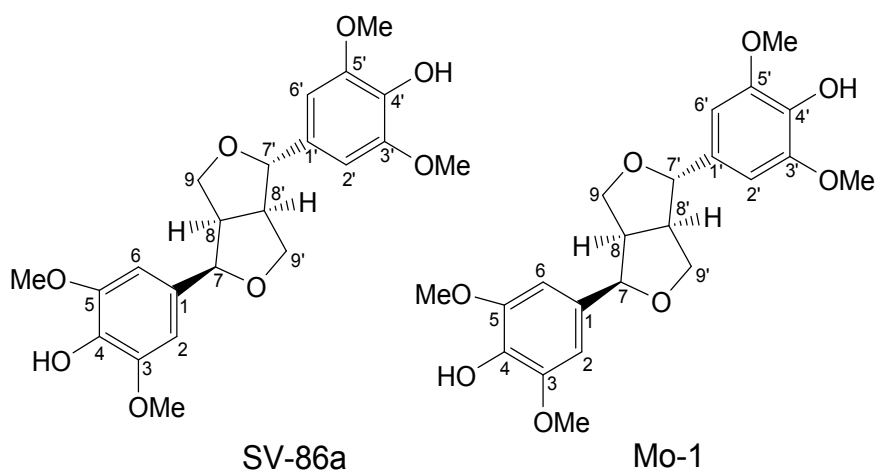
Na análise do espectro de RMN<sup>1</sup>H (Figura 87, pag. 158), a observação das constantes de acoplamento *cis/trans* observadas para os hidrogênios nas H-7/7' do sistema furofurânico, também corrobora para a presença de isômeros na amostra **SV-86** (Tabela 27, pag. 155-156).

O espectro de correlação heteronuclear HSQC (Figura 90, pag. 160) apresentando as correlações à <sup>1</sup>J entre os sinais  $\delta_{\text{CH}}$  102,24 (CH-2/6a) com os hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  6,61 (1H, *s*, H-2a/H-6a); os sinais em  $\delta_{\text{CH}}$  102,73 (CH-2'/6'a) com os hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  6,63 (1H, *s*, H-2'a/H-6'a); o sinal em  $\delta_{\text{CH}}$  87,95 (CH-7a) com o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  4,44(H-7a) e o sinal em  $\delta_{\text{CH}}$  82,21 (CH-7'a) com o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  4,88 (H-7'a) conduziram a fórmula estrutural para SV-86a (Tabela 27, pag. 155).

A análise do espectro de correlação heteronuclear HMBC (Figuras 91 e 92, pag. 161) em adição aos dados observados no espectro de correlação heteronuclear HSQC, para as duas estruturas corroborou para a confirmação da mistura de isômeros **SV-86a** e **SV-86b**.

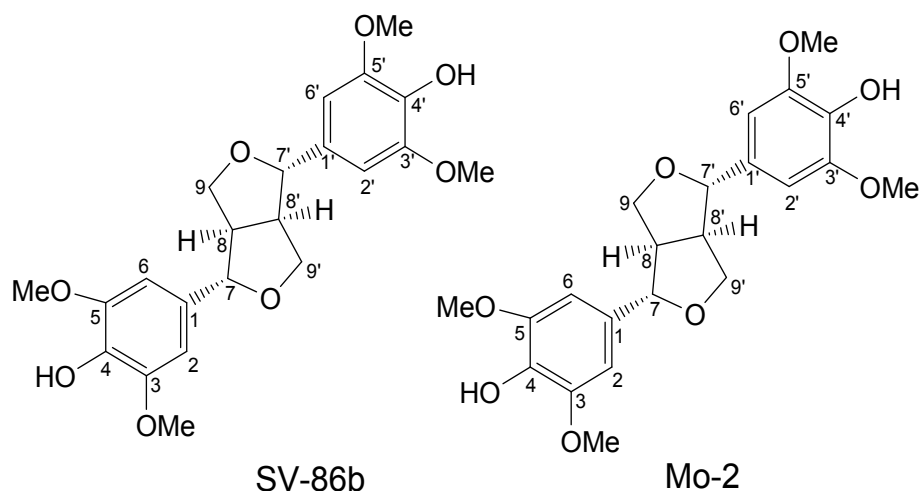
A análise por CG/EM (Figuras 86, pag. 157) apresentou impurezas, no entanto permitiu calcular o íon molecular em *m/z* 418 ([M]<sup>+</sup>), compatível com a fórmula molecular C<sub>22</sub>H<sub>26</sub>O<sub>8</sub>. As propostas para as principais fragmentações observadas encontram-se no Esquema 10, pag 157.

O conjunto desses dados em comparação com os dados de literatura (MAC RAE & TOWERS, 1985) conduziram a identificação de **SV-86a** e **SV-86b** como sendo a mistura de isômeros da lignana siringaresinol (**38**) (SANCHES, 2013), já isolada no gênero, no entanto, pela primeira vez encontrada como mistura de isômeros.



**Tabela 27:** Dados de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz) e  $^{13}\text{C}$  (100 MHz) em  $\text{CDCl}_3$  e as correlações observadas no espectro de HMQC e HMBC da substância **SV-86a**, e comparação com valores da literatura para o modelo **Mo-1**  $^1\text{H}$  (80 MHz) e  $^{13}\text{C}$  (20 MHz) em  $\text{CDCl}_3$  (MAC RAE & TOWERS, 1985). Os valores das constantes de acoplamento ( $J$ ) em Hz estão entre parêntesis. Deslocamentos químicos em ppm.

	HSQC		HMBC		Mo-1	
	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$^2J_{\text{HC}}$	$^3J_{\text{HC}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$
C						
1	129,44	-	H-7		133,89	-
1'	129,44	-	H-7'		136,68	-
3/5	146,98	-	H-2/H-6	OH-4	153,13	-
3'/5'	146,98	-	H-2'/H-6'	OH-4'	153,32	-
4	132,08	-		H-2/H-6	137,00	-
4'	133,98	-	OH-4'	H-2'/H-6'	137,60	-
CH						
2/6	102,24	6,61 (s)		H-2/H-6	102,69	6,57 (s)
2'/6'	102,24	6,63 (s)		H-2'/H-6'; H-8	103,00	6,57 (s)
7	87,95	4,44 (d, 7,0)	H-8	H-2/H-6; H-8'	87,66	4,43 (d, 7,0)
7'	82,21	4,88 (d, 5,2)	H-8'	H-2'/H-6'	82,06	4,84 (d, 5,0)
8	54,60	2,99 (q, 7,5)	H-9	H-9'	54,36	2,95 (m)
8'	50,09	3,36-3,37 (m)	H-9'	H-9	49,90	3,55-3,20
CH <sub>2</sub>						
9	70,89	4,16-4,17 (m)			71,00	3,70-3,40 (m)
		3-88-3,89 (m)		H-7		3,55-3,20 (m)
9'	69,71	3,88-3,89 (m)			69,77	4,25-4,00 (m)
		3,35 (s)		H-7'		4,00-3,70 (m)
MeO						
3/5	56,37	3,92 (s)			56,07	3,88 (s)
3'/5'	56,37	3,92 (s)			56,07	3,88 (s)
4/4'	-	-			60,68	3,86 (s)
OH						
4/4'	-	5,53 (s)			-	-



**Tabela 27 (continuação):** Dados de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz) e  $^{13}\text{C}$  (100 MHz) em  $\text{CDCl}_3$  e as correlações observadas no espectro de HMQC e HMBC da substância **SV-86b**, e comparação com valores da literatura para o modelo **Mo-2**  $^1\text{H}$  (80 MHz) e  $^{13}\text{C}$  (20 MHz) em  $\text{CDCl}_3$  (MAC RAE & TOWERS, 1985). Os valores das constantes de acoplamento ( $J$ ) em Hz estão entre parêntesis. Deslocamentos químicos em ppm.

	HSQC		HMBC		Mo-2	
	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$^2J_{\text{HC}}$	$^3J_{\text{HC}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$
C						
1	129,44	-	H-7		136,66	-
1'	129,44	-	H-7'		136,66	-
3/5	147,14	-	H-2/H-6	OH-4	153,39	-
3'/5'	147,14	-	H-2'/H-6'	OH-4'	153,39	-
4	134,20	-	OH-4	H-2/H-6	137,64	-
4'	134,20	-	OH-4'	H-2'/H-6'	137,64	-
CH						
2/6	102,63	6,60 (s)		H-2/H-6	102,98	6,58 (s)
2'/6'	102,63	6,60 (s)		H-2'/H-6'; H-8	102,98	6,58 (s)
7	86,09	4,75 (d, 4,0)	H-8	H-2/H-6; H-8'	85,88	4,75 (d, 5,5)
7'	86,09	4,75 (d, 4,0)	H-8'	H-2'/H-6'	85,88	4,75 (d, 5,5)
8	54,35	3,12 (m)	H-9	H-9'	54,29	3,08 (m)
8'	54,35	3,12 (m)	H-9'	H-9	54,29	3,08 (m)
CH <sub>2</sub>						
9	71,81	4,29-4,32 (m)			71,91	4,43-4,20 (m)
		3,90-3,92 (m)		H-7		3,97-3,82 (m)
9'	71,81	4,29-4,32 (m)			71,91	4,43-4,20 (m)
		3,90-3,92 (m)		H-7'		3,97-3,82 (m)
MeO						
3/5	56,37	3,89 (s)			56,16	3,86 (s)
3'/5'	56,37	3,89 (s)			56,16	
4/4'	-	-	-	-	60,73	3,83 (s)
OH						
4/4'	-	5,53 (s)	-	-		

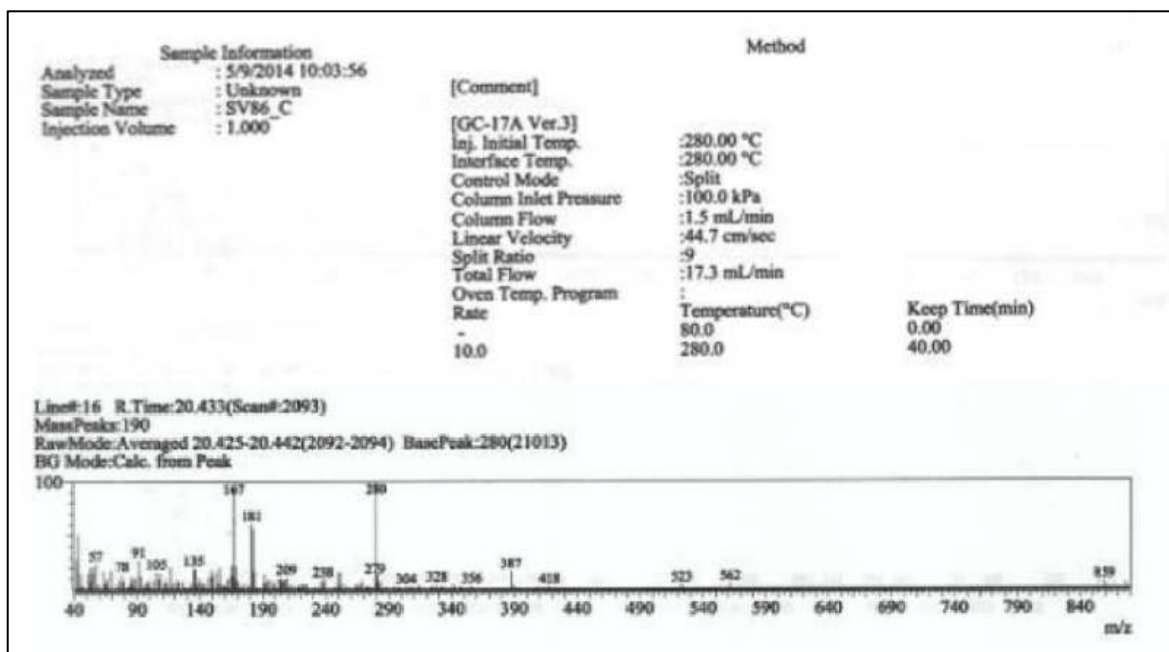
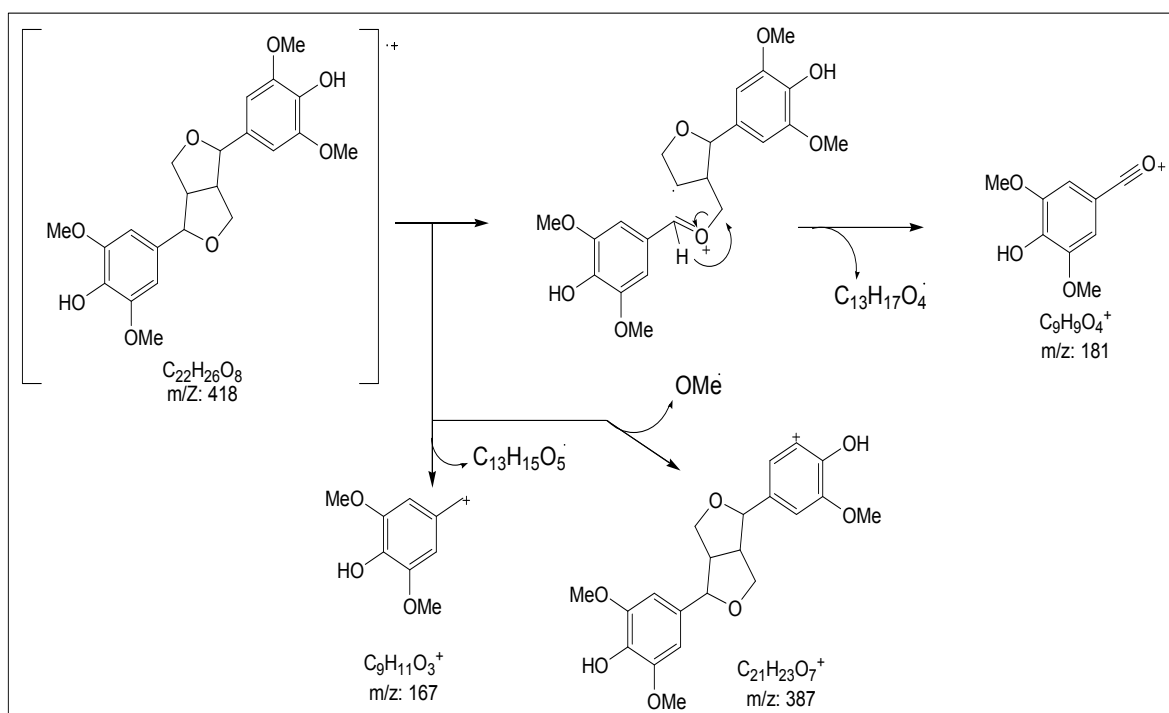


Figura 86: Espectro de massas de SV-86



Esquema 10: Proposta mecanística de fragmentação para SV-86



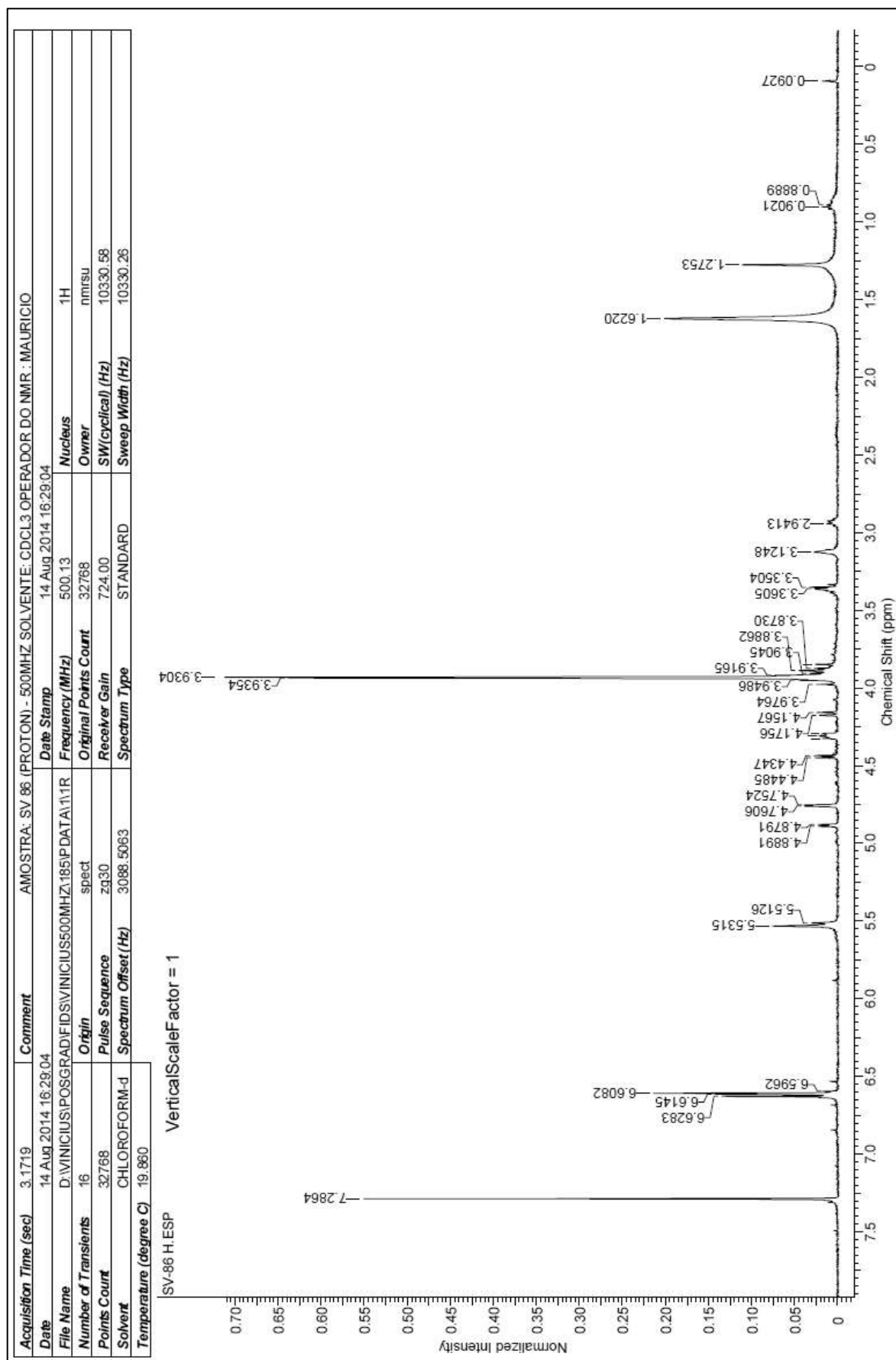


Figura 87: Espectro de RMN<sup>1</sup>H (500 MHz) em CDCl<sub>3</sub> de SV-86

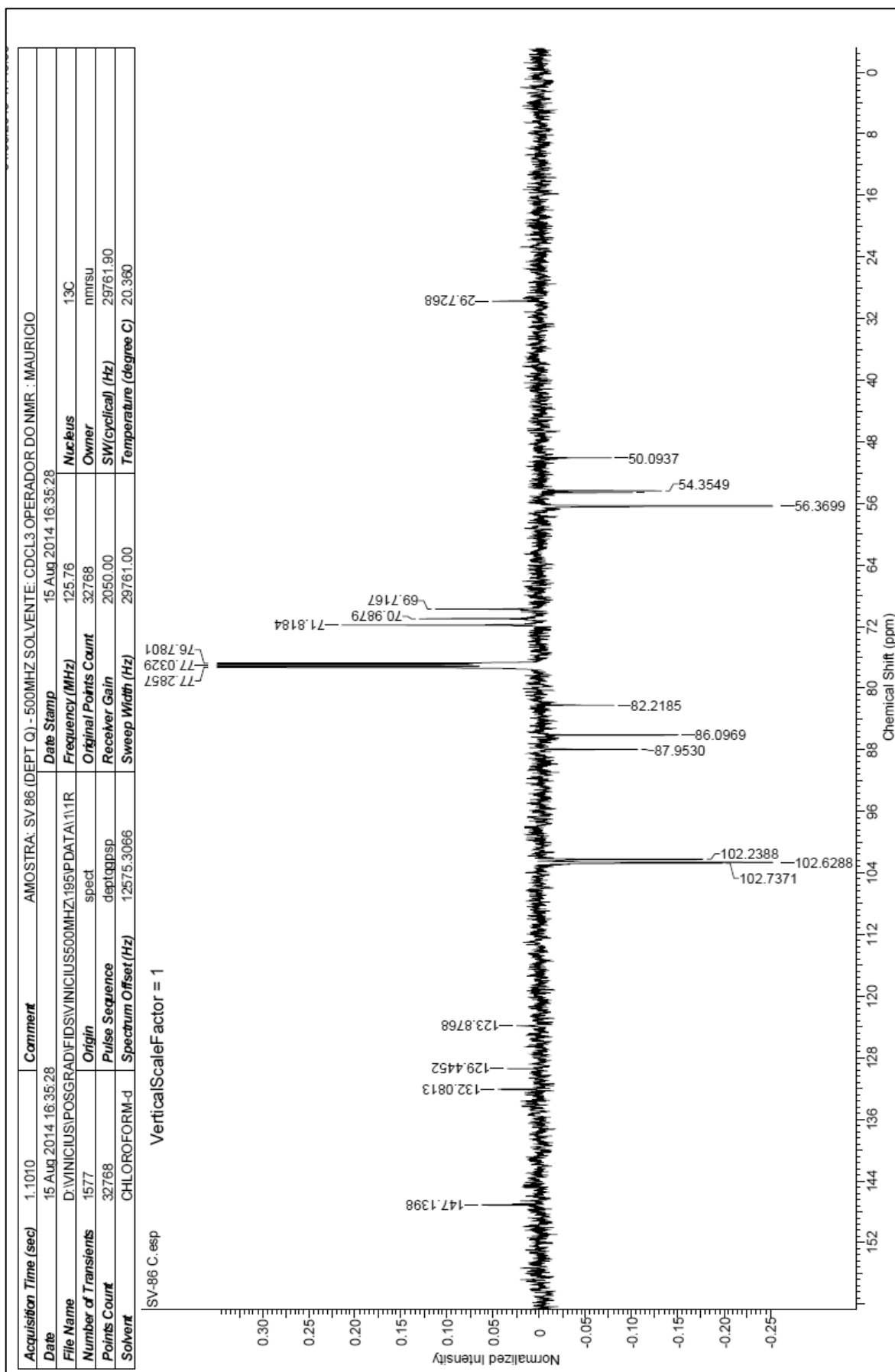


Figura 88: Espectro de RMN<sup>13</sup>C DEPT Q (125 MHz) em CDCl<sub>3</sub> de SV-86

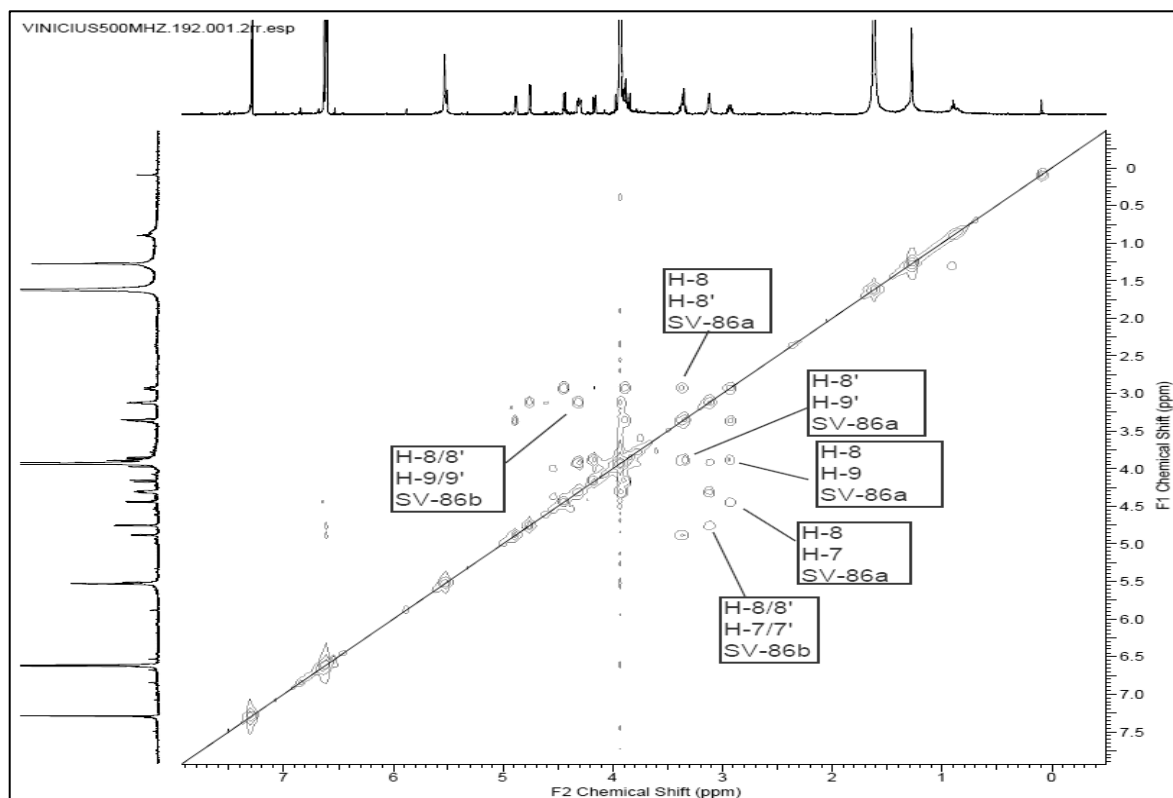


Figura 89: Espectro de correlação homonuclear  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY em  $\text{CDCl}_3$  de SV-86

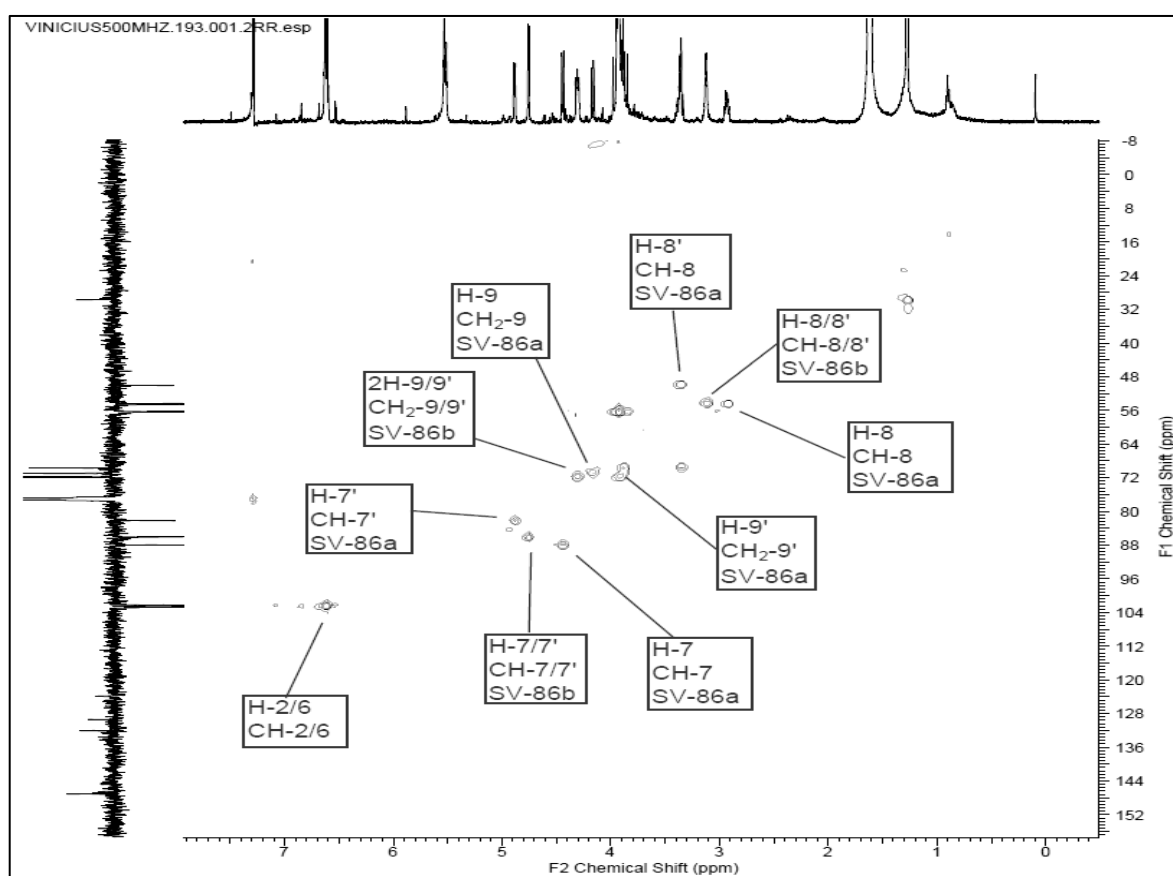


Figura 90: Espectro de correlação heteronuclear HSQC em  $\text{CDCl}_3$  de SV-86

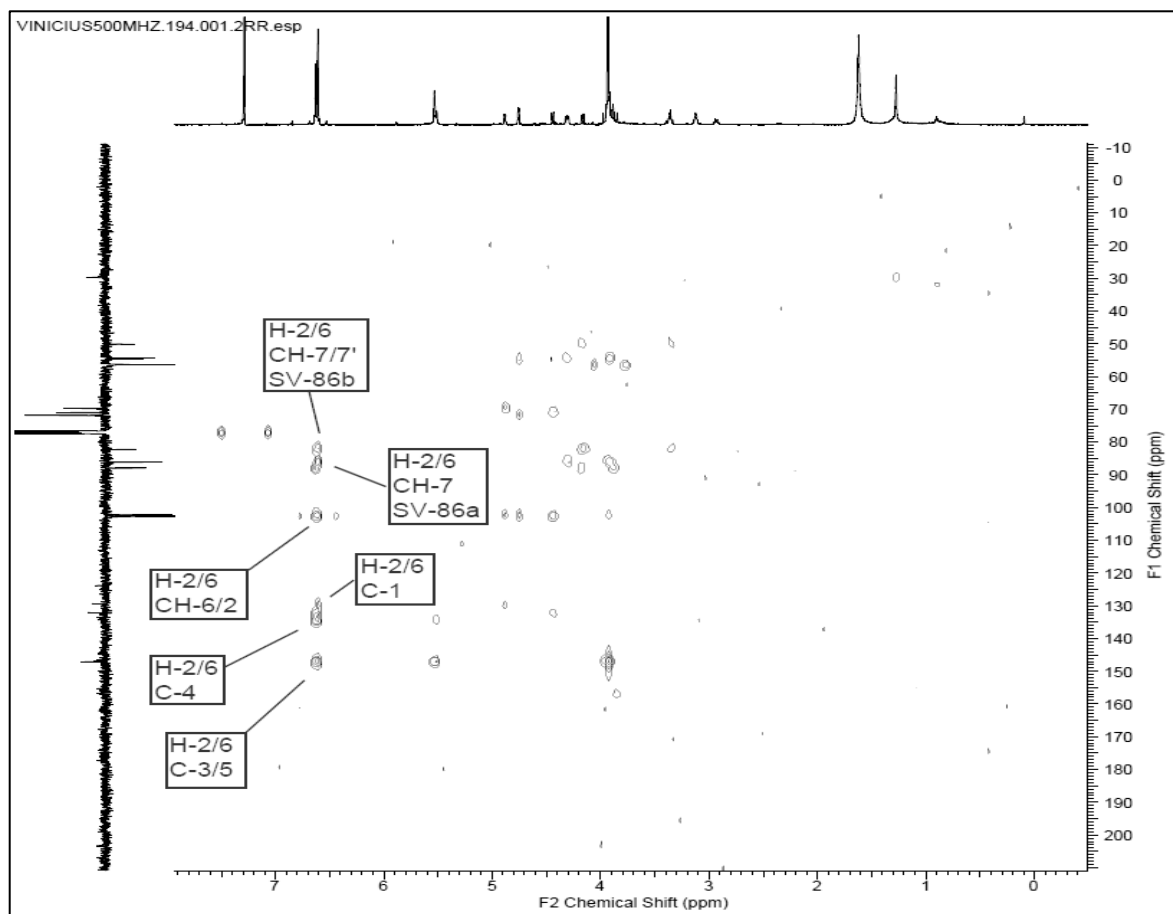


Figura 91: Espectro de correlação heteronuclear HMBC em  $\text{CDCl}_3$  de **SV-86**

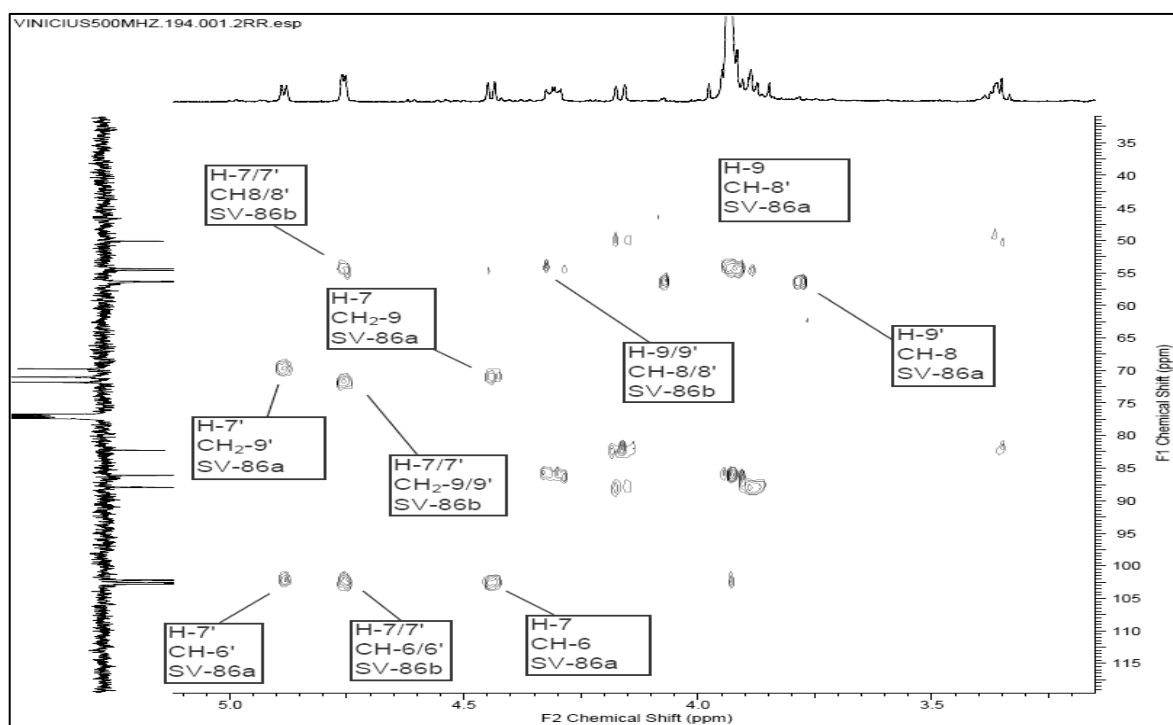
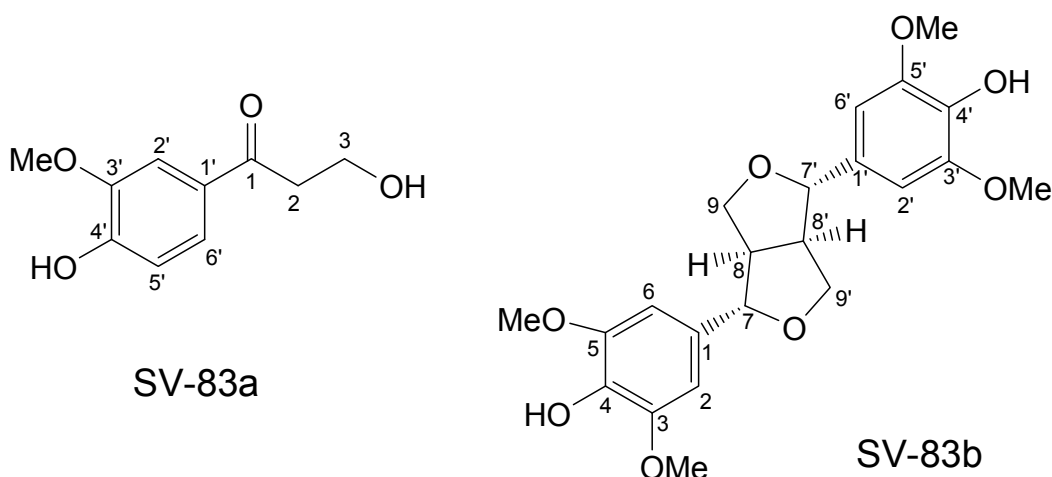


Figura 92: Ampliação do espectro de correlação heteronuclear HMBC em  $\text{CDCl}_3$  de **SV-86**

### 6.4.2 Identificação da mistura SV-83



A amostra **SV-83** foi obtida do extrato metanólico da madeira de *S. walteri*, apresentando-se como um sólido amorfo. A análise dos dados espectrométricos permitiu a identificá-la como a misturas de duas substâncias.

#### 6.4.2.1 Determinação estrutural de SV-83a

A análise do espectro de RMN<sup>1</sup> H (Figura 93, pag. 165) permitiu a observação dos sinais de hidrogênios aromáticos em  $\delta_{\text{H}}$  7,56 (1H, *d*, 1,9Hz, H-2'),  $\delta_{\text{H}}$  6,98 (1H, *d*, 7,9Hz, H-5') e  $\delta_{\text{H}}$  7,57 (1H, *dd*, 1,9, 7,9Hz, H-6'), sugerindo um anel aromático trissubstituído. As correlações desses hidrogênios no espectro de correlação homonuclear <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY (Figura 95, pag. 167) corroboram para a proposição deste tipo de anel aromático.

As análises do espectro de RMN<sup>13</sup> C DEPT Q (Figura 94, pag. 166) e do espectro de correlação heteronuclear HSQC (Figura 96, pag. 167) permitiram identificar as correlações à <sup>1</sup>J entre os sinais do carbono aromáticos em  $\delta_{\text{C}}$  109,59 (CH-2') com o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  7,56 (H-2'), do carbono em  $\delta_{\text{CH}}$  113,96 (CH-5') com o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  6,98 (H-5') e do carbono em  $\delta_{\text{CH}}$  123,69 (CH-6') com o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  7,57 (H-6'), confirmando o anel aromático com três substituições. Além disso, pode-se observar as correlações dos carbonos metilênicos em  $\delta_{\text{CH}_2}$  39,78 (CH<sub>2</sub>-2) com os hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  3,21 (2H, *t*, 5,3Hz, H-8) e  $\delta_{\text{CH}_2}$  58,35 (CH<sub>2</sub>-3) com os hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  4,04 (2H, *t*, 5,3Hz, H-3), este ultimo característico de carbono próximo a grupo hidroxila. Também foi possível

observar um sinal referente a carbono de grupo metoxila em  $\delta_C$  56,35 correlacionando-se com os hidrogênios em  $\delta_H$  3,98 (3H, s, 3H-MeO).

A análise do espectro de correlação heteronuclear HMBC (Figura 97, pag. 168) permitiu as correlações à  $^2J$  entre os sinais do carbono em  $\delta_C$  146,87 (C-3') com o hidrogênio em  $\delta_H$  7,56 (H-2'), entre o carbono em  $\delta_{CH_2}$  39,78 (CH<sub>2</sub>-2) com o hidrogênio em  $\delta_H$  4,04 (2H-3) e entre o carbono em  $\delta_{CH_2}$  58,35 (CH<sub>2</sub>-3) com o hidrogênio em  $\delta_H$  3,21 (2H-2). E as correlações à  $^3J$  entre os sinais do carbono em  $\delta_C$  146,87 (C-3') com o hidrogênio em  $\delta_H$  6,98 (H-5') e os hidrogênios do grupo metoxila, entre o carbono em  $\delta_C$  150,52 (C-4') com os hidrogênios H-2', H-6' e 2H-3. As demais correlações encontram-se na Tabela 28, pag. 164.

O conjunto desses dados e a comparação com dados da literatura (BADERSCHNEIDER & WINTERHALTER, 2001) permitiram identificar o componente **SV-83a** da mistura **SV-83** como sendo a o fenilpropanoide 3-hidroxi-1-(4-hidroxi-3-metoxi-fenil)-propan-1-ona.

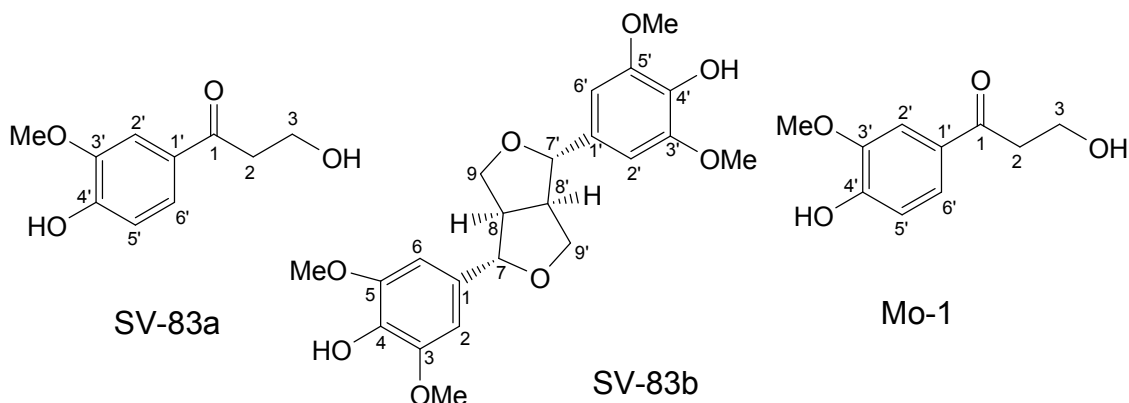
#### 6.4.2.2 Determinação estrutural de SV-83b

A subtração dos sinais referentes à **SV-83a** dos espectros de RMN<sup>1</sup> H e <sup>13</sup> C, permitiu a observação de sinais referentes a outra substancia, **SV-83b**, com a presença de uma unidade furofurânica, observada através dos deslocamentos  $\delta_H$  5,72 (1H, *d*, 7,1 Hz, H-7b/H-7'b),  $\delta_H$  3,74 (1H, *m*, H-8b/H-8'b) e  $\delta_H$  3,83-3,84 (2H, *m*, 2H-9b/2H-9'b), observados no espectro de RMN<sup>1</sup> H (Figura 93, pag. 165). O espectro de correlação homonuclear <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY (Figura 95, pag. 167), corrobora para a unidade furânica através dos acoplamentos entre os hidrogênios H-7b/H-7'b e H-8b/H-8'b.

O singleto em  $\delta_H$  3,91 integrando para 12 hidrogênios indica a presença de quatro grupos metoxila. E o singleto em  $\delta_H$  6,52, atribuído a hidrogênios aromáticos, sugerem um plano de simetria na molécula.

A análise do espectro de RMN<sup>13</sup>C DEPT Q (Figura 94, pag. 166) apresentou 8 sinais, cada um correspondendo à dois carbonos, devido a simetria da molécula. E as análises dos espectros de correlações heteronucleares HSQC (Figura 96, pag. 167) e HMBC (Figura 97, pag. 168), juntamente com a comparação com os dados obtidos para SV-86 e da literatura, permitiram a

identificação da substância **SV-83b**, como sendo a lignana siringaresinol, semelhante ao isômero **SV-86b** (SANCHES, 2013) (Tabela 28, pag. 164).



**Tabela 28:** Dados de RMN RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz) e  $^{13}\text{C}$  (125 MHz) em  $\text{CDCl}_3$  da mistura **SV-83** e as correlações observadas no espectro de HMQC e HMBC para **SV-83a**, e comparação com valores da literatura pra o modelo **Mo-1**  $^1\text{H}$  (300 MHz) em MeOD (BADERSCHNEIDER & WINTERHALTER, 2001). Os valores das constantes de acoplamento ( $J$ ) em Hz estão entre parêntesis. Deslocamentos químicos em ppm.

	Sv-83a				Sv-83b		Mo-1
	HSQC		HMBC		$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{H}}$
	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$^2J_{\text{HC}}$	$^3J_{\text{HC}}$			
C							
1	199,11	-	2H-2	H-2'; H-6'; 2H-3	126,94	-	-
3	-	-	-	-	147,24	-	-
4	-	-	-	-	134,42	-	-
5	-	-	-	-	147,24	-	-
1'	129,56	-	-	-	-	-	-
3'	146,87	-	H-2'	H-5'; MeO-3'	-	-	-
4'	150,52	-	H-3'	H-2'; H-6'	-	-	-
CH							
2	-	-	-	-	104,86	6,52 (s)	-
5	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	104,86	6,52 (s)	-
2'	109,59	7,56 (d, 1,9)	-	H-6'	-	-	7,55 (d, 2,0)
5'	113,96	6,98 (d, 7,9)	-	-	-	-	6,87 (d, 8,0)
6'	123,69	7,57 (dd, 7,9, 1,9)	-	H-2'	-	-	7,58 (dd, 8,0, 2,0)
7/7'	-	-	-	-	89,48	5,72 (d, 7,1)	-
8/8'	-	-	-	-	53,87	3,74 (s)	-
CH <sub>2</sub>							
2	39,78	3,21 (t, 5,3)	2H-3	-	-	-	3,16 (t, 6,5)
3	58,35	4,04 (t, 5,3)	2H-2	-	-	-	3,94 (t, 6,5)
8	-	-	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	64,71	4,14(dd, 11,4, 8,9) 3,83-3,84 (m)	-
MeO-3	-	-	-	-	56,10	3,91 (s)	-
MeO-3'	56,35	3,98 (s)	-	-	-	-	3,91 (s)
MeO-4'	-	-	-	-	-	-	-

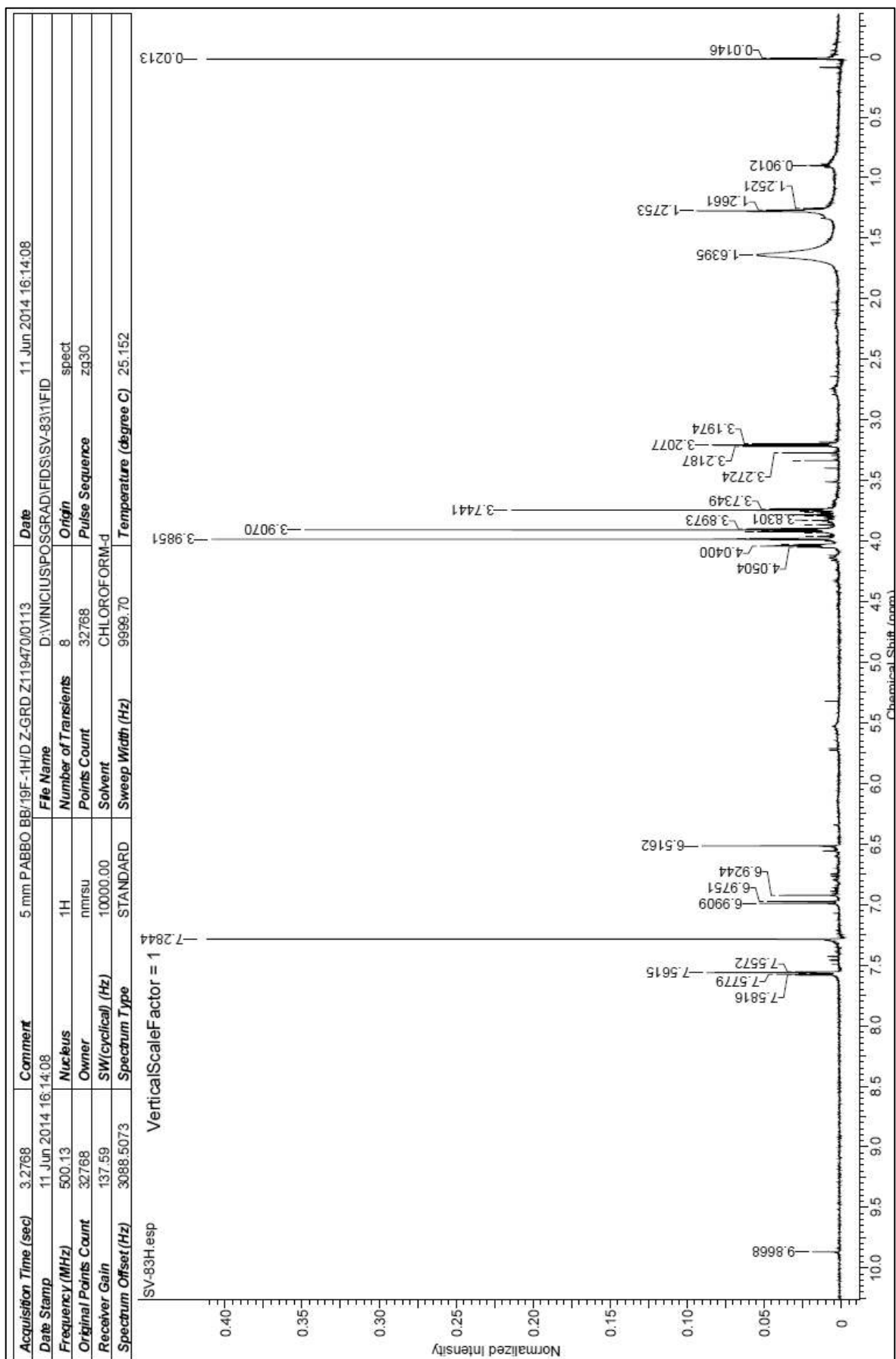


Figura 93: Espectro de RMN<sup>1</sup>H (500 MHz) em CDCl<sub>3</sub> de SV-83



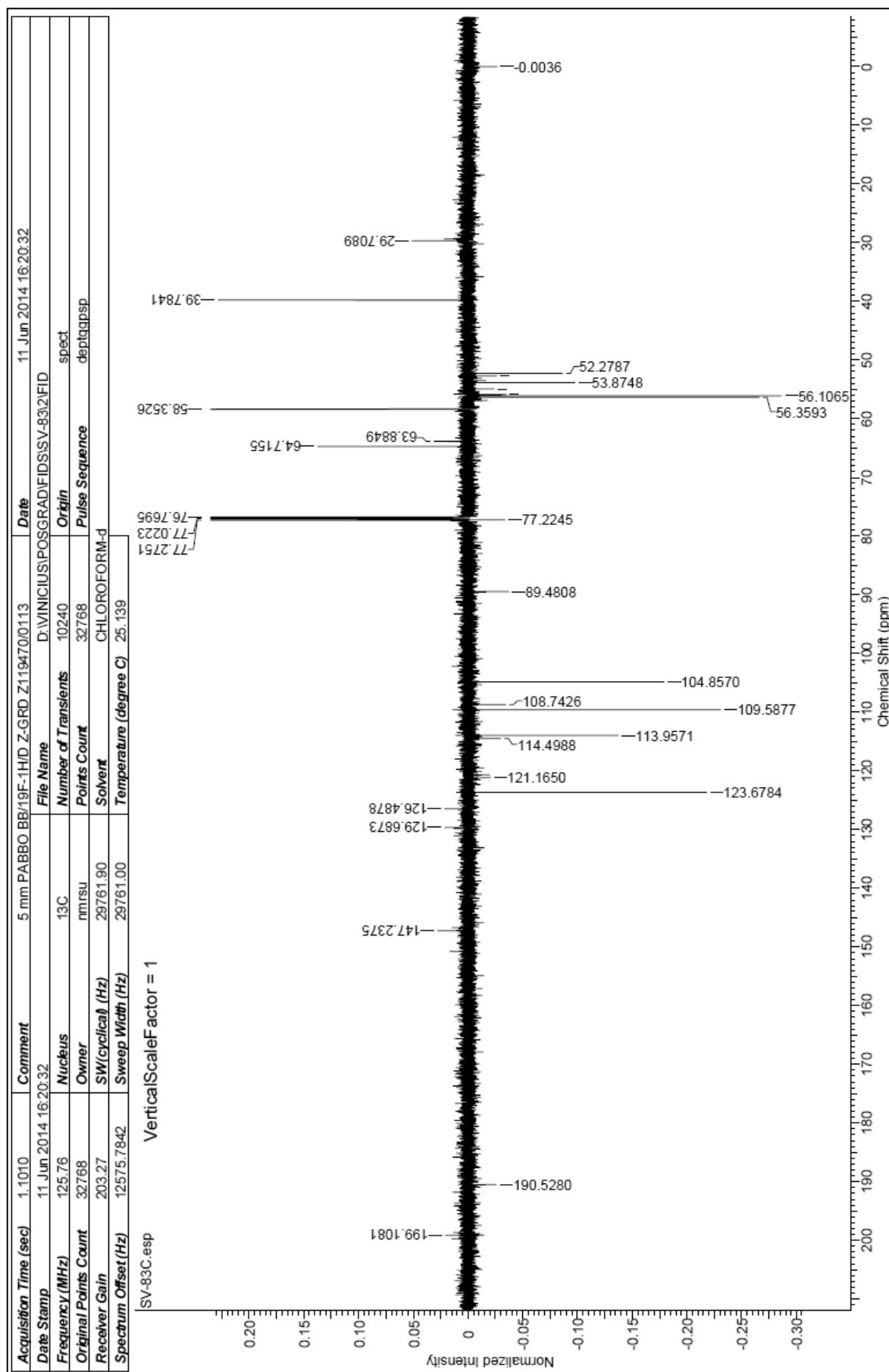


Figura 94: Espectro de RMN<sup>13</sup>C DEPT Q (125 MHz) em CDCl<sub>3</sub> de SV-83

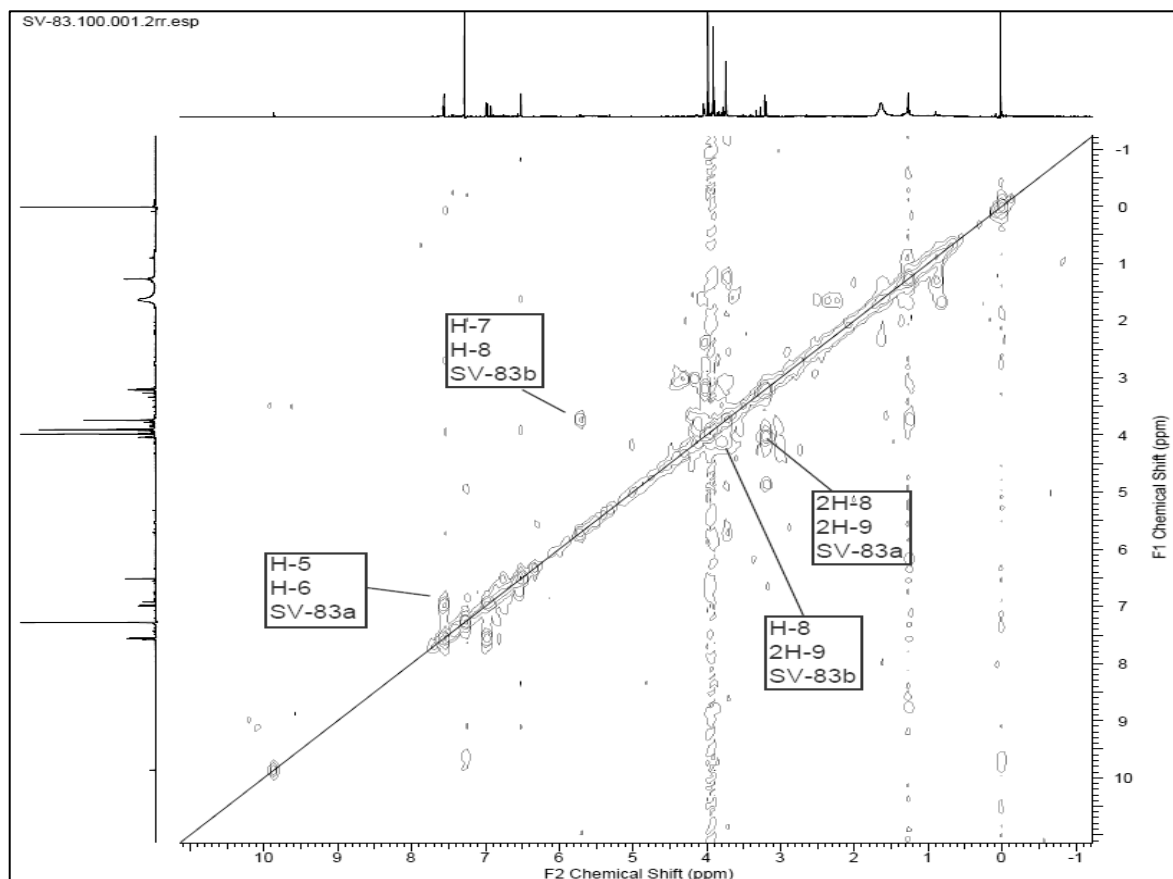


Figura 95: Espectro de correlação homonuclear  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY em  $\text{CDCl}_3$  de SV-83

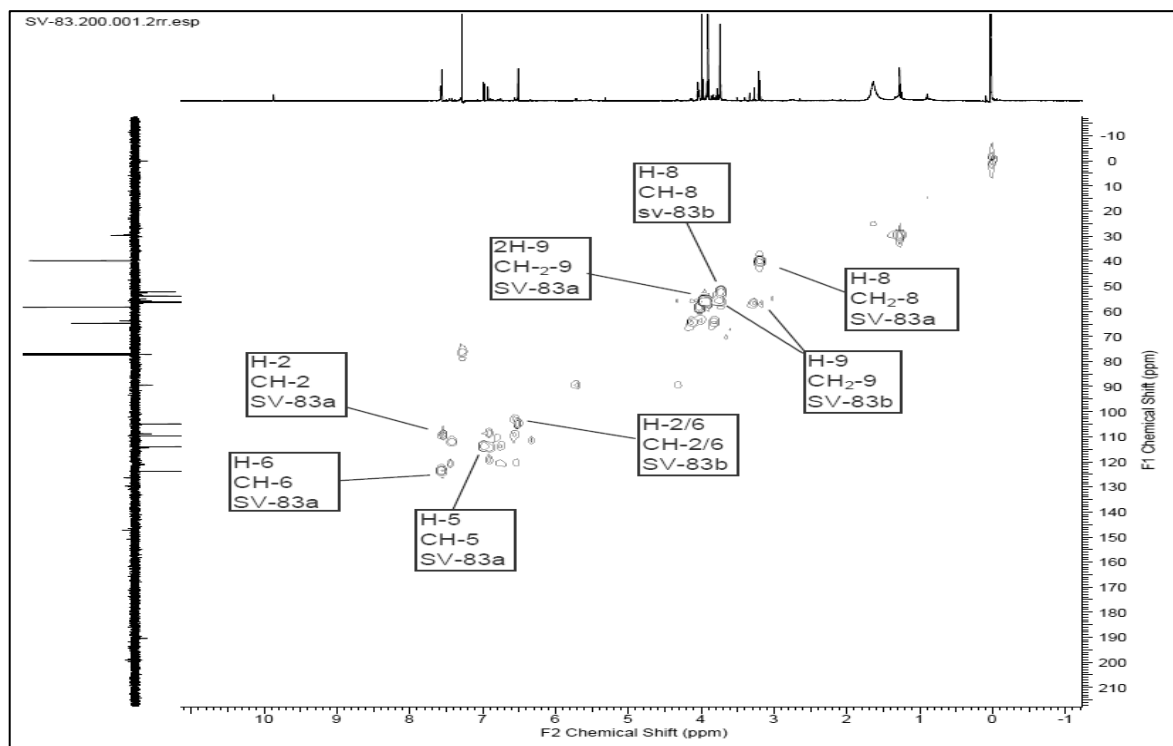


Figura 96: Espectro de correlação heteronuclear HSQC em  $\text{CDCl}_3$  de SV-83

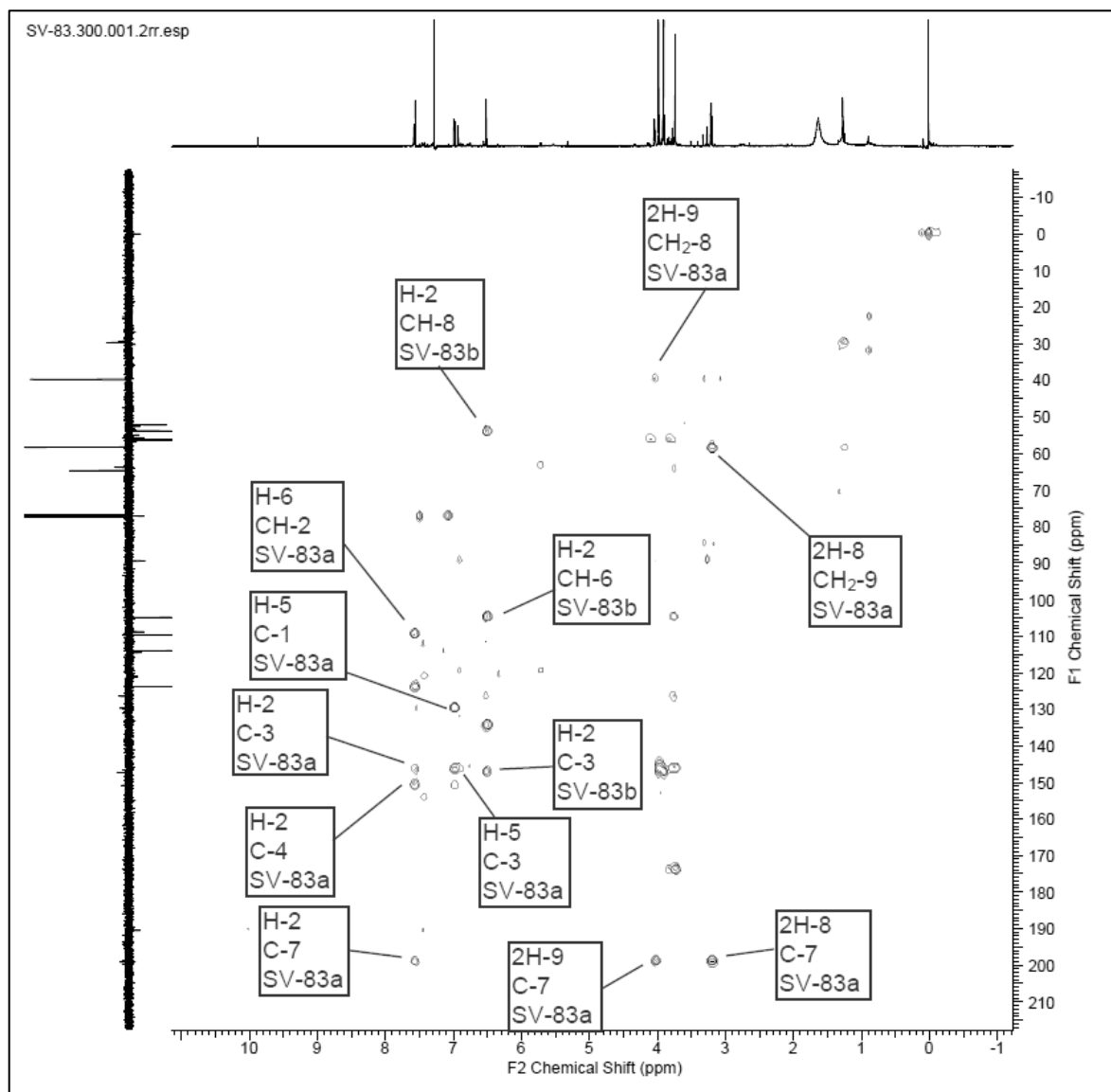
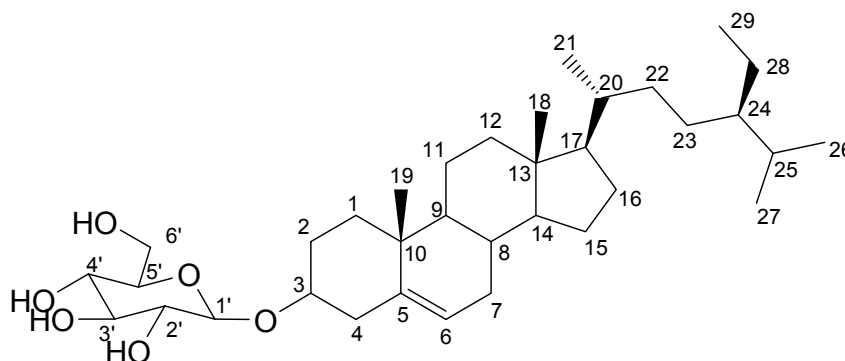


Figura 97: Espectro de correlação heteronuclear HMBC em  $\text{CDCl}_3$  de **SV-83**

### 6.4.3 Identificação da substancia SV-84

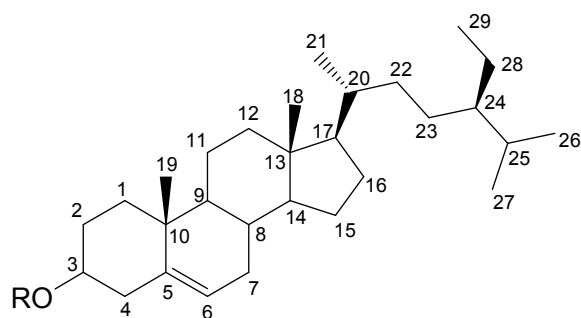


A amostra **SV-84** foi obtida do extrato metanólico da madeira de *S. walteri*, na forma de um cristal esbranquiçado, solúvel em piridina e de coloração roxa quando aquecida com vanilina sulfúrica em CCDA.

A análise do espectro de RMN<sup>1</sup>H (Figura 98, pag. 171) da amostra apresentou um grande acúmulo de sinais intensos na região de  $\delta_{\text{H}}$  0,50 a 2,55 característicos de um esqueleto esteroidal, e um sinal em  $\delta_{\text{H}}$  5,34 referente ao hidrogênio da insaturação. Observou-se ainda, um sinal em  $\delta_{\text{H}}$  5,04, característico de hidrogênio ligado a carbono anomérico de unidade glicosídica, que sugere a presença de uma unidade de açúcar.

Tendo em vista que o esqueleto básico é o mesmo para os principais esteroides, o espectro de RMN<sup>13</sup>C DEPT Q (Figura 99, pag. 172) apresentou sinais característicos de carbono carbinólico em  $\delta_{\text{CH}}$  77,87 (CH-3), e sinais de carbonos insaturados em  $\delta_{\text{C}}$  140,68 (C-5) e  $\delta_{\text{CH}}$  121,70 (CH-6). E também os sinais observados na região de  $\delta_{\text{CH}}$  62,63 a 78,40, e o sinal em  $\delta_{\text{CH}_2}$  102,36, característicos de unidade glicosídica.

O conjunto desses dados e a comparação com dados da literatura permitiram identificar a substancia **SV-84** como sendo o esteroide O- $\beta$ -D-glicopiranosilsterol (MACARI et al.,1990; CHATURVEDULA & PRAKASH, 2012) (Tabela 29, pag. 170).



**SV-84** = R= Glic

**Mo-1** = R= Glic

**Mo-2** = R= H

**Tabela 29:** Dados de RMN RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz) em piridina- $d_5$  da substância **SV-84** e comparação com valores de literatura para os modelos **Mo-1**  $^{13}\text{C}$  (20 MHz) em  $\text{CDCl}_3$  (MACARI et al., 1990) e **Mo-2**  $^{13}\text{C}$  (600 MHz) em  $\text{CDCl}_3$  (CHATURVEDULA & PRAKASH, 2012). Os valores das constantes de acoplamento ( $J$ ) em Hz estão entre parêntesis. Deslocamentos químicos em ppm.

	<b>SV-84</b>	<b>Mo-1</b>	<b>Mo-2</b>
	$\delta_c$	$\delta_c$	$\delta_c$
C			
5	140,68	140,3	140,9
10	37,27	36,5	36,7
13	42,27	42,3	42,6
CH			
3	77,87	80,0	72,0
6	121,70	122,0	121,9
8	31,85	31,8	32,1
9	50,13	50,2	50,3
14	56,61	56,7	56,9
17	56,03	56,1	56,3
20	36,18	36,0	36,3
24	45,83	45,8	46,1
25	29,26	29,1	29,4
CH <sub>2</sub>			
1	36,72	37,2	37,5
2	30,05	29,5	31,9
4	39,74	38,9	42,5
7	31,97	31,8	32,1
11	21,07	20,9	21,3
12	39,13	39,7	39,9
15	24,30	24,2	26,3
16	28,33	28,1	28,5
22	34,00	34,0	34,2
23	26,18	26,0	26,3
28	23,18	23,0	23,3
CH <sub>3</sub>			
18	11,95	11,9	12,0
19	18,80	19,2	19,0
21	19,00	18,7	19,2
26	19,76	19,7	20,1
27	19,21	18,9	19,6
29	11,76	11,0	12,2
Gli			
1'	102,36	99,6	-
2'	75,13	71,7	-
3'	78,28	73,0	-
4'	71,48	68,7	-
5'	78,40	71,5	-
6'	62,63	61,9	-

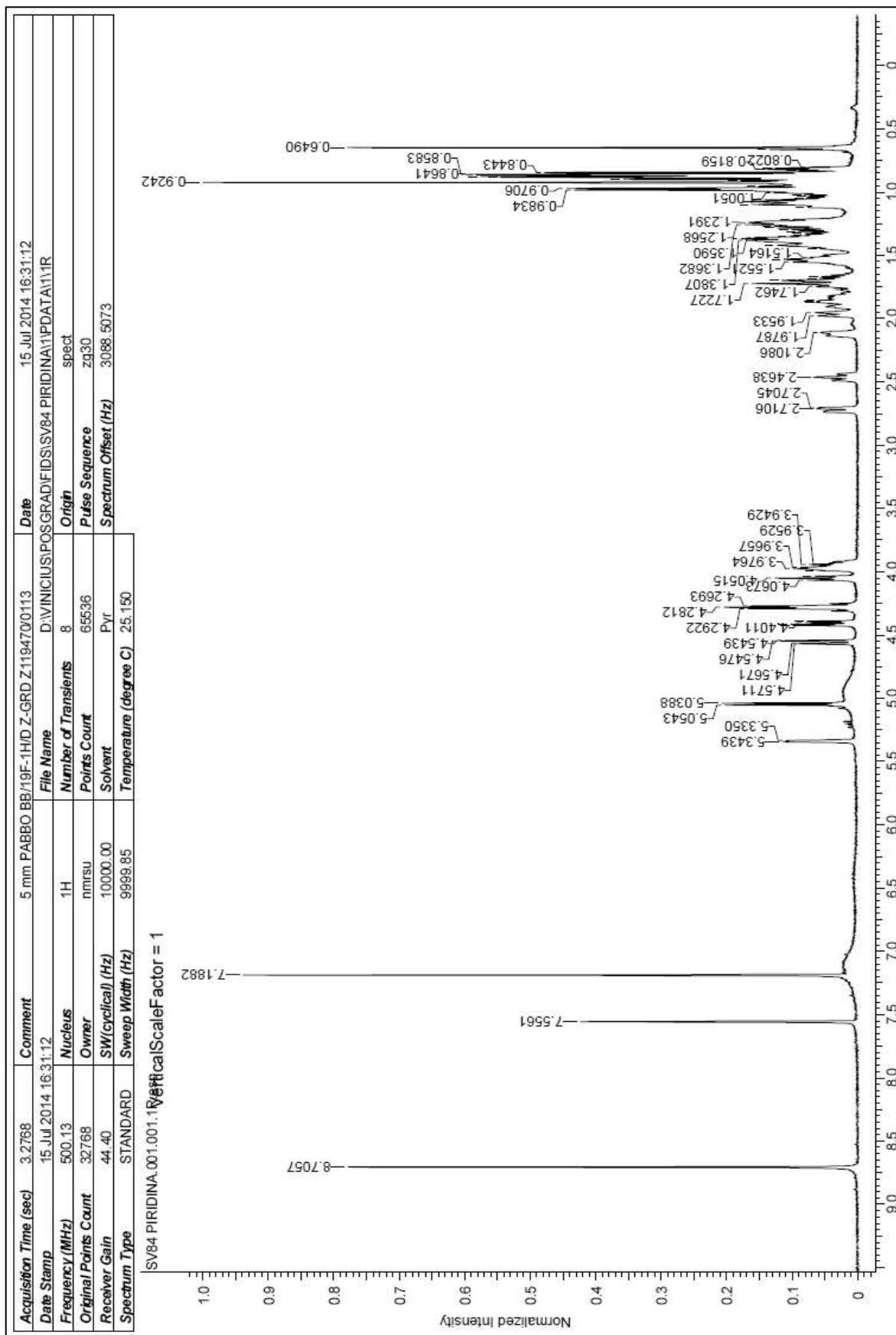


Figura 98: Espectro de RMN<sup>1</sup>H (500 MHz) em C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N de SV-84

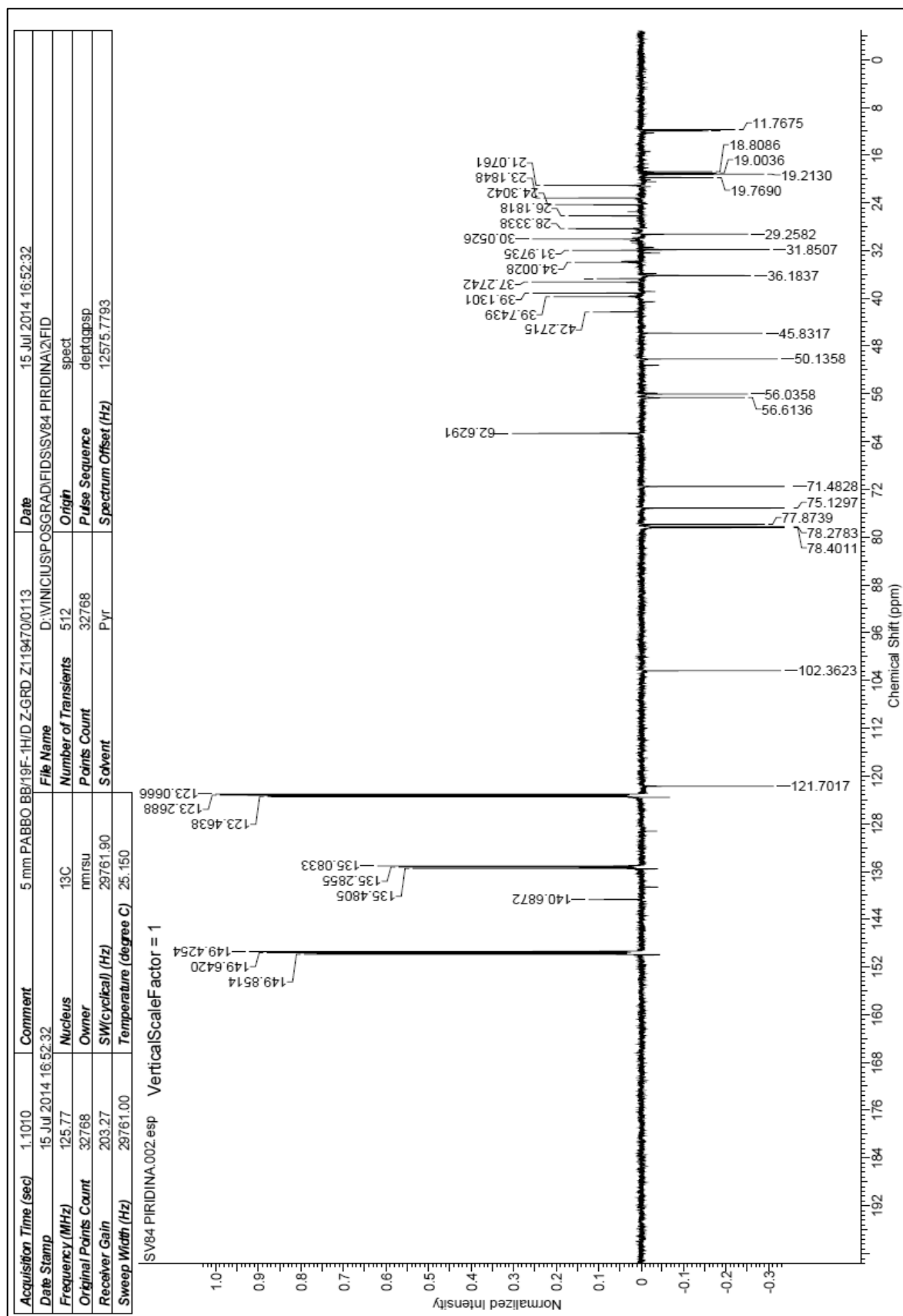
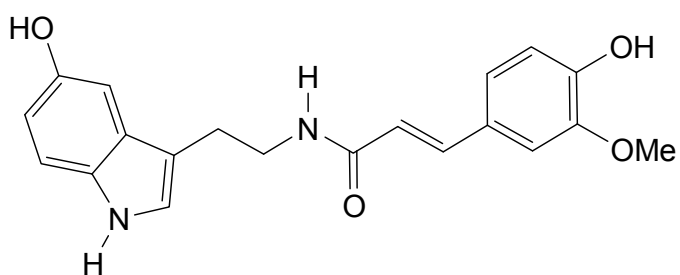
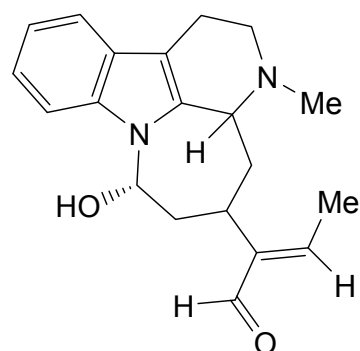


Figura 99: Espectro de RMN<sup>13</sup>C DEPT Q (125 MHz) em C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N de SV-84

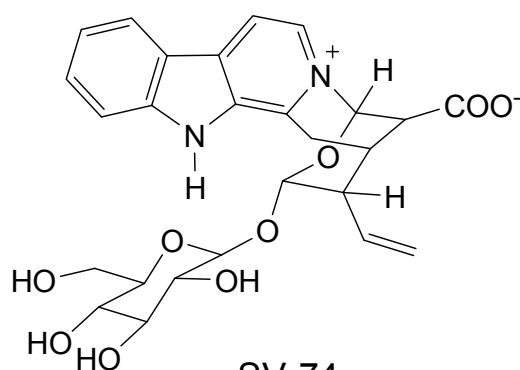
### 6.5 Substâncias identificadas de *Simira pikia*



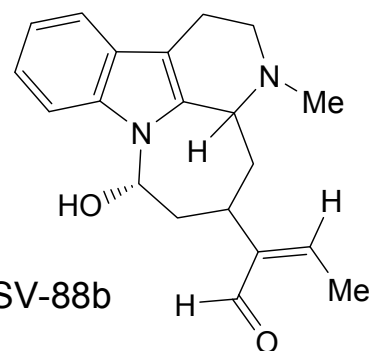
SV-67= SV-92 = SV-97 = SV-99



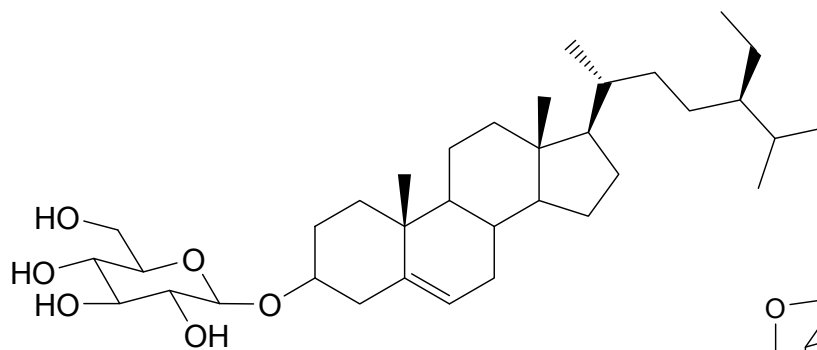
SV-88a =SV-94



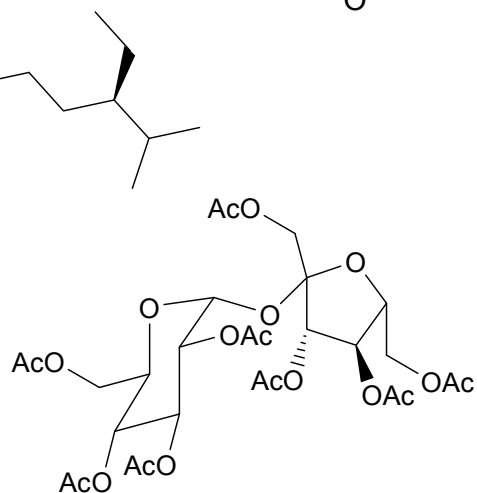
SV-74



SV-88b



SV-100



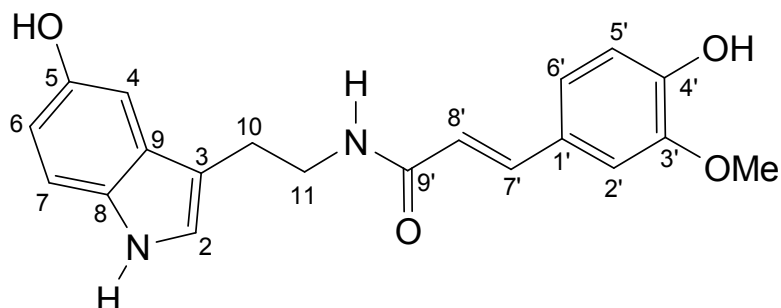
SV-103Ac

**Figura 100:** Substâncias isoladas de *Simira pikia*



## 6.6 Determinação estrutural das substâncias de *S. pikia*

### 6.6.1 Identificação da substância SV-67



A amostra **SV-67** foi obtida do extrato metanólico da madeira de *S. pikia*, como um sólido amorfo de coloração escura, apresentando resultado negativo em teste para alcaloide com reagente de Dragendorff e coloração azul escuro quando aquecida com vanilina sulfúrica em CCDA.

O espectro de RMN<sup>1</sup>H (Figura 101, pag. 177) apresentou sinais de hidrogênios aromáticos, sendo os sinais em  $\delta_{\text{H}}$  6,98 (1H, *dd*, 2,6, 0,5Hz, H-4),  $\delta_{\text{H}}$  6,68 (1H, *dd*, 8,9, 2,6Hz, H-6) e em  $\delta_{\text{H}}$  7,18 (1H, *dd*, 8,9, 0,5Hz, H-7), atribuídos à um anel aromático monosubstituído de uma unidade indólica através das correlações apresentadas entre esses hidrogênios no espectro de correlação homonuclear <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY (Figura 103, pag. 179) (SILVERSTEIN et al,2007).

Essa unidade indólica é corroborada pela análise do espectro de RMN<sup>13</sup>C DEPT Q (Figura 102, pag. 178) e do espectro de correlação heteronuclear HSQC (Figuras 104 e 105, pag. 179 e 180), apresentando as correlações entre o sinal de carbono  $\delta_{\text{CH}}$  122,86 (CH-2) e o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  7,05 (1H, *s*, H-2), entre o carbono em  $\delta_{\text{CH}}$  110,95 (CH-6) e o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  6,68 (H-6),  $\delta_{\text{CH}}$  111,25 (CH-7) e o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  7,18 (H-7) e o carbono em  $\delta_{\text{CH}}$  102,02 (CH-4) e o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  6,98 (H-4). A cadeia lateral à unidade indólica também foi observada através das correlações entre os sinais do carbono em  $\delta_{\text{CH}_2}$  25,06 (CH-10) e o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  2,95 (2H, *t*, 7,2Hz, 2H-10) e do carbono em  $\delta_{\text{CH}_2}$  40,07 (CH-11) e o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  3,59 (2H, *t*, 7,2Hz, 2H-11).

A análise do espectro de RMN<sup>1</sup>H (Figura 101, pag. 177) e do espectro de correlação homonuclear <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY (Figura 103, pag. 179) indica a presença de um segundo anel aromático trissubstituído, pela observação dos sinais em  $\delta_{\text{H}}$  7,13

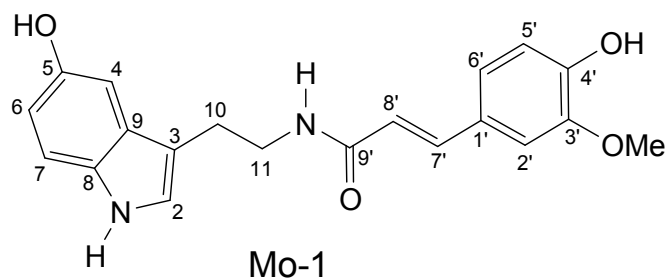
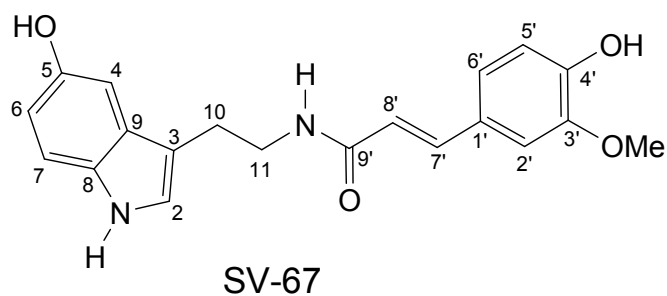
(1H, *dd*, 1,9Hz, H-2'),  $\delta_{\text{H}}$  6,81 (1H, *d*, 8,1Hz, H-5') e em  $\delta_{\text{H}}$  7,04 (1H, *dd*, 8,1, 1,9 Hz, H-6').

A análise do espectro de RMN<sup>13</sup>C DEPT Q (Figura 102, pag. 178) e do espectro de correlação heteronuclear HSQC (Figuras 104 e 105, pag. 179 e 180), apresentou as correlações à <sup>1</sup>J entre os átomos olefínicos  $\delta_{\text{CH}}$  140,56 (CH-7') e o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  7,46 (1H, *d*, 15,7Hz, H-7') e  $\delta_{\text{CH}}$  117,44 (CH-8') e o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  6,45 (1H, *d*, 15,7Hz, H-8'). E as correlações do segundo anel aromático entre o carbono  $\delta_{\text{CH}}$  110,07 (CH-2') e o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  7,13 (1H, *d*, 1,9Hz, H-2'), entre o carbono  $\delta_{\text{CH}}$  115,02 (CH-5') e o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  6,81 (H-5') e entre o carbono  $\delta_{\text{CH}}$  121,81 (CH-6') e o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  7,04 (H-6').

O espectro de RMN<sup>13</sup>C DEPTQ mostrou um sinal característico de carbono de grupo metoxila em  $\delta_{\text{CH}_3}$  54,93. A confirmação desta metoxila ligada ao anel aromático é corroborada pela correlação observada à <sup>3</sup>J no espectro de correlação heteronuclear HMBC (Figuras 106 e 107, pag. 180 e 181) entre o carbono em  $\delta_{\text{C}}$  147,87 (C-3') e os hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  3,90 referentes à metoxila. Pode-se observar ainda, um sinal de carbono fenólico em  $\delta_{\text{C}}$  148,41 (C-4') correlacionando-se à <sup>3</sup>J com os hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  7,13 (H-2') e  $\delta_{\text{H}}$  7,04 (H-6'). As demais correlações encontram-se na Tabela 30, pag. 176.

O conjunto desses dados aliados à comparação com dados da literatura permitiram identificar a substância **SV-67** como sendo o alcaloide derivado da serotonina, *N*-feruloilserotonina (ZHANG et al,1997).

A comparação dos dados obtidos para as amostra **SV-92**, **SV-97** e **SV-99** com os dados obtidos para a substância **SV-67** mostraram semelhantes.



**Tabela 30:** Dados de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz) e  $^{13}\text{C}$  (125 MHz) em MeOD e as correlações observadas no espectro de HMQC e HMBC da substância **SV-67**, e a comparação com valores de literatura para o modelo **Mo-1**  $^1\text{H}$  (500 MHz) e  $^{13}\text{C}$  (125 MHz) em MeOD (ZHANG et al,1997). Os valores das constantes de acoplamento ( $J$ ) em Hz estão entre parêntesis. Deslocamentos químicos em ppm.

	HSQC		HMBC		Mo-1	
	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$^2J_{\text{HC}}$	$^3J_{\text{HC}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$
C						
3	111,07	-	2H-10	2H-11	112,6	
5	149,74	-		H-7	151,6	
8	131,72	-		H-2; H-4; H-6	132,5	
9	128,03	-		H-2; H-7; 2H-10	129,4	
1'	126,89	-	H-7'	H-5; H-8'	128,3	-
3'	147,87	-		H-5'; MeO-3'	148,6	
4'	148,41	-		H-2'; H-6'	149,1	
9'	167,81	-	H-8'	H-7'; 2H-11	166,5	
CH						
2	122,86	7,05 (s)		2H-10	124,0	7,09 (d, 1,8)
4	102,08	6,98 (dd, 2,6, 0,5)			103,5	7,04 (d, 2,4)
6	110,95	6,68 (dd, 8,9, 2,6)		H-4	112,3	6,71 (dd, 2,4, 8,5)
7	111,25	7,18 (dd, 8,9, 0,5)			112,5	7,19 (d, 8,5)
2'	110,07	7,13 (d, 1,9)		H-6'; H-7'	111,3	7,15 (d, 1,8)
5'	115,02	6,81 (d, 8,1)			116,1	6,83 (d, 8,5)
6'	121,81	7,04 (dd, 8,1, 1,9)		H-2'; H-7'	122,6	7,05 (dd, 8,5, 1,8)
7'	140,56	7,46 (d, 15,7)		H-2'; H-6'	140,3	7,46 (d, 15,6)
8'	117,44	6,45 (d, 15,7)			120,2	6,46 (d, 15,6)
CH <sub>2</sub>						
10	25,06	2,95 (t, 7,2)	2H-11		26,4	2,91 (m)
11	40,07	3,59 (t, 7,2)	2H-10		40,8	3,59 (m)
CH <sub>3</sub>						
MeO-3'	54,93	3,90 (s)			56,2	3,87 (s)

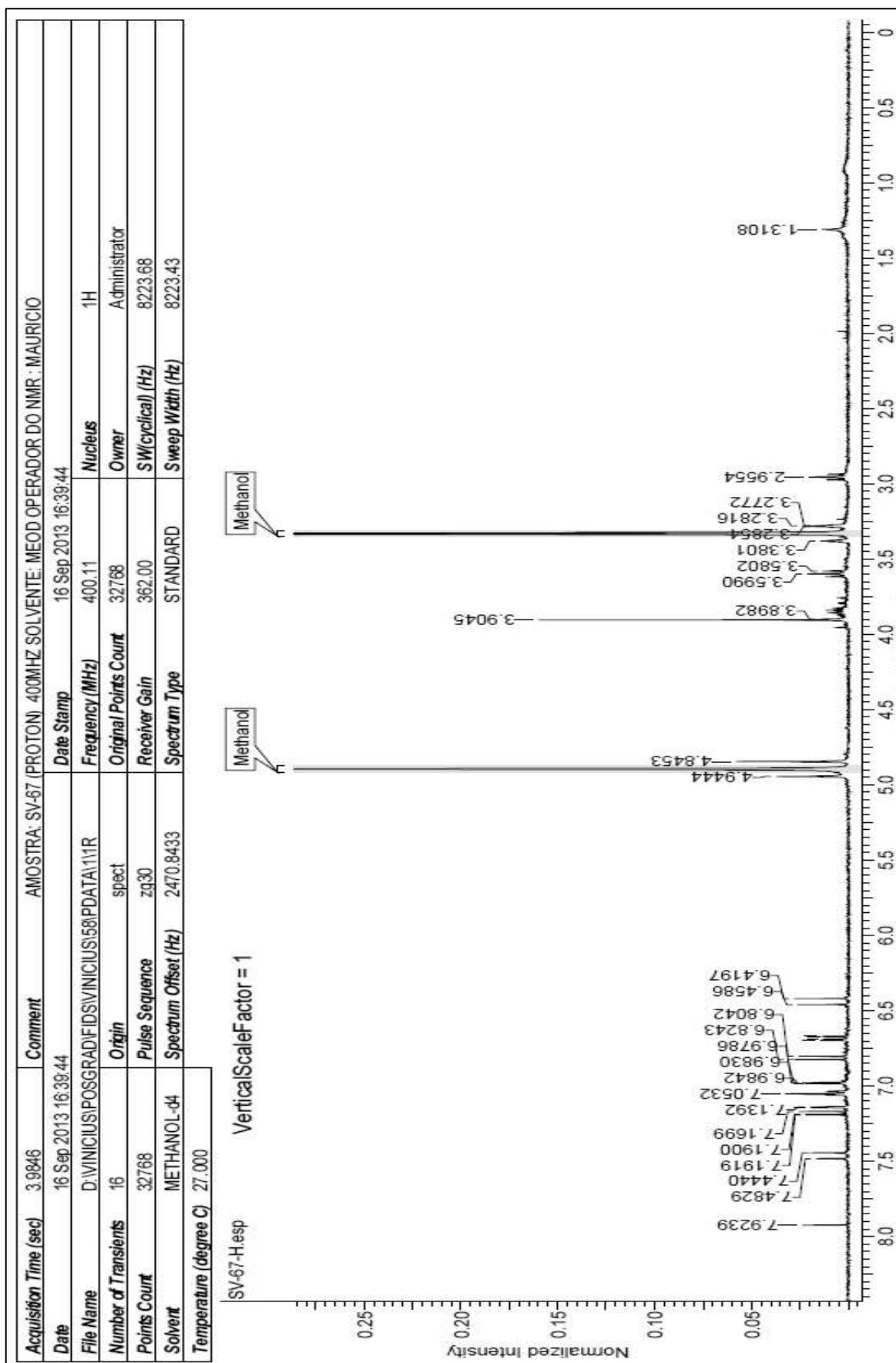


Figura 101: Espectro de RMN<sup>1</sup>H (400 MHz) em MeOD de SV-67

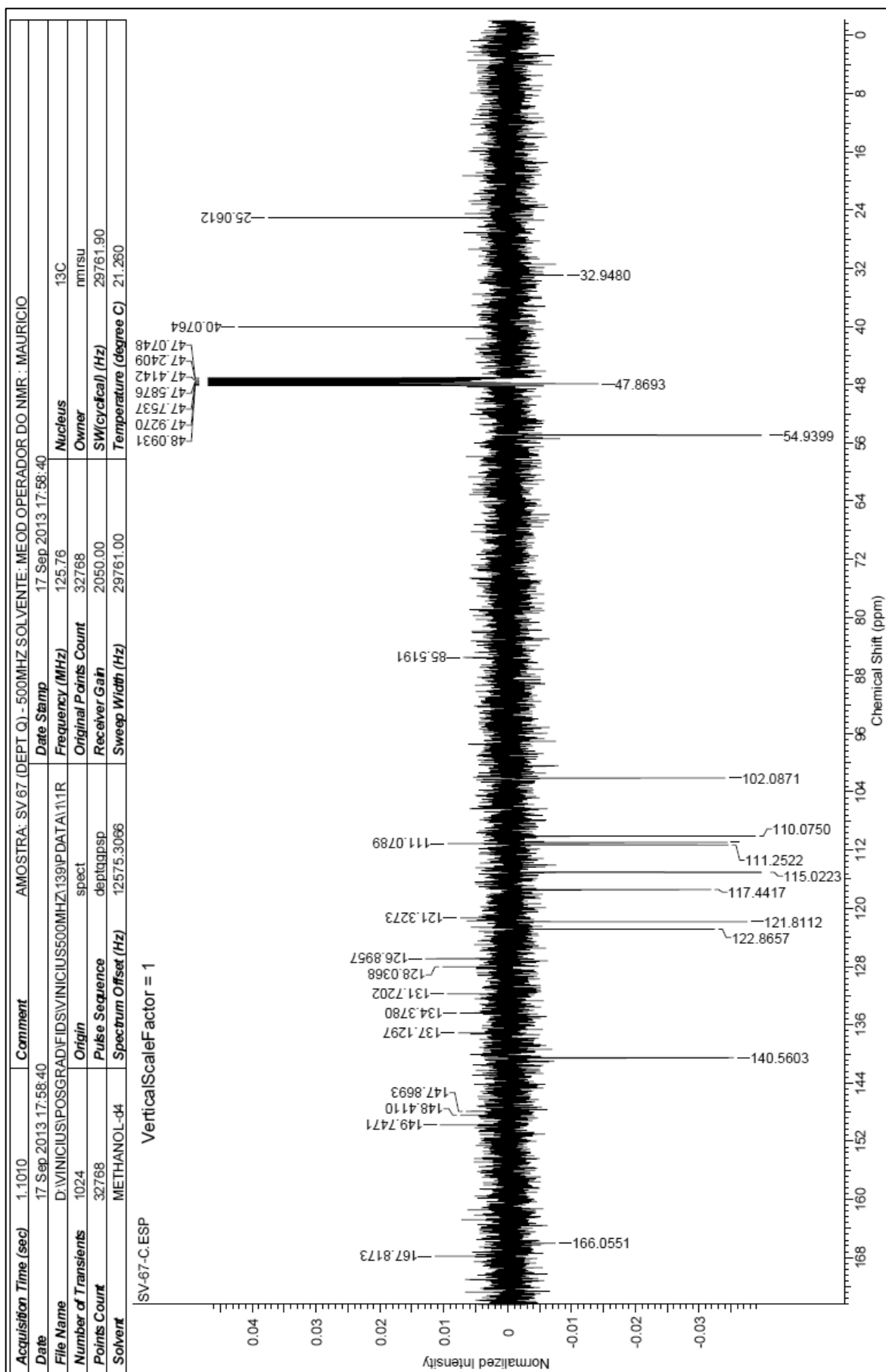


Figura 102: Espectro de RMN<sup>13</sup>C DEPT Q (125 MHz) em MeOD de SV-67

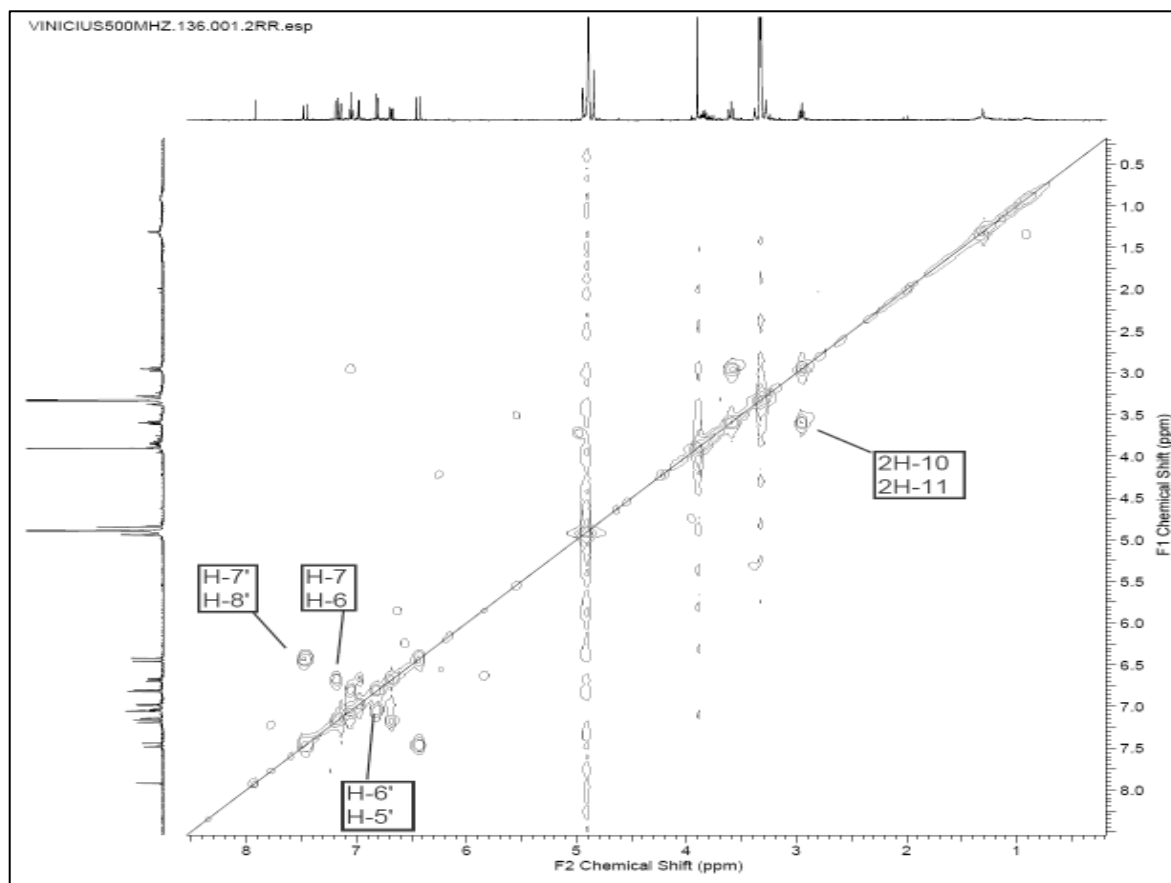


Figura 103: Espectro de correlação homonuclear  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY em MeOD de **SV-67**

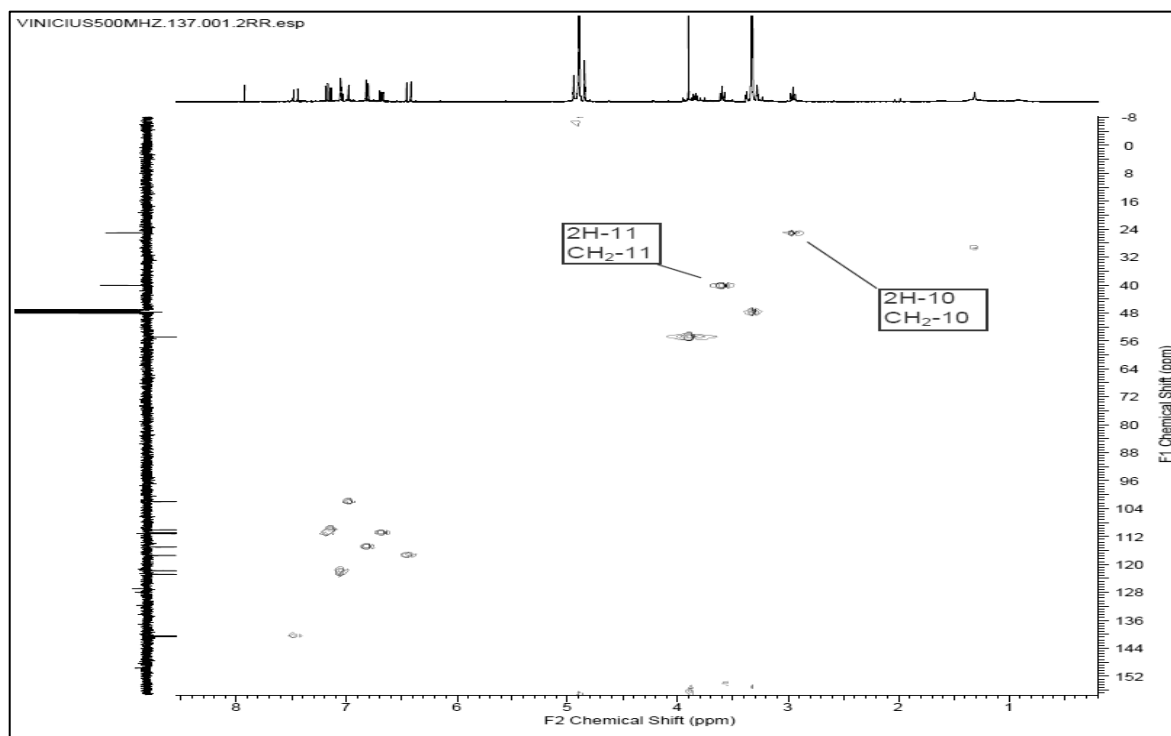


Figura 104: Espectro de correlação heteronuclear HSQC em MeOD de **SV-67**

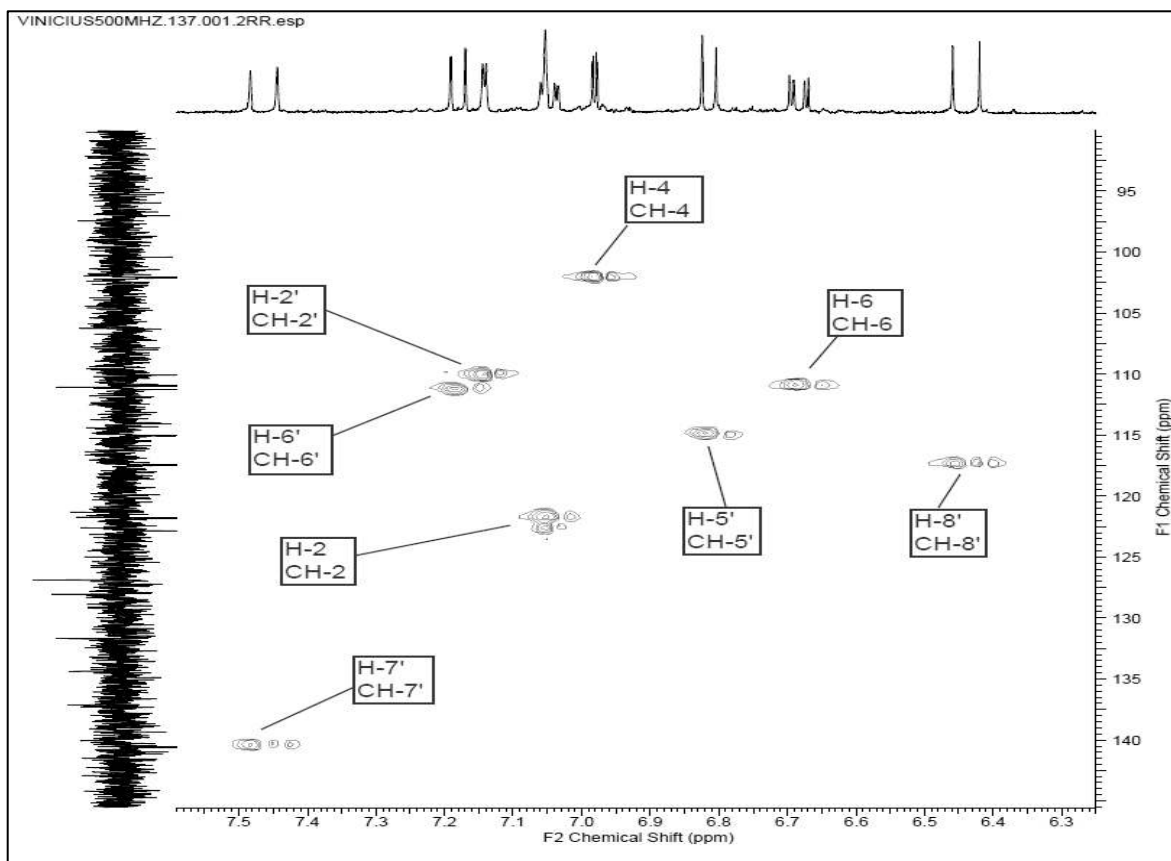


Figura 105: Ampliação do espectro de correlação heteronuclear HSQC em MeOD de **SV-67**

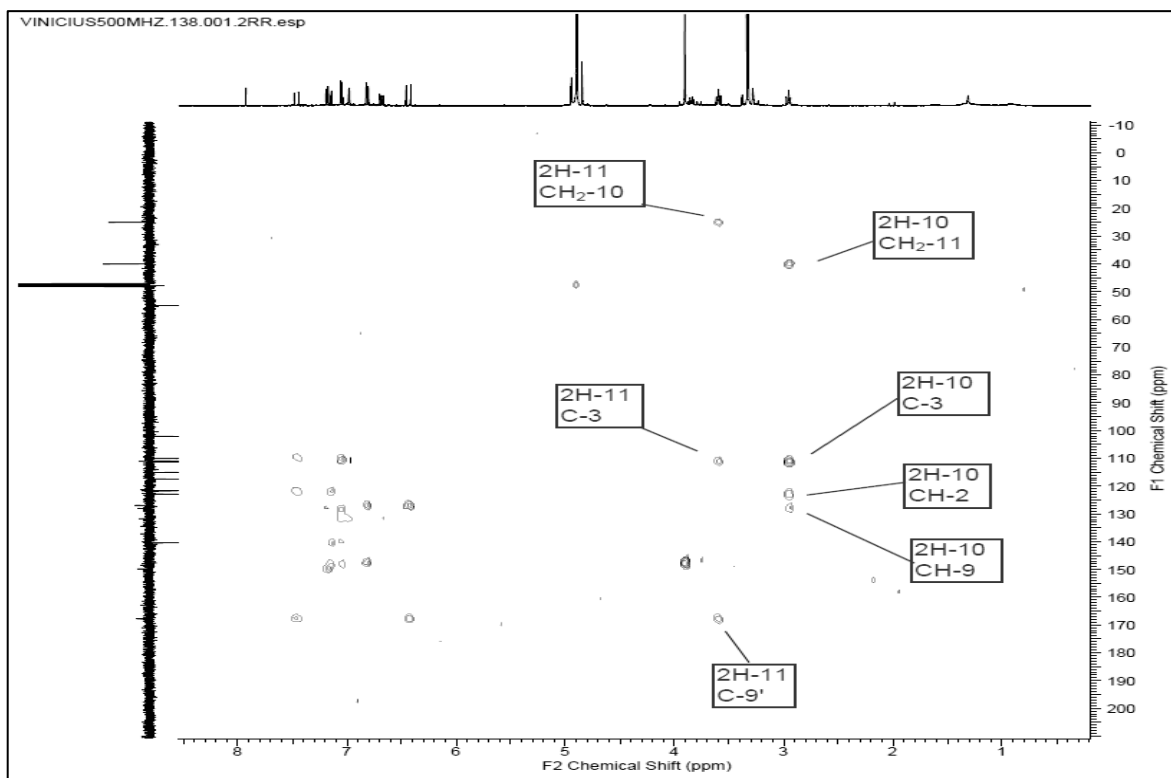


Figura 106: Espectro de correlação heteronuclear HMBC em MeOD de **SV-67**

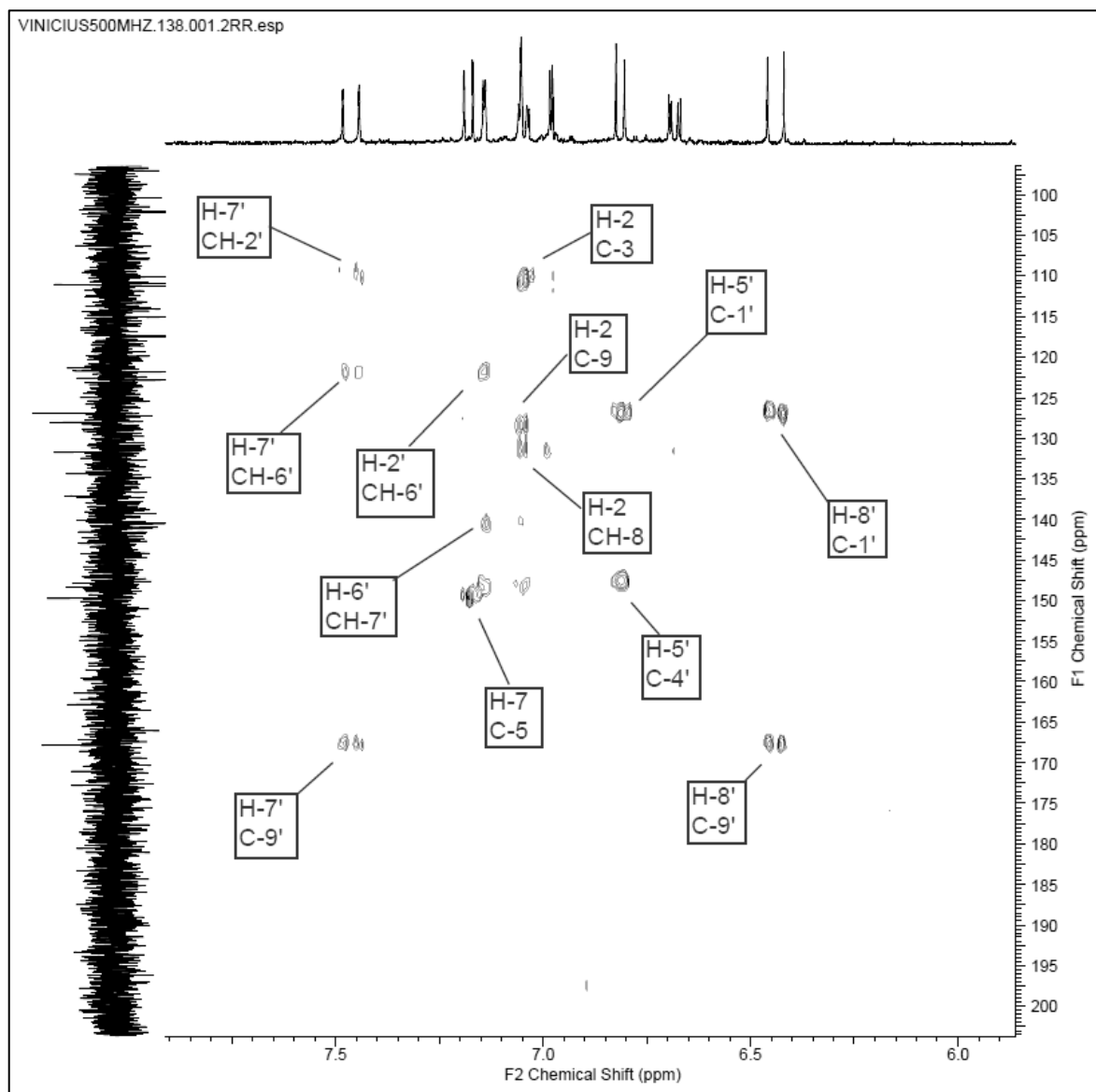
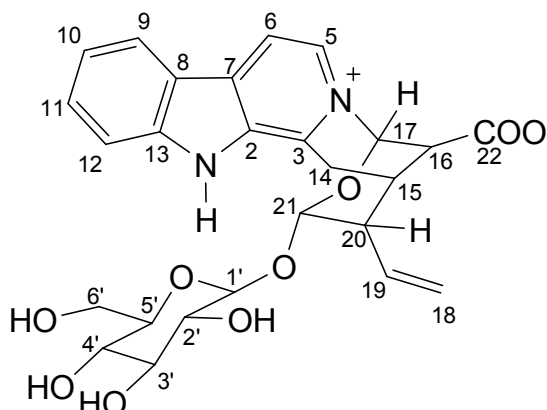


Figura 107: Ampliação do espectro de correlação heteronuclear HMBC em MeOD de **SV-67**



### 6.6.2 Identificação da substância SV-74



A amostra **SV-74** foi obtida do extrato em MeOH da madeira de *S. pikia* como um sólido amorfo de coloração amarela, apresentando resultado positivo em teste para alcaloides com reagente de Dragendorff.

O espectro de RMN<sup>1</sup>H (Figuras 108-110, pag. 185-187) mostrou seis sinais de hidrogênios aromáticos referentes à unidade  $\beta$ -carbolínic, que foram confirmados pelos acoplamentos presentes no espectro de correlação homonuclear <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY (Figura 112, pag. 189) (SILVERSTEIN et al, 2007). Sinais de correspondência às interações heteronucleares observadas nos espectros de correlações HSQC (Figura 113, pag. 189) e HMBC (Figura 114, pag. 190) permitiram identificar os sinais de carbonos hidrogenados e não hidrogenados desta unidade aromática, sugerindo uma unidade  $\beta$ -carbolínic não substituída, semelhante ao alcaloide **SV-11** (Tabela 18, pag. 74), já identificado neste trabalho.

Sinais de três hidrogênios em  $\delta_H$  5,87-5,94 (1H, *m*, H-19),  $\delta_H$  5,33 (1H, *dl*, 17,1 Hz, H-18a) e  $\delta_H$  5,24 (1H, *d*, 10,6 Hz, H-18b) com correlações observadas no espectro de correlação heteronuclear HSQC aos carbonos vinílicos  $\delta_{CH}$  135,10 (CH-19) e  $\delta_{CH_2}$  117,72 (CH<sub>2</sub>-18), indicam a presença de uma dupla terminal. Também foi observada a correlação do hidrogênio em  $\delta_H$  3,75 (H-16) com o carbono em  $\delta_C$  56,25 (C-16), referente a carbono  $\alpha$  à carbonila. O sinal referente ao carbono da carbonila pode ser observado no espectro de RMN<sup>13</sup>C DEPT Q (Figura 111, pag. 188) em  $\delta_C$  174,41 (C-22).

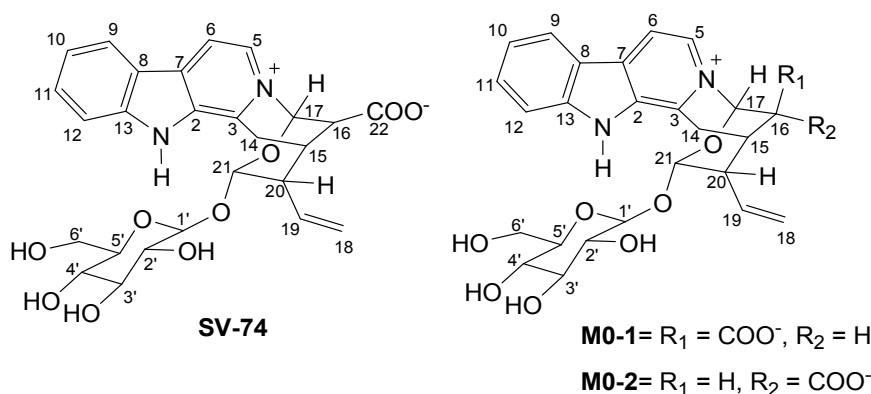
Correlações importantes para a confirmação da segunda unidade ligada à unidade  $\beta$ -carbolínic, foram observadas no espectro de correlação homonuclear

$^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY, que apresenta correlações entre os sinais  $\delta_{\text{H}}$  3,75 (H-16) com os sinais em  $\delta_{\text{H}}$  2,95 (H-15). E entre os sinais em  $\delta_{\text{H}}$  5,24 (H-20) e  $\delta_{\text{H}}$  4,81 (1H, d, 7,8Hz, H-21). E no espectro de correlação heteronuclear HMBC (Figura 114, pag. 190) que apresenta as correlações à  $^3J$  entre o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  2,95 (H-15) com o carbono em  $\delta_{\text{C}}$  81,68 (CH-17), e também entre o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  5,24 (H-18b) com o carbono em  $\delta_{\text{C}}$  44,31 (CH-20).

A unidade glicopiranosídica foi corroborada através das correlações observadas no espectro de correlação heteronuclear HSQC (Figura 113, pag. 189) entre o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  5,78 (H-1'), relativo a um hidrogênio de carbono anomérico, com o átomo de carbono em  $\delta_{\text{CH}}$  95,38 (CH-1'), e do carbono metilênico em  $\delta_{\text{CH}_2}$  61,67 (CH-6') com um duplete largo em  $\delta_{\text{H}}$  4,05 (H-6'). As demais correlações encontram-se na Tabela 31, pag. 184.

A presença da unidade glicopiranosídica pode ser comprovada através das correlações à  $^3J$  no espectro de correlação heteronuclear HMBC (Figura 114, pag. 190) entre o carbono anomérico em  $\delta_{\text{CH}}$  95,38 (CH-1') com o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  4,81 (H-21), à  $^2J$  entre os carbonos em  $\delta_{\text{CH}_2}$  61,67 (CH-6') e em  $\delta_{\text{CH}}$  77,24 (CH-5') com o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  3,29 (H-4'), entre o carbono em  $\delta_{\text{CH}}$  70,37 (CH-4') com o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  3,44 (H-3') e entre o carbono em  $\delta_{\text{CH}}$  76,53 (CH-3') com o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  3,24 (H-2').

A análise do conjunto desses dados e a comparação com dados da literatura (AIMI et al, 1985) possibilitaram propor, a identificação da substância **SV-74** como sendo o alcaloide ofiorina (**2**), já isolado no gênero *Simira* (BASTOS et al, 2002).



**Tabela 31:** Dados de RMN <sup>1</sup>H (500 MHz) e <sup>13</sup>C (125 MHz) em MeOD e as correlações observadas no espectro de HMQC e HMBC de **SV-74**, e comparação com valores da literatura para os modelos **Mo-1** e **Mo-2** <sup>1</sup>H (270 MHz) e <sup>13</sup>C (67 MHz) em D<sub>2</sub>O (AIMI et al, 1985) Os valores das constantes de acoplamento (*J*) em Hz, estão entre parêntesis e os deslocamentos químicos em ppm.

	HSQC		HMBC		Mo-01	Mo-02
	$\delta_C$	$\delta_H$	<sup>2</sup> J <sub>HC</sub>	<sup>3</sup> J <sub>HC</sub>	$\delta_C$	$\delta_H$
C						
2	nd	-			134,8	135,6
3	nd	-			146,6	146,4
7	104,55	-		H-9	140,2	140,4
8	126,02	-		H-10;H-12	122,2	121,9
13	136,87	-		H-9;H-11	135,8	134,7
22	174,42	-			176,9	177,4
CH						
5	135,10	8,15 ( <i>d</i> , 5,5)			136,9	136,8
6	nd	7,95 ( <i>d</i> , 5,5)			135,9	135,8
9	117,74	7,48 ( <i>d</i> , 7,8)		H-11	124,6	124,5
10	119,21	7,07 ( <i>t</i> , 7,8)			119,2	119,3
11	121,96	7,15 ( <i>t</i> , 7,8)			125,5	125,5
12	110,95	7,35 ( <i>d</i> , 8,2)	H-11	H-10	115,4	115,3
15	32,38	2,93-2,95 ( <i>m</i> )			33,0	33,3
16	55,27	3,74-3,75 ( <i>m</i> )			49,8	47,4
17	81,68	Nd	H-18		91,7	91,5
19	135,10	5,87-5,94 ( <i>m</i> )			134,7	134,8
20	44,31	2,81 ( <i>s</i> )		H-18	48,8	46,0
21	98,95	4,82 ( <i>d</i> , 7,9)			98,2	98,2
CH <sub>2</sub>						
14	15,73	3,03-3,04 ( <i>m</i> )			26,0	29,1
18	117,71	5,33 ( <i>dl</i> 17,1) 5,25 ( <i>d</i> , 10,4)			121,9	122,3
Glu						
1'	95,38	5,78 ( <i>sl</i> )			101,8	102,2
2'	73,31	3,23-3,27 ( <i>t</i> )			75,4	75,4
3'	76,53	3,44 ( <i>t</i> , 9,1)			78,8	78,9
4'	70,37	3,27 ( <i>t</i> , 9,1)			72,2	72,2
5'	77,24	3,46-3,47( <i>dl</i> )			78,4	78,3
6'	61,67	4,05-4,06( <i>dl</i> ) 3,68- 3,70( <i>dl</i> )			63,3	63,2

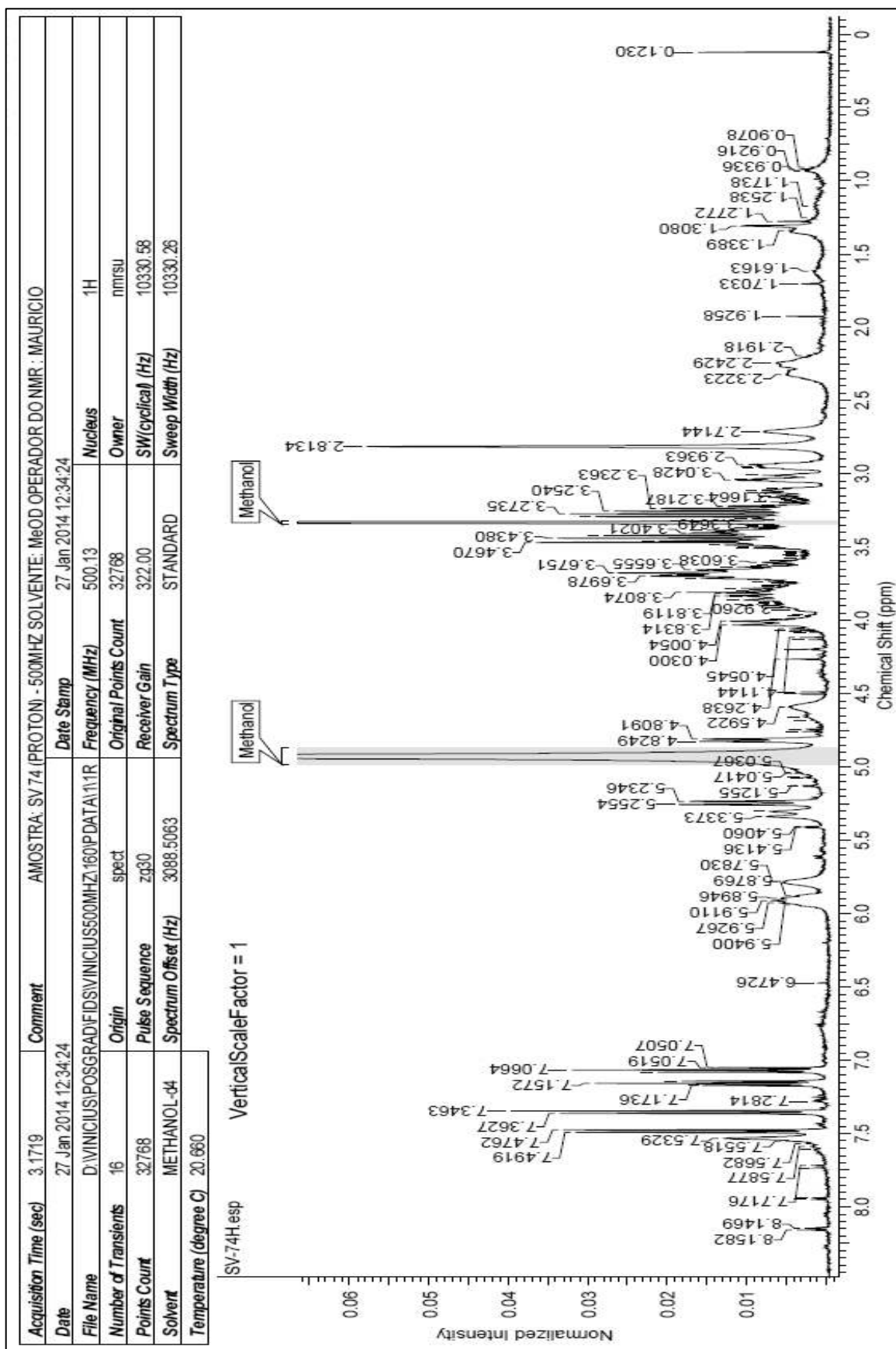
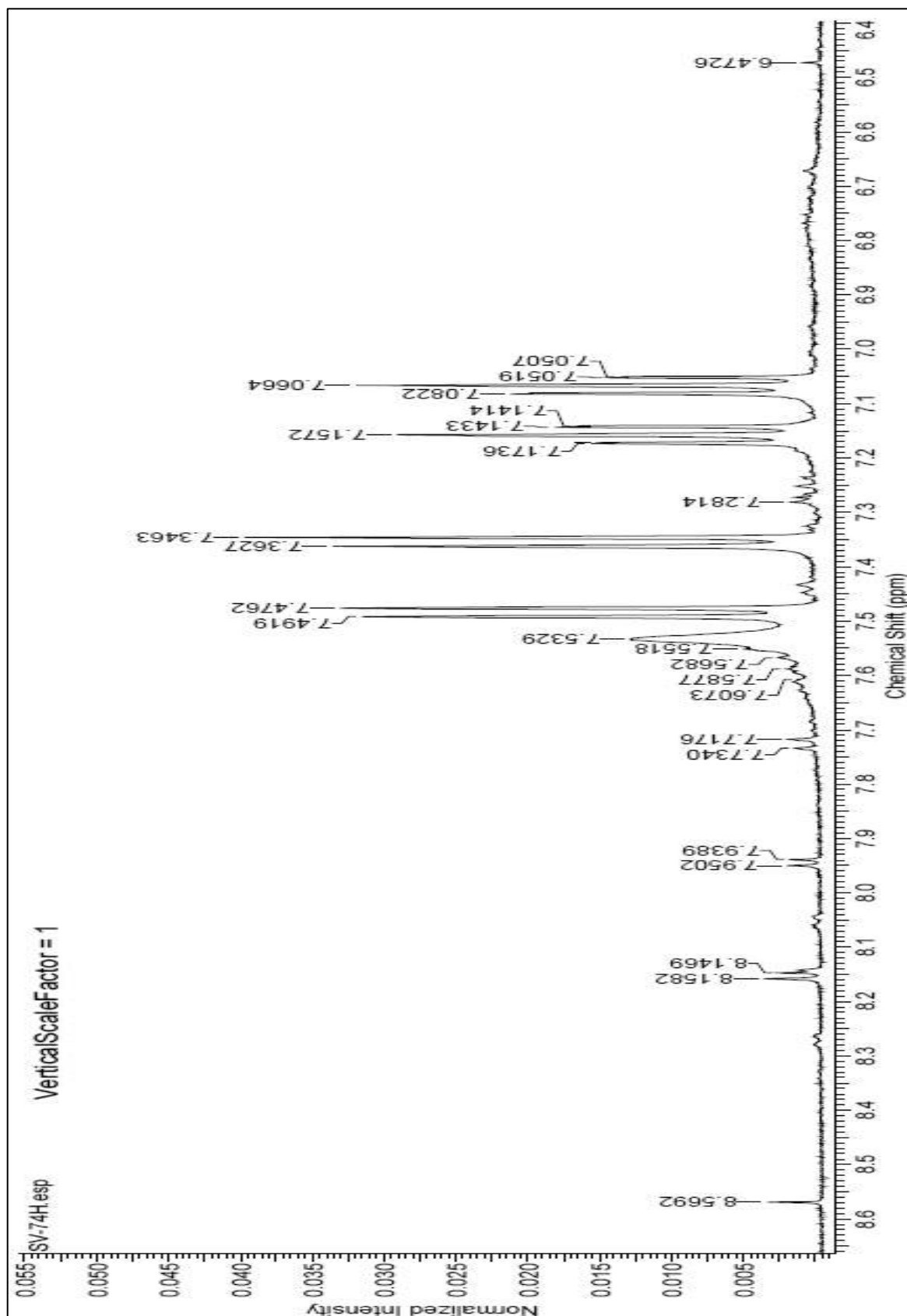
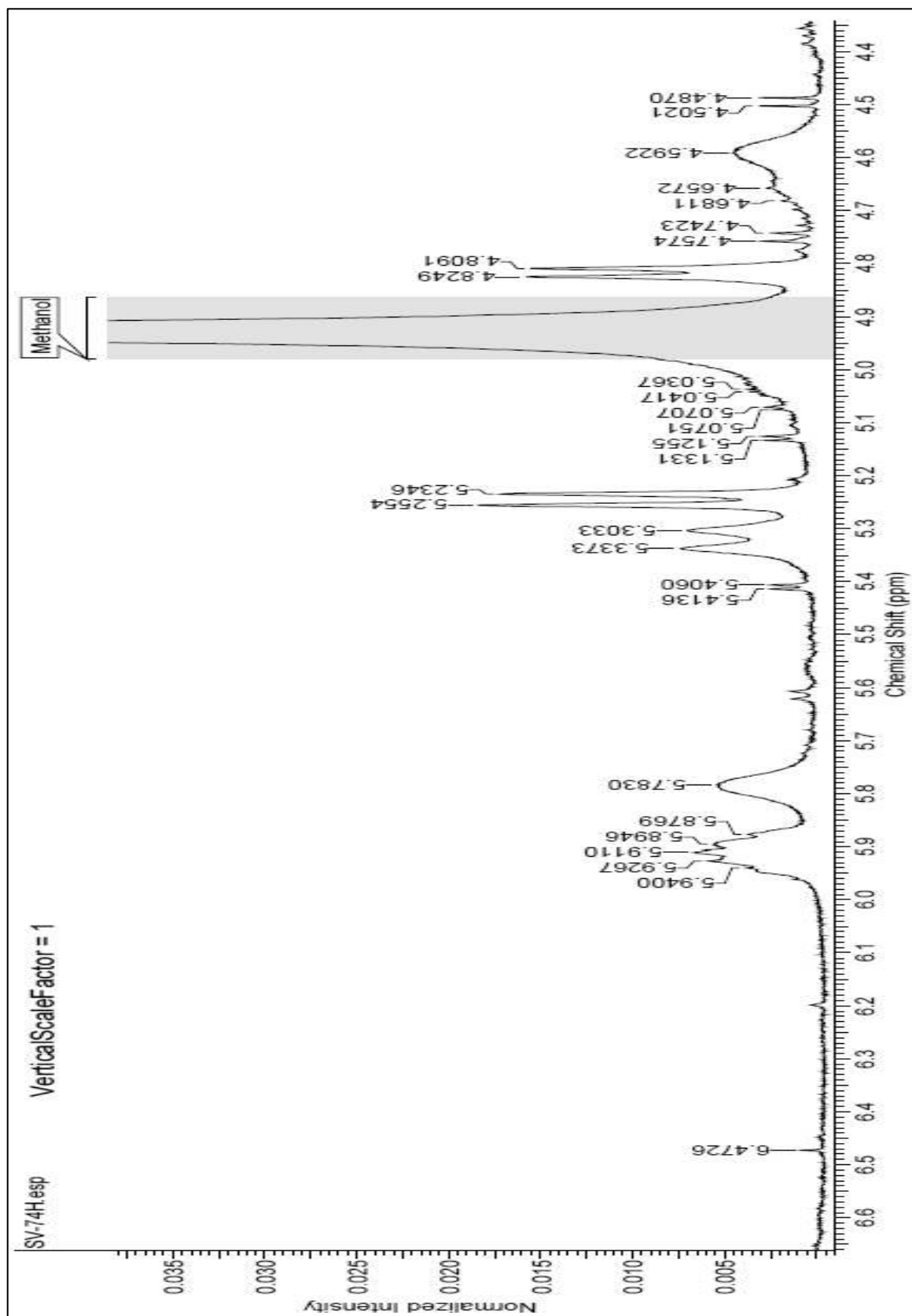


Figura 108: Espectro de RMN<sup>1</sup>H (500 MHz) em MeOD de SV-74



**Figura 109:** Ampliação da região  $\delta_H$  6,4- $\delta_H$  8,6 do espectro de RMN<sup>1</sup>H (500 MHz) em MeOD de SV-74



**Figura 110:** Ampliação da região  $\delta_H$  4.4 -  $\delta_H$  6.6 do espectro de RMN<sup>1</sup>H (500 MHz) em MeOD de SV-74



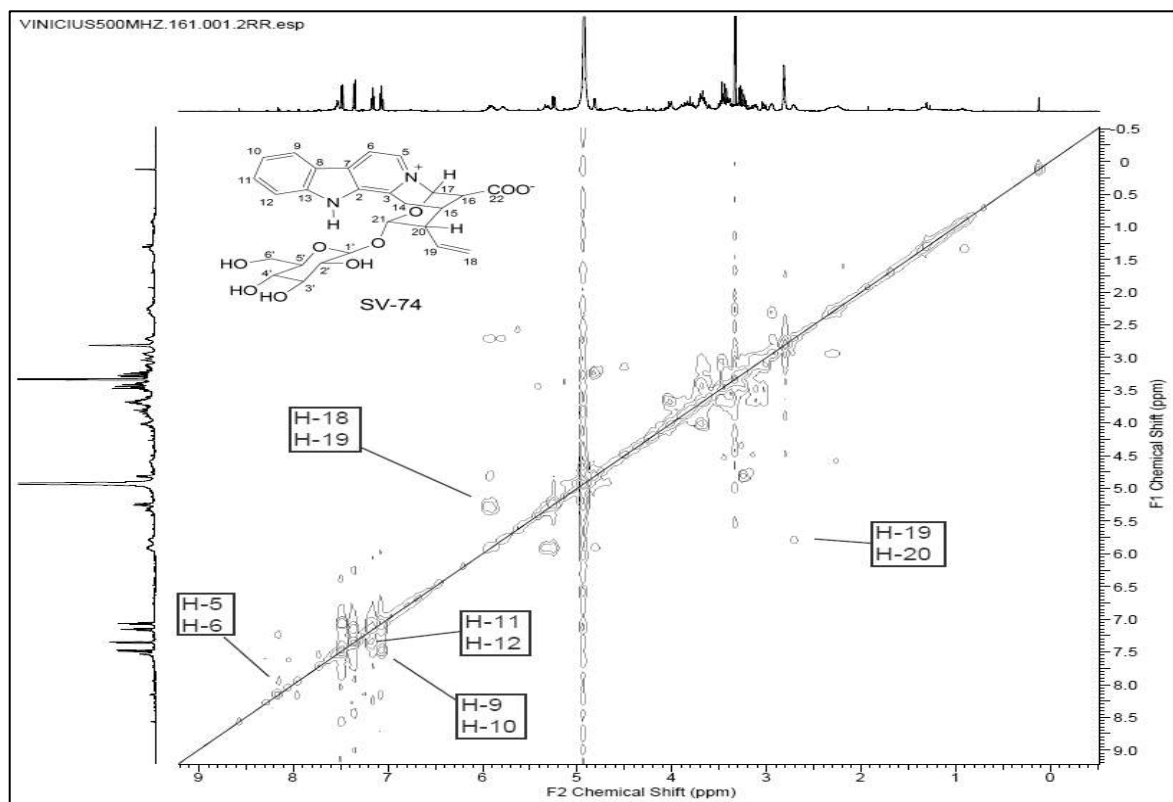


Figura 112: Espectro de correlação homonuclear  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY em MeOD de SV-74

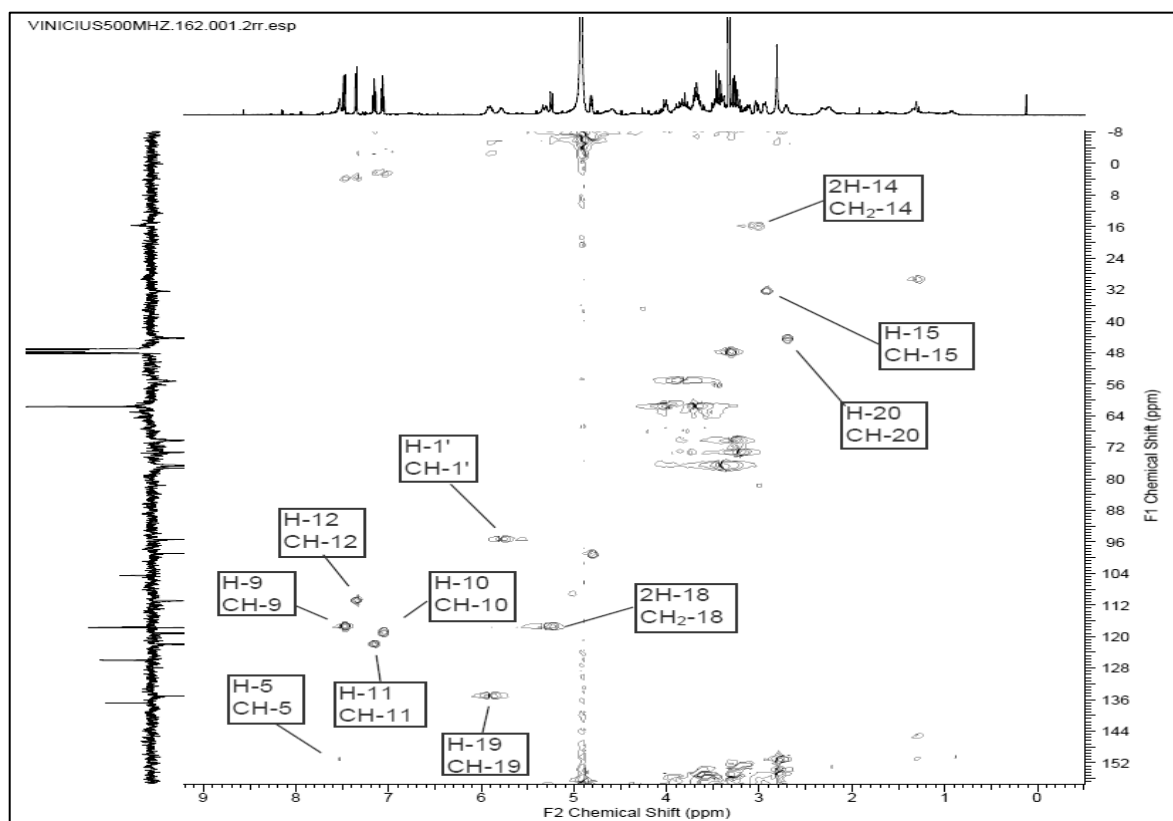


Figura 113: Espectro de correlação heteronuclear HSQC em MeOD de SV-74



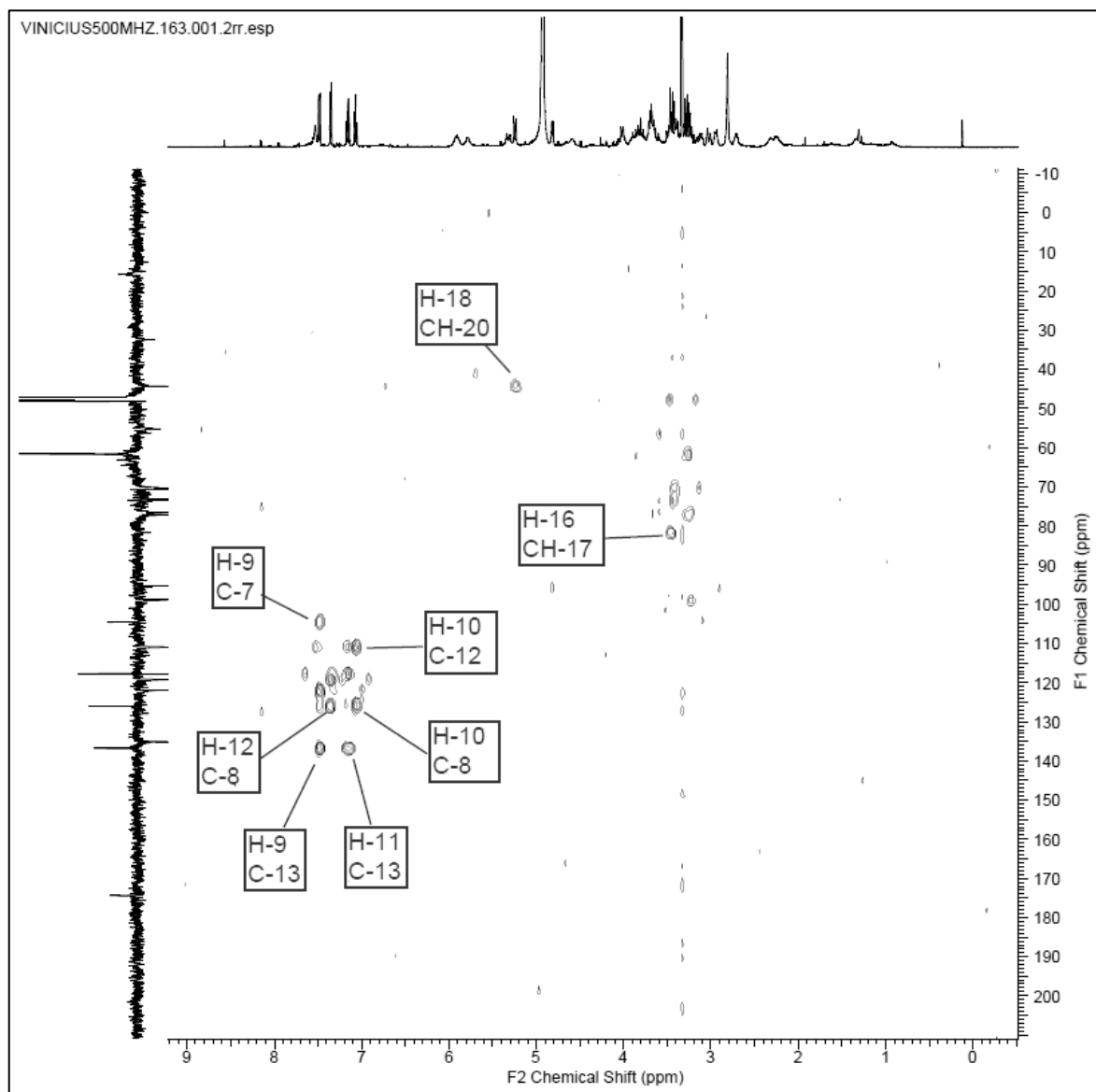
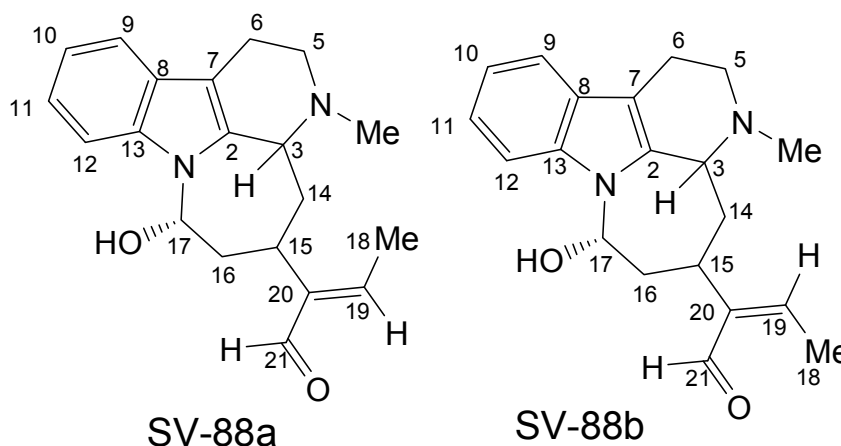


Figura 114: Espectro de correlação heteronuclear HMBC em MeOD de **SV-74**

### 6.6.3 Identificação da mistura SV-88



A amostra **SV-88** foi obtida do extrato em MeOH da madeira de *S. pikia* como um sólido amorfo de coloração amarela, apresentando resultado positivo em teste para alcaloides com reagente de Dragendorff.

O espectro de RMN<sup>1</sup>H (Figuras 116 e 117, pag. 197 e 198) mostrou sinais de hidrogênios aromáticos referentes à unidade β-carbolínica, que foram confirmados pelos acoplamentos presentes no espectro de correlação homonuclear <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY (Figura 120, pag. 201). Sinais de correspondência às interações heteronucleares observadas nos espectros de correlações HSQC (Figuras 121 e 122, pag. 201 e 202) e HMBC (Figuras 123 e 124, pag. 202 e 203) permitiram identificar os sinais de carbonos hidrogenados e não hidrogenados desta unidade aromática, semelhante ao alcaloide **SV-20** (Tabela 19, pag. 84), já identificado neste trabalho.

A análise do espectro de RMN<sup>13</sup>C DEPT Q (Figuras 118 e 119, pag. 199 e 200) e do espectro de correlação heteronuclear HSQC, evidenciam uma mistura de isômeros, **SV-88a** e **SV-88b** (Tabelas 32 e 33, pag. 193 e 194), através das correlações entre os sinais  $\delta_{CH}$  75,70 (CH-17a) e  $\delta_H$  6,25 (1H, *d*, 3,8Hz, H-17a), o carbono vinílico  $\delta_{CH}$  150,65 (CH-19a) e  $\delta_H$  6,58 (1H, *q*, 7,1Hz, H-19a), o carbono em  $\delta_{CH}$  15,20 (CH-18a) e  $\delta_H$  2,09 (3H, *d*, 7,1Hz, 3H-18a) e o sinal característico de carbono de grupo carbonila em  $\delta_{CH}$  194,95 (CH-21a) e  $\delta_H$  9,33 (1H, *s*, H-21a), atribuídos ao isômero **SV-88a**. E as correlações entre o sinal de carbono carbinólico e a nitrogênio em  $\delta_{CH}$  75,50 (CH-17b) e  $\delta_H$  6,25 (1H, *d*, 3,8Hz, H-17b), o carbono vinílico  $\delta_{CH}$  143,37 (CH-19b) e  $\delta_H$  6,58 (1H, *q*, 7,1Hz, H-19b), o carbono

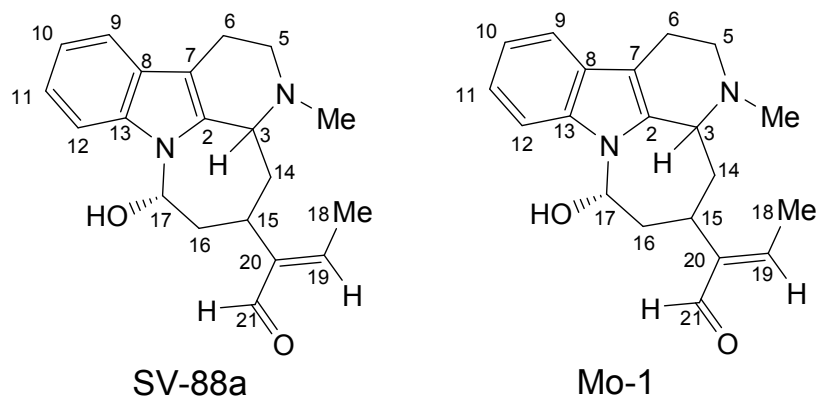
em  $\delta_{\text{CH}}$  13,01 (CH-18b) e  $\delta_{\text{H}}$  2,16 (3H, *d*, 7,7Hz, 3H-18b) e o sinal característico de carbono de grupo carbonila em  $\delta_{\text{CH}}$  190,02 (CH-21b) e  $\delta_{\text{H}}$  10,21 (1H, *s*, H-21b), atribuídos ao isômero **SV-88b**.

A análise do espectro de correlação heteronuclear HMBC (Figuras 123 e 124, pag. 202 e 203) corrobora para as estruturas propostas, através das correlações à  $^3J$  entre o sinal de carbono em  $\delta_{\text{CH}}$  29,10 (CH-15a) e os hidrogênios H-17a, H-19a e H-21a. E entre o carbono em  $\delta_{\text{C}}$  137,64 (C-2a) com o hidrogênio H-17a. As demais correlações encontram-se na Tabela 32, pag. 193.

O espectro correlação homonuclear  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -NOESY (Figura 125, pag. 203) mostra as interações entre os hidrogênios H-15a e 3H-18a, e entre os hidrogênios H-21a e H19a, corroborando para a estrutura proposta para **SV-88a**. Essas interações não são observadas para os sinais atribuídos à **Sv-88**. É possível observar também as interações entre os hidrogênios H-12 e H-17, e entre H-3 e os hidrogênios da metila ligada ao nitrogênio (3H-MeN-4), ajudando a confirmar ambas as estruturas.

O espectro de CG/EM (Figura 115, pag. 195) permitiu deduzir o pico do íon molecular  $m/z$  324 ( $[\text{M}]^+$ ) e a fórmula molecular  $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_2$ . As propostas para as principais fragmentações observadas encontram-se no Esquema 11, pag. 196.

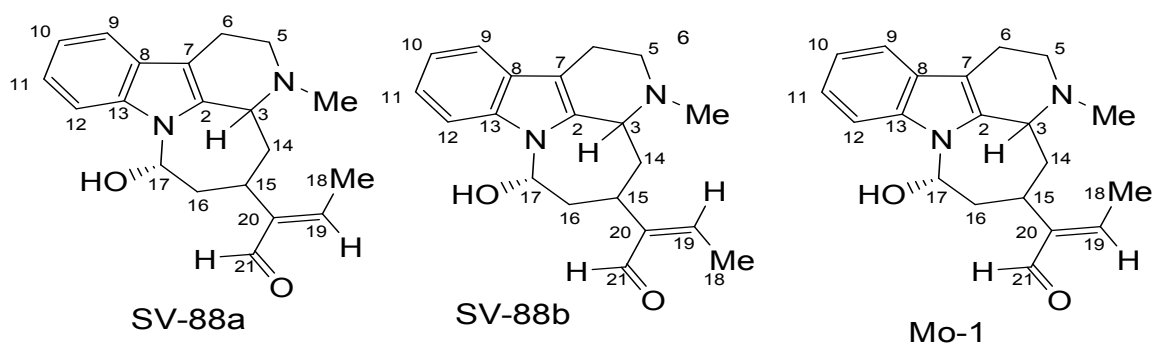
O conjunto desses dados e a comparação com dados da literatura permitiram identificar os isômeros **SV-88a** e **SV-88b** como sendo uma mistura de isômeros do alcaloide akagerina (BRANDT et al, 2001).



**Tabela 32:** Dados de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz) e  $^{13}\text{C}$  (125 MHz) em  $\text{CDCl}_3$  e as correlações observadas no espectro de HMQC e HMBC da substância **SV-88a** e comparação com valores da literatura para o modelo **Mo-1**  $^1\text{H}$  (600 MHz) e  $^{13}\text{C}$  (150 MHz) em  $\text{CDCl}_3$  (BRANDT et al,2001). Os valores das constantes de acoplamento ( $J$ ) em Hz estão entre parêntesis e os deslocamentos químicos em ppm.

	Sv-88a (78 %)*				Mo-1	
	HSQC		HMBC		$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$
	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$^2J_{\text{HC}}$	$^3J_{\text{HC}}$		
C						
2	137,64	-		H-17	137,0	-
7	108,71	-		2H-5	108,8	-
8	126,70	-		H-10; H-12	126,7	-
13	136,05	-		H-9; H-11	136,0	-
20	147,81	-	H-21	3H-18	147,9	-
CH						
3	60,81	3,88 (d, 10,8)	H-14a	MeN-4; 2H-5	60,8	3,82 (d, 10,9)
9	118,35	7,49 (d, 8,1)		H-1	118,3	7,48 (d, 7,7)
10	119,48	7,14 (t, 8,1)		H-12	119,5	7,11 (t, 7,7)
11	121,43	7,20 (t, 8,1)		H-9	121,3	7,18 (t, 8,2)
12	108,41	7,29 (d, 8,1)	H-11	H-9 ( $^4J_{\text{CH}}$ ); H-10	108,3	7,24 (d, 8,2)
15	29,09	3,68 (t, 13,3)		H-17; H-9; H-21	29,1	4,66 (t, 11,7)
17	75,70	6,25 (d, 3,8)			75,7	6,24 (d, 3,7)
19	150,65	6,58 (q, 7,1)	3H-18	H-21	150,5	6,55 (q, 7,2)
21	194,95	9,33 (s)		3H-18( $^4J_{\text{CH}}$ ); H-19;	194,9	9,21 (d, 1,4)
CH <sub>2</sub>						
5	50,30	3,05-3,08 (m)	2H-6	MeN-4	50,4	3,07 (m)
		2,80-2,70 (m)				2,78-2,72 (m)
6	19,68	2,80-2,70 (m)	H-5a		19,8	2,78-2,72 (m)
	39,98	2,15-2,17 (t)			36,3	2,19 (dd, 12,8, 10,9)
14		1,58-1,66 (m)				1,99 (d, 12,8)
						2,33 (t)
16	36,25	2,33 (t, 13,3)			37,4	2,09 (m)
		2,01 (d, 13,3)				
CH <sub>3</sub>						
18	15,20	2,09 (d, 7,1)	H-19		15,2	2,07 (q, 7,2)
MeN-4	42,34	2,54 (s)			42,5	2,53 (s)

\* Porcentagem da substancia na mistura, calculado com base na intensidade dos sinais observados.



**Tabela 33:** Dados de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz) e  $^{13}\text{C}$  (125 MHz) em  $\text{CDCl}_3$  da substância **SV-88b** e comparação com os dados de **SV-88a** e valores da literatura para o modelo **Mo-1**  $^1\text{H}$  (600 MHz) e  $^{13}\text{C}$  (150 MHz) em  $\text{CDCl}_3$  (BRANDT et al,2001). Os valores das constantes de acoplamento ( $J$ ) em Hz estão entre parêntesis e os deslocamentos químicos em ppm.

	Sv-88b (22 %)*		Sv-88a (78 %)*		Mo-1	
	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$
C						
2	137,64	-	137,64	-	137,0	-
7	108,71	-	108,71	-	108,8	-
8	126,70	-	126,70	-	126,7	-
13	136,05	-	136,05	-	136,0	-
20	147,81	-	147,81	-	147,9	-
CH						
3	60,63	3,88 (d, 10,8)	60,81	3,88 (d, 10,8)	60,8	3,82 (d, 10,9)
9	118,35	7,49 (d, 8,1)	118,35	7,49 (d, 8,1)	118,3	7,48 (d, 7,7)
10	119,48	7,14 (t, 8,1)	119,48	7,14 (t, 8,1)	119,5	7,11 (t, 7,7)
11	121,43	7,20 (t, 8,1)	121,43	7,20 (t, 8,1)	121,3	7,18 (t, 8,2)
12	108,41	7,29 (d, 8,1)	108,41	7,29 (d, 8,1)	108,3	7,24 (d, 8,2)
15	29,10	3,57 (t, 13,3)	29,09	3,68 (t, 13,3)	29,1	4,66 (t, 11,7)
17	75,50	6,25 (d, 3,8)	75,70	6,25 (d, 3,8)	75,7	6,24 (d, 3,7)
19	143,37	6,58 (q, 7,1)	150,65	6,58 (q, 7,1)	150,5	6,55 (q, 7,2)
21	190,02	10,21 (s)	194,95	9,33 (s)	194,9	9,21 (d, 1,4)
CH <sub>2</sub>						
5	51,34	3,0-53,08 (m) 2,80-2,70 (m)	50,30	3,05-3,08 (m) 2,80-2,70 (m)	50,4	3,07 (m) 2,78-2,72 (m)
6	22,72	2,80-2,70 (m)	19,68	2,80-2,70 (m)	19,8	2,78-2,72 (m)
14	38,52	2,15-2,17 (t) 1,69-1,73 (m)	39,98	2,15-2,17 (t) 1,58-1,66 (m)	36,3	2,19 (dd, 12,8, 10,9) 1,99 (d, 12,8)
16	37,41	2,33 (t, 13,3) 2,01 (d, 13,3)	36,25	2,33 (t, 13,3) 2,01 (d, 13,3)	37,4	2,33 (t) 2,09 (m)
CH <sub>3</sub>						
18	13,01	2,16 (d, 7,7)	15,20	2,09 (d, 7,1)	15,2	2,07 (q, 7,2)
MeN-4	42,93	2,57 (s)	42,34	2,54 (s)	42,5	2,53 (s)

\* Porcentagem da substância na mistura, calculado com base na intensidade dos sinais observados.

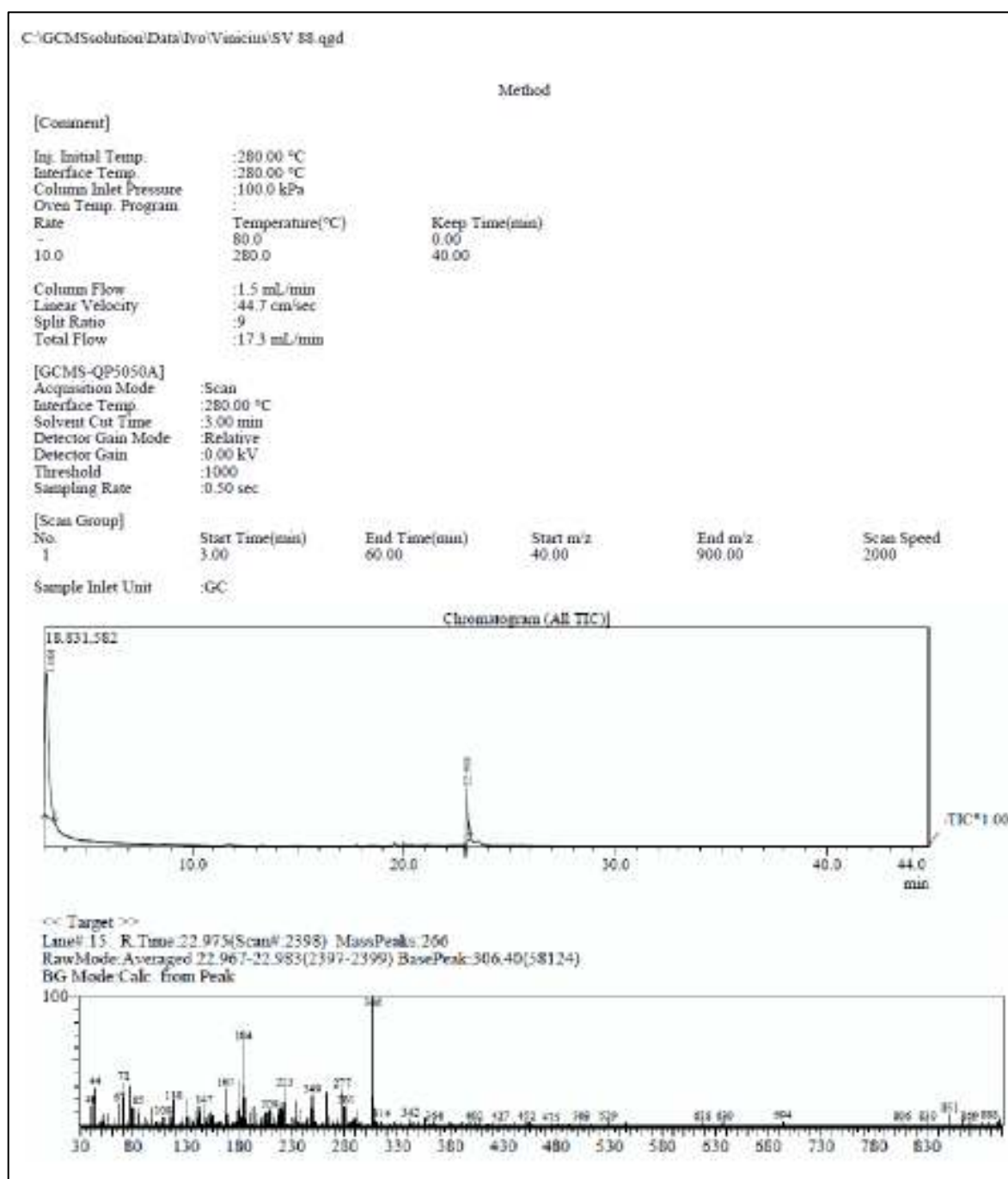
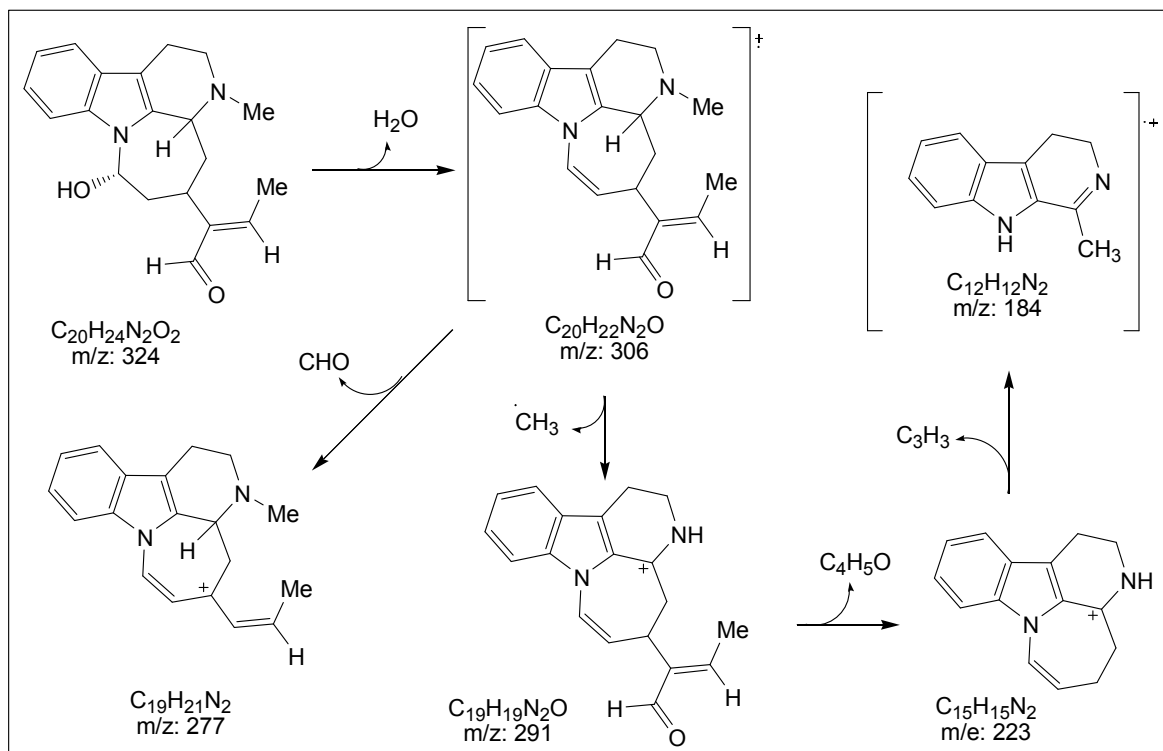


Figura 115: Cromatograma e espectro de massas de SV- 88



**Esquema 11:** Proposta mecanística de fragmentação para **SV-88**

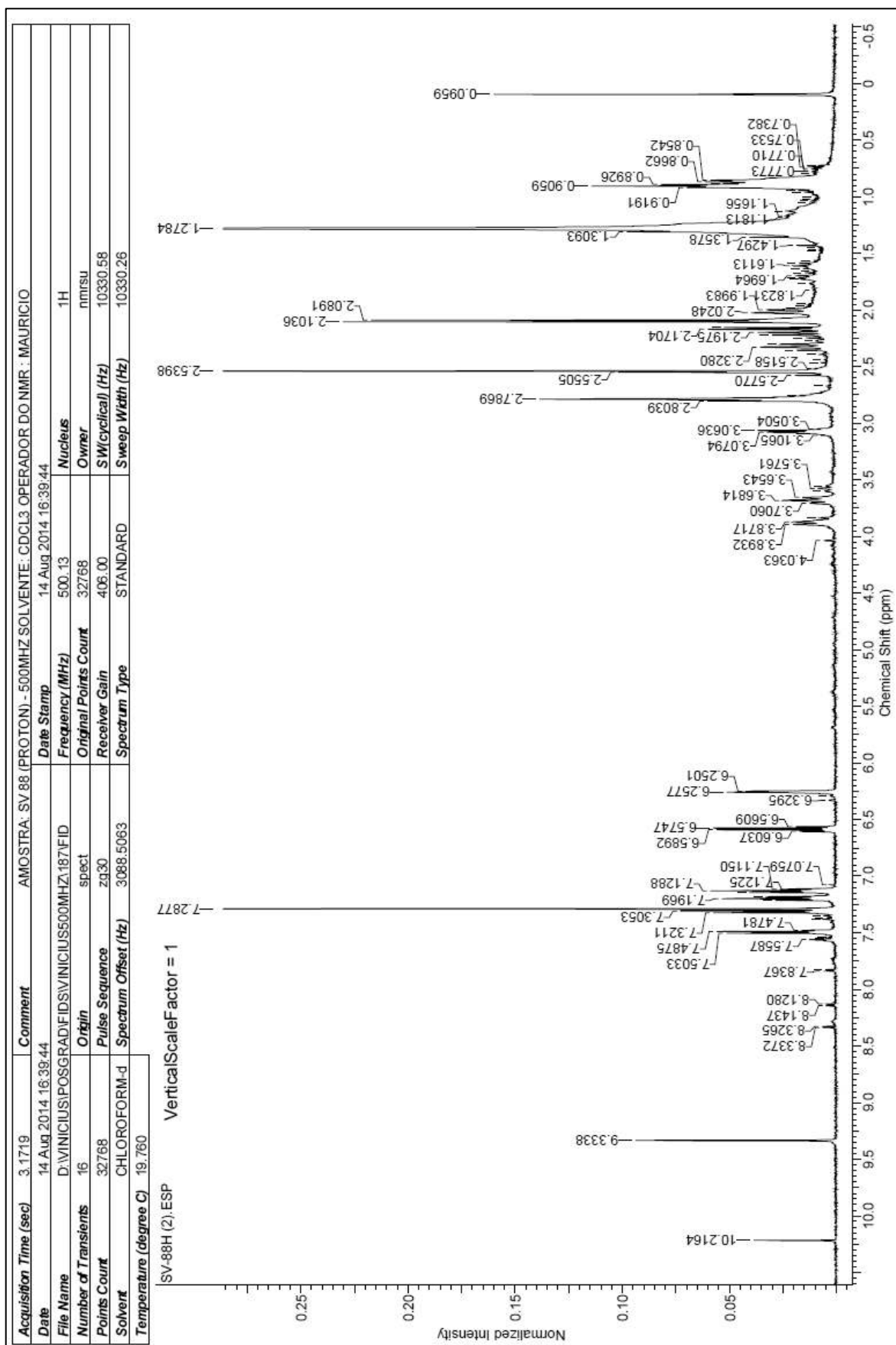
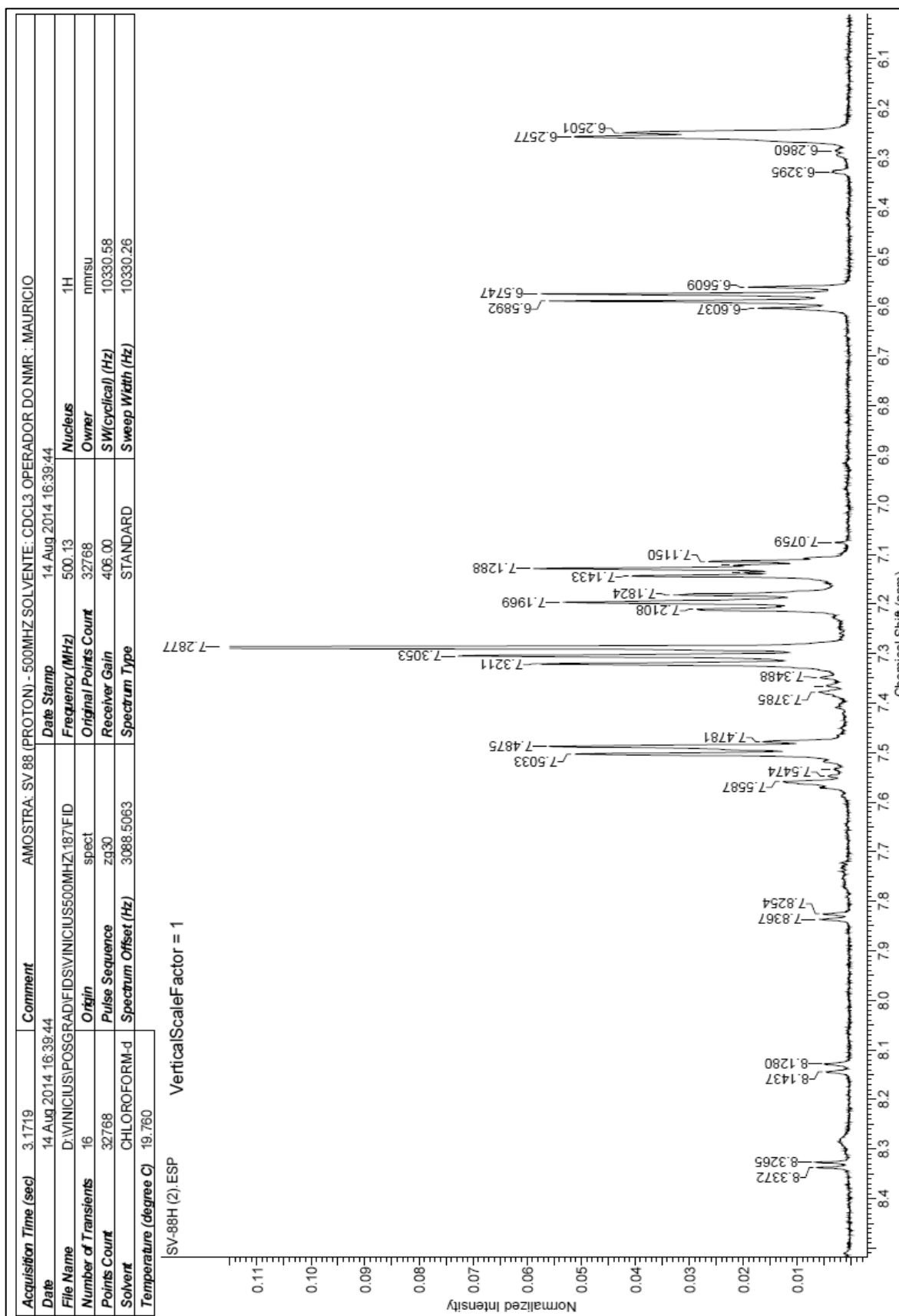


Figura 116: Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz) em  $\text{CDCl}_3$  de SV-88





**Figura 117:** Ampliação da região  $\delta_H$  6,1- $\delta_H$  8,4 do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz) em  $\text{CDCl}_3$  de SV-88

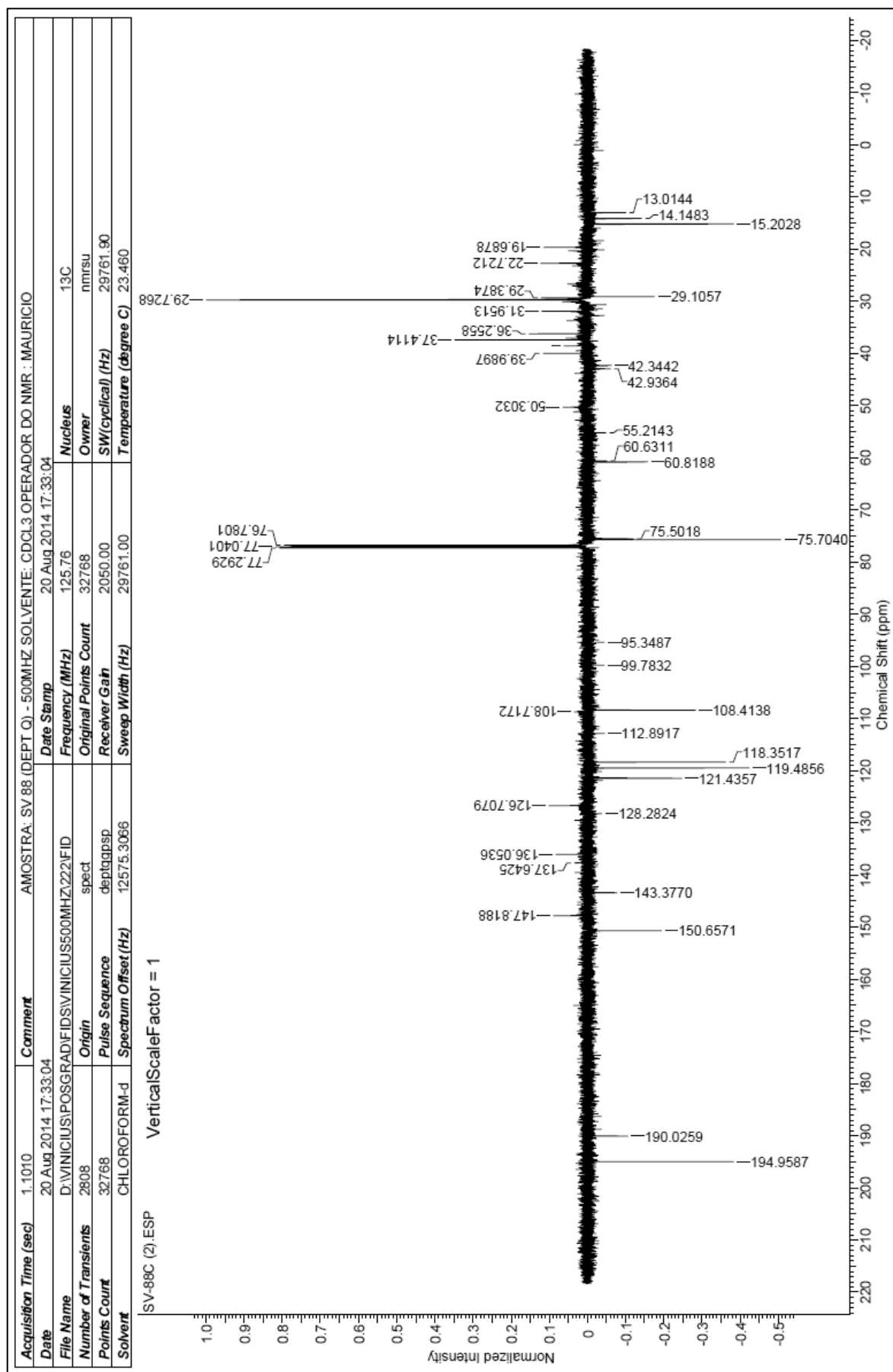
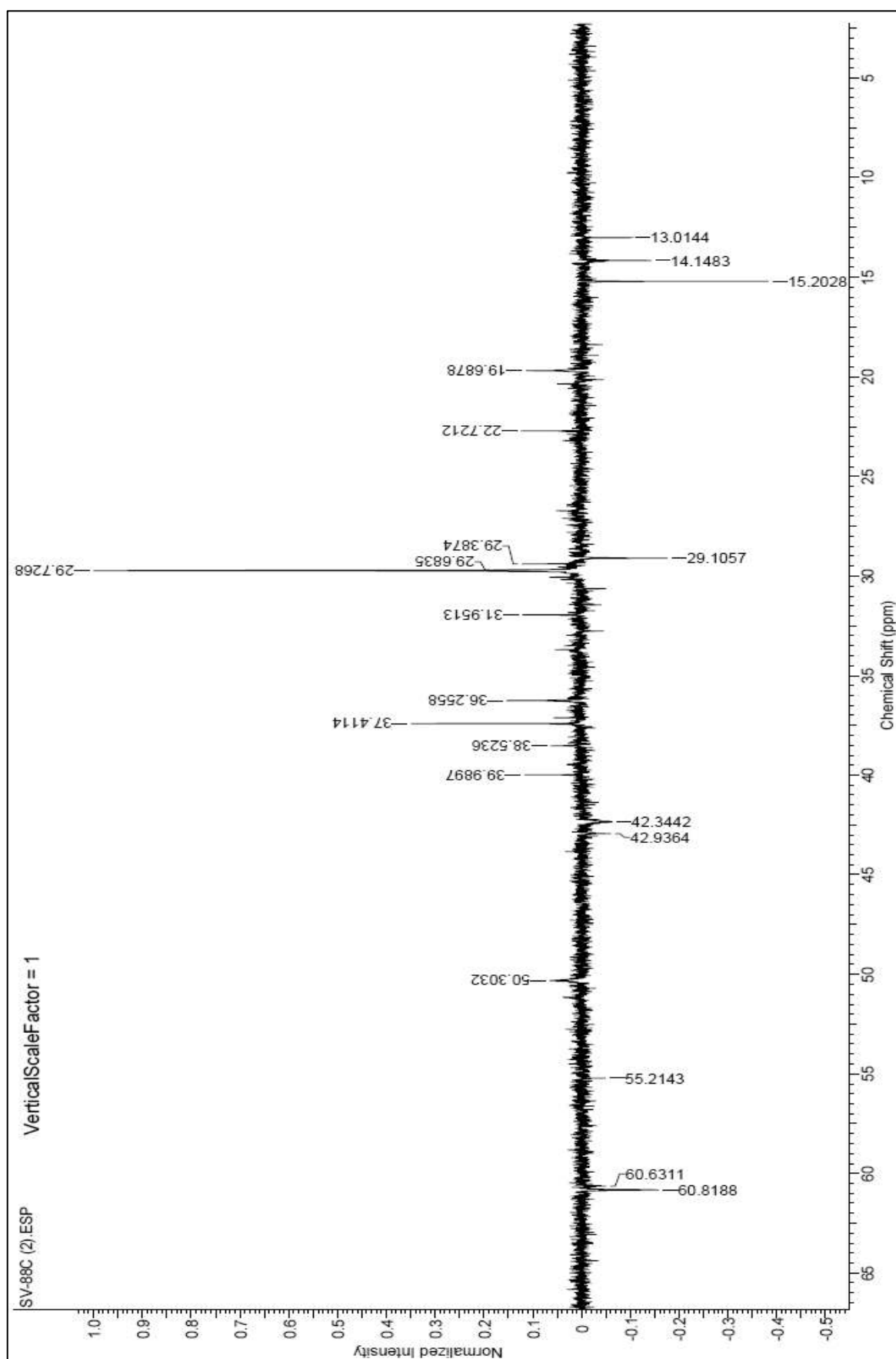


Figura 118: Espectro de RMN <sup>13</sup>C DEPT Q (125 MHz) em CDCl<sub>3</sub> de SV-88



**Figura 119:** Ampliação da região  $\delta_c$  5.0 -  $\delta_c$  65.0 do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  DEPT Q (125 MHz) em  $\text{CDCl}_3$  de **SV-88**

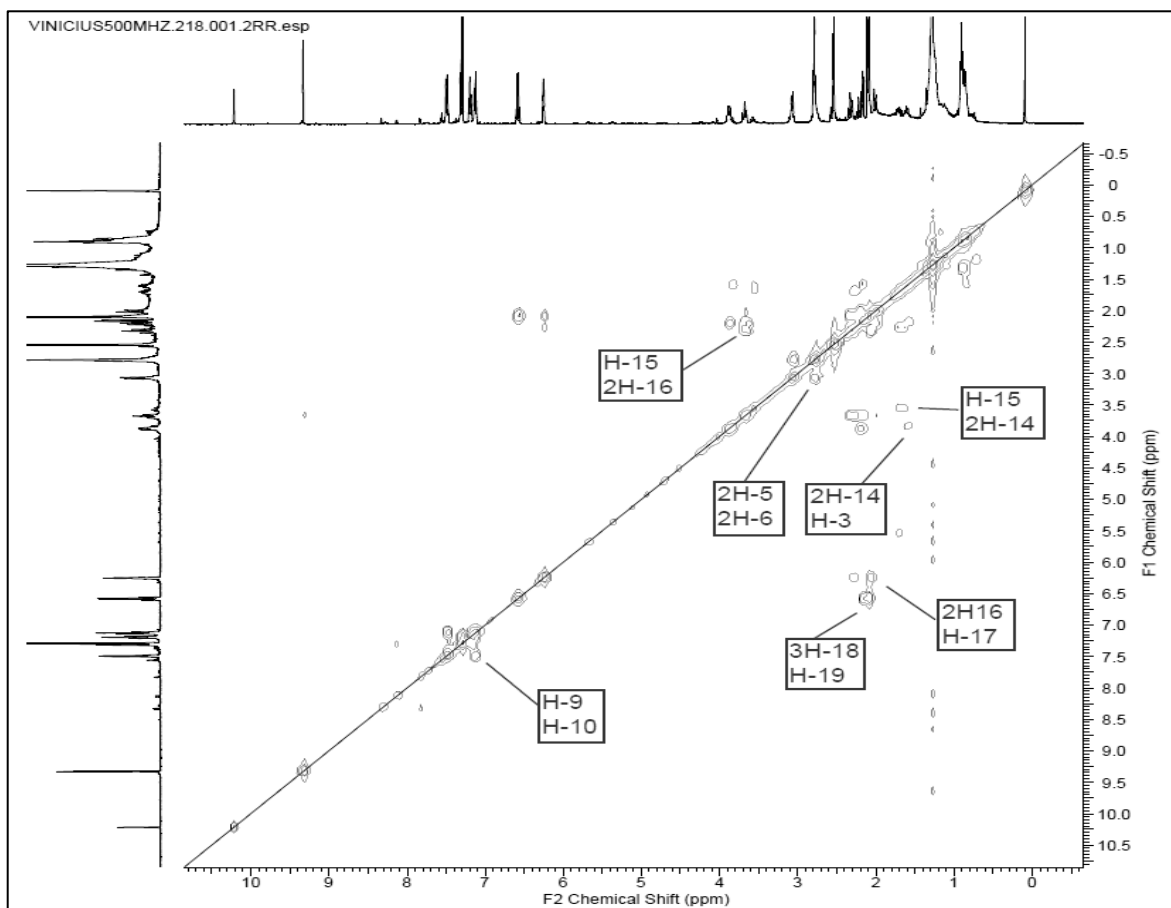


Figura 120: Espectro de correlação homonuclear  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY em  $\text{CDCl}_3$  de **SV-88**

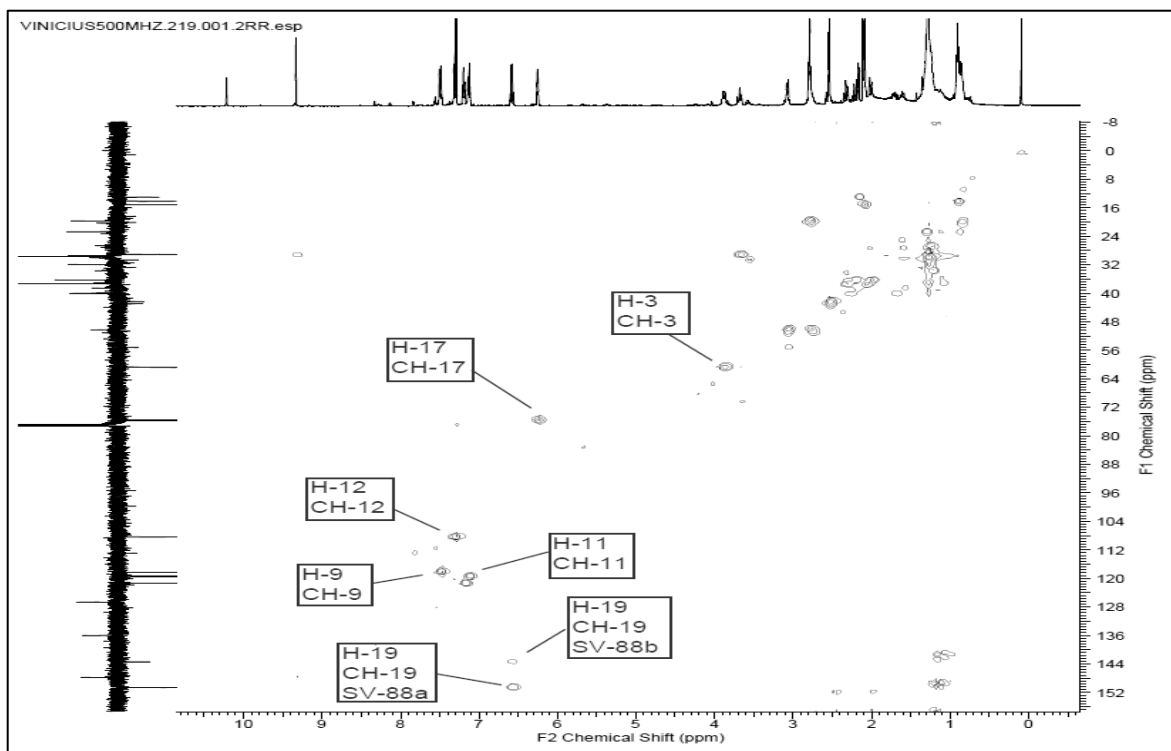


Figura 121: Espectro de correlação heteronuclear HSQC em  $\text{CDCl}_3$  de **SV-88**

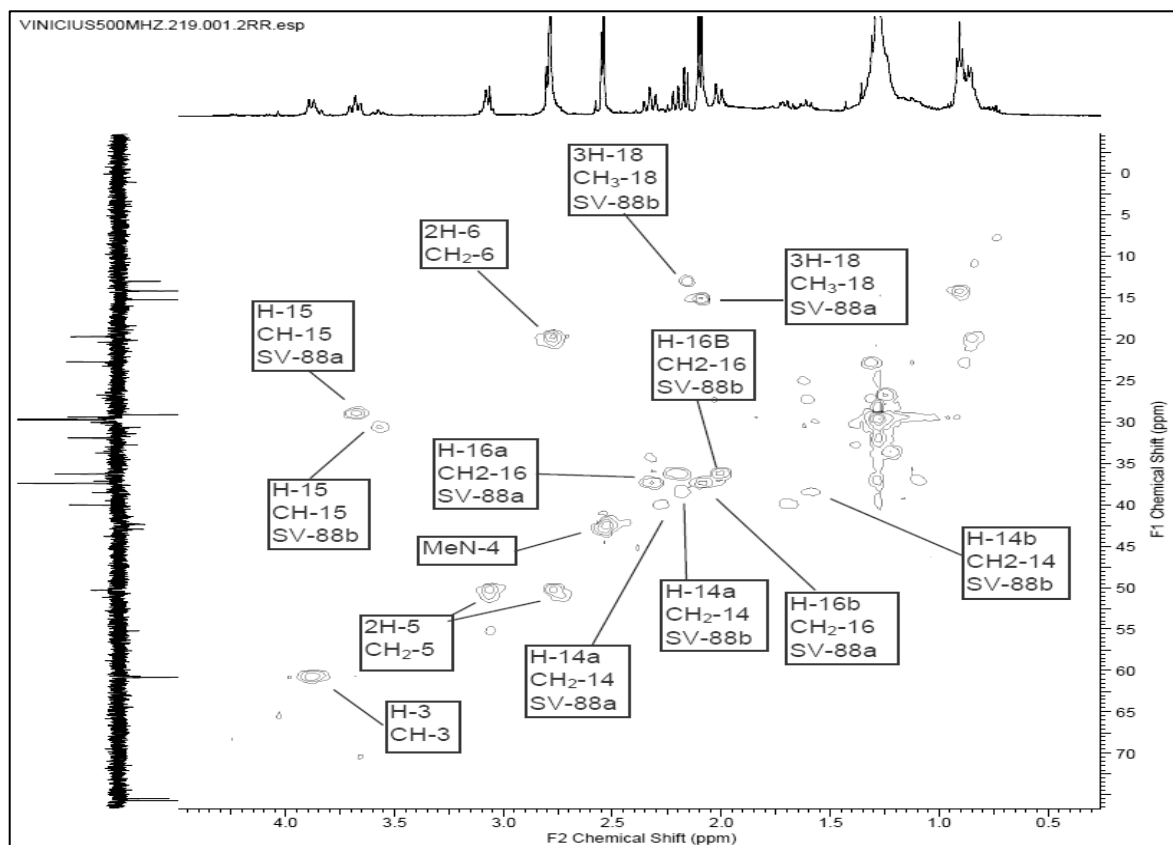


Figura 122: Ampliação do espectro de correlação heteronuclear HSQC em  $\text{CDCl}_3$  de **SV-88**

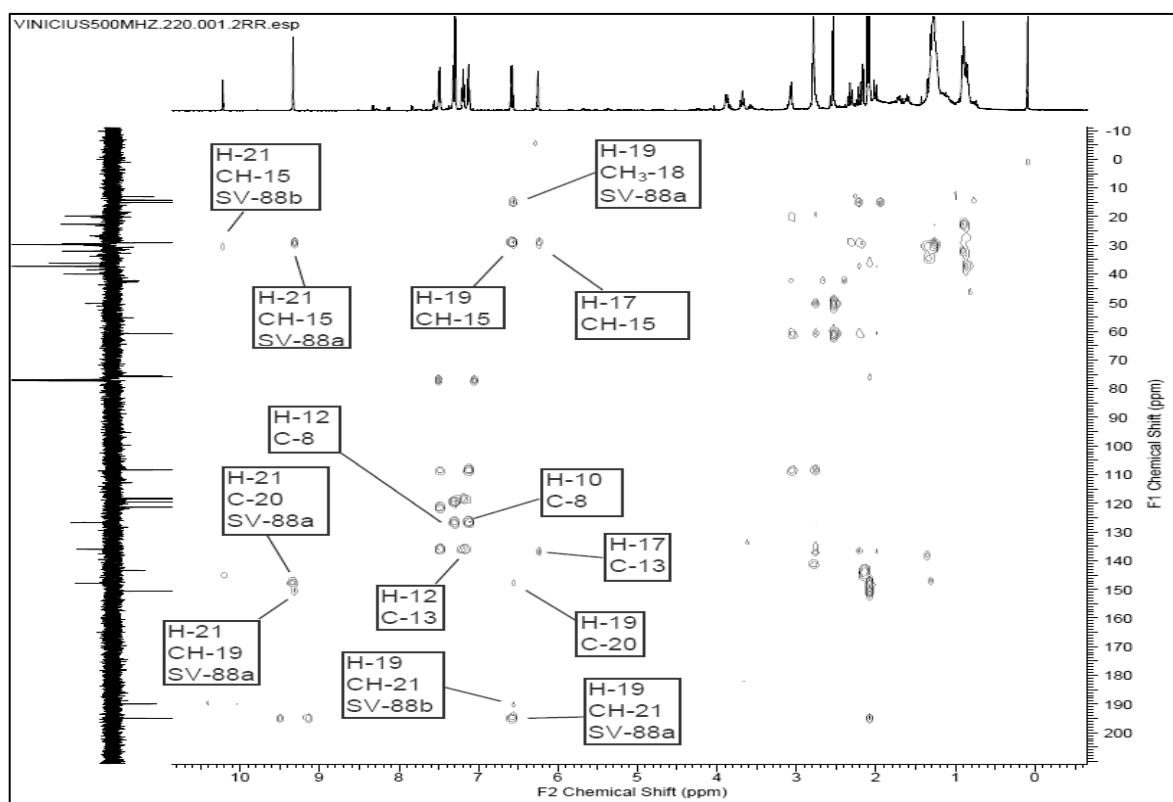


Figura 123: Espectro de correlação heteronuclear HMBC em  $\text{CDCl}_3$  de **SV-88**

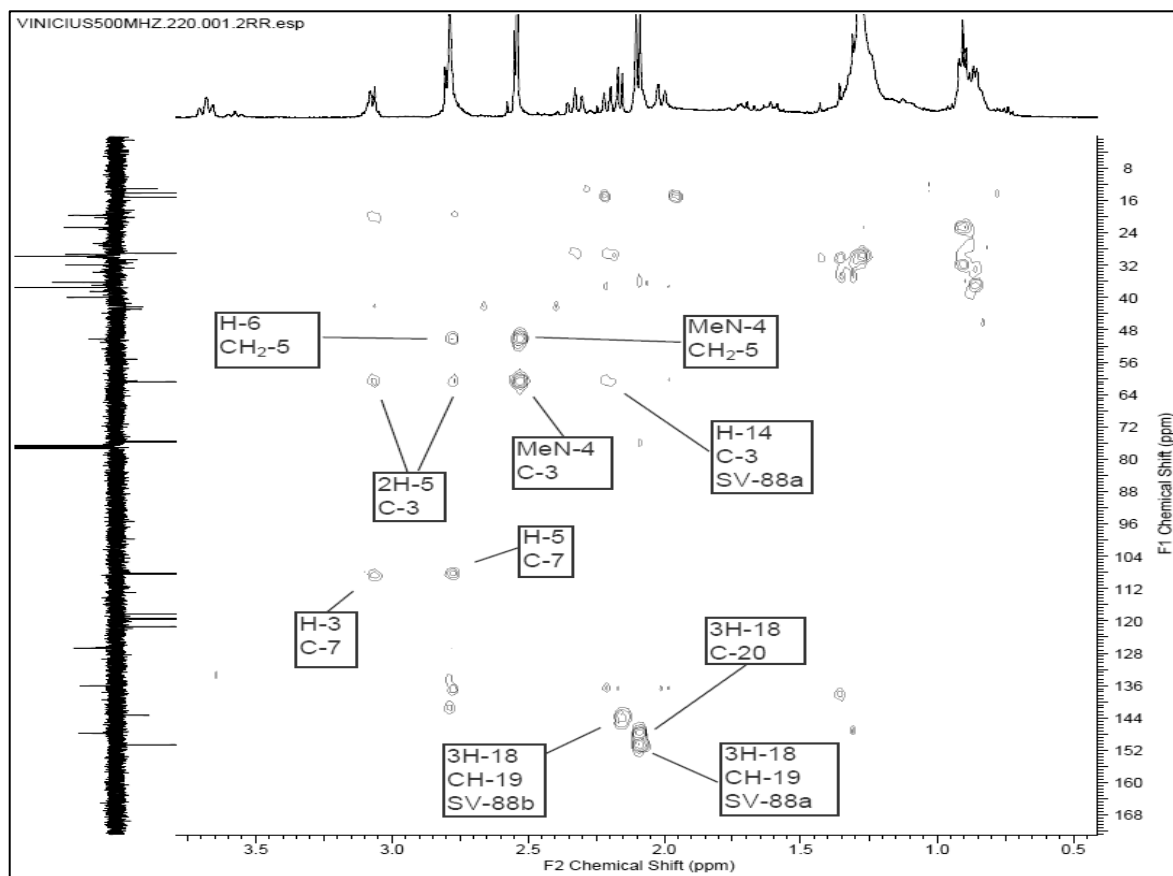


Figura 124: Ampliação do espectro de correlação heteronuclear HMBC em  $\text{CDCl}_3$  de **SV-88**

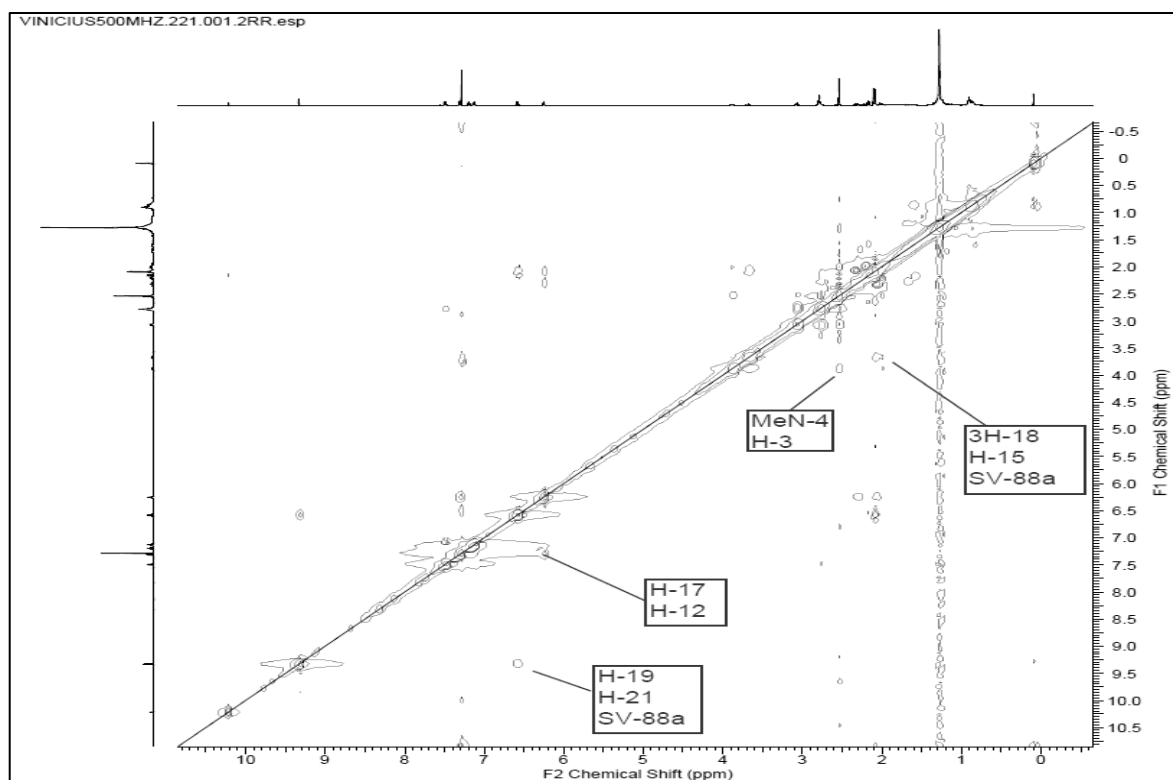
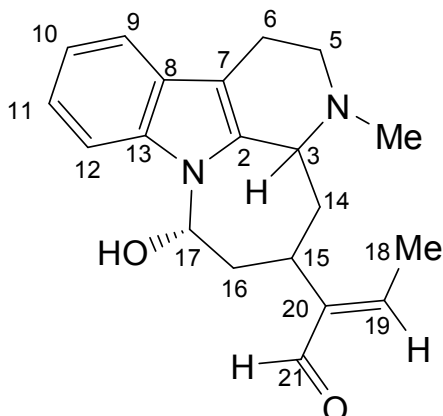


Figura 125: Espectro de correlação homonuclear  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -NOESY em  $\text{CDCl}_3$  de **SV-88**

#### 6.6.4 Identificação da substância SV-94

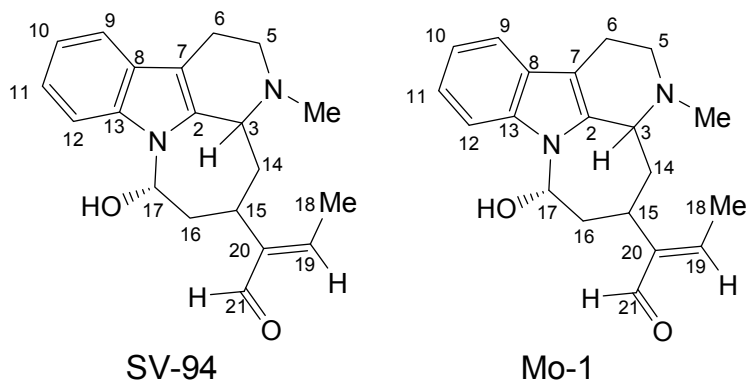


A substância **SV-94** foi isolada do extrato MeOH da madeira de *S. pikia* como um sólido amorfo de coloração amarela, apresentando resultado positivo em teste para alcaloides com reagente de Dragendorff.

O espectro de RMN<sup>1</sup>H (Figuras 127-129, pag. 207-209) mostrou sinais de hidrogênios aromáticos referentes à unidade β-carbolínica, que foram confirmados pelos acoplamentos presentes no espectro de correlação homonuclear <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY (Figura 131, pag. 211). Sinais de correspondência às interações heteronucleares observadas nos espectros de correlações HSQC (Figura 132, pag. 211) e HMBC (Figura 133, pag. 212) permitiram identificar os sinais de carbonos hidrogenados e não hidrogenados desta unidade aromática, semelhante ao alcaloide **SV-88a**, já identificado neste trabalho.

A análise por CG/EM (Figura 126, pag. 206) permitiu calcular o pico do íon molecular *m/z* 324. As propostas para as principais fragmentações observadas encontram-se no Esquema 12, pag. 206.

Os dados obtidos para **SV-94** e a comparação com os dados obtidos para **SV-88a** encontra-se na Tabela 34, pag. 205.



**Tabela 34:** Dados de RMN RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz) e  $^{13}\text{C}$  (125 MHz) em  $\text{CDCl}_3$  e as correlações observadas no espectro de HMQC e HMBC da substância **SV-94**, e a comparação com valores da literatura para o modelo **Mo-1**  $^1\text{H}$  (600 MHz) e  $^{13}\text{C}$  (150 MHz) em  $\text{CDCl}_3$  (BRANDT et al,2001). Os valores das constantes de acoplamento ( $J$ ) em Hz estão entre parêntesis e os deslocamentos químicos em ppm.

	HSQC		HMBC		Mo-1	
	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$
C						
2	136,00	-		H-17	137,0	-
7	107,09	-		H-9	108,8	-
8	125,96	-		H-10; H-12	126,7	-
13	136,49	-		H-9; H-11; H-17	136,0	-
20	146,90	-	H-21	3H-19	147,9	-
CH						
3	60,27	4,45-4,47 ( <i>m</i> )	2H-14	MeN-4	60,8	3,82 ( <i>d</i> , 10,9)
9	118,34	7,49 ( <i>d</i> , 7,7)		H-11	118,3	7,48 ( <i>d</i> , 7,7)
10	120,13	7,16 ( <i>t</i> , 7,7)		H-12	119,4	7,11 ( <i>t</i> , 7,7)
11	122,50	7,25 ( <i>t</i> , 8,4)		H-9	121,3	7,18 ( <i>t</i> , 8,2)
12	109,25	7,41 ( <i>d</i> , 8,4)		H-10	108,3	7,29 ( <i>d</i> , 8,2)
15	28,78	3,74 ( <i>t</i> , 12,5)	2H-14; H-16b	H-17; H-19; H-21	29,1	3,66 <i>dt</i> , 11,7, 1,4)
17	75,42	6,30 ( <i>d</i> , 4,2)			75,7	6,24 ( <i>d</i> , 3,7)
19	151,57	6,62 ( <i>q</i> , 7,0)	3H-18	H-21	150,5	6,55 ( <i>q</i> , 7,2)
21	195,09	9,32 ( <i>s</i> )		H-19	194,9	9,31 ( <i>s</i> )
CH <sub>2</sub>						
5	50,79	3,12-3,14 ( <i>m</i> ) 2,82-2,87 ( <i>m</i> )		2H-17	50,4	3,07 ( <i>m</i> ) 2,78 – 2,72( <i>m</i> )
6	17,55	2,82-2,87 ( <i>m</i> )			19,8	2,78 – 2,72( <i>m</i> )
14	34,82	2,31-2,37 ( <i>m</i> ) 2,15 ( <i>sl</i> )			36,3	2,19 ( <i>dd</i> , 12,8, 10,9) 1,99 ( <i>d</i> , 12,8)
16	37,49	2,31-2,37 ( <i>m</i> ) 2,09-2,10 ( <i>m</i> )			37,4	2,33 ( <i>t</i> ) 2,09 ( <i>m</i> )
CH <sub>3</sub>						
18	15,14	2,13 ( <i>d</i> , 7,0)	H-19		15,2	2,07 ( <i>d</i> , 7,2)
MeN-4	30,98	2,20 ( <i>s</i> )			42,5	2,53 ( <i>s</i> )



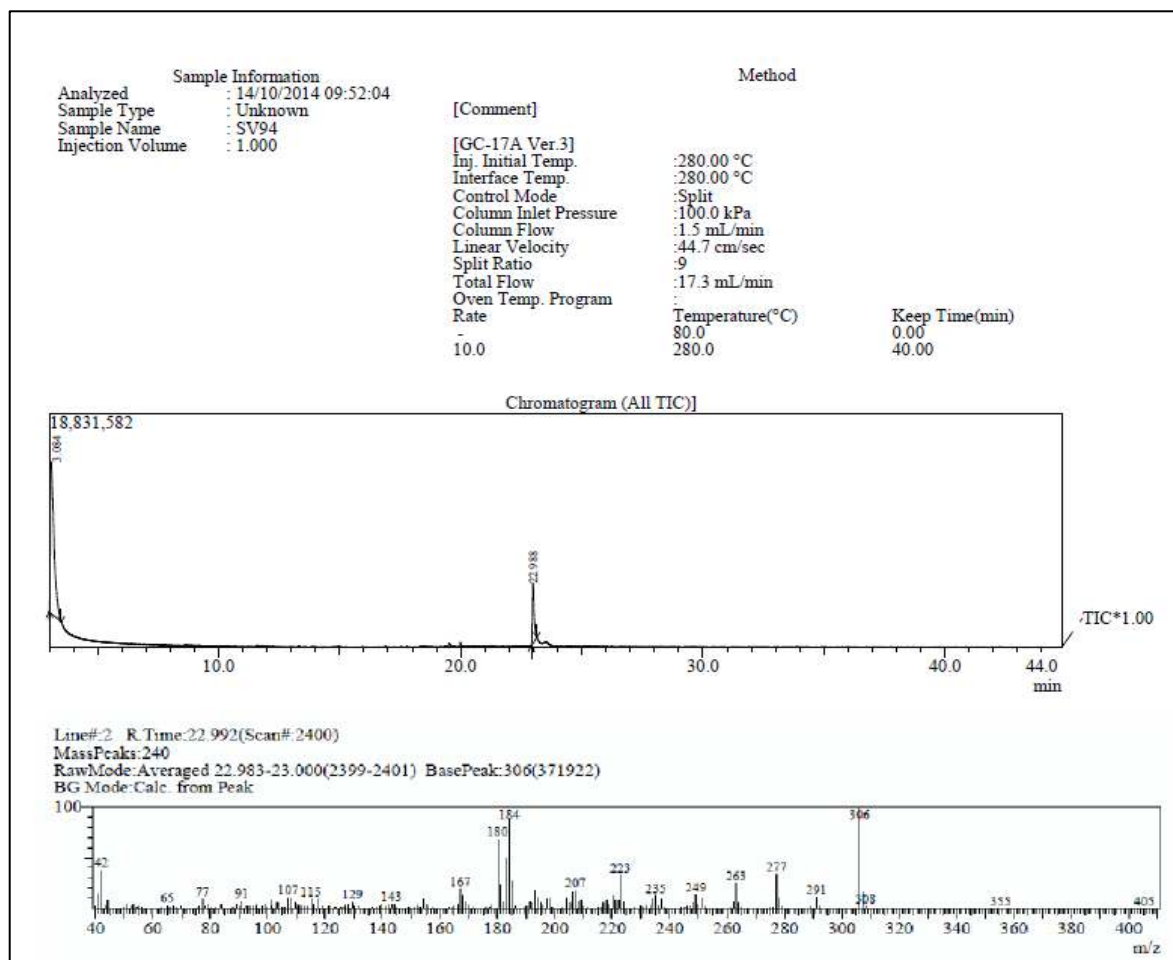
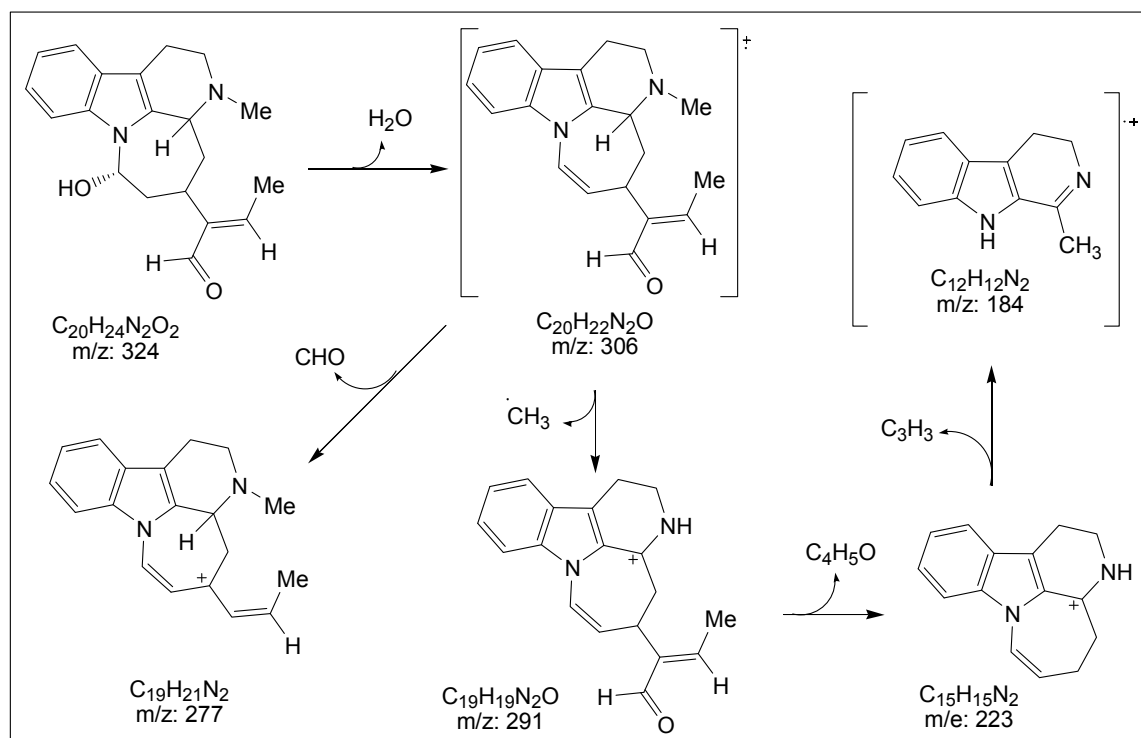


Figura 126: Cromatograma e espectro de massas para SV-94



Esquema 12: Proposta mecanistica de fragmentação para SV-94

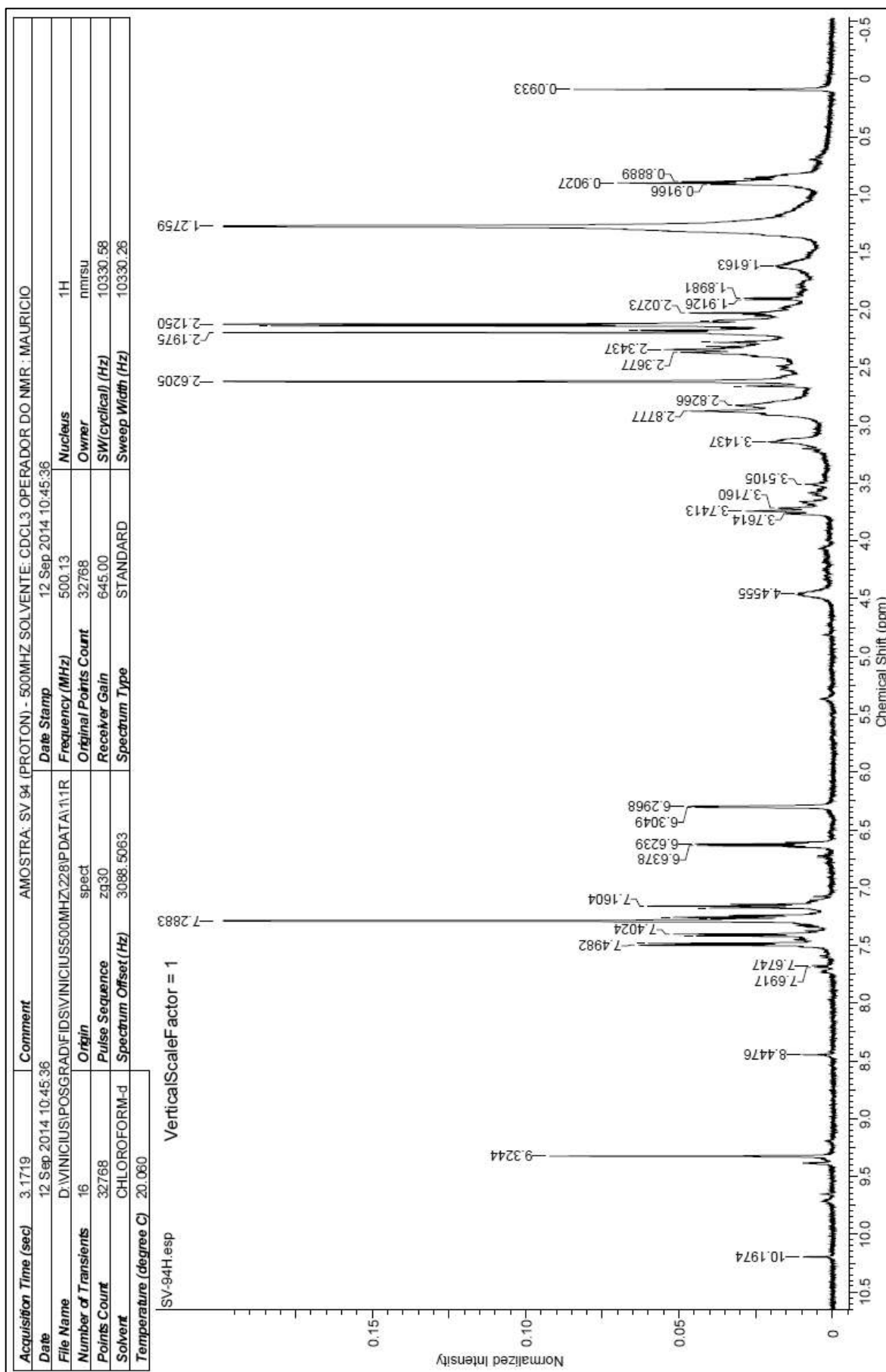


Figura 127: Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz) em  $\text{CDCl}_3$  de SV-94

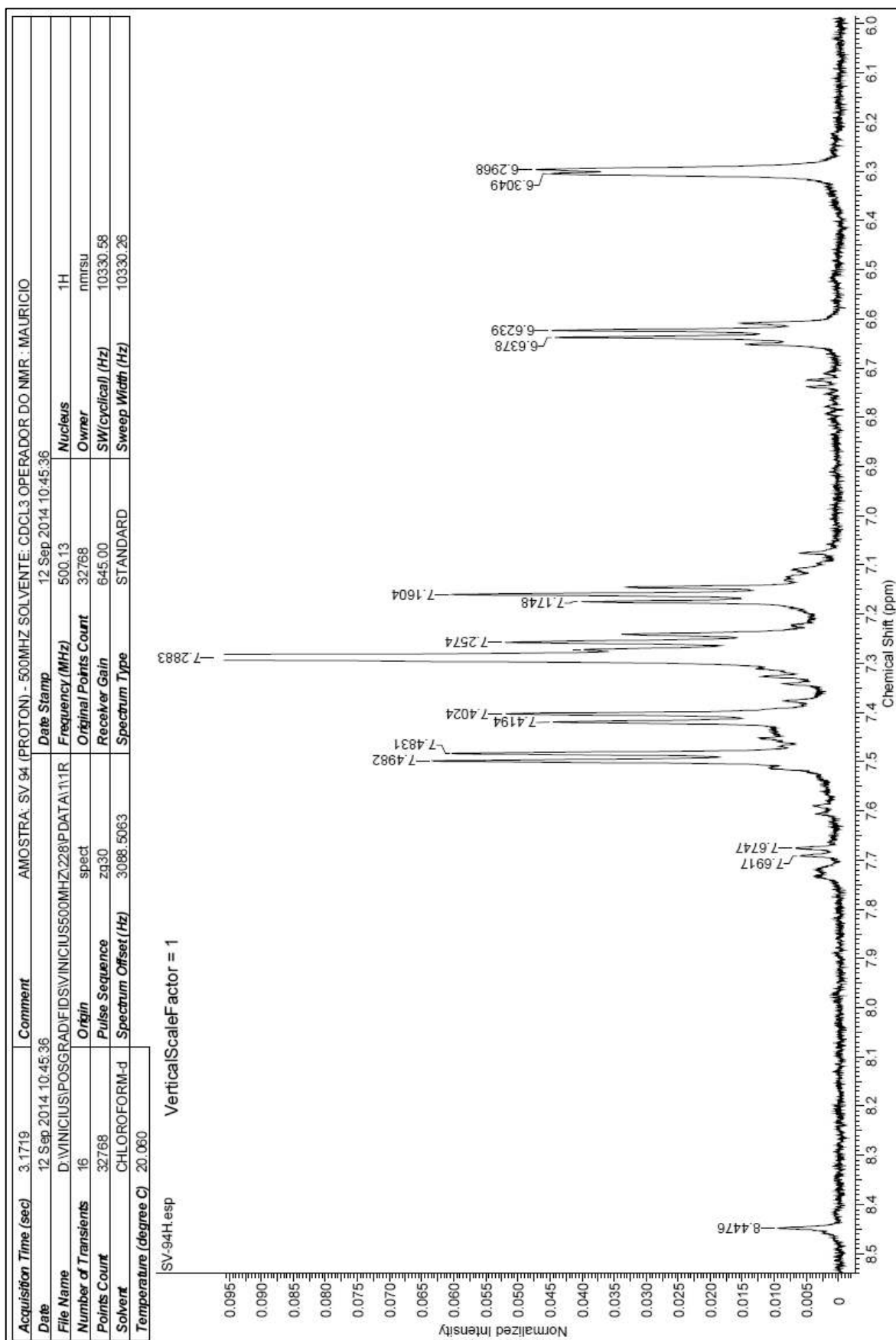
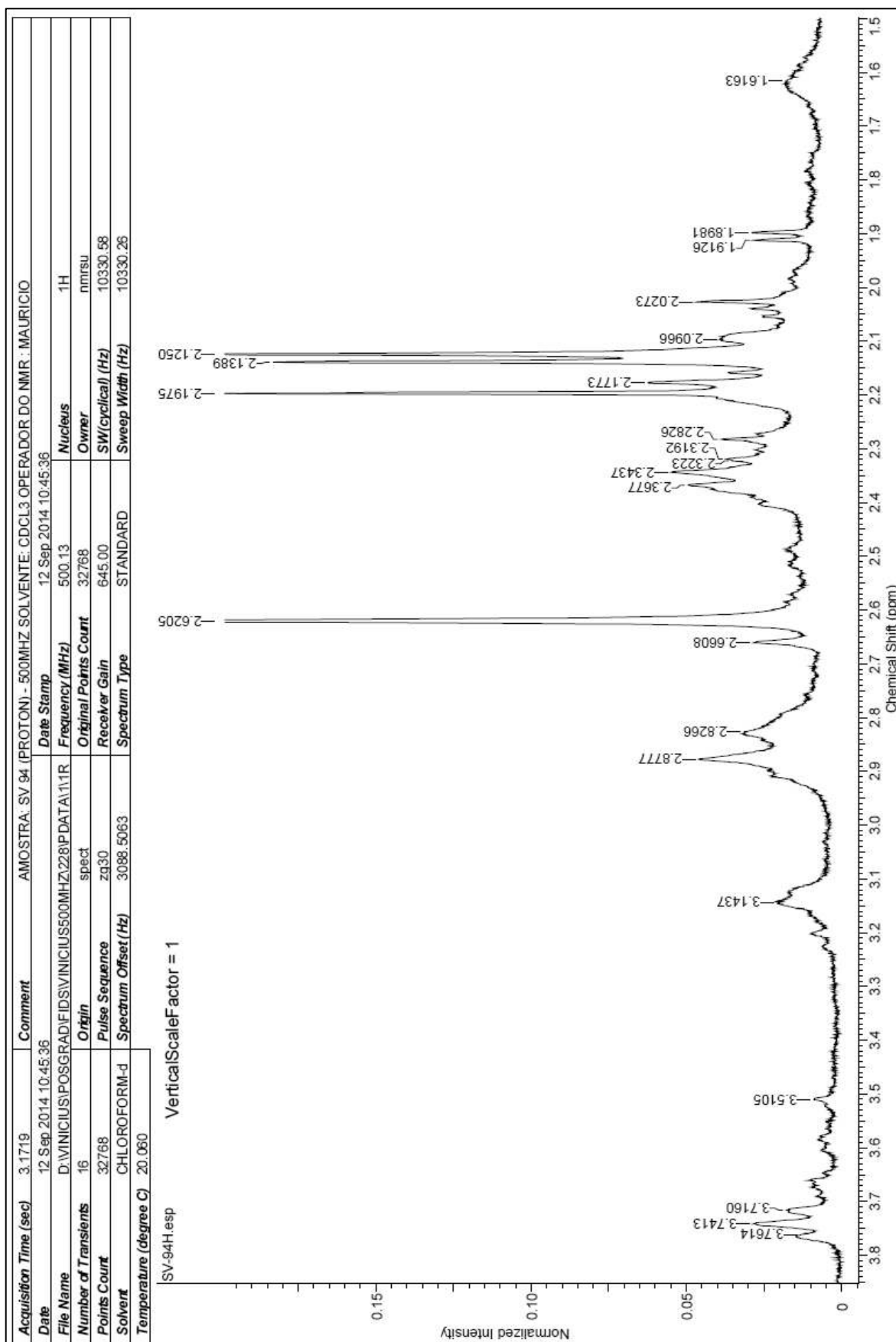


Figura 128: Ampliação da região  $\delta_H$  6.0 -  $\delta_H$  8.5 do espectro de RMN  $^1H$  (500 MHz) em  $CDCl_3$  de SV-94



**Figura 129:** Ampliação da região  $\delta_{\text{H}}$  1.5 -  $\delta_{\text{H}}$  3.8 do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz) em  $\text{CDCl}_3$  de SV-94

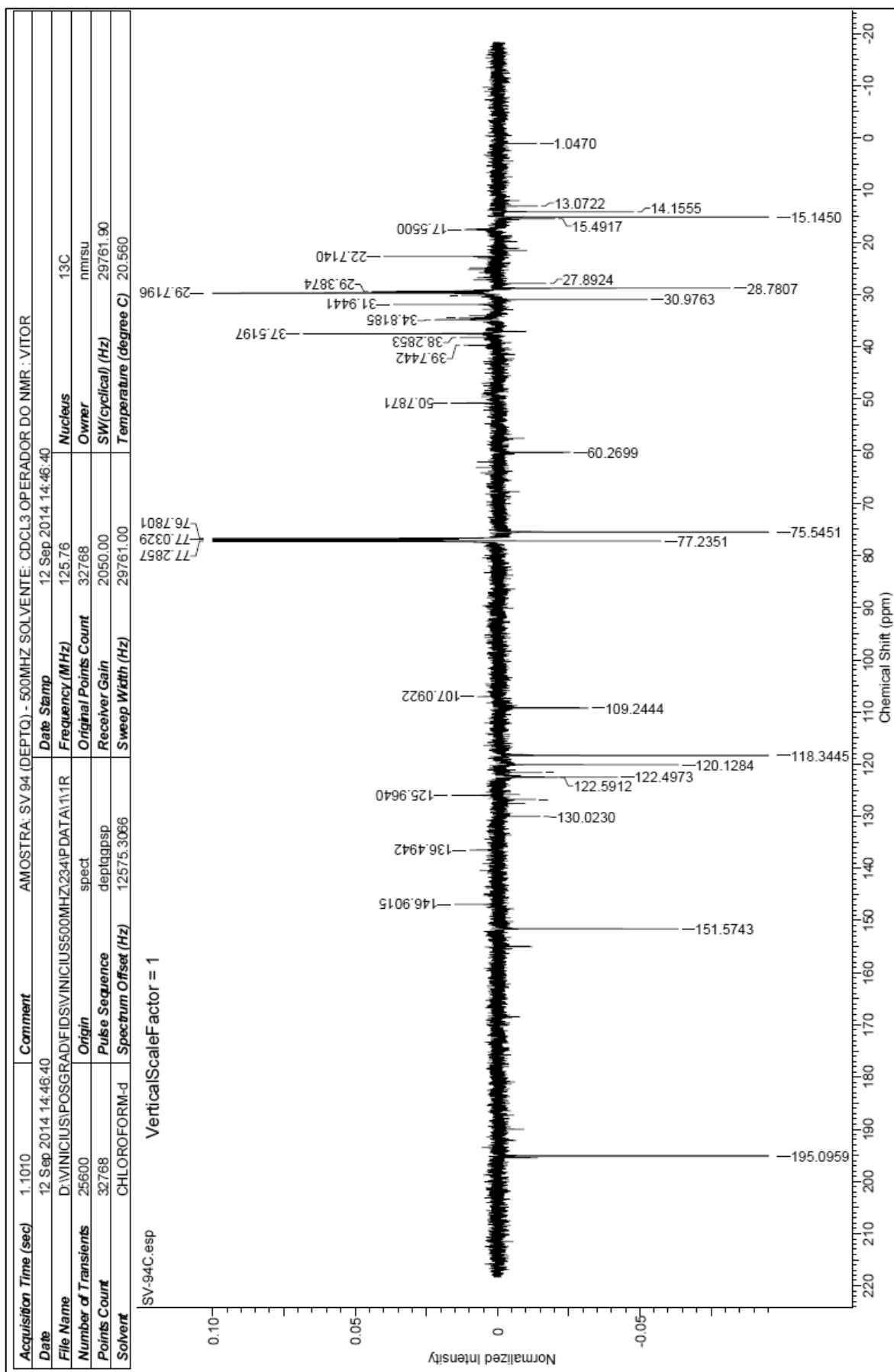


Figura 130: Espectro de RMN <sup>13</sup>C DEPT Q (125 MHz) em CDCl<sub>3</sub> de SV-94

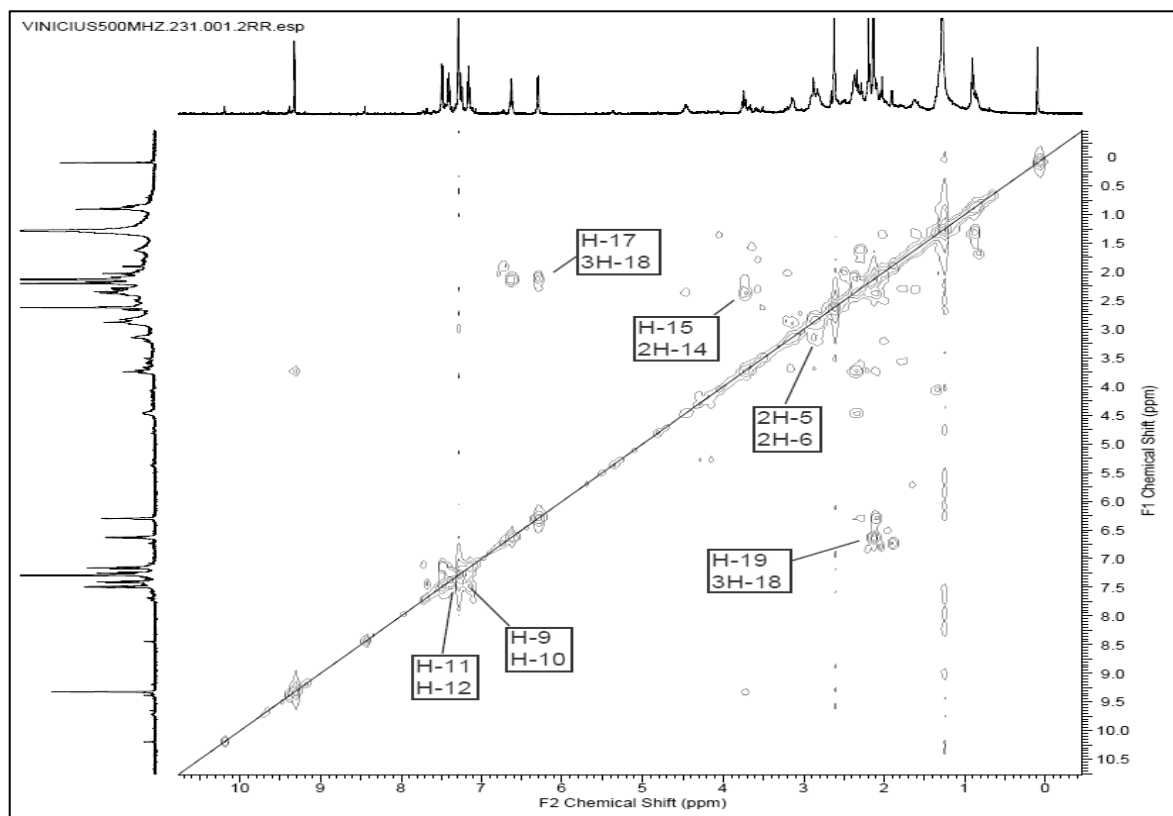


Figura 131: Espectro de correlação homonuclear  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY em  $\text{CDCl}_3$  de **SV-94**

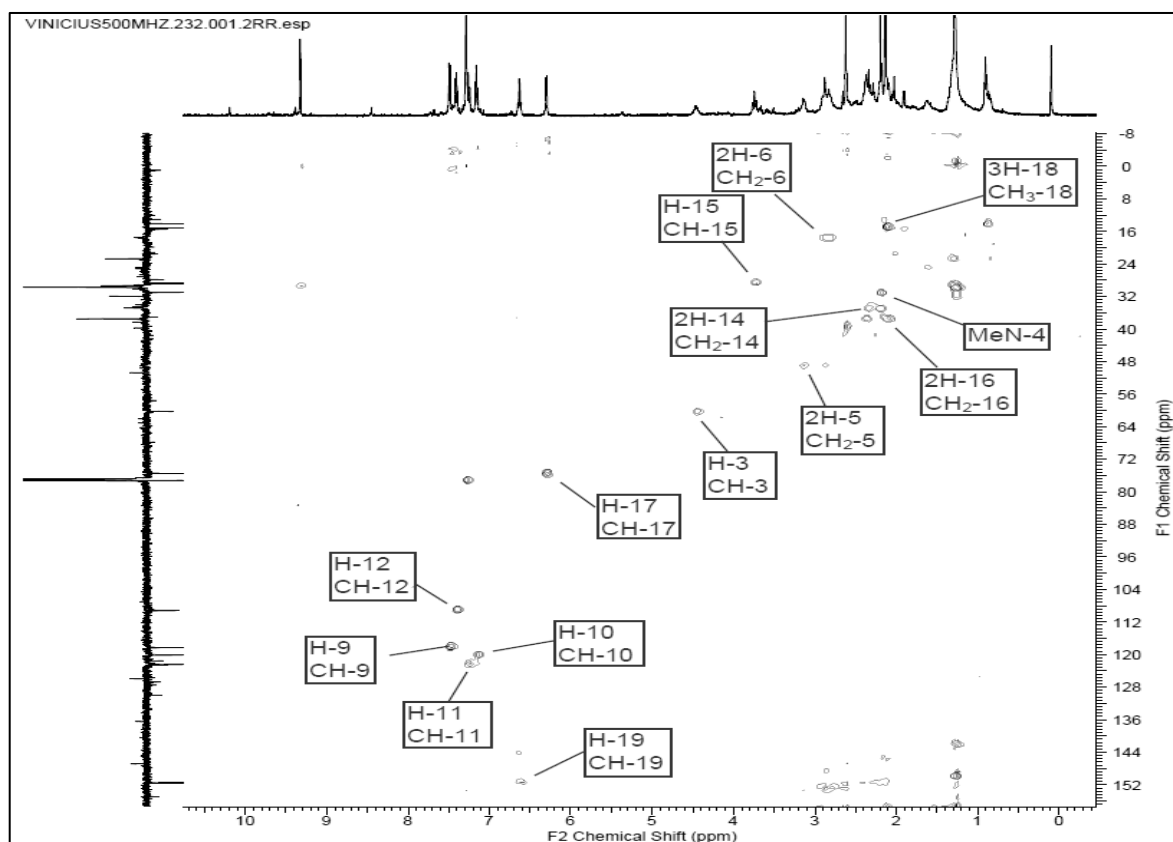


Figura 132: Espectro de correlação heteronuclear HSQC em  $\text{CDCl}_3$  de **SV-94**

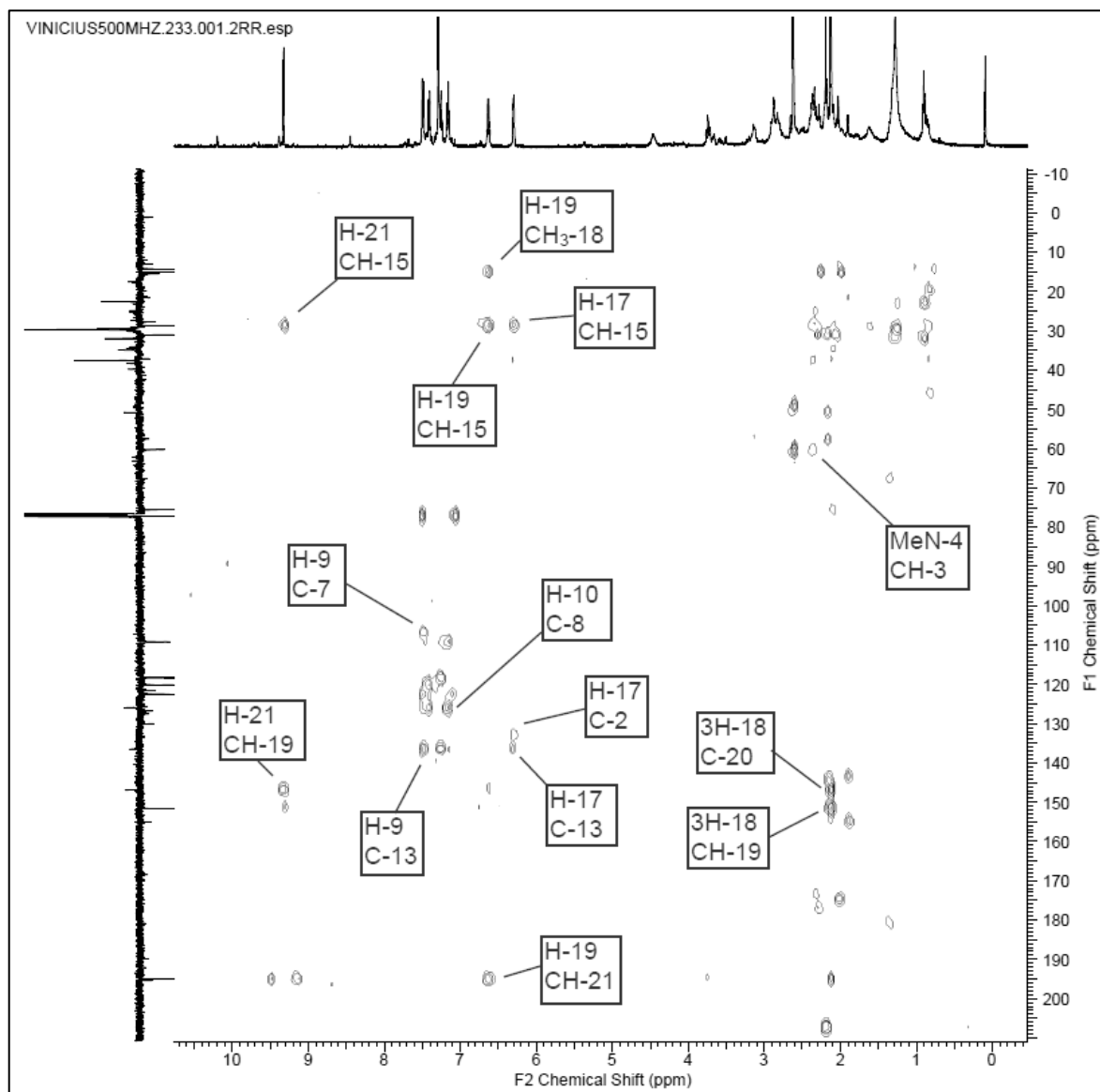
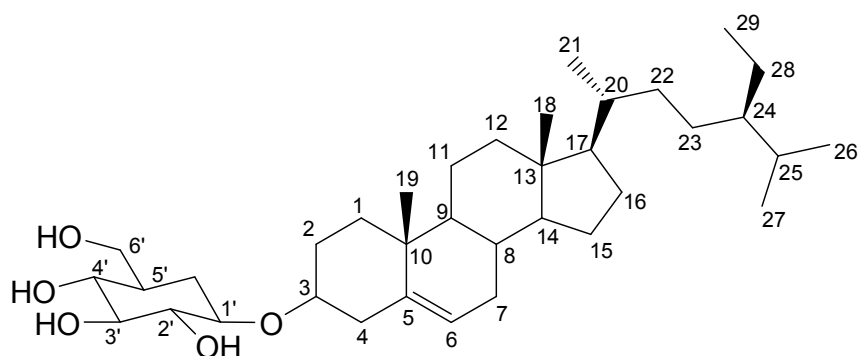


Figura 133: Espectro de correlação heteronuclear HMBC em CDCl<sub>3</sub> de **SV-94**

### 6.6.5 Identificação da substância SV-100



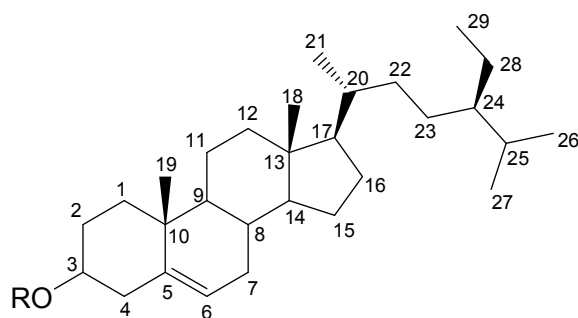
A amostra **SV-100** foi obtida do extrato metanólico da madeira de *S. pikia*, na forma de um cristal esbranquiçado, solúvel em piridina e de coloração roxa quando aquecida com vanilina sulfúrica em CCDA.

A análise do espectro de RMN<sup>1</sup>H (Figura 134, pag. 215) da amostra apresentou um grande acúmulo de sinais intensos na região de  $\delta_{\text{H}}$  0,50 a 2,55 característicos de um esqueleto esteroidal, e um sinal em  $\delta_{\text{H}}$  5,34 referente ao hidrogênio da insaturação. Observou-se ainda, um sinal em  $\delta_{\text{H}}$  5,05, característico de hidrogênio ligado a carbono anomérico, sugere a presença de uma unidade de açúcar.

O espectro de RMN<sup>13</sup>C DEPT Q (Figura 135, pag. 216) apresentou sinais característicos de carbono carbinólico em  $\delta_{\text{CH}}$  77,89 (CH-3), e sinais de carbonos insaturados em  $\delta_{\text{C}}$  140,70 (C-5) e  $\delta_{\text{CH}}$  121,72 (CH-6). E também os sinais observados na região de  $\delta_{\text{CH}}$  62,63 a 78,41, e o sinal em  $\delta_{\text{CH}_2}$  102,38, característicos de unidade glicosídica.

A análise do espectro de RMN<sup>1</sup>H (Figura 134, pag. 215) e RMN<sup>13</sup>C DEPT Q (Figura 135, pag. 216) e a comparação com dados da literatura (MACARI et al,1990) e com os obtidos para **SV-84**, permitiram identificar a substância **SV-100** como sendo o esteroide O- $\beta$ -D-glicopiranosilsterol. Os dados obtidos para **SV-100** e a comparação com os dados obtidos para **SV-84** estão sumarizados na Tabela 35, pag. 214.





**SV-100** = R= Glic

**Mo-1** = R= Glic

**Mo-2** = R= H

**Tabela 35:** Dados de RMN RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz) em piridina-d5 da substância **SV-100** e comparação com valores de literatura para os modelos **Mo-1**  $^{13}\text{C}$  (20 MHz) em  $\text{CDCl}_3$  (MACARI et al., 1990) e **Mo-2**  $^{13}\text{C}$  (600 MHz) em  $\text{CDCl}_3$  (CHATURVEDULA & PRAKASH, 2012). Os valores das constantes de acoplamento ( $J$ ) em Hz estão entre parêntesis. Deslocamentos químicos em ppm.

	SV-100	SV-84	Mo-1	Mo-2
	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{C}}$
C				
5	140,70	140,68	140,3	140,9
10	37,27	37,27	36,5	36,7
13	42,10	42,27	42,3	42,6
CH				
3	77,89	77,87	80,0	72,0
6	121,72	121,70	122,0	121,9
8	31,84	31,85	31,8	32,1
9	50,13	50,13	50,2	50,3
14	56,61	56,61	56,7	56,9
17	56,03	56,03	56,1	56,3
20	36,18	36,18	36,0	36,3
24	45,83	45,83	45,8	46,1
25	29,25	29,26	29,1	29,4
CH <sub>2</sub>				
1	36,72	36,72	37,2	37,5
2	30,05	30,05	29,5	31,9
4	39,74	39,74	38,9	42,5
7	31,84	31,97	31,8	32,1
11	20,60	21,07	20,9	21,3
12	39,13	39,13	39,7	39,9
15	24,30	24,30	24,2	26,3
16	29,75	28,33	28,1	28,5
22	34,00	34,00	34,0	34,2
23	26,25	26,18	26,0	26,3
28	23,10	23,18	23,0	23,3
CH <sub>3</sub>				
18	11,95	11,95	11,9	12,0
19	18,99	18,80	19,2	19,0
21	18,99	19,00	18,7	19,2
26	19,76	19,76	19,7	20,1
27	19,21	19,21	18,9	19,6
29	11,76	11,76	11,0	12,2
Gli				
1'	102,38	102,36	99,6	-
2'	75,15	75,13	71,7	-
3'	78,30	78,28	73,0	-
4'	71,50	71,48	68,7	-
5'	78,41	78,40	71,5	-
6'	62,63	62,63	61,9	-

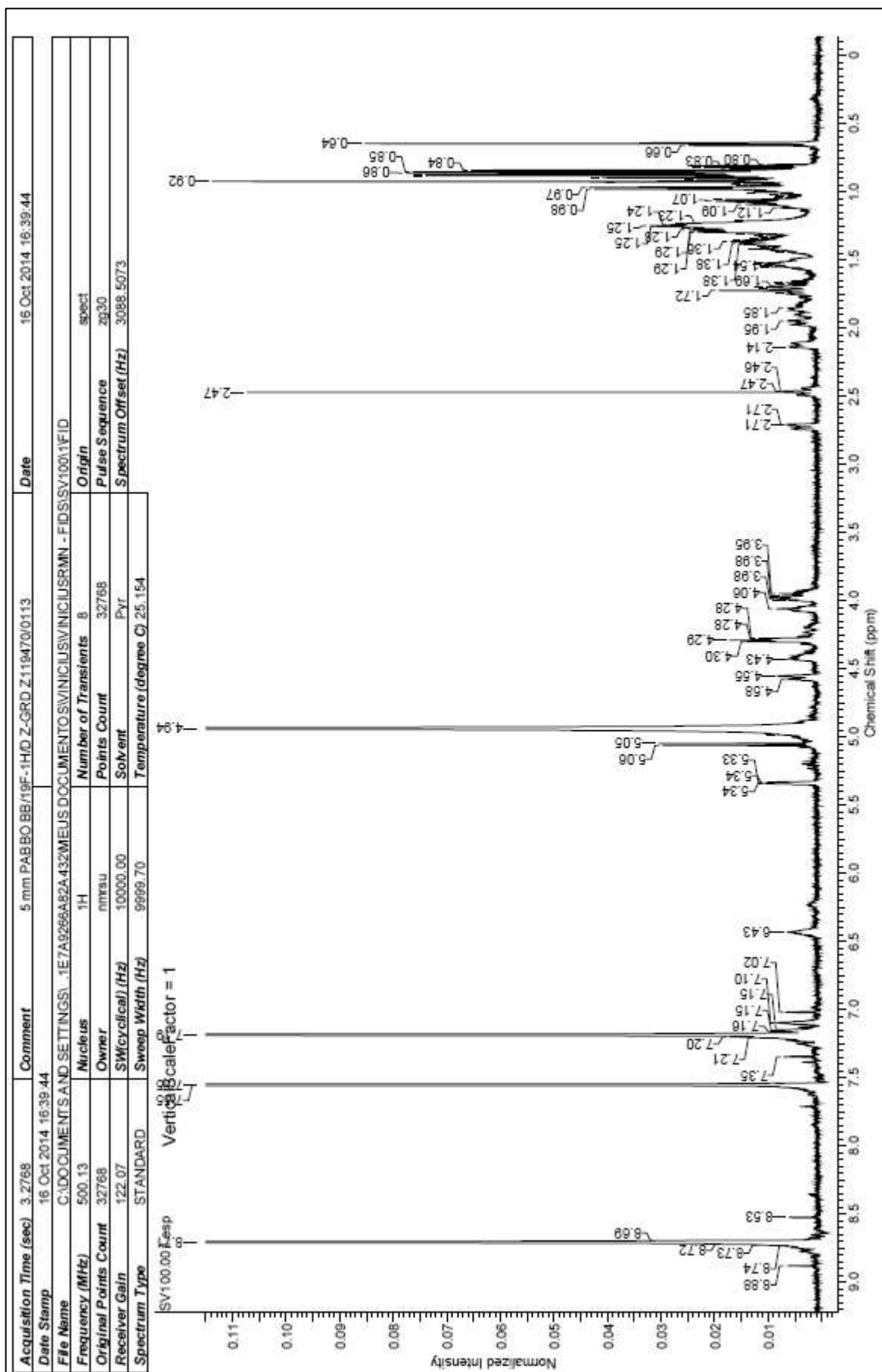


Figura 134: Espectro de RMN<sup>1</sup>H (500 MHz) em C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N de SV-100

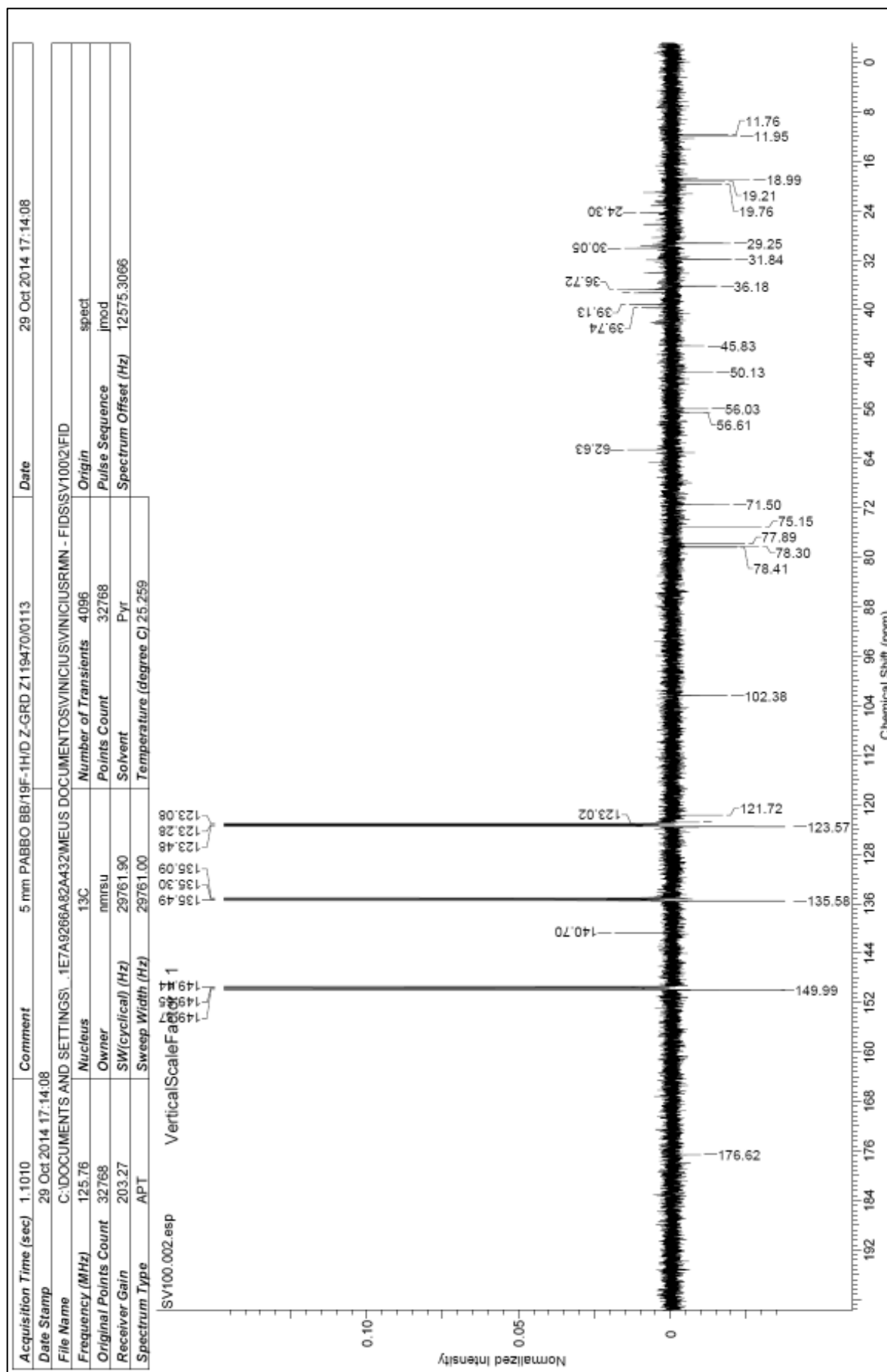
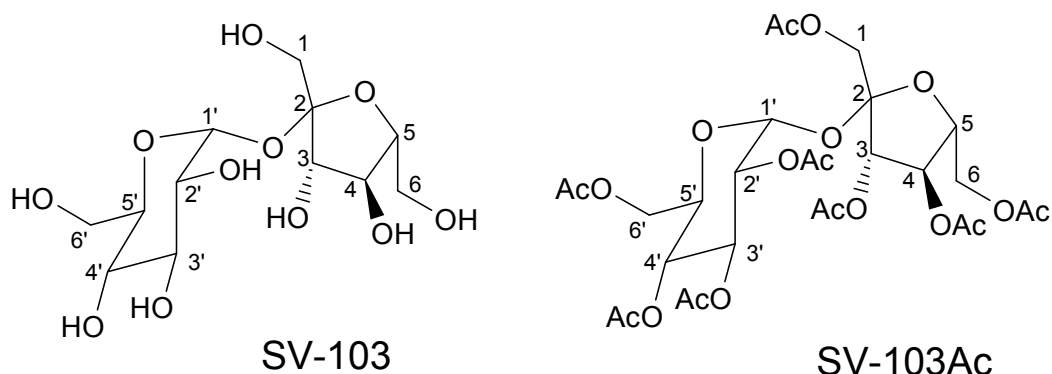


Figura 135: Espectro de RMN<sup>13</sup>C DEPT Q (125 MHz) em C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N de SV-100

### 6.6.6 Identificação do derivado acetilado SV-103



O derivado acetilado **SV-103Ac** da substância **SV-103** foi obtido como produto da acetilação em piridina:ácido acético (1:2; v/v) a partir da fração aquosa da partição do extrato metanólico da madeira de *S. pikia*, apresentando-se sob a forma de um sólido amorfo.

Na análise do espectro de RMN<sup>13</sup>C DEPTQ (Figura 138, pag. 222) foram observados três sinais referentes a carbonos metilênicos em  $\delta_{\text{CH}_2}$  62,75 (CH<sub>2</sub>-1),  $\delta_{\text{CH}_2}$  63,48 (CH<sub>2</sub>-6) e  $\delta_{\text{CH}_2}$  61,87 (CH<sub>2</sub>-6'); nove sinais para carbonos não hidrogenados, sendo oito relativos a carbonos de grupo acetoxila, e um em  $\delta_{\text{C}}$  103,98 (C-2). Foram observados ainda, oito sinais para carbonos metínicos em  $\delta_{\text{CH}}$  75,88 (CH-3),  $\delta_{\text{CH}}$  75,88 (CH-3),  $\delta_{\text{CH}}$  75,07 (CH-4),  $\delta_{\text{CH}}$  79,10 (CH-5),  $\delta_{\text{CH}}$  89,92 (CH-1'),  $\delta_{\text{CH}}$  68,37 (CH-2'),  $\delta_{\text{CH}}$  68,55 (CH-3'),  $\delta_{\text{CH}}$  70,37 (CH-4') e  $\delta_{\text{CH}}$  66,65 (CH-5'). E ainda oito sinais para grupos metila de grupos acetoxila, totalizando 28 átomos de carbono (Tabela 36, pag. 219).

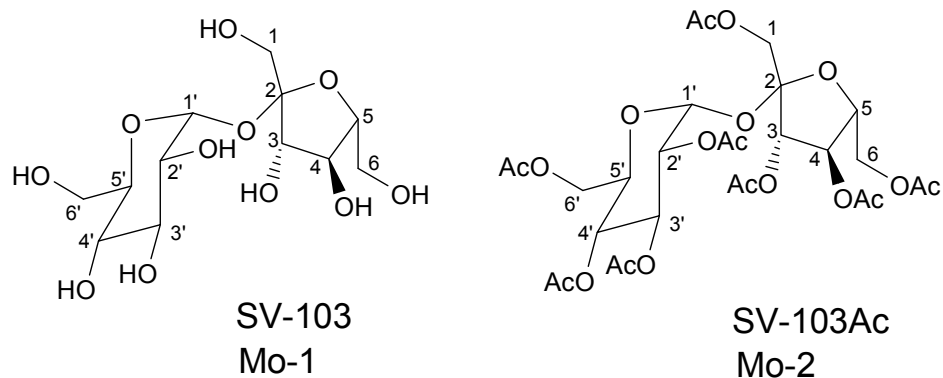
O espectro de RMN<sup>1</sup>H (Figuras 136 e 137, pag. 220 e 221) apresentou um sinal característico de hidrogênio de uma unidade glicosídica em  $\delta_{\text{H}}$  5,74 (1H, *d* 3,6Hz, H-1') (SILVERSTEIN et al, 2007). E o espectro de correlação homonuclear <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY (Figuras 139 e 140, pag. 223) corrobora para a presença desta unidade glicosídica através das correlações entre o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  4,88 (H-2') com os hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  5,74 (H-1') e  $\delta_{\text{H}}$  5,48 (H-3') e do hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  5,07 (H-4') com os hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  5,48 (H-3') e  $\delta_{\text{H}}$  4,30 (H-5').

A análise do espectro de correlação heteronuclear HSQC (Figuras 141 e 142, pag. 224) confirma a unidade glicosídica através das correlações entre o átomo de carbono em  $\delta_{\text{CH}}$  89,92 (CH-1') e o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  5,74 (H-1'), entre o carbono em  $\delta_{\text{CH}}$  68,37 (CH-2') e o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  4,88 (H-2'), entre o carbono

em  $\delta_{\text{CH}}$  68,55 (CH-3') e o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  5,48 (H-3'), entre o carbono em  $\delta_{\text{CH}}$  70,37 (CH-4') e o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  5,07 (H-4') e entre o carbono em  $\delta_{\text{CH}}$  66,65 (CH-5') e o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  4,30 (H-5').

O espectro de correlação heteronuclear HMBC (Figuras 143 e 144, pag. 225) apresentou as correlações a  $^2J$  entre o carbono em  $\delta_{\text{C}}$  103,98 (C-2) e os hidrogênios 2H-1, entre o carbono em  $\delta_{\text{CH}}$  75,88 (CH-3) e o hidrogênio H-4, e entre o carbono  $\delta_{\text{CH}}$  79,10 (CH-5) e os hidrogênios H-4 e 2H-6. E as correlações à  $^3J$  entre o carbono em  $\delta_{\text{C}}$  103,98 (C-2) com os hidrogênios H-4 e H-1', entre o carbono em  $\delta_{\text{CH}_2}$  61,87 (CH<sub>2</sub>-6') com o hidrogênio H-4'.

O conjunto desses dados e a comparação com dados da literatura (BREITMEIR, & VOELTER, 1987) possibilitaram a identificação da substância **SV-103Ac** como o derivado acetilado (peracetilsucrose) da substância natural sucrose ( $\alpha$ -D-glicopiranosila- $\beta$ -D-frutofuranosídeo; **SV-103**).



**Tabela 36:** Dados de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz) e  $^{13}\text{C}$  (125 MHz) em MeOD e as correlações observadas no espectro de HMQC e HMBC de **SV-103Ac** e a comparação com valores da literatura para os modelos **Mo-1** (BREITMEIR, & VOELTER, 1987) e **Mo-2** (POUCHERT e BEHNKE, 1993) Os valores das constantes de acoplamento ( $J$ ) em Hz, estão entre parêntesis e os deslocamentos em ppm.

	HSQC		HMBC		Mo-1	Mo-2
	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$^2J_{\text{HC}}$	$^3J_{\text{HC}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{C}}$
C						
2	103,98	-	2H-1	H-1'; H-4	104,4	104,01
AcO-1	171,07	-			-	170,65
AcO-3	170,95	-			-	170,44
AcO-4	170,50	-			-	170,07
AcO-6	170,36	-			-	170,00
AcO-2'	170,30	-			-	169,86
AcO-3'	170,26	-			-	169,63
AcO-4'	169,98	-			-	169,48
AcO-6'	169,85	-			-	-
CH						
3	75,88	5,50 ( <i>d</i> , 5,5)		2H-1; AcO-3	77,4	75,72
4	75,07	5,40 ( <i>t</i> , 5,5)	H-5	2H-6; AcO-4	75,0	75,02
5	79,10	4,29-4,30 ( <i>m</i> )	2H-6		82,2	79,14
1'	89,92	5,74 ( <i>d</i> , 3,6)			92,9	89,95
2'	68,37	4,86-4,88 ( <i>m</i> )	H-3'	AcO-2'	72,0	68,52
3'	68,55	5,48 ( <i>t</i> , 10,4)	H-2'; H-4'	H-1'; AcO-3'	73,6	69,64
4'	70,37	5,07 ( <i>t</i> , 10,4)	H-3'	AcO-4'	70,2	68,23
5'	68,65	4-29-4,30 ( <i>m</i> )	H-4'; 2H-6'	H-1'; H-3'	73,3	70,29
CH <sub>2</sub>						
1	62,75	4,29 ( <i>d</i> , 12,2) 4,22 ( <i>d</i> , 12,2)		H-3	63,3	62,88
6	63,48	4,35( <i>dd</i> , 4,8; 4,3) 4,29-4,30 ( <i>m</i> )	H-5	H-4	63,4	63,64
6'	61,87	4,19( <i>d</i> , 2,1); 4,17( <i>d</i> , 2,4)		H-4'	61,1	61,77
CH <sub>3</sub>						
AcO-1	19,35	2,12( <i>s</i> )		2H-1	-	20,69
AcO-3	19,29	2,18( <i>s</i> )		H-3	-	20,63
AcO-4	19,27	2,11( <i>s</i> )		H-4	-	20,56
AcO-6	19,25	2,12( <i>s</i> )		H-6	-	-
AcO-2'	19,25	2,09( <i>s</i> )		H-2'	-	-
AcO-3'	19,21	2,02( <i>s</i> )		H-3'	-	-
AcO-4'	19,18	2,05( <i>s</i> )		H-4'	-	-
AcO-6'	19,18	2,08( <i>s</i> )		2H-6'	-	-

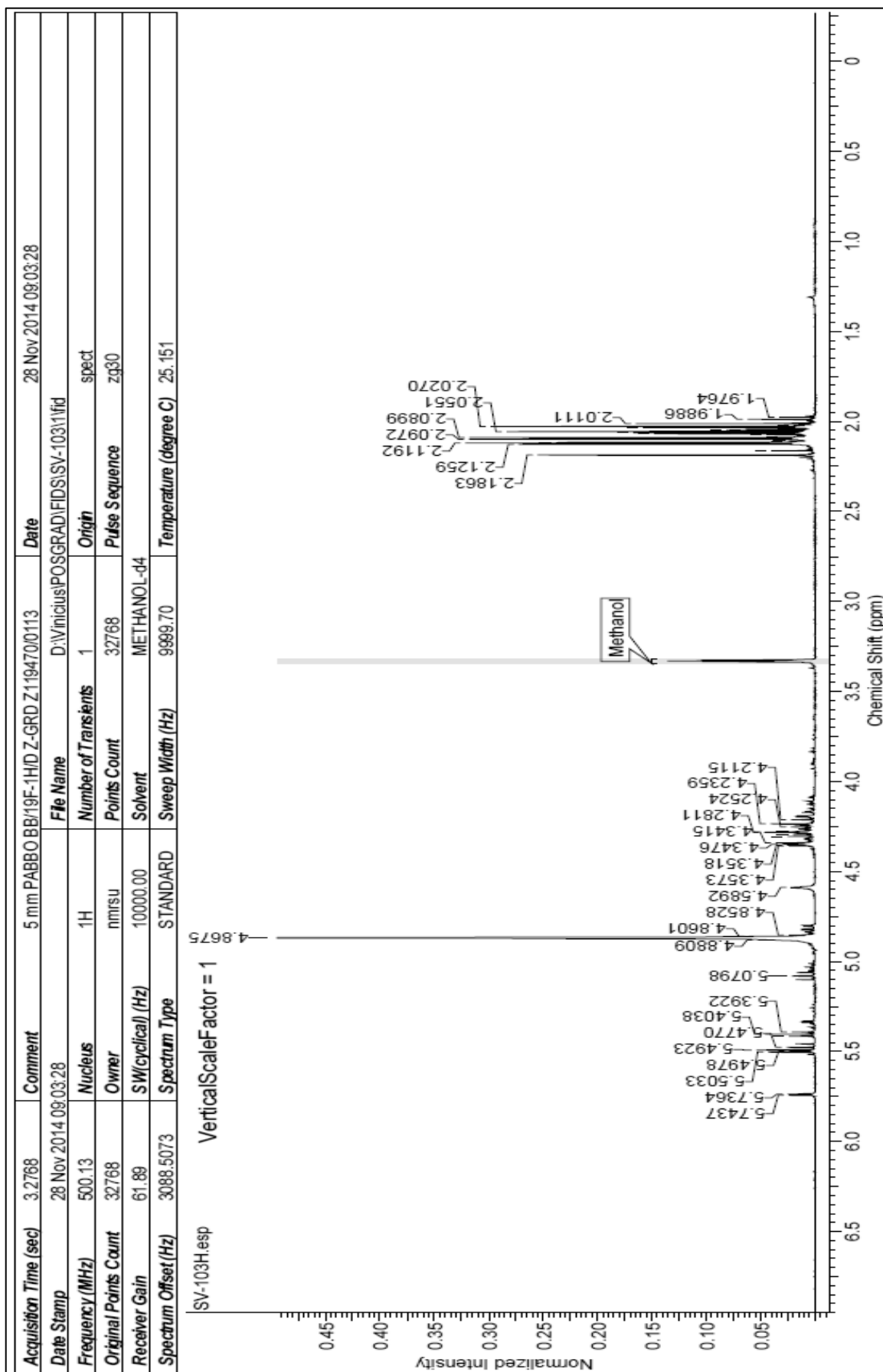


Figura 136: Espectro de RMN<sup>1</sup>H (500 MHz) em MeOD de SV-103

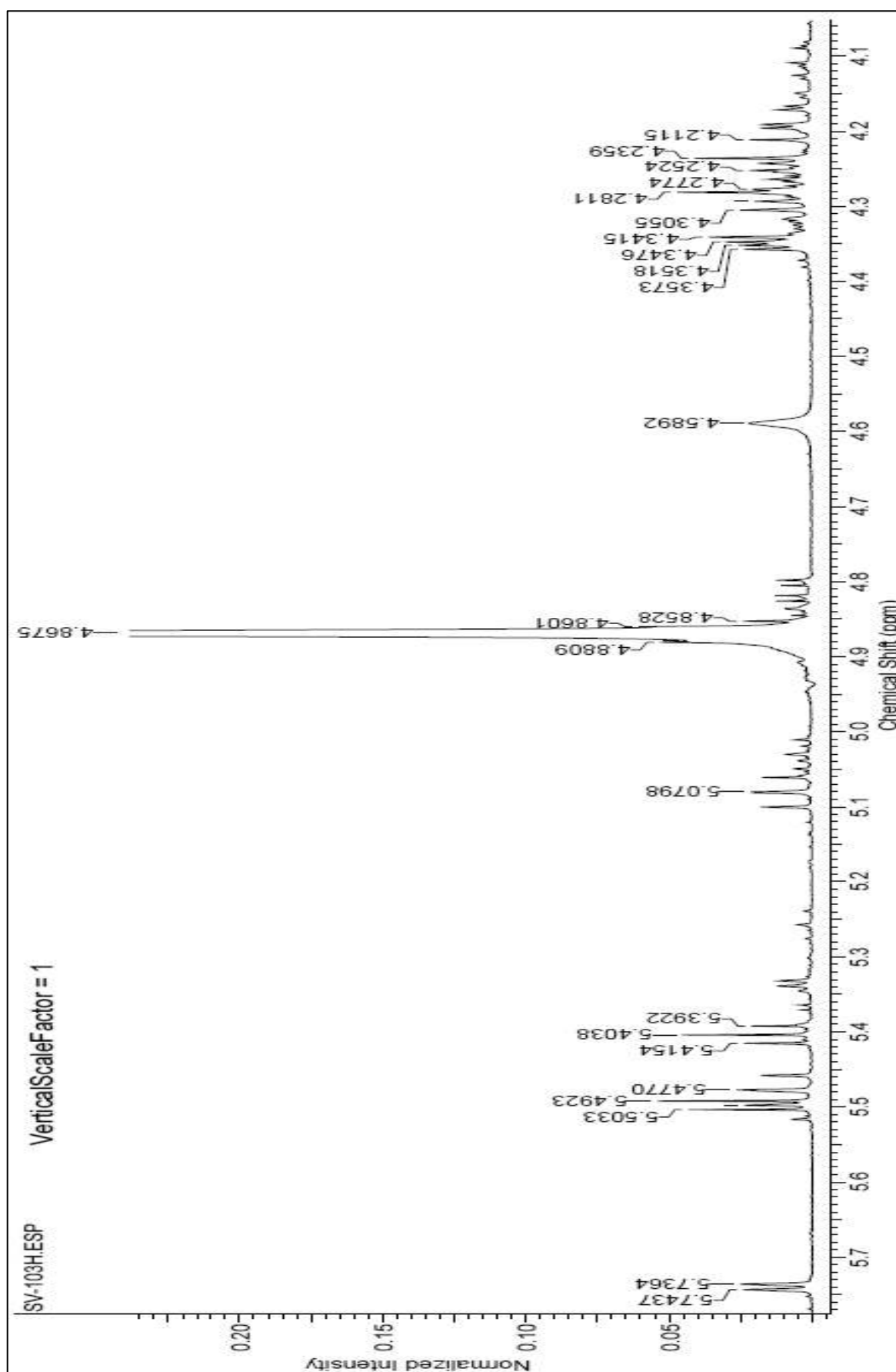


Figura 137: Ampliação da região de  $\delta_{\text{H}}$  4.1 –  $\delta_{\text{H}}$  5.7 do espectro de RMN<sup>1</sup>H (500 MHz) em MeOD de SV-103



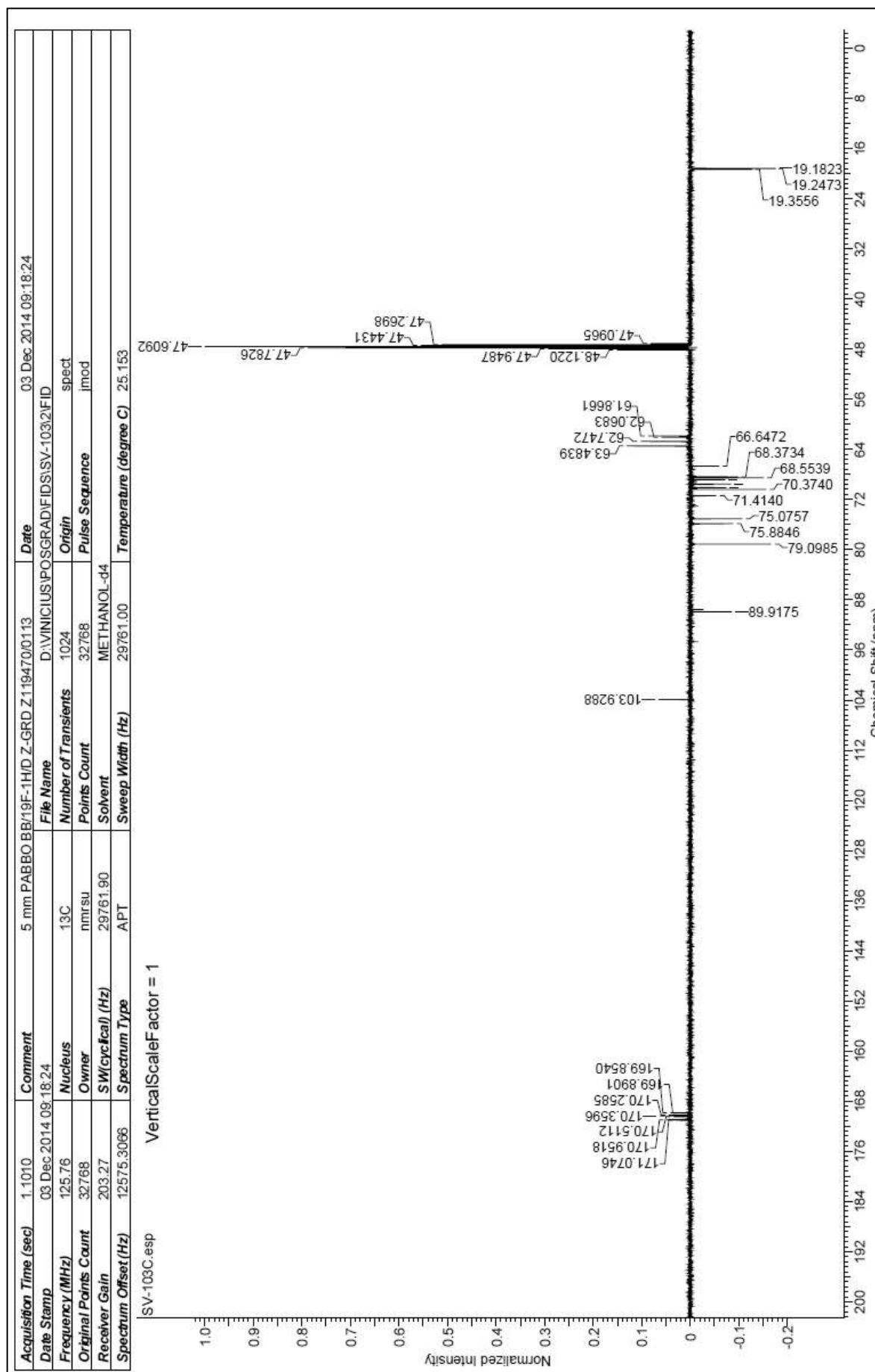


Figura 138: Espectro de RMN<sup>13</sup>C DEPT Q (125 MHz) em MeOD de SV-103

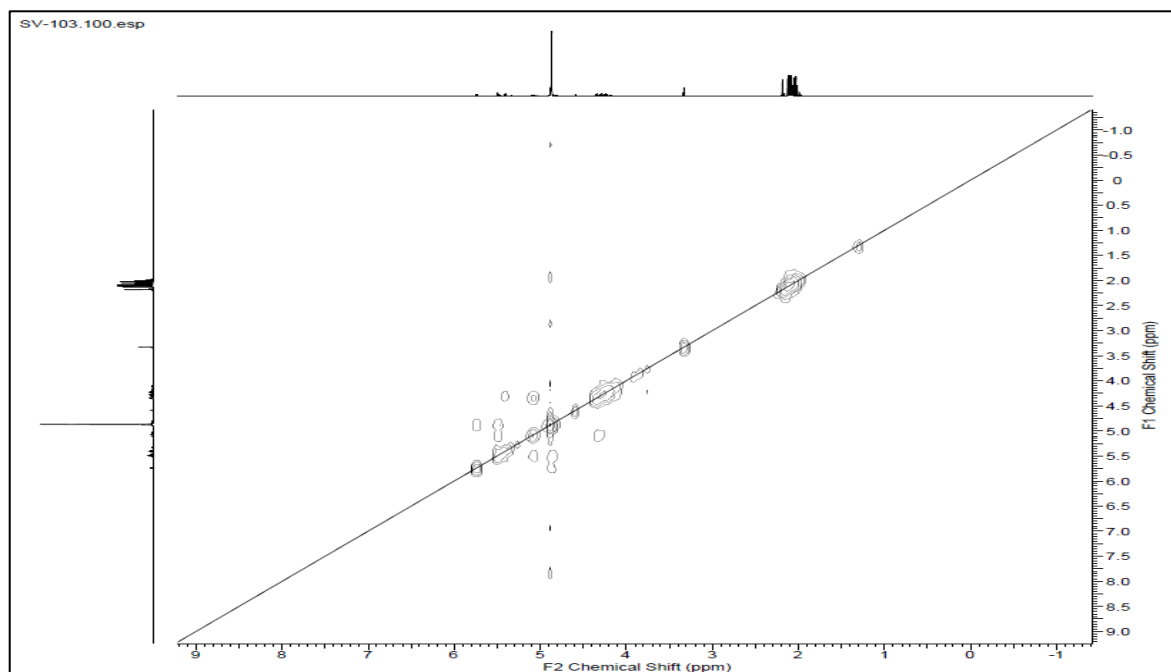


Figura 139: Espectro de correlação homonuclear  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY em MeOD de **SV-103**

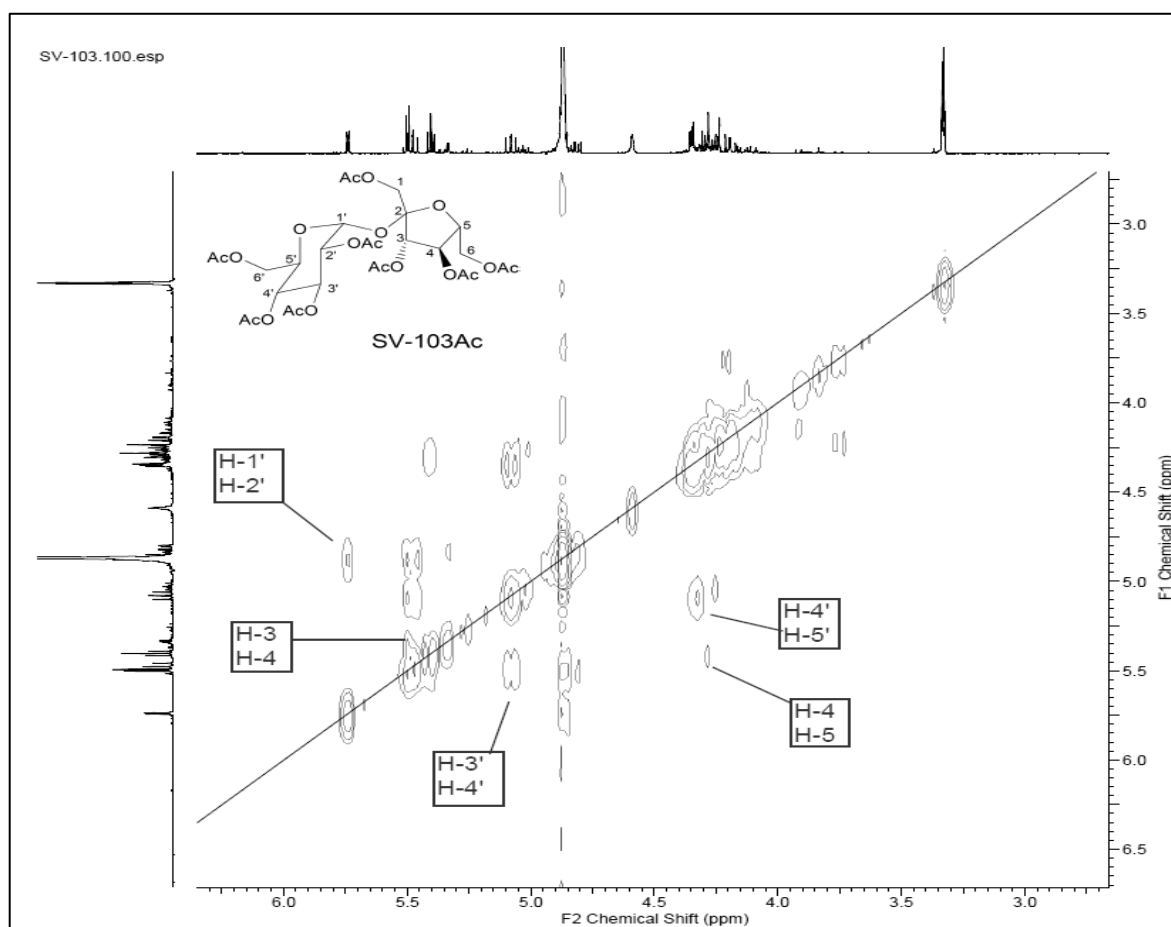


Figura 140: Ampliação do espectro  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY em MeOD de **SV-103**

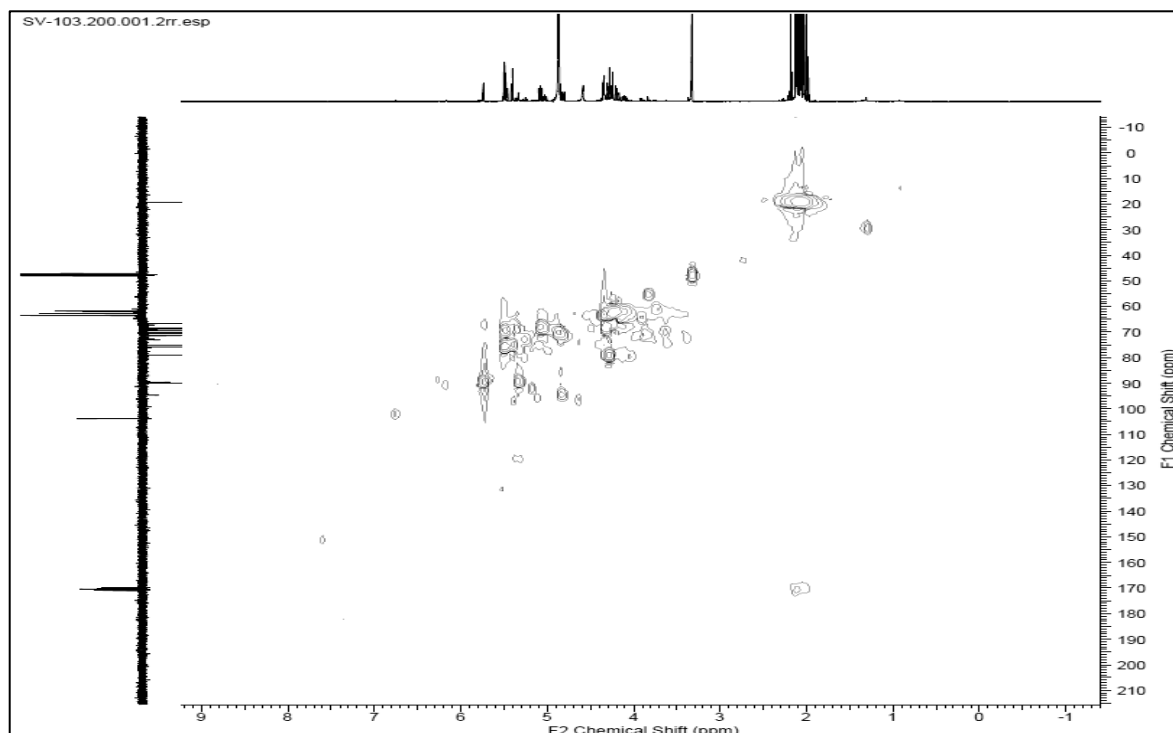


Figura 141: Espectro de correlação heteronuclear HSQC em MeOD de **SV-103**

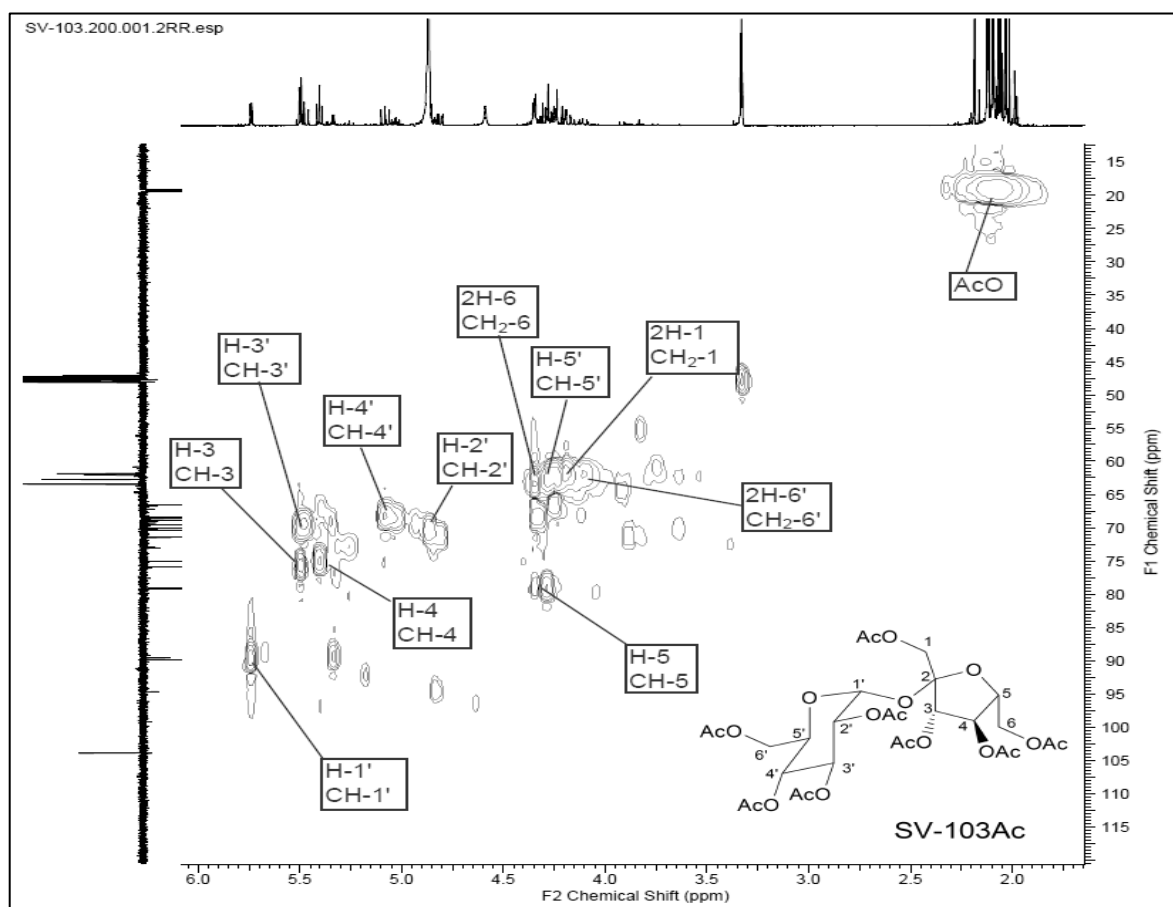


Figura 142: Ampliação do espectro de correlação heteronuclear HSQC em MeOD de **SV-103**

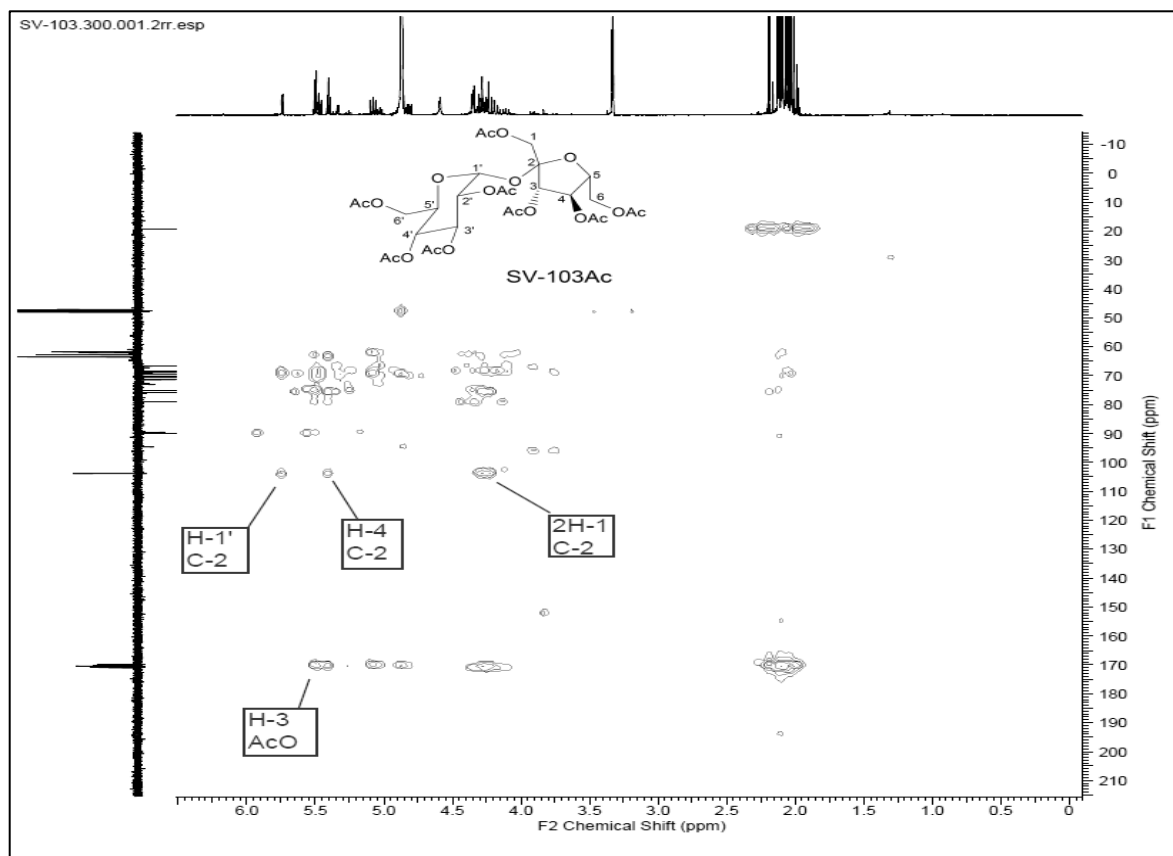


Figura 143: Espectro de correlação heteronuclear HMBC em MeOD de **SV-103**

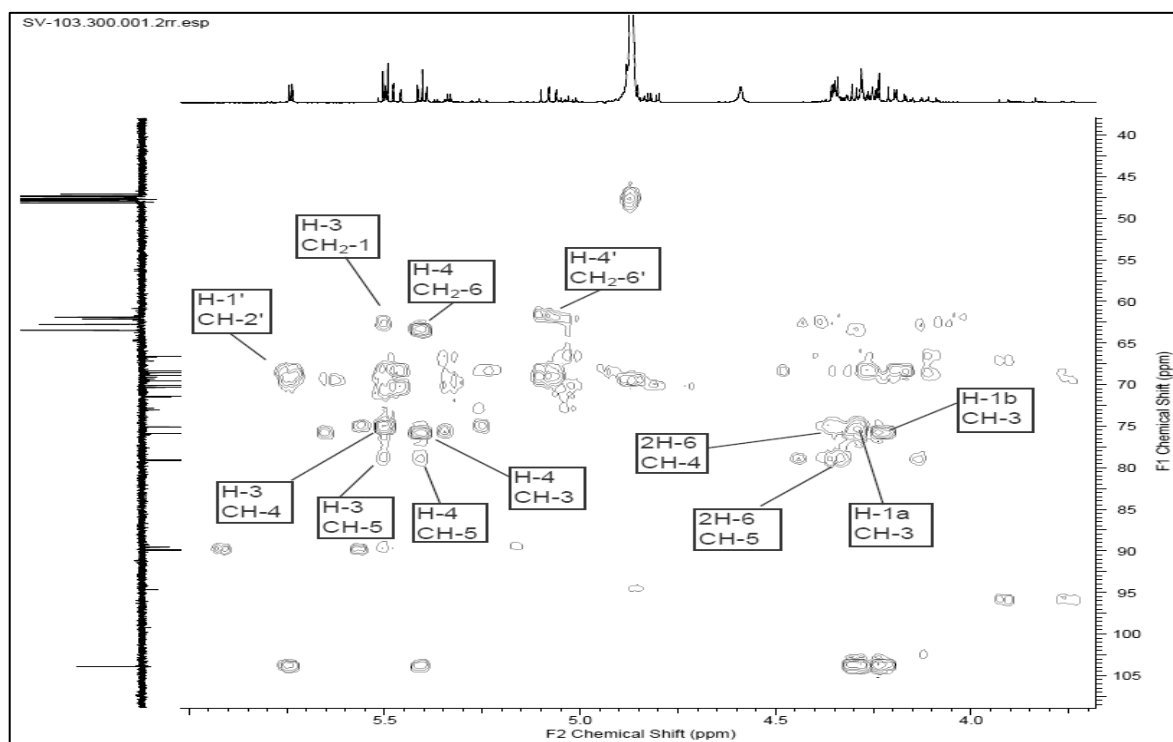


Figura 144: Ampliação do espectro de correlação heteronuclear HMBC em MeOD de **SV-103**

## 6.7 Resultado dos Testes de Atividade Biológica

### 6.7.1 Resultados do bioensaio larvicida

As soluções testadas com as concentrações de 200ppm e 100ppm não registraram mortalidade das larvas, sendo assim, não foi realizado teste com as demais concentrações inferiores.

### 6.7.2 Resultados da atividade anticancerígena

As atividades anticancerígenas dos alcaloides **SV-40** e **SV-74**, isolados respectivamente das espécies *S. sampaioana* e *S. pikia*, foram avaliadas frente à linhagens de células leucêmicas (U937 e MOLT-04), de pulmão (H460) e de colo (Colo-205)

Os dois alcaloides investigados não apresentaram atividade inibitória significativa frente as linhagens celulares Molt, Colo e H460. Porém o alcaloide **SV-74** apresentou uma atividade anticancerígena moderada frente a linhagem leucêmica U937, já o alcaloide **SV-40** não apresentou atividade inibitória frente a esta linhagem celular (Tabela 37, Gráficos 1 e 2).

Para efeito de comparação, podemos observar os valores de IC<sub>50</sub> de 41,0, 6,0, >100 e 8,0  $\mu\text{mol/L}$  obtidos para a cisplatina, um antineoplásico amplamente utilizado, frente às respectivas linhagens Colo, Molt, H420 e U937, após um intervalo de 36 h de incubação (MOREIRA, 2015).

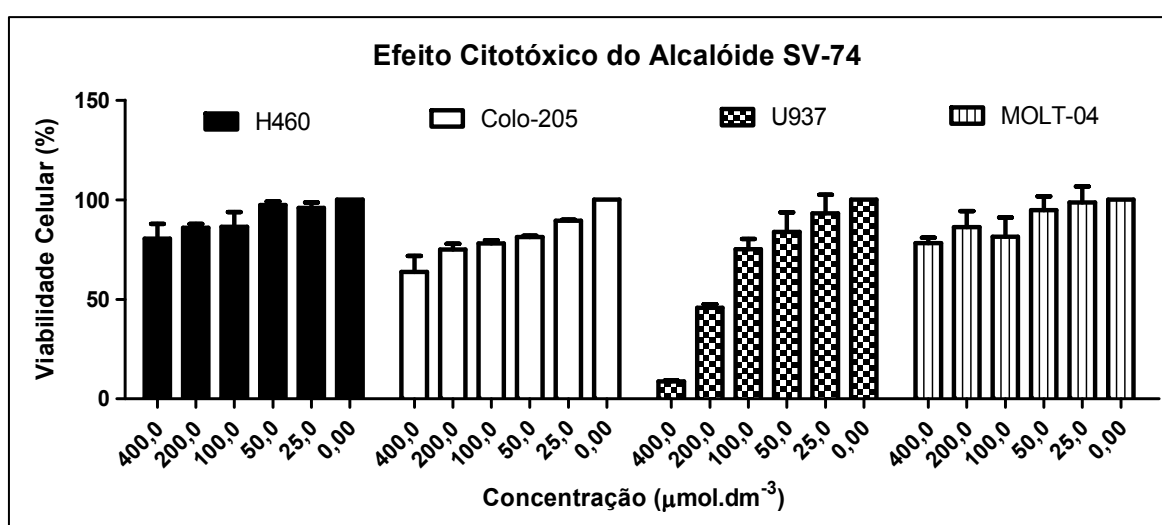
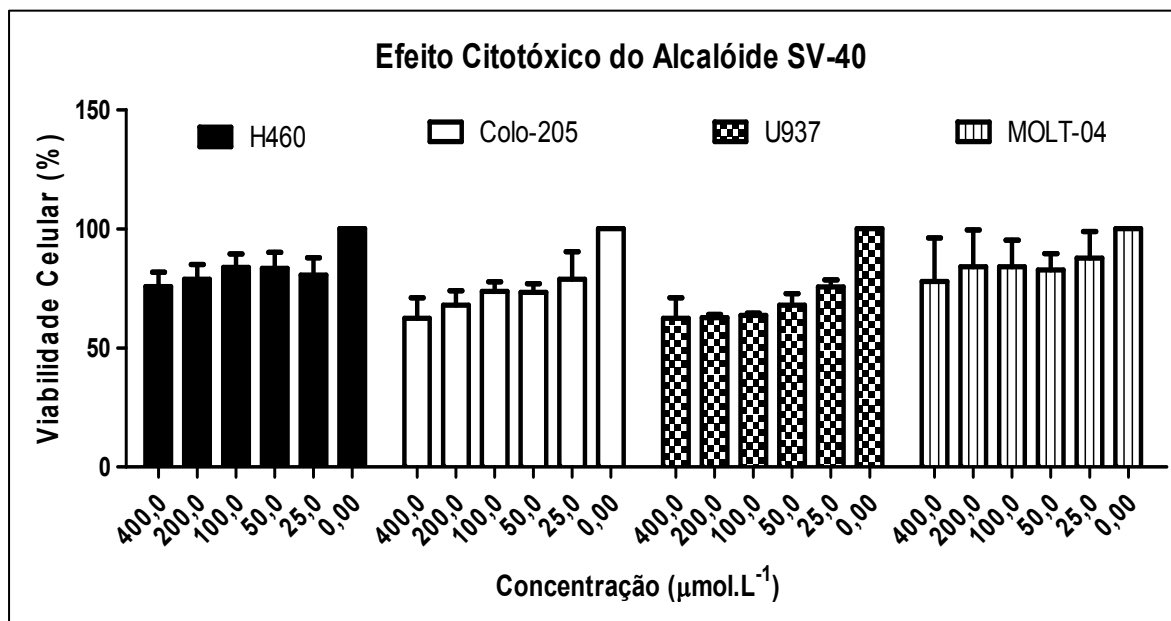


Gráfico 1: Efeito citotóxico do alcaloide **SV-74**



**Gráfico 2:** Efeito citotóxico do alcalóide **SV-40**

**Tabela 37:** Resultados de  $IC_{50}$  dos alcalóides **SV-40** e **SV-74**

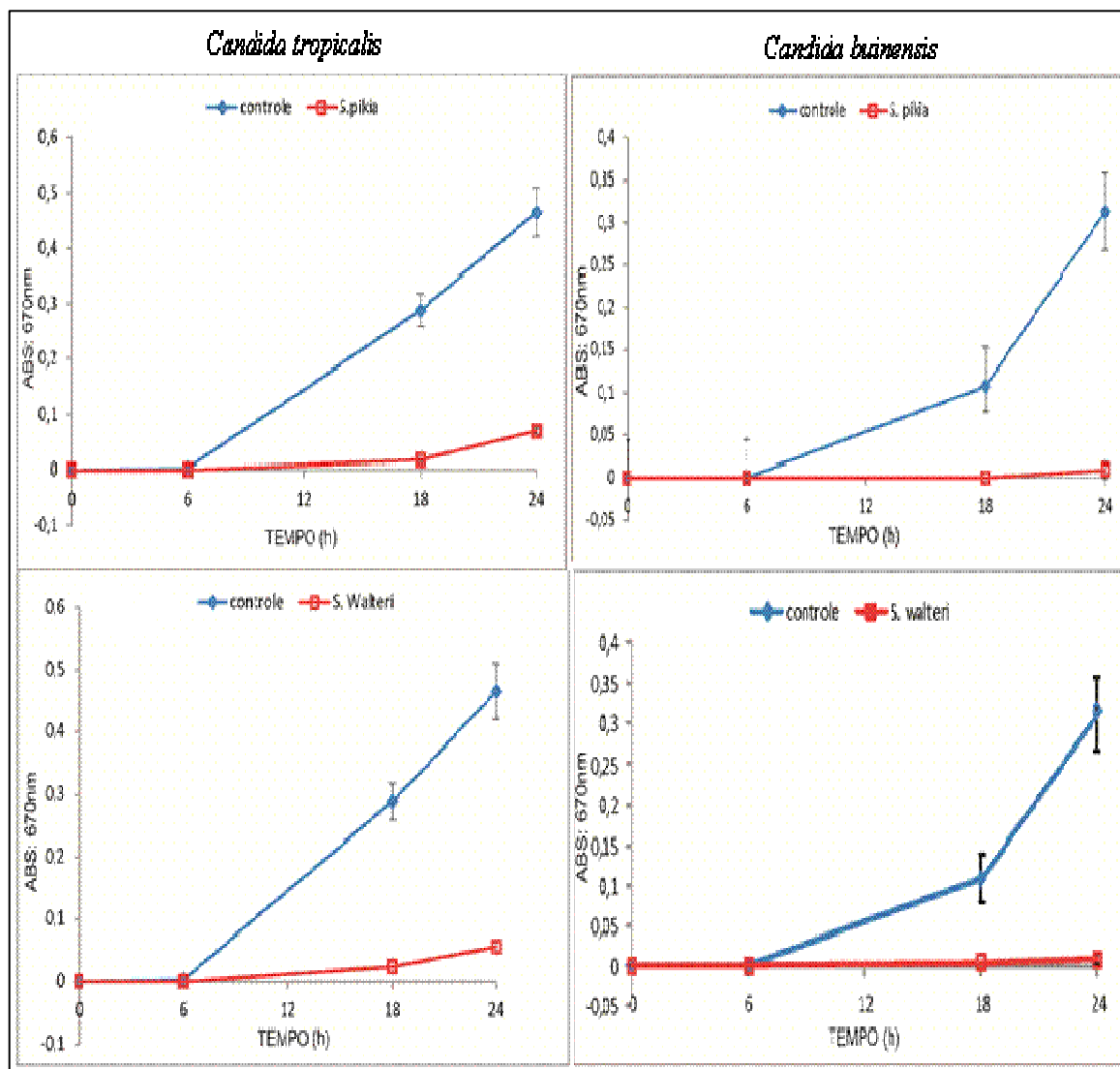
	$IC_{50}(\mu\text{mol.L}^{-1})$			
	<b>H460</b>	<b>Colo-205</b>	<b>U937</b>	<b>MOLT-04</b>
<b>SV-74</b>	>400	>400	166,1 ± 1,0	>400
<b>SV-40</b>	>400	>400	>400	>400

### 6.7.3 Resultados da inibição do crescimento de leveduras

#### 6.7.3.1 Análise da inibição do crescimento de leveduras em meio líquido na presença dos extratos brutos de *Simira pikia* e *S. walteri*

Diversas espécies de leveduras pertencentes ao gênero *Candida*, podem apresentar algum tipo de patogenicidade aos humanos, como infecções como a candidíase, a meningite, infecções no sangue dentre outras, que são causadas por *C. albicans*. Outras espécies do gênero *Candida*, como, por exemplo, a *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* e a *C. glabrata*, sendo estas leveduras isoladas de habitats naturais como o solo, água e também de frutas são consideradas patógenos facultativos (ALEXOPOULOS et al, 1996). Assim, o estudo da atividade antimicrobiana de extratos de plantas é de grande importância para que possamos utilizá-los como agentes terapêuticos e/ou como fontes de agentes terapêuticos no tratamento de determinadas infecções causadas por certas leveduras patogênicas.

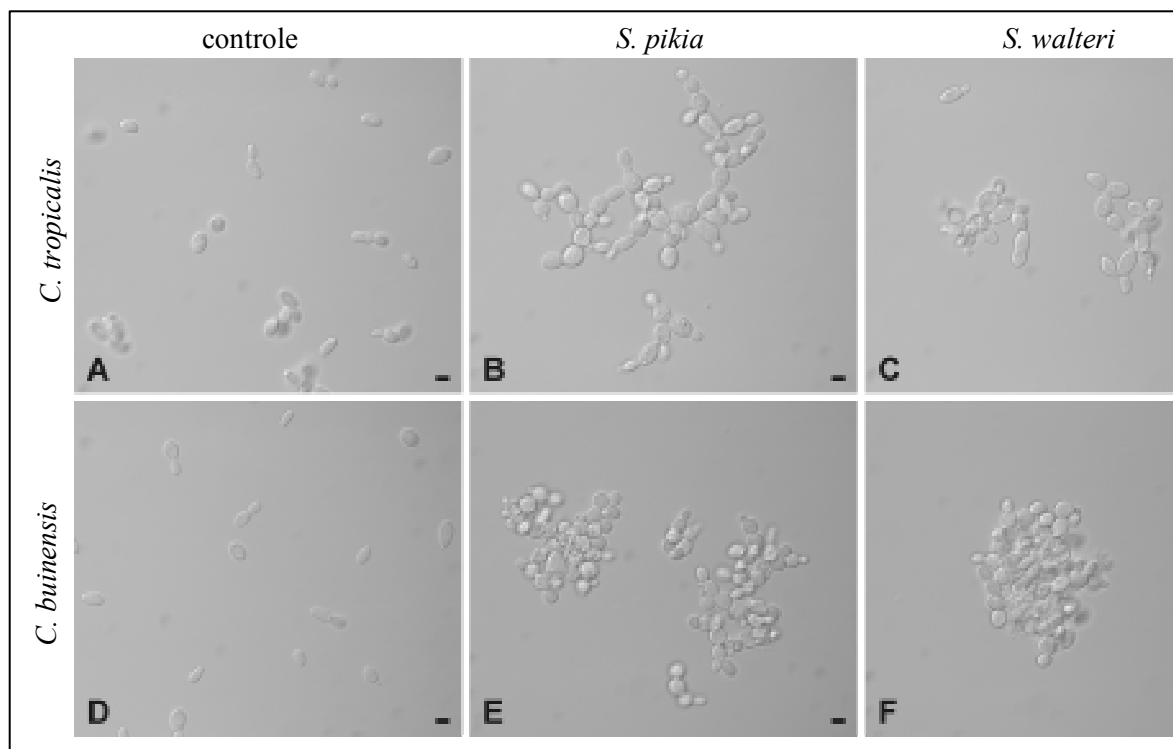
Na Figura 145 observa-se que ambos os extratos brutos da madeira das espécies *S. pikia* e *S. walteri* foram capazes de inibir o crescimento das duas espécies de leveduras do gênero *Candida* testadas. Contra as células de *C. tropicalis* os extratos brutos de *S. pikia* e *S. walteri* foram capazes de inibir o crescimento desta levedura, apresentando uma redução do crescimento de 85 e 88%, respectivamente. Contra a espécie de levedura *C. buinensis* os extratos brutos apresentaram um efeito inibitório ainda maior, causando uma redução do crescimento de 98% com ambos os extratos testados.



**Figura 145:** Ensaio de inibição do crescimento das leveduras *C. tropicalis* e *C. guineensis* na ausência (controle) e na presença do extrato bruto metanólico da madeira de *S. pikia* e *S. walteri*. O crescimento foi observado até 24h. (—◆—) Controle; (—■—) 100  $\mu$ L dos extratos. Os experimentos foram realizados em triplicata e os erros padrão (coeficientes de variação foram inferiores a 20%) foram omitidos para maior clareza dos gráficos.

Nas análises por microscopia óptica foi possível observar que na presença de ambos os extratos as duas leveduras testadas apresentam um padrão de aglomeração e uma dificuldade de liberação dos brotos das células mães (Figura 146). Sendo este comportamento, causado pelos extratos, associado à inibição do crescimento das leveduras.





**Figura 146:** Ensaio de inibição do crescimento da levedura (A) a (C) *C. tropicalis*, (D) a (F) *C. buinensis* (A) e (D) na ausência (controle); (B) e (E) na presença do extrato bruto *S. pikia*; (C) e (F) na presença do extrato bruto *S. walteri*.

Observar-se na Figura 146 que na presença dos extratos houve uma aglomeração bem evidente das células e a presença de células com diferentes aspectos (Figuras 146 B e E na presença do extrato bruto *S. pikia*, C e F na presença do extrato bruto *S. walteri*) se comparados com as células controle (Figura 146 A e D), que apresentam uma distribuição celular bem diferente, apresentando células bem isoladas umas das outras.

## 7. CONCLUSÃO

O estudo fitoquímico das espécies *S. sampaioana*, *S. walteri* e *S. pikia* permitiram o isolamento e a identificação de 23 substâncias diferentes, sendo a substância angelocunhol (**SV-24**) inédita na literatura, e as substâncias isomalindina (**SV-20**), malindina (**SV-37a**), sitost-4-en-6-ol-3-ona (**SV-25a**), estigmast-4,22-dien-6-ol-3-ona (**SV-25b**), campest-4-en-6-ol-3-ona (**SV-25c**), estigmast-4,22-dien-3-ol (**SV-27b**), estigmast-4,22-dien-3-ona (**SV-28b**), campest-4-en-3-ona (**SV-28c**), *N*-feruloilserotonina (**SV-67**), 3-hidroxi-1-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-propan-1-ona (**SV-83a**), akagerina (**SV-88a**) e (**SV-88b**), relatadas pela primeira vez no gênero, sendo essas duas últimas, relatadas pela primeira vez como mistura de isômeros.

A realização do levantamento de dados para este trabalho resultou na publicação de dois artigos de revisão, referentes ao gênero *Simira* e a tribo Condamineae, a qual pertence o gênero *Simira* (Anexos A e B).

O levantamento de estudos fitoquímicos apresentou um número considerável de classes e metabolitos secundários de ocorrência comum entre espécies do gênero *Simira*, podendo auxiliar na classificação destas espécies. Destaca-se o fato de seis das nove espécies de *Simira* estudadas até o momento, sob o ponto de vista fitoquímico, apresentarem o alcalóide harmana (1) Tabela (1), Figura (1), um alcalóide indólico  $\beta$ -carbolínico. Soma-se a estes resultados, o fato de ter sido isolado e identificado este alcalóide na espécie *S. sampaioana* no presente trabalho. Esses resultados corroboram para a afirmação deste alcalóide como marcador taxonômico do gênero. No entanto esta afirmação deve ser reforçada por do estudo de espécies do gênero ainda sem estudo fitoquímico.

O levantamento de dados de atividade biológica confirma o potencial farmacológico do gênero *Simira*. No entanto, pode-se observar que, grande parte dos estudos nesse sentido, são realizados com extratos brutos e partições desses extratos. Havendo a necessidade da realização de mais estudos de avaliação de atividade biológica de substâncias puras, isoladas de plantas deste gênero.

Os testes de atividade larvicida e anticancerígena, realizados neste trabalho, não apresentaram resultados significativos. Já o teste antifúngico, contra as células de *Candida tropicalis* e *C. buinensis* os extratos brutos de *S. pikia* e *S. walteri* foram capazes de inibir o crescimento destas leveduras, apresentando

uma redução do crescimento de 85 à 98%, mostrando-se promissores, porém, necessitando ainda de testes mais aprofundados. Além disso, algumas das substancias isoladas, como a *N*-feruloilserotonina (**SV-67**), isolada em grande quantidade na espécie *S. pikia*, e os demais alcaloides encontrados em *S. pikia* e *S. sampaioana*, incentivam a realização de mais testes biológicos, visto que essa classe de substancias possui reconhecido potencial farmacológico.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRAMIDES, P. L. G.; BERNACCI, L. C.; TORRES, R. B.; MENAÇOLLI, S. L. J. (2002) - *Listagem de Material Herborizado por Gênero*, HERBÁRIO IAC site: [herbário.iac.sp.gov.br/](http://herbário.iac.sp.gov.br/) - acessado em 01/08/2011.
- AIMI, N.; TSUYUKI, T.; MURAKAMI, H.; SAKAI, S.; HAGINIWA, J. (1985) Structure of ophiorines A and B; novel type gluco indole alkaloids isolated from ophiorrhiza spp. *Tetrahedron Letters*, V.26, n.43, p 5299-5302.
- ALEXOPOULOS, C. J.; MINS, C. W. E.; BLACKWELL, M. (1996). *Introductory Mycology*. 4ª edição. p 272-291.
- ALMEIDA, H. S. & MACHADO, E. L. M. (2007) Relações Florísticas entre Remanescentes de Floresta Estacional Decídua no Brasil. *Revista Brasileira de Biociências*, Porto Alegre, V. 5, n. 1, p. 648-650.
- ALVES, C. C. F.; CRANCHI, D. C.; CARVALHO, M. G.; SILVA, S. J. (2001) Triterpenos, esteróide glicosilado e alcalóide isolados de *Simira glaziovii*. *Floresta e Ambiente*, V. 8, n.1, p.174 - 179.
- AQUINO, R.; GAROFALO, I.; TOMMASI, N.; UGAZ, O. L.; PIZZA, C. (1994) Glucoindole alkaloids from bark of two *Sickingia* species, *Phytochemistry*, V. 37, n. 5, p. 1471 – 1475.
- ARAUJO, M. F. (2011a) Metabólitos especiais isolados de madeira de *Simira eliezeriana* e *Simira glaziovii* (Rubiaceae), de folhas de *Ouratea parviflora* (Ochnaceae) e atividades biológicas. Rio de Janeiro, Tese - UFRRJ/Curso de Pós-Graduação em Química 175 p.
- ARAUJO, M. F.; MOTTA, O. V.; VIEIRA, I. J. C.; BRAZ-FILHO, R.; CARVALHO, M. G. (2011b) Simiranes A and B: erythroxylenes diterpenes and other compounds from *Simira eliezeriana* (Rubiaceae) *Natural Product Research* V. 25, n. 18, 1713–1719.
- ARAUJO, M. F.; MOTTA, O. V.; VIEIRA, I. J. C.; BRAZ-FILHO, R.; CARVALHO, M. G. (2009) Avaliação da Atividade Biológica de Três Espécies de *Simira* (Rubiaceae): Um Estudo Preliminar. 32ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química.

- ARNASON, T.; MORAND, P.; SALVADOR, J.; REYES, I.; LANBERT, J.; TOWERS, G.H.N. (1983) Phototoxic substances from *Flaveria trinervis* and *Simira salvadorensis*. *Phytochemistry*, V. 22, p.594.
- ASSUNÇÃO, F. C. R. (organizador) (2010) Química verde no Brasil: 2010-2030 - Ed. rev. e atual. - Brasília, DF: Centro de Gestão e Estudos Estratégicos.
- BACIGALUPO, N. M. & CABRAL, E. L. (2003) *Simira sampaioana* (Rubiaceae) nuevo registro para la flora argentina. *Darwiniana*, V. 41, p. 1- 4.
- BADERSCHNEIDER, B.; WINTERHALTER, P. (2001) Isolation and Characterization of Novel Benzoates, Cinnamates, Flavonoids, and Lignans from Riesling Wine and Screening for Antioxidant Activity, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, V.49, p. 2788-2798.
- BARBOSA, M.R. (2014) *Simira* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB14287>>. Acesso em: 30 Março de 2014
- BASTOS, A. B. F. D'O. CARVALHO, M. G.; VELANDIA, J. R.; BRAZ-FILHO, R. (2002) Constituintes químicos isolados de *Simira glaziovii* (K. Shum) Stern. E a Atribuição dos Deslocamentos Químicos dos Átomos de Carbono e Hidrogênio do Alcalóide Ofiorina e seus Derivados, *Química Nova*, V. 25, n. 2, p. 241-245.
- BOLZANI, V. S.; YONG, M. C. M.; FURLAN, M.; CAVALHEIRO, A. J.; ARAÚJO, A. R.; SILVA, D. H. S.; LOPES, M. N. (2001) Secondary Metabolites from Brazilian Rubiaceae Plant Species: Chemotaxonomical and biological significance. *Phytochemistry*, V. 5, p. 19-31.
- BRANDT, V.; TITS, M.; PENELLE, J.; FRÉDÉRICH, M.; ANGENOT, L. (2001) Main glucosidase conversion products of the gluco-alkaloids dolichantoside and palicoside. *Phytochemistry*, V. 57, n. 5, p. 653-659
- BRASIL, R. (2008) *Simira walteri* - Nova espécie de árvore é descoberta no Brasil. Site: [inovabrasil.blogspot.com](http://inovabrasil.blogspot.com) – acessado em 10/03/2013.
- BRAZ FILHO, R. (2010) Contribuição da fitoquímica para o desenvolvimento de um país emergente, *Química Nova*, V. 33 n. 1, p. 229-239.
- BREITMEIR, E.; VOELTER, W. (1987) Carbon-13 NMR Spectroscopy: High-Resolution Methods and Applications in Organic Chemistry and Biochemistry. 3º ed. VCH, Weinheim.

- BREMER, B.; JANSEN, R.K.; OXELMAN, B.; BACKLUND, M.; LANTZ, H. & KIM, K. J. (1999) More characters or more taxa for a robust phylogeny – case study from the coffee family (Rubiaceae) *Systematic Biology*, V. 48, p. 413-435.
- BROEKAERT, W. F.; TERRAS, F. R. G.; CAMMUE, B. P. A.; VANDERLEYDEN, J. (1990) An automated quantitative assay for fungal growth inhibition. *FEMS Microbiology Letters*, V. 69, p. 55-60.
- CALLADO, C. H.; SILVA NETO, S. J. (2003) Anatomia do lenho de três espécies do gênero *Simira* Aubl. (Rubiaceae) da Floresta Atlântica no estado do Rio de Janeiro, *Rodriguésia*, V. 54, n.83, p. 23-33.
- CAPASSO, A.; AQUINO, R.; DE SIMONE, F.; SORRENTINO, L. (1996) Neuropharmacological effects of extracts from *Sickingia williamsii*. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, V.48, n. 6, p.592-595.
- CAPASSO, A; AQUINO, R.; DE TOMMASI, N.; PIACENTE, S.; RASTRELLI L.; PIZZA, C. (2002) Neuropharmacology Activity of Alkaloids from South American Medicinal Plants. *Current Medicinal Chemistry – Central Nervous System Agents*, V. 2, p. 1-15.
- CARDOSO, C.L.; SILVA, D.H.S.; YOUNG, M.C.M.; CASTRO-GAMBOA, I.; BOLZANI, V.S. (2008) Indole monoterpene alkaloids from *Chimarrhis turbinata* DC Prodr.: a contribution to the chemotaxonomic studies of the Rubiaceae family. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, V. 18, n. 1, p. 26-29.
- CARVALHO, D. A.; OLIVEIRA-FILHO, A. T.; VILELA, E. A. (1996) Florística e Fitossociologia da Vegetação Arbustivo-Arbórea de Mata Ripária do Baixo Paranaíba (Santa Vitória, Minas Gerais). *Daphne*, Belo Horizonte, V. 6, n. 1, p. 60 – 68.
- CASTANEDA, P.; ALBOR, C.; MATAR, R.; BYE, R.; LINARES, E. (1991) Alkaloids from *Simira mexicana*. *Fitoterapia*, V.62, n.4, p.366.
- CASTRO, O.; LOPES, V. J. (1986) Harman, the principal alkaloid in roots of *Simira maxonii* Standley (Rubiaceae). *Ingenheria & Ciencia Quimica*, V.10, n. 3-4, p. 56-57.

- CHATURVEDULA, V. S. P.; PRAKASH, I. (2012) Isolation of Stigmasterol and  $\beta$ -Sitosterol from the dichloromethane extract of *Rubus suavissimus* *International Current Pharmaceutical Journal*, V.1, n. 9, p. 239-242.
- CORREIA, S. J.; DAVID, J. P.; DAVID, J. M. (2003) Constituintes das Cascas de *Tapirira guianensis* (Anacardiaceae) *Quimica Nova*, V. 26, n. 1, p.36-38.
- CRAGG, G. M.; NEWMAN, D. J. (2005) Plants as a source of anti-cancer agents, *Journal of Ethnopharmacology*, V.100, p. 72–79.
- CUNHA, A. P. (2005) *Farmacognosia e Fitoquímica* – Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa, p.403 – 412.
- DELPRETE, P. G.; (2004) In: SMITH, N. P. *et al.* (Eds.). *Flowering plant families of the American tropics*. Princeton University Press, N. Y. Botanical Garden Press., p. 328-333.
- DI STASI, L. C. (organizador), (1996) *Plantas Medicinais: arte e ciência. Um guia de estudo interdisciplinar*. São Paulo: editora UNESP, p. 9-120.
- DIEMONT, S. A.W.; BOHN, J. L.; RAYOME, D. D.; KELSEN, S. J.; CHENG, K. (2011) Comparisons of Mayan forest management, restoration, and conservation. *Forest Ecology and Management*, V. 261, p. 1696–1705.
- DUARTE, A. F. S. (2012) Estudo fitoquímico, toxicidade e atividades biológicas: (antioxidante, antimicrobiana e alelopática) de cascas do caule de *Guettarda uruguensis* Cham. & Schlttdl. Rubiaceae. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 117 p.
- FERREIRA, R. M. (2014) Estigmasterol - Alterações estruturais nos anéis A e B e estudo de atividade biológica. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais. Departamento de Química. 89 p.
- FONSECA, T. L.; VON GROLL, A.; LEITÃO, G. G.; SCAINI, C. J.; RAMOS, D. F.; SILVA, P. E. A. (2008) Atividade Antimicobacteriana de extratos vegetais frente a *Mycobacterium fortuitum* e *Mycobacterium malmoeense*. *Vittalle*, Rio Grande, V. 20 n.1 p. 65-71.
- GOMES, M.; BARBOSA, M.R.V. (2014) *Simira* (Rubiaceae). Catálogo das espécies de plantas vasculares e briófitas do Estado do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro: Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2014. Disponível em: <http://florariojaneiro.jbrj.gov.br>. Acesso em: 30 de Março de 2014.

- GOMIDE, L. R.; SCOLFORO, J. R. S.; OLIVEIRA, A. D. (2006) Análise da diversidade e similaridade de fragmentos florestais nativos na bacia do rio São Francisco, em Minas Gerais. *Ciência Florestal*, Santa Maria, V. 16, n. 2, p. 127-144.
- GONÇALVES, N. M. T.; GERENUTTI, M.; CHAVES, D. A. S.; VILA, M. M. D. C. (2011) A tradição popular como ferramenta para a implantação da fitoterapia no município de Volta Redonda – RJ. *Revista Brasileira de Farmácia* V. 92, n. 4, p. 346-351.
- GRANATO, E. M.; GRANATO, M. M.; GERENUTTI, M.; SILVA, M. G.; FERRAZ H. O.; VILA, M. M. D. C. (2013) Prospecção fitoquímica da espécie vegetal *Trixis antimenorhoea* (Schrank) Kuntze, *Revista Brasileira de Farmácia*, V. 94, n. 2, p. 130-135.
- GRECA, M. D.; MONACO, P.; PREVITERA, L. (1990) Stigmasterols from *Typha latifolia*. *Journal of Natural Products*, V. 53, n. 6, p. 1430-1435.
- HASBUN, C. P.; CALSERON, M.; CASTRO, O; GACS-BAITZ, E.; DELLE MONACHE, G.; DELLE MONACHE, F. (1989) Maxonine, a novel alkaloid from *Simira-maxonii*. *Tetrahedron Letters*, V. 30, n. 45, p. 6199 – 6202.
- HEITZMAN, M. E.; NETO, C. C.; WINIARZ, E.; VAISBERGB, A. J.; HAMMONDC, G. M. (2005) Ethnobotany, phytochemistry and pharmacology of *Uncaria* (Rubiaceae) *Phytochemistry*, V. 66, p. 5–29.
- INOUE, H.; TAKEDA, Y.; NISHIMURA, H.; KANOMI, A.; OKUDA, T.; PUFF, C. (1988) Chemotaxonomic Studies of Rubiaceae Plants Containing Iridoids Glycosides. *Phytochemistry*, V. 27, n. 8, p. 2591-2598.
- JOVEL, E.M.; CABANILLAS, J.; TOWERS, G. H. N. (1996) An ethnobotanical study of the traditional medicine of the Mestizo people of Suni Mirafio, Loreto, Peru. *J. Ethnopharmacol.*, V. 53, p. 149-156.
- JUDD, W. S.; CAMPBELL, C. S.; KELLOGG, E. A.; STEVENS, P. F. (2007) Plant Systematics: a phylogenetic approach. 3<sup>th</sup> Sinauer Associates, Inc. Publishers. Sunderland, Massachusetts, USA.
- KAINULAINEN, K.; PERSSON, C.; ERIKSSON, T.; BREMER, B. (2010) Molecular Systematics and Morphological Character Evolution of the Condamineae (Rubiaceae), *American Journal of Botany*, V. 97, n.12, p. 1961–1981.
- KELLY, T. R; XU, W.; SUNDARESAN, J. (1993) Maxonine - structure correction and synthesis. *Tetrahedron letters*, V. 34, n. 39, p. 6173-6176.



- LECANTE, A.; ROBERT, F.; BLANDINIÈRES, P. A.; ROOS, C. (2011) Anti-corrosive properties of *S. tinctoria* and *G. ouregou* alkaloid extracts on low carbon steel. *Current Applied Physics*, V. 11, p. 714 – 724.
- LEWIS, W. H. & ELVIN-LEWIS, M. P. F. (1984) In *Plants and Dental Care Among the Jivaro of the Upper Amazon Basin*. *Advances in Economic Botany Ethnobotany in the Neotropics*, G. T., France & J. A. Kallunki Eds. New York, Botanical Garden Bronx, NY, V. 1, p. 53-61.
- LOPES, B. F. (2012) Síntese, caracterização e avaliação da atividade antineoplásica de compostos orgânicos e de coordenação de cobre: Influência do naftol e da cumarina na atividade biológica. Brasil, Tese - Campos dos Goytacazes/UENF, 232 p.
- MACARI, P. A. T.; EMERENCIANO, V. P.; FERREIRA, Z. M. G. S. (1990) Identificação dos Triterpenos de *Miconia albicans* Triana Através de Análise por Microcomputador. *Quimica Nova* V.13, n. 4, p. 260-262.
- MACRAE, W. D.; TOWERS, G. H. (1985) Non-alkaloidal constituents of *Virola elongata* bark, *Phytochemistry*, V. 24, n. 3, p. 561–566.
- MCLAUGHLIN, J. L.; CHANG, C. J.; SMITH, D. L.; (1991) In *Studies in Natural Products Chemistry*, Ed. Atta-ur- Rahman, Elsevier Science Publishers B. V., Amsterdam, V. 9, p. 383-409.
- MORAES, T. M. S.; BARROS, C. F.; SILVA NETO, S. J.; GOMES, V. M.; CUNHA, M. (2009) Leaf blade anatomy and ultra-structure of six *Simira* species (Rubiaceae) from the Atlantic Rain Forest, Brazil – *BIOCELL*, V. 33, n. 3, p.155-165.
- MOREIRA, R. O. Síntese, Caracterização e Avaliação da Atividade Citotóxica de Compostos de Coordenação de Platina e Zinco, UENF 2015 Tese (Doutorado em Ciências Naturais) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, RJ, 103 p.
- MUELLER, A. J.; In: C. F. P. MARTIUS (Ed.): *Flora Brasiliensis*, V. 6, n. 5, p. 1-470, 1881.
- PEIXOTO, A. L.; (1982) *Arquivos da Universidade Federal Rural, Rio de Janeiro*, V. 5, p. 115.
- PEIXOTO, A. L.; BARBOSA, M. R. V. (1989) The species of *Simira* (Rubiaceae,Rondeletieae) Brazilian amazon. *Acta Amaz.*, V. 19, p. 27-46.

- PINTO, J. M. A.; SOUZA, E. A.; OLIVEIRA, D. F. (2010) Use of plant extracts in the control of common bean anthracnose. *Crop Protection* V. 29, p. 838 – 842.
- PITTA, A. C. A.; ANDRADE, A. C. S. (2011) *Crescimento de plântulas de Simira sampaioana (Standl.) Steyerem (Rubiaceae) sob diferentes intensidades de luz*. Sociedade de Ecologia do Brasil, X Congresso de Ecologia do Brasil, São Lourenço – MG.
- POUCHERT, C.; BEHNKE, J. (1993) Aldrich Library of <sup>13</sup>C and <sup>1</sup>H FT-NMR Spectra, Aldrich Chemical Co., V.1 p. 305Cc e 1060 A
- RAMOS, D. F.; LEITÃO, G. G.; COSTA, F. N.; ABREU, L.; VILLARREAL, J. V.; LEITÃO, S. G.; FERNÁNDEZ, S. L. S.; SILVA, P. E. A. (2008) Investigation of the antimycobacterial activity of 36 plant extracts from the Brazilian Atlantic Forest. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences* V. 44, n. 4 p. 669 – 674.
- ROBBRECHT, E. (1988) Tropical woody Rubiaceae. Characteristic features and progressions. Contribution to a new subfamilial classification. *Opera Botanica Belgica*, V. 1, p. 1-272.
- ROBBRECHT, E.; MANEN, J.; (2006) Major lineages of Rubiaceae. *Systematics and Geography of Plants*, V.76, p. 85-146.
- ROSA, C.; CAMARA, S.G.; BERIA, J. U. (2011) Representações e intenção de uso da fitoterapia na atenção básica de saúde. *Ciência da Saúde Coletiva* V. 16, n. 1, p. 311-318.
- SANCHES, M. N. G. (2013) Metabolitos Especiais Isolados da Madeira de *Simira grazielae* (RUBIACEAE) e Atividades Biológicas Rio de Janeiro, UFRRJ/Curso de Pós-Graduação em Química.
- SCHUMANN, K.; (1889) In: C. F. P. MARTIUS (Ed.): *Flora Brasiliensis*, V.6, n. 6, p. 124-466.
- SEKI, H.; HASHIMOTO, A.; HINO T. (1993) The <sup>1</sup>H- and <sup>13</sup>C-Nuclear Magnetic Resonance Spectra of Harman. Reinvestigation of the Assignments by One- and Two-Dimensional Methods *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, V. 41, p. 1169-1172.
- SILVA NETO, S. J. DA. & CALLADO, C. H. (2008) A New Species of *Simira* (Rubiaceae, Simireae) from Rio de Janeiro, Brazil. *Novon*, V.18, p. 387–389.

- SILVA NETO, S. J. DA. (2000) *O gênero Simira Aubl. (Rubiaceae, Rondeletieae) no Brasil extra-amazônico*. Dissertação Mestrado apresentada ao Curso de Pós- Graduação em Ciências Biológicas da UFRJ. 80 p.
- SILVA, L. Á.; SCARIOT, A. *Comunidade arbórea de uma floresta estacional decidual sobre afloramento calcário na bacia do rio Paraná. Árvore*, Viçosa – MG, V. 28, n. 1, p. 61 – 67, 2004.
- SILVA, N. C. C., FERNANDES JÚNIOR, A. (2010) Biological properties of medicinal plants: a review of their antimicrobial activity. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*. V. 16, n. 3, p. 402-413.
- SILVERSTEIN, R.M., BASSLER, G.C. MORRIL, T.C. (2007) *Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos*, editora LTC. 7ª ed.
- SOUZA, G. H. B.; MELLO, J. C. P.; LOPES, N. P. (2012) *Revisões em processos e técnicas avançadas de isolamento e determinação estrutural de ativos de plantas medicinais*. Ouro Preto: Editora UFOP, 252 p.
- SOUZA, V. C. & H. LORENZI, (2005) *Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II*. Instituto Plantarum, Nova Odessa.
- TORSSELL, K. B. G. (1997) *Natural Product Chemistry: A mechanistic, biosynthetic and ecological approach (2nd ed.)*, *Apotekarsocieteten-Swedish Pharmaceutical Society*, Stockholm.
- TROPICOS.ORG. MISSOURI BOTANICAL GARDEN. Disponível em: <http://www.tropicos.org/Name/40000409>. Acesso em: 20 Abril de 2014.
- VALLADÃO, F. N. (2011) *Estudo fitoquímico de folhas e polpa de fruto de Maytenus Salicifolia (Celastraceae) e análise quimiotaxonômica em Maytenus sp*, Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Departamento de Química, 149 p.
- VERDCOURT, B.:(1958) *Bulletin du Jardim Botanique de l'État Bruxelles*, V. 2, p. 209-281.
- WHO (2005) *Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides*. WHO/CDS/WHOPES/GCDPP/2005.13.  
[www.cvrld.com.br](http://www.cvrld.com.br) acessado em 01/08/ 2011.
- YUNES, R. A.; FILHO, V. C. (2001) *Breve história da Química de Plantas Medicinais: Sua Importância na Atual Concepção de Fármacos Segundos*

os Paradigmas Ocidental. *In*: YUNES, Rosendo Augusto e CALIXTO, João Batista. *Plantas Medicinais sob a ótica da Química Medicinal Moderna*. Editora Universitária, p. 18- 44.

ZHANG, H. L.; NAGATSU, A.; WATANABE, T.; SAKAKIBARA, J.; OKUYAMA, H. (1997) Antioxidative compounds isolated from safflower (*Carthamus tinctorius* L.) oil cake. *Chem Pharm Bull* (Tokyo). V. 45, n.12, p. 1910-1914.

## ANEXOS

**Anexo A** - Chemical Constituents and Biological Activities of *Simira* Genus: A Contribution to the Chemotaxonomic of Rubiaceae Family - *The Natural Products Journal*, 2014, 4, 290-298

**Anexo B** - Chemistry and Biological Activity of Condamineae Tribe: A Chemotaxonomic Contribution of Rubiaceae Family - *American Journal of Plant Sciences*, 2015, 6, 2612-2631

**Anexo A - Chemical Constituents and Biological Activities of *Simira* Genus: A Contribution to the Chemotaxonomic of Rubiaceae Family - *The Natural Products Journal*, 2014, 4, 290-298**

Send Orders for Reprints to [reprints@benthamscience.net](mailto:reprints@benthamscience.net)

290

*The Natural Products Journal*, 2014, 4, 290-298

## Chemical Constituents and Biological Activities of *Simira* Genus: A Contribution to the Chemotaxonomic of Rubiaceae Family

Vinicius F. Moreira\*, Ivo J. C. Vieira and Raimundo Braz-Filho

Sector of Natural Products Chemistry, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes-28013-602, RJ, Brazil



**Abstract:** The *Simira* genus belongs to the Rubiaceae family. Studies of this genus have attracted interest, mainly due to phototoxic activities, antifebrile, tonic and purgative presented by some secondary metabolites isolated from drug value of species of this genus. This study is a review of the *Simira* genus, through the acquisition of data from studies of phytochemicals and evaluation of biological activities of the species that compose it, in order to contribute their chemotaxonomic classification within the family.

**Keywords:** Biological activities, chemical constituents, chemotaxom, phytochemicals, Rubiaceae, *Simira*.

### 1. INTRODUCTION

Rubiaceae family includes approximately 660 genera and about 11,150 species [1]. In molecular phylogenetic studies, this family is divided into three subfamilies: Cinchonoideae, Ixoroideae and Rubioideae [2, 3].

Occupying the fourth place in diversity among the Angiosperms, behind only the Asteraceae, Orchidaceae and Leguminosae [4], the Rubiaceae family has a wide distribution, mainly in tropical and subtropical regions, also reaching temperate and cold regions of Europe and Northern Canada [5]. In America, the family is represented by approximately 229 genera and 5,200 species [6]. In Brazil, there are about 118 genera and 1,347 species, corresponding to one of the main families of our flora, even though a large number of species are still without any biological or phytochemicals studies [7].

This vast family has a great range of chemical structures which vary little, but with very significant pharmacological potential. Among the classes of secondary metabolites presented by the family, one can highlight iridoids, anthraquinones, triterpenes and indole alkaloids, the latter being considered as a chemotaxonomic marker of the family [8]. Numerous chemical constituents such as flavonoids and other phenolic derivatives and Terpenoids (Diterpenes), are also found in this family [9].

From the Rubiaceae family, *Simira* genus was classified in the subfamily Cinchonoideae and in the tribe Rondeletieae based on morphological data. However, phylogenetic studies based on molecular data places *Simira* in the tribe Simireae within the subfamily Ixoroideae [3]. Recently, the *Simira*

genus was reordered into the subfamily Ixoroideae with the tribe Condamineae by using molecular phylogenetic data reconstruction [10].

Facing these changes in the classification of the genus within subfamilies and tribes, it is necessary to gather data from various fields of study in order to confirm the position of this genus within the family. In this review we sought, primarily, chemical data collection and the main evaluations of biological activities.

### 2. METHODOLOGY

Data collection was conducted through websites and portals of academic research and databases: [www.ibict.br](http://www.ibict.br), [www.scielo.org](http://www.scielo.org), [www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com), <https://scifinder.cas.org>, [www.scrius.com](http://www.scrius.com) and [www.periodicos.capes.gov.br](http://www.periodicos.capes.gov.br). The terms used in the strategy for scientific publications search were outlined by genus, species and family. With the goal of giving greater scope to the bibliographical study, some specific terms related to phytochemical studies and biological activities were also selected.

The academic papers and scientific publications obtained for the genre are sorted and presented in this study on four items: phytochemical studies, biological activities, ethnopharmacological activities and other studies, according to the information presented.

### 3. THE *Simira* GENUS

The *Simira* genus includes 45 species distributed in the Neotropics, from Mexico to Bolivia, Paraguay and Brazil, with reported species in the flora of Colombia, Venezuela, Costa Rica, Panama, Belize, Ecuador, Peru, Guyana and Argentina. It is represented in Brazil by approximately 19 species distributed among the States of Amazonas, Pará, Goiás, Espírito Santo, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná and Santa Catarina, inserted in the Atlantic forest. Eight species

\*Address correspondence to this author at the Sector of Natural Products Chemistry, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, 28013-602 Campos dos Goytacazes-RJ, Brazil. Tel: +55 22 2748 6504; E-mail: [vfmoreira@gmail.com](mailto:vfmoreira@gmail.com)

**Anexo B** - Chemistry and Biological Activity of Condamineae Tribe: A Chemotaxonomic Contribution of Rubiaceae Family - *American Journal of Plant Sciences*, 2015, 6, 2612-2631

American Journal of Plant Sciences, 2015, 6, 2612-2631

Published Online October 2015 in SciRes. <http://www.scirp.org/journal/ajps>

<http://dx.doi.org/10.4236/ajps.2015.616264>



## Chemistry and Biological Activity of Condamineae Tribe: A Chemotaxonomic Contribution of Rubiaceae Family

Vinicius F. Moreira\*, Ivo J. C. Vieira, Raimundo Braz-Filho

Sector of Natural Products Chemistry, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, Brazil

Email: \*[vfmoreira@gmail.com](mailto:vfmoreira@gmail.com)

Received 30 August 2015; accepted 20 October 2015; published 23 October 2015

Copyright © 2015 by authors and Scientific Research Publishing Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

### Abstract

This study is a review of the Condamineae tribe, through the acquisition of data from phytochemical studies and evaluation of genera activities that constitute the tribe, in order to contribute to chemotaxonomic classification of this tribe in the Rubiaceae family. This review also states the scarcity of phytochemical investigations of several genera and consequently a lot of species of family.

### Keywords

Biological Activity, Condamineae, Chemotaxomy, Phytochemistry, Rubiaceae

### 1. Introduction

The Rubiaceae family has approximately 660 genus and around 11,150 species [1]. Based on molecular phylogenetic studies [2] [3] this family is partitioned in three subfamilies: Cinchonoideae, Ixoroideae and Rubioideae.

It is widely distributed, mainly on tropical and subtropical regions but also on cold and temperate regions in Europe and north of Canada [4]. In America this family is represented by approximately 229 genus and 5200 species [5]. Nowadays it has around 118 genus and 1347 species in Brazil, corresponding to one of the main families of Brazilian flora [6].

This vast family is composed by classes of secondary metabolites with highly significant pharmacological potential. Into these classes the iridoids, anthraquinones, triterpenes and indole alkaloids, which are considered chemotaxonomic markers of the family [7], are highlighted. Many of chemical constituents as flavonoids, other

\*Corresponding author.

How to cite this paper: Moreira, V.F., Vieira, I.J.C. and Braz-Filho, R. (2015) Chemistry and Biological Activity of Condamineae Tribe: A Chemotaxonomic Contribution of Rubiaceae Family. *American Journal of Plant Sciences*, 6, 2612-2631.

<http://dx.doi.org/10.4236/ajps.2015.616264>