



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
CURSO DE QUÍMICA (BACHARELADO)

NICAELY MARIA DE OLIVEIRA PEREIRA

INVESTIGAÇÃO QUÍMICA E BIOLÓGICA DE *Chamaecrista ensiformis*

FORTALEZA

2020

NICAELY MARIA DE OLIVEIRA PEREIRA

INVESTIGAÇÃO QUÍMICA E BIOLÓGICA DE *Chamaecrista ensiformis*

Monografia apresentada ao Curso de Química, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Química. Local do estágio: Laboratório de Síntese Orgânica (LSO).

Orientadora: Profa. Dra. Gilvandete Maria Pinheiro Santiago

FORTALEZA

2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- P493i Pereira, Nicaely Maria de Oliveira.
Investigação química e biológica de Chamaecrista ensiformis / Nicaely Maria de Oliveira Pereira. – 2020.
80 f. : il. color.
- Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências,
Curso de Química, Fortaleza, 2020.
Orientação: Profa. Dra. Gilvandete Maria Pinheiro Santiago.
1. Chamaecrista ensiformis. 2. Taraxerol. 3. Friedelina. 4. Piceatannol. 5. Atividade larvicida. I. Título.
CDD 540
-

NICAELY MARIA DE OLIVEIRA PEREIRA

INVESTIGAÇÃO QUÍMICA E BIOLÓGICA DE *Chamaecrista ensiformis*

Monografia apresentada ao Curso de Química,
da Universidade Federal do Ceará, como
requisito parcial à obtenção do título de
Bacharel em Química.

Aprovada em: ___/___/_____.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Gilvandete Maria Pinheiro Santiago (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Msc. Horlando Carlota da Silva
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Msc. João Evangelista de Ávila dos Santos
Universidade Federal do Ceará (UFC)

A Deus.

Aos meus pais, Érica e Antônio.

AGRADECIMENTOS

Inicialmente, agradeço a Deus por me guiar, me dar forças para enfrentar as adversidades do dia a dia e por ter colocado pessoas boas em meu caminho.

Aos meus pais, Antônio Rocha Pereira Neto e Érica Maria de Oliveira, por sempre estarem presentes na minha vida, me incentivando a buscar o conhecimento e a nunca desistir dos meus sonhos. E ao meu irmão Éric que mesmo sendo muito jovem me apoia.

À professora Dra. Gilvandete Maria Pinheiro Santiago por me aceitar como orientanda, pela paciência, pela confiança e principalmente, por ter me auxiliado no desenvolvimento deste trabalho durante a pandemia que estamos vivendo. Obrigada por ter me transmitido seus conhecimentos que enriqueceram tanto meu desenvolvimento profissional quanto intelectual.

Aos meus colegas do laboratório de síntese orgânica (LSO) Aurélio Monteiro, Luis Almeida, Diana Rodrigues, David Araújo e em destaque ao Horlando Silva que sempre esteve disposto a me ajudar.

Ao Alison Silva e Luis Almeida pela obtenção dos espectros de RMN ^{13}C e RMN ^1H .

Aos Msc. João Evangelista de Ávila dos Santos e Msc. Horlando Carlota da Silva, membros da banca examinadora, por aceitarem o convite para avaliar este trabalho.

A todos os professores que tive ao longo desta graduação, em especial os de química orgânica Edilberto Silveira, Ótilia Pessoa e Nilce Brasil que aumentaram o meu interesse pela área em questão.

Ao meu namorado, Lucas Pinheiro Coutinho, que desde o início da graduação me acompanha, apoia, ajuda e me incentiva em tudo o que faço, sendo uma das principais pessoas responsáveis pela conclusão desta monografia. Obrigada pela paciência e por sempre estar ao meu lado.

“Na vida, não existe nada a se temer, apenas a ser compreendido.”

Marie Curie.

RESUMO

O presente trabalho relata o estudo químico e biológico das raízes e dos talos de *Chamaecrista ensiformis*. Nesse estudo, os extratos em etanol das raízes (**EERCE**) e dos talos (**EETCE**) de *C. ensiformis*, obtidos separadamente por extração a frio, foram submetidos a sucessivos fracionamentos cromatográficos que resultaram no isolamento de três metabólitos secundários. Do **EERCE** foram isolados dois triterpenos, o taraxerol (**CER-1**) e a friedelina (**CER-2**), enquanto do **EETCE** foi isolado um composto pertencente à classe dos estilbenos, o piceatannol (**CET-1**). Vale ressaltar que as substâncias **CER-1**, **CER-2** e **CET-1** são inéditas na espécie e dentre elas **CER-1** e **CER-2** também são inéditas no gênero. As estruturas dos metabólitos secundários isolados foram elucidadas através das técnicas espectroscópicas RMN ^1H e ^{13}C , uni e bidimensionais, juntamente com a comparação com os dados descritos na literatura. O **EERCE**, o **EETCE** e as frações hexânica (**FHRCE** e **FHTCE**), diclorometano (**FDRCE** e **FDTCE**), acetato de etila (**FARCE** e **FATCE**), acetato de etila:metanol (1:1) (**FAMRCE** e **FAMTCE**) e metanólica (**FMRCE** e **FMTCE**), resultantes do fracionamento cromatográfico de ambos os extratos, foram submetidos a bioensaios sobre larvas de terceiro estágio de *Aedes aegypti*, porém, nenhuma amostra exibiu resultados satisfatórios. A atividade citotóxica do **EERCE** e das frações **FHRCE**, **FDRCE**, **FARCE**, **FAMRCE** e **FMRCE** foram avaliadas quanto à citotoxicidade sobre as linhagens tumorais humanas MCF-7 (adenocarcinoma de mama) e HCT 116 (carcinoma colorretal), através do método MTT, e de acordo com a escala de intensidade para avaliar o potencial citotóxico, apenas a amostra **FDRCE** apresentou moderada atividade frente a estas duas linhagens tumorais, apresentando percentuais de inibição de $60,28 \pm 6,10\%$ e $69,89 \pm 9,76\%$ para HCT 116 e MCF-7, respectivamente. Este é o primeiro relato do estudo químico de *Chamaecrista ensiformis* e da investigação das atividades larvicida e citotóxica dos extratos em etanol e das respectivas frações cromatográficas provenientes das suas raízes e dos seus talos.

Palavras-chave: *Chamaecrista ensiformis*. Taraxerol. Friedelina. Piceatannol. Atividade larvicida. Atividade citotóxica.

ABSTRACT

The present work reports the chemical and biological study of the roots and stems of *Chamaecrista ensiformis*. In this study, the ethanolic extracts from the roots (**EERCE**) and stems (**EETCE**) of *C. ensiformis*, obtained separately by cold extraction, were subjected to successive chromatographic fractionations that resulted in the isolation of three secondary metabolites. Two triterpenes were isolated from **EERCE**, taraxerol (**CER-1**) and friedelin (**CER-2**), and from **EETCE** a compound belonging to the class of stilbenes, piceatannol (**CET-1**), was isolated. It is worth mentioning that the substances **CER-1**, **CER-2** and **CET-1** are unprecedented in the species and among them **CER-1** and **CER-2** are also unprecedented in the genus. The structures of isolated secondary metabolites were elucidated using ^1H and ^{13}C NMR spectroscopic techniques, uni and bidimensional, together with the comparison with the data described in the literature. **EERCE**, **EETCE** and hexane (**FHRCE** and **FHTCE**), dichloromethane (**FDRCE** and **FDTCE**), ethyl acetate (**FARCE** and **FATCE**), ethyl acetate: methanol (1: 1) (**FAMRCE** and **FAMTCE**) and methanol (**FMRCE** and **FMTCE**) fractions, resulting from the chromatographic fractionation of both extracts, were submitted to bioassays against instar III larvae of *Aedes aegypti*, and no sample showed satisfactory result. The cytotoxic activity of **EERCE** and the fractions **FHRCE**, **FDRCE**, **FARCE**, **FAMRCE** and **FMRCE** were evaluated for cytotoxicity on human tumor lines MCF-7 (breast adenocarcinoma) and HCT 116 (colorectal carcinoma), using the MTT method, and according to the intensity scale to assess the cytotoxic potential, that only the **FDRCE** sample has moderate activity against these two tumor cell lines, with percentages of $60.28 \pm 6.10\%$ and $69.89 \pm 9.76\%$ for HCT 116 and MCF-7, respectively. This is the first report of the chemical study of *Chamaecrista ensiformis* and the investigation of the larvicidal and cytotoxic activity of ethanol extracts and the respective chromatographic fractions from their roots and stems.

Keywords: *Chamaecrista ensiformis*. Taraxerol. Friedelina. Piceatannol. Larvicidal activity. Cytotoxic activity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Estrutura química do taxol/ paclitaxel	25
Figura 2	– Ilustração de um espécime de <i>Chamaecrista ensiformis</i>	27
Figura 3	– Inflorescências de <i>Chamaecrista ensiformis</i>	27
Figura 4	– Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) de CER-1	34
Figura 5	– Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) de CER-1	35
Figura 6	– Espectros de RMN ^{13}C -BB e RMN ^{13}C -DEPT 135° (75 MHz, CDCl_3) de CER-1	35
Figura 7	– Esqueleto triterpênico do tipo taraxerano	36
Figura 8	– Espectro bidimensional de correlação heteronuclear por coerência quântica simples $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HSQC de CER-1	37
Figura 9	– Espectro de correlação heteronuclear por ligações múltiplas $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC de CER-1	38
Figura 10	– Estrutura do taraxerol	39
Figura 11	– Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) de CER-2	41
Figura 12	– Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) de CER-2	42
Figura 13	– Espectros de RMN ^{13}C -DEPT 135° e RMN ^{13}C -BB (75 MHz, CDCl_3) de CER-2	42
Figura 14	– Esqueleto triterpênico da série friedelano	43
Figura 15	– Espectro bidimensional de correlação heteronuclear por coerência quântica simples $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HSQC de CER-2	44
Figura 16	– Espectro de correlação heteronuclear por ligações múltiplas $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC de CER-2	45
Figura 17	– Expansão do espectro de correlação heteronuclear por ligações múltiplas $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC de CER-2	46
Figura 18	– Estrutura da friedelina	46

Figura 19	– Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CD_3OD) de CET-1	48
Figura 20	– Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CD_3OD) de CET-1	49
Figura 21	– Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° de CET-1	49
Figura 22	– Esqueleto do <i>trans</i> -estilbeno	50
Figura 23	– Espectro bidimensional de correlação heteronuclear por coerência quântica simples $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HSQC de CET-1	51
Figura 24	– Expansão do espectro bidimensional de correlação heteronuclear por coerência quântica simples $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HSQC de CET-1	51
Figura 25	– Espectro de correlação heteronuclear por ligações múltiplas $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC de CET-1	53
Figura 26	– Expansão do espectro de correlação heteronuclear por ligações múltiplas $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC de CET-1	53
Figura 27	– Espectro bidimensional de correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ – COSY de CET-1	54
Figura 28	– Expansão do espectro bidimensional de correlação homonuclear $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ – COSY de CET-1	54
Figura 29	– Estrutura do piceatannol	55
Figura 30	– Estrutura química do Temephos®	57
Figura 31	– Conversão do sal MTT em azul de formazan	58

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Percentual de inibição em concentração única (50 $\mu\text{g/mL}$) do crescimento celular das amostras na linhagem tumoral HCT 116	59
Gráfico 2 – Percentual de inibição em concentração única (50 $\mu\text{g/mL}$) do crescimento celular das amostras na linhagem tumoral MCF-7	59

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Estruturas dos metabólitos secundários isolados de espécies do gênero <i>Chamaecrista</i>	29
Tabela 2 – Espécies de <i>Chamaecrista</i> com seus respectivos metabólitos secundários isolados	33
Tabela 3 – Dados de deslocamentos químicos (δ) de carbono-13 para CER-1 , obtidos através da comparação entre os espectros de RMN ^{13}C -BB e RMN ^{13}C -DEPT 135°	36
Tabela 4 – Deslocamentos químicos (δ) de RMN ^{13}C e ^1H de CER-1 comparados com os dados descritos na literatura para 13 α -metil-27-norolean-14-en-3 β -ol (BODEDE <i>et al.</i> , 2020)	40
Tabela 5 – Dados de deslocamentos químicos (δ) de carbono-13 para CER-2 , obtidos através da comparação entre os espectros de RMN ^{13}C -BB e RMN ^{13}C -DEPT 135°	43
Tabela 6 – Deslocamentos químicos (δ) de RMN ^{13}C e ^1H de CER-2 comparados com os dados descritos na literatura para (4 β , 5 β , 8 α , 9 β , 10 α , 13 α , 14 β)-5,9,13-trimetil-24,25,26-trinoroleanan-3-ona (MUNIZ <i>et al.</i> , 2020)	47
Tabela 7 – Dados de deslocamentos químicos (δ) de carbono-13 para CET-1 , obtidos através da comparação entre os espectros de RMN ^{13}C -BB e RMN ^{13}C -DEPT 135°	50
Tabela 8 – Deslocamentos químicos (δ) de RMN ^{13}C e ^1H de CET-1 comparados com os dados descritos na literatura para 3,3',4',5-tetrahidroxi- <i>trans</i> -estilbeno (KUSUMANINGTYAS; SYAH; JULIAWATY, 2020)	56
Tabela 9 – Percentual de inibição em concentração única (50 $\mu\text{g}/\text{mL}$) do crescimento celular das amostras em duas linhagens tumorais e seu desvio padrão da média (SD)	58
Tabela 10 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EERCE (C_1)	63
Tabela 11 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico da coluna C_2	64
Tabela 12 – Dados referentes às frações resultantes da coluna C_2	64

Tabela 13 – Dados referentes às frações resultantes da coluna C ₃	65
Tabela 14 – Dados referentes às frações resultantes da coluna C ₄	66
Tabela 15 – Dados referentes às frações resultantes da coluna C ₅	66
Tabela 16 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EETCE (C _{1'})	68
Tabela 17 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico da coluna C _{2'}	68
Tabela 18 – Dados referentes às frações resultantes da coluna C _{2'}	69
Tabela 19 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico da coluna C _{3'}	69
Tabela 20 – Dados referentes às frações resultantes da coluna C _{3'}	69
Tabela 21 – Dados referentes às frações resultantes da coluna C _{4'}	70
Tabela 22 – Dados referentes às frações resultantes da coluna C _{5'}	70
Tabela 23 – Dados referentes às frações resultantes da coluna C _{6'}	71
Tabela 24 – Dados referentes às frações resultantes da coluna C _{7'}	71

LISTA DE FLUXOGRAMAS

- Fluxograma 1 – Fracionamento cromatográfico do extrato etanólico das raízes de *Chamaecrista ensiformis* (**EERCE**) 67
- Fluxograma 2 – Fracionamento cromatográfico do extrato etanólico dos talos de *Chamaecrista ensiformis* (**EETCE**) 72

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BB	<i>Broad Band</i>
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CENAUREMN	Centro Nordeste de Aplicação e Uso da Ressonância Magnética Nuclear
CI ₅₀	Concentração Inibitória de 50%
CL ₅₀	Concentração Letal de 50%
COSY	<i>Correlation Spectroscopy</i>
<i>d</i>	Dupleto
<i>dd</i>	Duplo dupleto
DEPT	<i>Distortionless Enhancement by Polarization Transfer</i>
EERCE	Extrato etanólico das raízes de <i>Chamaecrista ensiformis</i>
EETCE	Extrato etanólico dos talos de <i>Chamaecrista ensiformis</i>
FAMRCE	Fração acetato de etila:methanol (1:1) do extrato etanólico das raízes de <i>Chamaecrista ensiformis</i>
FAMTCE	Fração acetato de etila:methanol (1:1) do extrato etanólico dos talos de <i>Chamaecrista ensiformis</i>
FARCE	Fração acetato de etila do extrato etanólico das raízes de <i>Chamaecrista ensiformis</i>
FATCE	Fração acetato de etila do extrato etanólico dos talos de <i>Chamaecrista ensiformis</i>
FDRCE	Fração diclorometano do extrato etanólico das raízes de <i>Chamaecrista ensiformis</i>
FDTCE	Fração diclorometano do extrato etanólico dos talos de <i>Chamaecrista ensiformis</i>
FHRCE	Fração hexânica do extrato etanólico das raízes de <i>Chamaecrista ensiformis</i>
FHTCE	Fração hexânica do extrato etanólico dos talos de <i>Chamaecrista ensiformis</i>
FMRCE	Fração metanólica do extrato etanólico das raízes de <i>Chamaecrista ensiformis</i>
FMTCE	Fração metanólica do extrato etanólico dos talos de <i>Chamaecrista ensiformis</i>

HMBC	<i>Heteronuclear Multiple Bond Connectivity</i>
HSQC	<i>Heteronuclear Single Quantum Coherence</i>
<i>J</i>	Constante de acoplamento
L	Comprimento
MHz	Mega hertz
NUVET-SESA	Núcleo de Controle de Endemias Transmissíveis por Vetor da Secretaria de Saúde do Estado do Ceará
ppm	Partes por milhão
<i>q</i>	Quarteto
RMN ¹³ C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono-13
RMN ¹ H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
<i>s</i>	Simpleto
<i>t</i>	Tripleto

LISTA DE SÍMBOLOS

Φ	Diâmetro
δ	Deslocamento Químico
®	Marca Registrada

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	21
1.1	Atividade larvicida sobre <i>Aedes aegypti</i>	22
1.2	Câncer e a atividade citotóxica	23
1.3	Considerações botânicas	25
1.3.1	<i>Família Fabaceae e subfamília Caesalpinioideae</i>	25
1.3.2	<i>Gênero Chamaecrista e espécie Chamaecrista ensiformis</i>	26
2	OBJETIVOS	28
2.1	Objetivo geral	28
2.2	Objetivos específicos	28
3	LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO	29
3.1	Levantamento dos constituintes químicos isolados do gênero <i>Chamaecrista</i>	29
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
4.1	Determinação estrutural dos constituintes químicos isolados do extrato etanólico das raízes de <i>Chamaecrista ensiformis</i>	34
4.1.1	<i>Determinação estrutural de CER-1</i>	34
4.1.2	<i>Determinação estrutural de CER-2</i>	41
4.2	Determinação estrutural dos constituintes químicos isolados do extrato etanólico dos talos de <i>Chamaecrista ensiformis</i>	48
4.2.1	<i>Determinação estrutural de CET-1</i>	48
4.3	ENSAIOS BIOLÓGICOS	57
4.3.1	<i>Avaliação da atividade larvicida sobre Aedes aegypti</i>	57
4.3.2	<i>Avaliação da atividade citotóxica</i>	57
5	PARTE EXPERIMENTAL	61
5.1	Material vegetal	61
5.2	Métodos cromatográficos	61
5.2.1	<i>Cromatografia em coluna (CC)</i>	61
5.2.2	<i>Cromatografia em camada delgada (CCD)</i>	61
5.3	Métodos físicos de análise	62
5.3.1	<i>Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)</i>	62
5.4	Estudo dos constituintes de <i>Chamaecrista ensiformis</i>	63

5.4.1	<i>Obtenção do extrato etanólico das raízes (EERCE) e dos talos (EETCE) de Chamaecrista ensiformis</i>	63
5.4.1.1	<i>Fracionamento cromatográfico do extrato etanólico das raízes de Chamaecrista ensiformis (EERCE)</i>	63
5.4.1.2	<i>Fracionamento cromatográfico da fração acetato de etila (FARCE) do EERCE</i>	64
5.4.1.3	<i>Tratamento cromatográfico de FAIRCE e isolamento de CER-1</i>	65
5.4.1.4	<i>Tratamento cromatográfico de FAIRCE e isolamento de CER-2</i>	66
5.4.1.5	<i>Fracionamento cromatográfico do extrato etanólico dos talos de Chamaecrista ensiformis (EERCE)</i>	68
5.4.1.6	<i>Fracionamento cromatográfico da fração acetato de etila (FATCE) do EETCE</i>	68
5.4.1.7	<i>Tratamento cromatográfico de FA4TCE e isolamento de CET-1</i>	69
5.5	Ensaio biológico	73
5.5.1	<i>Atividade larvicida sobre Aedes aegypti</i>	73
5.5.2	<i>Atividade citotóxica</i>	73
6	CONCLUSÃO	75
	REFERÊNCIAS	76

1 INTRODUÇÃO

Um dos aspectos surpreendentes do mundo natural corresponde à grande diversidade de compostos químicos produzidos pelas plantas (WETZEL; WHITEHEAD, 2020). A utilização destas pela humanidade remonta há séculos e, apesar das diferentes aplicações como fonte de alimento, matérias-primas para a produção de roupas, construção de abrigos ou na decoração, seu uso na fitoterapia destaca-se por ser uma das formas mais antigas de assistência médica (VEIGA *et al.*, 2020).

O caráter medicinal atribuído às espécies vegetais emana da produção de metabólitos secundários úteis para a saúde humana. Por definição, metabólitos secundários são compostos químicos não essenciais para o metabolismo básico das plantas, que são sintetizados em diferentes partes de sua anatomia e produzidos em maior proporção na presença de condições adversas (SANCHITA; SHARMA, 2018), ou seja, a síntese e o acúmulo adequado desses compostos químicos são influenciados pelas mudanças no ambiente abiótico e biótico, sendo rigorosamente controlados de forma espacial e temporal (LI *et al.*, 2020). Consequentemente, os metabólitos secundários contribuem de forma significativa na adaptação das plantas aos estresses ambientais e estão sendo usados no desenvolvimento de medicamentos, uma vez que compostos tais como alcalóides, terpenóides e fenilpropanóides apresentam valor farmacêutico (SANCHITA; SHARMA, 2018).

Uma estimativa realizada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) indica que cerca de 80% das pessoas utilizam fitoterápicos. Apesar desse amplo consumo, somente 10% das espécies vegetais foram exploradas visando a determinação de suas propriedades terapêuticas, mecanismo de ação e toxicidade. Estes fatores justificam o crescente incentivo para o desenvolvimento de medicamentos a partir de fontes naturais, tais como plantas (MOHAMMADI; SHAGHAGHI, 2020; SHARMA *et al.*, 2020).

Embora o consumo de medicamentos fitoterápicos seja acentuado nos países desenvolvidos, é em países em desenvolvimento que a população cria uma relação de dependência com as plantas medicinais no nível primário de atenção à saúde, pelo fato da medicina moderna ser cara e de difícil acesso. No Brasil, caracterizado por apresentar uma das maiores biodiversidades de plantas do mundo, foi criado um programa, denominado “Farmácias Vivas”, idealizado pelo professor Francisco José de Abreu Matos, em 1983, que visa disseminar o uso racional de plantas medicinais. Vale salientar que este programa recebeu reconhecimento da OMS (SENTHILKUMAR, 2019).

Um gênero pertencente à família Fabaceae e à subfamília Caesalpinoideae que

apresenta o seu principal centro de diversidade no Brasil, é o *Chamaecrista* (DE SOUZA; LEWIS; DA SILVA, 2019). Estudos experimentais têm relatado que algumas espécies desse gênero apresentam diferentes atividades, tais como antiglicante, antibacteriana, inibidora de α -amilase, antioxidante ou antiviral sobre o vírus Herpes simplex II, e estas atividades são atribuídas, em alguns casos, à presença de flavonóides e de taninos condensados (AKBAR, 2020; REIS *et al.*, 2020; QUIRÓS-GUERRERO *et al.*, 2019).

Dentre as espécies nativas no Brasil, *Chamaecrista ensiformis*, conhecida popularmente como “Jaúna” ou “Pau-ferro”, é uma espécie que pode contribuir na recuperação de áreas degradadas, pois é capaz de estabelecer uma relação simbiótica com um gênero de bactérias gram-negativas do solo, *Mesorhizobium*, para a fixação de nitrogênio (DOS SANTOS *et al.*, 2017). Devido ao fato das raízes e dos caules de plantas serem órgãos responsáveis pelo acúmulo de constituintes ativos com importante valor medicinal (LI *et al.*, 2020) e à ausência de relatos da literatura sobre o estudo químico e propriedades biológicas de *C. ensiformis*, a investigação química e biológica das raízes e dos talos de *C. ensiformis* pode constituir uma fonte promissora para a descoberta de novas substâncias bioativas.

Neste contexto, o presente trabalho consiste em realizar um estudo químico através do isolamento e determinação estrutural dos metabólitos secundários do extrato etanólico das raízes de *Chamaecrista ensiformis* (**EERCE**) e do extrato etanólico dos talos de *Chamaecrista ensiformis* (**EETCE**) pela utilização de métodos cromatográficos e espectroscópicos, e um estudo biológico desta espécie a partir da avaliação da atividade larvicida sobre *Aedes aegypti* e da citotoxicidade *in vitro* frente às linhagens tumorais humanas MCF-7 (adenocarcinoma de mama) e HCT 116 (carcinoma colorretal) do **EERCE**, do **EETCE** e de frações resultantes do tratamento cromatográfico de ambos os extratos.

1.1 Atividade larvicida sobre *Aedes aegypti*

Os mosquitos exercem grande influência na saúde dos seres humanos, pois atuam como vetores de inúmeras enfermidades, tais como, febre Chikungunya, doença aguda pelo vírus Zika, febre amarela e dengue (VISWAN; PUSHAPALATHA, 2020). Tais arbovírus, transmitidos por artrópodes, sofreram grande expansão geográfica nas regiões tropicais e subtropicais do mundo, em especial nas Américas, onde o transmissor em comum de todas as doenças citadas acima é o *Aedes aegypti*, espécie cosmotropical adaptada a ambientes urbanos (PEREIRA *et al.*, 2020). Esta espécie é considerada o principal vetor dos arbovírus no Brasil, pois as condições ambientais deste país favorecem o seu desenvolvimento e proliferação. De

acordo com o boletim epidemiológico do Ministério da Saúde (MS), no Brasil foram notificados 2.054 casos prováveis de doença aguda pelo vírus Zika no período entre 29/12/2019 a 21/03/2020, enquanto no período de 29/12/2019 a 04/04/2020 foram notificados 525.381 e 15.051 casos prováveis de dengue e de febre Chikungunya, respectivamente (BRASIL; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020). Nota-se que em um curto período de tempo, o número de casos para estas enfermidades é bastante elevado, demonstrando a relevância desta problemática no Brasil.

Devido à ausência de medicamentos específicos para o tratamento destas doenças transmitidas pelo *A. aegypti* e à falta de vacina contra alguns dos arbovírus disseminados por este vetor, o controle da população de mosquitos constitui o método mais eficiente para reduzir a incidência da dengue, doença aguda pelo vírus Zika e febre Chikungunya (DOS SANTOS *et al.*, 2020). Vale salientar que a fase larval é selecionada para o combate do *A. aegypti* porque os adultos reduzem a população adulta de forma temporária (VISWAN; PUSHAPALATHA, 2020). Infelizmente, a dificuldade em realizar melhorias na infraestrutura do meio urbano visando diminuir os locais de desenvolvimento de larvas de *A. aegypti*, incentiva o uso indiscriminado de inseticidas sintéticos, como o temefós® e o DDT (diclorodifeniltricloroetano), resultando na seleção das populações de mosquitos resistentes a estes inseticidas, culminando assim, no enfraquecimento desta estratégia e incentivando a busca por novas substâncias com atividade larvicida.

A natureza tóxica que muitas plantas exercem sobre os mosquitos permitem que estas sejam utilizadas como agentes alternativos para o controle destes vetores, apresentando vantagens por serem ativas contra insetos-alvo específicos e pelos inseticidas fitoquímicos serem biodegradáveis (VISWAN; PUSHAPALATHA, 2020). Desta forma, muitas pesquisas envolvendo a avaliação do potencial de diferentes extratos vegetais (LOUIS *et al.*, 2020; PALMEIRA *et al.*, 2020; SILVA *et al.*, 2020; ZANIOL *et al.*, 2020) e de óleos essenciais (FERREIRA *et al.*, 2020; MANH *et al.*, 2020; MARTINS *et al.*, 2020; SANTOS JÚNIOR *et al.*, 2020) no combate às larvas do mosquito *A. aegypti* estão sendo realizadas.

1.2 O câncer e a atividade citotóxica

Câncer é a denominação de um conjunto de mais de cem doenças caracterizadas pelo crescimento rápido e desordenado de células, que acometem tecidos e órgãos. Por possuírem tais peculiaridades, estas células tendem a ser agressivas e incontroláveis, resultando na formação de tumores que podem se espalhar por diversas partes do corpo. Os

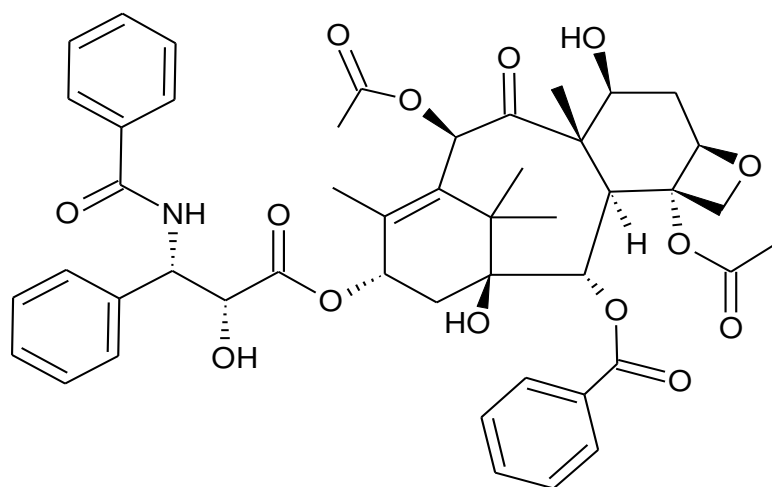
tipos de câncer condizem com as células das regiões do corpo afetadas, por exemplo, ao iniciar em tecidos epiteliais denominam-se carcinomas e ao originar-se em tecidos conjuntivos são chamados de sarcomas. Alternativas para diferenciar os tipos de câncer consistem em analisar a velocidade de multiplicação das células e a metástase, capacidade de invadir tecidos e órgãos vizinhos ou distantes (INCA, 2019a).

O câncer é considerado o principal problema de saúde pública no mundo, pois sua incidência e mortalidade vêm aumentando nos países, sendo responsável pela morte prematura, antes dos 70 anos de idade, de muitos indivíduos. No Brasil, uma estimativa realizada pelo Instituto Nacional de Câncer (INCA) indica que para cada ano do triênio 2020-2022, ocorrerão 625 mil casos novos de câncer, onde 177 mil serão de câncer de pele não melanoma, 66 mil de câncer de mama, 66 mil de câncer de próstata, 41 mil de câncer de cólon e reto, 30 mil de câncer de pulmão e 21 mil de câncer de estômago (INCA, 2019b).

Dentre os cânceres citados, o de mama apresenta umas das maiores ocorrências no mundo, especialmente entre as mulheres, em referência aos efeitos de pós-tratamento, cujo efeito colateral supera os benefícios terapêuticos. Observa-se que apesar do avanço contínuo e das intervenções terapêuticas atuais, tal câncer está se transformando, de forma lenta, na categoria de doença crônica (LEE *et al.*, 2020). Por outro lado, o câncer colorretal é considerado o segundo mais letal e o terceiro tumor maligno com elevada permanência em todo o globo, apresentando como tratamento usual a remoção completa do tumor e metástase através de intervenção cirúrgica. No entanto, para pacientes com lesões irremediáveis ou intolerantes à cirurgia utilizam-se procedimentos que englobam a radioterapia e quimioterapia (XIE; CHEN; FANG, 2020). Portanto, em todos os casos de câncer, observa-se a necessidade de desenvolver novas estratégias mais eficientes para o combate de tal enfermidade.

Uma fonte promissora de novos agentes anticâncer são as plantas, pois seus extratos contêm compostos como os polifenóis, os terpenóides e os alcalóides que geralmente apresentam propriedades antiproliferativas e anticancerígenas. Os fitoquímicos bioativos à base de plantas inibem a citogênese tumoral por diversas formas, dentre elas cita-se a inibição ou modificação de processos epigenéticos que suprimem a iniciação, supressão e progressão de genes (LEE *et al.*, 2020). Vale ressaltar que a maioria dos compostos empregados na quimioterapia são obtidos diretamente de extratos vegetais ou são produtos quimicamente modificados de fitoquímicos específicos, como o agente de quimioterapia convencional taxol/paclitaxel (FIGURA 1, p. 25) (BEEBY *et al.*, 2020).

Figura 1 - Estrutura química do taxol/ paclitaxel



1.3 Considerações botânicas

1.3.1 Família Fabaceae e subfamília Caesalpinioideae

A família Fabaceae ou Leguminosae é constituída por aproximadamente 770 gêneros com um número de espécies superior a 19.500, sendo classificada mundialmente como a terceira família de angiosperma mais diversificada (AGUILAR-SANDÍ, 2020). No Brasil, a família Fabaceae está distribuída em todos os biomas e é caracterizada por conseguir se adaptar aos mais variados tipos de solos, incluindo os que sofrem ação constante do intemperismo, alta taxa de acidez e em afloramentos rochosos (RODRIGUES *et al.*, 2020). Correspondendo à família de plantas vasculares com o maior número de espécies registradas, 2.756 das quais 1.507 são endêmicas na flora brasileira (DE CARVALHO; MORIM; DOS SANTOS, 2020).

Por mais de um século, a família Fabaceae foi dividida em três subfamílias, Mimosoideae, Caesalpinioideae e Papilionoideae, porém os dados filogenéticos obtidos através de análises moleculares revelaram a necessidade de se ajustar o grupo parafilético das Caesalpinioideae, resultando na redistribuição das três subfamílias antigas em seis subfamílias, Caesalpinioideae, Cercidoideae, Detarioideae, Dialioidea, Duparquetioideae e Papilionoideae. Desta forma, Caesalpinioideae, antes parafilética, foi transformada em monofilética sendo subordinada a antiga Mimosoideae, como clado Mimosoida (DE CARVALHO; MORIM; DOS SANTOS, 2020; PAULA *et al.*, 2020).

A nova classificação para a família Fabaceae indica que Caesalpinioideae apresenta 148 gêneros e cerca de 4.400 espécies (ZEFERINO *et al.*, 2019). Tais espécies definem-se por apresentar folhas comumente bipinadas, podendo ser incluídas as pinadas. Suas inflorescências são espiciformis ou capituliformis agrupadas em racemos ou fascículos. Suas flores são geralmente bissexuais, raramente unissexuais com simetrias radiais, e com menor frequência, zigomorfas e assimétricas. Seus frutos são do tipo legume, folículo, lomento ou craspédio (DE CARVALHO; MORIM; DOS SANTOS, 2020).

1.3.2 Gênero *Chamaecrista* e espécie *Chamaecrista ensiformis*

Chamaecrista destaca-se por ser um dos maiores gêneros da subfamília Caesalpinioideae, apresentando cerca de 330 espécies com distribuição pantropical (ZEFERINO *et al.*, 2019). As plantas deste gênero caracterizam-se pela presença das folhas paripinadas, inflorescências racemosas, flores amarelas e legumes elasticamente deiscentes (SILVA; THOMAS; DUTRA, 2018). No Brasil, o gênero *Chamaecrista* compreende 272 espécies, das quais 213 são endêmicas, distribuídas pelo seu território, principalmente na vegetação de cerrado dos estados de Minas Gerais, Goiás e Bahia com 151, 109 e 87 espécies, respectivamente (DE SOUZA; LEWIS; DA SILVA, 2019).

Dentre as espécies endêmicas no Brasil destaca-se *Chamaecrista ensiformis*, conhecida popularmente como “Pau-ferro” ou “Jaúna”, que é encontrada nas regiões Norte (Amapá, Pará e Tocantins), Nordeste (Alagoas, Bahia, Ceará, Maranhão, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do Norte e Sergipe), Centro-Oeste (Goiás, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul) e Sudeste (Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo), nos Domínios Fitogeográficos da Amazônia, na Caatinga, na Mata Atlântica e no Cerrado (SILVA; THOMAS; DUTRA, 2018). *C. ensiformis*, ilustrada pela Figura 2 (p. 27), distingui-se das demais espécies deste gênero por ser a única que apresenta porte arbóreo ou arbustivo, variando de 2,5 a 5 metros de altura, enquanto as demais espécies apresentam porte que abrange do herbáceo a subarbustivo. Apresenta inflorescências em vez de flores solitárias, como pode ser observado na Figura 3 (p. 27), cauliflora e estípulas com 14-26 mm de comprimento em relação a 3-12 mm das outras espécies (SILVA; THOMAS; DUTRA, 2018).

Figura 2 - Ilustração de um espécime de *Chamaecrista ensiformis*



Fonte: Coutinho, Rando, Conceição e Strozi (2016, p. 206)

Figura 3 - Inflorescências de *Chamaecrista ensiformis*



Fonte: Coutinho, Rando, Conceição e Strozi (2016, p. 206)

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Contribuir para o conhecimento químico e biológico de *Chamaecrista ensiformis*.

2.2 Objetivos específicos

- Preparar o extrato etanólico das raízes (**EERCE**) e o extrato etanólico dos talos (**EETCE**);
- Obter as frações hexano, diclorometano, acetato de etila, acetato de etila:metanol (1:1) e metanol do **EERCE** e do **EETCE**;
- Isolar e purificar os metabólitos secundários do **EERCE** e do **EETCE** através de técnicas cromatográficas;
- Caracterizar os metabólitos secundários isolados do **EERCE** e do **EETCE** a partir de técnicas espectroscópicas como RMN ^1H e ^{13}C (uni e bidimensional);
- Avaliar a atividade larvicida sobre *Aedes aegypti* do **EERCE**, do **EETCE** e das frações obtidas a partir do tratamento cromatográfico de ambos os extratos;
- Avaliar a citotoxicidade *in vitro* sobre as linhagens tumorais humanas MCF-7 (adenocarcinoma de mama) e HCT 116 (carcinoma colorretal) do **EERCE** e das frações provenientes do seu tratamento cromatográfico.

3 LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO

3.1 Levantamento dos constituintes químicos isolados do gênero *Chamaecrista*

O levantamento bibliográfico realizado no *SciFinder*[®] utilizando os termos “*Chamaecrista ensiformis*”, “*Chamaecrista species*”, “Components of *Chamaecrista*”, “Cassanes and *Chamaecrista*” e “Polyphenols and *Chamaecrista*” teve como abrangência os artigos publicados no período de 1991 até outubro de 2020. Neste intervalo foram encontrados registros de estudos químicos envolvendo 4 espécies do gênero *Chamaecrista*. O banco de dados obtido através dessa pesquisa revelou que as principais classes de metabólitos secundários isolados e identificados neste gênero são os diterpenos cassanos e antraquinonas.

A Tabela 1 ilustra as estruturas dos metabólitos secundários isolados de espécies do gênero *Chamaecrista* e a Tabela 2 (p. 33) reúne as espécies de *Chamaecrista*, os seus respectivos metabólitos secundários isolados e as referências bibliográficas.

Tabela 1 – Estruturas dos metabólitos secundários isolados de espécies do gênero *Chamaecrista* (continua)

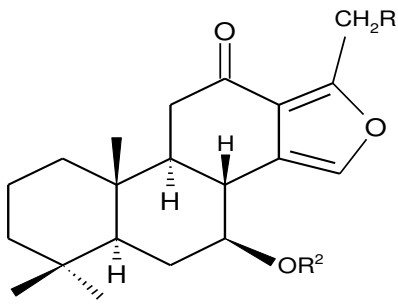
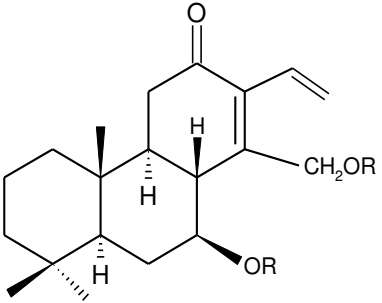
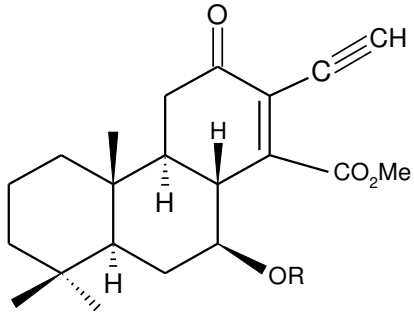
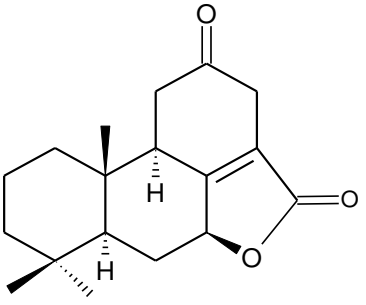
 <p> 1 R¹ = R² = H 2 R¹ = H, R² = Ac 3 R¹ = OH, R² = H 4 R¹ = OAc, R² = Ac </p>	 <p> 5 R = H 6 R = Ac </p>
 <p> 7 R = H 8 R = Ac </p>	 <p>9</p>

Tabela 1 – Estruturas dos metabólitos secundários isolados de espécies do gênero *Chamaecrista* (continua)

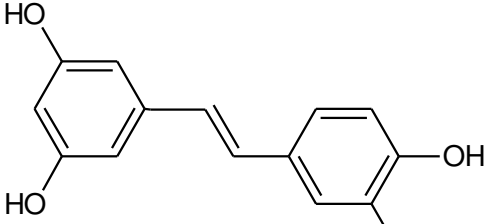
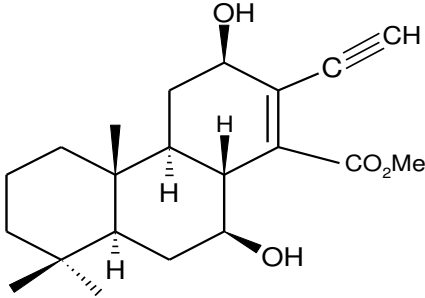
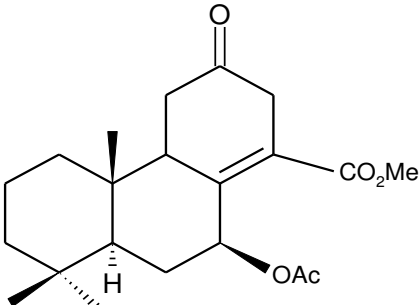
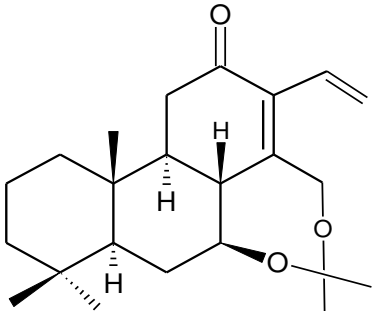
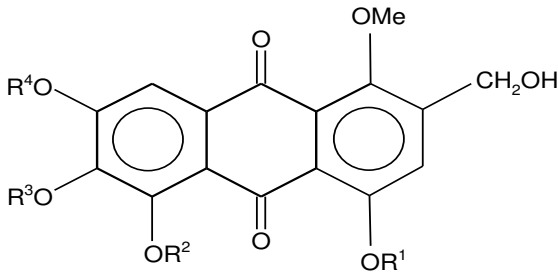
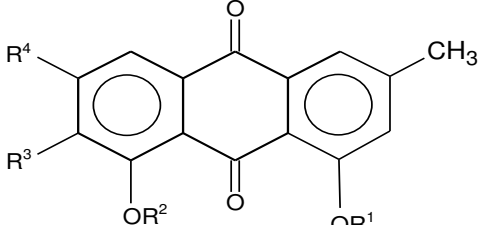

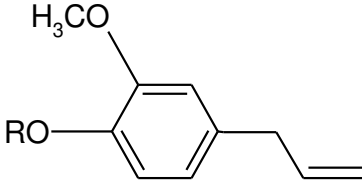
 <p>10 R = OH 11 R = H</p>	 <p>12</p>
 <p>13</p>	 <p>14</p>
 <p>15 R¹ = Me; R² = H; R³ = Me; R⁴ = H 16 R¹ = H; R² = Me; R³ = Me; R⁴ = Me 17 R¹ = H; R² = Me; R³ = H; R⁴ = Me 18 R¹ = H; R² = Me; R³ = Me; R⁴ = H</p>	 <p>19 R¹ = Me; R² = H; R³ = OH; R⁴ = OMe 20 R¹ = H; R² = H; R³ = H; R⁴ = OMe 21 R¹ = H; R² = H; R³ = H; R⁴ = H 22 R¹ = H; R² = Me; R³ = OMe; R⁴ = OMe 23 R¹ = H; R² = Me; R³ = OH; R⁴ = OMe</p>
 <p>24</p>	 <p>25 R = Me 26 R = H</p>

Tabela 1 – Estruturas dos metabólitos secundários isolados de espécies do gênero *Chamaecrista* (continua)

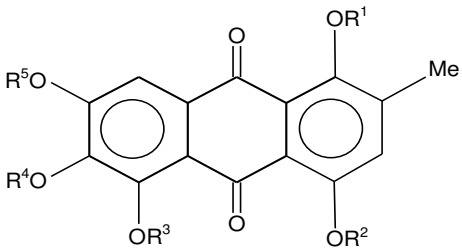
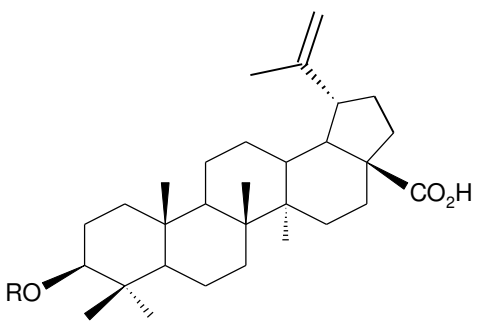
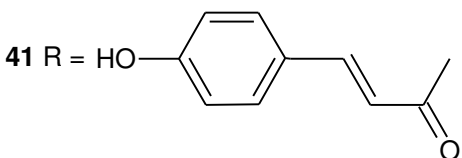
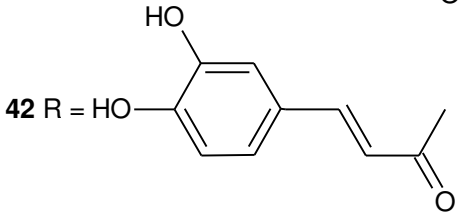
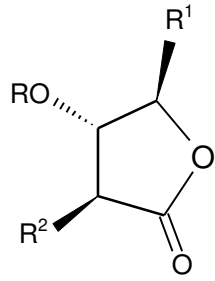
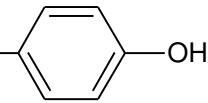
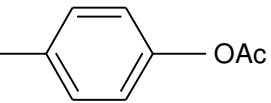
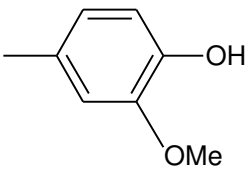
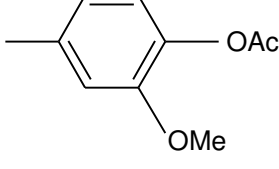
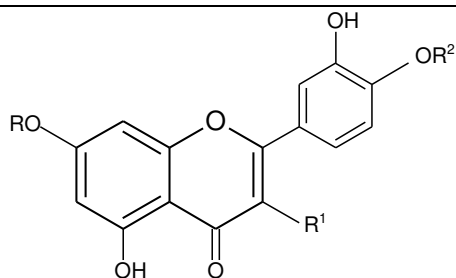
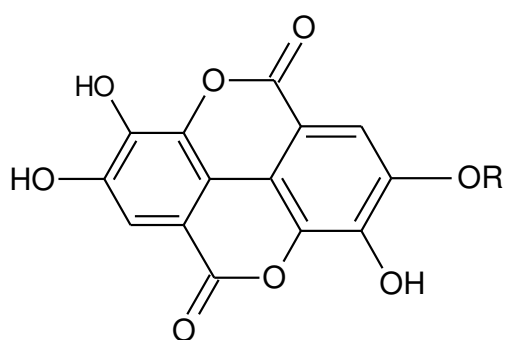
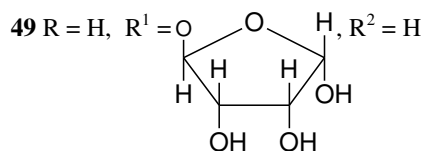
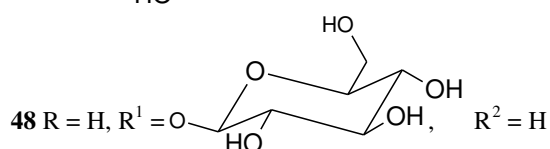
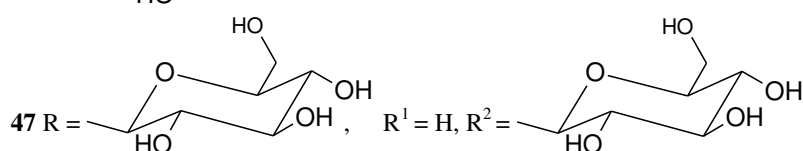
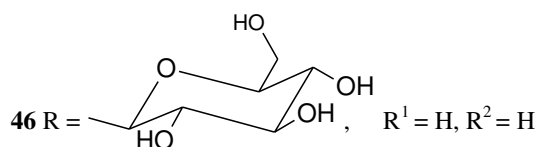
 <p> 27 R¹ = Me; R² = Me; R³ = H; R⁴ = Me; R⁵ = Me 28 R¹ = H; R² = Me; R³ = H; R⁴ = Me; R⁵ = H 29 R¹ = Me; R² = Me; R³ = H; R⁴ = H; R⁵ = Me 30 R¹ = Me; R² = H; R³ = H; R⁴ = Me; R⁵ = Me 31 R¹ = Me; R² = Me; R³ = R⁴ = -OCH₂O-; R⁵ = Me 32 R¹ = Me; R² = H; R³ = Me; R⁴ = Me; R⁵ = Me 33 R¹ = Me; R² = H; R³ = Me; R⁴ = Me; R⁵ = H 34 R¹ = H; R² = H; R³ = Me; R⁴ = Me; R⁵ = H 35 R¹ = H; R² = Me; R³ = H; R⁴ = Me; R⁵ = Me 36 R¹ = Me; R² = Me; R³ = Me; R⁴ = Me; R⁵ = Me 37 R¹ = Me; R² = H; R³ = Me; R⁴ = H; R⁵ = Me 38 R¹ = H; R² = H; R³ = Me; R⁴ = Me; R⁵ = Me 39 R¹ = Me; R² = H; R³ = R⁴ = -OCH₂O-; R⁵ = Me </p>	 <p>40 R = H</p>  <p>41 R = HO-</p>  <p>42 R = HO-</p>
 <p> 43 R = H, R¹ = R² =  44 R = Ac, R¹ = R² =  </p> <p>   </p>	

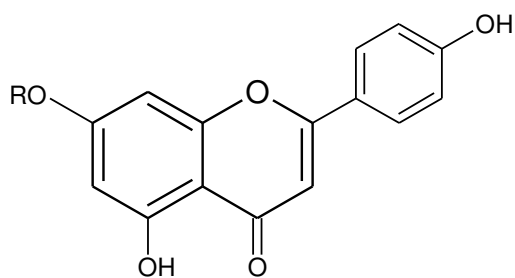
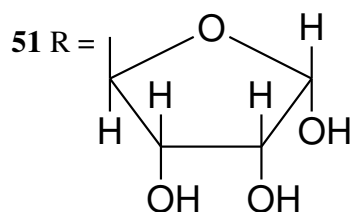
Tabela 1 – Estruturas dos metabólitos secundários isolados de espécies do gênero *Chamaecrista* (continua)



45 R = H, R¹ = H, R² = H



50 R = H



52 R = H

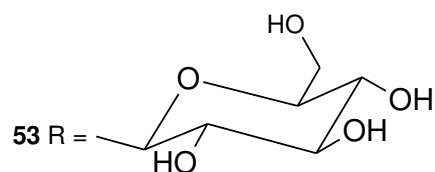
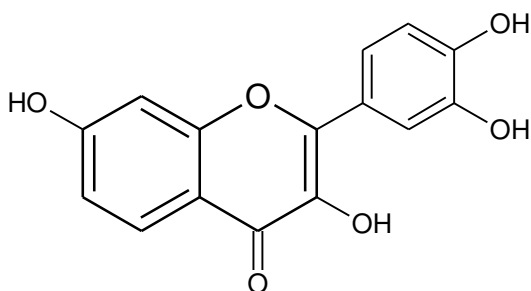
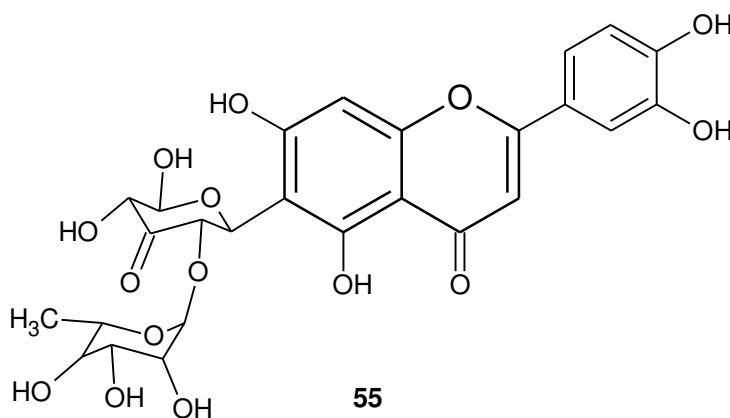


Tabela 1 – Estruturas dos metabólitos secundários isolados de espécies do gênero *Chamaecrista* (conclusão)



54



55

Tabela 2 – Espécies de *Chamaecrista* com seus respectivos metabólitos secundários isolados

ESPÉCIES	METABÓLITOS SECUNDÁRIOS	REFERÊNCIAS
<i>C. duckeana</i>	24, 25, 26	LOPES; CAMPOS; CRAVEIRO, 1993
<i>C. flexuosa</i>	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 1, 3, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44	BARBA <i>et al.</i> , 1992
<i>C. greggii</i>	45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55	BARBA; DÍAZ; HERZ, 1994
<i>C. nictitans</i>		MATEOS-MARTÍN <i>et al.</i> , 2014

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

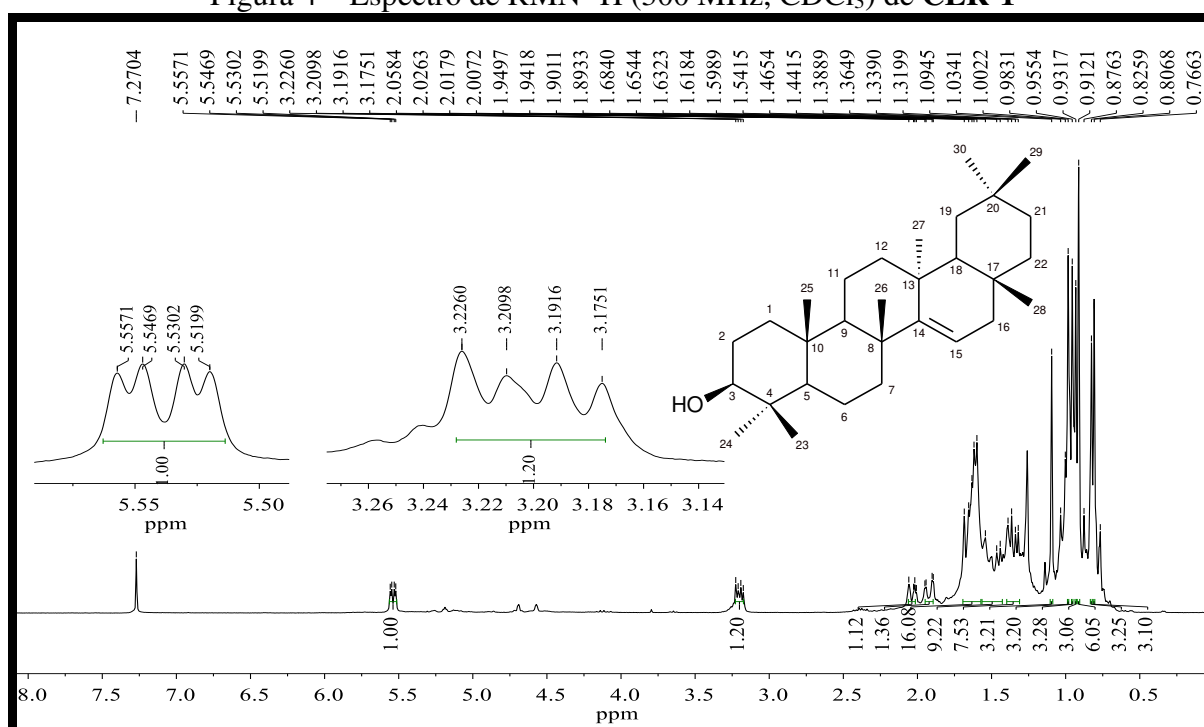
4.1 Determinação estrutural dos constituintes químicos isolados do extrato etanólico das raízes de *Chamaecrista ensiformis*

4.1.1 Determinação estrutural de CER-1

O tratamento cromatográfico de **FAIRCE**, relatado no procedimento do item 5.4.1.3 (p. 65), forneceu 18,2 mg de um sólido cristalino de cor branca, solúvel em diclorometano, que foi denominado **CER-1**.

O espectro de RMN ^1H [300 MHz, CDCl_3] de **CER-1** (FIGURA 4) revelou dois duplos dupletos, em δ_{H} 3,20 (1H; $J = 10,4$ e $4,9$ Hz; H-3) e em δ_{H} 5,53 (1H; $J = 8,1$ e $3,1$ Hz; H-15), relacionados a um hidrogênio ligado a carbono carbinólico em configuração relativa 3α -axial (ARAÚJO; CHAVES, 2005; LEMES; FERRI; LOPES, 2011) e a um hidrogênio ligado a carbono de dupla ligação (DE CAMARGO *et al.*, 2013), respectivamente. Na região entre δ_{H} 2,06 a δ_{H} 0,77 foram observados múltiplos sinais, destacando-se sete simpletos em δ_{H} 1,09, δ_{H} 0,98, δ_{H} 0,95, δ_{H} 0,93, δ_{H} 0,91, δ_{H} 0,83 e δ_{H} 0,80 atribuídos aos hidrogênios de oito grupos metila. Vale ressaltar que o sinal em δ_{H} 0,91 está relacionado a dois grupos metilas, pois apresentou integração para seis átomos de hidrogênio.

Figura 4 – Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) de **CER-1**



O espectro de RMN ^{13}C -BB [75 MHz, CDCl_3] de **CER-1** (FIGURA 5) apresentou 31 linhas espectrais. Comparando esses dados com os do espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° [75 MHz, CDCl_3] (FIGURA 6) identificou-se sete átomos de carbono não hidrogenados, cinco carbonos metínicos, dez carbonos metilênicos e oito carbonos metílicos. O sinal em δ_{C} 29,91 corresponde, provavelmente, a uma impureza da amostra. Com as informações adquiridas pode-se estimar a fórmula molecular $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}$. Tais dados foram agrupados na Tabela 3 (p. 36).

Figura 5 – Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) de **CER-1**

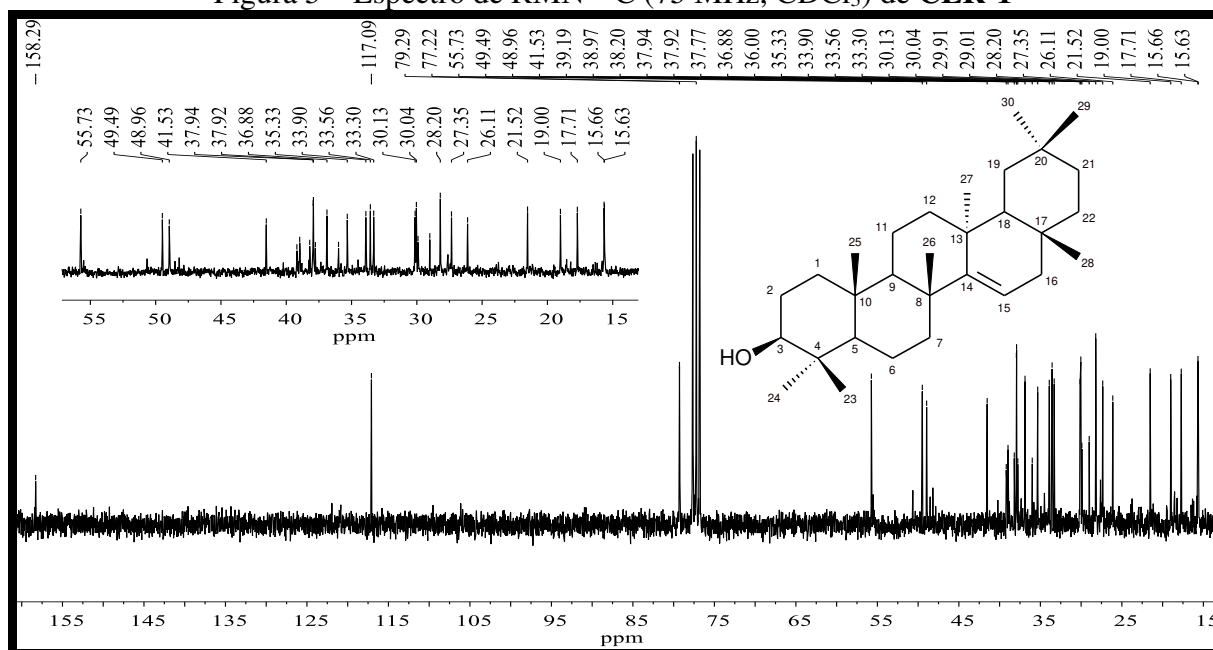


Figura 6 – Espectros de RMN ^{13}C -BB e RMN ^{13}C -DEPT 135° (75 MHz, CDCl_3) de **CER-1**

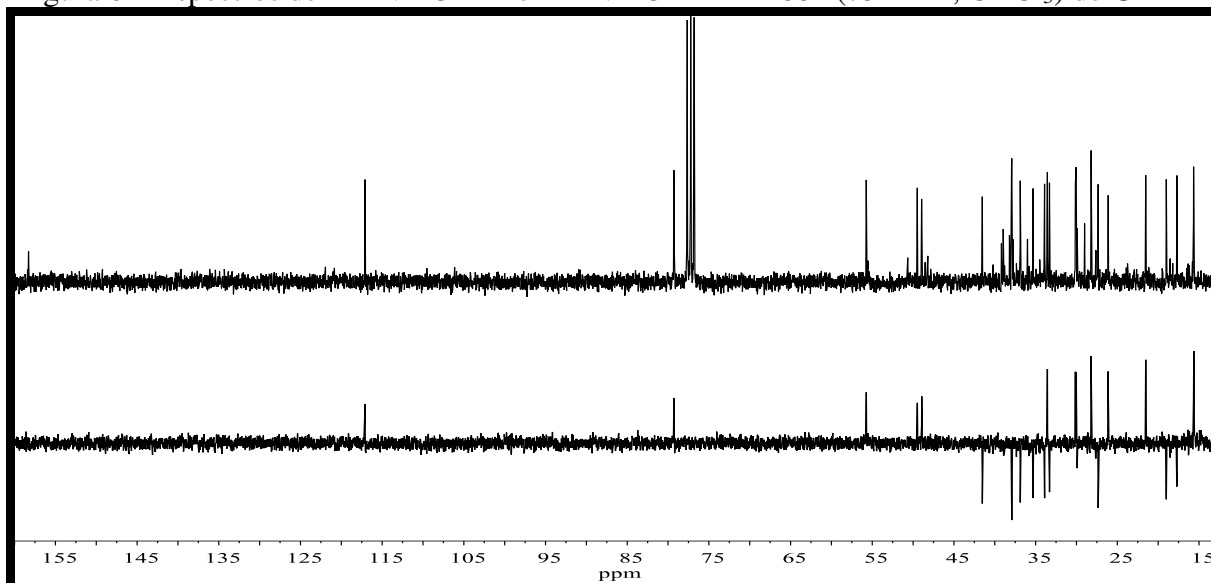


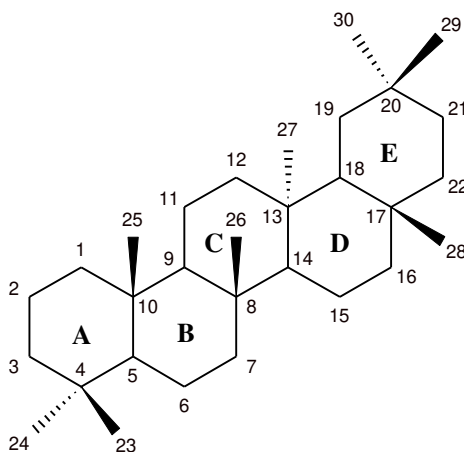
Tabela 3 – Dados de deslocamentos químicos (δ) de carbono-13 para **CER-1**, obtidos através da comparação entre os espectros de RMN ^{13}C -BB e RMN ^{13}C -DEPT 135°

C	CH	CH₂	CH₃
158,29	117,09	41,53	33,56
39,19	79,29	37,94	30,13
38,97	55,73	37,92	30,04
38,20	49,49	36,88	28,20
37,77	48,96	35,33	26,11
36,00	-	33,90	21,52
29,01	-	33,30	15,66
-	-	27,35	15,63
-	-	19,00	-
-	-	17,71	-
7 C	5 CH	10 CH ₂	8 CH ₃

Fórmula molecular estimada: C₃₀H₅₀O

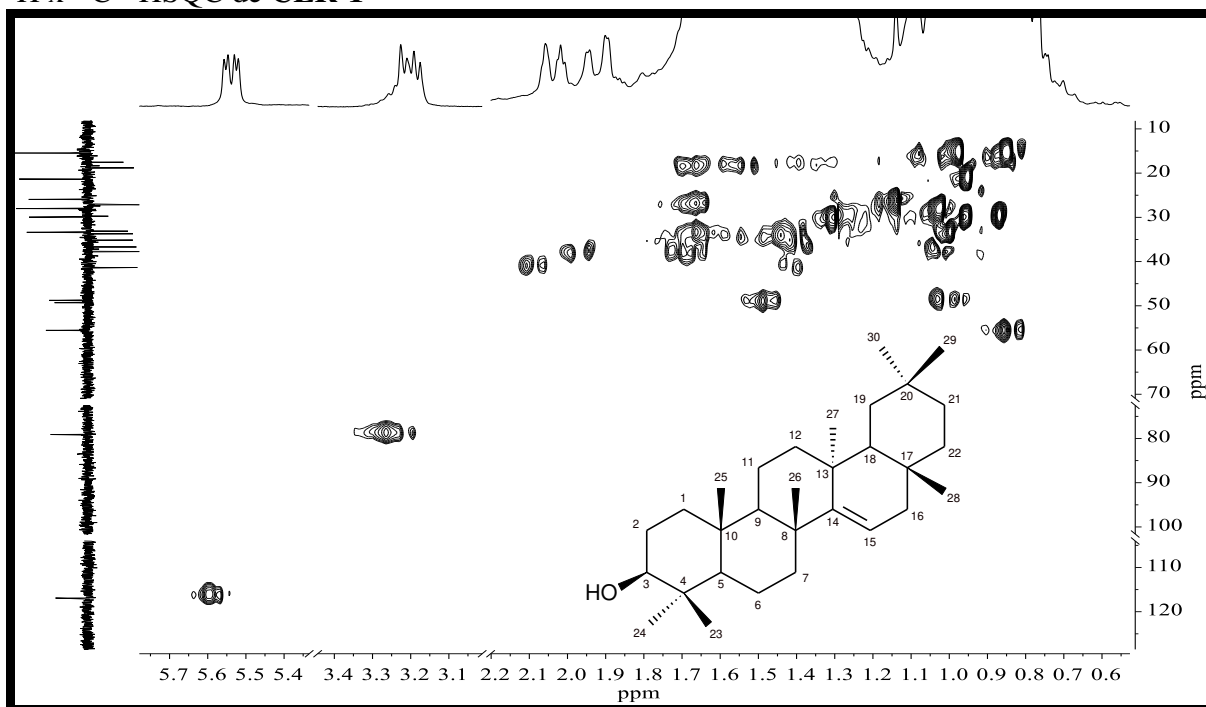
O IDH calculado a partir da fórmula molecular estimada corresponde a seis, equivalente ao de um esqueleto triterpênico pentacíclico com uma ligação dupla. As metilas nas posições 29 e 30 ambas ligadas ao átomo de carbono 20 confirmam a ocorrência de triterpeno pentacíclico da série taraxerano (MAHATO; KUNDU, 1994; LEMES; FERRI; LOPES, 2011) (FIGURA 7). Os indícios da presença de uma ligação dupla endocíclica são atribuídos aos deslocamentos em δ_{C} 117,09 (CH-15) e em δ_{C} 158,29 (C-14) característicos de carbonos de ligações olefínicas e pelos valores das constantes de acoplamento do sinal em δ_{H} 5,53 (H-15).

Figura 7 - Esqueleto triterpênico do tipo taraxerano

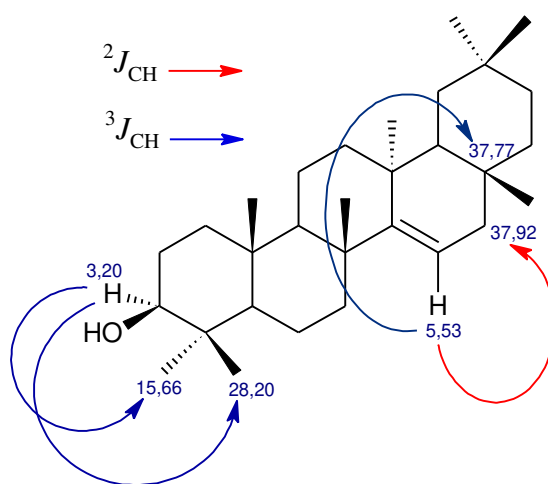


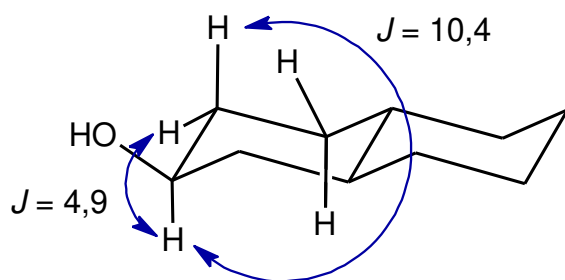
A correlação direta entre os hidrogênios e os respectivos carbonos de **CER-1** foi realizada através da análise do espectro bidimensional de correlação heteronuclear por coerência quântica simples $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HSQC (FIGURA 8). Estes dados estão ilustrados na Tabela 4 (p. 40).

Figura 8 - Espectro bidimensional de correlação heteronuclear por coerência quântica simples $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HSQC de **CER-1**



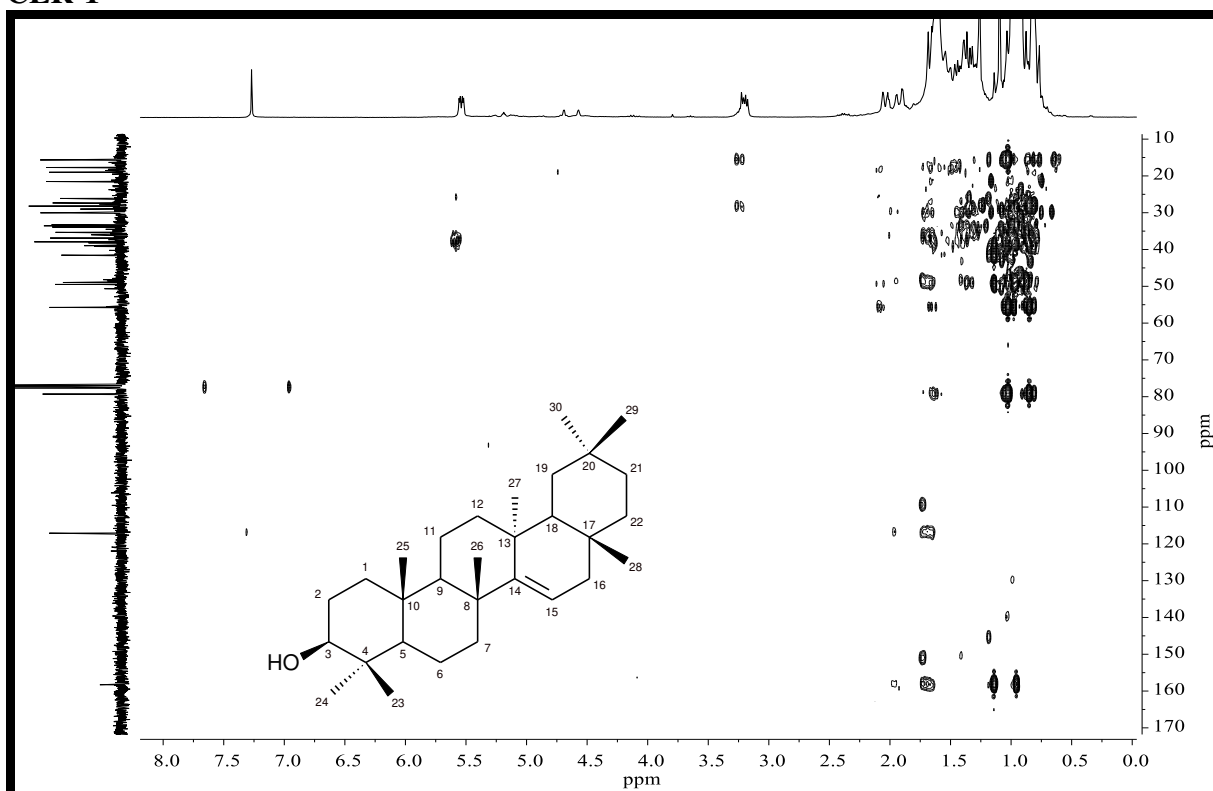
Analisando o espectro de correlação heteronuclear por ligações múltiplas $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC (Figura 9, p. 38) foi possível correlacionar os sinais de hidrogênios e carbonos a duas ($^2J_{\text{CH}}$) e a três ligações ($^3J_{\text{CH}}$), determinando assim, a estrutura final do triterpeno isolado. A estrutura do **CER-1** foi confirmada pelas correlações do tipo $^2J_{\text{CH}}$ e $^3J_{\text{CH}}$ do hidrogênio em δ_{H} 5,53 (H-15) com os carbonos em δ_{C} 37,92 (C-16) e δ_{C} 37,77 (C-17), respectivamente. Também se observou no anel A do esqueleto triterpênico duas correlações do tipo $^3J_{\text{CH}}$ atribuídas ao hidrogênio ligado ao carbono carbinólico em δ_{H} 3,20 (H-3) com os carbonos em δ_{C} 15,66 (C-24) e em δ_{C} 28,20 (C-23).





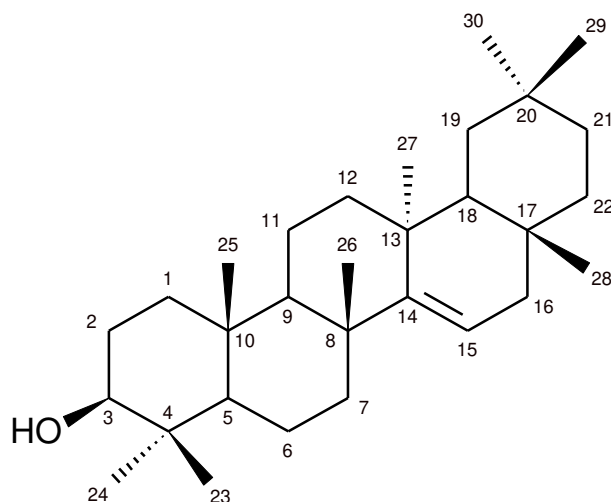
A configuração relativa da posição equatorial da hidroxila no carbono C-3 foi confirmada pelos valores de J do hidrogênio na posição 3 com os hidrogênios na posição 2. Tais acoplamentos são do tipo *axial-equatorial* ($J = 4,9$ Hz) e *axial-axial* ($J = 10,4$ Hz).

Figura 9 - Espectro de correlação heteronuclear por ligações múltiplas $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC de CER-1



A comparação entre os dados espectroscópicos obtidos com os dados descritos na literatura (BODEDE *et al.*, 2020) (TABELA 4, p. 40) permitiu identificar **CER-1** como o triterpeno 13 α -metil-27-norolean-14-en-3 β -ol, conhecido por taraxerol (FIGURA 10).

Figura 10 – Estrutura do taraxerol



Taraxerol apresenta diferentes atividades biológicas tais como indutora de apoptose (YAO *et al.*, 2017), inibidora da acetilcolinesterase (LEE *et al.*, 2004), anti-inflamatória (YAO *et al.*, 2013), gastroprotetora (MEYRE-SILVA *et al.*, 2009), antitumoral (SWAIN; ROUT; CHAND, 2012), antidiabética (KHANRA *et al.*, 2017) e antifúngica (MACHADO *et al.*, 2009). Além disso, apresenta atividade terapêutica no tratamento do Alzheimer (BERTÉ *et al.*, 2018). Esta substância está sendo relatada pela primeira vez no gênero *Chamaecrista*.

Tabela 4 - Deslocamentos químicos (δ) de RMN ^{13}C e ^1H de **CER-1** comparados com os dados descritos na literatura para 13 α -metil-27-norolean-14-en-3 β -ol (BODEDE *et al.*, 2020)

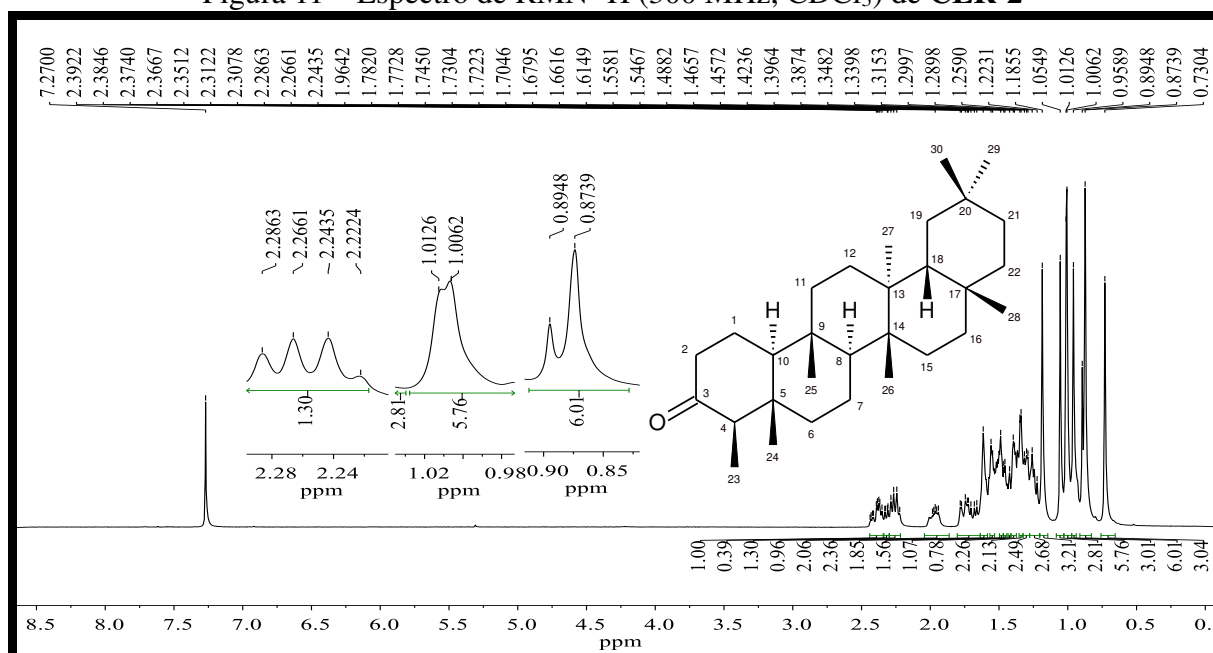
	CER-1 (CDCl₃) (75/300 MHz)		LITERATURA (CDCl₃) 100/400 MHz)	
	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm, multip., J Hz)	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm, multip., J Hz)
C				
4	39,19		38,9	
8	38,97		38,7	
10	36,00		35,7	
13	38,20		37,5	
14	158,29		158,0	
17	37,77		37,9	
20	29,01		28,8	
CH				
3	79,29	3,20 (<i>dd</i> , 10,4; 4,9)	79,0	3,18 (<i>dd</i> , 10,97; 4,52)
5	55,73		55,5	
9	48,96		48,7	
15	117,09	5,53 (<i>dd</i> , 8,1; 3,1)	116,8	5,51 (<i>dd</i> , 8,02; 3,06)
18	49,49		49,2	
CH₂				
1	37,94		37,7	
2	27,35		27,1	
6	19,00		18,7	
7	35,33		35,1	
11	17,71		17,5	
12	36,88		35,1	
16	37,92		36,6	
19	41,53		41,3	
21	33,90		33,6	
22	33,30		33,0	
CH₃				
23	28,20	0,98 (<i>s</i>)	27,9	0,95 (<i>s</i>)
24	15,66	0,80 (<i>s</i>)	15,4	0,78 (<i>s</i>)
25	15,63	0,93 (<i>s</i>)	15,4	0,90 (<i>s</i>)
26	30,13	0,83 (<i>s</i>)	29,8	0,80 (<i>s</i>)
27	26,11	1,09 (<i>s</i>)	25,9	1,06 (<i>s</i>)
28	30,04	0,91 (<i>s</i>)	29,9	0,88 (<i>s</i>)
29	33,56	0,95 (<i>s</i>)	33,3	0,92 (<i>s</i>)
30	21,52	0,91 (<i>s</i>)	21,3	0,88 (<i>s</i>)

4.1.2 Determinação estrutural de CER-2

O tratamento cromatográfico de **FAIRCE** descrito no item 5.4.1.4 (p. 66) resultou no isolamento de 8,7 mg de um sólido cristalino de cor branca, solúvel em diclorometano que recebeu a denominação de **CER-2**.

A análise do espectro de RMN ^1H [300 MHz, CDCl_3] de **CER-2** (FIGURA 11) permitiu identificar, dentre os vários sinais na região entre δ_{H} 0,73 e 1,80, sete simpletos (*s*) intensos em δ_{H} 1,19, δ_{H} 1,05, δ_{H} 1,01, δ_{H} 1,00, δ_{H} 0,96, δ_{H} 0,87 e δ_{H} 0,73, e um duplete (*d*) em δ_{H} 0,88 ($J = 6,3$ Hz) que se referem a hidrogênios de oito grupos metila. Vale salientar que o espectro de RMN ^1H apresenta duas sobreposições, a primeira envolvendo os dois simpletos em δ_{H} 1,01 e δ_{H} 1,00 e a segunda do duplete em δ_{H} 0,88 ($J = 6,3$ Hz) e do simpleto em δ_{H} 0,87, isso é confirmado através dos valores das respectivas integrações que fazem referência a seis átomos de hidrogênio, sendo atribuídos a hidrogênios de dois grupos metila para cada par de sinais sobrepostos.

Figura 11 – Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) de **CER-2**



O espectro de RMN ^{13}C -BB [75 MHz, CDCl_3] de **CER-2** (FIGURA 12, p. 42) exibiu 30 linhas espectrais, onde o sinal de maior deslocamento químico, em δ_{C} 213,44 (C-3), sugere a presença de um carbono carbonílico. Ao realizar uma análise comparativa entre o espectro de RMN ^{13}C -BB com o espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° [75 MHz, CDCl_3] (FIGURA 13, p. 42) identificou-se sete átomos de carbono não hidrogenados (C), quatro

carbonos metínicos (CH), onze carbonos metilênicos (CH₂) e oito carbonos metílicos (CH₃). Através destas informações estimou-se a fórmula molecular C₃₀H₅₀O e os dados obtidos foram agrupados na Tabela 5 (p. 43).

Figura 12 – Espectro de RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) de CER-2

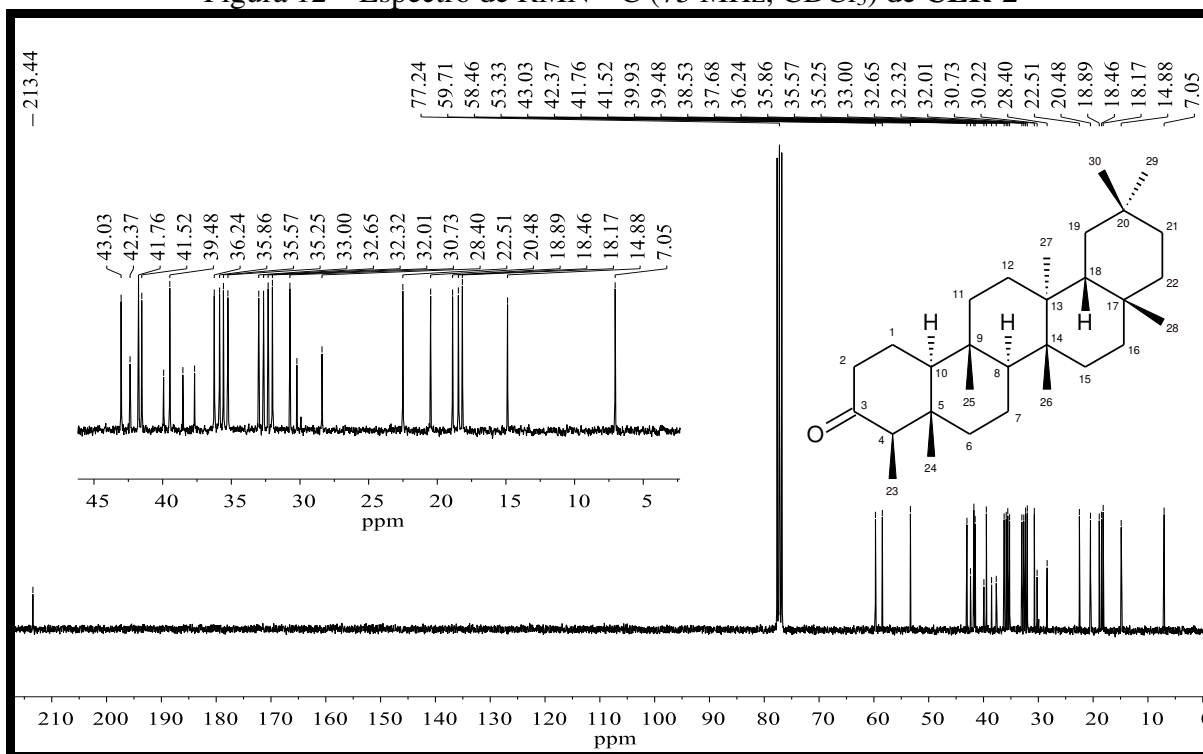


Figura 13 – Espectros de RMN ¹³C-DEPT 135° e RMN ¹³C-BB (75 MHz, CDCl₃) de CER-2

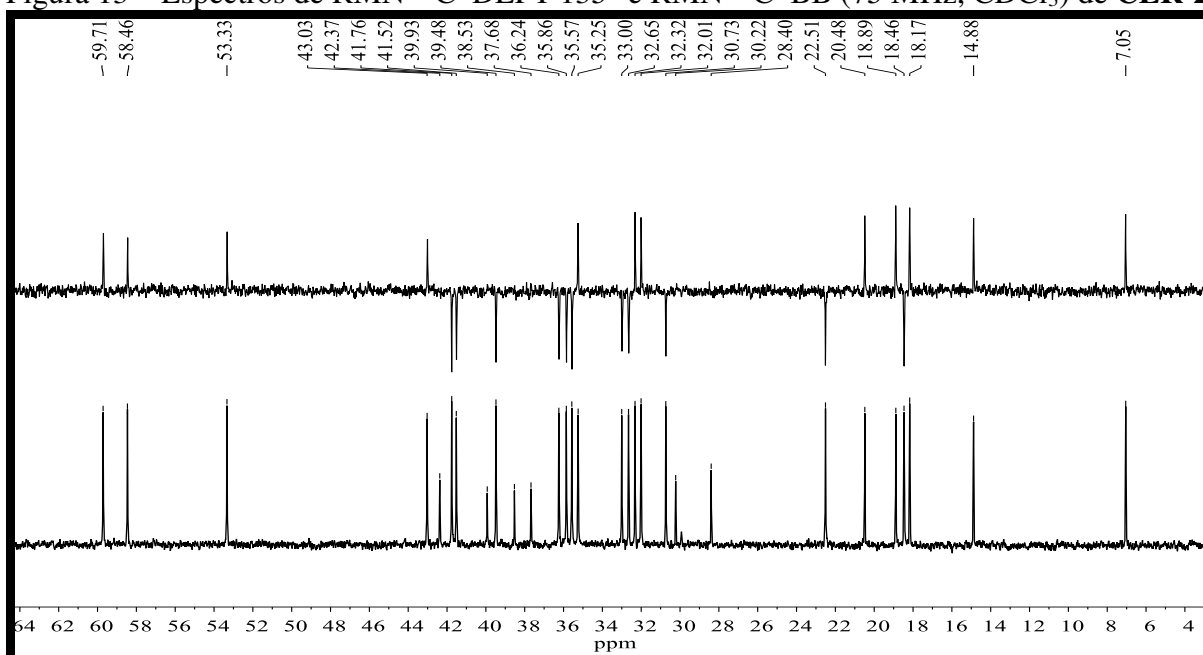


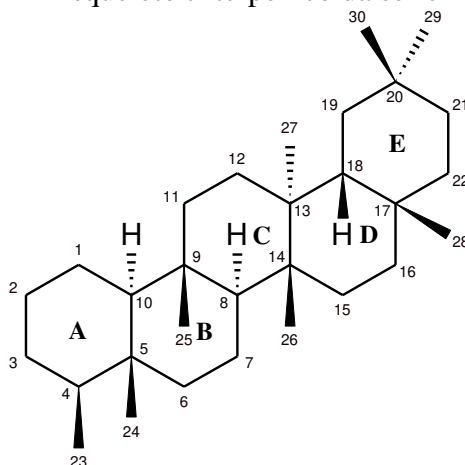
Tabela 5 – Dados de deslocamentos químicos (δ) de carbono-13 para **CER-2**, obtidos através da comparação entre os espectros de RMN ^{13}C -BB e RMN ^{13}C -DEPT 135°

C	CH	CH₂	CH₃
213,44 (C=O)	59,71	41,76	35,25
42,37	58,46	41,52	32,32
39,93	53,33	39,48	32,01
38,53	43,03	36,24	20,48
37,68	-	35,86	18,89
30,22	-	35,57	18,17
28,40	-	33,00	14,88
-	-	32,65	7,05
-	-	30,73	-
-	-	22,51	-
-	-	18,46	-
7 C	4 CH	11 CH ₂	8 CH ₃

Fórmula molecular estimada: C₃₀H₅₀O

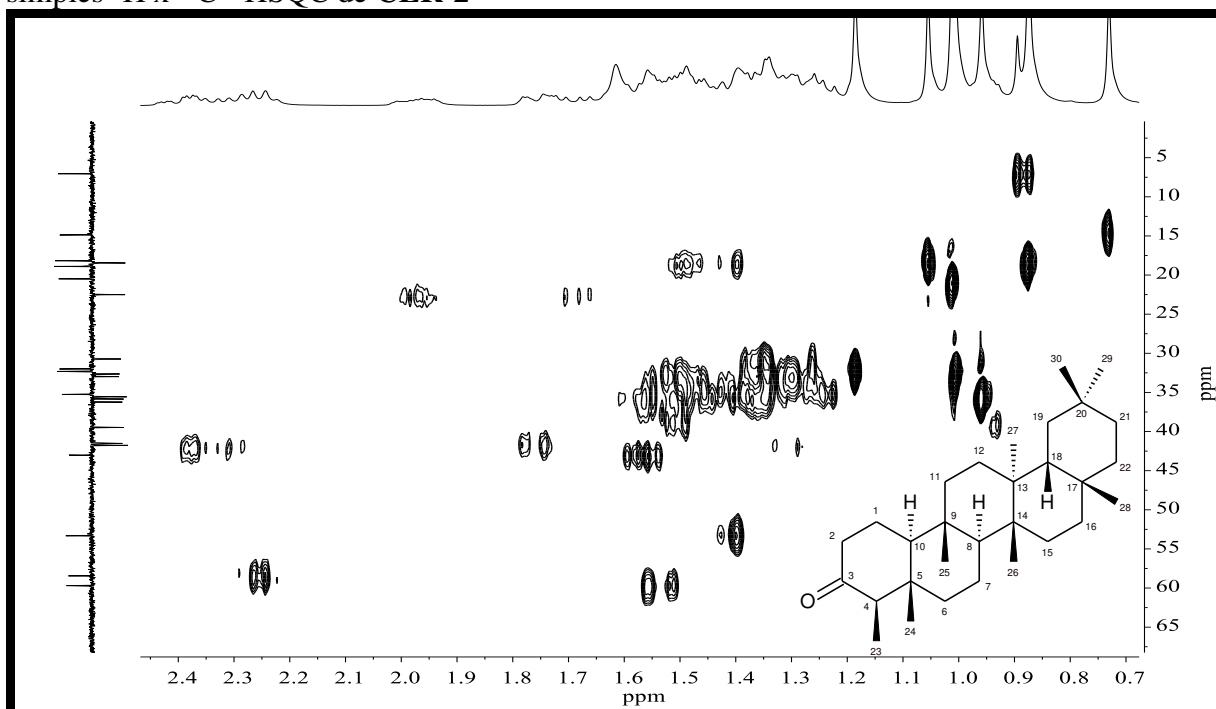
Através da fórmula molecular estimada, C₃₀H₅₀O, calculou-se o índice de deficiência de hidrogênio (IDH) para **CER-2**. O valor encontrado equivale a seis, sendo compatível com uma estrutura que contém um esqueleto triterpênico pentacíclico e uma carbonila. A presença dos sinais de carbono em δ_{C} 213,44 (C-3) e δ_{C} 7,05 (C-23), referentes ao carbono da carbonila e da metila ligada ao átomo de carbono 4, respectivamente, permitiram estabelecer que **CER-2** corresponde a uma substância com esqueleto triterpênico da série friedelano (AKIHISA *et al.* 1992; MAHATO; KUNDU, 1994; ABREU *et al.* 2013) (FIGURA 14).

Figura 14 - Esqueleto triterpênico da série friedelano



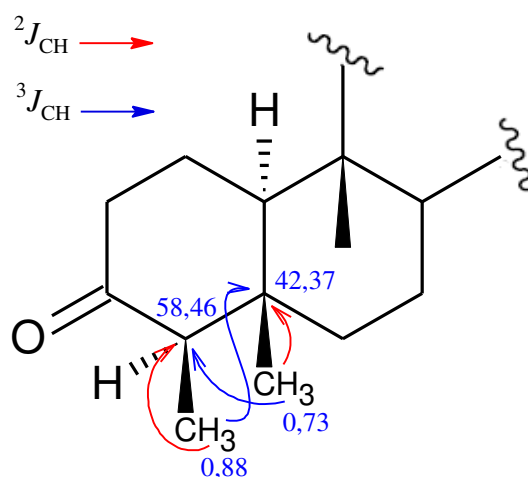
Empregando o espectro bidimensional de correlação heteronuclear por coerência quântica simples $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HSQC de **CER-2** (FIGURA 15) foi possível realizar a correlação direta entre os hidrogênios e os seus respectivos átomos de carbono. Os dados dessa correlação estão agrupados na Tabela 6 (p. 47).

Figura 15 - Espectro bidimensional de correlação heteronuclear por coerência quântica simples $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HSQC de **CER-2**



A partir da análise do espectro de correlação heteronuclear por ligações múltiplas $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC de **CER-2** (FIGURA 16, p. 45) e de sua expansão (FIGURA 17, p. 46), foi possível observar algumas correlações que comprovam a existência do esqueleto triterpênico da série friedelano.

Dentre elas, têm-se as correlações heteronucleares observadas no anel A, entre os sinais dos hidrogênios em δ_{H} 0,88 (H-23) com os carbonos em δ_{C} 58,46 (C-4) e em δ_{C} 42,37 (C-5) a duas e três ligações de distância, respectivamente. As correlações envolvendo os hidrogênios em δ_{H} 0,73 (H-24) com os carbonos em δ_{C} 58,46 (C-4) a três ligações de distância e em δ_{C} 42,37 (C-5) a duas ligações de distância.



Também foi observado um *crosspeak* envolvendo o hidrogênio em δ_H 2,26 (H-4) que realiza acoplamentos do tipo $^3J_{CH}$ com o carbono em δ_C 14,88 (C-24) e $^2J_{CH}$ com os carbonos em δ_C 7,05 (C-23) e em δ_C 42,37 (C-5).

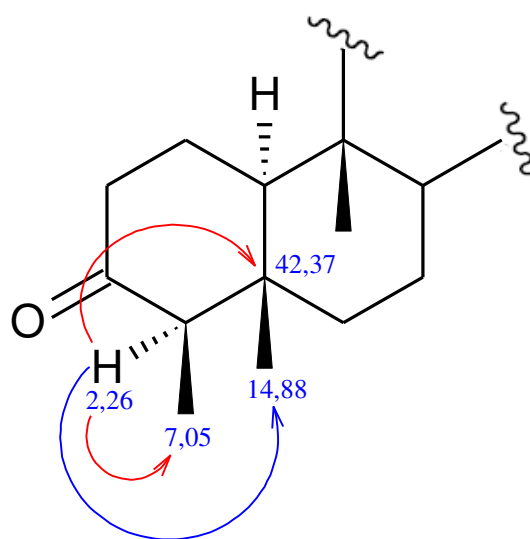


Figura 16 - Espectro de correlação heteronuclear por ligações múltiplas $^1H \times ^{13}C$ – HMBC de CER-2

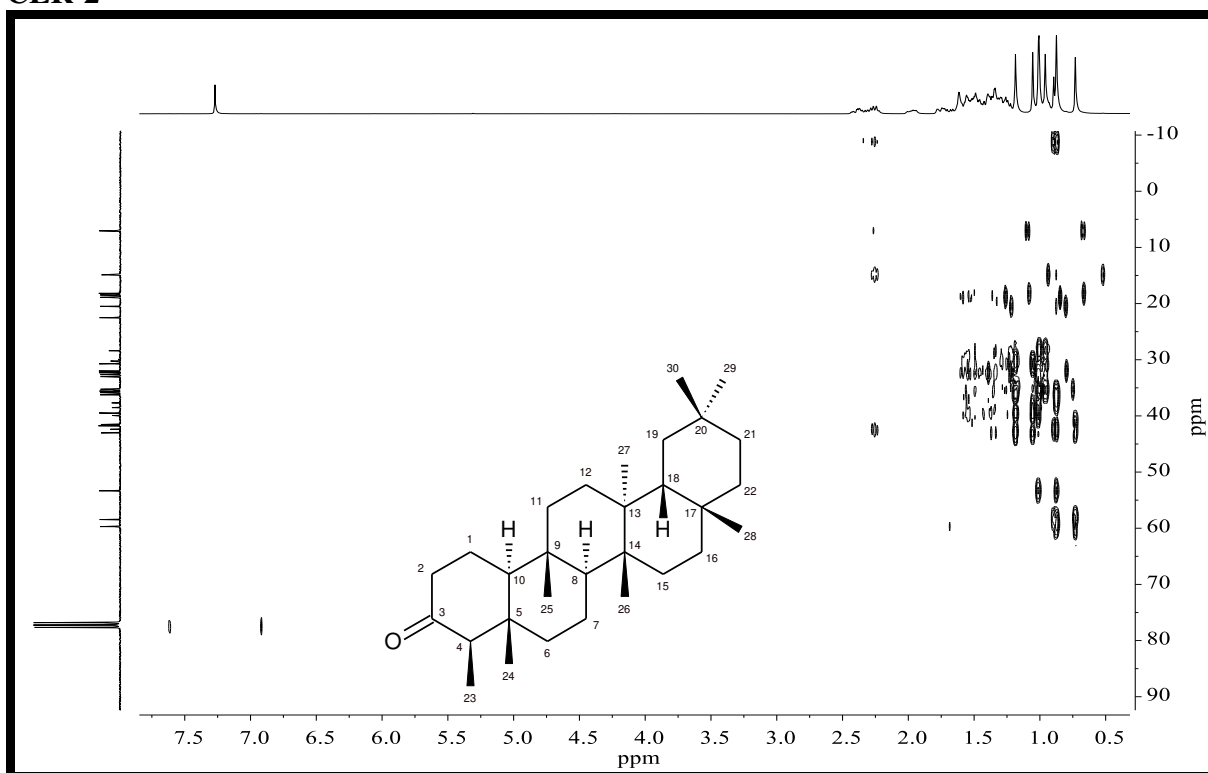
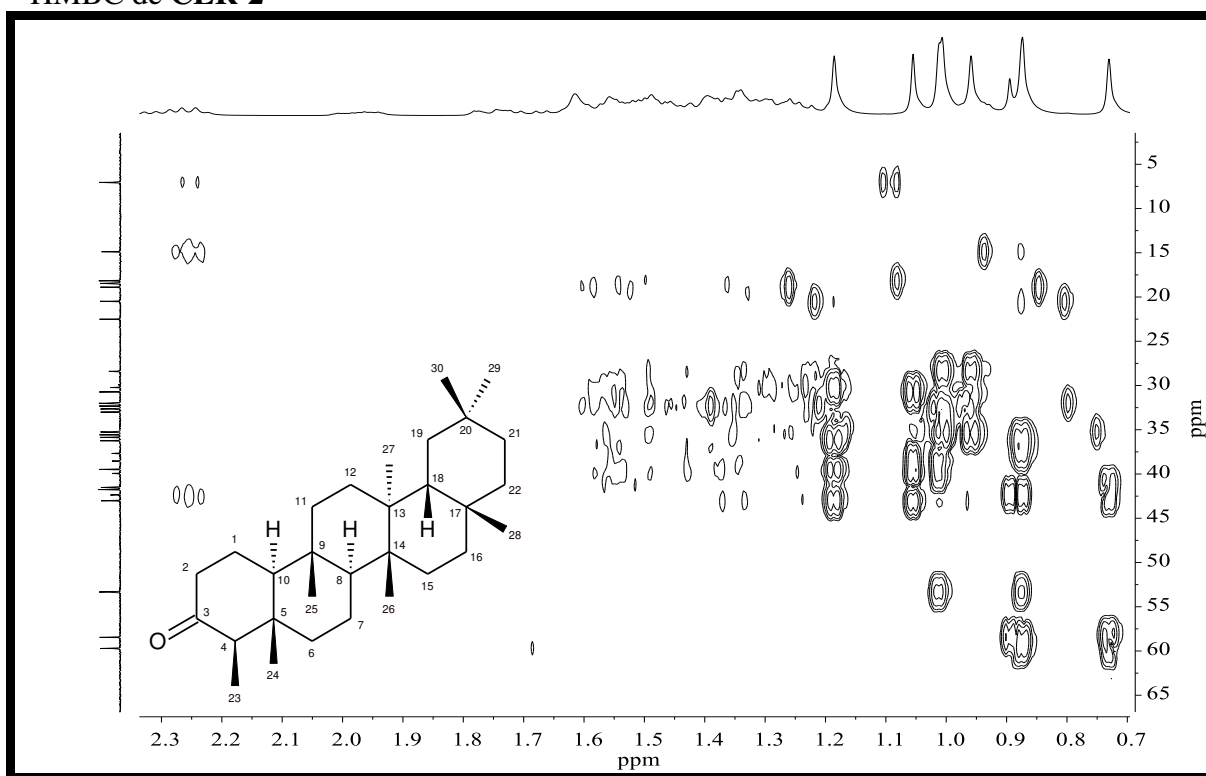
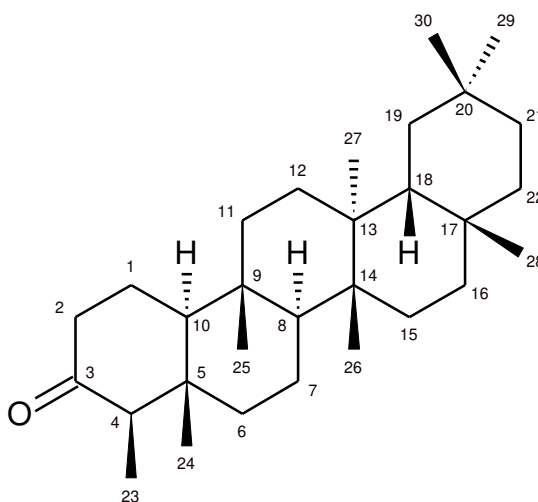


Figura 17 – Expansão do espectro de correlação heteronuclear por ligações múltiplas $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC de **CER-2**



Através da interpretação dos dados espectroscópicos obtidos, seguido de sua comparação com os dados descritos na literatura (MUNIZ *et al.*, 2020) (Tabela 6, p. 47), identificou-se **CER-2** como a substância denominada (4 β , 5 β , 8 α , 9 β , 10 α , 13 α , 14 β)-5,9,13-trimetil-24,25,26-trinoroleanan-3-ona, também conhecida por friedelina, cuja estrutura está ilustrada na Figura 18.

Figura 18 – Estrutura da friedelina



Friedelina está sendo descrita pela primeira vez no gênero *Chamaecrista* e há relatos na literatura sobre suas atividades anti-inflamatória, antipirética, analgésica (ANTONISAMY; DURAIPANDIYAN; IGNACIMUTHU, 2011), antimicobacteriana (MANN *et al.*, 2012), antitumoral (LU *et al.*, 2010) e antidiabética (SUSANTI *et al.*, 2013).

Tabela 6 - Deslocamentos químicos (δ) de RMN ^{13}C e ^1H de **CER-2** comparados com os dados descritos na literatura para (4 β , 5 β , 8 α , 9 β , 10 α , 13 α , 14 β)-5,9,13-trimetil-24,25,26-trinoroleanan-3-ona (MUNIZ *et al.*, 2020)

	CER-2 (CDCl ₃) (75/300 MHz)		LITERATURA (CDCl ₃) (125/500 MHz)	
	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm, multip., J Hz)	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm, multip., J Hz)
C				
3	213,44		213,5	
5	42,37		42,4	
9	37,68		37,8	
13	39,93		40,0	
14	38,53		38,6	
17	30,22		30,3	
20	28,40		28,5	
CH				
4	58,46	2,26 (q, 6,2)	58,5	2,25 (q, 6,5)
8	53,33		53,6	
10	59,71		59,8	
18	43,03		43,1	
CH₂				
1	22,51		22,6	
2	41,76		41,8	
6	41,52		41,6	
7	18,46		18,5	
11	35,86		35,9	
12	30,73		30,8	
15	32,65		33,1	
16	36,24		36,3	
19	35,57		35,7	
21	33,00		32,7	
22	39,48		39,6	
CH₃				
23	7,05	0,88 (d, 6,3)	7,1	0,88 (d, 6,5)
24	14,88	0,73 (s)	15,0	0,73 (s)
25	18,17	0,87 (s)	18,2	0,89 (s)
26	20,48	1,01 (s)	20,6	1,01 (s)
27	18,89	1,05 (s)	19,0	1,05 (s)
28	32,32	1,19 (s)	32,4	1,18 (s)
29	32,01	1,00 (s)	32,1	1,00 (s)
30	35,25	0,96 (s)	35,3	0,96 (s)

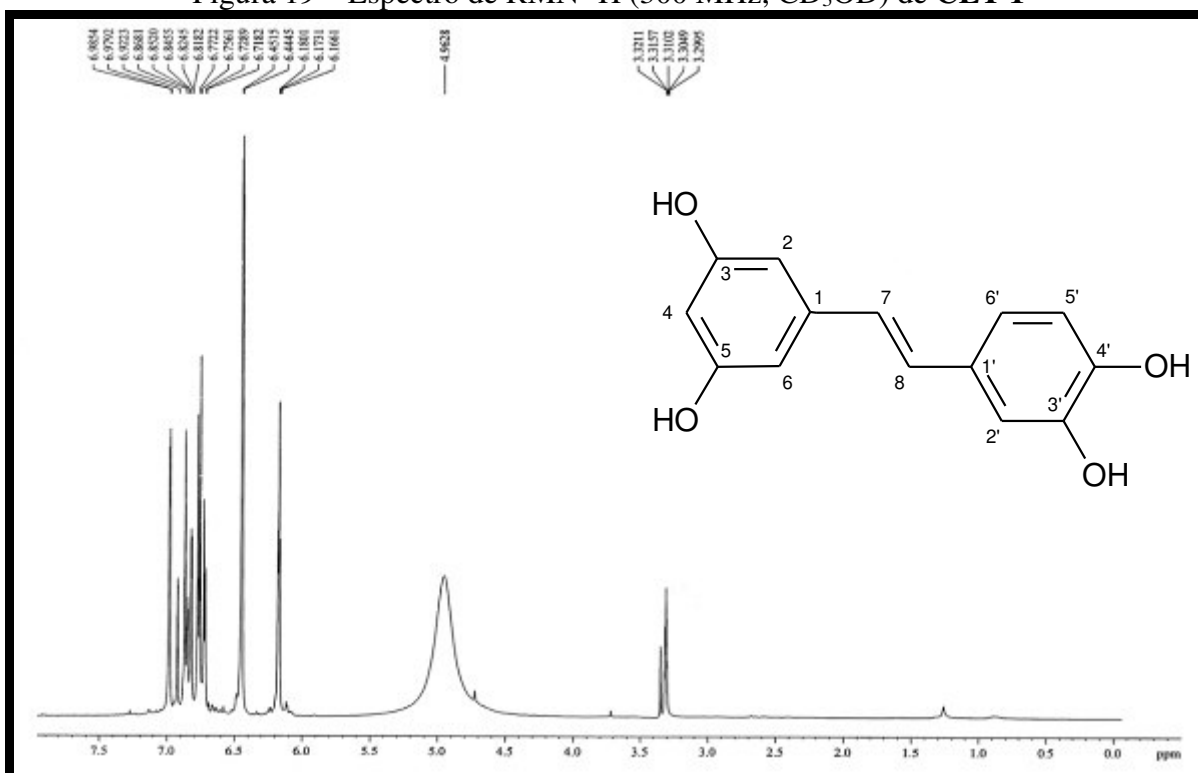
4.2 Determinação estrutural dos constituintes químicos isolados do extrato etanólico dos talos de *Chamaecrista ensiformis*

4.2.1 Determinação estrutural de CET-1

O procedimento do tratamento cromatográfico da **FA4TCE** descrito no item 5.4.1.7 (p. 69), resultou no isolamento de 30,2 mg de um sólido laranja solúvel em metanol, que recebeu a denominação de **CET-1**.

O espectro de RMN ^1H (300 MHz, CD_3OD) de **CET-1** (FIGURA 19) apresentou sinais na região entre δ_{H} 6,17 e 6,98, característicos de hidrogênios ligados a carbonos de anéis aromáticos. O tripleto (*t*) em δ_{H} 6,17 (1H; $J = 2,1$ Hz; H-4) e o duplete (*d*) em δ_{H} 6,45 (2H; $J = 2,1$ Hz; H-2 e H-6) foram atribuídos a hidrogênios em posição *meta*, indicando a presença de um anel aromático 1,3,5-trissubstituído. Enquanto os dois dupletos (*d*) em δ_{H} 6,74 (1H; $J = 8,1$ Hz; H-5') e em δ_{H} 6,98 (1H; $J = 1,9$ Hz; H-2'), e do duplo duplete (*dd*) em δ_{H} 6,84 (1H; $J = 8,2$ e $2,0$ Hz; H-6') sugerem a presença de outro anel aromático 1,3,4-trissubstituído. Os dupletos (*d*) em δ_{H} 6,75 (1H; $J = 16,2$ Hz; H-7) e em δ_{H} 6,90 (1H; $J = 16,2$ Hz; H-8) referem-se a hidrogênios ligados a carbonos de ligação dupla 1,2-dissubstituída de configuração *E*.

Figura 19 – Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CD_3OD) de **CET-1**



O espectro de RMN ^{13}C -BB [75 MHz, CD_3OD] de **CET-1** (FIGURA 20) revelou 12 linhas espectrais e através da comparação deste com o espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° [75 MHz, CD_3OD] (FIGURA 21) foi possível identificar seis átomos de carbono não hidrogenados (C) e oito átomos de carbonos metínicos (CH). Vale salientar que tanto o sinal em δ_{C} 105,89 (C-2 e C-6) quanto o sinal em δ_{C} 159,70 (C-3 e C-5) foram atribuídos, cada um deles, a dois átomos de carbono, pois apresentam-se mais intensos em comparação aos demais sinais com o mesmo padrão de hidrogenação. Além disso, os sinais de maiores deslocamentos químicos, δ_{C} 159,70 (C-3 e C-5), δ_{C} 146,59 (C-3') e δ_{C} 146,56 (C-4'), sugerem a presença de quatro átomos de carbono oxigenados. Agrupando tais informações pode-se estimar a fórmula molecular $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{O}_4$, cujos dados foram reunidos na Tabela 7 (p. 50).

Figura 20 – Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CD_3OD) de **CET-1**

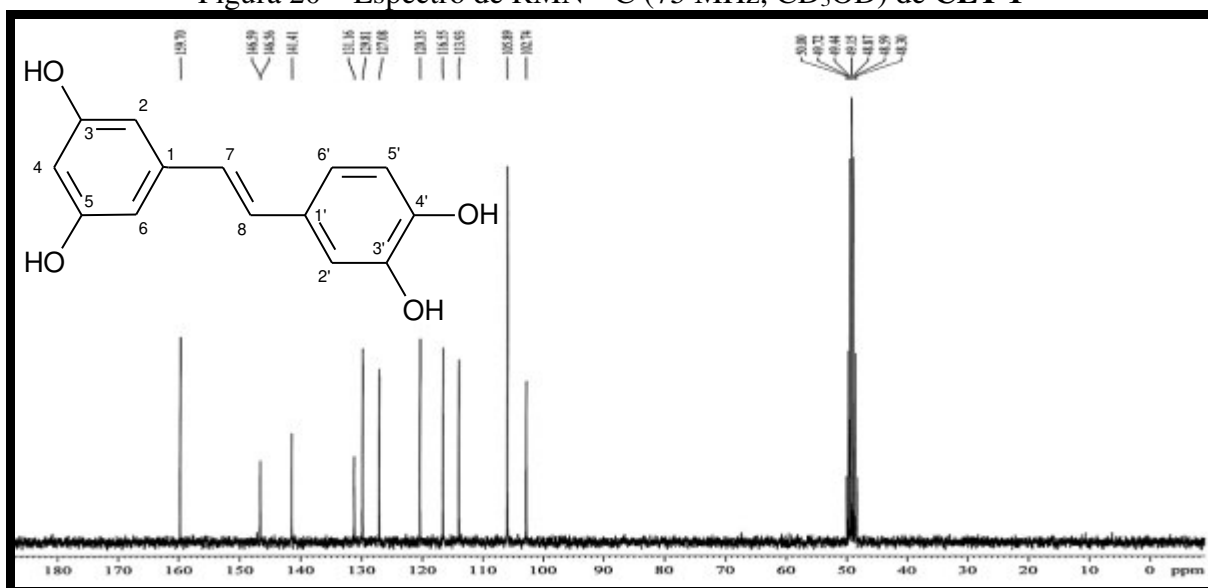


Figura 21 – Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° de **CET-1**

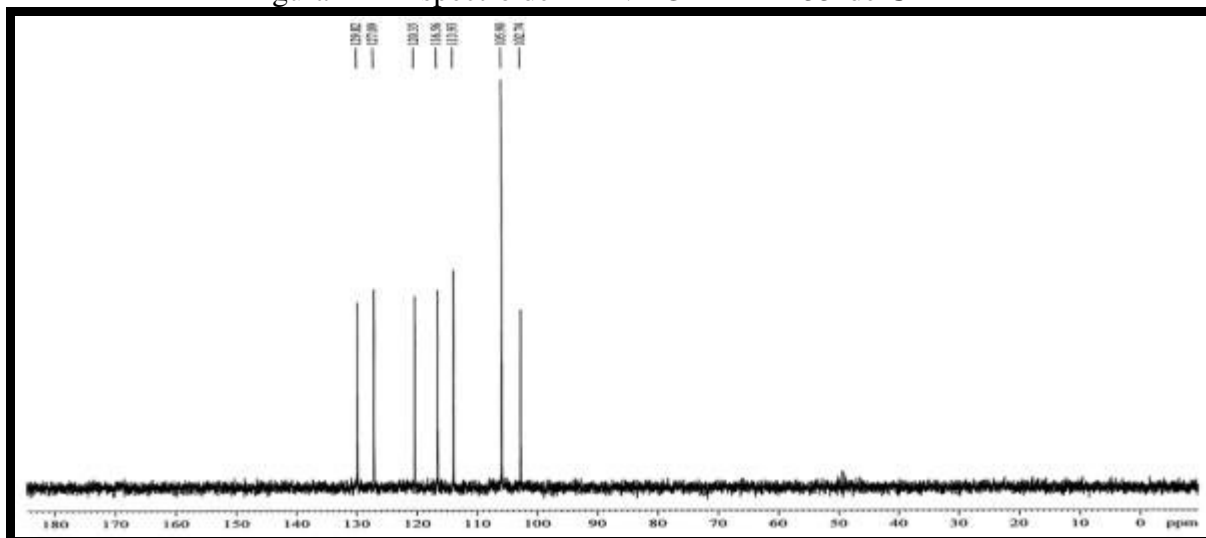


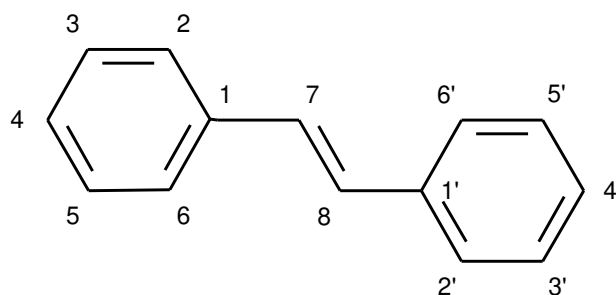
Tabela 7 – Dados de deslocamentos químicos (δ) de carbono-13 para **CET-1**, obtidos através da comparação entre os espectros de RMN ^{13}C -BB e RMN ^{13}C -DEPT 135°

C	CH
159,70 (C – OH)	129,81
159,70 (C – OH)	127,08
146,59 (C – OH)	120,35
146,56 (C – OH)	116,55
141,41	113,93
131,16	105,89
-	105,89
-	102,74
6 C	8 CH

Fórmula molecular estimada: C₁₄H₁₂O₄

A fórmula molecular estimada de **CET-1** apresenta IDH igual a nove. Este valor, aliado com a presença dos sinais em δ_{C} 127,08 (C-7) e δ_{C} 129,81 (C-8), que correspondem aos dois carbonos metínicos (CH) da ligação dupla 1,2-dissubstituída de configuração *E*, juntamente com os sinais dos doze átomos de carbono, com deslocamentos químicos na região entre δ_{C} 102,74 - 159,70 validam a identificação de **CET-1** como um composto pertencente à classe dos estilbenos. A estrutura básica dos estilbenos deriva do bloco de construção comum do esqueleto fenilpropeno e está ilustrada na Figura 22 (MATHI *et al.*, 2015; CAI *et al.*, 2006).

Figura 22 - Esqueleto do *trans*-estilbeno



O espectro bidimensional de correlação heteronuclear por coerência quântica simples $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HSQC de **CET-1** (FIGURA 23, p. 51) e sua expansão (FIGURA 24, p. 51) permitiram realizar a associação direta entre os hidrogênios e os seus respectivos carbonos. Estas informações estão mostradas na Tabela 8 (p. 56).

Figura 23 - Espectro bidimensional de correlação heteronuclear por coerência quântica simples $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HSQC de **CET-1**

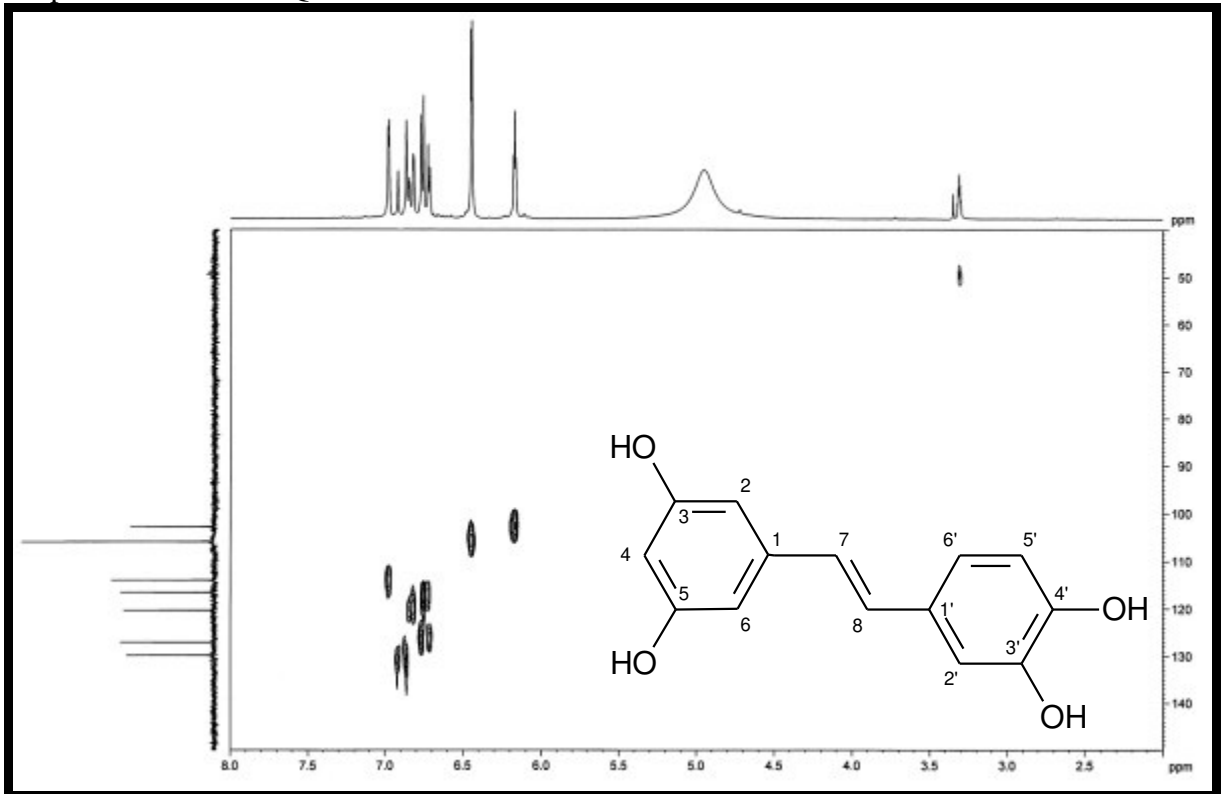
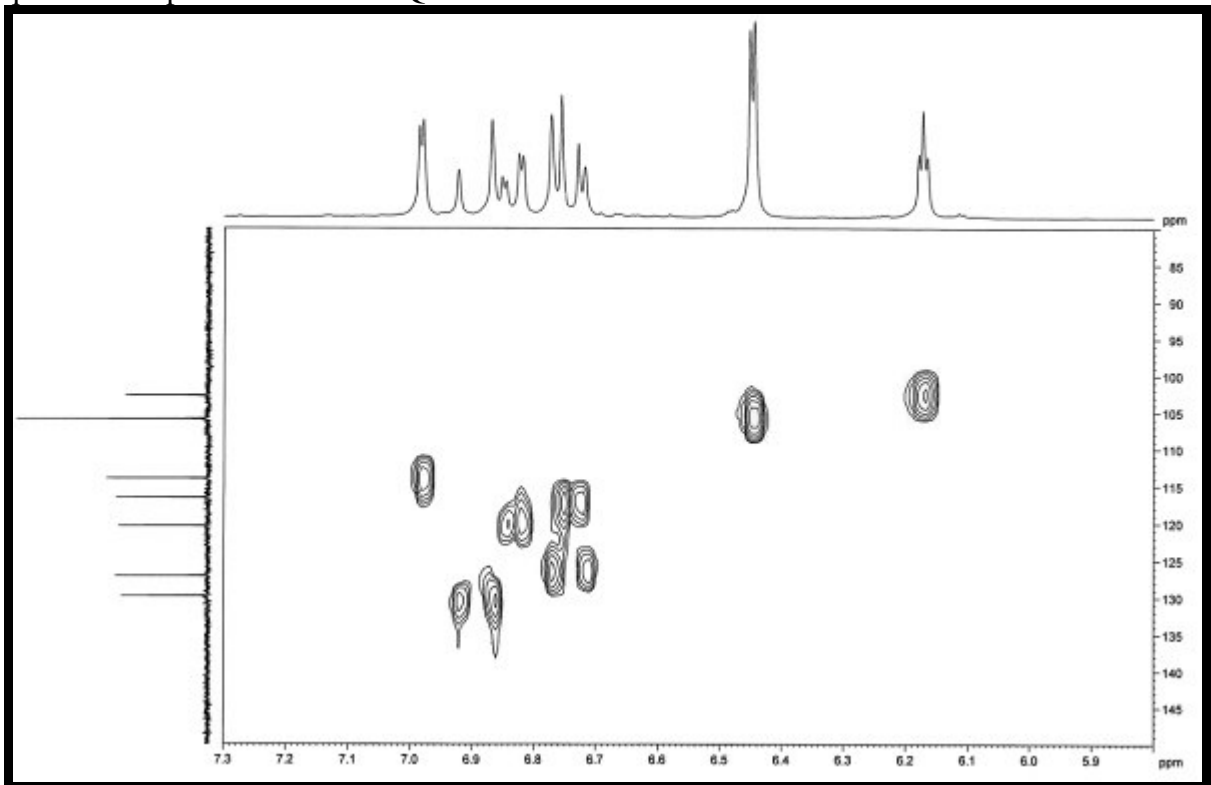
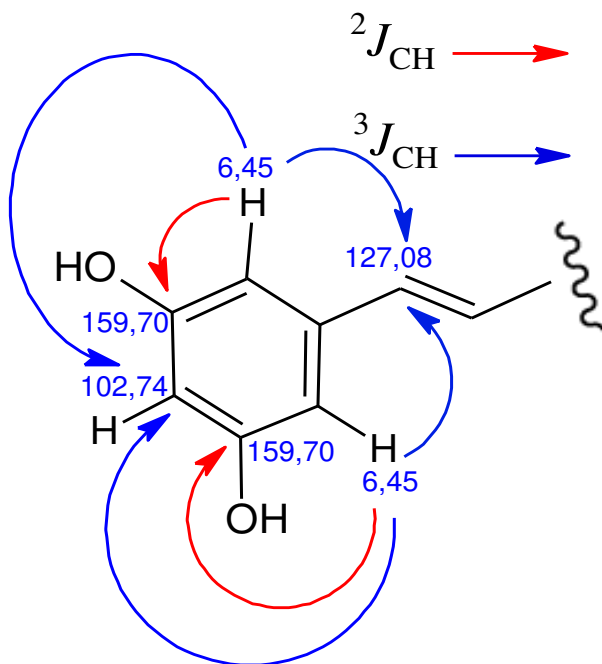
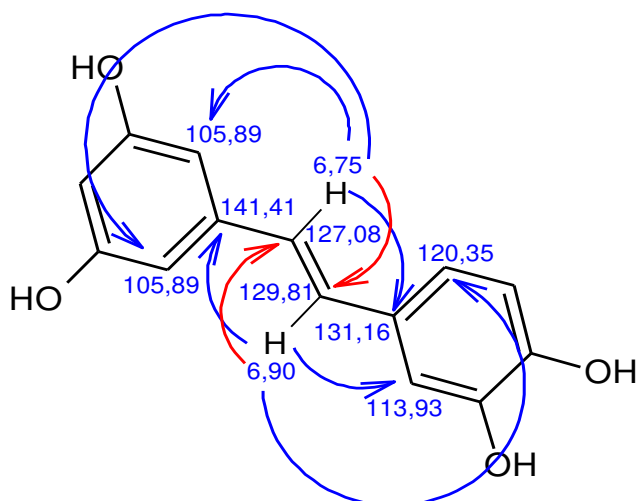
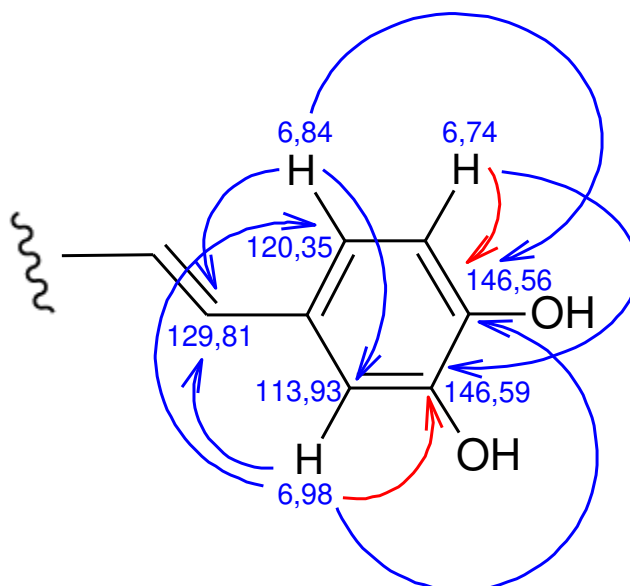


Figura 24 – Expansão do espectro bidimensional de correlação heteronuclear por coerência quântica simples $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HSQC de **CET-1**





No outro anel benzênico são observadas correlações entre o hidrogênio em δ_H 6,98 (H-2') e os carbonos em δ_C 129,81 (C-8), em δ_C 120,35 (C-6') e em δ_C 146,56 (C-4') a três ligações de distância e o carbono em δ_C 146,59 (C-3') a duas ligações de distância. O hidrogênio na posição 6' (δ_H 6,84) está correlacionando a três ligações de distância com os carbonos em δ_C 129,81 (C-8), em δ_C 113,93 (C-2') e em δ_C 146,56 (C-4'), enquanto o hidrogênio em δ_H 6,74 (H-5') realiza acoplamento do tipo ${}^2J_{CH}$ com o carbono em δ_C 146,56 (C-4') e do tipo ${}^3J_{CH}$ com o carbono em δ_C 146,59 (C-3'). Estas correlações comprovam as posições das hidroxilas nos carbonos C-3' e C-4' nesta estrutura.



A análise do espectro bidimensional de correlação heteronuclear por ligações múltiplas ${}^1H \times {}^{13}C$ – HMBC de CET-1 (FIGURA 25, p. 53) e de sua expansão (FIGURA 26, p. 53) permitiu observar as associações entre os hidrogênios em δ_H 6,45 (H-2 e H-6) e os carbonos em δ_C 159,70 (C-3 e C-5) a duas ligações de distância, confirmando a posição das hidroxilas, e a três ligações de distância com os carbonos em δ_C 102,74 (C-4) e em δ_C 127,08 (C-7).

Na porção central do esqueleto *trans*-estilbeno são observadas correlações do tipo ${}^3J_{CH}$ envolvendo o hidrogênio na posição 7 (δ_H 6,75), que realiza

acoplamento com os carbonos em δ_C 105,89 (C-2 e C-6) e em δ_C 131,16 (C-1'), e o hidrogênio na posição 8 (δ_H 6,90) que se correlaciona com os carbonos em δ_C 113,93 (C-2'), em δ_C 120,35 (C-6') e em δ_C 141,41 (C-1). Correlações do tipo $^2J_{CH}$ são observadas através de *crosspeaks* isolados envolvendo esses mesmos hidrogênios e os carbonos em δ_C 127,08 (C-7) e em δ_C 129,81 (C-8).

Figura 25 - Espectro de correlação heteronuclear por ligações múltiplas $^1H \times ^{13}C$ – HMBC de CET-1

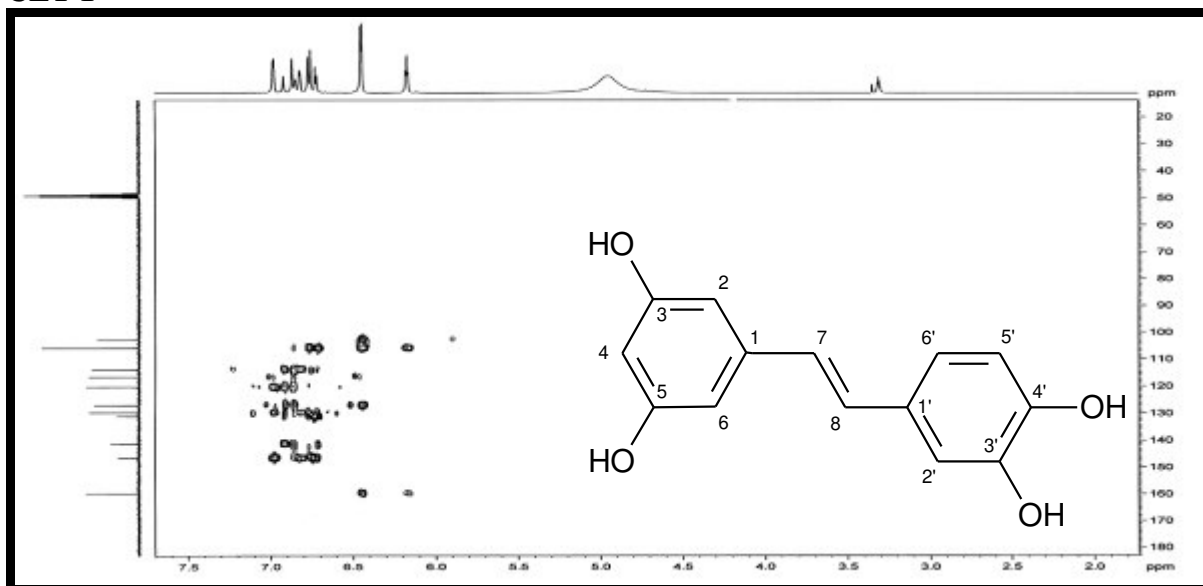
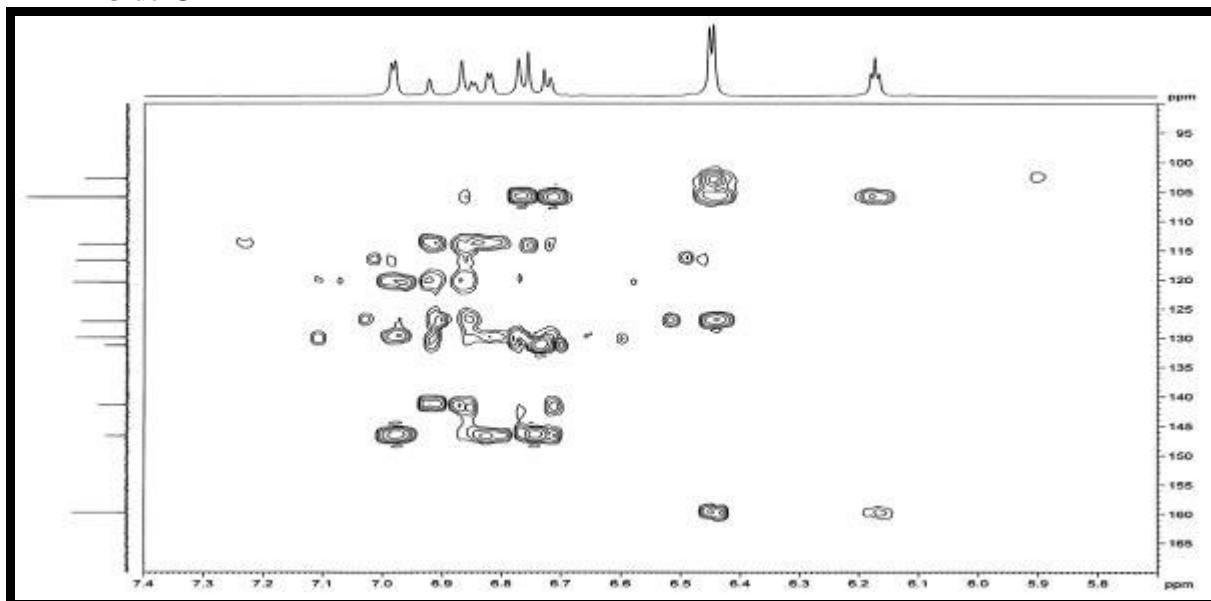


Figura 26 – Expansão do espectro de correlação heteronuclear por ligações múltiplas $^1H \times ^{13}C$ – HMBC de CET-1



A análise do espectro bidimensional de correlação homonuclear $^1H \times ^1H$ – COSY de CET-1 (FIGURA 27, p. 54) e de sua expansão (FIGURA 28, p. 54) mostrou *crosspeaks*

relacionados aos hidrogênios ligados aos carbonos aromáticos em δ_H 6,45 (H-2 e H-6) e em δ_H 6,17 (H-4) correlacionados em posicionamento *meta*. Também permitiu verificar as correlações envolvendo os hidrogênios em δ_H 6,75 (H-7) e em δ_H 6,90 (H-8) e entre o hidrogênio em δ_H 6,84 (H-6') com os hidrogênios em δ_H 6,74 (H-5') e em δ_H 6,98 (H-2').

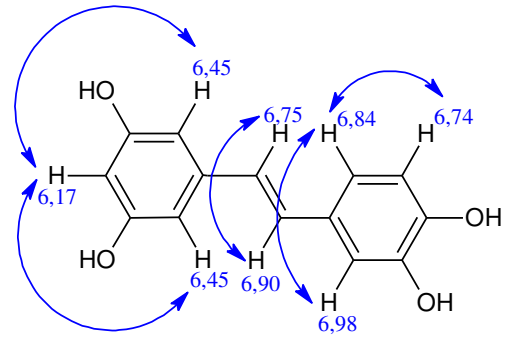


Figura 27 - Espectro bidimensional de correlação homonuclear $^1H \times ^1H$ – COSY de CET-1

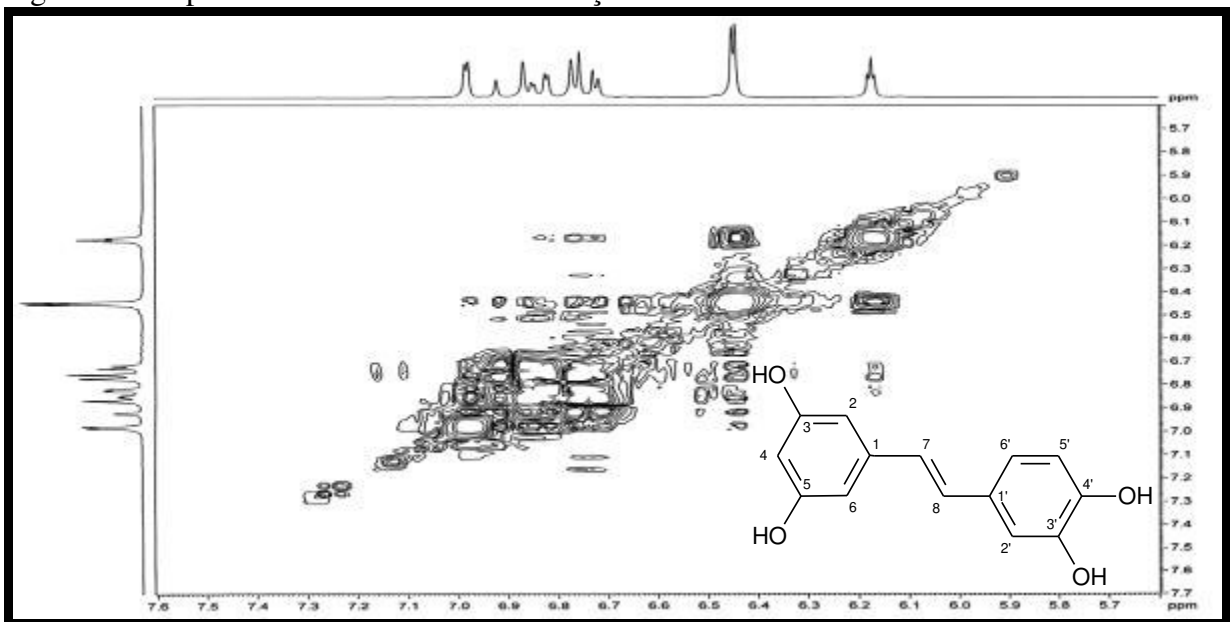
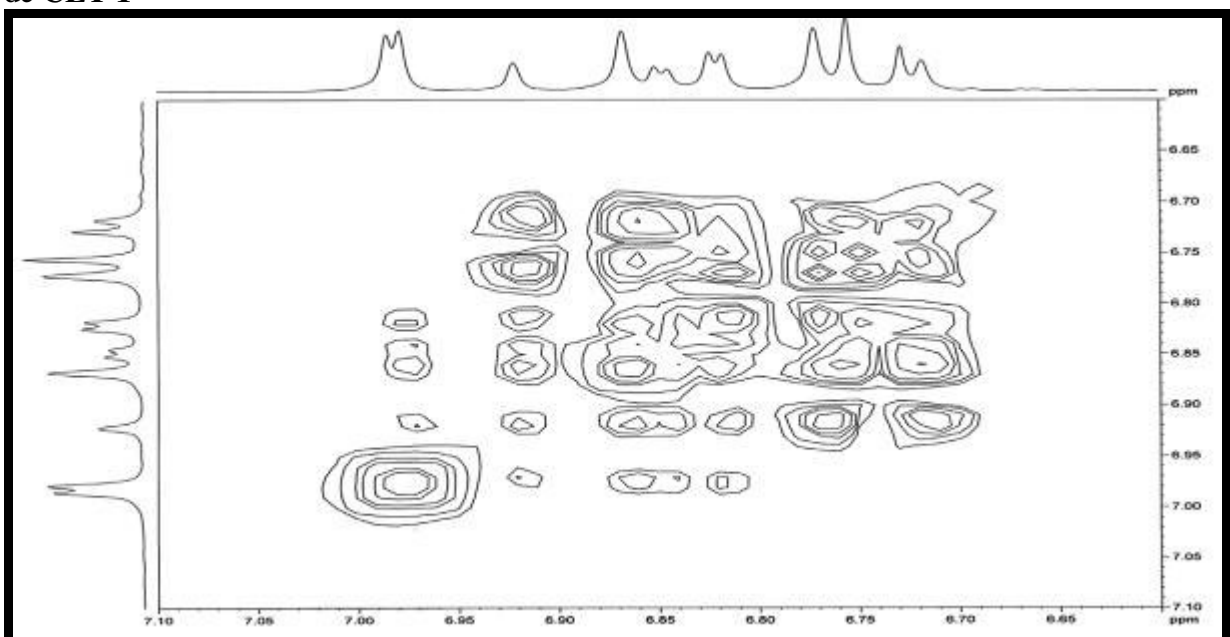
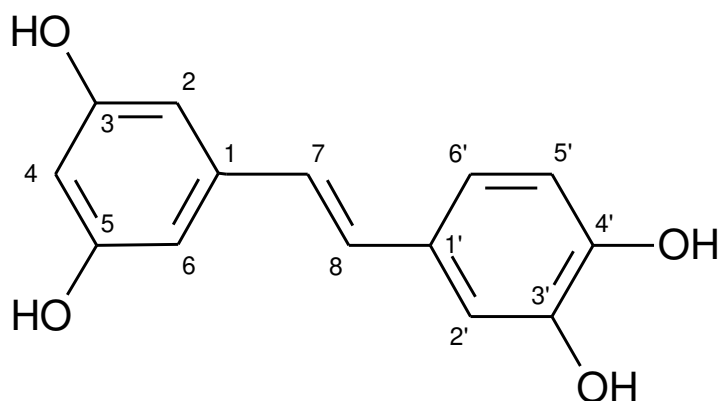


Figura 28 – Expansão do espectro bidimensional de correlação homonuclear $^1H \times ^1H$ – COSY de CET-1



A partir da análise e da comparação entre os dados espectroscópicos (KUSUMANINGTYAS; SYAH; JULIAWATY, 2020) (TABELA 8, p. 56) foi possível identificar o **CET-1** como a substância denominada 3,3',4',5-tetrahidroxi-*trans*-estilbeno ou piceatannol, cuja estrutura está esboçada na Figura 29.

Figura 29 – Estrutura do piceatannol



Há relatos na literatura de que o piceatannol é um potencial agente anticâncer e quimiopreventivo (BANIK *et al.*, 2020), apresenta atividades anticárie, antioxidante e citotóxica muito fortes (OSAMUDIAMEN *et al.*, 2020), e atua na obesidade regulando o acúmulo de lipídeos e aliviando a inflamação causada pela obesidade (CHOU; HO; PAN, 2018). Essa substância já foi isolada anteriormente de *Chamaecrista flexuosa* (BARBA *et al.*, 1992) e de *Chamaecrista greggii* (BARBA; DÍAZ; HERZ, 1994) e está sendo relatada pela primeira vez em *Chamaecrista ensiformis*.

Tabela 8 - Deslocamentos químicos (δ) de RMN ^{13}C e ^1H de **CET-1** comparados com os dados descritos na literatura para 3,3',4',5-tetrahidroxi-trans-estilbeno (KUSUMANINGTYAS; SYAH; JULIAWATY, 2020)

	CET-1 (CD ₃ OD) (75/300 MHz)		LITERATURA (CD ₃ OD) (125/500 MHz)	
	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm, multip., J Hz)	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm, multip., J Hz)
C				
1	141,41		141,2	
3	159,70		159,4	
5	159,70		159,4	
1'	131,16		131,0	
3'	146,59		146,3	
4'	146,56		146,2	
CH				
2	105,89	6,45 (<i>d</i> , 2,1)	105,8	6,46 (<i>d</i> , 2,2)
4	102,74	6,17 (<i>t</i> , 2,1)	102,6	6,19 (<i>t</i> , 2,2)
6	105,89	6,45 (<i>d</i> , 2,1)	105,8	6,46 (<i>d</i> , 2,2)
7	127,08	6,75 (<i>d</i> , 16,2)	126,9	6,76 (<i>d</i> , 16,3)
8	129,81	6,90 (<i>d</i> , 16,2)	129,6	6,89 (<i>d</i> , 16,3)
2'	113,93	6,98 (<i>d</i> , 1,9)	113,8	6,99 (<i>d</i> , 2,1)
5'	116,55	6,74 (<i>d</i> , 8,1)	116,4	6,74 (<i>d</i> , 8,0)
6'	120,35	6,84 (<i>dd</i> , 8,2; 2,0)	120,2	6,83 (<i>dd</i> , 8,3; 2,1)

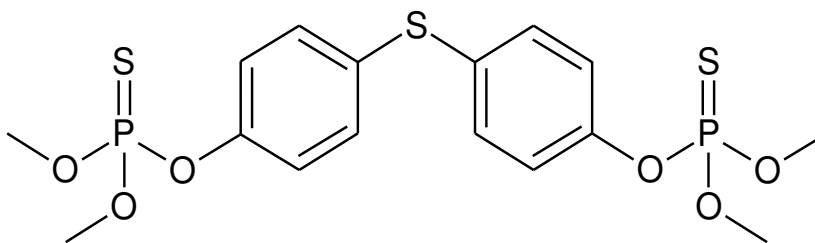
4.3 ENSAIOS BIOLÓGICOS

4.3.1 Avaliação da atividade larvicida sobre *Aedes aegypti*

Com o propósito de investigar as atividades biológicas da espécie em estudo foram realizados bioensaios com larvas de *Aedes aegypti* para avaliar o potencial larvicida do extrato etanólico das raízes (**EERCE**) e dos talos (**EETCE**) de *C. ensiformis* e das frações hexânica (**FHRCE** e **FHTCE**), diclorometano (**FDRCE** e **FDTCE**), acetato de etila (**FARCE** e **FATCE**), acetato de etila:metanol (1:1) (**FAMRCE** e **FAMTCE**) e metanólica (**FMRCE** e **FMTCE**) de ambos os extratos. Todas as amostras foram testadas em diferentes concentrações (500, 250, 100 e 50 µg/mL) e apresentaram valores de CL₅₀ maiores que 100 µg/mL. De acordo com a literatura apenas amostras que apresentam valores de CL₅₀ inferiores a 100 µg/mL podem ser consideradas ativas, e bons agentes larvicidas (CHENG *et al.*, 2003). Desta forma, os resultados obtidos para este teste não foram satisfatórios.

Vale ressaltar que estes bioensaios tiveram como controle positivo o inseticida organofosforado Temephos[®] (FIGURA 30), que apresentou valor de CL₅₀ igual a $1,4 \pm 0,20$ µg/mL.

Figura 30 – Estrutura química do Temephos[®]

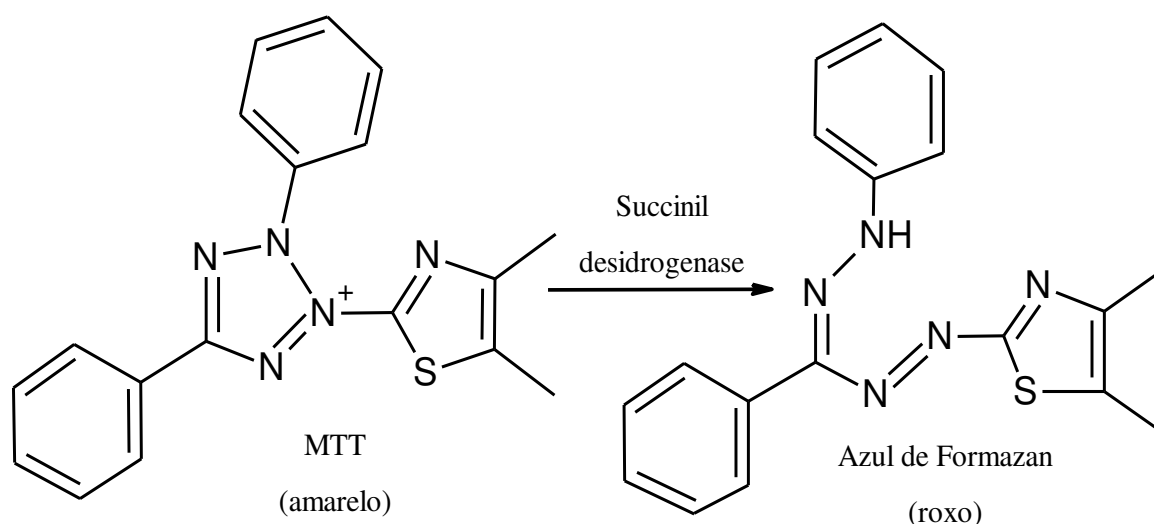


4.3.2 Avaliação da atividade citotóxica

O extrato etanólico das raízes (**EERCE**) de *C. ensiformis* e suas respectivas frações hexânica (**FHRCE**), diclorometano (**FDRCE**), acetato de etila (**FARCE**), acetato de etila:metanol (1:1) (**FAMRCE**) e metanólica (**FMRCE**) foram avaliados quanto à citotoxicidade sobre as linhagens tumorais humanas MCF-7 (adenocarcinoma de mama) e HCT 116 (carcinoma colorretal). Neste ensaio foi utilizado o método do MTT, que consiste na conversão do sal 3-(4,5-dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil-2-H-brometo de tetrazolium (MTT), cuja cor é amarela, em azul de formazan, que tem coloração roxa, a partir de enzimas

mitocondriais presentes somente nas células metabolicamente ativas (FIGURA 31). Como controle positivo, empregou-se a doxorrubicina (10 $\mu\text{g/mL}$), um agente antineoplásico (MOSMANN, 1983).

Figura 31 – Conversão do sal MTT em azul de formazan



Para avaliar o potencial citotóxico das amostras testadas foi utilizada uma escala de intensidade, baseada na variação da inibição de crescimento celular, em concentração única (50 $\mu\text{g/mL}$), onde as amostras foram classificadas em: sem atividade, com pouca atividade (variação de 1 a 50%), com atividade moderada (variação de 50 a 75%) e com muita atividade (variação de 75 a 100%) (GALLO *et al.*, 2007). Todos os valores obtidos dos percentuais de inibição em concentração única do crescimento celular para cada amostra, nas linhagens tumorais HCT 116 e MCF-7, e do desvio padrão da média (SD) estão agrupados na Tabela 9 e ilustrados nos Gráficos 1 e 2 (p. 59). É válido destacar que os intervalos de confiança foram calculados por regressão não linear no programa GraphPad Prism.

Tabela 9 - Percentual de inibição em concentração única (50 $\mu\text{g/mL}$) do crescimento celular das amostras em duas linhagens tumorais e seu desvio padrão da média (SD)

AMOSTRAS	Inibição HCT 116 (%)	$\pm\text{SD}$	Inibição MCF 7 (%)	$\pm\text{SD}$
EERCE	19,11	2,34	0	0
FHRCE	38,90	3,80	40,30	8,35
FDRCE	60,28	6,10	69,89	9,76
FARCE	2,86	0,53	0	0
FAMRCE	0	0	46,85	0,73
FMRCE	5,02	0,56	47,32	3,85
Doxorrubicina	78,18	2,56	85,30	2,57

Gráfico 1 – Percentual de inibição em concentração única (50 µg/mL) do crescimento celular das amostras na linhagem tumoral HCT 116

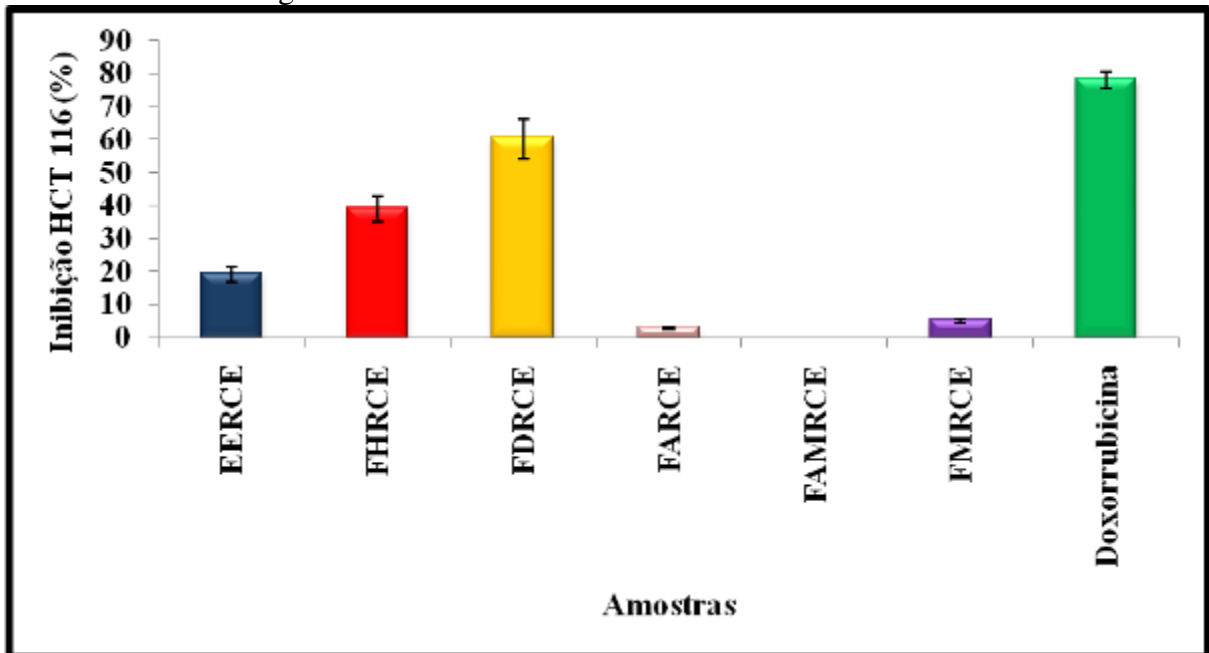
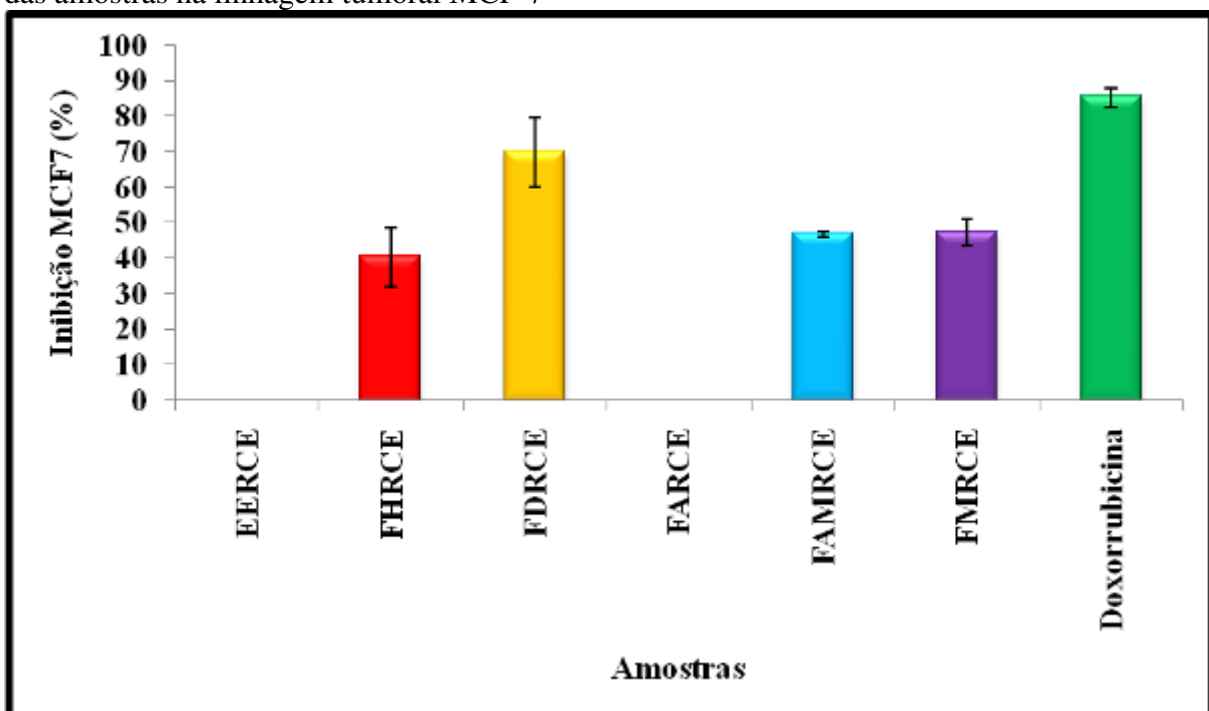


Gráfico 2 – Percentual de inibição em concentração única (50 µg/mL) do crescimento celular das amostras na linhagem tumoral MCF-7



De acordo com a escala de intensidade para avaliar o potencial citotóxico, apenas a amostra **FDRCE** apresentou moderada atividade frente às duas linhagens tumorais investigadas, com percentuais de inibição de $60,28 \pm 6,10\%$ e $69,89 \pm 9,76\%$ para HCT 116 e MCF-7, respectivamente. As demais amostras ou não apresentaram atividade ou a

porcentagem de inibição encontrava-se na faixa de 1 a 50% indicando pouca atividade citotóxica. Vale salientar que os valores da concentração inibitória em 50% (CI₅₀) das amostras avaliadas não foram calculados porque as mesmas apresentaram crescimento de inibição celular inferior a 75%.

5 PARTE EXPERIMENTAL

5.1 Material vegetal

As raízes e os talos de *Chamaecrista ensiformis* foram coletados na estrada do Garrote-Cumbuco, no município de Caucaia, estado do Ceará, Brasil. A coleta foi realizada por Francisco das Chagas Pinto, Edilberto Rocha Silveira, Maria Goretti de Vasconcelos Silva e Daniele Rodrigues de Lima em 28 de setembro de 2018. A identificação foi realizada pela técnica Sarah Sued Gomes de Souza e sua exsicata encontra-se depositada no Herbário Prisco Bezerra da Universidade Federal do Ceará, sob o número de registro 61617.

5.2 Métodos cromatográficos

5.2.1 Cromatografia em coluna (CC)

As cromatografias de adsorção em coluna (CC) foram realizadas empregando gel de sílica 60 (Φ mm 0,063–0,200) e gel de sílica (Φ μ m 35-70) para CC sob média pressão (*flash*), ambas das marcas Vetec[®] e Macherey-Nagel[®], para a cromatografia de exclusão molecular foi usado Sephadex LH-20 da marca Pharmacia[®]. Os comprimentos e diâmetros das colunas variaram de acordo com as quantidades de amostras a serem cromatografadas e os adsorventes utilizados. Nas cromatografias do tipo *flash* utilizou-se um sistema adaptado que inclui o uso de uma bomba compressora do fabricante NS Indústria de Aparelhos Médicos Ltda para fornecer a média pressão.

Os solventes hexano, clorofórmio, diclorometano, acetato de etila e metanol foram utilizados nos procedimentos cromatográficos de forma isocrática ou em misturas, com ordem crescente de gradiente de polaridade. Tais solventes são de qualidade PA das marcas Synth[®] e Dinâmica[®]. A remoção dos solventes foi feita com a utilização de um evaporador rotatório, sob pressão reduzida.

5.2.2 Cromatografia em camada delgada (CCD)

As cromatografias em camada delgada (CCD) foram realizadas em gel de sílica 60 F₂₅₄ sobre alumínio da Silicycle[®]. As revelações das substâncias nas cromatoplacas foram efetuadas através da exposição à irradiação ultravioleta (UV), cuja emissão é realizada por

lâmpada modelo VL-4.LC da VilberLourmat nos comprimentos de onda 254 e 365 nm, exposição em atmosfera saturada de vapor de iodo ressublimado (marca Dinâmica®) ou pela imersão em solução de vanilina ($C_8H_8O_3$) 5g/100mL de ácido perclórico ($HClO_4$) 0,75M/100mL de etanol, seguido de aquecimento em chapa aquecedora da Fisatom Modelo 752A.

5.3 Métodos físicos de análise

5.3.1 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)

Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN 1H) e de carbono-13 (RMN ^{13}C), uni e bidimensionais, foram obtidos no Centro Nordestino de Aplicação e Uso de Ressonância Magnética Nuclear (CENAUREMN) da Universidade Federal do Ceará. O espectrômetro empregado foi da marca Bruker®, modelo Avance DPX-300 operando na frequência de 300 MHz para hidrogênio e de 75 MHz para carbono-13.

Para promover a dissolução das amostras utilizou-se como solventes o clorofórmio ($CDCl_3$) e o metanol (CD_3OD) deuterados. Os deslocamentos químicos (δ), expressos em partes por milhão (ppm), foram referenciados nos espectros de RMN 1H pelos sinais de hidrogênio pertencentes as moléculas residuais não deuteradas do clorofórmio e do metanol em δ_H 7,27 e δ_H 3,31, respectivamente. Enquanto nos espectros de RMN ^{13}C pelos picos de carbono-13 do clorofórmio em δ_C 77,23 e do metanol em δ_C 49,1.

Indicou-se a multiplicidade dos sinais de hidrogênio como simpleto (*s*); duplete (*d*); duplo duplete (*dd*), duplo duplete de duplete (*ddd*), tripleto (*t*), quarteto (*q*) e multiplete (*m*). Utilizou-se a técnica DEPT (*Distortionless Enhancement by Polarization Transfer*) com ângulo de nutação de 135° para determinar o padrão de hidrogenação dos carbonos, onde foram gerados sinais para CH e CH_3 em oposição no plano ao CH_2 . Os carbonos não hidrogenados foram caracterizados pela subtração dos sinais do espectro da técnica DEPT 135° pelos sinais da técnica BB (*Broad Band*), obtendo-se sinais para CH_2 em oposição no plano ao CH e CH_3 . Convencionou-se que C (carbono não hidrogenado), CH (carbono metínico), CH_2 (carbono metilênico) e CH_3 (carbono metílico).

5.4 Estudo dos constituintes de *Chamaecrista ensiformis*

5.4.1 Obtenção do extrato etanólico das raízes (EERCE) e dos talos (EETCE) de *Chamaecrista ensiformis*

Inicialmente as raízes e os talos de *C. ensiformis* foram secos à sombra em temperatura ambiente e posteriormente triturados, obtendo-se 3,033 Kg e 3,389 Kg, respectivamente. Em seguida, ambos os materiais, separadamente, foram submetidos a três extrações a frio com aproximadamente 6L de etanol bruto. Vale salientar que os intervalos entre as extrações foram de 24 horas, ou seja, o tempo para efetuar todo o processo correspondeu a 3 dias para cada material. Após filtração e concentração sob pressão reduzida, foram obtidos 402,21 g do EERCE e 399,62 g do EETCE, perfazendo 13,26% e 11,79% de rendimento, respectivamente.

5.4.1.1 Fracionamento cromatográfico do extrato etanólico das raízes de *Chamaecrista ensiformis* (EERCE)

Uma alíquota de EERCE (130,49 g) foi submetida a uma coluna filtrante, denominada C₁, (L = 11,5 cm e Φ = 9,5 cm), empregando 283,00 g de gel de sílica como adsorvente, e hexano, diclorometano, acetato de etila, acetato de etila:metanol (1:1) e metanol como eluentes, que foram evaporados em evaporador rotatório sob pressão reduzida. Os dados referentes a este fracionamento cromatográfico estão descritos na Tabela 10.

Tabela 10 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de EERCE (C₁)

FRAÇÕES	CÓDIGO	VOLUME (mL)	MASSA (g)	RENDIMENTO (%)
Hexano	FHRCE	2000	0,8511	0,65
Diclorometano	FDRCE	1600	0,4672	0,36
Acetato de etila	FARCE	7000	96,0000	73,57
Acetato de etila:Metanol (1:1)	FAMRCE	1200	32,0264	24,54
Metanol	FMRCE	600	0,9725	0,75
TOTAL			130,3172	99,87

5.4.1.2 Fracionamento cromatográfico da fração acetato de etila (**FARCE**) do **EERCE**

Uma porção da **FARCE** (79,9497 g) foi submetida a um fracionamento em uma coluna denominada C₂ (L = 7,5 cm e Φ = 9,5 cm), utilizando 145,66 g de gel de sílica como fase estacionária e diclorometano:metanol em ordem crescente de polaridade como fase móvel, conforme ilustrado na Tabela 11.

Tabela 11 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico da coluna C₂

FRAÇÕES	ELUENTE	VOLUME (mL)
1 – 3	Diclorometano:Metanol (90:10)	300
4 – 6	Diclorometano:Metanol (80:20)	300
7 – 20	Diclorometano:Metanol (70:30)	2000
21 – 24	Diclorometano:Metanol (50:50)	500
25 – 27	Diclorometano;Metanol (20:80)	500
28	Metanol	200

A análise das frações da Tabela 11 por cromatografia em camada delgada (CCD) permitiu observar os seus perfis cromatográficos e reuni-las conforme mostrado na Tabela 12.

Tabela 12 – Dados referentes às frações resultantes da coluna C₂

FRAÇÕES REUNIDAS	CÓDIGO	MASSA (g)	RENDIMENTO (%)
1 – 3	FA1RCE	0,9601	1,20
4	FA2RCE	0,2712	0,34
5	FA3RCE	0,6463	0,81
6 – 16	FA4RCE	49,5859	62,02
17	FA5RCE	2,5836	3,23
18 – 21	FA6RCE	6,2826	7,86
22	FA7RCE	8,4127	10,52
23	FA8RCE	0,2313	0,29
24	FA9RCE	0,0541	0,07
25	FA10RCE	0,4979	0,62
26 – 27	FA11RCE	0,0324	0,04
28	FA12RCE	0,0379	0,05
TOTAL		69,5960	87,05

5.4.1.3 Tratamento cromatográfico de *FAIRCE* e isolamento de *CER-I*

FAIRCE (0,9601 g) foi submetida a um tratamento cromatográfico em uma coluna de gel de sílica (61,52 g) ($L = 25,0$ cm e $\Phi = 3,0$ cm), denominada C₃. A eluição foi realizada empregando-se hexano, hexano:acetato de etila (98:2, 95:5, 90:10, 80:20, 60:40, 20:80), acetato de etila e metanol. Após analisar as frações coletadas por CCD, obtiveram-se 20 frações reunidas, cujas massas estão descritas na Tabela 13.

Tabela 13 – Dados referentes às frações resultantes da coluna C₃

FRAÇÕES REUNIDAS	MASSA (g)	RENDIMENTO (%)
1 – 14	0,0291	3,03
15 – 26	0,0298	3,10
27 – 80	0,0262	2,73
81 – 104	0,2321	24,17
105 – 135	0,0174	1,81
136 – 155	0,0200	2,08
156 – 159	0,0195	2,03
160 – 175	0,0226	2,35
176 – 180	0,0282	2,94
181 – 215	0,0339	3,53
216 – 229	0,0272	2,83
230 – 233	0,0354	3,69
234 – 246	0,0836	8,71
230 – 233	0,0354	3,69
247 – 252	0,0278	2,90
253 – 299	0,0210	2,19
300 – 310	0,0280	2,92
311 – 325	0,0382	3,98
326 – 340	0,1190	12,39
341 – 349	0,0775	8,07
TOTAL	0,9519	99,15

A fração reunida **234 – 246 (C₃)** (83,6 mg) foi submetida a um tratamento cromatográfico em coluna sob média pressão ($L = 30,0$ cm e $\Phi = 2,0$ cm), utilizando-se 34,1774 g de gel sílica (Coluna C₄). O fracionamento foi realizado com eluição isocrática, utilizando como eluente hexano:acetato de etila (90:10). As 126 frações coletadas foram analisadas através de CCD e reunidas em 12 frações. Os valores das massas de cada fração estão mostrados na Tabela 14 (p. 66).

Tabela 14 – Dados referentes às frações resultantes da coluna C₄

FRAÇÕES REUNIDAS	MASSA (mg)	RENDIMENTO (%)
1 – 39	3,3	3,95
40 – 54	3,2	3,83
55 – 59	2,2	2,63
60 – 62	3,6	4,31
63	1,9	2,27
64 – 71	18,2	21,77
72 – 73	4,6	5,50
74 – 79	9,1	10,89
80 – 81	1,9	2,27
82 – 90	3,1	3,71
91 – 100	1,3	1,56
101 – 126	2,3	2,75
TOTAL	54,7	65,43

A fração reunida **64 – 71 (C₄)** (18,2 mg), um sólido cristalino branco, apresentou uma única mancha de coloração rósea escura quando analisada por CCD, através de eluição em hexano:acetato de etila (85:15) e revelação por imersão em solução de vanilina em ácido perclórico (HClO₄) e etanol. Essa substância foi denominada **CER-1**.

5.4.1.4 Tratamento cromatográfico de *FAIRCE* e isolamento de *CER-2*

A fração reunida **105 – 135 (C₃)** (17,4 mg) foi cromatografada em uma coluna de gel de sílica (2,51 g) sob pressão média, (L = 14,5 cm e $\Phi = 0,90$ cm), que foi denominada C₅. A eluição foi realizada de forma isocrática empregando uma mistura de hexano:acetato de etila (96:04). Após análise por CCD, as 30 frações coletadas foram reunidas em 6 frações, cujas massas estão descritas na Tabela 15.

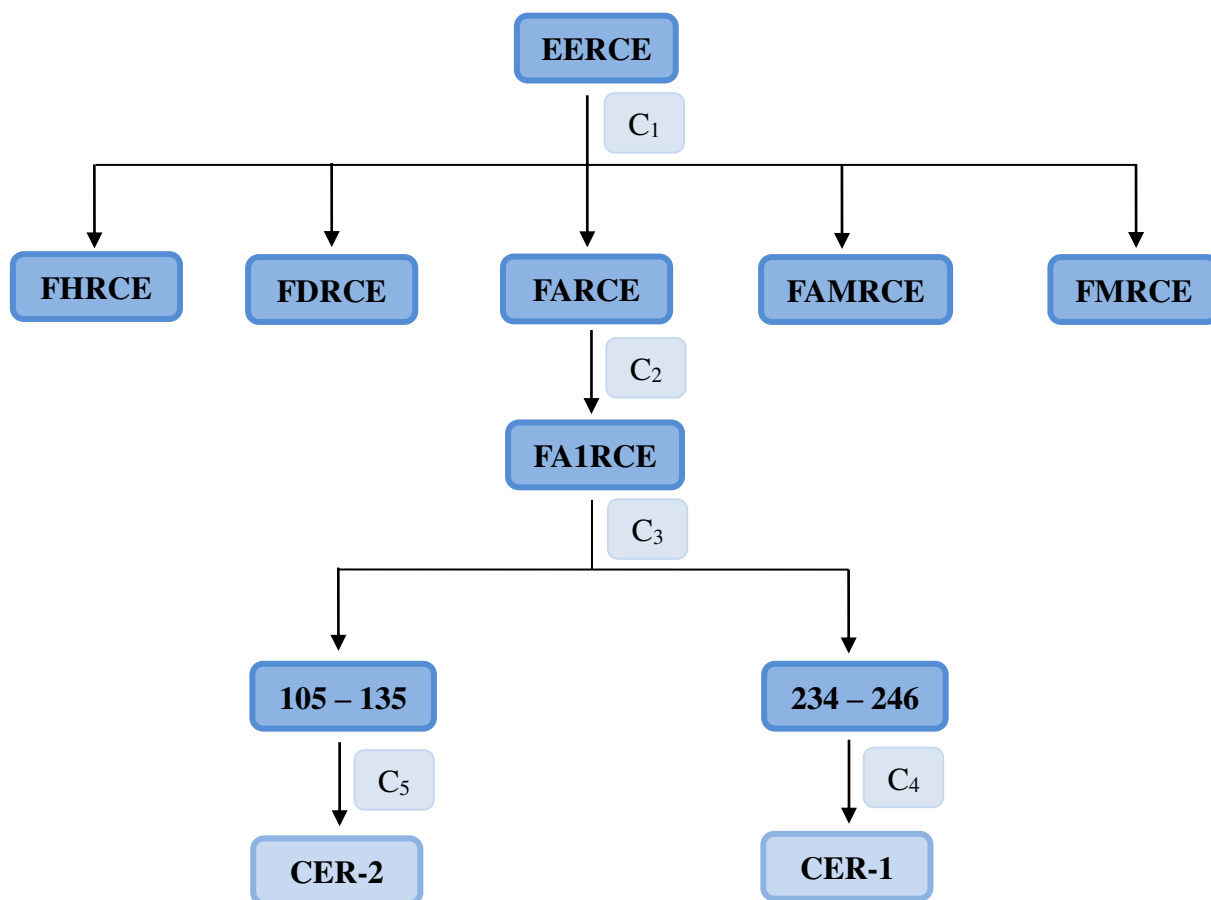
Tabela 15 – Dados referentes às frações resultantes da coluna C₅

FRAÇÕES REUNIDAS	MASSA (mg)	RENDIMENTO (%)
1 – 4	1,1	6,32
5 – 7	1,2	6,90
8 – 13	8,7	50,00
14 – 17	1,0	5,75
18 – 25	1,0	5,75
26 – 30	0,1	0,57
TOTAL	13,1	75,29

A fração reunida **8 – 13 (C₅)** (8,7 mg), um sólido branco cristalino, apresentou uma única mancha de cor azul clara quando analisada por CCD e revelada em solução de vanilina, sendo denominada **CER-2**.

As etapas do fracionamento cromatográfico do extrato etanólico das raízes de *C. ensiformis* foram esquematizadas no Fluxograma 1.

Fluxograma 1 – Fracionamento cromatográfico do extrato etanólico das raízes de *Chamaecrista ensiformis* (**EERCE**)



5.4.1.5 Fracionamento cromatográfico do extrato etanólico dos talos de *Chamaecrista ensiformis* (**EETCE**)

Uma porção do **EETCE** (152,82 g) foi submetida a uma coluna filtrante, denominada C₁, (L = 11,1 cm e Φ = 9,5 cm), utilizando 247 g de gel de sílica como adsorvente, e hexano, diclorometano, acetato de etila, acetato de etila:metanol (1:1) e metanol como eluentes. Os dados do fracionamento cromatográfico estão mostrados na Tabela 16.

Tabela 16 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de **EETCE** (C₁)

FRAÇÕES	CÓDIGO	VOLUME (mL)	MASSA (g)	RENDIMENTO (%)
Hexano	FHTCE	900	0,0157	0,01
Diclorometano	FDTCE	950	0,3633	0,24
Acetato de etila	FATCE	6500	99,4210	65,06
Acetato de etila/Metanol (1:1)	FAMTCE	1600	39,3380	25,74
Metanol	FMTCE	800	5,3270	3,49
	TOTAL		144,3650	94,53

5.4.1.6 Fracionamento cromatográfico da fração acetato de etila (**FATCE**) do **EETCE**

Uma porção de **FATCE** (95,5400 g) foi fracionada em uma coluna denominada C₂, (L = 7,0 cm e Φ = 9,5 cm), contendo 145,66 g de gel de sílica como fase estacionária. A metodologia do sistema de eluição dos solventes está descrita na Tabela 17.

Tabela 17 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico da coluna C₂

FRAÇÕES	ELUENTE	VOLUME (mL)
1 – 8	Diclorometano:Metanol (90:10)	3500
9 – 16	Diclorometano:Metanol (80:20)	925
17 – 20	Diclorometano:Metanol (70:30)	525
21 – 22	Diclorometano:Metanol (50:50)	700
23	Metanol	250

A análise por CCD das frações obtidas em C₂, resultou em 9 frações com perfis cromatográficos semelhantes, cujos dados foram mostrados na Tabela 18 (p. 69).

Tabela 18 – Dados referentes às frações resultantes da coluna C₂

FRAÇÕES REUNIDAS	CÓDIGO	MASSA (g)	RENDIMENTO (%)
1 – 3	FA1TCE	2,3628	2,47
4	FA2TCE	2,8417	2,97
5	FA3TCE	2,7816	2,91
6 – 8	FA4TCE	3,1215	3,27
9 – 13	FA5TCE	36,6762	38,39
14 – 20	FA6TCE	20,5716	21,53
21	FA7TCE	0,9609	1,01
22	FA8TCE	1,8488	1,94
23	FA9TCE	1,5853	1,66
TOTAL		72,7504	76,15

5.4.1.7 Tratamento cromatográfico de FA4TCE e isolamento de CET-1

Uma alíquota de FA4TCE (3,1215 g) foi submetida a um tratamento cromatográfico em uma coluna de gel de sílica (99,76 g) com dimensões L = 9,0 cm e $\Phi = 6,5$ cm, denominada C₃. A eluição foi realizada utilizando os solventes indicados na Tabela 19.

Tabela 19 – Dados referentes ao fracionamento cromatográfico da coluna C₃

FRAÇÕES	ELUENTE	VOLUME (mL)
1 – 3	Diclorometano	390
4 – 6	Diclorometano:Metanol (95:05)	560
7 – 9	Diclorometano:Metanol (90:10)	540
10 – 11	Diclorometano:Metanol (50:50)	225
12 – 13	Metanol	150

Após análise por CCD, as 13 frações coletadas foram reunidas em 9 frações, cujas respectivas massas estão descritas na Tabela 20.

Tabela 20 – Dados referentes às frações resultantes da coluna C₃

FRAÇÕES REUNIDAS	MASSA (g)	RENDIMENTO (%)
1 – 3	0,0274	0,88
4 – 5	0,0632	2,02
6	0,0044	0,14
7	1,4053	45,02
8	0,4285	13,73
9	0,0636	2,04
10 – 11	0,1062	3,40
12	0,0309	0,99
13	0,0149	0,48
TOTAL	2,1444	68,70

A fração reunida **7 (C₃)** (1,4053 g) foi submetida a um tratamento cromatográfico em coluna (L = 7,0 cm e Φ = 9,5 cm), denominada C₄, utilizando gel de sílica (45,83 g) como fase estacionária e diclorometano, diclorometano:metanol (90:10) e metanol como fase móvel, obtendo-se 41 frações. Após análise das frações coletadas por CCD, foram reunidas aquelas que apresentaram o mesmo perfil cromatográfico, resultando em dez frações, de acordo com a Tabela 21.

Tabela 21 – Dados referentes às frações resultantes da coluna C₄

FRAÇÕES REUNIDAS	MASSA (g)	RENDIMENTO (%)
1 – 12	0,0036	0,26
13	0,0062	0,44
14	0,0035	0,25
15	0,0080	0,57
16 – 21	0,8574	61,01
22 – 25	0,2205	15,69
26 – 28	0,0981	6,98
29 – 30	0,0309	2,20
31 -38	0,0064	0,46
39 -41	0,0283	2,01
TOTAL	1,2629	89,87

Em seguida, selecionou-se a fração **16 – 21 (C₄)** (0,8574 g) para dar continuidade ao fracionamento cromatográfico. Desta forma, esta fração foi submetida a uma coluna de gel de sílica (54,878 g) (L = 30,0 cm e Φ = 2,5 cm) (coluna C₅). O fracionamento foi realizado com eluição isocrática, utilizando diclorometano:metanol (90:10) como eluente, obtendo-se 41 frações, que foram reunidas em 6 frações após análise por CCD, como descrito na Tabela 22.

Tabela 22 – Dados referentes às frações resultantes da coluna C₅

FRAÇÕES REUNIDAS	MASSA (g)	RENDIMENTO (%)
1	0,0048	0,56
2 – 3	0,0085	0,99
4 - 11	0,1156	13,48
12 – 25	0,5001	58,33
26 – 34	0,0196	2,29
35 – 41	0,0024	0,28
TOTAL	0,6510	75,93

Em sequência, realizou-se o fracionamento da fração reunida **12 – 25 (C₅)** (500,1 mg) em uma coluna, denominada C₆, com dimensões L = 22,0 cm e Φ = 3,0 cm. Neste fracionamento, foram utilizados Sephadex LH-20 como fase fixa e metanol como fase móvel.

Foram coletadas 119 frações, que após análise por CCD foram reunidas de acordo com os fatores de retenção semelhantes, conforme ilustrado na Tabela 23.

Tabela 23 – Dados referentes às frações resultantes da coluna C₆

FRAÇÕES REUNIDAS	MASSA (mg)	RENDIMENTO (%)
1 – 18	2,6	0,52
19 – 34	17,4	3,48
35 – 47	6,6	1,32
48 – 50	7,0	1,40
51 – 57	74,1	14,82
58 – 87	362,8	72,55
88 – 100	2,5	0,50
101 – 119	1,8	0,36
TOTAL	474,8	94,94

A fração reunida **58 – 87 (C₆)** (362,8 mg) foi fracionada em uma coluna denominada C₇ (L = 25,0 cm e Φ = 2,5 cm) contendo 39,57 g de gel de sílica como fase fixa e uma mistura de diclorometano:metanol (90:10) como eluente. Foram coletadas 35 frações, cuja análise por CCD permitiu agrupá-las do modo representado na Tabela 24.

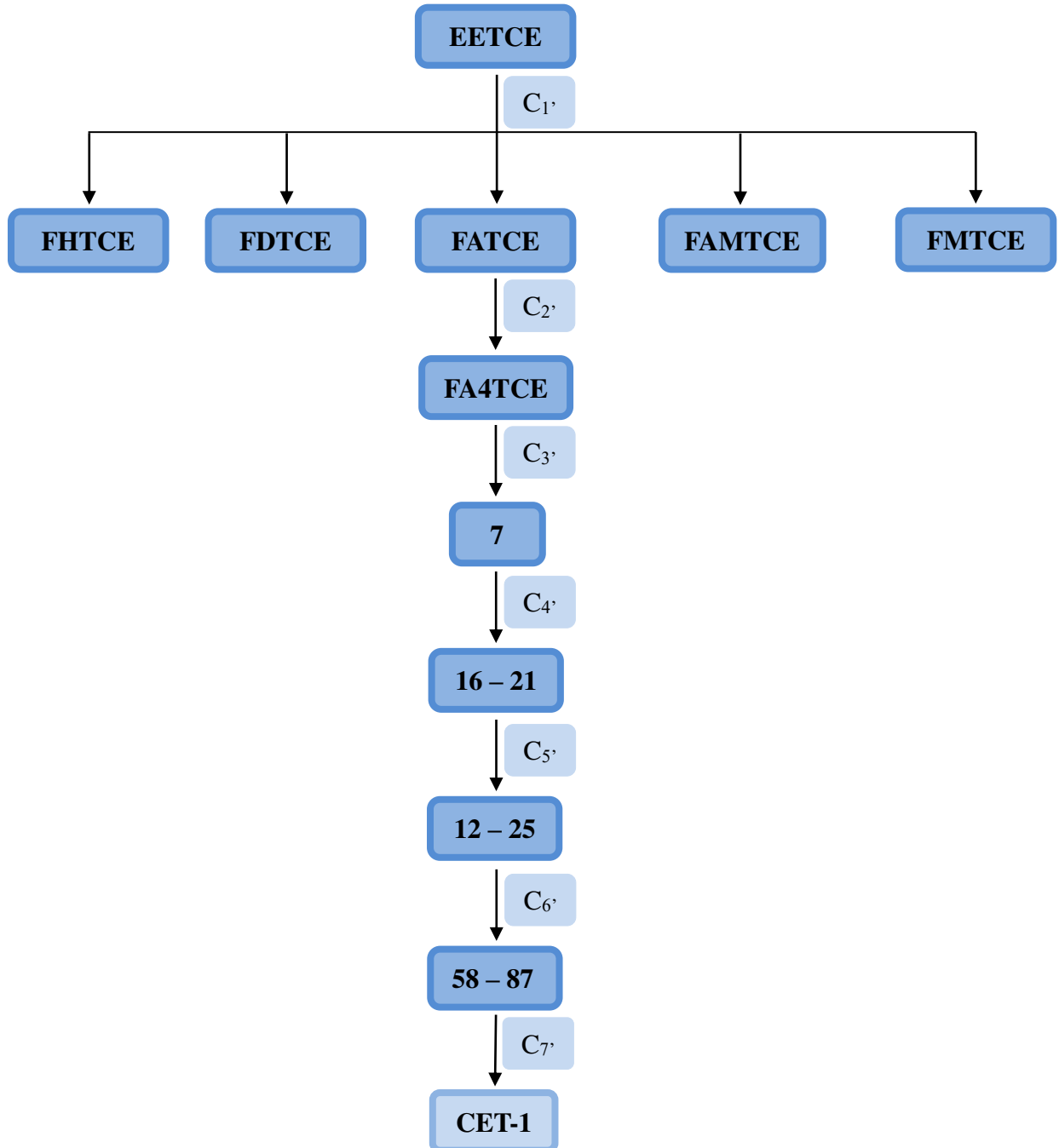
Tabela 24 – Dados referentes às frações resultantes da coluna C₇

FRAÇÕES REUNIDAS	MASSA (mg)	RENDIMENTO (%)
1 – 10	2,9	0,80
11 – 15	93,9	25,88
16 – 19	30,2	8,32
20 – 21	7,2	1,98
22 – 29	44,1	12,16
30 – 35	7,5	2,07
TOTAL	185,8	51,21

A fração reunida **16 – 19 (C₇)** (30,2 mg) se apresentou na cromatoplaça, quando revelada em solução de vanilina, como uma única mancha de cor roxa e precipitou como um sólido laranja, recebendo a denominação de CET-1.

Todas as etapas do fracionamento cromatográfico do extrato etanólico dos talos de *C. ensiformis* foram ilustradas no Fluxograma 2 (p. 72).

Fluxograma 2 – Fracionamento cromatográfico do extrato etanólico dos talos de *Chamaecrista ensiformis* (EETCE)



5.5 Ensaios biológicos

5.5.1 Atividade larvicida sobre *Aedes aegypti*

Alíquotas de 1, 2, 5 e 10 mg, em triplicata, do extrato etanólico das raízes (EERCE) e dos talos (EETCE) de *C. ensiformis* e das frações hexânica, diclorometano, acetato de etila, acetato de etila:metanol (1:1) e metanólica de ambos os extratos foram dissolvidas em 0,3 mL de dimetilsulfóxido (DMSO). Após cada amostra ser transferida para um béquer de 50 mL adicionou-se 50 larvas de terceiro estágio de *Aedes aegypti* (GADELHA; TODA, 1985) e 19,7 mL de água. Temephos[®] foi usado como controle positivo e paralelamente foi realizado um teste em branco empregando-se água e DMSO a 1,5%. Decorridos 24 horas contabilizou-se as larvas exterminadas e a CL₅₀ foi calculada (OLIVEIRA *et al.*, 2002). Vale salientar que as larvas de *A. aegypti* foram coletadas de colônias de mosquitos mantidas no NUVET-SESA (Núcleo de Controle de Endemias Transmissíveis por Vetor da Secretaria de Saúde do Estado do Ceará).

5.5.2 Atividade citotóxica

Os ensaios da atividade citotóxica frente às linhagens tumorais, MCF-7 (adenocarcinoma de mama) e HCT 116 (carcinoma colorretal), obtidas do banco de células do Rio de Janeiro, foram realizados no Laboratório de Oncologia Experimental, pela professora Dra. Gardênia Carmen Gadelha Militão do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). O método empregado foi o do MTT que consiste na análise colorimétrica baseada na conversão do sal 3-(4,5-dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil-2-H-brometo de tetrazolium (MTT) em azul de formazan, a partir de enzimas mitocondriais presentes apenas nas células metabolicamente ativas (MOSMANN, 1983).

As células foram cultivadas em meio RPMI 1640, suplementadas com 10% de soro fetal bovino e 1% de antibióticos (penicilina/estreptomicina), mantidas em estufa a 37 °C e atmosfera contendo 5% de dióxido de carbono (CO₂). Vale ressaltar que as amostras foram diluídas em DMSO puro e estéril. As linhagens MCF-7 e HCT 116 foram plaqueadas na concentração de 1 x 10⁵ células/mL e 0,3 x 10⁶ células/mL, respectivamente. Após as frações Hexano, Diclorometano, Acetato de Etila, Acetato de Etila:Metanol (1:1) e Metanol das raízes de *C. ensiformis* serem diluídas em série no meio RPMI para a obtenção das concentrações finais, elas foram adicionadas em uma placa de 96 poços. Estas placas foram incubadas por 72 horas em estufa a 5% do CO₂ a 37 °C. Em seguida, adicionou-se 25 µL da solução de MTT

nas placas, incubando-as por 3 horas. A absorbância de cada amostra foi lida após dissolução do precipitado com DMSO puro em espectrofotômetro de placa a 595 nm.

O teste em duplicata para cada amostra, utilizando a doxorrubicina como controle positivo, possibilitou o cálculo dos percentuais de inibição em concentração única (50 µg/mL) do crescimento celular nas duas linhagens tumorais e do desvio padrão (SD) para cada uma delas.

6 CONCLUSÃO

O estudo químico das raízes e dos talos de *Chamaecrista ensiformis* empregando métodos cromatográficos clássicos possibilitou o isolamento de três metabólitos secundários inéditos nesta espécie. Dentre eles estão os dois triterpenos isolados das raízes de *C. ensiformis*, o taraxerol (**CER-1**) e a friedelina (**CER-2**), e um composto pertencente à classe dos estilbenos, isolado dos talos de *C. ensiformis*, denominado piceatannol (**CET-1**). Vale salientar que os dois triterpenos também são inéditos no gênero *Chamaecrista*.

Nos bioensaios com larvas de *Aedes aegypti* do extrato etanólico das raízes (**EERCE**) e dos talos (**EETCE**) de *C. ensiformis* e das frações hexânica (**FHRCE** e **FHTCE**), diclorometano (**FDRCE** e **FDTCE**), acetato de etila (**FARCE** e **FATCE**), acetato de etila:metanol (1:1) (**FAMRCE** e **FAMTCE**) e metanólica (**FMRCE** e **FMTCE**) de ambos os extratos, nenhuma amostra apresentou resultado satisfatório.

A atividade citotóxica do extrato etanólico das raízes (**EERCE**) de *C. ensiformis* e suas respectivas frações hexânica (**FHRCE**), diclorometano (**FDRCE**), acetato de etila (**FARCE**), acetato de etila:metanol (1:1) (**FAMRCE**) e metanólica (**FMRCE**) sobre as linhagens tumorais humanas MCF-7 (adenocarcinoma de mama) e HCT 116 (carcinoma colorretal), através do método MTT, revelaram, de acordo com a escala de intensidade para avaliar o potencial citotóxico, que apenas a amostra **FDRCE** apresenta moderada atividade frente a estas duas linhagens tumorais.

A investigação de *Chamaecrista ensiformis* contribuiu para a ampliação do seu conhecimento químico e biológico e evidenciou que esta espécie é uma fonte potencial de metabólitos secundários bioativos, tornando a continuidade do seu estudo um processo muito promissor.

REFERÊNCIAS

- ABREU, V. G. DA C.; CORRÊA, G. M.; LAGOS, I. A. DOS S.; SILVA, R. R.; ALCÂNTARA, A. F. DE C. Pentacyclic triterpenes and steroids from the stem bark of uchi (*Sacoglottis uchi*, Humiriaceae). **Acta Amazonica**, v. 43, p. 525–528, 2013.
- AGUILAR-SANDÍ, D. Sinopsis del género *Myroxylon* (Fabaceae) en Costa Rica. **Phytoneuron**, v. 20, p. 1–10, 2020.
- AKBAR, S. *Chamaecrista absus* (L.) H.S. Irwin & Barneby (Fabaceae/Leguminosae). In: **Handbook of 200 Medicinal Plants: A Comprehensive Review of Their Traditional Medical Uses and Scientific Justifications**. 1. ed. Switzerland: Springer International Publishing. 2020. p. 589–592. Disponível em: <https://www.springer.com/gp/book/9783030168063>. Acesso em: 20 de agosto de 2020.
- AKIHISA, T.; YAMAMOTO, K.; TAMURA, T.; KIMURA, Y.; IIDA, T.; NAMBARA, T.; CHANG, F. C. Triterpenoid ketones from *Lingnania chungii* MOCLURE: arborinone, friedelin and glutinone. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v. 40, n. 3, p. 789-791, 1992.
- ANTONISAMY, P.; DURAIANDIYAN, V.; IGNACIMUTHU, S. Anti-inflammatory, analgesic and antipyretic effects of friedelin isolated from *Azima tetraantha* Lam. in mouse and rat models. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 63, n. 8, p. 1070–1077, 2011.
- ARAÚJO, D. S.; CHAVES, M. H. Triterpenóides pentacíclicos das folhas de *Terminalia brasiliensis*. **Química Nova**, v. 28, n. 6, p. 996–999, 2005.
- BANIK, K.; RANAWARE, A. M.; HARSHA, C.; NITESH, T.; GIRISA, S.; DESHPANDE, V.; FAN, L.; NALAWADE, S. P.; SETHI, G.; KUNNUMAKKARA, A. B. Piceatannol: a natural stilbene for the prevention and treatment of cancer. **Pharmacological Research**, v. 153, p. 104635, 2020.
- BARBA, B.; DIAZ, J. G.; GOEDKEN, V. L.; HERZ, W.; DOMINGUEZ, X. A. Unusual cassanes from a *Chamaecrista* species. **Tetrahedron**, v. 48, n. 23, p. 4725–4732, 1992.
- BARBA, B.; DÍAZ, J. G.; HERZ, W. Cassanes and anthraquinones from *Chamaecrista greggii*. **Phytochemistry**, v. 37, n. 3, p. 837–845, 1994.
- BEEBY, E.; MAGALHÃES, M.; POÇAS, J.; COLLINS, T.; LEMOS, M. F. L.; BARROS, L.; FERREIRA, I. C. F. R.; CABRAL, C.; PIRES, I. M. Secondary metabolites (essential oils) from sand-dune plants induce cytotoxic effects in cancer cells. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 258, p. 112803, 2020.
- BERTÉ, T. E.; DALMAGRO, A. P.; ZIMATH, P. L.; GONÇALVES, A. E.; MEYRE-SILVA, C.; BÜRGER, C.; WEBER, C. J.; DOS SANTOS, D. A.; CECHINEL-FILHO, V.; DE SOUZA, M. M. Taraxerol as a possible therapeutic agent on memory impairments and Alzheimer's disease: effects against scopolamine and streptozotocin-induced cognitive dysfunctions. **Steroids**, v. 132, p. 5–11, 2018.
- BODEDE, O.; MAHLANGENI, N.; MOODLEY, R.; NLOOTO, M.; OJEWOLE, E. Bioactive metabolites of *Bulbine natalensis* (Baker): isolation, characterization, and

antioxidant properties. **International Journal of Green Pharmacy**, v. 14, n. 1, p. 106–121, 2020.

BRASIL; MINISTÉRIO DA SAÚDE. Monitoramento dos casos de arboviroses urbanas transmitidas pelo Aedes. **Boletim Epidemiológico Arboviroses**, v. 51, n. 24, p. 1–13, 2020.

CAI, Y.-Z.; SUN, M.; XING, J.; LUO, Q.; CORKE, H. Structure-radical scavenging activity relationships of phenolic compounds from traditional Chinese medicinal plants. **Life Sciences**, v. 78, n. 25, p. 2872–2888, 2006.

CHENG, S.-S.; CHANG, H.-T.; CHANG, S.-T.; TSAI, K.-H.; CHEN, W.-J. Bioactivity of selected plant essential oils against the yellow fever mosquito *Aedes aegypti* larvae. **Bioresource Technology**, v. 89, p. 99–102, 2003.

CHOU, Y.-C.; HO, C.-T.; PAN, M.-H. Stilbenes: chemistry and molecular mechanisms of anti-obesity. **Current Pharmacology Reports**, v. 4, n. 3, p. 202–209, 2018.

COUTINHO, I. A. C.; RANDO, J. G.; CONCEIÇÃO, A. DE S.; MEIRA, R. M. S. A. A study of the morphoanatomical characters of the leaves of *Chamaecrista* (L.) Moench sect . Apoucouita. **Acta Botanica Brasilica**, v. 30, n. 2, p. 205–221, 2016.

DE CARVALHO, C. S.; MORIM, M. P.; DOS SANTOS, J. U. M. Sinopse taxonômica de Caesalpinioideae (Leguminosae) na Floresta Nacional de Caxiuanã, Pará, Brasil. **Rodriguésia**, v. 71, p. 1–23, 2020.

DE CAMARGO, M. J.; MIRANDA, M. L. D.; KAGAMIDA, C. M.; RODRIGUES, E. D.; GARCEZ, F. R.; GARCEZ, W. S. Sesquiterpenos de *Ocotea lancifolia* (Lauraceae). **Química Nova**, v. 36, p. 1008–1013, 2013.

DE SOUZA, A. O.; LEWIS, G. P.; DA SILVA, M. J. Taxonomic synopsis of the genus *Chamaecrista* (Leguminosae, Caesalpinioideae) in the Chapada dos Veadeiros region, Goiás, Brazil. **Phytotaxa**, v. 427, n. 3, p. 131–185, 2019.

DOS SANTOS, C. R. RODOVALHO, C. DE M.; JABLONKA, W.; MARTINS, A. J.; LIMA, J. B. P.; DIAS, L. DOS S.; NETO, M. A. C. DA S.; ATELLA, G. C. Insecticide resistance, fitness and susceptibility to Zika infection of an interbred *Aedes aegypti* population from Rio de Janeiro, Brazil. **Parasites and Vectors**, v. 13, n. 1, p. 1–14, 2020.

DOS SANTOS, J. M. F.; ALVES, P. A. C.; SILVA, V. C.; RHEM, M. F. K.; JAMES, E. K.; GROSS, E. Diverse genotypes of *Bradyrhizobium* nodulate herbaceous *Chamaecrista* (Moench) (Fabaceae, Caesalpinioideae) species in Brazil. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 40, n. 2, p. 69–79, 2017.

FERREIRA, A. M.; FILHO, V. E. M.; MAFRA, N. S. C.; SALES, E. H.; JÚNIOR, P. S. S.; EVERTON, G. O. Chemical constituents, toxicity, antioxidant potential and larvicidal activity against *Aedes aegypti* larvae of *Aniba rosaedora* Ducke essential oil. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 8, p. e520985663, 2020.

GADELHA, D. P.; TODA, A. T. Biologia e comportamento do *Aedes aegypti*. **Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais**, v. 37, p. 29–36, 1985.

GALLO, M. B. C.; PUPO, M. T.; BASTOS, J. K.; NUNES, A. S.; CAVALCANTI, B. C.; DE MORAES, M. O.; COSTA-LOTUFO, L. V.; PESSOA, C. DO Ó. Atividade citotóxica de extratos de fungos endofíticos isolados de *Smallanthus sonchifolius*. **Revista Brasileira de Biociências**, São Paulo, Brasil, v. 5, p. 402-404, 2007.

INCA, 2019a. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/o-que-e-cancer>. Acesso em: 15 de agosto de 2020.

INCA, 2019b. Estimativa/2020 - **Incidência de câncer no Brasil**. 122p, 2019. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/publicacoes/livros/estimativa-2020-incidencia-de-cancer-no-brasil>. Acesso em: 15 de agosto 2020.

KHANRA, R.; BHATTACHARJEE, N.; DUA, T. K.; NANDY, A.; SAHA, A.; KALITA, J.; MANNA, P.; DEWANJEE, S. Taraxerol, a pentacyclic triterpenoid, from *Abroma augusta* leaf attenuates diabetic nephropathy in type 2 diabetic rats. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 94, p. 726–741, 2017.

KUSUMANINGTYAS, V. A.; SYAH, Y. M.; JULIAWATY, L. D. Two stilbenes from Indonesian *Cassia grandis* and their antibacterial activities. **Research Journal of Chemistry and Environment**, v. 24, n. 1, p. 61–63, 2020.

LEE, J. H., LEE, K. T.; YANG, J. H.; BAEK, N. I.; KIM, D. K. Acetylcholinesterase inhibitors from the twigs of *Vaccinium oldhami* Miquel. **Archives of Pharmacal Research**, v. 27, n. 1, p. 53–56, 2004.

LEE, J. J.; YAZAN, L. S.; KASSIM, N. K.; ABDULLAH, C. A. C.; ESA, N.; LIM, P. C.; TAN, D. C. Cytotoxic activity of *Christia vespertilionis* root and leaf extracts and fractions against breast cancer cell lines. **Molecules (Basel, Switzerland)**, v. 25, n. 11, p. 2016, 2020.

LEMES, G. F.; FERRI, P. H.; LOPES, M. N. Constituintes químicos de *Hyptidendron canum* (PohlexBenth.) R. Harley (Lamiaceae). **Química Nova**, v. 34, p. 39-42, 2011.

LI, Y.; KONG, D.; FU, Y.; SUSSMAN, M. R.; WU, H. The effect of developmental and environmental factors on secondary metabolites in medicinal plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 148, p. 80–89, 2020.

LOPES, R. C. V.; CAMPOS, A. M.; CRAVEIRO, A. A. Essential oil components of *Chamaecrista duckeana* roots. **Journal of Essential Oil Research**, v. 5, n. 2, p. 209–210, 1993.

LOUIS, M. R. L. M.; PUSHPA, V.; BALAKRISHNA, K.; GANESAN, P. Mosquito larvicidal activity of Avocado (*Persea americana* Mill.) unripe fruit peel methanolic extract against *Aedes aegypti*, *Culex quinquefasciatus* and *Anopheles stephensi*. **South African Journal of Botany**, v. 133, p. 1–4, 2020.

LU, B.; LIU, L.; ZHEN, X.; WU, X.; ZHANG, Y. Anti-tumor activity of triterpenoid-rich extract from bamboo shavings (*Caulis bambusae* in Taeniam). **African Journal of Biotechnology**, v. 9, n. 38, p. 6430–6436, 2010.

MACHADO, K. E.; FILHO, V. C.; CRUZ, R. C. B.; MEYRE-SILVA, C.; CRUZ, A. B. Antifungal activity of *Eugenia umbelliflora* against dermatophytes. **Natural Product Communications**, v. 4, n. 9, p. 1181-1184, 2009.

MAHATO, S. B.; KUNDU, A. P. ¹³C NMR Spectra of pentacyclic triterpenoids - a compilation and some salient features. **Phytochemistry**, v. 37, n. 6, p. 1517-1575, 1994.

MANH, H. D.; HUE, D. T.; HIEU, N. T. T.; TUYEN, D. T. T.; TUYET, O. T. The mosquito larvicidal activity of essential oils from *Cymbopogon* and *Eucalyptus* species in Vietnam. **Insects**, v. 11, n. 2, p. 128, 2020.

MANN, A.; IBRAHIM, K.; OYEWALE, A. O.; AMUPITAN, J. O. Antimycobacterial friedelane-terpenoid from the root bark of *Terminalia avicennioides*. **American Journal of Chemistry**, v. 1, n. 2, p. 52-55, 2012.

MARTINS, T. G. T.; EVERTON, G. O.; ROSA, P. V. S.; ARRUDA, M. O.; SOUTO, L. A. DA S.; FONSECA, D.; DA SILVA, I. S.; COSTA, A. T.; SOUZA, L. DOS S.; SOUZA, L. DOS S.; NETO, A. P. DE A.; FILHO, V. E. M. Larvicidal activity of the essential oil of *Pimenta dioica* Lindl. front larvae of the *Aedes aegypti* mosquito. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 8, p. e151985518, 2020.

MATEOS-MARTÍN, M. L.; FUGUET, E.; JIMÉNEZ-ARDÓN, A.; HERRERO-URIBE, L.; TAMAYO-CASTILHO, G.; TORRES, J. L. Identification of polyphenols from antiviral *Chamaecrista nictitans* extract using high-resolution LC-ESI-MS/MS. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 406, n. 22, p. 5501-5506, 2014.

MATHI, P.; DAS, S.; NIKHIL, K.; ROY, P.; YERRA, S.; RAVADA, S. R.; BOKKA, V. R.; BOTLAGUNTA, M. Isolation and characterization of the anticancer compound piceatannol from *Sophora Interrupta* Bedd. **International Journal of Preventive Medicine**, v. 12, n. 6, p. 101, 2015.

MEYRE-SILVA, C.; PETRY, C. M.; BERTÉ, T. E.; GANDOLFI, R. B.; ZANATTA, F.; DELLE-MONACHE, F.; FILHO, V. C.; ANDRADE, S. F. Phytochemical analyses and gastroprotective effects of *Eugenia umbelliflora* (Myrtaceae) on experimental gastric ulcers. **Natural Product Communications**, v. 4, n. 7, p. 911-916, 2009.

MOHAMMADI, N.; SHAGHAGHI, N. Inhibitory effect of eight secondary metabolites from conventional medicinal plants on COVID _ 19 virus protease by molecular docking analysis. **ChemRxiv**. 2020, Preprint.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunological Methods**, v. 65, p. 55-63, 1983.

MUNIZ, M. P.; NUNOMURA, S. M.; LIMA, E. S.; LIMA, A. S.; DE ALMEIDA, P. D. O.; NUNOMURA, R. C. S. Quantification of bergenin, antioxidante activity and nitric oxide inhibition from bark, leaf and twig of *Endopleura uchi*. **Química Nova**, v. 43, n. 4, p. 413-418, 2020.

OLIVEIRA, M. F.; LEMOS, T. L. G.; DE MATTOS, M. C.; SEGUNDO, T. A.; SANTIAGO, G. M. P.; BRAZ-FILHO, R. New enamine derivatives of lapachol and biological activity. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 74, n. 2, p. 211–221, 2002.

OSAMUDIAMEN, P. M.; OLUREMI, B. B.; ODERINLO, O. O.; AIYELAAGBE, O. O. *Trans*-resveratrol, piceatannol and gallic acid: potent polyphenols isolated from *Mezoneuron benthamianum* effective as anticaries, antioxidant and cytotoxic agents. **Scientific African**, v. 7, p. e00244, 2020.

PALMEIRA, K. D. F.; SILVA, A. P. P. DE O.; DA SILVA, J. A.; DOS SANTOS, C. B. Avaliação do potencial de produtos naturais de origem vegetal na mortalidade da larva do mosquito *Aedes aegypti*. **Diversitas Journal**, v. 5, n. 3, p. 1629-1635, 2020.

PAULA, A. DE P. DE O.; DOS SANTOS, G. R.; COSTA, L.; PESTANA, R.; SOUZA, G.; DE SOUSA, G. M.; LEITE, A. V.; DE CARVALHO, R. Karyotypic variability in *Calliandra* sect. *Androcallis* (Leguminosae–Caesalpinioideae). **Plant Biosystems - An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology**, p. 1–10, 2020.

PEREIRA, T. N.; CARVALHO, F. D.; DE MENDONÇA, S. F.; ROCHA, M. N.; MOREIRA, L. A. Vector competence of *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus*, and *Culex quinquefasciatus* mosquitoes for Mayaro virus. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 14, n. 4, p. e0007518, 2020.

QUIRÓS-GUERRERO, L.; ALBERTAZZI, F.; ARAYA-VALVERDE, E.; ROMERO, R. M.; VILLALOBOS, H.; POVEDA, L.; CHAVARRÍA, M.; TAMAYO-CASTILLO, G. Phenolic variation among *Chamaecrista nictitans* subspecies and varieties revealed through UPLC-ESI(-)-MS/MS chemical fingerprinting. **Metabolomics**, v. 15, n. 2, p. 14, 2019.

REIS, J. D. E.; GOMES, P. W. P.; MURIBECAM A. DE J. B.; DE CASTRO, M. N. R. Quantification of phenolic derivatives and antioxidant activity of the leaves of *Chamaecrista diphylla* (L.) Greene (Fabaceae). **Scientia Plena**, v. 16, n. 3, p. 1–9, 2020.

RODRIGUES, E. DE M.; DE QUEIROZ, R. T.; DA SILVA, L. P.; MONTEIRO, F. K. DA S.; DE MELO, J. I. M. Fabaceae in an rocky outcrop in the Brazilian semiarid. **Rodriguésia**, v. 71, p. e02252018, 2020.

SANCHITA; SHARMA, A. Chapter 23 - Gene Expression Analysis in Medicinal Plants Under Abiotic Stress Conditions. *In*: AHMAD, P.; AHANGER, M. A.; SINGH, V. P.; TRIPATHI, D. K.; ALAM, P.; ALYEMENI, M. N. **Plant Metabolites and Regulation Under Environmental Stress**. 1. ed. United Kingdom: Academic Press. 2018. p. 407–414. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128126899000236>. Acesso em: 20 de agosto de 2020.

SANTOS JÚNIOR, P. S.; EVERTON, G. O.; ROSA, P. V. S.; SOUZA, L. DOS S.; CONCEIÇÃO, F. O. V. DE A.; SOARES, L. B. DA C.; FARIAS, W. K. DOS S.; SOUZA, L. DOS S.; BATISTA, C. L. C.; PINHEIRO, F. S.; NETO, A. P. DE A.; FILHO, V. E. M. Larvicidal activity of *Alpinia zerumbet* essential oil in front of the larvae of the *Aedes aegypti* mosquito. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 8, p. e194985578, 2020.

- SENTHILKUMAR, S. Pharmacological activity of traditional medicinal plants. **International Journal of Universal Pharmacy and Bio Sciences**, v. 8, n. 6, p. 1–4, 2019.
- SHARMA, P.; MANCHANDA, R.; GOSWAMI, R.; CHAWLA, S. Biodiversity and Therapeutic Potential of Medicinal Plants. *In*: SHUKLA, V.; KUMAR, N. (Orgs.); **Environmental Concerns and Sustainable Development: Volume 2: Biodiversity, Soil and Waste Management**. 1. ed. Singapore: Springer Singapore. 2020. cap. 2. Disponível em: <https://www.springer.com/gp/book/9789811363573>. Acesso em: 20 de agosto de 2020.
- SILVA, L. DE A.; THOMAZ, L. D.; DUTRA, V. F. Leguminosae on parque natural municipal de Jacarenema, Vila Velha, Espírito Santo, Brazil. **Iheringia - Serie Botanica**, v. 73, n. 3, p. 261–289, 2018.
- SILVA, P. B.; SOUSA, D. L.; DA ROCHA, A. S. M.; GUALBERTO, S. A.; DA SILVA, D. C. Avaliação do efeito do extrato etanólico da raiz de *Aspidosperma pyriforme* sobre o desenvolvimento do *Aedes aegypti*. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v. 3, n. 2, p. 556–561, 2020.
- SUSANTI, D.; AMIROUDINE, M. Z. A. M.; REZALI, M. F.; TAHER, M. Friedelin and lanosterol from *Garcinia prainiana* stimulated glucose uptake and adipocytes differentiation in 3T3-L1 adipocytes. **Natural Product Research**, v. 27, n. 4–5, p. 417–424, 2013.
- SWAIN, S. S.; ROUT, K. K.; CHAND, P. K. Production of triterpenoid anti-cancer compound taraxerol in agrobacterium-transformed root cultures of butterfly pea (*Clitoria ternatea* L.). **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 168, n. 3, p. 487–503, 2012.
- VEIGA, M.; COSTA, E. M.; SILVA, S.; PINTADO, M. Impact of plant extracts upon human health: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 60, n. 5, p. 873–886, 2020.
- VISWAN, K. A.; PUSHAPALATHA, E. Larvicidal effect of selected plant extracts on *Aedes aegypti* L. and *Culex quinquefasciatus* Say. **International Education Applied Scientific Research Journal**. v. 5, n. 2, e-ISSN : 2456-5040, 2020.
- WETZEL, W. C.; WHITEHEAD, S. R. The many dimensions of phytochemical diversity: linking theory to practice. (H. Hillebrand, Org.). **Ecology Letters**, v. 23, n. 1, p. 16–32, 2020.
- XIE, Y.-H.; CHEN, Y.-X.; FANG, J.-Y. Comprehensive review of targeted therapy for colorectal cancer. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, v. 5, n. 1, p. 22, 2020.
- YAO, X.; LU, B.; LÜ, C.; BAI, Q.; YAN, D.; XU, H. Taraxerol induces cell apoptosis through a mitochondria-mediated pathway in HeLa cells. **Cell Journal (Yakhteh)**, v. 19, n. 3, p. 512–519, 2017.
- YAO, X.; LI, G.; BAI, Q.; XU, H.; LÜ, C. Taraxerol inhibits LPS-induced inflammatory responses through suppression of TAK1 and Akt activation. **International Immunopharmacology**, v. 15, n. 2, p. 316–324, 2013.
- ZANIOL, F.; CALISTO, J. F. F.; COZZER, G.; FERRO, D. M.; DIAS, J. L.; RODRIGUES, L. G. G.; MAZZUTTI, S.; REZENDE, R. S.; SIMÕES, D. A.; FERREIRA, S. R. S.; MAGRO,

J. D.; OLIVEIRA, J. V. Comparative larvicidal effect of *Pterodon* spp. extracts obtained by different extraction methods. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 166, p. 104993, 2020.

ZEFERINO, L. C.; DE QUEIROZ, R. T.; RANDO, J. G.; COTA, M. M. T.; FANTINI, I. F.; CAETANO, A. P. DE S.; PEREZ, A. P. F. The genus *Chamaecrista* (Leguminosae: Caesalpinioideae) in Parque Estadual do Rio Preto, São Gonçalo do Rio Preto, Minas Gerais, Brazil. **Rodriguésia**, v. 70, p. e02802017, 2019.