



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

FRANCISCA ROZIANE SEVERINO LOPES

**ESTUDO QUÍMICO E BIOLÓGICO DE *Cordia trichotoma* (VELL) ARRAB. EX
STEUD**

FORTALEZA

2024

FRANCISCA ROZIANE SEVERINO LOPES

ESTUDO QUÍMICO E BIOLÓGICO DE *Cordia trichotoma* (VELL) ARRAB. EX
STEUD

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Ceará como requisito para a obtenção do título de Mestre em Química. Área de Concentração: Química Orgânica.

Profa. Dra. Gilvandete Maria Pinheiro Santiago

FORTALEZA

2024

FRANCISCA ROZIANE SEVERINO LOPES

ESTUDO QUÍMICO E BIOLÓGICO DE *Cordia trichotoma* (VELL) ARRAB. EX
STEUD

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Ceará como requisito para a obtenção do título de Mestre em Química. Área de Concentração: Química Orgânica.

Dissertação aprovada em: 18/06/2024.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dra. Gilvandete Maria Pinheiro Santiago (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof^a. Dra. Dra. Maria Teresa Salles Trevisan
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dr. Francisco das Chagas Lima Pinto
Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (UNILAB)

AGRADECIMENTOS

A Deus por ter me concedido essa oportunidade.

À minha família, em especial meu pai e minha mãe, razão maior.

À Profa. Dra. Gilvandete Santiago pelos ensinamentos, paciência e disponibilidade na orientação desse trabalho.

Aos meus colegas de laboratório Horlando, Patricia, Hieldo, Denis, Wellison, Joana e Lavoisier pelos conhecimentos compartilhados e apoio.

Ao Dr. Francisco das Chagas Lima Pinto por ceder tempo, conhecimentos e paciência.

À Profa. Dra. Otília Loiola por compartilhar seus ensinamentos.

Ao LAFLIPAM I pela receptividade durante a realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Edilberto Rocha Silveira por coletar a planta, partilhar ensinamentos via broncas e prosas.

Aos (as) colegas da Pós-graduação, funcionários da limpeza e do restaurante universitário.

À Profa. Dra. Maria Teresa Salles Trevisan e ao Mateus Gomes pela realização do ensaio de inibição da acetilcolinesterase e à Professora Dra. Gardênia Carmem Gadelha Militão pelo ensaio de citotoxicidade.

Ao Núcleo de Controle de Vetores (NUVET) da Secretaria da Saúde do Estado de Ceará pela concessão das larvas *de Aedes aegypti*.

Ao CNPq, CAPES e FUNCAP pelo apoio financeiro.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

RESUMO

Este trabalho descreve a reinvestigação fitoquímica de *Cordia trichotoma* (Vell.) Arrab. ex Steud, pertencente à família Boraginaceae. Estudos relatam atividades farmacológicas e/ou biológicas, tais como bactericida, antifúngica, larvicida sobre *Aedes aegypti* e anti-inflamatória, para algumas espécies do gênero *Cordia*. Desta forma, esse estudo teve como objetivo contribuir para o conhecimento fitoquímico de *C. trichotoma*, através do isolamento e caracterização estrutural dos metabólitos secundários do cerne da espécie. A investigação química dos extratos hexânico (**CTCH**) e etanólico do cerne (**CTCE**) resultou no isolamento de um novo sesquiterpeno 8,11-epoxi-cadi-3-9-eno (**CT6**), juntamente com sete sesquiterpenos já descritos na literatura, α -cadinol (**CT1**); $1\beta,4\beta,7\alpha$ -trihidroxiudesmano (**CT2**); $1\beta,4\beta,6\alpha$ -trihidroxiudesmano (**CT3**); $1\beta,4\beta,7\beta,11$ -tetrahidroxiudesmano (**CT4**); $1\beta,4\beta,11$ -trihidroxiopositano (**CT5**), 15-oxo- α -cadinol (**CT7**), canangaterpene III (**CT8**). Além dos sesquiterpenos, foram isolados dois fenilpropanoides, os ácido 3-(2',4',5'-trimetoxifenil)-propanoico (**CT9**) e 3-(2',4',5'-trimetoxifenil)-propanoato de metila (**CT10**). Os sesquiterpenos **CT4**, **CT7** e **CT8** estão sendo descritos pela primeira vez no gênero *Cordia*. As estruturas dos compostos isolados foram caracterizadas através da análise dos dados de RMN 1D (^1H , ^{13}C e DEPT) e 2D (COSY, HMQC e HMBC) e por comparação com dados descritos na literatura. A atividade inibitória da acetilcolinesterase do extrato **CTCH**, **CTCE**, fração hexânica da partição líquido-líquido do extrato etanólico do cerne (**CTCEH**), fração em diclorometano da partição líquido-líquido do extrato etanólico do cerne (**CTCED**), a fração em acetato de etila da partição líquido-líquido do extrato etanólico do cerne (**CTCEA**), juntamente com os compostos isolados **CT1**, **CT2**, **CT3**, **CT4**, **CT5** e **CT6** foram avaliados e dentre **CTCH**, **CTCE**, **CTCED**, **CTCED** e **CTCEA** apresentaram resultados satisfatórios. Os extratos em hexano e em etanol (**CTCH** e **CTCE**) foram avaliados quanto ao potencial citotóxico sobre as linhagens tumorais humanas HCT 116 (carcinoma colorretal), NCI-H1299 (câncer de pulmão de células não pequenas) e K562 (leucemia mielóide crônica) e quanto à atividade larvicida sobre *Aedes aegypti*, em ambos, apenas o extrato hexânico do cerne (**CTCH**) exibiu baixo potencial citotóxico nas linhagens tumorais humanas e forte potencial como agente larvicida natural.

Palavras-chave: *Cordia trichotoma*; sesquiterpenos; Boraginaceae

ABSTRACT

This work describes the phytochemical reinvestigation of *Cordia trichotoma* (Vell.) Arrab. ex Steud, belonging to the Boraginaceae family. Studies report pharmacological and/or biological activities, such as bactericidal, antifungal, larvicidal against *Aedes aegypti* and anti-inflammatory, for some species of the genus *Cordia*. Thus, this study aimed to contribute to the phytochemical knowledge of *C. trichotoma*, through the isolation and structural characterization of the secondary metabolites of the species. The chemical investigation of the hexane (**CTCH**) and ethanolic extracts of the heartwood (**CTCE**) resulted in the isolation of a new sesquiterpene 8,11-epoxy-cadi-3-9-ene (**CT6**), together with seven sesquiterpenes already described in the literature, α -cadinol (**CT1**); 1 β ,4 β ,7 α -trihydroxyeudesmane (**CT2**); 1 β ,4 β ,6 α -trihydroxyeudesmane (**CT3**); 1 β ,4 β ,7 β ,11-tetrahydroxyeudesmane (**CT4**); 1 β ,4 β ,11-trihydroxyoppositane (**CT5**), 15-oxo- α -cadinol (**CT7**), and canangaterpene III (**CT8**). In addition, they include two phenylpropanoids, 3-(2',4',5'-trimethoxyphenyl)-propanoic acid (**CT9**) and methyl 3-(2',4',5'-trimethoxyphenyl)-propanoate (**CT10**). The sesquiterpenes **CT4**, **CT7** and **CT8** are being described for the first time in the genus *Cordia*. The structures of the isolated compounds were characterized through analysis of 1D (¹H, ¹³C and DEPT) and 2D (COSY, HMQC and HMBC) NMR data and comparison with data described in the literature. The acetylcholinesterase inhibitory activity of **CTCH**, **CTCE**, hexane fraction of the liquid-liquid partition of ethanolic heartwood extract (**CTCEH**), dichloromethane fraction of the liquid-liquid partition of ethanolic heartwood extract (**CTCED**), the ethyl acetate fraction of the liquid-liquid partition of the ethanolic heartwood extract (**CTCEA**), together with the isolated compounds **CT1**, **CT2**, **CT3**, **CT4**, **CT5** and **CT6** were evaluated and among **CTCH**, **CTCE**, **CTCEH**, **CTCED** and **CTCEA** showed satisfactory results. The extracts in hexane and ethanol (**CTCH** and **CTCE**) were evaluated for cytotoxicity on the human tumor lines HCT 116 (colorectal carcinoma), NCI-H1299 (non-small cell lung cancer) and K562 (chronic myeloid leukemia) and larvicidal activity against *Aedes aegypti*, in both, only the hexane heartwood extract (**CTCH**) exhibited low cytotoxic potential in human tumor lines and strong potential as a natural larvicidal agent.

Keywords: *Cordia trichotoma*; sesquiterpenes; Boraginaceae.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	- Representação estrutural das substâncias A e B	21
Figura 2	- Representação do cerne e alburno de <i>Cordia trichotoma</i> (Vell.) Arráb. Ex Steud.....	23
Figura 3	- Esquema biossintético de sesquiterpenos.....	26
Figura 4	- Estruturas de sesquiterpenos presentes no gênero <i>Cordia</i>	29
Figura 5	- Cromatograma CLAE da fração CTCEHH3-3	39
Figura 6	- Cromatograma CLAE da fração CTCEHH3-4	39
Figura 7	- Fluxograma: Metodologia da obtenção dos compostos isolados dos extratos hexânico e etanólico do cerne de <i>Cordia trichotoma</i>	47
Figura 8	- Representação estrutural de CT1	49
Figura 9	- Representação estrutural, análise de regressão e desvio químico dos dados de RMN ¹³ C de CT1 versus os compostos A- E	50
Figura 10	- Espectro de RMN ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) de CT1 com expansão.....	53
Figura 11	- Espectros de RMN ¹³ C-BB e DEPT 135° (125 MHz, CDCl ₃) de CT1	53
Figura 12	- Estrutura com as principais correlações observadas no HMBC para CT2	55
Figura 13	- Estrutura sugerida para CT2	56
Figura 14	- Representação estrutural, análise de regressão e desvio químico dos dados de RMN ¹³ C de CT2 versus os compostos A - C	56
Figura 15	- Espectro de RMN ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) de CT2 com expansões.....	59
Figura 16	- Espectro de RMN ¹³ C (125 MHz, CDCl ₃) de CT2	59
Figura 17	- Espectro de RMN ¹ H, ¹³ C-HSQC em CDCl ₃ de CT2	60
Figura 18	- Espectro de RMN ¹ H, ¹³ C-HMBC em CDCl ₃ de CT2	60
Figura 19	- Correlações observadas no HMBC para a estrutura proposta de CT3	61
Figura 20	- Estrutura sugerida para CT3	62
Figura 21	- Espectro de RMN ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) de CT3 com expansões....	64

Figura 22	- Espectro de RMN ¹³ C (125 MHz, CDCl ₃) de CT3	64
Figura 23	- Espectro de RMN ¹ H, ¹³ C-HSQC de CT3	65
Figura 24	- Espectro de RMN ¹ H, ¹³ C-HMBC em CDCl ₃ de CT3	65
Figura 25	-Estrutura mostrando algumas das principais correlações observadas no HMBC para CT4	67
Figura 26	- Estrutura sugerida para CT4 e regressão linear com dados de RMN ¹³ C de CT4 e com o composto 1 β ,4 β ,7 β ,11tetrahydroxieuodesmano.....	67
Figura 27	- Espectro de RMN ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) de CT4 com expansões....	69
Figura 28	-Espectro de RMN ¹³ C (125 MHz, CDCl ₃) de CT4 com expansão.....	69
Figura 29	- Espectro de RMN ¹ H x ¹ H-COSY em CDCl ₃ de CT4	70
Figura 30	- Espectro de RMN ¹ H, ¹³ C-HSQC em CDCl ₃ de CT4	70
Figura 31	- Espectro de RMN ¹ H, ¹³ C-HMBC em CDCl ₃ de CT4	71
Figura 32	-Estruturas mostrando algumas das principais correlações observadas no COSY (A) e HMBC (B), respectivamente, para CT5 .	73
Figura 33	- Estrutura sugerida para CT5	73
Figura 34	- Espectro de RMN ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) de CT5 com expansão.....	75
Figura 35	- Espectro de RMN ¹³ C (125 MHz, CDCl ₃) de CT5	75
Figura 36	- Espectro de RMN ¹ H, ¹³ C-HSQC em CDCl ₃ de CT5	76
Figura 37	- Espectro de RMN ¹ H x ¹ H-COSY em CDCl ₃ de CT5	76
Figura 38	- Espectro de RMN ¹ H, ¹³ C-HMBC em CDCl ₃ de CT5	77
Figura 39	- Estruturas A e B mostrando as principais correlações observadas no HMBC.....	79
Figura 40	- Proposta estrutural para CT6	79
Figura 41	- Espectro de RMN ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) com expansões de CT6	81
Figura 42	- Espectros de RMN ¹³ C-BB e DEPT 135° (125 MHz,CDCl ₃) de CT6	81
Figura 43	- Espectro de RMN ¹ H x ¹ H-COSY em CDCl ₃ de CT6	82
Figura 44	- Espectro de RMN ¹ H, ¹³ C-HSQC em CDCl ₃ de CT6	82
Figura 45	- Espectro de RMN ¹ H, ¹³ C-HMBC em CDCl ₃ de CT6	83
Figura 46	- Estrutura sugerida para CT7	85
Figura 47	- Representação estrutural, análise de regressão e desvio químico individual dos dados de RMN ¹³ C de CT7 <i>versus</i> os descritos na literatura para o 15-oxo- α -cadinol (A), canangaterpene III (B), 15-	

oxo- τ -muurolol(C) e 15-oxo- τ -cadinol (D), respectivamente.....	86
Figura 48 - Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) com expansões de CT7	89
Figura 49 - Espectros de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de CT7 com expansão....	89
Figura 50 - Estrutura sugerida para CT8	90
Figura 51 - Representação estrutural, análise de regressão e desvio químico individual dos dados de RMN ^{13}C de CT8 <i>versus</i> os descritos na literatura para o canangaterpene III (A) e oxo- α -cadinol (B), 15-oxo- τ -muurolol(C) e 15-oxo- τ -cadinol(D), respectivamente.....	91
Figura 52 - Espectro de RMN ^1H (500MHz, CDCl_3) com expansões de CT8	94
Figura 53 - Espectros de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de CT8 com expansão....	94
Figura 54 - Estruturas sugeridas para CT9 e CT10	96
Figura 55 - Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de CT9	98
Figura 56 - Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de CT9	98
Figura 57 - Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de CT10	99
Figura 58 - Espectros de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de CT10	99

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	- Sesquiterpenos de espécies do gênero <i>Cordia</i> e suas respectivas atividades.....	28
Tabela 2	- Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de CTCEHH	36
Tabela 3	- Frações resultantes do tratamento cromatográfico de CTCEHH	36
Tabela 4	- Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de CTCEHH-2	37
Tabela 5	- Frações resultantes do tratamento cromatográfico de CTCEHH-2	37
Tabela 6	- Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de CTCEHH-3	38
Tabela 7	- Frações resultantes do tratamento cromatográfico de CTCEHH-3	38
Tabela 8	- Dados do fracionamento cromatográfico de CTCEHH-4	40
Tabela 9	- Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de CTCEHH2-7	41
Tabela 10	- Dados referentes ao tratamento cromatográfico de CTCEHH2-7	41
Tabela 11	- Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de CTCED	41
Tabela 12	- Frações resultantes do tratamento cromatográfico de CTCED	42
Tabela 13	- Frações do fracionamento cromatográfico de CTCED-4	43
Tabela 14	- Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de CTCED-13	43
Tabela 15	- Frações resultantes do tratamento cromatográfico de CTCED-13	44
Tabela 16	- Frações resultantes do tratamento cromatográfico de CTCED13-2	44
Tabela 17	- Frações resultantes do tratamento cromatográfico de CTCED13-6	45
Tabela 18	- Frações resultantes do tratamento cromatográfico de CTCED-9	46
Tabela 19	- Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de CTCED-6	46
Tabela 20	- Dados de RMN ¹³ C e ¹ H de CT1 comparados com o α -cadinol.....	51
Tabela 21	- Dados de RMN ¹³ C e desvios químicos de CT1 comparados com os dados descritos na literatura para os compostos A – E , todos em CDCl ₃	52

Tabela 22 - Dados dos deslocamentos químicos de RMN ¹³ C e ¹ H de CT2 comparados com os dados descritos na literatura para 1 β ,4 β ,7 α -trihidroxiudesmano, ambos em CDCl ₃	57
Tabela 23 - Dados de RMN ¹³ C e desvios químicos de CT2 comparados com os dados descritos na literatura para os compostos A – C , todos em CDCl ₃	58
Tabela 24 - Dados dos deslocamentos químicos de RMN ¹³ C e ¹ H de CT3 em CDCl ₃ , comparados com os dados descritos na literatura para 1 β ,4 β ,6 α -trihidroxiudesmano em CD ₃ OD.....	63
Tabela 25 - Dados dos deslocamentos químicos de RMN ¹³ C e ¹ H de CT4 comparados com os dados descritos na literatura para 1 β ,4 β ,7 β ,11-tetrahydroxiudesmano com desvios químicos, ambos em CDCl ₃	68
Tabela 26 - Dados dos deslocamentos químicos de RMN ¹³ C e ¹ H de CT5 comparados com os dados descritos na literatura para 1 β ,4 β ,11- <i>o</i> -positano com desvio químicos, ambos em CDCl ₃	74
Tabela 27 - Dados dos deslocamentos químicos (δ) de RMN ¹³ C e ¹ H de CT6 em CDCl ₃	80
Tabela 28 - Dados dos deslocamentos químicos de RMN ¹³ C e ¹ H de CT7 comparados com os dados descritos na literatura para 15- <i>o</i> - α -cadinol, ambos em CDCl ₃	87
Tabela 29 - Dados de RMN ¹³ C e desvios químicos de CT7 comparados com os dados descritos na literatura para os compostos A – D , todos em CDCl ₃	88
Tabela 30 - Dados dos deslocamentos químicos de RMN ¹³ C e ¹ H de CT8 comparados aos descritos na literatura para canangaterpene III, ambos em CDCl ₃	92
Tabela 31 - Dados de RMN ¹³ C e desvios químicos de CT8 comparados com os descritos na literatura para os compostos A – E , todos em CDCl ₃	93

Tabela 32 - Dados de deslocamentos químicos de RMN ^{13}C e ^1H de CT9 em CDCl_3 comparados com os descritos na literatura para o ácido 3-(2',4',5'-trimetoxifenil)-propanóico em CD_3OD	96
Tabela 33 - Dados de deslocamentos químicos de RMN ^{13}C e ^1H de CT10 em CDCl_3 comparados com os dados descritos na literatura para 3-(2',4',5'-trimetoxifenil)-propanoato de metila em CD_3OD	97
Tabela 34 - Valores de CL_{50} ($\mu\text{g}/\text{mL}$) das amostras.....	100
Tabela 35 - Percentual de inibição em concentração única (50 $\mu\text{g}/\text{mL}$) do crescimento celular das amostras em três linhagens tumorais e seu desvio padrão (SD).....	101
Tabela 36 - Dados referentes à avaliação da inibição da enzima acetilcolinesterase.....	103

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AchE	Acetilcolinesterase
AcOEt	Acetato de etila
ATCI	Iodeto de acetilcolina
BB	Broad Band
CD3OD	Metanol deuterado
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CL50	Concentração Letal Média
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CDCI3	Clorofórmio deuterado
COSY	Correlation Spectroscopy
CTCE	Extrato etanólico do cerne
CTCEA	Fração acetato de etila de CTCE
CTCED	Fração diclorometano de CTCE
CTCEH	Fração hexânica do CTCE
CTCH	Extrato hexânico do cerne
CTCHEH	Fração do fracionamento cromatográfico de CTCH/CTCEH
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
DTNB	Ácido 5,5'-ditiobis-(2-nitrobenzóico)
GPS	Global Positioning System
HCT 116	Carcinoma colorretal
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence
Hz	Hertz
IDH	Índice de Deficiência de Hidrogênio
K562	Leucemia mieloide crônica
LPNBio	Laboratório de Produtos Naturais Bioativos
MTT	1-(4,5-Dimetiltiazol-2-il)-3,5-difenilformazana

MHz	Megahertz
NUVET	Núcleo de Controle de Vetores
NCI-H1299	Câncer de pulmão de células não pequenas
ppm	Partes por milhão
RMN 13C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono-13
RMN 1H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
RPMI	Roswell Park Memorial Institute
TFA	Ácido trifluoroacético
UV-Vis	Ultravioleta visível
UFLC	Ultra Fast Liquid Chromatograph

LISTA DE SÍMBOLOS

δ_H Deslocamento químico de hidrogênio

δ_C Deslocamento químico de carbono

L Comprimento

Φ Diâmetro

® Marca registrada

J Constante de acoplamento

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	18
2	CONSIDERAÇÕES BOTÂNICAS.....	22
2.1	Sobre a família Boraginaceae.....	22
2.2	Sobre o gênero <i>Cordia</i>	22
2.3	Sobre <i>Cordia trichotoma</i>	22
3	OBJETIVOS.....	24
3.1	Objetivo geral.....	24
3.2	Objetivos específicos.....	24
4	REVISÃO DE LITERATURA.....	25
4.1	Sesquiterpenos do gênero <i>Cordia</i> e suas atividades farmacológicas e biológicas.....	25
5	PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	30
5.1	Métodos cromatográficos.....	30
5.1.1	<i>Cromatografia em camada delgada (CCD)</i>	30
5.1.2	<i>Cromatografia de adsorção em coluna (CC)</i>	30
5.1.3	<i>Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)</i>	30
5.2	Métodos físicos de análise.....	31
5.2.1	<i>Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)</i>	31
5.3	Atividades biológicas.....	32
5.3.1	<i>Atividade larvicida sobre Aedes aegypti</i>	32
5.3.2	<i>Atividade citotóxica in vitro sobre linhagens de células tumorais humanas</i>	32
5.3.3	<i>Ensaio de inibição da enzima acetilcolinesterase</i>	33
5.4	Estudo dos constituintes fixos de <i>Cordia trichotoma</i>	34
5.4.1	<i>Coleta do material vegetal</i>	34
5.4.2	<i>Obtenção dos extratos em hexano CTCAH, CTAH, CTCH e CTRH</i>	34
5.4.3	<i>Obtenção dos extratos em etanol CTCAE, CTAE, CTCE e CTRE</i>	34

5.4.4	<i>Partição líquido-líquido do extrato etanólico do cerne e obtenção de CTCEH, CTCED e CTCEA.....</i>	34
5.4.5	<i>Fracionamento cromatográfico de CTCH e CTCEH.....</i>	35
5.4.6	<i>Fracionamento cromatográfico de CTCEHH-2.....</i>	36
5.4.7	<i>Fracionamento cromatográfico de CTCEHH-3 e isolamento de CT7 e CT8.....</i>	37
5.4.8	<i>Isolamento de CT7 e CT8</i>	38
5.4.9	<i>Isolamento de CT8.....</i>	39
5.4.10	<i>Fracionamento cromatográfico de CTCEHH-4 e isolamento de CT1.....</i>	40
5.4.11	<i>Fracionamento cromatográfico de CTCEHH2-7 e isolamento de CT6.....</i>	40
5.4.12	<i>Fracionamento cromatográfico de CTCED.....</i>	41
5.4.13	<i>Tratamento cromatográfico de CTCED-4 e isolamento de CT9 e CT10.....</i>	42
5.4.14	<i>Tratamento cromatográfico de CTCED-13.....</i>	43
5.4.15	<i>Tratamento cromatográfico de CTCED13-2 e isolamento de CT5.....</i>	44
5.4.16	<i>Tratamento cromatográfico de CTCED13-6 e isolamento de CT4.....</i>	45
5.4.17	<i>Tratamento cromatográfico de CTCED-9 e isolamento de CT2.....</i>	45
5.4.18	<i>Tratamento cromatográfico de CTCED-6 e isolamento de CT3.....</i>	46
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	48
6.1	Determinação estrutural dos constituintes fixos de <i>C. trichotoma</i>.....	48
6.1.1	<i>Determinação estrutural de CT1.....</i>	49
6.1.2	<i>Determinação estrutural de CT2.....</i>	54
6.1.3	<i>Determinação estrutural de CT3.....</i>	61
6.1.4	<i>Determinação estrutural de CT4.....</i>	66
6.1.5	<i>Determinação estrutural de CT5.....</i>	72
6.1.6	<i>Determinação estrutural de CT6.....</i>	78
6.1.7	<i>Determinação estrutural de CT7.....</i>	84
6.1.8	<i>Determinação estrutural de CT8.....</i>	90
6.1.9	<i>Determinação estrutural de CT9 e CT10.....</i>	95
7	ENSAIOS BIOLÓGICOS.....	100
7.1	<i>Atividade larvicida sobre <i>Aedes aegypti</i>.....</i>	100
7.2	<i>Atividade citotóxica frente a linhagens de células tumorais.....</i>	101

7.3	Avaliação da atividade inibitória da enzima acetilcolinesterase.....	102
8	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	104
	REFERÊNCIAS.....	105

1 INTRODUÇÃO

O conhecimento empírico do homem sobre as plantas medicinais é milenar, estando presente na história como um importante recurso terapêutico. Atualmente é nítido que a relação do homem com as plantas medicinais e seus saberes práticos continuam presentes em várias comunidades e continuam sendo um recurso essencial para fins medicinais. Registros relatam a comercialização destas plantas em feiras livres e mercados populares de várias regiões do Brasil e do mundo (Monteiro; Costa, 2017).

O Brasil se destaca no cenário global por apresentar uma vasta biodiversidade, apresentando uma riqueza imensurável em sua flora e fauna. Ademais, está entre os países que compõem a região tropical e apresentam plantas capazes de produzir cerca de quatro vezes mais metabólitos ativos em comparação com espécies vegetais de regiões de clima temperado, e esse fator torna-se favorável na obtenção de compostos com potencial biológico, constituindo, portanto, um recurso para tratamento de diversas doenças (Cavalcanti *et al.*, 2012). É importante ressaltar que, apesar de algumas plantas medicinais apresentarem benefícios no tratamento de algumas enfermidades, muitas delas não possuem evidências científicas e desta forma, seus extratos são submetidos a estudos químicos para investigar suas substâncias bioativas.

Nas últimas décadas, a comunidade científica vem ampliando gradativamente as pesquisas em relação ao potencial terapêutico das plantas visando auxiliar no estudo de suas potencialidades biológicas e/ou farmacológicas. Novas metodologias para a descoberta de novos fármacos são aplicadas e continuam influenciando o isolamento e a caracterização de compostos bioativos que possam atuar como novos protótipos de fármacos a serem utilizados no tratamento de vários tipos de doenças infecciosas, crônicas e degenerativas (Sánchez-Recillas *et al.*, 2019).

Alguns gêneros, espécies e/ou famílias de plantas apresentam interesse medicinal devido à presença de compostos químicos que apresentam propriedades biológicas. Além de apresentarem atividades farmacológicas, as plantas são importantes fontes naturais que desempenham funções vitais na defesa contra predadores (Sánchez-Recillas *et al.*, 2019).

A investigação química de espécies do gênero *Cordia* tem despertado interesse do meio científico devido ao potencial biológico dos constituintes de suas espécies. Embora exista uma ampla diversidade de trabalhos relatados na literatura sobre esse gênero, a maioria dos estudos concentra-se em poucas espécies, dentre estas, as que aparecem com maior frequência são *C. curassica*, *C. verbenacea*, *C. leucocephala*, *C. corymbosa*, *C. multicephala*, *C. oblique* Willd, *C. dodecandra*, *C. linnaei* e *C. polycephala* (Dantas *et al.*, 2021). Destas algumas são utilizadas como agentes antimicrobianos, analgésicos, anti-inflamatórios, em tratamentos de problemas respiratórios e de disenteria, bem como na cicatrização de feridas (Oza, Kulkarni, 2017).

O levantamento bibliográfico realizado em bases disponíveis, tais como *Scifinder* e *PubMed*, mostrou uma ampla diversidade de compostos isolados de espécies do gênero *Cordia*. Segundo Dantas e colaboradores (2021), flavonoides, terpenos, compostos fenólicos e quinonas constituem as classes de metabólitos secundários relatadas na constituição química de espécies deste gênero. Adicionalmente, estudos relatam uma gama de atividades biológicas de extratos brutos e suas respectivas frações, óleos essenciais e compostos isolados de várias espécies de *Cordia*. Alguns destes compostos apresentam atividades biológicas, tais como antiviral, contraceptiva, cardiotônica, antiplaquetária e antitumoral.

As propriedades deste gênero são de grande interesse industrial, sobretudo nas áreas de farmacologia e cosmetologia. Podendo-se destacar *C. verbenacea* que além da atividade anti-inflamatória, apresenta atividade analgésica e antimicrobiana (Perini *et al.*, 2015).

Em novembro de 2004 foi aprovado o registro do primeiro anti-inflamatório tópico desenvolvido inteiramente no Brasil. Na indústria farmacêutica brasileira, a espécie *C. verbenacea* assumiu grande importância a partir do desenvolvimento e comercialização de um medicamento fitoterápico que tem como principal princípio ativo, o óleo essencial desta espécie (Fouseki *et al.*, 2016). O fitoterápico foi denominado Acheflan[®], é comercializado pelo laboratório Aché Laboratórios Farmacêuticos S.A., encontra-se disponível na forma de creme e aerossol e é indicado para o tratamento localizado de procedimentos inflamatórios, tais como tendinites, dores musculares, traumas de membros, torções e contusões (Dutra *et al.*, 2016). Nesse cenário,

acredita-se que as espécies desse gênero podem ser fontes de novos compostos biologicamente ativos e de interesse terapêutico.

Cordia trichotoma (Vell.) Arráb. ex Steud, popularmente conhecida como “freijó”, “louro-pardo”, “louro” ou “frei-jorge” “louro-pardo” ou “frei-jorge”, é utilizada na medicina popular sob a forma de chá no tratamento de reumatismo, artrite, raquitismo, doenças renais, gripe, resfriado e febre (Agra, Freitas, Barbosa-Filho, 2007).

A referida espécie foi sujeita a estudos fitoquímicos prévios, nos quais foram relatados a composição química e atividades biológicas das folhas, das partes aéreas, do cerne e do alburno. Os dados obtidos a partir do levantamento bibliográfico realizado sobre *C. trichotoma* mostraram que esta espécie é uma fonte prolífica de distintos metabólitos.

Estudos fitoquímicos do cerne de *C. trichotoma* relatam o isolamento, identificação e caracterização de monoterpenos, sesquiterpenos, triterpenos, esteroides, quinonas terpenoidicas, ácidos fenólicos, alcaloides e açúcares (Menezes, 1999; Menezes *et al.*, 2001a; Silva, 2004). Por outro lado, das partes aéreas de *C. trichotoma* foram isolados ácidos carboxílicos, ácidos fenólicos, agliconas de glicosídeos cianogênicos e derivados da ciclohexilidenoacetoneitrila (Lins, 2021; Pavanelo, 2014).

Embora não muito difundido, há registros de uso etnofarmacológico para as cascas do caule e as folhas de *C. trichotoma*, as quais são indicadas para tratar doenças nos rins, reumatismo, artrites e raquitismo (Agra, Freitas, Barbosa-Filho, 2007)

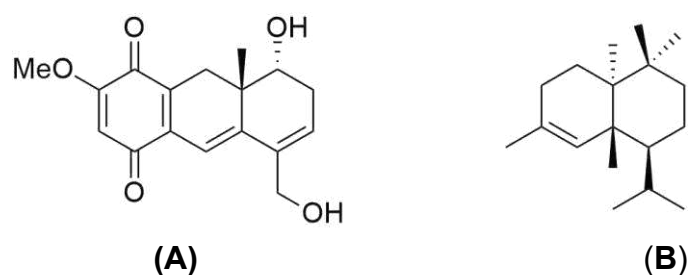
A investigação química do extrato da raiz de *C. trichotoma* resultou no isolamento de seis cianoglicosídeos não cianogênicos, uma quinona, uma lignana, um sesquiterpeno e dois derivados fenólicos (Rocha, 2018).

A composição química dos constituintes não voláteis do extrato etanólico do cerne resultou no isolamento de sesquiterpenos, triterpenos, esteroides, quinona, hidroquinona, fenilpropanóides. Dos constituintes isolados do extrato etanólico do alburno, destacaram-se sesquiterpenos, triterpenos, esteroide e hidroquinona. A investigação química das flores resultou no isolamento dos metabólitos secundários tais como alcaloides e esteroides (Menezes, 2005).

No que concerne às atividades biológicas relatadas para esta espécie, destacam-se as substâncias oncocalyxona (**A**) e tricotomol (**B**) da fração hexânica do extrato hexânico do cerne que apresentaram atividade sobre larvas de *Artemia salina*

(TAS) (Figura 1) (Menezes, 1999). Em adição, o óleo essencial do caule de *C. trichotoma*, apresentou atividade larvicida sobre *Aedes aegypti* (Menezes *et al.*, 2001b). Com relação às atividades farmacológicas, os extratos das folhas e frutos de *C. trichotoma* apresentaram potencial antiproliferativo e genotoxicidade sobre *Allium cepa* (Pavanelo, 2014).

Figura 1 – Representação estrutural das substâncias **A** e **B**



Fonte: adaptado de Menezes (1999).

Desta forma, a importância etnofarmacológica e quimiotaxonômica do gênero *Cordia* serviram como estímulo à investigação química e biológica desta espécie. Neste contexto, o presente trabalho descreve o isolamento e a elucidação estrutural dos metabólitos secundários dos extratos hexânico e etanólico do cerne de *C. trichotoma*, bem como a avaliação das atividades citotóxica frente as linhagens tumorais humanas HCT 116 (carcinoma de colorretal), NCI-H1299 (câncer de pulmão de células não pequenas) e K562 (leucemia mieloide crônica), larvicida sobre *Aedes aegypti* e inibitória da enzima acetilcolinesterase (AChE).

2 CONSIDERAÇÕES BOTÂNICAS

2.1 Sobre a família Boraginaceae

Boraginaceae, família de plantas angiospermas dicotiledôneas, compreende cerca de 2.700 espécies distribuídas em aproximadamente 200 gêneros. Suas espécies estão presentes em regiões tropicais, subtropicais e temperadas, representando uma grande complexidade taxonômica (Dantas *et al.*, 2021).

No Brasil, a família encontra-se representada por 129 espécies divididas em 12 gêneros distribuídos em diferentes formações vegetais, sendo *Cordia*, *Varronia* e *Tourefotia* os gêneros mais numerosos (Silva, 2017). Na Região Nordeste, especificamente na vegetação da caatinga, a família está concentrada em torno de 70 espécies distribuídas em 6 gêneros dessa família: *Auxema* M., *Cordia* L., *Heliotropium* L., *Patagonula* L., *Rotula* L. e *Tournefortia* L. (Dantas *et al.*, 2021).

2.2 Sobre o gênero *Cordia*

O gênero *Cordia* possui ampla distribuição, principalmente em regiões tropicais (Kendir *et al.*, 2020). Seus aspectos botânicos, químicos, farmacológicos e sua alta importância econômica, classifica-o como um dos gêneros mais importante da família Boraginaceae (Matias *et al.*, 2015).

Ademais, esse gênero compreende cerca de 350 espécies distribuídas mundialmente entre árvores, arbustos decíduos e ervas. Embora sua distribuição ocorra em diferentes regiões dos trópicos, seu maior centro de diversidade está representado no Brasil, onde podem ser encontradas um número estimado de 100 espécies (Wanderley *et al.*, 2012).

2.3 Sobre *Cordia trichotoma*

A espécie *Cordia trichotoma* (Vell.) Arráb. ex Steud (Figura 2, pág. 23), popularmente conhecida como “freijó”, “louro-pardo”, “louro” ou “frei-jorge”, é amplamente distribuída no território brasileiro, desde o Nordeste até o Sul do Brasil, podendo, também ser encontrada na Argentina, Paraguai e Bolívia. De acordo com

Lorenzi (1992) é uma árvore caducifólia, de caule reto. Vale destacar que em seu caule, o cerne é definido pela coloração escura em relação ao alburno (Figura 2).

A referida espécie foi sujeita a estudos fitoquímicos prévios, nos quais foram relatados a composição química e atividades biológicas das folhas, das partes aéreas, do cerne e do alburno. Os dados obtidos a partir do levantamento bibliográfico realizado sobre *C. trichotoma* mostraram que esta espécie é uma fonte profílica de distintos metabólitos.

Trata-se de uma espécie de grande porte com aproximadamente 35 metros de altura. Na indústria, sua madeira é apreciada no mercado interno e externo devido à sua alta qualidade, além disso, as mudas dessa árvore podem ser empregadas em sistema de reflorestamento (Kielse *et al.*, 2013). Adicionalmente, é uma das espécies nativas do Brasil com maior potencial para o plantio com fins econômicos, especialmente nas regiões Sul e Sudeste, por apresentar fatores favoráveis tais como crescimento rápido, boa forma, madeira de boa qualidade, frutificação abundante e facilidade de produção de mudas.

Figura 2 – Representação do cerne e alburno de *Cordia trichotoma* (Vell.) Arráb. ex Steud



Fonte: Edilberto Rocha (2022)

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Realizar o estudo químico e biológico de *Cordia trichotoma* visando o isolamento de metabólitos secundários com potencial farmacológico e/ou biológico.

3.2 Objetivos específicos

- Isolar, através de técnicas cromatográficas, os constituintes químicos do extratos hexânico e etanólico do cerne de *Cordia trichotoma*;
- Caracterizar estruturalmente os compostos isolados através de técnicas espectroscópicas tais como IV, RMN ^1H e ^{13}C uni e bidimensional;
- Avaliar a atividade larvívica sobre *Aedes aegypti* dos extratos em hexano e em etanol de *C. trichotoma*;
- Avaliar a atividade citotóxica *in vitro* sobre as linhagens de células tumorais humanas K562 (leucemia mielóide crônica), NCI-H1299 (câncer de pulmão de células não pequenas), e HCT-116 (câncer de colorretal) dos referidos extratos;
- Avaliar a atividade inibitória da enzima acetilcolinesterase (AChE) dos extratos hexânico e etanólico (**CTCH** e **CTCE**) do cerne, das frações resultantes da partição líquido-líquido (**CTCEH**, **CTCED** e **CTCEA**) do extrato etanólico do caule (**CTCE**) e dos metabólitos secundários isolados.

4 REVISÃO DE LITERATURA

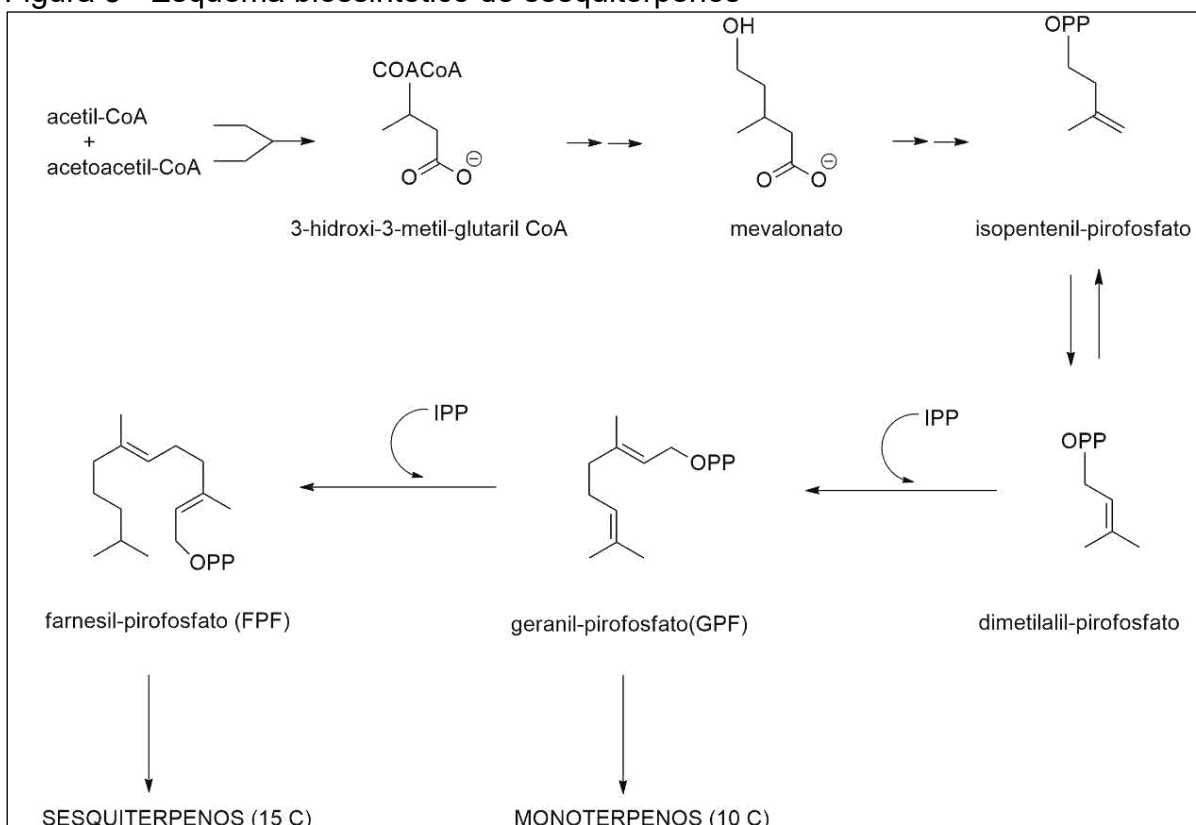
4.1 Sesquiterpenos do gênero *Cordia* e suas atividades farmacológicas e biológicas

Levantamento bibliográfico realizado na base de dados *Scifinder*[®] abrangendo os artigos científicos publicados até 2023 revelou registros de estudos para espécies do gênero *Cordia*, especificamente, as produtoras de metabólitos secundários denominados sesquiterpenos, uma classe de compostos que apresentam diversas atividades biológicas e/ou farmacológicas, sendo utilizados na indústria de cosméticos, perfumaria e medicina.

Os sesquiterpenos são terpenos com cadeia de 15 átomos de carbonos, ocorrendo na natureza como hidrocarbonetos ou em formas oxigenadas tais como cetonas, álcoois, aldeídos, lactonas ou ácidos. São encontrados principalmente em fungos e plantas. São compostos lipofílicos incolores, podendo apresentar ampla diversidade estrutural e funcional. Dentre as formas funcionais, os acíclicos encontram-se em maioria, porém, há ocorrência de formas monocíclicas, bicíclicas ou tricíclicas (Menezes, 1999).

Na biossíntese dos sesquiterpenos (Figura 3, pág. 26), o mevalonato é formado pela condensação de uma unidade acetoacetil-CoA com uma molécula de acetil-CoA. Após a condensação aldólica e hidrólise é originado o 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA, que em seguida é reduzido a mevolonato e, posteriormente, convertido em pirofosfato de isopentila. Tanto a molécula de pirofosfato de isopentila quanto seu isômero, pirofosfato de dimetilalila, formam o *trans*-pirofosfato de geranila, precursor na formação dos terpenos. Os sesquiterpenos são resultantes das ligações que ocorrem entre o *trans*-pirofosfato de geranila e pirofosfato de isopentila (Simões, 2010). Assim como outros tipos de terpenóides, os sesquiterpenos apresentam ampla diversidade de esqueletos. Os mais comuns são: eudesmano, opositano, guaiano, amorfano, cadinano, cedreno, muurolano, cariolano, germacreno, biciclogermacreno (Menezes, 1999).

Figura 3 - Esquema biossintético de sesquiterpenos



Fonte: adaptada de Simões (2000).

Estudos biológicos sobre sesquiterpenos apontam várias atividades tais como anti-inflamatória, antioxidante, antimicrobiana, antifúngica, antinociceptiva, anticancerígeno e imunomodulador (Tabela 1, pág. 28).

De acordo com Chadwick *et al.* (2013), uma das propriedades mais notáveis dos sesquiterpenos é a capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica, podendo afetar diretamente o sistema nervoso central, aspecto bastante relevante no tratamento de doenças neurológicas. Ademais, podem servir para aumentar a absorção transmembrana de compostos lipofílicos, destaque importante na atividade larvicida sobre *Aedes aegypti* e efeitos sinérgicos (Pereira *et al.*, 2018).

O levantamento bibliográfico sobre sesquiterpenos de espécies do gênero *Cordia* e suas respectivas atividades, resultou em 17 artigos (Tabela 1, pág. 28). Os sesquiterpenos α -humuleno (**1**) e *trans*-cariofileno (**2**) foram submetidos à avaliação das suas propriedades anti-inflamatórias e antialérgicas em ratos (Fernandes *et al.*, 2007) e camundongos (Passos *et al.*, 2007). Os compostos α -humuleno (**1**), *trans*-cariofileno (**2**), β -sesquifelandreno (**4**) e turmerona (**10**) apresentaram potencial antifúngico sobre *Lasiodiplodia theobromae* (Nizio *et al.*, 2015).

α -Humuleno (1), por via oral e tópica, mostrou boa atividade anti-inflamatória e antinociceptiva (Chaves *et al.*, 2008). *Trans*-cariofileno (2) apresentou atividades antitripanossoma, antipromastigota e citotóxica sobre fibroblastos de mamíferos (Pereira *et al.*, 2021).

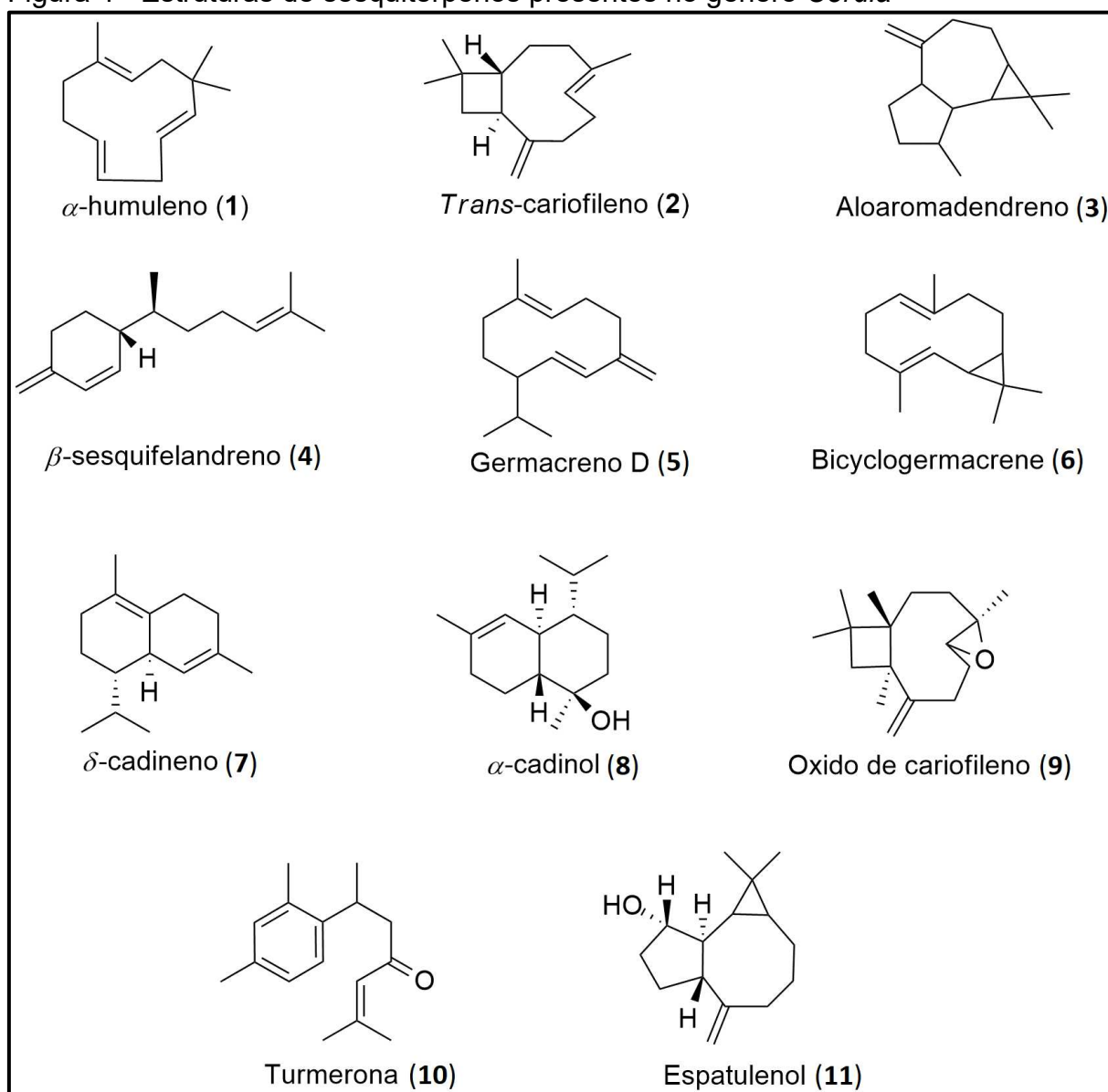
Os sesquiterpenos *trans*-cariofileno (2) e aloaromadendreno (3) foram submetidos à avaliação da atividade antimicrobiana pelo método de difusão em placas, sendo observado que as bactérias Gram-positivas e leveduras foram sensíveis a esses compostos (Carvalho *et al.*, 2004). *Trans*-cariofileno (2), germacreno D (5) e δ -cadineno (7) exibiram potente citotoxicidade contra linhagens celulares MCF-7 (câncer de mama), utilizando o ensaio de sulforrodamina-B (SRB) (Ashmawy, Ayoub, Eldahsan, 2020). *Trans*-cariofileno (2) e biciclogermacreno (6) apresentaram atividade antibacteriana sobre a bactéria Gram-positiva *Staphylococcus aureus* (Carvalho *et al.*, 2017). Por outro lado, α -humuleno (1) e *trans*-cariofileno (2) foram os principais compostos ativos, responsáveis pela atividade antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus* (Michielin *et al.*, 2009). Espatuleno (11) mostrou-se ativo na inibição do crescimento de *Helicobacter pylori in vitro* (Menghini *et al.*, 2008).

Além das propriedades farmacológicas, outras atividades biológicas são relatadas por diversos autores para óleos essenciais de espécies do gênero *Cordia*, como a atividade larvicida sobre *Aedes aegypti* (Santos *et al.*, 2006; Menezes *et al.*, 2001b; Menezes, 1999; Menezes *et al.*, 2006). As estruturas dos sesquiterpenos citados estão representadas na Figura 4 (pág. 29). A Tabela 1 (pág. 28) descreve os principais sesquiterpenos do gênero *Cordia*, bem como as atividades biológicas relatadas na literatura para os mesmos.

Tabela 1 - Sesquiterpenos de espécies do gênero *Cordia* e suas respectivas atividades

Espécie	Compostos	Atividade	Referência
<i>C.verbenacea</i>	1 e 2	Anti-inflamatória	(Fernandes <i>et al.</i> , 2007)
<i>C. verbenacea</i>	1	Anti-inflamatória Antinociceptiva	(Chaves <i>et al.</i> , 2008)
<i>C. verbenacea</i>	1 e 2	Anti-inflamatória	(Medeiros <i>et al.</i> , 2007)
<i>C. verbenacea</i>	1 e 2	Antibacteriana	(Michielin <i>et al.</i> , 2009)
<i>C. verbenacea</i>	1 e 2	Anti-inflamatória Anti-alérgica	(Passos <i>et al.</i> , 2007)
<i>C. verbenacea</i>	2 e 3	Antimicrobiana	(Carvalho <i>et al.</i> , 2004)
<i>C. curassavica</i>	1, 2, 4 e 10	Antifúngica	(Nizio <i>et al.</i> , 2015)
<i>C. africana Lam</i>	2, 5 e 7	Citotóxica	(Ashmawy, Ayoub, Eldahsan, 2020)
<i>C. globosa</i>	2 e 6	Atividade larvicida	(Menezes <i>et al.</i> , 2006)
<i>C. trichotoma</i>	2 e 9	Atividade larvicida	(Menezes, 1999)
<i>C. verbenacea</i>	2 e 6	Antibiótica	(Carvalho <i>et al.</i> , 2017)
<i>C. leucomalloides</i>	2, 6 e 7	Atividade larvicida	(Santos <i>et al.</i> , 2006)
<i>C. curassavica</i>	2 e 6	Atividade larvicida	(Santos <i>et al.</i> , 2006)
<i>C. trichotoma</i>	8	Atividade larvicida	(Menezes <i>et al.</i> , 2001b)
<i>C. verbenacea</i>	2	Citotóxica	(Pereira <i>et al.</i> , 2021)
<i>C. salicifolia</i>	11	Antibacteriana	(Menghini <i>et al.</i> , 2008)

Fonte: própria autora.

Figura 4 - Estruturas de sesquiterpenos presentes no gênero *Cordia*

Fonte: própria autora.

5 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

5.1 Métodos cromatográficos

5.1.1 Cromatografia em camada delgada (CCD)

As análises em CCD foram efetuadas em cromatoplasmas de gel de sílica 60, com indicador de fluorescência F-254 sobre suporte de alumínio da Silicycle®.

Nos procedimentos cromatográficos foram utilizados como eluentes hexano (C₆H₁₄), diclorometano (CH₂Cl₂), clorofórmio (CHCl₃), acetato de etila (AcOEt) e metanol (CH₃OH), todos de qualidade PA do fabricante Synth®, puros ou em misturas, em ordem crescente de polaridade. As cromatoplasmas analíticas foram reveladas por exposição à luz ultravioleta (UV) em comprimentos de ondas de 254 nm e 365 nm, em aparelho Botton de modelo BOIT-LUB 01 ou por imersão em solução de vanilina (C₈H₈O₃) em ácido perclórico e etanol e posteriormente, submetida a aquecimento com soprador térmico a 100°C durante alguns segundos até a coloração das substâncias ficar visível.

5.1.2 Cromatografia de adsorção em coluna (CC)

Nas cromatografias de adsorção em coluna gravitacional, a fase estacionária utilizada foi gel de sílica com granulometria 70-230 µm (gel de sílica 120) e 40-63 µm (gel de sílica 60) para cromatografia sob média pressão (*flash*), ambas da marca Merck®. As medidas de comprimentos e diâmetro das colunas foram selecionadas de acordo com as massas das amostras.

5.1.3 Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

As análises por CLAE foram realizadas em aparelho da marca SHIMADZU, modelo UFLC (*Ultra Fast Liquid Chromatograph*), equipamento com detector UV-Vis com arranjo de diodo (SPD-M20A) e um sistema de bomba ternário. Utilizou-se coluna de fase reversa, preenchidas com C-18 da marca Phenomenex® com as seguintes especificações: (2,5 x 250mm, 5 µm) analítica e (4,6 x 250 mm, 5 µm) semi-preparativa, sendo mantidas em forno ternário a 35°C. Como fase móvel foram utilizados os solventes água deionizada/ ácido trifluoroacético (TFA) 0,1%, acetonitrila (grau

CLAE) e metanol, sendo os últimos dois da marca Tedia. Os solventes metanol e acetonitrila foram filtrados em membrana de nylon com poros de 0,45 μm (Millipore). As amostras foram dissolvidas utilizados na fase móvel e filtradas em filtro do tipo PTFE/B 0,22 μm da unichro.

5.2 Métodos físicos de análise

5.2.1 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)

Os espectros de ressonância magnética nuclear de carbono-13 (RMN ^{13}C) e de hidrogênio (RMN ^1H) unidimensionais e bidimensionais foram obtidos em um espectrômetro da marca Bruker[®], modelo avance DRX-500 do Centro Nordestino de Aplicação e Uso de Ressonância Magnética Nuclear (CENAUREMN) da Universidade Federal do Ceará (UFC), operando a 500 MHz e 125 MHz para as frequências do ^1H e ^{13}C , respectivamente. Na dissolução das amostras, utilizou-se clorofórmio deuterado (CDCl_3) da marca Cambridge Isotope Laboratories. Cada amostra foi dissolvida um volume aproximado a 0,4 a 0,5 mL e acondicionada em tubos de RMN de 5 mm.

Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em partes por milhão (ppm) e referenciados para RMN ^1H pelo pico de hidrogênio pertencente às moléculas residuais não deuteradas (δ_{H} 7,27) do clorofórmio. Nos espectros de RMN ^{13}C , o pico central do carbono-13 do solvente (δ_{C} 77,23) foi utilizado como referência de deslocamento químico.

A multiplicidade dos sinais de hidrogênio nos espectros de RMN ^1H é descrita como: singlete (s), duplete (d), tripleto (t), quarteto (q), duplo duplete (dd), tripleto de duplete (td) e multiplete (m) (Silverstain, Webster, Kiemle, 2007). A técnica DEPT (*Distortionless Enhancement by Polarization Transfer*) com ângulo de nutação de 135° foi utilizada para determinar o padrão de hidrogenação dos carbonos em RMN ^{13}C , gerando sinais para CH e CH_3 com amplitude contrária aos de CH_2 . Os carbonos não hidrogenados foram caracterizados pela RMN por subtração dos sinais espectrais observados nos espectros ^{13}C -BB (*Broad Band*) e DEPT 135° .

5.3 Atividades biológicas

5.3.1 Atividade larvicida sobre *Aedes aegypti*

Alíquotas de 1,0, 2,0, 5,0, e 10,0 mg, em triplicata, dos extratos em hexano da casca (**CTCAH**), do alburno (**CTAH**), do cerne (**CTCH**) e da raiz (**CTRH**) e em etanol da casca (**CTCAE**), do alburno (**CTAE**), do cerne (**CTCE**) e da raiz (**CTRE**) de *Cordia trichotoma* foram, inicialmente, dissolvidas em 0,3 mL de dimetilsulfóxido e transferidas para um béquer de 50 mL. Posteriormente, foram adicionadas 50 larvas de terceiro estágio de *Aedes aegypti* (Gadelha, Toda, 1985) juntamente com 19,7 mL de água. Paralelamente, foram feitos testes em branco, utilizando-se água e DMSO a 1,5%. Após 24 horas foi realizada a contagem das larvas exterminadas e calculados os valores de CL₅₀ (Oliveira *et al.*, 2002). As larvas de *Aedes aegypti* foram doadas pelo Núcleo de Controle de Vetores (NUVET) da Secretaria da Saúde do Estado de Ceará.

5.3.2 Atividade citotóxica *in vitro* sobre linhagens de células tumorais humanas

Este teste foi realizado em colaboração com a professora Dra. Gardênia Carmem Gadelha Militão da Universidade Federal de Pernambuco. As linhagens HCT 116 (carcinoma colorretal), NCI-H1299 (câncer de pulmão de células não pequenas) foram plaqueadas na concentração de 1×10^5 células/mL, enquanto a linhagem K562 (leucemia mielóide crônica) foi plaqueada na concentração de $0,3 \times 10^6$. As amostras previamente dissolvidas em dimetilsulfóxido foram diluídas em série no meio RPMI (Roswell Park Memorial Institute) para obtenção das concentrações finais e adicionadas em placa de 96 poços. As placas foram incubadas por 72 horas em estufa a 5% de CO₂ a 37°C. Em seguida, foram adicionados 25 mL da solução de MTT (sal de tetrazolium) e as placas foram incubadas por 3 h.

A absorbância foi lida, após dissolução do precipitado em dimetilsulfóxido, em espectrofotômetro de placa a 595 nm. Os experimentos foram analisados segundo suas médias e respectivos intervalos de confiança no programa *GraphPad Prism*. A concentração inibitória 50% (CI₅₀) foi calculada por regressão não linear. Cada amostra foi testada em duplicata em dois experimentos

independentes utilizando como controle positivo, doxorrubicina na concentração de 25,0 µg/mL (Berridge *et al.*, 1996).

5.3.3 Ensaio de inibição da enzima acetilcolinesterase

O teste foi realizado no Laboratório de Produtos Naturais Bioativos – (LPNBio) em parceria com a professora Dra. Maria Teresa Salles Trevisan da Universidade Federal do Ceará. Este ensaio é baseado no procedimento descrito por Ellman *et al.* (1961), adaptado para CCD por Rhee *et al.* (2001). Os reagentes iodeto de acetilcolina (ATCI), enzima acetilcolinesterase (AChE) e ácido 5,5'-ditiobis-(2-nitrobenzoico (DTNB) foram adquiridos pela Sigma-Aldrich (Steinheim, Alemanha). É um método rápido e sensível para a seleção de amostras com ação anticolinesterásica, podendo ser utilizado de forma qualitativa e quantitativa, mas nesse trabalho foi utilizada somente a forma qualitativa.

A metodologia consistiu em aplicar 5 µL das soluções em metanol dos extratos hexânico e etanólico (**CTCH** e **CTCE**) do cerne, das frações resultantes da partição líquido-líquido (**CTCEH**, **CTCED** e **CTCEA**) do extrato etanólico do caule (**CTCE**) e dos metabólitos secundários isolados **CT1**, **CT2**, **CT3**, **CT4**, **CT5** e **CT6**. Vale salientar que os extratos e as frações foram testadas na concentração correspondente na concentração de 10 mg/mL, enquanto os metabólitos secundários foram testados na concentração de 1 mg/mL. Após a completa evaporação do solvente, foi borrifada uma mistura (1:1) de iodeto de acetilcolina (ATCI) 1 mmol/L com o reagente de Ellman (ácido 5,5'-ditiobis-(2-nitrobenzóico, DTNB, 1 mmol/L), deixando em repouso por 3 minutos para a secagem da placa. Em seguida, a placa cromatográfica foi borrifada com a enzima acetilcolinesterase (6,25 U/mL). A cromatoplaça foi analisada após 10 minutos da adição da enzima.

A atividade anticolinesterásica foi detectada através do método colorimétrico pela formação de um halo branco em torno dos *spots* onde foram aplicadas as amostras. Eserina na concentração de 1 mg/mL foi utilizada como controle positivo (Nascimento *et al.*, 2023).

5.4 Estudo dos constituintes fixos de *Cordia trichotoma*

5.4.1 Coleta do material vegetal

O material vegetal foi coletado em junho de 2022 no período da manhã na comunidade do Garapa em Acarape-Ce, sob as coordenadas geográficas: S 04° 12' 66,0"/ W 38° 36' 25,3", que foram registradas com o Sistema de Processamento Global (GPS). A equipe técnica responsável pela coleta foi coordenada pelo professor Dr. Edilberto Rocha Silveira do Departamento de Química Orgânica da Universidade Federal do Ceará - UFC. A exsicata preparada encontra-se depositada no Herbário Prisco Bezerra - UFC, com o número de inscrição 25165.

5.4.2 Obtenção dos extratos em hexano **CTCAH**, **CTAH**, **CTCH** e **CTRH**

Casca (2,4 kg), alburno (4,2 kg), cerne (0,5 kg) e raiz (2,1 kg) de *C. trichotoma* foram submetidos à extração por maceração com 5,0, 10,0, 2,0 e 4,0 L de hexano por 72 h, respectivamente. As tortas foram submetidas a outra extração por mais 72 h. As soluções extrativas obtidas foram filtradas e concentradas sob pressão reduzida. Foram obtidas 4,5 g (rendimento 0,18%) de **CTCAH**; 2,2 g (0,05%) de **CTAH**; 2,7 g (0,54%) de **CTCH** e 0,5 g (0,02%) de **CTRH**.

5.4.3 Obtenção dos extratos em etanol **CTCAE**, **CTAE**, **CTCE** e **CTRE**

As tortas do material vegetal das extrações com hexano foram submetidas ao processo de extração com etanol, utilizando a mesma metodologia descrita no item 5.4.2. As soluções em etanol, após concentração sob pressão reduzida resultaram em 48,4 g (rendimento 1,98%) de **CTCAE**; 7,6 g (0,16%) de **CTAE**; 7,6 g (1,52%) de **CTCE** e 43,6 g (2,07%) de **CTRE**.

5.4.4 Partição líquido-líquido do extrato etanólico do cerne e obtenção de **CTCEH**, **CTCED** e **CTCEA**

O extrato etanólico (7,6 g) do cerne de *C. trichotoma* (**CTCE**) foi solubilizado em 180 mL de MeOH / H₂O na proporção 7:3. Em seguida, realizou-se a extração com hexano (3 x 60 mL). A fase hexânica foi denominada **CTCEH**. A fase

hidrometanólica foi submetida à extração com CH_2Cl_2 (3 x 120 mL), sendo esta fase denominada **CTCED**. Posteriormente, a fase hidrometanólica foi submetida a extração com AcOEt (3 x 120 mL). Essa fase foi denominada de **CTCEA**. As frações obtidas foram tratadas com sulfato de sódio anidro e concentradas em evaporador rotativo, resultando em 1,4 g (18,4%), 3,8 g (50%) e 0,9 g (11,8%) de **CTCEH**, **CTCED** e **CTCEA**, respectivamente.

5.4.5 Fracionamento cromatográfico de CTCH e CTCEH

Inicialmente, o extrato **CTCH** foi submetido a um ensaio biológico para analisar o seu potencial larvicida sobre *Aedes aegypti*, e o mesmo mostrou-se ativo. Com base no resultado do bioensaio, o perfil cromatográfico de **CTCH** foi comparado com o de **CTCEH** por CCD. A cromatoplaça, após revelação, exibiu uma coloração cinza azulada, característica de sesquiterpenos (Wagner, Bladt, Zgainski, 1984).

Objetivando obter maior quantidade de massa e, visando isolar os constituintes bioativos, as amostras **CTCH** (3,0 g) e **CTCEH** (1,4 g) foram reunidas, obtendo uma amostra denominada **CTCEHH**. Posteriormente, **CTCEHH** (4,4 g) foi adsorvida em 5,0 g de gel de sílica e submetida a um fracionamento cromatográfico em coluna filtrante ($\varnothing = 5,0$ cm e $L = 14,0$ cm), tendo como fase estacionária 120 g de gel de sílica. A eluição procedeu em ordem crescente de polaridade (Tabela 2, pág. 36). Após esse procedimento, foram obtidas sete frações conforme descrito na Tabela 3 (pág. 36).

Tabela 2 - Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de **CTCEHH**

Frações coletadas	Eluente	Volume (mL)
1	<i>n</i> - Hexano	400
2	<i>n</i> -Hex/AcOEt 20%	400
3	<i>n</i> -Hex/AcOEt 40%	400
4	<i>n</i> -Hex/AcOEt 60%	400
5	<i>n</i> -Hex/AcOEt 80%	200
6	AcOEt	200
7	CH ₃ OH	200

Fonte: própria autora.

Tabela 3 - Frações resultantes do tratamento cromatográfico de **CTCEHH**

Frações obtidas	Códigos	Massa (mg)
1	CTCEHH-1	462,2
2	CTCEHH-2	2747,6
3	CTCEHH-3	645,6
4	CTCEHH-4	163,9
5	CTCEHH-5	18,0
6	CTCEHH-6	19,0
7	CTCEHH-7	87,0
	Total	4.143,3 (94,8%)

Fonte: própria autora.

5.4.6 Fracionamento cromatográfico de **CTCEHH-2**

A fração **CTCEHH-2** (2747,6 mg) foi adsorvida em 3,2 g de gel de sílica e acondicionada em uma coluna ($\emptyset = 5$ cm e L = 13 cm) contendo 98,0 g de gel de sílica. Foram utilizados diclorometano e acetato de etila, puros ou em misturas binárias, como eluentes (Tabela 4, pág. 37).

Após análise por cromatografia em camada delgada, as frações que apresentavam características cromatográficas semelhantes, foram reunidas conforme descrito na Tabela 5 (pág. 37).

Tabela 4 - Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de **CTCEHH-2**

Frações coletadas	Eluente	Volume (mL)
1 - 10	CHCl ₃	700
11 - 40	CHCl ₃ /AcOEt 5%	200
31 - 70	CHCl ₃ /AcOEt 50%	100
71 - 51	AcOEt	100

Fonte: própria autora.

Tabela 5 - Frações resultantes do tratamento cromatográfico de **CTCEHH-2**

Frações obtidas	Códigos	Massa (mg)
1 - 4	CTCEHH2-1	58,0
5 - 8	CTCEHH2-2	561,4
9 - 11	CTCEHH2-3	565,5
12	CTCEHH2-4	145,0
13 - 17	CTCEHH2-5	544,7
18 -29	CTCEHH2-6	421,1
30 - 33	CTCEHH2-7	80,3
34 - 41	CTCEHH2-8	151,1
42 - 51	CTCEHH2-10	113,6
	Total	2.625,7 (97,2%)

Fonte: própria autora.

5.4.7 Fracionamento cromatográfico de CTCEHH-3 e isolamento de CT7 e CT8

A fração **CTCEHH-3** (645,6 mg) foi adsorvida em 2 g de gel de sílica e acondicionada em uma coluna de vidro ($\varnothing = 21$ cm e L = 28 cm) contendo 23,0 g de gel de sílica. Foram utilizados *n*-hexano e acetato de etila, puros ou em misturas binárias, como eluentes (Tabela 6, pág. 38). Após análise por cromatografia em camada delgada (CCD) foi possível analisar o perfil das frações coletadas e reuni-las (Tabela 7, pág. 38).

Tabela 6 - Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de **CTCEHH-3**

Frações coletadas	Eluente	Volume (mL)
1- 40	<i>n</i> - Hexano	100
41 – 60	<i>n</i> -Hex/AcOEt 10%	100
61 – 70	<i>n</i> -Hex/AcOEt 20%	100
71 – 80	<i>n</i> -Hex/AcOEt 30%	100
81 – 87	<i>n</i> -Hex/AcOEt 50%	100
88 – 92	AcOEt	100

Fonte: própria autora.

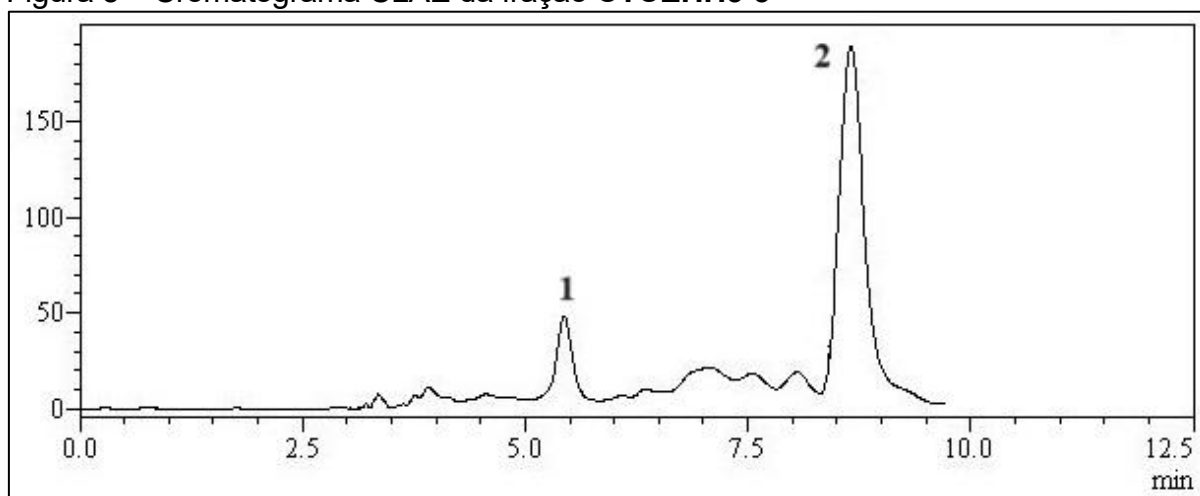
Tabela 7 - Frações resultantes do tratamento cromatográfico de **CTCEHH-3**

Frações reunidas	Códigos	Massas (mg)
1 - 44	CTCEHH3-1	21,6
45 - 64	CTCEHH3-2	69,0
65 - 70	CTCEHH3-3	35,7
71 - 80	CTCEHH3-4	112,3
81 - 87	CTCEHH3-5	47,5
88 - 92	CTCEHH3-6	133,1
	Total	419,2 (64,9 %)

Fonte: própria autora.

5.4.8 Isolamento de CT7 e CT8

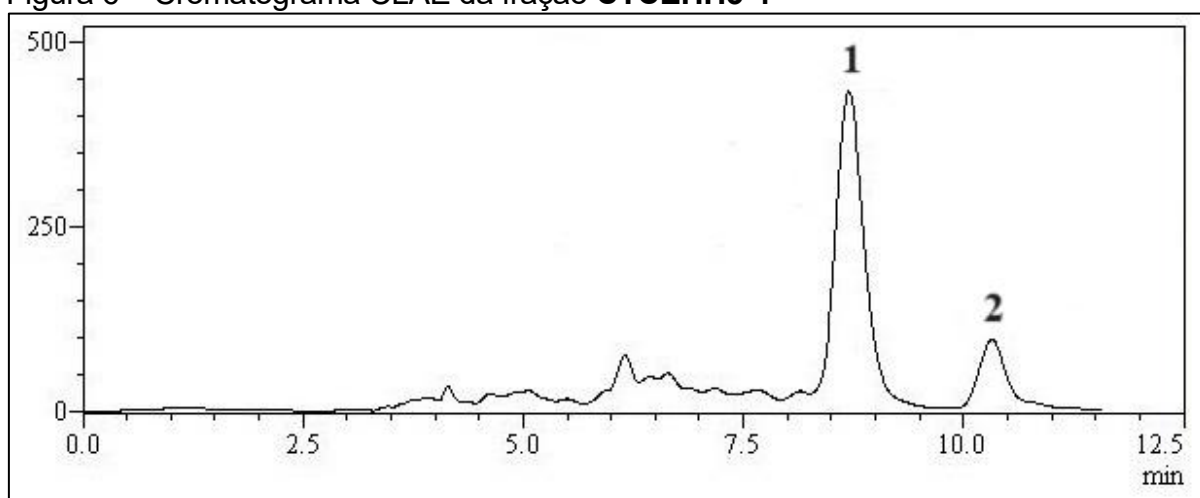
A fração **CTCEHH3-3** (35,7mg) foi dissolvida em 2 mL de H₂O / MeOH 1:1, filtrada em membrana de nylon 0,45 µm e, posteriormente, injetada em coluna semipreparativa C-18, usando como fase móvel H₂O (TFA 0,01%) / MeOH 75% no sistema isocrático, com fluxo de 4,0 mL/min, pressão de 1560 psi e volume de injeção de 200 µL, onde foram coletados o pico 1, denominado **CT7** (4,7 mg; tempo de retenção - t_R : 5,5 min) e o pico 2, denominado **CT8** (7,5 mg; t_R : 8,7 min), como pode ser observar a ilustração na Figura 5 (pág. 39).

Figura 5 – Cromatograma CLAE da fração **CTCEHH3-3**

Fonte: própria autora.

5.4.9 Isolamento de CT8

A fração **CTCEHH3-4** (112,3 mg) foi dissolvida em 2 mL de H₂O/ MeOH 1:1, filtrada em membrana de nylon 0,45 μ m e, posteriormente, injetada em coluna semipreparativa C-18, usando como fase móvel H₂O (TFA 0,01%)/ MeOH 75% no sistema isocrático, com fluxo de 4,0 mL/min, pressão de 1560 psi e volume de injeção de 200 μ L onde foi coletado o pico 1, denominado **CT8** (4,7 mg; t_R : 8,7 min), conforme mostra a representação da Figura 6.

Figura 6 – Cromatograma CLAE da fração **CTCEHH3-4**

Fonte: própria autora.

5.4.10 Fracionamento cromatográfico da CTCEHH-4 e isolamento de CT1

A fração **CTCEHH-4** (163,9 mg) foi adsorvida em 234,7 mg de sílica e submetida à cromatografia sob média pressão. O fracionamento cromatográfico foi realizado com eluição isocrática, utilizando *n*-hexano/AcOEt 50%, obtendo-se 81 frações, que após análise por cromatografia em camada delgada (CCD) foram reunidas em 4 frações conforme mostra a Tabela 8.

Tabela 8 - Dados do fracionamento cromatográfico de **CTCEHH-4**

Frações reunidas	Códigos	Massa (mg)
1 - 49	CTCEHH4-1	16,4
52 - 53	CTCEHH4-2	5,9
54 - 66	CTCEHH4-3	51,8
67 - 81	CTCEHH4-4	70,3
	Total	144,1 (83,5%)

Fonte: própria autora.

A cromatoplaça da fração **CTCEHH4-3** (51,8 mg) mostrou uma mancha de coloração azulada, característica de sesquiterpenos (Wagner, Bladt, Zgainski, 1984), após revelação com solução de vanilina em ácido perclórico e etanol. Esta amostra foi denominada **CT1**.

5.4.11 Fracionamento cromatográfico de CTCEHH2-7 e isolamento de CT6

CTCEHH2-7 (80,3 g) foi dissolvida em 1 mL de clorofórmio, acomodada em coluna ($\emptyset = 1,5$ cm e L = 28,5 cm), tendo 16,0 g de gel de sílica como fase estacionária. Foram utilizados diclorometano e acetato de etila, puros ou em misturas binárias, como eluentes (Tabela 9, pág. 41), obtendo-se 95 frações, que após análise por cromatografia em camada delgada (CCD) foram reunidas em 4 frações conforme mostra a Tabela 10 (pág. 41).

Dentre as frações reunidas a fração **CTCEHH27-4** (6,7 mg) exibiu coloração azulada, característica de sesquiterpenos, após revelação com solução de vanilina em ácido perclórico e etanol (Wagner; Bladt; Zgainski, 1984) e foi denominada **CT6**.

Tabela 9 - Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de **CTCEHH2-7**

Frações obtidas	Eluente	Volume (mL)
1 -13	CH ₂ Cl ₂ / AcOEt 4%	400,0
14 - 17	CH ₂ Cl ₂ / AcOEt 5%	100,0
18 - 25	CH ₂ Cl ₂ / AcOEt 40%	200,0
38 - 95	AcOEt	200,0

Fonte: própria autora.

Tabela 10 - Frações resultantes do tratamento cromatográfico de **CTCEHH2-7**

Frações reunidas	Códigos	Massa (mg)
1 - 13	CTCEHH27-1	17,3
14 - 61	CTCEHH27-3	44,0
62 - 80	CTCEHH27-4	6,7
81 - 95	CTCEHH27-5	14,5
	Total	76,2 (94,9%)

Fonte: própria autora.

5.4.12 Fracionamento cromatográfico de **CTCED**

A fração **CTCED** (3,6 g) foi submetida à cromatografia em coluna de gel de sílica ($\varnothing = 5,0$ cm e L= 11,0 cm), utilizando 22 g de gel de sílica. Foram utilizados diclorometano, acetato de etila e metanol, puros ou em misturas binárias, como eluentes (Tabela 11).

Tabela 11 - Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de **CTCED**

Frações obtidas	Eluente	Volume (mL)
1 -13	CH ₂ Cl ₂	400,0
14 - 17	CH ₂ Cl ₂ / AcOEt 5%	100,0
18 - 25	CH ₂ Cl ₂ / AcOEt 15%	200,0
26 - 32	CH ₂ Cl ₂ / AcOEt 30%	200,0
33 - 38	CH ₂ Cl ₂ / AcOEt 60%	200,0
39 - 51	CH ₂ Cl ₂ /CH ₃ OH 10%	200,0
52 - 54	CH ₂ Cl ₂ /CH ₃ OH 30%	100,0
55 - 56	CH ₃ OH	50,0

Fonte: própria autora.

Posteriormente, as frações foram analisadas por CCD e agrupadas por semelhanças, resultando em **16** frações, conforme descrito na Tabela 12.

Tabela 12 - Frações resultantes do tratamento cromatográfico de **CTCED**

Frações reunidas	Código	Massa (mg)
1	CTCED-1	21,4
2 – 3	CTCED-2	165,9
4 – 9	CTCED-3	316,9
10 – 23	CTCED-4	884,7
24 – 27	CTCED-5	205,5
28 – 30	CTCED-6	181,8
31 – 33	CTCED-7	159,3
34 – 35	CTCED-8	123,4
36 – 38	CTCED-9	153,8
39 – 41	CTCED-10	200,9
42	CTCED-11	58,3
43 – 45	CTCED-12	160,3
46 – 48	CTCED-13	395,3
49 – 52	CTCED-14	79,0
53 – 54	CTCED-15	182,1
55 – 56	CTCED-16	33,4
Total		3.300,0 (91,6%)

Fonte: própria autora.

5.4.13 Tratamento cromatográfico de **CTCED-4** e isolamento de **CT9** e **CT10**

A fração **CTCED-4** (884,7 mg) foi adsorvida em 1.239,9 mg de gel de sílica e submetida a um tratamento cromatográfico em uma coluna ($\varnothing = 2,5$ cm e L = 19,0 cm), utilizando 70,0 g de gel de sílica como fase estacionária e CH₂Cl₂/ AcOEt 8:2 como fase móvel. As frações obtidas após análise por cromatografia em camada delgada (CCD) foram reunidas conforme mostra a Tabela 13 (pág. 43).

Tabela 13 - Frações do fracionamento cromatográfico de **CTCED-4**

Frações reunidas	Código	Massa (mg)
1- 18	CTCED4-1	139,6
19-39	CTCED4-2	168,8
40-48	CTCED4-3	76,3
49	CTCED4-4	7,6
50-61	CTCED4-5	178,8
62	CTCED4-6	5,7
63-80	CTCED4-7	165,5
	Total	742,1 (83,88%)

Fonte: própria autora.

Dentre as frações reunidas, as frações **CTCED4-4** (7,6 mg) e **CTCED4-6** (5,7 mg) apresentaram uma mancha de coloração azulada, após revelação com solução de vanilina em ácido perclórico e etanol. Ambas foram submetidas à análise de RMN e denominadas **CT9** e **CT10**, respectivamente.

5.4.14 Tratamento cromatográfico de **CTCED-13**

A fração **CTCED-13** (395,3 mg) foi adsorvida em 456,9 mg de gel de sílica e submetida a um tratamento cromatográfico em uma coluna ($\varnothing = 2,0$ cm e $L = 18,0$ cm), utilizando 20,0 g de gel de sílica como fase estacionária e mistura de diclorometano e metanol em ordem crescente de polaridade como fase móvel (Tabela 14). Neste procedimento foram obtidas 89 frações com volumes de aproximadamente 5 mL. As frações foram analisadas por CCD e agrupadas por semelhanças, resultando em 7 conjuntos de frações (Tabela 15, pág. 44).

Tabela 14 - Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de **CTCED-13**

Frações coletadas	Eluente	Volume (mL)
1 - 25	CH ₂ Cl ₂ / CH ₃ OH 5%	300,0
25 - 50	CH ₂ Cl ₂ / CH ₃ OH 10%	150,0
51 - 89	CH ₂ Cl ₂ / CH ₃ OH 20%	200,0

Fonte: elaborada pela autora.

Tabela 15 - Frações resultantes do tratamento cromatográfico de **CTCED- 13**

Frações reunidas	Código	Massa (mg)
1 – 30	CTCED13-1	67,3
31 – 40	CTCED13-2	42,1
41 – 51	CTCED13-3	27,4
52 – 72	CTCED13-4	48,8
73 – 76	CTCED13-5	30,2
77 – 84	CTCED13-6	49,7
85 – 89	CTCED13-7	26,7
Total		297,2 (75,25 %)

Fonte: própria autora.

5.4.15 Tratamento cromatográfico CTCED13-2 e isolamento de CT5

A fração **CTCED13-2** (42,1 mg) foi submetida a uma coluna cromatográfica ($\varnothing = 1,5$ cm e L = 15,0 cm) utilizando 9,8 g de gel de sílica como fase estacionária. O sistema de eluição ocorreu de forma isocrática utilizando AcOEt. O procedimento resultou em quatro grupos de frações (Tabela 16).

Tabela 16 - Frações resultantes do tratamento cromatográfico de **CTCED13-2**

Frações reunidas	Código	Massa (mg)
1 – 9	CTCED132-1	7,8
10 – 16	CTCED132-2	6,3
17 – 53	CTCED132-3	16,9
54 – 67	CTCED132-4	3,7
Total		31,0 (73,6%)

Fonte: própria autora.

Na cromatoplaça, a fração **CTCED132-2** (6,3 mg) exibiu uma única mancha de coloração azul, após revelação com solução de vanilina em ácido perclórico e etanol. Esta fração apresentou-se como uma resina amarelada e foi denominada **CT5**.

5.4.16 Tratamento cromatográfico CTCED13-6 e isolamento de CT4

A fração **CTCED13-6** (49,7 mg) foi adsorvida em 10,5 mg de gel de sílica e submetida a um tratamento cromatográfico em uma coluna ($\varnothing = 1,5$ cm e L = 15,0 cm), utilizando 25 g de gel de sílica. Foi utilizado acetato de etila (300 mL), como eluente. As frações foram coletadas, com fluxo de aproximadamente 15 gotas por minuto, com volumes de aproximadamente 4,0 mL, totalizando 113 frações, que após análise por cromatografia em camada delgada (CCD) foram reunidas em 5 frações (Tabela 17).

Tabela 17 - Frações resultantes do tratamento cromatográfico de **CTCED13-6**

Frações reunidas	Código	Massa (mg)
1 – 20	CTCED136-1	4,0
21 – 22	CTCED136-2	3,1
23 – 42	CTCED136-3	6,5
43 – 55	CTCED136-4	5,5
56 – 113	CTCED136-5	13,2
	Total	32,3 (65%)

Fonte: própria autora.

Destas, a fração **CTCED136-3** (6,5 mg) foi submetida à análise por RMN e denominada **CT4**.

5.4.17 Tratamento cromatográfico de CTCED-9 e isolamento de CT2

A fração **CTCED-9** (153,8 mg) foi adsorvida em 405,0 mg de gel de sílica e acondicionada em uma coluna ($\varnothing = 2,0$ cm e L = 15,0 cm) sobre 15,0 g de gel de sílica. A eluição ocorreu de forma isocrática utilizando 300 mL de $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 4%.

Após análise por cromatografia em camada delgada (CCD), as frações que apresentavam características cromatográficas semelhantes, foram reunidas conforme mostra a Tabela 18 (pág. 46).

Tabela 18 - Frações resultantes do tratamento cromatográfico de **CTCED-9**

Frações reunidas	Código	Massa (mg)
1 - 27	CTCED9-1	55,0
28 - 36	CTCED9-2	13,4
37 - 56	CTCED9-3	19,1
57 - 119	CTCED9-4	10,2
	Total	105,5 (68,6%)

Fonte: própria autora.

Dentre as frações reunidas, a fração **CTCED9-2** (13,4 mg), após análise por CCD, mostrou uma única mancha de coloração azul violeta, característica de sesquiterpenos, após revelação com solução de vanilina em ácido perclórico e etanol (Wagner, Bladt, Zgainski, 1984), sendo denominada **CT2**.

5.4.18 Tratamento cromatográfico CTCED-6 e isolamento de CT3

A fração **CTCED-6** (181,8 mg) foi adsorvida em 20,0 g de gel de sílica e acondicionada em uma coluna ($\varnothing = 2,0$ cm e L = 23,0 cm) utilizando 23,2 g de gel de sílica. A eluição ocorreu de forma isocrática utilizando *n*-Hex/ AcOEt 50% (100 mL). Após análise por cromatografia em camada delgada, as frações que apresentavam características cromatográficas semelhantes foram reunidas (Tabela 19).

Tabela 19 - Dados referentes ao fracionamento cromatográfico de **CTCED-6**

Frações reunidas	Código	Massa (mg)
1 - 39	CTCED6-1	2,5
40 - 46	CTCED6-2	5,7
47 - 60	CTCED6-3	3,2
61 - 89	CTCED6-4	26,3
90 - 111	CTCED6-5	30,2
112 - 123	CTCED6-6	20,7
	Total	111,3 (61,5 %)

Fonte: própria autora.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Determinação estrutural dos constituintes fixos de *C. trichotoma*

6.1.1 Determinação estrutural de CT1

O composto **CT1** (51,8 mg), isolado a partir do tratamento cromatográfico do cerne de *Cordia trichotoma*, conforme procedimento descrito no item **5.4.10** (pág. 40), foi obtido na forma de uma resina amarelada solúvel em CHCl_3 .

A análise do espectro de RMN ^1H (Figura 10, pág. 53) de **CT1** mostrou quatro sinais referentes a hidrogênios metílicos em δ_{H} 1,67; 1,06; 0,91 e 0,77, sendo os sinais em δ_{H} 1,67 (s, H-15) e δ_{H} 1,06 (s, H-14) característicos de metilas ligadas a carbonos olefínicos e a carbonos oxigenados, respectivamente (Silverstain, Webster, Kiemle, 2007). Os dupletos em δ_{H} 0,91 ($J = 7,0$; H-13) e 0,77 ($J = 7,0$; H-12), juntamente com o sinal em δ_{H} 2,14 (m, H-11) indicam um grupamento isopropila (Pavia *et al.*, 2015). O sinal em δ_{H} 5,49, simpleto largo, corresponde a um hidrogênio ligado a carbono insaturado sp^2 . Os demais sinais indicam a característica alifática de **CT1**.

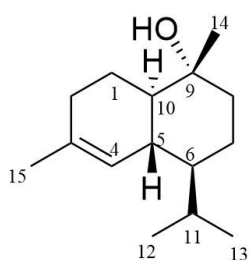
O espectro de RMN ^{13}C -BB (Figura 11, pág. 53) de **CT1** exibiu 15 linhas espectrais correspondentes a quinze átomos de carbono, característicos de um terpenoide, do tipo sesquiterpeno (C15). A análise comparativa entre os espectros de ^{13}C -BB e ^{13}C -DEPT 135° (Figura 11, pág. 53) permitiu deduzir o padrão de hidrogenação dos carbonos, tornando possível identificar quatro carbonos metílicos em δ_{C} 15,3 (C-13), 20,9 (C-14), 21,7 (C-12) e 24,0 (C-15); quatro carbonos metilênicos em δ_{C} 22,2 (C-7), 22,9 (C-1), 30,9 (C-2) e 42,4 (C-8); quatro carbonos metínicos em δ_{C} 26,2 (C-11), 40,1 (C-5), 46,9 (C-6) e 50,2 (C-10) e um carbono olefínico hidrogenado em δ_{C} 122,5 (C-4). A diferença entre as duas técnicas revelou a existência de dois sinais de carbonos não hidrogenados, um sp^2 em δ_{C} 135,1 (C-3) e um outro carbono do tipo sp^3 oxigenado em δ_{C} 72,6 (C-9) (Tabela 20, pág. 51). A combinação dos dados espectrocópicos de **CT1** levou à dedução da fórmula molecular $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}$.

Uma pesquisa na literatura para esta fórmula molecular mostrou compostos com diferentes estereoquímicas. Vale salientar que as informações fornecidas pela análise dos dados de RMN ^{13}C de **CT1** comparados aos registrados na literatura para

os compostos **A** = α -cadinol; **B** = τ -cadinol (Menezes, 2005); **C** = δ -cadinol, **D** = τ -muurolol e **E** = amorf-4en-10 β -ol (Ladwig *et al.*, 2023) permitiu observar algumas diferenças nos deslocamentos químicos, conforme mostra a Tabela 21 (pág. 52). Nesse contexto, para melhor visualização e interpretação dos resultados, foram plotados gráficos (Figura 9, pág. 50), correlacionando os valores experimentais dos deslocamentos químicos de RMN ^{13}C de **CT1** e dos compostos de **A – E** registrados na literatura. A confirmação estrutural e estereoquímica de **CT1** foi inferida com base na menor diferença dos desvios químicos e maior similaridade no gráfico de regressão linear conforme observado na Figura 9 (pág. 50), dessa forma, **CT1** (Figura 8) trata-se do composto α -cadinol (**A**).

α -Cadinol (**CT1**) já havia sido isolado do cerne da espécie em estudo (Menezes, 2005) e do cerne de *Taiwania cryptomerioides* e exibiu e atividade antiácara contra *Dermatophagoides pteronyssinus* e *Dermatophagoides farinae* (Chang *et al.*, 2001a). Em outros estudos ainda são relatadas atividades antitermítica sobre *Coptotermes formosanus* (Chang *et al.*, 2001b), antifúngica (Wu *et al.*, 2005) e inibitória da enzima conversora da angiotensina (ECA) (Tripathi, Gupta, Gautam, 2022).

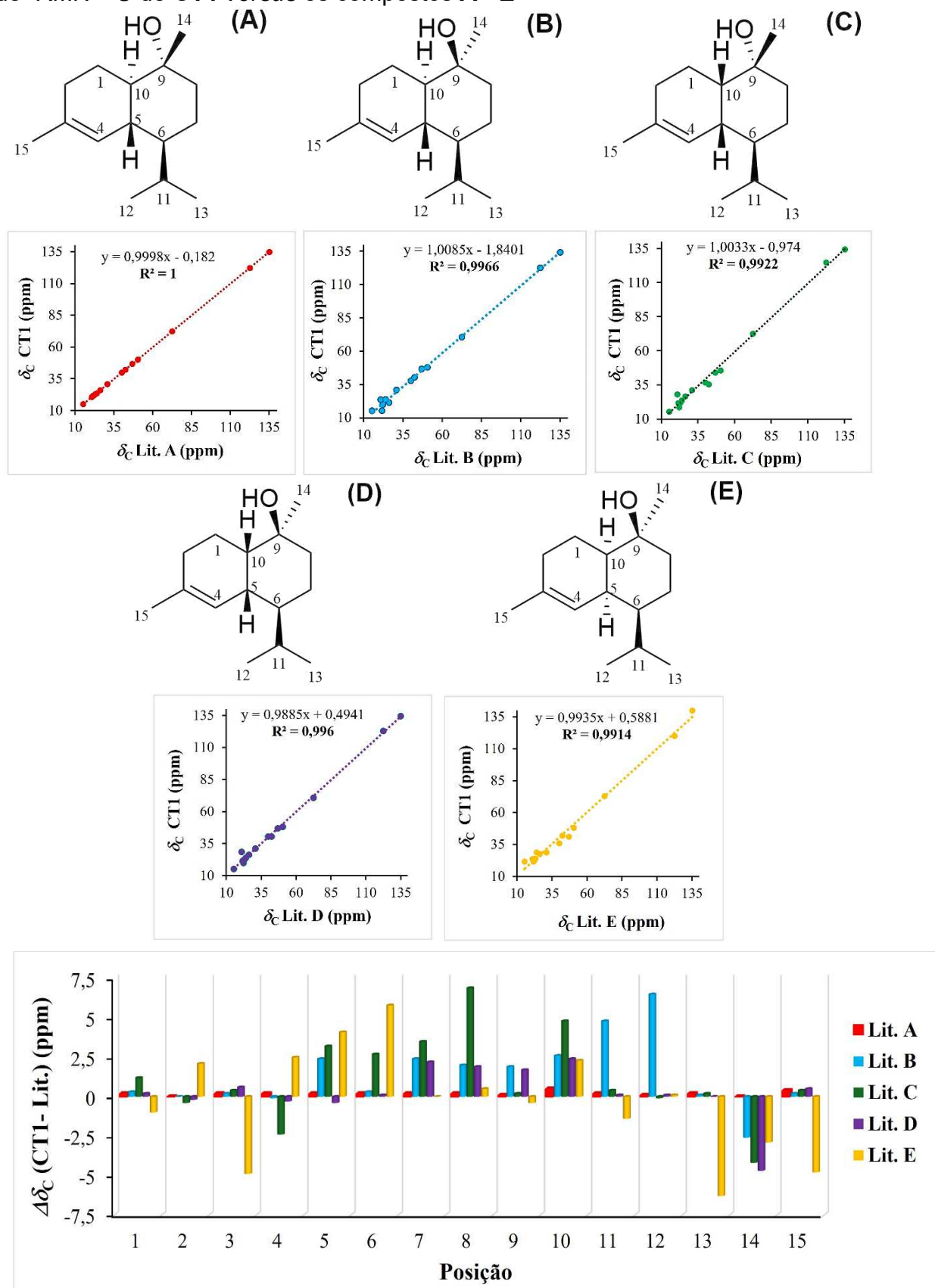
Figura 8 – Representação estrutural de **CT1**



α -cadinol

Fonte: própria autora

Figura 9 – Representação estrutural, análise de regressão e desvio químico dos dados de RMN ^{13}C de **CT1** versus os compostos **A - E**



Fonte: própria autora.

Tabela 20 - Dados de RMN ^{13}C e ^1H de **CT1** comparados com o α -cadinol

CT1				Lit* A - α -cadinol		
C	Tipo	δ_c	δ_H (mult., J em Hz)	A δ_c	δ_H (mult., J em Hz)	$^a\Delta\delta_c$ (ppm)
1	CH ₂	22,9	α 1,89; m β 1,21; m	22,7	α 1,96; m β 1,20; m	0,2
2	CH ₂	30,9	1,97; m	30,9	1,96; m	0,0
3	C	135,1	-	134,9	-	0,2
4	CH	122,5	5,49; sl	122,3	5,47; sl	0,2
5	CH	40,1	1,67; m	39,9	1,68; m	0,2
6	CH	46,9	1,04; m	46,7	1,03; m	0,2
7	CH ₂	22,2	1,58; dl (13,6)	22,0	1,58; dl (13,4)	0,0
8	CH ₂	42,4	β 1,78; dt (11,2; 3,1) α 1,39; dt (11,2; 3,1)	42,2	β 1,77; dt (12,3; 3,2) α 1,39; dt (12,3; 3,2)	0,0
9	C	72,6	-	72,4	-	0,2
10	CH	50,2	1,21; m	50,0	1,20	0,2
11	CH	26,2	2,14; m	26,0	2,13; dq	0,4
12	CH ₃	21,7	0,77; d (7,0)	21,8	0,73; d (7,2)	0,1
13	CH ₃	15,3	0,91; d (7,0)	15,1	0,89; d (7,2)	0,2
14	CH ₃	20,9	1,06; s	21,0	1,07; s	0,1
15	CH ₃	24,0	1,67; s	23,6	1,64; s	0,4

Fonte: própria autora.

*Menezes, 2005

 $^a\Delta\delta_c$ (ppm) – Diferença de δ_c **CT1** com δ_c Lit. α -cadinol.

Tabela 21 – Dados de RMN ^{13}C e desvios químicos de **CT1** comparados com os dados descritos na literatura para os compostos **A – E**, todos em CDCl_3

C	δ CT1	**Lit. δ B	^b $\Delta\delta$ (ppm)	**Lit. δ C	^c $\Delta\delta$ (ppm)	**Lit. δ D	^d $\Delta\delta$ (ppm)	**Lit. δ E	^e $\Delta\delta$ (ppm)
1	22,9	22,6	0,3	21,7	1,2	22,7	0,2	23,9	-1,0
2	30,9	30,9	0,0	31,3	-0,4	31,1	-0,2	28,8	2,1
3	135,1	134,3	0,2	134,5	0,4	134,5	0,6	140,0	-4,9
4	122,5	122,6	0,1	124,8	2,4	122,8	-0,3	120,0	2,5
5	40,1	37,7	2,4	36,9	3,2	40,5	-0,4	36,0	4,1
6	46,9	46,6	0,3	44,2	2,7	46,8	0,1	41,1	5,8
7	22,2	19,8	2,4	18,7	3,5	20,0	2,2	22,2	0,0
8	42,4	40,3	2,0	35,5	6,9	40,5	1,9	41,9	0,5
9	72,5	70,6	1,9	72,7	-0,2	70,8	1,7	72,9	-0,4
10	50,5	47,9	2,6	45,7	4,8	48,1	2,4	48,2	2,3
11	26,2	21,4	4,8	26,6	-0,4	26,3	-0,1	27,6	-1,4
12	21,7	15,2	6,5	21,8	-0,1	21,6	0,1	21,6	0,1
13	15,3	15,2	0,1	15,5	-0,2	15,3	0,0	21,6	-6,3
14	20,9	23,5	2,6	28,1	-4,2	28,6	-4,7	23,8	-2,9
15	24,0	23,8	0,2	23,8	0,4	23,9	0,5	28,8	-4,8

Fonte: própria autora.

* Lit. **B** – Menezes, 2005; ** Lit. **C, D e E** - Ladwig *et al.*, 2023

^a $\Delta\delta$ (ppm) – Diferença de δ **CT1** com δ Lit. α -cadinol (A).

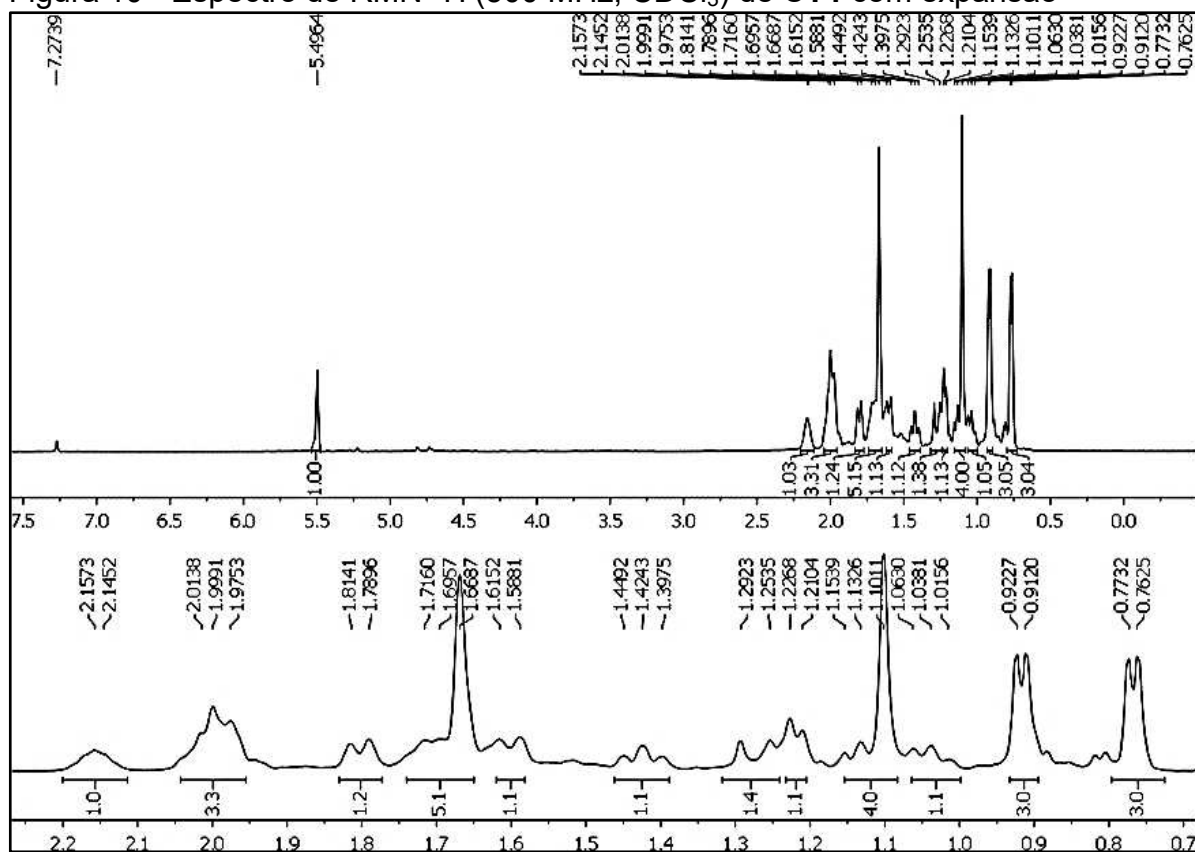
^b $\Delta\delta$ (ppm) – Diferença de δ **CT1** com δ Lit. τ -cadinol (B).

^c $\Delta\delta$ (ppm) - Diferença de δ **CT1** com δ Lit. δ -cadinol (C).

^d $\Delta\delta$ (ppm) – Diferença de δ **CT1** com δ Lit. τ -muurolol (D).

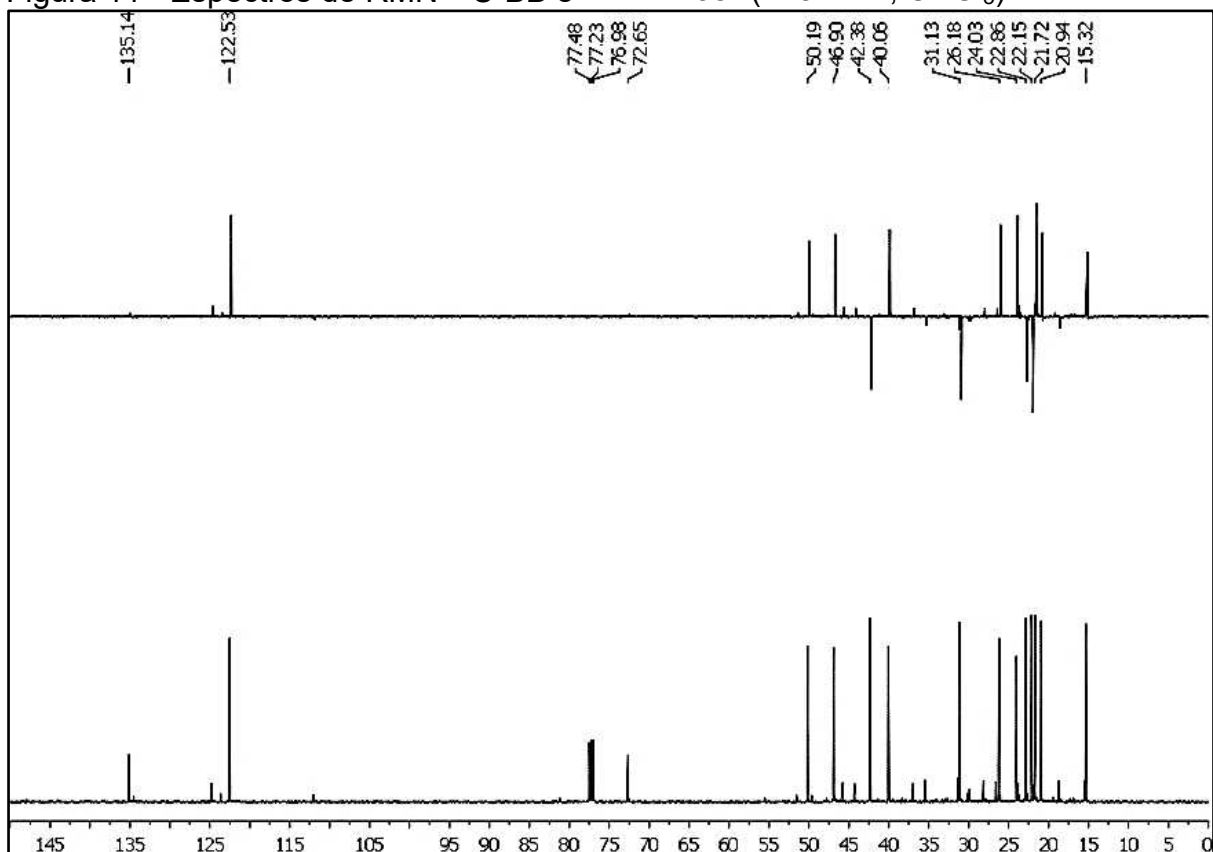
^e $\Delta\delta$ (ppm) – Diferença de δ **CT1** com δ Lit. amorf-4en-10 \square -ol (E).

Figura 10 - Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de CT1 com expansão



Fonte: própria autora.

Figura 11 - Espectros de RMN ^{13}C -BB e DEPT 135° (125 MHz, CDCl_3) de CT1



Fonte: própria autora.

6.1.2 Determinação estrutural de CT2

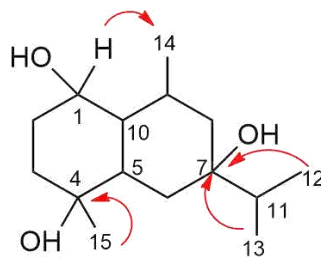
O composto denominado **CT2** (13,4 mg), obtido a partir da fração diclorometano da partição líquido-líquido do extrato etanólico do cerne, conforme mostra o tratamento cromatográfico descrito no item **5.4.17** (pág. 45), apresentou-se na forma de resina amarelada, solúvel em CHCl_3 .

De modo análogo ao do composto **CT1**, o espectro de RMN ^1H de **CT2** (Figura 15, pág. 60) exibiu sinais para quatro grupos metilas, dos quais, dois são dupletos em δ_{H} 0,96 ($J = 6,7$ Hz; H-12) e δ_{H} 0,95 ($J = 6,7$ Hz; H-13), que associados ao sinal em δ_{H} 1,56 (m, H-11), indicam um grupamento isopropila, assim como a metila singleto em δ_{H} 1,14 (C-15) está associada a carbono oxigenado (Pavia *et al.*, 2015). Diferindo de **CT1** foi observado um sinal de hidrogênio em δ_{H} 3,30 (dd, $J = 9,6; 4,8$ Hz; H-1) ligado a carbono oximetínico (Tabela 22, pág. 57).

A análise do espectro de RMN ^{13}C (Figura 16, pág. 59) em associação com análise do experimento de HSQC (Figura 17, pág. 60) permitiram assinalar o padrão de hidrogenação de **CT2**, como tendo, quatro carbonos metílicos; cinco carbonos metilênicos, três carbonos metínicos, sendo um oxigenado em δ_{C} 79,6 (C-1) e três sinais de carbonos não hidrogenados, sendo dois deles oxigenados em δ_{C} 71,8 (C-4) e 74,0 (C-7), deste modo, a provável fórmula molecular de **CT2** foi estabelecida como $\text{C}_{15}\text{H}_{28}\text{O}_3$.

As posições dos três carbonos oxigenados, bem como a do grupo isopropila foram estabelecidas pela análise do espectro de HMBC (Figura 18, pág. 60), através das correlações entre os sinais dos hidrogênios metílicos em δ_{H} 0,96 (H-12) e 0,95 (H-13) do grupo isopropila com o carbono em δ_{C} 74,0 (C-7), bem como, da metila em δ_{H} 1,14 (H-15) com o carbono em δ_{C} 71,8 (C-4). O carbono carbinólico em δ_{C} 71,8 foi posicionado em C-1 através das correlações do seu hidrogênio em δ_{H} 3,30 (H-1) com a metila em δ_{C} 11,8 (C-14), a qual está ligada em (C-10) (Figura 12, pág. 55). Essas deduções permitiram concluir a estrutura parcial de **CT2**, como sendo um sesquiterpeno de esqueleto eudesmano.

Figura 12 – Estrutura com as principais correlações observadas no HMBC para **CT2**



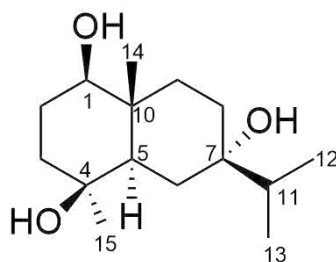
Fonte: própria autora.

Uma consulta detalhada na literatura evidenciou três estereoisômeros como prováveis estruturas para **CT2**: $1\beta,4\beta,7\alpha$ -trihidroxiudesmano (**A**), $1\beta,4\alpha,7\alpha$ -trihidroxiudesmano (**B**) e $1\beta,4\beta,7\beta$ -trihidroxiudesmano (**C**) (Wang *et al.*, 2007). (Figura 14, pág. 56). Observou-se ao analisar os três isômeros, que os compostos **A** e **B** são epímeros em C-4, apresentando configurações (*S*) e (*R*), respectivamente. Por outro lado, os compostos **A** e **C** mostram uma relação epimérica em C-7, com configuração *R* e *S*, respectivamente.

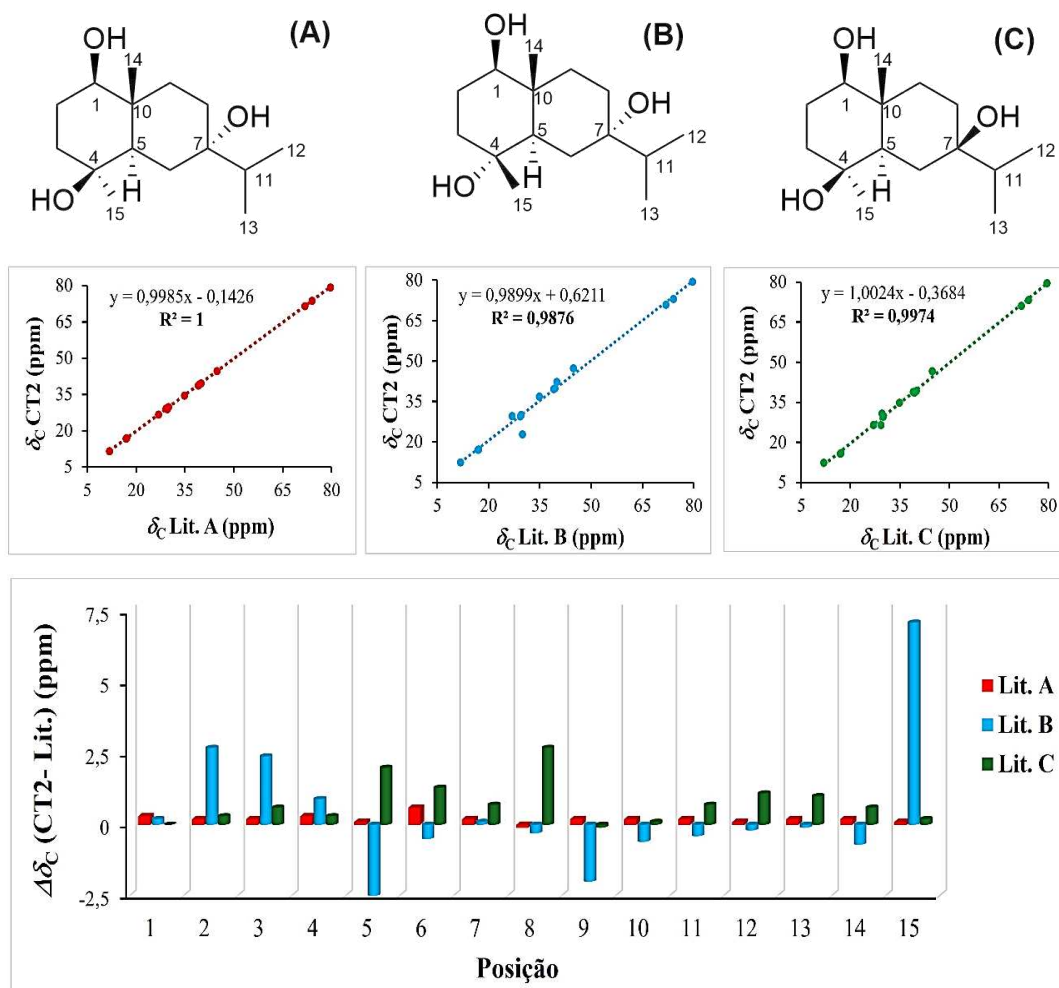
Notavelmente, conforme foi mostrado em **CT1**, a estereoquímica de **CT2** foi deduzida através dos gráficos de variação dos desvios químicos com os compostos **A**, **B** e **C** (Tabela 23, pág. 58), bem como, pela similaridade no gráfico de regressão linear (Figura 14, pág. 56), inferindo que **CT2** (Figura 13, pág. 56) apresenta estereoquímica e dados de RMN similares aos do composto $1\beta,4\beta,7\alpha$ -trihidroxiudesmano (**A**) (Wang *et al.*, 2007).

Este composto já foi isolado do cerne de *Cordia trichotoma* (Menezes, 2005), das raízes de *Homalonema aromatica* (Sung *et al.*, 1992), dos rizomas de *Homalonema pendula* (Nguyen *et al.*, 2022), das partes aéreas de *Homalonema occulta* (Wang *et al.*, 2007; Hu *et al.*, 2008), do caule de *Magnolia fargesii* (Jung *et al.*, 1997) e do caule de *Kadsura heteroclita* (Cao *et al.*, 2019). Este composto exibiu atividade citotóxica em adenocarcinoma de pulmão humano A549 (Zhao *et al.*, 2014), atividade antibacteriana contra *Mycobacterium tuberculosis* e *Shigella flexneri* (Wang *et al.*, 2007) e atividade anti-osteoporose (Nguyen *et al.*, 2023).

Figura 13 - Estrutura sugerida para CT2

*1β,4β,7α*-trihidroxiudesmano

Fonte: própria autora.

Figura 14 – Representação estrutural, análise de regressão e desvio químico dos dados de RMN ¹³C de CT2 versus os compostos A - C

Fonte: própria autora.

Tabela 22 – Dados dos deslocamentos químicos de RMN ^{13}C e ^1H de **CT2** comparados com os dados descritos na literatura para $1\beta,4\beta,7\alpha$ -trihidroxiudesmano, ambos em CDCl_3

CT2			Lit* - $1\beta,4\beta,7\alpha$ -trihidroxiudesmano	
C	Tipo	δ_c	δ_H (mult., J em Hz)	δ_c
1	CH	79,6	3,30; dd (9,6; 4,8)	79,6
2	CH ₂	26,9	1,42; m / 1,47; m	26,8
3	CH ₂	39,9	1,66; m / 1,71; m	39,3
4	C	71,8	-	71,2
5	CH	44,8	1,72; m	46,7
6	CH ₂	29,5	1,36; m / 1,37; m	30,8
7	C	74,0	-	74,3
8	CH ₂	26,4	1,61; m / 1,82; m	26,5
9	CH ₂	34,8	1,62; m / 1,66; m	36,2
10	C	39,0	-	38,9
11	CH	39,4	1,56; m	28,7
12	CH ₃	16,9	0,96; (d, 6,7)	15,8
13	CH ₃	17,1	0,95; (d, 6,7)	16,1
14	CH ₃	11,8	0,94; s	12,4
15	CH ₃	29,9	1,14; s	29,7

Fonte: própria autora.

*Wang *et al.*, 2007

Tabela 23 – Dados de RMN ^{13}C e desvios químicos de **CT2** comparados com os dados descritos na literatura para os compostos **A – C**, todos em CDCl_3

C	δ CT2	δ Lit. A*	$\Delta\delta$ (ppm) ^a	δ Lit. B*	$\Delta\delta$ (ppm) ^b	δ Lit. C*	$\Delta\delta$ (ppm) ^c
1	79,6	79,3	0,3	79,4	0,2	79,6	0,0
2	26,9	26,7	0,2	29,6	2,7	26,6	0,3
3	39,9	39,7	0,2	42,3	2,4	39,3	0,6
4	71,8	71,5	0,3	70,9	0,9	71,2	0,3
5	44,8	44,7	0,1	47,3	-2,5	46,7	2,0
6	29,5	28,9	0,6	30,0	-0,5	30,8	1,3
7	74,0	73,8	0,2	73,1	0,1	73,3	0,7
8	29,2	29,3	-0,1	29,5	-0,3	26,5	2,7
9	34,8	34,6	0,2	36,8	-2,0	34,9	-0,1
10	39,0	38,8	0,2	39,6	-0,6	38,9	0,1
11	39,4	39,2	0,2	39,9	-0,4	38,7	0,7
12	16,9	16,8	0,1	17,1	-0,2	15,8	1,1
13	17,1	16,9	0,2	17,2	-0,1	16,1	1,0
14	11,8	11,6	0,2	12,5	-0,7	12,4	0,6
15	29,9	29,8	0,1	22,8	7,1	29,7	0,2

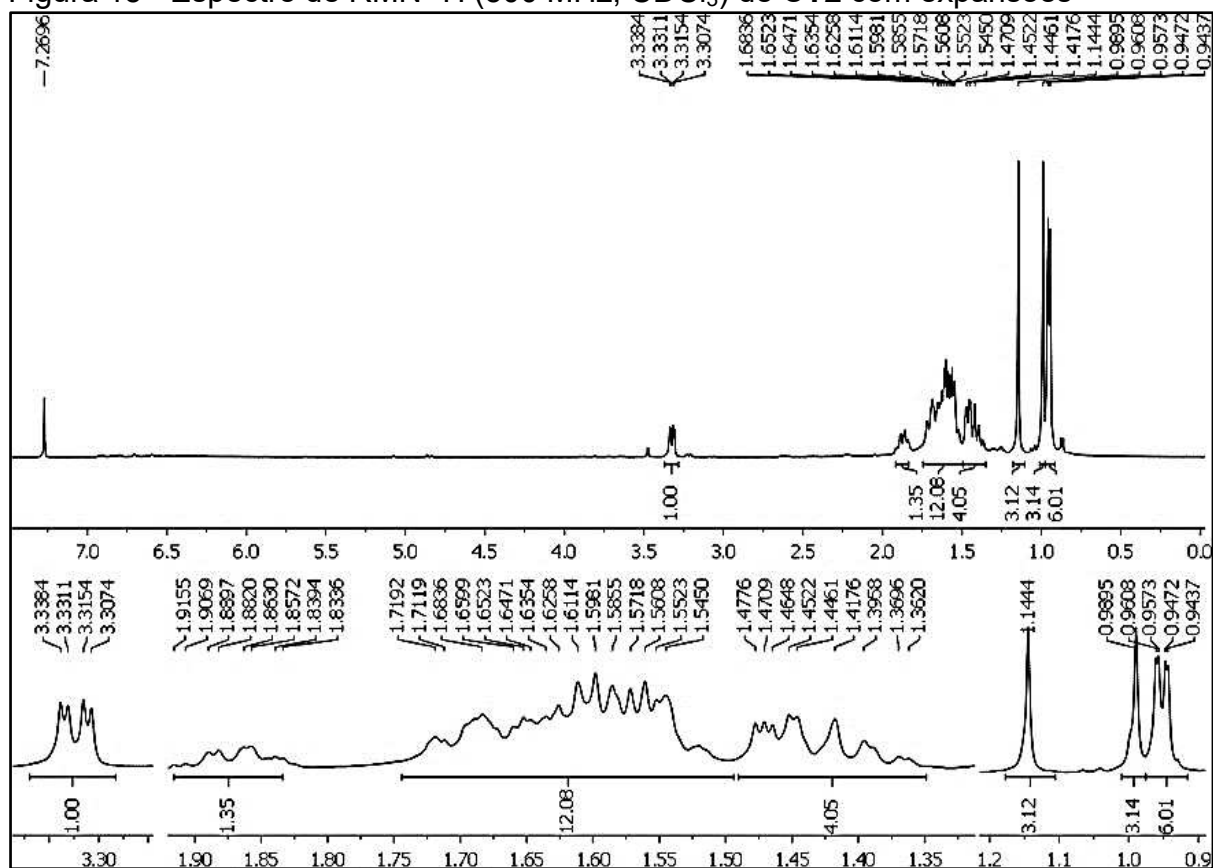
Fonte: própria autora.

*Lit **A**, **B** e **C** - Wang *et al.*, 2007

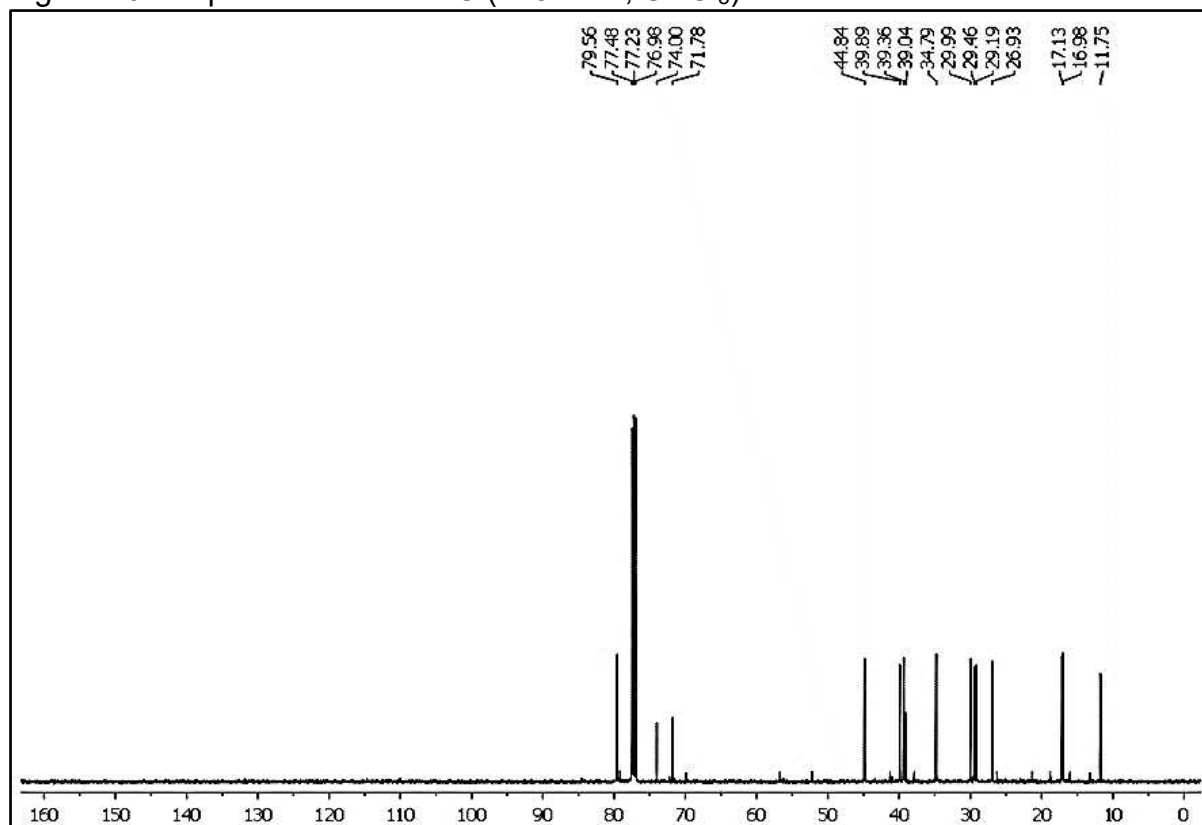
^a $\Delta\delta$ (ppm) – Diferença de δ **CT2** com δ Lit. $1\beta,4\beta,7\alpha$ -trihidroxiudesmano (A)

^b $\Delta\delta$ (ppm) – Diferença de δ **CT2** com δ Lit. $1\beta,4\alpha,7\alpha$ -trihidroxiudesmano (B)

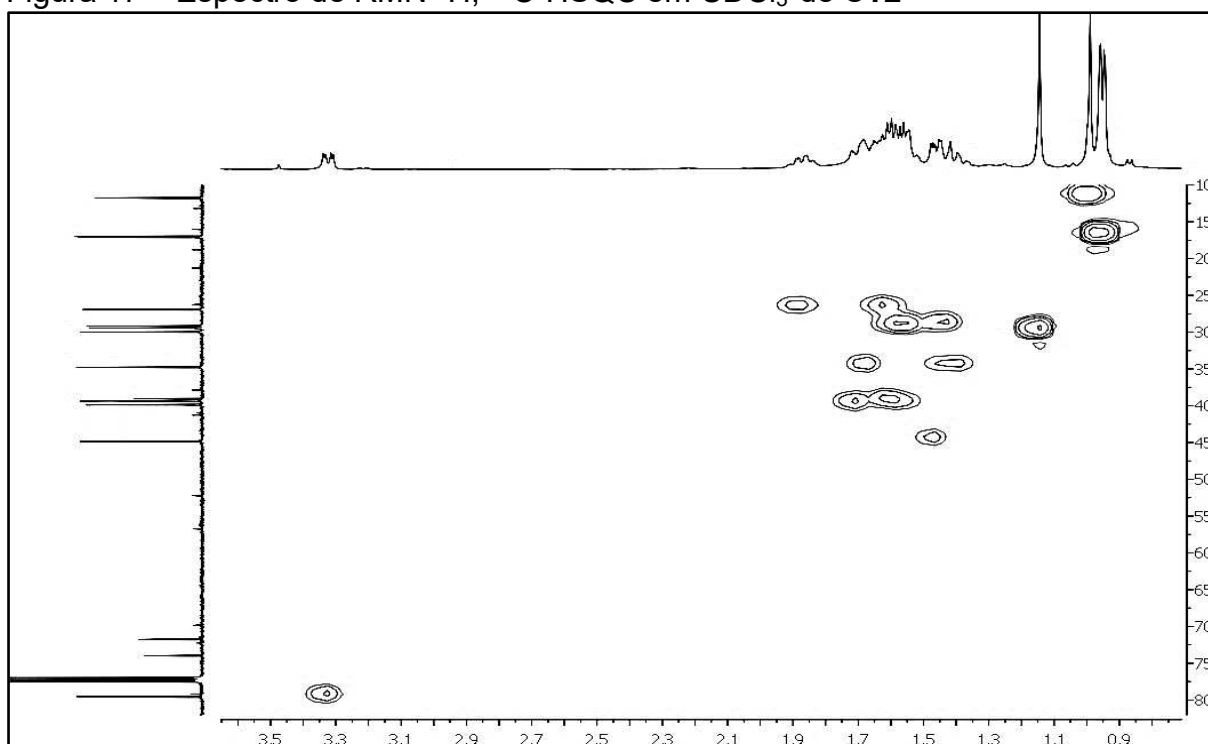
^c $\Delta\delta$ (ppm) - Diferença de δ **CT2** com δ Lit. $1\beta,4\beta,7\beta$ -trihidroxiudesmano (C)

Figura 15 - Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de **CT2** com expansões

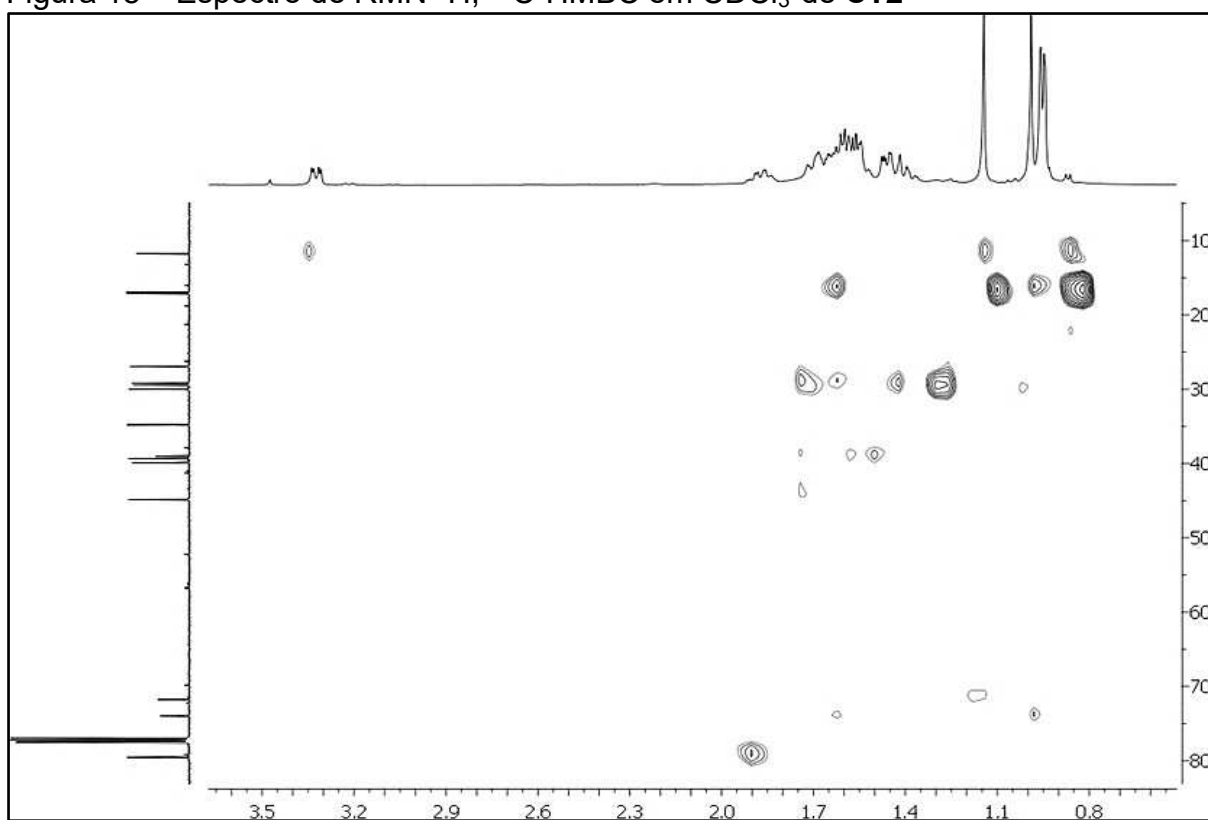
Fonte: própria autora.

Figura 16 - Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de **CT2**

Fonte: própria autora.

Figura 17 – Espectro de RMN ^1H , ^{13}C -HSQC em CDCl_3 de **CT2**

Fonte: própria autora.

Figura 18 – Espectro de RMN ^1H , ^{13}C -HMBC em CDCl_3 de **CT2**

Fonte: própria autora.

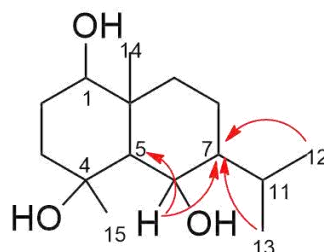
6.1.3 Determinação estrutural de CT3

Sucessivos tratamentos cromatográficos em gel sílica da fração diclorometano da partição líquido-líquido do extrato etanólico do cerne de *Cordia trichotoma* resultou no isolamento de **CT3** (5,7 mg), uma resina incolor, solúvel em CH_3Cl_3 (item **5.4.18**, pág. 46).

Os dados espectrais de RMN ^1H e ^{13}C (Figuras 21 e 22, pág. 64) (Tabela 24, pág. 63) de **CT3** mostraram-se bastante semelhantes aos de **CT2**, tratando-se de um sesquiterpeno de esqueleto eudesmano. O espectro de RMN ^1H de **CT3** apresentou os mesmos sinais relativos a um grupo isopropila em C-7 e duas hidroxilas em C-1 e C-4, respectivamente, mas diferindo do espectro de **CT2** por apresentar um sinal de hidrogênio em δ_{H} 4,60 (t, $J = 12,0$).

Através da análise dos experimentos bidimensionais de HSQC e HMBC (Figuras 23 e 24, pág. 65), foram observadas algumas correlações importantes para elucidar a estrutura de **CT3**. As correlações entre os sinais dos hidrogênios metílicos em δ_{H} 0,91 (H-12) e 0,89 (H-13) do grupo isopropila com o carbono em δ_{C} 49,7 (C-7) (Figura 19) evidenciaram que este grupo está ligado em um carbono metínico, diferindo-se de **CT2**. Outra diferença observada foi a correlação do sinal do hidrogênio em δ_{H} 4,60 com o sinal em δ_{C} 69,3 (C-6) via HSQC e deste com os carbonos em δ_{C} 52,4 (C-5) e δ_{C} 49,7 (C-7) via HMBC, confirmando a outra hidroxila em C-6. Portanto, **CT3** (Figura 20, pág. 62) trata-se de um isômero de posição de **CT2** (Figura 13, pág. 56).

Figura 19 – Correlações observadas no HMBC para a estrutura proposta de **CT3**

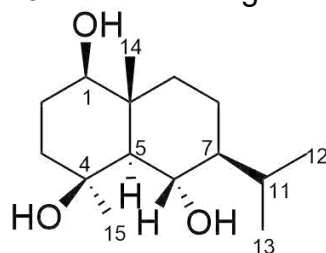


Fonte: própria autora.

Com base nas informações descritas acima, aliadas à revisão bibliográfica, concluiu-se que o composto **CT3** (Figura 20) é $1\beta,4\beta,6\alpha$ -trihidroxiudesmano (Hu *et al.*, 2008).

Vale salientar que **CT3** foi isolado do cerne *Cordia trichotoma* (Menezes, 2005), das partes aéreas de *Homalonema occulta* (Wang *et al.*, 2007; Hu *et al.*, 2008) e dos rizomas de *Homalonema pendula* (Nguyen *et al.*, 2022). Este composto apresentou efeito estimulante na proliferação e diferenciação de cultura de osteoblasto (Hu *et al.*, 2008), citotóxica em adenocarcinoma de pulmão humano A549 (Zhao *et al.*, 2014) e ação antibacteriana contra *Shigella dysenteriae*, *Shigella sonnei*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Streptococcus* α -hemolítico e *Streptococcus pneumoniae* (Wang *et al.*, 2007).

Figura 20 - Estrutura sugerida para **CT3**



$1\beta,4\beta,6\alpha$ -trihidroxiudesmano
Fonte: própria autora.

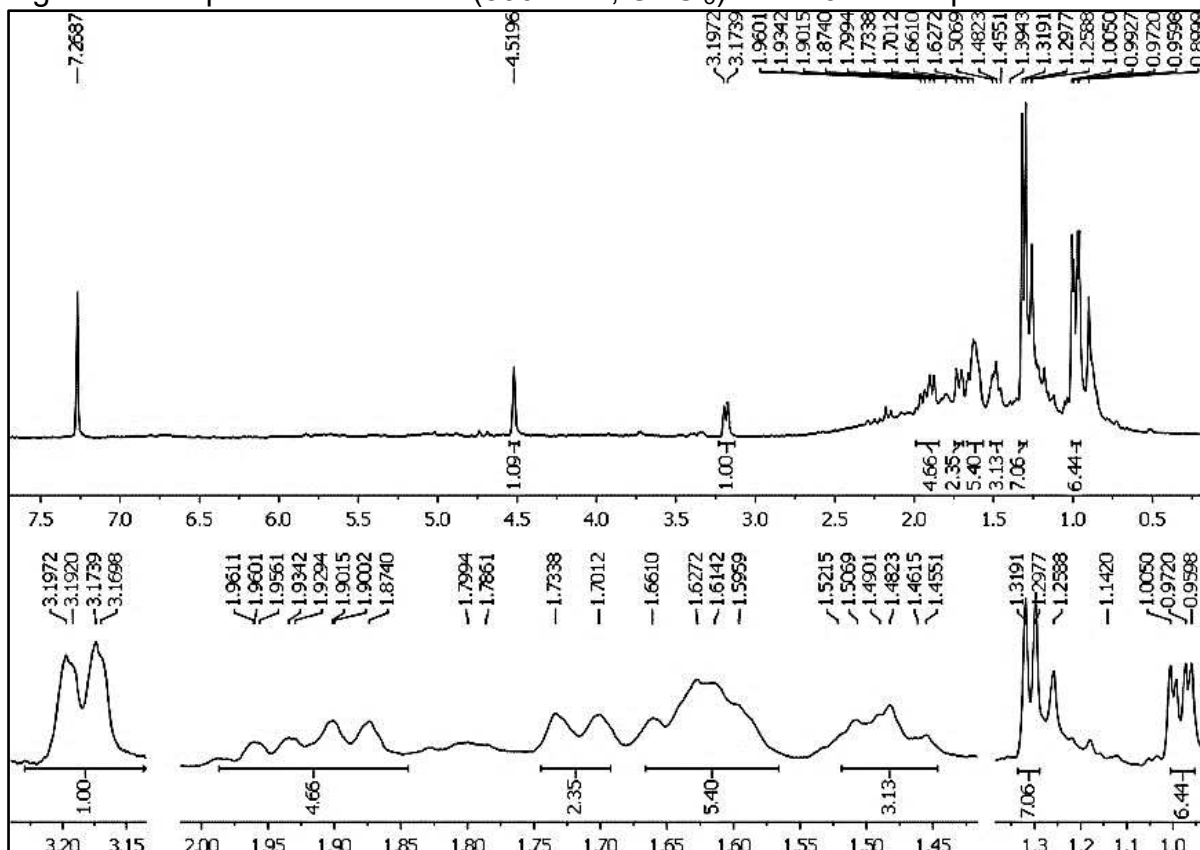
Tabela 24 – Dados dos deslocamentos químicos de RMN ^{13}C e ^1H de **CT3** em CDCl_3 comparados com os dados descritos na literatura para $1\beta,4\beta,6\alpha$ -trihidroxiudesmano em CD_3OD

CT3				Lit* - $1\beta,4\beta,6\alpha$ -trihidroxiudesmano	
C	Tipo	δ_{C}	δ_{H} (mult., J em Hz)	δ_{C}	δ_{H} (mult., J em Hz)
1	CH	80,2	3,19; dd (11,9; 4,5)	80,1	3,13; dd (11,8; 4,0)
2	CH ₂	28,8	1,61; m	27,6	1,63; m
3	CH ₂	39,7	1,64; m	42,4	1,66; m
4	C	73,2	-	72,8	-
5	CH	52,4	1,01; d (11,0)	54,8	1,03; d (11,8)
6	CH	69,3	4,60; t (12,0)	70,0	3,85; t (11,0)
7	CH	49,7	1,28; m	53,0	1,27; m
8	CH ₂	20,7	1,29; m	19,4	1,30; m
9	CH ₂	39,5	0,95; m	39,4	0,96; m
10	C	38,8	-	42,1	-
11	CH	27,2	2,11; m	27,0	2,31; m
12	CH ₃	21,0	0,91; d (6,4)	21,7	0,94; d (6,9)
13	CH ₃	20,6	0,89; d (6,9)	16,1	0,87; d (6,9)
14	CH ₃	14,7	0,98; s	13,9	0,97; s
15	CH ₃	30,3	1,46; s	34,5	1,42; s

Fonte: própria autora.

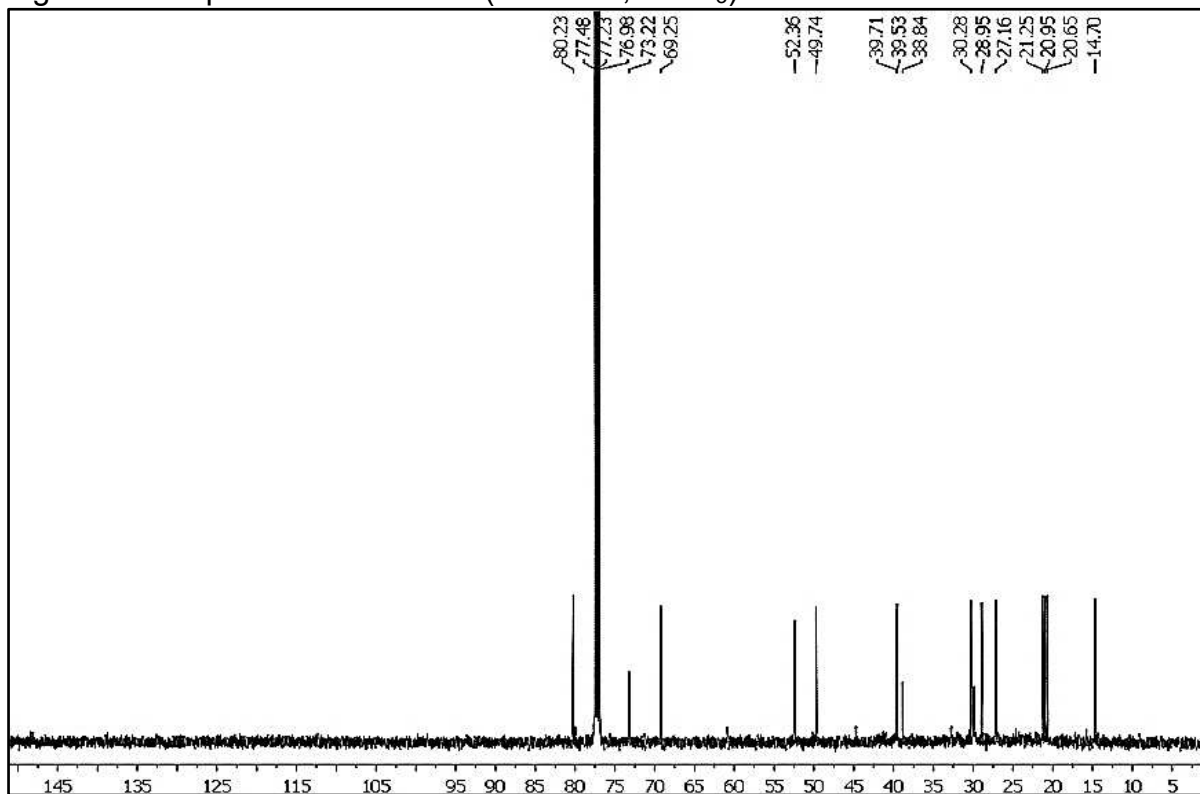
*Hu *et al.*, 2008

Figura 21 - Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de **CT3** com expansões

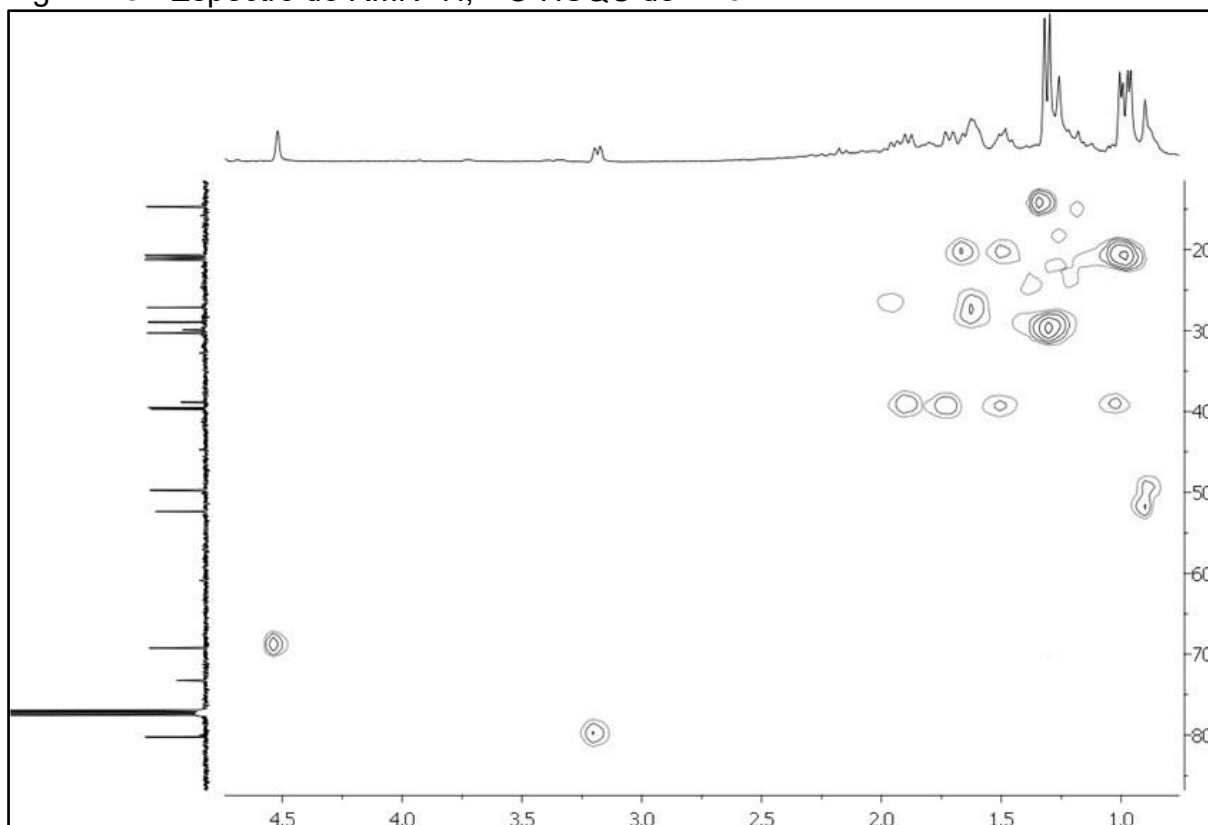


Fonte: própria autora.

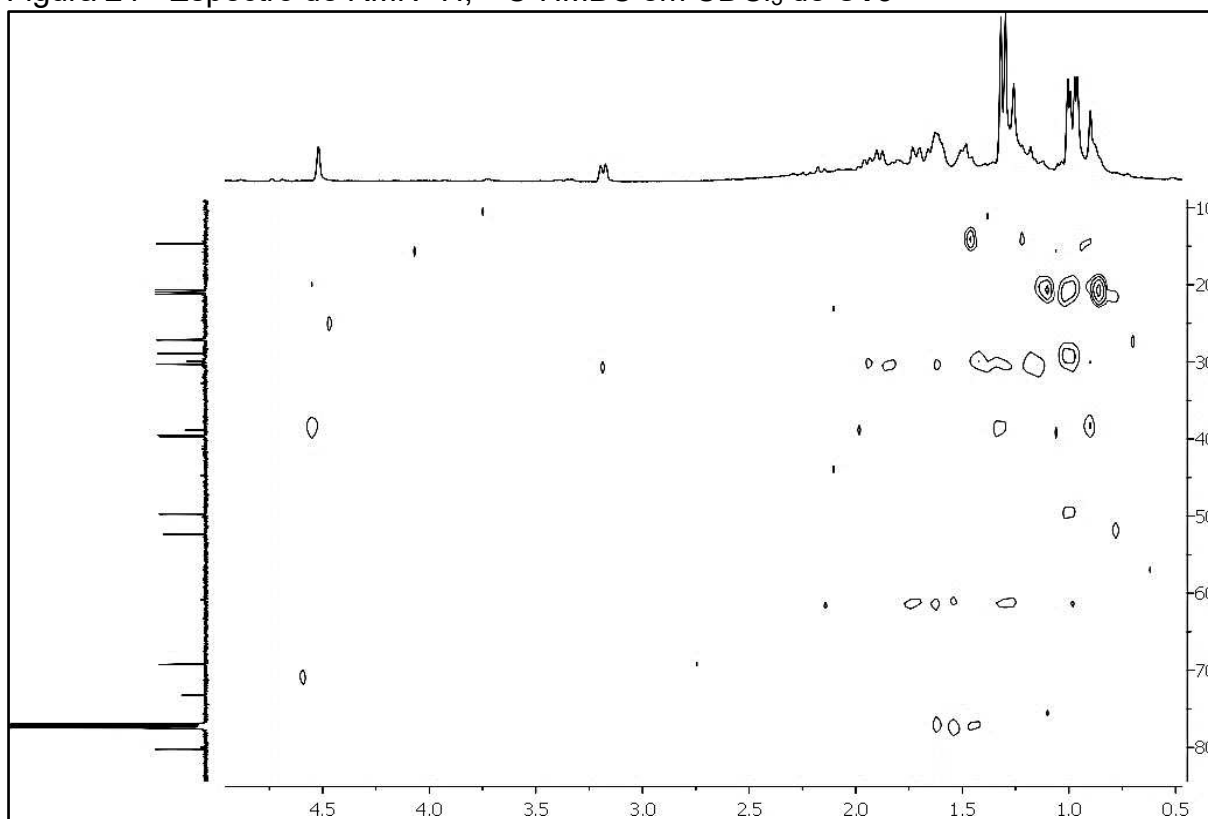
Figura 22 - Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de **CT3**



Fonte: própria autora.

Figura 23 - Espectro de RMN ^1H , ^{13}C -HSQC de **CT3**

Fonte: própria autora.

Figura 24 - Espectro de RMN ^1H , ^{13}C -HMBC em CDCl_3 de **CT3**

Fonte: própria autora.

6.1.4 Determinação estrutural de CT4

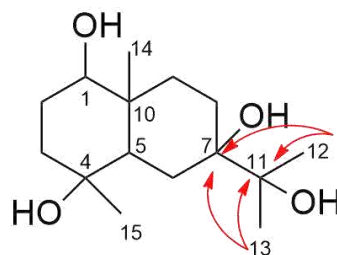
O composto **CT4** (6,5 mg) foi isolado através de tratamentos cromatográficos da fração diclorometano da partição líquido-líquido do extrato etanólico do cerne conforme mostrado no item **5.4.16** (pág 45). **CT4** apresentou-se como uma resina amarelada, solúvel em CHCl_3 .

O espectro de RMN ^1H de **CT4** (Figura 27, pág. 69) mostrou deslocamentos químicos semelhantes aos de **CT2** (Tabela 25, pág. 68), no entanto, os dupletos correspondentes aos hidrogênios das metilas do grupo isopropila não foram observados no referido espectro de **CT4**. Vale salientar que no espectro de **CT4** foram observados dois sinais de hidrogênios característicos de grupos metila (Pavia *et al.*, 2015) em δ_{H} 1,28 (s, H-12) e 1,26 (s, H-13), indicando que eles estão ligados a carbono oxigenado.

O espectro de RMN ^{13}C (Figura 28, pág. 69) exibiu quinze linhas espectrais características de um sesquiterpeno e de modo análogo a **CT2**, com esqueleto eudesmano. Foram observados quatro sinais de carbonos oxigenados em δ_{C} 71,8 (C-4), 75,9 (C-11), 76,1 (C-7) e 79,5 (C-1), apresentando diferença significativa devido ao grupo oximetínico adicional em δ_{H} 75,9 (C-11), sugerindo um grupo isopropanol em **CT4**.

Os experimentos bidimensionais de HSQC e HMBC (Figuras 30 e 31, pág. 70 e 71) permitiram confirmar o esqueleto eudesmano semelhante a **CT2** e posicionar o grupo isopropanol em C-7 através das correlações dos hidrogênios dos grupos metila em δ_{H} 1,28 (H-12) e 1,26 (H-13) com os carbonos δ_{H} 75,9 (C-11) e 76,1 (C-7) (Figura 25, pág. 67).

Figura 25 – Estrutura mostrando algumas das principais correlações observadas no HMBC para **CT4**

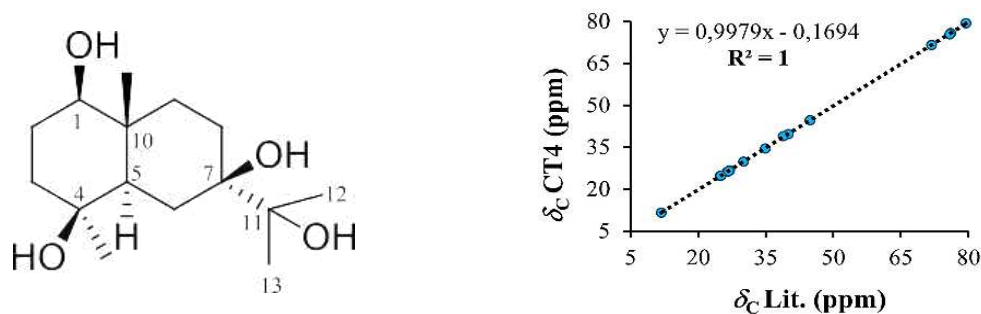


Fonte: própria autora.

Desta forma, as informações de RMN atribuídas a **CT4** em comparação com as descritas na literatura (Wang *et al.*, 2007) por meio das deduções do gráfico dos desvios químicos do composto $1\beta,4\beta,7\beta,11$ -tetrahydroxieudesmano, bem como, a similaridade no gráfico de regressão linear, permitiram inferir que o composto **CT4** trata-se de $1\beta,4\beta,7\beta,11$ -tetrahydroxieudesmano (Figura 26), relatado pela primeira vez na espécie em estudo (Tabela 25, pág. 68).

Esse sesquiterpeno de esqueleto eudesmano foi isolado a partir das partes aéreas de *Homalonema occulta* (Wang *et al.*, 2007) e *Sarcandra glabra* (Oanh *et al.*, 2010). Há registros que este composto exibe ação antibacteriana contra *Mycobacterium tuberculosis*, *Streptococcus* α -hemolítico e *Streptococcus pneumoniae* (Wang *et al.*, 2007).

Figura 26 - Estrutura sugerida para **CT4** e regressão linear com dados de RMN¹³C de **CT4** e com o composto $1\beta,4\beta,7\beta,11$ -tetrahydroxieudesmano



$1\beta,4\beta,7\beta,11$ -trihydroxieudesmano
Fonte: própria autora.

Tabela 25 – Dados dos deslocamentos químicos de RMN ^{13}C e ^1H de **CT4** comparados com os dados descritos na literatura para $1\beta,4\beta,7\beta,11$ -tetrahydroxieuodesmano com desvios químicos, ambos em CDCl_3

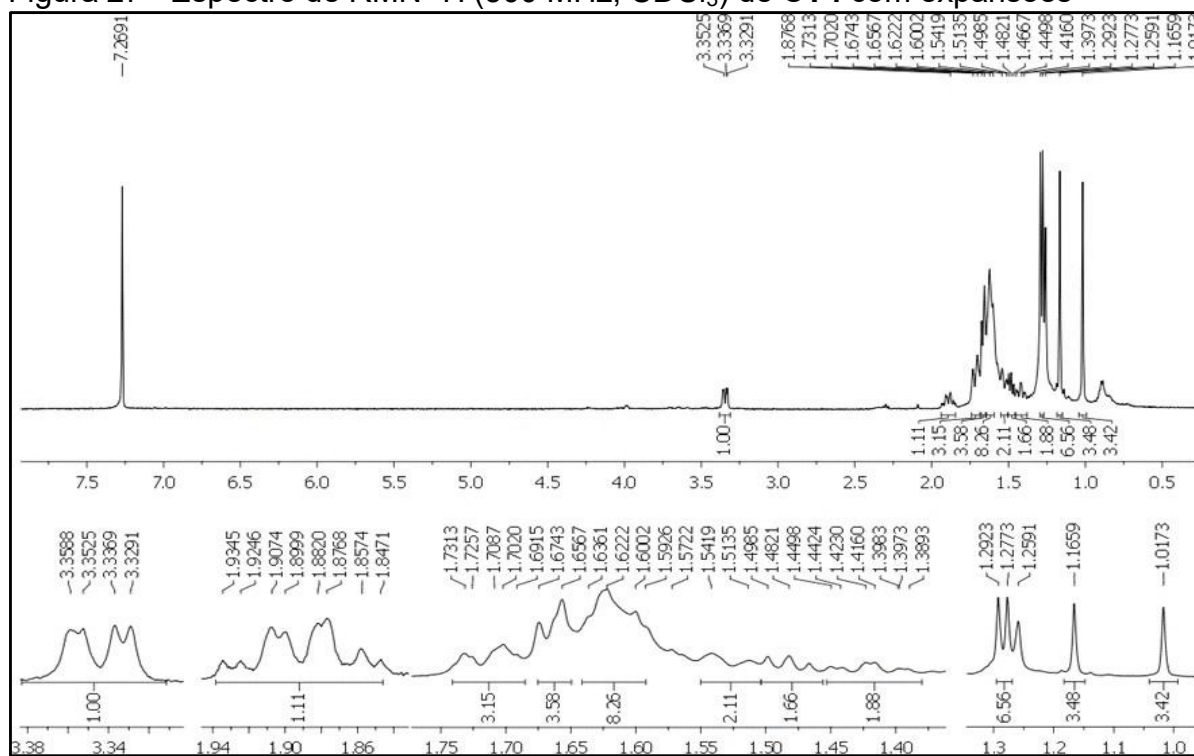
CT4				Lit* -1β,4β,7β,11-tetrahydroxieuodesmano			
C	Tipo	δ_{C}	δ_{H} (Mult., J em Hz)	δ_{C}	δ_{H} (Mult., J em Hz)	$\# \Delta \delta_{\text{C}}$ (ppm)	
1	CH	79,5	3,34; dd (11,0; 3,2)	79,3	3,32; dd (11,5; 3,8)	0,2	
2	CH ₂	27,0	1,90; m	26,8	1,90; m	0,2	
3	CH ₂	40,0	1,67; m	39,7	1,67; m	0,3	
4	C	71,8	-	71,5	-	0,3	
5	CH	44,9	1,45; dd (11,3; 4,11)	44,7	1,47; dd (11,6; 4,3)	0,2	
6	CH ₂	26,4	1,70; dd (13,3; 11,3)	26,2	1,71; dd (13,3; 11,6)	0,2	
7	C	76,1	-	75,8	-	0,3	
8	CH ₂	26,8	1,45; m	26,5	1,49; m	0,3	
9	CH ₂	34,9	1,40; m	34,6	1,41; m	0,3	
10	C	38,9	-	38,9	-	0,0	
11	C	75,9	-	75,3	-	0,6	
12	CH ₃	24,9	1,28; s	24,7	1,26; s	0,2	
13	CH ₃	25,1	1,26; s	24,8	1,25; s	0,3	
14	CH ₃	30,1	1,13; s	29,8	1,14; s	0,2	
15	CH ₃	11,8	1,01; s	11,6	0,99; s	0,2	

Fonte: própria autora.

* Wang *et al.*, 2007

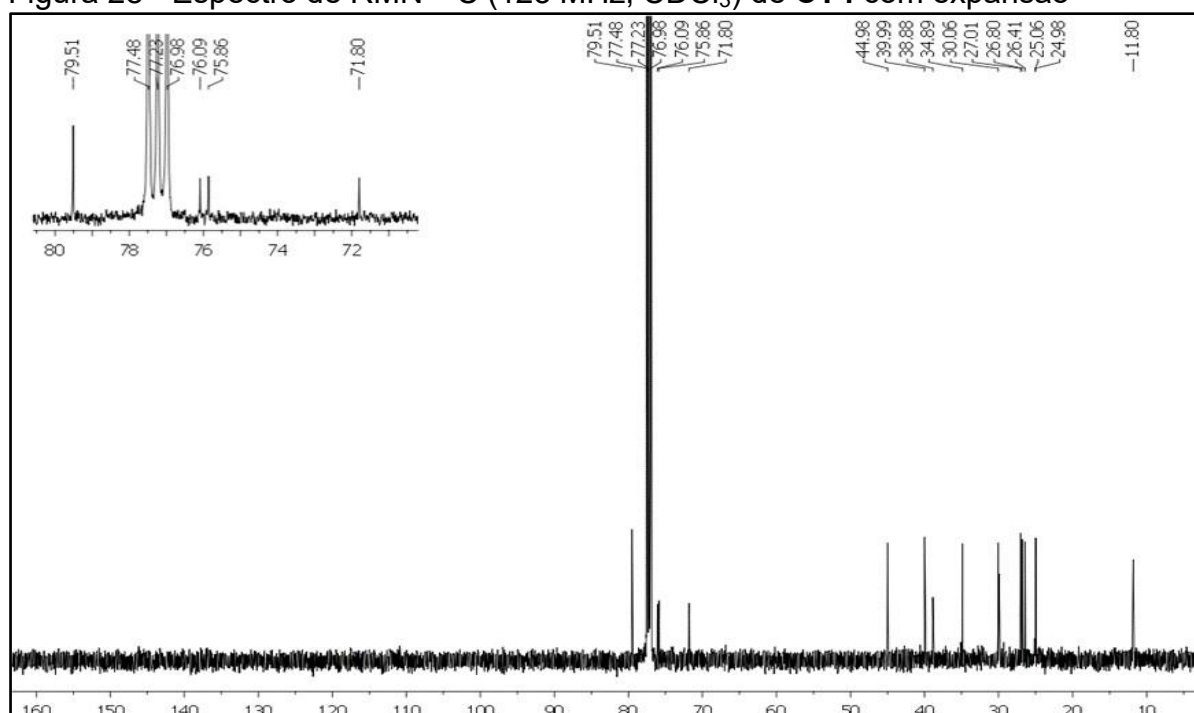
$\# \Delta \delta_{\text{C}}$ (ppm) – Diferença de δ_{C} **CT4** com δ_{C} Lit. $1\beta,4\beta,7\beta,11$ -tetrahydroxieuodesmano

Figura 27 - Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de **CT4** com expansões

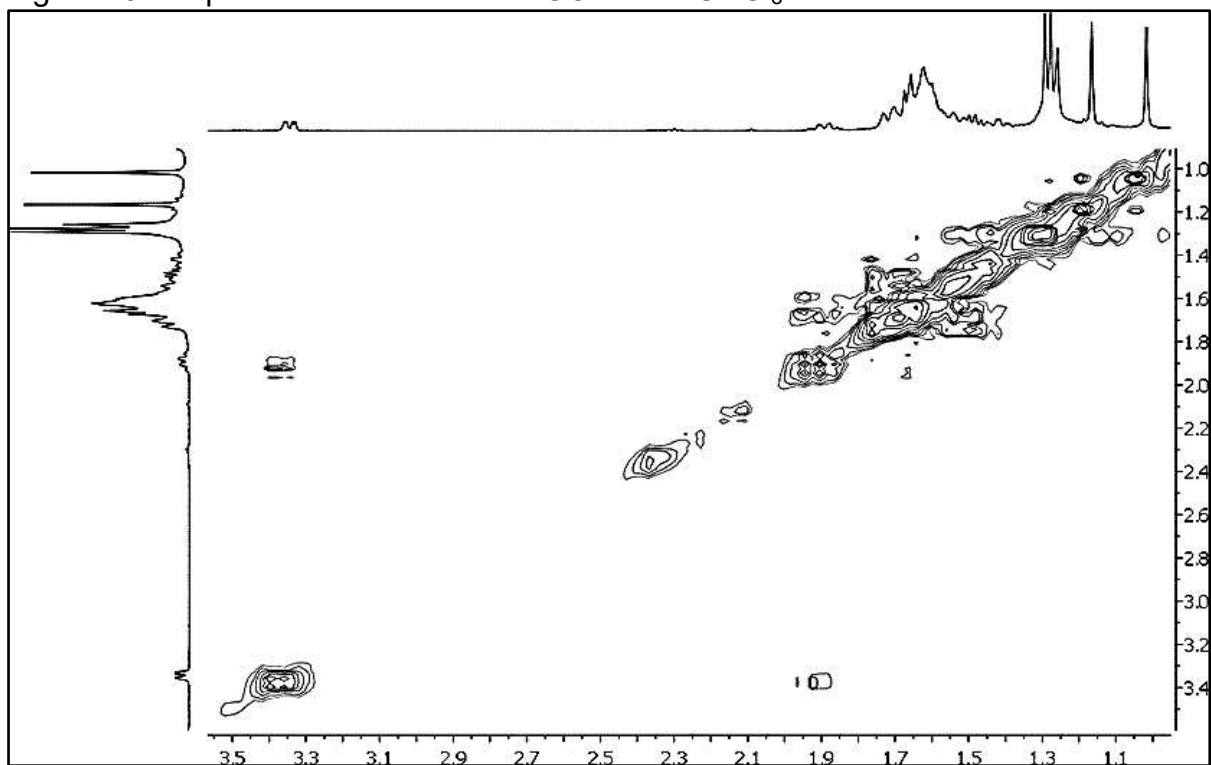


Fonte: própria autora.

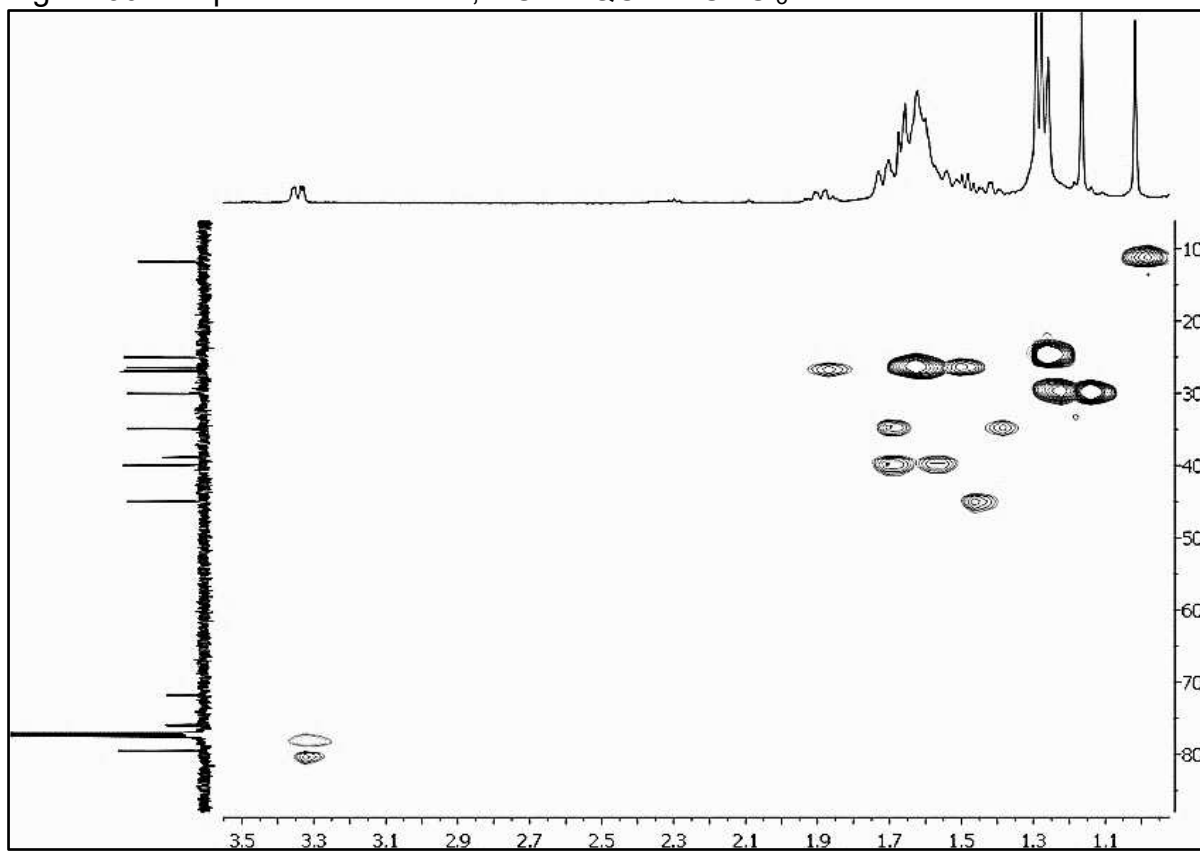
Figura 28 - Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de **CT4** com expansão



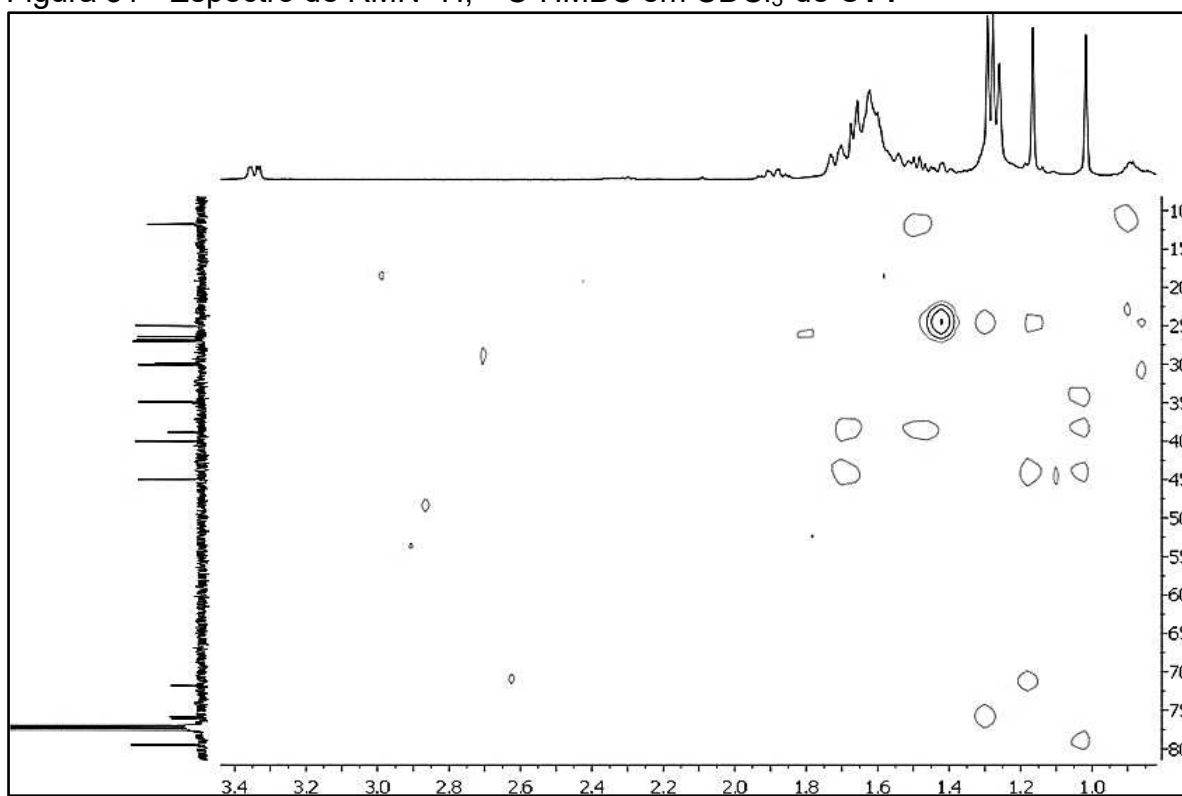
Fonte: própria autora.

Figura 29 - Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY em CDCl_3 de **CT4**

Fonte: própria autora.

Figura 30 – Espectro de RMN ^1H , ^{13}C -HSQC em CDCl_3 de **CT4**

Fonte: própria autora.

Figura 31 - Espectro de RMN ^1H , ^{13}C -HMBC em CDCl_3 de **CT4**

Fonte: própria autora.

6.1.5 Determinação estrutural de CT5

Sucessivos tratamentos cromatográficos da fração diclorometano da partição líquido-líquido do extrato etanólico do cerne permitiu o isolamento do composto denominado **CT5** (6,3 mg). O procedimento está descrito no item **5.4.15** (pág. 44). O composto tem aspecto de resina amarelada e é solúvel em CHCl_3 .

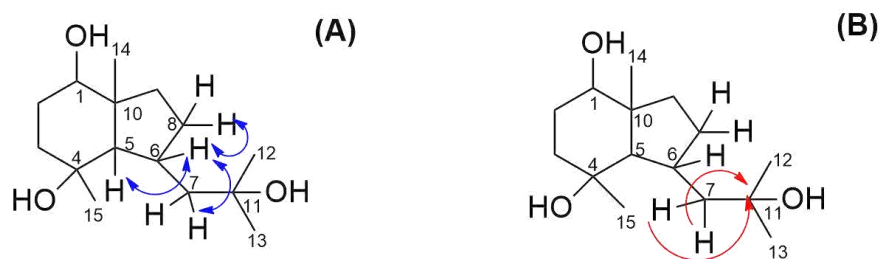
O espectro de RMN ^1H (Figura 34, pág. 75) de **CT5** de modo semelhante ao de alguns compostos descritos anteriormente, revelou um sinal em δ_{H} 3,78 (dd, $J = 11,5; 4,1$ Hz, H-1), correspondente a um hidrogênio metínico ligado a carbono oxigenado e sinais para grupos metila em δ_{H} 1,33 (s, H-12/H-13), 1,39 (s, H-14) e 1,45 (s, H-15) (Pavia *et al.*, 2015), diferindo dos compostos já mencionados por apresentar o sinal em δ_{H} 1,33 com integração para seis hidrogênios.

A análise do espectro de RMN ^{13}C (Figura 35, pág. 75) apresentou 15 linhas espectrais características de esqueleto sesquiterpênico. Este espectro exibiu três sinais de carbonos oxigenados em δ_{C} 72,0 (C-11), 72,1 (C-4) e 80,0 (C-1), de forma semelhante aos sinais dos compostos **CT2** e **CT3**, mas, se tratando de um composto diferente devido às diferenças significativas nos valores de alguns deslocamentos químicos. Em **CT5**, observou o deslocamento em δ_{C} 59,0 (C-5) referente à tensão anelar, conforme descrito na Tabela 26 (pág. 74).

Diferindo dos compostos **CT2** e **CT3**, os espectros bidimensionais revelaram acoplamentos que foram essenciais na elucidação estrutural de **CT5**, sendo observadas no HSQC (Figura 36, pág. 76) correlações para dois sinais de hidrogênio em δ_{H} 2,23 (dl, H-7) e 1,54 (m, H-7) com δ_{C} 50,7, sinalizando um carbono metilênico em C-7, bem como, deve ser mencionado o sistema de acoplamento dos sinais de hidrogênios H-5 em δ_{H} 1,09 (d; $J = 10,7$ Hz) com H-6 em δ_{H} 2,45 e deste com os sinais de H-7 e H-8, observados no experimento ^1H - ^1H COSY (Figura 37, pág. 76).

No experimento HMBC (Figura 38, pág. 77) ainda foram observadas correlações dos hidrogênios metilênicos (2H-7) com o sinal do carbono em δ_{C} 72,0 (C-11) (Figura 36B), permitindo propor um sistema 8(7→6)-abeo-eudesmano para estrutura de **CT5** (Figura 32, pág. 73).

Figura 32 - Estruturas mostrando algumas das principais correlações observadas no COSY (A) e HMBC (B), respectivamente, para **CT5**

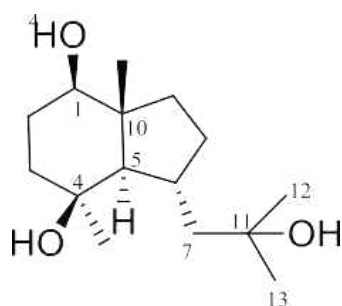


Fonte: própria autora.

Com base nas informações fornecidas pelos espectros de RMN (Tabela 26, pág. 74) e, em consonância com os dados previamente relatados na literatura (Wang *et al.*, 2007), foi possível sugerir que **CT5** pertencente à classe dos sesquiterpenos de esqueleto opositano (Figura 33), sendo, portanto, denominado $1\beta,4\beta,11$ - opositano ou $1\beta,4\beta,11$ -trihidroxi-8(7 \rightarrow 6)-*abeo*-eudesmano.

Esse composto foi isolado anteriormente do cerne de *Cordia trichotoma* (Menezes, 2005), de *Homalonema occulta* (Wang *et al.*, 2007; Hu *et al.*, 2008; Xie *et al.*, 2012), dos rizomas de *Homalonema pendula* (Nguyen *et al.*, 2022) e das partes aéreas de *Schisandra plena* (Li *et al.*, 2005). Na literatura são relatadas a atividade antibacteriana deste composto sobre *Mycobacterium tuberculosis* (Wang *et al.*, 2007), bem como o efeito estimulante na proliferação e diferenciação de cultura de osteoblasto *in vitro* (Nguyen *et al.*, 2023).

Figura 33 - Estrutura sugerida para **CT5**



$1\beta,4\beta,11$ -trihidroxiopositano
Fonte: própria autora.

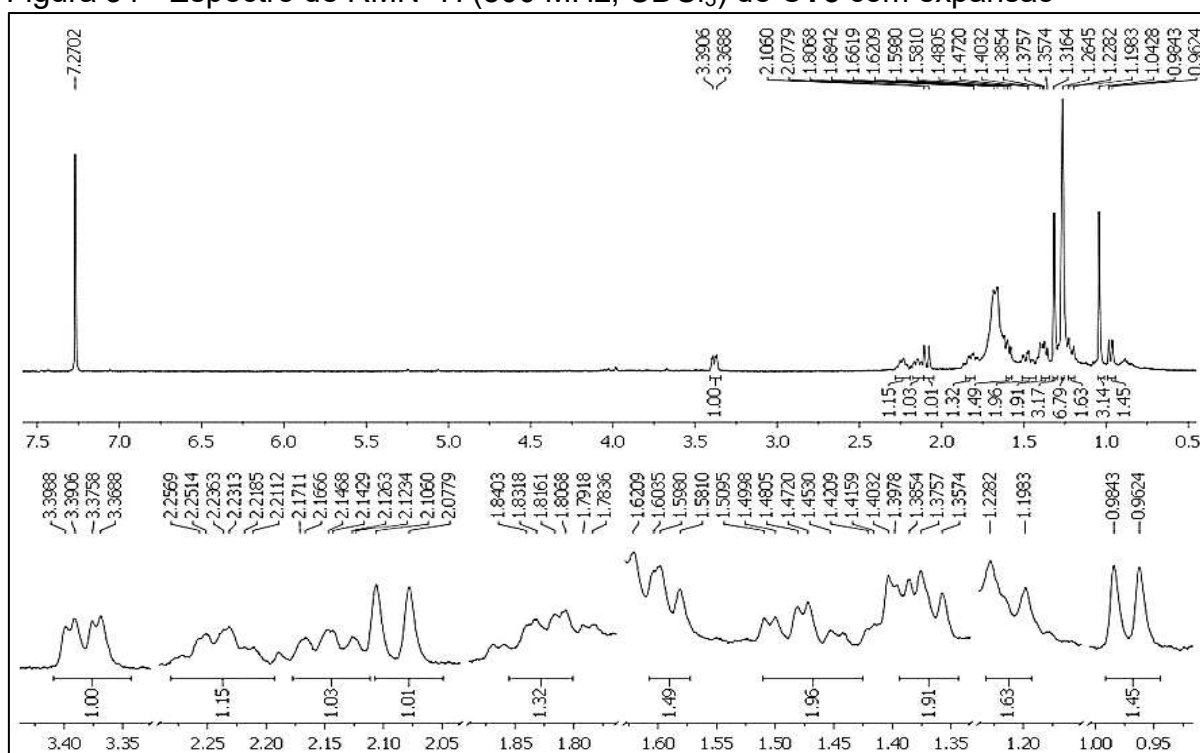
Tabela 26 - Dados dos deslocamentos químicos de RMN ^{13}C e ^1H de **CT5** comparados com os dados descritos na literatura para $1\beta,4\beta,11$ -opositano com desvios químicos, ambos em CDCl_3

C	Tipo	CT5		Lit* - $1\beta,4\beta,11$ -trihidroxiopositano		
		δ_c	δ_H (mult., J em Hz)	δ_c	δ_H (mult., J em Hz)	# $\Delta\delta_c$ (ppm)
1	CH	80,0	3,78; dd (11,5; 4,1)	79,4	3,73; dd (11,3; 4,0)	0,6
2	CH ₂	28,1	β 2,32 m α 1,87 m	27,3	β 2,45 m α 1,95 m	0,8
3	CH ₂	41,2	α 1,79; m β 1,54; m	40,5	α 1,87; m β 1,56; m	0,7
4	C	72,1	-	71,5	-	0,6
5	CH	59,0	1,09; d (10,7)	58,5	1,11; d (10,6)	0,5
6	CH	32,0	2,45; m	32,6	2,80; m	-0,6
7	CH ₂	50,7	β 2,23; dl (13,2) α 1,54; m	50,4	β 2,38; dl (13,8) α 1,56; m	0,3
8	CH ₂	32,8	2,27; m	33,3	2,32; m	-0,5
9	CH ₂	39,0	β 1,75; m α 1,53; m	40,2	β 1,98; m α 1,52; m	1,2
10	C	47,1	-	46,7	-	0,4
11	C	72,0	-	71,5	-	0,8
12	CH ₃	28,1	1,33; s	28,6	1,43; s	-0,5
13	CH ₃	30,0	1,33; s	30,7	1,33; s	-0,7
14	CH ₃	31,7	1,39; s	31,1	1,56; s	0,7
15	CH ₃	14,5	1,45; s	13,9	1,60; s	0,7

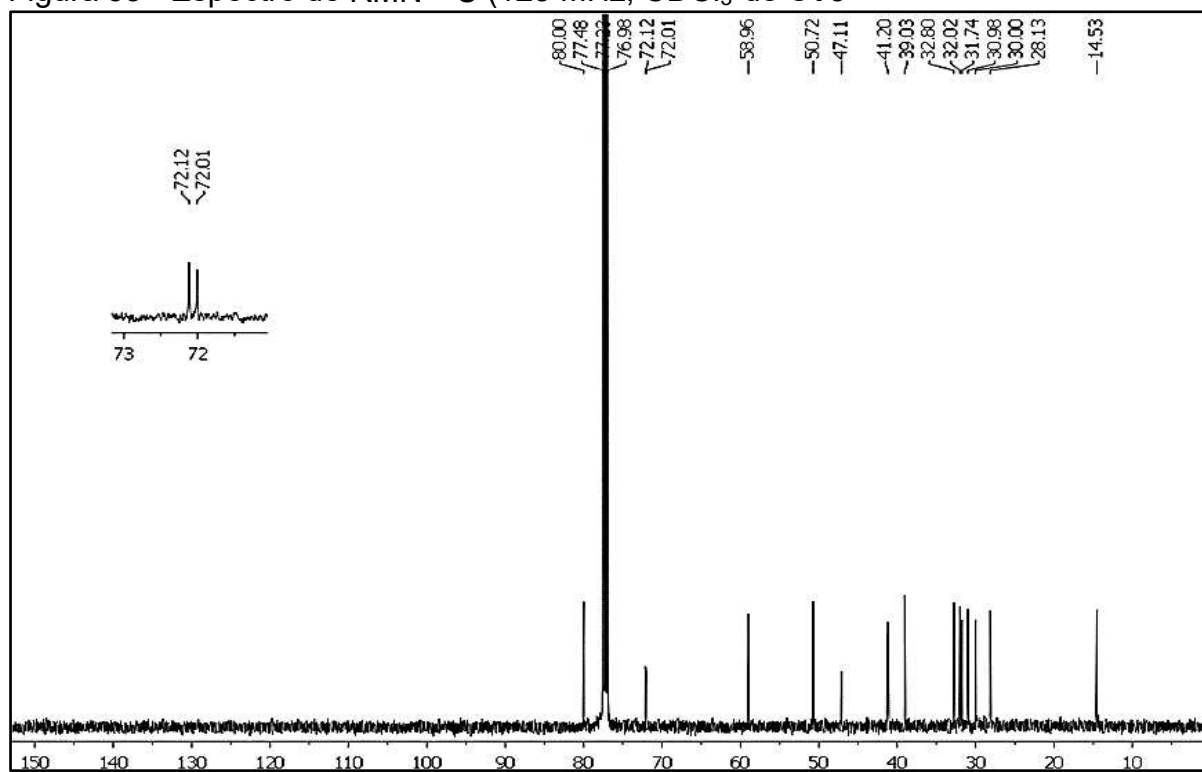
Fonte: própria autora.

*Wang *et al.*, 2007

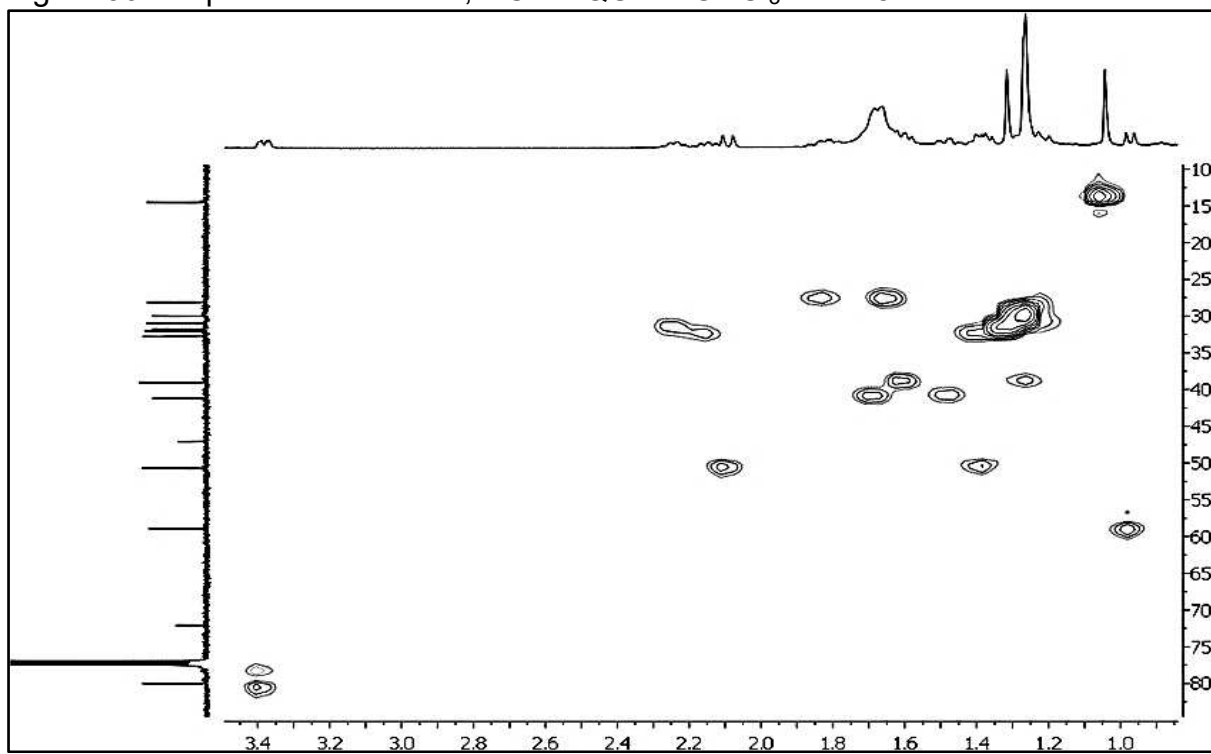
$\Delta\delta_c$ (ppm) – Diferença de δ_c **CT5** com δ_c Lit. $1\beta,4\beta,11$ -trihidroxiopositano

Figura 34 - Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de **CT5** com expansão

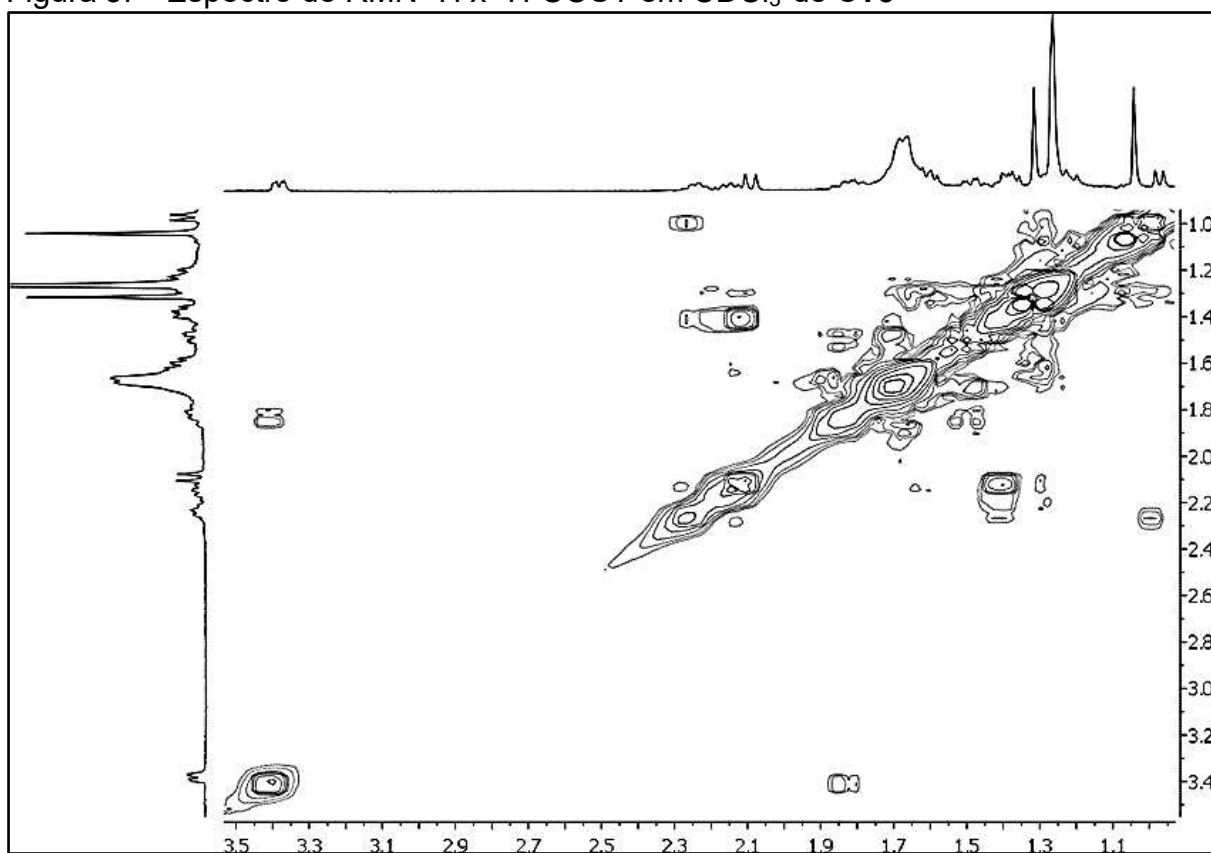
Fonte: própria autora.

Figura 35 - Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de **CT5**

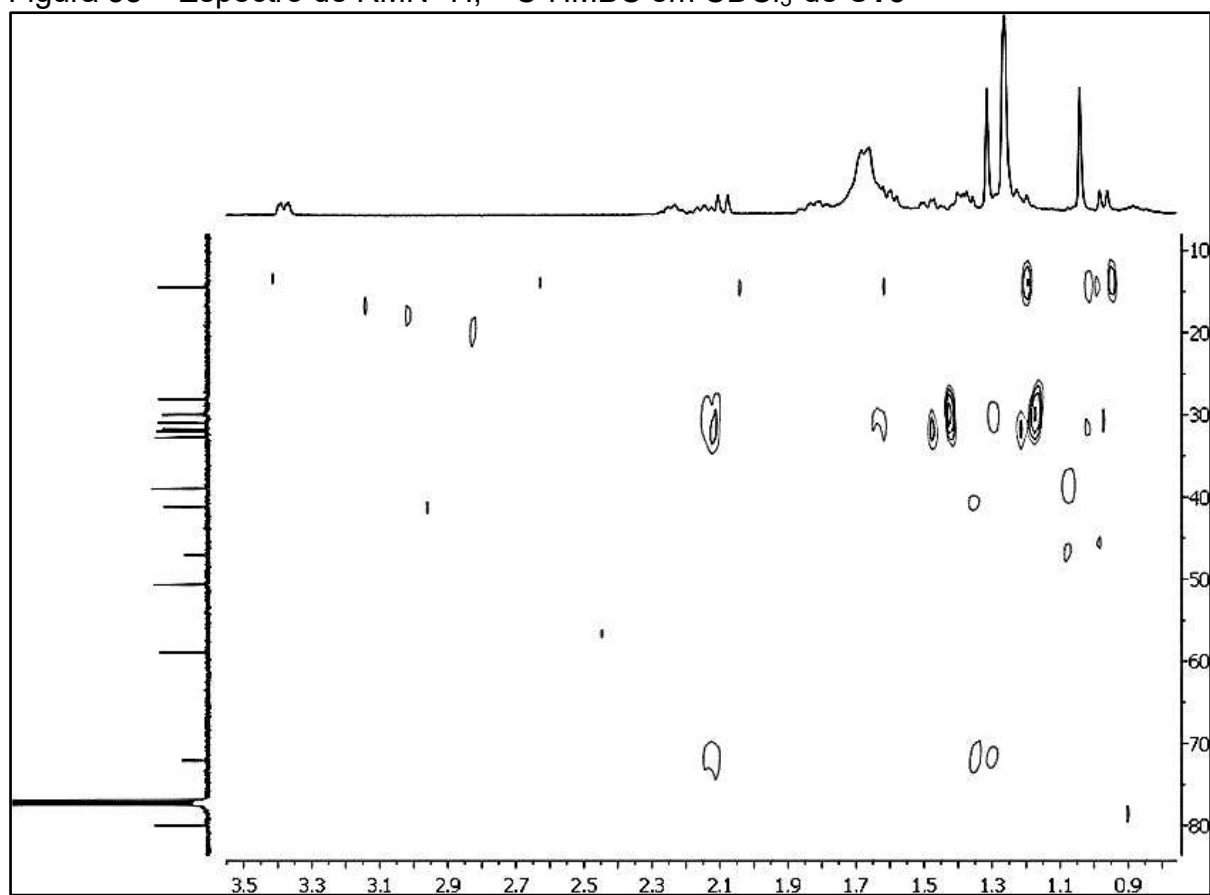
Fonte: própria autora.

Figura 36 - Espectro de RMN ^1H , ^{13}C -HSQC em CDCl_3 de **CT5**

Fonte: própria autora.

Figura 37 - Espectro de RMN ^1H x ^1H -COSY em CDCl_3 de **CT5**

Fonte: própria autora.

Figura 38 – Espectro de RMN ^1H , ^{13}C -HMBC em CDCl_3 de **CT5**

Fonte: própria autora.

6.1.6 Determinação estrutural de CT6

Sucessivos tratamentos cromatográficos em gel sílica da fração **CTCEHH**, descritos no item **5.4.11** (pág. 40) resultaram no isolamento de **CT6** (6,7 mg), que se apresentou na forma de uma resina incolor, solúvel em clorofórmio.

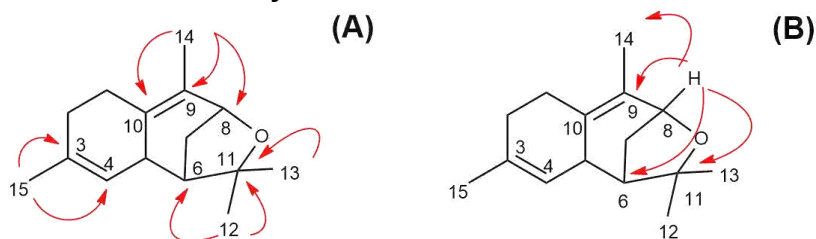
O espectro de RMN ^1H (Figura 41, pág. 81) de **CT6** mostrou quatro singletos, sendo dois em δ_{H} 1,64 (H-15) e 1,75 (H-14) característicos de hidrogênios de grupos metila ligados a carbonos olefínicos e os dois restantes em δ_{H} 1,23 (H-12) e 1,29 (H-13) característicos de hidrogênios de grupos metila ligados a carbono oxigenado. Foram observados ainda um duplete em δ_{H} 4,04 ($J = 4,6$; H-8) referente a hidrogênio oximetínico (Pavia *et al.*, 2015) e um sinal em δ_{H} 5,19 (s, H-4) corresponde a um hidrogênio ligado a carbono insaturado sp^2 .

O espectro de RMN ^{13}C -BB (Figura 42, pág. 81) de **CT6** exibiu 15 linhas espectrais correspondentes a um sesquiterpeno e a comparação deste com o espectro ^{13}C -DEPT 135° (Figura 42, pág. 81) permitiu deduzir o padrão de hidrogenação dos carbonos, tornando possível identificar quatro carbonos metílicos em δ_{C} 17,0 (C-14), 23,3 (C-15), 26,1 (C-13) e 30,6 (C-12); três carbonos metilênicos em δ_{C} 26,7 (C-1), 32,0 (C-7) e 32,9 (C-2); três carbonos metínicos em δ_{C} 41,9 (C-5) e 48,2 (C-6), sendo um oxigenado em δ_{C} 78,6 (C-8), um carbono olefínico hidrogenado em δ_{C} 126,6 (C-4). A diferença entre as duas técnicas revelou a existência de quatro sinais de carbonos não hidrogenados, sendo três sp^2 em δ_{C} 128,7 (C-9), 130,9 (C-10) e 135,6 (C-3) e um outro carbono do tipo sp^3 oxigenado em δ_{C} 82,5 (C-11), levando a propor a fórmula molecular ($\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}$) para **CT6**, tomando por base os valores de deslocamentos químicos de compostos estruturalmente semelhantes já descritos na literatura (Tissandié *et al.*, 2017), pode-se inferir que em **CT6** existe um anel epóxido entre C-8 e C11 (C8-O-C11).

No espectro de RMN ^1H , ^{13}C -HMBC (Figura 45, pág. 83) foram observadas correlações relevantes na elucidação estrutural do composto **CT6**, conforme mostrado na Figura 39A e além destas, o sinal do hidrogênio oximetínico em δ_{H} 4,04 (H-8) mostrou correlações com os carbonos em δ_{C} 128,7 (C-9) e 17,0 (C-14), e especialmente, em δ_{C} 82,5 (C-11) e 48,2 (C-6), confirmando o epóxido formado em C8-O-C11 (Tabela 27, pág. 80) (Figura 39B). Desta forma, a estrutura de **CT6** foi

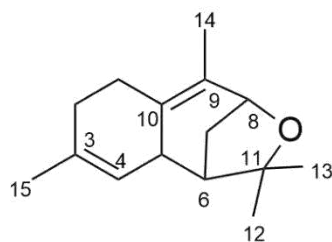
elucidada e trata-se de um sesquiterpeno de esqueleto cadineno e recebeu a denominação de 8,11-epoxi-cadi-3,9-eno (Figura 40), um composto inédito .

Figura 39 - Estruturas **A** e **B** mostrando as principais correlações observadas no HMBC



Fonte: própria autora.

Figura 40 - Proposta estrutural para **CT6**



8,11-epoxi-cadi-3,9-eno

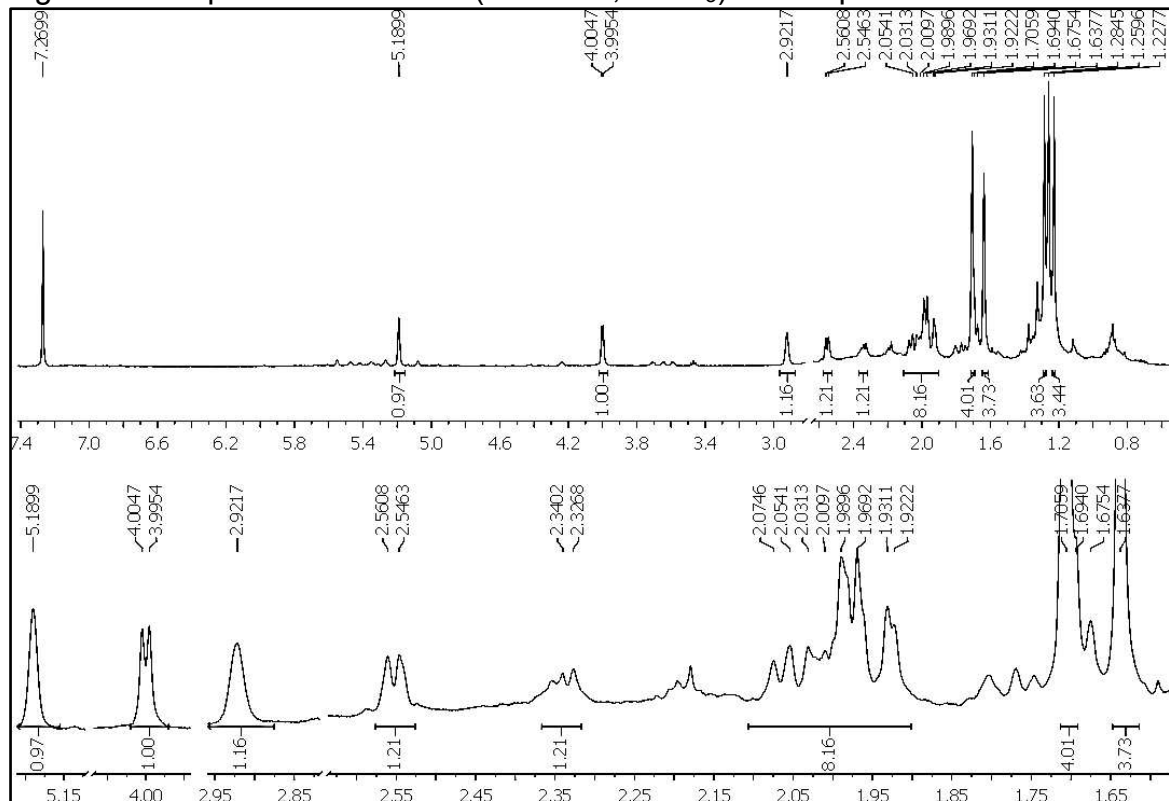
Fonte: própria autora.

Tabela 27 – Dados dos deslocamentos químicos (δ) de RMN ^{13}C e ^1H de **CT6** em CDCl_3

CT6				
C	Tipo	δ_{C}	δ_{H} (mult., J em Hz)	HMBC ($^{2,3}J_{\text{CH}}$)
1	CH ₂	26,7	2,11; m / 1,73; m	
2	CH ₂	32,9	2,19; m / 2,00; m	
3	C	135,6	-	H-15
4	CH	126,6	5,19; s	H-15
5	CH	41,9	2,97; sl	
6	CH	48,2	1,96; m	H-8; H-12
7	CH ₂	32,0	2,03; m / 1,73; m	
8	CH	78,6	4,04; d (4,65)	H-14
9	C	128,7	-	H-8; H-14
10	C	130,9	-	H-14
11	C	82,5	-	H-12; H-13; H-8
12	CH ₃	30,6	1,23; s	
13	CH ₃	26,1	1,29; s	
14	CH ₃	17,0	1,75; s	H-8
15	CH ₃	23,3	1,64; s	

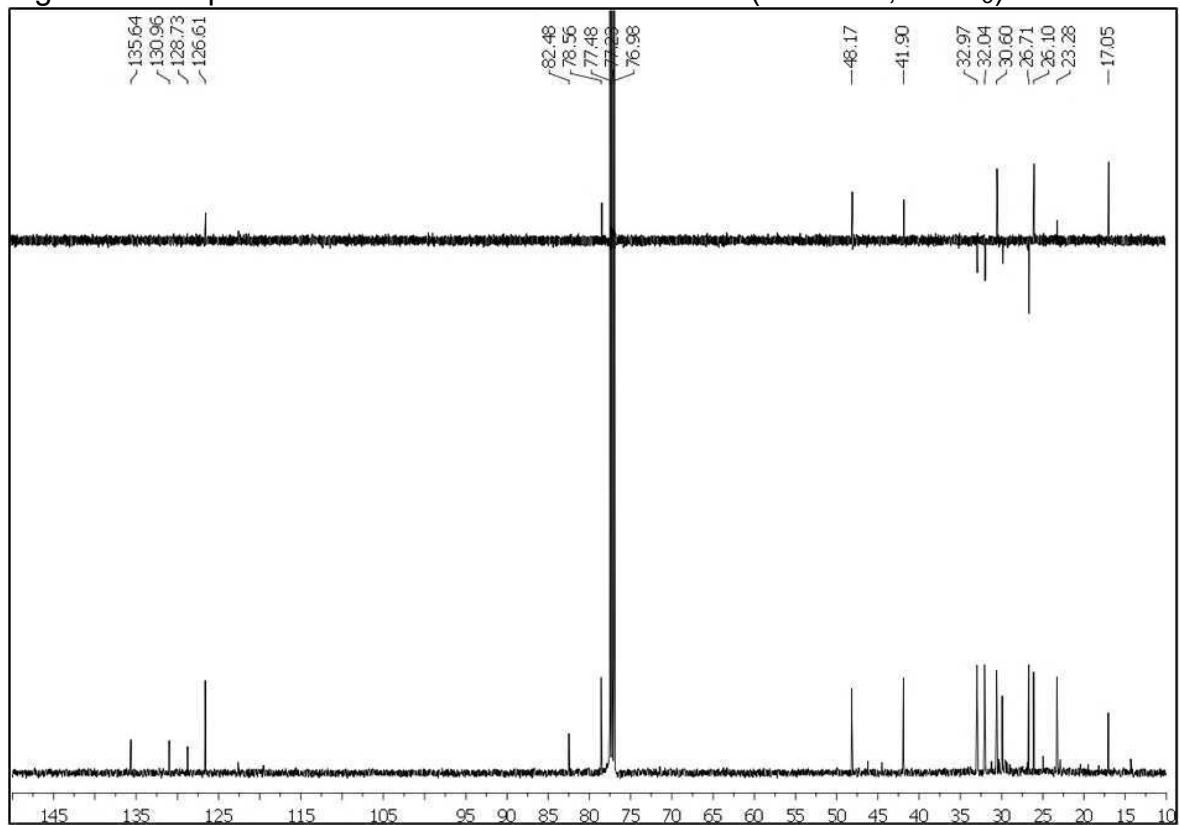
Fonte: própria autora.

Figura 41 - Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) com expansões de CT6

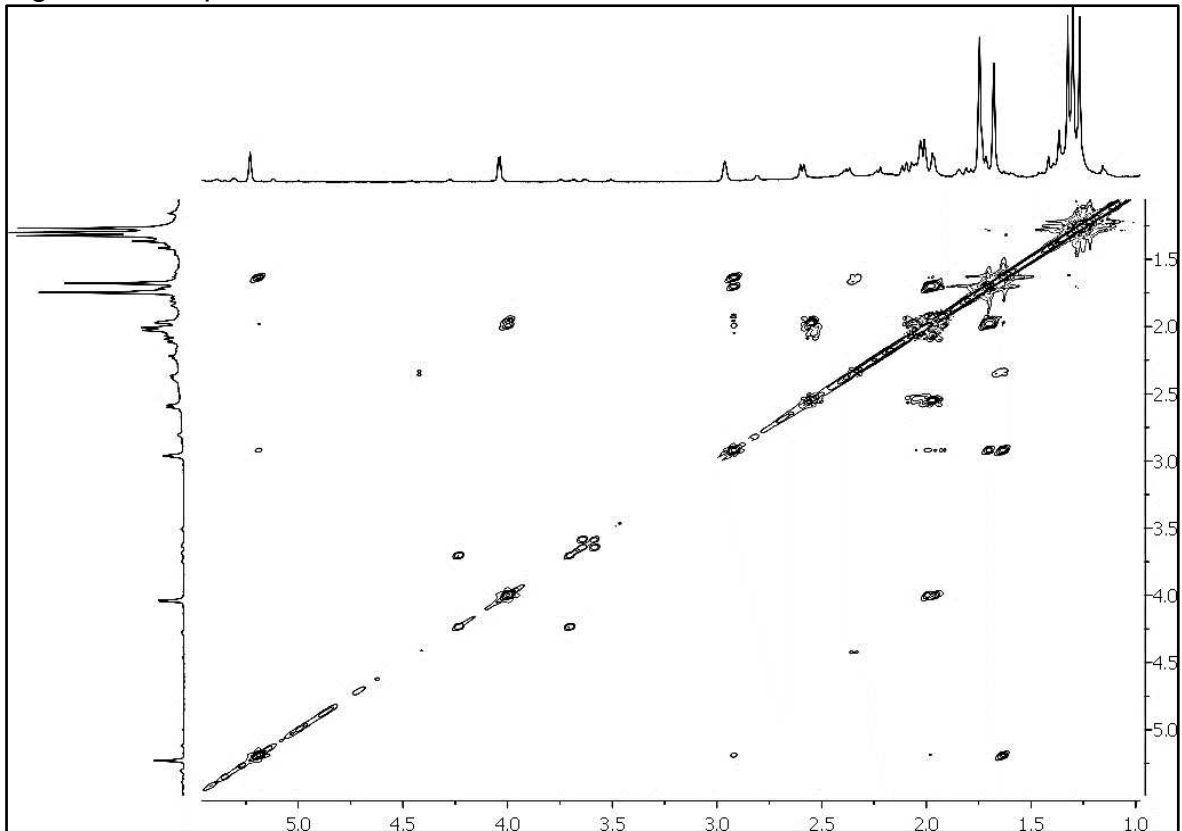


Fonte: própria autora.

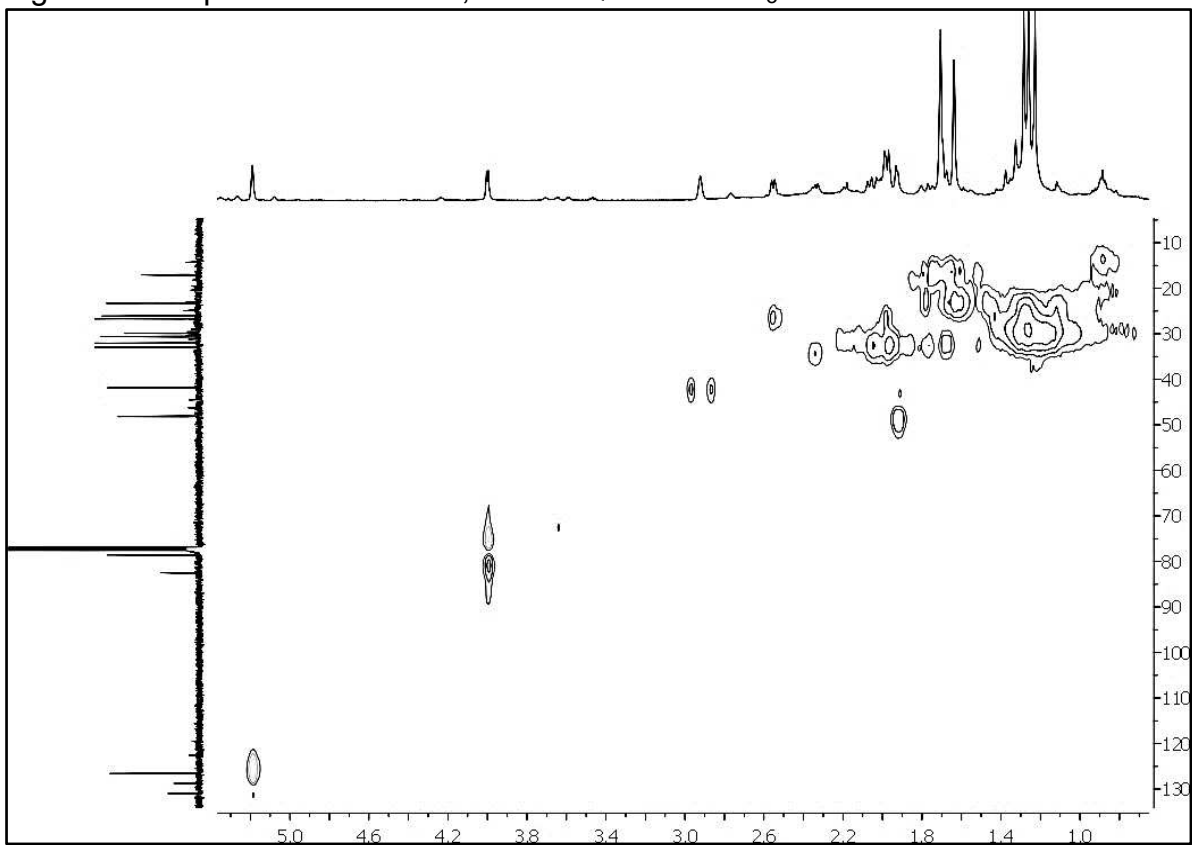
Figura 42 - Espectros de RMN ^{13}C -BB e DEPT 135° (125 MHz, CDCl_3) de CT6



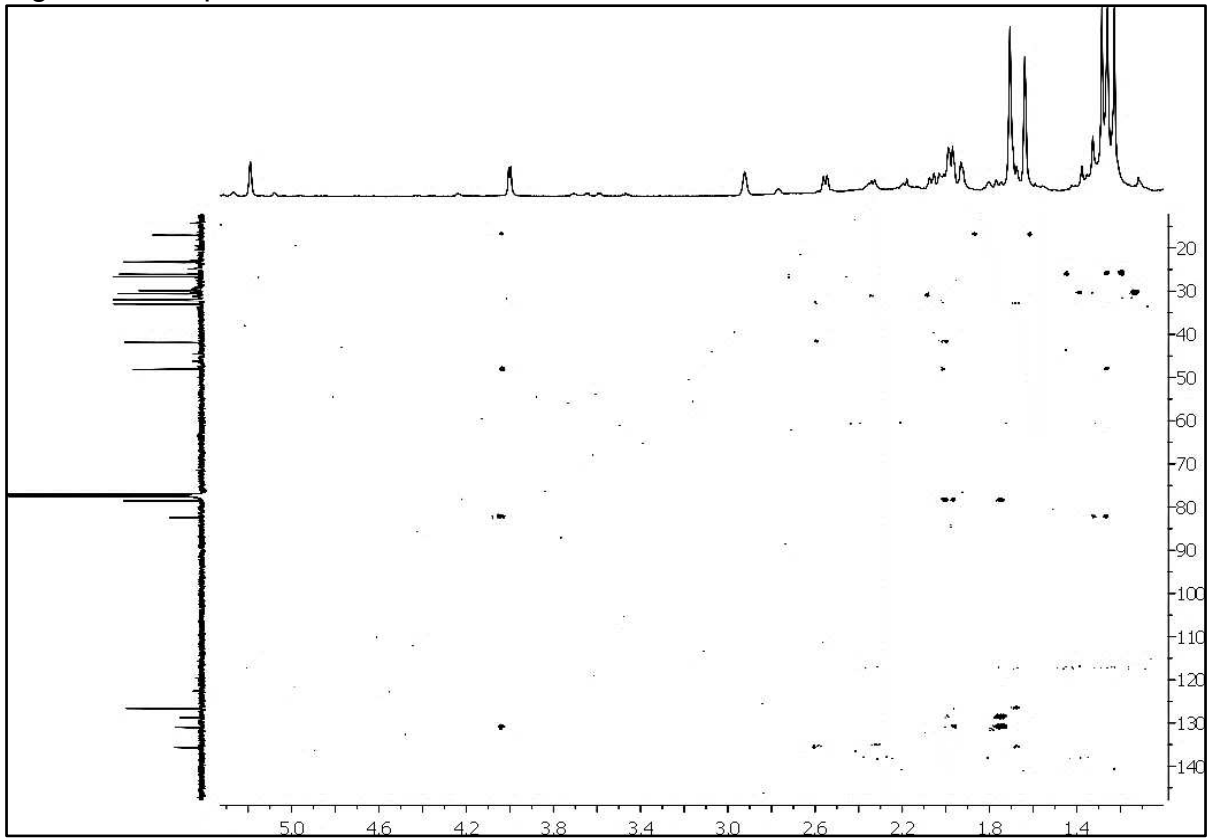
Fonte: própria autora.

Figura 43 - Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY em CDCl_3 de **CT6**

Fonte: própria autora.

Figura 44 - Espectro de RMN ^1H , ^{13}C -HSQC em CDCl_3 de **CT6**

Fonte: própria autora.

Figura 45 - Espectro de RMN ^1H , ^{13}C -HMBC em CDCl_3 de **CT6**

Fonte: própria autora.

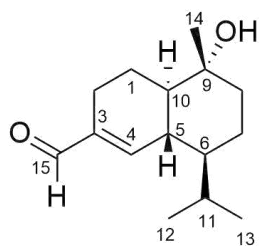
6.1.7 Determinação estrutural de CT7

CT7 (4,7 mg) foi isolado a partir da fração resultante da junção do extrato hexânico do cerne e da fração hexânica da partição líquido-líquido do extrato etanólico do cerne, de acordo com o item **5.4.7** (pág. 37). Este composto apresentou-se como uma resina amarela, solúvel em CHCl_3 .

A análise do espectro de RMN ^1H (Figura 48, pág. 89) de **CT7**, diferentemente dos compostos descritos anteriormente, mostrou três sinais referentes de hidrogênios metílicos em δ_{H} 1,14; 0,98 e 0,84. Vale salientar que os dupletos em δ_{H} 0,98 ($J = 6,5$; H-13) e em δ_{H} 0,84 ($J = 6,5$; H-12), juntamente, com o sinal em δ_{H} 2,23 (m, H-11) indicam um grupamento isopropila. Além destes, foram observados um sinal em δ_{H} 6,85 (H-4) característico de hidrogênio ligado a carbono sp^2 e um outro sinal em δ_{H} 9,44 (s, H-15) típico de hidrogênio ligado à carbonila de aldeído. Os demais sinais indicam a característica alifática de **CT7**.

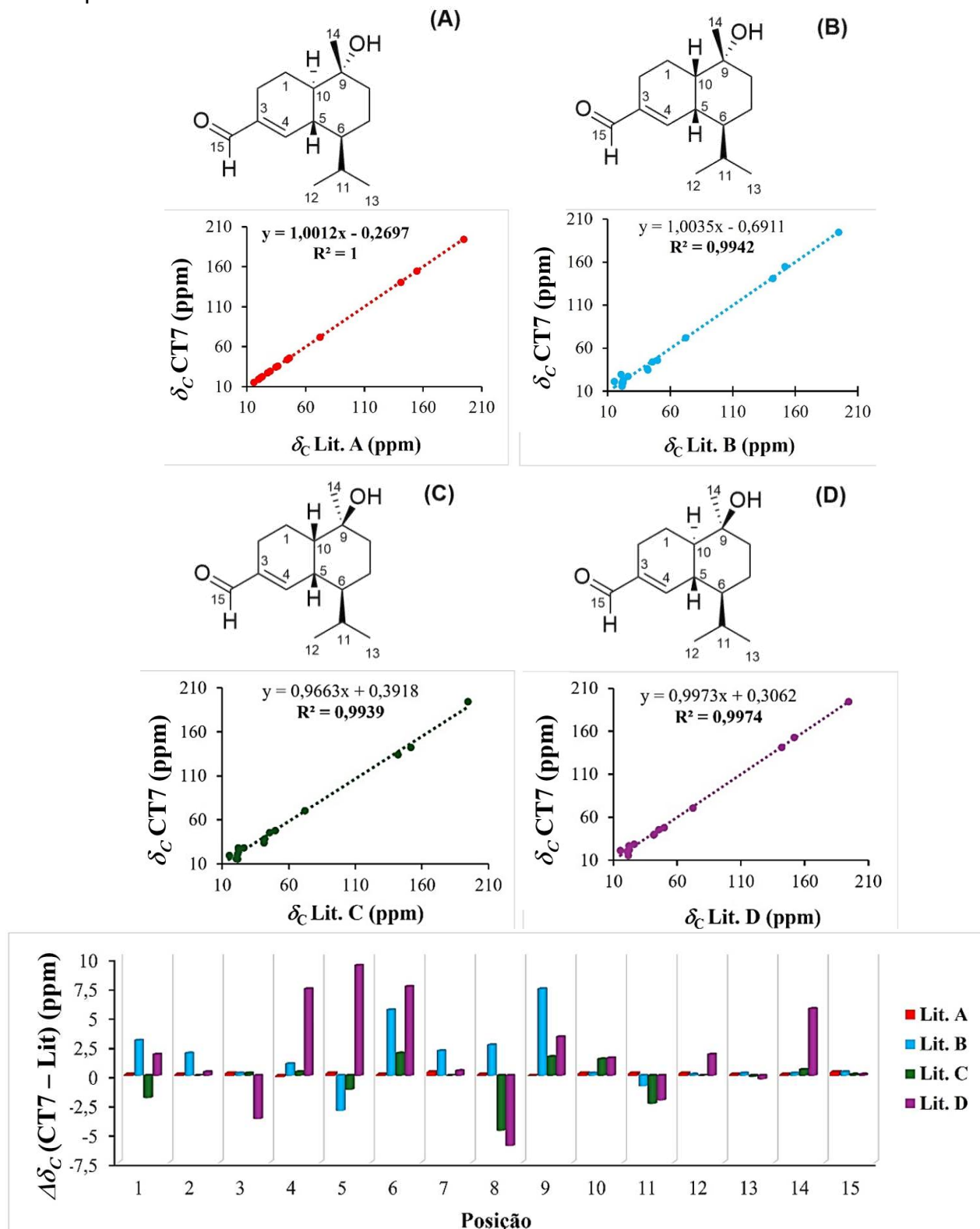
O espectro de RMN ^{13}C -BB (Figura 49, pág. 89) de **CT7** apresentou quinze sinais, com destaque para o sinal em δ_{C} 194,8, característico de carbonila de aldeído. Os dados espectroscópicos de **CT7** mostraram-se semelhantes aos de **CT1** (Tabela 28, pág. 87), diferindo apenas pela presença do sinal de carbono característico de carbonila de aldeído, sugerindo, portanto, a fórmula molecular de **CT7** como $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}_2$. Para confirmar as deduções observadas, foram obtidos os gráficos de similaridade e regressão linear dos compostos 15-oxo- α -cadinol (**A**), canangaterpene III (**B**), 15-oxo- τ -muurolol (**C**) e 15-oxo- τ -cadinol (**D**), descritos na literatura (Figura 47, pág. 86) (Tabela 29, pág. 88). Desta forma, os resultados dos gráficos sinalizaram que **CT7** apresenta estereoquímica e dados de RMN semelhantes aos do composto 15-oxo- α -cadinol (**A**) (Figura 46, pág. 85).

O 15-oxo- α -cadinol foi isolado dos frutos de *Schisandra chinensis* e apresentou atividades inibitórias sobre α -glicosidase e sobre a produção de óxido nítrico (NO) induzida por lipopolissacarídeo (LPS) em macrófagos RAW264.7 murinos (Sun *et al.*, 2023). Este composto também foi isolado dos galhos e folhas de *Ilicium merrillianum* apresentando, portanto, atividade promotora de crescimento de neuritos (Tian *et al.*, 2016).

Figura 46 - Estrutura sugerida para **CT7**

15-oxo- α -cadinol
Fonte: própria autora.

Figura 47 - Representação estrutural, análise de regressão e desvio químico individual dos dados de RMN ^{13}C de **CT7** versus os descritos na literatura para 15-oxo- α -cadinol (A), canangaterpene III (B), 15-oxo- τ -muurolol (C) e 15-oxo- τ -cadinol (D), respectivamente



Fonte: própria autora.

Tabela 28 - Dados dos deslocamentos químicos de RMN ^{13}C e ^1H de **CT7** comparados com os dados descritos na literatura para 15-oxo- α -cadinol, ambos em CDCl_3

CT7				Lit* - 15-oxo- α -cadinol	
C	δ_c	Tipo	δ_H (mult., J em Hz)	δ_c	δ_H (mult., J em Hz)
1	CH ₂	21,5	α 2,22; m β 1,23; m	21,4	α 2,18; m β 1,22; m
2	CH ₂	22,4	α 2,06; m β 2,46; m	22,2	α 2,08; m β 2,48; m
		141,7	-	141,8	-
3	C				
4	C	151,8	6,85; s	151,6	6,86; sl
5	CH	41,5	2,03; m	41,4	2,02; m
6	CH	45,9	1,23; m	45,6	1,22; m
7	CH ₂	22,2	α 1,71; m β 1,23; m	22,1	α 1,71; m β 1,22; m
8	CH ₂	41,9	1,46; m	41,9	1,46; m
9	C	72,1	-	72,1	-
10	CH	49,8	1,34; m	49,7	1,35; m
11	CH	26,4	2,23; m	26,2	2,24; m
12	CH ₃	15,4	0,84; d (6,9)	15,2	0,86; d (7,0)
13	CH ₃	21,5	0,98; d (6,9)	21,4	0,99; d (7,0)
14	CH ₃	20,7	1,14; s	20,6	1,15; s
15	CH	194,8	9,44; s	194,5	9,45; s

Fonte: própria autora.

*Iijima, Yaoita, Kikuchi, 2003

Tabela 29 – Dados de RMN ^{13}C e desvios químicos de **CT7** comparados com os dados descritos na literatura para os compostos **A - D**, todos em CDCl_3

C	δCT7	$\delta\text{Lit.A}^*$	$\Delta\delta$ (ppm) ^a	$\delta\text{Lit.B}^*$	$\Delta\delta$ (ppm) ^b	$\delta\text{Lit.C}^*$	$\Delta\delta$ (ppm) ^c	$\delta\text{Lit.D}^*$	$\Delta\delta$ (ppm) ^d
1	21,5	21,4	0,1	19,6	1,9	21,5	0,0	21,2	0,3
2	22,4	22,2	0,2	22,5	0,2	22,2	0,2	26,4	-3,7
3	141,7	141,8	-0,1	140,7	1,0	141,4	0,3	134,3	7,4
4	151,8	151,6	0,2	154,8	-3,0	153,0	-1,2	142,4	9,4
5	41,5	41,4	0,1	35,9	5,6	39,6	1,9	33,9	7,6
6	45,9	45,6	0,3	43,8	2,1	45,9	0,0	45,5	0,4
7	22,2	22,1	0,1	19,6	2,6	26,7	-4,7	28,2	-6,0
8	41,9	41,9	0,0	34,5	7,4	40,3	1,6	38,6	3,3
9	72,1	72,1	0,2	71,9	0,2	70,7	1,4	70,6	1,5
10	49,8	49,7	0,1	45,8	3,0	47,9	-1,9	48,0	1,8
11	26,4	26,2	0,2	27,3	-0,9	28,8	-2,4	28,5	-2,1
12	21,5	15,2	0,2	21,4	0,1	21,5	0,0	19,7	1,8
13	15,4	21,4	0,1	15,6	0,2	15,5	-0,1	15,7	-0,3
14	20,7	20,6	0,1	20,5	0,2	20,2	0,5	16,0	5,7
15	194,8	194,5	0,3	194,5	0,3	194,7	0,1	194,7	0,1

Fonte: própria autora.

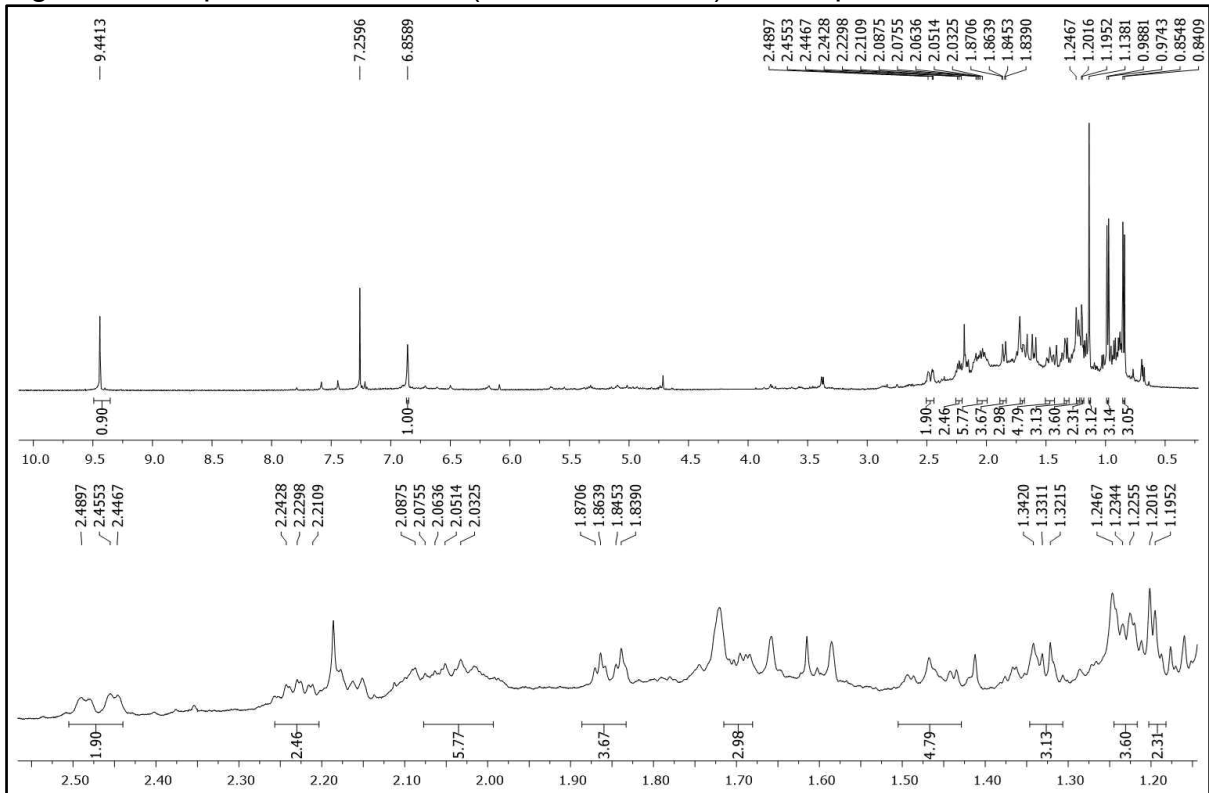
*Lit. **A - D** Wu *et al.*, 2005

^a $\Delta\delta$ (ppm) – Diferença de δ **CT7** com δ Lit. 15-oxo- α -cadinol;

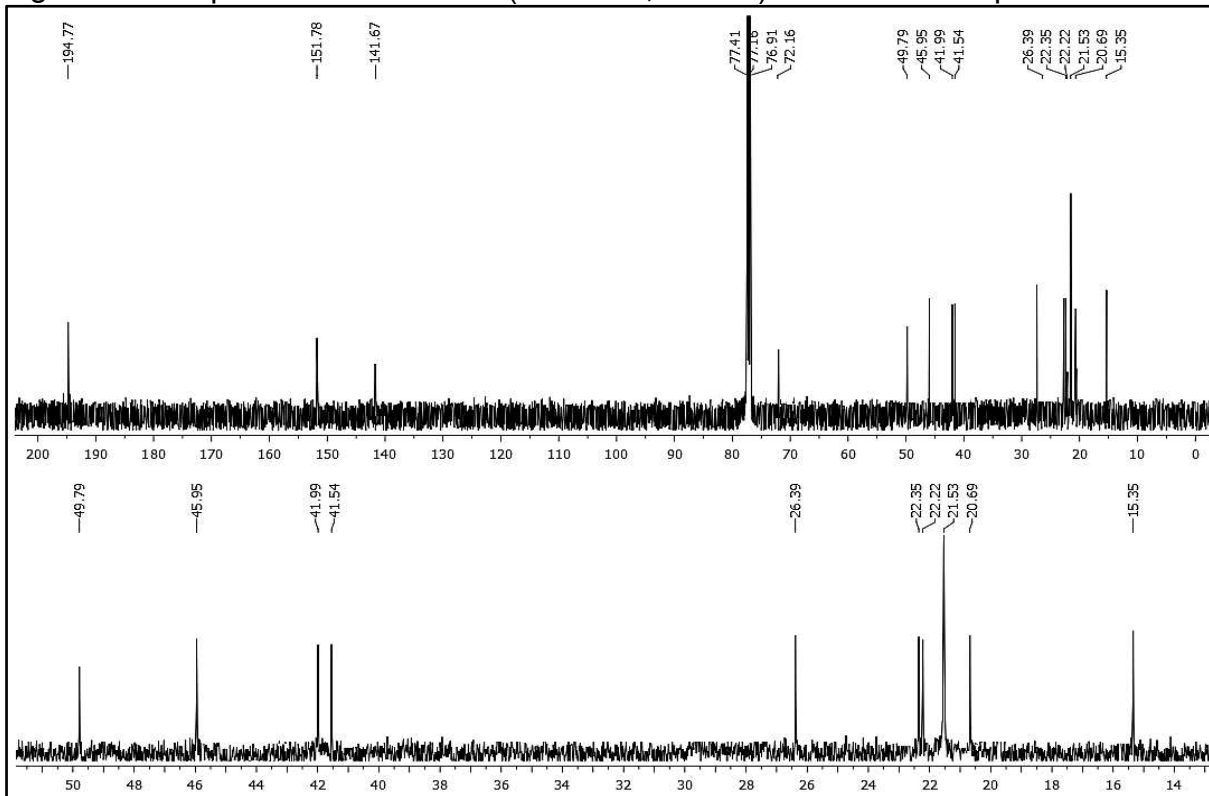
^b $\Delta\delta$ (ppm) – Diferença de δ **CT7** com δ Lit. canangaterpene III;

^c $\Delta\delta$ (ppm) - Diferença de δ **CT7** com δ Lit. 15-oxo- τ -cadinol;

^d $\Delta\delta$ (ppm) - Diferença de δ **CT7** com δ Lit. 15-oxo- τ -muurolol.

Figura 48 - Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) com expansões de CT7

Fonte: própria autora.

Figura 49 - Espectros de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de CT7 com expansão

Fonte: própria autora.

6.1.8 Determinação estrutural de CT8

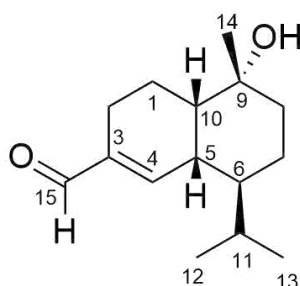
O tratamento cromatográfico da fração resultante da junção do extrato hexânico do cerne e da fração hexânica da partição líquido-líquido do extrato etanólico do cerne permitiu o isolamento de **CT8** (Ítem 5.4.7, pág. 37). Este composto apresentou-se como uma resina amarela, solúvel em CHCl_3 .

Os espectros de RMN ^1H e ^{13}C de **CT8** (Figuras 52 e 53, pág. 94) mostraram-se bastante semelhantes aos de **CT7** permitindo deduzir que ambos os compostos tem a mesma fórmula molecular ($\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}_2$), sendo, portanto, isômeros. Conforme pode ser observado na Tabela 30 (pág. 92) e na Tabela 31 (pág. 93), os valores dos deslocamentos químicos de hidrogênio (δ_{H}) e de carbono (δ_{C}) na posição C-1 apresentam diferenças consideráveis.

Uma análise detalhada na literatura revelou a presença dos esqueletos α -cadinol com fusão *trans* e γ -murulol com fusão *cis*. Vale salientar que a análise dos dados espectroscópicos de **CT8**, comparados aos registrados na literatura para os compostos **A – D** (Wu *et al.*, 2005), bem como através dos gráficos de similaridade e regressão linear mostrados na Figura 51 (pág. 91) foi possível deduzir que **CT8** (Figura 50) trata-se do composto canangaterpene III (Matsumoto *et al.*, 2014), o qual está sendo descrito pela primeira vez na espécie em estudo.

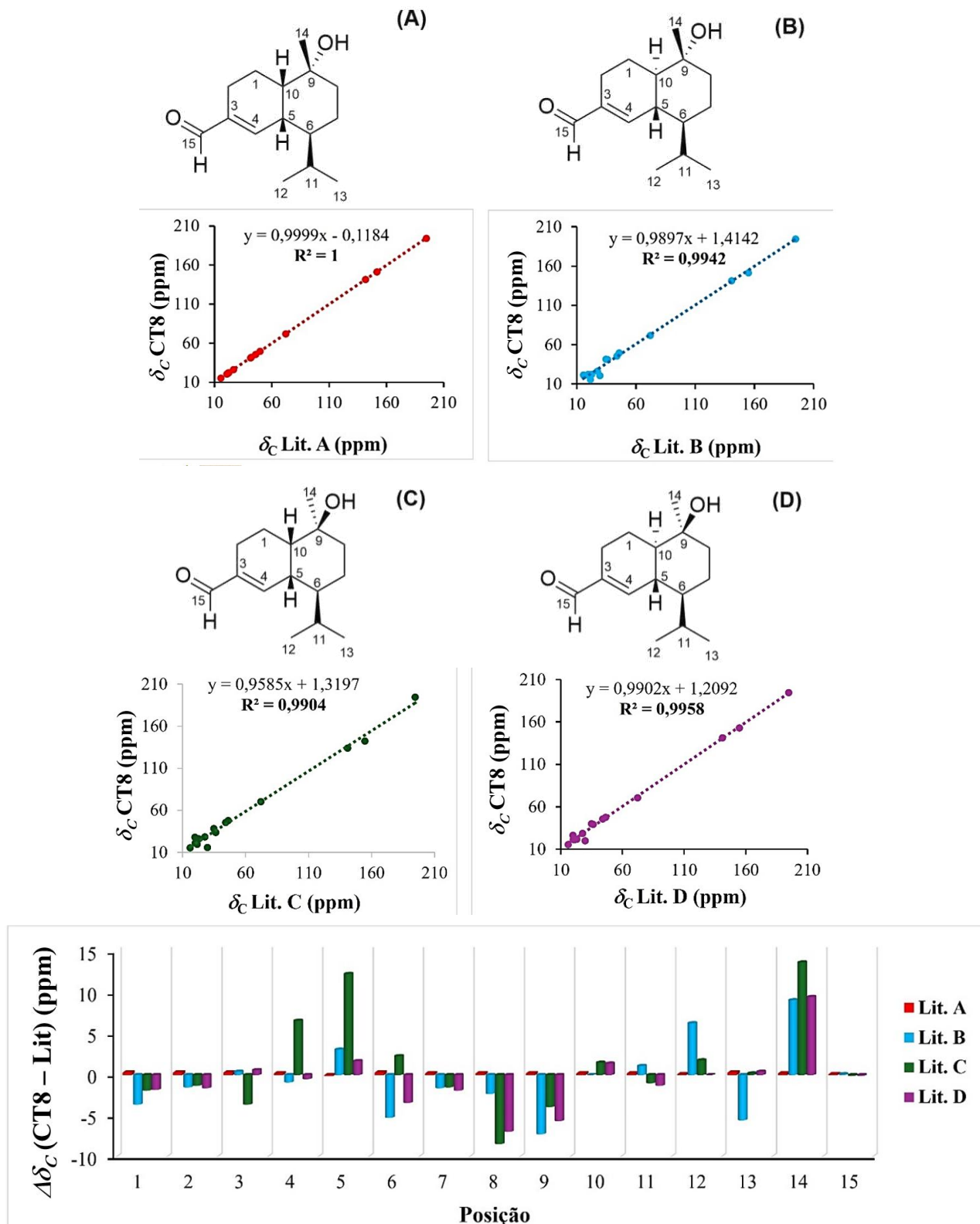
Canangaterpene III já foi isolado dos frutos de *Cananga odorata* (Matsumoto *et al.*, 2014) e das partes aéreas de *Solidago canadensis*, apresentando atividade antifúngica contra *Candida albicans* (Liu *et al.*, 2021).

Figura 50 - Estrutura sugerida para **CT8**



Canangaterpene III
Fonte: própria autora.

Figura 51- Representação estrutural, análise de regressão e desvio químico individual dos dados de RMN ^{13}C de **CT8** versus os dados descritos na literatura para canangaterpene III (A) e oxo- α -cadinol (B), 15-oxo- τ -muurolol (C) e 15-oxo- τ -cadinol (D), respectivamente



Fonte: própria autora.

Tabela 30 - Dados dos deslocamentos químicos de RMN ^{13}C e ^1H de **CT8** comparados com os dados descritos na literatura para canangaterpene III, ambos em CDCl_3

CT8			Lit* - canangaterpene III		
C	Tipo	δ_c	$\delta_H(\text{mult.}, J \text{ em Hz})$	δ_c	$\delta_H(\text{mult.}, J \text{ em Hz})$
1	CH ₂	19,6	α 1,50; m β 1,46; m	19,9	α 1,52; m β 1,46; m
2	CH ₂	22,8	α 2,12; dd (15,5;3,3) β 2,43; dd (5,5; 5,3)	22,5	α 2,13; dd (17,6;3,7) β 2,43; dd (17,6;5,7)
3	C	140,7	-	140,9	-
4	C	154,8	6,96; d (5,5)	154,7	6,96; d (5,7)
5	CH	35,9	2,76; m	36,2	2,76; m
6	CH	43,8	1,38; m	44,0	1,39; m
7	CH ₂	19,6	α 1,50; m β 1,46; m	19,8	α 1,52; m β 1,46; m
8	CH ₂	34,5	α 1,50; m β 1,62; m	34,7	α 1,51; m β 1,63; m
9	C	71,9	-	72,1	-
10	CH	46,1	1,72; m	45,8	1,75; m
11	CH	27,5	1,94; m	27,3	1,96; m
12	CH ₃	21,5	0,91; d (6,5)	21,4	0,91; d (6,7)
13	CH ₃	15,9	0,94; d (6,5)	15,6	0,95; d (6,7)
14	CH ₃	29,7	1,25; s	29,5	1,25; s
15	CH	194,6	9,43; s	194,5	9,43; s

Fonte: própria autora.

*Matsumoto *et al.*, 2014

Tabela 31 – Dados de RMN ¹³C e desvios químicos de **CT8** comparados com os dados descritos na literatura para os compostos **A – E**, todos em CDCl₃

C	δ CT8	δ Lit.A*	$\Delta\delta$ (ppm) ^a	δ Lit.B*	$\Delta\delta$ (ppm) ^b	δ Lit.C*	$\Delta\delta$ (ppm) ^c	δ Lit.D*	$\Delta\delta$ (ppm) ^d
1	19,9	19,6	0,3	21,4	-1,5	21,2	-1,3	21,5	-1,6
2	22,8	22,5	0,3	22,2	0,4	26,4	-3,6	22,2	0,6
3	140,9	140,7	0,2	141,8	-0,9	134,3	6,6	141,4	-0,5
4	154,7	154,8	-0,1	151,6	3,1	142,4	12,3	153,0	1,7
5	36,2	35,9	0,3	41,4	-5,2	33,9	2,3	39,6	-3,4
6	44,0	43,8	0,2	45,6	-1,6	45,5	-1,5	45,9	-1,9
7	19,8	19,6	0,2	22,1	-2,3	28,2	-8,4	26,7	-6,9
8	34,7	34,5	0,2	41,9	-7,2	38,6	-3,9	40,3	-5,6
9	72,1	71,9	0,2	72,1	0,0	70,6	1,5	70,7	1,4
10	46,1	45,8	0,3	49,7	-3,6	48,0	-1,9	47,9	-1,8
11	27,5	27,3	0,2	26,2	1,1	28,5	-1,0	28,8	-1,3
12	21,5	21,4	0,1	15,2	6,3	19,7	1,8	21,5	0,0
13	15,9	15,6	0,3	21,4	-5,5	15,7	0,2	15,5	0,4
14	29,7	29,5	0,2	20,6	9,1	16,0	13,7	20,2	9,5
15	194,6	194,5	0,1	194,5	0,1	194,7	-0,1	194,7	-0,1

Fonte: própria autora.

*Lit. **A - D** (Wu *et al.*, 2005)

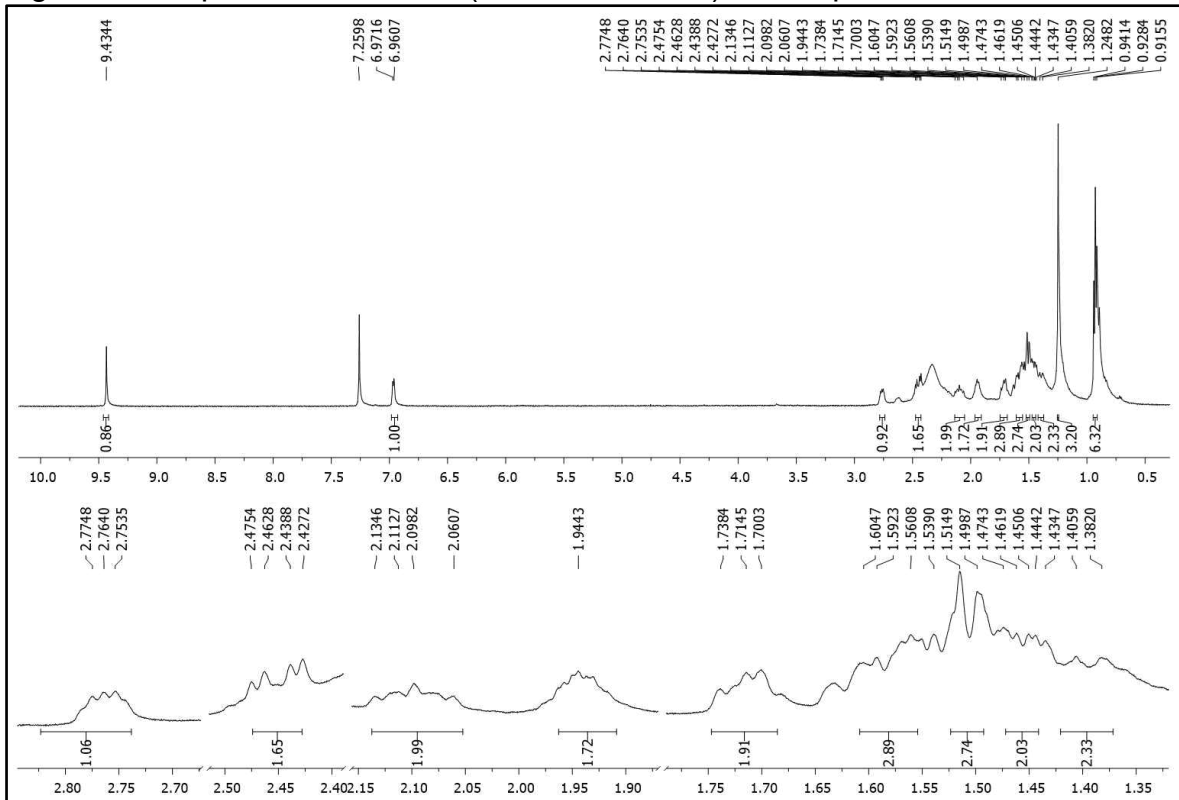
^a $\Delta\delta$ (ppm) - Diferença de δ **CT8** com δ Lit. canangaterpene III;

^b $\Delta\delta$ (ppm) - Diferença de δ **CT8** com δ Lit. 15-oxo- α -cadinol;

^c $\Delta\delta$ (ppm) - Diferença de δ **CT8** com δ Lit. 15-oxo- τ -muurolol;

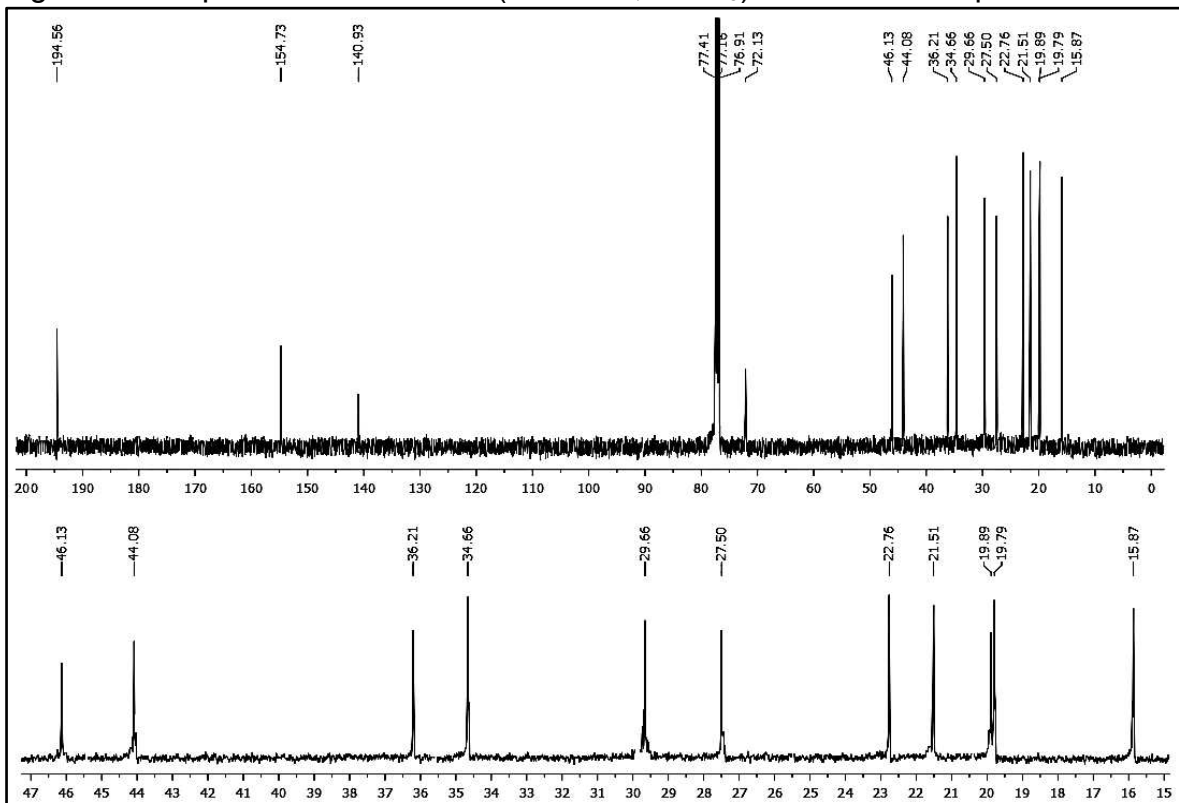
^d $\Delta\delta$ (ppm) - Diferença de δ **CT8** com δ Lit. 15-oxo- τ -cadinol.

Figura 52 - Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) com expansões de **CT8**



Fonte: própria autora.

Figura 53 - Espectros de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de **CT8** com expansão



Fonte: própria autora.

6.1.9 Determinação estrutural de CT9 e CT10

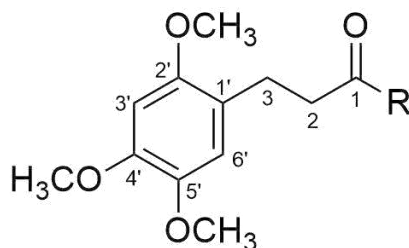
Sucessivos tratamentos cromatográficos da fração diclorometano da partição líquido-líquido resultaram no isolamento de **CT9** (7,6 mg) e **CT10** (5,7 mg), conforme a metodologia descrita no item **5.4.13** (pág. 42). Ambos se apresentaram na forma de uma resina incolor, solúvel em CHCl_3 .

Os espectros de RMN ^1H (Figura 55, pág. 98) e (Figura 57, pág. 99) dos compostos exibiram dois tripletos em δ_{H} 2,87 ($J = 7,5$; 2H-3) e 2,62 ($J = 7,5$; 2H-2) compatíveis com hidrogênios de dois grupos metilênicos adjacentes e dois simpletos em δ_{H} 6,73 e 6,50 atribuídos à presença de dois hidrogênios ligados anéis aromáticos tetrasubstituídos. Além destes, foram observados sinais na região de grupos metoxilas em δ_{H} 3,65 - 3,87. Os compostos **CT9** e **CT10**, diferem no número de metoxilas, evidenciados pela presença de três singletos em **CT9** e quatro em **CT10**. O acréscimo de um singleto em δ_{H} 3,65 para o composto **CT10**, sugere a presença de um éster metílico.

Os espectros de RMN ^{13}C de **CT9** e **CT10** (Figuras 56 e 58, pág. 98 e 99) mostraram semelhanças nos sinais correspondentes às três metoxilas, aos dois átomos de carbonos metilênicos, aos seis carbonos de anel aromático, assim como, nos sinais de carbono de carbonila em δ_{C} 177,9 e δ_{C} 174,0, respectivamente. O espectro de **CT10** difere do correspondente espectro de **CT9** pela presença de um sinal em δ_{C} 50,1 atribuído ao carbono do éster metílico.

Com base nas informações apresentadas nas Tabelas 32 e 33 (pág. 96 e pág. 97) e por comparação com os dados relatados na literatura, foi possível concluir que **CT9** e **CT10** tratam-se do ácido 3-(2',4',5'-trimetoxifenil)-propanóico (Menezes, 2005) e 3-(2',4',5'-trimetoxifenil)-propanoato de metila (loset *et al.*, 2000), respectivamente (Figura 54, pág. 96).

O ácido 3-(2',4',5'-trimetoxifenil)-propanóico foi isolado anteriormente do cerne de *Cordia trichotoma* (Menezes, 2005), enquanto 3-(2',4',5'-trimetoxifenil)-propanoato de metila foi isolado das raízes de *Cordia alliodora* e exibiu atividades contra o fungo fitopatogênico *Cladosporium cucumerinum* e larvicida sobre *Aedes aegypti* (loset *et al.*, 2000).

Figura 54 - Estruturas sugeridas para **CT9** e **CT10**

CT9 - R = OH

CT10 - R = OCH₃

Fonte: própria autora.

Tabela 32 – Dados de deslocamentos químicos de RMN ¹³C e ¹H de **CT9** em CDCl₃ comparados com os dados descritos na literatura para o ácido 3-(2',4',5'-trimetoxifenil)-propanóico em CD₃OD

CT9		Lit*-Ácido 3-(2',4',5'-trimetoxifenil)-propanóico				
C	Tipo	δ _c	δ _H (mult., J em Hz)	δ _c	δ _H (mult., J em Hz)	Δδ _c (ppm)
1	C	177,9	-	177,3	-	0,6
2	CH ₂	34,4	2,62; t (7,5)	35,6	2,49; t (7,9)	-1,2
3	CH ₂	25,5	2,87; t (7,5)	26,7	2,79; t (7,9)	-1,2
1'	C	120,2	-	122,0	-	1,8
2'	C	151,6	-	153,5	-	1,9
3'	CH	97,7	6,50; s	99,4	6,60; s	1,7
4'	C	148,2	-	149,9	-	1,7
5'	C	142,8	-	144,2	-	-2,0
6'	CH	114,5	6,73; s	116,6	6,77; s	-2,1
	2'-OCH ₃	56,2	3,82; s	56,7	3,78; s	-0,5
	4'-OCH ₃	56,3	3,87; s	56,9	3,80; s	-0,6
	5'-OCH ₃	56,7	3,80; s	57,7	3,73; s	-1,0

Fonte: própria autora.

*Menezes, 2005

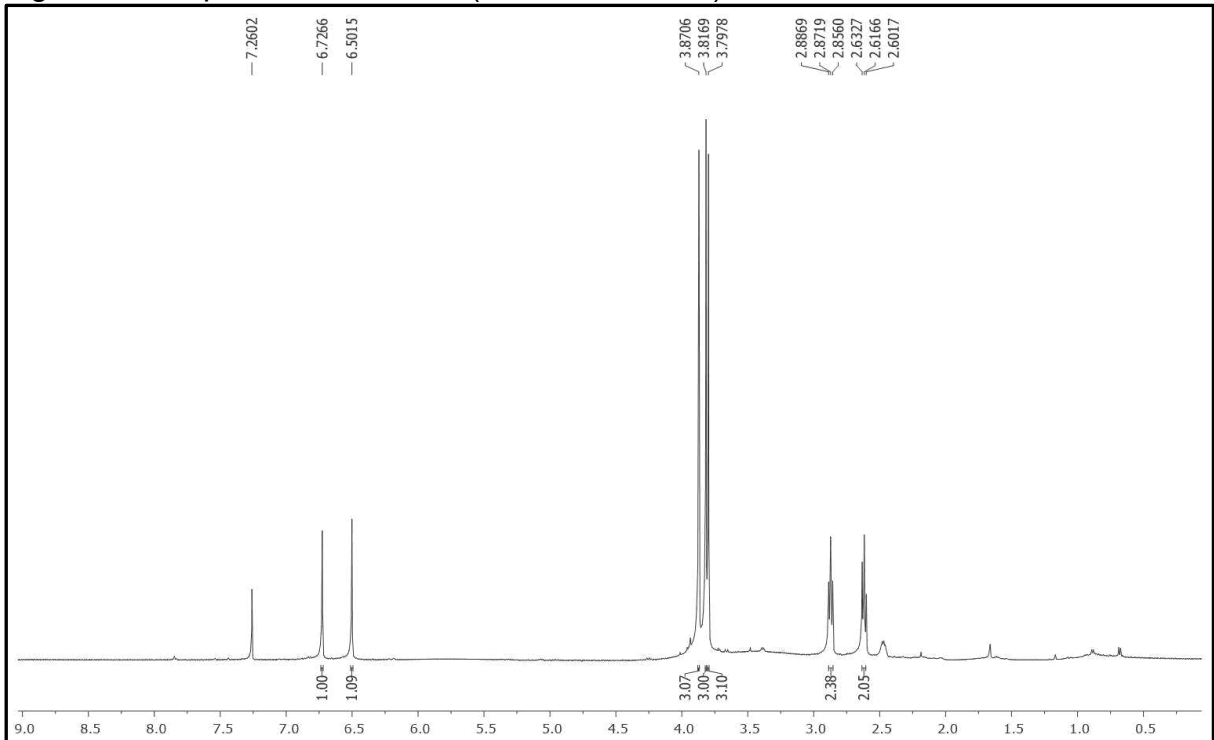
Tabela 33 - Dados de deslocamentos químicos de RMN ^{13}C e ^1H de **CT10** em CDCl_3 comparados com os dados descritos na literatura para 3-(2',4',5'-trimetoxifenil)-propanoato de metila em CD_3OD

C	Tipo	CT10		Lit*-3-(2',4',5'-trimetoxifenil)-propanoato de metila		
		δ_{C}	δ_{H} (mult., J em Hz)	δ_{C}	δ_{H} (mult., J em Hz)	$\Delta\delta_{\text{C}}$ (ppm)
1	C	174,0	-	173,7	-	0,3
2	CH ₂	34,2	2,62; t (7,5)	34,9	2,49; t (7,9)	-0,7
3	CH ₂	20,6	2,87; t (7,5)	26,1	2,79; t (7,9)	-5,5
1'	C	124,7	-	120,9	-	3,8
2'	C	152,7	-	152,6	-	0,1
3'	CH	98,8	6,50; s	99,3	6,60; s	-0,5
4'	C	151,1	-	149,8	-	1,2
5'	C	143,4	-	144,0	-	-0,6
6'	CH	114,9	6,73; s	116,3	6,77; s	-1,4
	1-OCH ₃	50,1	3,65; s	51,5	3,61; s	-1,4
	2'-OCH ₃	56,3	3,81; s	56,5	3,78; s	-0,2
	4'-OCH ₃	56,2	3,86; s	56,4	3,80; s	-0,2
	5'-OCH ₃	56,7	3,79; s	57,1	3,73; s	-0,6

Fonte: própria autora.

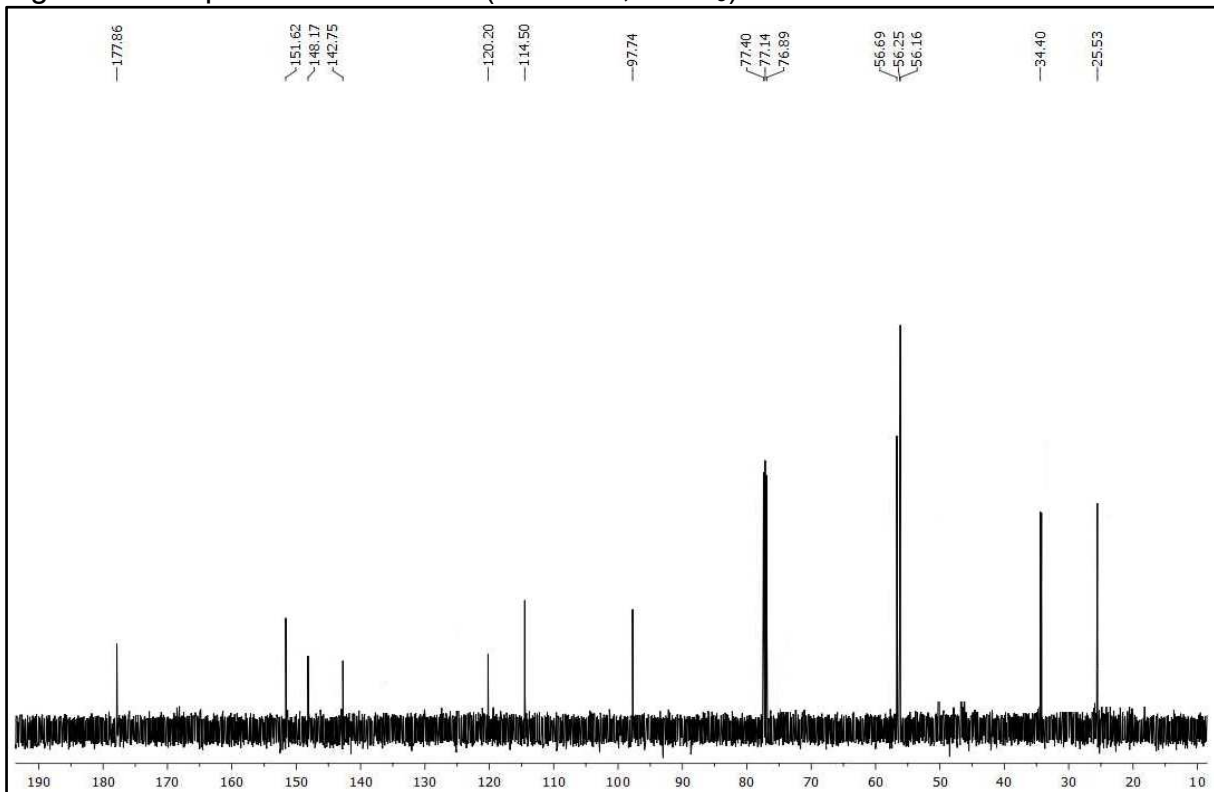
*loset *et al.*, 2000

Figura 55 - Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de **CT9**



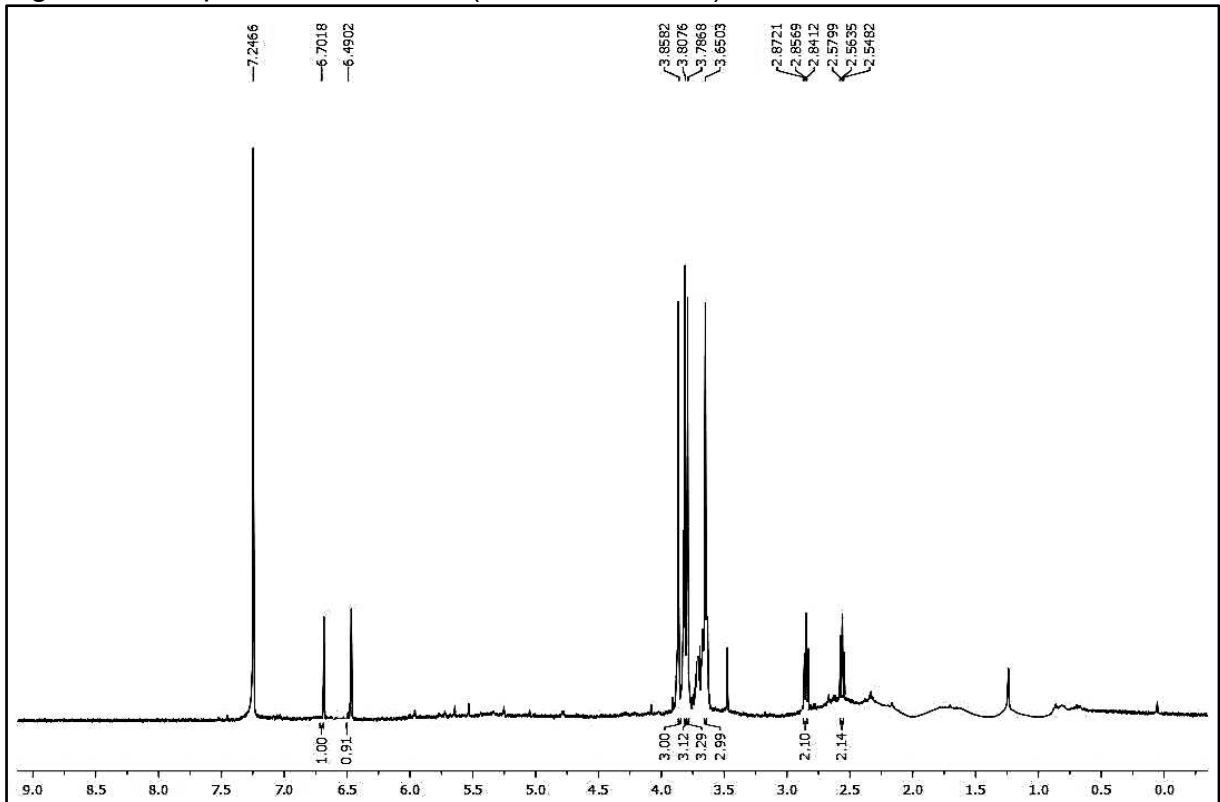
Fonte: própria autora.

Figura 56 - Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de **CT9**



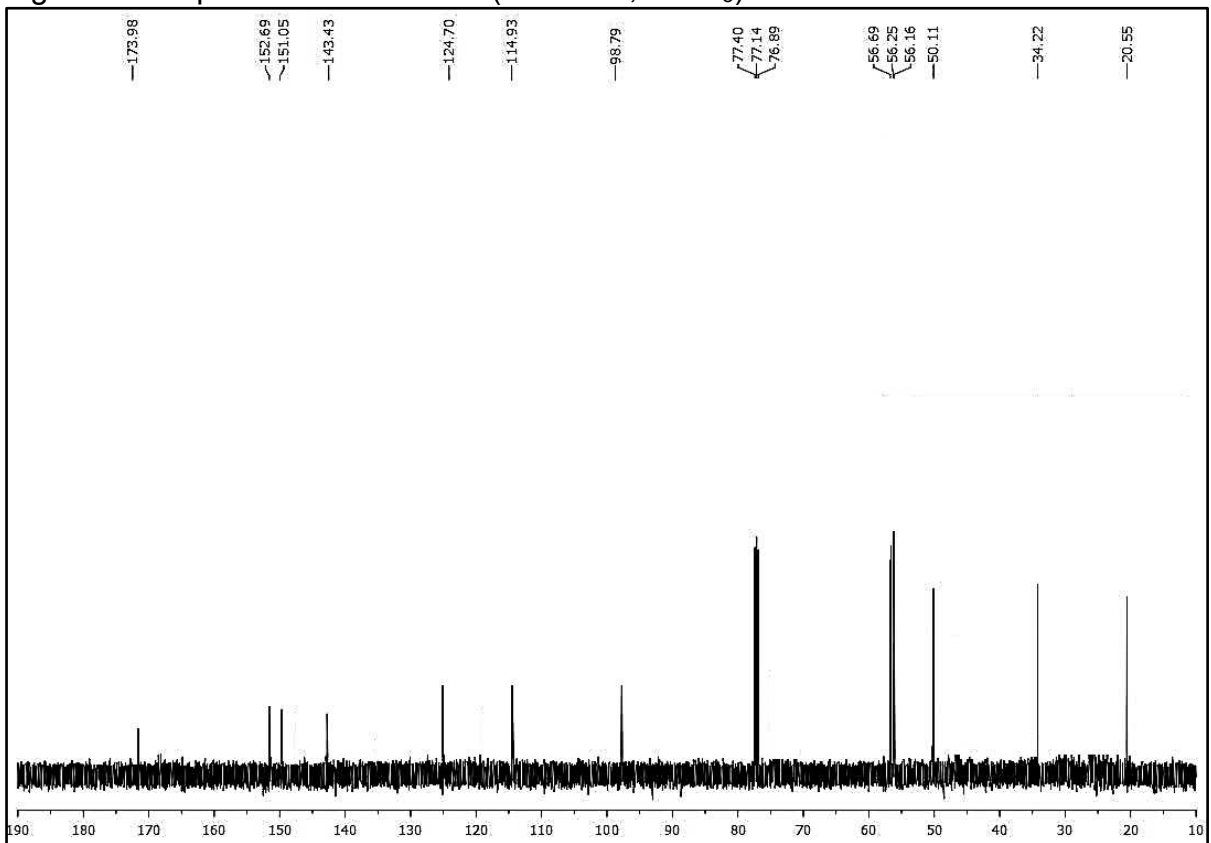
Fonte: própria autora.

Figura 57 - Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de **CT10**



Fonte: própria autora.

Figura 58- Espectros de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de **CT10**



Fonte: própria autora.

7 ENSAIOS BIOLÓGICOS

7.1 Atividade larvicida sobre *Aedes aegypti*

Nos bioensaios com larvas de *Aedes aegypti*, os extratos de *C. trichotoma* foram testados em diferentes concentrações (500, 250, 100, 50 e 25 µg/mL), conforme descrito na metodologia do item 5.3.1 (pág. 32). Dentre os extratos avaliados, o extrato hexânico do cerne (**CTCH**) apresentou atividade significativa com valor de CL₅₀ igual a 68,3 ± 1,3 µg/mL (Tabela 34), visto que amostras que exibem valores de CL₅₀ < 100 µg/mL são considerados ativos (Cheng *et al.*, 2003). Vale ressaltar que a maioria dos metabólitos secundários isolados dos extratos do cerne de *C. trichotoma* pertencem à classe dos sesquiterpenos e, geralmente, sesquiterpenos exibem atividade larvicida (Magalhães *et al.*, 2010).

Nestes bioensaios Temephos[®], um inseticida organofosforado, foi utilizado como controle positivo, e este composto apresentou valor de CL₅₀ igual a 1,4 ± 0,2 µg/mL. Dessa forma, o valor de CL₅₀ de **CTCH** demonstrou que a amostra tem potencial como agente larvicida natural.

Tabela 34 - Valores de CL₅₀ (µg/mL) das amostras

Amostras	CL ₅₀ (µg/mL)
CTAH ^a	-
CTAE ^b	501,9 ± 1,0
CTCAH ^c	-
CTCAE ^d	-
CTCH^e	68,3 ± 1,3
CTCE ^f	317,2 ± 0,8
CTRH ^g	-
CTRE ^h	394,0 ± 1,0
CTCEHH ⁱ	223,1 ± 6,6
*Temephos [®]	1,4 ± 0,2

Fonte: própria autora.

*Padrão; ^aExtrato hexânico do alburno; ^bExtrato etanólico do alburno; ^cExtrato hexânico da casca; ^dExtrato etanólico da casca; ^eExtrato hexânico do cerne; ^fExtrato etanólico do cerne; ^gExtrato hexânico da raiz; ^hExtrato etanólico da raiz; ⁱFração hexânica da partição líquido-líquido do extrato etanólico do cerne

7.2 Atividade citotóxica frente a linhagens de células tumorais

Todos os extratos de *Cordia trichotoma* foram avaliadas quanto à citotoxicidade sobre as linhagens tumorais humanas HCT 116 (carcinoma colorretal), NCI-H1299 (câncer de pulmão de células não pequenas) e K562 (leucemia mielóide crônica), de acordo com a metodologia descrita item 5.3.2 (pág. 32), no entanto, os extratos não apresentaram resultados significativos.

Uma escala de intensidade foi utilizada para avaliar o efeito citotóxico das amostras testadas. Conforme com a variação da inibição de crescimento celular, em concentração única, as amostras foram classificadas da seguinte maneira: 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). Vale salientar que os valores de CI_{50} somente serão calculados para as amostras que apresentarem percentuais de inibição superiores a 75%. A Tabela 35 mostra que somente o extrato hexânico do cerne (**CTCH**) apresentou potencial citotóxico moderado sobre a linhagem tumoral NCI-H1299 (câncer de pulmão de células não pequenas).

Tabela 35 - Percentual de inibição em concentração única (50 μ g/mL) do crescimento celular das amostras em três linhagens tumorais e seu desvio padrão (SD)

Amostras	Inibição \pm (SD)		Inibição \pm SD)		Inibição \pm (SD)	
	HCT11 (%)		NCI-H1299 (%)		K (56) (%)	
CTAH ^a	0	0	26	21	13,7	0
CTAE ^a	1,2	0	0	0	0,5	0,3
CTCAH ^b	12,1	7,5	8,8	5,7	6,9	4,5
CTCAE ^b	7,9	5,1	17,1	10,0	0	0
CTCH^c	13,0	8,0	45,8	17,5	34,9	16,1
CTCE ^c	21,9	12,1	0	0	0	0
CTRH ^d	6,6	4,9	3,6	2,5	0	0
CTRE ^d	0	0	25,8	13,5	7,4	4,9
DOX [*]	91,1	37,8	80,6	1,3	94,5	5,3

Fonte: própria autora.

*Padrão; ^aExtrato do alburno; ^bExtrato da casca; ^cExtrato do cerne; ^dExtrato da raiz; ^eFração partição.

7.3 Avaliação da atividade inibitória da enzima acetilcolinesterase

O extrato hexânico do cerne (**CTCH**), o extrato etanólico do cerne (**CTCE**), a fração hexânica da partição líquido-líquido do extrato etanólico do cerne (**CTCEH**) a fração em diclorometano da partição líquido-líquido do extrato etanólico do cerne (**CTCED**), a fração em acetato de etila da partição líquido-líquido do extrato etanólico do cerne (**CTCEA**), juntamente com os metabólitos secundários isolados α -cadinol (**CT1**); $1\beta,4\beta,7\alpha$ -tri-hidroxiudesmano (**CT2**); $1\beta,4\beta,6\alpha$ -trihidroxiudesmano (**CT3**); $1\beta,4\beta,7\beta,11$ -tetra-hidroxiudesmano (**CT4**); $1\beta,4\beta,11\alpha$ -trihidroxiopositano (**CT5**) e $8,11$ -epoxi-cadi-3-9-eno (**CT6**) foram avaliados quanto à sua capacidade inibitória da enzima acetilcolinesterase, conforme metodologia descrita no item **5.3.3** (pág. 34). Dentre as amostras testadas, **CTCH**, **CTCE**, **CTCED**, **CTCED** e **CTCEA** foram ativas, mostrando halos de inibição com diâmetros semelhantes ao controle positivo (eserina), conforme mostrados na Tabela 36 (pág. 103).

Os compostos isolados não apresentaram atividade na concentração testada (1 mg/mL), uma vez que diferentes mecanismos bioquímicos, moleculares e genéticos estão envolvidos no desenvolvimento e progressão da atividade inibitória da acetilcolinesterase, permitindo inferir assim, sobre a importância do sinergismo entre os compostos químicos presentes nos extratos que agem em conjunto potencializando a ação inibitória. Como proposto por alguns autores, conceito de sinergismo já é descrito na literatura científica e apresenta efeito positivo nas propriedades antioxidantes e farmacológicas de espécies vegetais e pode afetar o efeito final sobre a enzima acetilcolinesterase (Miyazawa *et al.*, 1998; Savelev *et al.*, 2003).

Tabela 36 – Dados referentes à avaliação da inibição da enzima acetilcolinesterase

Amostras	Resposta	Diâmetro de halo (mm)
CTCE^a	+	8
CTCH^b	+	8
CTCEA^c	+	7
CTCED^c	+	8
CTCEH^c	+	8
CT2^d	-	-
CT3^d	-	-
CT4^d	-	-
CT5^d	-	-
CT6^d	-	-
Metanol	-	-
Eserina*	+	9

Fonte: própria autora.

*Padrão; ^aExtrato etanólico cerne; ^bExtrato hexânico do cerne; ^cFrações partição líquido-líquido;

^dCompostos isolados

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo químico do extrato hexânico do cerne (**CTCH**) e do extrato etanólico do cerne (**CTCE**) de *C. trichotoma* resultou no isolamento de dez metabólitos secundários, dentre eles, oito são sesquiterpenos e dois são fenilpropanoides. A fração diclorometano, obtida por partição líquido-líquido do extrato etanólico do cerne (**CTCED**) permitiu o isolamento dos compostos **CT2**, **CT3**, **CT4**, **CT5**, **CT9** e **CT10**. A reunião da fração hexânica obtida por partição líquido-líquido (**CTCEH**) com o extrato hexânico do cerne (**CTCH**) proporcionaram o isolamento de **CT1**, **CT6**, **CT7** e **CT8**. Dentre os metabólitos secundários isolados, 8,11-epoxi-cadi-3-9-eno (**CT6**) está sendo relatado pela primeira vez na literatura, enquanto, **CT4**, **CT7** e **CT8** foram isolados pela primeira vez no gênero *Cordia*.

Dentre os extratos avaliados sobre larvas de *Aedes aegypti*, o extrato hexânico do cerne (**CTCH**) apresentou atividade significativa com valor de CL_{50} igual a $68,3 \pm 1,34 \mu\text{g/mL}$.

Nos testes de inibição da acetilcolinesterase os extratos hexânico (**CTCH**), etanólico do cerne (**CTCE**) e as frações da partição líquido-líquido (**CTCEH**, **CTCED**, **CTCE**) mostraram resultados satisfatórios, no entanto, os metabólitos secundários isolados **CT1**, **CT2**, **CT3**, **CT4**, **CT5** e **CT6** avaliados não apresentaram atividade. Desta forma, a atividade observada para os extratos e frações pode ser atribuída ao sinergismo que pode ocorrer entre os diferentes constituintes químicos dos extratos e/ou frações.

Dessa forma, o estudo químico e biológico de *C. trichotoma* estimula a continuação da investigação da espécie e, constitui um passo importante para a busca de compostos que possam ser promissores agentes bioativos.

REFERÊNCIAS

- AGRA, M. F.; FREITAS, P. F.; BARBOSA-FILHO, J. M. Synopsis of the plants known as medicines and poisonous in Northeast of Brazil. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, [s. l.], v. 17, n. 1, p. 114-140, 2007.
- ASHMAWY, Abeer M.; AYOUB, Iriny M.; ELDAHSHAN, Omayma A. Chemical composition, cytotoxicity, and molecular profiling of *Cordia Africana* Lam. on human breast cancer cell line. **Natural Product Research**, [s. l.], v. 35, n. 21, p. 4133-4138, 5 mar. 2020. <http://dx.doi.org/10.1080/14786419.2020.1736064>.
- BERRIDGE, M. V. *et al.* The biochemical and cellular basis of cell proliferation assays that use tetrazolium salts. **Biochemica**, 4: 14-19, 1996.
- CAO, Liang *et al.* New cadinane sesquiterpenes from the stems of *Kadsura heteroclita*. **Molecules**, [s. l.], v. 24, n. 9, p. 1664, 28 abr. 2019. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules24091664>
- CAVALCANTI, Y. W. *et al.* Atividade antifúngica de extratos vegetais brasileiros sobre cepas de *Candida*. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, [s. l.], v.16, n.1, p. 43-48, 2012. Disponível em: <https://periodicos.ufpb.br/ojs/index.php/rbcs/article/view/12258>. Acesso em 09 jan. 2024.
- CARVALHO, P. M. de. *et al.* Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Cordia verbenacea* D.C. **Journal of Ethnopharmacology**, [s. l.], v. 95, n. 2-3, p. 297-301, dez. 2004. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2004.07.028>.
- CARVALHO, Victória Regina de Alencar *et al.* Antibiotic-modifying activity and chemical profile of the essential oil from the leaves of *Cordia verbenacea* DC. **Journal of Essential Oil-Bearing Plants**, [s. l.], v. 20, n. 2, p. 337-345, 4 mar. 2017. <http://dx.doi.org/10.1080/0972060x.2017.1301220>.
- CHADWICK, M. *et al.* Sesquiterpenoides lactones: Benefices to plants and people. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 14, n. 6, p.12780-12805, 2013.
- CHANG, Shang-Tzen *et al.* Antimite activity of essential oils and their constituents from *Taiwania cryptomerioides*. **Journal of Medical Entomology**, [s. l.], v. 38, n. 3, p. 455-457, 1 maio 2001a. <http://dx.doi.org/10.1603/0022-2585-38.3.455>.
- CHANG, Shang-Tzen *et al.* Antitermitic activity of essential oils and components from taiwania (*Taiwania cryptomerioides*). **Journal of Chemical Ecology**, [s. l.], v. 27, n. 4, p. 717-724, 2001b. <http://dx.doi.org/10.1023/a:1010397801826>.
- CHAVES, Juliana *et al.* Pharmacokinetics and tissue distribution of the sesquiterpene α -humulene in mice. **Planta Medica**, [s. l.], v. 74, n. 14, p. 1678-1683, 24 out. 2008. <http://dx.doi.org/10.1055/s-0028-1088307>.

CHENG, S. S. *et al.* Bioactivity of selected plant essential oils against the yellow fever mosquito *Aedes aegypti* larvae. **Bioresource Technology**, v. 89, p. 99-102, 2003.

DANTAS, D. L. *et al.* Advances in the synthesis, biological activities, and applications of cordiaquinones in the *Cordia* genus: a review. **Revista Virtual de Química**, [s. l.], v. 13, n. 6, p. 1353-1371, 2021. Sociedade Brasileira de Química (SBQ). <http://dx.doi.org/10.21577/1984-6835.20210088>.

DUTRA, Rafael C. *et al.* Medicinal plants in Brazil: pharmacological studies, drug discovery, challenges, and perspectives. **Pharmacological Research**, [s. l.], v. 112, p. 4-29, out. 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.phrs.2016.01.021>.

ELLMAN, G. L. *et al.* A new colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochemical Pharmacology**, [s. l.], v. 7, p. 88-95, 1961.

FERNANDES, Elizabeth S. *et al.* Anti-inflammatory effects of compounds alpha-humulene and (-) -*trans*-caryophyllene isolated from the essential oil of *Cordia verbenacea*. **European Journal of Pharmacology**, [s. l.], v. 569, n. 3, p. 228-236, ago. 2007. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejphar.2007.04.059>.

FOUSEKI, M. M. *et al.* Chemical constituents from *Cordia alliodora* and *C. collococa* (Boraginaceae) and their biological activities. **Fitoterapia**, [s. l.], v. 115, p. 9-14, 2016.

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. *et al.* Atividade citotóxica de extratos de fungos endofíticos isolados de *Smallanthus sonchifolius*. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, p. 402-404, 2007.

HU, Yong-Mei *et al.* Sesquiterpenoids from *Homalomena occulta* affect osteoblast proliferation, differentiation and mineralization *in vitro*. **Phytochemistry**, [s. l.], v. 69, n. 12, p. 2367-2373, set. 2008. <http://dx.doi.org/10.1016/j.phytochem.2008.05.023>.

IJIMA, T.; YAOITA, Y.; KIKUCHI, M. Five new sesquiterpenoids and a new diterpenoid from *Erigeron annuus* (L.) PERS., *Erigeron philadelphicus* L. and *Erigeron sumatrensis* RETZ. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, Tokyo, v. 51, n. 5, p. 545-549, 2003.

IOSET, Jean-Robert *et al.* Antifungal and larvicidal compounds from the root bark of *Cordia alliodora*. **Journal of Natural Products**, [s. l.], v. 63, n. 3, p. 424-426, 1 mar. 2000. <http://dx.doi.org/10.1021/np990393j>.

JUNG, Keun Young *et al.* Sesquiterpene components from the flower buds of *Magnolia fargesii*. **Archives of Pharmacal Research**, [s. l.], v. 20, n. 4, p. 363-367, ago. 1997. <http://dx.doi.org/10.1007/bf02976201>.

KENDIR, G. *et al.* Leaf essential oil analysis and anatomical study of *Cordia myxa* from Turkey. **Plant Biosystems - An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology**, [s. l.], v. 2, p. 1-7, 2020.

KIELSE, P. *et al.* Propagação vegetativa de *Cordia trichotoma* (Vell.) Arrab. ex Steudel por estaquia radicular. **Revista Árvore**, [s. l.], v. 37, n. 1, p. 59 - 66, fev. 2013.

LADWIG, Angelique *et al.* Identification and determination of the absolute configuration of amorph-4-en-10 β -ol, a cadinol-type sesquiterpene from the scent glands of the African reed frog *Hyperolius cinnamomeoventris*. **Beilstein Journal of Organic Chemistry**, [s. l.], v. 19, p. 167-175, 16 fev. 2023. <http://dx.doi.org/10.3762/bjoc.19.16>.

LI, R.-T. *et al.* Chemical constituents from *Schisandra plena*. **Journal of Asian Natural Products Research**, [s. l.], v. 7, n. 6, p. 847-852, dez. 2005. <http://dx.doi.org/10.1080/1028602042000204045>.

LINS, Jociano da Silva. **Investigação fitoquímica de *Cordia trichotoma* (Vell.) Arráb. ex Steud. (Boraginaceae)**. 2021. Dissertação (Mestrado em Farmacoquímica) - Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa - PB, 2021. Disponível em: <https://repositorio.ufpb.br/jspui/handle/123456789/22792>. Acesso em 21 Fev. 2023

LIU, N. *et al.* Antifungal and allelopathic activities of sesquiterpenes from *Solidago canadensis*. **Current Organic Chemistry**, [s. l.], v. 25, n. 21, p. 2676-2682, 2 dez. 2021. <http://dx.doi.org/10.2174/1385272825666210728100713>.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa: Plantarum, 1992.

MAGALHÃES, L. A. M. *et al.* Chemical composition and larvicidal activity against *Aedes aegypti* larvae of essential oils from four *Guarea* species. **Molecules**, [s. l.], v.15, p.5734-5741, 2010.

MATIAS, E. F. F. *et al.* The genus *Cordia*: botanists, ethno, chemical and pharmacological aspects. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, [s. l.], v. 25, n. 5, p. 542-552, 2015.

MATSUMOTO, TAKAHIRO *et al.* Lignan dicarboxylates and terpenoids from the flower buds of *Cananga odorata* and their inhibitory effects on melanogenesis. **Journal of Natural Products**, [s. l.], v. 77, n. 4, p. 990-999, 6 mar. 2014. <http://dx.doi.org/10.1021/np401091f>.

MEDEIROS, R. *et al.* Effect of two active compounds obtained from the essential oil of *Cordia verbenacea* on the acute inflammatory responses elicited by LPS in the rat paw. **British Journal of Pharmacology**, [s. l.], v. 151, n. 5, p. 618-627, jul. 2007. <http://dx.doi.org/10.1038/sj.bjp.0707270>.

MENEZES, Jane Silva Alencar de. **Contribuição ao conhecimento químico de plantas do Nordeste do Brasil: *Cordia trichotoma* Vell. e *Cordia globosa* (Jacq.) H.B.K.** 2005. Tese (Doutorado em Química) - Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2005. Disponível em: <http://repositorio.ufc.br/handle/riufc/61082>. Acesso em: 06 jun. 2023.

MENEZES, Jane E. S. A. *et al.* Chemical composition and larvicidal activity of the essential oil from leaves of *Cordia globosa* (Jacq.) H.B.K. from Northeastern Brazil. **Journal Of Essential Oil Research**, Fortaleza, v. 18, n. 3, p. 253-255, 2006. <http://dx.doi.org/10.1080/10412905.2006.9699079>.

MENEZES, Jane E. S. A. *et al.* Trichotomol, a new cadinenediol from *Cordia trichotoma*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, Fortaleza, v. 12, n. 6, p. 787-790, Dez 2001a. <https://doi.org/10.1590/S0103-50532001000600016>.

MENEZES, J. E. S.; LEMOS, T. L. G.; LOIOLA, O, D. Chemical constituents from *Cordia trichotoma*: cytotoxicity and larvicidal activity. **Brazilian Pharmacy Magazine**, Fortaleza, v. 82, p. 3-4, 2001b.

MENEZES, Jane Silva Alencar de. **Contribuição ao conhecimento químico de plantas do Nordeste do Brasil: *Cordia trichotoma* (Vell.)**. 1999. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 1999. Disponível em: <http://repositorio.ufc.br/handle/riufc/14099>. Acesso em: 12 abr. 2023.

MENGHINI, Luigi *et al.* Phytochemical investigation on leaf extract of *Cordia salicifolia* Cham. **Journal of Medicinal Food**, [s. l.], v. 11, n. 1, p. 193-194, 2008.. <http://dx.doi.org/10.1089/jmf.2007.583>.

MICHIELIN, E.M.Z. *et al.* Chemical composition and antibacterial activity of *Cordia verbenacea* extracts obtained by different methods. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 100, n. 24, p. 6615-6623, dez. 2009. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2009.07.061>.

MIYAZAWA, M. *et al.* Inhibition of acetylcholinesterase activity by essential oils of *Mentha Species*. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, [s. l.] v.46, n.9, p.3431-3434, 1998.

MONTEIRO, S.C; COSTA, C.L. **Farmacobotânica**: aspecto teórico e aplicação. Porto Alegre: Artmed, 2017.

NASCIMENTO, F. M. G. *et al.* Inhibitory capacity of extracts and main constituents of hop flowers. **Future Journal of Pharmaceutical Sciences**, [s. l.], v. 9, n. 1, p. 1-13, 2023.

NGUYEN, L. T. K. *et al.* Homalolides C-D, two new sesquiterpenoids from the rhizomes of *Homalomena pendula*. **Natural Product Research**, [s. l.], v. 38, n. 1, p. 60-67, 22 jul. 2022. <http://dx.doi.org/10.1080/14786419.2022.2103557>.

NGUYEN, L. T. K. *et al.* Structure revision and absolute configuration of 5,7-diepi-2 α -hydroxyoplopanone and anti-osteoporotic activities of sesquiterpenoids from the rhizomes of *Homalomena pendula*. **Natural Product Research**, [s. l.], p. 1-10, 20 fev. 2023. <http://dx.doi.org/10.1080/14786419.2023.2180505>.

NIZIO, Daniela Aparecida de C. *et al.* Chemical diversity of native populations of *Varronia curassavica* Jacq. and antifungal activity against *Lasiodiplodia theobromae*. **Industrial Crops and Products**, [s. l.], v. 76, p. 437-448, dez. 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.07.026>. Acesso em: 2 mar. 2023.

OANH, Do Thi. *et al.* Two new sesquiterpenes from *Sarcandra glabra*. **Natural Product Communications**, [s. l.], v. 5, n. 11, p. 429-438, nov. 2010. <http://dx.doi.org/10.1177/1934578x1000501102>.

OLIVEIRA, F. M. *et al.* New enamine derivatives of lapachol and biological activity. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 74, n. 2, june, 2002, p. 211-221. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/aabc/a/MtY8fgXcyvs8QBVq9bPwVws/?form=MG0AV3>. Acesso em: 10 fev. 2024.

OZA, M. J.; KULKARNI, Y. A. Traditional uses, phytochemistry and pharmacology of the medicinal species of the genus *Cordia* (Boraginaceae). **The Journal of Pharmacy and Pharmacology**, [s. l.], v. 69, n. 7, p. 755-789, 2017.

PASSOS, G. F. *et al.* Anti-inflammatory and anti-allergic properties of the essential oil and active compounds from *Cordia verbenacea*. **Journal of Ethnopharmacology**, [s. l.], v. 110, n. 2, p. 323-333, mar. 2007. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2006.09.032>.

PAVANELO, Leonardo Bachio. **Potencial antiproliferativo e determinação de compostos fenólicos de *Cordia trichotoma* (Vell.) Arráb. ex Steud.** 2014. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria - RS, 2014. Disponível em: <http://repositorio.ufsm.br/handle/1/4873>. Acesso em 23 abr. 2023

PAVIA, D.L.; LAMPMAN, G.M.; KRIZ, G.S.; VYVYAN, JR. **Introduction to spectroscopy**. 5^a ed. São Paulo: Cengage Learning, 2015.

PEREIRA, P. S. *et al.* Cytotoxicity of essential oil *Cordia verbenaceae* against *Leishmania brasiliensis* and *Trypanosoma cruzi*. **Molecules**, [s. l.], v. 26, n. 15, p. 4485, 25 jul. 2021. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules26154485>.

PEREIRA, E. J. P. *et al.* Cheminal composition, cytotoxicity and larvicidal activity against *Aedes aegypti* of essential oils from *Vitex gardineriana* Schauer. **Boletín Latino-americano y del Caribe de Plantas Mediciniais y aromáticas**, [s. l.], v. 17, p. 302-308, 2018.

PERINI, J. A. *et al.* Topical application of Acheflan on rat skin injury accelerates wound healing: a histopathological, immunohistochemical and biochemical study.

BMC Complementary and Alternative Medicine, [s. l.], v. 15, p. 2-8, 2015.

Disponível em:

<https://bmccomplementmedtherapies.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12906-015-0745-x?form=MG0AV3>. Acesso em: 18 out. 2022.

RHEE, I. K.; MEENT, M. V. D.; INKANINAN, K.; VERPOORTE, R. Screening for acetylcholinesterase inhibitors from *amaryllidaceae* using silica gel thin layer. Chromatography in combination with bioactivity staining. **Journal of Chromatography**, [s. l.] 915, p. 217-223, 2001.

ROCHA, Kézia Amanda Dantas. **Estudo dos constituintes químicos do extrato etanólico da raiz de *Cordia trichotoma* (Vell)**. 2018. 89 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2018. Disponível em: <http://www.repositorio.ufc.br/handle/riufc/58174>. Acesso em: 29 nov. 2022.

SÁNCHEZ-RECILLAS, A. *et al.* Airway smooth muscle relaxant activity of *Cordia dodecandra* A. DC. mainly by cAMP increase and calcium channel blockade. **Journal of Ethnopharmacology**, [s. l.], v. 229, p. 280–287, 2019.

SANTOS, Renata P. *et al.* Chemical composition and larvicidal activity of the essential oils of *Cordia leucomalloides* and *Cordia curassavica* from the Northeast of Brazil. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, [s. l.], v. 17, n. 5, p. 1027-1030, out. 2006. <http://dx.doi.org/10.1590/s0103-50532006000500030>.

SAVELEV, S. *et al.* Synergiistic and antagonistic interactions of anticholinesterase terpenoids in *Salvia lavandulaefolia* essential oil. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, [s. l.], v.73, n.2, p. 661-668, 2003.

SILVA, Karine de Oliveira. **Prospecção química e farmacológica dos extratos de *Cordia glazioviana* (taub.) e *Cordia oncocalyx* (taub.)** 2017. Tese (Doutorado em Química) – Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2017. Disponível em: <http://repositorio.ufc.br/handle/riufc/32590>. Acesso em: 12 mar. 2023.

SILVA S. A. S. **Investigação fitoquímica de espécies do gênero *Cordia* L. da flora paraibana (Boraginaceae)**. 2004. Paraíba, 2004. Tese (Doutorado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2004. Disponível em: <https://repositorio.ufpb.br/jspui/handle/123456789/22792>. Acesso em: 18 jul. 2023.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 7. ed. Rio de Janeiro: Livros técnicos científicos. 2007.

SIMÕES, C. M. O. *et al.* **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 2. ed. Porto Alegre: Editora da UFSC, 2000. 387 p.

SIMÕES, C. M. O. *et al.* **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2010. 1104 p.

- SUNG, T.V. *et al.* Sesquiterpenoids from the roots of *Homalomena aromatica*. **Phytochemistry**, [s. l.], v. 31, n. 10, p. 3515-3520, out. 1992. [http://dx.doi.org/10.1016/0031-9422\(92\)83719-f](http://dx.doi.org/10.1016/0031-9422(92)83719-f).
- SUN, P *et al.* Structurally diverse sesquiterpenoids with NO production and α -glucosidase inhibitory activities from the fruits of *Schisandra chinensis*. **Chemistry & Biodiversity**, [s. l.], v. 20, n. 10, 20 set. 2023. <http://dx.doi.org/10.1002/cbdv.202301203>.
- TIAN, X.H., *et al.* Terpenoids with neurite growth-promoting activity from the branches and leaves of *Illicium merrillianum*. **Journal of Asian Natural Products Research**, [s. l.], v.18, n. 5, p. 495–503, April 15. 2016. <https://doi.org/10.1080/10286020.2015.1127229>.
- TRIPATHI, Jyoti; GUPTA, Sumit; GAUTAM, Satyendra. Alpha-cadinol as a potential ACE-inhibitory volatile compound identified from *Phaseolus vulgaris* L. through *in vitro* and *in silico* analysis. **Journal of Biomolecular Structure And Dynamics**, [s. l.], v. 41, n. 9, p. 3847-3861, 5 abr. 2022. <http://dx.doi.org/10.1080/07391102.2022.2057359>.
- TISSANDIÉ, L. *et al.* Revisiting the chemistry of guaiacwood oil: identification and formation pathways of 5,11- and 10,11-epoxyguaianes. **Journal of Natural Products**, [s. l.], v. 80, n. 2, p. 526-537, 14 fev. 2017. <http://dx.doi.org/10.1021/acs.jnatprod.6b01068>.
- WAGNER, H.; BLADT, S.; ZGAINSKI, M. E. **Plant Drug Analysis: A thin layer chromatography**. Atlas, Berlin: Springer-Verlag, 1984.
- WANDERLEY, M. G. L. *et al.* **Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo**, v. 7 São Paulo: Instituto de Botânica, 2012. 118 p.
- WANG, Yi-Fen *et al.* Three New sesquiterpenoids from the aerial parts of *Homalomena occulta*. **Chemistry & Biodiversity**, [s. l.], v. 4, n. 5, p. 925-931, maio 2007. <http://dx.doi.org/10.1002/cbdv.20079008>.
- WU, Chi-Lin *et al.* Structure-activity relationships of cadinane-type sesquiterpene derivatives against wood-decay fungi. **Holzforschung**, [s. l.], v. 59, n. 6, p. 620-627, 1 nov. 2005. <http://dx.doi.org/10.1515/hf.2005.100>.
- XIE, X.; WANG, R.; SHI, Y. Sesquiterpenoids from the rhizomes of *Homalomena occulta*. **Planta Medica**, [s. l.], v. 78, n. 10, p. 1010-1014, 9 maio 2012. <http://dx.doi.org/10.1055/s-0031-1298539>.
- ZHAO, J.; WU, J.; YAN, F. L. A new sesquiterpenoid from the rhizomes of *Homalomena occulta*. **Natural Product Research**, [s. l.], v. 28, n. 20, p. 1669-1673, 8 ago. 2014. <http://dx.doi.org/10.1080/14786419.2014.934238>.