



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

KÉSYA AMANDA DANTAS ROCHA

ESTUDO DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DO EXTRATO ETANÓLICO DA
RAIZ DE *Cordia trichotoma* (Vell)

FORTALEZA

2018

KÉSYA AMANDA DANTAS ROCHA

ESTUDO DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DO EXTRATO ETANÓLICO DA RAIZ
DE *Cordia trichotoma* (Vell)

Dissertação apresentada à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Ceará como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Química. Área de concentração: Química orgânica.

Orientadora: Profa. Dra. Otília Deusdênia
Loiola Pessoa.

FORTALEZA

2018

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

- R573e Rocha, Késya Amanda Dantas.
Estudo dos constituintes químicos do extrato etanólico da raiz de *Cordia trichotoma* (Vell). / Késya Amanda Dantas Rocha. – 2018.
89 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Programa de Pós-Graduação em Química, Fortaleza, 2018.
Orientação: Profa. Dra. Otilia Deusdênia Loiola Pessoa.
1. Boraginaceae. 2. *Cordia trichotoma*. 3. Cianoglicosídeos. I. Título.

CDD 540

KÉSYA AMANDA DANTAS ROCHA

ESTUDO DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DO EXTRATO ETANÓLICO DA RAIZ
DE *Cordia trichotoma* (Vell)

Dissertação apresentada à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Ceará como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Química. Área de concentração: Química orgânica.

Aprovado em: 25/07/2018.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dra. Otília Deusdênia Loiola Pessoa (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profa. Dra. Nilce Viana Gramosa Pompeu de Sousa Brasil
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profa. Dra. Jane Eire Silva Alencar de Meneses
Universidade Estadual do Ceará (UECE)

A Deus.

Aos meus pais, meu filho Bernardo e meu
esposo Lucas.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente dou graças a Deus, porque sem ele nada seria possível. Aos meus pais, Onofre e Rosane, pelo amor, dedicação e por me conduzir na direção certa. Às minhas irmãs Keidy e Ketley pela amizade, apoio e sempre dividindo lágrimas e sorrisos comigo.

Ao meu esposo Lucas pelo seu companheirismo, muito amor e compreensão por todos os momentos em que estive ausente para a realização deste trabalho e principalmente pela dedicação com nosso lindo filho Bernardo.

À minha cunhada Lígia pela paciência e cuidados com Bernardo para que eu pudesse me dedicar ao trabalho.

Ao meu avô Nelson e avó Vina pelo carinho e atenção. Aos meus tios, tias e primos pelos conselhos. Aos amigos que se tornaram família e principalmente às Luluzinhas, Dani, Fernanda, Letícia, Lígia, Mirlene e Nara.

Aos meus colegas de laboratório, Álison, Amanda, Karine, Kaline, Fábio, Herbert, Luciana, Nayara, Neyliane, Taynara, Rodrigo e Sabrina, pela convivência divertida, pelas experiências trocadas e pela disponibilidade em ajudar e somar sempre.

A professora Dra. Otília Deusdênia Loiola Pessoa e ao Dr. Francisco das Chagas pela amizade, compreensão, dedicação e orientação na realização e elaboração do trabalho.

Aos professores Dr. Edilberto Rocha Silveira e Dr. Raimundo Braz-Filho por seus conhecimentos que enriqueceram o trabalho.

A todos os professores da trajetória pelo conhecimento e saber compartilhado, principalmente aos professores da Pós-Graduação em química pelos ensinamentos, os quais foram imprescindíveis para o desenvolvimento desse trabalho.

Ao programa da Pós-Graduação e aos seus funcionários, principalmente a Célia e a Lana, pelo apoio e amizade.

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

RESUMO

O gênero *Cordia*, pertencente à família Boraginaceae, é encontrado principalmente nas regiões mais quentes e áreas tropicais do Brasil. Diversas plantas desse gênero são usadas na medicina tradicional, especialmente no norte do Brasil, onde são usadas no tratamento de reumatismos, dores menstruais e dispepsia. *Cordia trichotoma* (Vell), é uma árvore de grande importância econômica e vasta dispersão no território nacional, podendo ser encontrada desde o Ceará até o Rio Grande do Sul. A investigação química do extrato etanólico das raízes de *C. trichotoma*, resultou no isolamento de onze metabólitos secundários pertencentes a diferentes classes como: fenólico, cumarina, hidroquinona, lignana e cianoglicosídeos. Estes compostos, após detalhadas análises de IV, EM, RMN de ^1H e ^{13}C foram caracterizados como: seringaldeído, escoparona, 12,16-epoxiglobiferin, ácido (1'R,3'S,5'R,8'S,2Z,4E)-dihidrofaseico e 3'-O- β -D-glicopiranosídeo, além dos ehretiosídeos A1, A2 e A3. Adicionalmente, foram isolados três novos compostos cianoglicosídeos não cianogênicos isômeros, os quais foram designados de trichotomosídeos A1, A2 e A3.

Palavras-chave: Boraginaceae. *Cordia trichotoma*. Cianoglicosídeos.

ABSTRACT

The genus *Cordia*, belonging to the Boraginaceae family, is found mainly in the hottest regions and tropical areas of Brazil. Several plants of this genus are used in traditional medicine, especially in northern Brazil, where they are used to treat rheumatisms, menstrual pain and dyspepsia. *Cordia trichotoma* (Vell), is a tree of great economic importance and wide dispersion in the national territory, and can be found from Ceará to Rio Grande do Sul. The chemical investigation of the ethanolic extract of the roots of *C. trichotoma*, resulted in the isolation of eleven secondary metabolites belonging to different classes such as: phenolic, coumarin, hydroquinone, lignan and cyanoglycosides. These compounds, after analysis of IR, MS, ¹H and ¹³C NMR were characterized as: syringaldehyde, scoparone, 12,16-epoxyglobiferin, acid (1'*R*,3'*S*,5'*R*,8'*S*,2*Z*,4*E*)-dihydrophaseic and 3'-*O*-β-*D*-glycopyranoside, in addition to ehretiosides A1, A2 and A3. In addition, there were three new isomeric non-cyanogenic cyanoglycoside compounds, which were designated trichotomosides A1, A2 and A3.

Keywords: Boraginaceae. *Cordia trichotoma*. Cyanoglucosides.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Fotografia de <i>Cordia trichotoma</i> Vell (A) com destaque nas flores (B) e frutos (C).....	16
Figura 2 - Fluxograma de Obtenção das frações por partição líquido-líquido com diferentes solventes orgânicos.....	24
Figura 3 - Cromatograma CLAE da fração CTRED3(6/7)8-15.....	26
Figura 4 - Cromatograma CLAE da fração CTRED3(6/7)53.....	26
Figura 5 - Cromatograma CLAE da fração CTREA6-8.....	27
Figura 6 - Cromatograma CLAE da fração CTREA11-14.....	28
Figura 7 - Cromatograma da fração CTREB9/10C2.....	30
Figura 8 - Cromatograma da fração CTREB9/10C2.....	30
Figura 9 - Fluxograma geral de isolamento dos compostos.....	31
Figura 10- Espectro de RMN ^1H (499,6 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) de CT1.....	33
Figura 11- Espectro de RMN ^{13}C -BB (125,64 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) de CT1.....	34
Figura 12- Espectro bidimensional de correlação de deslocamentos heteronuclear (^1H , ^{13}C) a mais de uma ligação (HMBC) (499,6, 125,64 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) de CT1.....	34
Figura 13- Espectro de RMN ^1H (499,6 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) de CT2.....	36
Figura 14- Espectro de RMN ^{13}C -BB (125,64 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) de CT2.....	36
Figura 15- Espectro de RMN ^1H (499,6 MHz, MeOD) de CT3.....	38
Figura 16- Espectro de RMN ^{13}C -APT (125,64 MHz, MeOD) de CT3.....	39
Figura 17- Espectro de RMN ^1H (499,6 MHz, MeOD) e expansões de CT4.....	43
Figura 18- Espectro bidimensional de correlação de deslocamentos heteronuclear (^1H , ^{13}C) a uma ligação (HSQC) (499,6, 125,64 MHz, MeOD) de CT4.....	43
Figura 19- Espectro de RMN ^{13}C -APT (125,64 MHz, MeOD) de CT4.....	44
Figura 20- Espectro bidimensional de correlação homonuclear de hidrogênio e hidrogênio (^1H , ^1H) COSY (499,6, MHz, MeOD) de CT4.....	44
Figura 21- Espectro bidimensional de correlação de deslocamentos heteronuclear (^1H , ^{13}C) a mais de uma ligação (HMBC) (499,6, 125,64 MHz, MeOD) de CT4.....	45
Figura 22- Espectro bidimensional de correlação dipolar (^1H , ^1H) (ROESY) (499,6, 125,64 MHz, MeOD) de CT4.....	46
Figura 23- Espectro de RMN ^1H (499,6 MHz, MeOD) de CT5.....	48
Figura 24- Espectro de RMN ^{13}C -BB (125,64 MHz, MeOD) de CT5.....	49
Figura 25- Espectro de absorção na região do infravermelho de CT6.....	54

Figura 26- Espectro de massa de CT6	54
Figura 27- Espectro de RMN ^1H (499,6 MHz, MeOD) de CT6	55
Figura 28- Espectro de RMN ^{13}C -BB (125,64 MHz, MeOD) de CT6.....	56
Figura 29- Espectro de RMN ^{13}C -APT (125,64 MHz, MeOD) de CT6	56
Figura 30- Espectro bidimensional de correlação de deslocamentos heteronuclear (^1H , ^{13}C) a uma ligação (HSQC) (499,6, 125,64 MHz, MeOD) de CT6.....	57
Figura 31- Espectro bidimensional de correlação homonuclear de hidrogênio e hidrogênio (^1H , ^1H) COSY (499,6, MHz, MeOD) de CT6.....	57
Figura 32- Espectro bidimensional de correlação de deslocamentos heteronuclear (^1H , ^{13}C) a mais de uma ligação (HMBC) (499,6, 125,64 MHz, MeOD) de CT6	58
Figura 33- Espectro bidimensional de correlação dipolar (^1H , ^1H) (ROESY) (499,6, 125,64 MHz, MeOD) de CT6.....	59
Figura 34- Espectro de absorção na região do infravermelho de CT7	62
Figura 35- Espectro de massa de CT7	62
Figura 36- Espectro de RMN ^1H (499,6 MHz, MeOD) de CT7	63
Figura 37- Espectro de RMN ^{13}C -APT (125,64 MHz, MeOD) de CT7	63
Figura 38- Espectro bidimensional de correlação de deslocamentos heteronuclear (^1H , ^{13}C) a mais de uma ligação (HMBC) (499,6, 125,64 MHz, MeOD) de CT7	64
Figura 39- Espectro de absorção na região do infravermelho de CT8	67
Figura 40- Espectro de massa de CT8	67
Figura 41- Espectro de RMN ^1H (499,6 MHz, MeOD) de CT8	68
Figura 42- Espectro de RMN ^{13}C -APT (125,64 MHz, MeOD) de CT8	69
Figura 43- Espectro bidimensional de corelação de deslocamentos heteronuclear (^1H , ^{13}C) a mais de uma ligação (HMBC) (499,6, 125,64 MHz, MeOD) de CT8	69
Figura 44- Espectro de absorção na região do infravermelho de CT9	72
Figura 45- Espectro de massa de CT9	72
Figura 46- Espectro de RMN ^1H (499,6 MHz, MeOD) de CT9	73
Figura 47- Espectro de RMN ^{13}C -APT (125,64 MHz, MeOD) de CT9	74
Figura 48- Espectro bidimensional de corelação de deslocamentos heteronuclear (^1H , ^{13}C) a mais de uma ligação (HMBC) (499,6, 125,64 MHz, MeOD) de CT9	74
Figura 49- Espectro de RMN ^1H (499,6 MHz, MeOD) de CT10	77
Figura 50- Espectro de RMN ^{13}C -BB (125,64 MHz, MeOD) de CT10.....	78
Figura 51- Espectro bidimensional de corelação de deslocamentos heteronuclear (^1H , ^{13}C) a mais de uma ligação (HMBC) (499,6, 125,64 MHz, MeOD) de CT10	78

Figura 52- Espectro de RMN ^1H (499,6 MHz, MeOD) de CT11	81
Figura 53- Degradação da Linamarina no meio biológico	82
Figura 54- Proposta biossintética	85
Quadro 1 - Compostos isolados de <i>Cordia trichotoma</i> (Vell)	17

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Dados referentes ao fracionamento cromatográfico da fração diclorometano do extrato etanólico da raiz de <i>C. trichotoma</i>	25
Tabela 2 - Frações obtidas reunidas após observação em CCD.....	27
Tabela 3 - Fracionamento cromatográfico por exclusão molecular	28
Tabela 4 - Fracionamento cromatográfico em cartucho de sílica C-18.....	29
Tabela 5 - Valores dos deslocamentos químicos de de RMN de ^1H e ^{13}C para CT1 e dados da literatura	33
Tabela 6 - Valores dos deslocamentos químicos de RMN de ^1H e ^{13}C entre CT2 e 6,7-dimetoxilcumarina	36
Tabela 7 - Valores dos deslocamentos químicos de carbono-13 e prótio de CT3 e 12,16-epoxi-1,4-dihidroxi-globiferina	38
Tabela 8 - Valores dos deslocamentos químicos de carbono-13 e prótio CT4 e os dados referentes a este composto na literatura.....	42
Tabela 9 - Análise comparativa dos deslocamentos químicos de prótio e carbono-13 para CT5 e glicinamidalignana da literatura	48
Tabela 10- Valores de deslocamento químico de RMN de ^{13}C , ^1H de CT6, incluindo HMBC ($^2J_{\text{CH}}$, $^3J_{\text{CH}}$) e registros para o Ehretiosídeo A1	53
Tabela 11- Análise comparativa dos valores de deslocamento químico de RMN de ^{13}C , ^1H do composto isolado com o Ehretiosídeo A1, bem como os dados do HMBC ($^2J_{\text{CH}}$, $^3J_{\text{CH}}$) de CT7	61
Tabela 12- Valores de deslocamento químico de RMN de ^{13}C e ^1H do composto isolado com o Ehretiosídeo A3, bem como os dados do HMBC de CT8.....	66
Tabela 13- Análise comparativa dos valores de deslocamento químico de RMN 1D e 2D do composto isolado com os δ_{C} e δ_{H} de CT8.....	71
Tabela 14- Valores de deslocamento químico de RMN de ^{13}C , ^1H de CT10, incluindo HMBC ($^2J_{\text{CH}}$, $^3J_{\text{CH}}$) e registros para o Ehretiosídeo A2	76
Tabela 15- Valores de deslocamento químico de RMN de ^{13}C , ^1H de CT11 e registros para o Ehretiosídeo A2	80

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACN	Acetonitrila
APT	Attached Proton Test
BB	Broad Band
CC	Coluna Cromatográfica
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
COSY	Correlation Spectroscopy
CTRE	Extrato etanólico da raiz de <i>Cordia trichotoma</i>
CTREA	Extrato etanólico da raiz de <i>Cordia trichotoma</i> - partição acetato de etila
CTREB	Extrato etanólico da raiz de <i>Cordia trichotoma</i> - partição n-butanólica
CTRED	Extrato etanólico da raiz de <i>Cordia trichotoma</i> - partição diclorometano
CTRH	Extrato hexânico da raiz de <i>Cordia trichotoma</i>
EMAR	Espectrometria de massa de alta resolução
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HSQC	Heteronuclear Single Quantun Coherence
Hz	Hertz
IDH	Índice de deficiência de hidrogênio
IV	Infravermelho
<i>J</i>	Constante de acoplamento
LCMS-IT-TOF	Liquid Chromatography Mass Spectrometry- Ion Trap-Time of flight
NOESY	Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy
RMN ¹³ C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13
RMN ¹ H	Ressonância Magnética Nuclear de Prótio
ROESY	Rotating-frame Overhauser Spectroscopy
TFA	Ácido trifluoroacético
UV	Ultravioleta

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	16
2.1	Aspectos botânicos.....	16
2.2	Compostos químicos isolados de <i>C. trichotoma</i>.....	17
2.3	Atividades farmacológicas de compostos encontrados em <i>C. trichotoma</i>	19
3	METODOLOGIA	20
3.1	Materiais e métodos.....	20
3.1.1	<i>Métodos cromatográficos</i>	20
3.1.1.1	<i>Cromatografia de adsorção</i>	20
3.1.1.2	<i>Extração em fase sólida</i>	20
3.1.1.3	<i>Cromatografia Líquida por Exclusão Molecular.....</i>	20
3.1.1.4	<i>Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).....</i>	21
3.1.2	<i>Métodos espectroscópicos e espectrométricos</i>	21
3.1.2.1	<i>Espectroscopia na região do infravermelho (IV).....</i>	21
3.1.2.2	<i>Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)</i>	21
3.1.2.3	<i>Espectrometria de massa de alta resolução (EMAR)</i>	22
3.1.2.4	<i>Rotação óptica.....</i>	22
3.2	Parte experimental	22
3.2.1	<i>Coleta do material botânico</i>	22
3.2.2	<i>Obtenção dos extratos das raízes de <i>C. trichotoma</i>: CTRH e CTRE.....</i>	23
3.2.3	<i>Partição líquido-líquido do extrato etanólico das raízes de <i>C. trichotoma</i></i>	23
3.2.4	<i>Coluna Cromatográfica da fração diclorometano com gradiente de eluição</i>	24
3.2.5	<i>Coluna cromatográfica da CTRED3</i>	25
3.2.5.1	<i>Isolamento de CT1 e CT2</i>	25
3.2.5.2	<i>Isolamento de CT3</i>	26
3.2.6	<i>Cromatografia por exclusão molecular da fração Acetato de etila (CTREA)</i>	26

3.2.7	Isolamento dos compostos provenientes da fração CTREA	27
3.2.7.1	Isolamento de CT4	27
3.2.7.2	Isolamento de CT5	28
3.2.8	Cromatografia por exclusão molecular da fração n-Butanólica (CTREB).....	28
3.2.9	Extração em fase sólida com cartucho de sílica C-18.....	29
3.2.9.1	Isolamento de CT6, CT7, CT8, CT9 da fração CTREB9/10C2.....	29
3.2.9.2	Isolamento de CT10 e CT11	30
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
4.1	Determinação estrutural.....	32
4.1.1	Determinação estrutural dos compostos isolados provenientes da fração CTRED	32
4.1.1.1	Determinação estrutural de CT1	32
4.1.1.2	Determinação estrutural de CT2	35
4.1.1.3	Determinação estrutural de CT3	37
4.1.2	Determinação estrutural dos compostos isolados proveniente da fração CTREA .	40
4.1.2.1	Determinação estrutural de CT4	40
4.1.2.2	Determinação estrutural de CT5	47
4.1.3	Determinação estrutural dos compostos isolados provenientes da fração CTREB	50
4.1.3.1	Determinação estrutural de CT6.....	50
4.1.3.2	Determinação estrutural de CT7.....	60
4.1.3.3	Determinação estrutural de CT8.....	65
4.1.3.4	Determinação estrutural de CT9.....	70
4.1.3.5	Determinação estrutural de CT10.....	75
4.1.3.6	Determinação estrutural de CT11.....	79
5	CONSIDERAÇÕES BOTÂNICAS E ASPÉCTOS BIOGENÉTICOS DOS CIANOGLICOSÍDEOS.....	82
5.1	Biossíntese	84
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	86

REFERÊNCIAS	87
--------------------------	-----------

1 INTRODUÇÃO

O uso de plantas para tratar ou prevenir doenças é secular. Na verdade, uma grande variedade de plantas é aceita pelos sistemas de medicina preventiva em todo mundo, uma medicina alternativa que atende a todos os níveis socioeconômicos. Como consequência, a medicina tradicional desenvolveu-se de tal forma que muitas espécies de plantas medicinais são estudadas para entendimento de seus mecanismos de ação e no isolamento de seus princípios ativos (BARREIRO; BOLZANI, 2009).

Os medicamentos à base de plantas, desfrutam, atualmente, de uma posição respeitável, especialmente nos países em desenvolvimento, onde a disponibilidade de serviços de saúde é limitada a uma pequena parte da população (ANGRA; FREITAS; BARBOSA-FILHO, 2007). Nesses países chega a 80% o número de pessoas que fazem uso de plantas medicinais para seus cuidados básicos de saúde (ANGRA; FREITAS; BARBOSA-FILHO, 2007). De fato, as pesquisas de revisões realizadas por Newman e Cragg (2016), demonstraram que os produtos naturais (PN) desempenham papel dominante na descoberta de protótipos para o desenvolvimento de medicamentos e para o tratamento de doenças humanas.

Através dos estudos nesse âmbito, uma das maiores contribuições da química de produtos naturais para a humanidade tem sido na produção de medicamentos. Os PN oferecem matéria química moldada pela seleção natural, principalmente quando se trata da resistência dos antibióticos, uma vez que os PN e seus derivados estão prontos para recuperar a proeminência na entrega de novos medicamentos e resolver esse problema (WRIGHT, 2017). Apesar de existirem diversas estratégias para a síntese de novos fármacos, a química de produtos naturais continua sendo a única fonte alternativa e estratégica para a descoberta de fármacos inovadores (BARREIRO; BOLZANI, 2009).

Diante dos relatos sobre as potencialidades farmacológicas e biológicas das substâncias isoladas de espécies de *Cordia*, acredita-se que estas plantas, podem ser fontes de novos compostos biologicamente ativos e de interesse terapêutico. Comprovando uma profunda afinidade entre os fármacos e a diversidade química da natureza e principalmente do gênero em estudo, em 2004, foi lançado no mercado o fitofármaco Acheflan®, um anti-inflamatório de uso tópico, obtido de *Cordia verbenacea*, 100% brasileiro, comercializado pelo Laboratório Aché (CALIXTO, 2016).

Nesse contexto, o presente trabalho visa o estudo fitoquímico das raízes de *Cordia trichotoma*, parte da planta ainda não investigada, com vista ao isolamento e caracterização de seus constituintes químicos.

2 CONSIDERAÇÕES GERAIS

2.1 Aspectos botânicos

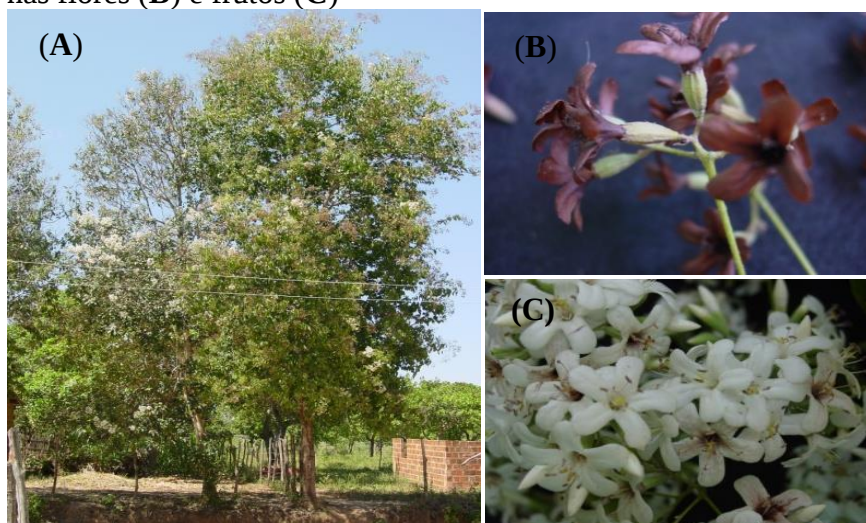
A família Boraginaceae abrange cerca de 130 gêneros e 2500 espécies distribuídas nas regiões tropicais, subtropicais e temperadas. No Brasil destaca-se principalmente o gênero *Cordia*, representado por 250 espécies, sendo $\frac{1}{4}$ destes presentes no território brasileiro. (SILVA *et al.*, 2017).

O gênero *Cordia* é encontrado principalmente nas regiões mais quentes e áreas tropicais do Brasil. Diversas plantas desse gênero são usadas na medicina tradicional, especialmente no norte do Brasil, onde são usadas no tratamento de reumatismos, dores menstruais e dispepsia (COSTA *et al.*, 2008).

Entre as diversas espécies, *Cordia trichotoma* (FIGURA 1), popularmente conhecida como “louro-pardo” e “frei-jorge”, é uma espécie nativa encontrada em formação florestal de diferentes regiões do Brasil e de fácil cultivo devido ao seu bom desenvolvimento. É uma árvore que pode chegar até aos 35 metros de altura e com potencial para uso em sistemas de produção econômica em função do uso da madeira (RODOMSKI *et al.*, 2012).

Esta espécie é de ampla distribuição no território Brasileiro, ocorrendo desde o Ceará até o Rio Grande do Sul, podendo também ser encontrada na Argentina, Paraguai e Bolívia. É usada como planta ornamental e indicada principalmente para o reflorestamento de áreas degradadas (MATIAS *et al.*, 2015).

Figura 1- Fotografia de *Cordia trichotoma* Vell (A) com destaque nas flores (B) e frutos (C)

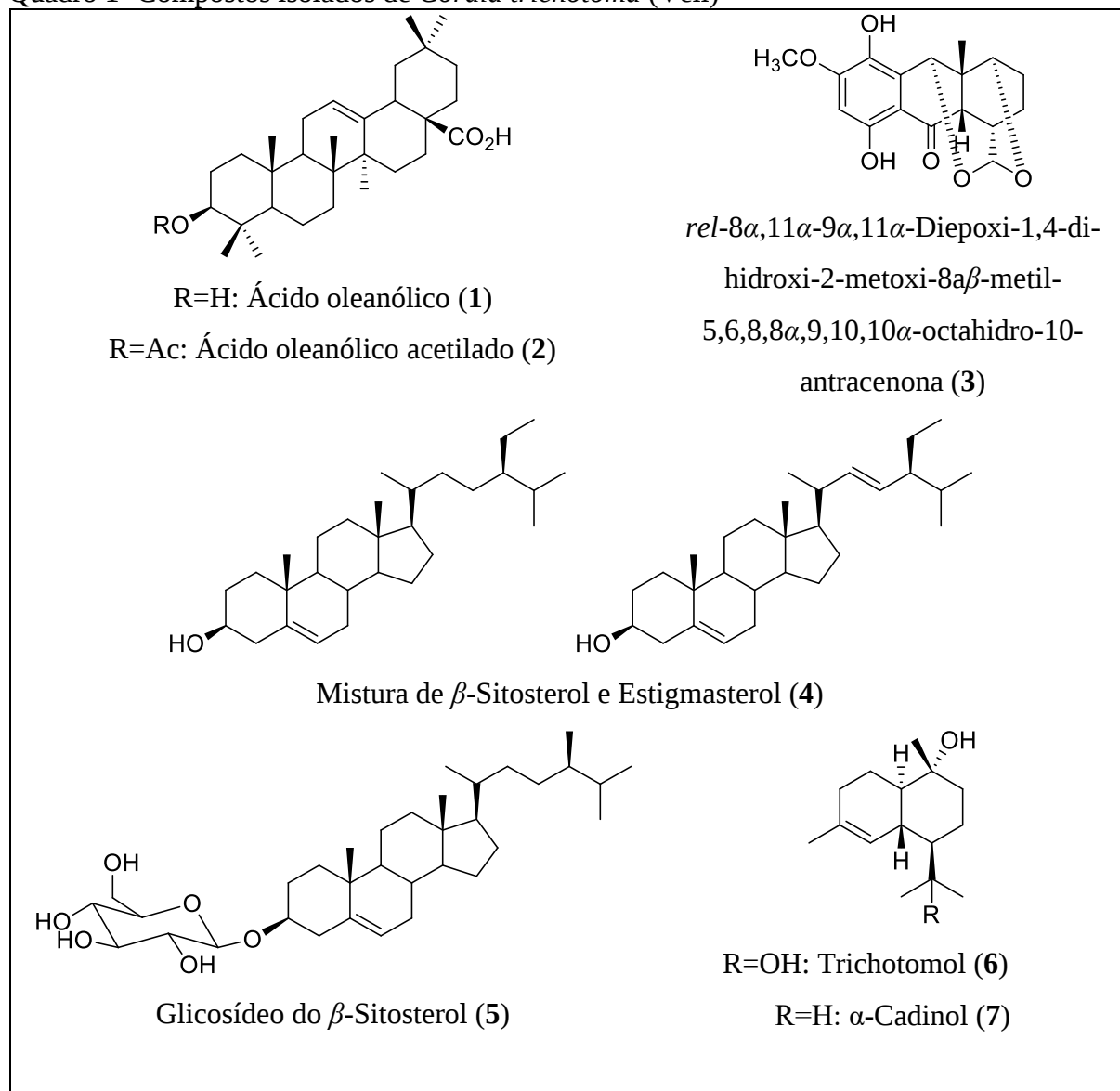


Fonte: Edilberto Rocha Silveira, 2004.

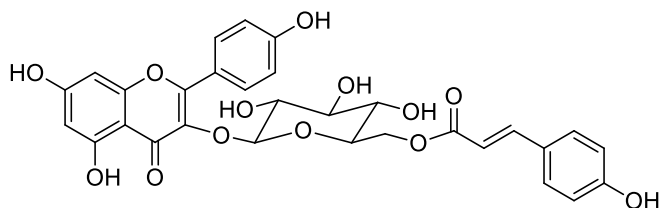
2.2 Compostos químicos isolados de *C. trichotoma*

C. trichotoma foi sujeito de estudos fitoquímicos prévios, no qual foram relatados a composição química volátil das folhas, do cerne e do albúrnio, e os constituintes não voláteis do extrato etanólico das flores, do cerne e do albúrnio (MENEZES, 2005). Os dados colhidos a partir do levantamento bibliográfico dos compostos isolados de *C. trichotoma*, estão dispostos no Quadro 1, onde foram relatados um total de dezessete metabólitos secundários pertencentes a diferentes classes de compostos como: triterpenos, flavonoides, esteroides, fenilpropanoides e principalmente, sesquiterpenos e benzoquinonas (MENEZES, 2005), deixando claro que esta espécie é uma fonte prolífica de distintos metabólitos.

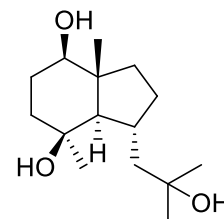
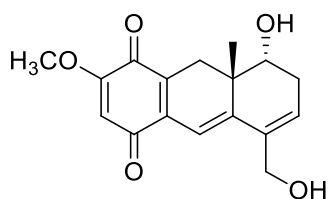
Quadro 1- Compostos isolados de *Cordia trichotoma* (Vell)



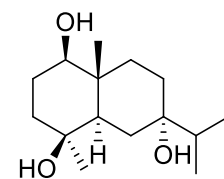
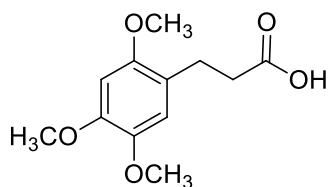
Continuação Quadro 1.



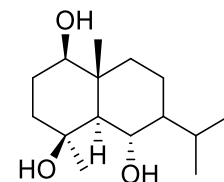
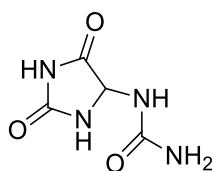
Tilirosídeo (8)

1 β ,4 β ,11-Tri-hidroxi-opositano (9)

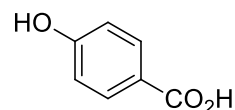
Oncocalyxona A (10)

1 β ,4 β ,7 α -Tri-hidroxi-eudesmano (11)

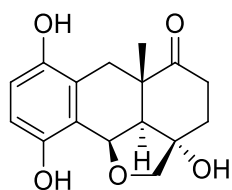
Ácido 3-(2,4,5-trimetoxifenil)propanóico (12)

(+) -1 β ,4 β ,6 α -Tri-hidroxi-eudesmano
(13)

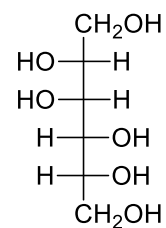
Alantoína (14)



Ácido 4-hidroxi-benzóico (15)



Glaziovianol (16)



Manitol (17)

Fonte: adaptado de MENEZES (2005).

2.3 Atividades farmacológicas relatadas no gênero *Cordia*

Diversas espécies de *Cordia* são usadas na medicina popular, devido às propriedades: antimicrobiana, antiinflamatória, antielmíntica, analgésica e diurética, sendo indicadas para tratar distúrbios do sistema digestivo, respiratório, urogenital, cardiovascular e sanguíneo (MATIAS *et al.*, 2015).

Devido ao uso medicinal popular, vários estudos se desenvolveram na busca pelo isolamento de seus princípios ativos e avaliação do potencial farmacológico. Dessa forma, foram publicados diversos artigos relatando atividades tais como: antimicrobiana, antiinflamatória, antinoceptiva, tóxica, imunomoduladora, inseticida e antioxidante, corroborando o uso etnofarmacológico (MATIAS *et al.*, 2015).

O fitofármaco Acheflan® é um creme de uso tópico, contendo em sua composição óleo essencial de *C. Verbenacea* cujos componentes ativos são o *alfa*-humuleno e o *trans*-cariofileno. Este creme é indicado para o tratamento de afecções inflamatórias. Sua eficácia foi demonstrada no tratamento de tendinites crônicas, dor miofascial, osteoartrite e contusões. Vale ressaltar a baixa incidência de efeitos colaterais (SCHMIDT; LIANZA, 2010).

O chá das folhas de *C. ecalyculata* é usado como cicatrizante (ASSONUMA, 2009), provavelmente esta atividade pode ser atribuída à presença da alantoína (15). Além de cicatrizante, esse composto possui propriedades antiinflamatória, antipéptica, antiulcerogênica, imunoestimulante, queratolítica e removedora de tecidos necrosados (MENEZES; LEMOS; PESSOA, 2001).

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 (ANGRA, FREITAS, BARBOSA-FILHO, 2007). Em trabalhos realizados por Menezes, Lemos e Pessoa, seus metabólitos secundários mostraram atividades interessantes, como por exemplo, o ácido oleanóico (1), foi ativo contra o *Tripanossoma cruzi*, enquanto oncalyxona A (11) mostrou atividades antileucêmica, anti-agregante plaquetária, tripanossomicida e leishmanicida além de apresentar atividade contra uma linhagem de células citotóxicas (PESSOA *et al.*, 2007). Posteriormente, este composto mostrou efeito contra a diabetes (SIVAGNANAM; KALAIVANAN; RAJAMANICKAM, 2013).

3 METODOLOGIA

3.1 Materiais e métodos

3.1.1 Métodos cromatográficos

3.1.1.1 Cromatografia de adsorção

As cromatografias de adsorção foram executadas utilizando gel de sílica da Merck, com granulometria de Φ 70-230 μ m (gel de sílica 120) para cromatografia gravitacional e Φ 40-63 μ m (gel de sílica 60) para cromatografia sob média pressão (cromatografia flash). O comprimento e o diâmetro das colunas variaram de acordo com as quantidades de adsorbato e de gel de sílica empregados. A proporção amostra/gel de sílica no preparo do adsorbato foi de 1:2. As colunas utilizadas na cromatografia de adsorção sob média pressão foram de vidro resistente à pressão e continham bulbos no ápice, para armazenamento de solvente. Foi empregada nesta técnica, bomba de ar comprimido modelo Inalar Compact N° 682403 de Ind. de aparelhos médicos Ltda. As cromatografias em camada delgada foram efetuadas em cromatoplas de gel de sílica de 5-40 μ m, sobre alumínio da Merck. Os eluentes utilizados nos procedimentos cromatográficos foram: hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol, puros ou em misturas binárias em proporções crescentes de polaridade para a fase normal. A revelação das substâncias nas cromatoplas analíticas foi realizada por exposição à radiação ultravioleta (UV) no equipamento Boitton modelo BOIT-LUB 01 em dois comprimentos de onda (254 e 365 nm) e/ou por aspersão em solução de vanilina ($C_8H_8O_3$) e ácido perclórico 0,75 mol/L ($HClO_4$) em etanol (C_2H_6O), seguido de aquecimento em chapa aquecedora a 100 °C por aproximadamente 1 minuto.

3.1.1.2 Extração em fase sólida

O fracionamento foi realizado em cartucho de C-18 (10 g). Para ativação do cartucho foram usados 100 mL de metanol e posteriormente 100 mL de água. Os eluentes utilizados na fase móvel foram água e metanol puros ou em misturas com diferentes proporções.

3.1.1.3 Cromatografia Líquida por Exclusão Molecular

Os fracionamentos cromatográficos por exclusão molecular foram efetuados em colunas com diâmetros de 4,0 e 5,0 cm e comprimentos de 50 cm e 25 cm respectivamente, empacotadas com gel de dextrana Sephadex LH-20 da Pharmacia Fine Chemicals, utilizando metanol como fase móvel.

3.1.1.4 *Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)*

As cromatografias líquida de alta eficiência (CLAE) foram realizadas em equipamento da marca SHIMADZU, constituído por duas bombas de alta pressão, modelo LC-20 AT, degaseificador tipo DGU-20 AS, detector UV-Vis com arranjo de diodo, modelo SPD-M20A e um forno termostático para acomodar a coluna, modelo CTO-20 A. As colunas utilizadas foram fase reversa C18 (Phenomenex), analítica (250 x 4,6 mm), para a preparação de método analítico, e semi-preparativa (250 x 10 mm), para isolamento. Como fase móvel foi utilizado os solventes água deionizada/TFA 0,1%, metanol, acetonitrila (grau CLAE), sendo os dois últimos 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 nos solventes utilizados na fase móvel e filtradas em filtro do tipo PTFE/B 0,22 µm da unichro.

3.1.2 *Métodos espectroscópicos e espectrométricos*

3.1.2.1 *Espectroscopia na região do infravermelho (IV)*

Os espectros de absorção na região do infravermelho (IV) foram obtidos em espectrômetro Spectrum 100 – FT-IR da Perkin Elmer, modelo Universal ATR Sampling Accessory. Os experimentos foram realizados com as amostra dissolvidas em acetona.

3.1.2.2 *Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)*

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de hidrogênio (RMN ^1H) e de carbono-13 (RMN ^{13}C) uni e bidimensionais, foram obtidos em espectrômetros Bruker, modelo Avance DRX-500, operando na frequência do hidrogênio a 499,60 MHz e na frequência do carbono a 125,64 MHz, pertencente ao Centro Nordestino de Aplicação e Uso da Ressonância Magnética Nuclear, da Universidade Federal do Ceará (CENAUREMN-UFC). Os solventes deuterados utilizados na dissolução das amostras para obtenção dos espectros são

comercializados pela Cambridge Isotope Laboratories Inc. Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em partes por milhão (ppm). Os espectros de RMN ^1H foram referenciados pelos picos dos hidrogênios pertencentes às moléculas residuais não deuteradas dos solventes utilizados: apresentaram δ_{H} 2,05 para acetona e δ_{H} 3,31 metanol. Nos espectros de RMN ^{13}C resquícios de solventes deuterados apresentaram deslocamentos químicos δ_{C} 206,00 e 30,20 para acetona e δ_{C} 49,15 metanol. A multiplicidade dos sinais de hidrogênio nos espectros de RMN ^1H foi indicada segundo a convenção: s (simpleto), d (duplete), dd (duplete de duplete), dt (duplete de triplete), t (triplete), td (triplete de duplete), q (quarteto), m (multiplete). O padrão de hidrogenação dos carbonos foi determinado através da utilização da técnica BB e APT (CH e CH_3 com amplitude em oposição aos C e CH_2). Os experimentos bidimensionais foram realizados pelas técnicas de COSY, HSQC, HMBC, NOESY e ROESY.

3.1.2.3 Espectrometria de massa de alta resolução (EMAR)

Os espectros de massa de alta resolução foram obtidos em equipamento Acquity UPLC, acoplado a um sistema Quadrupolo/TOF, da Waters, pertencente à Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA).

3.1.2.4 Rotação óptica

As rotações ópticas foram obtidas em polarímetro digital da Jasco P 2000, operando com lâmpada de tungstênio e caminho óptico de 1 dm. O volume da cuba usada foi de 1 mL com temperatura variando de 20 a 22 °C e concentração de 0,5 a 1 mg/mL.

3.2 Parte experimental

3.2.1 Coleta do material botânico

As raízes de *C. trichotoma* foram coletadas na Fazenda Não me Deixes, no município de Quixada (CE), pelo prof. Dr. Edilberto Rocha Silveira, do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará, no dia 29 de junho de 2017.

O material vegetal de *C. trichotoma* foi identificado pela botânica profa. Dra. Maria Iracema Bezerra Loiola, do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará. A

exsicata preparada foi depositada no Herbário Prisco Bezerra/UFC, com o número de inscrição 25165.

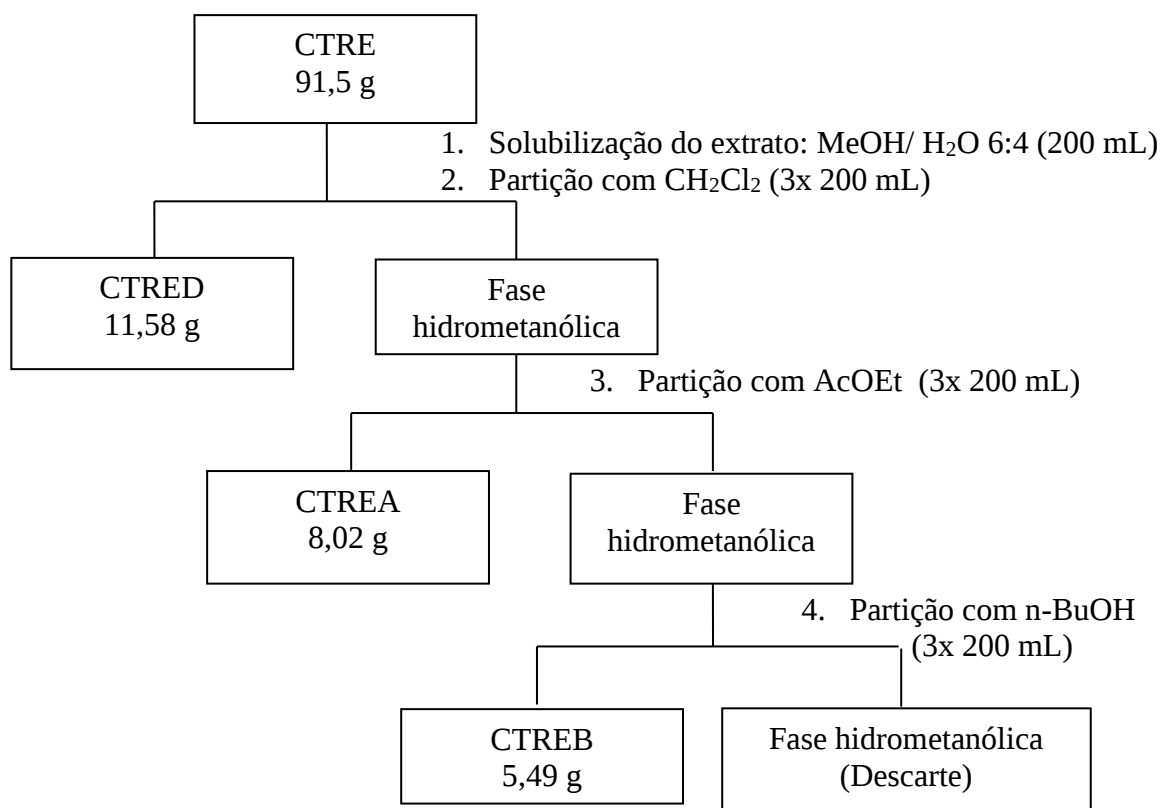
3.2.2 Obtenção dos extratos das raízes de *C. trichotoma*: CTRH e CTRE

Foram trituradas 4,00 Kg das raízes de *C. trichotoma* e depositadas em dois frascos de Mariot para extração a frio com 8 L de hexano cada. Após 48 horas, o solvente foi evaporado sob pressão reduzida em evaporador rotativo, para a obtenção do extrato denominado CTRH. A torta foi submetida à outra extração por 24 horas. Foi obtido 4,83 g de CTRH, com rendimento de 0,12%. Uma segunda extração foi realizada com 5 L de etanol bruto em cada frasco de Mariot por 48 horas. Da mesma forma anterior, o solvente foi evaporado e a torta submetida à outra extração com etanol por 24 horas. Foi obtido o extrato etanólico (CTRE) com 91,5 g e rendimento de 2,29%.

3.2.3 Partição líquido-líquido do extrato etanólico das raízes de *C. trichotoma*

O extrato CTRE, 91,5 g, foi solubilizado em 200 mL de MeOH/H₂O 6:4 e posteriormente submetido à partição líquido-líquido com 600 mL de diclorometano (3 x 200 mL), seguida por 600 mL de acetato de etila (3 x 200 mL) e, finalmente, por 300 mL de n-butanol (3 x 200 mL). As fases orgânicas, diclorometano e acetato de etila e n-butanólica foram secas com sulfato de sódio anidro e evaporadas sob pressão reduzida. Figura 2 (pag. 24) mostra um fluxograma simplificando todo o processo de partição líquido-líquido do extrato etanólico da raiz de *C. trichotoma*.

Figura 2- Fluxograma de Obtenção das frações por partição líquido-líquido com diferentes solventes orgânicos



Fonte: elaborada pelo autor.

Legenda:

CTRE: extrato etanólico da raiz da *Cordia trichotoma*

CTRED: fração diclorometano do CTRE

CTREA: fração acetato de etila do CTRE

CTREB: fração n-butanólica do CTRE

3.2.4 Coluna Cromatográfica da fração diclorometano com gradiente de eluição

A fração diclorometano de CTRE foi adsorvida em 20,02 g de gel de sílica 120 e acondicionada na coluna de vidro ($\varnothing_{int} = 5,7$ cm) contendo 100,01 g de gel de sílica. Para a eluição do material foram usados 300 mL de cada mistura nas seguintes proporções: hexano/AcOEt (2:8; 4:6; 6:4), AcOEt, AcOEt/MeOH 1:1 e MeOH como pode ser visualizado na Tabela 1 (pag. 25).

Tabela 1- Dados referentes ao fracionamento cromatográfico da fração diclorometano do extrato etanólico da raiz de *C. trichotoma*

Fração	Eluente	Massa (g)
CTRED1	Hexano/AcOEt 8:2	1,68
CTRED2	Hexano/AcOEt 6:4	1,00
CTRED3	Hexano/AcOEt 4:6	0,61
CTRED4	AcOEt	1,13
CTRED5	AcOEt/MeOH 1:1	5,85
CTRED6	MeOH	0,99
		Massa total: 11,26 g
		Rendimento: 97,2%

Fonte: elaborada pelo autor.

3.2.5 Coluna cromatográfica da CTRED3

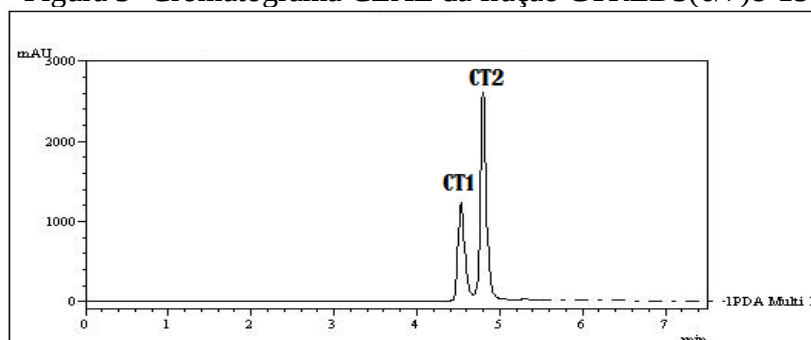
A fração CTRED3 foi adsorvida em 1,50 g de gel de sílica 120 e acondicionada sobre 25,01 g de gel de sílica em coluna de vidro ($\varnothing_{int} = 3,5$ cm). A amostra foi eluída com 200 mL de hexano/AcOEt 4:6, 1:1, seguido de 100 mL de hexano/AcOEt 4:6, 2:8, AcOEt e MeOH. As 29 frações obtidas e analisadas por comparação em CCD, foram reunidas nos seguintes grupos de acordo com suas semelhanças: F1 (1,4 mg), F2/3 (23,7 mg), F4 (19,1 mg), F5 (139 mg), F6/7 (240,3 mg), F8-10 (126,8 mg) e F11-29 (69,2 mg).

A fração F6/7 foi adsorvida em 481,2 mg de gel de sílica 60 e acondicionada em coluna de vidro ($\varnothing_{int} = 2,5$ cm) com 52,20 g de gel de sílica. O fracionamento ocorreu no sistema isocrático com $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 1% até a F51. A F52 e 53 foram eluídas com $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 1:1. Todas as 53 frações de 10 mL foram reunidas, após observação em CCD, da seguinte forma: F1-7 (1,2 mg), F8-15 (10,4 mg), F16-18 (1,9 mg), F19-23 (11,8 mg), F24-27 (11,4 mg), F28-32 (22,0 mg), F33-44 (28,9 mg), F45-50 (5,2 mg), F51 (6,3 mg), F52 (16,9 mg) e F53 (107,8 mg).

3.2.5.1 Isolamento de CT1 e CT2

A fração F8-15, diluída em 2 mL de ACN/MeOH 1:1, foi injetada em coluna semipreparativa C-18, usando fase móvel H_2O (TFA 0,1 %)/ACN 85 % no sistema isocrático, com fluxo de 2,5 mL/min e volume de injeção de 200 μL onde foram coletados 2 picos, denominados de CT1 (2,45 mg) e CT2 (5,67 mg) como pode ser observado na Figura 3 (pag. 26).

Figura 3- Cromatograma CLAE da fração CTRED3(6/7)8-15

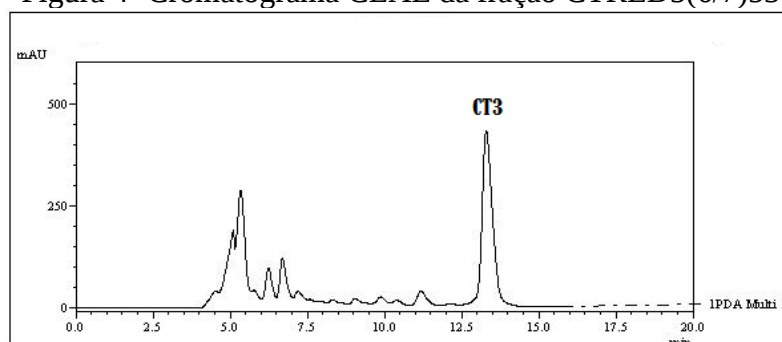


Fonte: elaborada pelo autor.

3.2.5.2 Isolamento de CT3

A fração F53 foi diluída em 5 mL de MeOH e injetada em coluna semipreparativa C-18 usando fase móvel H₂O (TFA 0,1 %)/MeOH 65 % no sistema isocrático, com fluxo de 3 mL/min e volume de injeção de 150 µL. Foi coletado P5 (6,8 mg) denominado CT3 (FIGURA 4).

Figura 4- Cromatograma CLAE da fração CTRED3(6/7)53



Fonte: elaborada pelo autor.

3.2.6 Cromatografia por exclusão molecular da fração Acetato de etila (CTREA).

A fração CTREA (3,36 g) foi dissolvida em 6 mL de MeOH e transferida a uma coluna empacotada com gel de dextrana Sephadex LH-20 (Ø_{int} = 4 cm). Com fluxo de 16 gotas/minuto foram coletados 34 frações com volumes variando de 10 a 100 mL. As frações foram reunidas mediante semelhança observada por análise em CCD como mostra a Tabela 2 (pag. 27).

Tabela 2- Frações obtidas reunidas após observação em CCD

Frações	Massa (g)
CTREA1-5	0,03
CTREA6-8	0,29
CTREA9/10	1,23
CTREA11-14	0,67
CTREA15/16	0,12
CTREA17-32	0,39
CTREA33/34	0,26
Massa total: 2,99 g	
Rendimento: 89 %	

Fonte: elaborada pelo autor.

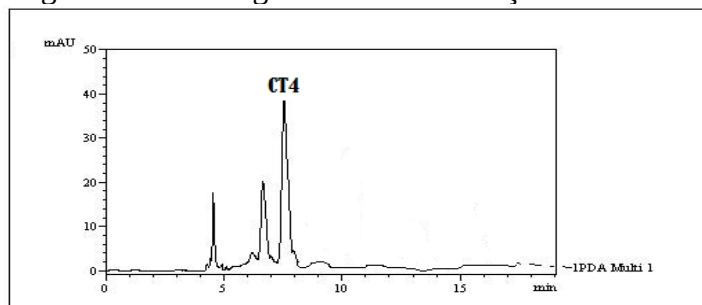
Aproximadamente 25 µL das frações CTREA6-8 e CTREA11-14 foram injetadas no CLAE em coluna analítica de fase reversa, para desenvolvimento do método de separação. A separação ocorreu no sistema gradiente com eluente H₂O (TFA 0,1 %)/MeOH, 95% H₂O em 5 min, 5-100% em 5-35 min + 5 min 100 % MeOH com fluxo de 1,0 mL/min.

3.2.7 Isolamento dos compostos provenientes da fração CTREA.

3.2.7.1 Isolamento de CT4

Foi diluída 111,3 mg da fração CTREA6-8 em 12 mL de H₂O/MeOH 1:1. Buscando isolamento por CLAE, utilizou coluna semipreparativa C-18 e eluente H₂O (TFA 0,1 %)/MeOH 35 % no sistema isocrático com fluxo de 3 mL/min e volume de injeção de 200 µL. Foi coletado o pico de maior intensidade denominado de **CT4** (5,48 mg) como mostrado no cromatograma da Figura 5.

Figura 5- Cromatograma CLAE da fração CTREA6-8

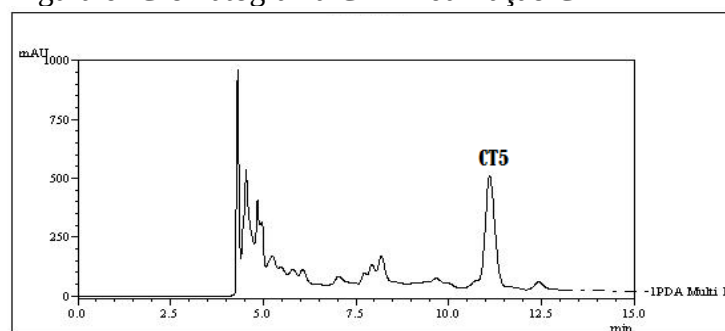


Fonte: elaborada pelo autor.

3.2.7.2 Isolamento de CT5

Por CLAE foi purificado 203,8 mg da fração CTREA11-14 diluída em 9 mL de H₂O/MeOH 1:2. O sistema usado foi isocrático com H₂O (TFA 0,1 %)/MeOH 45 %, fluxo de 3 mL/min e volume de injeção de 100 µL. Foi coletado o pico intenso denominado de **CT5** (12,00 mg) como pode ser visualizado na Figura 6 a seguir.

Figura 6- Cromatograma CLAE da fração CTREA11-14



Fonte: elaborada pelo autor.

3.2.8 Cromatografia por exclusão molecular da fração n-Butanólica (CTREB).

Foi dissolvida 4,120 g da fração CTREB em 6 mL de MeOH e transferida a uma coluna empacotada com gel de dextrana Sephadex LH-20 (Øint = 5 cm). Com fluxo de 11 gotas/minuto, foram coletados 24 frações de diferentes volumes, variando de 10 a 100 mL. As frações foram reunidas de acordo com suas semelhanças reveladas em CCD. A Tabela 3 abaixo mostra as frações reunidas com respectivas massas.

Tabela 3- Fracionamento cromatográfico por exclusão molecular

Frações	Massa (g)
CTREB1/2	0,008
CTREB3/4	0,019
CTREB5-8	0,322
CTREB9/10	1,407
CTREB11-13	1,866
CTREB14-20	0,127
CTREB21	0,045
CTREB22-24	0,039
Massa total: 3,833 g	
Rendimento: 93 %	

Fonte: elaborada pelo autor.

O desenvolvimento do método de separação da fração CTREB9/10 foi realizado por CLAE em coluna analítica C-18. O fracionamento ocorreu no sistema gradiente com H₂O (TFA 0,1 %)/MeOH, 95% H₂O em 5 min, 5-100% em 5-35 min + 5 min 100 % MeOH com volume de injeção de 25 µL e fluxo de 1,0 mL/min.

3.2.9 Extração em fase sólida com cartucho de sílica C-18.

A fração CTREB9/10 (0,5334 g) foi solubilizada em 1,5 mL de H₂O/MeOH 8:2. A amostra foi fracionada em cartucho de C-18 com diferentes proporções dos eluentes: H₂O/MeOH 8:2, 6:4, 4:6, 2:8 e MeOH. A Tabela 4 mostra as frações obtidas na extração em fase sólida com os respectivos eluentes e massas.

Tabela 4- Fracionamento cromatográfico em cartucho de sílica C-18

Fração	Eluente	Massa (g)
CTREB9/10C1	H ₂ O/MeOH 8:2	0,3614
CTREB9/10C2	H ₂ O/MeOH 6:4	0,1136
CTREB9/10C3	H ₂ O/MeOH 4:6	0,0239
CTREB9/10C4	H ₂ O/MeOH 2:8	0,0056
CTREB9/10C5	MeOH	0,0020
		Massa total: 0,5065 g
		Rendimento: 95%

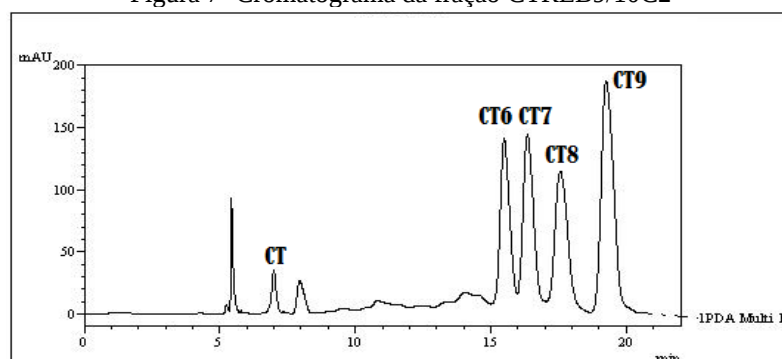
Fonte: elaborada pelo autor.

3.2.9.1 Isolamento de CT6, CT7, CT8, CT9 da fração CTREB9/10C2.

No isolamento por CLAE, 113,6 mg da fração CTREB9/10C2 foi diluída em 20 mL de MeOH/H₂O 3:1. Foram injetados 200 µL da amostra utilizando fase móvel H₂O(TFA 0,1 %)/MeOH 35 % no sistema isocrático com fluxo de 3 mL/min. Após coleta, os picos mais intensos foram denominados de CT6 (12,89 mg), CT7 (13,03 mg), CT8 (13,90 mg) e CT9 (19,59 mg) respectivamente.

O pico denominado de CT com 7,77 mg (FIGURA 7, pag. 30) foi submetido a outra separação por CLAE.

Figura 7- Cromatograma da fração CTREB9/10C2

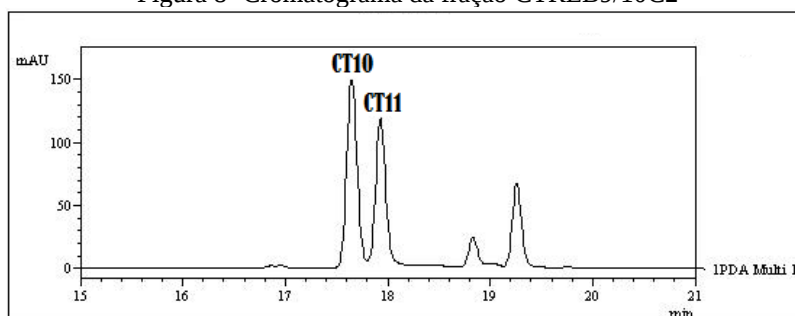


Fonte: elaborada pelo autor.

3.2.9.2 Isolamento de **CT10** e **CT11**.

Foi diluída 7,77 mg do pico coletado como **CT** descrito na sessão anterior (pag. 29) em 500 μ L de MeOH/H₂O 4:1. Foram injetados 50 μ L da amostra com fluxo de 3 mL/min. Os picos (FIGURA 8) foram separados no sistema gradiente com eluente H₂O (TFA 0,1 %)/MeOH, 95% H₂O em 5 min, 5-100% em 5-35 min + 5 min 100 % MeOH. Os picos foram denominados **CT10** (2,35 mg) e **CT11** (1,96 mg) respectivamente.

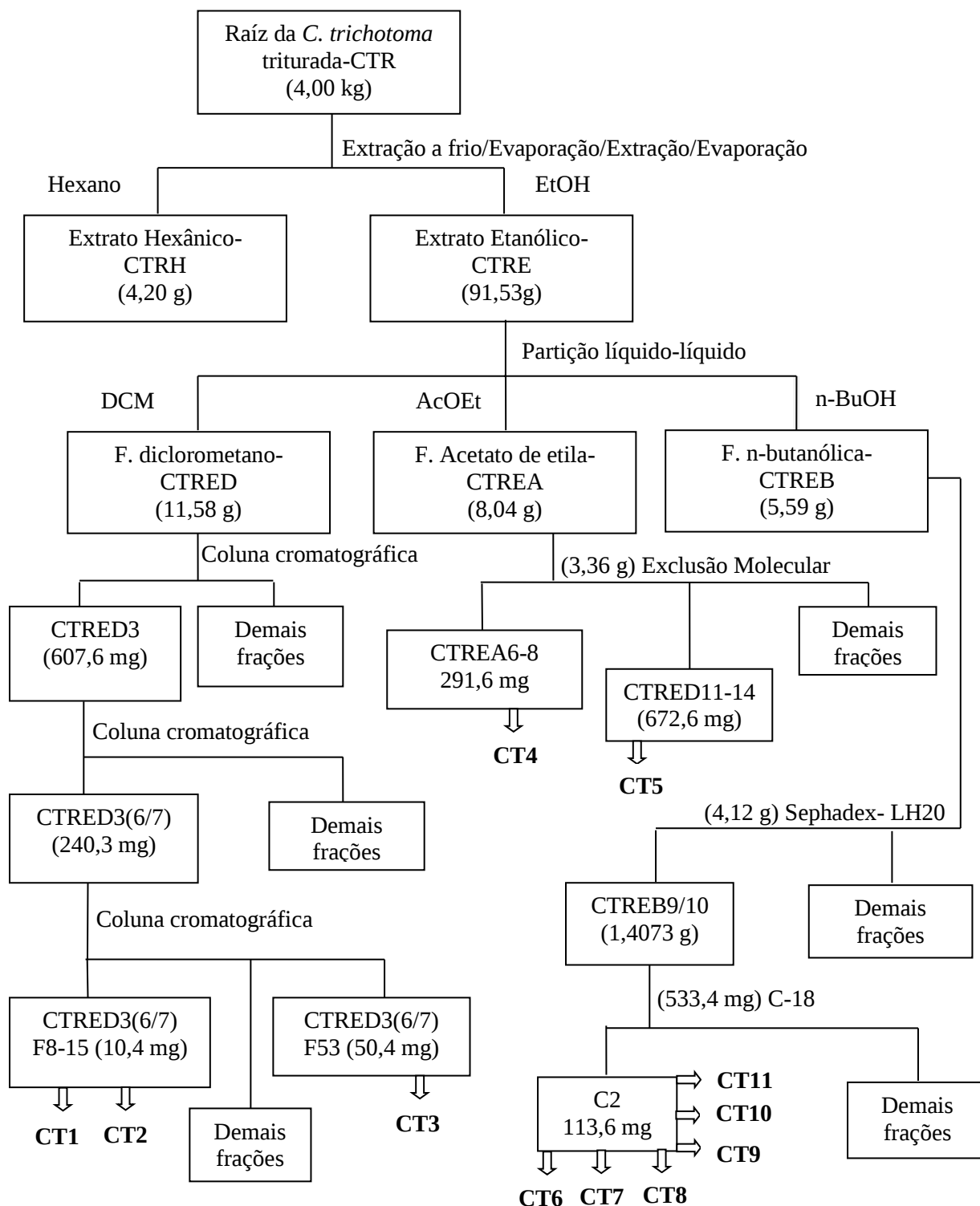
Figura 8- Cromatograma da fração CTREB9/10C2



Fonte: elaborada pelo autor.

A Figura 9 (pag. 31), mostra na forma de um fluxograma todas as etapas para o isolamento de cada substância, incluindo a técnica de separação utilizada.

Figura 9- Fluxograma geral de isolamento dos compostos



Fonte: elaborada pelo autor.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Determinação estrutural

4.1.1 Determinação estrutural dos compostos isolados provenientes da fração CTRED

4.1.1.1 Determinação estrutural de CT1

O composto denominado **CT1**, uma resina incolor, foi purificado por CLAE a partir da fração diclorometano do extrato etanólico das raízes de *C. tricotoma* (CTRED) (item 3.2.5.1, pag. 25).

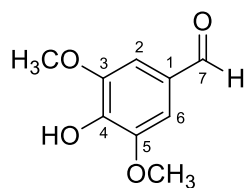
O espectro de RMN ^1H (FIGURA 10, pag. 33) apresentou três simpletos, um em δ 9,82, característico de aldeído, outro em δ 8,35, típico de hidroxila fenólica e o terceiro em 7,24 corresponde a dois hidrogênios magneticamente e quimicamente equivalentes. Da mesma forma, o sinal em δ 3,92, um simpleto intenso com integração para 6 hidrogênios, indicou duas metoxilas magneticamente e quimicamente equivalentes. Com isso, **CT1** se trata de um aldeído aromático tetrassubstituído.

O espectro de RMN ^{13}C -BB (FIGURA 11, pag. 34) apresentou apenas cinco linhas espectrais, sendo quatro delas referentes a carbono sp^2 , em δ 149,3, 143,1, 129,1 e 107,9. O deslocamento químico em δ 56,4 corroborou com a presença das metoxilas acima mencionadas.

O espectro HMBC (FIGURA 12, pag. 34) exibiu a correlação do sinal em δ 7,24 com um sinal de carbono em $\delta \sim 192$, o qual não apareceu no espectro de RMN ^{13}C -BB, mas revelou a presença de carbonila para aldeído em acordo com o espectro de RMN ^1H .

A partir das informações discutidas, o composto **CT1** corresponde um anel benzênico 1,3,4,5-tetrassubstituído com equivalência química e magnética dos carbonos 2/6 (δ 107,9) e 3/5 (δ 149,1).

Com isso, chegou-se na fórmula molecular $\text{C}_7\text{H}_{10}\text{O}_4$, a qual apresenta IDH igual a 5. Conforme os dados espectrais obtidos (TABELA 5, pag. 33) e pesquisas realizadas na literatura, este composto se trata do seringaldeído, previamente isolado de *Piladenia rigida* (CARVALHO *et al.*, 2011) e mais recentemente isolado de *Pilosocereus pachycladus*. Este composto mostrou-se eficaz na reversão da resistência bacteriana mediada por bomba de efluxo (BRITO-FILHO *et al.*, 2017).



CT1, 4-Hidroxi-3,5-dimetoxibenzaldeído (seringaldeído)

Tabela 5- Valores dos deslocamentos químicos de RMN de ^1H e ^{13}C para **CT1** e dados da literatura

	CT1 - acetona- d_6		seringaldeído - clorofórmio- d_1	
C	δ_{C}	δ_{H} (mult.)	δ_{C}	δ_{H} (mult.)
1	129,1		129,3	
3/5	149,1		147,3	
4	143,1		140,7	
CH				
2/6	107,9	7,24 (s)	106,7	7,26 (s)
7	192,0	9,82 (s)	190,8	9,92 (s)
CH₃				
3/5-O CH ₃	56,4	3,92 (s)	56,4	4,07 (s)

Fonte: elaborada pelo autor.

Figura 10- Espectro de RMN ^1H (499,6 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) de **CT1**

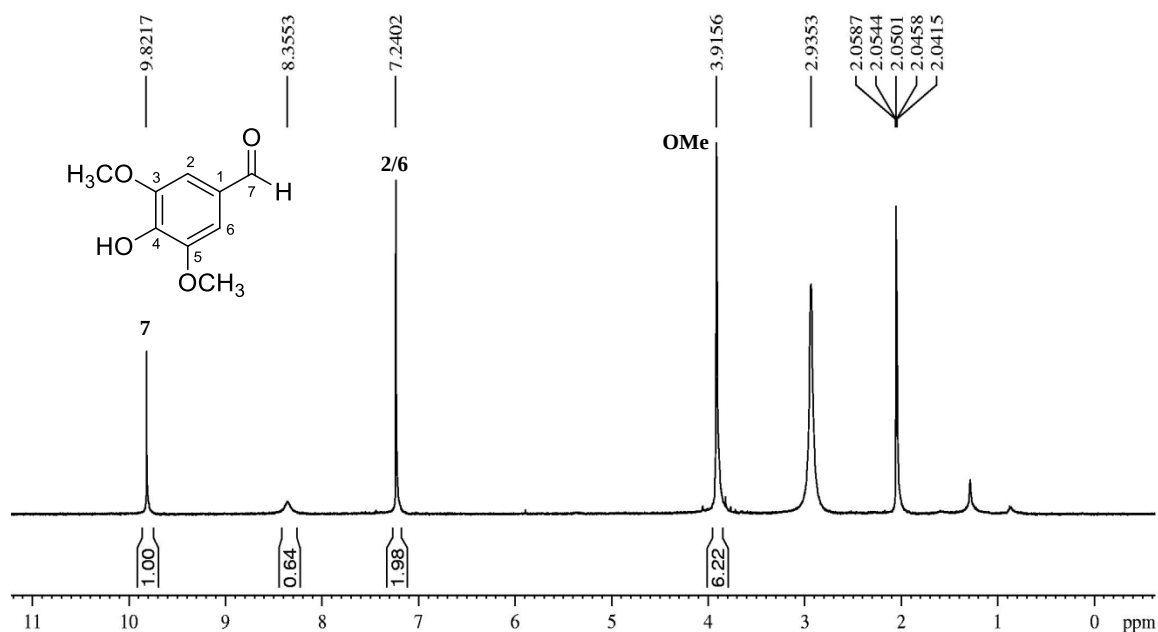


Figura 11- Espectro de RMN ^{13}C -BB (125,64 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) de **CT1**

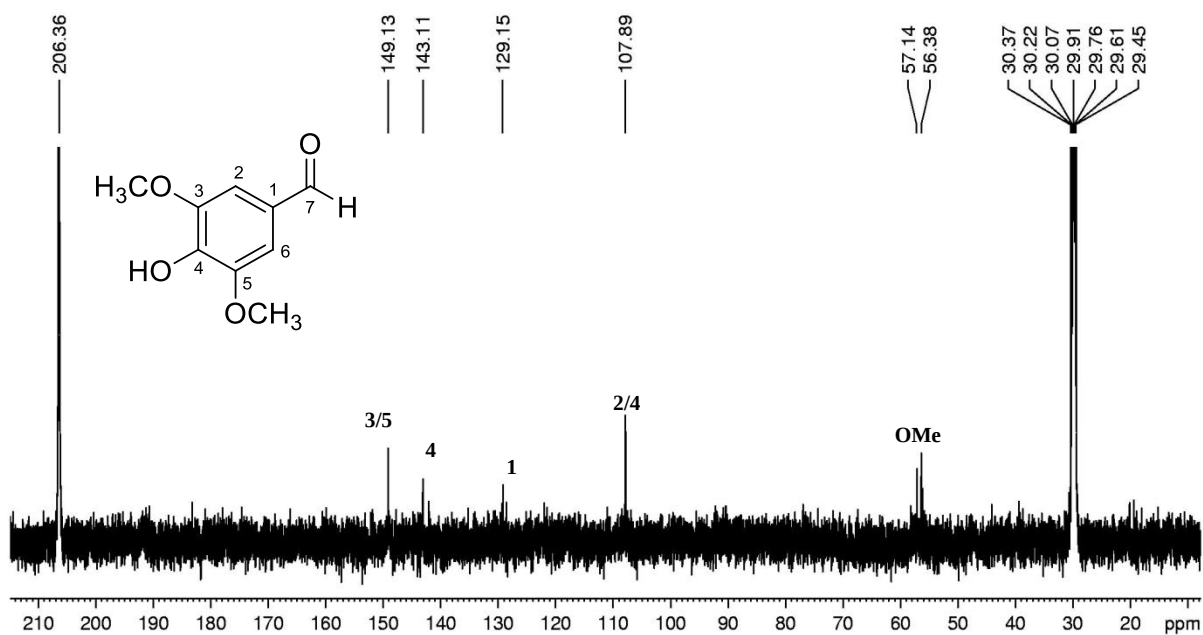
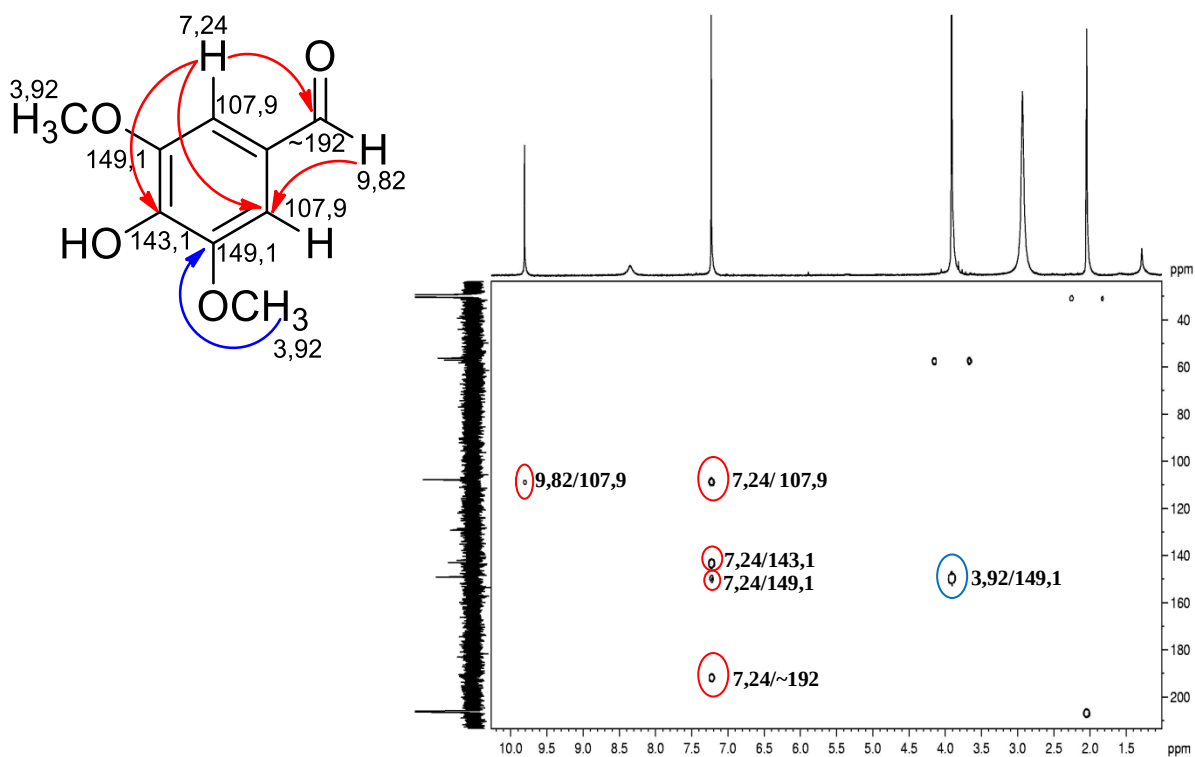


Figura 12- Espectro bidimensional de correlação de deslocamentos heteronuclear (^1H , ^{13}C) a mais de uma ligação (HMBC) (499,6, 125,64 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) de **CT1**



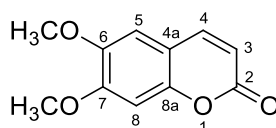
4.1.1.2 Determinação estrutural de CT2

CT2, uma resina incolor, também foi purificado por CLAE a partir da fração diclorometano (item 3.2.5.1, pag. 25).

O espectro de RMN ^1H (FIGURA 13, pag. 36) apresentou na região de hidrogênios ligados a carbono sp^2 sinais em δ 7,86 (d, $J = 9,4$ Hz) e 6,21 (d, $J = 9,4$ Hz), compatíveis com a notação AX, indicando um sistema carbonílico α,β -conjugado, cujo valor da constante de acoplamento de 9,4 Hz indica configuração *cis* (SILVERSTEIN, 2007). Ainda nesta região foram observados os sinais em δ 7,18 (s) e 6,94 (s), compatíveis com hidrogênios *para*-posicionados, enquanto os sinais em δ 3,94 e 3,86, com integração para 3 hidrogênios cada, indicaram a presença de duas metoxilas.

O espectro de RMN ^{13}C -BB (FIGURA 14, pag. 36) apresentou onze linhas espectrais, das quais 9 se encontram na região de carbono com hibridização sp^2 entre δ 161,3 e 100,9, sendo o valor em δ 161,3, típico de carbonila de lactona conjugada (PREISCH; BUHLMANN; AFFOLTER, 2000).

Baseado nas informações discutidas acima e após análise comparativa dos dados de RMN de ^1H e ^{13}C de **CT2** com os descritos na literatura (XIAO *et al.*, 2015) (TABELA 6, pag. 36), chegou-se a conclusão de que este composto se trata da 6,7-dimetoxicumarina, também conhecida como escoparona. Este metabólito secundário mostrou atividade contra *Leishmania infantum chagasi* nas formas promastigota e amastigota, atuando também como inibidor da acetilcolinesterase (VILA-NOVA *et al.*, 2012).

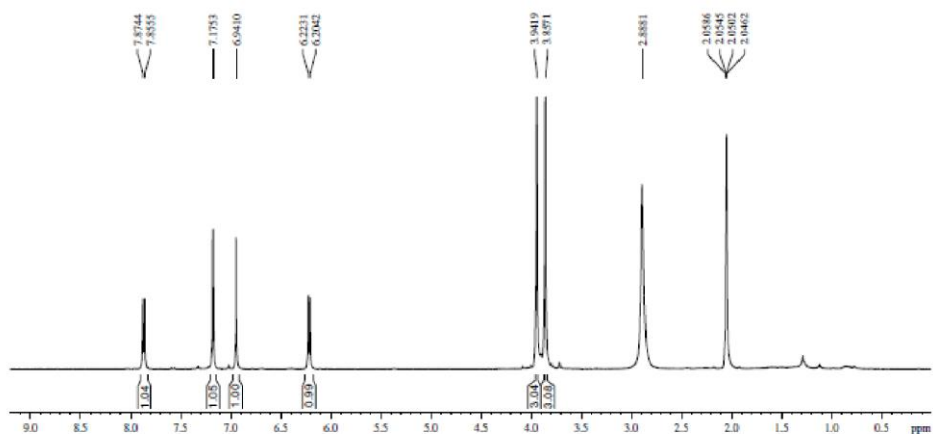
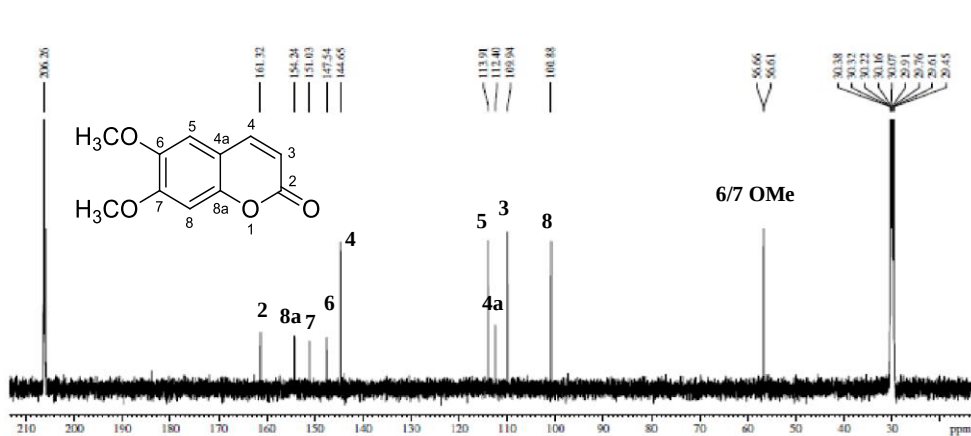


CT2, 6,7-Dimetoxicumarina (escoparona)

Tabela 6- Valores dos deslocamentos químicos de RMN de ^1H e ^{13}C entre CT2 e 6,7-dimetoxilcumarina

	CT2- acetona- d_6		6,7-dimetoxilcumarina- DMSO- d_6	
C	δ_{C}	δ_{H} (mult., J em Hz)	δ_{C}	δ_{H}
2	161,3		160,6	
4 ^a	112,4		112,6	
6	147,5		145,8	
7	154,2		152,5	
8 ^a	151,0		149,4	
CH				
3	113,9	6,21 (d, 9,4)	111,2	6,30 (d, 9,2)
4	144,6	7,86 (d, 9,4)	144,4	7,95 (d, 9,2)
5	109,9	7,17 (s)	108,8	7,24 (s)
8	100,9	6,94 (s)	100,0	7,06 (s)
CH₃				
7-OCH ₃	56,7	3,94 (s)	56,1	3,87
6-OCH ₃	56,6	3,87 (s)	55,9	3,81

Fonte: elaborada pelo autor.

Figura 13- Espectro de RMN ^1H (499,6 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) de CT2Figura 14- Espectro de RMN ^{13}C -BB (125,64 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) de CT2

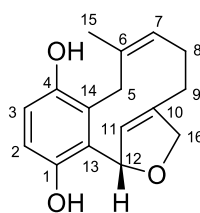
4.1.1.3 Determinação estrutural de CT3

O composto denominado **CT3**, purificado por CLAE a partir da fração diclorometano (item 3.2.5.2, pag. 26), foi obtido como uma resina amarelada e com rotação ótica de $[\alpha]_D^{22} = -18,2^\circ$ (c 0,140 g/mL, MeOH).

O espectro de RMN ^1H (FIGURA 15, pag. 38) mostrou na região de hidrogênio ligado a carbono sp^2 , sinais em δ 6,63 e 6,55, ambos com constantes de acoplamento de 8,6 Hz, típico de hidrogênios benzênicos *orto* posicionados (SILVERSTEIN, 2007). Ainda, nessa região, exibiu sinais em δ 5,21(s) e 5,03 (t, $J = 7,5$ Hz), característicos de olefinas. Interessantemente, o sinal em δ 6,67 (dd, $J = 5,0; 1,1$ Hz), foi inferido a um hidrogênio metínico oxigenado com hibridização sp^3 , justificado pela desproteção do átomo de oxigênio e ainda pelas ligações duplas carbono-carbono, adicionalmente, este hidrogênio ao apresentou acoplamento com seu vizinho em 5,21(s), justificado pelo ângulo diedro. Os deslocamentos químicos em δ 4,76 (dd, $J = 12,0; 6,8$ Hz) e 4,67 (dt, $J = 12,0; 3,0$ Hz), correspondem a hidrogênios ligados a carbono sp^3 oxigenado, enquanto os sinais em δ 3,40/2,92 (d, $J = 14,1$ Hz) e δ 2,30/1,80 indicaram, pelos valores das integrações, a presença de dois pares de hidrogênios metilênicos diastereotópicos. O simpleto em δ 1,59 evidenciou a presença de hidrogênios metílicos.

O espectro de RMN ^{13}C -APT (FIGURA 16, pag. 39) apresentou dezesseis linhas espectrais, das quais, seis são referentes a carbonos sp^2 não hidrogenados entre δ 151,2 e 127,3; cinco metínicos, sendo quatro sp^2 em δ 126,9, 117,4, 121,3 e 115,1 e um sp^3 oxigenado em δ 83,2. Observou-se ainda sinais para um carbono metilênico oxigenado em δ 77,5, e os demais em δ 28,1, 28,0 e 25,4 e por fim, um carbono metílico ligado à dupla ligação, justificado pela desproteção em δ 22,3.

Estes dados quando comparados com os do composto 12,16-epoxiglobiferina, isolado recentemente de *Cordia glazioviana* (SILVA, 2017), se mostraram semelhantes, conforme mostrado na Tabela 7 (pag. 38).



CT3, 12,16-epoxi-1,4dihidroxi-globiferina

Tabela 7- Valores dos deslocamentos químicos de carbono-13 e prótio de **CT3** e 12,16-epoxi-1,4-dihidroxi-globiferina

	CT3- Metanol-<i>d</i>₄		12,16-epoxi-1,4-dihidroxi-globiferina.- Metanol-<i>d</i>₄	
C	δ_C	δ_H (mult., <i>J</i> em Hz)	δ_C	δ_H (mult., <i>J</i> em Hz)
1	151,2		149,9	
4	149,9		151,2	
6	143,5		143,5	
10	135,4		135,4	
13	128,6		128,5	
14	127,3		127,2	
CH				
3	115,1	6,55 (d, 8,6)	115,0	6,54 (d, 8,7)
2	117,4	6,63 (d, 8,6)	117,1	6,62 (d, 8,7)
7	121,3	5,03 (t, 7,5)	121,3	5,04 (t, 8,5)
11	126,9	5,21 (s)	126,9	5,21 (s)
12	83,2	6,67 (dd, 5,0; 1,1)	83,2	6,67 (dd, 5,5; 4,1)
CH₂				
5	28,1	3,40 (d, 14,1) 2,92 (d, 14,1)	28,1	3,39 (d, 14,1) 2,90 (d, 14,1)
8	25,4	2,13 (m) 2,07 (m)	25,1	2,10 (m) 2,04 (m)
9	28,0	2,30 (d, 12,6) 1,91 (td, 12,6; 2,2)	28,0	2,28 (d, 12,2) 1,90 (td, 12,2; 2,8)
16	77,5	4,76 (dd, 12,0; 6,8) 4,67 (dt, 12,0; 3,0)	77,5	4,75 (ddd, 12,0; 6,9; 1,1) 4,69 (ddd, 12,0; 6,4; 3,6)
CH₃				
15	22,3	1,59 (s)	22,4	1,59 (s)

Fonte: elaborada pelo autor.

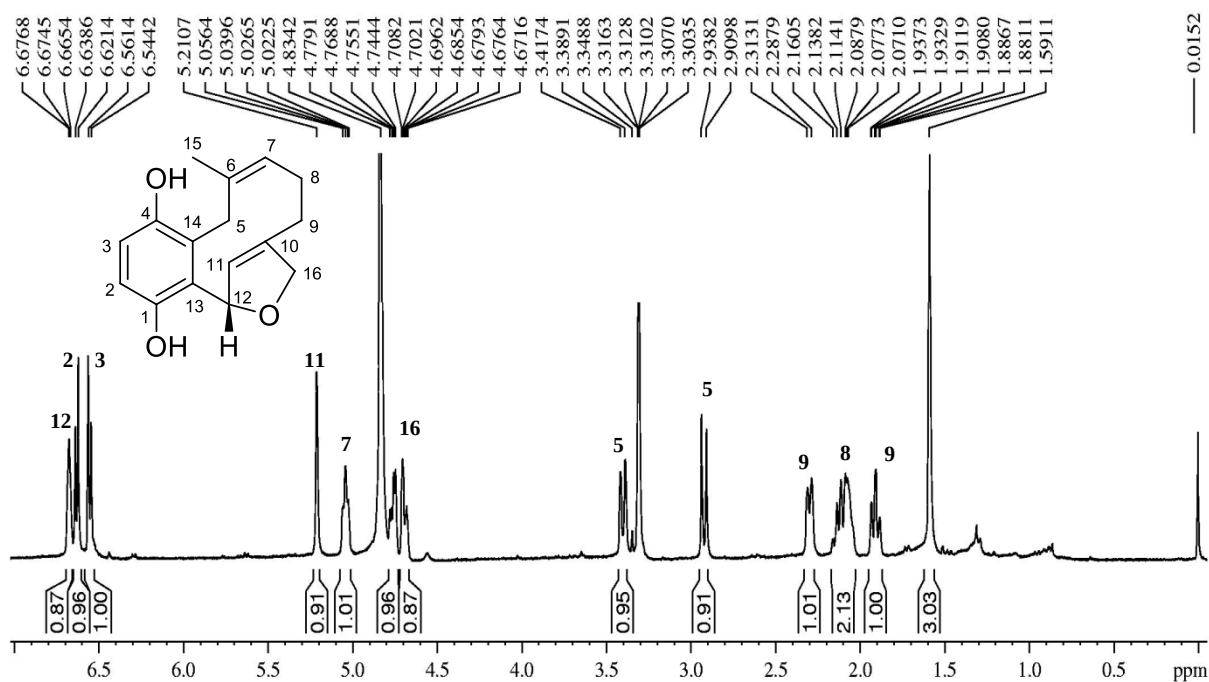
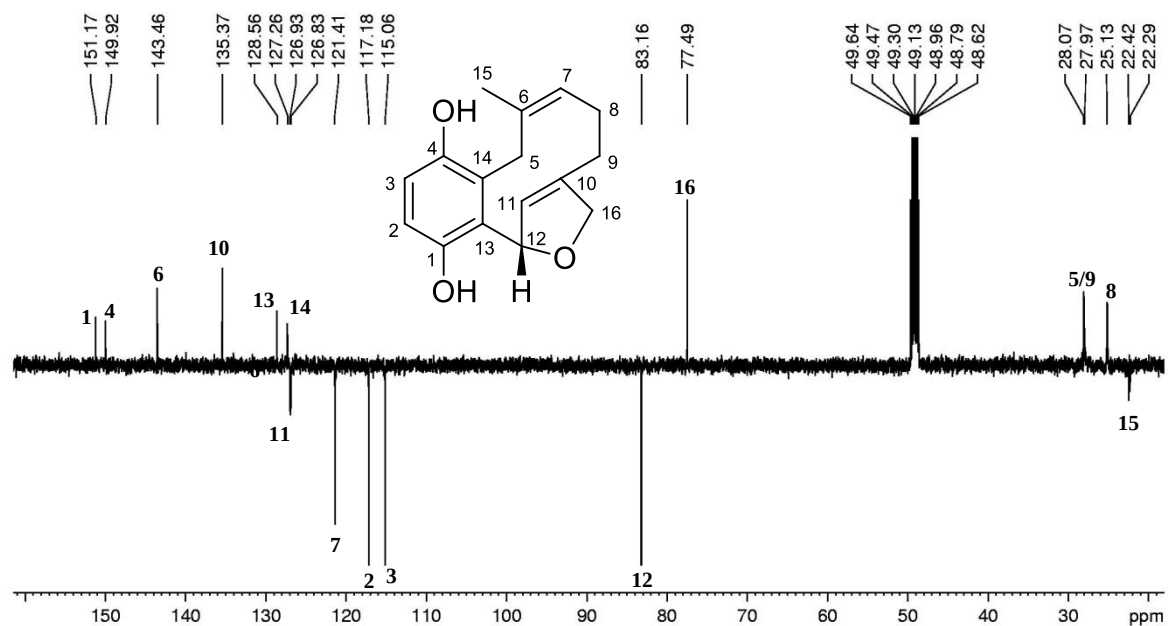
Figura 15- Espectro de RMN ¹H (499,6 MHz, MeOD) de **CT3**

Figura 16- Espectro de RMN ^{13}C -APT (125,64 MHz, MeOD) de CT3

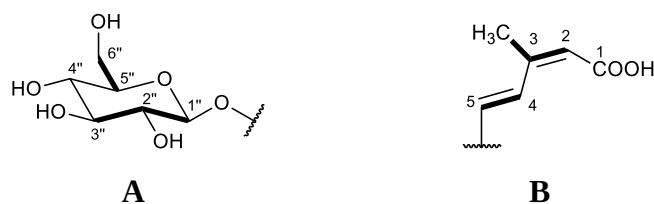
4.1.2 Determinação estrutural dos compostos isolados proveniente da fração CTREA

4.1.2.1 Determinação estrutural de CT4

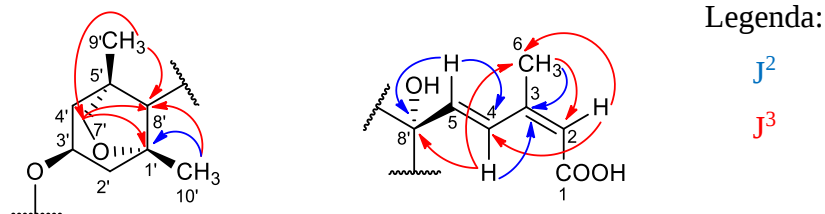
O Composto **CT4** foi obtido como uma resina amarela, conforme descrito no item 3.2.7.1 (pag. 27).

O espectro de RMN de ^1H (FIGURA 17, pag. 43) mostrou três sinais na região de hidrogênio ligado a carbono sp^2 , dois em δ 7,98 (d) e 6,57 (d), ambos com constante de acoplamento de 15,9 Hz, consistente com uma dupla ligação com configuração *trans* (SILVERSTEIN, 2007), enquanto, o terceiro sinal em δ 5,76 (s) indicou uma dupla ligação trissubstituída. Os sinais entre δ 4,36 - 3,14 são típicos de hidrogênios ligados a carbonos oxigenados, e pela integração, foi possível creditar a existência de 10 hidrogênios, sendo sete deles referentes a uma unidade de glicose (δ 4,36, 1H, d, $J=8,8$ Hz; 3,30, 3H, m; 3,14, 1H, t, $J=8,8$ Hz; 3,86, 1H, d, $J=11,5$ Hz; 3,66, 1H, dd, $J=11,5$ e 5,0 Hz), enquanto os sinais em δ 4,26 (m) e 3,80/3,75 (dd, $J=6,6$ Hz) foram inferidos a hidrogênios metínico (H-3') e metilênicos (H-7'). Esses últimos sinais de hidrogênios, no espectro de HSQC (FIGURA 18, pag. 42), mostraram correlação com os sinais em δ 74,0 e 77,3. Os sinais entre δ 2,19 e 1,77 indicaram quatro hidrogênios diasterotópicos metilênicos, sendo confirmados pelo espectro HSQC através das correlações com C2' e C4' (TABELA 8, pag. 42). Ainda nesse espectro foram observados três simples referentes a hidrogênios metílicos.

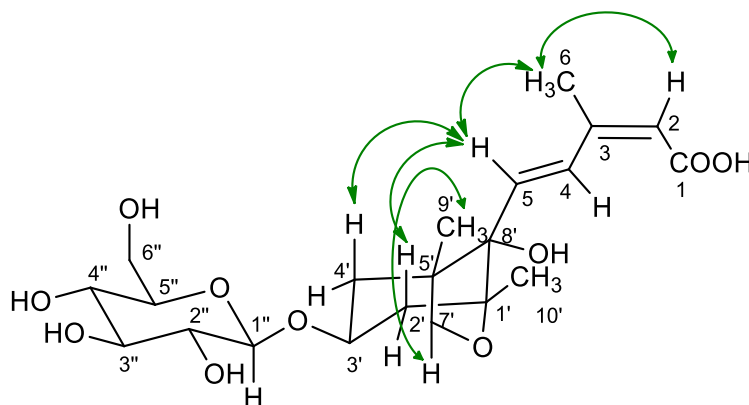
O espectro de RMN de ^{13}C -APT (FIGURA 19, pag. 44) mostrou 21 linhas espectrais, classificadas como: 3 metílicos, 4 metilênicos, 9 metínicos e 5 carbonos não hidrogenados, incluindo uma carboxila de ácido em δ 169,7, e dois carbonos oxigenados em δ 87,8 e 83,3. Os sinais na faixa de δ 78,3 a 62,9 confirmaram a unidade de glicose, corroborando com os espectros de RMN ^1H e COSY (FIGURA 20, pag. 44), fragmento **A**. Uma unidade 3-metil-2,4-pentadienóico (fragmento **B**), foi sugerida com base nos deslocamentos químicos em δ 169,7 (C1), 151,9 (C3) e $\delta_{\text{C}}/\delta_{\text{H}}$ 135,5/6,57; 132,1/7,98 e 119,5/5,76. Sua posição em C8, um carbono oxigenado não hidrogenado, foi inferida pelas correlações observadas no espectro HMBC (FIGURA 21, pag. 45) dos sinais de hidrogênios em δ 7,98 (H-4) e 6,57 (H-5) com 83,3 (C8'). A posição da metila em C3 foi definida pela correlação de δ 2,08 (s) com os sinais de carbonos em δ 151,9 (C3); 132,1 (C4) e 119,5 (C2).



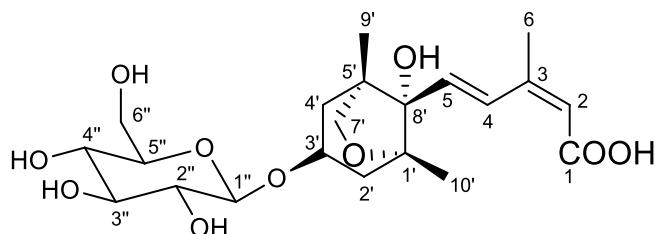
Um carbono oximetilênico (C7') foi posicionado em C1' e C5' com base nas correlações dos dois hidrogênios H-7' com δ 83,3 (C8') e 87,8 (C1'), enquanto a unidade de glicose em C3' foi confirmada pela correlação do hidrogênio anomérico em δ 4,36 com o sinal de carbono em δ 74,0. Por fim, os dois grupos metílicos restantes foram posicionados em C1' e C5', através das correlações a longa distância dos sinais de H-10' (δ 1,17) com C8' e do sinal de H-9' (δ 0,94) com C7' e C8'.



Pelo espectro ROESY (FIGURA 22, pag. 46) foi possível confirmar a estereoquímica relativa da molécula e afirmar a configuração *cis* para C2/C3 através da interação dipolar de H-2 com os hidrogênicos do grupamento metila (H-6), enquanto a configuração *trans* foi imposta para C4/C5 pelo assinalamento de H-6 com H-5.



Com base na literatura, e análise comparativa dos dados espectrocópicos, verificou que este composto se tratava do ácido (1'R,3'S,5'R,8'S,2Z,4E)-dihidrofaseico 3'-O- β -D-glicopiranosídeo previamente isolado de *Nelumbo nucifera* (YOUN *et al.*, 2011).



CT4, ácido (1'*R*,3'*S*,5'*R*,8'*S*,2*Z*,4*E*)-dihidrofaseico 3'-*O*-β-D-glicopiranosídeo

Tabela 8- Valores dos deslocamentos químicos de carbono-13 e prótio **CT4** e os dados referentes a este composto na literatura

	CT4- Metanol-<i>d</i>₄				Lit.- Metanol-<i>d</i>₄	
C	δ_C	δ_H (mult., <i>J</i> em Hz)	$^2J_{CH}$	$^3J_{CH}$	δ_C	δ_H (mult., <i>J</i> em Hz)
1	169,7				171,1	
3	151,9		H-4; H-6	H-5	149,2	
1'	87,8		H-10'	H-7'b	87,7	
5'	49,6		H-9'		49,5	
8'	83,3		H-5	H-4; H-4'; H-7'b; H-9'; H-10'	83,3	
CH						
2	119,5	5,76 (s)		H-6	121,3	5,77 (s)
4	132,1	7,98 (d, 15,9)	H-5	H-2; H-6	134,1	7,90 (d, 15,6)
5	135,5	6,57 (d, 15,9)			132,2	6,43 (d, 15,6)
3'	74,0	4,26 (m)	H-2'		74,0	4,24 (m)
CH₂						
2'	43,04	1,99 (dd, 13,3; 6,8) 1,77 (m)		H-4'; H-10'	43,0	1,96 (d, 13,6; 6,8; 2,0) 1,78 (m)
4'	42,98	2,19 (dd, 13,3; 6,8) 1,81 (m)		H-7; H-9'	42,9	2,17 (ddd, 13,6; 6,8; 2,0) 1,81 (m)
7'	77,3	3,80 (d, 6,6) 3,75 (d, 6,6)		H-9'	77,3	3,79 (dd, 7,2; 2,0) 3,73 (d, 7,2)
CH₃						
6	21,6	2,08 (s)		H-2; H-4	21,1	1,93 (s)
9'	16,8	0,94 (s)			16,4	1,16 (s)
10'	20,0	1,17 (s)			19,8	0,92 (s)
Glicose						
1''	103,2	4,36 (d, 8,8)	H-2''		103,2	4,34 (d, 7,6)
2''	75,3	3,14 (t, 8,8)	H-1''		75,1	3,13 (t, 8,8)
3''	78,1	3,30 (m)	H-2''; H-4''		78,2	3,36 (m)
4''	71,8	3,30 (m)			71,8	3,26 (m)
5''	78,3	3,30 (m)			78,1	3,27 (m)
6''	62,9	3,86 (d, 11,5) 3,66 (dd, 11,5; 5,0)			62,9	3,85-3,64 (m)

Fonte: elaborada pelo autor.

Figura 17- Espectro de RMN ^1H (499,6 MHz, MeOD) e expansões de CT4

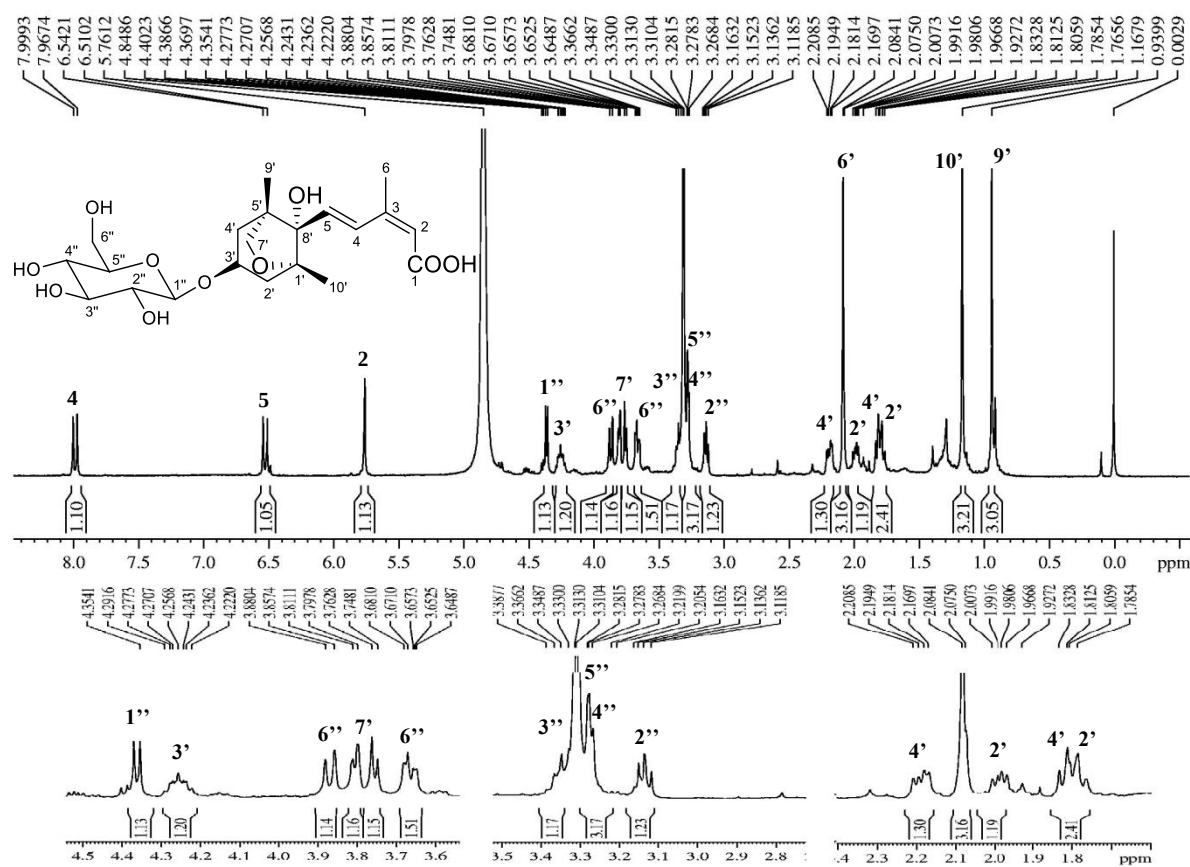


Figura 18- Espectro bidimensional de correlação de deslocamentos heteronuclear (^1H , ^{13}C) a uma ligação (HSQC) (499,6, 125,64 MHz, MeOD) de CT4

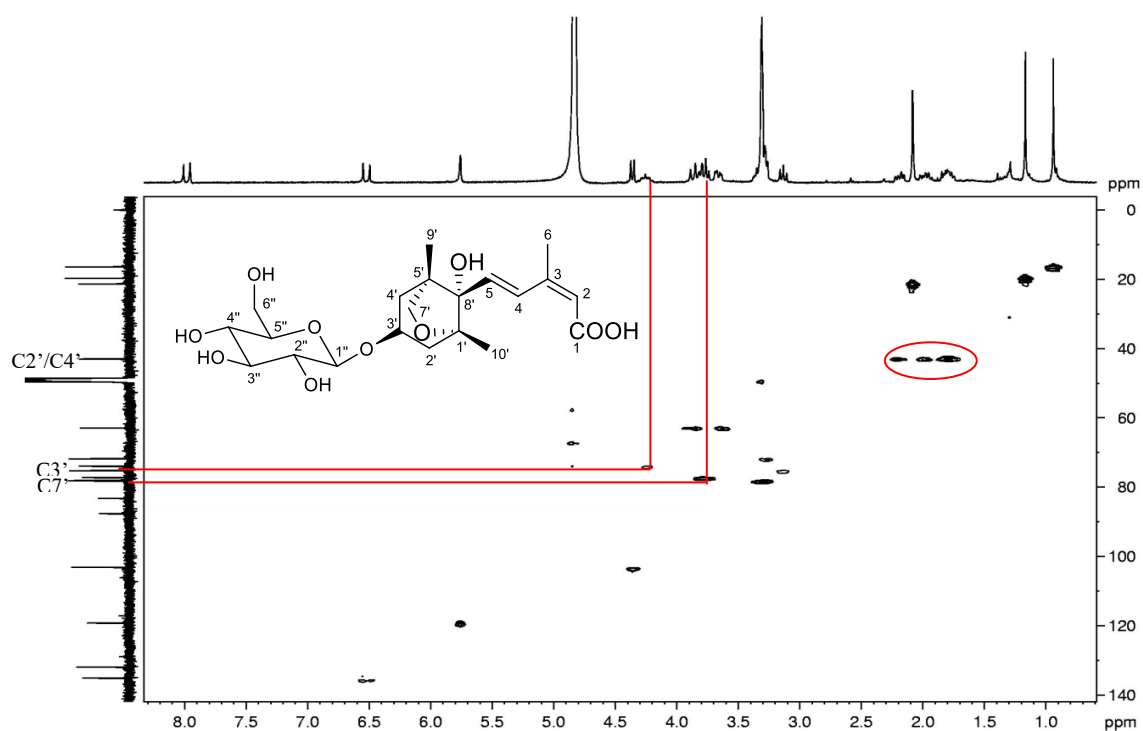


Figura 19- Espectro de RMN ^{13}C -APT (125,64 MHz, MeOD) de CT4

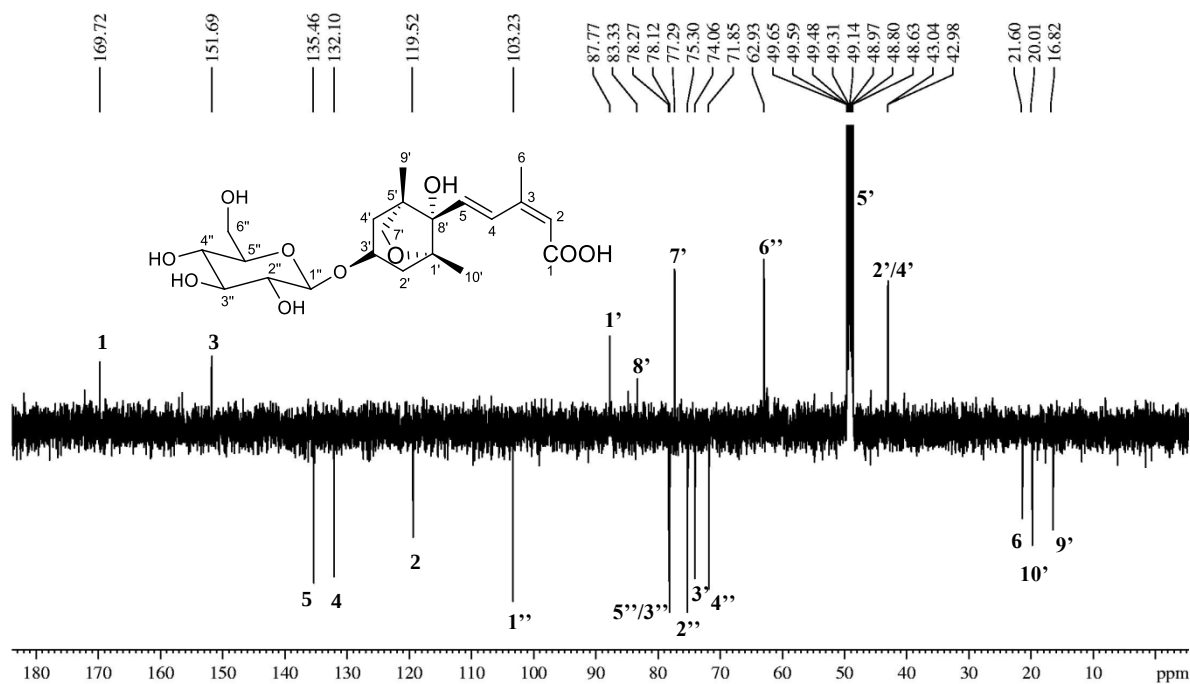


Figura 20- Espectro bidimensional de correlação homonuclear de hidrogênio e hidrogênio (^1H , ^1H) COSY (499,6, MHz, MeOD) de CT4

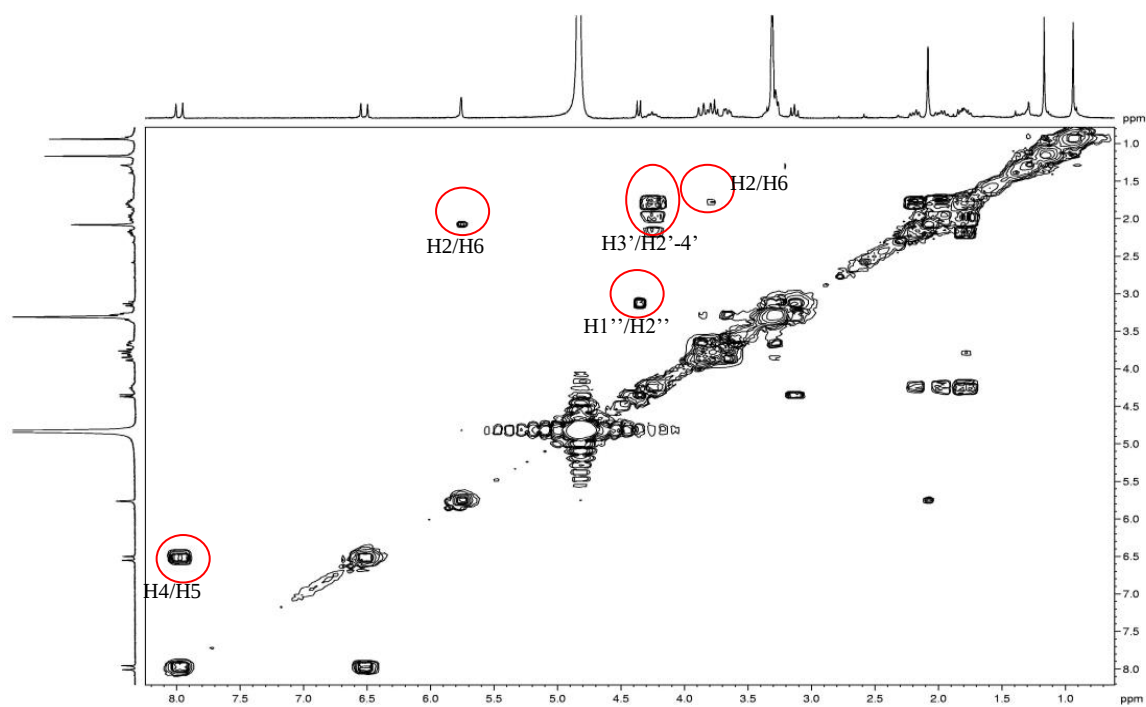


Figura 21- Espectro bidimensional de correlação de deslocamentos heteronuclear (^1H , ^{13}C) a mais de uma ligação (HMBC) (499,6, 125,64 MHz, MeOD) de **CT4**

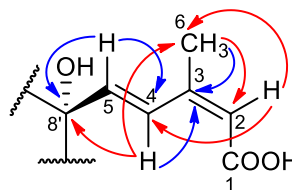
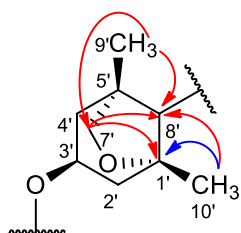
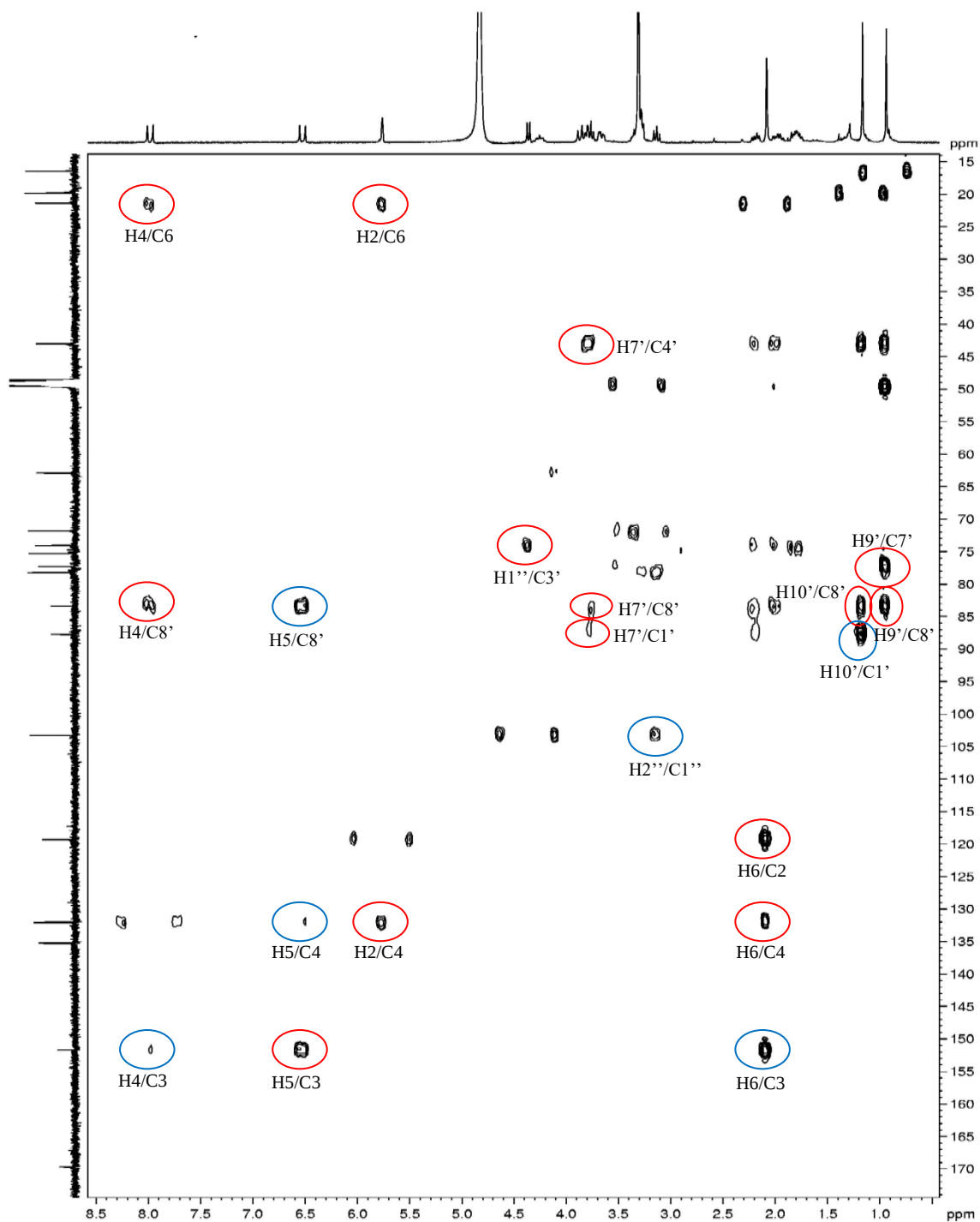
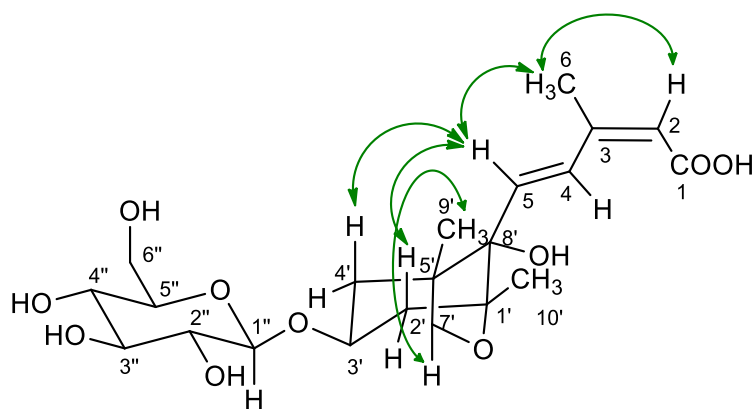
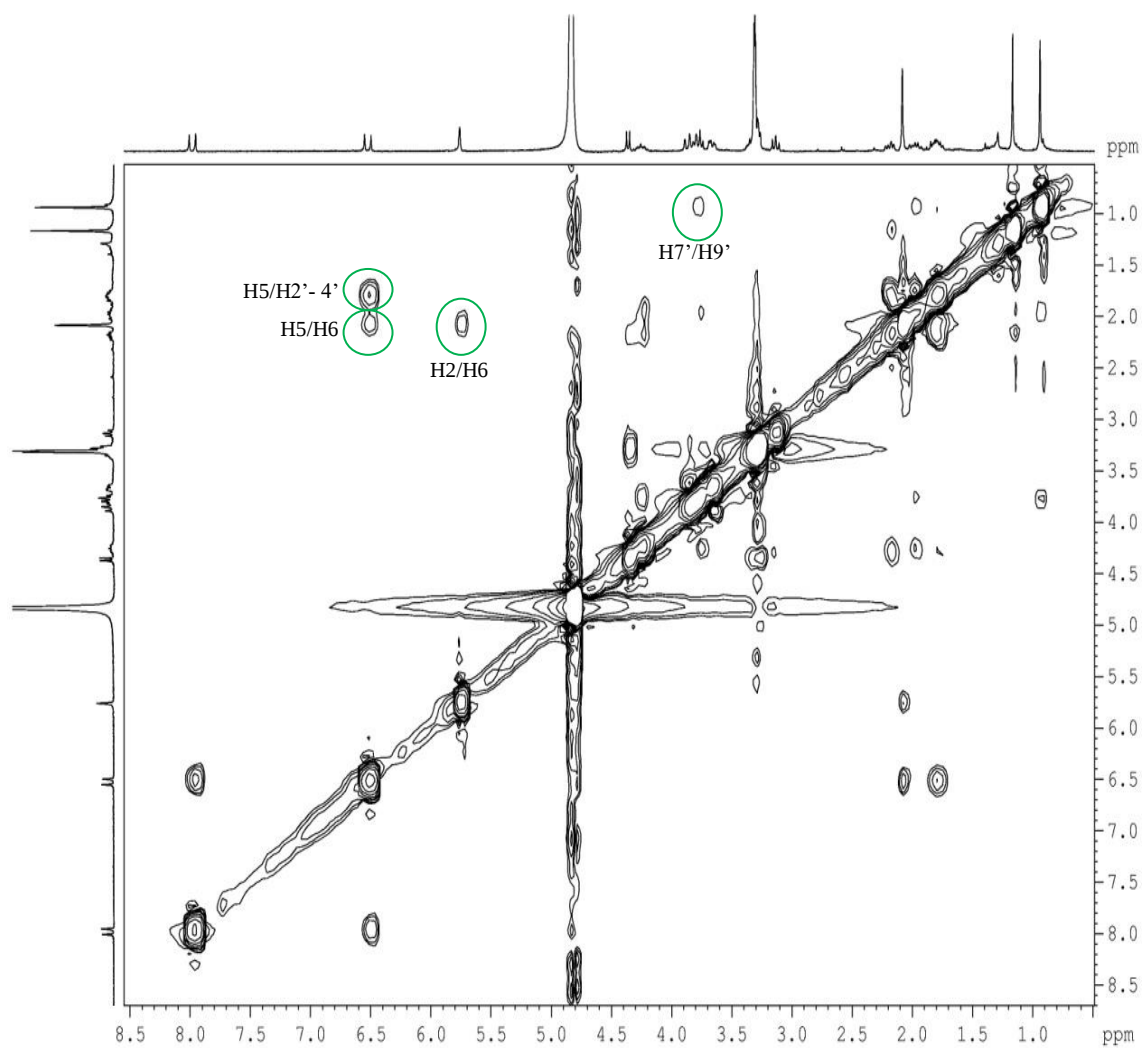


Figura 22- Espectro bidimensional de correlação dipolar (^1H , ^1H) (ROESY) (499,6, 125,64 MHz, MeOD) de **CT4**



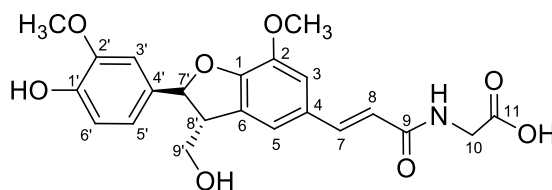
4.1.2.2 Determinação estrutural de CT5

O composto **CT5**, isolado a partir da fração acetato de etila (item 3.2.7.2, pag. 28), foi obtido como um sólido amorfo de cor branca e rotação ótica de $[\alpha]_D^{22} = -31,8^\circ$ (c 0,120 g/mL, MeOH).

O espectro de RMN ^1H (FIGURA 23, pag. 49) apresentou sete sinais de hidrogênios ligados a carbono sp^2 , sendo dois deles em δ 7,51 (d, $J = 15,1$ Hz) e 6,54 (d, $J = 15,1$ Hz), característicos de sistema AX em olefinas, estes sinais indicam a configuração *trans*. Os sinais em δ 7,16 (s), 7,11 (s), 6,95 (s), 6,83 (d), 6,78 (d), conferem a existência de anéis benzênicos, onde os dupletos com constante de acoplamento de 8,6 Hz, evidenciam a presença de hidrogênios *orto* posicionados. Os sinais em δ 5,57 (d, $J = 4,3$ Hz), 4,03 (s), 3,85 (m) e 3,53 (d, $J = 6,5$ Hz), com integração para seis hidrogênios, encontram-se na região de carbono ligado a heteroátomo, já os sinais em δ 3,90 (s) e 3,82 (s) indicaram a presença de duas metoxilas.

O espectro de RMN ^{13}C -BB (FIGURA 24, pag. 49) apresentou 22 linhas espectrais, sendo 16 pertencentes a carbono com hibridização sp^2 . Os sinais de carbono mais desprotegidos, em δ 173,2 e δ 169,6 indicaram a presença das funções ácido carboxílico e amida, respectivamente. Os deslocamentos químicos entre δ 151,6 a 110,6 confirmaram a existência de dois anéis benzênicos e uma ligação dupla (C7-C8), como verificado no espectro de RMN ^1H . Os sinais em δ 89,9; 64,9; 55,0 e 42,3 são típicos de carbonos ligados a heteroátomos, enquanto os sinais em δ 56,8 e δ 56,4 confirmaram a presença das metoxilas, como mencionado acima.

Baseado na discussão dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C , e comparação com dados espectroscópicos encontrados na literatura (TABELA 9, pag. 48) verificou-se que este composto se tratava de uma lignana glicilamida, previamente isolada da casca da raiz de *C. alliodora*, para a qual foi relatada atividade antimicrobiana (FOUSEKI *et al.*, 2016).



CT5, lignana glicilamida.

Tabela 9- Análise comparativa dos deslocamentos químicos de prótio e carbono-13 para CT5 e glicinamidalignana da literatura

	CT5- metanol- d_4		Lit.- metanol- d_4	
C	δ_C	δ_H (mult., J em Hz)	δ_C	δ_H (mult., J em Hz)
1	151,6		151,3	
2	145,9		145,7	
4	130,3		130,2	
6	131,1		130,9	
9	169,6		169,1	
11	173,2		177,0	
1'	147,9		147,6	
2'	149,3		149,1	
4'	134,3		134,1	
CH				
3	113,7	7,11 (s)	113,4	7,08 (s)
5	118,8	7,16 (s)	118,6	7,14 (s)
7	142,9	7,51 (d, 15,1)	142,3	7,48 (d, 15,6)
8	118,8	6,54 (d, 15,1)	119,1	6,55 (d, 15,6)
3'	110,8	6,95 (d, 1,8)	110,6	6,94 (d, 1,8)
5'	120,0	6,83 (dd, 8,6; 1,8)	119,8	6,82 (dd, 8,0; 1,8)
6'	116,4	6,78 (d, 8,6)	116,2	6,77 (d, 8,0)
7'	89,9	5,57 (d, 4,3)	89,7	5,55 (d, 6,6)
8'	55,0	3,53 (d, 6,5)	54,8	3,52 (m)
CH ₂				
10	42,3	4,03 (s)	44,7	3,90 (s)
9'	64,9	3,85 (m)	64,7	3,83 (m)
CH ₃				
2-OMe	57,0	3,90 (s)	56,8	3,88 (s)
2'-OMe	56,6	3,82 (s)	56,4	3,81 (s)

Fonte: elaborada pelo autor.

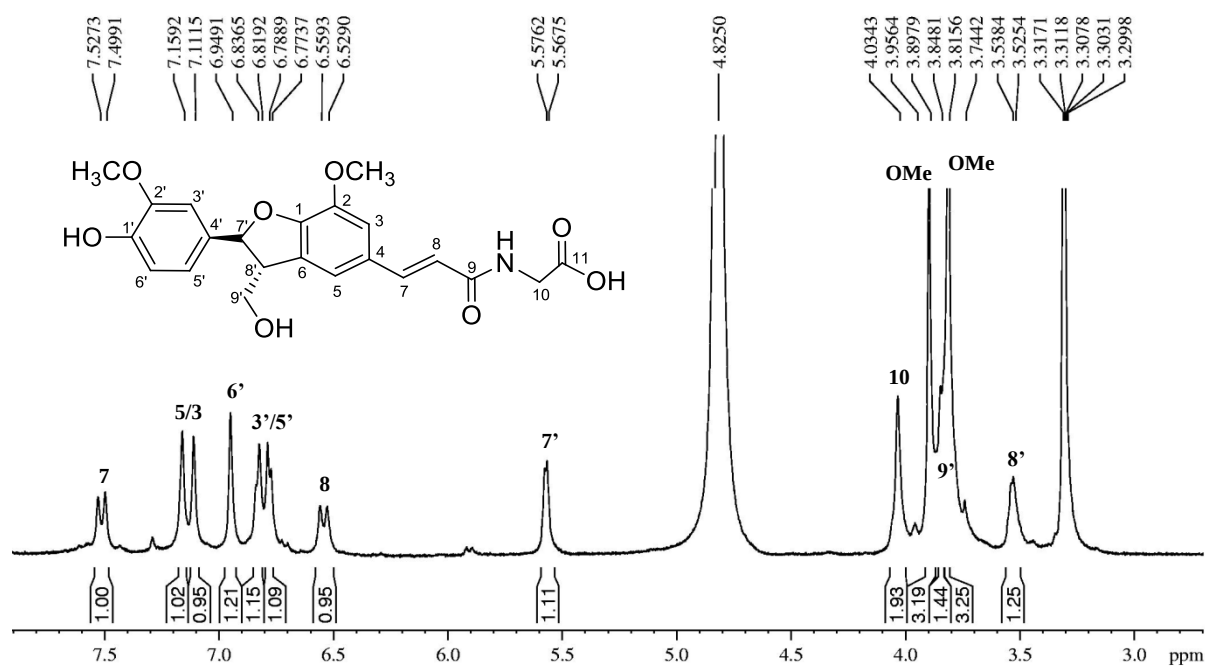
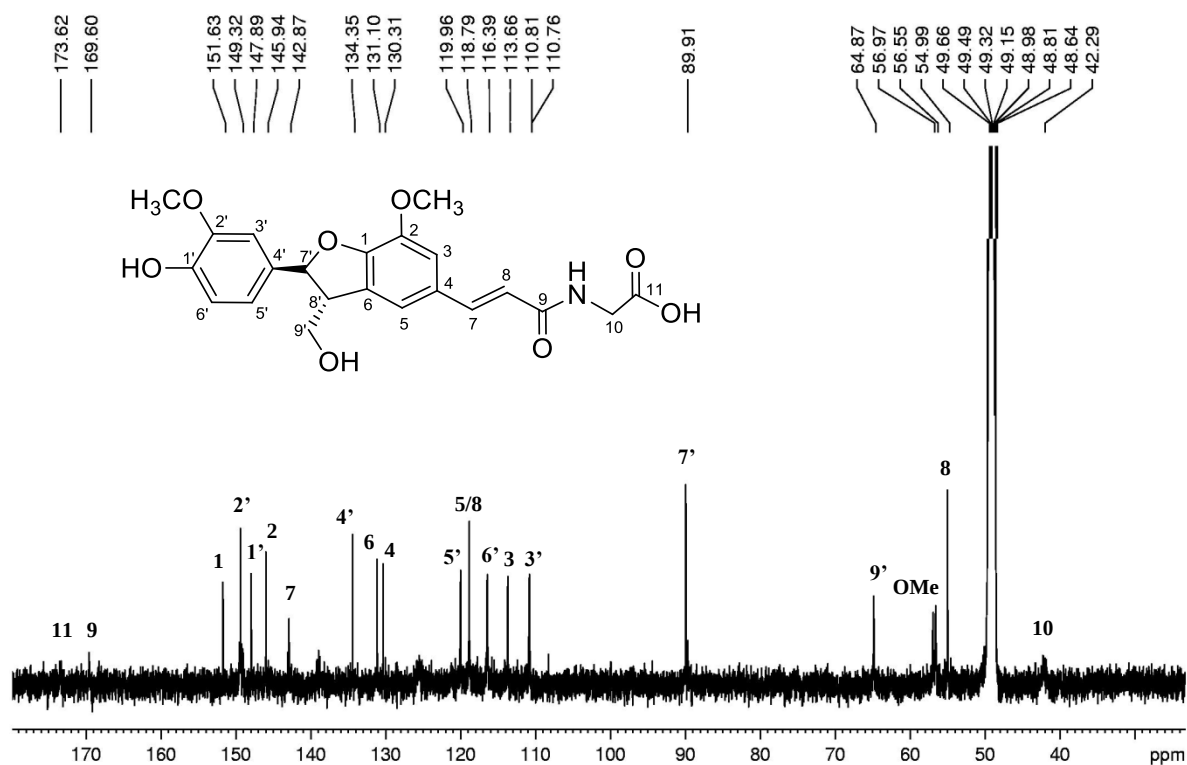
Figura 23- Espectro de RMN 1H (499,6 MHz, MeOD) de CT5

Figura 24- Espectro de RMN ^{13}C -BB (125,64 MHz, MeOD) de CT5

4.1.3 Determinação estrutural dos compostos isolados provenientes da fração CTREB

Os compostos a seguir foram purificados por CLAE e foram provenientes da fração n-butanólica, conforme descrita no item 3.2.9.1 (pag. 29).

4.1.3.1 Determinação estrutural de CT6

Este composto foi isolado como uma resina incolor e apresentou rotação ótica de $[\alpha]_D^{21} = -10,87^\circ$ (c 0,076g/mL de MeOH).

O espectro de absorção na região do infravermelho (FIGURA 25, pag. 54) mostrou bandas de absorção em 3393, 2226 e 1702 cm^{-1} , referentes a estiramentos de ligação O-H, CN e C=O de éster conjugado, respectivamente, além de duas absorções médias em 1675 e 1647 cm^{-1} referentes à deformação axial de C=C. Adicionalmente, foram observadas bandas em 1421 e 1361 cm^{-1} , referentes à deformação angular de C-H de grupos metilênicos e metílicos, bem como bandas associadas à ligação C-O entre 1300 a 1000 cm^{-1} (PAVIA, 2015).

O espectro de massa (FIGURA 26, pag. 54) mostrou um sinal correspondente ao pico do íon molecular desprotonado $[M-H]^-$ com m/z 428,1662, indicando a fórmula molecular $\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{NO}_{10}$, a qual corresponde a um IDH de 7.

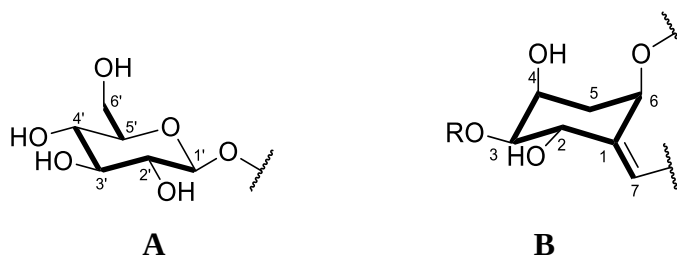
O espectro de RMN de ^1H (FIGURA 27, pag. 55) mostrou sinais típicos de hidrogênio ligado a carbono com hibridação sp^2 em δ 6,16 (dq, $J=7,0$; 1,2 Hz) e 5,77 (d, $J=1,7$ Hz) indicando duas duplas ligações trissubstituída, bem como sinais na região de carbono oxigenado, incluindo um sinal para hidrogênio ligado a carbono anomérico em δ 4,43 (d, $J=7,7$ Hz), sinais em δ 3,84 (dd, $J=11,9$; 2,0 Hz) e 3,70 (dd, $J=11,9$; 4,9 Hz) referentes a hidrogênio metilênicos (H-6') e na faixa de δ 3,39 a 3,24 sinais referentes a hidrogênios metínicos, compatíveis com uma unidade de glicose. Adicionalmente, os sinais em δ 5,00 (t, $J=3,2$ Hz), 4,90 (d, $J=9,7$ Hz), 4,71 (dd, $J=9,6$; 2,9 Hz) e 4,27 (ddd, $J=3,9$; 3,3; 3,2, 3,3 Hz) evidenciaram outra unidade estrutural com alto grau de oxigenação. Apresentou ainda, sinais em δ 2,42 (dt, $J=15,3$; 3,2 Hz) e 1,91 (t, $J=3,4$ Hz) correspondentes a hidrogênios diastereotópicos (H-5), além dos sinais em δ 2,01 (d, $J=7,0$ Hz) e 1,94 (s) para dois grupos metílicos.

O espectro de RMN de ^{13}C (FIGURA 28, pag. 56) revelou dezenove linhas espectrais, que aliado à técnica de APT (FIGURA 29, pag. 56) foi possível identificar quatro carbonos não hidrogenados, onze metínicos, dois carbonos metilênicos e dois metílicos. Os deslocamentos químicos em δ 168,9 (C9) e 117,4 (C8) indicaram uma carbonila de éster

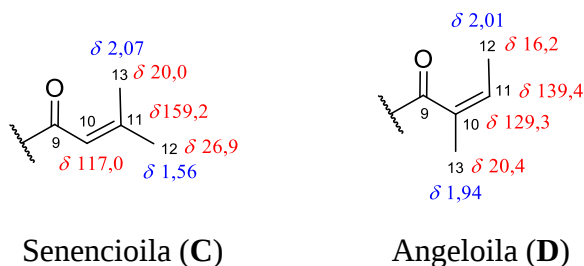
conjugado e uma nitrila, corroborando com o espectro de infravermelho. Os sinais em δ 104,4 (C1'), 79,1 (C5'), 78,0 (C3'), 74,9 (C2'), 71,5(C4') e 62,6 (C6') (TABELA 10, pag. 53), confirmaram a unidade da glicose (PREISCH; BUHLMANN; AFFOLTER, 2000), enquanto os sinais em δ 78,3 (C3), 77,6 (C6), 69,1 (C4) e 68,2(C2) indicaram uma unidade estrutural tetraoxigenada.

Após análise do espectro de HSQC (FIGURA 30, pag. 57) foi possível atribuir cada carbono ao seu respectivo sinal de hidrogênio, inclusive diferenciar os sinais correspondentes aos hidrogênios diasterotópicos e aos hidrogênios ligados a carbono oxigenados.

O espectro de COSY (FIGURA 31, pag. 57) exibiu duas sequências de acoplamentos vicinais, uma justificando a unidade de glicose (**A**) e a outra, a unidade **B** [H-6→H-2 e de H-7→H-2 e H-6], enquanto o hidrogênio olefínico mais desprotegido em δ 6,16 (H-11) mostrou acoplamento com o metila duplete em δ 2,01 (H-12).

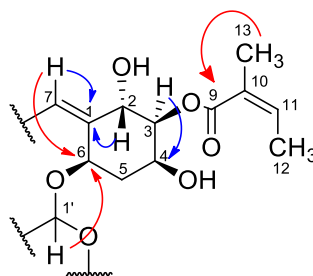


A comparação dos dados de RMN acima mencionados com os descritos para o composto ehretiosideo A1, previamente isolado de *Ehretia philippinenses* (SIMPOL *et al.*, 1994), foram bastante semelhantes, sendo a diferença entre estes compostos relacionada ao grupamento senecioila (**C**). Como pode ser observado, os dados de RMN de ^1H e ^{13}C deste grupamento diferem significativamente daqueles obtidos para **CT6**, os quais foram compatíveis com uma unidade angeloila (**D**). Ao observar os deslocamentos químicos dos hidrogênios dos metilas em cada tipo de unidade isoprênica (**C** e **D**), verificou que o metila *cis* à carbonila (H-13) em **C** sofre desproteção anisotrópica mais acentuadamente que o metila H-12 em **D**.

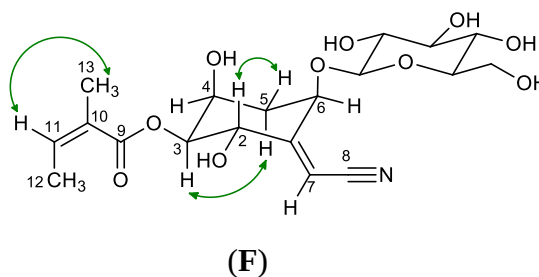
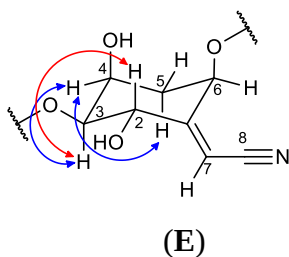


Vale ressaltar que as unidades isoprênicas angeloila e senecioila são derivadas dos ácidos angélico [ácido (2Z)-2-metilbutenóico] e seneciólico [ácido (2Z)-3-metilbutenóico], respectivamente (ISHITA *et al.*, 2016).

A posição da unidade angeloila foi determinada por comparação dos dados de RMN ^1H e ^{13}C de **CT6** com os da literatura, no entanto, o espectro HMBC (FIGURA 32, pag. 58) revelou informações importantes para confirmação dos grupos restantes, como por exemplo, o acoplamento de H-1' (hidrogênio ligado ao carbono anomérico) com o carbono oxigenado C6 confirmando a posição da glicose. Os acoplamentos de H-7 com C1 (δ 166,1) e C6 (δ 77,6), bem como de H-2 com C1, mostraram que a dupla ligação C1/C7 se encontra entre dois carbonos oxigenados, assim uma hidroxila foi posicionada em C2 (δ 68,2). Deste modo chegou-se a estrutura de **CT6**, um cianoglicosídeo contendo um grupo angeloila.

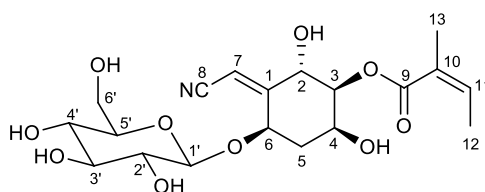


A estereoquímica relativa de **CT6** foi inferida através das informações obtidas pelo espectro ROESY (FIGURA 33, pag. 59), e pelos valores das constantes de acoplamentos. Por exemplo, os valores de J revelados pelos sinais dos átomos de H-2 e H-3 ($J = 9,7$ Hz) (fragmento E), permitiram atribuir à posição axial-axial e deduzir a estereoquímica relativa, assim como observado para os átomos de H-4/H-3 e H-5 (ax) com constantes de acoplamento iguais a 3,3 Hz. No espectro ROESY, as correlações entre H-2/H-5 (eq), H-3/H-5 (ax) e H-11/H-13 confirmam a estereoquímica proposta (F).



Desta forma, a estrutura de **CT6** foi determinada como sendo um isômero do ehretiosídeo A1, nomeado de trichotomosídeo A1 e cuja estrutura está sendo registrada pela primeira vez neste trabalho.

Ehretiosídeo A1 foi descrito pela primeira vez por Simpol e colaboradores (1994) a partir de *Ehretia philippinenses*, e posteriormente este composto foi isolado de *E. dentate* (THUY; COUNG; SUNG, 2007) e *Coldenia procumbens* (KOTESH *et al.* 2013)



CT6, Trichotomosídeo A1

Tabela 10- Valores de deslocamento químico de RMN de ^{13}C , ^1H de **CT6**, incluindo HMBC ($^2J_{\text{CH}}$, $^3J_{\text{CH}}$) e registros para o Ehretiosídeo A1

	CT6- Metanol-d_4				Lit.- Metanol-d_4	
C	δ_{C}	δ_{H} (mult., J em Hz)	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	δ_{C}	δ_{H} (mult., J em Hz)
1	166,1		H-7; H-2		165,0	
8	117,4				116,9	
9	168,9			H-13	166,0	
11					156,9	
10	129,3					
CH						
2	68,2	4,90 (d, 9,7)		H-6	67,9	5,68 (dd, 10; 2)
3	78,3	4,71 (dd, 9,7; 3,3)			79,0	5,18 (dd, 10; 3)
4	69,1	4,27 (ddd, 3,9; 3,3; 3,2)	H-3		67,7	4,66 (ddd, 3; 3; 3)
6	77,6	5,00 (t, 3,2)		H-7	76,0	5,52 (t, 3)
7	96,1	5,77 (d, 1,7)			95,6	6,25 (d, 2)
11	139,4	6,16 (dq, 7,0; 1,2)				
10					116,6	5,56 (sept 1,3)
CH₂						
5	35,7	2,42 (dt, 15,3; 3,3) eq 1,91 (dt, 15,3; 3,2) ax			34,3	2,69 (dt, 15, 3) 1,82 (dt, 15, 3)
CH₃						
12	16,2	2,01 (d, 7,0)			26,9	1,56 (d, 1,3)
13	20,4	1,94 (s)			20,0	2,07 (d, 1,3)
Glicose						
1'	104,5	4,43 (d, 7,7)		H-6	102,7	5,03 (d, 7,8)
2'	74,9	3,24 (m)			75,0	3,97 (dd, 7,8; 8,8)
3'	78,0	3,39 (t, 8,8)			78,4	4,21 (dd, 8,8; 8,3)
4'	71,5	3,35 (t, 8,8)			71,4	4,21 (dd, 8,3; 9,3)
5'	79,1	3,27 (m)			78,5	3,91 (dd, 9,3; 2,4)
6'	62,6	3,84 (dd, 11,9; 2,0) 3,70 (dd, 11,9; 4,9)	H-3'		62,7	4,44 (dd, 12, 2,4) 4,28 (dd, 12, 5)

Fonte: elaborada pelo autor.

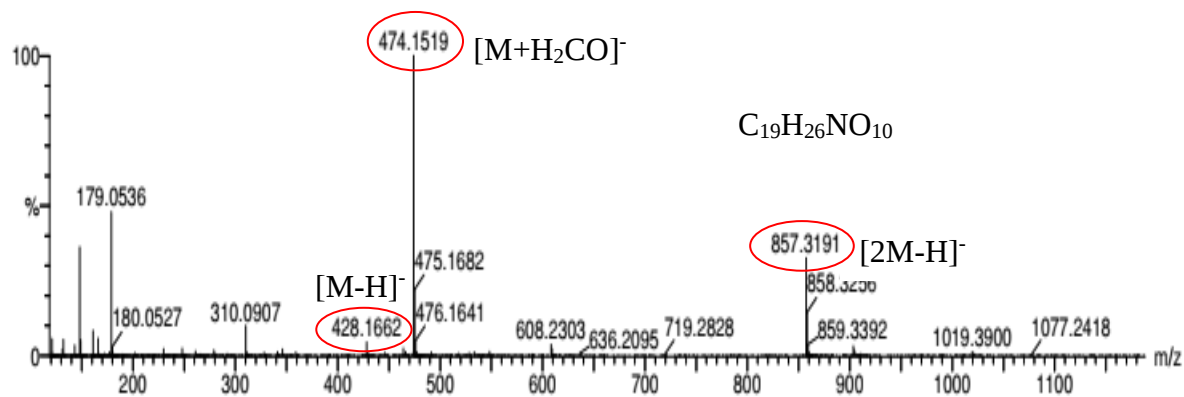


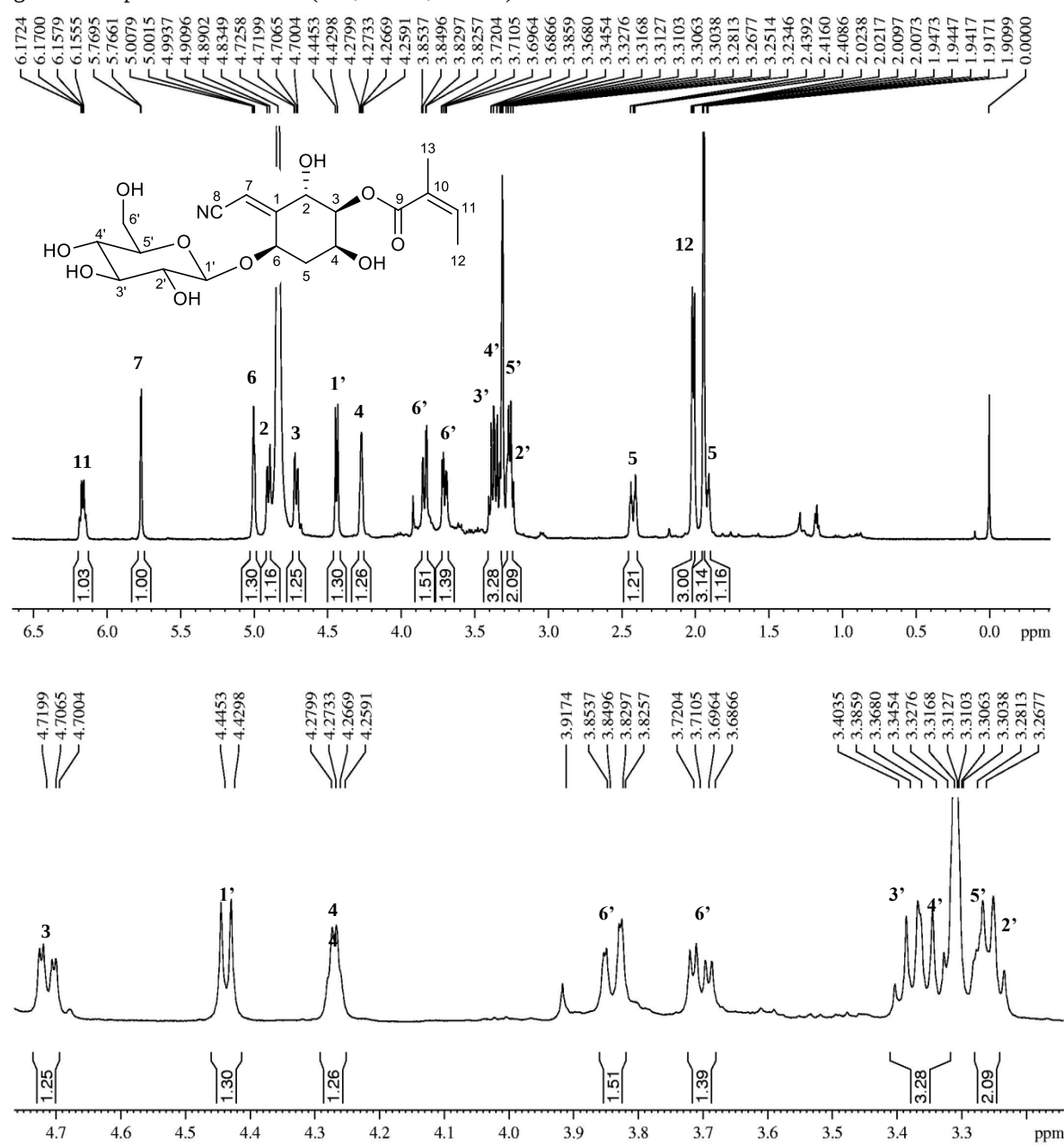
Figura 27- Espectro de RMN ^1H (499,6 MHz, MeOD) de CT6

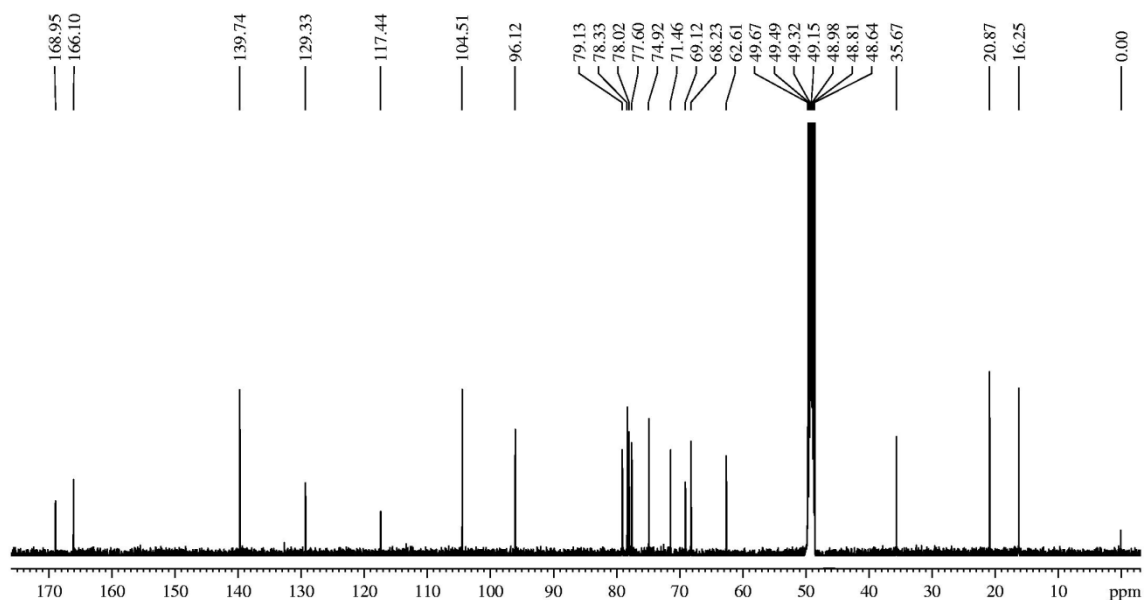
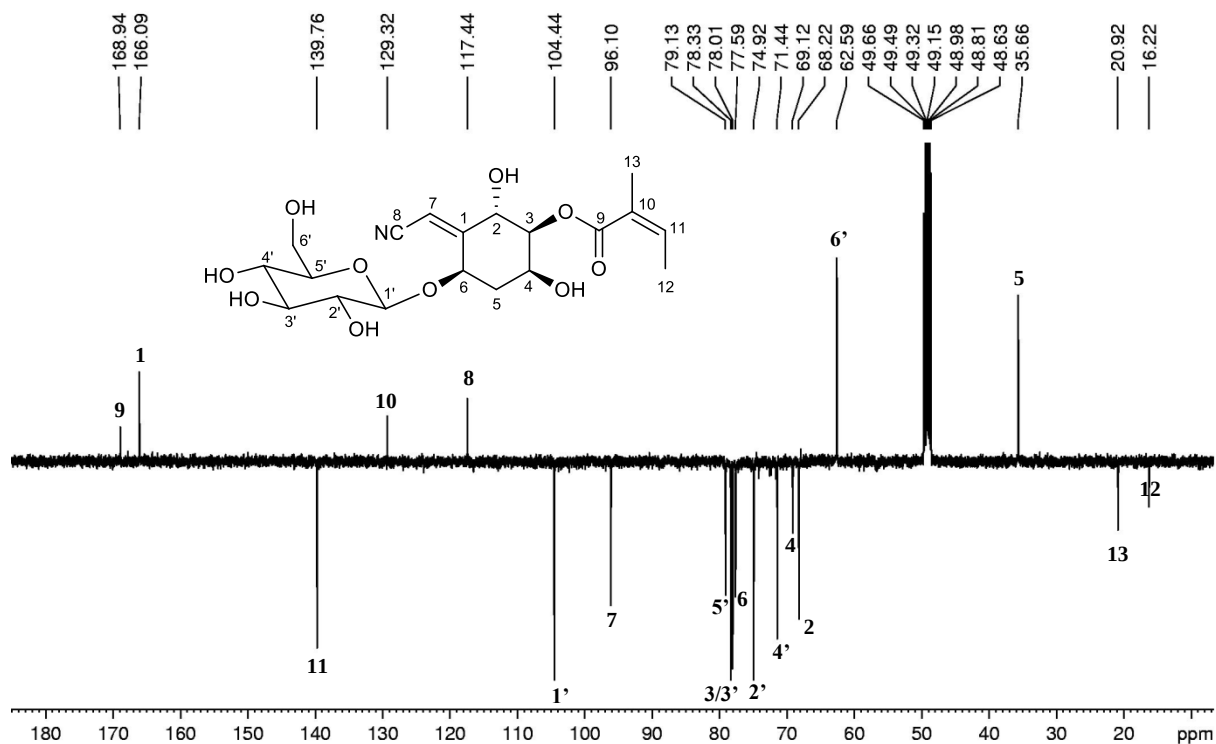
Figura 28- Espectro de RMN ^{13}C -BB (125,64 MHz, MeOD) de CT6Figura 29-Espectro de RMN ^{13}C -APT (125,64 MHz, MeOD) de CT6

Figura 30- Espectro bidimensional de correlação de deslocamentos heteronuclear (^1H , ^{13}C) a uma ligação (HSQC) (499,6, 125,64 MHz, MeOD) de **CT6**

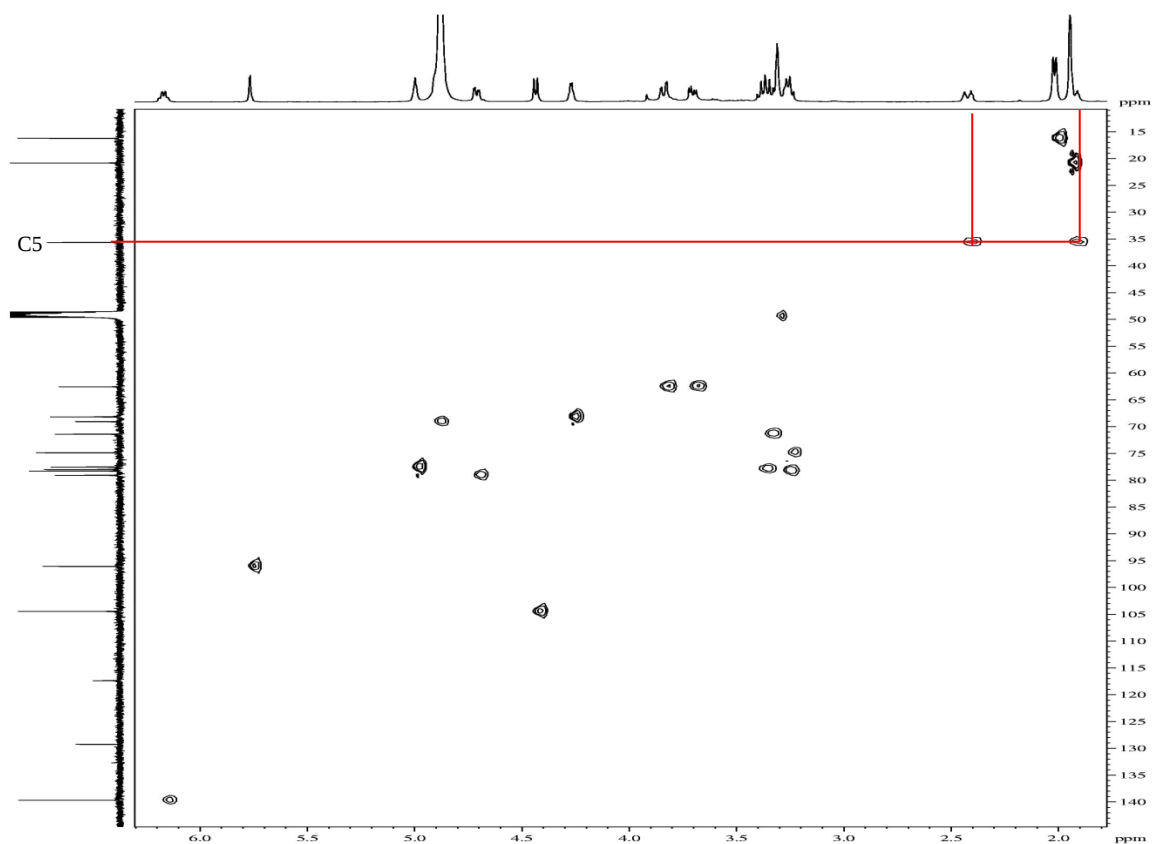


Figura 31- Espectro bidimensional de correlação homonuclear de hidrogênio e hidrogênio (^1H , ^1H) COSY (499,6, MHz, MeOD) de **CT6**

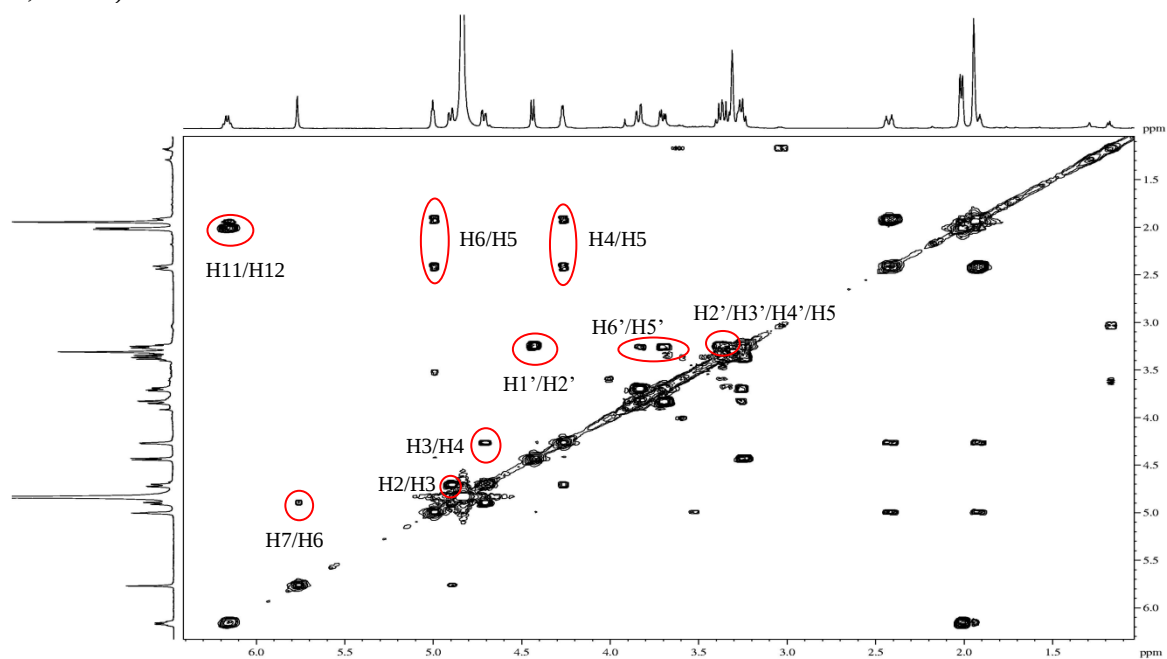


Figura 32- Espectro bidimensional de correlação de deslocamentos heteronuclear (^1H , ^{13}C) a mais de uma ligação (HMBC) (499,6, 125,64 MHz, MeOD) de **CT6**

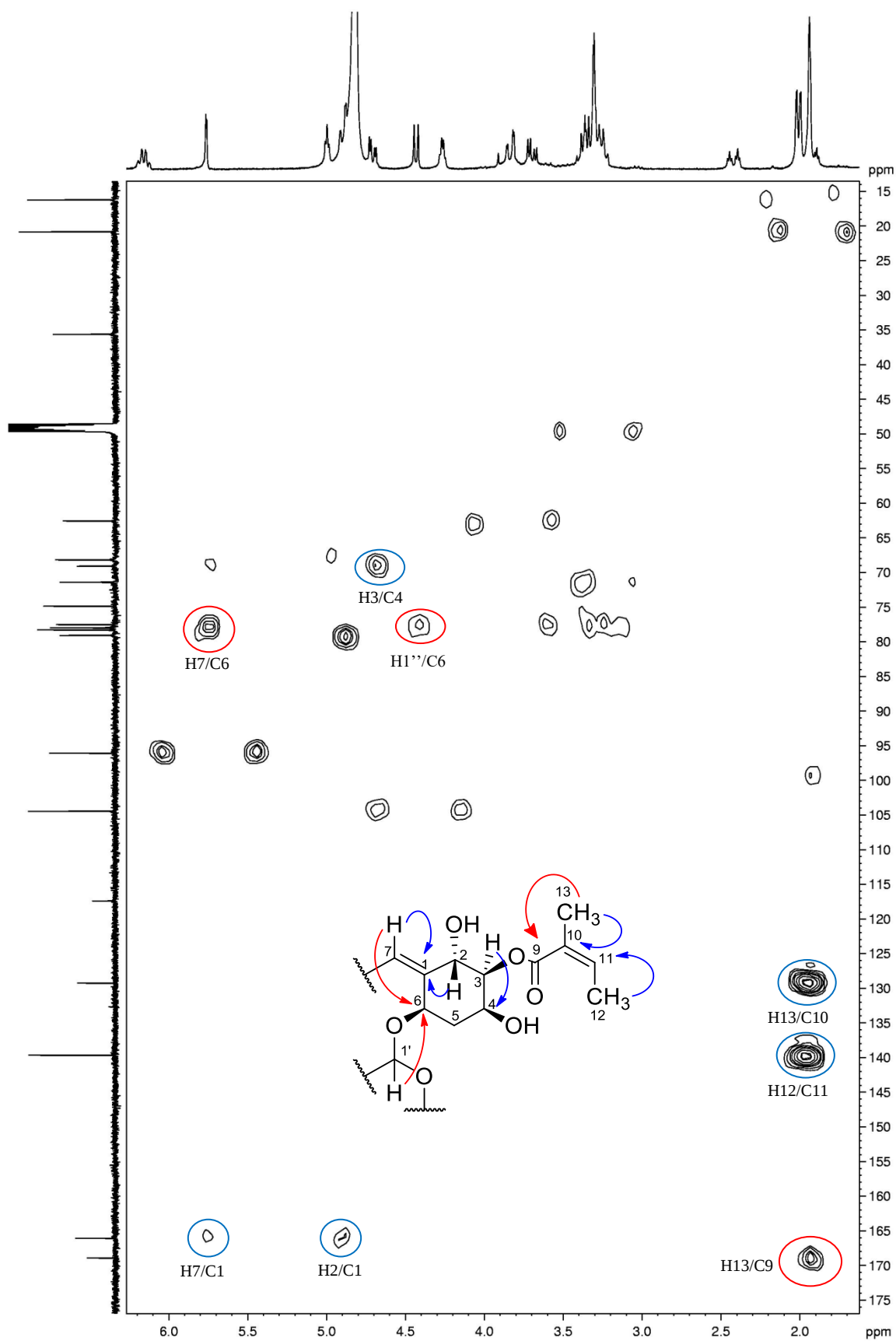
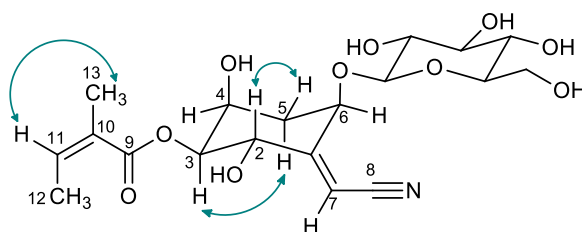
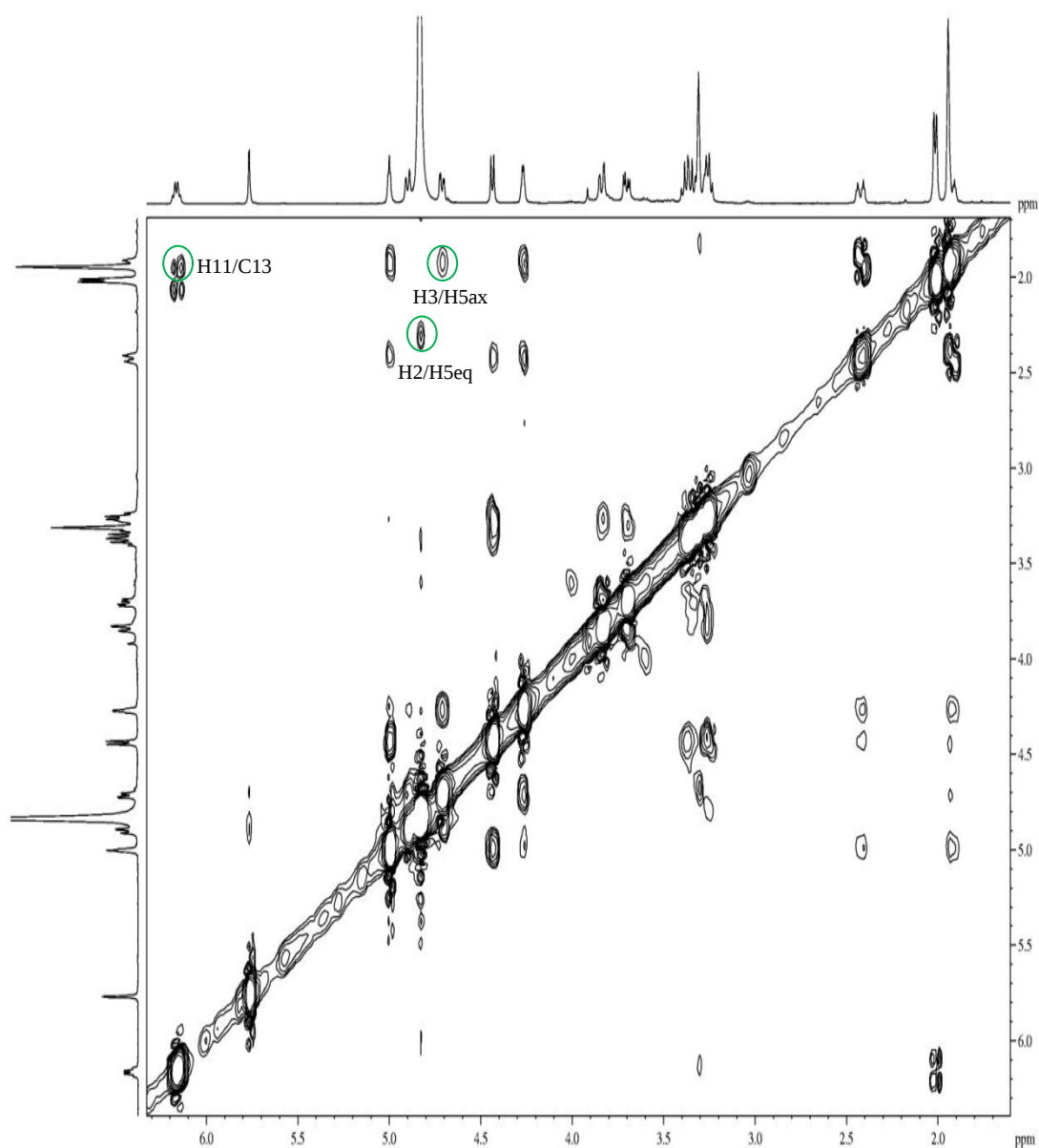


Figura 33- Espectro bidimensional de correlação dipolar (^1H , ^1H) (ROESY) (499,6, 125,64 MHz, MeOD) de **CT6**



4.1.3.2 Determinação estrutural de **CT7**

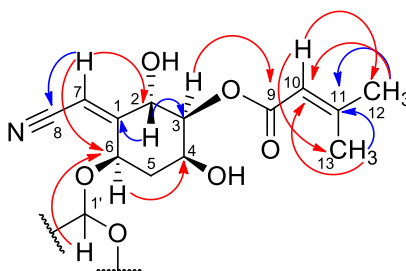
O composto **CT7** foi obtido como uma resina incolor e com rotação ótica de $[\alpha]_D^{20} = + 1,66^\circ$ (c 0,068g/mL, MeOH).

O espectro de absorção na região do infravermelho (FIGURA 34, pag. 62) apresentou bandas em 3372, 2226, 1705 e 1650 cm^{-1} , referentes à hidroxila, nitrila, carbonila de éster conjugado e carbono olefínico, respectivamente (PAVIA, 2015).

O espectro de massa (FIGURA 35, pag. 62) apresentou um pico correspondente ao íon molecular desprotonado $[M-H]^-$ em m/z 428,1613, indicando a fórmula molecular $\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{NO}_{10}$ (IDH-7) e, portanto, um isômero constitucional de **CT6**.

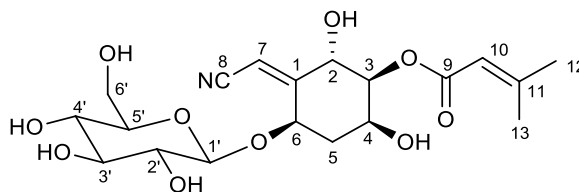
Os espectros de RMN de ^1H (FIGURA 36, pag. 63) e ^{13}C -APT (FIGURA 37, pag. 63) de **CT7** revelaram sinais com deslocamentos químicos semelhantes aos de **CT6**, sendo a diferença entre eles relacionada aos sinais de ^1H e ^{13}C referente ao grupo acila. Por exemplo, o sinal do hidrogênio (H-10) ligado ao carbono olefínico se mostrou mais protegido (δ 5,82, t, $J=1,0$ Hz) quando comparado com seu correspondente (H-11) em **CT6** (δ 6,16, dq, $J=7,1; 1,2$ Hz). Em **CT7** os carbonos olefínicos desse grupamento são compatíveis com aqueles citados para o ehretiosídeo A1 (TABELA 11, pag. 61).

O espectro HMBC (FIGURA 38, pag. 64) revelou acoplamentos fundamentais na elucidação estrutural do composto, como a correlação de H-3 (δ 4,62) com C9 (δ 167,5) confirmando a posição da unidade acila. Adicionalmente, os acoplamentos de H-10 com C12/C13 e H-12/H-13 com C10/C11 identificam o grupamento acila como sendo um grupo senecioila e não o grupo angeloila como foi descrito para **CT6**.



Baseado nas informações discutidas acima e análise comparativa destes com aqueles descritos para o ehretiosídeo A1, verificou-se que **CT7** corresponde a este composto. O ehretiosídeo A1, embora já tenha isolado de dois gêneros de Boraginaceae (SIMPOL *et al.*,

1994; THUY; COUNG e SUNG, 2007 e KOTESH *et al.*, 2013) está sendo relatado pela primeira vez no gênero *Cordia*.



CT7, Ehretiosídeo A1

Tabela 11- Análise comparativa dos valores de deslocamento químico de RMN de ^{13}C , ^1H do composto isolado com o Ehretiosídeo A1, bem como os dados do HMBC ($^2J_{\text{CH}}$, $^3J_{\text{CH}}$) de **CT7**

	CT7- Metanol-d_4				Lit.- Metanol-d_4	
C	δ_{C}	δ_{H} (mult., J em Hz)	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	δ_{C}	δ_{H} (mult., J em Hz)
1	166,0		H-2; H-7		165,0	
8	117,4				116,9	
9	167,5			H-3	166,0	
11	159,2		H-12; H-13		156,9	
CH						
2	68,6	4,88 (dd, 9,9; 1,8)	H-3	H-4; H-7	67,9	5,68 (dd, 10; 2)
3	78,3	4,62 (dd, 9,9; 2,9)	H-2		79,0	5,18 (dd, 10; 3)
4	68,9	4,22 (q, 2,9)	H-3	H-2	67,7	4,66 (ddd, 3; 3; 3)
6	77,8	4,98 (m)		H-1'; H-7	76,0	5,52 (t, 3)
7	96,0	5,75 (d, 1,8)		H-2	95,6	6,25 (d, 2)
10	117,0	5,82 (t, 1,0)		H-12; H-13	116,6	5,56 (sept 1,3)
CH₂						
5	35,5	2,42 (dt, 15,4; 2,9) 1,88 (dt, 15,4; 3,7)			34,3	2,69 (dt, 15, 3) 1,82 (dt, 15, 3)
CH₃						
12	27,6	1,94 (s)		H-10; H-13	26,9	1,56 (d, 1,3)
13	20,4	2,18 (s)		H-10; H-12	20,0	2,07 (d, 1,3)
Glicose						
1'	104,8	4,43 (d, 7,8)			102,7	5,03 (d, 7,8)
2'	75,0	3,22 dd, 7,8; 8,8)			75,0	3,97 (dd, 7,8; 8,8)
3'	78,0	3,35 (t, 8,8)	H-2'		78,4	4,21 (dd, 8,8; 8,3)
4'	71,5	3,38 (t, 8,8)	H-3'		71,4	4,21 (dd, 8,3; 9,3)
5'	78,7	3,27 (m)	H-4'		78,5	3,91 (ddd, 9,3; 2,4; 5,2)
6'	62,6	3,83 (dd, 11,9; 2,0) 3,70 (dd, 11,9; 4,8)			62,7	4,44 (dd, 12, 2,4) 4,28 (dd, 12, 5)

Fonte: elaborada pelo autor.

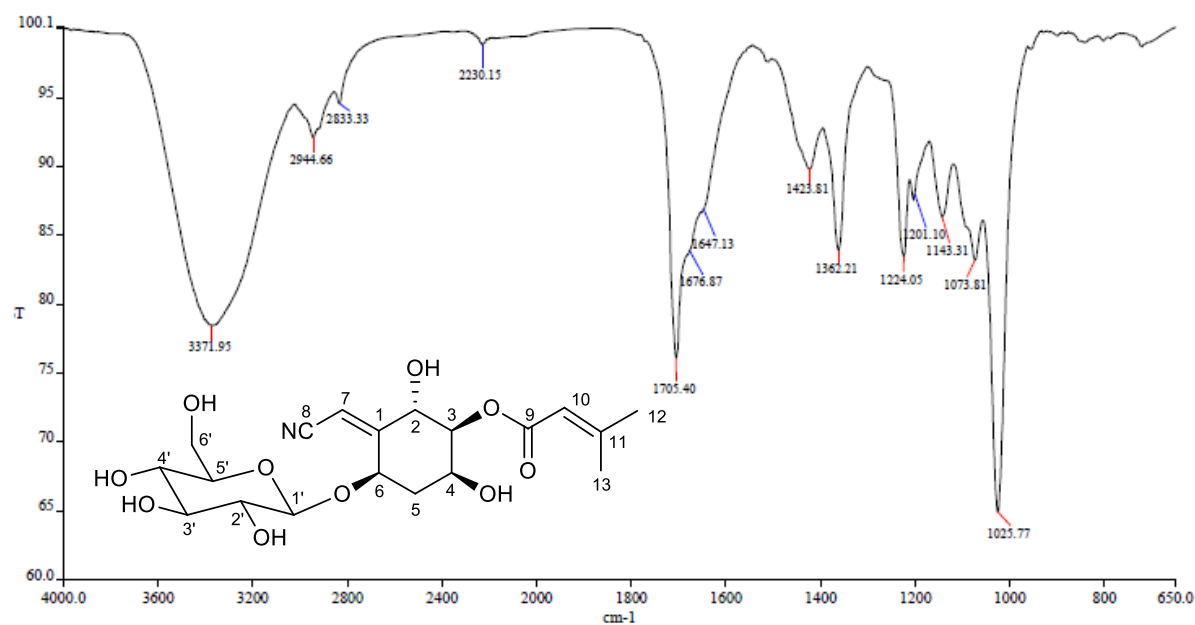
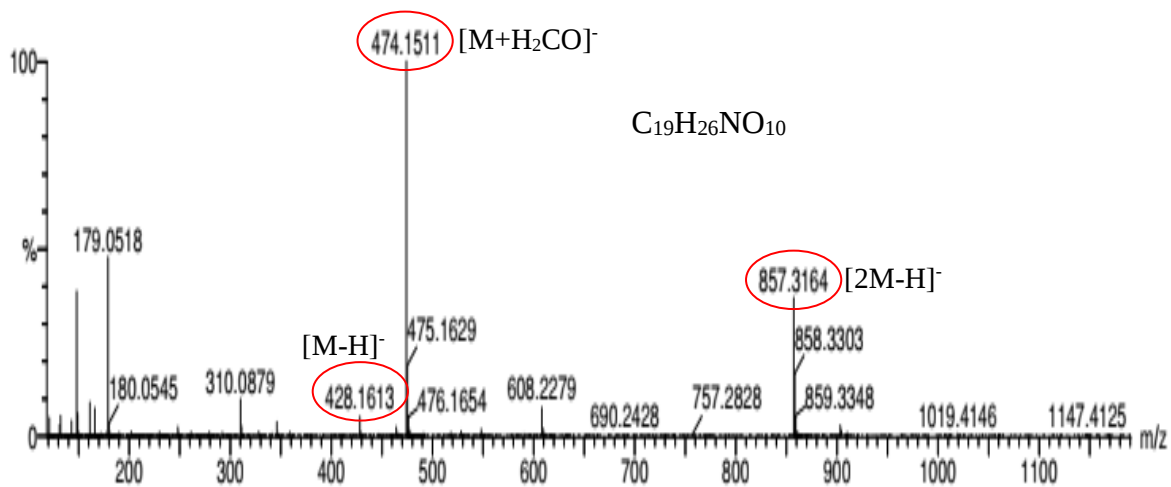
Figura 34- Espectro de absorção na região do infravermelho de **CT7**Figura 35- Espectro de massa de **CT7**

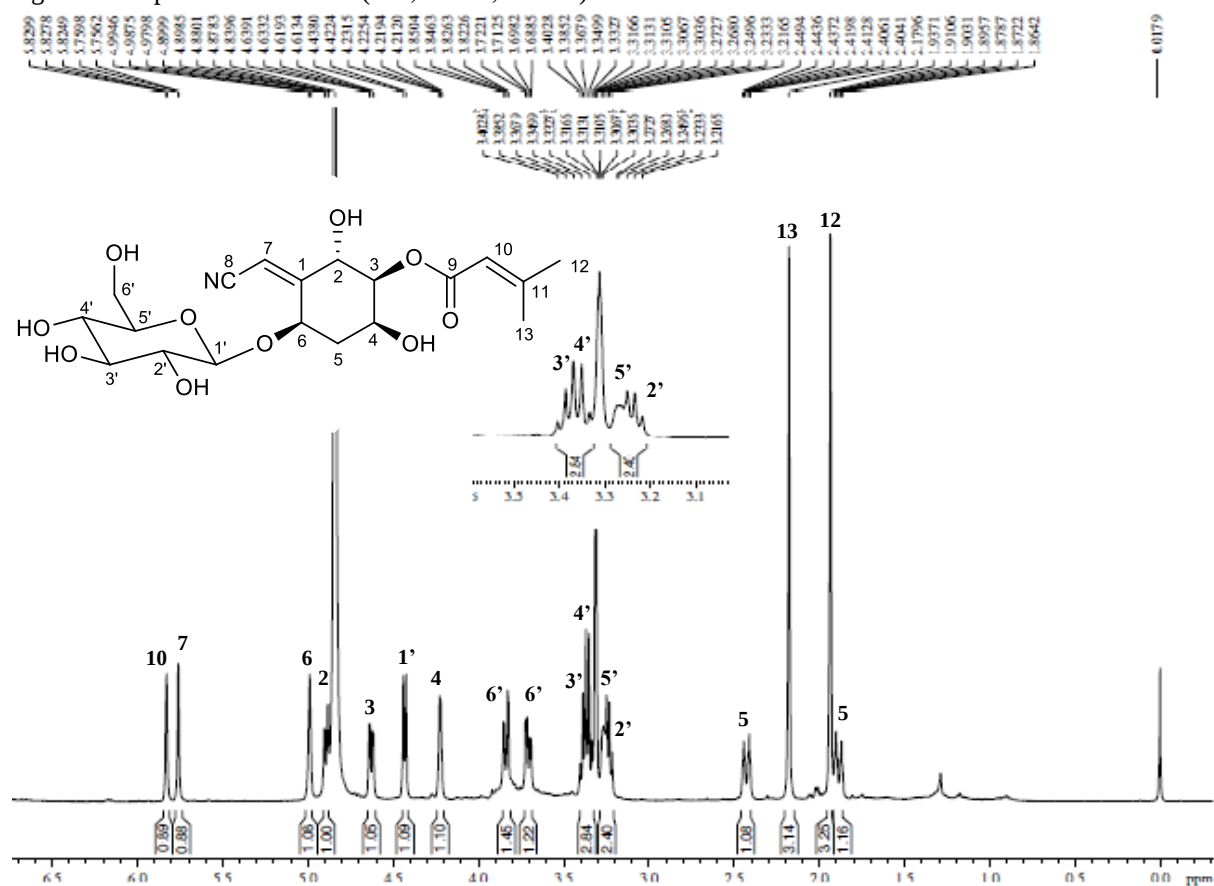
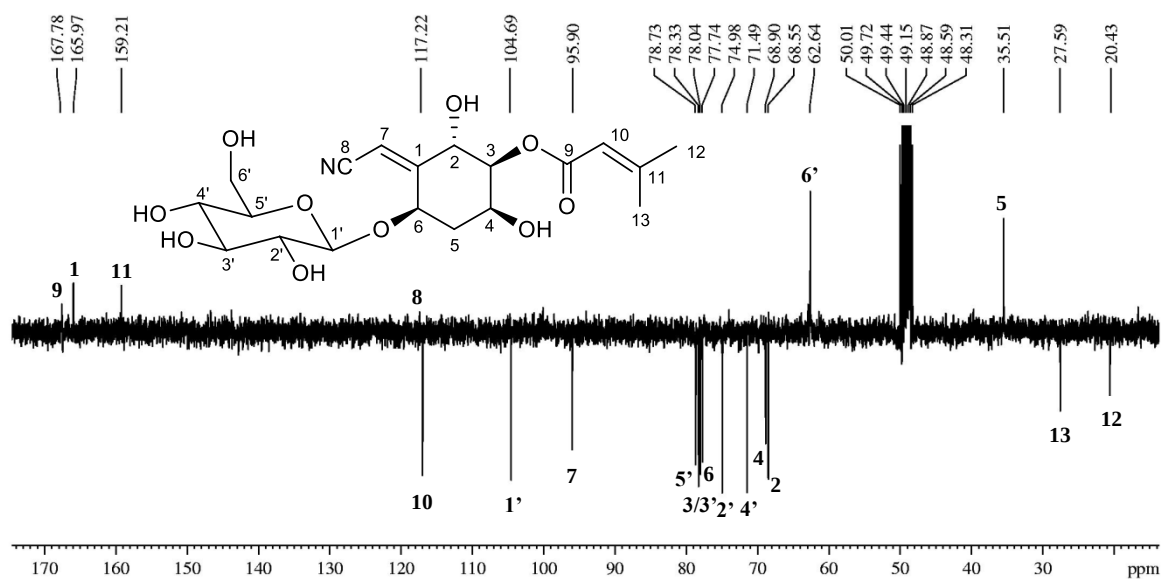
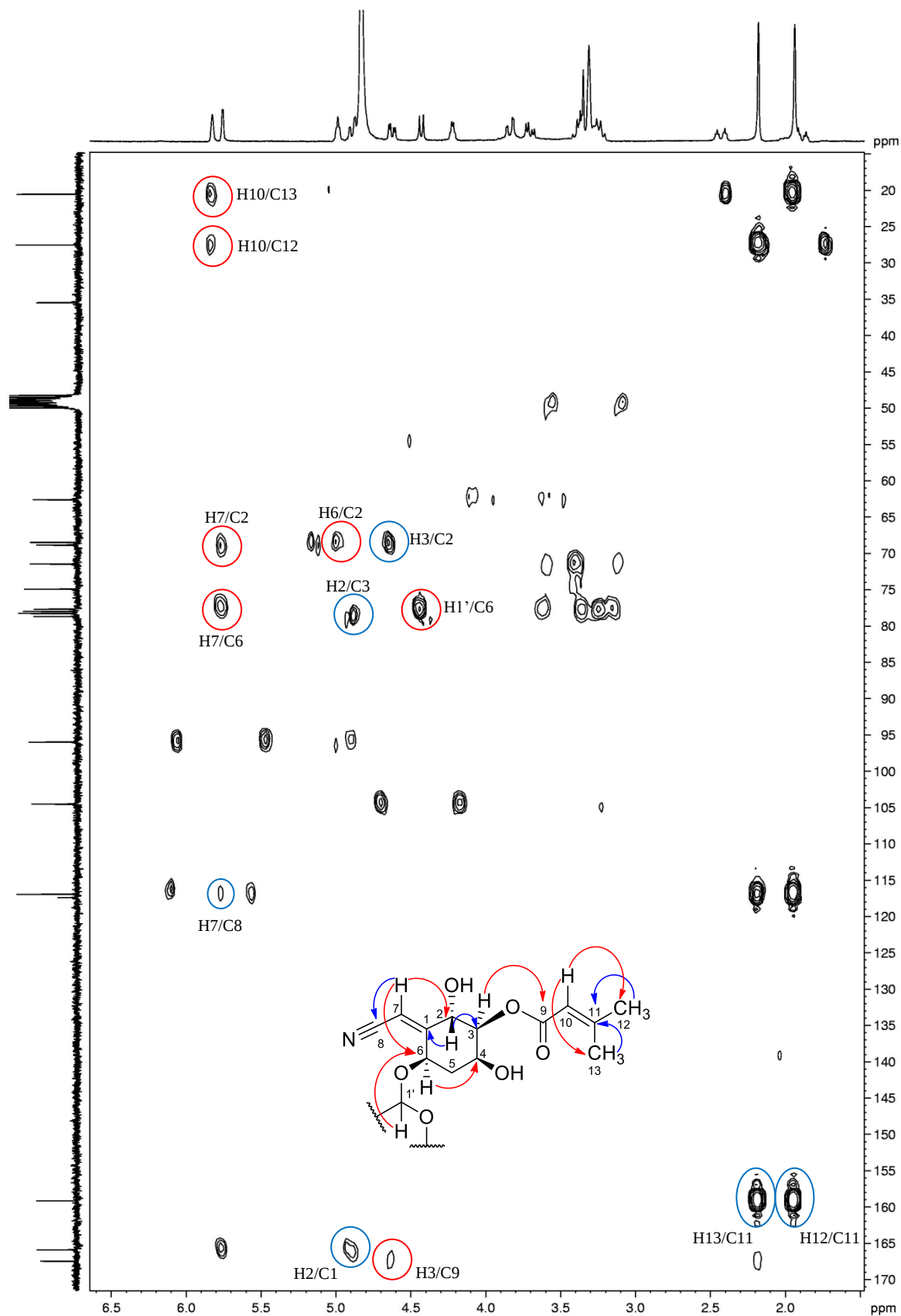
Figura 36- Espectro de RMN ^1H (499,6 MHz, MeOD) de CT7Figura 37- Espectro de RMN ^{13}C -APT (125,64 MHz, MeOD) de CT7

Figura 38- Espectro bidimensional de correlação de deslocamentos heteronuclear (^1H , ^{13}C) a mais de uma ligação (HMBC) (499,6, 125,64 MHz, MeOD) de **CT7**



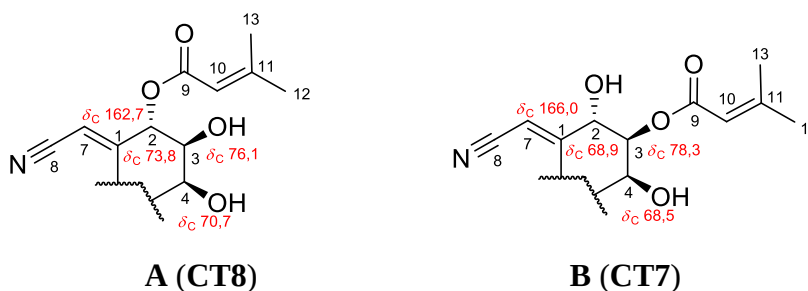
4.1.3.3 Determinação estrutural de **CT8**

Este composto foi obtido como uma resina incolor com rotação ótica de $[\alpha]_D^{20} = -13,60^\circ$ (c 0,086g/mL, MeOH).

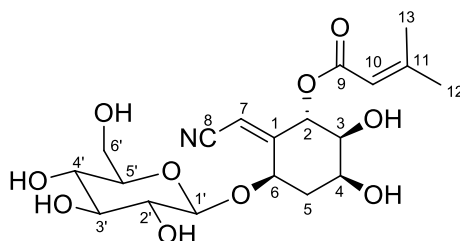
O espectro de absorção na região do infravermelho (FIGURA 39, pag. 67) apresentou bandas referentes a deformação axial de ligações O-H, CN, C=O de éster conjugado e de C=C. Adicionalmente, foram observadas bandas de deformação angular da ligação C-H, bem como bandas associadas à ligação C-O (PAVIA, 2015).

O espectro de massa (FIGURA 40, pag. 67) apresentou um pico com m/z 428,1628, que correspondeu ao íon molecular desprotonado $[M-H]^-$, de fórmula molecular $C_{19}H_{26}NO_{10}$, com IDH de 7 se tratando, dessa forma, de outro isômero constitucional de **CT6** e **CT7**.

Os espectros de RMN de 1H (FIGURA 41, pag. 68) e ^{13}C -APT (FIGURA 42, pag. 69) mostraram sinais de 1H e ^{13}C semelhantes aos observados para **CT7**. Comparando os dois compostos, observou-se que o sinal em δ 5,95 (dd, $J = 9,6$; 1,9 Hz) referente ao H-2, se encontra mais desprotegido que em **CT7** (δ 4,88, dd, $J = 9,9$; 0,8 Hz), enquanto o efeito contrário, de proteção, foi observado para H-3 (δ 3,57, dd, $J = 9,6$; 3,3 Hz). Ao comparar os deslocamentos químicos dos carbonos C1 a C4 dos fragmentos **A** e **B**, foi constatado que a proteção ou desproteção desses carbonos está relacionada com a posição do grupamento senencioila, o qual desprotege por efeito indutivo retirador de elétrons do oxigênio. Outra evidência que atribui a posição do grupamento senencioila em C2 é a proteção de C1 (δ 162,7) e C3 (δ 76,1) pelo efeito γ protetor da carbonila (**A**).



Através das informações obtidas pelo espectro de HMBC (FIGURA 43, pag. 69), como as correlações observadas para H-13/H-12 com C11/C10 e H-10 com C12/C13 foi confirmado a unidade senencioila em **CT7**. Aliado as informações acima discutidas e aos dados de RMN de 1H e ^{13}C (TABELA 12, pag. 66), **CT8** se trata do ehretiosídeo A3 (SIMPOL *et al.*, 1994).



CT8, Ehretiosídeo A3

Tabela 12- Valores de deslocamento químico de RMN de ^{13}C e ^1H do composto isolado com o Ehretiosídeo A3, bem como os dados do HMBC de **CT8**

CT8- Metanol- d_4					Lit.- Metanol- d_4	
C	δ_{C}	δ_{H} (mult., J em Hz)	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	δ_{C}	δ_{H} (mult., J em Hz)
1	162,7		H-7	H-3	161,3	
8	116,9				116,4	
9	167,2				165,5	
11	161,3		H-12; H-13		158,9	
CH						
2	73,8	5,95 (dd, 9,6; 1,9)		H-7	72,8	6,73 (dd, 9; 2)
3	76,1	3,57 (dd, 9,6; 3,3)	H-2		76,2	4,05 (dd, 9; 3)
4	70,7	4,12 (m)			70,9	4,54 (ddd, 3; 3; 3)
6	77,9	4,95 (t, 3,2)		H-1'; H-7	75,8	5,50 (t, 3)
7	95,1	5,43 (d, 1,9)			94,8	5,78 (d, 2)
10	116,1	5,87 (s)		H-12; H-13	115,8	5,82 (m)
CH₂						
5	35,4	2,47 (dt, 15,4; 3,2) 1,85 (dt, 15,4; 4,0)			34,2	2,78 (dt, 12, 3) 1,86 (dt, 12, 3)
CH₃						
12	20,7	2,19 (s)		H-10; H-13	26,9	1,56 (d, 1,3)
13	27,8	1,97 (s)		H-10; H-12	20,0	2,07 (d, 1,3)
Glicose						
1'	104,8	4,43 (d, 7,8)			102,7	5,03 (d, 7,8)
2'	75,0	3,22 dd, 7,8; 8,8)			75,0	3,97 (dd, 7,8; 8,8)
3'	78,0	3,35 (t, 8,8)	H-2'		78,4	4,21 (dd, 8,8; 8,3)
4'	71,5	3,38 (t, 8,8)	H-3'		71,4	4,21 (dd, 8,3; 9,3)
5'	78,7	3,27 (m)	H-4'		78,5	3,91 (ddd, 9,3; 2,4; 5,2)
6'	62,6	3,83 (dd, 11,9; 2,0) 3,70 (dd, 11,9; 4,8)			62,7	4,44 (dd, 12, 2,4) 4,28 (dd, 12, 5)

Fonte: elaborada pelo autor.

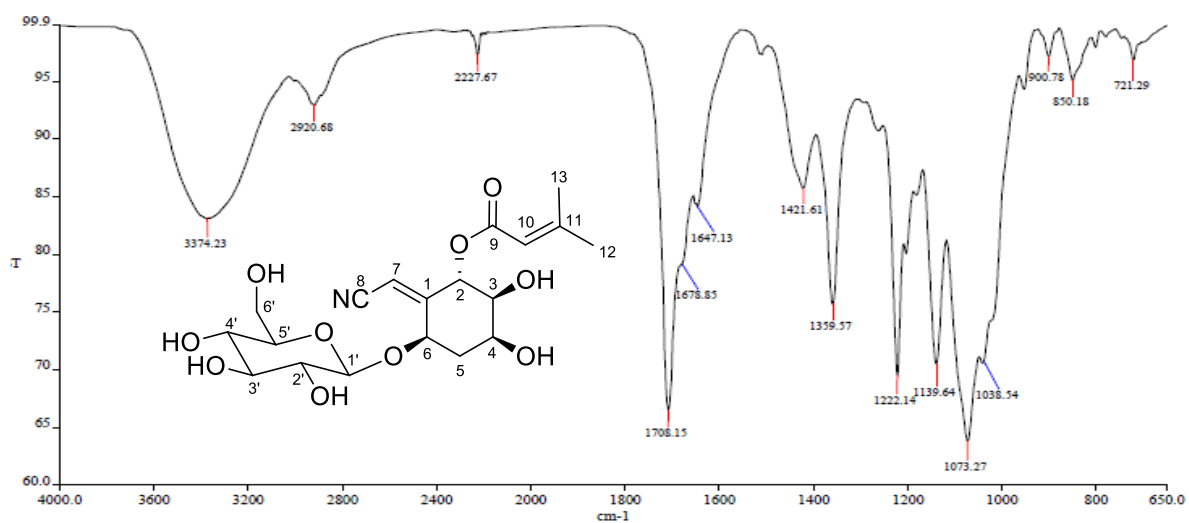
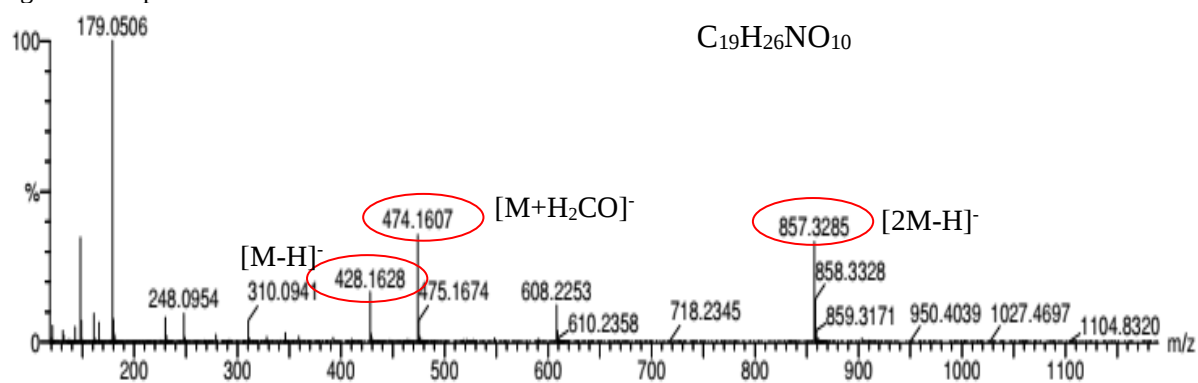
Figura 39- Espectro de absorção na região do infravermelho de **CT8**Figura 40- Espectro de massa de **CT8**

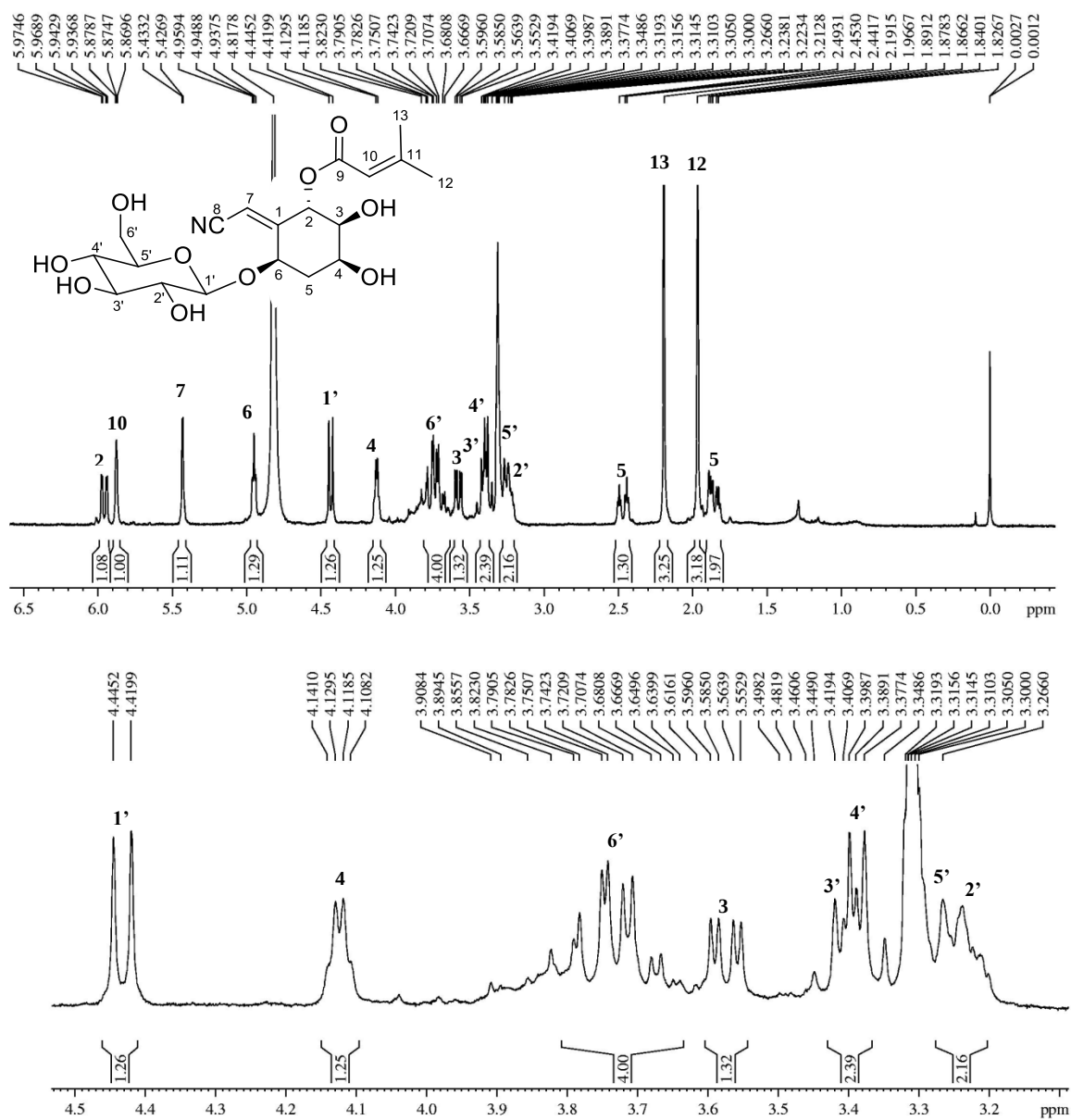
Figura 41- Espectro de RMN ^1H (499,6 MHz, MeOD) de CT8

Figura 42- Espectro de RMN ^{13}C -APT (125,64 MHz, MeOD) de **CT8**

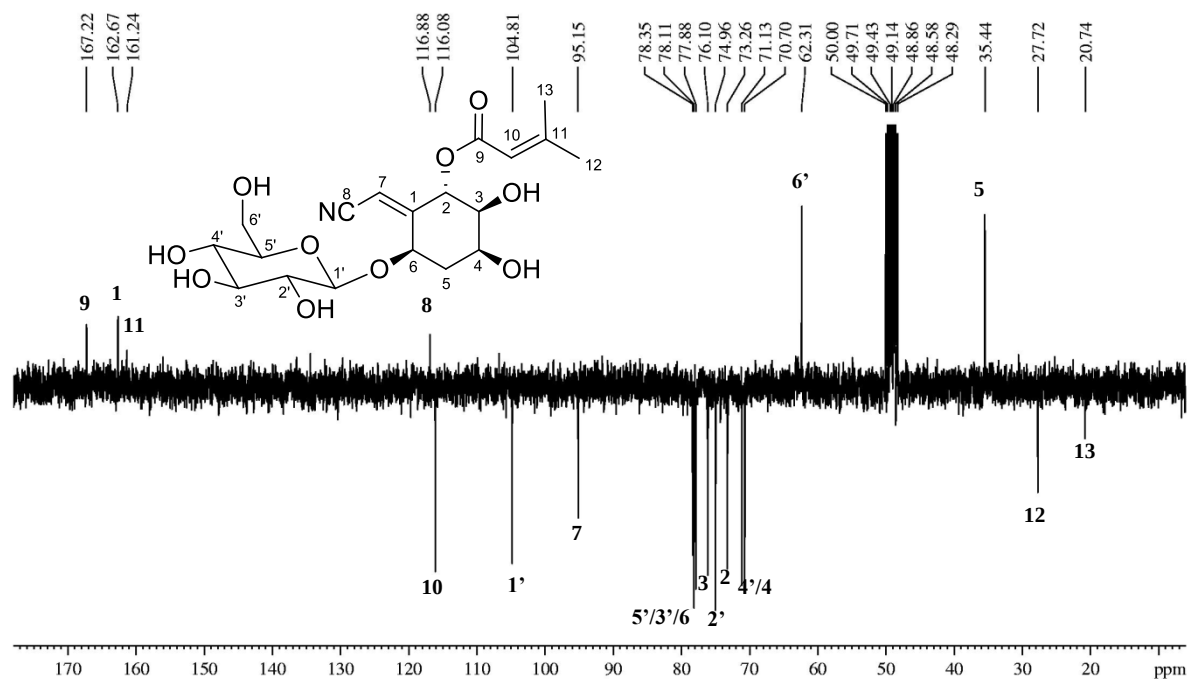
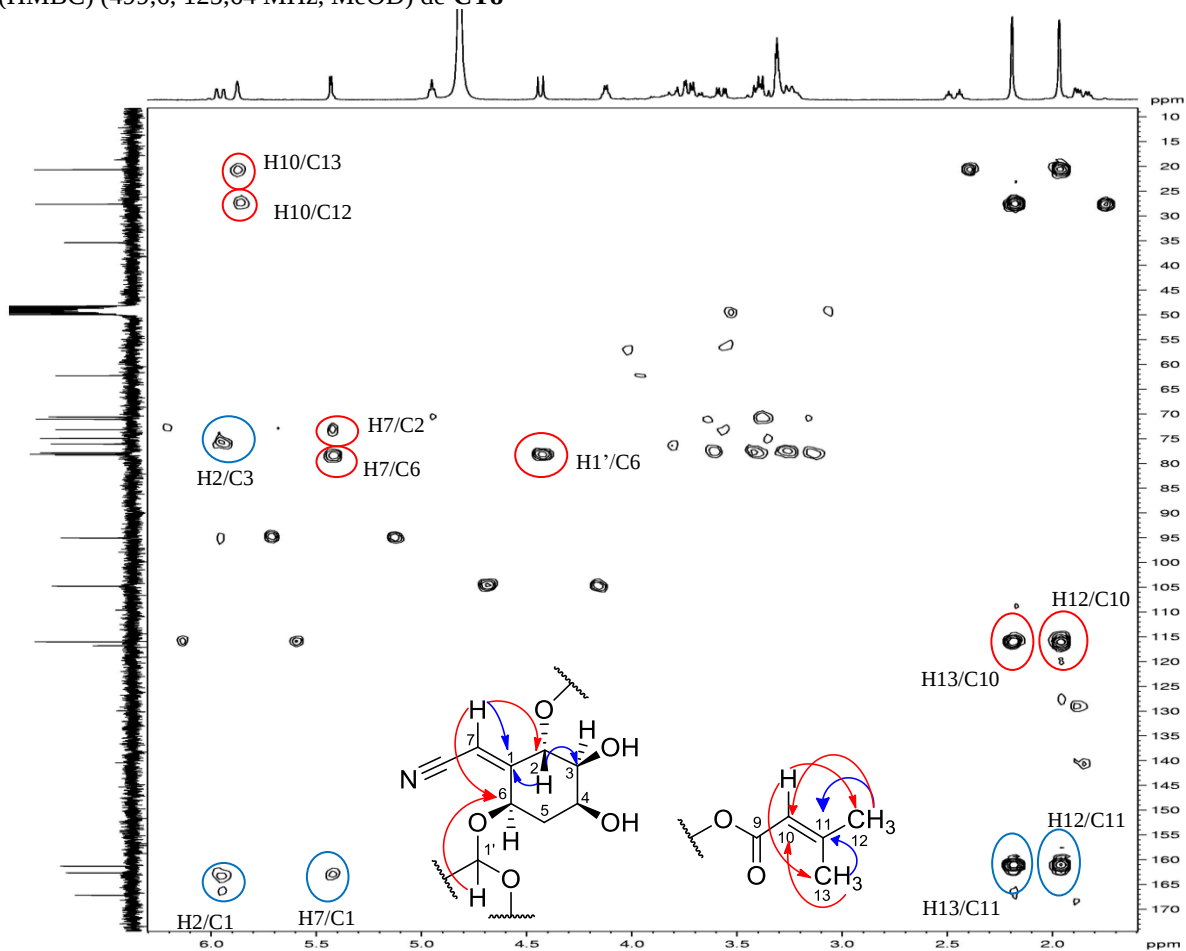


Figura 43- Espectro bidimensional de correlação de deslocamentos heteronuclear (^1H , ^{13}C) a mais de uma ligação (HMBC) (499,6, 125,64 MHz, MeOD) de **CT8**



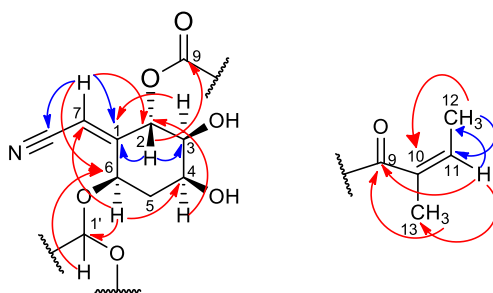
4.1.3.4 Determinação estrutural de **CT9**

CT9 foi obtido como uma resina incolor e com rotação ótica de $[\alpha]_D^{20} = -14,46^\circ$ (c 0,065 g/mL, MeOH).

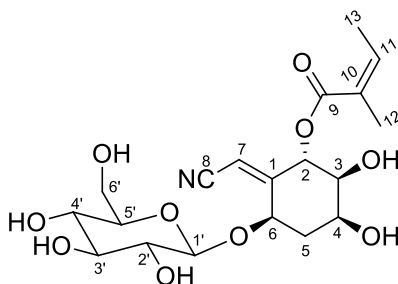
Observou-se no espectro de absorção na região do infravermelho (FIGURA 44, pag. 72) bandas características dos grupos funcionais OH, CN, C=O de éster conjugado e CO, consistentes com as estruturas dos cianoglicosídeos já descritos neste trabalho.

Seu espectro de massa (FIGURA 45, pag. 72) apresentou o pico do íon molecular $[M-H]^-$ em m/z 428,1523, indicando a fórmula molecular $C_{19}H_{26}NO_{10}$, a qual mostrou IDH igual a sete, portanto, um isômero constitucional de **CT6**, **CT7** e **CT8**.

Os espectros de RMN de 1H (FIGURA 46, pag. 73) e ^{13}C -APT (FIGURA 47, pag. 74) mostraram-se semelhantes aos sinais de **CT8**, sendo as diferenças relacionadas aos deslocamentos químicos do grupamento acila, que em **CT8** é representada pela unidade senencioila. No entanto, os dados de RMN desse grupamento foram compatíveis com os da unidade angeloila presente em **CT6**. Adicionalmente o espectro de HMBC (FIGURA 48, pag. 74) forneceu correlações importantes que corroboraram para a confirmação da estrutura, incluindo a posição do grupo angeloila, através do acoplamento de H-2 (δ 6,02) com C9 (δ 168,3), conforme mostrado na Tabela 13 (pag. 71).



Baseado nos dados de RMN, IV e EM e por comparação com os relatados para os cianoglicosídeos previamente descritos neste trabalho, a completa estrutura de **CT9** foi designada de Trichotomosideo A3.



CT9, Trichotomosideo A3.

Tabela 13- Análise comparativa dos valores de deslocamento químico de RMN 1D e 2D do composto isolado com os δ_C e δ_H de CT8

	CT9- Metanol- d_4				CT8- Metanol- d_4	
C	δ_C	δ_H (mult., J em Hz)	$^2J_{CH}$	$^3J_{CH}$	δ_C	δ_H (mult., J em Hz)
1	162,2		H-2; H-7	H-5a	162,7	
8	116,9		H-7		116,9	
9	168,3			H-2; H-11; H-13	167,2	
10	128,6		H-13			
11					161,3	
CH						
2	73,8	6,02 (dd, 9,5; 1,7y)		H-4; H-7	73,8	5,95 (dd, 9,6; 1,9)
3	76,0	3,63 (dd, 9,5; 3,2)	H-2		76,1	3,57 (dd, 9,6; 3,3)
4	70,7	4,12 (q, 3,2)		H-6	70,7	4,12 (m)
6	77,9	4,96 (m)		H-4	77,9	4,95 (t, 3,2)
7	95,5	5,44 (d, 1,7)		H-2; H-6	95,1	5,43 (d, 1,9)
10					116,1	
11	141,6	6,25 (q, 7,2)		H-13		5,87 (s)
CH ₂						
5	35,4	2,47 (dt, 11,8; 3,2) 1,88 (dd, 11,8; 3,4)	H-4; H-6		35,4	2,47 (dt, 15,4; 3,2) 1,85 (dt, 15,4; 4,0)
CH ₃						
12	16,4	2,02 (d, 7,2)	H-11		27,8	1,97 (s)
13	20,2	1,97 (s)		H-11	20,7	2,47 (s)
Glucose						
1'	104,8	4,44 (d, 7,7)	H-2'	H-6; H-3'; H-5'	104,8	4,43 (d, 7,6)
2'	74,9	3,28 (m)	H-3'		75,0	3,27 (m)
3'	78,2	3,38 (t, 9,0)	H-2'	H-1'	78,0	3,78 (t, 8,8)
4'	71,1	3,42 (t, 9,0)	H-3'	H-6'	71,5	3,42 (t, 8,8)
5'	78,3	3,24 (m)	H-4'	H-3'	78,7	3,24 (m)
6'	62,3	3,77 (dd, 12,0; 2,2) 3,71 (dd, 12,0; 4,2)			62,6	3,77 (dd, 12,0; 2,5) 3,69 (dd, 12,0; 3,4)

Fonte: elaborada pelo autor.

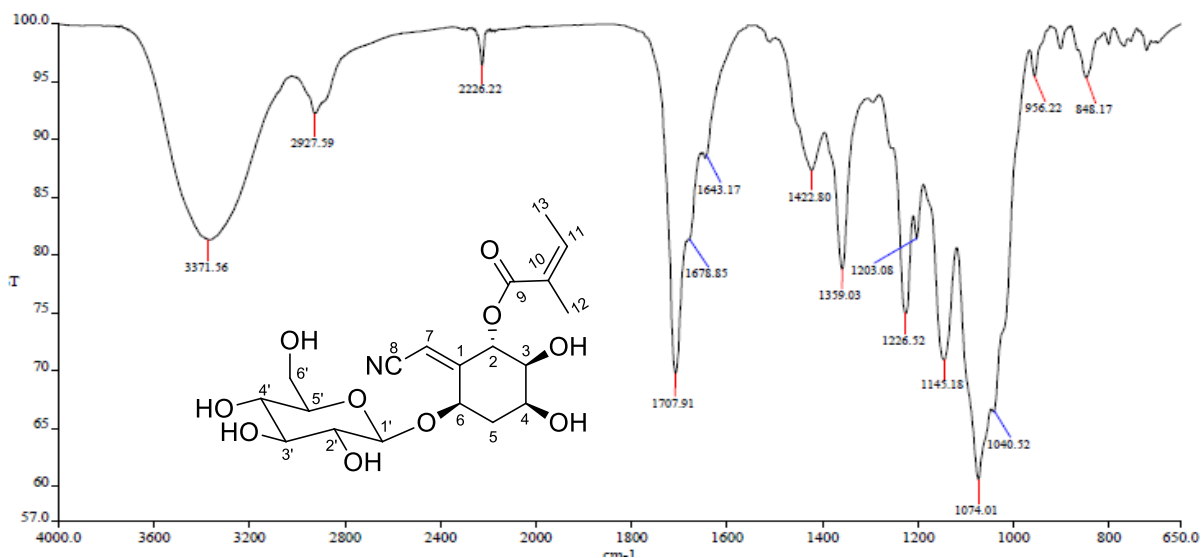
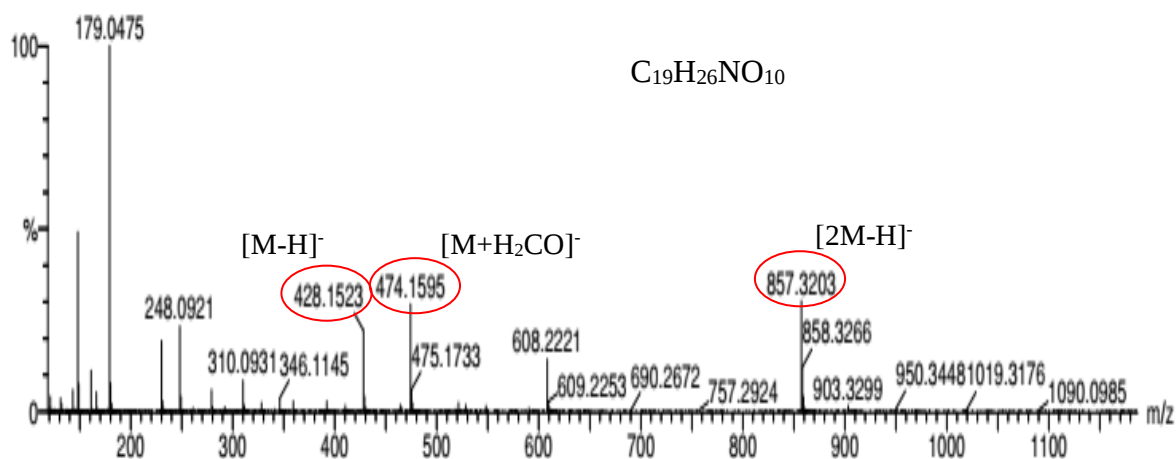
Figura 44- Espectro de absorção na região do infravermelho de **CT9**Figura 45- Espectro de massa de **CT9**

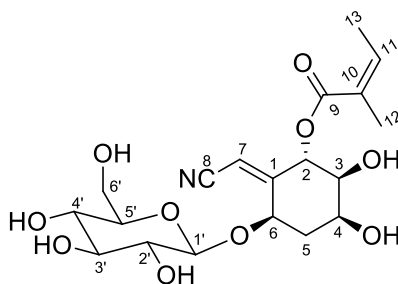
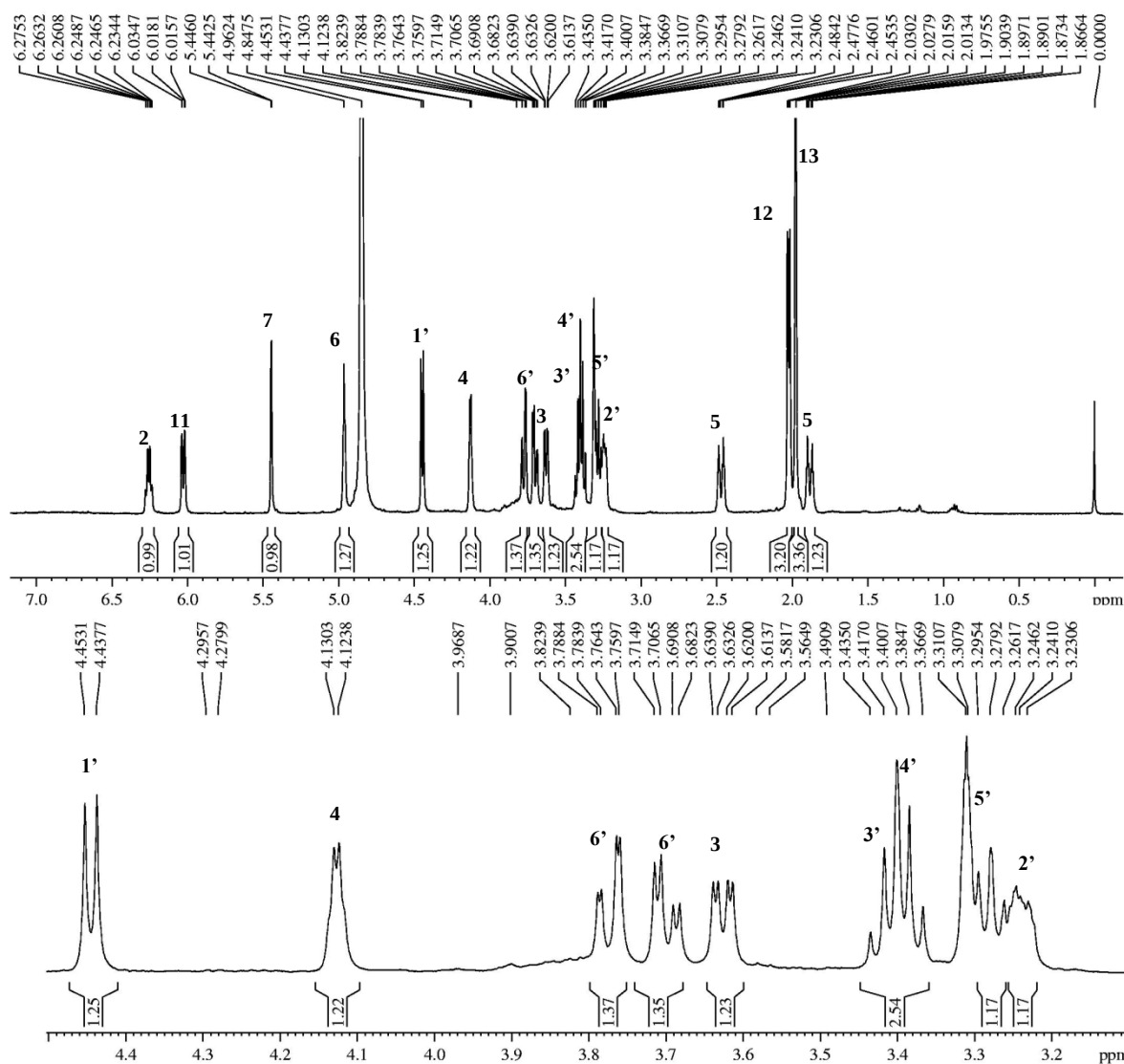
Figura 46 Espectro de RMN ^1H (499,6 MHz, MeOD) de CT9

Figura 47- Espectro de RMN ^{13}C -APT (125,64 MHz, MeOD) de **CT9**

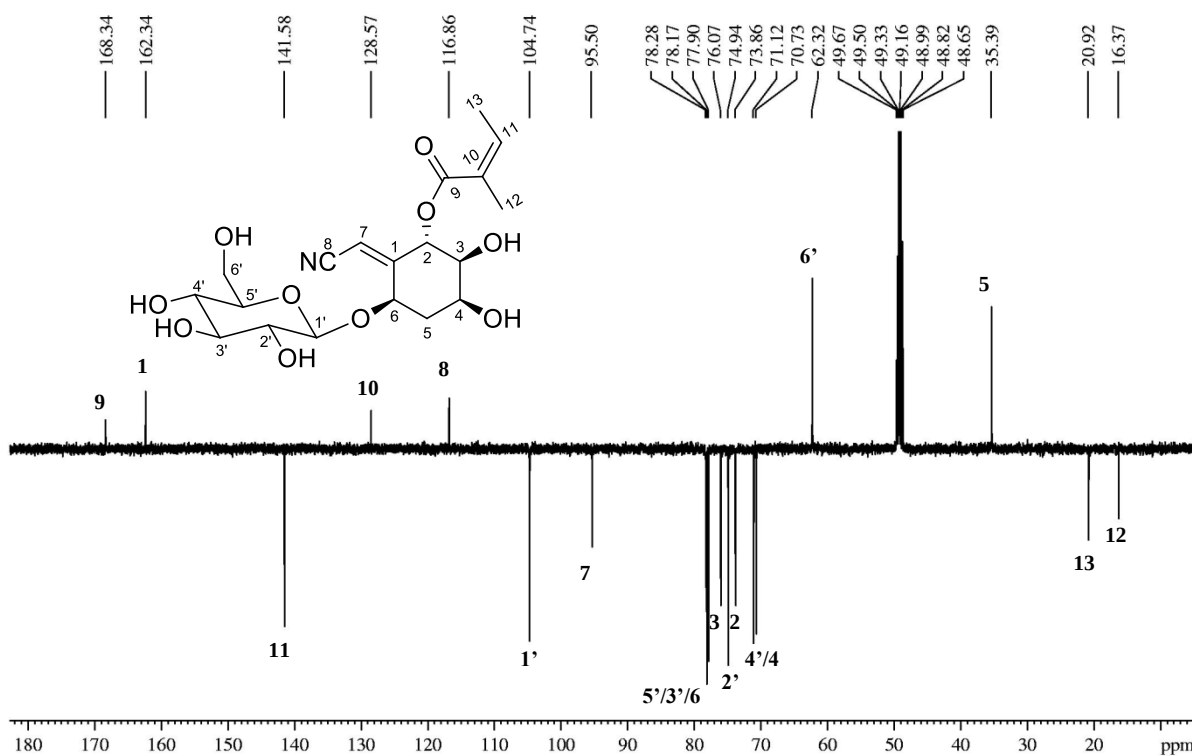
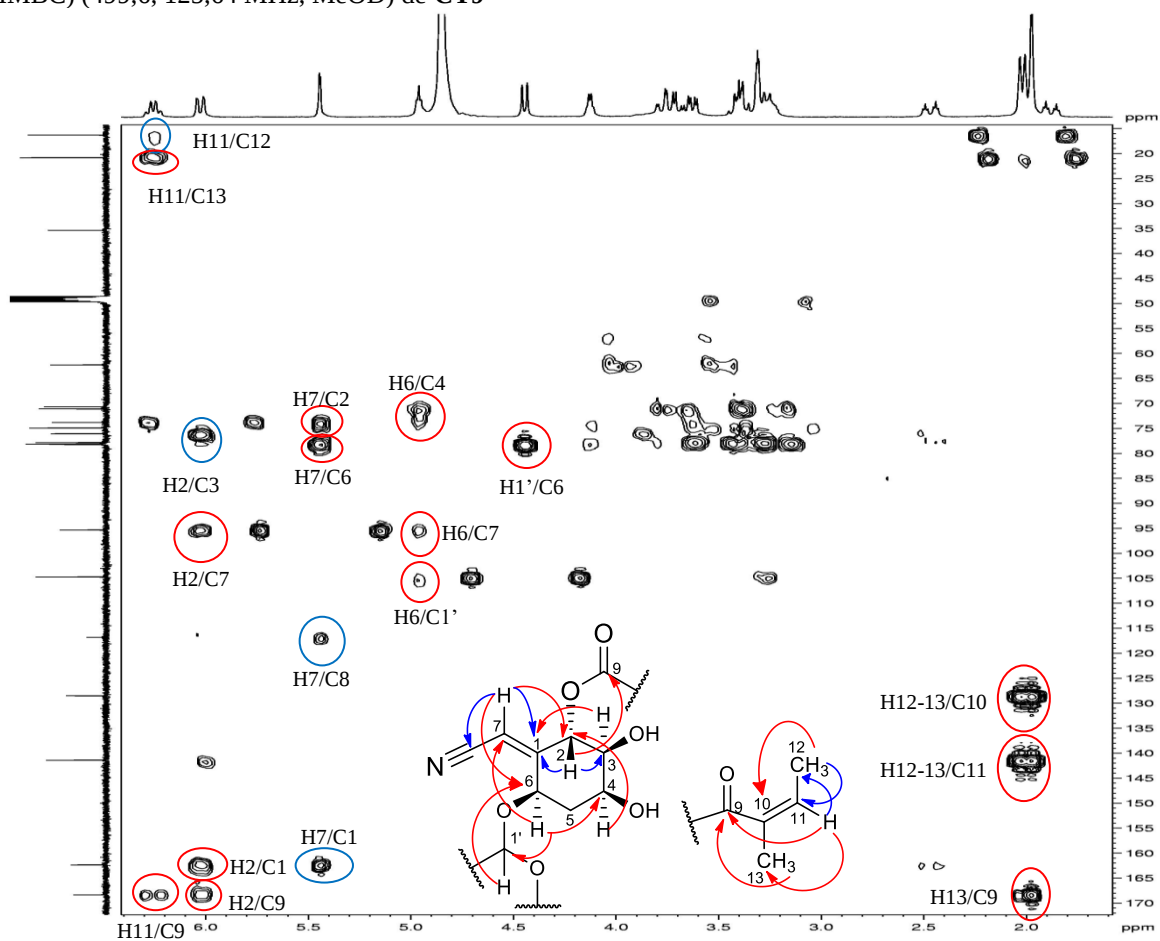
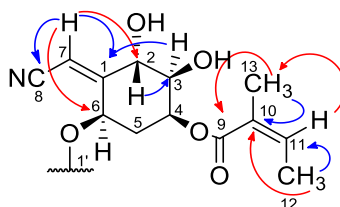


Figura 48- Espectro bidimensional de correlação de deslocamentos heteronuclear (^1H , ^{13}C) a mais de uma ligação (HMBC) (499,6, 125,64 MHz, MeOD) de **CT9**



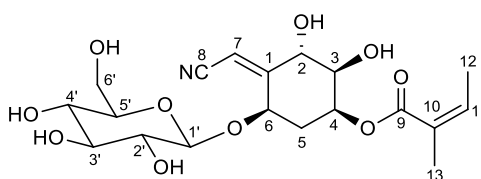
4.1.3.5 Determinação estrutural de **CT10**

Isolado como uma resina incolor, **CT10** apresentou nos espectros de RMN de ^1H (FIGURA 49, pag. 77) e ^{13}C (FIGURA 50, pag. 78) sinais semelhantes aos dos compostos, **CT7**, **CT8** e particularmente com **CT6** e **CT9**, permitindo inferir que o composto em determinação se trata de mais um isômero constitucional dos compostos anteriormente mencionados. Os sinais em δ_{H} 6,16 (H-11), 2,01 (H-12), 1,94 (H-13) e δ_{C} 129,7 (C10), 139,7 (C11), 21,1 (C13) e 16,4 (C12) (TABELA 14, pag. 76) indicaram que o grupamento acila se trata da unidade angeloila, confirmada através das correlações observadas no espectro HMBC (FIGURA 51, pag. 78).



Foi verificado que as principais diferenças entre os compostos residem principalmente quanto aos deslocamentos químicos referentes aos hidrogênios oximetínicos H-2, H-3 e H-4. Comparando **CT6** e **CT9** com **CT10**, a unidade angeloila foi posicionada em C4, justificando a desproteção de H-4 (δ 5,23). Por outro lado, H-2 (δ 4,89) em **CT10** se apresentou mais protegido do que em **CT9** (δ 6,02), bem como H-3 (δ 3,56) com seu análogo em **CT6** (δ 4,71).

O conjunto de dados de RMN apresentados, juntamente com a análise comparativa destes com aqueles descritos na literatura para o ehretiosídeo A2 (SIMPOL *et al.*, 1994), **CT10** se trata de um isômero deste, sendo a diferença entre eles relacionada ao grupamento angeloila, que no Ehretiosídeo A2 é o senencioila. Desta forma a estrutura de **CT10** foi determinada e nomeada de trichotomosídeo A2, cuja estrutura está sendo registrada pela primeira vez neste trabalho.



CT10, Trichotomosídeo A2.

Tabela 14- Valores de deslocamento químico de RMN de ^{13}C , ^1H de **CT10**, incluindo HMBC ($^2J_{\text{CH}}$, $^3J_{\text{CH}}$) e registros para o Ehretiosídeo A2

CT10- Metanol- d_4					Ehretiosídeo A2- Metanol- d_4	
C	δ_{C}	δ_{H} (mult., J em Hz)	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	δ_{C}	δ_{H} (mult., J em Hz)
1	167,4		H-7		166,6	
8	117,8		H-7		117,6	
9	169,2			H-13	167,0	
11			H-12	H-13	156,0	
10	129,7		H-13	H-12		
CH						
2	72,2	4,89*	H-3		71,0	5,60 (d, 8)
3	75,9	3,56 (dd, 9,8; 3,2)	H-2		75,6	4,04 (m)
4	72,4	5,23 (dd, 8,0; 4,7)			72,0	5,85 (ddd, 4; 4; 4)
6	78,0	4,90*	H-7	H-1'	76,0	5,40 (t, 4)
7	95,3	5,74 (d, 1,2)			94,4	6,23 (d, 1,7)
11	139,7	6,16 (q, 7,6)				
10					117,5	5,80 (sept. 1,3)
CH₂						
5	34,0	2,55 (dt, 15,6; 3,3) 1,92 (m)			33,3	2,70 (dt, 15, 4) 2,00 (dt, 15, 4)
CH₃						
12	16,4	2,01 (d, 7,0)			27,0	1,48 (d, 1,3)
13	21,1	1,94 (s)		H-11	20,2	2,12 (d, 1,3)
Glicose						
1'	105,2	4,32 (d, 7,7)	H-2'		104,3	5,00(d, 7,8)
2'	75,1	3,18 (t, 8,5)			74,9	3,98 (m)
3'	*78,6	3,35 (m)	H-2'		78,5*	4,04 (m)
4'	71,9	3,21 (m)	H-3'		71,9	4,18 (m)
5'	*78,4	3,20 (m)	H-6'		78,6*	3,93 (m)
6'	63,2	3,84 (d, 12,0) 3,60 (dd, 12,0; 5,4)			63,4	4,47 (dd, 11,7, 2,3) 4,16 (dd, 11,7, 4,2)

Fonte: elaborada pelo autor.

* δ_{C} deslocamentos químicos podem estar trocados.

* δ_{H} deslocamentos químicos sobrepostos ao sinal da água.

Figura 49- Espectro de RMN 1H (499,6 MHz, MeOD) de CT10

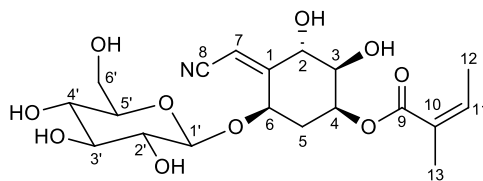
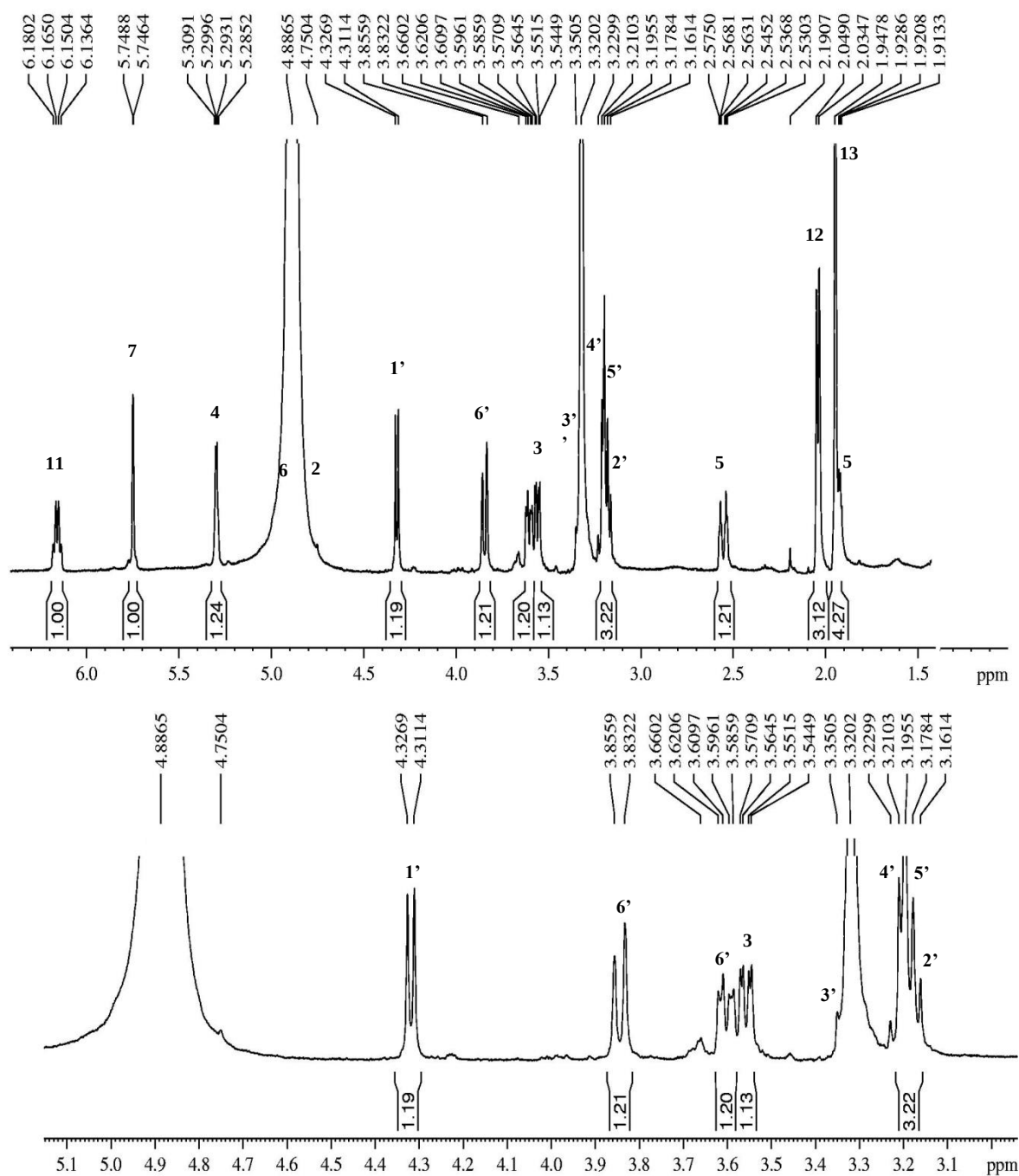


Figura 50- Espectro de RMN ^{13}C -BB (125,64 MHz, MeOD) de **CT10**

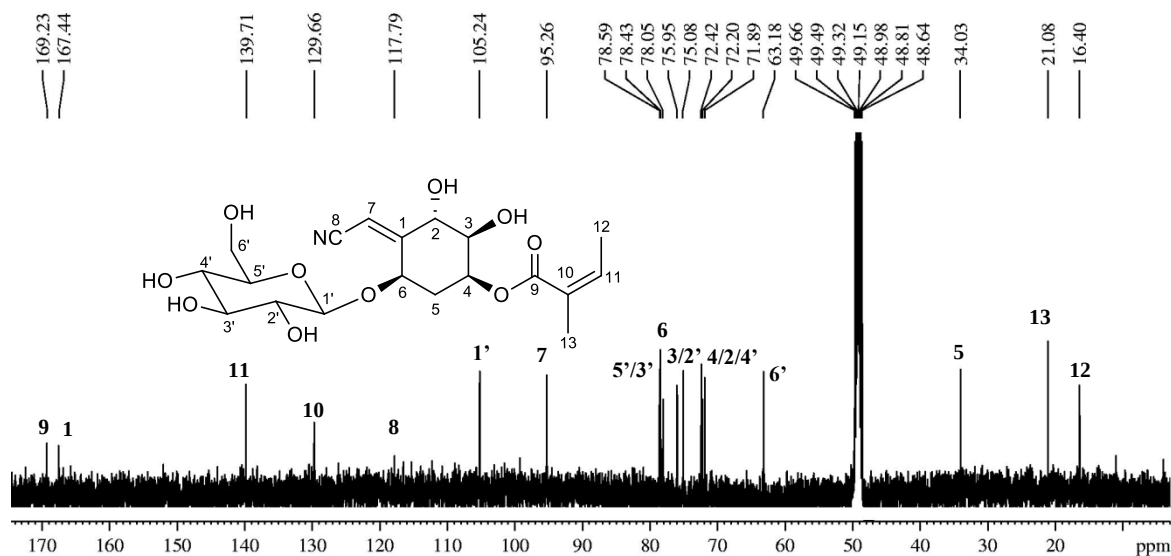
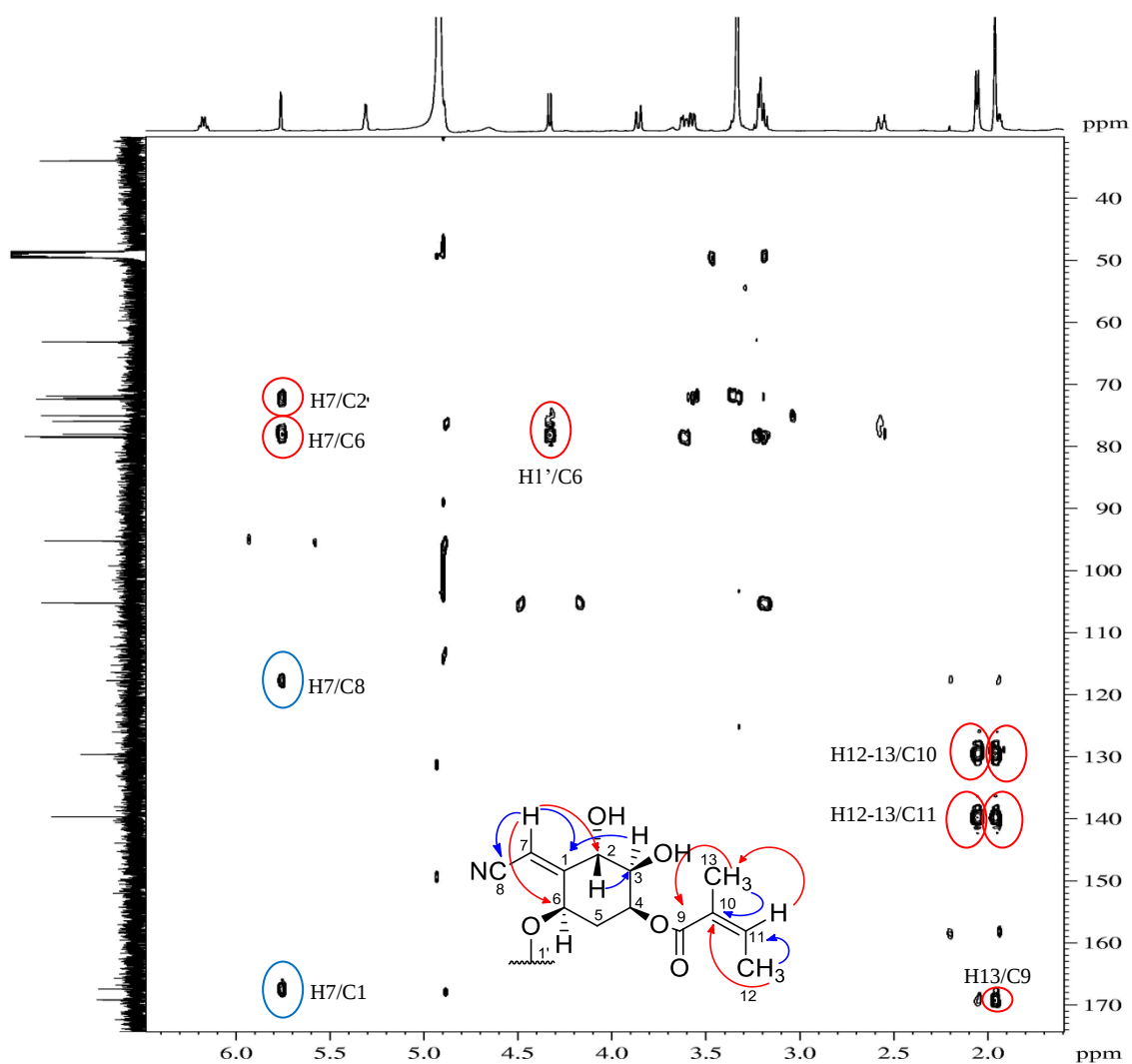


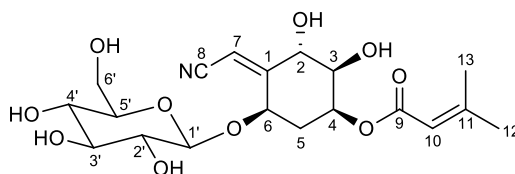
Figura 51- Espectro bidimensional de correlação de deslocamentos heteronuclear (^1H , ^{13}C) a mais de uma ligação (HMBC) (499,6, 125,64 MHz, MeOD) de **CT10**



4.1.3.6 Determinação estrutural de **CT11**

Isolado como uma resina incolor, os dados de RMN de ^1H (FIGURA 52, pag. 81) do composto **CT11** foram bastante parecidos com aqueles exibidos para **CT10**. A diferença observada foi atribuída ao grupo acila, que em **CT10** apresentou uma unidade angeloil, enquanto que em **CT11** os sinais desse grupo foram compatíveis com os da unidade senencioila, como verificado anteriormente para **CT7** e **CT8**.

Os dados de RMN de ^1H observados para **CT11** foram comparados com aqueles já descritos para os compostos cianoglicosídeos, já isolados neste trabalho, e aliado às informações acima discutidas, chegou-se a conclusão de que **CT11** se trata do ehretiosídeo A2 (SIMPOL *et al.*, 1994).



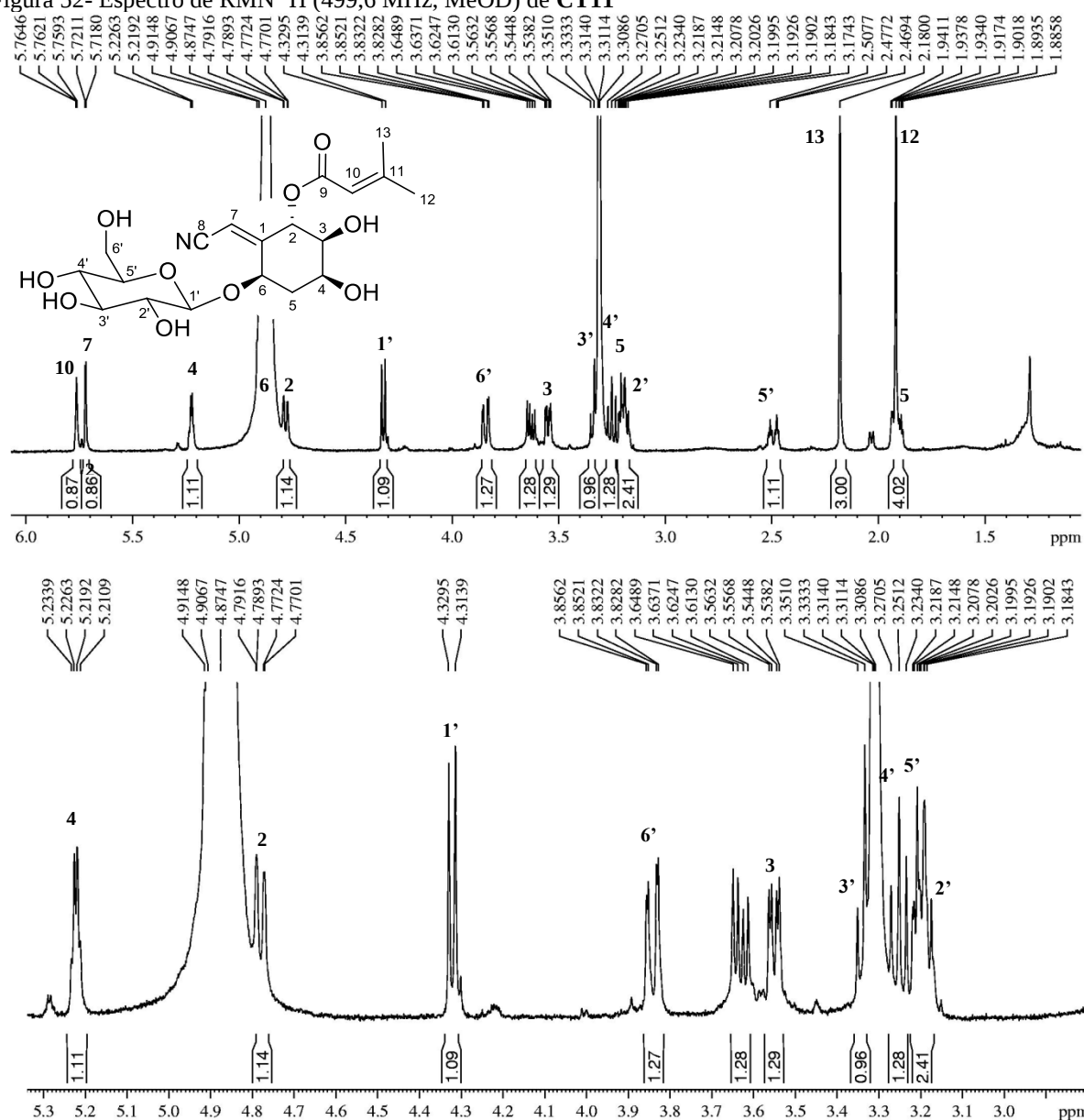
CT11, ehretiosídeo A2.

Tabela 15- Valores de deslocamento químico de RMN de ^{13}C , ^1H de **CT11** e registros para o Ehretiosídeo A2

	CT11- Metanol-d_4	Ehretiosídeo A2- Metanol-d_4	
C	δ_{H} (mult., J em Hz)	δ_{C}	δ_{H} (mult., J em Hz)
1		166,6	
8		117,6	
9		167,0	
11		156,0	
CH			
2	4,78 (dd, 9,6, 1,2)	71,0	5,60 (d, 8)
3	3,56 (dd, 9,6; 3,2)	75,6	4,04 (m)
4	5,22 (ddd, 4,1; 3,8; 3,5)	72,0	5,85 (ddd, 4; 4; 4)
6	4,89*	76,0	5,40 (t, 4)
7	5,72 (d, 1,5)	94,4	6,23 (d, 1,7)
10	5,76 (t, 1,2)	117,5	5,80 (sept. 1,3)
CH₂			
5	2,49 (dt, 15,2; 3,8) 1,92 (m)	33,3	2,70 (dt, 15, 4) 2,00 (dt, 15, 4)
CH₃			
12	1,92 (s)	27,0	1,48 (d, 1,3)
13	2,18 (s)	20,2	2,12 (d, 1,3)
Glicose			
1'	4,32 (d, 7,8)	104,3	5,00(d, 7,8)
2'	3,19 (m)	74,9	3,98 (m)
3'	3,33 (t, 8,8)	78,5*	4,04 (m)
4'	3,25 (t, 8,8)	71,9	4,18 (m)
5'	3,21 (m)	78,6*	3,93 (m)
6'	3,84 (dd, 12,0, 2,0) 3,63 (dd, 12,0; 5,9)	63,4	4,47 (dd, 11,7, 2,3) 4,16 (dd, 11,7, 4,2)

* δ_{H} deslocamentos químicos sobrepostos ao sinal da água.

Fonte: elaborada pelo autor.

Figura 52- Espectro de RMN ^1H (499,6 MHz, MeOD) de CT11

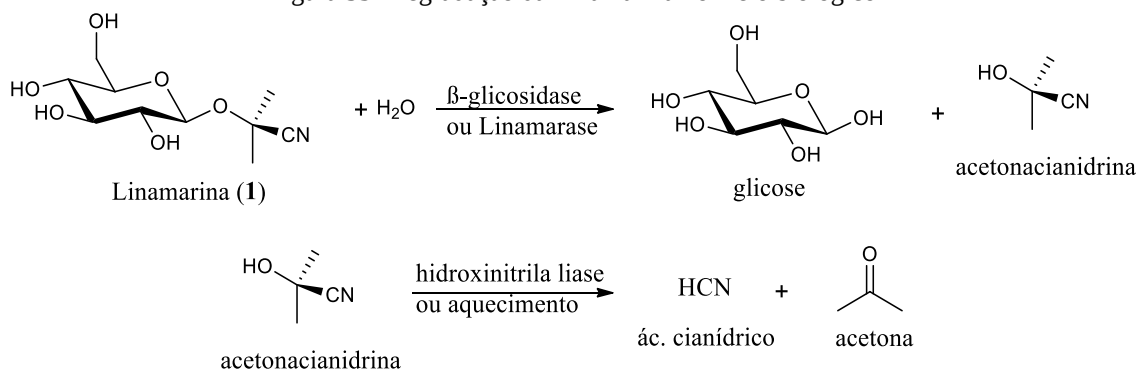
5 CONSIDERAÇÕES BOTÂNICAS E ASPÉCTOS BIOGENÉTICOS DOS CIANOGLICOSÍDEOS

Os cianoglicosídeos pertencem a uma classe de compostos derivados principalmente de plantas, sendo encontrados em mais de 2.650 espécies distribuídas em 130 famílias (BAK *et al.*, 2006). Os cianoglicosídeos estão presentes particularmente nas famílias Rosaceae, Leguminosae/Fabaceae, Gramineae/Poaceae, Araceae, Compositae/Asteraceae, Euphorbiaceae e Passifloraceae (DEWICK, 2009).

Os cianoglicosídeos são comumente conhecidos por sua capacidade de intoxicação, no entanto alguns podem apresentar atividade anti histamínica, neste caso, sem risco de toxicidade (FARIAS, 2015). A maioria dos cianoglicosídeos são conhecidos como cianogênicos, ou seja, apresentam α -hidroxinitrilas em relação à unidade glicosídica, geralmente formadas por D-glicose (ZINTCHEM *et al.*, 2014), assim, são capazes de liberar ácido cianídrico (HCN) quando aquecidos ou por clivagem enzimática, e por este motivo são considerados substâncias tóxicas naturais (YAMASAKI, 1999). No entanto, é mutio provável que essas plantas sintetizem esses compostos como agentes protetores contra herbívoros (DEWICK, 2009).

A biossíntese destes compostos pode envolver vários aminoácidos, como: fenilalanina, tirosina, valina, isoleucina e leucina (DEWICK, 2009). Um expemplo particular, onde estes compostos são derivados da valina, é a mandioca, *Manihot esculenta* (Euphorbiaceae), que produz um composto cianogênico majoritário, a linamarina (**1**), necessitando dessa forma, que o uso de seus tubérculos para fins alimentícios, inicialmente envolva ebulição para liberação do ácido cianídrico (HCN). A Figura 53 abaixo mostra a degradação biológica do composto linamarina (DEWICK, 2009).

Figura 53- Degradação da Linamarina no meio biológico

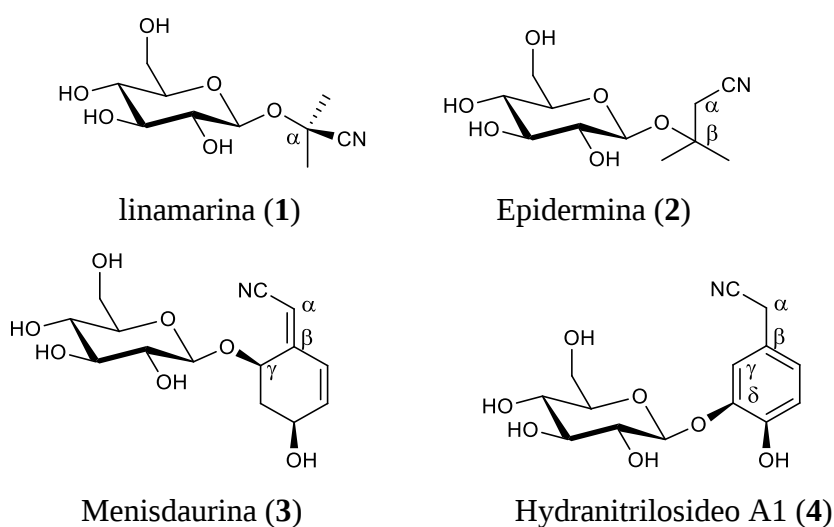


Fonte: adaptado de LOPES (2011)

Apesar da toxicidade do grupo α -hidroxinitrila, a liberação do ácido pode fornecer meios para destruição de células cancerígenas, o que foi verificado quando essas células estão na presença de linamarase, através de um retrovírus, seguido da adição de linamarina (**1**). Isso foi possível gerando seletivamente ácido cianídrico tóxico nas células cancerígenas (DEWICK, 2009).

Outros tipos de cianoglicosídeos menos comuns são os não cianogênicos, caracterizados por apresentar β , γ ou δ -hidroxinitrila em relação à unidade glicosídica (YAMASAKI, 1999; ZINTCHEM *et al.*, 2014). Interessantemente, esses tipos de cianoglicosídeos não são tóxicos, já que não liberam HCN no meio. Adicionalmente, foram relatadas atividades biológicas importantes para os compostos não cianogênicos como: antiinflamatória (QU, 2016), atividade antibacteriana fraca contra o *Micrococcus luteus*, inibidor da reação de PCA (anafilaxia cutânea passiva), do apetite e do vírus HIV-1, além de contraceptivo, antihistamínico (YAMASAKI, 1999), antioxidante (SILVA, 2013) e recentemente Abdel-Mageed e colaboradores (2016) investigaram atividades de inibição da angiogênese, implicando na atividade anticancer e antimetastática.

Um tipo de composto não cianogênico β -hidroxinitrila é a epidermina (**2**), previamente isolada de *Hordeum vulgare* (Poaceae), popularmente conhecido como cevada (POURMOHSENI *et al.*, 1993). A maioria dos compostos não cianogênicos são γ -hidroxinitrila, como os isolados neste trabalho e a menisdaurina (**3**), a qual apresentou efeito contraceptivo, antiinflamatório e inibidor do vírus HIV-1 (YAMASAKI, 1999). O tipo menos comum é o δ -hidroxinitrila, que ocorre a partir de diversos rearranjos alílicos da γ -hidroxinitrila. Um exemplo de composto com a unidade glicosídica em C δ é o hydranitrilosídeo A1 (**4**) (ZINTCHEM *et al.*, 2014).



5.1 Biossíntese

Até o momento, a biossíntese dos cianoglicosídeos não foi completamente elucidada. No entanto, Seigler e colaboradores (2005) propuseram um esquema biogenético para a origem dos compostos que apresentam estruturas ciclohexenilcianometileno. Uma série de compostos deste tipo estrutural foram relatados por Yamasaki e colaboradores (1999). É bastante provável que esses cianoglicosídeos sejam derivados particularmente da tirosina (SEIGLER *et al.*, 2005).

Devido às notáveis semelhanças estruturais entre os cianoglicosídeos α , β , γ e δ -hidroxinitrila, foi proposto que esses compostos são biossinteticamente relacionados (ZINTCHEM *et al.*, 2014), embora cada posição envolva um tipo específico de aminoácido precursor. Além disso, a estereoseletividade da etapa de hidroxilação varie dependendo do sistema da planta, dessa forma, compostos enantioméricos podem ser encontrados em partes diferentes da planta (DEWICK, 2009).

Com a finalidade de facilitar a compreensão estrutural dos compostos ciclohexenilcianometileno, foi proposto um esquema de biossíntese baseado nos trabalhos descritos por Yamasaki e colaboradores (1999); Dewick (2009); Seigler e colaboradores (2005) e Zintchem e colaboradores (2014). A biossíntese proposta (FIGURA 54, pag. 85) envolveu a tirosina como precursor e apontou em cada possível etapa de glicosilação a substância correspondente, como dhurrina (5) e a menisdaurina (3). Os produtos das sucessivas etapas de hidroxilações correspondem aos compostos cianoglicosídeos não cianogênicos como os isolados neste trabalho.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A investigação da composição química do extrato etanólico das raízes de *C. trichotoma* resultou no isolamento de onze metabólitos secundários de diferentes classes, sendo que uma em especial está sendo relatada pela primeira vez no gênero *Cordia*. A fração n-butanólica forneceu seis incomuns cianoglicosídeos, sendo três desses conhecidos na literatura como os ehretiosídeos A1(CT7), A2 (CT11) e A3 (CT8), os quais são considerados como não cianogênicos, diferentemente dos cianogênicos, que liberam ácido cianídrico como mecanismo de defesa.

Entre os cianoglicosídeos isolados, três estão sendo relatados pela primeira vez neste trabalho e foram denominados de thichotomosídeos A1, A2 e A3, os quais, na determinação estrutural correspondem aos compostos CT6, CT11 e CT9 respectivamente.

Além desses compostos, a fração diclorometano forneceu três substâncias: 4-hidroxi-3,5-dimetoxibenzaldeído (seringaldeído), 6,7-dimetoxilcumarina (escoparona) e 12,16-diepoxiglobiferina. Da fração acetato de etila foram isoladas, uma lignana glicilamida e o ácido (1'R,3'S,5'R,8'S,2Z,4E)-dihidrofaseico 3'-O-β-D-glicopiranosídeo. Todas as onze substâncias isoladas estão sendo descritas pela primeira vez em *C. trichotoma*.

Embora este seja o primeiro relato de cianoglicosídeos em plantas do gênero *Cordia*, esta classe de substâncias foi previamente isolada em espécies de dois gêneros pertencentes à família Boraginaceae, *Lithospermum* (SOSA *et al.*, 1976) e *Coldenia* (NIRANJAN *et al.*, 2013).

Embora os compostos isolados não tenham sido testados, sabe-se que os compostos não cianogênicos são avaliados como anti-alérgicos, antiviral (inibidor do HIV), anti-inflamatório, antioxidante e contraceptivo.

Os resultados observados neste trabalho são motivadores e incita a continuidade dos estudos.

REFERÊNCIAS

- ABDEL-MAGEED, W. M. *et al.* Noncyanogenic Cyanoglucoside Cyclooxygenase Inhibitors from *Simmondsia chinensis*. **Organic Letters**, Washington, v. 18, p. 1728-1731, 2016.
- ANGRA, M. F.; FREITAS, F. P.; BARBOSA-FILHO, J. M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 17, n. 1, p. 114-140, 2007.
- ASSONUMA, Murilo Massao. **Determinação de alantoína e avaliação farmacológica de *Cordia ecalyculata* Vell. (chá de bugre)**. 2009. 82 p. Dissertação (Mestrado em Química) - Centro de Ciências, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2009.
- BARREIRO, E. J.; BOLZANI, V. S. Biodiversidade: fonte potencial para a descoberta de fármacos. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 3, p. 679-688, 2009.
- BRITO-FILHO, S. G. *et al.* Phytochemical study of *Pilosocereues pachycladus* and antibiotic-resistance modifying activity of syringaldehyde. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 27, p. 453-458, 2017.
- CARVALHO, M. G. *et al.* Chemical constituents from *Pipitadenia rigida* “angico”. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 21, n. 3, p. 397-401, 2011.
- COSTA, J. F. O. *et al.* Immunomodulatory activity of extracts from *Cordia superba* Cham. and *Cordia rufescens* A. DC. (Boraginaceae), plant species native from Brazilian semi-arid. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 8, n. 1, p.11-15, 2008.
- DEWICK, P. M. **Medicinal Natural Products: a biosynthetic approach**. 3. ed. Chichester: John Wiley & Sons, 2009. 546 p.
- DUTRA, C. R. *et al.* Medicinal Plants in Brasil: pharmacological studies, drugs discovery, challenges perspectives. **Pharmacological Research**, Amsterdam, v. 122, p. 4-29, 2016.
- FARIAS, P. A. M. Modern strategy for new medicine research: study of pharmacological activities of Riachin, a non-cyanogenic cyanoglucoside extracted from *Bauhinia pentandra*. **International Archives of Medicine**, [s. l.], v. 8, n. 50, p. 1-10, 2015.
- FOUSEKI, M. M. *et al.* Chemical constituents from *Cordia alliodora* and *C. colloccaca* (Boraginaceae) and their biological activities. **Fitoterapia**, Amsterdam, v. 115, p. 9-14, 2016.
- ISHITA *et al.* Coumarins from *Angelica decursiva* inhibit lipopolysaccharide-induced nitrite oxide production in RAW 264.7 cells. **Archives of Pharmacal Research**, Korea, v. 39, p. 115-126, 2016.
- KOTESH, K. J. *et al.* Rare cyano glucosides from *Coldenia procumbens* linn. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, India, v. 5, n. 12, p. 1394-1397, 2007.
- LOPES, Ana Maria. **Avaliação da Dose Letal (DL₅₀) oral e efeitos metabólicos da Linamarina extraída de mandioca, em ratos**. 2001. 97 p. Tese (Doutorado em Agronomia)

– Centro de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho, Botucatu, 2001.

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

MENEZES J. E. S. A.; LEMOS. T. L.; PESSOA. O. L. D. Constituintes químicos de *C. Trichotoma*, atividade citotóxica e larvicida. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 82, n. 34, 2001.

MENEZES, Jane Eire Silva Alencar de. **Contribuição ao estudo químico de plantas do nordeste do Brasil: *cordia trichotoma* vell. e *cordia globosa* Jack. (Kunth).** 2005. Tese (Doutorado em Química) - Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2005.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014. **Jornal of Natural Products**, Washington, v. 79, p. 629-661, 2016.

NIRANJAN, K. A. *et al.* Rare cyano glucosides from *Coldenia procumbens* linn. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, [s. l.], v. 5, n. 12, p. 1394-1397, 2013.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S.; VYVYAN, J. R. **Introduction to spectroscopy**. 5. ed. Stamford: Cengage Learning, 2015, 745 p.

PESSOA, C. *et al.* Chemistry and pharmacology of *Auxemma oncocalyx* Taub: an overview. **Recent Progress in Medicinal Plants**, Houston, v. 17, p. 345-362, 2007.

POURMOHSENI, H. Cyanoglucosides in the epidermis of *Hordeum vulgare*. **Phytochemistry**, Amsterdam, v. 33, n. 2, p. 295-2971, 1993.

PREISCH, E.; BUHLMANN, P.; AFFOLTER, C. **Structure determination of organic compounds**. 3. ed. Germany: Springer, 2000, 473 p.

QU, G.-W. Leucine-derived cyanoglucosides from the aerial parts of *Sorbaria sorbifolia* (L.) A. Braun, **Fitoterapia**, Amsterdam, v. 111, p. 102-108, 2016.

RADOMSKI, M. I. *et al.* **Louro-pardo (*Cordia trichotoma* (Vell.) Arrab. ex Steud.) em sistemas agroflorestais**. 1. ed. Brasília: Embrapa Florestas, 2012, 36 p.

SCHMIDT, K. B.; LIANZA, S. Teste de condução de ondas ultrassônicas pelo fitomedicamento creme de *Cordia verbenacea*. **Medicina de Reabilitação**, São Paulo, v. 29, n. 3, p. 65-68, 2010.

SEIGLER. D. S. A. Cyanogenic glycosides and Menisdaurin from *Guazuma ulmifolia*, *Ostrya virginiana*, *Tiquilia plicata*, and *Tiquilia canescens*. **Phytochemistry**, Amsterdam, v. 66, p. 1567–1580, 2005.

SILVA, A. K. O. *et al.* Complete ¹H and ¹³C NMR assignments of an uncommon 2,3- di-hydroxynaphthoquinone isolated from *Cordia multispicata* (Cham.). **Magnetic Ressonance in Chemistry**, Nova Jersey, v. 55, p. 682-685, 2017.

SILVA, Karine de Oliveira. **Prospecção química e farmacológica dos extratos de *Cordia glazioviana* taub. e *Cordia oncocalyx* taub.** 2017. 248 p. Tese (Doutorado em Química) - Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2017.

SILVA, T. M. S. Riachin, a new cyanoglucoside from *Bauhinia pentandra* and its antioxidant activity. **Chemistry of Natural Compounds**, Berlim, v. 49, n. 4, 2013.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; RIEMLE, D. J. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 7. ed. Rio de Janeiro: LTC- Livros técnicos e científicos. 2007. 490 p.

SIMPOL, L. R. *et al.* Nitrile glucosides and rosmarinic acid, the histamine inhibitor from *Ehretia philippinensis*. **Phytochemistry**, Amsterdam, v. 36, n. 1, p. 91-95, 1994.

SIVAGNANAM, I.; KALAIVANAN, P.; RAJAMANICKAM, M. Anti-diabetic activity of oncocalyxone A isolated from *Prenanthes sarmentosus*. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, [s. l.], v. 5, n. 4, p. 630-633, 2013.

SOSA, A. *et al.* Structure of a cyanoglucoside of *Lithospermum purpureo-caeruleum* **Phytochemistry**, Amsterdam, v. 16, p. 707-709, 1977.

THUY, T. T.; COUNG, N. H.; SUNG, T. V. Nitrile glucoside, flavonol glucoside and polyphenolic acids from *Erethia dentata* courch. **Journal of Chemistry**, v. 45, n. 2, p. 228-232, 2007.

VILA-NOVA, N. S. *et al.* Leishmanicidal and cholinesterase inhibiting activities of phenolic compounds of *Dimorphandra gardneriana* and *Platymiscium floribundum*, native plants from caatinga biome. **Pesquisa Veterinaria Brasileira**, Porto Alegre, v. 32, n. 11, p. 1164-1168, 2012.

WRIGHT, G. D. Opportunities for natural products in 21st century antibiotic discovery. **Natural Products Reports**, Londres, v. 34, p. 694-701, 2017.

XIÃO, B. K.. *et al.* Chemical constituents of *Pittosporum illicioides*. **Chemistry of Natural Compounds**, Berlin, v. 51, n. 6, p. 1126-1129, 2015.

YAMASAKI, K. Non-Cyanogenic Cyanoglucosides. **Studies in Plant Science**, Amsterdam, v. 6, p. 335-345, 1999.

YOUN, U. J. *et al.* Identification of a new isomer of dihydrophaseic acid 3'-O- β -D-glucopyranoside from *Nelumbo nucifera*. **Bulletin of the Korean Chemical Society**, Korea, v. 32, n. 11, p. 4083-4085, 2011.

ZINTCHEM A. A. *À et al.* Biological studies on nitrogen - containing compounds from *Campylopermum oliverianum* and *Campylopermum sulcatum* (Ochnaceae). **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, [s. l.], v. 6, n. 9, p. 252-256, 2014.