

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO

**CONSTITUINTES QUÍMICOS DAS RAIZES E CASCAS DO CAULE DE *Tabebuia aurea* (Silva Manso) Benth & Hook (BIGNONIACEAE) E ATIVIDADES ANTIPARASITÁRIAS**

Mariele Rondon Santos Gonçalves

**Mestrado em Química, Área de concentração Produtos Naturais**

CUIABÁ

MATO GROSSO - BRASIL

2015

**MARIELE RONDON SANTOS GONÇALVES**

**CONSTITUINTES QUÍMICOS DAS RAIZES E CASCAS DO CAULE DE *Tabebuia aurea* (Silva Manso) Benth & Hook (BIGNONIACEAE) E ATIVIDADES ANTIPARASITÁRIAS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Mato Grosso, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Química, para obtenção do título de Mestre em Química, Área de Concentração Produtos Naturais.

**CUIABÁ  
MATO GROSSO - BRASIL**

**2015**

**MARIELE RONDON SANTOS GONÇALVES**

**CONSTITUINTES QUÍMICOS DAS RAIZES E CASCAS DO CAULE DE *Tabebuia aurea* (Silva Manso) Benth & Hook (BIGNONIACEAE) E ATIVIDADES ANTIPARASITÁRIAS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Mato Grosso, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Química, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 11 de setembro de 2015

---

Prof. Dr. Luciano Ramos Suzart

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Tereza Auxiliadora  
Nascimento Ribeiro

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Virgínia Claudia da Silva

(Orientadora)

*Dedico este trabalho...*  
*Ao meu esposo Edivaldo Amaral e ao meu filho*  
*André Leonam, assim como a todas as pessoas que*  
*me fizeram sorrir nesses últimos anos.*  
*E quem diria?*  
*Àqueles que me fizeram chorar.*

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente ao senhor Deus, que guia meus passos e guarda minha vida, meu refúgio nas horas de incertas e fonte da minha força interior.

Um agradecimento muito especial á minha querida orientadora, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Vírínia Cláudia da Silva, que me acolheu e confiou em mim. Com você aprendi muitas coisas dentro e fora da pesquisa e compartilhei momentos, ao quais me proporcionaram aprendizados que levarei comigo por toda vida e que de alguma forma contibuíram para que eu fosse além do que imaginava. Não há palavras que expresse a minha gratidão para contigo. Bençãos e benção em sua vida.

Á Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Tereza Auxiliadora Nascimento Ribeiro, por todo auxílio prestados durante esse projeto, além das risadas, das conversas, levarei comigo muitos ensinamentos valiosos de uma grande profissional e uma pessoa admirável.

Aos professores Dr. Evando Luiz Dall'Oglio e Dr. Paulo Teixeira de Sousa Junior, por acreditarem na pesquisa em química de produtos naturais da UFMT, dando todo suporte necessário para o seu funcionamento.

Ao Prof<sup>o</sup>. Dr. Mário Geraldo de Carvalho da UFRRJ, por nos conceder toda sua estrutura para obtenção dos espectros de ressonância e pela imensa colaboração na elucidação das substâncias.

Ao Prof<sup>o</sup>. Dr. Mauro Javier Cortez Véliz da USP, pela parceria em realizar os ensaios biológicos.

Aos professores Dr. Marcos Antônio Soares e a Dr<sup>a</sup> Tereza Auxiliadora Nascimento Ribeiro pela colaboração na banca de qualificação, bem como aos membros da banca de defesa Dr. Luciano Ramos Suzart e Dr<sup>a</sup> Tereza Auxiliadora Nascimento Ribeiro. Obrigada pela disponibilidade em participarem das bancas, cujas contribuições foram de grande valia para esta pesquisa.

As alunas de iniciação científica Ana Fábíia Giacomelli e Leice Milla Ribeiro de Novais por todo compromisso e dedicação com o nosso trabalho, pelos momentos de alegrias e superação que convivemos. Partilhamos momentos de troca de saberes que nos enriqueceram como pessoas e profissionais. Serei eternamente grata a vocês.

À minha amiguinha Francyne que sempre esteve ao meu lado, me incentivando, me dando força e apoio. Você foi mais que amiga e sim um instrumento do senhor em minha vida...

À Thayana Alves, por me ensinar os primeiros passos na pesquisa em produtos naturais e por se tornar uma pessoa especial em minha vida.

Aos meus amigos e colegas do LPQPN, para vocês posso afirmar que: “se chorei ou sorri momentos marcantes com vocês vivi”. Obrigado por participarem desse momento comigo, Karoline, Jéssica, Kheyti, Washington, Lorena, Isabella, Leila, Willian, Dayanne, Wellington, Andressa, Luiz, Angélica, Cauane, Tamires e Sabrina.

Aos colegas e amigos da Central Analítica, que sempre me ajudaram. Obrigada pelo carinho, atenção, conversas e incentivos, em especial ao Leonardo, Eduardo, Carlos Parizotto, Ghieska, Letícia e Alan.

Ao doutorando Carlos Henrique da UFRRJ, um exemplo de profissional, ao qual sempre que precisei esteve a disposição para me socorrer. Muito obrigada.

Aos Professores do Departamento de Química e do PPGQ, que cada um, ao seu modo, contribuíram com meu crescimento pessoal e intelectual.

Aos colegas de mestrado 2013/1, pelas experiências trocadas, pelos bons e maus momentos vivenciados que farão parte da nossa história.

Um agradecimento todo especial ao meu esposo Edivaldo e ao meu filho André Leonam. Meus tesouros, que apesar da minha ausência, sempre estiveram de braços abertos me dando força, carinho e apoio necessário para a realização deste trabalho. Por vocês sou capaz de superar os maiores desafios... só para ser recompensada com um belo sorriso.

A todos meus familiares que torceram pela minha vitória, me incentivaram e apoiaram nessa etapa, em especial minha mãe Marinei, meus irmãos Álvaro e Auro, minha avó Maria, meus tios Guilherme, Dalva, Rosinei, Cleia, Gilmon, meus sogros Maria do Socorro e Joventino e as minhas cunhadas Suzana e Jeanne. Exemplos de valores que cultivo em mim, e os financiadores das minhas loucuras.

Ao INAU pela bolsa concedida.

Por fim um muito obrigado a todos que, de algum modo, contribuíram para o desenrolar do trabalho e para a realização de mais um sonho.

*Eu não tenho tudo o que sonho...*

*Mas eu tenho o suficiente para correr atrás dos meus sonhos... eu tenho fé, tenho força e tenho Deus e isso é o que me basta para lutar e ir em frente para conquistar todos os meus sonhos, pois com Deus eu posso todas as coisas, eu sei que vou vencer e os meus sonhos Deus irá trazer a realidade.*

**Yla Fernandes**

## RESUMO

Gonçalves, Mariele Rondon Santos, M.S., Universidade Federal de Mato Grosso, setembro de 2015. **Constituintes químicos das raízes e cascas do caule de *Tabebuia aurea* (Silva Manso) Benth & Hook (Bignoniaceae) e atividades antiparasitárias.** Orientadora: Virgínia Cláudia da Silva.

A espécie *Tabebuia aurea* pertence ao gênero *Tabebuia*, um dos principais representantes da família Bignoniaceae, com cerca de 100 espécies nativas de florestas tropicais de toda a América Central e do Sul. A espécie em estudo tem ocorrência em todo território nacional, sendo que na região pantaneira ela é conhecida como um “santo remédio”, onde a população a utiliza como alternativa para o tratamento de diversas doenças, tais como amarelão, diabete, febre, malária, hepatite e gripes. Este trabalho apresenta o estudo fitoquímico dos extratos etanólico das raízes e metanólico das cascas que resultou na obtenção de cinco ácidos: o 3,4-dimetoxibenzóico (I) conhecido como ácido verátrico, o *p*-hidroxibenzóico (II), o *trans*-4-hidroxicinâmico (III) conhecido como *p*-cumárico, o *trans*-4-metoxicinâmico (IX) e o *cis*-4-hidroxicinâmico (X); um derivado benzaldeído: 2,3-dihidroxi-5-(hidroximetil) (IV); quatro esteroides: colestanona (V),  $\beta$ -sitosterol (VI), estigmasterol (VII), campesterol (VIII) e um iridóide: o 6-O-coumaroilcatalpol (XI) conhecido como especiosideo. E ainda relata significativa atividade do especiosideo (XI) nos ensaios de viabilidade celular contra os parasitas *Leishmania amazonensis* e *Trypanosoma cruzi*. Verificou-se que a substância apresentou 65% de morte celular na concentração de 157,4  $\mu$ M e na concentração de 190,0  $\mu$ M causou 90% de mortalidade celular, ou seja, 90% de lise celular das formas promastigotas de *L. amazonensis* e nas concentrações de 157,4 e 190,0  $\mu$ M apresentaram 70 e 73% de mortalidade celular contra as formas epimastigotas de *T. cruzi*. Esses resultados se mostraram muito promissores e destaca a importância do iridóide como alternativa para o tratamento da leishmaniose e a doença de chagas.

**Palavras-chaves:** *Tabebuia aurea*, iridóide, *Leishmania amazonensis*, *Trypanosoma cruzi*

## ABSTRACT

Gonçalves, Mariele Rondon Santos, M.S., Federal University of Mato Grosso, August, 2015.  
**Chemical Constituents the roots and stem bark of *Tabebuia aurea* (Silva Manso) Benth & Hook (Bignoniaceae) and anti-parasitic activities.** Adviser: Virgínia Cláudia da Silva.

The species *Tabebuia aurea* belongs to the genus *Tabebuia*, one of the main representatives of the family Bignoniaceae, with about 100 native species of tropical forests throughout Central America and South America. The species in the study has occurrence throughout the national territory, and that in the Pantanal region it is known as a "holy remedy", where the population uses it as an alternative for the treatment of several diseases, such as yellowing, diabetes, fever, malaria and hepatitis and influenza. This work presents the phytochemical study of extracts ethanolic the roots and methanolic of stem bark which resulted in obtaining five acids: the 3,4-dimethoxybenzoic acid (**I**) known as veratric acid, the p-hydroxybenzoic acid (**II**), the trans-4-hydroxycinnamic acid (**III**) known as p-cumáric, the trans-4-methoxycinnamic acid (**IX**) and the cis-4-hydroxycinnamic acid (**X**); a derivative benzaldehyde: 2,3-dihydroxy-5-(hydroxymethyl) (**IV**); four steroids: colestanone (**V**),  $\beta$ -sitosterol (**VI**), stigmasterol (**VII**), campesterol (**VIII**) and an iridoid: the 6-O-coumaroylcatalpol (**XI**) known as specioside. And still reports significant activity of specioside in tests of cellular viability against parasites *Leishmania amazonensis* and *Trypanosoma cruzi*. It was found that the substance presented 65% of cell death in the concentration of 157.4  $\mu$ M and concentration of 190.0  $\mu$ M caused 90% mortality cellular, or 90% of cell lysis of *L. amazonensis* promastigotes forms and in concentrations of 157.4 and 190.0  $\mu$ M presented 70 and 73% of cell mortality against epimastigotes of *T. cruzi*. These results were very promising and demonstrate the importance of iridoid as an alternative for the treatment of Leishmaniasis and Chagas' disease.

**Keywords:** *Tabebuia aurea*, iridoid, *Leishmania amazonensis*, *Trypanosoma cruzi*

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

| Abreviações                | Significado                                                 |
|----------------------------|-------------------------------------------------------------|
| <b>AcOEt</b>               | Acetato de Etila                                            |
| <b>Acetil CoA</b>          | Acetilcoenzima-A                                            |
| <b>ANVISA</b>              | Agência Nacional de Vigilância Sanitária                    |
| <b>CC</b>                  | Cromatografia em Coluna Clássica                            |
| <b>CCDA</b>                | Cromatografia em Camada Delgada Analítica                   |
| <b>CCDP</b>                | Cromatografia em Camada Delgada Preparativa                 |
| <b>CG</b>                  | Cromatografia gasosa                                        |
| <b>COSY</b>                | Correlated spectroscopy                                     |
| <b>CTR</b>                 | Controle negativo                                           |
| <b><i>d</i></b>            | Dupleto                                                     |
| <b>DCM</b>                 | Diclorometano                                               |
| <b><i>dd</i></b>           | Duplo Dupleto                                               |
| <b>DEPTQ</b>               | Distortionless Enhancement by Polarization Transfer Quantum |
| <b><math>\delta</math></b> | Deslocamento químico                                        |
| <b><i>dI</i></b>           | Dupleto largo                                               |
| <b>DMAPP</b>               | Dimetilalila difosfato                                      |
| <b>DMSO</b>                | Dimetilsulfóxido                                            |
| <b>DXF</b>                 | 1-desoxixilulose-5-fosfato                                  |
| <b>EM</b>                  | Espectrometria de massas                                    |
| <b>ESI</b>                 | Ionização por elétron spray                                 |
| <b>eV</b>                  | Elétron volt                                                |
| <b>GPP</b>                 | Geranil difosfato                                           |
| <b>HEX</b>                 | Hexano                                                      |
| <b>HIV</b>                 | Vírus da Imunodeficiência Humana                            |
| <b>HMBC</b>                | Heteronuclear Multiple Bond Correlation                     |
| <b>HMG-CoA</b>             | 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA                               |
| <b>HSQC</b>                | Heteronuclear Single-Quantum Correlation                    |
| <b>Hz</b>                  | Hertz                                                       |
| <b>IE</b>                  | Impacto de elétrons                                         |
| <b>IPP</b>                 | Isopentenil difosfato                                       |
| <b>J</b>                   | Constante de acoplamento                                    |

|                           |                                                                      |
|---------------------------|----------------------------------------------------------------------|
| <b>LPQPN</b>              | Laboratório de Pesquisa em Química de Produtos Naturais              |
| <b>LQPN</b>               | Laboratório de Química de Produtos Naturais                          |
| <b><i>m</i></b>           | Multiplete                                                           |
| <b><i>m/z</i></b>         | Relação massa /carga                                                 |
| <b>MeOH</b>               | Metanol                                                              |
| <b>MEV</b>                | Via do mevalonato                                                    |
| <b>MHz</b>                | Megahertz                                                            |
| <b>MMA/SBF</b>            | Ministério do Meio Ambiente/Secretaria de Biodiversidade e Florestas |
| <b>MVA</b>                | Ácido mevalônico                                                     |
| <b>OMS</b>                | Organização Mundial de Saúde                                         |
| <b>RDC</b>                | Resolução da Diretoria Colegiada                                     |
| <b>R<sub>f</sub></b>      | Fator de retenção                                                    |
| <b>RMN <sup>13</sup>C</b> | Ressonância Magnética Nuclear de Carbono                             |
| <b>RMN <sup>1</sup>H</b>  | Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio                          |
| <b>S</b>                  | Simpleto                                                             |
| <b>SI</b>                 | Simpleto largo                                                       |
| <b>T</b>                  | Triplete                                                             |
| <b>TACCM</b>              | Extrato metanólico das cascas do caule                               |
| <b>TACCMA</b>             | Resíduo acetato de etila das cascas do caule                         |
| <b>TACCMC</b>             | Resíduo clorofórmico das cascas do caule                             |
| <b>TACCMH</b>             | Resíduo hexânico das cascas do caule                                 |
| <b>TACCMR</b>             | Resíduo hidrometanólico das cascas do caule                          |
| <b>TARE</b>               | Extrato etanólico das raízes                                         |
| <b>TAREA</b>              | Resíduo acetato de etila das raízes                                  |
| <b>TAREC</b>              | Resíduo clorofórmico das raízes                                      |
| <b>TAREH</b>              | Resíduo hexânico das raízes                                          |
| <b>TARERE</b>             | Resíduo hidroetanólico das raízes                                    |
| <b>UFRRJ</b>              | Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro                         |
| <b>UV</b>                 | Luz Ultra-Violeta                                                    |

## LISTA DE FIGURAS

|                                                                                                                                                                                                                                                              |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1- Alguns metabólitos com funções terapêuticas comprovadas relatadas na literatura.....                                                                                                                                                               | 2  |
| Figura 2 - Distribuição geográfica do gênero <i>Tabebuia</i> no mundo. ....                                                                                                                                                                                  | 8  |
| Figura 3 - Estrutura molecular da cornina. ....                                                                                                                                                                                                              | 20 |
| Figura 4 - Sistema de numeração e representação estrutural de iridóides (a), seco-iridóides (a') e derivados (a''), R = H ou açúcar. ....                                                                                                                    | 21 |
| Figura 5 - Folhas, frutos e flores de <i>T. aurea</i> .....                                                                                                                                                                                                  | 58 |
| Figura 6 - Mapa da Distribuição geográfica de <i>T. aurea</i> .....                                                                                                                                                                                          | 59 |
| Figura 7 - Compostos Químico isolados de <i>T. aurea</i> . ....                                                                                                                                                                                              | 61 |
| Figura 8 - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de I.....                                                                                                                                                                      | 75 |
| Figura 9 - Expansão do espectro de RMN de $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de I na região entre $\delta_{\text{H}}$ 6,9-7,7 .....                                                                                                             | 76 |
| Figura 10 - Expansão do espectro de RMN de $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de I na região entre $\delta_{\text{H}}$ 2,0-5,2 ppm. ....                                                                                                        | 76 |
| Figura 11- Espectro de massas por I.E. (70 eV) de I.....                                                                                                                                                                                                     | 77 |
| Figura 12- Proposta de fragmentação para a substância I. ....                                                                                                                                                                                                | 77 |
| Figura 13 - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de II e III.....                                                                                                                                                              | 80 |
| Figura 14 - Expansão do espectro de RMN de $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de II e III na região entre $\delta_{\text{H}}$ 6,1-8,2 ppm. ....                                                                                                 | 80 |
| Figura 15 - Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (100 MHz, DEPTQ, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de II e III. ....                                                                                                                                                   | 81 |
| Figura 16 - Expansão do espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (100 MHz, DEPTQ, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de II e III na região entre $\delta_{\text{C}}$ 110,00-176,00 ppm. ....                                                                                 | 81 |
| Figura 17 - Espectro de COSY (400MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de II e III.....                                                                                                                                                                              | 82 |
| Figura 18 - Expansão do espectro de COSY (400 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de II e III na região entre $\delta_{\text{H}}$ 5,80-8,40 ppm. ....                                                                                                              | 82 |
| Figura 19 - Espectro de HSQC (400/100 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de II e III. ....                                                                                                                                                                        | 83 |
| Figura 20 - Expansão do espectro de HSQC (400/100 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de II e III, entre $\delta_{\text{H}}$ 5,00-8,60 e $\delta_{\text{C}}$ 90,00-155,00 ppm. ....                                                                                | 83 |
| Figura 21 - Espectro de HMBC (400/100 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de II e III. ....                                                                                                                                                                        | 84 |
| Figura 22 - Expansão do espectro de HMBC (400/100 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de II e III, entre [A] $\delta_{\text{H}}$ 5,70-8,30 e $\delta_{\text{C}}$ 110,00-135,00 ppm, [B] $\delta_{\text{H}}$ 5,8-8,20 e $\delta_{\text{C}}$ 140,00-175,00 ppm ..... | 85 |
| Figura 23 - Cromatograma à gas da mistura II e III. ....                                                                                                                                                                                                     | 85 |
| Figura 24 - Espectro de massas por I.E. (70 eV) de II.....                                                                                                                                                                                                   | 86 |

|                                                                                                                                                                                                                                                         |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Figura 25 - Proposta de fragmentação para a substância II. ....                                                                                                                                                                                         | 86  |
| Figura 26 - Espectro de massas por I.E. (70 eV) de III. ....                                                                                                                                                                                            | 86  |
| Figura 27 - Proposta de fragmentação para a substância III. ....                                                                                                                                                                                        | 86  |
| Figura 28 - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de IV. ....                                                                                                                                                                     | 88  |
| Figura 29 - Expansão do espectro de RMN de $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de IV na região entre $\delta_{\text{H}}$ 1,5-10,0 ppm. ....                                                                                                        | 89  |
| Figura 30 - Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (125 MHz, DEPTQ, $\text{CDCl}_3$ ) de IV. ....                                                                                                                                                           | 89  |
| Figura 31 - Expansão do espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (125 MHz, DEPTQ, $\text{CDCl}_3$ ) de IV na região entre $\delta_{\text{C}}$ 55,00-185,00 ppm. ....                                                                                          | 90  |
| Figura 32 - Espectro de COSY (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de IV. ....                                                                                                                                                                                    | 90  |
| Figura 33 - Expansão do espectro de COSY (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de IV na região entre $\delta_{\text{H}}$ 4,20-8,50 ppm. ....                                                                                                                      | 91  |
| Figura 34 - Espectro de HSQC (500/125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de IV. ....                                                                                                                                                                                | 91  |
| Figura 35 - Expansão do espectro de HSQC (500/125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de IV, entre $\delta_{\text{H}}$ 4,10-7,70 e $\delta_{\text{C}}$ 40,00-130,00 ppm. ....                                                                                        | 92  |
| Figura 36 - Espectro de HMBC (400/100 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de IV. ....                                                                                                                                                                         | 92  |
| Figura 37 - Expansão do espectro de HMBC (400/100 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de IV, entre [A] $\delta_{\text{H}}$ 3,60-8,60 e $\delta_{\text{C}}$ 55,00-130,00 ppm, [B] $\delta_{\text{H}}$ 4,50-10,00 e $\delta_{\text{C}}$ 140,00-190,00 ppm. .... | 93  |
| Figura 38 - Cromatograma a gás de IV. ....                                                                                                                                                                                                              | 94  |
| Figura 39 - Espectro de massas por I.E. (70 eV) de IV. ....                                                                                                                                                                                             | 94  |
| Figura 40 - Proposta de fragmentação para a substância IV. ....                                                                                                                                                                                         | 94  |
| Figura 41 - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de V. ....                                                                                                                                                                      | 97  |
| Figura 42 - Expansão do espectro de RMN de $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de V na região entre $\delta_{\text{H}}$ 0,6-2,4 ppm. ....                                                                                                          | 97  |
| Figura 43 - Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (125 MHz, DEPTQ, $\text{CDCl}_3$ ) de V. ....                                                                                                                                                            | 98  |
| Figura 44 - Expansão do espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (125 MHz, DEPTQ, $\text{CDCl}_3$ ) de V na região entre $\delta_{\text{C}}$ 11,00-33,00 ppm. ....                                                                                            | 98  |
| Figura 45 - Expansão do espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (125 MHz, DEPTQ, $\text{CDCl}_3$ ) de V na região entre $\delta_{\text{C}}$ 34,50-58,50 ppm. ....                                                                                            | 99  |
| Figura 46 - Espectro de HSQC (500/125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de V. ....                                                                                                                                                                                 | 99  |
| Figura 47 - Espectro de HMBC (500/125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de V. ....                                                                                                                                                                                 | 100 |
| Figura 48 - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de VI, VII e VIII. ....                                                                                                                                                         | 104 |
| Figura 49 - Expansão do espectro de RMN de $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de VI, VII e VIII na região entre $\delta_{\text{H}}$ 0,65-2,35 ppm. ....                                                                                           | 104 |

|                                                                                                                                                                            |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Figura 50 - Expansão do espectro de RMN de $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de VI, VII e VIII na região entre $\delta_{\text{H}}$ 3,4-5,7 ppm. ....                | 105 |
| Figura 51 - Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (125 MHz, DEPTQ, $\text{CDCl}_3$ ) de VI, VII e VIII. ....                                                                  | 105 |
| Figura 52 - Expansão do espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (125 MHz, DEPTQ, $\text{CDCl}_3$ ) de VI, VII e VIII na região entre $\delta_{\text{C}}$ 10,00-52,00 ppm. ....  | 106 |
| Figura 53 - Expansão do espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (125 MHz, DEPTQ, $\text{CDCl}_3$ ) de VI, VII e VIII na região entre $\delta_{\text{C}}$ 55,00-145,00 ppm. .... | 106 |
| Figura 54 - Cromatograma a gás da mistura contendo VI, VII e VIII. ....                                                                                                    | 107 |
| Figura 55 - Espectro de massas por I.E. (70 eV) de VI. ....                                                                                                                | 107 |
| Figura 56 - Proposta de fragmentação para a substância VI. ....                                                                                                            | 107 |
| Figura 57 - Espectro de massas por I.E. (70 eV) de VII. ....                                                                                                               | 108 |
| Figura 58 - Proposta de fragmentação para a substância VII. ....                                                                                                           | 108 |
| Figura 59 - Espectro de massas por I.E. (70 eV) de VIII. ....                                                                                                              | 109 |
| Figura 60 - Proposta de fragmentação para a substância VIII. ....                                                                                                          | 109 |
| Figura 61 - Cont. Proposta de fragmentação para a substância VIII. ....                                                                                                    | 110 |
| Figura 62 - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de IX. ....                                                                                 | 112 |
| Figura 63 - Expansão do espectro de RMN de $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de IX na região entre $\delta_{\text{H}}$ 2,8-8,0 ppm. ....                     | 112 |
| Figura 64 - Espectro de massas por I.E. (70 eV) de IX. ....                                                                                                                | 113 |
| Figura 65 - Proposta de fragmentação para a substância IX. ....                                                                                                            | 113 |
| Figura 66 - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de X. ....                                                                                  | 115 |
| Figura 67 - Expansão do espectro de RMN de $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de X na região entre $\delta_{\text{H}}$ 5,9-8,2 ppm. ....                      | 116 |
| Figura 68 - Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (100 MHz, DEPTQ, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de X. ....                                                                        | 116 |
| Figura 69 - Expansão do espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (100 MHz, DEPTQ, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de X na região entre $\delta_{\text{C}}$ 112,00-176,00 ppm. ....      | 117 |
| Figura 70 - Espectro de COSY (400 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de X. ....                                                                                                 | 117 |
| Figura 71 - Expansão do espectro de COSY (400 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de X na região entre $\delta_{\text{H}}$ 6,10-8,10 ppm. ....                                   | 118 |
| Figura 72 - Espectro de HSQC (400/100 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de X. ....                                                                                             | 118 |
| Figura 73 - Expansão do espectro de HSQC (400/100 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de X, entre $\delta_{\text{H}}$ 6,10-8,10 e $\delta_{\text{C}}$ 110,00-150,00 ppm. ....    | 119 |
| Figura 74 - Espectro de massas por I.E. (70 eV) de X. ....                                                                                                                 | 119 |
| Figura 75 - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de XI. ....                                                                                 | 123 |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Figura 76 - Expansão do espectro de RMN de $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de XI na região entre $\delta_{\text{H}}$ 2,5-4,3 ppm.....                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 123 |
| Figura 77 - Expansão do espectro de RMN de $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de XI na região entre $\delta_{\text{H}}$ 4,5-5,4 ppm.....                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 124 |
| Figura 78 - Expansão do espectro de RMN de $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de XI na região entre $\delta_{\text{H}}$ 6,2-7,9 ppm.....                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 124 |
| Figura 79 - Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (125 MHz, DEPTQ, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de XI.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 125 |
| Figura 80 - Expansão do espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (125 MHz, DEPTQ, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de XI na região entre $\delta_{\text{C}}$ 30,00-86,00 ppm. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                | 125 |
| Figura 81 - Expansão do espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (125 MHz, DEPTQ, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de XI na região entre $\delta_{\text{C}}$ 90,00-170,00 ppm. ....                                                                                                                                                                                                                                                                               | 126 |
| Figura 82 - Espectro de COSY (500 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de XI na região entre $\delta_{\text{H}}$ 1,50-5,50 ppm.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 126 |
| Figura 83 - Expansão do espectro de COSY (500 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de XI na região entre $\delta_{\text{H}}$ 1,50-5,50 ppm.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 127 |
| Figura 84 - Expansão do espectro de COSY (500 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de XI na região entre $\delta_{\text{H}}$ 4,60-8,00 ppm.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 127 |
| Figura 85 - Espectro de HSQC (500/125 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de XI. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 128 |
| Figura 86 - Expansão do espectro de HSQC (500/125 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de XI, entre $\delta_{\text{H}}$ 2,30-4,40 e $\delta_{\text{C}}$ 30,00-85,00 ppm. ....                                                                                                                                                                                                                                                                              | 128 |
| Figura 87 - Expansão do espectro de HSQC (500/125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de XI, entre $\delta_{\text{H}}$ 4,50-8,00 e $\delta_{\text{C}}$ 75,00-150,00 ppm. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 129 |
| Figura 88 - Expansão do espectro de HMBC (400/100 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de XI. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 129 |
| Figura 89 - Expansão do espectro de HMBC (400/100 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de XI, entre [A] $\delta_{\text{H}}$ 2,40-6,30 e $\delta_{\text{C}}$ 31,00-44,00 ppm, [B] $\delta_{\text{H}}$ 2,60-5,40 e $\delta_{\text{C}}$ 56,00-84,00 ppm, [C] $\delta_{\text{H}}$ 1,20-5,80 e $\delta_{\text{C}}$ 90,00-170,00 ppm, [D] $\delta_{\text{H}}$ 5,60-8,20 e $\delta_{\text{C}}$ 80,00-180,00 ppm e principais correlações observadas para XI. .... | 132 |
| Figura 90 - Espectro de Massas de alta resolução (ESI-TOF) da substância XI.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 132 |
| Figura 91 - Efeito do iridóide contra protozoários tripanosomatídeos.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 133 |

## LISTA DE TABELAS

|                                                                                                                                                                                                                 |     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Tabela 1. Atividades biológicas relatadas nos extratos de espécies do gênero .....                                                                                                                              | 9   |
| Tabela 2. Metabólitos presentes em <i>Tabebuia</i> e suas respectivas atividades biológicas .                                                                                                                   | 11  |
| Tabela 3. Iridóides isolados de espécies de Bignoniaceae até Março de 2015 .....                                                                                                                                | 26  |
| Tabela 4. Dados de RMN de $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) da substância I em comparação com dados da literatura (SOUZA FILHO et al, 2005) .....                                                 | 74  |
| Tabela 5. Dados de RMN de $^{13}\text{C}$ (100 MHz, DEPTQ, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) e $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) da substância II em comparação com dados da literatura (MAIA, 2011).....  | 79  |
| Tabela 6. Dados de RMN de $^{13}\text{C}$ (100 MHz, DEPTQ, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) e $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) da substância III em comparação com dados da literatura (MAIA, 2011)..... | 79  |
| Tabela 7. Dados de RMN de $^{13}\text{C}$ (125 MHz, DEPTQ, $\text{CDCl}_3$ ) e $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) da mistura de IV em comparação com dados da literatura.....                             | 88  |
| Tabela 8. Dados de RMN de $^{13}\text{C}$ (125 MHz, DEPTQ, $\text{CDCl}_3$ ) da substância V em comparação com dados da literatura.....                                                                         | 96  |
| Tabela 9. Dados de RMN de $^{13}\text{C}$ (125 MHz, DEPTQ, $\text{CDCl}_3$ ) e $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) da mistura de VI, VII e VIII em comparação com dados da literatura .....                | 103 |
| Tabela 10. Dados de RMN de $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) da substância IX em comparação com dados da literatura .....                                                                         | 111 |
| Tabela 11. Dados de RMN de $^{13}\text{C}$ (50 MHz, DEPTQ, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) da substância X em comparação com dados da literatura .....                 | 115 |
| Tabela 12. Dados de RMN de $^{13}\text{C}$ (125 MHz, DEPTQ, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) e $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) da substância XI em comparação com dados da literatura .....             | 122 |

## LISTA DE ESQUEMAS

|                                                                                                                                             |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Esquema 1 - O ciclo biológico de <i>Leishmania</i> . Fonte: Centers for Disease Control and Prevention (2015, tradução MORAIS).....         | 5  |
| Esquema 2 - O ciclo biológico de <i>Trypanosoma cruzi</i> . Fonte: Centers for Disease Control and Prevention (2015, tradução própria)..... | 6  |
| Esquema 3 - Mecanismo inicial da biossíntese do esqueleto iridano.....                                                                      | 22 |
| Esquema 4 - Mecanismo final da biossíntese de iridóides e seus derivados. ....                                                              | 24 |
| Esquema 5 - Isolamento das substâncias retiradas das raízes de <i>T.aurea</i> . ....                                                        | 64 |
| Esquema 6 - Fracionamento do extrato metanólico das cascas do caule de <i>T. aurea</i> . ....                                               | 65 |
| Esquema 7 - Processamento da fração TACCMH.....                                                                                             | 66 |
| Esquema 8 - Processamento da fração TACCMC.....                                                                                             | 67 |
| Esquema 9 - Processamento da fração TACCMA.....                                                                                             | 69 |
| Esquema 10 - Processamento da fração TACCM. ....                                                                                            | 70 |

## SUMÁRIO

|                                                                                       |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1. INTRODUÇÃO .....                                                                   | 1  |
| 2. OBJETIVOS .....                                                                    | 4  |
| 2.1 Objetivo Geral.....                                                               | 4  |
| 2.2 Objetivos Específicos .....                                                       | 4  |
| 3. REVISÃO DA LITERATURA .....                                                        | 4  |
| 3.1. Doenças Negligenciadas: Leishmaniose e Doença de Chagas.....                     | 4  |
| 3.1.1 Leishmaniose .....                                                              | 4  |
| 3.1.2. Doença de Chagas .....                                                         | 6  |
| 3.2. Generalidades da família Bignoniaceae e o Gênero <i>Tabebuia</i> .....           | 7  |
| 3.3. Iridóides .....                                                                  | 20 |
| 3.3.1. Iridóides de Bignoniaceae .....                                                | 25 |
| 3.4. <i>Tabebuia aurea</i> (Silva Manso) Benth & Hook .....                           | 57 |
| 4. MATERIAIS E MÉTODOS .....                                                          | 61 |
| 4.1. Reagentes e equipamentos .....                                                   | 61 |
| 4.2. Material botânico de <i>Tabebuia aurea</i> .....                                 | 62 |
| 4.2.1. Estudos químico do extrato TARE (extrato etanólico das raízes) .....           | 63 |
| 4.2.2. Estudos químico do extrato TACCM (extrato metanólico das cascas do caule)..... | 64 |
| 4.3. Ensaio Biológicos .....                                                          | 71 |
| 4.3.1. Cultura de parasitas .....                                                     | 71 |
| 4.3.2. Tratamento dos parasitas com o especiosideo .....                              | 71 |
| 4.3.3. Análise estatística.....                                                       | 71 |
| 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....                                                       | 72 |

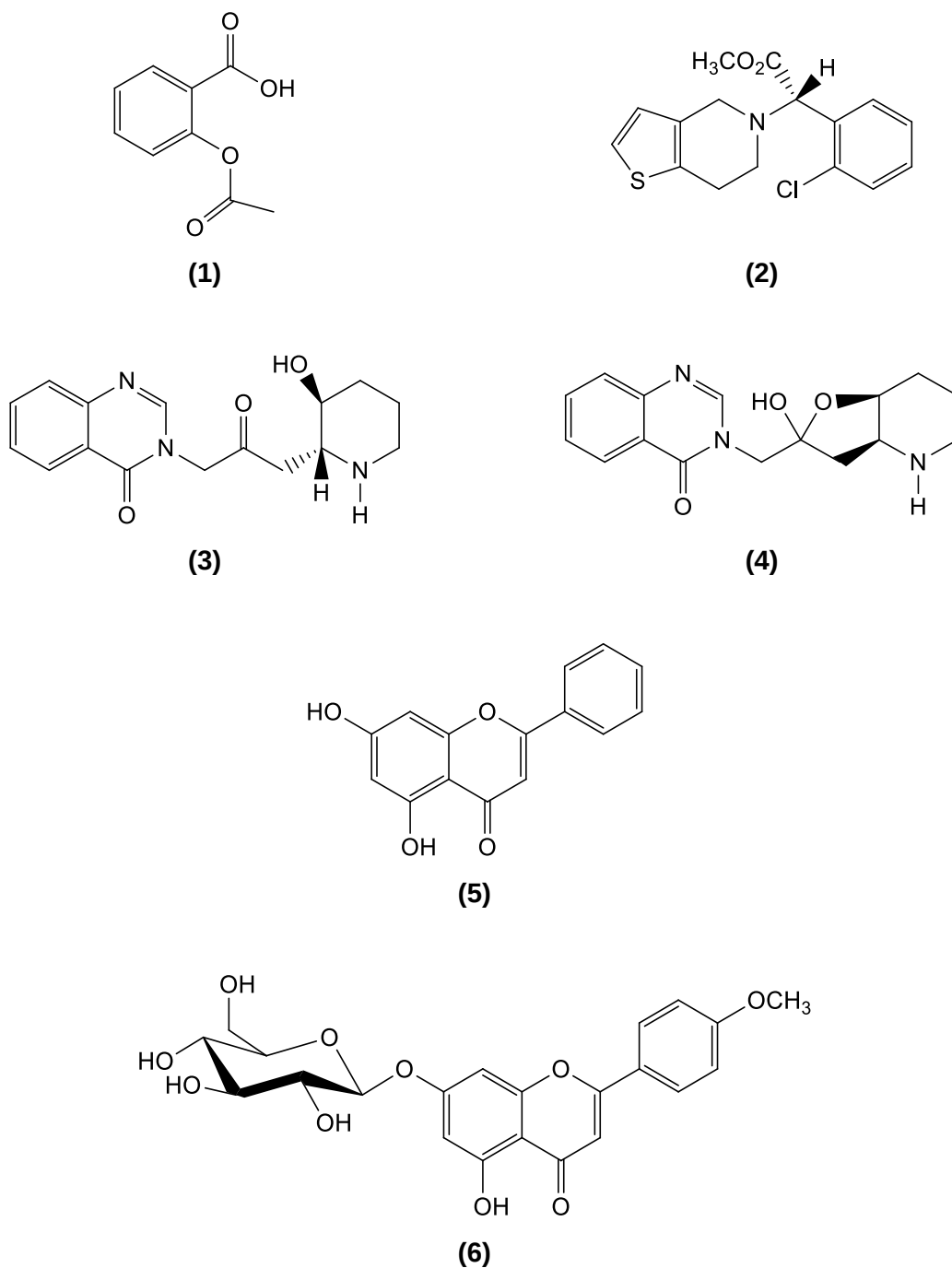
|                                                        |            |
|--------------------------------------------------------|------------|
| 5.1. Substâncias isoladas.....                         | <b>72</b>  |
| 5.2. Elucidação estrutural.....                        | <b>73</b>  |
| 5.2.1. Identificação da substância I.....              | 73         |
| 5.2.2. Identificação das substâncias II e III.....     | 77         |
| 5.2.3. Identificação da substância IV.....             | 87         |
| 5.2.4. Identificação da substância V.....              | 95         |
| 5.2.5. Identificação da substância VI, VII e VIII..... | 100        |
| 5.2.6. Identificação da substância IX.....             | 110        |
| 5.2.7. Identificação da substância X.....              | 113        |
| 5.2.8. Identificação da substância XI.....             | 119        |
| 5.3. Ensaios biológicos.....                           | <b>133</b> |
| 6. CONCLUSÕES.....                                     | <b>134</b> |
| 7. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA.....                       | <b>135</b> |

## 1. INTRODUÇÃO

O Brasil é um país com grande extensão territorial, multiplicidade geográfica e climática (MMA/SBF, 2002), coberto pela maior floresta tropical do mundo, grandiosos rios e lagos e habitado por diferentes tribos indígenas (MOSSRI, 2012). Reconhecido por uma megadiversidade (MOSSRI, 2012), possui a flora mais rica com aproximadamente 56.000 espécies de plantas distribuídas em seis principais biomas (Caatinga, Cerrado, Floresta Amazônica, Mata Atlântica, Pampas e Pantanal), que correspondem a aproximadamente 20% de toda a flora mundial tornando-o um importante núcleo para a pesquisa sobre a flora brasileira (GIULIETTI et al., 2005).

Neste cenário, as plantas são consagradas pelo seu uso popular como fonte natural de substâncias orgânicas empregadas no tratamento de várias patologias (BRANDÃO<sup>a</sup> et al., 2010) ou ainda com capacidade de combater pragas e insetos (VIEGAS Jr. et al., 2006). O conhecimento etnofarmacológico dos povos contribui com o avanço da química dos produtos naturais, pois estudos das plantas e microorganismos utilizados por eles na cura de males cotidianos fornecem importantes interpretações em termo de estruturas, propriedades físico-químicas e biológicas (WANI & WALL, 1996). E ainda permitem que a química interaja interdisciplinarmente com outras áreas como a bioquímica, genética, ecologia e farmacologia na tentativa de isolamento ou identificação de metabólitos bioativos para a produção de novos fármacos capazes de solucionar os problemas de saúde humana (FERNANDES, 2008; VIEGAS Jr. et al., 2006).

Dentre os fármacos originados de produtos naturais é possível encontrar inúmeras substâncias químicas ativas com diferentes funções terapêuticas comprovadas (Figura 1). A lasiodiplodina **(1)**, uma lactona macrocíclica isolada de *Euphorbia splendus* revelou potente atividade antileucêmica, enquanto o diterpeno Jatrofona **(2)** isolado de *Jatropha isabelli* foi ativo quando testado in vitro contra *Leishmania spp* e *Tripanossoma cruzi*. (BRAZ-FILHO, 2010; FRÖHLICH et al., 2010). Das raízes de *Dichroa febrífuga* isolou-se uma mistura de alcalóides com atividade antimalárica comprovada, identificados como febrifugina **(3)** e isofebrifugina **(4)** (BRAZ-FILHO, 2010; CHAVES et al., 2010), enquanto que nas classes dos flavonoides destacam-se como potentes inibidores do HIV, a crisina **(5)** e o 7-O-β-D-galactopiranosilacetina **(6)** isolados da *Chrysanthemum morifolium* (BRAZ-FILHO, 2010).



**Figura 1-** Alguns metabólitos com funções terapêuticas comprovadas relatadas na literatura.

Dessa forma, os produtos naturais ganham força na indústria farmacêutica como principal fornecedor de moléculas bioativas para síntese de novos fármacos e assim, aquece a economia do mercado de medicamentos em muitos países. Somente no ano de 2011, o consumo de medicamentos sintéticos e naturais gerou para o mercado global um lucro de U\$ 800 bilhões, sendo que destes 26 bilhões (3,25%) foram de fitoterápicos (ALVES, 2013). Os Estados Unidos, os países asiáticos e os países europeus, especialmente a Alemanha são os principais mercados consumidores de produtos naturais. Enquanto que países da América Latina que possuem megadiversidade, assim como o

Brasil, contribuem com apenas 5% do mercado mundial, com movimentação anual de R\$ 1,1 bilhão (CALIXTO & SIQUEIRA Jr, 2008).

Devido a imensidão de recursos disponíveis para investigação, a cada ano aumenta-se o interesse de estudos relacionados às plantas medicinais brasileiras, no qual o Brasil é líder em números de publicações internacionais na área de plantas na América Latina (ALVES, 2013). No entanto, existem muitos fatores que inviabilizam o desenvolvimento e a consolidação do setor farmacêutico nacional, impedindo-o de se tornar competitivo no mercado. Tais fatores estão diretamente relacionados à ausência de políticas de estado comprometidas com a produção de medicamentos fitoterápicos a nível nacional, dificuldade de interação e cooperação multidisciplinar entre os grupos, formação insuficiente de recursos humanos capacitados, necessidade de leis específicas para o acesso à biodiversidade e ainda a falta de investimentos da indústria farmacêutica com centros de pesquisas que favoreçam a produção de fitomedicamentos cientificamente comprovados quanto a sua segurança, eficácia e qualidade, conforme estabelecido na RDC ANVISA 48/2004 (SIMÕES & SCHENKEL, 2002; CALIXTO & SIQUEIRA JR, 2008; CALIXTO, 2003).

Para a indústria de medicamento nacional se tornar referência econômica no setor farmacêutico é necessário a correção imediata desses problemas internos. A inovação tecnológica que vem ocorrendo nos últimos anos, é um importante aliado nessa etapa, por proporcionar o desenvolvimento de técnicas analíticas que aperfeiçoam o estudo de moléculas complexas (LUCENA, 2012), garantindo que a elucidação ocorra em menor tempo, com melhor controle no isolamento, determinação e quantificação de substâncias químicas. Essas técnicas facilitam a síntese de novos fármacos, contribuem com o crescente aumento nas pesquisas e publicações relacionadas a plantas medicinais e ainda ampliam o caráter multidisciplinar da química medicinal (VIEGAS Jr. et al., 2006).

Nesse contexto, o grupo de pesquisa em química de produtos naturais da UFMT, tem contribuído para o desenvolvimento dos estudos químicos e biológicos dos produtos naturais das plantas da região pantaneira e Cerrado mato-grossense. Considerando o grande potencial da família Bignoniaceae em termos de substâncias e bioatividade o presente trabalho baseia-se no estudo químico da raiz e da casca do caule de *Tabebuia aurea* visando identificar compostos bioproduzidos por esta espécie e avaliar o potencial biológico nos ensaios com os parasitas *Leishmania amazonensis* e *Trypanosoma cruzi*.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

Realizar o estudo químico das raízes e cascas do caule de *Tabebuia aurea*, visando identificar compostos bioproduzidos por esta espécie e avaliar o potencial biológico nos ensaios com os parasitas *Leishmania amazonensis* e *Trypanosoma cruzi*.

### 2.2 Objetivos Específicos

Obter os extratos etanólico das raízes e metanólico das cascas do caule de *Tabebuia aurea*;

Isolar e purificar os constituintes químicos dos extratos etanólico e metanólico;

Identificar as substâncias isoladas utilizando métodos espectroscópicos e espectrométrico como RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , uni e bidimensional e massas.

Avaliar as atividades leishmanicida e tripanocida do iridóide isolado de *Taurea*.

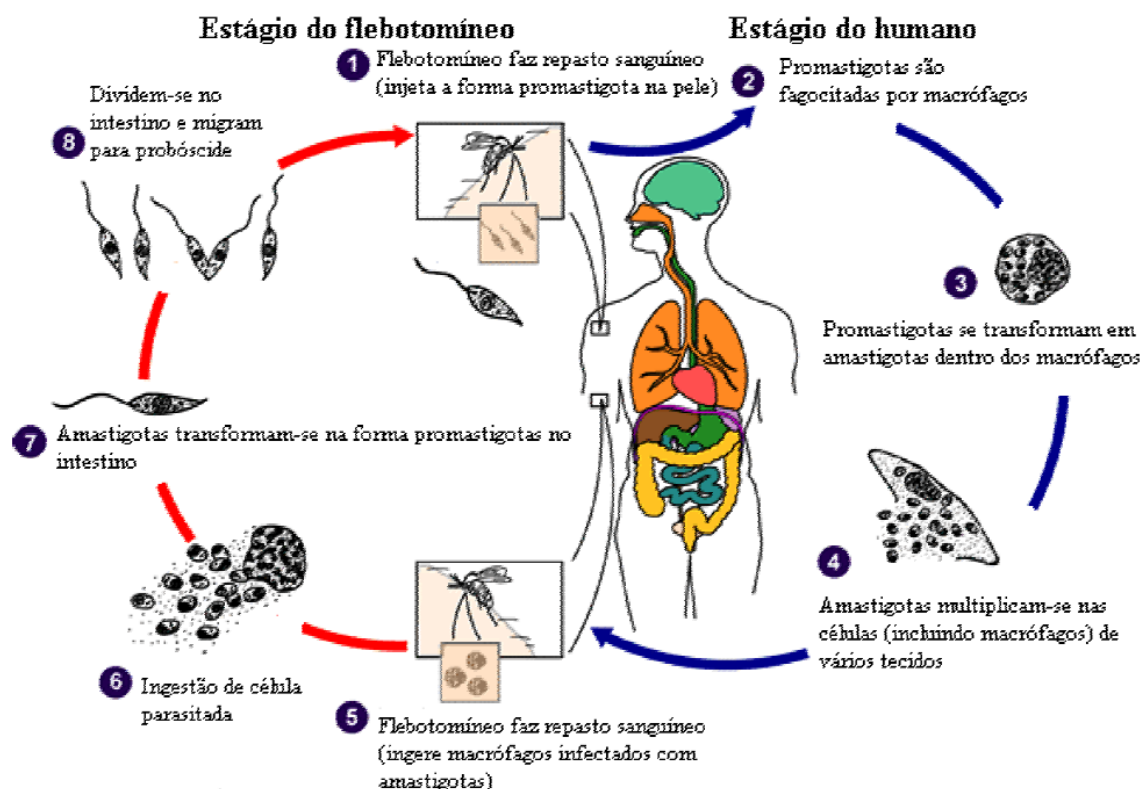
## 3. REVISÃO DA LITERATURA

### 3.1. Doenças Negligenciadas: Leishmaniose e Doença de Chagas

A leishmaniose e a doença de chagas estão entre as doenças tropicais que afetam aproximadamente 3 bilhões de pessoas no mundo, atingindo principalmente as pessoas de baixa renda que residem em países em desenvolvimento (AMBROZIN, 2004).

#### 3.1.1 Leishmaniose

A leishmaniose é uma doença parasitária causada pela picada de mosquitos fêmeas que foram infectadas com protozoários do gênero *Leishmania* (ROCHA, 2004). Esse parasita apresenta duas formas principais em seu ciclo de vida: uma é a forma como ele é encontrado no tubo digestivo do inseto vetor chamado flebotomíneo (flagelada ou promastigota) e a outra é como é visto nos tecidos dos hospedeiros que pode ser o homem ou outros animais (aflagelada ou amastigota) (Esquema1) (ROSAS, 2005).

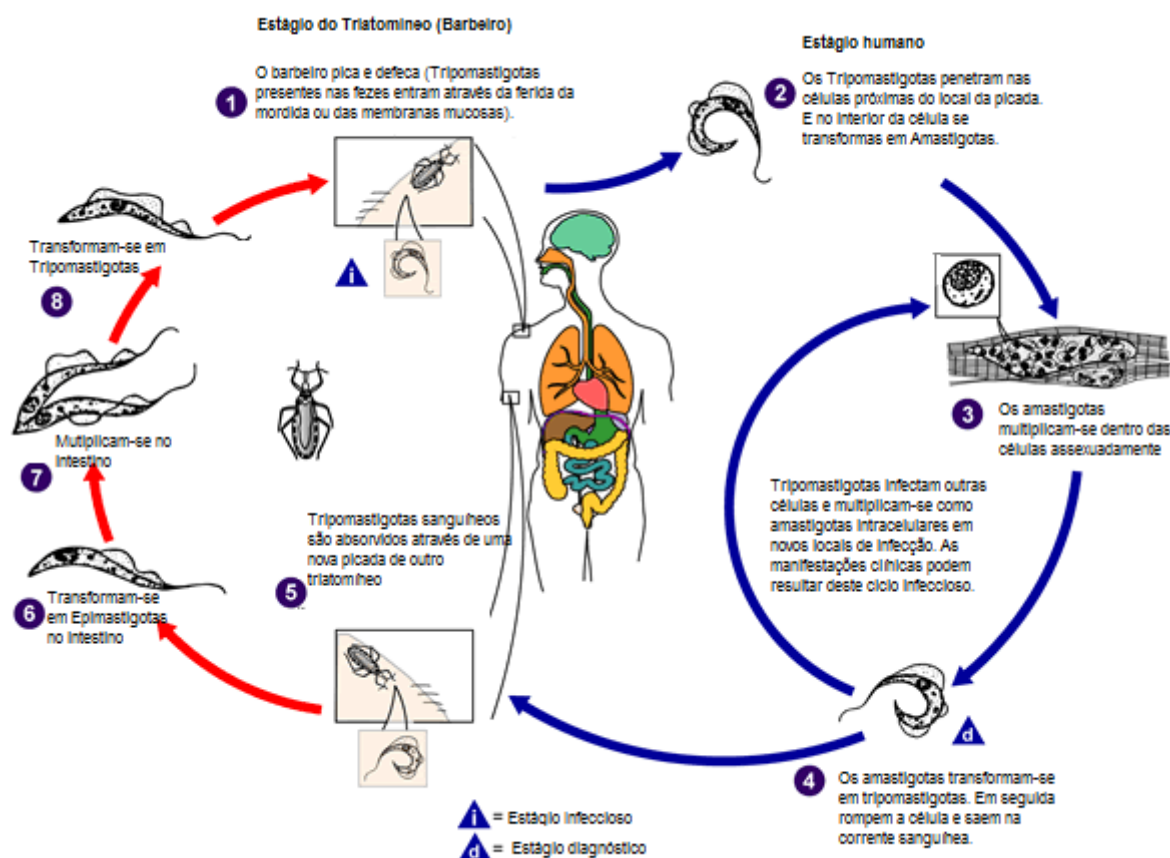


**Esquema 1** - O ciclo biológico de *Leishmania*. Fonte: Centers for Disease Control and Prevention (2015, tradução MORAIS).

O indivíduo doente pode sofrer diversos sintomas clínicos que afetam a pele, mucosas e órgãos internos, podendo chegar ao óbito se for negligente com o tratamento (CARNEIRO et al, 2015). No Brasil a região que registra maior número de incidentes é o Nordeste, em especial os estados da Bahia e Maranhão (LIMA Jr. et al, 2014). Os medicamentos feitos à base de antimoniais pentavalentes, o antibiótico anfotericina B e a pentamidinas são alguns dos principais recursos para o combate ou a cura da doença, entretanto apresentam alta toxicidade, custo elevado, dificuldade de administração e ainda podem causar resistência do parasita (BEZERRA et al, 2006). Considerando-se todos os fatores negativos que o tratamento com drogas podem causar, as plantas tornam-se uma fonte alternativa na busca de novos fármacos menos tóxicos e mais eficazes que os convencionais para auxiliar no tratamento dessa epidemia. Nessa busca, algumas plantas já demonstraram resultados promissores, como é o caso do extrato hexânico de *Dipteryx alata* que no valor de IC<sub>50</sub> de 0,08 µg/mL apresentou redução dos macrófagos infectados com *Leishmania amazonensis* em 46,71%. O extrato etanólico de *Jacaranda cuspidifolia* na concentração de 50 µg/mL foi responsável pela redução de 98 % da carga parasitária *L.amazonensis*, enquanto sua fração clorofórmica em uma mesma concentração reduziu em 97,16% (RIBEIRO, et al., 2014).

### 3.1.2. Doença de Chagas

A doença de chagas tem ocorrência nos continentes americanos, sendo que no Brasil é considerada uma das mais graves endemias com maior incidência na região Nordeste (VINHAES & DIAS, 2000; FIGUEIREDO et al., 2014, TELES, 2013). O principal causador dessa doença é o protozoário *Trypanosoma cruzi* que se hospeda em insetos dos gêneros triatomíneos, como o barbeiro, podendo então ser transmitido ao homem mediante o contato com suas fezes e urinas infectadas (LINS et al., 2014). O *T. cruzi* também apresenta duas etapas do seu ciclo de vida: uma é a fase extremamente móvel que acontece no sangue dos mamíferos, onde o parasita se apresenta na forma tripomastigota (flagelada), e nos tecidos se encontra na forma amastigota (aflagelado) (OMS, 2009) (Esquema 2).



**Esquema 2** - O ciclo biológico de *Trypanosoma cruzi*. Fonte: Centers for Disease Control and Prevention (2015, tradução própria).

O quadro da doença é preocupante, visto que as principais drogas utilizadas durante o tratamento são compostas por nifurtimox e benzonidazol, ou seja medicamentos desenvolvidos há mais de quatro décadas e que se distanciam do modelo ideal por causar

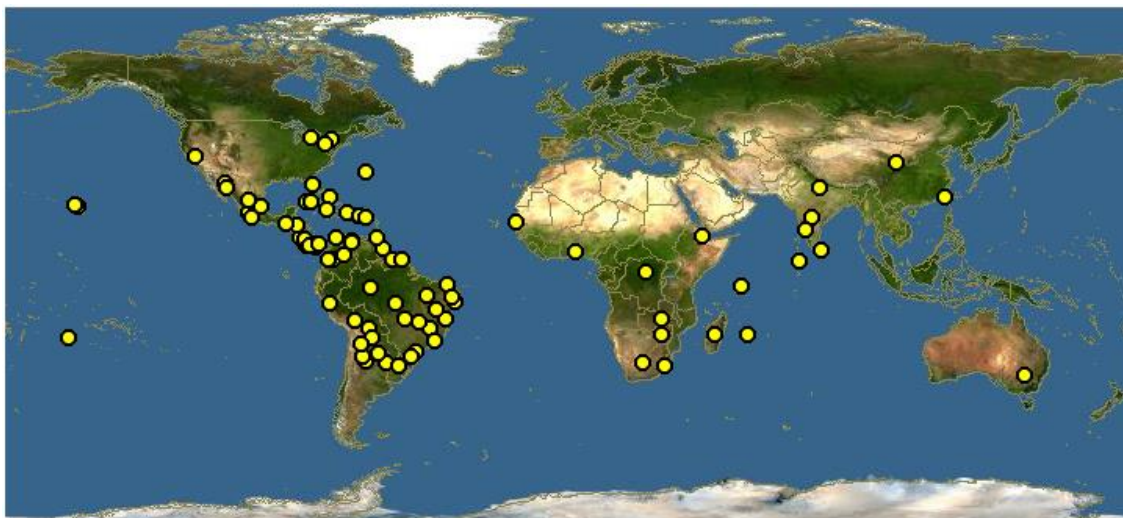
diversos danos colaterais aos pacientes e ainda por sua eficácia limitada (VENDAS Jr. et al.; 2014). Assim como acontece para outras doenças, os produtos naturais vêm sendo testado como fontes de metabólitos secundários que apresentam atividade tripanocida. E alguns resultados são promissores, como por exemplo a fração hexânica de *Píper arboreum* nas concentrações de 250 µg/mL e 100 µg/mL atingiu 62% e 51% de mortalidade de células epimastigotas de *T. cruzi* (FIGUEIREDO et al., 2014).

### **3.2. Generalidades da família Bignoniaceae e o Gênero *Tabebuia***

A família Bignoniaceae compreende espécies geralmente constituídas por árvores, subarbustos, arbustos, lianas e raramente ervas (CIPRIANI et al., 2012; ARRUDA et al., 2012), amplamente distribuídas em regiões de florestas tropicais e neotropicais, sendo predominantes nos países da América do Sul e estendendo-se em menor ocorrência até as florestas dos países Africanos e Asiáticos (CASTILLO & ROSSINI, 2010; OLMSTEAD et al., 2009).

Há muitas controvérsias entre os autores quanto a ocorrência dos gêneros e espécies presentes em Bignoniaceae, estima-se que o número de gêneros e espécies reconhecidas mundialmente sofra variação de 82 a 120 gêneros e de 800 a 860 espécies (OLMSTEAD et al., 2009; CASTILLO & ROSSINI, 2010; CIPRIANI et al., 2007). O Brasil é o principal centro de diversificação da família com 32 gêneros e 350 espécies distribuídas pelas regiões de Cerrado até as florestas úmidas perenifólias (CHAGAS Jr et al., 2010).

Dentre as oitos tribos representantes de Bignoniaceae, apenas *Bignonieae*, *Crescentieae* e *Tecomeae* são descritos em território brasileiro (CHAGAS Jr et al., 2010). O gênero *Tabebuia* é um dos principais da tribo *Tecomeae* (ORTOLANI, 2007) com cerca de 100 espécies (OSPINA et al., 2013) nativas de Florestas tropicais de toda a América Central e do Sul (Figura 2) (LEMOS et al., 2012). A amplitude da sua distribuição permite que suas plantas desenvolvam em condições climáticas diferenciadas estando presente nos principais biomas brasileiros com um total de 12 espécies registradas (COSTA et al., 2004; LOHMANN, 2013).



**Figura 2** - Distribuição geográfica do gênero *Tabebuia* no mundo.  
Fonte: <http://www.discoverlife.org/mp/20m?kind=Tabebuia>

Geralmente os Ipês como são conhecidas as plantas pertencentes ao gênero *Tabebuia*, recebem outras designações específicas como “taheebo”, “lapacho”, “paud’arco” (LEMOS et al., 2012). Destacam-se pela sua aplicabilidade na medicina popular como matéria-prima para tratamento de doenças e infecções humanas em vários países. O chá das cascas internas de *Tabebuia avellanedae* foi o primeiro medicamento utilizado há mais de 1000 anos pela tribo Callawaya, localizada na América do Sul, (BYEON et al., 2008) em decorrência da sua ação inibitória contra vários distúrbios crônicos graves (FREITAS et al., 2013). Na Colômbia as cascas são usadas em forma de infusão como estimulante do sistema nervoso central, enquanto que em Bahamas, servem como componentes para fabricação de tônicos energizantes. No Brasil, essas espécies ocupam lugar de destaque entre as plantas medicinais por serem muito utilizadas para o tratamento de doenças como; malária, câncer, distúrbios intestinais, infecções bacterianas e fungicidas, além de auxiliar no tratamento de estados emocionais alterados tais como; irritabilidade, ansiedade, memória fraca e depressão (FREITAS et al., 2013).

Baseado na infinidade de efeitos farmacológicos relatados pela população, o gênero *Tabebuia* torna-se alvo de exaustivas investigações que comprove a veracidade das informações populares. Dentre os trabalhos referenciados na literatura infere-se que folhas, flores e principalmente a casca do caule são os principais alvos de estudos.

Lemos e colaboradores em 2012, ao investigarem a ação do extrato das flores de *T. impetiginosa* em ratos, comprovaram alta atividade genotóxica, restringindo seu uso a necessidade de novos estudos que possibilitem compreender o mecanismo de ação pelo qual os compostos induzem tais efeitos (LEMOS et al, 2012).

Quando testado frente as linhagens de bactérias *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumonia*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas sp.*, *Staphylococcus epidermes*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus sp* e *Bacillus subtilis*, o extrato etanólico de folhas de *T. rosea* apresentou boa atividade inibitória, comprovando assim a sua atividade antibacteriana (SATHIYA & MUTHUCHELIAN, 2008).

O estudo do extrato etanólico do caule de *T. avellanadae* coletado em território brasileiro apresentou um efeito antidepressivo que permitiu a validação popular de seu uso para tratar problemas de transtornos depressivos, enquanto que os ensaios farmacológicos com o extrato aquoso demonstraram ação protetora contra lesões gástricas (FREITAS et al., 2013; TWARDOWSCHY et al., 2008).

Os extratos, clorofórmico e etanólico, das entrecasas de *T. ochracea ssp.* evidenciaram as atividades citotóxica, antimalárica, anti-inflamatória e antioxidante (DÍAZ & MEDINA, 1996; OSPINA et al., 2013).

GONZÁLEZ et al. (2013) descreveram diversas atividades atribuídas a espécies do gênero, dentre elas destacou seu efeito anti-infeccioso, no qual os resultados demonstram a correlação existente entre os extratos de algumas espécies de *Tabebuia* comumente estudadas versus atividades biológicas das mesmas (Tabela 1).

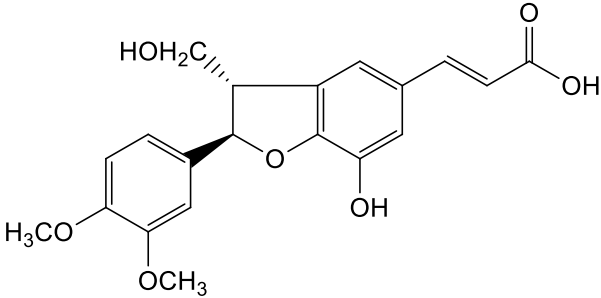
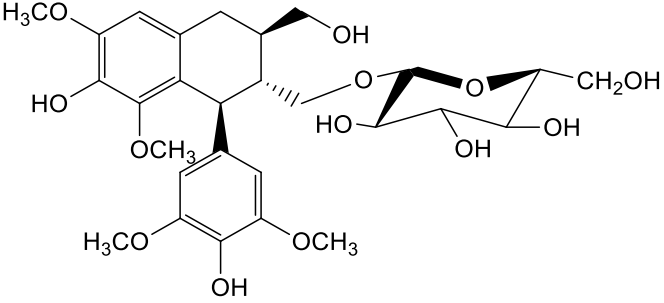
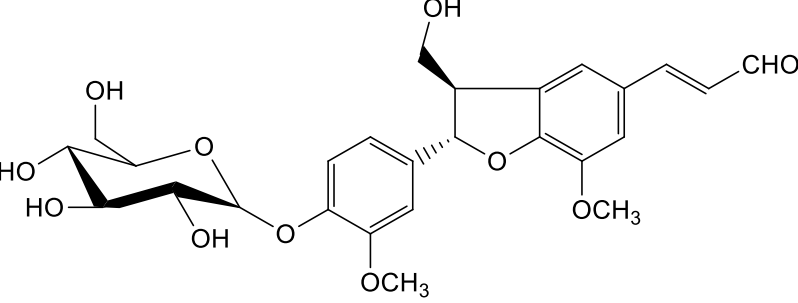
**Tabela 1.** Atividades biológicas relatadas nos extratos de espécies do gênero

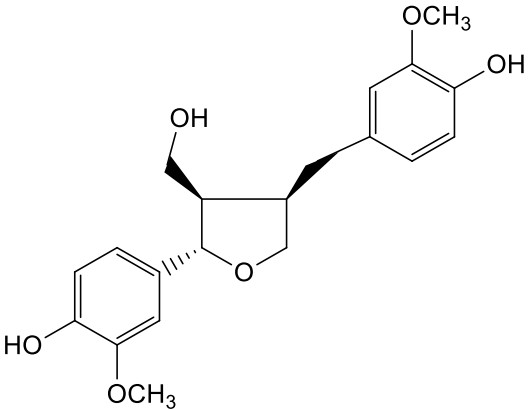
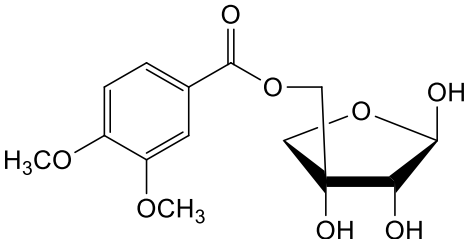
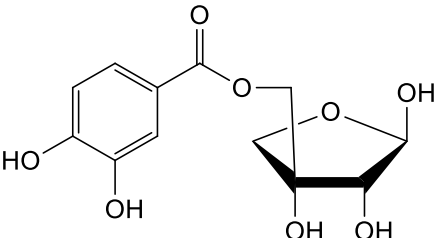
| Espécie                      | Part. Usada                        | Extrato                         | Atividade                                        | Referência                                                            |
|------------------------------|------------------------------------|---------------------------------|--------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|
| <i>Tabebuia ochracea</i>     | Entrecasca                         | Acetato de etila                | Antibacteriana, antioxidante e anti-inflamatória | OSPINA et al., 2013                                                   |
| <i>Tabebuia rósea</i>        | Entrecasca                         | Acetato de etila                | Antibacteriana, antioxidante e anti-inflamatória | OSPINA et al., 2013                                                   |
|                              | Folha                              | Etanol                          | Antibacteriana                                   | SATHIYA & MUTHUCHELIAN, 2008                                          |
| <i>Tabebuia avellanadae</i>  | Casca                              | Diclorometano, Aquosa e metanol | Antifúngica                                      | PORTILLO et al., 2001<br>HOFLING et al., 2010                         |
| <i>Tabebuia impetiginosa</i> | Entrecasca                         | Metanol                         | Antimicrobiana                                   | PARK et al., 2006                                                     |
|                              | Casca                              | Hidroalcóolico                  | Antibacteriana e anti-micobacteriana             | CWIKLA et al., 2010<br>OLIVEIRA et al., 2007<br>CORDEIRO et al., 2006 |
|                              | Caule                              | Etanol                          | Antiviral                                        | BRANDÃO <sup>b</sup> et al., 2010                                     |
| <i>Tabebuia caraíba</i>      | Casca do caule e madeira do tronco | Etanol, hexano, diclorometano   | Antifúngica                                      | MELO & SILVA et al., 2009                                             |
| <i>Tabebuia billbergii</i>   | Entrecasca; Madeira                | Diclorometano                   | Antimalárica                                     | GÓMEZ-ESTRADA et al., 2012                                            |
| <i>Tabebuia serratifolia</i> | Casca                              | Hidroalcóolico                  | Antiparasitária                                  | GONZÁLEZ-COLOMA et al., 2012                                          |

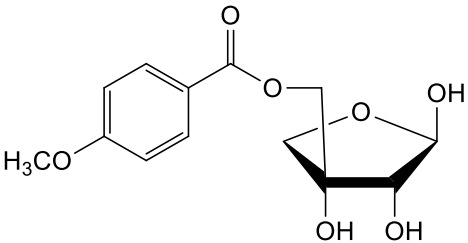
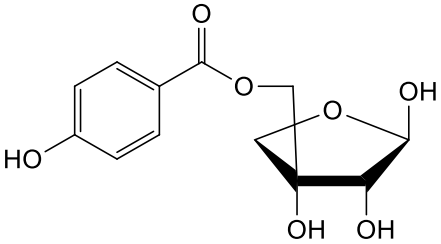
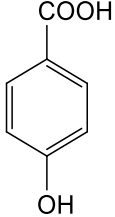
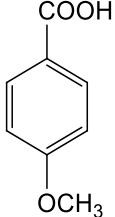
Relatos na literatura também mostram que os ipês podem ser empregados para o tratamento de várias outras enfermidades tais como sífilis, candidíases, câncer, prostatites, amigdalites, infecções renais, estomatites, varizes, úlceras, diabetes, constipações, eczema, psoríases, alergias, doenças dos olhos, além das ações analgésica, depurativa, diurética, laxativa, antineoplásica, antidiarreica, febrífuga e cicatrizante (PARK et al., 2006; OSPINA et al., 2013; VIEIRA et al., 2009; SUO et al., 2012).

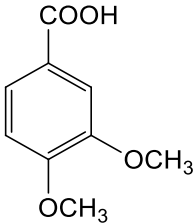
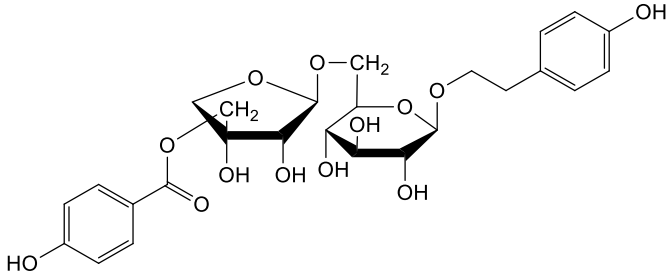
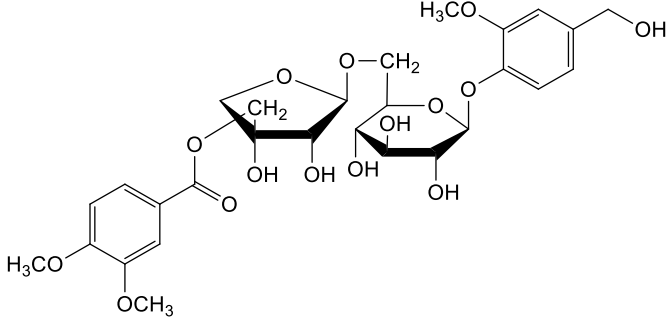
Levantamento bibliográfico sobre o perfil químico do gênero mostra grande diversificação de compostos bioativos pertencentes a diferentes classes: naftoquinonas, quininas, furanonaftoquinonas, derivados benzoicos, dialdeídos ciclopentênicos, flavonoides, cumarinas, lignanas, fenólicos glicosídeos, saponinas, taninos, alcaloides, ácidos fenólicos, terpenoides, esteroides (LEMOS et al., 2012; KIM et al., 2010; SOUSA et al., 2009; SATHIYA & MUTHUCHELIAN, 2008; RAMALAKSMI & MUTHUCHELIAN, 2011; VIEIRA et al., 2009). Na Tabela 2 são mostrados alguns metabolitos com propriedades biológicas isolados de espécies do gênero. Uma classe expressiva em Bignoniaceae é a dos iridóides, estes são monoterpenos sintetizados em abundância por essa família para sua defesa (CASTILLO & ROSSINI, 2010), e devido essa peculiaridade constituem o eixo principal deste trabalho, com uma investigação mais aprofundado no item 3.2, p.17.

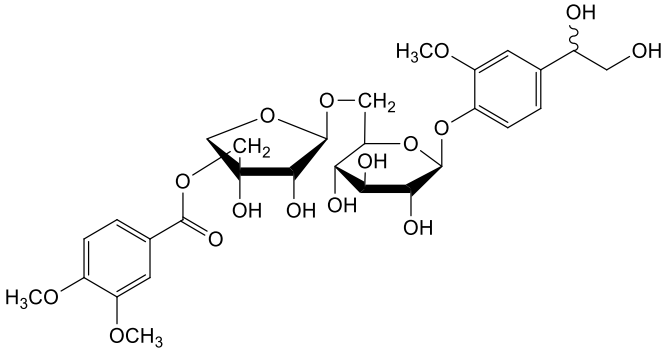
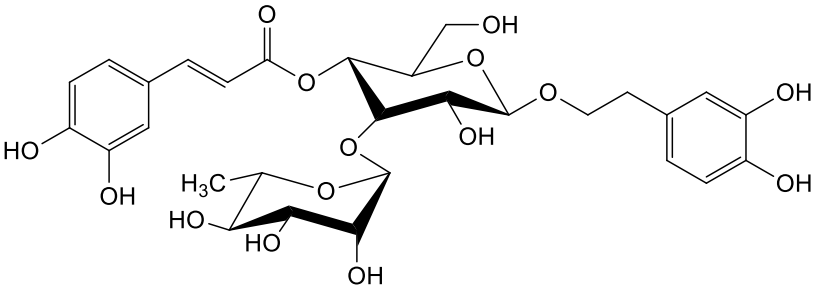
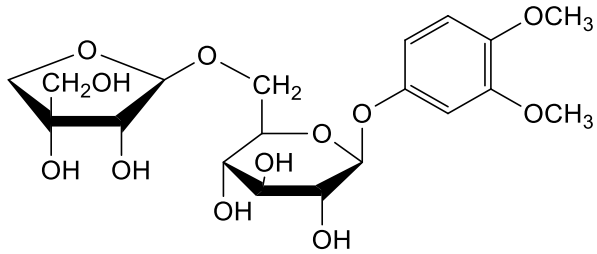
**Tabela 2.** Metabólitos presentes em *Tabebuia* e suas respectivas atividades biológicas

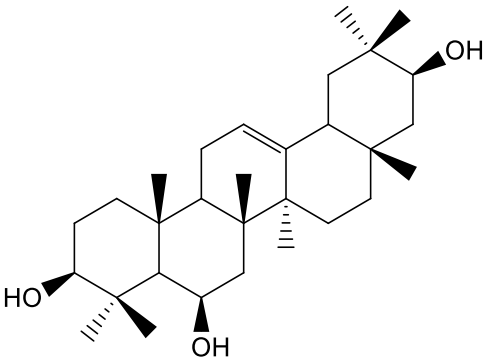
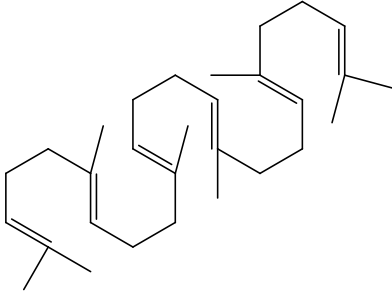
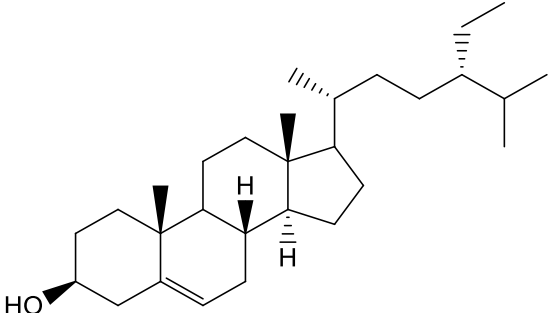
| Substância                                                                                                                                      | Espécie/ Classe                  | Atividade         | Referência             |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------|-------------------|------------------------|
|  <p>avellaneda A (7)</p>                                       | <i>T. avellaneda</i> / lignana   | anti-inflamatória | SUO et al., 2012       |
|  <p>(+)-lioni-resinol 3α-O- β-D-glicopiranosídeo (8)</p>       | <i>T. impetiginosa</i> / lignana |                   | WARASHINA et al., 2005 |
|  <p>(7S, 8R)-balanofonina- 4-O-β-D-glicopyranosideo (9)</p> | <i>T. impetiginosa</i> / lignana |                   | WARASHINA et al., 2005 |

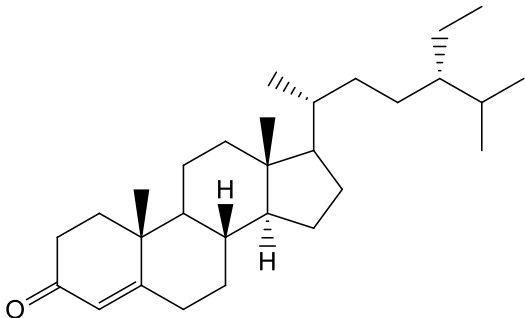
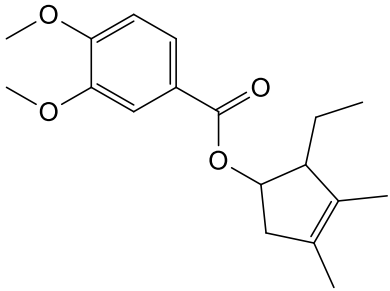
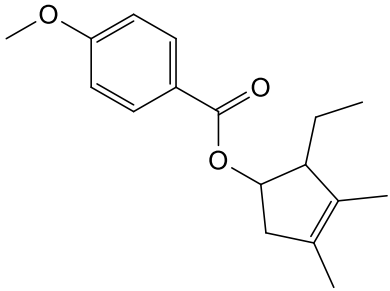
|                                                                                                                                                     |                                                 |                          |                            |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------|--------------------------|----------------------------|
|  <p>Olivil <b>(10)</b></p>                                         | <p><i>T. serratifolia</i>/ lignana</p>          |                          | <p>DUARTE et al., 2014</p> |
|  <p>5'-O-3,4-dimetoxibenzoil-β-D-apiofuranosídeo <b>(11)</b></p>   | <p><i>T.avellaneda</i> / Benzoil apiosídeo/</p> | <p>anti-inflamatória</p> | <p>SUO et al., 2012</p>    |
|  <p>5'-O-3,4-dihidroxibenzoil-β-D-apiofuranosídeo <b>(12)</b></p> | <p><i>T.avellaneda</i> / Benzoil apiosídeo/</p> | <p>anti-inflamatória</p> | <p>SUO et al., 2012</p>    |

|                                                                                                                                         |                                                          |                          |                            |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|--------------------------|----------------------------|
|  <p>5'-O-4-metoxibenzoil-β-D-apiofuranosídeo (13)</p>  | <p><i>T.avellaneda</i> / Benzoil apiosídeo/</p>          | <p>anti-inflamatória</p> | <p>SUO et al., 2012</p>    |
|  <p>5'-O-4-hidroxibenzoil-β-D-apiofuranosídeo (14)</p> | <p><i>T.avellaneda</i> / Benzoil apiosídeo/</p>          | <p>anti-inflamatória</p> | <p>SUO et al., 2012</p>    |
|  <p>Ácido <i>p</i>-hidroxibenzóico (15)</p>           | <p><i>T.heptaphylla</i> / derivado de ácido benzoico</p> |                          | <p>GARCEZ et al., 2007</p> |
|  <p>Ácido aníxico (16)</p>                           | <p><i>T.heptaphylla</i> / derivado de ácido benzoico</p> |                          | <p>GARCEZ et al., 2007</p> |

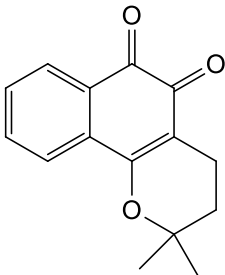
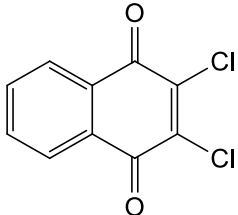
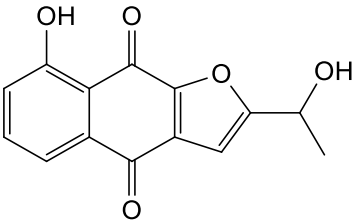
|                                                                                                                                                                                                                   |                                                          |                                                                 |                               |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|-------------------------------|
|  <p>Ácido verátrico (<b>17</b>)</p>                                                                                              | <p><i>T.heptaphylla</i> / derivado de ácido benzoico</p> |                                                                 | <p>GARCEZ et al., 2007</p>    |
|  <p>2-(4-hidroxifenil)etill-1-O- β-D-[5-O-(4-hidroxibenzoil)]-apiofuranosil-(1→6)- β-D-glicopiranosideo (<b>18</b>)</p>          | <p><i>T.avellanadae</i> / glicosídeo feniletanóide</p>   | <p>Atividade inibitória contra produção de NO em macrófagos</p> | <p>AWALE et al., 2005</p>     |
|  <p>4-hidroximenil-2-metoxifenil 1-O- β-D-[5-O-(3,4-dimetoxibenzoil)]-apiofuranosil-(1→6)- β-D-glicopiranosideo (<b>19</b>)</p> | <p><i>T.impetiginosa</i> / glicosídeo feniletanoide</p>  |                                                                 | <p>WARASHINA et al., 2005</p> |

|                                                                                                                                                                                                                       |                                                             |                                                |                               |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|------------------------------------------------|-------------------------------|
|  <p>4-(1,2-hidroxietyl)-2-metoxifenil 1-O- β-D-[5-O-(3,4-dimetoxibenzoil)]-apiofuranosil-(1→6)- β-D-glicopiranosideo (<b>20</b>)</p> | <p><i>T.impetiginosa</i> /<br/>glicosídeo feniletanóide</p> |                                                | <p>WARASHINA et al., 2005</p> |
|  <p>β-(3,4-diidroxiifenil)-etil-O-α-L-ramnopiranosil-(1''→3')-β-D-(4'-Ocafeoil)-glicopiranosídeo (<b>21</b>)</p>                    | <p><i>T.heptaphylla</i> / glicosídeo<br/>feniletanóide</p>  | <p>Moderada<br/>atividade<br/>antioxidante</p> | <p>GARCEZ et al., 2007</p>    |
|  <p>3,4-dimetoxifenil 1-O-β-D-apiofuranosil-(1→6)-β-D-glicopiranosideo (<b>22</b>)</p>                                             | <p><i>T.impetiginosa</i> /<br/>glicosídeo feniletanóide</p> |                                                | <p>GARCEZ et al., 2007</p>    |

|                                                                                                                                       |                                          |  |                            |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------|--|----------------------------|
|  <p>3β,6β,21β-trihydroxiolean-12-eno (<b>23</b>)</p> | <p><i>T.heptaphylla</i> / triterpeno</p> |  | <p>GARCEZ et al., 2007</p> |
|  <p>Esqualeno (<b>24</b>)</p>                        | <p><i>T.heptaphylla</i> / triterpeno</p> |  | <p>GARCEZ et al., 2007</p> |
|  <p>Sitosterol (<b>25</b>)</p>                      | <p><i>T.heptaphylla</i> / esteróide</p>  |  | <p>GARCEZ et al., 2007</p> |

|                                                                                                                                                                          |                                                          |                          |                            |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|--------------------------|----------------------------|
|  <p>Sitosterona (26)</p>                                                                | <p><i>T. heptaphylla</i> / esteróide</p>                 |                          | <p>GARCEZ et al., 2007</p> |
|  <p>2-formil-5-(3',4'-dimetoxibenzoiloxi)-3-metil-2-ciclopenteno-1-acetaldeído (27)</p> | <p><i>T. impetiginosa</i> / dialdeído ciclopentênico</p> | <p>anti-inflamatória</p> | <p>KOYAMA et al., 2000</p> |
|  <p>2-formil-5-(4'-metoxibenzoiloxi)-3-metil-2-ciclopenteno-1-acetaldeído (28)</p>     | <p><i>T. impetiginosa</i> / dialdeído ciclopentênico</p> | <p>anti-inflamatória</p> | <p>KOYAMA et al., 2000</p> |



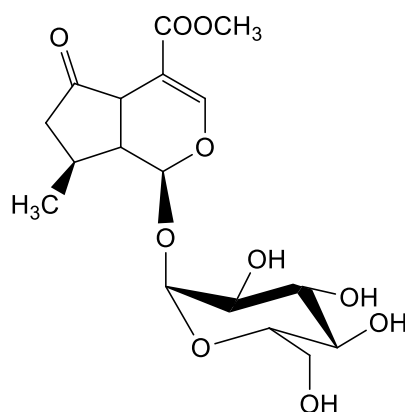
|                                                                                                                                                                 |                                       |                                                                            |                                                     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|
|  <p><math>\beta</math>-lapachona (<b>32</b>)</p>                               | <p><i>T.avellanedae</i> / Quinona</p> | <p>Antifúngica frente ao <i>Fusarium oxysporum</i>.</p>                    | <p>AUCÉLIO et al., 2013;<br/>MOURA et al., 2001</p> |
|  <p>2,3-dicloro-1,4-naftoquinona (<b>33</b>)</p>                               | <p><i>T.avellanedae</i> / Quinona</p> | <p>Inseticida frente <i>Nilaparvata lugens</i> e <i>L. striatellus</i></p> | <p>JEON et al., 2011</p>                            |
|  <p>8-hidroxi- 2(1-hidroxietil) nafto [2,3-b] furan-4,9-diona (<b>34</b>)</p> | <p><i>T.incana</i> / Quinona</p>      | <p>Antitumoral e antimalária</p>                                           | <p>MORAIS et al., 2007<br/>ARAUJO et al., 2009</p>  |

Além das propriedades medicinais atribuídas a espécies do gênero *Tabebuia*, estas ainda se apresentam como potencial econômico pela sua aplicabilidade no comércio madeireiro e ornamental. Devido à beleza de seu porte e da vistosa coloração de suas flores geralmente nas cores brancas, amarelas ou roxas, *T. serratifolia*, *T. pentaphylla* e *T. chysotricha* são usadas em paisagismo e arborização urbana (DOUSSEAU et al., 2008; VIEIRA et al., 2009; FONSECA et al., 2005; SILVA et al., 2009). Pelo fato de serem constituídas por troncos resistentes, algumas dessas plantas servem como matéria-prima para fabricação de diversos artigos na marcenaria, carpintaria, construção civil e naval, além de compor construção de obras externas em geral como escadarias e assoalhos (LORENZI, 2002; CHAGAS Jr et al., 2010).

### 3.3. Iridóides

Iridóides são uma classe de metabolitos secundários, sintetizados por angiospermas e animais como mecanismo de defesa frente ao ataque de predadores (BRESCIANI, 2013).

Em 1835, foi isolado de uma espécie de *Cornus* (*Cornaceae*) o primeiro iridóide. Entretanto, somente no final do século XX quando o esqueleto molecular de iridóide passou a ser mais compreendido, foi possível identificá-lo como sendo a cornina (Figura 3), cuja estrutura era semelhante ao iridodial isolado de formigas do gênero *Iridomyrmex* com ocorrência na Argentina (ANDRZEJEWSKA-GOLEC, 1995).

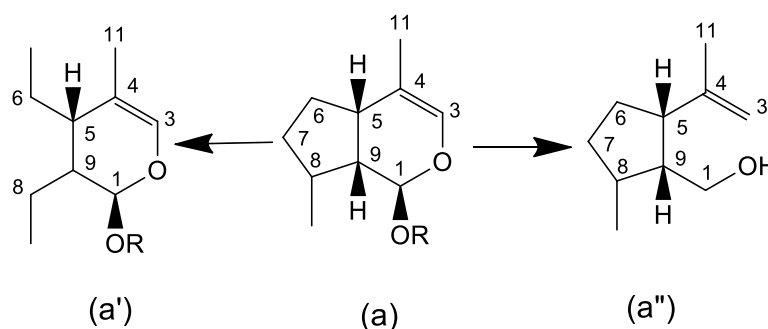


**Figura 3** - Estrutura molecular da cornina.

Apesar de ser inicialmente obtida de secreções de formigas, esta classe de metabólitos ainda ocorre em aproximadamente 57 famílias de plantas, as quais incluem Acanthaceae, Apocynaceae, Caprifoliaceae, Gentianaceae, Labiatae, Lamiaceae, Loasaceae,

Loganiaceae, Oleaceae, Plantaginaceae, Rubiaceae, Saxifragaceae, Scrophulariaceae, Valerianaceae, Verbenaceae e Bignoniaceae (DE LUCA et al., 2014), onde desempenham função de marcadores quimiotaxonômicos dos seus respectivos gêneros e subgêneros (SENA-FILHO, 2007).

Os iridóides são monoterpenoides que podem ser constituídos por oito, nove ou 10 átomos de carbonos, estruturados em um sistema fechado de anéis ciclopentanopirano (Figura 4a) (SAMPAIO-SANTOS & KAPLAN, 2001). A estereoquímica *cis* em C5 e C9 é mantida pela junção dos anéis pentano e a  $\alpha$ -pirona em um bi-cíclico conhecido como iridano. Entretanto, a clivagem oxidativa que ocorre nos anéis modifica o esqueleto base dos iridóides com formação de outros dois produtos, sendo que a clivagem da ligação 7,8 do anel ciclopentano origina os seco-iridóides (Figura 4a') e a clivagem no anel pirano fornecem alguns derivados de iridóides (Figura 4a'') (GEMIN, 2011).

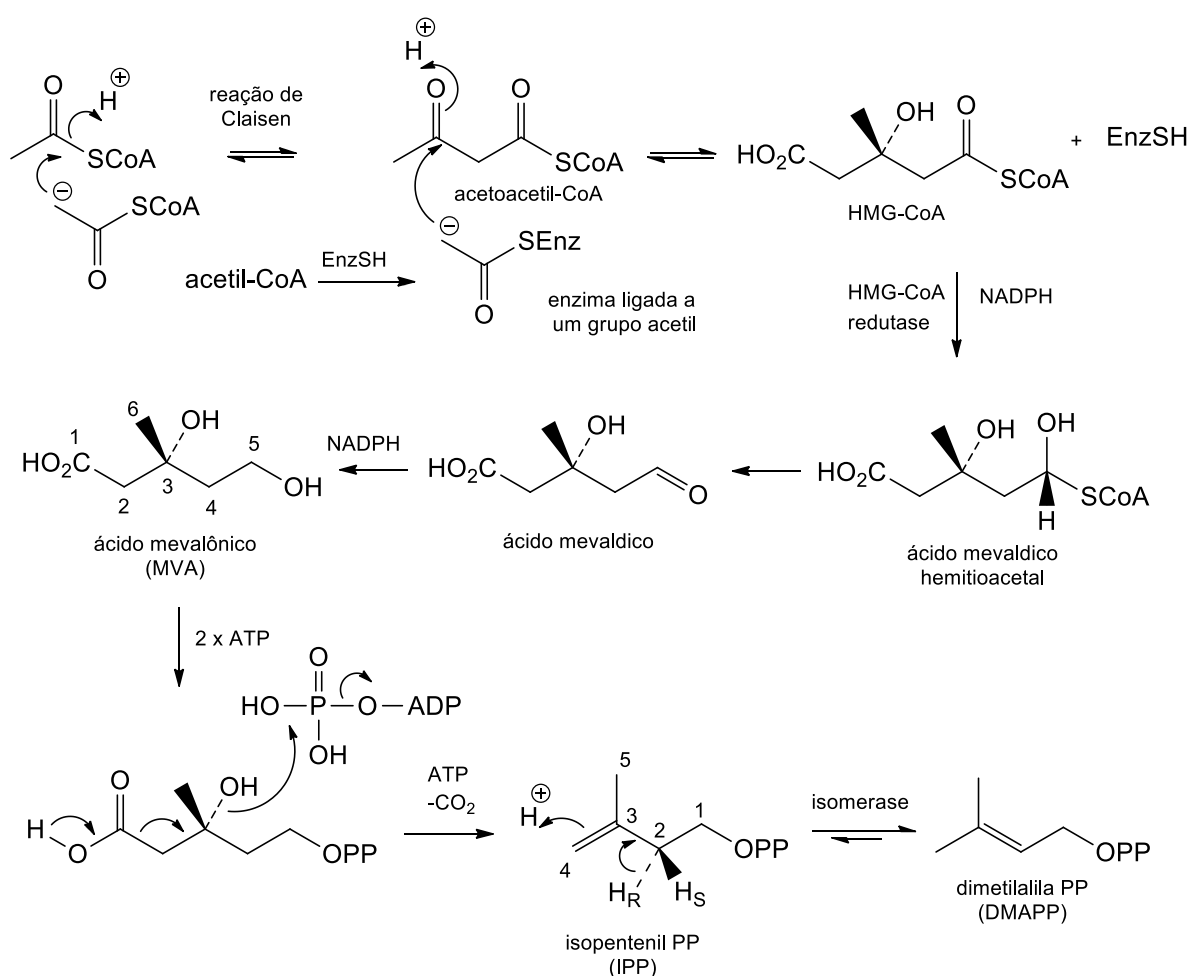


**Figura 4** - Sistema de numeração e representação estrutural de iridóides (a), seco-iridóides (a') e derivados (a''), R = H ou açúcar.

Sabe-se que devido a mudança no anel ciclopentano muitos iridóides são encontrados na natureza, sendo descritos mais de 2500 compostos que se diferenciam apenas no grau e tipo de substituintes que se ligam ao anel. Um outro fator que favorece essa diversificação é a complexidade da biossíntese de tais compostos com um total de 27 vias diferentes (SAMPAIO-SANTOS & KAPLAN, 2001).

Geralmente estes compostos, assim como um terpenoide, são sintetizados por duas possíveis rotas, a via do mevalonato (MEV) e a via independente do mevalonato conhecida como a via da 1-desoxixilulose-5-fosfato (DXF) (DEWICH, 2002). Essas duas rotas universais podem ocorrer simultaneamente em um mesmo vegetal e apesar de seguir caminhos diferentes fornecem os mesmos compostos IPP e DMAPP. Entretanto, considera-se a rota do mevalonato como a principal rota dos iridóides enquanto que a segunda via serve como rota alternativa (VUNDA, 2011).

Na rota do mevalonato, inicialmente ocorre a ligação de três moléculas de acetilcoenzima-A (acetil CoA) por meio de condensação de Claisen e adição aldólica para formar o éster 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA (HMG-CoA). HMG-CoA sofre duas reduções do grupo tio éster a um álcool primário através do aldeído para formar um importante intermediário de seis carbonos, o ácido mevalônico (MVA). O MVA é então fosforilado, descarboxilado e desidratado para produzir o isopentenil difosfato (IPP), unidades de isopreno de cinco carbonos, essenciais para formação de terpenos. Decorrente de uma isomerização enzimática IPP é convertido em seu isômero dimetilalila difosfato (DMAPP) (Esquema 3) (DEWICH, 2002).



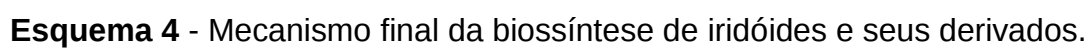
**Esquema 3** - Mecanismo inicial da biossíntese do esqueleto iridano.

A condensação enzimática de DMAPP e IPP é a etapa ativa na biossíntese dos terpenos com 10 átomos de carbonos. Nessa etapa, ocorre a ionização do DMAPP, com formação do cátion alílico que pode se ligar simultaneamente ao carbono do IPP através da adição eletrofílica. O composto formado perde um próton e constitui uma nova ligação

*trans* produzindo o geranil difosfato (GPP), principal precursor dos monoterpenos (DEWICH, 2002). O cátion geranil formado a partir do GPP na presença de água se estabiliza como um geraniol.

Seguindo a rota do geraniol é possível obter o esqueleto iridano dos iridóides, que se difere de outros monoterpenos pela ausência de intermediários fosforilados e subsequente mecanismo de carbocátion em sua formação. Uma série de reações de hidroxilação e oxidação produz um intermediário dialdeído, derivado do geraniol, que ao ser atacado por um grupo hidreto leva a formação do anel ciclopentano iridodial em sua forma cetônica. A oxidação do iridodial leva ao anel heterocíclico iridotrial, núcleo básico dos iridóides que se estabiliza em sua forma hemiacetal.

Os últimos passos para a biossíntese dos iridóides incluem a O-glicosilação e O-alquilação com conversão de hemiacetal a acetal. Isso ocorre na etapa seguinte de formação da deoxiloganina, onde para atingir essa estrutura, o hemiacetal iridotrial sofre uma sequência de reações como a oxidação e a glicosilação. Reações de hidroxilação seguida por uma metilação enzimática converte esse acetal em loganina, intermediário chave para síntese de outras estruturas de iridóides, assim como dos iridóides carbocíclicos. A clivagem C-C no esqueleto simples do monoterpeno loganina resulta em secologanina, principal representante dos secoiridóides (Esquema 4) (DEWICH, 2002).



Algumas atividades descritas para os iridóides são: anti-inflamatória, antimicrobiana, antitumoral, antiviral (LÓPEZ CARRERA et al., 2012), neuroprotetora, antioxidante, diurética, laxativa (SUN et al., 2012) antidiabética, anticoagulante, antialérgica, antiespasmódica, purgativa, inseticida, entre outras (BRESCIANI, 2013).

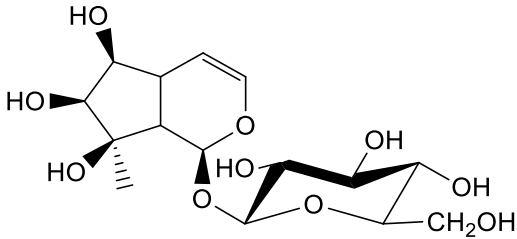
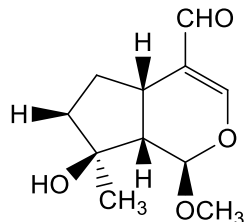
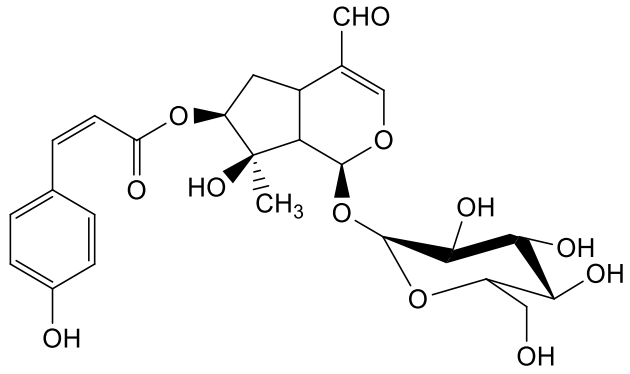
### **3.3.1. Iridóides de Bignoniaceae**

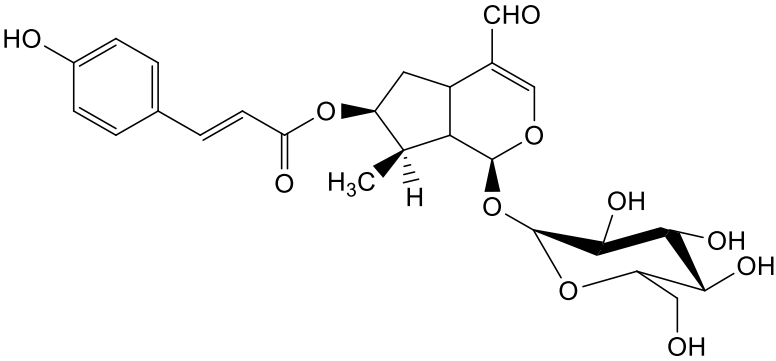
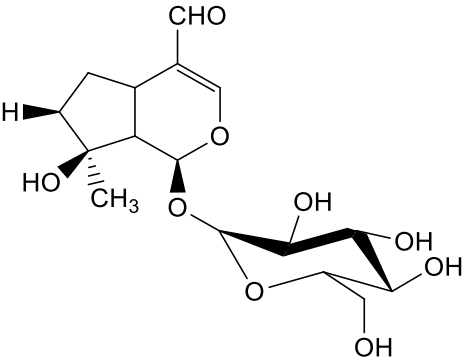
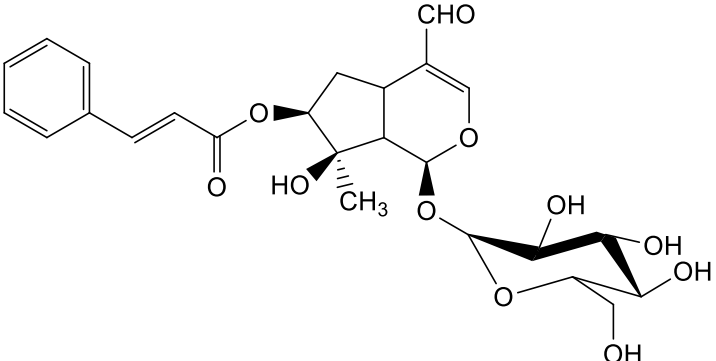
A rota acetato-mevalonato é a via mais explorada em Bignoniaceae, favorecendo a produção significativa e diversificada de derivados iridoidicos com função de marcador taxonômico na família. Em geral, distingue-se dois tipos de iridóides: os carbocíclicos com ocorrência de 61,91% e os secoiridóides presentes em menor quantidades (CIPRIANI et al., 2012).

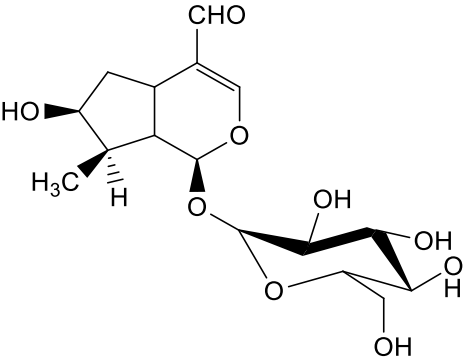
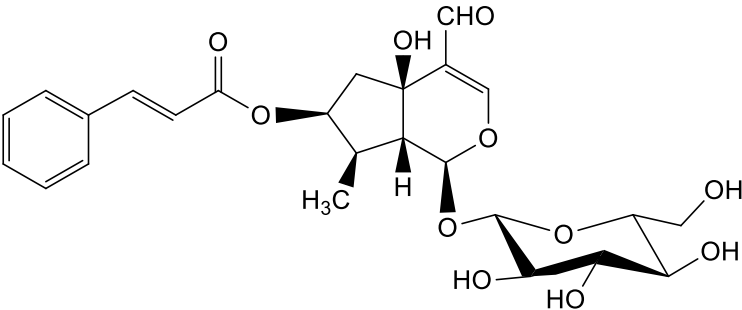
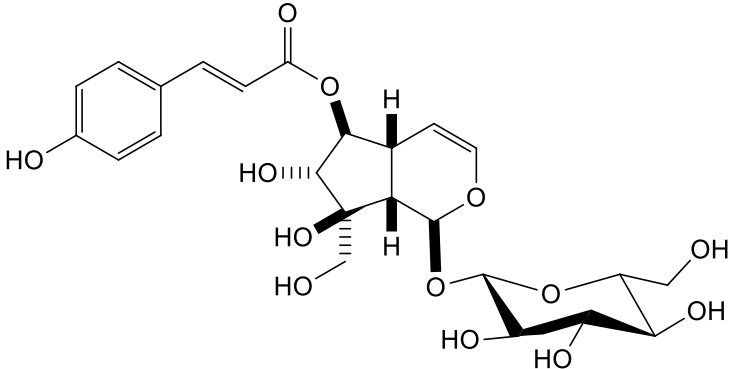
Tal classe é dominante na tribo Tecomeae, com poucas ocorrências para os iridóides glicosídeos C-4 carboxilados na família. A tribo Tecomeae caracteriza-se pela presença de dois tipos de iridóides: Os glicosídeos decarboxilados do gênero *Tabebuia* e os C-4 formil pertencente ao gênero *Tecoma*. Essa classificação química dos tipos de iridóides possibilitam a classificação das diferentes tribos relatadas em Bignoniaceae (POSER et al., 2000).

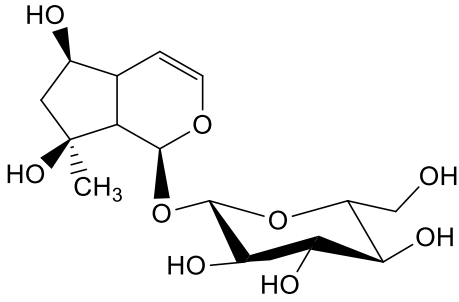
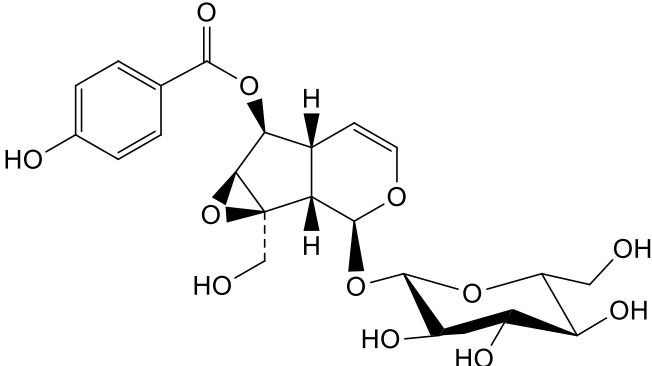
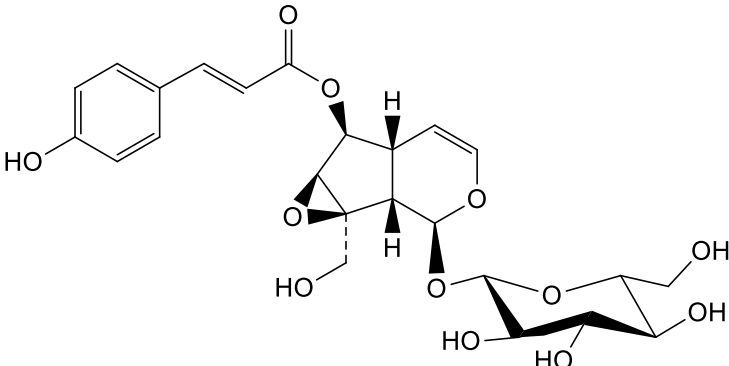
Os iridóides glicosídeos ligados a O- em C-1 são os mais numerosos em Bignoniaceae com representantes em todos os clados, sendo os mais frequentes o catalpol (**58**), o catalposídeo (**45**), o verminosídeo (**77**), o especiosídeo (**46**), o theviridosídeo (**65**), a ipolamídeo (**66**), o plantarenalosídeo (**48**), campsídeo (**40**) e o 6-trans-cafeoil ajugol (**78**). Vários destes iridóides relatados na família apresentaram atividade biológica (RIVIÈRE et al., 2011; MOON et al., 2003). Estes metabólitos, assim como demais exemplos são descritos na Tabela 3.

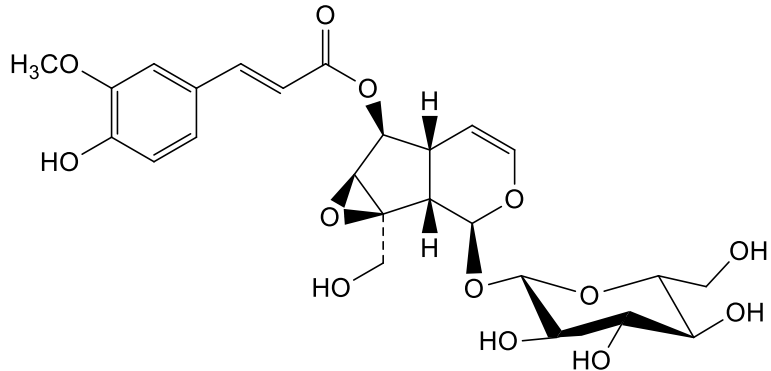
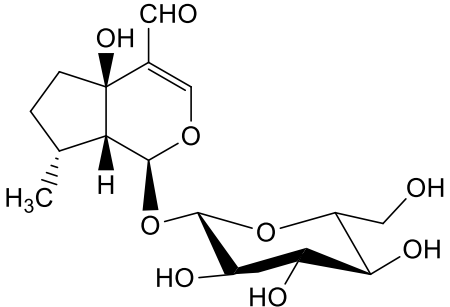
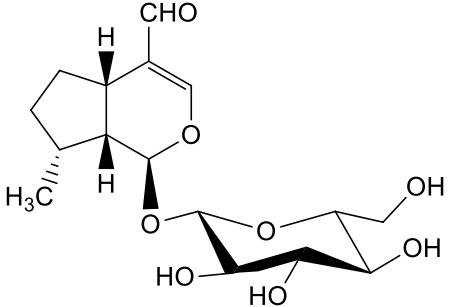
**Tabela 3.** Iridóides isolados de espécies de Bignoniaceae até Março de 2015

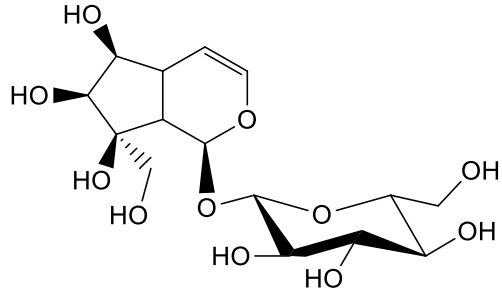
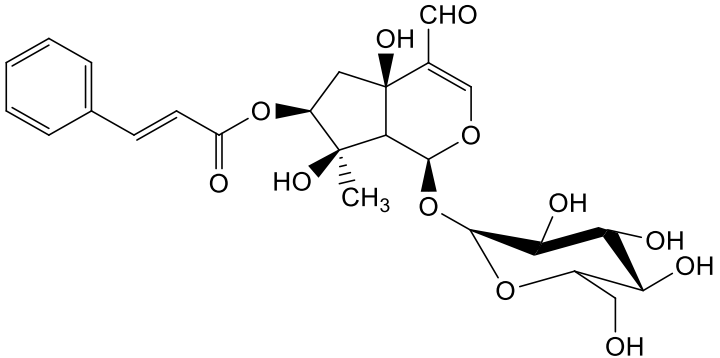
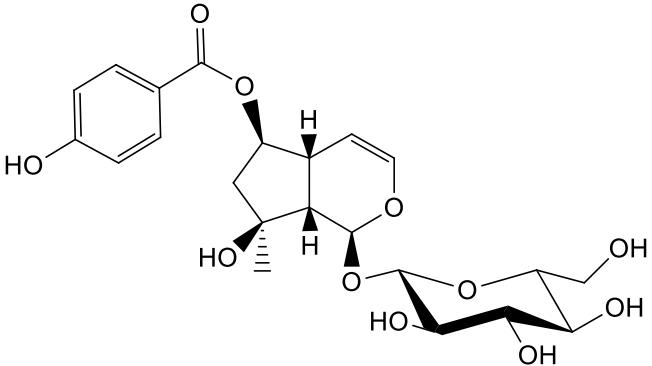
| Substância                                                                                                                                             | Espécie                    | Referência                |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------|---------------------------|
|  <p>Estegiosideo III (<b>35</b>)</p>                                 | <i>Barnettia kerrii</i>    | KANCHANAPOOM et al., 2002 |
|  <p>Campsinol (<b>36</b>)</p>                                         | <i>Campsis grandiflora</i> | HAN et al., 2012          |
|  <p>7-O-(<i>E</i>)-<i>p</i>-Coumaroilcachinesideo V (<b>37</b>)</p> | <i>Campsis grandiflora</i> | HAN et al., 2012          |

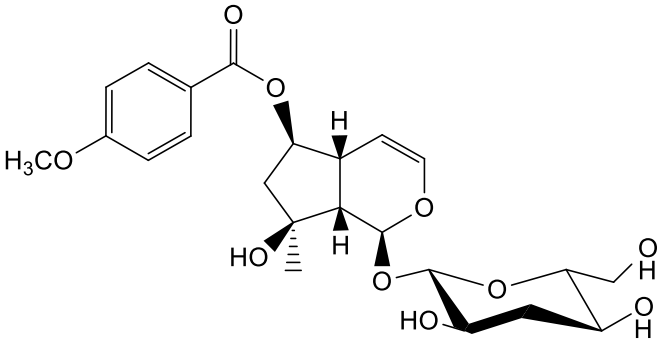
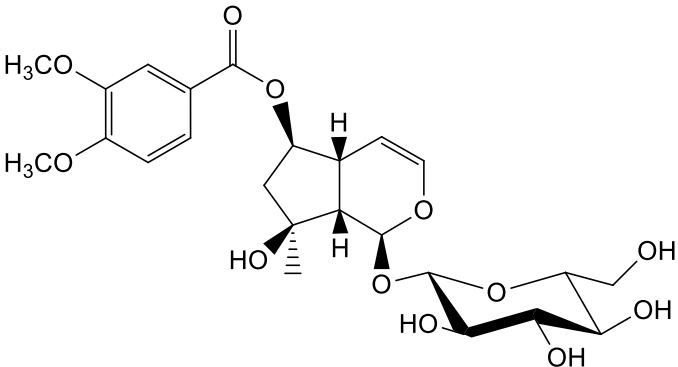
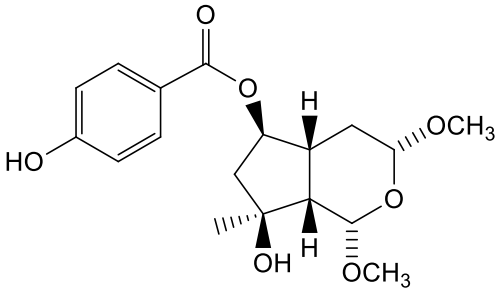
|                                                                                                                                         |                                   |                         |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------|-------------------------|
|  <p>7-O-(Z)-p-Coumaroilcachinesideo I (<b>38</b>)</p> | <p><i>Campsis grandiflora</i></p> | <p>HAN et al., 2012</p> |
|  <p>Ixorosideo (<b>39</b>)</p>                        | <p><i>Campsis grandiflora</i></p> | <p>HAN et al., 2012</p> |
|  <p>Campsisideo (<b>40</b>)</p>                      | <p><i>Campsis grandiflora</i></p> | <p>HAN et al., 2012</p> |

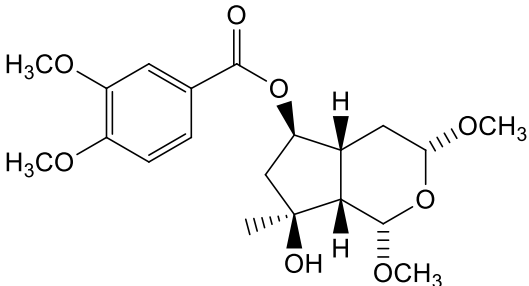
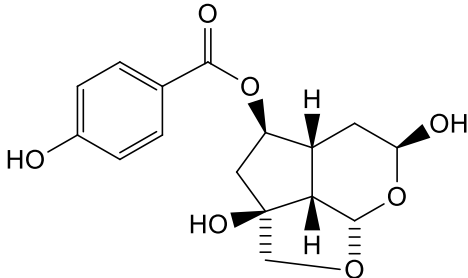
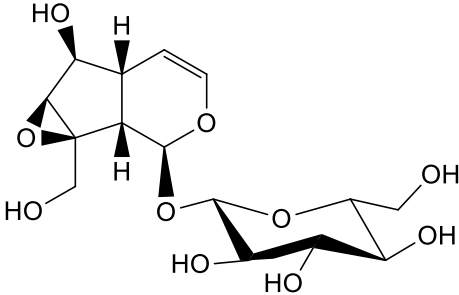
|                                                                                                                             |                                         |                               |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------|-------------------------------|
|  <p>cachinesideo I (<b>41</b>)</p>        | <p><i>Campsis grandiflora</i></p>       | <p>HAN et al., 2012</p>       |
|  <p>5-hydroxicampenosideo (<b>42</b>)</p> | <p><i>Campsis chinensis</i></p>         | <p>IMAKURA et al., 1985</p>   |
|  <p>Estereospermosideo (<b>43</b>)</p>   | <p><i>Stereospermum cylindricum</i></p> | <p>CHOUDHURY et al., 2011</p> |

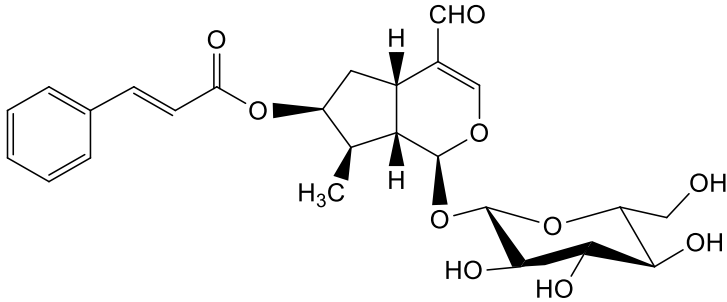
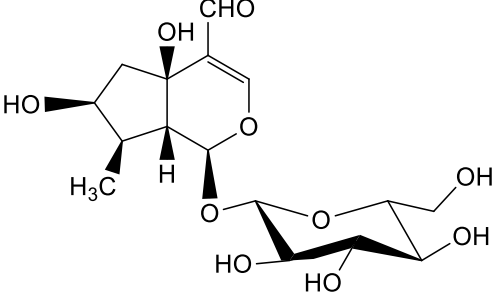
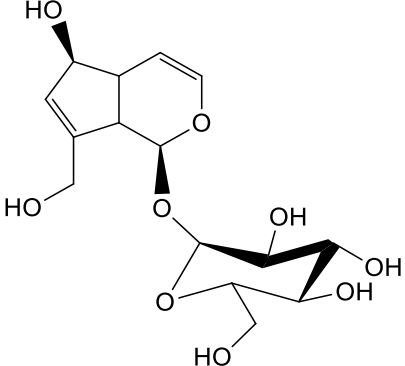
|                                                                                                                     |                                     |                                         |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|-----------------------------------------|
|  <p>Ajugol (<b>44</b>)</p>        | <p><i>Spathodea campanulata</i></p> | <p>PIANARO et al., 2007</p>             |
|  <p>Catalposideo (<b>45</b>)</p>  | <p><i>Catalpa ovata</i></p>         | <p>OH HYUNCHEOL OL et al.,<br/>2002</p> |
|  <p>Especiosideo (<b>46</b>)</p> | <p><i>Catalpa ovata</i></p>         | <p>OH HYUNCHEOL OL et al.,<br/>2002</p> |

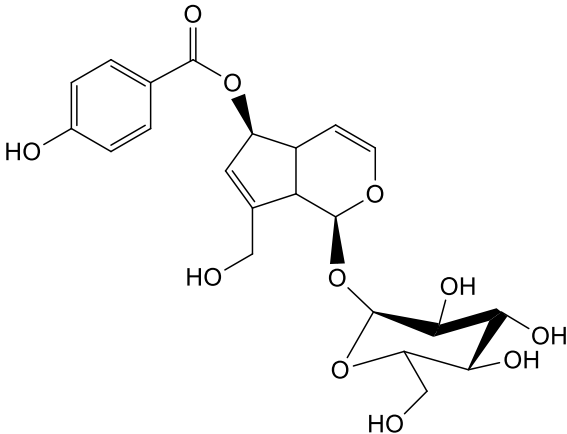
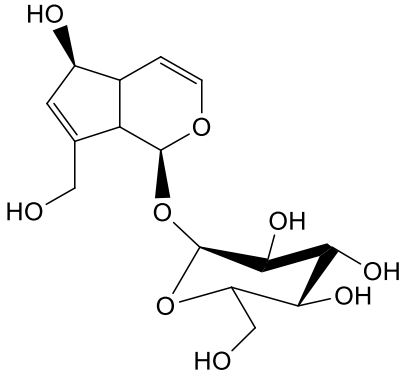
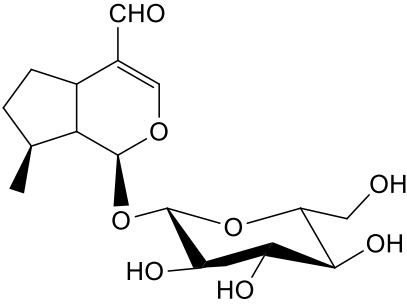
|                                                                                                                        |                                 |                                         |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------|-----------------------------------------|
|  <p>Picroside III (<b>47</b>)</p>    | <p><i>Catalpa ovata</i></p>     | <p>OH HYUNCHEOL OL et al.,<br/>2002</p> |
|  <p>Plantarenaloside (<b>48</b>)</p> | <p><i>Incarvillea emodi</i></p> | <p>RANA et al., 2011</p>                |
|  <p>Boschnaloside (<b>49</b>)</p>   | <p><i>Incarvillea emodi</i></p> | <p>RANA et al., 2011</p>                |

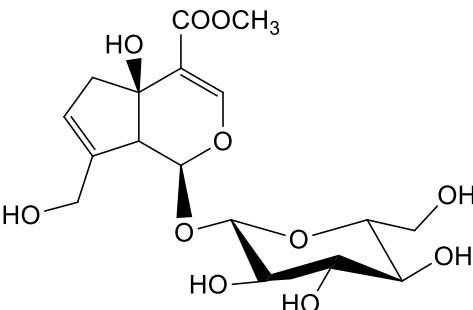
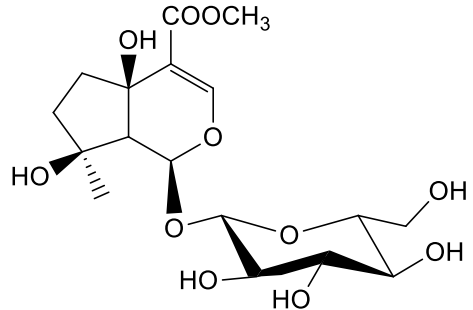
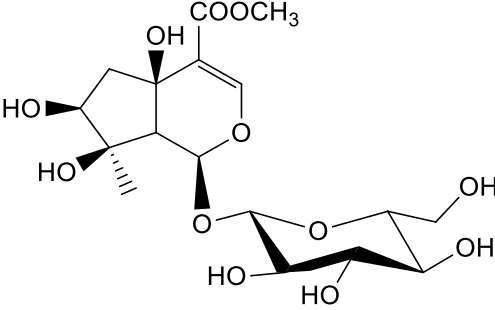
|                                                                                                                                      |                                                              |                                          |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|------------------------------------------|
|  <p>Paulowniosideo (50)</p>                        | <p><i>Paulownia tomentosa</i></p>                            | <p>ADRIANI et al., 1981</p>              |
|  <p>5-hidroxicampsisideo (Pondraneosideo) (51)</p> | <p><i>Pondranea ricasoliana/<br/>Campsis grandiflora</i></p> | <p>GUIISO, 1982<br/>HAN et al., 2012</p> |
|  <p>6-O-<i>p</i>-hidroxibenzoilajugol (52)</p>    | <p><i>Tabebuia heptaphylla</i></p>                           | <p>GARCEZ et al., 2007</p>               |

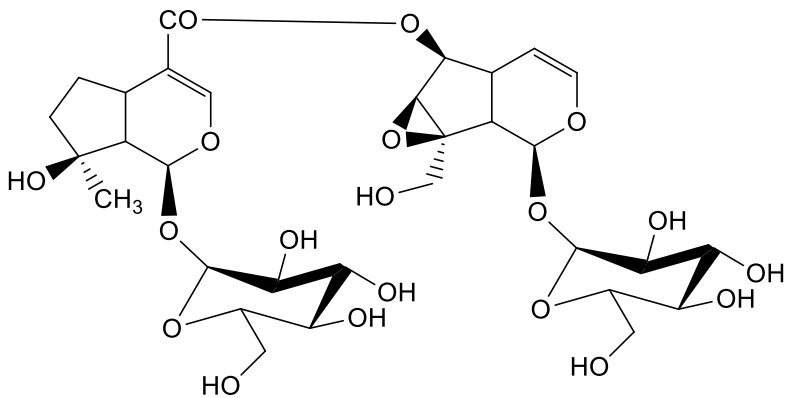
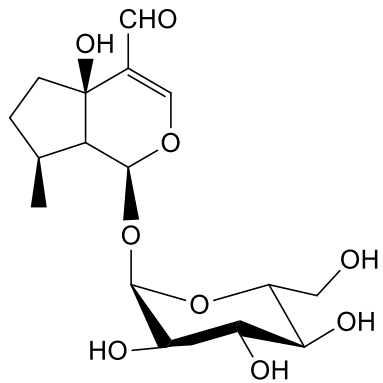
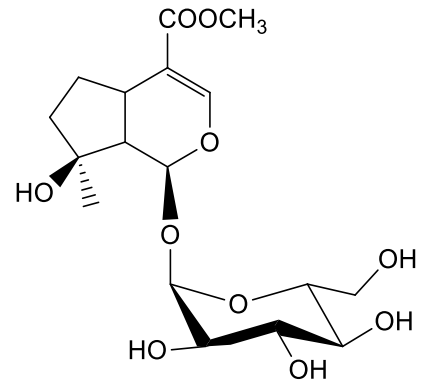
|                                                                                                                                                                                                  |                                    |                            |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|----------------------------|
|  <p>6-O-<i>p</i>-metoxibenzoilajugol (<b>53</b>)</p>                                                           | <p><i>Tabebuia heptaphylla</i></p> | <p>GARCEZ et al., 2007</p> |
|  <p>6-O-3'', 4''- dimetoxibenzoilajugol (<b>54</b>)</p>                                                        | <p><i>Tabebuia heptaphylla</i></p> | <p>GARCEZ et al., 2007</p> |
|  <p>8α-metil-8β-hidróxi-6β-(4'-hidróxi)benzoilóxi-1α,3α-dimetóxi-octaidro-ciclopenta[c]pirano (<b>55</b>)</p> | <p><i>Tabebuia heptaphylla</i></p> | <p>GARCEZ et al., 2007</p> |

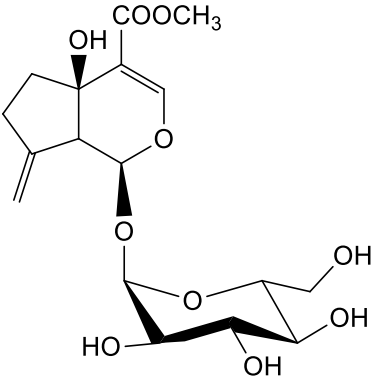
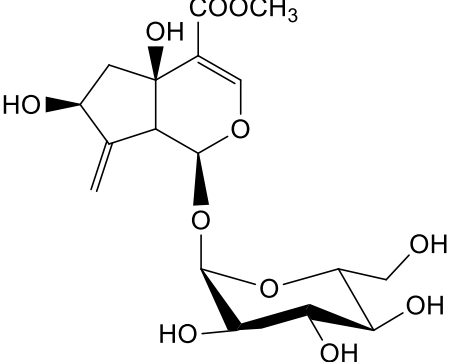
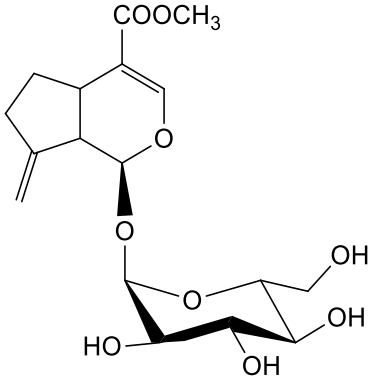
|                                                                                                                                                                                                     |                                    |                                                |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------------------|
|  <p>8α-metil-8β- hidróxi-6β-(3',4'-dimetóxi)benzoilóxi-1α,3α-dimetóxi-octaidrociclopenta[c]pirano <b>(56)</b></p> | <p><i>Tabebuia heptaphylla</i></p> | <p>GARCEZ et al., 2007</p>                     |
|  <p>Catalpina <b>(57)</b></p>                                                                                     | <p><i>Catalpae fructus</i></p>     | <p>NOZAKA et al., 1989</p>                     |
|  <p>Catalpol <b>(58)</b></p>                                                                                     | <p><i>Catalpae fructus</i></p>     | <p>NOZAKA et al., 1989 POSER et al., 2000.</p> |

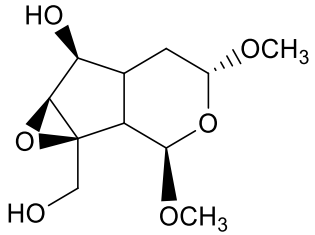
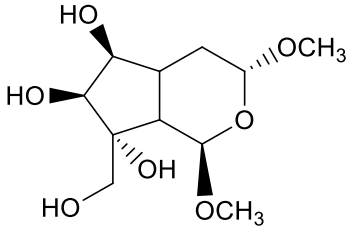
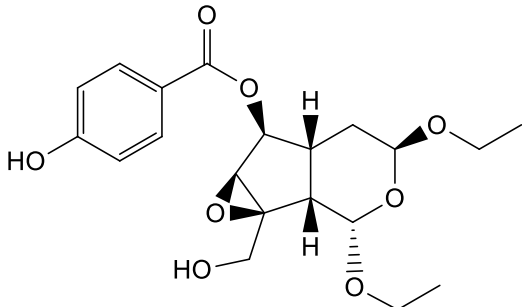
|                                                                                                             |                                   |                             |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------|
|  <p>Campenosideo (59)</p> | <p><i>Campsis chinensis</i></p>   | <p>IMAKURA et al., 1985</p> |
|  <p>Tecomosideo (60)</p>  | <p><i>Campsis chinensis</i></p>   | <p>IMAKURA et al., 1985</p> |
|  <p>Aucubina (61)</p>    | <p><i>Paulownia tomentosa</i></p> | <p>POSER et al., 2000</p>   |

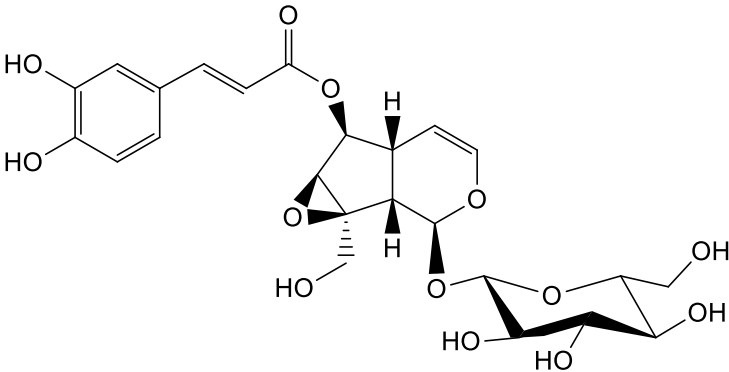
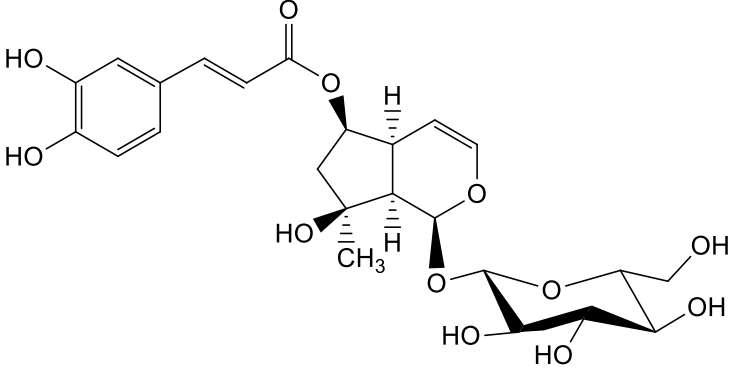
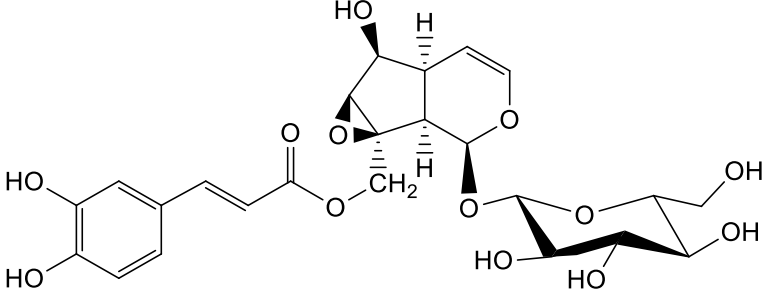
|                                                                                                                                                         |                                    |                           |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|---------------------------|
|  <p>6-O-<i>p</i>-hidroxibenzoil-6-<i>epi</i>-aucubina (<b>62</b>)</p> | <p><i>Tabebuia heptaphylla</i></p> | <p>POSER et al., 2000</p> |
|  <p>6-<i>Epi</i>-aucubina (<b>63</b>)</p>                            | <p><i>Tabebuia chrysantha</i></p>  | <p>POSER et al., 2000</p> |
|  <p>Aldehydico (<b>64</b>)</p>                                      | <p><i>Tecomeae</i> sp.</p>         | <p>POSER et al., 2000</p> |

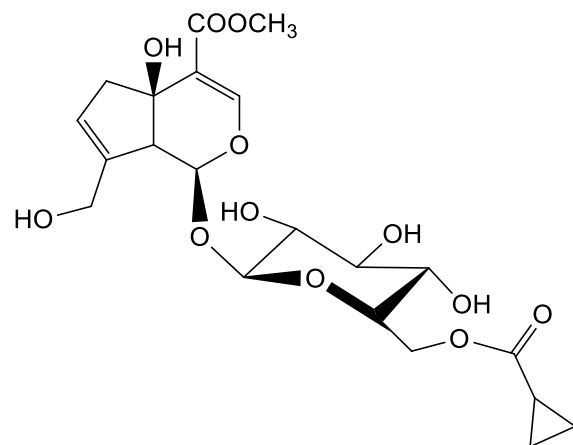
|                                                                                                                      |                                         |                           |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------|---------------------------|
|  <p>Theviridosideo (<b>65</b>)</p> | <p><i>Pithecoctenium crucigerum</i></p> | <p>POSER et al., 2000</p> |
|  <p>Ipolamideo (<b>66</b>)</p>     | <p><i>Pithecoctenium crucigerum</i></p> | <p>POSER et al., 2000</p> |
|  <p>Lamida (<b>67</b>)</p>        | <p><i>Pseudocalymma elegans</i></p>     | <p>POSER et al., 2000</p> |

|                                                                                                                |                                      |                           |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------|---------------------------|
|  <p>Radiatosideo (68)</p>    | <p><i>Argylia radiata</i></p>        | <p>POSER et al., 2000</p> |
|  <p>Estansiosideo (69)</p>   | <p><i>Campsidium valdivianum</i></p> | <p>POSER et al., 2000</p> |
|  <p>Mussaenosideo (70)</p> | <p><i>Argylia radiata</i></p>        | <p>POSER et al., 2000</p> |

|                                                                                                                       |                                       |                           |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------|
|  <p>Methilester Gardosideo (71)</p> | <p><i>Eccremocarpus scaber</i></p>    | <p>POSER et al., 2000</p> |
|  <p>Estrictoloside (72)</p>         | <p><i>Adenocalymna marginatum</i></p> | <p>POSER et al., 2000</p> |
|  <p>7-deoxigardosideo (73)</p>    | <p><i>Argylia radiata</i></p>         | <p>POSER et al., 2000</p> |

|                                                                                                                      |                            |                    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------|--------------------|
|  <p>Ecremocarpol A (<b>74</b>)</p>  | <i>Ecremocarpus scaber</i> | POSER et al., 2000 |
|  <p>Ecremocarpol B (<b>75</b>)</p> | <i>Ecremocarpus scaber</i> | POSER et al., 2000 |
|  <p>Especionina (<b>76</b>)</p>   | <i>Ecremocarpus scaber</i> | POSER et al., 2000 |

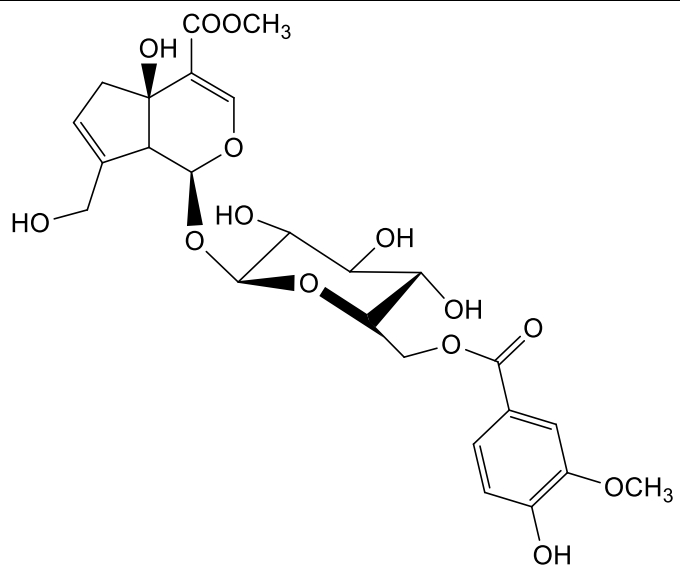
|                                                                                                                                    |                                     |                             |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|-----------------------------|
|  <p>Verminosideo (77)</p>                        | <p><i>Spathodea campanulata</i></p> | <p>POSER et al., 2000</p>   |
|  <p>6-<i>trans</i>-caffeoil-ajugol (78)</p>      | <p><i>Perichlaena richardii</i></p> | <p>RIVIÈRE et al., 2011</p> |
|  <p>10-<i>trans</i>-caffeoil-catalpol (79)</p> | <p><i>Perichlaena richardii</i></p> | <p>RIVIÈRE et al., 2011</p> |



6'-O-ciclopropanoiltheviridosideo (**80**)

*Pithecoctenium crucigerum*

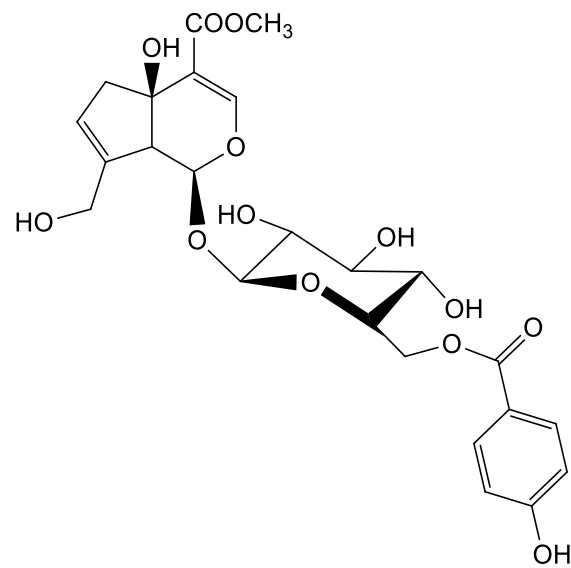
MARTIN et al., 2007



10-O-vanilloiltheviridosideo (**81**)

*Pithecoctenium crucigerum*

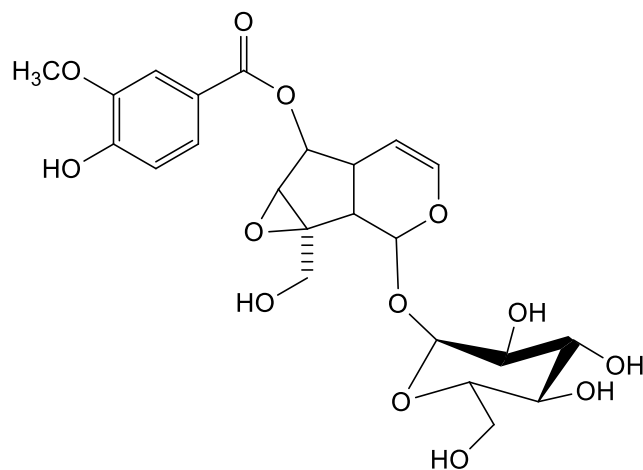
MARTIN et al., 2007



10-O-Hidroxibenzoiltheviridosideo (**82**)

*Pithecoctenium crucigerum*

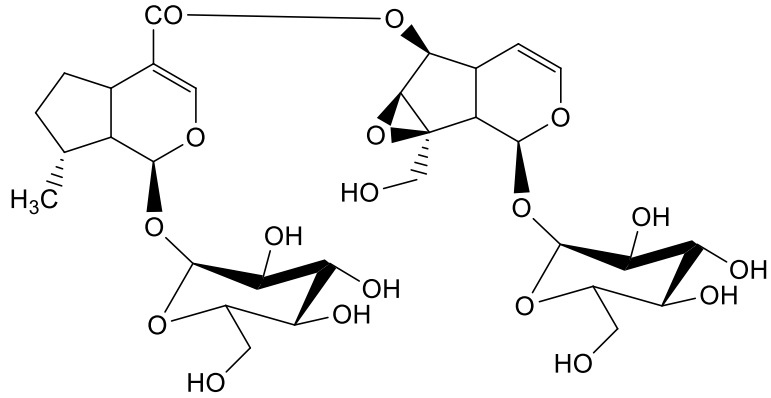
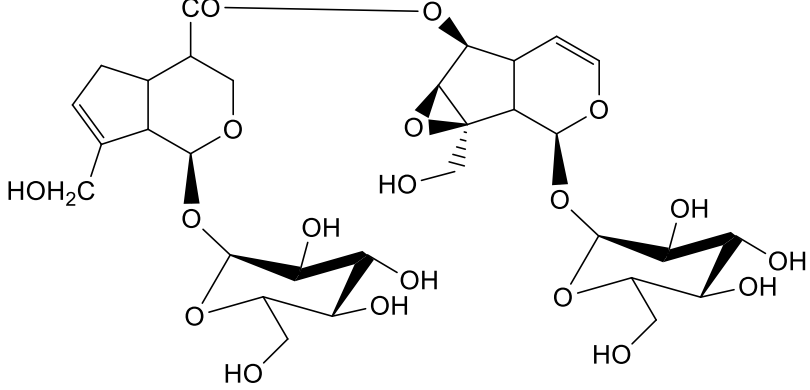
MARTIN et al., 2007

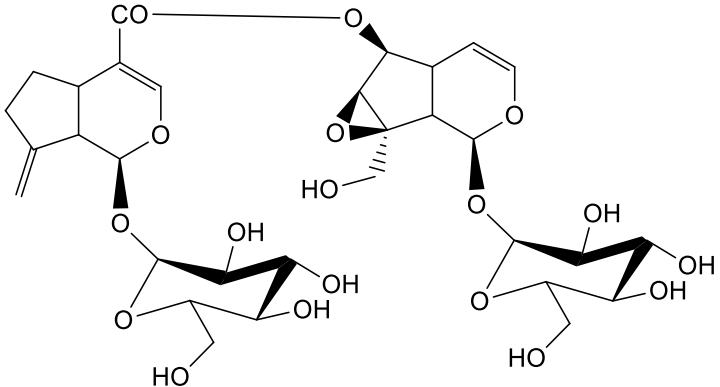
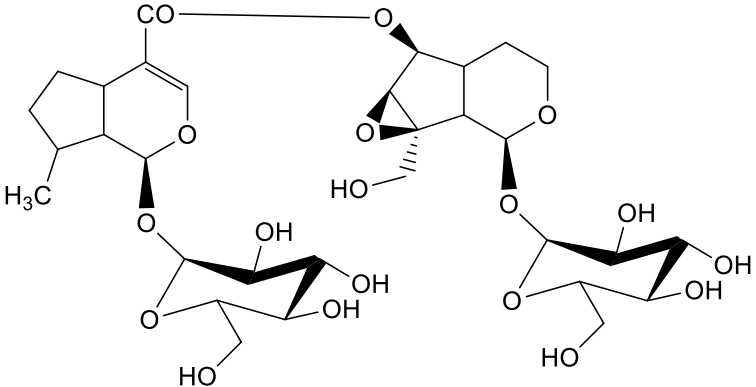
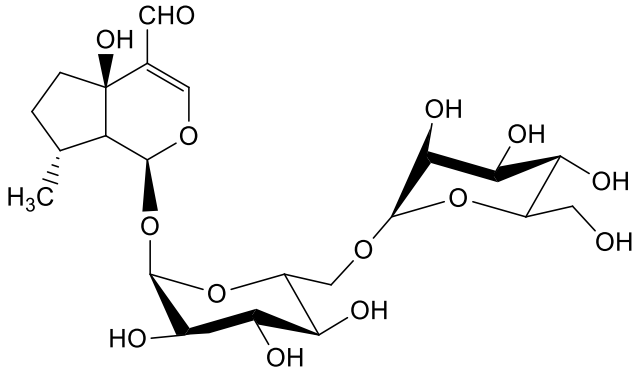


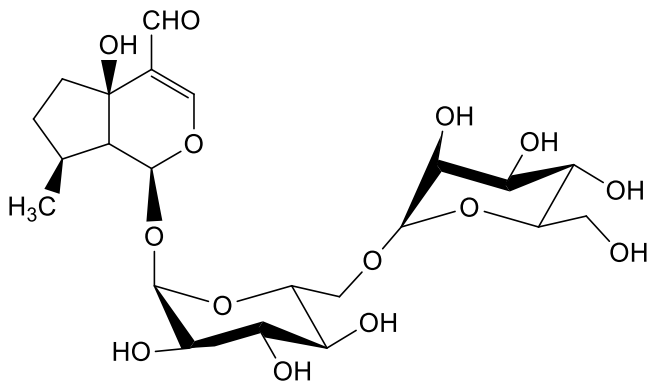
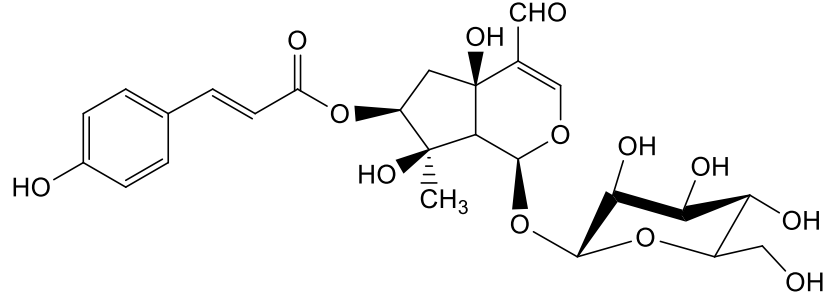
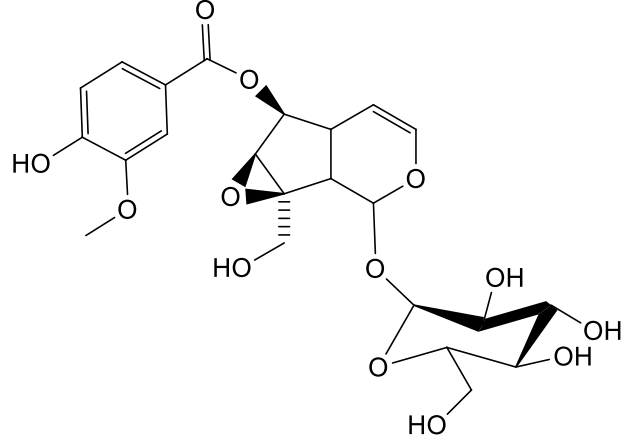
Picrosideo II("amphicosideo I) (**83**)

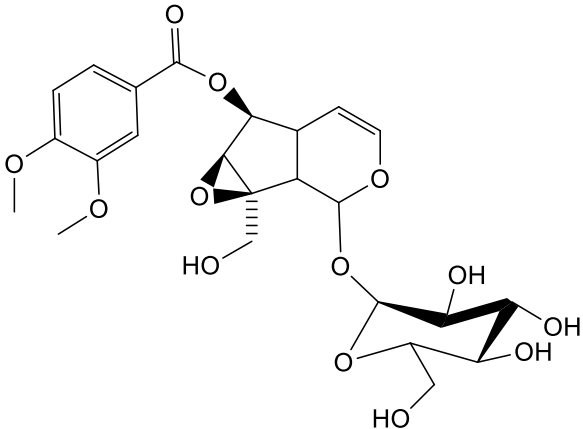
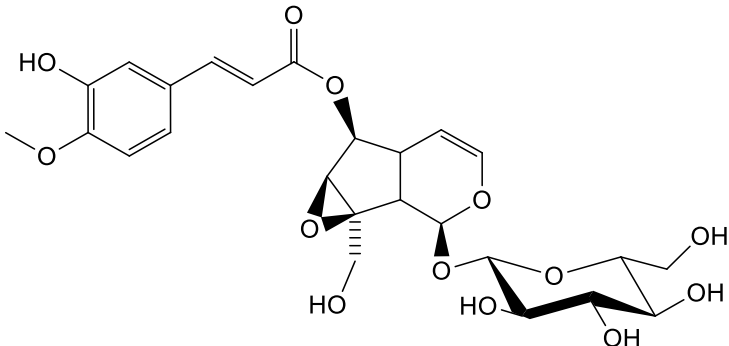
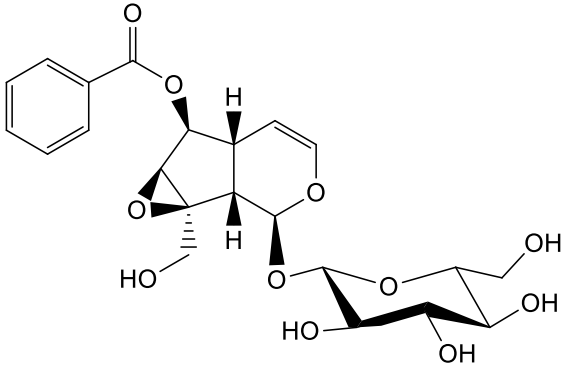
*Amphicome emodi*

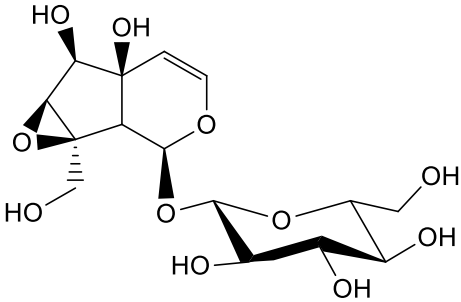
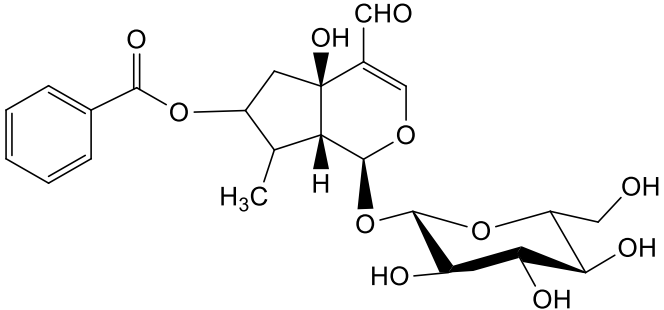
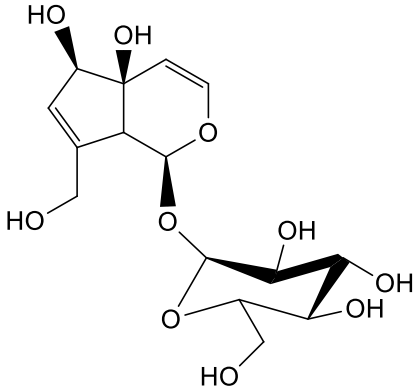
POSER et al., 2000

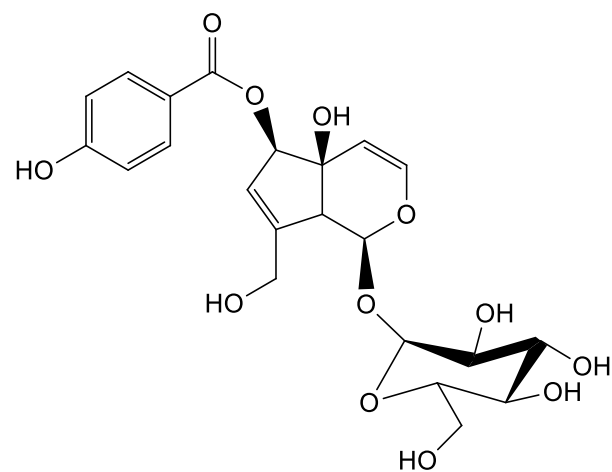
|                                                                                                                       |                               |                           |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|---------------------------|
|  <p>Argiliosideo (<b>84</b>)</p>    | <p><i>Argylia radiata</i></p> | <p>POSER et al., 2000</p> |
|  <p>Radiatosideo B (<b>85</b>)</p> | <p><i>Argylia radiata</i></p> | <p>POSER et al., 2000</p> |

|                                                                                                                                                                       |                                                                  |                                                       |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|
|  <p style="text-align: center;">Radiatosideo C (86)</p>                             | <p style="text-align: center;"><i>Argylia radiata</i></p>        | <p style="text-align: center;">POSER et al., 2000</p> |
|  <p style="text-align: center;">Radiatosideo E (87)</p>                            | <p style="text-align: center;"><i>Argylia radiata</i></p>        | <p style="text-align: center;">POSER et al., 2000</p> |
|  <p style="text-align: center;">Plantarenalosigenin-1-O-β-gentiobiosideo (88)</p> | <p style="text-align: center;"><i>Campsidium valdivianum</i></p> | <p style="text-align: center;">POSER et al., 2000</p> |

|                                                                                                                                            |                                      |                           |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------|---------------------------|
|  <p>Estansiosigenin-1-O-β-gentiobiosideo (<b>89</b>)</p> | <p><i>Campsidium valdivianum</i></p> | <p>POSER et al., 2000</p> |
|  <p>Cachinesideo III (<b>90</b>)</p>                     | <p><i>Campsis chinensis</i></p>      | <p>POSER et al., 2000</p> |
|  <p>Amphicosideo (<b>91</b>)</p>                        | <p><i>Catalpa bignonioides</i></p>   | <p>POSER et al., 2000</p> |

|                                                                                                                              |                                    |                           |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|---------------------------|
|  <p>6-O-veratroil catalpol (<b>92</b>)</p> | <p><i>Catalpa bignonioides</i></p> | <p>POSER et al., 2000</p> |
|  <p>Minecosideo (<b>93</b>)</p>           | <p><i>Catalpa bignonioides</i></p> | <p>POSER et al., 2000</p> |
|  <p>Veronicosideo (<b>94</b>)</p>        | <p><i>Catalpa bignonioides</i></p> | <p>POSER et al., 2000</p> |

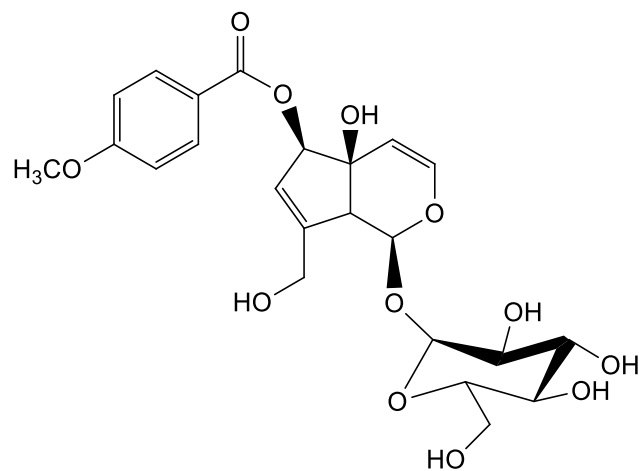
|                                                                                                                                                           |                                        |                           |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------|---------------------------|
|  <p>Macfadienosideo (<b>95</b>)</p>                                     | <p><i>Cybistax antisiphilitica</i></p> | <p>POSER et al., 2000</p> |
|  <p>7-O-benzoiltecomosideo (<b>96</b>)</p>                              | <p><i>Incarvillea olgae</i></p>        | <p>POSER et al., 2000</p> |
|  <p>5-hidroxi-6-epi-aucubina ("6-epi-monomelittosideo) (<b>97</b>)</p> | <p><i>T. heptaphylla</i></p>           | <p>POSER et al., 2000</p> |



6-*O*-*p*-hidroxi-benzoil-*epi*-monomelitosideo (**98**)

*T. heptaphylla*

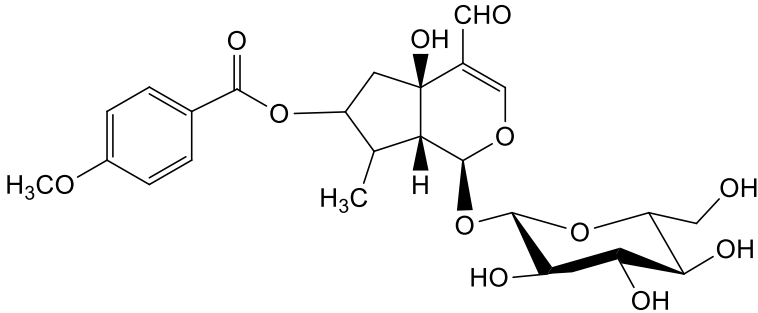
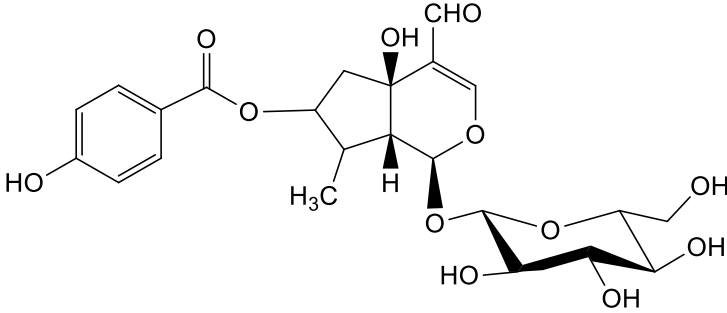
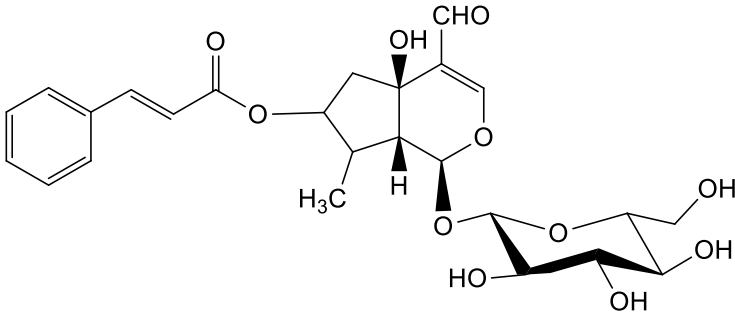
POSER et al., 2000

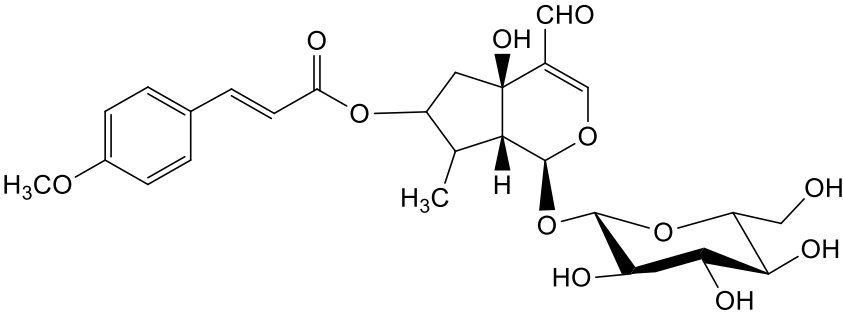
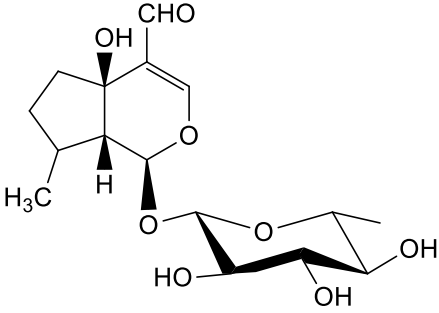
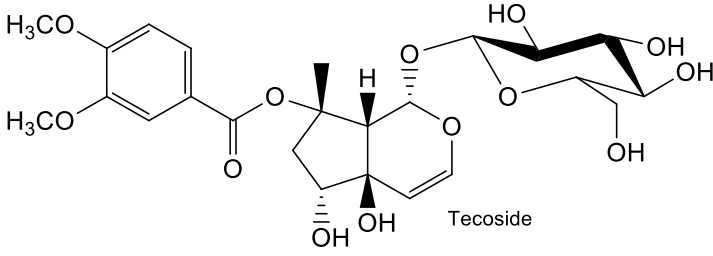


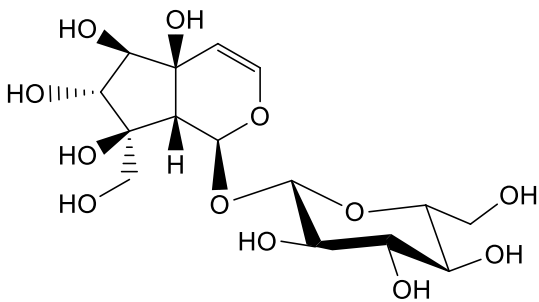
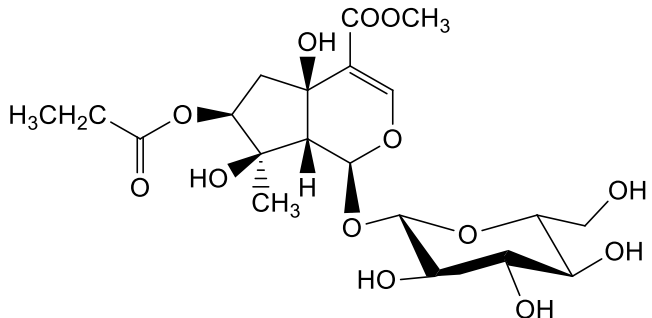
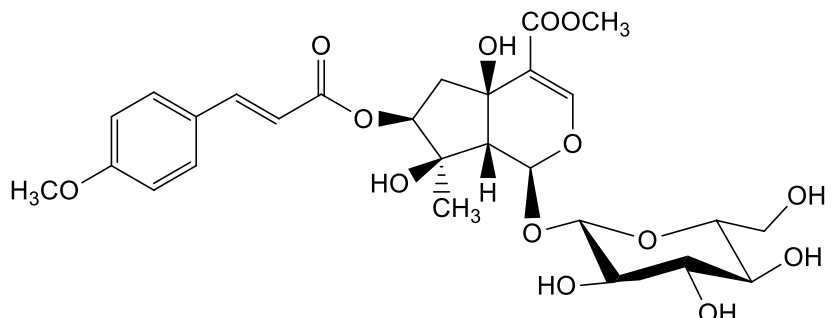
6-*O*-*p*-metoxi-benzoil-*epi*-monomelitosideo (**99**)

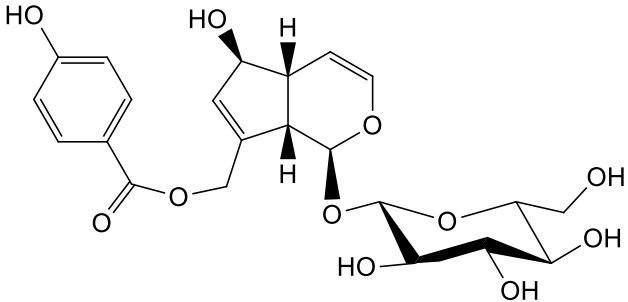
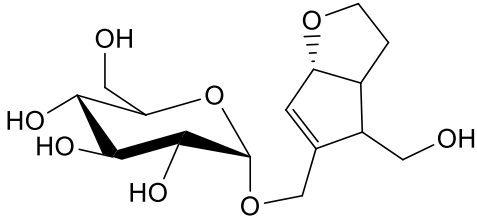
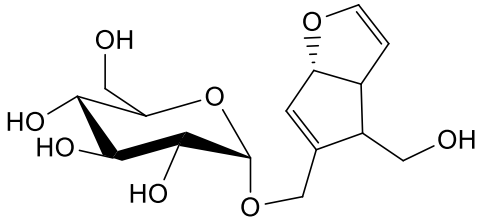
*T. heptaphylla*

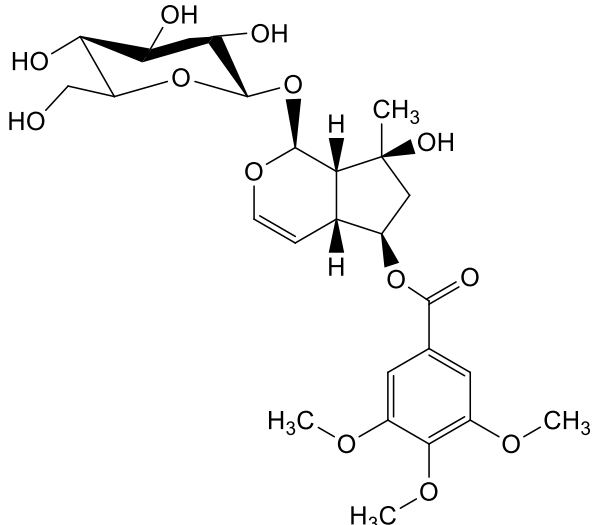
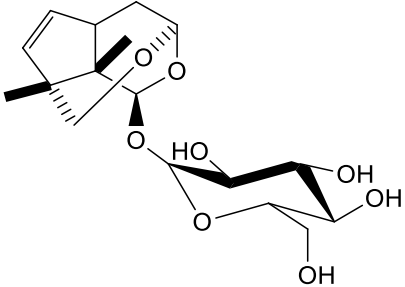
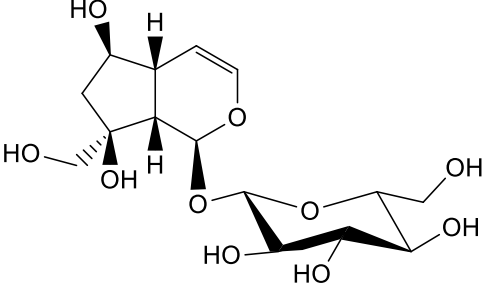
POSER et al., 2000

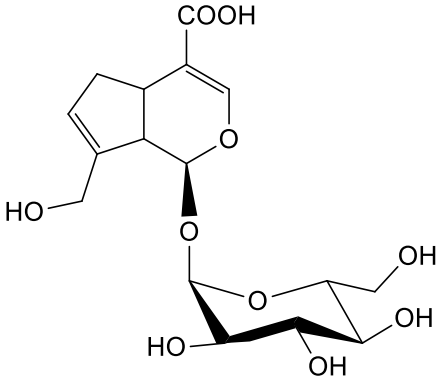
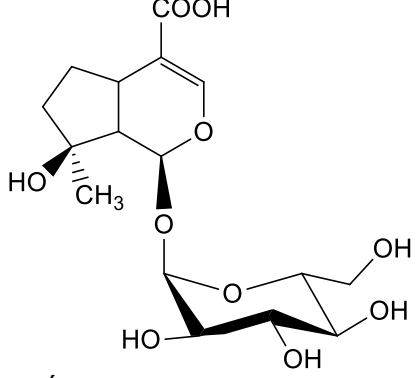
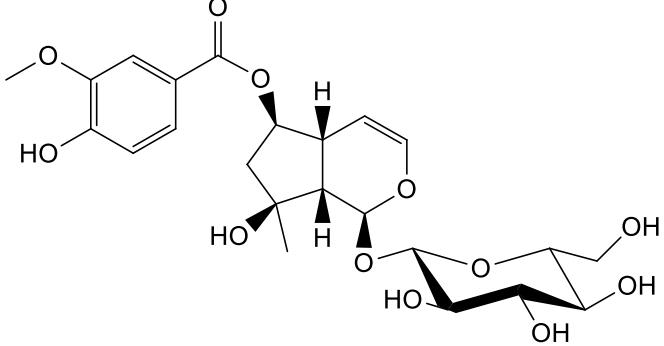
|                                                                                                                                                 |                               |                           |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|---------------------------|
|  <p>7-O-<i>p</i>-metoxi-benzoil tecomosideo (<b>100</b>)</p>  | <p><i>Tecoma capensis</i></p> | <p>POSER et al., 2000</p> |
|  <p>7-O-<i>p</i>-hidroxi-benzoil tecomosideo (<b>101</b>)</p> | <p><i>Tecoma capensis</i></p> | <p>POSER et al., 2000</p> |
|  <p>7-O-<i>p</i>-cinamoil tecomosideo (<b>102</b>)</p>       | <p><i>Tecoma capensis</i></p> | <p>POSER et al., 2000</p> |

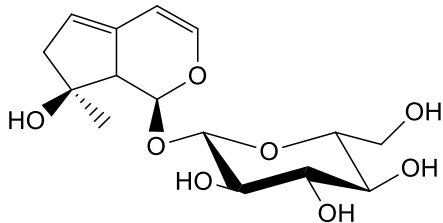
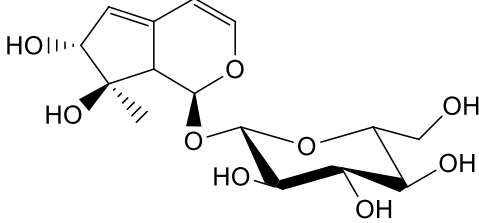
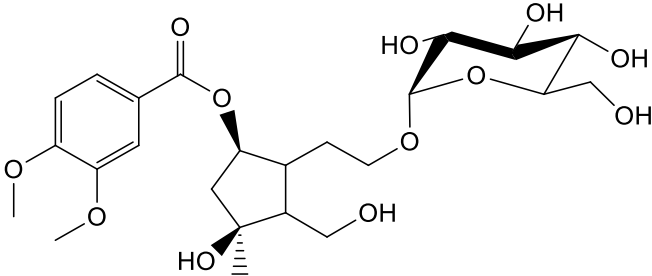
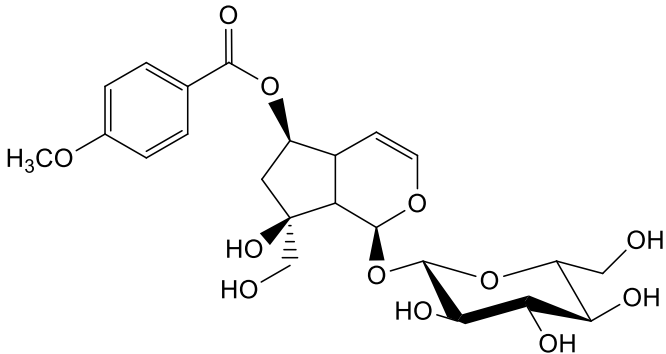
|                                                                                                                                                |                                  |                           |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------|---------------------------|
|  <p>7-O-<i>p</i>-metoxycinamoil-tecomosideo (<b>103</b>)</p> | <p><i>Tecoma capensis</i></p>    | <p>POSER et al., 2000</p> |
|  <p>5-deoxistansiosideo (<b>104</b>)</p>                     | <p><i>T. stans</i> Juss</p>      | <p>POSER et al., 2000</p> |
|  <p>Tecosideo (<b>105</b>)</p>                              | <p><i>Tecomella undulata</i></p> | <p>POSER et al., 2000</p> |

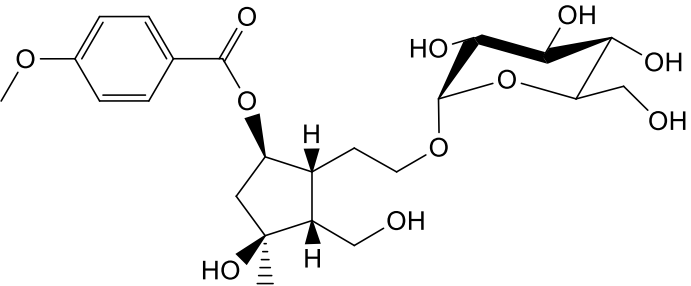
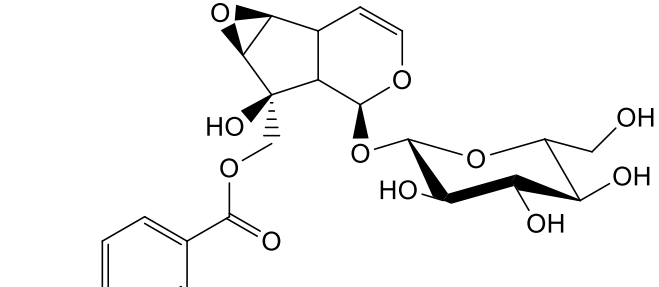
|                                                                                                                   |                                        |                           |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------|---------------------------|
|  <p>Cinancosideo (106)</p>      | <p><i>Dolichandra cynanchoides</i></p> | <p>POSER et al., 2000</p> |
|  <p>Pseudocalimosideo (107)</p> | <p><i>Pseudocalymma elegans</i></p>    | <p>POSER et al., 2000</p> |
|  <p>Durantosideo II (108)</p>  | <p><i>Pseudocalymma elegans</i></p>    | <p>POSER et al., 2000</p> |

|                                                                                                                          |                         |                           |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------|---------------------------|
|  <p>Agnusideo (<b>109</b>)</p>         | <p><i>C. kujete</i></p> | <p>POSER et al., 2000</p> |
|  <p>Crescentosideo A (<b>110</b>)</p>  | <p><i>C. kujete</i></p> | <p>POSER et al., 2000</p> |
|  <p>Crescentosideo B (<b>111</b>)</p> | <p><i>C. kujete</i></p> | <p>POSER et al., 2000</p> |

|                                                                                                                                             |                                        |                               |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------|-------------------------------|
|  <p>6-O-(3,4,5-trimethoxybenzoyl)-ajugol (<b>112</b>)</p> | <p><i>Tabebuia impetiginosa</i></p>    | <p>WARASHINA et al., 2004</p> |
|  <p>Crescentosideo C (<b>113</b>)</p>                    | <p><i>C. kujete</i> L.</p>             | <p>POSER et al., 2000</p>     |
|  <p>5,7-bisdeoxycinanchosideo (<b>114</b>)</p>          | <p><i>Dolichandra cynanchoides</i></p> | <p>POSER et al., 2000</p>     |

|                                                                                                                               |                                   |                           |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------|---------------------------|
|  <p>Ácido Geniposídico (<b>115</b>)</p>     | <p><i>Argylia radiata</i></p>     | <p>POSER et al., 2000</p> |
|  <p>Ácido Mussaenosídico (<b>116</b>)</p>   | <p><i>Argylia radiata</i></p>     | <p>POSER et al., 2000</p> |
|  <p>6-O-vanilloil-ajugol (<b>117</b>)</p> | <p><i>Radermachera sinica</i></p> | <p>POSER et al., 2000</p> |

|                                                                                                                                                                           |                                     |                               |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------|
|  <p>Tomentosideo (<b>118</b>)</p>                                                       | <p><i>Paulownia tomentosa</i></p>   | <p>POSER et al., 2000</p>     |
|  <p>7-hidroxi-tomentosideo (<b>119</b>)</p>                                             | <p><i>Paulownia tomentosa</i></p>   | <p>POSER et al., 2000</p>     |
|  <p>6-O-(3,4-dimetoxibenzoil)-crescentina IV 3-O-β-D-glicopiranosideo (<b>120</b>)</p> | <p><i>Tabebuia impetiginosa</i></p> | <p>WARASHINA et al., 2005</p> |
|  <p>6-O-(4-metoxibenzoil)-5,7-bisdeoxicinanchosideo (<b>121</b>)</p>                  | <p><i>Tabebuia impetiginosa</i></p> | <p>WARASHINA et al., 2005</p> |

|                                                                                                                                                                      |                                     |                               |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------|
|  <p>6-O-(4-metoxibenzoil)-crescentina IV 3-O-β-D-glicopiranosideo (<b>122</b>)</p> | <p><i>Tabebuia impetiginosa</i></p> | <p>WARASHINA et al., 2005</p> |
|  <p>10-O-(4-metoxibenzoil)-impetiginosideo A (<b>123</b>)</p>                      | <p><i>Tabebuia impetiginosa</i></p> | <p>WARASHINA et al., 2005</p> |

Muitos iridóides isolados de Bignoniaceae apresentaram alguma atividade biológica. À exemplo, Tundis e colaboradores (2008) em um trabalho de revisão discutiram a relação existente entre os iridóides e as suas propriedades biológicas e farmacológicas, possibilitando direcionar a atividade anti-inflamatória aos iridóides: catalpol (**58**), lamida (**67**), ipolamideo (**66**), verminosideo (**77**), aucubina (**61**) e catalposideo (**45**). Destes, a aucubina apresentou atividade, antitumoral, anti-oxidante e antimicrobiana frente *Staphylococcus aureus*, enquanto catalpol apresentou atividade antinociceptiva (TUNDIS et al., 2008).

E ainda, o iridóide theviridose (65) demonstrou atividade anti-inflamatória (PREETI et al., 2013), enquanto especiosideo (**46**) e verminosideo (**77**) quando testados frente a *Entamoeba histolytica* mostraram atividade antiamoebica igual e superior ao fármaco padrão utilizado (metronidazol). O especiosideo (**46**) também apresentou ação analgésica, antidiséptico, adstringente, estimulante do fígado e propriedades cicatrizantes (BHARTI et al., 2006; ASTHANA et al., 2015).

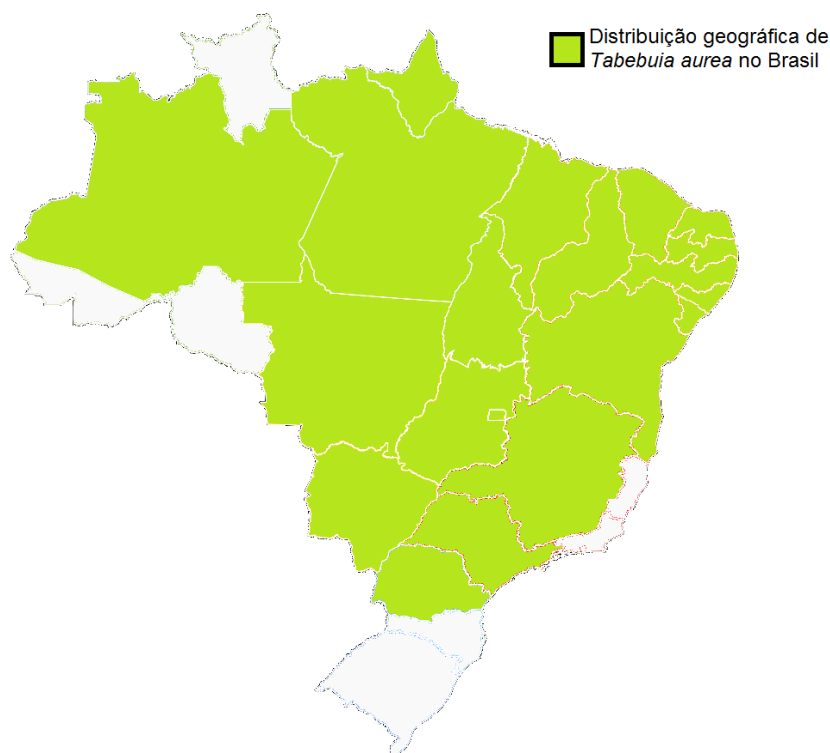
### **3.4. *Tabebuia aurea* (Silva Manso) Benth & Hook**

A espécie *T. aurea* caracteriza-se por árvores bem ramificadas que podem atingir 10 a 12 metros de altura, constituídas por tronco com 30 a 50 cm de diâmetro arredondado com as cascas na cor cinza pálido, as folhas alternas compostas digitadas (5 a 7 folíolos) glabra, oblonga e verde-claro (FREIRE & GOMES, 2013; CAPUZZO, 2011). As flores grandes e tubulosas de coloração amarelo-ouro, geralmente aparecem nos meses de julho estendendo-se até o mês de setembro onde as árvores encontram-se quase despidas de folhas (DURIGAN et al., 2004; REGUSA-NETTO 2005; SOARES & OLIVEIRA, 2009), já seus frutos com aproximadamente 25 cm de comprimento e 3 cm de largura, apresentam cápsula loculicida valvar, glabra, cilíndrica e levemente achatada (Figura 5) (DURIGAN et al., 2004).



**Figura 5** - Folhas, frutos e flores de *T. aurea*. Fonte: [http://timblindim.files.wordpress.com/2008/02/ipe\\_amarelo\\_4x.jpg](http://timblindim.files.wordpress.com/2008/02/ipe_amarelo_4x.jpg)

A presença da planta é indício de terra boa para pastos, sendo estas predominantes em regiões inundáveis, argilosas, com solos arenosos, cerradões ou em capões de cerrado não alagados, formando assim a vegetação dos “Paratudais” (OLIVEIRA et al., 2006; POTT & POTT, 1994). Durante sua floração as abelhas e zangões são os principais polinizadores das flores e o néctar produzido atrai diversos pássaros que os consome para reposição de energia (BRAGA & COLLEVATTI, 2011; RAGUSA-NETTO, 2005). As sementes são dispersas pelo vento favorecendo a proliferação da espécie em todo o território nacional destacando-se nos estados do Amazonas, Amapá, Pará Tocantins, Alagoas, Bahia, Ceará, Maranhão, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do Norte, Sergipe, Distrito Federal, Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, São Paulo e Paraná (Figura 6) (SOARES & OLIVEIRA, 2009; LOHMANN, 2013).



**Figura 6** - Mapa da Distribuição geográfica de *T. aurea*. Fonte: <http://reflora.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB114257>

Ipê-amarelo, paratudo, caraíba, caraibeira ou ipê do cerrado são alguns nomes regionais dados a *Tabebuia aurea*, uma espécie muito conhecida em decorrência do seu valor sócio-econômico e medicinal, sendo empregada como fonte de corante amarelo em comunidades rurais, na construção civil e carpintaria para confecções de ferramentas, móveis, caixotarias, artigos esportivos e diversas outras obras externas, além do seu uso na arborização e jardinagem de algumas cidades (OLIVEIRA & GUALTIERI, 2011; SOARES & OLIVEIRA, 2009).

Segundo POTT & POTT (1994), o paratudo é um “santo remédio” para os pantaneiros por auxiliá-los na cura de diversas doenças. Nos campos eles consomem a água ou o leite as quais as cascas foram embebidas com o intuito de combater amarelão, diabete, febre, malária e hepatite (POTT & POTT, 1994). E ainda, as cascas são ingeridas na forma de chá em decorrência de sua ação diurética, enquanto as raízes curtidas em bebidas como cachaças ou vinhos servem para combater gripes e resfriados (OLIVEIRA et al., 2006).

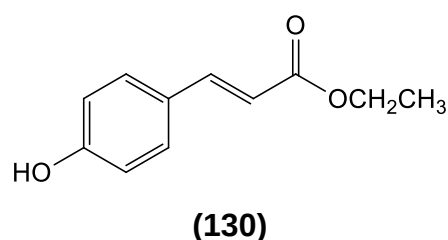
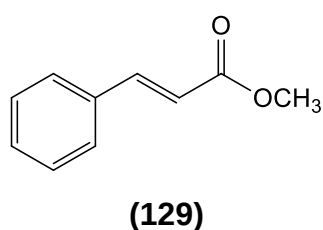
Relatos populares afirmam que as cascas do caule também são utilizadas na forma de infusão, mastigação ou maceração em álcool para tratar inflamações e hemorragias decorrentes de picadas de cobras. Avaliando-se o efeito do extrato hidroetanólico das cascas de *T. aurea* frente ao veneno de *Bothrops neuwiedi*, Reis e colaboradores (2014)

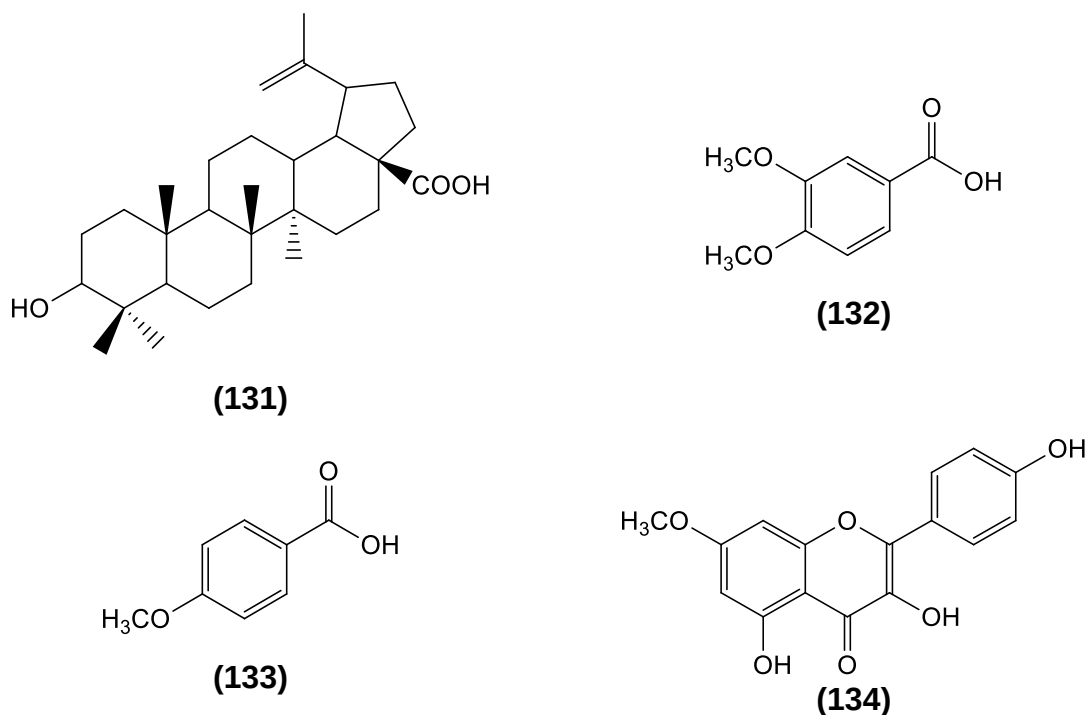
comprovaram a veracidade de tais informações (REIS et al, 2014). O extrato etanólico de ramos com folhas de *T. aurea*, demonstrou que a espécie possui significativa atividade inseticida sobre as lagartas de *Spodoptera frugiperda*, sendo portanto uma alternativa natural no combate as pragas que destroem as plantações de milho (RODRIGUES et al., 2008).

Outras propriedades medicinais são descritas, dentre elas antianêmica, antitérmica, anti-inflamatória, vermífuga, purgativa e anticancerígena, além da ação abortiva relatada na Argentina (SOARES & OLIVEIRA, 2009; BARBOSA-FILHO et al., 2004).

Todas essas propriedades estão relacionadas a uma combinação ou ação individual de alguns metabólitos presentes na espécie aos quais incluem as classes dos flavonoides, terpenoides, naftoquinonas e alguns ácidos (Figura 7) (BARBOSA-FILHO et al., 2004).

Até o presente momento, há relato na literatura do estudo fitoquímico de *T. aurea* desenvolvido por Barbosa-Filho e colaboradores (2004), que ao estudar o extrato das cascas do caule da espécie isolou e identificou:  $\beta$ -sitosterol (Tabela 2, p.16), metilcinamato (**129**), *p*-hidroxi-cinamato de etila (**130**), ácido betulínico (**131**), ácido verátrico (**132**), ácido *p*-anísico (**133**), 3,4',5 - triidroxi-7-metoxi flavona (**134**) e Lapachol (**31**) (Ver Figura 7). Quando testados frente à *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis* todos, exceto o ácido betulínico, foram ativos. Além disso, o *p*-hidroxi-cinamato de etila (**130**) mostrou-se ativo contra a bactéria Gram negativa *Escherichia coli* e o fungo *Candida albicans* (BARBOSA-FILHO et al., 2004).





**Figura 7** - Compostos Químico isolados de *T. aurea*.

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1. Reagentes e equipamentos

O material vegetal foi moído em moinho de facas da marca Marconi, modelo MA 580/E.

Para a Separação das substâncias foram utilizadas colunas em vidro de vários tamanhos e diâmetros, empacotadas com gel de sílica 60 (70-230 mesh ou 230-400 flash) das marcas Macherey-Nagel, Vetec, Carvalhaes e Silicycle, bem como celulose microcristalina da marca Synth, eluídas a pressão atmosférica. Também foram utilizados como adsorventes XAD-16 (amberlite) e Sephadex<sup>TM</sup> LH-20 ambos da Sigma/Aldrich.

Para as análises cromatográficas em camada delgada preparativa (CCDP) foram preparadas placas de vidro 20 x 20 cm com uma suspensão de água destilada e 15 g de sílica gel 60 (9 g PF<sub>254</sub> e 6 g G) ambas das marcas Vetec ou Merck. Após secagem em temperatura ambiente as placas foram ativadas por 2 horas a 100 °C em estufa. A recuperação da amostra aplicada foi feita com solventes orgânicos.

Nas análises comparativas das frações por cromatografia em camada delgada analítica (CCDA) foram utilizadas cromatoplasas de alumínio 20x20 cm revestidas com sílica gel 60 F254 da Merck.

Os solventes utilizados para extração, fracionamento, purificação e reações foram de grau P.A das marcas Vetec, Dinâmica, Synth, Tedia, Sigma Aldrich e Neon.

As revelações das substâncias foram efetuadas mediante radiação UV no comprimento de onda 254 e 365 nm, bem como vanilina sulfúrica e vapores de iodo.

Para determinação do ponto de fusão da substância utilizou-se aparelho da marca MS TECNOPON modelo PFM-II. Equipamento pertencente à LPQPN/UFMT

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$ , incluindo os experimentos em 2D, foram obtidos em espectrômetros Bruker DRX-500 (500 MHz para  $^1\text{H}$  e 125 MHz para  $^{13}\text{C}$ ) e JEOL JNM-GX-400 (400 MHz para  $^1\text{H}$  e 100 MHz para  $^{13}\text{C}$ ), utilizando o tetrametilsilano (TMS) como padrão interno. Os solventes deuterados utilizados foram clorofórmio ( $\text{CDCl}_3$ ), Metanol ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ) e dimetilsulfóxido ( $\text{DMSO}-d_6$ ) da Merck. Os deslocamentos químicos ( $\delta$ ) são indicados em parte por milhão (ppm) e as constantes de acoplamento ( $J$ ) em Hertz (Hz). Equipamento pertencente à LQPN/UFRRJ.

Os espectros de massas de baixa resolução foram registrados em cromatógrafo gasoso (CG) acoplado a espectrômetro de massas com ionização por impacto de elétrons a 70 e.V, modelo Shimadzu GCMS-QP2010 Plus do Departamento de Química da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

O espectro de massas de alta resolução foi obtido mediante espectrômetro ESI-TOF com ionização por elétron spray (ESI) e detecção de íons positivo, micrOTOF, Bruker Daltonics, Central Analítica do Instituto de Química da USP.

#### **4.2. Material botânico de *Tabebuia aurea***

Raízes e Cascas do caule da espécie *T.aurea* foram coletadas na Fazenda Experimental da UFMT localizada na rodovia MT-040 no município de Santo Antônio de Leverger MT, em Fevereiro de 2013. As coordenadas geográficas do local de coleta são 15°50'50"S, 56°04'00"W, a 141 m de altitude. A espécie foi identificada pelo técnico José Edivaldo da Silva e a amostra testemunho está depositada no herbário central da Universidade Federal de Mato Grosso sob o número de exsicata 41.032. O material vegetal, seco e pulverizado, foi submetido separadamente à extração a frio com MeOH à temperatura ambiente. Os solventes das extrações foram filtrados e concentrados em evaporador rotatório a 40°C sob pressão reduzida até a extração completa do material botânico.

As cascas do caule (1,7 Kg) foram submetidas à extração a frio com MeOH (5L) por 7 ciclos de sete dias, e após retirada do solvente obteve-se 553,2 g do extrato **TACCM**. As raízes (3,5 Kg) foram extraídas com etanol (6L) à temperatura ambiente por 11 ciclos de 5 dias, obtendo-se 201,2 g do extrato **TARE**.

#### 4.2.1. Estudos químico do extrato TARE (extrato etanólico das raízes)

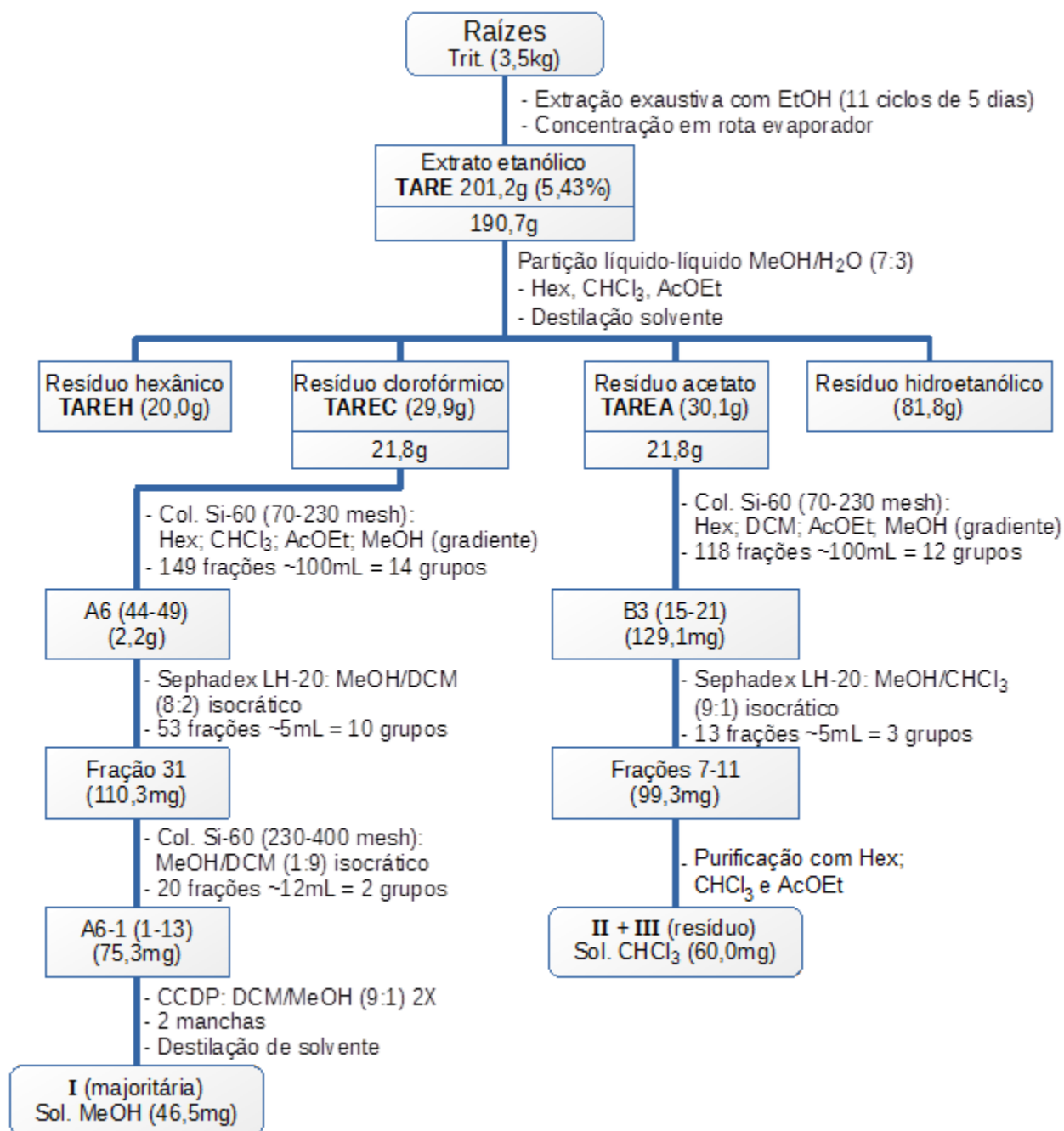
O extrato **TARE** (190,7 g) foi suspenso em 120 mL da mistura MeOH/H<sub>2</sub>O (7:3) e submetido a partição líquido-líquido com os solventes Hex, CHCl<sub>3</sub> e AcOEt. Após este fracionamento, obteve-se os respectivos resíduos: Hexânico, **TAREH** (20,0 g), Clorofórmico, **TAREC** (29,9 g), Acetato de Etila, **TAREA** (30,1 g) e o resíduo hidroetanólico, **TARERE** (81,8 g).

Uma alíquota de **TAREC** (21,8 g) foi fracionado em coluna de sílica gel (70-230 mesh), empregando-se hex, CHCl<sub>3</sub>, AcOEt e MeOH em ordem crescente de polaridade, obtendo-se 149 frações de aproximadamente 100 mL, que após análise em CCDA foram agrupadas por similaridade de R<sub>f</sub> em 14 grupos (A1 à A14).

O grupo A6 (44/49) (2,27 g) foi recromatografado em Sephadex LH-20 eluída em sistema isocrático com MeOH:DCM na proporção 8:2, coletando-se 53 frações de 5mL. Desta última, a fração 31 (110,3 mg), foi novamente cromatografada em coluna de sílica gel 230-400 eluída em sistema isocrático MeOH: DCM (1:9), recolhendo-se 20 frações de 12 mL reunidas em 2 grupos (A6-1 à A6-2). Submeteu-se as frações 1/13 (A6-1) (75,3 mg) à CCDP eluída com MeOH: DCM (9:1), e obteve-se duas manchas, cuja majoritária resultou em um precipitado branco amorfo designado como a substância **I** (46,5 mg).

O resíduo **TAREA** (21,8 g) foi submetido ao fracionamento em CC com sílica gel (70-230 mesh), empregando-se como fase móvel gradiente de solventes em ordem crescente de polaridade (Hex; DCM; AcOEt e MeOH) até MeOH 100%. As 118 frações coletadas de 100 mL, após análise em CCDA foram reunidas em 12 grupos (B-1 à B-12), onde as frações 15/21 (B-3) (129,1 mg) foram submetidas a Sephadex-LH-20, eluída em sistema isocrático com MeOH:CHCl<sub>3</sub> (9:1), fornecendo 13 frações de 5mL. As frações 7/11 (99,3 mg) obtidas no último fracionamento foram analisadas em CCDA e agrupadas, posteriormente, este grupo foi submetido a purificação com solventes orgânicos (Hex, CHCl<sub>3</sub> e AcOEt) restando-se no frasco um material branco amorfo identificado como **II** e **III** (60,0 mg). O Esquema 5 demonstra um resumo das substâncias isoladas do extrato etanólico das raízes de *Tabebuia aurea*, sendo que o isolamento de outros compostos

presentes em grupos e frações obtidas nesse processo foram interrompidos em decorrência do elevado grau de impureza e quantidade insuficiente de material.

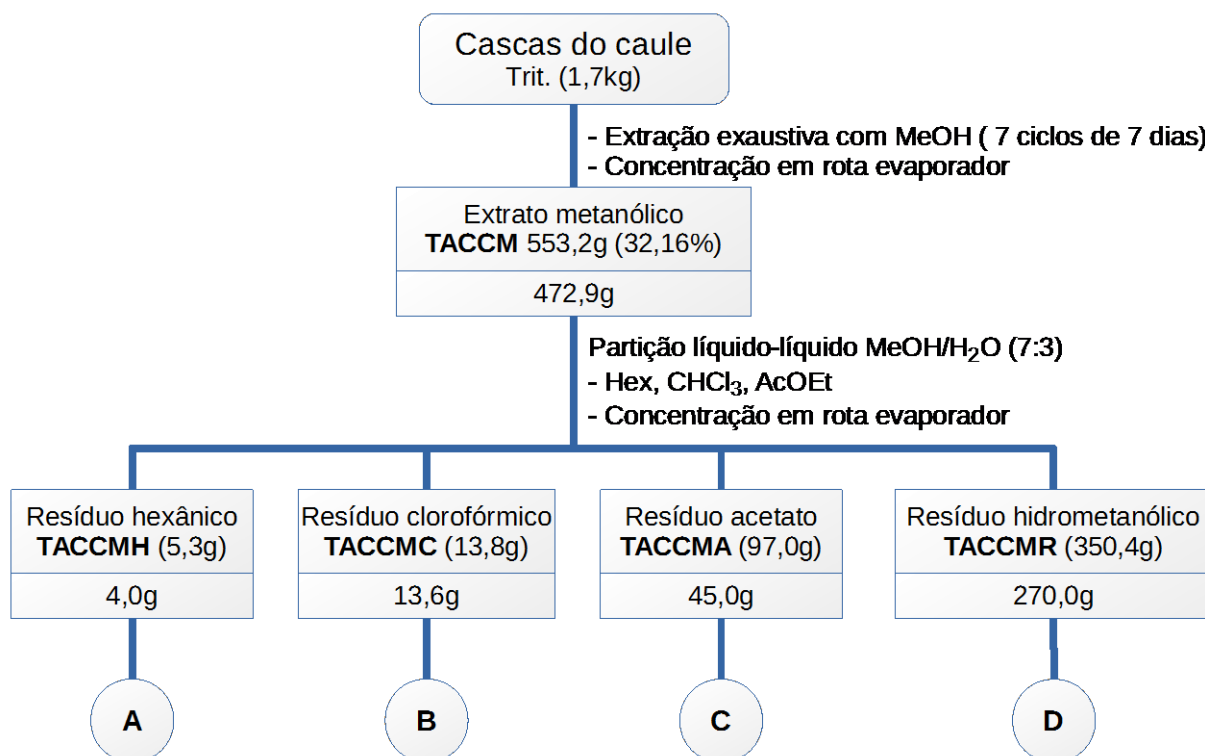


**Esquema 5** - Isolamento das substâncias retiradas das raízes de *T. aurea*.

#### 4.2.2. Estudos químico do extrato TACCM (extrato metanólico das cascas do caule)

Uma alíquota do extrato **TACCM** (472,9 g) foi suspenso em 700 mL da mistura MeOH/H<sub>2</sub>O (7:3) e submetida a partição líquido-líquido com os solventes Hex, CHCl<sub>3</sub> e

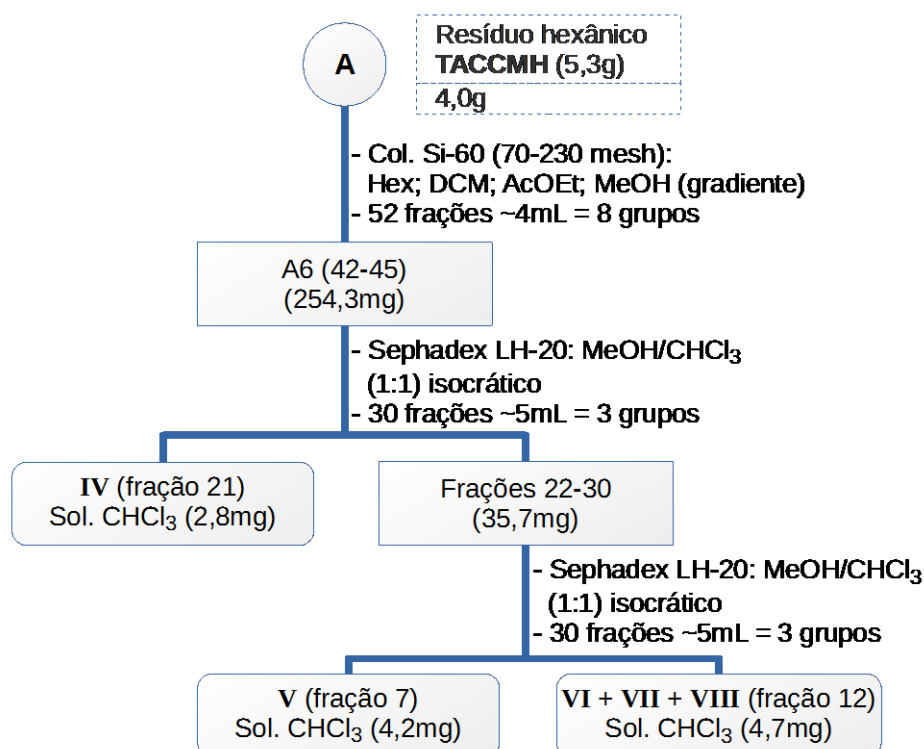
AcOEt obtendo-se os resíduos hexânico, **TACCMH** (5,3 g), clorofórmico **TACCMC** (13,8 g) e acetato de etila **TACCM** (97,0 g), além do resíduo hidrometanólico, **TACCMR** (350,4 g) (Esquema 6).



**Esquema 6** - Fracionamento do extrato metanólico das cascas do caule de *T. aurea*.

O resíduo **TACCMH** (4,0 g) foi submetido à CC em sílica gel (70-230 *mesh*) eluída com hex, DCM, AcOEt e MeOH em polaridade crescente, obtendo-se 52 frações de 4 mL cada. As frações foram analisadas em CCDA e reunidas conforme a similaridade observada em 8 grupos (A1 à A-8).

As frações 42/45 (A6) (254,3 mg) continham um precipitado amarelo amorfo, que baseado na CCDA se apresentava impuro. Esse precipitado foi recromatografado em Sephadex LH-20 com eluentes MeOH:CHCl<sub>3</sub> (1:1) em modo isocrático, obteve-se 30 novas frações de 5 ml. Análise em CCDA de tais frações, sugeriu que a 21 (2,8 mg) estava pura e após identificação foi referida como o composto **IV**, enquanto que as demais frações continham impurezas. Portanto, fez-se necessário uma nova purificação das frações 22/30 (35,7 mg) em Sephadex utilizando o mesmo sistema de eluente citado anteriormente e obteve-se 30 frações de 5mL. Destas, as novas frações 7 e 12 caracterizaram-se pela presença de um precipitado branco, fornecendo a substâncias **V** (4,2 mg) em mistura com os esteroides **VI**, **VII** e **VIII** (4,7 mg) reisolados em mistura na fração 12. No Esquema 7, resume-se o processo de isolamento das substâncias constituintes da fração TACCMH.



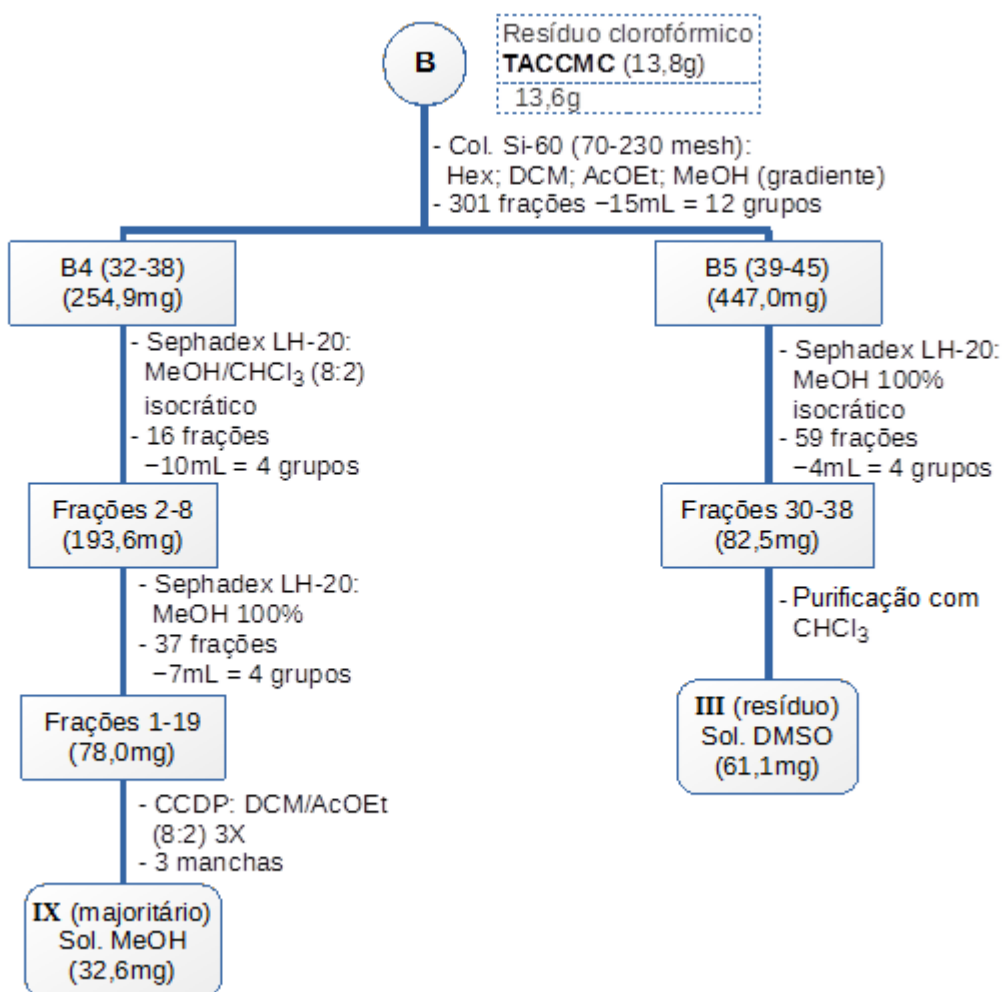
**Esquema 7** - Processamento da fração TACCMH.

O resíduo **TACCMC** (13,6 g) foi fracionado em CC com gel de sílica 70-230, eluída com Hex, DCM, AcOEt e MeOH em gradiente de polaridade até MeOH 100%, sendo coletadas 301 frações de aproximadamente 15 mL. A análise em CC permitiu agrupá-las de acordo com similaridade observada em 12 grupos nominados B1-B12.

Realizou-se o fracionamento do grupo B4 (32/38) (254,9 mg) em Sephadex LH-20 com um sistema MeOH: CHCl<sub>3</sub> (8:2), retirando-se 16 frações com cerca de 10 mL. As novas frações geradas nesta etapa foram analisadas em CCDA e após reunião das frações 2/8 (193,6 mg), estas foram expostas a uma segunda Sephadex, em sistema de eluente com MeOH 100 %, obtendo-se assim, 37 frações de 7 mL. A formação de precipitado amarelo foi marcante nos primeiros frascos, porém análise em CCDA revelou elevado grau de impureza, então as frações 1/19 (78,0 mg) foram reunidas e submetidas a cromatografia em CCDP eluída em DCM:AcOEt (8:2), sendo retirada a mancha majoritária que cristalizou-se como agulhas incolores, correspondente a substância **IX** (32,6 mg).

As frações 39/45 (B5) (447,0 mg) foram re-cromatografadas em Sephadex LH-20 eluída com MeOH 100% em modo isocrático. O fracionamento gerou 59 frações de 4 mL cada, nas frações 30/38 (82,5 mg) houve precipitação de um material impuro, este grupo foi submetido a purificação com CHCl<sub>3</sub> para eliminar as impurezas e restou um precipitado

amarelo que coincidiu com a substância **III** (61,1 mg). Um resumo dos processos de isolamento da fração TACCMC é mostrado no Esquema 8.



**Esquema 8** - Processamento da fração TACCMC.

O resíduo **TACCMC** (45,0 g) foi cromatografado em CC com gel de sílica 60 (70-230, *mesh*) eluída com Hex, DCM, AcOEt e MeOH em polaridade crescente em modo gradiente. Obteve-se 297 frações de aproximadamente 75 mL que foram submetidas a análise em CCDA e reunidas conforme similaridade das mesmas (**C1 à C11**).

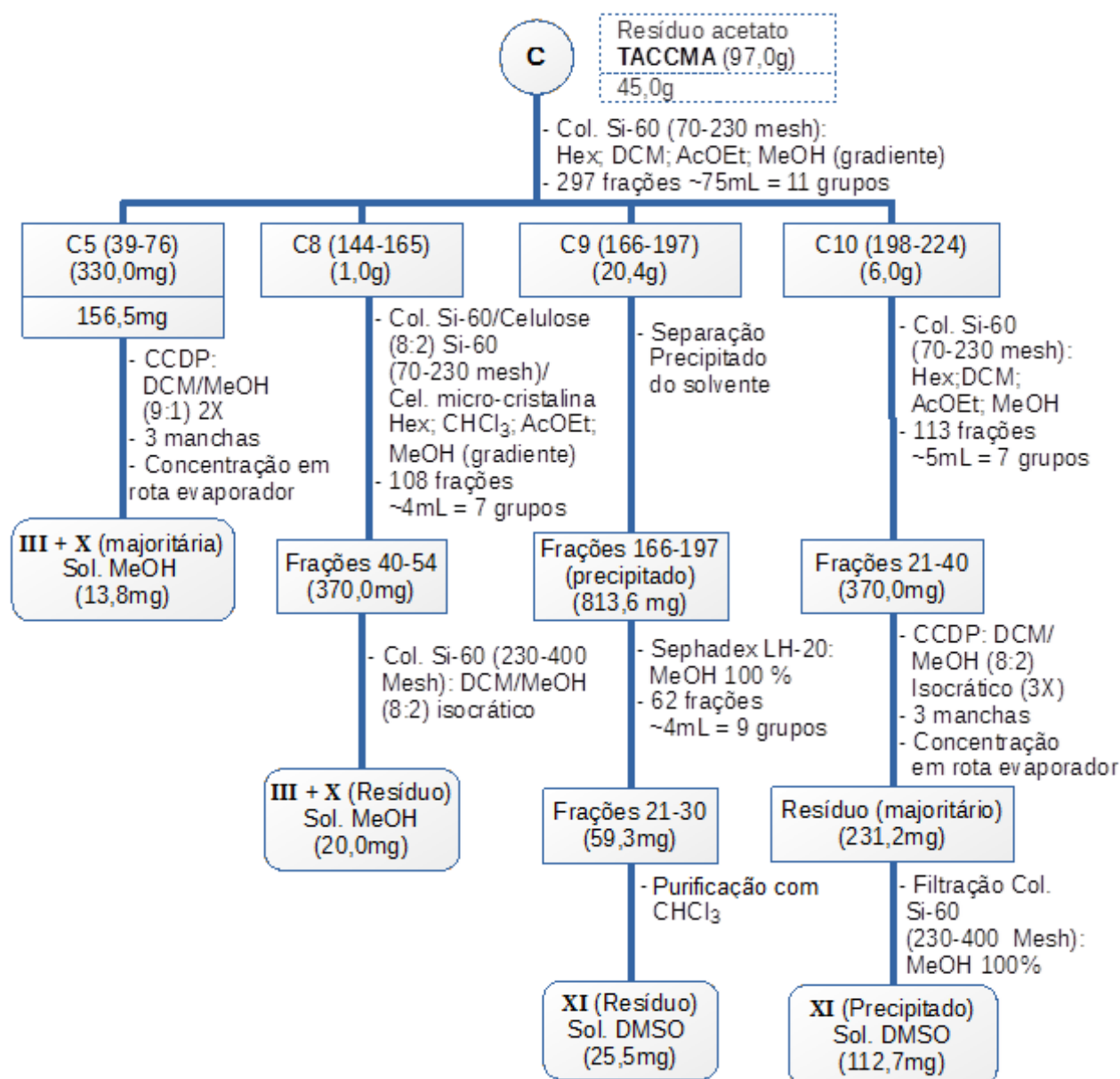
O grupo C5 (39/76) (156,5 mg) foi submetido a cromatografia em CCDP eluída em DCM/MeOH (9:1), obteve-se uma mancha majoritária que após extração com MeOH e secagem forneceu uma mistura dos compostos **III** e **X** (13,8 mg).

As frações 144/165 (C8) (1,0 g) foram submetidas ao fracionamento em CC utilizando-se como fase estacionária uma mistura de sílica gel (70-230, *mesh*) e celulose microcristalina (8:2), eluída em modo gradiente de solvente até MeOH 100%. Coletou-se 108 frações de 4 mL, das quais as frações 40/54 (370,0 mg) apresentaram um precipitado

marrom que foi filtrado em uma CC com sílica gel 230-400, eluída em modo isocrático de DCM:MeOH (8:2), obtendo-se assim um material branco amorfo identificado como a mistura de **III** e **X**. (20,0 mg).

Nas frações 166/197 (C9) ocorreu a formação de precipitado ao fundo do frasco, este foi separado do sobrenadante fornecendo-se um material branco amorfo solúvel em MeOH. Os precipitados reunidos como C9pp (813,6 mg), foram cromatografado em Sephadex LH-20 eluída com MeOH 100% obtendo-se 62 frações de 4 mL. Houve precipitação nas frações 21/30 (59,3 mg), entretanto a análise em CCDA identificou a presença de impurezas, esta foi retirada mediante purificação com  $\text{CHCl}_3$ , restando um precipitado branco amorfo (**XI**; 25,5 mg).

O penúltimo grupo (C10) composto pelas frações 198/224 (6,0 g) foi submetido à CC, empacotada com sílica gel (70-230), eluída em modo gradiente com Hex, DCM, AcOEt e MeOH em ordem crescente de polaridade. Retirou-se 113 frações de 5 mL, após analisadas em CCDA, submeteu-se as frações 21/40 (370,0 mg) à CCDP eluída em DCM:MeOH (8:2). Extraíu-se a mancha majoritária com MeOH, obtendo-se um precipitado (231,2 mg) que foi filtrado em coluna com sílica gel (230-400) eluída em MeOH, resultando em um material esbranquiçado amorfo que após identificação foi caracterizado com a substância **XI** (112,7 mg). Um resumo das substâncias retiradas do fracionamento da fração TACCMA é mostrado no Esquema 9.

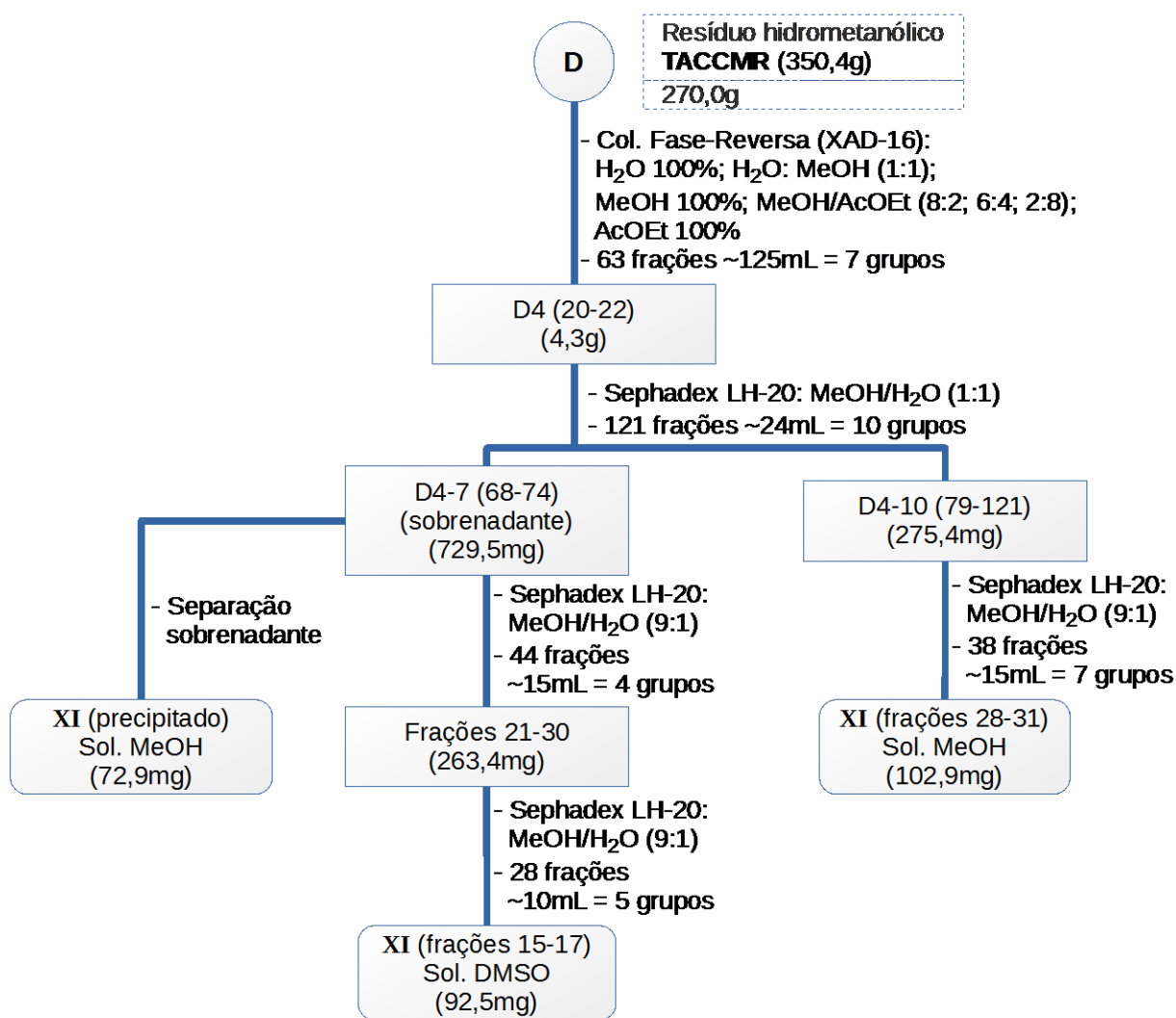


**Esquema 9** - Processamento da fração TACCMA.

O resíduo **TACCMR** (270,0 g) foi fracionado em XAD-16 fase reversa eluída com H<sub>2</sub>O 100%, H<sub>2</sub>O: MeOH (1:1), MeOH 100%, MeOH:AcOEt (8:2, 6:4 e 2:8), até AcOEt 100%. Recolheu-se 63 frações de aproximadamente 125 mL. A análise em CCDA permitiu agrupá-las de acordo com similaridade observada em 7 grupos (D1 à D7). O grupo D4 (20/22) (4,3 g) foi submetido à Sephadex, eluídas em modo isocrático com MeOH:H<sub>2</sub>O (1:1), obtendo-se 121 frações de 24 mL, estas foram analisadas em CCDA e agrupadas (D4-1 à D4-10). As frações 68/74 (D4-7) apresentaram um precipitado branco cristalino que foi separado do sobrenadante e após elucidação comprovado ser a estrutura **XI** (72,9 mg). O sobrenadante (729,5 mg), após secagem do solvente, foi fracionado em Sephadex LH-20 com sistema de eluente em modo isocrático MeOH: H<sub>2</sub>O (9:1), recolhendo-se 44 frações de 15 mL. Essas frações foram analisadas em CCDA, sendo que as frações 21/30 (263,4 mg) foram

novamente submetidas em Sephadex aplicando-se o mesmo sistema de eluente citado anteriormente, e coletou-se 28 frações de 10 mL das frações 15/17 após análise em CCDA foram reunidas e elucidadas como uma repetição de **XI** (92,5 mg).

Cromatografou-se as frações 79/121 (D4-10) (275,4 mg) em Sephadex LH-20, eluída com MeOH: H<sub>2</sub>O (9:1) em sistema isocrático e obteve-se 38 frações de 15 mL. Estas frações quando analisadas em CCDA possibilitaram a reunião das frações 28/31, que se caracterizou como uma repetição de **XI** (102,9 mg). O processo de isolamento das substâncias da fração TACCMR é mostrado no Esquema 10.



**Esquema 10** - Processamento da fração TACCM.

### **4.3. Ensaios Biológicos**

#### **4.3.1. Cultura de parasitas**

Para avaliar a atividade do composto foram utilizados os protozoários tripanossomatídeos do gênero *Trypanosoma* e *Leishmania amazonensis* (cepa IFLA/BR/67/PH8). *L. amazonensis* foi cultivada sob a forma promastigota em meio Grace (Vitrocell), pH 6,80, suplementado com 50,0 mg/L glutamina, antibióticos, 10% de soro fetal bovino (SFB) (Vitrocell). *Trypanosoma cruzi* (cepa CL, grupo *T. cruzi* VI) foi cultivado na forma epimastigota, sendo mantido em meio LIT (Liver infusion tryptose), pH 7,2, contendo 5,0 g/L de infusão fígado, 5,0 g/L triptose, 4,0 g/L de NaCl, 8,0 g/L de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 10,0 mg/L de hemina e 10% de SFB (CAMARGO, 1966). As culturas foram mantidas em estufa a 25 e 28°C, respectivamente, com repiques a cada sete dias para manutenção dos parasitas.

#### **4.3.2. Tratamento dos parasitas com o especiosideo**

Para a realização dos ensaios, parasitas de quinto dia de cultura foram lavados com tampão fosfato-salino (PBS), centrifugados a 1540 x *g* por 10 minutos a temperatura ambiente e ressuspensos em 1 mL de meio (Grace ou LIT). Uma alíquota foi retirada desta suspensão e diluída em Formalina 4% (diluição 1:50) para contagem em câmara de Neubauer. Ao final, 1 x 10<sup>7</sup> parasitas/mL em meio de cultura, foram incubados com os diferentes compostos nas concentrações de 49,2; 78,7; 98,4; 157,4 e 190,0 µM. Os parasitas tratados foram então mantidos em placas de 96 poços (1 x 10<sup>6</sup> parasitas/100µL/poço), em suas devidas temperaturas. Como controles, foram utilizados parasitas na presença do solvente dos compostos [Dimetilsulfóxido (DMSO)]. Após 24 horas de incubação, a viabilidade celular foi verificada utilizando o ensaio de MTT (MOSMANN, 1983). Anfotericina B (21,0 µM) e violeta genciana (612,8 µM) foram utilizadas como controle positivo para os ensaios contra formas promastigotas de *L. amazonensis* e epimastigota de *T. cruzi* de acordo com Mafezoli et al., 2000; Bastos et al., 1999.

#### **4.3.3. Análise estatística**

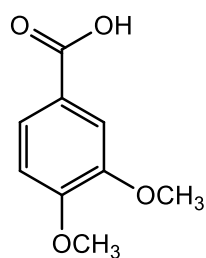
Para avaliar a significância dos resultados, foi realizada a análise estatística de todos os experimentos pelo teste “*t student*” disponíveis no programa GraphPad Prism versão 5.01.

Estes ensaios foram realizados no Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, em colaboração com o Prof. Dr. Mauro Javier Cortez Véliz.

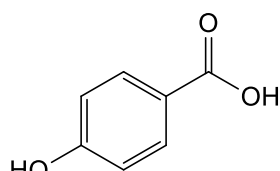
## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. Substâncias isoladas

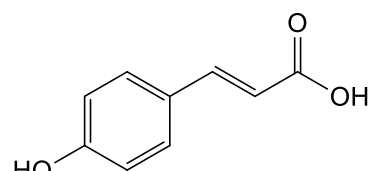
O fracionamento das raízes e cascas do caule de *T. aurea* levou ao isolamento de 11 substâncias: 1 iridóide glicosilado, 1 benzaldeído, 4 esteróides, 5 ácidos benzóicos (Figura 8).



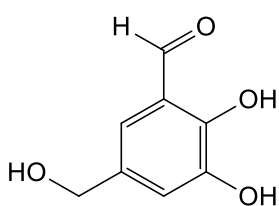
ácido verátrico (I)



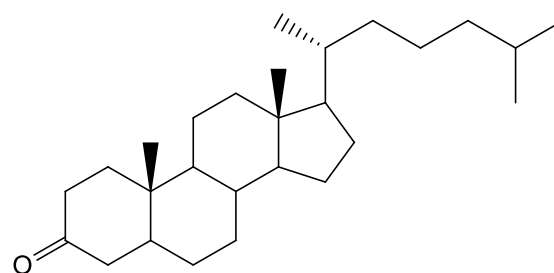
ácido *p*-hidroxibenzóico (II)



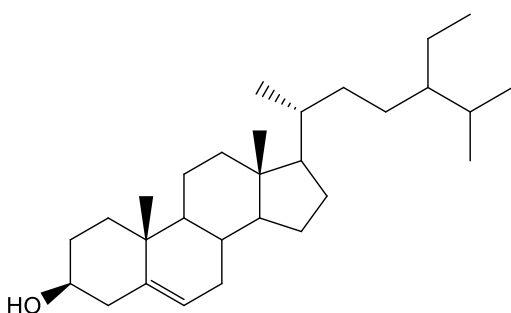
ácido *p*-cumárico (III)



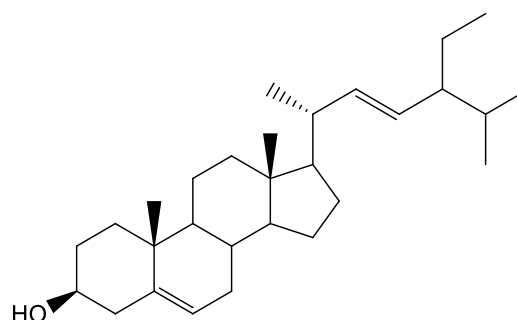
2,3-dihidroxi-5-(hidroximetil)  
benzaldeído (VI)



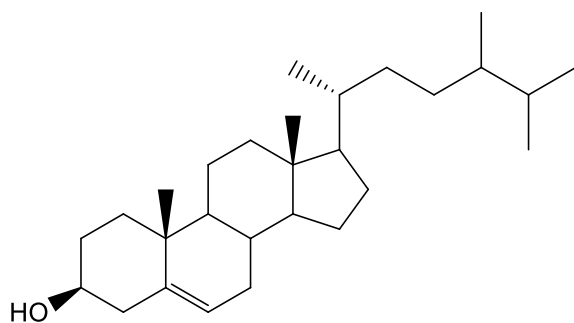
colestanon (V)



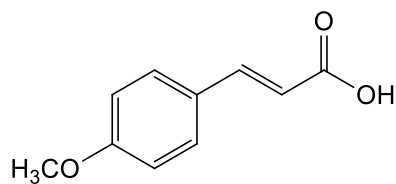
$\beta$ -sitosterol (VI)



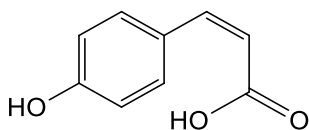
stigmasterol (VII)



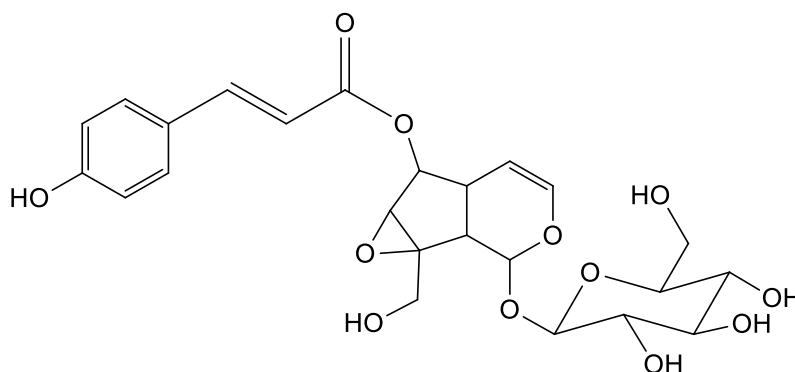
colestanona (VIII)



ácido *trans*-4-metoxicinâmico (IX)



ácido *cis*-4-metoxicinâmico (X)



especiosideo (XI)

**Figura 8** - Substâncias isoladas das raízes e cascas do caule de *T. aurea*.

## 5.2. Elucidação estrutural

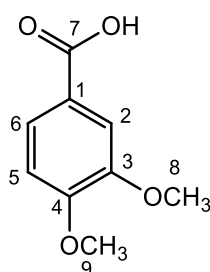
### 5.2.1. Identificação da substância I

Para elucidação da substância I foram realizadas análises de RMN de  $^1\text{H}$  e EM, sendo que em ambas as técnicas confirmou-se que I corresponde ao composto minoritário presente em uma mistura. Na expansão do espectro de  $^1\text{H}$  RMN (Figura 10 e 11, p. 76) os três sinais observados na região de hidrogênios aromáticos foram atribuídos a substância I, bem como os outros sinais referente aos hidrogênios das metoxilas. O duplete observado no espectro de  $^1\text{H}$  RMN (Figura 10, p. 76), com  $\delta_{\text{H}}$  em 7,64 ppm (1H, *d*,  $J = 1,35$ ) com multiplicidade igual a 1,35 coerente a correlação *meta* foi atribuído a H-2 e o multiplete com  $\delta_{\text{H}}$  em 7,61-7,62 ppm (1H, *m*) foi atribuído ao hidrogênio H-6. O duplete com  $\delta_{\text{H}}$  em 6,97 ppm (1H, *d*,  $J = 8,30$  Hz) indicou a presença do H-5 com multiplicidade coerente com um hidrogênio aromático acoplado-se em *orto*. Outros dois simpletos observados no espectro de  $^1\text{H}$  RMN (Figura 11, p. 76) em  $\delta_{\text{H}}$  3,88 (3H, *s*) e 3,89 (3H, *s*) ppm com integração para

três hidrogênios cada, foi atribuído aos hidrogênios dos dois grupos metoxi do anel aromático.

O espectro de massas (Figura 12, p. 77) foi indispensável para a confirmação da substância **I**. No espectro observou-se o íon-molecular em  $m/z$  182 e outros picos detectados que podem ser justificados pela eliminação de unidade estrutural com perda de 15 ( $\text{CH}_3$ ) [ $m/z$  167], seguida da eliminação de  $m/z$  28 ( $\text{CO}$ ) [ $m/z$  139] e de  $m/z$  44 ( $\text{CO}_2$ ) [ $m/z$  95]. Estas propostas, assim como outras fragmentações sugeridas (Figura 13, p. 77) reforçam a proposta estrutural de **I**.

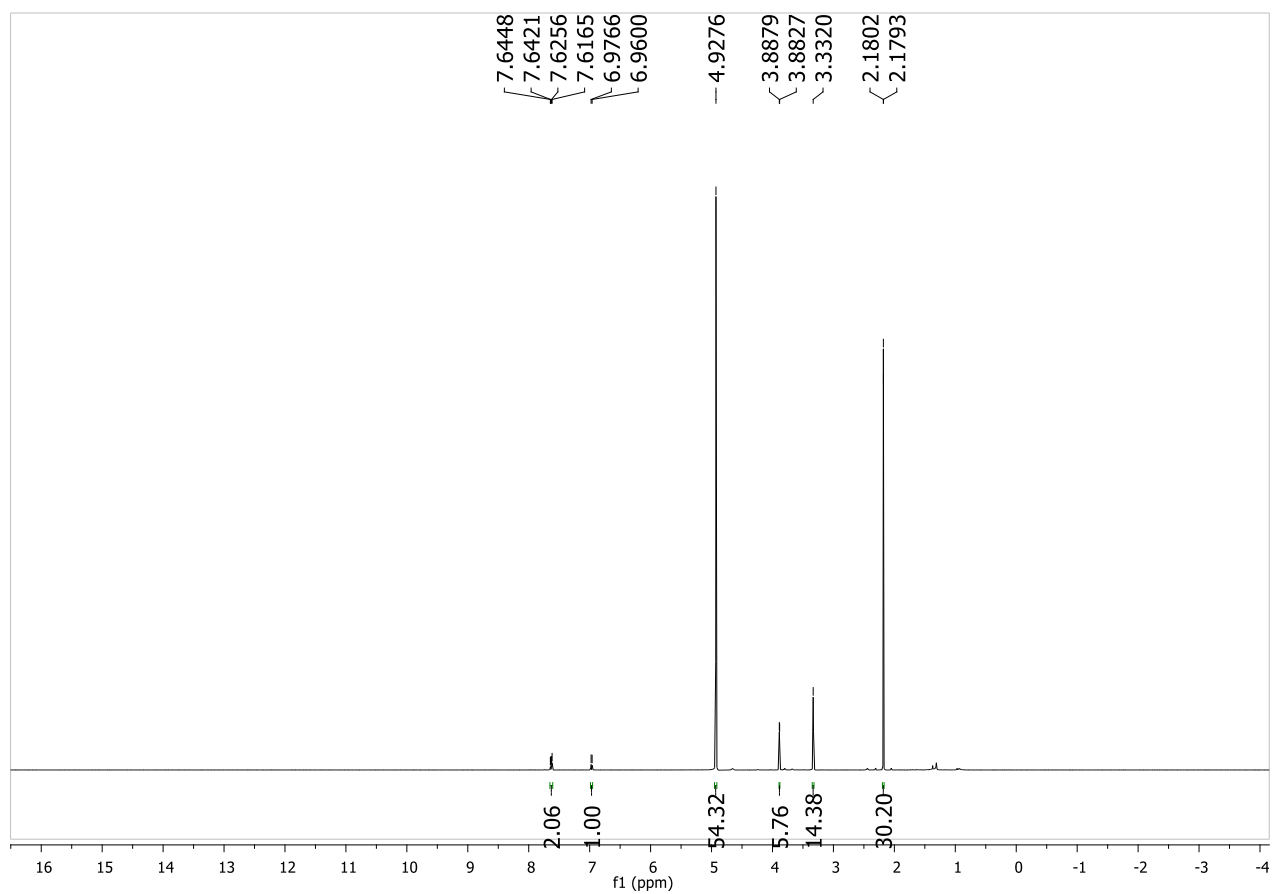
O conjunto dessas informações em comparação aos dados da literatura (SOUZA FILHO et al, 2005) possibilitou concluir que **I** trata-se de uma substância com massa molecular  $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_4$  coerente com o ácido 3,4-dimetoxibenzóico (ácido verátrico).



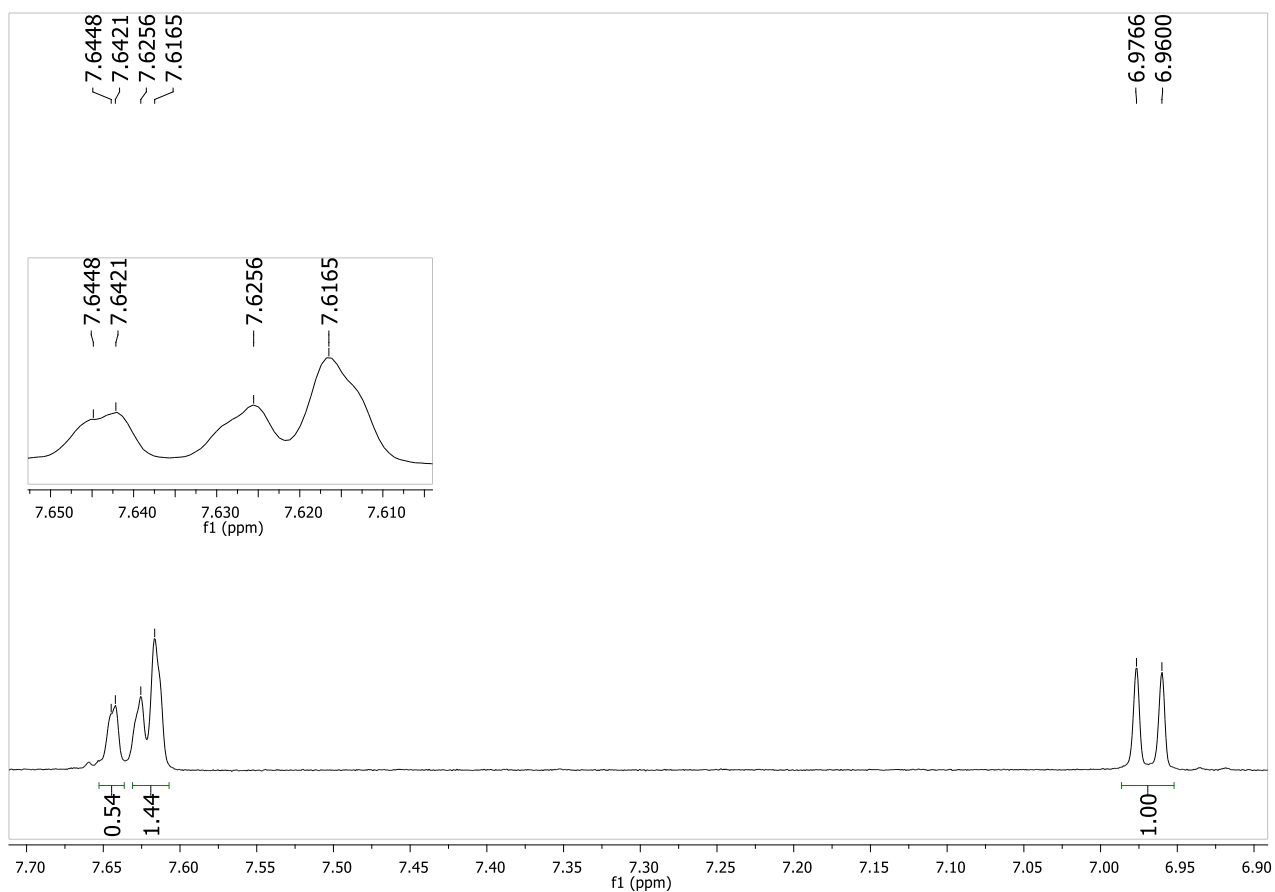
ácido verátrico (**I**)

**Tabela 4.** Dados de RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) da substância **I** em comparação com dados da literatura (SOUZA FILHO et al, 2005)

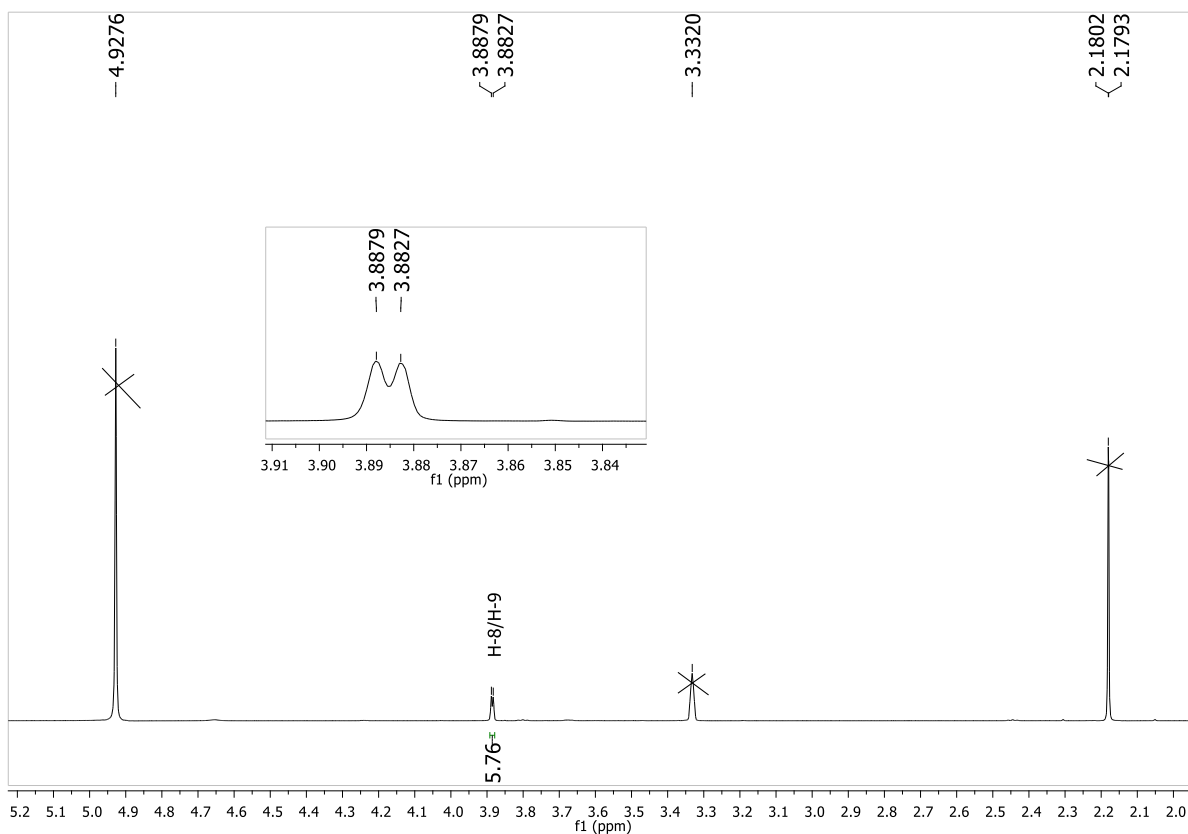
| Substância <b>I</b>  |                                    | Literatura ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 300 MHz) |
|----------------------|------------------------------------|------------------------------------------------|
| Posição              | $\delta_{\text{H}}$                | $\delta_{\text{H}}$                            |
| 1                    | -                                  | -                                              |
| 2                    | 7,64 (1H, <i>d</i> , $J= 1,35$ Hz) | 7,58 ( <i>d</i> , $J= 1,8$ Hz)                 |
| 3                    | -                                  | -                                              |
| 4                    | -                                  | -                                              |
| 5                    | 6,97 (1H, <i>d</i> , $J= 8,30$ Hz) | 6,91 ( <i>d</i> , $J= 8,7$ Hz)                 |
| 6                    | 7,61-7,62 (1H, <i>m</i> )          | 7,75 ( <i>dd</i> , $J= 8,7$ e 1,8 Hz)          |
| 7 (COOH)             | -                                  | -                                              |
| 8 ( $\text{OCH}_3$ ) | 3,88 (3H, <i>s</i> )               | 3,93 ( <i>s</i> )                              |
| 9 ( $\text{OCH}_3$ ) | 3,89 (3H, <i>s</i> )               | 3,94 ( <i>s</i> )                              |



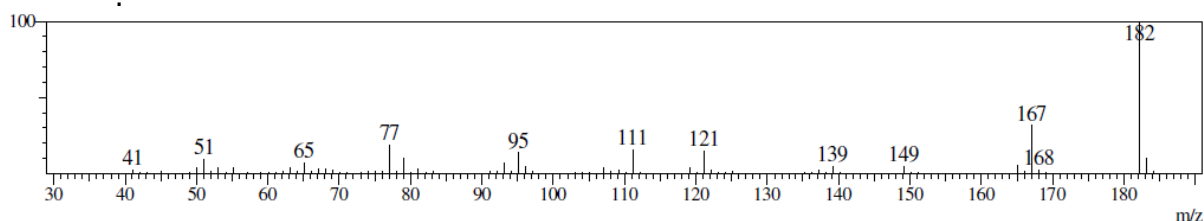
**Figura 9** - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de I.



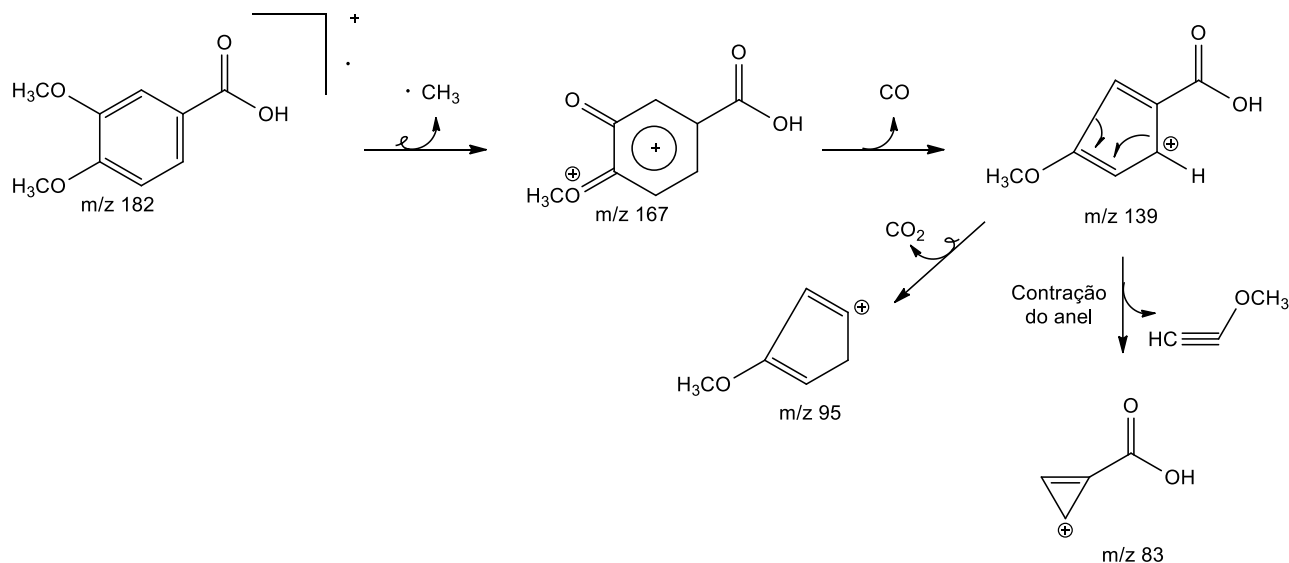
**Figura 10** - Expansão do espectro de RMN de <sup>1</sup>H (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de I na região entre δ<sub>H</sub> 6,9-7,7



**Figura 11**- Expansão do espectro de RMN de <sup>1</sup>H (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de I na região entre δ<sub>H</sub> 2,0-5,2 ppm.



**Figura 12-** Espectro de massas por I.E. (70 eV) de I.



**Figura 13-** Proposta de fragmentação para a substância I.

### 5.2.2. Identificação das substâncias II e III

As substâncias **II** e **III** foram identificadas como uma mistura de ácidos fenólicos. No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 15, p. 800) observou-se um sinal de duplete com  $\delta_{\text{H}}$  em 7,89 (2H, *d*,  $J = 8,7$  Hz, H-2 e H-6) que pela análise do espectro de COSY (Figura 19, p. 82), acopla-se em *orto* com um outro sinal sobreposto em 6,82 (2H, *d*,  $J = 8,6$  Hz, H-3 e H-5). Esses sinais evidenciam a presença de um anel aromático 1,4 dissustituído que foi atribuído a substância **II**.

Para a substância **III** o espectro de  $^1\text{H}$  RMN (Figura 15, p. 800) mostrou dois sinais dupletos com  $\delta_{\text{H}}$  em 7,46 (2H, *d*,  $J = 8,6$  Hz, H-2 e H-6) e 6,82 (2H, *d*,  $J = 8,6$  Hz, H-3 e H-5) acoplando entre si. Esses sinais correspondem aos hidrogênios equivalentes H-2/6 e H-3/5, presente em substâncias com sistema aromático AA'BB'. Outros dois dupletos com  $\delta_{\text{H}}$  em 7,58 (1H, *d*,  $J = 15,9$  Hz, H-7) e 6,31 (1H, *d*,  $J = 15,9$  Hz, H-8) são atribuídos a dois hidrogênios olefínicos que mantêm configuração *trans* entre si.

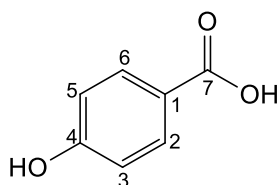
No espectro DEPTQ (Figura 17, p. 81) o sistema AA'BB' da substância **II** pode ser confirmada pelos sinais em  $\delta_c$  131,5 (C-2/6) e 114,5 (C-3/5). Os valores de deslocamentos químicos em  $\delta_c$  161,7 é compatível com o carbono fenólico em C-4, e o  $\delta_c$  em 121,9 é coerente com o carbono quaternário C-1 que está ligado a um grupo com capacidade de desblindá-lo, a presença de um sinal em  $\delta_c$  170,3 do espectro confirma a existência do grupo carboxílico (C-7, COOH) desprotegendo C-1.

Analisando os sinais de DEPTQ (Figura 17, p. 81) para a substância **III**, observa-se dois sinais intensos (C-H) em  $\delta_c$  129,5 (C-2/6) e 115,3 (C-3/5) que condizem com os dados obtidos no RMN de  $^1H$  para o sistema AA' BB'. Esta informação junto a ausência de sinais de metoxilas permitiu atribuir o grupo hidroxila ligado na posição *para* desse sistema em  $\delta_c$  159,5 (C-4). Os deslocamentos químicos de carbono em  $\delta_c$  144,4(C-7), 115,2 (C-8) e 170,3 (C-9, COOH) são característicos do grupo carbonila *trans*  $\alpha,\beta$ -insaturado referentes ao composto **III**.

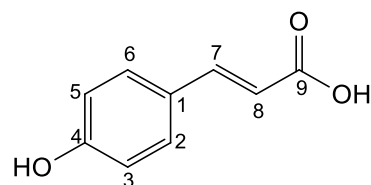
As correlações previstas na análise dos espectros bidimensionais de RMN HSQC (Figura 21, p. 83) e HMBC (Figura 23, p. 85) foram importantes para a atribuição inequívoca de hidrogênios e carbonos pertencentes a estas estruturas que foram identificados como sendo os ácidos *p*-hidroxibenzóico (**II**) e *p*-cumárico (**III**).

O cromatograma obtido em CG-MS (Figura 24, p. 85) da fração contendo **II** e **III** forneceu dois picos com diferentes tempos de retenções, comprovando tratar-se de uma mistura. O composto majoritário apresentou pico em  $t_R$  8,76 minutos equivalente ao íon molecular  $m/z$  120, já o minoritário em  $t_R$  5,47 minutos foi compatível com  $m/z$  94. Os íons moleculares não correspondem as respectivas fórmulas moleculares dos compostos propostos, entretanto podem ser justificados pela perda imediata de CO<sub>2</sub> ocorrida na câmara de injeção durante o processo de volatilização (Figura 26 e 28, p. 86).

O espectro de massas (Figura 25, p. 86) do composto minoritário mostrou pico íon molecular  $m/z$  94 que após rearranjos de hidrogênios sofre eliminação de CO para formação do pico base em  $m/z$  66 compatível com ácido *p*-hidroxibenzóico (**II**) de fórmula molecular C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>3</sub>. Estas e outras fragmentações representadas na Figura 26 (p. 86) confirmam a proposta estrutural proposta para **II**. No espectro de massas (Figura 27, p. 86) do composto majoritário ( $m/z$  120) observa-se um pico  $m/z$  em 91 que é coerente com um rearranjo de hidrogênio que facilita a eliminação de uma molécula de C<sub>3</sub>H<sub>4</sub>O<sub>2</sub> [ $m/z$  72] seguida da perda de um átomo de hidrogênio. Outros fragmentos propostos na Figura 28 (p. 86) são compatíveis com o ácido *p*-cumárico (**III**).



ácido *p*-hidroxibenzóico (II)



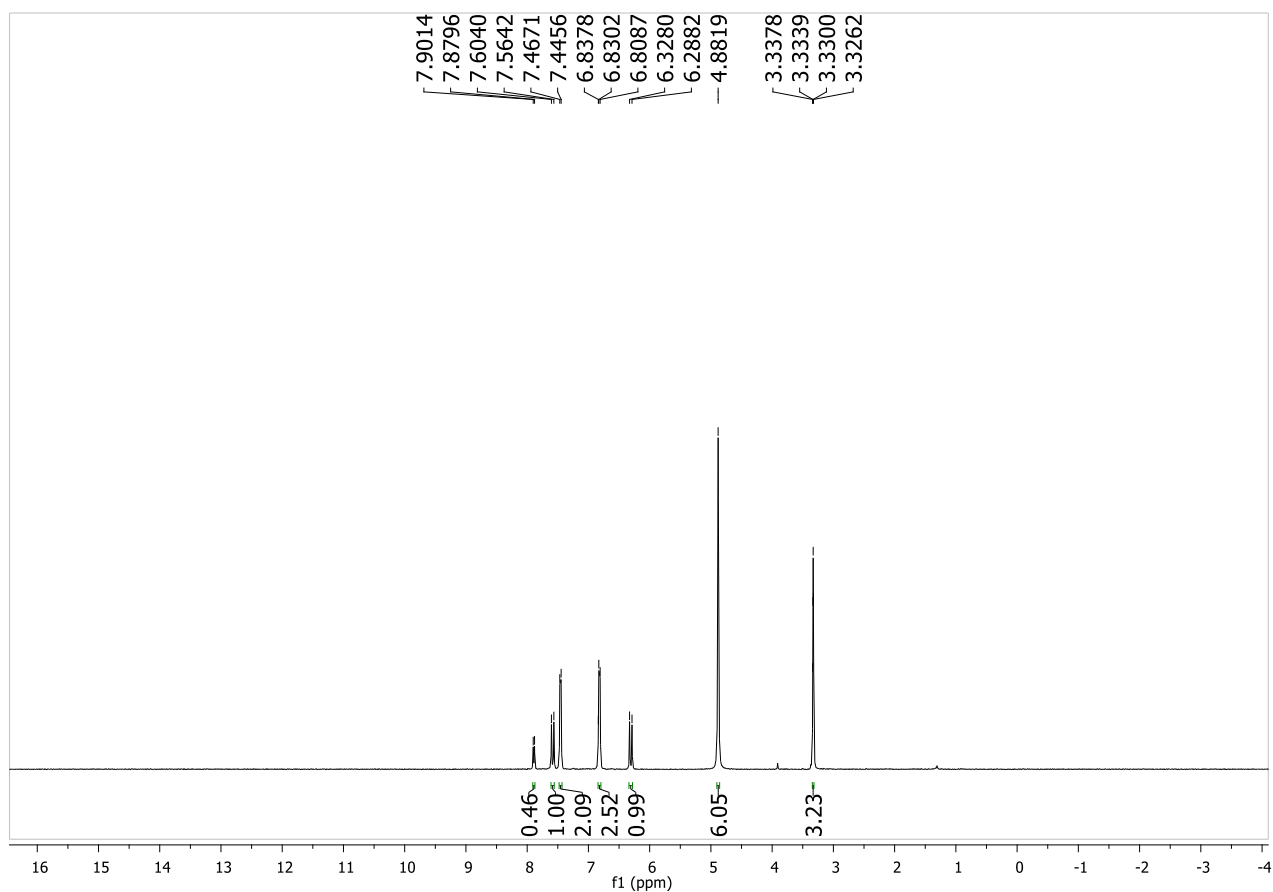
ácido *p*-cumárico (III)

**Tabela 5.** Dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz, DEPTQ,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) e  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) da substância II em comparação com dados da literatura (MAIA, 2011)

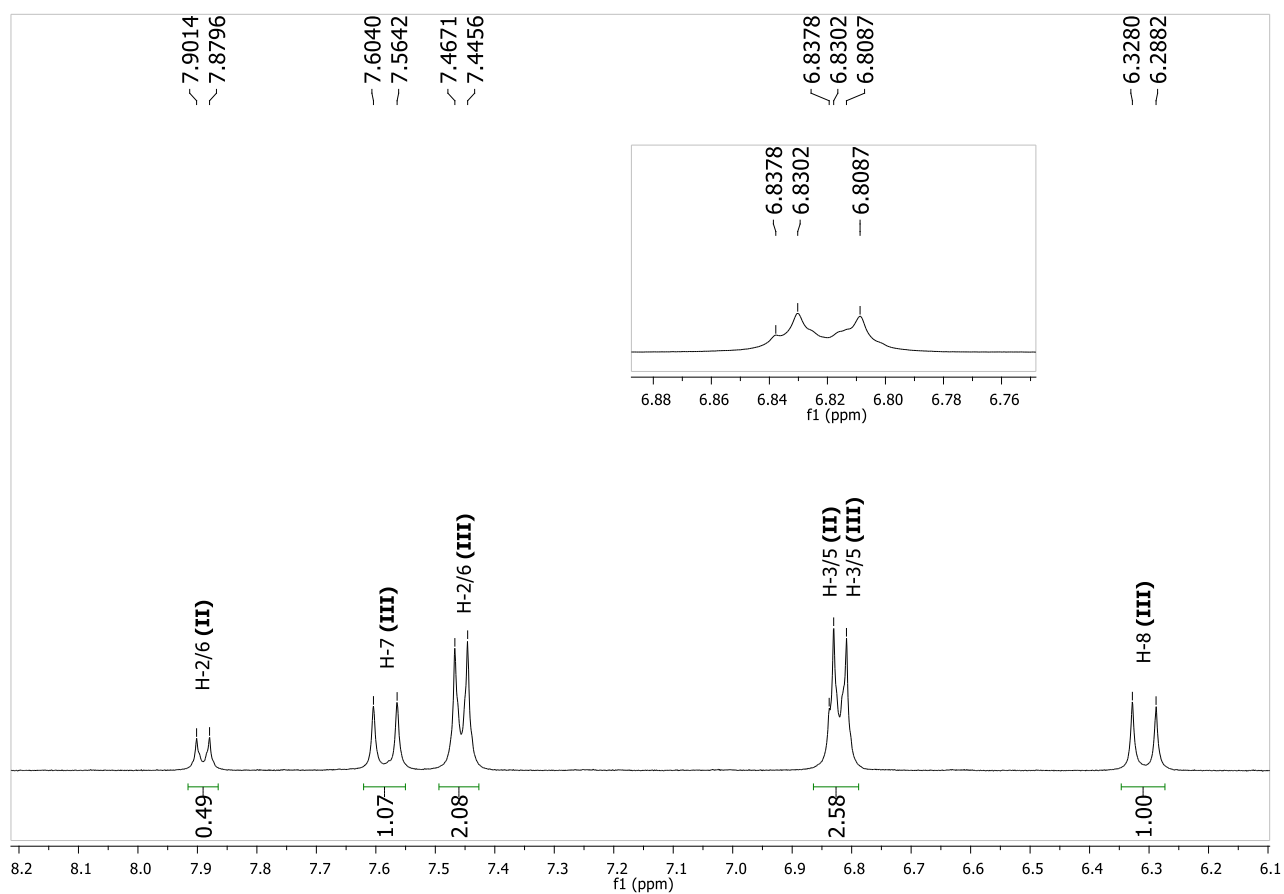
| Substância II |                     |                                    | Literatura ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 125 e 500 MHz) |                                 |
|---------------|---------------------|------------------------------------|------------------------------------------------------|---------------------------------|
| C             | $\delta_{\text{C}}$ | $\delta_{\text{H}}$                | $\delta_{\text{C}}$                                  | $\delta_{\text{H}}$             |
| 1             | 121,9               | -                                  | 122,9                                                | -                               |
| 2 / 6         | 131,5               | 7,89 (2H, <i>d</i> , $J = 8,7$ Hz) | 133,0                                                | 7,86 ( <i>d</i> , $J = 8,5$ Hz) |
| 3 / 5         | 114,5               | 6,82 (2H, <i>d</i> , $J = 8,6$ Hz) | 116,0                                                | 6,80 ( <i>d</i> , $J = 8,5$ Hz) |
| 4             | 161,7               | -                                  | 163,3                                                | -                               |
| 7 (COOH)      | 170,3               | -                                  | 170,1                                                | -                               |

**Tabela 6.** Dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz, DEPTQ,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) e  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) da substância III em comparação com dados da literatura (MAIA, 2011)

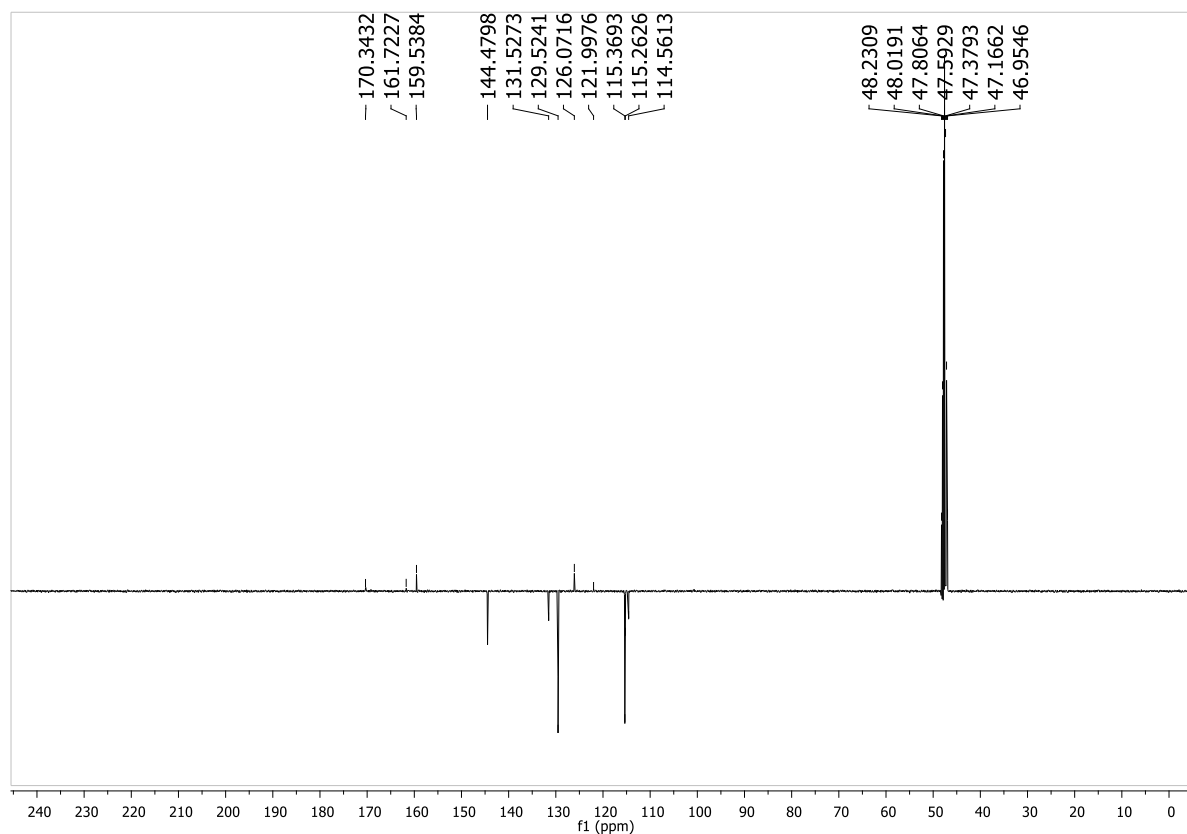
| Substância III |                     |                                     | Literatura ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 125 e 500 MHz) |                                    |
|----------------|---------------------|-------------------------------------|------------------------------------------------------|------------------------------------|
| C              | $\delta_{\text{C}}$ | $\delta_{\text{H}}$                 | $\delta_{\text{C}}$                                  | $\delta_{\text{H}}$                |
| 1              | 126,0               | -                                   | 127,3                                                | -                                  |
| 2 / 6          | 129,5               | 7,46 (2H, <i>d</i> , $J = 8,6$ Hz)  | 131,0                                                | 7,44 (2H, <i>d</i> , $J = 8,5$ Hz) |
| 3 / 5          | 115,3               | 6,82 (2H, <i>d</i> , $J = 8,6$ Hz)  | 116,8                                                | 6,80 (2H, <i>d</i> , $J = 8,5$ Hz) |
| 4              | 159,5               | -                                   | 161,0                                                | -                                  |
| 7              | 144,4               | 7,58 (1H, <i>d</i> , $J = 15,9$ Hz) | 146,6                                                | 7,59 (1H, <i>d</i> , $J = 16$ Hz)  |
| 8              | 115,2               | 6,31 (1H, <i>d</i> , $J = 15,9$ Hz) | 115,7                                                | 6,27 (1H, <i>d</i> , $J = 16$ Hz)  |
| 9 (COOH)       | 170,3               | -                                   | 171,2                                                | -                                  |



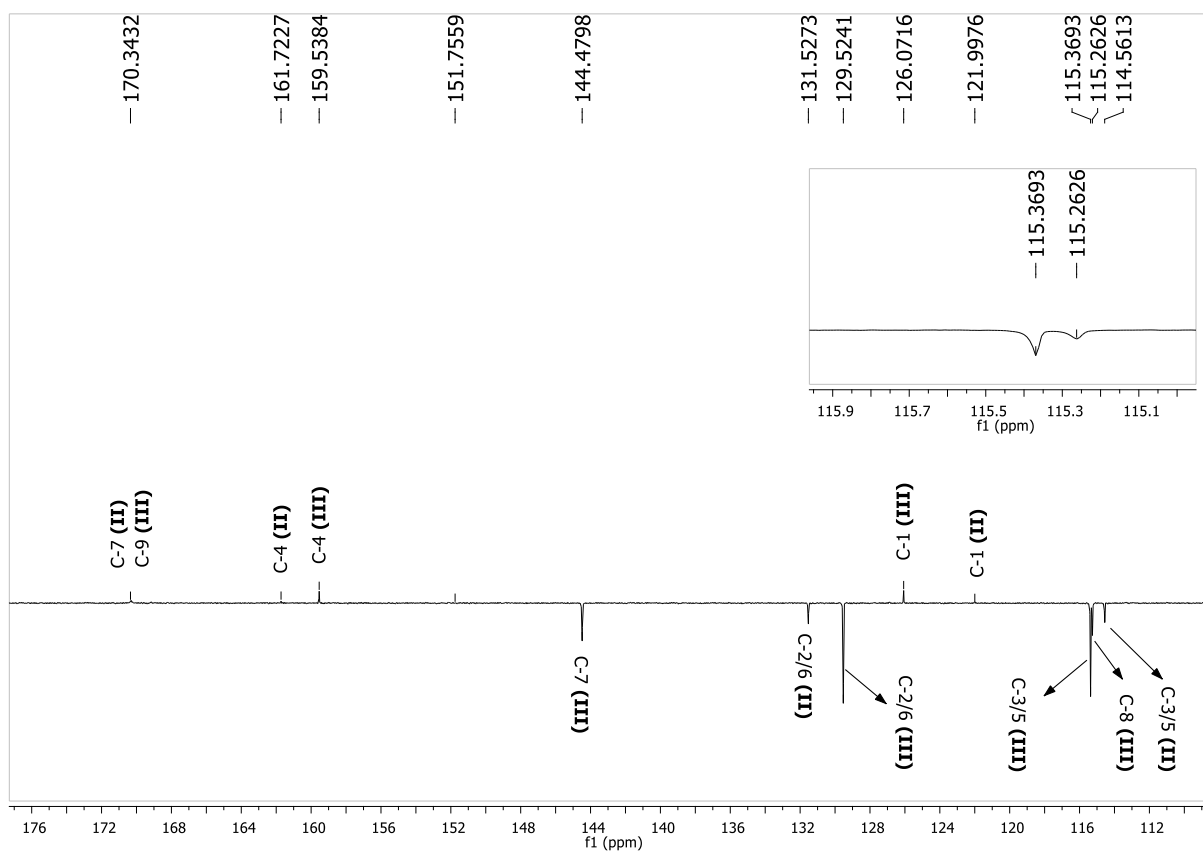
**Figura 14** - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de II e III.



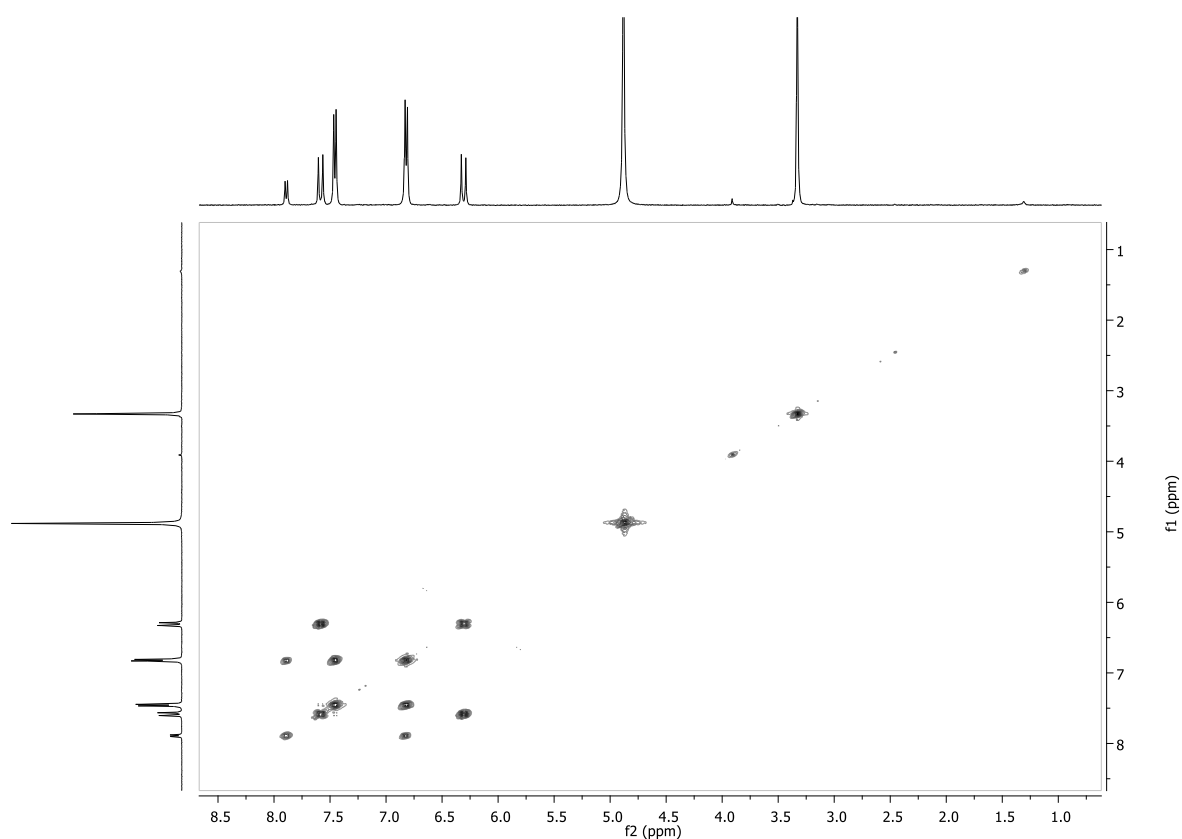
**Figura 15** - Expansão do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de II e III na região entre  $\delta_{\text{H}}$  6,1-8,2 ppm.



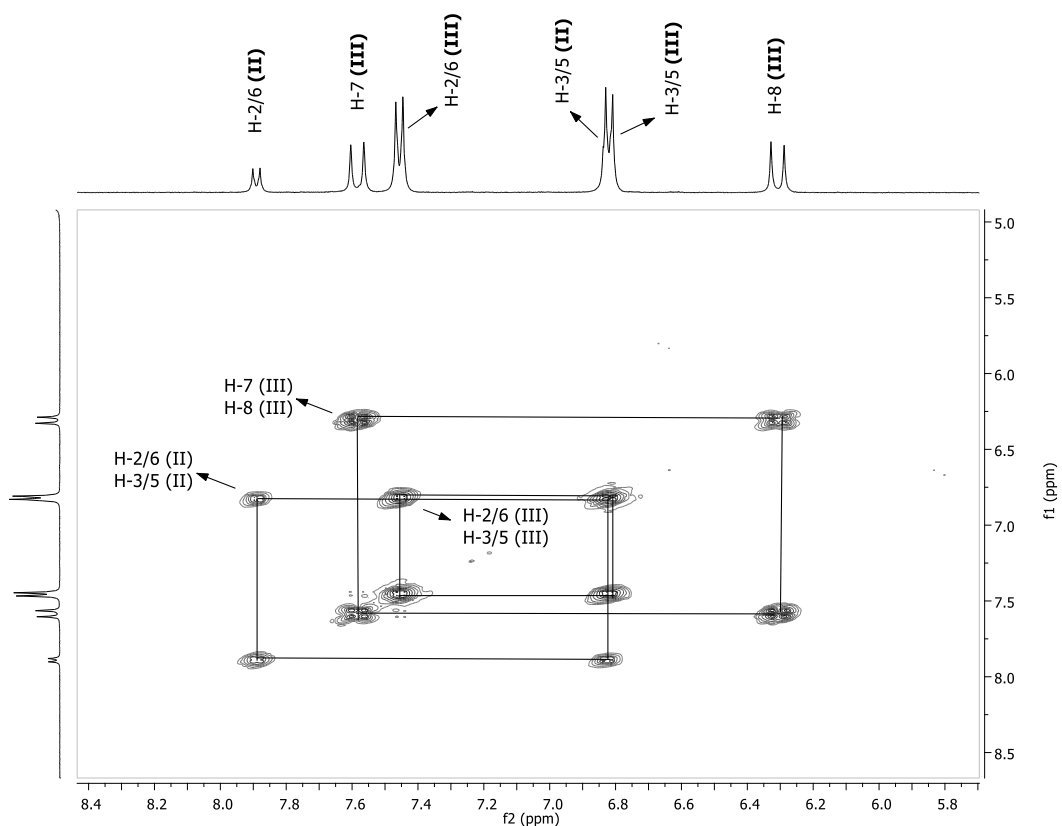
**Figura 16** - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz, DEPTQ,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de II e III.



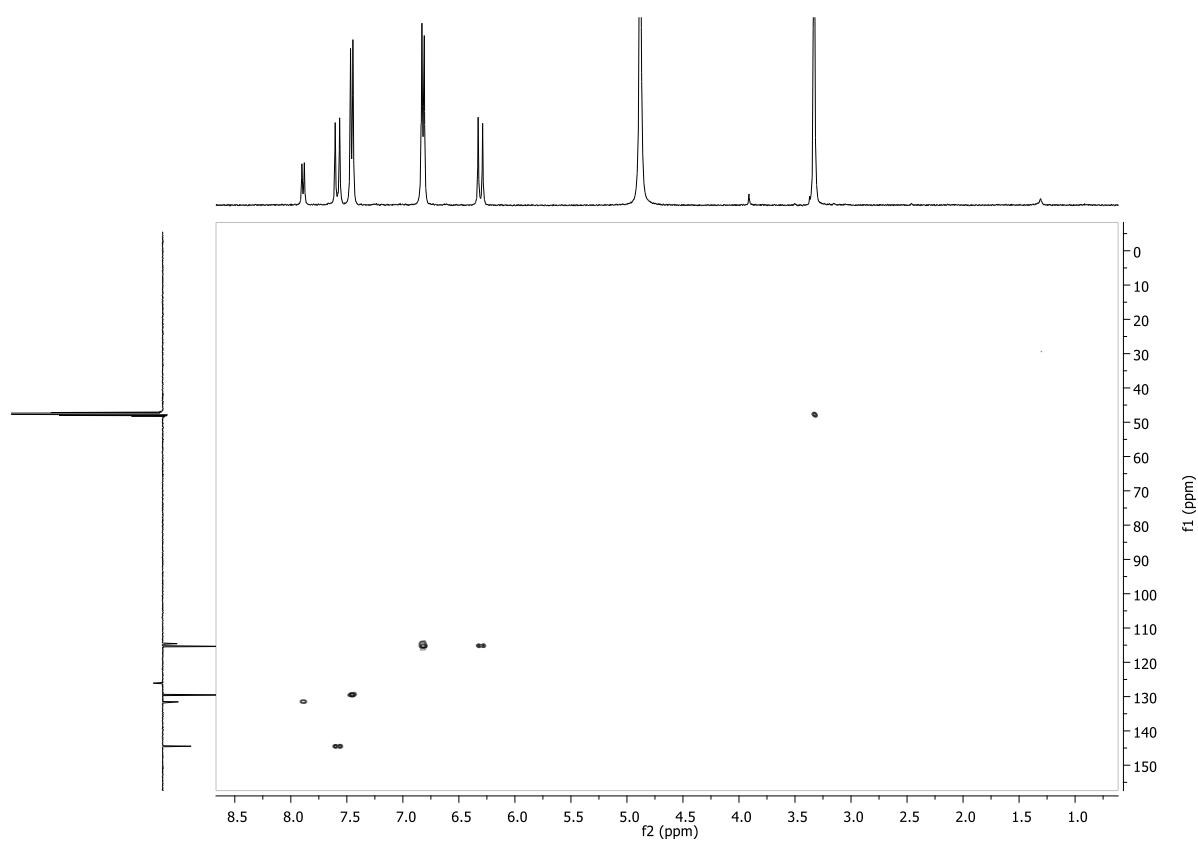
**Figura 17** - Expansão do espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz, DEPTQ,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de II e III na região entre  $\delta_{\text{C}}$  110,00-176,00 ppm.



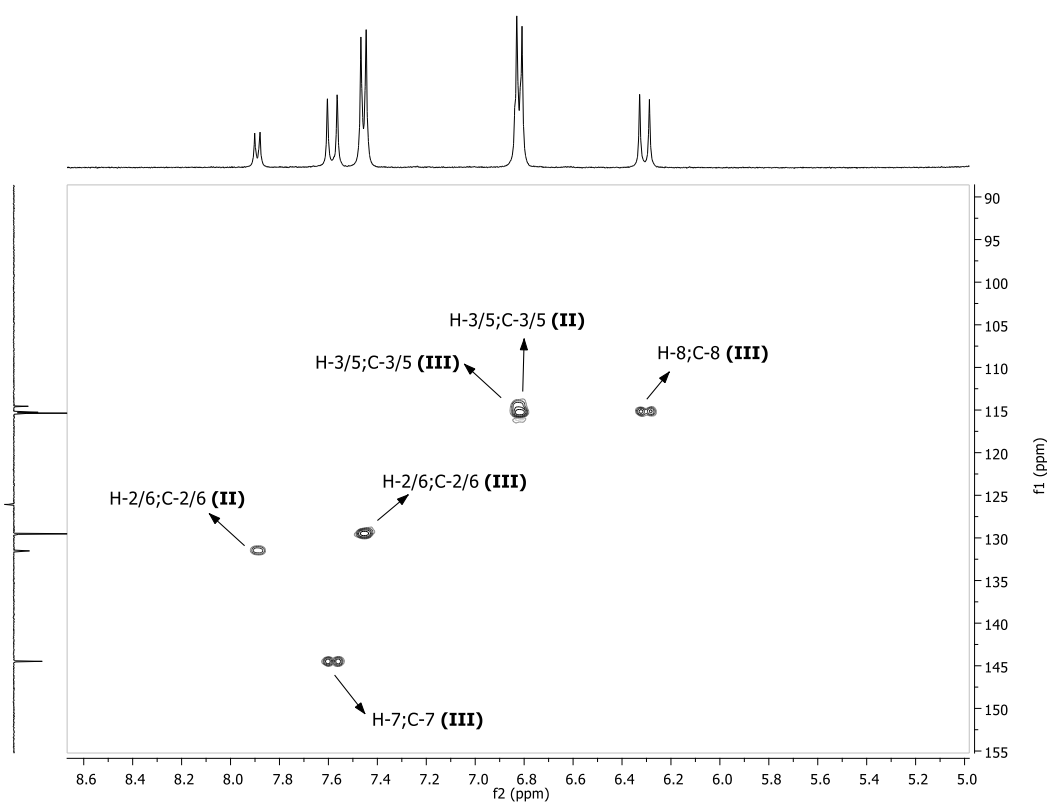
**Figura 18** - Espectro de COSY (400MHz, CD<sub>3</sub>OD) de II e III.



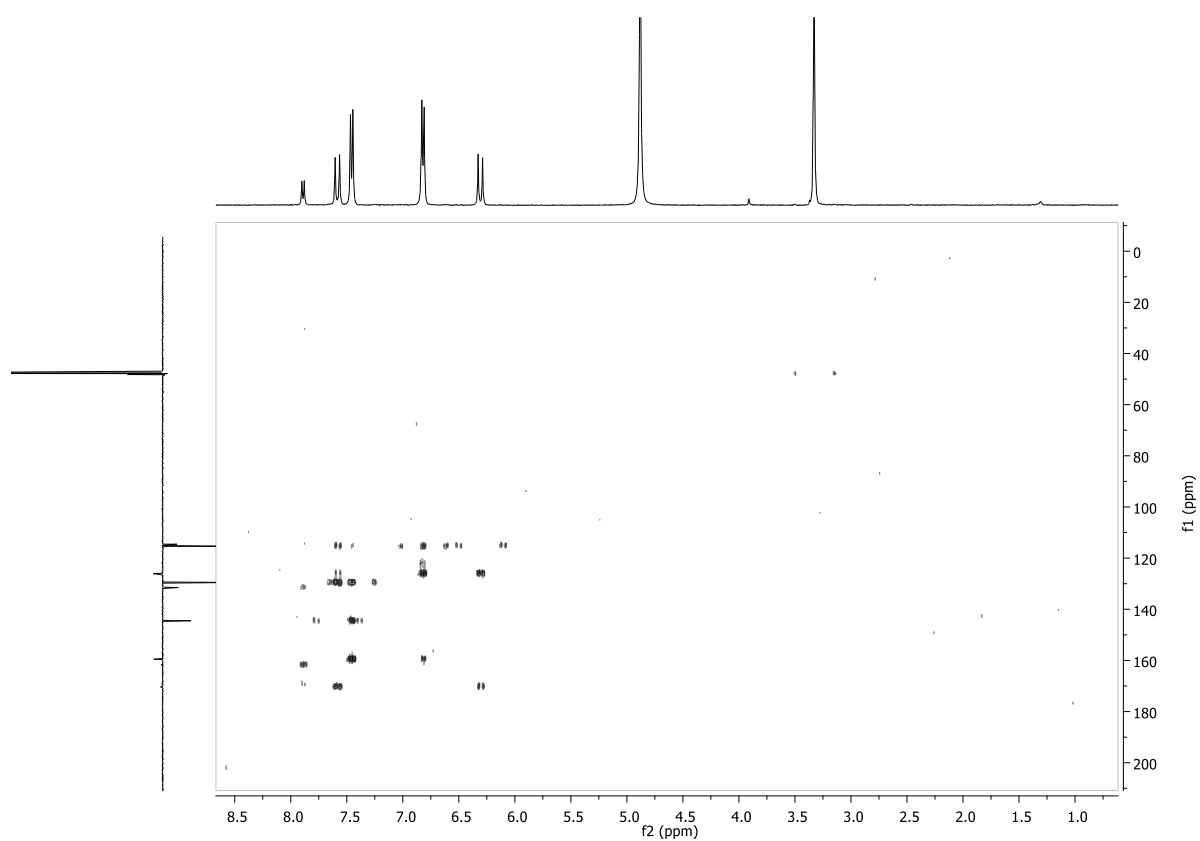
**Figura 19** - Expansão do espectro de COSY (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de II e III na região entre  $\delta_H$  5,80-8,40 ppm.



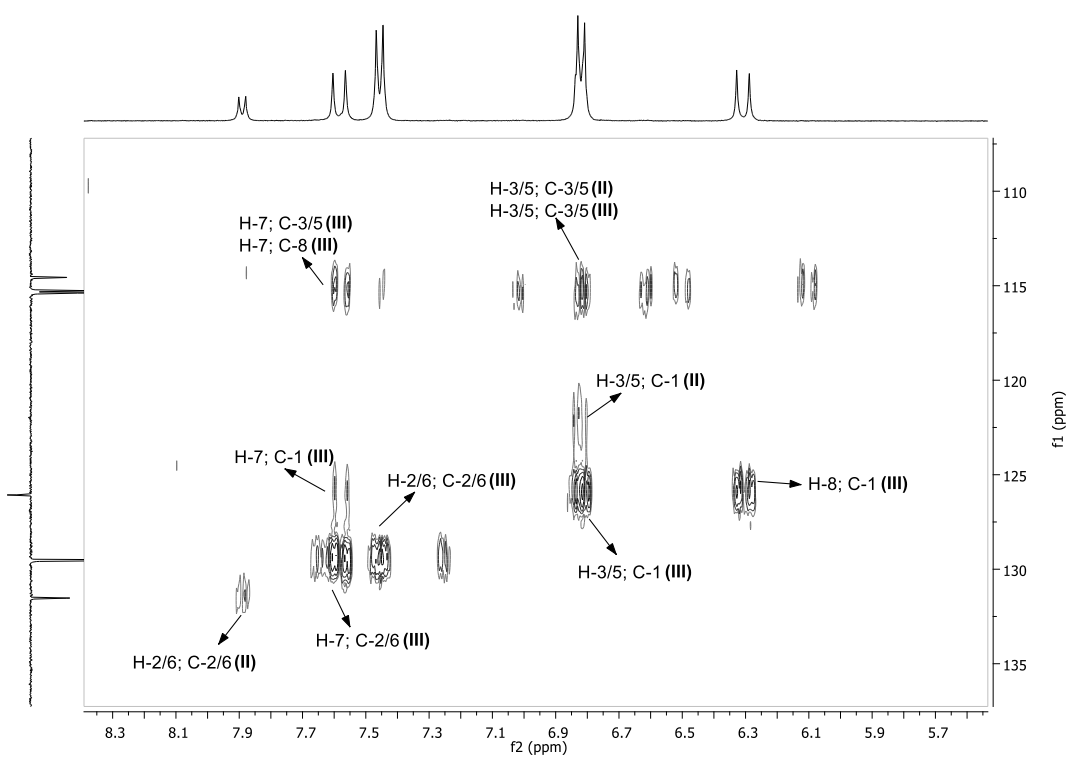
**Figura 20** - Espectro de HSQC (400/100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de II e III.



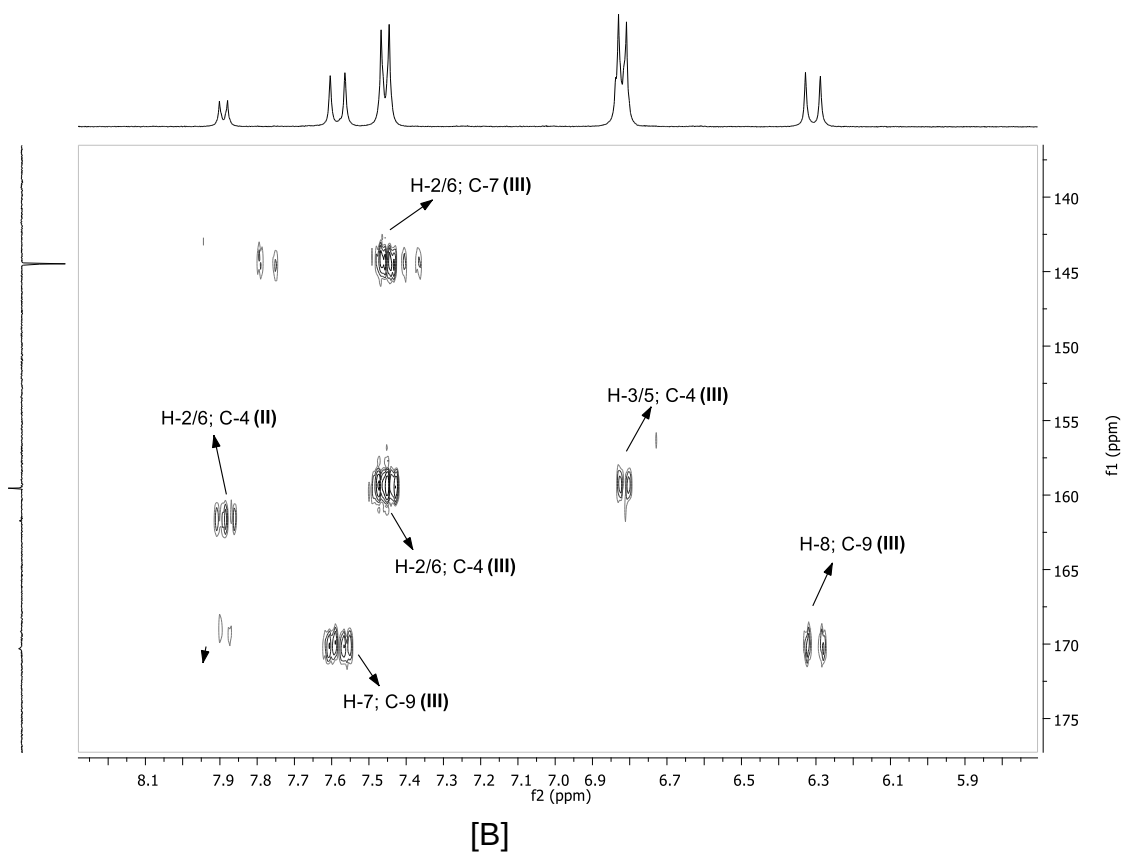
**Figura 21** - Expansão do espectro de HSQC (400/100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de II e III, entre  $\delta_{\text{H}}$  5,00-8,60 e  $\delta_{\text{C}}$  90,00-155,00 ppm.



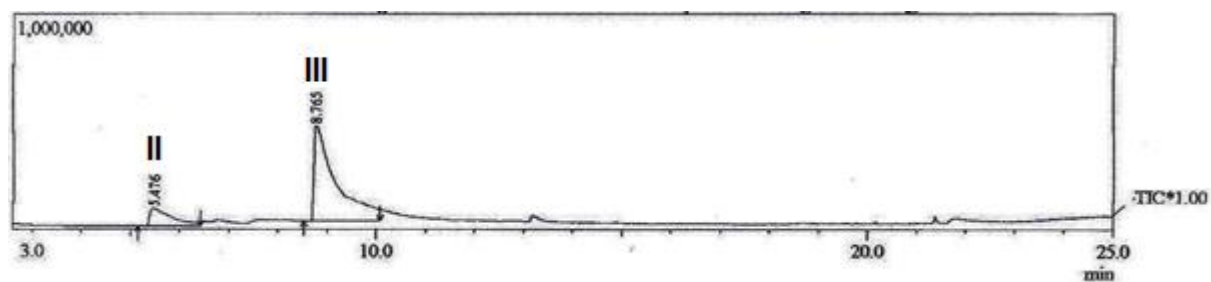
**Figura 22** - Espectro de HMBC (400/100 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de II e III.



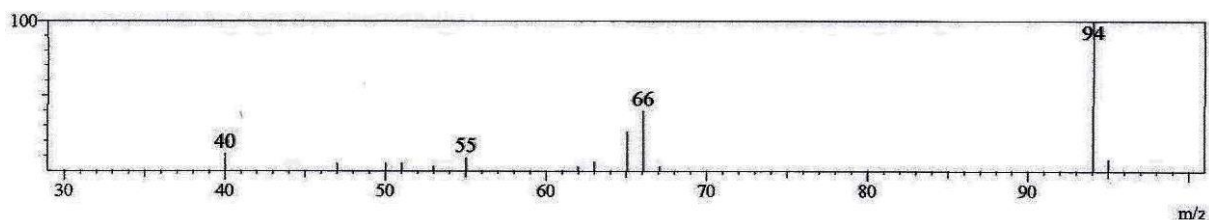
[A]



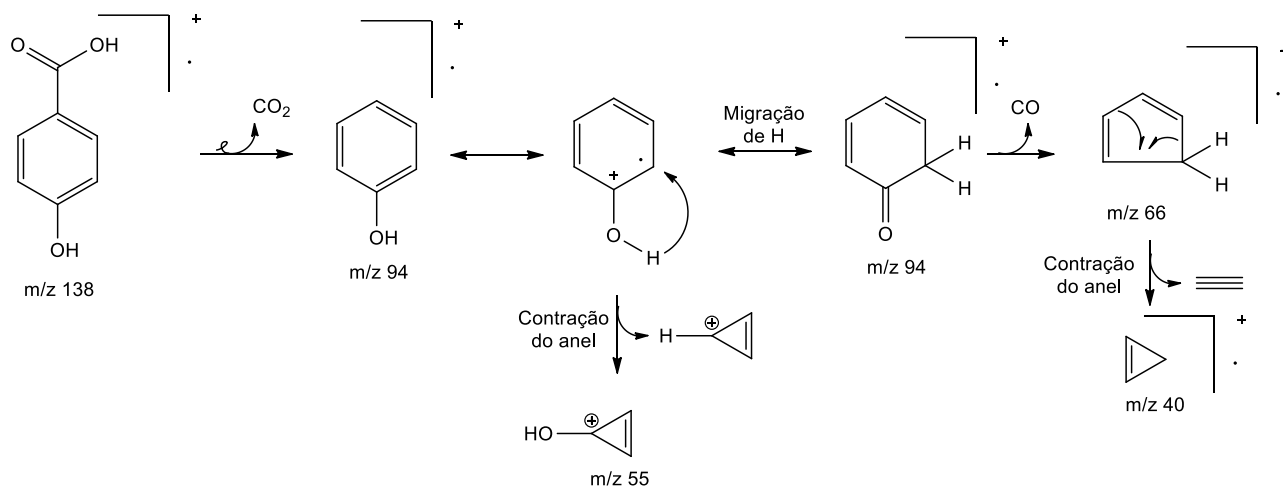
**Figura 23** - Expansão do espectro de HMBC (400/100 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de II e III, entre [A]  $\delta_H$  5,70-8,30 e  $\delta_C$  110,00-135,00 ppm, [B]  $\delta_H$  5,8-8,20 e  $\delta_C$  140,00-175,00 ppm.



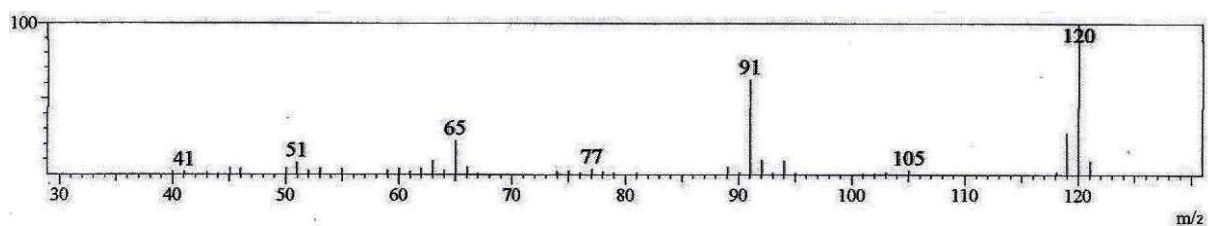
**Figura 24** - Cromatograma à gas da mistura II e III.



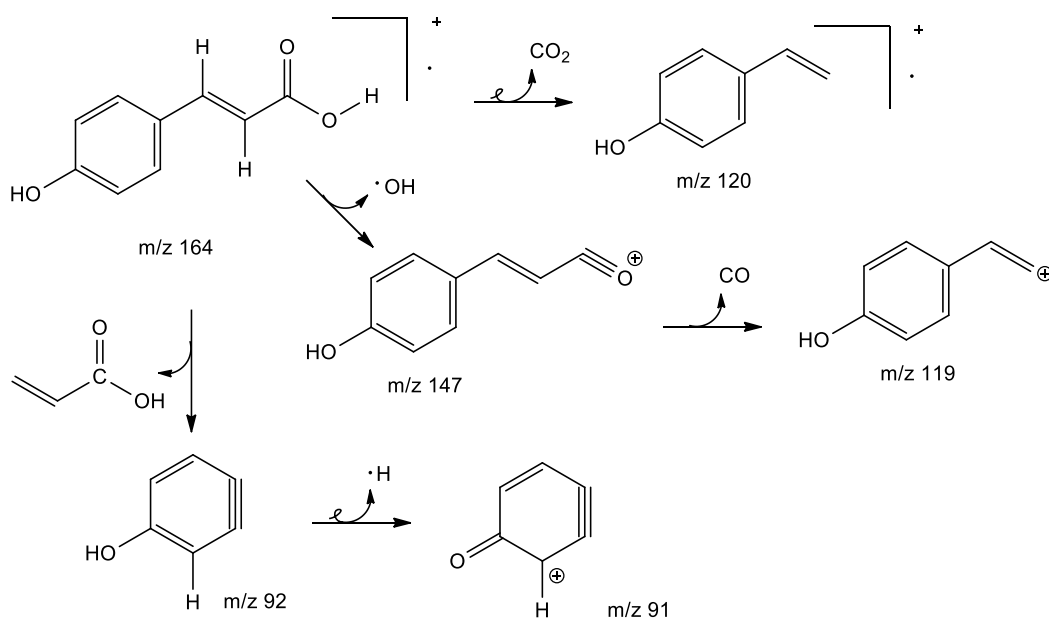
**Figura 25-** Espectro de massas por I.E. (70 eV) de II.



**Figura 26 -** Proposta de fragmentação para a substância II.



**Figura 27 -** Espectro de massas por I.E. (70 eV) de III.



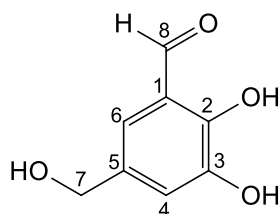
**Figura 28 -** Proposta de fragmentação para a substância III.

### 5.2.3. Identificação da substância IV

A elucidação estrutural de IV foi realizada através de análises espectroscópicas de RMN 1D e 2 D, EM de baixa resolução em comparação com os dados da literatura (KAVITHA et al., 2010). A análise de espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 30, p. 89) forneceu dois dupletos característicos de anel aromático em  $\delta_{\text{H}}$  6,58 (1H, d,  $J= 3,5$  Hz) e  $\delta_{\text{H}}$  7,23 (1H, d,  $J= 3,5$  Hz) com acoplamento em *meta* que foi atribuído aos hidrogênios H-4 e H-6. Verificou-se ainda dois simpletos com  $\delta_{\text{H}}$  em 9,64 (1H, s) coerente com o hidrogênio ligado ao grupamento carboxílico e em 4,65 (2H, s) referente aos dois hidrogênios metilênico (H-7). O espectro de DEPTQ (Figura 32, p. 90) mostrou sinais em  $\delta_{\text{C}}$  157,2 (C-2) e 152,7 (C-3) equivalentes aos carbonos oxigenados do anel aromático, outros dois sinais observados em  $\delta_{\text{C}}$  111,9 e 122,01 são compatíveis com carbonos aromáticos hidrogenados em C-4 e C-6. A unidade do aldeído pode ser confirmada pela presença do sinal com  $\delta_{\text{C}}$  em 177,7 atribuído ao C-8, enquanto que o sinal em  $\delta_{\text{C}}$  em 64,61 apontam a presença de um carbono oximetilênico na posição 7 do anel aromático.

O espectro de COSY (Figura 34, p. 91) confirmou o acoplamento entre os hidrogênios H-6 e H-4, além de H-4 e H-7. Os experimentos de HSQC (Figura 36, p. 92) e HMBC (Figura 38, p. 93) permitiram atribuir inequivocadamente os carbonos e hidrogênios pertencente ao anel aromático, e aos demais grupos ligados ao mesmo. Sendo que tais técnicas em comparação com a literatura (KAVITHA et al., 2010) possibilitaram uma proposta estrutural para IV coerente com a fórmula molecular  $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_4$ .

A análise de CG-EM forneceu cromatograma (Figura 39, p. 94) com um pico em  $t_{\text{R}}$  14,0 minutos, bem como outros menos relevantes. No espectro de massas do composto IV (Figura 40, p. 94) com  $t_{\text{R}}$  14,0 minutos, não foi possível identificar o pico do íon molecular em  $m/z$  168 ( $\text{M}^+$ ), entretanto apresentou padrão de fragmentação significativos (Figura 41, p. 94) em  $m/z$  138 justificado pela perda de uma molécula de formaldeído ( $\text{CH}_2\text{O}$ ) [ $m/z$  30] e ainda o pico base em  $m/z$  109 formado pela eliminação de CO [ $m/z$  28] partindo do pico em  $m/z$  138, seguida da saída um átomo de hidrogênio. O pico base perde uma molécula de CO possibilitando a formação do pico com  $m/z$  81 e a perda de uma molécula de etilenodiona ( $\text{C}_2\text{O}_2$ ) [ $m/z$  56] resulta na obtenção do pico em  $m/z$  53. Essas propostas de fragmentações bem como os dados discutidos acima atestam que o composto  $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_4$  trata-se do 2,3-dihidroxi-5-(hidroximetil) benzaldeído (IV).

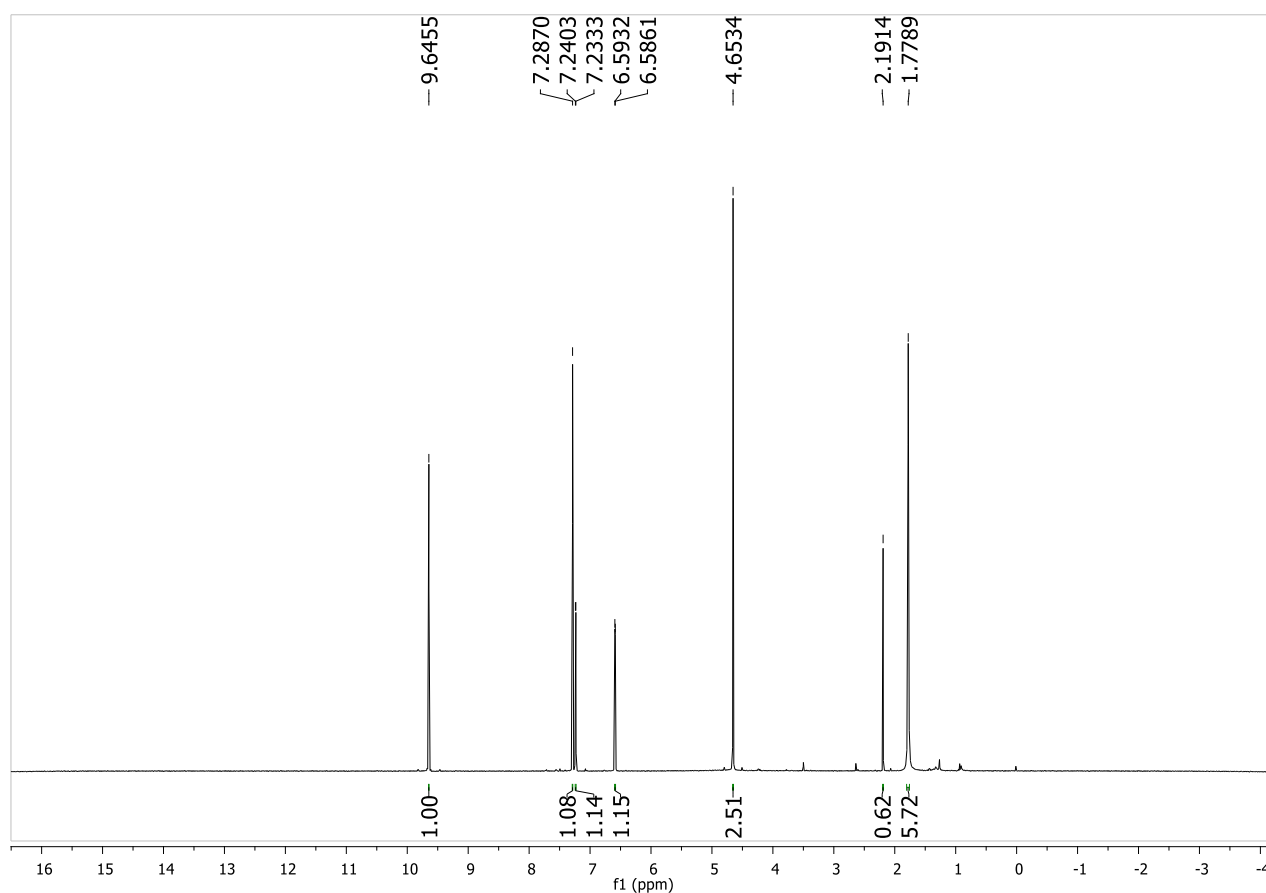


2,3-dihidroxi-5-(hidroximetil) benzaldeído (IV)

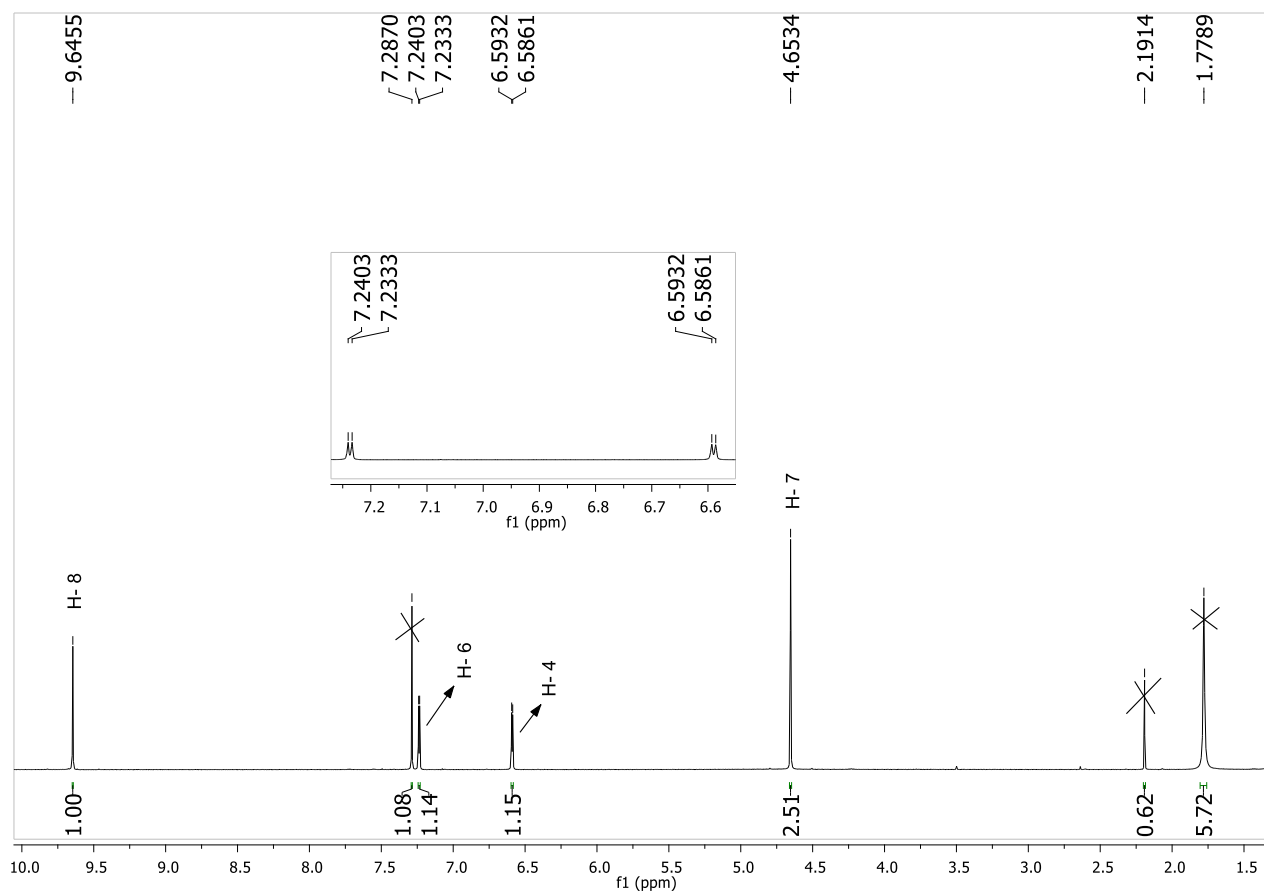
**Tabela 7.** Dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  (125 MHz, DEPTQ,  $\text{CDCl}_3$ ) e  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) da mistura de IV em comparação com dados da literatura (KAVITHA et al., 2010)

| Substância IV |                     |                           | Literatura<br>( $\text{CDCl}_3$ + DMSO, 50 e 200 MHz) |                           |
|---------------|---------------------|---------------------------|-------------------------------------------------------|---------------------------|
| C             | $\delta_{\text{C}}$ | $\delta_{\text{H}}$       | $\delta_{\text{C}}$                                   | $\delta_{\text{H}}$       |
| 1             | n.d                 | -                         | -                                                     | -                         |
| 2             | 157,21              | -                         | 155,96                                                | -                         |
| 3             | 152,76              | -                         | 148,41                                                | -                         |
| 4             | 111,90              | 6,58 (1H, d, $J= 3,5$ Hz) | 132,47                                                | 7,61 (1H, d, $J= 3,3$ Hz) |
| 5             | n.d                 | -                         | 146,63                                                | -                         |
| 6             | 122,01              | 7,23 (1H, d, $J= 3,5$ Hz) | 139,90                                                | 6,48 (1H, d, $J= 3,5$ Hz) |
| 7             | 64,61               | 4,65 (2H, s)              | 57,73                                                 | 4,69 (2H, s)              |
| 8 (CHO)       | 177,78              | 9,64 (1H, s)              | 200,48                                                | 9,61 (1H, s)              |

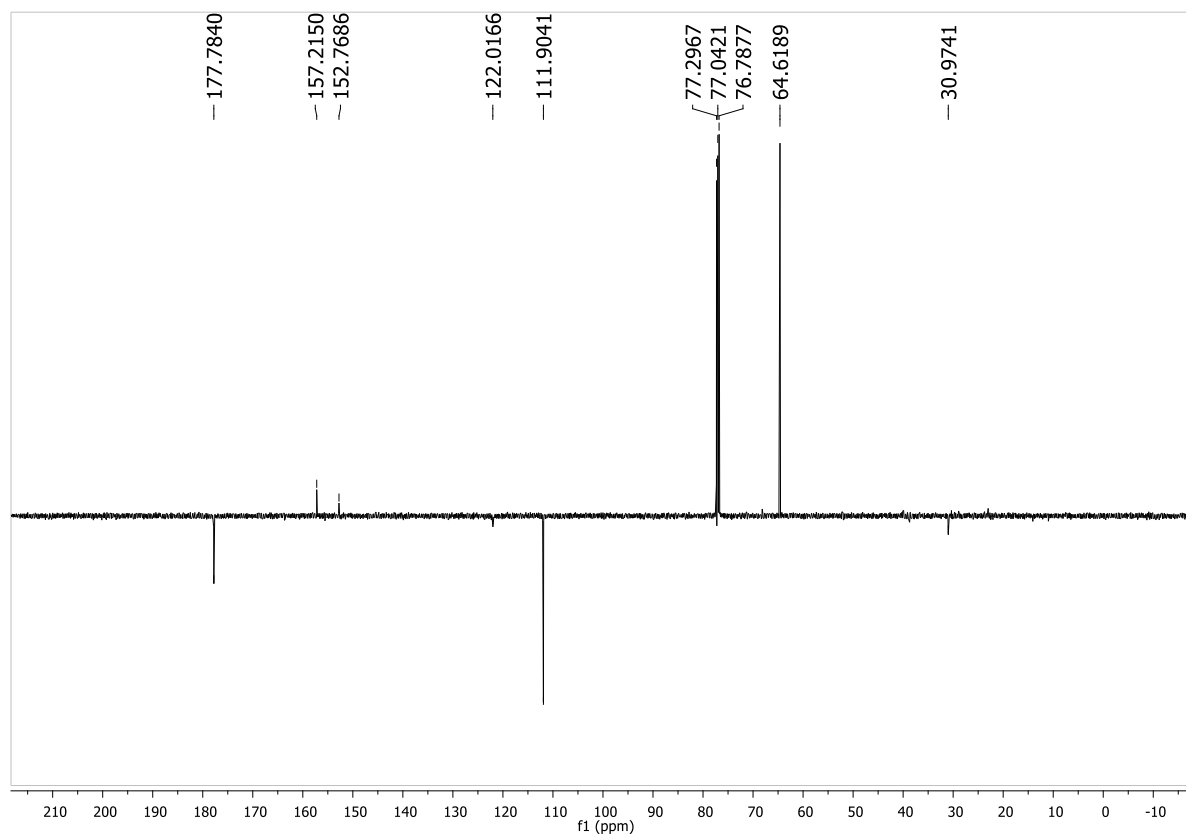
n.d: não detectado



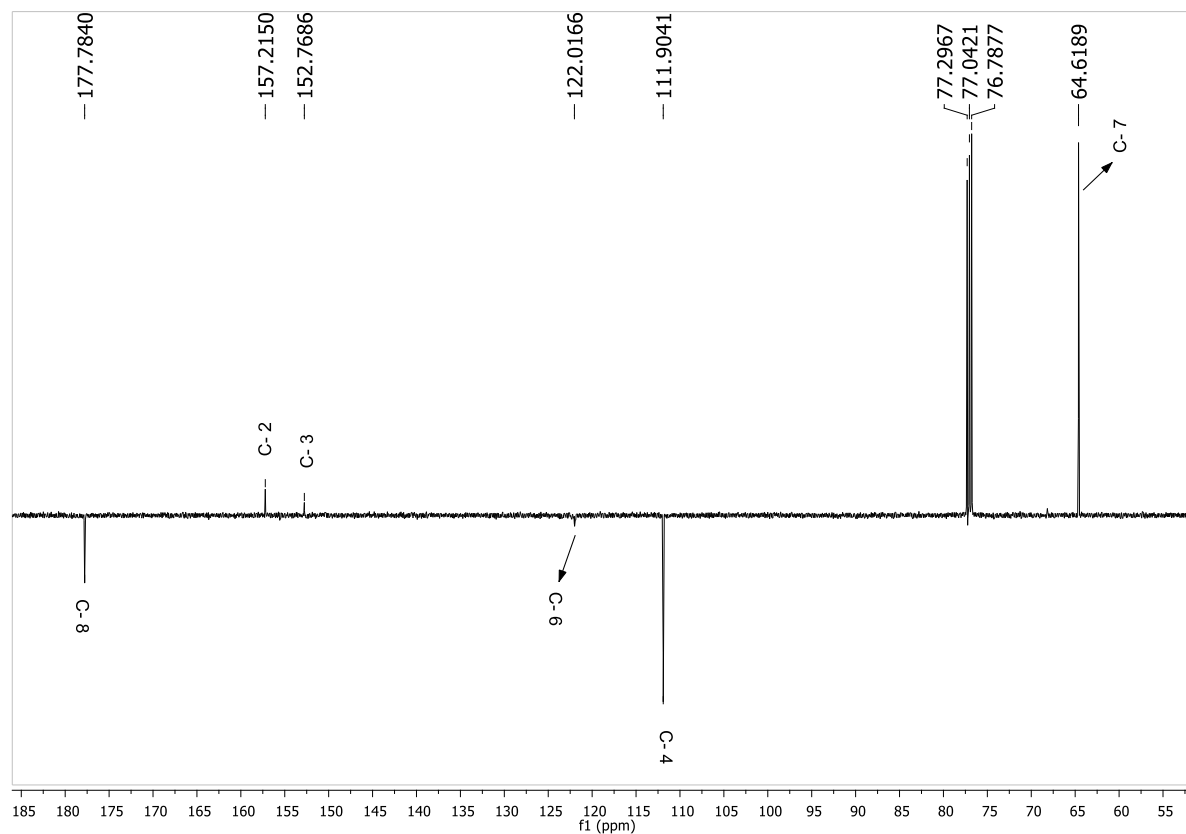
**Figura 29** - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de IV.



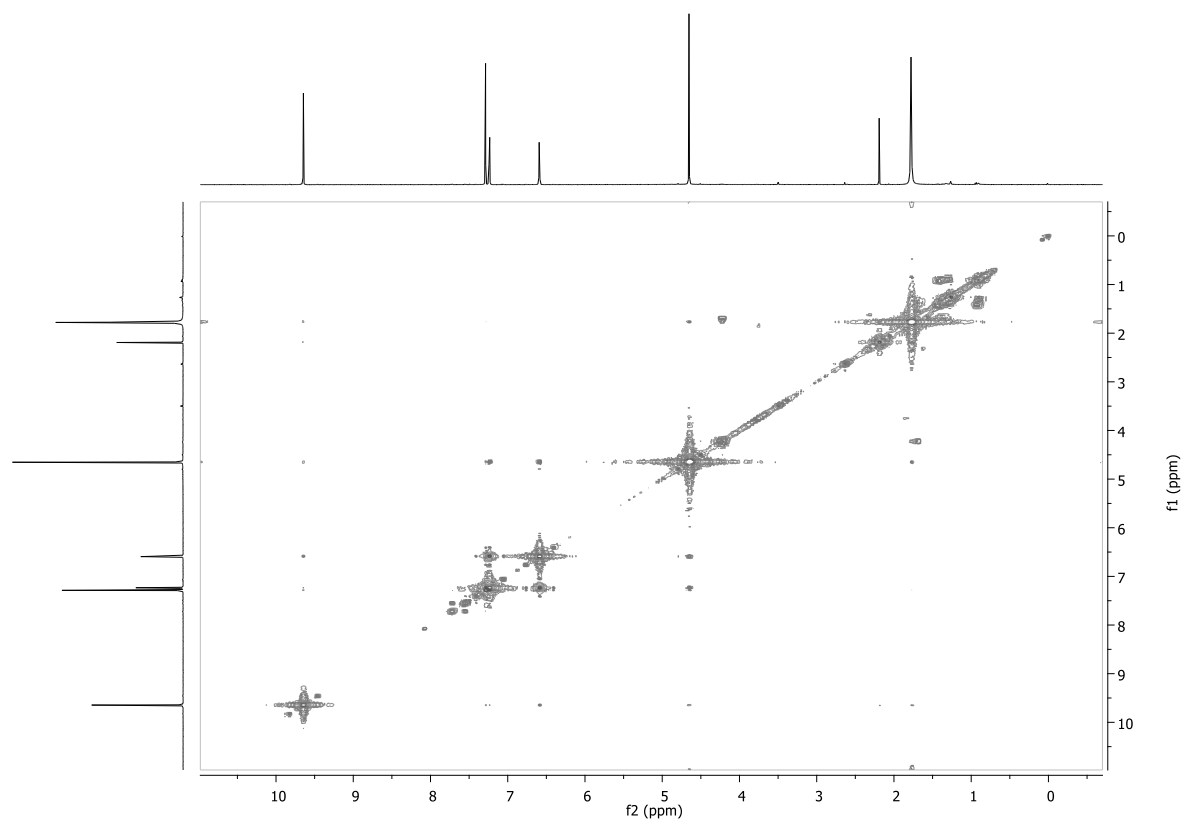
**Figura 30** - Expansão do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de IV na região entre  $\delta_{\text{H}}$  1,5-10,0 ppm.



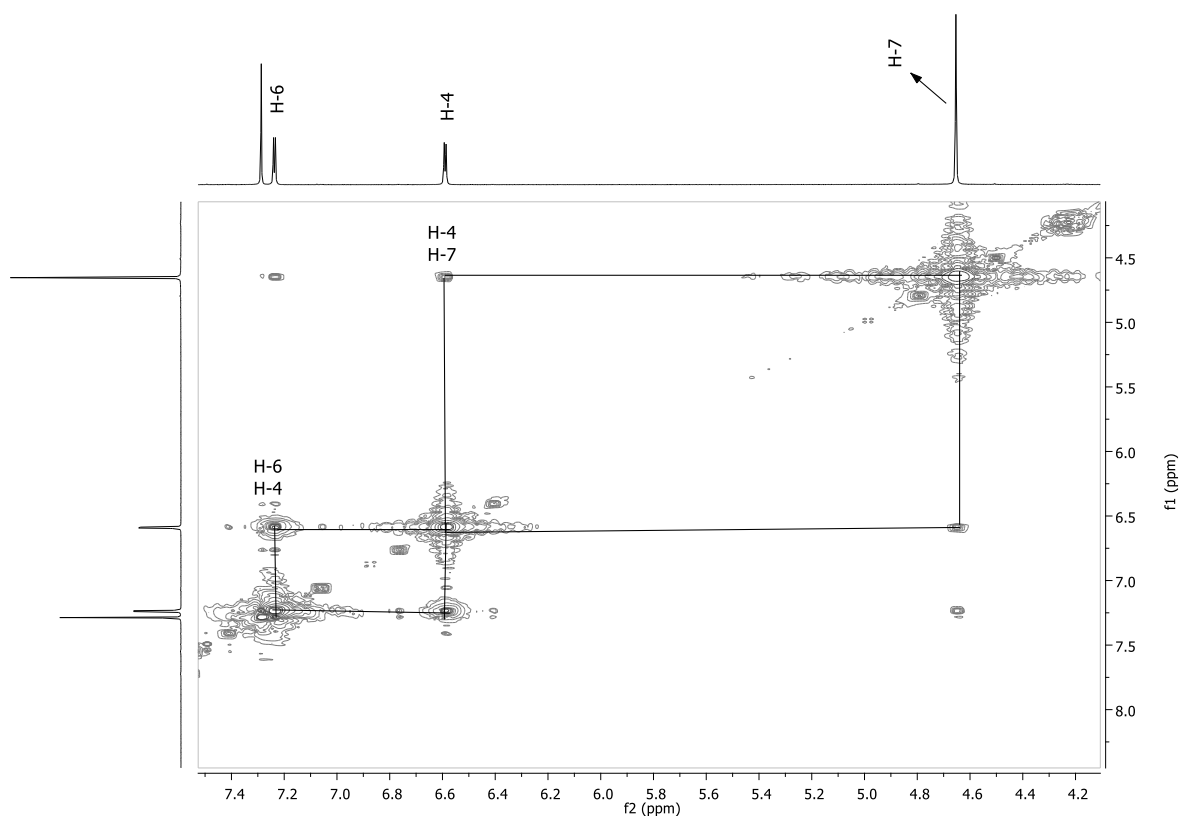
**Figura 31** - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (125 MHz, DEPTQ,  $\text{CDCl}_3$ ) de IV.



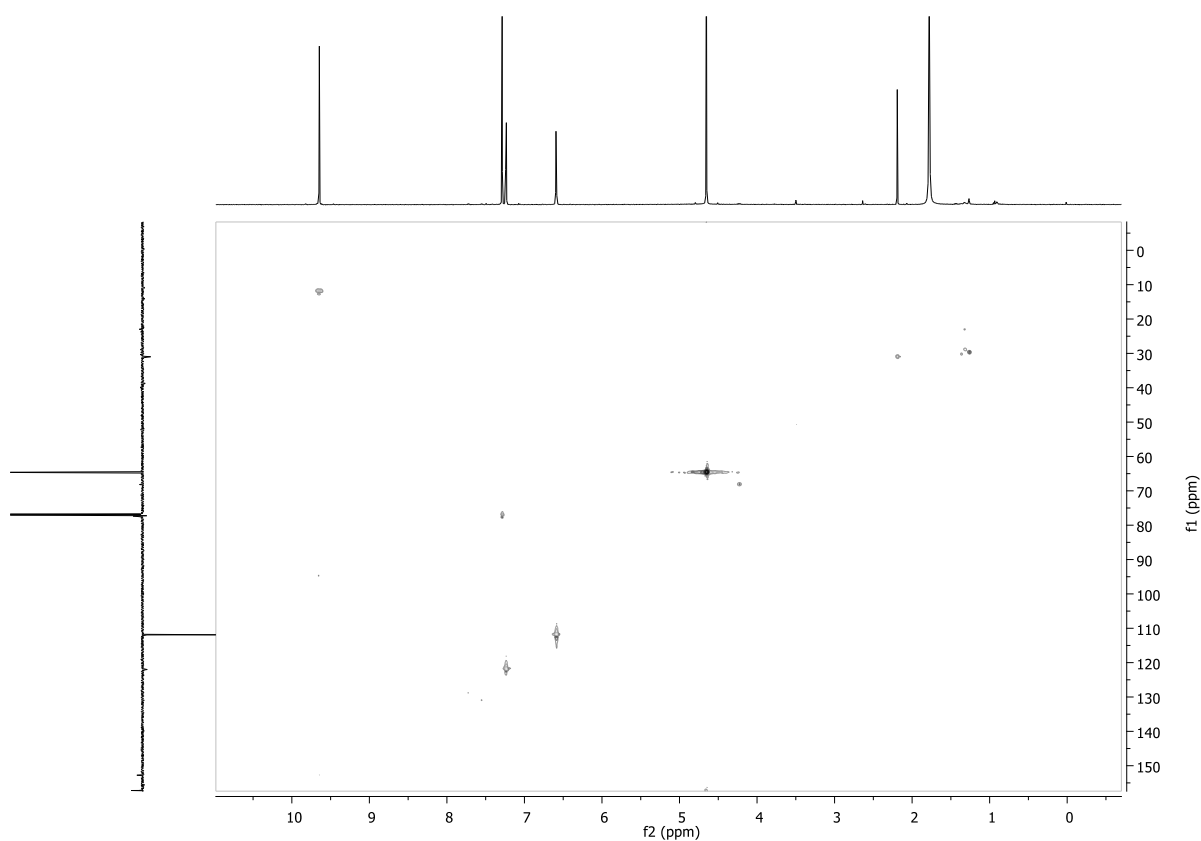
**Figura 32** - Expansão do espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (125 MHz, DEPTQ,  $\text{CDCl}_3$ ) de IV na região entre  $\delta_{\text{C}}$  55,00-185,00 ppm.



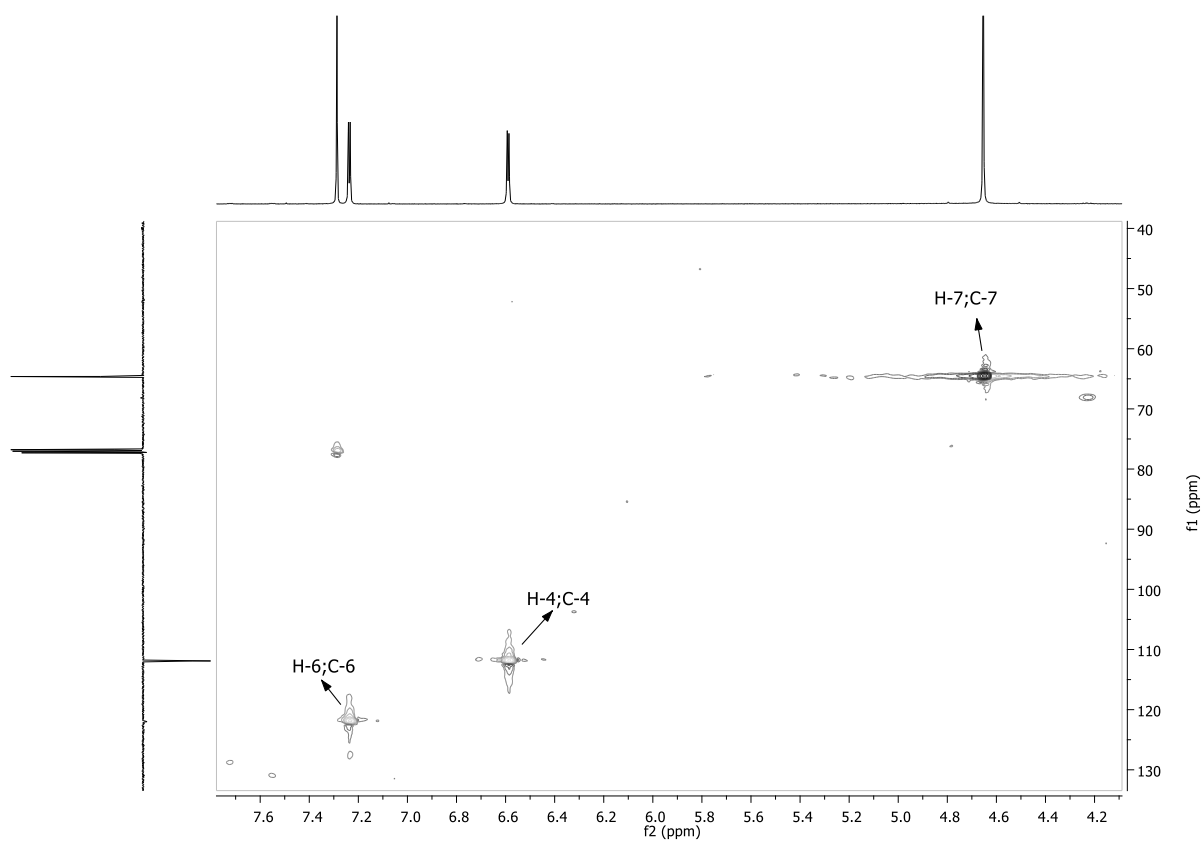
**Figura 33** - Espectro de COSY (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de IV.



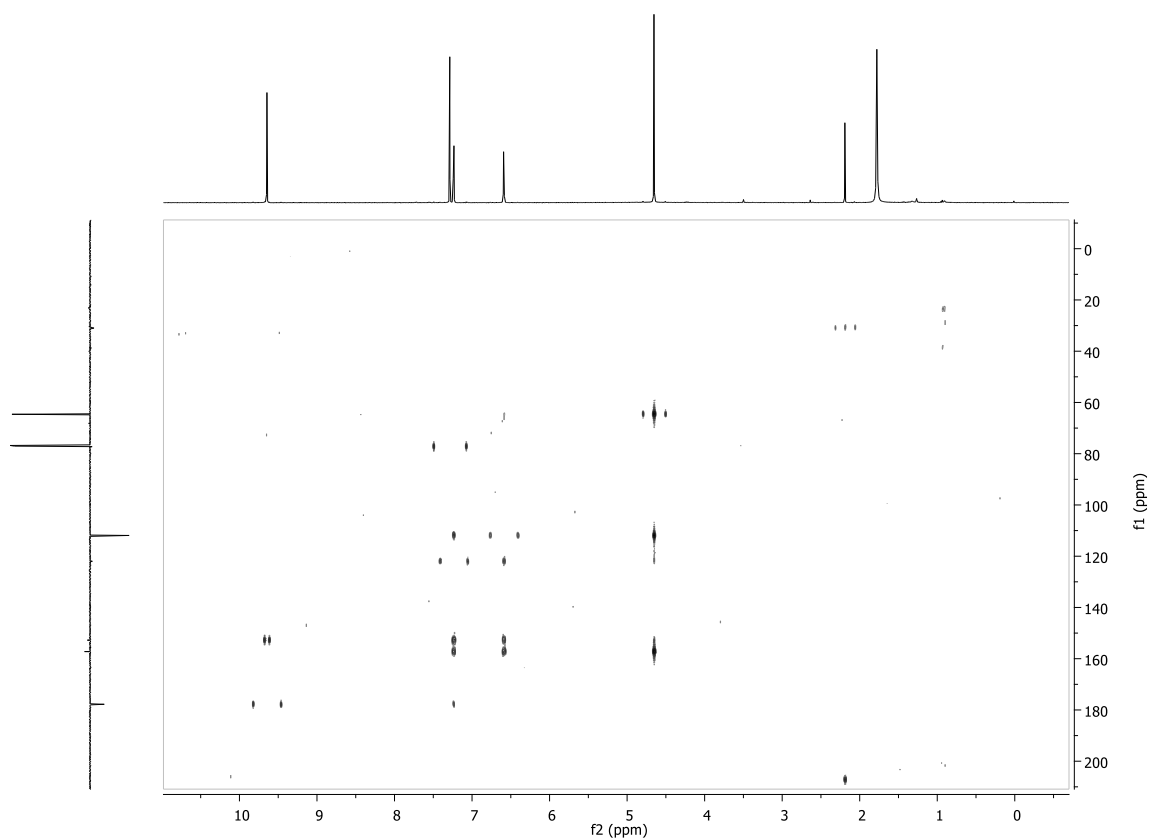
**Figura 34** - Expansão do espectro de COSY (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de IV na região entre  $\delta_{\text{H}}$  4,20-8,50 ppm.



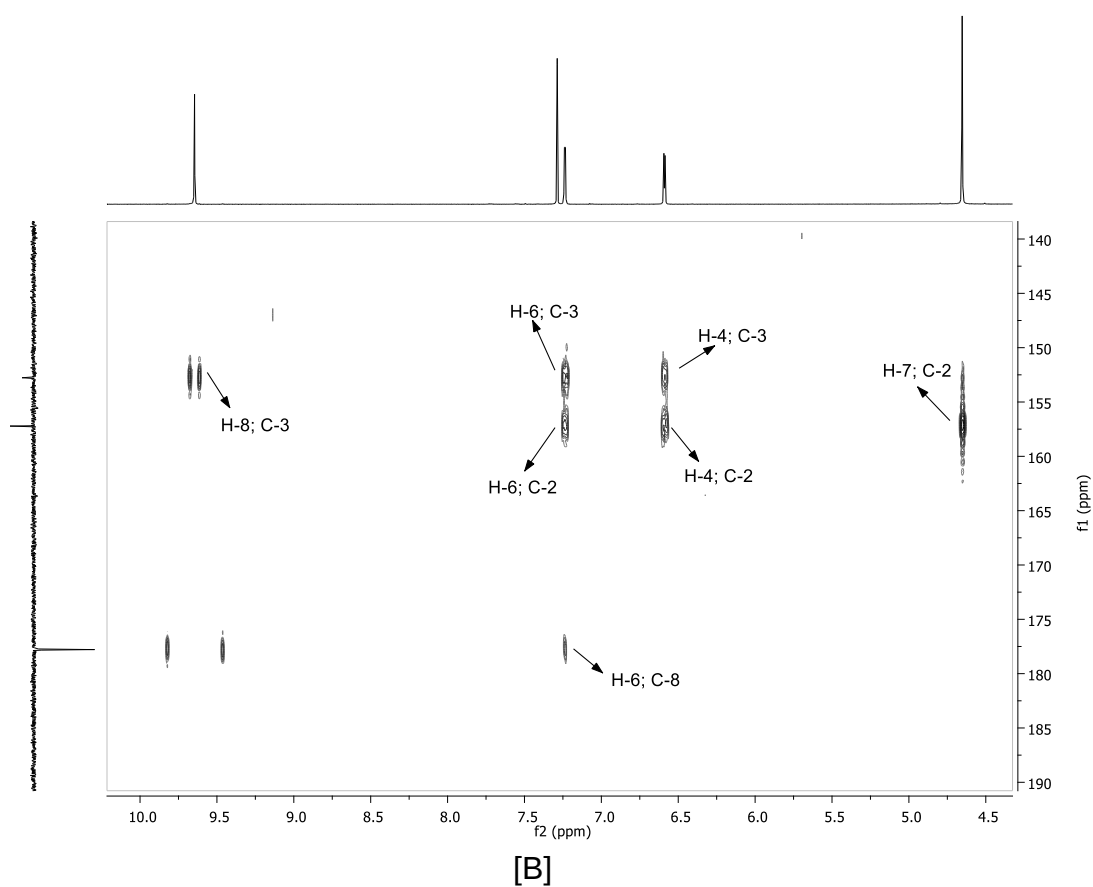
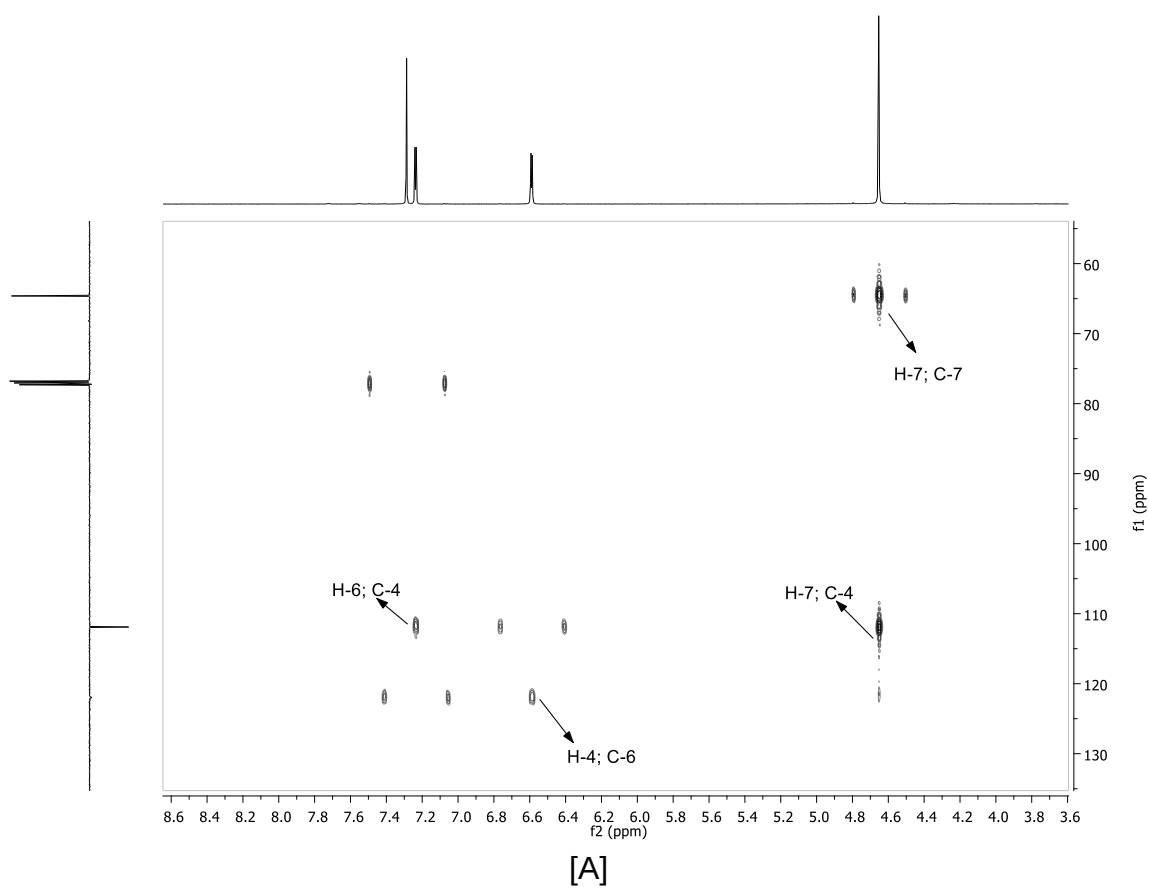
**Figura 35** - Espectro de HSQC (500/125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de IV.



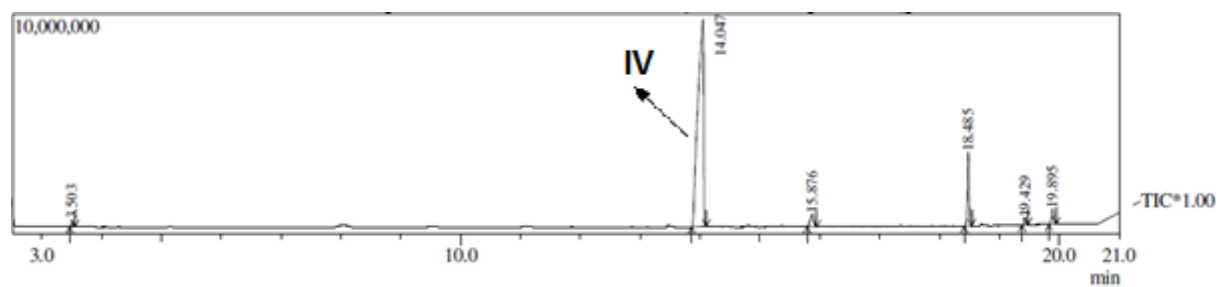
**Figura 36** - Expansão do espectro de HSQC (500/125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de IV, entre  $\delta_{\text{H}}$  4,10-7,70 e  $\delta_{\text{C}}$  40,00-130,00 ppm.



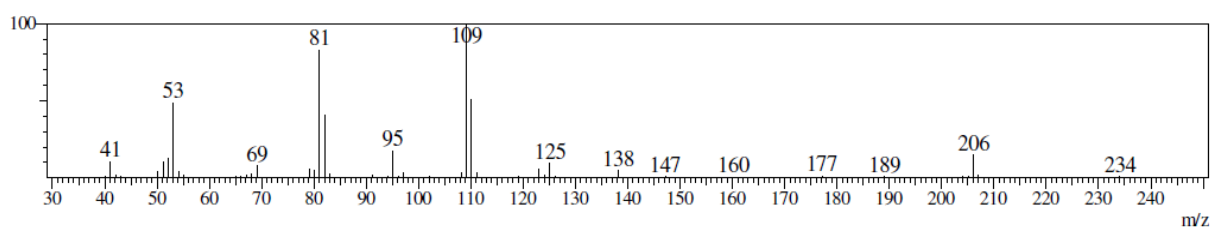
**Figura 37** - Espectro de HMBC (400/100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de IV.



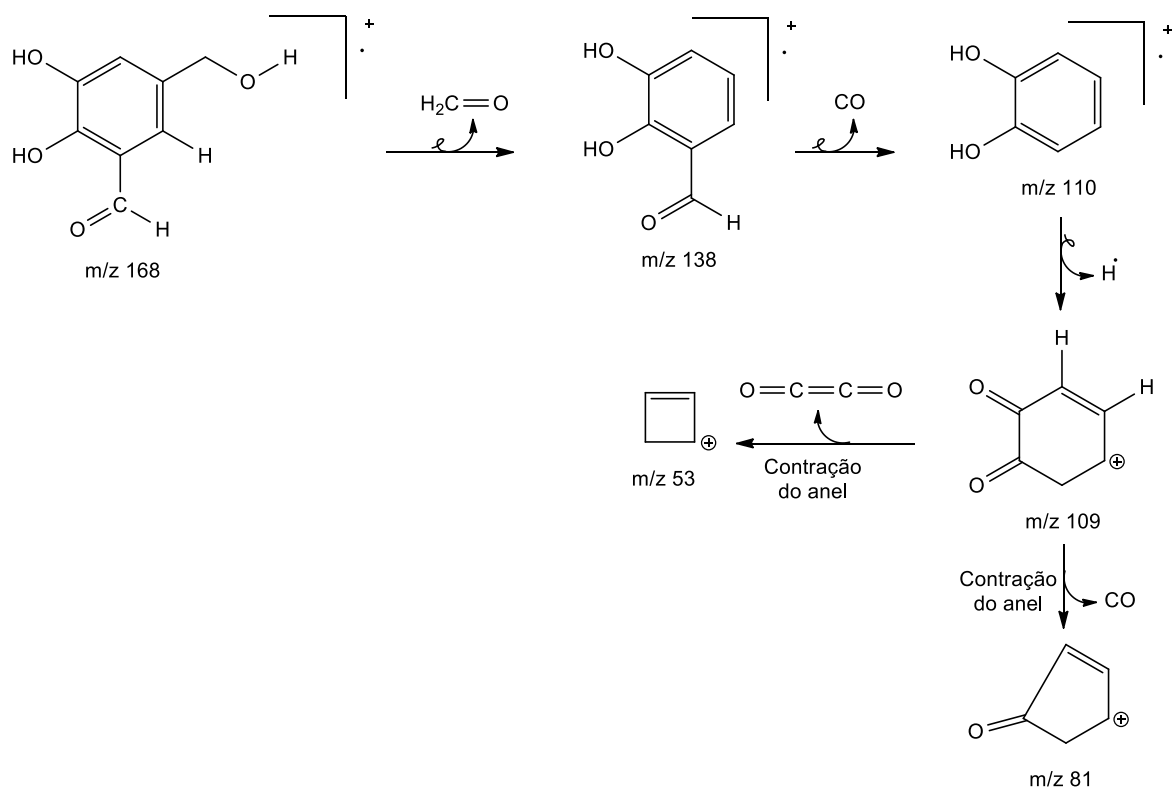
**Figura 38** - Expansão do espectro de HMBC (400/100 MHz,  $CD_3OD$ ) de IV, entre [A]  $\delta_H$  3,60-8,60 e  $\delta_C$  55,00-130,00 ppm, [B]  $\delta_H$  4,50-10,00 e  $\delta_C$  140,00-190,00 ppm.



**Figura 39** - Cromatograma a gás de IV



**Figura 40** - Espectro de massas por I.E. (70 eV) de IV.



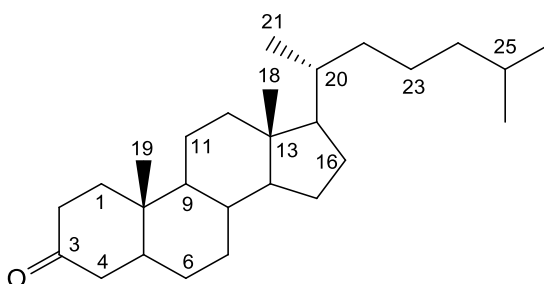
**Figura 41** - Proposta de fragmentação para a substância IV.

#### 5.2.4. Identificação da substância V

Para a elucidação da substância **V** utilizou-se as técnicas de RMN unidimensional e bidimensional e EM de baixa resolução, nas quais foi possível identificá-la em mistura com outros fitoesteróides discutidos posteriormente. As estruturas de tais esteroides por serem muito similares impossibilitam a separação e dificultam a elucidação. A análise dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 42 e 43, p. 97) de **V** não apresentou nenhum sinal na região de aromático, e se caracterizou pelo acúmulo de sinais intensos na região mais protegida do espectro entre  $\delta_{\text{H}}$  0,69 à 2,33 ppm compatíveis com os grupos de átomos de hidrogênios metínicos, metílicos e metilênicos peculiar ao esqueleto esteroidal. Na região entre  $\delta_{\text{H}}$  3,50 a  $\delta_{\text{H}}$  5,40 ppm observa-se sinais que não foram atribuídos ao composto de interesse, mas sim aos demais esteroides presentes na mistura (**VI**, **VII** e **VIII**). A ausência de sinal de hidrogênio desprotegido por uma hidroxila, nesta região possibilitou atribuir a presença de uma carbonila na posição 3 da substância **V**. Outros três sinais detectados entre  $\delta_{\text{H}}$  4,98 à 5,00 ppm foram atribuídos aos hidrogênios olefínicos presentes nos demais esteroides, então para **V** supõe-se a ausência destes hidrogênios no esqueleto esteroidal de **V**. Esses dados foram confirmados através da análise do espectro de DEPTQ (Figura 45 e 46, p. 98 e 99), que mostrou sinais em  $\delta_{\text{C}}$  11.86 a  $\delta_{\text{C}}$  207.14 ppm característicos do núcleo esteroidal. O sinal em  $\delta_{\text{C}}$  207,14 confirma a existência do carbono carbonílico na posição C-3, em conformidade com o espectro de RMN de  $^1\text{H}$ .

Os mapas de contornos HSQC (Figura 47, p. 99) e HMBC (Figura 48, p. 100) comprovam o acúmulo de correlações existentes entre carbonos e hidrogênios metínicos, metílicos e metilênicos coerente com a mistura de esteroides.

Baseado nas análises de RMN de  $^1\text{H}$  e RMN de  $^{13}\text{C}$  comparados com dados da literatura (SOUZA et al, 2001) a substância foi identificada com o esteroide de massa molecular  $\text{C}_{27}\text{H}_{46}\text{O}$ , colestanona (**V**). A presença da colestanona foi anteriormente descrita nos frutos de *Arbutus unedo* (NORONHA, 2001).

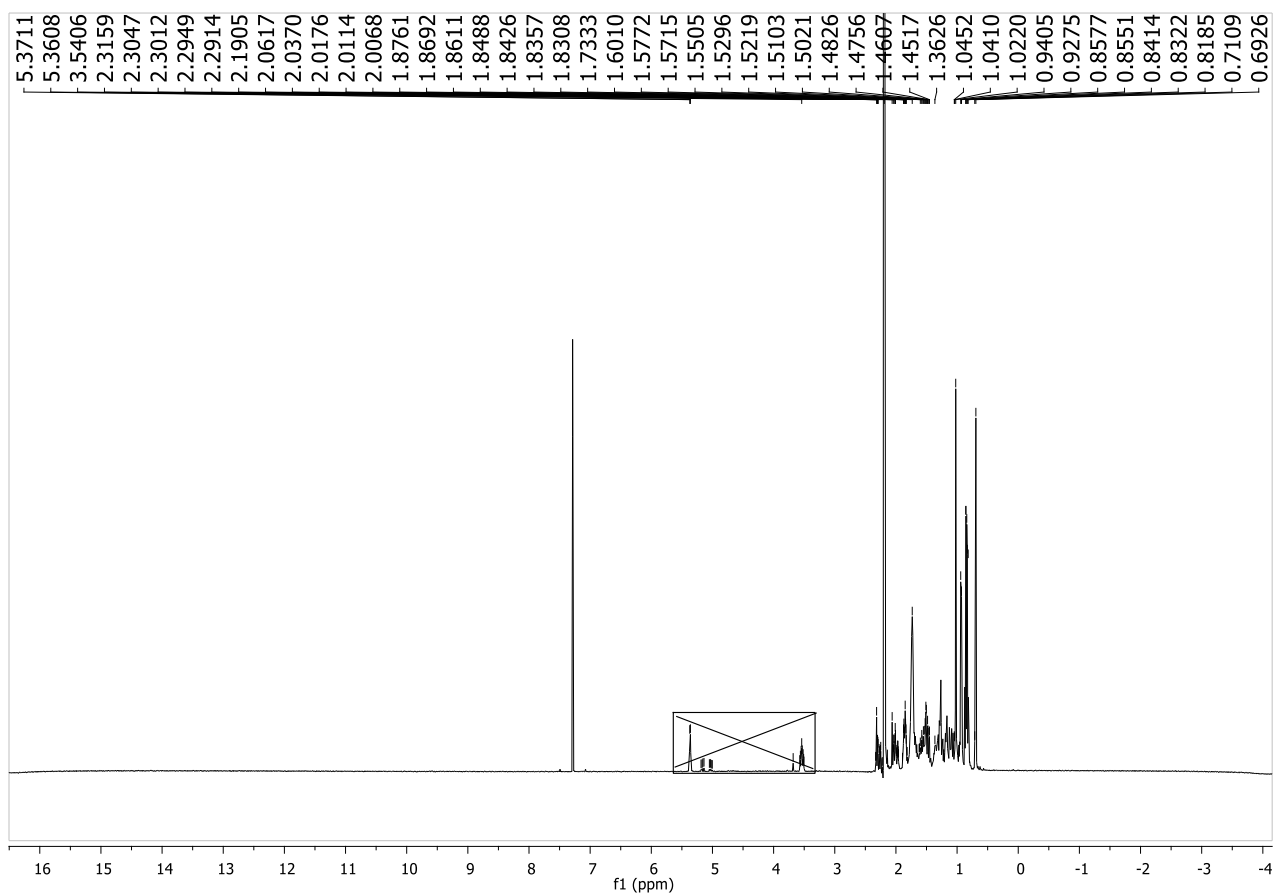


colestanona (**V**)

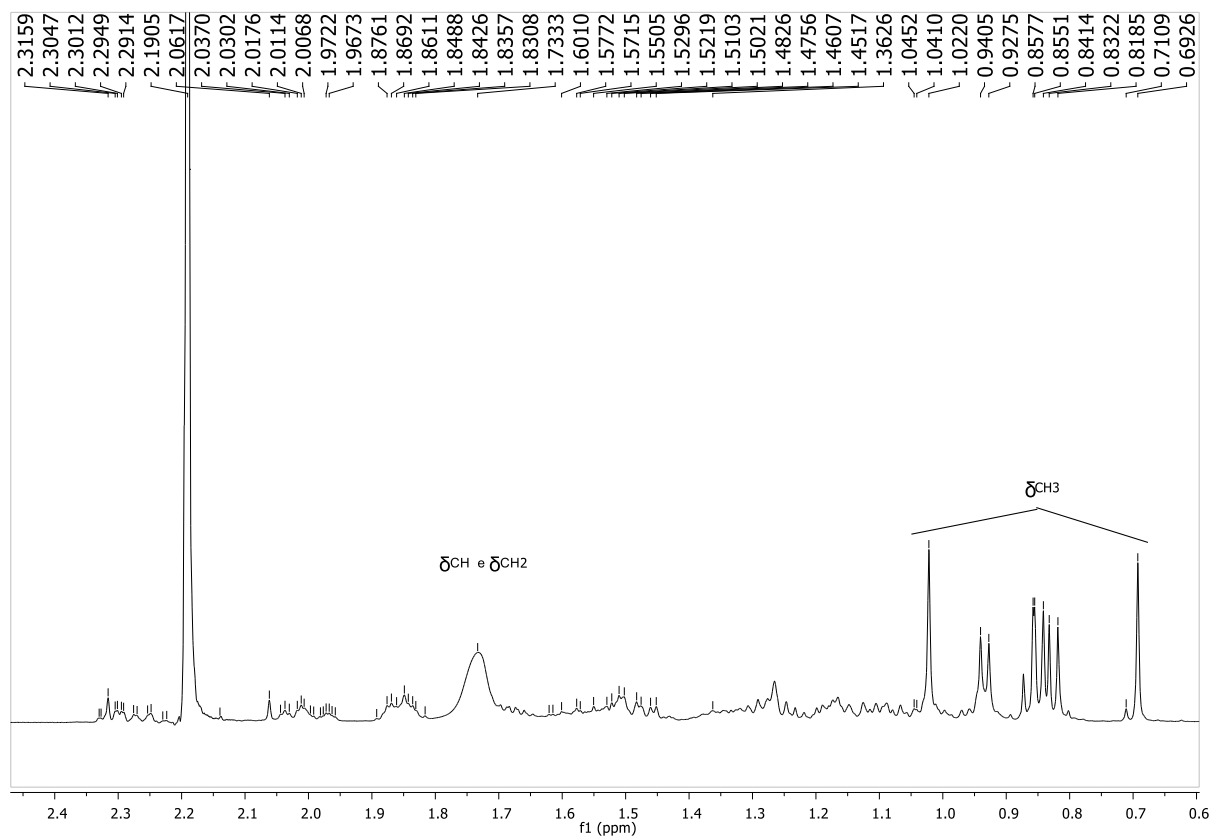
**Tabela 8.** Dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  (125 MHz, DEPTQ,  $\text{CDCl}_3$ ) da substância V em comparação com dados da literatura (SOUZA et al, 2001)

| Substância V |            |                             | Literatura (50 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) |
|--------------|------------|-----------------------------|---------------------------------------|
| C            | $\delta_c$ | $\delta_H$                  | $\delta_c$                            |
| 1            | 37,2       | 2,06 -1,81 ( <i>m</i> )     | 38,6                                  |
| 2            | 31,6       | 2,33 -2,13 ( <i>m</i> )     | 37,9                                  |
| 3            | 207,1      | -                           | 209,1                                 |
| 4            | n.d        | -                           | 44,5                                  |
| 5            | 45,8       | -                           | 46,7                                  |
| 6            | 29,7       | 2,33 -2,13 ( <i>m</i> )     | 29,1                                  |
| 7            | 31,9       | 1,89 -1,81 ( <i>m</i> )     | 31,9                                  |
| 8            | 31,88      | -                           | 35,7                                  |
| 9            | 50,1       | -                           | 54,1                                  |
| 10           | 36,5       | -                           | 35,6                                  |
| 11           | 21,0       | -                           | 21,6                                  |
| 12           | 28,2       | 2,06 -1,81 ( <i>m</i> )     | 28,3                                  |
| 13           | 42,2       | -                           | 42,7                                  |
| 14           | 56,7       | -                           | 56,5                                  |
| 15           | 24,3       | 1,62 -1,45 ( <i>m</i> )     | 24,3                                  |
| 16           | 42,3       | -                           | 40,2                                  |
| 17           | 56,0       | -                           | 56,6                                  |
| 18           | 11,9       | 0,69 ( <i>s</i> )           | 12,0                                  |
| 19           | 11,8       | 1,02 ( <i>s</i> )           | 11,2                                  |
| 20           | 36,1       | -                           | 35,9                                  |
| 21           | 18,7       | 0,93 ( <i>d</i> , J=6,5 Hz) | 18,7                                  |
| 22           | 33,9       | -                           | 36,4                                  |
| 23           | 26,0       | -                           | 24,0                                  |
| 24           | 39,7       | -                           | 39,6                                  |
| 25           | 29,1       | -                           | 28,0                                  |
| 26           | 19,0       | -                           | 22,5                                  |
| 27           | 19,8       | -                           | 22,7                                  |

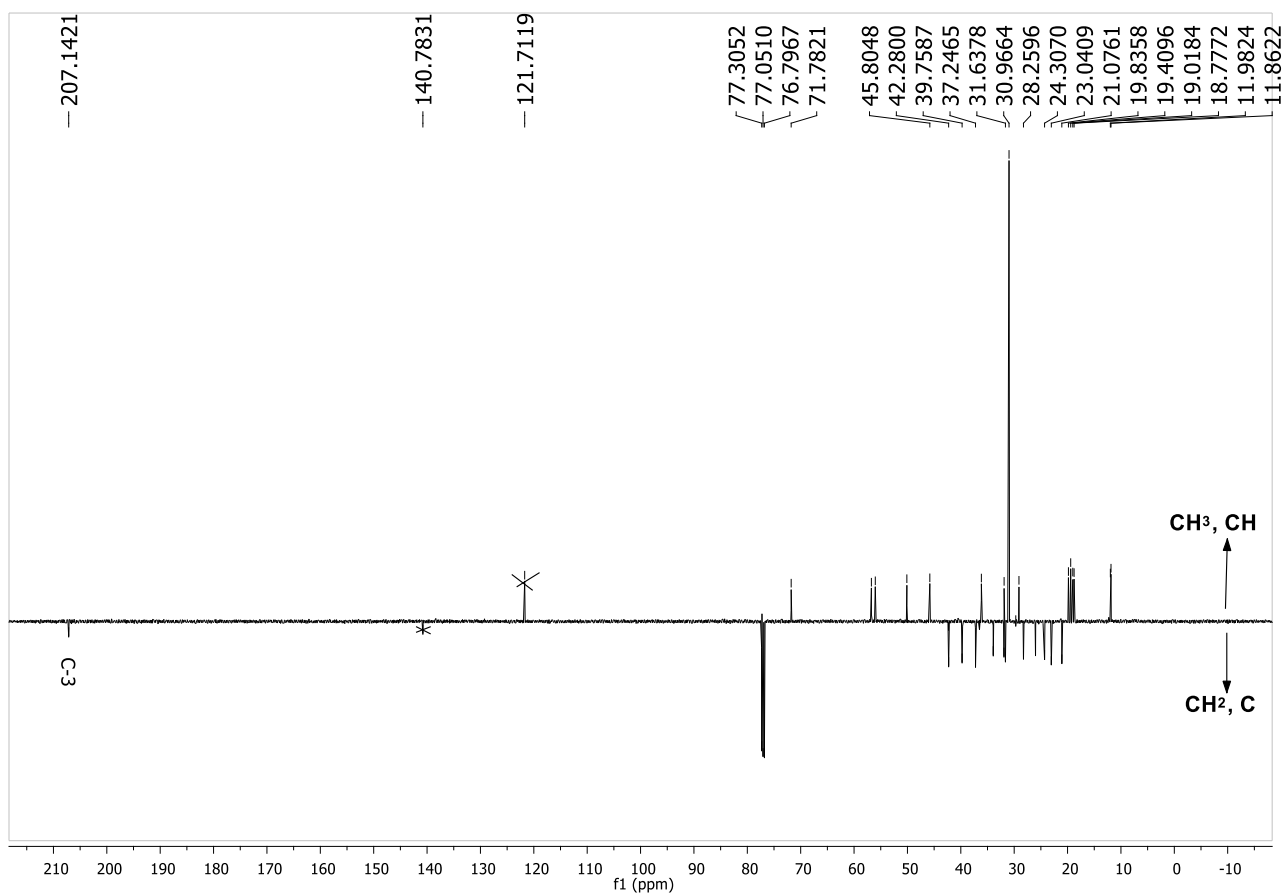
n.d: não detectado



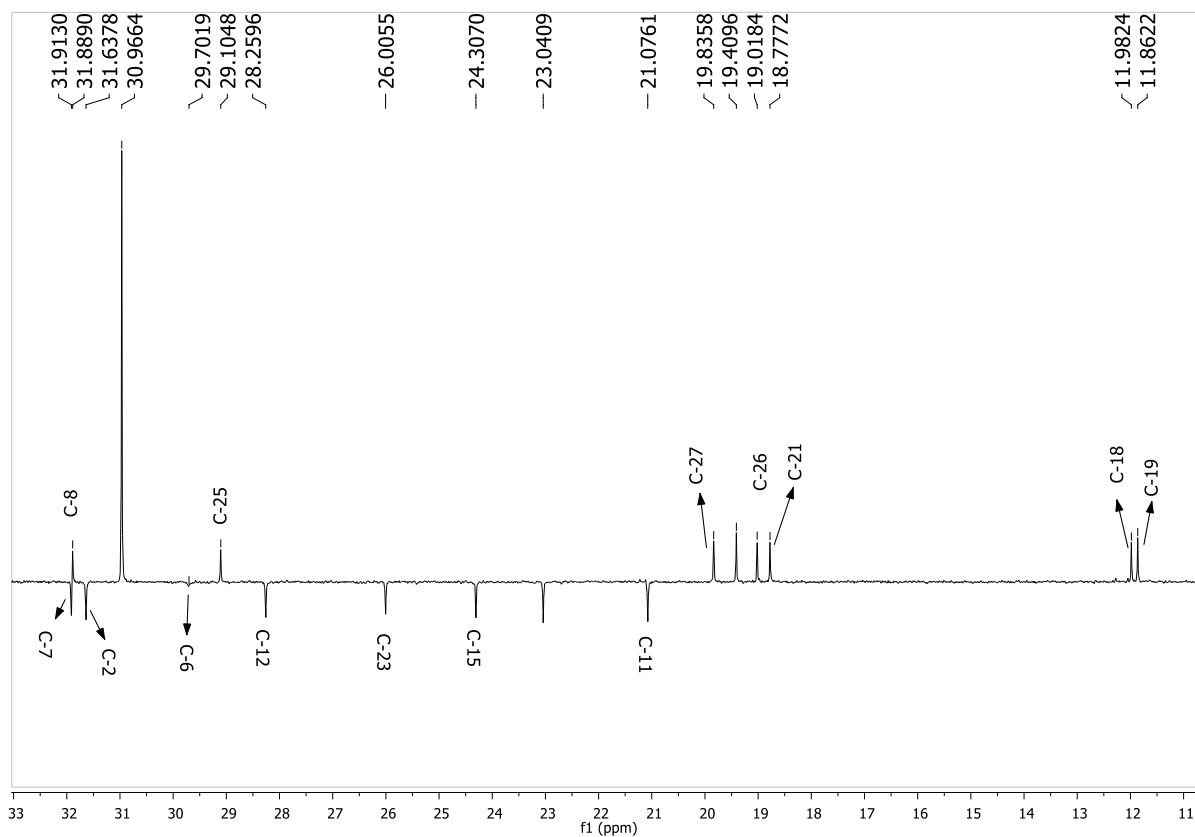
**Figura 42** - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de V.



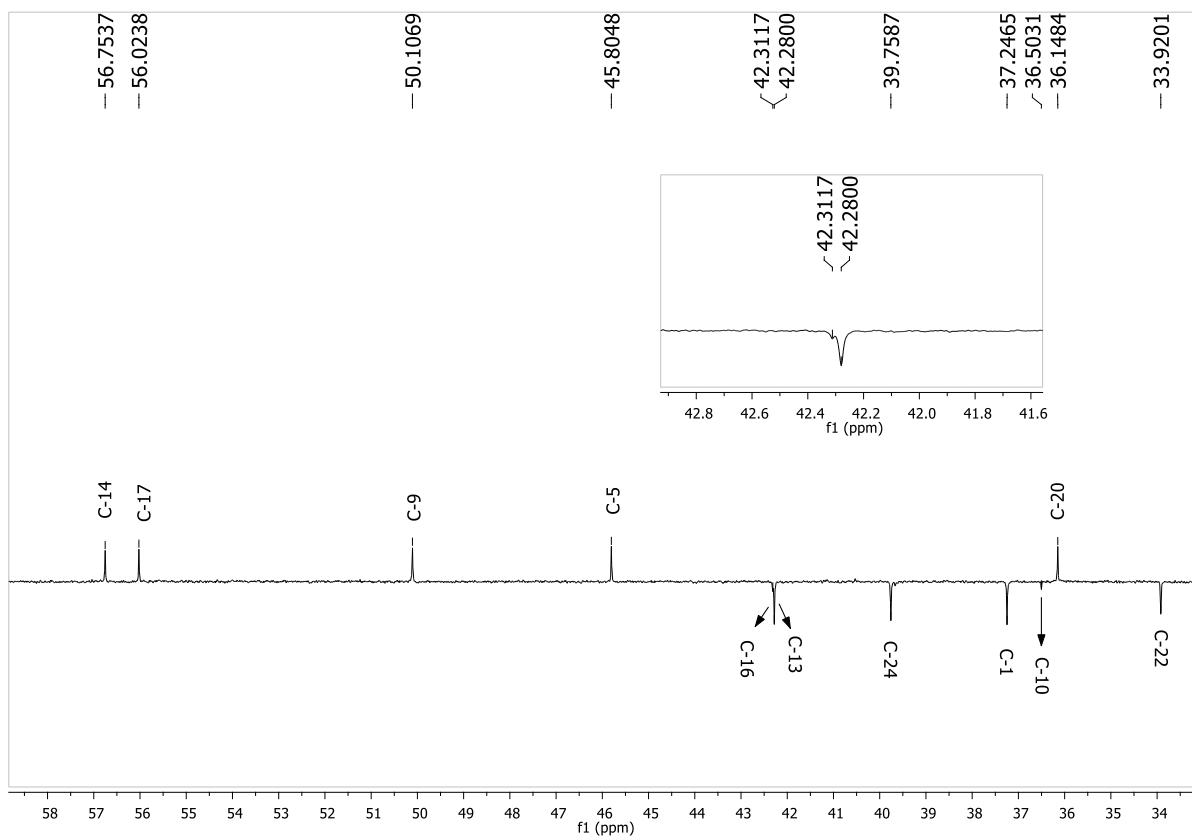
**Figura 43** - Expansão do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de V na região entre  $\delta_{\text{H}}$  0,6-2,4 ppm.



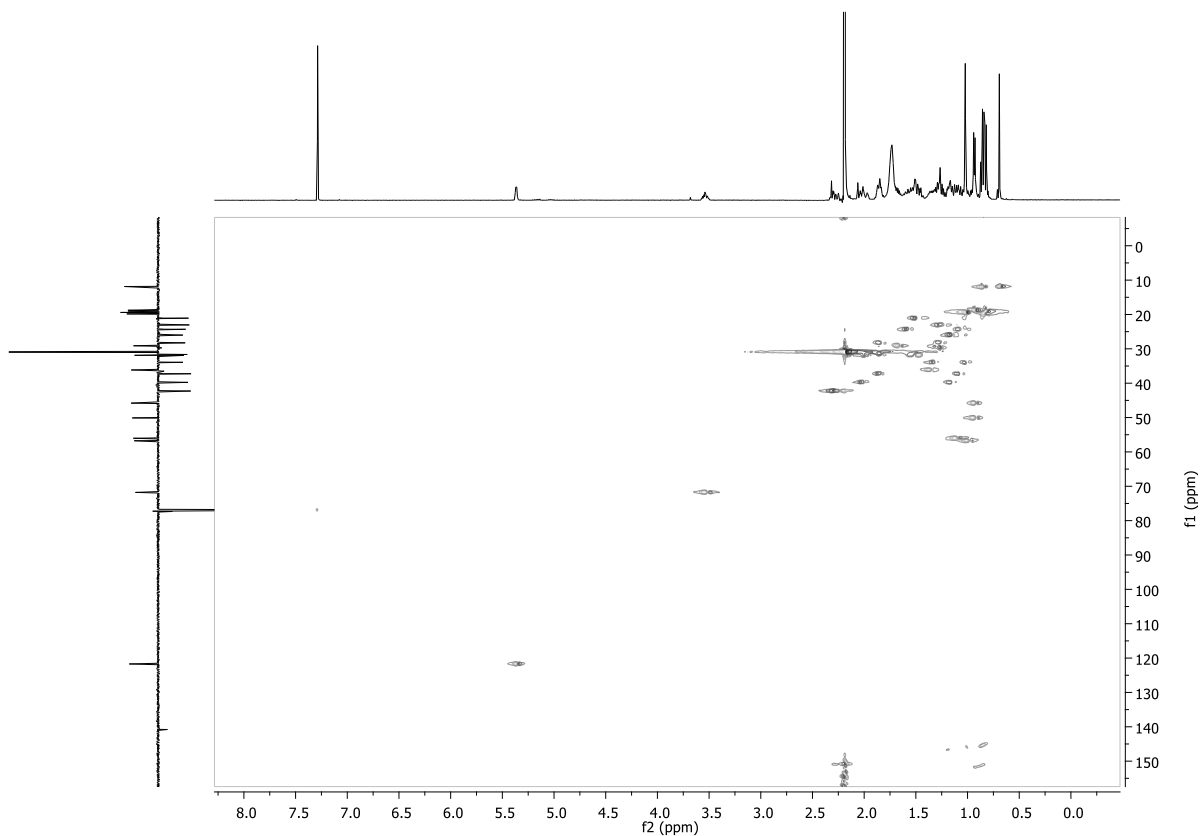
**Figura 44** - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (125 MHz, DEPTQ,  $\text{CDCl}_3$ ) de V.



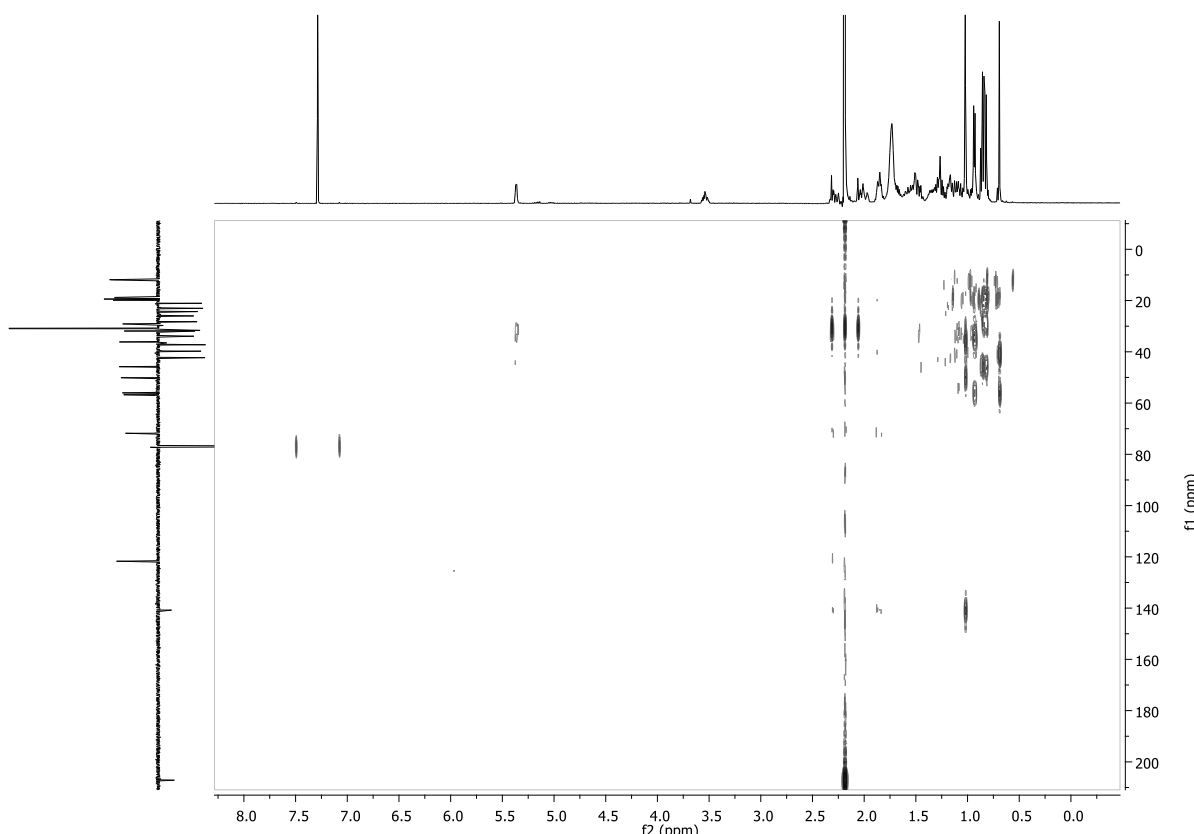
**Figura 45** - Expansão do espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (125 MHz, DEPTQ,  $\text{CDCl}_3$ ) de V na região entre  $\delta_{\text{C}}$  11,00-33,00 ppm.



**Figura 46** - Expansão do espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (125 MHz, DEPTQ,  $\text{CDCl}_3$ ) de V na região entre  $\delta_{\text{C}}$  34,50-58,50 ppm.



**Figura 47** - Espectro de HSQC (500/125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de V.



**Figura 48** - Espectro de HMBC (500/125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de V.

#### 5.2.5. Identificação da substância VI, VII e VIII

As substâncias **VI**, **VII** e **VIII** foram identificadas como uma mistura de esteroides com propriedades físico-químicas muito semelhantes que dificilmente podem ser separadas. As propostas estruturais para os esteroides foram baseadas em técnicas de CG/EM e experimento de RMN unidimensional ( $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$ ), comparando-as com dados descritos na literatura (RAGASA et al., 2014; NOOR et al., 2014).

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 50 e 51, p. 104 e 105) observou-se um duplo duplete em  $\delta_{\text{H}}$  5,37 (*dd*, H-6), o qual corresponde ao sinal de hidrogênio olefínico ligado ao carbono da posição 6, com uma constante de acoplamento  $J = 2,7$  Hz comum aos três compostos. O multiplete em  $\delta_{\text{H}}$  3,54 (*m*, H-3) é outro sinal que sugere a presença do hidrogênio oximetínico de sistema cíclico H-3, comum em ambas as estruturas. O acúmulo de sinais na região entre  $\delta_{\text{H}}$  em 0,70 e 2,33 ppm evidenciam a presença de hidrogênios dos grupos metílicos, metilênicos e metínicos característicos de um esqueleto esteroidal. Tais sinais foram compatíveis com **VI** e com as demais substâncias.

A presença do composto **VII** foi evidenciada pelos sinais de dois duplos dupletos em  $\delta_{\text{H}}$  5,17 (*dd*, 15,0 e 8,8, H-23) e 5,03 (*dd*,  $J = 14,8$  e 9,3, H-22) referente aos hidrogênios olefínicos H-22 e H-23 (Figura 51, p. 105).

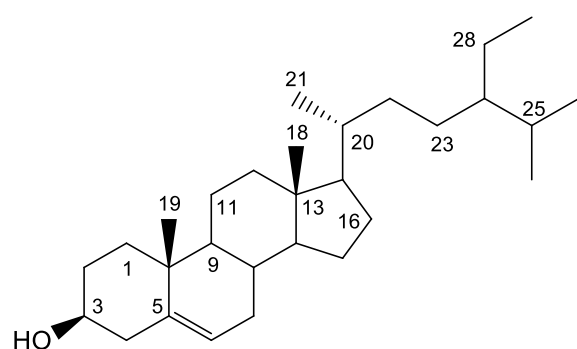
Pela análise do espectro de DEPTQ (Figura 52,53 e 54, p. 105 e 106), observou-se 30 sinais de carbonos referentes a mistura de esteroides. Os dois sinais em  $\delta_c$  140,77 (C-5) e 121,73 (C-6) correspondentes aos carbonos olefínicos 5 e 6, bem como o sinal de carbono carbinólico em  $\delta_c$  71,80 (C-3) são compatíveis com o esqueleto esteroidal dos compostos. Os sinais entre  $\delta_c$  11,86 e 19,84 são coerentes com os carbonos metílicos das estruturas e os demais valores de deslocamentos químicos foram atribuídos aos carbonos metilênicos e metínicos. Tais sinais são coerentes com a substância **IV** que se distingue de **VII** apenas, pela ausência dos átomos de carbonos  $sp^2$  em aproximadamente  $\delta_c$  138,31 (C-22) e 129,26 (C-23) que não foram observados no espectro de DEPT-Q (RAGASA et al., 2014). Entretanto a ocorrência desses carbonos nas estruturas pode ser comprovada pela análise de RMN  $^1H$  que evidencia os dois hidrogênios olefínicos H-22 e H-23 que se ligam a esses átomos de carbono coerentes com **VII**.

O cromatograma a gás da mistura revelou a presença de dois picos majoritários (Figura 55, p. 107) com tempos de retenções em 26,06 e 27,53 minutos correspondentes à **VII** e **VI**, respectivamente, além de um terceiro pico significativos em  $t_R$  25,63 ao qual foi atribuído ao esteroide **VIII**.

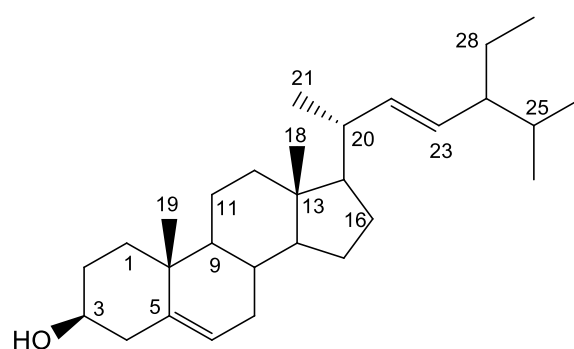
O espectro de massas de **VI** revelou um íon molecular de  $m/z$  414, compatível com a fórmula molecular  $C_{29}H_{50}O$  que em comparação as análises unidimensionais de RMN de  $^1H$  e  $^{13}C$  são coerentes com o  $\beta$ -sitosterol (**VI**). As fragmentações propostas do  $\beta$ -sitosterol (**VI**) consistem basicamente na perda de uma molécula de  $H_2O$  a partir do íon molecular  $m/z$  414 com a formação de em  $m/z$  396, seguida da perda de  $CH_3$  e  $C_{10}H_{21}$  com a formação dos picos com  $m/z$  381 e 255. A perda de toda a cadeia lateral partindo do íon molecular corresponde ao pico em  $m/z$  273, comum ao  $\beta$ -sitosterol, bem como as demais fragmentações observadas na Figura 57, p. 107.

No espectro de massas de **VII** (Figura 58, p. 108), observa-se um pico em  $m/z$  412 que foi atribuído ao íon molecular e coincide com a fórmula molecular  $C_{29}H_{48}O$  do composto estigmasterol (**VII**). A proposta de fragmentação do estigmasterol (**VII**) baseia-se na eliminação de 18 unidades de massas com formação do pico em  $m/z$  394, seguida pela perda da cadeia lateral referente ao pico em  $m/z$  255. Através de reação de Retro Diels-Alder que ocorre a partir do pico em  $m/z$  255 é possível obter o pico em  $m/z$  135, que posteriormente sofre uma ruptura do seu anel insaturado em decorrência de uma nova Retro Diels-Alder, seguida da migração de hidrogênio e a eliminação do fragmento  $CH_2=CH_2$  originando o pico em  $m/z$  107. Outras fragmentações comuns de ocorrerem para esse esteroide puderam ser observadas abaixo (Figura 59, p. 108).

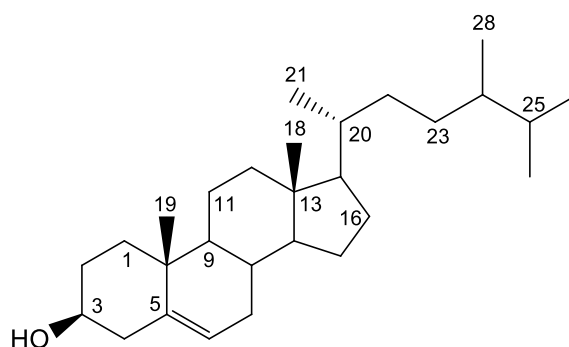
O espectro de massas de **VIII** (Figura 60, p. 109), revelou um sinal correspondente ao íon molecular em  $m/z$  400 compatível com a fórmula molecular  $C_{28}H_{48}O$  atribuído ao campesterol (**VIII**). As propostas de fragmentação de **VIII** é similar à fragmentação do  $\beta$ -sitosterol e do estigmasterol, onde o íon molecular  $m/z$  400 ao perder a cadeia lateral forma o íon em  $m/z$  273. O íon molecular ainda pode sofrer eliminação de uma molécula de  $H_2O$  seguida da perda da cadeia lateral com formação do pico em  $m/z$  255. Outras perdas, coerentes com o campesterol (**VIII**), puderam ser observadas, tais como o pico em  $m/z$  367 e o íon  $m/z$  135, além de outras propostas apresentadas na Figura 61, p 109 e 110.



$\beta$ -sitosterol (**VI**)



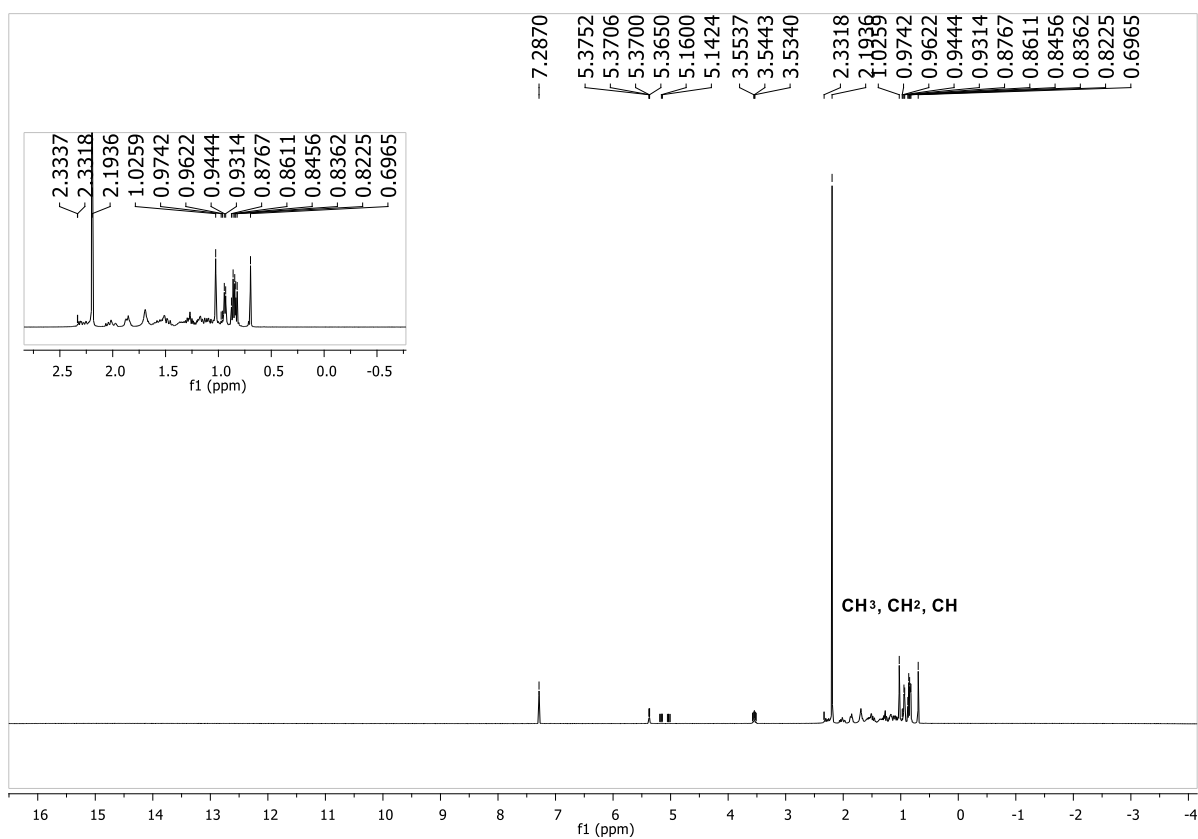
estigmasterol (**VII**)



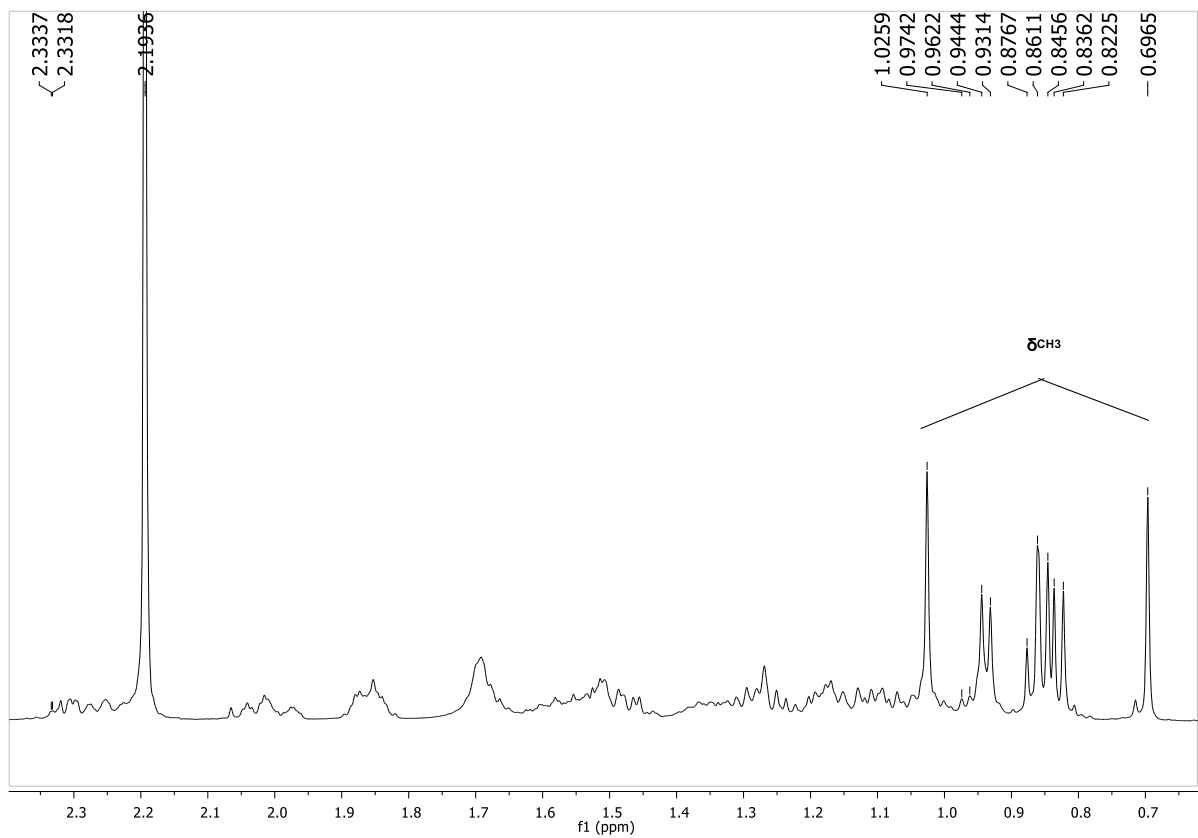
campesterol (**VIII**)

**Tabela 9.** Dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  (125 MHz, DEPTQ,  $\text{CDCl}_3$ ) e  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) da mistura de VI, VII e VIII em comparação com dados da literatura (RAGASA et al., 2014; NOOR et al, 2014)

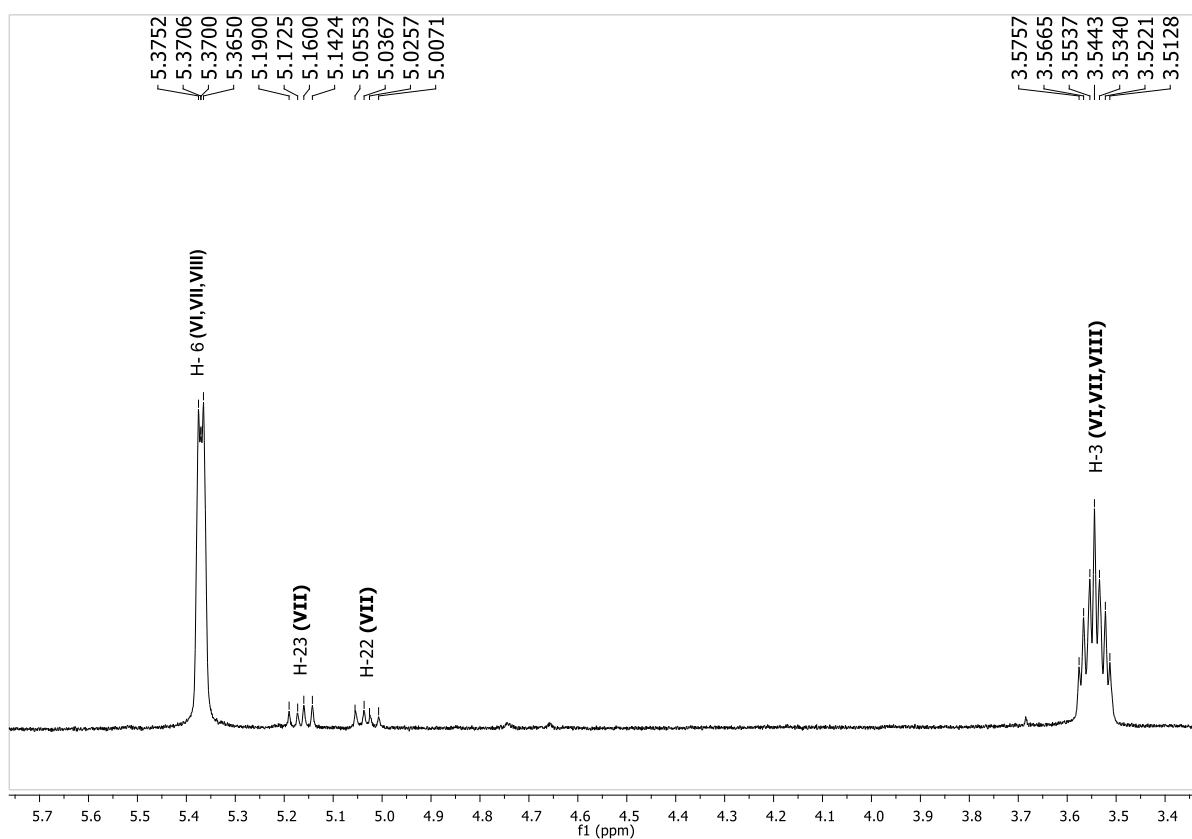
| C  | Substância VI, VII e VIII |                                         | Literatura ( $\text{CDCl}_3$ , 125 e 500 MHz) |                                           |
|----|---------------------------|-----------------------------------------|-----------------------------------------------|-------------------------------------------|
|    | $\delta_{\text{C}}$       | $\delta_{\text{H}}$                     | $\delta_{\text{C}}$                           | $\delta_{\text{H}}$                       |
| 1  | 37,24                     |                                         | 37,24                                         | -                                         |
| 2  | 31,64                     |                                         | 31,65                                         | -                                         |
| 3  | 71,80                     | 3,54 ( <i>m</i> )                       | 71,80                                         | 3,51 (1H, <i>m</i> )                      |
| 4  | 42,31                     | -                                       | 42,29                                         | -                                         |
| 5  | 140,77                    |                                         | 140,74                                        | -                                         |
| 6  | 121,73                    | 5,37 ( <i>dd</i> , $J = 2,7$ Hz)        | 121,71                                        | 5,33 (1H, <i>dd</i> , $J = 4,5$ e 0,5 Hz) |
| 7  | 31,91                     | -                                       | 31,89                                         | -                                         |
| 8  | 31,89                     | -                                       | 31,89                                         | -                                         |
| 9  | 50,10                     | -                                       | 50,15                                         | -                                         |
| 10 | 36,50                     | -                                       | 36,49                                         | -                                         |
| 11 | 21,07                     | -                                       | 21,07                                         | -                                         |
| 12 | 39,76                     | -                                       | 39,67                                         | -                                         |
| 13 | 42,28                     | -                                       | 42,20                                         | -                                         |
| 14 | 56,75                     | -                                       | 56,76                                         | -                                         |
| 15 | 24,31                     | -                                       | 24,35                                         | -                                         |
| 16 | 28,26                     | -                                       | 28,91                                         | -                                         |
| 17 | 56,02                     | -                                       | 55,94                                         | -                                         |
| 18 | 11,98                     | 0,69 ( <i>sl</i> )                      | 12,03                                         | 0,66 (3H, <i>s</i> )                      |
| 19 | 19,41                     | 0,97 ( <i>dd</i> )                      | 19,39                                         | 0,99 (3H, <i>s</i> )                      |
| 20 | 36,15                     |                                         | 40,48                                         | -                                         |
| 21 | 18,78                     | 1,02 ( <i>sl</i> )                      | 21,07                                         | 0,91 (3H, <i>d</i> , $J = 7,0$ Hz)        |
| 22 | 33,92                     | 5,03 ( <i>dd</i> , $J = 14,8$ e 9,3 Hz) | 33,93/138,31                                  | 5,00 (1H, <i>dd</i> )                     |
| 23 | 26,01                     | 5,17 ( <i>dd</i> , 15,0 e 8,8 Hz)       | 26,04/129,26                                  | 5,13 (1H, <i>dd</i> )                     |
| 24 | 45,80                     |                                         | 51,23                                         | -                                         |
| 25 | 29,11                     |                                         | 31,90                                         | -                                         |
| 26 | 19,02                     | 0,85 ( <i>m</i> )                       | 21,20                                         | 0,79 (3H, <i>d</i> , $J = 7,0$ Hz)        |
| 27 | 19,84                     | 0,85 ( <i>m</i> )                       | 18,97                                         | 0,81 (3H, <i>d</i> , $J = 7,0$ Hz)        |
| 28 | 23,04                     |                                         | 25,40                                         | -                                         |
| 29 | 11,86                     | 0,85 ( <i>m</i> )                       | 12,24                                         | 0,82 (3H, <i>dd</i> , $J = 8,5$ e 7,5 Hz) |



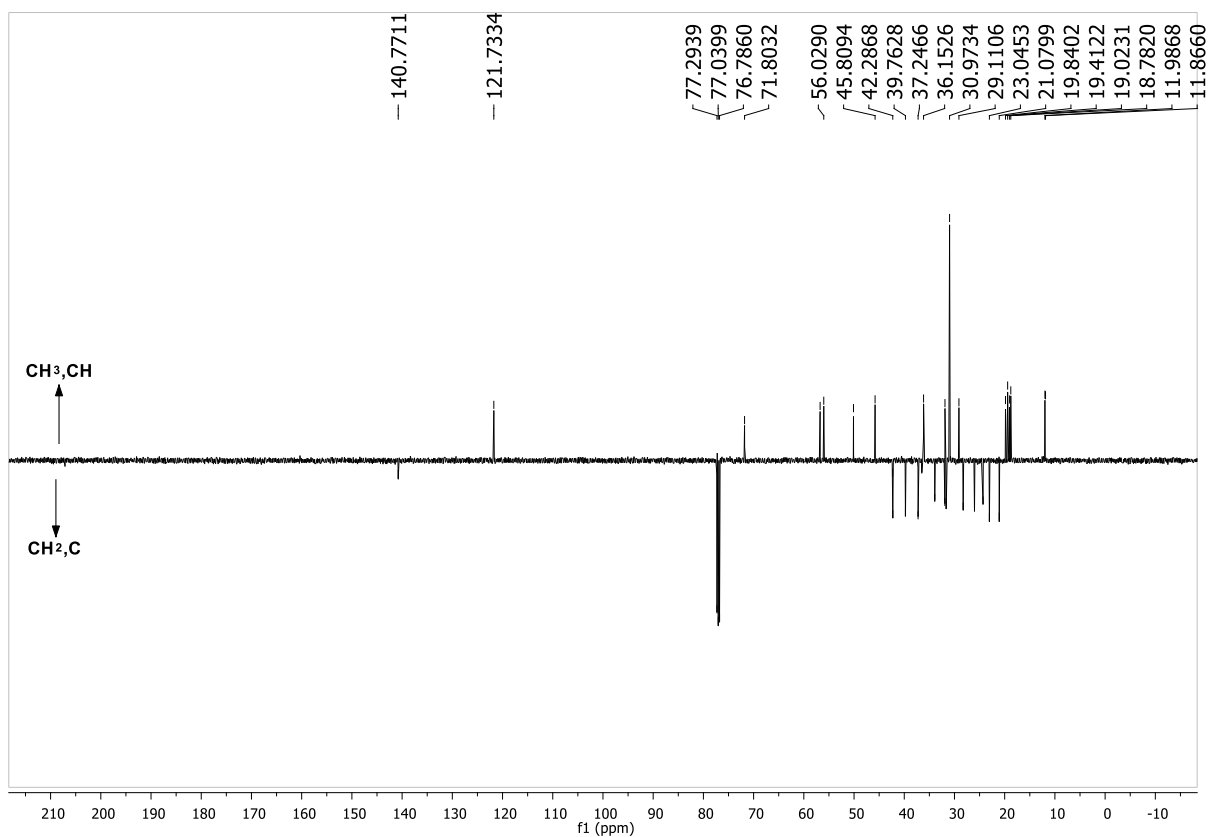
**Figura 49** - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de VI, VII e VIII.



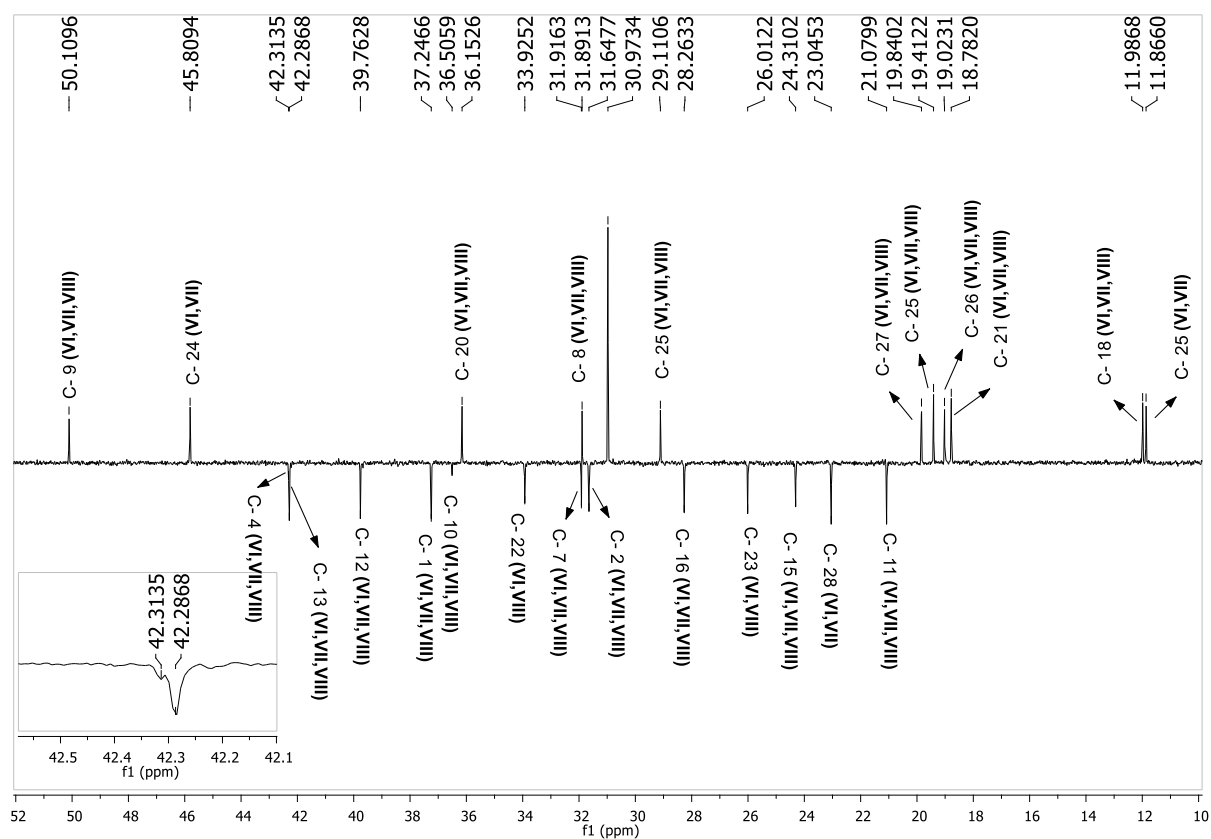
**Figura 50** - Expansão do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de VI, VII e VIII na região entre  $\delta_{\text{H}}$  0,65-2,35 ppm.



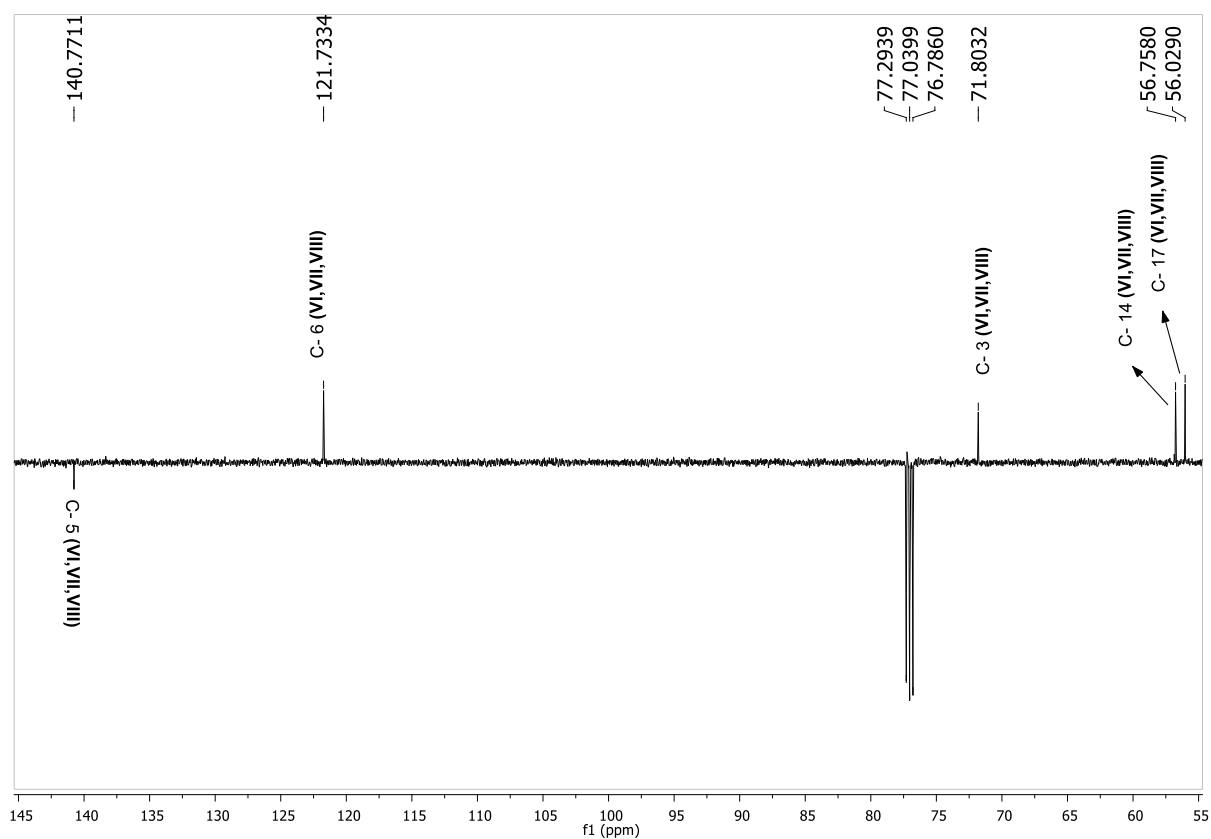
**Figura 51** - Expansão do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de VI, VII e VIII na região entre  $\delta_{\text{H}}$  3,4-5,7 ppm.



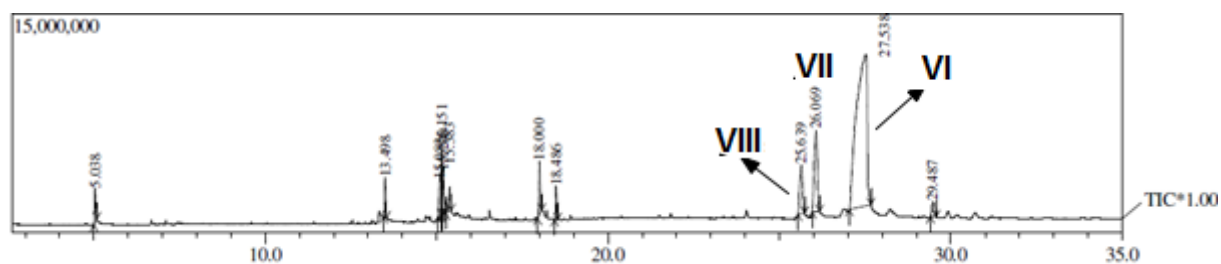
**Figura 52** - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (125 MHz, DEPTQ,  $\text{CDCl}_3$ ) de VI, VII e VIII.



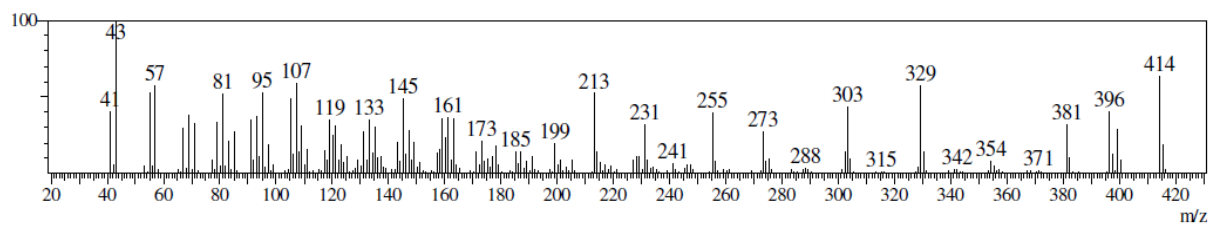
**Figura 53** - Expansão do espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (125 MHz, DEPTQ,  $\text{CDCl}_3$ ) de VI, VII e VIII na região entre  $\delta_{\text{C}}$  10,00-52,00 ppm.



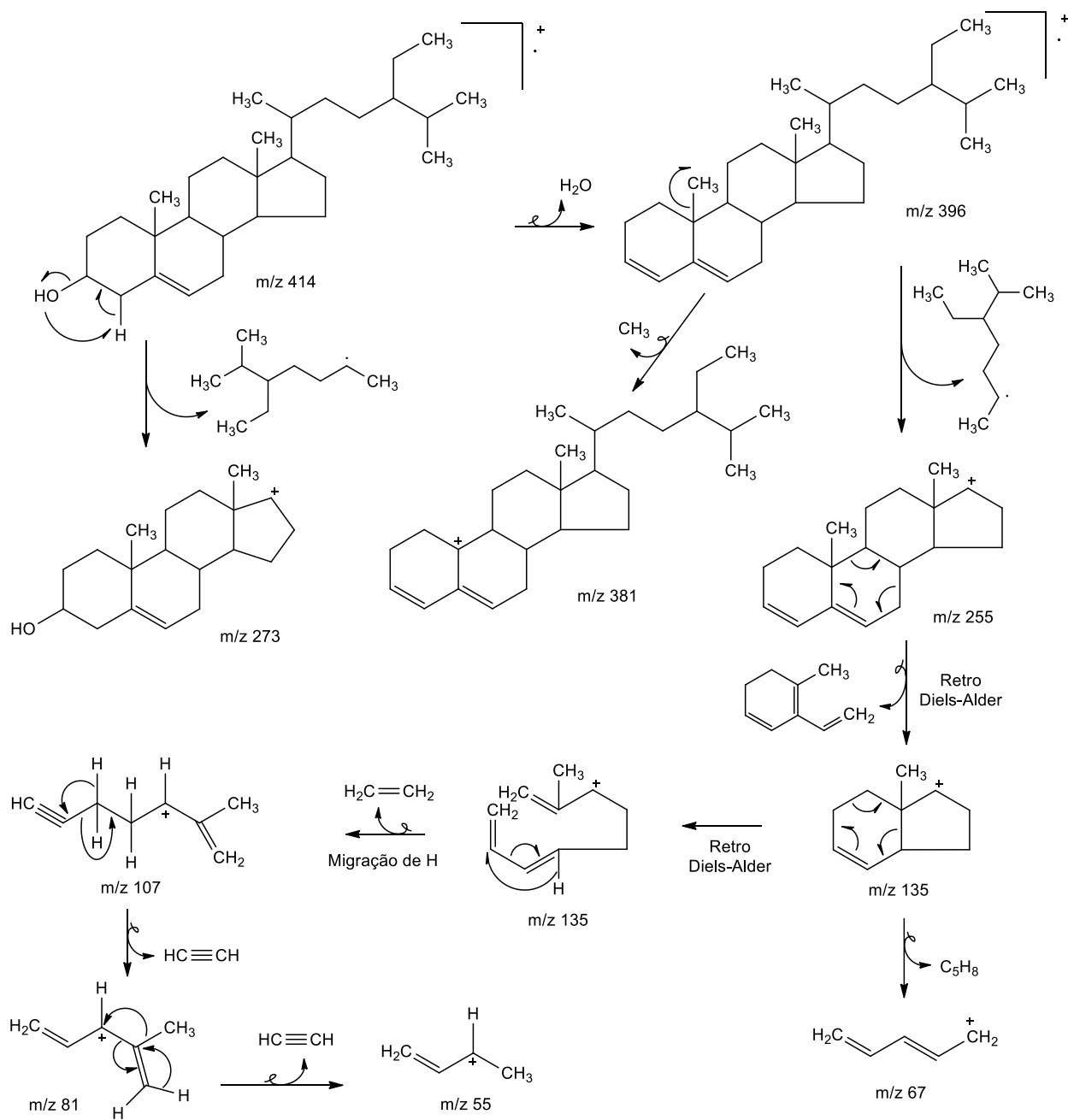
**Figura 54** - Expansão do espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (125 MHz, DEPTQ,  $\text{CDCl}_3$ ) de VI, VII e VIII na região entre  $\delta_{\text{C}}$  55,00-145,00 ppm.



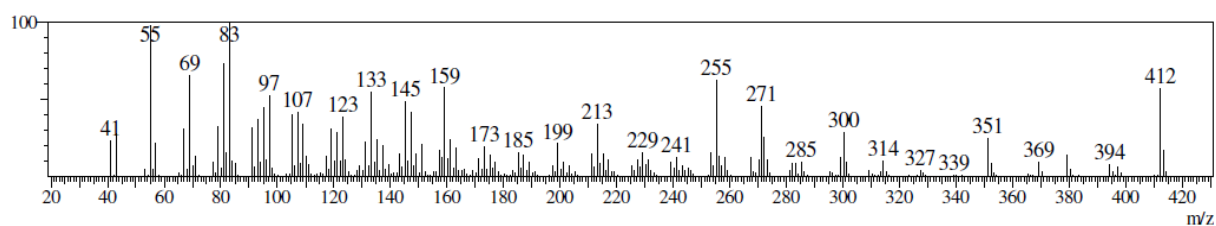
**Figura 55** - Cromatograma a gás da mistura contendo VI, VII e VIII.



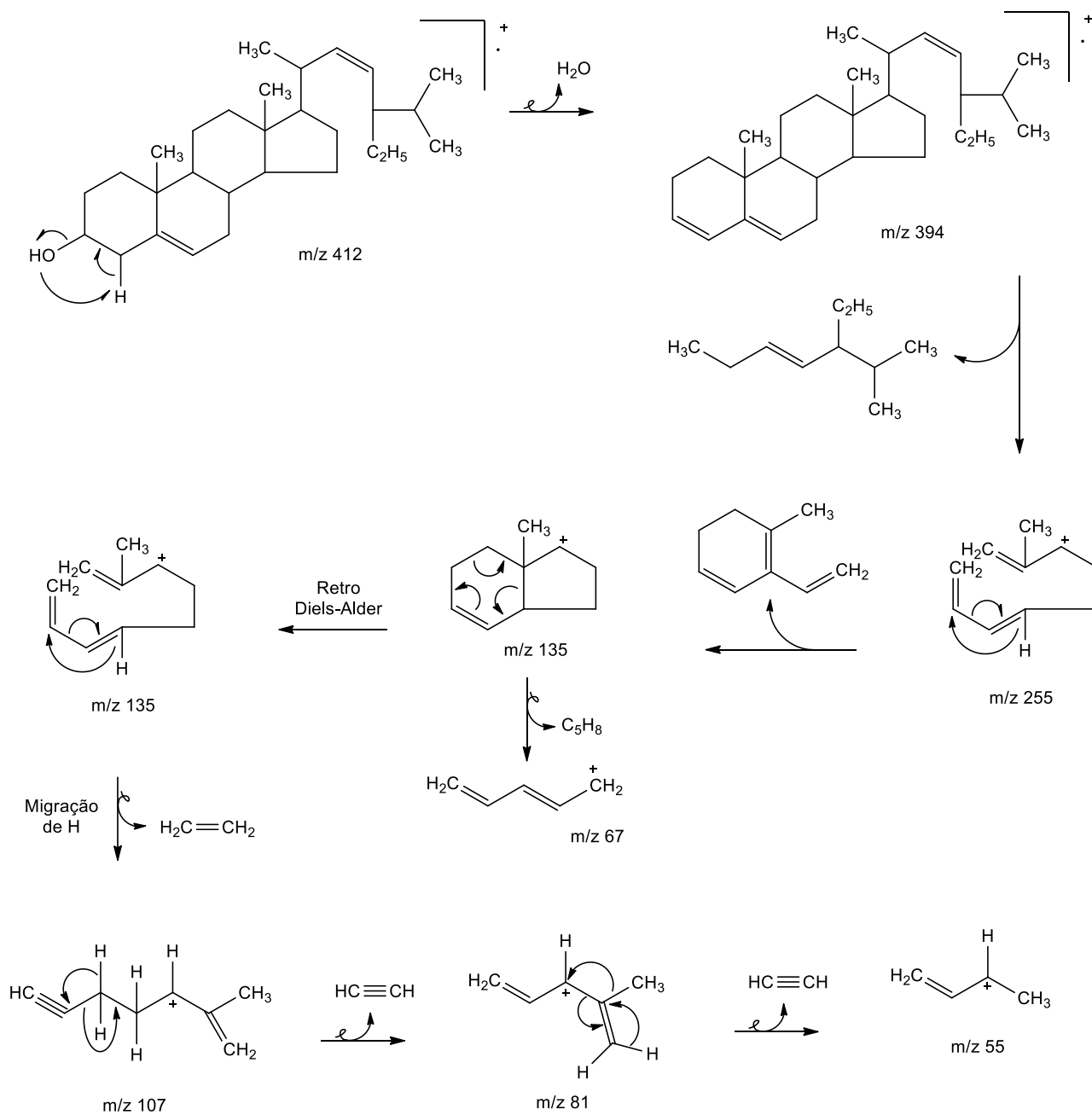
**Figura 56** - Espectro de massas por I.E. (70 eV) de VI.



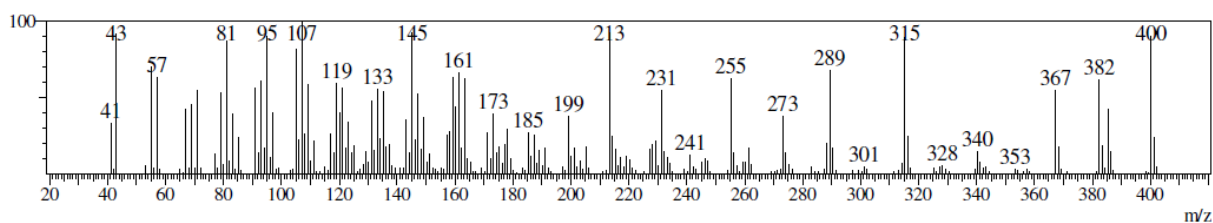
**Figura 57** - Proposta de fragmentação para a substância VI.



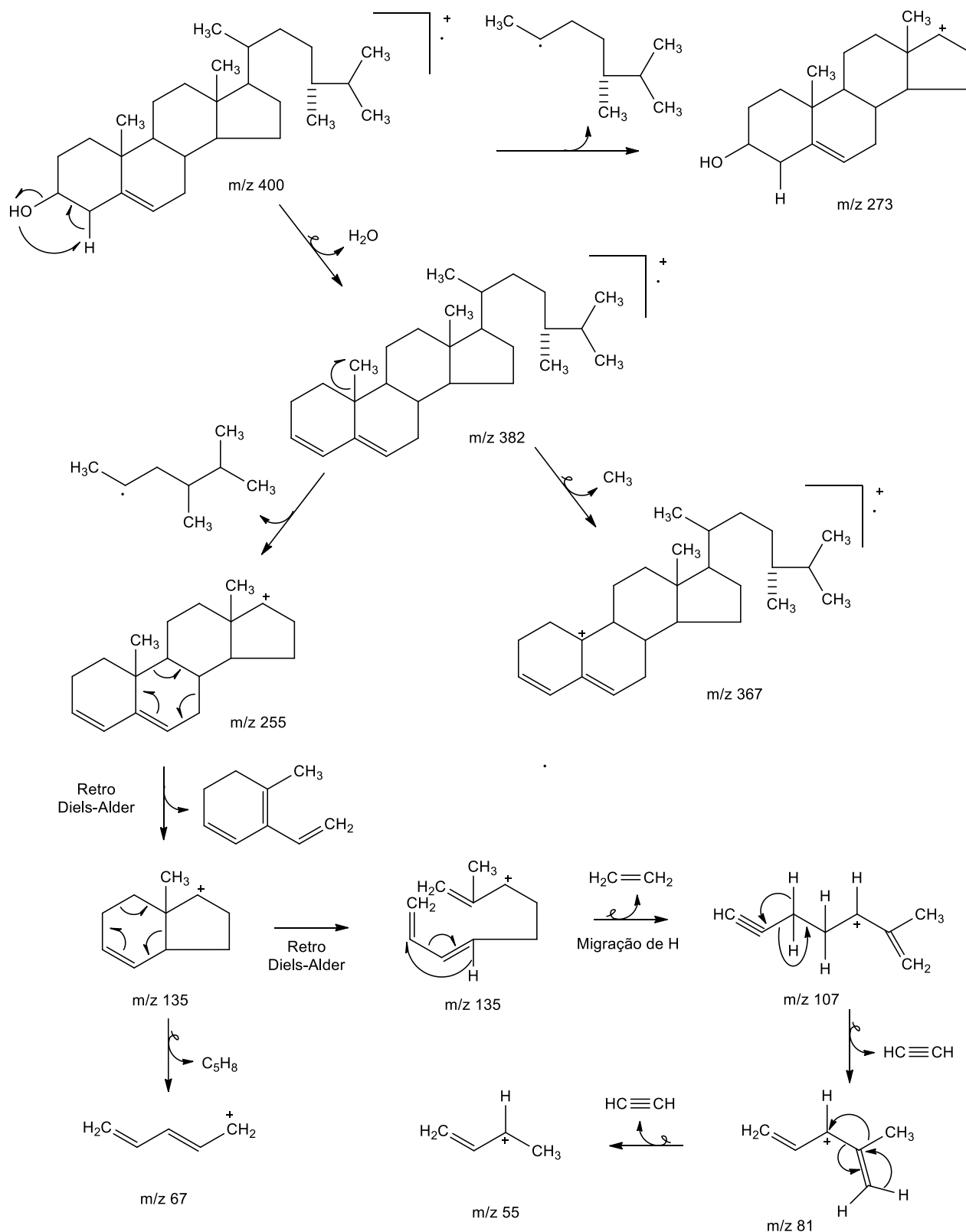
**Figura 58** - Espectro de massas por I.E. (70 eV) de VII.



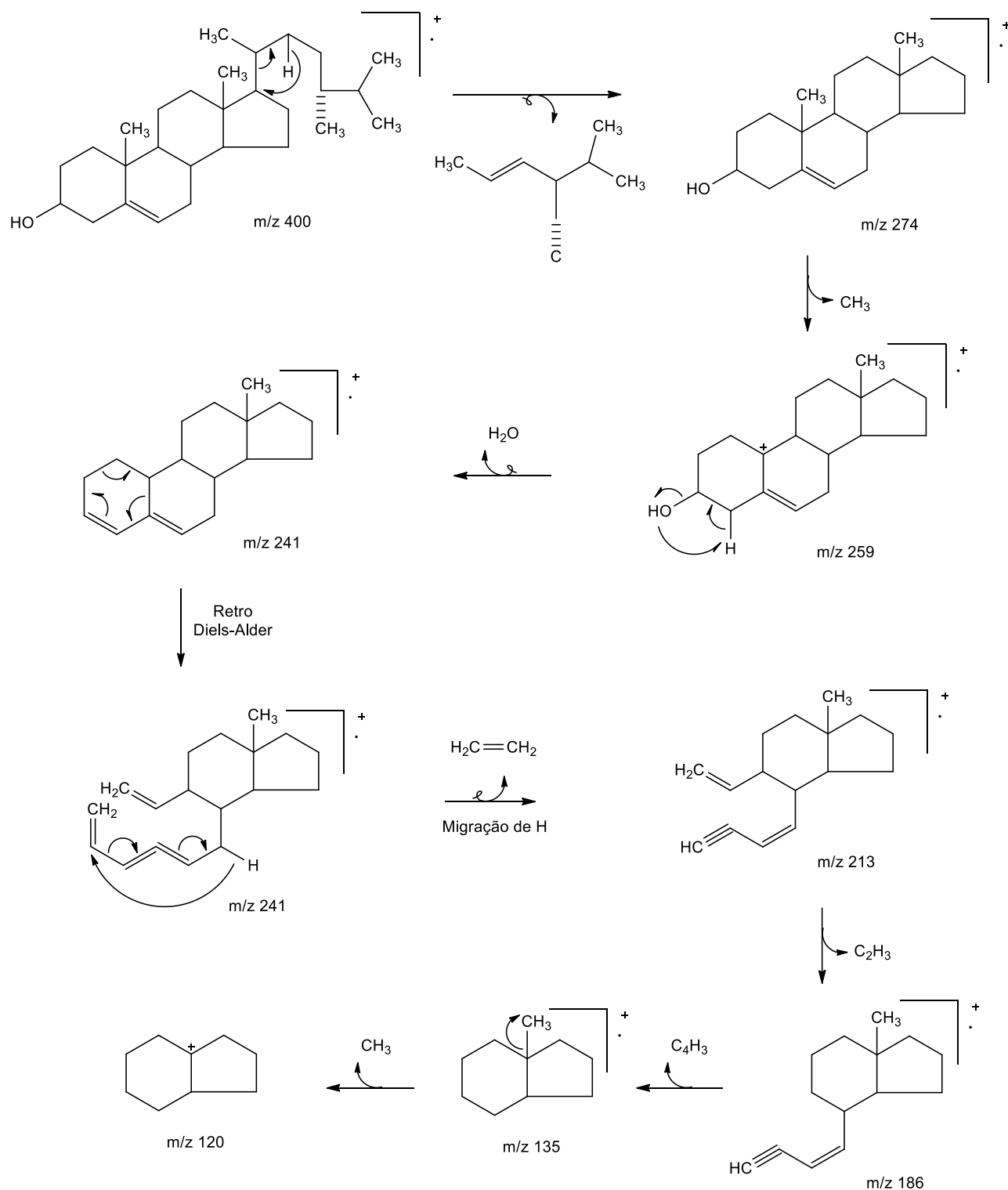
**Figura 59** - Proposta de fragmentação para a substância VII.



**Figura 60** - Espectro de massas por I.E. (70 eV) de VIII.



**Figura 61** - Proposta de fragmentação para a substância VIII.



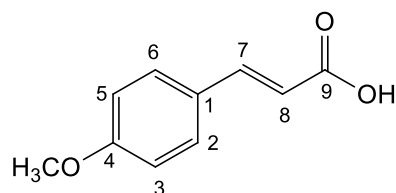
**Figura 61** - Cont. Proposta de fragmentação para a substância VIII.

### 5.2.6. Identificação da substância IX

A identificação da substância **IX** foi realizada mediante as técnicas de RMN  $^1H$  e EM em comparação aos dados da literatura (KIM et al, 2012). No espectro de RMN de  $^1H$

(Figura 63, p. 112) os dois dupletos observados em  $\delta_H$  7,47 (2H, *d*,  $J = 8,6$  Hz) e 6,82 (2H, *d*,  $J = 8,6$  Hz) com uma constante de acoplamento plausível com uma correlação em *orto* foi atribuído aos hidrogênios aromáticos H-2/6 e H-3/5. Outros dois dupletos característicos de hidrogênios ligados a carbonos  $sp^2$  detectados em  $\delta_H$  7,63 (1H, *d*,  $J = 16,0$  Hz) e 6,35 (1H, *d*,  $J = 15,9$  Hz) foram atribuídos aos hidrogênios olefínicos H-7 e H-8 que estão conjugados ao anel aromático. A inexistência de demais sinais na região de aromático, bem como a presença de um simpleto em  $\delta_H$  3,78 (3H, *s*) com integração para três hidrogênios possibilita inferir a existência de uma metoxila atribuída ao carbono na posição *para* do anel.

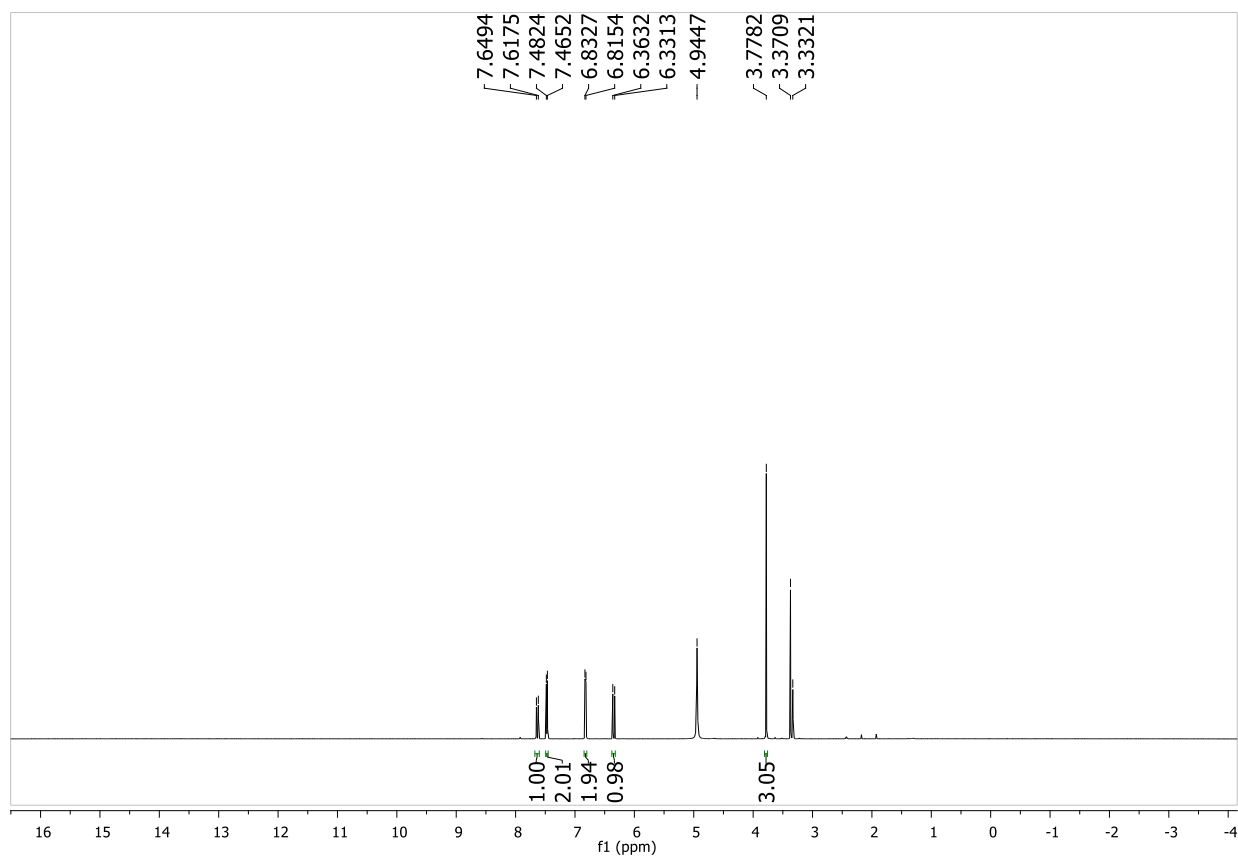
A análise de CG-EM (Figura 64, p. 113), colaborou para a confirmação da proposta estrutural da substância **IX**, cujo espectro apresentou um pico do íon molecular em  $m/z$  178 coerente com a fórmula molecular  $C_{10}H_{10}O_3$ , correspondente ao ácido *trans*-4-metoxicinâmico. A propostas de fragmentação (Figura 65, p. 113), para esta estrutura inclui a saída de uma metoxila [ $m/z$  31] ocasionando a formação do pico base com  $m/z$  em 147, e ainda a perda de uma molécula de  $H_2O$  [ $m/z$  18] com a formação de uma molécula constituída pelo grupo ceteno ( $C_2HO$ ) com  $m/z$  160. A fragmentação em  $m/z$  133 é justificada pela saída da hidroxila [ $m/z$  17] seguida pela perda de uma molécula de CO [ $m/z$  28]. Na Figura 65 (p. 113), são descritas outras propostas de fragmentações para o ácido *trans*-4-metoxicinâmico (**IX**).



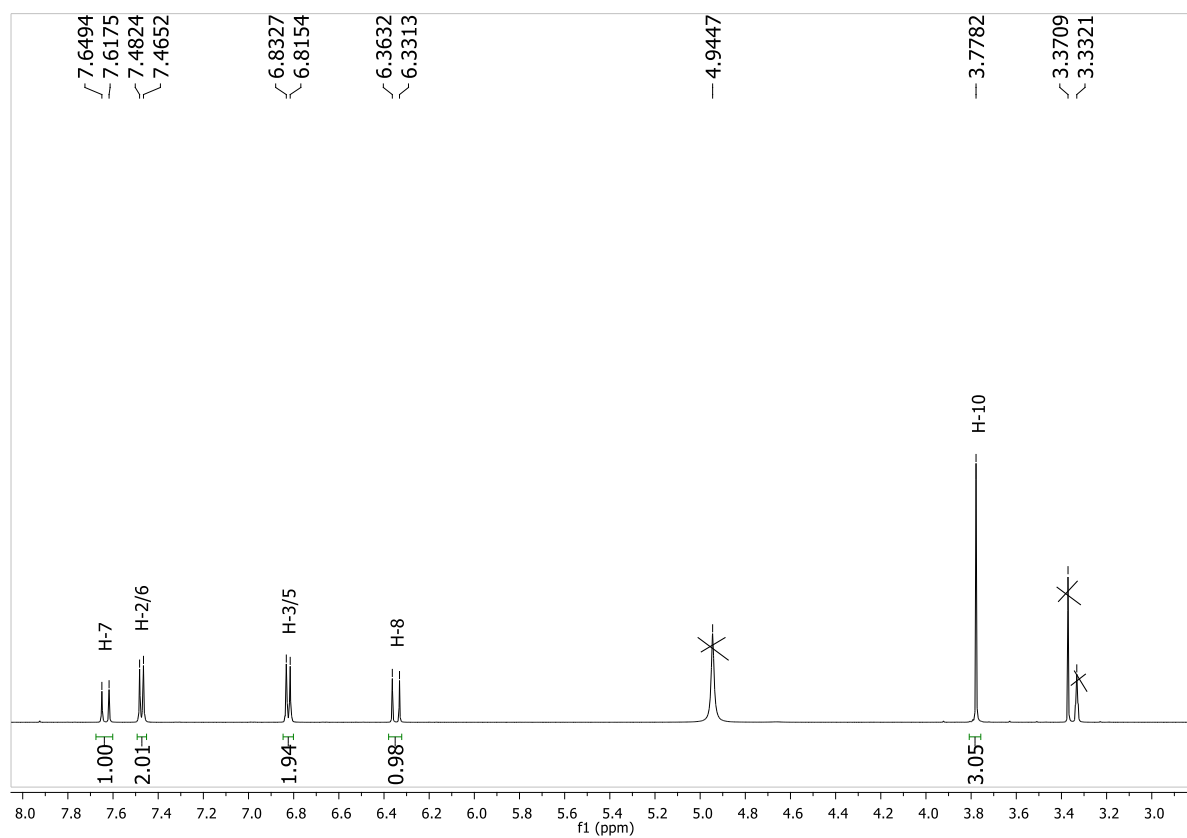
ácido *trans*-4-metoxicinâmico (**IX**)

**Tabela 10.** Dados de RMN de  $^1H$  (500 MHz,  $CD_3OD$ ) da substância IX em comparação com dados da literatura (KIM et al, 2012)

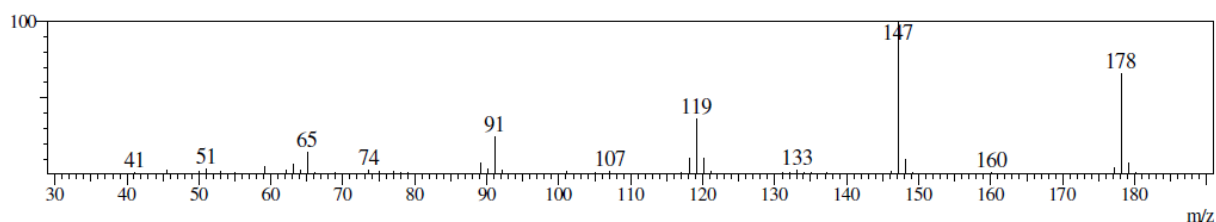
| Substância IX          |                                     | Literatura (DMSO- <i>d</i> 6, 300 MHz) |
|------------------------|-------------------------------------|----------------------------------------|
| Posição                | $\delta_H$                          | $\delta_H$                             |
| 1                      | -                                   | -                                      |
| 2/6                    | 7,47 (2H, <i>d</i> , $J = 8,6$ Hz)  | 7,62 (2H, <i>d</i> , $J = 8,4$ Hz)     |
| 3/5                    | 6,82 (2H, <i>d</i> , $J = 8,6$ Hz)  | 6,96 (2H, <i>d</i> , $J = 8,4$ Hz)     |
| 4                      | -                                   | -                                      |
| 7                      | 7,63 (1H, <i>d</i> , $J = 16,0$ Hz) | 7,55 (1H, <i>d</i> , $J = 16,2$ Hz)    |
| 8                      | 6,35 (1H, <i>d</i> , $J = 15,9$ Hz) | 6,68 (1H, <i>d</i> , $J = 15,9$ Hz)    |
| 9                      | -                                   | -                                      |
| 10 (OCH <sub>3</sub> ) | 3,78 (3H, <i>s</i> )                | 3,78 (3H, <i>s</i> )                   |



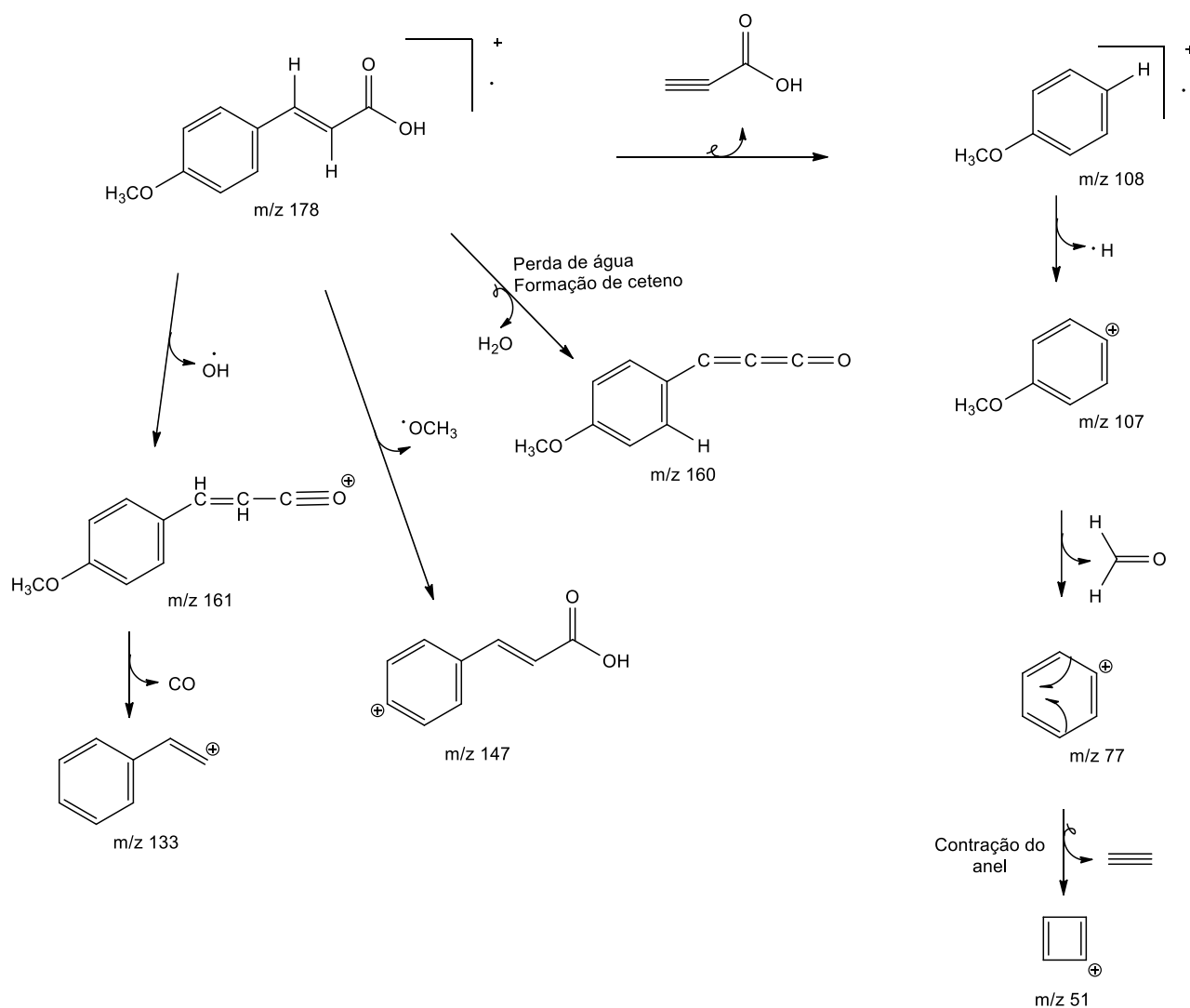
**Figura62** - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de IX.



**Figura 63** - Expansão do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de IX na região entre  $\delta_{\text{H}}$  2,8-8,0 ppm.



**Figura 64** - Espectro de massas por I.E. (70 eV) de IX.



**Figura 65** - Proposta de fragmentação para a substância IX.

### 5.2.7. Identificação da substância X

Análises espectroscópicas e espectrométricas permitiram a identificação da substância **X** em mistura com seu isômero *trans* identificado como o ácido *p*-cumárico (**III**). A análise do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 67, p. 116) revelou a presença de sete dupletos na região entre  $\delta_{\text{H}}$  6,1 e 8,2 ppm. Destes, apenas três sinais minoritários foram atribuídos ao composto **X**, os demais com  $\delta_{\text{H}}$  em 7,5; 7,4; 6,3 ppm são coerentes com o isômero *trans*.

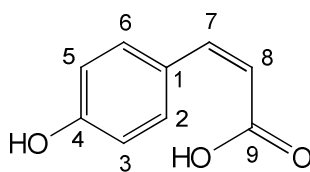
Os dupletos localizados em  $\delta_H$  7,89 (2H, *d*,  $J = 8,6$  Hz) e 6,79 (2H, *d*,  $J = 8,5$  Hz) apresentaram valores de  $J$  típicos de acoplamento *orto* e foram atribuídos aos hidrogênios H-2/6 e H-3/5 do anel aromático *p*-substituído. A configuração *cis* da estrutura foi confirmada pela presença de outros dois dupletos centrados em  $\delta_H$  em 7,04 (1H, *d*,  $J = 8,3$  Hz) e 6,72 (1H, *d*,  $J = 8,4$  Hz), atribuídos a H-7 e H-8.

O sinal intenso em  $\delta_H$  6,79 ppm é comum ao composto majoritário, entretanto a correlação H-2/6 e H-3/5 observada no espectro de COSY (Figura 70, p. 117) demonstra que houve uma sobreposição com o sinal minoritário nesse mesmo deslocamento químico e possibilita a atribuição inequívoca entre os hidrogênios do sistema aromático *p*-substituído presente em **X**. Ainda no espectro de COSY (Figura 70, p. 117) foi possível confirmar o acoplamento entre os hidrogênios H-7 e H-8 com configuração *cis* que se encontram conjugados ao anel aromático.

O espectro de RMN de DEPTQ (Figura 69, p. 117) mostrou dois sinais de carbonos com  $\delta_c$  159,0 e 126,5 que foram atribuídos aos carbonos aromáticos oxigenado C-4 e quaternário C-1, e ainda um terceiro sinal em  $\delta_c$  172,8 correspondente ao carbono carboxílico C-9. Outros sinais presentes em  $\delta_c$  131,3 (C-2/6) e 114,3 (C-3/5) confirmam o sistema aromático AA' BB', bem como os sinais em  $\delta_c$  129,4 e 114,7 são compatíveis com os carbonos C-7 e C-8 do sistema *cis*  $\alpha,\beta$ -insaturado. Todas as atribuições dos sinais de RMN de  $^1H$  e de DEPTQ foram confirmadas pelo mapa de correlação heteronuclear HSQC (Figura 73, p. 119) sendo coerentes para o ácido *cis*-4-hidroxicinâmico (**X**).

No espectro de massas de baixa resolução (Figura 74, p. 119) consta um íon molecular em  $m/z$  120 que pode ser explicado pela perda de uma molécula de  $CO_2$  ocorrida durante o processo de volatilização da amostra na câmara do CG. Desse modo sugere-se a fórmula molecular  $C_9H_8O_3$  equivalente a massa 164,0 g/mol para o ácido *cis*, assim como foi relatado para o seu isômero ácido *trans*-4-hidroxicinâmico (**III**). As propostas de fragmentações para este composto são semelhantes ao descrito na Figura 28, p. 86.

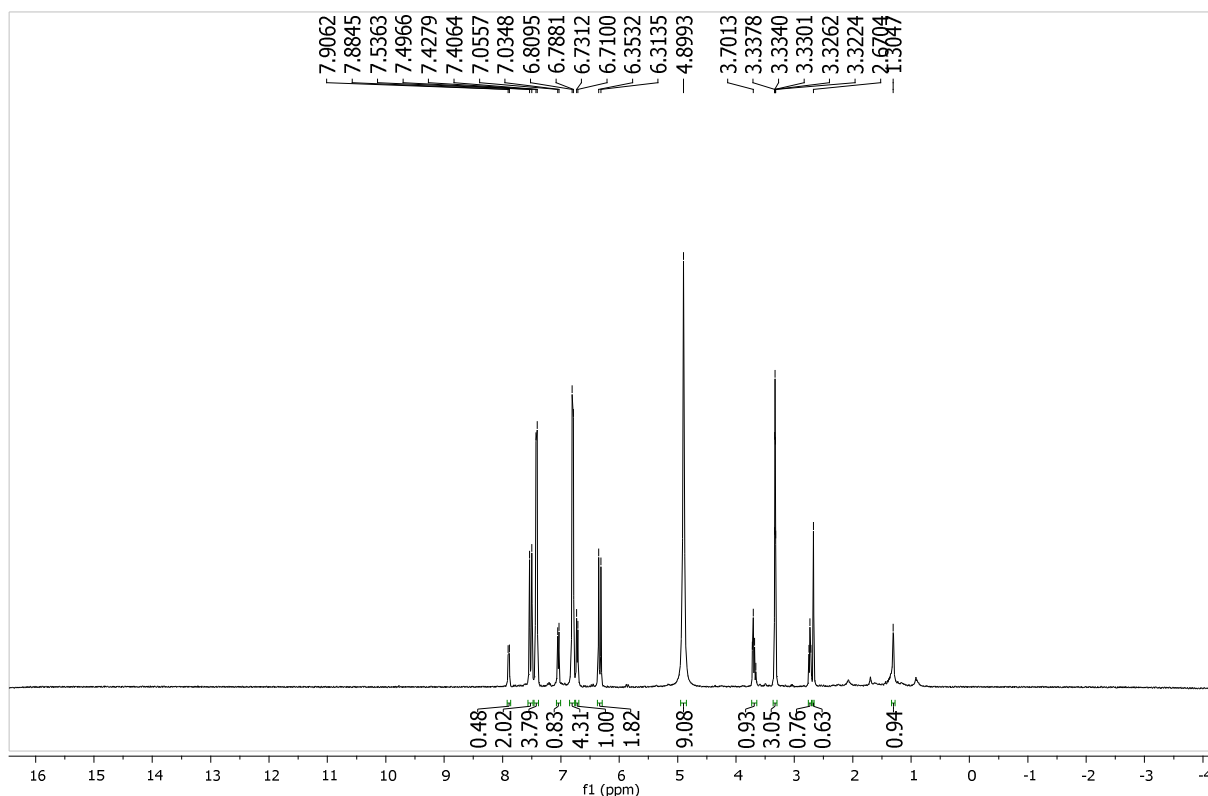
A análise dos dados obtidos no espectro de massas de baixa resolução em conjunto com dados da literatura (TORI et al, 2000) confirmou a proposta estrutural para o ácido *cis*-4-hidroxicinâmico (**X**).



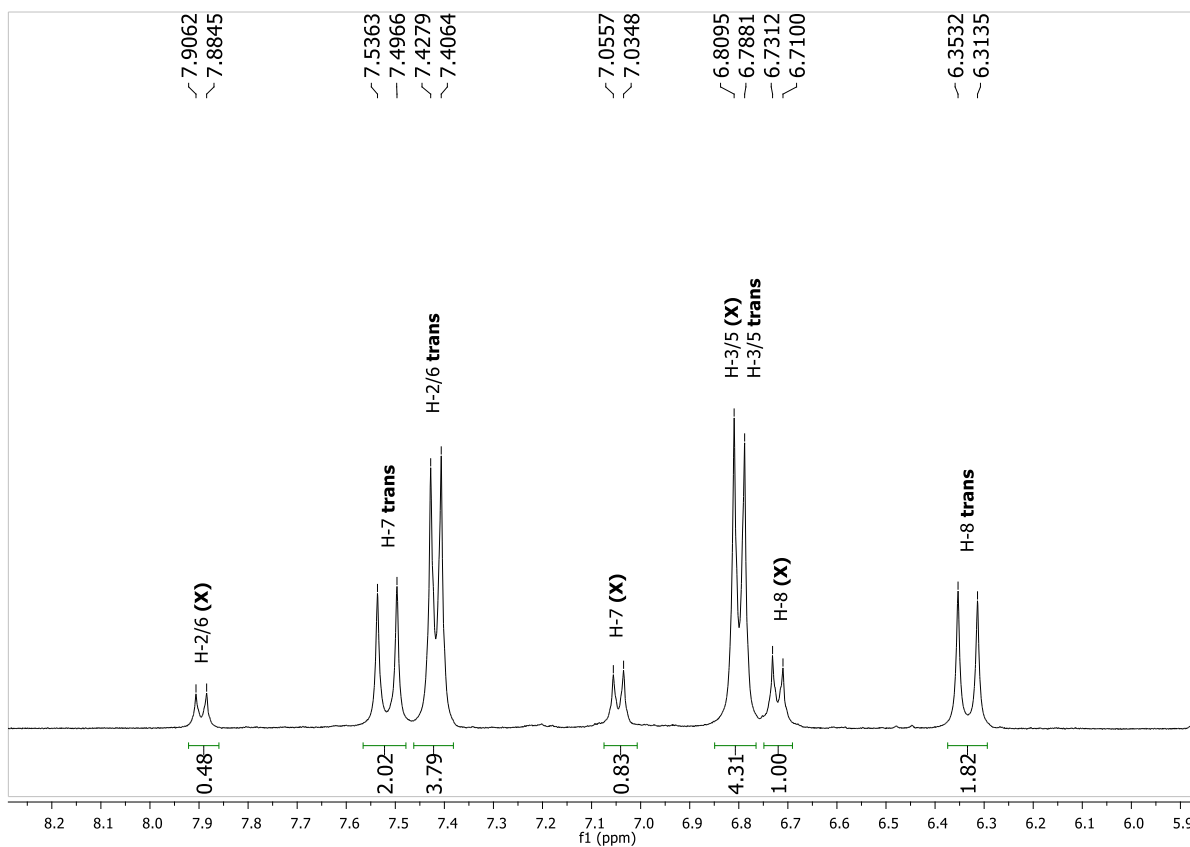
ácido *cis*-4-hidroxicinâmico (**X**)

**Tabela 11.** Dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  (50 MHz, DEPTQ,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) da substância X em comparação com dados da literatura (MAIA, 2011; TORI et al, 2000)

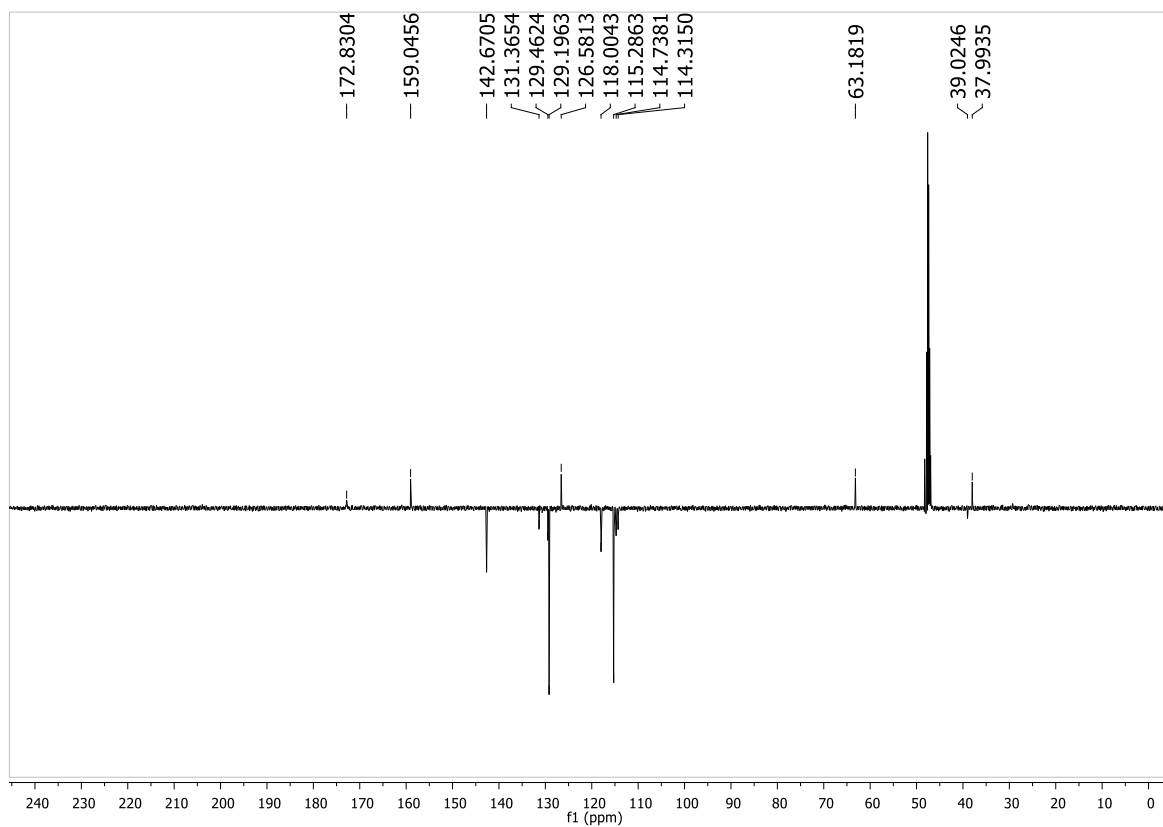
| Substância X |                     |                                   | Literatura ( $\text{CD}_3\text{OD}$ e $\text{CDCl}_3$ , 125 e 400 MHz) - Substância <i>trans</i> |                                 |
|--------------|---------------------|-----------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------|
| C            | $\delta_{\text{C}}$ | $\delta_{\text{H}}$               | $\delta_{\text{C}}$                                                                              | $\delta_{\text{H}}$             |
| 1            | 126,5               | -                                 | 127,3                                                                                            | -                               |
| 2/6          | 131,3               | 7,89 (2H, <i>d</i> , $J= 8,6$ Hz) | 131,0                                                                                            | 7,62 ( <i>d</i> , $J= 8,8$ Hz)  |
| 3/5          | 114,3               | 6,79 (2H, <i>d</i> , $J= 8,5$ Hz) | 116,8                                                                                            | 6,79 ( <i>d</i> , $J= 8,8$ Hz)  |
| 4            | 159,0               | -                                 | 161,0                                                                                            | -                               |
| 7            | 129,4               | 7,04 (1H, <i>d</i> , $J= 8,3$ Hz) | 146,6                                                                                            | 6,84 ( <i>d</i> , $J= 12,4$ Hz) |
| 8            | 114,7               | 6,72 (1H, <i>d</i> , $J= 8,4$ Hz) | 115,7                                                                                            | 5,83 ( <i>d</i> , $J= 12,4$ Hz) |
| 9 (COOH)     | 172,8               | -                                 | 171,2                                                                                            | -                               |



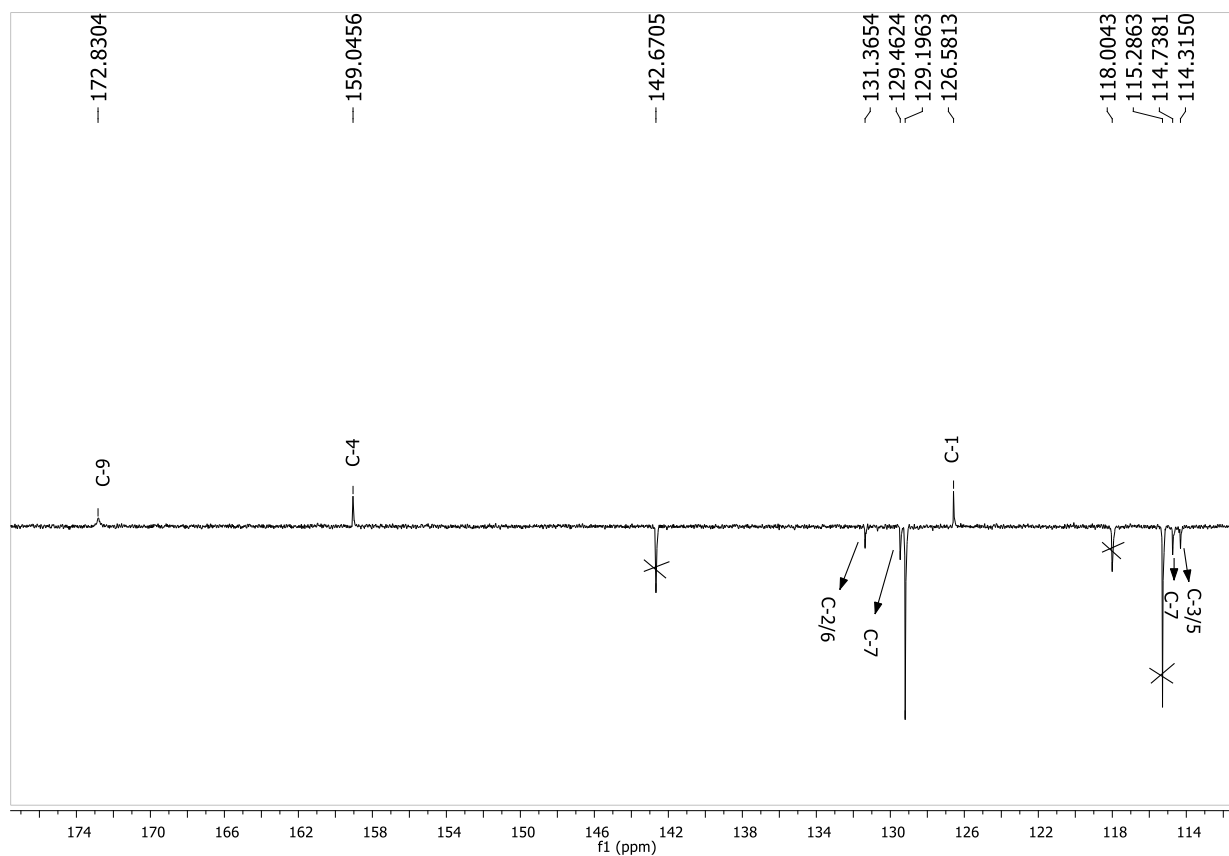
**Figura 66** - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de X.



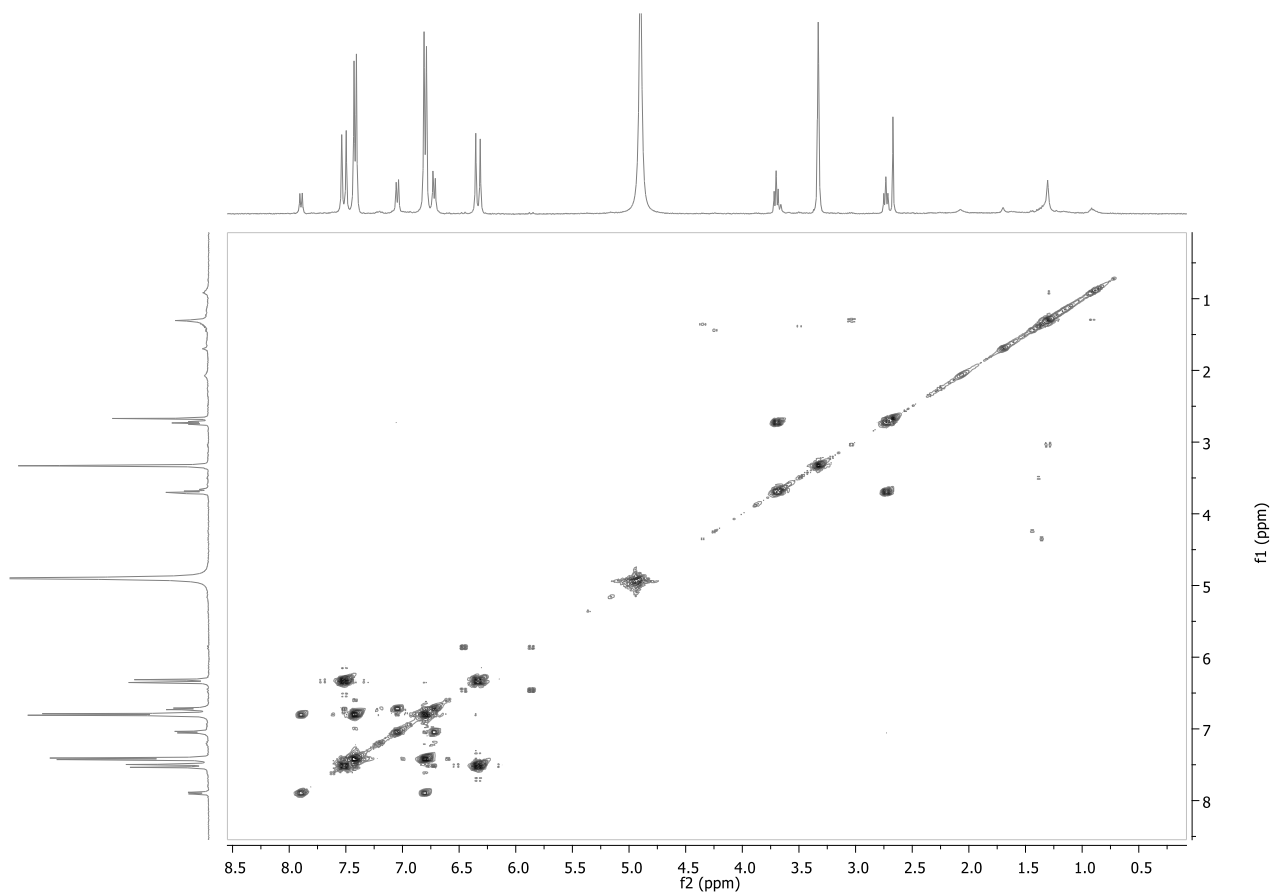
**Figura 67** - Expansão do espectro de RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de X na região entre  $\delta_H$  5,9-8,2 ppm.



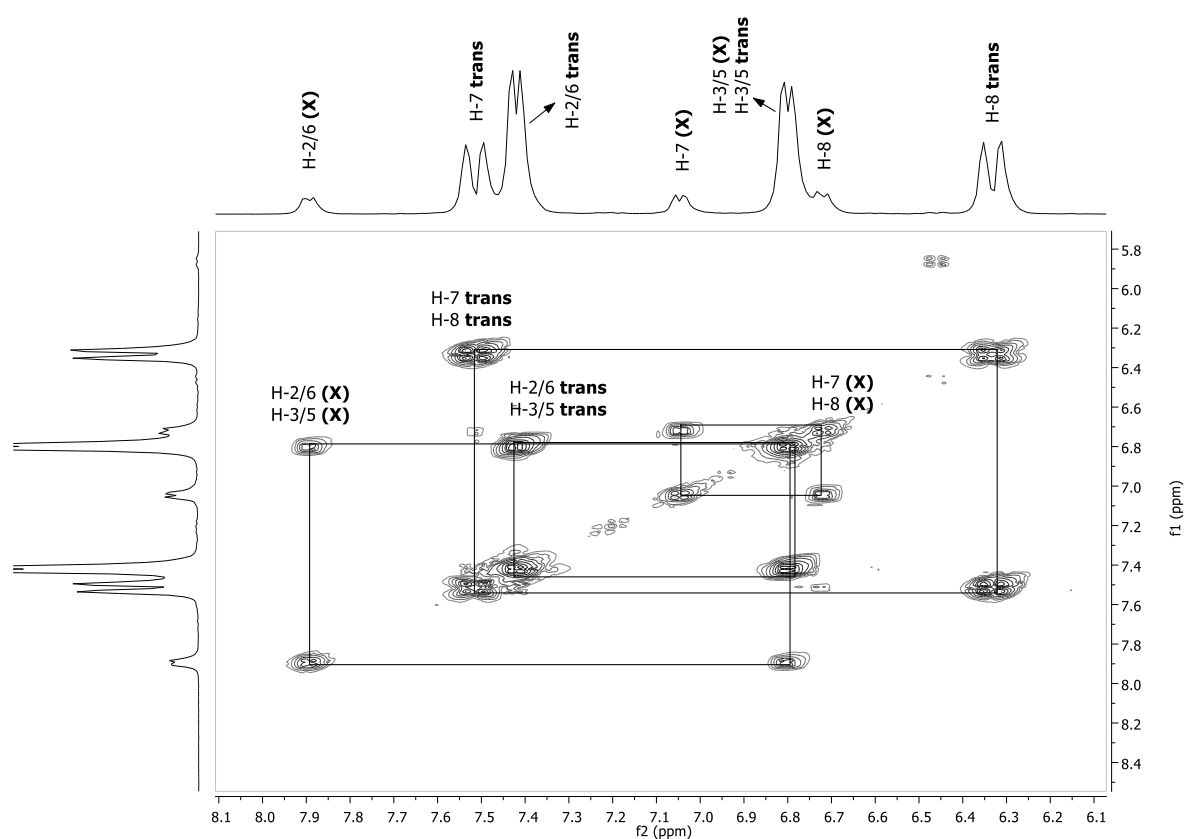
**Figura 68** - Espectro de RMN de <sup>13</sup>C (100 MHz, DEPTQ, CD<sub>3</sub>OD) de X.



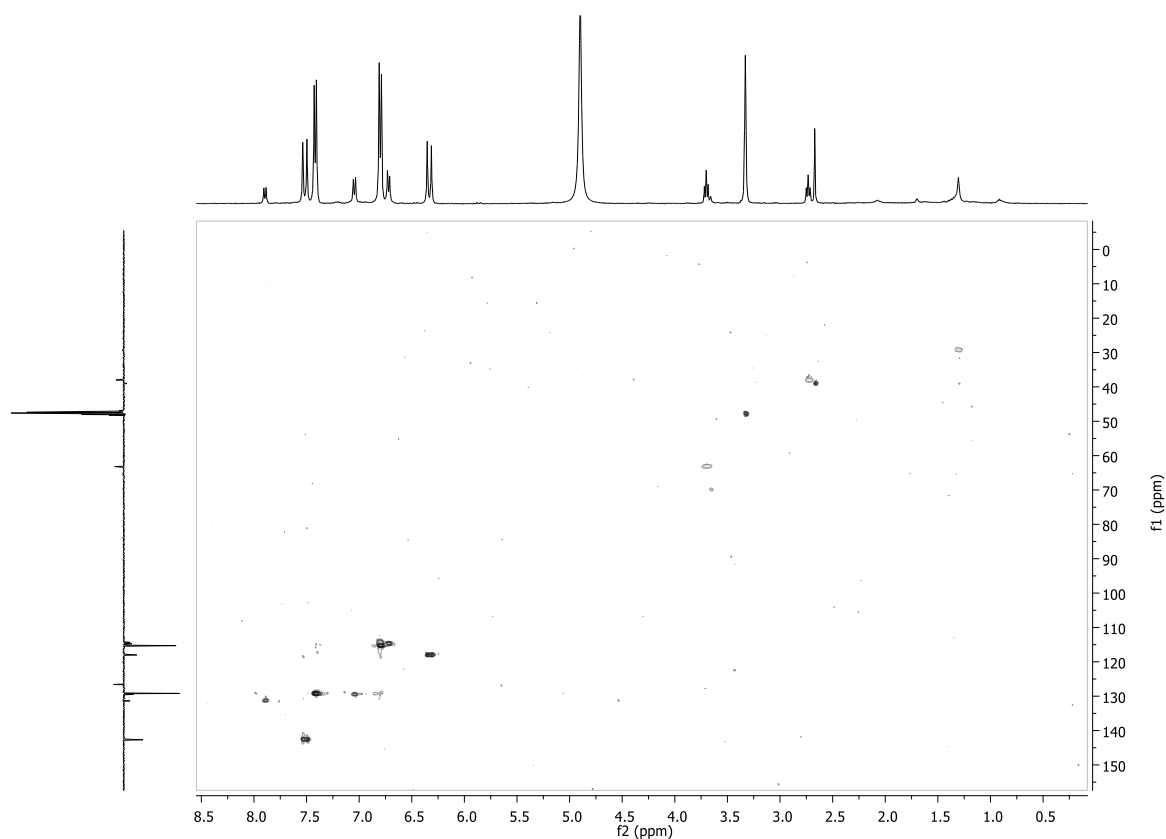
**Figura 69** - Expansão do espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz, DEPTQ,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de X na região entre  $\delta_{\text{C}}$  112,00-176,00 ppm.



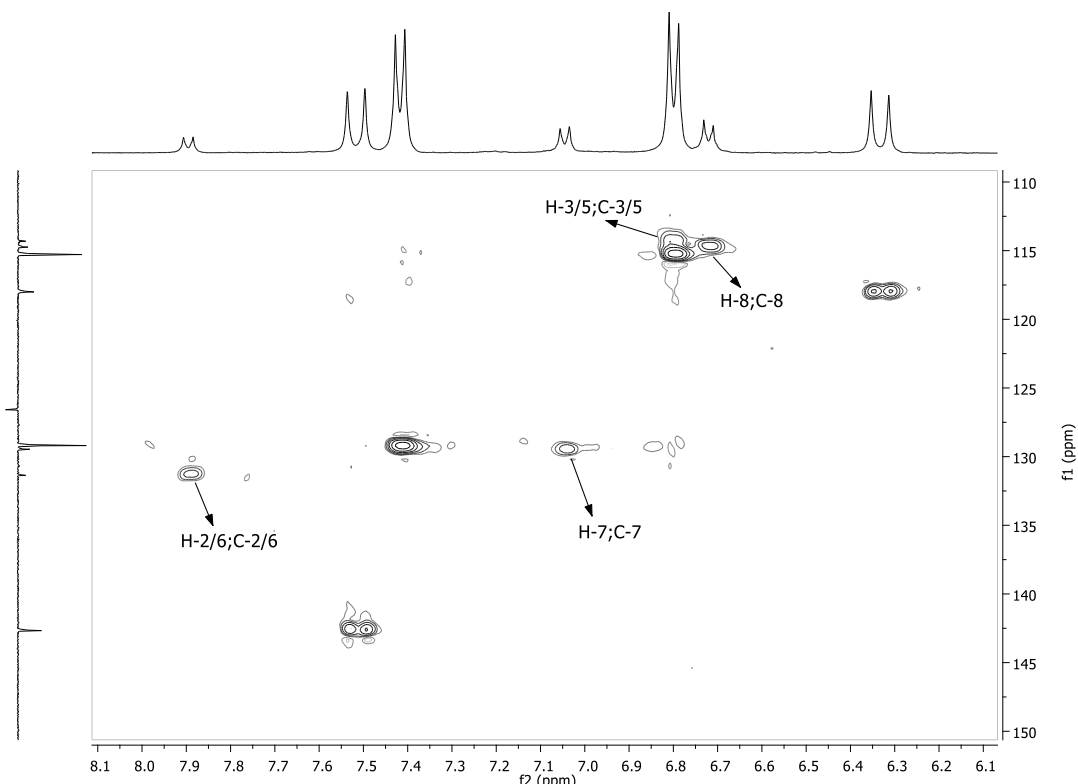
**Figura 70** - Espectro de COSY (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de X.



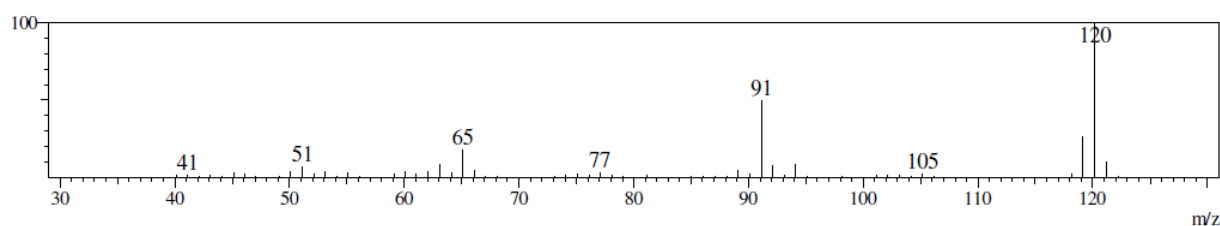
**Figura 71** - Expansão do espectro de COSY (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de X na região entre  $\delta_H$  6,10-8,10 ppm.



**Figura 72** - Espectro de HSQC (400/100 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de X.



**Figura 73** - Expansão do espectro de HSQC (400/100 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de X, entre  $\delta_H$  6,10-8,10 e  $\delta_C$  110,00-150,00 ppm.



**Figura 74** - Espectro de massas por I.E. (70 eV) de X.

### 5.2.8. Identificação da substância XI

A identificação da substância **XI** foi possível através das técnicas de RMN 1D e 2D, além das informações fornecidas pelo EM de alta e baixa resolução.

No espectro de RMN de <sup>1</sup>H (Figura 76,77 e 78, p. 123 e 1244) da substância **XI** verificou-se 16 sinais de hidrogênios intensos que foram atribuídos a três unidades que constituem a molécula do especiosideo (**XI**). A unidade que representa a classe do metabólito apresentou sinais característicos de esqueleto iridano em  $\delta_H$  5,20 ppm (1H, *d*, *J*= 9,1 Hz) referente ao hidrogênio oximetínico (H-1), em  $\delta_H$  6,40 ppm (1H, *dd*) e  $\delta_H$  5,01 ppm (1H, *dd*, *J*= 5,9 e 4,2 Hz) atribuídos aos hidrogênios olefínicos H-3 e H-4 do anel pirano. Outros sinais observados em  $\delta_H$  5,05 ppm (1H, *dl*, *J*= 7,3 Hz) e  $\delta_H$  3,72 ppm (1H, *s*) foram atribuídos aos hidrogênios oximetínicos H-6 e H-7 do ciclopentano. O multipletto com

integração para 2 hidrogênios em  $\delta_H$  2,62 ppm (2H, *m*) é compatível com os hidrogênios H-5 e H-9, responsáveis pela união entre os anéis ciclopentanopirano.

O conjunto de sinais no espectro de RMN de  $^1H$  (Figura 76 e 77, p. 123 e 124) entre 3,32-3,95 ppm e a existência de um hidrogênio anomérico (H-1') em  $\delta_H$  4,82 ppm (1H, *d*,  $J = 7,9$  Hz), sugerem a presença de uma unidade de  $\beta$ -glicose na estrutura proposta.

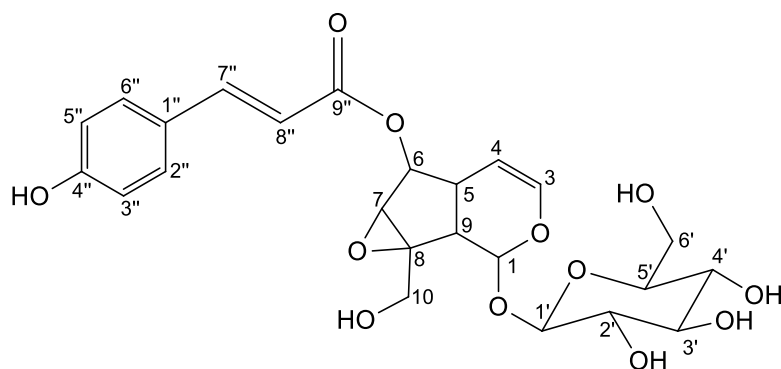
Ainda foram observados sinais pertencentes a uma outra unidade que constitui o esqueleto estrutural de **XI** compatível com a porção 6-*O*- *trans-p*-coumaroil, que pode ser justificado no espectro de  $^1H$  RMN (Figura 78, p. 124) pela presença de dois sinais em  $\delta_H$  7,51 ppm (2H, *d*,  $J = 8,6$  Hz, H-2'' e H-6'') e  $\delta_H$  6,84 ppm (2H, *d*,  $J = 8,5$  Hz, H-3'' e H-5''), cujo acoplamento em *orto* foi confirmado pelo espectro de cosy e se caracteriza por um sistema aromático do tipo AA'BB'. O espectro de  $^1H$  RMN mostrou outros dois sinais, sendo um duplo duplete em  $\delta_H$  6,40 ppm (1H, *dd*,  $J = 15,8$  Hz) e um duplete em  $\delta_H$  7,70 ppm (1H, *d*,  $J = 15,9$  Hz) que pelos valores das constantes de acoplamento próximos de 16 Hz e as correlações do cosy (Figura 83 e 84, p. 127) correspondem aos hidrogênios *trans* olefínicos H-7'' e H-8''.

No espectro de RMN de DEPTQ (Figura 80 e 81, p. 125 e 126), observa-se os sinais de carbonos olefínicos C-3 e C-4 com  $\delta_C$  em 141,00 e 101,53 ppm, bem como em 59,90 ppm atribuído ao carbono oximetilênico (C-10), além do conjunto de vários outros sinais em  $\delta_C$  93,63 (C-1); 35,32 (C-5); 79,92 (C-6); 58,84 (C-7); 65,40 (C-8) e 41,74 (C-9) ppm coerentes ao esqueleto iridoídico. Os sinais de deslocamentos químicos aparentes no espectro de DEPTQ (Figura 80 e 81, p. 125 e 126), em  $\delta_C$  73,44; 77,27 e 70,38 ppm comuns aos carbonos oxigenados, juntamente com os sinais de carbonos metilênicos ligado à hidroxila em  $\delta_C$  61,54 ppm (C-6) e anomérico em 98,26 ppm (C-1') evidenciou uma unidade de glicose ligada ao iridoídeo. Notou-se outros sinais no espectro de DEPTQ (Figura 81, p. 126) que confirmaram a presença da unidade 6-*O*- *trans-p*-coumaroil devido aos sinais de carbono aromáticos hidrogenados em 129,94 (C-2''/6'') e 115,45 (C-3''/5''); carbono fenólico em  $\delta_C$  160 (C-4''); olefínicos em  $\delta_C$  113,17 (C-7'') e 145,83 (C-8''); bem como o sinal da carbonila de éster em 167,54 (C-9'').

As correlações observadas no mapa de contorno HSQC (Figura 86 e 87, p. 128 e 129) foram essenciais para reafirmar as atribuições feitas aos átomos de carbonos e hidrogênios presentes na molécula, entretanto a confirmação da conectividade entre as três unidades ocorreu por meio das correlações evidenciadas pelo espectro de HMBC (Figura 89, p. 130). As correlações  $^3J$  entre o carbono anomérico C-1' em  $\delta_C$  98,26 com o hidrogênio em  $\delta_H$  5,20 (H-1) e o carbono oximetínico C-1 em  $\delta_C$  93,63 com o hidrogênio

oximetínico em  $\delta_H$  4,82 (H-1') comprovam a união da  $\beta$ -glicose no C-1 (98,26 ppm). A posição do grupo 6-*O-trans-p*-coumaroil no carbono 6 da unidade iridoídica foi atestada pelas correlações entre o carbono carboxílico C-9'' em  $\delta_C$  167,54 com o hidrogênio oximetínico em  $\delta_H$  5,05 (H-6) ( $^3J$ ), além de outras correlações apresentadas na Figura 67.

Os dados obtidos pelas técnicas unidimensionais bem como as correlações verificadas nos espectros bidimensionais são similares aos reportados na literatura (ASTHANA et al., 2015) para o iridóide especiosideo (6-*O*-coumaroilcatalpol) **(XI)**. O espectro de massas alta resolução (ESI-TOF) (Figura 90, p. 132) de **XI** apresentou o pico molecular  $[M - H]^+$  em  $m/z$  507,15 correspondente à fórmula molecular  $C_{24}H_{27}O_{12}$  do iridóide isolado.



especiosideo **(XI)**

**Tabela 12.** Dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  (125 MHz, DEPTQ,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) e  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) da substância XI em comparação com dados da literatura (ASTHANA et al., 2015)

| Substância XI |            |                                           | Literatura ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 75 e 300 MHz) |                                           |
|---------------|------------|-------------------------------------------|-----------------------------------------------------|-------------------------------------------|
| C             | $\delta_c$ | $\delta_H$                                | $\delta_c$                                          | $\delta_H$                                |
| 1             | 93,63      | 5,20 (1H, <i>d</i> , $J= 9,1$ Hz)         | 95,1                                                | 5,19 (1H, <i>d</i> , $J= 8,7$ Hz)         |
| 3             | 141,00     | 6,40 (1H, <i>dd</i> )                     | 142,3                                               | 6,38 (1H, <i>dd</i> , $J= 6,0$ e 1,5 Hz)  |
| 4             | 101,53     | 5,01 (1H, <i>dd</i> , $J= 5,9$ e 4,2 Hz)  | 102,9                                               | 5,01 (1H, <i>dd</i> , $J= 6,0$ e 3,9 Hz)  |
| 5             | 35,32      | 2,62 (2H, <i>m</i> )                      | 36,6                                                | 2,65 (2H, <i>m</i> )                      |
| 6             | 79,92      | 5,05 (1H, <i>dl</i> , $J= 7,3$ Hz)        | 81,3                                                | 5,04 (1H, <i>dd</i> , $J= 7,5$ e 1,5 Hz)  |
| 7             | 58,84      | 3,72 (1H, <i>sl</i> )                     | 60,3                                                | 3,78 (1H, <i>s</i> )                      |
| 8             | 65,40      | -                                         | 66,9                                                | -                                         |
| 9             | 41,74      | 2,62 (2H, <i>m</i> )                      | 43,1                                                | 2,65 (2H, <i>m</i> )                      |
| 10 a          | 59,90      | 4,20 (1H, <i>d</i> , $J= 13,1$ Hz)        | 61,2                                                | 4,18 (1H, <i>d</i> , $J= 12,9$ Hz)        |
| 10 b          | 59,90      | 3,85 (1H, <i>d</i> , $J= 13,1$ Hz)        | 61,2                                                | 3,84 (1H, <i>d</i> , $J= 13,2$ Hz)        |
| 1'            | 98,26      | 4,82 (1H, <i>d</i> , $J= 7,9$ Hz)         | 99,7                                                | 4,85 (1H, <i>d</i> , $J= 8,4$ Hz)         |
| 2'            | 73,44      | 3,32 (2H, <i>m</i> )                      | 74,8                                                | 3,34 (2H, <i>m</i> )                      |
| 3'            | 77,27      | 3,32 (2H, <i>m</i> )                      | 78,5                                                | 3,40 (1H, <i>m</i> )                      |
| 4'            | 70,38      | 3,32 (2H, <i>m</i> )                      | 71,7                                                | 3,34 (2H, <i>m</i> )                      |
| 5'            | 76,27      | 3,43 (1H, <i>t</i> , $J= 11,7$ e 6,3 Hz)  | 77,6                                                | 3,44 (1H, <i>m</i> )                      |
| 6'a           | 61,54      | 3,95 (1H, <i>dd</i> , $J= 11,9$ e 1,6 Hz) | 62,8                                                | 3,92 (1H, <i>dd</i> , $J= 12,0$ e 1,8 Hz) |
| 6'b           | 61,54      | 3,67 (1H, <i>dd</i> , $J= 11,9$ e 6,7 Hz) | -                                                   | 3,68 ( <i>dd</i> , $J= 11,7$ e 6,3 Hz)    |
| 1''           | 125,58     | -                                         | 127,08                                              | -                                         |
| 2''           | 129,94     | 7,51 (2H, <i>d</i> , $J= 8,6$ Hz)         | 131,3                                               | 7,52 (2H, <i>d</i> , $J= 8,4$ Hz)         |
| 3''           | 115,45     | 6,84 (2H, <i>d</i> , $J= 8,5$ Hz)         | 116,9                                               | 6,86 (2H, <i>d</i> , $J= 8,1$ Hz)         |
| 4''           | 160,07     |                                           | 162,9                                               | -                                         |
| 5''           | 115,45     | 6,84 (2H, <i>d</i> , $J= 8,5$ Hz)         | 116,9                                               | 6,86 (2H, <i>d</i> , $J= 8,1$ Hz)         |
| 6''           | 129,94     | 7,51 (2H, <i>d</i> , $J= 8,6$ Hz)         | 131,3                                               | 7,52 (2H, <i>d</i> , $J= 8,4$ Hz)         |
| 7''           | 113,17     | 6,40 (1H, <i>dd</i> , $J= 15,8$ Hz)       | 114,5                                               | 7,72 (1H, <i>d</i> , $J= 16,2$ Hz)        |
| 8''           | 145,83     | 7,70 (1H, <i>d</i> , $J= 15,9$ Hz)        | 147,3                                               | 6,40 (1H, <i>d</i> , $J= 16,2$ Hz)        |
| 9''           | 167,54     | -                                         | 169,2                                               | -                                         |

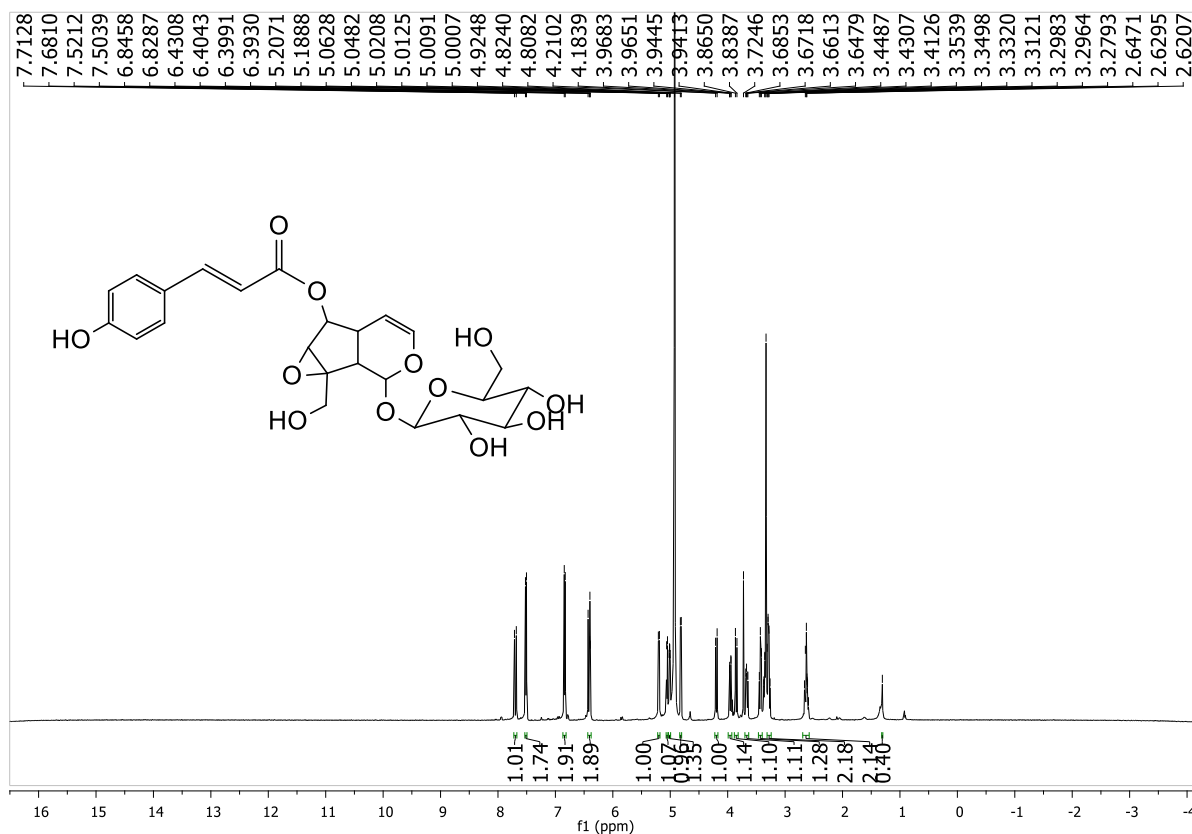


Figura 75 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de XI.

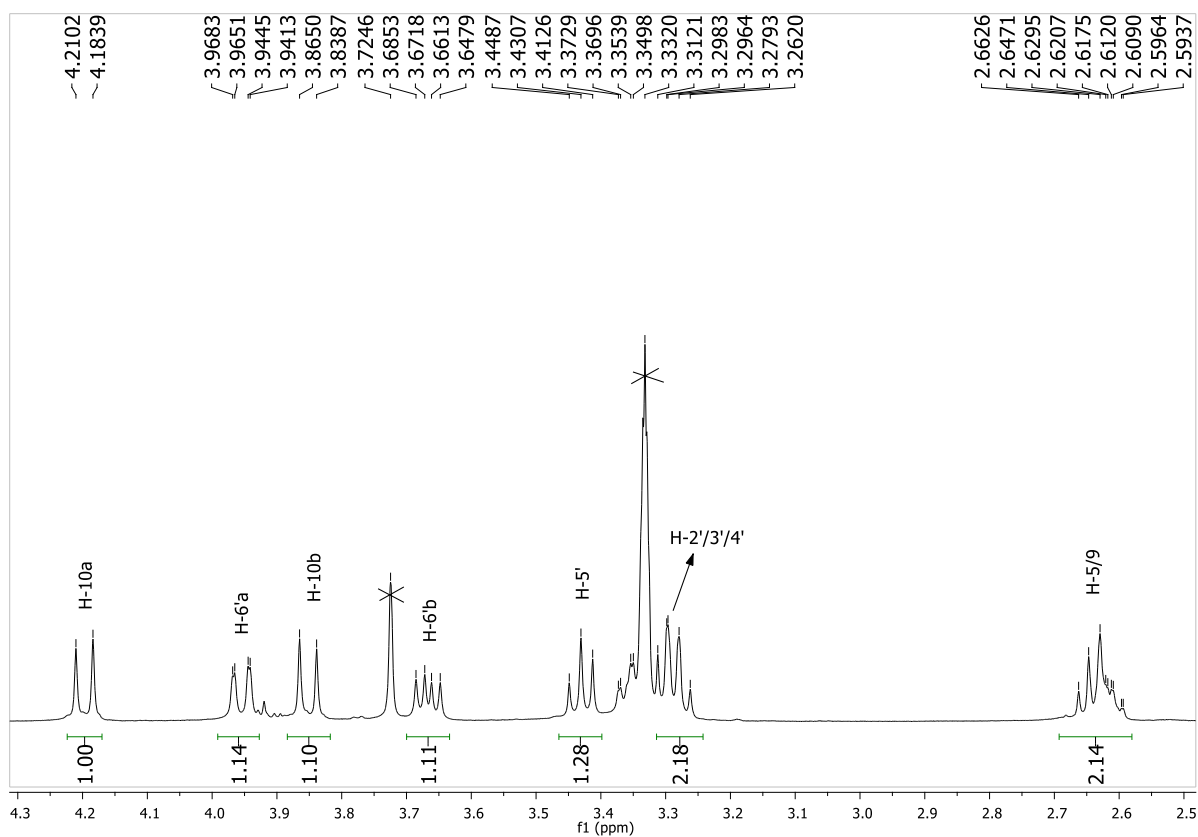
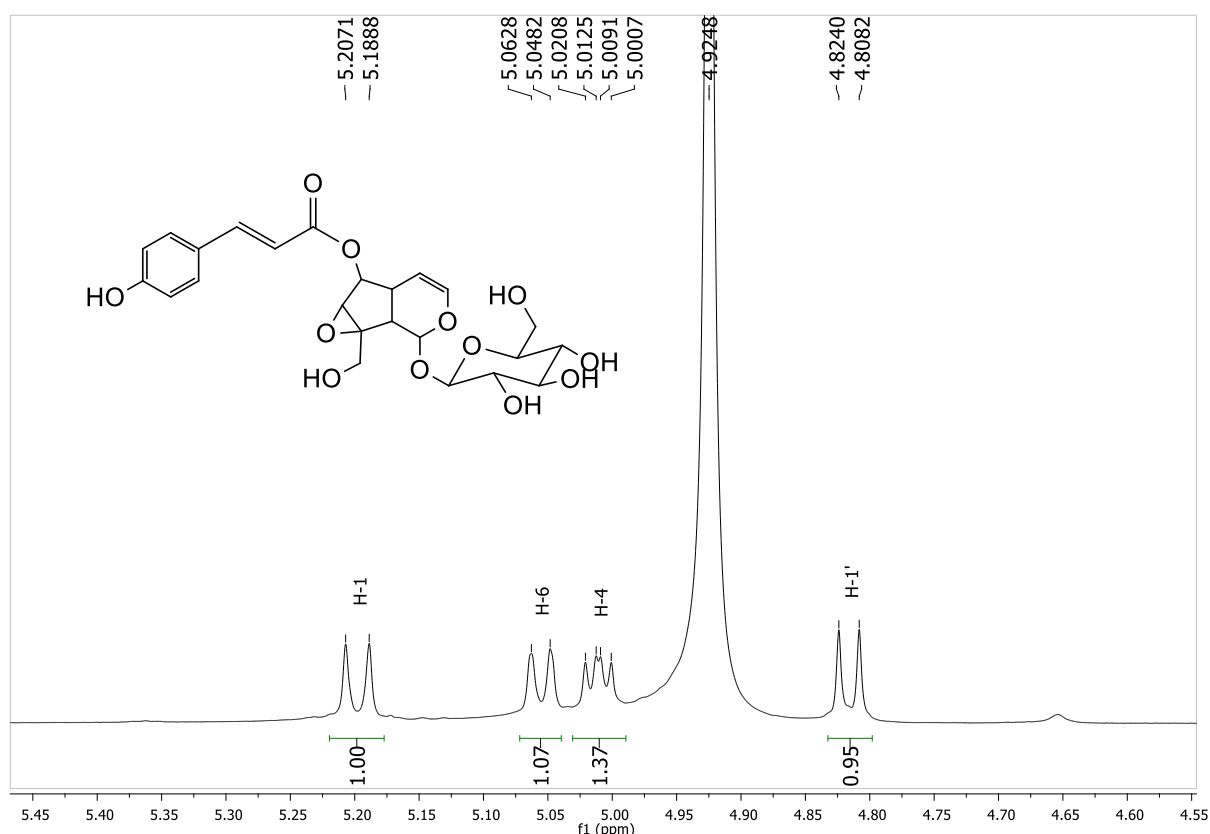
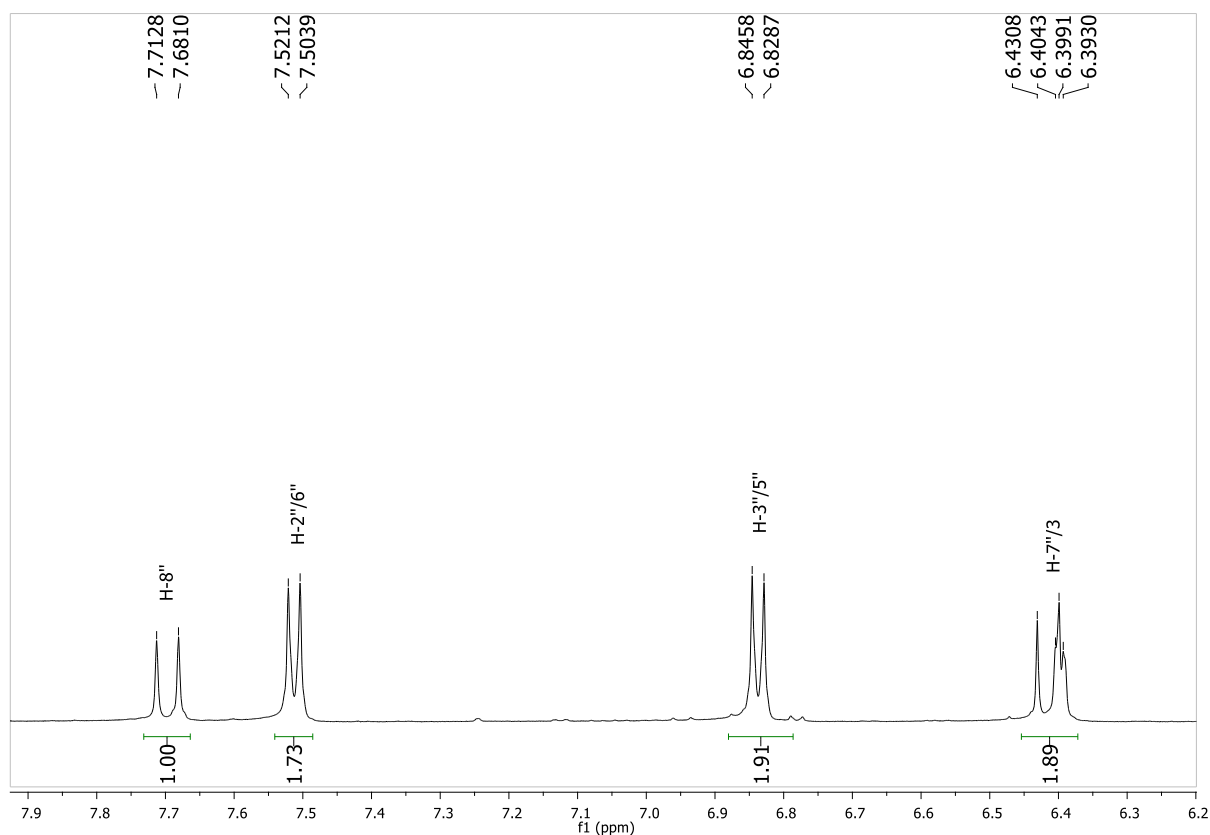


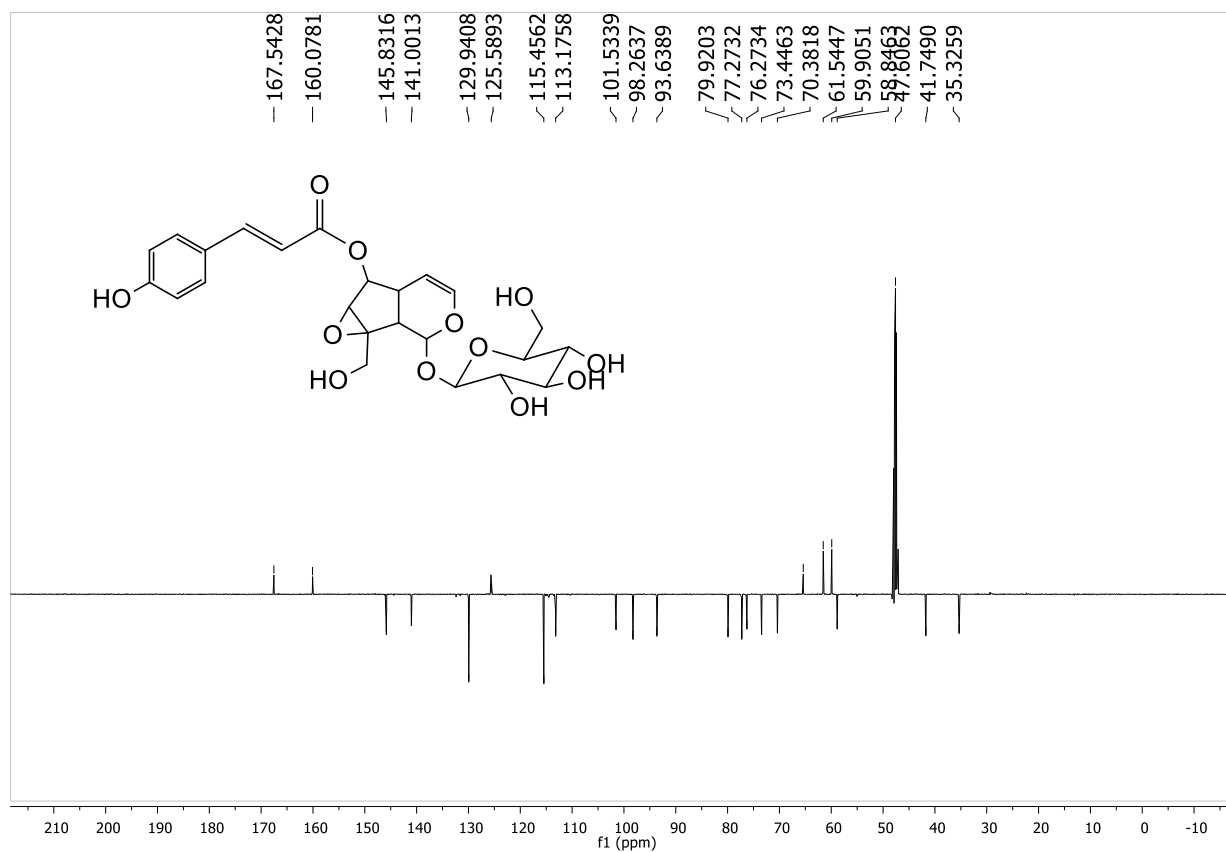
Figura 76 - Expansão do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de XI na região entre  $\delta_{\text{H}}$  2,5-4,3 ppm.



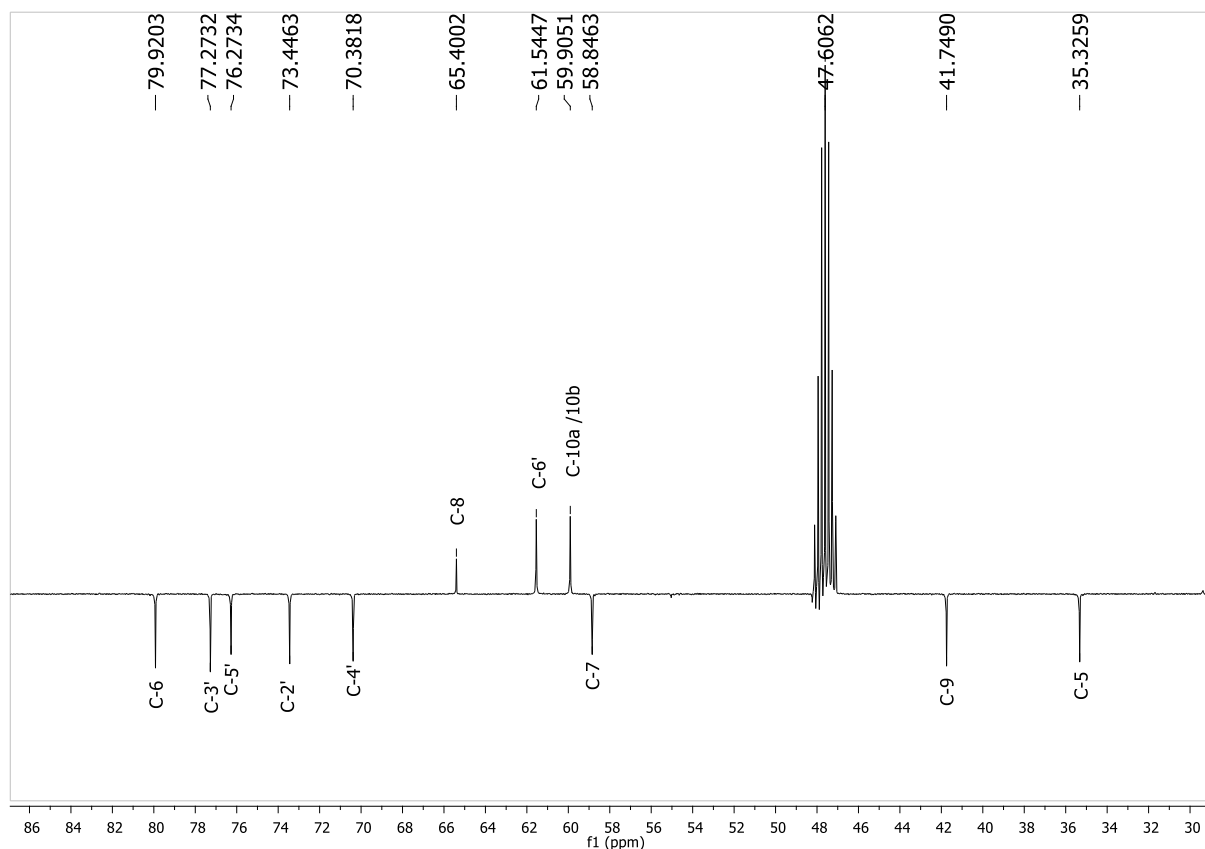
**Figura 77** - Expansão do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de XI na região entre  $\delta_{\text{H}}$  4,5-5,4 ppm.



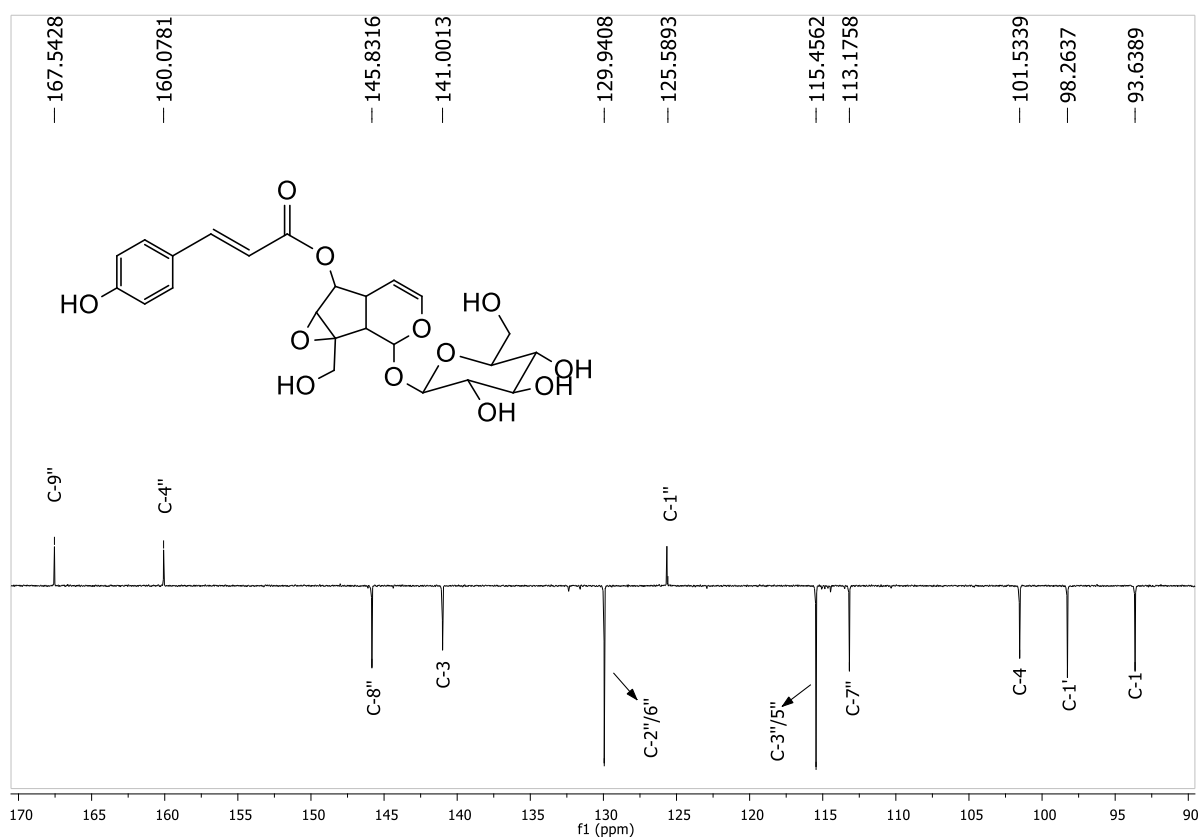
**Figura 78** - Expansão do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de XI na região entre  $\delta_{\text{H}}$  6,2-7,9 ppm.



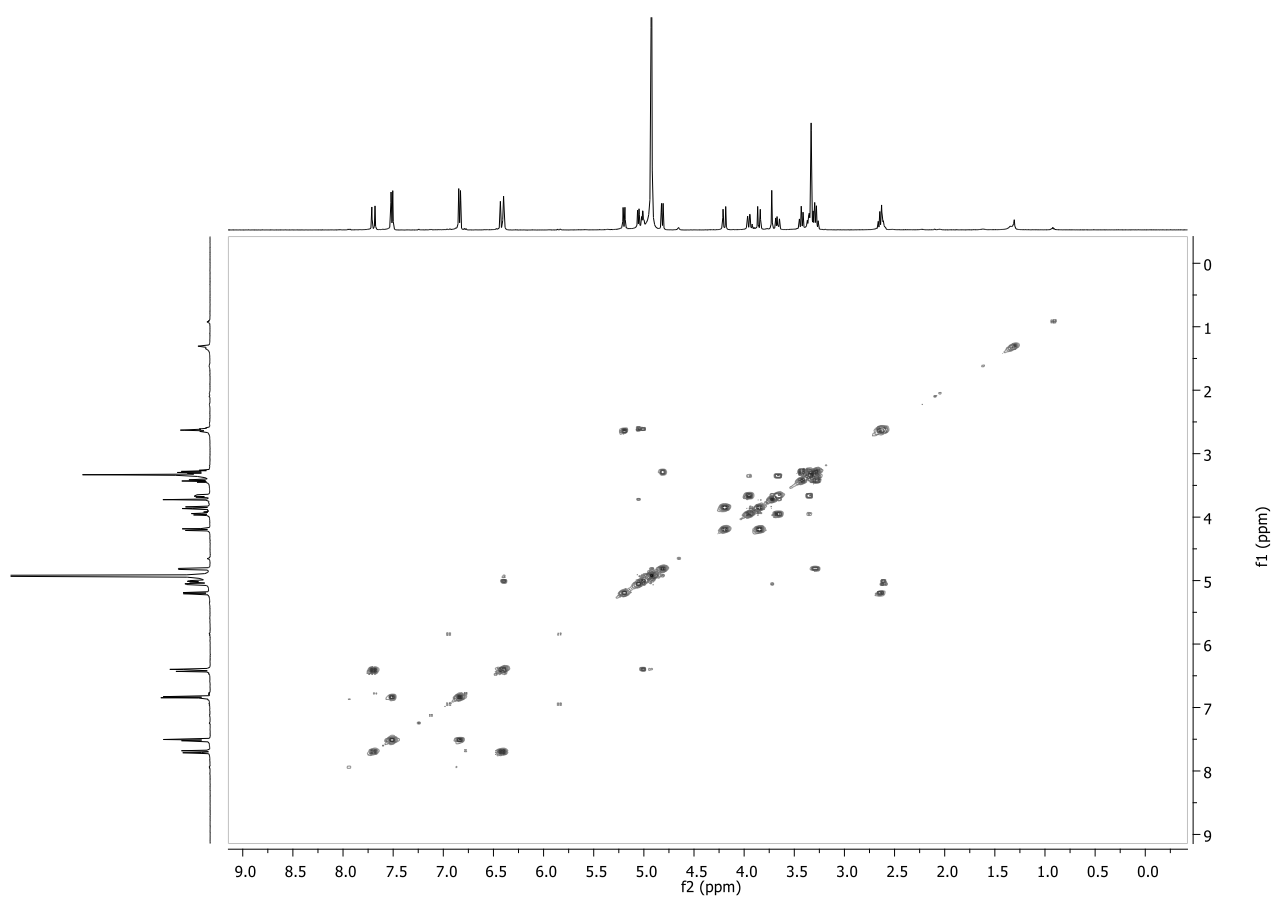
**Figura 79** - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (125 MHz, DEPTQ,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de XI.



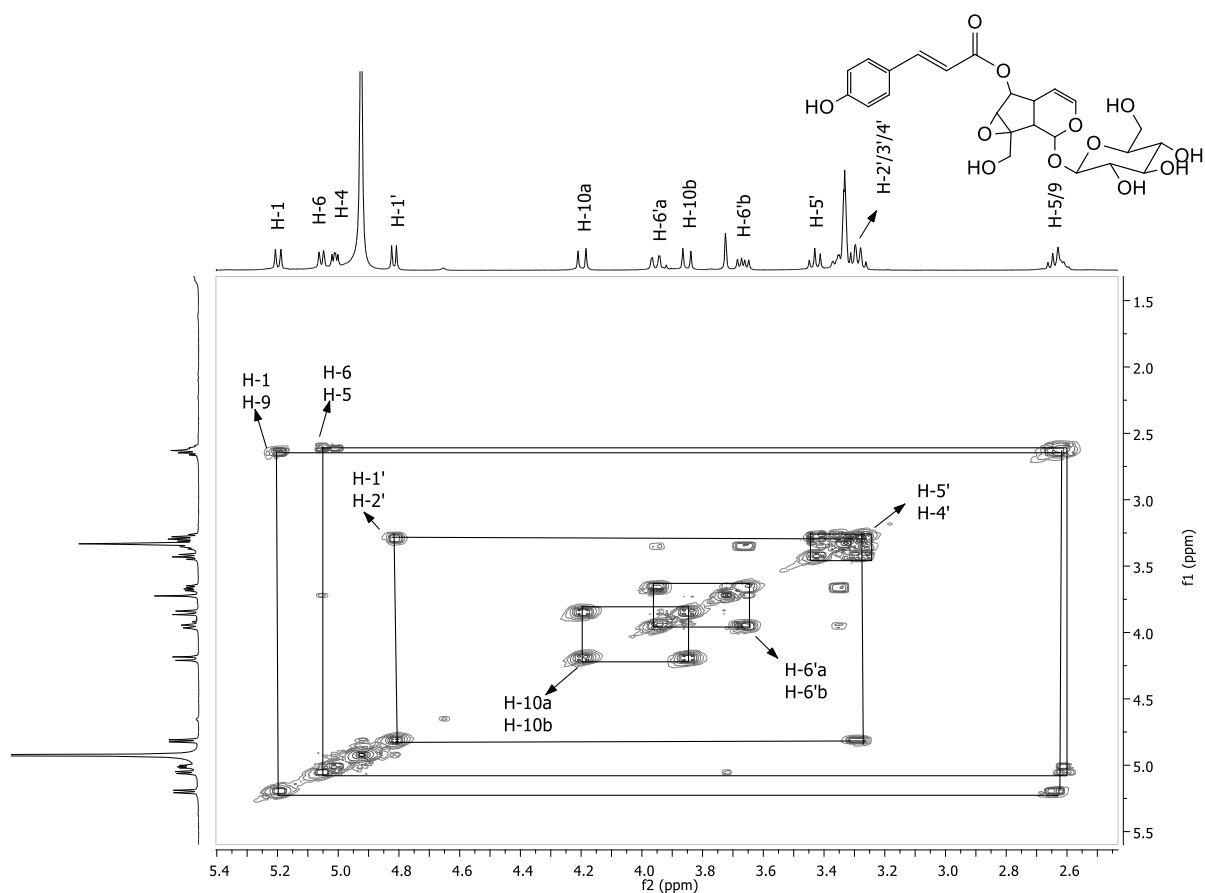
**Figura 80** - Expansão do espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (125 MHz, DEPTQ,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de XI na região entre  $\delta_{\text{C}}$  30,00-86,00 ppm.



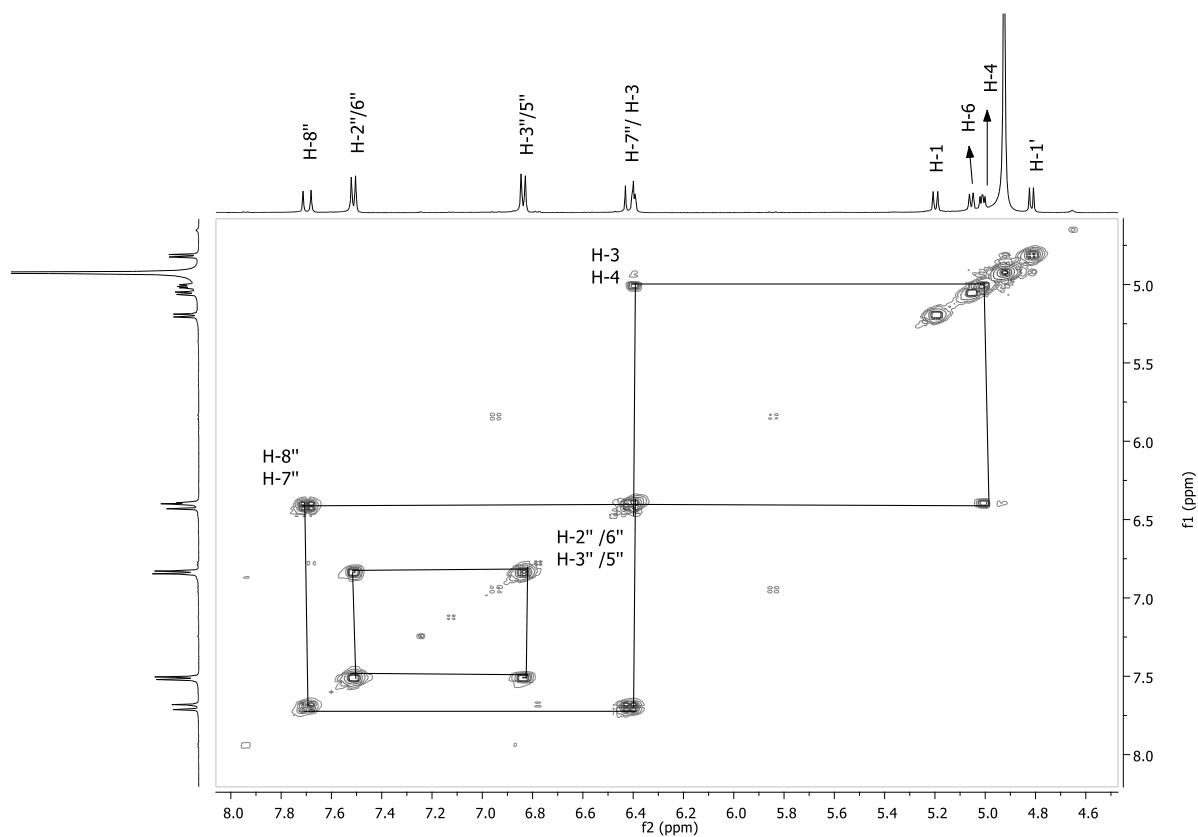
**Figura 81** - Expansão do espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (125 MHz, DEPTQ,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de XI na região entre  $\delta_{\text{C}}$  90,00-170,00 ppm.



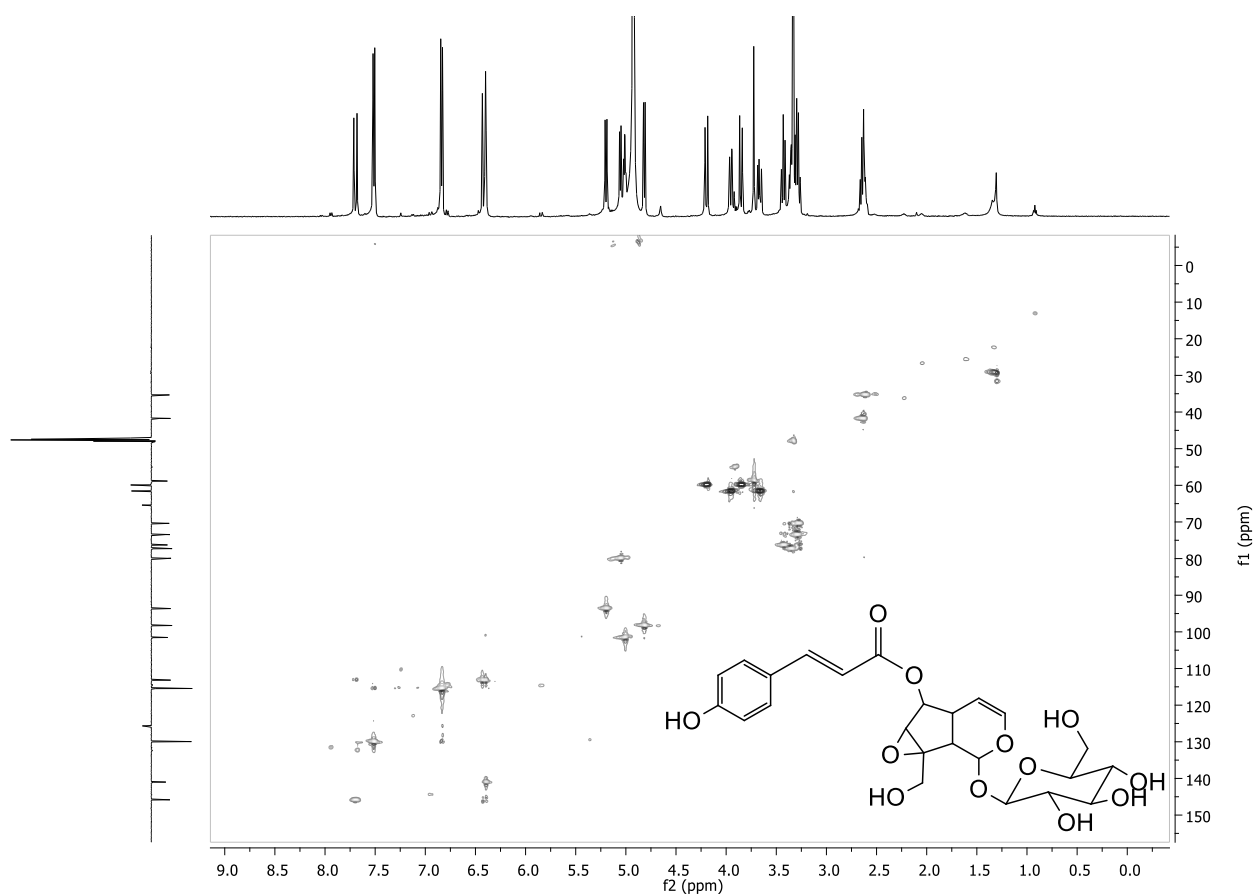
**Figura 82** - Espectro de COSY (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de XI na região entre  $\delta_{\text{H}}$  1,50-5,50 ppm.



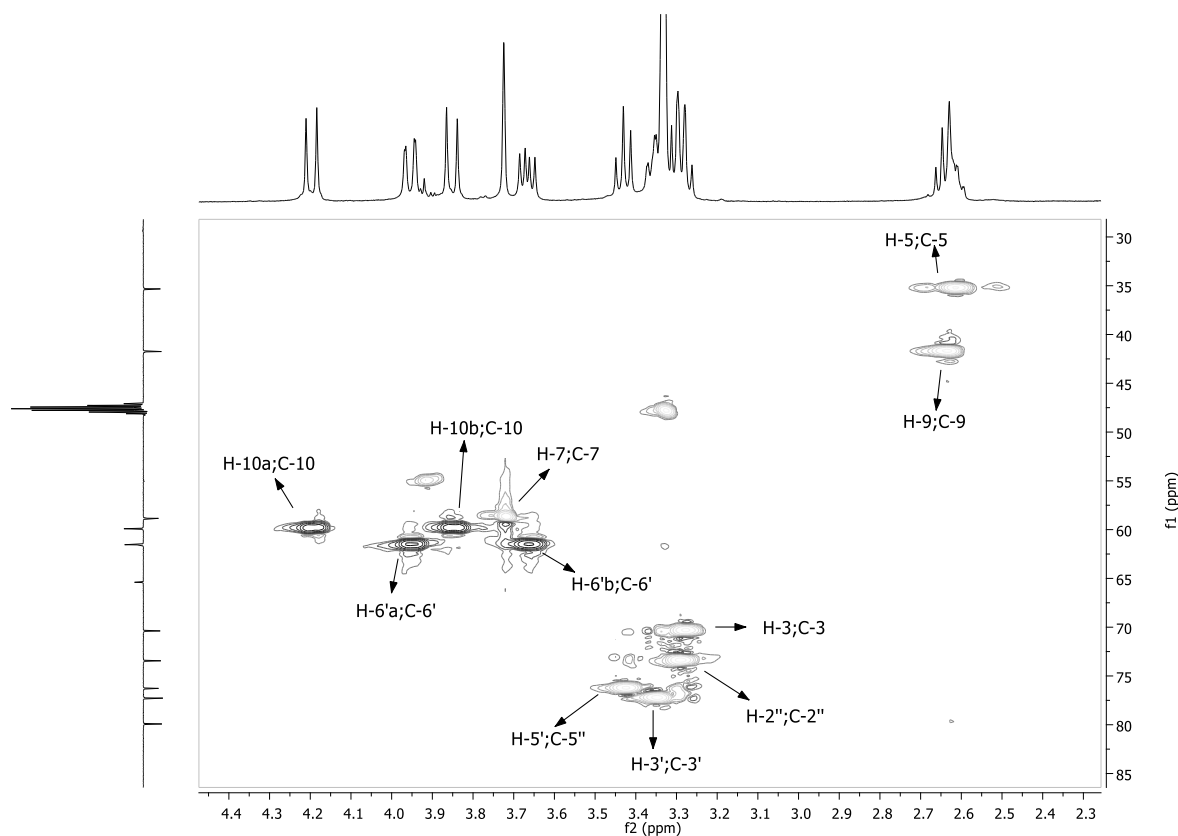
**Figura 83** - Expansão do espectro de COSY (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de XI na região entre  $\delta_{\text{H}}$  1,50-5,50 ppm.



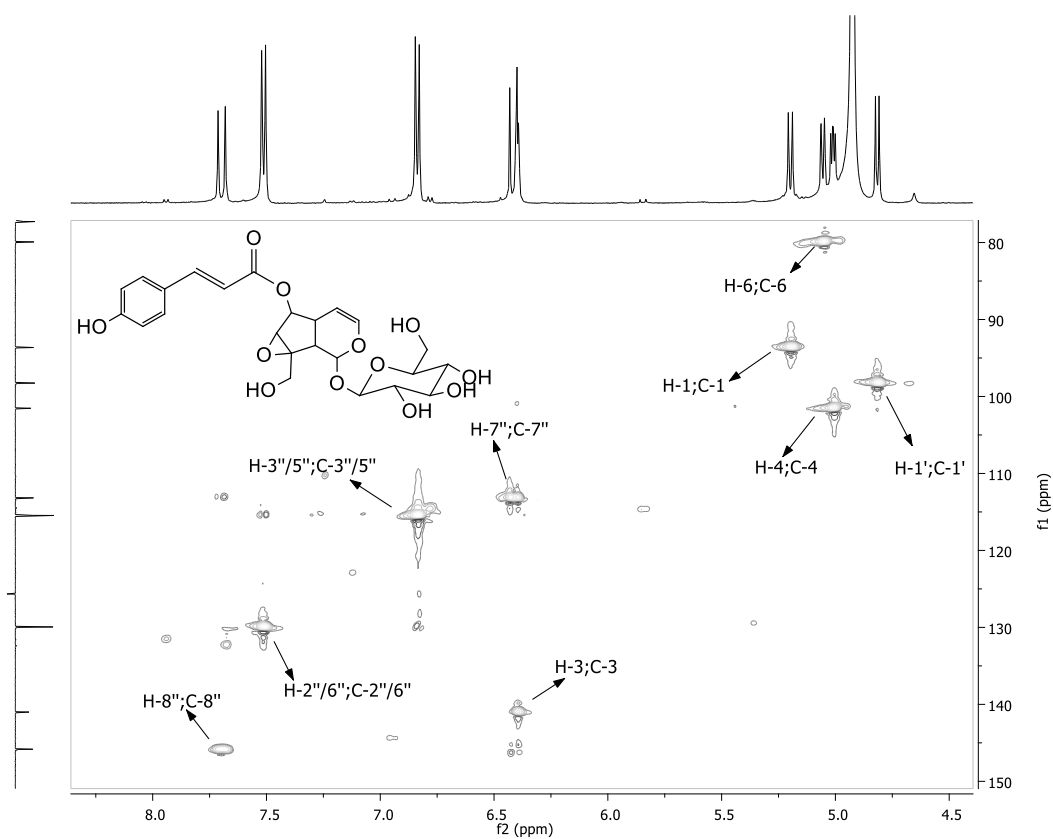
**Figura 84** - Expansão do espectro de COSY (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de XI na região entre  $\delta_{\text{H}}$  4,60-8,00 ppm.



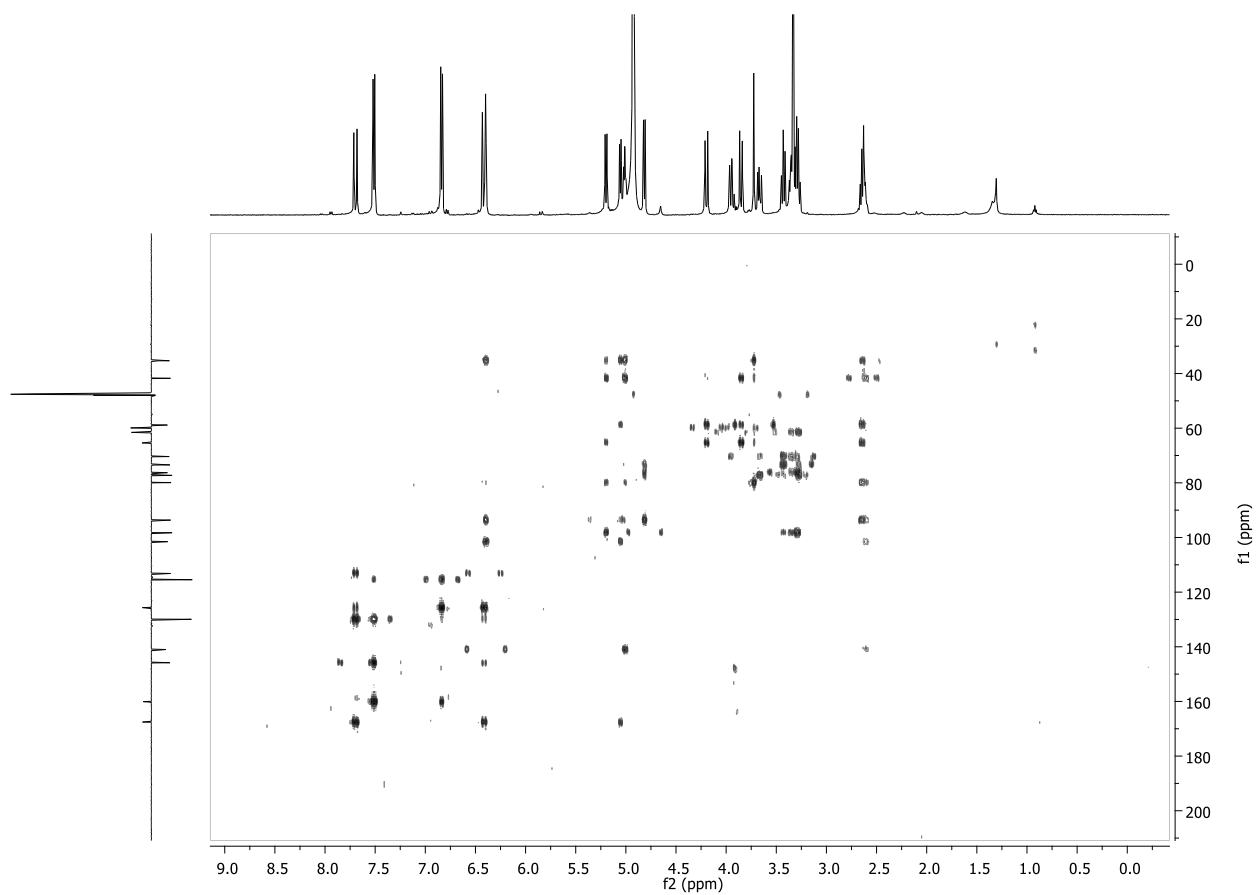
**Figura 85** - Espectro de HSQC (500/125 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de XI.



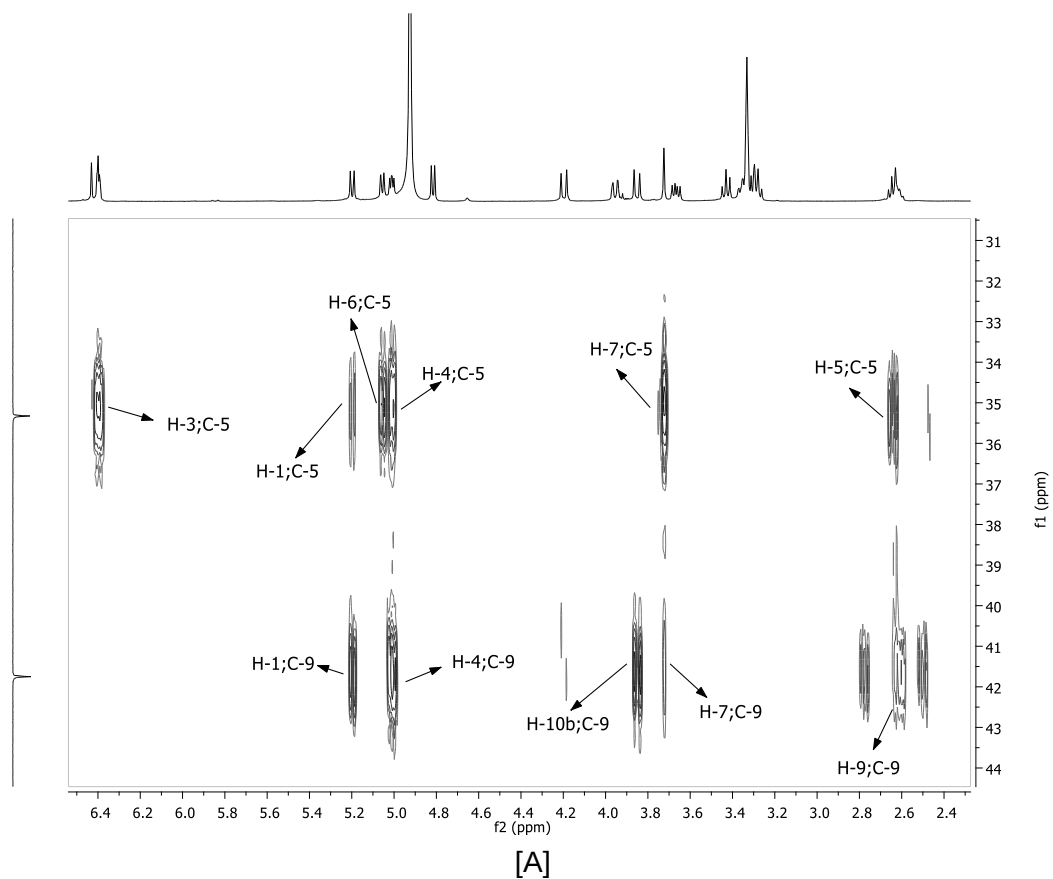
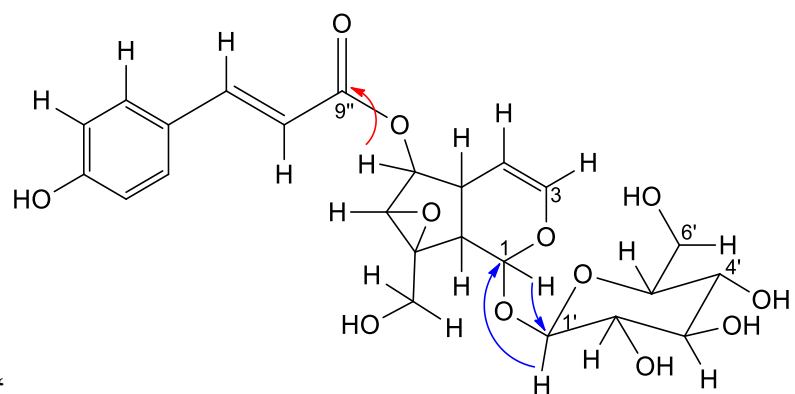
**Figura 86** - Expansão do espectro de HSQC (500/125 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de XI, entre  $\delta_H$  2,30-4,40 e  $\delta_C$  30,00-85,00 ppm.

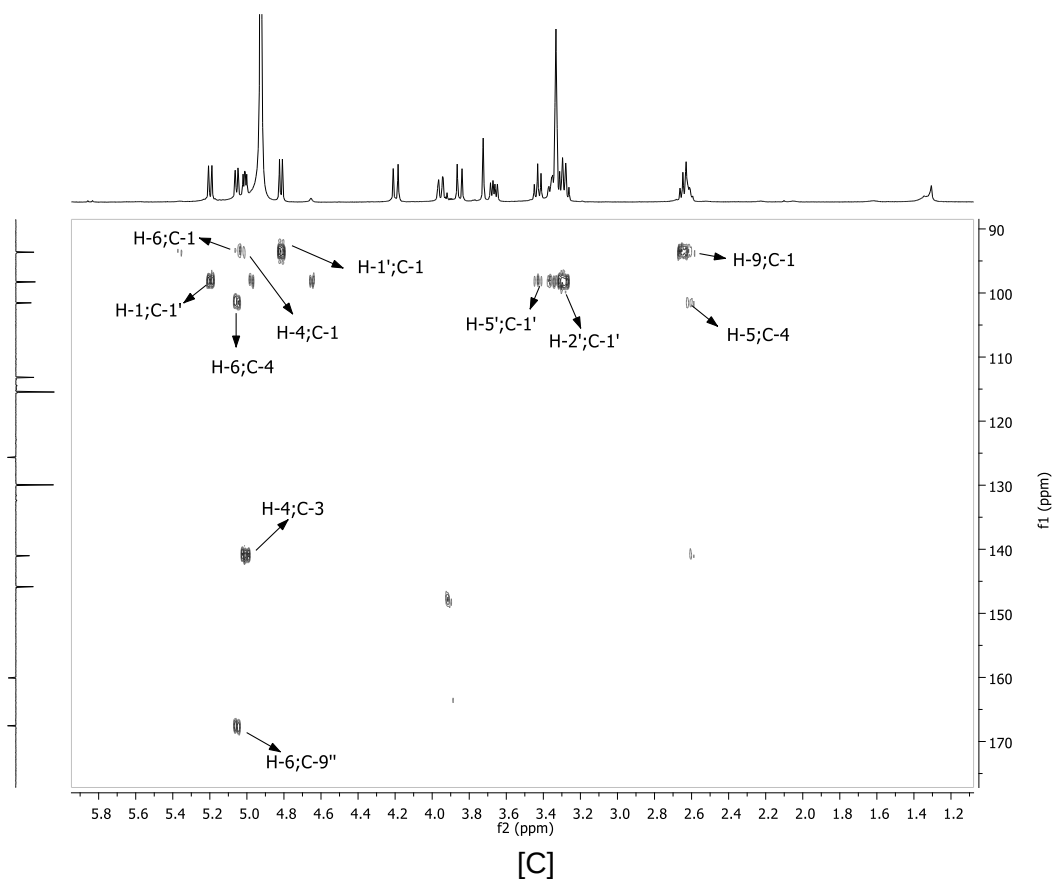
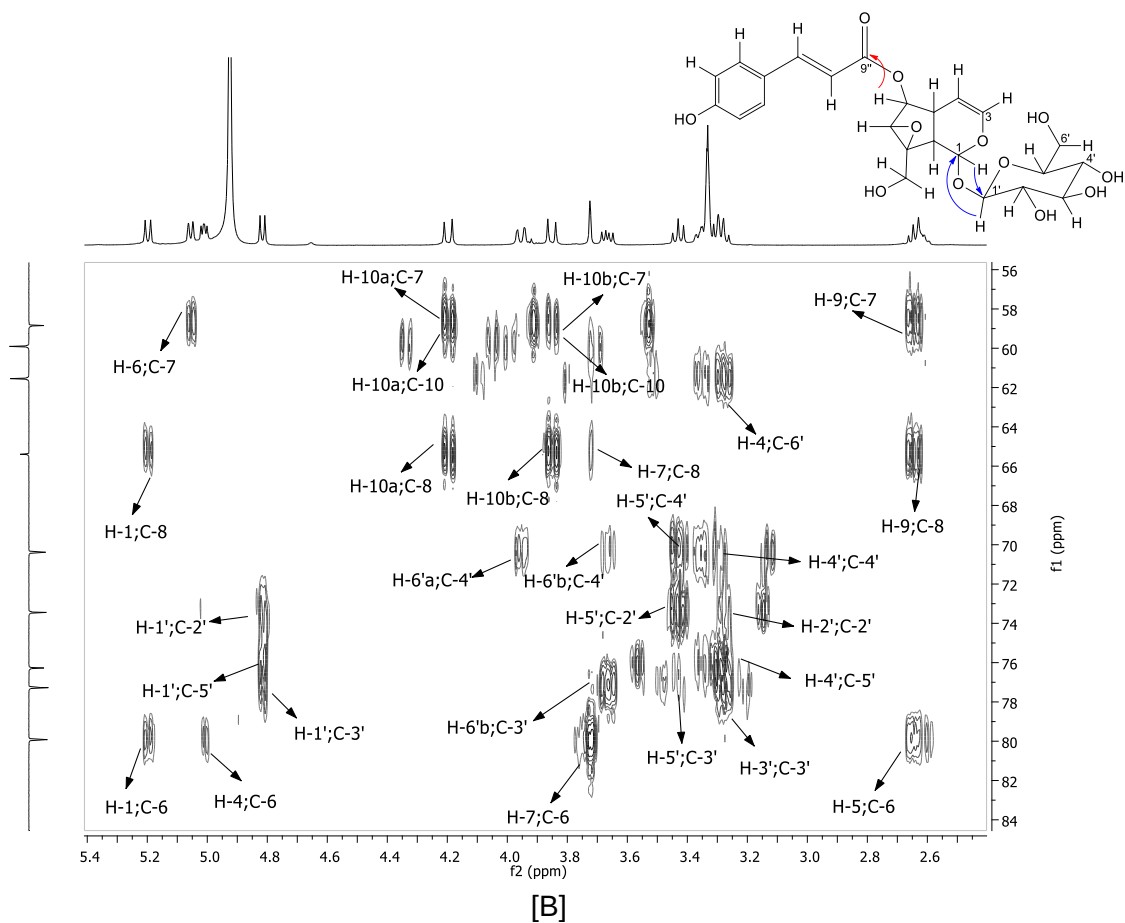


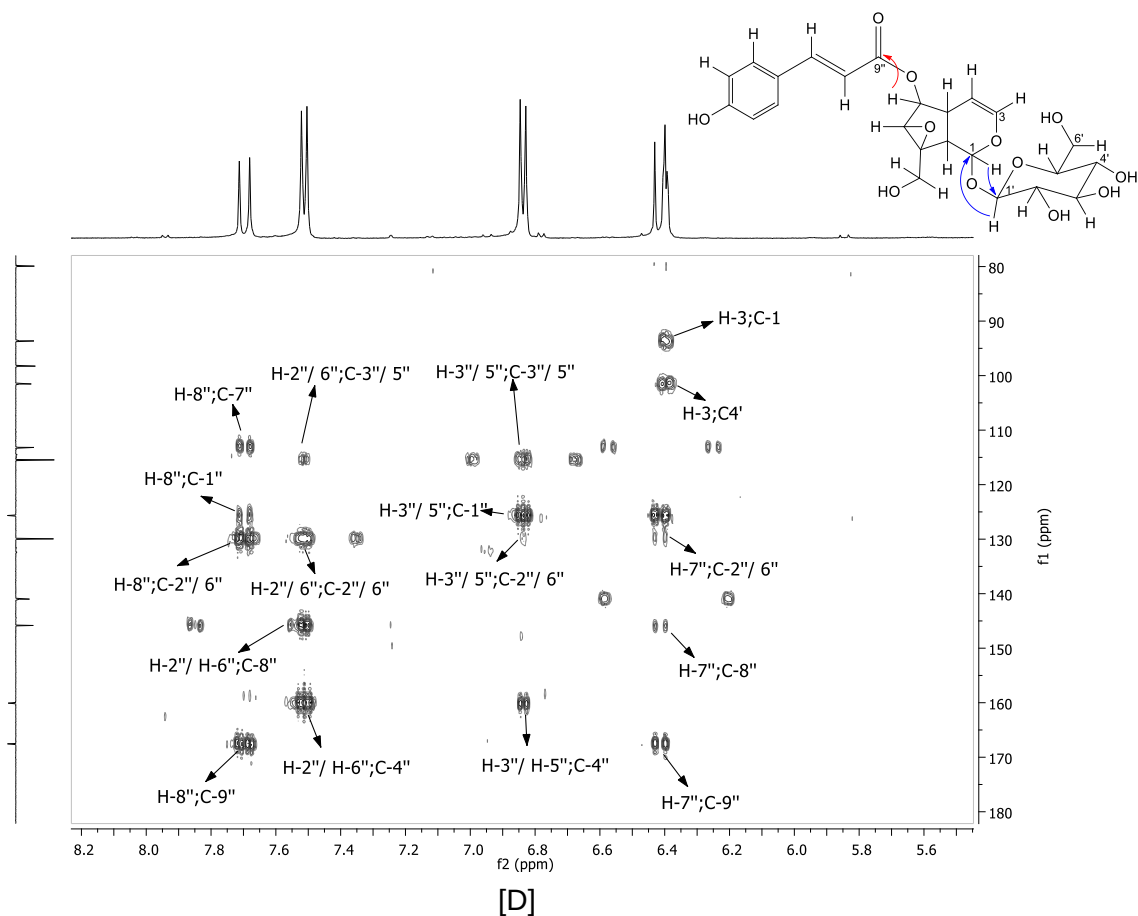
**Figura 87** - Expansão do espectro de HSQC (500/125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de XI, entre  $\delta_{\text{H}}$  4,50-8,00 e  $\delta_{\text{C}}$  75,00-150,00 ppm.



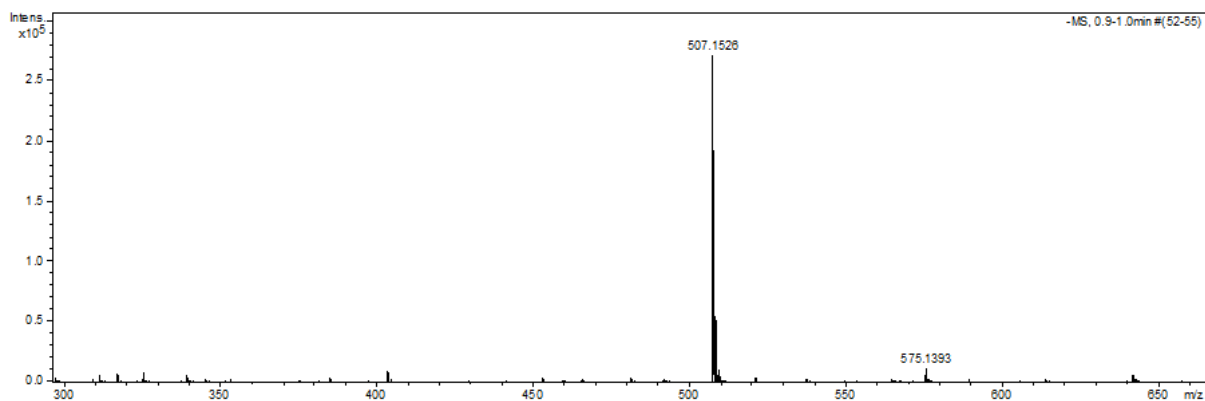
**Figura 88** - Expansão do espectro de HMBC (400/100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de XI.







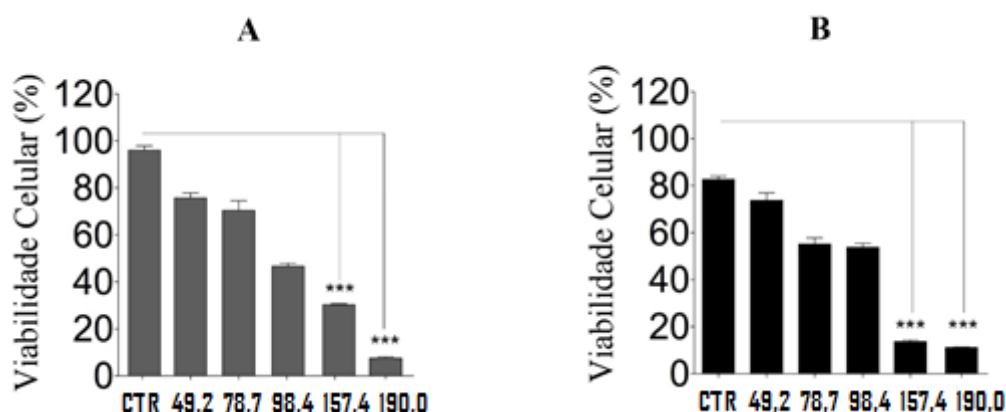
**Figura 89** - Expansão do espectro de HMBC (400/100 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de XI, entre [A]  $\delta_H$  2,40-6,30 e  $\delta_C$  31,00-44,00 ppm, [B]  $\delta_H$  2,60-5,40 e  $\delta_C$  56,00-84,00 ppm, [C]  $\delta_H$  1,20-5,80 e  $\delta_C$  90,00-170,00 ppm, [D]  $\delta_H$  5,60-8,20 e  $\delta_C$  80,00-180,00 ppm e principais correlações observadas para XI.



**Figura 90** - Espectro de Massas de alta resolução (ESI-TOF) da substância XI.

### 5.3. Ensaio biológicos

Os ensaios biológicos apresentaram resultados de mortalidade celular bastante significativos, como mostra a Figura 91.



**Figura 91-** Efeito do iridóide contra protozoários tripanosomatídeos. Promastigotas de *L. (L.) amazonensis* (A) e epimastigotas de *T. cruzi* (B) foram incubados nas concentrações de 49,2; 78,7; 98,4; 157,4 e 190,0 µM do especiosídeo (XI). A viabilidade celular foi verificada após 24 horas através do ensaio de MTT. Os resultados apresentam a porcentagem de viabilidade celular comparada aos parasitas não tratados. Parasitas na presença de DMSO foram utilizados como controle negativo. As barras representam a médias  $\pm$  desvio padrão de um experimento em triplicata. \*\*\*  $p < 0.0001$ .

No ensaio para verificar a viabilidade celular, quando as formas amastigotas de *L. amazonensis* foram expostos ao especiosídeo em diversas concentrações, verificou-se que a substância apresentou 65% de morte celular na concentração de 157,4 µM e na concentração de 190,0 µM causou 90% de mortalidade celular, ou seja, 90% de lise celular. O IC<sub>50</sub> foi verificado na concentração de 98,4 µM. A anfotericina B, utilizada como controle positivo possui 100% de atividade antiparasitária a 21,0 µM.

O especiosídeo também foi testado contra formas epimastigotas de *T. cruzi*, sendo que as concentrações de 157,4 e 190,0 µM apresentaram 70 e 73% de mortalidade celular, respectivamente. Esses resultados se mostraram muito promissores, considerando o controle positivo, violeta genciana que causa uma morte celular de 100% na concentração de 612,8 µM.

Os resultados apresentados podem ser considerados promissores, visto que o especiosídeo apresentou relevante atividade contra os parasitas testados. Portanto este composto torna-se uma alternativa ao tratamento da doença de chagas, agindo principalmente contra as formas epimastigotas de *T. cruzi*.

## 6. CONCLUSÕES

A investigação química do extrato das raízes resultou no isolamento de três ácidos: o ácido verátrico **(I)**, o ácido *p*-hidroxibenzóico **(II)** e o ácido *p*-cumárico **(III)**. Destes isolados, todos são conhecidos no gênero *Tabebuia*, mas somente o ácido verátrico foi relatado na espécie *T. aurea*.

O estudo do extrato das cascas do caule resultou no isolamento de oito substâncias, sendo um benzaldeído, quatro esteroides, dois ácidos e um iridóide: 2,3-dihidroxi-5-(hidroximetil) benzaldeído **(IV)**, colestanona **(V)**,  $\beta$ -sitosterol **(VI)**, estigmasterol **(VII)**, campesterol **(VIII)**, ácido *trans*-4-metoxicinâmico **(IX)**, ácido *cis*-4-hidroxicinâmico **(X)**, especiosideo **(XI)**. Com exceção do composto **VI**, esta é a primeira vez que se relata o isolamento das demais substâncias na espécie *T. aurea*.

Apesar dos relatos na literatura da abundância de naftoquinonas no gênero *Tabebuia*, não foram encontradas substâncias dessa classe de metabólitos, considerando as análises empregadas nesse trabalho. Sabe-se que a hipótese mais adequada está relacionada a fatores abióticos que podem influenciar na presença ou não de certos metabólitos, outra hipótese seria de que as naftoquinonas estejam mais presentes no caule do ipê-roxo (*T. avellanedae*), onde a presença foi amplamente relatada na literatura.

Felizmente o iridóide especiosideo isolado nesse trabalho apresentou uma toxicidade considerável contra o agente causador da Leishmaniose com 90% de morte celular na concentração de 190,0  $\mu$ M. Porém o composto foi mais potente frente ao parasita *T. cruzi* com percentual de morte celular equivalente a 73% na concentração de 190,0  $\mu$ M. Assim tal composto vem a ser um potencial candidato na busca de novos medicamentos para o controle dessas endemias, tornando-se relevante principalmente na doença de Chagas.

Pode-se concluir que o conjunto dos resultados obtidos neste trabalho contribuem de maneira significativa para o conhecimento químico-biológico da flora brasileira, mais especificamente de espécies ocorrentes na região mato-grossense. E ainda que a espécie *T. aurea* coletada no estado produz grande quantidade de iridóides, aos quais atribuem-se importantes atividades biológicas, tornando-a uma fonte a ser explorada em novos estudos.

## 7. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

ADRIANI, C.; BONINI, C.; IAVARONE, C.; TROGOLO, C. Isolation and Characterization of Paulownioside, a new highly oxygenated iridoid glucoside from *Paulownia tomentosa*. **Journal of Natural Products**, v. 4, n. 6, p. 739-744, 1981.

ALVES, L.F. Produção de fitoterápicos no Brasil: História, problemas e perspectivas. **Revista virtual de química**, v.5, n.3, p. 450-513, 2013.

AMBROZIN, A.R.P. **Estudo fitoquímico de Plantas das famílias Rutaceae e Meliaceae Visando o Isolamento de Substâncias Protótipos para o Desenvolvimento de Novos Fármacos Antichagásicos e Antileishmanioses**. Universidade Federal de São Carlos, 2004. Tese de doutorado

ANDRZEJEWSKA-GOLEC, E. The occurrence of iridoids in plants. **Acta Societatis Botanicorum Poloniae**, v. 64, n. 2, p. 181-186, 1995.

ARAUJO, D. M. F.; VIEIRA, G. A.B.; MATTOS, M. C.; LEMOS, T. L.G.; OLIVEIRA, M. C. F.; MELO, V. M. M.; GONZALO, G.; GOTOR-FERNÁNDEZ, V.; GOTOR, V. Chemoenzymatic preparation of a biologically active naphthoquinone from *Tabebuia impetiginosa* using lipases or alcohol dehydrogenases. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 61, p. 279–283, 2009.

ARRUDA, A. L. A.; SOUZA, D. G.; OLIVEIRA, R. F.; PAVAN, F. R.; FUJIMURA, C. Q. L.; RESENDE, U. M.; CASTILHO, R. O. Análise fitoquímica e atividade antimicrobacteriana de extratos metanólicos de *Jacaranda cuspidifolia* Mart. (Bignoniaceae). **Rev. Bras. Pl. Med**, v. 14, n. 2, p.276-281, 2012.

ASTHANA, J.; AK, Y.; PANT, A.; PANDEY, S.; GUPTA, MM.; PANDEY, R. Specioside melhora o estresse oxidativo e promove a longevidade em *Caenorhabditis elegans*. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Part C, v.169, p. 25-34, 2015.

AUCÉLIO, R. Q.; PERÊZ-CORDOVÊS, A. I.; LIMA, J. L. X.; FERREIRA, A. B. B.; GUAS, A. M. E.; SILVA, A. R. Determination of lapachol in the presence of other naphthoquinones using 3MPA-CdTe quantum dots fluorescent probe. **Spectrochimica Acta**, Part A, v. 100, p. 155–160, 2013.

AWALE, S.; KAWAKAMI, T.; TEZUKA, Y.; UEDA, J.; TANAKA, K.; KADOTA, S. Nitric Oxide (NO) Production Inhibitory Constituents of *Tabebuia avellanedae* from Brazil. **Chem. Pharm. Bull.**, v. 53, n. 6, p. 710-713, 2005.

BARBOSA-FILHO, J.M.; LIMA, C. S. A.; AMORIM, E.L.C.; SENA, K.X.FR. de.; ALMEIDA, J.R.GS.; CUNHA, E.V.L. da. SILVA, M.S.; AGRA, M.F.; BRAZ-FILHO, R. Botanical study, phytochemistry and antimicrobial activity of *Tabebuia aurea*. **International journal of experimental botany**, p. 221-228, 2004.

BASTOS, J.K.; ALBUQUERQUE, S.; SILVA, M.L.A. Evaluation of the trypanocidal activity of lignans isolated from leaves of *Zanthoxylum naranjillo*. **Planta Med.**, v. 65, p. 541-544, 1999.

BEZERRA, J.L.; COSTA, G.C.; LOPES, T.C. CARVALHO, I.C.D.S.; PATRÍCIO, F.J.; SOUSA, S.M.; AMARAL, F.M.M.; REBELO, J.M.M.; GUERRA, R.N.M.; RIBEIRO, M.N.; NASCIMENTO, F.R.F. Avaliação da atividade leishmanicida *in vitro* de plantas medicinais. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v.16, p.631-637, 2006.

BHARTI, N.; SINGH, S.; NAQVI, F.; AZAM, A. Isolation and in vitro antiamebic activity of iridoids isolated from *Kigelia pinnata*. **Journal Arkivoc**, p. 69-76, 2006.

BOROS, C.A.; STERMITZ, F.R. IRIDOIDS. AN UPDATED REVIEW. PART I. **Journal of Natural Products**, v. 53, n.5, p.1055-1147, 1990.

BRAGA, A. C.; COLLEVATTI, R. G. **Temporal variation in pollen dispersal and breeding structure in a bee-pollinated Neotropical tree**. *Heredity*, vol. 106, p. 911–919, 2011.

BRANDÃO<sup>a</sup>, H.N.; DAVID, J.P.; COUTO, R.D.; NASCIMENTO, J.A.P.; DAVID, J.M. Química e farmacologia de quimioterápicos antineoplásicos derivados de plantas. **Quím.Nova**, v. 33, n. 6, p. 1359-1369, 2010.

BRANDÃO<sup>b</sup>, G. C.; KROON, E. G.; SANTOS, J. R.; STEHMANN, J. R.; LOMBARDI, J. A.; OLIVEIRA, A. B. Antiviral activities of plants occurring in the state of Minas Gerais, Brazil. Part 2. Screening Bignoniaceae species. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 20, n. 5, p. 742-750, 2010.

BRAZ-FILHO, R. Contribuição da fitoquímica para o desenvolvimento de um país emergente. **Quím. Nova**, v.33, n.1, p.229-239, 2010.

BRESCIANI, F.R. **Caracterização da atividade antifúngica de extrato aquoso de sementes de *Allamanda polyantha***. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2013. Dissertação de mestrado,

BYEON, S. E.; CHUNG, J. Y.; LEE, Y. G.; KIM, B. H.; KIM, K. H.; CHO, J. Y. In vitro and in vivo anti-inflammatory effects of taheebo, a water extract from the inner bark of *Tabebuia avellanedae*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 119, p. 145-152, 2008.

CALIXTO, J.B. Biodiversidade como fonte de medicamentos. **Cienc. Cult**, v.55, n.3, p.37-39, 2003.

CALIXTO, J.B.; SIQUEIRA JR, M. Desenvolvimento de medicamentos no Brasil: Desafios. **Gazeta médica da Bahia**, v.78, n.1, p.98-106, 2008.

CAMARGO, M.E. - Fluorescent antibody test for the serodiagnosis of American trypanosomiasis. Technical modification employing preserved culture forms of *Trypanosoma cruzi* in a slide test. **Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo**, v. 8, p.227-234, 1966.

CAPUZZO, J.P. **Diferenças ecofisiológicas de um par de formações savânicas e florestais do Cerrado: *Tabebuia aurea* e *Tabebuia impetiginosa***. Universidade de Brasília, 2011. Dissertação de mestrado.

CARNEIRO, J.N.P.; ALBUQUERQUE, R.S.; LEITE, N.F.; MACHADO, A.J.T.; BRITO, D.I.V.; ROLÓN, M.; VEGA, CELESTE, CORONEL, C.; COUTINHO, H.D.M.; MORAIS-BRAGA, M.F.B. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE TRIPANOCIDA, LEISHMANICIDA E CITOTÓXICA DO GERANIOL E CITRONELAL. **Caderno de Cultura e Ciência**, v.13, n.2, p.29-36, 2015.

CASTILLO, L.; ROSSINI, C. Bignoniaceae Metabolites as Semiochemicals. **Molecules**, v. 15, p. 7090-7105, 2010.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (Estados Unidos). **Leishmaniasis**. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/dpdx/leishmaniasis/>>. Acesso em: 21 Agosto 2015.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (Estados Unidos). **Leishmaniasis**. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/parasites/chagas/biology.html>>. Acesso em: 21 Agosto 2015.

CHAGAS JUNIOR, J. M.; CARVALHO, D.A. de.; MANSANARES, M. E. A família Bignoniaceae Juss. (Ipês) No município de Lavras, Minas Gerais. **Cerne**, v. 16, n. 4, p. 517-529, 2010.

CHAVES, D.S.A. de.; COSTA, S.S.; ALMEIDA, A.P. de.; FRATTANI, F.; ASSAFIM, M.; ZINGALI, R.B. Metabolitos secundários de origem vegetal: Uma fonte de fármacos antitrombótico. **Quím. Nova**, v.33, n.1, p.172-180, 2010.

CHOUDHURY S, DATTA S, DAS TALUKDAR A, DUTTA M. Phytochemistry of the Family Bignoniaceae- A review. **Assam University J Sci Technol Biol Environ Sci**, v. 7, n. 1, p. 145-150, 2011.

CIPRIANI, F. A.; CIDADE, F. W.; SOARES, G. L. G.; KAPLAN, M. A. C. Similaridade Química entre as ribos de Bignoniaceae. **Revista brasileira de Bio ciências**, v. 5, p. 612-614, 2007.

CIPRIANI, F. A.; FIGUEIREDO, M. R.; SOARES, G. L. G.; KAPLAN, M. A. C. Implicações Químicas na Sistemática e Filogenia de Bignoniaceae. **Quim. Nova**, v. 35, n. 11, p.2125-2131, 2012.

CORDEIRO, C. H. G.; Do Sacramento, L. V. S.; Corrêa, M. A.; Pizzolitto, A. C.; Bauab, T. M. Herbal extracts in an experimental mouthwash: Pharmacognostics analysis and antibacterial activity. **Revista Brasileira de Ciencias Farmaceuticas**, v. 42, n. 3, p. 395-404, 2006.

COSTA, M.E.; SAMPAIO, D.S.; PAOLI, A.A.S.; LEITE, S.C.A.L. Poliembrionia e espectos da embriogenese em *Tabebuia Ochraceae* (Chamisso) Standley (Bignoniaceae). **Rev.Bras.Botânica**, v.27, n.2, p.395-406, 2004.

CWIKLA, C.; SCHMIDT, K.; MATTHIAS, A.; BONE, K.M; LEHMANN, R.; TIRALONGO, E. Investigations into the antibacterial activities of phytotherapeutics against *Helicobacter pylori* and *Campylobacter jejuni*. **Phytotherapy Research**, v. 24, n. 5, p.649-656, 2010.

DE LUCA, V.; SALIM, V.; THAMM, A.; MASADA, S.A.; YU, F. Making iridoids/secoiridoids and monoterpenoid indole alkaloids: progress on pathway elucidation. *Curr. Opin. Plant Biol.*, v.19, p. 35-42, 2014.

DEWICH, P.M. (2001). **Medicinal natural products: a biosynthetic approach**. Chichester: 2ª ed. John Wiley & Sons Ltda. 135: p.167-189.

DÍAZ, F.; MEDINA, J. D. Furanonaphthoquinones from *Tabebuia ochracea* ssp. *Neochrysanta*. **J. Nat. Prod.**, v. 59, p. 423-424, 1996.

DOUSSEAU, S.; ALVARRENGA, A.A.; CASTRO, E.M.; SOARES, R.P.; EMRICH, E.B.; MELO, L.A. Anatomia foliar de *Tabebuia serratifolia* (Vahl) nich (Bignoniaceae) Propagadas *IN VITRO*, *IN VIVO* e durante a aclimatização. **Ciênc. agrotev.**, v.32, n.6, p.1694-1700, 200

DUARTE, J.L.; MOTA, L.J.T.; Almeida, S.S.M.S. Análise fitoquímica das folhas de *Tabebuia serratifolia* (Vahl) Nicholson (Ipê Amarelo). **Macapá**, v.4, n.1, p. 33-43, 2014.

DURIGAN, G.; BAITELLO, J.B.; FRANCO, G.A.D.C.; SIQUEIRA, M.F. Plantas do cerrado paulista-imagens de uma paisagem ameaçada. Páginas e letras editora e gráfica, São Paulo, 2004.

EL-DOMIATY, M. M.; WINK, M.; ABDEL Aal, M. M.; Abou-Hashem, M. M.; Abd-Alla, R.H. Antihepatotoxic Activity and Chemical Constituents of *Buddleja asiatica* Lour. **Z. Naturforsch**, v. 64c, p. 11-19, 2009.

FERNANDES, R.D. **Estudo Químico e atividade Biológica de *Ouratea hexasperma* var. *planchonii* Engl. (Ochnaceae)**. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2008. Dissertação de mestrado

FIGUEIREDO, F.G.; TINTINO, S.R.; BRITO, D.I.V.; BRAGA, M.F.B.M.; LEITE, N.F.; LUCENA, B.F.F.; SOBRAL-SOUZA, C.E.; GOMEZ, M.C.V.; COUTINHO, H.D.M. Avaliação das potenciais atividades tripanocida e antileishmania do extrato de folhas de *Piper arboreum* (Piperaceae) e de suas frações. **Rev Ciênc Farm Básica Apl.**, v. 35, n.1, p.149-154, 2014.

FONSECA, F.L.; MENEGARIO, C.; MORI, E.S.; NAKAGAWA, J. Maturidade fisiológica das sementes do ipê amarelo, *Tabebuia Chrysotricha* (Mart.Ex DC.) Standl. **Scientia forestalis**, n.69, p.136-141, 2005.

FREIRE, A.L.O.; GOMES, A.D.V. Effects of salinity on growth and organic solutes accumulation of *Tabebuia aurea* Manso (Benth and Hook). **African Journal of Biotechnology**, v. 12, n. 13, p. 1490-1494, 2013.

FREITAS, A. E.; MACHADO, D. G.; BUDNI, J.; NEIS, V. B.; BALEN, G. O.; LOPES, M. W.; SOUZA, L. F.; VERONEZI, P. O.; HELLER, M.; MICKE, G. A.; PIZZOLATTI, M. G.; DAFRE, A. L.; LEAL, R. B.; RODRIGUES, A. L. S. Antidepressant-like action of the bark ethanolic extract from *Tabebuia avellanedae* in the olfactory bulbectomized mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 145, p. 737-745, 2013.

FRÖHLICH, J.K.; BOLIGON, A.A.; FELTRIN, A.C.; JANOVIK, V.; FROEDER, A.L.F. ATHAYDE, M.L. COMPOSTOS ISOLADOS DE *JATROPHA ISABELLI* (MÜELL ARG.) COM ATIVIDADE GASTROPROTETORA. **Saúde (Santa Maria)**, v. 36, n. 2, p. 1928, 2010.

GARCEZ, F. R.; GARCEZ, W. S.; MAHMOUD, T. S.; FIGUEIREDO, P. O.; RESENDE, U. M. Novos Constituintes Químicos das Cascas do Caule de *Tabebuia heptaphylla*. **Quim. Nova**, v. 30, n. 8, p. 1887-1891, 2007.

GEMIN, C.A.B. **Estudo fitoquímico e avaliação de atividades biológicas do extrato etanólico de *Acicarpa apathulata* R.Br. (Calyceraceae)**. Universidade do Paraná, 2011. Dissertação de mestrado.

GIULIETTI, A.M.; HARLEY, R.M.; QUEIROZ, L.P. de.; WANDERLEY, M. DA G.L.; BERG, C.V.D. Biodiversidade e conservação das plantas no Brasil. **Biodiversidade**, v.1, n.1, p.53, 2005.

GÓMEZ-ESTRADA, H.; GAITÁN-IBARRA, R.; DÍAZ-CASTILLO, F.; PÉREZ, H. A.; MEDINA, J. D. In vitro antimalarial activity of fractions and constituents isolated from *Tabebuia billbergii*. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 17, n. 2, p.172-180, 2012.

GONZÁLEZ, F.J.J.; VELOZA, L.A.; ARIAS, J.C.S. Anti-infectious activity in plants of the genus *Tabebuia*. **Universitas Scientiarum**, v. 18, n. 3, p. 257-267, 2013.

GONZALEZ-COLOMA, A.; REINA, M. SAENZ, C.; LACRET, R.; RUIZ- MESIA, L.; ARAN, V. J.; SANZ J.; MARTINEZ-DIAZ, R. A. Antileishmanial, antitrypanosomal, and cytotoxic screening of ethnopharmacologically selected Peruvian plants. **Parasitology Research**, v.110, n.4, p.1381-1392, 2012.

GUIZO, M. Ponderaneoside, a new iridoid glucoside from *Pondranea ricasoliana*. **Journal of Natural Products**, v. 45, n. 4, p. 462-465, 1982.

HAN, X.H.; OH, J-H.; HONG, S.S.; LEE, C.; PARK, J.I.; LEE, M. K.; HWANG, B.Y.; LEE, M-S. Novel Iridoids from the Flowers of *Campsis grandiflora*. **Arch Pharm Res**, v. 35, n. 2, p. 327-332, 2012.

HOFLING, J.F.; ANIBAL, P.C.; OBANDO-PEREDA, G.A.; PEIXOTO, I.A.; FURLETTI, V.F.; FOGGIO, M.A.; GONCALVES, R.B. Antimicrobial potential of some plant extracts against *Candida species*. **Brazilian. Journal of Biology**, v. 70, n.4, p.1065-1068, 2010.

IMAKURA, Y.; KOBAYASHI, S.; YAMAHARA, Y.; KIHARA, M.; TAGAWA, M.; MURAI, F. Studies on Constituents of Bignoniaceae Plants. IV. Isolation and Structure of a New Iridoid Glucoside, Campside, from *Campsis chinensis*. **Chem. Pharm. Bull.**, v. 33, n.6, p. 2220-2227, 1985.

JEON, J.; OH, M.; LEE, H. Insecticidal Effects of *Tabebuia avellanedae*-derived Constituent and Its Analogues against *Nilaparvata lugens* and *Laodelphax striatellus*. **J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.**, v. 54, n. 5, p. 822-826, 2011.

KANCHANAPOOM, T.; KASAI, R.; YAMASAKI, K. Phenolic glycosides from *Barnettia kerrii*. **Phytochemistry**, v. 59, p. 565–570, 2002.

KAVITHA, A.; PRABHAKAR, P.; VIJAYALAKSHMI, M.; VENKATESWARLU, Y. Purification and biological evaluation of the metabolites produced by *Streptomyces sp.* TK-VL 333. **Research in Microbiology**, v. 161, p. 335-345, 2010.

KIM, B. H.; LEE, J.; KIM, K. H.; CHO, J. Y. Regulation of macrophage and monocyte immune responses by water extract from the inner bark of *Tabebuia avellanedae*. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 4, n. 6, p. 431-438, 2010.

KIM, S.M.; KIM, Y.S.; KIM, D.W.; YANG, J.W. Transition metal-free, NaOtBu-O<sub>2</sub>–mediated one-pot cascade oxidation of allylic alcohols to  $\alpha,\beta$ -unsaturated carboxylic acids. **The Royal Society of Chemistry**, p.1-28, 2012.

KOYAMA, J.; MORITA, I.; KINO, A.; TAGAHARA, K. Micellar Electrokinetic Chromatography (MEKC) Separation of Furanonaphthoquinones From *Tabebuia impetiginosa*. **Chem. Pharm. Bull.**, v. 48, n. 6, p. 873-875, 2000.

LEMOES, O. A.; SANCHES, J. C. M.; SILVA, Í. E. F.; SILVA, M. L. A.; VINHÓLIS, A. H. C.; FELIX, M. A. P.; SANTOS, R. A.; CECCHI, A. O. Genotoxic effects of *Tabebuia impetiginosa* (Mart. Ex DC.) Standl. (Lamiales, Bignoniaceae) extract in Wistar rats. **Genetics and Molecular Biology**, v. 35, n. 2, p. 498-502, 2012.

LIMA Jr, J. A. C.; COSTA, G. C.; REIS, A.S. BEZERRA, J.L.; PATRÍCIO, F.J. B.; SILVA, L.A.; AMARAL, F.M. M.; NASCIMENTO, F.R. F. INIBIÇÃO DA INFECÇÃO *in vitro* DE MACRÓFAGOS POR *Leishmania amazonensis* POR EXTRATO E FRAÇÕES DE *Chenopodium ambrosioides* L. Ver, **Ciênc. Saúde**, v. 16, n.1, p. 46-53, 2014.

LINDNER, S.; GEU-FLORES, F.; BRASE, S.; SHERDEN, N.H.; O'CONNOR S.E. Conversion of Substrate Analogs Suggests a Michael Cyclization in Iridoid Biosynthesis. **Chemistry & Biology**, v.21, n.11, p. 1452–1456, 2014.

LINS, I.V.F.; MOURA, G.B.; MEDEIROS, J.S. Prevalência E Controle de Vetores da doença de Chagas na Paraíba. **BIOFARM**, v.10, n.4, p.34-39, 2014.

LOHMANN, L.G. 2013. *Bignoniaceae* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: (<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB114249>). Acesso: 28/07/2015.

LÓPEZ CARRERA, N.; MIGUEL, M.; ALEIXANDRE, A. Propriedades benéficas de los terpenos iridóides sobre la salud. **Nutrición clínica y dietética hospitalaria**, v. 32, n. 3, p. 81-91, 2012.

LORENZI, HARRI. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas nativas do Brasil**. Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2002.

LU W, BENNETT BD, RABINOWITZ JD. Analytical strategies for LC-MS-based targeted metabolomics. **J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci**, v. 871, n. 2, p. 236-242, 2008.

LU, CC.WANG, JH.; FANG, DM, WU,A ZJ.;ZHANG GL. Analyses of the Iridoid Glucoside Dimers in *Paederia scandens* Using HPLC–ESI–MS/MS. *Phytochem. Anal.*, vol. 24,n, 4 p. 407-412, 2013.

LUCENA, H.F.S. de. **Uma nova lignana e outros constituintes químicos de *Hypenia salzmannii*(Benth.) Harley (Lamiaceae)**. Universidade da paraíba, 2012. Dissertação de mestrado

MAFEZOLI, J.; VIEIRA, J.C.; FERNANDES, J.B.; DA SILVA, M.F.G.F.; ALBUQUERQUE, S. In vitro activity of Rutaceae species against the trypomastigote form of *Trypanosoma cruzi*. **J. Ethnopharmacol.**, v. 73, p. 335- 340, 2000.

MAIA, G.L.A. **CONTRIBUIÇÃO AO CONHECIMENTO QUÍMICO DE ESPÉCIES DA FAMÍLIA ASTERACEA (*Verbesina macrophylla* (Cass.) S. F. BLAKE e *Praxelis clematidea* R. M. King & Robinson**. Universidade Federal da Paraíba, 2011.Tese de doutorado.

MARTIN, F.; HAY, A-E.; CORNO, L.; GUPTA, M.P.; HOSTETTMANN, K. Iridoid glycosides from the stems of *Pithecoctenium crucigerum* (Bignoniaceae). **Phytochemistry**, v. 68, p.1307-1311, 2007.

MELO & SILVA F.; DE PAULA, J. E.; ESPINDOLA, L. S. Evaluation of the antifungal potential of Brazilian Cerrado medicinal plants. *Mycoses*, vol. 52, n.6, p.511-517, 2009.

MMA/SBF.Biodiversidade brasileira: Avaliação e identificação de áreas e ações prioritárias para conservação, utilização sustentável e repartição dos benefícios da biodiversidade nos biomas brasileiros, 2002.

MOON, M. K.; CHOI, B-M.; OH, G-S.; PAE, H-O.; KIM, J-D.; OH, H.; OH, C-S, KIM, D-H, RHO, Y-D.; SHIN, M-K.; LEE, H-S, CHUNG, H-T. Catalposide protects Neuro 2A cells from hydrogen peroxide-induced cytotoxicity via the expression of heme oxygenase-1.**Toxicology Letters**, v. 145, p. 46-54, 2003.

MORAIS, R. C.S. **Aplicabilidade da Técnica de PCR em Tempo Real para Caracterização de espécies de *Leishmania***. Fundação Oswaldo Cruz, 2015. Dissertação mestrado.

MORAIS, S. K. R.; SILVA, S. G.; PORTELA, C. N.; NUNOMURA, S. M.; QUIGNARD, E. L. J.; POHLIT, A. M. Bioactive dihydroxyfuranonaphthoquinones from the bark of *Tabebuia incana* A.H. Gentry (Bignoniaceae) and HPLC analysis of commercial pau d'arco and certified T.incana bark infusions. **ACTA AMAZONICA**, v. 37, n. 1, p. 99-102, 2007.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **J. Imm. Method.**, v. 65, p. 55-63, 1983.

- MOSSRI, B.B. Biodiversidade e indústria: informações para uma gestão responsável. **Brasília: CNI**, p. 54, 2012.
- MOURA, K. C. G.; EMERY, F. S.; NEVES-PINTO, C.; PINTO, M. C. F. R.; DANTAS, A. P.; SALOMÃO, K.; CASTRO, S. L.; PINTO, A. V. Trypanocidal Activity of Isolated Naphthoquinones from *Tabebuia* and Some Heterocyclic Derivatives: A Review from an Interdisciplinary Study. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 12, n. 3, p. 325-338, 2001.
- MÜLLER, K.; SELLMER, A.; WIEGREBE, W. Potential Antipsoriatic Agents: Lapacho Compounds as Potent Inhibitors of HaCaT Cell Growth. **J. Nat. Prod.**, v. 62, p. 1134-1136, 1999.
- NAKABAYASHI, R.; KUSANO M.; KOBAYASHI M.; TOHGE, T.; SAKAKIBARA, Y.-K.; KOGURE N.; YAMAZAKI, M.; KITAJIMA, M.; SAITO K.; TAKAYAMA, H. Metabolomics-oriented isolation and structure elucidation of 37 compounds including two anthocyanins from *Arabidopsis thaliana*. **Phytochemistry**, v. 70, n.8, p.1017–1029, 2009.
- NOOR, S.; PRODHAN, A. PRODHAN.; ZOHORA, F.T.; TAREQ, F.S.; AHSAN, M.; HASAN, C.M.; ISLAM, S.N. Phytochemical, Antioxidant, Antimicrobial, Thrombolytic as well as Cytotoxic Studies on the Stem Bark of *Manilkara zapota* (Sapotaceae). **Asian Journal of Chemistry**, v. 26, n. 18, p. 6138-6142, 2014.
- NORONHA, J.P.C. **METABOLITOS SECUNDÁRIOS DO FRUTO DE ARBUTUS UNEDO L. (Medronho)**. Universidade Nova de Lisboa, 2001. Tese de doutorado.
- NOZAKA, T.; WATANABE, F.; ISHINO, M.; MORIMOTO, I.; KONDOH, H.; KOYAMA, K.; NATORI, S. A mutagenic new iridoid in the water extract of *Catalpa fructus*. **Chem. Pharm. poserrBull**, v. 37, n. 10, p. 2838-2849, 1989.
- OH HYUNCHEOL.; PAE, H.-O.; OH GI-SU.; LEE, S. T.; CHAI, K.-Y.; SONG, C.E.; KWON, T.-O.; CHUNG, H.-T.; LEE, H.-S. Inhibition of inducible Nitric Oxide Synthesis by Catalposide from *Catalpa ovata*. **Planta Med**, v. 68, p. 685-689, 2002.
- OLIVEIRA, A. K. M.; SCHLEDER, E. D.; FAVERO, S. Caracterização Morfológica, Viabilidade e Vigor de Sementes de *Tabebuia aurea* (Silva Manso) Benth. & Hook. f. ex. S. Moore. **R. Árvore**, v. 30, n.1, p. 25-32, 2006.
- OLIVEIRA, A.K.M.; GUALTIERI, S.C.J. Crescimento inicial de *Tabebuia aurea* sob três intensidades luminosas. **REVSBAU**, v.6, n. 2, p.90-103, 2011.
- OLIVEIRA, D. G.; PRINCE, K.A.; HIGUCHI, C. T.; SANTOS, A. C. B.; LOPES, L. M. X.; SIMÕES, M. J. S.; LEITE, C. Q. F. Antimycobacterial activity of some Brazilian indigenous medicinal drinks. **Revista de Ciencias Farmaceuticas Básica e Aplicada**, v. 28, n. 2, p.165-169, 2007.
- OLMSTEAD, R. G.; ZJHRA, M. L.; LOHMANN, L. G.; GROSE, S. O.; ECKERT, A. J. A Molecular Phylogeny and Classification of Bignoniaceae. **American Journal of Botany**, v. 96, n. 9, p.1731-1743, 2009.

OMS. Guia para vigilância, prevenção, controle e manejo clínico da doença de Chagas aguda transmitida por alimentos. Rio de Janeiro, 2009.

ORTOLANI, F.A. **Morfo-anatomia, citogenética e palinologia em espécies de ipês (BIGNONIACEAE)**. Universidade estadual paulista, 2007. Tese de doutorado.

OSPINA, L.A.F.; GUERRERO, J. P. C.; BUENDÍA, Y. C. O.; BOLÍVAR, I.B.P.; CASTILO, F.D. Antiinflammatory, antioxidant and antibacterial activity of two species of *Tabebuia* genus. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 18, n. 1, p. 34-36, 2013.

Ouchemoukh, N.A.; Ibrahim M., A-R.; Piné, R.Q.; Celia Rodríguez-Pérez, C.R.; Madani, K.; Gutiérrez, A.F.; Carretero, A.S. Tentative characterisation of iridoids, phenylethanoid glycosides and flavonoid derivatives from *Globularia alypum* L. (Globulariaceae) leaves by LC-ESI-QTOF-MS. **Phytochem. Anal**, vol.25, n. 5, p.389-398, 2014.

PARK, B.S.; LEE, H.K.; LEE, S.E.; PIAO, X.L.; TAKEOKA, G.R.; WONG, R.Y.; AHN, Y.J.; KIM, J.H. Antibacterial activity of *Tabebuia impetiginosa* Martius ex DC (Taheebo) against *Helicobacter pylori*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 105, p. 255-262, 2006.

PIANARO, A.; PINTO, J. P.; FERREIRA, D.T.; ISHIKAWA, N.K.; BRAZ-FILHO, R. Iridoid glucoside and antifungal phenolic compounds from *Spathodea campanulata* roots. **Semina**, v.28, n 2, p.251-256, 2007.

PORTILLO, A.; VILA, R.; FREIXA, B.; ADZET, T.; CAÑIGUERAL, S. Antifungal activity of Paraguayan plants used in traditional medicine. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 76, p. 93–98, 2001.

POSER, G. L. V.; SCHRIPEMA, J.; HENRIQUES, A. T.; JENSEN, S. R. The distribution of iridoids in Bignoniaceae. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 28, p. 351-366, 2000.

POTT, A.; POTT, V. **Plantas do Pantanal**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Centro de Pesquisa Agropecuária do Pantanal. Brasília, 1994. EMBRAPA.

PREETI, A.; NEHA, G.; SAMEER, S.; DHAR, K.L. Iridoids-A review. **International Journal of Pharmaceutical Sciences Letters**, v. 3, n. 2, p. 183-189, 2013.

RAGASA, C.Y.; CARO, J.L.; LIRIO, L.G.; SHEN, C-C. Chemical Constituents of *Coix lacryma-jobi*. **Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences**, v.5, n.6, p.344- 348, 2014.

RAGUSA-NETTO, J. Extensive Consumption of *Tabebuia aurea* (MANSO) Benth. & Hook. (BIGNONIACEAE) Nectar By Parrots in a Tecoma Savanna in the Southern Pantanal (BRAZIL). **Braz. J. Biol.**, v. 65, n. 2, p. 339-344, 2005.

RAMALAKSMI. S.; MUTHUCHELIAN K. Analysis of Bioactive constituents from the Ethanolic leaf extract of *Tabebuia rosea* (Bertol.) DC by Gas Chromatography – Mass Spectrometry. **International Journal of ChemTech Research**, v. 3, n. 3, p. 1054-1059, 2011.

- RANA, A.; DHYANI, D.; GULATI, A.; SINGH, H. P. Isolation of two major iridoid glucosides from *Incarvillea emodi*. **Natural Product Research**, vol. 25, n.10, p. 1014-1017, 2011.
- REIS, F.P.; BONFA, I.M.S.; CAVALCANTE, R.B.; OKOBA, D.; VASCONCELOS, S.B.S.; CANDELORO, L.; FILIU, W.F.O.; MONREAL, A.C.D; SILVA, V.J.; RITA, P.H.S.; CAROLLO, C.A.; TOFFOLI-KADRI, M.C. *Tabebuia aurea* decreases inflammatory, myotoxic and hemorrhagic activities induced by the venom of *Bothrops neuwiedi*. **Journal of Ethnopharmacology**, v.158, p.352-357 2014.
- RIBEIRO, T. G.; CHÁVEZ FUMAGALI, M. A.; VALADARES, D. G.; FRANCA, J. R.; LAGE, P.S.; DUARTE, M.C.; ANDRADE, P.H.R.; MARTINS, V.T.; COSTA, L. E.; ARRUDA, A. LA.; AG FARACO, A.; AF COELHO, E.; CASTILHO, R. O. Antileishmanial activity and cytotoxicity of Brazilian plants. **Experimental Parasitology**, v.143, pág. 60-68, 2014.
- RIVIÈRE, C.; GOOSSENS, L.; GUERARDEL, Y.; MAES, E.; GARÉNAUX, E.; POMMERY, J.; POMMERY, N.; DÉSIÉ, O.; LEMOINE, A.; TELLIEZ, A.; DELELIS, A.; HÉNICHART, J. P. Chemotaxonomic interest of iridoids isolated from a Malagasy species: *Perichlaena richardii*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v.39, p. 797-825, 2011.
- ROCHA, W.C. **Busca de Substâncias Bioativas em Plantas Amazônicas: *Adiscanthus fusciflorus* (RUTACEAE), *Trichilia pallida* e *T. rubra* (Meliaceae)**. Universidade Federal de São Carlos, 2004. Tese de doutorado.
- RODRIGUES, S.R.; COUTINHO, G.V.; GARCEZ, W.S.; GARCEZ, F.R.; ZANELLA, D.P.F. Atividade inseticida de extratos etanólicos de plantas sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Agrarian**, v.1, n.1, p.133-144, 2008.
- ROESSNER, U.; DIAS, D.A. **Metabolomics Tools for Natural Product Discovery-Methods and Protocols**. Humana Press. v.1055, 2013.
- ROSAS, L.V. **Fitoquímica, Quimiosistemática e Busca de Novos Fármacos Antichagásico e Antileishmanioses: Estudo de *Raputia praetermissa* (RUTACEAE)**. Universidade Federal de São Carlos, 2005. Tese de doutorado.
- SAMPAIO-SANTOS, M. I.; KAPLAN, M. A. Biosynthesis Significance of Iridoids in Chemosystematics. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 12, n. 2, p.144-153, 2001.
- SATHIYA, M.; MUTHUCHELIAN, K. Studies on phytochemical profile and antibacterial activity of ethanolic leaf extract of *Tabebuia rosea* (Bertol.) DC. **Ethnobotanical Leaflets**, v.12, p. 1153-1157, 2008.
- SENA-FILHO, J. G. Iridóides glicosilados das raízes de *Lippia Alba* (MILL) N.E.BROWN (Verbenaceae): Obtenção, caracterização e bioatividade. Universidade Federal de Pernambuco, 2007. Dissertação de mestrado,
- SHARMA, U.; SINGH, D.; KUMAR, P.; DOBHALL, M.P.; SINGH, S. Antiparasitic activity of plumericin & isoplumericin isolated from *Plumeria bicolor* against *Leishmania donovani*. **Indian J Med Res**, v.134, p. 709-716, 2011.

SILVA, A.M.L.; COSTA, M.F.B.; LEITE, V.G.; REZENDE, A.A.; TEIXEIRA, S.P. Anatomia foliar com implicações taxonômica em espécies de ipês. **HOEHNEA**, v.36, n. p. 329-338, 2009.

SIMÕES, C.M.; SCHENKEL, E.P. A pesquisa e a produção brasileira de medicamentos a partir de plantas medicinais: a necessária interação da indústria com a academia. **Revista NEXUS e Tecnologia**, v.1, n.1, p.24-27, 2002.

SOARES, J. J.; OLIVEIRA, A. K. M. O Paratupal do Pantanal de Miranda, Corumbá-MS, Brasil. R. **Árvore**, v. 33, n. 2, p. 339-347, 2009.

SOUSA, N. C.; REZENDE, A. A. A.; SILVA, R. M. G.; GUTERRES, Z. R.; GRAF, U.; KERR, W. E.; SPANÓ, M. A. Modulatory effects of *Tabebuia impetiginosa* (Lamiales, Bignoniaceae) on doxorubicin-induced somatic mutation and recombination in *Drosophila melanogaster*. **Genetics and Molecular Biology**, v. 32, n. 2, p. 382-388, 2009.

SOUZA FILHO, A.P.S.; FONSECA, M.L.; ARRUDA, M.S.P. Substâncias químicas com atividades alelopáticas presentes nas folhas de *Parkia pendula* (leguminosae). **Planta Daninha**, v. 23, n.4, p. 565-573, 2005.

SOUZA, A.D.L.; ROCHA, A.F.I.; PINHEIRO, M.L.B.; ANDRADE, C.H.S.; GALOTTA, A.L.A.Q.; SANTOS, M.P.S.S. CONSTITUINTES QUÍMICOS DE *GUSTAVIA AUGUSTA* L. (LECYTHIDACEAE). **Quím. Nova**, v. 24, n. 4, p. 439-442, 2001.

SUN, P.; SONG, S.; ZHOU, L.; QI, J.; LI, X. Transcriptome Analysis Reveals Putative Genes Involved in iridoid Biosynthesis in *Rehmannia glutinosa*. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 13, p. 13748–13763, 2012.

SUO, M.; ISAO, H.; KATO, H.; TAKANO, F.; OHTA, T. Anti-inflammatory constituents from *Tabebuia avellanedae*. **Fitoterapia**, v. 83, p. 1484–1488, 2012.

TELES, W.S. **AVALIAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA E LABORATORIAL DA DOENÇA DE CHAGAS EM ÁREA RURAL DE SERGIPE**. Universidade Tiradentes, Aracajú, 2013. Dissertação mestrado.

TORI, M.; OHARA, Y.; NAKASHIMA, K.; SONO, M. Caffeic and coumaric acid esters from *Calystegia soldanella*. **Fitoterapia**, v. 71, p. 353 - 359, 2000.

TUNDIS, R.; LOIZZO, M.R.; MENICHINI, F.; STATI, G.A.; MENICHINI, F. Biological and Pharmacological Activities of Iridoids: Recent Developments. **Medicinal Chemistry**, v. 8, n.4, p. 399–420, 2008.

TWARDOWSCHY, A.; FREITAS, C. S.; BAGGIO, C. H.; MAYER, B.; SANTOS, A. C.; PIZZOLATTI, M. G.; ZACARIAS, A. A.; SANTOS, E. P.; OTUKI, M. F.; MARQUESA, M. C. A. Antiulcerogenic activity of bark extract of *Tabebuia avellanedae*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 118, p. 455-459, 2008.

VENDAS Jr, P.A.; REZENDE JR, C.O.; LE HYARIC, M.; ALMEIDA, M.V.; ROSAMANHA, A.J. The in vitro activity of fatty diamines and amino alcohols against mixed amastigote and

trypomastigote *Trypanosoma cruzi* forms. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v.109, n.3, p.362-364, 2014.

VIEGAS JR, C.; BOLZAVI, V.DA S.; BARREIRO, E.J.. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Quím. Nova**, v. 29, n. 2, 2006.

VIEIRA, M.C.; AVELINO, E. F.; ALMEIDA, R.R. de.; LELIS, R.C.C. Caracterização química da casca e da madeira da espécie *Tabebuia pentaphylla* (Linn.) Hemsl. Oriunda da arborização urbana do Rio de Janeiro. **Rev. de Ciên. da Vida**, v. 29, p. 39-49, 2009.

VINHAES, M.C.; DIAS, J.C.P. Doença de Chagas no Brasil. **Cad. Saúde Pública**, v.16, n. 2, p.7-12, 2000.

VINOD, K. N.; PUTTASWAMY; GOWDAB, K. N. N.; SUDHAKAR, R. Isolation of colour components from flowers of *Tabebuia argentea*: kinetic and adsorption studies on silk yarn. **Color. Technol.**, v. 127, p. 205–209, 2011.

VUNDA, S.L.L. Estudo químico e biológico de espécie de *Cróton* (EUPHORBIACEAE) nativas do Rio Grande do Sul. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2011. Dissertação de mestrado.

WANI, M.C.; WALL, M.E. Camptothecin and taxol: From Discovery to Clinic. **J. of Ethnopharmacology**, v. 51, p. 239-254, 1996.

WARASHINA, T.; NAGATANI, Y.; NORO, T. Constituents from the bark of *Tabebuia impetiginosa*. **Phytochemistry**, v. 65, p. 2003-2011, 2004.

WARASHINA, T.; NAGATANI, Y.; NORO, T. Further constituents from the bark of *Tabebuia impetiginosa*. **Phytochemistry**, v. 66, p. 589–597, 2005.