



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO

**ESTUDO QUÍMICO DAS RAÍZES DE *Simaba trichilioides* A. St.-Hil.
(SIMAROUBACEAE) E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIDIABÉTICA**

Cledson Ferreira da Silva

Mestrado em Química, Área de Concentração: Química Orgânica

Orientador: Prof. Dr. Paulo Teixeira de Sousa Júnior

CUIABÁ

MATO GROSSO - BRASIL

2018

CLEDSON FERREIRA DA SILVA

**ESTUDO QUÍMICO DAS RAÍZES DE *Simaba trichilioides* A. St.-Hil.
(SIMAROUBACEAE) E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIDIABÉTICA**

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.

CUIABÁ
MATO GROSSO - BRASIL
2018

Dados Internacionais de Catalogação na Fonte.

S586e Silva, Cledson Ferreira da.
Estudo químico das raízes de Simaba trichilioides A. St.-Hil.
(Simaroubaceae) e avaliação da atividade antidiabética / Cledson Ferreira
da Silva. -- 2018
234 f. : il. color. ; 30 cm.

Orientador: Paulo Teixeira de Sousa Júnior.
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Mato Grosso, Instituto
de Ciências Exatas e da Terra, Programa de Pós-Graduação em Química,
Cuiabá, 2018.
Inclui bibliografia.

1. Simaba trichilioides. 2. quassinoides. 3. alcaloides cantinônicos. 4.
antiglicação. 5. diabetes. I. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a)
autor(a).

Permitida a reprodução parcial ou total, desde que citada a fonte.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO
PRÓ-REITORIA DE ENSINO DE PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
Av. Fernando Corrêa da Costa, 2367. Depto Química Bloco F - Boa Esperança - Cep: 78060900 -
Tel : (65) 3615-8767 - Email : pgquimica@cpd.ufmt.br

FOLHA DE APROVAÇÃO

TÍTULO : "ESTUDO QUÍMICO DAS RAÍZES DE *Simaba trichilioides* A. St.-Hil.
(SIMAROUBACEAE) E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIDIABÉTICA"

AUTOR : Mestrando Cledson Ferreira da Silva

Dissertação defendida e aprovada em 19/09/2018.

Composição da Banca Examinadora:

Presidente Banca / Orientador Doutor Paulo Teixeira de Sousa Junior

Instituição : UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO

Examinador Interno Doutor Uir Santana de Figueiredo

Instituição : UFMT

Examinador Externo Doutor CARLOS ALEXANDRE CAROLLO

Instituição : UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL

CUIABÁ, 19/09/2018.

*Dedico este trabalho a minha esposa
Anny e ao meu filho Juan Adam.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me conceder a vida.

Aos meus pais, por me darem educação e exemplos de vida.

A minha esposa *Anny*, por acreditar, me acompanhar e me incentivar. *Te amo!*

Ao meu amigo e irmão Cleder pela ajuda na coleta e pelo incentivo.

Ao meu tio Edmundo Borges, por ceder o local de coleta e pela ajuda. *Obrigado!*

Ao meu orientador, Prof. Dr. Paulo Teixeira, pela disponibilidade de tempo, pelas parcerias, pelas aulas de Química na Sociedade e Química Orgânica Avançada, e por tudo que fez para que esse trabalho fosse concluído.

As Professoras Dr.^a Virgínia e Dr.^a Tereza, pela amizade, pelas dicas, pelos ensinamentos de RMN e EM, pelas sugestões e pela convivência diária.

A prof.^a Dr.^a Amanda Baviera, pelos ensaios biológicos e pela enorme contribuição nesse trabalho.

Ao Dr. Marcelo Devecchi, do Laboratório de Sistemática Vegetal da USP, pela identificação da espécie botânica.

A Banca Examinadora: Prof. Dr. Uir Figueiredo e Prof. Dr. Carlos Carollo, pelas enormes contribuições nesse trabalho.

Aos professores Dr. Evandro Dall'Oglio, Dr.^a Eliana Dores, Dr.^a Michelle Brugnera, Dr. Helder Teles e Dr. Adilson Sinhorin, pelos conhecimentos compartilhados.

Ao prof. Dr. Leonardo Vasconcelos, pelos experimentos realizados e pela amizade.

As alunas IC's Danielly pelo trabalho constante, e Bianca, pela ajuda inicial.

Ao pessoal da Central Analítica do LPQPN: Prof. Dr. Lucas, Prof.^a Dr.^a Olívia, Helder, Mateus, Bruno, Jéssica, Jhuly, Anny e Mariana, pela convivência.

Aos amigos: Ana Paula, Anderson, Angélica, Arielly, Carlos Parizotto, Carlos Eduardo, Cauane, Danielle, Francine, Fhelipe Jolner, Flora, Pablo e a pequena Sarah, Gabriel, Gueybi, Isabella e Felipe, Isabela Marques, Jailton, Carla e a pequena Lavínia, Kheytianny, Leice Milla, Luiz Fernando, Lucyan, Luiz Teylon, Mylenna, Rayssa, Rennan, Roselaine, Thainara, Thiara e Gilmar, Wellington, Washington e Joycy. *Muito obrigado pela convivência diária!*

Aos amigos da Turma 2016: Eslaine, Jordânia, Liélia, Fernando Tonon, Robs, Jéssica e Wallas. *Obrigado pela companhia!*

Ao Instituto Federal de Mato Grosso, pelo afastamento concedido.

Ao CNPQ, a CAPES, a FAPEMAT, ao INAU e ao CPP, pelo apoio financeiro.

RESUMO

SILVA, C. F. Universidade Federal de Mato Grosso. Cuiabá, 2018. **Estudo químico das raízes de *Simaba trichilioides* A. St.-Hil. (Simaroubaceae) e avaliação da atividade antidiabética.** Orientador: Prof. Dr. Paulo Teixeira de Sousa Júnior.

A espécie *Simaba trichilioides* A. St.-Hil. pertencente ao gênero *Simaba* (Simaroubaceae), típica do Cerrado brasileiro e distribuída amplamente na região Centro-Oeste, é conhecida popularmente como calunga e utilizada para tratamento do fígado e diabetes na forma de chá das suas raízes. Espécies desse gênero são encontradas em diversos biomas por todo o continente americano, principalmente América do Sul e Central. O estudo químico-farmacológico do gênero *Simaba* apresenta principalmente quassinoides e alcaloides cantinônicos, para os quais são atribuídas diversas atividades, dentre elas antineoplásica, antimalárica, antiviral, antiparasitária e antidiabética, além de apresentarem outros metabólitos secundários. O objetivo deste estudo foi contribuir para o conhecimento químico-farmacológico do gênero *Simaba*, através do estudo químico e da avaliação antidiabética das raízes de *S. trichilioides*, assim como referendar o seu uso popular contra o diabetes. O material botânico (raízes) foi coletado na Estância Aricá, no município de Santo Antônio do Leverger – MT e uma amostra testemunha (nº 43026) encontra-se depositada no Herbário Central da UFMT. As raízes secas (3,8 kg) foram trituradas e colocadas em maceração, com hexano (3 x 5 L; 3 dias), seguido de etanol-água (7:3; 7 x 5 L; 7 dias). Os extratos brutos hexânico (**EBH**) e hidroetanólico (**EBHE**) foram colocados em rotavapor para recuperação do solvente e secos em estufa (38 °C) até peso constante, obtendo-se o **EBH (40,41 g; 1,06%)** e o **EBHE (371,83 g; 9,78%)**. Parte do **EBHE** (278,65 g) foi submetida a partição sólido-líquido, obtendo-se as frações hexânica (**FH; 0,41 g; 0,15%**), diclorometânica (**FD; 4,23 g; 1,52%**), acetato de etila (**FA; 30,89 g; 11,08%**) e metanólica (**FM; 173,37 g; 62,22%**). **FD** e **FA** foram submetidas a sucessivos fracionamentos cromatográficos resultando no isolamento de 7 substâncias, que foram identificadas por técnicas espectroscópicas e espectrométricas. Da **FD** foram isolados os alcaloides: 4-metoxicantín-6-ona, 5-metoxicantín-6-ona e 11-hidroxycantín-6-ona; e o quassinóide simalikalactona D; da **FA** os quassinoides: bruceína D, bruceína E, e orinocinólida. Os extratos brutos, frações e as substâncias isoladas simalikalactona D e Bruceína D, foram avaliadas quanto a atividade antiglicação com 10, 20 e 30 dias de incubação com albumina bovina sérica (**BSA**) utilizando aminoguanidina (**AG**) como padrão antiglicação. O **EBH** foi pouco efetivo na atividade antiglicação. O **EBHE**, a **FA** e a **FM** foram efetivas em todas as concentrações avaliadas. O **EBHE** foi tão efetivo quanto **AG** na dose de **500 µg/mL**, com 10 dias de incubação. A **FA** foi tão efetiva quanto **AG** na dose de **500 µg/mL** em todos os períodos avaliados. A **FM** foi tão efetiva quanto **AG** na dose de **500 µg/mL** com 10 e 20 dias e mais efetiva que **AG** com 30 dias de incubação. Os isolados apresentaram fraca atividade. A formação de produtos finais de

glicação avançada - **AGEs** estão implicados em diversas patogêneses, inclusive nas complicações do diabetes. Os resultados aqui obtidos da atividade antiglicação dos extratos e frações de *S. trichilioides*, indicam que o uso dessa planta, pode ser uma boa alternativa para prevenção ou tratamento de complicações oriundas do diabetes.

Palavras-chave: *Simaba trichilioides*, estudo químico, quassinoides, alcaloides cantinônicos, antiglicação, diabetes.

ABSTRACT

SILVA, C. F. Universidade Federal de Mato Grosso. Cuiabá, 2018. **Chemical study of the roots of *Simaba trichilioides* A. St.-Hil. (Simaroubaceae) and antidiabetic activity evaluation.** Advisor: Prof. Dr. Paulo Teixeira de Sousa Júnior.

The *Simaba trichilioides* A. St.-Hil. specie, belong *Simaba* genus (Simaroubaceae), typical of the Brazilian Cerrado and distributed widely in the Midwest, is popularly known as calunga and used for treatment of the liver and diabetes in the form of tea from its roots. Species of this genus are found in several biomes throughout the American continent, mainly South and Central America. The chemical-pharmacological study of the *Simaba* genus, exhibit mainly quassinoids and alkaloids of canthinone type, for which several activities are attributed, among them antineoplastic, antimalarial, antiviral, antiparasitic and antidiabetic, besides presenting other secondary metabolites. The objective of this study was to contribute to the chemical-pharmacological knowledge of the *Simaba* genus, through the chemical study and antidiabetic evaluation of the roots of *S. trichilioides*, as well as to confirm its popular use against diabetes. The material plant (roots) was collected at Aricá ranch, from Santo Antônio do Leverger – MT. A voucher specimen (n. 43026) has been deposited at UFMT's Central Herbarium. The dried powder roots (3.8 kg) were extracted at room temperature with hexane (3 x 5 L; 3 days) followed by ethanol-water (7:3; 7 x 5 L; 7 days). The solvent was removed under reduced pressure and the hexanic crude (HCE) and hydroethanolic crude (HECE) extracts were dried in an oven (38 °C) until constant weight, affording HCE (40.41 g; 1.06%) and HECE (371.83 g; 9.78%). Part of the HECE (278.65 g) was subjected to a solid-liquid partition, obtaining hexane fraction (HF; 0.41 g; 0.15%), dichloromethane fraction (DF; 4.23 g; 1.52%), ethyl acetate fraction (EAF; 30.89 g; 11.08%) and methanol fraction (MF; 173.37 g; 62.22%). DF and EAF were subjected to successive chromatography column, resulting in the isolation of 7 substances, which were identified by spectroscopic and spectrometric techniques. From DF were isolated the alkaloids: 4-methoxycanthin-6-one, 5-methoxycanthin-6-one and 11-hydroxycanthin-6-one; and the quassinoid simalikalactone D; from EAF were isolated the quassinoids: brucein D, brucein E and orinocinolide. The crude extracts, fractions and isolated compounds simalikalactone D and bruceine D, were evaluated for anti-glycation activity at 10, 20 and 30 days of incubation with bovine serum albumin (BSA) and aminoguanidine (AG) as control positive anti-glycation. HCE was not effective in anti-glycation activity. HECE, EAF and MF were effective in all concentrations evaluated. HECE was as effective than AG at 500 µg/mL, at 10-day incubation. EAF was as effective than AG at 500 µg/mL in all periods evaluated. MF was as effective than AG at 500 µg/mL, at 10 and 20 days of incubation and more effective than AG at 30-day of incubation. The substances isolates showed weak activity. The formation of advanced glycation end products - AGEs are implicated in several

pathogens, including the complications of diabetes. The results obtained from the anti-glycation activity of extracts and fractions of *S. trichilioides* indicate that the use of this plant may be a good alternative for the prevention or treatment of complications from diabetes.

Keywords: *Simaba trichilioides*, chemical study, quassinoid, alkaloid canthinone type, anti-glycation, diabetes.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIMBOLOS

AcOEt	Acetato de etila
AG	Aminoguanidina
AGEs	Produtos finais de glicação avançada (do inglês <i>Advanced Glycation End Products</i>)
ANOVA	Análise de variância (do inglês <i>Analysis of Variance</i>)
AS	Reagente anisaldeído sulfúrico
A. St.-Hil	Auguste de Saint Hilaire
Aubl.	Jean Baptiste Christian Fusée-Aublet
A-549	Linhagem celular de câncer de pulmão
BSA	Albumina bovina sérica (do inglês <i>Bovine Serum Albumin</i>)
CALPQPN	Central Analítica do Laboratório de Pesquisa em Química de Produtos Naturais
CC	Cromatografia em coluna
CCDA	Cromatografia em camada delgada analítica
CIL	Cambridge Isotope Laboratories, Inc.
CoA	Coenzima A
COSY	Correlation Spectroscopy
<i>d</i>	<i>Dupleto</i>
<i>dd</i>	<i>Duplo dupletos</i>
<i>ddd</i>	<i>Duplo duplo dupletos</i>
D. Dietr.	David Nathaniel Friedrich Dietrich
DCM	Diclorometano
DEPTQ	Distorsionless Enhancement by Polarization Transfer Including the Detection of Quaternary Nuclei
DP	Desvio padrão
DRG	Reagente de Dragendorff
DMSO	Dimetilsulfóxido
DMSO-<i>d</i>₆	Dimetilsulfóxido deuterado
EBH	Extrato Bruto Hexânico

EBHE	Extrato Bruto Hidroetanólico
EROs	Espécies reativas de oxigênio
EtOH	Etanol
EM	Espectrometria de Massas
FA	Fração acetato de etila
FD	Fração diclorometânica
FH	Fração hexânica
FM	Fração metanólica
FT-IR	Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (do inglês <i>Fourier-Transform Infrared Spectroscopy</i>)
GENMAT	Grupo de Eletroquímica e Novos Materiais
h	Altura da fase estacionária
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
Hook.f.	Joseph Dalton Hooker
HPLC	High Performance Liquid Chromatograph
HSQC	Heteronuclear Single-Quantum Correlation
IV	Infravermelho
KB	Linhagem celular de carcinoma epidérmico humano
J	Constante de acoplamento
Lam.	Herman Johannes Lam
LPQPN	Laboratório de Pesquisa em Química de Produtos Naturais
m	<i>Multiplete</i>
n	Número de medidas realizadas
m/z	Relação <i>massa/carga</i>
MCF-7	Linhagem celular de câncer de mama
MeOH	Metanol
MeOD	Metanol deuterado
NOESY	Nuclear Overhauser Spectroscopy
OMS	Organização Mundial de Saúde

<i>ppm</i>	Parte por milhão
PF	Ponto de fusão
<i>q</i>	<i>Quarteto</i>
RMN ¹³C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono
RMN ¹H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
Rf	Fator de retenção (do inglês <i>retention factor</i>)
S.	<i>Simaba</i>
<i>s</i>	<i>Singleto</i>
<i>sl</i>	<i>Singleto largo</i>
Sin.	Sinônimo
Spreng.	Kurt Sprengel
Spruce	Richard Spruce
<i>t</i>	<i>Tripleto</i>
Turcz	Nikolai Turczaninow
UFMT	Universidade Federal de Mato Grosso
UNESP	Universidade Estadual Paulista
USP	Universidade de São Paulo
UV – Vis	Ultravioleta - Visível
VS	Reagente vanilina sulfúrica
λ	Comprimento de onda
Φ	Diâmetro
δ_c	Deslocamento químico de carbono
δ_H	Deslocamento químico de hidrogênio
3-DG	3-desoxiglicose

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – <i>Simaba trichilioides</i> (calunga)	67
Figura 2 – Localização global da espécie <i>Simaba trichilioides</i>	68
Figura 3 – Distribuição da espécie <i>Simaba trichilioides</i> no Brasil	68
Figura 4 – Exemplar de <i>Simaba trichilioides</i> (à esquerda); raiz (à direita) ..	78
Figura 5 – Exsicata da espécie <i>Simaba trichilioides</i>	79
Figura 6 – Espectro de IV (KBr) de (70)	103
Figura 7 – Espectro de absorção no UV-Vis de (70)	104
Figura 8 – Espectro de massas de (70) por infusão direta no HR-ESI-MS	105
Figura 9 – Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de (70) entre δ_{H} 9,00 e 4,00.....	106
Figura 10 – Mapa de contorno (COSY, 500 MHz em CDCl_3) de (70) entre δ_{H} 8,90 – 7,10.....	107
Figura 11 – Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de (70) entre δ_{C} 160,0 e 56,0.....	109
Figura 12 – Espectro de RMN de ^{13}C (DEPTQ-135, 125 MHz em CDCl_3) de (70) entre δ_{C} 160,0 e 56,0.....	110
Figura 13 – Mapa de contorno (HSQC, 500/125 MHz em CDCl_3) de (70)	111
Figura 14 – Expansões no experimento de HMBC de (70) em H-4 e H-17	112
Figura 15 – Principais correlações observadas no experimento de HMBC de (70)	113
Figura 16 – Espectro de IV (KBr) da amostra FD2D1B2	116
Figura 17 – Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de (83) entre δ_{H} 7,25 e 3,85.....	118
Figura 18 – Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de (83) entre δ_{H} 8,15 e 7,45.....	119
Figura 19 – Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de (83) entre δ_{H} 8,80 e 8,10.....	120

Figura 20 – Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de (83) entre δ_{C} 118,0 e 58,0	121
Figura 21 – Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de (83) entre δ_{C} 158,0 e 122,0	122
Figura 22 – Espectro de IV (KBr) de (112)	125
Figura 23 – Espectro de absorção no UV-Vis de (112)	125
Figura 24 – Espectro de massas de (112) por infusão direta no HR-ESI-MS	126
Figura 25 – Principais correlações observadas no mapa de contorno (HMBC) de (112)	128
Figura 26 – Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de (112) entre δ_{H} 8,90 – 6,80.....	129
Figura 27 – Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de (112) entre δ_{C} 160,0 – 105,0.....	130
Figura 28 – Espectro de RMN de ^{13}C (DEPTQ-135, 125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de (112) entre δ_{C} 160,0 – 105,0.....	131
Figura 29 – Mapa de contorno (COSY, 125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de (112)	132
Figura 30 – Mapa de contorno (HSQC, 500/125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de (112)	133
Figura 31 – Expansões das principais correlações no mapa de contorno (HMBC, 500/125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de (112)	134
Figura 32 – Espectro de IV (KBr) de (113)	138
Figura 33 – Espectro de massas de (113) por infusão direta no HR-ESI-MS	139
Figura 34 – Principais correlações observadas no mapa de contorno (COSY) na estrutura de (113)	141
Figura 35 – Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de (113) entre δ_{H} 3,40 – 1,00.....	142
Figura 36 – Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de (113) entre δ_{H} 4,50 – 3,45.....	143

Figura 37 – Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) de (113) entre δ_{H} 6,10 – 4,90.....	144
Figura 38 – Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) de (113) entre δ_{C} 72,0 – 7,0.....	147
Figura 39 – Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) de (113) entre δ_{C} 200,0 – 72,0.....	148
Figura 40 – Espectro de RMN de ^{13}C (DEPTQ-135, 125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) de (113)	149
Figura 41 – Mapa de contorno (HSQC, 500/125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) de (113)	150
Figura 42 – Principais correlações observadas no experimento de HMBC de (113)	151
Figura 43 – Estrutura conformacional da bruceina D (113)	153
Figura 44 – Espectro de IV (KBr) de (114)	156
Figura 45 – Espectro de massas de (114) por infusão direta no HR-ESI-MS.....	157
Figura 46 – Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CD_3OD) de (114) entre δ_{H} 2,40 e 1,00.....	159
Figura 47 – Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CD_3OD) de (114) entre δ_{H} 5,45 e 3,25.....	160
Figura 48 – Mapa de contorno (COSY, 500MHz, CD_3OD) de (114)	162
Figura 49 – Principais correlações observadas no mapa de contorno (COSY) de (114)	163
Figura 50 – Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CD_3OD) de (114) entre δ_{C} 75,0 e 8,0.....	164
Figura 51 – Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CD_3OD) de (114) entre δ_{C} 200,0 e 75,0.....	165
Figura 52 – Espectro de IV (KBR) de (23)	169
Figura 53 – Espectro de massas de (23) por infusão direta no HR-ESI-MS.....	170

Figura 54 – Principais correlações observadas no mapa de contorno (COSY) na estrutura de (23)	172
Figura 55 – Expansões das principais correlações observadas no espectro de HMBC de (23)	175
Figura 56 – Principais correlações observadas no mapa de contorno (HMBC) de (23)	176
Figura 57 – Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de (23) entre δ_{H} 1,45 e 0,90	178
Figura 58 – Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de (23) entre δ_{H} 2,50 e 1,45	179
Figura 59 – Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de (23) entre δ_{H} 4,70 e 2,85	180
Figura 60 – Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de (23) entre δ_{H} 7,50 e 4,70	181
Figura 61 – Mapa de contorno (COSY, 500 MHz, CDCl_3) de (23)	182
Figura 62 – Espectro de RMN de ^{13}C (DEPTQ-135, 125 MHz, CDCl_3) de (23) entre δ_{C} 90,0 e 10,0.....	183
Figura 63 – Espectro de RMN de ^{13}C (DEPTQ-135, 125 MHz, CDCl_3) de (23) entre δ_{C} 200,0 e 120,0.....	184
Figura 64 – Espectro de IV (KBr) de (37)	187
Figura 65 – Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, MeOD) de (37) entre δ_{H} 1,70 – 0,50	191
Figura 66 – Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, MeOD) de (37) entre δ_{H} 2,60 – 1,60	192
Figura 67 – Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, MeOD) de (37) entre δ_{H} 4,05 – 3,30	193
Figura 68 – Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, MeOD) de (37) entre δ_{H} 6,50 – 4,10	194
Figura 69 – Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, MeOD) de (37) entre δ_{C} 65,0 – 5,00	195

Figura 70 – Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, MeOD) de (37) entre δ_{C} 200,0 – 65,0.....	196
Figura 71 – Efeito dos extratos brutos e frações como agentes antiglicação	200
Figura 72 – Efeito dos extratos brutos e frações como agentes inibidores da formação de frutossamina	202
Figura 73 – Efeito dos isolados (23) e (113) como agentes antiglicação ..	203
Figura 74 – Efeito dos isolados (23) e (113) como agentes inibidores da formação de frutossamina.	204

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 – Biossíntese dos quassinoides	36
Esquema 2 – Rota biossintética dos alcaloides β -carbolínicos.....	56
Esquema 3 – Rota biossintética dos alcaloides cantinônicos.....	57
Esquema 4 – Formação do esqueleto básico das cumarinas.....	63
Esquema 5 – Processo de formação de uma base de Schiff e glicação de proteínas	74
Esquema 6 – Procedimento geral de preparação dos extratos brutos e frações das raízes de <i>Simaba trichilioides</i>	84
Esquema 7 – Procedimento geral de fracionamento da FD	92
Esquema 8 – Procedimento geral de fracionamento da FA	98

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Quassinoides isolados de espécies do gênero <i>Simaba</i>	38
Tabela 2 – Triterpenos e esteroides isolados de espécies do gênero <i>Simaba</i>	46
Tabela 3 – Alcaloides isolados de espécies do gênero <i>Simaba</i>	58
Tabela 4 – Principais atividades biológicas relacionadas a espécies do gênero <i>Simaba</i>	70
Tabela 5 – Solventes utilizados na obtenção, fracionamento e análises	80
Tabela 6 – Sistema de eluição e frações coletadas da FD	85
Tabela 7 – Sistema de eluição e frações coletadas de FD2	85
Tabela 8 – Sistema de eluição e frações coletadas da FD2C	86
Tabela 9 – Sistema de eluição e frações coletadas da FD2D	87
Tabela 10 – Sistema de eluição e frações coletadas da FD2E	88
Tabela 11 – Sistema de eluição e frações coletadas da FD2F	89
Tabela 12 – Sistema de eluição e frações coletadas da FD2F3S	90
Tabela 13 – Sistema de eluição e frações coletadas da FD2F4	90
Tabela 14 – Sistema de eluição e frações coletadas da FD2F4B	91
Tabela 15 – Sistema de eluição e frações coletadas da FA	93
Tabela 16 – Sistema de eluição e frações coletadas de FAC	94
Tabela 17 – Sistema de eluição e frações coletadas da FAC4	94
Tabela 18 – Sistema de eluição e frações coletadas de FAE	95
Tabela 19 – Sistema de eluição e frações coletadas de FAH	96
Tabela 20 – Sistema de eluição e frações coletadas da FAH5	97
Tabela 21 – Correlações de ^1H e ^{13}C observadas nos experimentos de COSY, HSQC e HMBC de (70)	113
Tabela 22 – Dados de RMN de ^1H e ^{13}C de (70) e comparações com a literatura.....	114
Tabela 23 – Dados de RMN de ^1H e ^{13}C de (83) e comparação com a literatura	123

Tabela 24 – Correlações de ^1H e ^{13}C observadas nos experimentos de COSY, HSQC e HMBC de (112)	128
Tabela 25 – Dados de RMN de ^1H e ^{13}C de (112) e comparações com a literatura	135
Tabela 26 – Correlações de ^1H e ^{13}C observadas nos experimentos de COSY, HSQC e HMBC de (113)	152
Tabela 27 – Dados de RMN de ^1H e ^{13}C de (113) e comparação com a literatura	154
Tabela 28 – Correlações de ^1H e ^{13}C observadas nos experimentos de COSY, HSQC e HMBC de (114)	166
Tabela 29 – Dados de RMN de ^1H e ^{13}C de (114) e comparações com a literatura	167
Tabela 30 – Correlações de ^1H e ^{13}C observadas nos experimentos de COSY, HSQC e HMBC de (23)	176
Tabela 31 – Dados de RMN de ^1H e ^{13}C de (23) e comparação com a literatura	186
Tabela 32 – Dados de RMN de ^1H e ^{13}C de (37) e comparação com a literatura	198

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Esqueletos carbônicos dos quassinoides	37
Quadro 2 – Quassinoides isolados de espécies do gênero <i>Simaba</i>	45
Quadro 3 – Estrutura do cicloartenol (a); Estrutura básica dos esteroides (b)	46
Quadro 4 – Triterpenos e esteroides isolados de espécies do gênero <i>Simaba</i>	54
Quadro 5 – Alcaloides isolados de espécies do gênero <i>Simaba</i>	60
Quadro 6 – Esqueleto básico dos flavonoides	61
Quadro 7 – Flavonoides isolados de espécies do gênero <i>Simaba</i>	62
Quadro 8 – Cumarinas isoladas de espécies do gênero <i>Simaba</i>	64
Quadro 9 – Outros metabólitos isolados de espécies do gênero <i>Simaba</i> ..	66
Quadro 10 – Substâncias isoladas e identificadas das raízes de <i>S. trichilioides</i>	101

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	27
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	29
2.1 A família Simaroubaceae.....	29
2.2 O gênero <i>Simaba</i> Aublet.....	31
2.2.1 <i>Constituintes químicos do gênero Simaba Aublet</i>	32
2.2.1.1 Quassinoides.....	32
2.2.1.2 Terpenos e esteroides.....	45
2.2.1.3 Alcaloides	55
2.2.1.4 Flavonoides	61
2.2.1.5 Cumarinas	62
2.2.1.6 Outros metabólitos isolados de espécies do gênero <i>Simaba</i>	64
2.3 A Espécie <i>Simaba trichilioides</i> A. St.-Hil.....	66
2.4 Atividades biológicas relacionadas a espécies do gênero <i>Simaba</i>	69
2.5 O diabetes mellitus e a formação de produtos finais de glicação avançada (AGEs)	73
3 JUSTIFICATIVA	76
4 OBJETIVOS	77
4.1 Geral.....	77
4.2 Específicos	77
5 MATERIAL E MÉTODOS	78
5.1 Materiais e equipamentos.....	78
5.1.1 <i>Material botânico</i>	78
5.1.2 <i>Suportes cromatográficos, solventes e reveladores</i>	79
5.1.3 <i>Equipamentos</i>	80
5.2 Métodos.....	82
5.2.1 <i>Secagem e trituração do material botânico</i>	82
5.2.2 <i>Obtenção dos extratos brutos e frações</i>	82
5.2.3 <i>Fracionamento cromatográfico da FD</i>	84
5.2.3.1 <i>Fracionamento cromatográfico de FD2</i>	85
5.2.3.2 <i>Fracionamento cromatográfico da FD2C</i>	86
5.2.3.3 <i>Fracionamento cromatográfico da FD2D</i>	86

5.2.3.4 Fracionamento cromatográfico da FD2E	88
5.2.3.5 Fracionamento cromatográfico da FD2F	88
5.2.4 <i>Fracionamento cromatográfico da FA</i>	93
5.2.4.1 Fracionamento cromatográfico de FAC	93
5.2.4.2 Fracionamento cromatográfico de FAE	95
5.2.4.3 Fracionamento cromatográfico de FAH	95
5.2.5 <i>Glicação de albumina sérica bovina (BSA) in vitro</i>	98
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO	100
6.1 Substâncias isoladas e identificadas das raízes de <i>Simaba trichilioides</i>	100
6.2 Identificação estrutural das amostras isoladas de <i>Simaba trichilioides</i>	101
6.2.1 <i>Identificação estrutural de alcaloides cantinônicos</i>	101
6.2.1.1 Identificação estrutural de FD2C4	102
6.2.1.2 Identificação estrutural de FD2D1B2	115
6.2.1.3 Identificação estrutural de FD2F4C	124
6.2.2 <i>Identificação estrutural de quassinoides</i>	136
6.2.2.1 Identificação estrutural de FAE8.....	137
6.2.2.2 Identificação estrutural de FAH6.....	155
6.2.2.3 Identificação estrutural de FD2E5.....	168
6.2.2.4 Identificação estrutural de FAC4E2	187
6.3 Inibição da formação de AGEs	199
7 CONCLUSÃO	206
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	208
ANEXOS.....	222

1 INTRODUÇÃO

Desde os tempos imemoriáveis, o homem busca na natureza, recursos para melhorar sua própria condição de vida. Há registros em documentos de civilizações primitivas da China, Índia e Europa, do uso de plantas para profilaxia e cura de diversas enfermidades. Acredita-se, que as farmacopeias tradicionais foram elaboradas ao longo de muitos séculos de experimentação, onde o conhecimento empírico acumulado foi preservado e transmitido a gerações futuras. Os primeiros europeus que chegaram ao Brasil, logo se depararam com uma grande quantidade de plantas medicinais em uso pelas inúmeras tribos que aqui viviam (ELISABETSKY; SETZER, 1985; LORENZI; MATOS, 2008).

A OMS define planta medicinal como sendo todo e qualquer vegetal que possui, em uma ou mais partes, substâncias que possam ser utilizadas com fins terapêuticos ou que sejam precursores de fármacos. Plantas medicinais são aquelas que têm uma história de uso tradicional como agente terapêutico. Embora a medicina moderna esteja bem desenvolvida na maior parte do mundo, o interesse do público nas terapias naturais tem aumentado nos países industrializados (ZHANG, 1998; OMS, 2000; BRASIL, 2001).

A medicina popular ou tradicional representa a soma total dos conhecimentos, habilidades e práticas com base nas teorias, crenças e experiências indígenas de diferentes culturas, utilizados na manutenção da saúde, bem como na prevenção, diagnóstico, tratamento ou melhoria de doenças físicas e mentais (WHO, 2000).

Atualmente, a química medicinal utiliza novas abordagens e tecnologias que confirmam as evidências científicas sobre a eficácia terapêutica de diversas plantas medicinais, suas substâncias isoladas e derivados (VECHI et al., 2018).

Uma das mais importantes doenças tratadas, utilizando-se de plantas medicinais, é o diabetes mellitus, um distúrbio comum causado por

hiperglicemia que predispõe a complicações crônicas afetando os olhos, vasos sanguíneos, nervos e rins (AHMED, 2005).

A partir do conhecimento empírico sobre os efeitos dos preparados a partir de plantas, surge a necessidade do estudo químico e farmacológico, que visa isolar, identificar e avaliar os compostos ou substâncias que sejam biologicamente ativas e que posteriormente, possam ser utilizadas como modelo para a síntese de análogas mais potentes e seletivas, obtidas mais facilmente e a custos menores (CECHINEL FILHO; YUNES, 1998).

A espécie vegetal em estudo, *Simaba trichilioides* A. St-Hil. (Simaroubaceae) é conhecida popularmente como “calunga”, nativa do Cerrado brasileiro e de ampla ocorrência no Cerrado mato-grossense. É utilizada popularmente para o tratamento úlcera (FERNANDES, 2008), doenças do fígado e diabetes (REIS; BELLINI, 2010) e como anti-hiperlipidêmica (SILVA et al., 2010).

O Cerrado brasileiro tem grande importância social, sendo responsável pela sobrevivência de muitas populações que detêm um grande conhecimento tradicional do uso de seus recursos naturais. Possui mais de 220 espécies medicinais, diversas espécies utilizadas na recuperação de solos degradados e diversas outras com frutos comestíveis. Considerado como um *hotspot* mundial, o Cerrado é o segundo maior bioma da América do Sul com aproximadamente 2 milhões de km² e cerca de 22% do território brasileiro, com extrema abundância de espécies endêmicas e reconhecido como a savana mais rica do mundo, com mais de 11 mil espécies de plantas nativas já catalogadas (BRASIL, 2018).

No presente estudo, objetivou-se isolar e identificar as principais substâncias presentes nas raízes de *Simaba trichilioides*, buscando correlacioná-las aos efeitos benéficos observados na medicina popular no tratamento do diabetes.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A família Simaroubaceae

Da Ordem Sapindales, Simaroubaceae inclui cerca de 22 gêneros e 109 espécies de árvores de distribuição pantropical (CLAYTON, 2011). Em estudos mais recentes, 7 novas espécies foram descritas e 1 reintegrada, totalizando 117 espécies (DEVECCHI et al., 2018a). Caracteriza-se por o seu teor de substâncias amargas, responsável principalmente pelas suas propriedades farmacêuticas (FERNANDO et al., 1995; MUHAMMAD et al., 2004). O principal centro de distribuição geográfica está localizado na região tropical do continente Americano, estendendo-se a Oeste da África, Madagascar, Ásia (Malásia) e regiões da Austrália banhadas pelo Pacífico (SIMÃO et al., 1991; SARAIVA et al., 2002).

Simaroubaceae está relacionada botanicamente com Rutaceae, Meliaceae e Burseraceae, porém dentro desse grupo, encontra-se mais próxima à família Rutaceae no que se refere à composição química, anatomia da madeira, ausência de vasos condutores de resina na casca do caule e presença de estames livres em suas flores (SARAIVA et al., 2002).

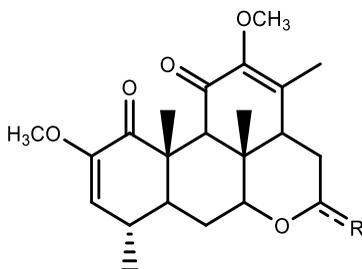
No Brasil, é representada por 7 gêneros: *Castela* Turpin, *Homalolepis* Turcz, *Picrasma* Blume, *Picrolemma* Hook.f., *Quassia* L., *Simaba* Aubl. e *Simarouba* Aubl., com 32 espécies e 2 subespécies (PIRANI; THOMAS, 2015a).

As espécies desta família são conhecidas por produzirem muitos metabólitos secundários amargos derivados do triptofano, como alcaloides (β -carbolínicos e cantinônicos) e derivados triterpênicos como quassinoides (NUDDIN et al., 2015), conhecidos por suas propriedades medicinais e utilizados tradicionalmente para tratamento da malária, diabetes, tuberculose, como anti-helmínticos, amebicidas, antitumorais, antivirais, antileucêmicos, e de interesse agrônômico com propriedades antialimentar contra o besouro do feijão e besouro mexicano, e inseticida contra estágios larvais da lagarta das

vagens e do gafanhoto migratório, entre outras (POLONSKY, 1973; 1985; SARAIVA, 2001).

Os quassinoides são derivados triterpênicos, biossinteticamente relacionados a limonoides de Rutaceae e Meliaceae (DA SILVA; GOTTLIEB, 1987) e são considerados por Dreyer (1983), Waterman e Grundon (1983) ser o passo seguinte da via oxidativa dos limonoides.

Com o advento de técnicas físicas como a espectroscopia de RMN, no início da década de 1960 foi possível a definição das primeiras estruturas químicas de quassinoides. Quassina (**1**) e neoquassina (**2**), constituintes químicos de *Quassia amara* (Simaroubaceae), tiveram suas estruturas e estereoquímica estabelecidas por Valenta e colaboradores (1962). O interesse em diversas espécies dessa família aumentou, resultando no isolamento e identificação de mais de 200 quassinoides conhecidos (CURCINO VIEIRA; BRAZ-FILHO, 2006).



R=O quassina (**1**)
R=OH neoquassina (**2**)

Os alcaloides comuns nessa família são do tipo cantinônico. Haynes e colaboradores (1952) isolaram esse tipo de alcaloide em exemplares da família Rutaceae. São comuns também em Amaranthaceae, Caryophyllaceae e Malvaceae. Mais de 30 alcaloides cantinônicos que haviam sido isolados, até a década de 1990, pertenciam a espécies da família Simaroubaceae. Estes compostos formam um importante grupo do ponto de

vista quimiotaxonômico. Os alcaloides cantinônicos isolados de espécies de Simaroubaceae são geralmente encontrados juntos com quassinoides e alcaloides β -carbolínicos (OHMOTO; KOIKE, 1990).

Diversos outros metabólitos são relatados nessa família, além de quassinoides e alcaloides, como triterpenos, sesquiterpenos, esteroides, cumarinas, antraquinonas, flavonoides, lignanas, óleos essenciais e alguns ácidos orgânicos (BARBOSA et al., 2011). Flavonoides foram isolados em diferentes espécies dessa família, nos gêneros *Simaba* (NOLDIN, 2005), *Ailanthus* (KUNDU; LASKAR, 2010) e *Picrasma* (JIAO et al., 2011).

2.2 O gênero *Simaba* Aublet

Simaba é o maior gênero da família, bem restrito à América do Sul e Central (CLAYTON, 2011). Os tratamentos taxonômicos mais recentes reconhecem entre 23 e 25 espécies, porém novas espécies foram descobertas, sugerindo atualmente que o gênero tenha cerca de 30 espécies (DEVECCHI et al., 2016). Em estudos mais recentes, com base nos resultados de análises filogenéticas, Devecchi (2017) propõe uma divisão de *Simaba* em 2 gêneros, *Simaba* sensu stricto e *Homalolepis* Turcz.

Os gêneros *Quassia* L. e *Simarouba* Aublet apresentam semelhanças com o gênero *Simaba*, porém espécies estudadas destes dois gêneros emergiram em ramos distantes na árvore filogenética (ALVES, 2015).

No Brasil, há ocorrência de 22 espécies e 2 subespécies, 10 espécies na região Centro-Oeste, sendo 8 dessas em Mato Grosso (PIRANI; THOMAS, 2015b).

As espécies desse gênero são encontradas em ambientes ecológicos bastante diversificados, em mata úmida, alagável ou de terra firme. De um modo geral, a floração das espécies do gênero *Simaba* pode ocorrer ao longo de todo o ano, sendo, entretanto, acentuada nos meses de julho a outubro. A frutificação pode ocorrer também o ano inteiro, porém com maior incidência de setembro a novembro. Geograficamente, o gênero

Simaba distribui-se pelo continente sul-americano, exceto Argentina, Uruguai e Chile. A espécie *Simaba cedron* tem a mais larga distribuição, desde o Estado da Bahia no Brasil até Costa Rica, na América Central (CAVALCANTE, 1983).

Caracterizam-se como plantas lenhosas cujo porte varia de um subarbusto de 30-50 cm até uma árvore de 30 m, o que é mais raro. Em geral são árvores pequenas ou arborescentes. Os tipos mais frequentes são árvores medianas em torno de 7-12 m de altura ou arbustos entre 4-6 m. Suas folhas são pinadas, raramente unifoliadas, seus folhetos são opostos um ao outro e geralmente apresenta uma glândula apical que pode ser vista a olho nu. Suas flores apresentam na parte terminal do ramo, chegando a 1 metro de comprimento em algumas espécies (CAVALCANTE, 1983).

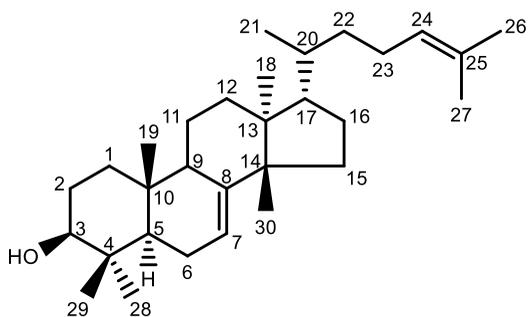
2.2.1 Constituintes químicos do gênero *Simaba Aublet*

Mais de 100 constituintes químicos foram isolados do gênero *Simaba* e relatados em estudos desde 1930, incluindo quassinoides e alcaloides, bem como diversos outros compostos como triterpenos, cumarinas, esteroides, flavonoides entre outros. Os quassinoides foram os constituintes predominantes nesse gênero (BARBOSA et al., 2011).

2.2.1.1 Quassinoides

Os quassinoides consistem em produtos de degradação de triterpenos tetracíclicos, derivados da série do eufol e tirucalol. São lactonas altamente oxigenadas e estruturalmente complexas (δ -lactona – anel de 6 membros, no esqueleto quassolidano e γ -lactona – anel de 5 membros, nos esqueletos cedrolidano e lauricolactano, e δ -lactona e γ -lactona em outros esqueletos) com vários grupos hidroxilas, carbonilas, metoxilas e esterificações (CURCINO VIEIRA; BRAZ-FILHO, 2006).

A conversão de triterpeno tetracíclico em quassinoide foi verificada experimentalmente utilizando o precursor Δ^7 – butirospermol (**3**) da rota do mevalonato, formado a partir da perda de um próton em C-7 do carbocátion resultante da ciclicização do esqualeno, por isomerização enzimática do (20*R*) eufol [$\Delta^{8,9}$] ou seu diastereoisômero na posição 20, (20*S*) tirucalol [$\Delta^{8,9}$] (MORON et al., 1971), seguida da rota biossintética proposta originalmente por Arigoni e colaboradores (1960), estendida à forte degradação a quassinoide.



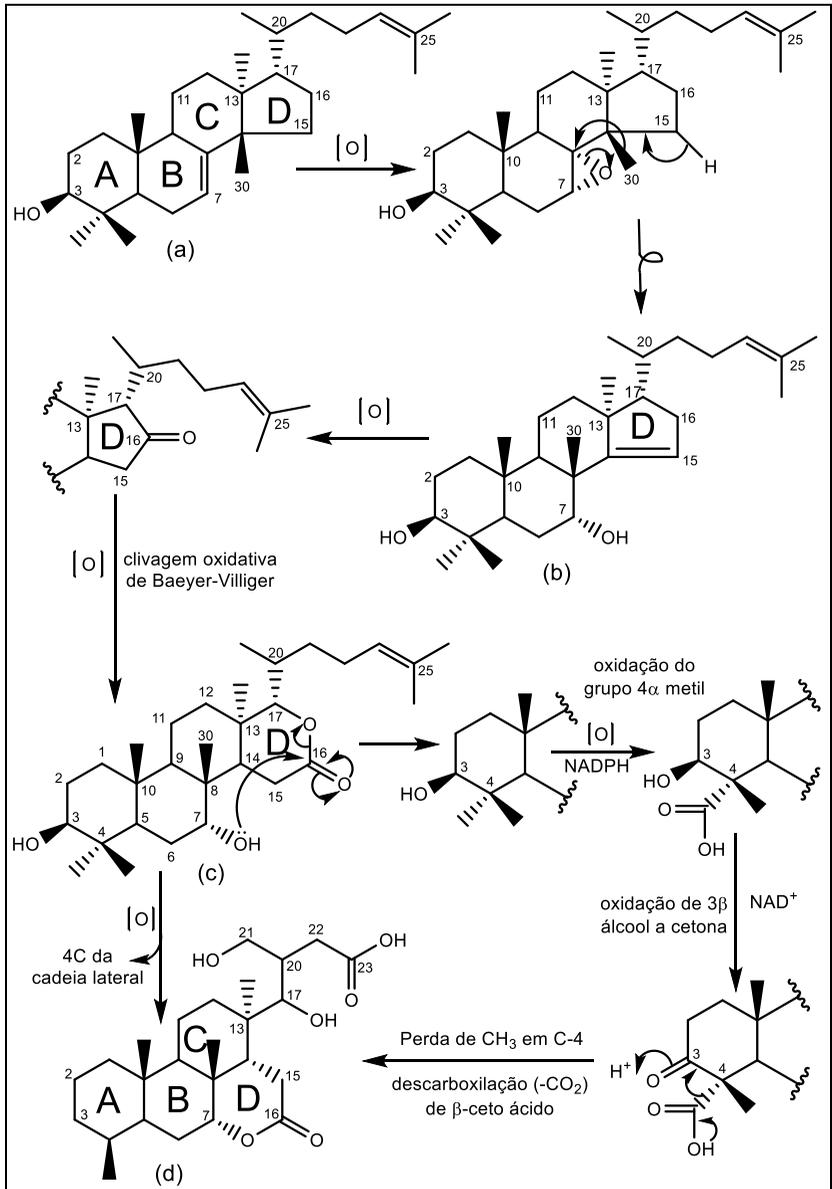
Δ^7 – butirospermol (**3**)

No **Esquema 1** observa-se que o precursor Δ^7 – butirospermol (**3**) (**a**) sofre um rearranjo oxidativo para formar 7 α -hidroxi (**b**). O anel D é então expandido oxidativamente a δ -lactona (**c**) por uma reação de oxidação de Baeyer-Villiger e clivagem entre C-16 e C-17. Durante estas transformações um dos grupos metílicos em C-4 e quatro carbonos terminais da cadeia lateral são perdidos. A abertura do anel δ -lactônico (**c**) e relactonização em 7 α -hidroxila levam então ao intermediário δ -lactona (**d**) que é o esqueleto básico da maioria dos quassinoides e seus derivados. A lactonização na hidroxila em C-17 leva primeiro a formação do quassinoide de esqueleto C₂₅, enquanto a lactonização na hidroxila em C-21 e subsequente oxidação no C-17 com a hidroxila residual, pode resultar em um segundo quassinoide com esqueleto C₂₅. Os quassinoides com esqueletos C₂₂ e C₂₀ podem então ser formados

por clivagem da ligação entre C-13 e C-17, enquanto os compostos com esqueleto C₁₉ requerem uma perda adicional do átomo de carbono em C-16. O esqueleto C₁₈ resulta de um quassinóide C₁₉ pela perda de um átomo de carbono no anel A, e conseqüentemente um rearranjo resultando na contração do anel A (GUO et al., 2005; CURCINO VIEIRA; BRAZ-FILHO, 2006).

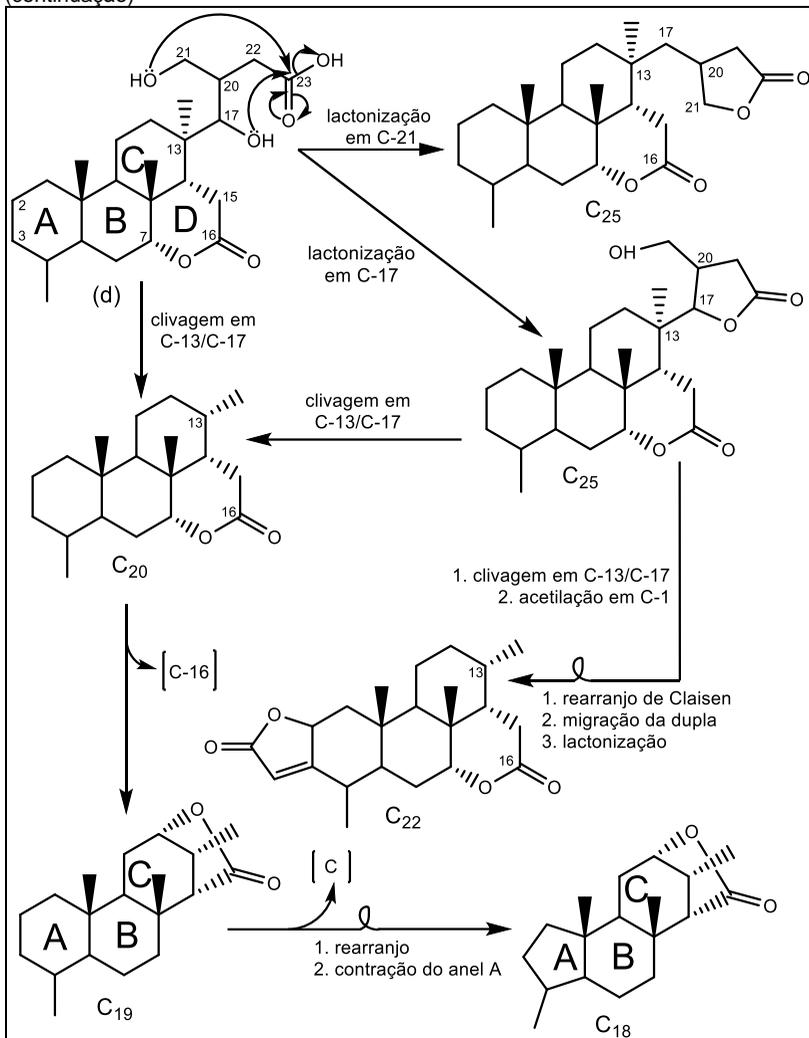
Os quassinóides apresentam cinco esqueletos básicos: a) com 25 átomos de carbono (C₂₅) denominado esqueleto *simarolidano*; b) com 22 átomos de carbono (C₂₂) denominado esqueleto *picrolemmano*; c) com 20 átomos de carbono (C₂₀) denominado esqueleto *quassolidano*; d) com 19 átomos de carbono (C₁₉) denominado esqueleto *cedrolidano*; e e) com 18 átomos de carbono (C₁₈) esqueleto *lauricolactano* (**Quadro 1**), embora alguns não se encaixem em nenhuma destas classes (CURCINO VIEIRA; BRAZ-FILHO, 2006).

A maioria dos quassinóides isolados tem um esqueleto de 20 carbonos. Os quassinóides C₂₀ são classificados em dois tipos: os tetracíclicos, sem oxigenação na posição C-20 e os pentacíclicos, com a posição C-20 oxigenada, que leva a formação de um anel adicional (GUO et al., 2005).



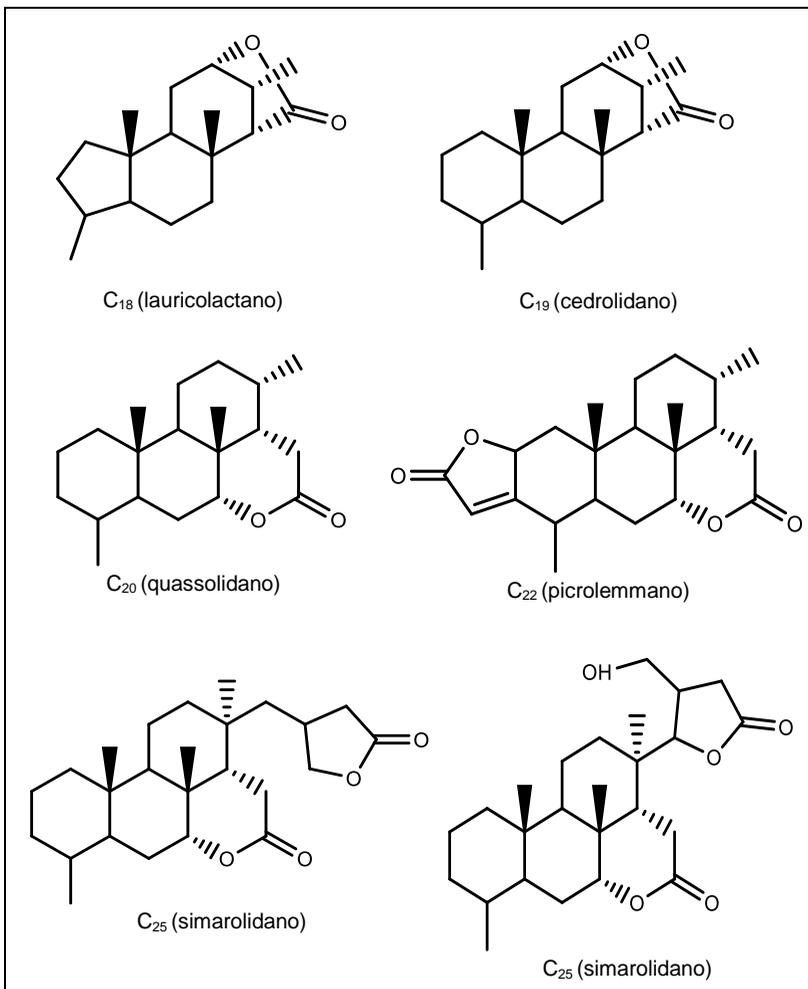
(continua)

(continuação)



Esquema 1 – Biossíntese dos quassinoides

(ARIGONI et al., 1960; POLONSKY, 1985; GUO et al., 2005; CURCINO VIEIRA; BRAZ-FILHO, 2006; DEWICK, 2009).



Quadro 1 – Esqueletos carbônicos dos quassinoides

Diversos quassinoides foram isolados de espécies do gênero *Simaba* e estão publicados na literatura conforme **Tabela 1**.

Tabela 1 – Quassinoides isolados de espécies do gênero *Simaba*

SUBSTÂNCIA (Nº DA ESTRUTURA)	ESPÉCIE VEGETAL	PARTE DA PLANTA	REFERÊNCIA
quassina (1)	<i>Quassia africana</i> (sin. <i>S. africana</i>)	raiz	TRESCA et al., 1971 <i>apud</i> POLONSKY et al., 1973
	<i>Quassia africana</i> (sin. <i>S. africana</i>)	raiz	LUMONADIO; VANHAELEN, 1986
neoquassina (2)	<i>Quassia africana</i> (sin. <i>S. africana</i>)	raiz	TRESCA et al., 1971 <i>apud</i> POLONSKY et al., 1973
cedronina (4)	<i>S. cedron</i>	sementes	POLONSKY, 1960
	<i>S. cedron</i>	sementes e folhas	JACOBS et al., 1987
	<i>S. cedron</i>	casca do caule	MORETTI et al., 1994
	<i>S. cedron</i>	frutos	CURCINO VIEIRA et al., 1998 <i>apud</i> BARBOSA et al., 2011
	<i>S. subcymosa</i>	casca da raiz	PRIMO DE SOUSA et al., 2005
7- <i>epi</i> -cedronina (5)	<i>S. cedron</i>	sementes e folhas	JACOBS et al., 1987
simalikalactona A (6)	<i>Quassia africana</i> (sin. <i>S. africana</i>)	raiz	TRESCA et al., 1971 <i>apud</i> POLONSKY et al., 1973
simalikalactona B (7)	<i>Quassia africana</i> (sin. <i>S. africana</i>)	raiz	TRESCA et al., 1971 <i>apud</i> POLONSKY et al., 1973
simalikalactona C (8)	<i>Quassia africana</i> (sin. <i>S. africana</i>)	raiz	TRESCA et al., 1971 <i>apud</i> POLONSKY et al., 1973
cedronolina (9)	<i>S. cedron</i>	sementes	POLONSKY, 1960
	<i>S. cedron</i>	casca do caule	MORETTI et al., 1994
6 α -seneciiloixi- chaparrinona (10)	<i>S. multiflora</i>	caule	WANI et al., 1978
	<i>S. multiflora</i>	casca do caule subterrâneo	POLONSKY et al., 1982
	<i>S. multiflora</i>	caule	ARISAWA et al., 1983b
	<i>S. multiflora</i>	-	KLOCKE et al., 1985
6 α -seneciiloixi- chaparrina (11)	<i>S. multiflora</i>	casca do caule subterrâneo	POLONSKY et al., 1982
	<i>S. multiflora</i>	caule	ARISAWA et al., 1983b
	<i>S. multiflora</i>	-	KLOCKE et al., 1985

(continua)

(continuação)

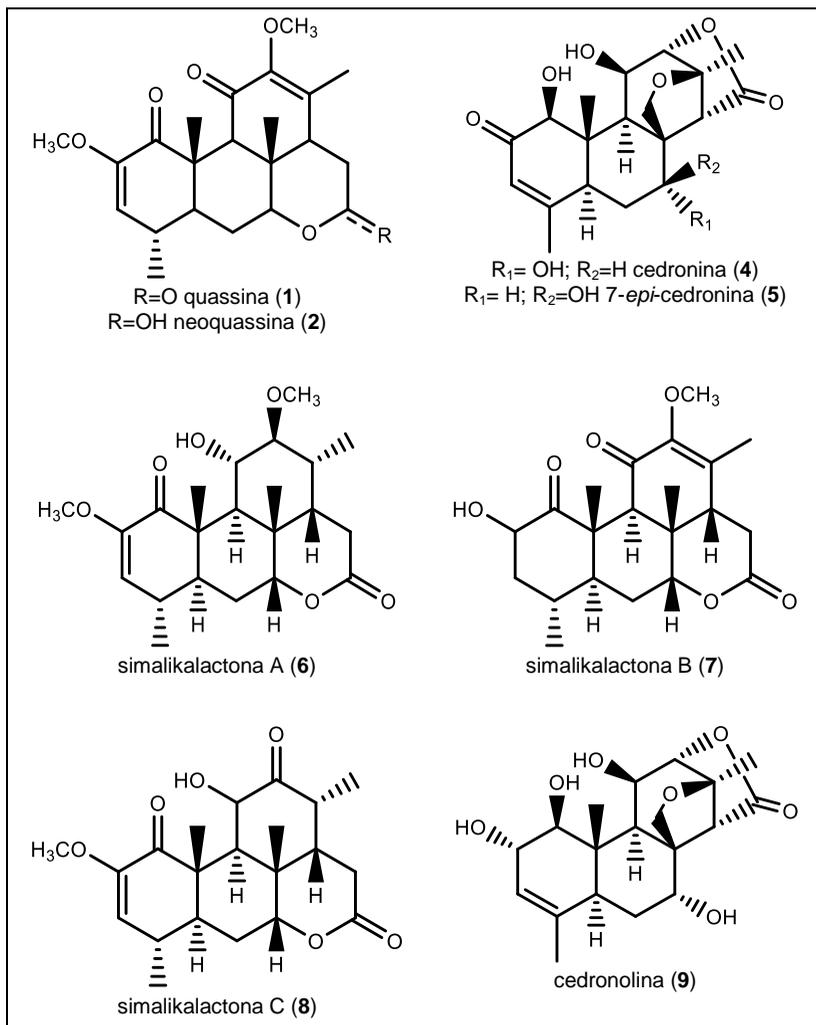
SUBSTÂNCIA (Nº DA ESTRUTURA)	ESPÉCIE VEGETAL	PARTE DA PLANTA	REFERÊNCIA
chaparrinona (12)	<i>S. multiflora</i>	caule	WANI et al., 1978
	<i>S. multiflora</i>	caule	ARISAWA et al., 1983b
chaparrinona (12)	<i>S. multiflora</i>	-	KLOCKE et al., 1985
	<i>S. multiflora</i>	casca do caule e casca da raiz	DOU et al., 1996
	<i>S. cedron</i>	caule	OZEKI et al., 1998
	<i>S. subcymosa</i>	casca da raiz	PRIMO DE SOUSA et al., 2005
chaparrina (13)	<i>S. cedron</i>	caule	OZEKI et al., 1998
glaucarubolona (14)	<i>S. multiflora</i>	casca da raiz	DOU et al., 1996
	<i>S. multiflora</i>	-	KLOCKE et al., 1985
	<i>S. cedron</i>	caule	OZEKI et al., 1998
	<i>S. cedron</i>	frutos	CURCINO VIEIRA et al., 1998 <i>apud</i> BARBOSA et al., 2011
glaucarubol (15)	<i>S. cedron</i>	caule	OZEKI et al., 1998
	<i>S. cedron</i>	frutos	CURCINO VIEIRA et al., 1998 <i>apud</i> BARBOSA et al., 2011
glaucarubinona (16)	<i>S. multiflora</i>	casca do caule e casca da raiz	DOU et al., 1996
15-desacetilundulatona (17)	<i>Quassia undulata</i> (sin. <i>S. undulata</i>)	casca da raiz e casca do caule	ADESANWO et al., 2009
6 α -tigloiloxi- chaparrina (18)	<i>S. cuspidata</i>	casca do caule	POLONSKY et al., 1980
6 α -tigloiloxi- chaparrinona (19)	<i>S. cuspidata</i>	casca do caule	POLONSKY et al., 1980
simarinolida (20)	<i>S. orinocensis</i>	casca da raiz	POLONSKY et al., 1981
guanepolida (21)	<i>S. orinocensis</i>	casca da raiz	POLONSKY et al., 1981
	<i>S. cedron</i>	caule	OZEKI et al., 1998
karinolida (22)	<i>S. multiflora</i>	casca do caule subterrâneo	POLONSKY et al., 1982

(continua)

(continuação)

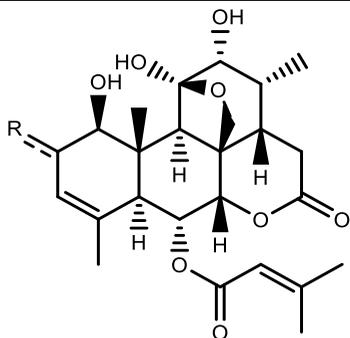
SUBSTÂNCIA (Nº DA ESTRUTURA)	ESPÉCIE VEGETAL	PARTE DA PLANTA	REFERÊNCIA
simalikalactona D (23)	<i>Quassia africana</i> (sin. <i>S. africana</i>)	raiz	TRESCA et al., 1971 <i>apud</i> ARISAWA et al., 1985
	<i>Quassia africana</i> (sin. <i>S. africana</i>)	casca da raiz	APERS et al., 2002
	<i>Quassia africana</i> (sin. <i>S. africana</i>)	folhas, caule e raiz	SAMA et al., 2014
	<i>S. multiflora</i>	caule	ARISAWA et al., 1985
	<i>S. guianensis</i>	caule	CABRAL et al., 1993
	<i>S. cedron</i>	caule	OZEKI et al., 1998
	<i>S. orinocensis</i>	casca da raiz e folhas	MUHAMMAD et al., 2004
cedronolactona A (24)	<i>S. cedron</i>	caule	OZEKI et al., 1998
gutolactona (25)	<i>S. guianensis</i>	caule	CABRAL et al., 1993
samaderina Z (26)	<i>S. cedron</i>	caule	OZEKI et al., 1998
12-desidro-6 α - seneciiloixi-chaparrina (27)	<i>S. multiflora</i>	frutos	MORETTI et al., 1986
13,18-desidro-6 α - seneciiloixi-chaparrina (28)	<i>S. multiflora</i>	frutos	MORETTI et al., 1986
cedronolactona B (29)	<i>S. cedron</i>	caule	OZEKI et al., 1998
cedronolactona C (30)	<i>S. cedron</i>	caule	OZEKI et al., 1998
	<i>S. cedron</i>	caule	HITOTSUYANAGI et al., 2001
cedronolactona D (31)	<i>S. cedron</i>	caule	OZEKI et al., 1998
cedronolactona E (32)	<i>S. cedron</i>	caule	HITOTSUYANAGI et al., 2001
poliandrol (33)	<i>S. cedron</i>	caule	OZEKI et al., 1998
ailanquassina A (34)	<i>S. cedron</i>	caule	OZEKI et al., 1998
20(R)-simarolida (35)	<i>S. orinocensis</i>	casca da raiz	POLONSKY et al., 1981
	<i>S. cuneata</i>	folhas, casca e galhos	CURCINO VIEIRA et al., 1999
	<i>S. subcymosa</i>	casca da raiz	PRIMO DE SOUSA et al., 2005
20(S)-simarolida (36)	<i>S. cuneata</i>	folhas, casca e galhos	CURCINO VIEIRA et al., 1999
orinocinolida (37)	<i>S. orinocensis</i>	casca da raiz	MUHAMMAD et al., 2004
1,4- desidrocedronolactona A (38)	<i>S. cedron</i>	sementes	OSORIO-HERRERA et al., 2005
cymosanina (39)	<i>S. subcymosa</i>	casca da raiz	PRIMO DE SOUSA et al., 2005

O **Quadro 2** apresenta as estruturas dos quassinoides isolados de espécies do gênero *Simaba*.

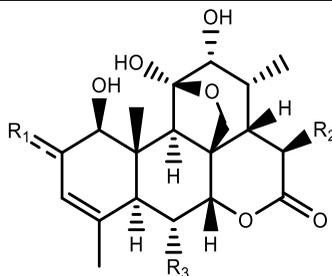


(continua)

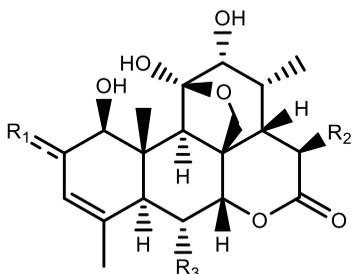
(continuação)



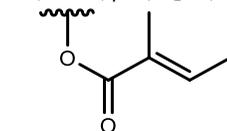
R=O 6α-seneciioiloxi-chaparrinona (10)
R=α-OH, β-H 6α-seneciioiloxi-chaparrina (11)



R₁=O; R₂=H; R₃=H chaparrinona (12)
R₁=α-OH, β-H; R₂=H; R₃=H chaparrina (13)
R₁=O; R₂=OH; R₃=H glaucarubolona (14)
R₁=α-OH, β-H; R₂=OH; R₃=H glaucarubol (15)



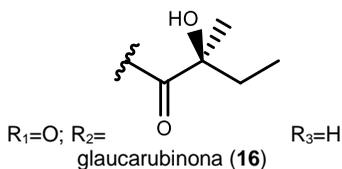
R₁=α-OH, β-H; R₂=H; R₃=



6α-tigloiloxi-chaparrina (18)

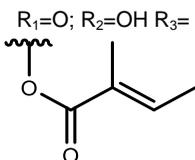
R₁=O; R₂=H; R₃=

6α-tigloiloxi-chaparrinona (19)

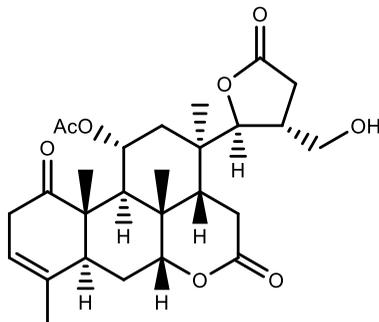


R₁=O; R₂=
glaucarubinona (16)

R₃=H



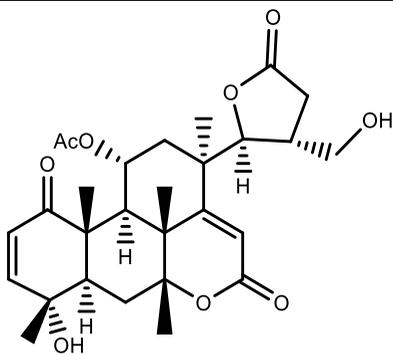
R₁=O; R₂=OH R₃=
15-desacetilundulatona (17)



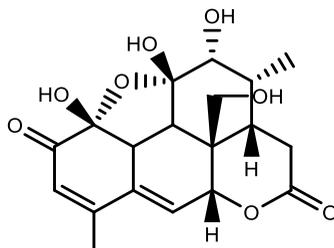
simarinolida (20)

(continua)

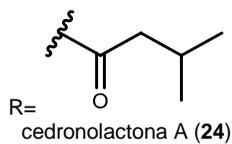
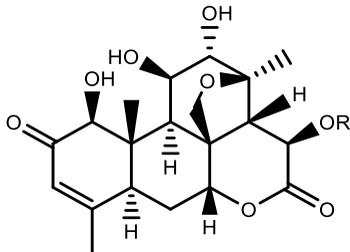
(continuação)



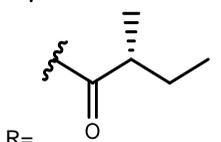
guanepolida (21)



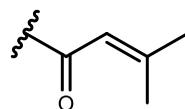
karinolida (22)



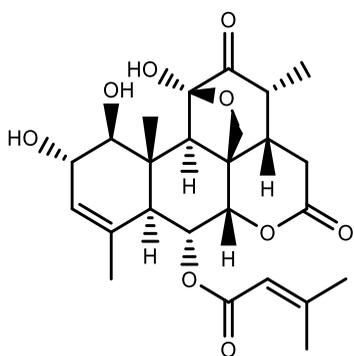
R=
cedronolactona A (24)



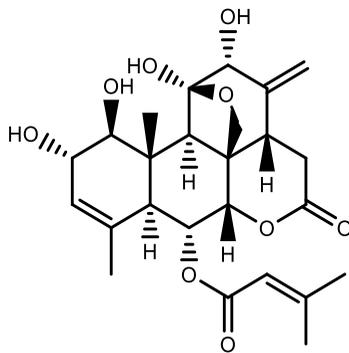
R=
simalikalactona D (23)



R=
gutolactona (25)
R=H samaderina Z (26)



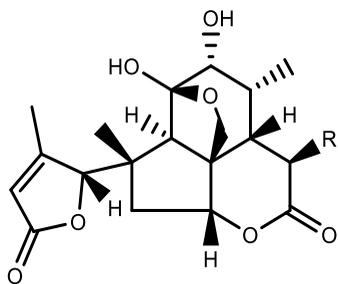
12-desidro-6 α -senecioloixi-chaparrina (27)



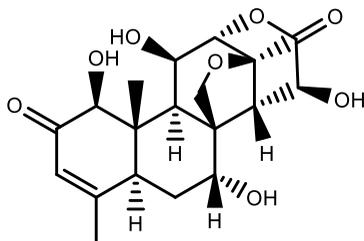
13,18-desidro-6 α -senecioloixi-chaparrina (28)

(continua)

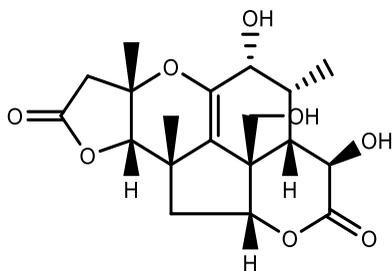
(continuação)



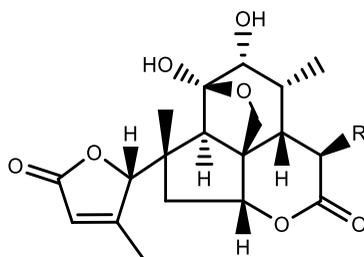
R=H cedronolactona B (29)
R=OH cedronolactona C (30)



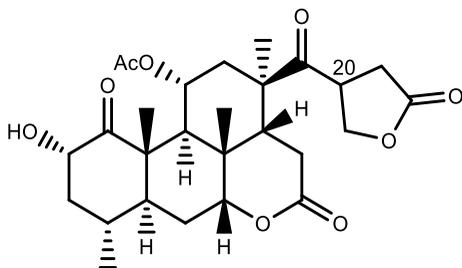
cedronolactona D (31)



cedronolactona E (32)



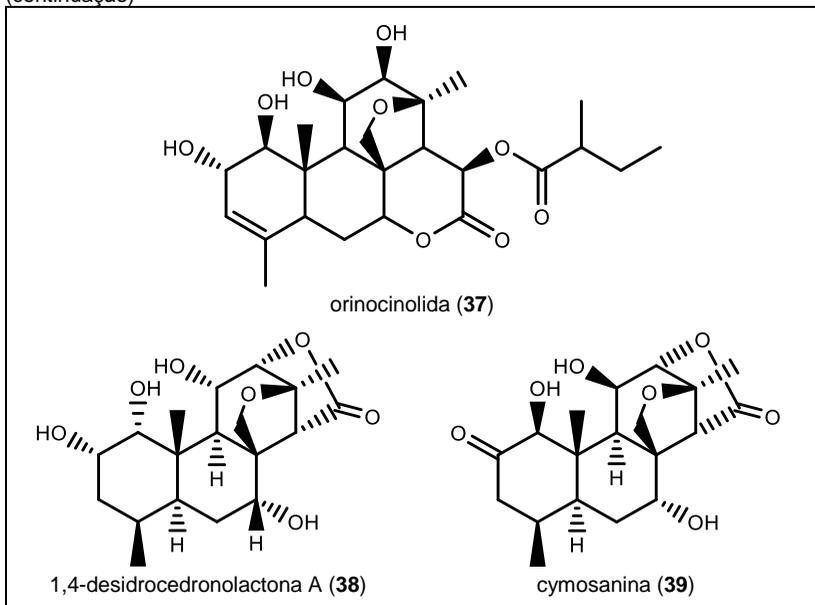
R=H poliandrol (33)
R=OH ailanquassina A (34)



20(*R*)-simarolida (35)
20(*S*)-simarolida (36)

(continua)

(continuação)



Quadro 2 – Quassinoides isolados de espécies do gênero *Simaba*

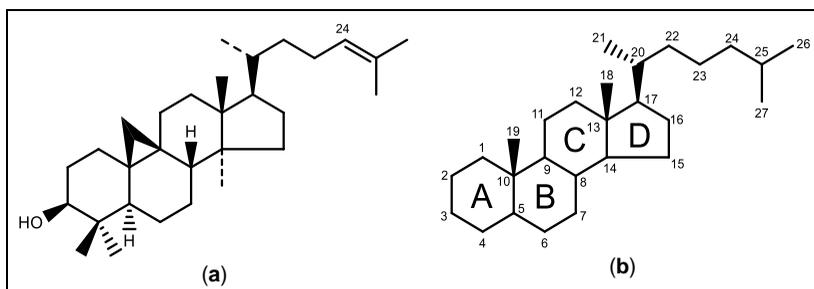
2.2.1.2 Terpenos e esteroides

Os terpenoides formam uma larga e diversa família de produtos naturais estruturalmente derivados de unidades de isopreno, sintetizado pelas plantas, que se juntam na forma de cabeça-cauda ou cabeça-cabeça, seguido de uma série de ciclizações e rearranjos para produzirem os esqueletos básicos classificados como hemiterpenos (C₅), monoterpenos (C₁₀), sesquiterpenos (C₁₅), diterpenos (C₂₀), sesterterpenos (C₂₅), triterpenos (C₃₀) e tetraterpenos (C₄₀). Uma variedade de oxidações, reduções, isomerizações, conjugações e outras transformações, vão originar milhares de metabólitos terpênicos distintos (DEWICK, 2009; ASHOUR et al., 2010).

Os esteroides **(b)** (Quadro 3), são triterpenos modificados, formados a partir da oxidação do esqualeno (óxido de esqualeno), que sofre

rearranjos e ciclizações formando o cátion protosteril. A perda de um próton em C-10 leva a formação do precursor **(a)** cicloartenol (**Quadro 3**), contendo um anel ciclopropânico. Durante esse processo há uma perda adicional de três metilas, duas em C-4 e uma em C-14, gerando a estrutura básica dos esteroides. Para muitos esteroides de plantas, o anel ciclopropânico é reaberto. A maioria dos triterpenos e esteroides apresentam uma hidroxila na posição 3, originário do epóxido formado a partir da oxidação do esqualeno (DEWICK, 2009).

Neste tópico, trataremos apenas de triterpenos e esteroides isolados de espécies do gênero *Simaba*, publicados conforme **Tabela 2**.



Quadro 3 – Estrutura do cicloartenol (a); Estrutura básica dos esteroides (b)

Tabela 2 – Triterpenos e esteroides isolados de espécies do gênero *Simaba*

SUBSTÂNCIA (Nº DA ESTRUTURA)	ESPÉCIE VEGETAL	PARTE DA PLANTA	REFERÊNCIA
3S, 23R, 25- trihidroxitirucal-7-en-24- ona (40)	<i>S. multiflora</i>	caule	ARISAWA et al., 1987
hispidol B (41)	<i>S. multiflora</i>	caule	ARISAWA et al., 1987
3-O-β-glicopiranosil- sitosterol (42)	<i>S. multiflora</i>	caule	ARISAWA et al., 1983b
	<i>S. obovata</i>	folhas e caule	DUTRA et al., 1992
3-O-β-glicopiranosil- estigmasterol (43)	<i>S. cuneata</i>	caule	CURCINO VIEIRA, 1995 <i>apud</i> BARBOSA et al., 2011

(continua)

(continuação)

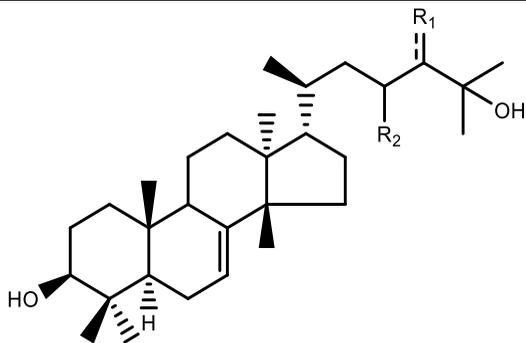
SUBSTÂNCIA (Nº DA ESTRUTURA)	ESPÉCIE VEGETAL	PARTE DA PLANTA	REFERÊNCIA
3-oxotirucalla-7,24- dieno (44)	<i>S. cuneata</i>	caule	RODRIGUES-FILHO et al., 1992
3,21-dioxotirucalla- 7,24-dieno (45)	<i>S. cuneata</i>	caule	RODRIGUES-FILHO et al., 1992
betulina (46)	<i>S. obovata</i>	folhas e caule	DUTRA et al., 1992
α -amirina (47)	<i>S. obovata</i>	folhas e caule	DUTRA et al., 1992
β -amirina (48)	<i>S. obovata</i>	folhas e caule	DUTRA et al., 1992
sitosterol (49)	<i>S. obovata</i>	folhas e caule	DUTRA et al., 1992
	<i>S. cedron</i>	caule	CURCINO VIEIRA, 1995 <i>apud</i> BARBOSA et al., 2011
	<i>S. ferruginea</i>	folhas	NOLDIN, 2005
estigmasterol (50)	<i>S. cuneata</i>	caule	CURCINO VIEIRA, 1995 <i>apud</i> BARBOSA et al., 2011
	<i>S. cedron</i>	caule	CURCINO VIEIRA, 1995 <i>apud</i> BARBOSA et al., 2011
campesterol (51)	<i>S. cuneata</i>	caule	CURCINO VIEIRA, 1995 <i>apud</i> Barbosa et al., 2011
	<i>S. cedron</i>	caule	CURCINO VIEIRA, 1995 <i>apud</i> BARBOSA et al., 2011
campestenona (52)	<i>S. cuneata</i>	caule	CURCINO VIEIRA, 1995 <i>apud</i> BARBOSA et al., 2011
sitostenona (53)	<i>S. cuneata</i>	caule	CURCINO VIEIRA, 1995 <i>apud</i> BARBOSA et al., 2011
estigmastenona (54)	<i>S. cuneata</i>	caule	CURCINO VIEIRA, 1995 <i>apud</i> BARBOSA et al., 2011
niloticina (55)	<i>S. cedron</i>	caule	CURCINO VIEIRA, 1995 <i>apud</i> BARBOSA et al., 2011
	<i>S. polyphylla</i>	galhos	SARAIVA et al., 2006

(continua)

(continuação)

SUBSTÂNCIA (Nº DA ESTRUTURA)	ESPÉCIE VEGETAL	PARTE DA PLANTA	REFERÊNCIA
diidroniloticina (56)	<i>S. cedron</i>	caule	CURCINO VIEIRA, 1995 <i>apud</i> BARBOSA et al., 2011
	<i>S. polyphylla</i>	galhos	SARAIVA et al., 2006
piscidinol A (57)	<i>S. cedron</i>	caule	CURCINO VIEIRA, 1995 <i>apud</i> BARBOSA et al., 2011
	<i>S. guianensis</i> subesp. <i>ecaadata</i>	galhos	NUNOMURA et al., 2012
23,24,25-trihidroxitirucal- 7-en-3-ona (58)	<i>S. cedron</i>	caule	CURCINO VIEIRA, 1995 <i>apud</i> BARBOSA et al., 2011
bourjutinolona A (59)	<i>S. cedron</i>	caule	CURCINO VIEIRA, 1995 <i>apud</i> BARBOSA et al., 2011
13,30-ciclodamarano-3, 7,21,23,25-pentol, 21, 23-epoxi-, 3-(2-metil-2- butenoato), [3 α (E),7 α , 17 α ,20S,21S,23R] (60)	<i>Quassia multiflora</i> (sin. <i>S. multiflora</i>)	raízes	MILLER et al., 1995a
quassiol A (61)	<i>Quassia multiflora</i> (sin. <i>S. multiflora</i>)	raízes	MILLER et al., 1995b
quassiol B (62)	<i>Quassia multiflora</i> (sin. <i>S. multiflora</i>)	raízes	MILLER et al., 1995b
quassiol C (63)	<i>Quassia multiflora</i> (sin. <i>S. multiflora</i>)	raízes	MILLER et al., 1995b
quassiol D (64)	<i>Quassia multiflora</i> (sin. <i>S. multiflora</i>)	raízes	MILLER et al., 1995b
ácido 3-oxo-urs-12-en- 27 α , 28-dioico (65)	<i>Quassia africana</i> (sin. <i>S. africana</i>)	caule	AJAIYEoba; KREBS, 2003
ácido 3 β -hidroxi-urs-12- en-27 α , 28-dioico (66)	<i>Quassia africana</i> (sin. <i>S. africana</i>)	caule	AJAIYEoba; KREBS, 2003
taraxerona (67)	<i>S. polyphylla</i>	galhos	SARAIVA et al., 2006

As estruturas dos triterpenos e esteroides isolados dessas espécies são mostradas no **Quadro 4**.

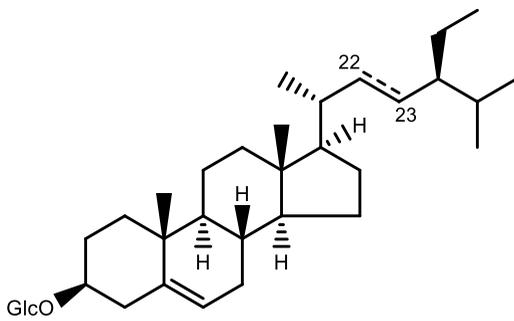


$R_1=O$; $R_2= \beta\text{-OH}, \alpha\text{-H}$

3*S*, 23*R*, 25-trihydroxitirucal-7-en-24-ona (**40**)

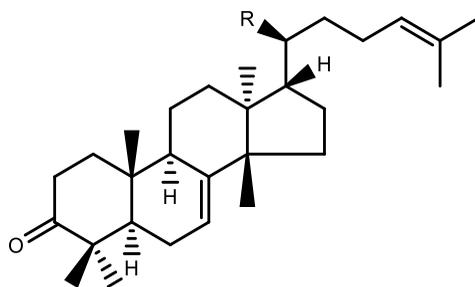
$R_1=\beta\text{-OH}, \alpha\text{-H}$; $R_2=\alpha\text{-OH}, \beta\text{-H}$

3*S*, 23*S*, 24*R*, 25-tetrahydroxitirucal-7-eno (hispidol B) (**41**)



3-O- β -glicopiranosil-sitosterol [22,23 diidro] (**42**)

3-O- β -glicopiranosil-estigmasterol [$\Delta^{22,23}$] (**43**)

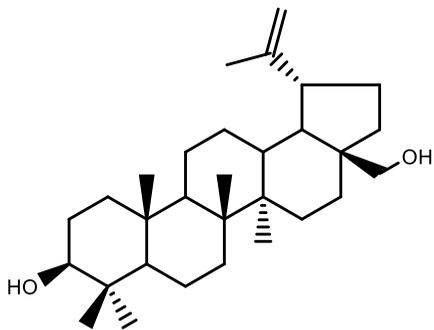


$R=\text{CH}_3$ 3-oxotirucalla-7,24-dieno (**44**)

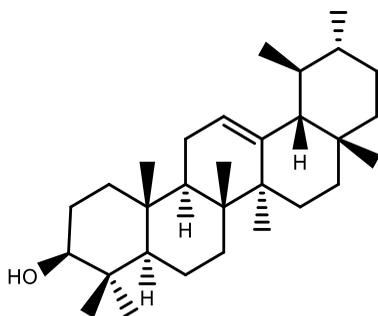
$R=\text{CHO}$ 3,21-dioxotirucalla-7,24-dieno (**45**)

(continua)

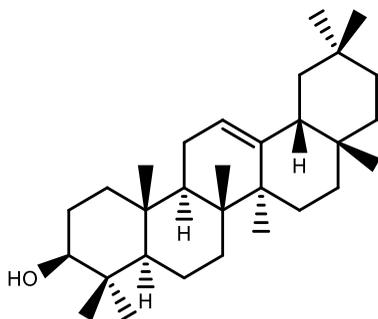
(continuação)



betulina (46)



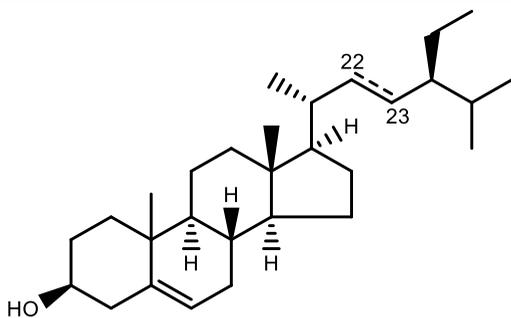
α -amirina (47)



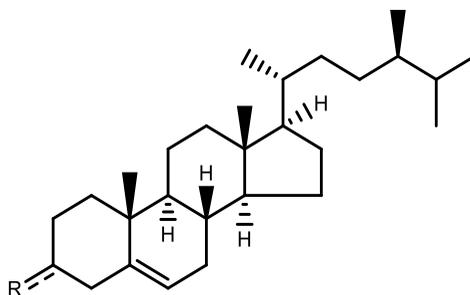
β -amirina (48)

(continua)

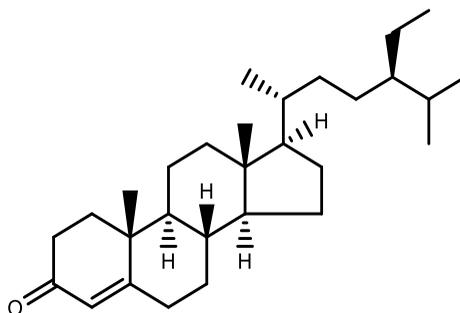
(continuação)



sitosterol [22,23 diidro] (49)
estigmasterol [$\Delta^{22,23}$] (50)



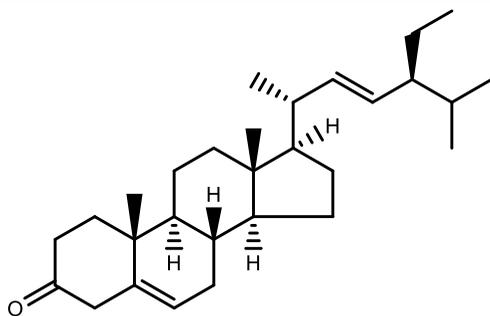
R= β -OH, α -H campesterol (51)
R=O campestenona (52)



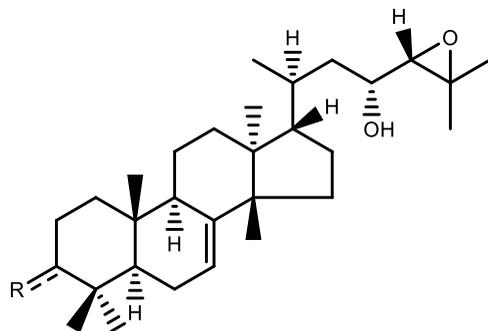
sitostenona (53)

(continua)

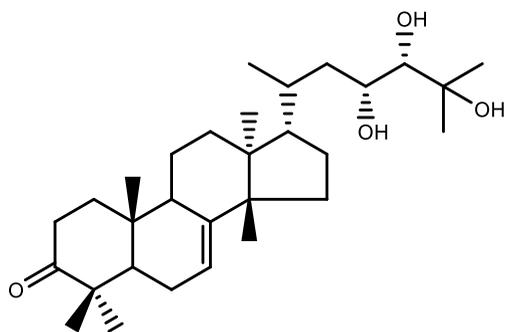
(continuação)



stigmasterona (54)



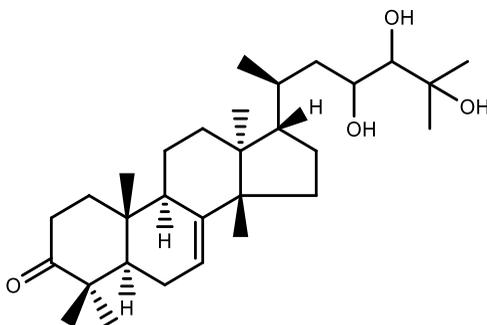
R=O niloticina (55)
R= β -OH; α -H diidroniloticina (56)



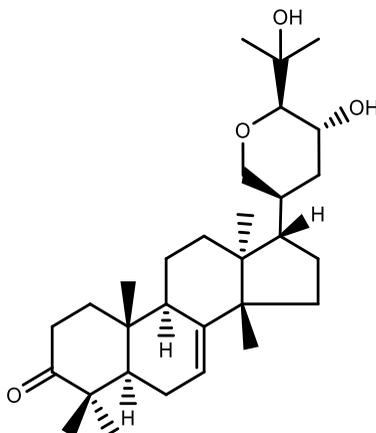
piscidinol A (57)

(continua)

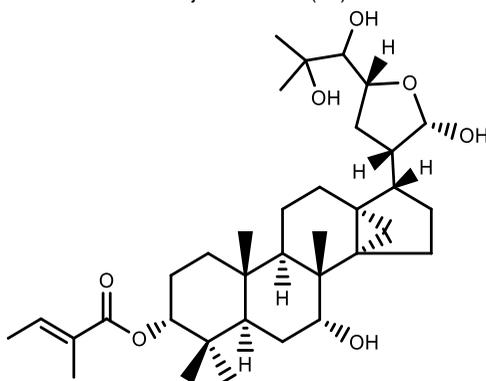
(continuação)



23,24,25-trihidroxitirucal-7-en-3-ona (**58**)



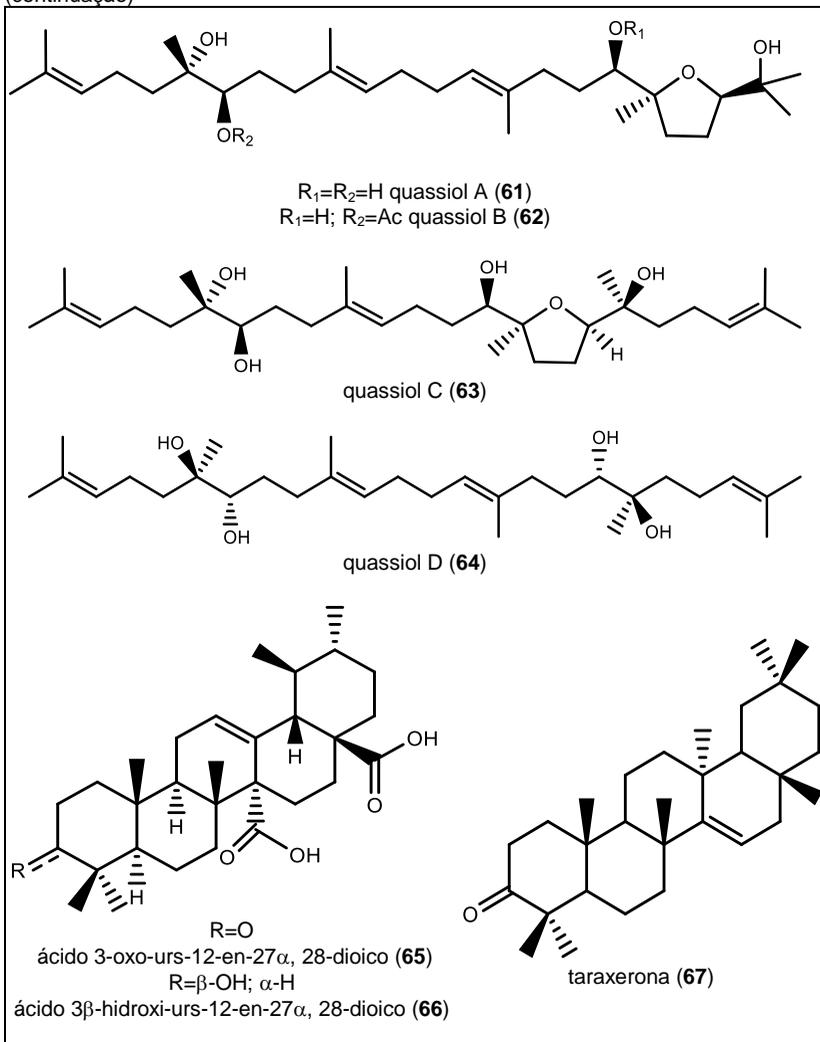
bourjutinolona A (**59**)



13,30-ciclodamarano-3,7,21,23,25-pentol, 21,23-epoxi, 3-(2-metil-2-butenoato),
[3 α (E),7 α ,17 α ,20S,21S,23R] (**60**)

(continua)

(continuação)



Quadro 4 – Triterpenos e esteroides isolados de espécies do gênero *Simaba*

2.2.1.3 Alcaloides

Alcaloides cantinônicos e β -carbolínicos já foram isolados de espécies do gênero *Simaba*, sendo mais comuns os alcaloides cantinônicos (LUMONADIO; VANHAELEN, 1986; AJAYEOBA et al., 1995; BARBOSA et al., 2011).

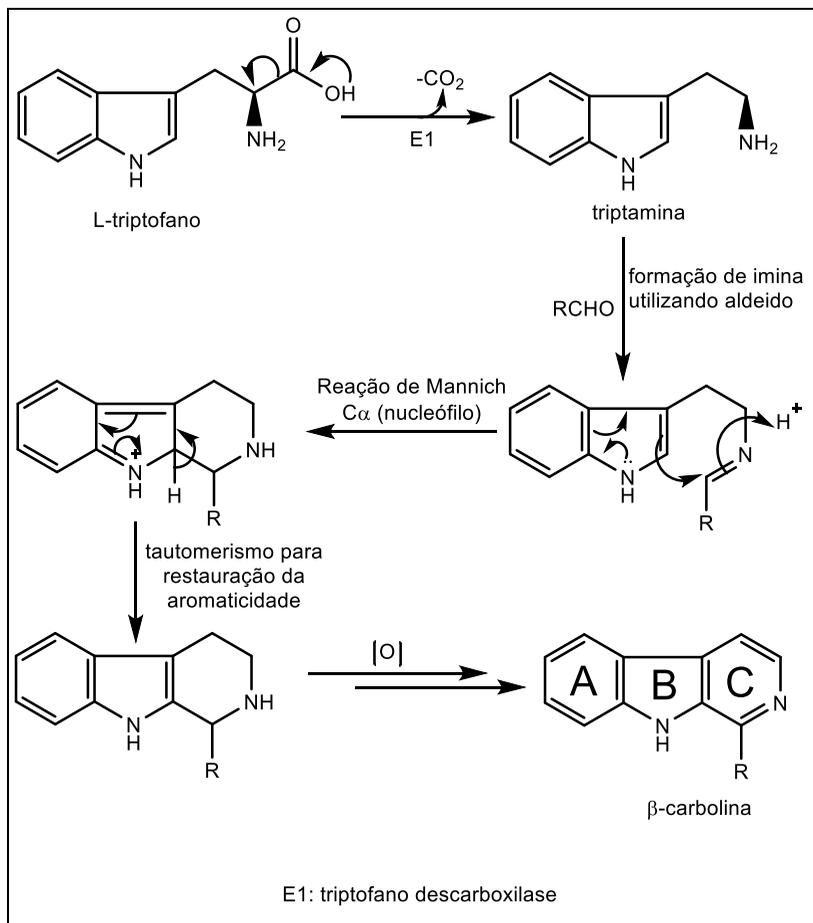
Dai e colaboradores (2016) consideram os alcaloides cantinônicos como uma subclasse dos alcaloides β -carbolínicos, com um anel D adicional. Mais de 60 alcaloides desse tipo já foram descritos na literatura desde que foram isolados de produtos naturais pela primeira vez por Haynes e colaboradores (1952).

A rota biossintética de alcaloides β -carbolínicos exemplifica a formação de um novo anel heterocíclico de 6 membros a partir da cadeia lateral etilamina da triptamina, após a descarboxilação do aminoácido triptofano. O carbono α do sistema indólico é um bom nucleófilo devido a presença do nitrogênio adjacente que pode atacar a imina formada a partir da triptamina e aldeído (ou cetoácido). A aromaticidade é restaurada com a consequente perda de próton em C-2 e subsequente oxidação levando a formação de β -carbolina (**Esquema 2**) (DEWICK, 2009).

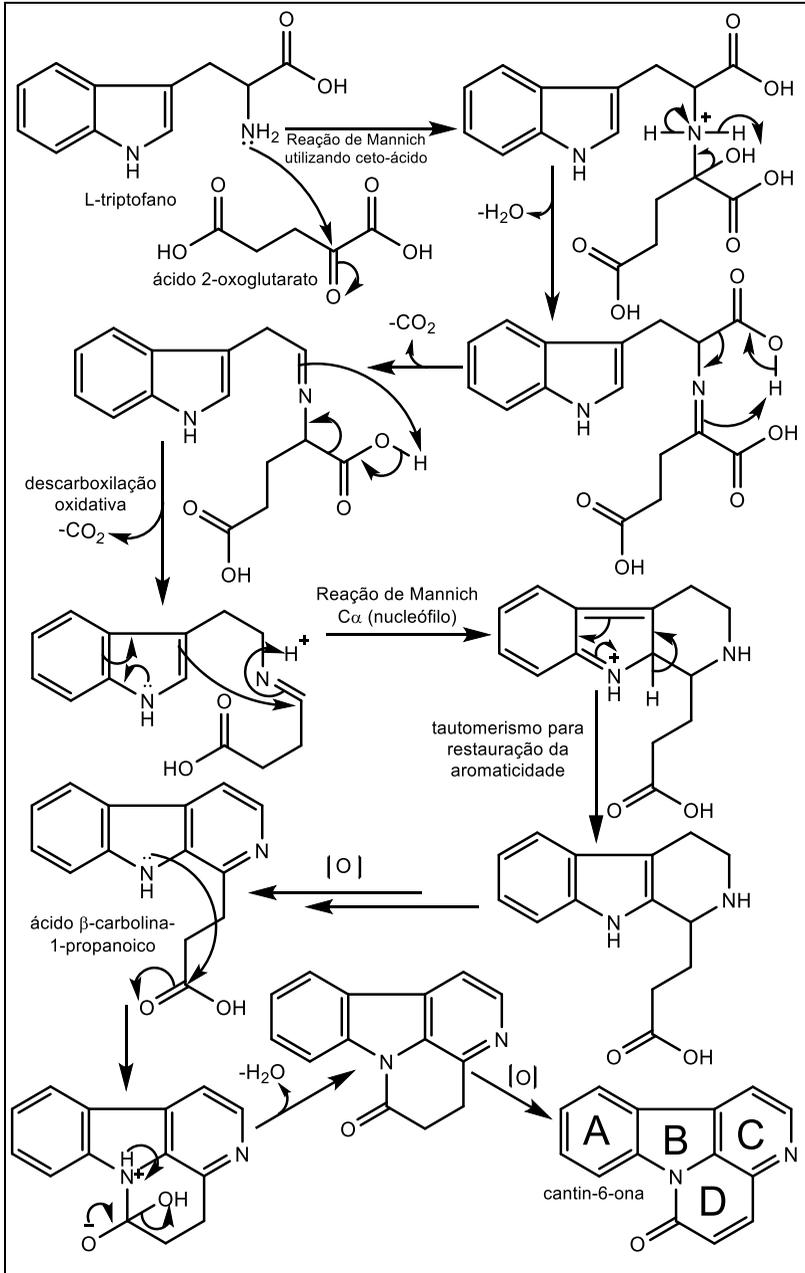
A rota biossintética dos alcaloides cantinônicos foi descrita pela primeira vez por Crespi-Perelli e colaboradores (1986), a partir da cultura de células de *Ailanthus altissima* (Simaroubaceae) demonstrando a sequência biossintética da produção desses alcaloides a partir do aminoácido triptofano como precursor da rota, levando a produção principalmente de cantin-6-ona (**68**). Mais tarde, essa rota foi confirmada experimentalmente por Aragozzini e colaboradores (1988) que evidenciaram o envolvimento do ácido 2-oxoglutarato (cetoglutarato) (**Esquema 3**).

No gênero *Simaba*, os primeiros alcaloides desse tipo foram isolados do extrato etanólico da casca do caule de *Simaba cuspidata* Spruce ex Engl. caracterizados como 3-metoxicantin-2,6-diona (**72**) e 8-metoxicantin-6-ona (**75**), sendo um de coloração vermelha e outro amarela, respectivamente (GIESBRECHT et al., 1980).

Diversos outros alcaloides cantinônicos e β -carbolínicos foram isolados de espécies do gênero *Simaba*, conforme **Tabela 3**, e suas estruturas são apresentadas no **Quadro 5**.



Esquema 2 – Rota biossintética dos alcaloides β -carbolínicos (DEWICK, 2009).



Esquema 3 – Rota biossintética dos alcaloides cantinônicos (GRESPI-PERELLI et al., 1986; ARAGOZZINI et al., 1988; DEWICK, 2009).

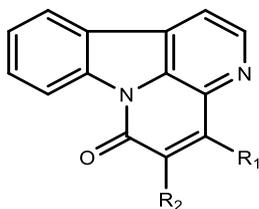
Tabela 3 – Alcaloides isolados de espécies do gênero *Simaba*

SUBSTÂNCIA (Nº DA ESTRUTURA)	ESPÉCIE VEGETAL	PARTE DA PLANTA	REFERÊNCIA
cantin-6-ona (68)	<i>Quassia africana</i> (sin. <i>S. africana</i>)	casca da raiz	LUMONADIO; VANHAELEN, 1986
	<i>S. cedron</i>	frutos e sementes	CURCINO VIEIRA, 1995 <i>apud</i> BARBOSA et al., 2011
	<i>S. ferruginea</i>	rizomas	NOLDIN, 2005; NOLDIN et al., 2005; CUNHA et al., 2008
	<i>S. paraensis</i>	casca do caule	RAMOS et al., 2017
4,5-dimetoxicantin-6-ona (69)	<i>Quassia africana</i> (sin. <i>S. africana</i>)	casca da raiz	LUMONADIO; VANHAELEN, 1986
	<i>S. paraensis</i>	casca do caule	RAMOS et al., 2017
5-metoxicantin-6-ona (70)	<i>Quassia africana</i> (sin. <i>S. africana</i>)	casca da raiz	AYAFOR et al., 1993
	<i>S. cedron</i>	frutos e sementes	CURCINO VIEIRA, 1995 <i>apud</i> BARBOSA et al., 2011
4-metiltiocantin-6-ona (71)	<i>Quassia africana</i> (sin. <i>S. africana</i>)	casca da raiz	AYAFOR et al., 1993
3-metoxicantin-2,6-diona (72)	<i>S. cuspidata</i>	casca do caule	GIESBRECHT et al., 1980
	<i>S. multiflora</i>	caule	ARISAWA et al., 1983a
10-hidroxi-3-metoxicantin-2,6-diona (73)	<i>S. multiflora</i>	caule	ARISAWA et al., 1983a
cantin-2,6-diona (74)	<i>S. multiflora</i>	caule	ARISAWA et al., 1983a
	<i>S. cuneata</i>	caule	CURCINO VIEIRA, 1995 <i>apud</i> BARBOSA et al., 2011
8-metoxicantin-6-ona (75)	<i>S. cuspidata</i>	casca do caule	GIESBRECHT et al., 1980
9-metoxicantin-6-ona (76)	<i>S. multiflora</i>	casca do caule subterrâneo	POLONSKY et al., 1982
	<i>S. polyphylla</i>	galhos	SARAIVA et al., 2006
	<i>S. guianensis</i> subesp. <i>ecaadata</i>	galhos	NUNOMURA et al., 2012
	<i>S. paraensis</i>	casca do caule	Ramos et al., 2017
10-metoxicantin-6-ona (77)	<i>S. multiflora</i>	caule	ARISAWA et al., 1983a

(continua)

(continuação)

SUBSTÂNCIA (Nº DA ESTRUTURA)	ESPÉCIE VEGETAL	PARTE DA PLANTA	REFERÊNCIA
10-hidroxicantin-6-ona (78)	<i>S. multiflora</i>	caule	ARISAWA et al., 1983a
8-hidroxicantin-6-ona (79)	<i>S. multiflora</i>	caule	ARISAWA et al., 1985
ácido β-carbolina-1- propanoico (80)	<i>Quassia africana</i> (sin. <i>S. africana</i>)	casca da raiz	LUMONADIO; VANHAELLEN, 1986
crenatina (81)	<i>Quassia undulata</i> (sin. <i>S. undulata</i>)	cerne do caule	AJAYEOBA et al., 1995
3-metilcantin-5,6-diona (82)	<i>S. cedron</i>	frutos e sementes	CURCINO VIEIRA, 1995 <i>apud</i> BARBOSA et al., 2011
4-metoxicantin-6-ona (83)	<i>S. ferruginea</i>	rizomas	NOLDIN, 2005; NOLDIN et al., 2005; CUNHA et al., 2008
1-hidroxi-3-metilcantin- 2,6-diona (84)	<i>S. cuneata</i>	caule	CURCINO VIEIRA, 1995 <i>apud</i> BARBOSA et al., 2011
1-metoxi-3-metilcantin- 2,6-diona (85)	<i>S. cuneata</i>	caule	CURCINO VIEIRA, 1995 <i>apud</i> BARBOSA et al., 2011
3-metilcantin-2,6-diona (86)	<i>S. cuneata</i>	caule	CURCINO VIEIRA, 1995 <i>apud</i> BARBOSA et al., 2011
6-metoxi-(9H-β-carbolin- 1-il)-(Z)-prop-2-enoico (87)	<i>S. guianensis</i> subesp. <i>ecaudata</i>	galhos	NUNOMURA et al., 2012

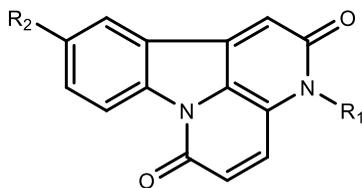


R₁=R₂=H cantin-6-ona (68)

R₁=R₂=OCH₃ 4,5-dimetoxicantin-6-ona (69)

R₁=H; R₂=OCH₃ 5-metoxicantin-6-ona (70)

R₁=SCH₃; R₂=H 4-metiltiocantin-6-ona (71)



R₁=OCH₃; R₂=H

3-metoxicantin-2,6-diona (72)

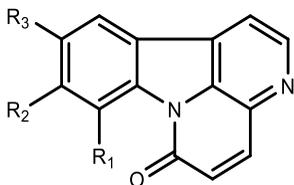
R₁=OCH₃; R₂=OH

10-hidroxi-3-metoxicantin-2,6-diona (73)

R₁=R₂=H cantin-2,6-diona (74)

(continua)

(continuação)



$R_1=OCH_3$; $R_2=R_3=H$ 8-metoxicantín-6-ona (**75**)

$R_1=H$; $R_2=OCH_3$; $R_3=H$

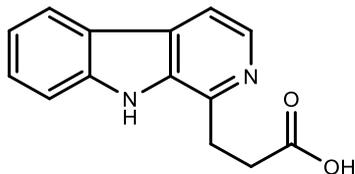
9-metoxicantín-6-ona (**76**)

$R_1=R_2=H$; $R_3=OCH_3$

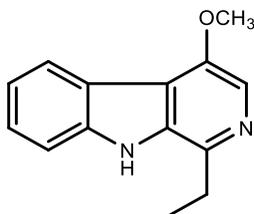
10-metoxicantín-6-ona (**77**)

$R_1=R_2=H$; $R_3=OH$ 10-hidroxicantín-6-ona (**78**)

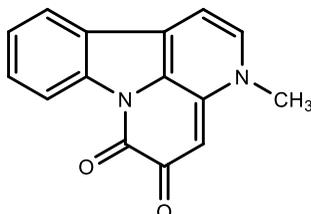
$R_1=OH$; $R_2=R_3=H$ 8-hidroxicantín-6-ona (**79**)



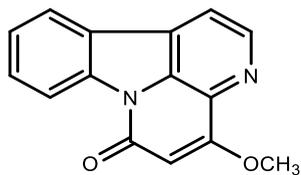
ácido β -carbolina-1-propanoico
(**80**)



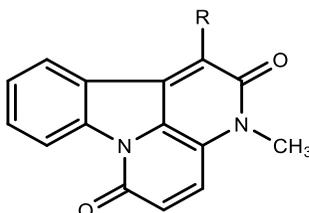
crenatina (**81**)



3-metilcantine-5,6-diona (**82**)



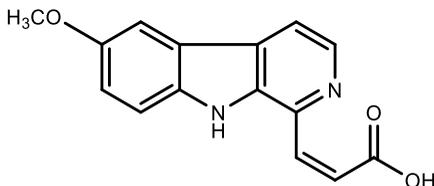
4-metoxicantín-6-ona (**83**)



$R=OH$ 1-hidroxi-3-metilcantine-2,6-diona (**84**)

$R=OCH_3$ 1-metoxi-3-metilcantine-2,6-diona (**85**)

$R=H$ 3-metilcantine-2,6-diona (**86**)

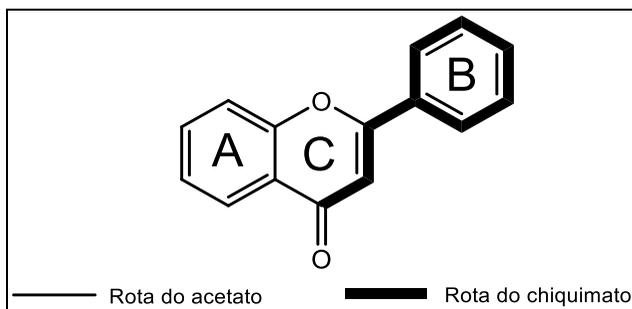


6-metoxi-(9H- β -carbolina-1-il)-(Z)-prop-2-enoico (**87**)

Quadro 5 – Alcaloides isolados de espécies do gênero *Simaba*

2.2.1.4 Flavonoides

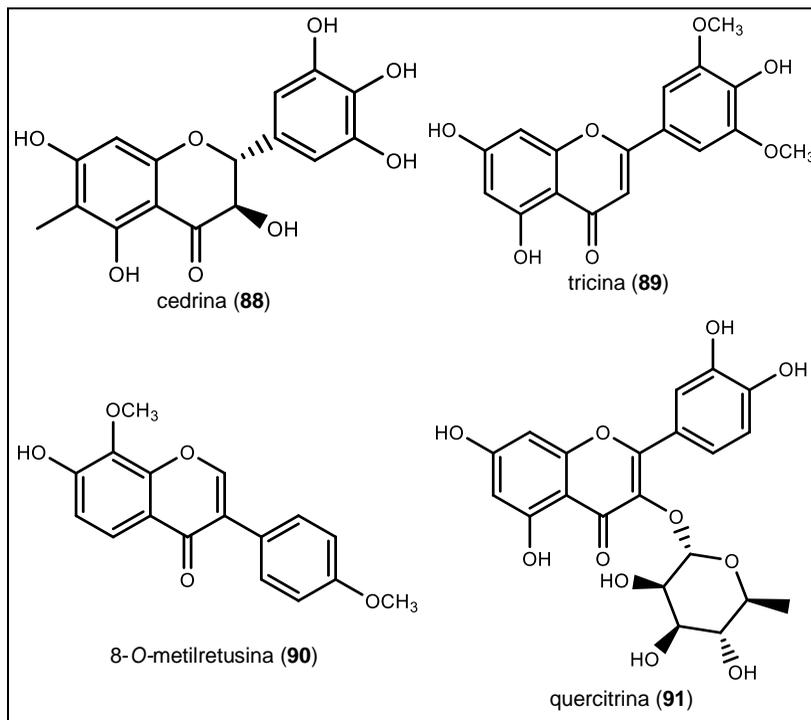
Os flavonoides são unidades $C_6-C_3-C_6$ oriundas biossinteticamente de duas rotas distintas, a do chiquimato e do acetato. Da rota do chiquimato, os aminoácidos fenilalanina e tirosina formam as unidades básicas dos fenilpropanoides (C_6-C_3), precursores dos flavonoides (anel B). A partir do cinamoil-CoA (C_6-C_3), a cadeia é estendida com três moléculas de malonil-CoA, oriundas da rota do acetato, para ciclizar e formar o anel A. A maioria dos flavonoides possuem um anel heterocíclico de 6 membros (anel C) (Quadro 6), formado a partir do ataque nucleofílico da hidroxila fenólica à insaturação da chalcona formada pela enolização de Claisen (DEWICK, 2009).



Quadro 6 – Esqueleto básico dos flavonoides

Os flavonoides são largamente encontrados no reino vegetal. No gênero *Simaba*, o flavonoide cedrina (**88**) foi obtido das sementes de *Simaba cedron* (KREBS; RUBER, 1960; CURCINO VIEIRA et al., 1998) *apud* (BARBOSA et al., 2011). Os flavonoides tricina (**89**) e 8-O-metilretusina (**90**) foram isolados do caule de *S. multiflora* (ARISAWA et al., 1985; 1987) e quercitrina (**91**) foi isolado das folhas de *Simaba ferruginea* (NOLDIN, 2005).

As estruturas dos flavonoides isolados de espécies do gênero *Simaba* são mostradas no **Quadro 7**.



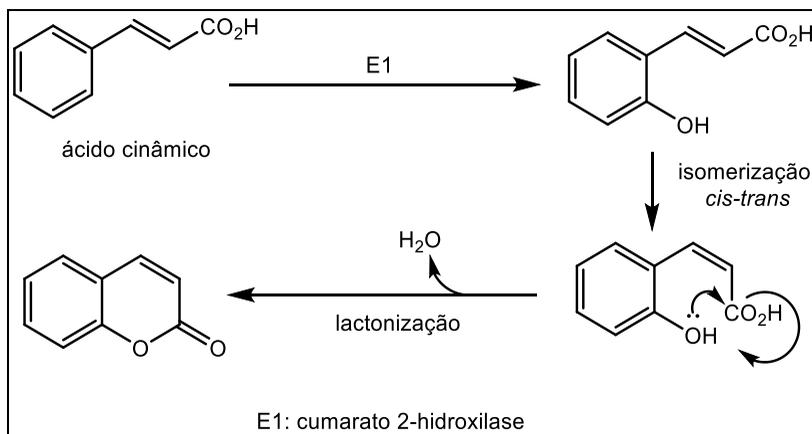
Quadro 7 – Flavonoides isolados de espécies do gênero *Simaba*

2.2.1.5 Cumarinas

As cumarinas são oriundas da rota biossintética do chiquimato a partir dos aminoácidos felilalanina e tirosina, principais precursores para formar os fenilpropanoides, unidades C₆-C₃. São lactonas derivadas do ácido cinâmico (C₆-C₃) a partir da sua hidroxilação em *orto* à cadeia lateral (**Esquema 4**). As cumarinas são amplamente distribuídas do reino vegetal, nas formas livres ou glicosídicas (DEWICK, 2009).

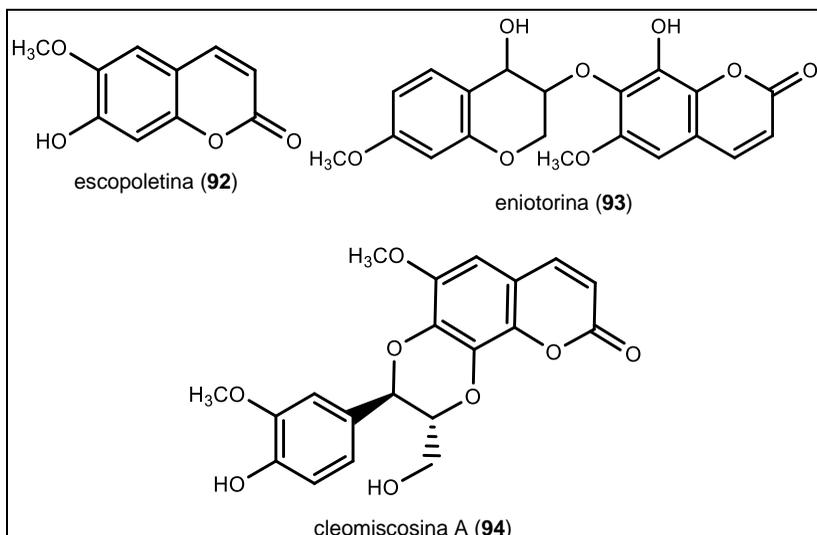
No gênero *Simaba*, a cumarina escopoletina (**92**) foi isolada do extrato etanólico do caule de *Simaba multiflora* (ARISAWA et al., 1983a), da casca das raízes de *Simaba cedron* (CURCINO VIEIRA, 1995 *apud* BARBOSA et al., 2011) e da casca das raízes e do caule de *Quassia undulata* (sin. *Simaba undulata*) (ADESANWO et al., 2009).

A cumarina eniotorina (**93**) foi isolada da casca das raízes de *Quassia undulata* (sin. *Simaba undulata*) (ADESANWO et al., 2009) e do extrato etanólico do caule de *Simaba multiflora* (ARISAWA et al., 1983a; 1984). A cumarina lignosídica cleomiscosina A (**94**) foi isolada do extrato etanólico do caule de *Simaba multiflora* (ARISAWA et al., 1983a; 1984).



Esquema 4 – Formação do esqueleto básico das cumarinas (DEWICK, 2009)

As estruturas das cumarinas isoladas do gênero *Simaba* são mostradas no **Quadro 8**.



Quadro 8 – Cumarinas isoladas de espécies do gênero *Simaba*

2.2.1.6 Outros metabólitos isolados de espécies do gênero *Simaba*

Diversos outros metabólitos foram isolados do gênero *Simaba*. Do caule de *S. multiflora* foram isoladas a antraquinona emodina (**95**) e o ácido vanílico (**96**) (ARISAWA et al., 1985; 1987).

Do extrato etanólico do caule e das folhas de *Simaba obovata* foram isolados o ácido gálico (**97**), as antraquinonas 9,10-antraquinona (**98**) e 1,5 diidroxil-3-metil-7-metoxiantraquinona (**99**), além de *mio*-inositol (**100**), 1-O-β-D-etilglicose (**101**), β-(*p*-hidroxifenil) etanol (**102**) e α-tocoferol (**103**) (DUTRA et al., 1992).

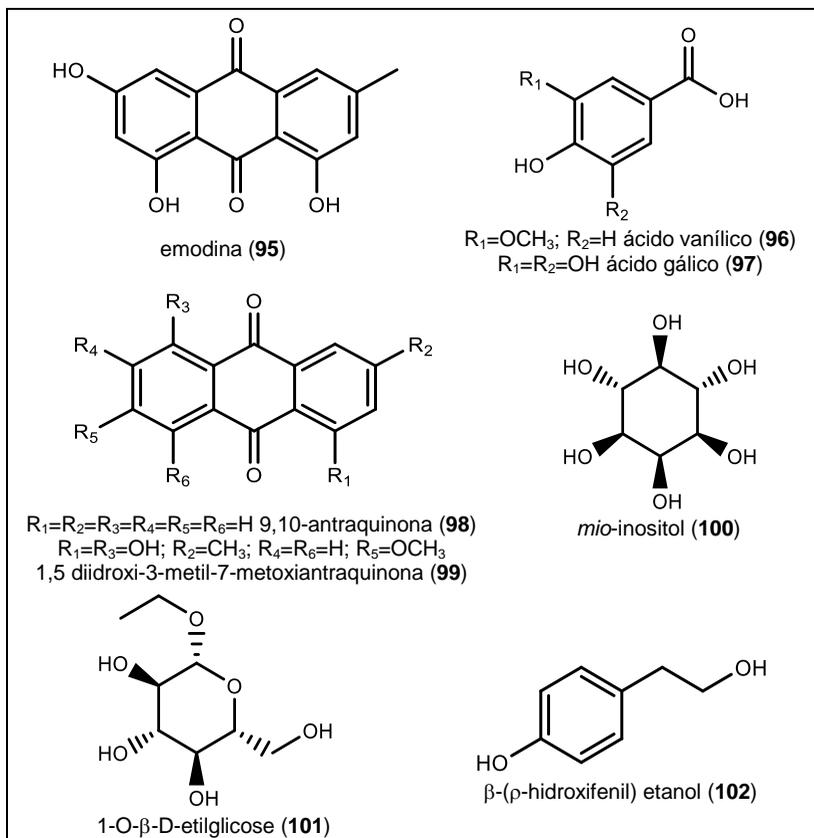
Uma mistura de lignanas aciladas em C-9 e C-9' com ácido dodecanoicos, tetradecanoico e hexadecanoico (**104**, **105**, **106**) foram isolados do caule de *Simaba cuneata*, que após hidrolisadas resultaram em secoisolariciresinol (**107**) (RODRIGUES-FILHO et al., 1992).

Alguns óleos essenciais extraídos das raízes de *Simaba moiana* Casar foram analisados por CG/MS, e os maiores constituintes identificados foram precoceno I (**108**), β -cariofileno (**109**) e geranial (**110**) (ARRIAGA et al., 1998).

O sesquiterpeno óxido de cariofileno (**111**), foi isolado através do fracionamento cromatográfico do extrato hexânico dos galhos de *S. guianensis* subesp. *ecaudata* (NUNOMURA et al., 2012).

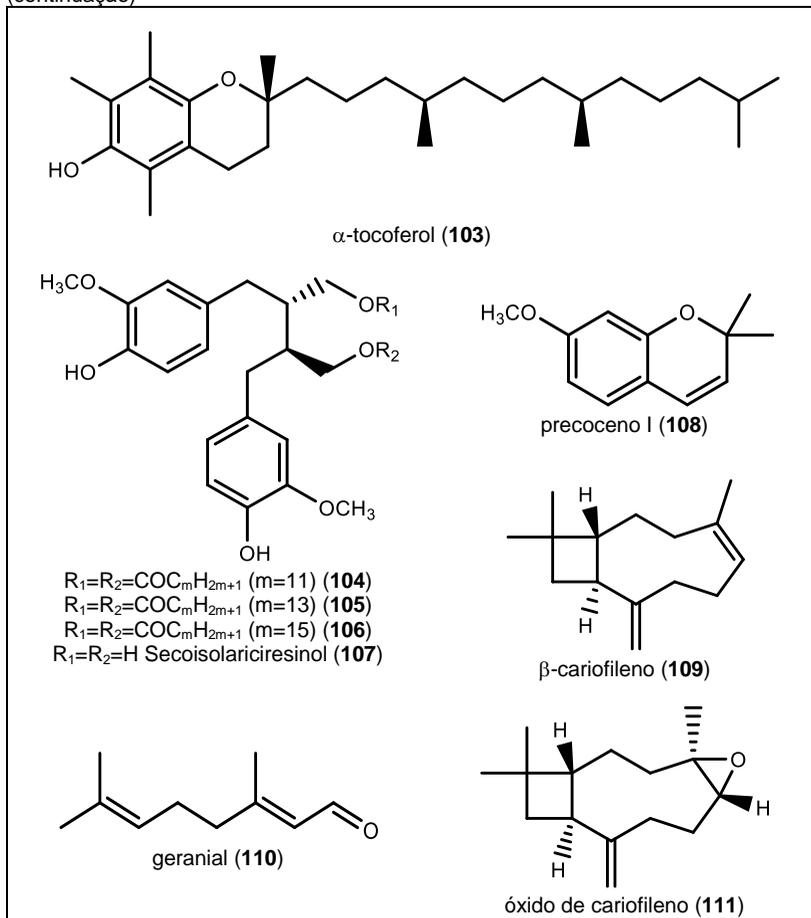
As estruturas dos metabólitos descritos acima são mostradas no

Quadro 9.



(continua)

(continuação)



Quadro 9 – Outros metabólitos isolados de espécies do gênero *Simaba*

2.3 A Espécie *Simaba trichilioides* A. St.-Hil.

Simaba trichilioides A. St.-Hil., conhecida popularmente como calunga, é uma angiosperma do gênero *Simaba*, da família Simaroubaceae. Apresenta sinonímia com *Quassia trichilioides* (A. St.-Hil.) D. Dietr., *Zwingera*

trichilioides (A. St.-Hil.) Spreng. (PIRANI; THOMAS, 2015c) e *Homalolepis trichilioides* (A. St.-Hil.) Devecchi & Pirani (DEVECCHI et al., 2018b).

Arbusto terrícola, nativo do Cerrado brasileiro, com cerca de 1 metro de altura, ramos eretos, espessos, os mais jovens, e ferrugíneo-pilosos. Folhas pari ou imparipenadas, adensadas no ápice dos ramos. Panícula de 1 metro ou mais de altura, ferrugíneo-pubérula, ramos arqueados para cima e râmulos racemiformes. Flores branco-esverdeadas dispostas em fascículos mais ou menos irregulares (CAVALCANTE, 1983) (**Figura 1**).



Figura 1 – *Simaba trichilioides* (calunga)

Apresenta período de floração de maio a novembro (Brasil) e dezembro (Paraguai). Presente no Cerrado, Caatinga e outros tipos de vegetação subxerófila (CAVALCANTE, 1983). Espécie endêmica da América do Sul, onde há registros no Brasil, Paraguai e Venezuela (**Figura 2**) (GBIF.org, 2017).

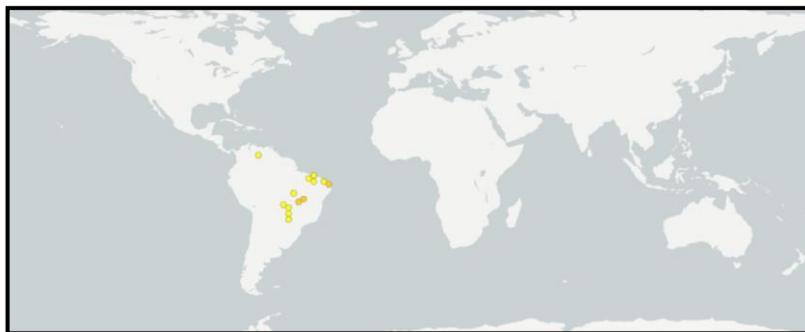


Figura 2 – Localização global da espécie *Simaba trichilioides* (GBIF.org. Disponível em: <<https://www.gbif.org/species/7833605>>).

No Brasil (**Figura 3**), há registros confirmados no Nordeste (Ceará, Piauí e Rio Grande do Norte), Centro-Oeste (Goiás, Mato Grosso do Sul e Mato Grosso) e Sudeste (Minas Gerais) (PIRANI; THOMAS, 2015c).

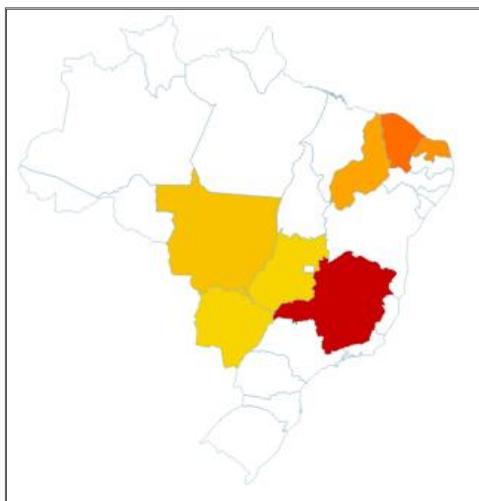


Figura 3 – Distribuição da espécie *Simaba trichilioides* no Brasil (Flora do Brasil 2020. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB1378>>).

Não há registros na literatura, de estudos químicos ou farmacológicos com *Simaba trichilioides*, apesar de diversos estudos com outras espécies do gênero *Simaba*.

2.4 Atividades biológicas relacionadas a espécies do gênero *Simaba*

Diferentes atividades biológicas são descritas com espécies do gênero *Simaba*, principalmente devido a presença dos quassinoides, para os quais são atribuídas atividades antitumorais, antimaláricas, antivirais, antidiabéticas, herbicidas, entre outras.

Aos alcaloides cantinônicos e β -carbolínicos presentes em espécies desse gênero também são atribuídas diversas atividades biológicas, dentre elas citotoxicidade contra células tumorais, atividade leishmanicida, atividade antifúngica, e outras.

Diversos autores relataram atividades biológicas, *in vitro* ou *in vivo*, avaliadas a partir de extratos ou substâncias isoladas de espécies do gênero *Simaba*, como mostrado na **Tabela 4**.

Tabela 4 – Principais atividades biológicas relacionadas a espécies do gênero *Simaba*

ESPÉCIE	PARTE UTILIZADA	ATIVIDADE	SUBSTÂNCIAS / EXTRATOS	REFERÊNCIA
<i>S. cedron</i>	caule	- citotoxicidade <i>in vitro</i> contra células leucêmicas linfocíticas P-388.	cedronolactona A (24) cedronolactona B (29) simalikalactona D (23) glaucarubolona (14) samaderina Z (26) chaparrinona (12)	OZEKI et al., 1998
<i>S. cedron</i>	casca do caule	- antimalárica <i>in vitro</i> contra microrganismos resistentes a cloroquina e <i>in vivo</i> contra <i>Plasmodium vinquei</i> ; - citotóxica contra células tumorais humanas tipo KB.	cedronina (4)	MORETTI et al., 1994
<i>S. cedron</i>	casca do caule	- citotóxica <i>in vitro</i> contra células tumorais humanas de câncer de cólon e pulmão.	extrato etanólico e aquoso	MONKS et al., 2002
<i>S. cedron</i>	casca do caule	- antiplasmodial contra <i>Plasmodium falciparum</i> .	extrato aquoso	OLIVEIRA et al., 2015
<i>S. cuspidata</i>	casca do caule	- inibitória <i>in vitro</i> contra células leucêmicas linfocíticas P-388 em murinos.	6 α -tigloiloxi-chaparrina (18) 6 α -tigloiloxi-chaparrinona (19)	POLONSKY et al., 1980
<i>S. ferruginea</i>	folhas	- antiúlcera.	quercitrina (91)	NOLDIN, 2005
<i>S. ferruginea</i>	rizomas	- antiúlcera; - antinociceptiva em ratos.	cantin-6-ona (68) 4-metoxicantin-6-ona (83)	
<i>S. ferruginea</i>	casca do caule	- antifúngica contra <i>Aspergillus fumigatus</i> e <i>Aspergillus niger</i> .	extrato etanólico	SILVA JUNIOR et al., 2009
<i>S. ferruginea</i>	rizomas	- antiulcerogênica e propriedade gastroprotetora.	cantin-6-ona (68)	ALMEIDA, 2010 DE SOUZA ALMEIDA et al., 2011

(continua)

(continuação)

ESPÉCIE	PARTE UTILIZADA	ATIVIDADE	SUBSTÂNCIAS / EXTRATOS	REFERÊNCIA
<i>S. guianensis</i>	casca do caule	- antimalárica contra <i>Plasmodium falciparum</i> resistentes a cloroquina e mefloquina.	gutolactona (25) simalikalactona D (23)	CABRAL et al., 1993
<i>S. multiflora</i>	caule	- antineoplásica contra vários sistemas leucêmicos em ratos.	6 α -senecioloxi-chaparrinona (10)	WANI et al., 1978
<i>S. multiflora</i>	caule	- citotóxica contra células cancerosas tipo KB.	10-metoxicantin-6-ona (77) 10-hidroxicantin-6-ona (78)	ARISAWA et al., 1983a
<i>S. multiflora</i>	caule	- citotóxica <i>in vitro</i> contra células cancerosas tipo KB; - citotóxica <i>in vivo</i> contra leucemia linfocítica P-388.	6 α -senecioloxi-chaparrina (11)	ARISAWA et al., 1983b
<i>S. multiflora</i>	caule	- fracamente ativa contra células leucêmicas linfocíticas P-388.	cleomiscosina A (94)	ARISAWA et al., 1984
<i>S. multiflora</i>	-	- inibitória do crescimento larval; - inseticida; - antialimentar em pragas de cultura de algodão.	6 α -senecioloxi-chaparrinona (10) chaparrinona (12) 6 α -senecioloxi-chaparrina (11) glaucarubolona (14)	KLOCKE et al., 1985
<i>S. multiflora</i>	caule	- inibitória em sistema de células tumorais P-388 <i>in vivo</i> ; - citotóxica contra cultura de células cancerosas tipo KB <i>in vitro</i> .	simalikalactona D (23)	ARISAWA et al., 1985
<i>S. multiflora</i>	frutos	- inibitória contra células leucêmicas linfocíticas P-388 em murinos.	13,18-desidro-6 α -senecioloxi-chaparrina (28)	MORETTI et al., 1986
<i>S. orinocensis</i>	casca da raiz	- anti-helmíntica.	simarinolida (20) guanepolida (21)	POLONSKY et al., 1981
<i>S. orinocensis</i>	casca do caule	- citotóxica <i>in vitro</i> contra células tumorais humanas de câncer de cólon e pulmão.	extrato etanólico e aquoso	MONKS et al., 2002

(continua)

(continuação)

ESPÉCIE	PARTE UTILIZADA	ATIVIDADE	SUBSTÂNCIAS / EXTRATOS	REFERÊNCIA
<i>S. orinocensis</i>	casca da raiz e folhas	- antimalárica contra <i>Plasmodium falciparum</i> ; - leishmanicida contra <i>Leishmania donovani</i> ; - inibitória do crescimento <i>in vitro</i> de células cancerosas de melanoma humano, epiderme, mama e ovário.	orinocinolida (37) simalikalactona D (23)	MUHAMMAD et al., 2004
<i>S. polyphylla</i>	galhos	- citotóxica em ensaios <i>in vitro</i> com células tumorais tipo MCF-7 (câncer de mama) e A-549 (câncer de pulmão).	9-metoxicantin-6-ona (76)	SARAIVA et al., 2006 KUO et al., 2006
<i>Quassia africana</i> (sin. <i>S. africana</i>)	casca da raiz	- antiviral contra o vírus <i>Herpes simplex</i> , <i>Vesicular stomatitis</i> , <i>Poliomyelitis</i> e <i>Semliki forest</i> .	simalikalactona D (23)	APERS et al., 2002
<i>Quassia africana</i> (sin. <i>S. africana</i>)	folhas, caule e raiz	- larvicida contra 4 estágios larvais de <i>Anopheles gambiae</i> .	simalikalactona D (23)	SAMA et al., 2014
<i>Quassia undulata</i> (sin. <i>S. undulata</i>)	casca do caule e da raiz	- atividade antibacteriana e antifúngica contra <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella pneumonia</i> e <i>Candida albicans</i> ; - citotóxica contra <i>Artemia salina</i> , indicativo de atividade antitumoral.	eniotorina (93) escopoletina (92) glaucarubinona (16) 15-desacetilundulatonona (17)	ADESANWO et al., 2009
<i>Quassia undulata</i> (sin. <i>S. undulata</i>)	cerne do caule	- atividade <i>in vitro</i> contra bactérias gram positivas e gram negativas.	crenatina (81)	AJAYEOBA et al., 1995

2.5 O diabetes mellitus e a formação de produtos finais de glicação avançada (AGEs)

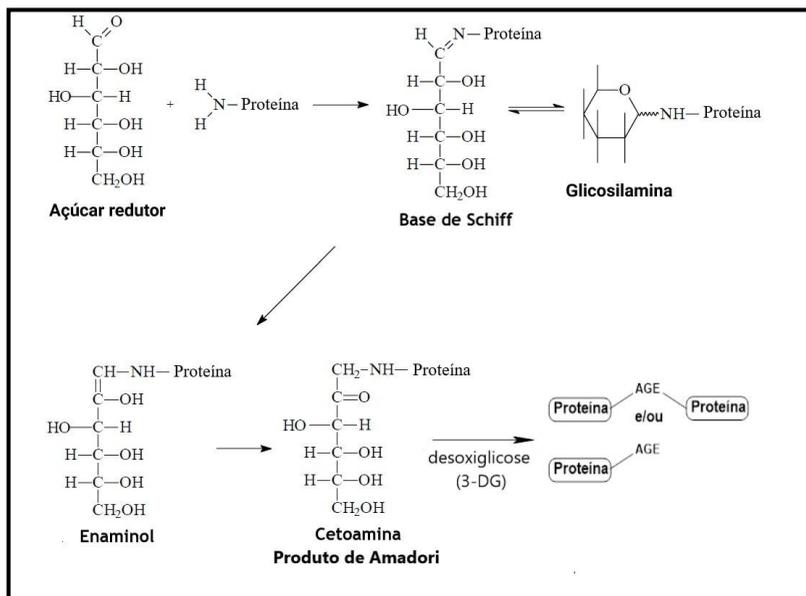
O diabetes mellitus é um grupo de doenças metabólicas, congênitas ou adquiridas, caracterizado por deficiência na produção de insulina pelas células beta pancreáticas e/ou na ação da insulina nos tecidos periféricos, levando a anormalidades no metabolismo de carboidratos, lipídeos e proteínas, aumentando os níveis de glicose no sangue e desenvolvendo diversas complicações crônicas, como cegueira, insuficiência renal, úlceras, amputações de membros, disfunção erétil e complicações cardiovasculares (KAWASHITA; BAVIERA, 2010).

A hiperglicemia tem um papel fundamental nas complicações do diabetes por aumentar a glicação de proteínas e levar a um aumento gradual nos produtos finais de glicação avançada (**AGEs** – *Advanced Glycation End Products*) nos tecidos do corpo (AHMED, 2005).

O processo de glicação de proteínas é iniciado por uma reação de adição nucleofílica entre a amina livre da proteína e a carbonila de um açúcar redutor, levando a formação de uma base de Schiff livre (reação de Maillard). Esta reação ocorre em período de horas, e depois de formado, o produto se submete a rearranjos a cetoamina (produto de Amadori) mais estável (processo irreversível) que ocorre por um período de dias. Assim os AGEs podem surgir a partir da decomposição dos produtos de Amadori ou por outras reações envolvendo intermediários dicarbonílicos, como a 3-desoxiglicose (3-DG) (**Esquema 5**). A glicação da proteína é um processo espontâneo e depende do grau de duração da hiperglicemia e a permeabilidade do tecido a glicose livre (JAKUŠ; RIETBROCK, 2004; AHMED, 2005).

O conceito de **AGEs** propõe que as modificações químicas e o *cross-linking* de proteínas, lipídios e DNA nos tecidos, afetam suas estruturas, funções e renovações (*turnover*), contribuindo ao declínio gradual nas funções do tecido e a complicações nas patogêneses do diabetes, incluindo

nefropatias, retinopatias, neuropatias e aterosclerose (JAKUŠ; RIETBROCK, 2004).



Esquema 5 – Processo de formação de uma base de Schiff e glicação de proteínas (JAKUŠ; RIETBROCK, 2004; AHMED, 2005).

Processos oxidativos são conhecidos por estar envolvidos na cascata de glicação de proteínas. Os **AGEs** via seus receptores, inativam as enzimas e promovem a formação de espécies reativas de oxigênio (**EROs**). A geração de radicais livres por glicação de biomoléculas é uma das principais vias bioquímicas de dano ao tecido no diabetes. Pesquisas por agentes com efeitos inibidores (antiglicação, antioxidante) é uma abordagem válida para tratamento de complicações resultantes de reação de glicação não enzimática (MARITIM et al., 2003).

A aminoguanidina (**AG**) é uma molécula conhecida como agente antiglicação, que previne a formação de **AGEs** ao reagir com os produtos

iniciais da glicação, mas produz efeitos adversos, como deficiência de vitamina B₆ e neurotoxicidade (JAKUŠ; RIETBROCK, 2004).

Evidências sobre propriedades antidiabéticas de plantas medicinais tem sido continuamente relatado. Com o foco em produtos naturais, as duas últimas décadas levaram a identificação de diversas classes de moléculas seguras e eficazes no tratamento do diabetes (SIDDIQUI et al., 2016).

3 JUSTIFICATIVA

Simaba trichilioides (calunga) é de ampla ocorrência no Cerrado mato-grossense e utilizada tradicionalmente para o diabetes. Os compostos isolados da família botânica Simaroubaceae e do gênero *Simaba* são de grande importância farmacológica. A ausência de estudos químicos e farmacológicos desta espécie, aliado ao conhecimento e uso tradicional, motivaram a busca da comprovação de sua eficácia, através do isolamento dos principais constituintes químicos presentes em suas raízes, e da avaliação de sua atividade antidiabética por ensaios biológicos *in vitro*.

4 OBJETIVOS

4.1 Geral

Contribuir para o conhecimento químico-farmacológico do gênero *Simaba*, através do isolamento e purificação dos principais constituintes químicos, e da avaliação da atividade antidiabética por ensaio biológico *in vitro* dos extratos brutos, frações e substâncias isoladas das raízes de *Simaba trichilioides* (Simaroubaceae).

4.2 Específicos

- ✓ Coletar e providenciar a ratificação taxonômica da espécie *Simaba trichilioides* A. St.-Hil.;
- ✓ Preparar o extrato bruto hexânico (**EBH**) e hidroetanólico (**EBHE**) de suas raízes;
- ✓ Realizar o fracionamento cromatográfico por métodos convencionais, para obtenção das frações, subfrações e substâncias isoladas;
- ✓ Identificar as substâncias isoladas através de métodos espectroscópicos, Infravermelho (**IV**), Ultravioleta (**UV-Vis**), Rotação específica (**[α]_D**), Ressonância Magnética Nuclear (**RMN** de ¹H e ¹³C) uni e bidimensional, e por método espectrométrico, Espectrometria de Massas (**EM**);
- ✓ Investigar a atividade antidiabética dos extratos brutos (**EBH** e **EBHE**), das frações (**FD**, **FA** e **FM**) e substâncias isoladas, através da avaliação da atividade antiglicação (inibição da formação de produtos finais de glicação avançada - **AGEs**) mediada por glicação de albumina sérica bovina (BSA) *in vitro*.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Materiais e equipamentos

5.1.1 Material botânico

Foram utilizadas (3,8 kg) de raízes secas de *Simaba trichilioides* A. St.-Hil. espécie conhecida popularmente como “calunga” (**Figura 4**). O material foi coletado na Estância Aricá, coordenadas geográficas: S 15°49'59.6” e W 055°58'01.2” na região de Coqueiro no município de Santo Antônio do Leverger – MT, no dia 26 de julho de 2016.



Figura 4 – Exemplo de *Simaba trichilioides* (à esquerda); raiz (à direita)

O espécime da qual as raízes foram coletadas possuía cerca de 1,2 metros de altura, estava em seu período de floração, com a presença de ramos florais de cerca de 12 cm. Suas raízes quebradiças, com poucas

ramificações, foram encontradas até uma profundidade de cerca de 1,6 metros. O local de coleta apresentava características do Cerrado, com árvores de médio porte e solo arenoso, há aproximadamente 100 metros de uma área alagável do rio Aricá.

Uma amostra testemunha foi depositada e registrada no Herbário Central da UFMT sob o número nº 43.026.

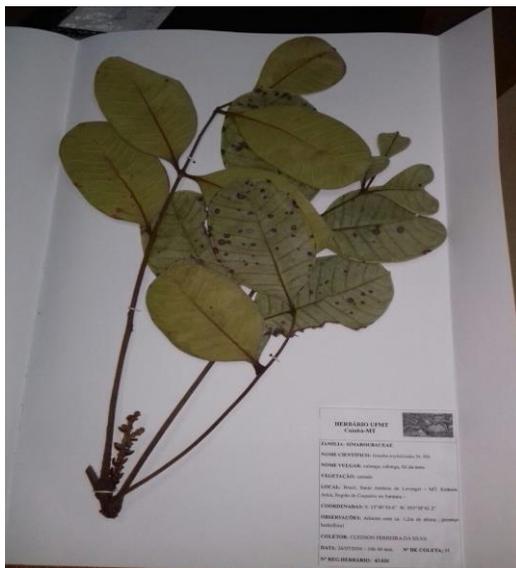


Figura 5 – Exsicata da espécie *Simaba trichilioides*

5.1.2 Suportes cromatográficos, solventes e reveladores

Nas separações cromatográficas em coluna clássica (**CC**) foram utilizadas:

- ✓ Sílica gel 60 com granulação 63-200 μm (70-230 mesh), lote: 19786.0315, marca: Macherey-Nagel;
- ✓ Sílica Flash® F60 com granulação 40-63 μm (230-400 mesh), lote: 070612, marca: Silicycle;

✓ Polímero Sephadex™ LH-20, lote: 10128955, marca: GE Healthcare.

As análises cromatográficas em camada delgada analítica (CCDA) foram realizadas em cromatofolhas de alumínio de sílica gel 60 com indicador de fluorescência, do tipo CCM ALUGRAM® Xtra SIL G/UV₂₅₄, lote: 201030, marca: Macherey-Nagel.

Os solventes utilizados na obtenção, fracionamento cromatográfico e análises de RMN, EM, UV-Vis e $[\alpha]_D$ estão descritos na

Tabela 5.

Tabela 5 – Solventes utilizados na obtenção, fracionamento e análises

Solventes	Lote	Marca
Hexano PA	H23796RA	Êxodo Científica
Clorofórmio PA	200105	Synth
	34685	Neon
	13092345	Qhemis
Diclorometano PA	34792	Neon
Acetato de etila PA	192719	Synth
	33729	Neon
Metanol PA	34691	Neon
Etanol PA	34665	Neon
Isopropanol PA	84338	Dinâmica
Acetona PA	13064	Neon
Metanol- <i>d</i> ₄	10K-076	CIL
Clorofórmio- <i>d</i>	121-053	CIL
Dimetilsulfóxido- <i>d</i> ₆	12D-013	CIL
Metanol HPLC	DCBD1024V	Vetec
Clorofórmio HPLC	77751	Dinâmica

Foram utilizados vapores de iodo, reagente de Dragendorff (DRG), anisaldeído sulfúrico (AS) e vanilina sulfúrica (VS) como reveladores, previamente preparados no LPQPN da UFMT.

5.1.3 Equipamentos

Todos os equipamentos abaixo relacionados estão instalados no LPQPN e na CALPQPN, na UFMT.

Na preparação do material botânico para extração, utilizou-se moimho de facas Marconi modelo MA 580/E, com rede de tamisação de 40 mesh.

Na evaporação dos solventes das amostras, utilizou-se rotavapor BUCHI modelo R-210, HEATING BATH B-491 e estufa de secagem e esterilização modelo 315SE, marca FANEM.

Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (1D e 2D) foram obtidos em espectrômetro, marca: Bruker, modelo: Ascend™ 500 e tratados no software ACD/Labs, versão 6.0. Foram utilizados tubos de vidro de 5 mm de diâmetro e 7 polegadas de comprimento para preparação das amostras, utilizando solventes deuterados das marcas e lotes conforme **Tabela 5**. As amostras foram preparadas com cerca de 2,0 a 9,0 mg de massa e solubilizada em 600 μL de solvente deuterado de acordo com a solubilidade de cada amostra. Os espectros foram obtidos em 500 MHz para ^1H e 125 MHz para ^{13}C (1D e 2D). Os espectros expressam os sinais dos deslocamentos químicos (δ) para ^{13}C e ^1H em parte por milhão (ppm).

Os espectros de IV foram obtidos em espectrômetro com transformada de Fourier, FT-IR, marca: Shimadzu, modelo: IR Affinity-1 e tratados no software ACD/Labs, versão 6.0. Os experimentos foram realizados em pastilhas de KBr, com cerca de 1% (1,0 mg) de massa da amostra, em relação a massa de KBr (100 mg) previamente seco e armazenado em dessecador. As bandas de absorção são expressas em unidades de número de onda (cm^{-1}).

Os espectros de massas foram obtidos em espectrômetro de alta resolução por detecção de íons positivos, com ionização por eletrospray (HR-ESI-MS) com analisador de massas do tipo “*time of flight*”, marca: Bruker; modelo: micrOTOF-Q-III. As amostras foram solubilizadas em solventes de grau HPLC, descritos na **Tabela 5**, com aproximadamente 0,2 mg/mL e injetadas por infusão direta no espectrômetro com fluxo de injeção: 0,1 mL.min $^{-1}$; P (gás de nebulização): 4,0 bar; fluxo (gás de secagem): 9,0 L.min $^{-1}$; T (secagem): 200 °C. Os espectros expressam a relação massa/carga (m/z) dos fragmentos correspondentes da amostra analisada. Foi utilizado o

software ChemDraw® Professional, versão 16.0.1.4 para o cálculo da massa exata. As medidas de massa de alta resolução foram comparadas com a massa exata teórica calculada.

As medidas de ponto de fusão (PF) das amostras foram obtidas em medidores das marcas FISATOM, modelo 430D e TECNOPON, modelo: PFM-II, com termômetro de 0-400 °C. As medidas foram realizadas com massa da amostra suficiente para cobrir 1 mm do tubo de vidro capilar (Φ 1,5 mm x 75 mm de comprimento). A medida que a amostra se fundiu no tubo, os valores foram registrados. As análises foram realizadas em triplicata e os valores são expressos em graus Celsius (°C).

As medidas de rotação específica ($[\alpha]_D$) das amostras foram realizadas em polarímetro digital da marca Nova Optical Systems, com tubos de vidro de 100 mm de comprimento e lâmpada de sódio com $\lambda=589,4$ nm. As amostras foram solubilizadas em MeOH, com concentrações de aproximadamente 0,1 g.100 mL⁻¹ a temperatura de 23 °C.

Os espectros de Ultravioleta foram obtidos em espectrofotômetro UV-Vis, Marca Varian, modelo Cary 50, localizado no GENMAT – UFMT, com varredura entre $\lambda=200$ e 800 nm, e tratados no software ACD/Labs, versão 6.0.

5.2 Métodos

5.2.1 Secagem e trituração do material botânico

As raízes coletadas foram secas à temperatura ambiente por 10 dias, sob ventilação natural e trituradas em moinho de facas com rede de tamisação de 40 mesh.

5.2.2 Obtenção dos extratos brutos e frações

As raízes secas e moídas (3,8 kg) foram colocadas em maceração no percolador à temperatura ambiente com hexano (5 L) em 3 ciclos de 3

dias. O extrato foi coletado e armazenado em frascos âmbar. A recuperação do solvente foi realizada em rotavapor a pressão reduzida (300 mbar) e a secagem do resíduo foi realizada em estufa a 38 °C até peso constante, resultando no Extrato Bruto Hexânico (**EBH**; 40,41g; 1,06%).

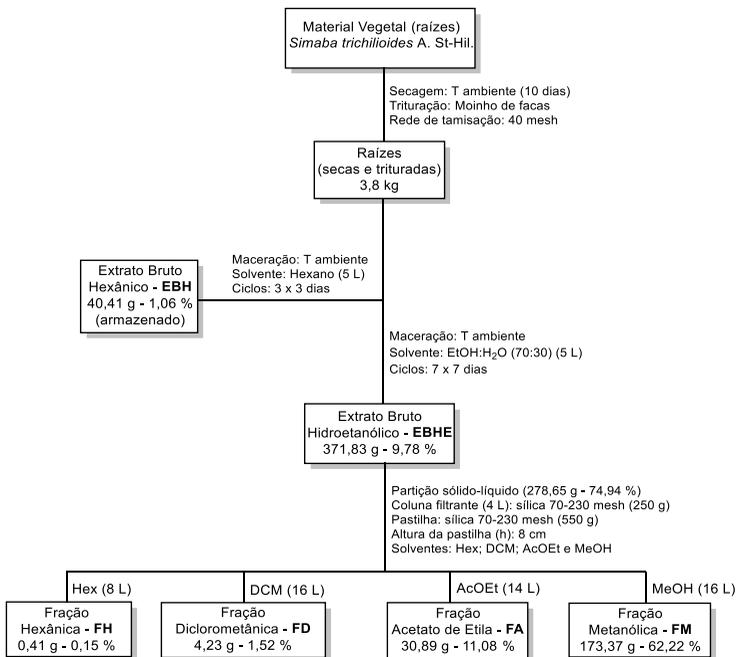
Em seguida, foi adicionado ao percolador uma solução hidroalcoólica de etanol-água (7:3; 5 L) em 7 ciclos de 7 dias. O extrato foi coletado e armazenado em frascos âmbar. A recuperação do solvente foi realizada em rotavapor a pressão reduzida (80 mbar) e a secagem do resíduo foi realizada em estufa a 38 °C até peso constante, resultando no Extrato Bruto Hidroetanólico (**EBHE**; 371,83 g; 9,78%).

Parte do **EBHE** (278,65) foi submetido ao procedimento de partição sólido-líquido em coluna filtrante, preparada num funil de decantação com capacidade de 4 litros, preenchido com 250 g de sílica gel 60. O **EBHE** foi incorporado em sílica gel 60 para formação de uma pastilha. A coluna filtrante foi eluída com solventes de polaridade crescente (hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol) em sistema isocrático, obtendo assim as frações hexânica (**FH**), diclorometânica (**FD**), acetato de etila (**FA**) e metanólica (**FM**).

O **EBH** (40,41 g) foi armazenado em dessecador para posteriores estudos fitoquímicos e avaliação da atividade biológica.

A **FH** (0,41g) foi armazenada por não obter massa suficiente para posteriores fracionamentos.

O procedimento geral de preparação e obtenção do **EBH**, **EBHE**, **FH**, **FD**, **FA** e **FM** das raízes de *Simaba trichiliooides* está descrito no **Esquema 6**.



Esquema 6 – Procedimento geral de preparação dos extratos brutos e frações das raízes de *Simaba trichilioides*

5.2.3 Fracionamento cromatográfico da **FD**

Parte da **FD** (3,14 g) foi submetida à cromatografia em coluna – **CC (nº 1 – Esquema 7)** (h=30 cm; $\Phi=4$ cm), utilizando como fase estacionária sílica gel (138,97 g) e como fase móvel o sistema de solventes (**Tabela 6**) em gradiente crescente de polaridade. Foram obtidas 66 subfrações (50 mL), que foram analisadas em CCDA e reagrupadas de acordo com a similaridade de R_f , denominadas grupos **FD1 a FD9**.

Tabela 6 – Sistema de eluição e frações coletadas da FD

Sistema de solventes	Volume (mL)	Frações coletadas
CHCl ₃ (100%)	150	-
CHCl ₃ -MeOH (9:1)	600	1-11
CHCl ₃ -MeOH (85:15)	200	12-14
CHCl ₃ -MeOH (8:2)	200	15-17
CHCl ₃ -MeOH (7:3)	200	18-21
CHCl ₃ -MeOH (1:1)	200	22-26
CHCl ₃ -MeOH (4:6)	100	27
CHCl ₃ -MeOH (3:7)	200	28-31
CHCl ₃ -MeOH (2:8)	200	32-34
CHCl ₃ -MeOH (1:9)	400	35-42
MeOH (100%)	600	43-53
MeOH-H ₂ O (95:5)	100	54-56
MeOH-H ₂ O (9:1)	450	57-64
MeOH-H ₂ O (8:2)	100	65-66

5.2.3.1 Fracionamento cromatográfico de FD2

O grupo **FD2** (2,67 g), com aspecto de sólido alaranjado, solúvel em mistura de CHCl₃-MeOH (95:5), foi submetido novamente ao fracionamento cromatográfico em **CC** (h=22,8 cm; Φ=2,5 cm) (**nº 2 – Esquema 7**), utilizando como fase estacionária sílica gel e fase móvel o sistema de solventes (**Tabela 7**) em gradiente crescente de polaridade. Foram obtidas 55 frações (40 mL), que foram analisadas em CCDA e reagrupadas de acordo com a similaridade de R_f, denominadas subfrações **FD2A** a **FD2H**. Todas as subfrações **FD2A** a **FD2H** foram submetidas ao teste com reagente **DRG** para indicar a presença de alcaloides nessas amostras.

Tabela 7 – Sistema de eluição e frações coletadas de FD2

Sistema de solventes	Volume (mL)	Frações coletadas
Hex-CHCl ₃ (3:7)	100	1-2
CHCl ₃ (100%)	500	3-15
CHCl ₃ -MeOH (98:2)	200	16-20
CHCl ₃ -MeOH (95:5)	150	21-24
CHCl ₃ -MeOH (9:1)	150	25-28
CHCl ₃ -MeOH (8:2)	150	29-31
CHCl ₃ -MeOH (7:3)	100	32-33
CHCl ₃ -MeOH (1:1)	150	34-36
CHCl ₃ -MeOH (3:7)	200	37-40
MeOH (100%)	600	41-52
MeOH-H ₂ O (8:2)	150	53-55

5.2.3.2 Fracionamento cromatográfico da **FD2C**

A subfração **FD2C** (122,2 mg), com aspecto de sólido amarelo escuro, solúvel em CHCl_3 , foi submetida ao fracionamento cromatográfico em **CC** ($h=19$ cm; $\Phi=1,2$ cm) (**nº 3 – Esquema 7**), utilizando como fase estacionária sílica flash, e fase móvel o sistema de solventes (**Tabela 8**) em gradiente crescente de polaridade. Foram obtidas 64 frações (8 mL), que foram analisadas em CCDA e reagrupadas de acordo com a similaridade de R_f , em 9 subfrações denominadas **FD2C1** a **FD2C9**.

Tabela 8 – Sistema de eluição e frações coletadas da **FD2C**

Sistema de solventes	Volume (mL)	Frações coletadas
AcOEt (100%)	160	1-21
AcOEt-MeOH (99,25:0,75)	20	22-23
AcOEt-MeOH (99:1)	20	24-26
AcOEt-MeOH (98:2)	20	27-28
AcOEt-MeOH (95:5)	40	29-33
AcOEt-MeOH (9:1)	40	34-38
AcOEt-MeOH (7:3)	20	39-40
AcOEt-MeOH (1:1)	20	41-42
MeOH (100%)	180	43-64

Na subfração **FD2C4** (29,9 mg) houve a formação de cristais de coloração amarela que foram separados e recristalizados em CHCl_3 (28,2 mg). **FD2C4** foi analisada em **CCDA** com irradiação UV ($\lambda=254$ e 365 nm) e encaminhada para análise de RMN de ^1H e ^{13}C (1D e 2D), IV, UV-Vis, EM e PF.

5.2.3.3 Fracionamento cromatográfico da **FD2D**

A subfração **FD2D** (178,4 mg), com aspecto de sólido amarelo escuro, solúvel na mistura de CHCl_3 -MeOH (95:5), foi submetida ao fracionamento cromatográfico em **CC** ($h=19$ cm; $\Phi=1,0$ cm) (**nº 4 – Esquema 7**), utilizando como fase estacionária sílica flash e fase móvel o sistema de solventes (**Tabela 9**) em gradiente crescente de polaridade. Foram obtidas

84 frações (8 mL), que foram analisadas em CCDA e reagrupadas de acordo com a similaridade de R_f, em 9 subfrações denominadas **FD2D1** a **FD2D9**.

Tabela 9 – Sistema de eluição e frações coletadas da **FD2D**

Sistema de solventes	Volume (mL)	Frações coletadas
Hex-CHCl ₃ (3:7)	80	1-11
CHCl ₃ (100%)	200	12-36
CHCl ₃ -AcOEt (7:3)	20	37-38
CHCl ₃ -AcOEt (1:1)	20	39-40
AcOEt (100%)	60	41-48
AcOEt-MeOH (99,5:0,5)	60	49-55
AcOEt-MeOH (98:2)	20	56-57
AcOEt-MeOH (95:5)	20	58-59
AcOEt-MeOH (9:1)	40	60-64
AcOEt-MeOH (7:3)	60	65-72
AcOEt-MeOH (1:1)	20	73-74
MeOH (100%)	80	75-84

As subfrações **FD2D1** a **FD2D9** foram submetidas ao teste com reagente DRG e as subfrações **FD2D1** a **FD2D3**, indicaram a presença de alcaloides. Foram reagrupadas por apresentarem características semelhantes em CCDA, renomeadas como **FD2D1**.

FD2D1 (91,1 mg) foi submetida a sucessivas purificações em **CC** (h=52 cm; Φ=1,2 cm), utilizando o polímero Sephadex *LH-20* como fase estacionária, num sistema isocrático de DCM-MeOH (9:1; 300 mL) como fase móvel (**nº 5 – Esquema 7**). Foram obtidas 25 frações (8 mL) que foram reagrupadas em **FD2D1A** a **FD2D1C**.

A subfração **FD2D1B** foi novamente submetida a mesma coluna, nas mesmas condições, resultando em **FD2D1B1** a **FD2D1B3**. A amostra **FD2D1B2** (9,3 mg) purificada, foi analisada em **CCDA** com irradiação UV (λ=254 e 365 nm), com reagente DRG e encaminhada para análise de RMN de ¹H e ¹³C, IV, UV-Vis e PF, para comparação dos dados com a literatura.

5.2.3.4 Fracionamento cromatográfico da **FD2E**

A subfração **FD2E** (763,9 mg) foi submetida ao fracionamento cromatográfico em **CC** (h=25 cm; Φ =2 cm) (**nº 6 – Esquema 7**) em sílica flash, empregando o sistema de solventes (**Tabela 10**) em gradiente crescente de polaridade. Foram obtidas 58 frações (15 mL), que foram analisadas em CCDA e reagrupadas de acordo com a similaridade de R_f, em 7 subfrações denominadas **FD2E1 a FD2E7**.

Na subfração **FD2E5** (521,7 mg) houve a formação de um precipitado branco, que foi solubilizado em AcOEt, filtrado e recristalizado em CHCl₃ (178,6 mg). A amostra **FD2E5** foi submetida a análises de RMN de ¹H e ¹³C (1D e 2D), IV, PF, EM e [α]_D.

Tabela 10 – Sistema de eluição e frações coletadas da **FD2E**

Sistema de solventes	Volume (mL)	Frações coletadas
Hex-CHCl ₃ (1:9)	50	1-2
CHCl ₃ (100%)	150	3-14
CHCl ₃ -MeOH (98:2)	100	15-22
CHCl ₃ -MeOH (95:5)	50	23-24
CHCl ₃ -MeOH (9:1)	100	25-31
CHCl ₃ -MeOH (7:3)	50	32-34
CHCl ₃ -MeOH (6:4)	50	35-36
CHCl ₃ -MeOH (1:1)	50	37-40
CHCl ₃ -MeOH (3:7)	50	41-44
MeOH (100%)	100	45-51
MeOH-H ₂ O (7:3)	100	52-54
MeOH-H ₂ O (1:1)	100	55-58

5.2.3.5 Fracionamento cromatográfico da **FD2F**

A subfração **FD2F** (837,5 mg) com aspecto de sólido alaranjado, foi submetida ao fracionamento cromatográfico em **CC** (h=24 cm; Φ =2 cm) (**nº 7 – Esquema 7**), utilizando como fase estacionária sílica flash e fase móvel o sistema de solventes (**Tabela 11**) em gradiente crescente de polaridade. Foram obtidas 39 frações (12 mL), que foram analisadas em CCDA e reagrupadas de acordo com a similaridade de R_f, em 8 subfrações

denominadas **FD2F1** a **FD2F8**. A presença de alcaloide nas subfrações **FD2F3** e **FD2F4** foi analisada através do teste com reagente DRG.

Tabela 11 – Sistema de eluição e frações coletadas da **FD2F**

Sistema de solventes	Volume (mL)	Frações coletadas
CHCl ₃ (100%)	150	1-10
CHCl ₃ -MeOH (95:5)	150	11-20
CHCl ₃ -MeOH (9:1)	50	21-24
CHCl ₃ -MeOH (7:3)	50	25-28
CHCl ₃ -MeOH (1:1)	50	29-32
MeOH (100%)	100	33-39

A subfração **FD2F3** (410,6 mg) apresentou um precipitado branco amarelado, que foi separado (157,3 mg) e submetido a uma purificação em **CC** (h=27,5 cm; Φ =2 cm) (**nº 8 – Esquema 7**) utilizando o polímero Sephadex *LH-20* como fase estacionária e um sistema isocrático de CHCl₃-MeOH (1:1; 250 mL) como fase móvel. Foram obtidas 20 subfrações (12 mL), que foram analisadas em CCDA e reagrupadas em 5 subfrações denominadas **FD2F3A** a **FD2F3E**. A amostra **FD2F3B** (56,4 mg) purificada foi então encaminhada para análise de RMN de ¹H.

O sobrenadante da subfração **FD2F3**, renomeada como **FD2F3S** (253,3 mg) foi submetida ao fracionamento cromatográfico em **CC** (h=27,5 cm; Φ =1,3 cm) (**nº 9 – Esquema 7**), utilizando como fase estacionária sílica flash e fase móvel o sistema de solventes (**Tabela 12**) em gradiente crescente de polaridade. Foram obtidas 82 frações (8 mL), que foram analisadas em CCDA e reagrupadas de acordo com a similaridade de R_f, em 9 subfrações denominadas **FD2F3SA** a **FD2F3SI**.

Houve a formação de um precipitado branco amarelado na subfração **FD2F3SE** (108,4 mg), que após solubilizado em AcOEt e separado o precipitado (91,5 mg) por diferencial de solubilidade, foi analisado em CCDA com irradiação UV (λ =254 e 365 nm) e encaminhada para análise de RMN de ¹H.

Tabela 12 – Sistema de eluição e frações coletadas da FD2F3S

Sistema de solventes	Volume (mL)	Frações coletadas
CHCl ₃ -MeOH (98:2)	50	1-2
CHCl ₃ -MeOH (95:5)	100	3-14
CHCl ₃ -MeOH (9:1)	100	15-26
CHCl ₃ -MeOH (8:2)	150	27-45
CHCl ₃ -MeOH (7:3)	100	46-57
CHCl ₃ -MeOH (1:1)	50	58-63
MeOH (100%)	150	64-82

A subfração **FD2F4** (303,3 mg) foi submetida ao fracionamento cromatográfico em **CC** (h=21 cm; Φ =2 cm) (**nº 10 – Esquema 7**), utilizando como fase estacionária sílica flash e fase móvel o sistema de solventes (**Tabela 13**) em gradiente crescente de polaridade. Foram obtidas 50 frações (12 mL), que foram analisadas em CCDA e reagrupadas de acordo com a similaridade de R_f, em 6 subfrações denominadas **FD2F4A** a **FD2F4F**.

Na subfração **FD2F4C** (62,6 mg) houve a formação de um precipitado amarelo, que foi solubilizado e recristalizado na mistura de CHCl₃-MeOH. O precipitado da subfração **FD2F4C** (16,9 mg) após análise em CCDA com irradiação UV (λ =254 e 365 nm) e com reagente DRG foi encaminhada para análise de RMN de ¹H e ¹³C (1D e 2D), IV, UV-Vis, EM e PF.

Tabela 13 – Sistema de eluição e frações coletadas da FD2F4

Sistema de solventes	Volume (mL)	Frações coletadas
AcOEt (100%)	350	1-29
AcOEt-MeOH (95:5)	50	30-34
AcOEt-MeOH (9:1)	50	35-39
AcOEt-MeOH (1:1)	100	40-48
MeOH (100%)	50	49-50

A subfração **FD2F4B** (185,1 mg) e o sobrenadante da **FD2F4C** (45,7 mg) apresentaram características semelhantes sob análise em CCDA e foram reunidas, permanecendo a denominação **FD2F4B** (230,8 mg) que posteriormente foi submetida ao fracionamento cromatográfico em **CC** (h=15,5 cm; Φ =1,5 cm) (**nº 11 – Esquema 7**), utilizando como fase estacionária sílica flash e fase móvel o sistema de solventes (**Tabela 14**) em

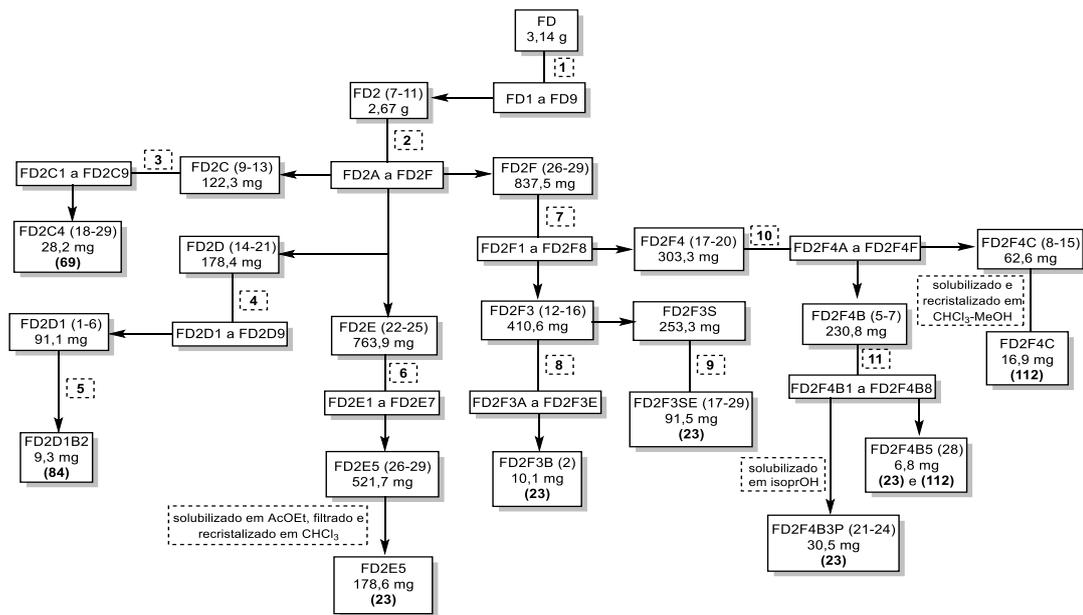
gradiente crescente de polaridade. Foram obtidas 72 frações (8 mL), que foram analisadas em CCDA e reagrupadas de acordo com a similaridade de R_f, em 8 subfrações denominadas **FD2F4B1** a **FD2F4B8**.

Tabela 14 – Sistema de eluição e frações coletadas da **FD2F4B**

Sistema de solventes	Volume (mL)	Frações coletadas
CHCl ₃ -MeOH (98,5:1,5)	180	1-21
CHCl ₃ -MeOH (98:2)	30	22-25
CHCl ₃ -MeOH (95:5)	90	26-36
CHCl ₃ -MeOH (9:1)	60	37-43
CHCl ₃ -MeOH (7:3)	90	44-54
CHCl ₃ -MeOH (3:7)	60	55-61
MeOH (100%)	90	62-72

A subfração **FD2F4B3** (64,2 mg), sólido amarelo, que após solubilização em álcool isopropílico, separou-se o precipitado, denominado **FD2F4B3P** (30,5 mg) que submetido a análise em CCDA com irradiação UV ($\lambda=254$ e 365 nm), apresentou características semelhantes a amostras já isoladas. Foi então encaminhada para análise de RMN de ¹H para posterior comparação dos dados.

A subfração **FD2F4B5** (6,8 mg), sólido amarelo, foi submetida a análise em CCDA com irradiação UV ($\lambda=254$ e 365 nm) e com reagente DRG, em seguida encaminhada para análise de RMN de ¹H.



Esquema 7 – Procedimento geral de fracionamento da FD

Legenda: **1** – CC; h: 30 cm; Φ : 4 cm; FE: sílica gel; FM: Tabela 6; **2** – CC; h: 22,8 cm; Φ : 2,5 cm; FE: sílica gel; FM: Tabela 7; **3** – CC; h: 19 cm; Φ : 1,2 cm; FE: sílica flash; FM: Tabela 8; **4** – CC; h: 19 cm; Φ : 1 cm; FE: sílica flash; FM: Tabela 9; **5** – CC; h: 52 cm; Φ : 1,2 cm; FE: Sephadex *LH-20*; FM: DCM-MeOH (9:1); **6** – CC; h: 25 cm; Φ : 2 cm; FE: sílica flash; FM: Tabela 10; **7** – CC; h: 24 cm; Φ : 2 cm; FE: sílica flash; FM: Tabela 11; **8** – CC; h: 27,5 cm; Φ : 2 cm; FE: Sephadex *LH-20*; FM: CHCl_3 -MeOH (1:1); **9** – CC; h: 27,5 cm; Φ : 1,3 cm; FE: sílica flash; FM: Tabela 12; **10** – CC; h: 21 cm; Φ : 2 cm; FE: sílica flash; FM: Tabela 13; **11** – CC; h: 15,5 cm; Φ : 1,5 cm; FE: sílica flash; FM: Tabela 14.

5.2.4 Fracionamento cromatográfico da FA

Parte da FA (13,09 g) foi submetida à cromatografia em CC (h=30 cm; $\Phi=6$ cm), utilizando como fase estacionária sílica gel (nº 1 - Esquema 8) e como fase móvel o sistema de solventes (Tabela 15) em gradiente crescente de polaridade. Foram obtidas 180 frações (50 mL), que foram analisadas em CCDA e reagrupadas de acordo com a similaridade de Rf, denominadas grupos FAA a FAN.

Tabela 15 – Sistema de eluição e frações coletadas da FA

Sistema de solventes	Volume (mL)	Frações coletadas
AcOEt (100%)	200	-
AcOEt-MeOH (95:5)	1800	1-35
AcOEt-MeOH (9:1)	500	35-44
AcOEt-MeOH (85:15)	600	45-56
AcOEt-MeOH (7:3)	700	57-70
AcOEt-MeOH (1:1)	500	71-80
AcOEt-MeOH (4:6)	600	81-92
AcOEt-MeOH (3:7)	1300	93-118
AcOEt-MeOH (15:85)	400	119-126
MeOH (100%)	1800	127-162
MeOH-H ₂ O (9:1)	500	163-172
MeOH-H ₂ O	400	173-180

5.2.4.1 Fracionamento cromatográfico de FAC

O grupo FAC (0,406 g) sólido amarelo, foi submetido ao fracionamento cromatográfico em CC (h=20 cm; $\Phi=2,0$ cm) (nº 2 – Esquema 8), utilizando como fase estacionária sílica flash e fase móvel o sistema de solventes (Tabela 16) em gradiente crescente de polaridade. Foram obtidas 71 frações (8 mL), que analisadas em CCDA foram reagrupadas por similaridade de Rf, denominadas subfrações FAC1 a FAC9.

Tabela 16 – Sistema de eluição e frações coletadas de **FAC**

Sistema de solventes	Volume (mL)	Frações coletadas
AcOEt (100%)	100	-
AcOEt-MeOH (98:2)	100	-
AcOEt-MeOH (95:5)	150	1-17
AcOEt-MeOH (9:1)	50	18-23
AcOEt-MeOH (8:2)	150	24-41
AcOEt-MeOH (7:3)	50	42-47
AcOEt-MeOH (1:1)	50	48-53
AcOEt-MeOH (3:7)	50	54-59
MeOH (100%)	100	60-71

A subfração **FAC4** (104,3 mg) apresentou um precipitado branco amarelado que foi então submetido ao fracionamento cromatográfico em **CC** (h=22 cm; Φ =1,2 cm) (**nº 3 – Esquema 8**), utilizando como fase estacionária sílica flash e fase móvel o sistema de solventes (**Tabela 17**) em gradiente crescente de polaridade. Foram obtidas 27 frações (8 mL), que após analisadas em CCDA foram reagrupadas por similaridade de R_f, denominadas subfrações **FAC4A a FAC4G**.

A subfração **FAC4E** (34,5 mg) apresentou um precipitado branco amarelado que foi submetido a purificação em **CC** (h=52 cm; Φ =1,5 cm) utilizando como fase estacionária o polímero Sephadex *LH-20* e MeOH (100 mL) como fase móvel, em sistema isocrático (**nº 4 – Esquema 8**). Foram obtidas 8 frações (8 mL), que foram analisadas em CCDA e reagrupadas em subfrações denominadas **FAC4E1 a FAC4E4**.

A amostra **FAC4E2** (24,9 mg) purificada, foi submetida a análise em CCDA com irradiação UV (λ =254 e 365 nm), com reagente AS, e encaminhada para análise de RMN de ¹H e ¹³C, IV, PF e $[\alpha]_D$.

Tabela 17 – Sistema de eluição e frações coletadas da **FAC4**

Sistema de solventes	Volume (mL)	Frações coletadas
Hex-AcOEt (7:3)	90	1-11
Hex-AcOEt (1:1)	15	12-13
Hex-AcOEt (3:7)	15	14-15
AcOEt (100%)	75	16-25
MeOH (100%)	15	26-27

5.2.4.2 Fracionamento cromatográfico de **FAE**

O grupo **FAE** (1,77 g) foi submetido ao fracionamento cromatográfico em **CC** ($h=21,5$ cm; $\Phi=2,5$ cm) (**nº 5 – Esquema 8**), utilizando como fase estacionária sílica flash e fase móvel o sistema de solventes (**Tabela 18**) em gradiente crescente de polaridade. Foram obtidas 85 frações (15 mL), que foram analisadas em CCDA e reagrupadas de acordo com a similaridade de R_f , denominadas subfrações **FAE1** a **FAE12**.

Uma alíquota (30,0 mg) da subfração **FAE8** (1,07 g), precipitado branco com impurezas de coloração amarela, foi então solubilizada em MeOH e o precipitado submetido a análise em CCDA com irradiação UV ($\lambda=254$ e 365 nm), com reagentes AS e VS e encaminhada para análise de RMN de ^1H e ^{13}C (1D e 2D), IV, EM, PF e $[\alpha]_D$.

Tabela 18 – Sistema de eluição e frações coletadas de **FAE**

Sistema de solventes	Volume (mL)	Frações coletadas
CHCl_3 (100%)	100	-
CHCl_3 -MeOH (98:2)	150	-
CHCl_3 -MeOH (95:5)	150	1-5
CHCl_3 -MeOH (9:1)	200	6-18
CHCl_3 -MeOH (8:2)	150	19-28
CHCl_3 -MeOH (7:3)	50	29-31
CHCl_3 -MeOH (1:1)	250	32-47
CHCl_3 -MeOH (4:6)	50	48-50
CHCl_3 -MeOH (3:7)	250	51-66
MeOH (100%)	150	67-79
MeOH- H_2O (1:1)	100	80-85

5.2.4.3 Fracionamento cromatográfico de **FAH**

O grupo **FAH** (3,28 g) foi submetido ao fracionamento cromatográfico em **CC** ($h=18,5$ cm; $\Phi=2,5$ cm) (**nº 6 – Esquema 8**), utilizando como fase estacionária sílica flash e fase móvel o sistema de solventes (**Tabela 19**) em gradiente crescente de polaridade. Foram obtidas 85 frações

(40 mL), que foram analisadas em CCDA e reagrupadas por similaridade de Rf, em 9 subfrações denominadas **FAH1** a **FAH9**.

Tabela 19 – Sistema de eluição e frações coletadas de **FAH**

Sistema de solventes	Volume (mL)	Frações coletadas
Hex-AcOEt (7:3)	50	1-2
Hex-AcOEt (1:1)	100	3-5
Hex-AcOEt (3:7)	100	6-8
AcOEt (100%)	200	9-13
AcOEt-MeOH (99,5:0,5)	150	14-17
AcOEt-MeOH (99:1)	150	18-21
AcOEt-MeOH (98:2)	100	22-24
AcOEt-MeOH (96:4)	100	25-27
AcOEt-MeOH (9:1)	400	28-37
AcOEt-MeOH (8:2)	400	38-47
AcOEt-MeOH (7:3)	300	48-54
AcOEt-MeOH (6:4)	300	55-61
AcOEt-MeOH (1:1)	200	62-66
AcOEt-MeOH (4:6)	100	67-69
AcOEt-MeOH (3:7)	100	70-72
AcOEt-MeOH (2:8)	100	73-75
MeOH (100%)	350	76-85

A subfração **FAH5** (2,17 g), caracterizada por um sólido amarelado, foi então submetida ao fracionamento cromatográfico em **CC** (h=18 cm; Φ =2,5 cm) (**nº 7 – Esquema 8**), utilizando como fase estacionária sílica flash e fase móvel o sistema de solventes (**Tabela 20**) em gradiente crescente de polaridade. Foram obtidas 68 frações (20 mL), que foram analisadas em CCDA e reagrupadas de acordo com a similaridade de Rf, em 6 subfrações, denominadas **FAH5A** a **FAH5F**.

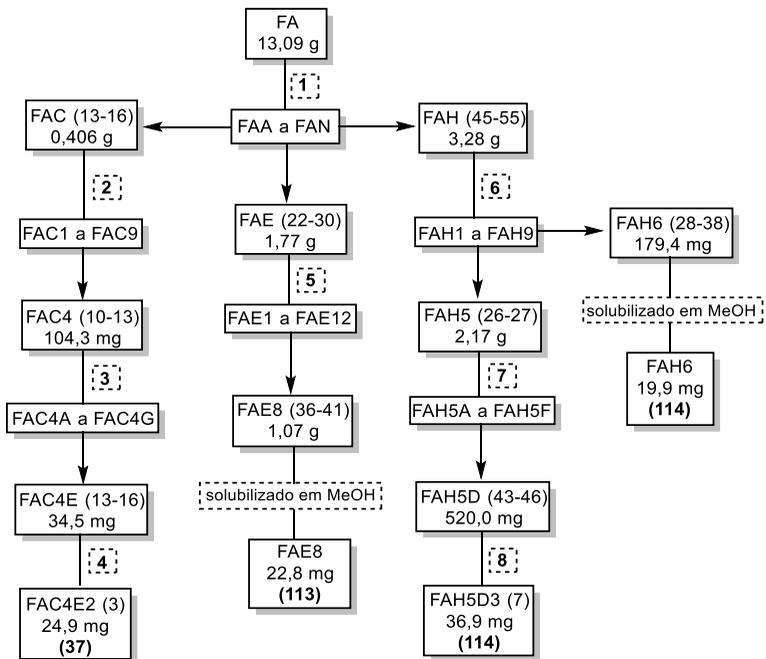
A subfração **FAH5D** (520,0 mg) foi submetida a purificação em **CC** (h: 28,5 cm; Φ : 2 cm) utilizando como fase estacionária o polímero Sephadex *LH-20* e MeOH (200 mL) como fase móvel, em sistema isocrático (**nº 8 – Esquema 8**). Foram obtidas 10 frações (20 mL) que após analisadas em CCDA, foram reagrupadas de acordo com a similaridade de Rf, em 4 subfrações, denominadas **FAH5D1** a **FAH5D4**.

A subfração **FAH5D3** (36,9 mg), precipitado branco, foi submetida a análise em CCDA com irradiação UV ($\lambda=254$ e 365 nm), com reagentes AS e VS e encaminhada para análise de RMN de ^1H .

Tabela 20 – Sistema de eluição e frações coletadas da **FAH5**

Sistema de solventes	Volume (mL)	Frações coletadas
Hex-AcOEt (7:3)	50	1-2
Hex-AcOEt (1:1)	50	3-4
Hex-AcOEt (3:7)	50	5-6
AcOEt (100%)	150	7-13
AcOEt-MeOH (99,5:0,5)	50	14-15
AcOEt-MeOH (99:1)	50	16-18
AcOEt-MeOH (98:2)	100	19-24
AcOEt-MeOH (95:5)	300	25-40
AcOEt-MeOH (9:1)	100	41-45
AcOEt-MeOH (8:2)	50	46-48
AcOEt-MeOH (7:3)	50	49-51
AcOEt-MeOH (1:1)	150	52-58
AcOEt-MeOH (3:7)	50	59-61
MeOH (100%)	150	62-68

Na subfração **FAH6** (179,4 mg), houve a formação de um precipitado branco amarelado, que após solubilização em MeOH e separação do precipitado, obteve-se a **FAH6** purificada (19,9 mg). A amostra foi submetida a análise em CCDA com irradiação UV ($\lambda=254$ e 365 nm), com reagentes de AS e VS e encaminhada para análise de RMN de ^1H e ^{13}C (1D e 2D), IV, EM, PF e $[\alpha]_D$ para comparação dos dados com a literatura.



Esquema 8 – Procedimento geral de fracionamento da FA

Legenda: **1** – CC; h: 30 cm; Φ : 6 cm; FE: sílica gel; FM: Tabela 15; **2** – CC; h: 20 cm; Φ : 2 cm; FE: sílica flash; FM: Tabela 16; **3** – CC; h: 22 cm; Φ : 1,2 cm; FE: sílica flash; FM: Tabela 17; **4** – CC; h: 52 cm; Φ : 1,5 cm; FE: Sephadex *LH-20*; FM: MeOH; **5** – CC; h: 21,5 cm; Φ : 2,5 cm; FE: sílica flash; FM: Tabela 18; **6** – CC; h: 18,5 cm; Φ : 2,5 cm; FE: sílica flash; FM: Tabela 19; **7** – CC; h: 18 cm; Φ : 2,5 cm; FE: sílica flash; FM: Tabela 20; **8** – CC; h: 28,5 cm; Φ : 2 cm; FE: Sephadex *LH-20*; FM: MeOH.

5.2.5 Glicação de albumina sérica bovina (BSA) *in vitro*

Para avaliação da atividade antiglicação, foram utilizados os extratos brutos hexânico (**EBH**) e hidroetanólico (**EBHE**), as frações diclorometânica (**FD**), acetato de etila (**FA**) e metanólica (**FM**) e as substâncias isoladas das raízes de *Simaba trichilioides*, solubilizadas em DMSO.

As incubações foram realizadas a 37 °C em condições estéreis por 30 dias com **BSA** (10 mg/mL), glicose (0,5 M) e azida sódica (0,02%) em

tampão fosfato (0,1 M, pH 7,4), de acordo com Meepprom e colaboradores (2013), na presença e na ausência dos extratos e frações nas concentrações de 500, 250, 125 e 62,5 µg/mL, aminoguanidina (**AG**) (1 mM) e das substâncias isoladas, nas concentrações de 500, 250 e 125 µM.

Aos sistemas sem extratos, frações ou isolados, foram adicionados DMSO, utilizado para solubilizar os extratos, as frações e os isolados. Nas incubações, a proporção de DMSO foi de 5%. Alíquotas deste ensaio foram utilizadas para as seguintes determinações:

a) **Formação de AGEs:** determinação espectrofluorimétrica utilizando comprimentos de onda de excitação de $\lambda=355$ nm e de emissão de $\lambda=430$ nm. O efeito inibitório na formação de **AGEs** dos extratos, frações, da aminoguanidina ou das substâncias isoladas, foi avaliado pela diferença nos valores de fluorescência em relação à incubação conduzida somente com BSA e glicose (MEEPPROM et al., 2013). As medidas foram realizadas em 10, 20 e 30 dias de incubação;

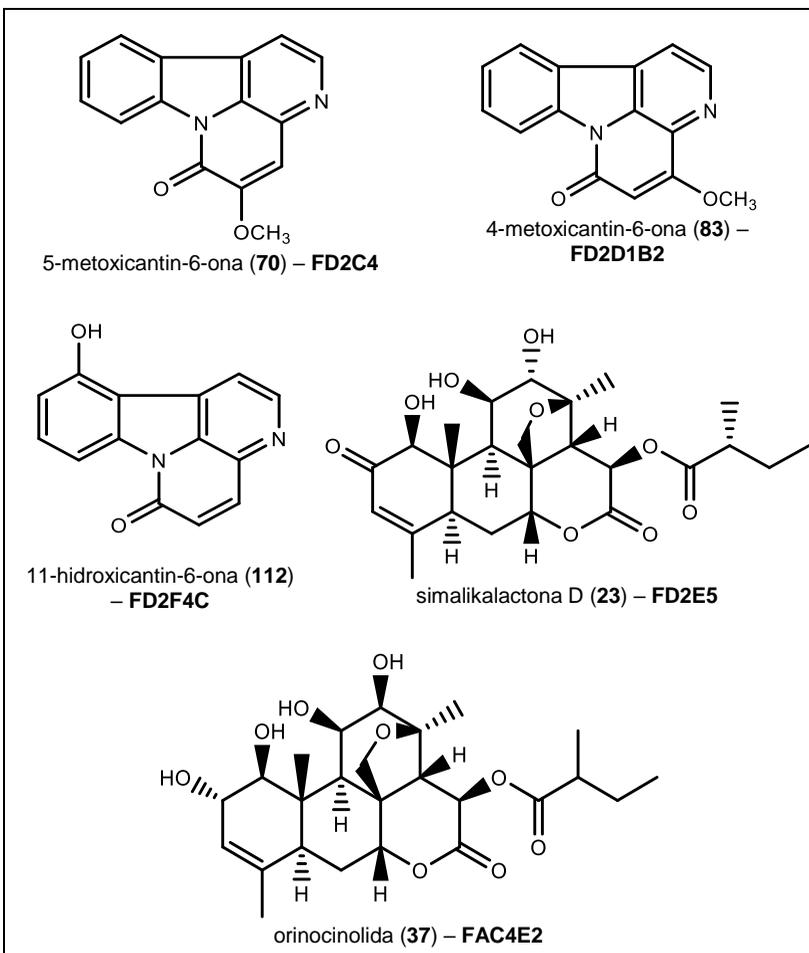
b) **Formação de intermediários (bases de Schiff) – frutosamina:** determinação pela medida de absorbância a $\lambda=530$ nm. O efeito inibitório na formação de frutosamina dos extratos, frações e isolados, foi avaliado pela diminuição da absorbância nessas amostras em relação à incubação conduzida somente com BSA e glicose.

Na análise estatística foi utilizada a análise de variância (ANOVA) unidirecional, seguida pelo teste de Student-Newman-Keuls para comparar as diferenças entre os grupos, com nível de significância estabelecido em ($p<0,05$). As medidas foram realizadas em triplicatas.

Os experimentos antiglicação foram realizados pela Prof.^a Dr.^a Amanda Martins Baviera e seu grupo de pesquisa, no Laboratório de Bioquímica e Enzimologia Clínica, da Universidade Estadual Paulista – UNESP, Campus Araraquara.

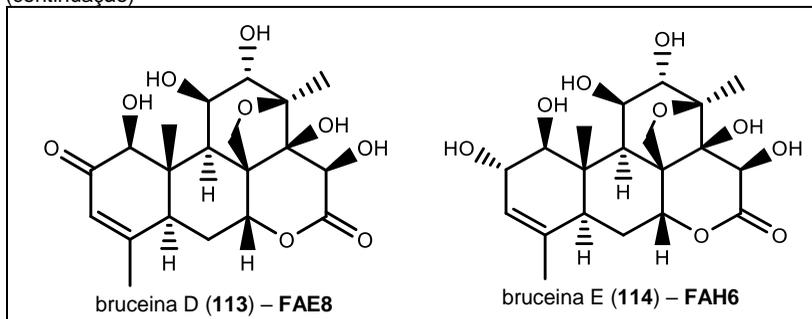
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Substâncias isoladas e identificadas das raízes de *Simaba trichilioides*



(continua)

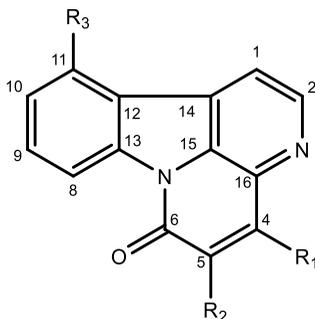
(continuação)



Quadro 10 – Substâncias isoladas e identificadas das raízes de *S. trichilioides*

6.2 Identificação estrutural das amostras isoladas de *Simaba trichilioides*

6.2.1 Identificação estrutural de alcaloides cantinônicos



- $R_1=R_2=R_3=H$ (**68**) cantin-6-ona
 $R_1=H$; $R_2=OCH_3$; $R_3=H$ (**70**) 5-metoxicantin-6-ona – **FD2C4**
 $R_1=OCH_3$; $R_2=R_3=H$ (**83**) 4-metoxicantin-6-ona – **FD2D1B2**
 $R_1=R_2=H$; $R_3=OH$ (**112**) 11-hidroxycantin-6-ona – **FD2F4C**

Os alcaloides cantinônicos são comuns em espécies da família Simaroubaceae e Rutaceae, sendo esses os mais amplamente distribuídos em plantas, podendo também ser encontrados nas famílias Amaranthaceae,

Caryophyllaceae, Malvaceae e outras. As posições C-1 e C-2, C-4 e C-5; C-8 a C-11 podem ser oxidadas, levando a estruturas hidroxiladas ou metoxiladas (OHMOTO; KOIKE, 1990). A estrutura mais simples desse tipo de alcaloide é a cantin-6-ona (**68**), isolado pela primeira vez por Haynes e colaboradores (1952) de *Pentaceras australis* Hook. f. (Rutaceae).

O espectro de RMN de ^1H de (**68**) revela a presença de dois pares de hidrogênios vicinais nos anéis C e D, com sinais de dupletos nas posições H-1 e H-2 no anel C, que se correlacionam apresentando constantes de acoplamento (J) em *orto* em torno de 5 Hz, e dupletos em H-4 e H-5 no anel D com (J) em torno de 10 Hz. O padrão de substituição em *orto* para o anel A desse tipo de alcaloide leva as posições 8, 9, 10 e 11, quatro hidrogênios adjacentes geralmente com (J) em torno de 8,00 Hz (KOIKE; OHMOTO, 1985)

Os espectros de IV dos alcaloides cantinônicos apresentam bandas de absorção características de lactama, entre 1632 e 1695 cm^{-1} , dependendo da posição do grupo funcional (OHMOTO; KOIKE, 1990).

6.2.1.1 Identificação estrutural de **FD2C4**

A amostra **FD2C4** (28,2 mg), obtida da fração diclorometânica do EBHE, identificada como o alcaloide 5-metoxicantin-6-ona (**70**) apresentou-se na forma de cristais pálidos amarelos, PF = 236-242 $^{\circ}\text{C}$, [lit. = 237-238 $^{\circ}\text{C}$ (AWAD et al., 1967; FORGACS, et al., 1982) e 239-240 $^{\circ}\text{C}$ (OHMOTO e KOIKE, 1983)], solúvel em CHCl_3 ; quando analisada em CCDA com irradiação UV ($\lambda=365$ nm), observou-se a presença de uma mancha de coloração lilás, que revelada com reagente DRG, sugeriu a presença de alcaloide através do aparecimento de uma coloração laranja.

A análise do espectro de IV de (**70**) (**Figura 6**) apresentou bandas de absorção em 3062, 3032 e 3008 cm^{-1} ($\nu_{\text{Csp}^2\text{-H}}$), 2924 e 2846 cm^{-1} ($\nu_{\text{Csp}^3\text{-H}}$); 1674 cm^{-1} ($\nu_{\text{C=O}}$) de δ -lactama α,β -insaturada; bandas em 1597 e 1566 cm^{-1} relacionadas ao estiramento ($\nu_{\text{C=C}}$) de anel aromático; banda em 1442 cm^{-1} relacionada ao estiramento ($\nu_{\text{C-N}}$) de δ -lactamas e banda em 1288 cm^{-1}

relacionada ao estiramento (ν_{C-O}) de éter vinílico. Esses valores estão de acordo com Wagner e colaboradores (1979) que observaram bandas de absorção em: 1670 e 1630 cm^{-1} ($\nu_{C=O}$, conjugada) e 1550 cm^{-1} (anel aromático) e Ohmoto e Koike (1983) que observaram bandas de absorção em 1680 , 1640 , 1440 , 1290 , 1250 e 1050 cm^{-1} para o alcaloide (**70**).

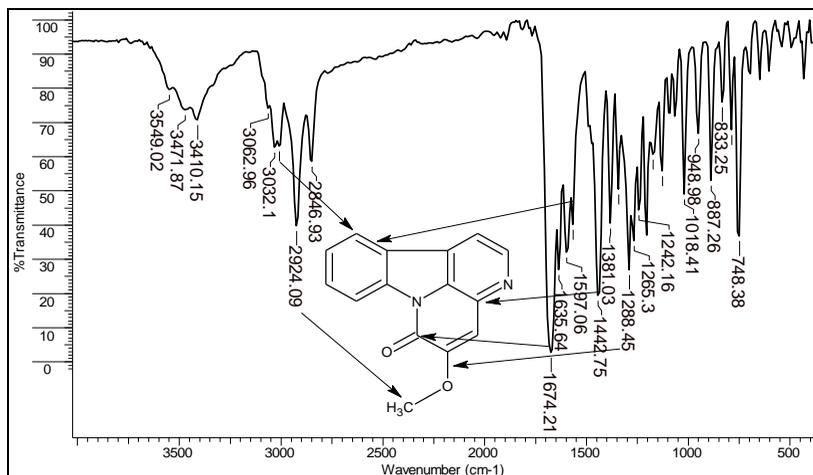


Figura 6 – Espectro de IV (KBr) de (70)

O espectro de absorção no ultravioleta de (**70**) (**Figura 7**) apresentou bandas em $\lambda_{\text{max}}=294$; 339 ; 355 e 373 nm [lit. $\lambda_{\text{max}}=290$; $339,5$; $354,5$ e 372 nm (NELSON et al., 1952a)], estando de acordo com os valores publicados por Haynes e colaboradores (1952) para alcaloides cantinônicos.

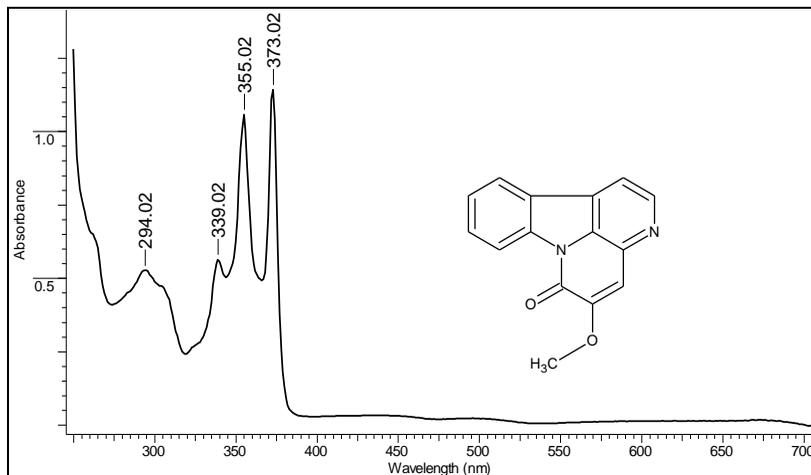


Figura 7 – Espectro de absorção no UV-Vis de (70)

O espectro de massas de alta resolução de (70) (**Figura 8**) exibiu picos do aduto $[M+Na]^+$ $m/z=273,0642$ e $[M+H]^+$ $m/z=251,0821$. A massa exata calculada para $C_{15}H_{10}O_2N_2$ exibiu o valor de 250,0742 g/mol e $[M+H]^+$ de $m/z=251,0815$ com erro de 0,0006 unidades de massa atômica (2,38 ppm), considerando que para massas de alta resolução, a precisão deve ser inferior a 5 ppm (WANG, 2009). O espectro de massas de alta resolução sugere a fórmula molecular $C_{15}H_{10}O_2N_2$ para o alcaloide 5-metoxicantinin-6-ona (70).

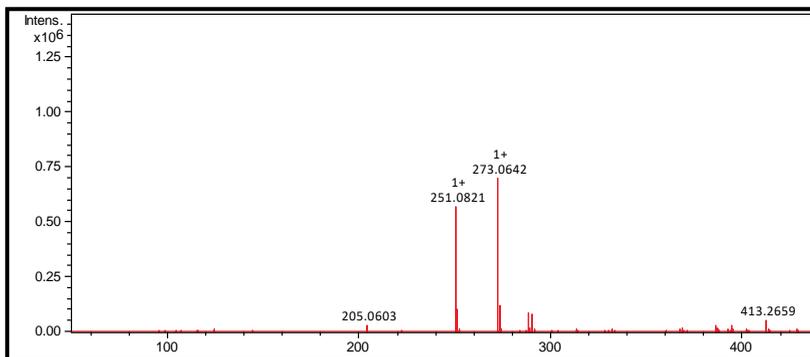


Figura 8 – Espectro de massas de (70) por infusão direta no HR-ESI-MS

No espectro de RMN de ^1H (**Figura 9**) de (70) todas as constantes de acoplamento características do núcleo alcaloídico cantinônico descritas por Ohmoto e Koike (1985) são apresentadas, exceto entre H-4 e H-5, demonstrando assim que uma dessas posições foi substituída. Dois dupletos em δ_{H} 7,87 (1H; $J=5,3$ Hz) e δ_{H} 8,72 (1H; $J=5,2$ Hz) foram atribuídos aos hidrogênios H-1 e H-2 respectivamente, no anel piridínico da estrutura de (70) e suas correlações são observadas no experimento de COSY (**Figura 10**). Um singleto atribuído ao H-17 em δ_{H} 4,06 com integração para 3 hidrogênios, confirma a presença de metoxila, corroborado pela presença de bandas em 2924 e 2846 cm^{-1} ($\nu_{\text{Csp}^3\text{-H}}$) no espectro de IV (**Figura 6**). Outro singleto em δ_{H} 7,30, com integração para 1 hidrogênio, é atribuído ao H-4, inferindo-se que há uma substituição na posição 5 da estrutura, atribuindo-a à metoxila, confirmada pelo HMBC (**Figura 14**). Os valores atribuídos aos hidrogênios H-4 e H-17 são corroborados por Della Casa e Sojo (1967) para o alcaloide (70).

O espectro de RMN de ^1H (**Figura 9**) apresenta ainda quatro sinais de hidrogênios aromáticos, relativos ao sistema aromático dissustituído em *orto*. São observadas no experimento de COSY (**Figura 10**), correlações entre os sinais do tripleto em δ_{H} 7,71 (1H; $J=7,9$ Hz; H-9), com o duplete em δ_{H} 8,69 (1H; $J=8,2$ Hz; H-8) e com outro tripleto em δ_{H} 7,53 (1H; $J=7,8$ Hz; H-10). O sinal do tripleto em δ_{H} 7,53, atribuído ao H-10, também se correlaciona com o duplete em δ_{H} 8,09 (1H; $J=7,6$ Hz; H-11).

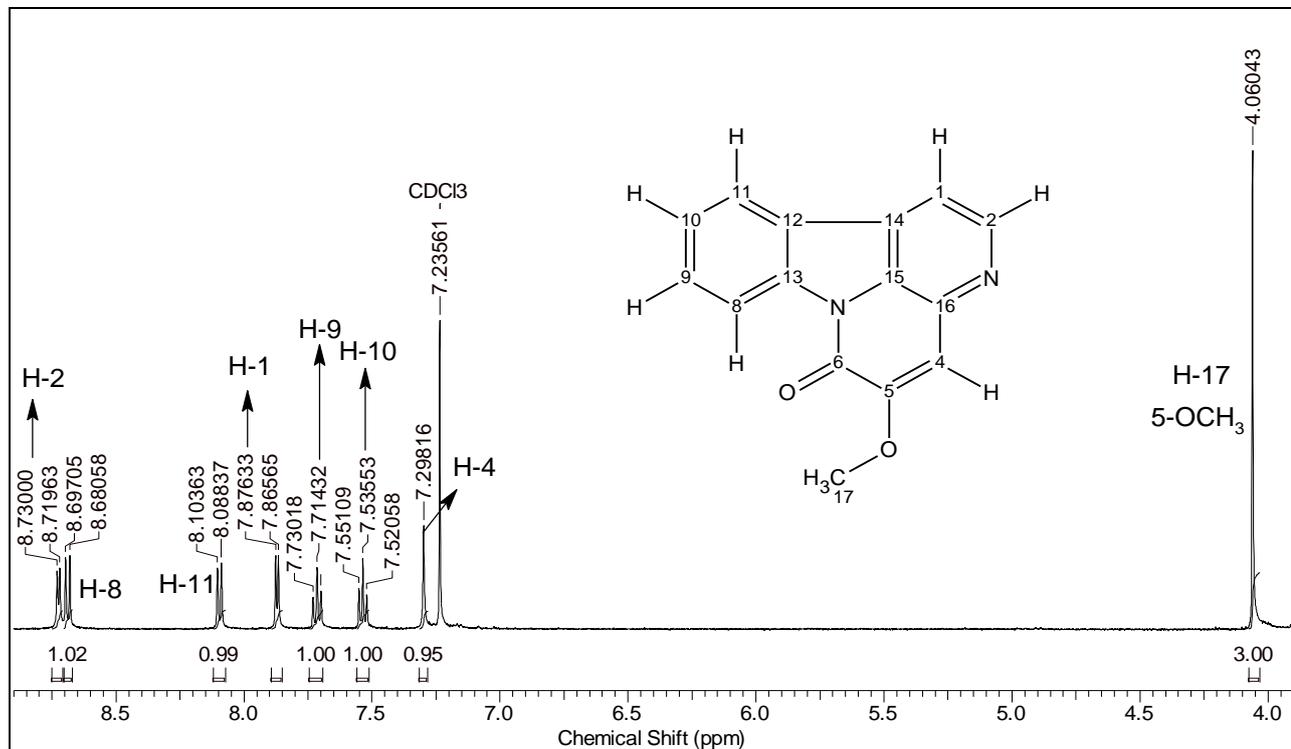


Figura 9 – Espectro de RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) de (70) entre δ_H 9,00 e 4,00

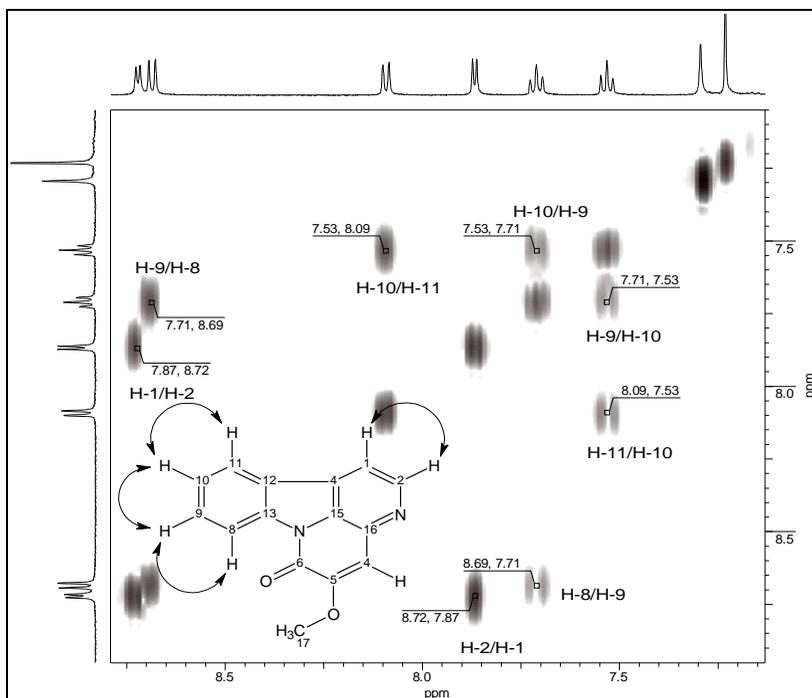


Figura 10 – Mapa de contorno (COSY, 500 MHz em CDCl_3) de **(70)** entre δ_{H} 8,90 – 7,10

No espectro de RMN de ^{13}C (**Figura 11**) observa-se a presença de 15 sinais, corroborados pela fórmula molecular $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_2\text{N}_2$, conforme relatado anteriormente para os experimentos com HR-ESI-MS. Um sinal em δ_{C} 57,1 característico da presença de metoxila, confirmou as observações descritas pelo RMN de ^1H (**Figura 9**). Sinais em δ_{C} 113,9, δ_{C} 144,2 e δ_{C} 136,0 foram atribuídos aos carbonos C-1, C-2 e C-16 respectivamente, no anel C piridínico. Aos carbonos do anel D lactâmico foram atribuídos os sinais em δ_{C} 108,5 (C-4), δ_{C} 155,0 ao carbono oxigenado em C-5 e δ_{C} 155,1 ao carbono da carbonila lactâmica em C-6. Aos carbonos dos anéis A e B referente ao núcleo indólico foram atribuídos os sinais em δ_{C} 117,5 (C-8), δ_{C} 131,1 (C-9),

δ_c 126,0 (C-10), δ_c 122,8 (C-11) no anel A do sistema aromático dissustituído e os valores em δ_c 124,9 (C-12), δ_c 139,4 (C-13), δ_c 127,5 (C-14) e δ_c 130,2 (C-15) foram atribuídos aos carbonos do anel B. Essas atribuições são corroboradas pelos espectros de DEPTQ-135 (**Figura 12**), HSQC (**Figura 13**) e HMBC (**ANEXO A**).

Com o espectro de RMN de ^{13}C (DEPTQ-135) (**Figura 12**) foi possível a confirmação da presença de 1 carbono metílico, 7 carbonos metínicos e 7 carbonos quaternários. Em fase positiva, o carbono metílico da metoxila em C-17 (δ_c 57,1) e os carbonos metínicos em C-1 (δ_c 113,9), C-2 (δ_c 144,2), C-4 (δ_c 108,5), C-8 (δ_c 117,5), C-9 (δ_c 131,1), C-10 (δ_c 126,0) e C-11 (δ_c 122,8). Em fase negativa, o carbono quaternário oxigenado em C-5 (δ_c 155,0), o carbono quaternário da carbonila em C-6 (δ_c 155,1), os carbonos quaternários não oxigenados e não nitrogenados em C-12 (δ_c 124,9) e C-14 (δ_c 127,5) e os carbonos quaternários nitrogenados em C-13 (δ_c 139,4), C-15 (δ_c 130,2) e C-16 (δ_c 136,0).

Com o experimento de HSQC (**Figura 13**) foi possível a definição das correlações dos hidrogênios e carbonos a $^1J_{\text{HC}}$ na estrutura do alcaloide (**70**). As correlações são observadas a $^1J_{\text{HC}}$ entre H-17/C-17 (δ_{H} 4,06/ δ_c 57,1) atribuída a metoxila, correlações correspondentes às sete posições metínicas entre H-1 (δ_{H} 7,87) e C-1 (δ_c 113,9), H-2 (δ_{H} 8,72) e C-2 (δ_c 144,2), H-4 (δ_{H} 7,30) e C-4 (δ_c 108,5), H-8 (δ_{H} 8,69) e C-8 (δ_c 117,5), H-9 (δ_{H} 7,71) e C-9 (δ_c 131,1), H-10 (δ_{H} 7,53) e C-10 (δ_c 126,0) e H-11 (δ_{H} 8,09) e C-11 (δ_c 122,8) (**Tabela 21**).

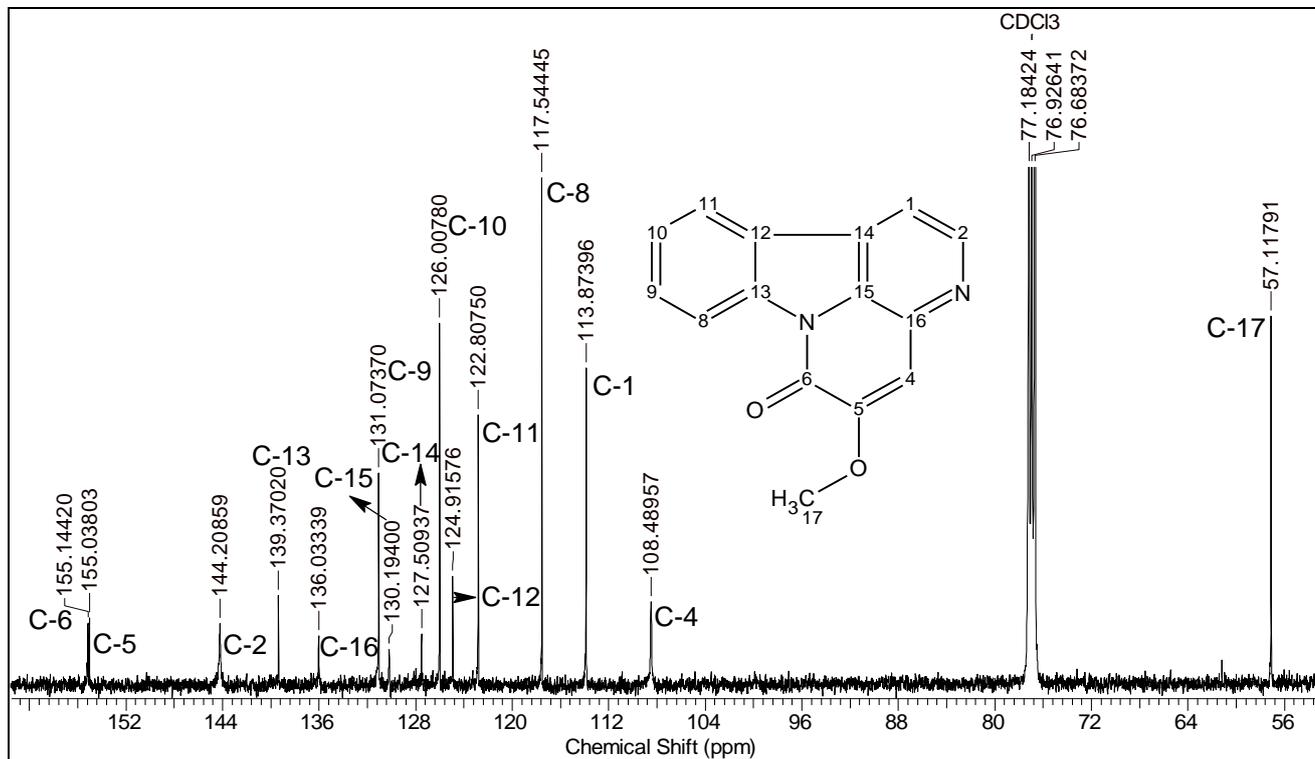


Figura 11 – Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de (70) entre δ_c 160,0 e 56,0

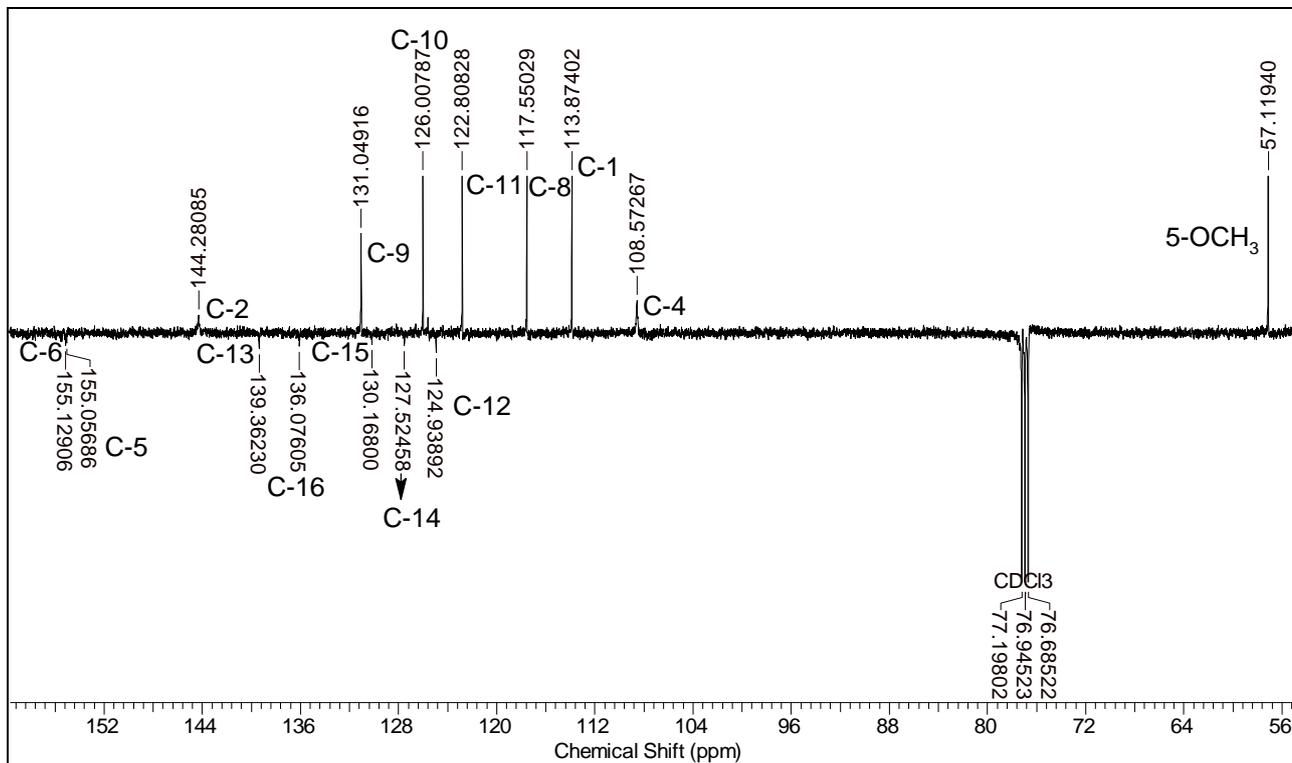


Figura 12 – Espectro de RMN de ^{13}C (DEPTQ-135, 125 MHz em CDCl_3) de (70) entre δ_{C} 160,0 e 56,0

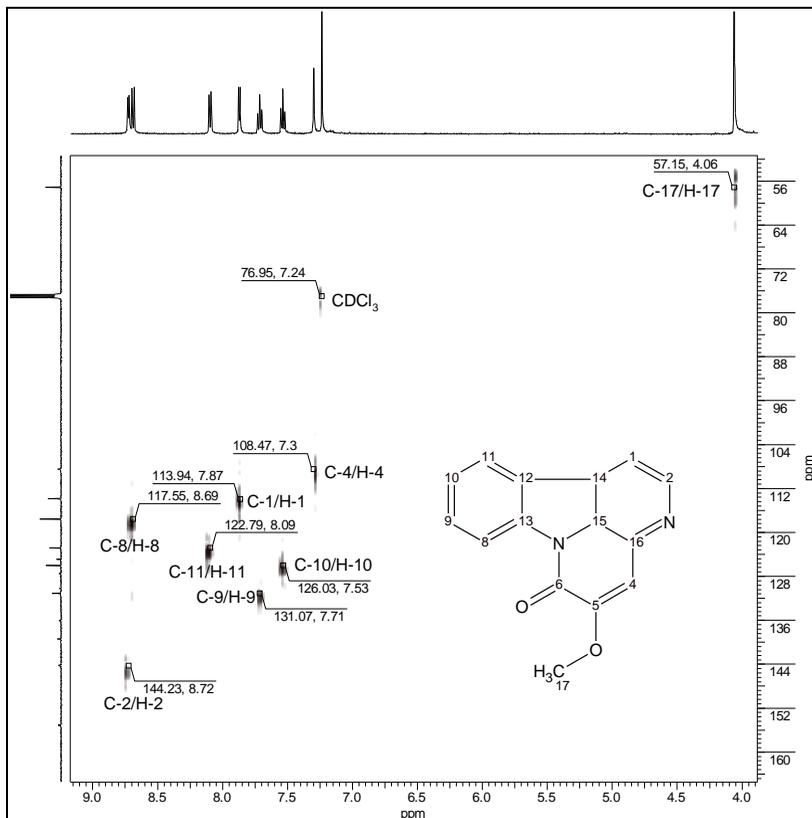


Figura 13 – Mapa de contorno (HSQC, 500/125 MHz em CDCl_3) de **(70)**

A posição da metoxila em 5 foi assim confirmada, pelas correlações observadas no experimento de HMBC (**Figura 14**) dos hidrogênios da metoxila (δ_{H} 4,06) com C-4 (δ_{C} 108,5), C-5 (δ_{C} 155,0) e C-6 (δ_{C} 155,1). Foram observadas também as correlações entre os hidrogênios H-4 (δ_{H} 7,30) com C-5 (δ_{C} 155,0), C-6 (δ_{C} 155,1), C-14 (δ_{C} 127,5), C-15 (δ_{C} 130,2) e C-16 (δ_{C} 136,0).

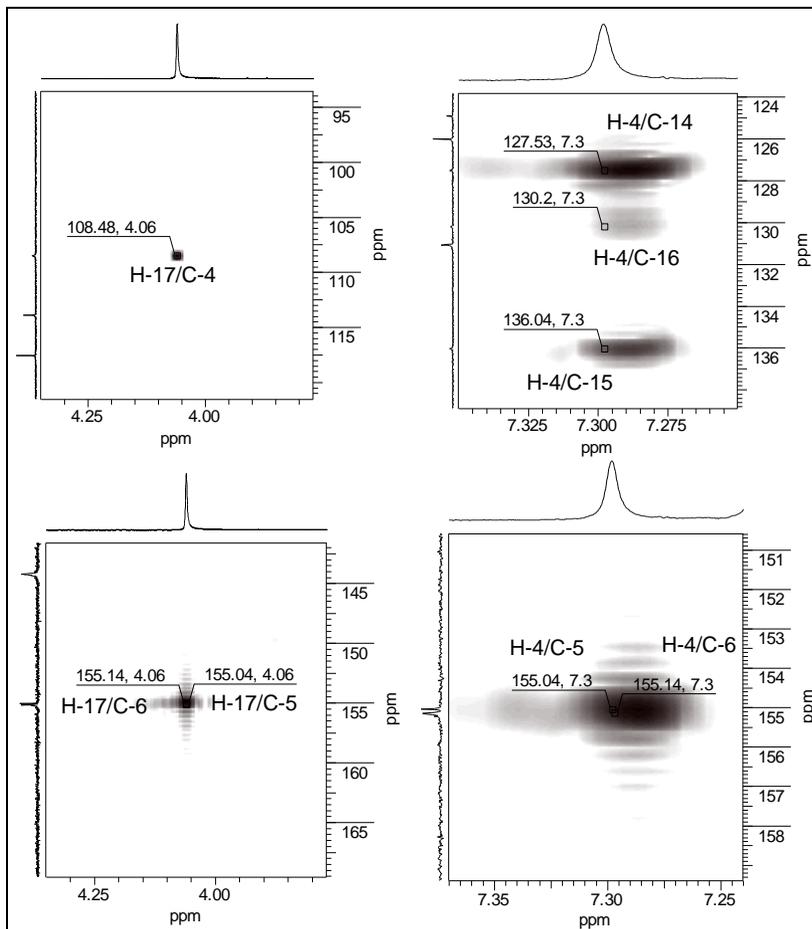


Figura 14 – Expansões no experimento de HMBC de **(70)** em H-4 e H-17

Outras correlações entre hidrogênios e carbonos a $^{2-4}J_{HC}$ foram observadas no experimento de HMBC de **(70)** (**ANEXO A** e **Tabela 21**) que corroboram para confirmação do alcaloide cantinônico **(70)**. As principais correlações estão esquematizadas na **Figura 15**.

Tabela 21 – Correlações de ^1H e ^{13}C observadas nos experimentos de COSY, HSQC e HMBC de (70)

5-metoxicantin-6-ona (70)					
RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) em CDCl_3					
C/H	δ ^1H (ppm)	δ ^{13}C (ppm)	COSY ($^2\text{-}^3J_{\text{H,H}}$)	HSQC ($^1J_{\text{H,C}}$)	HMBC ($^2\text{-}4J_{\text{H,C}}$)
1	7,87	113,9	H-1/H-2	H-1/C-1	C-2; C-12; C-14; C-16
2	8,72	144,2	H-2/H-1	H-2/C-2	C-1; C-14; C-16; C-15
3	-	-	-	-	-
4	7,30	108,5	-	-	C-5; C-6; C-14; C-15; C-16
5	-	155,0	-	-	-
6	-	155,1	-	-	-
7	-	-	-	-	-
8	8,69	117,5	H-8/H-9	H-8/C-8	C-9; C-10; C-12; C-13
9	7,71	131,1	H-9/H-8; H-9/H-10	H-9/C-9	C-8; C-10; C-11; C-13
10	7,53	126,0	H-10/H-9; H-10/H-11	H-10/C-10	C-8; C-9; C-11; C-12; C-13
11	8,09	122,8	H-11/H-10	H-11/C-11	C-8; C-9; C-10; C-12; C-13; C-14
12	-	124,9	-	-	-
13	-	139,4	-	-	-
14	-	127,5	-	-	-
15	-	130,2	-	-	-
16	-	136,0	-	-	-
17	4,06	57,1	-	H-17/C-17	C-4; C-5; C-6

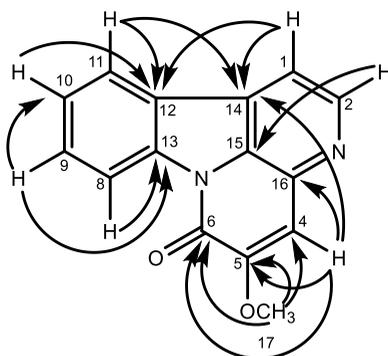


Figura 15 – Principais correlações observadas no experimento de HMBC de (70)

Chen e colaboradores (2009) publicaram dados de RMN de ^1H e ^{13}C semelhantes aos aqui relatados, corroborando para identificação do alcaloide 5-metoxicantín-6-ona (**70**). NOLDIN (2005), mesmo tendo publicado dados semelhantes aos nossos, equivocadamente atribuiu-os ao alcaloide 4-metoxicantín-6-ona (**83**) (Tabela 22).

Tabela 22 – Dados de RMN de ^1H e ^{13}C de (**70**) e comparações com a literatura

5-metoxicantín-6-ona (70) RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) em CDCl_3		NOLDIN, 2005 RMN ^1H (300 MHz) e ^{13}C (75 MHz) em CDCl_3		CHEN et al., 2009 RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) em CDCl_3		
C/H	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	$\delta^1\text{H}$ (ppm); m; J (Hz)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	$\delta^1\text{H}$ (ppm); m; J (Hz)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	$\delta^1\text{H}$ (ppm); m; J (Hz)
1	113,9	7,87; 1H; d; J=5,3	113,87	8,07; 1H; d; J=5,0	113,9	7,85; 1H; dd; J=5,1 e 2,2
2 (C-N)	144,2	8,72; 1H; d; J=5,2	145,33	8,77; 1H; d; J=5,0	144,8	8,74; 1H; d; J=5,1
3	-	-	-	-	-	-
4	108,5	7,30; 1H; s	154,34 (^a)	- (^a)	108,9	7,25; s
5 (C-O)	155,0	-	109,73 (^a)	7,31; 1H; s (^a)	154,8	-
6 (C=O)	155,1	-	155,2	-	155,1	-
7	-	-	-	-	-	-
8	117,5	8,69; 1H; d; J=8,2	117,07	8,64; 1H; d; J=7,7	117,5	8,68; 1H; d; J=8,2
9	131,1	7,71; 1H; t; J=7,9	130,47	7,78; 1H; dt; J=7,5 e 1,1	130,8	7,71; 1H; t; J=7,8
10	126,0	7,53; 1H; t; J=7,8	125,77	7,63; 1H; dt; J=7,5 e 1,1	125,9	7,53; 1H; t; J=7,1
11	122,8	8,09; 1H; d; J=7,6	122,57	8,33; 1H; d; J=7,7	122,7	8,08; 1H; d; J=7,8
12	124,9	-	124,88	-	125,0	-
13 (C-N)	139,4	-	139,81	-	139,2	-
14	127,5	-	129,59	-	127,4	-
15 (C-N)	130,2	-	127,20	-	129,8	-
16 (C-N)	136,0	-	136,28	-	136,3	-
17 (5-OCH ₃)	57,1	4,06; 3H; s	56,63	4,07; 3H; s	57,0	4,06; 3H; s

(^a) valores equivocadamente atribuídos por NOLDIN (2005).

A partir da comparação dos dados de RMN de ^1H e ^{13}C e de todos os outros experimentos relatados neste trabalho, com os valores obtidos na literatura, foi possível a elucidação estrutural do alcaloide 5-metoxicantin-6-ona (**70**) na amostra **FD2C4**.

O alcaloide (**70**) foi isolado pela primeira vez por Nelson e Price (1952a) da casca do caule de *Pentaceras australis* Hook.f. (Rutaceae), e no gênero *Simaba* foi isolado da casca da raiz de *Quassia africana* (sin. *Simaba africana*) (AYAFOR et al., 1993) e dos frutos e sementes de *Simaba cedron* (CURCINO VIEIRA, 1995) *apud* (BARBOSA et al., 2011).

6.2.1.2 Identificação estrutural de **FD2D1B2**

A amostra **FD2D1B2** (9,3 mg), obtida da fração diclorometânica do EBHE, identificada como uma mistura dos alcaloides 5-metoxicantin-6-ona (**70**) e seu isômero 4-metoxicantin-6-ona (**83**). A amostra apresentou-se como cristais amarelos na forma de agulhas, solúvel em CHCl_3 , PF=218-224 °C (decomposição), [lit. = 220-220,5 °C (NELSON; PRICE, 1952b)] para (**83**). Quando analisada em **CCDA** com irradiação UV ($\lambda=365$ nm) observou-se a presença de uma mancha de coloração lilás, que revelada com reagente **DRG**, sugeriu a presença de alcaloide através do aparecimento da coloração laranja.

A análise do espectro de IV de **FD2D1B2** (**Figura 16**) apresentou bandas de absorção em 3062, 3032 e 3008 cm^{-1} relacionadas ao estiramento ($\nu_{\text{Csp}^2\text{-H}}$); bandas em 2939 e 2839 cm^{-1} relacionadas ao estiramento ($\nu_{\text{Csp}^3\text{-H}}$); bandas em 1674 cm^{-1} e 1635 cm^{-1} relacionadas ao estiramento ($\nu_{\text{C=O}}$) de δ -lactama α,β -insaturada; bandas em 1597 e 1566 cm^{-1} , relacionadas ao estiramento ($\nu_{\text{C=C}}$) de anel aromático; banda em 1442 cm^{-1} relacionada ao estiramento ($\nu_{\text{C-N}}$) de δ -lactama e banda em 1288 cm^{-1} relacionada ao estiramento assimétrico ($\nu_{\text{C-O}}$) de éter vinílico. Estes dados são consistentes com os publicados por Ohmoto e Koike (1983) para (**70**) conforme relatado anteriormente e por Yang e colaboradores (2003) para (**83**).

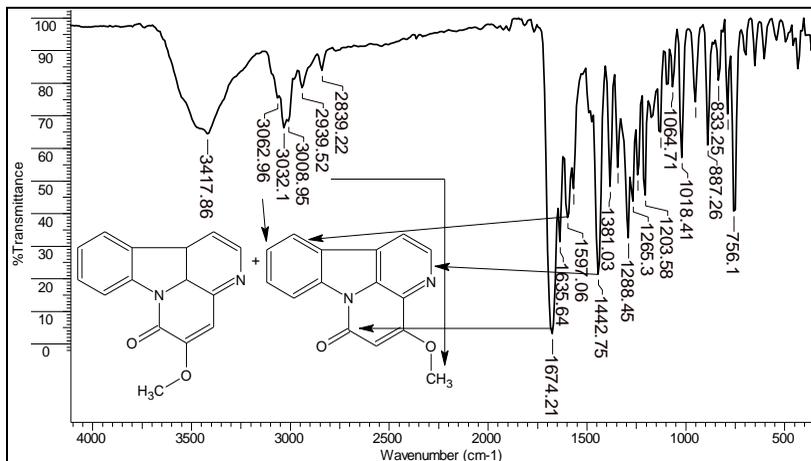


Figura 16 – Espectro de IV (KBr) da amostra **FD2D1B2**

Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C da amostra **FD2D1B2** (**ANEXO B** e **ANEXO C**), sinais de maior intensidade, representam o alcaloide (**70**), majoritário na mistura, já mencionado na amostra **FD2C4**.

A análise de RMN de ^1H e ^{13}C (sinais de menor intensidade) e os dados comparados com a literatura (FANG et al, 2015), permitiram a identificação estrutural do alcaloide 4-metoxicantirina-6-ona (**83**) minoritário na mistura com seu isômero (**70**).

As expansões do espectro de RMN de ^1H de (**83**) (**Figura 17** a **Figura 19**), mostraram sinais de dois dupletos em δ_{H} 7,86 ($J=5,2$ Hz) e δ_{H} 8,63 ($J=5,2$ Hz) com integração para 1 hidrogênio cada, atribuídos ao H-1 e H-2 respectivamente, no anel C piridínico. As constantes relativas aos acoplamentos entre H-1/H-2 ($J=5,2$ Hz), são compatíveis com acoplamentos em *orto* para esse tipo sistema aromático heterocíclico (KOIKE; OHMOTO, 1985).

Observou-se ainda, dois tripletos de dupletos em δ_{H} 7,52 (1H, $J=7,8$ e 0,9 Hz) e δ_{H} 7,71 (1H, $J=7,5$ e 1,2 Hz) atribuídos ao H-10 e H-9 respectivamente, e dois dupletos de tripletos em δ_{H} 8,07 (1H; $J=7,5$; 1,1 e 0,7

Hz) e δ_H 8,51 (1H; $J=8,2$; 0,9 e 0,8 Hz), atribuídos ao H-11 e H-8 respectivamente. Esses valores revelam a presença de 4 hidrogênios adjacentes, num sistema aromático 1,2-dissubstituído (anel A).

As constantes de acoplamento entre H-10/H-9 e H-10/H-11 ($J=7,8$ Hz) e entre H-9/H-8 ($J=7,5$ Hz), são relativas aos acoplamentos em *orto*, e as constantes de acoplamentos entre H-10/H-8 ($J=0,9$ Hz) e entre H-9/H-11 ($J=1,2$ Hz) são relativas aos acoplamentos em *meta* no anel A.

Um singlete em δ_H 5,82 com integração para 1 hidrogênio foi atribuído ao H-5, no anel D lactâmico, corroborado pelo efeito protetor que a carbonila em C-6 e a metoxila em C-4 exercem na posição α , diminuindo o valor do sinal de H-5, quando comparado com a estrutura do seu isômero (**70**), com sinal do singlete em δ_H 7,30 atribuído ao H-4, na posição β em relação à carbonila.

Atribuídos todos os hidrogênios dos anéis A (sistema aromático), do anel C (piridínico), e da posição 5 no anel D (lactâmico), o sinal de singlete em δ_H 3,94, com integração para 3 hidrogênios, só pode ser atribuído ao H-17 (OCH₃) na posição 4 do anel D (lactâmico). O sinal característico de metoxila, é corroborado pelo espectro de RMN de ¹³C (**Figura 20**) em δ_C 59,6 (C-17) e por bandas de carbono (sp³) no espectro de IV (**Figura 16**) já relatadas anteriormente. Essas posições poderão ser confirmadas com dados experimentais de RMN de ¹H e ¹³C (bidimensionais).

No espectro de RMN de ¹³C da amostra **FD2D1B2** (**Figura 20** e **Figura 21**) foram atribuídos os sinais em δ_C 115,9 (C-1), δ_C 145,1 (C-2) e δ_C 132,2 (C-16) aos carbonos do anel C (piridínico). Os sinais em δ_C 154,5 (C-4), δ_C 106,2 (C-5) e δ_C 156,3 (C-6) foram atribuídos aos carbonos do anel D lactâmico. Aos carbonos do núcleo indólico foram atribuídos os sinais em δ_C 116,9 (C-8), δ_C 131,0 (C-9), δ_C 125,6 (C-10) e δ_C 122,4 (C-11) do anel A do sistema aromático dissubstituído, e os sinais em δ_C 124,8 (C-12), δ_C 139,2 (C-13), δ_C 131,1 (C-14) e δ_C 138,1 (C-15) foram atribuídos aos carbonos quaternários no anel B.

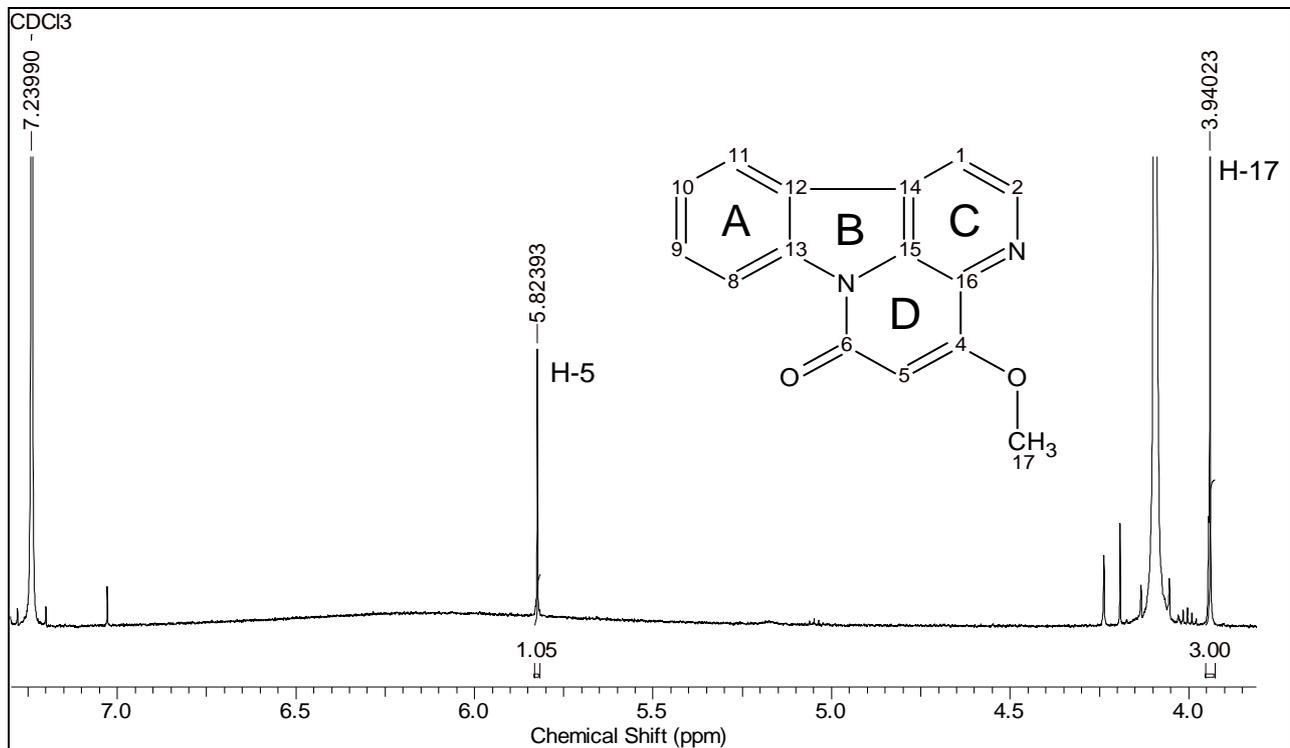


Figura 17 – Espectro de RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) de (83) entre δ_H 7,25 e 3,85

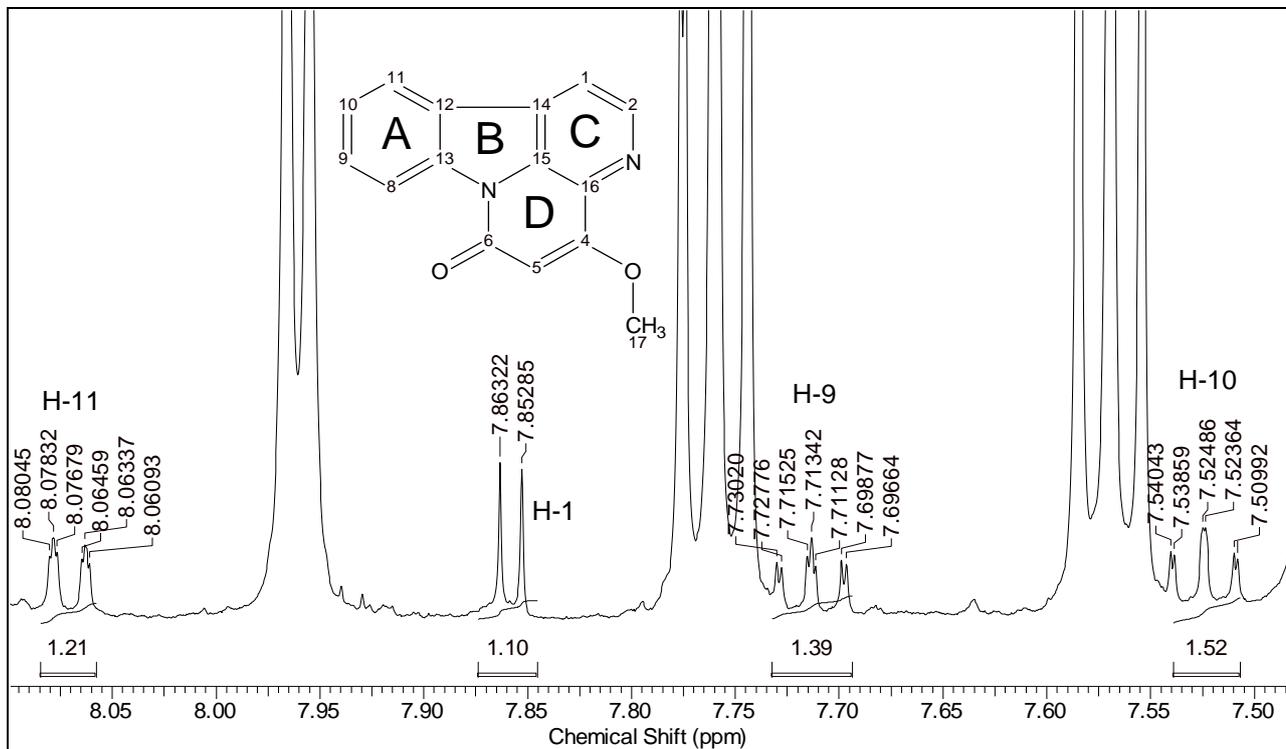


Figura 18 – Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de (83) entre δ_{H} 8,15 e 7,45

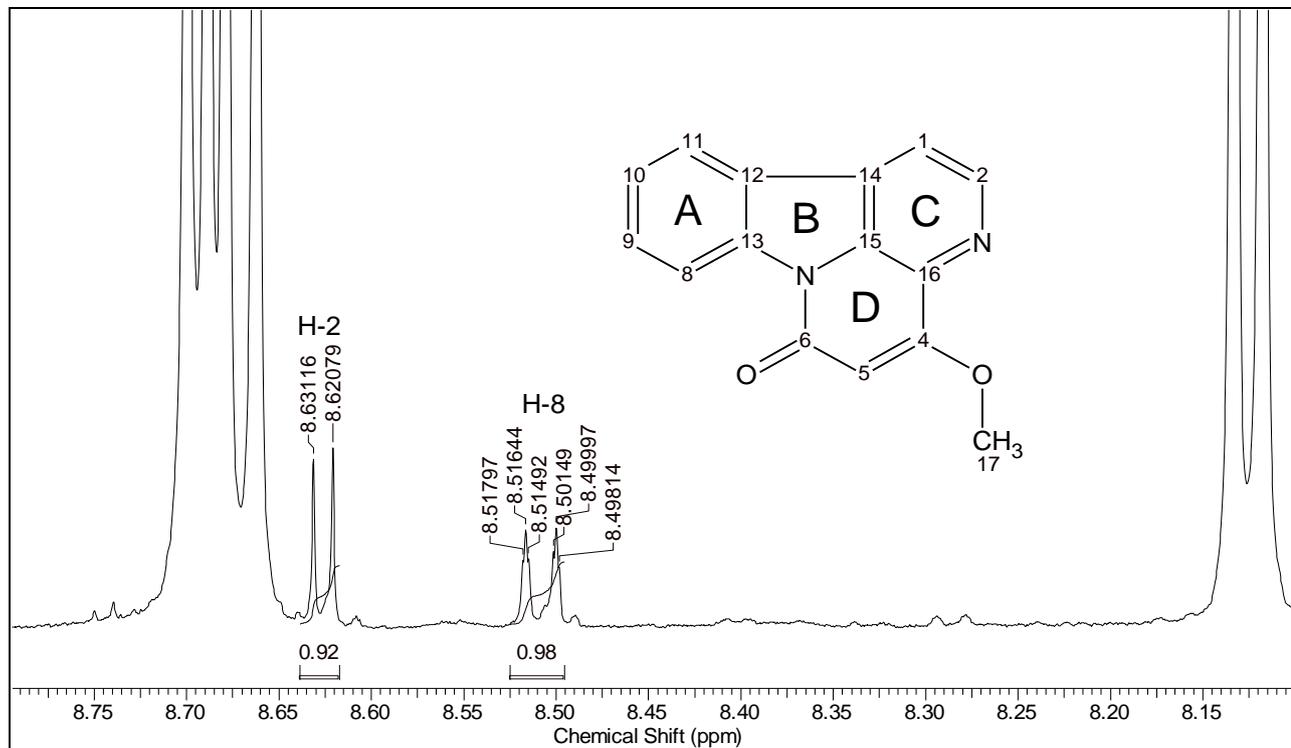


Figura 19 – Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de (**83**) entre δ_{H} 8,80 e 8,10

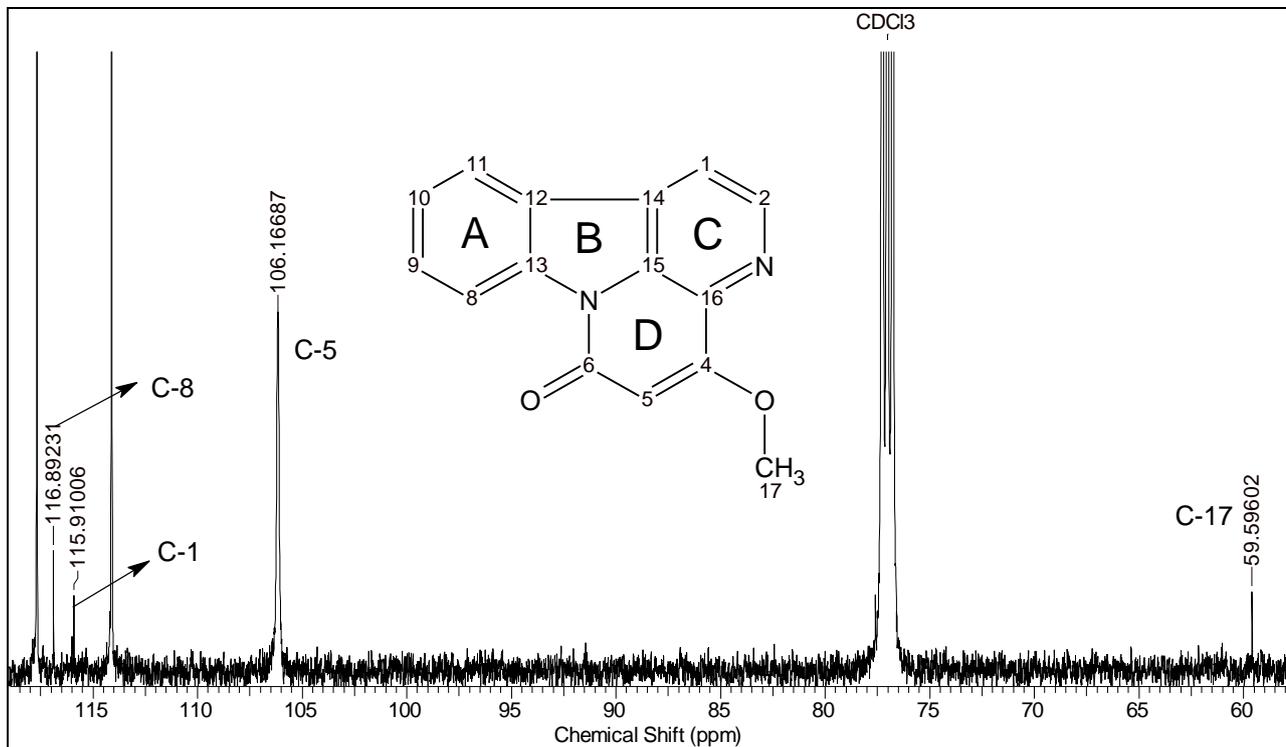


Figura 20 – Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de **(83)** entre δ_{C} 118,0 e 58,0

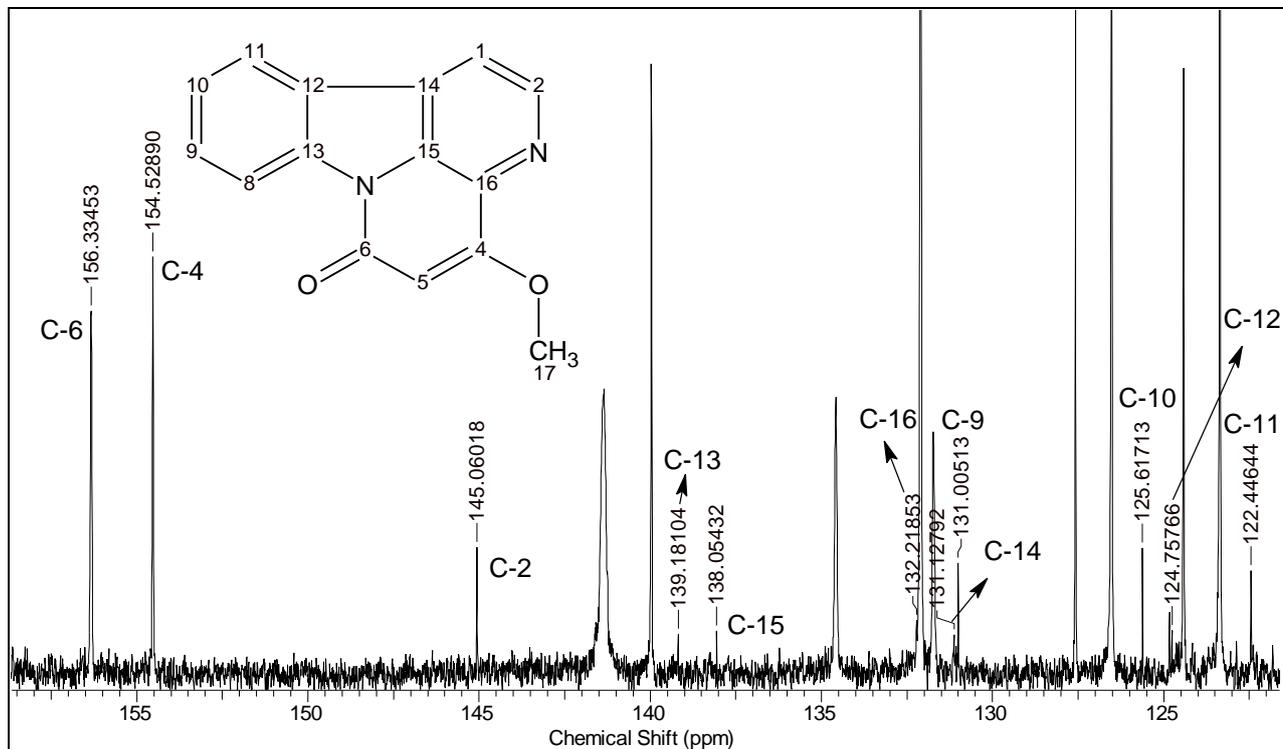


Figura 21 – Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de **(83)** entre δ_{C} 158,0 e 122,0

Os dados de RMN de ^1H e ^{13}C foram comparados com a literatura para o alcaloide 4-metoxicantín-6-ona (**83**), como mostrados na **Tabela 23**.

Tabela 23 – Dados de RMN de ^1H e ^{13}C de (**83**) e comparação com a literatura

4-metoxicantín-6-ona (83) RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) em CDCl_3			FANG et al, 2015 RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) em CDCl_3	
C/H	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	$\delta^1\text{H}$ (ppm); m; J (Hz)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	$\delta^1\text{H}$ (ppm); m; J (Hz)
1	115,9	7,86; 1H; d; J=5,2	117,0	8,03; d; J=5,0
2 (C-N)	145,1	8,63; 1H; d; J=5,2	145,1	8,86; d; J=5,0
3	-	-	-	-
4 (C-O)	154,5	-	161,0	-
5	106,2	5,82; 1H; s	101,9	6,22; s
6 (C=O)	156,3	-	164,2	-
7	-	-	-	-
8	116,9	8,51; 1H; dt; J=8,2; 0,9 e 0,8	117,0	8,67; d; J=7,8
9	131,0	7,71; 1H; td; J=7,5 e 1,2	131,0	7,73; d; J=7,8
10	125,6	7,52; 1H; td; J=7,8 e 0,9	125,0	7,53; d; J=7,8
11	122,4	8,07; 1H; dt; J=7,5; 1,1 e 0,7	122,7	8,13; d; J=7,8
12	124,8	-	124,6	-
13 (C-N)	139,2	-	139,4	-
14	131,1	-	130,7	-
15 (C-N)	138,1	-	132,1	-
16 (C-N)	132,2	-	132,2	-
17 (4-OCH ₃)	59,6	3,94; 3H; s	56,9	4,15; s

O alcaloide 4-metoxicantín-6-ona (**83**), conhecido como cordatanina, foi isolado pela primeira vez por Nelson e Price (1952b) da casca do caule de *Pentaceras australis* Hook.f. (Rutaceae). No gênero *Simaba*, (**83**) foi isolado apenas das raízes de *Simaba ferruginea* (NOLDIN et al., 2005), e que acredita-se ser uma atribuição equivocada dos dados de RMN, como relatado no tópico **6.2.1.1** identificação estrutural de **FD2C4** (pag. 114).

6.2.1.3 Identificação estrutural de **FD2F4C**

A amostra **FD2F4C** (16,9 mg), obtida da fração diclorometânica do EBHE, identificada como o alcaloide 11-hidroxycantín-6-ona (**112**), apresentou-se como cristais amarelos na forma de agulhas, solúvel na mistura de CHCl_3 -MeOH (95:5) e em DMSO, PF = 327-335°C, [lit.= 323-325 °C (FUKAMIYA et al., 1986) e 327-329°C (PETTIT et al., 1988)]. Quando analisada em CCDA com irradiação UV ($\lambda=254$ nm) apresentou uma mancha escura amarelada e UV ($\lambda=365$ nm) observou-se a presença de uma mancha de coloração laranja. Submetida ao teste com reagente **DRG** sugeriu a presença de alcaloide através do aparecimento de uma coloração laranja. A amostra **FD2F4B5** (6,8 mg) apresentou as mesmas características descritas acima para **FD2F4C** e através da comparação dos dados de RMN de ^1H , também foi identificada como sendo o alcaloide (**112**).

O espectro de IV de (**112**) (**Figura 22**) apresentou bandas de absorção em 3448 cm^{-1} sugerindo a presença de hidroxila ($\nu_{\text{O-H}}$) acompanhada de banda em 1249 cm^{-1} ($\nu_{\text{C-OH}}$) fenólica; bandas em 3086 e 3039 cm^{-1} ($\nu_{\text{Csp}^2\text{-H}}$); bandas em 1658 e 1627 cm^{-1} relacionadas ao estiramento ($\nu_{\text{C=O}}$) de δ -lactama α,β -insaturada e banda em 1442 cm^{-1} relacionada ao estiramento ($\nu_{\text{C-N}}$) de δ -lactamas. Esses valores são consistentes para os publicados por Clarke e colaboradores (1980) e por Fukamiya e colaboradores (1986) para o alcaloide (**112**).

O espectro de absorção no ultravioleta de (**112**) (**Figura 23**) apresentou bandas em $\lambda_{\text{max}}=273; 282; 336$ e 422 nm [lit. $\lambda_{\text{max}}=276; 342; 356$ e 416 nm (OUYANG et al., 1994)], estando de acordo com os valores publicados por Haynes e colaboradores (1952) para alcaloides cantínônicos.

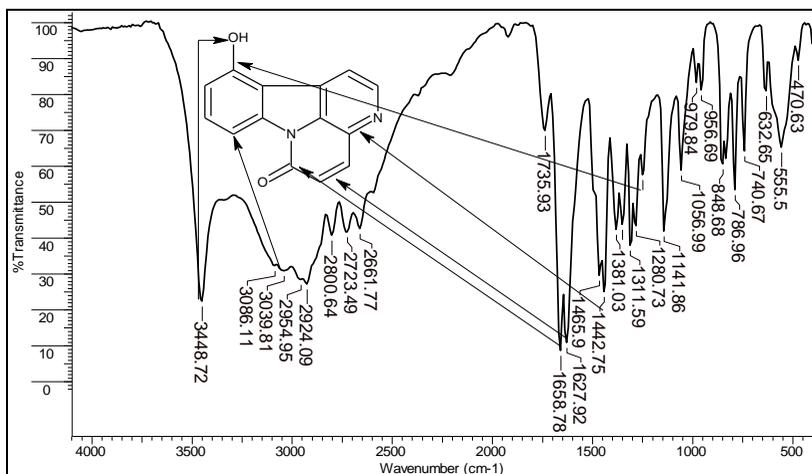


Figura 22 – Espectro de IV (KBr) de (112)

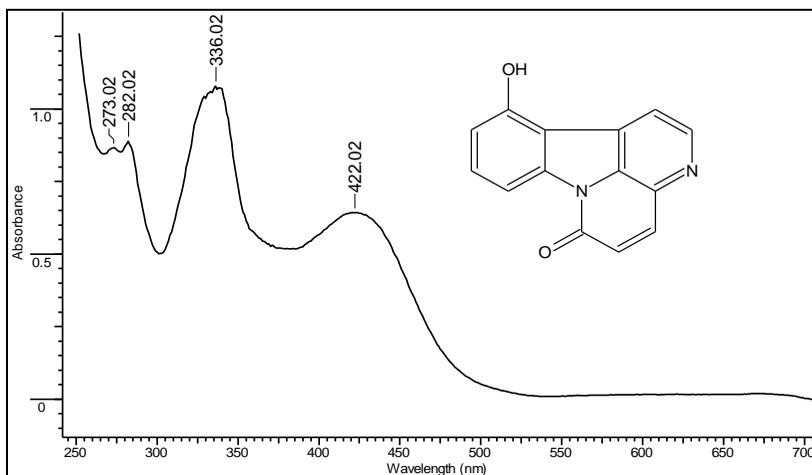


Figura 23 – Espectro de absorção no UV-Vis de (112)

O espectro de massas de alta resolução de (112) (Figura 24) revelou a massa molecular da estrutura através da razão massa carga (m/z) da amostra ionizada, sugerindo a fórmula molecular C₁₄H₈O₂N₂, com massa

molecular calculada de 236,0586 g/mol e $[M+H]^+$ calculado de $m/z=237,0659$. A amostra, solubilizada em $CHCl_3$ -MeOH, exibiu picos do aduto $[M+Cl]^-$ $m/z=271,0266$ e $[M+H]^+$ $m/z=237,0654$, apresentado um erro de 0,0005 unidades de massa atômica (2,11 ppm), considerando que para massas de alta resolução, a precisão deve ser inferior a 5 ppm (WANG, 2009). O espectro de massas corrobora para a identificação do alcaloide 11-hidroxicantin-6-ona (**112**).

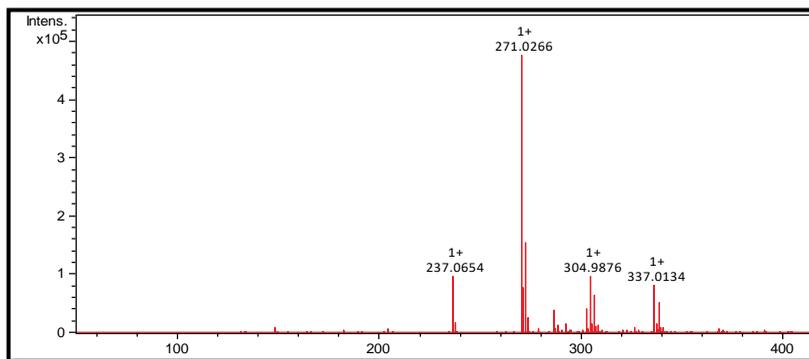


Figura 24 – Espectro de massas de (**112**) por infusão direta no HR-ESI-MS

O espectro de RMN de 1H de (**112**) (**Figura 26**) revelou a presença de dois dupletos em δ_H 8,05 (1H; $J=4,9$ Hz) e δ_H 8,75 (1H; $J=5,0$ Hz) característicos de H-1 e H-2 respectivamente, no anel C (piridínico) e dois dupletos em δ_H 8,09 (1H; $J=9,8$) e δ_H 6,94 (1H; $J=9,8$ Hz) característicos de H-4 e H-5, no anel D (lactâmico). Observou-se correlações no experimento de COSY entre H-1/H-2 ($J=4,9$ Hz) e entre H-4/H-5 ($J=9,8$ Hz) (**Figura 29**).

O espectro de RMN de 1H revelou ainda sinais de um duplo duplete em δ_H 7,92 (1H; $J=8,1$ e 0,6 Hz; H-8), com acoplamento em *orto* com um tripleto em δ_H 7,54 (1H; $J=8,1$ Hz; H-9) e em *meta* com um duplo duplete em δ_H 6,98 (1H; $J=8,1$ e 0,5 Hz; H-10). O tripleto em δ_H 7,54 (H-10) se correlaciona em *orto* com H-10 e com H-8, e o outro duplo duplete em δ_H 6,98

(H-10) se correlaciona em *orto* com H-9 e em *meta* com H-8. Essas correlações são observadas no experimento de COSY (**Figura 29**), sugerindo a presença de 3 hidrogênios adjacentes num sistema aromático 1,2,3-trissubstituído em uma das posições 8 ou 11 do anel A.

O espectro de RMN de ^{13}C de (**112**) (**Figura 27**) apresentou 14 sinais de carbonos, corroborados pela fórmula molecular $\text{C}_{14}\text{H}_8\text{O}_2\text{N}_2$, conforme relatado anteriormente para os experimentos com HR-ESI-MS. Sinais em δ_{C} 117,9 (C-1), δ_{C} 146,0 (C-2) e δ_{C} 135,0 (C-16) foram atribuídos aos carbonos do anel C (piridínico). Sinais em δ_{C} 139,7 (C-4), δ_{C} 128,1 (C-5) e δ_{C} 158,9 (C-6) foram atribuídos aos carbonos do anel D (lactâmico). Sinais em δ_{C} 107,0 (C-8), δ_{C} 132,2 (C-9), δ_{C} 112,1 (C-10) e δ_{C} 155,3 (C-11) foram atribuídos ao anel A do sistema aromático trissubstituído. Foram atribuídos ainda os sinais referentes aos carbonos quaternários do anel B do núcleo indólico em δ_{C} 111,7 (C-12), δ_{C} 140,0 (C-13), δ_{C} 128,7 (C-14) e δ_{C} 131,0 (C-15).

As atribuições dos sinais dos carbonos foram corroboradas pelo experimento de DEPTQ-135 de (**112**) (**Figura 28**), confirmando a presença de sete carbonos metínicos em C-1, C-2, C-4, C-5, C-8, C-9 e C-10 em fase positiva e sete carbonos quaternários em C-6, C-11, C-12, C-13, C-14, C-15 e C-16, em fase negativa.

Os sinais dos carbonos metínicos foram atribuídos observando as correlações apresentadas no experimento de HSQC (**Figura 30**) estando de acordo com os valores apresentados por Pettit e colaboradores (1988) e Ouyang e colaboradores (1994) para o alcaloide (**112**).

As correlações observadas no experimento de HMBC de (**112**) para os hidrogênios H-8, H-9 e H-10 confirmam que o carbono C-11 pertence ao anel A da estrutura. As correlações entre H-9/C-13, H-10/C-11 e H-10/C-14 confirmam a substituição na posição C-11 (**Figura 31**). As correlações entre H-10/C-14 e H-1/C-12, confirmam as junções entre os anéis A, B e C. As correlações entre H-2/C-16 e H-5/C-16, confirmam as junções entre os anéis C e D. As principais correlações a $^{2-4}J_{\text{HC}}$ dos hidrogênios metínicos na

estrutura de (112), observadas no experimento de HMBC (ANEXO D) e Tabela 24, estão esquematizadas na Figura 25 e foram imprescindíveis para elucidação estrutural do alcaloide 11-hidroxicanthin-6-on (112).

Tabela 24 – Correlações de ^1H e ^{13}C observadas nos experimentos de COSY, HSQC e HMBC de (112)

11-hidroxicanthin-6-ona (112)					
RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) em DMSO- d_6					
C/H	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	$\delta^1\text{H}$ (ppm)	COSY ($^{2-3}J_{\text{HH}}$)	HSQC ($^1J_{\text{HC}}$)	HMBC ($^{2-4}J_{\text{HC}}$)
1	117,9	8,05	H-2	H-1/C-1	C-12; C-15; C-16; C-2
2	146,0	8,75	H-1	H-2/C-2	C-12; C-1; C-14; C-15; C-16
3	-	-	-	-	-
4	139,7	8,09	H-5	H-4/C-4	C-14; C-15; C-5; C-6
5	128,1	6,94	H-4	H-5/C-5	C-16; C-4; C-6
6	158,9	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-
8	107,0	7,92	H-9	H-8/C-8	C-12; C-10; C-9; C-13; C-11
9	132,2	7,54	H-8; H-10	H-9/C-9	C-8; C-12; C-10; C-13; C-11
10	112,1	6,98	H-9	H-10/C-10	C-8; C-12; C-14; C-13; C-11
11	155,3	-	-	-	-
12	111,7	-	-	-	-
13	140,0	-	-	-	-
14	128,7	-	-	-	-
15	131,0	-	-	-	-
16	135,0	-	-	-	-

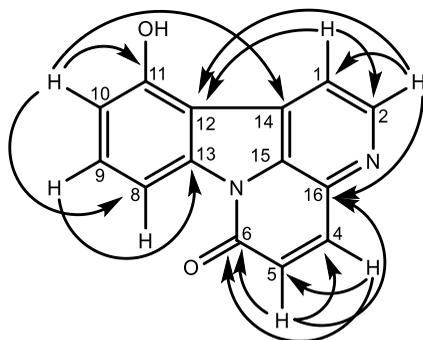


Figura 25 – Principais correlações observadas no mapa de contorno (HMBC) de (112)

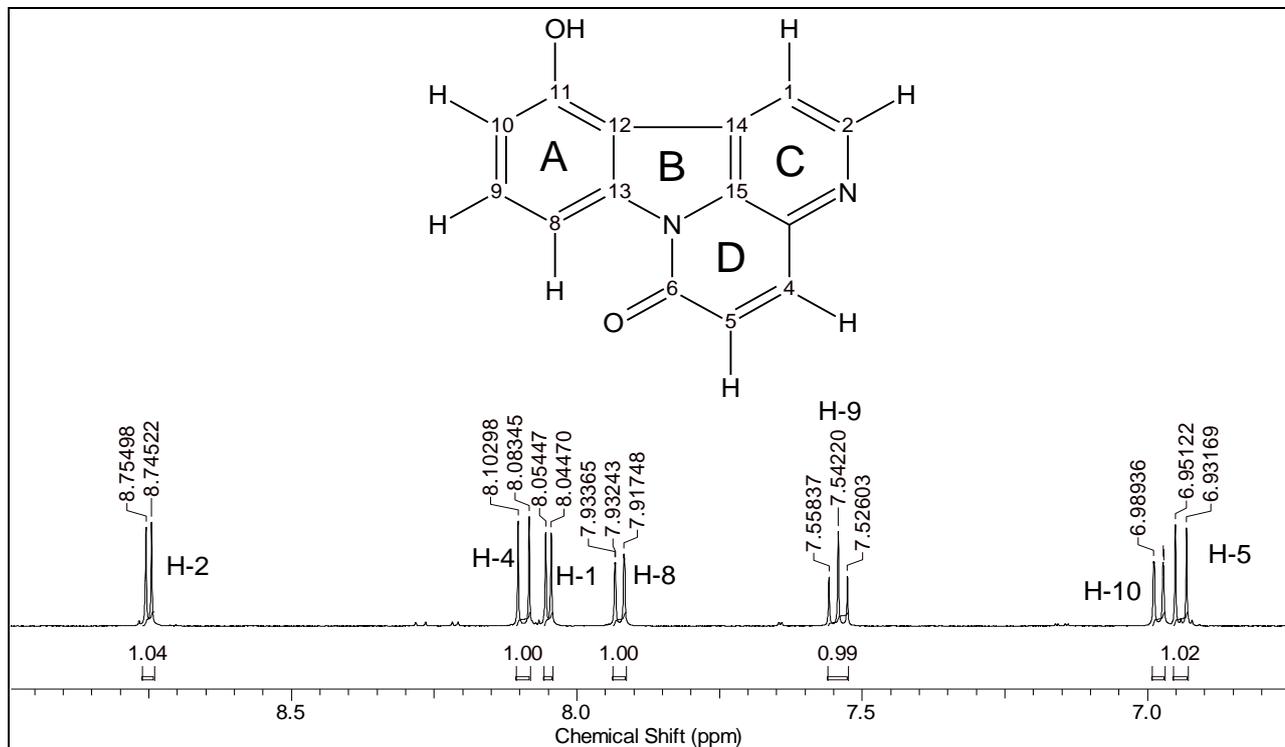


Figura 26 – Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de (112) entre δ_{H} 8,90 – 6,80

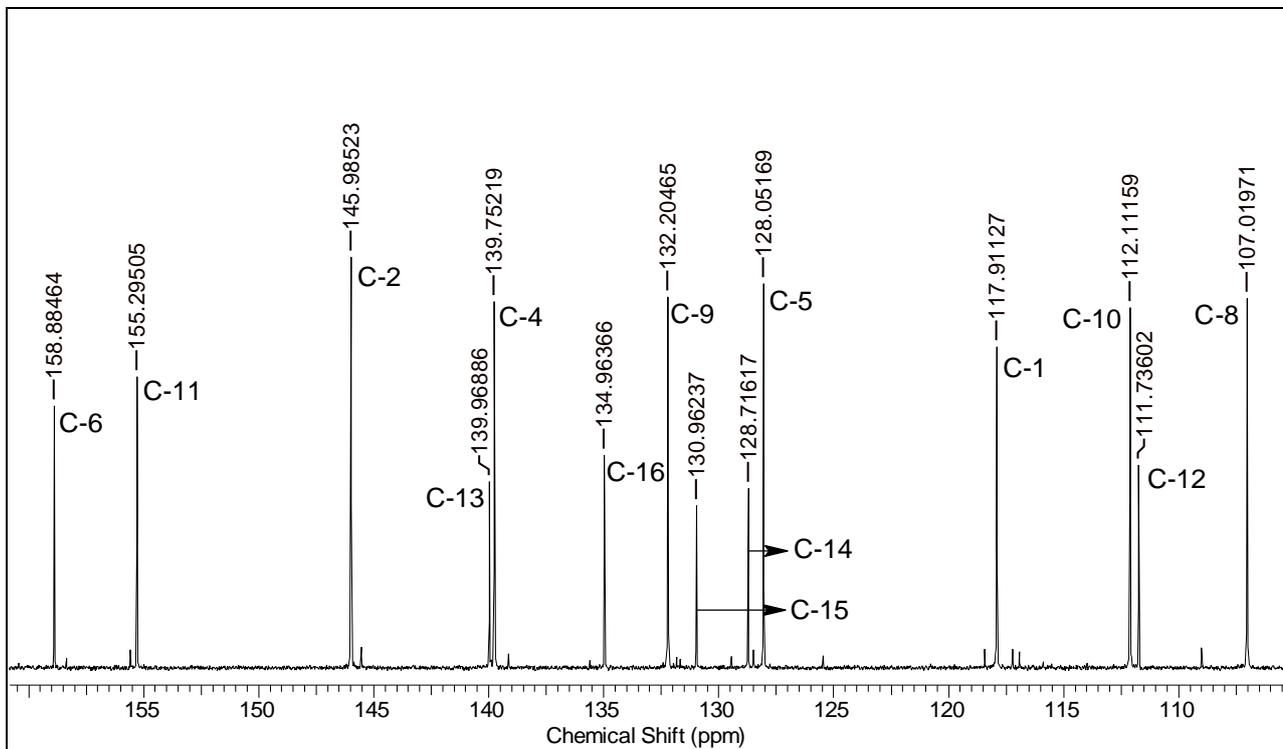


Figura 27 – Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de (112) entre δ_c 160,0 – 105,0

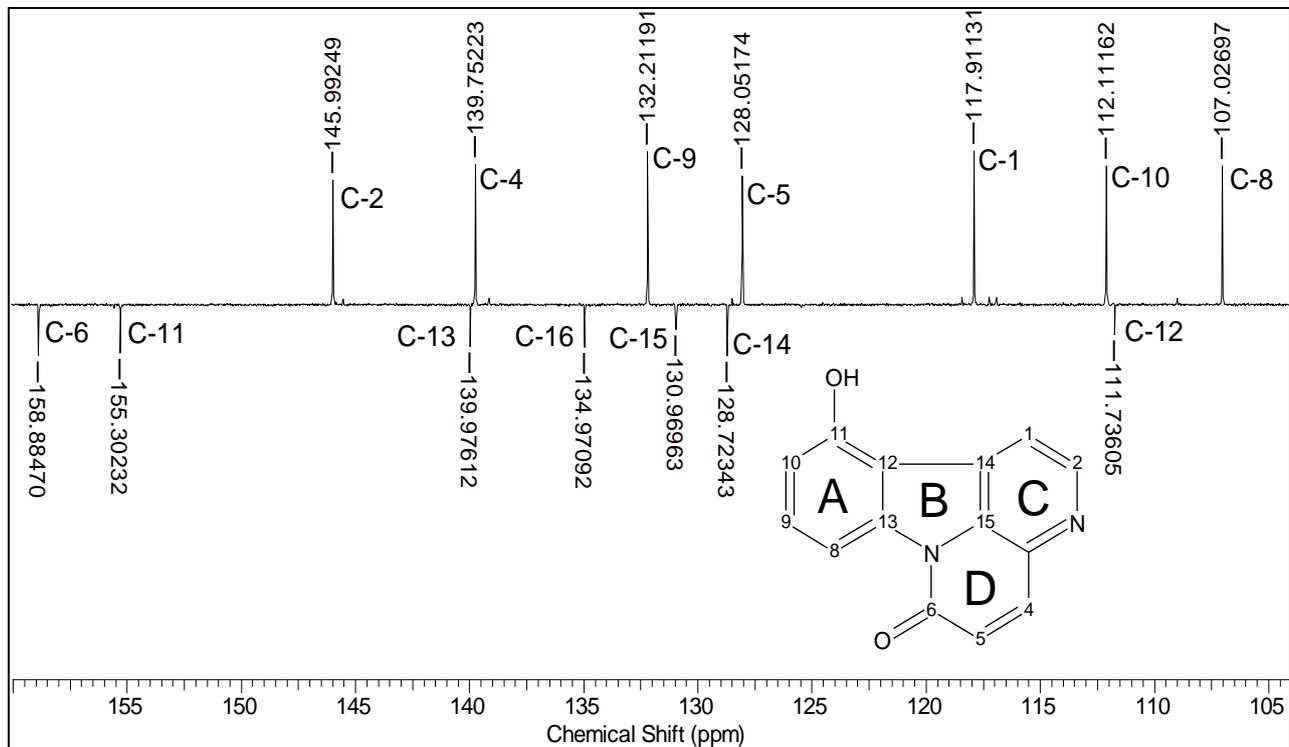


Figura 28 – Espectro de RMN de ^{13}C (DEPTQ-135, 125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de (112) entre δ_c 160,0 – 105,0

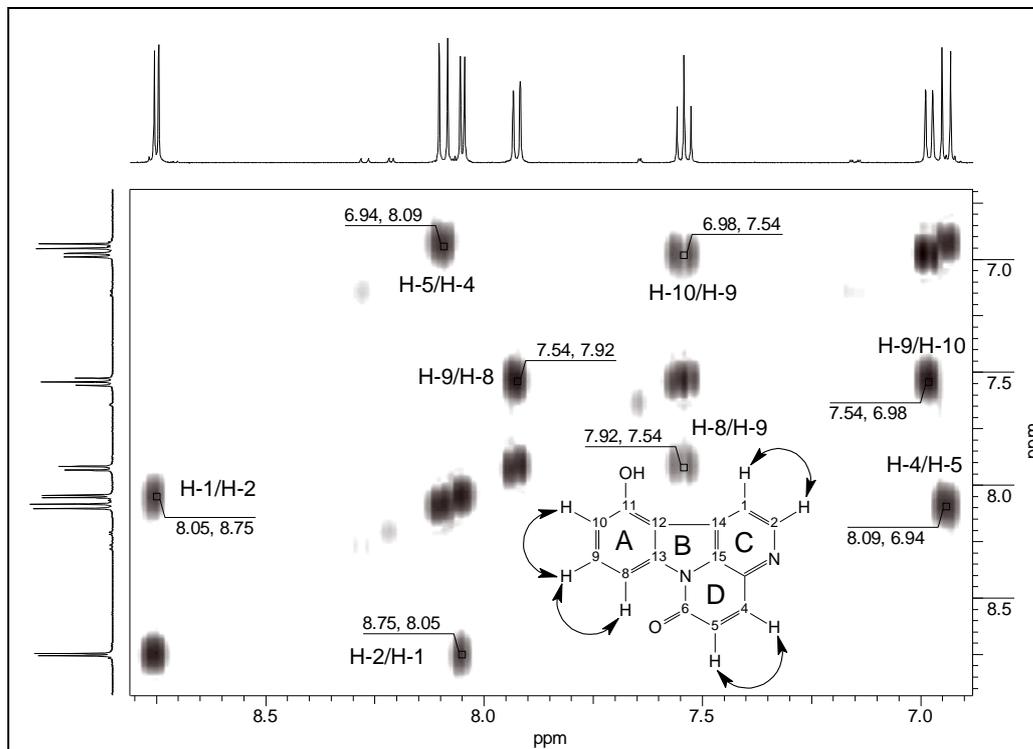


Figura 29 – Mapa de contorno (COSY, 125 MHz, DMSO- d_6) de (112)

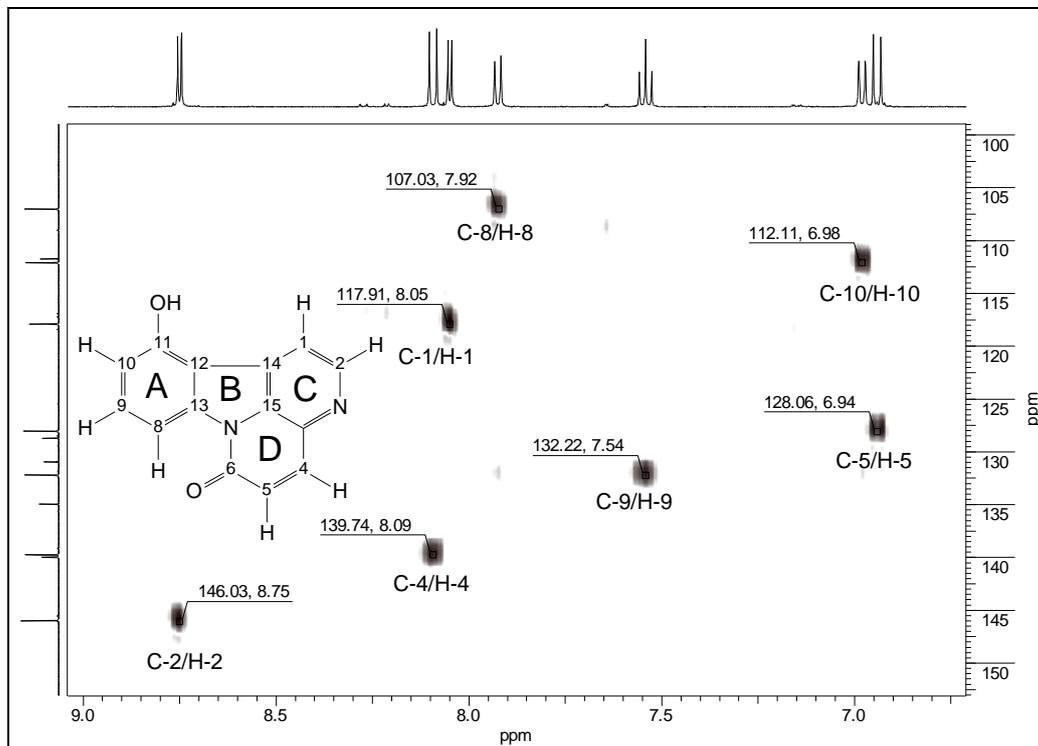


Figura 30 – Mapa de contorno (HSQC, 500/125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de (112)

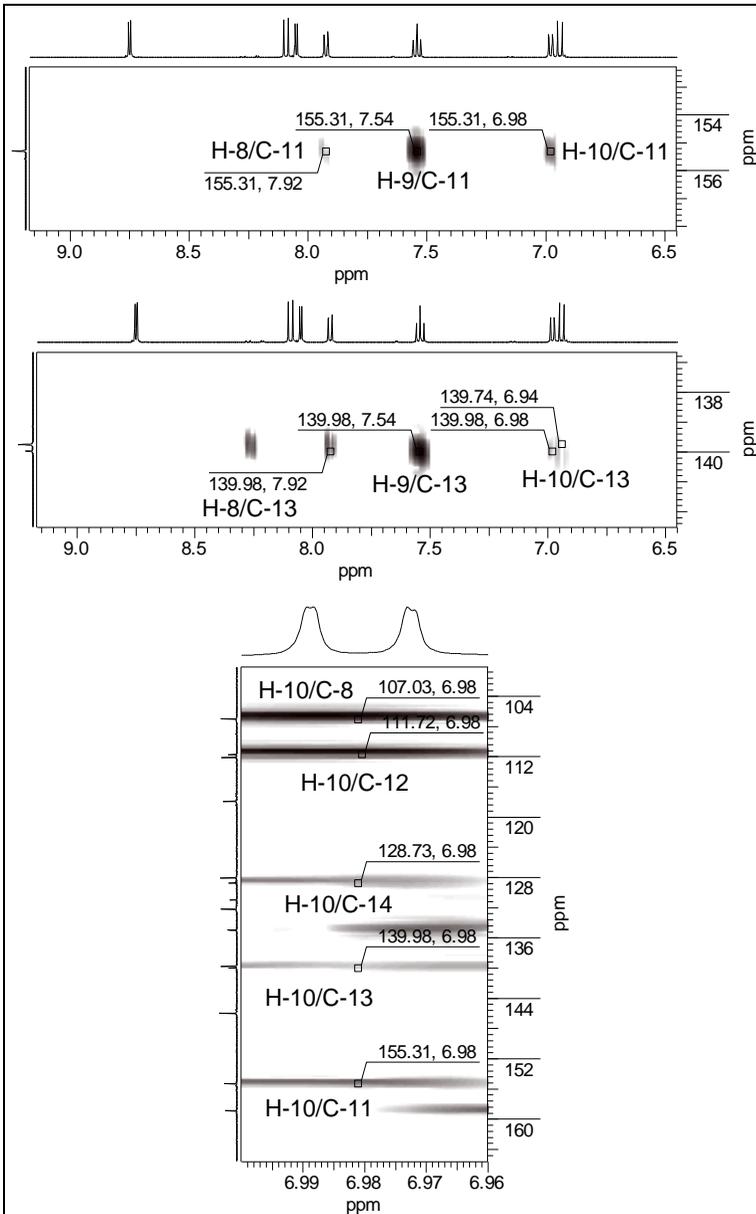


Figura 31 – Expansões das principais correlações no mapa de contorno (HMBC, 500/125 MHz, DMSO- d_6) de (112)

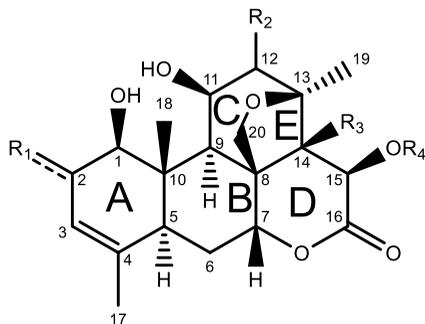
A partir dos experimentos de RMN de ^1H e ^{13}C uni e bidimensional e os dados comparados com a literatura (**Tabela 25**), foi possível a elucidação estrutural da amostra **FD2F4C**, chegando-se a estrutura do alcaloide 11-hidroxicantin-6-ona (**112**).

Tabela 25 – Dados de RMN de ^1H e ^{13}C de (**112**) e comparações com a literatura

11-hidroxicantin-6-ona (112) RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) em $\text{DMSO}-d_6$			(PETTIT et al. 1988) RMN ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) em $\text{DMSO}-d_6$		(OUYANG, et al. 1994) RMN ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) em $\text{DMSO}-d_6$	
C/H	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	$\delta^1\text{H}$ (ppm); m; J (Hz)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	$\delta^1\text{H}$ (ppm); m; J (Hz)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	$\delta^1\text{H}$ (ppm); m; J (Hz)
1	117,9	8,05; 1H; d; J=4,9	118,03	8,10; d; J=4,88	117,7	8,09; d; J=5,1
2 (C-N)	146,0	8,75; 1H; d; J=5,0	146,10	8,78; d; J=4,88	145,8	8,78; d; J=5,1
3	-	-	-	-	-	-
4	139,7	8,09; 1H; d; J=9,8	139,83	8,13; d; J=9,8	139,6	8,10; d; J=9,9
5	128,1	6,94; 1H; d; J=9,8	128,14	6,97; d; J=9,8	127,3	6,96; d; J=9,9
6 (C=O)	158,9	-	159,02	-	158,7	-
7	-	-	-	-	-	-
8	107,0	7,92; 1H; dd; J=8,1 e 0,6	107,15	7,96; d; J=8,12	106,9	7,97; d; J=8,0
9	132,2	7,54; 1H; t; J=8,1	132,30	7,57; dd; J=8,12	131,9	7,57; t; J=8,0
10	112,1	6,98; 1H; dd; J=8,1 e 0,5	112,28	7,01; d; J=8,04	112,1	7,02; d; J=8,0
11 (OH)	155,3	-	155,44	-	155,2	-
12	111,7	-	111,90	-	111,8	-
13 (C-N)	140,0	-	140,11	-	139,9	-
14	128,7	-	128,91	-	128,7	-
15 (C-N)	131,0	-	131,09	-	130,9	-
16 (C-N)	135,0	-	135,06	-	134,9	-

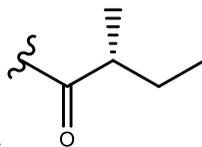
O alcaloide 11-hidroxicantin-6-ona (**112**), conhecido como amarorina, foi relatado pela primeira vez por Clarke e colaboradores (1980), isolado da casca da raiz de *Amaroria soulameoides* (sin. *Soulamea soulameoides*) (Simaroubaceae). Não há relatos na literatura do isolamento de (**112**) no gênero *Simaba*.

6.2.2 Identificação estrutural de quassinoides

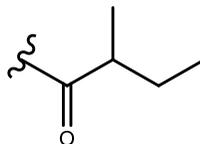


$R_1=O$; $R_2=\alpha\text{-OH}$, $\beta\text{-H}$; $R_3=OH$ $R_4=H$ bruceína D (113) – **FAE8**

$R_1=\alpha\text{-OH}$, $\beta\text{-H}$; $R_2=\alpha\text{-OH}$, $\beta\text{-H}$; $R_3=OH$; $R_4=H$ bruceína E (114) – **FAH6**



$R_1=O$; $R_2=\alpha\text{-OH}$, $\beta\text{-H}$; $R_3=H$; $R_4=$
simalikalactona D (23) – **FD2E5**



$R_1=\alpha\text{-OH}$, $\beta\text{-H}$; $R_2=\beta\text{-OH}$, $\alpha\text{-H}$; $R_3=H$; $R_4=$
orinocinolida (37) – **FAC4E2**

Os quassinoides são lactonas altamente oxigenadas, presentes principalmente em espécies da família Simaroubaceae. Os quassinoides mais comuns apresentam em sua estrutura 20 carbonos (C_{20}) (δ -lactona) denominado esqueleto quassolidano. Nesse tipo de esqueleto, os carbonos C-1, C-7, C-11 e C-12 são obrigatoriamente oxigenados. Os outros carbonos do esqueleto podem ser oxigenados, exceto C-5 e C-9 e as metilas em C-17 e C-18. O anel A pode conter uma ou duas duplas ligações; no anel B o carbono C-6 pode apresentar hidroxila, esterificada ou não; no anel C o

carbono C-8 pode possuir uma metila, uma hidroximetila, formar uma ligação hemiacetal entre C-11 ou formar um anel furânico com C-13 (anel E); o anel D do esqueleto quassolidano pode apresentar uma hidroxila em C-15, geralmente esterificada (POLONSKY, 1985; CURCINO VIEIRA; BRAZ-FILHO, 2006).

Os quassinoides isolados das raízes de *Simaba trichilioides* neste trabalho, possuem o esqueleto quassolidano.

6.2.2.1 Identificação estrutural de **FAE8**

A amostra **FAE8** (22,8 mg), obtida da fração acetato de etila do EBHE, identificada como o quassinoide bruceina D (**113**), apresentou-se como precipitado branco, recristalizado na mistura de CHCl_3 -MeOH (95:5), formando cristais na forma de agulha, PF = 279-286 °C, [lit.= 285-290 °C (POLONSKY et al., 1968) e 294-296 °C (NoorShahida et al, 2009)], $[\alpha]_{\text{D}}^{23} = +56,1^\circ$ [lit.= + 29° (NoorShahida et al, 2009)], insolúvel em CHCl_3 , parcialmente solúvel em MeOH e água e solúvel em DMSO. Em CCDA apresentou uma mancha escura quando revelada em **UV** ($\lambda=254$ nm) e ausência de fluorescência em **UV** ($\lambda=365$ nm). Na presença de reagente **VS** apresentou coloração cinza no visível.

O espectro de IV de (**113**) (**Figura 32**) apresentou bandas de absorção em 3518 e 3495 cm^{-1} sugerindo a presença de hidroxila ($\nu_{\text{O-H}}$), acompanhadas da banda em 1080 cm^{-1} relacionada ao estiramento ($\nu_{\text{C-O}}$) de álcool; banda em 3024 cm^{-1} relacionada ao estiramento ($\nu_{\text{Csp}^2\text{-H}}$); bandas em 2970, 2939 e 2893 cm^{-1} relacionadas aos estiramentos ($\nu_{\text{Csp}^3\text{-H}}$); banda em 1705 cm^{-1} relacionada ao estiramento ($\nu_{\text{C=O}}$) de δ -lactona e banda em 1658 relacionada ao estiramento ($\nu_{\text{C=O}}$) de carbonila α,β -insaturada.

Alguns desses valores foram corroborados por NoorShahida e colaboradores (2009), nas bandas de absorção no IV para o estiramento ($\nu_{\text{O-H}}$) em 3457 cm^{-1} e em 1708 cm^{-1} para o estiramento ($\nu_{\text{C=O}}$).

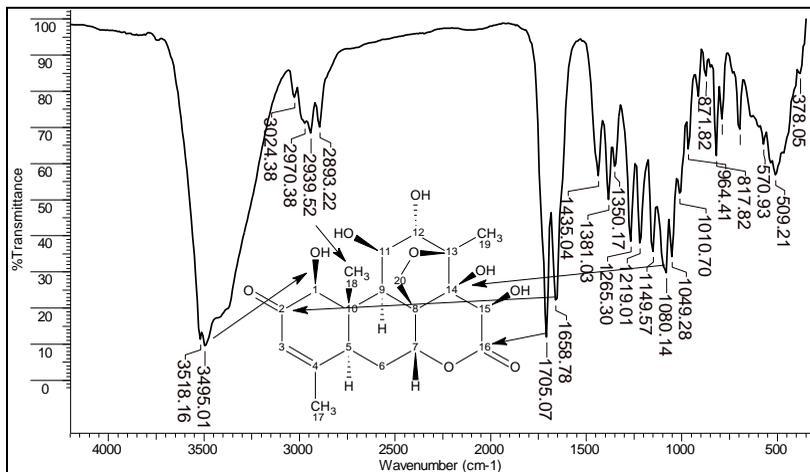


Figura 32 – Espectro de IV (KBr) de (113)

O espectro de massas de alta resolução de (113) (Figura 33) revelou a massa molecular através da razão massa carga (m/z) da amostra ionizada. A amostra, solubilizada em MeOH exibiu pico do aduto $[M+Na]^+$ com $m/z=433,1462$. A massa exata calculada para $C_{20}H_{26}O_9$ foi de 410,1577 g/mol e $[M+Na]^+$ calculado de $m/z=433,1469$, apresentou um erro de 0,0007 unidades de massa atômica (1,62 ppm), considerando que para massas de alta resolução, a precisão deve ser inferior a 5 ppm (WANG, 2009).

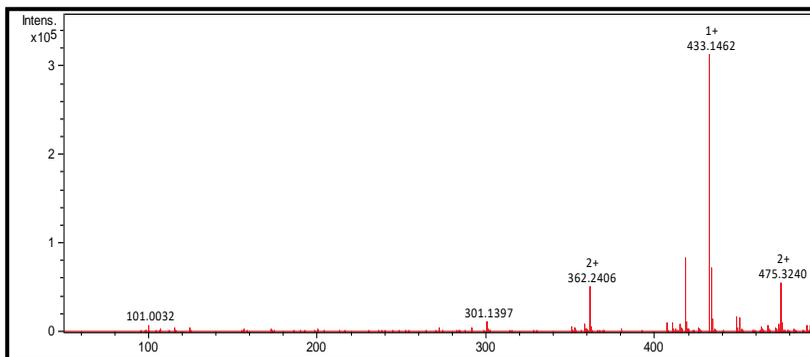


Figura 33 – Espectro de massas de (**113**) por infusão direta no HR-ESI-MS

O espectro de massas de alta resolução sugere a fórmula molecular $C_{20}H_{26}O_9$ para o quassinoide (**113**) corroborado por Liu e colaboradores (2009) que verificaram um pico em $m/z=433,2$ atribuído ao $[M+Na]^+$.

No espectro de RMN de 1H de (**113**) (**Figura 35**) observou-se sinais de singletos, com integração para 3 hidrogênios, atribuídos às metilas em δ_H 1,89 (H-17) no anel A, em δ_H 1,05 (H-18) na junção entre o anel A e B e em δ_H 1,25 (H-19) no anel C, características de quassinoides com esqueleto básico C_{20} do tipo quassolidano. Observou-se ainda sinais de hidrogênios diastereotópicos no C-6 do anel B, em δ_H 2,14 (1H; *dt*; H_A-6) e em δ_H 1,68 (1H; *td*; H_B-6), além de sinais para dois dupletos em δ_H 2,32 (1H; H-9) e δ_H 2,89 (1H; H-5).

Foram observados ainda no espectro de RMN de 1H de (**113**) (**Figura 36**) sinais de um duplete em δ_H 3,54 (1H; $J=5,1$ Hz) atribuído ao H-12 no anel C e de outros dois dupletos em δ_H 3,61 (1H; $J=6,8$ Hz; H_A-20) e δ_H 4,30 (1H; $J=6,9$ Hz; H_B-20) atribuídos aos hidrogênios diastereotópicos em C-20 do anel furânico (anel E). Dois outros dupletos em δ_H 3,68 (1H; $J=5,7$ Hz) atribuído ao hidrogênio da hidroxila (OH-11) no anel C, e em δ_H 4,26 (1H; $J=3,2$ Hz) atribuído ao H-1 no anel A. O sinal de um tripeto centrado em δ_H

4,39 (1H; $J=5,3$ Hz) foi atribuído ao H-11 no anel C. Os sinais de um quarteto em δ_H 4,10 ($J=5,2$ Hz) e de um duplete em δ_H 3,17 ppm ($J=5,3$ Hz) (**Figura 35**) não foram atribuídos a nenhum hidrogênio da molécula, pois não foram observadas correlações com nenhum carbono da estrutura de (**113**) no experimento de HMBC (**ANEXO F**), sendo considerados sinais de impureza.

Observou-se ainda no espectro de RMN de 1H de (**113**) (**Figura 37**) um sinal de multiplete com aspecto de singlete largo em δ_H 5,99 (1H; H-3) (olefínico) no anel A, um singlete largo em δ_H 4,92 (1H; H-7) no anel B e um sinal de duplete em δ_H 4,97 (1H; $J=6,0$ Hz; H-15) no anel D lactônico. Aos hidrogênios da hidroxilas foram atribuídos os sinais em δ_H 5,13 (1H; s; OH-14) no C-14 carbinólico (quaternário); em δ_H 5,25 (1H, *d*: $J=3,3$ Hz; OH-1) no C-1 carbinólico; em δ_H 5,34 (1H; *d* $J=6,0$ Hz; OH-15) no C-15 carbinólico; e em δ_H 5,35 (1H; *d*: $J=5,0$ Hz; OH-12) no C-12 carbinólico.

Os valores atribuídos aos hidrogênios da estrutura de (**113**) foram corroborados pelo experimento de COSY (**ANEXO E**). Observou-se sinais de acoplamentos entre H-1/OH-1 ($J=3,2$ Hz) e entre H-1/H-18 (acoplamento em W). Acoplamentos alílicos foram observados entre H-3/H-5 ($J=1,2$ Hz) e H-3/H-17, e entre H-5/H-18 (acoplamento em W) no anel A, confirmando a presença das metilas nas posições H-17 e H-18, ambas se correlacionando com H-5.

Observou-se também acoplamentos geminal entre H_A-6/H_B-6 ($J_{A,B}=14,9$ Hz), equatorial-equatorial entre $H_A-6/H-7$ ($J=2,6$ Hz), equatorial-axial entre $H_A-6/H-5$ ($J=2,9$ Hz), trans diaxial entre $H_B-6/H-5$ ($J=12,6$ Hz), axial-equatorial entre $H_B-6/H-7$ ($J=2,4$ Hz) e axial-equatorial entre H-9/H-11 ($J=4,6$ Hz) que mostram a proximidade dos anéis A, B e C. O H-9 se correlaciona ainda a longa distância com H_A-20 do anel E (furânico), mostrando a proximidade entre o anel B e E. O H-11 se correlaciona com o hidrogênio da hidroxila em OH-11 ($J=5,7$ Hz), confirmando essa posição oxigenada, e um fraco sinal de acoplamento entre H-11/H-12, sobressaindo-se o tripleto, relacionado ao acoplamento de H-11/OH-11 e H-11/H-9 citado

anteriormente. O H-12 se correlaciona ainda com a hidroxila em OH-12 ($J=5,1$ Hz), mostrando que essa posição também está oxigenada.

Acoplamento geminal também foi observado no experimento de COSY de **(113)**, entre H_A-20/H_B-20 ($J=6,8$ Hz) no anel E (furânico), além do acoplamento a longa distância entre $H_A-20/H-9$ citado anteriormente. No anel D foi observado apenas o acoplamento entre H-15/OH-15 ($J=6,0$ Hz), mostrando que a posição 14 também foi substituída. As principais correlações apresentadas no experimento de COSY de **(113)** estão esquematizadas na **Figura 34**.

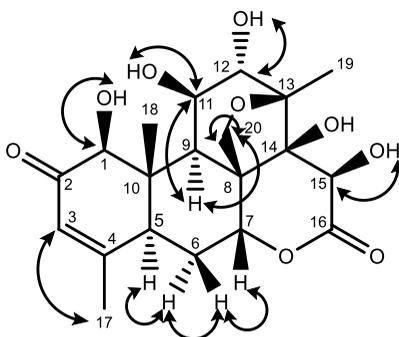


Figura 34 – Principais correlações observadas no mapa de contorno (COSY) na estrutura de **(113)**

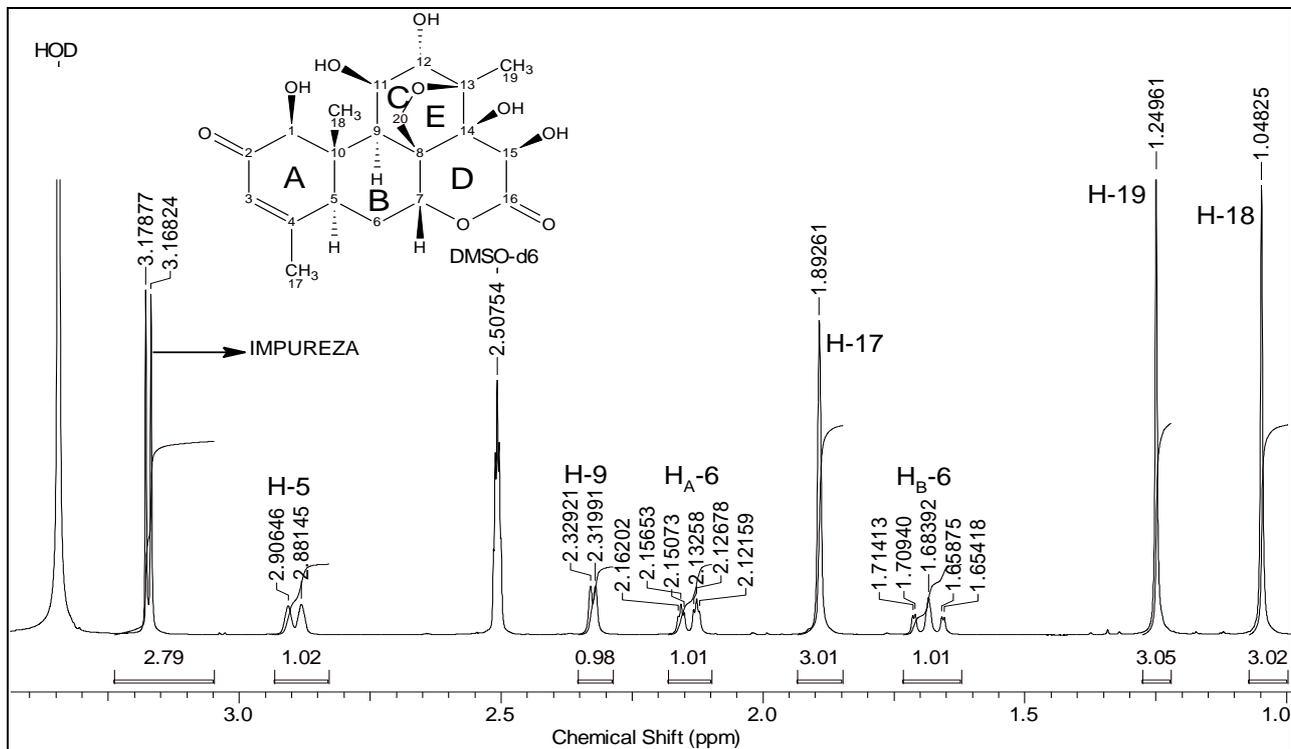


Figura 35 – Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, DMSO-d_6) de (113) entre δ_{H} 3,40 – 1,00

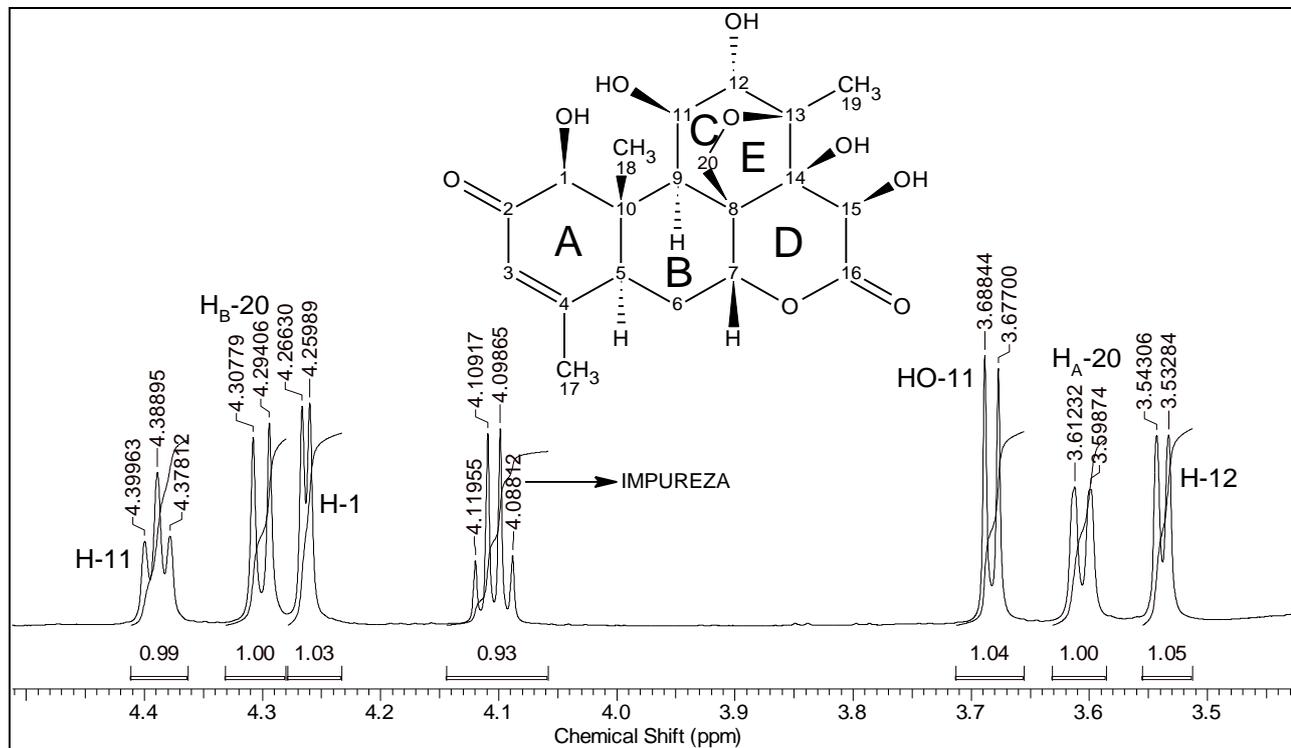


Figura 36 – Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de (113) entre δ_{H} 4,50 – 3,45

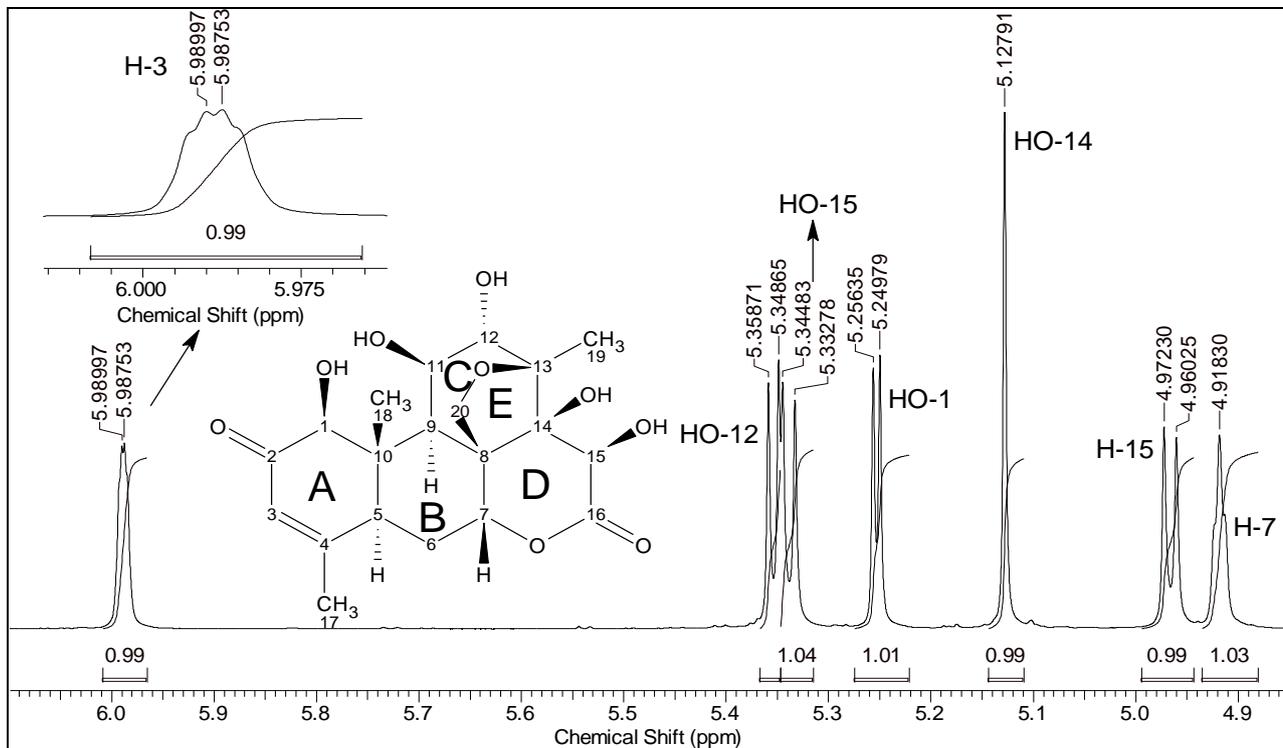


Figura 37 – Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) de (113) entre δ_{H} 6,10 – 4,90

O espectro de RMN de ^{13}C (**Figura 38** e **Figura 39**) confirmou a presença de 20 carbonos na estrutura de **(113)**. O sinal em δ_{C} 198,7 refere-se ao carbono da carbonila α,β -insaturada na posição C-2 no anel A. Ao C-16 foi atribuído o sinal em δ_{C} 174,1 relacionado à carbonila no anel D (lactônico). Aos carbonos oxigenados de carbonos carbinólicos, foram atribuídos os valores em δ_{C} 81,8 (C-1) no anel A, em δ_{C} 74,1 (C-11), δ_{C} 80,2 (C-12) e δ_{C} 83,5 (C-14) no anel C e em δ_{C} 69,4 (C-15) no anel D (lactônico). Aos carbonos oxigenados em δ_{C} 79,0 atribuído ao C-7 do anel B e em δ_{C} 83,5 e δ_{C} 68,9 aos carbonos C-13 e C-20 do anel E (furânico) respectivamente. Ao carbono metilênico em C-6 foi atribuído o sinal em δ_{C} 27,5 – diferente do carbono metilênico em C-20 (δ_{C} 68,9) que teve seu deslocamento químico aumentado em função da ligação com o átomo de oxigênio do anel E (furânico). Aos carbonos olefínicos em C-3 e C-4 da porção α,β -insaturada, foram atribuídos os sinais em δ_{C} 124,4 e δ_{C} 163,8 respectivamente. Aos carbonos quaternários não oxigenados e não olefínicos foram atribuídos os sinais em δ_{C} 49,1 (C-8) e δ_{C} 48,0 (C-10). Aos carbonos metínicos não oxigenados e não olefínicos em C-5 e C-9 foram atribuídos os sinais em δ_{C} 42,6 e δ_{C} 44,1 respectivamente. Aos carbonos metílicos, foram atribuídos os sinais em δ_{C} 22,5 (C-17), δ_{C} 11,3 (C-18) e δ_{C} 18,3 (C-19).

O espectro de RMN de ^{13}C (DEPTQ-135) de **(113)** (**Figura 40**), corroborado pelo experimento de HSQC (**Figura 41**), possibilitou a confirmação da presença de 3 carbonos metílicos, 8 carbonos metínicos, além de 2 carbonos metilênicos e 7 carbonos quaternários. A presença dos sinais dos carbonos metílicos em C-17, C-18 e C-19 e metínicos em C-1, C-3, C-5, C-7, C-9, C-11, C-12 e C-15, resultaram em sinais em fase positiva. Em fase negativa, os carbonos metilênicos em C-6 e C-20 e os carbonos quaternários em C-2, C-4, C-8, C-10, C-13, C-14 e C-16.

No experimento de HSQC de **(113)** (**Figura 41**), foram observadas correlações a $^1J_{\text{HC}}$ entre H-1/C-1 (δ_{H} 4,26/ δ_{C} 81,8), H-3/C-3 (δ_{H} 5,99/ δ_{C} 124,4), H-5/C-5 (δ_{H} 2,89/ δ_{C} 42,6) no anel A, entre H_A-6/C-6 (δ_{H} 1,68/ δ_{C} 27,5), H_B-6/C-6 (δ_{H} 2,14/ δ_{C} 27,5), H-7/C-7 (δ_{H} 4,92/ δ_{C} 79,0) e H-9/C-9 (δ_{H} 2,32/ δ_{C} 44,1) no

anel B, entre H-11/C-11 (δ_H 4,39/ δ_C 74,1) e H-12/C-12 (δ_H 3,54/ δ_C 80,2) no anel C, entre H-15/C-15 (δ_H 4,97/ δ_C 69,4) no anel D (lactônico) e entre os H_A-20/C-20 (δ_H 3,61/ δ_C 68,9) e H_B-20/C-20 (δ_H 4,30/ δ_C 68,9) no anel E (furânico), além das correlações observadas para os hidrogênios metílicos entre H-17/C-17 (δ_H 1,89/ δ_C 22,5), H-18/C-18 (δ_H 1,05/ δ_C 11,3) e H-19/C-19 (δ_H 1,25/ δ_C 18,7) (**Tabela 26**).

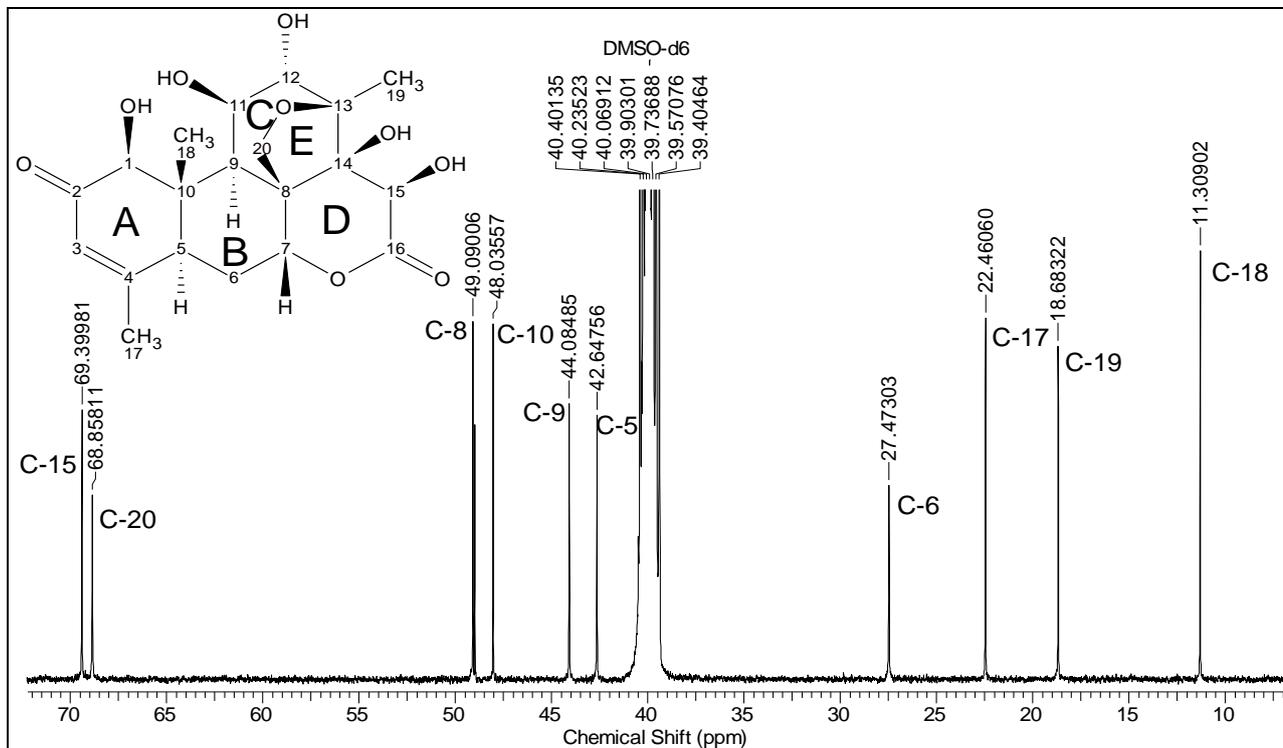


Figura 38 – Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) de (113) entre δ_c 72,0 – 7,0

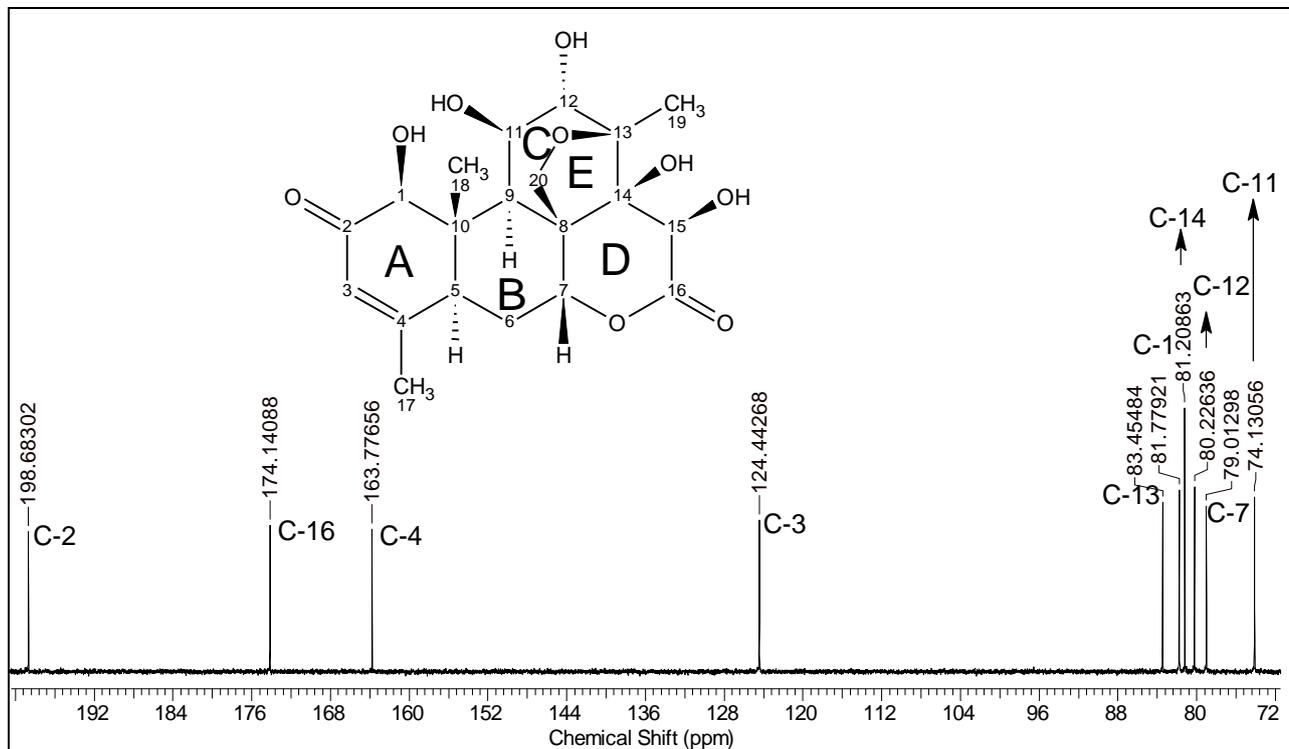


Figura 39 – Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) de (113) entre δ_c 200,0 – 72,0

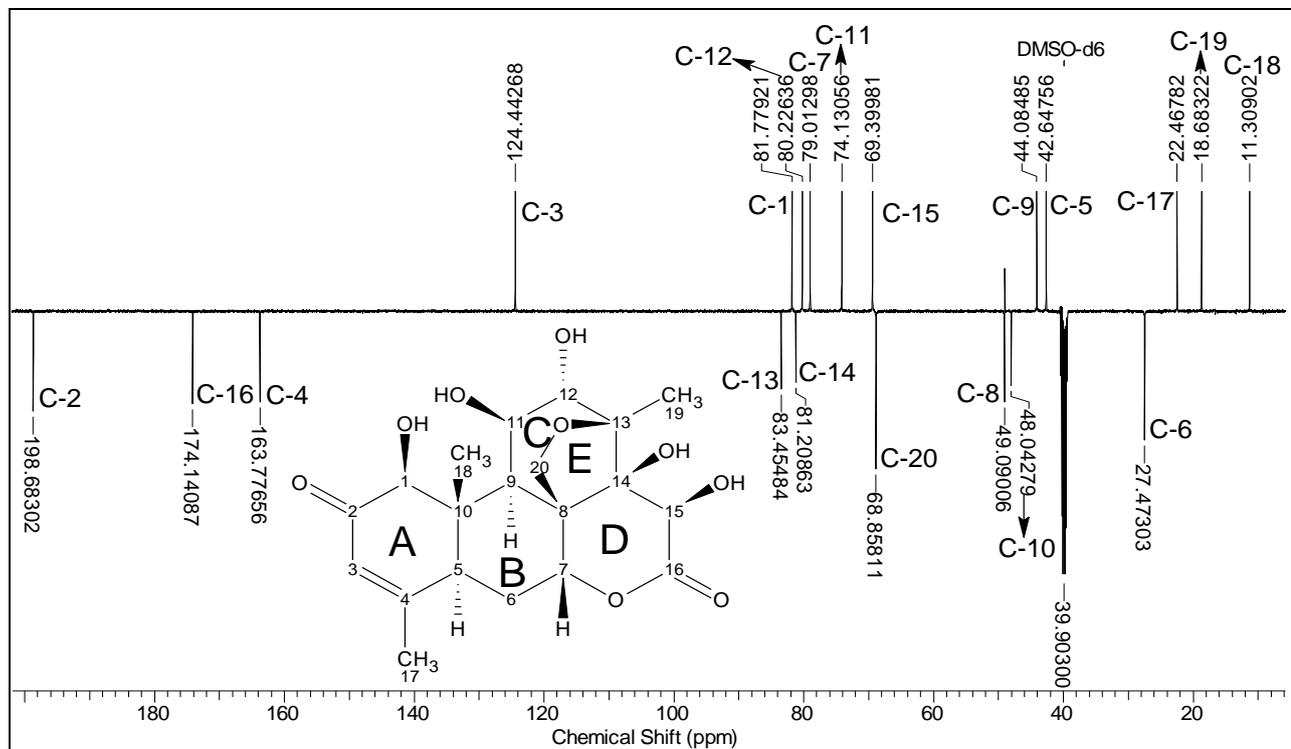


Figura 40 – Espectro de RMN de ^{13}C (DEPTQ-135, 125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) de (113)

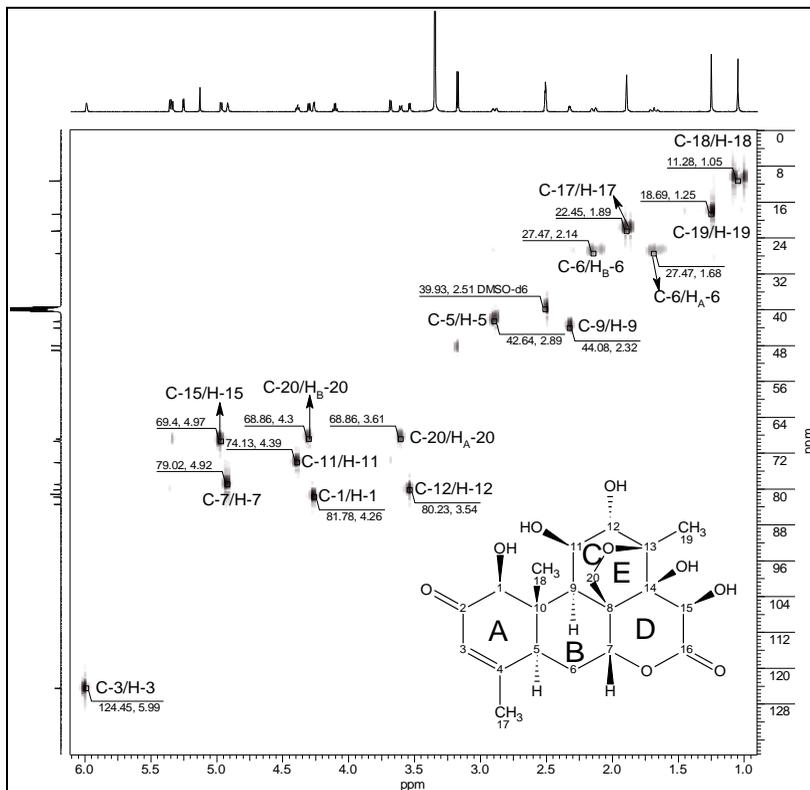


Figura 41 – Mapa de contorno (HSQC, 500/125 MHz, DMSO- d_6) de **(113)**

No experimento de HMBC de **(113)** (**ANEXO F**) foram observadas correlações à $^{2-4}J_{HC}$ entre os hidrogênios e carbonos da estrutura da bruceína D **(113)** (**Tabela 26**). As correlações dos hidrogênios metílicos em H-17 (δ_H 1,89), H-18 (δ_H 1,05) e H-19 (δ_H 1,25) foram essenciais para definição das posições das metilas na estrutura de **(113)**, além de mostrar as proximidades entre os anéis A, B, C, D e E. Foram observadas correlações entre o H-17/C-5, H-17/C-4 e H-17/C-6 confirmando a presença da metila na posição 4 do anel A, e a proximidade entre os anéis A e B, além das correlações entre H-17/C-2 e H-17/C-3 corroborando para a posição dessa metila na porção α,β -

insaturada do anel A. As correlações entre H-18/C-1, H-18/C-10 e H-18/C-9, também confirma a proximidade entre os anéis A e B, e a correlação entre H-18/C-11, confirma a proximidade entre os anéis B e C. A correlação entre H-18/C-20 mostra proximidade do anel B com o anel E (furânico). As correlações entre H-19/C-12, H-19/C-13 e H-19/C-14 definiram a posição da metila no anel C, e a correlação entre H-19/C-15 mostra a proximidade dos anéis C e D (lactônico).

Observou-se ainda correlações entre H-1/C-2, H-1/C-10, H-1/C-9 e H-1/C-18 no anel A que corroboram para a posição da metila em C-18 e confirma a proximidade dos anéis A e B. As correlações dos hidrogênios metilênicos diastereotópicos em H_A-6/C-5 e H_A-6/C-7 e entre H_B-6/C-5, H_B-6/C-7 e H_B-6/C-16 confirma as proximidades entre os anéis A, B e D (lactônico). A proximidade entre os anéis B, C, D e E pode ainda ser confirmada pelas correlações entre H-7/C-8, H-7/C-9, H-7/C-14 e H-7/C-20 e a proximidade entre os anéis B e D (lactônico), pode também ser confirmada pela correlação entre H-9/C-14. As correlações dos hidrogênios diastereotópicos em C-20 no anel E (furânico), entre H_A-20/C-8, H_A-20/C-9, H_A-20/C-13 e H_A-20/C-7 além das correlações entre H_B-20/C-8, H_B-20/C-9, H_B-20/C-13 e H_B-20/C-14 observadas no experimento de HMBC de **(113)** corroboram para a confirmação das proximidades dos anéis B, C, D e E. Todas as correlações observadas no experimento de **HMBC (ANEXO F)** de **(113)** são apresentadas na **Tabela 26** e as principais, esquematizadas na **Figura 42**.

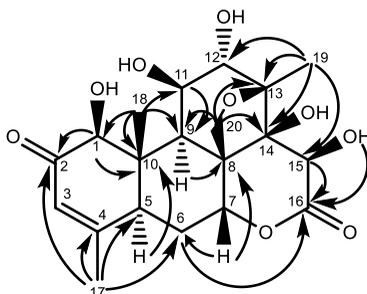


Figura 42 – Principais correlações observadas no experimento de HMBC de **(113)**

Tabela 26 – Correlações de ^1H e ^{13}C observadas nos experimentos de COSY, HSQC e HMBC de (113)

bruceina D (113)					
RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) em $\text{DMSO}-d_6$					
C/H	δ ^1H (ppm)	δ ^{13}C (ppm)	COSY ($^{2-3}J_{\text{HH}}$)	HSQC ($^1J_{\text{HC}}$)	HMBC ($^{2-4}J_{\text{HC}}$)
1	4,26	81,8	HO-1	H-1/C-1	C-18; C-5; C-9; C-10; C-3; C-2
2	-	198,7	-	-	-
3	5,99	124,4	-	H-3/C-3	C-17; C-1; C-5
4	-	163,8	-	-	-
5	2,89	42,6	H _A -6; H _B -6	H-5/C-5	C-18; C-6; C-10; C-7; C-3; C-4
6	H _A : 2,14	27,5	H _B -6; H-5	H _A -6/C-6	C-5; C-10; C-8; C-7; C-4
	H _B : 1,68		H _A -6; H-5	H _B -6/C-6	C-5; C-10; C-7; C-4, C-16
7	4,92	79,0	H _A -6; H _B -6	H-7/C-7	C-6; C-5; C-9; C-8; C-20; C-14
8	-	49,1	-	-	-
9	2,32	44,1	H-11	H-9/C-9	C-18; C-5; C-10; C-8; C-20; C-11; C-14; C-1
10	-	48,0	-	-	-
11	4,39	74,1	H-9	H-11/C-11	C-9; C-8; C-12; C-13
12	3,54	80,2	HO-12	H-12/C-12	C-19; C-9; C-11; C-14; C-13
13	-	83,5	-	-	-
14	-	81,2	-	-	-
15	4,97	69,4	OH-15	H-15/C-15	C-9; C-14; C-16
16	-	174,1	-	-	-
17	1,89	22,5	-	H-17/C-17	C-6; C-5; C-3; C-4; C-2
18	1,05	11,3	-	H-18/C-18	C-5; C-9; C-10; C-1; C-11; C-20
19	1,25	18,7	-	H-19/C-19	C-12; C-13; C-14; C-15
20	H _A : 3,61	68,9	H _B -20	H _A -20/C-20	C-9; C-8; C-7; C-13
	H _B : 4,30		H _A -20	H _B -20/C-20	C-9; C-8; C-14; C-13
OH-1	5,25	81,8	H-1	-	C-10; C-1; C-2
OH-11	3,68	74,1	H-11	-	C-9; C-11; C-12
OH-12	5,35	80,2	H-12	-	C-11; C-12; C-13
OH-14	5,13	81,2	H-14	-	C-8; C-15; C-14; C-13
OH-15	5,34	69,4	H-15	-	C-15; C-14; C-16

A estrutura conformacional proposta por Li e colaboradores (1989) (**Figura 43**) para a estrutura da bruceina D (113) corroboram com os dados

experimentais aqui realizados, reforçando a elucidação estrutural de bruceína D (**113**).

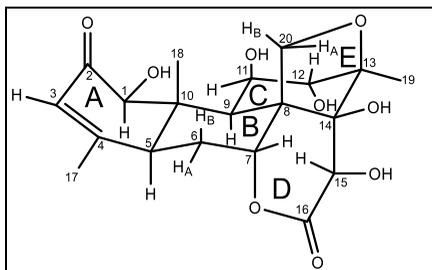


Figura 43 – Estrutura conformacional da bruceína D (**113**) (Li et al.,1989).

Bruceína D (**113**) foi isolada pela primeira vez por Polonsky (1968) na espécie *Brucea amarissima* (Simaroubaceae). Mais tarde, Li e colaboradores (1989) confirmaram a estereoquímica absoluta de (**113**) através de experimentos de RMN de ^1H e ^{13}C (bidimensional) e tiveram seus espectros publicados pela primeira vez. Não há relatos na literatura do isolamento desse quassinóide no gênero *Simaba*.

A partir da comparação dos dados de RMN de ^1H e ^{13}C com a literatura (**Tabela 27**) confirmou-se a estrutura de (**113**) proposta para a amostra **FAE8**.

Tabela 27 – Dados de RMN de ^1H e ^{13}C de (113) e comparação com a literatura

bruceína D (113) RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) em DMSO- d_6			SHEN et al., 2008 RMN ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) em DMSO- d_6	
C/H	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm); <i>m</i> ; <i>J</i> (Hz)	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm); <i>m</i> ; <i>J</i> (Hz)
1	81,8	4,26; 1H; <i>d</i> ; <i>J</i> =3,2	81,4	4,25; 1H; <i>d</i> ; <i>J</i> =3,2
2	198,7	-	198,3	-
3	124,4	5,99; 1H; <i>m</i> (<i>sl</i>);	124,1	5,97; 1H; <i>s</i>
4	163,8	-	163,4	-
5	42,6	2,89; 1H; <i>d</i> ; <i>J</i> =12,5	42,3	2,88; 1H; <i>d</i> ; <i>J</i> =11,6
6	27,5	H _A : 2,14; 1H; <i>dt</i> ; <i>J</i> =14,9; 2,9 e 2,6	27,1	2,12; 1H, <i>dt</i> , <i>J</i> =11,6 e 2,8
		H _B : 1,68; 1H; <i>td</i> <i>J</i> =15,1; 12,6 e 2,4	27,1	1,66; 1H; <i>t</i> ; <i>J</i> =12,7
7	79,0	4,92; 1H; <i>t</i> ; <i>J</i> =2,5	78,6	4,89; 1H; <i>s</i>
8	49,1	-	48,7	-
9	44,1	2,32; 1H; <i>d</i> ; <i>J</i> =4,6	43,7	2,31; 1H; <i>d</i> ; <i>J</i> =4,6
10	48,0	-	47,6	-
11	74,1	4,39; 1H; <i>ddd</i> (<i>t</i>); <i>J</i> =5,3	73,7	4,36; 1H; <i>t</i> ; <i>J</i> =5,3
12	80,2	3,54; 1H; <i>d</i> ; <i>J</i> =5,1	79,7	(*)
13	83,5	-	83,1	-
14	81,2	-	80,8	-
15	69,4	4,97; 1H; <i>d</i> ; <i>J</i> =6,0	69,0	4,94; 1H; <i>d</i> ; <i>J</i> =6,2
16	174,1	-	173,8	-
20	68,9	H _A : 3,61; 1H; <i>d</i> ; <i>J</i> =6,8	68,5	(*)
		H _B : 4,30; 1H; <i>d</i> ; <i>J</i> =6,9		4,27; 1H; <i>dd</i> ; <i>J</i> =6,8 e 2,9
17 (CH ₃)	22,5	1,89; 3H; <i>s</i>	22,1	1,87; 3H; <i>s</i>
18 (CH ₃)	11,3	1,05; 3H; <i>s</i>	10,9	1,03; 3H, <i>s</i>
19 (CH ₃)	18,7	1,25; 3H; <i>s</i>	18,3	1,23; 3H; <i>s</i>
OH-1	81,8	5,25; 1H, <i>d</i> ; <i>J</i> =3,3	81,4	5,26; 1H; <i>d</i> ; <i>J</i> =3,2
OH-11	74,1	3,68; 1H; <i>d</i> ; <i>J</i> =5,7	(*)	(*)
OH-12	80,2	5,35; 1H; <i>d</i> ; <i>J</i> =5,0	(*)	(*)
OH-14	81,2	5,13; 1H, <i>s</i>	80,8	5,13; 1H, <i>s</i>
OH-15	69,4	5,34; 1H; <i>d</i> ; <i>J</i> =6,0	(*)	(*)

(*) valores não atribuídos pelo autor.

6.2.2.2 Identificação estrutural de **FAH6**

A amostra **FAH6** (19,9 mg), obtida da fração acetato de etila do EBHE, identificada como o quassinóide bruceína E (**114**), apresentou-se na forma de sólido branco amorfo, solúvel em MeOH, $[\alpha]_D^{23} = +56,8^\circ$ [lit. = $+55,5^\circ$ (LI et al., 1989)] e PF = 257-262 °C, [lit. = 262-263 °C (LIU et al., 2009) e 261-264 °C (NOORSHAHIDA et al., 2009)]. Em **CCDA** quando revelada com irradiação **UV** ($\lambda=254$ e 365 nm) verificou-se ausência de coloração, e com reagente **AS**, uma mancha verde amarelada no visível e uma mancha escura com irradiação **UV** ($\lambda=365$ nm).

A amostra **FAH5D3** (36,9 mg), apresentou características semelhantes as descritas acima para **FAH6**, e por comparação dos dados de RMN de ^1H , também foi identificada como (**114**).

A análise por espectroscopia no IV de (**114**) (**Figura 44**) apresentou bandas de absorção em 3541, 3495 e 3286 cm^{-1} sugerindo a presença de hidroxila ($\nu_{\text{O-H}}$), acompanhadas de bandas entre 1080 e 1033 cm^{-1} relacionadas ao estiramento ($\nu_{\text{C-O}}$) de álcool; bandas em 3024 cm^{-1} relacionada ao estiramento ($\nu_{\text{Csp}^2\text{-H}}$); bandas em 2978, 2947 e 2893 cm^{-1} relacionadas aos estiramentos ($\nu_{\text{Csp}^3\text{-H}}$); banda em 1712 cm^{-1} relacionada ao estiramento ($\nu_{\text{C=O}}$) de δ -lactona e banda em 1666 cm^{-1} relacionada ao estiramento ($\nu_{\text{C=C}}$).

Os valores das bandas de absorção no IV de (**114**) foram compatíveis com o descrito na literatura para esse quassinóide (LEE et al., 1979; LI et al., 1989; NOORSHAHIDA et al., 2009).

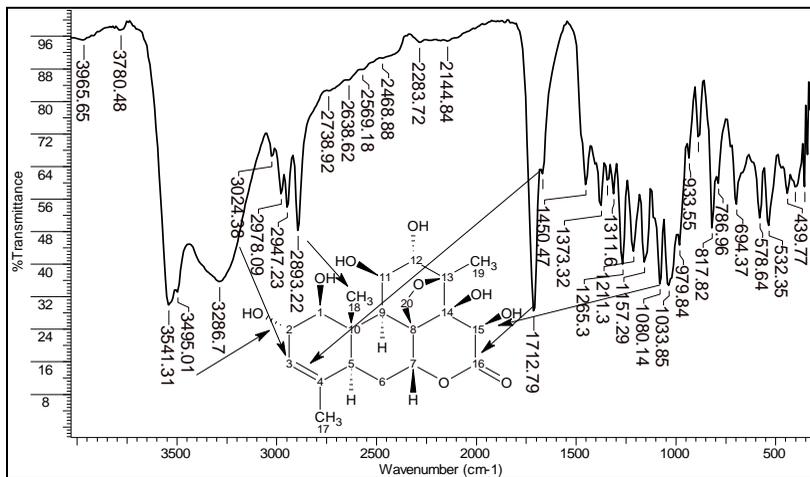


Figura 44 – Espectro de IV (KBr) de (114)

O espectro de massas de alta resolução de **FAH6 (Figura 45)** revelou a massa molecular da estrutura através da razão massa carga (m/z) da amostra ionizada. A amostra, solubilizada em MeOH, exibiu pico do aduto $[M+Na]^+$ com $m/z=435,1654$. A massa exata calculada para $C_{20}H_{28}O_9$, foi de 412,1733 g/mol e $[M+Na]^+$ calculado de $m/z=435,1626$ com erro de 0,0028 unidades de massa atômica (6,43 ppm).

O espectro de massas de alta resolução sugeriu a fórmula molecular $C_{20}H_{28}O_9$, corroborado por NoorShahida e colaboradores (2009) que reportaram um pico em $m/z=395$ atribuindo-o ao íon $[M-H_2O]^+$, por Liu e colaboradores (2009) e Ablat e colaboradores (2017) que reportaram picos em $m/z= 435,5$ e $m/z=435,3028$ respectivamente, atribuindo-os ao aduto $[M+Na]^+$.

Os valores observados experimentalmente no espectro de massas (**Figura 45**), corroboram com os autores descritos, reforçando assim a elucidação estrutural de bruceína E (**114**).

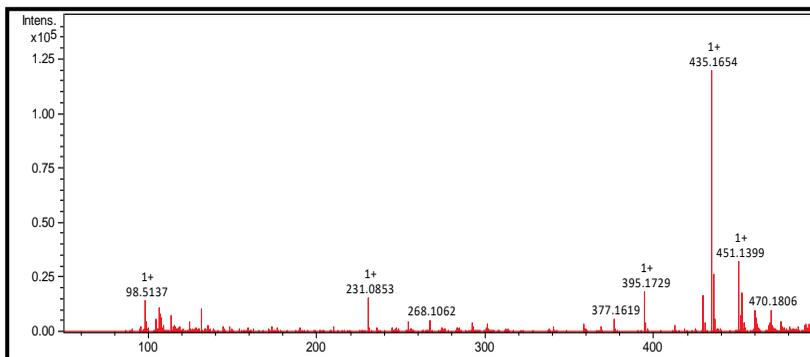
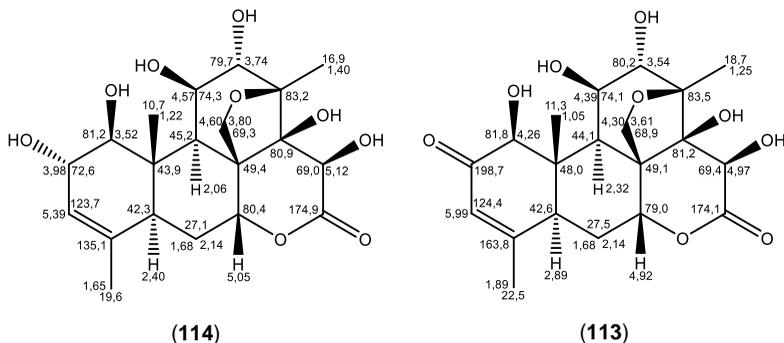


Figura 45 – Espectro de massas de (114) por infusão direta no HR-ESI-MS

A bruceína E (114) difere na estrutura da bruceína D (113), apenas na posição C-2, uma hidroxila, enquanto que na bruceína D (113), há a presença de uma carbonila. As posições oxigenadas na estrutura de (114) em C-1, C-2, C-7, C-11, C-12, C-14, C-15 e C-20, estão de acordo com o reportado na literatura para o esqueleto C₂₀ (quassolidano) (POLONSKY, 1985; CURCINO VIEIRA; BRAZ-FILHO, 2006).



Observações no RMN de ¹H de (114) (Figura 46 e Figura 47), mostraram que os valores dos deslocamentos químicos foram compatíveis com o esqueleto quassolidano também apresentado pela estrutura de (113),

apresentando uma maior diferença, nos deslocamentos químicos de H-1 e H-3, afetados pelo grupamento hidroxil na posição 2 de **(114)**.

O espectro de RMN de ^1H de **(114)** (**Figura 46**) apresenta 3 sinais característicos de hidrogênios metílicos. Um duplete em δ_{H} 1,65 (3H; $J=1,4$ Hz; H-17) no anel A, um singleto em δ_{H} 1,22 (3H; H-18) na junção entre o anel A e B, e um singleto em δ_{H} 1,40 (3H; H-19) no anel C, corroborados pelos espectros de RMN de ^{13}C , HSQC e DEPTQ de **(114)**. Foram observados ainda, um triplete de dupletos em δ_{H} 1,68 (1H; $J=14,8$; 13,4 e 2,6 Hz; H_B-6) e um duplete de tripletos em δ_{H} 2,14 (1H; $J=14,8$ e 2,9 Hz; H_A-6) atribuídos aos hidrogênios diastereotópicos em C-6 no anel B, e sinais de dois duplos dupletos em δ_{H} 2,06 (1H; $J=5,2$ e 1,4 Hz) atribuído ao H-9 no anel B e em δ_{H} 2,40 (1H; $J=13,7$ e 1,4 Hz) atribuído ao H-5 localizado na junção entre o anel A e B.

Foram observados 7 sinais característicos de hidrogênios de carbonos carbinólicos. Três dupletos em δ_{H} 3,52 (1H; $J=7,3$ Hz; H-1) no anel A, em δ_{H} 3,74 (1H; $J=1,1$ Hz; H-12) e em δ_{H} 4,57 (1H; $J=2,7$ Hz; H-11) no anel C, além de sinais de um multiplete em δ_{H} 3,98 (1H; H-2) no anel A, um triplete em δ_{H} 5,05 (1H; $J=2,7$ Hz; H-7) na junção entre o anel B e D, e um singleto em δ_{H} 5,12 (1H; H-15) no anel D (lactônico). Os sinais dos hidrogênios diastereotópicos em C-20 no anel E (furânico) em δ_{H} 4,60 (1H; $J=7,3$ Hz) e em δ_{H} 3,80 (1H; $J=7,3$ e 1,7 Hz) foram atribuídos ao H_A-20 e ao H_B-20 respectivamente (**Figura 47**). O efeito desprotetor (anisotropia) do grupo carbonila é observado no sinal de H-15 (δ_{H} 5,12), mais deslocado em relação aos outros hidrogênios de carbonos carbinólicos, por estar ligado a um C α à carbonila lactônica na posição 16 do anel D (lactônico) de **(114)**.

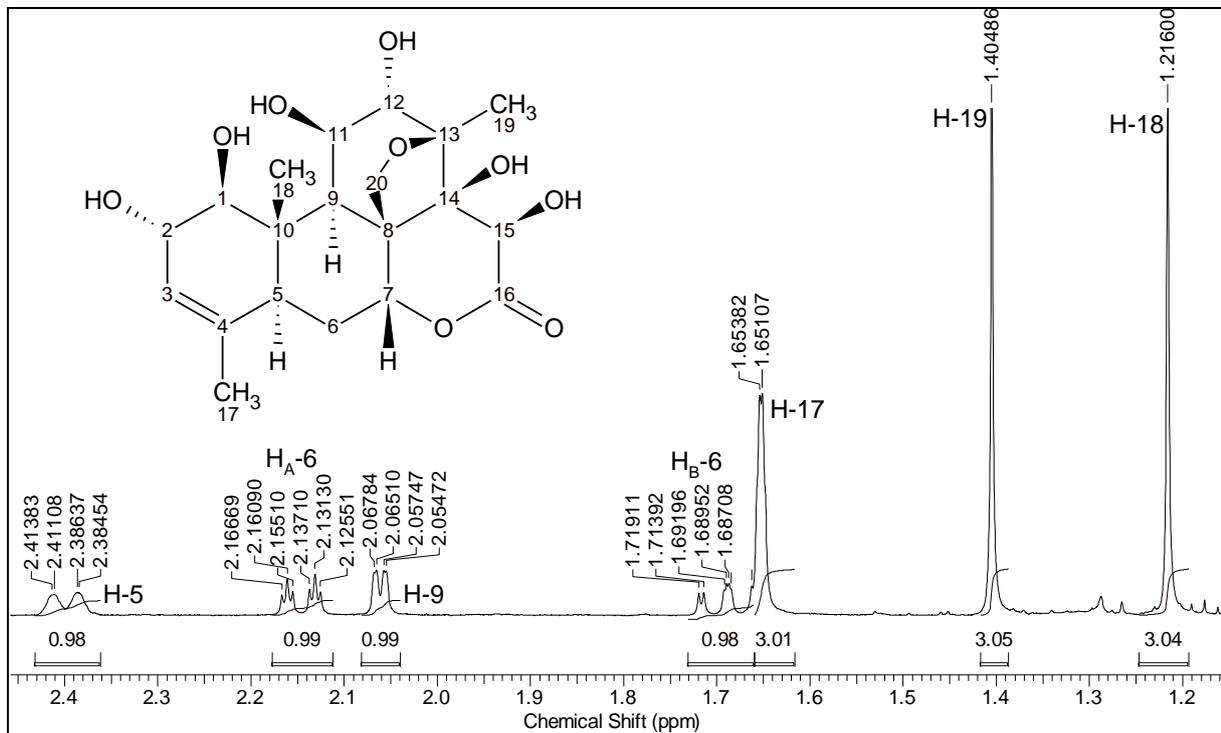


Figura 46 – Espectro de RMN de ¹H (500 MHz, CD₃OD) de (114) entre δ_H 2,40 e 1,00

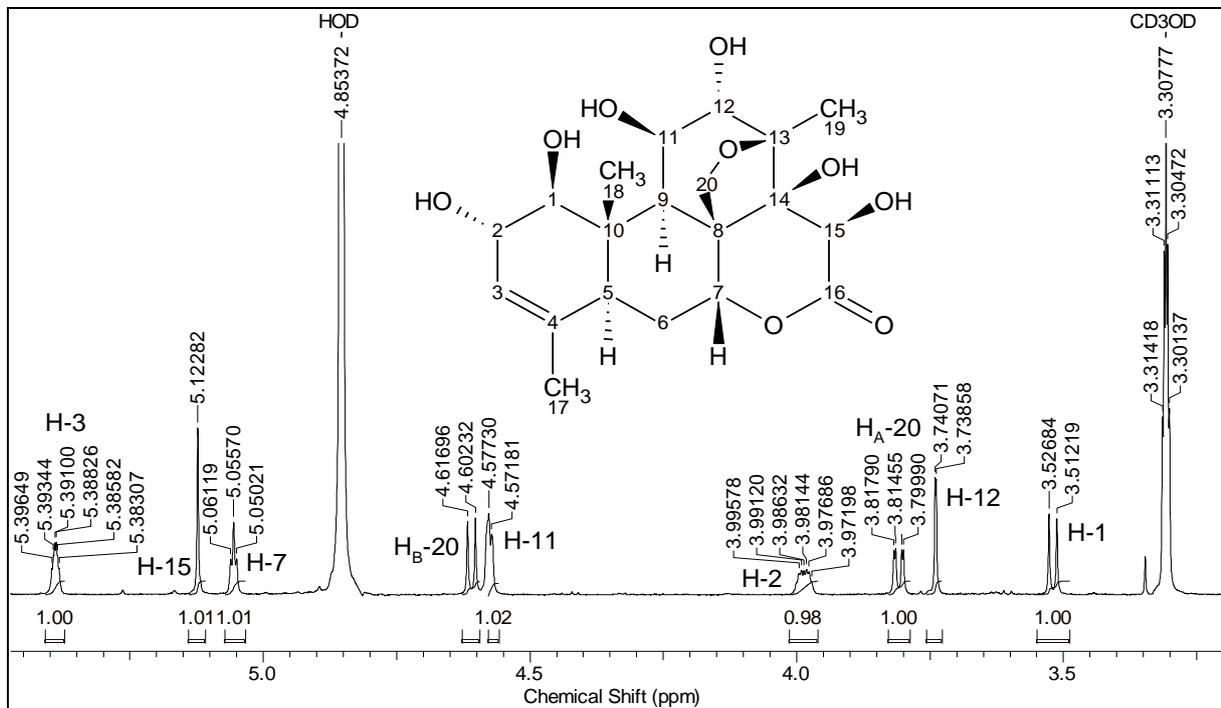


Figura 47 – Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CD_3OD) de (114) entre δ_{H} 5,45 e 3,25

No experimento de COSY de **(114)** (**Figura 48**) foram observadas correlações de acoplamento alílico entre H-17/H-3 ($J=1,4$ Hz) e H-17/H-2 ($J=1,4$ Hz), o que provocou um desdobramento do sinal atribuído a metila em δ_{H} 1,65 (H-17) no anel A, em duplete (duplo duplete). Acoplamento trans diaxial entre H-1/H-2 ($J=7,3$ Hz) característico de hidrogênios vicinais de carbonos carbinólicos, que levou a orientação em α da hidroxila em C-2 no anel A, corroborado pelos valores publicados por Li e colaboradores (1989) e Ablat e colaboradores (2017). Acoplamentos entre H-2/H-3 e H-2/H-5 no anel A também foram observados.

As proximidades entre os anéis A, B e D de **(114)** foram observadas pelo acoplamento trans diaxial entre H-5/H_B-6 ($J=13,7$ Hz) e acoplamento alílico entre H-5/H-3 ($J=1,4$ Hz) confirmando a proximidade entre os anéis A e B. Acoplamento geminal entre H_A-6/H_B-6 ($J=14,8$ Hz), acoplamento equatorial-axial entre H_A-6/H-5 ($J=2,6$ Hz), além de acoplamento equatorial-equatorial entre H_A-6/H-7 ($J=2,6$ Hz) e acoplamento axial-equatorial entre H_B-6/H-7 ($J=2,9$ Hz). Essas correlações foram essenciais para demonstrar a proximidade dos anéis A, B e D (lactônico).

A proximidade entre o anel B e C é representada pelo acoplamento axial-equatorial entre H-9/H-11 ($J=5,2$ Hz) e a proximidade entre o anel B e E (furânico) é representada pelo acoplamento W a longa distância entre H-9/H_A-20 ($J=1,4$ Hz), comuns em sistema bicíclicos com constantes de acoplamentos baixas ($^4J=1,4$ Hz) (PAVIA et al., 2010, pag. 232). O acoplamento entre H-9/H_A-20 também foi observado por Li e colaboradores (1989) na estrutura de **(114)**.

O acoplamento entre H-12/H-11 (1H; $J=1,1$ Hz), equatorial-equatorial foi observado com sinal fraco, que segundo Li e colaboradores (1989), o H-11 orientado em α -equatorial forma um ângulo diedro com cerca 90° com o hidrogênio H-12 orientado em β -equatorial na estrutura de **(114)**, não se observando acoplamento entre eles.

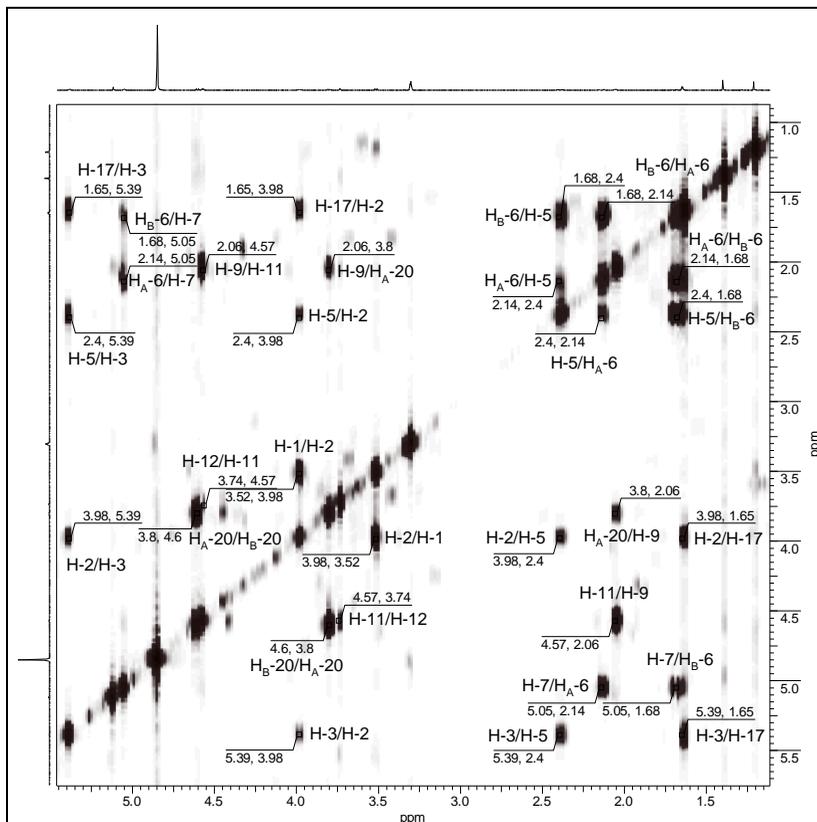


Figura 48 – Mapa de contorno (COSY, 500MHz, CD₃OD) de (114)

As correlações observadas no experimento de COSY de (114), esquematizadas na **Figura 49**, corroboram com os valores publicados por Li e colaboradores (1989) e Ablat e colaboradores (2017) para a estrutura de (114) e foram essenciais para elucidação da estrutura da bruceína E.

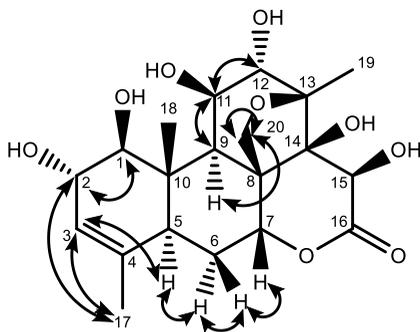


Figura 49 – Principais correlações observadas no mapa de contorno (COSY) de **(114)**

No espectro de RMN de ^{13}C (**Figura 50** e **Figura 51**), observou-se a presença de 20 sinais, compatíveis com a fórmula molecular $\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{O}_9$, conforme relatado para os experimentos com HR-ESI-MS e compatíveis com o esqueleto C_{20} (quassolidano).

Os valores dos deslocamentos químicos de carbonos para **(114)** comparados com os valores de **(113)**, identificadas como os quassinoides bruceina E e bruceina D respectivamente, divergem significativamente apenas nos C-2 (δ_{C} 72,6 – carbono carbinólico) e C-4 (δ_{C} 135,1) carbono olefínico no anel A de **(114)**.

Os demais valores dos deslocamentos químicos de carbono (**Tabela 29**), corroborados pelo espectro de DEPTQ-135 (**ANEXO G**) e mapas de contornos (HSQC – **ANEXO H**) e (HMBC – **ANEXO I**) estão de acordo com dados publicados na literatura (ABLAT et al., 2017) para o quassinoide **(114)**.

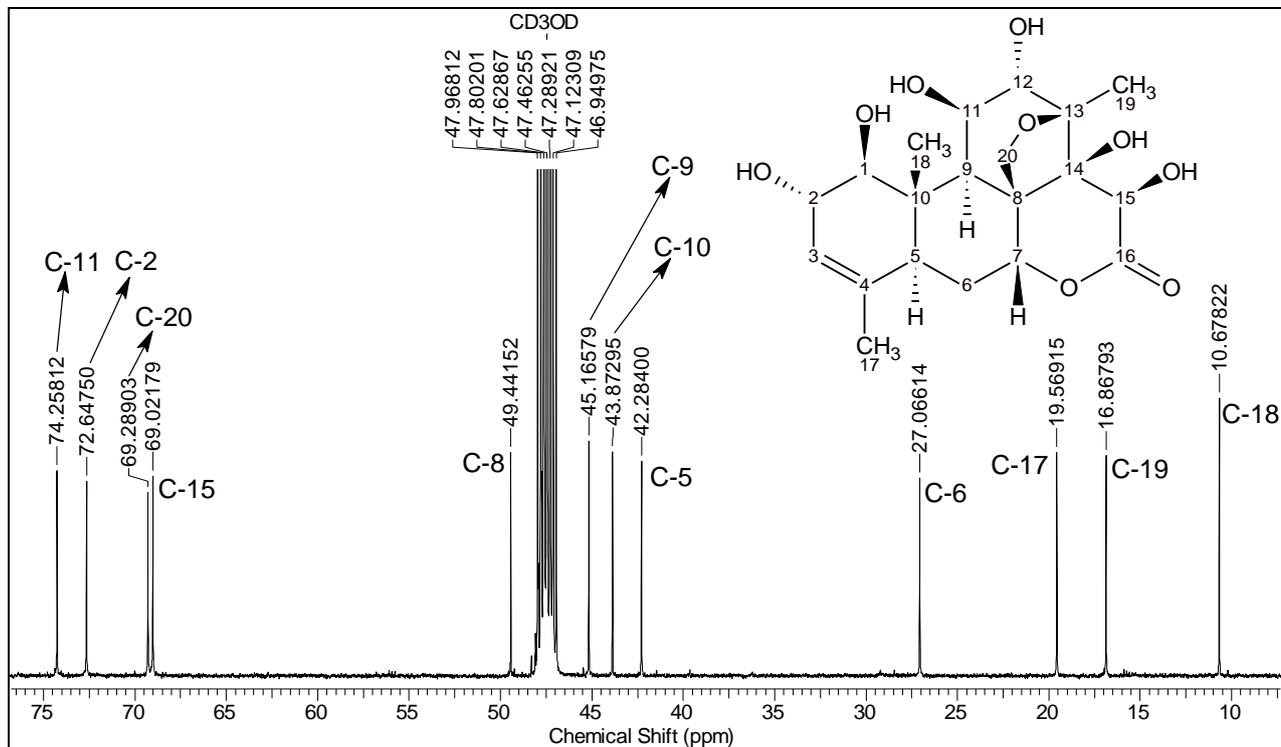


Figura 50 – Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CD_3OD) de (114) entre δ_{C} 75,0 e 8,0

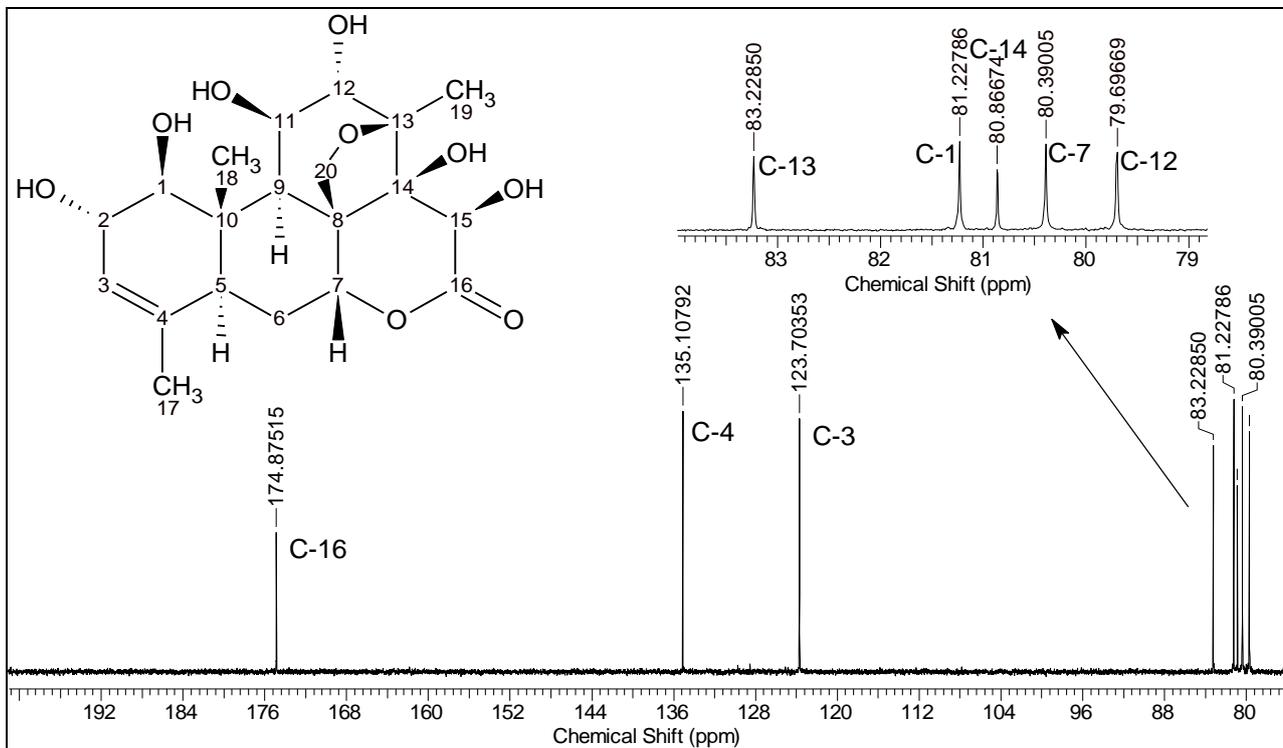


Figura 51 – Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CD_3OD) de (114) entre δ_{C} 200,0 e 75,0

Os experimentos de DEPTQ-135 (**ANEXO G**), HSQC (**ANEXO H**) e HMBC (**ANEXO I**), foram essenciais para a determinação da estrutura de bruceína E (**114**). As correlações observadas nos experimentos de COSY, HSQC e HMBC de (**114**) são mostradas na **Tabela 28**.

Tabela 28 – Correlações de ^1H e ^{13}C observadas nos experimentos de COSY, HSQC e HMBC de (**114**)

bruceína E (114)					
RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) em CD_3OD					
C/H	δ ^1H (ppm)	δ ^{13}C (ppm)	COSY ($^{2-3}J_{\text{HH}}$)	HSQC ($^1J_{\text{HC}}$)	HMBC ($^{2-4}J_{\text{HC}}$)
1	3,52	81,2	H-2	H-1/C-1	C-18; C-5; C-10; C-9; C-2
2	3,98	72,6	H-1; H-3; H-17	H-2/C-2	C-1; C-3; C-4
3	5,39	123,7	H-2; H-5; H-17	H-3/C-3	C-17; C-5; C-1
4	-	135,1	-	-	-
5	2,40	42,3	H-3; H _A -6; H _B -6	H-5/C-5	C-6; C-10; C-7; C-4
6	H _A : 2,14	27,1	H-5; H _B -6; H-7	H _A -6/C-6	C-5; C-10; C-7; C-4; C-16
	H _B : 1,68		H-5; H _A -6; H-7	H _B -6/C-6	C-5; C-10; C-8; C-7; C-14; C-4
7	5,05	80,4	H _A -6; H _B -6	H-7/C-7	C-5; C-10; C-9; C-8; C-20; C-15
8	-	49,4	-	-	-
9	2,06	45,2	H-11; H _A -20	H-9/C-9	C-18; C-10; C-8; C-15; C-20; C-11; C-12; C-7; C-14; C-1
10	-	43,9	-	-	-
11	4,57	74,3	H-9; H-12	H-11/C-11	C-10; C-9; C-8; C-12; C-13
12	3,74	79,7	H-11	H-12/C-12	C-19; C-9; C-11; C-14; C-13
13	-	83,2	-	-	-
14	-	80,9	-	-	-
15	5,12	69,0	-	-	C-13; C-16; C-9; C-12; C-14
16	-	174,9	-	-	-
17	1,65	19,6	H-3; H-2	H-17/C-17	C-5; C-10; C-2; C-4; C-3
18	1,22	10,7	-	H-18/C-18	C-1; C-5; C-10; C-9; C-6; C-20
19	1,40	16,9	-	H-19/C-19	C-11; C-12; C-14; C-13
20	H _A : 3,80	69,3	H-9; H _B -20	H _A -20/C-20	C-7; C-14; C-13; C-8
	H _B : 4,60		H _A -20	H _B -20/C-20	C-10; C-9; C-8; C-12; C-7; C-14; C-13

Para os dados de RMN de ^1H e ^{13}C comparados com a literatura (LIU et al., 2009), os valores de δ_{H} atribuídos ao H-2, H-7 e H-11, diferem dos atribuídos aqui, além dos autores não apresentarem os valores de H-9, H-15 e H-20. Já para os dados publicados recentemente por Ablat e colaboradores (2017), estes, corroboram para a elucidação estrutural de (114).

Tabela 29 – Dados de RMN de ^1H e ^{13}C de (114) e comparações com a literatura

C/H	bruceína E (114) RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) em CD_3OD		LIU et al., 2009 RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) em CD_3OD		ABLAT et al., 2017 RMN ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) em CD_3OD	
	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	$\delta^1\text{H}$ (ppm); <i>m</i> ; <i>J</i> (Hz)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	$\delta^1\text{H}$ (ppm); <i>m</i> ; <i>J</i> (Hz)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	$\delta^1\text{H}$ (ppm); <i>m</i> ; <i>J</i> (Hz)
1	81,2	3,52; 1H; <i>d</i> ; <i>J</i> =7,3	80,7	3,55; 1H; <i>d</i> ; <i>J</i> =4,0	81,4	3,54; 1H; <i>d</i> ; <i>J</i> =7,3
2	72,6	3,98; 1H; <i>m</i>	71,9	3,60; 1H; <i>t</i> ; <i>J</i> =7,0 e 1,0	72,8	4,01; 1H; <i>dd</i> ; <i>J</i> =7,3 e 1,3
3	123,7	5,39; 1H; <i>m</i>	125,2	5,31; 1H; <i>d</i> ; <i>J</i> =2,0	123,8	5,41; 1H; <i>d</i> ; <i>J</i> =1,3
4	135,1	-	133,6	-	135,3	-
5	42,3	2,40; 1H; <i>dd</i> ; <i>J</i> =13,7 e 1,4	41,8	2,24; 1H; <i>d</i> ; <i>J</i> =13,0	42,4	2,42; 1H; <i>d</i> ; <i>J</i> =12,8
6	27,1	H _A : 2,14; 1H; <i>dt</i> ; <i>J</i> =14,8 e 2,9	27,2	1,88; 1H; <i>dt</i> ; <i>J</i> =12,0 e 8,0	27,2	2,17; 1H; <i>dt</i> ; <i>J</i> =2,8
		H _B : 1,68; 1H; <i>td</i> ; <i>J</i> =14,8; 13,4 e 2,6		1,53; 1H; <i>d</i> ; <i>J</i> =1,0		1,70; 1H; <i>td</i>
7	80,4	5,05; 1H; <i>t</i> ; <i>J</i> =2,7	79,3	3,80; 1H; <i>s/l</i>	80,6	5,08; 1H; <i>t</i> ; <i>J</i> =2,7
8	49,4	-	48,9	-	49,6	-
9	45,2	2,06; 1H; <i>dd</i> ; <i>J</i> =5,2 e 1,4	44,6	(*)	45,9	2,08; 1H; <i>d</i> ; <i>J</i> =4,2
10	43,9	-	43,8	-	44,0	-
11	74,3	4,57; 1H; <i>d</i> ; <i>J</i> =2,7	73,9	3,38; 1H; <i>dd</i> ; <i>J</i> =7,0 e 6,0	74,4	4,60; 1H; <i>d</i> ; <i>J</i> =4,4
12	79,7	3,74; 1H; <i>d</i> ; <i>J</i> =1,1	79,6	3,55; 1H; <i>d</i> ; <i>J</i> =4,0	79,8	3,76; 1H; <i>s/l</i>
13	83,2	-	82,8	-	83,4	-
14	80,9	-	81,2	-	81,0	-
15	69,0	5,12; 1H; <i>s</i>	68,8	(*)	69,2	5,15; 1H; <i>s</i>

(continua)

(continuação)

bruceína E (114) RMN ¹ H (500 MHz) e ¹³ C (125 MHz) em CD ₃ OD			LIU et al., 2009 RMN ¹ H (500 MHz) e ¹³ C (125 MHz) em CD ₃ OD		ABLAT et al., 2017 RMN ¹ H (400 MHz) e ¹³ C (100 MHz) em CD ₃ OD	
C/H	δ ¹³ C (ppm)	δ ¹ H (ppm); m; J (Hz)	δ ¹³ C (ppm)	δ ¹ H (ppm); m; J (Hz)	δ ¹³ C (ppm)	δ ¹ H (ppm); m; J (Hz)
16	174,9	-	173,7	-	175,0	-
17 (CH ₃)	19,6	1,65; 3H; <i>d</i> (<i>dd</i>); J=1,4	20,7	1,56; 3H; <i>s</i>	19,7	1,67; 3H; <i>s</i>
18 (CH ₃)	10,7	1,22; 3H; <i>s</i>	11,6	1,07; 3H; <i>s</i>	10,8	1,24; 3H; <i>s</i>
19 (CH ₃)	16,9	1,40; 3H; <i>s</i>	18,2	1,23; 3H; <i>s</i>	17,0	1,43; 3H; <i>s</i>
20	69,3	H _A : 3,80; 1H; <i>dd</i> ; J=7,3 e 1,7	68,8	(*)	69,4	3,83; 1H, <i>d</i> , J=7,3
	69,3	H _B : 4,60; 1H; <i>d</i> ; J=7,3		(*)		4,63; 1H; <i>d</i> , J=7,3

(*) valores não atribuídos pelos autores.

Bruceína E (**114**) foi isolada pela primeira vez por Stöcklin e Geissman (1968) do material não lipofílico das sementes de *Brucea sumatrana* Roxb. Não há relatos na literatura do isolamento de (**114**) no gênero *Simaba*.

6.2.2.3 Identificação estrutural de **FD2E5**

A amostra **FD2E5** (178,6 mg), obtida da fração diclorometânica do EBHE, identificada como o quassinóide simalikalactona D (**23**), apresentou-se na forma de sólido branco, PF = 226-232 °C, [lit. = 230 °C (CABRAL et al., 1993)], [α]_D²³ = + 31,6° [lit. = + 43,2° (MOHER et al., 1992)], solúvel em CHCl₃ e DMSO, parcialmente solúvel em MeOH e insolúvel em água. Quando analisada em **CCDA** com irradiação UV (λ=254 nm) apresentou uma mancha de coloração escura e em UV (λ=365 nm) observou-se o desaparecimento da mancha. As amostras **FD2F3B** (10,1 mg), **FD2F3SE** (91,5 mg) e **FD2F4B3P** (30,5 mg), apresentaram as mesmas características descritas

acima para **FD2E5** e através da comparação dos dados de RMN de ^1H , também foram identificadas como sendo o quassinoide (**23**).

A análise por espectroscopia no IV de (**23**) (**Figura 52**) apresentou bandas de absorção em 3433 cm^{-1} sugerindo a presença de hidroxila ($\nu_{\text{O-H}}$); bandas em 2970 , 2939 e 2877 cm^{-1} relacionadas aos estiramentos ($\nu_{\text{Csp}^3\text{-H}}$); banda em 1743 cm^{-1} relacionada ao estiramento ($\nu_{\text{C=O}}$) de δ -lactona; e banda em 1666 cm^{-1} relacionada ao estiramento ($\nu_{\text{C=O}}$) de carbonila α,β -insaturada. Esses valores são corroborados por Sama e colaboradores (2014) obtidos para o quassinoide (**23**).

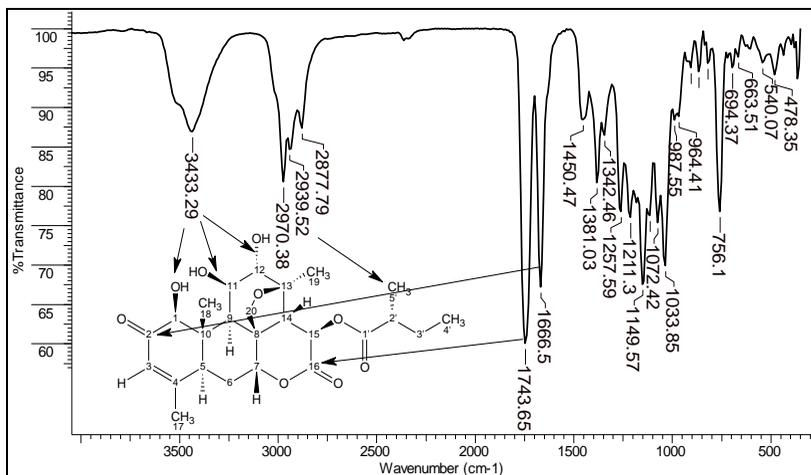


Figura 52 – Espectro de IV (KBR) de (**23**)

O espectro de massas de alta resolução de (**23**) (**Figura 53**) revelou a massa molecular da estrutura através da razão massa carga (m/z) da amostra ionizada. A amostra, solubilizada em MeOH, exibiu picos do aduto $[\text{M}+\text{Na}]^+$ de $m/z=501,2100$ e $[\text{M}+\text{H}]^+$ de $m/z=479,2285$. A massa exata calculada para a $\text{C}_{25}\text{H}_{34}\text{O}_9$ exibiu o valor de $478,2203\text{ g/mol}$ e $[\text{M}+\text{H}]^+$ calculado de $m/z=479,2276$ com erro de $0,0009$ unidades de massa atômica ($1,88\text{ ppm}$), considerando que para massas de alta resolução, a precisão

deve ser inferior a 5 ppm (WANG, 2009). O espectro de massas sugere a fórmula molecular $C_{25}H_{34}O_9$, corroborando para a identificação do quassinóide simalikalactona D (**23**).

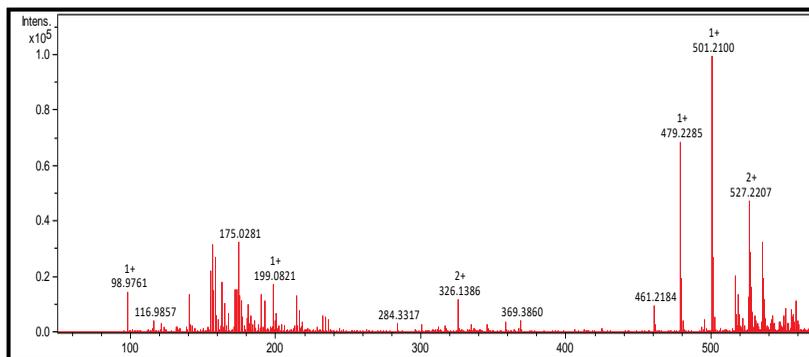


Figura 53 – Espectro de massas de (**23**) por infusão direta no HR-ESI-MS

Os experimentos de RMN de 1H e ^{13}C uni e bidimensional e comparações com a literatura, em corroboração com **IV** e **PF**, foram essenciais para a elucidação estrutural do quassinóide simalikalactona D (**23**).

O espectro de RMN de 1H (**Figura 57** e **Figura 58**) apresentou 5 sinais de hidrogênios metílicos, com integração para 3 hidrogênios cada. Um sinal de tripleto em δ_H 0,94 ($J=7,5$ Hz; H-4') e um duplete em δ_H 1,17 ($J=7,0$ Hz; H-5') foram atribuídos às metilas da cadeia lateral esterificada. Três sinais de singletos em δ_H 1,16 (H-18), δ_H 1,41 (H-19) e δ_H 1,93 (H-17) foram atribuídos às metilas do esqueleto quassolidano. Esses sinais foram corroborados pelos experimentos de HSQC (**ANEXO K**) e DEPTQ (**Figura 62**).

Os sinais dos hidrogênios metilênicos diastereotópicos foram observados em C-6 no anel B do esqueleto quassolidano em δ_H 1,78 (1H; *m*; H_B-6) e em δ_H 2,34 (1H; *dt*; $J=14,7$ e 2,9 Hz; H_A-6), na posição C-20 do anel E (furânico) em δ_H 3,51 (1H; *dd*; $J=7,8$ e 1,5 Hz; H_A-20) e em δ_H 4,59 (1H; *s*;

H_B-20) e na cadeia lateral esterificada em δ_H 1,49 (1H; *m*; H_A-3') e em δ_H 1,72 (1H; *m*; H_B-3') (**Figura 58** e **Figura 59**).

Foram observados ainda no espectro de RMN de ¹H de (**23**), 10 sinais de hidrogênios metínicos, em δ_H 2,27 (1H; *s*; H-9) na junção entre os anéis B e C, em δ_H 2,42 (1H; *sl*; H-14) na junção entre os anéis C e D (lactônico) e em δ_H 2,44 (1H; *m*; H-2') na cadeia lateral esterificada (**Figura 58**). Sinais em δ_H 2,90 (1H; *d*; *J*=12,2 Hz; H-5) na junção entre os anéis A e B; e 4 sinais de singletos, relativos aos hidrogênios ligados a carbonos carbinólicos, com integração para 1 hidrogênio, em δ_H 4,12 (H-1) no anel A, em δ_H 4,64 (H-7) na junção entre os anéis B e D (lactônico), em δ_H 4,60 (H-11) e δ_H 3,76 (H-12) no anel C (**Figura 59**), além de sinais em δ_H 6,07 (1H; *dd*; *J*=2,7 e 1,4; H-3) do hidrogênio olefínico na porção α,β -insaturada do anel A e por um singletto largo em δ_H 6,15 (1H) atribuído ao H-15 (hidrogênio α carbonila) no anel D (lactônico) (**Figura 60**).

No experimento de COSY de (**23**) (**Figura 61**) foram observadas correlações de acoplamentos alílicos entre H-1/H-18, H-3/H-5 (*J*=2,7) e H-3/H-17 (*J*=1,4 Hz) no anel A. A proximidade entre o anel A e B foi observada pelas correlações de acoplamento trans diaxial entre H-5/H_B-6 (*J*=12,2 Hz) e axial-equatorial entre H-5/H_A-6 (*J*=2,9 Hz). A proximidade entre o anel B e D (lactônico) foi observada pelo acoplamento equatorial-equatorial entre H_A-6/H-7 (*J*=2,7 Hz) e acoplamento axial-equatorial entre H_B-6/H-7. No anel B, foi observado ainda acoplamento geminal entre H_A-6/H_B-6 (14,8 Hz).

Foram observadas ainda no experimento de COSY de (**23**) as correlações que mostram as proximidades entre os anéis B e C, pelo acoplamento axial-equatorial entre H-9/H-11 (*J*=2,3 Hz) e entre os anéis B e E (furânico), pelo acoplamento em W entre H-9/H_A-20 (*J*=1,5 Hz) comum em sistemas bicíclicos, além dos acoplamentos entre H-11/H-12, acoplamento em W entre H-12/H-14 no anel C e acoplamento geminal entre H_A-20/H_B-20 (*J*=7,8 Hz) no anel E (furânico). A proximidade entre o anel C e D (lactônico) foi observada pelo acoplamento entre H-14/H-15.

Na cadeia lateral esterificada em C-15, foram observadas correlações entre H-5'/H-2' (7,0 Hz), entre H-4'/H_A-3' ($J=7,5$ Hz), entre H-4'/H_B-3' ($J=7,5$ Hz), entre H-2'/H_A-3', entre H-2'/H_B-3' e entre H_A-3'/H_B-3', acoplamentos característicos de hidrogênios vicinais de cadeia alifática (**Figura 61**).

As correlações entre os hidrogênios da estrutura de (**23**), observadas no mapa de contorno (**COSY**) (**Figura 61**) estão esquematizadas na **Figura 54**.

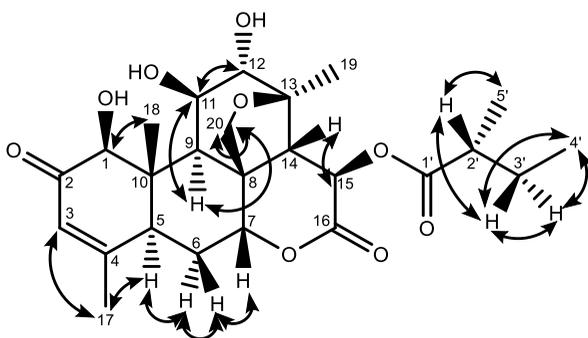


Figura 54 – Principais correlações observadas no mapa de contorno (COSY) na estrutura de (**23**)

O espectro de RMN de ^{13}C de (**23**) (**ANEXO J**) revelou a presença de 25 sinais de carbonos, compatíveis com a fórmula molecular $\text{C}_{25}\text{H}_{34}\text{O}_9$, conforme relatado para os experimentos com HR-ESI-MS, dos quais 20 carbonos pertencem ao esqueleto quassolidano e os outros 5 pertencem a cadeia lateral esterificada na posição C-15, comum para esse tipo de esqueleto (POLONSKY, 1985; CURCINO VIEIRA; BRAZ-FILHO, 2006).

Foram observados sinais de carbonos metílicos em δ_{C} 22,4 (C-17), δ_{C} 11,3 (C-18), δ_{C} 22,8 (C-19) no esqueleto quassolidano e em δ_{C} 11,4 (C-4') e δ_{C} 16,2 (C-5') na cadeia lateral esterificada. Esses valores foram corroborados pelo experimento de HSQC (**ANEXO K**).

Os carbonos metilênicos apresentaram sinais em δ_c 28,1 (C-6) no anel B, δ_c 71,5 (C-20) no anel furânico e δ_c 26,5 (C-3') na cadeia lateral. O C-20 é um carbono oxigenado do anel furânico, que apresenta um deslocamento maior em relação aos outros carbonos metilênicos, devido a presença do átomo eletronegativo.

Aos carbonos metínicos foram atribuídos os sinais em δ_c 81,5 (C-1), δ_c 124,0 (C-3) e δ_c 43,4 (C-5) no anel A, em δ_c 82,9 (C-7) e δ_c 42,3 (C-9) no anel B, em δ_c 74,2 (C-11), δ_c 79,2 (C-12) e δ_c 52,3 (C-14) no anel C, em δ_c 67,1 (C-15) atribuído ao carbono oxigenado no anel D lactônico e em δ_c 40,8 (C-2') da cadeia lateral. Os carbonos C-1, C-7, C-11, C-12 e C-15, são oxigenados e apresentaram deslocamentos maiores que os demais, exceto no C-3 (δ_c 124,0), que é um carbono olefínico, que apresentou deslocamento na região de sistemas aromáticos. O C-14 não apresentou oxigenação na estrutura de **(23)**, diferente do esqueleto quassolidano da bruceína D (**113**) e da bruceína E (**114**) que são oxigenados nessa posição.

Aos carbonos quaternários foram atribuídos os sinais em δ_c 197,0 (C-2) atribuído à carbonila α,β insaturada e δ_c 163,3 (C-4) ao carbono olefínico β insaturado no anel A. Em δ_c 45,7 (C-8) e δ_c 47,5 (C-10) no anel B e em δ_c 80,1 (C-13) no anel C. Em δ_c 167,5 (C-16) atribuído à carbonila de δ -lactona no anel D, e em δ_c 175,1 (C-1') atribuído à carbonila de éster da cadeia lateral alifática. Os carbonos C-2, C-16 e C-1' são carbonos carbonílicos que apresentaram deslocamentos altos característicos de cetona e ésteres. O C-4 (β -insaturado), apresentou deslocamento maior que C-3 (α -insaturado) devido ao efeito da ressonância com a carbonila em C-2, causando um efeito desprotetor em C-4. O C-13, carbono oxigenado, apresentou deslocamento maior que C-8 e C-10 que são tetrasubstituídos por ligações C-C.

O experimento de RMN de ^{13}C (DEPTQ-135) (**Figura 62** e **Figura 63**) confirmou a presença de carbonos metílicos, metilênicos, metínicos e quaternários citados anteriormente. Em fase positiva, 5 carbonos metílicos e

10 carbonos metínicos. Em fase negativa os carbonos metilênicos em C-6, C-20 e C-3' e 7 carbonos quaternários.

O experimento de HSQC (**ANEXO K**), levou a identificação das correlações a $^1J_{HC}$ (**Tabela 30**) corroborando para a elucidação estrutural de (**23**).

Nas expansões do experimento de HMBC de (**23**) (**Figura 55**) foram observadas correlações dos hidrogênios metílicos em δ_H 1,93 (H-17), δ_H 1,16 (H-18) e δ_H 1,41 (H-19) essenciais para definição das posições das metilas no esqueleto quassolidano e dos hidrogênios metílicos em δ_H 0,94 (H-4') e δ_H 1,17 (H-5') importantes para definição das metilas da cadeia lateral. Correlações entre H-17/C-4 definiu a posição da metila no anel A e correlações entre H-17/C-3, H-17/C-5, H-18/C-1 e H-18/C-9 mostraram a proximidade entre os anéis A e B, além da correlação entre H-18/C-10 que definiu a posição da metila na junção entre o anel A e B. A correlação entre H-19/C-13 definiu a posição da metila no anel C, além das correlações entre H-19/C-12 e H-19/C-14 que mostraram a proximidade entre os anéis C e D (lactônico). As correlações entre H-4'/C-3', H-4'/C-2', H-5'/C-1' e H-5'/C-2' mostraram a presença da cadeia lateral próxima a carbonila em C-1' (δ_C 175,1) e entre e H-2'/C-15 mostrou que a cadeia lateral só poderia estar ligada na posição C-15 do esqueleto quassolidano de (**23**). Foram observadas ainda, correlações entre H-9/C-11 que mostrou a proximidade entre os anéis B e C, correlação entre H-9/C-20 que mostrou a proximidade entre os anéis B e E (furânico) e a correlação entre H-7/C-20, mostrou a proximidade dos anéis B e D (lactônico) com o anel E (furânico).

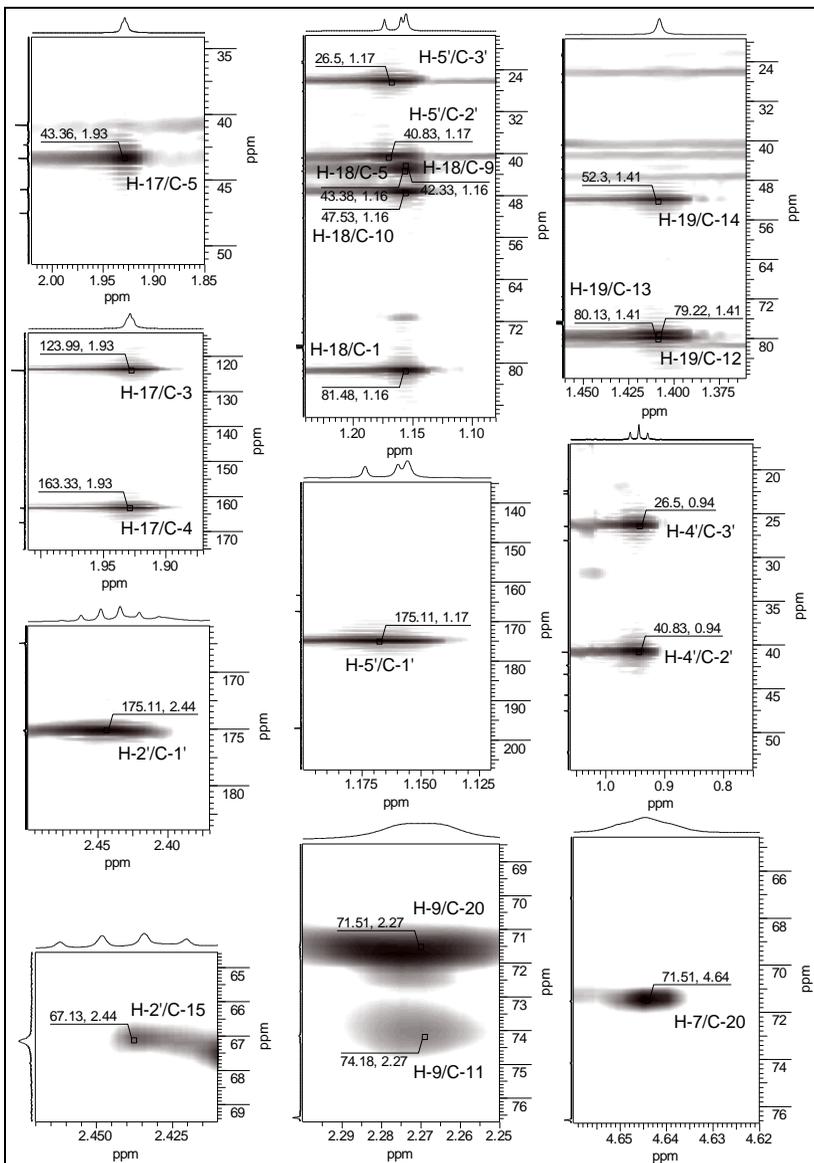


Figura 55 – Expansões das principais correlações observadas no espectro de HMBC de (23)

As principais correlações observadas no experimento de HMBC de (23) (ANEXO L) são esquematizadas na **Figura 56** e mostradas na **Tabela 30**.

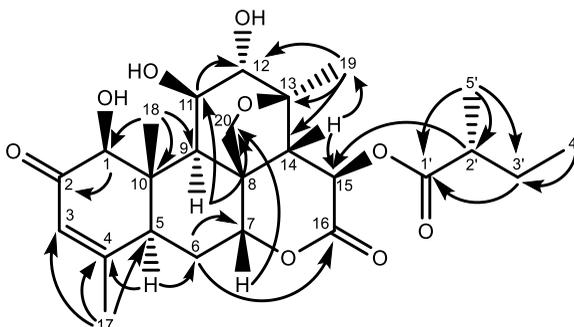


Figura 56 – Principais correlações observadas no mapa de contorno (HMBC) de (23)

Tabela 30 – Correlações de ^1H e ^{13}C observadas nos experimentos de COSY, HSQC e HMBC de (23)

simalikalactona D (23)					
RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) em CDCl_3					
C/H	δ ^1H (ppm)	δ ^{13}C (ppm)	COSY $^{2-3}J_{\text{HH}}$	HSQC $^1J_{\text{HC}}$	HMBC $^{2-4}J_{\text{HC}}$
1	4,12	81,5	H-18	H-1/C-1	C-18; C-9; C-5; C-10; C-3; C-2
2	-	197,0	-	-	-
3	6,07	124,0	H-5; H-17	H-3/C-3	C-17; C-5; C-1
4	-	163,3	-	-	-
5	2,90	43,4	H-3; H _A -6; H _B -6; H-17	H-5/C-5	C-18; C-6; C-10; C-1; C-7; C-3; C-4
6	H _A : 2,34	28,1	H _B -6; H-5; H-7	H _A -6/C-6	C-8; C-10; C-7
	H _B : 1,78		H _A -6; H-5; H-7	H _B -6/C-6	C-5; C-10; C-7; C-16
7	4,64	82,9	H _A -6; H _B -6	H-7/C-7	C-9; C-5; C-8; C-14; C-20
8	-	45,7	-	-	-
9	2,27	42,3	H-11; H _A -20	H-9/C-9	C-18; C-5; C-8; C-10; C-20; C-11; C-1
10	-	47,5	-	-	-
11	4,60	74,2	H-9; H-12	H-11/C-11	C-9; C-8; C-14; C-12; C-13
12	3,76	79,2	H-11/H-14	H-12/C-12	C-19; C-9; C-14; C-11; C-13

(continua)

(continuação)

simalikalactona D (23)					
RMN ¹ H (500 MHz) e ¹³ C (125 MHz) em CDCl ₃					
C/H	δ ¹ H (ppm)	δ ¹³ C (ppm)	COSY ²⁻³ J _{HH}	HSQC ¹ J _{HC}	HMBC ²⁻⁴ J _{HC}
13	-	80,1	-	-	-
14	2,42	52,3	H-15/H-12	H-14/C-14	C-9; C-8; C-19; C-15; C-7; C-13; C-1'
15	6,14	67,1	H-14	H-15/C-15	-
16	-	167,5	-	-	-
17	1,93	22,4	H-3/H-5	H-17/C-17	C-5; C-3; C-4
18	1,16	11,3	H-1	H-18/C-18	C-9; C-5; C-10; C-1
19	1,41	22,8	-	H-19/C-19	C-14; C-13; C-12
20	H _A : 3,51	71,5	H _B -20; H-9	H _A -20/C-20	C-9; C-8; C-7; C-13
	H _B : 4,59		H _A -20	H _B -20/C-20	C-9; C-8; C-14; C-13
1'	-	175,1	-	-	-
2'	2,44	40,8	H _A -3'; H _B -3'	H-2'/C-2'	C-4'; C-5'; C-3'; C-15; C-1'
3'	H _A : 1,49	26,5	H _B -3'; H-2'; H-4'	H _A -3'/C-3'	C-4'; C-5'; C-2'; C-1'
	H _B : 1,72		H _A -3'; H-2'; H-4'	H _B -3'/C-3'	C-4'; C-5'; C-2'; C-1'
4'	0,94	11,4	H _A -3'; H _B -3'	H-4'/C-4'	C-3'; C-2'
5'	1,17	16,2	H-2'	H-5'/C-5'	C-3'; C-1'; C-2'

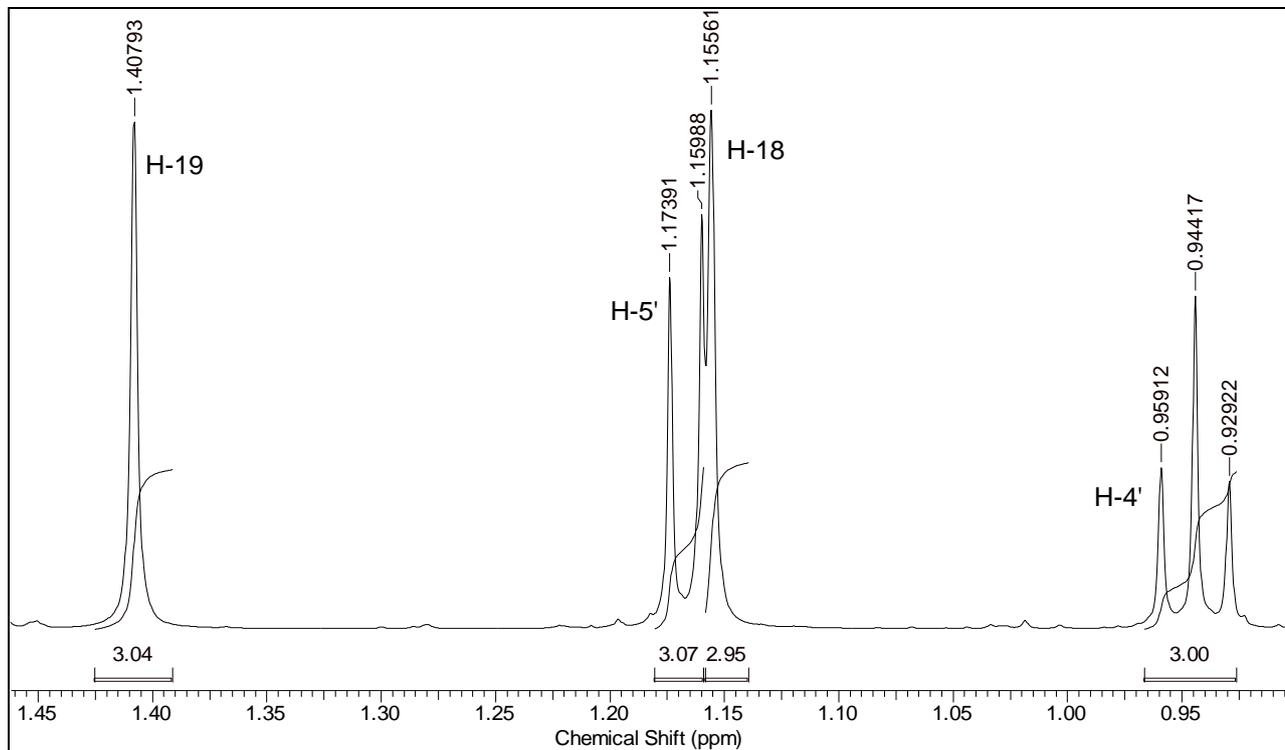


Figura 57 – Espectro de RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) de **(23)** entre δ_H 1,45 e 0,90

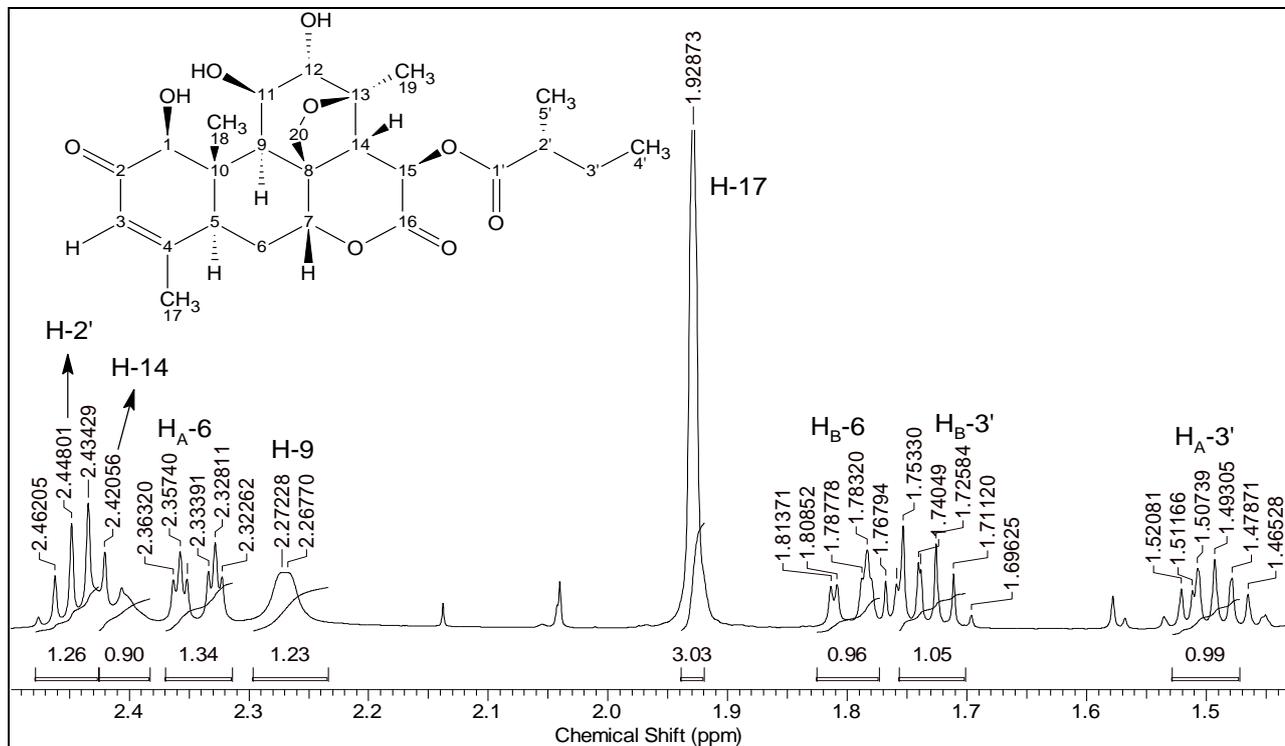


Figura 58 – Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de **(23)** entre δ_{H} 2,50 e 1,45

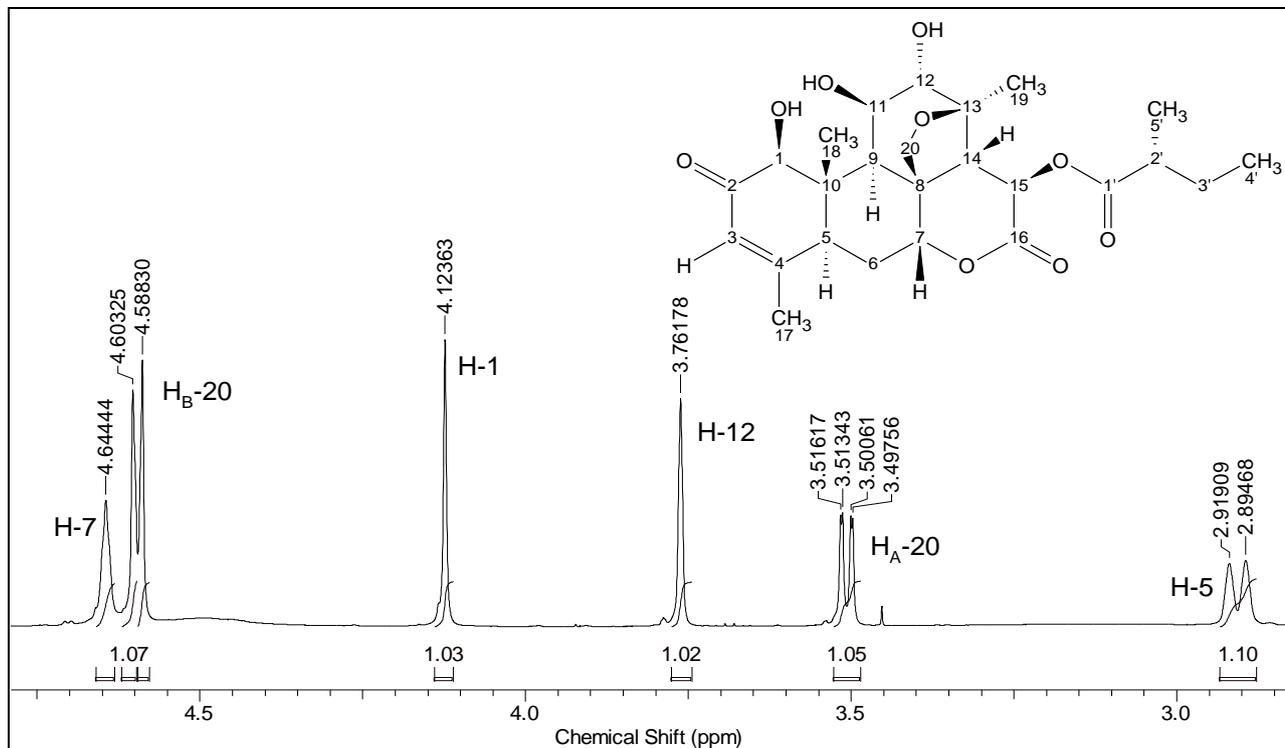


Figura 59 – Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de (23) entre δ_{H} 4,70 e 2,85

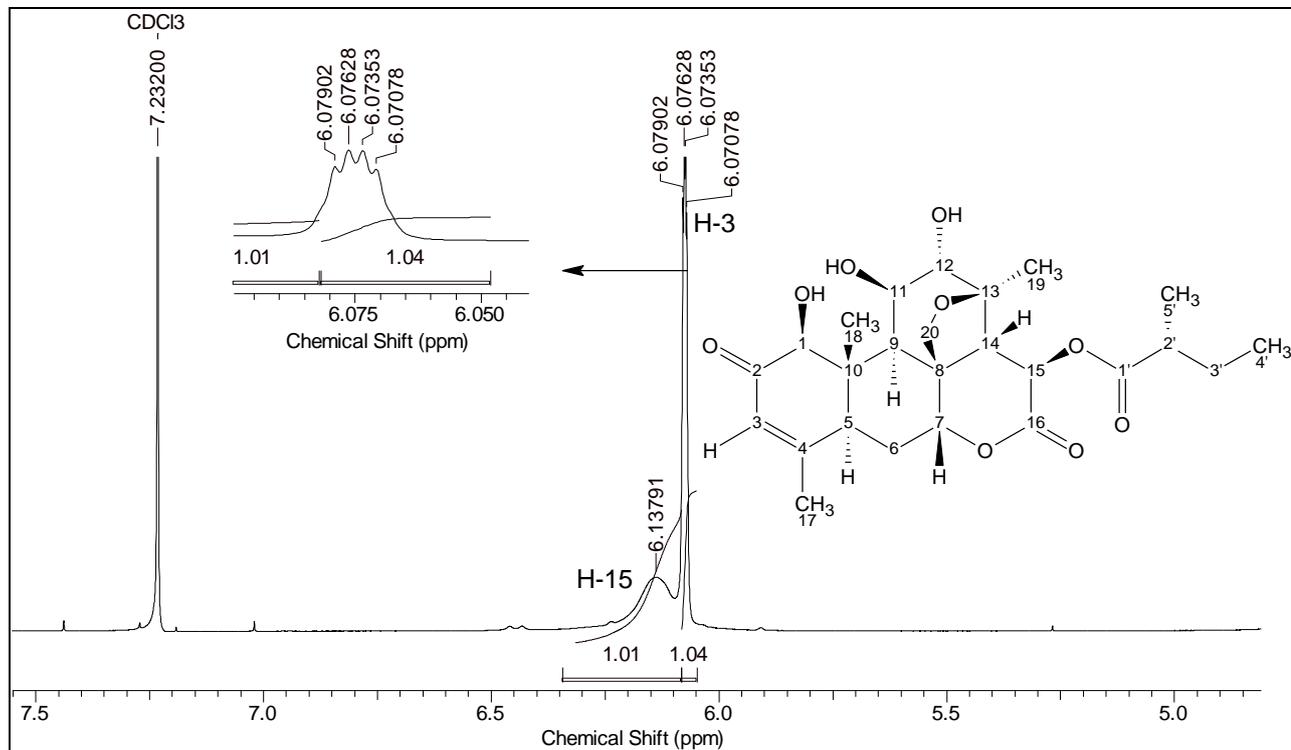


Figura 60 – Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de (23) entre δ_{H} 7,50 e 4,70

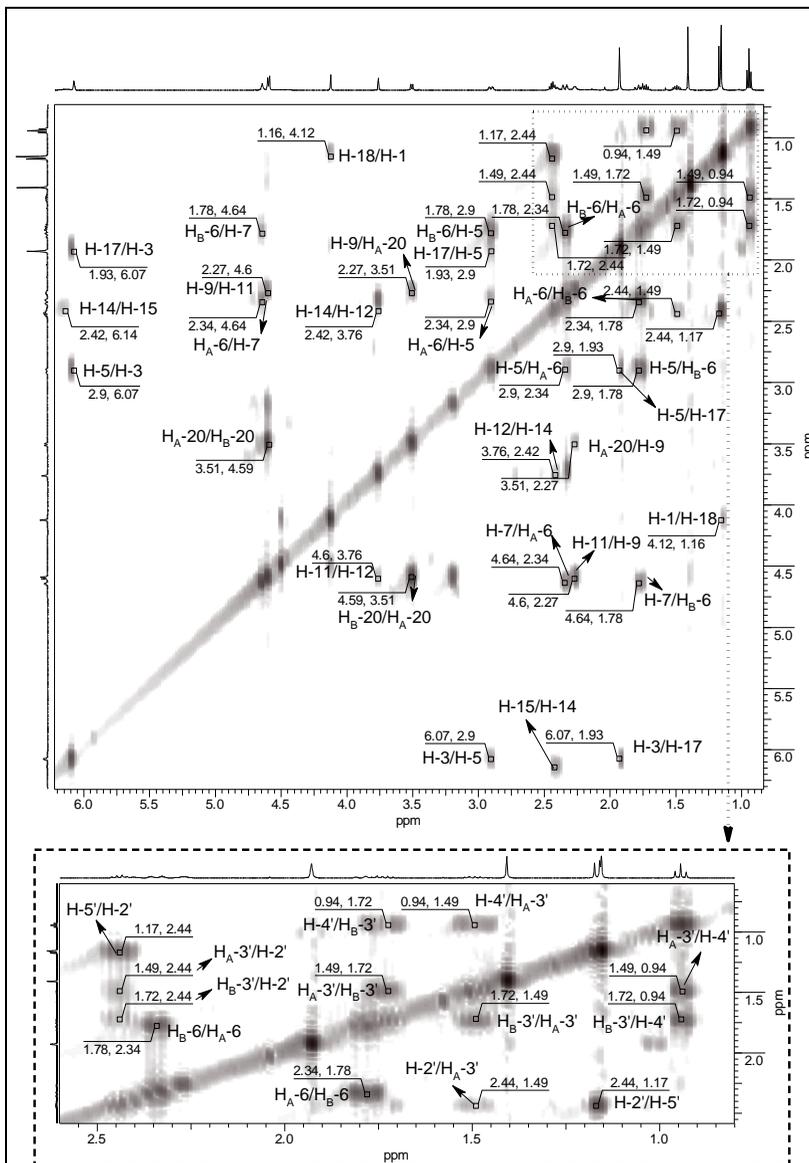


Figura 61 – Mapa de contorno (COSY, 500 MHz, CDCl₃) de (23)

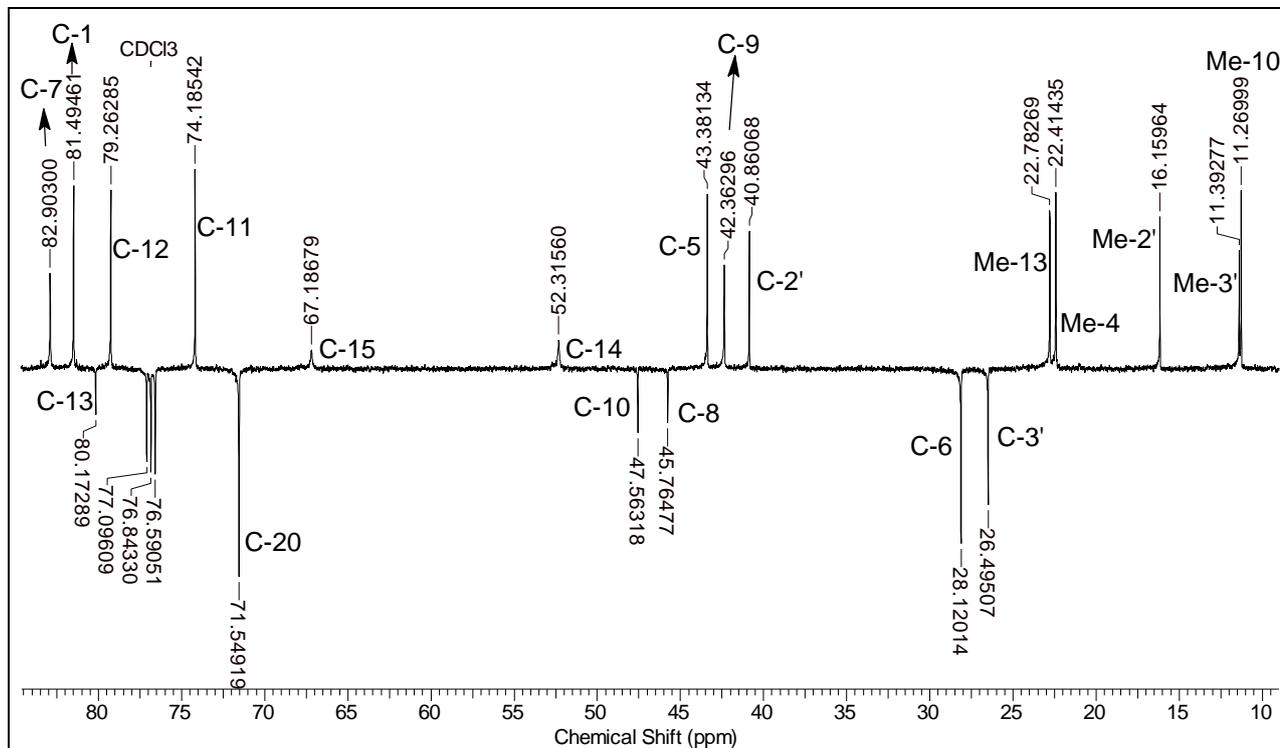


Figura 62 – Espectro de RMN de ^{13}C (DEPTQ-135, 125 MHz, CDCl_3) de (23) entre δ_c 90,0 e 10,0

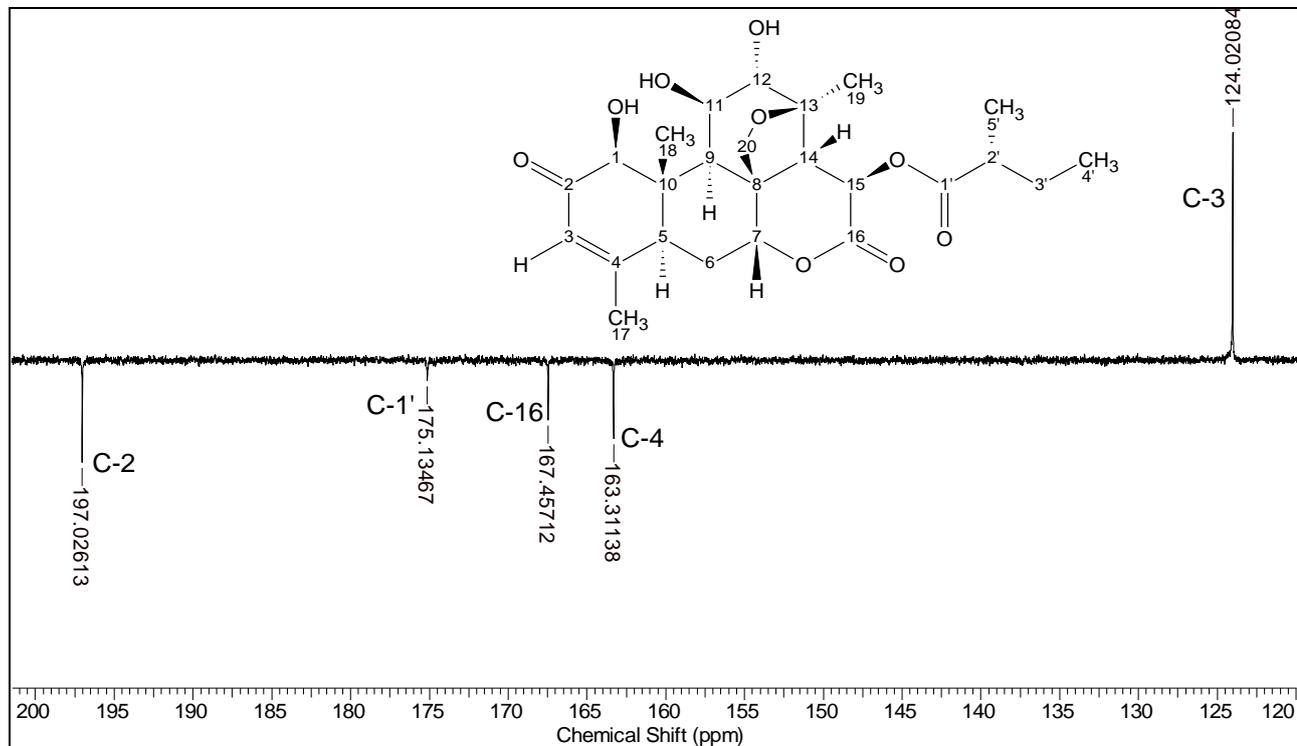


Figura 63 – Espectro de RMN de ^{13}C (DEPTQ-135, 125 MHz, CDCl_3) de **(23)** entre δ_{C} 200,0 e 120,0

Os dados de RMN de ^1H e ^{13}C publicados por Cabral e colaboradores (1993) e Apers e colaboradores (2002) para a estrutura de **(23)** e aqui comparados (**Tabela 31**), reforçam a definição do isolado na amostra **FD2E5** como sendo o quassinóide simalikalactona D **(23)**.

Os valores dos deslocamentos químicos de ^{13}C dos carbonos metílicos em C-18, C-19, e C-5' e dos carbonos carbinólicos em C-11 e C-12 estão invertidos no trabalho de Cabral e colaboradores (1993), sendo confirmados aqui e pela correlação (**HSQC**) (**ANEXO K**) de H-18 (δ_{H} 1,16) com C-18 (δ_{C} 11,3), de H-19 (δ_{H} 1,41) com C-19 (δ_{C} 22,8) e de H-5' (δ_{H} 1,17) com C-5' (δ_{C} 16,2)

Os deslocamentos de químicos ^{13}C dos carbonos quaternários em C-8 (δ_{C} 47,5) e C-10 (δ_{C} 45,7) também estão invertidos no trabalho de Cabral e colaboradores (1993), podendo ser facilmente confirmado pela correlação (**HMBC**) a $^2J_{\text{HC}}$ de H-1/C-10 (δ_{H} 4,12/ δ_{C} 47,5) e de H-7/C-8 (δ_{H} 4,64/ δ_{C} 45,7) (**ANEXO L**).

Para os dados de RMN publicados por Apers e colaboradores (2002), os valores são semelhantes aos mostrados aqui, corroborando assim para definição da estrutura do quassinóide simalikalactona D **(23)**.

Simalikalactona D **(23)** foi isolado pela primeira vez por Tresca e colaboradores (1971) *apud* (ARISAWA et al., 1985) da raiz de *Quassia africana* (sin. *Simaba africana*) (Simaroubaceae) e sua estrutura elucidada a partir de espectroscopia de RMN e espectrometria de massas. No gênero *Simaba*, diversos autores relatam a presença de **(23)**, conforme mostrado na **Tabela 1**, (pag. 38).

Tabela 31 – Dados de RMN de ^1H e ^{13}C de (**23**) e comparação com a literatura

simalikalactona D (23) RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) em CDCl_3			CABRAL et al., 1993 RMN ^1H (300 MHz) e ^{13}C (75 MHz) em CDCl_3		APERS et al, 2002 RMN ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) em CDCl_3	
C/H	δ ^{13}C (ppm)	δ ^1H (ppm); m; J (Hz)	δ ^{13}C (ppm)	δ ^1H (ppm); m; J (Hz)	δ ^{13}C (ppm)	δ ^1H (ppm); m; J (Hz)
1	81,5	4,12; 1H; s	81,7	4,16; 1H, s	81,5	4,21; <i>sl</i>
2	197,0	-	197,2	-	197,4	-
3	124,0	6,07; 1H; <i>dd</i> ; J=2,7 e 1,4	124,2	6,10; 1H, <i>m</i>	124,0	6,09; <i>m</i>
4	163,3	-	163,5	-	163,6	-
5	43,4	2,90; 1H; <i>d</i> ; J=12,2	43,5	2,94; 1H, <i>dl</i> , J=12,0	43,3	2,95; <i>d</i> , J=12,4
6	28,1	H _A : 2,34; 1H; <i>dt</i> , J= 14,7; 2,9 e 2,7	28,3	2,31; 1H; <i>m</i>	28,0	2,36; <i>dl</i>
		H _B : 1,78; 1H; <i>m</i>		1,81; 1H; <i>m</i>		1,85; <i>m</i>
7	82,9	4,64; 1H; <i>sl</i>	83,1	4,67; 1H; <i>dd</i> ; J=2,7 e 2,7	83,0	4,69; <i>sl</i>
8	45,7	-	47,7 ^(a)	-	45,7	-
9	42,3	2,27; 1H; <i>d</i> ; J=2,3	42,5	2,31; 1H, <i>m</i>	42,1	2,34
10	47,5	-	45,9 ^(a)	-	47,6	-
11	74,2	4,60; 1H; s	79,4 ^(b)	3,77; 1H; <i>sl</i> (^b)	74,1	4,63; <i>m</i>
12	79,2	3,76; 1H; <i>sl</i>	74,4 ^(b)	4,63; 1H; <i>sl</i> (^b)	78,9	3,76; <i>sl</i>
13	80,1	-	80,4	-	80,3	-
14	52,3	2,42; 1H; <i>sl</i>	52,4	2,37; 1H; <i>m</i>	52,2	2,40; <i>dl</i>
15	67,1	6,14; 1H; <i>sl</i> ;	67,3	6,16; 1H; <i>dl</i> ; J=12,0	67,3	6,20; <i>dl</i>
16	167,5	-	167,7	-	167,7	-
17	22,4	1,93; 3H; s	22,6	1,96; 3H, s	22,5	1,96; <i>sl</i>
18	11,3	1,16; 3H; s	22,9 ^(b)	1,18; 3H; s	11,2	1,17; <i>sl</i>
19	22,8	1,41; 3H; s	16,6 ^(b)	1,43; 3H; s	22,8	1,42; s
20	71,5	H _A : 3,51; 1H; <i>dd</i> ; J=7,8 e 1,5	71,7	3,53; 1H; <i>m</i>	71,5	3,52; <i>d</i> ; J=7,5
		H _B : 4,59; 1H; s		4,62; 1H; <i>m</i>		4,58; <i>m</i>
1'	175,1	-	175,4	-	175,3	-
2'	40,8	2,44; 1H; <i>m</i>	41,1	2,47; 1H; <i>m</i>	40,8	2,45; <i>m</i>
3'	26,5	H _A : 1,49; 1H; <i>m</i>	26,5	1,50; 1H; <i>m</i>	26,5	1,53; <i>m</i>
		H _B : 1,72; 1H; <i>m</i>		1,74; 1H; <i>m</i>		1,74; <i>m</i>
4'	11,4	0,94; 3H; <i>t</i> ; J=7,5	11,6	0,95; 3H; <i>t</i> ; J=7,5	11,4	0,96; <i>t</i> , J=7,4
5'	16,2	1,17; 3H; <i>d</i> ; J=7,0	11,4 ^(b)	1,22; 3H; <i>d</i> ; J=7,0	16,2	1,18; <i>d</i> , J=7,0

(^a) valores invertidos, confirmados por HMBC;

(^b) valores invertidos, confirmados por HSQC.

6.2.2.4 Identificação estrutural de FAC4E2

A amostra **FAC4E2** (24,9 mg), obtida da fração acetato de etila do EBHE, identificada como o quassinóide orinocinolida (**37**), apresentou-se como precipitado branco, solúvel em MeOH e CHCl₃, PF = 219-221°C, [α]_D²³ = + 63,4° [lit. = + 44,6° (Muhammad et al., 2004)]. Analisada em **CCDA** apresentou ausência de fluorescência quando revelada em **UV** (λ =254 e 365 nm). Na presença de reagente **AS** apresentou uma mancha de coloração verde no visível e no **UV** (λ =365 nm).

A análise por espectroscopia no **IV** de (**37**) (**Figura 64**) apresentou bandas de absorção em 3425 e 3255 cm⁻¹ sugerindo a presença de hidroxila (ν_{O-H}) e entre 1095 e 1033 cm⁻¹ relacionadas ao estiramento (ν_{C-O}) de álcool; bandas em 2970, 2939 e 2870 cm⁻¹ relacionadas aos estiramentos (ν_{Csp³-H}); banda em 1743 cm⁻¹ relacionada ao estiramento (ν_{C=O}) de δ-lactona; banda em 1658 cm⁻¹ relacionada ao estiramento (ν_{C=C}) e bandas em 1180 e 1157 relacionadas ao estiramento (ν_{C-O}). Os valores das bandas de absorção no **IV** publicados por Muhammad e colaboradores (2004) para o quassinóide (**37**), corroboram com a elucidação estrutural de orinocinolida (**37**).

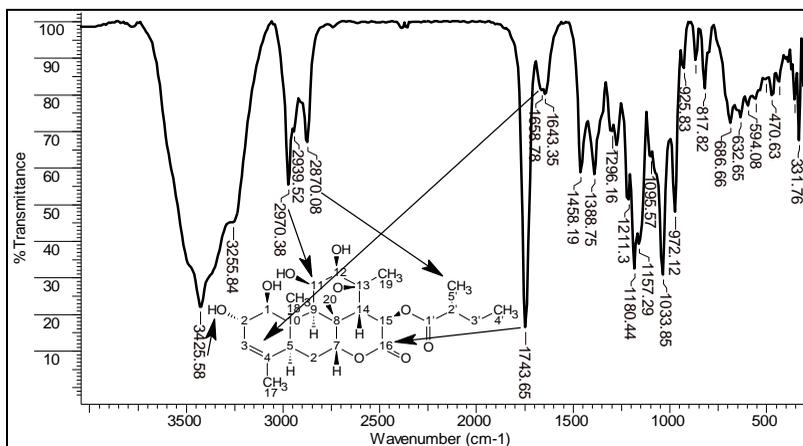
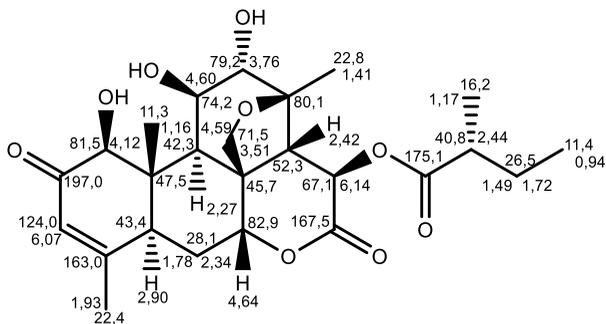
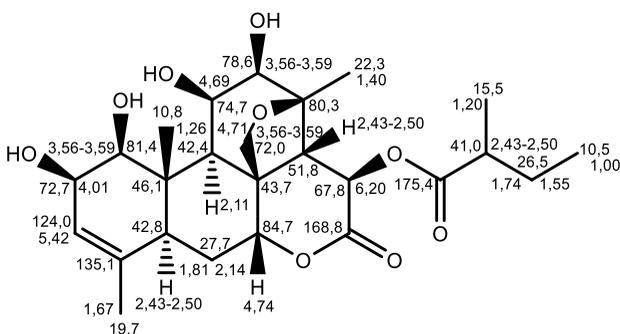


Figura 64 – Espectro de **IV** (KBr) de (**37**)

A estrutura do quassinoide orinocinólida (**37**) difere significativamente da estrutura de simalikalactona D (**23**) apenas na posição C-2, uma carbonila em (**23**) e um grupo hidroxil em (**37**), no anel A do esqueleto quassolidano e na configuração do grupo hidroxil em C-12.



(**23**)



(**37**)

O espectro de RMN de ^1H (**Figura 65 a Figura 68**) revelou a presença de 5 hidrogênios metílicos, com integração para 3 hidrogênios. O sinal de singlete com aspecto de duplete em δ_{H} 1,67 foi atribuído ao H-17, os sinais de singletos em δ_{H} 1,26 e δ_{H} 1,40 foram atribuídos ao H-18 e H-19, respectivamente, no esqueleto quassolidano. Um sinal de triplete em δ_{H} 1,00

($J=7,5$ Hz; H-4') e um sinal de duplete em δ_H 1,20 ($J=7,0$ Hz; H-5') foram atribuídos aos hidrogênios metílicos da cadeia lateral esterificada em C-15.

Aos hidrogênios metilênicos diastereotópicos em H-6 no anel B, foram atribuídos os sinais de duplete de tripletos em δ_H 2,14 (1H; $J=14,9$ e 2,7 Hz; H_A-6) e tripleto de dupletos em δ_H 1,81 (1H; $J=14,9$ e 2,7 Hz; H_B-6). Aos hidrogênios diastereotópicos em H-20 no anel E (furânico), foram atribuídos os sinais de multiplete em δ_H 3,56-3,59 (1H; H_A-20) e de duplete em δ_H 4,71 (1H; $J=7,6$ Hz; H_B-20). Aos hidrogênios diastereotópicos em H-3' da cadeia lateral em C-15, foram atribuídos sinais de multipletos em δ_H 1,55 (1H; H_A-3') e em δ_H 1,74 (1H; H_B-3').

Foram observados sinais sobrepostos para os hidrogênios metínicos em H-5, H-14 e H-2' representados no espectro por um multiplete (δ_H 2,43-2,50) com integração para 3 hidrogênios. O mesmo acontece com os hidrogênios metínicos em H-1 e H-12 e pelo hidrogênio diastereotópico em H_A-20, também representado por um multiplete (δ_H 3,56-3,59; 3H). Foram atribuídos aos demais hidrogênios metínicos de (37) os sinais em δ_H 4,01 (1H; m ; H-2) e δ_H 5,42 (1H; m ; H-3) no anel A, em δ_H 4,74 (1H; t ; $J=2,6$ Hz; H-7) e δ_H 2,11 (1H; d ; $J=5,0$ Hz; H-9) no anel B, em δ_H 4,69 (1H; dd ; $J=5,0$ e 0,6 Hz; H-11) no anel C, e em δ_H 6,20 (1H; st ; H-15) no anel D lactônico.

O espectro de RMN de ^{13}C de (37) (**Figura 69** e **Figura 70**) revelou a presença de 25 sinais de carbonos, sendo 20 atribuídos aos carbonos do esqueleto quassolidano e 5 sinais atribuídos aos carbonos da cadeia lateral esterificada em C-15. Corroborado com o espectro de RMN de 1H (**Figura 65**), foram observados 3 sinais de carbonos metílicos em δ_C 19,7 (C-17), δ_C 10,8 (C-18) e δ_C 22,3 (C-19) do esqueleto quassolidano, e 2 sinais em δ_C 10,5 (C-4') e δ_C 15,5 (C-5') atribuídos aos carbonos da cadeia lateral esterificada.

Foram observados ainda, 3 sinais de carbonos metilênicos em δ_C 27,7 (C-6) no anel B; em δ_C 72,0 (C-20) no anel E (furânico) e em δ_C 26,5 (C-3') na cadeia lateral. O C-20 apresenta deslocamento maior que os demais por estar ligado ao átomo eletronegativo de oxigênio do anel E (furânico).

Os sinais de carbonos metínicos foram observados em δ_c 81,4 (C-1), δ_c 72,7 (C-2), δ_c 74,7 (C-11) e δ_c 78,6 (C-12) todos carbonos carbinólicos. O sinal em δ_c 124,0 foi atribuído carbono olefínico em C-3. Os sinais em δ_c 84,7 (C-7) e δ_c 67,8 (C-15) foram atribuídos aos carbonos oxigenados da função éster. Os sinais em δ_c 42,8 (C-5), δ_c 42,4 (C-9), δ_c 51,8 (C-14) e δ_c 41,0 (C-2') foram atribuídos aos carbonos não oxigenados e não olefínicos, compatíveis com o esqueleto quassolidano (CURCINO VIEIRA; BRAZ-FILHO, 2006) e com a estrutura proposta por Muhammad e colaboradores (2004) para o quassinoide (**37**).

Aos carbonos quaternários foram atribuídos os sinais em δ_c 135,5 (C-4) de carbono olefínico da porção α,β -insaturada do anel A; em δ_c 43,7 (C-8) e δ_c 46,1 (C-10) no anel B; em δ_c 80,3 (C-13) de carbono oxigenado do anel E (furânico); em δ_c 168,8 (C-16) da carbonila de lactona do anel D; e em δ_c 175,4 (C-1') da carbonila de éster da cadeia lateral em C-15.

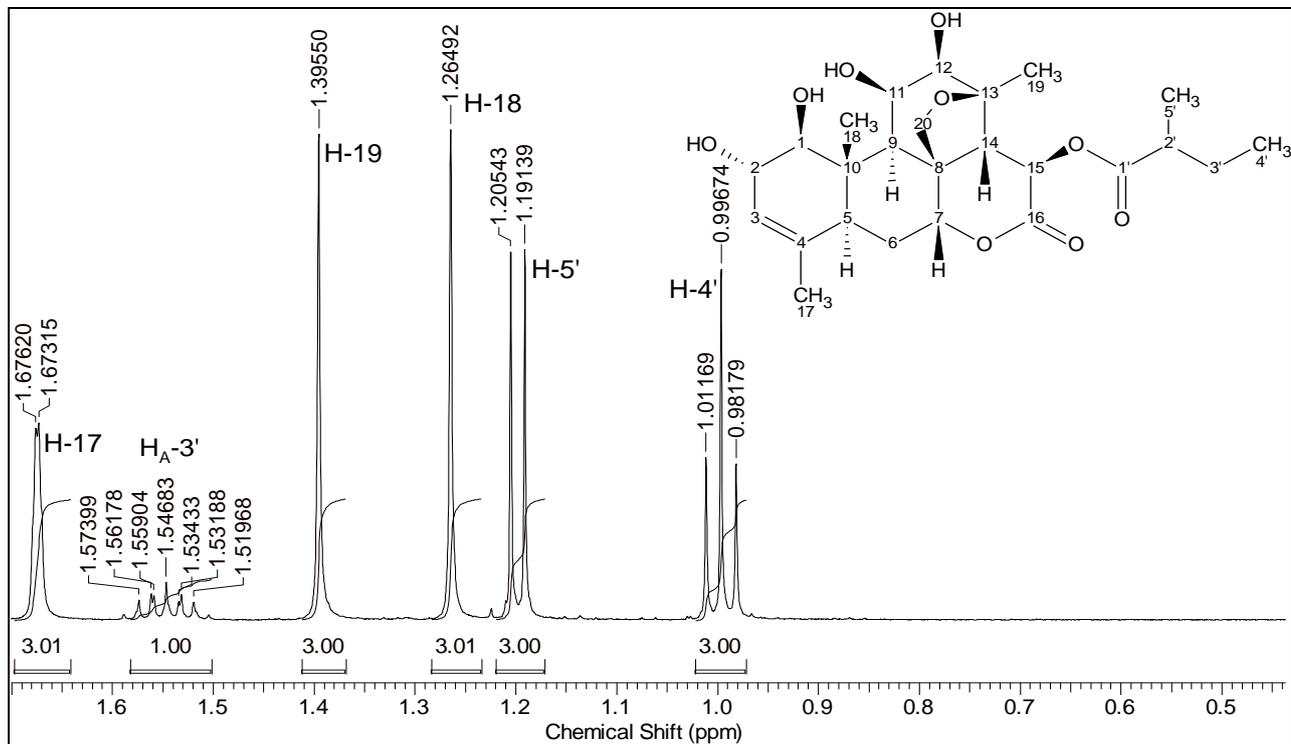


Figura 65 – Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, MeOD) de (37) entre δ_{H} 1,70 – 0,50

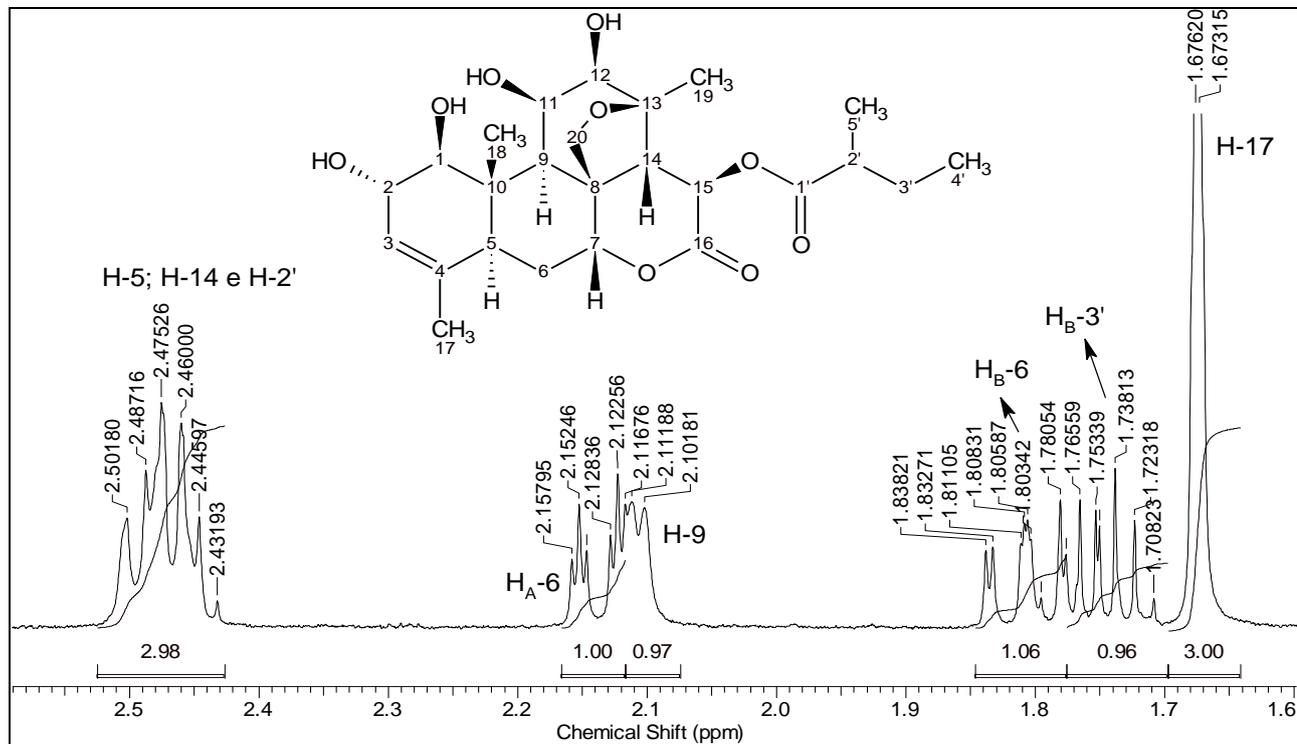


Figura 66 – Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, MeOD) de **(37)** entre δ_{H} 2,60 – 1,60

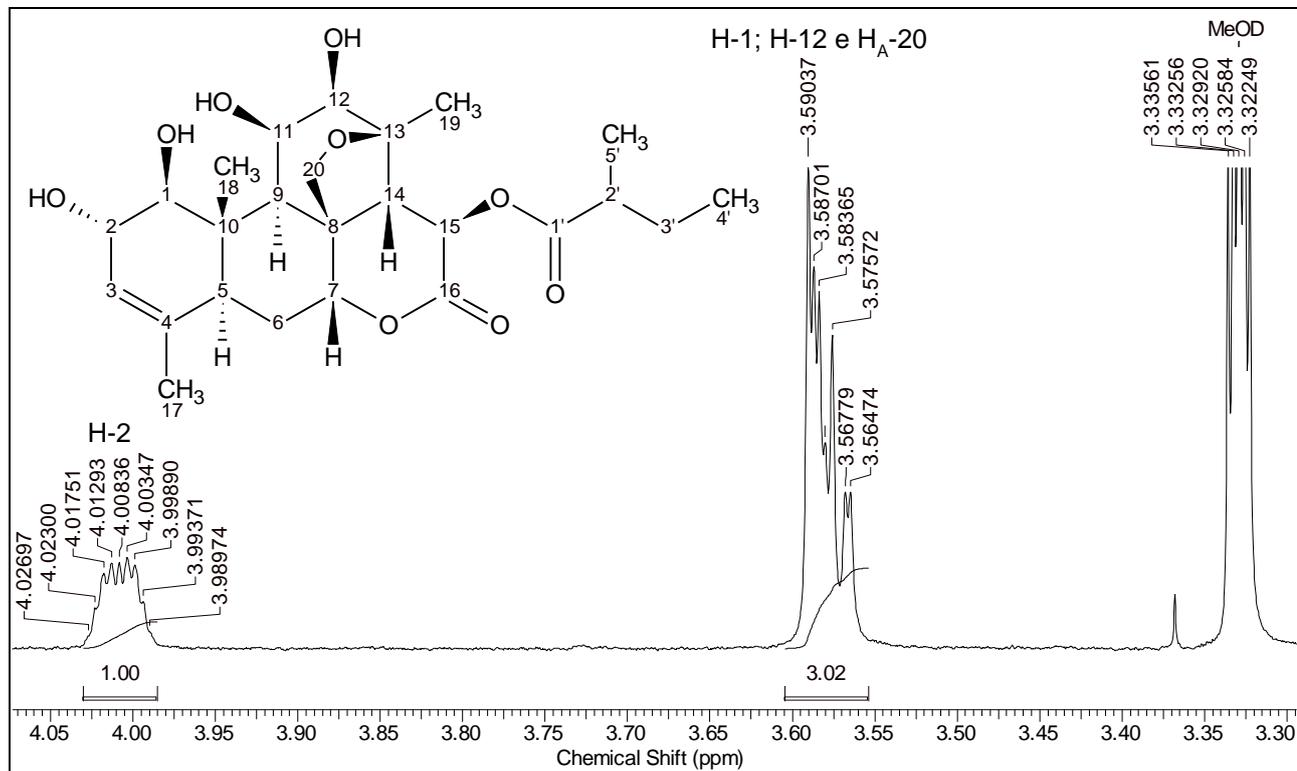


Figura 67 – Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, MeOD) de (37) entre δ_{H} 4,05 – 3,30

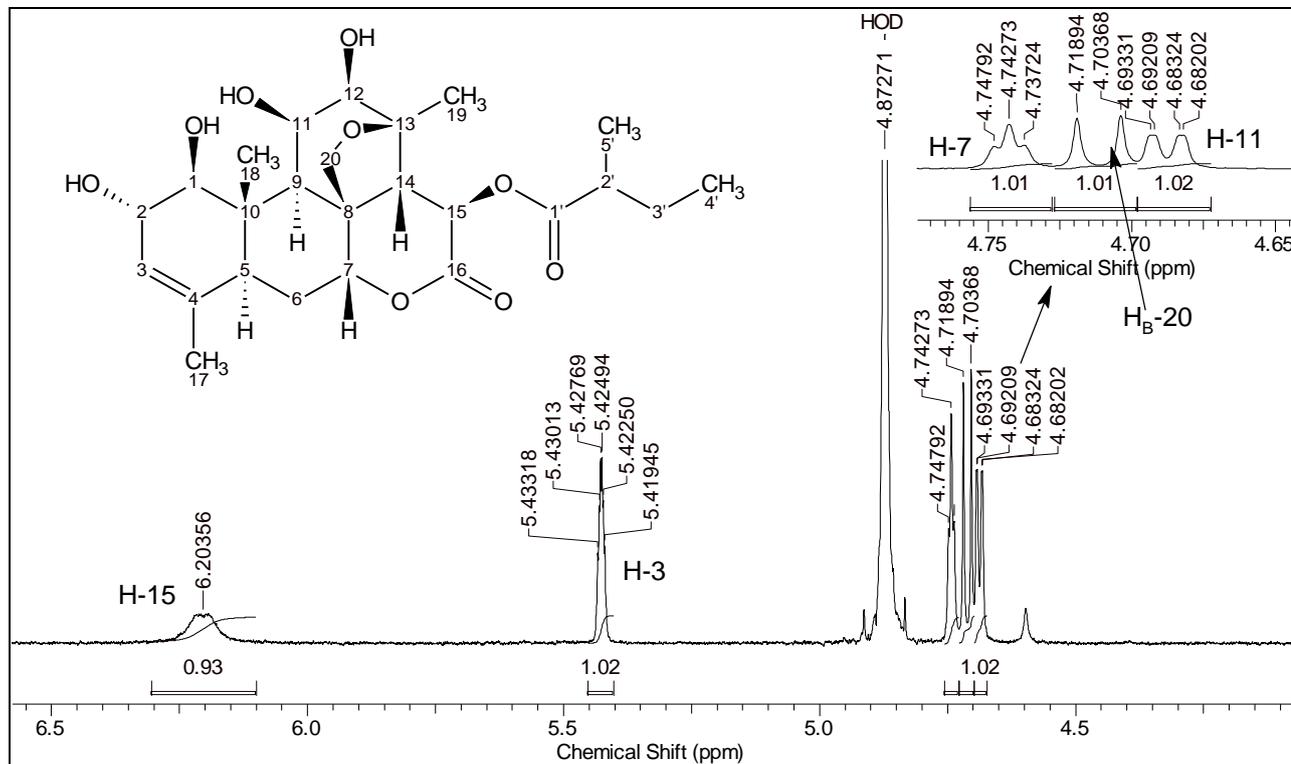


Figura 68 – Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, MeOD) de (37) entre δ_{H} 6,50 – 4,10

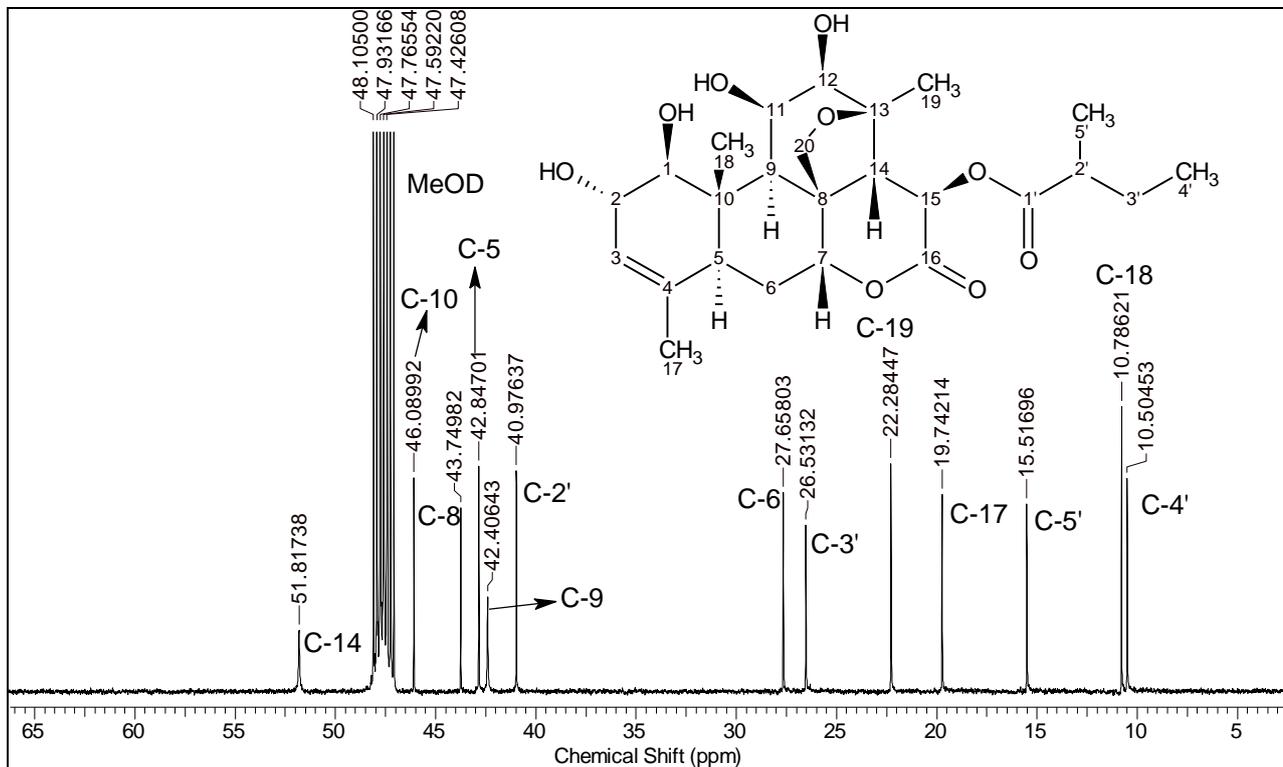


Figura 69 – Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, MeOD) de (37) entre δ_c 65,0 – 5,00

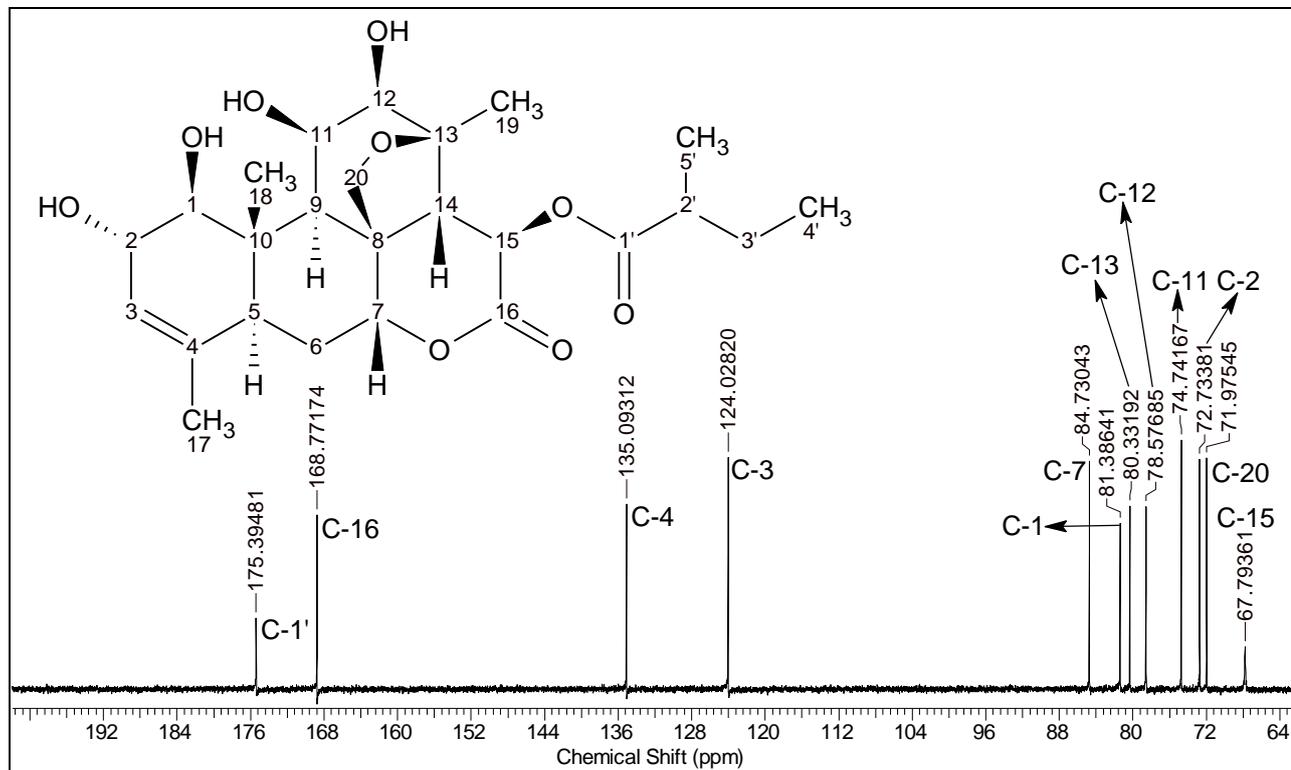


Figura 70 – Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, MeOD) de (37) entre δ_{c} 200,0 – 65,0

Todos os valores de deslocamentos químicos de ^1H e ^{13}C de **(37)** são compatíveis com a estrutura do quassinóide simalikalactona D **(23)** já relatado aqui anteriormente na amostra **FD2E5**, exceto nos deslocamentos dos carbonos C-2 (δ_{C} 72,7) e C-4 (δ_{C} 135,1), e dos hidrogênios H-2 (δ_{H} 4,01), ausente em **(23)** e H-3 (δ_{H} 5,42). O valor menor observado em H-3 para **(37)**, é atribuído ao efeito protetor na posição α , exercido pela presença do grupo hidroxil em C-2, enquanto que em **(23)** a posição C-2 é ocupada por carbonila.

A carbonila em C-2 em **(23)** exerce um efeito desprotetor no H-3 (δ_{H} 6,07) e no carbono β insaturado em C-4 (δ_{C} 163,3), enquanto que em **(37)** esse efeito é diminuído pela substituição da carbonila em C-2 pelo grupo hidroxil, levando a diminuição dos valores de H-3 (δ_{H} 5,42) e C-4 (δ_{C} 135,1).

A ausência da carbonila em C-2 na estrutura de **(37)** foi confirmada pelo valor do deslocamento químico em δ_{C} 72,7 – característico de carbono oxigenado, enquanto que em **(23)**, foi atribuído o valor de δ_{C} 197,0, típico de carbonila de cetona.

Os experimentos de RMN de ^1H e ^{13}C bidimensionais são necessários para elucidação completa da estrutura, tendo em vista que em **(23)** a hidroxila na posição C-12 está orientada em α (12 α -OH) e na estrutura de **(37)** proposta por Muhammad e colaboradores (2004), essa hidroxila está orientada em β (12 β -OH). A orientação da hidroxila em 12-OH pode ser confirmada na estrutura da amostra **FAC4E2** proposta para **(37)** com o experimento bidimensional de RMN de ^1H (**NOESY**).

Os dados de RMN de ^1H e ^{13}C de **(37)** foram comparados com os dados da literatura (MUHAMMAD et al., 2004) para o quassinóide orinocinólida (**Tabela 32**).

Tabela 32 – Dados de RMN de ^1H e ^{13}C de (**37**) e comparação com a literatura

orinocinolida (37) RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) em MeOD			MUHAMMAD et al, 2004 RMN ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) em CDCl_3	
C/H	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	$\delta^1\text{H}$ (ppm); m; J (Hz)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	$\delta^1\text{H}$ (ppm); m; J (Hz)
1	81,4	3,56-3,59; 1H; <i>m</i> ^(a)	81,5	3,72; 1H; <i>d</i> ; <i>J</i> =7,0
2	72,7	4,01; 1H; <i>m</i>	73,1	4,11; 1H; <i>sl</i>
3	124,0	5,42; 1H; <i>m</i>	123,6	5,40; 1H; <i>sl</i>
4	135,1	-	135,4	-
5	42,8	2,43-2,50; 1H; <i>m</i> ^(b)	43,0	2,43; 1H; <i>m</i>
6	27,7	H _A : 2,14; 1H; <i>dt</i> ; <i>J</i> = 14,9 e 2,7	28,3	(*)
		H _B : 1,81; 1H; <i>td</i> ; <i>J</i> =14,9 e 2,7		1,66; 1H; <i>m</i>
7	84,7	4,74; 1H; <i>t</i> ; <i>J</i> =2,6	84,3	4,57; 1H; <i>sl</i>
8	43,7	-	44,1	-
9	42,4	2,11; 1H; <i>dt</i> ; <i>J</i> =5,0	42,2	2,20; 1H; <i>s</i>
10	46,1	-	46,5	-
11	74,7	4,69; 1H; <i>dd</i> ; <i>J</i> =5,0 e 0,6	74,7	4,70; 1H; <i>sl</i>
12	78,6	3,56-3,59; 1H; <i>m</i> ^(a)	78,9	3,66; 1H; <i>sl</i>
13	80,3	-	80,9	-
14	51,8	2,43-2,50; 1H; <i>m</i> ^(b)	52,6	2,32; 1H; <i>d</i> ; <i>J</i> =13,0
15	67,8	6,20; 1H; <i>sl</i>	67,9	6,20; 1H; <i>sl</i>
16	168,8	-	167,7	-
17	19,7	1,67; 3H; <i>sl</i>	21,1	1,61; 1H; <i>s</i>
18	10,8	1,26; 3H; <i>s</i>	12,0	1,20; 3H; <i>s</i>
19	22,3	1,40; 3H; <i>s</i>	23,4	1,39; 1H; <i>s</i>
20	72,0	H _A : 3,56-3,59; 1H; <i>m</i> (^a)	72,7	H _A : 3,52; 1H; <i>d</i> ; <i>J</i> =7,5
		H _B : 4,71; 1H; <i>d</i> ; <i>J</i> =7,6		H _B : 4,64; 1H; <i>d</i> ; <i>J</i> =7,5
1'	175,4	-	175,7	-
2'	41,0	2,43-2,50; 1H; <i>m</i> ^(b)	41,3	2,45; <i>m</i>
3'	26,5	H _A : 1,55; 1H; <i>m</i>	27,0	1,51; 1H; <i>m</i>
		H _B : 1,74; 1H; <i>m</i>		1,75; 1H; <i>m</i>
4'	10,5	1,00; 3H; <i>t</i> ; <i>J</i> =7,5	11,9	0,96; 3H; <i>t</i> ; <i>J</i> =7,5
5'	15,5	1,20; 3H; <i>d</i> ; <i>J</i> =7,0	16,7	1,18; 1H; <i>d</i> ; <i>J</i> =7,0

(*) valor não atribuído por Muhammad et al., 2004.

(^a) (^b) sinais sobrepostos

O quassinóide orinocinólida (**37**) foi isolado pela primeira vez por Muhammad e colaboradores (2004) da casca da raiz de *Simaba orinocensis*. Esta é a segunda vez que (**37**) foi isolado em espécies vegetais, e somente no gênero *Simaba*.

6.3 Inibição da formação de AGEs

Foram avaliados os efeitos inibitórios na formação de **AGEs** dos extratos brutos, frações e isolados das raízes de *Simaba trichilioides* nos períodos de 10, 20 e 30 dias de incubação.

Para avaliar a formação de **AGEs** foi utilizado o branco apenas com BSA e o efeito da glicação com BSA + Glicose (controle negativo). O efeito antiglicação (controle positivo) foi realizado com BSA + Glicose + **AG** (1 mM). A formação de **AGEs** foi monitorada nos períodos acima, através da medida de fluorescência. O aumento da intensidade representa a formação de **AGEs** e a diminuição representa a inibição da formação de **AGEs**.

Na **Figura 71**, observou-se que com o aumento do período de incubação, houve um aumento significativo da intensidade da fluorescência pelo efeito da glicação BSA + glicose (controle negativo) e a diminuição significativa da fluorescência em cada período, na presença de **AG** (controle positivo) como mecanismo antiglicação.

O **EBH** não foi efetivo em nenhuma das concentrações avaliadas e em nenhum dos períodos de incubação, quando comparado a **AG**. No entanto, houve uma pequena inibição da formação de **AGEs** quando comparado ao controle positivo, na dose de 500 µg/mL com 10 dias de incubação e nas doses de 500 e 250 µg/mL com 20 dias (sendo o efeito dependente da dose). Com 30 dias de incubação, também houve pequena inibição apenas na dose de 500 µg/mL comparadas ao controle positivo.

O **EBHE** foi efetivo nas avaliações aos 10, 20 e 30 dias de incubação em todas as concentrações, exceto com 20 dias de incubação na concentração de 62,5 µg/mL. A concentração mais efetiva foi de 500 µg/mL no período de 10 dias de incubação, sendo os valores comparados a **AG**. Os efeitos das concentrações diferem significativamente entre si, exibindo um efeito dependente da dose, exceto no período de 30 dias, nas concentrações de 250 e 500 µg/mL, onde não há diferença significativa nas doses.

A **FA** foi efetiva em todas as concentrações e em todos os períodos de incubação. Todas as concentrações diferem entre si e apresentam um

efeito dependente da dose, sendo as mais efetivas, as concentrações de 500 e 250 $\mu\text{g/mL}$. Os efeitos da inibição da formação de **AGEs** na dose de 500 $\mu\text{g/mL}$ são comparados aos da **AG** em todos os períodos de incubação.

A **FM** também foi efetiva em todas as concentrações e em todos os períodos de incubação. Com 10 e 20 dias, a concentração de 500 $\mu\text{g/mL}$ foi tão efetiva na inibição da formação de **AGEs** quanto a **AG**, e aos 30 dias foi mais efetiva que **AG**. Com 10 dias de incubação houve um aumento da inibição conforme aumentou-se a concentração, apresentando um efeito dependente da dose. Com 20 e 30 dias as concentrações de 125 e 62,5 $\mu\text{g/mL}$ não apresentaram diferenças significativas entre si, sendo o efeito independente da dose.

A **FD** foi avaliada, porém apresentou leituras insatisfatórias, não sendo possível relacionar as leituras com a atividade de inibição da formação de **AGEs**.

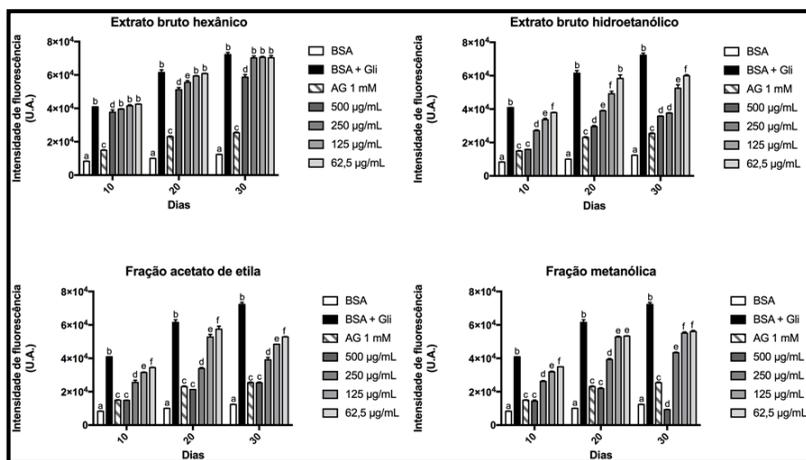


Figura 71 – Efeito dos extratos brutos e frações como agentes antiglicação

Legenda: **BSA** – Albumina bovina sérica; **Gli** – glicose; **AG** – aminoguanidina; **U.A.** – unidade arbitrária; os valores são expressos como médias DP ($n=3$) de três experimentos independentes. Letras diferentes apresentam diferenças significativas ($p<0,05$).

Nos estágios iniciais da glicação as bases de Schiff (instáveis) são formadas e transformadas em produtos estáveis. Uma dessas bases, a frutosamina, é usada como um indicador para controle de curto prazo de açúcar no sangue de pacientes diabéticos (SHIELD et al., 1994; ARDESTANI; YAZDANPARAST, 2007).

Nesse contexto, foram realizadas medidas para avaliar a inibição da formação desse intermediário na glicação, utilizando os extratos brutos e frações das raízes de *Simaba trichilioides*. As medidas foram avaliadas pela diferença da absorção total de BSA+Glicose (controle negativo) e BSA+Glicose+AG (controle positivo), e a utilização dos extratos, frações e isolados em relação ao controle negativo.

A **Figura 72** mostrou que na presença do **EBH** na concentração de 250 µg/mL houve uma inibição significativa na formação de frutosamina a níveis comparados aos da **AG**. Em outras concentrações não houve inibição, mostrando que os efeitos do **EBH** são independentes da dose.

O **EBHE** foi efetivo na inibição da formação de frutosamina nas concentrações de 500, 250 e 125 µg/mL e não efetiva na concentração de 62,5 µg/mL. Isso mostra que os efeitos são dependentes da dose, sendo que a 500 e 250 µg/mL foram mais efetivas que os níveis comparados a **AG**, e 125 µg/mL foi tão efetiva quanto **AG**.

A **FA** mostrou-se efetivas nas concentrações de 250, 125 e 62,5 µg/mL e não efetiva na concentração de 500 µg/mL, mostrando-se um leve efeito dependente da dose. As concentrações de 125 e 62,5 mg/mL foram tão efetivas quanto a **AG**, e na concentração de 250 mg/mL foi mais efetiva que a **AG**.

A **FM** mostrou-se efetiva em todas as concentrações, no entanto não diferem significativamente entre si nas doses de 500 e 250 mg/mL e nas doses de 125 e 62,5 mg/mL, sendo as maiores doses mais efetivas que a **AG**, e as doses menores tão efetivas quanto a **AG**.

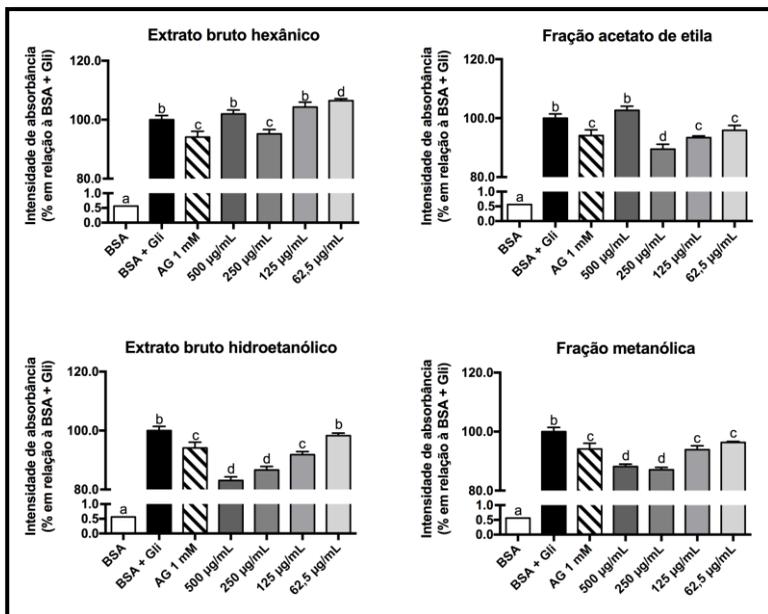


Figura 72 – Efeito dos extratos brutos e frações como agentes inibidores da formação de frutosamina

Legenda: BSA – Albumina bovina sérica; Gli – glicose; AG – aminoguanidina; os valores são expressos como médias DP (n=3) de três experimentos independentes. Letras diferentes apresentam diferenças significativas (p<0,05).

Os efeitos antiglicação dos isolados simalikalactona (**23**) e bruceina D (**113**) foram avaliados nas concentrações de 125; 250 e 500 µM e os resultados são mostrados na **Figura 73**.

O quassinóide simalikalactona D (**23**) não demonstrou inibição em nenhuma concentração aos 10 dias de incubação. Aos 20 dias de incubação apenas fraca inibição nas concentrações de 250 e 125 µM e aos 30 dias, demonstrou fraca inibição em todas as concentrações, sendo mais efetiva na concentração de 250 µM.

O quassinóide bruceina D (**113**) demonstrou fraca inibição da formação de AGEs apenas na concentração de 500 µM com 20 dias de

incubação, não demonstrando atividade inibitória nas outras concentrações e em nenhum outro período.

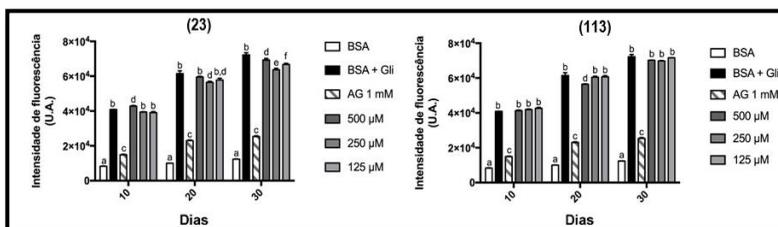


Figura 73 – Efeito dos isolados (23) e (113) como agentes antiglicação

Legenda: BSA – Albumina bovina sérica; Gli – glicose; AG – aminoguanidina; U.A. – unidade arbitrária; os valores são expressos como médias DP (n=3) de três experimentos independentes. Letras diferentes apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Nenhuma das substâncias isoladas tiveram valores significativos de inibição da formação de AGEs, comparados ao padrão AG, apesar dos isolados bruceina D (113) e bruceina E (114), também isolados das sementes *Brucea javanica* (Simaroubaceae), terem reduzidos os níveis de glicose no sangue em ratos normoglicêmicos e diabéticos induzidos por streptozotocina, em níveis comparados a droga glibenclamida (NOORSHAHIDA et al., 2009).

A formação de frutosamina também foi avaliada na presença das substâncias isoladas (23) e (113) nas concentrações de 125; 250 e 500 µM e os resultados são mostrados na **Figura 74**.

O quassinóide simalikalactona (23) inibiu fortemente a formação de frutosamina, na concentração de 125 µM a níveis melhores que o padrão AG. As concentrações de 250 e 500 µM, não demonstraram efeitos significativos.

O quassinóide bruceina D (113) também inibiu fortemente a formação de frutosamina em todas as concentrações, sendo mais efetiva

que o padrão **AG**. Exibiu um efeito dependente da dose, sendo 500 μM a dose mais efetiva.

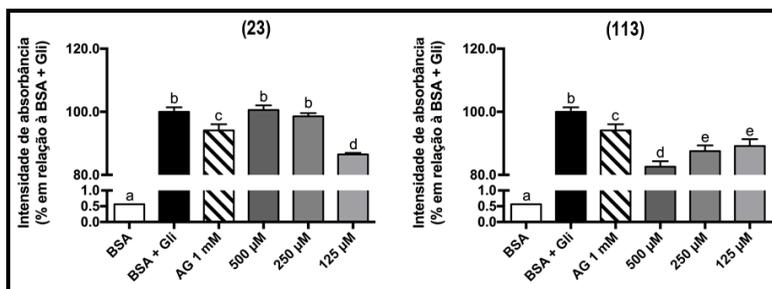


Figura 74 – Efeito dos isolados (23) e (113) como agentes inibidores da formação de frutossamina.

Legenda: BSA – Albumina bovina sérica; Gli – glicose; AG – aminoguanidina; os valores são expressos como médias DP (n=3) de três experimentos independentes. Letras diferentes apresentam diferenças significativas (p<0,05).

Diversos autores observaram efeitos antiglicação e inibidores da formação de frutossamina a partir de extratos obtidos de plantas, com efeitos comparados ou melhores que o padrão **AG**. Os autores sugerem que alguns frutos dessas espécies podem ser utilizados como alimento funcional no tratamento do diabetes e complicações relacionadas, bem como na prevenção da formação de **EROs** (JARIYAPAMORNKOON et al., 2013; CHOWDHURY et al., 2014; SIDDIQUI et al., 2016; HSIA et al., 2016; AGAWANE et al., 2018).

Os estudos aqui apresentados para os extratos, frações e isolados de *Simaba trichilioides* corroboram com estudos nesse sentido, que utilizam plantas para avaliação do potencial antiglicação e as relacionam com a prevenção ou tratamento das complicações do diabetes. A concentração máxima utilizada neste trabalho foi de 500 $\mu\text{g/mL}$ para extratos e frações e de 500 μM para os isolados, sendo observado tanto a inibição da formação de **AGEs** quanto a inibição da

formação de frutossamina, um intermediário em todo processo de glicação de proteínas.

Não há relatos na literatura de trabalhos envolvendo espécies da família Simaroubaceae como agentes antiglicação, tampouco com quassinoides, sendo o primeiro estudo nesse sentido.

7 CONCLUSÃO

Foram isoladas 7 substâncias a partir do fracionamento cromatográfico do **EBHE** das raízes de *Simaba trichilioides* (Simaroubaceae), sendo 3 alcaloides cantinônicos e 4 quassinoides, identificados a partir de técnicas espectroscópicas e espectrométricas, sendo o primeiro estudo químico relacionado a essa espécie.

Os alcaloides 5-metoxicantin-6-ona (**70**) e 4-metoxicantin-6-ona (**83**) e os quassinoides simalikalactona D (**23**) e orinocinolida (**37**) já foram relatados no gênero *Simaba* sendo importantes marcadores quimiotaxonômicos para o gênero.

O alcaloide 11-hidroxycantin-6-ona (**112**) e os quassinoides bruceina D (**113**) e bruceina E (**114**) foram isolados pela primeira vez no gênero *Simaba*, sendo importantes marcadores quimiotaxonômicos para a espécie *Simaba trichilioides*.

Outros alcaloides foram observados durante esse estudo, porém de difícil isolamento e identificação. A presença majoritária de quassinoides e de alcaloides cantinônicos nesta espécie estão de acordo com relatado na literatura para a família e para o gênero.

Na atividade antiglicação avaliada a partir da inibição da formação de **AGEs**, o **EBH** foi pouco efetivo, entretanto, o **EBHE**, a **FA** e a **FM** foram efetivas em todas as concentrações avaliadas, a níveis comparados ou melhores que o padrão. A **FD** não apresentou leituras satisfatórias, e os isolados (**23**) e (**113**) também não apresentaram atividade.

Na inibição da formação de frutosamina, intermediário da glicação proteica, o **EBH** demonstrou atividade significativa. O **EBHE**, a **FA** e **FM** foram mais efetivas que o padrão, e os isolados (**23**) e (**113**) inibiram fortemente a formação desse intermediário, a níveis melhores que o padrão.

Outros estudos devem ser realizados com os isolados a partir do **EBHE** das raízes de *Simaba trichilioides*, para cada vez mais referendar o uso popular desta espécie como antidiabético. A **FM** também deve ser trabalhada, devido a sua forte atividade antiglicação apresentada.

A partir desse estudo, é possível ratificar o uso popular de *calunga* como alternativa para o tratamento do diabetes, tendo em vista os resultados aqui apresentados para os efeitos antiglicação, além da presença dos quassinoides bruceina D (**113**) e bruceina E (**114**), já relatados como hipoglicemiantes em ratos diabéticos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABLAT, A.; HALABI, M. F.; MOHAMAD, J.; HASNAN, M. H. H.; HAZNI, H.; TEH, S. H.; AWANG, K. Antidiabetic effects of *Brucea javanica* seeds in type 2 diabetic rats. **BMC complementary and alternative medicine**, v. 17, n. 1, p. 94, 2017.

AHMED, N. Advanced glycation end products—role in pathology of diabetic complications. **Diabetes research and clinical practice**, v. 67, n. 1, p. 3-21, 2005.

ADESANWO, J. K.; AIYELAAGBE, O. O.; MORONKOLA, D. O. Antimicrobial and cytotoxic activity of the stem and root bark extracts of *Quassia undulata* and isolated constituents. **Toxicological and Environmental Chemistry**, v. 91, n. 5, p. 999-1003, 2009.

AGAWANE, S. B.; GUPTA, V. S.; KULKARNI, M. J.; BHATTACHARYA, A. K.; KORATKAR, S. S. Chemo-biological evaluation of antidiabetic activity of *Mentha arvensis* L. and its role in inhibition of advanced glycation end products. **Journal of Ayurveda and integrative medicine**, 2018.

AJAYEOBA, E. O.; ADENIYI, B. A.; OKOGUN, J. I. Antimicrobial activity of crenatine, an alkaloid synthesized from indole. **Phytotherapy Research**, v. 9, n. 1, p. 69-71, 1995.

AJAIYEOBA, E. O.; KREBS, H. C. Quatrinoic acids: two new triterpenoids from *Quassia africana* stem bark. **Nigerian Journal of Natural Products and Medicine**, v. 7, n. 1, p. 39-41, 2003.

ALMEIDA, E. S. S. **Avaliação da atividade e do mecanismo de ação antiúlcera de frações e do alcaloide cantinona, obtidos do rizoma de *Simaba ferruginea* St. Hil.** 2010. 116 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Faculdade de Ciências Médicas. Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, 2010.

ALVES, G. G. N. **Estudos estruturais como subsidio à taxonomia de *Simaba Aublet* (Simaroubaceae).** 2015. 95 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Instituto de Biociências. Universidade de São Paulo. São Paulo, 2015.

APERS, S.; CIMANGA, K.; BERGHE, D. V.; VAN MEENEN, E.; LONGANGA, A. O.; FORIERS, A.; PIETERS, L. Antiviral activity of simalikalactone D, a quassinoid from *Quassia africana*. **Planta medica**, v. 68, n. 01, p. 20-24, 2002.

ARAGOZZINI, F.; MACONI, E.; GUALANDRIS, R. Evidence for involvement of ketoglutarate in the biosynthesis of canthin-6-one from cell cultures of *Ailanthus altissima*. **Plant cell reports**, v. 7, n. 3, p. 213-215, 1988.

ARDESTANI, A.; YAZDANPARAST, R. Cyperus rotundus suppresses AGE formation and protein oxidation in a model of fructose-mediated protein glycooxidation. **International journal of biological macromolecules**, v. 41, n. 5, p. 572-578, 2007.

ARIGONI, D.; BARTON, D. H. R.; COREY, E. J.; JEGER, O.; CAGLIOTI, L.; DEV, S.; SCHAFFNER, K. The constitution of limonin. **Experientia**, v. 16, n. 2, p. 41-49, 1960.

ARISAWA, M.; KINGHORN, A. D.; CORDELL, G. A.; FARNSWORTH, N. R. Plant anticancer agents. XXIV. Alkaloid constituents of *Simaba multiflora*. **Journal of natural products**, v. 46, n. 2, p. 222-225, 1983a.

ARISAWA, M.; KINGHORN, A. D.; CORDELL, G. A.; FARNSWORTH, N. R. Plant anticancer agents. XXIII. 6 α -Seneciolyoxychaparrin, a new antileukemic quassinoid from *Simaba multiflora*. **Journal of natural products**, v. 46, n. 2, p. 218-221, 1983b.

ARISAWA, M.; HANDA, S. S.; MCPHERSON, D. D.; LANKIN, D. C.; CORDELL, G. A.; FONG, H. H.; FARNSWORTH, N. R. Plant anticancer agents XXIX. Cleomiscosin A from *Simaba multiflora*, *Soulamea soulameoides*, and *Matayba arborescens*. **Journal of natural products**, v. 47, n. 2, p. 300-307, 1984.

ARISAWA, M.; FUJITA, A.; MORITA, N.; KINGHORN, A. D.; CORDELL, G. A.; FARNSWORTH, N. R. Plant Anticancer Agents XXXV. Further Constituents of *Simaba multiflora*. **Planta medica**, v. 51, n. 04, p. 348-349, 1985.

ARISAWA, M.; FUJITA, A.; MORITA, N.; COX, P. J.; HOWIE, R. A.; CORDELL, G. A. Triterpenes from *Simaba multiflora*. **Phytochemistry**, v. 26, n. 12, p. 3301-3303, 1987.

ARRIAGA, A. M. C., FEITOSA, E. M. A.; MACHADO, M. I. L.; CRAVEIRO, A. A. Volatile constituents from roots of *Simaba moiana*. **Journal of Essential Oil Research**, v. 10, n. 6, p. 649-650, 1998.

ASHOUR, M.; WINK, M.; GERSHENZON, J. Biochemistry of terpenoids: monoterpenes, sesquiterpenes and diterpenes. **Annual Plant Reviews Volume 40: Biochemistry of Plant Secondary Metabolism, Second Edition**, p. 258-303, 2010.

AWAD, A. T.; BEAL, J. L.; TALAPATRA, S. K.; CAVA, M. P. Isolation and identification of three alkaloids from the bark of *Zanthoxylum elephantiasis*. **Journal of pharmaceutical sciences**, v. 56, n. 2, p. 279-281, 1967.

AYAFOR, J. F.; TCHUENDEM, M. K.; MBAZOA, C. M.; NGADJUI, B. T.; TILLEQUIN, F. ¹³C NMR and other spectral data of 4-methylthiocanthin-6-One-from *Quassia africana*. **Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia**, v. 7, n. 2, 1993.

BARBOSA, L. F.; BRAZ-FILHO, R.; CURCINO VIEIRA, I. J. Chemical constituents of plants from the genus *Simaba* (Simaroubaceae). **Chemistry & biodiversity**, v. 8, n. 12, p. 2163-2178, 2011.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE POLÍTICAS DE SAÚDE. **Proposta de política nacional de plantas medicinais e medicamentos fitoterápicos**. 2001. 38 p.

BRASIL. MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. **O Bioma Cerrado**. Brasília, DF. 2018 Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/biomas/cerrado>>. Acesso em: 4 de fevereiro de 2018.

CABRAL, J. A.; MCCHESENEY, J. D.; MILHOUS, W. K. A new antimalarial quassinoid from *Simaba guianensis*. **Journal of natural products**, v. 56, n. 11, p. 1954-1961, 1993.

CAVALCANTE, P. B. **Revisão taxonômica do gênero *Simaba* Aubl. (Simaroubaceae) na América do Sul**. Publicações avulsas nº 37, Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém, 1983.

CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R. A. Estratégias para obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. **QUÍMICA NOVA**, vol. 21. nº 1, p. 99-105, 1998.

CHEN, J.; YAN, X. H.; DONG, J. H.; SANG, P.; FANG, X.; DI, Y. T.; HAO, X. J. Tobacco mosaic virus (TMV) inhibitors from *Picrasma quassioides* Benn. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 57, n. 15, p. 6590-6595, 2009.

CHOWDHURY, S. S.; ISLAM, M. N.; JUNG, H. A.; CHOI, J. S. *In vitro* antidiabetic potential of the fruits of *Crataegus pinnatifida*. **Research in pharmaceutical sciences**, v. 9, n. 1, p. 11, 2014.

CLARKE, P. J.; JEWERS, K.; JONES, H. F. Crystal and molecular structure of amarorine monohydrate, a new phenolic alkaloid from *Amaroria*

soulameoides. **Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1**, p. 1614-1617, 1980.

CLAYTON, J. W. Simaroubaceae. In: The families and genera of vascular plants. Vol. X. **Flowering plants**. Eudicots: Sapindales, Cucurbitales, Myrtaceae. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, p. 408–423, 2011.

CRESPI-PERELLINO, N.; GUICCIARDI, A.; MALYSZKO, G.; MINGHETTI, A. Biosynthetic relationship between indole alkaloids produced by cell cultures of *Ailanthus altissima*. **Journal of Natural Products**, v. 49, n. 5, p. 814-822, 1986.

CUNHA, G. P.; CECHINEL-FILHO, V.; MARTINS, D. T.; MARCELLO, C. M.; LIMA, J. C.; SILVA, R. M.; RODRIGUES, C. A. Utilization of chitin and chitosan as chromatography supports for separation of alkaloids from dichloromethane extract of *Simaba ferruginea*. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 27, n. 2, p. 255, 2008.

CURCINO VIEIRA, I. J. **Uma contribuição à química da família Simaroubaceae**. 1995. 318 f. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos - SP, 1995.

CURCINO VIEIRA, I. J.; RODRIGUES-FILHO, E.; VIEIRA, P. C.; SILVA, M. F. G. F.; FERNANDES, J. B. Quassinoids and protolimonoids from *Simaba cedron*. **Fitoterapia**, v. 69, n. 1, p. 88-90, 1998.

CURCINO VIEIRA, I. J.; BRAZ-FILHO, R.; RODRIGUES FILHO, E.; VIEIRA, P. C.; DA SILVA, M. F. G.; FERNANDES, J. B. 20(*R*)- and 20(*S*)-Simarolide epimers isolated from *Simaba cuneata*: Chemical Shifts Assignment of Carbon and Hydrogen Atoms. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 10, n. 1, p. 76-84, 1999.

CURCINO VIEIRA, I. J.; BRAZ-FILHO, R. Quassinoids: structural diversity, biological activity and synthetic studies. **Studies in Natural Products Chemistry**, v. 33, p. 433-492, 2006.

DA SILVA, M. F. G. F.; GOTTLIEB, O. R. Evolution of quassinoids and limonoids in the Rutales. **Biochemical systematics and ecology**, v. 15, n. 1, p. 85-103, 1987.

DAI, J.; LI, N.; WANG, J.; SCHNEIDER, U. Fruitful decades for canthin-6-ones from 1952 to 2015: biosynthesis, chemistry, and biological activities. **Molecules**, v. 21, n. 4, p. 493, 2016.

DE SOUZA ALMEIDA, E. S.; CECHINEL FILHO, V.; NIERO, R.; CLASEN, B. K.; BALOGUN, S. O.; DE OLIVEIRA MARTINS, D. T. Pharmacological mechanisms underlying the anti-ulcer activity of methanol extract and

canthin-6-one of *Simaba ferruginea* A. St-Hil. in animal models. **Journal of ethnopharmacology**, v. 134, n. 3, p. 630-636, 2011.

DELLA CASA, D.; SOJO, M. Alkaloids of *Zanthoxylum caribaeum* Lam. **Journal of the Chemical Society C: Organic**, p. 2155-2156, 1967.

DEVECCHI, M. F.; PIRANI, J. R. Flora das cangas da Serra dos Carajás, Pará, Brasil: Simaroubaceae. **Rodriguésia**, v. 67, n. 5 (Especial), p. 1471-1476, 2016.

DEVECCHI, M. F. **Filogenia e Sistemática de *Simaba* Aubl. (Simaroubaceae)**. 2017. 294 p. Tese (Doutorado em Ciências). Instituto de Biociências. Universidade de São Paulo. São Paulo, 2017.

DEVECCHI, M. F.; THOMAS, W. W.; PIRANI, J. R. Taxonomic revision of the neotropical genus *Homalolepis* Turcz. (Simaroubaceae). **Phytotaxa**, v. 366, n. 1, p. 1-108, 2018a.

DEVECCHI, M. F.; PIRANI, J. R.; THOMAS, W. W. Simaroubaceae in **Flora do Brasil 2020 em construção**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2018b. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB604257>> Acesso em: 16 de janeiro de 2018.

DEWICK, P. M. The mevalonate and methylerythritol phosphate pathways: terpenoids and steroids. **Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach**, 3rd Edition, p. 187-310, 2009.

DEWICK, Paul M. Alkaloids. **Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach, 3rd Edition**, p. 311-420, 2009.

DOU, J.; KHAN, I. A.; MCCHESENEY, J. D.; BURANDT JR, C. L. Qualitative and quantitative high performance liquid chromatographic analysis of quassinoids in Simaroubaceae plants. **Phytochemical Analysis**, v. 7, n. 4, p. 192-200, 1996.

DREYER, D. L. Limonoids of the Rutaceae. **Waterman, P, G, Grundon, M, F ed (s). Chemistry and chemical taxonomy of the Rutales. Academic Press: London, etc**, p. 215-45, 1983.

DUTRA, N. N.; ALVES, H. D. M.; DE CARVALHO, M. G.; BRAZ FILHO, R. Constituintes Químicos de *Simaba obovata* Spruce. **Química Nova**, v. 15, p. 10-13, 1992.

ELISABETSKY, E.; SETZER, R. Caboclo concepts of disease, diagnosis and therapy: implications for ethnopharmacology and health systems in Amazonia. **The amazon caboclo: historical and contemporary perspectives**, v. 32, p. 243-278, 1985.

FANG, H. W.; LIAO, Y. R.; HWANG, T. L.; SHIEH, P. C.; LEE, K. H.; HUNG, H. Y.; WU, T. S. Total synthesis of cordatanine, structural reassignment of drymaritin, and anti-inflammatory activity of synthetic precursors. **Bioorganic & medicinal chemistry letters**, v. 25, n. 18, p. 3822-3824, 2015.

FERNANDES, J. A. S. **Perfil farmacoepidemiológico dos produtos à base de drogas vegetais e derivados, comercializados na cidade de Cuiabá – MT, 2007-2008**. 2008. 90f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Faculdade de Ciências Médicas. Universidade Federal de Mato Grosso. Cuiabá, 2008.

FERNANDO, E. S.; GADEK, P. A.; QUINN, C. J. Simaroubaceae, an artificial construct: evidence from rbcL sequence variation. **American Journal of Botany**, p. 92-103, 1995.

FORGACS, P.; PROVOST, J.; TOUCHE, A. Alcalóides Indoliques d'*Odyndea gabonensis*. **Planta Medica**, v. 46, n. 11, p. 187-189, 1982.

FUKAMIYA, N.; OKANO, M.; ARATANI, T.; NEGORO, K.; MCPHAIL, A. T.; JU-ICHI, M.; LEE, K. H. Antitumor agents, 79. Cytotoxic antileukemic alkaloids from *Brucea antidysenterica*. **Journal of natural products**, v. 49, n. 3, p. 428-434, 1986.

GBIF.org (2017). *Simaba trichilioides* A. St.-Hil. in GBIF Secretariat (2017). **GBIF Backbone Taxonomy**. Disponível em: <https://www.gbif.org/occurrence/search?taxon_key=7833605>. Acesso via GBIF.org em: 30 de abril de 2018.

GIESBRECHT, A. M.; GOTTLIEB, H. E.; GOTTLIEB, O. R.; GOULART, M. O. F.; DE LIMA, R. A.; SANT'ANA, A. E. G. Canthinones from *Simaba cuspidata*. **Phytochemistry**, v. 19, n. 2, p. 313-315, 1980.

GUO, Z.; VANGAPANDU, S.; SINDELAR, R. W.; WALKER, L. A.; SINDELAR, R. D. Biologically active quassinoids and their chemistry: potential leads for drug design. **Current Medicinal Chemistry**, v. 12, n. 2, p. 173-190, 2005.

HAYNES, H. F.; NELSON, E. R.; PRICE, J. R. Alkaloids of the Australian Rutaceae: *Pentaceras australis* Hook.f. Isolation of the alkaloids and identification of canthin-6-one. **Australian Journal of Chemistry**, v. 5, n. 2, p. 387-400, 1952.

HITOTSUYANAGI, Y.; OSEKI, A.; ITOKAWA, H.; ALVES, S. M.; TAKEYA, K. Cedronolactone E, a Novel C19 Quassinoid from *Simaba cedron*. **Journal of natural products**, v. 64, n. 12, p. 1583-1584, 2001.

HSIA, S. M.; LEE, W. H.; YEN, G. C.; WU C. H. Capsaicin, an active ingredient from chilli peppers, attenuates glycolytic stress and restores sRAGE levels in diabetic rats. **Journal of Functional Foods**, v. 21, p. 406-417, 2016.

JACOBS, H.; LEWIS, D. E.; SAWYER, J. F.; MCLEAN, S. Cedronin and 7-epi-Cedronin: X-ray crystal structure analysis. **Journal of Natural Products**, v. 50, n. 4, p. 700-705, 1987.

JAKUŠ, V.; RIETBROCK, N. Advanced glycation end-products and the progress of diabetic vascular complications. **Physiological research**, v. 53, n. 2, p. 131-142, 2004.

JARIYAPAMORNKOON, N.; YIBCHOK-ANUN, S.; ADISAKWATTANA, S. Inhibition of advanced glycation end products by red grape skin extract and its antioxidant activity. **BMC complementary and alternative medicine**, v. 13, n. 1, p. 171, 2013.

JIAO, W. H.; GAO, H.; ZHAO, F.; HE, F.; ZHOU, G. X., YAO, X. S. A new neolignan and a new sesterterpenoid from the stems of *Picrasma quassioides* Bennet. **Chemistry & Biodiversity**, v. 8, n. 6, p. 1163-1169, 2011.

KUO, P. C.; SHI, L. S.; DAMU, A. G.; SU, C. R.; HUANG, C. H.; KE, C. H. WU, T. S. Cytotoxic and antimalarial β -carboline alkaloids from the roots of *Eurycoma longifolia*. **Journal of Natural Products**, v. 66, n. 10, p. 1324-1327, 2003.

KAWASHITA, N. H.; BAVIERA, A. M.; Evaluation of medicinal plants used to diabetes treatment. Chap. 9. Recent Progress in Medicinal Plants, Vol. 29 – **Ethnomedicine: Source & Mechanism III**. p. 113-157, 2010.

KLOCKE, J. A.; ARISAWA, M.; HANDA, S. S.; KINGHORN, A. D.; CORDELL, G. A.; FARNSWORTH, N. R. Growth inhibitory, insecticidal and antifeedant effects of some antileukemic and cytotoxic quassinoids on two species of agricultural pests. **Experientia**, v. 41, n. 3, p. 379-382, 1985.

KOIKE, K.; OHMOTO, T. Carbon-13 nuclear magnetic resonance study of canthin-6-one alkaloids. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 33, n. 12, p. 5239-5244, 1985.

KREBS, K. G.; RUBER, H. E. The ingredients of the seed of *Simaba cedron* Planchon. Part 1. Cedrin. **Arzneimittel-Forschung**, v. 10, p. 500, 1960.

KUNDU, P.; LASKAR, S. A brief resume on the genus *Ailanthus*: chemical and pharmacological aspects. **Phytochemistry Reviews**, v. 3, n. 9, p. 379-412, 2010.

LEE, K. H.; IMAKURA, Y.; SUMIDA, Y.; WU, R. Y.; HALL, I. H.; HUANG, H. C. Antitumor agents. 33. Isolation and structural elucidation of bruceoside-A and-B, novel antileukemic quassinoid glycosides, and brucein-D and-E from *Brucea javanica*. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 44, n. 13, p. 2180-2185, 1979.

LI, X.; WU, L.; KONDA, Y.; IGUCHI, M.; TAKAHASI, H.; HARIGAYA, Y.; ONDA, M. Bruceines D, E and H. **Journal of Heterocyclic Chemistry**, v. 26, n. 2, p. 493-501, 1989.

LIU, J. H.; QIN, J. J.; JIN, H. Z.; HU, X. J.; CHEN, M.; SHEN, Y. H.; ZHANG, W. D. A new triterpenoid from *Brucea javanica*. **Archives of pharmaceutical research**, v. 32, n. 5, p. 661-666, 2009.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: Nativas e Exóticas**. Nova Odessa. 2ª Edição. Instituto Plantarum, 2008. 544p.

LUMONADIO, L.; VANHAELEN, M. J. Indole alkaloids and quassin from *Quassia africana*. **Journal of Natural Products**, v. 49, n. 5, p. 940-940, 1986.

MARITIM, A. C.; SANDERS, R. A; WATKINS, JB, 3rd. Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review. **Journal of biochemical and molecular toxicology**, v. 17, n. 1, p. 24-38, 2003.

MEEPROM, A.; SOMPONG, W.; CHAN, C. B.; ADISAKWATTANA, S. Isoferulic acid, a new anti-glycation agent, inhibits fructose- and glucose-mediated protein glycation *in vitro*. **Molecules**, v. 18, n. 6, p. 6439-6454, 2013.

MILLER, S. L.; TINTO, W. F.; MCLEAN, S.; REYNOLDS, W. F.; YU, M.; CARTER, C. A. Isolation and characterization of a new glabretal triterpene from *Quassia multiflora*. **Journal of natural products**, v. 58, n. 10, p. 1640-1642, 1995a.

MILLER, S. L.; TINTO, W. F.; MCLEAN, S.; REYNOLDS, W. F.; YU, M.; CARTER, C. A. Quassiols BD, new squalene triterpenes from *Quassia multiflora*. **Tetrahedron**, v. 51, n. 44, p. 11959-11966, 1995b.

MITSUNAGA, K.; KOIKE, K.; TANAKA, T.; OHKAWA, Y.; KOBAYASHI, Y.; SAWAGUCHI, T.; OHMOTO, T. Canthin-6-one alkaloids from *Eurycoma longifolia*. **Phytochemistry**, v. 35, n. 3, p. 799-802, 1994.

MOHER, E. D.; COLLINS, J. L.; GRIECO, P. A. Synthetic studies on quassinoids: total synthesis of simalikalactone D and assignment of the absolute configuration of the α -methylbutyrate ester side chain. **Journal of the American Chemical Society**, v. 114, n. 7, p. 2764-2765, 1992.

MONKS, N. R.; BORDIGNON, S. A.; FERRAZ, A.; MACHADO, K. R.; FARIA, D. H.; LOPES, R. M.; SCHWARTSMANN, G. Anti-tumour screening of Brazilian plants. **Pharmaceutical biology**, v. 40, n. 8, p. 603-616, 2002.

MORETTI, C.; BHATNAGAR, S.; BELOEIL, J. C.; POLONSKY, J. Two new quassinoids from *Simaba multiflora* fruits. **Journal of natural products**, v. 49, n. 3, p. 440-444, 1986.

MORETTI, C.; DEHARO, E.; SAUVAIN, M.; JARDEL, C.; DAVID, P. T.; GASQUET, M. Antimalarial activity of cedronin. **Journal of ethnopharmacology**, v. 43, n. 1, p. 57-61, 1994.

MORON, J.; MERRIEN, M. A.; POLONSKY, J. Sur la biosynthèse des quassinoides de *Simaruba glauca* (Simarubaceae). **Phytochemistry**, v. 10, n. 3, p. 585-592, 1971.

MUHAMMAD, I.; BEDIR, E.; KHAN, S. I.; TEKWANI, B. L.; KHAN, I. A.; TAKAMATSU, S.; PELLETIER, J.; WALKER, L. A. New Antimalarial Quassinoid from *Simaba orinocensis*. **Journal of Natural Products**, 2004.

NELSON, E. R.; PRICE, J. R. Alkaloids of the Australian Rutaceae: *Pentaceras australis* Hook.f. II. Identification of 5-methoxycanthinone. **Australian Journal of Chemistry**, v. 5, n. 3, p. 563-569, 1952a.

NELSON, E. R.; PRICE, J. R. Alkaloids of the Australian Rutaceae: *Pentaceras australis* Hook.f. III. Identification of 4-Methylthiocanthin-6-one. **Australian Journal of Chemistry**, v. 5, n. 4, p. 768-781, 1952b.

NOLDIN, V. F. **Estudo fitoquímico das folhas e rizomas de *Simaba ferruginea* St.-Hil. e avaliação da atividade antiúlcera e antinociceptiva dos extratos, frações e compostos isolados.** 2005. 82 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) Universidade do Vale do Itajaí, Itajaí – SC, 2005.

NOLDIN, V. F.; DE OLIVEIRA MARTINS, D. T.; MARCELLO, C. M.; DA SILVA LIMA, J. C.; DELLE MONACHE, F.; CECHINEL FILHO, V. Phytochemical and antiulcerogenic properties of rhizomes from *Simaba ferruginea* St. Hill. (Simaroubaceae). **Zeitschrift für Naturforschung C**, v. 60, n. 9-10, p. 701-706, 2005.

NOORSHAHIDA, A.; WONG, T. W.; CHOO, C. Y. Hypoglycemic effect of quassinoids from *Brucea javanica* (L.) Merr (Simaroubaceae) seeds. **Journal of ethnopharmacology**, v. 124, n. 3, p. 586-591, 2009.

NUDDIN, J. A.; ADAM, Aishah; HAMZAH, A. S. Suggestive placement of *Quassia borneensis* Noot. (Simaroubaceae) as indicated by isolation of its quassinoids. **Jurnal Teknologi**, v. 77, n. 2, 2015.

NUNOMURA, R. C. S.; PINTO, A. C.; NUNOMURA, S. M.; POHLIT, A. M.; AMARAL, A. C. F. Constituintes químicos dos galhos de *Simaba guianensis* subesp. *ecaudata* (Cronquist). **Química Nova**, v. 35, n. 11, p. 2153-2158, 2012.

OLIVEIRA, D. R.; KRETTLI, A. U.; AGUIAR, A. C. C.; LEITÃO, G. G.; VIEIRA, M. N.; MARTINS, K. S.; LEITÃO, S. G. Ethnopharmacological evaluation of medicinal plants used against malaria by quilombola communities from Oriximiná, Brazil. **Journal of ethnopharmacology**, v. 173, p. 424-434, 2015.

OHMOTO, T.; KOIKE, K. Studies on the constituents of *Picrasma quassioides* BENNET. II. On the alkaloidal constituents. **Chemical and pharmaceutical bulletin**, v. 31, n. 9, p. 3198-3204, 1983.

OHMOTO, T.; KOIKE, K. Canthin-6-one alkaloids. In: **The Alkaloids: Chemistry and Pharmacology**. Academic Press, v. 36, p. 135-170, 1990.

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD - OMS. Situación regulamentaria de los medicamentos: una resena mundial. Traducción del inglés: **Organización Panamericana de la Salud**. Washington: OPAS, 2000. 52p.

OSORIO-HERRERA, S.; GAITAN-IBARRA, R.; DIAZ-CASTILLO, F.; OLMEDO, D.; GUPTA, M. Isolation and characterization of a novel quassinoid compound from dichlorometane extract of *Simaba cedron* Planch seeds. **Actualidades Biológicas**, v. 27, p. 43-48, 2005.

OUYANG, Y.; KOIKE, K.; OHMOTO, T. Canthin-6-one alkaloids from *Brucea mollis* var. *tonkinensis*. **Phytochemistry**, v. 36, n. 6, p. 1543-1546, 1994.

OZEKI, A.; HITOTSUYANAGI, Y.; HASHIMOTO, E.; ITOKAWA, H.; TAKEYA, K.; ALVES, S. M.; Cytotoxic quassinoids from *Simaba cedron*. **Journal of natural products**, v. 61, n. 6, p. 776-780, 1998.

PAVIA, D. L.; LAMPAN, G. M.; KRIZ, G. S.; VYVYAN, J. R. Introdução à Espectroscopia –Tradução da 4ª edição norte-americana. **Cengage Learning**, 2010.

PETTIT, G. R., SINGH, S. B., GOSWAMI, A., & NIEMAN, R. A. Antineoplastic agents 157. *Quassia kerstingii* L. **Tetrahedron**, v. 44, n. 11, p. 3349-3354, 1988.

PIRANI, J. R.; THOMAS, W. W. *Simaroubaceae* in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2015a. Disponível em: <<http://floradobra-sil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB222>>. Acesso em: 2 de julho de 2018.

PIRANI, J. R.; THOMAS, W. W. Simaroubaceae. *In: Flora do Brasil 2020 em construção*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2015b. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB1330>>. Acesso em: 15 de janeiro de 2018.

PIRANI, J. R.; THOMAS, W. W. Simaroubaceae *in: Lista de Espécies da Flora do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2015c. Disponível em: <<http://florado brasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB1378>>. Acesso em: 20 de julho de 2016.

POLONSKY, J. Study of constituents of *Simaba cedron* seeds; structure of two crystalline compounds: cedronin and cedronylin. **Bull Soc Chim Fr**, p. 1845-1847, 1960.

POLONSKY, J.; BASKEVIT. Z.; DAS, B.; MULLER, J. Bitter constituents of *Brucea amarissima* - Bruceine D and E structures. **Comptes Rendus Hebdomadaires des Seances de L Academie des Sciences Serie C**, v. 267, n. 20, p. 1346-&, 1968.

POLONSKY, J. Quassinoid bitter principles. *In: Fortschritte der Chemie Organischer Naturstoffe*. Springer, Vienna, 1973. p. 101-150.

POLONSKY, J.; VARON, Z.; MORETTI, C.; PETTIT, G. R.; HERALD, C. L.; RIDEOUT, J. A.; KHASTGIR, H. N. The Antineoplastic Quassinoids of *Simaba cuspidata* Spruce and *Ailanthus grandis* Prian. **Journal of natural products**, v. 43, n. 4, p. 503-509, 1980.

POLONSKY, J. VARON, Z.; PRANGE, T; PASCARD, C.; MORETTI, C. Structures of simarinolide and guanepolide (x-ray analysis), new quassinoids from *Simaba cf orinocensis*. **Tetrahedron Letters**, v. 22, n. 37, p. 3605-3608, 1981.

POLONSKY, J.; GALLAS, J.; VARENNE, J.; PRANGE, T.; PASCARD, C.; JACQUEMIN, H.; MORETTI, C. Isolation and structure (x-ray analysis) of karinolide, a new quassinoid from *Simaba multiflora*. **Tetrahedron Letters**, v. 23, n. 8, p. 869-872, 1982.

POLONSKY, J. Quassinoid bitter principles II. *In: Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe/Progress in the Chemistry of Organic Natural Products*. Springer Vienna, 1985. p. 221-264.

PRIMO DE SOUSA, R.; BARBOSA, L. F.; OLIVEIRA, A. F. MATHIAS, L.; BRAZ-FILHO, R.; CURCINO VIEIRA, I. J. Cymosanine, a novel C19-Quassinoid from *Simaba subcymosa*. **Natural product research**, v. 19, n. 2, p. 151-155, 2005.

RAMOS, A. D. S.; FERREIRA, J. L. P.; SILVA, J. R. D. A.; DA CRUZ, J. D.; DE OLIVEIRA, D. L.; DA SILVA, M. A. M.; AMARAL, A. C. F. Na experimental design approach to obtain canthinone alkaloid-enriched extracts from *Simaba* aff. *paraensis*. **Arabian Journal of Chemistry**, 2017.

REIS, S. L. A.; BELLINI, L. M. **Conhecimento e uso da flora para fins medicinais em comunidades ribeirinhas dos rios Paraná, PR e Cuiabá, MT**. Artigos/Tese. 2010. Disponível em: <http://www.educadores.diaadia.pr.gov.br/arquivos/File/2010/artigos_teses/2010/Biologia/artigos/flora_ribeirinha.pdf>. Acesso em: 07 de julho de 2016.

RODRIGUES-FILHO, E.; FERNANDES, J. B.; VIEIRA, P. C.; DA SILVA, M. F. D. G. Isolation of secoisolariciresinol diesters from stems of *Simaba cuneata*. **Phytochemistry**, v. 31, n. 6, p. 2115-2116, 1992.

SAMA, W.; AJAIYEBOB, E. O.; CHOUDHARY, M. I. Larvicidal properties of simalikalactone D from *Quassia africana* (Simaroubaceae) baill and baill, on the malaria vector *Anopheles gambiae*. **African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines**, v. 11, n. 4, p. 84-88, 2014.

SARAIVA, R. C. G. **Estudo fitoquímico de *Picrolemma sprucei* Hook e doseamento dos princípios ativos nos chás do caule e raiz**. 2001, 89 f. Dissertação (Mestrado em Química de Produtos Naturais) – Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal do Amazonas. Manaus, 2001

SARAIVA, R. C. G.; BARRETO, A. D. S.; SIANI, A. C.; FERREIRA, J. L. P.; ARAUJO, R. D.; NUNOMURA, S. M.; POHLIT, A. M. Anatomia foliar e caulinar de *Picrolemma sprucei* Hook (Simaroubaceae). **Acta Amazonica**, v. 33, n. 2, p. 213-220, 2002.

SARAIVA, R. D. C. G.; PINTO, A. C.; NUNOMURA, S. M.; POHLIT, A. M. Triterpenos e alcaloide tipo cantinona dos galhos de *Simaba polyphylla* (Cavalcante) WW Thomas (Simaroubaceae). **Química Nova**, v. 29, p. 264-268, 2006.

SHEN, J. G., ZHANG, Z. K., WU, Z. J., OUYANG, M. A., XIE, L. H., & LIN, Q. Y. Antiphtyoviral activity of bruceine-D from *Brucea javanica* seeds. **Pest management science**, v. 64, n. 2, p. 191-196, 2008.

SHIELD, J. P.; POYSER, K.; HUNT, L.; PENNOCK, C. A. Fructosamine and glycated haemoglobin in the assessment of long term glycaemic control in diabetes. **Archives of disease in childhood**, v. 71, n. 5, p. 443-445, 1994.

SIDDIQUI, M. A.; RASHEED, S.; SAQUIB, Q.; AL-KHEDHAIRY, A. A.; AL-SAID, M. S.; MUSARRAT, J.; CHOUDHARY, M. I. In-vitro dual inhibition of protein glycation, and oxidation by some Arabian plants. **BMC complementary and alternative medicine**, v. 16, n. 1, p. 276, 2016.

SILVA JUNIOR, I. F.; CECHINEL FILHO, V.; ZACCHINO, S. A.; LIMA, J. C. S.; MARTINS, D. T. O. Antimicrobial screening of some medicinal plants from Mato Grosso Cerrado. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 1B, p. 242-248, 2009.

SILVA, M. A. B. D.; MELO, L. V. L.; RIBEIRO, R. V.; SOUZA, J. P. M. D.; LIMA, J. C. S.; MARTINS, D. T. D. O.; SILVA, R. M. D. Levantamento etnobotânico de plantas utilizadas como anti-hiperlipidêmicas e anorexígenas pela população de Nova Xavantina-MT, Brasil. **Rev Bras Farmacogn**, v. 20, n. 4, p. 549-562, 2010.

SIMÃO, S. M.; BARREIROS, E. L.; SILVA, M. F. D. G.; GOTTLIEB, O. R. Chemogeographical evolution of quassinoids in Simaroubaceae. **Phytochemistry**, v. 30, n. 3, p. 853-865, 1991.

STÖCKLIN, W.; GEISSMAN, T. A. A new bitter principle from *Brucea sumatrana* Roxb. **Tetrahedron Letters**, v. 9, n. 57, p. 6007-6010, 1968.

TRESCA, J. P.; ALAIS, L.; POLONSKY, J. Bitter principles from *Quassia africana* (Simaroubaceae). Simalikalactones A, B, C, D and Simalikahemiactal A. **CR Acad Sci Ser C**, v. 273, p. 601-604, 1971.

VALENTA, Z.; GRAY, A. H.; ORR, D. E.; PAPADOPOULOS, S.; PODEŠVA, C. The stereochemistry of quassin. **Tetrahedron**, v. 18, n. 12, p. 1433-1441, 1962.

VECHI, G.; CAMPOS, A.; DA ROSA, R. L.; CAPISTRANO, K.; ZERMIANI, T.; DE CAMPOS BUZZI, F.; CECHINEL FILHO, V. Analyses of chemical composition and gastroprotective and antinociceptive properties of *Eugenia involucrate* DC. leaves. **Journal of Applied Pharmaceutical Science Vol**, v. 8, n. 04, p. 079-083, 2018.

WAGNER, H.; NESTLER, T.; NESZMELYI, A. Neue Inhaltsstoffe aus *Picrasma excelsa*, I. **Planta Medica**, v. 36, n. 06, p. 113-118, 1979.

WANG, J. Analysis of macrolide antibiotics, using liquid chromatography-mass spectrometry, in food, biological and environmental matrices. **Mass spectrometry reviews**, v. 28, n. 1, p. 50-92, 2009.

WANI, M. C.; TAYLOR, H. L.; THOMPSON, J. B.; WALL, M. E. Plant antitumor agents. XVI. 6 α -Seneciolyoxy-chaparrinone, a new antileukemic quassinoid from *Simaba multiflora*. **Lloydia**, v. 41, n. 6, p. 578-583, 1978.

WATERMAN, P. G.; GRUNDON, M. F. **Chemistry and chemical taxonomy of the Rutales**. Academic Press, 1983.

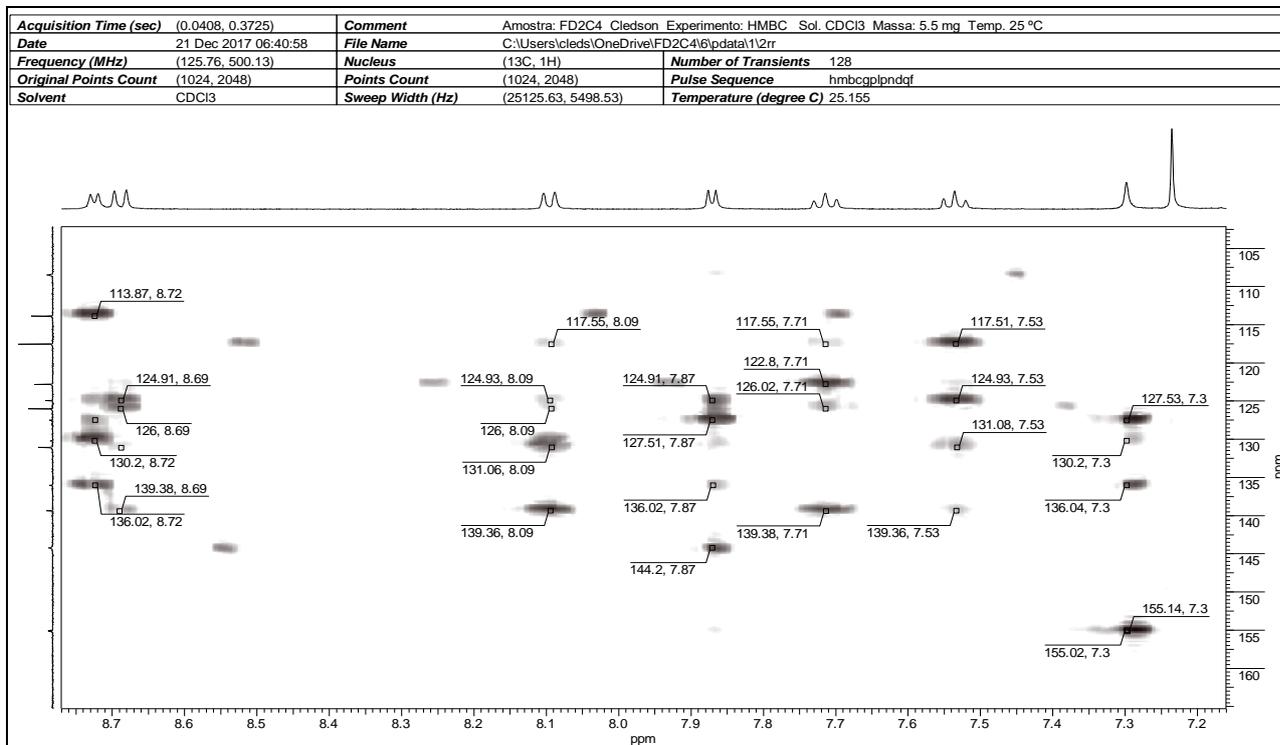
WORLD HEALTH ORGANIZATION. General Guidelines for Methodologies on Research and Evaluation of Traditional Medicine (document who/edm/trm/2000.1). **WHO**. Geneva, Italy. 74p. 2000. Disponível em: <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/66783/WHO_EDM_TRM_2000.1.pdf>. Acesso em: 9 de julho de 2018.

YANG, X.Q; RONG, H.; BAO, Z. J. Study on chemical constituents from *Drymaria diandra* BL. **JOURNAL-YUNNAN UNIVERSITY NATURAL SCIENCES**, v. 25, n. 4, p. 358-360, 2003.

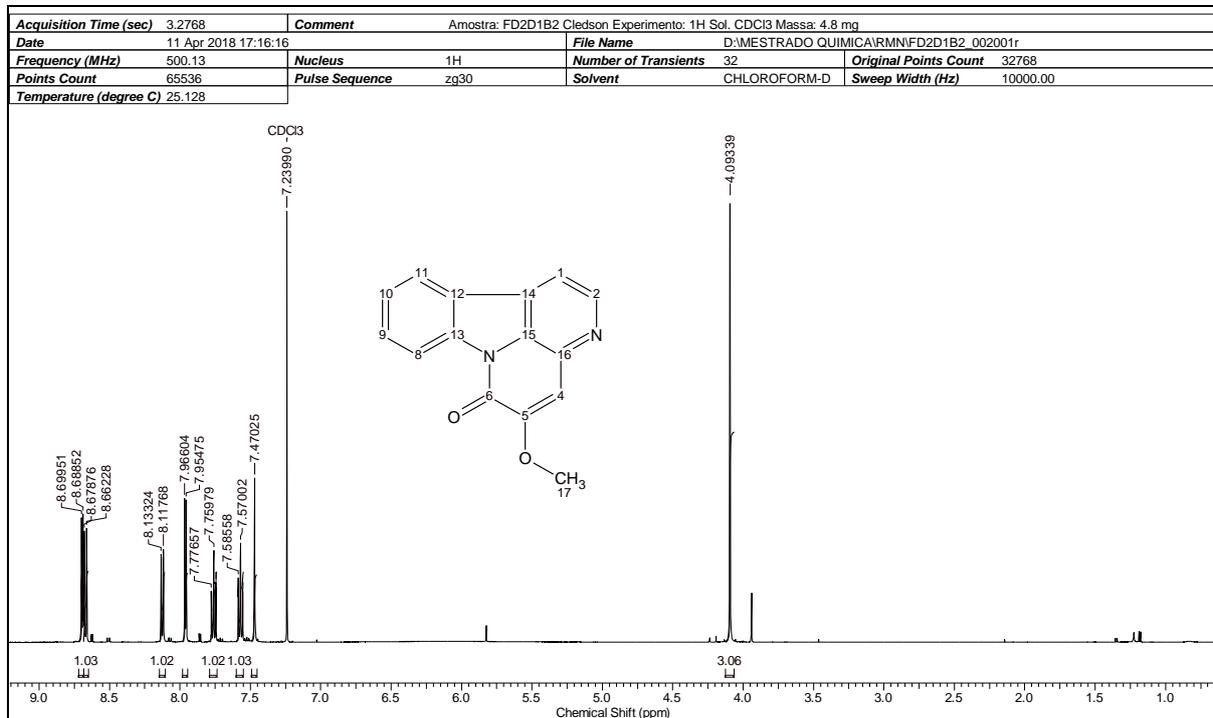
ZHANG, X. Regulatory situation of herbal medicines: A Worldwide Review (WHO_TRM_98.1). **World Health Organization**, 1998. Disponível em: <<http://www.who.int/medicinedocs/pdf/whozip57e/whozip57e.pdf>>. Acesso em: 10 de julho de 2018.

ANEXOS

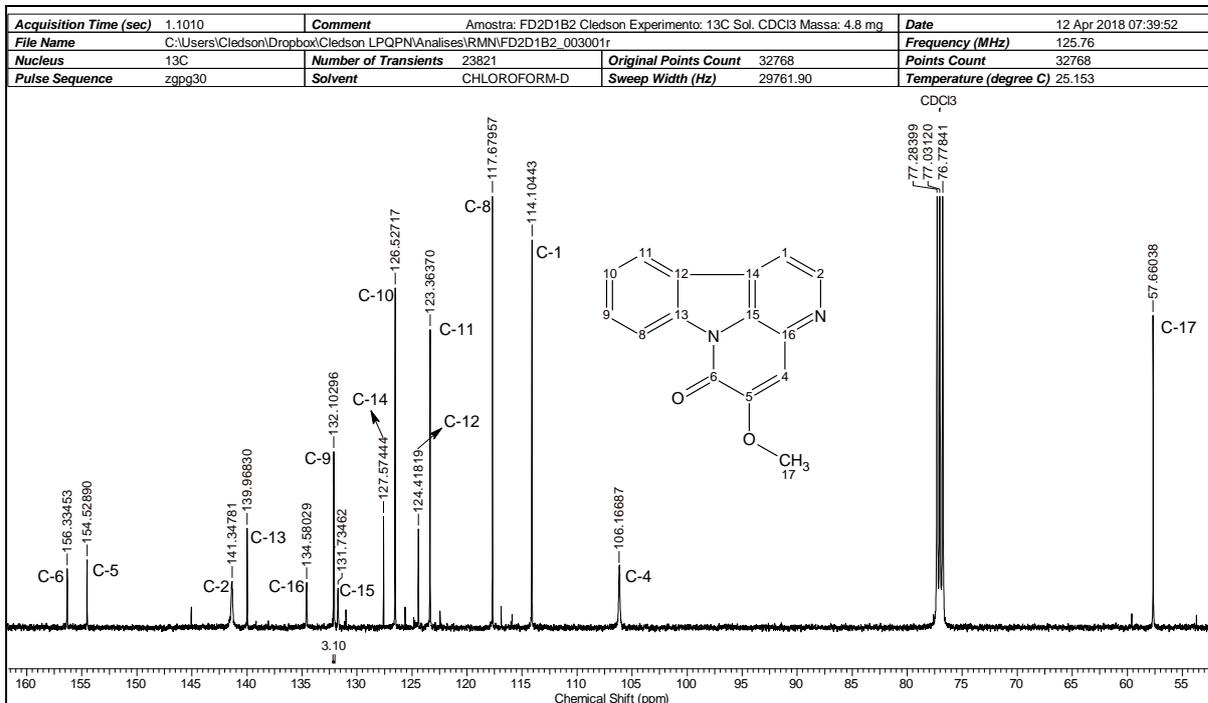
ANEXO A – Mapa de contorno (HMBC, 500/125 MHz, CDCl₃) de (70)



ANEXO B – Espectro de RMN de ¹H de FD2D1B2 (500 MHz, CDCl₃) de (70)

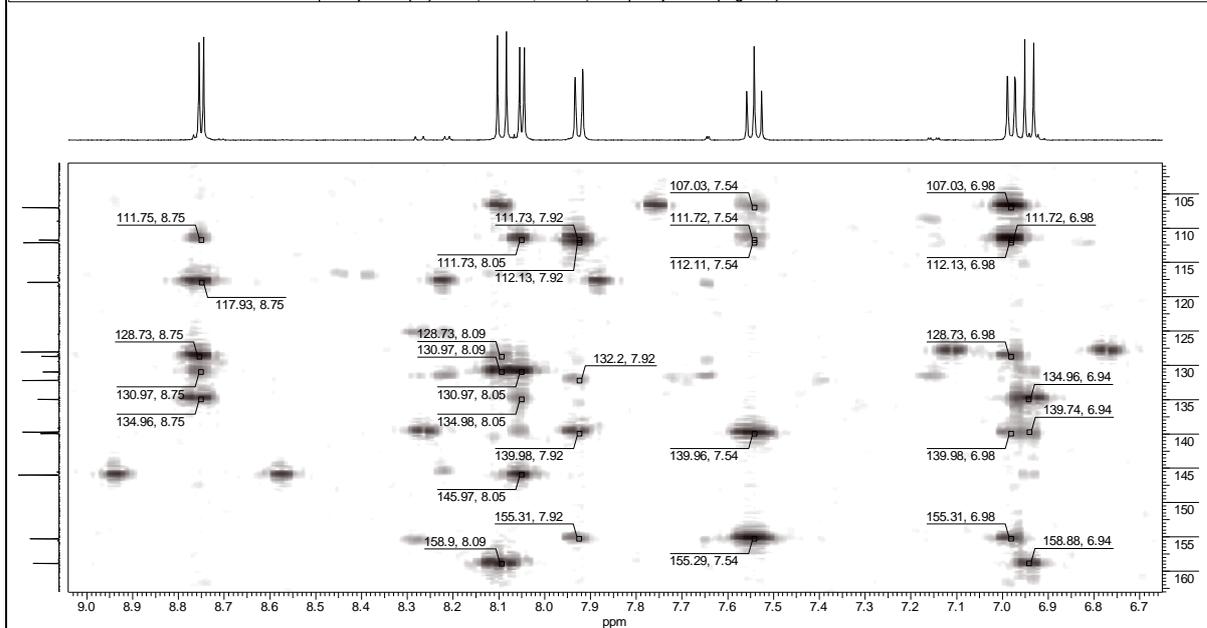


ANEXO C – Espectro de RMN de ^{13}C de **FD2D1B2** (125 MHz, CDCl_3) de (70)

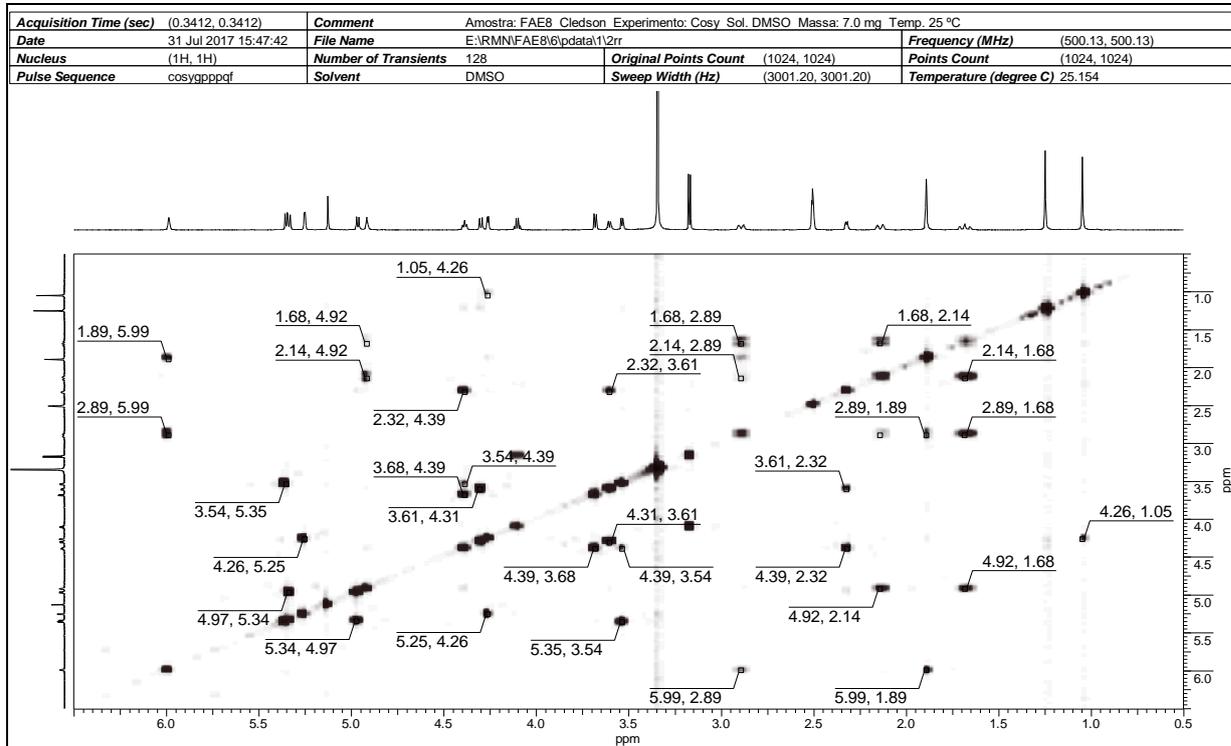


ANEXO D – Mapa de contorno (HMBC, 500/125 MHz, DMSO-d₆) de (112)

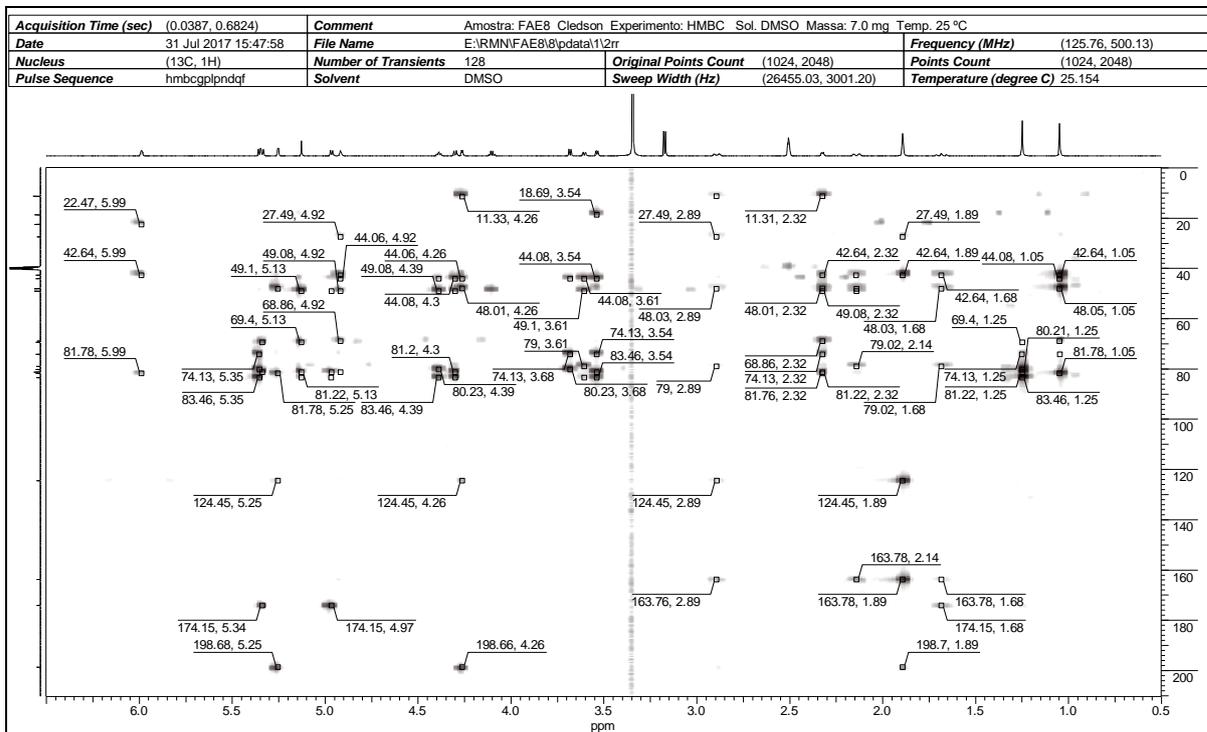
Acquisition Time (sec)	(0.0408, 0.3146)	Comment	Amostra: FD2F4C Cledson Experimento: HMBC Sol. DMSO Massa: 7.5 mg Temp. 25°C	
Date	19 May 2017 12:37:06	File Name	D:\MESTRADO QUIMICA\FD2F4C\6\pdata\1\2rr	
Frequency (MHz)	(125.76, 500.13)	Nucleus	(13C, 1H)	Number of Transients 128
Original Points Count	(1024, 2048)	Points Count	(1024, 2048)	Pulse Sequence hmbcgp1pndqf
Solvent	DMSO	Sweep Width (Hz)	(25125.63, 6510.42)	Temperature (degree C) 25.154



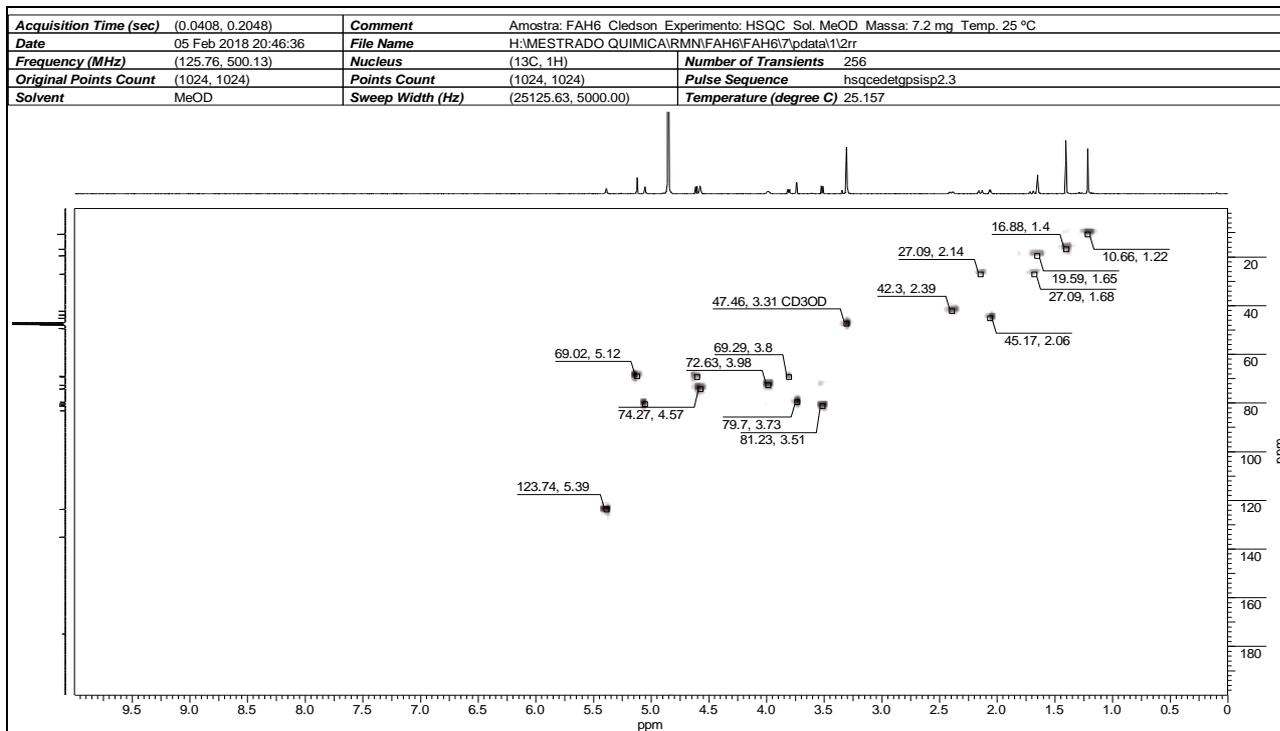
ANEXO E – Mapa de contorno (COSY, 500 MHz, DMSO- d_6) de (113)



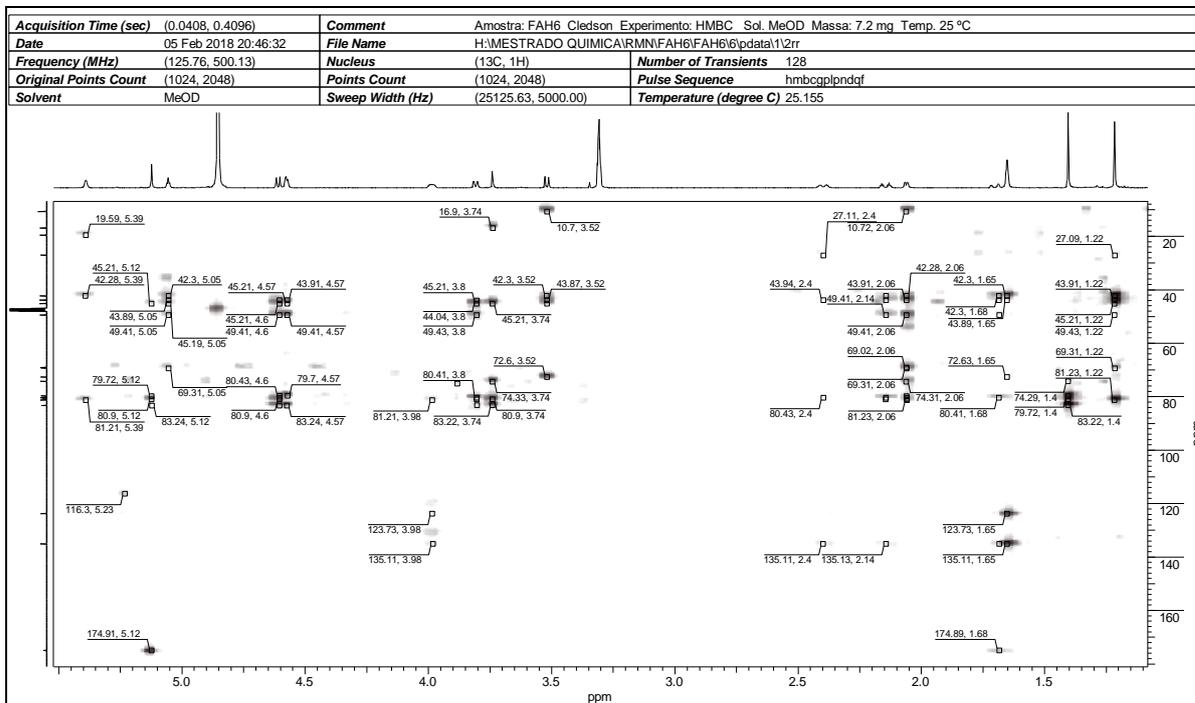
ANEXO F – Mapa de contorno (HMBC, 500/125 MHz, DMSO- d_6) de (113)



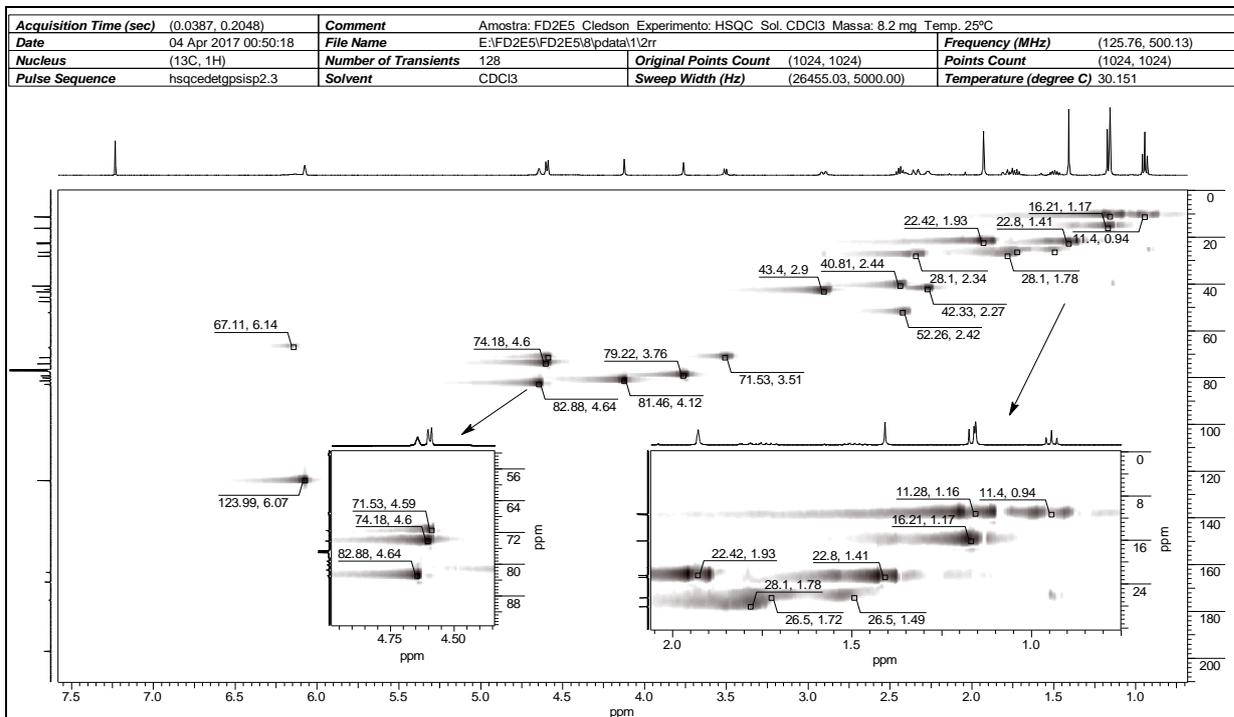
ANEXO H – Mapa de contorno (HSQC, 500/125 MHz, CD₃OD) de (114)



ANEXO I – Mapa de contorno (HMBC, 500/125 MHz, CD₃OD) de (114)



ANEXO K – Mapa de contorno (HSQC, 500/125 MHz, CDCl₃) de (23) e expansões



ANEXO L – Mapa de contorno (HMBC, 500/125 MHz, CDCl₃) de (23)

