



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUTOS
NATURAIS E SINTÉTICOS BIOATIVOS**



SANY DELANY NUNES MARQUES

**ESTUDO FITOQUÍMICO DE *Sidastrum paniculatum* (L.) FRYXELL E SÍNTESE DE
AMIDAS ANÁLOGAS ÀS ISOLADAS DA FAMÍLIA MALVACEAE**

**JOÃO PESSOA
2018**

SANY DELANY NUNES MARQUES

ESTUDO FITOQUÍMICO DE *Sidastrum paniculatum* (L.) FRYXELL E SÍNTESE DE
AMIDAS ANÁLOGAS ÀS ISOLADAS DA FAMÍLIA MAVACEAE

Tese apresentada pela discente Sany Delany Nunes Marques ao Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba para a obtenção do Título de Doutor em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos.

Área de concentração: Farmacoquímica

ORIENTADOR PRINCIPAL: Prof^a. Dr^a. Maria de Fátima Vanderlei de Souza
2º ORIENTADOR: Prof. Dr. Kristerson Reinaldo Luna Freire
SUPERVISOR DO PDSE: Prof. Dr. Antônio Mouriño Mosquera

JOÃO PESSOA
2018

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

M357e Marques, Sany Delany Nunes.

ESTUDO FITOQUÍMICO DE *Sidastrum paniculatum* (L.)
FRYXELL E SÍNTESE DE AMIDAS ANÁLOGAS ÀS ISOLADAS DA
FAMÍLIA MALVACEAE / Sany Delany Nunes Marques. - João
Pessoa, 2018.
280 f.

Orientação: Maria de Fátima Vanderlei de Souza Souza.

Coorientação: Kristerson Reinaldo De Luna Freire
Freire.

Tese (Doutorado) - UFPB/CCS.

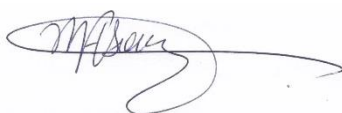
1. Malvaceae. 2. *Sidastrum paniculatum*. 3. Flavonoides
sulfatados. 4. Amidas. 5. Reação de MBH. I. Souza,
Maria de Fátima Vanderlei de Souza. II. Título.

UFPB/BC

SANY DELANY NUNES MARQUES

**ESTUDO FITOQUÍMICO DE *Sidastrum paniculatum* (L.) FRYXELL E SÍNTESE DE
AMIDAS ANÁLOGAS AS ISOLADAS DA FAMÍLIA MALVACEAE.**

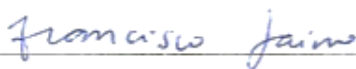
BANCA EXAMINADORA



Prof.ª Dr.ª Maria de Fátima Vanderlei de Souza
Orientadora



Prof.º Dr.º Kristerson Reinaldo De Luna Freire
Coorientador



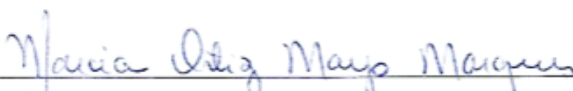
Prof.º Dr.º Francisco Jaime Bezerra Mendonca Junior
Examinador Interno



Prof.ª Dr.ª Luciana Scotti
Examinador Interno



Prof.ª Dr.ª Barbara Viviana De Oliveira Santos
Examinador Externo



Prof.ª Dr.ª Marcia Ortiz Mayo Marques
Examinador Externo

Dedico

A meu marido David, por todo amor, carinho, compreensão e incentivo. Aos meus pais Mário Marques e Clenilza Gomes pelo carinho e dedicação em favor da minha educação e a minha irmã Sandy. Dedico-lhes essa nova conquista com gratidão e amor

AGRADECIMENTOS

Aos meus familiares, especialmente aos meus pais, Mário Marques e Clenilza Gomes e a minha irmã Sandy Kathyllen pelo amor e companheirismo.

Ao meu esposo David Brian e à sua família por todo apoio e carinho.

À Professora Dr^a Maria de Fátima Vanderlei de Souza pela confiança em mim depositada e contribuição ao meu crescimento profissional.

Ao Professor Kristerson Reinaldo de Luna Freire pela orientação e pelos ensinamentos.

Aos Professores Luís Cezar Rodrigues e Antônio Mouriño Mosquera pelo apoio e pela oportunidade para a realização da pesquisa na Universidade de Santiago de Compostela.

À Professora Maria de Fátima Agra pela coleta e identificação do material botânico.

Ao Professor Marcus Tullius Scotti e equipe pela parceria na realização dos estudos computacionais.

À Professora Edeltrudes de Oliveira Lima e equipe pela parceria na realização dos estudos farmacológicos.

Aos que me acompanham durante a minha trajetória, os meus amigos: Germama, Emannuela, Lô-Ruama, Jonathas e Flávio.

À todos que fazem ou fizeram parte da equipe da Prof^a. Fátima Vanderlei pelo aprendizado e amizade: Jéssica, Otemberg, Milen, Mikaelly, Yngred, Anderson, Denise, Nayara, Diégina Edileuza, Janderson e Ana Laura.

Aos Professores da graduação e pós-graduação, cujos ensinamentos me acompanharão por toda vida.

A todos os colegas de pós-graduação pela convivência e aprendizado.

À banca examinadora pela disponibilidade e contribuição para o aprimoramento deste trabalho.

Aos técnicos e funcionários dos laboratórios pela colaboração na realização da pesquisa.

**A todos,
Meus sinceros agradecimentos.**

RESUMO

Sidastrum paniculatum (L.) Fryxell, espécie pertencente à família Malvaceae, é popularmente conhecida como “malva roxa” ou “malvavisco”. O presente trabalho teve como finalidade aumentar o conhecimento sobre os fitoconstituintes de *S. paniculatum* através de um estudo fitoquímico para isolamento de suas substâncias polares e reações de síntese para preparar amidas análogas aquelas isoladas de espécies Malvaceae. Para o isolamento e análise dos constituintes químicos foram adotados métodos cromatográficos como cromatografia em coluna e cromatografia plana. A fim de sintetizar amidas foram utilizados adutos de MBH (Morita-Baylis-Hillman) como substratos para a síntese destas moléculas, tendo como reagentes de partida aldeídos aromáticos e aminas comerciais, em uma síntese que segue de 3-5 etapas reacionais. Este estudo relata o isolamento e identificação de 10 substâncias: ácido esteárico (**Sp-1**), N-*trans*-feruloiltiramina (**Sp-2**), acacetina (**Sp-3**), apigenina (**Sp-4**), tilirosídeo (**Sp-5**), 7,4'-di-O-metil-7-O-sulfato isoscutelareína (**Sp-6**); yannina (**Sp-7**), beltraonina (**Sp-8a**), além de dois novos flavonoides sulfatados: a 7-O-sulfato iso-isoscutelareína (**paniculatumina**) (**Sp-8b**) em mistura com **Sp-8a**, e 7,4'-O-dimetil-8-O-sulfato hipoaletina (**sidastrumina**) (**Sp-9**). Os flavonoides sulfatados foram submetidos a estudos moleculares em duas proteínas alvos do mosquito *Aedes aegypti* (*Aedes aegypti* Quinurenina Aminotransferase e a Proteína Portadora de Esterol-2), onde os flavonoides **Sp-6** e **Sp-8a** apresentaram a potencialidade de interagir com ambas as proteínas alvos, sendo estes os mais indicados para serem estudados *in vitro*. Este estudo também relata a síntese de 40 moléculas, sendo 20 amidas, destas 18 são inéditas na literatura, a partir de reações com uma média de rendimento de 82%. Os compostos tiveram suas estruturas químicas determinadas e identificados por análise dos espectros de RMN (¹H, ¹³C, HMQC, HMBC e COSY), TOFMS, infravermelho, polarimetria e comparações com dados da literatura. Dentre os compostos sintetizados os adutos **2d** e **2b**, o ácido **7c** e as amidas **4g**, **4h** e **8e** foram avaliados quanto a atividade antifúngica, onde os adutos e o ácido apresentaram atividade contra os fungos leveduriformes incluindo *C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. krusei* e as amidas demonstraram menor perfil de atividade antifúngica, com inibição promovida apenas pelas amidas **4g** e **4h** contra poucas cepas, enquanto a amida **8e** se mostrou inativa.

PALAVRAS-CHAVE: Malvaceae, *Sidastrum paniculatum*, Flavonoides sulfatados, Amidas, Reação de MBH.

ABSTRACT

Sidastrum paniculatum (L.) Fryxell, a species belonging to the family Malvaceae, is popularly known as "malva roxa" or "malvavisco". The present work was to increase the knowledge about the phytochemicals of *S. paniculatum* through a phytochemical study to isolate their polar substances and synthesis reactions to prepare analogous amides for those isolated from Malvaceae species. For the isolation and analysis of the chemical constituents were adopted chromatographic methods such as column chromatography and flat chromatography. In order to synthesize amides, MBH (Morita-Baylis-Hillman) adducts were used as substrates for the synthesis of these molecules, having as starting reagents aromatic aldehydes and commercial amines, in a synthesis that follows from 3-5 reactional steps. This study reports the isolation and identification of 10 substances: stearic acid (**Sp-1**), N-*trans*-feruloylthyramine (**Sp-2**), acacetin (**Sp-3**), apigenin, 7,4'-di-*O*-methyl-7-*O*-sulphate isoscutellarein (**Sp-6**); yannin (**Sp-7**), beltraonin (**Sp-8a**), and two new sulfated flavonoids: 7-*O*-sulphate isoscutellarein (paniculatumin) (**Sp-8b**) in admixture with **Sp-8a**, and 7,4'-*O*-dimethyl-8-*O*-sulfate hypoaletin (sidastrumin) (**Sp-9**). The sulfated flavonoids were subjected to molecular studies on the *Aedes aegypti* target proteins (*Aedes aegypti* kynurenine aminotransferase and Sterol Carrier Protein-2), where the **Sp-6** and **Sp-8a** flavonoids had the potentiality to interact with both target proteins, these being the most indicated to be studied *in vitro*. This study also reports the synthesis of 40 molecules, 20 amides, of which 18 are unprecedented in the literature, from reactions with a mean yield of 82%. The compounds had their chemical structures determined and identified by analysis of the NMR (^1H , ^{13}C , HMQC, HMBC and COSY), TOFMS, infrared, polarization spectra and comparisons with literature data. Among the compounds synthesized **2d** and **2b** adducts, **7c** acid and **4g**, **4h** and **8e** amides were evaluated for antifungal activity, where the adducts and acid showed activity against yeast fungi including *C. albicans*, *C. tropicalis* and *C. krusei* and the amides showed a lower profile of antifungal activity, with inhibition promoted only by **4g** and **4h** amides against few strains, while amide **8e** was inactive.

KEYWORDS: Malvaceae, *Sidastrum paniculatum*, Sulphated Flavonoids, Amides, MBH reaction

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 01. Obtenção e particionamento do extrato etanólico bruto de <i>Sidastrum paniculatum</i> .	44
Esquema 02. Fracionamento cromatográfico da fase clorofórmica do extrato etanólico bruto de <i>Sidastrum paniculatum</i> .	45
Esquema 03. Fracionamento cromatográfico da fase n-butanólica do extrato etanólico bruto de <i>Sidastrum paniculatum</i> .	46
Esquema 04. Fracionamento cromatográfico da fração acetona da fase n-butanólica do extrato etanólico bruto de <i>Sidastrum paniculatum</i> .	47
Esquema 05. Fracionamento cromatográfico da fração metanol da fase n-butanólica do extrato etanólico bruto de <i>Sidastrum paniculatum</i> .	48
Esquema 06. Fracionamento cromatográfico da fração H ₂ O:MeOH (1:1) da fase n-butanólica do extrato etanólico bruto de <i>Sidastrum paniculatum</i> .	50
Esquema 07. Fracionamento cromatográfico da fase hidroalcoolica do extrato etanólico bruto de <i>Sidastrum paniculatum</i> .	51
Esquema 08. Fracionamento cromatográfico da fração metanol da fase hidroalcoolica do extrato etanólico bruto de <i>Sidastrum paniculatum</i> .	51

LISTA DE FIGURAS

Figura 01. Amidas isoladas de espécies de Malvaceae.	30
Figura 02. Distribuição geográfica do gênero <i>Sidastrum</i> .	31
Figura 03. Métodos usados na síntese de amidas.	33
Figura 04. Centro estrutural das penicilinas.	34
Figura 05. Esqueleto estrutural de amidas sintetizadas com substituintes R ₁ , R ₂ e R ₃ = H, Cl, OH, CH ₃ , OMe, NO ₂ , <i>tert</i> -Bu ou C ₆ H ₅ , and R ₄ = F, Cl ou Br (MONTES <i>et al.</i> , 2016A).	34
Figura 06. Reação de Morita-Baylis-Hillman.	35
Figura 07. Mecanismo inicialmente proposto para a reação de MBH (HILL & ISAACS, 1990) (DENMARK & GREGORY, 2008) (MARKO <i>et al.</i> , 1997).	36
Figura 08. Mecanismos propostos por McQuade e Aggarwal.	36
Figura 09. Aplicações dos adutos de Morita-Baylis-Hillman em síntese.	37
Figura 10. Fórmulas estruturais do hidroxibenzotriazol (HOBt) e do Benzotriazol-1-il-oxi-tris-(dimetilamino)-fosfônio hexafluorofosfato (BOP).	38
Figura 11. Mecanismo da reação de acoplamento do ácido e amina catalisado pelo BOP (MONTALBETTI & FALQUE, 2005).	38
Figura 12. Aldeídos e aminas utilizados como material de partida para a preparação das amidas.	56
Figura 13. Preparação das Amidas.	57
Figura 14. Adutos de MBH (2a-d).	59
Figura 15. Derivados acetilados de MBH (5a-d).	60
Figura 16. Derivados de MBH (6a-d).	61
Figura 17. Ácidos sintetizados (3a-d) (7a-d).	62
Figura 18. Amidas sintetizadas (4a-m).	65
Figura 19. Amidas sintetizadas (8a-h).	66
Figura 20. Substâncias submetidas a estudo de atividade antifúngica.	67
Figura 21. Substâncias isoladas das partes aéreas de <i>Sidastrum paniculatum</i> (L.) FRYXELL.	70
Figura 22. Espectro infravermelho (KBr, cm ⁻¹) de Sp-1 .	73
Figura 23. Expansão do espectro de RMN ¹ H (δ, CDCl ₃ , 500 MHz) de Sp-1 .	74
Figura 24. Espectro de RMN ¹ H (δ, CDCl ₃ , 500 MHz) de Sp-1 .	74

Figura 25. Expansão do espectro COSY (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de Sp-1 .	75
Figura 26. Espectro HMBC (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de Sp-1 .	75
Figura 27. Espectro de RMN ^1H (δ , CD_3OD , 200 MHz) de Sp-2 .	78
Figura 28. Espectro de RMN ^{13}C (δ , CD_3OD , 50 MHz) de Sp-2 .	78
Figura 29. Espectro de RMN ^1H ($\underline{\delta}$, CD_3OD , 500 MHz) de Sp-3 .	82
Figura 30. Expansão do espectro de RMN ^1H ($\underline{\delta}$, CD_3OD , 500 MHz) de Sp-3 .	82
Figura 31. Espectro HMQC ($\underline{\delta}$, CD_3OD , 500 e 125 MHz) de Sp-3 .	83
Figura 32. Espectro HMBC ($\underline{\delta}$, CD_3OD , 500 e 125 MHz) de Sp-3 .	83
Figura 33. Espectro NOESY ($\underline{\delta}$, CD_3OD , 500 MHz) de Sp-3 .	84
Figura 34. Espectro de RMN ^1H (δ , CD_3OD , 500 MHz) de Sp-4 .	88
Figura 35. Expansão do espectro de RMN ^1H (δ , CD_3OD , 500 MHz) de Sp-4 .	88
Figura 36. Espectro HMQC (δ , CD_3OD , 500 e 125 MHz) de Sp-4 .	89
Figura 37. Espectro de RMN ^1H ($\underline{\delta}$, CD_3OD , 500 MHz) de Sp-5 .	92
Figura 38. Expansão do espectro de RMN ^1H ($\underline{\delta}$, CD_3OD , 500 MHz) de Sp-5 .	92
Figura 39. Expansão do espectro de RMN ^1H ($\underline{\delta}$, CD_3OD , 500 MHz) de Sp-5 .	93
Figura 40. Espectro de RMN ^{13}C ($\underline{\delta}$, CD_3OD , 125 MHz) de Sp-5 .	93
Figura 41. Espectro infravermelho (KBr , cm^{-1}) de Sp-6 .	99
Figura 42. Espectro de RMN ^1H (δ , CD_3OD , 500 MHz) de Sp-6 .	99
Figura 43. Expansão do espectro de RMN ^1H (δ , CD_3OD , 500 MHz) de Sp-6 .	100
Figura 44. Espectro de RMN ^{13}C , APT, (δ , CD_3OD , 125 MHz) de Sp-6 .	100
Figura 45. Espectro COSY (δ , CD_3OD , 500 MHz) de Sp-6 .	101
Figura 46. Espectro HMQC (δ , CD_3OD , 500 e 125 MHz) de Sp-6 .	101
Figura 47. Expansão do espectro HMQC (δ , CD_3OD , 500 e 125 MHz) de Sp-6 .	102
Figura 48. Espectro HMBC (δ , CD_3OD , 500 e 125 MHz) de Sp-6 .	102
Figura 49. Expansão do espectro HMBC (δ , CD_3OD , 500 e 125 MHz) de Sp-6 .	103
Figura 50. Espectro NOESY (δ , CD_3OD , 500 MHz) de Sp-6 .	103
Figura 51. Espectro TOF-MS de Sp-6 .	104
Figura 52. Espectro infravermelho (KBr , cm^{-1}) de Sp-7 .	108
Figura 53. Espectro RMN ^1H (δ , CD_3OD , 500 MHz) de Sp-7 .	108
Figura 54. Expansão do espectro RMN ^1H (δ , CD_3OD , 500 MHz) de Sp-7 .	109
Figura 55. Espectro RMN ^{13}C (δ , CD_3OD , 125 MHz) de Sp-7 .	109
Figura 56. Espectro TOF-MS de Sp-7 .	110
Figura 57. Espectro infravermelho (KBr , cm^{-1}) de Sp-8a e 8b .	120

Figura 58. Espectro de RMN ^1H (δ , CD_3OD , 500 MHz) de Sp-8a e 8b .	120
Figura 59. Expansão do espectro de RMN ^1H (δ , CD_3OD , 500 MHz) de Sp-8a e 8b .	121
Figura 60. Espectro de RMN ^{13}C (δ , CD_3OD , 125 MHz) de Sp-8a e 8b .	121
Figura 61. Expansão do espectro de RMN ^{13}C (δ , CD_3OD , 125 MHz) de Sp-8a e 8b .	122
Figura 62. Espectro HMQC (δ , CD_3OD , 500 e 125 MHz) de Sp-8a e 8b .	122
Figura 63. Expansão do espectro HMQC (δ , CD_3OD , 500 e 125 MHz) de Sp-8a e 8b .	123
Figura 64. Espectro HMBC (δ , CD_3OD , 500 e 125 MHz) de Sp-8a e 8b .	123
Figura 65. Expansão do espectro HMBC (δ , CD_3OD , 500 e 125 MHz) de Sp-8a e 8b .	124
Figura 66. Espectro TOF-MS de Sp-8a .	124
Figura 67. Espectro de RMN ^1H (δ , CD_3OD , 500 MHz) de Sp-9 .	128
Figura 68. Expansão do espectro de RMN ^1H (δ , CD_3OD , 500 MHz) de Sp-9 .	128
Figura 69. Expansão do espectro HMQC (δ , CD_3OD , 500 e 125 MHz) de Sp-9 .	129
Figura 70. Expansão do espectro HMQC (δ , CD_3OD , 500 e 125 MHz) de Sp-9 .	129
Figura 71. Espectro HMBC (δ , CD_3OD , 500 e 125 MHz) de Sp-9 .	130
Figura 72. Expansão do espectro HMBC (δ , CD_3OD , 500 e 125 MHz) de Sp-9 .	130
Figura 73. Expansão do espectro HMBC (δ , CD_3OD , 500 e 125 MHz) de Sp-9 .	131
Figura 74. Expansão do espectro NOESY (δ , CD_3OD , 500 MHz) de Sp-9 .	131
Figura 75. Espectro TOF-MS de Sp-9 .	132
Figura 76. Flavonoides sulfatados submetidos ao estudo computacional.	133
Figura 77. Gráfico ROC com área sob uma curva para o teste do modelo <i>Aedes aegypti</i> obtido com “Random Forest”.	134
Figura 78. Ligantes, Sp-7 e sua respectiva interação no sítio ativo da enzima.	136
Figura 79. Comparação entre conformação de ligante e redocking.	138
Figura 80. Adutos de Morita-Baylis-Hillman sintetizados (2a-d).	140
Figura 81. Espectro de RMN ^1H ($\underline{\delta}$, CDCl_3 , 250 MHz) do aduto 2b .	149
Figura 82. Espectro de RMN ^1H ($\underline{\delta}$, MeOD , 500 MHz) do aduto 2b .	142
Figura 83. Expansão do espectro de RMN ^1H ($\underline{\delta}$, MeOD , 500 MHz) do aduto 2b .	142
Figura 84. Espectro de RMN ^{13}C ($\underline{\delta}$, CDCl_3 , 62,5 MHz) do aduto 2b .	143
Figura 85. Mecanismo proposto para a reação de acetilação dos adutos de MBH.	144
Figura 86. Ésteres acetilados sintetizados (5a-d).	145
Figura 87. Mecanismo proposto para a reação de desacetilação dos adutos de MBH.	146

Figura 88. Ésteres sintetizados (6a-d).	146
Figura 89. Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 250 MHz) do éster 6b .	147
Figura 90. Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 62,5 MHz) do éster 6b .	148
Figura 91. Mecanismo proposto para a reação de hidrólise dos ésteres.	149
Figura 92. Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 250 MHz) do ácido 3b .	151
Figura 93. Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 62,5 MHz) do ácido 3b .	151
Figura 94. Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 250 MHz) do ácido 7b .	152
Figura 95. Mecanismo proposto para a reação de formação das amidas.	153
Figura 96. Espectro infravermelho (KBr, cm^{-1}) da amida 4d .	156
Figura 97. Espectro infravermelho (KBr, cm^{-1}) da amida 8c .	156
Figura 98. Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 250 MHz) da amida 8a .	157
Figura 99. Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 62,5 MHz) da amida 8a .	158
Figura 100. Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 250 MHz) da amida 4b .	159
Figura 101. Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 62,5 MHz) da amida 4b .	159
Figura 102. Espectro HMBC (δ , CDCl_3 , 500 e 125 MHz) da amida 4b .	160
Figura 103. Expansão do espectro HMBC (δ , CDCl_3 , 500 e 125 MHz) da amida 4b .	160
Figura 104. Amidas sintetizadas.	161
Figura 105. Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 250 MHz) das amidas 4g .	162
Figura 106. Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 62,5 MHz) das amidas 4g .	163
Figura 107. Substâncias submetidas a estudo de atividade antifúngica.	169

LISTA DE QUADROS

Quadro 01. Eluentes utilizados e frações obtidas na Coluna 1.	45
Quadro 02. Eluentes utilizados e frações obtidas na Coluna 1A.	46
Quadro 03. Eluentes utilizados e frações obtidas na Coluna 1A1.	46
Quadro 04. Eluentes utilizados e frações obtidas na Coluna 2.1A1.	47
Quadro 05. Eluentes utilizados e frações obtidas na Coluna 2.2.	48
Quadro 06. Eluentes utilizados e frações obtidas na Coluna 2.2A.	49
Quadro 07. Eluentes utilizados e frações obtidas na Coluna 2.3.	50
Quadro 08. Eluentes utilizados e frações obtidas na Coluna 2.3D	51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Flavonoides com atividade conhecida para o <i>Aedes aegypti</i> .	53
Tabela 2. Proteínas alvo para o <i>Aedes aegypti</i> .	55
Tabela 3. Dados experimentais das reações de formação dos adutos.	58
Tabela 4. Dados experimentais das reações de formação dos derivados acetilados.	59
Tabela 5. Dados experimentais das reações de formação dos ésteres 6a-d .	60
Tabela 6. Dados experimentais das reações de formação dos ácidos.	62
Tabela 7. Dados experimentais complementares das reações de formação das amidas.	64
Tabela 8. Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C de Sp-1 (δ , CDCl_3 , 500 e 125 MHz) com o modelo Mo-1 (δ , CDCl_3 , 400 e 100 MHz), (BANG <i>et al.</i> , 2002).	72
Tabela 9. Dados de RMN ^1H e ^{13}C de Sp-1 (δ , CDCl_3 , 500 e 125 MHz).	73
Tabela 10. Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C de Sp-2 (δ , CD_3OD , 200 MHz) com o modelo Mo-2 (δ , $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$, 300MHz) (SECA <i>et al.</i> , 2001).	77
Tabela 11. Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C de Sp-3 (δ , CD_3OD , 500 e 125 MHz) com o modelo Mo-2 (δ , CD_3OD , 500 e 125 MHz), (CHAVES <i>et al.</i> ,2013).	80
Tabela 12. Dados espectrais de RMN ^1H e ^{13}C de Sp-3 (δ , CD_3OD , 500 e 125 MHz).	81
Tabela 13. Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C de Sp-4 (δ , CD_3OD , 500 e 125 MHz) com Sp-3 e o modelo Mo-4 (δ , DMSO, 400 e 100 MHz), (TELES <i>et al.</i> , 2015B).	86
Tabela 14. Dados de RMN ^1H e ^{13}C de Sp-4 (δ , CD_3OD , 500 e 125 MHz).	87
Tabela 15. Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C de Sp-5 (δ , CD_3OD , 500 e 125 MHz) com o modelo Mo-5 (δ , DMSO, 400 e 100 MHz), (TELES <i>et al.</i> ,2015B).	91
Tabela 16. Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C de Sp-6 (δ , CD_3OD , 500 e 125 MHz) com o modelo Mo-6 (δ , DMSO, 400 e 100 MHz), (TELES <i>et al.</i> ,2015B).	96
Tabela 17. Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C de Sp-6 (δ , CD_3OD , 500 e 125 MHz) com o modelo Mo-7 (δ , DMSO, 400 e 100 MHz), (TELES <i>et al.</i> ,2015B).	97
Tabela 18. Dados de RMN ^1H e ^{13}C de Sp-6 (δ , CD_3OD , 500 e 125 MHz).	98
Tabela 19. Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C de Sp-7 (δ , CD_3OD , 500 e 125 MHz) com o modelo Mo-8 (δ , DMSO, 400 e 100 MHz), (TELES <i>et al.</i> ,2015B).	106

Tabela 20. Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C de Sp-7 (δ , CD_3OD , 500 e 125 MHz) com o modelo Mo-9 (δ , DMSO, 400 e 100 MHz), (TELES <i>et al.</i> , 2015B).	107
Tabela 21. Dados de RMN ^1H e ^{13}C de Sp-8a e Sp-8b (δ , CD_3OD , 500 e 125 MHz).	113
Tabela 22. Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C de Sp-8a (δ , CD_3OD , 500 e 125 MHz) com o modelo Mo-10 (δ , DMSO, 400 e 100 MHz), (TELES <i>et al.</i> , 2015B).	114
Tabela 23. Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C de Sp-8a (δ , CD_3OD , 500 e 125 MHz) com o modelo Mo-11 (δ , DMSO, 400 e 100 MHz), (TELES <i>et al.</i> , 2015B).	115
Tabela 24. Dados de RMN ^1H e ^{13}C 2D de Sp-8a (δ , CD_3OD , 500 e 125 MHz).	116
Tabela 25. Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C de Sp-8b (δ , CD_3OD , 500 e 125 MHz) com o modelo Mo-8 (δ , DMSO, 400 e 100 MHz), (TELES <i>et al.</i> , 2015B).	117
Tabela 26. Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C de Sp-8b e Sp-7 (δ , CD_3OD , 500 e 125 MHz).	118
Tabela 27. Dados de RMN ^1H e ^{13}C 2D de Sp-8b (δ , CD_3OD , 500 e 125 MHz).	119
Tabela 28. Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C de Sp-9 (δ , CD_3OD , 500 e 125 MHz) com o modelo Mo-9 (δ , DMSO, 400 e 100 MHz), (TELES <i>et al.</i> , 2015B).	126
Tabela 29. Dados de RMN ^1H e ^{13}C de Sp-9 (δ , CD_3OD , 500 e 125 MHz).	127
Tabela 30. Atividade prevista de flavonóides no modelo <i>Aedes aegypti</i> .	136
Tabela 31. Escore de Moldock para o ligante, redocking e flavonóides e a probabilidade de atividade flavonoídica.	136
Tabela 32. Resultados da reação de preparação dos adutos de MBH.	140
Tabela 33. Resultados da reação de formação dos esteres acetilados.	145
Tabela 34. Resultados da reação de formação dos ésteres 6a , 6b , 6c e 6d .	147
Tabela 35. Resultados da reação de formação dos ácidos.	150
Tabela 36. Resultados da reação de formação das amidas.	154
Tabela 37. Resultados do calculo do α^{25}_{D} para as amidas 4b , 4c , 4e e 4f (MeOH, 1g/L).	161
Tabela 38. Resultados da avaliação da Concentração Inibitória Mínima/CIM ($\mu\text{g/mL}$) das substâncias contra cepas fúngicas.	170

LISTA DE ANEXOS

Anexo 01. Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 250 MHz) do aduto 2a .	193
Anexo 02. Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 62,5 MHz) do aduto 2a .	194
Anexo 03. Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 250 MHz) do éster 6a .	195
Anexo 04. Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 62,5 MHz,) do éster 6a .	196
Anexo 05. Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 250 MHz,) do aduto 2b .	197
Anexo 06. Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 62,5 MHz) do aduto 2b .	198
Anexo 07. Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 250 MHz) do éster 6b .	199
Anexo 08. Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 62,5 MHz) do éster 6b .	200
Anexo 09. Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 250 MHz) do aduto 2c .	201
Anexo 10. Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 62,5 MHz) do aduto 2c .	202
Anexo 11. Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 250 MHz) do éster 6c .	203
Anexo 12. Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 62,5 MHz) do éster 6c .	204
Anexo 13. Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 250 MHz) do aduto 2d .	205
Anexo 14. Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 250 MHz) do ácido 3a .	206
Anexo 15. Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 62,5 MHz) do ácido 3a .	207
Anexo 16. Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 250 MHz) do ácido 7a .	208
Anexo 17. Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 62,5 MHz) do ácido 7a .	209
Anexo 18. Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 250 MHz) do ácido 3b .	210
Anexo 19. Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 62,5 MHz) do ácido 3b .	211
Anexo 20. Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 250 MHz) do ácido 7b .	212
Anexo 21. Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 62,5 MHz) do ácido 7b .	213
Anexo 22. Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 250 MHz) do ácido 3c .	214
Anexo 23. Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 62,5 MHz) do ácido 3c .	215
Anexo 24. Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 250 MHz) do ácido 7c .	216
Anexo 25. Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 62,5 MHz) do ácido 7c .	217
Anexo 26. Espectro infravermelho (KBr , cm^{-1}) da amida 4a .	218
Anexo 27. Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 250 MHz,) da amida 4a .	219
Anexo 28. Espectro de RMN ^{13}C (62,5 MHz, CDCl_3) da amida 4a .	220
Anexo 29. Espectro infravermelho (KBr , cm^{-1}) da amida 8a .	221

Anexo 30. Espectro de RMN ¹ H (δ , CDCl ₃ , 250 MHz) da amida 8a .	222
Anexo 31. Espectro de RMN ¹³ C (δ , CDCl ₃ , 62,5 MHz) da amida 8a .	223
Anexo 32. Espectro infravermelho (KBr, cm ⁻¹) da amida 4b .	224
Anexo 33. Espectro de RMN ¹ H (δ , CDCl ₃ , 250 MHz) da amida 4b .	225
Anexo 34. Espectro de RMN ¹³ C (δ , CDCl ₃ , 62,5 MHz) da amida 4b .	226
Anexo 35. Espectro HMBC (δ , CDCl ₃ , 500 MHz e 125 MHz) da amida 4b .	227
Anexo 36. Espectro NOESY (δ , CDCl ₃ , 500 MHz) da amida 4b .	228
Anexo 37. Espectro infravermelho (KBr, cm ⁻¹) da amida 4c .	229
Anexo 38. Espectro de RMN ¹ H (δ , CDCl ₃ , 250 MHz) da amida 4c .	230
Anexo 39. Espectro de RMN ¹³ C (δ , CDCl ₃ , 62,5 MHz) da amida 4c .	231
Anexo 40. Espectro HMBC (δ , CDCl ₃ , 500 MHz e 125 MHz) da amida 4c .	232
Anexo 41. Espectro NOESY (δ , CDCl ₃ , 500 MHz) da amida 4c .	233
Anexo 42. Espectro infravermelho (KBr, cm ⁻¹) da amida 8b .	234
Anexo 43. Espectro de RMN ¹ H (δ , CDCl ₃ , 250 MHz) da amida 8b .	235
Anexo 44. Espectro de RMN ¹³ C (δ , CDCl ₃ , 62,5 MHz) da amida 8b .	236
Anexo 45. Espectro infravermelho (KBr, cm ⁻¹) da amida 4d .	237
Anexo 46. Espectro de RMN ¹ H (δ , CDCl ₃ , 250 MHz) da amida 4d .	238
Anexo 47. Espectro de RMN ¹³ C (δ , CDCl ₃ , 62,5 MHz) da amida 4d .	239
Anexo 48. Espectro infravermelho (KBr, cm ⁻¹) da amida 8c .	240
Anexo 49. Espectro de RMN ¹ H (δ , CDCl ₃ , 250 MHz) da amida 8c .	241
Anexo 50. Espectro de RMN ¹³ C (δ , CDCl ₃ , 62,5 MHz) da amida 8c .	242
Anexo 51. Espectro infravermelho (KBr, cm ⁻¹) da amida 4e .	243
Anexo 52. Espectro de RMN ¹ H (δ , CDCl ₃ , 250 MHz) da amida 4e .	244
Anexo 53. Espectro de RMN ¹³ C (δ , CDCl ₃ , 62,5 MHz) da amida 4e .	245
Anexo 54. Espectro infravermelho (KBr, cm ⁻¹) da amida 4f .	246
Anexo 55. Espectro de RMN ¹ H (δ , CDCl ₃ , 250 MHz) da amida 4f .	247
Anexo 56. Espectro de RMN ¹³ C (δ , CDCl ₃ , 62,5 MHz) da amida 4f .	248
Anexo 57. Espectro infravermelho (KBr, cm ⁻¹) da amida 8d .	249
Anexo 58. Espectro de RMN ¹ H (δ , CDCl ₃ , 250 MHz) da amida 8d .	250
Anexo 59. Espectro de RMN ¹³ C (δ , CDCl ₃ , 62,5 MHz) da amida 8d .	251
Anexo 60. Espectro infravermelho (KBr, cm ⁻¹) das amidas 4g .	252
Anexo 61. Espectro de RMN ¹ H (δ , CDCl ₃ , 250 MHz) das amidas 4g .	253
Anexo 62. Espectro de RMN ¹³ C (δ , CDCl ₃ , 62,5 MHz) das amidas 4g .	254

Anexo 63. Espectro infravermelho (KBr, cm^{-1}) da amida 8e .	255
Anexo 64. Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 250 MHz) da amida 8e .	256
Anexo 65. Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 62,5 MHz) da amida 8e .	257
Anexo 66. Espectro infravermelho (KBr, cm^{-1}) da amida 4h .	258
Anexo 67. Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 250 MHz) da amida 4h .	259
Anexo 68. Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 62,5 MHz) da amida 4h .	260
Anexo 69. Espectro infravermelho (KBr, cm^{-1}) da amida 8f .	261
Anexo 70. Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 250 MHz) da amida 8f .	262
Anexo 71. Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 62,5 MHz) da amida 8f .	263
Anexo 72. Espectro infravermelho (KBr, cm^{-1}) da amida 8g .	264
Anexo 73. Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 250 MHz,) da amida 8g .	265
Anexo 74. Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 62,5 MHz) da amida 8g .	266
Anexo 75. Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) da amida 4i .	267
Anexo 76. Espectro HMBC (δ , CDCl_3 , 500 MHz e 125 MHz) da amida 4i .	268
Anexo 77. Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 500 MHz) da amida 4j .	269
Anexo 78. Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) da amida 4j .	270
Anexo 79. Espectro HMBC (δ , CDCl_3 , 500 MHz e 125 MHz) da amida 4j .	271
Anexo 80. Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 500 MHz) da amida 4l .	272
Anexo 81. Espectro HMBC (δ , CDCl_3 , 500 MHz e 125 MHz) da amida 4l .	273
Anexo 82. Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 500 MHz) da amida 4m .	274
Anexo 83. Espectro HMBC (δ , CDCl_3 , 500 MHz e 125 MHz) da amida 4m .	275
Anexo 84. Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 500 MHz) da amida 8h .	276
Anexo 85. Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 125 MHz) da amida 8h .	277
Anexo 86. Espectro HMBC (δ , CDCl_3 , 500 MHz e 125 MHz) da amida 8h .	278

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E FÓRMULAS.

AcOEt: Acetato de etila

ASD: Agar Sabouraud Dextrose

BOP: Benzotriazol-1-il-oxi-tris-(dimetilamino)-fosfonium hexafluorofosfato

CCDA: Cromatografia em Camada Delgada Analítica

CIM: Concentração Inibitória Mínima

CHCl₃: Clorofórmio

CH₂Cl₂: Diclorometano

CDCl₃: Clorofórmio deuterado

CD₃OD: Metanol deuterado

COSY: Correlation Spectroscopy

d: Duplete

DABCO: 1,4-diazabicyclo[2.2.2]octano

dd: Duplo duplete

DMF: Dimetilformamida

DMPA: Dimetilaminopiridina

dq: Duplo quarteto

EEB: Extrato Etanólico Bruto

Et₃N: trietilamina

EtOH: Etanol

HMBC: Heteronuclear Multiple Bond Correlation

HMQC: Heteronuclear Multiple Quantum Correlation

Hz: Hertz

IV: Infravermelho

J: Constante de acoplamento

KBr: Brometo de Potássio

m: *meta*

m: Multiplete

MBH: Morita-Baylis-Hillman

MeOH: Metanol

n-BuOH: n-butanol

NOESY: Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy

o: *orto*

p: *para*

q: quarteto

q.s.p: quantidade suficiente para

QSAR: Quantitative structure–activity relationship

RMN¹H: Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

RMN¹³C: Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13

RPMI: Roswell Park Memorial Institute

s: Simpleto

t: Tripleto

TOF-MS: Time-of-flight mass spectrometry

UFC: Unidade de Formação de Colônias

WEKA: Waikato Environment for Knowledge Analysis

δ : Deslocamento químico em ppm

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	25
2 OBJETIVOS	27
2.1 Objetivos Gerais	27
2.2 Objetivos Específicos	27
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	28
3.1 Considerações sobre a família Malvaceae	28
3.1.1 Aspectos gerais e distribuição	28
3.1.2 Aspectos quimiotaxonômicos da família Malvaceae	29
3.2 Considerações sobre o gênero <i>Sidastrum</i> e a espécie <i>Sidastrum paniculatum</i> .	30
3.3 Considerações sobre a síntese de Amidas	32
3.3.1. Síntese de amidas e a sua importância no desenvolvimento de fármacos	32
3.3.2 Considerações sobre a Reação de Morita-Baylis-Hilman	34
3.3.3 Síntese de amidas a partir de agentes acopladores (BOP)	37
4 EXPERIMENTAL	39
4.1. Caracterização estrutural dos constituintes químicos	39
4.1.2. Infravermelho	39
4.1.3. Ressonância magnética nuclear	39
4.1.4. Espectrometria de massa	39
4.1.5. Polarimetria	39
4.2 Estudo Fitoquímico	40
4.2.1 Procedimentos gerais	40
4.2.1.1 Coleta do material botânico	40
4.2.1.2 Processamento do material botânico	40
4.2.1.3 Obtenção do extrato etanólico bruto (EEB) das partes aéreas de <i>Sidastrum paniculatum</i>	40
4.2.2 Isolamento e purificação dos constituintes químicos das fases clorofórmica, n-butanólica e hidroalcolica do EEB das partes aéreas de <i>Sidastrum paniculatum</i> .	41
4.2.2.1 Procedimentos cromatográficos	41

4.2.2.2 Processamento cromatográfico da fase clorofórmica do EEB das partes aéreas de <i>S. paniculatum</i> .	41
4.2.2.3 Processamento cromatográfico da fase n-butanólica do EEB das partes aéreas de <i>S. paniculatum</i> .	42
4.2.2.3.1 Processamento cromatográfico da fração acetona da fase n-butanólica do EEB das partes aéreas de <i>S. paniculatum</i> .	42
4.2.2.3.2 Processamento cromatográfico da fração metanol da fase n-butanólica do EEB das partes aéreas de <i>S. paniculatum</i> .	42
4.2.2.3.3. Processamento cromatográfico da fração H ₂ O:MeOH (1:1) da fase n-butanólica do EEB das partes aéreas de <i>S. paniculatum</i> .	43
4.2.2.4 Processamento cromatográfico da fase hidroalcoolica do EEB das partes aéreas de <i>S. paniculatum</i> .	43
4.2.2.4.1 Processamento cromatográfico da fração metanol da fase hidroalcoolica do EEB das partes aéreas de <i>S. paniculatum</i> .	43
4.3 Estudo computacional com flavonoides sulfatados	52
4.3.1 Conjunto de dados.	52
4.3.2 Modelo de Previsão	53
4.3.3 Acoplamento Molecular (<i>Docking</i>)	54
4.4 Síntese	56
4.4.1 Procedimentos gerais	56
4.4.2 Procedimentos cromatográficos	56
4.4.3 Preparação das Amidas	57
4.4.3.1 Formação dos ésteres cinâmicos – Reação de MBH (2a-d)	58
4.4.3.2 Preparação dos derivados acetilados de MBH (5a-d)	59
4.4.3.3 Redução dos derivados acetilados (6a-d)	60
4.4.3.4 Formação dos ácidos análogos ao ácido cinâmico (3a-d) e (7a-d)	61
4.4.3.5 Formação das amidas (4a-m) e (8a-h)	63
4.5. Estudo da Atividade Antifúngica	67
4.5.1 Preparação das substâncias	68
4.5.2 Meios de cultura	68
4.5.3 Micro-organismos	68
4.5.4 Inóculo	69

4.5.5 Concentração Inibitória Mínima (CIM)	69
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	70
5.1 Estudo Fitoquímico	70
5.1.1 Identificação estrutural de Sp-1 .	71
5.1.2 Identificação estrutural de Sp-2 .	76
5.1.3 Identificação estrutural de Sp-3 .	79
5.1.4 Identificação estrutural de Sp-4 .	85
5.1.5 Identificação estrutural de Sp-5 .	90
5.1.7 Identificação estrutural de Sp-6 .	94
5.1.8 Identificação estrutural de Sp-7 .	105
5.1.9 Identificação estrutural de Sp-8 .	111
5.1.10 Identificação estrutural de Sp-9 .	125
5.2 Estudo computacional com flavonóides sulfatados	133
5.2.1 Modelo de previsão	133
5.2.2 Acoplamento Molecular (<i>Docking</i>)	135
5.3 Síntese	140
5.3.1 Formação dos ésteres cinâmicos – Reação de MBH	140
5.3.2 Preparação dos derivados acetilados de MBH	144
5.3.3 Formação dos ácidos análogos ao ácido cinâmico	149
5.3.4 Formação das amidas cinâmicas	153
5.4. Estudo da Atividade Antifúngica	168
6. CONCLUSÕES	171
7. PERSPECTIVAS	173
NOTA DE AGRADECIMENTO	173
REFERÊNCIAS	174
ANEXOS	293

1 INTRODUÇÃO

A Química de produtos naturais é a subárea mais antiga da química orgânica (TORSSELL, 1983), tem parte de seus aspectos formais estabelecidos desde os tempos da alquimia, fato este que permite seu reconhecimento e consolidação. Diversas abordagens são empregadas na pesquisa em Química de produtos naturais devido a sua extensão e longa história de desenvolvimento que caracterizam esta ciência de ampla interdisciplinaridade (BERLINCK *et al.*, 2017). Newman e Cragg (2016) indicam que a maioria dos medicamentos atualmente utilizados são produtos naturais ou seus derivados. Destarte, os estudos nesta área são considerados estratégicos por envolver o conhecimento da biodiversidade num sentido amplo, além de fornecer fontes renováveis de substâncias com importância nas diversas áreas da ciência e tecnologia (ZAMBON, 2017).

De forma geral a natureza tem produzido a maioria das substâncias orgânicas conhecidas. No entanto, as plantas atuam como verdadeiros laboratórios naturais e garantem o fornecimento de substâncias úteis ao tratamento de doenças que acometem os seres humanos (BRUNING *et al.*, 2012). A variedade e complexidade de metabólitos especiais biossintetizados pelas plantas são formados e evoluíram como mecanismo de defesa desses vegetais às condições de adaptação e regulação ambientais ricas em microrganismos, insetos e animais que atuam como seus verdadeiros predadores (VEASEY *et al.*, 2011).

Inicialmente, os químicos estudavam plantas consagradas pelo uso popular, geralmente incorporadas às farmacopeias, limitando-se ao isolamento e à determinação estrutural de substâncias ativas (YUNES *et al.*, 2001). Dada a importância das plantas para a cura de males, a Química e a Medicina passaram a ter uma estreita relação, o que permitiu um rápido desenvolvimento de seus campos específicos (YUNES *et al.*, 2001). Assim sendo os metabólitos secundários produzidos pelas plantas possuem um importante papel para a descoberta de novas drogas, pois estes produtos naturais evoluíram ao longo do tempo para interagir com diversos alvos biológicos e representam um dos mais importantes agentes terapêuticos no tratamento de doenças (PEREIRA & CARDOSO, 2012) (VEIGA Jr. *et al.*, 2002) (VEIGA Jr. *et al.*, 2005).

Com relação aos metabólitos isolados de plantas da família Malvaceae, é relatado na literatura diversas atividades biológicas e/ou farmacológicas destes compostos, como por exemplo: atividade larvicida contra *A. aegypti* (FURTADO *et al.*, 2005), antioxidante (TRIANIS *et al.*, 2005, SILVA *et al.*, 2006) gastroprotetora (NAVARRETE *et al.*, 2002), leishmanicida (TELES *et al.*, 2015), anticancerígena (AWAD *et al.*, 2005, TELES *et al.*,

2015A), antiinflamatório (SARTORI *et al.*, 2003, MENDES, 2001, TELES *et al.*, 2015B, GUEDES *et al.*, 2016, LIMA *et al.*, 2016), antibacteriana (NAZ *et al.*, 2005, TELES *et al.*, 2014), vasorelaxante (CHAVES *et al.*, 2013, CHAVES *et al.*, 2017), antimicrobiana (GOMES *et al.*, 2015). Desta forma, é possível observar a potencialidade dos constituintes químicos provenientes desta família.

Estas pesquisas despertam o interesse de pesquisadores em estudos envolvendo áreas multidisciplinares, como Botânica, Química e Farmacologia. Esse interesse vislumbra a descoberta de substâncias mais ativas e menos tóxicas e envolvem para tanto investigações da medicina tradicional e popular (Etnobotânica); isolamento, purificação e caracterização de princípios ativos (Fitoquímica); investigação farmacológica de extratos e dos constituintes químicos isolados (Farmacologia); transformações químicas de princípios ativos (Química Orgânica sintética); estudo da relação estrutura/atividade e dos mecanismos de ação dos princípios ativos (Química medicinal e farmacológica) e finalmente a operação de formulações para a produção de fitoterápicos (Farmacotecnia).

A obtenção sintética de produtos naturais para a produção de fármacos, apresenta-se como uma importante etapa da química orgânica, uma vez que permite a construção de moléculas, em seus diversos níveis de complexidade. Para tanto, a metodologia utilizada na síntese precisa ser capaz de viabilizar o acesso, com maior rendimento químico possível e na escala adequada de menor custo (PEREIRA & CARDOSO, 2012).

Tendo em vista o acesso sustentável e confiável a isolados naturais ativos a síntese de produtos naturais pode desmistificar novas áreas da biologia e fornecer candidatos promissores para a descoberta de medicamentos (KUTTRUFF *et al.*, 2014). Em muitos casos tais buscas podem servir como o único meio de identificação estrutural (NICOLAOU & SNYDER, 2005) (BARAN, 2018)

Os objetivos da sustentabilidade e conscientização ambiental na ciência estão subjacente aos preceitos da química moderna, em síntese não é diferente, esta segue movendo-se em direção a simplificar a maneira como as moléculas podem ser feitas (MULZER, 2014) (MILLER, 2016)

Tomando como princípios básicos estes fatos, realizou-se o estudo fitoquímico das frações polares do extrato etanólico bruto das partes aéreas da espécie *Sidastrum paniculatum*, assim como foram sintetizadas amidas, tendo como base para o desenvolvimento de novos fármacos a cinamida isolada de *S. paniculatum* (CAVALCANTE *et al.*, 2010) e a tangemanitina isolada de *W. periplocifolia* (TELES *et al.*, 2015C).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivos Gerais

Contribuir para o fortalecimento dos conhecimentos quimiotaxonômicos da família Malvaceae através do estudo fitoquímico da fração polar do extrato etanólico bruto das partes aéreas da espécie *Sidastrum paniculatum* (L.) FRYXELL, e sintetizar amidas, tomando como protótipo aquelas isoladas de espécies de Malvaceae.

2.2 Objetivos Específicos

- Isolar, purificar e caracterizar estruturalmente substâncias polares da espécie *Sidastrum paniculatum*, através dos métodos cromatográficos e espectroscópicos;
- Sintetizar amidas, a partir da reação de MBH, tendo como base as cinamidas isoladas de espécies de Malvaceae;
- Realizar estudos de modelagem molecular (*docking* e QSAR) com proteínas-alvo do mosquito *Aedes aegypti* utilizando os flavonóides sulfatos isolados da espécie *Sidastrum paniculatum*;
- Avaliar a atividade antifúngica de compostos sintetizados.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Considerações sobre a família Malvaceae

3.1.1 Aspectos gerais e distribuição

Malvaceae é uma família de angiospermas pertencente à ordem Malvales e classe Magnoliopsida. Esta família possui composta por mais de 250 gêneros que reúnem cerca de 4300 espécies (BERRY, 2016) que habitam regiões tropicais, sendo também possível encontrar alguns espécimes em regiões temperadas, não sendo comum encontra-los nas regiões mais frias (ALMEIDA, 2016).

Estima-se que são encontradas no Brasil entre 45.000 e 60.000 espécies de plantas vasculares, ou seja, de 15 a 20% de toda a flora mundial, onde mais de 97% destas se refere às angiospermas (LIMA *et al.*, 2012). Com relação à família Malvaceae o Brasil apresenta-se com 70 gêneros sendo 9 endêmicos e 765 espécies das quais 406 são endêmicas, com distribuição geográfica por todo seu território (BOVINI *et al.*, 2015). Dentre os gêneros com maior representação nesta família estão *Hibiscus*, *Sida*, *Pavonia*, *Abutilon*, *Nototriche*, *Cristaria* e *Gossypium* (GOMES *et al.*, 2011).

As Malváceas são predominantemente herbáceas, podendo se apresentar na forma de arbustos ou árvores com canais mucilaginosos e indumento constituído, normalmente de pêlos ramificados ou escamosos. Suas flores caracterizam-se, principalmente, por apresentarem filetes parciais a totalmente concrecidos em tubo estaminal com anteras monotecas e biesporângiadas (FRYXELL, 1997).

Na medicina popular suas espécies são utilizadas para a cura de vários males, por exemplo a *Sida acuta* empregada para neutralizar o veneno da serpente *Bothrops atrox* e atividade antimalaria em *Plasmodium falciparum* (OTERO *et al.*, 2000) em laboratório, e investigada *in vitro* em *Plasmodium falciparum* (KAROU *et al.* 2003), respectivamente. A *Sida cordifolia*, conhecida como malva branca, é usada na medicina popular para tratamento de estomatites, bronquite asmática e congestão nasal. Os efeitos antiinflamatório e analgésico foram investigados para o extrato aquoso desta planta, mostrando-se bastante significativo, comprovando sua utilização popular (NUNES *et al.*, 2006)

A *Sida rhomboidea* Roxb é uma erva encontrada em pântanos da Índia, cujas raízes e folhas são usadas como tônico, para cura de febres, doenças do coração e todos os tipos de

inflamação. Estudos farmacológicos utilizando extratos desta planta indicaram sua atividade antinociceptiva e antiinflamatória (THOUNAOJAM *et al.*, 2011)). O extrato das suas folhas Roxb também é usado pela população do nordeste da Índia para aliviar os sintomas de diabetes, obesidade e hipertensão. Estudos científicos comprovaram suas propriedades hipolipidêmicas e anti-diabéticas (THOUNAOJAM *et al.*, 2009, 2010 e 2011). Sua atividade antihipertensiva fortalecida por estudos realizados recentemente com substâncias isoladas do extrato etanólico das suas partes aéreas que comprovaram sua ação vasorelaxante (CHAVES *et al.*, 2013; CHAVES *et al* 2017).

3.1.2 Aspectos quimiotaxonômicos da família Malvaceae

Embora bastante diversificada a quimiotaxonomia da família Malvaceae apresenta alguns grupos de constituintes químicos que são muito característicos, como os ácidos graxos, terpenoides e flavonoides. Os ácidos graxos cujas estruturas envolvem duplas e triplas ligações conjugadas com carbonilas são importantes marcadores quimiotaxonômicos para suas espécies (GOMES *et al.*, 2011) e os éteres metílicos com enonas conjugadas, configurando a variabilidade estrutural dos ácidos graxos na família (CABRAL *et al.*, 2014).

Entre as classes constituintes isolados de espécies da família Malvaceae estão: ácidos graxos (WOLDEYES *et al.*, 2012, TELES *et al.*, 2015A, TELES *et al.*, 2014, GOMES *et al.*, 2015, CHAVES *et al.*, 2013; CAVALCANTE *et al.*, 2010; CHAVES *et al.*, 2013; DAS *et al.*, 2014), ácidos fenólicos (LOPES *et al.*, 2014, GOMES *et al.*, 2011), flavonoides (GOMES *et al.*, 2011; CHAVES *et al.*, 2013; TELES *et al.*, 2014; CHAVES *et al.*, 2017; SINGH & SINGH, 2016; TELES *et al.* 2015A; TELES *et al.*, 2015B), flavonoides sulfatados (TELES *et al.*, 2015B), Glicosídeos flavonoídicos (CHAVES *et al.*, 2017; SINGH & SINGH, 2016; LIAO *et al.*, 2012; TELES *et al.*, 2015B; GOMES *et al.*, 2011), terpenoides (CHAVES *et al.*, 2013; TELES *et al.*, 2015A; LOPES *et al.*, 2014; TELES *et al.*, 2014; CHAVES *et al.*, 2017), cumarinas (CHAVES *et al.*, 2017) e amidas (CAVALCANTE *et al.*, 2010; TELES *et al.*, 2015C).

O isolamento de flavonoides sulfatados em espécies de Malvaceae está descrito na literatura a exemplo de *Wissadula periplocifolia* (TELES *et al.*, 2015B), que relata a identificação de cinco flavonoides sulfatos inéditos. Estudos farmacológicos descrevem as atividades anticoagulante, antiplaquetária, efeitos antiinflamatórios, imunomodulatórios e antitumorais destes compostos (CORREIA-DA-SILVA *et al.*, 2014; GUNNARSSON & DESAI, 2002, KU *et al.*, 2013; LIU & LIANG, 2000).

Os efeitos antimicrobianos dos flavonóides sulfatados também foram investigados, a exemplo do 7,3'-dimetil éter- 3-sulfato quercetina e do 7-metil éter 3-sulfato camferol, isolados de *Argyreia speciose*, que apresentaram CIM de 25,00 µg/mL contra *Mycobacterium tuberculosis*, mostrando um efeito sinérgico com isoniazida e rifampicina (HABBU *et al.*, 2009). O 3'-sulfato miricetina apresentou atividade significativa contra o *Trypanosoma brucei* com um valor de IC₅₀ de 8,52 µg/mL (GADETSKAYA *et al.*, 2015). Estudos com o extrato etanólico bruto de *Helicteres velutina*, onde foi relatado o isolamento de 7,4'-di-O-metil-8-O-sulfato flavona, 5,4'-di-hidroxi-7-metoxi-8-O-sulfato flavona e 5,3'-di-hidroxi-7,4'-metoxi-8-O-sulfato flavona, apresentaram atividade larvicida contra larvas de *Aedes aegypti*, um inseto vetor de doenças virais severas, como dengue, zika e chicungunha (FERNANDES *et al.*, 2018).

Com relação as amidas, a literatura relata o isolamento de apenas duas em espécies de Malvaceae, a Tangemanetina (Figura 01, pág. 30) isolada de *Wissadula periplocifolia* (L.) (TELES *et al.*, 2015C) e a N-trans-feruloiltiramina (Figura 01, pág. 30) da espécie *Sidastrum paniculatum* (CAVALCANTE *et al.*, 2010). Há poucos estudos farmacológicos descritos na literatura sobre estas amidas. Em relação a N-trans-feruloiltiramina AMARO *et al.* (2014) citam as atividades hipoglicêmica e hipotensiva enquanto PARK (2009) relata a supressão da ativação plaquetária. Sobre a Tangemametina há relatos de efeito citotóxico contra três diferentes linhas celulares tumorais: fígado (Huh-7), mama (MCF-7) e próstata (PC-3) (NAWWAR *et al.*, 2013).

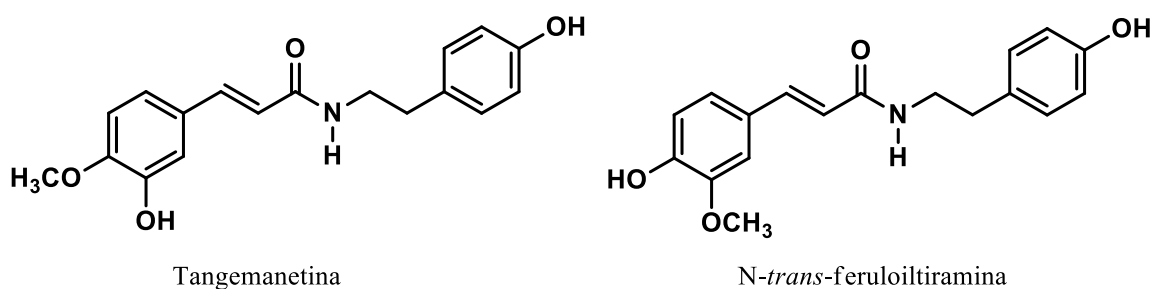


Figura 01. Amidas isoladas de espécies de Malvaceae.

3.2 Considerações sobre o gênero *Sidastrum* e a espécie *Sidastrum paniculatum*

Sidastrum é um gênero da família Malvaceae que foi ampliado por Fryxell e atualmente inclui sete espécies: *Sidastrum lodiegense* (Baker f.) Fryxell, *Sidastrum micranthum* (A.St.-Hil.) Fryxell, *Sidastrum multiflorum* (Jacq.) Fryxell, *Sidastrum paniculatum* (L.) Fryxell,

Sidastrum quinquenervium (Duchass. ex Triana & Planch.) Baker f., *Sidastrum strictum* (Standl.) Fryxell, *Sidastrum tehuacanum* (Brandegge) Fryxell (THE PLANT LIST, 2013).

Estas espécies estão distribuídas nos trópicos, principalmente nas Américas e podem ser reconhecidas por suas flores que apresentam cálices reduzidos e carpídios curto-aristados levemente reticulados ou ornamentados (FRYXELL, 1978). No Brasil a ocorrência dessas espécies é confirmada nas regiões centro-oeste (Goiás, Mato Grosso do Sul e Mato Grosso), sudeste (Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo), sul (Paraná) e nordeste (Bahia, Ceará, Maranhão, Piauí, Pernambuco e Paraíba), apresentando-se nos seguintes domínios fitogeográficos: amazônia, caatinga, cerrado, mata atlântica e pantanal (BOVINI, 2015).

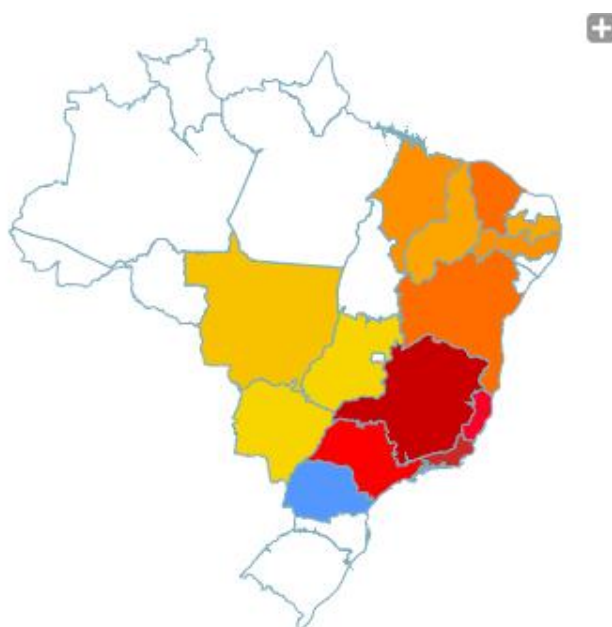


Figura 02. Distribuição geográfica do gênero *Sidastrum*.

Fonte: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB9246>

Data de consulta: 20 de novembro de 2017.

As primeiras investigações fitoquímicas de espécies pertencentes ao gênero *Sidastrum* foram publicadas recentemente. Estudos anteriores com *S. paniculatum*, relata o isolamento de onze substâncias, sendo elas: uma mistura de sitosterol/estigmasterol, ácido-*m*-metoxi-*p*-hidroxi-benzoico, *m*-metoxi-*p*-hidroxi-benzaldeído, a cinamida *N-trans*-feruloiltiramina (Figura 01), o canferol-3-*O*- β -D-(6''-*E*-*p*-coumaroil) glicosídeo (tilirosídeo), a mistura de esteroides apresentou atividade antiinflamatória satisfatória (CAVALCANTE *et al.*, 2010).

Ácido canárico, lupenona, feofitina a, 13² (S)-hidroxi-17³-etoxifeoforbídeo e 13²-hidroxi-(13²-S)-feofitina a. A feofitina a, o 13² (S)-hidroxi-17³-etoxifeoforbídeo e a 13²-hidroxi-(13²-S)-feofitina a, apresentaram atividade antileishmanicida em formas promastigotas de *Leishmania braziliensi* (TELES *et al.* 2015).

Da espécie *Sidastrum micranthum* foram isolados e identificados a quercetina, o ácido salicílico, a feofitina A e a 13²-hidroxi-feofitina A (GOMES *et al.*, 2011).

A espécie *S. paniculatum* conhecida popularmente como malva-roxa ou malvavisco é um arbusto perene, ramificado, com altura variando entre 0,3 e 1 metro, heliófilo e higrófilo, ocorrendo desde altitudes ao nível do mar até aproximadamente 300 metros. Seus caules e ramos são cilíndricos, esverdeados ou arroxeados, glabros, glabrescentes ou pilosos e levemente rugosos (BARACHO, 1995) e pode ser reconhecida por suas inflorescências que formam densas panículas em geral amplamente difusas. Apresentam corola roxa, diminuta e fortemente reflexa com 5 pétalas formando um conjunto que permite distingui-la das demais espécies.

Suas flores são andrógenas, o androceu é formado por 12-14 estames; formando uma coluna estaminal roxa; as anteras são transversais, amarelas, basifixas. O gineceu se caracteriza por ovário súpero e 5 estigmas. Seu fruto é esquizocarpo e suas sementes são castanhas, com cerca de 2 cm e apresenta endosperma amarelado. (BARACHO, 1995).

3.3 Considerações sobre a síntese de Amidas

3.3.1. Síntese de amidas e a sua importância no desenvolvimento de fármacos

As amidas são substâncias orgânicas derivadas de ácidos carboxílicos pela substituição da hidroxila (–OH) pelo grupamento amino (–NH₂). Semelhante as aminas que são classificadas em primárias, secundárias e terciárias de acordo com o número de substituintes do hidrogênio do grupamento amino, as amidas recebem a classificação mono ou dissustituídas (USBERCO, 2006).

As amidas são compostos de caráter básico e polar, características que geralmente as tornam solúveis em água porque realizam ligações hidrogênio. Estas ligações influenciam nas propriedades físicas desses compostos, sendo as primárias caracterizadas por apresentar pontos de fusão e ebulição mais altos, o que, em alguns casos, resulta num composto sólido a temperatura ambiente, uma vez que suas interações moleculares se tornam mais fortes devido a essas ligações. Por outro lado, amidas terciárias não formam ligações de hidrogênio e,

portanto, tem pontos de fusão e ebulição baixos (ATKINS, 2012) (VALEUR & BRADLEY 2009).

As amidas são uma classe importante de compostos orgânicos encontrada em abundância na natureza como em proteínas, em polímeros biológicos e sintéticos (KUNG *et al.*, 2010) (MACIEL, 2016)(CAVALCANTE, 2010) (GLOMB & PFAHLER, 2001). Fundamentado nestes dados muitos métodos são descritos na literatura para sintetizá-las, como: reações de aminas com os haletos de acila **(a)**, com anidridos **(b)**, com ésteres **(c)**, com monóxidos de alcenos **(d)**, com cetonas (reação de Schmidt) **(e)**, rearranjo de aldoximas (KIM *et al.*, 2009) **(f)** e hidrólise de nitrilas **(g)**. (Figura 03) (WU *et al.*, 2014).

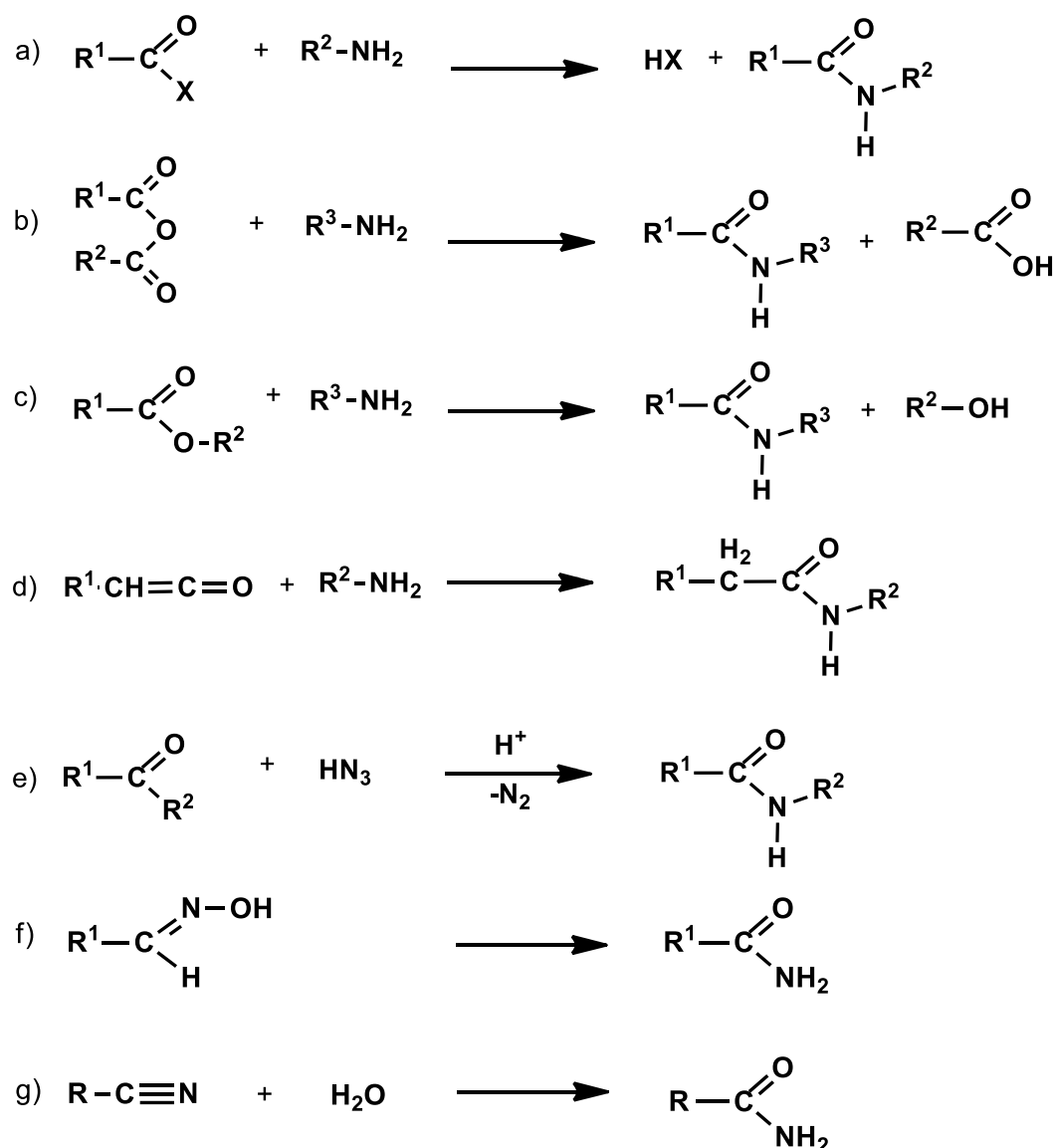


Figura 03. Métodos usados na síntese de amidas.

A função amida não está limitada a sistemas biológicos, mas também em uma variedade de moléculas sintéticas, incluindo medicamentos comercializados. Suas aplicações se estendem de forma centralizada na fabricação de produtos farmacológicos, uma vez que este grupo permite a obtenção de substâncias curativas. Por exemplo, os antibióticos β -lactâmicos que são uma classe ampla de antibióticos, que inclui a penicilina e seus derivados (Figura 04).

Estudos recentes realizados com cinamidas e amidas benzóicas sintetizadas (Figura 05) demonstraram seu potencial antimicrobiana, através das suas atividades antifúngica e antibacteriana (MONTES *et al.*, 2016A; MONTES *et al.* 2016B).

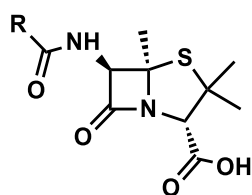


Figura 04. Centro estrutural das penicilinas.

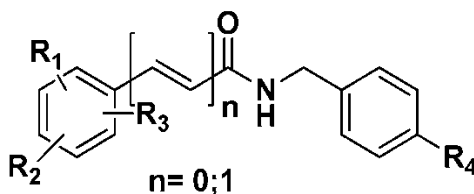


Figura 05. Esqueleto estrutural de amidas sintetizadas com substituintes R₁, R₂ e R₃ = H, Cl, OH, CH₃, OMe, NO₂, *tert*-Bu ou C₆H₅, e R₄ = F, Cl ou Br (MONTES *et al.*, 2016A).

3.3.2 Considerações sobre a Reação de Morita-Baylis-Hilman

A síntese de análogos de produtos naturais e substâncias bioativas pode ser realizada a partir de adutos de Morita-Baylis-Hillman (MBH) que tem se mostrado eficiente no que se refere à preparação de várias moléculas comercialmente úteis, de maneira simples e versátil (COELHO & ALMEIDA, 2000).

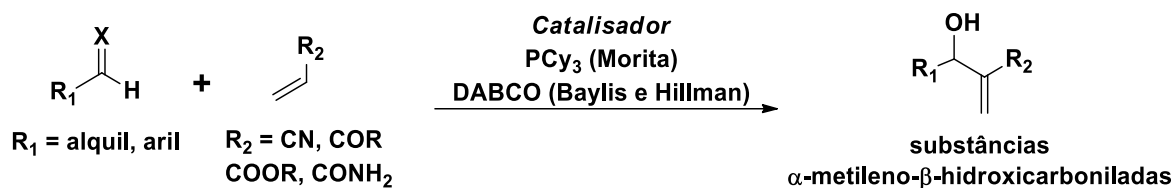


Figura 06. Reação de Morita-Baylis-Hillman.

A reação de MBH pode em alguns aspectos ser semelhante a algumas metodologias para obtenção de substâncias β -hidroxycarboniladas. No entanto, esta reação apresenta grande potencial por apresentar características fundamentais para a eficiência de um método sintético, como ser regio e quimiosseletiva, além de ser econômica e atuar em condições reacionais brandas providenciando moléculas polifuncionalizadas, através de sucessivas interconversões de grupos funcionais, podendo, desta forma, permitir o acesso a importantes intermediários sintéticos (COELHO & ALMEIDA, 2000).

Envolvendo uma economia de átomos onde todos os átomos presentes nos reagentes de partida estão incorporados no produto, a reação de MBH se apresenta como muito útil e versátil, pois combina reações de aldol e Michael em um único passo, fornecendo um metileno hidroxycarbonilo ou metileno aminocarbonilo organocatalisado (CARRASCO-SANCHEZ *et al.*, 2009). Estes compostos são de construção multifuncional, sendo utilizados blocos na síntese de produtos naturais e compostos farmacêuticos relevantes para a saúde (DAS *et al.*, 2006) (AMARANTE *et al.*, 2008) (WASNAIRE *et al.*, 2006).

O mecanismo da reação de MBH (Figura 07, pág. 36) foi inicialmente proposto por Hill e Isaacs (1990) e refinado por outros (DENMARK & GREGORY, 2008) (MARKO *et al.*, 1997). Este mecanismo envolvem quatro passos, consistindo de uma sequência de adição de Michael, reação de aldol e eliminação. O primeiro passo envolve a adição de Michael de uma base de Lewis como catalisador ao sistema carbonilo α , β -insaturado do composto 2 (Figura 07, pág. 36). Esta reação produz o intermediário zwitteriôn (composto 3) que aumenta a reatividade nucleofílica em C-2 através da ação do nucleófilo no C-1. O aldeído (composto 4) reage com este intermediário (passo II), levando a formação do intermediário dipolar (composto 5), que após rearranjo prototrópico, forma o intermediário 6 (passo III). Este intermediário sofre eliminação (passo IV) na presença de uma base de Lewis para produzir o aduto de Morita-Baylis-Hillman (composto 7) (Figura 07, pág.36).

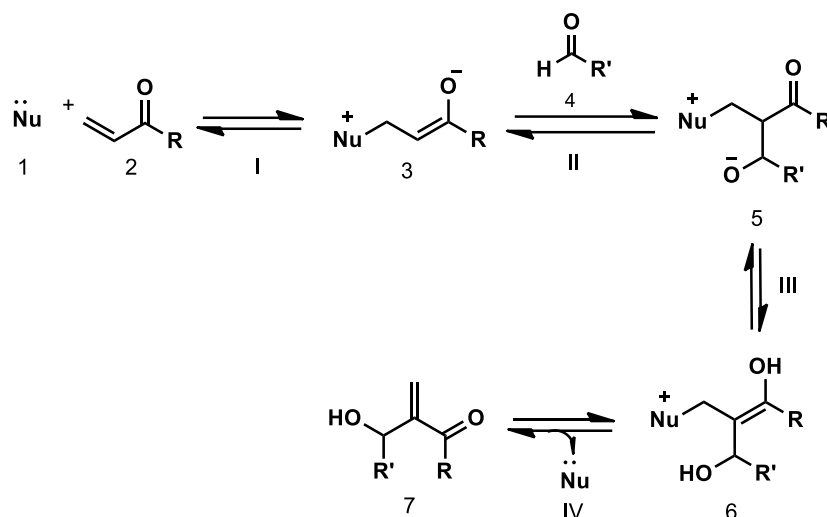


Figura 07. Mecanismo inicialmente proposto para a reação de MBH (HILL & ISAACS, 1990) (DENMARK & GREGORY, 2008) (MARKO *et al.*, 1997).

Análises recentes deste mecanismo propõem outros intermediários dentro do mecanismo da reação. McQuade (PRICE *et al.* 2005) propôs um novo mecanismo envolvendo um intermediário hemiacetal, conforme descrito na figura 08, e Aggarwal propôs que o aduto MBH pode atuar como um doador de prótons e, portanto, auxilia o passo de eliminação através de um intermediário de seis membros (Figura 08) (AGGARWAL *et al.*, 2005).

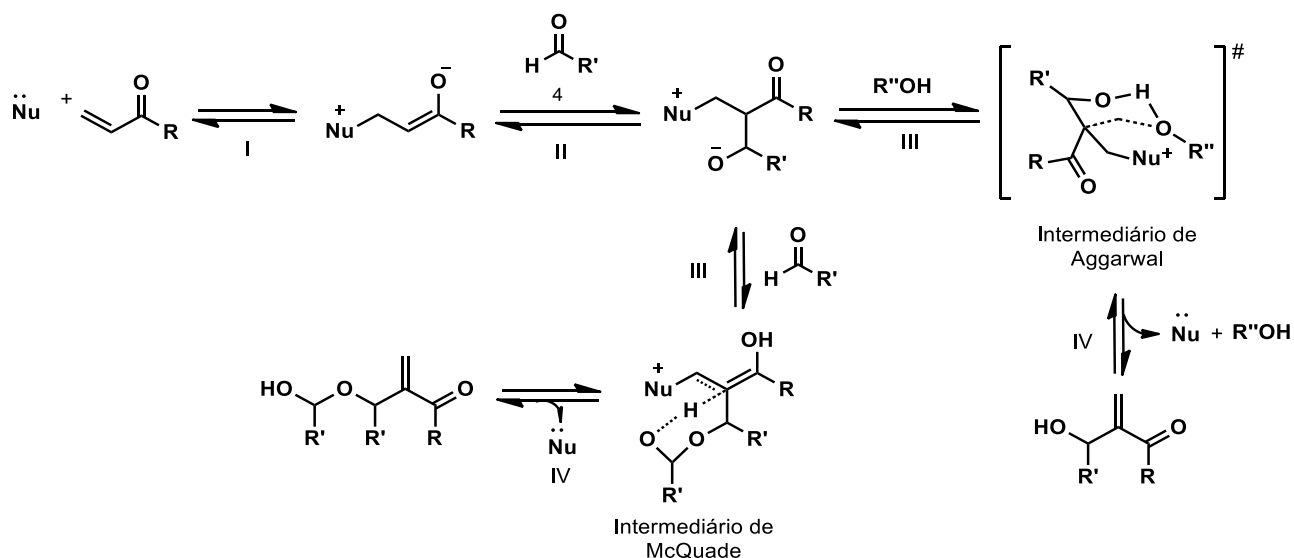


Figura 08. Mecanismos propostos por McQuade e Aggarwal.

Grupos de pesquisas vêm utilizando os adutos de MBH como substratos para a síntese de moléculas biologicamente ativas (Figura 09, pág. 37). Estes substratos apresentam como

principal característica a presença de três grupos funcionais: um grupo hidroxila, uma olefina e um éster, cetona, nitrila, sulfona ou fosfonato (COELHO & ALMEIDA, 2000).

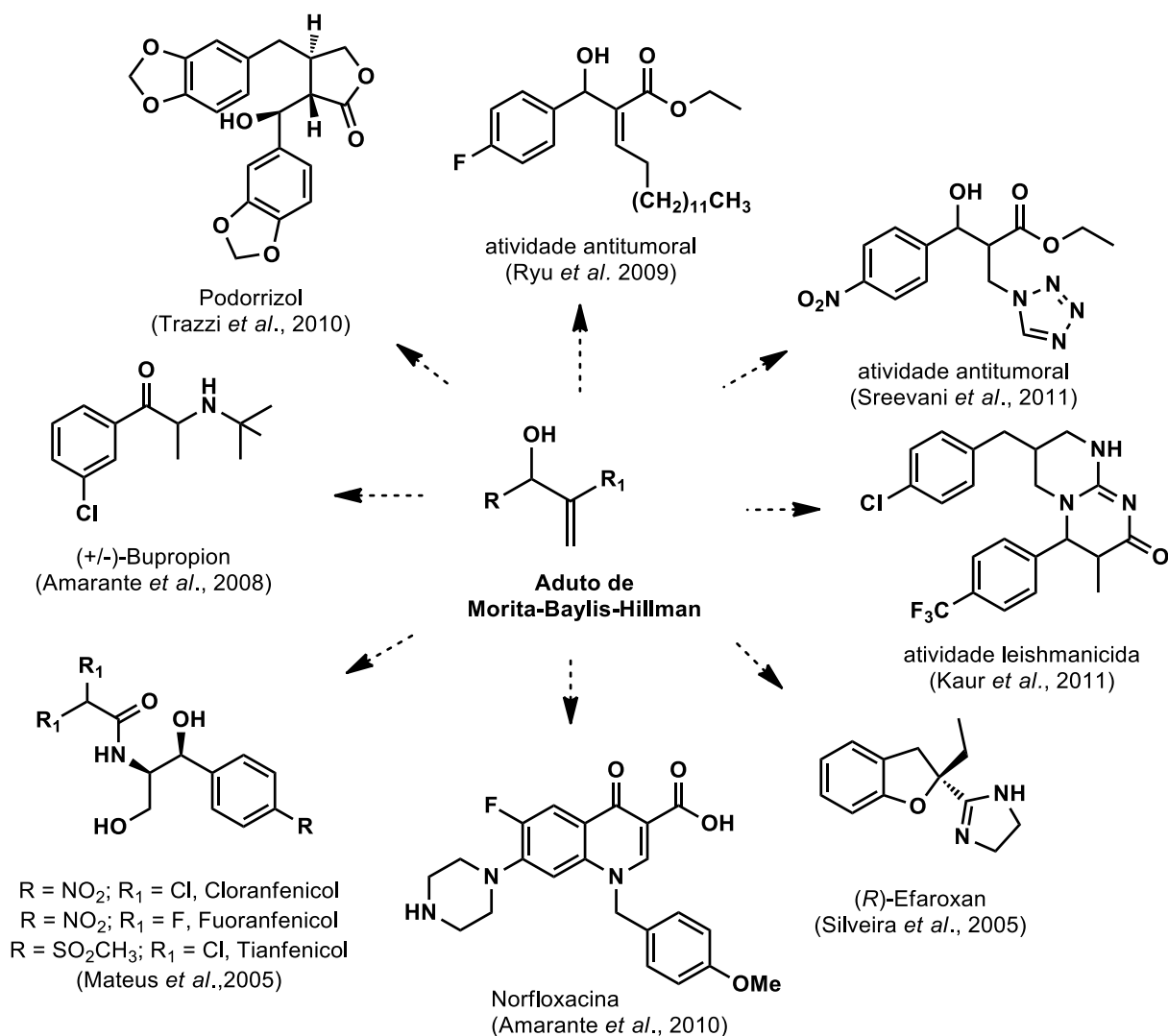


Figura 09. Aplicações dos adutos de Morita-Baylis-Hillman em síntese.

3.3.3 Síntese de amidas a partir de agentes acopladores (BOP)

Os agentes acopladores diciclohexil carbodiimida (DCC) (SHEEHAN & HESS, 1955), diisopropyl carbodiimide (DIC) and 1-etil-3-(30-dimetilamino) carbodiimide (EDC) (SHEEHAN & CRUICKSHANK, 1961) são frequentemente usados para a formação de amidas. Mais recentemente catalisadores eficientes que já incorporam o fenol foram propostos como soluções elegantes para atuar como agentes acopladores e a maioria destes reagentes estão comercialmente disponíveis.

Eles podem ser classificados de acordo com sua natureza, isto é: sais de urônio, fosfônio e imonium. Dentre os sais de fosfônio, o Benzotriazol-1-il-oxi-tris-(dimetilamino)-fosfonium hexafluorofosfato (BOP) (Figura 10), também chamado de reagente de Castro (CASTRO *et al.*, 1975), é o primeiro exemplo publicado de reagente a base do sal de onium hidroxibenzotriazol (HOBt) (Figura 10).

Para a formação da amida o acoplamento é realizado misturando-se o ácido desejado a amina na presença de BOP e trietilamina ou base de Hunig. O ácido desprotonado primeiro reage com BOP para gerar um acilfosfônio ativado e o HOBt. O HOBt prontamente reage com o ácido ativado para produzir um éster Bt reativo, que finalmente sofre aminólise. A força motriz desta reação baseada em fosfônio é gerar o correspondente óxido (CASTRO *et al.*, 1976) (Figura 11).

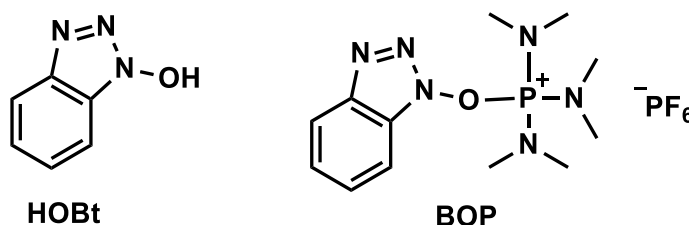


Figura 10. Fórmulas estruturais do hidroxibenzotriazol (HOBt) e do Benzotriazol-1-il-oxi-tris-(dimetilamino)-fosfonium hexafluorofosfato (BOP).

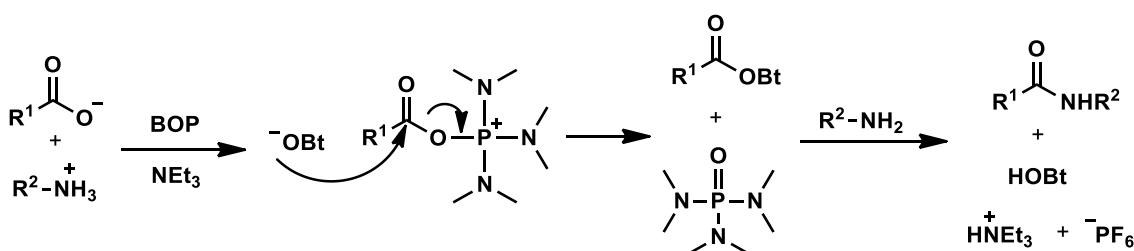


Figura 11. Mecanismo da reação de acoplamento do ácido e amina catalisado pelo BOP (MONTALBETTI & FALQUE, 2005)

4 EXPERIMENTAL

4.1 Caracterização estrutural dos constituintes químicos

A caracterização estrutural dos constituintes químicos isolados de *S. paniculatum* e das substâncias sintetizadas foram realizados por análise dos espectros de Infravermelho, Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio e Carbono, utilizando técnicas uni e bidimensionais (COSY, HMQC, HMBC e NOESY), Espectrometria de Massa e Polarimetria.

4.1.1 Infravermelho

Os dados espectrais na região do infravermelho foram obtidos com 2,0 mg da amostra em pastilhas de KBr em aparelho Perkin-Elmer, FT-IR-1750, na UFPB, e leitura realizada em cm^{-1} .

4.1.2 Ressonância magnética nuclear

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear das substâncias isoladas foram obtidos em espectrômetro VARIAN, a 500 MHz (^1H) e 125 MHz (^{13}C) no LMCA-UFPB e em espectrômetro BRUKER avance, a 250 MHz (^1H) e 62.5MHz (^{13}C) na Facultad de Química da Universidade de Santiago de Compostela. Para obtenção dos espectros foram empregados solventes deuterados (CDCl_3 e MeOD).

4.1.3 Espectrometria de massa

Os espectros de massas foram obtidos no Espectrômetro de Massas de Alta Resolução localizado na Universidade Federal Rural de Pernambuco. As medições foram realizadas utilizando um espectrômetro de massas Ultraflex II Time-of-flight mass (TOF MS ES-).

4.1.4 Polarimetria

O desvio da luz polarizada, dos compostos opticamente ativos, foi obtido pelo polarímetro digital P-2000 da Jasco no LMCA-UFPB, utilizando amostras diluídas em metanol para HPLC na concentração de 1,0 g/L.

4.2 Estudo Fitoquímico

4.2.1 Procedimentos gerais

4.2.1.1 Coleta do material botânico

As partes aéreas de *Sidastrum paniculatum* foram coletadas e identificadas pela Prof^a Dr^a Maria de Fátima Agra do Núcleo de Pesquisas em Produtos Naturais PgPNSB/CCS/UFPB, em 2007 na Pedra da Boca, município de Ararúna – PB (Registro de Autorização de Coleta ICMBio: 46923-2), sendo uma exsicata depositada no Herbário Professor Lauro Pires Xavier do Centro de Ciências Exatas e da Natureza da UFPB sob o código 6051.

Esta pesquisa foi desenvolvida com o objetivo de dar continuidade a um estudo realizado anteriormente com extrato etanólico bruto das partes aéreas de *S. paniculatum* pela equipe da Profa. Dra. Maria de Fátima Vanderlei de Souza que resultou em duas dissertações (CAVALCANTE, J. M. S., 2006 e TELES Y. C. F., 2011) e publicação de dois artigos (CAVALCANTE *et al.*, 2010; TELES *et al.*, 2015A). Desta feita nossa pesquisa priorizou a exploração das fases polares.

4.2.1.2 Processamento do material botânico

O material coletado (7.500g) foi desidratado em estufa com ar circulante a 40°C durante 72 horas. Em seguida foi submetido à trituração em moinho mecânico obtendo-se 3700g do seu pó (Esquema 01, pág. 44).

4.2.1.3 Obtenção do extrato etanólico bruto (EEB) das partes aéreas de *Sidastrum paniculatum*.

O pó (3700g) das partes aéreas foi submetido ao processo extrativo por maceração, durante 72 horas, utilizando-se como líquido extrator etanol a 95%. Com o intuito de obter um melhor rendimento o processo extrativo foi repetido por três vezes.

Após extração, a solução extrativa foi filtrada e concentrada em evaporador rotativo sob pressão reduzida, fornecendo 250g do extrato etanólico que foi solubilizado em uma solução de EtOH:H₂O (7:3), processo este que resultou na solução hidroalcoólica. Esta foi submetida a cromatografia líquido-líquido com hexano, clorofórmio, acetato de etila e N-butanol. As

respectivas soluções foram concentradas, adotando o método citado acima, que levou a obter 82,0g da fase hexânica; 32,5g da fase clorofórmica; 3,0g da fase acetato de etila e 10,0g da fase n-butanólica e 110g da fase hidroalcoólica (Esquema 01, pág. 44).

4.2.2 Isolamento e purificação dos constituintes químicos das fases clorofórmica, n-butanólica e hidroalcoólica do EEB das partes aéreas de *Sidastrum paniculatum*.

Os experimentos relativos ao isolamento e identificação estrutural dos constituintes químicos de *S. paniculatum* foram realizados através de técnicas cromatográficas e espectroscópicas, respectivamente, no Laboratório de Fitoquímica Prof. Dr. Raimundo Braz Filho (IPEFarM/UFPB) e no Laboratório Multiusuário de Caracterização e Análise (LMCA/UFPB).

4.2.2.1 Procedimentos cromatográficos

As cromatografias em coluna foram desenvolvidas utilizando-se como fases estacionárias sílica gel 60 (partículas com 0,04-0,063mm/230-400 mesh, Macherey Nagel), amberlite XAD-2 (Sulpeco) ou Sephadex LH-20 (Sigma-Aldrich) e como fase móvel solventes P.A das marcas Hexis, Tedia, analítica, etc. Como suportes para cromatografia foram utilizadas colunas de vidro cilíndricas com dimensões variando de acordo com a quantidade de amostra a ser cromatografada. A Cromatografia em Camada Delgada Analítica (CCDA) foi empregada para a análise e reunião das frações obtidas por cromatografia em coluna. As placas cromatográficas contendo as substâncias para análise foram reveladas por radiação ultravioleta nos comprimentos de onda de 254 e 366 nm e impregnação com o revelador químico difenilboriloxietilamina (NP).

4.2.2.2 Processamento cromatográfico da fase clorofórmica do EEB das partes aéreas de *S. paniculatum*.

Uma amostra de 2,0g da fase clorofórmica foi submetida à cromatografia em coluna com Sephadex, eluída com MeOH e MeOH:CHCl₃ (1:1) resultando em 30 frações que foram analisadas e reunidas após análise em CCDA. A fração 7-25 (1.03g) foi cromatografada em sílica gel, eluída com hexano, AcOEt e MeOH, sozinhos ou em misturas binárias, resultando em 26 frações que foram analisadas por CCDA. A fração 17-26 (100mg), por cromatografia

em sílica gel, adotando a metodologia anterior, levou ao isolamento de 5,0 mg de um sólido granuloso, que foi codificado como **Sp-1** e o um sólido amorfo verde codificado como **Sp-2** (15,0mg). (Esquema 02, pág. 45).

4.2.2.3 Processamento cromatográfico da fase n-butanólica do EEB das partes aéreas de *S. paniculatum*.

Em uma coluna com amberlite XAD-2 foram adicionados 5,0g da fase n-butanólica, sendo sequencialmente submetida à eluição com H₂O, H₂O:MeOH (1:1), MeOH, Acetona, AcOEt e Hexano. As respectivas frações foram concentradas em evaporador rotativo sob pressão reduzida (Esquema 03, pág. 46).

4.2.2.3.1 Processamento cromatográfico da fração acetona da fase n-butanólica do EEB das partes aéreas de *S. paniculatum*.

A fração acetona (0,3g) por cromatografia em coluna com Sephadex, eluída com MeOH e CHCl₃ (Coluna 2.1) forneceu 13 frações (Esquema 04, pág. 47) que foram reunidas após análise por CCDA e a fração 9-11 (30 mg) foi submetida a cromatografia que seguiu a mesma metodologia (Coluna 2.1A) e resultou em 6 sub-frações. Para purificação, a sub-fração 3-5 (15,0 mg), foi cromatografada em coluna de sílica gel, eluída com hexano, AcOEt e MeOH, obtendo-se a substância codificada como **Sp-3** (5 mg), sólido amorfo amarelo (Esquema 04, pág. 47).

4.2.2.3.2 Processamento cromatográfico da fração metanol da fase n-butanólica do EEB das partes aéreas de *S. paniculatum*

A fração metanol (0,8g) foi submetida à cromatografia em coluna com Sephadex e eluída com MeOH e MeOH:CHCl₃ (1:1) (Coluna 2.2) obtendo-se 30 frações. Estas frações foram analisadas por CCDA e reunidas de acordo com seus perfis de semelhança nos deslocamentos. A fração 14-27 (50,0 mg) foi cromatografada em coluna de sílica gel (Coluna 2.2A), eluída com hexano, AcOEt e MeOH. As frações resultantes desse processo foram combinadas e as sub-frações 5-7 (6,0 mg) e 21-32 (10,0 mg) apresentaram-se como sólidos amarelos, consideradas puras e diferentes quando comparadas por CCDA em vários sistemas de solventes, sendo codificadas com **Sp-4** (6,0 mg) e **Sp-5** (10,0 mg) (Esquema 05, pág. 48).

4.2.2.3.3. Processamento cromatográfico da fração H₂O:MeOH (1:1) da fase n-butanólica do EEB das partes aéreas de *S. paniculatum*

A fração H₂O:MeOH (2,0 g) foi submetida à cromatografia em gel de Sephadex e eluída com MeOH e MeOH:CHCl₃ (1:1) obtendo-se 65 frações que foram analisadas e reunidas seguindo metodologia anterior (Coluna 2.3). Desta coluna, as frações 23-30 (700,0 mg) e 43-65 (80,0 mg) após sucessivas cromatografia em colunas em sephadex em MeOH e MeOH:CHCl₃ (1:1) levaram ao isolamento das substâncias codificadas como **Sp-6** (120,0 mg) que se apresentou como um sólido amarelo; **Sp-7** (15,0 mg) e **Sp-8** (9,0 mg), que se apresentaram como um pó amarelo (Esquema 06, pag. 50).

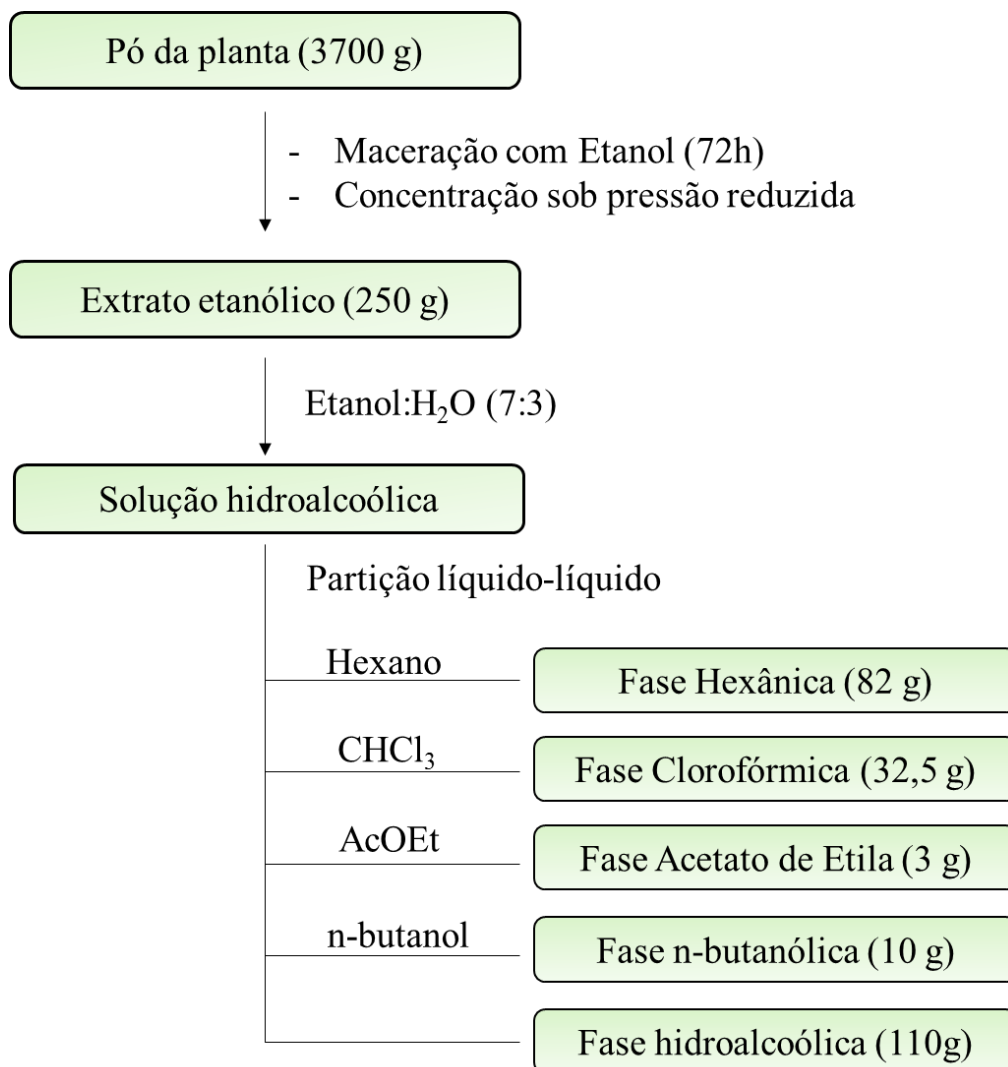
4.2.2.4 Processamento cromatográfico da fase hidroalcoolica do EEB das partes aéreas de *S. paniculatum*

Uma alíquota da fase hidroalcoolica (5,0 g) foi cromatografada em uma coluna com amberlite XAD-2, sendo submetida à eluição em ordem decrescente de polaridade com H₂O; H₂O:MeOH (1:1); MeOH; Acetona; AcOEt e Hexano. As respectivas frações foram concentradas em evaporador rotativo sob pressão reduzida (Esquema 07, pág. 51).

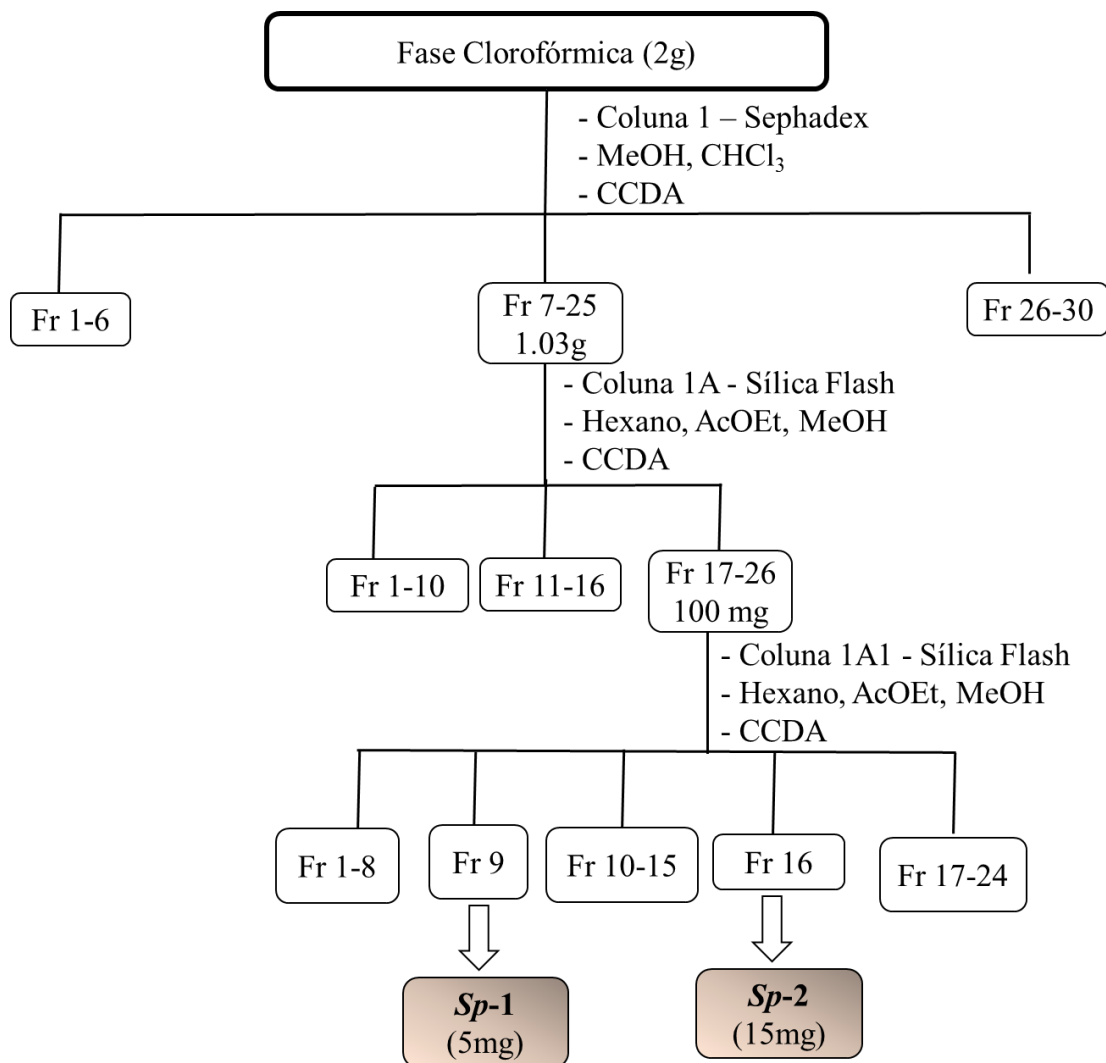
4.2.2.4.1 Processamento cromatográfico da fração metanol da fase hidroalcoolica do EEB das partes aéreas de *S. paniculatum*

A fração MeOH (5,0g) foi cromatografada em coluna cuja fase fixa foi o Sephadex e fase móvel MeOH (Esquema 08, pág. 51). Deste procedimento foram obtidas 11 frações que foram analisadas por CCDA. A subfração 7-11 (200,0 mg) foi submetida a outra cromatografia, adotando-se a mesma metodologia. Desta foram obtidas 10 frações que foram reunidas após análise por CCDA. A fração 9 por submissão ao mesmo processo cromatográfico resultou em um pó amarelo que se mostrou puro após análise por CCDA em vários sistemas de solvente ,e recebeu o código de **Sp-9** (10,0 mg).

Esquema 01. Obtenção e particionamento do extrato etanólico bruto das partes aéreas de *Sidastrum paniculatum*



Esquema 02. Fracionamento cromatográfico da fase clorofórmica do extrato etanólico bruto das partes aéreas de *Sidastrum paniculatum*.



Quadro 01. Eluentes utilizados e frações obtidas na Coluna 1.

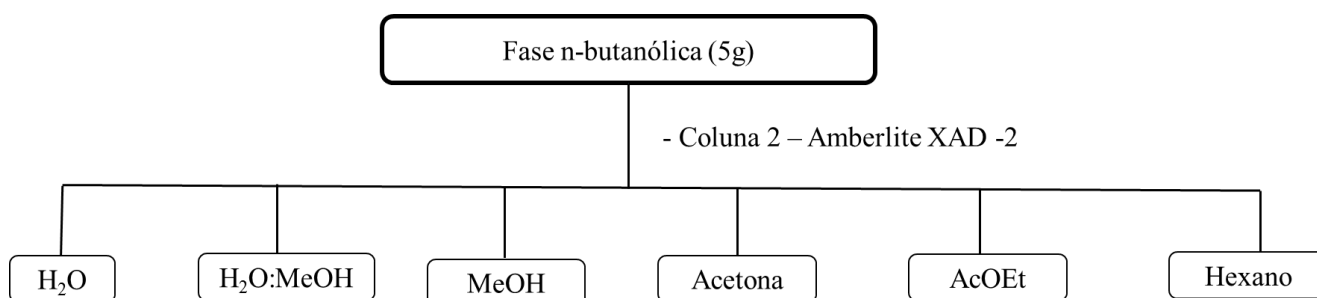
Eluente	Frações Obtidas
MeOH (100%)	1 – 25
MeOH : CHCl ₃ (1:1)	26-30

Quadro 02. Eluentes utilizados e frações obtidas na Coluna 1A.

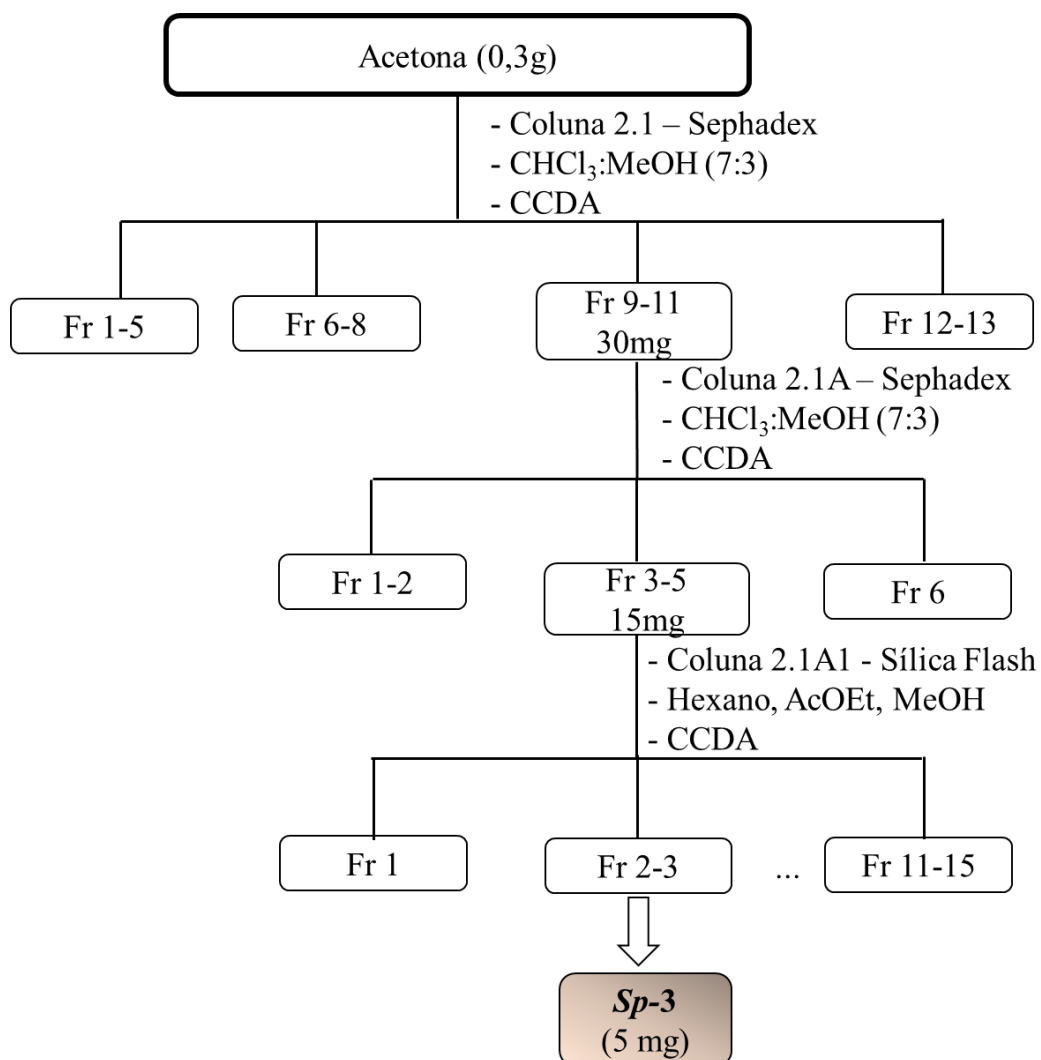
Eluente	Frações Obtidas
Hexano	1 -2
Hexano : AcOEt (8:2)	3
Hexano : AcOEt (7:3)	4 – 5
Hexano : AcOEt (1:1)	6 – 8
Hexano : AcOEt (3:7)	9 - 11
AcOEt	12 - 14
AcOEt : MeOH (8:2)	15 - 18
AcOEt : MeOH (1:1)	19 - 25
AcOEt : MeOH (3:7)	26 - 30

Quadro 03. Eluentes utilizados e frações obtidas na Coluna 1A1.

Eluente	Frações Obtidas
Hexano	1
Hexano : AcOEt (8:2)	2 - 5
Hexano : AcOEt (7:3)	6 – 10
Hexano : AcOEt (1:1)	11 – 15
Hexano : AcOEt (3:7)	16
AcOEt	17 - 18
AcOEt : MeOH (7:3)	19 - 24

Esquema 03. Fracionamento cromatográfico da fase n-butanólica do extrato etanólico bruto das partes aéreas de *Sidastrum paniculatum*.

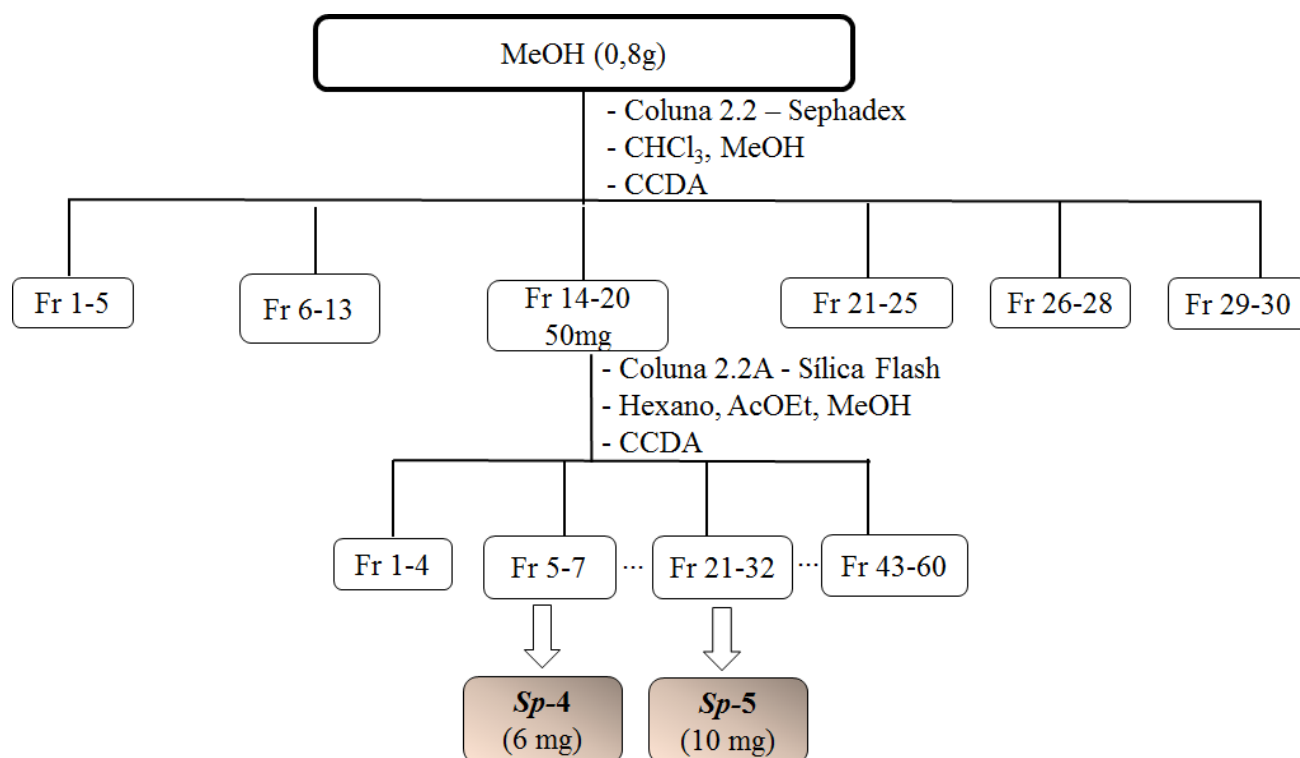
Esquema 04. Fracionamento cromatográfico da fração acetona da fase n-butanólica do extrato etanólico bruto das partes aéreas de *Sidastrum paniculatum*.



Quadro 04. Eluentes utilizados e frações obtidas na Coluna 2.1A1.

Eluente	Frações Obtidas
Hexano	1
Hexano : AcOEt (7:3)	2 - 3
Hexano : AcOEt (1:1)	4 - 8
Hexano : AcOEt (3:7)	9 - 10
AcOEt	11 - 12
AcOEt : MeOH (7:3)	13 - 15

Esquema 05. Fracionamento cromatográfico da fração metanol da fase n-butanólica do extrato etanólico bruto das partes aéreas de *Sidastrum paniculatum*



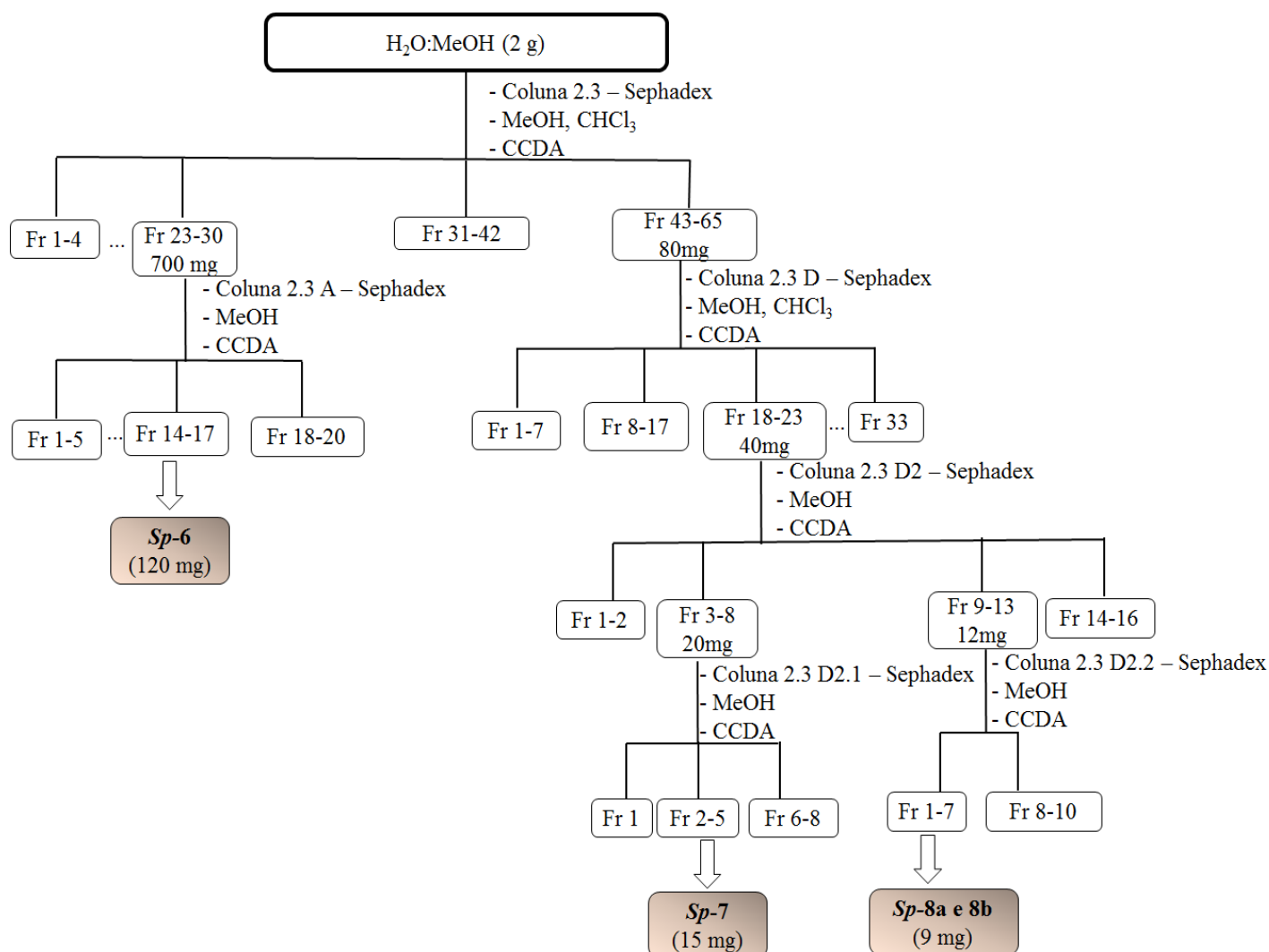
Quadro 05. Eluentes utilizados e frações obtidas na Coluna 2.2.

Eluente	Frações Obtidas
CHCl ₃ : MeOH (7:3)	1 – 20
CHCl ₃ :MeOH (1:1)	21 - 22
MeOH	23 - 30

Quadro 06. Eluentes utilizados e frações obtidas na Coluna 2.2A.

Eluente	Frações Obtidas
Hexano	1 - 2
Hexano : AcOEt (7:3)	3 - 5
Hexano : AcOEt (1:1)	6 – 8
Hexano : AcOEt (4:6)	9 - 10
Hexano : AcOEt (3:7)	11 - 18
Hexano : AcOEt (2:8)	19 - 21
AcOEt	22 - 33
AcOEt : MeOH (3:7)	34 - 43
AcOEt : MeOH (1:1)	44 - 60

Esquema 06. Fracionamento cromatográfico da fração H₂O:MeOH (1:1) da fase n-butanólica do extrato etanólico bruto das partes aéreas de *Sidastrum paniculatum*.

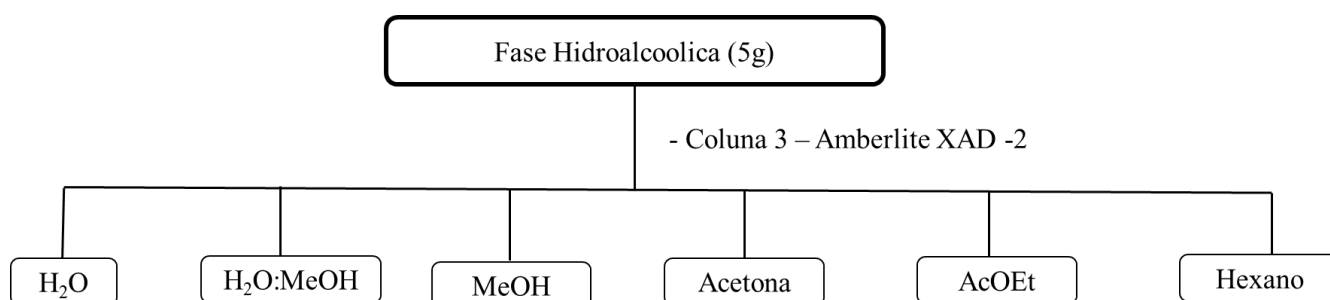
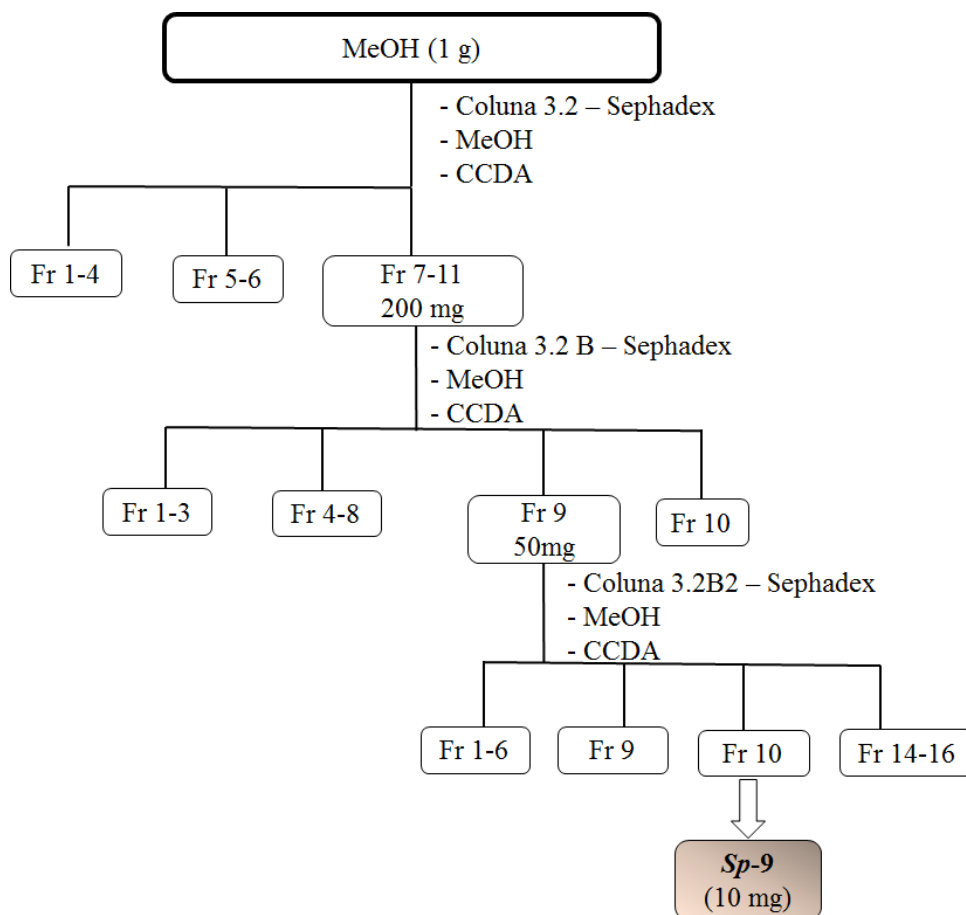


Quadro 07. Eluentes utilizados e frações obtidas na Coluna 2.3.

Eluente	Frações Obtidas
MeOH	1 – 10
MeOH : CHCl ₃ (3:7)	21 - 30
MeOH : CHCl ₃ (1:1)	31 - 45
MeOH	45 - 65

Quadro 08. Eluentes utilizados e frações obtidas na Coluna 2.3D.

Eluente	Frações Obtidas
MeOH	1 – 30
MeOH : CHCl ₃ (1:1)	31 - 32
MeOH	33

Esquema 07. Fracionamento cromatográfico da fase hidroalcoolica do extrato etanólico bruto das partes aéreas de *Sidastrum paniculatum*.**Esquema 08.** Fracionamento cromatográfico da fração metanol da fase hidroalcoolica do extrato etanólico bruto das partes aéreas de *Sidastrum paniculatum*.

4.3 Estudo computacional com flavonoides sulfatados

Atualmente, existem diversas ferramentas que a ciência tem para estudar os efeitos de várias substâncias no corpo. Com recursos computacionais existe a possibilidade de realizar experimentos *in silico*, podendo, algumas vezes, reproduzir o ambiente biológico. Em estudos de modelagem molecular, onde as interações do ligante e receptor (alvo biológico) são estudadas, é possível explicar como a mesma molécula pode ter duas respostas biológicas completamente distintas, variando apenas na posição de um átomo na molécula, uma vez que estes estudos comprovam que a estrutura e a atividade biológica exercidas são completamente dependentes (BARREIRO & FRAGA, 2015; TAVARES, 2004).

Destarte, tendo como base estudos realizados por nossa equipe em relação a atividade larvicida de flavonoides sulfatados contra larvas do mosquito *Aedes aegypti* (FERNANDES *et al.*, 2018), foram realizados estudos computacionais com as estruturas dos flavonoides isolados na espécie *Sidastrum paniculatum*.

4.3.1 Conjunto de dados

A partir do banco de dados ChEMBL, foram selecionados um conjunto de estruturas químicas para a construção do modelo preditivo. O conjunto continha 161 estruturas químicas diversas que foram estudadas (*in vitro*) e que inibiram larvas de *Aedes aegypti*.

Os compostos foram classificados usando valores de $-\log IC_{50} (\text{mol/L}) = pIC_{50}$, o que nos levou a atribuir 85 ativos ($pIC_{50} \geq 4.15$) e 76 in-ativos ($pIC_{50} < 4.15$). Neste caso, IC_{50} representou a concentração necessária para 50% de inibição de larvas de *Aedes aegypti*. Através de uma pesquisa bibliográfica, 11 flavonóides (Tabela 1, pág. 53) também foram adicionados a este banco, contra larvas de *Aedes aegypti*, com um total de 172 moléculas (RAJKUMAR & JEBANESAN, 2008; PERUMALSAMY *et al.*, 2015; GIKONYO *et al.*, 1998; GUARDA *et al.*, 2016).

Outro conjunto de dados de seis moléculas isoladas (figura 83, pág. 140) de *S. paniculatum* (L.) Fryxell foi construído a partir do estudo fitoquímico desta espécie. Para todas as estruturas, os códigos SMILES foram usados como dados de entrada em um Chemvin 18.10, 2018, ChemAxon (<http://www.chemaxon.com>). Foi utilizado o software Standardizer [JChem 18.10, 2018; ChemAxon (<http://www.chemaxon.com>)] para incluir estruturas, adicionar hidrogênios, realizar conversões de forma aromática, limpar o gráfico molecular em três dimensões e salvar compostos no formato sdf. Estruturas de três dimensões (3D) foram

utilizadas como dados de entrada no software Dragon 7.0 (TALETE, 2016) para gerar descritores, onde é possível prever as propriedades biológicas e físico-químicas das moléculas. Este cálculo foi realizado para o conjunto de estruturas químicas com atividade de conhecimento contra larvas de *Aedes aegypti*.

Tabela 1. Flavonoides com atividade conhecida para o *Aedes aegypti*.

Flavonoides	pIC50 mol/l	Atividade
Poncirina	6.761362846	A
Roifolina	6.832901704	A
Naringina	6.67747157	A
Marmesina	6.47758355	A
Caranjina	4.257748484	A
Caranjacromene	4.210512175	A
Flavonoide Dihidrochalcona Pongamol	4.057401472	I
Flavonoide Rotenoide Pongarotene	3.888135168	I
Quercetina	3.247352956	I
2',6'-dihidroxi-4'-metoxi- dihidrochalcona	3.252725316	I
Rutina	2.785700607	I

4.3.2 Modelo de Previsão

O software Knime 3.4.0 (Knime 3.4.0, Copyright Miner Konstanz Information, 2003-2014, www.knime.org) foi usado para realizar todas as análises. Os descritores e as variáveis de classe foram importados do software Dragon 7.0, e, para cada um, os dados foram divididos usando o nó de particionamento com a opção “amostra estratificada” para criar um conjunto de treinamento e um conjunto de testes, abrangendo 80% e 20% dos compostos, respectivamente.

Embora os compostos tenham sido selecionados aleatoriamente, a mesma proporção de amostras ativas e inativas foi mantida em conjunto. Para a validação interna, empregamos validação cruzada usando 10 grupos estratificados selecionados aleatoriamente, e as

distribuições de acordo com as variáveis da classe de atividade foram mantidas em todos os grupos de validação e no conjunto de treinamento.

Os descritores foram selecionados, e um modelo foi gerado usando o conjunto de treinamento e o algoritmo “Random Forest” (RF) (SALZBERG, 1994), usando os nós WEKA (HALL *et al.*, 2009). Os parâmetros selecionados para RF incluíram as seguintes configurações: número de árvores para construir = 50, semente para gerador de números aleatórios = 1, para o modelo. Os desempenhos interno e externo dos modelos selecionados foram analisados quanto à sensibilidade (taxa positiva verdadeira, isto é, taxa ativa), especificidade (taxa negativa verdadeira, isto é, taxa de inatividade) e precisão (previsibilidade global).

Além disso, a sensibilidade e especificidade da curva Receiver Operating Characteristic (ROC) foi encontrada para descrever o desempenho real com mais clareza do que precisão. Também foi utilizado o domínio de aplicabilidade baseado em distâncias euclidianas para sinalizar compostos no conjunto de testes para os quais as previsões podem não ser confiáveis. Medidas de similaridade são usadas para definir o domínio de aplicabilidade do modelo com base nas distâncias euclidianas entre todos os compostos de treinamento, teste e triagem virtual.

A distância de um composto de um composto de teste para seu vizinho mais próximo no conjunto de treinamento é comparada com o limite de domínio de aplicabilidade predefinido, se a similaridade estiver além desse limite, a previsão é considerada não confiável (ZHANG *et al.*, 2006).

4.3.3 Acoplamento Molecular (*Docking*)

As proteínas-alvo de *Aedes aegypti* a *Aedes aegypti* Quinurenina Aminotransferase (1YIY) (HAN *et al.*, 2005) e Proteína Portadora de Esterol-2 (1PZ4) (DYER *et al.*, 2003), com seus respectivos ligantes inibidores foram baixados do Protein Data Bank (<http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>), detalhes de cada um deles. enzima pode ser visto na tabela 2 (pág. 55).

Os flavonoides isolados de *S. paniculatum* (L.) Fryxell foram submetidos ao docking molecular utilizando o Molegro Virtual Docker, versão 6.0.1 (MVD). Todas as moléculas de água foram eliminadas da estrutura da enzima. Enzimas e composto foram preparados usando as mesmas configurações de parâmetros padrão no mesmo pacote de software.

O procedimento de acoplamento foi realizado usando uma GRID de 15 Å de raio e resolução de 0,30 para cobrir o local de ligação das estruturas das enzimas. O *docking template* foi usado para focalizar a pesquisa em poses similares às interações e conformação do ligante.

O algoritmo de escore de Moldock foi usado como a função de escore (THOMSEN & CHRISTENSEN, 2006).

Como uma das formas de validar o docking, foi feito o redocking, processo pelo qual um ligante é retirado da estrutura de um complexo com um receptor e ancorado na forma de "encaixe induzido" do receptor. Esse procedimento foi realizado para verificar se os parâmetros de encaixe especificados no arquivo de entrada para o método de encaixe são razoáveis e capazes de recuperar a estrutura e as interações do complexo enzima-receptor já conhecidos.

Para tanto, o procedimento de acoplamento realizado no redocking, utilizando os ligantes inibidores 4'-Dioxi-4'-Aminopiridoxal-5'-fosfato para 1YIY e o Ácido Palmítico para 1PZ4, foi o mesmo utilizado com os flavonoides isolados de *S. paniculatum* utilizando o Molegro Virtual Docker, versão 6.0.1 (MVD).

Tabela 2. Proteínas alvo para o *Aedes aegypti*.

Enzima	Nome	Classificação	Ligantes Inibidores
1YIY	<i>Aedes aegypti</i> Quinurenina Aminotransferase	Transferase	4'-Dioxi-4'- Aminopiridoxal- 5'-fosfato <i>Piridoxaminea-5'- fosfato</i>
1PZ4	Proteína Portadora de Esterol-2	Proteína de ligação a lipídios	Ácido Palmítico

4.4 Síntese

4.4.1 Procedimentos gerais

Os reagentes utilizados para a realização das sínteses foram obtidos da ACROS Organics. Para preparação das amidas, foram utilizados 4 benzaldeídos e 4 aminas (Figura 12).

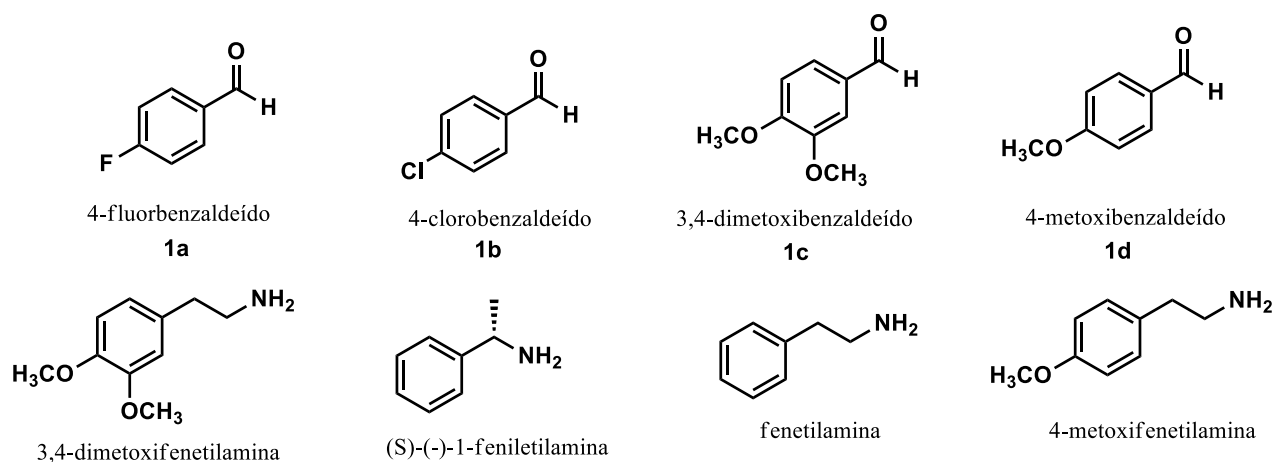


Figura 12. Aldeídos e aminas utilizados como material de partida para a preparação das amidas.

4.4.2 Procedimentos cromatográficos

Para as cromatografias de adsorção em coluna utilizou-se sílica gel 60, da ACROS Organics, de partículas com dimensões entre 40-60 μm , tendo como suporte colunas de vidro cilíndricas cujas dimensões variaram de acordo com a quantidade de amostra a ser cromatografada. Para cromatografia em camada delgada analítica (CCDA) utilizou-se placas cromatográficas da Merck e como fase móvel os solventes grau PA., hexano (Hex), clorofórmio (CHCl_3), acetato de etila (AcOEt) e metanol (MeOH), isoladamente ou em misturas binárias, em gradiente crescente de polaridade.

A CCDA foi empregada para a análise das frações obtidas por cromatografia em coluna. As revelações das substâncias nas CCDA foram executadas pela exposição das cromatoplasas à lâmpada de irradiação ultravioleta em dois comprimentos de onda (254 e 366 nm) e impregnação das placas com o revelador químico *p*-anisaldeído.

4.4.3 Preparação das Amidas

Inicialmente os aldeídos obtidos comercialmente (Figura 12, pág. 56) foram submetidos a reação de MBH para a formação dos adutos. Parte de cada aduto foi submetida diretamente a uma reação de hidrólise e outra parte a uma reação de acetilação (Figura 13). A partir dos ésteres obtidos, seguiu-se para a etapa de formação dos ácidos por hidrólise em meio básico. E como última etapa no processo de preparação das amidas, os ácidos sintetizados e as aminas comerciais (Figura 13) foram submetidos a uma reação de acoplamento utilizando o BOP.

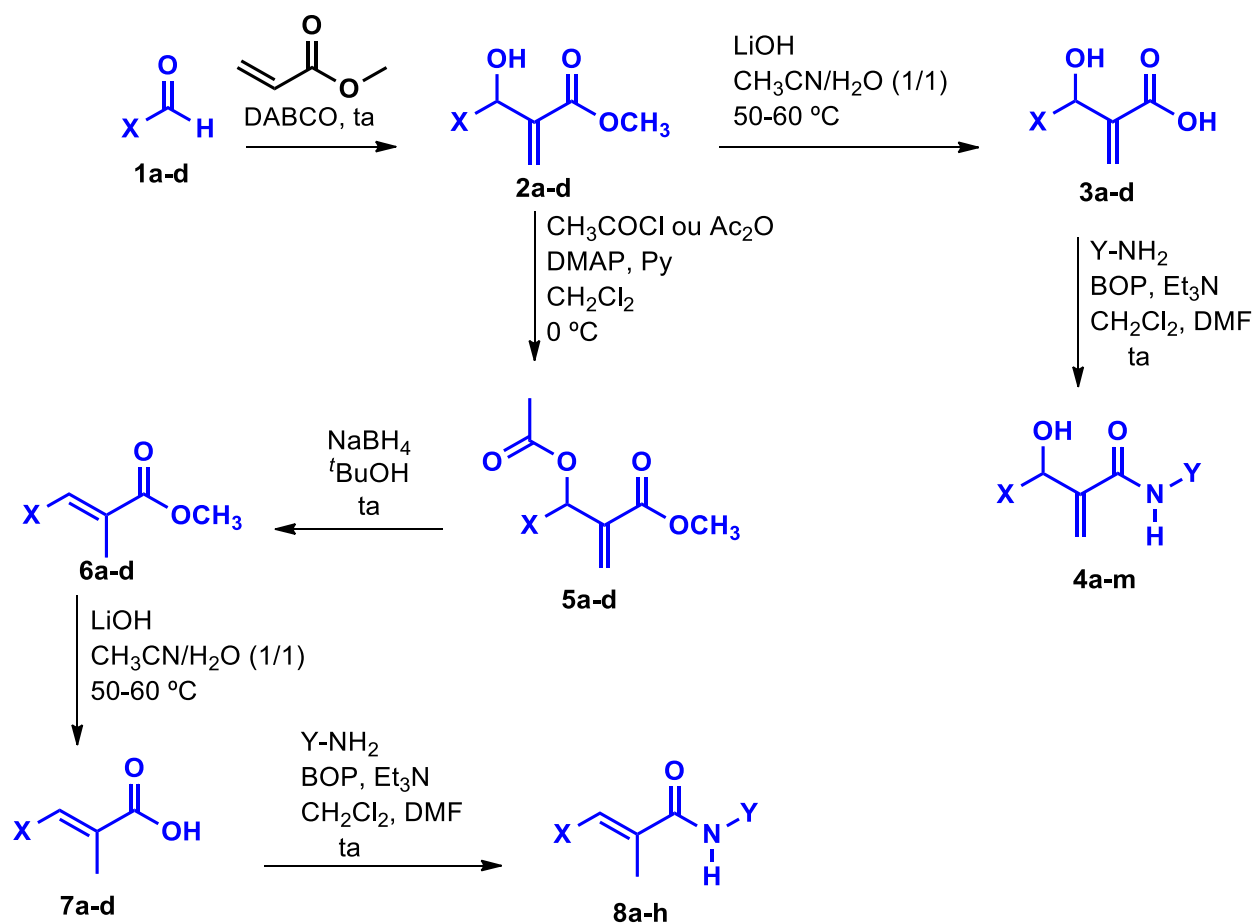


Figura 13. Preparação das Amidas.

4.4.3.1 Formação dos esteres cinâmicos – Reação de MBH (2a-d)

Os aldeídos (1 equiv.) foram submetidos a reação de MBH, onde ocorreu a condensação do aldeído com o acrilato de metila (10 equiv.), sendo catalisada pela amina terciária DABCO (1,4-diazabicyclo[2.2.2]octano) (1 equiv.) (Figura 13, pág. 57). As reações foram realizadas sob agitação magnética até o consumo do material de partida, procedimento monitorado por CCDA e revelação em lâmpada de UV (254nm). O excesso de acrilato de metila foi evaporado a pressão reduzida obtendo um resíduo que foi extraído. A extração foi realizada com água (1x) e, em seguida com solução saturada de cloreto de sódio (2-3x). A fase orgânica foi separada, seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e concentrada em rotaevaporador sob pressão reduzida. O material obtido foi submetido a uma cromatografia em coluna (Hexano:AcOEt – 8:2), fornecendo o aduto de MBH.

Tabela 3. Dados experimentais das reações de formação dos adutos.

Aldeído	Nº de mols do aldeído na reação	Tempo de reação
1a	0,040 mol	7 dias
1b	0,036 mol	7 dias
1c	0,030 mmol	3 dias
1d	2,250 mmol	14 dias

Quando as reações com o 3,4-dimetoxibenzaldeído (**1c**) e com o 4-metoxibenzaldeído (**1d**), foram encerradas ainda havia reagente de partida em ambas as reações, fatos que interferiram no rendimento, entretanto o produto formado destas reações foi purificado e utilizados nas etapas seguintes.

Após a formação dos adutos de MBH, parte de cada aduto foi submetida a uma reação de hidrólise e outra parte a uma reação de acetilação (Figura 13, pág. 57).

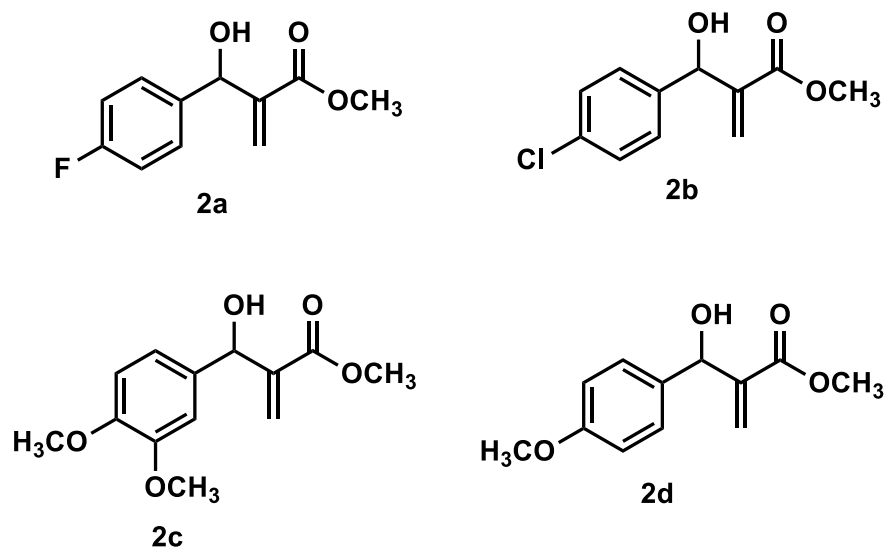


Figura 14. Adutos de MBH (**2a-d**)

4.4.3.2 Preparação dos derivados acetilados de MBH (**5a-d**)

Para a acetilação do grupo hidroxila dos adutos de MBH, a uma solução deste (1 equiv) em diclorometano (CH_2Cl_2), foi adicionado piridina (2 equiv.) quantidade catalítica de 4-dimetilaminopiridina (DMAP) e cloreto de acetila (**5a, b e c**) ou anidrido acético (**5d**) (4 equiv.), em banho de gelo. A mistura foi mantida sob agitação magnética à temperatura ambiente até o consumo do material de partida. Em seguida, evaporou-se a piridina e o CH_2Cl_2 em rotaevaporador. A mistura reacional foi diluída em AcOEt e a fase orgânica foi lavada em solução de ácido acético à 10% (2x) e solução de bicarbonato de sódio (2x). Foi seca com Na_2SO_4 anidro e o solvente evaporado. (Adaptado de STORK *et al.*, 1978).

Tabela 4. Dados experimentais das reações de formação dos derivados acetilados.

Aduto	Nº de mols do aduto na reação	Volume utilizado de CH_2Cl_2	Tempo de reação	Eluição da coluna
2a	4,80 mmol	20 mL	2h	Hex:AcOEt (8:2)
2b	4,40 mmol	20 mL	2h	Hex:AcOEt (8:2)
2c	2,18 mmol	10 mL	2h	Hex:AcOEt (8:2)
2d	2,00 mmol	5 mL	24h	Hex:AcOEt (9:1)

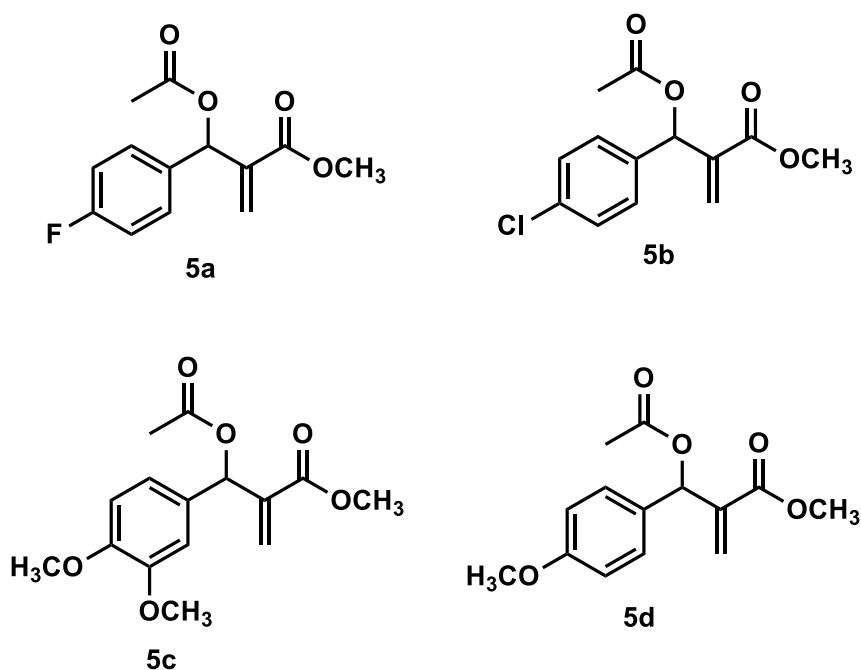


Figura 15. Derivados acetilados de MBH (5a-d)

4.4.3.3 Redução dos derivados acetilados (6a-d)

A uma solução do derivado *O*-acetilado do aduto de MBH (1 equiv.) em *tert*-BuOH, foi adicionado borohidreto de sódio (NaBH_4) (1,2 equiv.- 2 equiv.). A mistura foi mantida sob agitação magnética à temperatura ambiente, até o consumo do material de partida. O *tert*-BuOH foi eliminado por concentração em rotaevaporador. A mistura reacional foi diluída em CH_2Cl_2 e a fase orgânica foi lavada com solução saturada de NaCl (3x), seca com Na_2SO_4 anidro e o solvente eliminado, adotando-se a metodologia anterior. O bruto reacional foi purificado em coluna cromatográfica, utilizando como sistema de eluição Hexano:AcOEt (9:1) (BASAVIAH *et al.*, 1999).

Tabela 5. Dados experimentais das reações de formação dos ésteres **6a-d**.

Derivado acetilado	Nº de mols do aduto na reação	Volume utilizado de <i>tert</i> -BuOH	Tempo de reação
5a	4,43 mmol	10 mL	20h
5b	3,00 mmol	10 mL	6h
5c	2,00 mmol	7 mL	6h
5d	0,57 mmol	2 mL	3h

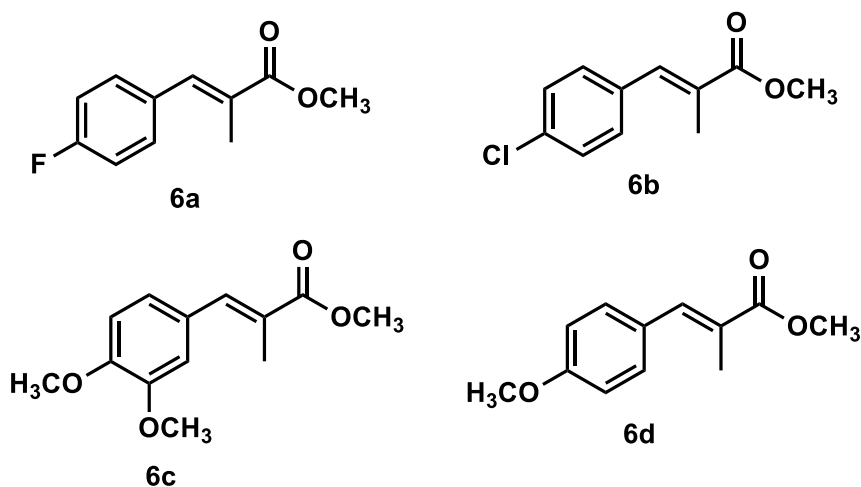


Figura 16. Derivados de MBH (6a-d)

4.4.3.4 Formação dos ácidos análogos ao ácido cinâmico (3a-d) e (7a-d)

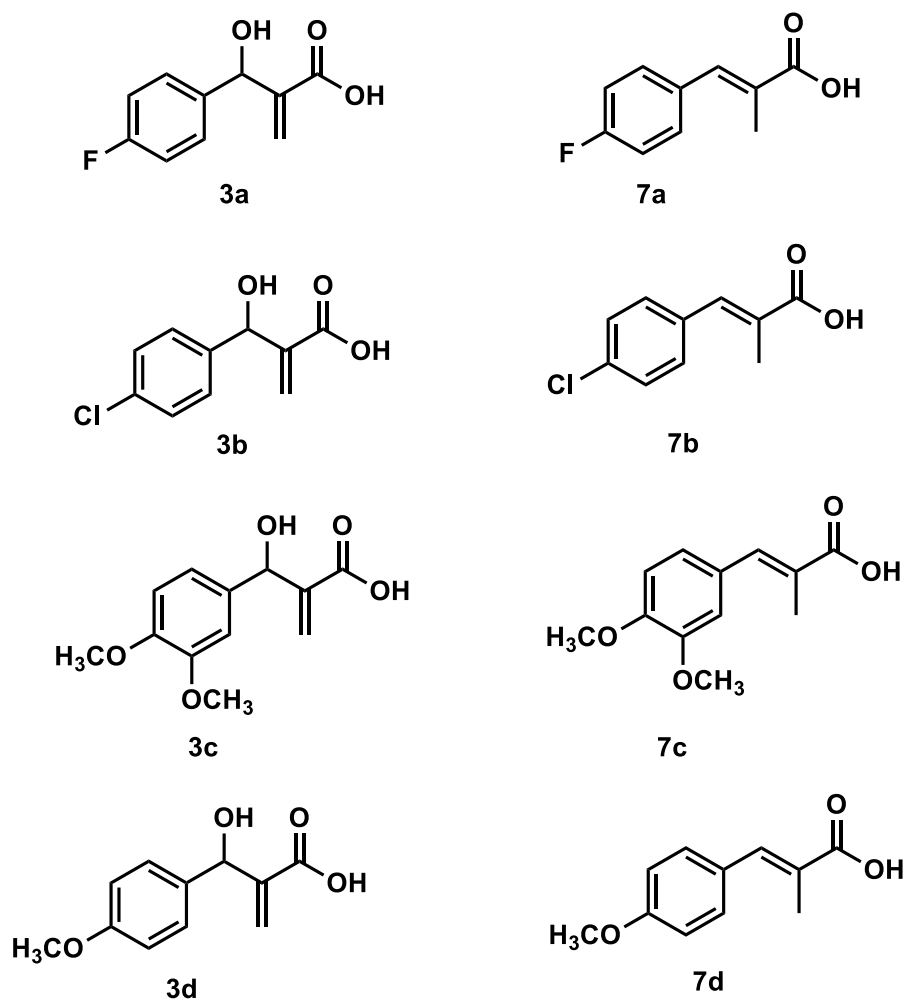
A partir dos ésteres obtidos nas reações anteriores, seguiu-se para a etapa de formação dos ácidos por hidrólise em meio básico (Figura 13, pág. 57).

Para a realização dessa reação foi utilizado 1,0 equivalente do ester, 10 equivalente de LiOH e acetonitrila/água (1/1). A reação ficou sob agitação magnética e em aquecimento 50-60°C (AMARANTE *et al.*, 2011), sendo monitorada durante 1-2 horas através de CCDA e revelação em lâmpada UV (254nm). Terminada a reação, a acetonitrila foi evaporada à pressão reduzida, o resíduo solubilizado em acetato de etila e submetido a cromatografia líquido-líquido com água e HCl 25%.

A fase orgânica foi separada, seca com Na₂SO₄ anidro, filtrada e concentrada em rotaevaporador. O material obtido foi purificado em coluna cromatográfica empacotada com sílica e eluída com Hexano/AcOEt. Este processo cromatográfico forneceu o ácido carboxílico derivado do aduto MBH (Figura 17, pág. 62).

Tabela 6. Dados experimentais das reações de formação dos ácidos.

Éster	Nº de mols do éster na reação	Volume utilizado de CH ₃ CN:H ₂ O	Tempo de reação	Eluição da coluna
2a	4.8 mmol	60 mL	1h	Hex:AcOEt (6:4)
6a	2.6 mmol	30 mL	1h	Hex:AcOEt (1:1)
2b	4.4 mmol	60 mL	1h e 30 min	Hex:AcOEt (7:3)
6b	1.9 mmol	25 mL	1h	Hex:AcOEt (8:2)
2c	1.98 mmol	30 mL	1h e 30 min	Hex:AcOEt (8:2)
6c	1.3 mmol	20 mL	1h	Hex:AcOEt (7:3)
2d	2.25 mmol	30 mL	2h	Hex:AcOEt (1:1)
6d	0.39 mmol	10 mL	2h	Hex:AcOEt (6:4)

**Figura 17.** Ácidos sintetizados (3a-d) (7a-d).

4.4.3.5 Formação das amidas (4a-m) e (8a-h)

Para realizar a última etapa no processo de preparação das amidas, foram utilizados como material de partida os ácidos obtidos nas reações anteriores (Figura 17, pág. 62) e as aminas obtidas comercialmente (Figura 12, pág. 56).

Em um balão mantido sob agitação magnética, o ácido orgânico (1 equiv.) foi dissolvido em DMF e em trietilamina (Et_3N) (1 equiv.). A solução foi arrefecida em um banho de gelo (0°C) e a amina (1 equiv.) adicionada. Na sequência uma solução de BOP (1 equiv.) em CH_2Cl_2 foi adicionado ao balão. A reação foi agitada a 0°C durante 30 min e depois por um período adicional à temperatura ambiente durante 3 horas. Terminada a reação, o CH_2Cl_2 foi removido sob pressão reduzida e a solução foi vertida em um funil de separação. O produto foi extraído com AcOEt (3x) e água. A fase orgânica foi lavada sequencialmente com HCl a 1N, água, NaHCO_3 a 1M e água novamente. A fase orgânica foi seca com Na_2SO_4 , filtrada e concentrada em rotavapor. A amida foi purificada por cromatografia em uma coluna de sílica gel, usando Hex: AcOEt como fase móvel (FU *et al.* 2010).

Tabela 7. Dados experimentais complementares das reações de formação das amidas.

Amida	Nº de mols dos reagentes	Volume utilizado de DMF	Volume utilizado de CH₂Cl₂	Eluição da coluna
4a	1.17 mmol	2.2 mL	10 mL	Hex:AcOEt (7:3)
4b e c	1.02 mmol	2 mL	6 mL	Hex:AcOEt (7:3)
4d	0.75 mmol	1.5 mL	5 mL	Hex:AcOEt (7:3)
4e e f	0.94 mmol	2 mL	7 mL	Hex:AcOEt (6:4)
4g	0.38 mmol	0.8 mL	3 mL	Hex:AcOEt (6:4)
4h	0.36 mmol	0.7 mL	3 mL	Hex:AcOEt (6:4)
4i	1.35 mmol	0.76 mL	2.8 mL	Hex:AcOEt (6:4)
4j	0.8 mmol	1.6 mL	6 mL	Hex:AcOEt (6:4)
4l	0.38 mmol	0.5 mL	1.5 mL	Hex:AcOEt (1:1)
4m	0.19 mmol	0.5 mL	1.5 mL	Hex:AcOEt (6:4)
8a	1.1 mmol	2 mL	7 mL	Hex:AcOEt (7:3)
8b	1.03 mmol	2 mL	6 mL	Hex:AcOEt (8:2)
8c	1.12 mmol	2 mL	7 mL	Hex:AcOEt (6:4)
8d	0.3 mmol	0.6 mL	3 mL	Hex:AcOEt (8:2)
8e	0.4 mmol	0.8 mL	3 mL	Hex:AcOEt (1:1)
8f	0.4 mmol	0.8 mL	3 mL	Hex:AcOEt (1:1)
8g	0.33 mmol	0.7 mL	2.5 mL	Hex:AcOEt (6:4)
8h	2.1 mmol	5 mL	10 mL	Hex:AcOEt (6:4)

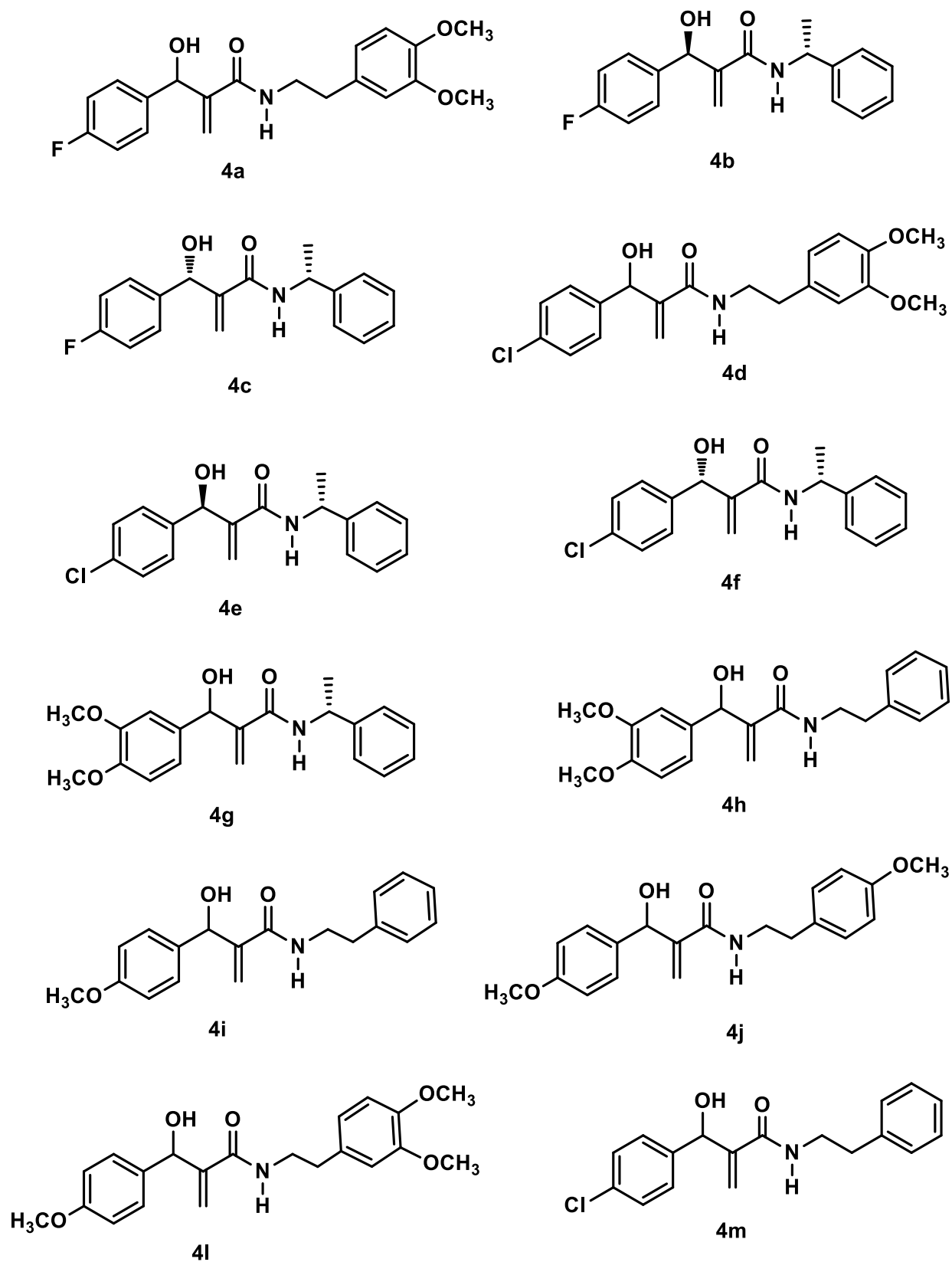


Figura 18. Amidas sintetizadas (4a-m).

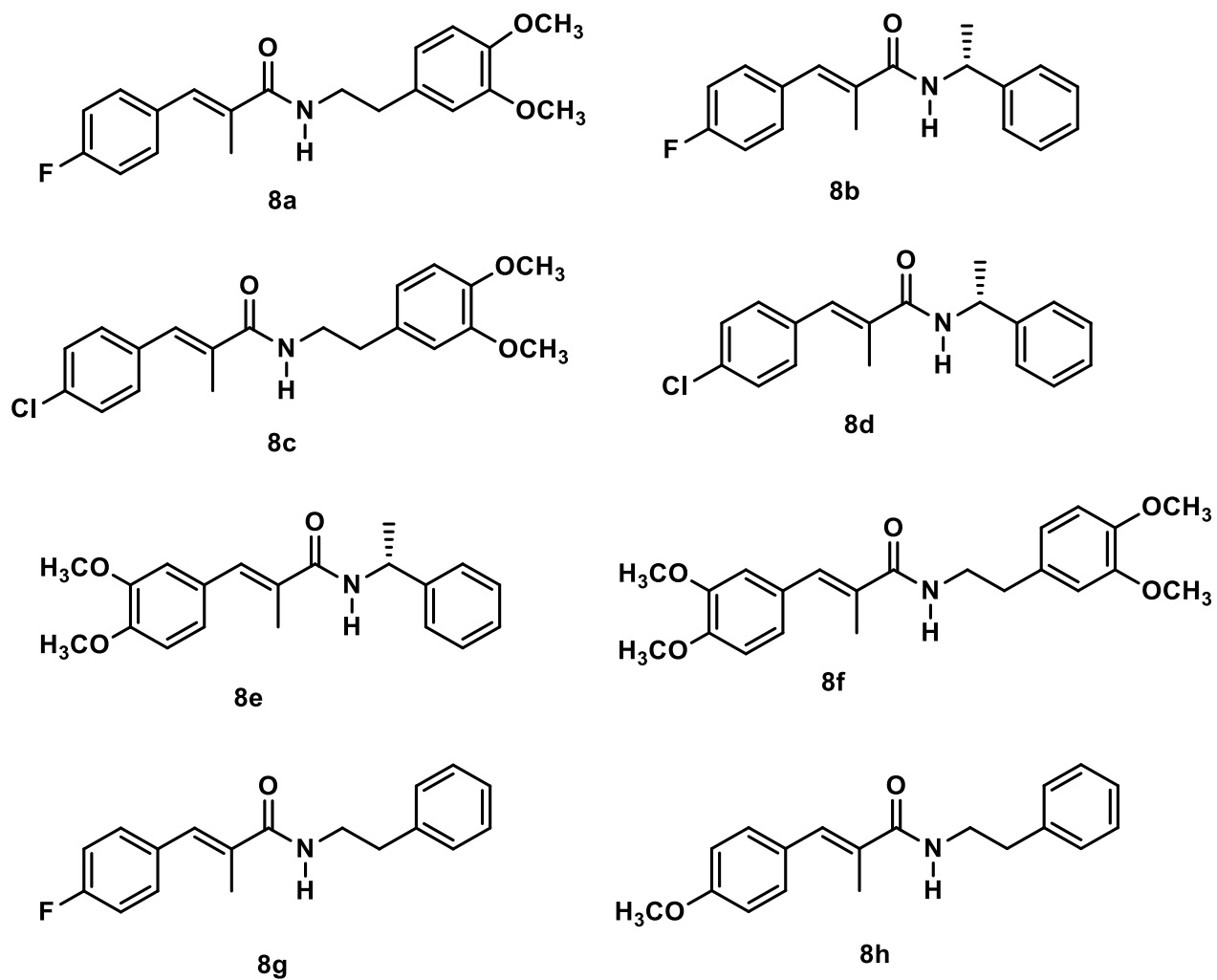


Figura 19. Amidas sintetizadas (8a-h).

4.5. Estudo da Atividade Antifúngica

Tendo em vista os recentes estudos realizados com cinamidas e amidas benzóicas sintetizadas que demonstraram o potencial antimicrobiana destas moléculas através das suas atividades antifúngica e antibacteriana (MONTES *et al.*, 2016A; MONTES *et al.* 2016B), realizou-se o estudo de atividade antifúngica com algumas das moléculas sintetizadas.

Os ensaios laboratoriais referentes a este estudo foram realizados no Laboratório de Pesquisa: Atividade Antibacteriana e Antifúngica de Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos do Departamento de Ciências Farmacêuticas/Centro de Ciências da Saúde/Universidade Federal da Paraíba em maio de 2018, sob a coordenação da Profa. Dra. Dedeltrudes de Oliveira Lima.

As substâncias identificadas como: adutos **2a**, **2b**, **2d**, ácidos **3a**, **3b**, **7a**, **7c**, éster **6b** e amidas **4d**, **4e**, **4f**, **4g**, **4h**, **8c**, **8d**, **8e** (Figura 20) foram submetidas aos ensaios biológicos para avaliação da atividade antimicrobiana sobre cepas de fungos leveduriformes e filamentosos.

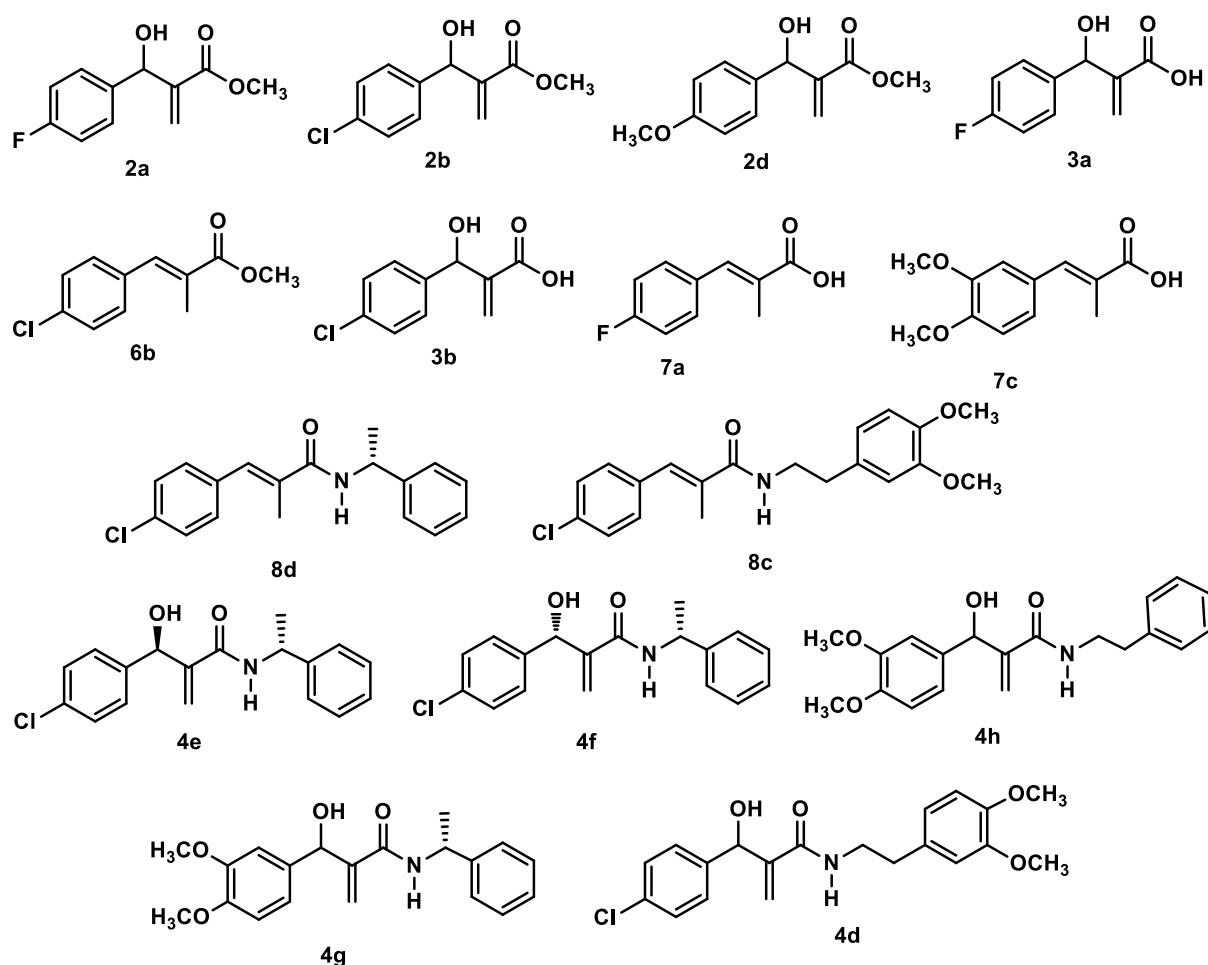


Figura 20. Substâncias submetidas a estudo de atividade antifúngica.

4.5.1 Preparação das substâncias

As substâncias foram pesadas e devidamente solubilizadas em 50 µL (5%) de dimetil-sulfóxido (DMSO) e adicionados 20 µL (2%) de tween 80 e completou-se o volume final com água destilada esterilizada q.s.p. 2 mL. Dessa forma, foi obtida a concentração inicial dos produtos de 1024 µg/mL e diluído em série até 128 µg/mL (CLEELAND & SQUIRES, 1991; NASCIMENTO *et al.*, 2007; PEREIRA *et al.*, 2014).

4.5.2 Meios de cultura

Os meios de cultura utilizados nos ensaios para avaliação da atividade biológica foram: Agar Sabouraud Dextrose (ASD) adquirido da Difco Laboratories Ltd, USA, France, para manutenção das cepas fúngicas; E meio RPMI 1640 com L-glutamina e sem bicarbonato (Difco Laboratories Ltd, USA, France e INLAB, São Paulo, Brasil) para os ensaios de atividade antifúngica. Todos os meios foram preparados conforme as descrições dos fabricantes.

4.5.3 Micro-organismos

Para os ensaios de atividade biológica das substâncias testes foram utilizadas as seguintes cepas:

- Fungos Leveduriformes: *Candida albicans* ATCC-76485, *Candida albicans* LM-05, *Candida tropicalis* ATCC-13803, *Candida tropicalis* LM-96, *Candida krusei* ATCC-6258 e *Candida krusei* LM-13;
- Fungos Filamentosos: *Aspergillus fumigatus* ATCC-40640 e *Aspergillus flavus* LM-714;

Os micro-organismos pertencem a MICOTECA do Laboratório de Micologia, Departamento de Ciências Farmacêuticas (DCF), Centro de Ciências da Saúde (CCS) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB).

As cepas foram mantidas em ASD à temperatura de 4°C. Foram utilizados para os ensaios, repiques de 24 - 48 horas em ASD para as leveduras, incubados a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ e repiques de 7 - 14 dias em ASD para fungos filamentosos, incubados a $28 \pm 2^\circ\text{C}$.

4.5.4 Inóculo

Para preparação do inóculo, as colônias obtidas de culturas das cepas fúngicas em meio ASD, foram suspensas em solução fisiológica a 0,9% estéril e ajustadas de acordo com o tubo 0,5 da escala padrão de Mc Farland para obtenção de 10⁶ UFC/mL (CLSI, 2008A; HADACECK & GREEGER, 2000; CLEELAND & SQUIRES, 1991; ANTUNES *et al.*, 2006; FREIRE *et al.*, 2014).

4.5.5 Concentração Inibitória Mínima (CIM)

Os ensaios de atividade antimicrobiana foram realizados conforme os protocolos de Cleeland; Squires (1991), Eloff (1998) e CLSI (2008). A determinação da CIM das substâncias sobre cepas fúngicas foi realizada através da técnica de microdiluição em caldo em placa para cultura de células (TPP/ SWITZERLAND/EUROPA) contendo 96 poços com fundo em “U”.

Inicialmente, foram distribuídos 100 µL de caldo RPMI duplamente concentrado nos poços das placas de microdiluição. Em seguida, 100 µL das amostras foram dispensados nas cavidades da primeira linha da placa. E por meio de uma diluição seriada a uma razão de dois, foram obtidas concentrações de 1024 µg/mL até 128 µg/mL. Por fim, foi adicionado 10 µL das suspensões das cepas fúngicas nas cavidades, onde cada coluna da placa refere-se, especificamente, a uma espécie.

Paralelamente, foram realizados os controles: micro-organismos (meio RPMI + leveduras ou fungo filamentoso), para comprovação da viabilidade das cepas, meio de cultura (RPMI), para comprovação da esterilidade do meio e controle negativo com antifúngico Anfotericina B (32 µg/mL) para inibição dos fungos.

As placas preparadas foram assepticamente fechadas e submetidas à incubação numa temperatura de 35 ± 2°C por 24 - 48 horas para os ensaios com leveduras, já os fungos filamentosos foram incubados a temperatura de 28 ± 2°C por 7 dias.

A atividade antimicrobiana dos produtos foi interpretada e considerada como ativa ou inativa, conforme os seguintes critérios: até 600 µg/mL= forte atividade; 600-1500 µg/mL= moderada atividade; acima de 1500 µg/mL = fraca atividade ou produto inativo (HOLETZ *et al.*, 2002; SARTORATTO *et al.*, 2004; HOUGHTON *et al.*, 2007).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Estudo Fitoquímico

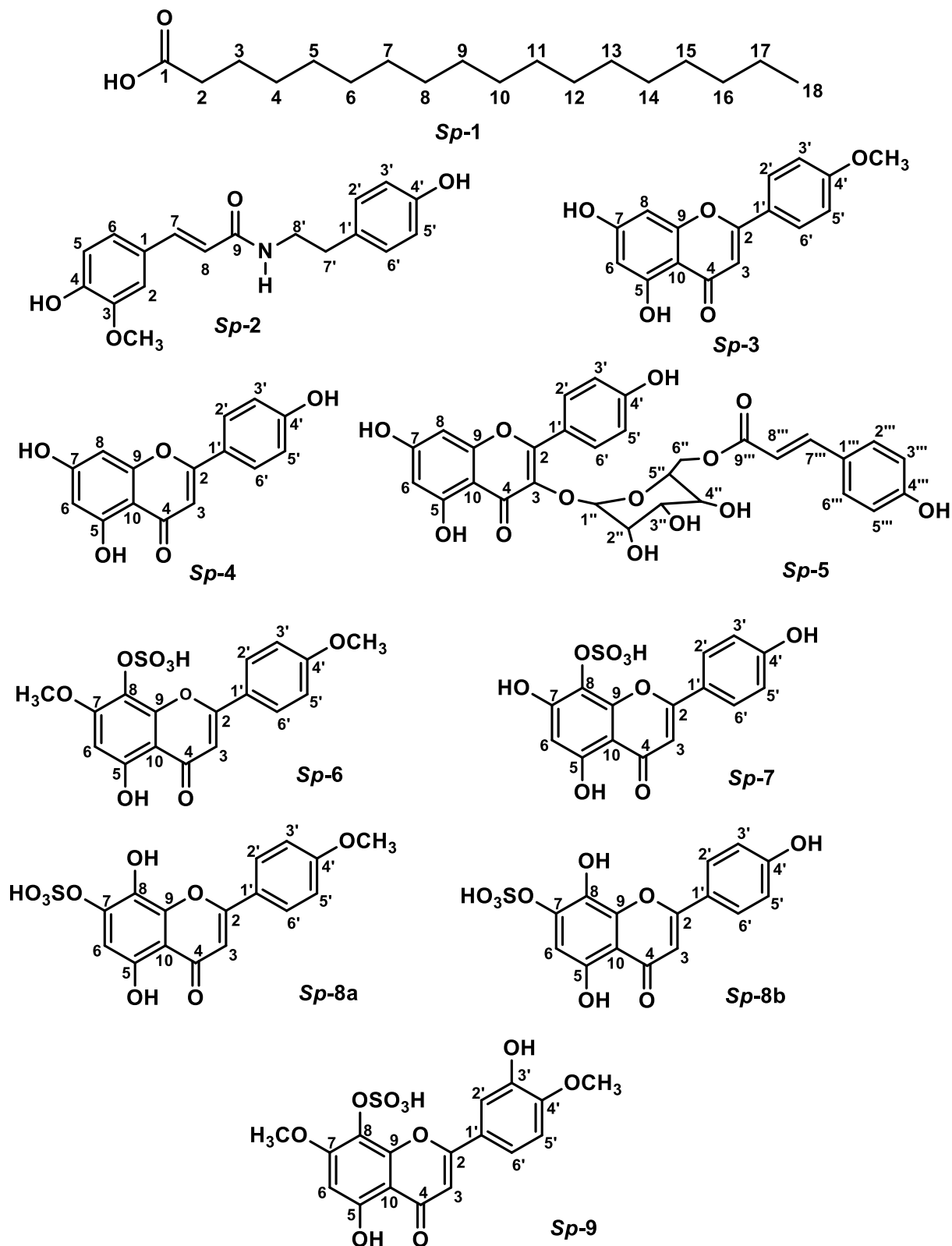


Figura 21. Substâncias isoladas das partes aéreas de *Sidastrum paniculatum*(L.) FRYXELL.

5.1.1 Identificação estrutural de *Sp-1*.

O composto ***Sp-1*** foi isolado como um sólido granular. O espectro de IV (Figura 22, pág. 73) sugeriu a existência de grupo ácido pela presença de bandas de absorção de ν_{OH} em 3459 e $\nu_{C=O}$ 1642 cm^{-1} .

O espectro de RMN^1H (Figura 23, pág. 74) e COSY (Figura 25, pág. 75) mostrou sinais com integração para 35 hidrogênios de carbonos metílico e metilênicos entre δ_{H} 2,34 e 0,87. A figura 23 (pág. 74) fortaleceu a sugestão da presença de um grupo hidroxila na molécula em análise ao exibir um simpleto largo em δ_{H} 5,30 condizente com hidrogênio de grupo hidroxila. O espectro de RMN^1H , obtido através da técnica COSY (Figura 25, pág. 75) mostrou as correlações existentes entre os hidrogênios da molécula. Os sinais definidos através dos espectros de RMN^1H (Tabela 8, pág. 72) juntamente com as absorções para os grupos hidroxila e ácido proposta pelo IV e comparações com dados da literatura, permitiram sugerir que o composto ***Sp-1*** poderia tratar-se do ácido esteárico (Tabela 8, pág. 72).

O espectro bidimensional HMBC (Figura.26, pág. 75) confirmou a presença do grupo ácido ao mostrar uma correlação do tripleto em δ_{H} 2.23 (CH_2 -2) com $\text{C}=\text{O}$ em δ_{C} 175.3. Este espectro também revelou correlações a duas e três ligações entre os hidrogênios e carbonos da molécula (Tabela 9, pág.73).

A compilação das análises dos espectros no IV, RMN uni e bidimensionais e comparações com o modelo Mo-1 (Tabela 8 e 9, pág. 72 e 73) permitiram definir ***Sp-1*** como sendo o ácido esteárico, isolado pela primeira vez na espécie *S. paniculatum*.

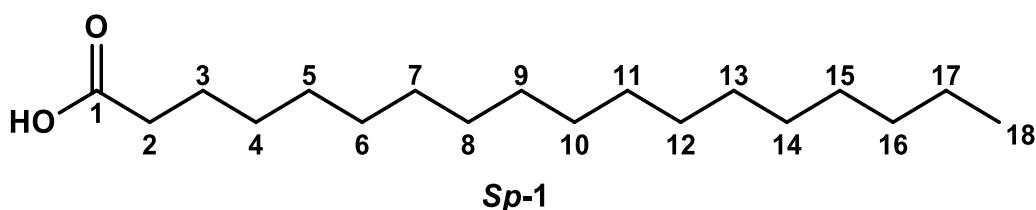
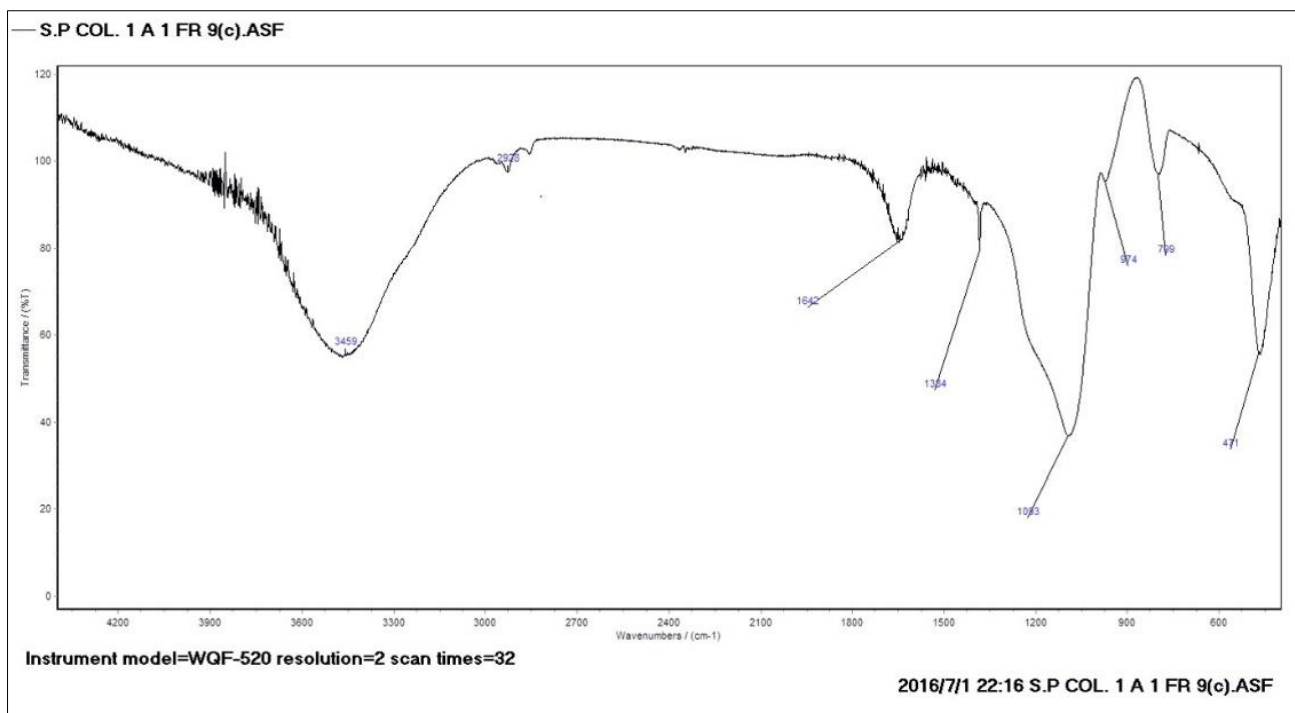


Tabela 8. Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C de **Sp-1** (δ , CDCl_3 , 500 e 125 MHz) com o modelo Mo-1 (δ , CDCl_3 , 400 e 100 MHz), (BANG *et al.*, 2002).

Mo-1 (Ácido 13-O-acetil-9Z, 11E, 15E-octadecatrienoico)			Sp-1		
C	δ C	δ H	C	δ C	δ H
1	179,39	–	1	175,3	–
2	33,98	2,34 (t) $J=7,4$	2	31,9	2,23 (t) $J=7,5$ – 2H
3	24,59	1,62 (m)	3	29,6	1,64 (m) – 2H
4	29,35		4	29,6	
5	28,96		5	29,6	
6	28,88		6	29,6	
7	28,88	1,25-1,40 (m)	7	29,6	1,29-1,38 (m) – 26H
	–			29,6	
	–			29,3	
	–		12	29,3	
	–		13	29,6	
8	27,64		14	29,6	
10	125,88		15	29,6	
11	127,78		16	31,8	
17	20,61	2,08 (dq)	17	22,7	2,02 (dq) -2H
18	14,50	0,96 (t) $J=7,6$	18	14,1	0,89 (t) $J=7,0$ – 3H

Tabela 9. Dados de RMN ^1H e ^{13}C de **Sp-1** (δ , CDCl_3 , 500 e 125 MHz).

			$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC	
			^2J	^3J
C	δ_{H}	δ_{C}		
1	–	175,3		
2	2,23 (t) $J=7,5$ – 2H	31,9	C-1	
3	1,64 (m) – 2H	29,6		
4		29,6		C-2
5		29,6		
6		29,6		
7	1,25-1,40 (m)- 26H	29,6		C-5
		29,6		
12		29,3		
13		29,6		
14		29,6		
15		29,6		
16		31,8		
17	2,02 (dq) -2H	22,7		
18	0,89 (t) $J=7,0$ – 3H	14,1		C-16

**Figura 22.** Espectro infravermelho (KBr, cm^{-1}) de **Sp-1**.

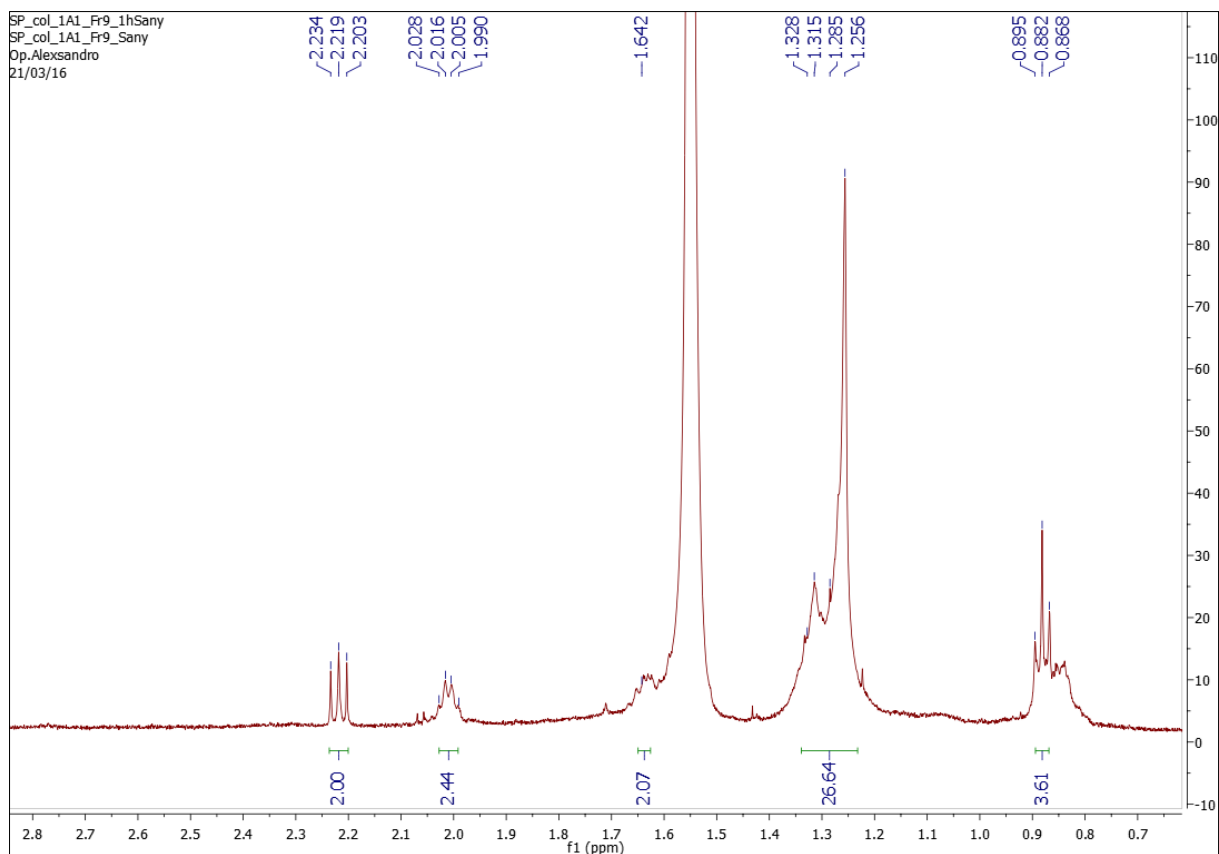


Figura 23. Expansão do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de **Sp-1**.

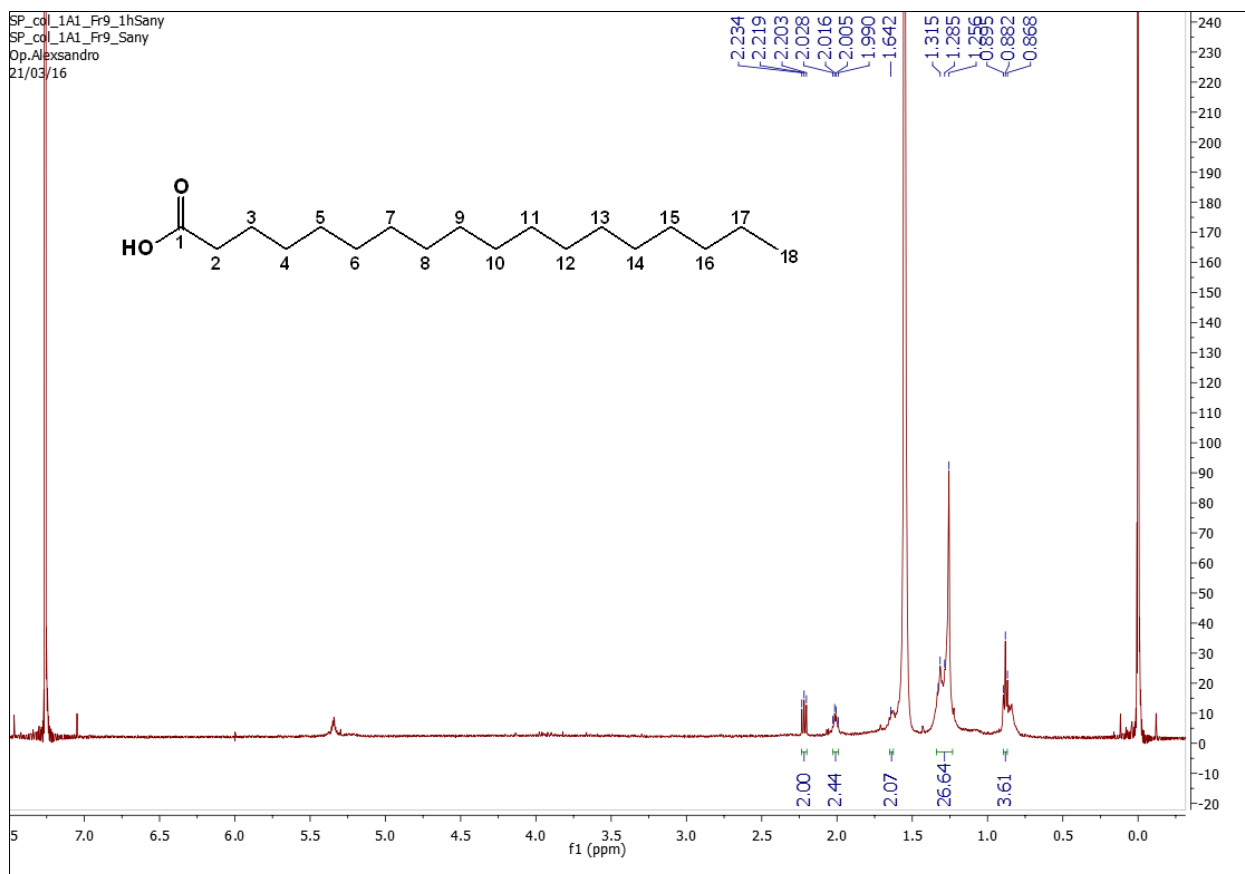


Figura 24. Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de **Sp-1**.

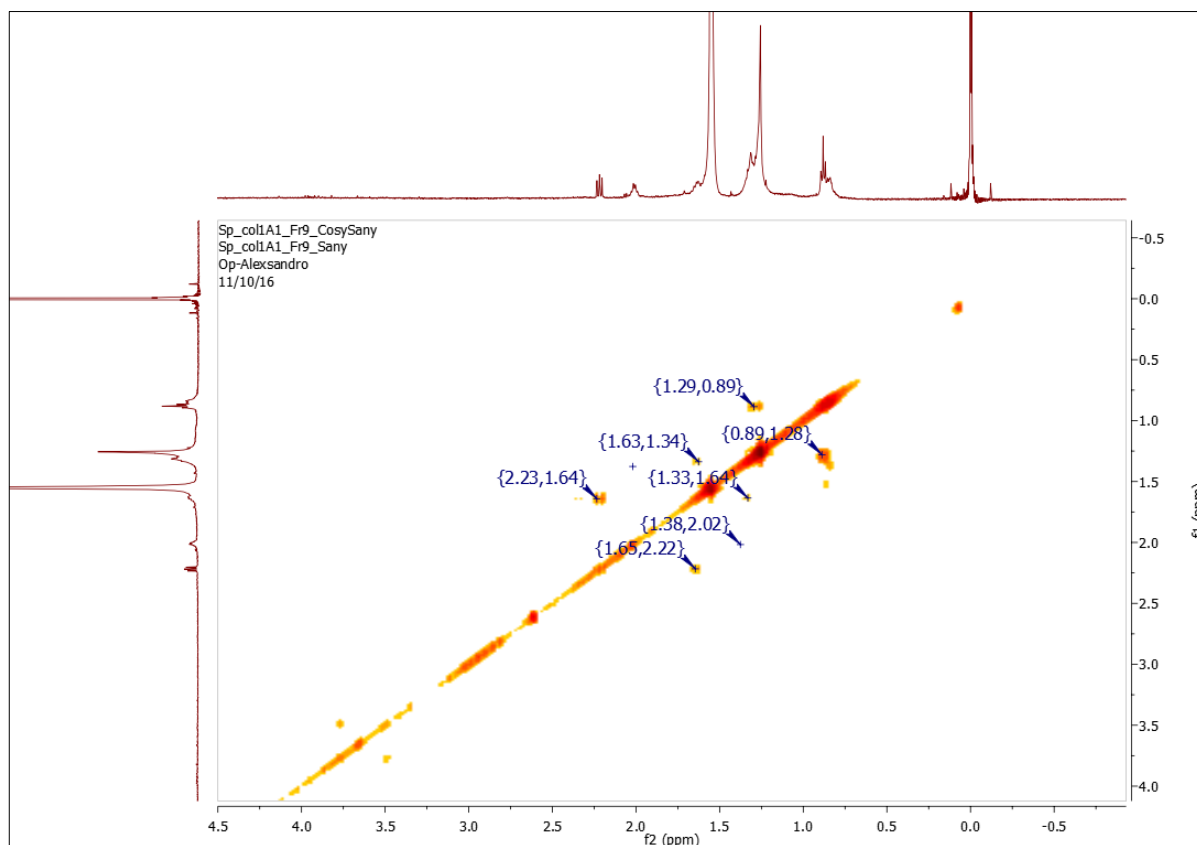


Figura 25. Expansão do espectro COSY (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de **Sp-1**.

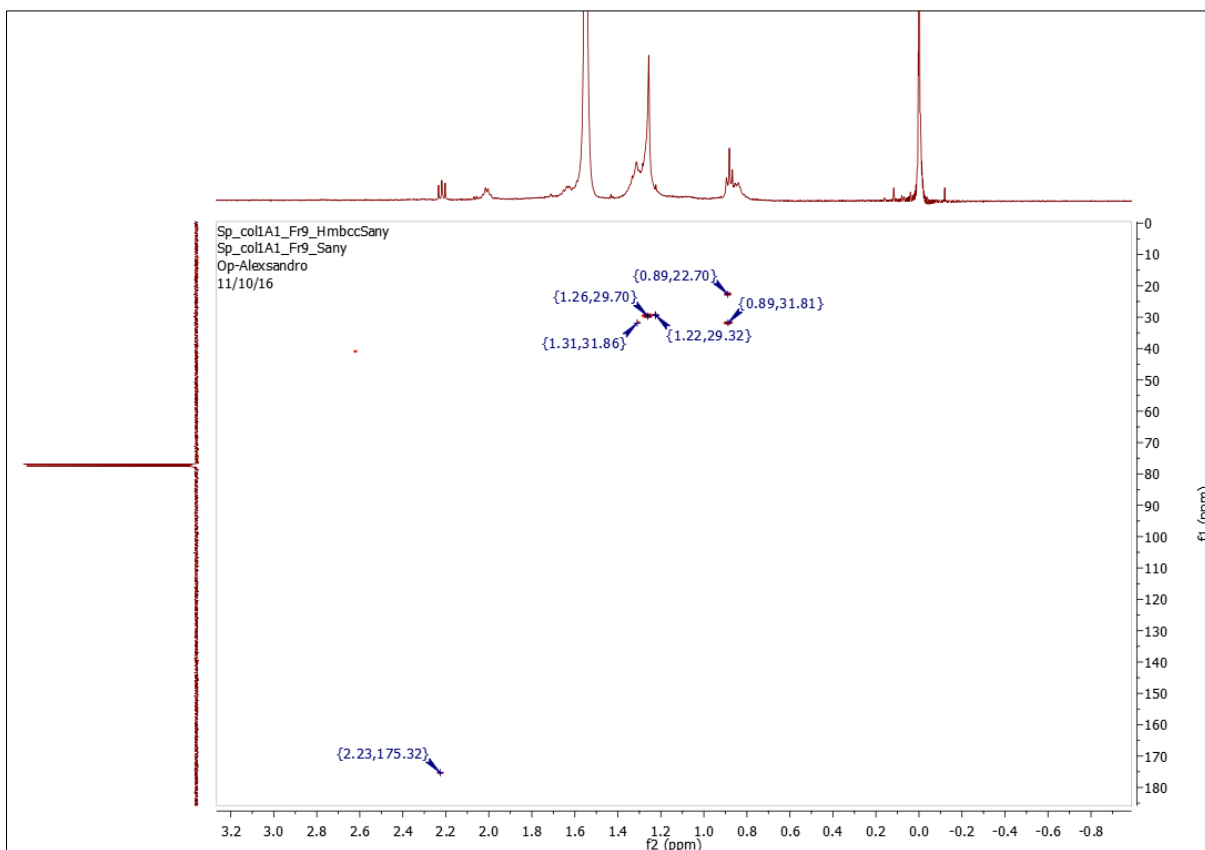


Figura 26. Espectro HMBC (δ , CDCl_3 , 500 MHz) de **Sp-1**.

5.1.2 Identificação estrutural de **Sp-2**.

O composto **Sp-2** foi obtido como um sólido amorfo verde.

O RMN¹H (Figura 27, pág.78) de **Sp-2** apresentou dois dupletos em δ_H 7,43 (1H) e 6,40 (1H) ambos com um $J=15,8$ Hz, indicativos da presença de hidrogênios olefínico acoplado *trans*. (CAVALCANTE *et al.*, 2010). Um par de dupletos em δ_H 7,10 e 6,71 integrando para 2 hidrogênio cada e com uma constante de acoplamento (J) igual a 8,0 Hz permitiram dizer que a molécula em análise possui um sistema AA'BB'. Este espectro mostrou ainda três sinais, sendo: um duplete em δ_H 6,79 (H-5, $J = 8,0$ Hz) que acopla *orto* com um duplete em juntamente com um duplete largo em δ_H 7,04 (H-6, $J = 8,0$ Hz) e *meta* com um duplete em δ_H 7,0 (H-2, $J = 1,6$ Hz), permitiram propor que **Sp-2** possui um outro núcleo aromático caracterizado como um sistema ABX (CAVALCANTE *et al.*, 2010). Um grupo metoxila em um dos núcleos aromáticos foi inferido pelo sinal em δ_H 3,87. A presença de dois tripletos em δ_H 3,46 e δ_H 2,74 chamaram atenção no espectro de RMN¹H de **Sp-2** (Figura 27, pág. 78), permitindo inferir na molécula um radical etila. A junção dos dados de RMN¹H de **Sp-2** e comparações com dados da literatura (Tabela 10, pág 77) levaram a propor que este composto era formado por uma unidade cumaroil e uma tiramina.

Os dados espectrais de RMN¹³C reforçaram a informação proporcionada pelo espectro de RMN¹H da existência de uma unidade coumaroil quando exibiu um sinal para C=O da função amida em δ_C 169,15 (carbonilo α,β -insaturado) e dois sinais para carbonos α,β -insaturados (C-8 e C-7) em δ_C 118,69 e 142,02, respectivamente. A proposta para a unidade de tiramina pode ser definida pelos sinais carbonos de metilênicos se mostraram em δ_C 35,88 (C-7') e 42,54 (C-8'). As absorções em δ_C 116,24 e 130,73 (2C, C-3'/5' e C-2'/6') corroboraram o sistema AA'BB', enquanto um grupo metoxila foi confirmado pelo sinal em δ_C 55,56.

A definição da localização do grupo metoxila na unidade tiramina, caracterizado o sistema AA'BB' e do sistema AMX na unidade coumaroil, conseqüentemente a estrutura química do composto **Sp-2** foi definida como sendo a substância N-*trans*-feruloiltiramina quando feita a comparação entre dados de RMN desta molécula com dados publicados para N-*trans*-feruloiltiramina, previamente isolada na espécie *S. paniculatum* (CAVALCANTE *et al.*, 2010).

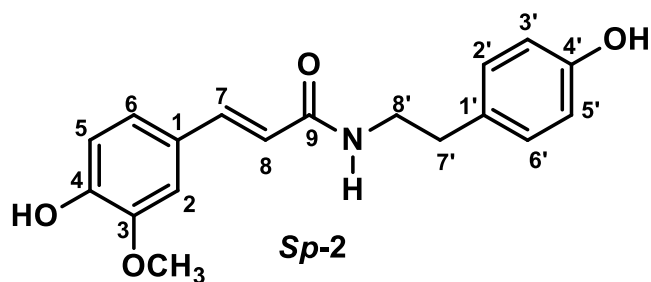


Tabela 10. Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C de **Sp-2** (δ , CD_3OD , 200 MHz) com o modelo Mo-2 (δ , $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$, 300MHz) (SECA *et al.*, 2001).

Mo-2 (eritro-canabisine H)		Sp-2
H	δ_{H}	δ_{H}
2	7,18 (d, $J=1,80$ Hz)	7,11 (d, $J=1,80$ Hz)
5	7,13 (d, $J=8,70$ Hz)	7,04 (d, $J=8,40$ Hz)
6	6,98-7,07 (m)	6,99 (dl)
7	7,46 (d, $J=15,60$ Hz)	7,47 (d, $J=15,80$ Hz)
8	6,57 (d, $J=15,60$ Hz)	6,36 (d, $J=15,80$ Hz)
2'/6'	7,05 (d, $J=8,10$ Hz)	7,00 (d, $J=8,40$ Hz)
3'/5'	6,76 (d, $J=8,100$ Hz)	6,77 (d, $J=8,40$ Hz)
7'	2,74(2H, t, $J=7,40$ Hz)	2,74 (t, $J=6,90$ Hz)
8'	3,46-3,35 (2H, m)	3,45 (t, $J=6,90$ Hz)
2''	7,10 (d, $J=1,40$)	-
5''	6,77	-
6''	6,90 (dd, $J=8,40$ e $1,40$ Hz)	-
7''	4,90	-
8''	4,33-4,35 (m)	-
9''	3,71-3,86 (m)	-
OCH ₃ -3	3,88	3,87 (s)
OCH ₃ -3''	3,80(s)	-
OH-4'	8,41 (sl)	-
OH-4''	8,41 (sl)	-
NH	7,44 (m)	-

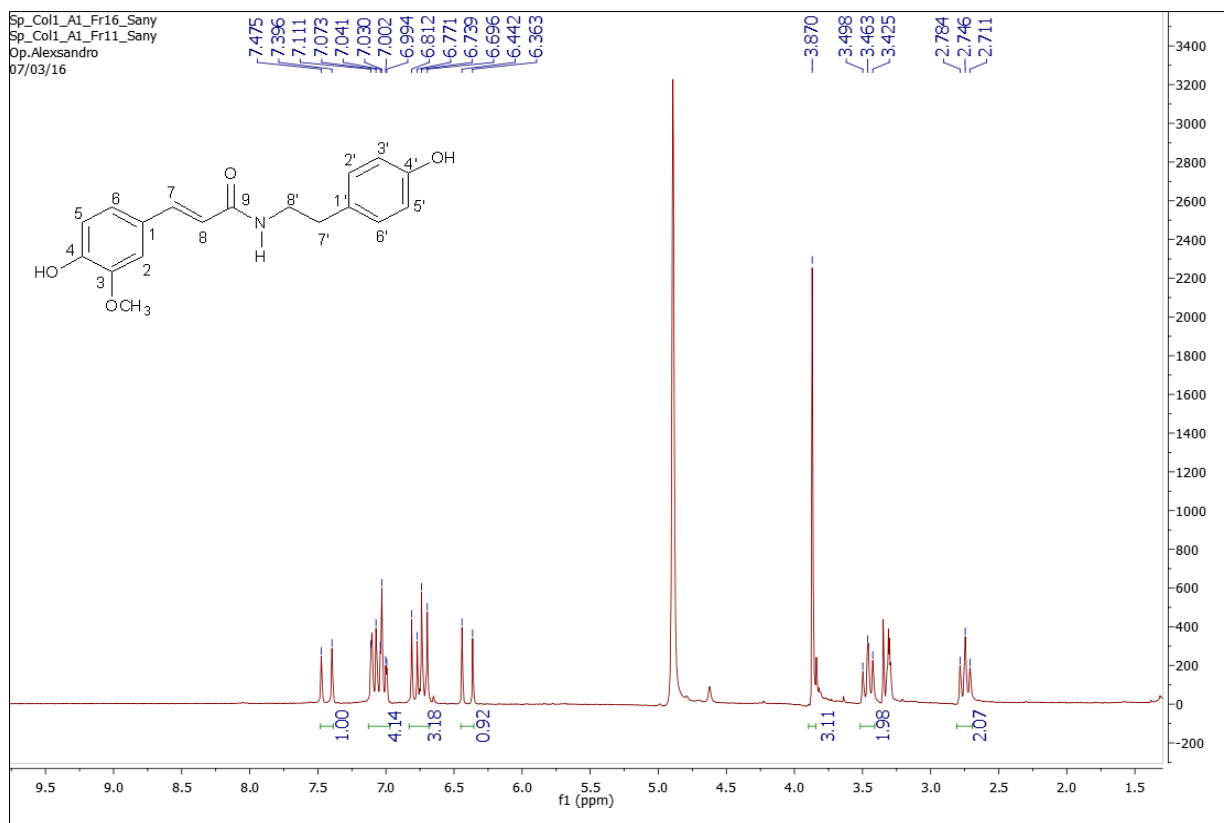


Figura 27. Espectro de RMN ^1H (δ , CD₃OD, 200 MHz) de *Sp-2*.

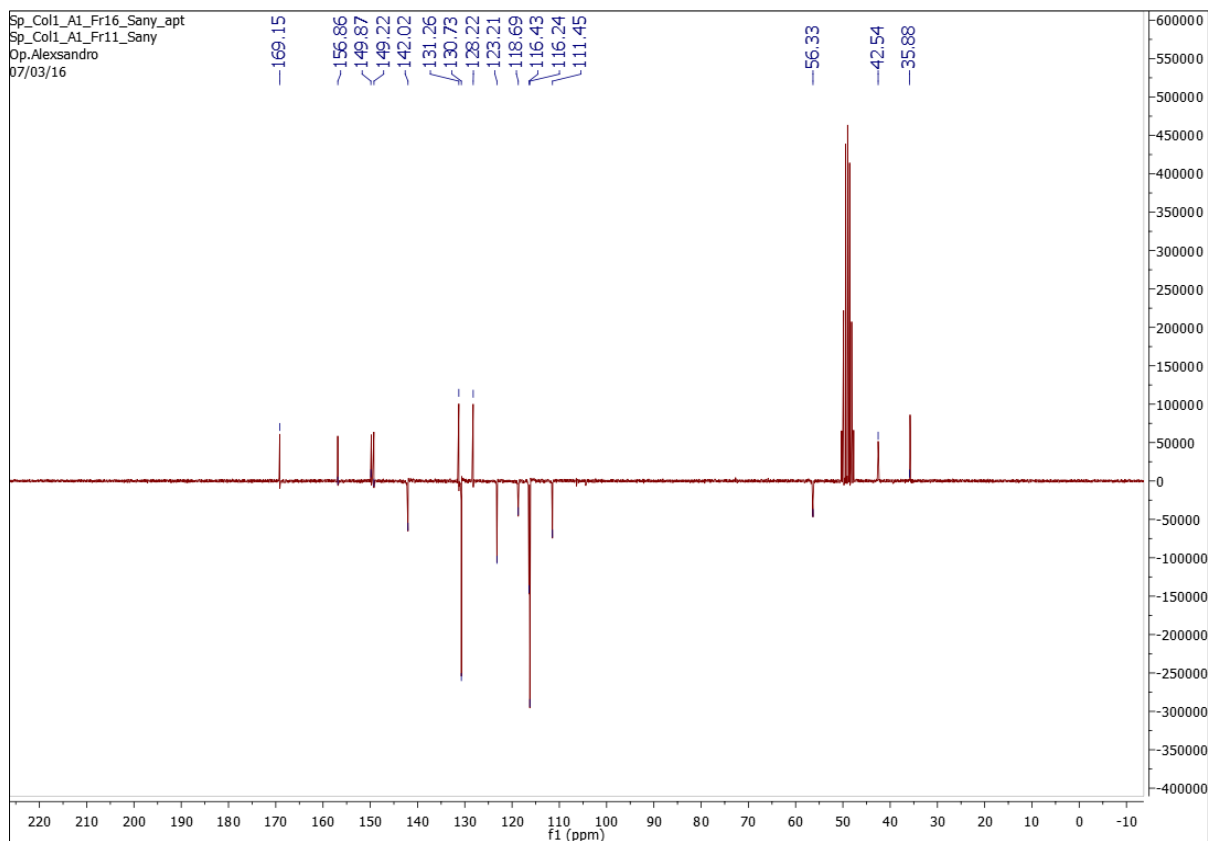


Figura 28. Espectro de RMN ^{13}C (δ , CD₃OD, 50 MHz) de *Sp-2*.

5.1.3 Identificação estrutural de **Sp-3**.

O composto **Sp-3** foi obtido como cristais de cor amarela.

O RMN¹H (Figura 29, pág.82) de **Sp-3** apresentou um conjunto de sinais na faixa entre δ_H 6,0 a 8,0 ppm, característico de substâncias com núcleo aromático e pelo perfil do espectro poderia tratar-se de um flavonoide. A sugestão de que este composto teria um núcleo flavanoidico foi corroborada pelo perfil da figura 30 (pág.82) que exibiu dois dupletos em δ_H 7,95 e δ_H 7,09, ambos com integração para dois hidrogênios cada, acoplando em *orto* com um $J = 9,0$ Hz, característicos da presença de anel B para-substituído e dois dupletos em δ_H 6,22 e δ_H 6,47 integrando para 1 hidrogênio cada e acoplando *meta* com um $J = 2,0$ Hz, típicos de anel A substituído nos carbonos C-5 e C-7. (MACIEL *et al.*, 2016). A presença de um simpleto em δ_H 3,89 (Figura 29, pág.82), evidência que **Sp-3** possui um grupo metoxila e comparações com a literatura permitiram inseri-lo no C-4' (Tabela 11, pág. 80).

O espectro de correlação heteronuclear HMQC (Figura 31, pág.83) permitiu atribuir as correlações entre os hidrogênios dos anéis A e B com seus respectivos carbonos (Tabela 12, pág. 81).

A análise das correlações exibidas no espectro HMBC (Figura 32, pág. 83) permitiu realizar o completo assinalamento da estrutura de **Sp-3**. A figura 32 (pág. 83) permitiu definir a posição do grupo metoxila no C-4' ao exibir correlações a três ligações (J^3) entre os hidrogênios metoxílicos em δ_H 3,89 e o carbono C-4' (δ_C 164,3), bem como a correlação J^3 evidenciada entre os hidrogênios H-2' e 6' (δ_H 7,95) com o carbono C-4' (δ_C 164,3). Esta posição foi ratificada pela correlação espacial assinalada no espectro NOESY (Figura 33, pág. 84) entre os hidrogênios do grupo metoxila (δ_H 3,89) com os hidrogênios H-3' e 5' (δ_H 7,09). A figura 32 (pág. 83) ainda permitiu definir que a molécula tratava-se de uma flavona ao mostrar correlação a duas ligações (J^2) entre o hidrogênio H-3 (δ_H 6,64) com o C-4 (δ_C 183,9) e a três ligações (J^3) com os carbonos C-10 (δ_C 105,3) e C-1' (δ_C 124,5). (Tabela 12, pág. 81)

A compilação dos dados de RMN¹H e ¹³C uni e bidimensionais analisados e comparações com os dados publicados confirmaram que o composto **Sp-3** tratava-se da 4'-metoxi-5,7-dihidroflavona (Acacetina) (Tabela 11, pág.80), pela primeira vez isolada na espécie *S. paniculatum*.

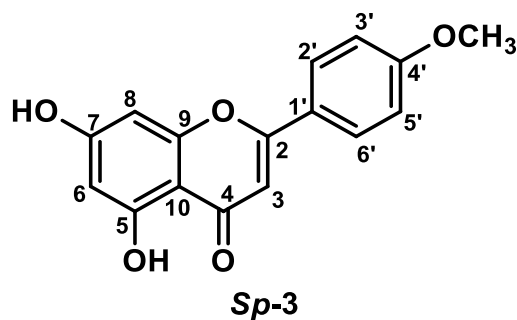


Tabela 11. Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C de **Sp-3** (δ , CD_3OD , 500 e 125 MHz) com o modelo Mo-2 (δ , CD_3OD , 500 e 125 MHz), (CHAVES *et al.*, 2013).

Sp-3			Mo-2 (Acacetina)	
C	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
2	-	165,8	-	163,7
3	6,64 (s, 1H)	104,7	6,63 (s, 1H)	102,9
4	-	183,9	-	181,2
5	-	162,4	-	160,8
6	6,22 (d, $J = 2 \text{ Hz}$, 1H)	100,5	6,21 (d, $J = 1,75 \text{ Hz}$, 1H)	98,3
7	-	163,4	-	162,7
8	6,47 (d, $J = 2 \text{ Hz}$, 1H)	95,4	6,46 (d, $J = 1,75 \text{ Hz}$, 1H)	93,4
9	-	159,4	-	156,7
10	-	105,3	-	103,1
1'	-	124,5	-	122,3
2'	7,95 (d, $J = 9 \text{ Hz}$, 2H)	129,5	7,94 (d, $J = 9,0 \text{ Hz}$, 2H)	127,7
3'	7,09 (d, $J = 9 \text{ Hz}$, 2H)	115,8	7,08 (d, $J = 9,0 \text{ Hz}$, 2H)	114,0
4'	-	164,3	-	161,7
5'	7,09 (d, $J = 9 \text{ Hz}$, 2H)	115,8	7,08 (d, $J = 9,0 \text{ Hz}$, 2H)	114,0
6'	7,95 (d, $J = 9 \text{ Hz}$, 2H)	129,5	7,94 (d, $J = 9,0 \text{ Hz}$, 2H)	127,7
OCH₃	3,89 (s, 3H)	56,5	3,88 (s, 3H)	55,0

Tabela 12. Dados espectrais de RMN¹H e ¹³C de **Sp-3** (δ , CD₃OD, 500 e 125 MHz).

¹ H x ¹³ C – HMQC			¹ H x ¹³ C – HMBC	
			² J	³ J
C	δ_H	δ_c		
2	-	165,8		
3	6,64 (s, 1H)	104,7	C-2, C-4	C-10
4	-	183,9		
5	-	162,4		
6	6,22 (d, J= 2 Hz, 1H)	100,5		C-10
7	-	163,4		
8	6,47 (d, J= 2Hz, 1H)	95,4	C-9	C-6
9	-	159,4		
10	-	105,3		
1'	-	124,5		
2'	7,95 (d, J= 9Hz, 2H)	129,5		C-2, C-4', C-6'
3'	7,09 (d, J= 9Hz, 2H)	115,8	C-4'	C-1', C-5'
4'	-	164,3		
5'	7,09 (d, J= 9Hz, 2H)	115,8	C-4'	C-1', C-3'
6'	7,95 (d, J= 9Hz, 2H)	129,5		C-2, C-4', C-2'
OCH ₃ -4'	3,89 (s, 3H)			C-4'
H				
OH-5 e 7				

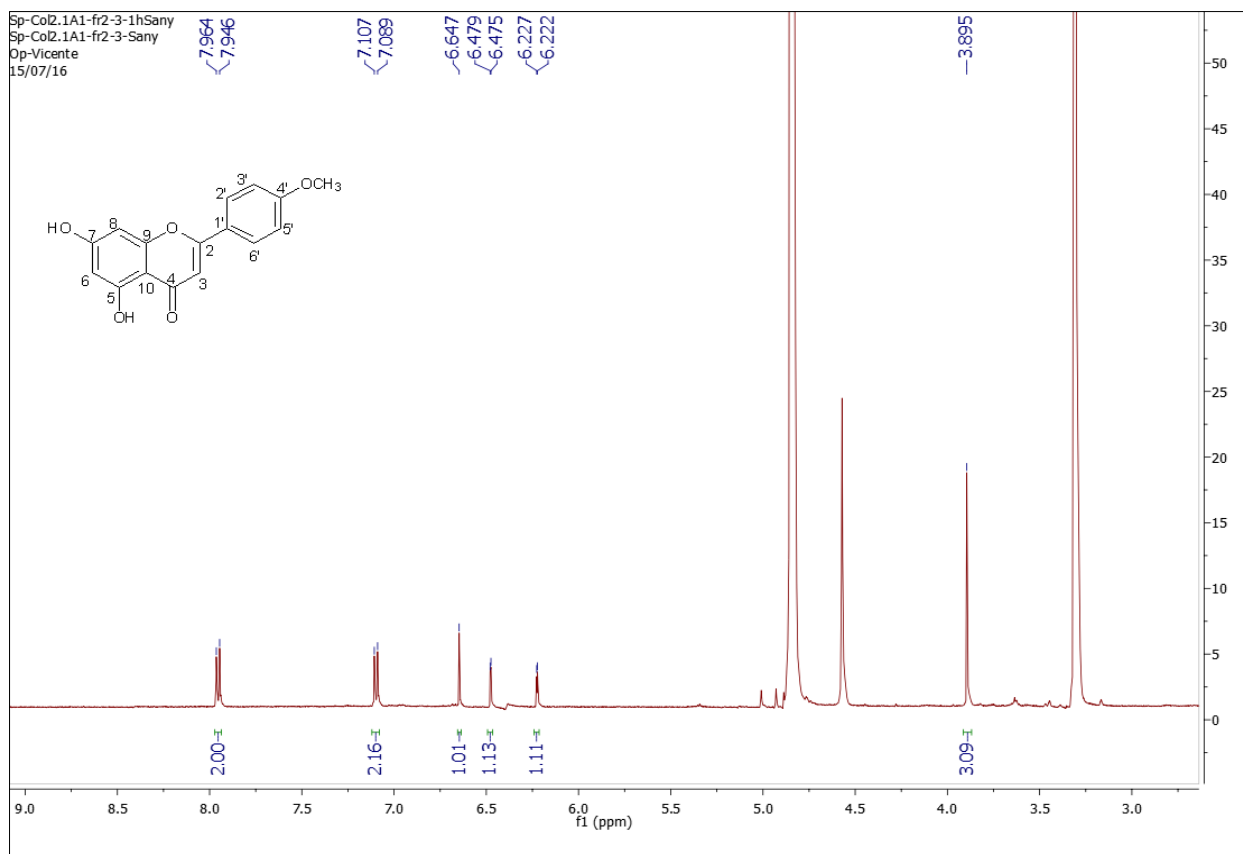


Figura 29. Espectro de RMN ^1H (δ , CD_3OD , 500 MHz) de **Sp-3**.

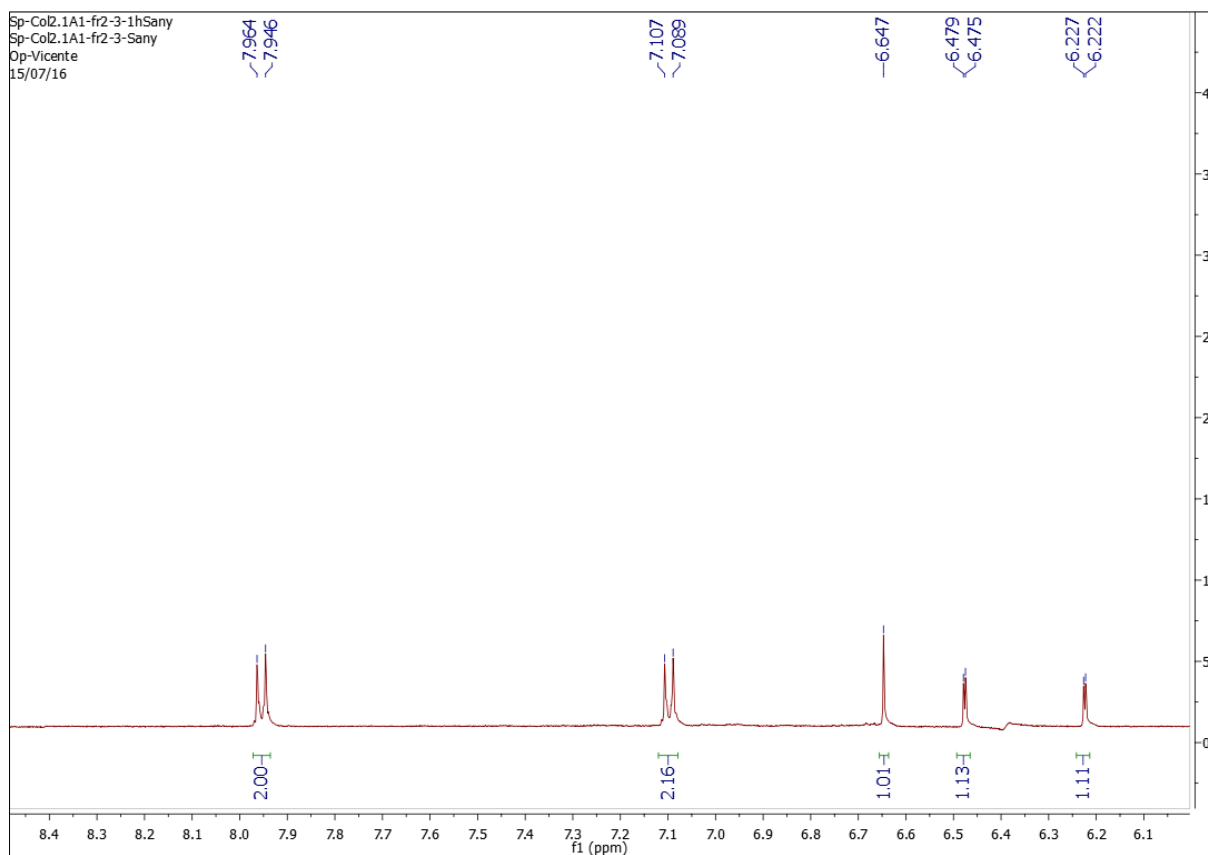


Figura 30. Expansão do espectro de RMN ^1H (δ , CD_3OD , 500 MHz) de **Sp-3**.

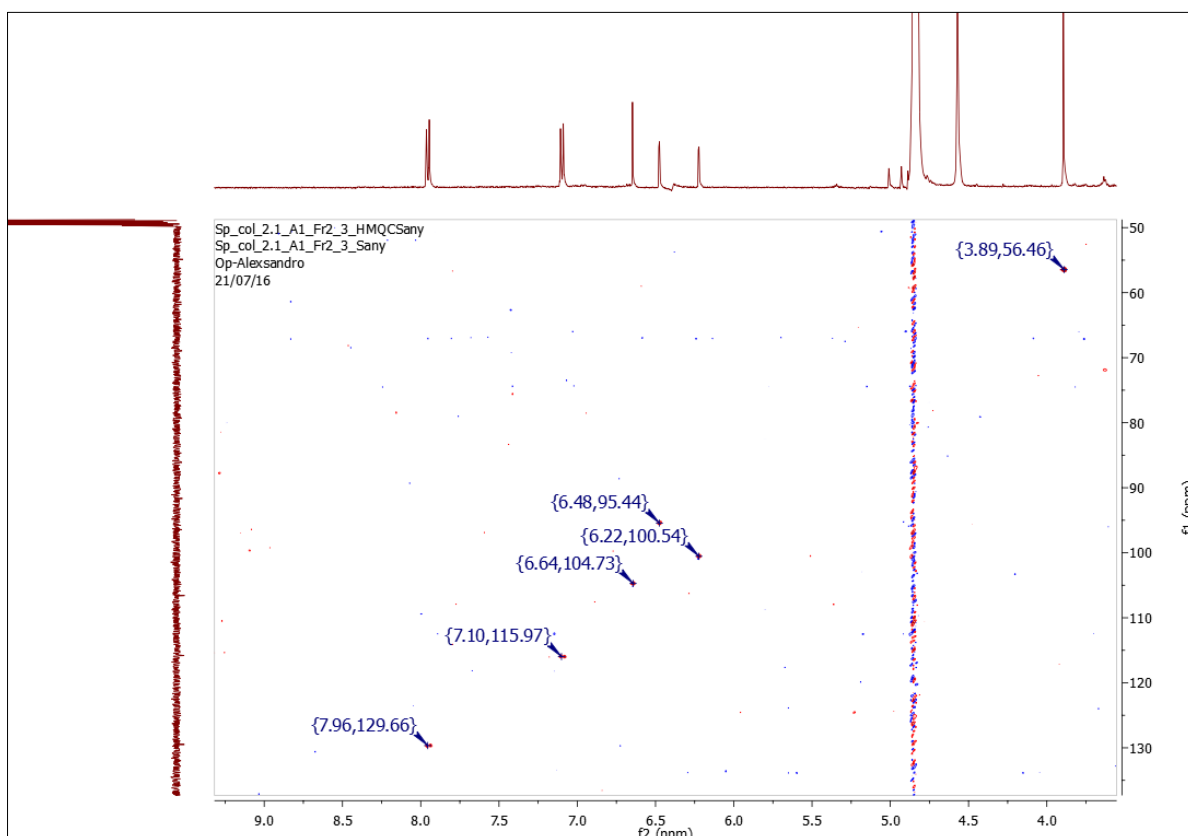


Figura 31. Espectro HMQC (δ , CD₃OD, 500 MHz) de **Sp-3**.

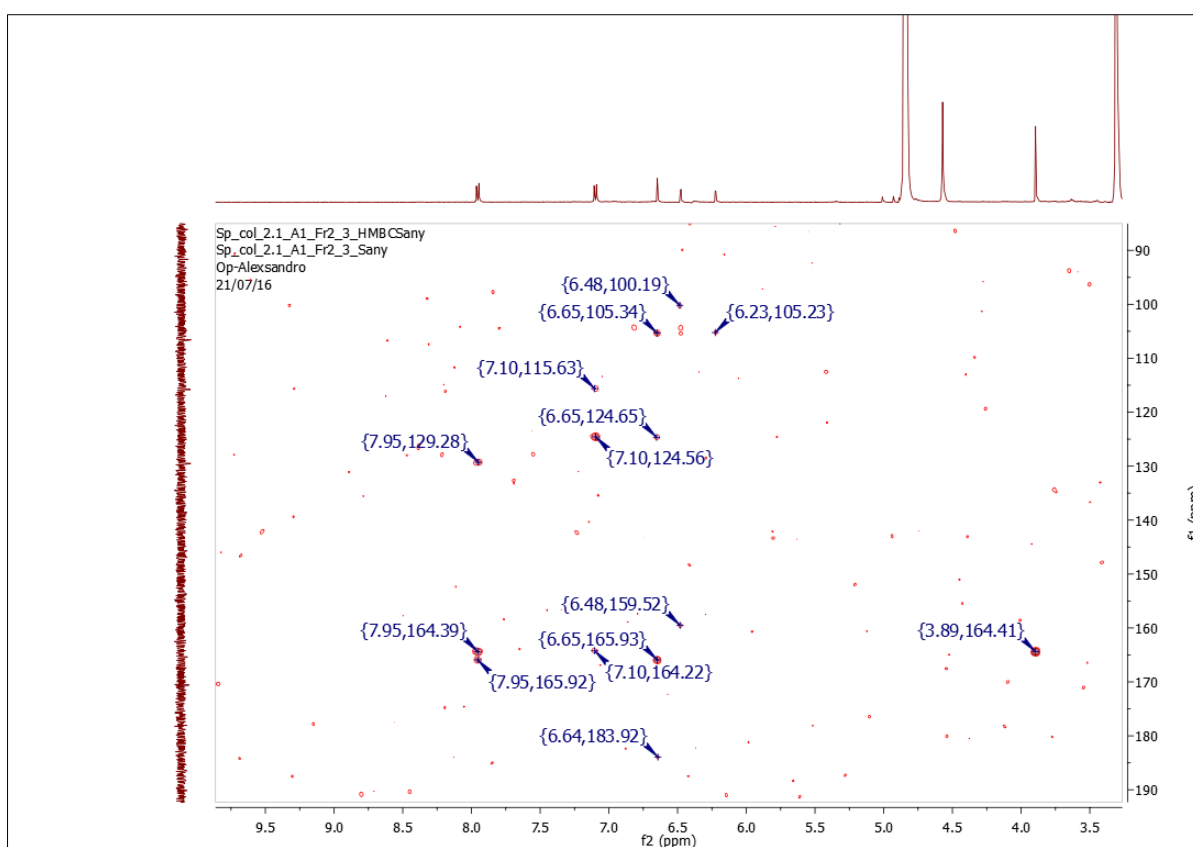


Figura 32. Espectro HMBC (δ , CD₃OD, 500 MHz) de **Sp-3**.

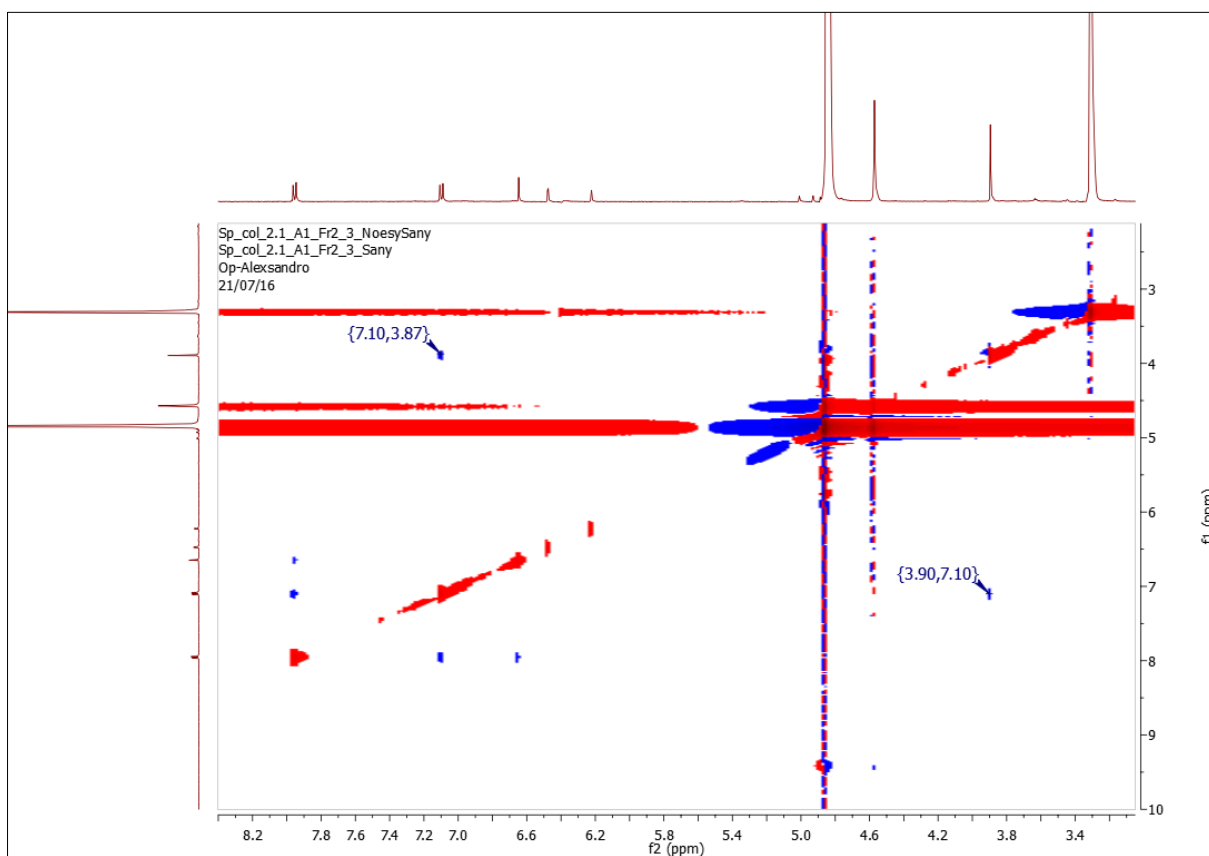


Figura 33. Espectro NOESY (δ , CD₃OD, 500 MHz) de **Sp-3**.

5.1.4 Identificação estrutural de *Sp-4*.

O composto *Sp-4*, obtido como um sólido amorfo amarelo, mostrou sinais nos seus espectros de RMN¹H, figuras. 34 e 35 (pág. 88) muito semelhantes aqueles apresentados pelas figuras 29 e 30 (pág. 82) do composto *Sp-3*, que caracterizaram flavona com o anel B *para* substituído e o anel A substituído nas posições 5 e 7 (Tabela 13, pág 86). Todavia a ausência de um sigleto em δ_H 3,89, com integral para 3 hidrogênios, nas figuras. 34 e 35, (pág. 88) de *Sp-4*, atribuído ao grupo metoxila (OCH₃-4') do composto *Sp-3*, permitiu sugerir que o composto *Sp-4* não possui um grupo metoxila no C-4'.

No espectro de correlação heteronuclear HMQC (Figura 36, pág. 89) do composto *Sp-4* pôde-se observar correlações diretas entre os hidrogênios e seus respectivos carbonos nos aneis A, B e C que caracterizaram o anel A substituído nas posições C-5 e C-7, o anel C sem substituinte na posição C-3 e o anel B *para*-substituído (Tabela 14, pág. 87). A comparação cuidadosa dos dados espectroscópicos de RMN *Sp-4* com os de *Sp-3* revelou que eles compartilham o mesmo esqueleto de 7-hidroxi-flavona, no entanto o RMN de *Sp-4* não apresentou o sinal com integral para metoxila em δ_H 3 ppm, o que permitiu sugerir que o composto *Sp-4* é a apigenina tendo como impureza uma pequena quantidade de acacetina.

A comparação dos dados de RMN com os dados publicados confirmou a estrutura de *Sp-4* como sendo a 4',5,7-triidroxi-flavona (Apigenina) (Tabela 13, pág. 86), isolada pela primeira vez na espécie *S. paniculatum*.

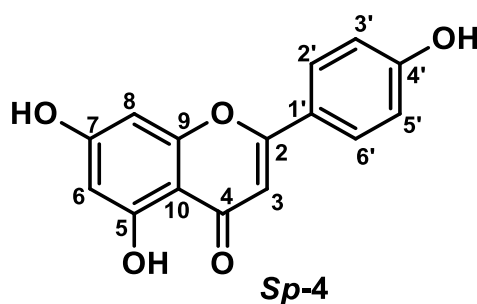


Tabela 13. Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C de **Sp-4** (δ , CD_3OD , 500 e 125 MHz) com **Sp-3** e com o modelo Mo-4 (δ , DMSO, 400 e 100 MHz), (TELES *et al.*,2015B).

	Sp-4		Sp-3		Mo-4 (Apigenina)	
C	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
2	-	164,9	-	165,8	-	164,3
3	6,60 (s, 1H)	103,5	6,64 (s, 1H)	104,7	6,78 (s, 1H)	103,4
4	-	182,4	-	183,9	-	182,3
5	-	161,8	-	162,4	-	162,1
6	6,22 (d, $J=2$ Hz, 1H)	99,9	6,22 (d, $J=2$ Hz, 1H)	100,5	6,19 (d, $J=1,2$ Hz, 1H)	99,4
7	-	164,8	-	163,4	-	164,7
8	6,46 (d, $J=2$ Hz, 1H)	94,7	6,47 (d, $J=2$ Hz, 1H)	95,4	6,48 (d, $J=1,2$ Hz, 1H)	94,5
9	-	158,0	-	159,4	-	157,8
10	-	103,9	-	105,3	-	104,2
1'	-	121,9	-	124,5	-	121,7
2'	7,86 (d, $J=9$ Hz, 2H)	129,5	7,95 (d, $J=9$ Hz, 2H)	129,5	7,92 (d, $J=8,0$ Hz, 2H)	129,0
3'	6,93 (d, $J=9$ Hz, 2H)	116,6	7,09 (d, $J=9$ Hz, 2H)	115,8	6,93 (d, $J=8,0$ Hz, 2H)	116,5
4'	-	161,3	-	164,3	-	161,7
5'	6,93 (d, $J=9$ Hz, 2H)	116,6	7,09 (d, $J=9$ Hz, 2H)	115,8	6,93 (d, $J=8,0$ Hz, 2H)	116,5
6'	7,86 (d, $J=9$ Hz, 2H)	129,5	7,95 (d, $J=9$ Hz, 2H)	129,5	7,92 (d, $J=8,0$ Hz, 2H)	129,0
OCH₃	-		3,89 (s, 3H)	56,5		-

Tabela 14. Dados de RMN ^1H e ^{13}C de **Sp-4** (δ , CD_3OD , 500 e 125 MHz).

$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMQC			$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC	
			^2J	^3J
C	δ_{H}	δ_{C}		
2	-	164,9		
3	6,60 (s, 1H)	103,5	C-2, C-4	C-10
4	-	182,4		
5	-	161,81		
6	6,22 (d, $J= 2\text{ Hz}$, 1H)	99,9	C-5	C-10
7	-	164,8		
8	6,46 (d, $J= 2\text{ Hz}$, 1H)	94,7	C-9, C-7	C-6
9	-	158,0		
10	-	103,9		
1'	-	121,9		
2'	7,86 (d, $J= 9\text{ Hz}$, 2H)	129,5		C-2, C-4', C-6'
3'	6,93 (d, $J= 9\text{ Hz}$, 2H)	116,6	C-4'	C-1', C-5'
4'	-	161,3		
5'	6,93 (d, $J= 9\text{ Hz}$, 2H)	116,6	C-4'	C-1', C-3'
6'	7,86 (d, $J= 9\text{ Hz}$, 2H)	129,5		C-2, C-4', C-2'
H				
OH-5, 7 e 4'				

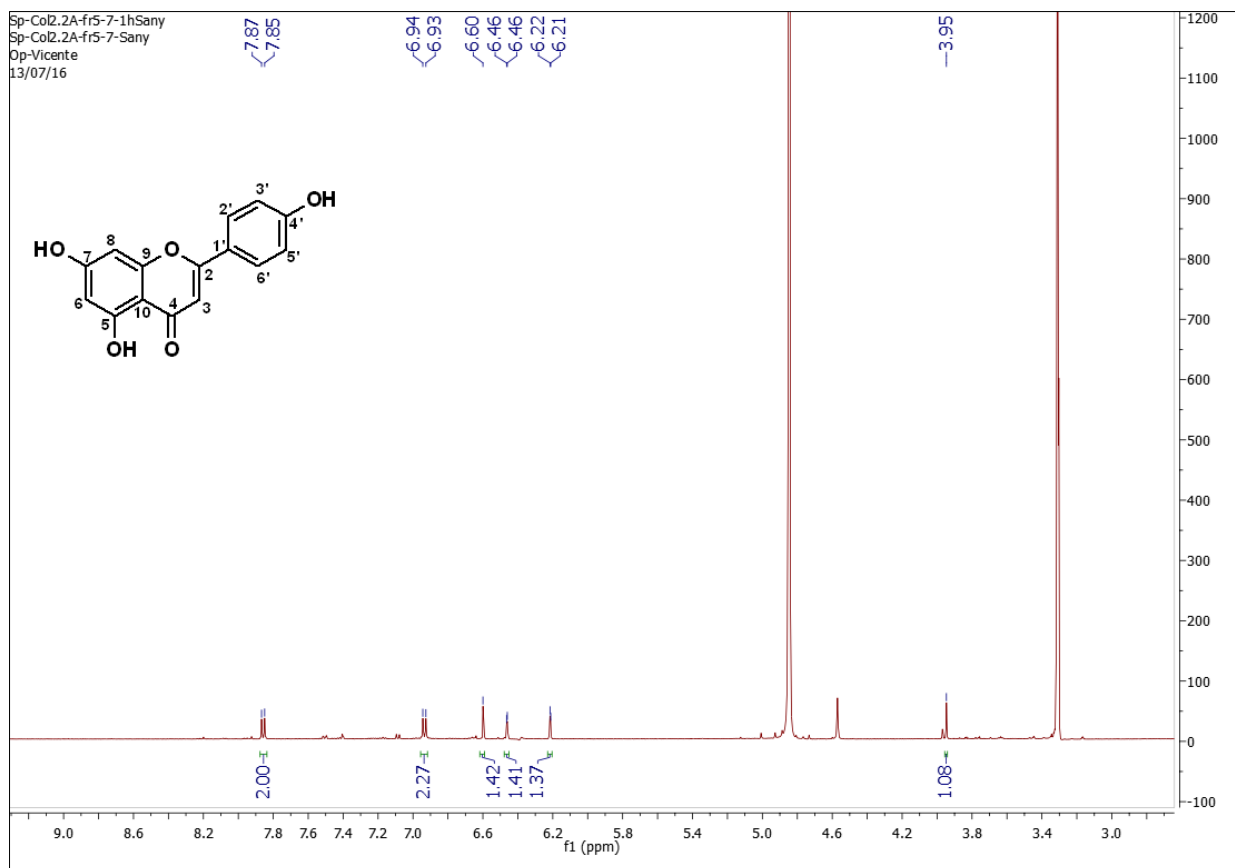


Figura 34. Espectro de RMN ^1H (δ , CD_3OD , 500 MHz) de **Sp-4**.

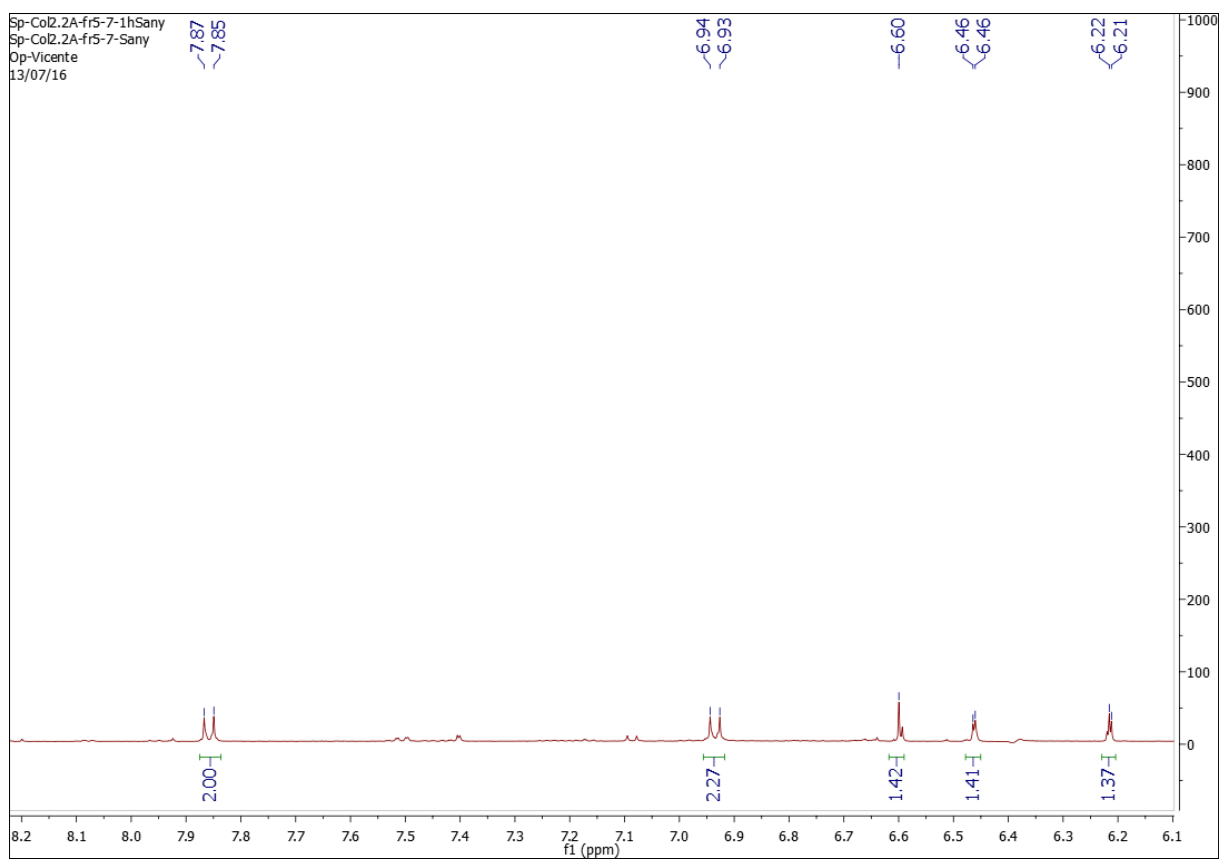


Figura 35. Expansão do espectro de RMN ^1H (δ , CD_3OD , 500 MHz) de **Sp-4**.

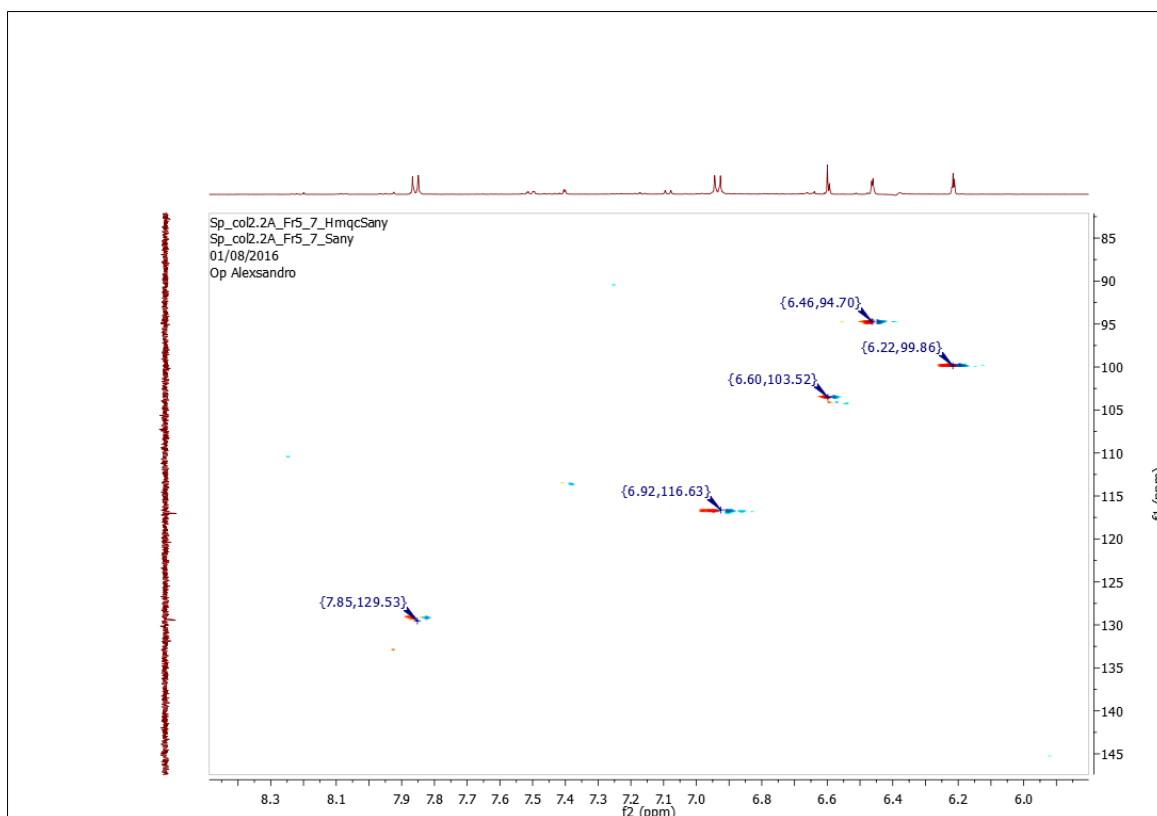


Figura 36. Espectro HMQC (δ , CD_3OD , 500 MHz) de **Sp-4**.

5.1.5 Identificação estrutural de *Sp-5*.

O composto *Sp-5* foi isolado como um sólido amarelo amorfo. A análise dos espectros de RMN¹H (Figuras. 37 e 38, pág.92) sugeriram que ***Sp-5*** possui um esqueleto de 5,7-dihydroxiflavona por mostrar dois dupletos em δ_H 6,13 e δ_H 6,30, ambos integrando para um hidrogênio cada que acoplam *meta* ($J = 2,0$ Hz). (CHAVES *et al.*, 2018). Um duplete em δ_H 6,82 (2H, $J = 9,0$ Hz), indicando acoplamento *orto* com outro duplete em δ_H 8,00 (2H, $J = 9,0$ Hz) característico do anel B *para*-substituído, juntamente com a ausência de um simpleto em torno 6,60 (s, 1H) referente ao H-3 de núcleo flavona, permitiram sugerir que ***Sp-5*** trata-se de uma flavona substituída nas posições C-3, C-5, C-7 e C-4'.

A presença de um par de dupletos em δ_H 6,80 e δ_H 7,33 referentes a dois hidrogênios a dois cada que acoplam em *orto* e caracterizam um sistema AA'BB' acrescida de dois dupletos em δ_H 6,08 e δ_H 7,40 referentes a um hidrogênio cada e configuração *trans* com um $J = 16,0$ Hz, permitiram sugerir que ***Sp-5*** possui um grupo coumaroil (TELES *et al.*, 2015A).

O duplete em δ_H 5,23 com uma constante de acoplamento de 7,5 Hz referente ao hidrogênio anomérico, acrescidos dos duplos dupletos, dupletos e múltiplos entre δ_H 4,35 e 3,40 exibidos pelo espectro de RMN¹H (Figura 39, pág. 93) permitiram sugerir ainda que ***Sp-5*** possui uma unidade de glicose. Estes dados em comparação com a literatura (Tabela 15, pág. 91) levaram a propor que ***Sp-5*** tratava-se do canferol-3-*O*- β -D-(6''-*E*-*p*-coumaroil) glicosídeo (Tilirosídeo) previamente isolado da fase acetato de etila de *S. paniculatum* (CAVALCANTE *et al.*, 2010) e amplamente distribuído em espécies da família Malvaceae (SILVA *et al.*, 2005); (SILVA *et al.* 2006); COSTA *et al.*, 2007); (COSTA *et al.*, 2009); GOMES, *et al.*, 2011A; CHEN *et al.*, 2012; OLIVEIRA *et al.*, 2012; MOSTARDEIRO *et al.*, 2014; GARCIA, 2007).

O espectro de RMN¹³C (Figura 40, pág. 93) confirmou a proposta de que o composto ***Sp-5*** podia ser definida como canferol-3-*O*- β -D-(6''-*E*-*p*-coumaroil) glicosídeo (Tilirosídeo) ao exibir sinais para 30 carbonos, sendo 15 referentes ao núcleo flavona, seis condizentes com carbonos da unidade de glicose e nove atribuídos aos carbonos do grupo coumaroil. (Tabela 15, pág. 91).

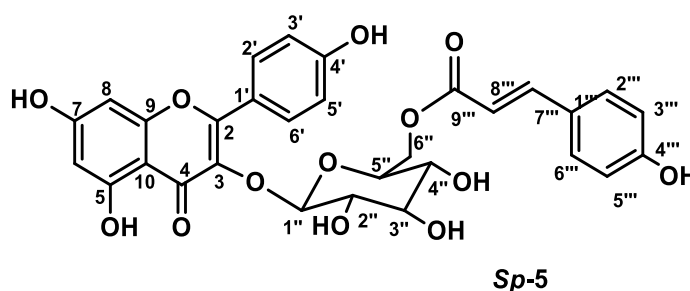


Tabela 15. Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C de **Sp-5** (δ , CD_3OD , 500 e 125 MHz) com o modelo Mo-5 (δ , DMSO, 400 e 100 MHz), (TELES *et al.*, 2015B).

C	Sp-5		Mo-5 (Tilirosídeo)	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
2	-	159,4	-	156,6
3	-	135,07	-	132,9
4	-	179,27	-	176,7
5	-	162,92	-	161,0
6	6,13 (1H; d, $J=2\text{Hz}$)	100,4	6,12 (1H; d, $J=2,0\text{ Hz}$)	99,6
7	-	167,1	-	164,1
8	6,30 (1H; d, $J=2\text{Hz}$)	95,3	6,35 (1H; d, $J=2,0\text{ Hz}$)	94,1
9	-	158,7	-	155,8
10	-	105,3	-	102,5
1'	-	122,7	-	120,7
2'	8,00 (2H; d, $J=9\text{Hz}$)	132,4	7,97 (2H; d, $J=8,9\text{ Hz}$)	130,1
3'	6,82 (2H; d, $J=9\text{Hz}$)	117,0	6,84 (2H; d, $J=8,9\text{ Hz}$)	115,8
4'	-	161,6	-	160,0
5'	6,82 (2H; d, $J=9\text{Hz}$)	117,0	6,84 (2H; d, $J=8,9\text{ Hz}$)	115,8
6'	8,00 (2H; d, $J=9\text{Hz}$)	132,4	7,97 (2H; d, $J=8,9\text{ Hz}$)	130,1
1''	5,23 (1H; d, $J=7,5\text{Hz}$)	104,2	5,43 (1H; d, $J=7,5\text{ Hz}$)	101,4
2''	3,50-3,30 (m)	75,6	3,35 – 3,19 (m)	74,2
3''	3,50-3,30 (m)	78,3	3,35 – 3,19 (m)	76,3
4''	3,16 (m)	71,7	3,16 (m)	69,9
5''	3,42 (m)	75,6	3,25 (m)	74,1
6''	4,30 (1H; dd, $J=2\text{ e }11\text{ Hz}$) e 4,18 (1H; dd, $J=6,5\text{ e }12\text{ Hz}$)	64,4	4,27 (1H; dd, $J=2,0\text{ e }11,8\text{ Hz}$) e 4,02 (1H; dd, $J=6,4\text{ e }11,8\text{ Hz}$)	62,9
1'''	-	127,1	-	124,7
2''' e 6'''	7,33 (2H; d, $J=9\text{ Hz}$)	130,9	7,35 (2H; d, $J=8,5\text{ Hz}$)	130,6
3''' e 5'''	6,80 (2H; d, $J=9\text{Hz}$)	116,3	6,77 (2H; d, $J=8,5\text{ Hz}$)	115,0
4'''	-	161,33	-	159,9
7'''	7,40 (1H; d, $J=16\text{Hz}$)	146,6	7,33 (1H; d, $J=16,0\text{ Hz}$)-	144,6
8'''	6,10 (1H; d, $J=16\text{Hz}$)	114,8	6,09 (1H; d, $J=16,0\text{ Hz}$)	113,5
9'''	-	168,8	-	166,2
OH-5			-	-

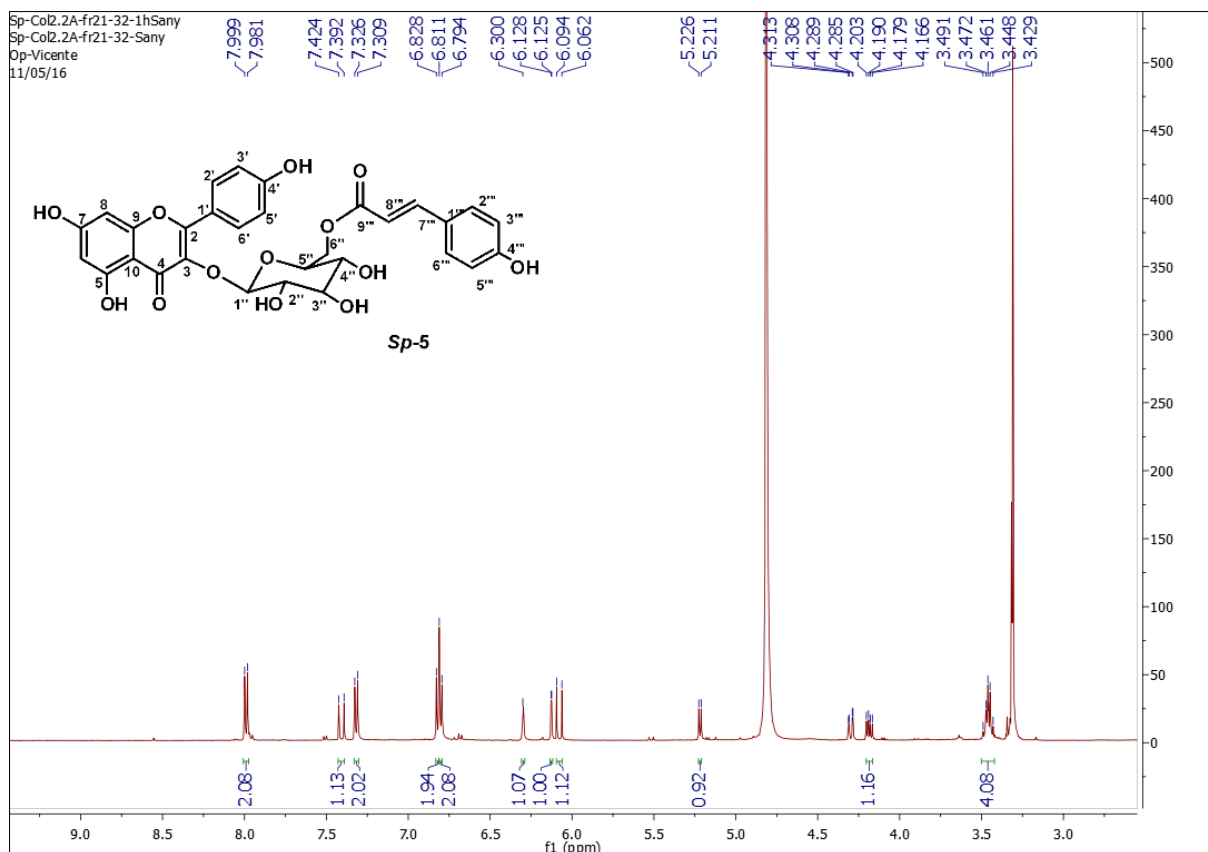


Figura 37. Espectro de RMN ^1H (δ , CD_3OD , 500 MHz) de **Sp-5**.

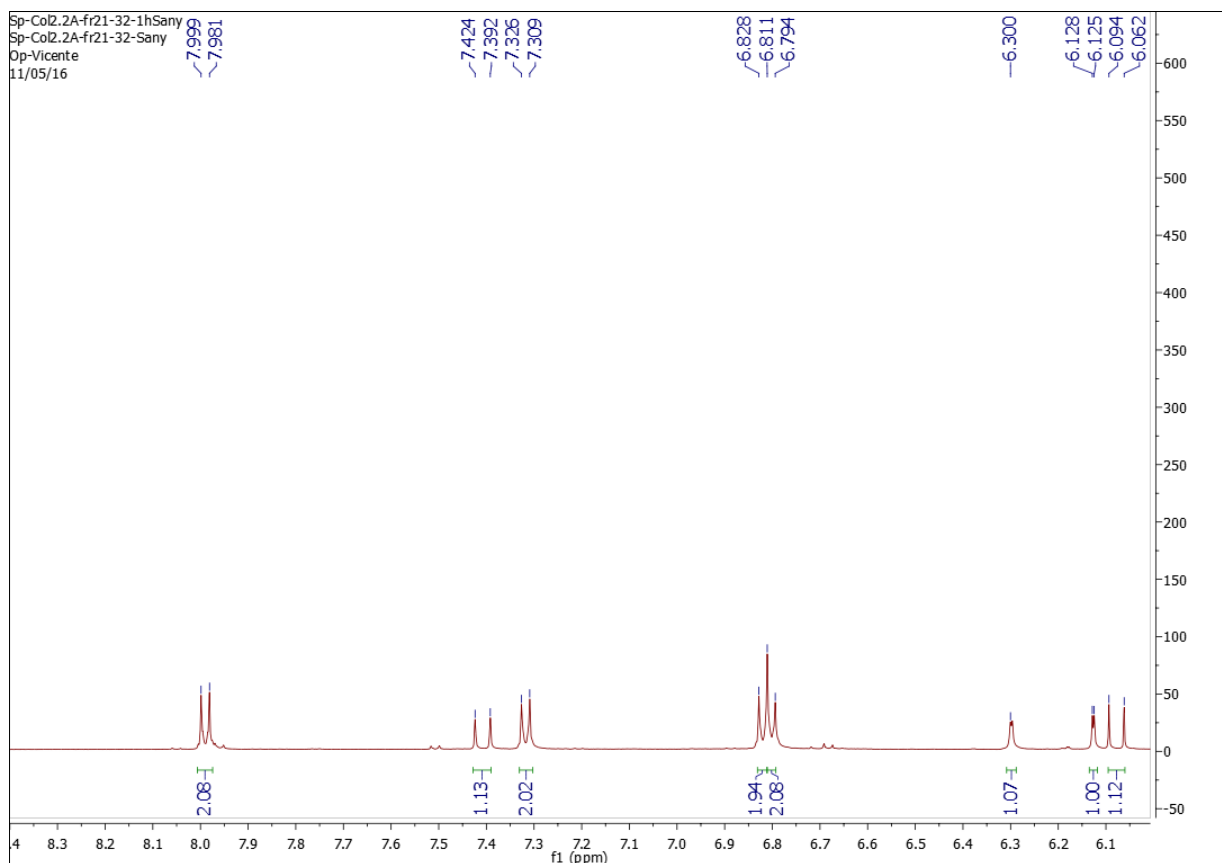


Figura 38. Expansão do espectro de RMN ^1H (δ , CD_3OD , 500 MHz) de **Sp-5**.

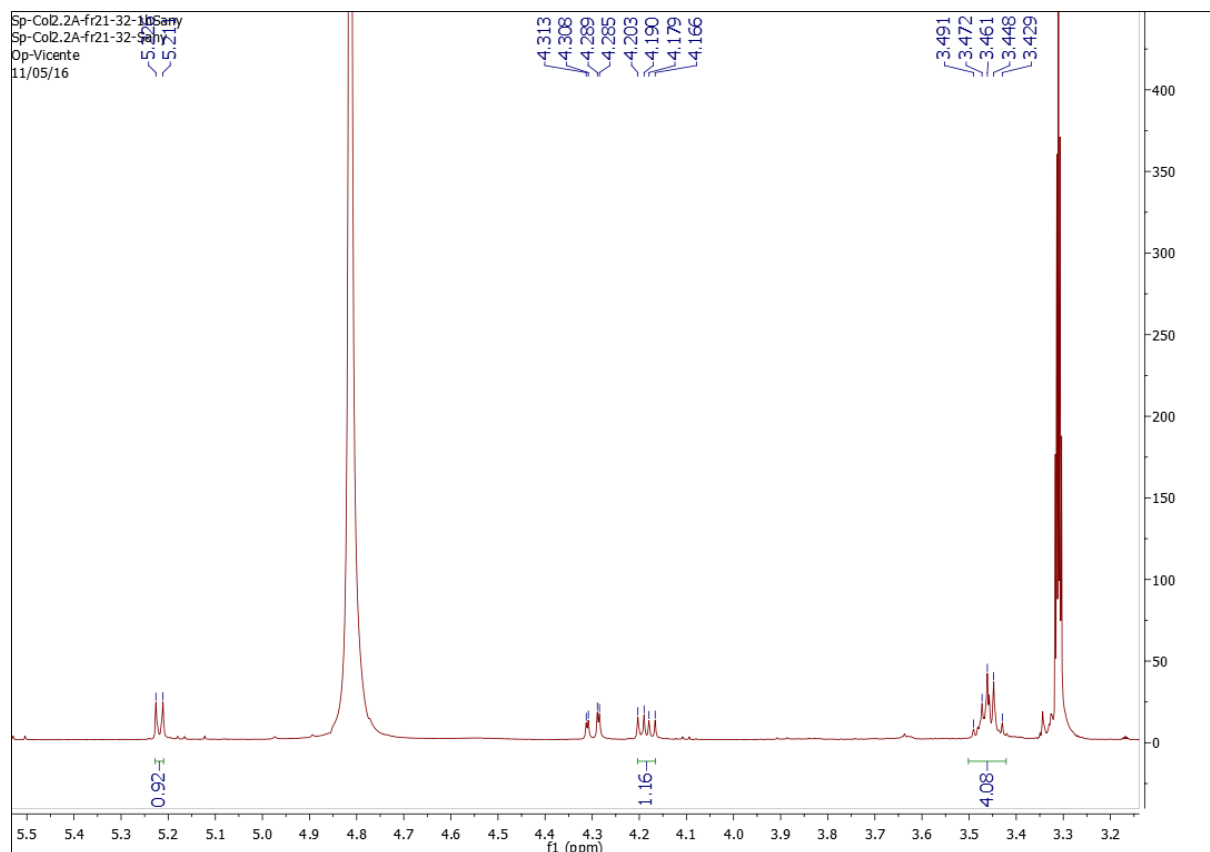


Figura 39. Expansão do espectro de RMN ^1H ($\underline{\Delta}$ CD_3OD , 500 MHz) de *Sp*-5.

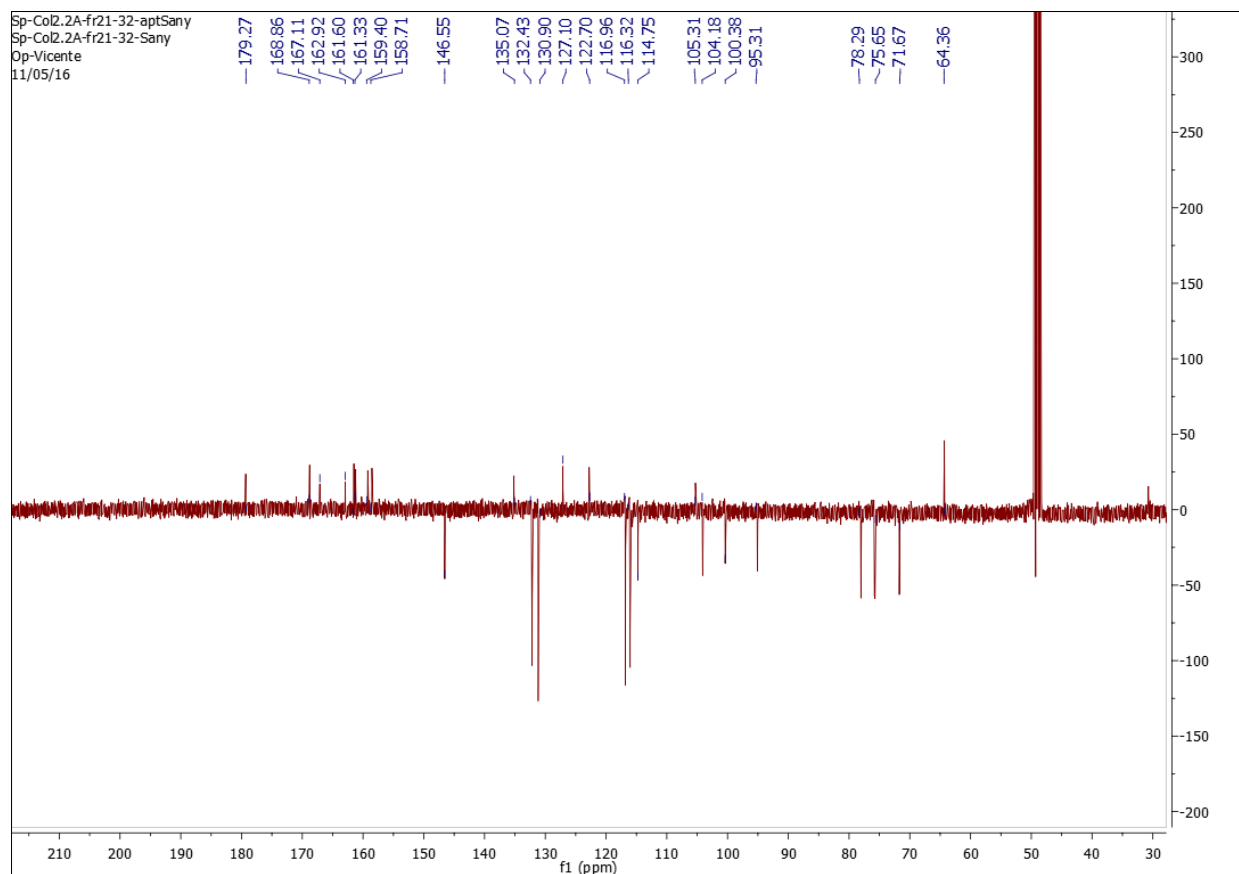


Figura 40. Espectro de RMN ^{13}C ($\underline{\Delta}$ CD_3OD , 125 MHz) de *Sp*-5.

5.1.6 Identificação estrutural de **Sp-6**.

O composto **Sp-6** foi isolado como um sólido amarelo amorfo. O espectro de RMN ^1H (Figura 41, pág 99) sugeriu que este composto apresentava um núcleo flavona com substituintes nos carbonos C-4' pela a presença de dois dupletos em δ_{H} 7,08 (2H, $J = 9$ Hz) e δ_{H} 8,21 (2H, $J = 9$ Hz) característicos do sistema AA'BB' no anel B e substituintes nos carbonos C-5, C-7 e C-8 quando mostrou dois simpletos em δ_{H} 6,67 (1H) e δ_{H} 6,52 (1H) atribuídos respectivamente aos hidrogênios H-3 e H-6 de flavona.

A figura 43 (pág. 100) evidenciou dois simpletos em δ_{H} 3,95 e δ_{H} 3,89 que permitiram propor a existência de dois grupos metoxílicos para a molécula. A análise dos espectros de RMN ^1H e comparações com dos dados publicados (TELES *et al*, 2015B) levaram a propor que **Sp-6** possui um esqueleto de 7,4'-di-O-metoxiflavona.

O espectro de RMN ^{13}C utilizando a técnica APT (Figura 44, pág. 100) corroborou a proposta da estrutura 7,4'-di-O-metoxiflavona para **Sp-6** ao mostrar 15 sinais para 17 carbonos. Destes, os picos em δ_{C} 129,0 e 115,1 foram atribuídos aos C-2', C-6' e C-3', C-5', respectivamente, do sistema AA'BB'. Os picos em δ_{C} 56,9 e 56,1 foram atribuídos aos grupos metoxilas localizados nos carbonos C-7 e C-4', respectivamente. (Tabela 16, pág. 96).

As atribuições para todos os sinais dos carbonos poderão ser determinadas pelas correlações diretas entre os hidrogênios e seus carbonos, espectro HMQC (Figura 46 e 47, pág. 101 e 102) e correlações a duas (J^2) e três (J^3) ligações através do espectro HMBC (Figuras 48 e 49, pág 102 e 103). (Tabela 17, pág. 97).

A ratificação da posição dos grupos metoxilas nos C-7 e C-4' foram definidas pelo espectro NOESY (Figura 50, pág 103) que mostrou correlações espaciais entre os hidrogênios do grupo metoxila δ_{H} 3,95 (OCH₃-7) com δ_{H} 6,52 (H-6) e δ_{H} 3,89 (OCH₃-4') com os hidrogênios H-3' e H-5' (δ_{H} 7,08).

Os dados espectrais sugeriram que **Sp-6** poderia ser o 7,4'-di-O-metilisoescutelareina, já isolado de *S. paniculatum* (TELES *et al.*, 2015A), todavia pequenas diferenças entre os desvios químicos de carbonos e hidrogênios foram observados, particularmente nas posições 5, 7, 8 e 9 da molécula em análise (Tabela 16, pág. 96), o que levantou a hipótese de que **Sp-6** poderia possuir um grupo polar na sua estrutura química e que este grupo estaria na posição C-8, como no modelo Mo-7 (7,4'-di-O-metil-8-O-sulfato isoscutelareina) (Tabela 17, pág. 97). A análise comparativa por CCDA do composto **Sp-6** com o padrão 7,4'-di-O-metilisoescutelareina mostrou que **Sp-6** era mais polar do que o 7,4'-di-O-metilisoescutelareina, fortalecendo, portanto, o que foi indicado pelos dados espectrais da Tabela 16 (pág. 96).

O espectro de IV (Figura 41, pág. 99) indicou a presença de um grupo hidroxí (3476 cm^{-1}), anéis aromáticos ($1604\text{-}1450\text{ cm}^{-1}$), carbonila (1664 cm^{-1}) e uma banda de deformação característica de $\nu_{\text{S=O}}$ em 1246 cm^{-1} , fortalecendo a hipótese levantada acima para a molécula de **Sp-6** (PAVIA *et al.*, 2012).

A presença do grupo sulfato para a molécula em análise foi confirmada por TOF-MS, onde o espectro de massa obtido (Figura 51, pág. 104) detectou o pico do íon molecular em m/z 393,0262 $[\text{M} - \text{H}]^-$ com fórmula mínima para $\text{C}_{17}\text{H}_{13}\text{O}_9\text{S}$ (fórmula molecular $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_9\text{S}$).

A comparação dos dados de RMN, IV, Massas e dados da literatura confirmaram o composto **Sp-6** como sendo o 7,4'-di-*O*-metil-8-*O*-sulfato isoscutelareina (Tabelas 16 e 17, pág. 96 e 97), isolada pela primeira vez na espécie *S. paniculatum*.

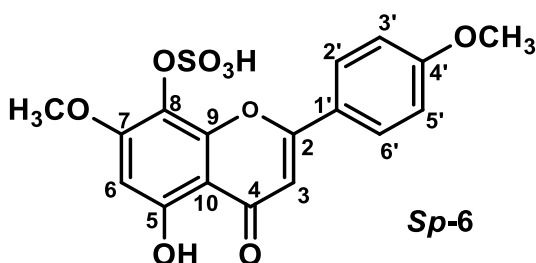


Tabela 16. Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C de **Sp-6** (δ , CD_3OD , 500 e 125 MHz) com o modelo Mo-6 (δ , DMSO, 400 e 100 MHz), (TELES *et al.*, 2015B).

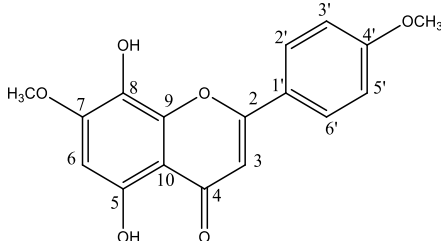
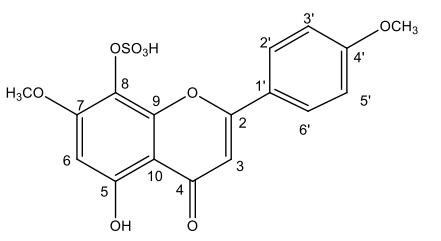
Mo-6 (7,4'-di-O-metilisoescutelareina)			Sp 6	
				
C	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
2	-	164,0	-	166,6
3	6,87 (s, 1H)	103,6	6,67 (s, 1H)	103,8
4	-	182,9	-	184,3
5	-	153,1	-	159,6
6	6,56 (s, 1H)	96,2	6,52 (s, 1H)	96,9
7	-	154,8	-	160,9
8	-	126,8	-	123,4
9	-	145,0	-	151,4
10	-	104,4	-	105,5
1'	-	123,5	-	124,7
2'	8,12 (d, J=8,12 Hz, 2H)	129,0	8,21 (d, J= 9 Hz, 2H)	130,2
3'	7,13 (d, J=8,6 Hz, 2H)	115,1	7,08 (d, J= 9 Hz, 2H)	115,5
4'	-	162,9	-	164,5
5'	7,13 (d, J=8,6 Hz, 2H)	115,1	7,08 (d, J= 9 Hz, 2H)	115,5
6'	8,12 (d, J=8,12 Hz, 2H)	129,0	8,21 (d, J= 9 Hz, 2H)	130,2
OCH ₃ -4'	3,86 (s, 3H)	56,1	3,95 (s, 3H)	56,02
OCH ₃ -7	3,90 (s, 3H)	56,9	3,89 (s, 3H)	57,04
OH - 5	12,44 (s, 1H)		-	

Tabela 17. Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C de **Sp-6** (δ , CD_3OD , 500 e 125 MHz) com o modelo Mo-7 (δ , DMSO, 400 e 100 MHz), (TELES *et al.*, 2015B).

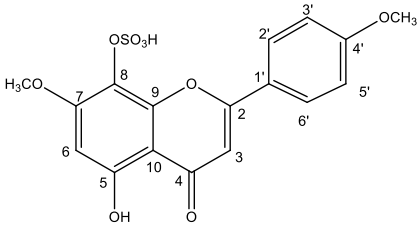
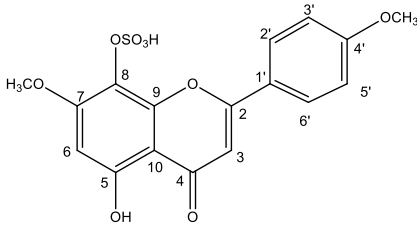
Mo-7 (4-di-O-metil-8-O-sulfato isoscutelareina)			Sp 6	
				
C	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
2	-	164,4	-	166,6
3	6,88 (s, 1H)	103,3	6,67 (s, 1H)	103,8
4	-	182,7	-	184,3
5	-	157,6	-	159,6
6	6,53 (s, 1H)	96,6	6,52 (s, 1H)	96,9
7	-	159,7	-	160,9
8	-	123,3	-	123,4
9	-	149,9	-	151,4
10	-	104,3	-	105,5
1'	-	123,7	-	124,7
2'	8,28 (d, J= 8,0 Hz, 2H)	129,7	8,21 (d, J= 9 Hz, 2H)	130,2
3'	7,08 (d, J=8,7 Hz, 2H)	114,9	7,08 (d, J= 9 Hz, 2H)	115,5
4'	-	162,8	-	164,5
5'	7,08 (d, J=8,7 Hz, 2H)	114,9	7,08 (d, J= 9 Hz, 2H)	115,5
6'	8,28 (d, J=8,0 Hz, 2H)	129,7	8,21 (d, J= 9 Hz, 2H)	130,2
OCH ₃ -4'	3,86 (s, 3H)	56,1	3,95 (s, 3H)	56,02
OCH ₃ -7	3,85 (s, 3H)	57,0	3,89 (s, 3H)	57,04
OH - 5	12,87 (s, 1H)	-	-	-

Tabela 18. Dados de RMN ^1H e ^{13}C de **Sp-6** (δ , CD_3OD , 500 e 125 MHz).

$^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - \text{HMQC}$			$^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - \text{HMBC}$	
			^2J	^3J
C	δ_{H}	δ_{C}		
2	-	166,6		
3	6,67 (s, 1H)	103,8	C-2, C-4	C-1', C-10
4	-	184,3		
5	-	159,6		
6	6,52 (s, 1H)	96,9	C-5, C-7	C-8, C-10
7	-	160,9		
8	-	123,4		
9	-	151,4		
10	-	105,5		
1'	-	124,7		
2'	8,21 (d, J= 9 Hz, 2H)	130,2		C-4', C-6'
3'	7,08 (d, J= 9 Hz, 2H)	115,5	C-4'	C-1', C-5'
4'	-	164,5		
5'	7,08 (d, J= 9 Hz, 2H)	115,5	C-4'	C-1', C-3'
6'	8,21 (d, J= 9 Hz, 2H)	130,2		C-4', C-2', C-2
OCH ₃ -4'	3,95 (s, 3H)	56,02		C-4'
OCH ₃ -7	3,89 (s, 3H)	57,04		C-7
H				
OH-5				

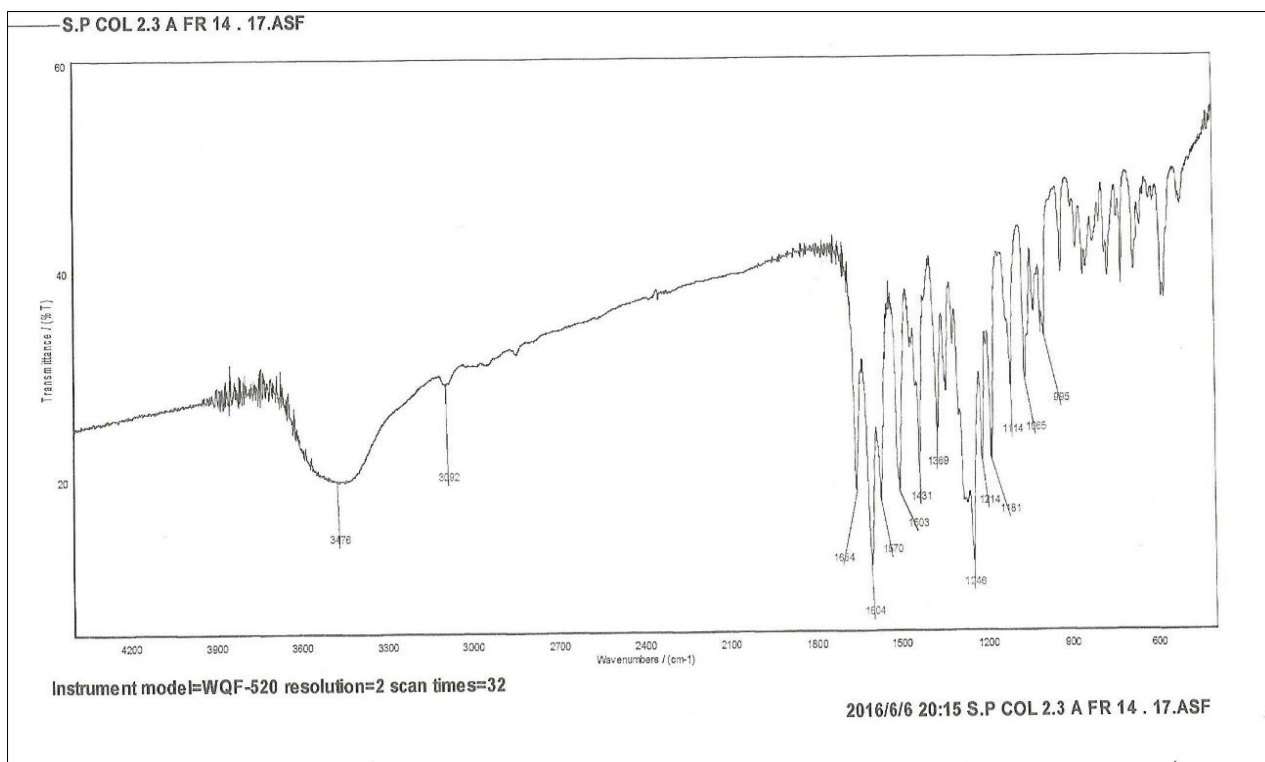


Figura 41. Espectro infravermelho (KBr, cm^{-1}) de **Sp-6**.

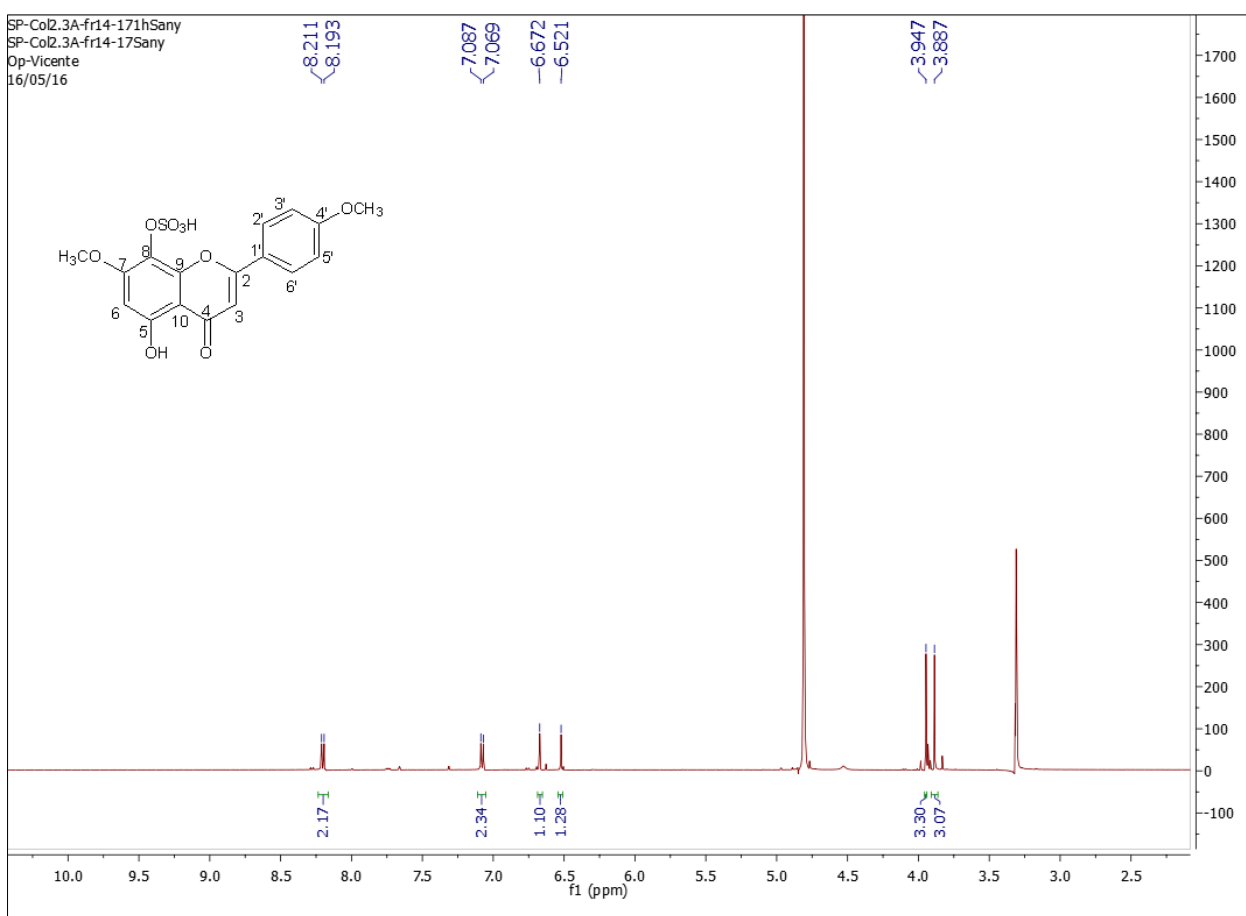


Figura 42. Espectro de RMN¹H (δ , CD_3OD , 500 MHz) de **Sp-6**.

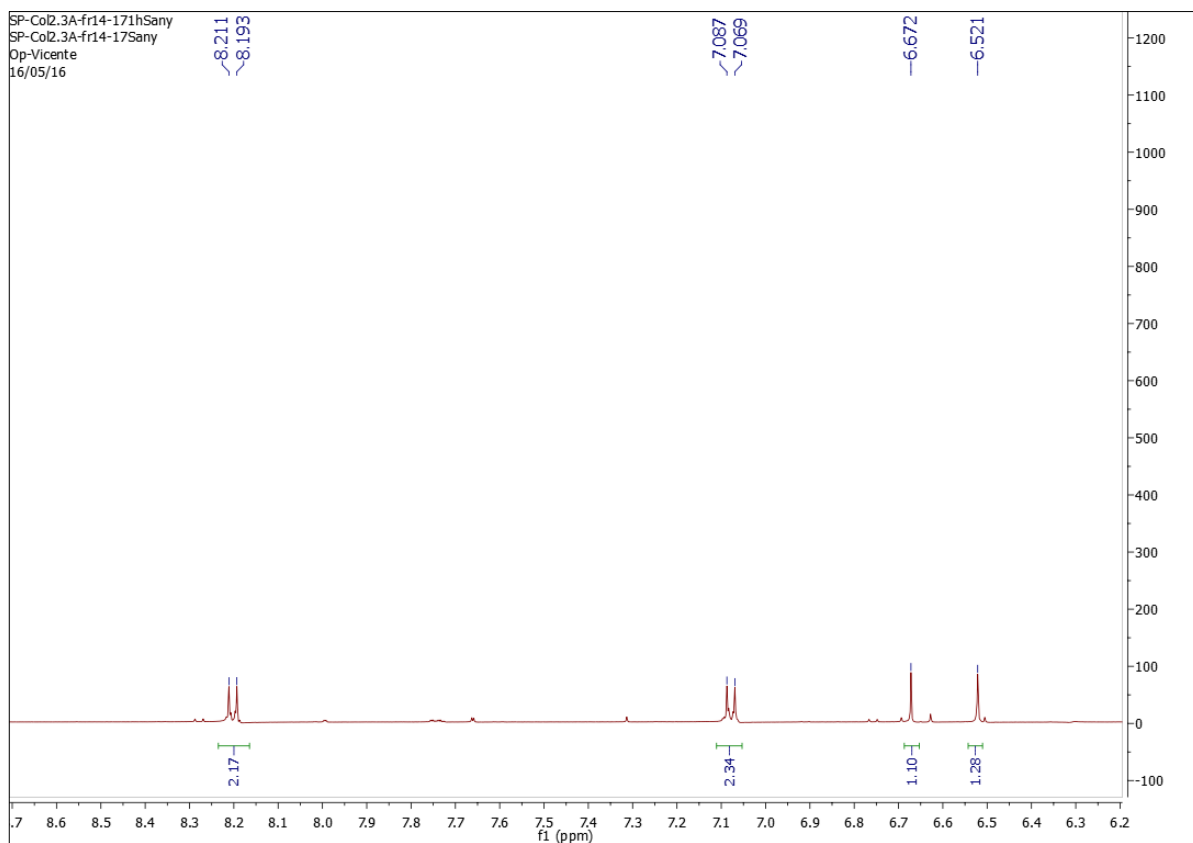


Figura 43. Expansão do espectro de RMN¹H (δ , CD₃OD, 500 MHz) de **Sp-6**.

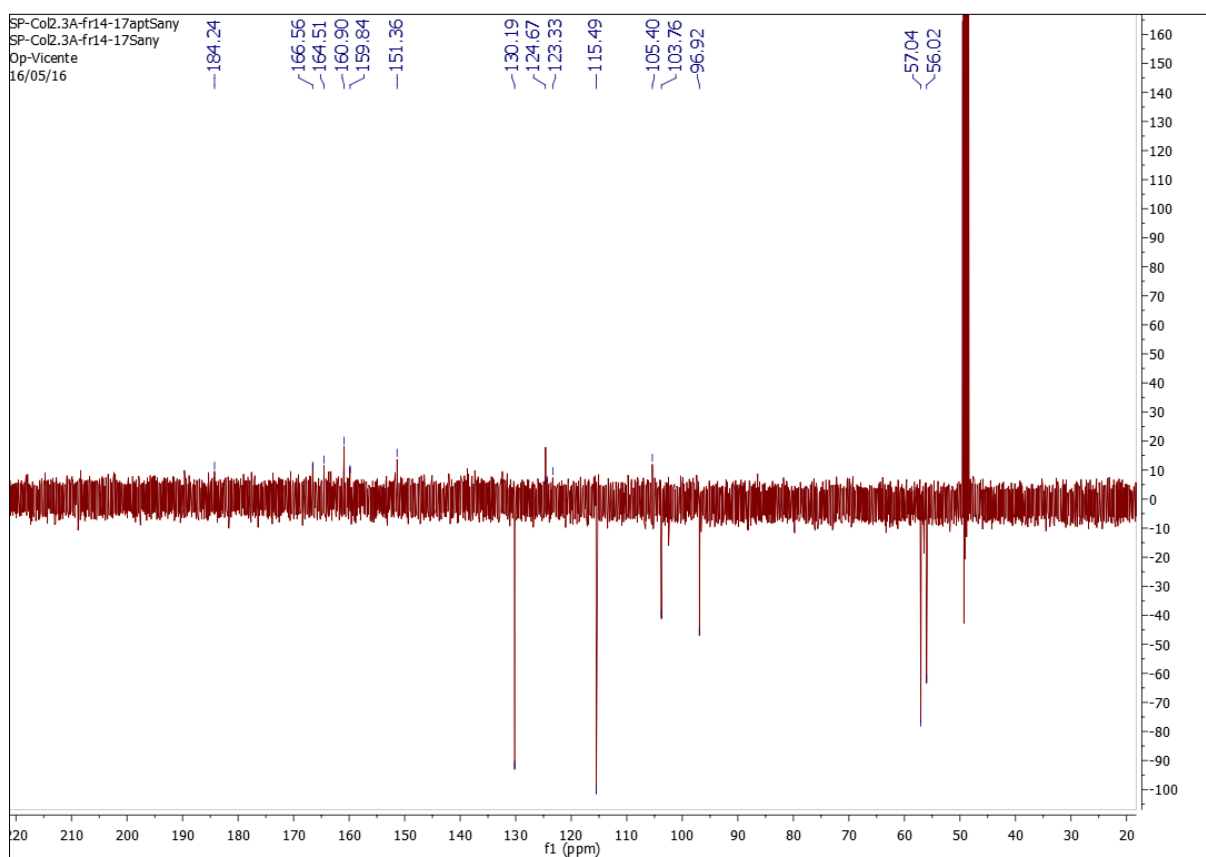


Figura 44. Espectro de RMN ¹³C , APT, (δ , CD₃OD, 125 MHz) de **Sp-6**.

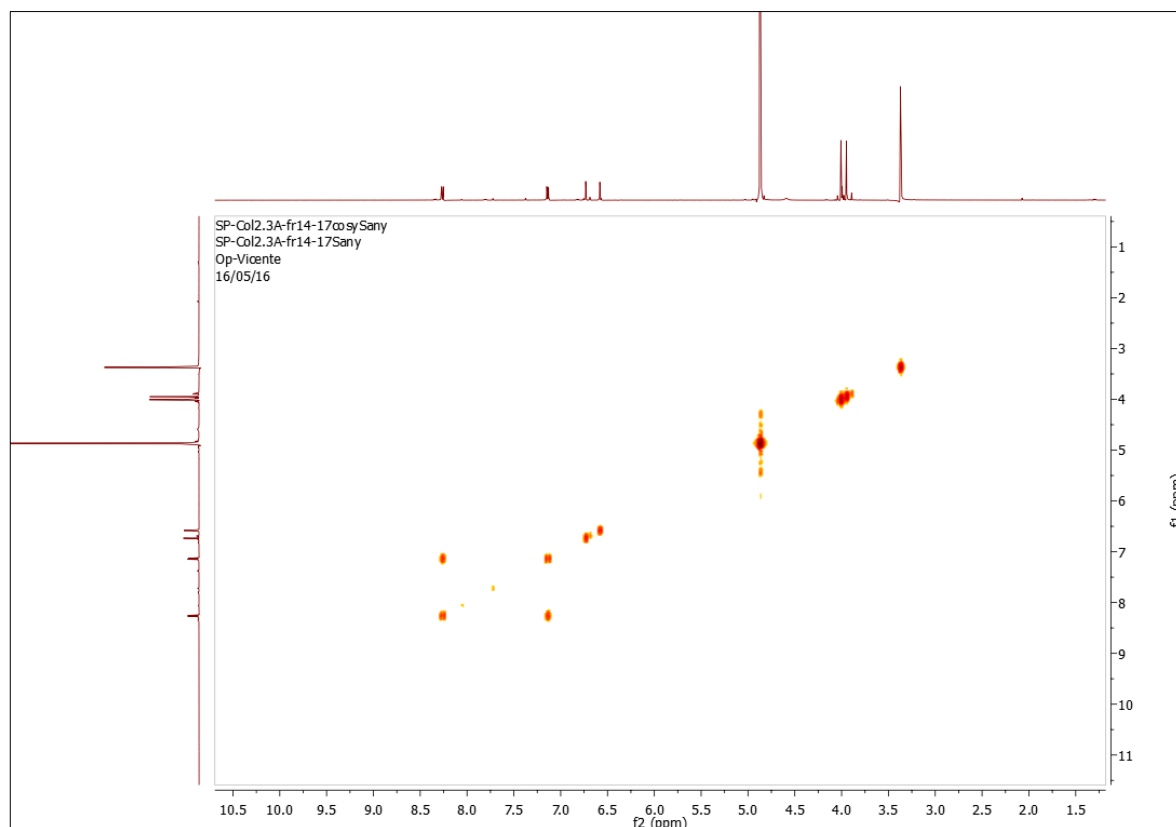


Figura 45. Espectro COSY (δ , CD₃OD, 500 MHz) de **Sp-6**.

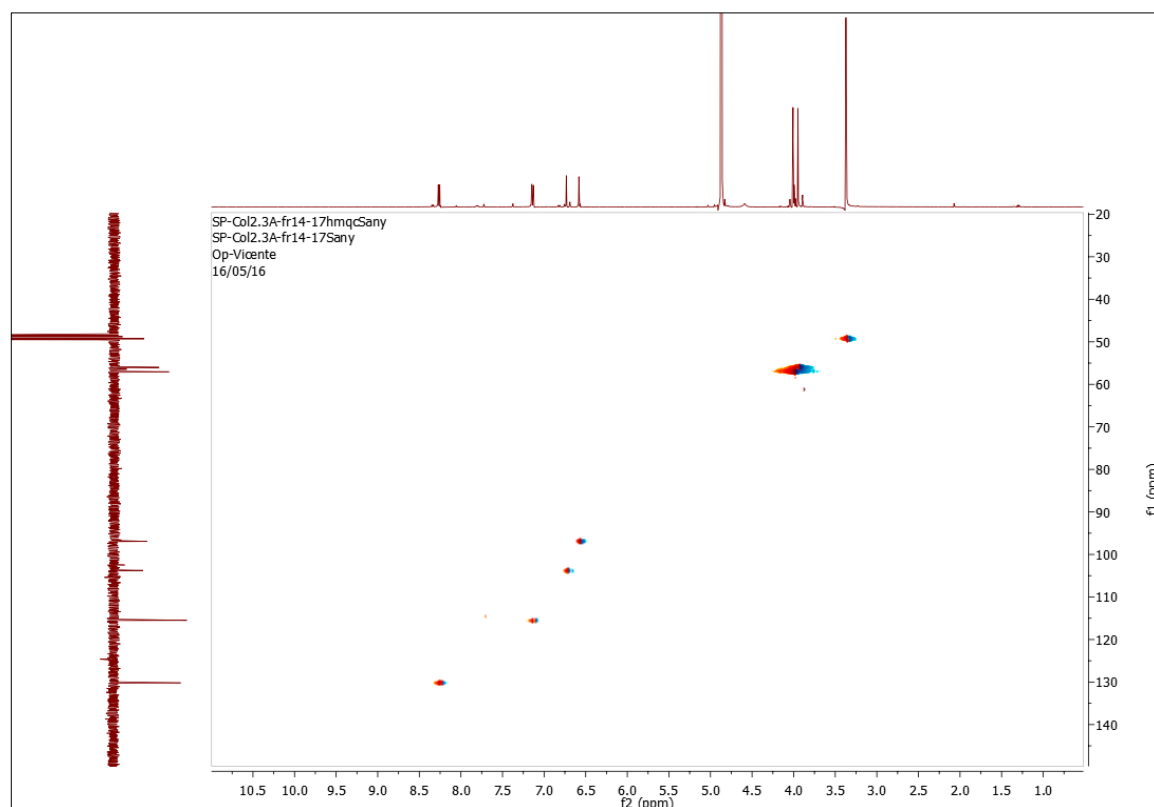


Figura 46. Espectro HMQC (δ , CD₃OD, 500 MHz) de **Sp-6**.

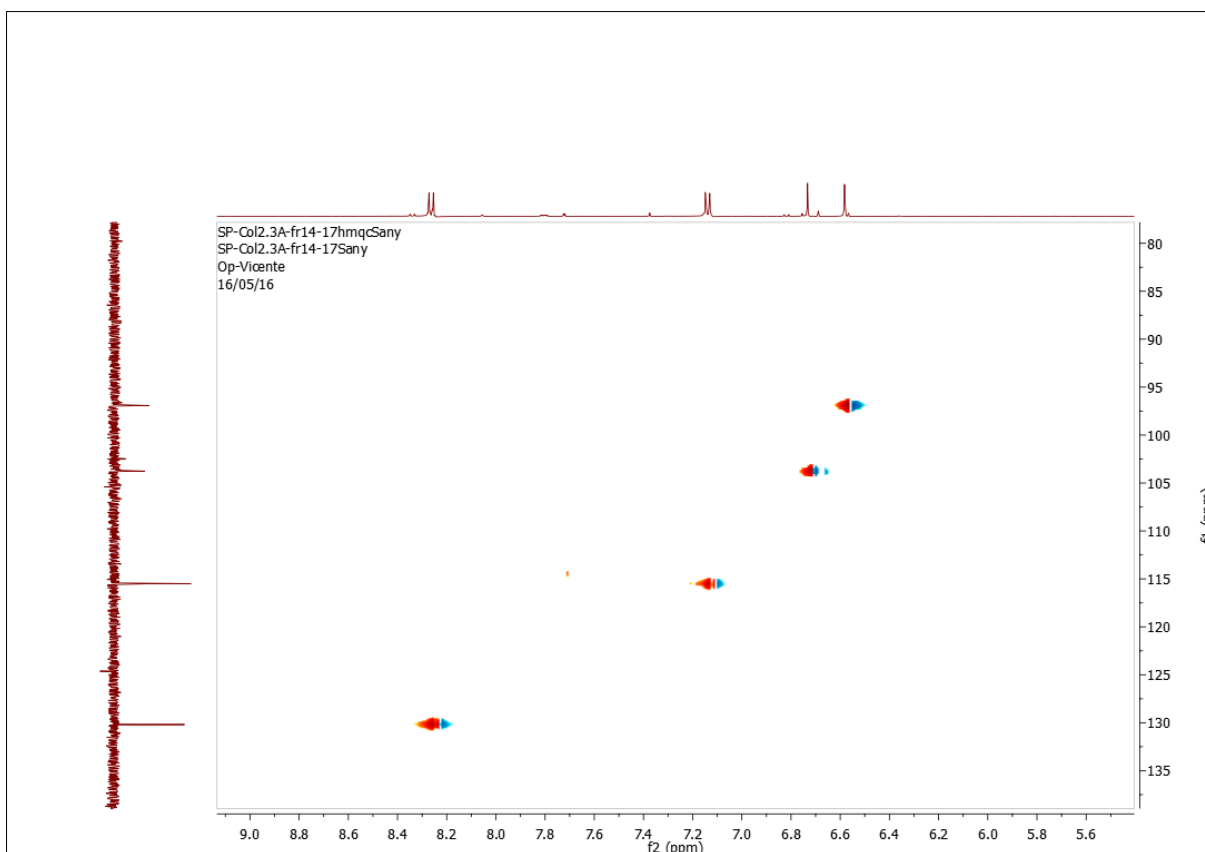


Figura 47. Expansão do espectro HMQC (δ , CD_3OD , 500 MHz) de **Sp-6**.

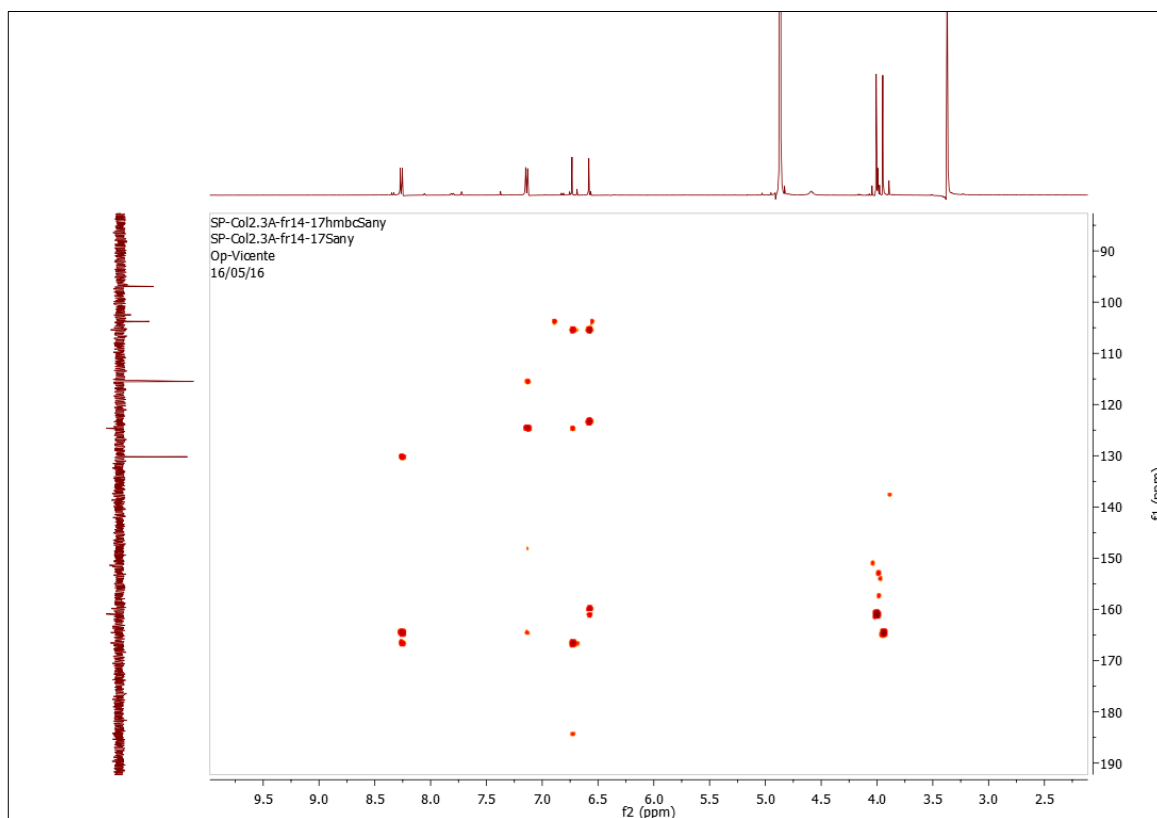


Figura 48. Espectro HMBC (δ , CD_3OD , 500 MHz) de **Sp-6**.

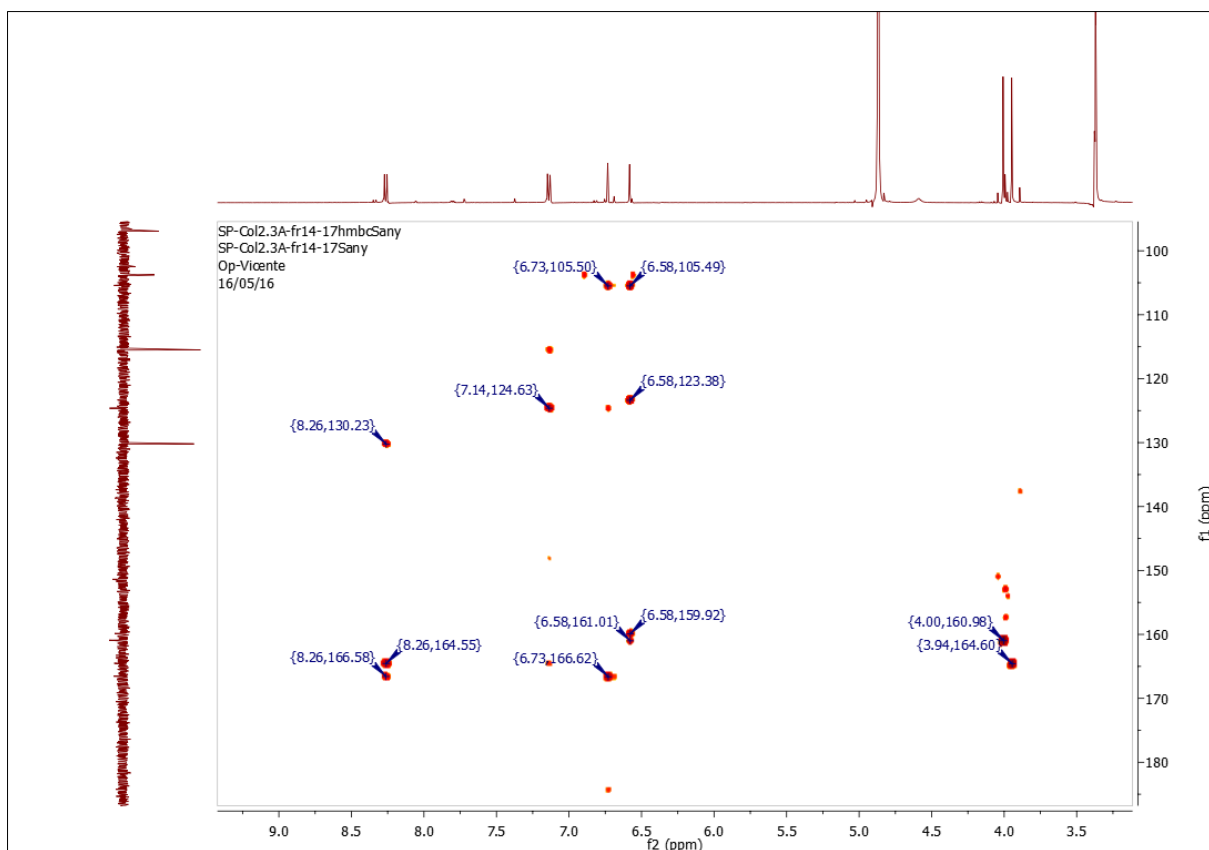


Figura 49. Expansão do espectro HMBC (δ , CD_3OD , 500 MHz) de *Sp-6*.

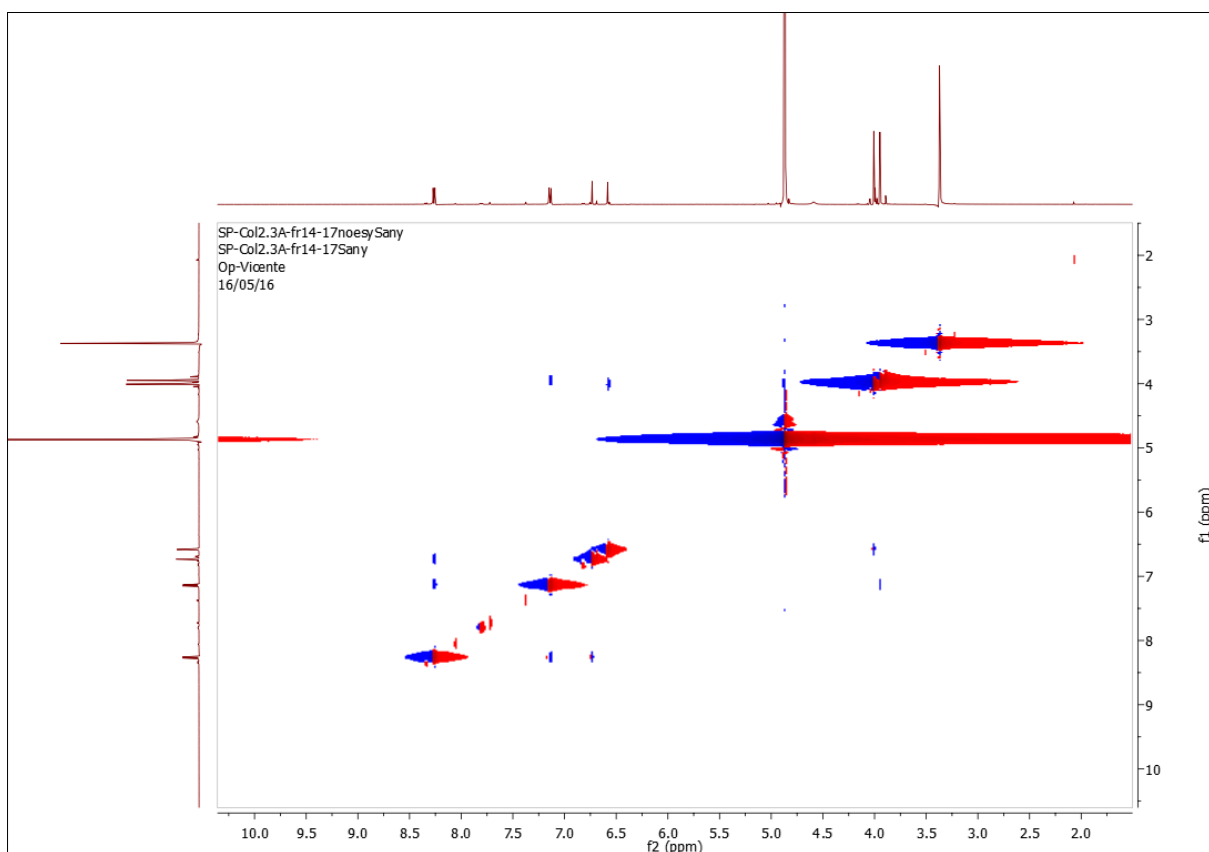


Figura 50. Espectro NOESY (δ , CD_3OD , 500 MHz) de *Sp-6*.

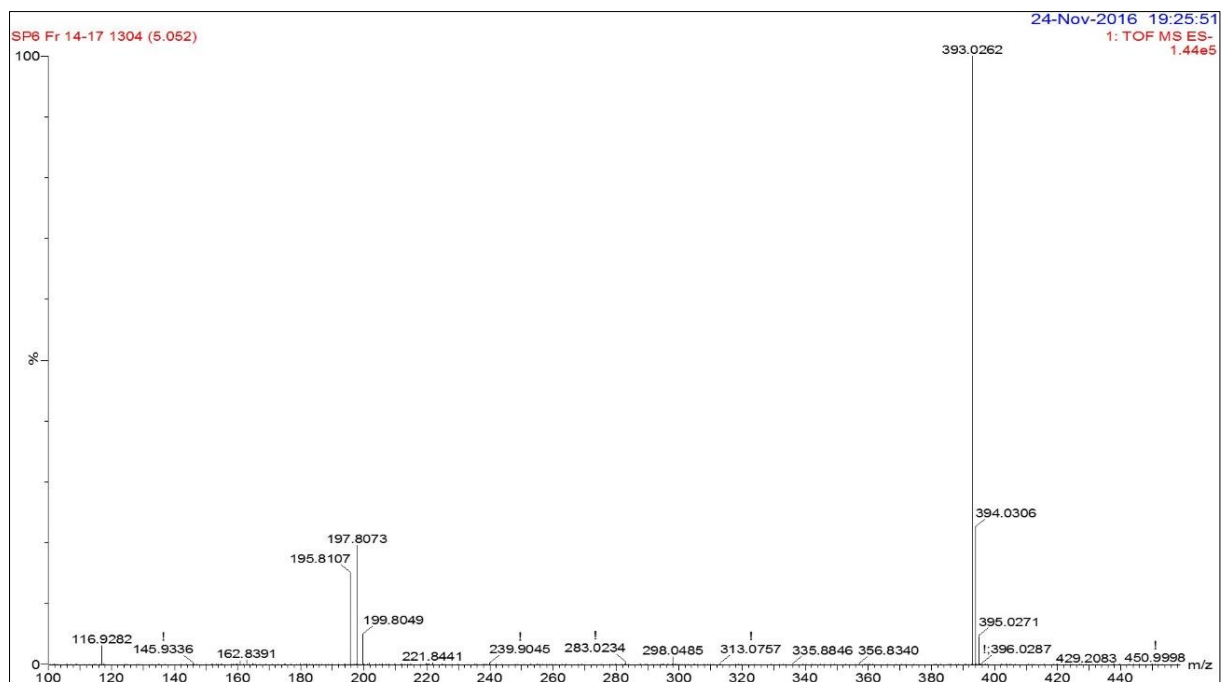


Figura 51. Espectro TOF-MS de *Sp-6*.

5.1.7 Identificação estrutural de **Sp-7**.

O composto **Sp-7**, obtido como um sólido amarelo amorfo, apresentou o espectro do RMN¹H (Figuras 53 e 54, pág. 108 e 109) semelhante ao composto **Sp-6** (Figuras 42 e 43, pág. 99 e 100), evidenciando a presença de um sistema AA`BB` com um duplete em δ_H 6,93 (2H, $J = 9,0$ Hz), acoplando *orto* com outro duplete em δ_H 8,04 (2H, $J = 9,0$ Hz), além de um simpleto em δ_H 6,63 é característico da posição 3 de flavonas e outro simpleto em δ_H 6,30 indica que **Sp-7** é um flavonoide com o anel A 5,7,8 tri-substituído (GOMES *et al.*, 2011). No entanto, a ausência dos dois simpletos em δ_H 3,95 e δ_H 3,89, referentes aos grupamentos metoxila, indica que **Sp-7** tem um esqueleto 5,7,4'-trihidroxiflavona.

O espectro de RMN¹³C (Figura 55, pág. 109) de **Sp-7** fortalece as informações dadas pelo RMN¹H e induz a propor que **Sp-7** tratava-se da flavona 5,7,4'-trihidroxiflavona, (Isoscutelareina). (Tabela 19, pág. 106)

Entretanto, comparações dos dados espectrais da isoscutelareina (Mo-8) e **Sp-7**, indicam que a posição C-8 deste composto encontra-se ~3ppm mais protegida, enquanto as posições C-7 e C-9 estão ~4ppm desprotegidas (Tabela 19). Estes dados permitiram sugerir que **Sp-7** contém substituinte O-sulfato na posição C-8 (CORREIA-DA-SILVA *et al.* 2011; XIA *et al.*, 2007), sugestão corroborada pela comparação dos dados de **Sp-7** com o modelo Mo-9 (Tabela 20, pág. 107).

O espectro de IV (Figura 52, pág. 108) ratificou a presença de um grupo S=O pela banda de estiramento em $\sqrt{1251\text{ cm}^{-1}}$. No referido espectro observou-se ainda $\sqrt{\text{O-H}}$ em 3445 cm^{-1} e $\sqrt{\text{C=C}}$ de anéis aromáticos entre 1609 e 1450 cm^{-1} .

A presença do grupo sulfato em **Sp-7** foi confirmada por TOF-MS (Figura 56, pág. 110) onde foi observado um pico com massa correspondente de 364,996 e fórmula molecular C₁₅H₉O₉S para o íon [M-H]⁻ de **Sp-7** (C₁₅H₁₀O₉S).

A comparação de dados de RMN com dados publicados confirmou para **Sp-7** a estrutura de 8-O-sulfato isoscutelareina (Yannina) (TELES *et al.*, 2015B), pela primeira vez isolado na espécie *S. paniculatum*.

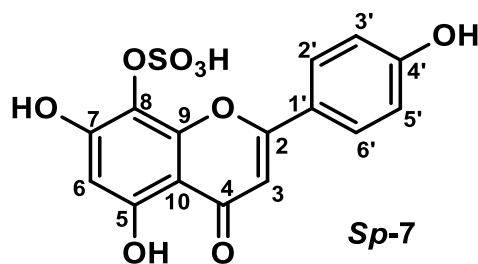
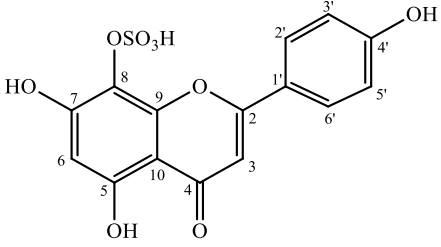
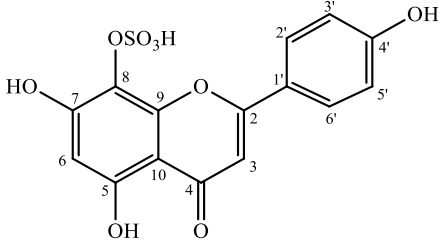


Tabela 19. Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C de **Sp-7** (δ , CD_3OD , 500 e 125 MHz) com o modelo Mo-8 (δ , DMSO, 400 e 100 MHz), (TELES *et al.*, 2015B).

Sp-7			Mo-8 (Isoscutelareina)	
C	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
2	-	166,4	-	164,1
3	6,63 (s, 1H)	103,3	6,74 (s, 1H)	102,9
4	-	183,9	-	182,6
5	-	157,7	-	153,6
6	6,30 (s, 1H)	100,6	6,27 (s, 1H)	99,2
7	-	159,2	-	153,9
8	-	122,1	-	125,6
9	-	151,5	-	146,0
10	-	105,3	-	103,8
1'	-	123,1	-	121,9
2'	8,04 (d, $J=9$ Hz, 2H)	129,9	8,01 (d, $J=8,0$ Hz, 2H)	129,2
3'	6,93 (d, $J=9$ Hz, 2H)	116,8	6,93 (d, $J=8,0$ Hz, 2H)	116,4
4'	-	162,7	-	161,6
5'	6,93 (d, $J=9$ Hz, 2H)	116,8	6,93 (d, $J=8,0$ Hz, 2H)	116,4
6'	8,04 (d, $J=9$ Hz, 2H)	129,9	8,01 (d, $J=8,0$ Hz, 2H)	129,2
OH		-	12,38 (s)	-

Tabela 20. Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C de **Sp-7** (δ , CD_3OD , 500 e 125 MHz) com o modelo Mo-9 (δ , DMSO, 400 e 100 MHz), (TELES *et al.*, 2015B).

Sp-7			Mo-9 (Yannina)	
				
C	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
2	-	166,4	-	164,5
3	6,63 (s, 1H)	103,3	6,81 (s, 1H)	103,1
4	-	183,9	-	182,5
5	-	157,7	-	157,5
6	6,30 (s, 1H)	100,6	6,29 (s, 1H)	100,0
7	-	159,2	-	157,5
8	-	122,1	-	121,9
9	-	151,5	-	150,2
10	-	105,3	-	104,4
1'	-	123,1	-	121,9
2'	8,04 (d, $J=9$ Hz, 2H)	129,9	8,03 (d, $J=8,7$ Hz, 2H)	129,0
3'	6,93 (d, $J=9$ Hz, 2H)	116,8	6,93 (d, $J=8,7$ Hz, 2H)	116,4
4'	-	162,7	-	161,8
5'	6,93 (d, $J=9$ Hz, 2H)	116,8	6,93 (d, $J=8,7$ Hz, 2H)	116,4
6'	8,04 (d, $J=9$ Hz, 2H)	129,9	8,03 (d, $J=8,7$ Hz, 2H)	129,0
OH		-	12,75 (s, 1H).	-

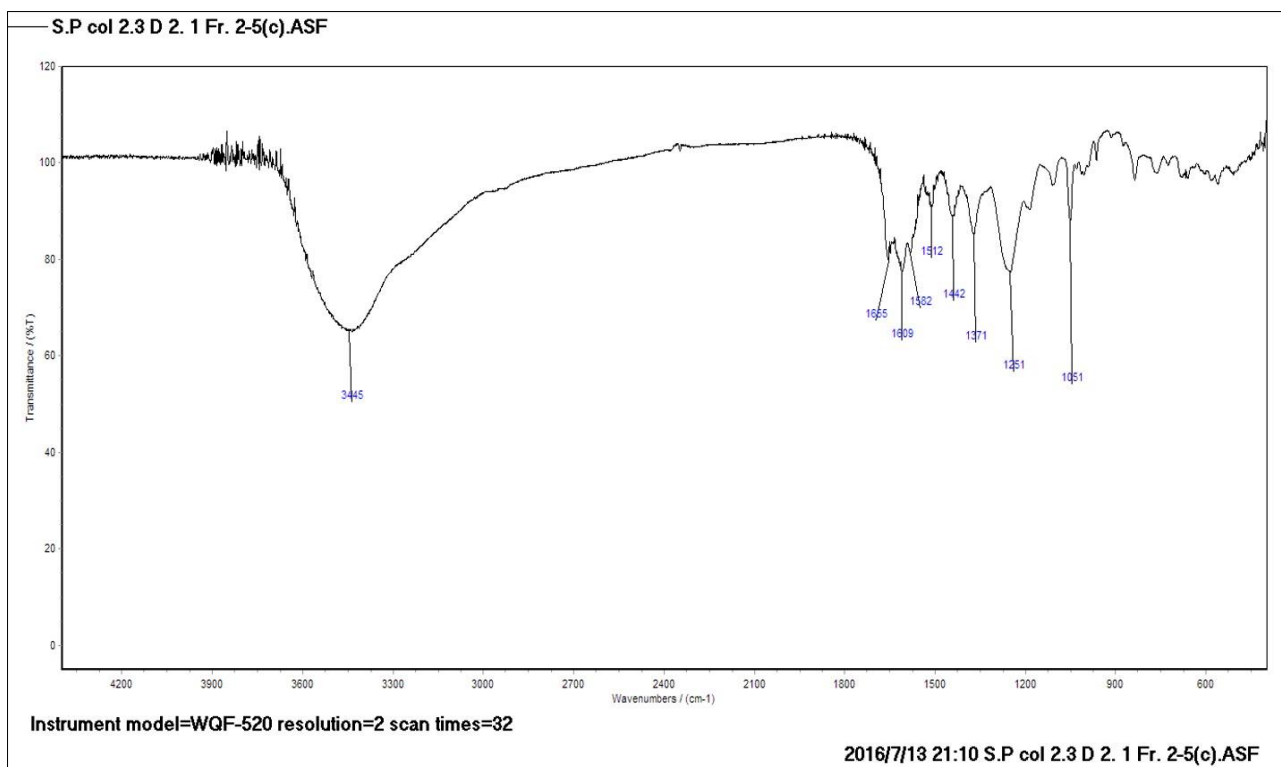


Figura 52. Espectro infravermelho (KBr, cm^{-1}) de *Sp-7*.

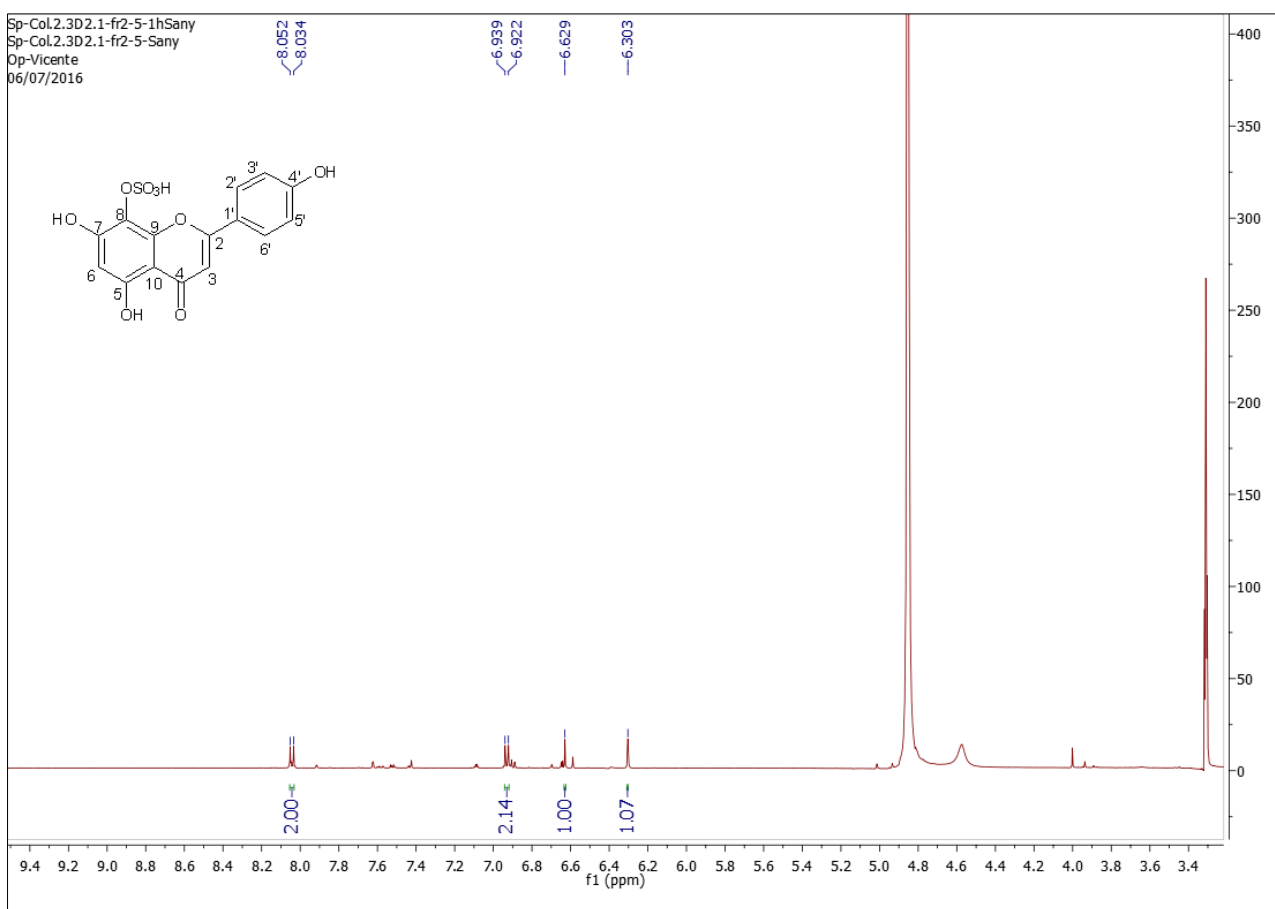


Figura 53. Espectro RMN^1H (δ , CD_3OD , 500 MHz) de *Sp-7*.

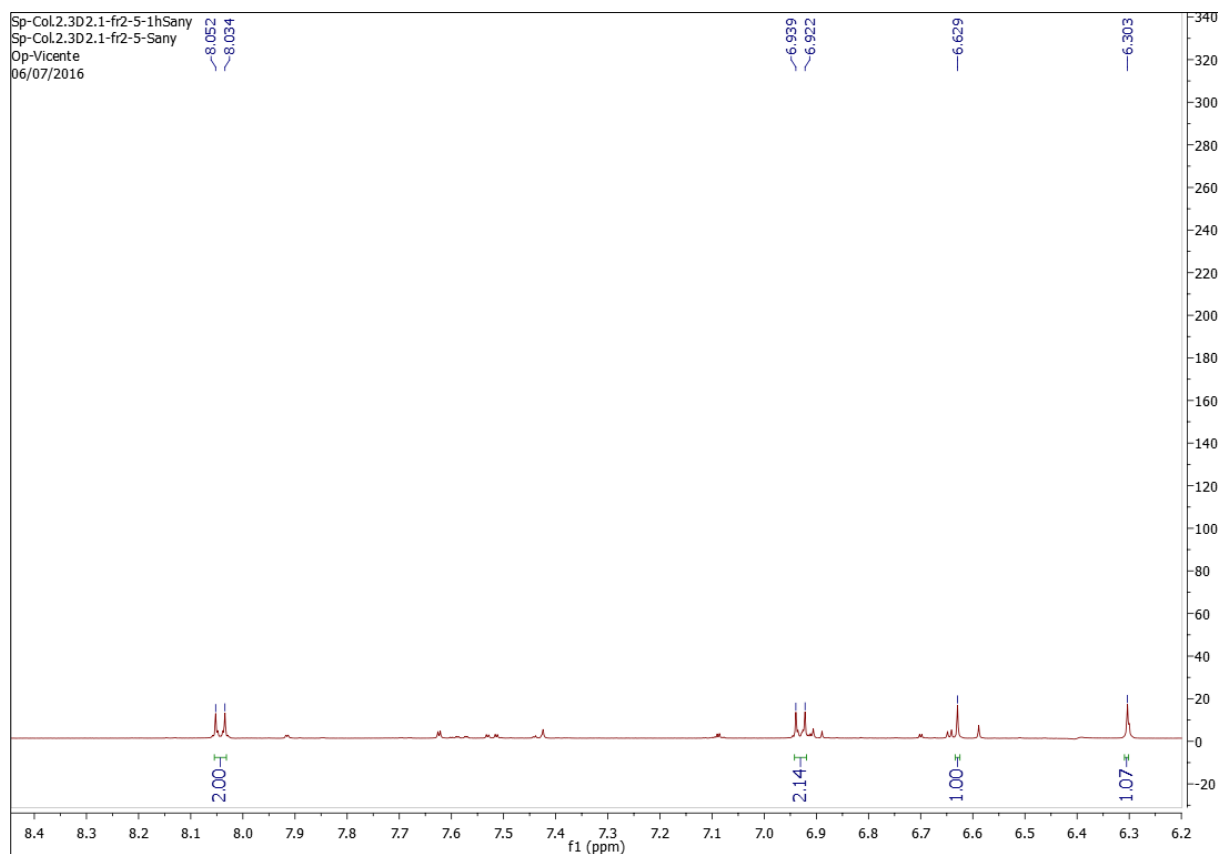


Figura 54. Expansão do espectro RMN¹H (δ , CD₃OD, 500 MHz) de **Sp-7**.

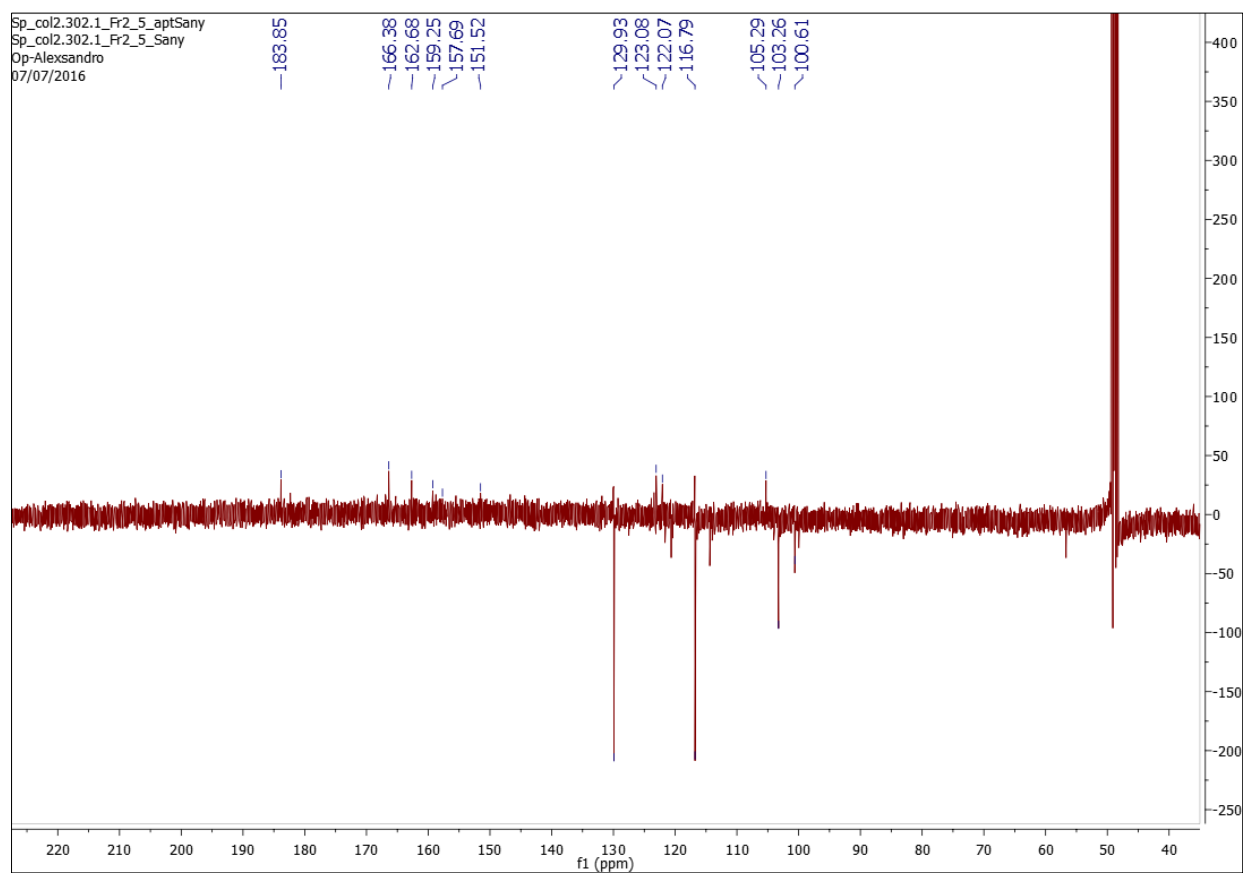


Figura 55. Espectro RMN ¹³C (δ , CD₃OD, 125 MHz) de **Sp-7**.

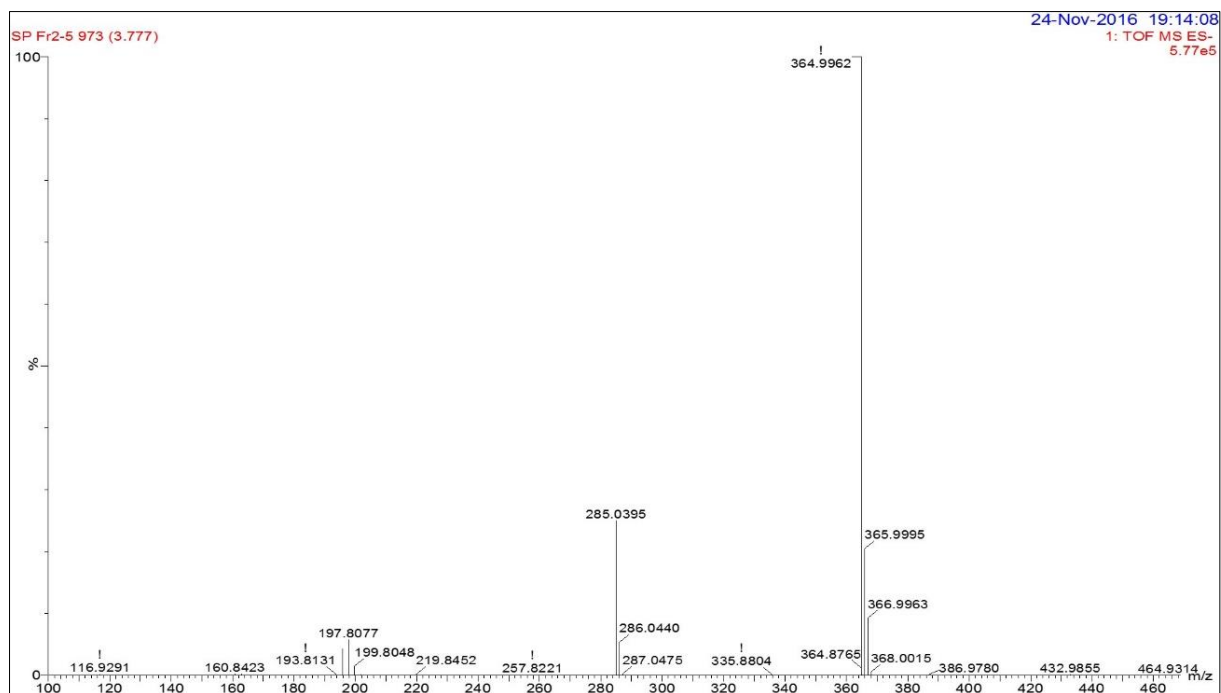


Figura 56. Espectro TOF-MS de *Sp-7*.

5.1.8 Identificação estrutural de **Sp-8**.

O composto **Sp-8** foi isolado como um sólido amarelo amorfo. O espectro de RMN¹H (Figuras 58 e 59, pág. 120 e 121) de **Sp-8** apresentou um conjunto complexo de sinais na faixa de δ_H 6,0 a 8,0, característico de flavonoides, cujas intensidades (2:1) evidenciaram a possibilidade de ser uma mistura de dois flavonoides codificados de **Sp-8a** e **Sp-8b**, (Tabela 21, pág. 113) possibilidade fortalecida quando comparados os dados da molécula com o modelo Mo-10 (Tabela 22, pág. 114). Um simpleto em δ_H 3,89 (Figura 58, pág. 120) com integração para três hidrogênios permitiu propor que uma das moléculas da mistura possui metoxila. (Tabela 21, pág. 113).

Os espectros de RMN¹³C (Figuras 60 e 61, pág. 121 e 122) fortalecem a sugestão da mistura ao exibir sinais com intensidades diferentes. (Tabela 21, pág. 113).

Utilizando os espectros, HMQC (Figuras 62 e 63, pág. 122 e 123) foi possível identificar os compostos na mistura. O constituinte majoritário **Sp-8a** mostrou no HMQC os simpletos δ_H 6,74 se correlacionado com δ_C 104,2 (C-3) e δ_H 7,17 com δ_C 104,4 (C-6). Dois dupletos em δ_H 8,21 (2H, $J = 9$ Hz) e δ_H 7,08 (2H, $J = 9$ Hz) e uma metoxila em δ_H 3,89, característico de um sistema AA'BB' no anel B. (Tabela 24, pág. 116).

O espectro no HMBC (Figura 64, pág. 123) mostrou correlação da metoxila com um carbono em δ_C 164,6, indicando que ela se encontra inserida no C-4', confirmando, portanto, um anel B *para*-substituído com um arcabouço similar ao 4'-O-metilisoscutelareína (MESELHY, 2003). A figura 65, (pág. 124) juntamente com a figura 64 confirmaram as outras correlações. No entanto, a comparação com os dados de RMN¹H de 4'-O-metilisoscutellareína (Tabela 22, pág. 114) mostrou que para **Sp-8a** o sinal para C-7 está mais protegido enquanto para C-6 e H-6 mais desprotegidos. Além disso, **Sp-8** se apresentou por CCDA mais polar do que 4'-O-metilisoscutellareína. Estes fatos sugerem um grupo O-sulfato ligado a C-7 em vez de uma hidroxila como em 4'-O-metilisoscutelareína. Estes deslocamentos químicos são geralmente observados em flavonoides sulfatados (CORREIA-DA-SILVA *et al.*, 2011; XIA *et al.*, 2007).

O constituinte minoritário **Sp-8b** mostrou simpletos em δ_H 6,69 correlacionado a C-3 (δ_C 103,7) e δ_H 7,16 correlacionado a C-6 (δ_C 104,4) (HMQC). O RMN ¹H apresentou dois dupletos em δ_H 8,12 (2H, $J = 9$ Hz) e δ_H 6,92 (2H, $J = 9$ Hz), indicando que assim como em **Sp-8a**, **Sp-8b** apresentava o sistema AA'BB' no anel B, porem com a ausência da metoxila em 4'.

A comparação dos dados de RMN de **Sp-8b** com a isoscutelareína (Tabela 25, pág. 117) indicou que a posição 7 de **Sp-8b** estava mais protegida e, por sua vez, a posição C-6 e H-6

mais desprotegida, assim como em **Sp-8a**, indicando a presença do grupo *O*-sulfato em C-7. Quando comparado os dados espectrais de **Sp-8b** com os dados da yannina (**Sp-7**) (Tabela 26, pág. 118), foi observado que o carbono C-7 de **Sp-8b** estava ~3ppm mais protegido e as posições C-6 e C-8 mais desprotegidas, corroborando com a indicação do grupo *O*-sulfato em C-7.

O espectro de IV (Figura 57, pág. 120) indicou a presença de um grupo hidroxila (3458 cm^{-1}), anéis aromáticos (1606 cm^{-1}) e grupo sulfato (1251 cm^{-1}) (estiramento $\text{S}=\text{O}$).

A presença do grupo sulfato foi confirmada por TOF-MS (Figura 65, pág. 124) pelo pico do íon molecular com massa de 379,0120 e fórmula mínima $\text{C}_{16}\text{H}_{11}\text{O}_9\text{S}$ para o íon $[\text{M}-\text{H}]^-$ de **Sp-8a** (fórmula molecular $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_9\text{S}$).

Esses resultados confirmam a presença de grupos *O*-sulfato em ambas as moléculas. Assim, o composto **Sp-8a** foi identificado como 4'-*O*-metil-7-*O*-sulfato isoscutelareina (Beltraonina) e o composto **Sp-8b** como 7-*O*-sulfato isoscutelareina (Paniculatamina). **Sp-8a** foi isolado pela primeira vez na espécie *S. paniculatum* e **Sp-8b** é uma substância inédita na literatura.

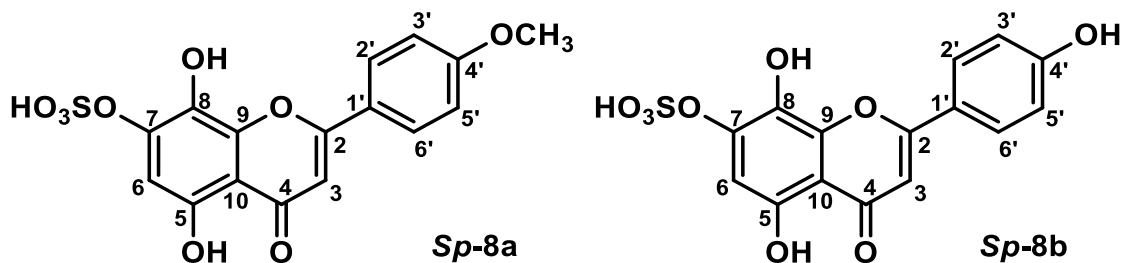


Tabela 21. Dados de RMN ^1H e ^{13}C de **Sp-8a** e **Sp-8b** (δ , CD_3OD , 500 e 125 MHz).

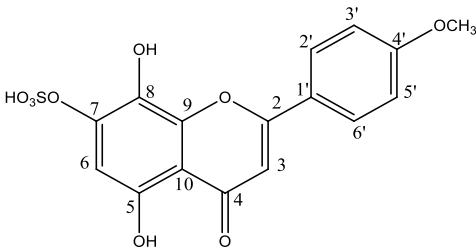
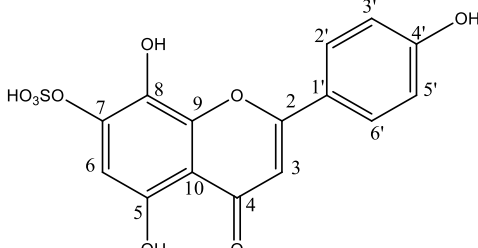
Sp-8a			Sp-8b	
				
C	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
2	-	166,9	-	167,1
3	6,74 (s, 1H)	104,2	6,69 (s, 1H)	103,7
4	-	184,4	-	184,4
5	-	158,4	-	158,4
6	7,17 (s, 1H)	104,4	7,16 (s, 1H)	104,4
7	-	153,5	-	153,5
8	-	125,6	-	125,6
9	-	151,5	-	151,5
10	-	108,1	-	108,2
1'	-	124,5	-	123,6
2'	8,21 (d, $J=9$ Hz, 2H)	130,3	8,12 (d, $J=9$ Hz, 2H)	130,4
3'	7,08 (d, $J=9$ Hz, 2H)	115,5	6,92 (d, $J=9$ Hz, 2H)	116,9
4'	-	164,6	-	163,0
5'	7,08 (d, $J=9$ Hz, 2H)	115,5	6,92 (d, $J=9$ Hz, 2H)	116,9
6'	8,21 (d, $J=9$ Hz, 2H)	130,3	8,12 (d, $J=9$ Hz, 2H)	130,3
OCH₃-4'	3,89 (s, 3H)	56,04	-	-
OH	-	-	-	-

Tabela 22. Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C de **Sp-8a** (δ , CD_3OD , 500 e 125 MHz) com o modelo Mo-10 (δ , DMSO, 400 e 100 MHz), (TELES *et al.*, 2015B).

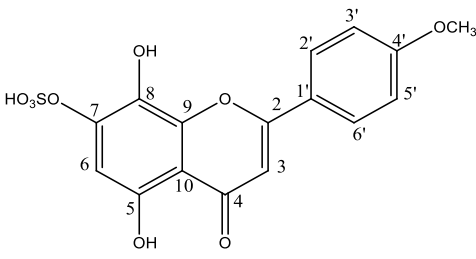
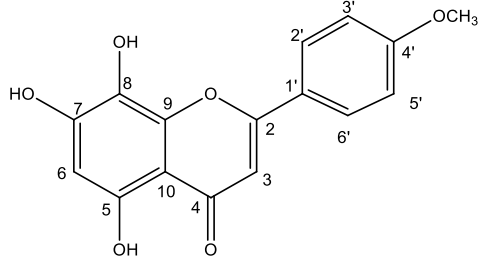
Sp-8a			Mo-10 (4'-O-metil isoscutelareina)	
				
C	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
2	-	166,9	-	163,7
3	6,74 (s, 1H)	104,2	6,83 (s, 1H)	103,5
4	-	184,4	-	182,7
5	-	158,4	-	156,6
6	7,17 (s, 1H)	104,4	6,28 (s, 1H)	99,3
7	-	153,5	-	153,6
8	-	125,6	-	125,6
9	-	151,5	-	146,0
10	-	108,1	-	103,8
1'	-	124,5	-	123,6
2'	8,21 (d, $J=9$ Hz, 2H)	130,3	8,12 (d, $J=8,8$ Hz, 2H)	129,0
3'	7,08 (d, $J=9$ Hz, 2H)	115,5	7,12 (d, $J=8,7$ Hz, 2H)	115,1
4'	-	164,6	-	162,8
5'	7,08 (d, $J=9$ Hz, 2H)	115,5	7,12 (d, $J=8,7$ Hz, 2H)	115,1
6'	8,21 (d, $J=9$ Hz, 2H)	130,3	8,12 (d, $J=8,8$ Hz, 2H)	129,0
OCH ₃ -4'	3,89 (s, 3H)	56,04	3,86 (s, 3H)	56,1
OH	-	-	12,35 (s)	-

Tabela 23. Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C de **Sp-8a** (δ , CD_3OD , 500 e 125 MHz) com o modelo Mo-11 (δ , DMSO, 400 e 100 MHz), (TELES *et al.*, 2015B).

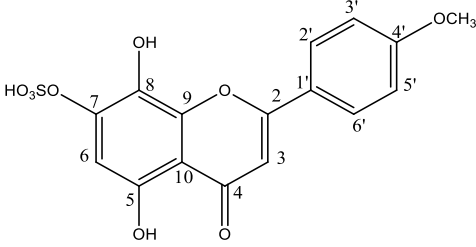
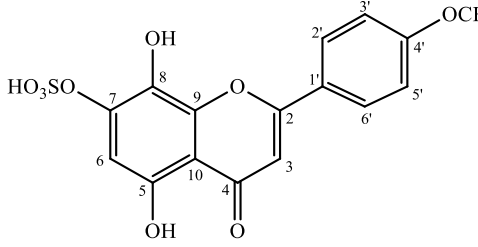
Sp-8a			Mo-11 (Beltraonina)	
				
C	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
2	-	166,9	-	164,3
3	6,74 (s, 1H)	104,2	6,93 (s, 1H)	104,0
4	-	184,4	-	183,1
5	-	158,4	-	152,0
6	7,17 (s, 1H)	104,4	6,90 (s, 1H)	104,1
7	-	153,5	-	148,3
8	-	125,6	-	129,5
9	-	151,5	-	145,7
10	-	108,1	-	106,8
1'	-	124,5	-	123,5
2'	8,21 (d, $J=9$ Hz, 2H)	130,3	8,11 (d, $J=8,8$ Hz, 2H)	129,1
3'	7,08 (d, $J=9$ Hz, 2H)	115,5	7,14 (d, $J=8,8$ Hz, 2H)	115,2
4'	-	164,6	-	163,0
5'	7,08 (d, $J=9$ Hz, 2H)	115,5	7,14 (d, $J=8,8$ Hz, 2H)	115,2
6'	8,21 (d, $J=9$ Hz, 2H)	130,3	8,11 (d, $J=8,8$ Hz, 2H)	129,1
OCH₃-4'	3,89 (s, 3H)	56,04	3,86 (s, 3H)	56,1
OH	-	-	12,16 (s, 1H).	-

Tabela 24. Dados de RMN ^1H e ^{13}C 2D de **Sp-8a** (δ , CD_3OD , 500 e 125 MHz).

$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMQC			$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC	
			^2J	^3J
C	δ_{H}	δ_{C}		
2	-	166,9		
3	6,74 (s, 1H)	104,2	C-2, C-4	C-1', C-10
4	-	184,4		
5	-	158,4		
6	7,17 (s, 1H)	104,4	C-5, C-7	C-8, C-10
7	-	153,5		
8	-	125,6		
9	-	151,5		
10	-	108,1		
1'	-	124,5		
2'	8,21 (d, $J=9$ Hz, 2H)	130,3		C-4', C-6'
3'	7,08 (d, $J=9$ Hz, 2H)	115,5	C-4'	C-1', C-5'
4'	-	164,6		
5'	7,08 (d, $J=9$ Hz, 2H)	115,5	C-4'	C-1', C-3'
6'	8,21 (d, $J=9$ Hz, 2H)	130,3		C-4', C-2', C-2
OCH ₃ -4'	3,89 (s, 3H)	56,04		
H				
OH-5				

Tabela 25. Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C de **Sp-8b** (δ , CD_3OD , 500 e 125 MHz) com o modelo Mo-8 (δ , DMSO, 400 e 100 MHz), (TELES *et al.*, 2015B).

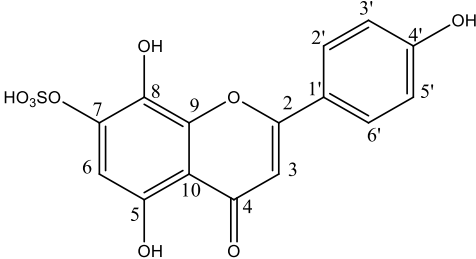
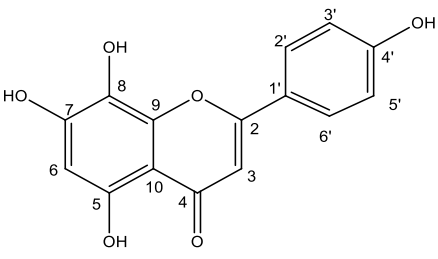
Sp-8b			Mo-8 (Isoscutelareína)	
				
C	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
2	-	167,1	-	164,1
3	6,69 (s, 1H)	103,7	6,74 (s, 1H)	102,9
4	-	184,4	-	182,6
5	-	158,4	-	153,6
6	7,16 (s, 1H)	104,4	6,27 (s, 1H)	99,2
7	-	153,5	-	153,9
8	-	125,6	-	125,6
9	-	151,5	-	146,0
10	-	108,2	-	103,8
1'	-	123,6	-	121,9
2'	8,12 (d, $J=9$ Hz, 2H)	130,4	8,01 (d, $J=8,0$ Hz, 2H)	129,2
3'	6,92 (d, $J=9$ Hz, 2H)	116,9	6,93 (d, $J=8,0$ Hz, 2H)	116,4
4'	-	163,0	-	161,6
5'	6,92 (d, $J=9$ Hz, 2H)	116,9	6,93 (d, $J=8,0$ Hz, 2H)	116,4
6'	8,12 (d, $J=9$ Hz, 2H)	130,3	8,01 (d, $J=8,0$ Hz, 2H)	129,2
OH		-	12,38 (s)	-

Tabela 26. Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C de **Sp-8b** e **Sp-7** (δ , CD_3OD , 500 e 125 MHz).

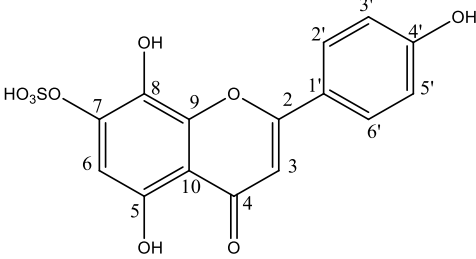
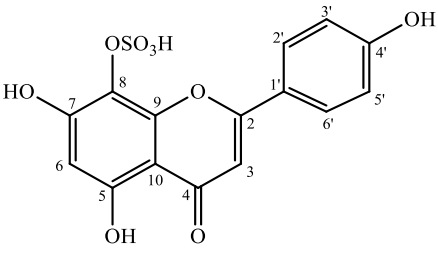
Sp 8b			Sp-7 (Yannina)	
				
C	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
2	-	167,1	-	166,4
3	6,69 (s, 1H)	103,7	6,63 (s, 1H)	103,3
4	-	184,4	-	183,9
5	-	158,4	-	157,7
6	7,16 (s, 1H)	104,4	6,30 (s, 1H)	100,6
7	-	153,5	-	159,2
8	-	125,6	-	122,1
9	-	151,5	-	151,5
10	-	108,2	-	105,3
1'	-	123,6	-	123,1
2'	8,12 (d, $J=9$ Hz, 2H)	130,4	8,04 (d, $J=9$ Hz, 2H)	129,9
3'	6,92 (d, $J=9$ Hz, 2H)	116,9	6,93 (d, $J=9$ Hz, 2H)	116,8
4'	-	163,0	-	162,7
5'	6,92 (d, $J=9$ Hz, 2H)	116,9	6,93 (d, $J=9$ Hz, 2H)	116,8
6'	8,12 (d, $J=9$ Hz, 2H)	130,3	8,04 (d, $J=9$ Hz, 2H)	129,9
OH		-		-

Tabela 27. Dados de RMN ^1H e ^{13}C de **Sp-8b** (δ , CD_3OD , 500 e 125 MHz).

$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMQC			$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC	
			^2J	^3J
C	δ_{H}	δ_{C}		
2	-	167,1		
3	6,69 (s, 1H)	103,7	C-2, C-4	C-1', C-10
4	-	184,4		
5	-	158,4		
6	7,16 (s, 1H)	104,4	C-5, C-7	C-8, C-10
7	-	153,5		
8	-	125,6		
9	-	151,5		
10	-	108,2		
1'	-	123,6		
2'	8,12 (d, J= 9 Hz, 2H)	130,4		C-4', C-6'
3'	6,92 (d, J= 9 Hz, 2H)	116,9	C-4'	C-1', C-5'
4'	-	163,0		
5'	6,92 (d, J= 9 Hz, 2H)	116,9	C-4'	C-1', C-3'
6'	8,12 (d, J= 9 Hz, 2H)	130,3		C-4', C-2', C-2
H				
OH-4'				
OH-5				

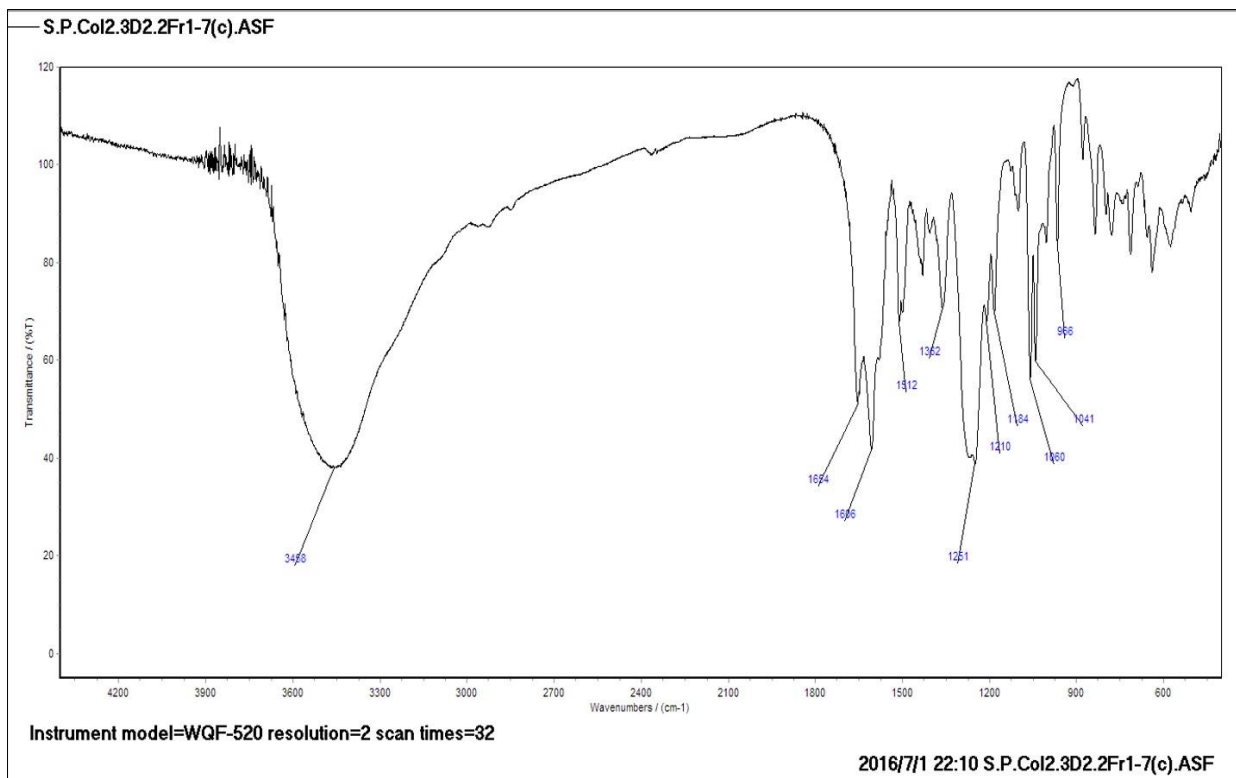


Figura 57. Espectro infravermelho (KBr, cm⁻¹) de **Sp-8a** e **8b**.

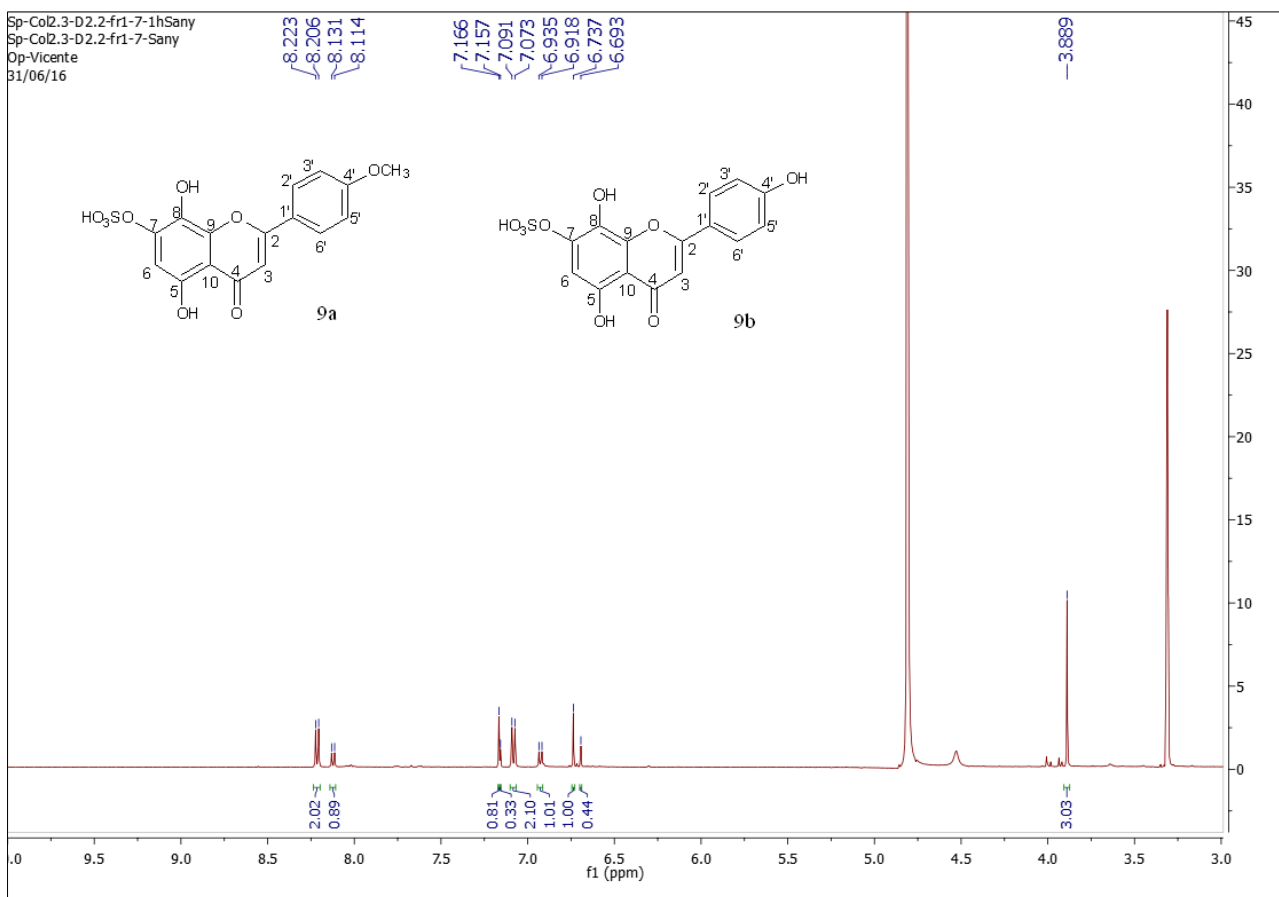


Figura 58. Espectro de RMN ¹H (δ, CD₃OD, 500 MHz) de **Sp-8a** e **8b**.

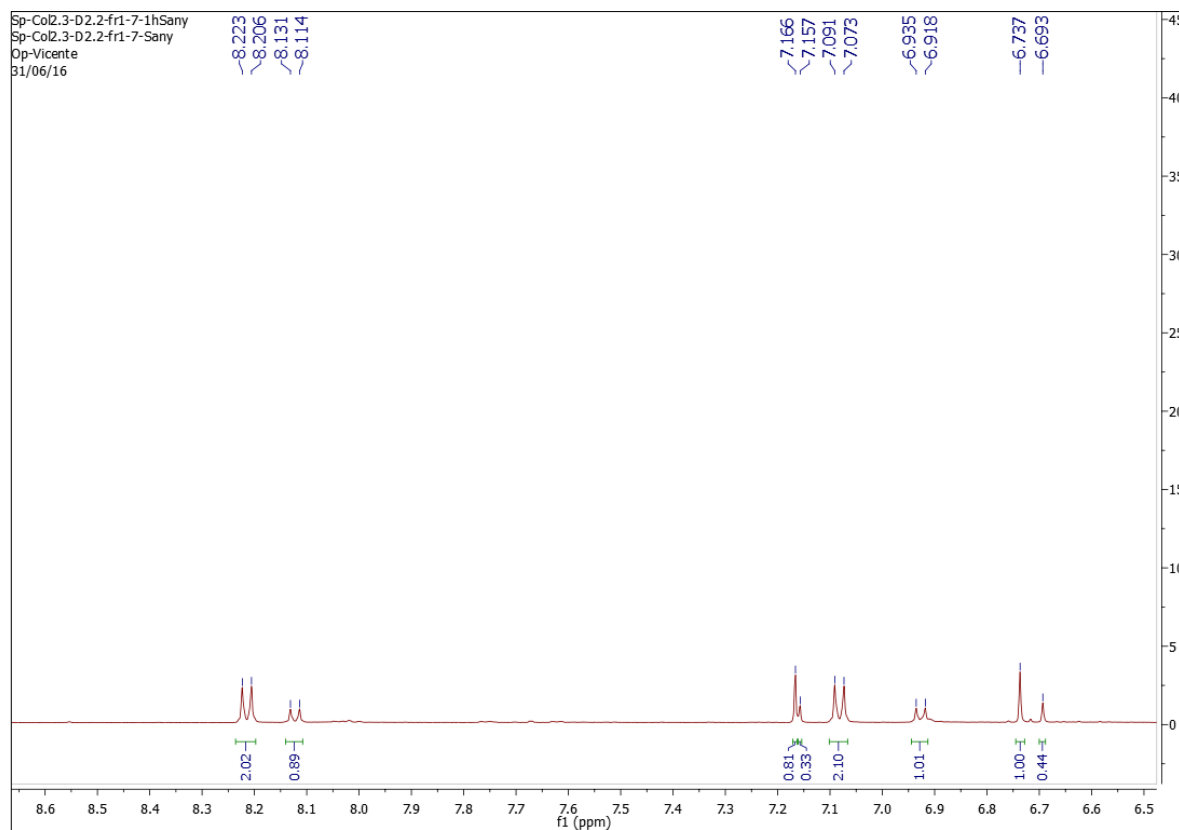


Figura 59. Expansão do espectro de RMN ^1H (δ , CD_3OD , 500 MHz) de **Sp-8a** e **8b**.

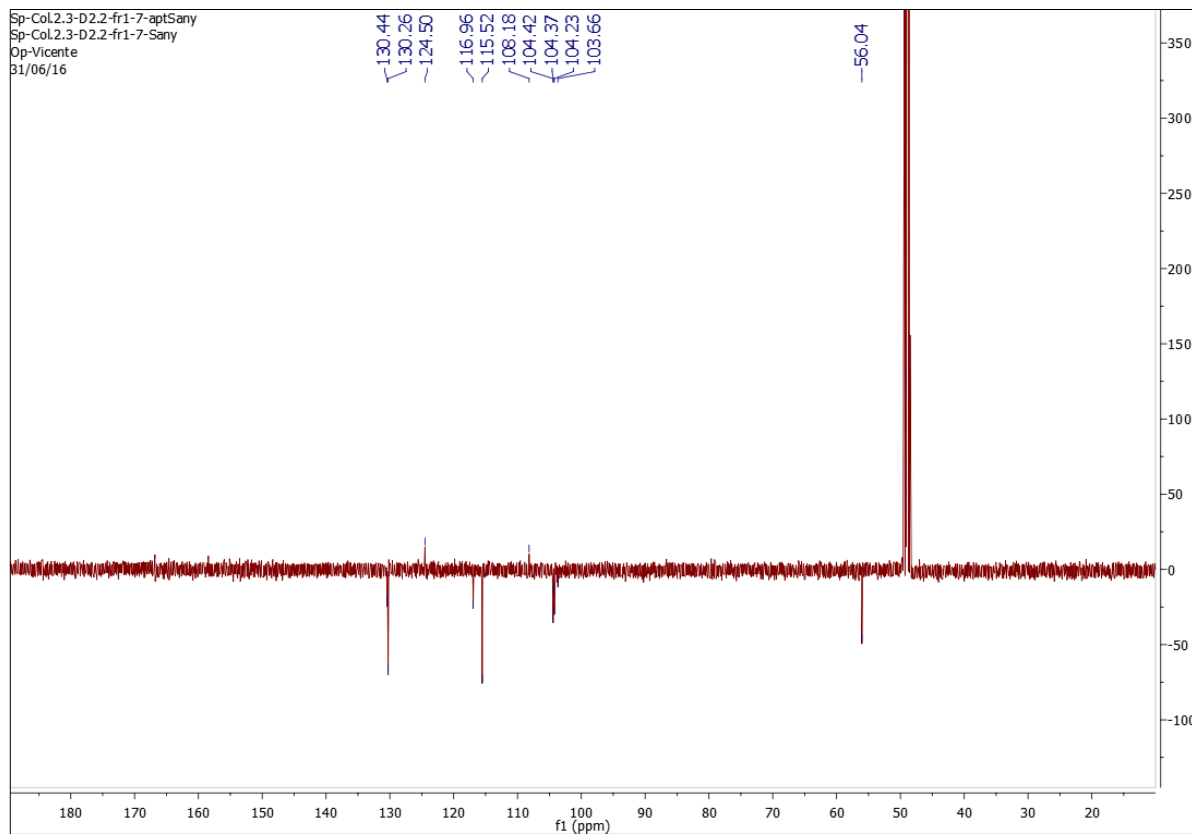


Figura 60. Espectro de RMN ^{13}C NMR (δ , CD_3OD , 125 MHz) de **Sp-8a** e **8b**.

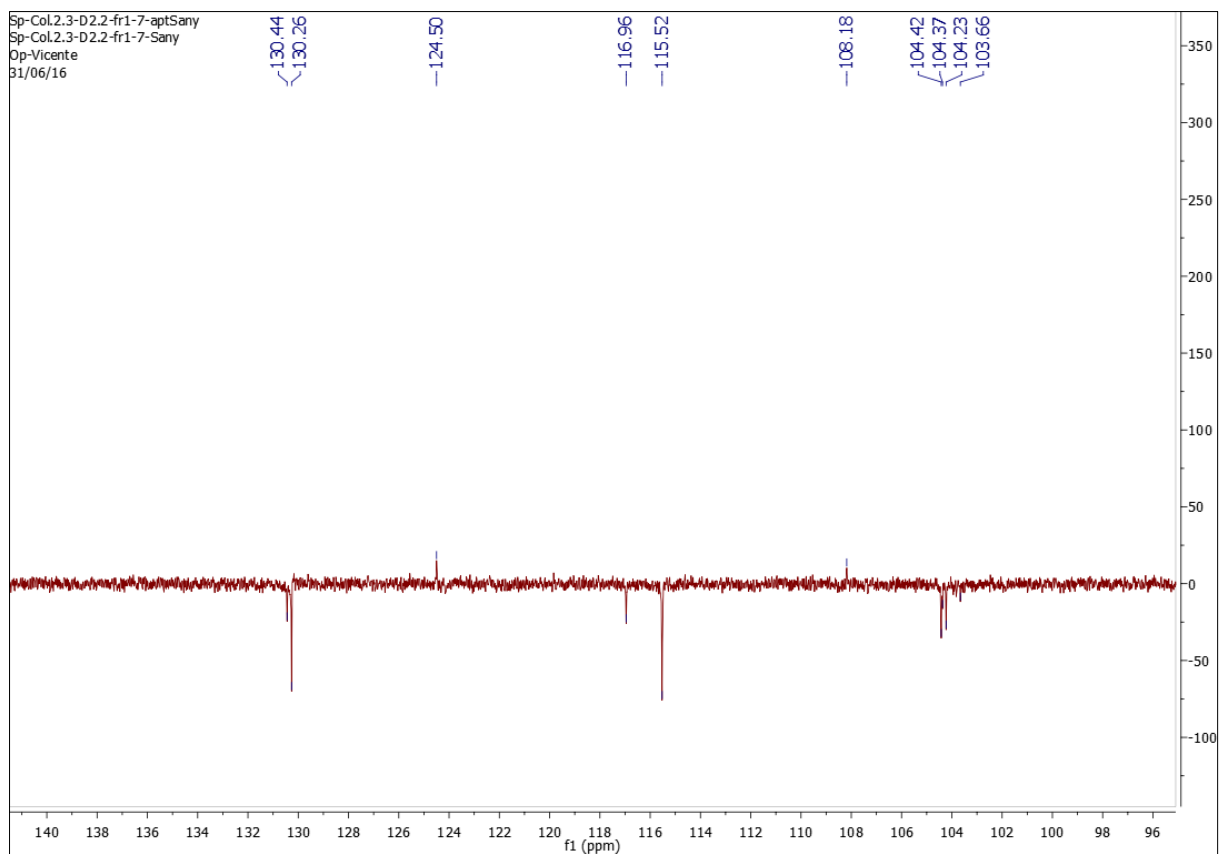


Figura 61. Expansão do espectro de RMN¹³C NMR (δ , CD₃OD, 125 MHz) de **Sp-8a** e **8b**.

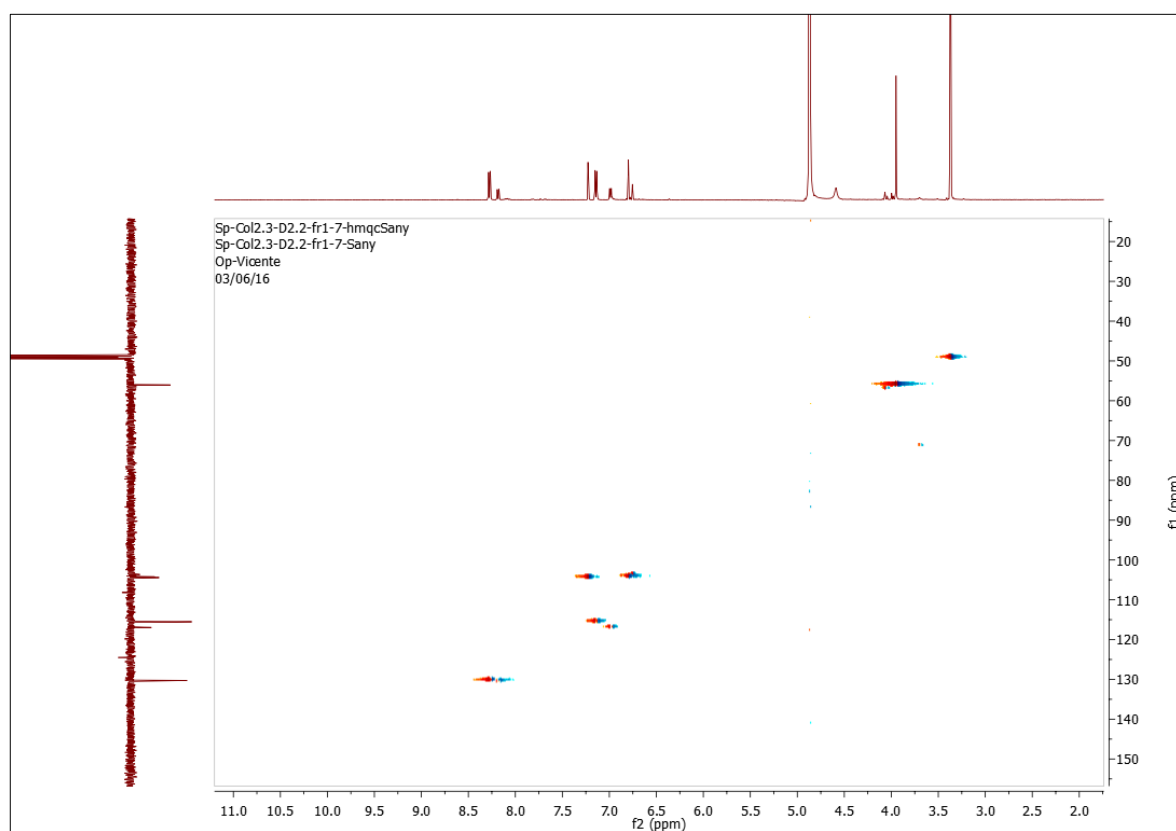


Figura 62. Espectro HMQC (δ , CD₃OD, 500 MHz) de **Sp-8a** e **8b**.

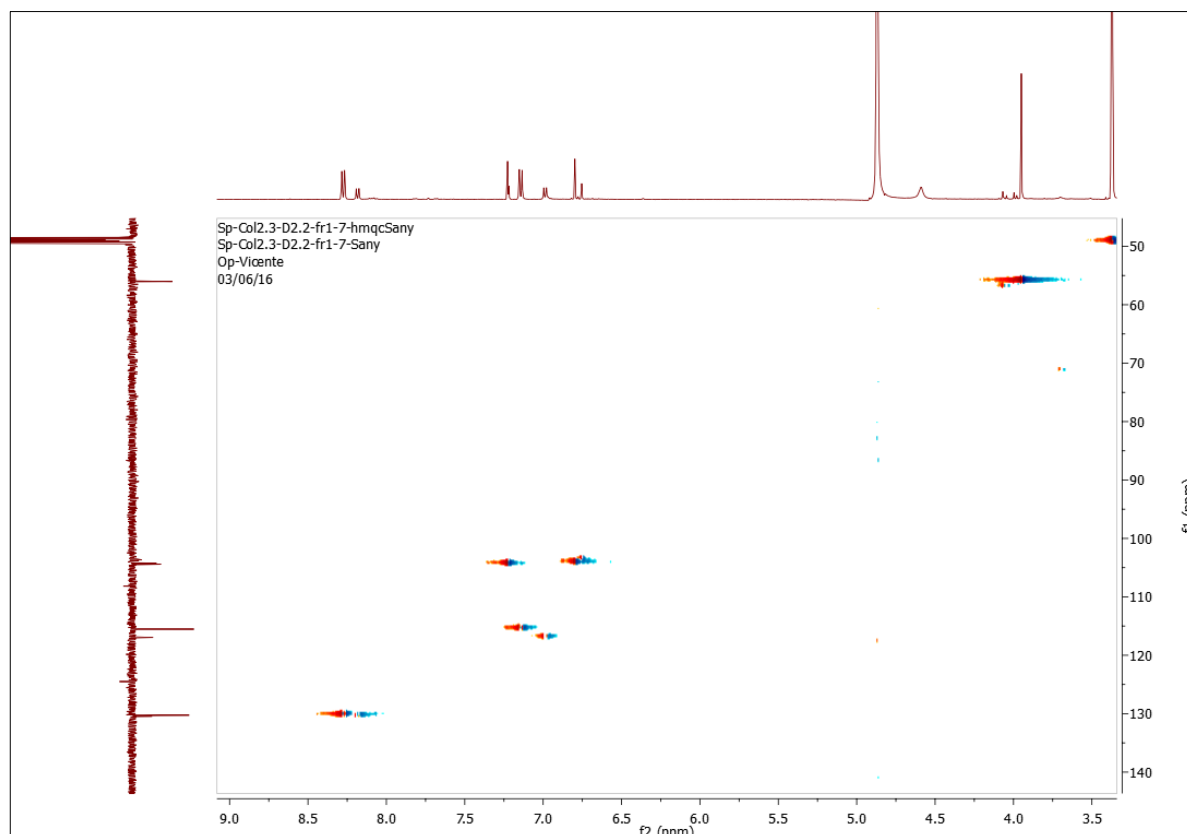


Figura 63. Expansão do espectro HMQC (δ , CD_3OD , 125 MHz) de **Sp-8a** e **8b**.

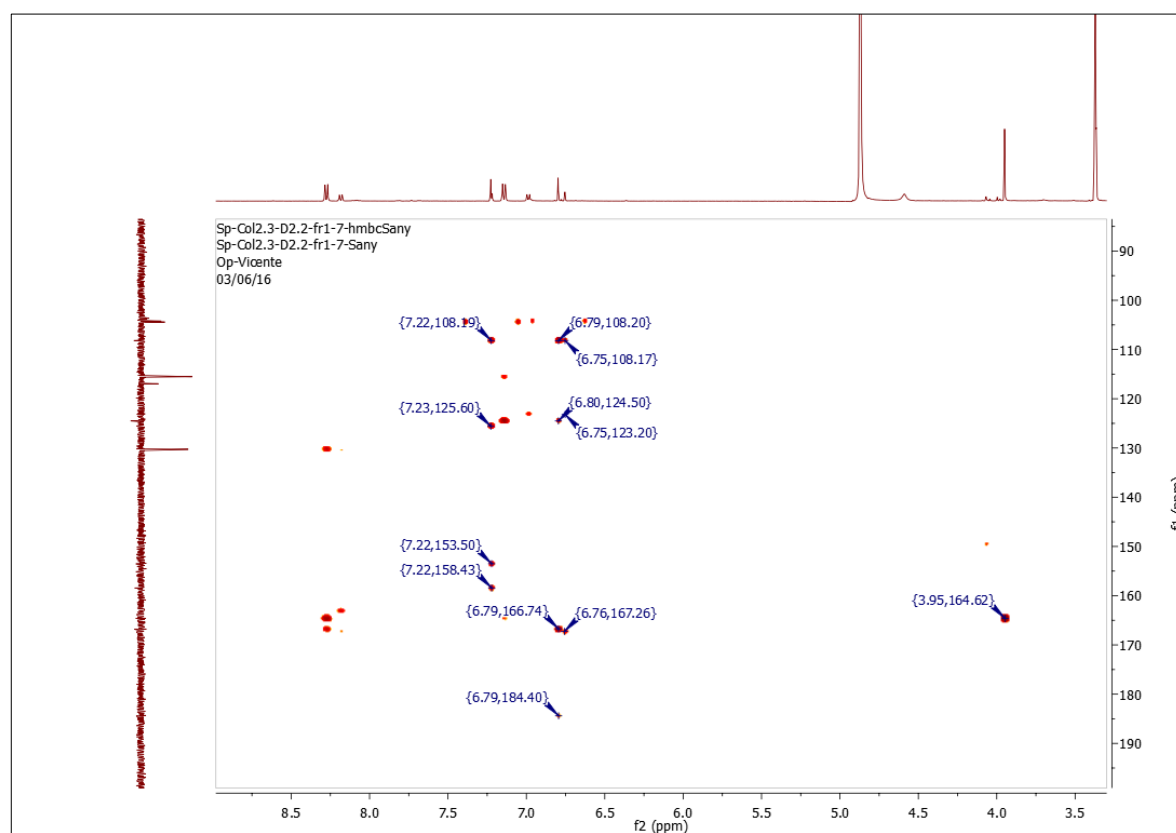


Figura 64. Espectro HMBC (δ , CD_3OD , 500 MHz) de **Sp-8a** e **8b**.

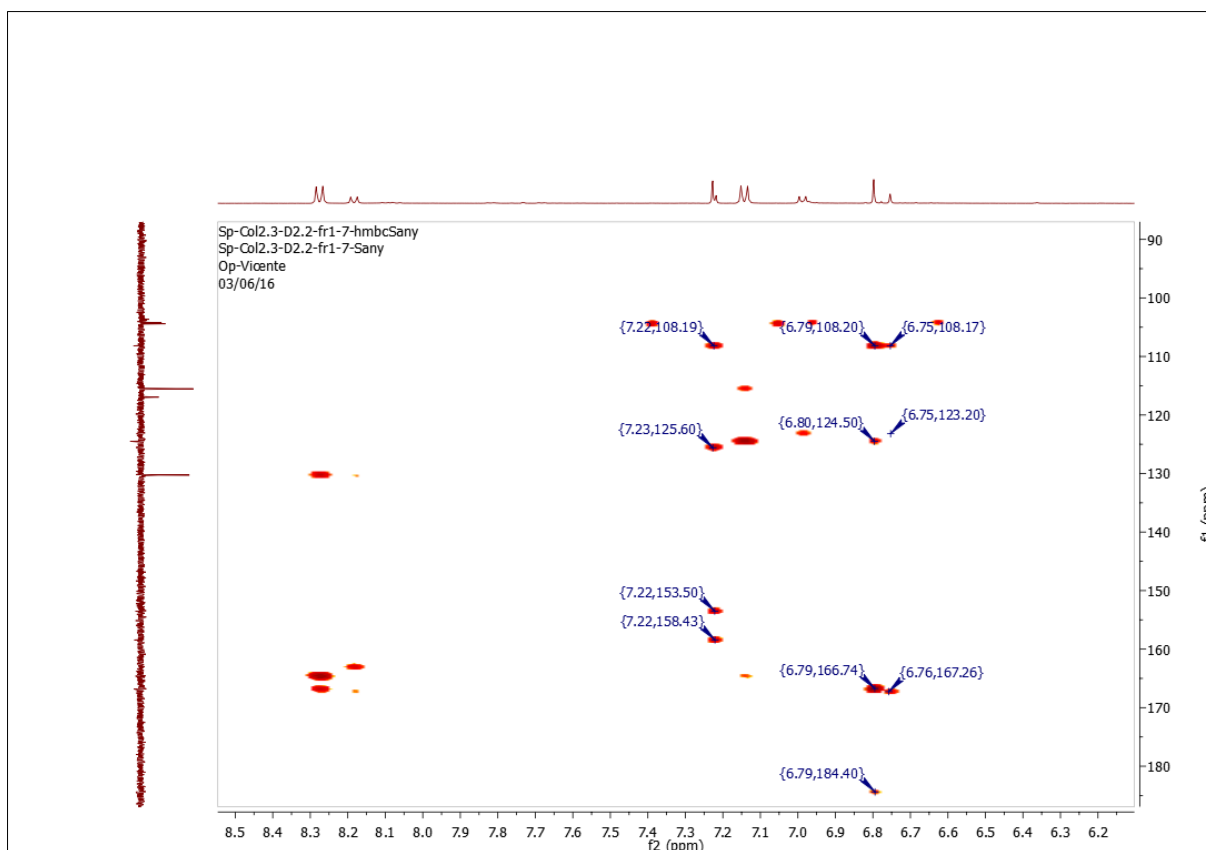


Figura 65. Expansão do espectro HMBC (δ , CD_3OD , 500 MHz) de *Sp-8a* e *8b*.

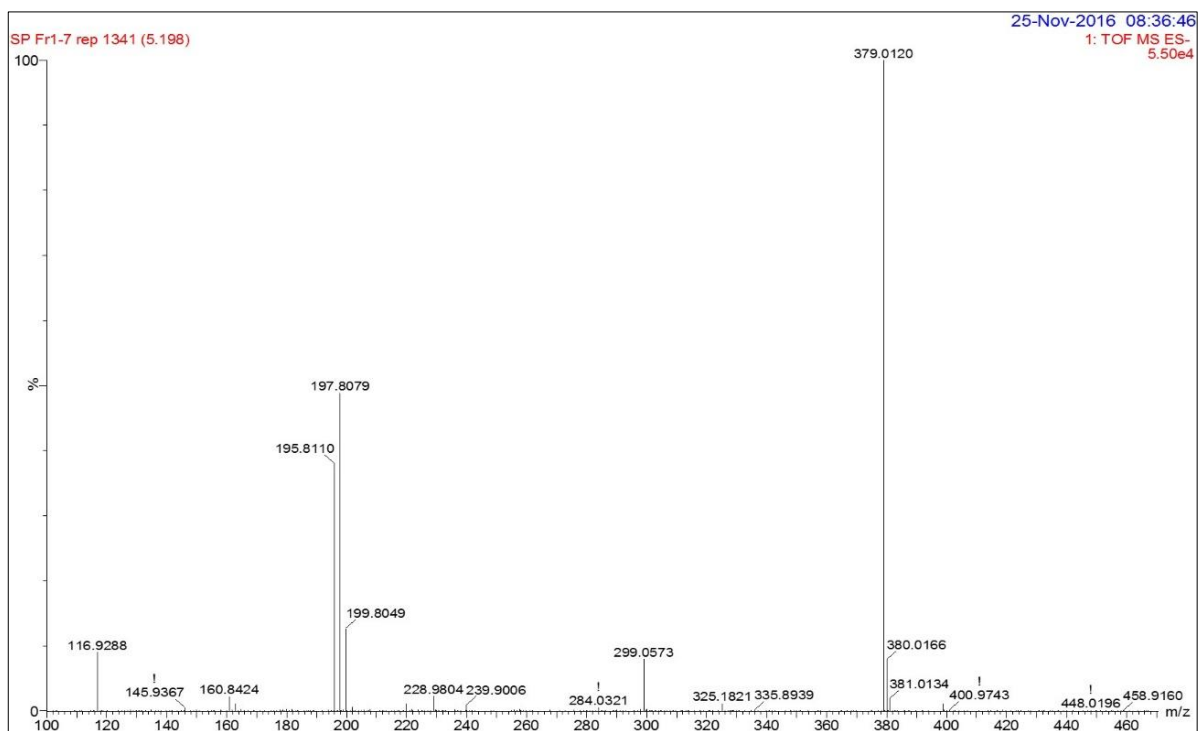


Figura 66. Espectro TOF-MS de *Sp-8a*.

5.1.9 Identificação estrutural de *Sp-9*.

O composto ***Sp-9*** foi obtido como um sólido amorfo amarelo. O espectro de RMN¹H (Figura 67 e sua expansão 68, pág 128) mostraram dois simpletos em δ_H 6,52 e δ_H 6,63 integrados para 1H cada, o que indica que ***Sp-9*** pode se tratar de uma flavona com o anel A 5,7,8 tri-substituído (TELES *et al.*, 2015B). Outros sinais expostos nas figuras supracitadas em δ_H 7,66 (d, J = 2 Hz), δ_H 7,75 (dd, J = 2 e 9 Hz) e δ_H 7,08 (d, J = 9 Hz) sugeriram que o anel B de ***Sp-9*** possui um sistema ABX. Estes espectros também apresentaram dois simpletos em δ_H 3,93 e δ_H 3,94 integrados para 3H cada, sugerindo a presença de dois grupos metoxila na molécula em discussão. A análise dos espectros de RMN¹H ***Sp-9*** permitiu sugerir um esqueleto de 3'-hidroxi,7,4'-di-O-metil -flavona para ***Sp-9*** (TELES *et al.*, 2015B) (Tabela 28, pág. 126).

As expansões dos espectros RMN¹H x ¹³C, aplicando a técnica HMQC do composto em pauta (Figuras 69 e 70, pág. 129) exibiram as correlações entre os hidrogênios e seus respectivos carbonos. (Tabela 29, pág. 127).

Através das correlações apresentadas pelos espectros HMBC (Figura 71, 72 e 73, pág. 130 e 131) foram ratificadas as correlações a duas (J^2) e a três ligações (J^3) entre hidrogênios e carbonos (Tabela 29, pág. 127).

Uma expansão do NOESY (Figura 74, pág. 131) permitiu inferir as posições dos grupos metoxilas nos carbonos C-7 e C-4'.

Quando comparado com os dados de RMN do composto ***Sp-9*** da literatura (Tabela 28, pág. 126), mostrou que a posição C-8 estava mais protegida enquanto a posição C-7 mais desprotegido, indicando que ***Sp-9*** poderia ter o grupo O-sulfato em C-8.

A presença do grupo sulfato foi confirmada pela presença de um pico do íon molecular com massa de 409,0230 e fórmula mínima C₁₇H₁₃O₁₀S para o íon [M-H]⁻ de ***Sp-9***, fórmula molecular C₁₇H₁₄O₁₀S, no espectro TOF-MS (Figura 75, pág. 132), atestando assim a estrutura da 7,4'-O-dimetil-8-O-sulfato hipoaletina (Sidastrumina), substância inédita na literatura.

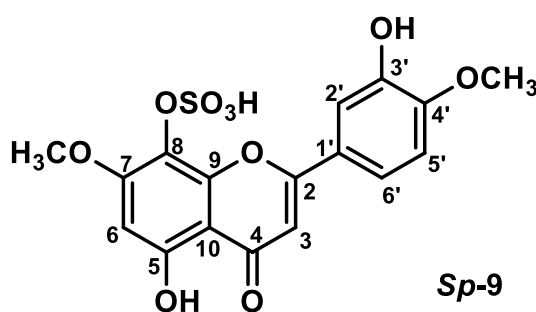


Tabela 28. Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C de **Sp-9** (δ , CD_3OD , 500 e 125 MHz) com o modelo Mo-9 (δ , DMSO, 400 e 100 MHz), (TELES *et al.*, 2015B).

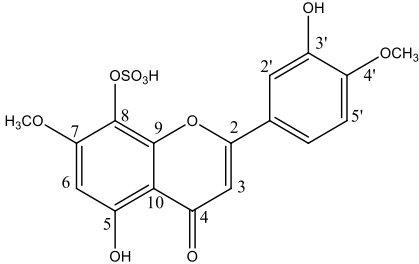
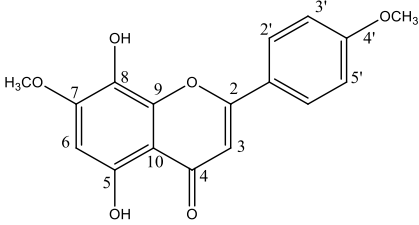
Sp-9			Mo-9 (7,4'-Di-O-Metilisoescutelareina)	
				
C	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
2	-	166,7	-	164,0
3	6,63 (s, 1H)	103,5	6,87 (s, 1H)	103,6
4	-	184,0	-	182,9
5	-	159,6	-	153,1
6	6,52 (s, 1H)	96,7	6,56 (s, 1H)	96,2
7	-	160,8	-	154,8
8	-	123,1	-	126,8
9	-	-	-	145,0
10	-	105,1	-	104,4
1'	-	123,6	-	123,5
2'	7,66 (d, $J=2$ Hz, 1H)	114,2	8,12 (d, $J=8,12$ Hz, 2H)	129,0
3'	-	147,9	7,13 (d, $J=8,6$ Hz, 2H)	115,1
4'	-	152,8	-	162,9
5'	7,08 (d, $J=9$ Hz, 1H)	112,6	7,13 (d, $J=8,6$ Hz, 2H)	115,1
6'	7,75 (dd, $J=2$ e 9 Hz, 1H)	120,8	8,12 (d, $J=8,12$ Hz, 2H)	129,0
OCH₃-4'	3,93, (s, 3H)	56,8	3,86 (s, 3H)	56,1
OCH₃-7	3,94, (s, 3H)	56,2	3,90 (s, 3H)	56,9
OH-5			12,44 (s, 1H)	-
OH-7			8,92 (sl)	-

Tabela 29. Dados de RMN ^1H e ^{13}C de **Sp-9** (δ , CD_3OD , 500 e 125 MHz).

$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMQC			$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ – HMBC	
			^2J	^3J
C	δ_{H}	δ_{C}		
2	-	166,7		
3	6,63 (s, 1H)	103,5	C-2,	C-1', C-10
4	-	184,0		
5	-	159,6		
6	6,52 (s, 1H)	96,7	C-5, C-7	C-8, C-10
7	-	160,8		
8	-	123,1		
9	-	-		
10	-	105,1		
1'	-	123,6		
2'	7,66 (d, $J=2$ Hz, 1H)	114,2		C-4', C-6'
3'	-	147,9		
4'	-	152,8		
5'	7,08 (d, $J=9$ Hz, 1H)	112,6	C-4'	C-1', C-3'
6'	7,75 (dd, $J=2$ e 9 Hz, 1H)	120,8		C-4', C-2'
H				
OH-3'				
OCH ₃ – 4' e 7	3,93 (s, 3H); 3,94(s, 3H)			

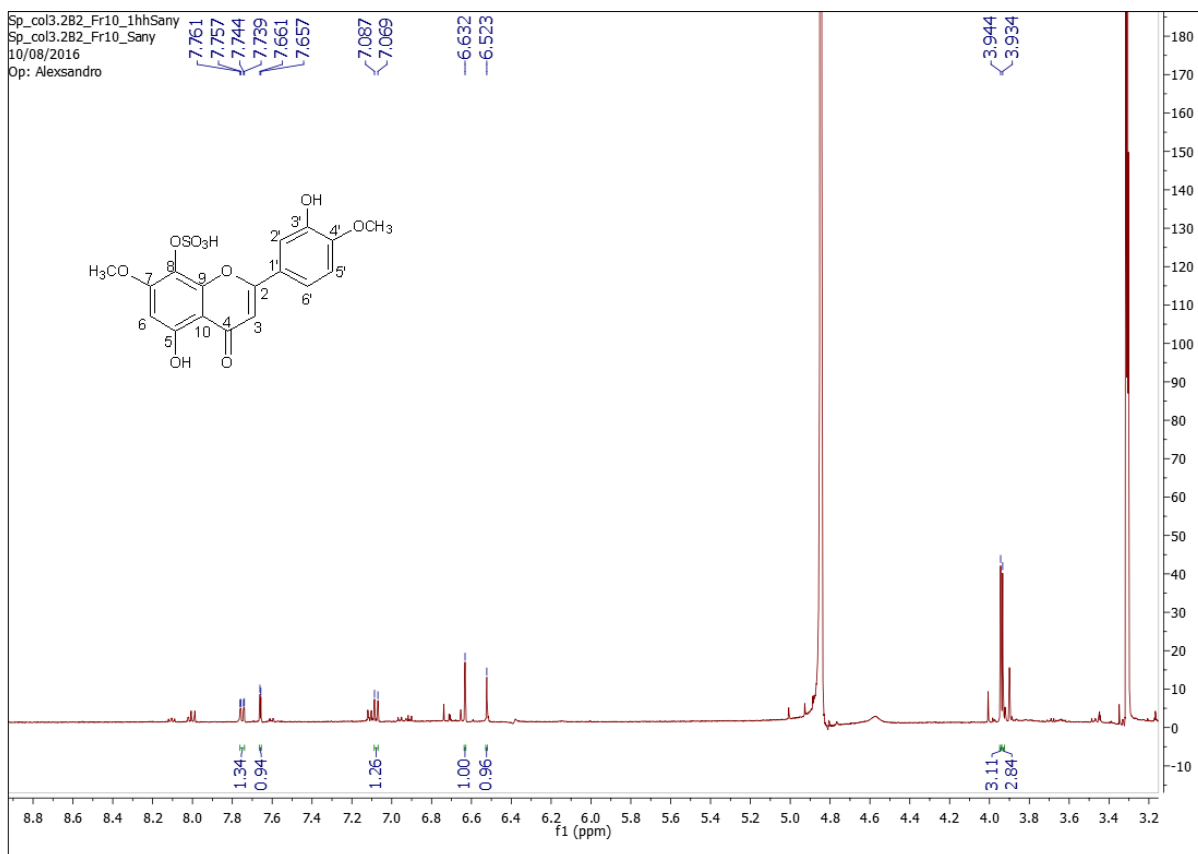


Figura 67. Espectro de RMN¹H (δ , CD₃OD, 500 MHz) de **Sp-9**.

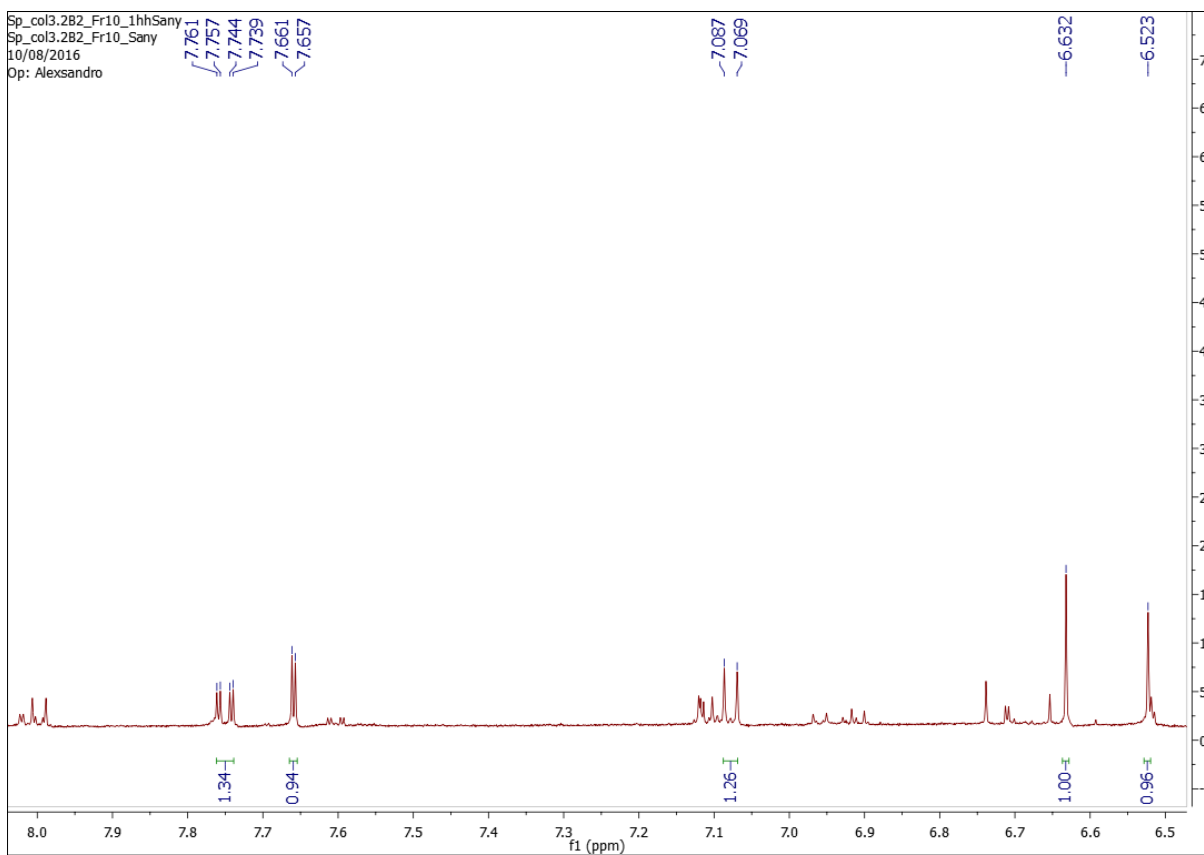


Figura 68. Expansão do espectro de RMN¹H (δ , CD₃OD, 500 MHz) de **Sp-9**.

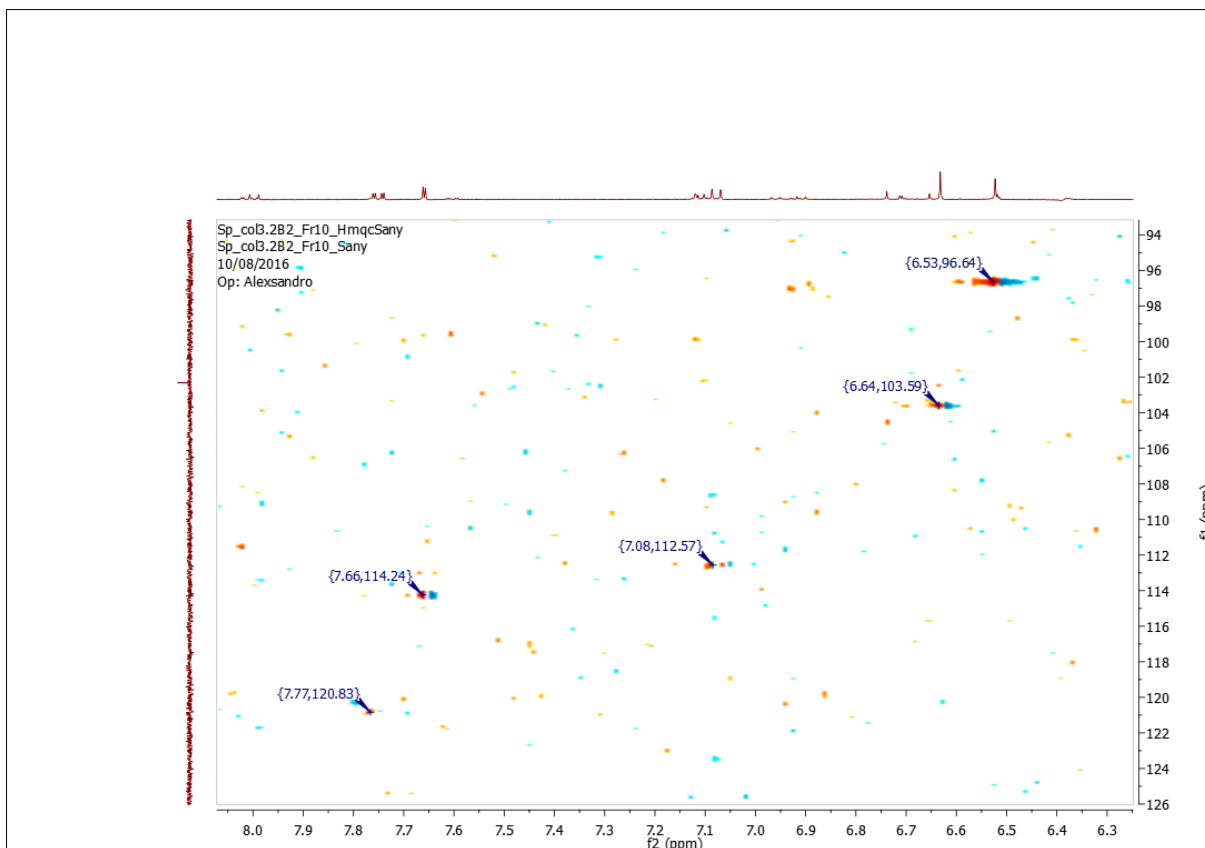


Figura 69. Expansão do espectro HMQC (δ , CD₃OD, 500 MHz) de **Sp-9**.

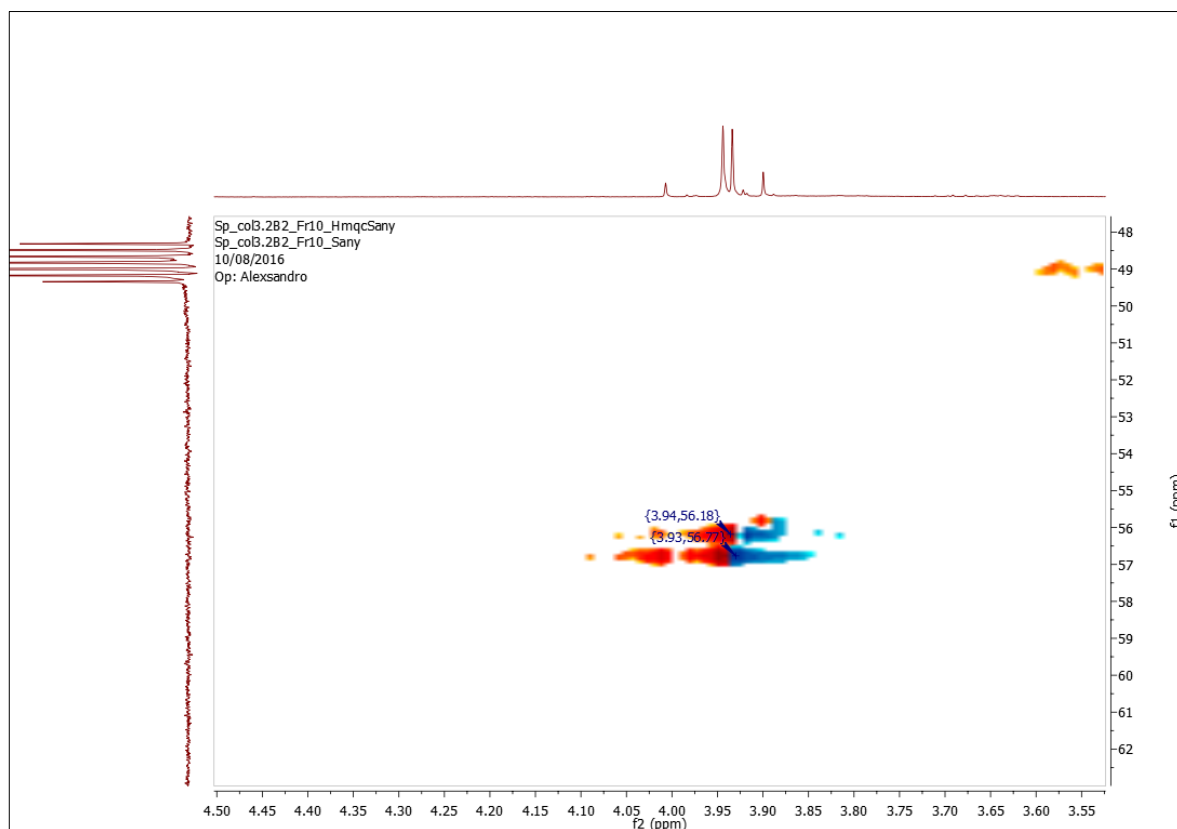


Figura 70. Expansão do espectro HMQC (δ , CD₃OD, 500 MHz) de **Sp-9**.

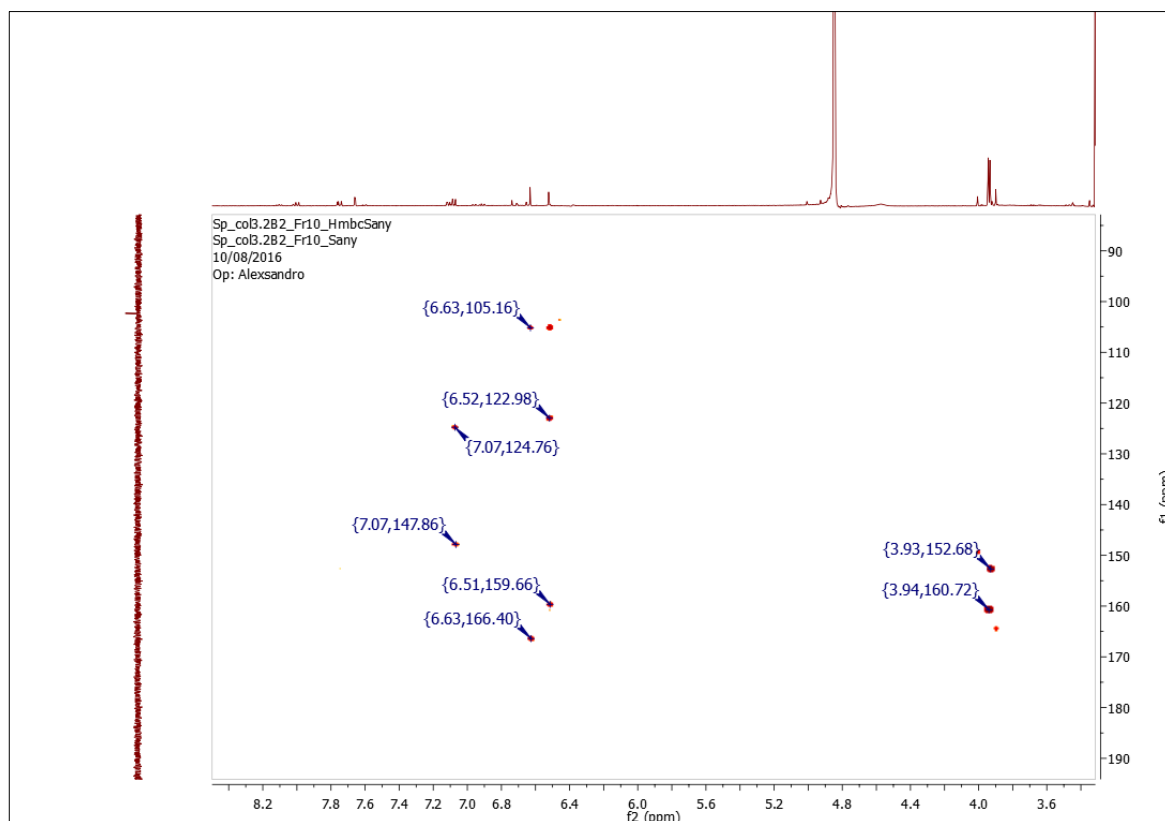


Figura 71. Espectro HMBC (δ , CD₃OD, 500 MHz) de **Sp-9**.

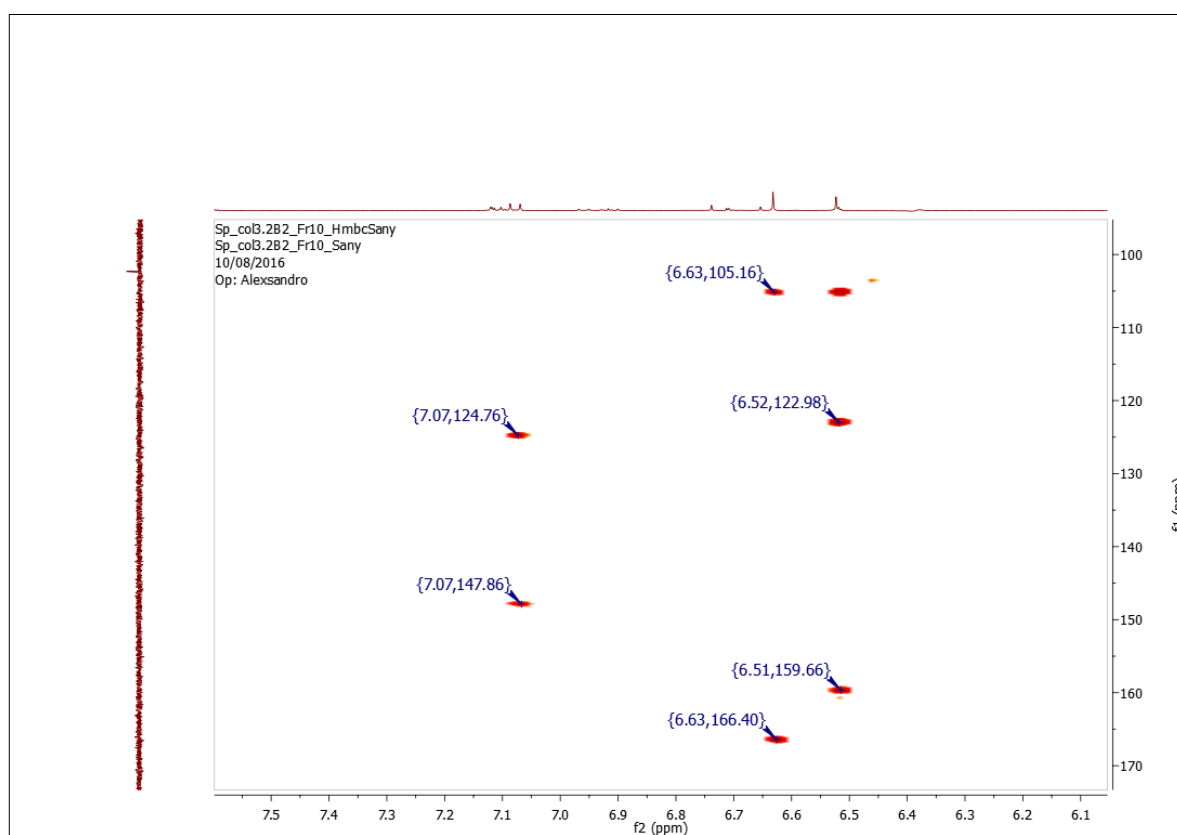


Figura 72. Expansão do espectro HMBC (δ , CD₃OD, 500 MHz) de **Sp-9**.

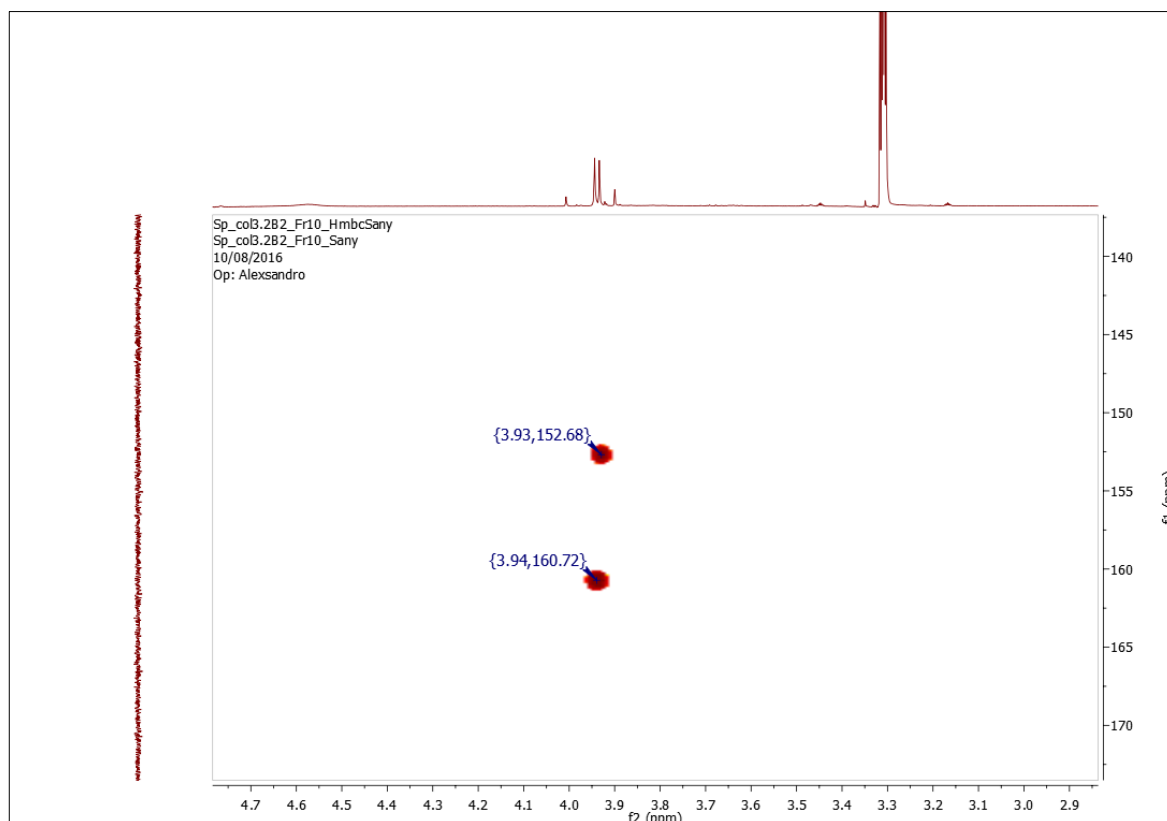


Figura 73. Expansão do espectro HMBC (δ , CD₃OD, 500 MHz) de **Sp-9**.

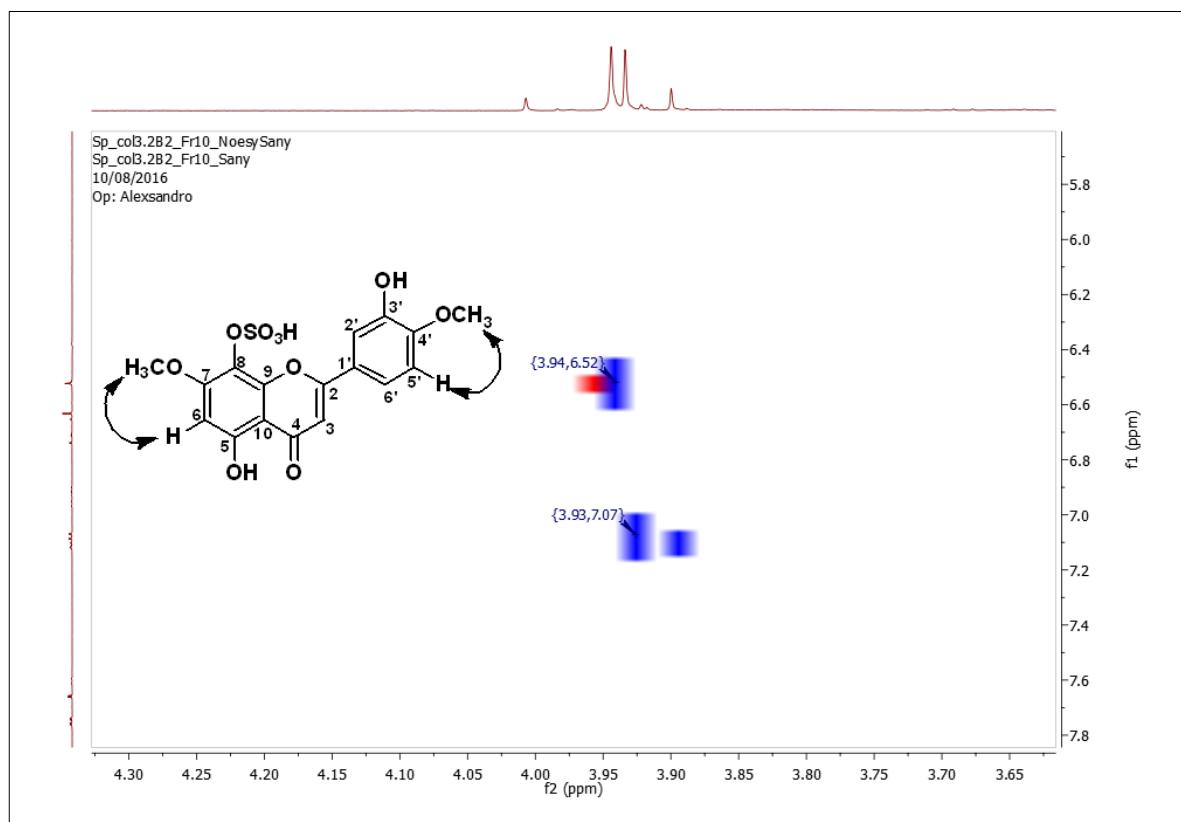


Figura 74. Expansão do espectro NOESY (δ , CD₃OD, 500 MHz) de **Sp-9**.

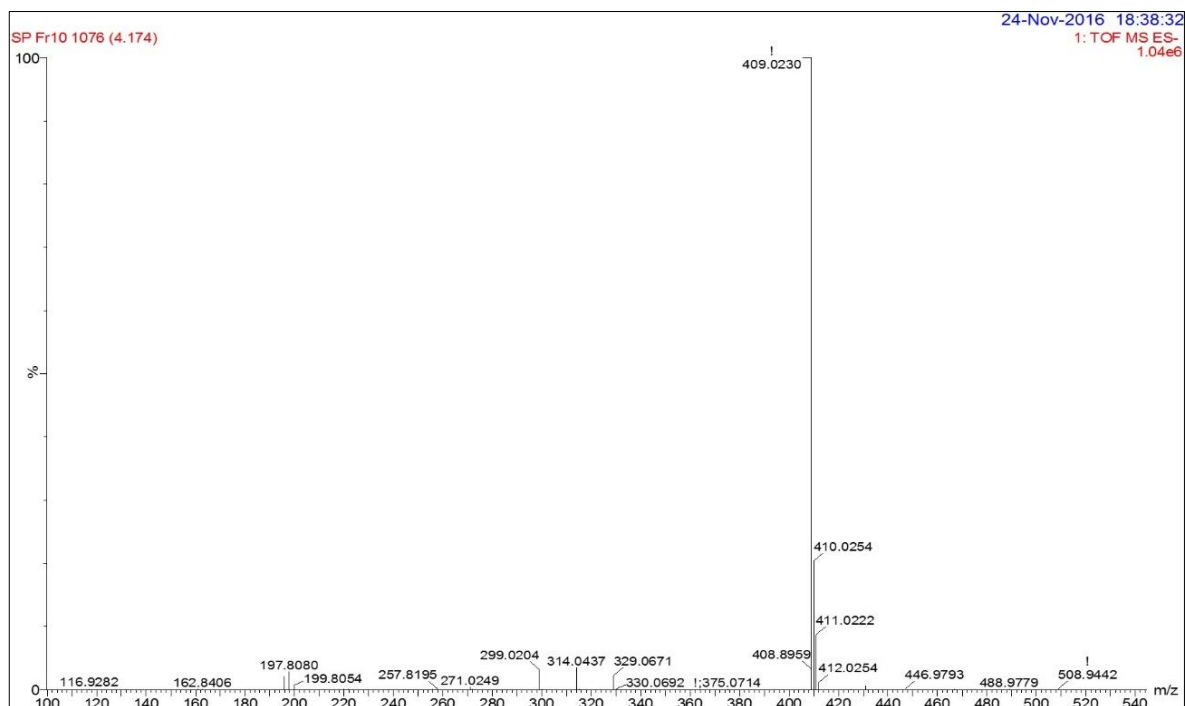


Figura 75. Espectro TOF-MS de *Sp-9*.

5.2 Estudo computacional com flavonoides sulfatados

O estudo computacional foi realizado com os flavonoides sulfatados isolados de *Sidastrum paniculatum*. As estruturas destes compostos seguem na figura 76.

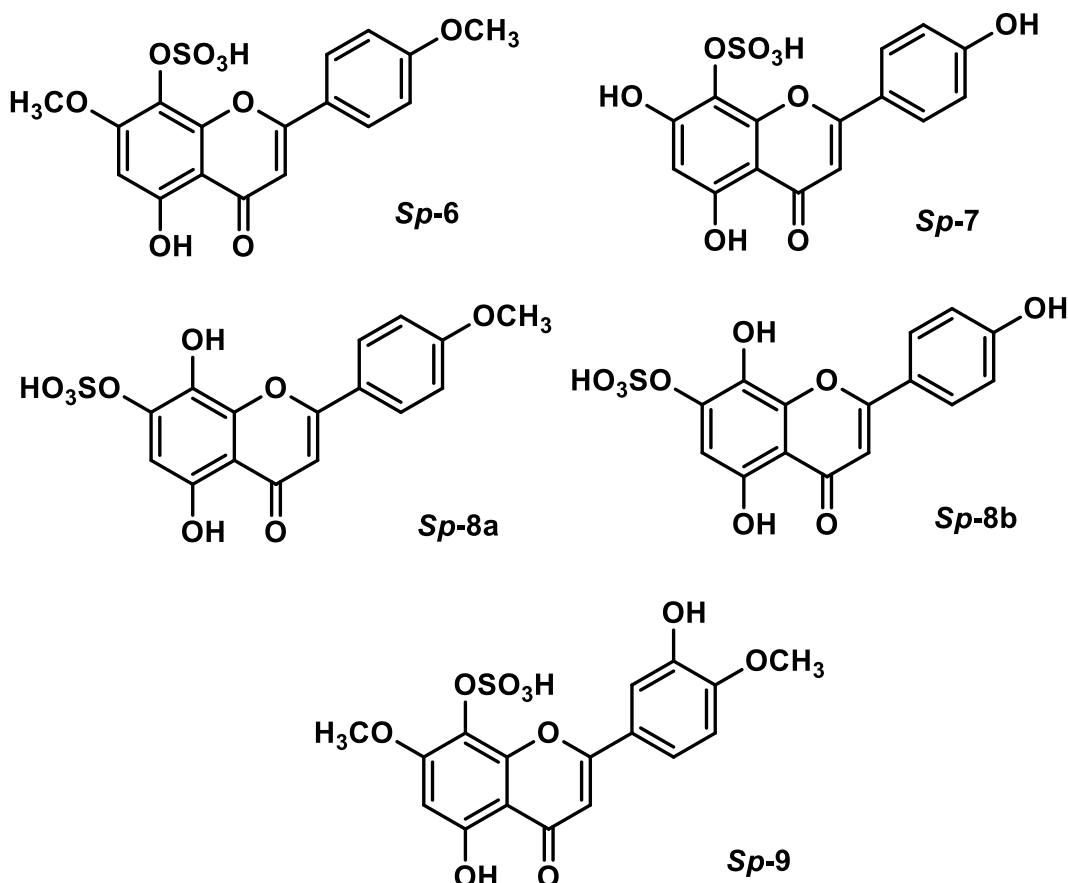


Figura 76. Flavonoides sulfatados submetidos ao estudo computacional.

5.2.1 Modelo de previsão

O software Dragon 7.0 (Talet srl. 2016) gerou 1.232 descritores para 172 moléculas de atividade conhecida contra larvas de *Aedes aegypti*. Estes descritores foram utilizados como dados de entrada no software Knime para geração do modelo preditivo.

Os descritores moleculares com as informações da atividade biológica qualitativa foram utilizados para geração de modelos "Random Forest" (RF). No modelo *Aedes aegypti*, as moléculas com $pIC_{50} \geq 4,15$ foram consideradas ativas, com um total de 91 moléculas, e para as moléculas com $pIC_{50} < 4,15$ foram consideradas inativas, totalizando 81 moléculas.

Analisando o modelo *Aedes aegypti*, foi possível verificar que a validação cruzada e o teste demonstraram desempenho estatístico similar, sendo possível avaliar a geração do modelo através do coeficiente de correlação de Matthews (MCC). O valor obtido de 0,78 e 0,77 para a validação cruzada, revelou uma boa predição do modelo.

O gráfico Receiver Operating Characteristic Curve (ROC) que analisa o desempenho do modelo que foi gerado para o conjunto de teste, obteve uma área sob a curva de 0,939, (Figura 77), vale ressaltar que um modelo perfeito tem uma área sob a curva igual a 1. É possível afirmar que o modelo é capaz de realizar uma alta taxa de classificação para este método de RF.

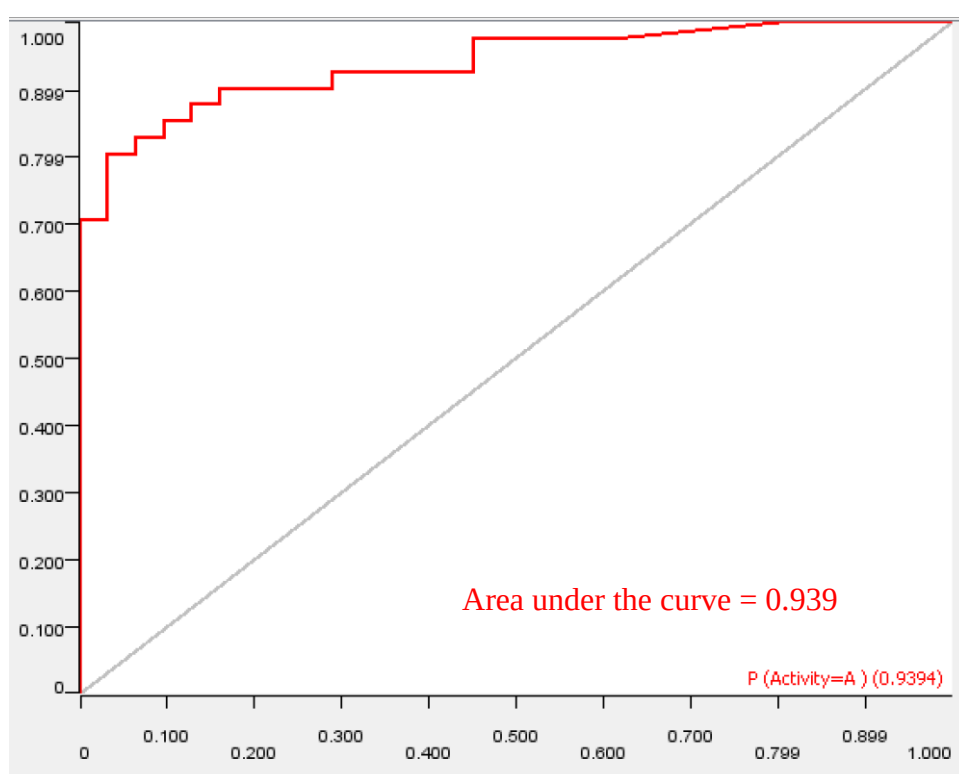


Figura 77. Gráfico ROC com área sob uma curva para o teste do modelo *Aedes aegypti* obtido com “Random Forest”.

O modelo *Aedes aegypti* foi utilizado para triagem dos flavonoides sulfatados isolados de *S. paniculatum* (L.) Fryxell, para investigação de possíveis moléculas bioativas contra larvas de *Aedes aegypti*.

Os cinco flavonoides sulfatos isolados de *S. paniculatum* foram testados com duas proteínas-alvo do *Aedes aegypti*, a *Aedes aegypti* Quinurenina Aminotransferase (1YIY) e a Proteína Portadora de Esterol-2 (1PZ4) para triagem dos compostos com maior potencial de atividade larvicida, sendo assim uma triagem virtual baseada na estrutura do receptor. Energias

de ligação foram então geradas e pontuadas através de Moldock para cada flavonóide. Em seguida, foram feitos cálculos para ter as moléculas com as melhores probabilidades de potencial ativo contra as larvas do *Aedes aegypti*. Esses cálculos foram realizados usando a seguinte fórmula:

$$Prob = \frac{E_{MT}}{E_M}, \text{ if } E_{MT} < E_L$$

Onde, EMT é a energia da molécula de teste, EM é a energia mais baixa obtida das moléculas testadas e EL é a energia do ligante obtido da cristalografia da proteína de teste, a fração é condicionada à energia da molécula de teste sendo menor que a energia do ligante, isto é, somente moléculas que obtiveram energia de ligação menor que a energia de ligação do ligante cristalográfico serão consideradas potencialmente ativas.

Os cinco flavonoides testados mostraram um potencial de atividade de mais de 50% (Tabela 32). Mas dois flavonoides foram classificados como resultados não confiáveis pelo domínio de aplicabilidade, os flavonoides **Sp-7** e **Sp-9**.

Tabela 30. Atividade prevista de flavonoides no modelo *Aedes aegypti*.

Moléculas	Atividade
Sp-6	0.635
Sp-7	0.585
Sp-8a	0.56
Sp-8b	0.5
Sp-9	0.625

5.2.2 Acoplamento Molecular (*Docking*)

A tabela 31 mostra as energias de ligação das proteínas de cada flavonóide, bem como a probabilidade de ser potencialmente ativo em cada proteína estudada. Na figura 78 (pág. 136) são mostradas as interações entre os ligantes em seus sítios de ligação em suas respectivas proteínas e também as interações do flavonoide que apresentou menor energia pelo escore Moldock. Dentre os flavonoides sulfatados, **Sp-7** é considerada a mais provável de se ligar a enzima 1YIY.

Tabela 31. Escore de Moldock para o ligante, redocking e flavonoides e a probabilidade de atividade flavonoídica.

Molécula	E-Total 1PZ4	Prob 1PZ4	E-Total 1YIY	Prob 1YIY
<i>Sp-6</i>	-106.824	0.797694077	-131.658	0.934832003
<i>Sp-7</i>	-112.047	0.836696138	-140.836	1
<i>Sp-8a</i>	-129.456	0.96669554	-118.574	0.84192962
<i>Sp-8b</i>	-125.365	0.93614654	-121.234	0.860816837
<i>Sp-9</i>	-130.685	0.975872935	-140.141	0.995065182
Ligante	-106.678	-	-103.002	-
Redocking	-117.88	-	-114.746	-

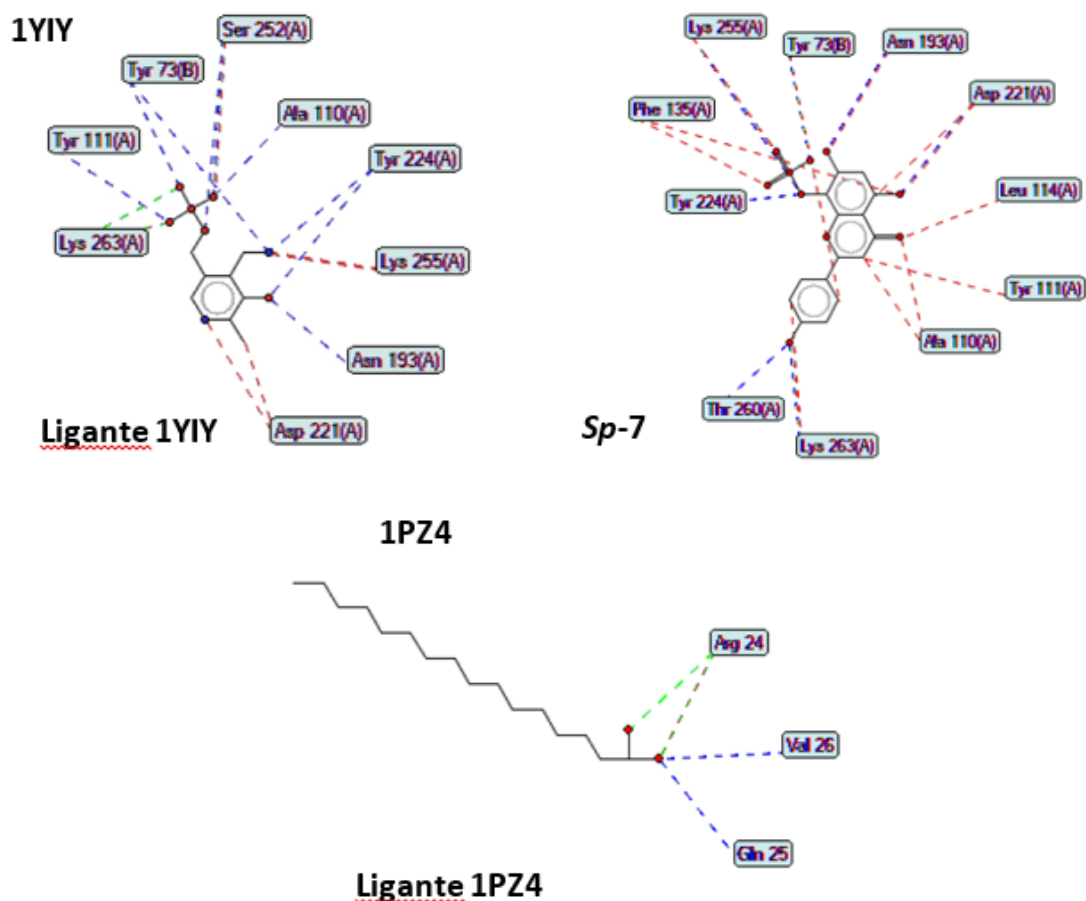
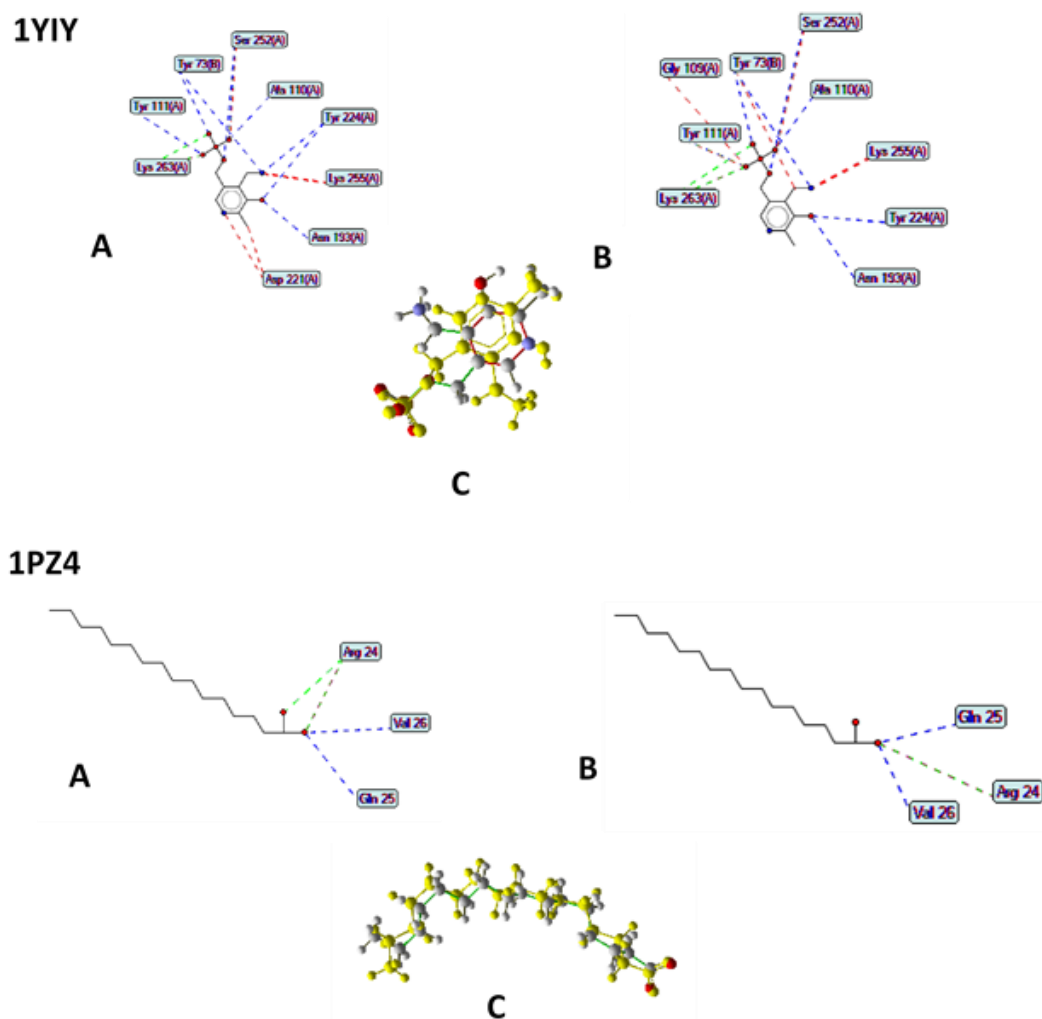


Figura 78. Ligantes, *Sp-7* e sua respectiva interação no sítio ativo da enzima.

Na figura 78 (pág. 136) é possível observar que as interações do tipo hidrogênio (tracejado azul) são as mais frequentes devido à grande quantidade de hidroxilas e carbonilas nas estruturas que atuam como receptoras ou doadoras de pontes de hidrogênio. Interações eletrostáticas são representadas em verde e são o resultado da interação entre dipolos e/ou íons de carga oposta. O efeito estérico positivo também é mostrado (vermelho tracejado) que nos revela a importância das conformações assumidas pelos ligantes e flavonoide no sítio ativo da proteína para a atividade.

Os cinco flavonoides estudados foram potencialmente ativos para as duas enzimas analisadas. Como uma das formas de validar o docking, foi feito o redocking, ou seja, foi feito o estudo do docking com os ligantes conhecidos de cada enzima, e através de uma comparação dos resultados obtidos com os já conhecidos na literatura é possível avaliar o desempenho do acoplamento.

Comparações entre as conformações de ligação de cada ligante com a respectiva enzima tomada em redocking e as da literatura estão disponíveis na figura 79 (pág. 138), bem como as interações que estão ocorrendo no local de ligação da enzima. É possível observar que para as duas enzimas as conformações assumidas do ligante em redocking são muito próximas das descritas na literatura, o que muito bem valida o encaixe que foi realizado para estas enzimas.



Legenda: A: Estrutura do ligante e as interações que ele desenvolve no sítio ativo da proteína. B: Estrutura do ligante em "redocking" e as interações que está fazendo no sítio ativo da proteína; C: sobreposição da conformação do ligante (amarelo) com a conformação do ligante assumido em redocking

Figura 79. Comparação entre conformação de ligante e redocking.

Também foram feitos cálculos para selecionar moléculas “multitarget” por meio do docking, combinadas com o modelo de triagem virtual, ou seja, para selecionar moléculas que são potencialmente ativas para as duas enzimas e que também estavam previstas para serem ativas no modelo de triagem virtual criado. Para estes cálculos, a seguinte fórmula foi usada:

$$Prob_{comb} = \frac{(Prob + (1 + Cross) \times A_p)}{2 + Cross}, SeProb_{comb} > 0,5$$

Onde *Prob* é a probabilidade potencial, *Cross* é o valor de validação cruzada do modelo de triagem virtual e *A_p* é o valor previsto no modelo de atividade de cada molécula. E essa probabilidade combinada é condicionada, isto é, apenas moléculas com valores acima de 0,5

serão consideradas potencialmente ativas. Já eliminando também as duas moléculas que tiveram resultados considerados não confiáveis pelo modelo.

Assim, apenas os flavonoides **Sp-6** e **Sp-8a** foram considerados multitarget. Estes flavonoides são os mais indicados para serem estudados *in vitro*.

5.3 Síntese

5.3.1 Formação dos ésteres cinâmicos – Reação de MBH

Inicialmente foi realizado a síntese dos adutos de Morita-Baylis-Hillman (MBH) a partir de aldeídos aromáticos comerciais, utilizando o acrilato de metila em excesso, como aceptor de Michael.

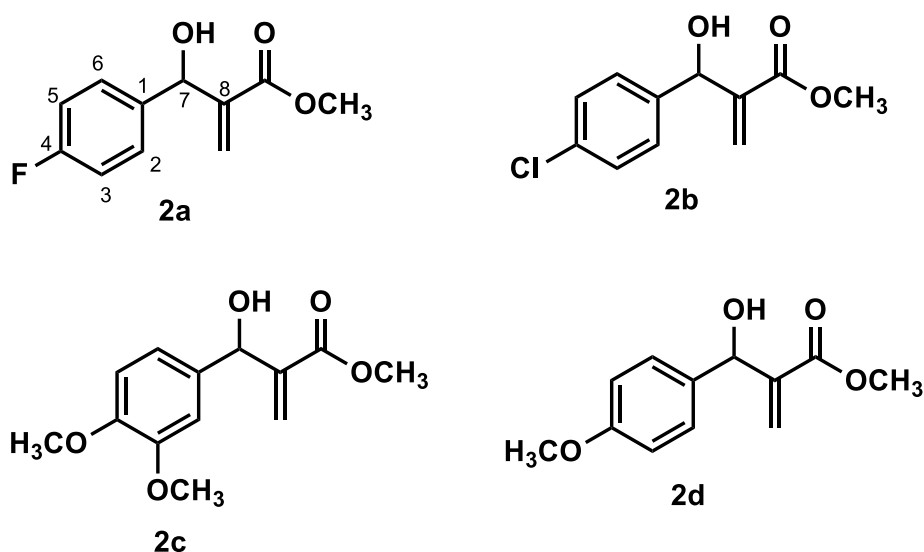


Figura 80. Adutos de Morita-Baylis-Hillman sintetizados (2a-d).

As reações foram monitoradas por CCDA, a fim de controlar o tempo reacional por meio do consumo do aldeído. Vale ressaltar que em todas as reações, não houve a formação de coprodutos, sendo necessário uma purificação por cromatografia de coluna em sílica flash para separar o aldeído do aduto de MBH formado.

Tabela 32. Resultados da reação de preparação dos adutos de MBH.

Aduto	Massa molar (g/mol)	Tempo de reação	Quantidade em massa	Rendimento (%)
2a	210.20	7 dias	5.5 g	65
2b	226.66	7 dias	6.6 g	83
2c	252.26	3 dias	1.4 g	20
2d	222.24	14 dias	-	-

Pode-se observar pela tabela 32 (pág. 140) que a condição experimental utilizada gerou rendimentos de moderados a altos para os adutos **2a** e **2b** e rendimentos baixos para **2c** e **2d**. Estes adutos apresentam em sua estrutura o grupo metoxila, que aumenta a densidade eletrônica na carbonila do aldeído, o que torna a reação mais lenta, com rendimentos de moderados a baixos.

Não foi possível calcular o rendimento da reação de formação do aduto **2d** pois não foi possível realizar a sua purificação com eficiência, sendo o mesmo posto para reagir as etapas seguintes ainda impuro com o aldeído de partida.

Diante do exposto em relação à reação de MBH, sabe-se que esta apresenta como desvantagem a velocidade de reação, dependendo do aldeído de partida. Contudo, optou-se por obter a quantidade máxima desejável do produto, devido às condições laboratoriais. Após o isolamento por cromatografia em coluna os adutos **2a**, **2b** e **2c** foram submetidos a técnicas espectroscópicas de RMN¹H e RMN¹³C (Anexos 01, 02, 05, 06, 09 e 10) e uma amostra do aduto **2d** foi submetida ao RMN¹H (Anexo 13). No entanto como os espectros obtidos são bastante similares, destacaremos apenas sinais importantes que confirmem a formação do produto, discutindo apenas um espectro em cada etapa de formação das amidas, e apresentando os dados espectrais dos demais compostos sintetizados.

O espectro do aduto **2b** o RMN de ¹H (Figura 81, pág. 142) mostra um simpleto em δ 3,6 ppm, referente aos prótons da metóxila do éster, dois simpletos em δ 6,24 ppm e δ 5,80 ppm, referente aos hidrogênios da posição beta da dupla ligação proveniente do acrilato e um pico em δ 7,20 ppm com integral para 4 hidrogênios referentes ao anel aromático, no entanto, observando a estrutura do composto, não é possível verificar equivalência química nestes 4 hidrogênios, supôs-se, portanto, que tal equivalência tenha sido consequência do solvente utilizado para a realização do espectro, onde o clorofórmio influencia no ambiente químico da molécula e os 4 hidrogênios do anel aromático *p*-cloro, se apresentam quimicamente equivalentes. Para comprovar tal suposição, foi realizado o mesmo experimento em metanol, e foi verificado a separação dos picos referentes a estes hidrogênios (Figuras 82 e 83, pág. 142 e 143).

O espectro de RMN de ¹³C (Figura 84, pág. 143) observa-se a ausência do pico referente à carbonila do aldeído δ 190 - 200 ppm, e o aparecimento do deslocamento químico referente à carbonila do éster em δ 166,47 ppm. Em δ 72,08 ppm atribui-se o deslocamento químico ao carbono carbinólico, e em δ 51,89 ppm carbono referente à metila do éster.

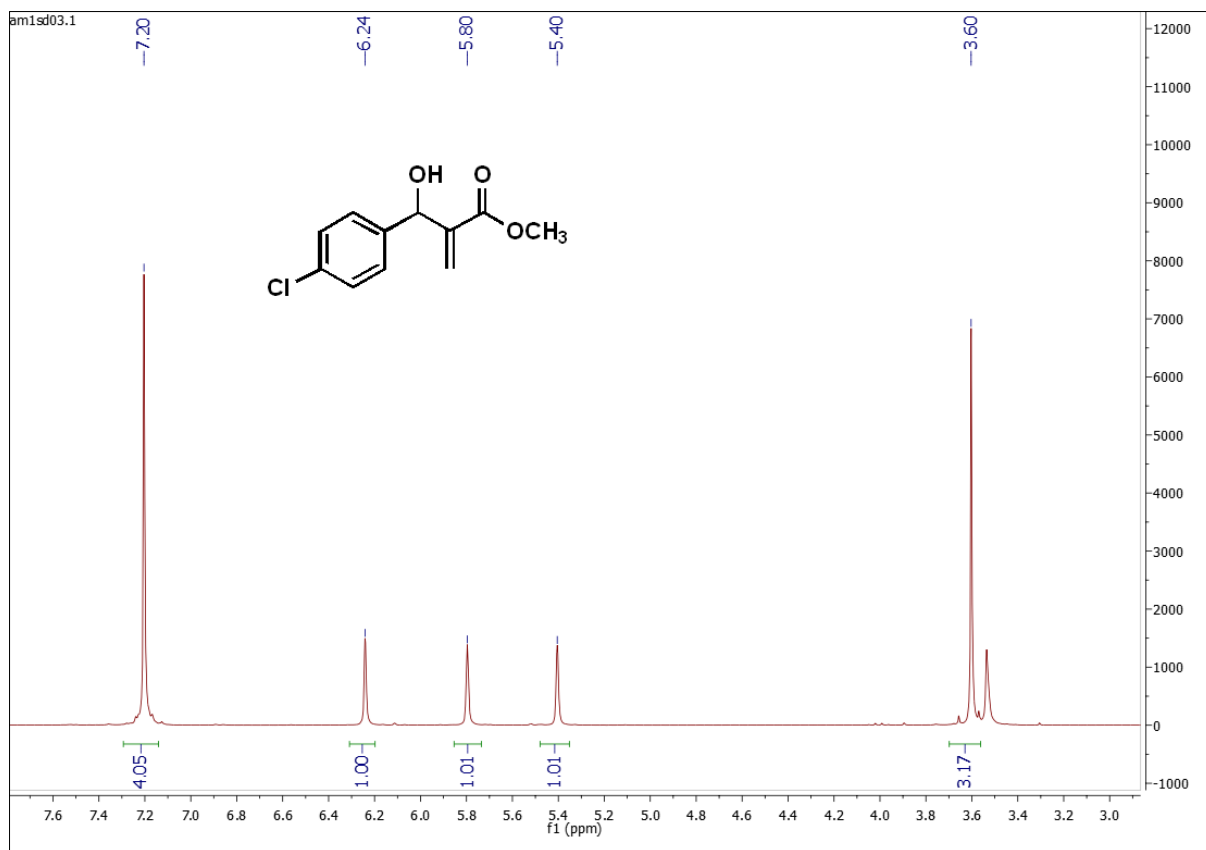


Figura 81. Espectro de RMN ¹H (δ, CDCl₃, 250 MHz) do aduto **2b**.

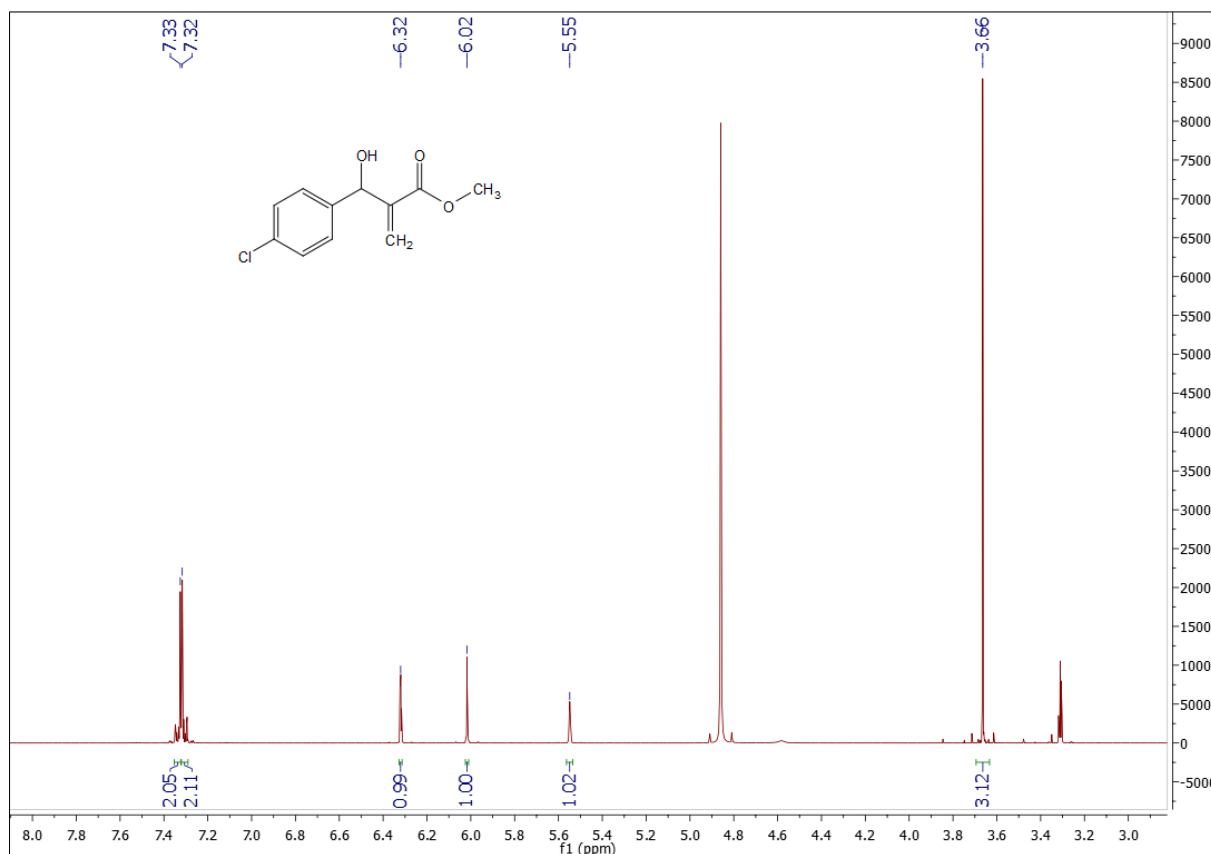


Figura 82. Espectro de RMN ¹H (δ, MeOD, 500 MHz) do aduto **2b**.

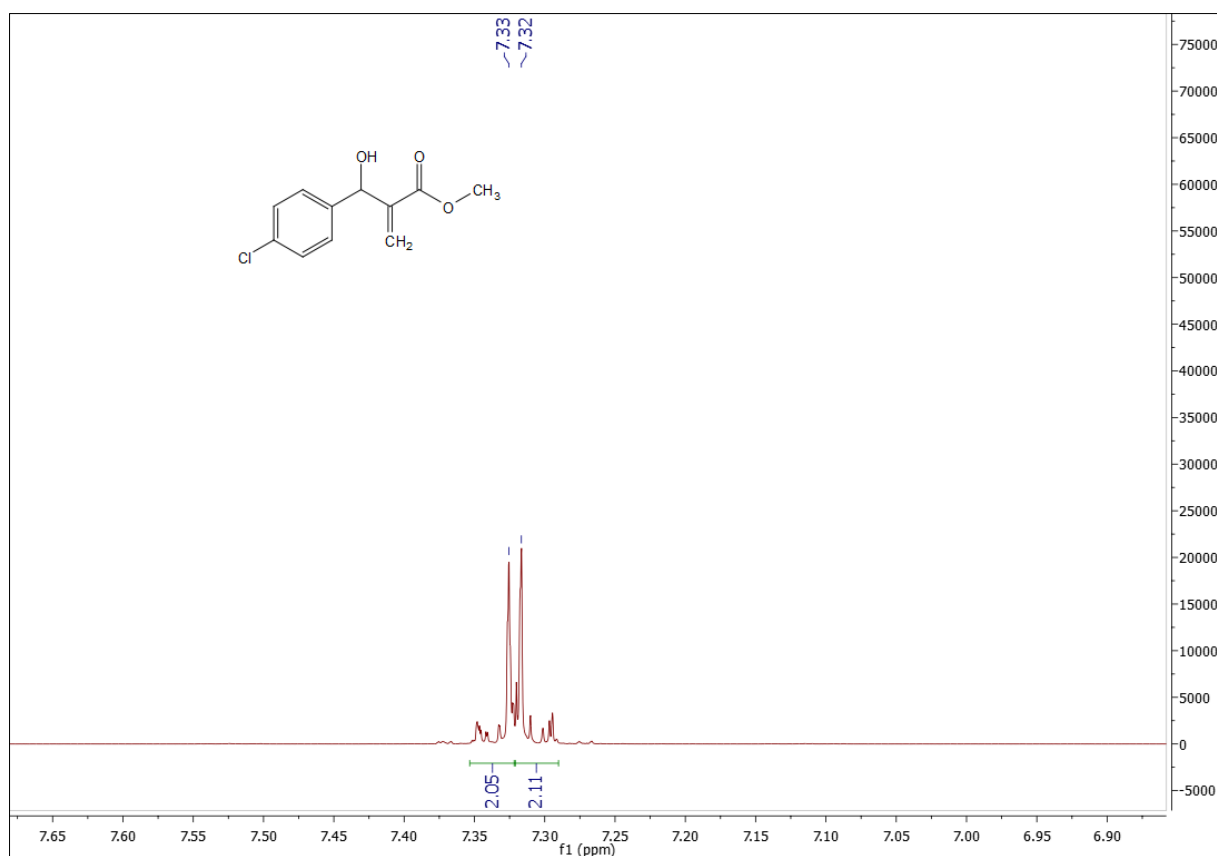


Figura 83. Expansão do espectro de RMN ¹H (δ , MeOD, 500 MHz) do aduto **2b**.

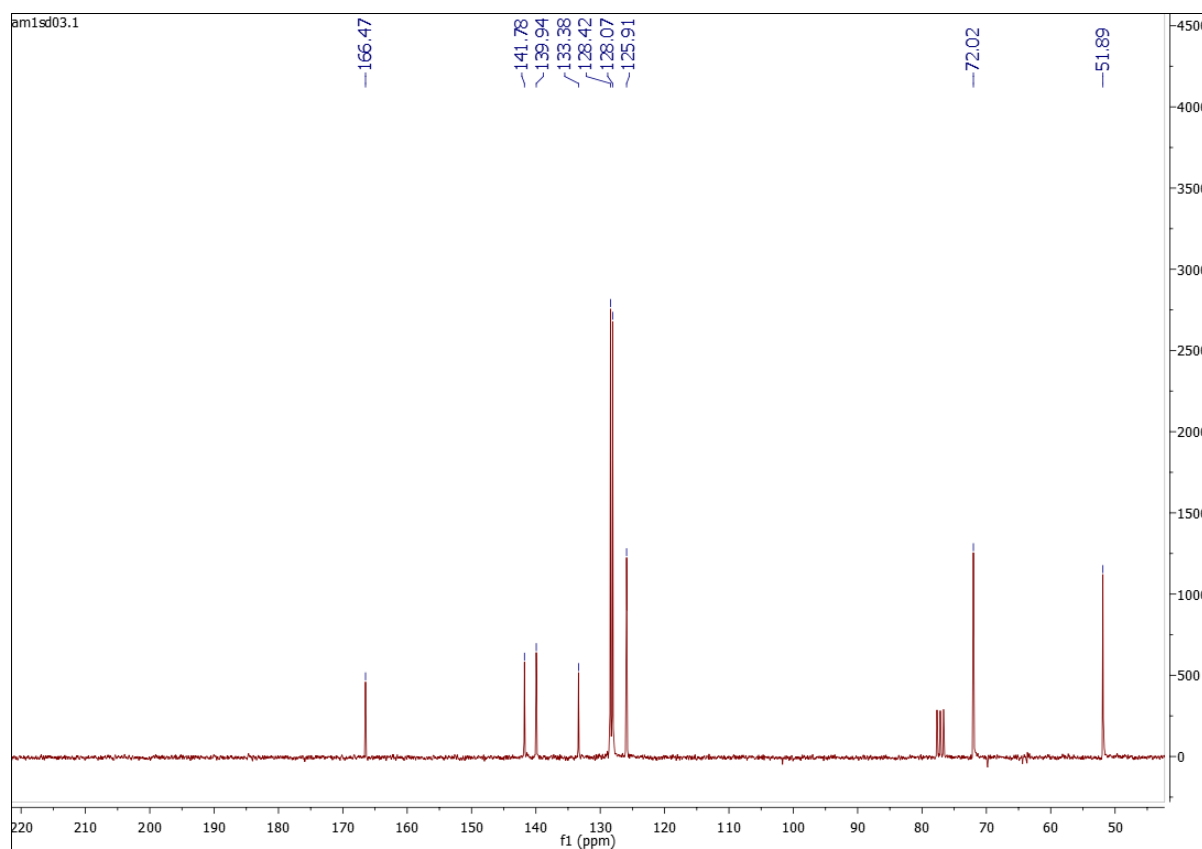


Figura 84. Espectro de RMN ¹³C (δ , CDCl₃, 62,5 MHz) do aduto **2b**.

Dados espectrais dos adutos 2a, 2c e 2d

2a RMN ^1H (CDCl_3 , 250 MHz) (Anexo 01): 7.21 (2H, dd, $J=10$ Hz, H-2, H-6), 6.91 (2H, t, $J=10$ Hz, H-5, H-3), 6.22 (1H, s, CH_2), 5.80 (1H, s, CH_2), 5.41 (1H, s, H-7), 3.64 (1H, s, OH), 3.58 (3H, s, OCH_3). RMN ^{13}C (62,5 MHz) (Anexo 02): 166.51 (CO), 164.13 (C, C-4), 142.09 (C, C-8), 137.27 (C, C-1), 128.48 (CH, C-6), 128.35 (CH, C-2), 125.52 (CH_2), 115.23 (CH, C-5), 114.88 (CH, C-3), 71.91 (CH, C-7), 51.77 (OCH_3).

2c RMN ^1H (CDCl_3 , 250 MHz) (Anexo 09): 6.85-6.74 (3H, m, H-2, H-6, H-5), 6.26 (1H, s, CH_2), 5.79 (1H, s, CH_2), 5.45 (1H, s, H-7), 3.80 (6H, s, OCH_3), 3.66 (3H, s, OCH_3). RMN ^{13}C (62,5 MHz) (Anexo 10): 166.85 (CO), 148.95 (C, C-4), 148.62 (C, C-3), 142.19 (C, C-8), 133.95 (C, C-1), 125.67 (CH_2), 119.00 (CH, C-6), 110.94 (CH, C-5), 109.86 (CH, C-2), 72.83 (CH, C-7), 55.88 (OCH_3), 51.96 (OCH_3).

2d RMN ^1H (CDCl_3 , 250 MHz) (Anexo 13): 7.25 (2H, d, H-2, H-6), 6.85 (2H, d, H-3, H-5), 6.30 (1H, s, CH_2), 5.80 (1H, s, CH_2), 5.40 (1H, s, H-7), 3.70 (3H, s, OCH_3), 3.60 (3H, s, OCH_3).

5.3.2 Preparação dos derivados acetilados de MBH

Para a obtenção de mais derivados de MBH, foi realizado a acetilação dos adutos, utilizando como agente acetilante o anidrido acético ou o cloreto de acetila, e a piridina (base fraca) como catalisador (Figura 85).

No mecanismo desta reação há o ataque nucleofílico da piridina na carbonila do anidrido acético ou cloreto de acetila, deslocando o par de elétrons da dupla ligação para o oxigênio, com posterior eliminação do acetato, formando o íon acetilpiridinium, que sofrerá o ataque do oxigênio da hidroxila, eliminando a piridina regenerada no processo, formando assim, o derivado O-acetilado do aduto de MBH.

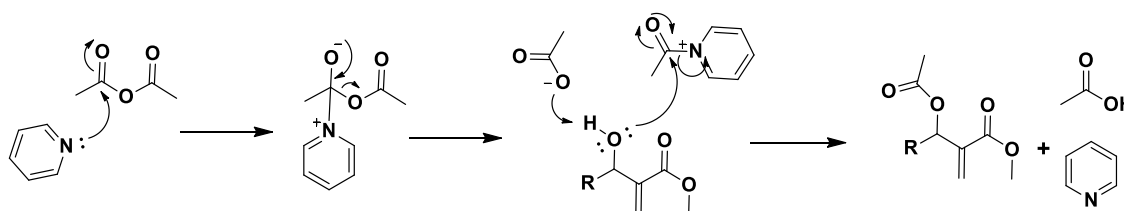


Figura 85. Mecanismo proposto para a reação de acetilação dos adutos de MBH.

As reações foram acompanhadas por CCDA e o produto purificado em coluna cromatográfica.

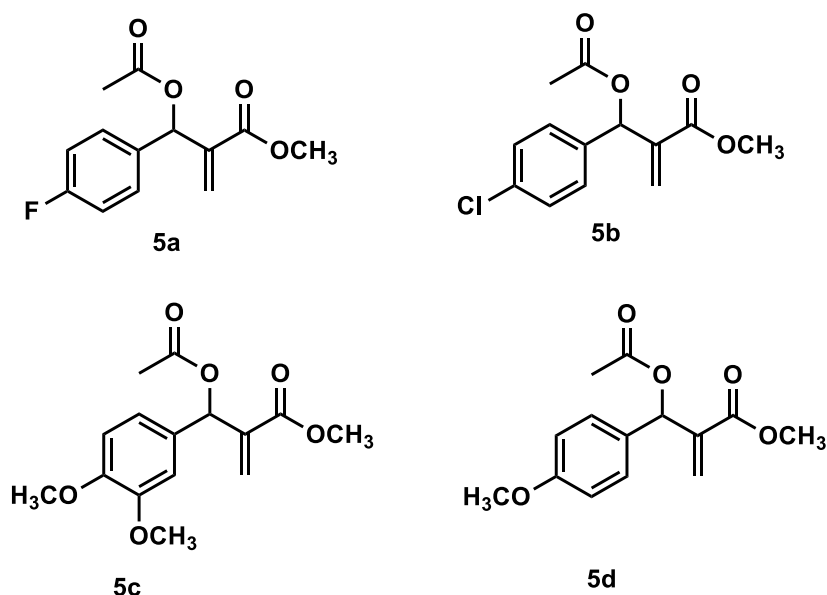


Figura 86. Ésteres acetilados sintetizados (**5a-d**).

Tabela 33. Resultados da reação de formação dos esteres acetilados.

Ester acetilado	Massa molar (g/mol)	Tempo de reação	Quantidade em massa	Rendimento (%)
5a	252.24	2 h	1.18 g	98
5b	268.69	2 h	1.08 g	92
5c	294.30	2 h	600 mg	93
5d	264.27	24 h	154 mg	26

Através dos dados observados na tabela 33 é possível destacar que as reações de formação dos esteres acetilados **5a**, **b** e **c**, foram satisfatórias, levando em consideração o tempo reacional e o rendimento apresentado. Porém a reação de formação do ester **5d** teve seu rendimento comprometido principalmente pelo fato do reagente de partida, o aduto MBH, não está puro. Além disso, foi utilizado para a formação deste ester o anidrido acético que reage mais lentamente quando comparado ao cloreto de acetila.

Seguidamente foi realizada a desacetilação dos adutos com a remoção da hidroxila acetilada, utilizando o NaBH₄ como agente redutor, culminando com o deslocamento da dupla para entre os carbonos α e β . O borohidreto de sódio é relativamente insolúvel em solventes

etéreos (0,1g/100g de THF, 0,8g/100g de 1,2-dimetoxietano), e como a água e álcoois em meio básico ou neutro reagem bem lentamente com o NaBH_4 , o *terc*-BuOH foi escolhido como solvente (COSTA *et al.*, 2003).

O mecanismo desta reação consiste no ataque nucleofílico do borohidreto no carbono beta, que atua como um bom aceptor de Michael, ocorrendo, portanto, a migração da dupla ligação e eliminação do grupo acetato, formando o novo sistema conjugado (CLAYDEN, 2001).

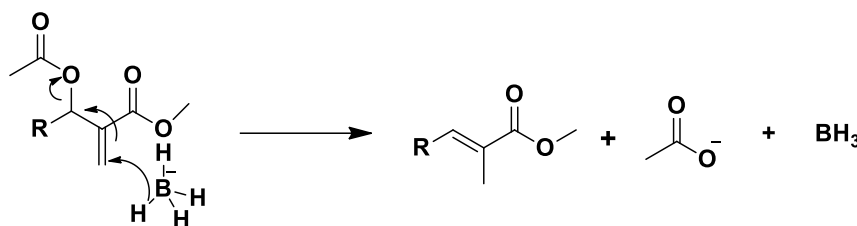


Figura 87. Mecanismo proposto para a reação de desacetilação dos adutos de MBH.

Ao final da reação, os produtos foram purificados por coluna cromatográfica, onde foram obtidos os ésteres **6a**, **b**, **c** e **d** (Figura 88). Estes foram submetidos a técnicas espectroscópicas de RMN^1H e RMN^{13}C (Anexos 03, 04, 07, 08, 11 e 12), com exceção do éster **6d** que foi utilizado diretamente nas etapas seguintes.

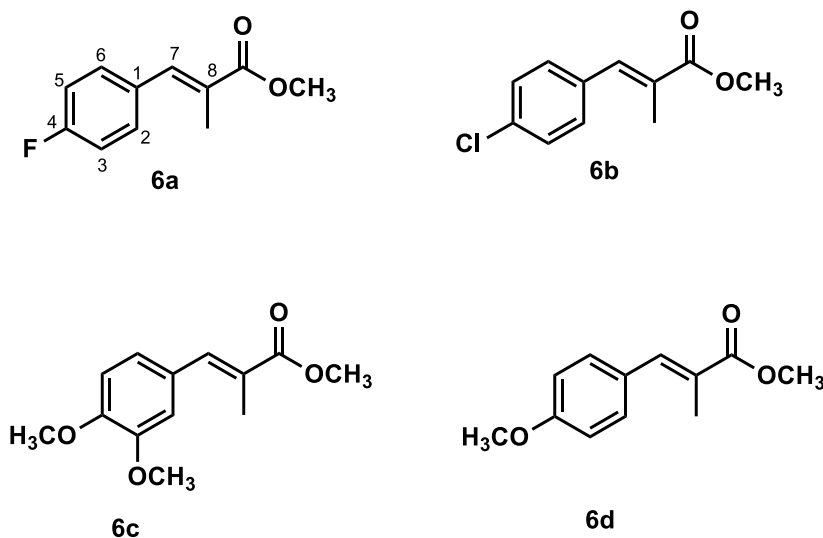
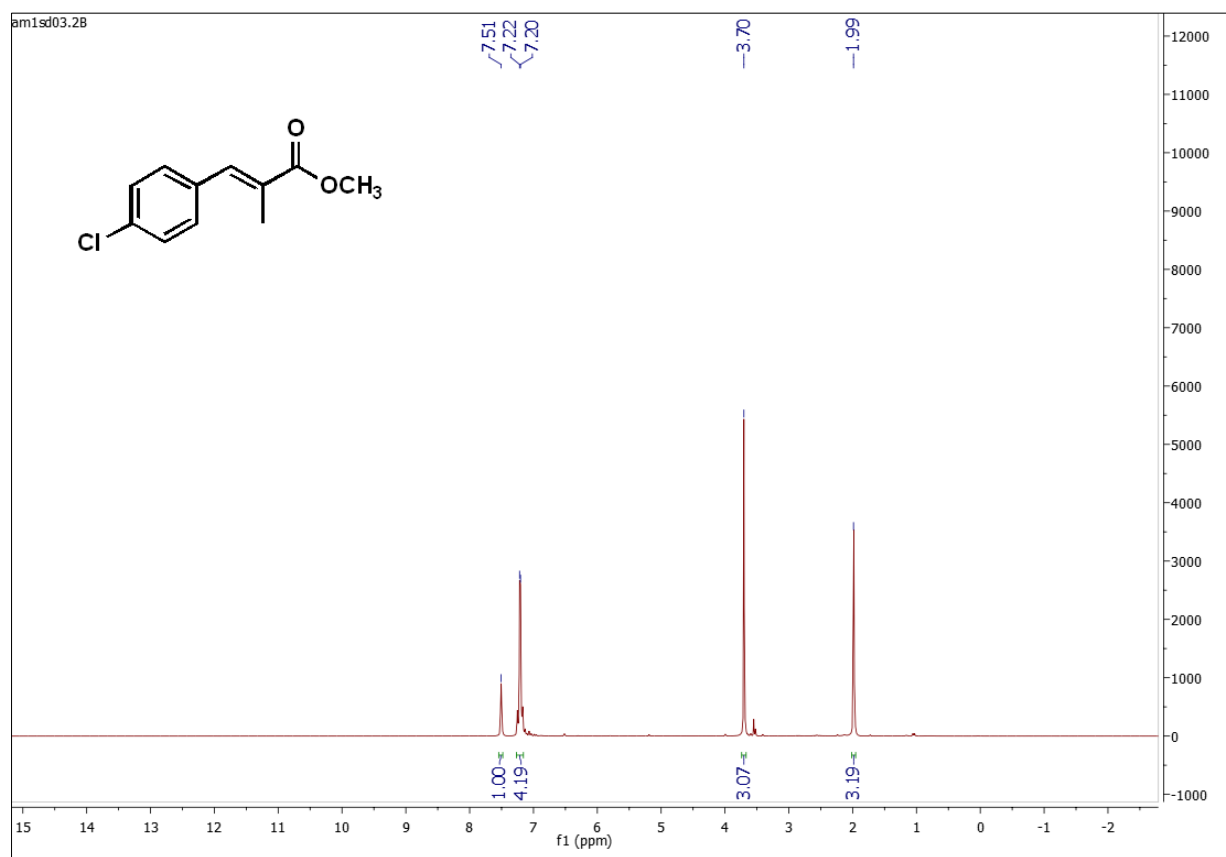


Figura 88. Ésteres sintetizados (**6a-d**).

Tabela 34. Resultados da reação de formação dos ésteres **6a**, **6b**, **6c** e **6d**.

Éster	Massa molar (g/mol)	Tempo de reação	Quantidade em massa	Rendimento (%)
6a	194.20	20 h	0.7 g	77.8
6b	210.66	6 h	0.61 g	96.8
6c	236.26	6 h	0.3 g	62
6d	206.24	3 h	81 mg	70

Para confirmação da formação do produto desejado, destaca-se no espectro de RMN ^1H , a ausência dos simpletos entre $\sim\delta$ 6,5 ppm e δ 5,0 ppm, referentes aos hidrogênios da posição beta da dupla ligação derivada do acrilato. Destaca-se também o aparecimento de um sinal em δ 2 ppm, com integral para 3 hidrogênios referente a metila na posição beta. No espectro de RMN ^{13}C o sinal em δ 13 ppm, referente a metila na posição beta, confirma a formação do produto. Segue nas figuras 89 e 90, como exemplo, os espectros do éster **6b**.

**Figura 89.** Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 250 MHz) do éster **6b**.

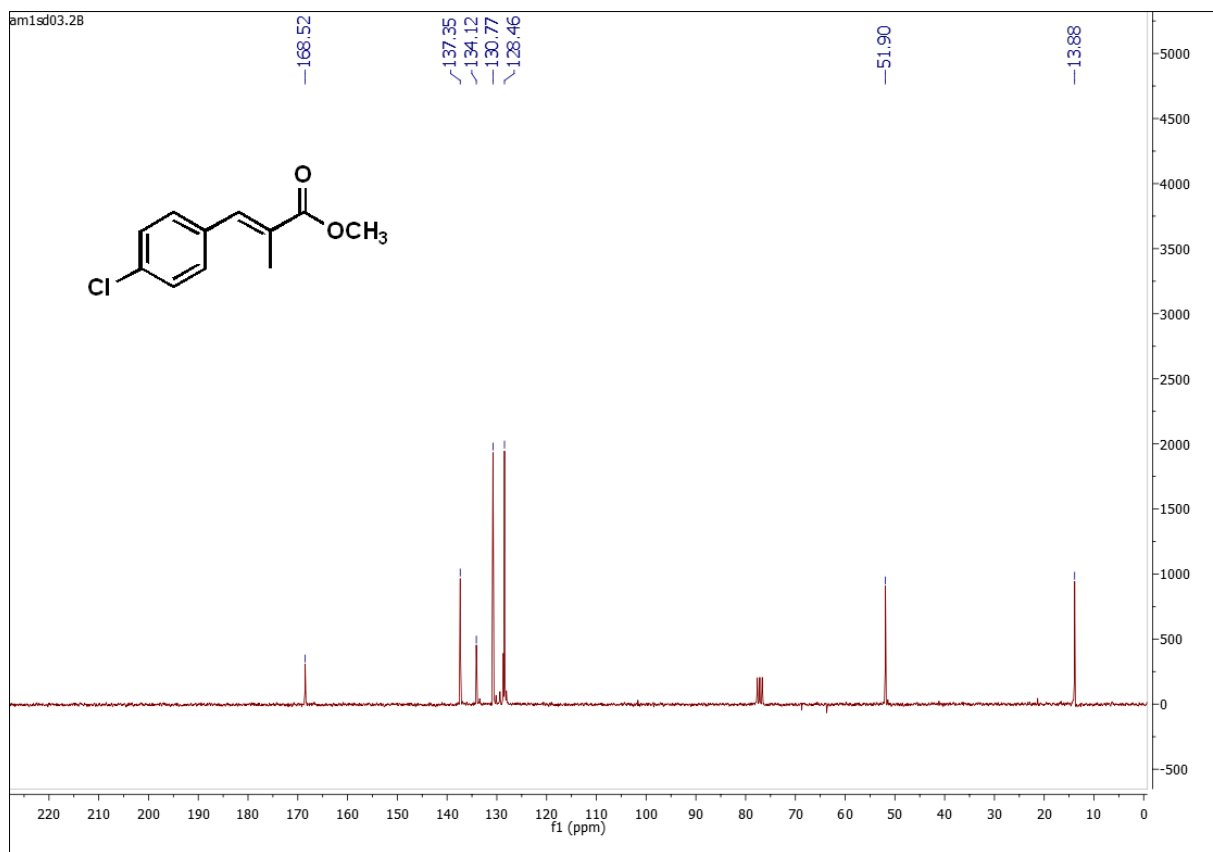


Figura 90. Espectro de RMN ¹³C (δ , CDCl₃, 62,5 MHz) do éster **6b**.

Dados espectrais dos ésteres 6a e 6c.

6a RMN ¹H (CDCl₃, 250 MHz) (Anexo 03): 7.54 (1H, s, H-7), 7.27 (2H, dd, *J*=10 Hz, H-2, H-6), 6.96 (2H, t, *J*=10 Hz, H-5, H-3), 3.70 (3H, s, OCH₃), 1.99 (3H, s, CH₃). RMN ¹³C (62,5 MHz) (Anexo 04): 168.75 (CO), 164.35 (C, C-4), 137.60 (CH, C-7), 131.84 (C, C-1), 131.49 (CH, C-6), 131.36 (CH, C-2), 127.98 (C, C-8), 115.49 (CH, C-5), 115.15 (CH, C-3), 51.77 (OCH₃), 13.80 (CH₃).

6c RMN ¹H (CDCl₃, 250 MHz) (Anexo 11): 7.60 (1H, s, H-7), 7.01-6.70 (3H, m, H-2, H-6, H-5), 3.80 (6H, s, OCH₃), 3.70 (3H, s, OCH₃), 2.1 (3H, s, CH₃). RMN ¹³C (62,5 MHz) (Anexo 12): 169.09 (CO), 149.12 (C, C-4), 148.44 (C, C-3), 138.65 (CH, C-7), 128.49 (C, C-8), 126.08 (C, C-1), 122.92 (CH, C-6), 112.73 (CH, C-5), 110.70 (CH, C-2), 60.15 (OCH₃), 55.66 (OCH₃), 51.79 (OCH₃), 13.94 (CH₃).

5.3.3 Formação dos ácidos análogos ao ácido cinâmico

A formação dos ácidos se deu por hidrólise em meio básico, a partir dos ésteres obtidos nas reações anteriores. A denominação de hidrólise é dada para reações que envolvam a quebra de uma molécula por ação da água, onde ocorre uma alteração de íons, sendo liberados para a solução cátions ou ânions. Dessa forma, determinada molécula fragmenta-se e tem suas ligações complementadas com os íons resultantes da molécula de água. Na maioria destas reações, para que ocorra uma hidrólise rápida e completa, é necessária a utilização de altas pressões e altas temperaturas e agentes catalizadores (PERUZZO & CANTO, 2006).

No mecanismo desta reação há o ataque nucleofílico ao carbono eletrofílico do ester deslocando o par de elétrons da dupla ligação para o oxigênio, passando por um intermediário tetraédrico que reestabelece a dupla ligação e libera metanol. Desta forma, obtém-se um sal, que ao ser extraído com uma solução ácida, forma o ácido carboxílico, conforme demonstrado na figura 91 (CLAYDEN, 2001).

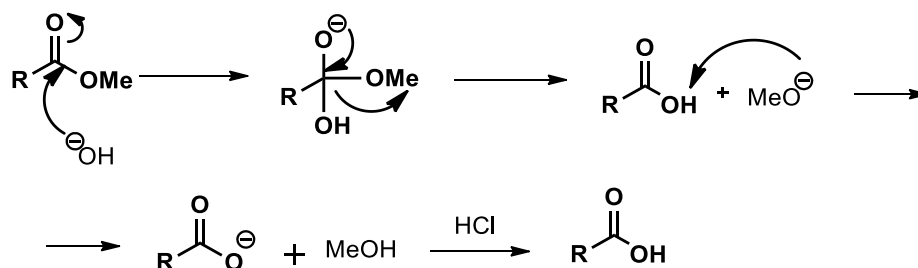


Figura 91. Mecanismo proposto para a reação de hidrólise dos ésteres.

Durante a extração do produto formado, que é o sal resultante da reação, foi necessário uma solução de HCl em concentração suficiente (25%) para a formação dos ácidos desejados (Figura 17, pág 62). Estes foram purificados em coluna cromatográfica.

Observa-se, na tabela 35 (pág 150), rendimentos de moderados a altos, em baixos tempos reacionais. Os ácidos carboxílicos sintetizados foram identificados por métodos espectroscópicos de RMN ^1H e ^{13}C (Anexos 14-25), com exceção dos ácidos **3d** e **7d** que foram utilizados diretamente na reação seguinte.

Tabela 35. Resultados da reação de formação dos ácidos.

Ácido	Massa molar (g/mol)	Tempo de reação	Quantidade em massa	Rendimento (%)
3a	196.18	1h	0.71 g	77
7a	180.18	1h	0.45 g	97.8
3b	212.63	1h e 30 min	0.91 g	97
7b	196.63	1h	0.326 g	87.4
3c	238.24	1h e 30 min	0.255 g	54
7c	222.24	1h	0.270 g	96
3d	208.21	2h	0.46	97.8
7d	192.21	2h	0.07	93

Por todos os espectros obtidos serem bastante similares, com pequenas modificações estruturais, serão discutidos e destacados apenas sinais importantes que confirmem a formação do ácido carboxílico, utilizando como exemplo os espectros dos ácidos derivados do *p*-cloro benzaldeído (ácidos **3b** e **7b**).

No espectro de RMN ^1H (Figura 92, pág. 151) do ácido **3b**, observa-se a ausência do simpleto referente a metóxila do éster em δ 3,60 ppm (Figura 81, pág. 142). No RMN ^{13}C (Figura 93, pág. 151), observa-se a ausência do sinal δ 51,89 ppm (Figura 84, pág. 143), ao qual se referia ao carbono da metoxila do éster presente no aduto **2b**, e pode-se observar que houve um deslocamento do sinal referente ao carbono da carbonila de δ 166,38 ppm, carbonila de éster, para δ 170,76 ppm, carbonila de ácido, corroborando com a formação do ácido carboxílico.

O espectro de RMN ^1H (Figura 94, pág. 152) do ácido **7b**, também apresenta a ausência do sinal atribuído ao éster cinâmico em δ 3,70 ppm (Figura 89, pág. 147), e podemos observar dois simpletos com deslocamento químico de δ 2,14 ppm (protegido) e em δ 7,78 ppm (desprotegido) referente à metila na posição α à carbonila e ao próton β à carbonila, respectivamente, o que confirma a formação da dupla conjugada e corrobora com a formação do ácido.

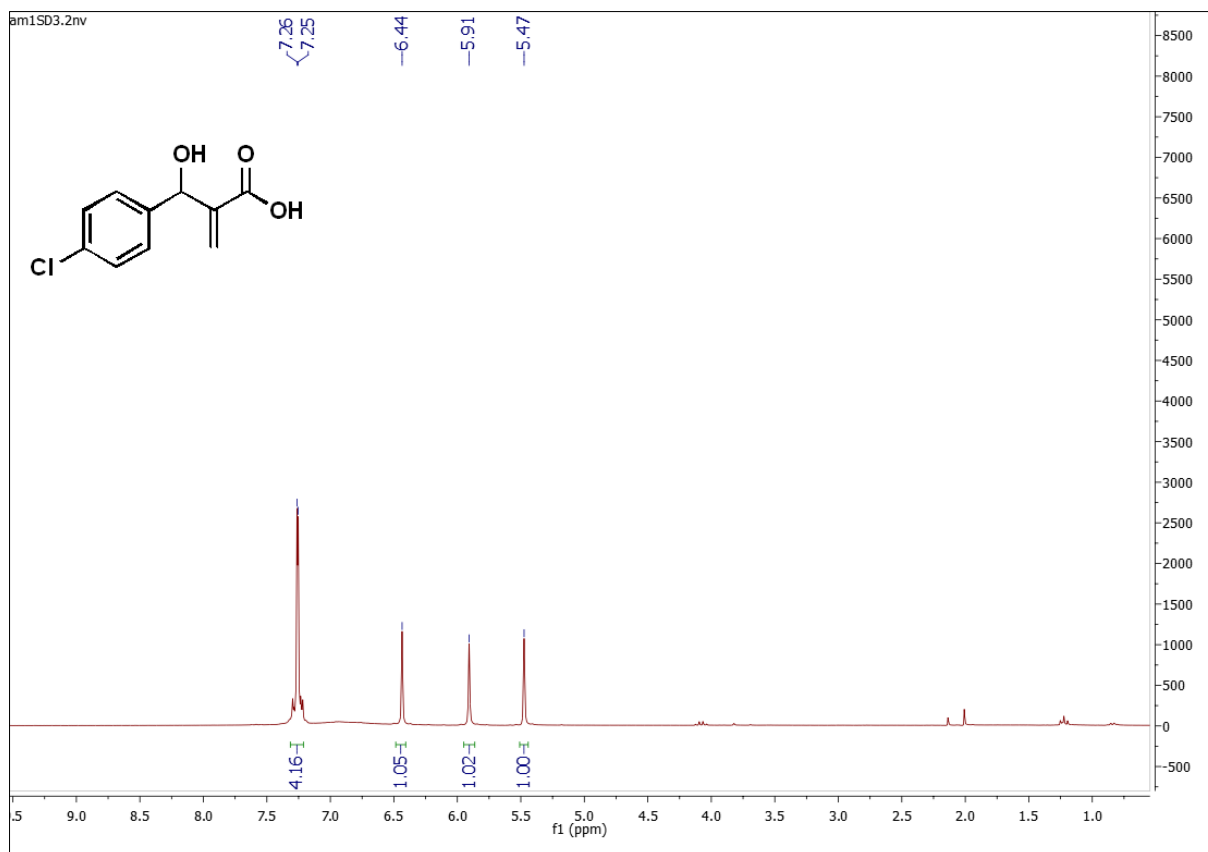


Figura 92. Espectro de RMN ¹H (δ, CDCl₃, 250 MHz) do ácido **3b**.

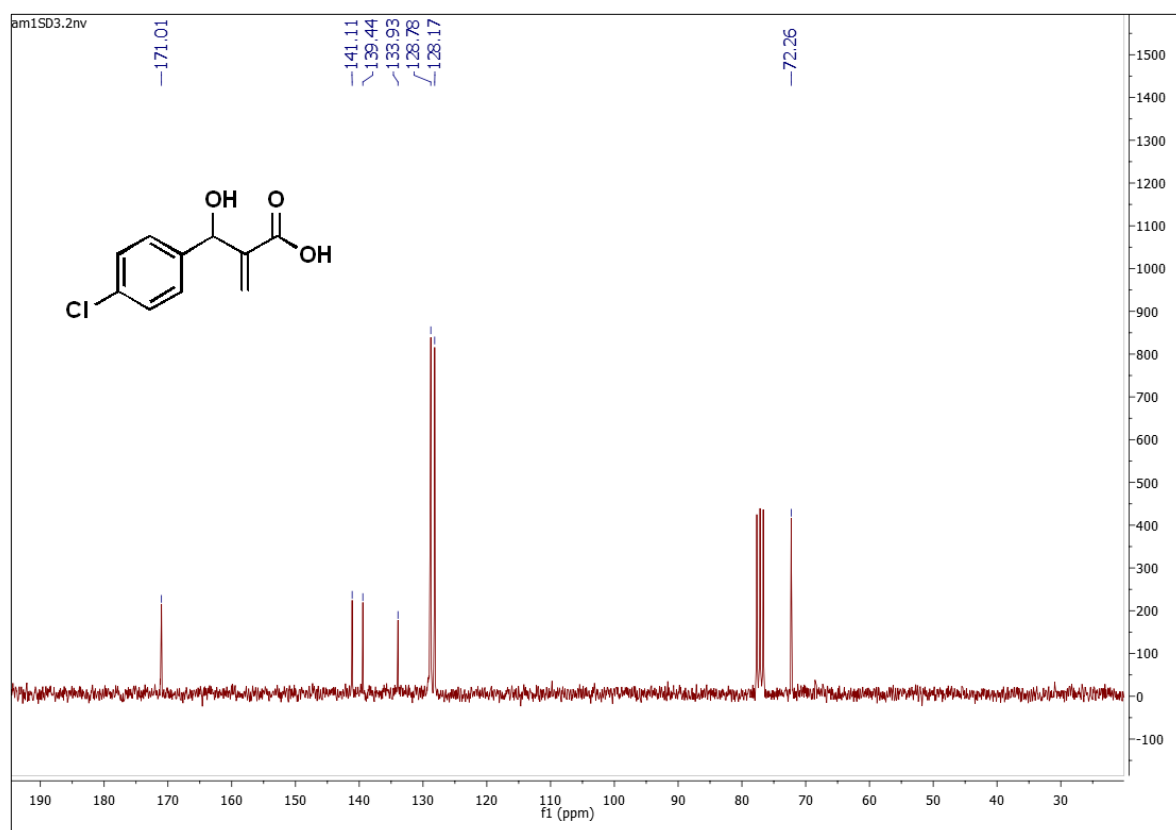


Figura 93. Espectro de RMN ¹³C (δ, CDCl₃, 62,5 MHz) do ácido **3b**.

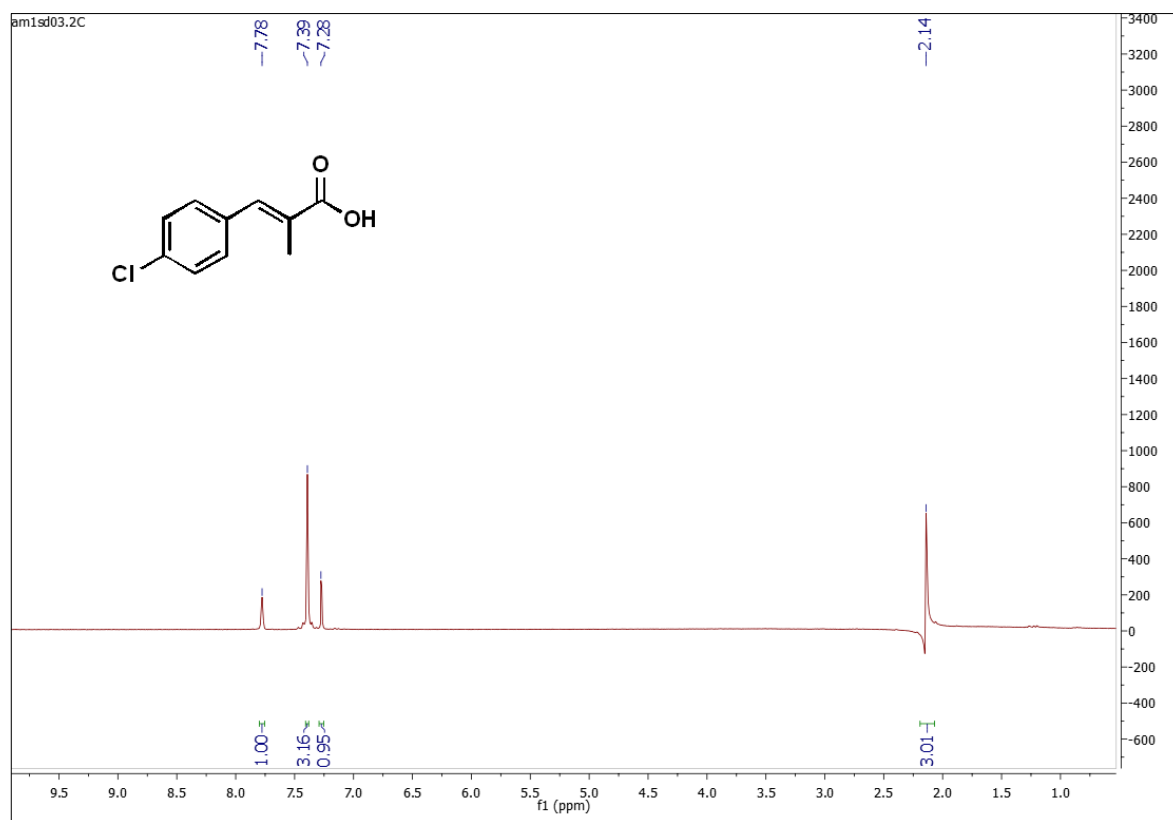


Figura 94. Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 250 MHz) do ácido **7b**.

Dados espectrais dos ésteres 3a, 7a, 3c e 7c.

3a RMN ^1H (CDCl_3 , 250 MHz) (Anexo 14): 7.28 (2H, dd, $J=10$ Hz, H-2, H-6), 6.98 (2H, t, $J=10$ Hz, H-5, H-3), 6.43 (1H, s, CH_2), 5.90 (1H, s, CH_2), 5.49 (1H, s, H-7). RMN ^{13}C (62,5 MHz) (Anexo 15): 171.02 (CO), 164.50 (C, C-4), 141.38 (C, C-8), 136.74 (C, C-1), 128.62 (CH, C-6, C-2), 128.49 (CH_2), 115.66 (CH, C-5), 115.32 (CH, C-3), 72.23 (CH, C-7).

7a RMN ^1H (CDCl_3 , 250 MHz) (Anexo 16): 7.76 (1H, s, H-7), 7.40 (2H, dd, $J=10$ Hz, H-2, H-6), 7.08 (2H, t, $J=10$ Hz, H-5, H-3), 2.10 (3H, s, CH_3). RMN ^{13}C (62,5 MHz) (Anexo 17): 174.32 (CO), 140.12 (CH, C-7), 131.98 (CH, C-6), 131.85 (CH, C-2), 127.43 (C, C-8), 115.90 (CH, C-5), 115.56 (CH, C-3), 13.78 (CH_3).

3c RMN ^1H (CDCl_3 , 250 MHz) (Anexo 22): 6.87-6.80 (3H, m, H-2, H-6, H-5), 6.42 (1H, s, CH_2), 5.91 (1H, s, CH_2), 5.48 (1H, s, H-7), 3.82 (6H, s, OCH_3). RMN ^{13}C (62,5 MHz) (Anexo 23): 171.08 (CO), 149.06 (C, C-4), 149.00 (C, C-3), 141.55 (C, C-8), 133.55 (C, C-1), 128.25 (CH_2), 119.15 (CH, C-6), 111.04 (CH, C-5), 109.33 (CH, C-2), 72.63 (CH, C-7), 55.96 (OCH_3).

7c RMN ^1H (CDCl_3 , 250 MHz) (Anexo 24): 7.80 (1H, s, H-7), 7.1-6.78 (3H, m, H-2, H-6, H-5), 3.90 (6H, s, OCH_3), 2.15 (3H, s, CH_3). RMN ^{13}C (62,5 MHz) (Anexo 25): 174.29 (CO), 149.49 (C, C-4), 148.51 (C, C-3), 140.86 (CH, C-7), 128.27 (C, C-8), 125.27 (C, C-1), 123.39 (CH, C-6), 112.90 (CH, C-5), 110.74 (CH, C-2), 55.76 (OCH_3), 13.67 (CH_3).

5.3.4 Formação das amidas cinâmicas

As amidas foram obtidas a partir da reação dos ácidos, adquiridos nas etapas anteriores, e aminas obtidas comercialmente (Figura 12, pag 56), utilizando dimetilformamida (DMF), trietilamina (Et_3N), e agente de acoplamento BOP, sendo a reação monitorada por CCDA, utilizando um sistema Hex:AcOEt, segundo a metodologia de FU e colaboradores (2010).

Nessa reação de aminólise demonstrada na figura 95, a Et_3N tem o papel de ionizar o ácido para que ocorra o ataque da amina que é um reagente nucleófilo forte. O banho de gelo utilizado nos primeiros 30 minutos da reação é necessário para impedir o ataque de outros nucleófilos, já que a amina, mesmo em baixas temperaturas, ainda permaneça como um bom nucleófilo (KIM & PATEL, 1994).

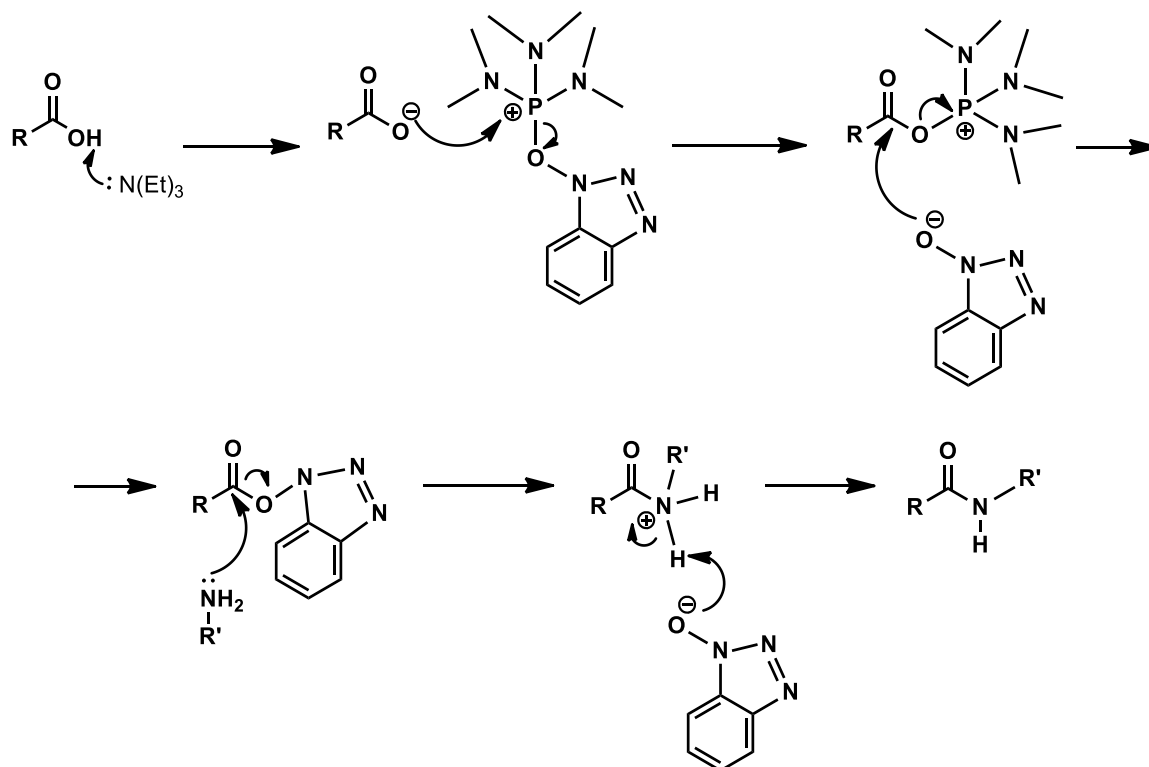


Figura 95. Mecanismo proposto para a reação de formação das amidas.

De acordo com tabela 36, pode-se observar que as reações apresentaram bons rendimentos entre 71-99%, sendo a amida **4a** com maior rendimento e a amida **4d** a de menor rendimento. No entanto, provavelmente devido a problemas durante a purificação nas etapas anteriores, não foi possível purificar as amidas **4i**, **4j**, **4l**, **4m** e **8h** e, portanto, calcular os rendimentos destas reações.

Tabela 36. Resultados da reação de formação das amidas.

Amida	Massa molar (g/mol)	Quantidade em massa (mg)	Rendimento (%)
4a	359.39	420	99.7
4b	299.34	150	98.3
4c	299.34	50	98.3
4d	375.85	200	71
4e	315.79	102	80
4f	315.79	63	80
4g	341.40	93	72
4h	341.40	121	99.3
4i	311.37	25	-
4j	341.40	15	-
4l	371.43	5	-
4m	315.79	20	-
8a	343.39	379	98
8b	283.34	241	83
8c	359.85	385	95.6
8d	299.79	90	98.3
8e	325.40	120	91
8f	385.45	150	96
8g	283.34	85	90
8h	295.38	10	-

Foram preparadas vinte amidas (Figuras 18 e 19, pág 65-66) as quais foram identificados por métodos espectroscópicos de infravermelho, RMN de ^1H , ^{13}C uni e/ou bidimensional (Anexos 26-86). Como os espectros obtidos são semelhantes, com poucas diferenças

estruturais, serão destacados aqui, assim como nas discussões anteriores, apenas sinais importantes que confirmem a formação da amida, utilizando como exemplo os espectros de infravermelho das amidas **4d** e **8c** e os espectros de RMN das amidas **8a** e **4b**, os demais espectros estarão descritos adiante.

A análise dos espectros de infravermelho das amidas foi feita seguindo dados de literatura como Silverstein & Webster (2007) e Pavia e colaboradores (2010). Destarte, os sinais das amidas revelaram a presença de bandas características da estrutura, como uma banda de estiramento de N-H na região de 3278 cm^{-1} (amida **4d**, Figura 96, pág. 156) e 3295 cm^{-1} (amida **8c**, Figura 97, pág. 156) típico de amida secundária. A banda larga de estiramento O-H pode se sobrepor as bandas de N-H por absorver na mesma região entre 3550 a 3200 cm^{-1} , no entanto, quando comparado o espectro da amida **4d** (Figura 96, pág. 156) com o espectro da amida **8c** (Figura 97, pág. 156) é possível observar a banda mais larga nesta região na amida **4d** que apresenta o grupamento OH, e a ausência desta no espectro da amida **8c**.

As bandas de estiramento de C=O de amidas são observadas em faixa de 1680 - 1631 cm^{-1} , e dos ácidos carboxílicos absorvem em regiões mais altas (1730 - 1700 cm^{-1}). A diminuição da frequência de absorção de C=O em amidas se dá porque o nitrogênio (menos eletronegativo do que o oxigênio) acomoda uma carga positiva mais facilmente, caracterizando o C=O como uma ligação simples. Na amida **4d** este estiramento foi observado na faixa de 1651 cm^{-1} e na amida **8c** de 1642 cm^{-1} .

As bandas acima de 3000 referentes a estiramento sp^2 e em relação as bandas em 1650 e 1460 cm^{-1} sugerem a presença de anéis aromáticos e cadeia vinílica nas amidas.

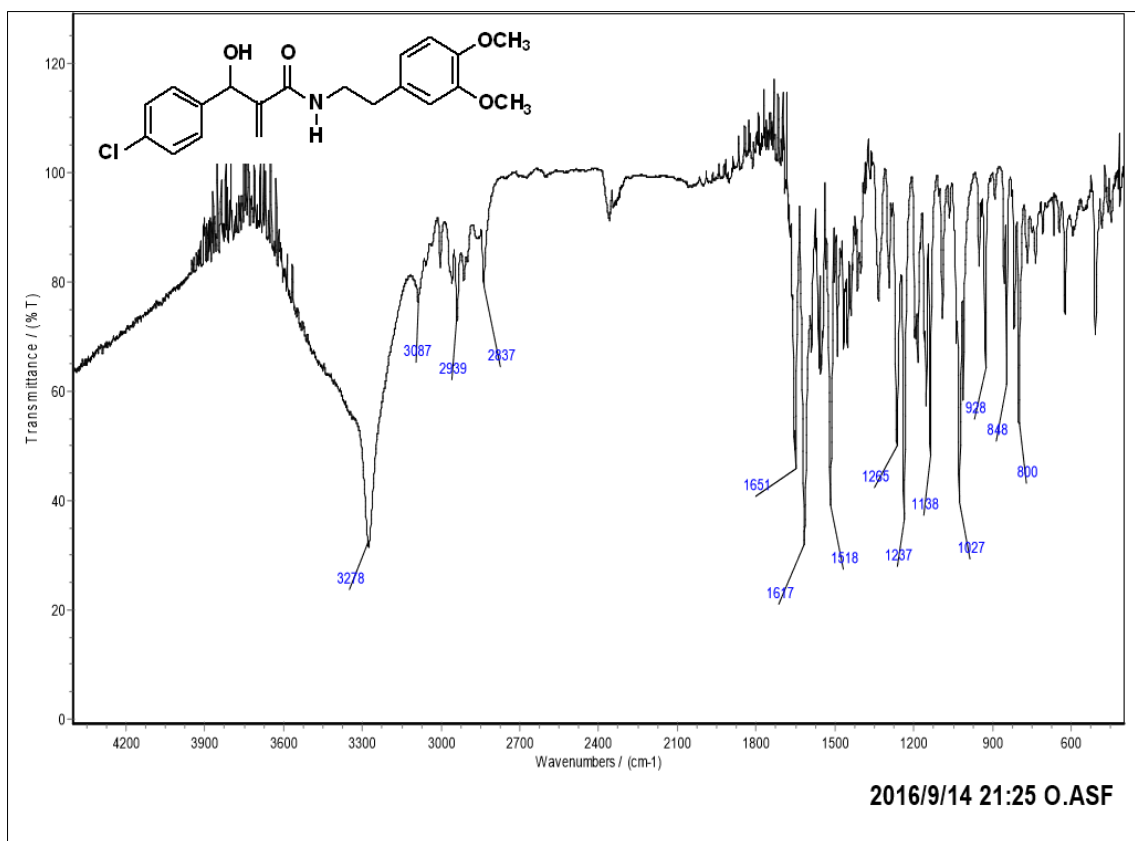


Figura 96. Espectro infravermelho (KBr , cm^{-1}) da amida **4d**.

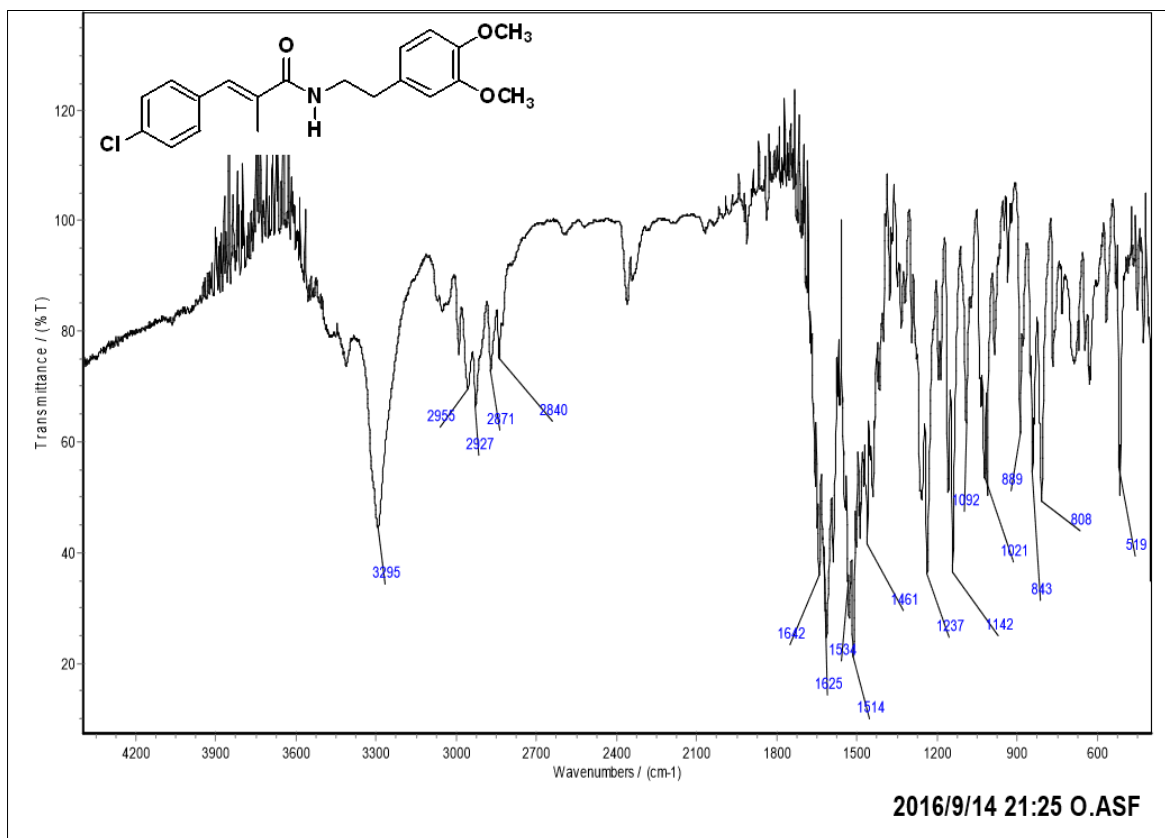


Figura 97. Espectro infravermelho (KBr , cm^{-1}) da amida **8c**.

A estrutura do espectro de RMN ^1H da amida **8a** (Figura 98) os sinais dos hidrogênios aromáticos que absorvem na região de δ 6,72-7,27 ppm. Além disso, é possível observar o sinal de próton ligado ao nitrogênio da amida em δ 5,90 ppm. São ressaltados, também, os sinais dos prótons H-7' e H-8' como um triplete em δ 2,82 ppm e um quarteto em δ 3,60 ppm, respectivamente, prótons estes derivados da amida 3,4 dimetoxifenetilamina. Analisando o espectro de RMN ^{13}C (Figura 99, pág. 158) é possível verificar os sinais de carbonos aromáticos e olefínicos entre δ 111 – 133 ppm, os sinais das metoxilas proveniente da amina, como também o sinal δ 14 ppm da metila na posição α carbonila, proveniente do ácido.

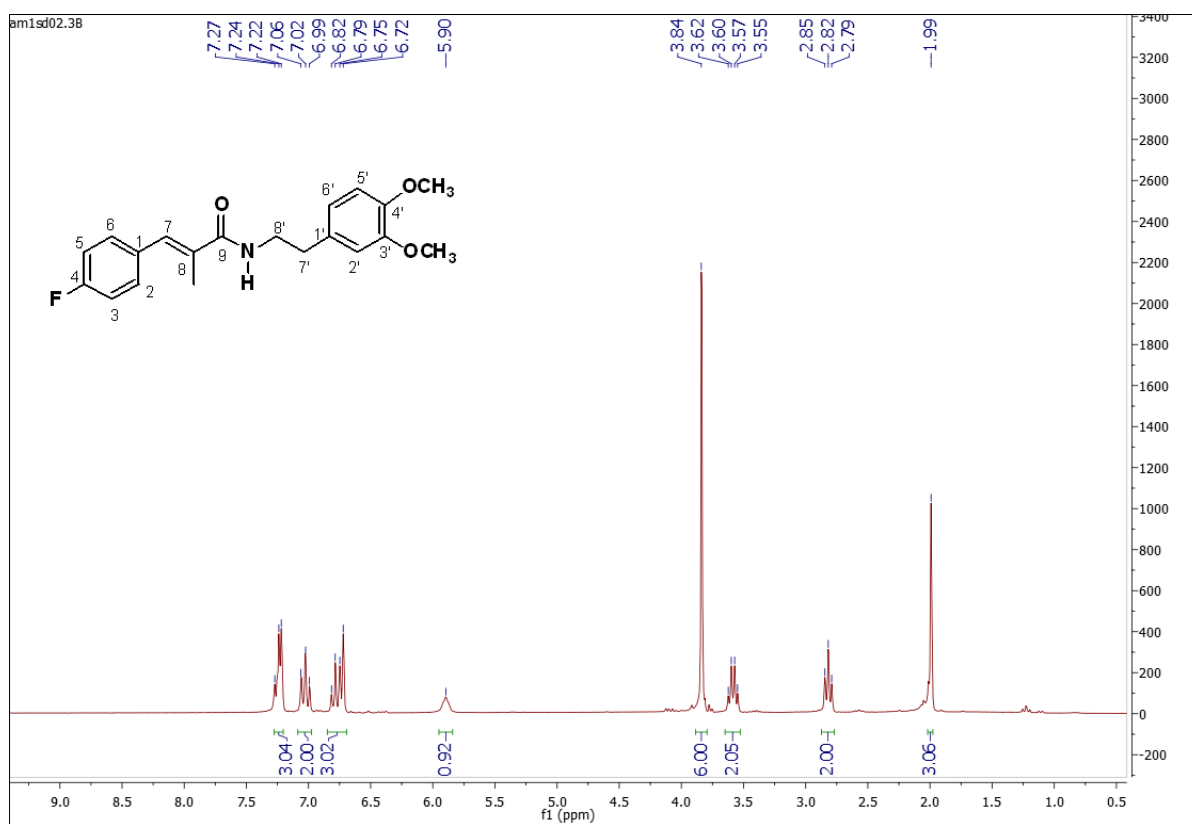


Figura 98. Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 250 MHz) da amida **8a**.

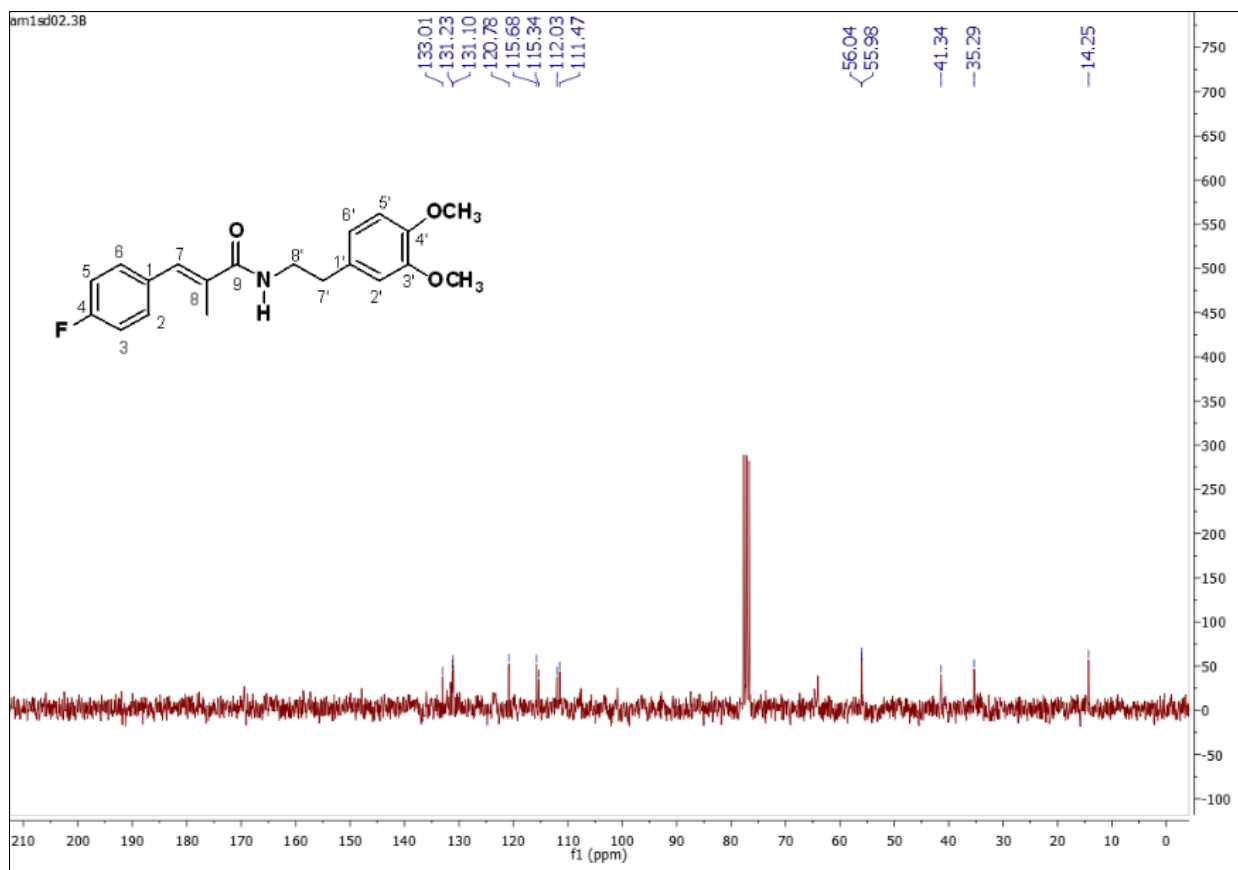


Figura 99. Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 62,5 MHz) da amida **8a**.

No espectro de RMN ^1H da amida **4b** (Figura 100, pág. 159) os sinais dos hidrogênios aromáticos se apresentaram na região de δ 6,93-7,28 ppm, o sinal do hidrogênio ligado ao nitrogênio da amida foi observado como um duplete em δ 6,77 ppm. São observados, também, os sinais dos hidrogênios vinílicos entre δ 5,79 – 5,36 ppm. Considerando o espectro de RMN ^{13}C da amida **4b** (Figura 101, pág. 159) é possível verificar o sinal desblindado da carbonila de amida ($\text{O}=\text{C}-\text{NH}$) em δ 166,75 ppm, os sinais dos carbonos aromáticos desblindados (δ 114,8-164 ppm), como também sinais dos carbonos C-7 (δ 74 ppm), C-7' (δ 48,6 ppm) e da metila proveniente da amina (δ 21,5 ppm).

A fim de confirmar a formação das amidas, também foi realizado o espectro de HMBC de algumas amidas (Anexos 35, 40, 76, 79, 81, 83 e 86) para comprovar o acoplamento dos ácidos com as aminas. No espectro de HMBC da amida **4b** (Figuras 102 e 103, pág. 160) é possível verificar a correlação do hidrogênio em δ 4,98 ppm (C-7'), proveniente da amina, com o carbono da carbonila em δ 166,7 ppm, derivada do ácido, corroborando assim com o acoplamento e formação da amida.

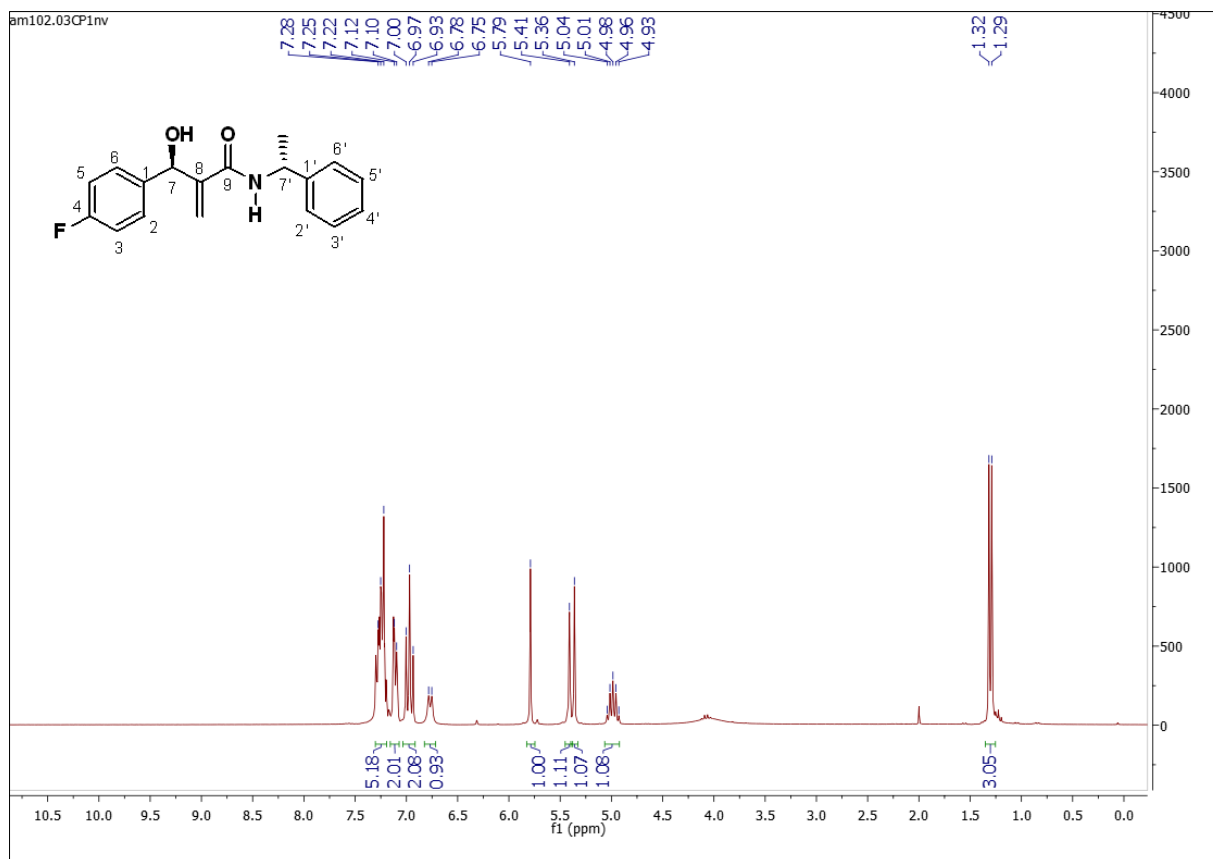


Figura 100. Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 250 MHz) da amida **4b**.

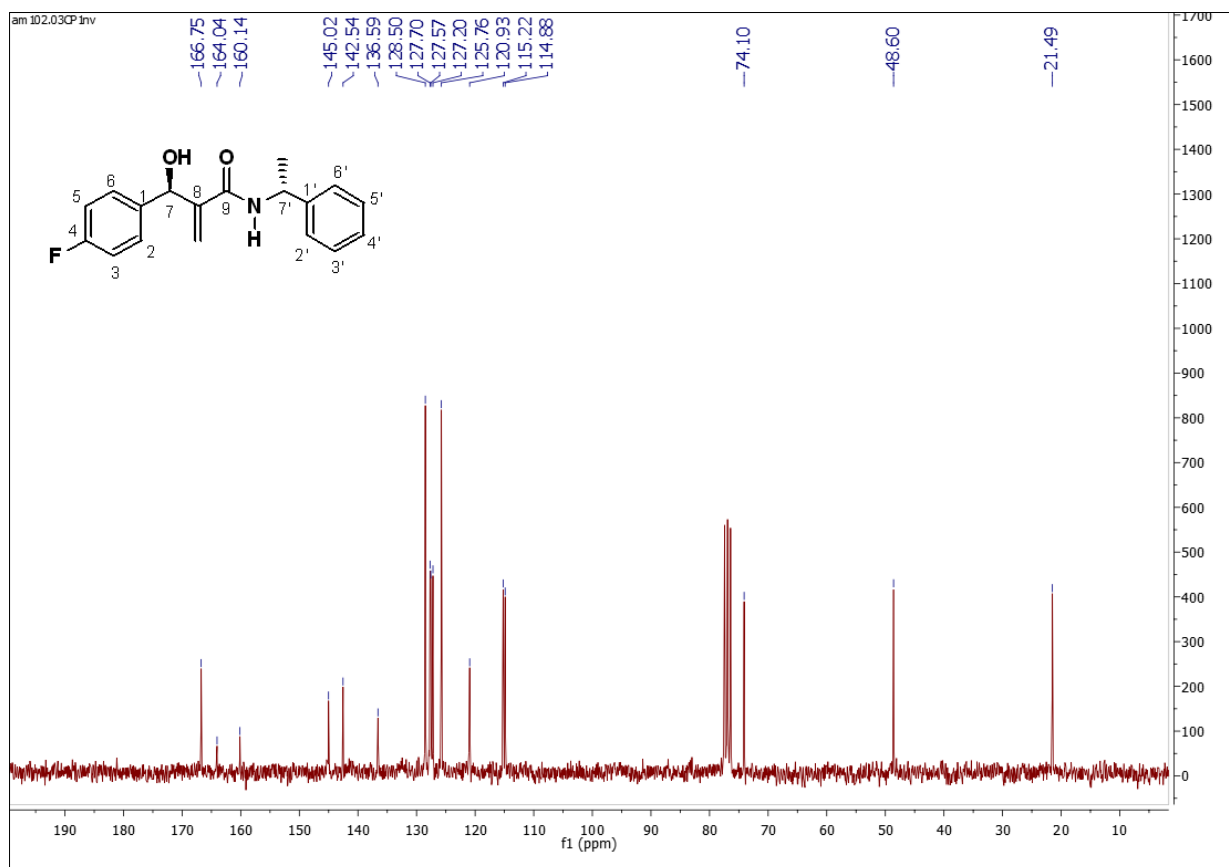


Figura 101. Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 62,5 MHz) da amida **4b**.

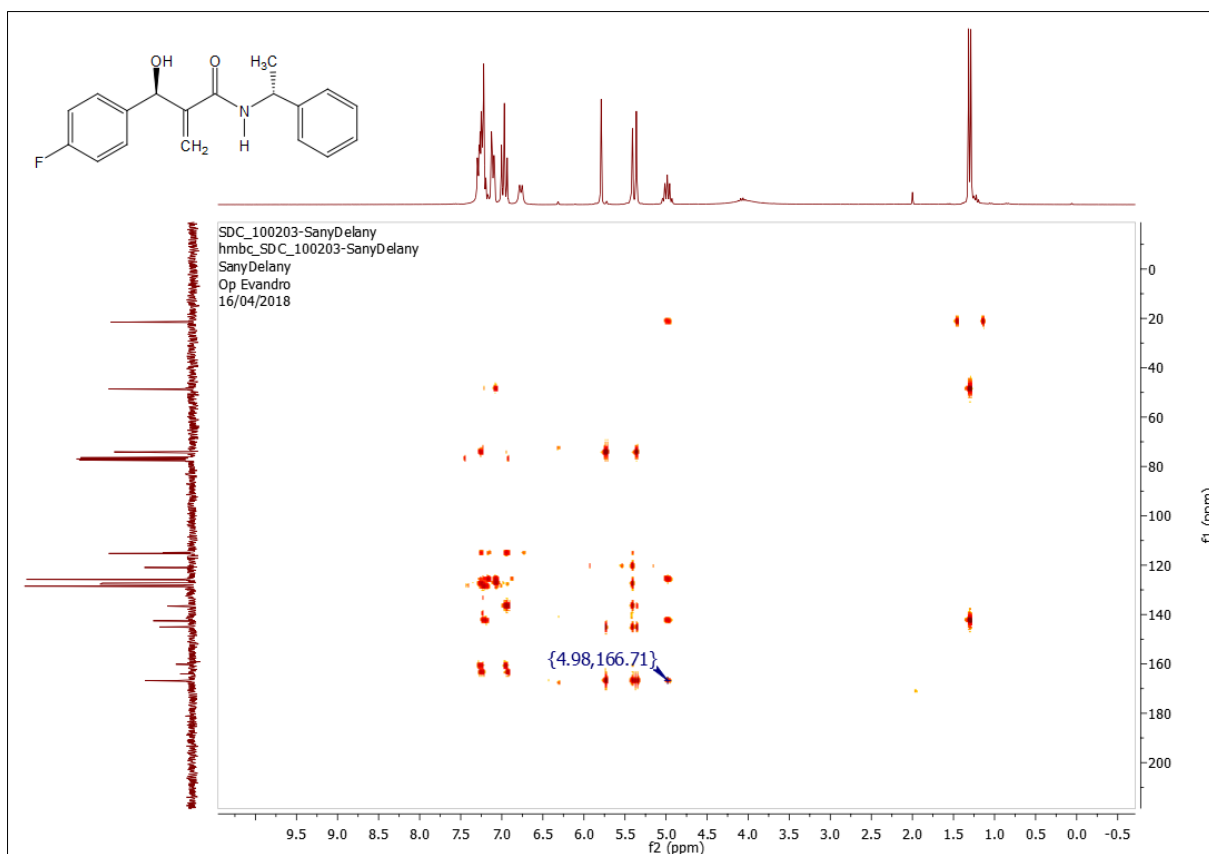


Figura 102. Espectro HMBC (δ , CDCl₃, 500 MHz) da amida **4b**.

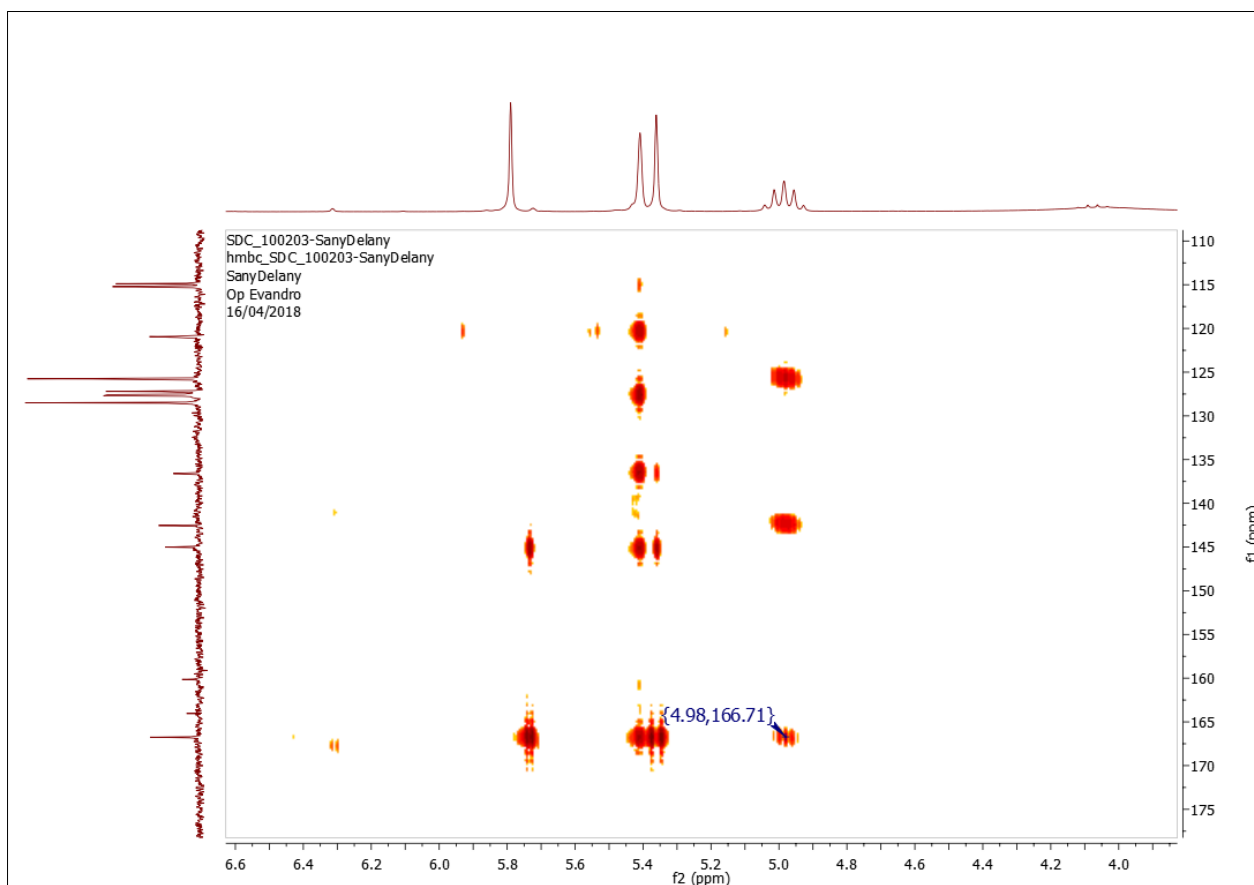


Figura 103. Expansão do espectro HMBC (δ , CDCl₃, 500 MHz) da amida **4b**.

As amidas **4b** e **4c** (Figura 104), assim como as amidas **4e** e **4f** (Figura 104), são produtos provenientes de uma mesma reação, onde foi possível a separação por coluna cromatográfica por apresentarem uma leve diferença de polaridade. Na reação das amidas **4b** e **4c**, foi purificado 150 mg da amida **4b** e 50 mg da amida **4c**, além de 100 mg da mistura das duas amidas. Por sua vez, na reação das amidas **4e** e **4f**, foi obtido 102 mg da amida **4e** e 63 mg da amida **4f** e 73 mg da mistura das duas amidas.

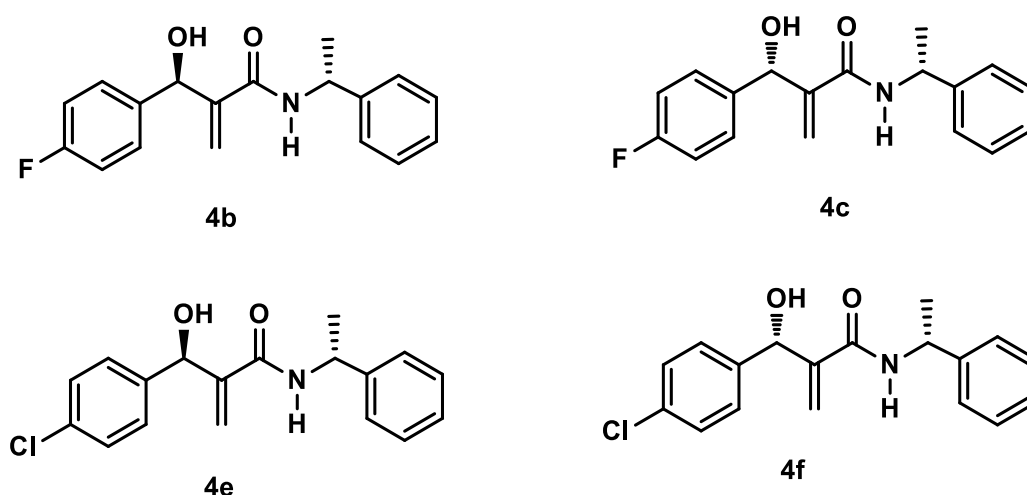


Figura 104. Amidas sintetizadas.

Ao analisar os espectros de RMN uni e bidimensionais das amidas **4b** e **4c** (Anexos 32-41), não foram observadas diferenças que levassem a identificação dos estereoisômeros, o mesmo aconteceu com as amidas **4e** e **4f** (Anexos 51-56), não sendo possível identifica-las por estes métodos. Foi realizado o experimento de desvio da luz polarizada de cada amida, sendo calculado o seu poder rotatório (Tabela 37), confirmando que estas moléculas, opticamente ativas, são diferentes diastereoisômeros.

Tabela 37. Resultados do cálculo do α^{25}_D para as amidas **4b**, **4c**, **4e** e **4f** (MeOH, 1g/L).

Amida	α^{25}_D
4b	-38°
4c	-51°
4e	-58°
4f	-54°

A reação de formação da amida **4g** também forma dois estereoisômeros, porém, diferente das misturas anteriores não foi possível separar os diastereoisômeros por cromatografia em coluna, podendo ser verificado no espectro RMN¹H e RMN¹³C (Figuras 105 e 106) sinais duplicados e integrais para mais de uma amida.

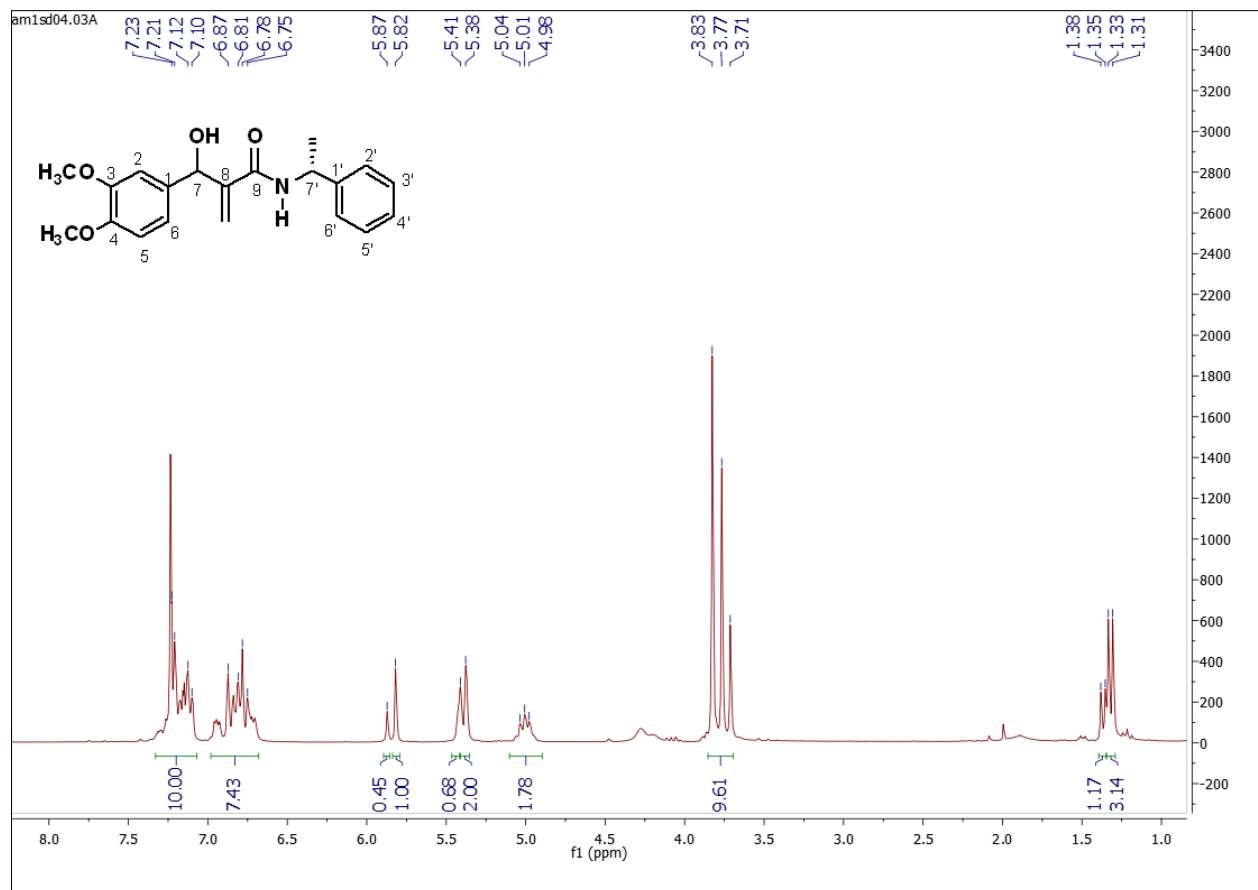


Figura 105. Espectro de RMN ¹H (δ, CDCl₃, 250 MHz) das amidas **4g**.

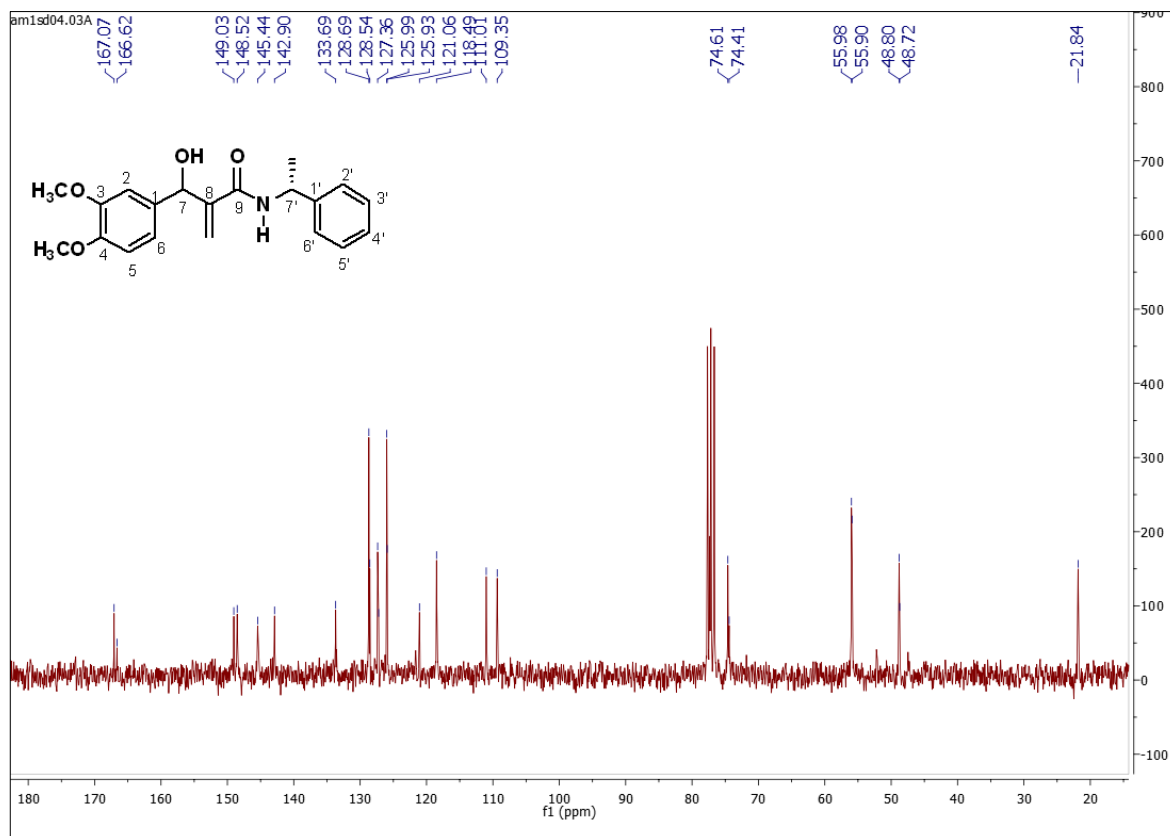


Figura 106. Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 62,5 MHz) das amidas **4g**.

Dados espectrais das amidas.

4a IV (KBr) ν_{max} (Anexo 26): 3304, 3063, 1654, 1619, 1518 cm^{-1} . RMN ^1H (CDCl_3 , 250 MHz) (Anexo 27): 7.24 (2H, m, H-2, H-6), 6.96 (2H, m, H-5, H-3), 6.72 (1H, d, $J=7,5$ Hz, H-5'), 6.61 (2H, m, H-6', H-2'), 5.69 (1H, s, CH_2), 5.44 (1H, s, H-7), 5.36 (1H, s, CH_2), 3.82 (3H, s, OCH_3), 3.80 (3H, s, OCH_3), 3.44 (2H, q, $J=7.5$ Hz, H-8'), 2.65 (2H, t, $J=7.5$ Hz, H-7'). ^{13}C NMR (62,5 MHz) (Anexo 28): 167.63 (C, C-9), 148.89 (C, C-3'), 147.58 (C, C-4'), 145.27 (C, C-8), 136.62 (C, C-1), 130.88 (C, C-1'), 127.74 (CH, C-2), 127.61 (CH, C-6), 120.49 (CH_2), 120.29 (CH, C-6'), 115.24 (CH, C-5), 114.90 (CH, C-3), 111.66 (CH, C-2'), 111.18 (CH, C-5') 74.08 (CH, C-7), 55.74 (OCH_3), 55.70 (OCH_3), 40.33 (CH_2 , C-8'), 34.73 (CH_2 , C-7').

8a IV (KBr) ν_{max} (Anexo 29): 3490, 3310, 3073, 1617, 1516 cm^{-1} .

4b IV (KBr) ν_{max} (Anexo 32): 3314, 3064, 1655, 1605, 1534 cm^{-1} .

4c IV (KBr) $\nu_{\max}$ (Anexo 37): 3385, 3302, 3077, 1654, 1622, 1540 cm^{-1} . RMN ^1H (CDCl_3 , 250 MHz) (Anexo 38): 7.23 (6H, m, H-2, H-6, H-3', H-5', H-2', H-6'), 6.96 (3H, m, H-5, H-3, H-4'), 5.84 (1H, s, CH_2), 5.48 (1H, s, CH_2), 5.41 (1H, s, H-7), 5.01 (1H, m, H-7'), 1.38 (3H, s, CH_3). ^{13}C NMR (62,5 MHz) (Anexo 39): 166.82 (C, C-9), 145.37 (C, C-8), 142.74 (C, C-1), 128.70 (CH, C-2, C-6), 128.15 (CH, C-5'), 128.00 (C, C-1), 127.87 (CH, C-3'), 127.43 (CH, C-2'), 125.98 (CH, C-6', CH_2), 121.34 (CH, C-4'), 115.58 (CH, C-5), 115.24 (CH, C-3), 74.29 (CH, C-7), 48.89 (CH-C-7'), 21.82 (CH_3).

8b IV (KBr) $\nu_{\max}$ (Anexo 42): 3291, 3080, 1642, 1612, 1543 cm^{-1} . RMN ^1H (CDCl_3 , 250 MHz) (Anexo 43): 7.33 (8H, m, H-2, H-6, H-7, H-3', H-5', H-2', H-6', H-4'), 7.02 (2H, m, H-5, H-3), 5.22 (1H, m, H-7'), 2.04 (3H, s, CH_3), 1.53 (3H, s, CH_3). ^{13}C NMR (62,5 MHz) (Anexo 44): 168.59 (C, C-9), 164.17 (C, C-1'), 160.22 (C, C-4), 143.33 (C, C-7), 132.86 (C, C-1), 132.24 (CH, C-2), 132.04 (CH, C-6), 131.18 (CH, C-3'), 131.05 (CH, C-5'), 128.78 (CH, C-4'), 127.46 (CH, C-2'), 126.31 (CH, C-6', C, C-8), 115.58 (CH, C-5), 115.23 (CH, C-3), 49.19 (CH, C-7'), 21.82 (CH_3), 14.29 (CH_3).

4d RMN ^1H (CDCl_3 , 250 MHz) (Anexo 46): 7.23 (4H, sl, H-2, H-6, H-3, H-5), 6.73 (1H, d, $J=7.5$ MHz, H-5'), 6.61 (1H, s, H-2'), 6.53 (1H, d, $J=7.5$ MHz, H-6'), 5.69 (1H, s, CH_2), 5.41 (1H, s, CH_2), 5.36 (1H, s, H-7), 3.81 (6H, s, OCH_3), 3.43 (2H, q, $J=7.5$ MHz, H-8'), 2.65 (2H, t, $J=7.5$ MHz, H-7'). ^{13}C NMR (62,5 MHz) (Anexo 47): 167.79 (C, C-9), 149.13 (C, C-3'), 147.83 (C, C-4'), 145.25 (C, C-8), 139.69 (C, C-1), 133.48 (C, C-4), 131.12 (C, C-1'), 128.61 (CH, C-3, C-5), 127.61 (CH, C-6, C-2), 120.76 (CH, C-6', CH_2), 111.91 (CH, C-2'), 111.45 (CH, C-5'), 74.35 (CH, C-7), 56.01 (OCH_3), 40.78 (CH_2 , C-8'), 34.96 (CH_2 , C-7').

8c RMN ^1H (CDCl_3 , 250 MHz) (Anexo 49): 7.24 (2H, d, $J=7.5$ MHz, H-2, H-6), 7.13 (3H, d, $J=7.5$ MHz, H-3, H-5, H-7), 6.73 (3H, m, H-2', H-5', H-6'), 6.61 (1H, s, H-2'), 3.78 (6H, s, OCH_3), 3.53 (2H, q, $J=7.5$ MHz, H-8'), 2.77 (2H, t, $J=7.5$ MHz, H-7'). ^{13}C NMR (62,5 MHz) (Anexo 50): 167.79 (C, C-9), 149.13 (C, C-3'), 147.83 (C, C-4'), 145.25 (C, C-8), 139.69 (C, C-1), 133.48 (C, C-4), 131.12 (C, C-1'), 128.61 (CH, C-3, C-5), 127.61 (CH, C-6, C-2), 120.76 (CH, C-6', CH_2), 111.91 (CH, C-2'), 111.45 (CH, C-5'), 74.35 (CH, C-7), 56.01 (OCH_3), 40.78 (CH_2 , C-8'), 34.96 (CH_2 , C-7').

4e IV (KBr) $\nu_{\max}$ (Anexo 51): 3329, 3060, 1656, 1611, 1535 cm^{-1} . RMN ^1H (CDCl_3 , 250 MHz) (Anexo 52): 7.23 (6H, m, H-3, H-5, H-5', H-3', H-2', H-6'), 7.07 (2H, m, H-2, H-6), 6.85 (1H,

m, H-4'), 5.78 (1H, s, H-7), 5.38 (1H, s, CH₂), 5.35 (1H, s, CH₂), 4.96 (1H, m, H-7'), 1.30 (3H, s, CH₃). ¹³C NMR (62,5 MHz) (Anexo 53): 166.88 (C, C-9), 144.94 (C, C-8), 142.75 (C, C-1), 133.42 (C, C-4), 128.71 (CH, C-3, C-5), 128.55 (CH, C-3', C-5'), 127.54 (CH, C-2, C-6), 127.41 (CH, C-2', C-6'), 125.95 (CH, C-4'), 121.35 (CH₂), 74.32 (CH, C-7), 48.82 (CH, C-7'), 21.73 (CH₃).

4f IV (KBr) $\nu_{\max}$ (Anexo 54): 3298, 3061, 1655, 1619, 1546 cm⁻¹. RMN ¹H (CDCl₃, 250 MHz) (Anexo 55): 7.24 (6H, m, H-3, H-5, H-5', H-3', H-2', H-6'), 6.97 (2H, m, H-2, H-6), 6.65 (1H, m, H-4'), 5.85 (1H, s, H-7), 5.45 (1H, s, CH₂), 5.42 (1H, s, CH₂), 4.97 (1H, m, H-7'), 1.37 (3H, s, CH₃). ¹³C NMR (62,5 MHz) (Anexo 56): 166.55 (C, C-9), 145.12 (C, C-8), 142.79 (C, C-1), 133.57 (C, C-4), 128.69 (CH, C-3, C-5), 127.59 (CH, C-3', C-5', C-2, C-6), 127.40 (CH, C-2', C-6'), 125.95 (CH, C-4'), 121.50 (CH₂), 74.33 (CH, C-7), 48.84 (CH, C-7'), 21.84 (CH₃).

8d IV (KBr) $\nu_{\max}$ (Anexo 57): 3307, 3083, 1641, 1612, 1566 cm⁻¹. RMN ¹H (CDCl₃, 250 MHz) (Anexo 58): 7.29 (10H, m, H-3, H-5, H-2, H-6, H-7, H-5', H-3', H-2', H-6', H-4'), 5.22 (1H, m, H-7'), 2.04 (3H, s, CH₃), 1.54 (3H, s, CH₃). ¹³C NMR (62,5 MHz) (Anexo 59): 168.45 (C, C-9), 143.26 (CH, C-7), 134.63 (C, C-4), 133.78 (C, C-1), 132.79 (CH, C-2, C-6), 130.68 (CH, C-3, C-5), 128.86 (CH, C-4'), 128.68 (CH, C-5', C-3'), 127.57 (C, C-8), 126.36 (CH, C-2', C-6'), 49.27 (CH, C-7'), 21.73 (CH₃), 14.41 (CH₃).

4g IV (KBr) $\nu_{\max}$ (Anexo 60): 3306, 2975, 1649, 1611, 1518 cm⁻¹.

8e IV (KBr) $\nu_{\max}$ (Anexo 63): 3341, 2972, 1649, 1613, 1518 cm⁻¹. RMN ¹H (CDCl₃, 250 MHz) (Anexo 64): 7.30 (6H, m, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6', H-7), 6.85 (3H, m, H-2, H-5, H-6), 5.22 (1H, m, H-7'), 3.87 (3H, s, OCH₃), 3.84 (3H, s, OCH₃), 2.09 (3H, s, CH₃), 1.54 (3H, s, CH₃). ¹³C NMR (62,5 MHz) (Anexo 65): 168.98 (C, C-9), 148.95 (C, C-3), 148.75 (C, C-4), 143.38 (CH, C-7), 133.92 (C, C-1), 130.58 (CH, C-4'), 128.84 (CH, C-3', C-5'), 127.52 (C, C-8), 126.38 (CH, C-2', C-6'), 122.48 (CH, C-6), 112.78 (CH, C-5), 111.04 (CH, C-2), 55.99 (OCH₃), 49.23 (CH, C-7'), 21.81 (CH₃), 14.52 (CH₃).

4h IV (KBr) $\nu_{\max}$ (Anexo 66): 3414, 3312, 2952, 1654, 1624, 1516 cm⁻¹. RMN ¹H (CDCl₃, 250 MHz) (Anexo 67): 7.20 (3H, m, H-3', H-4', H-5'), 7.03 (2H, m, H-2', H-6'), 6.78 (3H, m, H-2, H-5, H-6), 5.70 (1H, s, CH₂), 5.41 (1H, s, CH₂), 5.36 (1H, s, C-7), 3.87 (3H, s, OCH₃), 3.81 (3H, s, OCH₃), 3.44 (2H, q, *J* = 7.5 MHz, H-8'), 2.70 (2H, t, *J* = 7.5 MHz, H-7'). ¹³C NMR (62,5

MHz) (Anexo 68): 168.10 (C, C-9), 149.05 (C, C-3), 148.58 (C, C-4), 145.68 (C, C-8), 138.77 (C, C-1'), 133.64 (C, C-1), 128.81 (CH, C-3', C-5'), 128.67 (CH, C-2', C-6'), 126.61 (CH, C-4'), 120.47 (CH₂), 118.53 (CH, C-6), 110.97 (CH, C-5), 109.45 (CH, C-2), 74.52 (C-7), 55.93 (OCH₃), 40.76 (CH₂, C-8'), 35.46 (CH₂, C-7').

8f IV (KBr) $\nu_{\max}$ (Anexo 69): 3447, 2937, 1654, 1604, 1533 cm⁻¹. RMN ¹H (CDCl₃, 250 MHz) (Anexo 70): 7.20 (1H, d, $J=10$, H-6), 6.80 (6H, m, H-2', H-6', H-5', H-2, H-5, H-7), 3.85 (3H, s, OCH₃), 3.82 (9H, s, OCH₃), 3.56 (2H, q, $J=7.5$ MHz, H-8'), 2.81 (2H, t, $J=7.5$ MHz, H-7'), 2.03 (3H, s, CH₃). ¹³C NMR (62,5 MHz) (Anexo 71): 169.80 (C, C-9), 149.14 (C, C-3), 148.92 (C, C-4), 148.71 (C, C-3'), 147.79 (C, C-4'), 133.89 (CH, C-7), 131.59 (C, C-1'), 130.34 (C, C-1), 128.93 (CH, C-6'), 122.46 (CH, C-6), 120.75 (C, C-8), 112.70 (CH, C-2'), 112.07 (CH, C-5'), 111.47 (CH, C-2), 110.99 (CH, C-5), 55.95 (OCH₃), 41.33 (CH₂, C-8'), 35.28 (CH₂, C-7'), 14.38 (CH₃).

8g IV (KBr) $\nu_{\max}$ (Anexo 72): 3293, 3060, 1617, 1542, 1509 cm⁻¹. RMN ¹H (CDCl₃, 250 MHz) (Anexo 73): 7.22 (8H, m, H-2, H-6, H-7, H-3', H-5', H-2', H-6', H-4'), 7.02 (2H, m, H-5, H-3), 3.60 (2H, q, $J=7.5$ MHz, H-8'), 2.87 (2H, t, $J=7.5$ MHz, H-7'), 1.99 (3H, s, CH₃). ¹³C NMR (62,5 MHz) (Anexo 74): 169.22 (C, C-9), 160.02 (C, C-4), 138.81 (C, C-7), 132.63 (C, C-1), 130.97 (CH, C-2), 130.85 (CH, C-6), 128.67 (CH, C-3', C-5'), 128.55 (CH, C-2', C-6'), 126.45 (CH, C-4'), 115.39 (CH, C-5), 115.05 (CH, C-3), 40.95 (CH, C-8'), 35.48 (CH, C-7'), 13.97 (CH₃).

4i RMN ¹H (CDCl₃, 500 MHz) (Anexo 75): 7.22 (5H, m, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6'), 7.04 (2H, d, $J=8.5$ MHz, H-2, H-6), 6.85 (2H, d, $J=8.5$ MHz, H-3, H-5), 5.73 (1H, s, CH₂), 5.45 (1H, s, CH₂), 5.39 (1H, s, C-7), 3.79 (3H, s, OCH₃), 3.48 (2H, q, $J=7.5$ MHz, H-8'), 2.73 (2H, t, $J=7.5$ MHz, H-7'). ¹³C NMR (125 MHz) (Anexo 76): 167.82 (C, C-9), 158.68 (C, C-4), 145.83 (C, C-8), 138.86 (C, C-1), 138.68 (C, C-1'), 133.04 (CH, C-2', C-6'), 128.77 (CH, C-3', C-5'), 128.67 (CH, C-2, C-6), 128.79 (CH, C-4'), 113.91 (CH, C-3, C-5), 74.52 (CH, C-7), 40.61 (CH₂, C-8'), 35.51 (CH₂, C-7').

4j RMN ¹H (CDCl₃, 500 MHz) (Anexo 77): 6.97 (2H, d, $J=10$ MHz, H-2', H-6'), 6.80 (6H, m, H-2, H-6, H-3, H-5, H-3', H-5'), 5.70 (1H, s, CH₂), 5.40 (1H, s, CH₂), 3.80 (3H, s, OCH₃), 3.78 (3H, s, OCH₃), 3.46 (2H, q, $J=7.5$ MHz, H-8'), 2.68 (2H, t, $J=7.5$ MHz, H-7'). ¹³C NMR (125 MHz) (Anexo 78): 167.07 (C, C-9), 158.28 (C, C-4), 158.39 (C, C-4'), 145.92 (C, C-8), 133.26

(C, C-1), 130.83 (C, C-1'), 133.64 (C, C-1), 129.82 (CH, C-2', C-6'), 127.58 (CH, C-2, C-6), 114.21 (CH, C-3', C-5'), 113.95 (CH, C-3, C-5), 74.60 (CH, C-7), 55.41 (OCH₃), 55.38 (OCH₃), 40.93 (CH₂, C-8'), 34.60 (CH₂, C-7').

4l RMN ¹H (CDCl₃, 500 MHz) (Anexo 80): 7.23 (2H, d, *J* = 10 MHz, H-2, H-6), 6.84 (2H, d, *J* = 10 MHz, H-3, H-5), 6.76 (1H, d, *J* = 10 MHz, H-5'), 6.65 (1H, d, *J* = 2.5 MHz, H-2'), 6.60 (1H, dd, *J* = 2.5 MHz, *J* = 10 MHz, H-6'), 5.73 (1H, s, CH₂), 5.46 (1H, s, CH₂), 5.38 (1H, s, C-7), 3.85 (3H, s, OCH₃), 3.83 (3H, s, OCH₃), 3.79 (3H, s, OCH₃), 3.46 (2H, q, *J* = 7.5 MHz, H-8'), 2.69 (2H, t, *J* = 7.5 MHz, H-7'). ¹³C NMR (125 MHz) (Anexo 81): 167.95 (C, C-9), 159.28 (C, C-4), 159.18 (C, C-4', C-3'), 145.69 (C, C-8), 131.21 (C, C-1'), 127.51 (CH, C-2, C-6), 120.51 (CH, C-6), 113.65 (CH, C-3, C-5), 74.40 (CH, C-7), 40.67 (CH₂, C-8'), 34.91 (CH₂, C-7').

4m RMN ¹H (CDCl₃, 500 MHz) (Anexo 82): 7.28 (9H, m, H-2, H-6, H-3, H-5, H-2', H-6', H-3', H-5', H-4'), 5.70 (1H, s, CH₂), 5.45 (1H, s, CH₂), 5.41 (1H, s, H-7), 3.50 (2H, q, *J* = 7.5 MHz, H-8'), 2.81 (2H, t, *J* = 7.5 MHz, H-7'). ¹³C NMR (125 MHz) (Anexo 83): 167.77 (C, C-9), 145.13 (C, C-8), 139.72 (C, C-1), 138.07 (C, C-1'), 133.43 (C, C-4), 128.39 (CH, C-3, C-5), 127.55 (CH, C-6, C-2), 126.68 (CH, C-6', C-2'), 74.36 (CH, C-7), 40.85 (CH₂, C-8'), 35.52 (CH₂, C-7').

8g RMN ¹H (CDCl₃, 500 MHz) (Anexo 84): 7.23 (9H, m, H-2, H-6, H-7, H-3', H-5', H-2', H-6', H-3, H-5), 6.85 (1H, d, H-4'), 3.78 (OCH₃), 3.65 (2H, q, *J* = 7.5 MHz, H-8'), 2.80 (2H, t, *J* = 7.5 MHz, H-7'), 1.91 (3H, s, CH₃). ¹³C NMR (125 MHz) (Anexo 85): 167.98 (C, C-9), 159.20 (C, C-4), 145.76 (C, C-1'), 138.81 (C, C-7), 132.63 (C, C-1), 128.84 (CH, C-2, C-6, C-4'), 127.52 (CH, C-2', C-6'), 126.63 (CH, C-3', C-5'), 120.46 (C, C-8), 113.89 (CH, C-5, C-3), 55.37 (OCH₃), 40.78 (CH, C-8'), 35.69 (CH, C-7'), 23.36 (CH₃).

5.4. Estudo da Atividade Antifúngica

Na tabela 38 (pág. 170), estão registrados os resultados da avaliação da atividade antifúngica dos produtos na concentração de 1024 a 128 µg/mL.

O aduto **2a**, os ácidos **3a**, **3b**, o éster **6b** e as amidas **4d**, **4e**, **4f**, **8e**, **8c**, **8d** não foram capazes de inibir quaisquer uma das cepas utilizadas. A amida **4g** inibiu apenas a cepa ATCC-76485 de *C. albicans* na concentração de 1024 µg/mL, enquanto a amida **4h** foi capaz de inibir as cepas de *C. albicans* ATCC-76485 e *C. krusei* LM-13 na concentração de 1024 µg/mL.

Notavelmente, alguns dos compostos sintéticos do grupo precursor das amidas apresentaram atividade antifúngica abrangente, com o ácido **7a** inibido a cepa *A. flavus* LM-714 na concentração 64 µg/mL, apresentando forte atividade antifúngica, com CIMs menores que 600µg/mL tanto para cepas leveduriformes quanto para filamentosos (SARTORATTO *et al.*, 2004).

O aduto **2d** inibiu a cepa de *C. albicans* ATCC-76485 na concentração de 512 µg/mL e as cepas *C. albicans* LM-05, *C. tropicalis* ATCC-13803 e *C. krusei* LM-13 na concentração de 1024 µg/mL. O aduto **2b** demonstrou perfil semelhante ao também inibir as cepas *C. albicans* LM-05, *C. tropicalis* ATCC-13803 e *C. krusei* LM-13 na concentração de 1024 µg/mL e ainda foi capaz de inibir a cepa de *C. albicans* ATCC-76485 na concentração de 256 µg/mL.

O ácido **7c** apresentou atividade antimicrobiana contra as cepas *C. albicans* ATCC-76485, *C. albicans* LM-05, *C. tropicalis* ATCC-13803 e *C. krusei* LM-13 inibindo-as na concentração de 1024 µg/mL.

Estes resultados apresentam a potencialidade de algumas amidas em relação a atividade antifúngica, assim como relatado na literatura (MONTES *et al.*, 2016A), porém também se destaca a potencialidade dos precursores sintéticos destas amidas, tornando mais evidente o perfil antifúngico destes compostos, destacando o resultado para o ácido **7a** que apresentou forte atividade antifúngica.

Assim, as substâncias **4g**, **4h**, **7a**, **2d**, **2b**, **7c** podem ser consideradas de forte e moderada atividade antifúngica conforme os critérios de Holetz *et al.*, 2002; Sartoratto *et al.*, 2004; Houghton *et al.*, 2007.

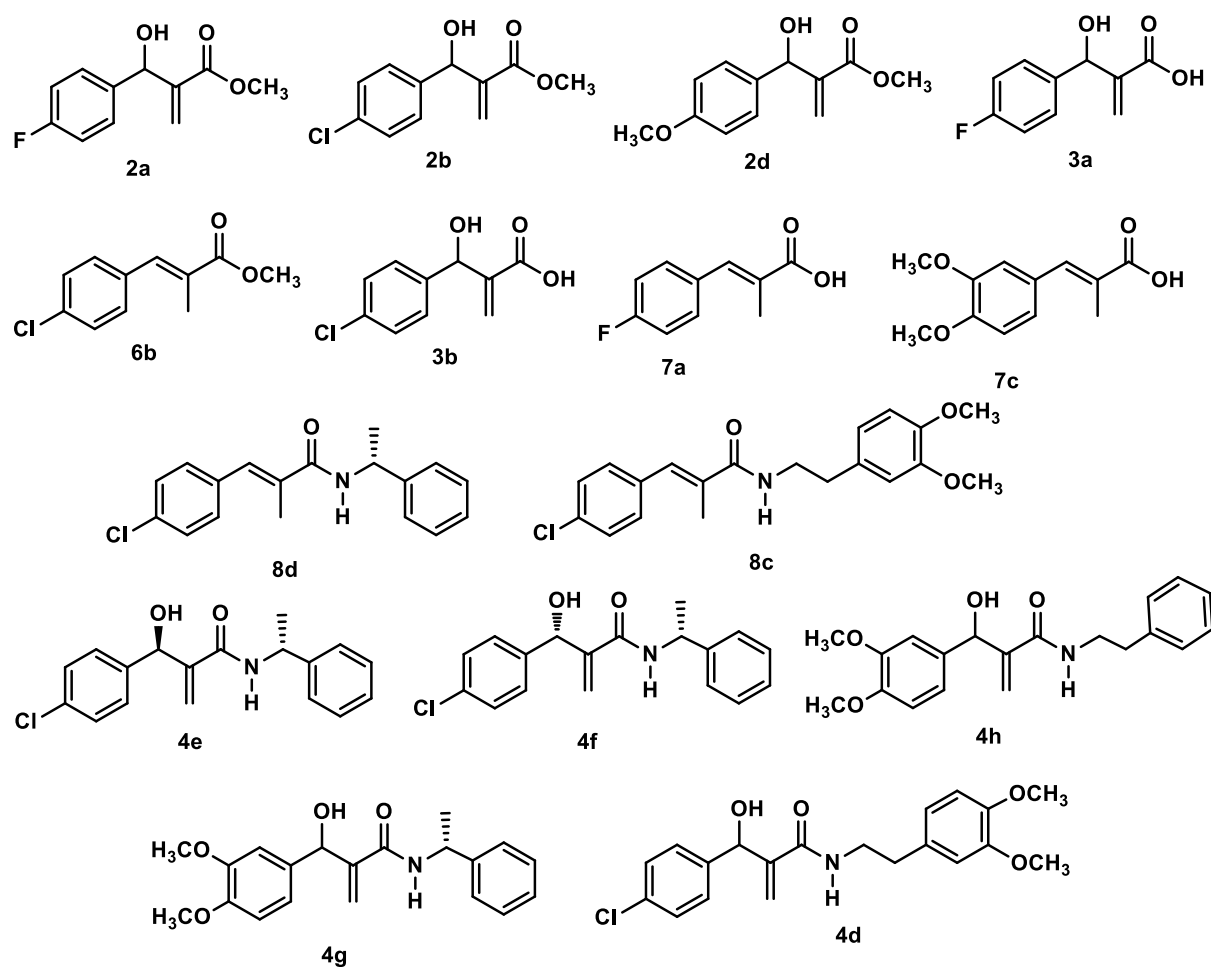


Figura 107. Substâncias submetidas a estudo de atividade antifúngica.

Tabela 40. Resultados da avaliação da Concentração Inibitória Mínima/CIM ($\mu\text{g/mL}$) das substâncias contra cepas fúngicas.

Substâncias	Leveduras						F. filamentosos	
	<i>C. albicans</i> ATCC-76485	<i>C. albicans</i> LM-122	<i>C. tropicalis</i> ATCC-13803	<i>C. tropicalis</i> LM-12	<i>C. krusei</i> ATCC-6258	<i>C. krusei</i> LM-13	<i>A. fumigatus</i> ATCC-40640	<i>A. flavus</i> LM-19
Amida 4d	+	+	+	+	+	+	+	+
Amida 8c	+	+	+	+	+	+	+	+
Amida 4e	+	+	+	+	+	+	+	+
Amida 4f	+	+	+	+	+	+	+	+
Amida 8d	+	+	+	+	+	+	+	+
Amida 4g	1024	+	+	+	+	+	+	+
Amida 8e	+	+	+	+	+	+	+	+
Amida 4h	1024	+	+	+	+	1024	+	+
Aduto 2d	512	1024	1024	+	+	1024	+	+
Aduto 2b	256	1024	1024	+	+	1024	+	+
Ácido 7c	1024	1024	1024	+	+	1024	+	+
Ácido 3b	+	+	+	+	+	+	+	+
Éster 6b	+	+	+	+	+	+	+	+
Aduto 2a	+	+	+	+	+	+	+	+
Ácido 7a	+	512	+	+	+	256	512	64
Ácido 3a	+	+	+	+	+	+	+	+
Controle: Meio de cultura	-	-	-	-	-	-	-	-
Controle: Micro-organismo	+	+	+	+	+	+	+	+
Controle: Anfotericina B	-	-	-	-	-	-	-	-

(+): Crescimento do micro-organismo (-): Não houve crescimento do micro-organismo

6. CONCLUSÕES

Através do estudo do fitoquímico de *S.paniculatum* foi possível:

- Isolar e identificar de 10 substâncias: ácido esteárico (**Sp-1**), N-*trans*-feruloiltiramina (**Sp-2**), acacetina (**Sp-3**), apigenina (**Sp-4**), tilirosídeo (**Sp-5**), 7,4'-dimetoxi-7-*O*-sulfato isoscutelareína (**Sp-6**), yannina (**Sp-7**), uma mistura de dois flavonoides sulfatados a beltraonina (**Sp-8a**) e a paniculatumina (**Sp-8b**) e a sidastrumina (**Sp-9**);

- Relatar **Sp-1**, **Sp-3**, **Sp-4**, **Sp-6**, **Sp-7**, **Sp-8a** pela primeira vez na espécie *S.paniculatum*, fortalecendo assim o perfil fitoquímico do gênero *Sidastrum* e da família Malvaceae;

- Descrever as substâncias **Sp-8b** e **Sp-9** pela primeira vez na espécie, sendo estas inéditas na literatura;

- Fortalecer o estudo quimiotaxonômico da família Malvaceae.

Através do estudo computacional foi possível:

- Realizar uma triagem dos flavonoides sulfatados utilizando o modelo de previsão *Aedes aegypti*;

- Verificar o acomplamento molecular, por meio de docking, dos flavonoides sulfatados com proteínas alvos de larvas do mosquito *Aedes aegypti*;

- Constatar que os flavonoides **Sp-6** e **Sp-8a** interage com ambas as proteínas alvo inibindo-as, sendo, portanto, estes os flavonoides sulfatados mais indicados para testes *in vitro*.

Por meio da síntese de compostos análogos aos produtos naturais, foi possível realizar:

- A síntese de quatro adutos (**2a -d**) de MBH em reações com média de rendimento de 56%;

- A preparação de três ésteres acetilados (**5a-c**) com média de rendimento de 94% usando o cloreto de acetila e a preparação de um éster (**5d**) usando anidrido acético. Estes foram seguidamente desacetilados formando os ésteres **6a-d**;

- A formação de oito ácidos (**3a-d** e **7a-d**) em reações com média de rendimento de 87%;

- E a obtenção de vinte amidas através de reações de fácil execução com média de rendimento de 90%. Com exceção das amidas **8c** e **8f**, todas as demais amidas são inéditas;

- Foi possível obter uma média de rendimento de 82% incluindo todas etapas reacionais de formação das amidas.

Destarte, foram preparadas um total de 40 moléculas, estas moléculas foram elucidadas por meio de técnicas espectroscópicas de RMN ^1H e ^{13}C e/ou IV, como também, em alguns casos, foi verificado o poder rotatório por polarimetria.

Por meio do estudo da atividade fungicida foi possível

- Verificar que os adutos **2d** e **2b**, assim como o ácido **7c** apresentaram atividade contra os fungos leveduriformes incluindo *C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. krusei* cuja CIM ficou estabelecida entre 256 a 1024 $\mu\text{g/mL}$.

- Averiguar que o ácido **7a** apresentou forte atividade antifúngica, com CIMs de 64 a 512 $\mu\text{g/mL}$, apresentando atividade tanto para cepas leveduriformes quanto para filamentosos;

- Constatar que as amidas demonstraram menor perfil de atividade antifúngica, com inibição promovida apenas pelas amidas **4g** e **4h** contra poucas cepas.

7. PERSPECTIVAS

Estão em andamento estudos farmacológicos com os flavonoides sulfatos que apresentaram melhor atividade inibitória, no estudo computacional, contra larvas do mosquito *Aedes aegypti*, pelo Laboratório de Biotecnologia Aplicada a Parasitas e Vetores com a equipe da Profª Drª Fabíola da Cruz Nunes, Universidade Federal da Paraíba.

Estudos farmacológicos de atividade antifúngica com as demais amidas e os seus intermediários sintéticos, pelo Laboratório de Pesquisa em Atividade Antibacteriana e Antifúngica de Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos do grupo da Profª Drª. Edeltrudes de Oliveira Lima, Universidade Federal da Paraíba, Departamento de Ciências Farmacêuticas.

Todas as amidas sintetizadas estão sendo avaliadas em suas atividades leishmanicidas, contra os protozoários parasitas do gênero *Leishmania* pelo Laboratório de Imunologia do grupo do Prof. Pedro Roosevelt Torres Romão do Departamento de Ciências Básicas da Saúde/Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre.

NOTA DE AGRADECIMENTO:

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001 e com o apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

REFERÊNCIAS

AGGARWAL, V.K.; FULFORD, S.Y.; LLOYD-JONES, G.C. Re-evaluation of the mechanism of the Baylis–Hillman reaction - implications for asymmetric catalysis. *Angewandte Chemie International Edition*, v. 44, p. 1706–1708, 2005.

ALMEIDA, S. Malvaceae, família. Knoow, 2016. Disponível em:

<http://knoow.net/ciencterravida/biologia/malvaceae-familia/>

Acessado em: 16 de novembro de 2017.

AMARANTE, G.W.; REZENDE, P.; CAVALLARO, M.; COELHO, F. Acyloins from Morita–Baylis–Hillman adducts: an alternative approach to the racemic total synthesis of bupropion. *Tetrahedron Letters*, n. 49, p. 3744–3748, 2008.

AMARANTE, G. W.; CAVALLARO, M.; COELHO, F. Highly diastereoselective total synthesis of the anti-tumoral agent (+/-)-Spisulosine (ES285) from a Morita-Baylis-Hillman adduct. *Tetrahedron Letters*, v. 51, p. 2597, 2010.

AMARANTE, G. W.; CAVALLARO, M.; COELHO, F.; Hyphenating the Curtius Rearrangement with Morita-Baylis-Hillman Adducts: Synthesis of Biologically Active Acyloins and Vicinal Aminoalcohols. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 22, n. 8, p. 1568-1584, 2011.

AMARO, C.A.B.; GONZÁLEZ-CORTAZAR, M.; HERRERA-RUIZ, M.; ROMÁN-RAMOS, R.; AGUILAR-SANTAMARÍA, L.; TORTORIELLO, J.; JIMÉNEZ-FERRER, E. Hypoglycemic and Hypotensive Activity of a Root Extract of *Smilax aristolochiifolia*, Standardized on N-trans-Feruloyl-Tyramine. *Molecules*, v. 19, p. 11366-11384, 2014.

ANTUNES, R. M. P.; LIMA, E. O.; PEREIRA, M. S. V.; CAMARA, C. A.; ARRUDA, T. A.; CATÃO, R. M. R.; BARBOSA, T. P.; NUNES, X. P.; DIAS, C. S.; SILVA, T. M. S. Atividade antimicrobiana “*in vitro*” e determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de fitoconstituintes e produtos sintéticos sobre bactérias e fungos leveduriformes. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.16, n. 4, p. 517-524, 2006.

ATKINS, P.W.; JONES, L. Princípios de química: questionando a vida moderna e o meio ambiente. 5ª ed., Porto Alegre: Ed. Bookman, 2012.

AWAD, A. B.; BURR, A. T.; FINK C.S. Effect of resveratrol and β -sitosterol in combination on reactive oxygen species and prostaglandin release by PC-3 cells. Prostaglandins, Leucotrienes and Essential Fatty Acids, v. 72, p. 219-226, 2005.

BANG, MH, HAN, JT, KIM, HY, PARK, YD, PA, CH, LEE, KR, BAEK, NI. 13-hydroxy-9Z,11E,15E-octadecatrienoic Acid from the Leaves of *Cucurbita moschata*. Archives of Pharmacal Research, v. 25, p. 438-440, 2002.

BARACHO, G. S. O Gênero *Sidastrum* Baker F. (Malvaceae) em Pernambuco e Paraíba, Brasil. Monografia (Bacharelado em Biologia), Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa – PB, 1995.

BARAN, P. S. Natural Product Total Synthesis: As Exciting as Ever and Here To Stay. Journal of the American Chemical Society, v. 140, n. 14, p. 4751–4755, 2018.

BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. Química Medicinal: As Bases Moleculares da Ação dos Fármacos”. 3 ed. Porto Alegre: Artmed, 2015.

BASAVAIAH, D.; KRISHNAMACHARYULU, M.; HYMA, R.S.; SARMA, P. K. S.; KUMARAGURUBARAN, N.; A facile one-pot conversion of acetates of the Baylis-Hillman adducts to [E]- α -methylcinnamic acids. Journal Organic Chemistry, v. 64, p. 1197-1200, 1999.

BERLINCK, R. G. S.; BORGES, W. S.; SCOTTI, M. T.; VIEIRA, P. C. A Química de Produtos Naturais do Brasil do Século XXI. Química Nova, v. 40, n. 6, p. 706-710, 2017.

BERRY, P. E. Malvaceae, plant family. Encyclopedia Britannica, 2016. Disponível em:

<https://www.britannica.com/plant/Malvaceae>

Acessado em: 16 de novembro de 2017.

BOVINI, M.G.; ESTEVES, G.; DUARTE, M.C.; TAKEUCHI, C.; KUNTZ, J. *Malvaceae* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2015. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB156>>. Acesso em: 12 Nov. 2015.

BRUNING, M. C. R., MOSEGUI, G. B. G., VIANNA, C. M. M. A utilização da fitoterapia e de plantas medicinais em unidades básicas de saúde nos municípios de Cascavel e Foz do Iguaçu – Paraná: a visão dos profissionais de saúde. *Ciência & Saúde Coletiva*, v. 17, n. 10, p. 2675-2685, 2012.

CABRAL, C., PITA, J. R., SALGUEIRO, L. Plantas medicinais: entre o passado e o presente. 2ª ed., p.44. Coimbra: Simões e Linhares, 2014.

CARRASCO-SANCHEZ, V.; SIMIRGIOTIS, M. J.; SANTOS, L. S. The Morita-Baylis-Hillman Reaction: Insights into Asymmetry and Reaction Mechanisms by Electrospray Ionization Mass Spectrometry. *Molecules*, v. 14, p. 3989-4021, 2009.

CASTRO, F. Alternativa para fármaco mais vendido. Agência FAPESP, 2011. Disponível em: http://agencia.fapesp.br/alternativa_para_farmaco_mais_vendido/13313/
Acessado em: 21 de novembro de 2017.

CASTRO, B.; DORMOY, J. R.; EVIN, G.; SELVE, C. Reactifs de couplage peptidique I (1) - l'hexafluorophosphate de benzotriazolyl N-oxytrisdimethylamino phosphonium (B.O.P.). *Tetrahedron Letters*, n. 14, p. 1219–1222, 1975.

CASTRO, B.; DORMOY, J.-R.; DOURTOGLOU, B.; EVIN, G.; SELVE, C.; Ziegler, J.-C. Peptide Coupling Reagents VII. A Novel, Cheaper Preparation of benzotriazolyl oxytris [dimethylamino] phosphonium hexafluorophosphate (BOP Reagent). *Synthesis*, p. 751-752 , 1976.

CAVALCANTE, J.M.S.; NOGUEIRA, T.B.S.S.; TOMAZ, A.C.A.; SILVA, D.A.; AGRA, M.F.; SOUZA, M.F.V.; CARVALHO, P.R.C.; RAMOS, S.R.; NASCIMENTO, S.C.; GONÇALVES-SILVA, T. Steroidal and phenolic compounds from *Sidastrum paniculatum* (L.) Fryxell and evaluation of cytotoxic and anti-inflammatory activities. *Química. Nova*, v. 33, n. 4, p. 846-849, 2010.

CHAVES, O. S.; GOMES, R. A.; TOMAZ, A. C. A.; FERNANDES, M. G.; MENDES JUNIOR, L. G.; AGRA, M. F.; BRAGA, V. A.; SOUZA, M. F. V. Secondary Metabolites from *Sida rhombifolia* L. (Malvaceae) and the Vasorelaxant Activity of Cryptolepinone. *Molecules*, v. 18, p. 2769-2777, 2013.

CHAVES, O. S.; TELES, Y. C. F.; MONTEIRO, M. M. O.; MENDES JUNIOR, L. G.; AGRA, M. F.; BRAGA, V. A.; SILVA, T. M. S.; SOUZA, M. F. V. Alkaloids and Phenolic Compounds from *Sida rhombifolia* L. (Malvaceae) and Vasorelaxant Activity of Two Indoquinoline Alkaloids. *Molecules*; v. 22, n. 1, p. 94, 2017.

CHEN, W.; ZHANG, H.; XU, H. bai bei huang hua zuo *sida rhombifolia* de sheng wu huo xing ji hua xue cheng fen yan jiu. *Chinese Journal of Pesticide Science*, v. 4, p. 377-382, 2012.

CLAYDEN, J. P.; GREEVES, N.; WARREN, S. G.; Wothers, P. D. *Organic Chemistry*. 1st ed., Oxford: Oxford University Press, 2001.

CLELAND, R.; SQUIRES, E. Evalution of new antimicrobials “in vitro” and in experimental animal infections. In: LORIAN, V. M. D. *Antibiotics in Laboratory Medicine*. Willians & Wilkins, p. 739-788, 1991.

CLINICAL LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Approved standard M27-A3. Pennsylvania, United States of America: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2008A.

CLINICAL LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi. Approved standard M38-A2. Pennsylvania, United States of America: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2008B.

COELHO, F.; ALMEIDA, W. P. Reação de Baylis-Hillman: uma estratégia para a preparação de intermediários multifuncionalizados para síntese orgânica. *Química Nova*, v. 23, n.1, 2000.

CORREIA-DA-SILVA, M.; SOUSA, E.; DUARTE, B.; MARQUES, F.; CARVALHO, F.; CUNHA-RIBEIRO, L.M.; PINTO, M.M. Flavonoids with an oligopolysulfated moiety: a new class of anticoagulant agents. *Journal of Medicinal Chemistry*, v.54, p.95–106, 2011.

CORREIA-DA-SILVA, M.; SOUSA, E.; PINTO, M. M. Emerging sulfated flavonoids and other polyphenols as drugs: Nature as an inspiration. *Medicinal Research Reviews*, v. 34, p. 223–279, 2014.

COSTA, P. R. R.; PILLI, R. A.; PINHEIRO, S.; VASCONCELLOS, M. L. A. A. Substâncias carboniladas e derivados. Porto Alegre: Bookman, p.180, 2003.

COSTA, D. A.; CAVALCANTI, A. C.; SILVA, D. A. E.; CAVALCANTE, J. M. S.; MEDEIROS, M. A. A; LIMA, J. T.; SILVA, B. A.; AGRA, M. F; SOUZA, M. F. V. Chemical constituents from *Bakeridesia pickelii* Monteiro (Malvaceae) and the relaxant activity of kaempferol-3-*O*-beta-D-(6"-*E-p*-coumaroyl) glucopyranoside on guinea-pig ileum. *Química Nova*, v 30, n. 4, p. 901-903, 2007.

COSTA, D. A.; MATIAS, W. M.; LIMA, I. O.; XAVIER, A. L.; COSTA, V. B. M.; DINIZ, M. F. F. M.; AGRA, M. F.; BATISTA, L. M.; SOUZA, M. F. V.; SILVA, D. A. First secondary metabolites From *Herissantia crispa* (Brizicky) and the toxicity activity against *Artemia salina* leach.. *Química Nova*, v. 32, n. 1, p. 48-50, 2009.

DA-CRUZ, A.; PIRMEZ, C. In: *Dinâmica das doenças infecciosas e parasitárias*, Editor José Rodrigues Coura – Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, p. 697-712, 2005.

DA CUNHA, A. P. M. A. *Plantas e Produtos Vegetais em Fitoterapia*. 1ª ed. Fundação Calouste Gulbenkian, 2003.

DAS, B.; CHOWDHURY, N.; BANERJEE, J.; ANJOY, M. A facile one-pot stereoselective synthesis of trisubstituted (*E*)-2-methylalk-2-enoic acids from unactivated Baylis–Hillman adducts and a simple access to some important insect pheromones. *Tetrahedron Letters*, n. 47, p. 6615–6618, 2006.

DAS, N.; SAHA, T.; BHATTACHARJEE, S. A new biologically active ecdysteroid from the aerial parts of *Sida glutinosa*. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, v. 3, n. 5, p. 73-78, 2014.

DENMARK, S.E.; GREGORY, L.B. Lewis base catalysis in organic synthesis. Angewandte Chemie International Edition, n. 47, p. 1560–1638, 2008.

DUARTE, M. C. T.; FIGUEIRA, G. M.; SARTORATTO, A.; REHDER, V. L. G.; DELARMELINA, C. Anti-*Candida* activity of Brazilian medicinal plants. Journal of Ethnopharmacology. v. 97, p. 305-311, 2005.

DYER, D. H.; LOVELL, S.; THODEN, J. B.; HOLDEN, H. M.; RAYMENT, I.; LAN, Q. The Structural Determination of an Insect Sterol Carrier Protein-2 with a Ligand-bound C16 Fatty Acid at 1.35-Å Resolution. The Journal of Biological Chemistry, v. 278, p. 39085-39091, 2003.

ELOFF, J. N. A sensitive and quick microplatemethod to determine the Minimal Inhibitory Concentration of plant extracts for bacteria. Planta Medica, v. 64, n. 8, p. 711-713, 1998.

FERNANDES, D. A.; SOUZA, M. S. R.; TELES, Y. C. F.; OLIVEIRA, L. H. G.; LIMA, J. B.; CONCEIÇÃO, A. S.; NUNES, F. C.; SILVA, T. M. S.; SOUZA, M. F. V. New Sulphated Flavonoids and Larvicidal Activity of *Helicteres velutina* K. Schum (Sterculiaceae). Molecules, v. 23, n. 11, p. 2784, 2018.

FREIRE, I.C.M.; PÉREZ, A.L.A.L.; CARDOSO, A.M.R.; MARIZ, B.A.L.A.; ALMEIDA, L.F.D.; CAVALCANTI, Y.W.; PADILHA, W.W.N. Atividade antibacteriana de Óleos Essenciais sobre *Streptococcus mutans* e *Staphylococcus aureus*. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, v.16 n.2, 2014.

FRYXELL, P. A. Neotropical segregates from *Sida* L. (Malvaceae). Brittonia, v. 30, p. 447-462, 1978.

FRYXELL, P. A. A New specie and other notes in the Malvaceae. Brittonia, v. 25, n. 2, 1997.

FU, J.; CHENG, K.; ZHANG, Z.; FANG, R.; ZHU, H. Synthesis, structure and structure–activity relationship analysis of caffeic acid amides as potential antimicrobials. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 45: p. 2638–2643, 2010.

FURTADO, R. F.; LIMA, M. G. A.; BEZERRA, J. N. S.; ANDRADE NETO, M.; SILVA, M. G. V. Atividade larvica de óleos essenciais sobre o *Aedes aegypti* Linnaeus (Diptera: Culicidae). *Neotropical Entomology*, v. 34, n. 5, p. 843-847, 2005.

GADETSKAYA, A.V.; TARAWNEH, A.H.; ZHUSUPOVA, G.E.; GEMEJIYEVA, N.G.; CANTRELL, C.L.; CUTLER, S.J.; ROSS, S.A. Sulfated phenolic compounds from *Limonium caspium*: Isolation, structural elucidation, and biological evaluation. *Fitoterapia*, v.104, p. 80–85, 2015.

GARCIA, C. M. Estudo Fitoquímico e Atividade Biológica de *Pavonia distinguenda* A.st.-Hill. Et. Naudin e *Dorstenia brasiliensis* Lam. Ph.D. Thesis, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS , p 218, 2007.

GIKONYO, N. K.; MWANGI, R. W.; MIDIWO, J. O. Toxicity and growth-inhibitory activity of *Polygonum senegalense* (Meissn.) surface exudate against *Aedes aegypti* larvae. *Insect Science and its Application*, n. 18, p. 229-234, 1998.

GIULIETTI, A.M., HARLEY, R.M., QUEIROZ, L. P., WANDERLEY, M.G.L. & VAN DEN BERG, C. 2005. Biodiversity and Conservation of Plants in Brazil. *Conserv. Biol.* 19:632-639. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1523-1739.2005.00704.x>

GLOMB, M. A.; PFAHLER, C. Amides Are Novel Protein Modifications Formed by Physiological Sugars. *Journal of Biological Chemistry*, v. 276, p. 41638–41647, 2001.

GOMES, R.A.; RAMIREZ, R. R. A.; MACIEL, J.K.S.; AGRA, M. F.; SOUZA, M.F.V. Phenolic compounds from *Sidastrum micranthum* (a. St.-hil.) Fryxell and evaluation of acacetin and 7,4'-di-o-methylisoscutearein as motulator of bacterial drug resistance. *Química Nova*, v. 34, n. 8, p. 1385-1388, 2011.

GOMES, R. A.; TELES, Y. C. F.; PEREIRA, F. O.; RODRIGUES, L. A. S.; LIMA, E. O.; AGRA, M. F.; SOUZA, M. F. V. Phytoconstituents from *Sidastrum micranthum* (A. St.-Hil.) Fryxell (Malvaceae) and antimicrobial activity of pheophytin a. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 51, n. 4, 2015.

GUARDA, C.; LUTINSKI, J. A.; ROMAN-JUNIOR, W. A.; BUSATO, M. A. Atividade Larvicida de Produtos Naturais e Avaliação da Susceptibilidade ao Inseticida Temefós no Controle do *Aedes Aegypti* (Diptera: Culicidae). *Interciencia*, n. 41, p. 243-247, 2016.

GUEDES, E. J. R. C. E.; RAMALHO, J. A.; RAMALHO, L. S. N.; GUEDES NETO, G. E.; ANDRADE, R. S.; GUEDES, G. A. C. R.; TELES, Y. C. F. ; PAZ, A. R.; COELHO, A. S.; LIMA, C. M. B. L.; SOUZA, M. F. V.; DINIZ, M. F. F. M.; ALMEIDA, R. N. Chronic toxicity assessment of crude ethanolic extract of *Wissadula periplocifolia* (L.) C. Presl. leaves in albino Wistar rats. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, v. 10(37), p. 796-804, 2016.

GUNNARSSON, G.T.; DESAI, U.R. Interaction of designed sulfated flavanoids with antithrombin: Lessons on the design of organic activators. *Journal of Medicinal Chemistry*, v. 45, p. 4460–4470, 2002.

HABBU, P.V.; MAHADEVAN, K.M.; SHASTRY, R.A.; MANJUNATHA, H. Antimicrobial activity of flavanoid sulphates and other fractions of *Argyreia speciosa* (Burm.F) Boj. *Indian Journal of Experimental Biology*, v. 47, p. 121–128, 2009.

HADACEK, F. GREGER, H. Testing of antifungal natural products: methodologies, comparatibility of results and assay choice. *Phytochemical Analyses*, v. 11, p. 137-147, 2000.

HAFIDH, R. R., ABDULAMIR, A. S., VERN, L. S., BAKAR, F. A., ABAS, F., JAHANSHIRI, F. AND SEKAWI, Z. Inhibition of growth of highly resistant bacterial and fungal pathogens by a natural product. *The Open Microbiology Journal*, v. 5, p. 98-106, 2011.

HALL, M.; FRANK, E.; HOLMES, G.; PFAHRINGER, B.; REUTEMANN, P. *WEKA data mining software*, n. 11, 2009.

HAN, Q.; GAO, Y. G.; ROBINSON, H.; DING, H.; WILSON, S.; LI, J. Crystal structures of *Aedes aegypti* kynurenine aminotransferase. The FEBS Journal, n. 272, p. 2198-2206, 2005.

HILL, J.S.; ISAACS, N.S. Mechanism of substitution reactions of acrylic derivatives. Journal of Physical Organic Chemistry, n. 3, p. 285–288, 1990.

HOLETZ, F.B.; HOMES, M. J.; LEE, C. C.; STEVENTON, G. Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 97, n. 7, p. 1027-1031, 2002.

HOUGHTON, P. J.; HOWES, M. J.; LEE, C. C.; STEVENTON, G. Uses and abuses of *in vitro* tests in ethnopharmacology: visualizing an elephant. Journal of Etnopharmacology, v.110, p.391-400, 2007.

KAROU, D.; DICKO, M. H, SANON S.; SIMPORE, J.; TRAORE A. S. Antimalarial activity of *Sida acuta* Burm. f. (Malvaceae) and *Pterocarpus erinaceus* Poir. (Fabaceae). Journal Ethnopharmacol, v. 89 (2-3), p. 291-294, 2003.

KAUR, J.; KUMAR, P.; TYAGI, S.; PATHAK, R.; BATRA, S.; SINGH, P.; SINGH, N. In silico screening, structure-activity relationship, and biologic evaluation of selective pteridine reductase inhibitors targeting visceral leishmaniasis. Antimicrob. Agents Chemother, v. 55, n. 2, p. 659-66, 2011.

KIM, M.; LEE, J.; LEE, H.; CHANG, S. Significant Self-Acceleration Effects of Nitrile Additives in the Rhodium-Catalyzed Conversion of Aldoximes to Amides: A New Mechanistic Aspect. Advanced Synthesis & Catalysis. v. 351, n.11-12, p. 1807–1812, 2009.

KIM, M. H.; PATEL, D. V. BOP as a reagent for mild and efficient preparation of esters. Tetrahedron Letters, v. 35, n. 31, p. 5603-5606, 1994.

KU, S.K.; KIM, T.H.; BAE, J.S. Anticoagulant activities of persicarin and isorhamnetin. Vascular Pharmacology, v. 58, p. 272–279, 2013.

KUNG, P. P.; HUANG, B. W.; ZHANG, G.; ZHOU, J. Z.; WANG, J.; DIGITS, J. A.; SKAPTASON, J.; YAMAZAKI, S.; NEUL, D.; ZIENTEK, M.; ELLERAAS, J.; MEHTA, P.; YIN, M. J.; HICKEY, M. J.; GAJIWALA, K. S.; RODGERS, C.; DAVIES, J. F.; GEHRING, M. R. Dihydroxyphenylisoindoline Amides as Orally Bioavailable Inhibitors of the Heat Shock Protein 90 (Hsp90) Molecular Chaperone. *Journal of Medicinal Chemistry*. v. 53, p. 499–503, 2010.

KUTTRUFF, C. A.; EASTGATE, M. D.; BARAN, P. S. Natural product synthesis in the age of scalability. *Natural Product Reports*, v 4, n 31, p. 419, 2014.

LIAO, H.; LIU, H.; YUAN, K. A new flavonol glycoside from the *Abelmoschus esculentus* Linn. *Pharmacognosy Magazine*, v. 8, n. 29, p. 12–15, 2012.

LIMA, R.A.F., SOUZA, V.C., DITTRICH, V. A. O., SALINO, A. Composition, diversity and geographical distribution of vascular plants of an Atlantic Rain Forest, Southeastern Brazil. *Biota Neotropical*, v. 12, n.1, p. 1676-0603, 2012.

LIMA, A. L. A.; ALVES, A. F.; XAVIER, A. L.; MOZZINI-MONTEIRO, T., OLIVEIRA, T. R. R.; LEITE, F. C.; MATIAS, W. N.; BRANCO, M. V. S. C.; SOUZA, M. F. V.; PIUVEZAM, M. R. Anti-inflammatory activity and acute toxicity studies of hydroalcoholic extract of *Herissantia tiubae*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.26, 225–232, 2016.

LIU, W.; LIANG, N.C. Inhibitory effect of disodium quercetin-7,4'-disulfate on aggregation of pig platelets induced by thrombin and its mechanism. *Acta Pharmacologica Sinica*, v. 21, p. 737–741, 2000.

LOPES, L G.; TAVARES, G. L.; THOMAZ, L. D.; SABINO, J. R.; VIEIRA, P. C.; BORGES, W. S. Secondary metabolites from *Pavonia multiflora* (Malvaceae). *Planta Medica*, v. 80, 2014.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C. e VEIGA, V. F.Jr., GRYNBERG, N. F. e ECHEVARRIA, A. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. *Quimica Nova*, 2001.

MACIEL, J. K. S.; CHAVES, O. S.; BRITO FILHO, S. G.; TELES, Y. C. F.; FERNANDES, M. G.; ASSIS, T. S.; FERNANDES, P. D.; ANDRADE, A. P.; FELIX, L. P.; SILVA, T. M. S.;

RAMOS, N. S. M.; SILVA, G. R.; SOUZA, M. F. V. New Alcamide and Anti-oxidant Activity of *Pilosocereus gounellei* A. Weber ex K. Schum. Bly. ex Rowl. (Cactaceae). *Molecules*, v. 21, 2016.

MARKO, I. E.; GILES, P. R.; HINDLEY, N. J. Catalytic enantioselective Baylis–Hillman reactions. Correlation between pressure and enantiomeric excess. *Tetrahedron*, n. 53, p. 1015–1024, 1997.

MATEUS, C. R.; COELHO, F. An Alternative Approach to Aminodiols from Baylis–Hillman Adducts. Stereoselective Synthesis of Chloramphenicol, Fluoramphenicol and Thiamphenicol. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 16, p. 386–396, 2005.

MENDES, A.M.C. Triterpenos e a atividade imunossupressora de *Vernonia scorpioides* Pers.(Asteracea). Dissertação. (Mestrado em Ciências Biológicas e ambiente). Universidade do Maranhão, São Luis. 2001.

MESELHY, M.R. Constituents from Moghat, the Roots of *Glossostemon bruguieri* (Desf.). *Molecules*, v. 8, p. 614–621, 2003.

MILLER, W. Guest Post: A Philosophical Consideration of Total Synthesis, May 16, 2016: <http://openflask.blogspot.com/2016/05/guest-post-philosophicalconsideration.html>
Acessado em: 31 de janeiro de 2018

MONTALBETTI, C. A. G. N.; FALQUE, V. Amide bond formation and peptide coupling. *Tetrahedron*, v. 61, p. 10827–10852, 2005.

MONTES, R.C.; PEREZ, A.L.A.L.; MEDEIROS, C.I.S.; ARAÚJO, M.O.; LIMA, E.O.; SCOTTI, M.T.; SOUSA, D. P. Synthesis, Antifungal Evaluation and *In Silico* Study of *N*-(4-Halobenzyl)amides. *Molecules*, v. 21, p. 1716, 2016A.

MONTES, R. C.; FREITAS, T. S.; COSTA, M. S.; OLIVEIRA, F. S.; CAMPINA, F. F.; FERREIRA, A. R.; FERREIRA, S. O.; MELO, H. D.; DIAS, C. S.; SOUSA, D. P. Antimicrobial evaluation of cinnamic and benzoic haloamides, *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, v. 8, n. 8, p. 311–320, 2016B.

MOSTARDEIRO, C. P.; MOSTARDEIRO, M. A.; MOREL A. F.; OLIVEIRA, R. M.; MACHADO, A. K.; LEDUR, P.; CADONÁ, F. C.; SILVA, U. F.; MÂNICA DA CRUZ, I. B. The *Pavonia xanthogloea* (Ekman, Malvaceae): Phenolic compounds quantification, anti-oxidant and cytotoxic effect on human lymphocytes cells. *Pharmacognosy Magazine*, v. 10, n. 39, p. 630-638, 2014.

MULZER, J. Trying to rationalize total synthesis. *Natural Product Reports*, v. 31, p. 595, 2014.

NASCIMENTO, P. F. C.; NASCIMENTO, A. C.; RODRIGUES, C. S.; ANTONIOLLI, A. R.; SANTOS, M. P. O.; JÚNIOR, A. M. B., TRINDADE, R. C. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais: uma abordagem multifatorial dos métodos. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 17, n. 1, p. 108-113, 2007.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS-NCCLS. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. 7 ed. Villanova. PA: NCCLS, 2000.

NAVARRETE, A.; TREJO-MIRANDA, J. L.; REYES-TREJO, L. Principles of root bark of *Hippocratea excelsa* (Hippocrataceae) with gastroprotective activity. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 79, p. 383-388, 2002

NAWWAR, M. A., SWILAM, N. F., HASHIM, A. N., AL-ABD, A. M., ABDEL-NAIM, A. B., LINDEQUIST, U. Cytotoxic isoferulic acidamide from *Myricaria germanica* (Tamaricaceae). *Plant Signaling Behavior*, v. 8, n. 1, p. e22642, 2013.

NAZ, S.; AHMAD, S.; RASOOL, S. A.; SAYEED, S. A.; SIDDIQI, R. Antibacterial activity-directed isolation of compounds from *Onosma hispidum*. *Microbiological Research*, v.161, n.1, p.43-48, 2006.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural Products as Sources of New Drugs from 1981 to 2014. *Journal Natural Products*. 79, p. 629, 2016.

NICOLAOU, K. C.; SNYDER, S. A. Chasing molecules that were never there: misassigned natural products and the role of chemical synthesis in modern structure elucidation. *Angewandte Chemie International Edition* *Angew*, v. 44, n. 14, p. 1012, 2005.

NUNES; X. P., MAIA, G. L. A., ALMEIDA, J. R. G. S., PEREIRA, F. O.; LIMA, E. O. Antimicrobial activity of the essential oil of *Sida cordifolia* L. *Revista brasileira de farmacognosia*, v.16, 2006.

OLIVEIRA, A. M. F.; PINHEIRO, S. L.; PEREIRA, C. K.; MATIAS, W. N.; GOMES, R. A.; CHAVES, O. S.; SOUZA, M. F. V.; ALMEIDA, R. N.; ASSIS, T. S. Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of Some Malvaceae Family Species. *Antioxidants*, v.1, p. 33-43, 2012.

OTERO, R.; NÚÑEZ, V.; BARONA, J.; FONNEGRA, R.; JIMENEZ, S. L.; OSORIO, R. G.; SALDARRIAGA, M.; DÍAZ, A. Snakebites and Ethnobotany in the Northwest Region of Colômbia. Part III: Neutralization of the Haemorrhagic Effect of *Brothops atrox* venom. *Journal of Ethnopharmacology*, v.37, p. 233-241, 2000.

PARK, J. B. Isolation and Characterization of N-Feruloyltyramine as the P-Selectin Expression Suppressor from Garlic (*Allium sativum*). *Journal Agricultural Food Chemistry*, 2009.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S. & VYVYAN, J. R. Introdução à espectroscopia. Tradução da 4 ed. São Paulo-SP: Cengage Learning, 2010.

PEREIRA, F. O.; MENDES, J. M.; LIMA, I. O.; MOTA, K. S. L.; OLIVEIRA, W. A.; LIMA, E. O. Antifungal activity of geraniol and citronellol, two monoterpenes alcohols, against *Trichophyton rubrum* involves inhibition of ergosterol biosynthesis. *Pharmaceutical Biology*, v. 53, n. 2, p. 1–7, 2014.

PEREIRA, R. J., CARDOSO, M. G. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. *Journal of Biotechnology and Biodiversity*, v. 3, n. 4: p. 146-152, 2012.

PERUMALSAMY, H.; JANG, M. J.; KIM, J. R.; KADARKARAI, M.; AHN, Y. J. Larvicidal activity and possible mode of action of four flavonoids and two fatty acids identified in *Millettia pinnata* seed toward three mosquito species. *Parasites & Vectors*, v. 8, p. 2-14, 2015.

PERUZZO, F. M. (Tito).; CANTO, E. L. Química na Abordagem do Cotidiano. São Paulo: Moderna, v.1, 2006.

PRICE, K.E.; BROADWATER, S.J.; JUNG, H.M.; MCQUADE, D.T. Baylis–Hillman mechanism: A new Interpretation in aprotic solvents. *Organic Letters*, n. 7, p. 147–150, 2005.

PRICE, K.E.; BROADWATER, S.J.; WALKER, B.J.; MCQUADE, D.T. A new interpretation of the Baylis–Hillman mechanism. *Journal of Organic Chemistry*, v. 70, p. 3980–3987, 2005.

RAJKUMAR, S.; JEBANESAN, A. Bioactivity of flavonoid compounds from *Poncirus trifoliata* L. (Family: Rutaceae) against the dengue vector, *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). *Parasitology research*, n. 104, p. 19-25, 2008.

RYU, D. H.; HWANG, G. S.; KIM, K. H.; PARK, J. H.; KIM, H. J. International Patent Classification 110655 A1, 2009.

SALZBERG, S. L. C4.5: Programs for Machine Learning by J. Ross Quinlan. Morgan Kaufmann Publishers, Inc., 1993. *Machine Learning*, v. 16, p. 235-240, 1994.

SARTORATTO, A.; MACHADO, A. L. M.; DELARMELINA, C.; FIGUEIRA, G. M.; DUARTE, M. C. T.; REHDER, V. L. G. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 35, p. 275-280, 2004.

SARTORI, L. R.; FERREIRA, M. S.; PERAZZO, F. F.; LIMA, L. M.; CARVALHO, J. C. T. Atividade antiinflamatória do granulado de *Calendula officinalis* L. e *Matricaria recutita*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 13, n. 1, p. 17-19, 2003.

SECA, A. M. L.; SILVA, A. M. S.; SILVESTRE, A. J. D.; CAVALEIRO, J. A. S.; DOMINGUES, F. M. J.; NETO, C. P. Lignanamides and other constituents from the bark of kenaf (*Hibiscus cannabinus*). *Phytochemistry*, v. 58, p. 1219-1223, 2001.

SHEEHAN, J.; CRUICKSHANK, P. A. Notes- A Convenient Synthesis of Water-Soluble Carbodiimides. *The Journal of Organic Chemistry*, n. 26, p. 2525–2528, 1961.

SHEEHAN, J. C.; HESS, G. P. A New Method of Forming Peptide Bonds. *Journal of the American Chemical Society*, v. 77, p. 1067–1068, 1955.

SILVA, D. A.; COSTA, D. A.; SOUZA, M. F.V.; AGRA, M. F.; MEDEIROS, I. A.; BARBOSA-FILHO, J. M.; BRAZ-FILHO, R. Flavonóides glicosilados de *Herissantia tiubae* (K. Schum) Brizicky (Malvaceae) e testes farmacológicos preliminares do canferol 3,7-di-O-a-L-ramnopiranosídeo. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 15, n. 1, p. 23-29, 2005.

SILVA, D. A.; SILVA, T. M. S.; LINS, A. C.S.; COSTA, D. A.; CAVALCANTE, J. M. S.; MATIAS, W. N.; SOUZA, M. F. V.; BRAZ-FILHO, R. Constituintes Químicos e Atividade Antioxidante de *Sida galheirensis* Ulbr. (Malvaceae). *Química Nova*, v. 29, n. 6, p. 1250-1256, 2006.

SILVEIRA, G. P. C.; COELHO, F. Enantioselective synthesis of 2-ethyl-2,3-dihydrobenzofuran carboxylic acid, direct precursor of (+)-efaroxan, from a Baylis-Hillman adduct. *Tetrahedron Letters*, v. 46, p. 6477-6481, 2005.

SILVERSTEIN, R. M., WEBSTER, F. X. Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos, 7ª. ed. LTC Livros Técnicos e Científicos, Rio de Janeiro, 2007.

SINGH, D.; SINGH, V. S. Isolation and Characterization of Flavonoids in *Urena lobata* Leaves. *European Journal of Medicinal Plants*, v. 11, n. 1, p. 1-6, 2016.

SREEVANI, R.; MANJULA, A.; RAO, B. V. J. A solvent-free protocol for one pot conversion of Baylis Hillman acetates to pyridopyrimidinones. *Heterocyclic Chemistry*, v.48, n.3, p. 586-591, 2011.

STORK, G.; TAKAHASHI, T.; KAWAMOTO, I.; SUZUKI, T.; Total synthesis of prostaglandin F2 α by Chirality Transfer from D-glucose. *Journal of the American Chemical Society*, v. 100, n. 26, p. 8272-8273, 1978.

TALETE srl. *Dragon* (Software for Molecular Descriptor Calculation). Version 7 Beta, Milano 2016.

TAVARES, L. C. QSAR: a Abordagem de Hansch. *Química Nova*, n. 27, p. 631-639, 2004.

TELES, Y. C. F.; GOMES, R. A.; OLIVEIRA, M. S.; LUCENA, K. L.; NASCIMENTO, J. S.; AGRA, M. F.; IGOLI, J. O.; GRAY, A. I.; SOUZA, M. F. V. Phytochemical investigation of *Wissadula periplocifolia* (L.) C. Presl and evaluation of its antibacterial activity. *Química Nova*, v. 37 n. 9, 2014.

TELES, Y. C. F.; CHAVES, O.S.; AGRA, M. F.; BATISTA, L. M.; QUEIROZ, A.C.; ARAÚJO, M. V.; ALEXANDRE-MOREIRA, M.S.; BRAZ-FILHO, R.; SOUZA, M. F. V.. Chemical Constituents From *Sidastrum paniculatum* (L.) Fryxell (Malvaceae) and Evaluation of their Leishmanicidal Activity. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 25, n. 4, 2015A.

TELES, Y. C.; HORTA, C. C.; AGRA, M. F.; SIHERI W.; BOYD, M.; IGOLI, J.O.; GRAY, A. I.; SOUZA, M. F. V. New Sulphated Flavonoids from *Wissadula periplocifolia* (L.) C. Presl (Malvaceae). *Molecules*, v. 20, n. 11, p. 20161-72, 2015A.

TELES, Y. C.; RIBEIRO-FILHO, J., BOZZA, P. T., AGRA, M. F., SIHERI, W., IGOLI, J. O., GRAY, A. I., SOUZA, Ma.F. V. Phenolic constituents from *Wissadula periplocifolia* (L.) C. Presl. and anti-inflammatory activity of 7,4'-di-O-methylisoscutearein. *Natural Product Research*, v. 30, n. 16, p. 1880-188, 2015B.

THE PLANT LIST, 2013. Version 1.1. Disponível em: <http://www.theplantlist.org/>. Acessado em: 20 de novembro de 2017

THOMSEN, R.; CHRISTENSEN, M. H. MolDock: a new technique for high-accuracy molecular docking. *Journal of Medicinal Chemistry*, v. 49, p. 3315–3321, 2006.

THOUNAOJAM, M. C.; JADEJA R. N.; ANSARULLAH, D. R. V.; RAMACHANDRAN, A.V. Dysregulation of lipid and cholesterol metabolism in high fat diet fed hyperlipidemic rats: Protective effect of *Sida rhomboidea*. Roxb leaf extract. *Journal Health Science*, v. 55, p. 413–420, 2009.

THOUNAOJAM, M. C.; JADEJA, R. N.; ANSARULLAH, D. R. V.; RAMACHANDRAN, A. V. Prevention of high fat diet induced insulin resistance in C57BL/6J mice by *Sida rhomboidea*. Roxb extract. Journal Health Science, v. 56, p. 92–98, 2010.

THOUNAOJAM, M. C.; JADEJA, R. N.; RAMANI, U. V., DEVKAR, R. V.; RAMACHANDRAN, A. V. *Sida rhomboidea*. Roxb Leaf Extract Down-Regulates Expression of PPAR γ 2 and Leptin Genes in High Fat Diet Fed C57BL/6J Mice and Retards in Vitro 3T3L1 Pre-Adipocyte Differentiation. International Journal of Molecular Science, v. 12, n. 7, p. 4661-4677, 2011.

TORSSELL, K. B. G., Natural Products Chemistry, John Wiley and Sons Limited, Chichester, p. xi, 1983.

TRAZZI, G.; ANDRÉ, M. F.; COELHO, F. Diastereoselective Synthesis of β -Piperonyl- γ -Butyrolactones from Morita-Baylis-Hillman Adducts. Highly Efficient Synthesis of ($\pm$)-Yatein, ($\pm$)-Podorhizol and ($\pm$)-epi-Podorhizol. Journal of the. Brazilian Chemical. Society, v. 21, n. 12, p. 2327-2339, 2010.

TRIANSTIS, T.; STELAKIS, A.; DIMOTIKALI, D.; PAPADOPOULOS, K. Investigations on the antioxidant activity of fruit and vegetable aqueous extracts on superoxide radical anion using chemiluminescence techniques. Analytica Chimica Acta, v. 536, p. 101-105, 2005.

USBERCO J.; SALVADOR E. Química Geral, 12^a.ed., São Paulo: Saraiva, 2006.

VALEUR, E & BRADLEY, M. Amide bond formation: beyond the myth of coupling reagentes. Chemical Society Reviews, v.38, n.2, p. 606-631, 2009.

VEASEY, E. A., PIOTTO, F. A., NASCIMENTO, W. F., RODRIGUES, J. F., MEZETTE, T. F., BORGES, A., BIGUZZI, F. A., SANTOS, F. R. C., SOBIERAJSKI, G. R., RECCHIA, G. H., MISTRO, J. C. Processos evolutivos e a origem das plantas cultivadas. Ciência Rural, v. 41, n.7, p. 1218-1228, 2011.

VEIGA JR., V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. *Química Nova*, v.25, n. 3, p.429-438, 2002.

VEIGA JR., V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura? *Química Nova*, v.28, n. 3, p.519-528, 2005.

VIGORIOTO, A.; CHIATONE, C.; SOUZA, C. A. Análise do tratamento atual da leucemia mielóide crônica no Brasil: um estudo de 703 pacientes tratados com mesilato de imatinib em diversas instituições do País. In: 1º Prêmio Saúde Oncologia da América Latina, São Paulo, 2006.

WASNAIRE, P.; WIAUX, M.; TOUILLAUX, R.; MARKÓ, I. E. Reductive cyclisation of Morita–Baylis–Hillman adducts. A simple approach towards substituted hydrindanones and decalones. *Tetrahedron Letters*, v. 47, p. 985–989, 2006.

WOLDEYES, S.; ADANE, L.; TARIKU, Y.; MULETA, D.; BEGASHAW, T. Evaluation of Antibacterial Activities of Compounds Isolated From *Sida rhombifolia* Linn. (Malvaceae). *Natural Products Chemistry & Research*, 2012.

WU, J.; WU, Y.; DAI, J.; XU, H. Benzoic Acid-Catalyzed Transamidation Reactions of Carboxamides, Phthalimide, Ureas and Thioamide with Amines. *Advanced Synthesis & Catalysis*, v. 356, p. 2429-2436, 2014.

XIA, H.; QIU, F.; ZHU, S.; ZHANG, T.; QU, G.; YAO, X. Isolation and identification of ten metabolites of breviscapine in rat urine. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, v.30, p.1308-1316, 2007.

ZAMBON, S. Síntese de produtos naturais: a importância dos compostos indólicos. USP São Carlos, 2017. Disponível em:

http://www.saocarlos.usp.br/index.php?option=com_content&task=view&id=28555&Itemid=108

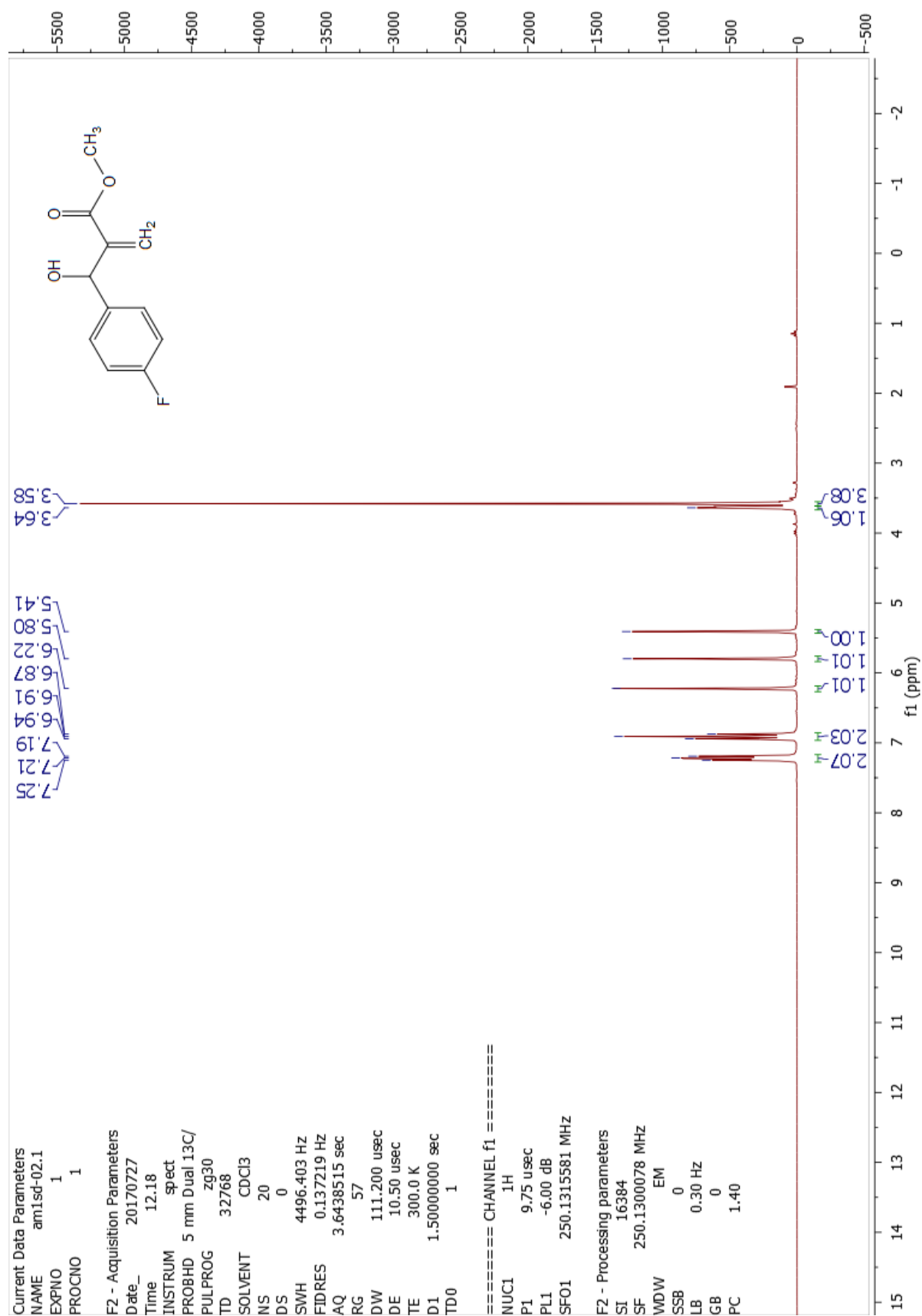
Acessado em: 16 de novembro de 2017.

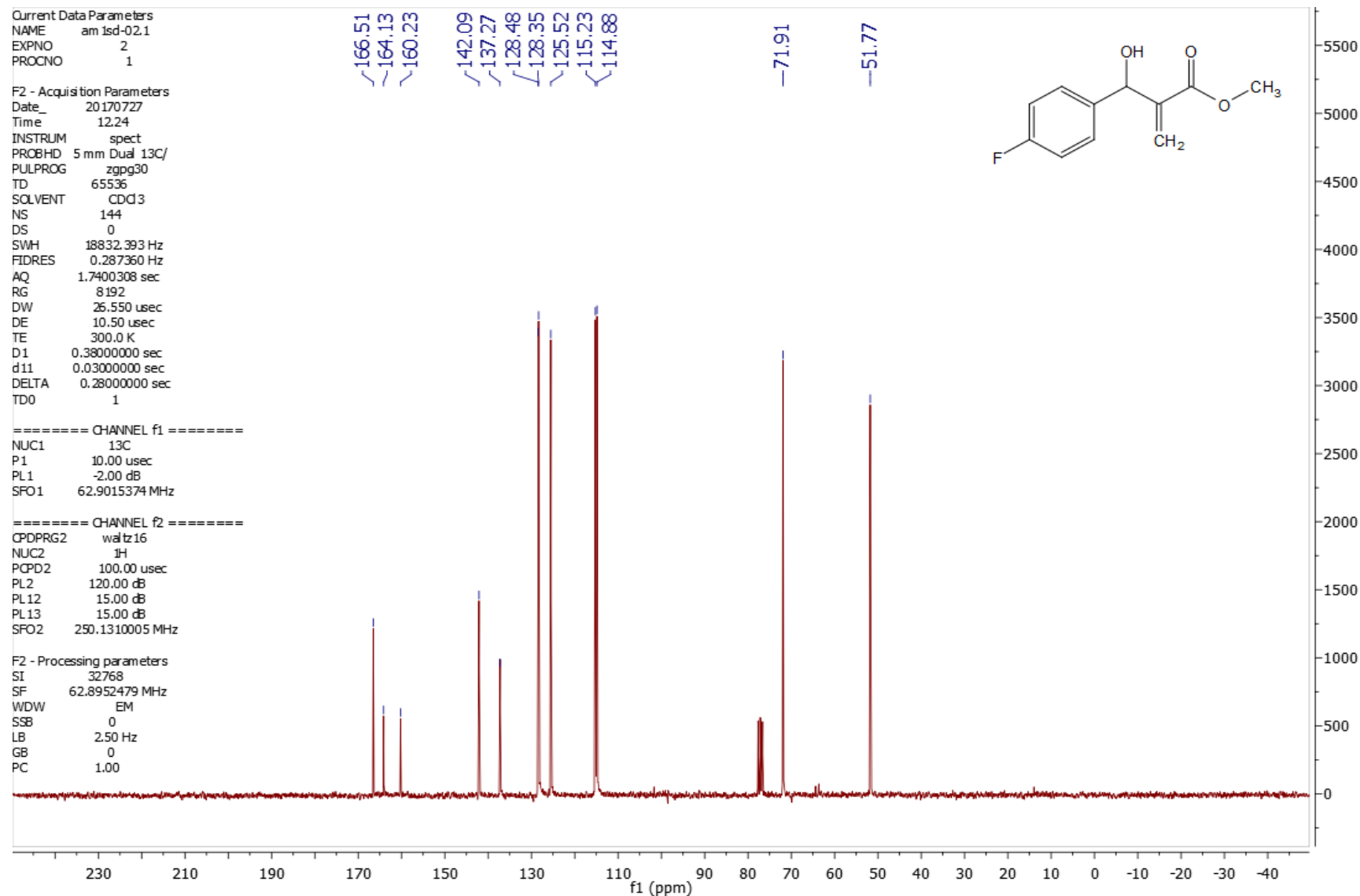
ZAPATA, M. Las amidas: Beneficios y riesgos para nuestra salud. Químicaencasa.com, 2016. Disponível em: <http://www.quimicaencasa.com/las-amidas-beneficios-riesgos-nuestra-salud/> Acessado em: 21 de novembro de 2017.

ZHANG, S.; GOLBRAIKH, A.; OLOFF, S.; KOHN, H.; TROPSHA, J. A. A Novel Automated Lazy Learning QSAR (ALL-QSAR) Approach: Method Development, Applications, and Virtual Screening of Chemical Databases Using Validated ALL-QSAR Models. Journal of Chemical Information and Modeling, v. 46, p. 1984–1995, 2006.

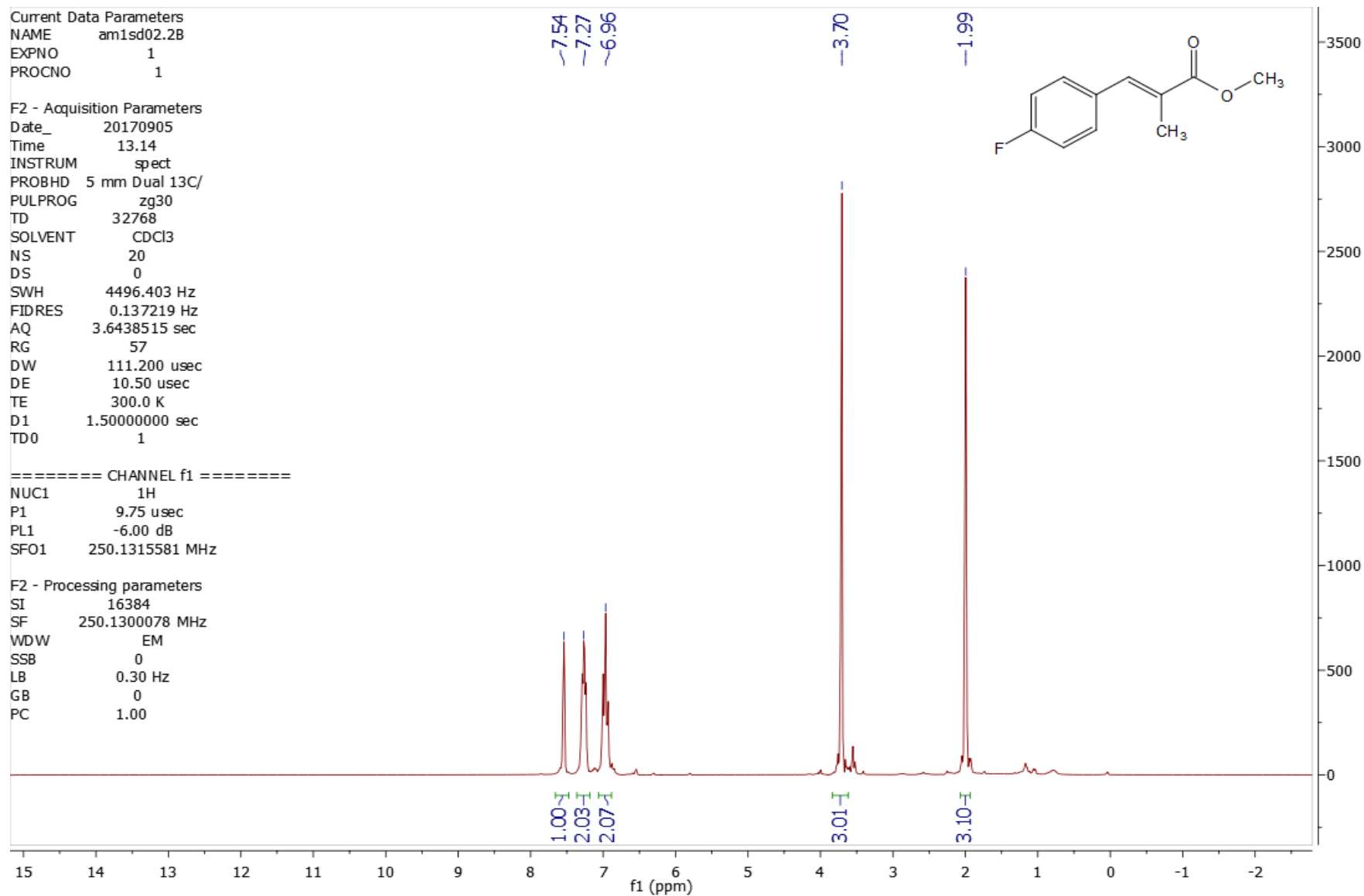
YUNES, R. A.; PEDROSA, R. C.; e CECHINEL FILHO, V. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. Química Nova, v.24, n.1, p. 147-152, 2001.

ANEXOS

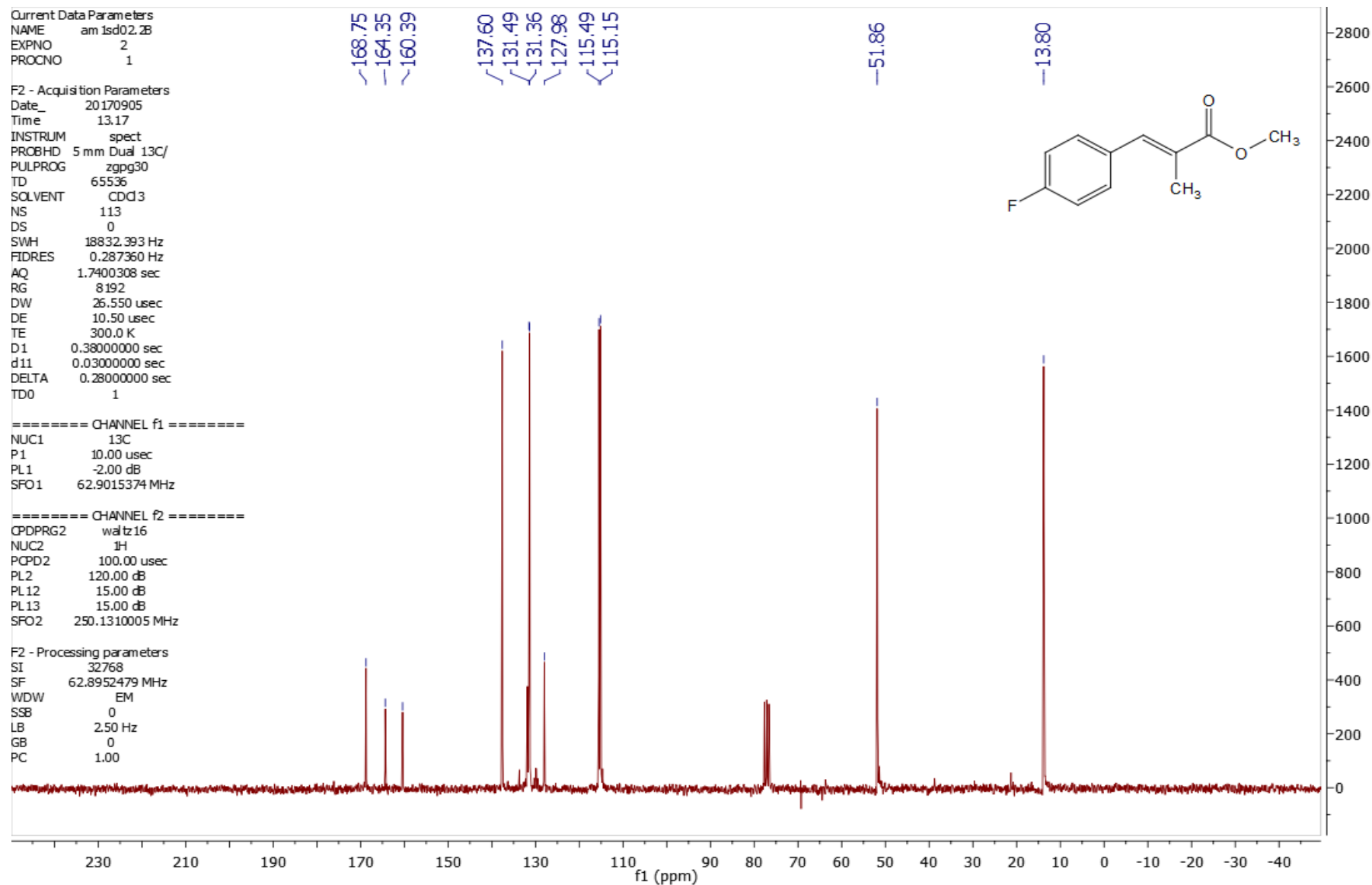
Anexo 01. Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 250 MHz) do aduto 2a.



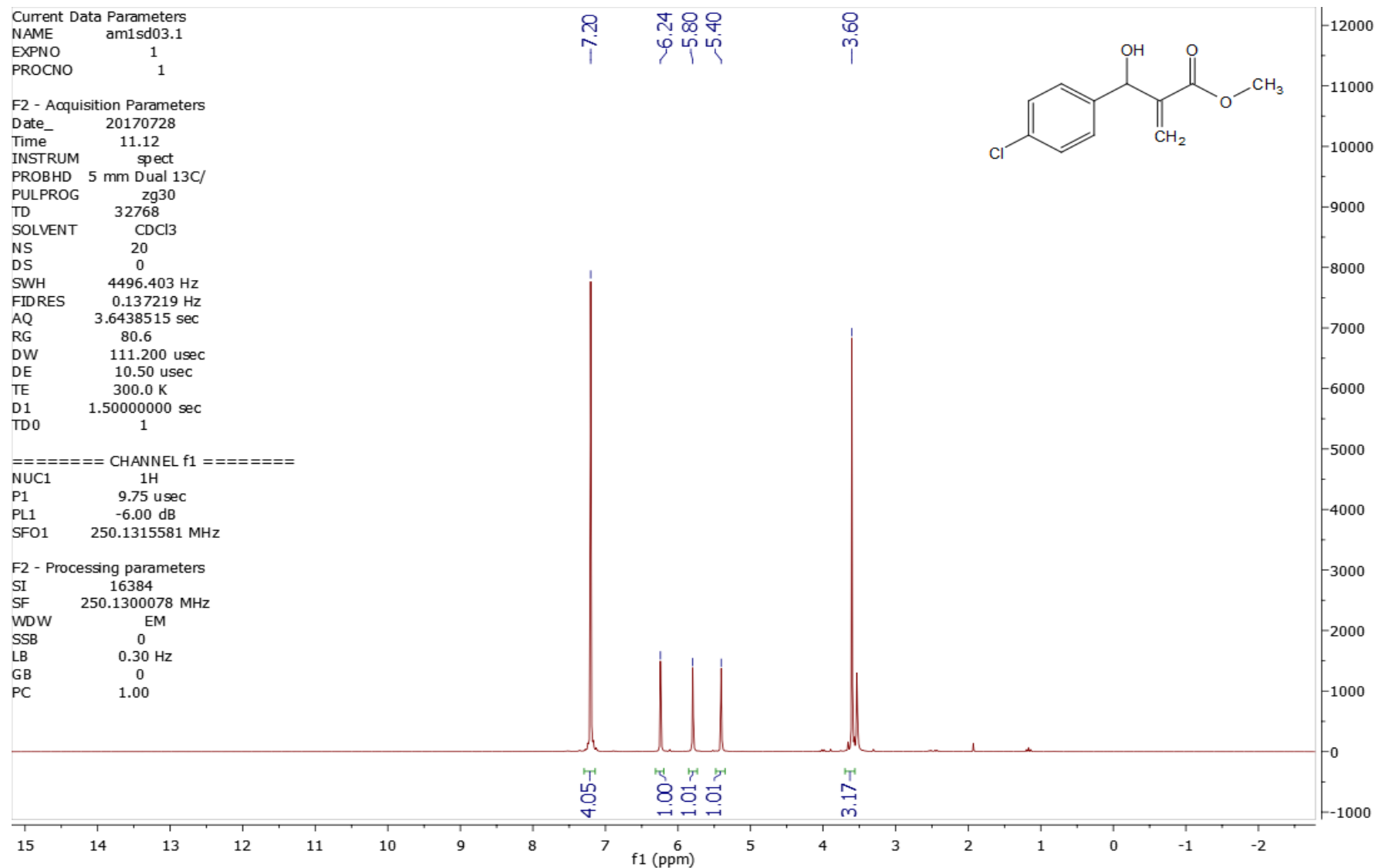
Anexo 02. Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 62,5 MHz) do aduto 2a.



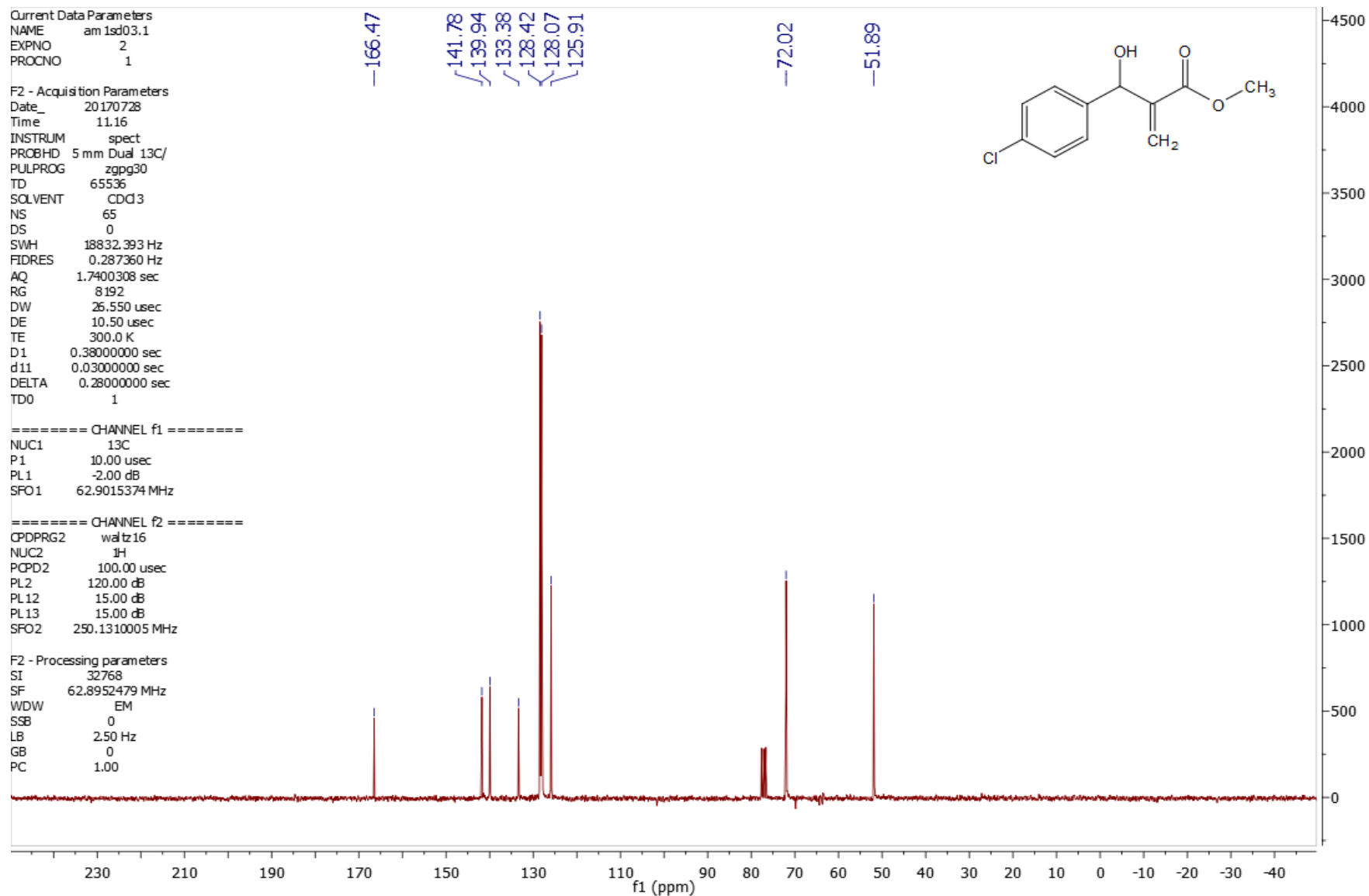
Anexo 03. Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 250 MHz) do éster **6a**.



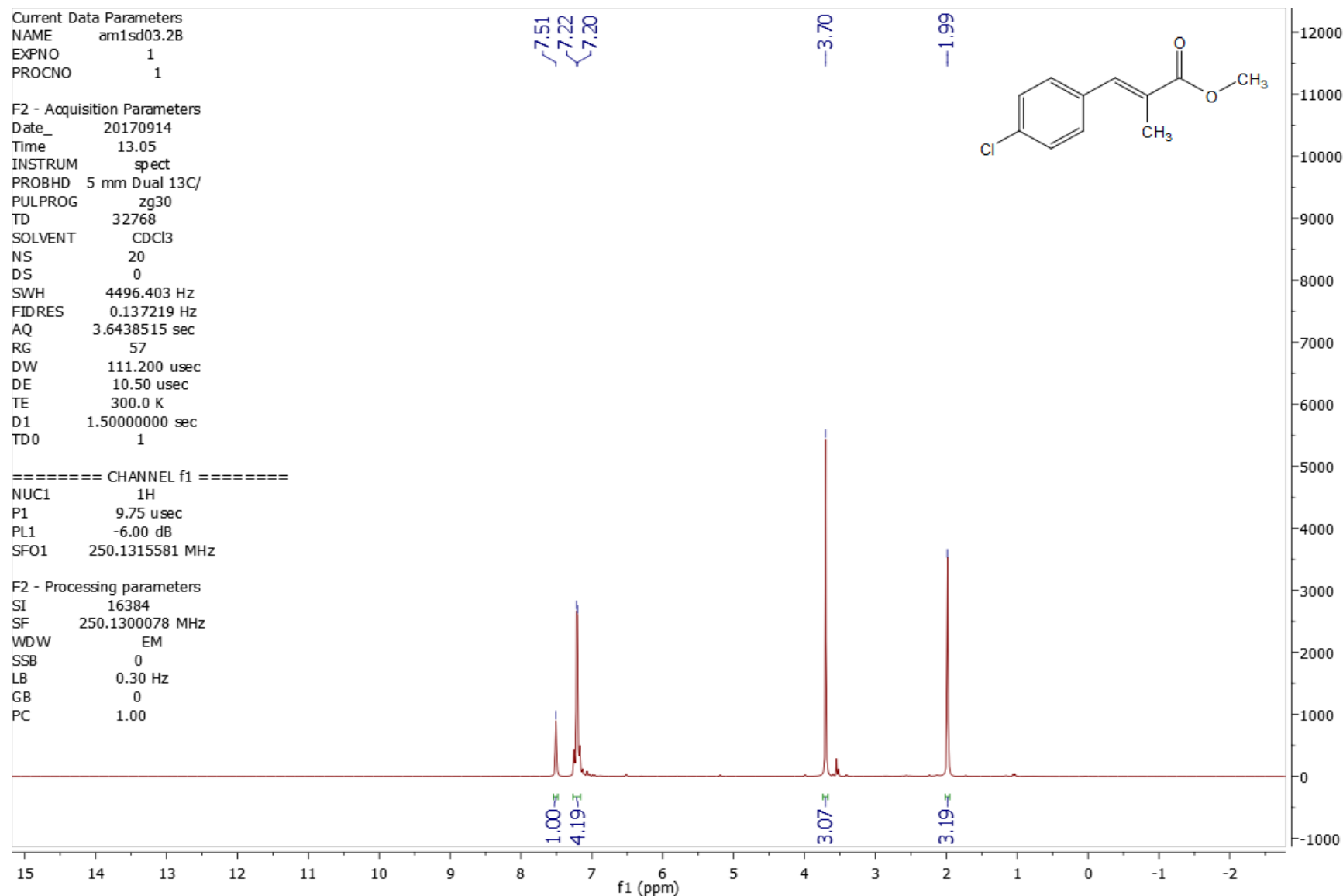
Anexo 04. Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 62,5 MHz) do éster **6a**.



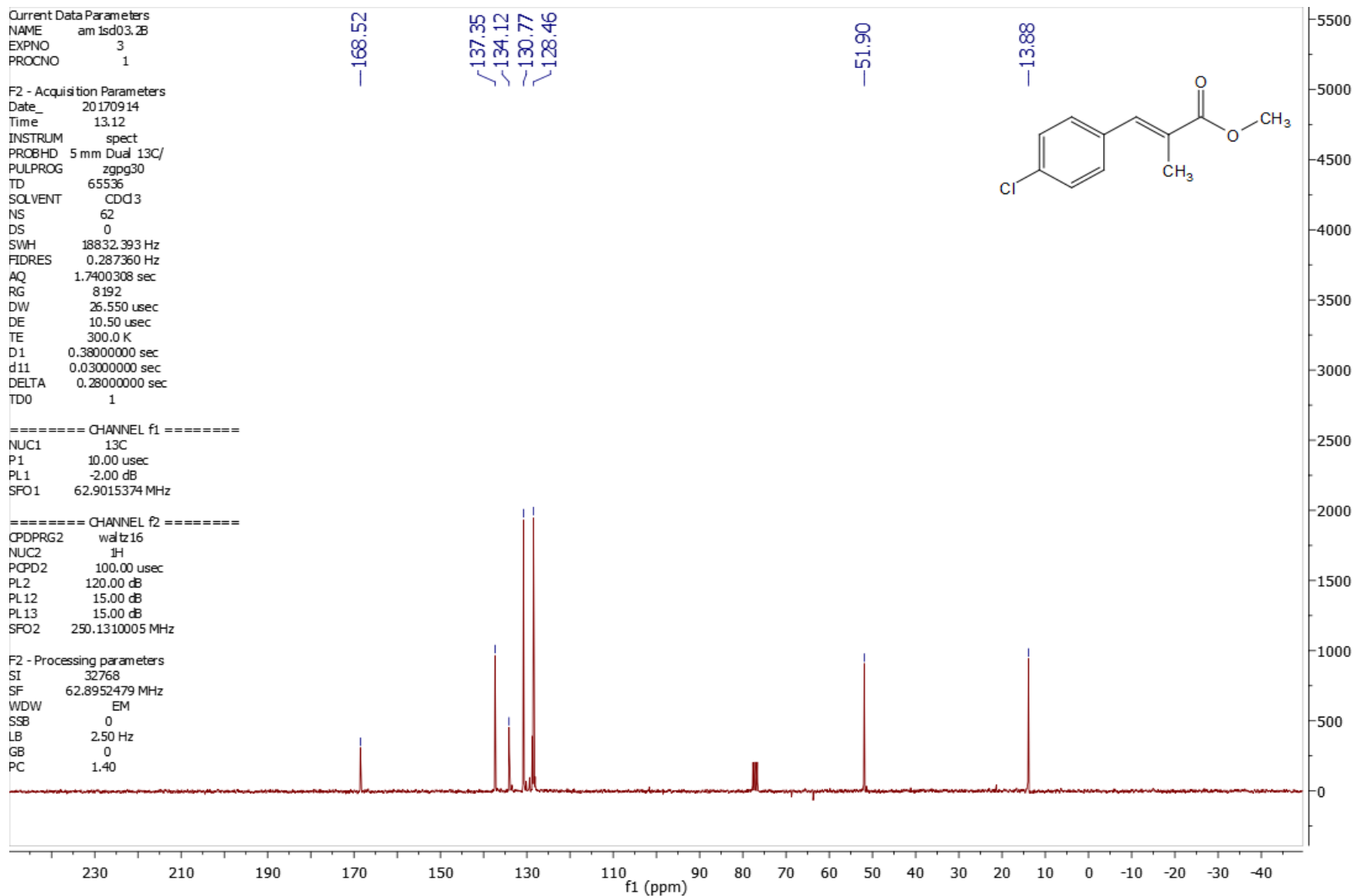
Anexo 05. Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 250 MHz) do aduto **2b**.



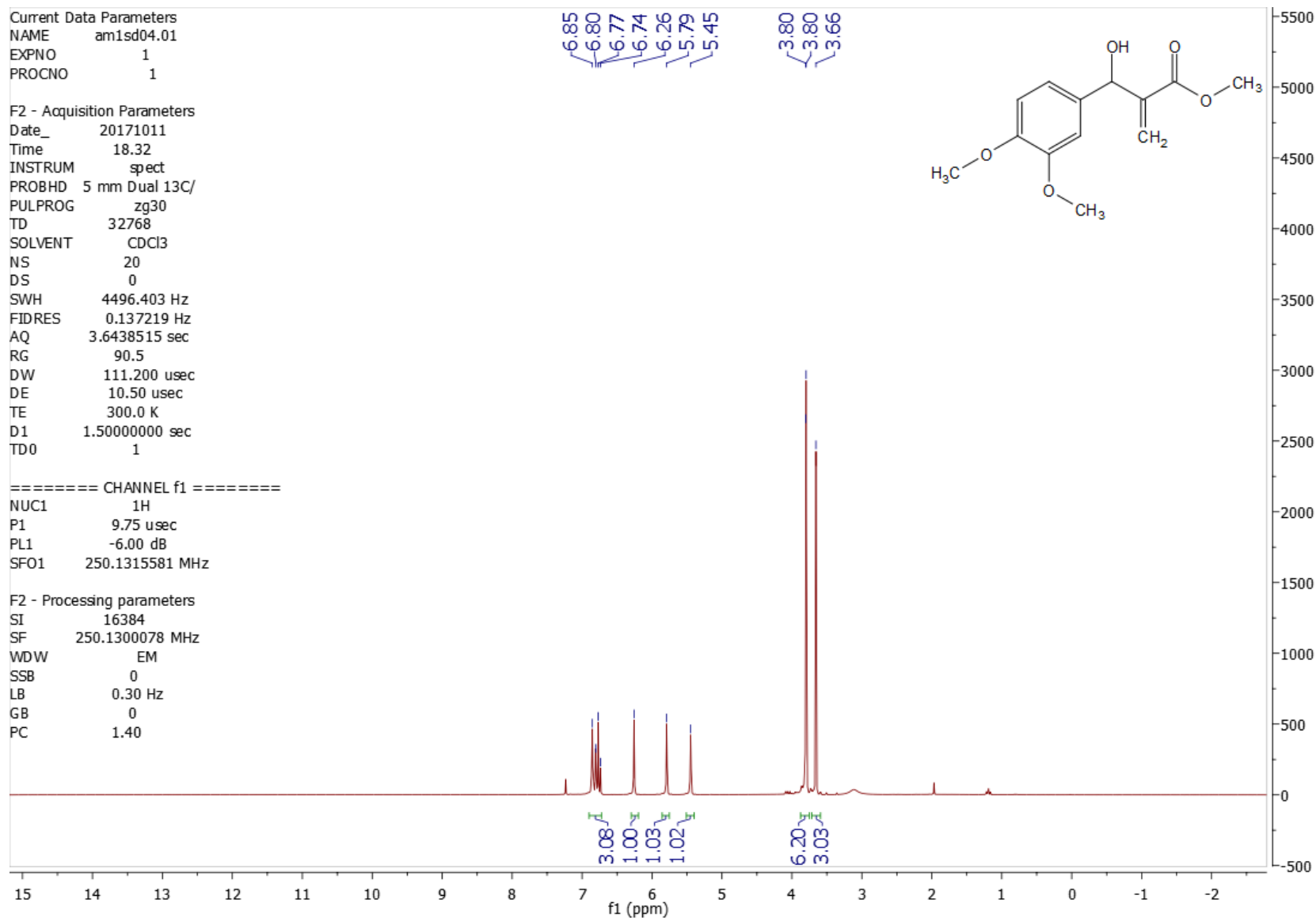
Anexo 06. Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 62,5 MHz) do aduto 2b.



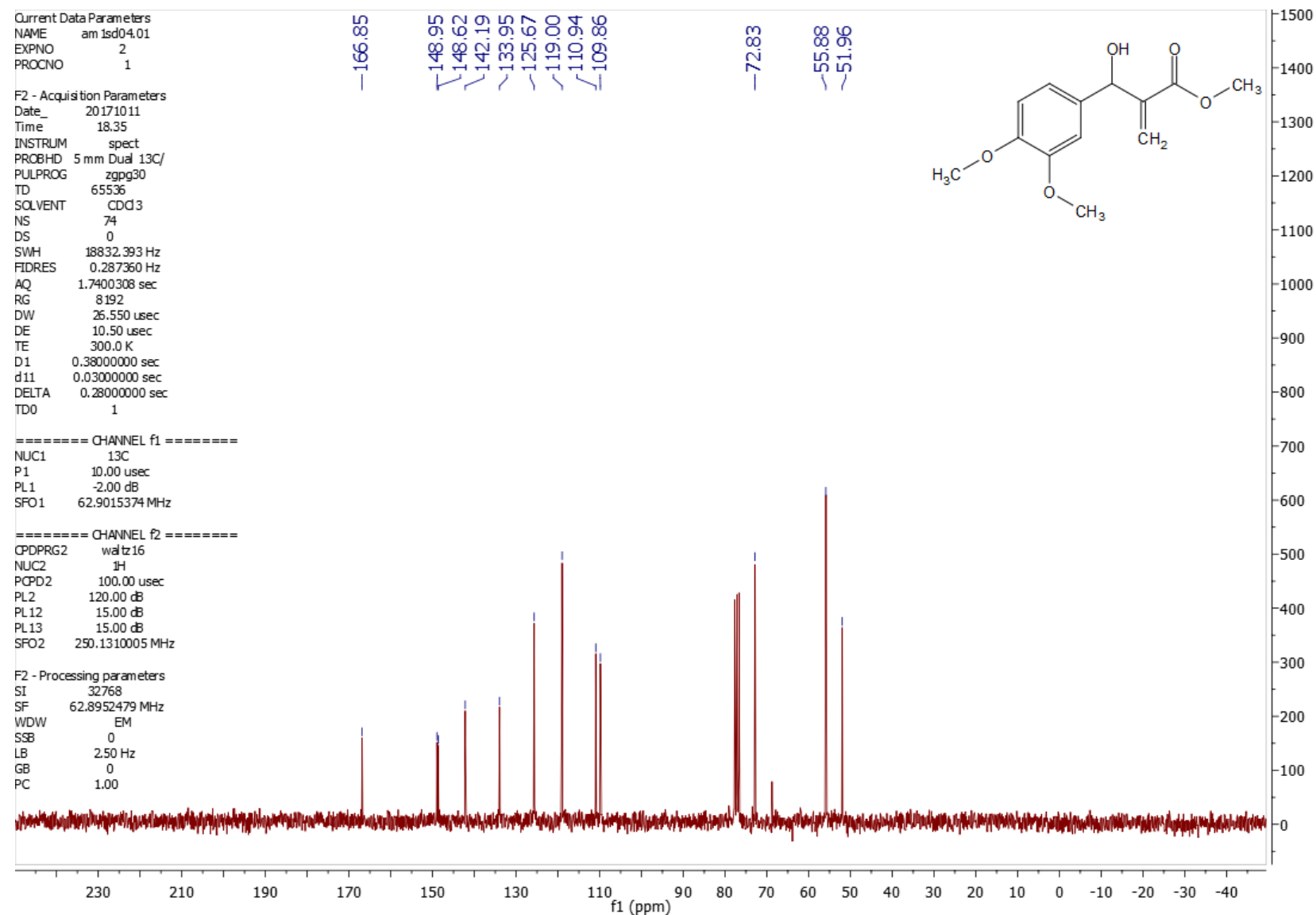
Anexo 07. Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 250 MHz) do éster **6b**.



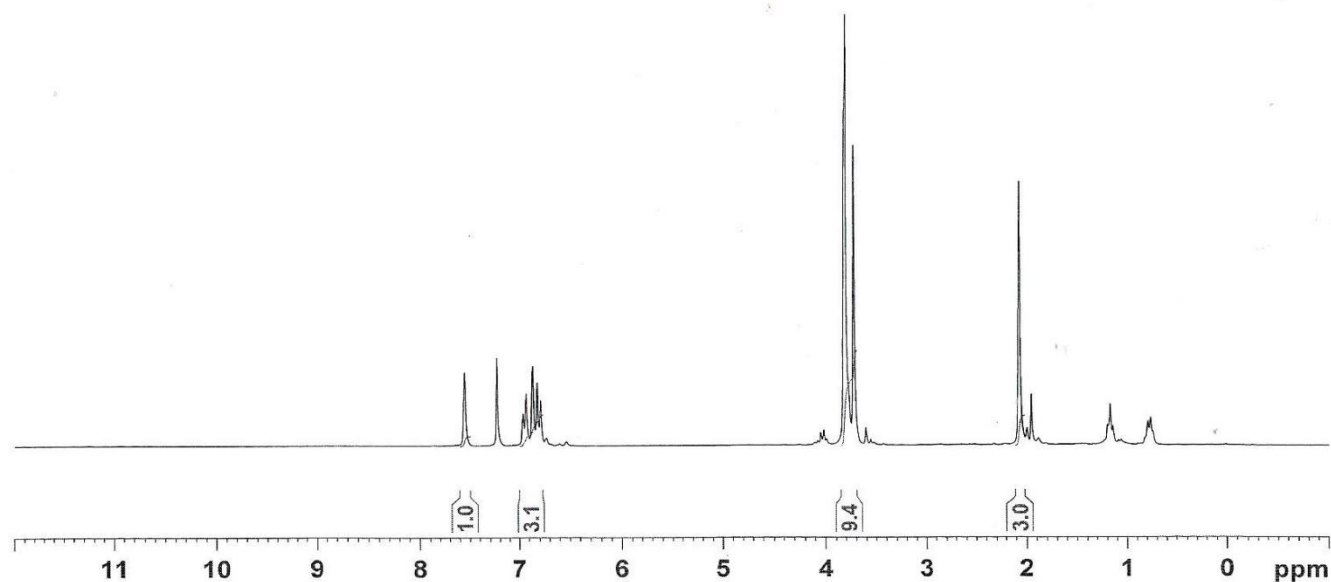
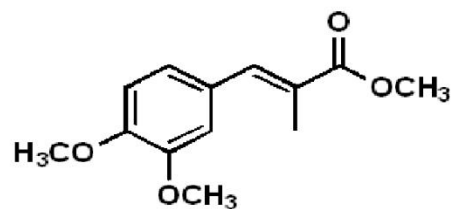
Anexo 08. Espectro de RMN ¹³C (δ, CDCl₃, 62,5 MHz) do éster **6b**.



Anexo 09. Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 250 MHz) do aduto **2c**.



Anexo 10. Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 62,5 MHz) do aduto 2c.



```

Current Data Parameters
NAME      amlsd04.2B
EXPNO     1
PROCNO    1

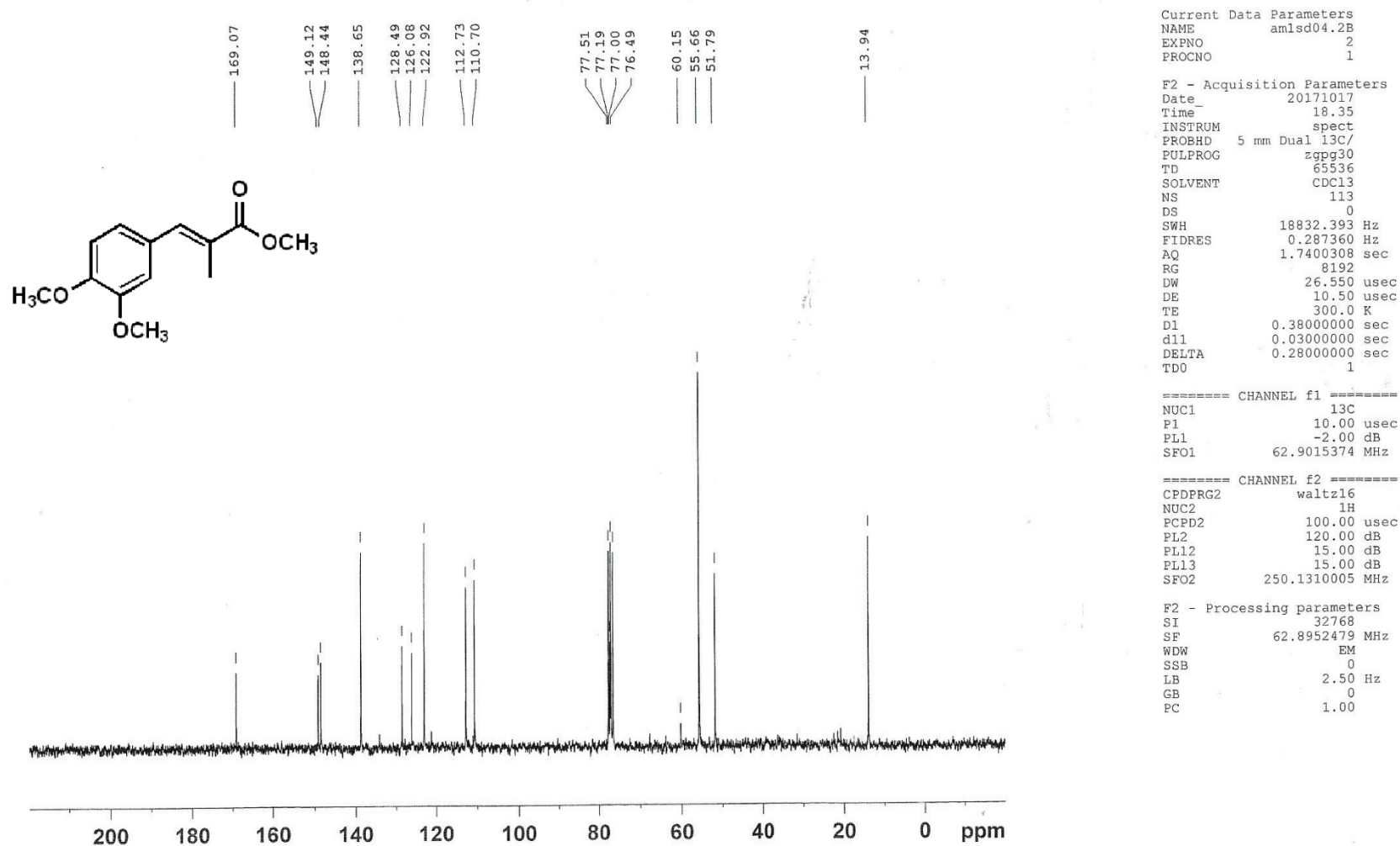
F2 - Acquisition Parameters
Date_     20171017
Time      18.30
INSTRUM   spect
PROBHD    5 mm Dual 13C/
PULPROG   zg30
TD        32768
SOLVENT   CDCl3
NS         20
DS         0
SWH        4496.403 Hz
FIDRES     0.137219 Hz
AQ         3.6438515 sec
RG         71.8
DW         111.200 usec
DE         10.50 usec
TE         300.0 K
D1         1.50000000 sec
TD0        1

===== CHANNEL f1 =====
NUC1       1H
P1         9.75 usec
PL1        -6.00 dB
SFO1       250.1315581 MHz

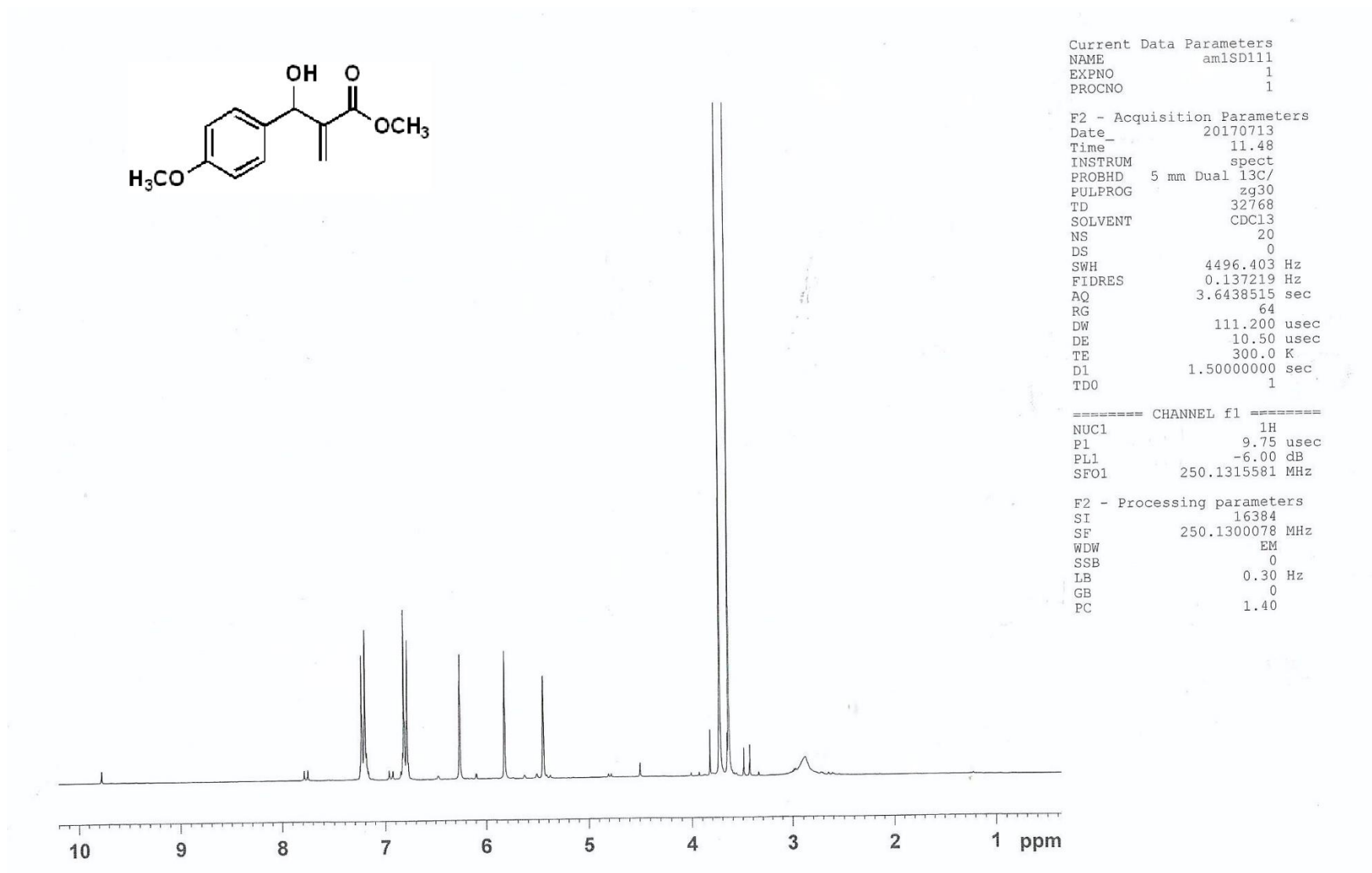
F2 - Processing parameters
SI         16384
SF         250.1300078 MHz
WDW        EM
SSB        0
LB         0.30 Hz
GB         0
PC         1.40

```

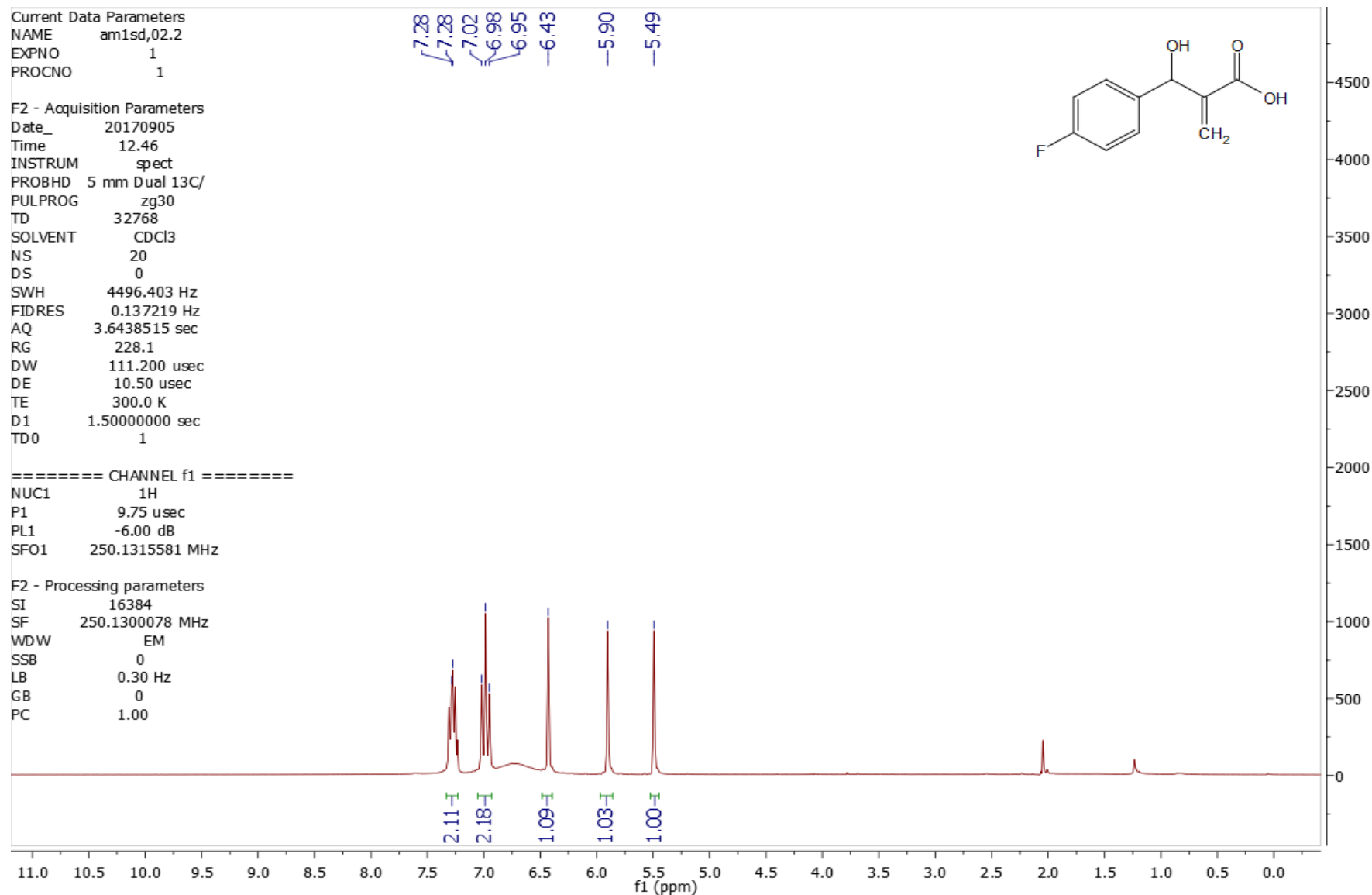
Anexo 11. Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 250 MHz) do éster **6c**.



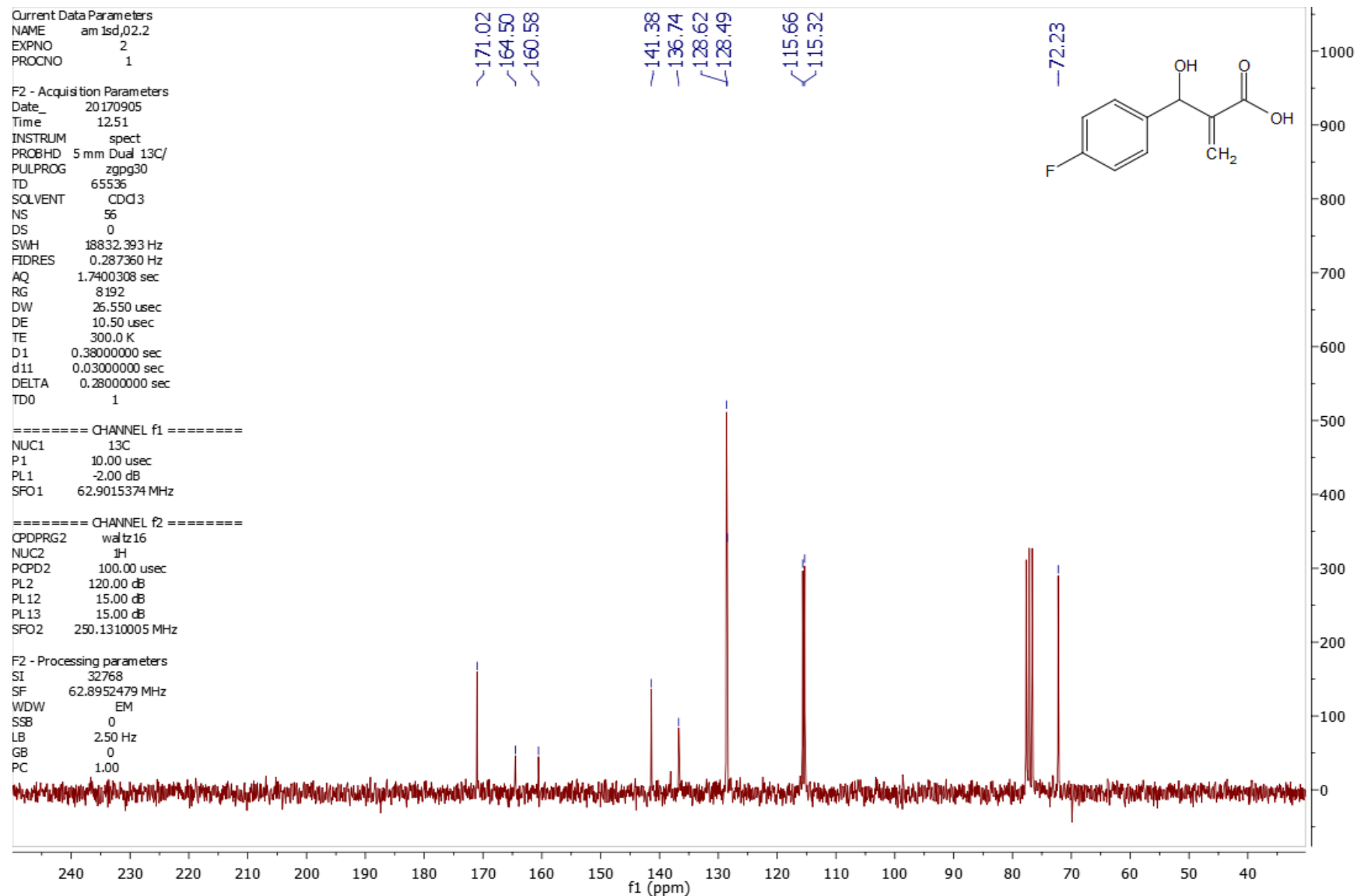
Anexo 12. Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 62,5 MHz) do éster **6c**.



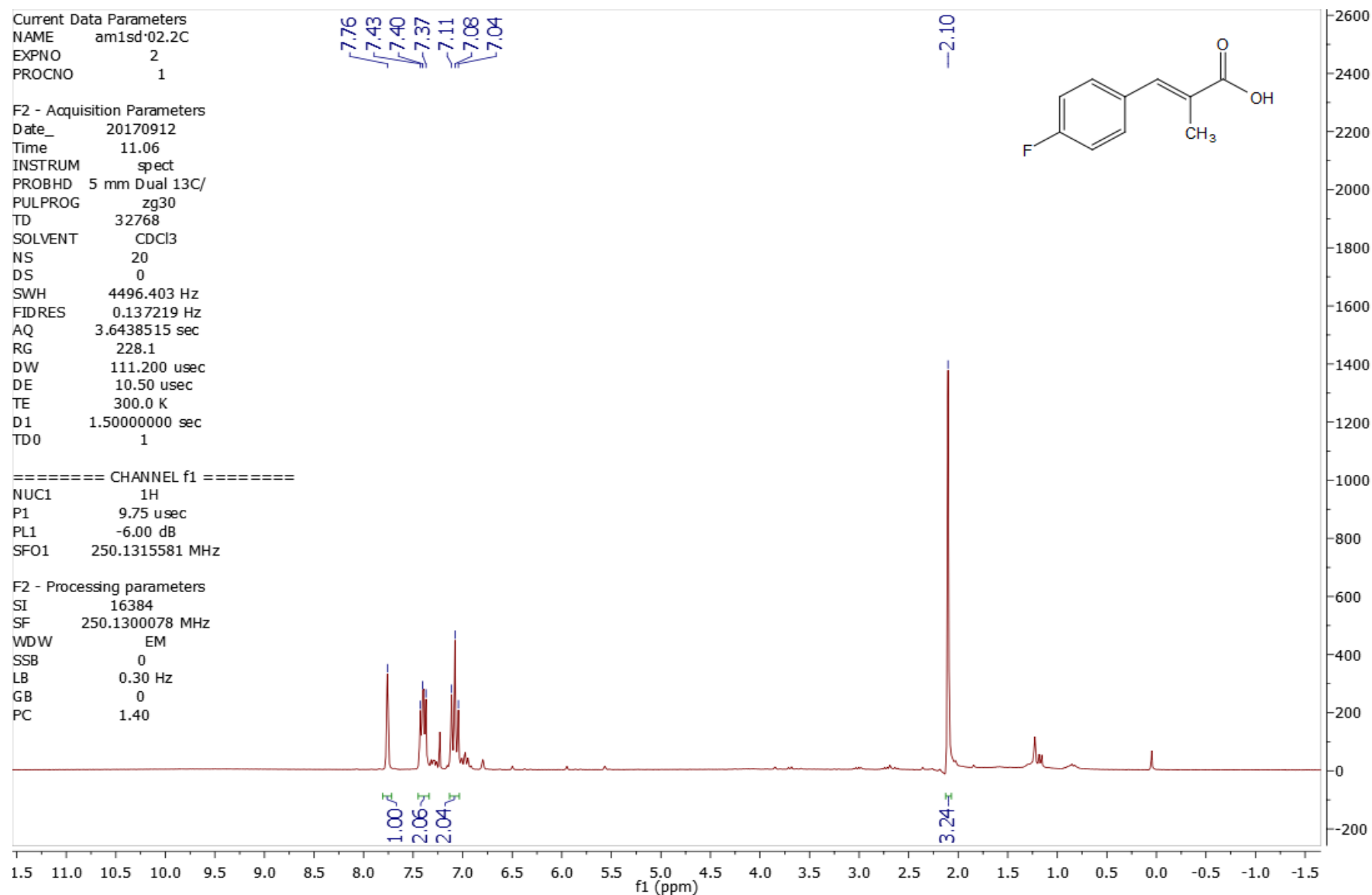
Anexo 13. Espectro de RMN ¹H (δ, CDCl₃, 250 MHz) do aduto **2d**.



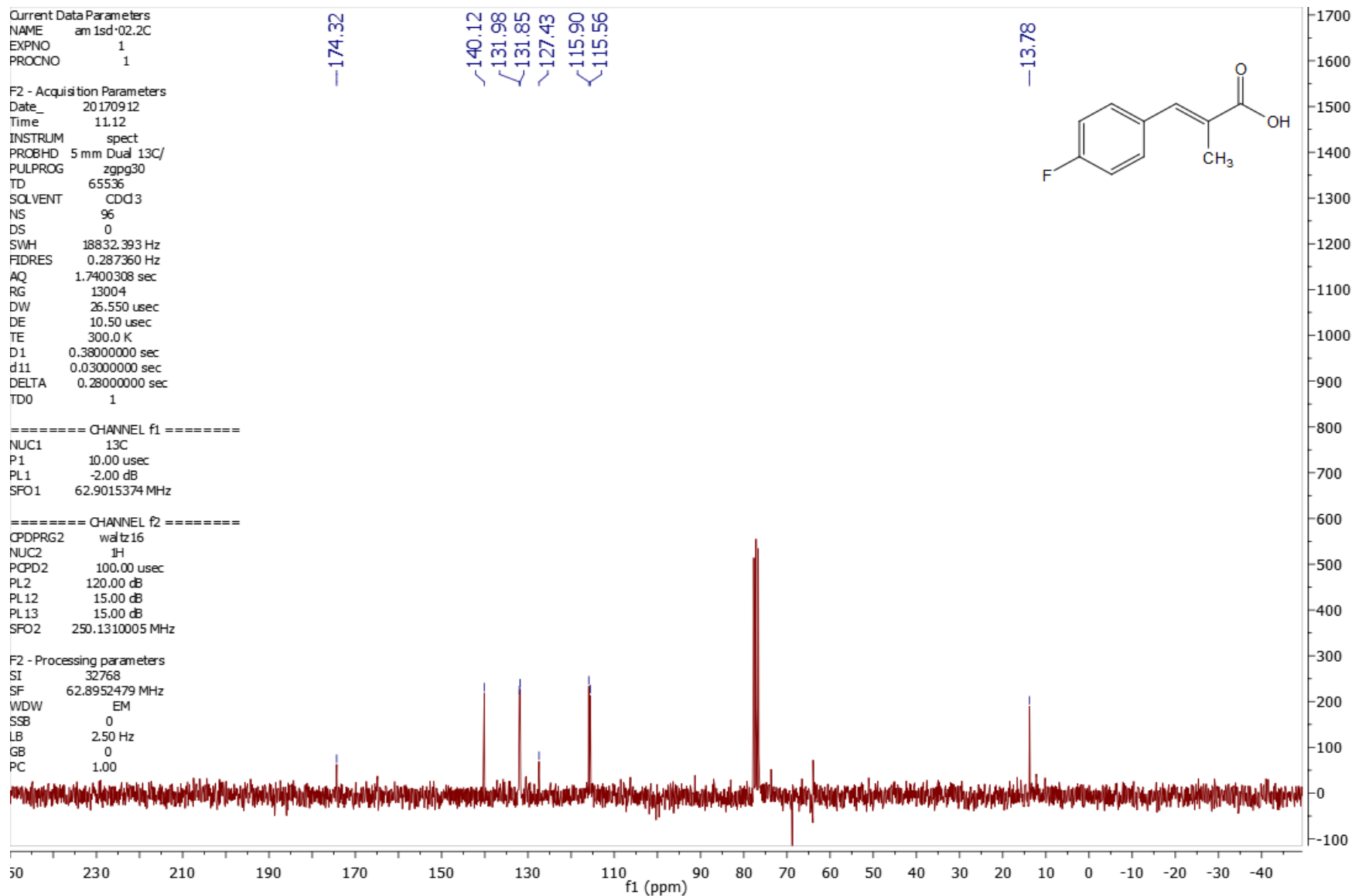
Anexo 14. Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 250 MHz) do ácido **3a**.



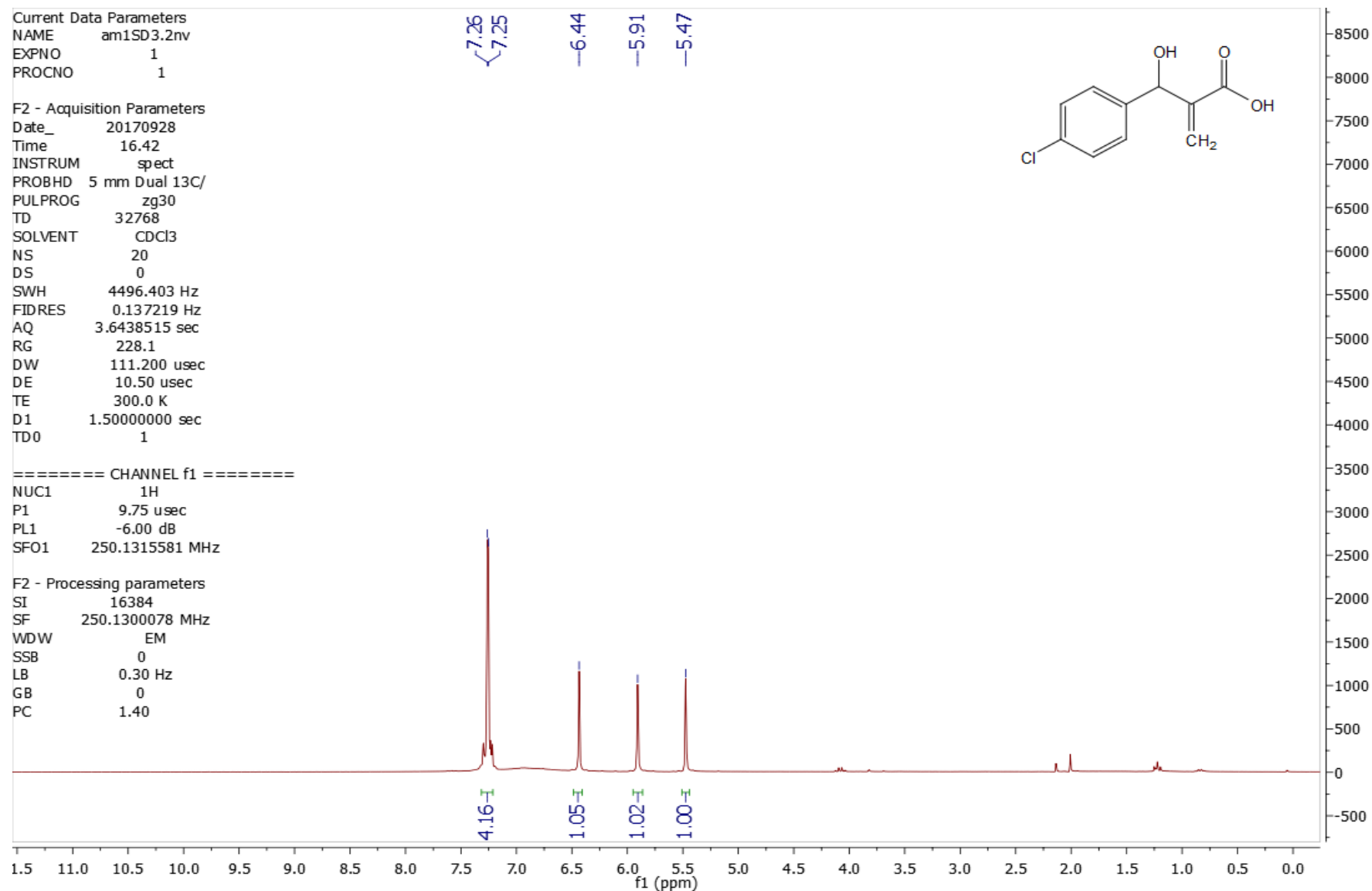
Anexo 15. Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 62,5 MHz) do ácido 3a.



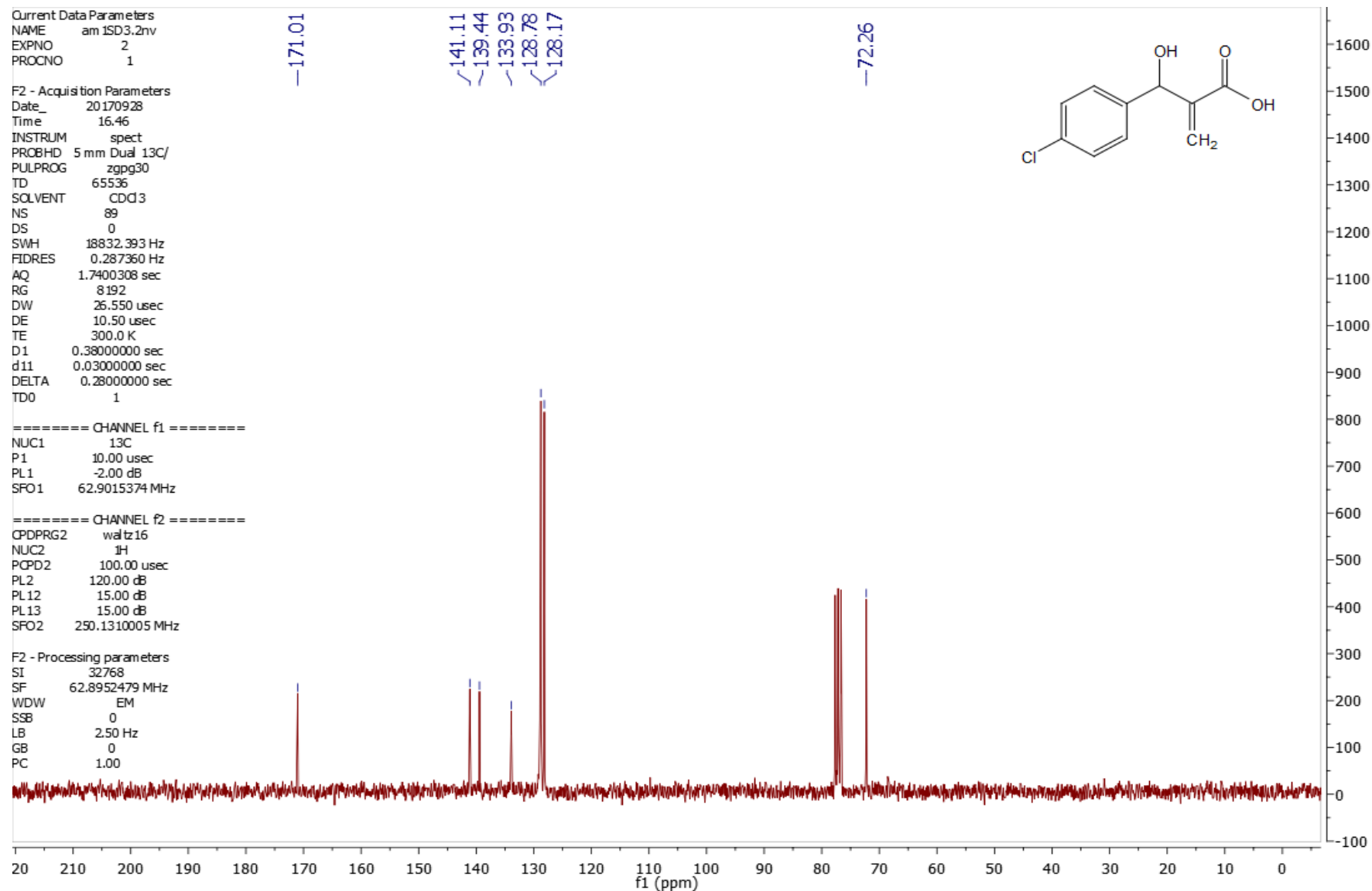
Anexo 16. Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 250 MHz) do ácido 7a.



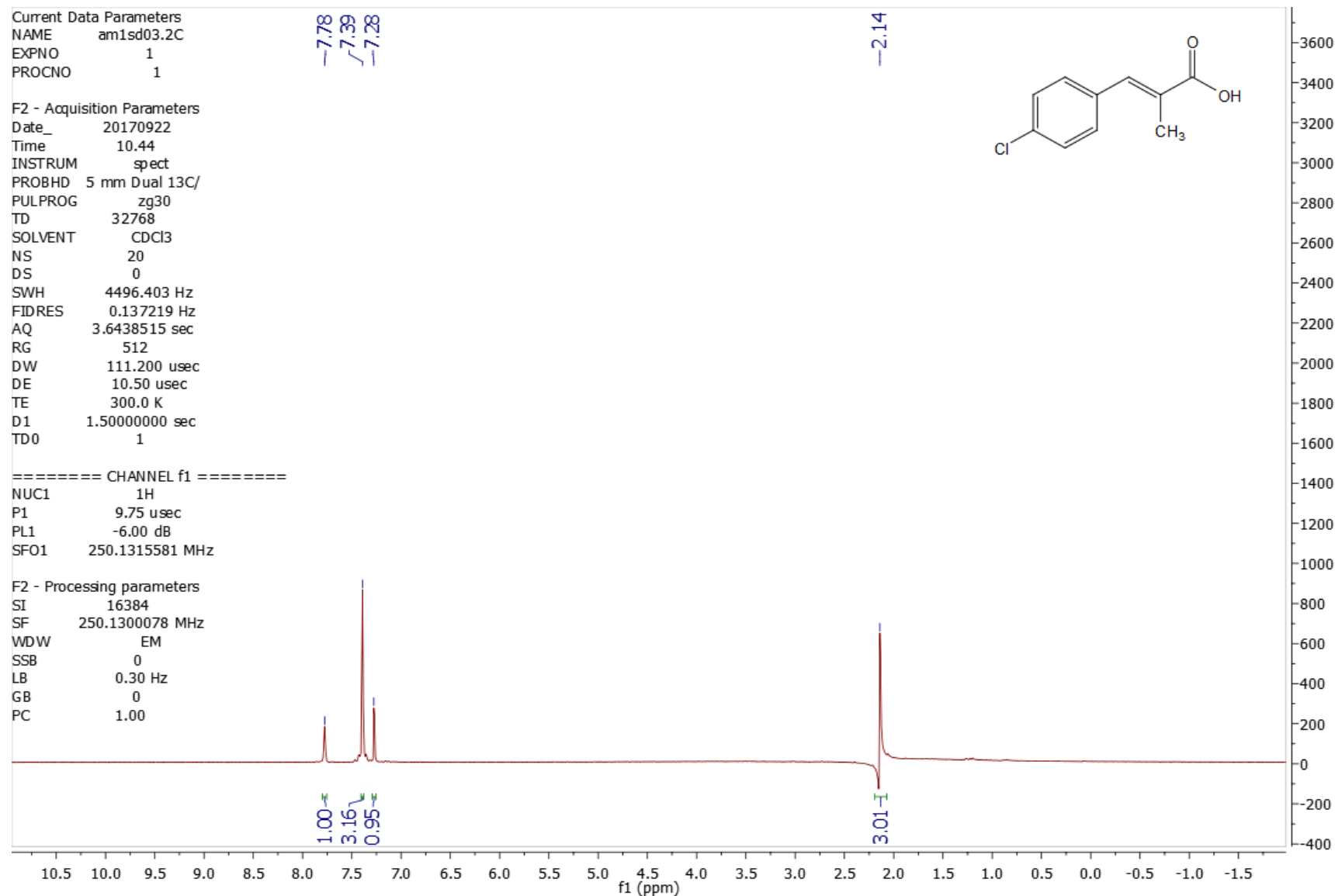
Anexo 17. Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 62,5 MHz) do ácido 7a.



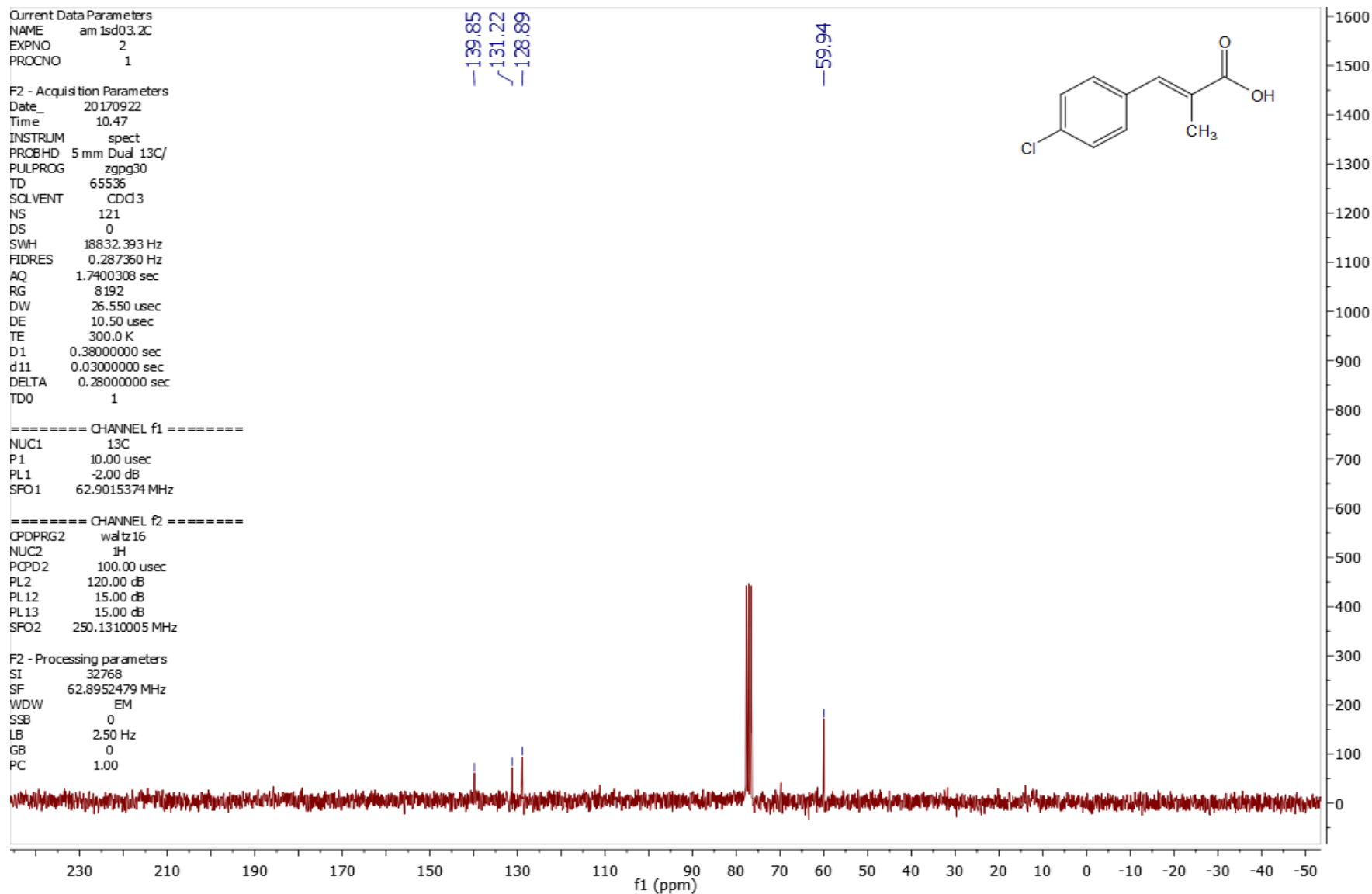
Anexo 18. Espectro de RMN ¹H (δ, CDCl₃, 250 MHz) do ácido 3b.



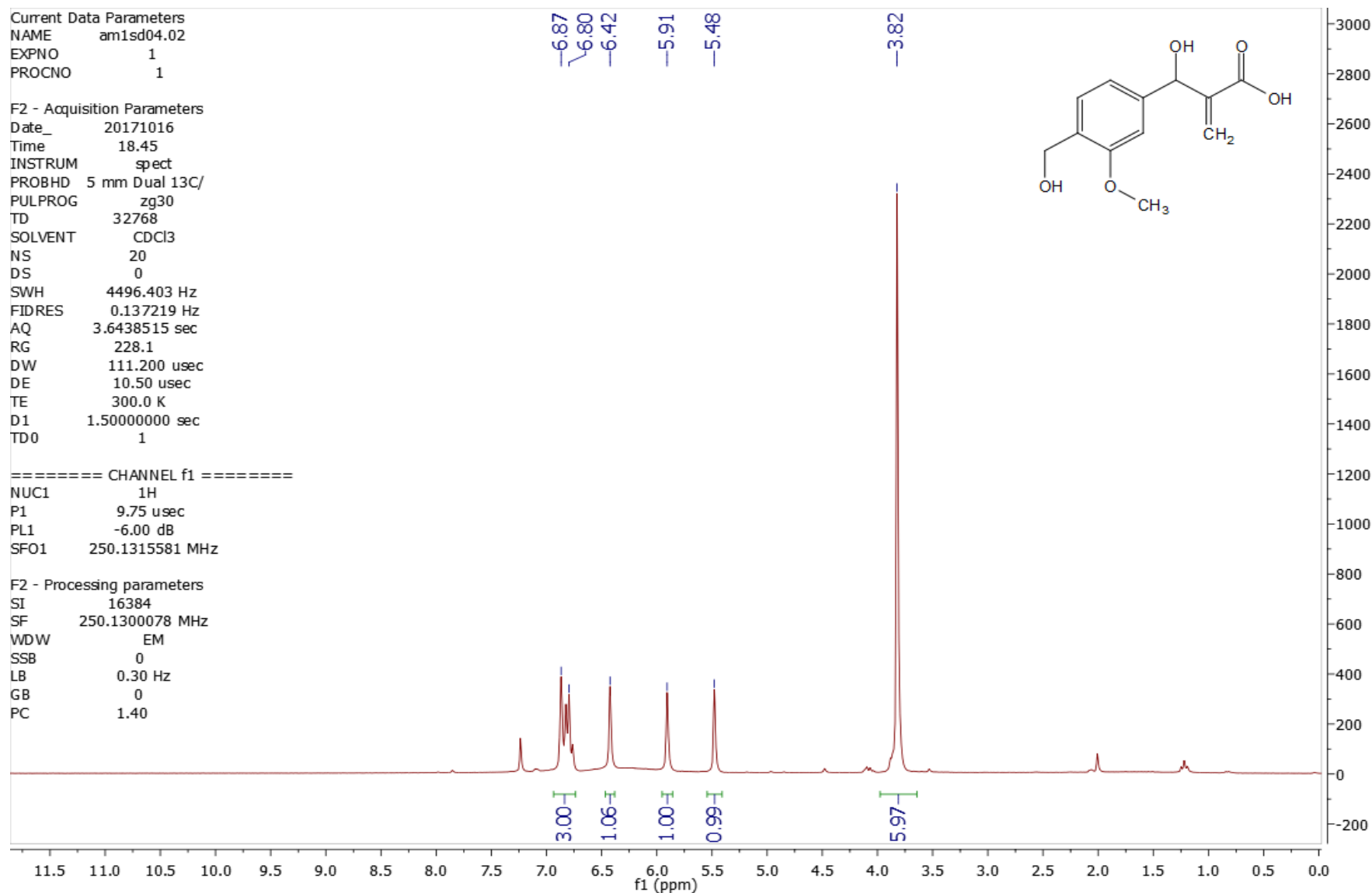
Anexo 19. Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 62,5 MHz) do ácido 3b.



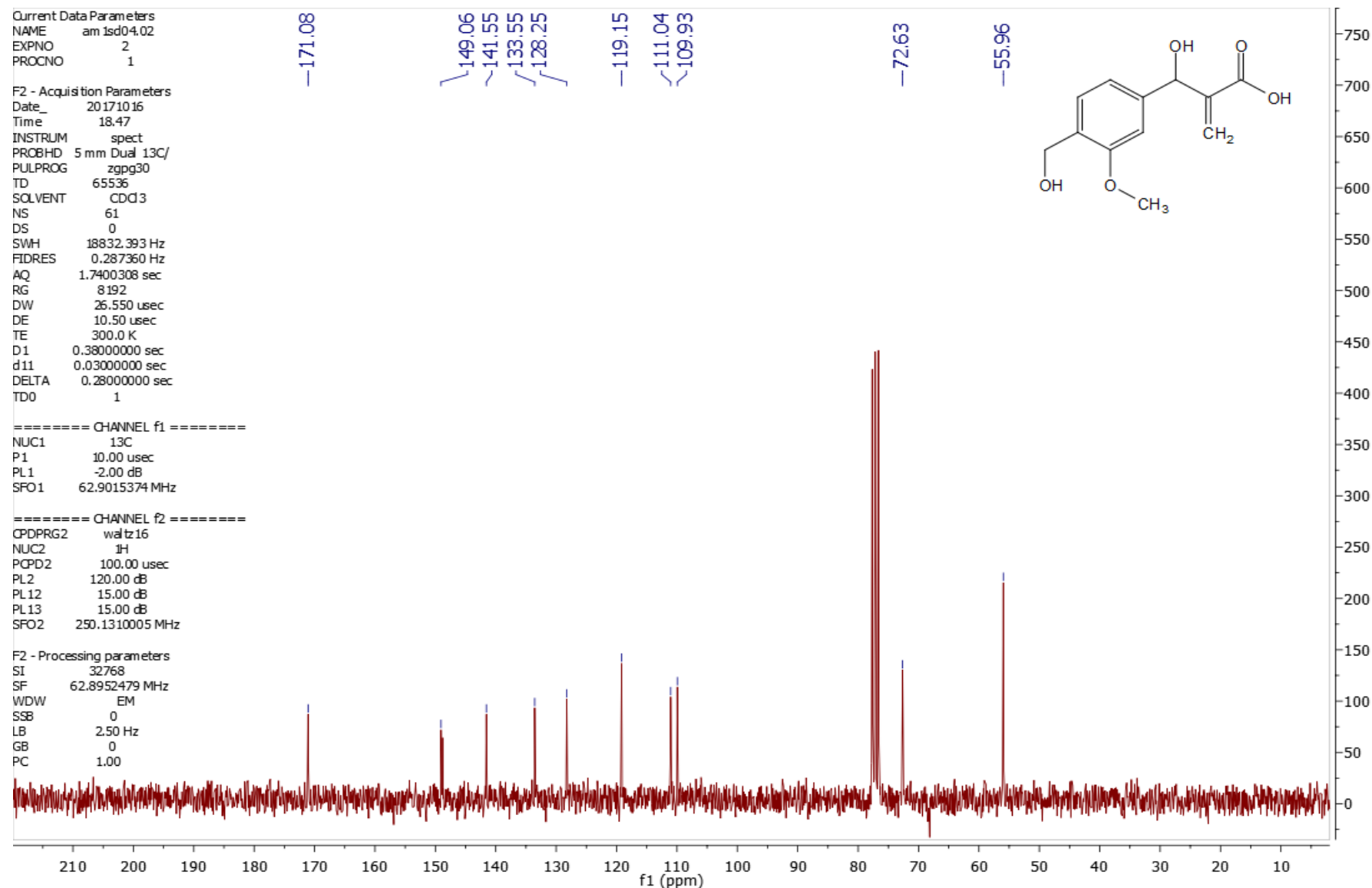
Anexo 20. Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 250 MHz) do ácido **7b**.



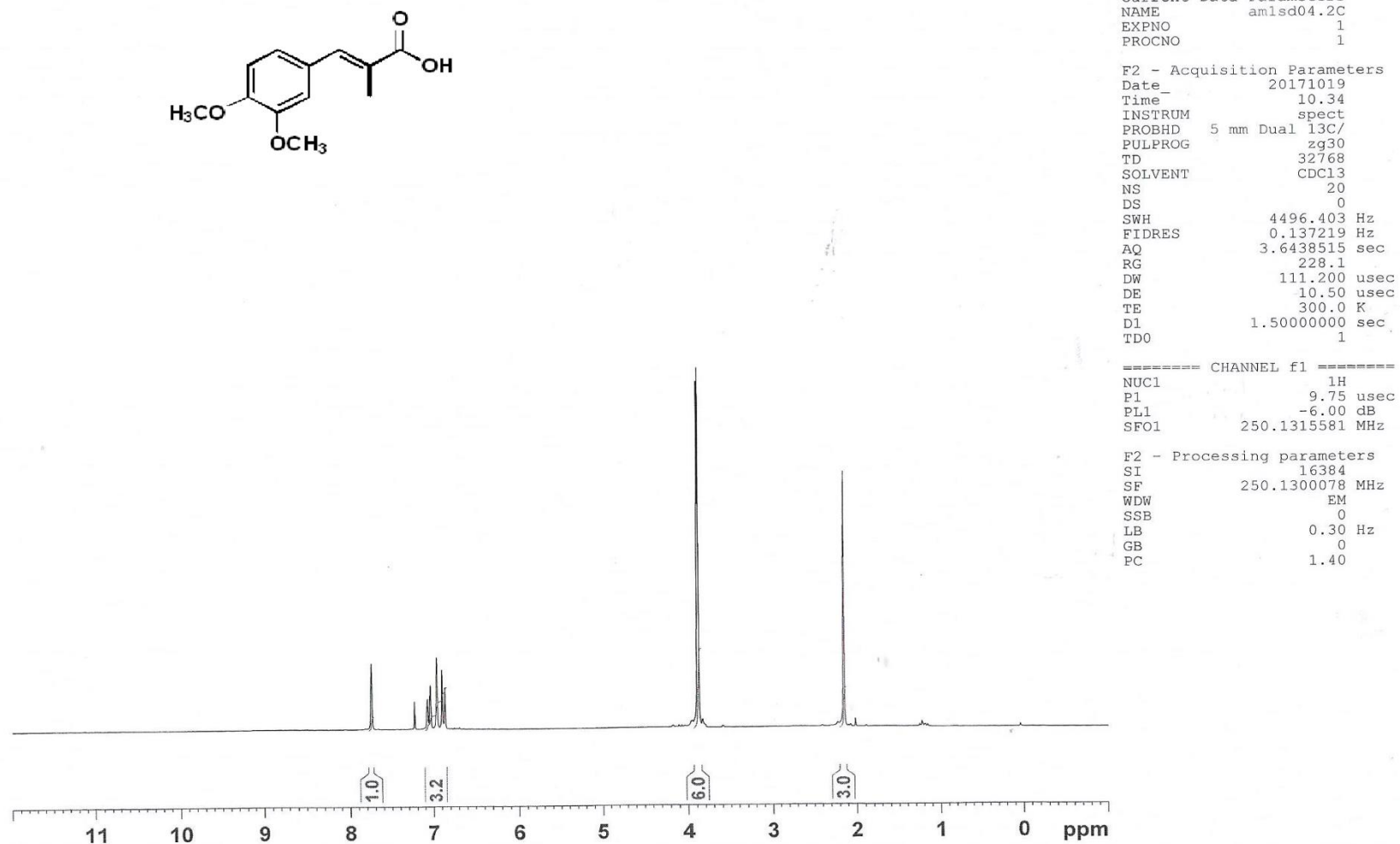
Anexo 21. Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 62,5 MHz) do ácido **7b**.



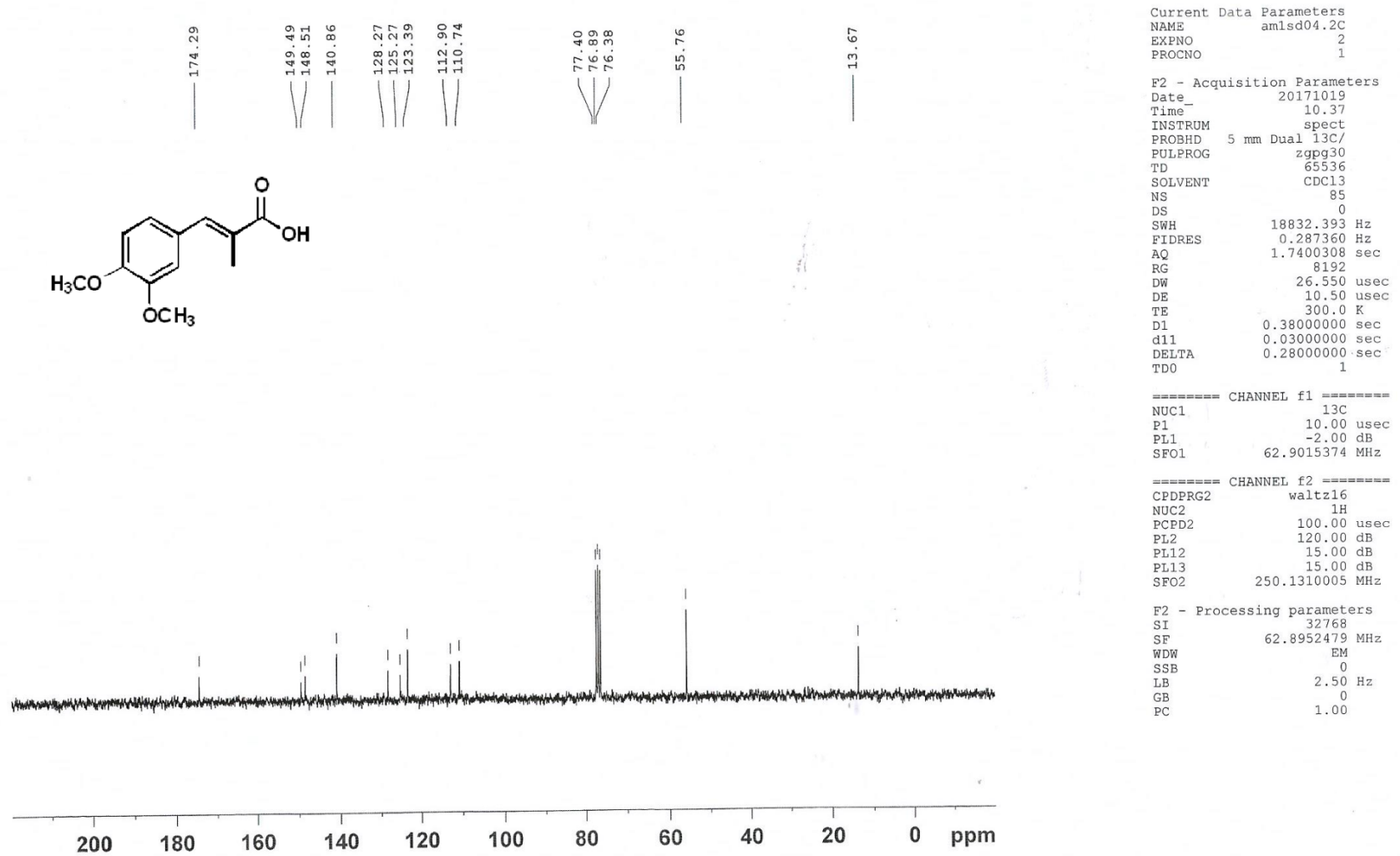
Anexo 22. Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 250 MHz) do ácido 3c.



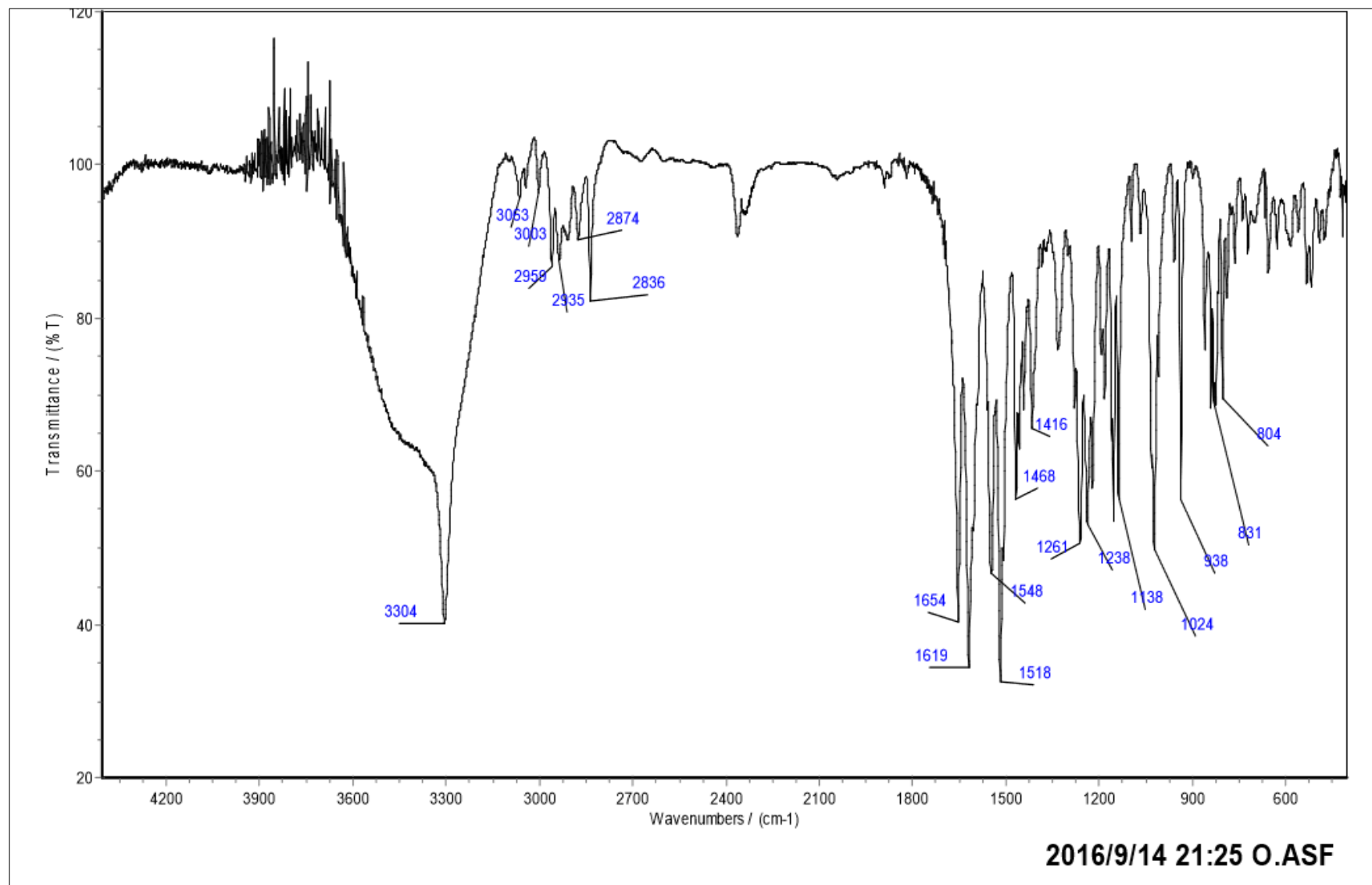
Anexo 23. Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 62,5 MHz) do ácido 3c.



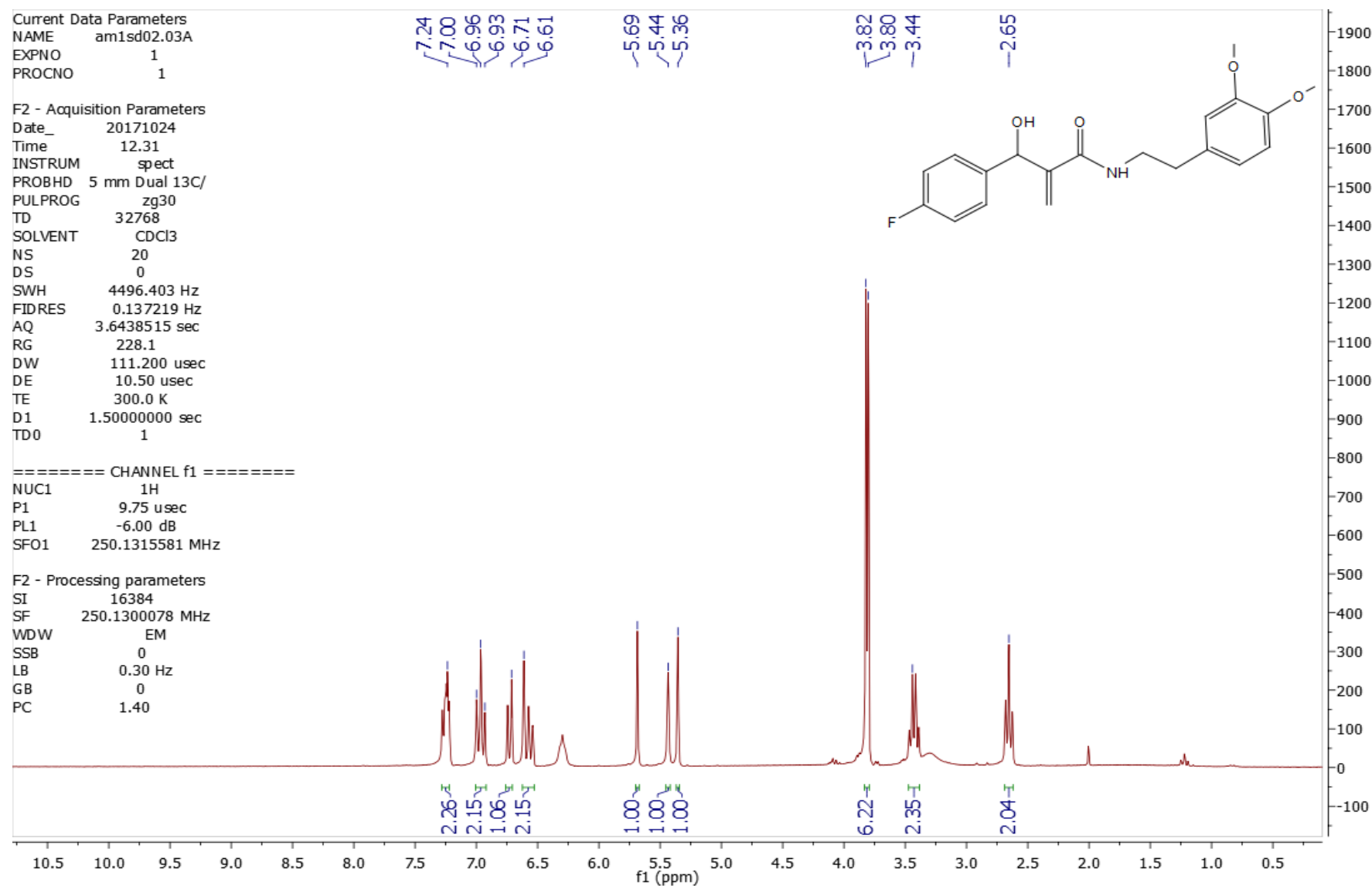
Anexo 24. Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 250 MHz) do ácido 7c.



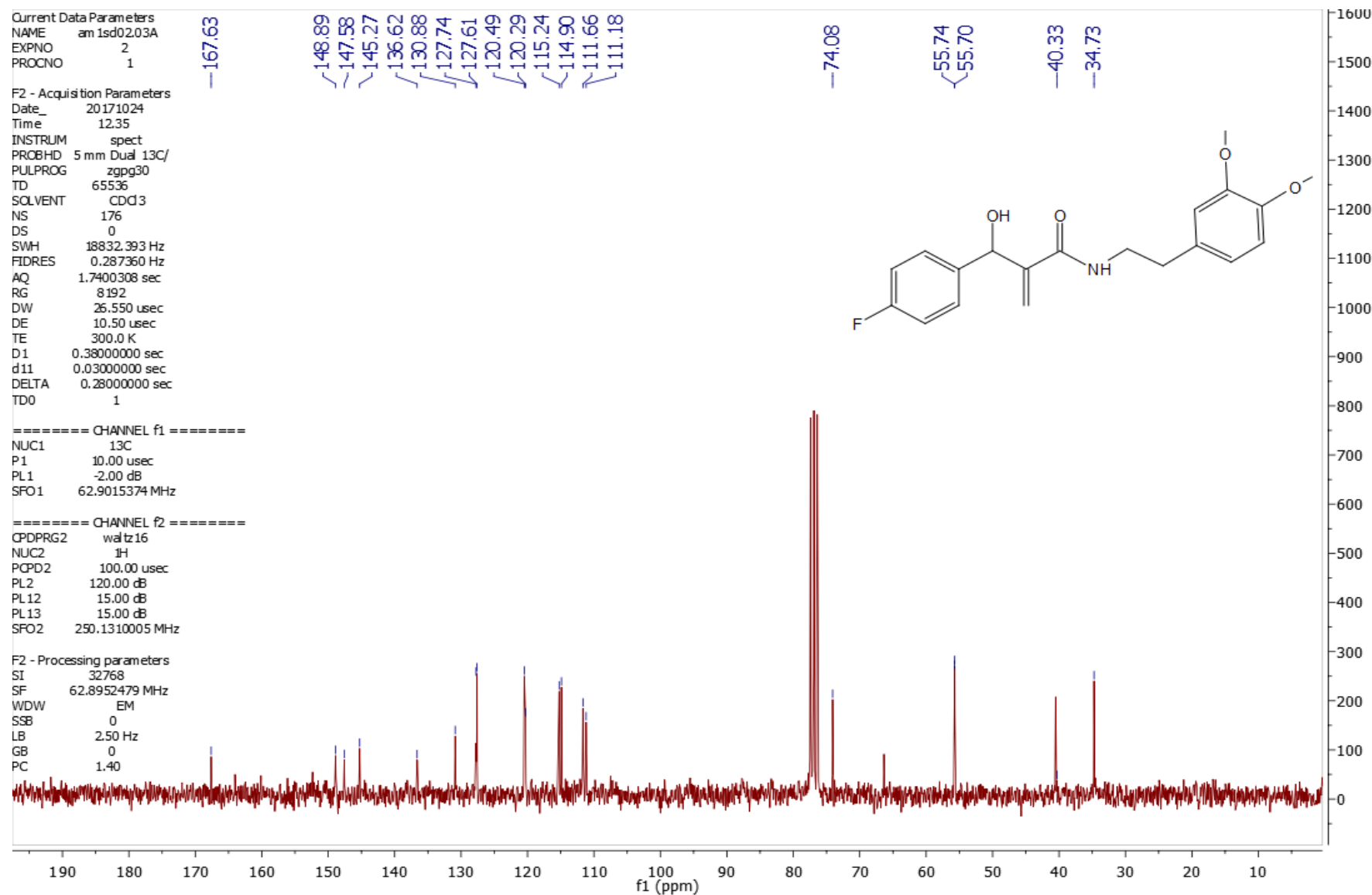
Anexo 25. Espectro de RMN ¹³C (δ, CDCl₃, 62,5 MHz) do ácido 7c.



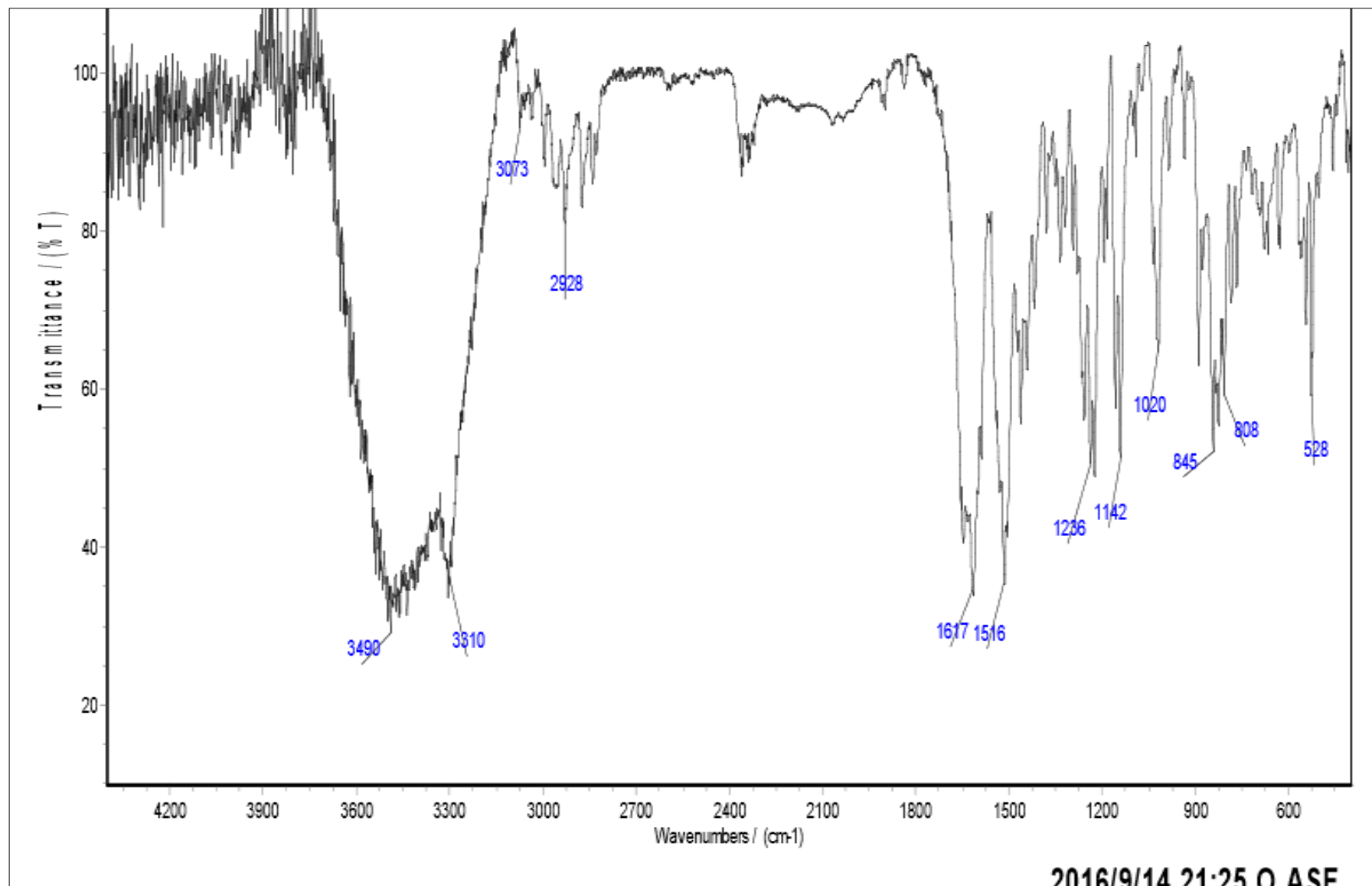
Anexo 26. Espectro infravermelho (KBr, cm⁻¹) da amida 4a.



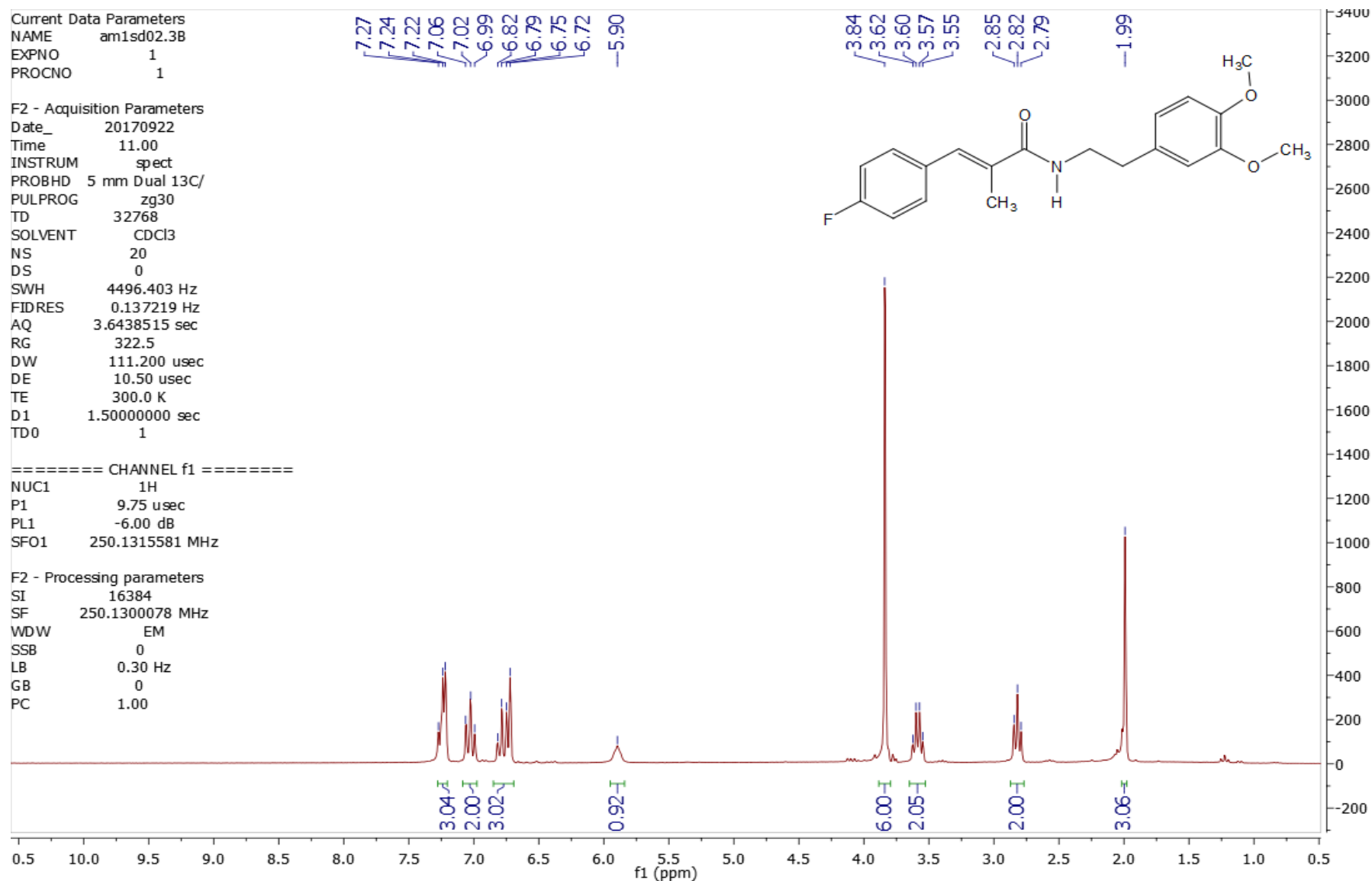
Anexo 27. Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 250 MHz) da amida **4a**.



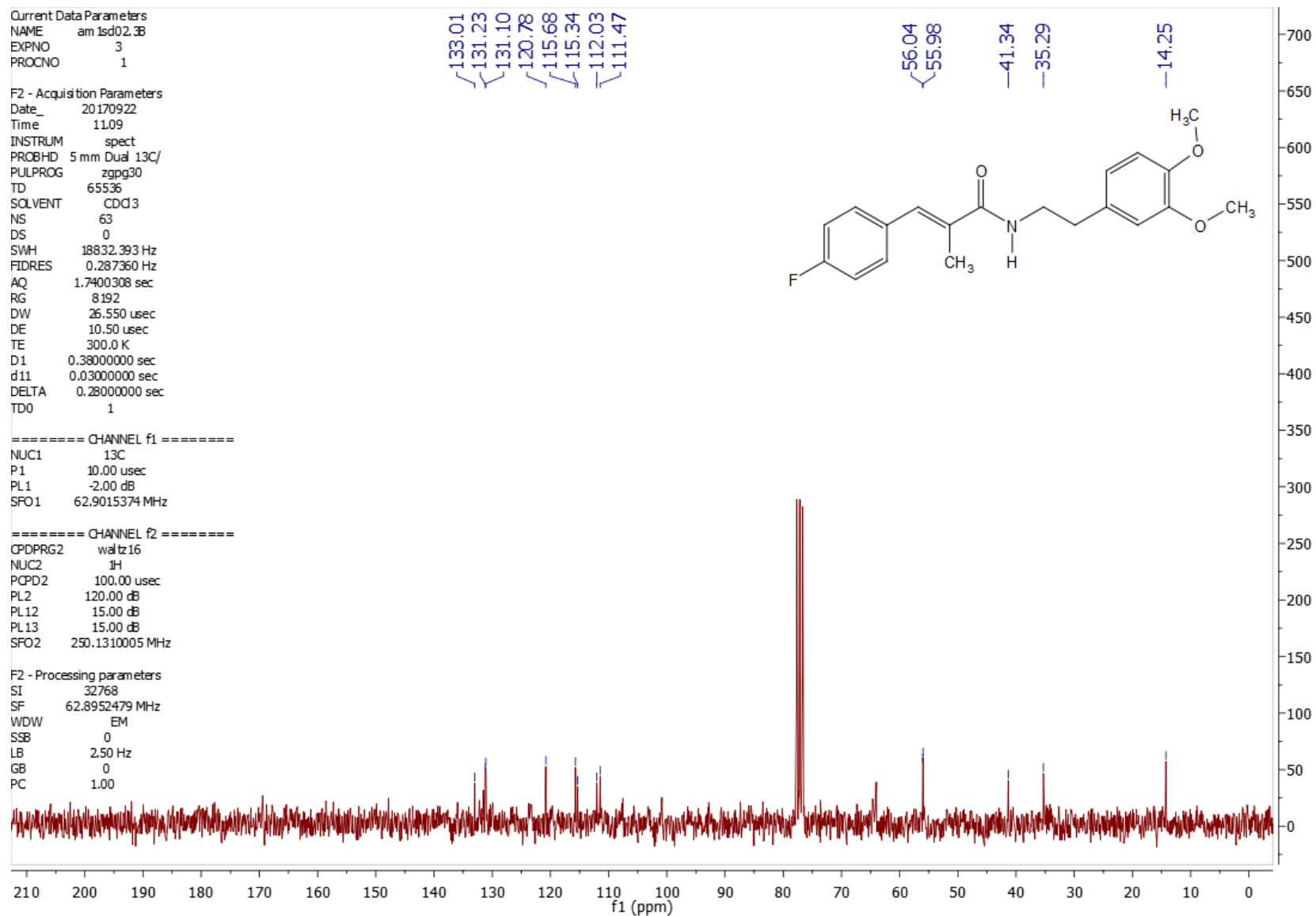
Anexo 28. Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 62,5 MHz) da amida **4a**.



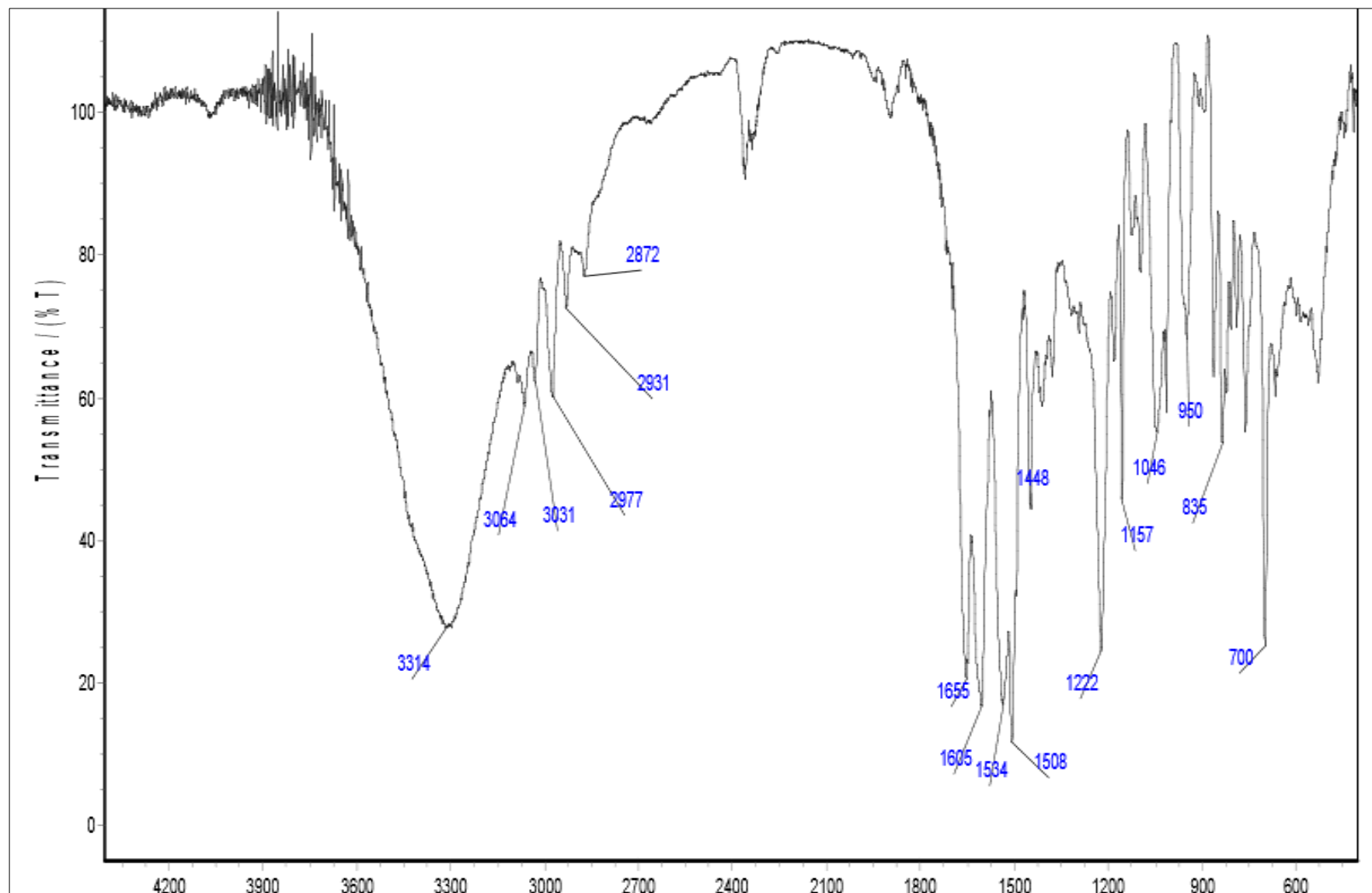
Anexo 29. Espectro infravermelho (KBr, cm⁻¹) da amida 8a.



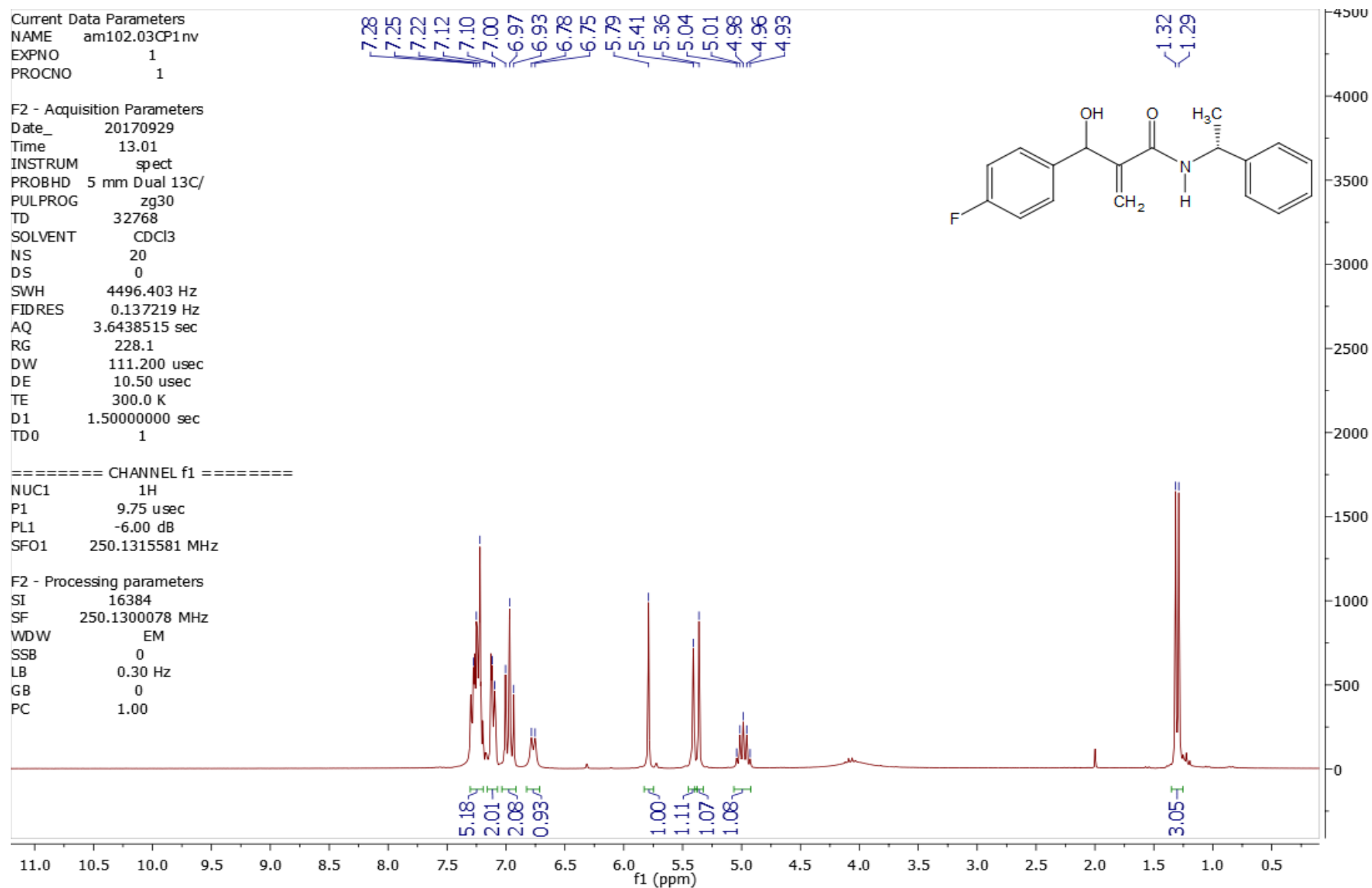
Anexo 30. Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 250 MHz) da amida **8a**.



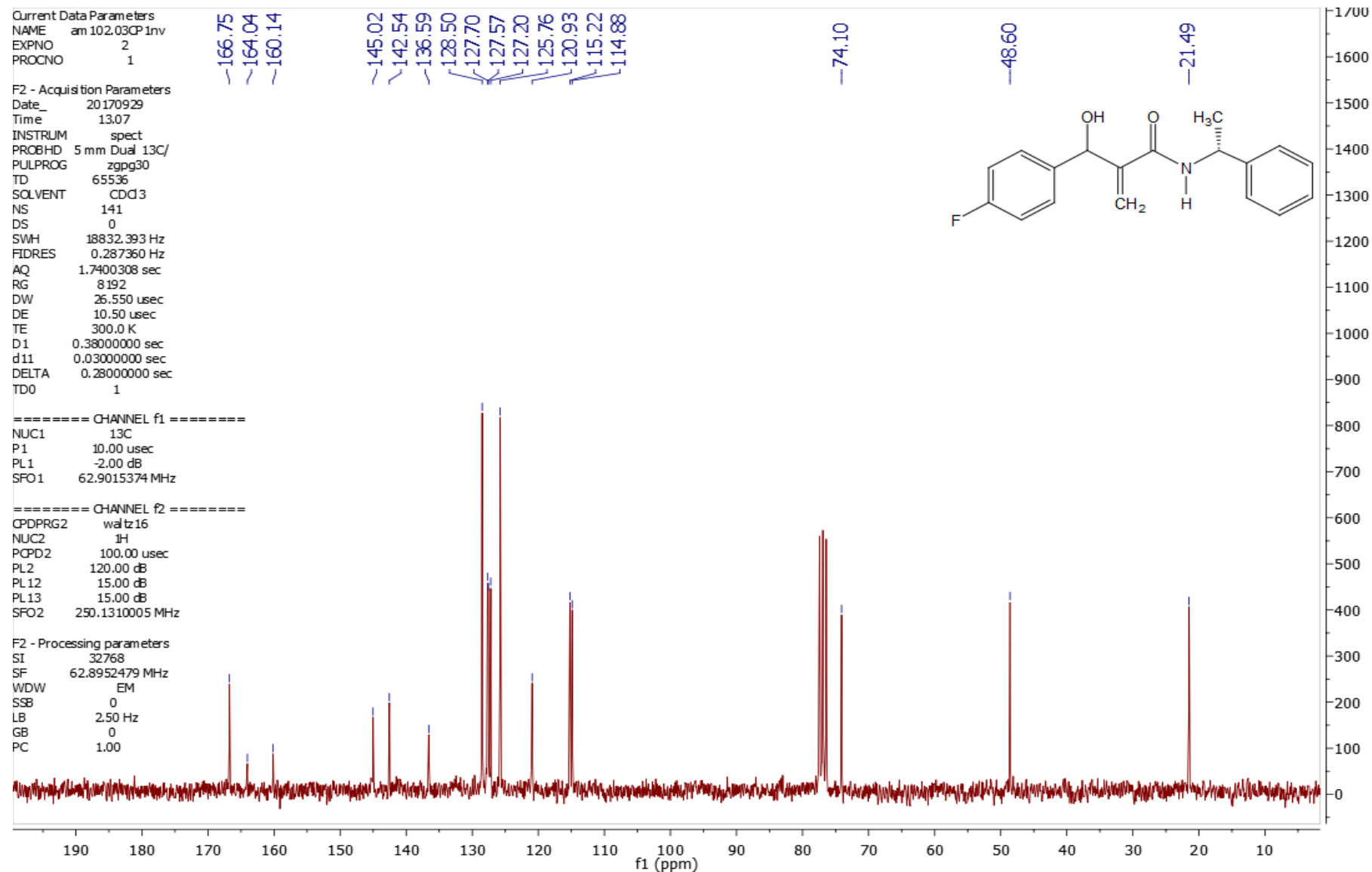
Anexo 31. Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 62,5 MHz) da amida **8a**.



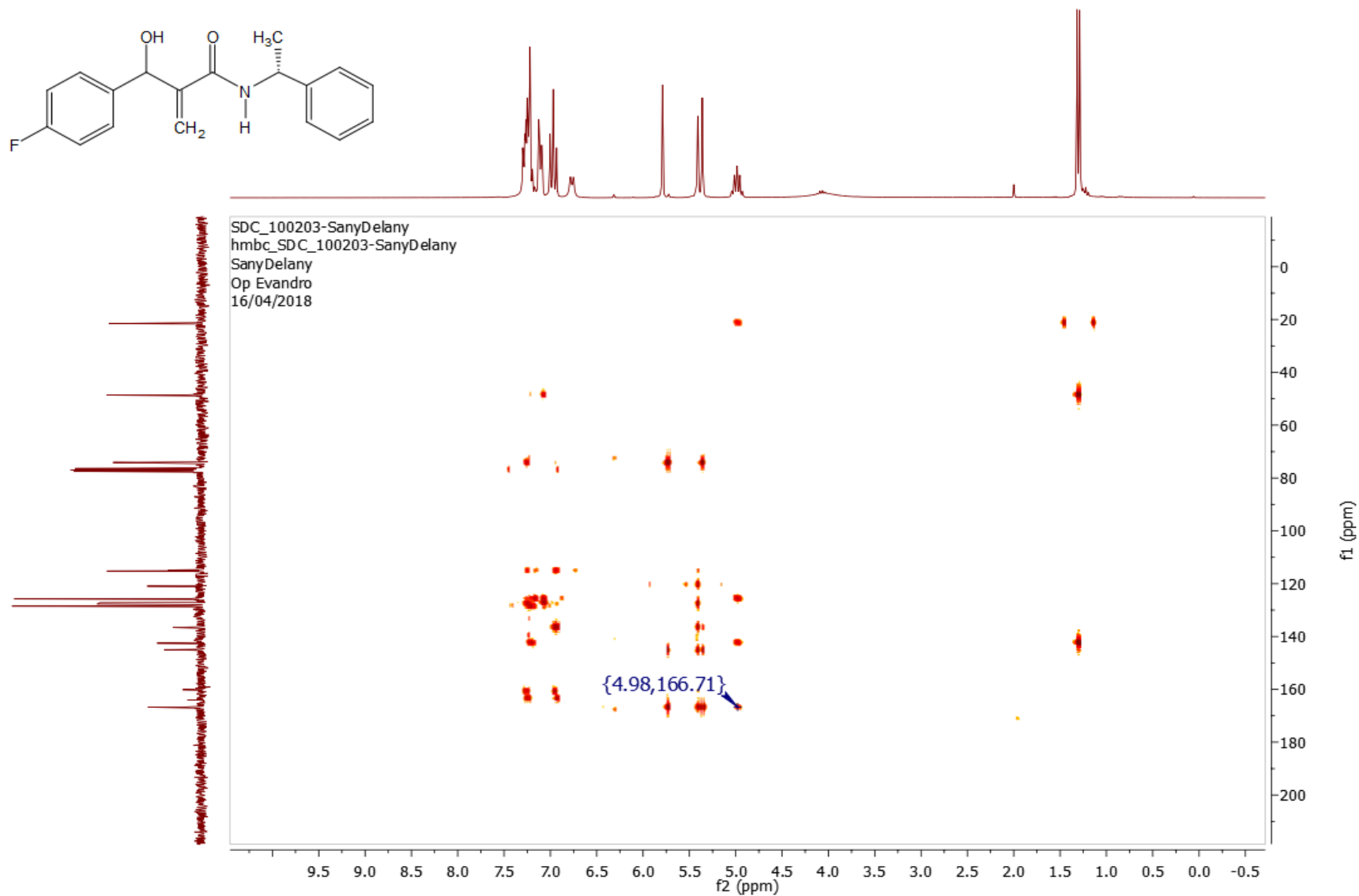
Anexo 32. Espectro infravermelho (KBr, cm⁻¹) da amida **4b**.



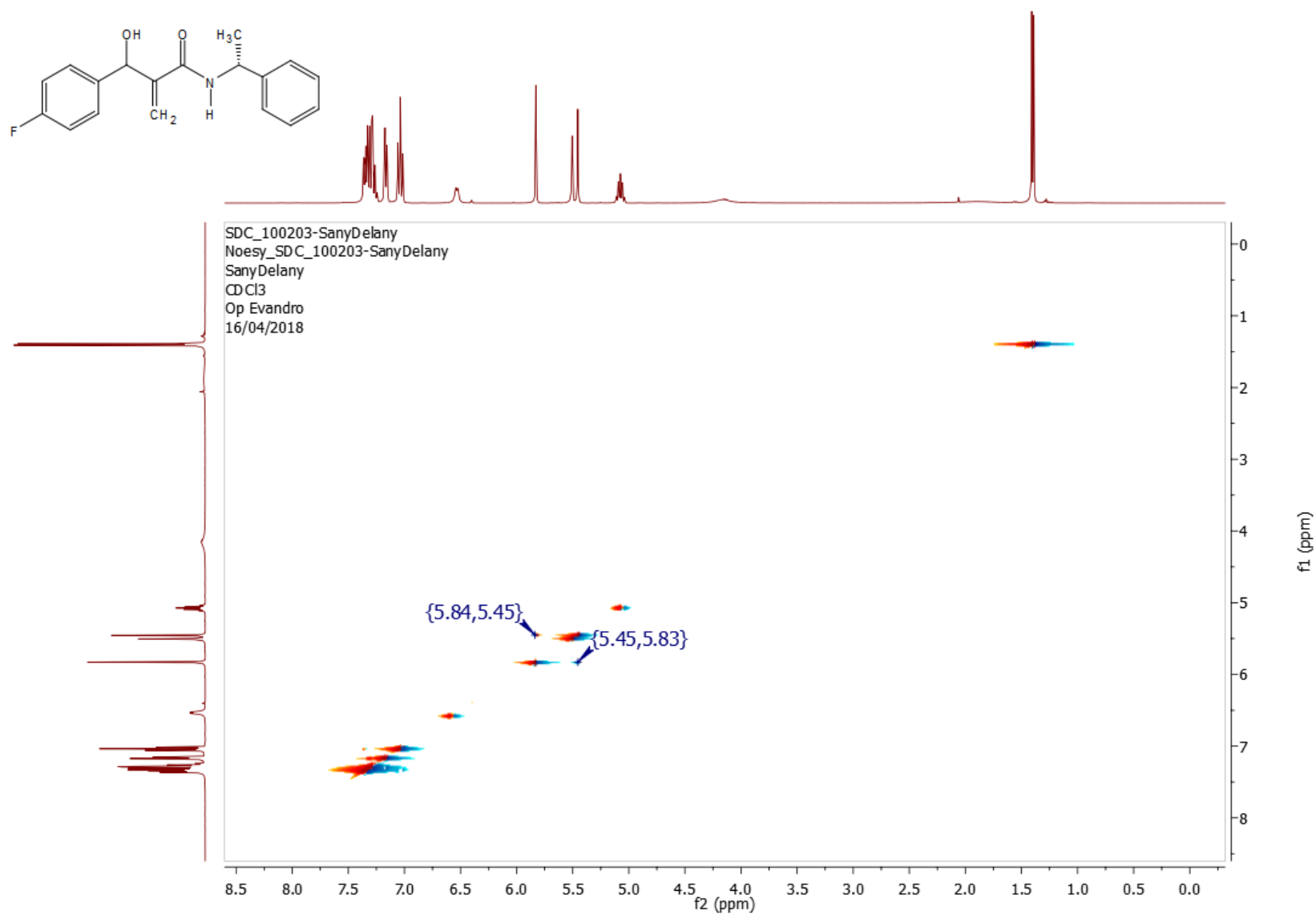
Anexo 33. Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 250 MHz) da amida **4b**.



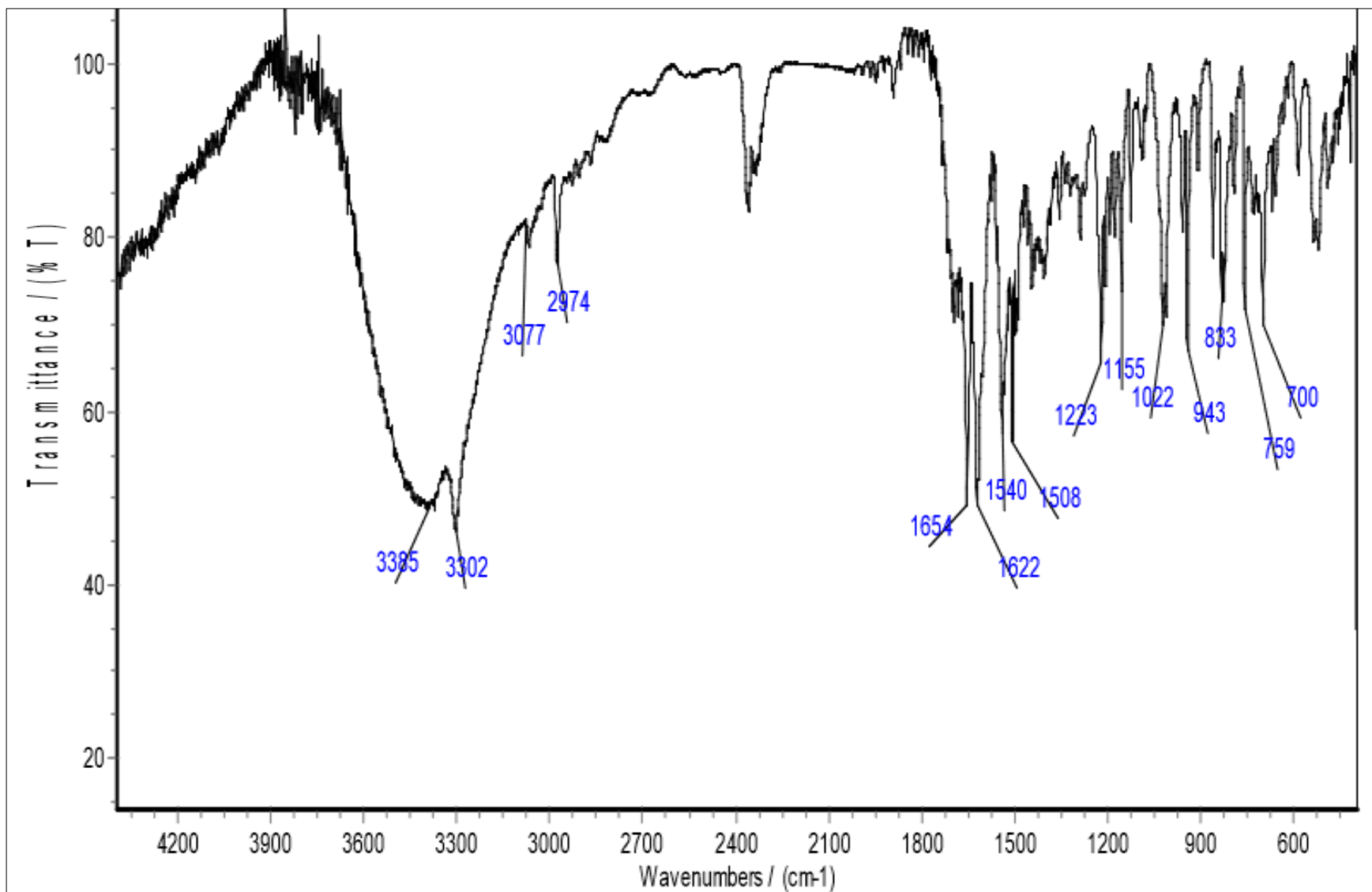
Anexo 34. Espectro de RMN ¹³C (δ, CDCl₃, 62,5 MHz) da amida **4b**.



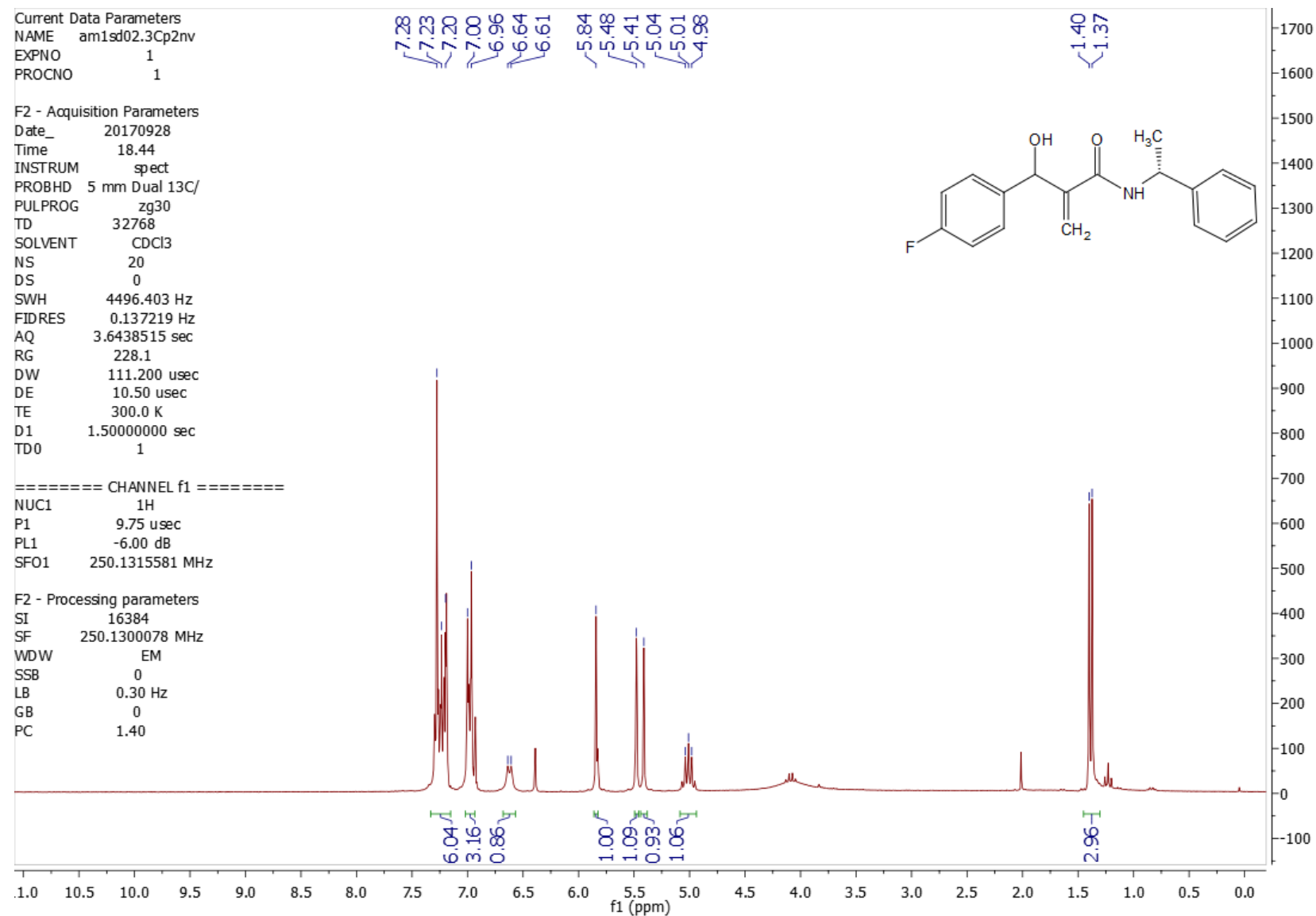
Anexo 35. Espectro HMBC (δ , CDCl_3 , 500 MHz e 125 MHz) da amida **4b**.



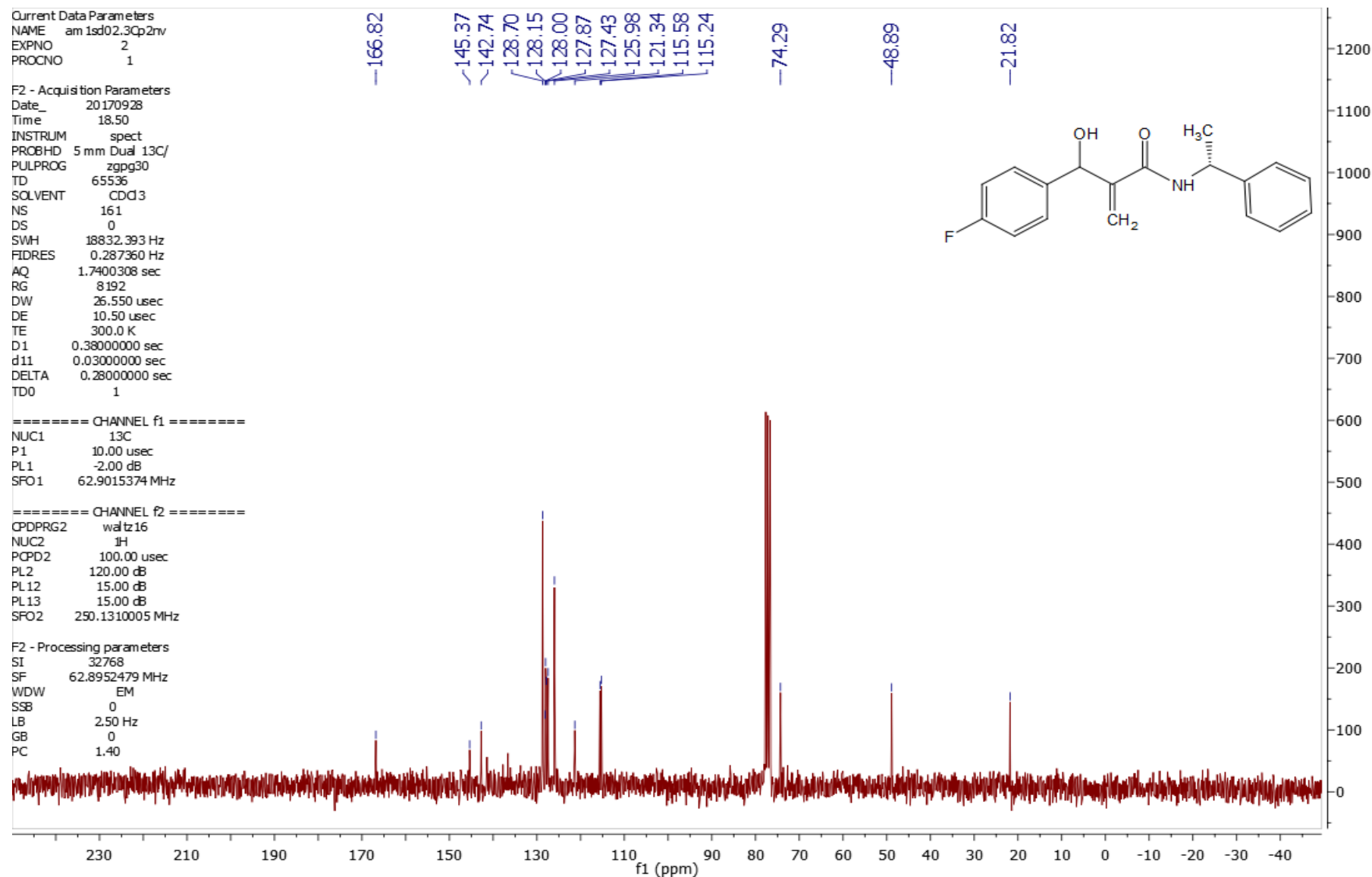
Anexo 36. Espectro NOESY (δ , CDCl₃, 500 MHz) da amida **4b**.



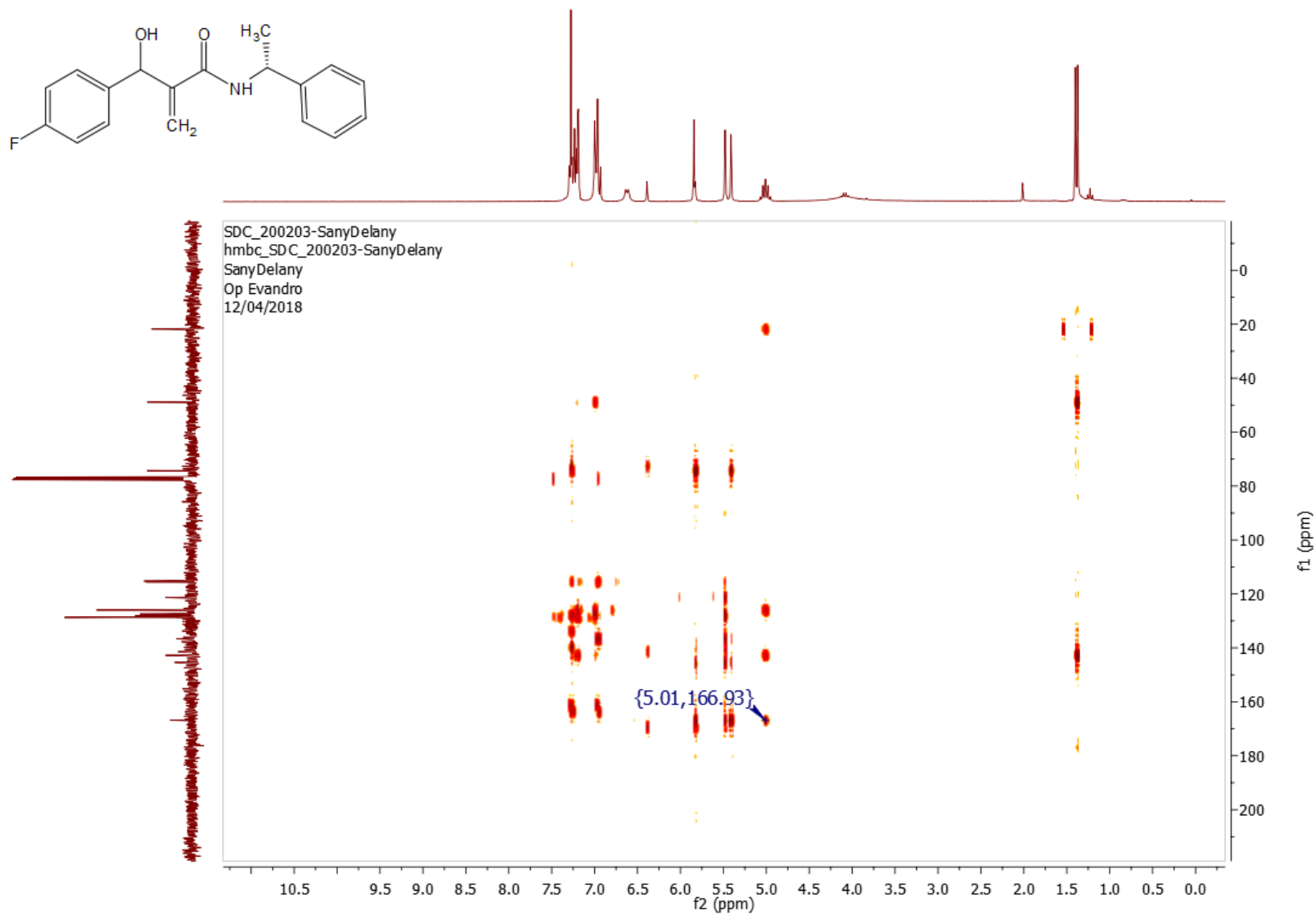
Anexo 37. Espectro infravermelho (KBr, cm⁻¹) da amida **4c**.



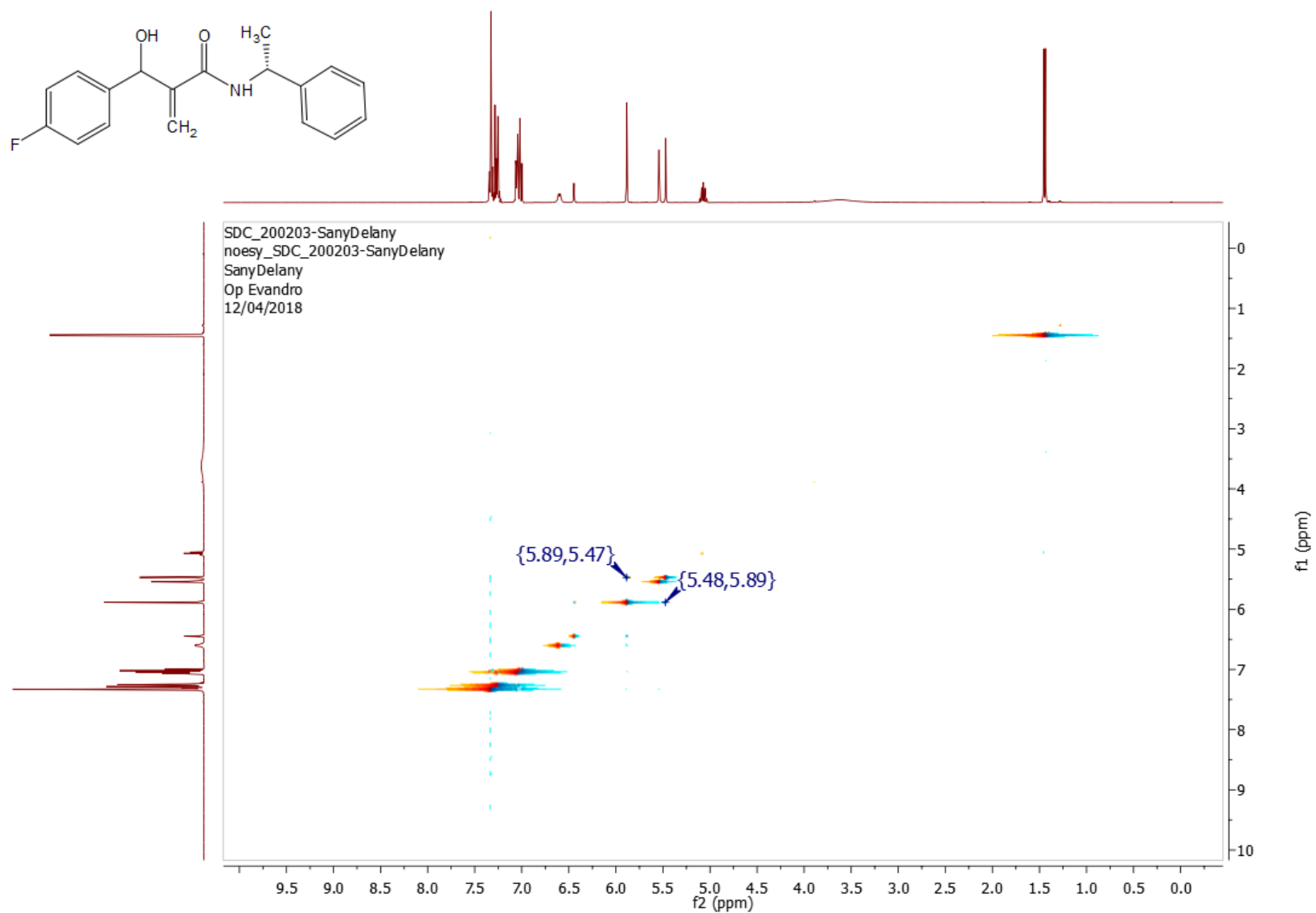
Anexo 38. Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 250 MHz) da amida **4c**.



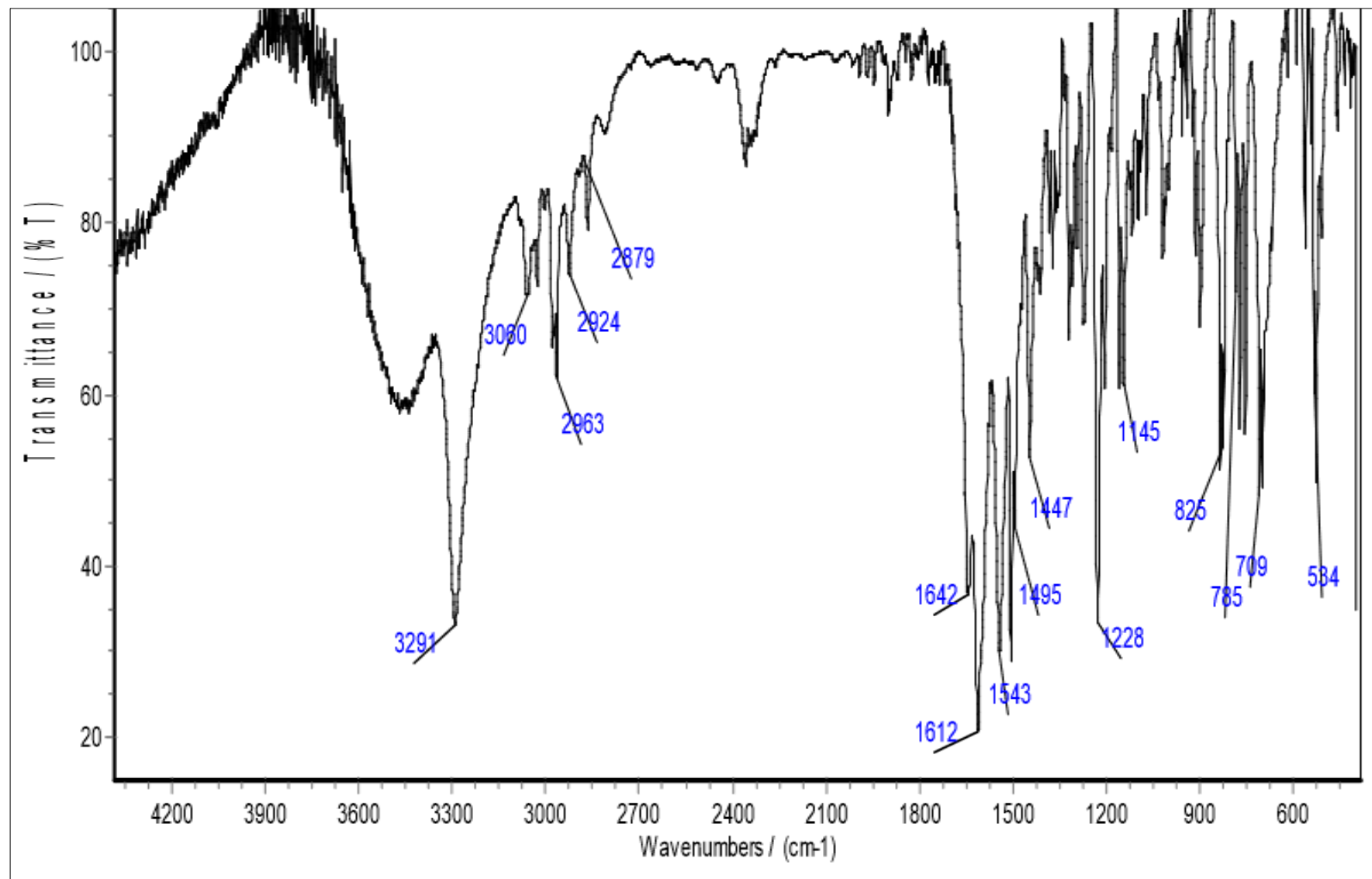
Anexo 39. Espectro de RMN ¹³C (δ, CDCl₃, 62,5 MHz) da amida 4c.



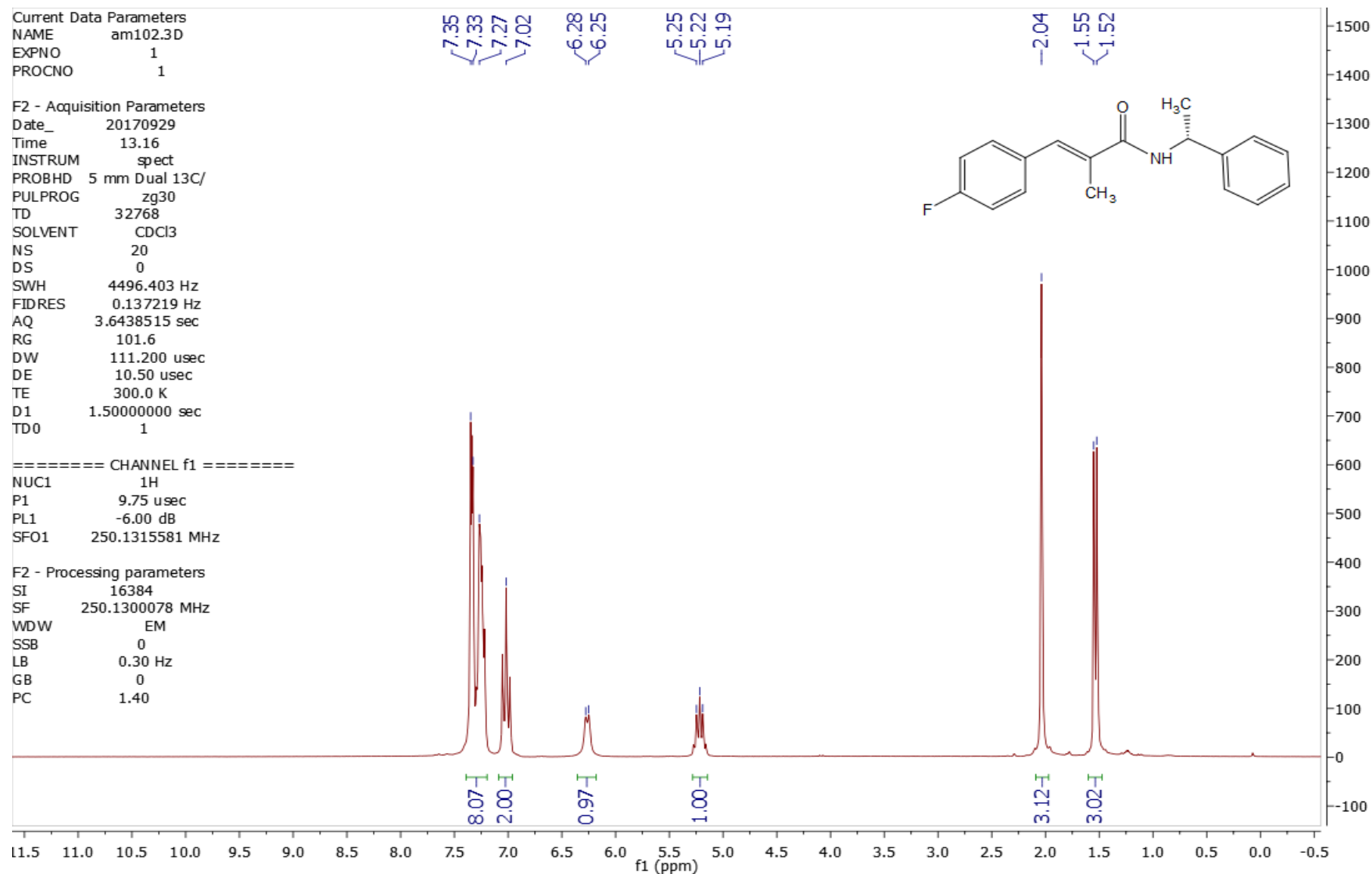
Anexo 40. Espectro HMBC (δ , CDCl₃, 500 MHz e 125 MHz) da amida **4c**.



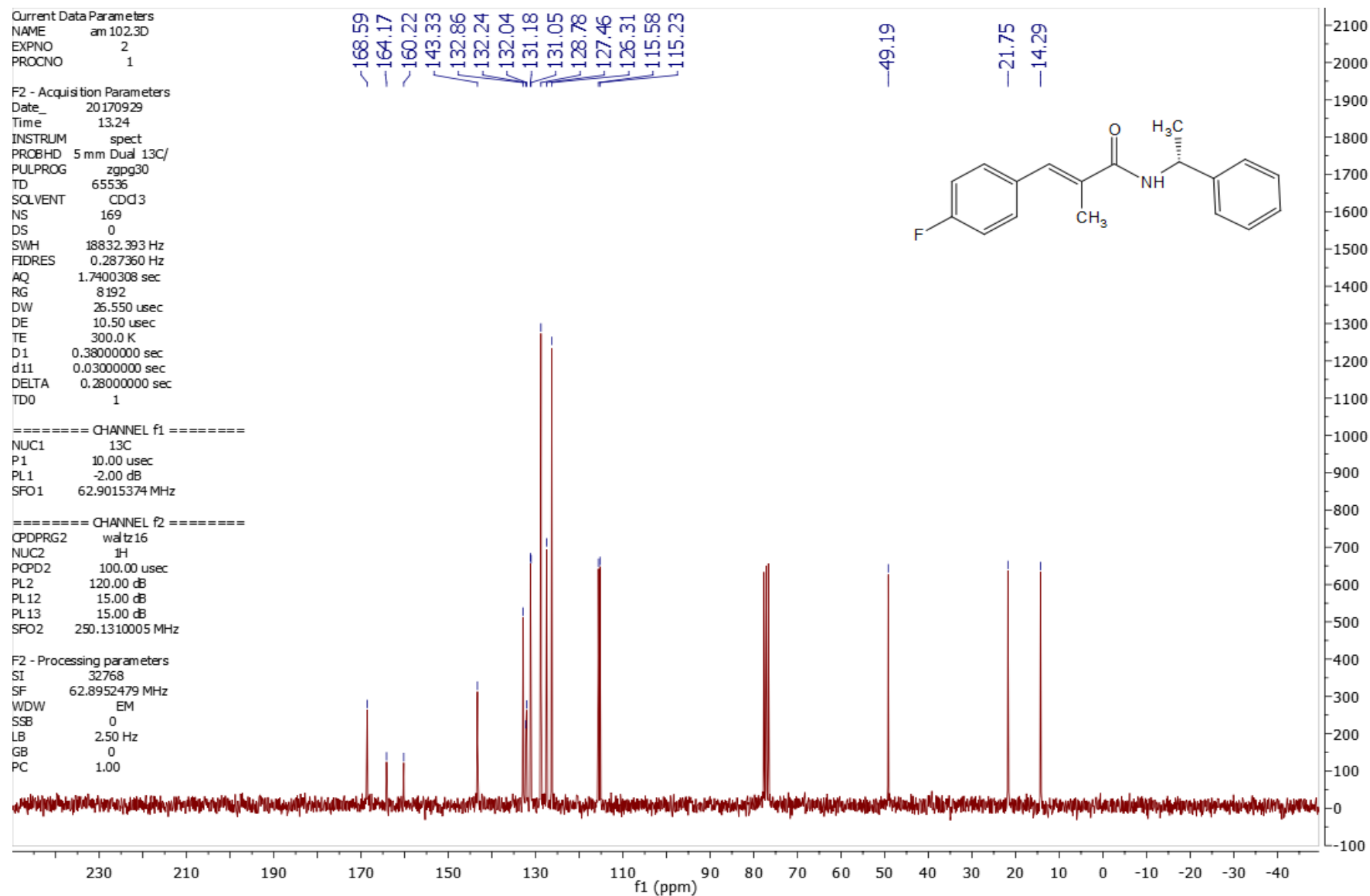
Anexo 41. Espectro NOESY (δ , CDCl_3 , 500 MHz) da amida **4c**.



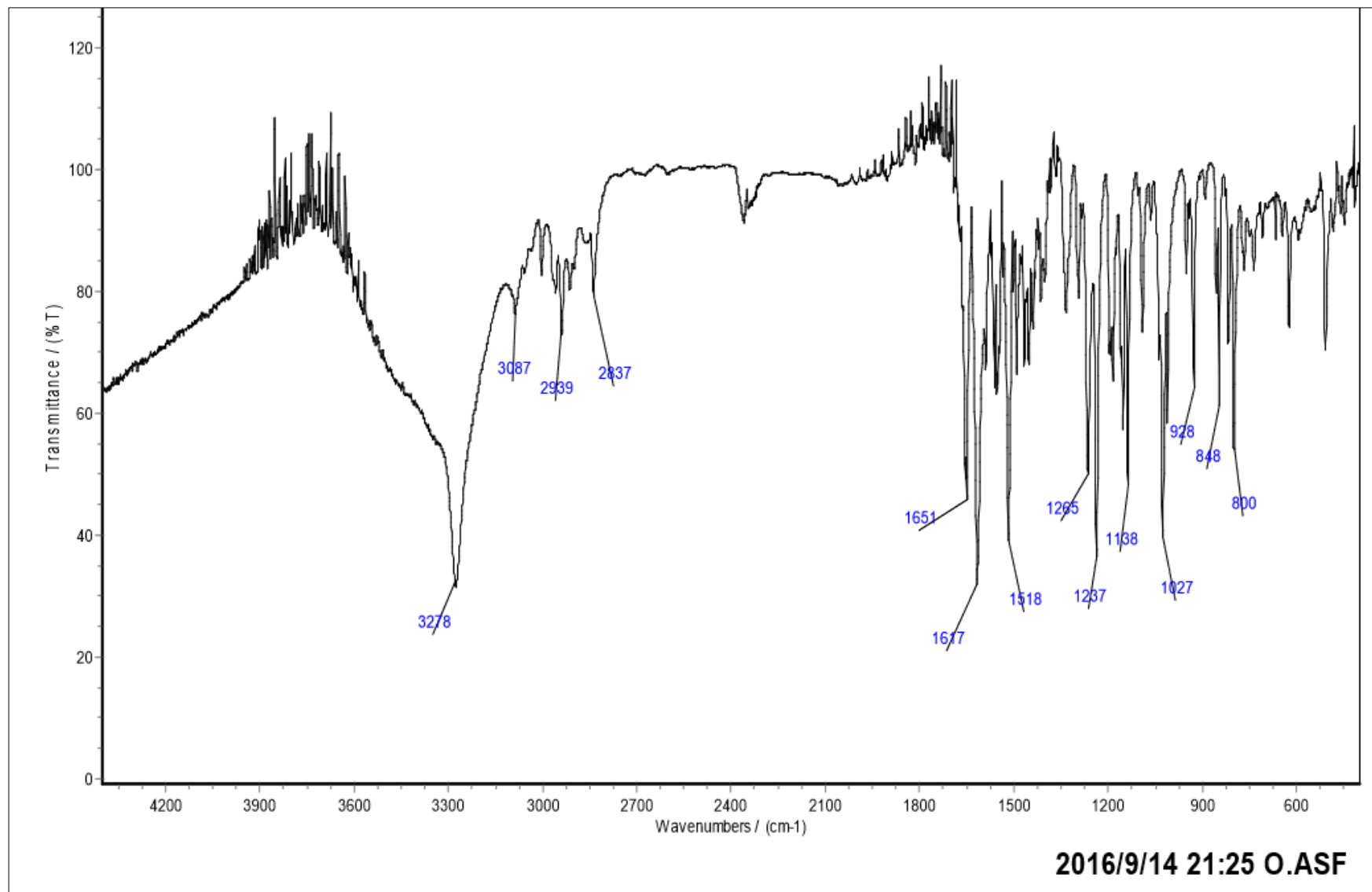
Anexo 42. Espectro infravermelho (KBr, cm⁻¹) da amida **8b**.



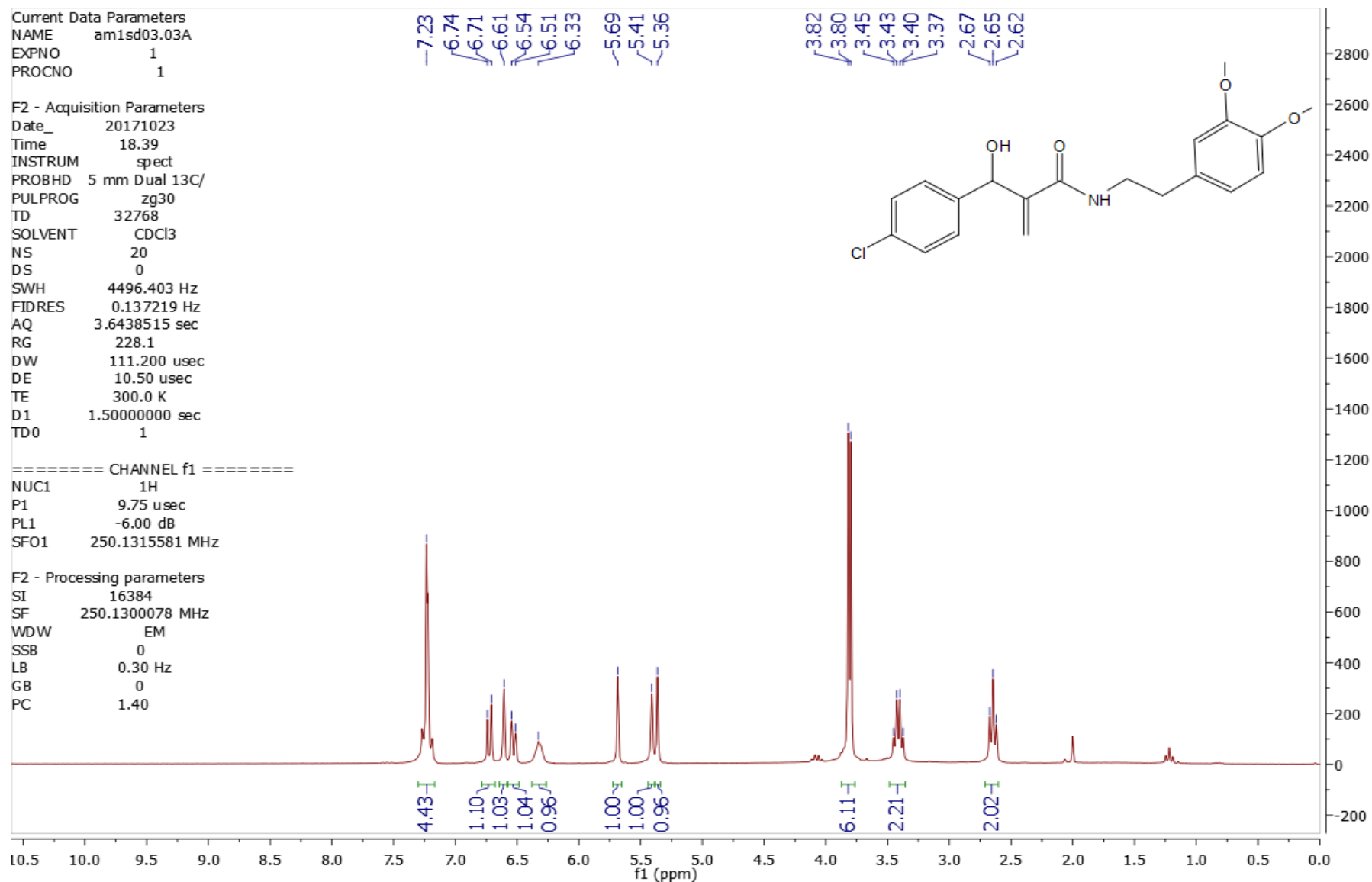
Anexo 43. Espectro de RMN ¹H (δ, CDCl₃, 250 MHz) da amida **8b**.



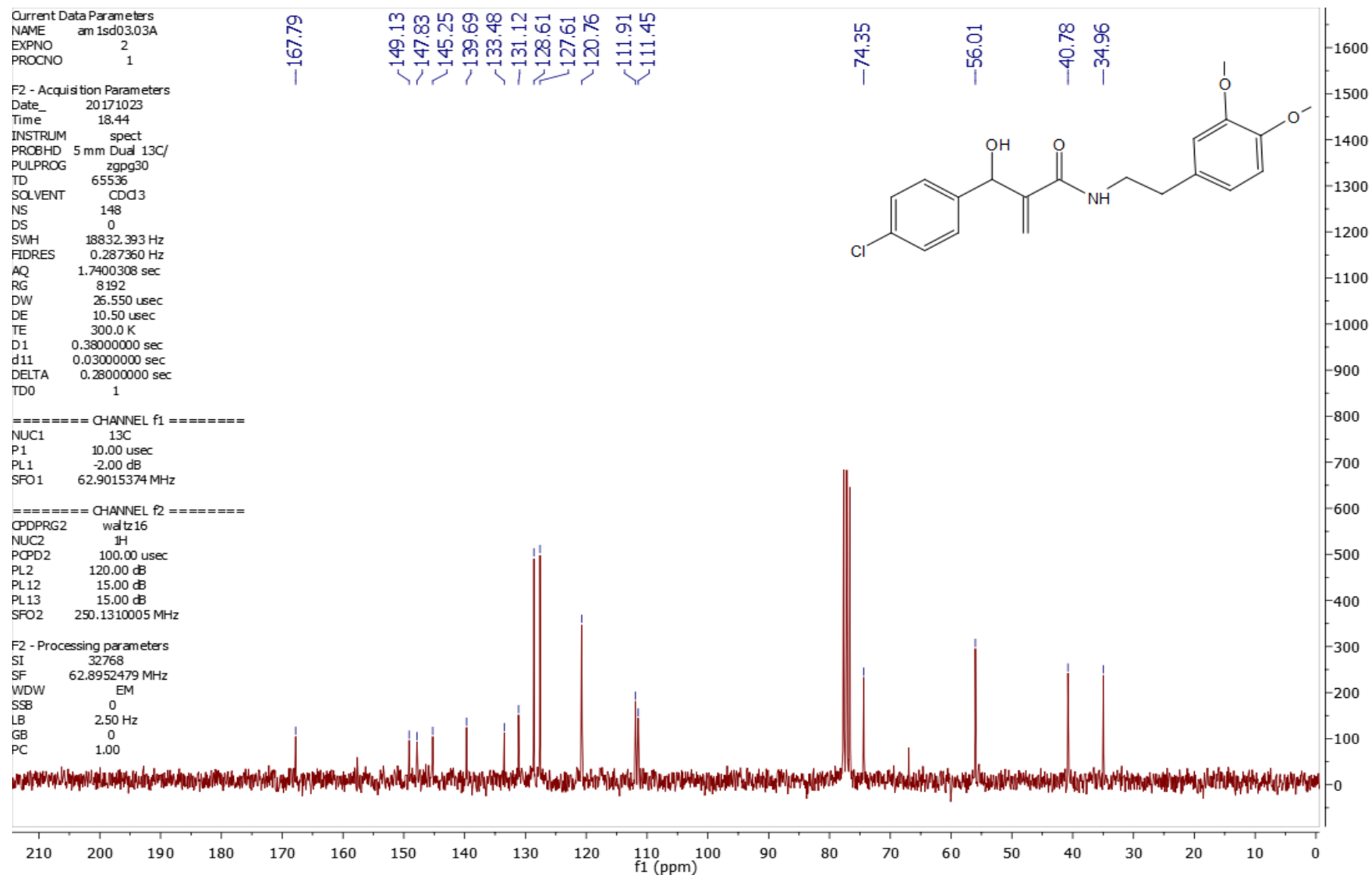
Anexo 44. Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 62,5 MHz) da amida **8b**.



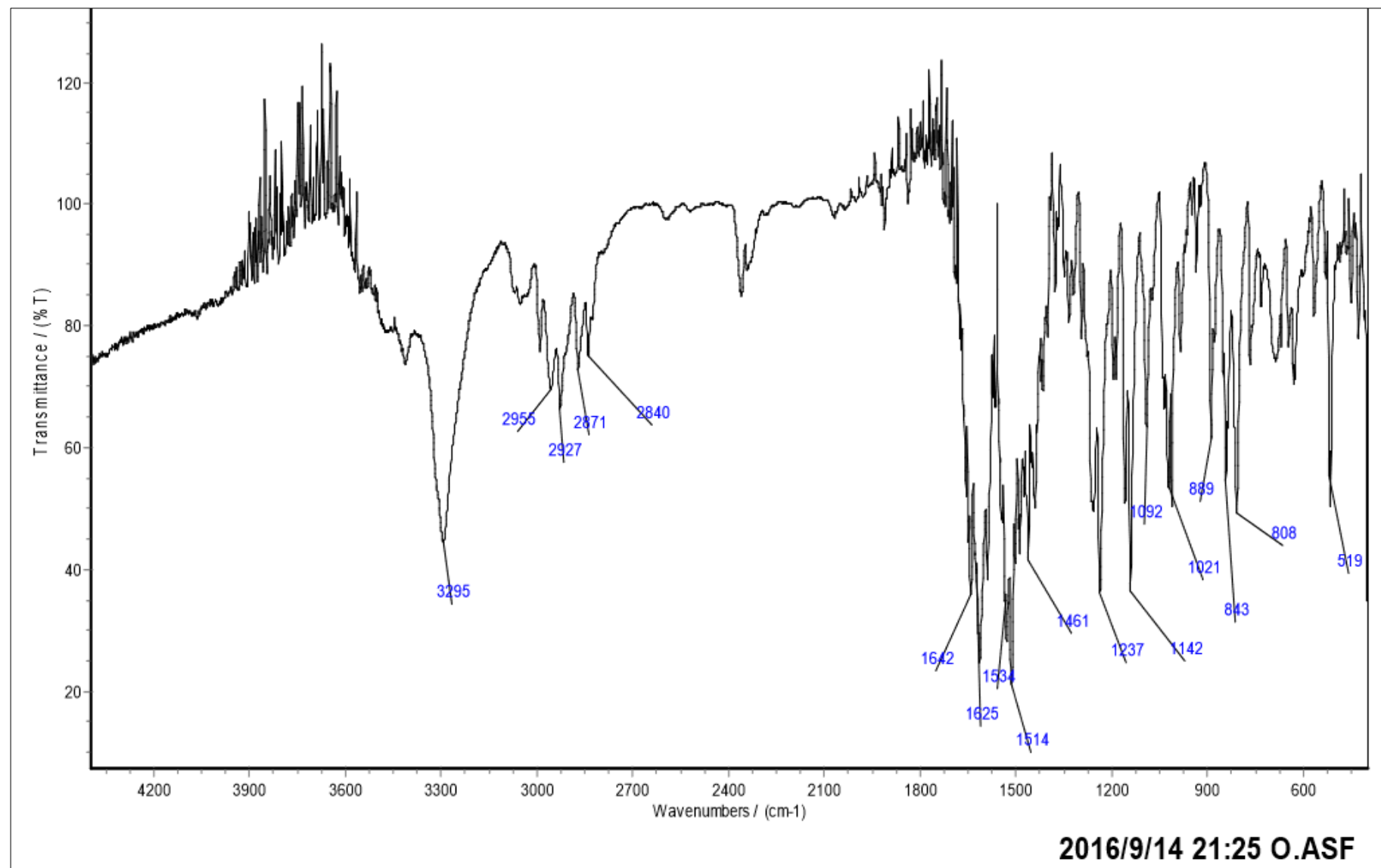
Anexo 45. Espectro infravermelho (KBr, cm⁻¹) da amida **4d**.



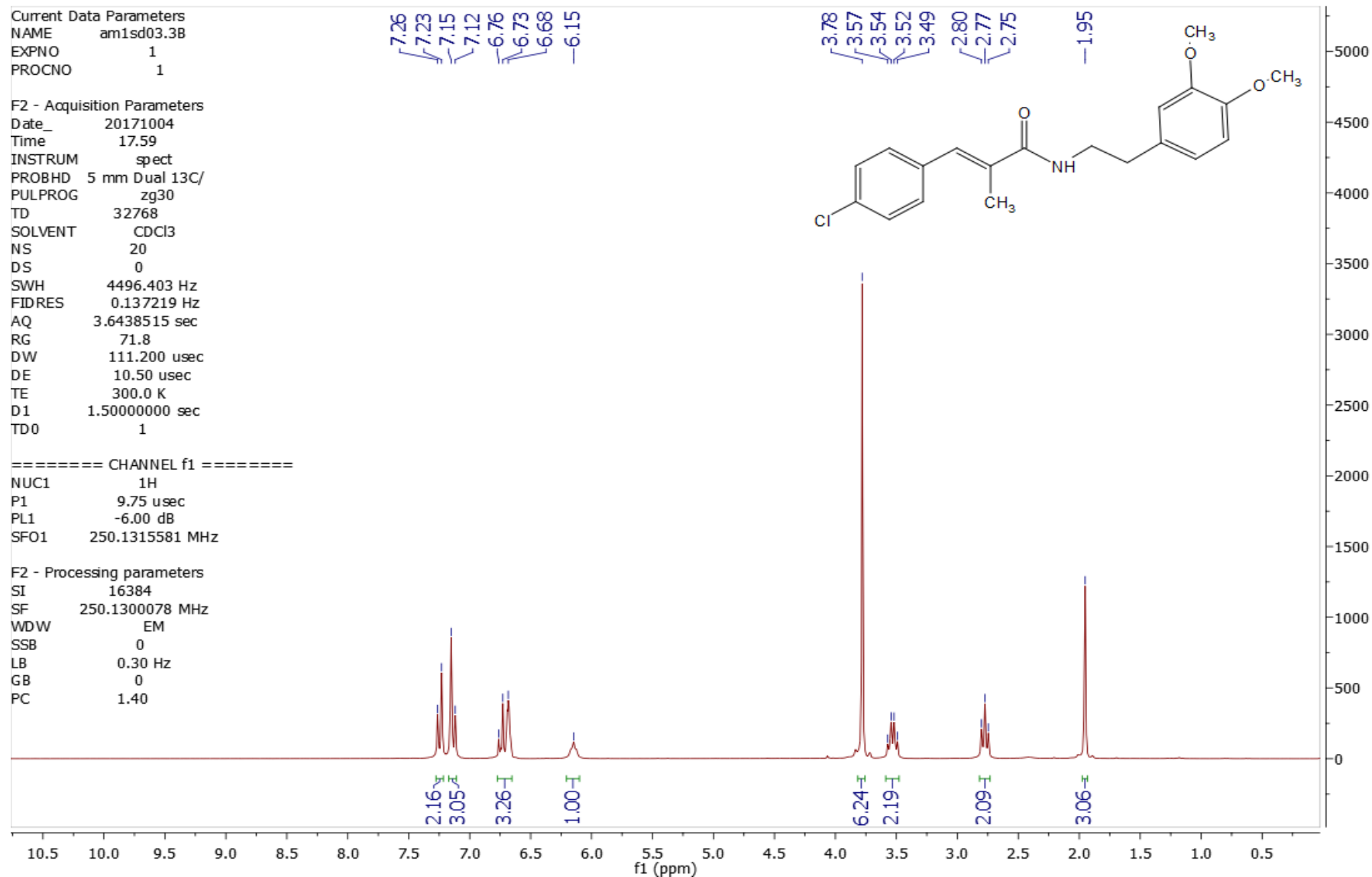
Anexo 46. Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 250 MHz) da amida **4d**.



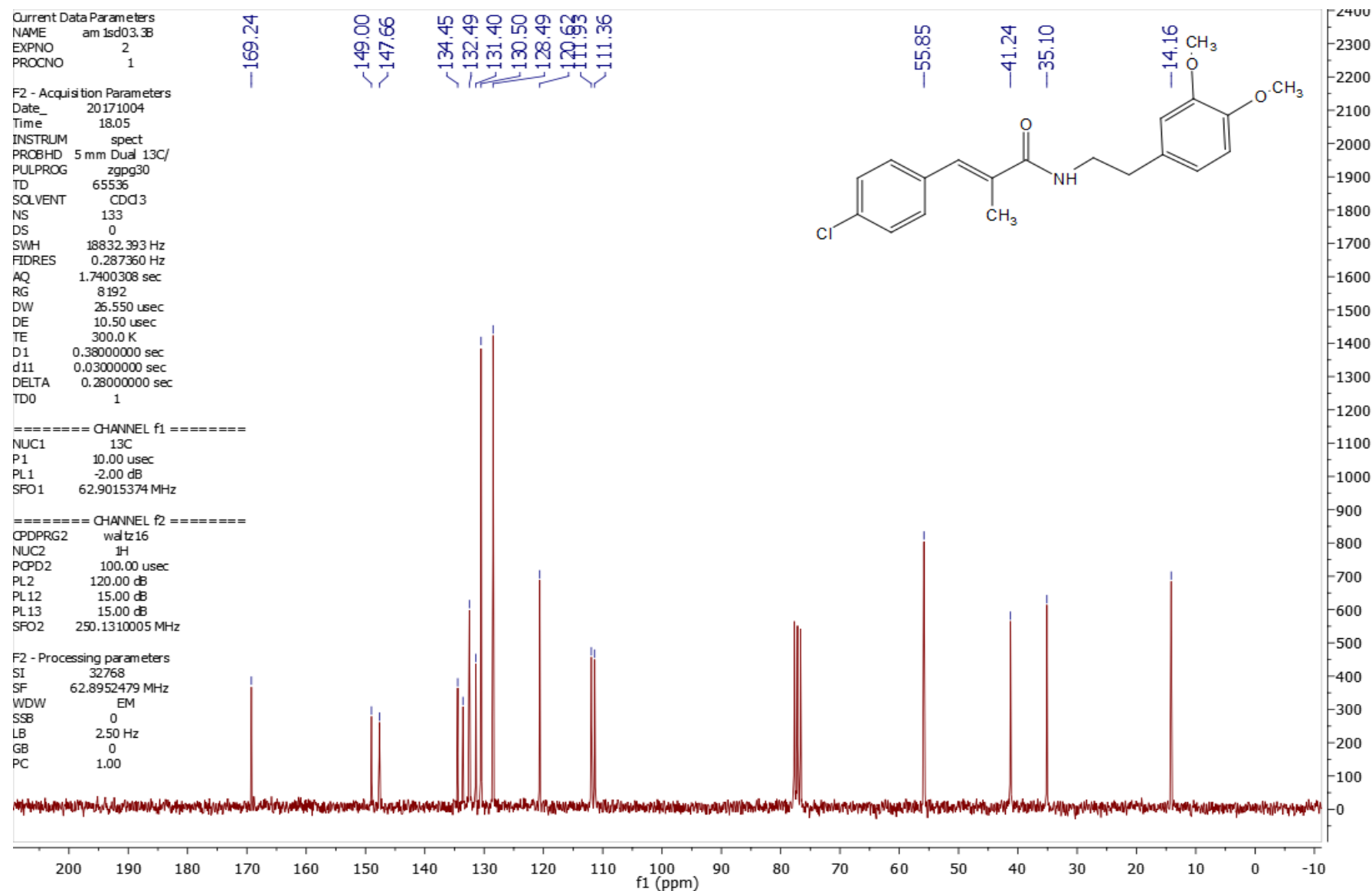
Anexo 47. Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 62,5 MHz) da amida **4d**.



Anexo 48. Espectro infravermelho (KBr, cm⁻¹) da amida **8c**.

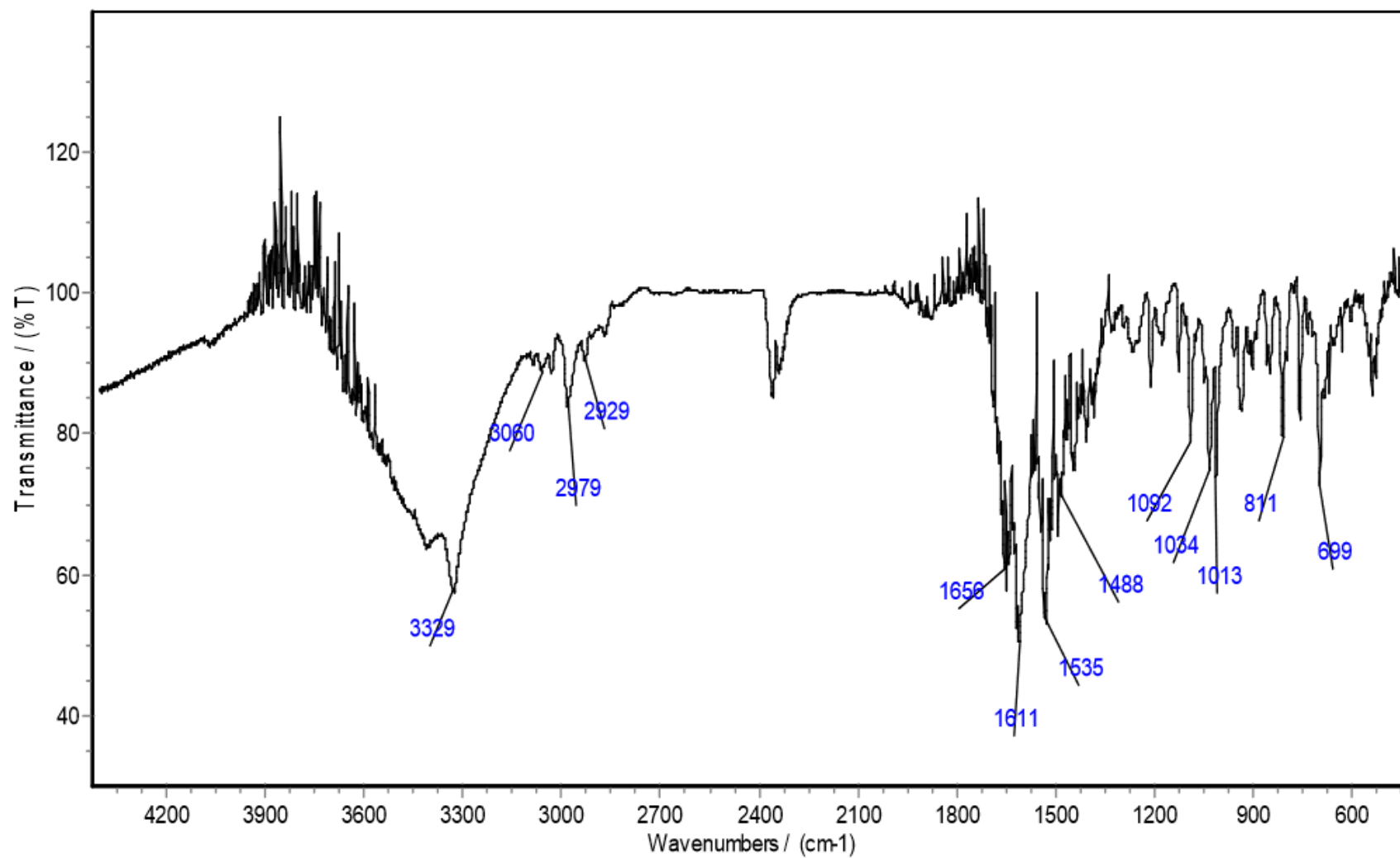


Anexo 49. Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 250 MHz) da amida **8c**.

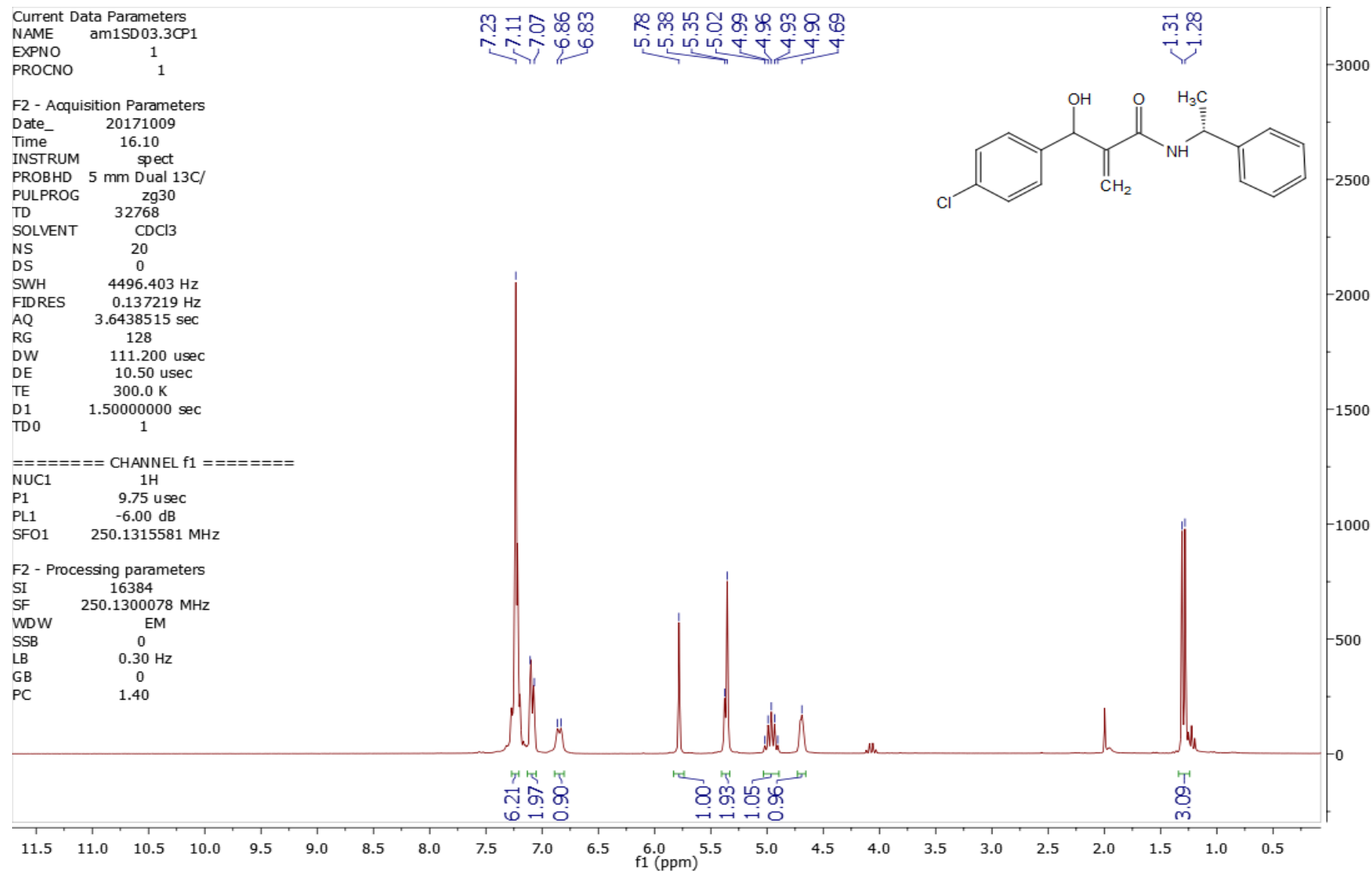


Anexo 50. Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 62,5 MHz) da amida **8c**.

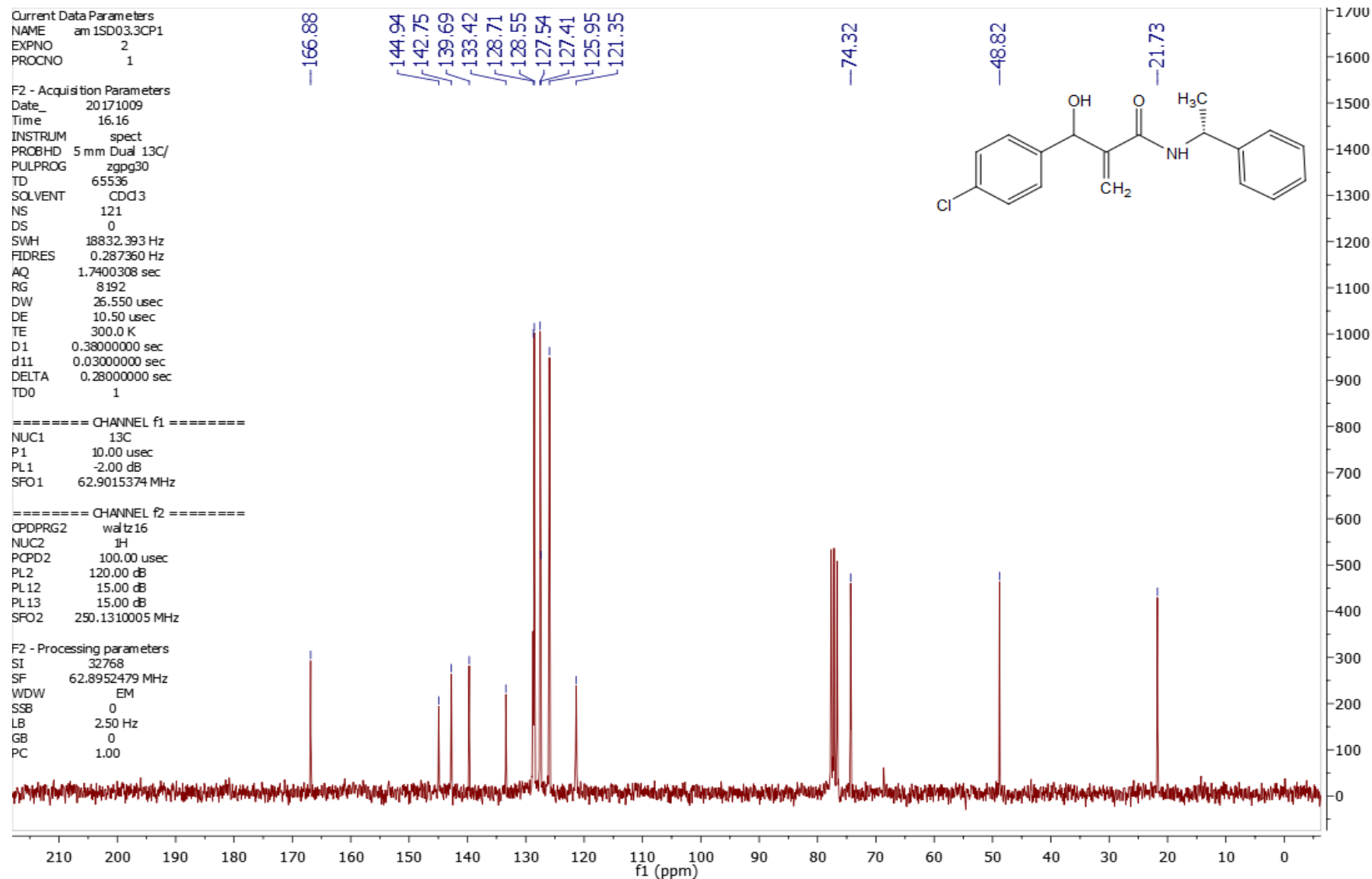
—O.ASF



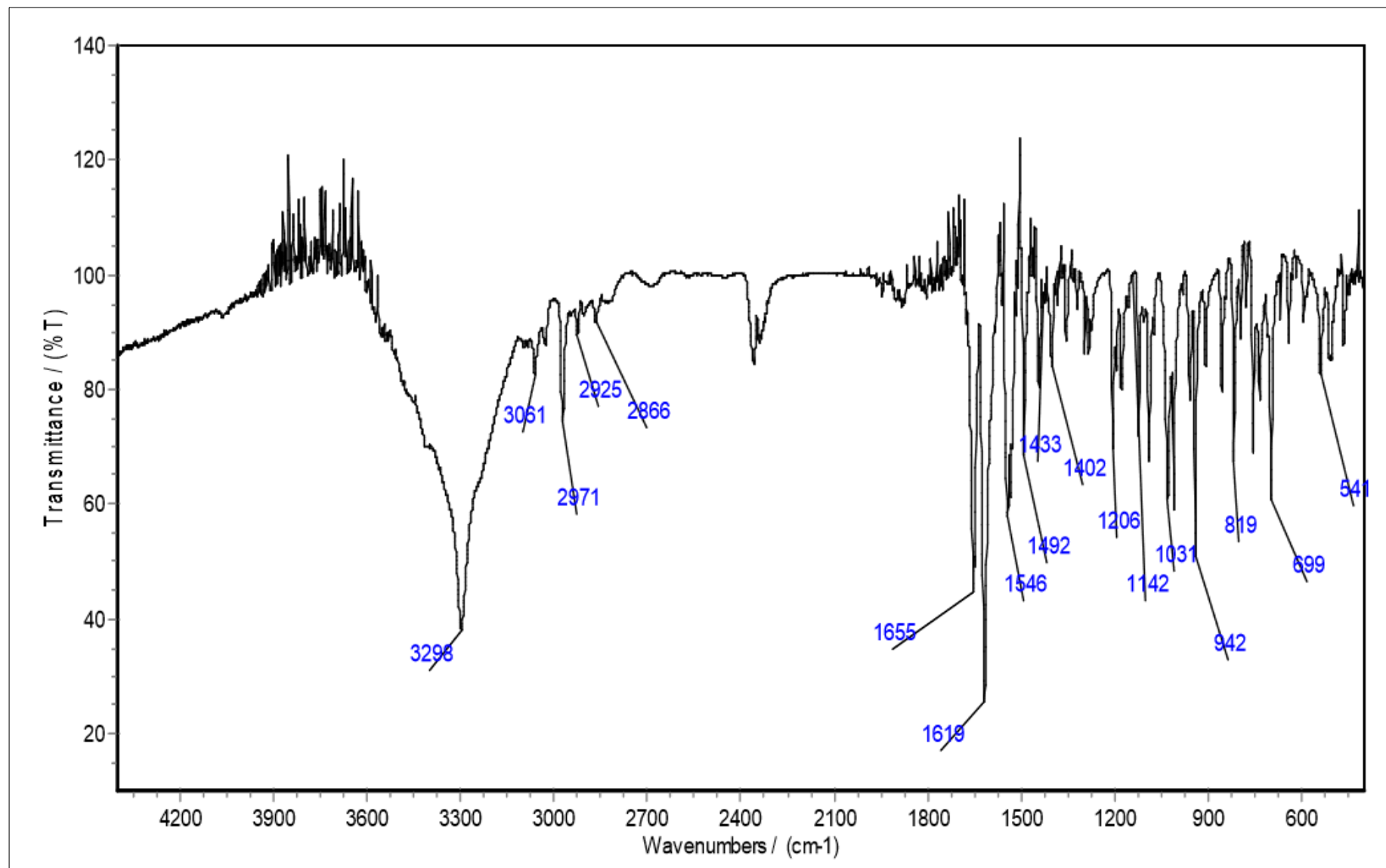
Anexo 51. Espectro infravermelho (KBr, cm⁻¹) da amida 4e.



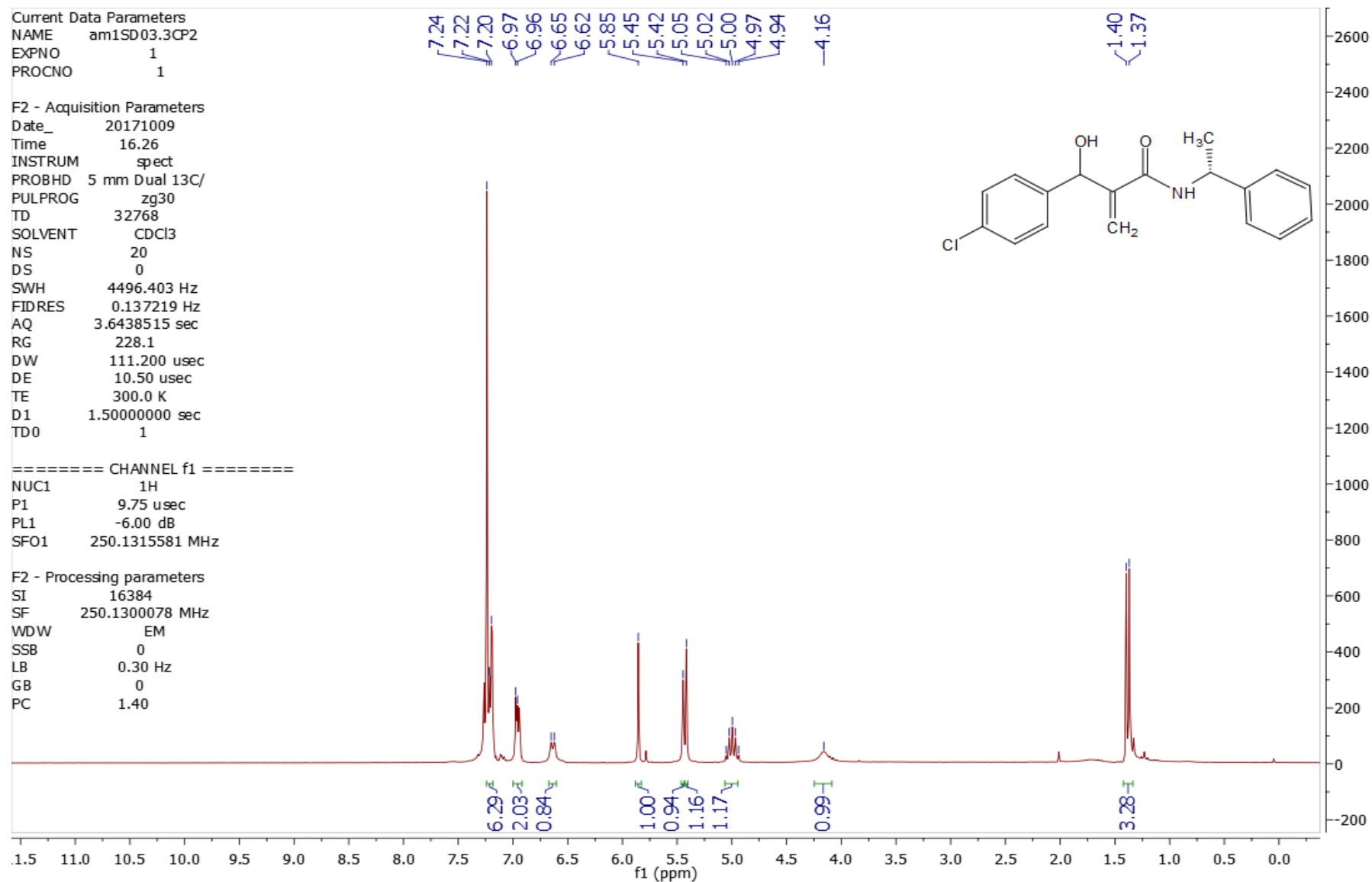
Anexo 52. Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 250 MHz) da amida **4e**.



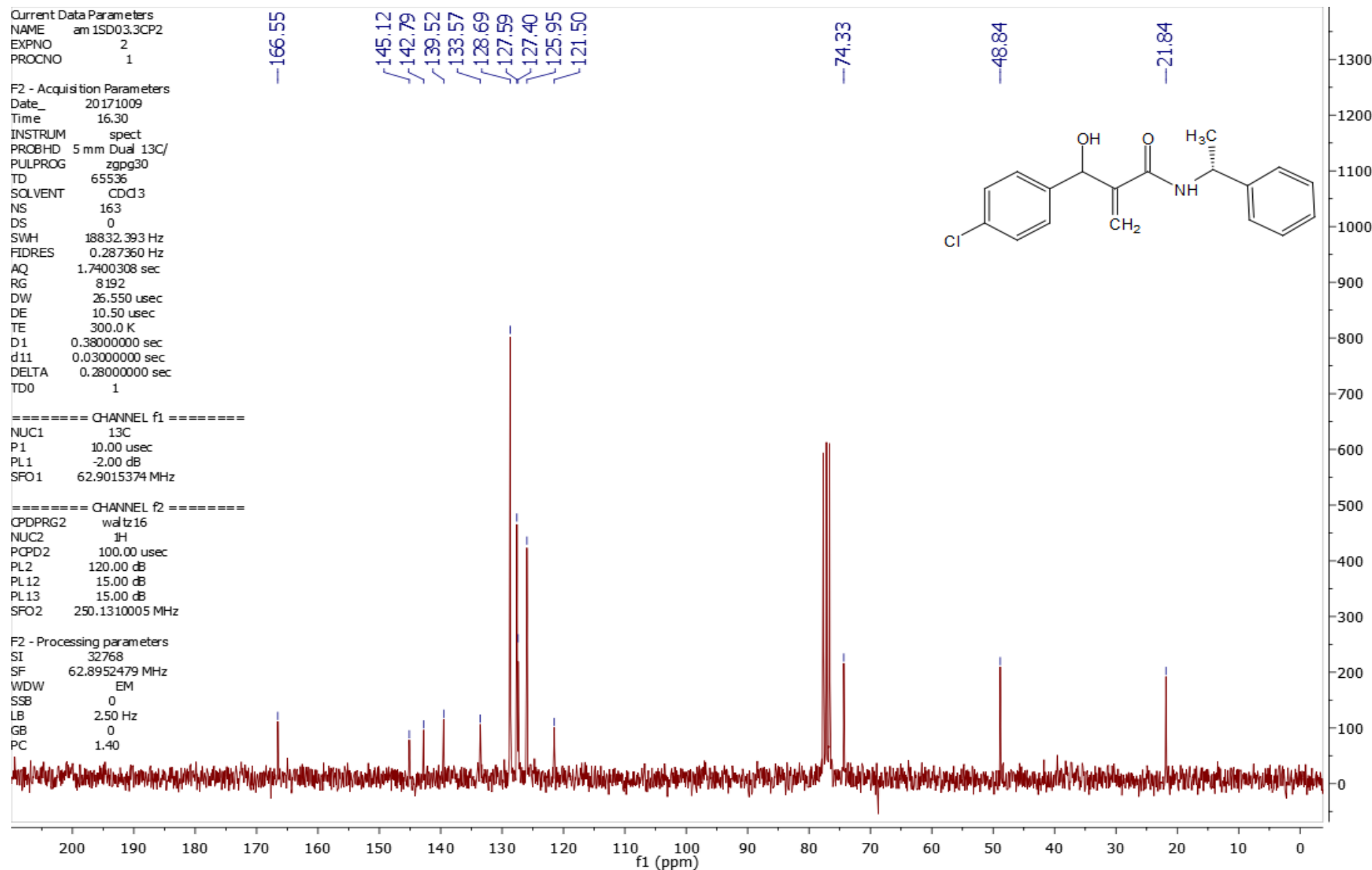
Anexo 53. Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 62,5 MHz) da amida 4e.



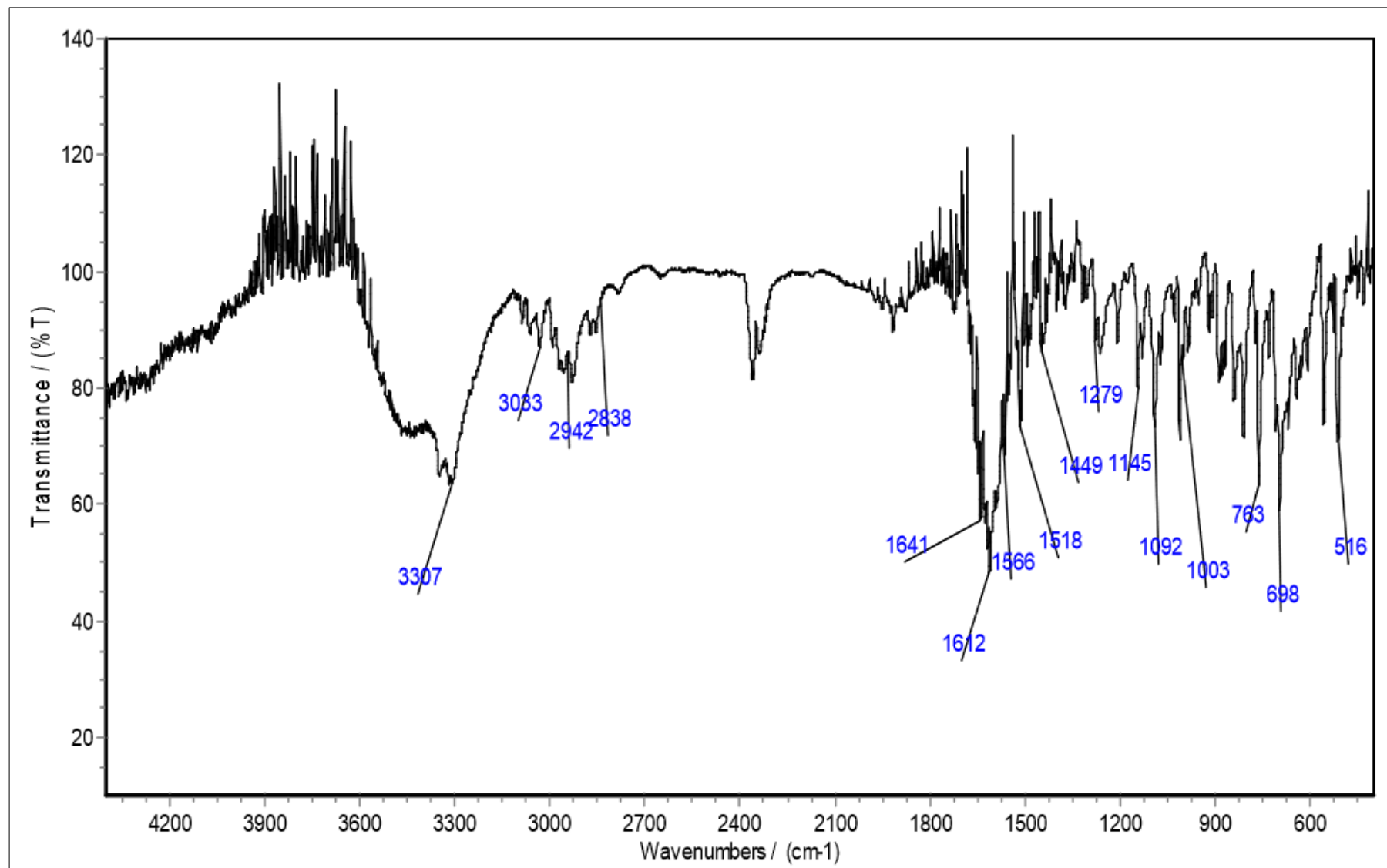
Anexo 54. Espectro infravermelho (KBr, cm⁻¹) da amida **4f**.



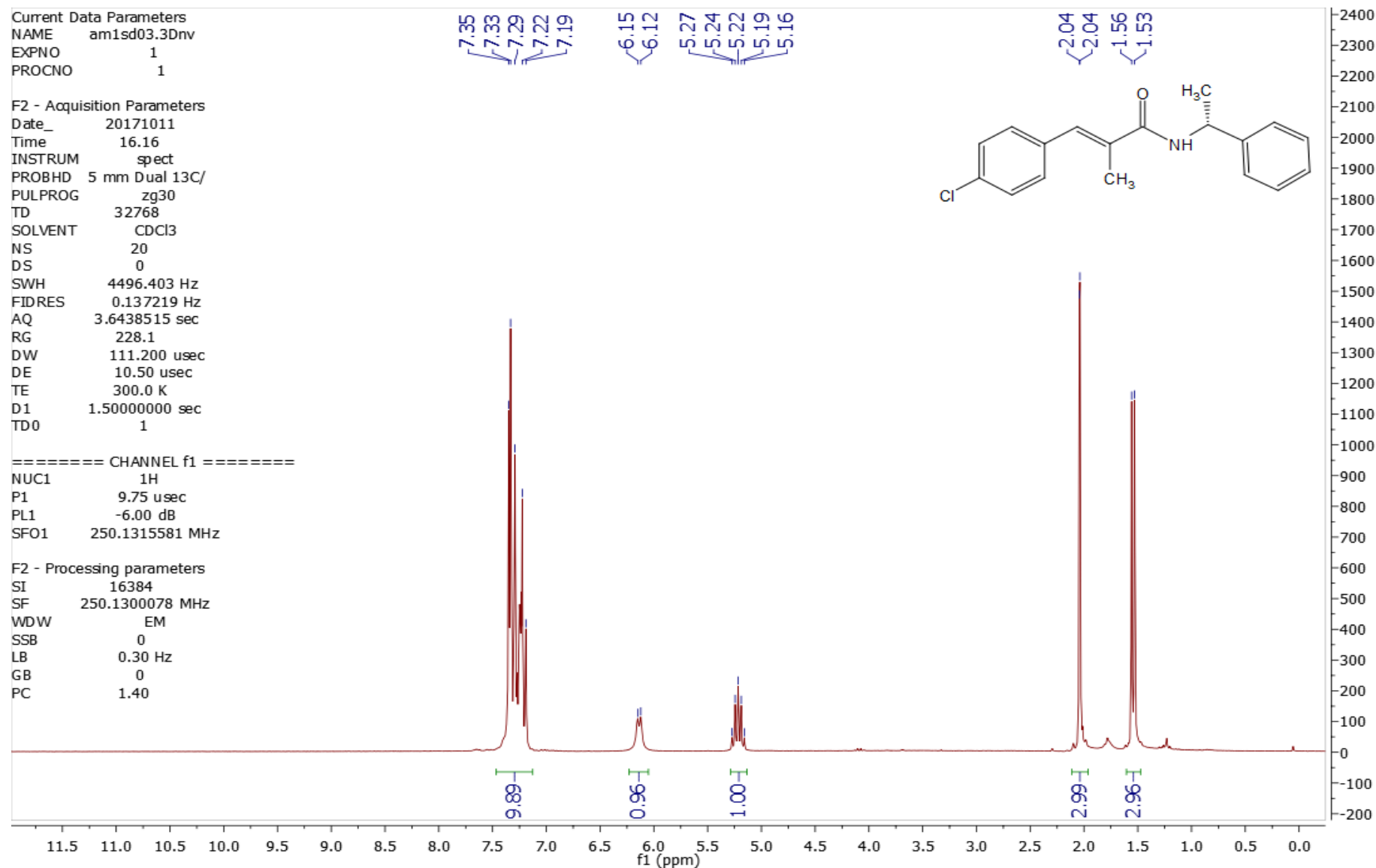
Anexo 55. Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 250 MHz) da amida **4f**.



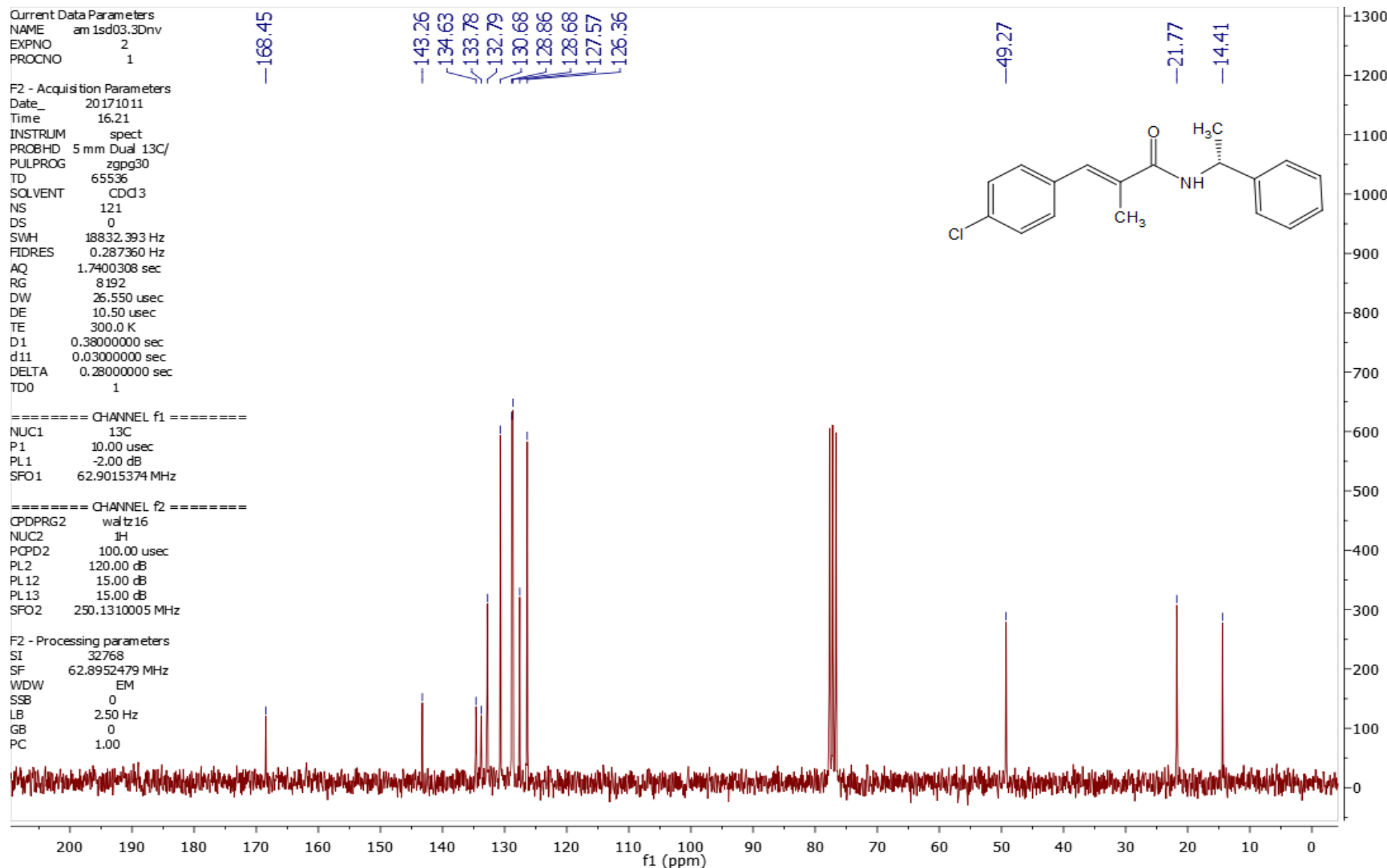
Anexo 56. Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 62,5 MHz) da amida **4f**.



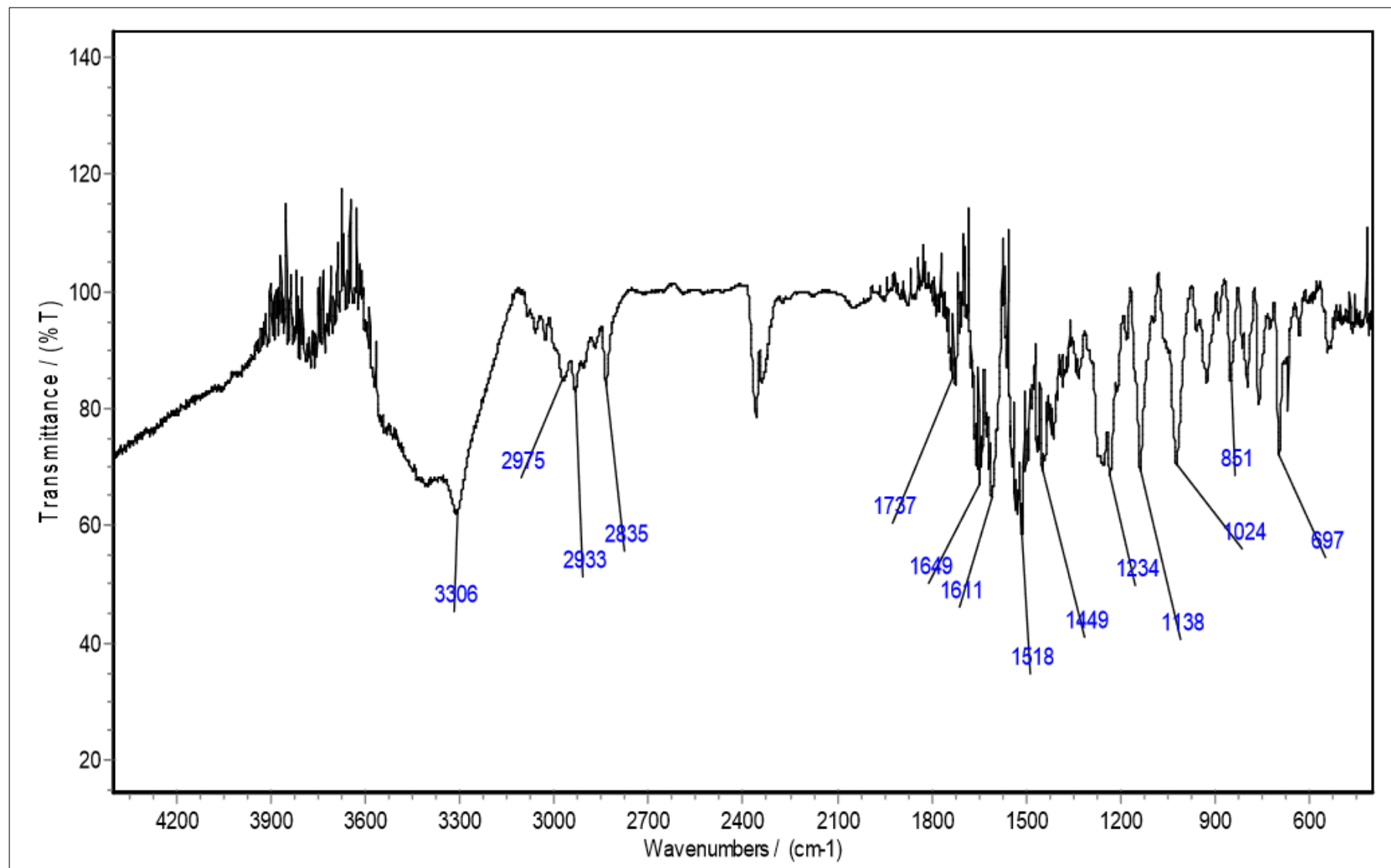
Anexo 57. Espectro infravermelho (KBr, cm⁻¹) da amida **8d**.



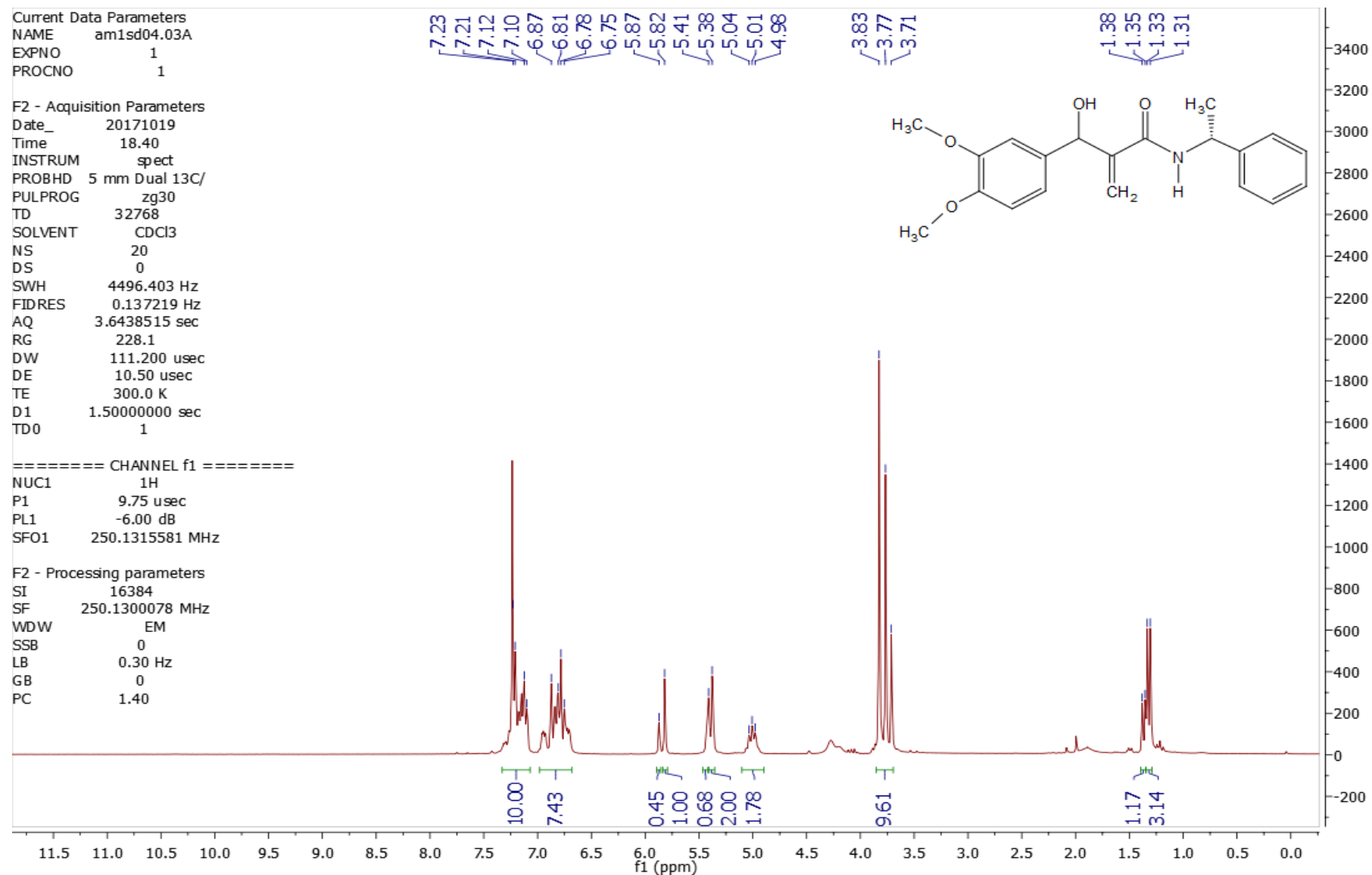
Anexo 58. Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 250 MHz) da amida **8d**.



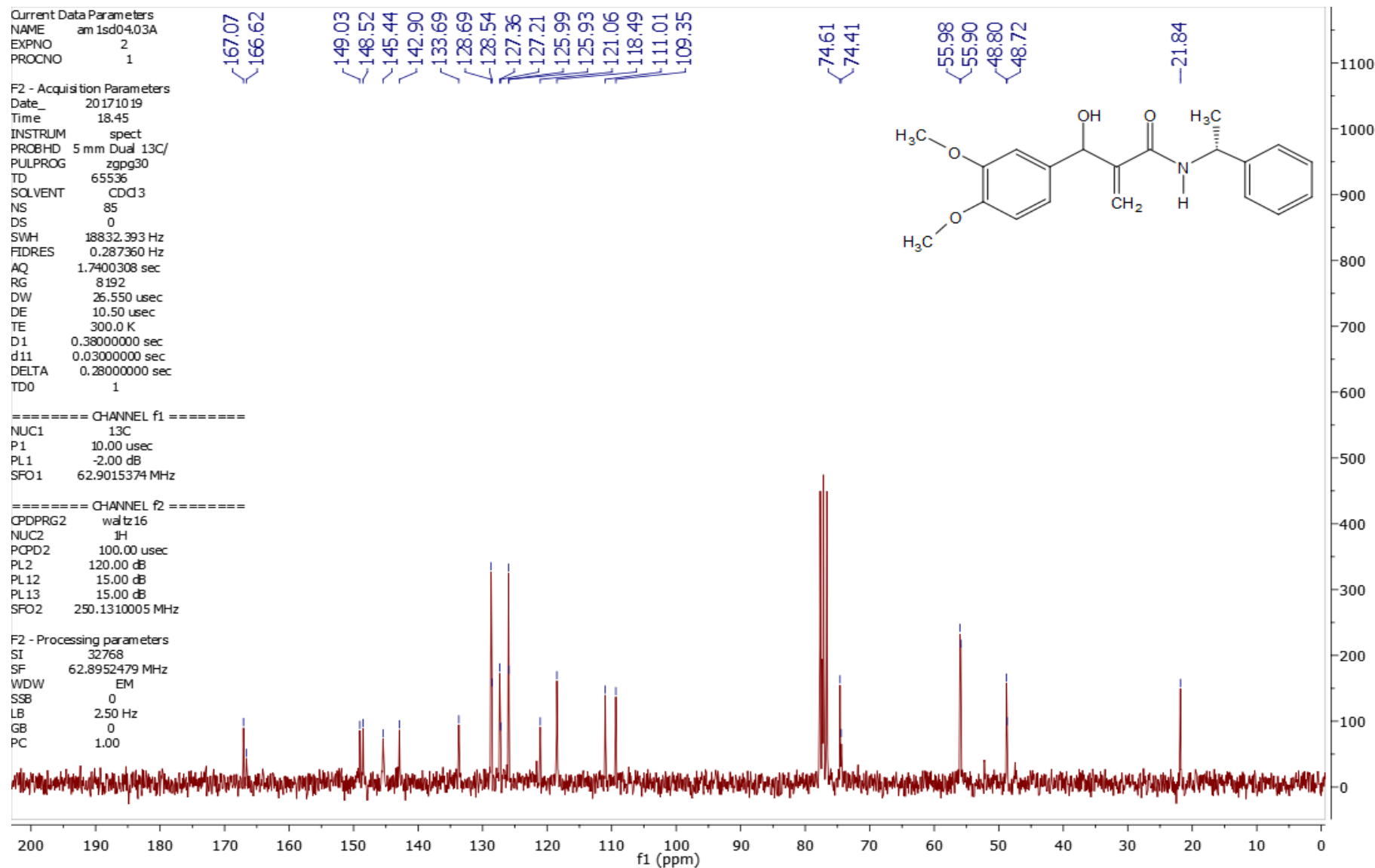
Anexo 59. Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 62,5 MHz) da amida **8d**.



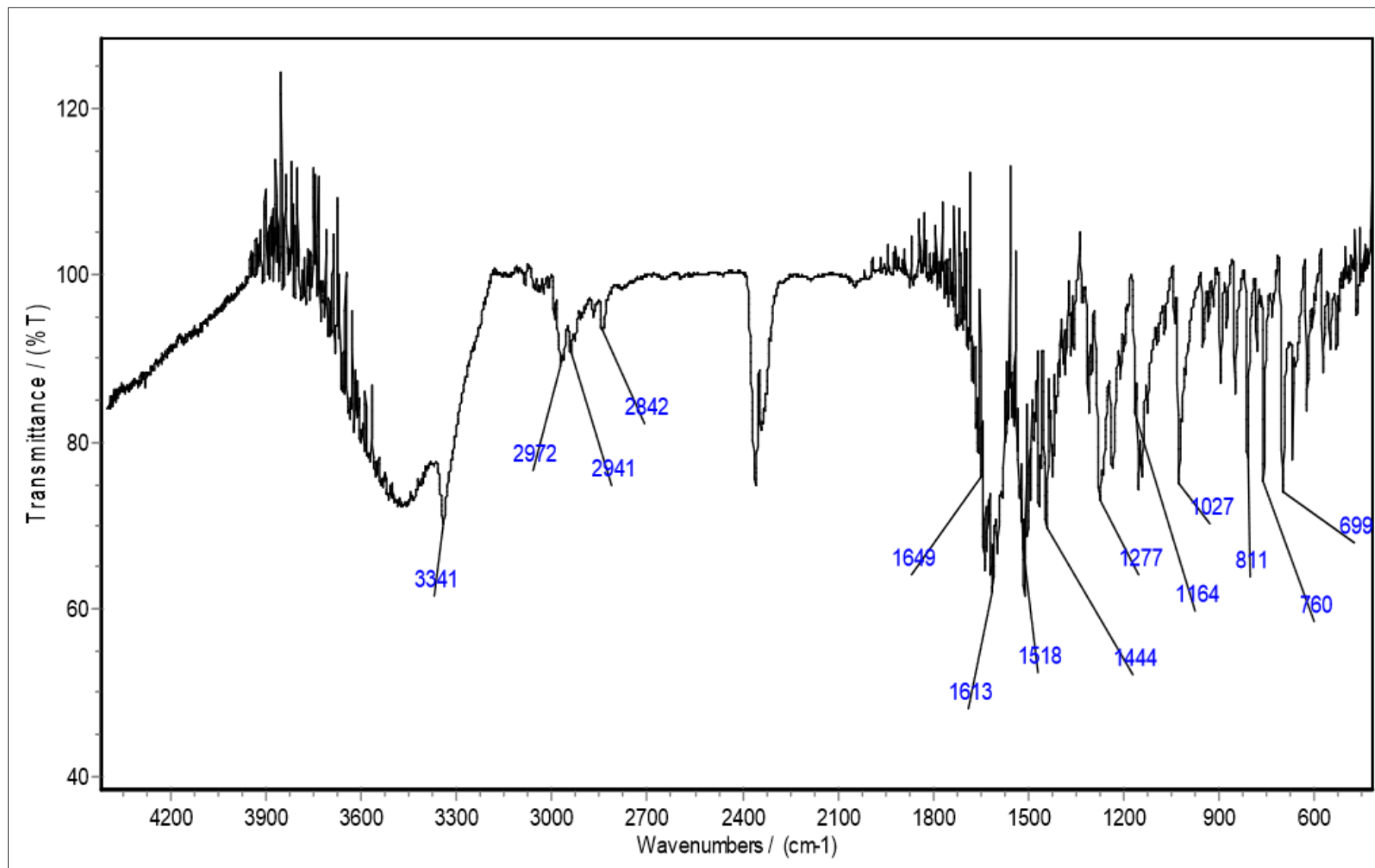
Anexo 60. Espectro infravermelho (KBr, cm⁻¹) das amidas **4g**.



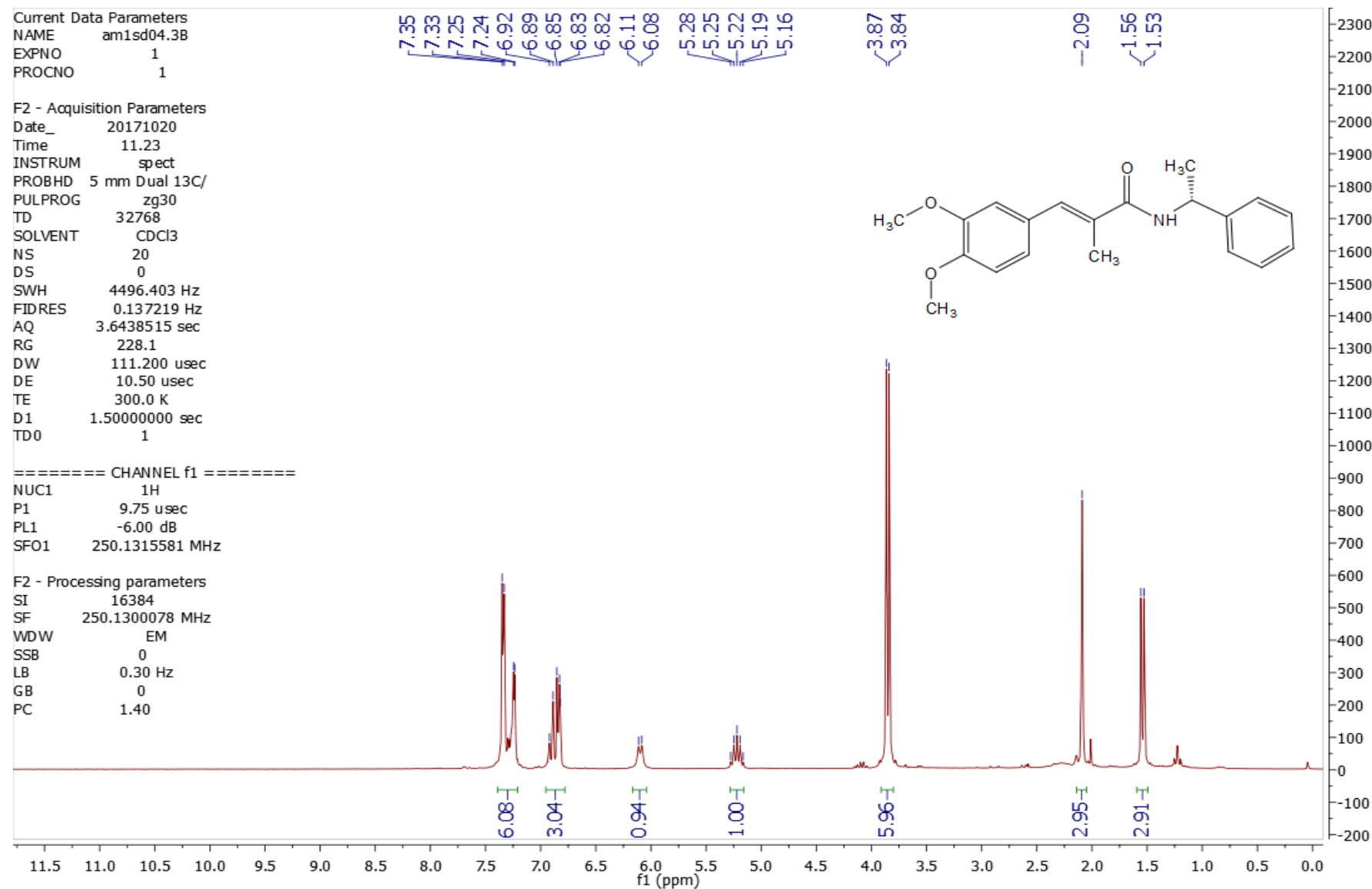
Anexo 61. Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 250 MHz) das amidas **4g**.



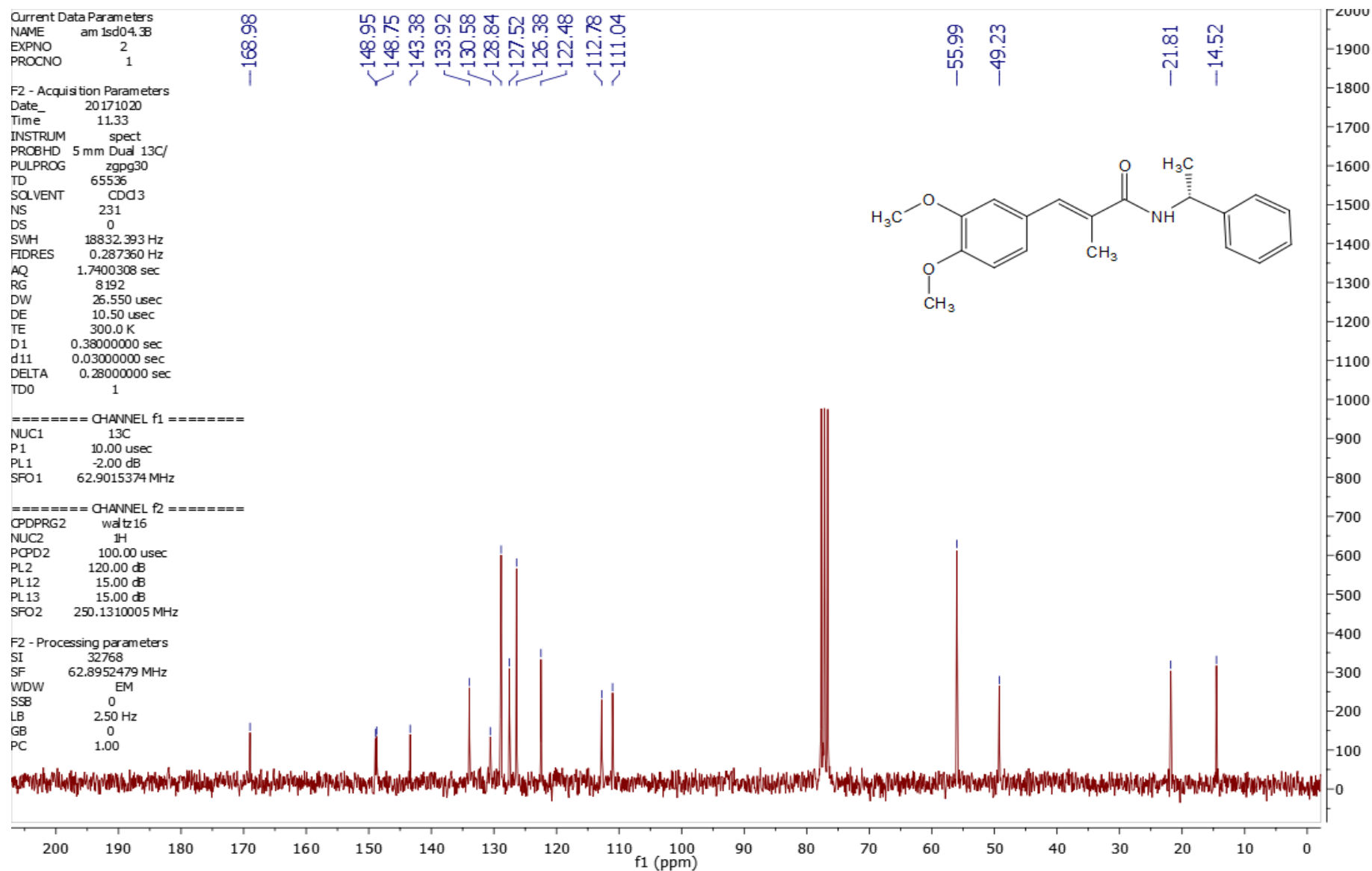
Anexo 62. Espectro de RMN ¹³C (δ, CDCl₃, 62,5 MHz) das amidas **4g**.



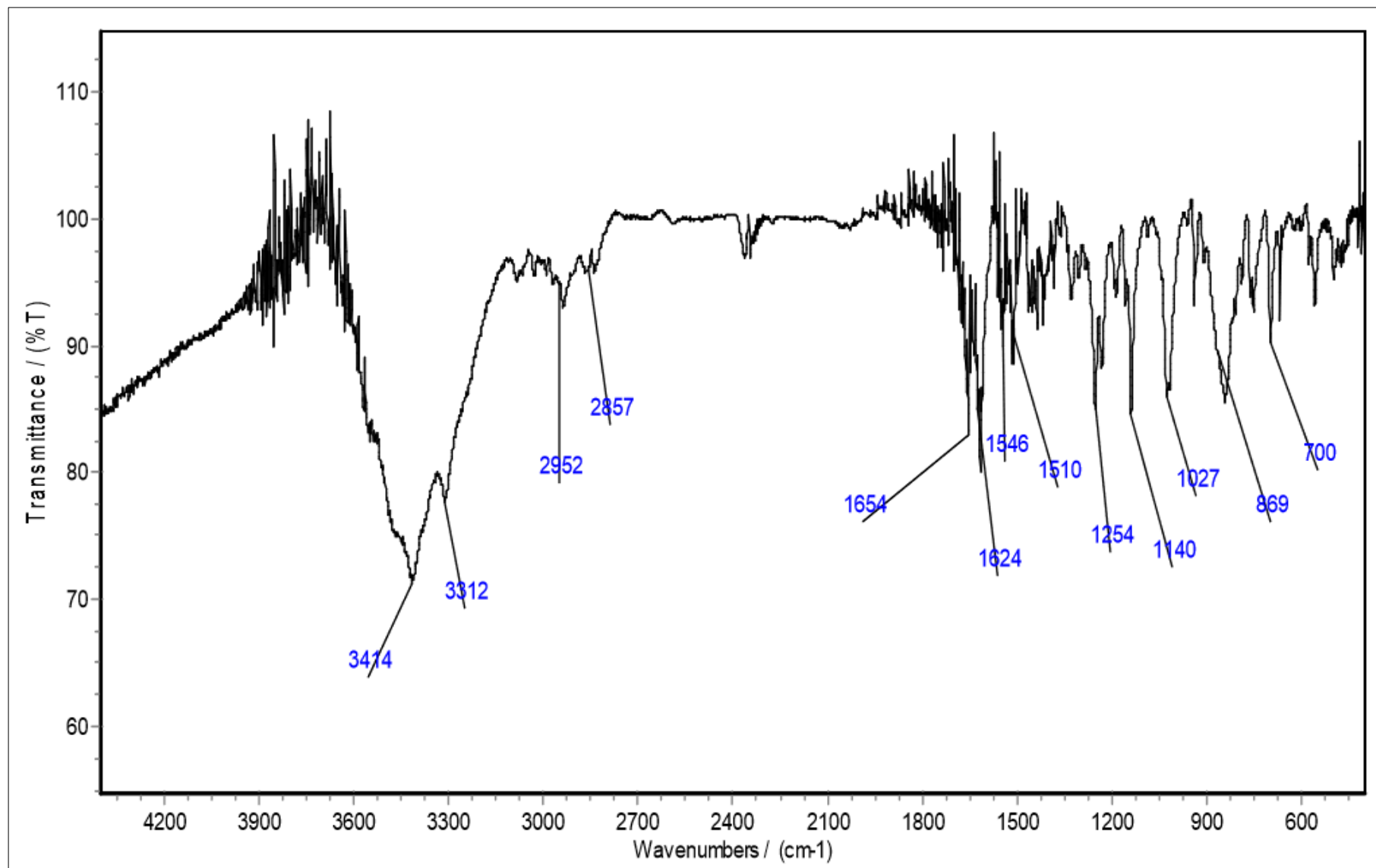
Anexo 63. Espectro infravermelho (KBr, cm⁻¹) da amida **8e**.



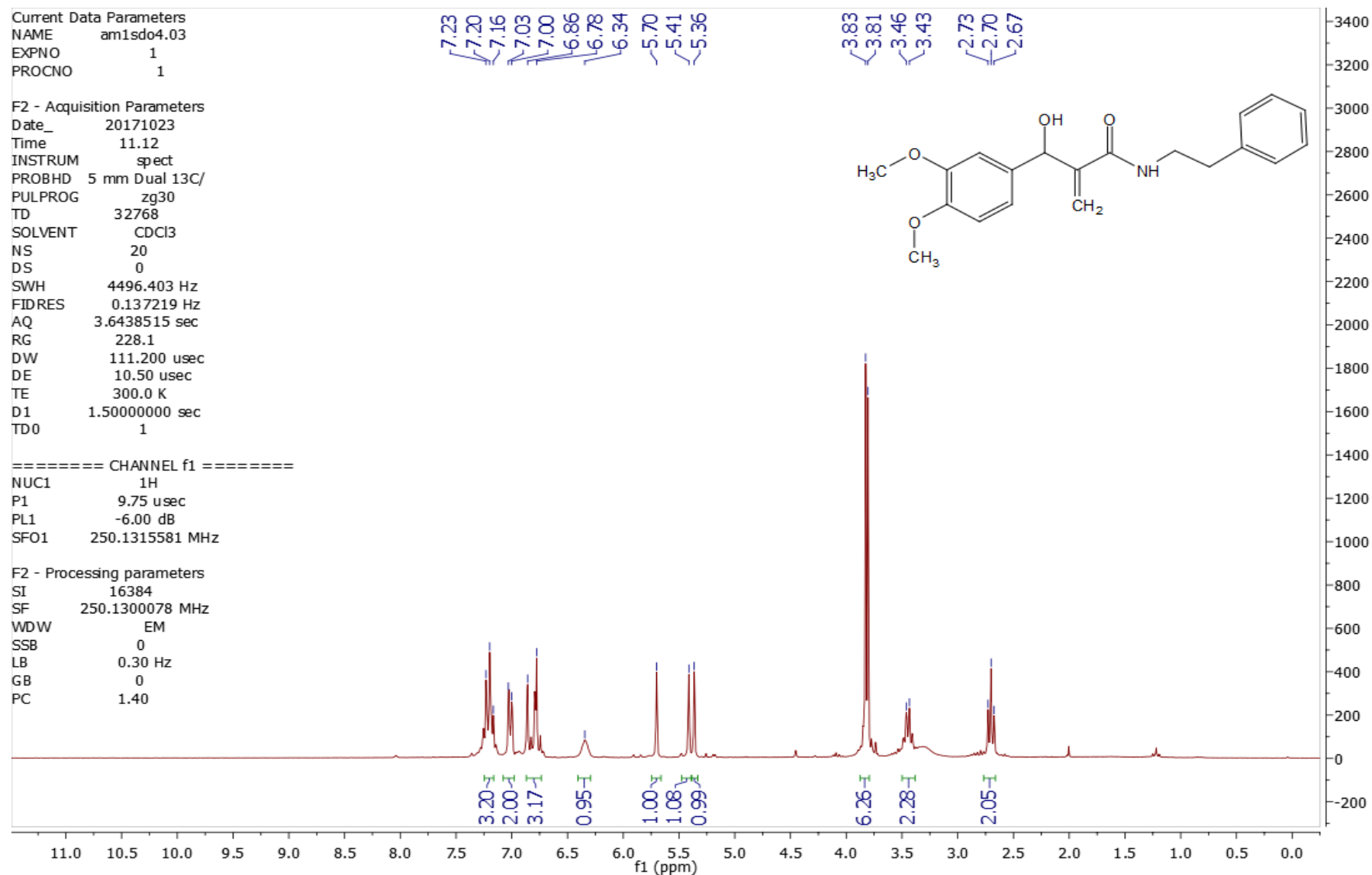
Anexo 64. Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 250 MHz) da amida **8e**.



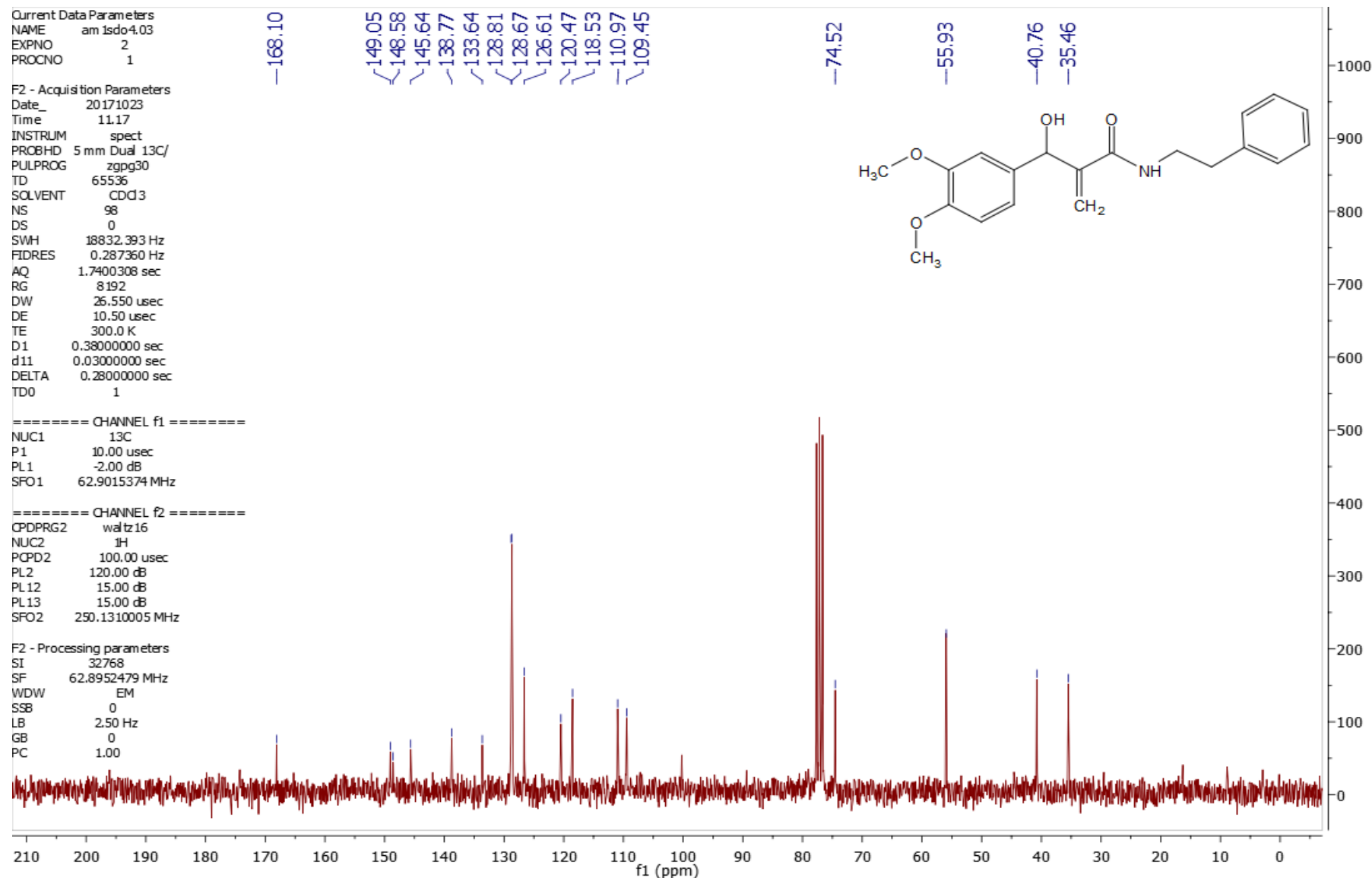
Anexo 65. Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 62,5 MHz) da amida **8e**.



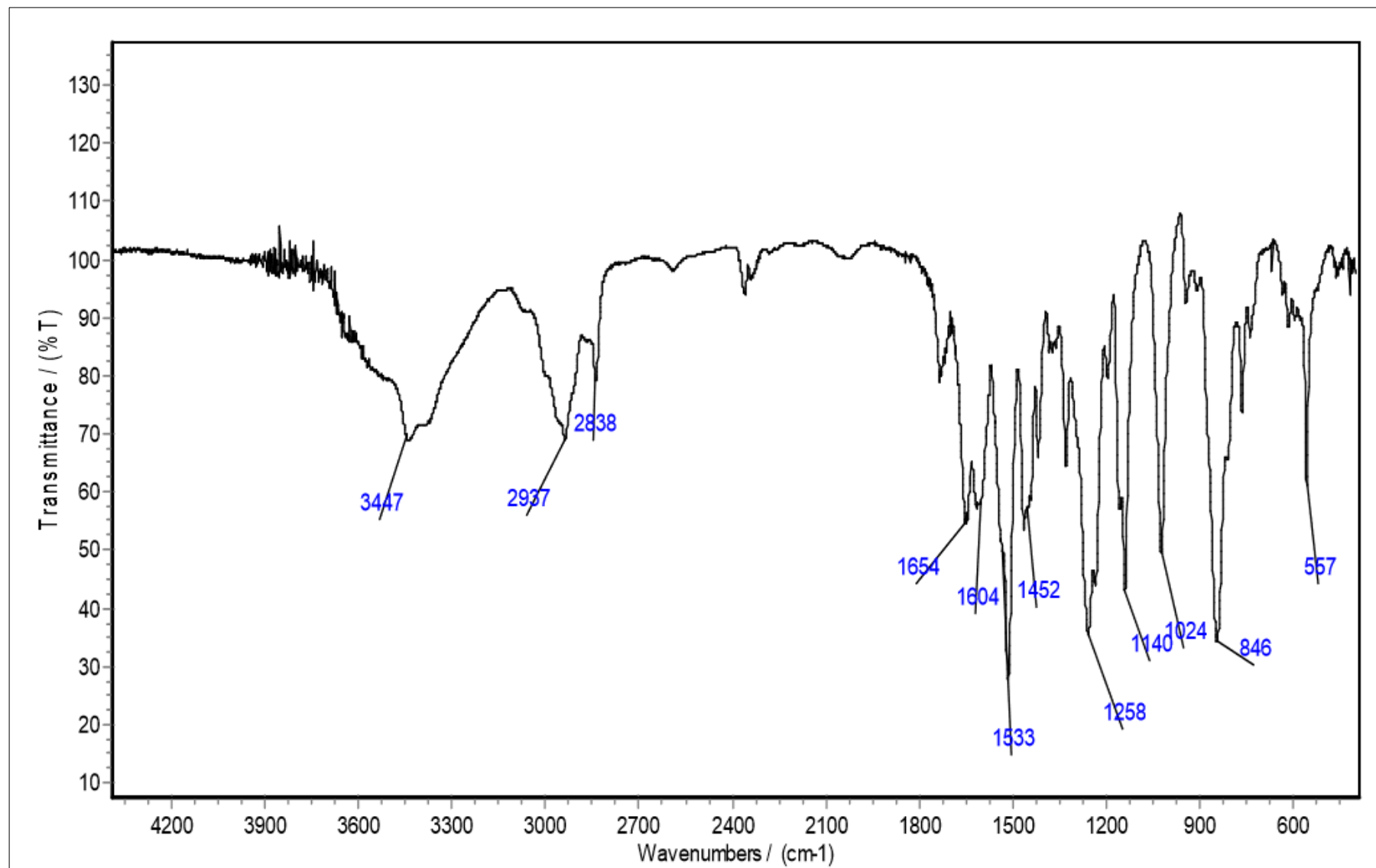
Anexo 66. Espectro infravermelho (KBr, cm⁻¹) da amida **4h**.



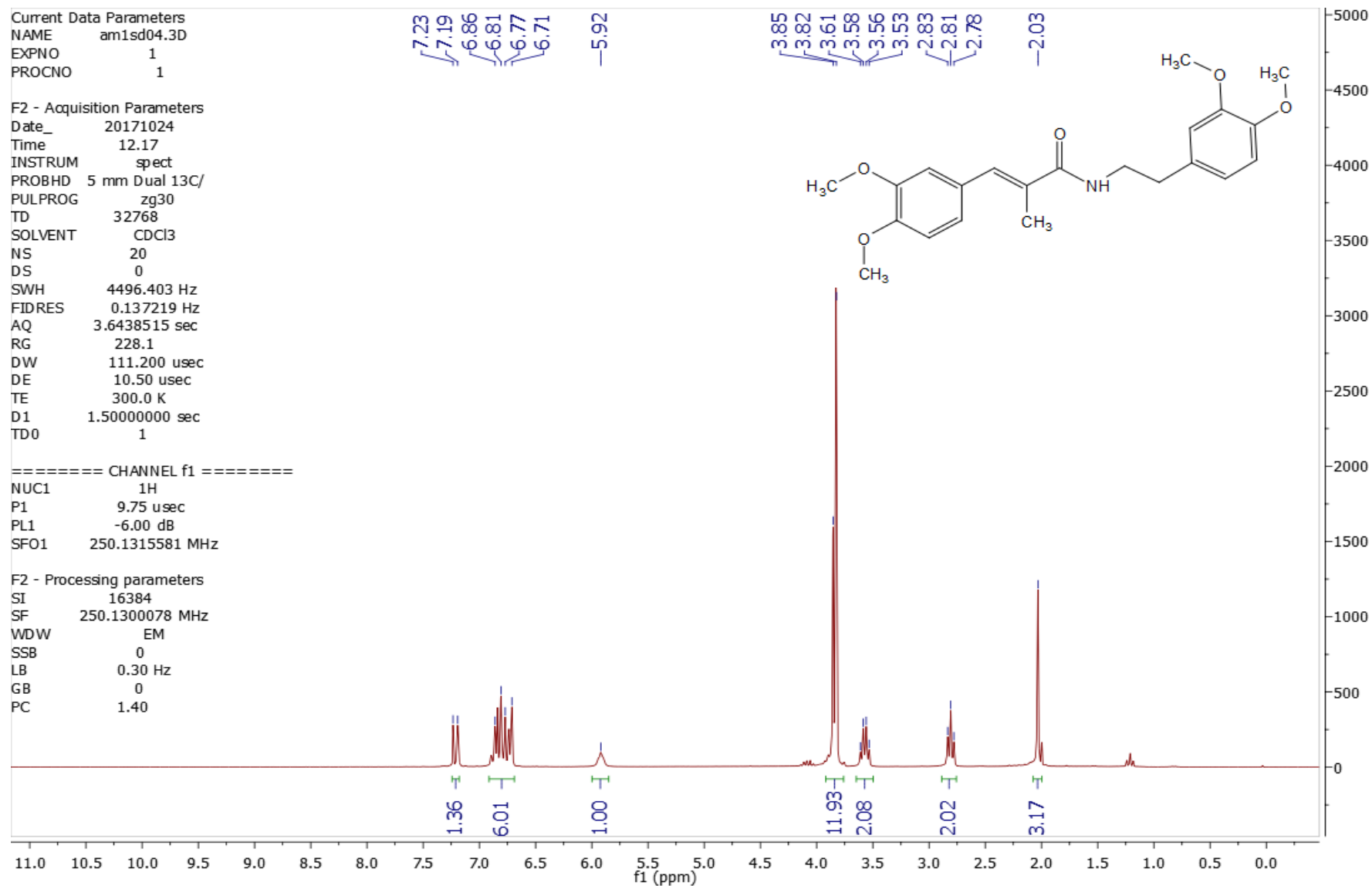
Anexo 67. Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 250 MHz) da amida **4h**.



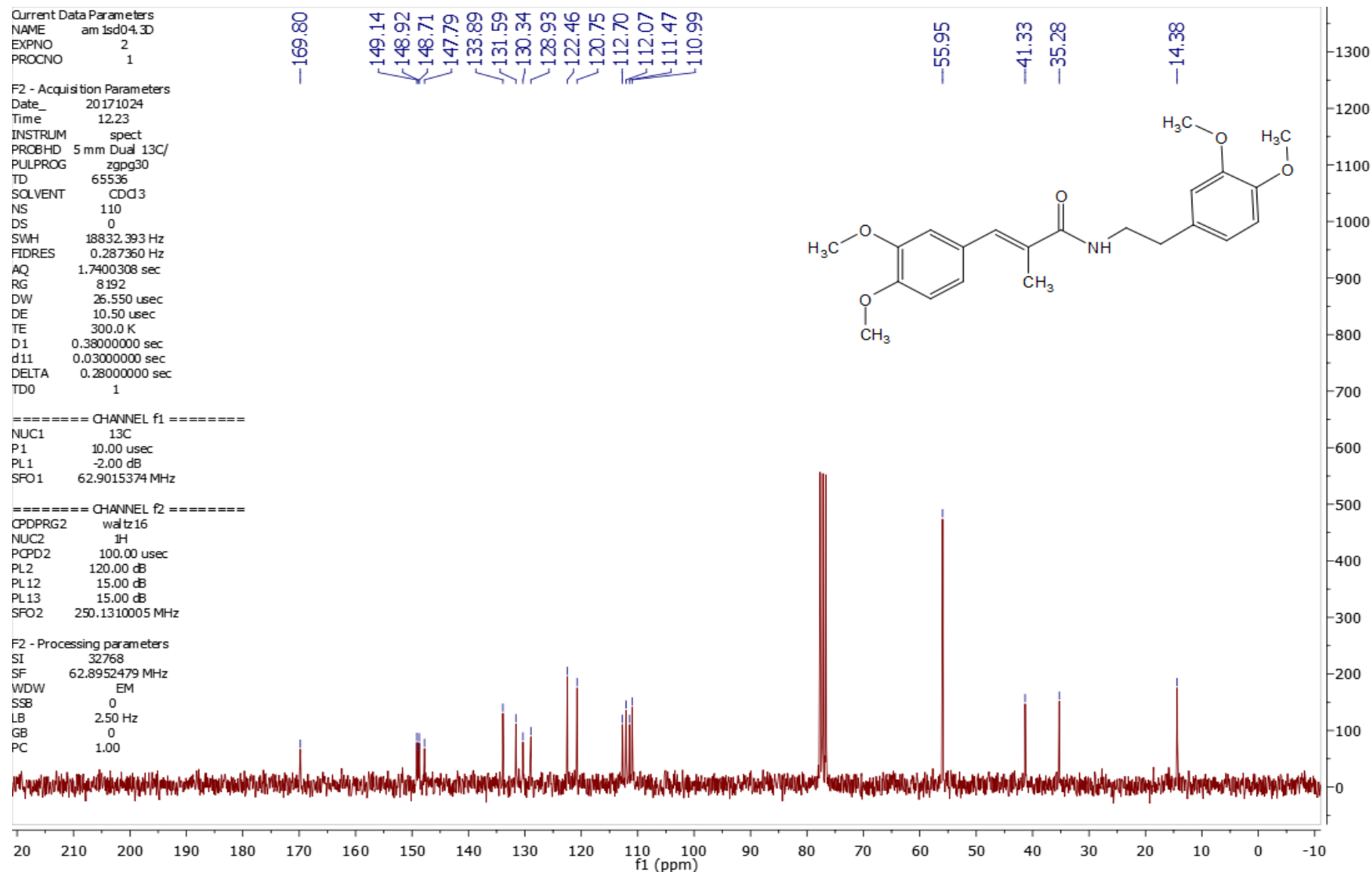
Anexo 68. Espectro de RMN ¹³C (δ, CDCl₃, 62,5 MHz) da amida **4h**.



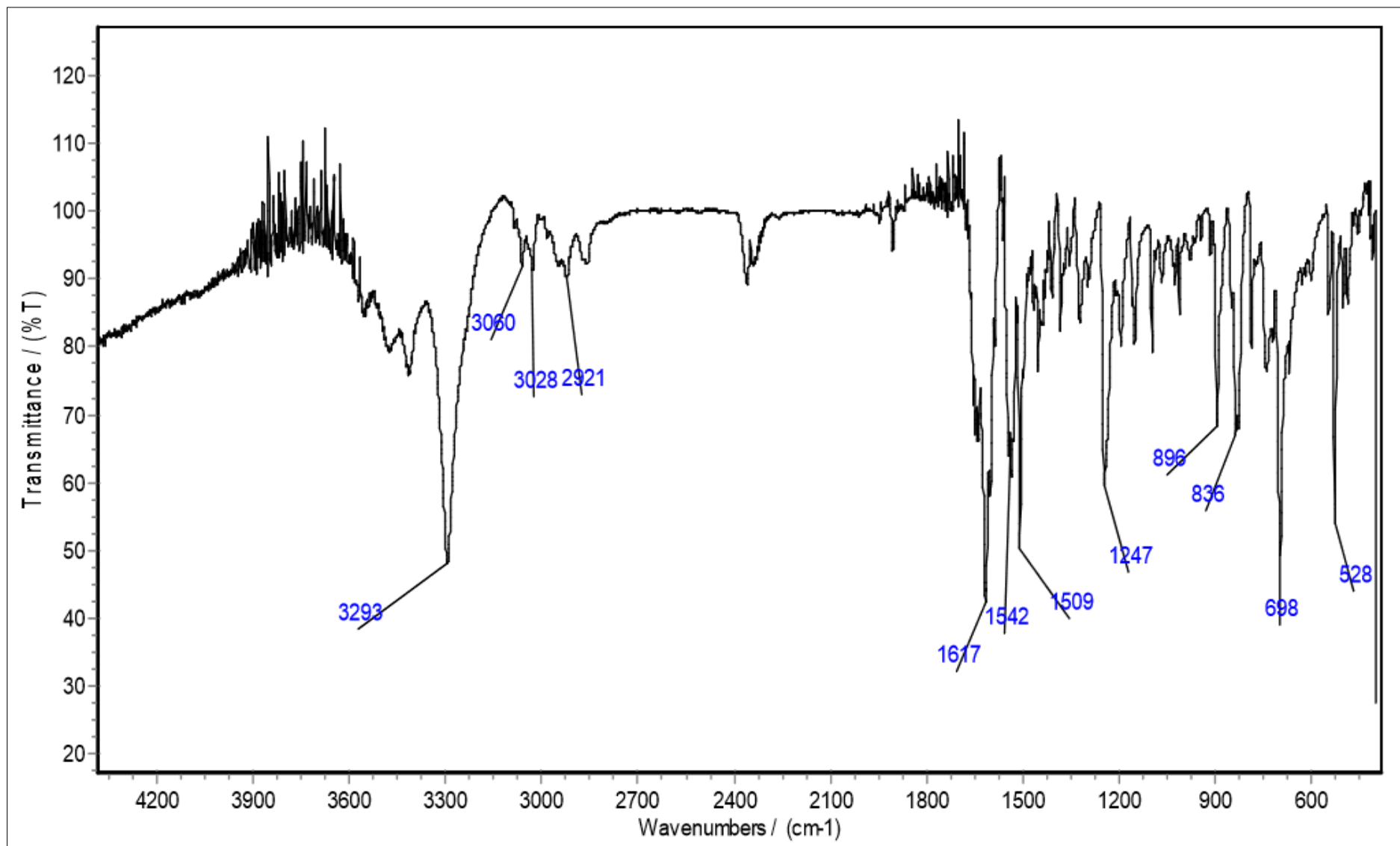
Anexo 69. Espectro infravermelho (KBr, cm⁻¹) da amida **8f**.



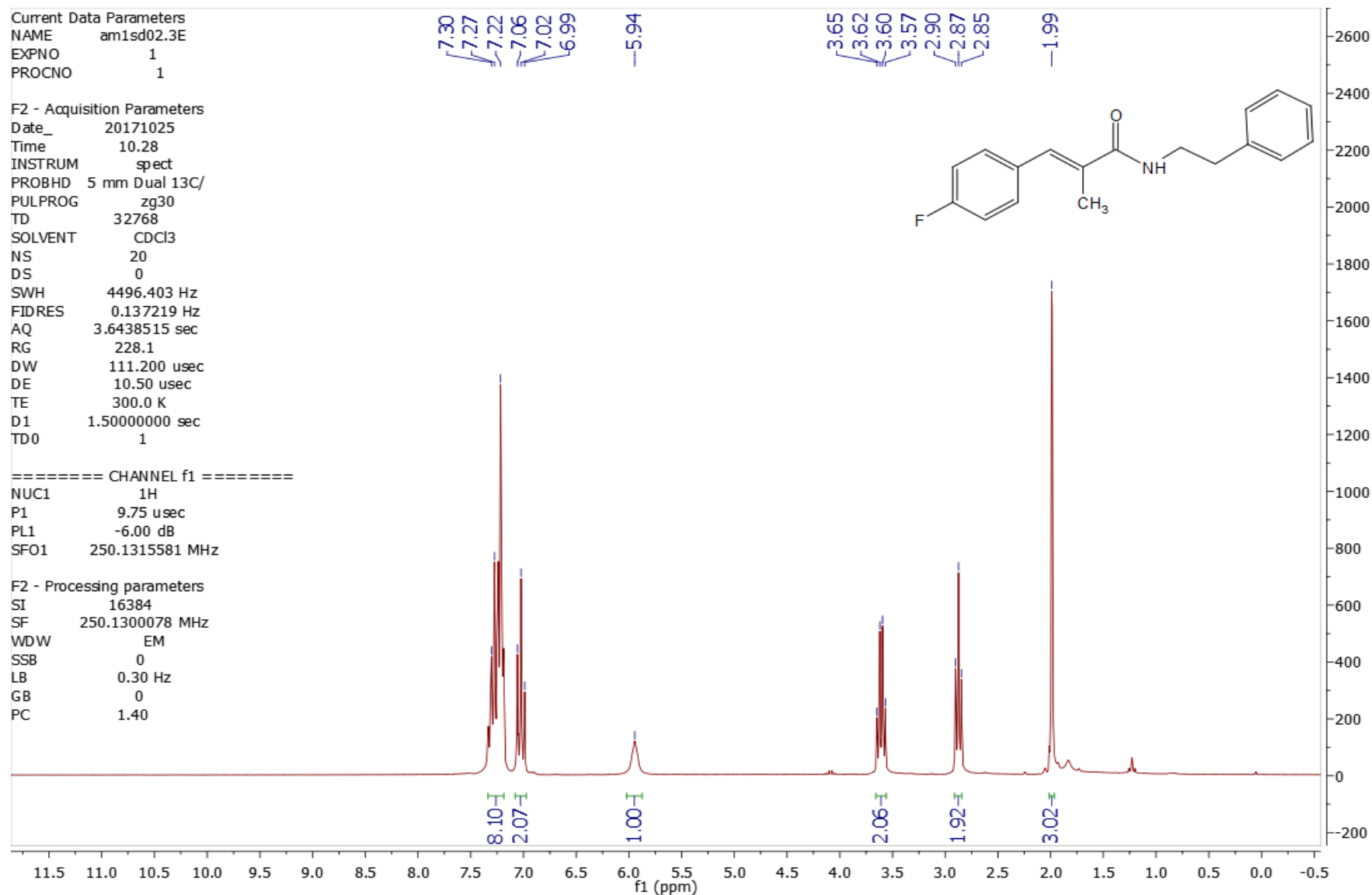
Anexo 70. Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 250 MHz) da amida **8f**.



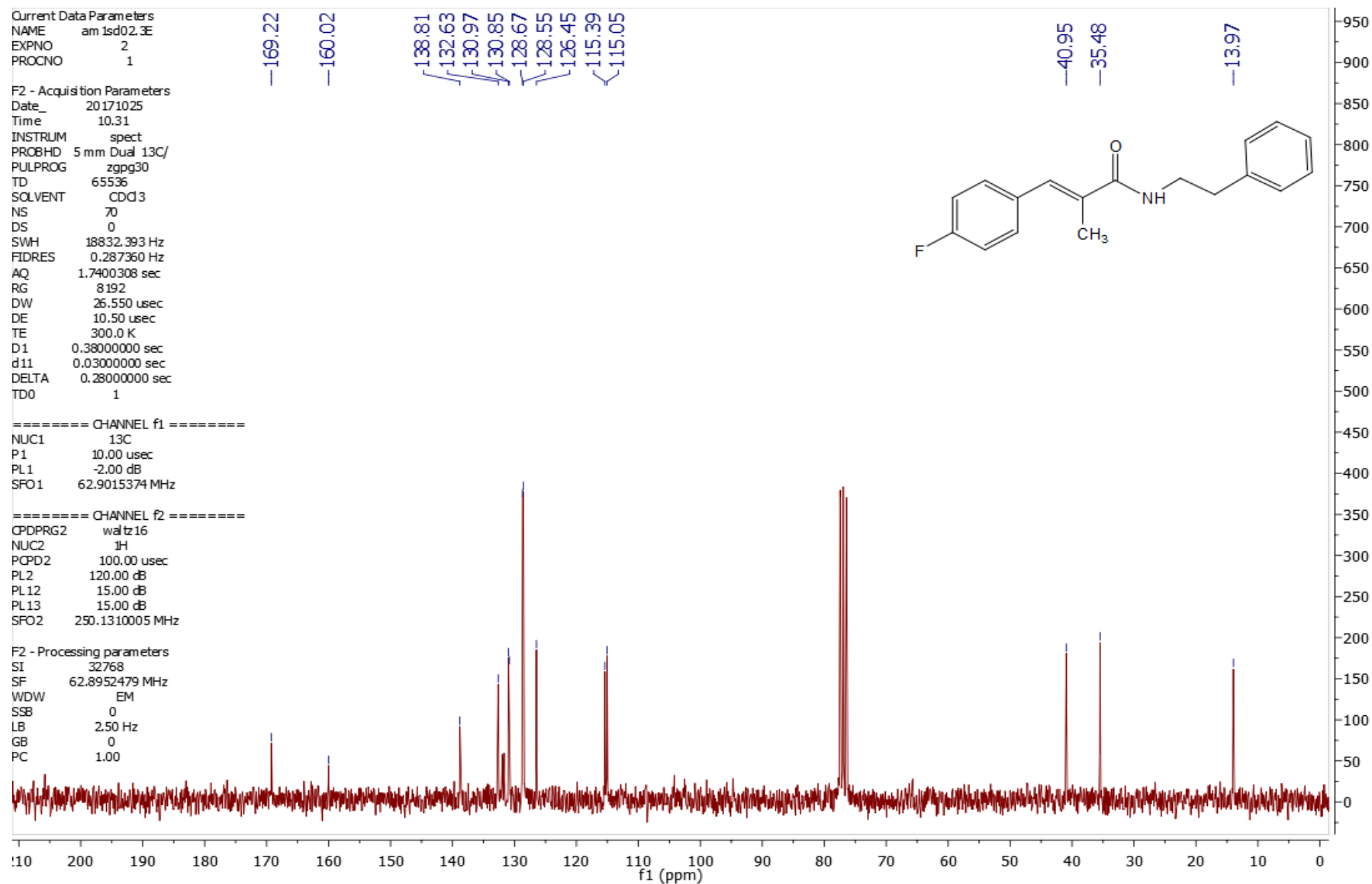
Anexo 71. Espectro de RMN ¹³C (δ, CDCl₃, 62,5 MHz) da amida **8f**.



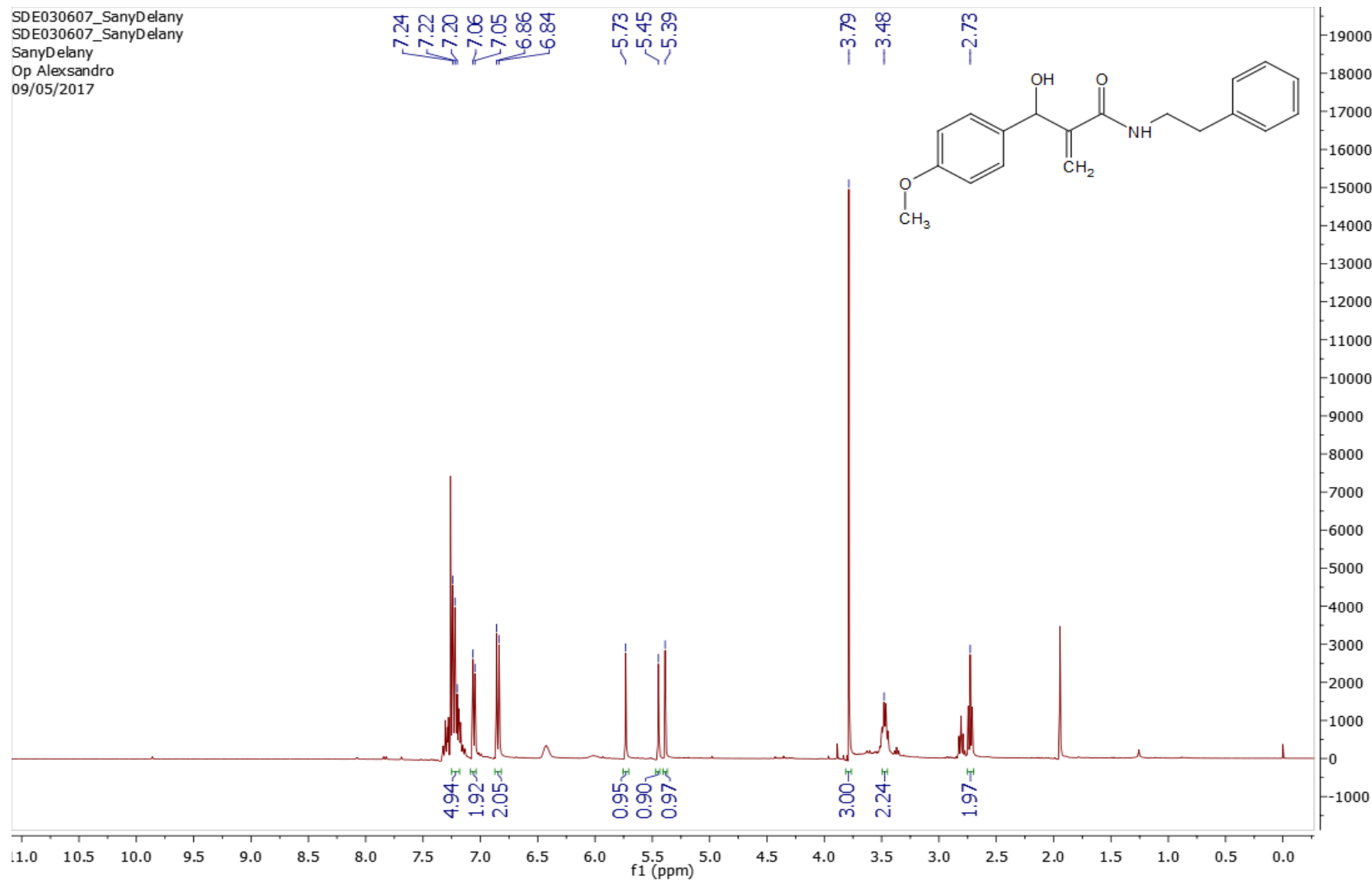
Anexo 72. Espectro infravermelho (KBr, cm⁻¹) da amida 8g.



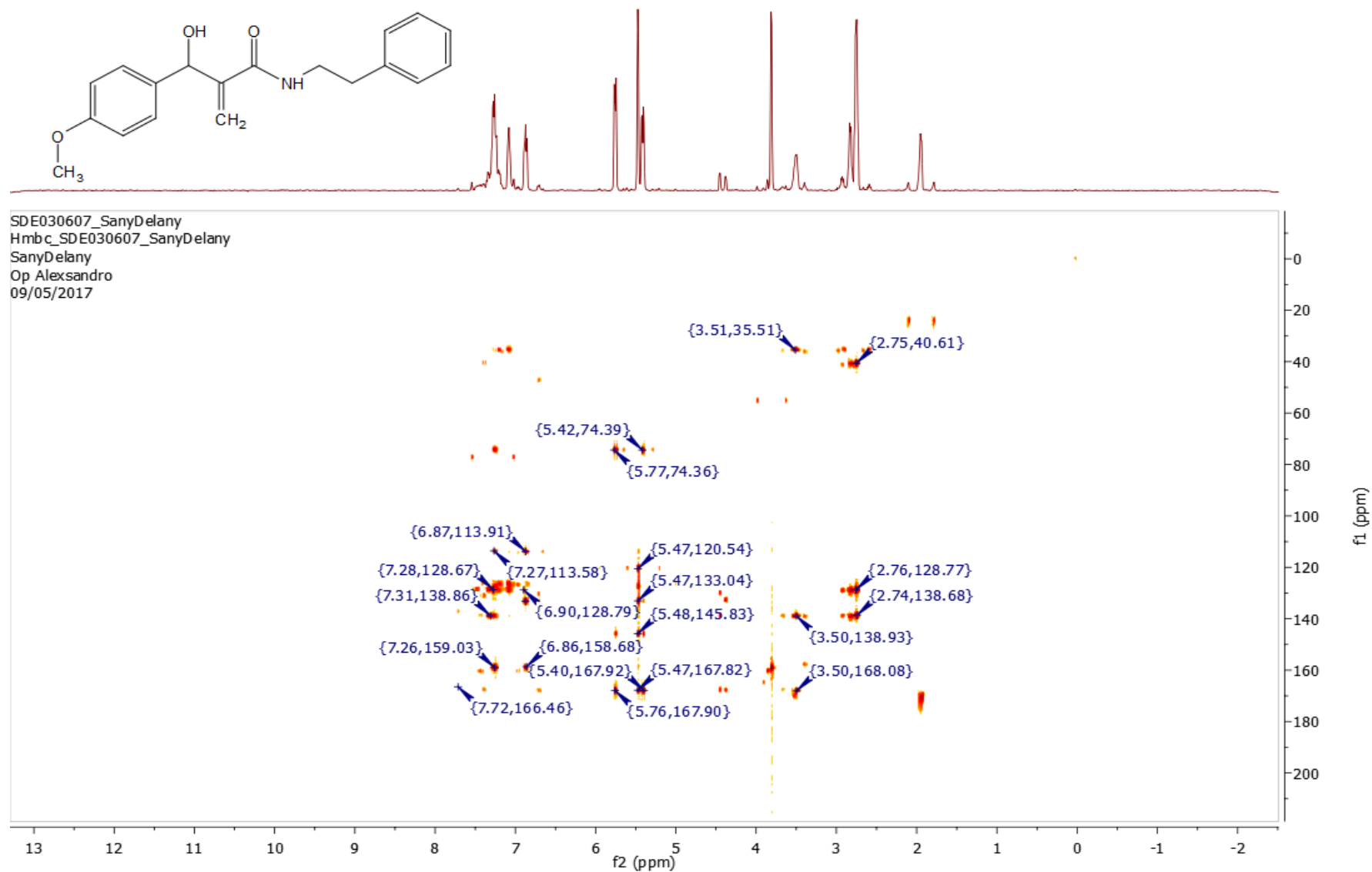
Anexo 73. Espectro de RMN ¹H (δ, CDCl₃, 250 MHz) da amida **8g**.



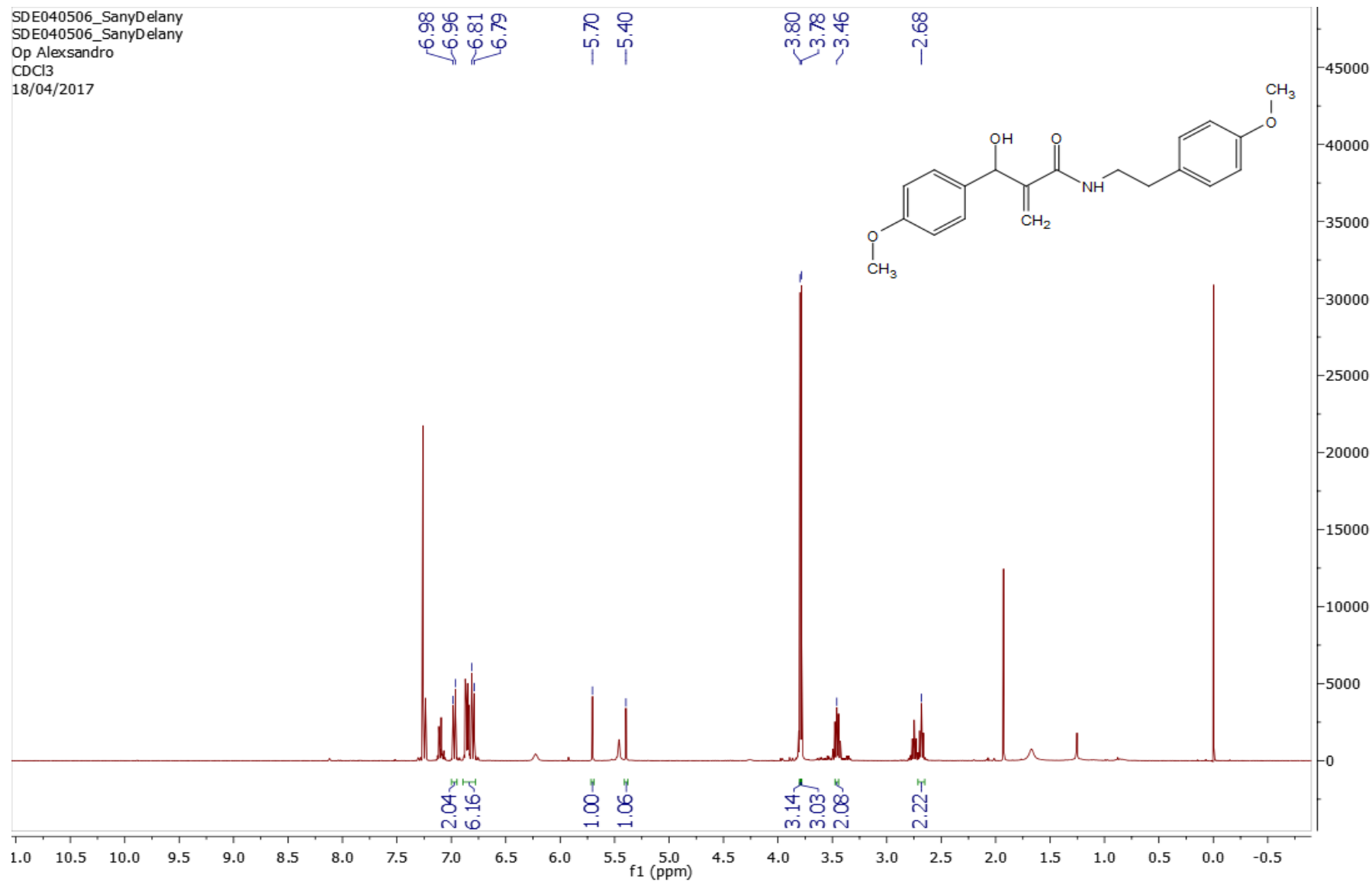
Anexo 74. Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 62,5 MHz) da amida **8g**.



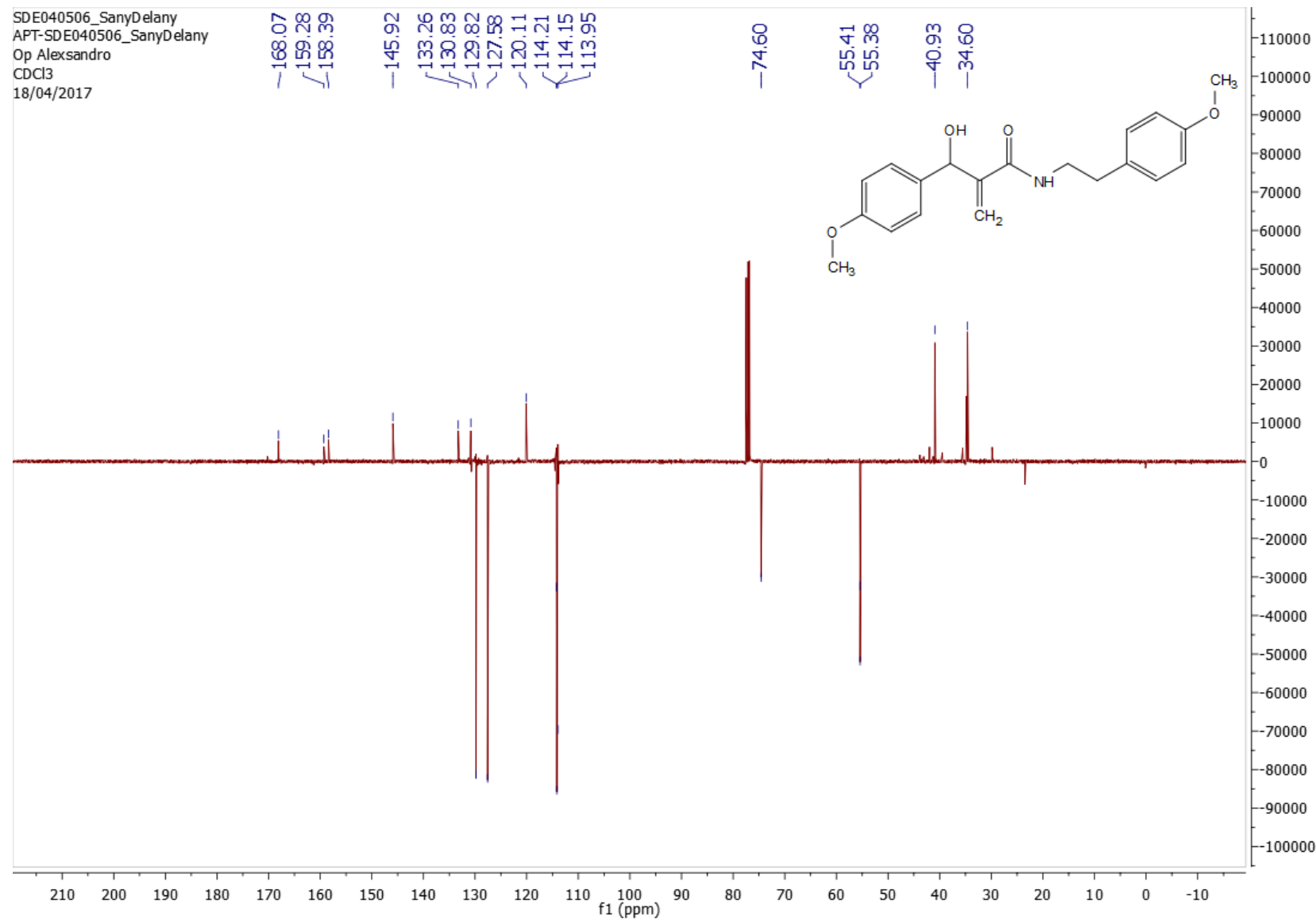
Anexo 75. Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 500 MHz) da amida **4i**.



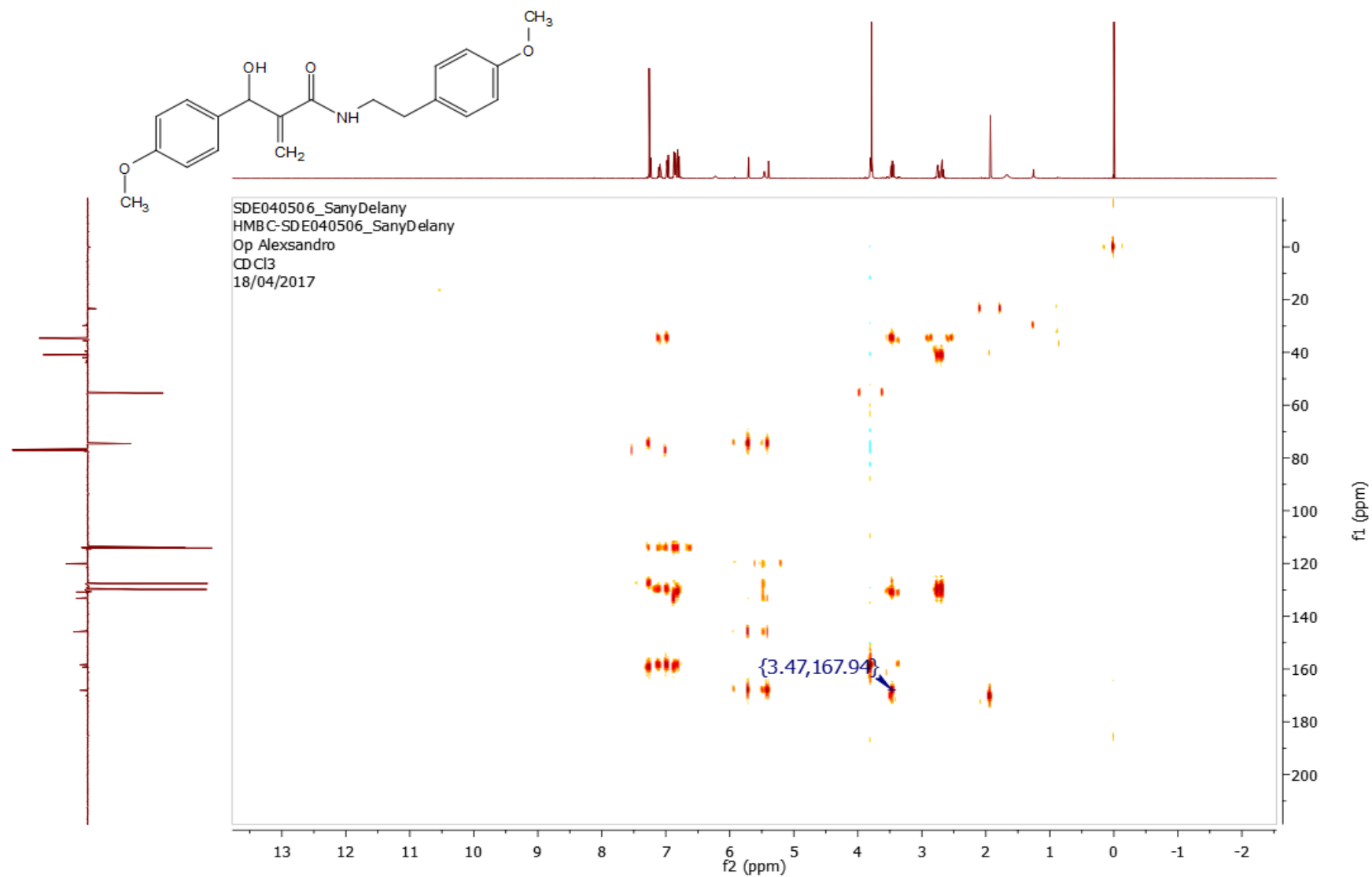
Anexo 76. Espectro HMBC (δ , CDCl₃, 500 MHz e 125 MHz) da amida **4i**.



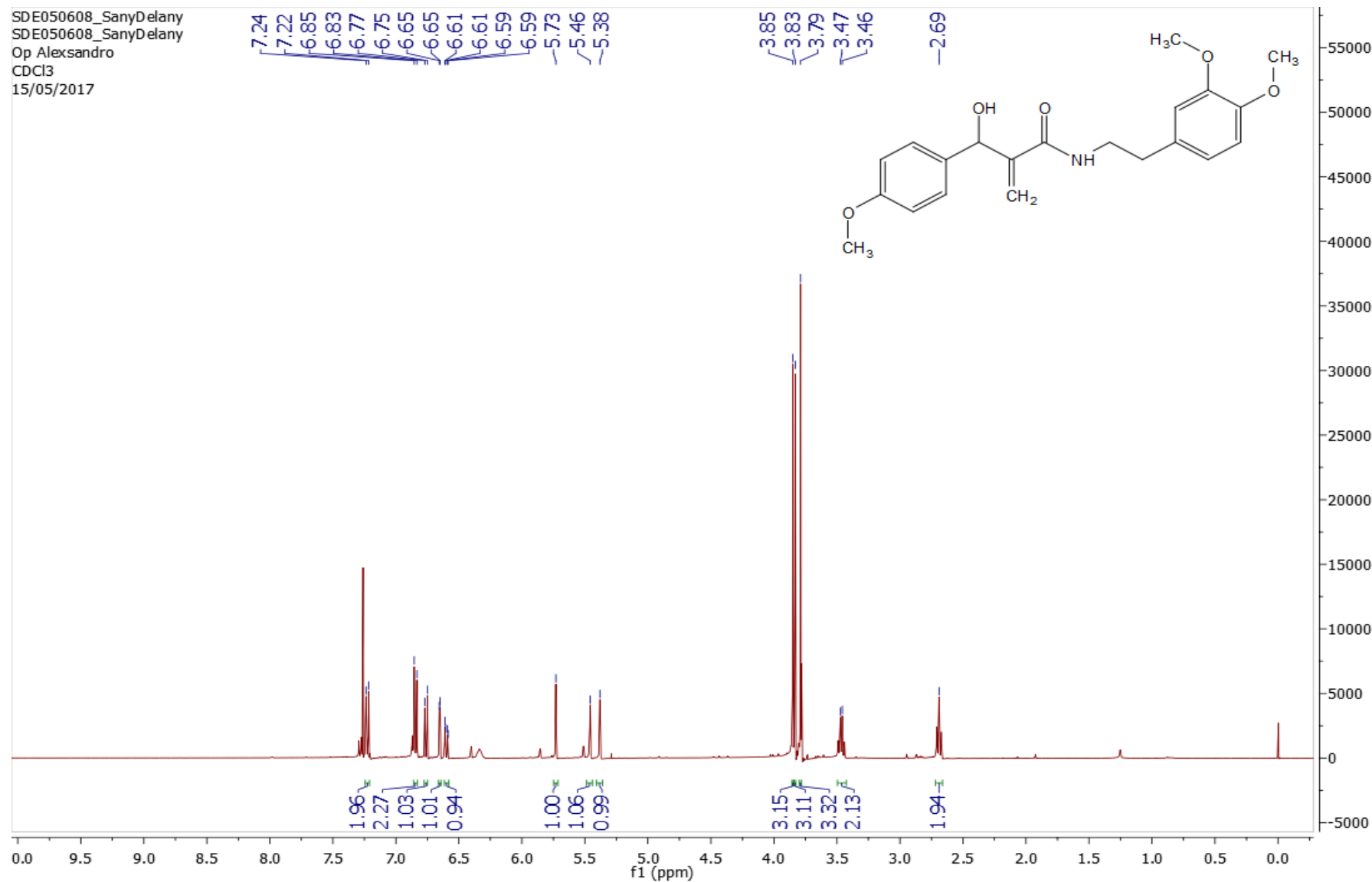
Anexo 77. Espectro de RMN ¹H (δ, CDCl₃, 500 MHz) da amida **4j**.



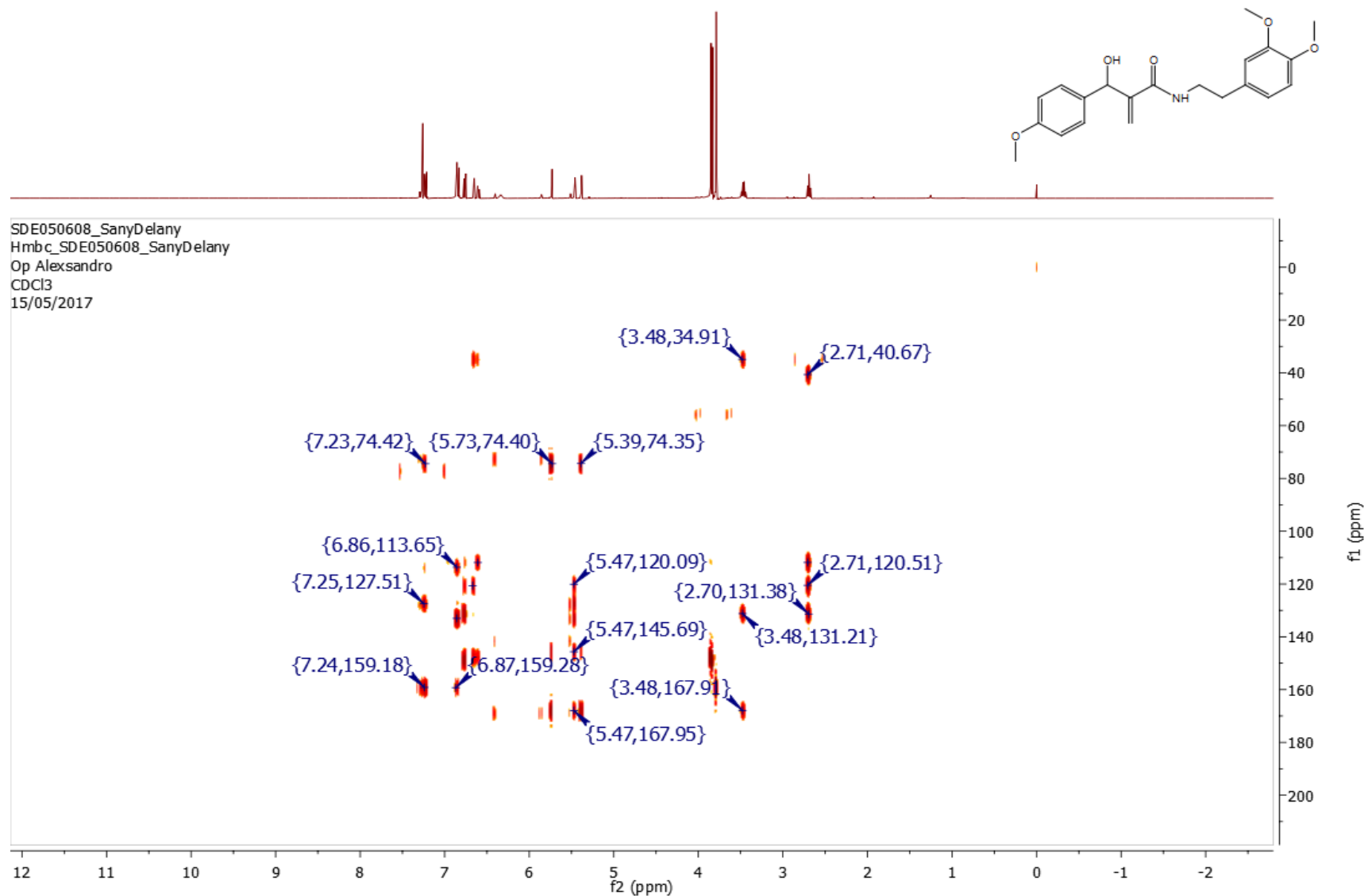
Anexo 78. Espectro de RMN ¹³C (δ, CDCl₃, 125 MHz) da amida **4j**.



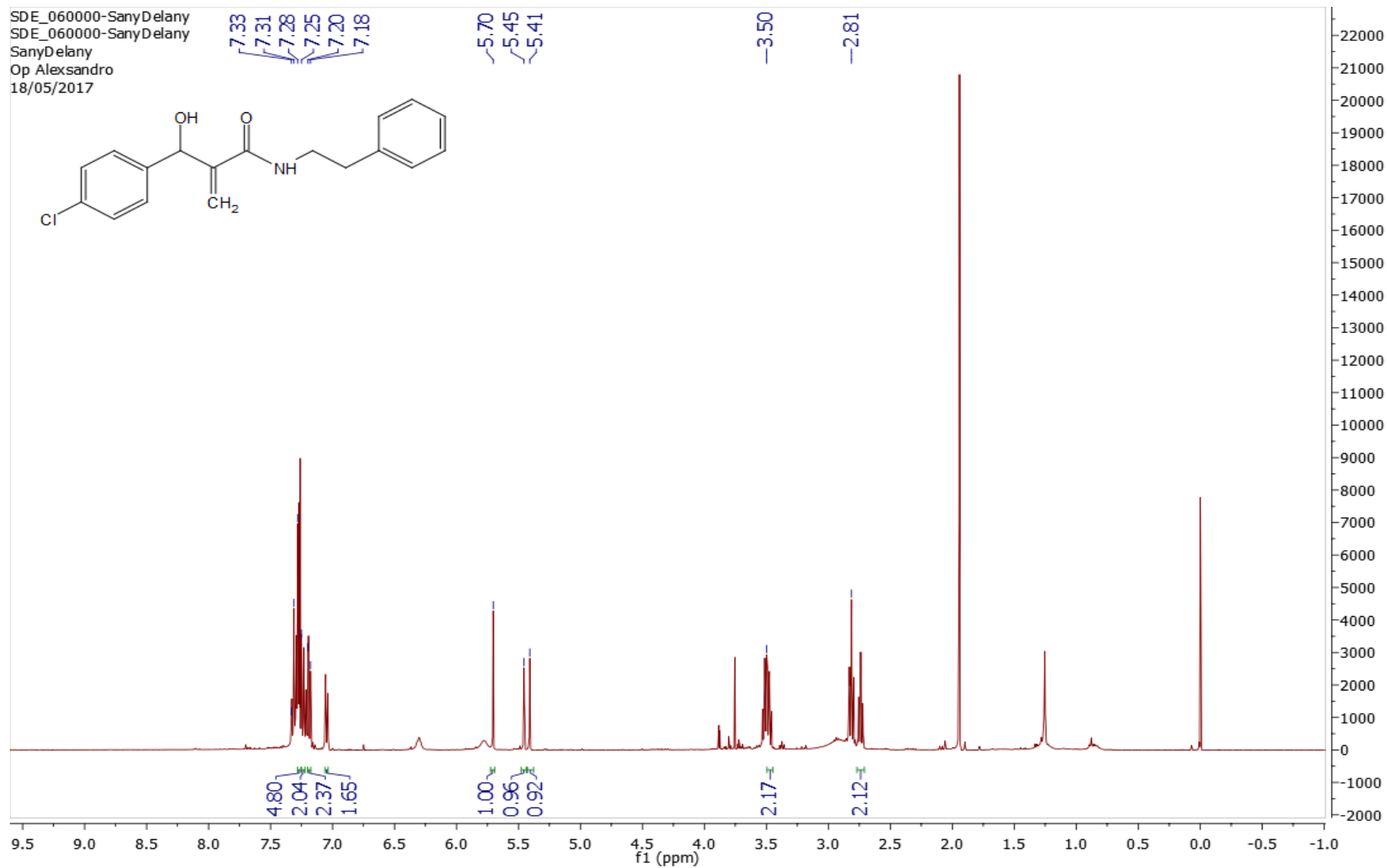
Anexo 79. Espectro HMBC (δ , CDCl₃, 500 MHz e 125 MHz) da amida **4j**.



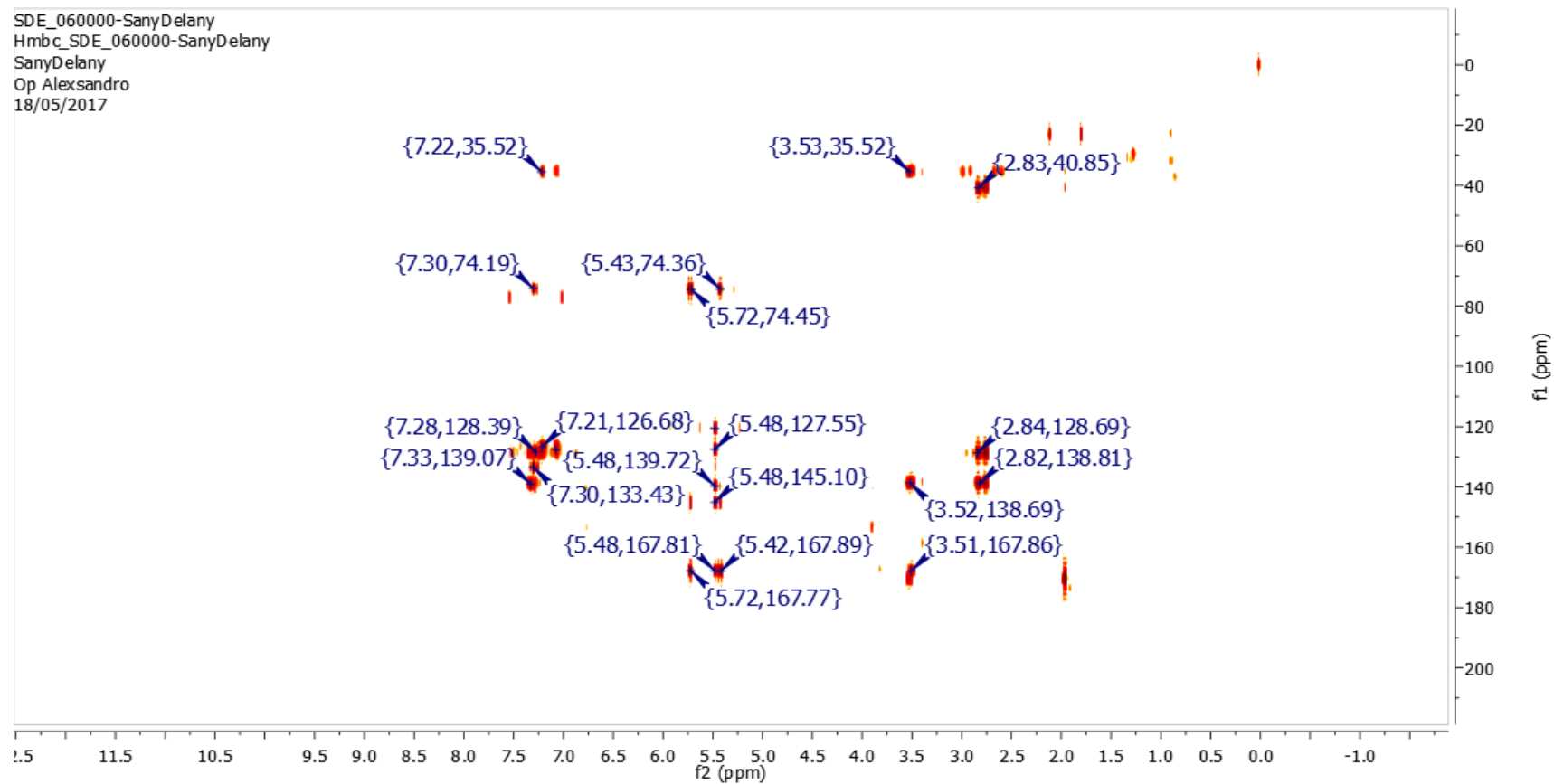
Anexo 80. Espectro de RMN ¹H (δ, CDCl₃, 500 MHz) da amida **4l**.



Anexo 81. Espectro HMBC (δ , CDCl₃, 500 MHz e 125 MHz) da amida **4l**.

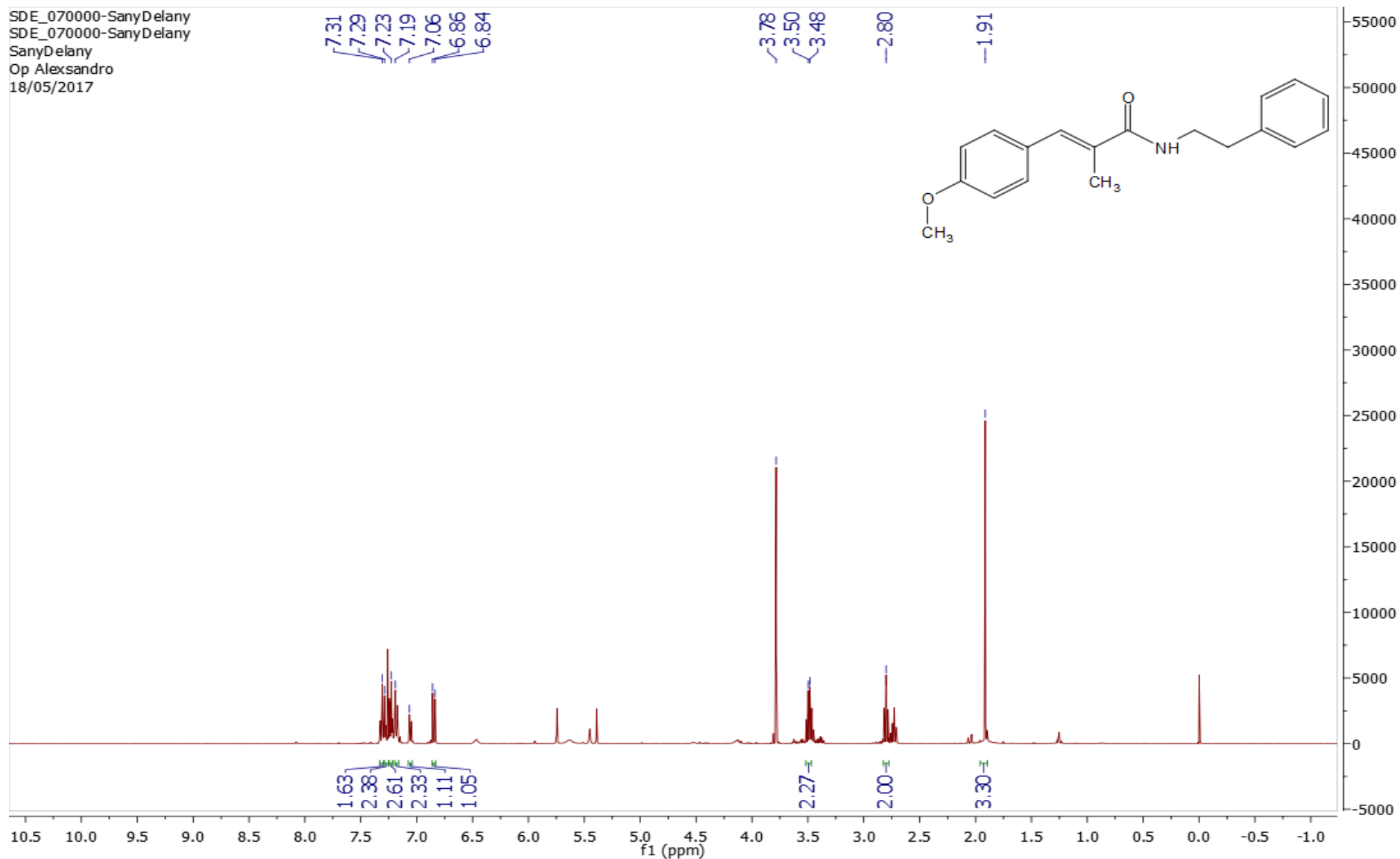


Anexo 82. Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 500 MHz) da amida **4m**.

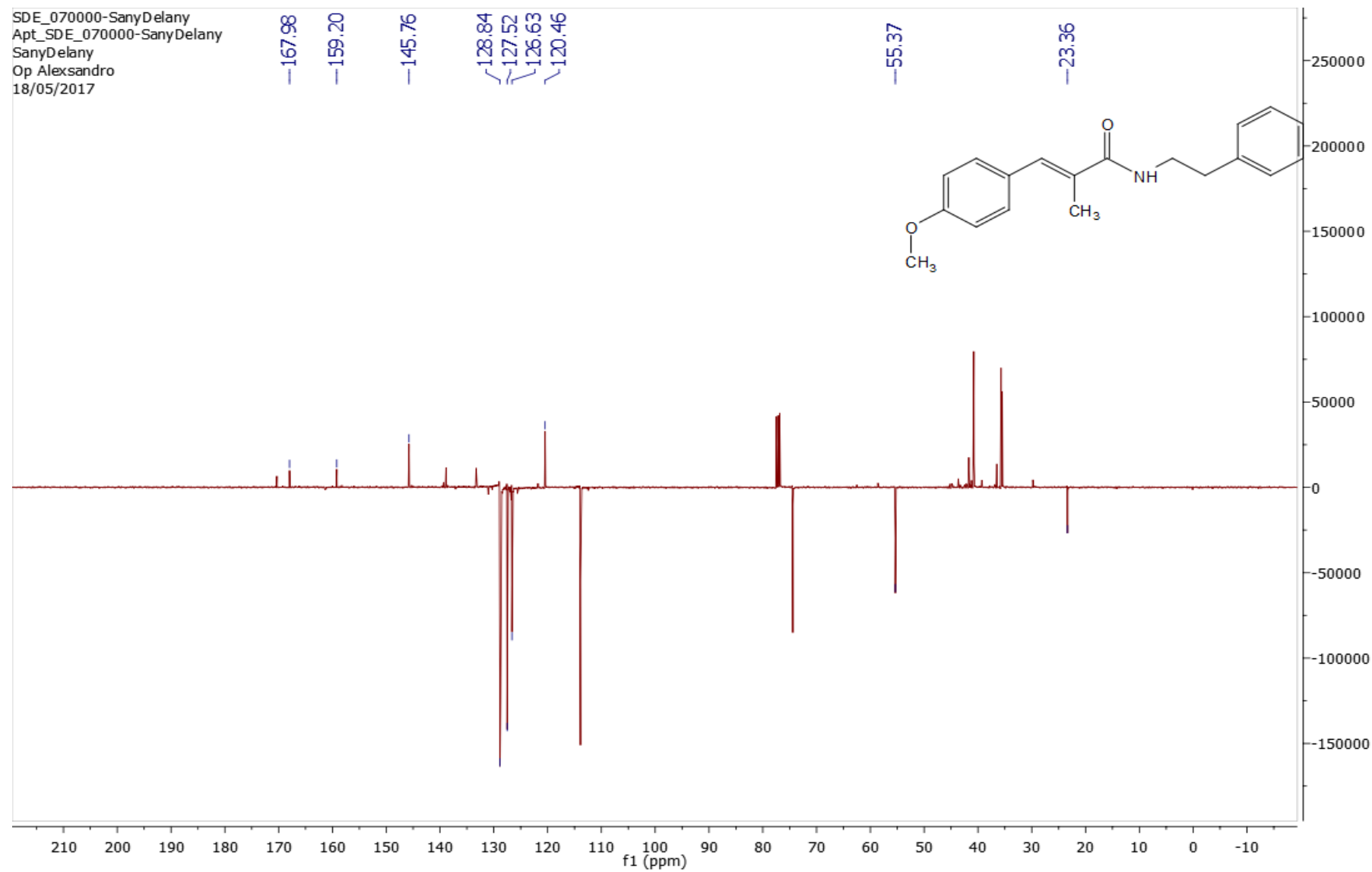


Anexo 83. Espectro HMBC (δ , CDCl₃, 500 MHz e 125 MHz) da amida **4m**.

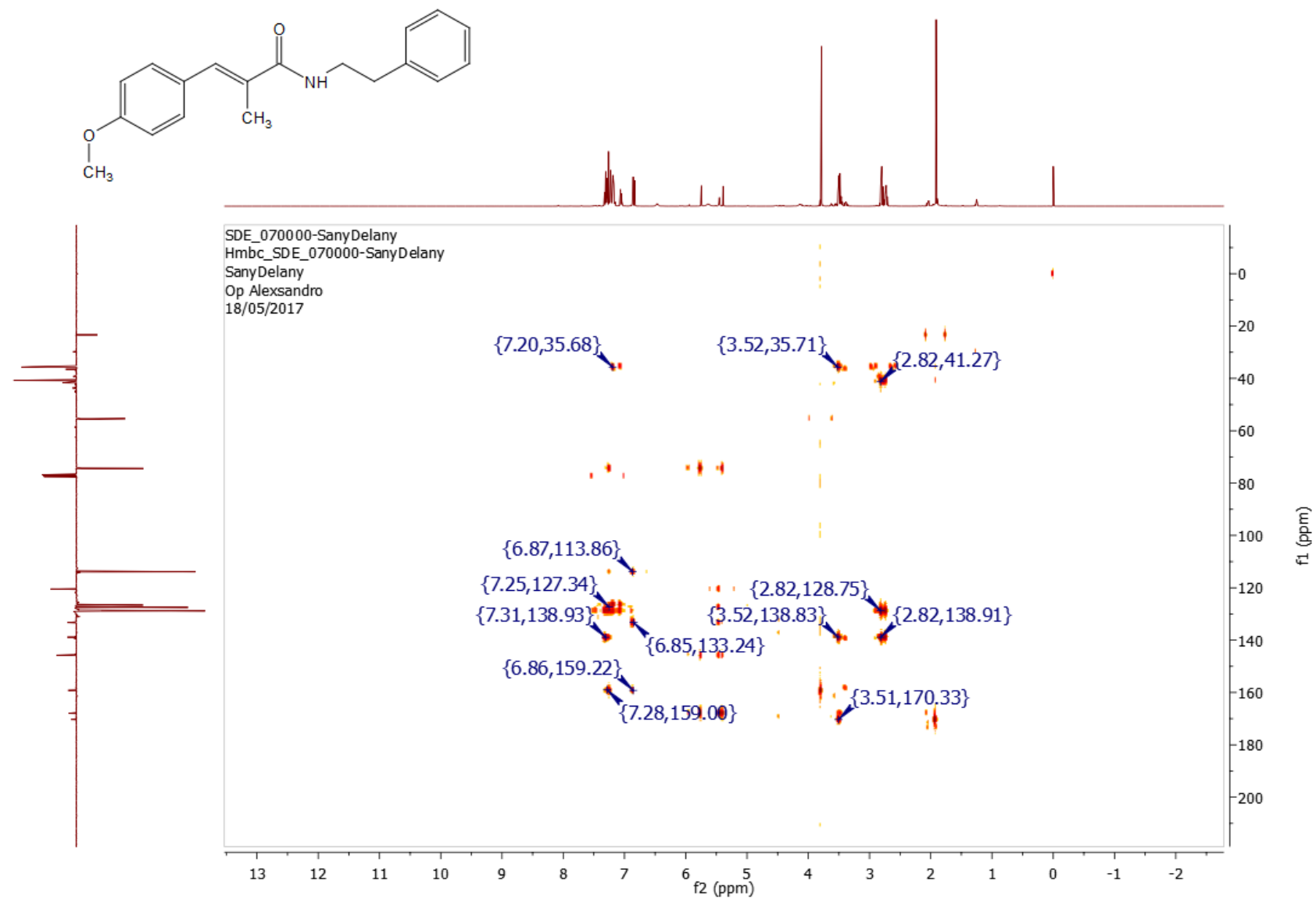
SDE_070000-SanyDelany
SDE_070000-SanyDelany
SanyDelany
Op Alessandro
18/05/2017



Anexo 84. Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 500 MHz) da amida **8h**.



Anexo 85. Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 125 MHz) da amida **8h**.



Anexo 86. Espectro HMBC (δ , CDCl₃, 500 MHz e 125 MHz) da amida **8h**.

