



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



**Constituintes químicos isolados de *Schwartzia brasiliensis* (Choisy)
Bedell ex Gir.-Cañas**

ANA RITA RODRIGUES DE ALMEIDA SILVA

JOÃO PESSOA - PB
Fevereiro de 2020

ANA RITA RODRIGUES DE ALMEIDA SILVA

**Constituintes químicos isolados de *Schwartzia
brasiliensis* (Choisy) Bedell ex Gir.-Cañas**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós- graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba em cumprimento às exigências para obtenção do título de **Mestre em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos**. Área de concentração **FARMACOQUÍMICA**.

ORIENTADOR: Prof. Dr. Vicente Carlos de Oliveira Costa

COORIENTADOR: Prof. Dr. Josean Fachine Tavares

JOÃO PESSOA - PB

Fevereiro de 2020

ANA RITA RODRIGUES DE ALMEIDA SILVA

S586c Silva, Ana Rita Rodrigues de Almeida.

Constituintes químicos isolados de *Schwartzia
brasiliensis* (Choisy) Bedell ex Gir.-Cañas / Ana Rita
Rodrigues de Almeida Silva. - João Pessoa, 2020.
108 f. : il.

Orientação: Vicente Carlos de Oliveira Costa.
Coorientação: Josean Fachine Tavares.
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCS.

1. Produtos naturais. 2. Cumarina. 3. Saponina
bidesmosídica. 4. Marcgraviaceae. I. Costa, Vicente
Carlos de Oliveira. II. Tavares, Josean Fachine. III.
Título.

UFPB/BC

CDU 547.9(043)

ANA RITA RODRIGUES DE ALMEIDA SILVA

**Constituintes químicos isolados de *Schwartzia
brasiliensis* (Choisy) Bedell ex Gir.-Cañas**

Aprovada em: 19/02/2020

Banca examinadora



Prof. Dr. Vicente Carlos de Oliveira Costa

Doutor em Farmacoquímica de Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos
Universidade Federal da Paraíba – Campus I
(Orientador)



Prof. Dr. Augusto Lopes Souto

Doutor em Farmacoquímica de Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos
Universidade Federal da Paraíba – Campus I
(Membro interno)



Prof. Dr. Harley da Silva Alves

Doutor em Farmacoquímica de Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos
Universidade Estadual da Paraíba
(Membro externo)

Dedico este trabalho à minha mãe Antonia Rodrigues, minha maior fonte de inspiração e incetivo para que meus sonhos possam ser realizados.

AGRADECIMENTOS

A Deus por ter colocado sonhos tão lindos e inimagináveis em meu coração e tem me dado suporte, força, coragem e esperança pra enfrentar as dificuldades diárias.

Ao meu pai, Nivaldo (in memoriam), por ter me repassado sobre a leveza da vida, sempre com um sorriso estampado, e em contrapartida me mostrou o quanto ela é passageira.

A minha mãe Antonia Rodrigues, meu maior exemplo, minha maior incentivadora e melhor amiga, possui um amor incondicional, cuida de mim e não mede esforços para a realização dos meus sonhos. Eu não teria conseguido concluir esse ciclo sem seu amor, apoio e incentivo. Eu te amo mais que tudo e obrigada por ter sido minha segurança nos momentos em que tudo desmoronou e me mostrou que juntas com o nosso Deus, podemos tudo.

As minhas irmãs Cristiane e Williane, pelo amor, compreensão e incentivo. São exemplos para mim. Aos meus sobrinhos Daniel e Valentina que são alegria pra minha vida e despertam em mim um amor que eu jamais imaginaria que seria capaz. Vocês são meu alicerce.

A minha família, avó, tias, tios, primos e primas, vocês são a demonstração de união e cuidado, o ponto de apoio que tenho e sei que sempre terei para onde retornar. Em especial aos meus primos Rayane e Félix Júnior que compartilharam a rotina diária e a tornaram mais leve.

Aos meus amigos por compreenderem minha ausência e vibrarem por cada conquista junto a mim, é muito bom ter vocês ao meu lado trazendo alegria e amor para os meus dias.

Ao meu orientador Prof. Dr. Vicente Carlos de Oliveira Costa, por todo incentivo, ensinamento, apoio e confiança, que me ensina além da pesquisa científica, ensina sobre amor ao próximo, humildade e gratidão.

Ao meu coorientador Prof. Dr. Josean Fachine Tavares e ao Prof. Dr. Marcelo Sobral da Silva por toda colaboração, incentivo, conhecimento repassado e pela demonstração diária dos profissionais que são e amam o que fazem.

Aos professores Dr. Harley da Silva Alves e o Prof. Dr. Augusto Lopes Souto por aceitarem participar desta importante etapa da minha formação colaborando com este trabalho.

Ao Prof. Dr. José Iranildo Miranda de Melo pela identificação botânica da espécie objeto de estudo deste trabalho.

Aos professores da pós-graduação pelos ensinamentos indispensáveis para minha formação.

As professoras Dr. Bagnólia Costa e Dr. Fabiana Cavalcante por serem exemplos de profissionais, por todo incentivo e apoio desde a iniciação científica, vocês são muito importantes na minha formação.

Aos técnicos do laboratório de fitoquímica, Raimundo Nonato e Glória, por toda ajuda, apoio e incentivo diário.

Aos técnicos e amigos do LMCA, Evandro, Marcelo e Sócrates, pelos experimentos realizados, por toda disposição, paciência, conselhos e momentos de descontração na “hora do café”.

A Ranna, por partilhar essa vida desde a iniciação científica. Gratidão por todo companheirismo, viagens, congressos, perrengues, momentos de “terapia” compartilhados e muita diversão. Obrigada por toda disposição e ombro amigo durante todos esses anos. Choramos, sorrimos e vibramos muitos momentos juntas, e sem dúvidas, será assim por toda vida. Sem esquecer que nessa amizade ganhei o combo “tu, tia e tio”. Amo vocês!

Aos meus Rodrigo, Indyra e Valgricia estivemos juntos na graduação e no mestrado, tenho orgulho de compartilhar a vida com vocês e sou grata pela amizade além da sala de aula.

Aos amigos e colegas da pós-graduação que tive o prazer de compartilhar o convívio diário e também os momentos de descontração, em especial Laisla, Kaio, Edileuza, Anderson, Diego, César, Rose, Andreza, Lucas e Yuri, obrigada pelo apoio, ajuda e principalmente pela amizade de vocês. São muito especiais

A Arthur, que além de “irmão científico” é o irmão que ganhei nessa vida. Gratidão pelo companheirismo, pelos conhecimentos compartilhados, pelos puxões de orelha quando necessário, por todas as coisas que já “aprontamos” juntos e ficarão marcadas por toda vida. Gratidão por tua amizade, saudades!

Aos meus amigos e colegas da turma do mestrado Natan, Thalisson, e Natália por enfrentarmos esta etapa juntos, por todo conhecimento compartilhado, por todos os momentos alegres e descontraídos que tivemos, pela companhia diária dentro e fora da UFPB, gratidão por tudo.

A Gabriela, que foi a pessoa com quem mais estive perto durante este último ano, compartilhamos uber, viagens, noites no laboratório, estudos para a seleção do doutorado, caminhadas na praça da paz. Obrigada por sua amizade, conselhos, brincadeiras, motivação e em especial teu ombro amigo. Conta comigo pra tudo, amo você!

A minha família científica, Pedro, Jociano, Emille e Nikole além de compartilhamos o mesmo orientador, compartilhamos união, companheirismo e ajuda. Amo vocês e obrigada por todo apoio e incentivo durante esses anos.

Aos demais colegas do LMCA, pelos cafés, companheirismo e partilha nesta etapa em comum.

Ao Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos (PgPNSB) pela estrutura e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo suporte financeiro.

A Universidade Federal da Paraíba.

A todos que contribuíram para a realização deste trabalho direta ou indiretamente. Gratidão!

**“E tudo o que fizerdes, seja em palavra, seja em
ação, fazei-o em nome do Senhor Jesus, dando
por Ele graças ao Deus Pai”.
Colossenses 3:17**

RESUMO

SILVA, A. R. R. A. Constituintes químicos isolados de *Schwartzia brasiliensis* (Choisy) Bedell ex. Gir-Cañas. 2019. 107 pág. Dissertação (Mestrado em Farmacoquímica de Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2020.

Schwartzia brasiliensis Choisy pertence à família Marcgraviaceae e possui ampla ocorrência desde o Nordeste até o Sul do Brasil, é uma espécie popularmente conhecida como “rabo-de-arara”, “chinelo-de-anjo”, “pente-de-macaco” e “agarrapé”. A população nordestina utiliza suas folhas no preparo de chás e garrafadas, para o tratamento de doenças cardíacas. Estudos fitoquímicos já relatados com esta espécie demonstraram potencialidade farmacológica, porém há poucas evidências do conhecimento químico. Dessa forma, este trabalho tem como objetivo contribuir com a ampliação do conhecimento químico desta espécie. O material vegetal foi coletado em maio de 2017 no município de Puxinanã – PB e identificado pelo botânico Dr. José Iranildo Miranda de Melo, uma exsiccata encontra-se depositada no Herbário Arruda Câmara (HACAM – UEPB), sob código 1268 e com cadastro de acesso no Sistema Nacional de Gestão de Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SISGEN) sob número: A021E1B. As partes aéreas de *Schwartzia brasiliensis* foram secas em estufa à 40 °C, trituradas e extraídas com etanol a 95%, e concentrado em evaporador rotativo obtendo-se o Extrato Etanólico Bruto (EEB). Em seguida o EEB foi submetido à partição líquido/líquido obtendo-se as fases hexânica, diclorometano e acetato de etila. Uma alíquota da fase hexânica foi submetida a cromatografia em coluna com gel de sílica, resultando em 13 frações de onde foi isolada a mistura dos triterpenos α -amirina e β -amirina e também foi realizada a identificação de alguns hidrocarbonetos presentes nesta fase que foram analisados e identificados por CG/EM. Uma alíquota da fase diclorometano foi submetida a cromatografia líquida de média pressão isolando-se a 7-hidroxycumarina. Também foi utilizada uma alíquota da fase acetato de etila e submetida à cromatografia em coluna utilizando Sephadex LH-20 e desta foi isolada a saponina nomeada como schwartenozídeo isolada pela primeira vez na literatura. As substâncias foram identificadas por espectroscopia de RMN de ^1H e ^{13}C , bidimensionais e comparação com dados da literatura. Além disso, foi realizada uma metodologia específica de extração para saponinas com o EEB, a qual possibilitou as propostas de identificação de 4 saponinas triterpênicas bidesmosídicas utilizando CLAE-IES-EM/EM. Por fim, esse trabalho contribuiu para a ampliação do conhecimento fitoquímico da espécie *Schwartzia brasiliensis*, através do isolamento de substâncias relatadas pela primeira vez na espécie em estudo, evidenciando o primeiro relato de saponinas na família Marcgraviaceae.

Palavras-chave: Marcgraviaceae, cumarina, saponina bidesmosídica, espectrometria de massas

ABSTRACT

SILVA, A. R. R. A. Chemical constituents isolated from *Schwartzia brasiliensis* (Choisy) Bedell ex. Gir-Cañas. 2019. 107 pág. Dissertação (Mestrado em Farmacoquímica de Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2020.

Schwartzia brasiliensis Choisy belongs to the Marcgraviaceae family, and has wide occurrence from the northeast to the south of Brazil, it is popularly known as "rabo-de-arara", "chinelo-de-anjo", "pente-de-macaco" and "agarrapé". Its leaves are used by the northeastern population in the preparation of teas and bottles for the treatment of heart diseases. Phytochemical studies with this species already reported some pharmacological potentials, but there are few evidences of chemical knowledge. Thus, this work aims to contribute to the expansion of chemical knowledge of this species. The plant material was collected in May 2017 in the city of Puxinanã - PB and identified by the botanist Dr. José Iranildo Miranda de Melo, an exsicata has been catalogued in the Arruda Câmara Herbarium (HACAM - UEPB), under the code 1268, with access registration in the National System for the Management of Genetic Heritage and Associated Traditional Knowledge (SISGEN) under the code A021E1B. The aerial parts of *Schwartzia brasiliensis* were dried in an oven at 40 °C, crushed and extracted with 95% ethanol, and concentrated in a rotaevaporator obtaining the Crude Ethanolic Extract (CEE), then submitted to liquid/liquid partition obtaining the hexanic, dichloromethane and ethyl acetate phases. An aliquot of the hexanic phase was submitted to a column chromatography with silica gel, resulting in 13 fractions from where the triterpenic mixture of α -amyrin and β -amyrin was isolated and also the identification of some hydrocarbons presents in this phase analyzed and identified by GC/MS was performed. An aliquot of the dichloromethane phase was submitted to Medium Pressure Liquid Chromatography from where 7-hydroxycoumarin was isolated. An aliquot of ethyl acetate phase was also used and submitted to column chromatography using sephadex LH-20 and from this saponin named as schwartenozone isolated for the first time in the literature was isolated. The substances were identified by ^1H and ^{13}C NMR spectroscopy and two-dimensional, and compared with the literature. In addition, a specific methodology of saponin extraction with CEE was performed, which made possible the proposals for identification of four triterpenic bidesmosidic saponins using HPLC-ESI-DAD-MS/MS. Finally, this work contributed to the expansion of the phytochemical knowledge of *Schwartzia brasiliensis*, through the isolation of compounds reported for the first time in this species, evidencing the first report of saponins in the Marcgraviaceae family, as well as giving directions for future studies.

Keywords: *Schwartzia brasiliensis*; coumarin; bidesmosidic saponin; mass spectrometry

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Mapa de distribuição da família Marcgraviaceae no mundo.....	24
Figura 2. Mapa de distribuição do gênero <i>Schwartzia</i>	26
Figura 3. Imagem das partes aéreas de <i>Schwartzia brasiliensis</i>	29
Figura 4. Distribuição de <i>Schwartzia brasiliensis</i> no Brasil.....	30
Figura 5. Esqueleto base de alguns subgrupos dos triterpenos pentacíclicos.....	33
Figura 6 Estrutura básica da cumarina.....	34
Figura 7. Biossíntese básica da cumarina e 7-hidroxycumarina.....	36
Figura 8. Estrutura de uma saponina esteroidal A (Dioscina) e uma saponina triterpênica B (ácido glicirrízico).....	38
Figura 9. Estrutura dos compostos (A) α -amirina e (B) β -amirina.....	54
Figura 10. Espectro no Infravermelho (ATR) de Sb-1 e Sb-2	57
Figura 11. Espectro de RMN de ^{13}C APT de Sb-1 e Sb-2 (CDCl_3 , 100 MHz).....	57
Figura 12. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C de Sb-1 e Sb-2 na região de 15 – 51 ppm (CDCl_3 , 100 MHz).....	58
Figura 13. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C de Sb-1 e Sb-2 na região de 85 – 50 ppm (CDCl_3 , 100 MHz).....	58
Figura 14. Espectro de RMN de ^1H de Sb-1 e Sb-2 (CDCl_3 , 400 MHz).....	59
Figura 15. Expansão do espectro de RMN de ^1H de Sb-1 e Sb-2 na região de 1,50 – 0,50 ppm (CDCl_3 , 400 MHz).....	59
Figura 16. Expansão do espectro de RMN de ^1H de Sb-1 e Sb-2 na região de 2,60 – 1,50 ppm (CDCl_3 , 400 MHz).....	60
Figura 17. Expansão do espectro de RMN de ^1H de Sb-1 e Sb-2 na região de 3,65 – 3,00 ppm (CDCl_3 , 400 MHz).....	60
Figura 18. Expansão do espectro de RMN de ^1H de Sb-1 e Sb-2 na região de 5,65 – 4,90 ppm (CDCl_3 , 400 MHz).....	61
Figura 19. Espectro de RMN de ^1H da fração 11 (CDCl_3 , 400 MHz).....	62
Figura 20. Cromatograma da fração 11 da fase hexânica de <i>Schwartzia brasiliensis</i>	62
Figura 21. 7-hidroxycumarina (Sb-3) isolada de <i>Schwartzia brasiliensis</i>	66
Figura 22. Espectro no Infravermelho (ATR) de Sb-3	67
Figura 23. Espectro de RMN de ^1H de Sb-3 (Acetona D_6 , 400 MHz).....	67
Figura 24. Expansão do espectro de RMN de ^1H de Sb-3 na região de 8,2 – 6,1 ppm (Acetona D_6 , 400 MHz).....	68

Figura 25. Espectro de RMN de ^{13}C -APT de Sb-3 (Acetona D_6 , 400 MHz).....	68
Figura 26. Schwartenozideo (Sb-4) isolado de <i>Schwartzia brasiliensis</i>	71
Figura 27. Correlação HMBC para Sb-3	71
Figura 28. Espectro de RMN de ^{13}C -APT de Sb-3 (MeOD, 100 MHz).....	74
Figura 29. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de Sb-3 na região de 14 – 80 ppm (MeOD, 100 MHz).....	74
Figura 30. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de Sb-3 na região de 70 – 180 ppm (MeOD, 100 MHz).....	75
Figura 31. Espectro de RMN de ^1H de Sb-4 (MeOD, 400 MHz).....	75
Figura 32. Expansão do espectro de RMN de ^1H de Sb-4 na região 0,4 – 2,6 ppm (MeOD, 400 MHz).....	76
Figura 33. Expansão do espectro de RMN de ^1H de Sb-4 na região de 2,9 – 5,6 ppm (MeOD, 400 MHz).....	76
Figura 34. Espectro de HMBC de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (400 x 100 MHz, MeOD) de Sb-4	77
Figura 35. Expansão do espectro de HMBC de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (400 x 100 MHz, MeOD) de Sb-4	77
Figura 36. Expansão do espectro de HMBC de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (400 x 100 MHz, MeOD) de Sb-4	78
Figura 37. Expansão do espectro de HMBC de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (400 x 100 MHz, MeOD) de Sb-4	78
Figura 38. Espectro de HSQC de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (400 x 100 MHz, MeOD) de Sb-4	79
Figura 39. Expansão do espectro HSQC de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (400 x 100 MHz, MeOD) de Sb-4	79
Figura 40. Expansão do espectro de HSQC de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (400 x 100 MHz, MeOD) de Sb-4	80
Figura 41. Espectro de CLAE-IES-EM-AR do composto 1.....	81
Figura 42. Perfil de fragmentação do composto 1 por IES-EM/EM.....	82
Figura 43. Expansão do perfil de fragmentação do composto 1 por IES-EM/EM na região 925 – 671 m/z	82
Figura 44. Perfil de fragmentação do composto 1 por IES-EM/EM na região de 650 – 400 m/z	82
Figura 45. Espectro de CLAE-IES-EM/EM do composto 2.....	86
Figura 46. Perfil de fragmentação do composto 2 por IES-EM/EM.....	86
Figura 47. Expansão do perfil de fragmentação do composto 2 por IES-EM/EM na região 975 – 700 m/z	87
Figura 48. Espectro de CLAE-IES-EM/EM do composto 3.....	89
Figura 49. Perfil de fragmentação do composto 3 por IES-EM/EM.....	90
Figura 50. Espectro de IES-EM/EM do composto 4.....	93

Figura 51. Perfil de fragmentação do composto 4 por IES-EM/EM.....	93
Figura 52. Expansão do perfil de fragmentação do composto 4 por IES-EM/EM na região 875 – 661 m/z	94

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Classificação das cumarinas de acordo com a sua estrutura química.....	35
Tabela 2. Fracionamento cromatográfico da fase hexânica de <i>Schwartzia brasiliensis</i>	45
Tabela 3. Fracionamento cromatográfico da fase diclorometano de <i>Schwartzia brasiliensis</i>	46
Tabela 4. Fracionamento cromatográfico da fase acetato de etila de <i>Schwartzia brasiliensis</i> , realizado em coluna com Sephadex LH-20.....	47
Tabela 5. Fracionamento cromatográfico da reunião de frações 16-23 da fase acetato de etila de <i>Schwartzia brasiliensis</i> , realizado em cartucho SPE C-18.....	47
Tabela 6. Comparação dos dados de RMN de ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) das substâncias Sb-1 e Sb-2 em CDCl_3 com valores da literatura para mistura de α , β -amirina (FERNANDES, 2017) (δ em ppm e J em Hz).....	55
Tabela 7. Identificação proposta por CG/EM de constituintes de amostra da fração 11 obtido a partir da fase hexânica de <i>Schwartzia brasiliensis</i>	63
Tabela 8. Comparação dos dados de ^1H e ^{13}C de Sb-3 em Acetona D_6 com valores da literatura (BEZERRA, 2013). (δ em ppm e J em Hz).....	66
Tabela 9: Comparação dos dados de RMN ^{13}C e ^1H de Sb-4 em MeOD (100 e 400 MHz, respectivamente) com o da sapogenina da Soyasaponina I (NASCIMENTO et al., 2019) e da hidroxi-soyasaponina) (MIMAKI et al., 2004).....	72
Tabela 10: Comparação dos dados de RMN ^{13}C e ^1H de Sb-4 em MeOD (100 e 400 MHz, respectivamente) com os açúcares da sapogenina da Soyasaponina I (NASCIMENTO, 2019) e da hidroxi-soyasaponina) (MIMAKI et al., 2004).....	73
Tabela 11: Caracterização das saponinas identificadas em <i>Schwartzia brasiliensis</i>	80

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1. Precursores dos terpenoides via do mevalonato.....	32
Esquema 2. Obtenção e partição líquido-líquido do extrato etanólico bruto das partes aéreas de <i>Schwartzia brasiliensis</i>	44
Esquema 3. Obtenção da fração de saponinas de <i>Schwartzia brasiliensis</i>	48
Esquema 4. Via de fragmentação sugerida ao composto 1 por CL-EM/EM-ESI no modo negativo.....	84
Esquema 5. Via de fragmentação sugerida ao composto 2 em CL-EM/EM-ESI no modo negativo.....	86
Esquema 6. Via de fragmentação sugerida ao composto 3 em CL-EM/EM-ESI no modo negativo.....	89
Esquema 7. Via de fragmentação sugerida ao composto 4 em CL-EM/EM-ESI no modo negativo.....	92

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Compostos isolados no gênero <i>Schwartzia</i>	27
Quadro 2. Substâncias identificadas na fração 11 da fase hexânica de <i>Schwartzia brasiliensis</i>	64

LISTA DE ABREVIATURAS, FÓRMULAS E SIGLAS

ACOET	Acetato de etila
APT	<i>Attached Proton Test</i>
AR	Abundância relativa
C	Carbono não hidrogenado
CC	Cromatografia em coluna
CCDA	Cromatografia em camada delgada analítica
CG	Cromatografia gasosa
CH	Carbono metínico
CH ₂	Carbono metilênico
CH ₂ Cl ₂	Diclorometano
CH ₃	Carbono metílico
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
CLMP	Cromatografia Líquida de Média Pressão
COSY	Espectroscopia de correlação
<i>D</i>	Duplete
DCM	Diclorometano
DENV	Vírus da dengue
DMAPP	Dimetilalil difosfato
EEB	Extrato etanólico bruto
EM	Espectrometria de massas
EM/EM	Espectrometria de massas em tandem
EtOH	Etanol
HACAM	Herbário Arruda Câmara
HEX	Hexano
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Correlation
IES	Ionização por eletrospray
IPP	Isopentil difosfato
IV	Infravermelho
LACOM	Laboratório de Combustíveis e Materiais

MeOH	Metanol
Na ₂ SO ₄	Sulfato de sódio anidro
OMS	Organização Mundial de Saúde
QS	<i>quorum-sensing</i>
R _f	Fator de retenção
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
s	Simpleto
SISGEN	Sistema Nacional de Gestão de Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado
sl	Simpleto Largo
t	Tripleto
UEPB	Universidade Estadual da Paraíba
UFPB	Universidade Federal da Paraíba

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	21
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	24
2.1 Considerações sobre a família Marcgraviaceae	24
2.2 Considerações sobre o gênero <i>Schwartzia</i>	25
2.3 Considerações sobre a espécie <i>Schwartzia brasiliensis</i>	29
2.4 Considerações sobre os terpenoides.....	31
2.5 Considerações sobre as cumarinas	34
2.6 Considerações sobre as saponinas	37
3 OBJETIVO.....	41
3.1 Objetivo geral	41
3.2 Objetivos específicos.....	41
4 MATERIAL E MÉTODOS	43
4.1 Estudo Fitoquímico.....	43
4.1.1 Coleta do material botânico.....	43
4.1.2 Obtenção e fracionamento do extrato etanólico bruto (EEB).....	43
4.1.3 Processamento cromatográfico da fase hexânica.....	45
4.1.4 Processamento cromatográfico da fase diclorometano.....	45
4.1.5 Processamento cromatográfico da fase acetato de etila.....	46
4.1.6 Teste para determinação de saponinas.....	48
4.1.7 Obtenção da fração concentrada de saponinas.....	48
4.2 Métodos Cromatográficos.....	49
4.2.1 Espectrometria de massas.....	49
4.2.2 Cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM).....	50
4.3. Métodos espectroscópicos.....	51
4.3.1. Espectroscopia no Infravermelho (IV).....	51
4.3.2. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN).....	51
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	53
5.1 Identificação estrutural de Sb-1 e Sb-2	53
5.1.1 Identificação estrutural dos constituintes químicos isolados de <i>S. brasiliensis</i>	53
5.1.2 Identificação estrutural de Sb-3	65
5.1.3 Identificação estrutural de Sb-4	69
5.2 Caracterização da fração de saponinas.....	80
5.2.1 Identificação putativa por CLAE-EM do composto 1 (Sb -4)	80

5.2.2 Identificação do composto 2.....	85
5.2.3 Identificação do composto 3.....	88
5.2.4 Identificação do composto 4.....	90
6 CONCLUSÕES.....	96
APÊNDICE.....	97
REFERÊNCIAS.....	102

Introdução

1 INTRODUÇÃO

As plantas possuem uma característica de produzir milhares de metabólitos secundários altamente complexos para ajudar a sua sobrevivência no ambiente a qual está inserida, possibilitando a adequação da planta a este local, (OLIVEIRA et al., 2017) protegendo, por exemplo, contra predadores. No entanto, o homem explorou esses compostos naturais como fonte de agentes medicinais, venenos, e poções através dos tempos (ANISZEWSKI, 2015).

A utilização de plantas com fins medicinais, para tratamento, cura e prevenção de doenças, é uma das mais antigas formas de prática medicinal da humanidade. Mesmo diante da grande evolução da medicina alopática a partir da segunda metade do século XX, existem obstáculos básicos na sua utilização pelas pessoas carentes, que vão desde o acesso aos centros de atendimento hospitalares à obtenção de exames e medicamentos. Estes motivos, associados com a fácil obtenção e a grande tradição do uso de plantas medicinais, contribuem para sua grande utilização pelas populações dos países em desenvolvimento (VEIGA-JÚNIOR; PINTO; MACIEL, 2005).

A OMS afirma que apesar dos avanços atingidos nos últimos 30 anos no que tange às políticas públicas, uma grande parcela da população carece de acesso regular a serviços de saúde pública convencional e medicamentos essenciais principalmente em países considerados de menor desenvolvimento (SANTOS et al., 2011). O uso de plantas medicinais e seus derivados surgem como alternativa ao tratamento convencional, que através dos esforços das agências internacionais busca garantir que seja uma prática segura e eficaz (CARVALHO et al., 2013). O Brasil é reconhecido por sua diversidade vegetal, destacando-se como um dos maiores níveis de biodiversidade do mundo e uma enorme diversidade cultural (ARAÚJO; CASTRO; ALBUQUERQUE, 2007).

Em nosso país, a formação de uma medicina popular, a qual emprega o uso de plantas tem inspirações da cultura africana, indígena e europeia. Os índios faziam uso de várias espécies vegetais com fins terapêuticos e com a vinda dos europeus aconteceu essa exportação do conhecimento, que foi melhorado e transmitido para as demais gerações chegando até os dias atuais (LORENZI; MATOS, 2008).

No Estado da Paraíba, os estudos etnobotânicos ainda são raros, mas estão sendo realizados gradativamente, com a finalidade de se conhecer as plantas mais utilizadas por esta população (SOUZA et al., 2013).

Faz-se necessário estimular o estudo com plantas medicinais, tanto para

esclarecimento da população que faz uso dessas plantas, como também agregar conhecimento, levando em consideração que estas possuem uma grande variedade de espécies ainda não estudadas (VARANDA, 2006). Desta forma, é de grande importância a realização de testes fitoquímicos, para a identificação e descoberta de novos constituintes químicos das diversas espécies vegetais que poderão ter uso terapêutico. Realizados para identificar as diversas classes de compostos químicos (SILVA; BIZERRA; FERNANDES, 2018).

Baseados nesses dados, e no raro relato do estudo fitoquímico da família Marcgraviaceae na literatura, este trabalho tem como objetivo a prospecção fitoquímica dos extratos das partes aéreas do vegetal, diante do seu potencial químico, farmacológico e biodiversidade, destaca-se com uma fonte de novas moléculas, contribuindo para a valorização do conhecimento sobre a espécie *Schwartzia brasiliensis*.

Fundamentação teórica

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Considerações sobre a família Marcgraviaceae

A família Marcgraviaceae é formada por oito gêneros e aproximadamente 130 espécies, distribuídos mundialmente (GIRALDO-CAÑAS, 2005). Sendo esta uma distribuição neotropical, ocorrendo desde o sul do México, até o norte da Bolívia e Sul do Brasil (Figura 1). Possui um limite setentrional de distribuição, correspondente aos estados de Chiapas, Oaxaca e Veracruz, no México, enquanto no Brasil os estados do Paraná e Santa Catarina, correspondem à distribuição mais meridional.

No Brasil ocorrem seis gêneros: *Marcgravia* L., *Marcgraviastrum* (Wittm. ex Szyszyl.) de Roon & S. Dressler, *Norantea* Aubl., *Sarcopera* Bedell, *Schwartzia* Vell., *Souroubea* Aubl., e, aproximadamente, 35 espécies; destas 11 são endêmicas das florestas brasileiras, Caatinga, Cerrado e da Mata Atlântica, com registros em alguns estados, sendo taxonomicamente diversificado nas regiões Norte e Sudeste (SOUZA, 2015). Na região Nordeste é representado por quatro gêneros e nove espécies (MELO, 2018). Assim, o Brasil é o segundo país com a maior diversidade de Marcgraviaceae, ficando atrás apenas da Colômbia, que tem cerca de 60 espécies da família em sua flora (GIRALDO-CAÑAS, 2004).

Figura 1. Mapa de distribuição da família Marcgraviaceae no mundo representado em amarelo



Fonte: Tropicos.org. Missouri Botanical Garden. 15 Dez 2019.
<http://www.tropicos.org/Name/42000094>.

De forma geral, são escassas as informações científicas acerca da utilização das espécies de Marcgraviaceae. Pouco se sabe sobre sua utilização pela sabedoria popular, tendo poucos registros de suas espécies na literatura. No âmbito da medicina popular há relato que a espécie *Marcgravia umbellata*, é considerada diurética e antissifilítica nas Antilhas, onde são utilizadas todas as partes da planta (SCHULTZ, 1984).

Embora estudos filogenéticos tenham sido realizados (VON BALTHAZAR e SCHÖNENBERGER 2013; MISA WARD e PRICE 2002), poucos estudos fitoquímicos e biológicos foram relatados para a família Marcgraviaceae.

Mulally et al. (2011) relataram a presença de ácido betulínico e sua atividade ansiolítica em ratos utilizando as folhas de *Sourobea sympetala*. A presença de outros triterpenóides, incluindo amirinas e lupeol, além de fenólicos, foi relatada por Puniani et al. (2015). Dentre as substâncias já identificadas em diferentes partes de espécies de Marcgraviaceae, encontram-se os mono e sesquiterpenos, ácidos graxos, ésteres graxos, hidrocarbonetos, triterpenos, além de flavonoides glicosilados (SILVA, 2012). Testes farmacológicos com o intuito de avaliar potencialidades biodinâmicas já foram realizados, como testes de citotoxicidade e inibição na produção de óxido nítrico, demonstrando sua atividade anti-inflamatória (ROCHA, 2002). Sua atividade antimicrobiana também foi descrita para alguns extratos e frações (SILVA, 2012).

Diante dos poucos estudos realizados, sua ocorrência no Nordeste, sobretudo na Caatinga, a família Marcgraviaceae surge como uma fonte de descoberta de novas moléculas com interesse farmacêutico.

2.2 Considerações sobre o gênero *Schwartzia*

O gênero *Norantea*, conhecido botanicamente também pela sinonímia de *Schwartzia* foi circunscrito por Roon & Dressler (1997) e posteriormente foi reconhecido que este não é monofilético devido à sua diversificada morfologia floral (PINHEIRO et al., 1995).

Ambos os gêneros possuem inflorescências, mas diferem principalmente no comprimento do caule, que é longo em *Schwartzia* (1,4 a 9 cm de comprimento) e curto *Norantea* [0,3-0,7 (-1,0) cm de comprimento]. Além disso, em *Schwartzia* pedicelares nectaríferos são sésseis ou pedunculado breve (pedículo até 7 mm de comprimento) e estão geralmente localizados na parte do meio para pedúnculo proximal, enquanto *Norantea* tem um pedículo 5-20 mm comprimento e nascem no terço proximal ou no meio para porção

distal do pedicelo. Com a confirmação de que *Norantea* não é um gênero monofilético, e devido à heterogeneidade entre as espécies do grupo, estas foram segregadas em quatro gêneros: *Marcgraviastrum*, *Sarcopera* Bedell, *Norantea* Aubl. e *Schwartzia* (WARD & PRICE, 2002; GIRALDO-CAÑAS & FIASCHI, 2005).

Schwartzia distribui-se desde a Costa Rica até a Bolívia e o sul do Brasil (Figura 2), ocorrendo em áreas alagadas e florestas (GIRALDO-CAÑAS, 2004). No Brasil, este gênero é representado por quatro espécies endêmicas: *Schwartzia adamantium* (Cambess.) Bedell ex. Gir.-Cañas, *S. geniculatiflora* Gir.-Cañas & Fiaschi, *S. jucuensis* Gir.-Cañas e *S. brasiliensis* (GIRALDO-CAÑAS, 2004; SOUZA, 2015).

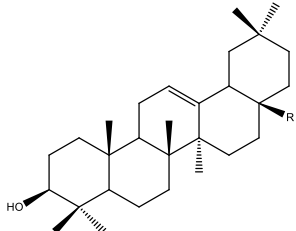
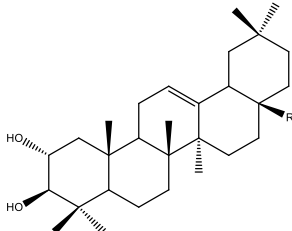
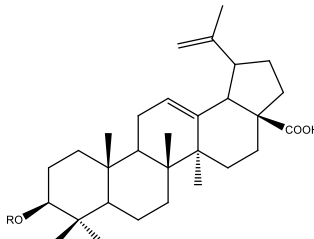
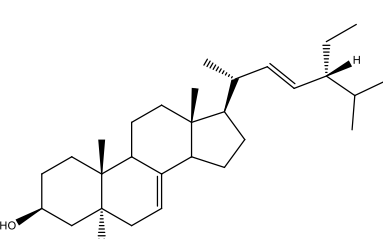
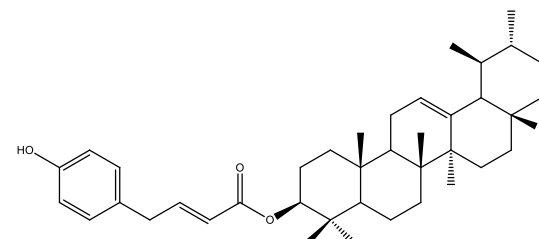
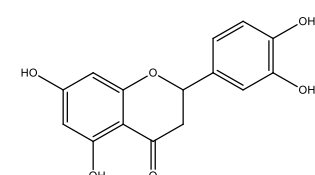
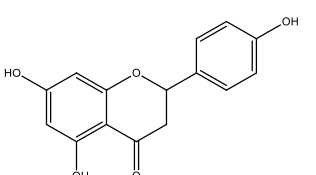
Figura 2. Mapa de distribuição do gênero *Schwartzia* representado em amarelo

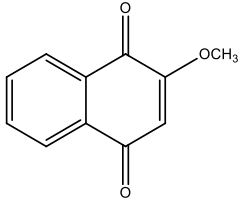
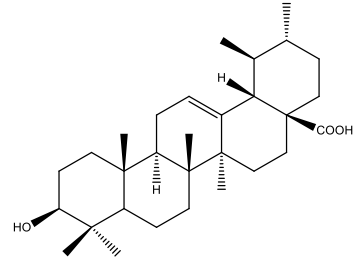
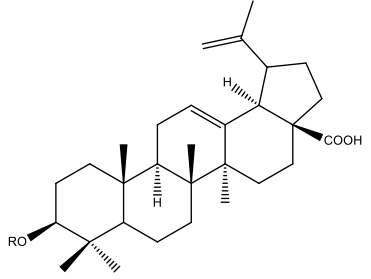
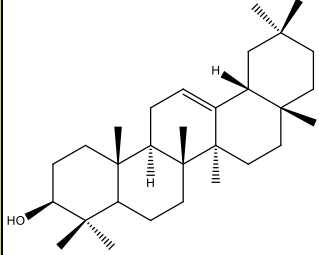
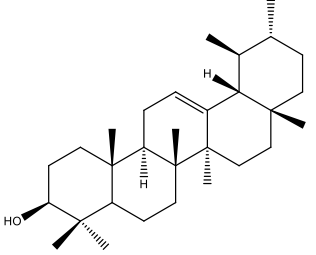
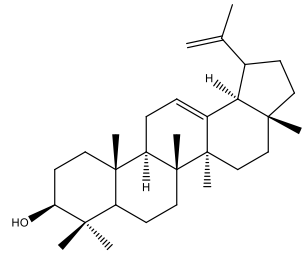


Fonte: Tropicos.org. Missouri Botanical Garden. 15 Dez 2019.
<http://www.tropicos.org/Name/40028832>.

Estudos com espécies de *Schwartzia*, já foram realizados, entretanto os estudos químicos são recentes e com número restrito de espécies (Quadro 1, págs 27-28)

Quadro 1. Compostos isolados no gênero *Schwartzia*

Espécie	Substância isolada	Referência
<i>Souroubea sympetala</i>	 (β -amirina)	PUNIANI et al., 2015
	 (α -amirina)	
	 (Ácido betulínico)	
	 (Esterol Condrilla)	
	 (Taraxenil 4-hidroxi-trans-cinamato)	
	 (Eriodictiol)	
	 (Narigenina)	

Espécie	Substância isolada	Referência
<i>Marcgravia nervosa</i>	 (2-metoxi-1,4-naftoquinona)	 (ácido ursólico)  (ácido betulínico)
	 (β-amirina)	
	 (α-amirina)	
	 (lupeol)	CARBALLO-ARCE, et al., 2015

2.3 Considerações sobre a espécie *Schwartzia brasiliensis*

Schwartzia brasiliensis Choisy (Figura 3) é uma espécie típica das regiões de restinga e de vegetação costeira, com ampla ocorrência desde o nordeste até o sul do Brasil. É conhecida popularmente como “rabo-de-arara”, “chinelo-de-anjo”, “pente-de-macaco” e “agarrapé”. Ocorre nas regiões Nordeste (Alagoas, Bahia, Ceará, Paraíba, Pernambuco, Rio Grande do Norte, Sergipe), Centro-Oeste (Distrito Federal, Goiás), Sudeste (Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo) e Sul (Paraná, Santa Catarina), ocorrendo nos domínios fitogeográficos do Cerrado (matas de galeria e campos rupestres), Caatinga e Floresta Atlântica (manguezais e restingas) (FERREIRA, 1995; GIRALDOCAÑAS, 2001; GIRALDO-CAÑAS & FIASCHI, 2005; SOUZA, 2015) (Figura 4, pág 28). Suas folhas são utilizadas pela população nordestina no preparo de chás e garrafadas para o tratamento de doenças cardíacas e suas flores possuem coloração vinácea e nectários são encontrados na base do pedúnculo floral, constituindo uma unidade de atração para polinizadores. A floração é anual e intensa, com frutificação de setembro a maio. O fruto é globoso, contendo sementes de forma semilunar e coloração negra (FERREIRA, 1995; PINHEIRO et al., 1995; ZAMITH e SCARANO, 2004).

Figura 3. Imagem das partes aéreas de *Schwartzia brasiliensis*



Fonte: Cristiana Braga, 2018. Fonte: Flores e Folhagens. Disponível em: <https://www.floresefolhagens.com.br/norantea-schwartzia-brasiliensis/>. Acesso em: 24 Nov. 2018

Figura 4. Distribuição de *Schwartzia brasiliensis* no Brasil destacado por regiões



DRESSLER, S. Marcgraviaceae in Flora do Brasil 2020 em construção. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB103323>>. Acesso em: 25 Nov. 2019

Por apresentar inflorescências vistosas e coloridas, a espécie vem sofrendo extrativismo, principalmente com propósito paisagístico, encontrando-se na lista de espécies ameaçadas de extinção. Além disto, alguns aspectos de sua fenologia como floração anual e a baixa produção de sementes por fruto, nem sempre viáveis, também comprometem a manutenção da espécie em seu ambiente natural (PINHEIRO et al., 1995; FERREIRA, 1995).

Do ponto de vista ecológico é considerada como fonte de recursos para a avifauna (SAZIMA et al., 1993). No âmbito da caracterização anatômica, tem-se registro de estudo relativo à anatomia foliar, estrutura floral (SCHÖNENBERGER et al., 2010) e anatomia da madeira (MELO JÚNIOR; AMORIM; ARRIOLA, 2016).

A espécie *Schwartzia brasiliensis* foi objeto de alguns estudos farmacológicos e fitoquímicos. Estudos fitoquímicos revelaram a presença de triterpenos pentacíclicos isolados que exibiram algumas atividades: analgésica, anti-inflamatória, antitumoral e tripanocida. A partir dos extratos etanólicos do caule foi possível detectar a atividade protetora do ácido desoxirribonucleico (DNA) (AGRIPINO et al., 2004). Estudos utilizando as raízes exibiram atividade antimicrobiana, inibição do *quorum-sensing* (QS) e formação de biofilme (CARBALLO-ARCE et al., 2015). O extrato etanólico bruto e as frações diclorometano, acetato de etila e butanólica apresentaram efeitos antivirais e imunomoduladores no vírus da dengue, reduzindo significativamente a porcentagem de células DENV ou do antígeno NS1,

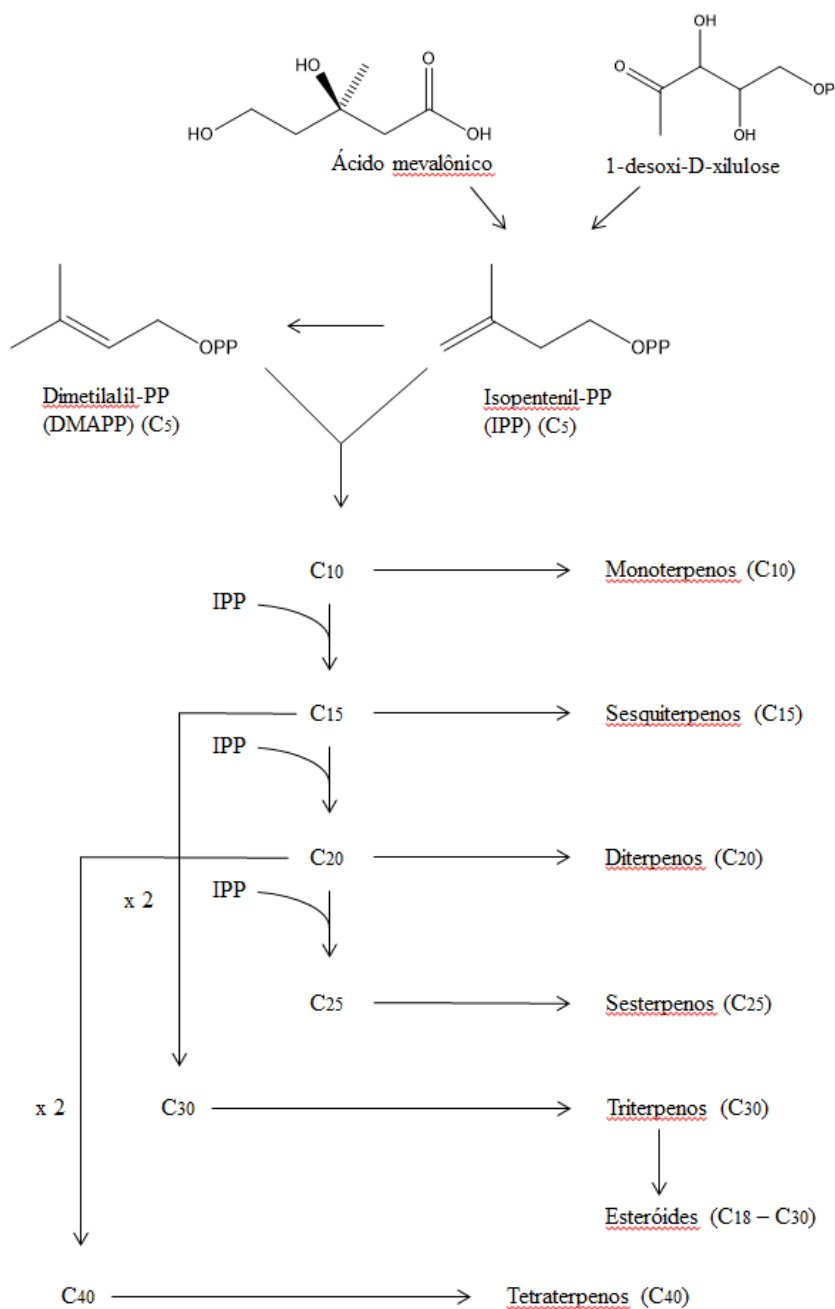
indicadores da carga viral. Também é relatado o efeito imunomodulador, reduzindo a produção de algumas citocinas importantes, acredita-se que essa imunomodulação é um passo importante para reduzir ou evitar resultados indesejados da doença (FIALHO et al., 2016).

Diante dessa potencialidade farmacológica e devido à carência de estudos do conhecimento químico, fica evidente a necessidade de um aprofundamento científico, buscando identificar os compostos presentes nesta espécie, como também as respostas biológicas produzidas pelos mesmos.

2.4 Considerações sobre os terpenóides

Dentre as muitas classes de metabólitos secundários, destacam-se os terpenóides por sua vasta aplicação farmacêutica e complexidade estrutural. Possuem mais de 40 mil compostos, sendo considerada uma das classes de metabólitos secundários mais abundantes na natureza. Estão presentes em maior quantidade no reino vegetal e apresentam diversas propriedades medicinais, destacando-se os efeitos anti-inflamatórios, analgésicos, cardiovasculares e antitumorais (TETALI, 2018).

Possuem biossíntese que pode ser dividida em duas rotas principais, a via do ácido mevalônico que é um produto da via do metabolismo do acetato, onde são sintetizados a partir do acetil-CoA e rota do metileritritol fosfato (MEP) na qual são sintetizados a partir dos intermediários glicolíticos 1-desoxi-D-xilulose e metileritritol fosfato (SIMÕES et al., 2017). São formados e classificados através da união e quantidade de unidades isoprênicas, construída por uma cadeia acíclica que apresentam cinco átomos de carbonos em sua estrutura (C₅), considerados a base de formação dos terpenóides. Para a unidade isoprênica participar das reações de formação das substâncias desta classe de metabólitos, é necessário que estejam na sua forma bioquimicamente ativa que são as unidades difosfato dimetilalila (DMAPP) e o difosfato isopentila (IPP). Desta forma, a partir da adição sucessiva de unidades isoprênicas é gerada uma classe distinta de compostos terpenóides, ou seja, monoterpenos (C₁₀), sesquiterpenos (C₁₅), diterpenos (C₂₀) e os sesterterpenos (C₂₅), triterpenos (C₃₀) e tetraterpenos (C₄₀). Também existem os monoterpenos irregulares e os iridoides. Os triterpenos por sua vez, constituem o grupo com maior quantidade de representantes desta classe, sendo relatados mais de 4 mil tipos de triterpenos em seus diversos esqueletos (Esquema 1, pág 32) (DEWICK, 2009; IGNEA et al., 2018; SIMÕES et al., 2017).

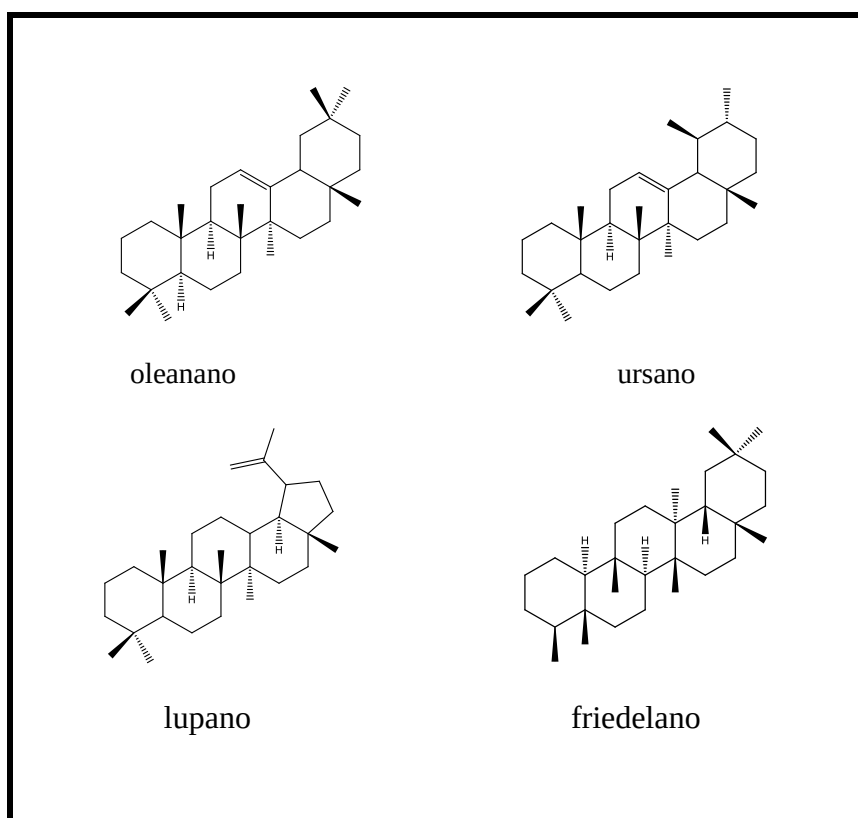
Esquema 1. Precursores dos terpenoides via do mevalonato

Fonte: adaptado DEWICK, 2009

Os triterpenóides apresentam estrutura do tipo C₃₀, policíclica, quase sempre hidroxilados na posição C-3. Os triterpenos são derivados do hidrocarboneto denominado esqualeno, ou no caso dos 3-β-hidroxitriterpenoides, o isômero 3-S do 2,3-epóxido-esqualeno. A conformação que todos os trans-2,3-epóxido-esqualeno adotam quando se inicia a ciclização, vai determinar a estereoquímica da junção do anel no triterpeno produzido. Possuem esqueletos carbônicos que podem ser tetracíclicos, que incluem os damaranos,

cicloartanos, tirucalanos, e pentacíclicos. As estruturas pentacíclicas, podem estar dispostos em cinco anéis fundidos de seis membros ou quatro anéis de seis membros, ou cinco anéis de seis membros como as famílias oleanano, ursano, friedelano e lupano (CHUNG, 2019). O esqueleto lupano sofre um rearranjo 1,2 alquil, expandindo o anel de cinco membros para seis, dando origem ao precursor dos oleananos, conhecidos como β -amirina. Uma migração 1,2 de metila dá origem aos derivados ursanos, comumente chamados de α -amirina. Em relação à semelhança estrutural, os respectivos isômeros encontram-se por diversas vezes isolados como misturas, isto ocorre devido ao grande número de sinais provenientes de hidrogênios diastereotópicos. (DEWICK, 2009; XIAO et al., 2018).

Figura 5: Esqueleto base de alguns subgrupos dos triterpenos pentacíclicos



Fonte: Autoria própria, 2019

Devido à grande diversidade deste grupo de metabólitos e por possuírem uma grande variedade de esqueletos, pesquisas realizadas mostram que vários triterpenos apresentam diversas atividades farmacológicas, como por exemplo: atividade antitumoral, antiviral e atuam na diminuição do colesterol (XIAO et al., 2018; YOUSEF et al., 2018).

Alguns trabalhos têm demonstrado os triterpenos pentacíclicos sendo considerados adequados para o desenvolvimento de fármacos, principalmente devido as suas atividades

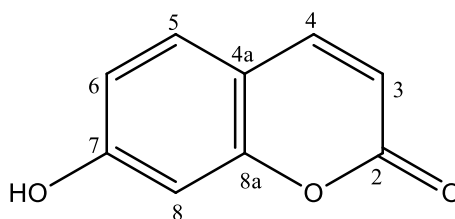
anticancerígenas, e pelo seu potencial no tratamento e prevenção de diabetes e da doença de Alzheimer (HILL; CONNOLLY, 2017; NÚÑEZ et al., 2013). Dentre as diversas atividades relatadas aos triterpenos, destacam-se as atividades anticancerígena e anti-inflamatória que têm sido descritas para alguns triterpenos pentacíclicos (SALVADOR et al., 2017). Dentre eles, destacam-se o ácido oleanólico e o ácido ursólico, por recentemente serem muito estudados devido a seus efeitos anticâncer para vários tipos de tumores. Esses compostos inibem a proliferação de células tumorais e sua viabilidade, atuando no processo de apoptose. Estudos in vitro e in vivo indicam que esses triterpenos são promissores agentes anticâncer (PIET e PADUCH, 2019). Além disso, apresentam atividades anti-inflamatórias e antivirais (JUNG et al., 2018).

Entre as drogas vegetais conhecidas, ricas em triterpenos pentacíclicos, podemos destacar, o alcaçuz (*Glycyrrhiza glabra* L.), quilaia (*Quillaja saponaria* Molina), castanha da Índia (*Aesculus hippocastanum* L), *Centella asiatica* L. e *Polygala senega* L. (ESTRADA et al., 2000; GNANAPRAGASAM et al., 2004).

2.5 Considerações sobre as cumarinas

As cumarinas (Figura 6) são compostos de ocorrência natural e são quimicamente conhecidas como benzopiran-2-ona ou cromen-2-ona ou simplesmente benzo- α -pironas (AMBREEN et al., 2019). Estes compostos fazem parte de uma classe de lactonas estruturalmente constituídas por um anel de benzeno fundido a um α -anel de pirona, e possuem essencialmente um sistema conjugado rico em elétrons (MATOS et al., 2015).

Figura 6: Estrutura básica da cumarina



Fonte: Autoria própria, 2019

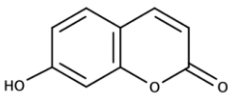
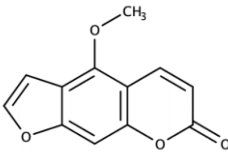
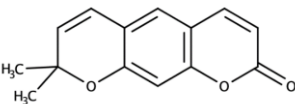
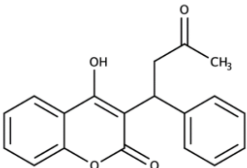
Esta classe de substâncias possui uma ampla distribuição na natureza, sendo encontrada em um grande número de plantas pertencentes a diferentes famílias incluindo Adoxaceae, Asclepidiaceae, Aspiaceae, Capparidaceae, Compositae, Ebenaceae, Fabaceae,

Lauraceae, Meliaceae, Moraceae, Papilionaceae, Ptaeroxylaceae, Rutaceae, Umbelliferae, etc (GARRAD, 2014; POUMALE et al., 2013; SUN et al., 2019).

Em 1820, uma cumarina foi isolada pela primeira vez por Vogel, a partir do extrato do Cumaru (*Dipteryx odorata*), pertencente à família Fabaceae (BOISDE, MEULY & STAFF, 2014). William Henry Perkin, um químico inglês, foi o primeiro a sintetizar a cumarina, em 1868 (MISHRA, PANDEY & MANVATI, 2020). Mais de 1300 cumarinas já foram identificadas como metabólitos secundários de diversas plantas, bactérias e fungos (VENUGOPALA, RASHMI & ODHAV, 2013). A simplicidade e versatilidade do esqueleto da cumarina fazem dele um ponto de partida interessante para uma ampla gama de aplicações, sendo seus derivados importantes economicamente, onde, por exemplo, são utilizados como fragrância, intensificador de fragrância ou como um estabilizador (GARRARD, 2014; MATOS et al., 2015).

Pode-se classificar as cumarinas de acordo com a sua estrutura química, ocorrência ou síntese, obtendo-se, assim, diversas classes de cumarinas (Tabela 1) (PENTA, 2016; LACY & O'KENNEDY, 2004).

Tabela 1. Classificação das cumarinas de acordo com a sua estrutura química.

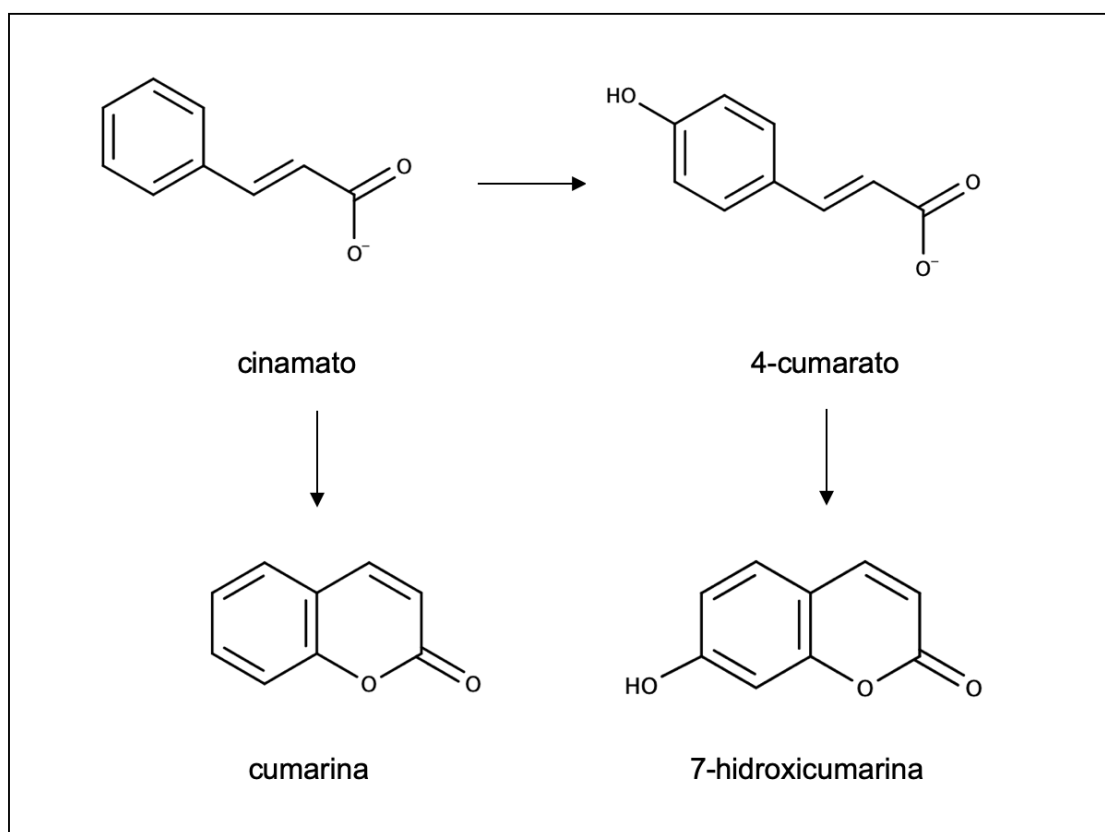
Classificação	Exemplo
Cumarinas simples	 7-hidroxicumarina
Furanocumarinas	 bergapteno
Piranocumarinas	 xantiletina
Cumarinas substituídas no anel de lactona	 varfarina

Fonte: Autoria própria, 2019

Essa diversidade de esqueletos derivados da cumarina ocorre devido às variações provocadas por substituições e conjugações; contudo, a maioria dos estudos farmacológicos e bioquímicos tem sido feita com a própria cumarina e com o seu metabolito, a 7-hidroxicumarina (umbeliferona) (VENUGOPALA, RASHMI & ODHAV, 2013).

Estes metabólitos são derivados da ciclização de ácidos cinâmicos, sendo precedidos pelo ácido *trans*-cinâmico que é gerado a partir de metabólitos primários advindos das vias do chiquimato e dos fenilpropanoides que sofrem orto-hidroxilação via cinamoil-CoA (através da cinamato/cumarato 2-hidroxilase) e formação de lactona (MENEZES & DIEDERICH, 2019). Formalmente, o cinamato e o 4-cumarato são considerados os precursores imediatos da cumarina e da 7-hidroxicumarina, respectivamente. Estas rotas biossintéticas requerem uma 2-hidroxilação do anel aromático e/ou uma reação de ciclização (Figura 7) (MATERN, LÜER & KREUSCH, 1999).

Figura 7: Biossíntese básica da cumarina e 7-hidroxicumarina



Fonte: Autoria própria, 2019

As pirano- e furanocumarinas também são biogeneticamente derivadas do ácido chiquímico, sendo elas, divididas em dois grupos dependendo do ângulo da posição onde o

isopentenil pirofosfato é condensado para continuar a ciclizar e formar o heterociclo. A biossíntese destas cumarinas complexas também pode ser o resultado da ciclização de um cumarina simples previamente prenilada (MATOS et al., 2015).

A presença de cumarinas em muitas plantas parece estar correlacionada com a sua capacidade de agir como fitoalexinas, uma vez que são produzidas em resposta ao estresse ambiental bem como ataques de patógenos (POUMALE et al., 2013). As cumarinas têm uma variedade de bioatividades, incluindo anti-inflamatória, antimicrobiana, anticoagulante e como adjuvantes na terapêutica do câncer (ZHANG & XU, 2019). Existem também inúmeras evidências que mostram a capacidade das cumarinas de inibir a infecção por vários vírus (HIV, Influenza, Enterovirus, etc) (MISHRA, PANDEY & MANVATI, 2020).

Com relação à atividade antimicrobiana, os membros mais importantes pertencentes à classe das cumarinas, são a novobiocina, a cumermicina e a chartreusina. A novobiocina, por exemplo, foi isolada dos fungos *Streptomyces niveus* e *S. spheroides* e exibiu atividade antibacteriana de amplo espectro contra diversos organismos Gram-positivos (VENUGOPALA, RASHMI & ODHAV, 2013).

2.6 Considerações sobre as saponinas

O termo saponina deriva do latim *sapo* (em português = sabão), devido a grande capacidade para formar espumas estáveis em soluções aquosas. Essa propriedade é característica de suas estruturas por possuírem uma porção lipofílica (triterpeno ou esteróide) e outra que está covalentemente ligada à porção hidrofílica formada por diferentes números e tipos de açúcar, determinando o caráter anfifílico da estrutura (SIMÕES, et al., 2017). São compostos bioativos geralmente produzidos por plantas para neutralizar agentes patogênicos e herbívoros e são encontradas em mais de 100 famílias de plantas. (AUGUSTIN et al., 2011; HOSTETTMANN e MARSTON, 1995; CABRERA-OROZCO; JIMÉNEZ-MARTINEZ; DÁVILA-ORTIZ, 2013).

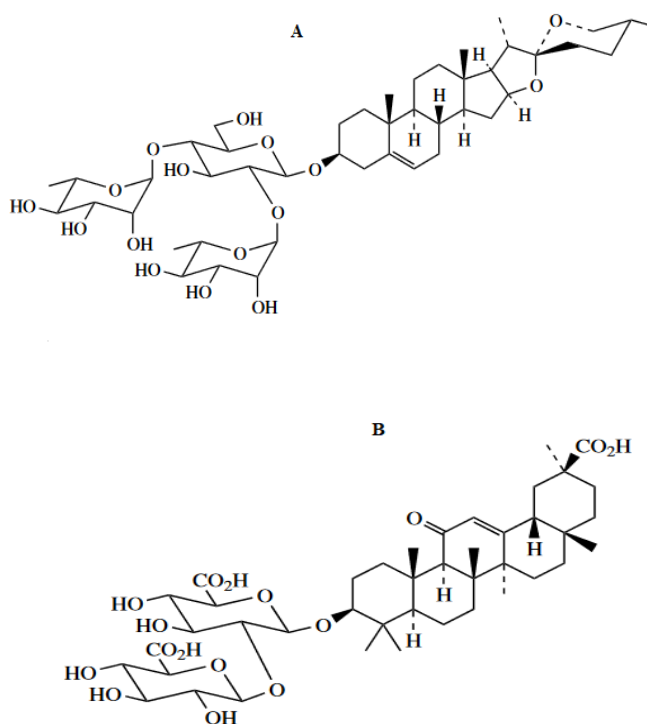
A classificação geralmente é feita de acordo com o núcleo fundamental da aglicona, ou ainda, de acordo com o seu caráter ácido, básico ou neutro. Assim, quanto à aglicona podem ser denominados saponinas triterpênicas ou saponinas esteroidais. O caráter ácido pode ser correspondente à presença de grupamento carboxila na estrutura. Já o caráter básico decorre da presença da presença de nitrogênio, sob a forma de uma amina secundária ou terciária. Além disso, as saponinas são classificadas de acordo com o número de cadeias de açúcar em sua estrutura como mono-, bi-ou tridesmosídicas. As saponinas monodesmosídicas

possuem uma cadeia de açúcares, enquanto as saponinas bidesmosídicas têm duas cadeias de açúcares, a maioria com ligação éter em C-3, e a outra com ligação éster, já as saponinas tridesmosídicas são menos frequentes. Essa diferenciação é importante pois as monodesmosídicas são as que apresentam mais atividades biológicas relatadas, quando comparada com as demais (SIMÕES et al., 2017).

O número de açúcares influencia também na solubilidade desses compostos. As saponinas, porém, apresentam um número variável de monossacarídeos, os mais encontrados em suas estruturas incluem: D-glicose, D-galactose, L-arabinose, L-ramnose, D-xilose e os ácidos D-galacturônico e D-glicurônico. Diante da natureza da aglicona, dos grupos funcionais no esqueleto da aglicona, do número e da natureza dos açúcares podem variar muito, resultando em um grupo diversificado de compostos (BITENCOURT, 2014). As ligações entre as unidades de açúcares podem ser α ou β , e os monossacarídeos podem ocorrer na forma de piranose ou furanose (SIMÕES et al., 2017).

A diferenciação estrutural das agliconas pode ser mais facilmente entendida quando considerada a classificação em saponinas esteroidais e saponinas triterpênicas, como mostrado podem ser visualizados na Figura 8.

Figura 8: Estruturas de saponinas dos tipos esteroidal **A** (Dioscina) e triterpênica **B** (ácido glicirrízico).



Fonte: Autoria própria, 2019

As sapogeninas são derivadas da via do ácido mevalônico, a qual dá origem aos triterpenos e esteroides. As saponinas triterpênicas possuem 30 átomos de carbono no esqueleto da sua sapogenina, enquanto as saponinas esteroidais possuem 27 átomos de carbono na sua sapogenina (DEWICK, 2009).

Possui papel importante na defesa de plantas, e no âmbito comercial destaca-se por suas propriedades farmacológicas valiosas (AUGUSTIN et al., 2011). Elas são amplamente exploradas nos setores alimentício, farmacêutico e da agricultura, principalmente, como agentes de espuma e devido sua atividade superficial (GÜÇLÜ-ÜSTÜNDAĞ e MAZZA, 2007).

As saponinas são conhecidas por sua ação anfifílico-anfipática, a qual facilita a complexação das mesmas com esteroides, proteínas e fosfolipídeos das membranas celulares alterando a permeabilidade das mesmas, ou causando sua destruição. Baseado nesta ação sobre as membranas destaca-se sua capacidade de provocar hemólise (BAUMANN et al., 2000; DE GEYTER et al., 2012). Além disso, outros efeitos biológicos já foram atribuídos às saponinas. Há relatos de propriedade imunoestimulante, anticancerígena, antimicrobiana, antifúngica, anti-inflamatória, antiviral, antialérgica e antioxidante, dentre outras (GÜÇLÜ-ÜSTÜNDAĞ E MAZZA, 2007; MUSENDE et al., 2009; DE LEO et al., 2006; SIMÕES et al., 2017; SUN et al., 2010;). As diversas atividades e a capacidade de afetar membranas através das saponinas são relacionadas com algumas características estruturais desses compostos, como estrutura da aglicona, número de açúcares, e quantidade de cadeias laterais dos açúcares. (KENJI et al., 2009; PODOLAK; GALANTY; SOBOLEWSKA, 2010).

Objetivos

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Contribuir com o conhecimento fitoquímico de plantas do nordeste brasileiro, através do isolamento, identificação e/ou caracterização de metabólitos secundários da espécie *Schwartzia brasiliensis*.

3.2 Objetivos específicos

- Obter extratos orgânicos das partes aéreas de *Schwartzia brasiliensis* para o estudo da sua composição química;
- Isolar e purificar metabólitos secundários dos extratos obtidos das partes aéreas de *Schwartzia brasiliensis* utilizando métodos cromatográficos;
- Identificar as substâncias químicas isoladas de *Schwartzia brasiliensis* através de técnicas de infravermelho, Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C e bidimensionais e espectrometria de massas de alta resolução;
- Utilizar os dados do CLAE EM/EM para desreplicação e análises estruturais.

Material e métodos

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Estudo Fitoquímico

4.1.1 Coleta do material botânico

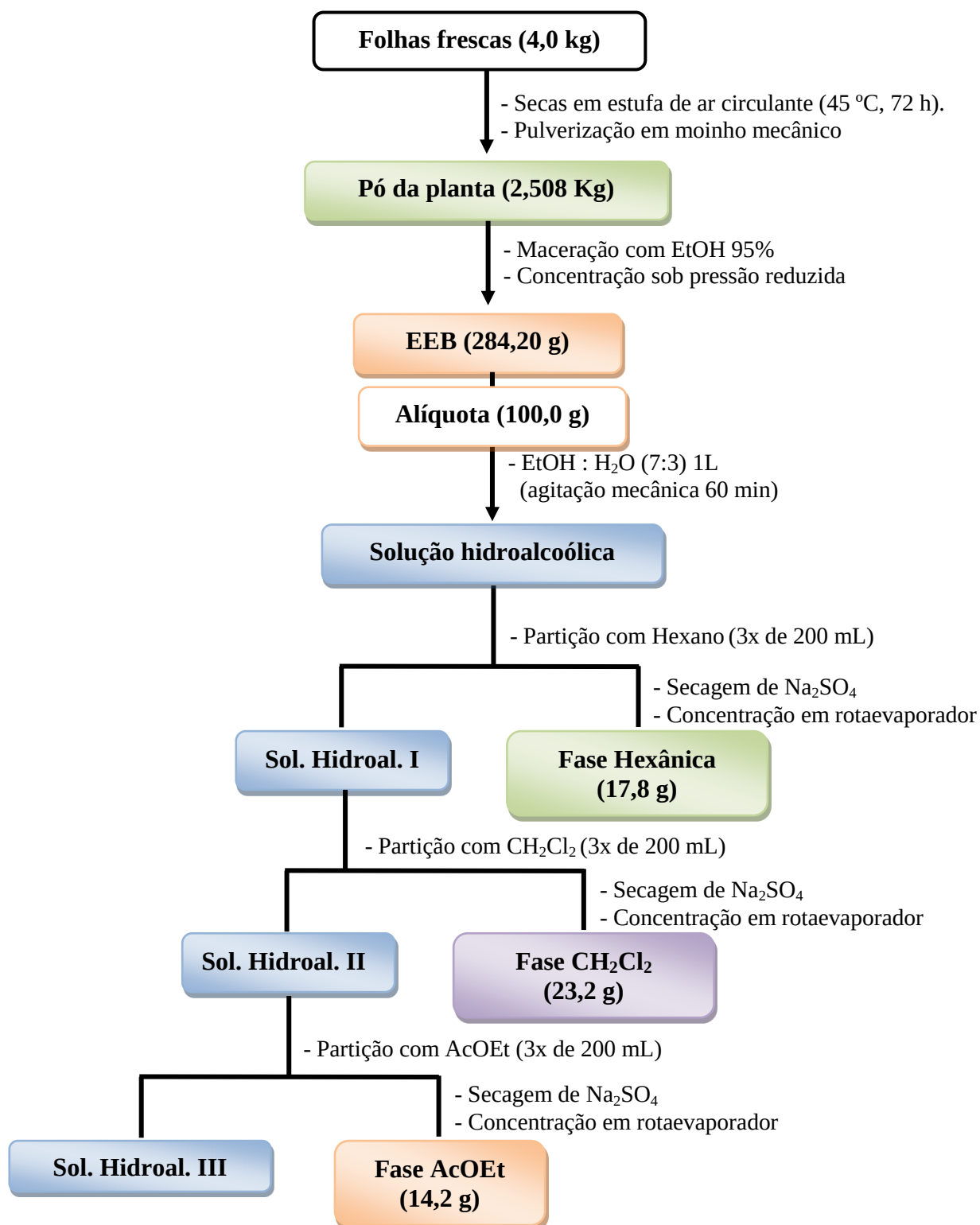
As partes aéreas de *Schwartzia brasiliensis* Choisy foram coletadas no município de Puxinanã, estado da Paraíba (PB), Brasil, em maio de 2017. Com cadastro de acesso no Sistema Nacional de Gestão de Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SISGEN) sob número: A021E1B. Sua identificação botânica foi realizada pelo botânico Dr. José Iranildo Miranda de Melo, da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB). Uma exsicata encontra-se depositada no Herbário Arruda Câmara (HACAM) da Universidade Estadual da Paraíba, sob código 1268.

4.1.2 Obtenção e fracionamento do extrato etanólico bruto (EEB)

O material botânico (4 Kg) foi seco em estufa com ar circulante, à temperatura de 45 °C durante 72 horas. Quando seco, o material foi submetido a um processo de trituração em moinho mecânico, obtendo-se 2,5 Kg do pó da planta. Em seguida, o pó foi submetido à maceração com etanol (EtOH) a 95 % em recipiente de aço inoxidável, por 72 horas, sendo esse processo repetido por quatro vezes, obtendo-se a solução extrativa. Esta foi concentrada em evaporador rotativo sob pressão reduzida a uma temperatura de 40 °C sendo obtido 284,0 g de extrato etanólico bruto (EEB) (Esquema 2, Pág 42).

Uma alíquota deste extrato (100,0 g) foi solubilizado em uma solução de EtOH : H₂O (7:3), mantida sob agitação mecânica no aparelho da ethiktechnology (Modelo M110-VER-4K3) durante 60 minutos para a obtenção de uma solução hidroalcoólica, que por sua vez foi submetida a um processo de partição líquido-líquido em ampola de separação e sequencialmente a um fracionamento com hexano, diclorometano e acetato de etila. As fases obtidas foram tratadas com sulfato de sódio anidro (Na₂SO₄) e submetidas à filtração. Após esse processo, as mesmas foram concentradas em evaporador rotativo a 45 °C, obtendo-se 17,8 g da fase hexânica, 23,2 g da fase diclorometano e 14,2 g da fase acetato de etila (Esquema 2, Pág 42).

Esquema 2. Obtenção e partição líquido-líquido do extrato etanólico bruto das partes aéreas de *Schwartzia brasiliensis*



4.1.3 Processamento cromatográfico da fase hexânica

A fase hexânica (10 g) foi submetida à cromatografia em coluna de vidro (CC) utilizando gel de sílica com dimensão de partícula entre 0,060 – 0,200 mm como fase estacionária e como eluentes: hexano (Hex), acetato de etila (AcOEt) e metanol (MeOH), puros ou em misturas binárias, em ordem crescente de polaridade. Desta coluna cromatográfica foram coletadas 13 frações de 150 mL cada, que foram analisadas por cromatografia em camada delgada analítica (CCDA) de acordo com os seus perfis cromatográficos. Na tabela 2 encontra-se o processamento cromatográfico, em que são observados os sistemas de eluição e a quantidade de frações obtidas em cada sistema.

A fração 4, apresentou-se como cristais brancos e quando analisada em CCDA foi observada uma única mancha e foi submetida a análise de RMN de ^1H e ^{13}C , sendo então codificada como **Sb-1** (60,0 mg).

A fração 11 (20,0 mg) apresentou-se como um pó esverdeado e após análise por CCDA e RMN de ^1H e ^{13}C foi observado no espectro perfil característico de compostos apolares, esta fração foi submetida a análise por CG/EM. O cromatograma apresentou um número significativo de picos, indicando que as amostras analisadas tratavam-se de misturas complexas de constituintes apolares

Tabela 2. Fracionamento cromatográfico da fase hexânica de *Schwartzia brasiliensis*.

Polaridade (Porcentagem)	Frações
90:10 Hexano : Acetato de etila	1-2
70:30 Hexano : Acetato de etila	3-4
50:50 Hexano : Acetato de etila	5-6
30:70 Hexano : Acetato de etila	7-9
100% Acetato de etila	10-11
50:50 Acetato de etila : Metanol	12-13

4.1.4 Processamento cromatográfico da fase diclorometano

Uma alíquota da fase diclorometano (2,0 g) foi submetida à cromatografia líquida em coluna sob média pressão utilizando como fase estacionária 51g de gel de sílica 60 (0,063 – 0,200 mm) e uma coluna de vidro cilíndrica adequada. Como fase móvel, foram utilizados

hexano (Hex), diclorometano (DCM) e metanol (MeOH), em sistema isocrático, distribuídos em 12 ciclos, todos com fluxo de 15mL/min (Tabela 3). Foram coletadas 48 frações com 50 mL cada, as quais foram concentradas em evaporador rotativo a vácuo à temperatura média de 40 °C. Em seguida foram submetidas a análise por CCDA e foram reunidas em 16 frações de acordo com seus respectivos fatores de retenção (Rf).

A fração 25 que resultou na subfração nove apresentou-se como um pó branco e quando analisada em CCDA foi observado uma única mancha única e foi submetida a análise de RMN de ^1H e ^{13}C , sendo então codificada como **Sb-2** (22,0 mg).

Tabela 3. Fracionamento cromatográfico da fase diclorometano de *Schwartzia brasiliensis*

Ciclo	Polaridade (Porcentagem)	Frações	Reuniões
1°	100% Hexano	1-4	1-3 (1)
2°	90:10 Hexano : Diclorometano	5-8	4-7 (2)
3°	50:50 Hexano : Diclorometano	9-12	8-10 (3); 11-13 (4)
4°	10:90 Hexano : Diclorometano	13-15	14-16 (5)
5°	100% Diclorometano	16-18	17-20 (6)
6°	5:95 Metanol : Diclorometano	19-20	
7°	10:90 Metanol : Diclorometano	21-23	(7)
8°	20:80 Metanol : Diclorometano	24-27	24 (8); 25 (9); 26-28 (10)
9°	30:70 Metanol : Diclorometano	28-32	29-30 (11); 31-33 (12)
10°	50:50 Metanol : Diclorometano	33-37	34-35 (13)
11°	70: 30 Metanol : Diclorometano	38-41	36-40 (14)
12°	100% Metanol	42-28	41-44 (15); 45-48 (16)

4.1.5 Processamento cromatográfico da fase acetato de etila

A fase acetato de etila (3,0 g) foi submetida à cromatografia em coluna (CC) de vidro, utilizando sephadex LH-20 e como eluentes: diclorometano (DCM) e metanol (MeOH), puros ou em misturas binárias, em ordem crescente de polaridade. Desta coluna cromatográfica foram coletadas 60 frações de 20 mL cada, que foram analisadas por cromatografia em camada delgada analítica (CCDA) de acordo com os seus perfis de separação e reunidas em 7 frações. Na tabela 4 (pág 47) encontra-se o processamento cromatográfico, em que são observados os sistemas de eluição e a quantidade de frações obtidas em cada sistema.

A reunião das frações 16-23, que resultou na subfração 3 (345,0 mg) foi submetida a uma purificação em cartucho SPE C-18 utilizando como fase móvel: água acidificada (0,1% de ácido fórmico), metanol e acetonitrila puro ou em misturas binárias, resultando em 6 subfrações de 500 mL (Tabela 5). Na subfração 4 foi observada a presença de um precipitado amarelado que após análise por CCDA foi observado uma única mancha única e foi submetida a análise de RMN de ^1H e ^{13}C , sendo então codificada como **Sb-3** (20 mg).

Tabela 4. Fracionamento cromatográfico da fase acetato de etila de *Schwartzia brasiliensis*, realizado em coluna com Sephadex LH-20

Polaridade (Porcentagem)	Frações	Reuniões
95:5 Metanol : Diclorometano	1-10	(1); 2-15 (2)
70:30 Metanol : Diclorometano	11-22	16-23 (3)
50:50 Metanol : Diclorometano	23-33	24-35 (4)
100% Diclorometano	34-45	36-44 (5)
90:10 Metanol : H_2O	46-55	45-58 (6)
80:20 Metanol : H_2O	56-60	59-60 (7)

Tabela 5. Fracionamento cromatográfico da reunião de frações 16-23 da fase acetato de etila de *Schwartzia brasiliensis*, realizado em cartucho SPE C-18

Ciclo	Polaridade (Porcentagem)	Frações
1°	100% água acidificada*	1
2°	70:30 Metanol : água acidificada*	2
3°	50:50 Metanol: água acidificada*	3
4°	30:70 Metanol: água acidificada*	4
5°	100% Metanol	5
6°	100% Acetonitrila	6

* (0,1 % de ácido fórmico)

4.1.6 Teste para determinação de saponinas

O teste foi realizado de acordo com a metodologia descrita por Barbosa (2011) e Peixoto et al. (2012).

Foi preparada uma solução-mãe com o EEB de *Schwartzia brasiliensis* para realizar o teste. Para isso, foi pesado 140 mg do EEB, que foi dissolvido em 28 mL de água destilada. Em seguida esta solução foi levada ao banho de ultrassom a fim de dissolver todo soluto. Em

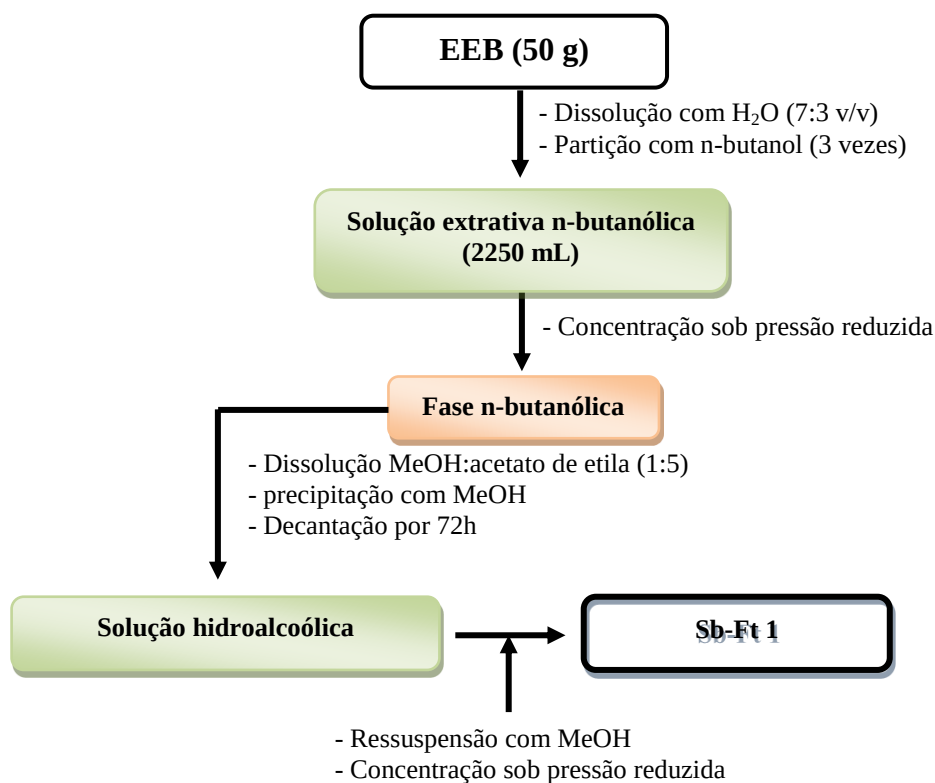
seguida, a solução foi filtrada em papel de filtro reservando o filtrado e obtendo-se a solução-mãe.

Transferiu-se 5 mL da solução-mãe para o tubo de ensaio, sendo diluída em 15 mL de água destilada. Em seguida, a solução foi agitada vigorosamente por 2 minutos em tubo fechado. O resultado é considerado positivo quando a camada de espuma permanece estável por mais de meia hora.

4.1.7 Obtenção da fração concentrada de saponinas

Uma alíquota de 50 g do extrato etanólico bruto foi dissolvido em 1500 mL de água destilada. Em seguida, foi particionada com n-butanol (750 mL) por três vezes. A solução extrativa da fase n-butanólica foi concentrada em evaporador rotativo sob pressão reduzida a uma temperatura de 50 °C. Após a obtenção do material seco, foi dissolvido numa solução metanol : acetato (1:5, v/v) (500 mL) e, então, foi adicionado metanol até a precipitação das saponinas. Após a precipitação o material foi deixado em repouso para decantar por 72h a temperatura ambiente. O precipitado foi então ressuspensão em metanol (300 mL) e concentrado em evaporador rotativo sob pressão reduzida a 40 °C. Desta forma foi possível obter uma fração rica em saponinas **Sb-FT 1** (Esquema 3) (BARBOSA; SILVA; PARENTE, 2012).

Esquema 3. Obtenção da fração de saponinas de *Schwartzia brasiliensis*



4.2 Métodos Cromatográficos

Os métodos cromatográficos utilizados para o isolamento e purificação dos constituintes químicos foram Cromatografia em Coluna (CC) e Cromatografia Líquida de Média Pressão (CLMP), utilizando como fase estacionária sílica gel F60 da SILICYCLE com partículas de dimensões entre 0,063-0,200 mm e 0,04-0,063 mm, respectivamente. O comprimento e as dimensões das colunas de vidro variaram de acordo com a quantidade de amostra que foi submetido a cromatografia.

O monitoramento das frações obtidas das CC e das CLMP foi realizado por Cromatografia em Camada Delgada Analítica (CCDA), utilizando cromatoplasmas da SILICYCLE de dimensões 20x20 cm, espessura 0,2 mm e indicador F-254 da MERCK®. Foram utilizados solventes orgânicos (hexano, diclorometano, acetato de etila, metanol, n-butanol) para eluição de placas e colunas, puros ou em misturas binárias obedecendo a uma ordem crescente de polaridade. A visualização das substâncias aplicadas nas cromatoplasmas foi feita por exposição da mesma à lâmpada de irradiação ultravioleta, sob comprimento de onda 254 e 366 nm em aparelho BOITTON (modelo BOIT-LUB01).

As análises cromatográficas analíticas foram realizadas utilizando um sistema de CLAE da Shimadzu equipado com módulo de bombeamento de solvente binário LC-20AT, autoinjeter SIL-20A, um sistema de degaseificação DGU-20A, detector SPD-M20A diode array e CBM-20A. A coluna utilizada foi Phenomenex Gemini® (250 mm X 4.6 mm d.i. preenchido com partículas 5 µm). Os solventes orgânicos utilizados foram acetonitrila e metanol, ambos com grau CLAE (TEDIA®, Brazil) e água ultrapura obtida por sistema de purificação Milli-Q (Millipore®)

4.2.1 Espectrometria de massas

A análise foi realizada utilizando um sistema de cromatografia líquida de alta eficiência Shimadzu, equipado com módulo de bombeamento de solvente binário LC-20AT, auto injeter SIL-20A, um sistema de degaseificação DGU-20A, detector SPD-M20A diode array e CBM-20A. A coluna utilizada foi Phenomenex Gemini® C18 (250 mm x 4.6 mm d.i. preenchido com partículas 5 µm), com pré-coluna SecurityGuard Gemini® C18 (4 mm x 3.0 mm d.i. preenchido com partículas 5 µm). A metodologia desenvolvida para análise do cromatógrafo líquido de alta eficiência foi a seguinte: 5-100% de MeOH em 90 min - 0,6 ml/min com o volume de injeção de 20 µL. O CLAE acoplado ao espectrômetro de massas de

baixa resolução da marca Bruker, modelo Ion Trap-amaZonX utilizando a técnica de Ionização por Eletrospray. Os parâmetros de análise do Ion-Trap foram: capilar 4,5 kV, IES no modo negativo, offset da placa final 500 V, nebulizador 35 psi, gás seco (N_2) com fluxo de 8 L.h^{-1} e temperatura de 300°C . A fragmentação de CID foi conseguida no modo auto MS/MS utilizando o modo de resolução avançada para o modo MS e MS/MS. Os espectros (m/z 200-1500) foram registados a cada 2 s.

Para as análises de CLAE-DAD-EM de alta resolução, utilizou-se um CLAE idêntico ao descrito anteriormente, com exceção do detector SPDM-20A, com a mesma coluna cromatográfica, acoplado a espectrômetro de massas de alta resolução da marca Bruker, modelo micrOTOF II utilizando a técnica de Ionização por Eletrospray. Os parâmetros de análise do micrOTOF II foram: capilar 4,0 kV, IES no modo negativo, offset da placa final 500 V, nebulizador 35 psi, gás seco (N_2) com fluxo de 8 L.h^{-1} e temperatura de 300°C . Os espectros (m/z 50-1500) foram registados a cada 2 s. O formiato de sódio foi usado como calibrador interno durante a corrida cromatográfica. O equipamento possui resolução 15.000, quando operando em CLAE-EM, opera em torno de 11.000.

Para obtenção dos espectros de massas por injeção direta foi utilizado para o IES-EM (baixa resolução) um espectrômetro Ion Trap-amaZonX (Bruker) e para o HRIESEM (alta resolução) um micrOTOF II (Bruker) operando com voltagem do capilar 3,5 kV, IES no modo negativo, offset da placa final 500 V, nebulizador 8,0 psi, gás seco (N_2) com fluxo de $5,0 \text{ L.h}^{-1}$ e temperatura de 200°C . Os espectros (m/z 50-1500) foram registados a cada 2 s. A fragmentação de CID foi conseguida no modo auto MS/MS utilizando o modo de resolução avançada para o modo EM e EM/EM.

4.2.2 Cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM)

As análises foram realizadas em CG-EM (Cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas) em sistema Shimadzu GCMS-QP2010 Ultra, operando em energia de ionização de 70 eV e equipado com coluna capilar de sílica fundida ($30\text{m} \times 0,25\text{mm d.i.}$) com fase estacionária RT-SMS($0,25\mu\text{m}$ de espessura do filme).

O método cromatográfico em fase gasosa empregado foi desenvolvido utilizando injeção no modo Splitless, o gás carreador usado foi o hélio ao fluxo de $1,1 \text{ mL/min}$ e o gradiente de temperatura empregado foi a temperatura inicial foi de 70°C por 5 minutos, e a temperatura foi aumentada para 250°C usando uma rampa de temperatura de $3^\circ\text{C} / \text{min}$ antes de atingir e manter a temperatura final por 5 minutos. (LIMA et. al, 2014). A temperatura do

injetor foi mantida em 220 °C e a temperatura da interface CG-EM em 250 °C. O detector de massa foi operado por ionização com impacto eletrônico (+70 eV) usando o modo de varredura, mantido em 35-450 MHz. As amostras foram diluídas com hexano (1 mg / ml) e injetadas no CG-EM em duplicata; 1,0 µL foi injetado com o injetor no modo sem divisão. A identificação das substâncias foi efetuada de acordo com a comparação com o banco de dados do sistema CG-EM (Nist. 2008) e com os dados existentes na literatura (LIMA et al., 2014).

4.3 Métodos espectroscópicos

4.3.1 Espectroscopia no Infravermelho (IV)

Os dados espectrais na região do infravermelho (4000 a 400 cm^{-1}) foram obtidos em aparelho de espectrômetro de infravermelho FTIR, modelo IRPrestige-21 (Shimadzu), com acessório de reflectância total atenuada (do inglês, ATR) acoplado, com as seguintes condições de análise: Região 4000-600 cm^{-1} ; Resolução: 4 cm^{-1} ; N° acumulações: 20; Modo: transmitância, localizado no Laboratório de Combustíveis e Materiais - LACOM da Universidade Federal da Paraíba -UFPB.

4.3.2 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os espectros de RMN, utilizando técnicas uni e bidimensionais, foram registrados nos espectrômetros da Varian system operando a 500 MHz (RMN de ^1H) e 125 MHz (RMN de ^{13}C) e no aparelho da Bruker Ascend operando a 400 MHz (RMN de ^1H) e 100 MHz (RMN de ^{13}C) do Laboratório Multiusuário de Caracterização e Análise (LMCA) da UFPB. Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em partes por milhão (ppm) e as constantes de acoplamento (J) em Hz. As multiplicidades dos deslocamentos químicos de RMN de ^1H foram indicadas segundo as convenções: *s* (simpleto), *sl* (simpleto largo), *d* (duplete), *t* (triplete) e *m* (multiplete).

Os espectros de RMN de ^{13}C , obtidos pela técnica *Attached Proton Test* (APT) tiveram como base a seguinte convenção: os sinais de carbonos não hidrogenados (C) e metilênicos (CH_2) acima da linha base e sinais para carbonos metínicos (CH) e metílicos (CH_3) abaixo da linha base.

Resultados e discussão

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Identificação estrutural dos constituintes químicos isolados de *S. brasiliensis*

5.1.1 Identificação estrutural de Sb-1 e Sb-2

A substância codificada como **Sb-1** foi isolada na forma de cristais brancos, solúveis em clorofórmio, pesando 60,0 mg, representando 0,002% do extrato etanólico bruto.

No espectro de infravermelho foi observada uma banda larga com absorção em 3292 cm^{-1} característico de estiramento de um grupo hidroxila (-OH). Também foi observada uma banda de maior intensidade entre 2850-2950 cm^{-1} associada às vibrações de deformação axial dos átomos de hidrogênio ligados a carbono, sendo característica de C-H sp^3 . Dessa forma, observou-se que a maior parte da estrutura é composta por cadeias cíclicas. E duas absorções em 1463 cm^{-1} e 1379 cm^{-1} características de grupos metilênicos (CH_2) e metílicos (CH_3) de carbonos sp^3 , respectivamente. Também foi observada uma banda em 1710 cm^{-1} referente a deformação axial da ligação C=C, e outra em 1037 cm^{-1} representando uma deformação axial de ligação C-O (Figura 10, pág. 57) (SILVERSTEIN et al., 2007; PAVIA et al., 2010; SILVA, 2016).

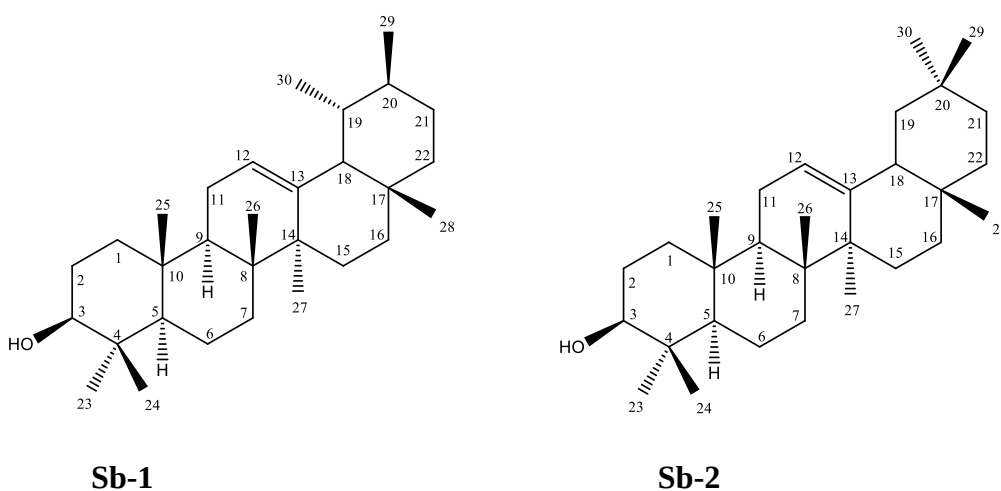
O espectro de RMN de ^{13}C -APT (100 MHz, CDCl_3) (Figura 11, pág. 57) apresentou aproximadamente 53 sinais, sendo a maioria registrada entre δ_{C} 15,4 e 79,3, atribuídos a carbonos metínicos, metilênicos e metílicos. O perfil apresentado nesse espectro sugeriu tratar-se de uma mistura de substâncias de natureza triterpênica. Para confirmação dessa hipótese foram realizadas comparações com dados da literatura (FERNANDES, 2017). Também foram observados os sinais em δ_{C} 124,6; 145,3; 59,2; 38,9 e 38,9 atribuídos a C-12, C-13, C-18, C-19 e C-20, respectivamente de triterpenos da série ursano. Observou-se ainda os sinais em δ_{C} 121,9; 145,3; 47,3; 47,0; 31,4 atribuídos a C-12, C-13, C-18, C-19 e C-20, respectivamente de triterpenos da série oleanano (Figuras 12-13, pág. 58).

Na análise realizada do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) (Figura 14, pág. 59) foi possível observar absorções de hidrogênios olefínicos em δ_{H} 5,13 (1H, t, $J = 3,6$ Hz, H-12) e δ_{H} 5,18 (H-12), sugestivos para os hidrogênios da posição 12 da α -amirina e β -amirina, respectivamente. Observou-se um envelope de sinais entre δ_{H} 0,73-1,63 característicos de hidrogênios metílicos, metilênicos e metínicos o que reforçou a presença de um esqueleto triterpênico ou esteroidal (Figura 15, pág. 59) (SOUZA, 2013). Nesta região foram observados oito sinais em δ_{H} 0,87; 0,88 (d, $J = 3,2$); 1,26; 1,32; 0,95; 0,87; 0,80 e 0,79, condizentes com as metilas H-30 β , H-29 α , H-28, H-27, H-26, H-25, H-24 e H-23 que foram relacionados a grupamentos metilas (Figura 16, pág. 60).

A presença de um duplo duplete em δ_H 3,24 (1H, $J = 5,2$ Hz e $10,8$ Hz) (Figura 18, pág. 60), juntamente com os sinais em δ_C 79,3 (C-3), δ_C 55,3 (C-5), δ_C 38,9 (C-1) e δ_C 28,6 (C-3), permitiram sugerir a presença de uma hidroxila equatorial em C-3 (Figura 12, pág. 57). Observou-se também um tripleto em δ_H 5,13 ($J = 3,6$ Hz) (Figura 18, pág. 61). Os sinais de carbono em δ_C 124,6 e 121,9 (C-12 α / C-12 β) e δ_C 139,5 e 145,3 (C-13 α / C-13 β) corroboram com a proposta inicial, pois estes sinais são característicos da dupla ligação entre o carbono C-12 e C-13 de triterpenos da série oleanano e ursano (FERNANDES, 2017). Os dados estão compilados na Tabela 6 (págs. 55-56).

Após análise dos espectros de IV e RMN de 1H e ^{13}C , além de comparação com a literatura foi possível identificar **Sb-1** como sendo a mistura triterpênica de 3 α -hidroxi-urs-12-eno (α -amirina) e 3 β -hidroxi-olean-12-eno (β -amirina) (Figura 9). Descritos anteriormente na espécie em estudo.

Figura 9. Estrutura dos compostos (A) α -amirina e (B) β -amirina



Fonte: Autoria própria, 2019

Tabela 6. Comparação dos dados de RMN de ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) das substâncias **Sb-1** e **Sb-2** em CDCl_3 com valores da literatura para mistura de α , β -amirina (FERNANDES, 2017) (δ em ppm e J em Hz).

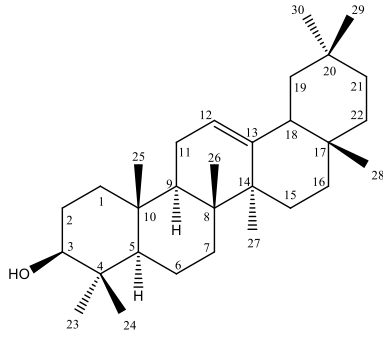
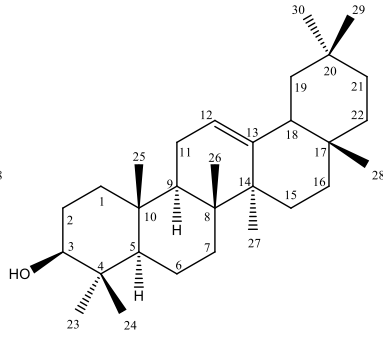
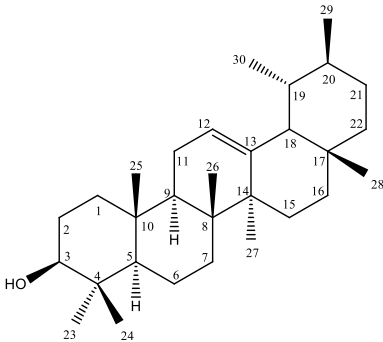
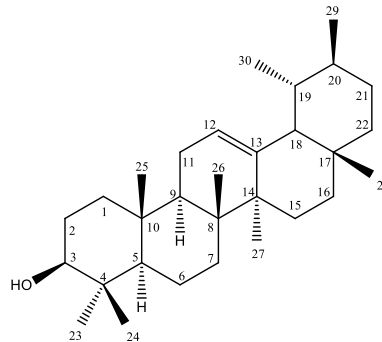
	Sb-2 β -amirina		FERNANDES, 2017		Sb-1 α -amirina		FERNANDES, 2017	
								
C	$\delta_{\text{C } \beta}$	$\delta_{\text{H } \beta}$	$\delta_{\text{C } \beta}$	$\delta_{\text{H } \beta}$	$\delta_{\text{C } \alpha}$	$\delta_{\text{H } \alpha}$	$\delta_{\text{C } \alpha}$	$\delta_{\text{H } \alpha}$
1	38,9		38,7		38,9		38,7	
2	27,4		27,2		28,3		28,7	
3	79,3	3,24 (dd, $J=5,2;10,8$)	79,3	3,15 (dd, $J=4,4;10,8$)	79,3	3,24 (dd, $J=5,2;10,8$)	79,6	3,16 (dd, $J=5,1;11,2$)
4	38,7		38,5		38,7		38,7	
5	55,3		55,1	0,68 (d, $J=11,0$)	55,3		55,1	0,67 (d, $J=11,6$)
6	18,5		18,6		18,5		18,4	
7	32,7		32,4		32,1		32,2	
8	39,8		39,8		39,8		40,0	
9	47,8		47,6		47,8		47,7	
10	37,1		36,9		37,1		36,9	

Tabela 6. Continuação: Comparação dos dados de RMN de ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) das substâncias **Sb-1** e **Sb-2** em CDCl_3 com valores da literatura para mistura de α , β -amirina (FERNANDES, 2017) (δ em ppm e J em Hz).

	Sb-1 β -amirina		FERNANDES, 2017		Sb-1 α -amirina		FERNANDES, 2017	
C	$\delta_{\text{C } \beta}$	$\delta_{\text{H } \beta}$	$\delta_{\text{C } \beta}$	$\delta_{\text{H } \beta}$	$\delta_{\text{C } \alpha}$	$\delta_{\text{H } \alpha}$	$\delta_{\text{C } \alpha}$	$\delta_{\text{H } \alpha}$
11	23,5		23,6		23,5		23,3	
12	121,9	5,18 (t, $J=3,2$)	121,7	5,12 (t, $J=3,2$)	124,6	5,13 (t, $J=3,2$)	124,4	5,06 (t, $J=3,2$)
13	145,3		145,2		139,0		139,5	
14	41,7		41,7		41,7		42,0	
15	26,4		26,2	1,8 (td, $J=4,0;14,0$ H β)	27,1		27,2	1,94 (td, $J=4,0;13,5$ H β)
16	26,8		26,1	1,70 (td, $J=4,0;$ 13,7 H β)	26,8		26,6	1,76 (td, $J=5,0;$ 13,5 H β)
17	32,8		32,6		33,5		33,7	
18	47,3		47,2		59,2		59,0	
19	47,0		46,8		38,9		39,6	
20	31,4		31,0		38,9		39,6	
21	34,9		34,7		31,4		31,2	
22	37,3		37,1	1,8 m	37,3		41,5	1,8 m (dt, $J=3,0;$ 7,0)
23	28,6	0,80 s	28,0	0,77 s	28,6	0,94 s	28,1	0,93 s
24	15,9	0,95 s	15,4	0,90 s	15,9	0,78 s	15,6	0,74 s
25	15,4	0,79 s	15,4	0,73 s	15,4	0,91 s	15,6	0,73 s
26	17,1	1,01 s	16,8	0,93 s	17,1	1,01 s	16,8	0,89 s
27	26,2	1,32 s	25,9	1,19 s	23,4	1,32 s	23,2	1,01 s
28	28,9	1,26 s	28,4	1,07 s	28,3	1,26 s	28,1	0,94 s
29	33,9	0,94 s	33,8	0,87 s	17,7	0,88 (d, $J=3,2$)	17,4	0,85 (d, $J=6,0$)
30	23,9	0,87 s	23,7	0,80 s	21,6	-	21,4	0,73 (d, $J=7,0$)

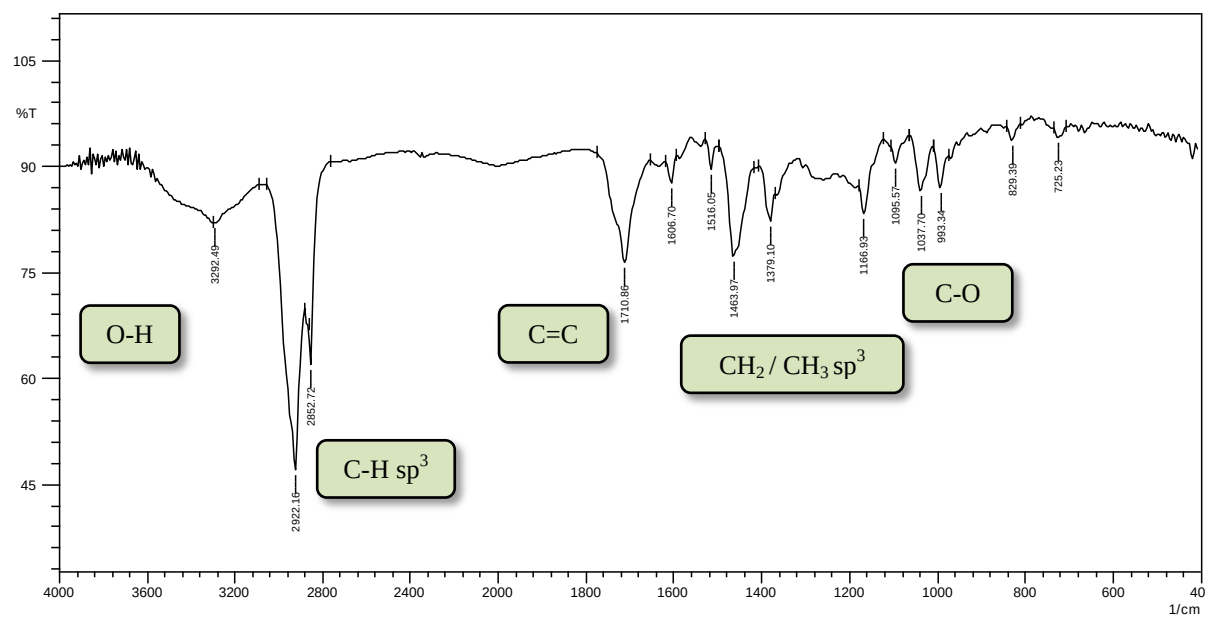
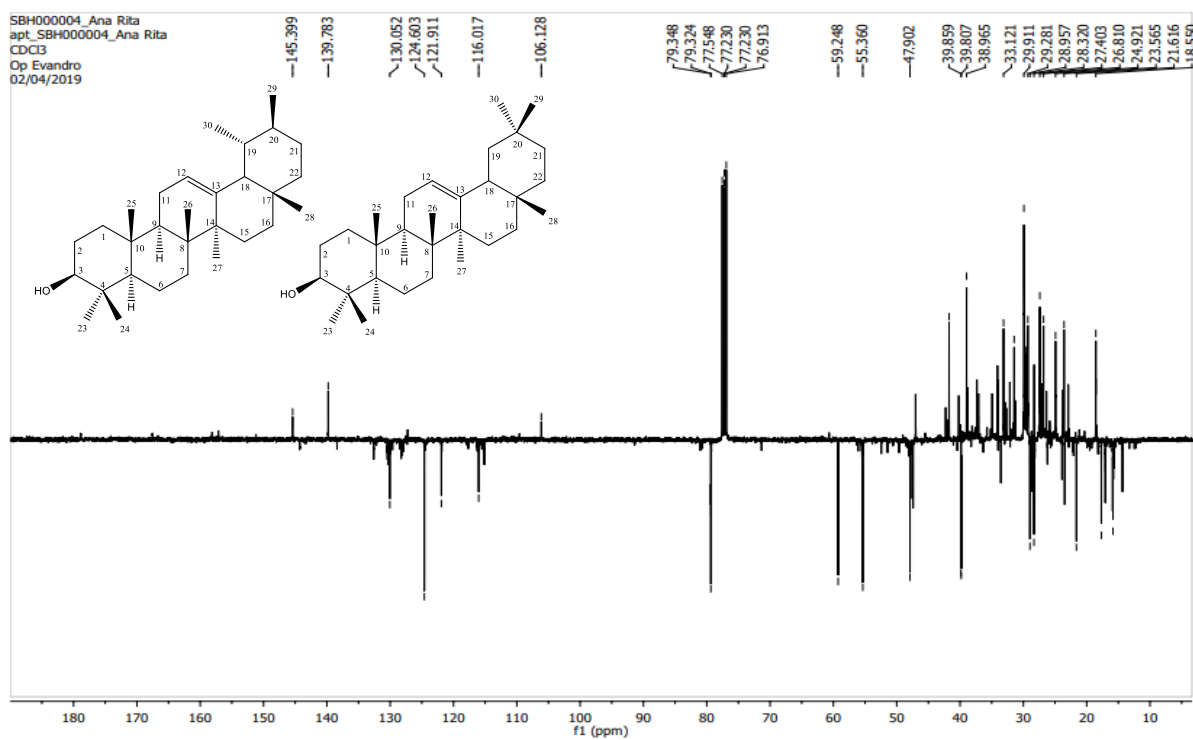
Figura 10. Espectro no Infravermelho (ATR) de **Sb-1**.**Figura 11.** Espectro de RMN de ¹³C APT de **Sb-1** e **Sb-2** (CDCl₃, 100 MHz)

Figura 12. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C de **Sb-1** e **Sb-2** na região de 15-51 ppm (CDCl_3 , 100 MHz).

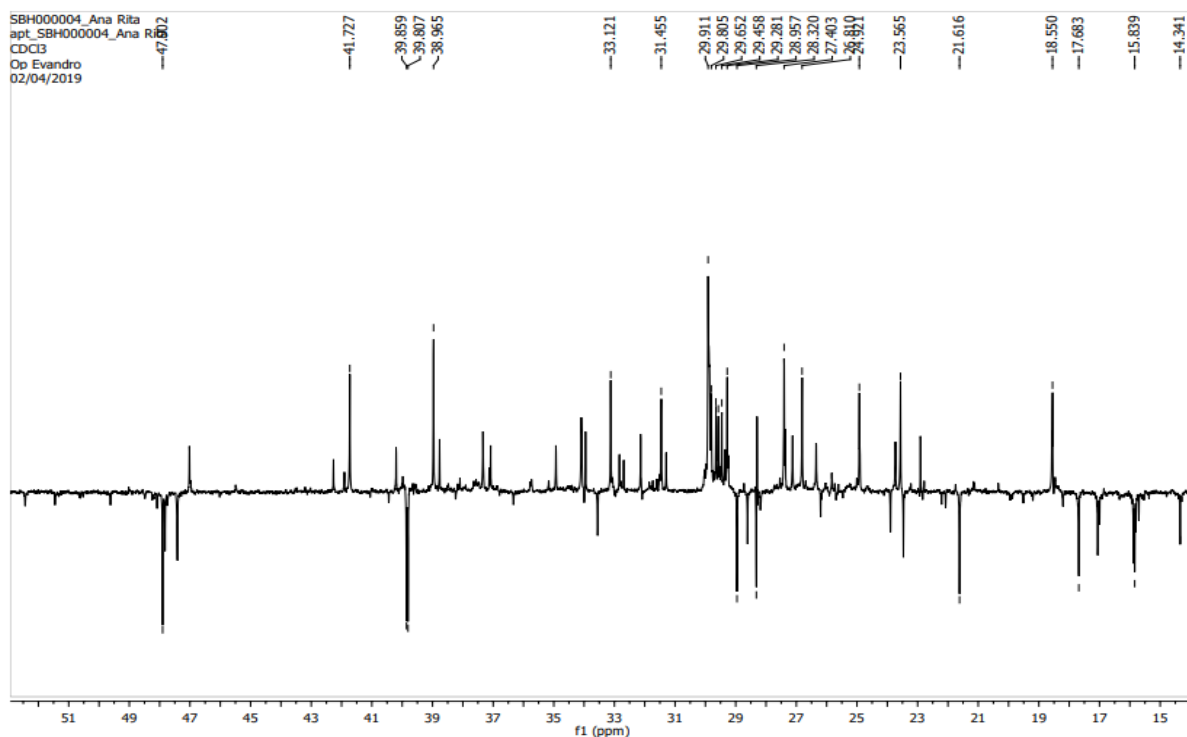


Figura 13. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C de **Sb-1** e **Sb-2** na região de 85-50 ppm (CDCl_3 , 100 MHz).

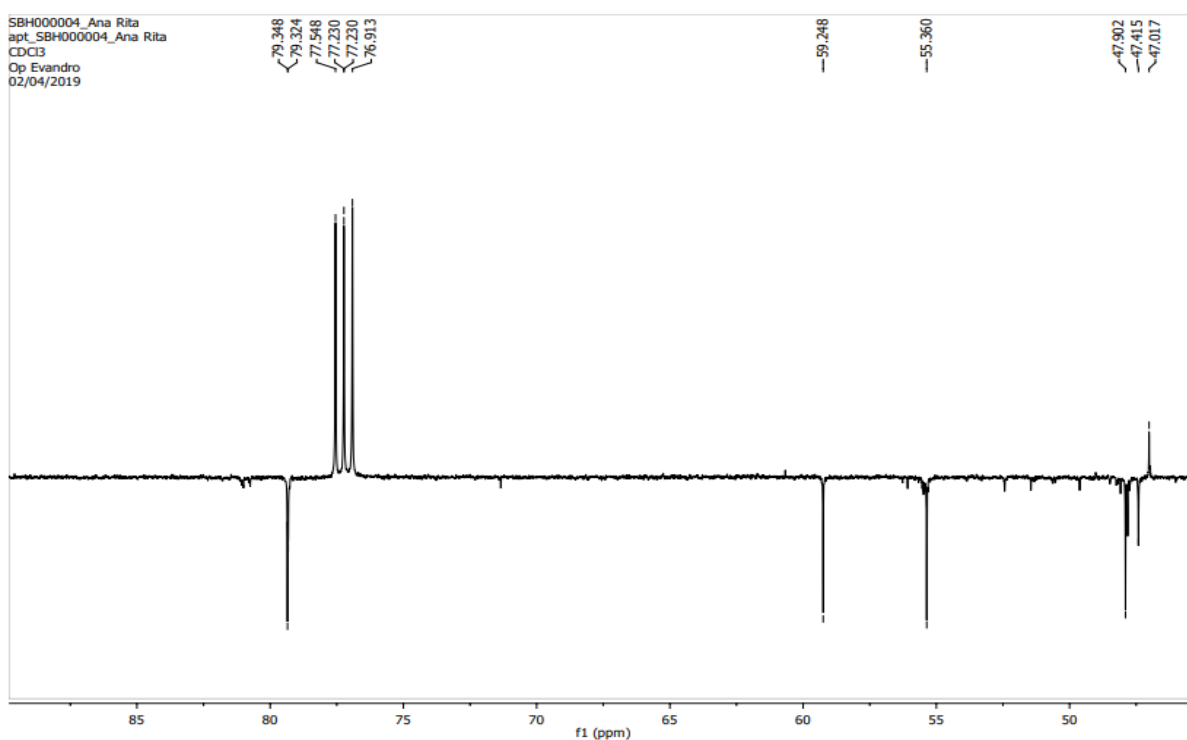


Figura 14. Espectro de RMN de ^1H de **Sb-1 e Sb-2** (CDCl_3 , 400 MHz).

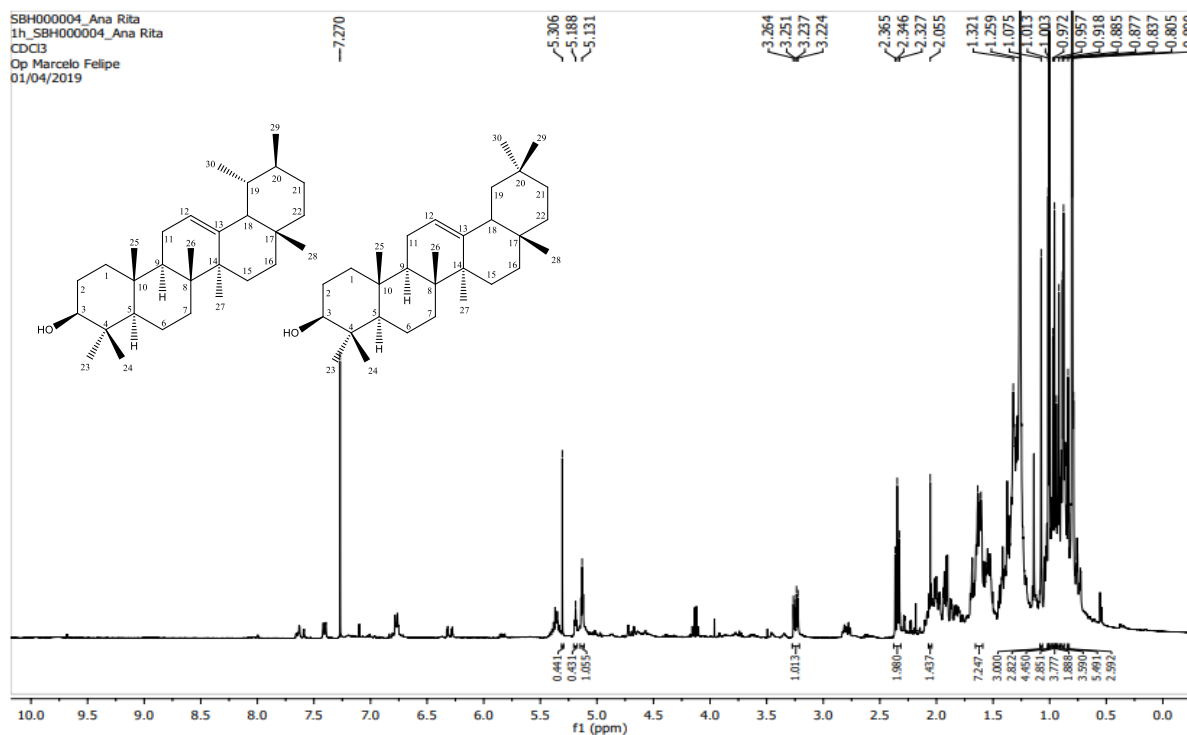


Figura 15. Expansão do espectro de RMN de ^1H de **Sb-1 e Sb-2** na região de 1,50-0,50 ppm (CDCl_3 , 400 MHz)

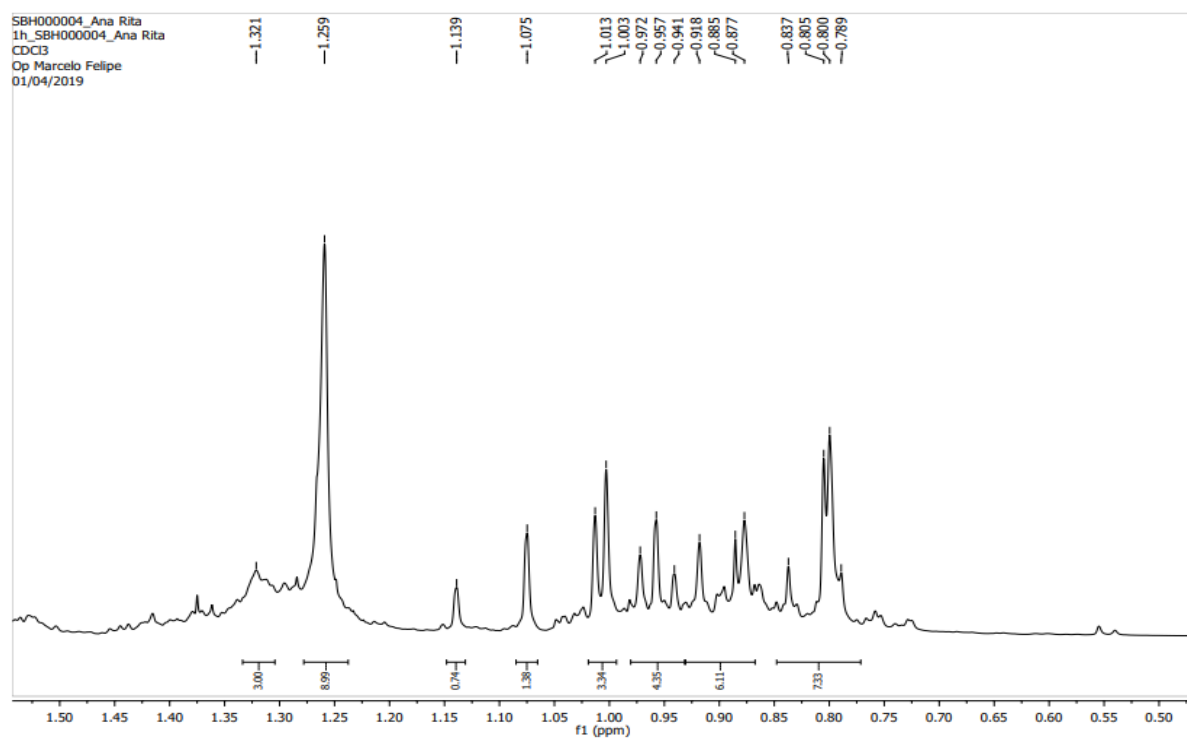


Figura 16. Expansão do espectro de RMN de ^1H de **Sb-1 e Sb-2** na região de 2,60-1,50 ppm (CDCl_3 , 400 MHz).

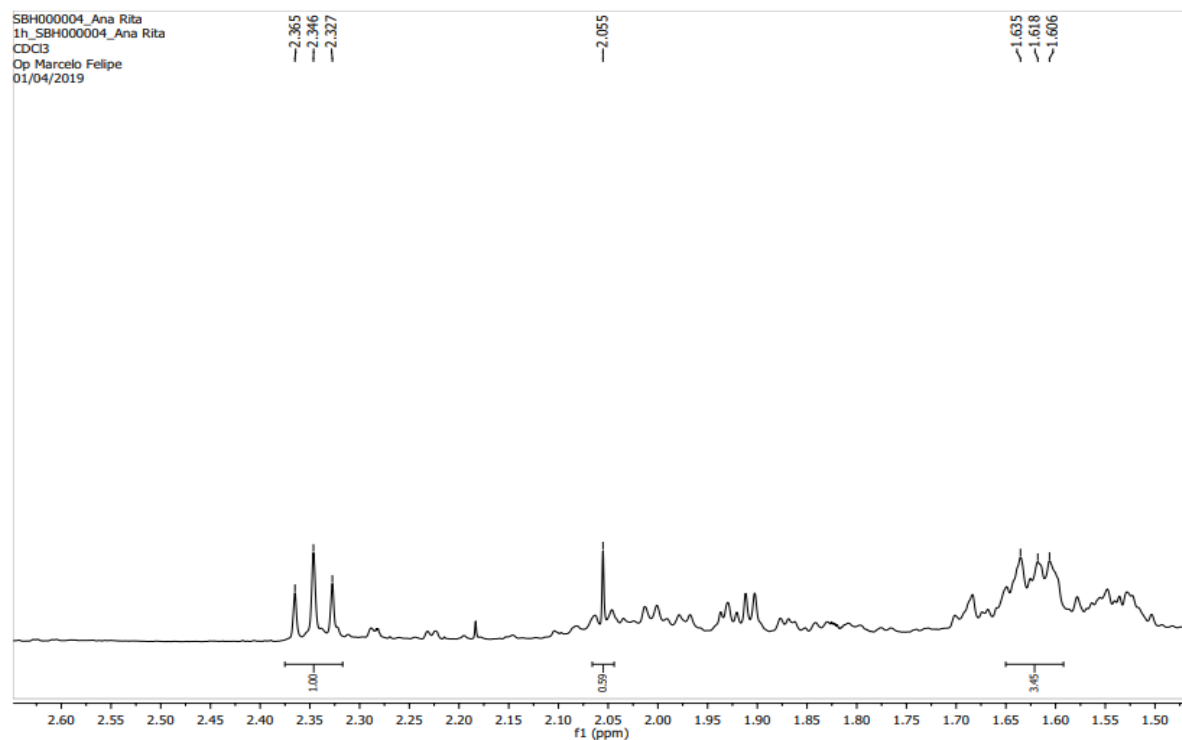


Figura 17. Expansão do espectro de RMN de ^1H de **Sb-1 e Sb-2** na região de 3,65-3,00 ppm (CDCl_3 , 400 MHz).

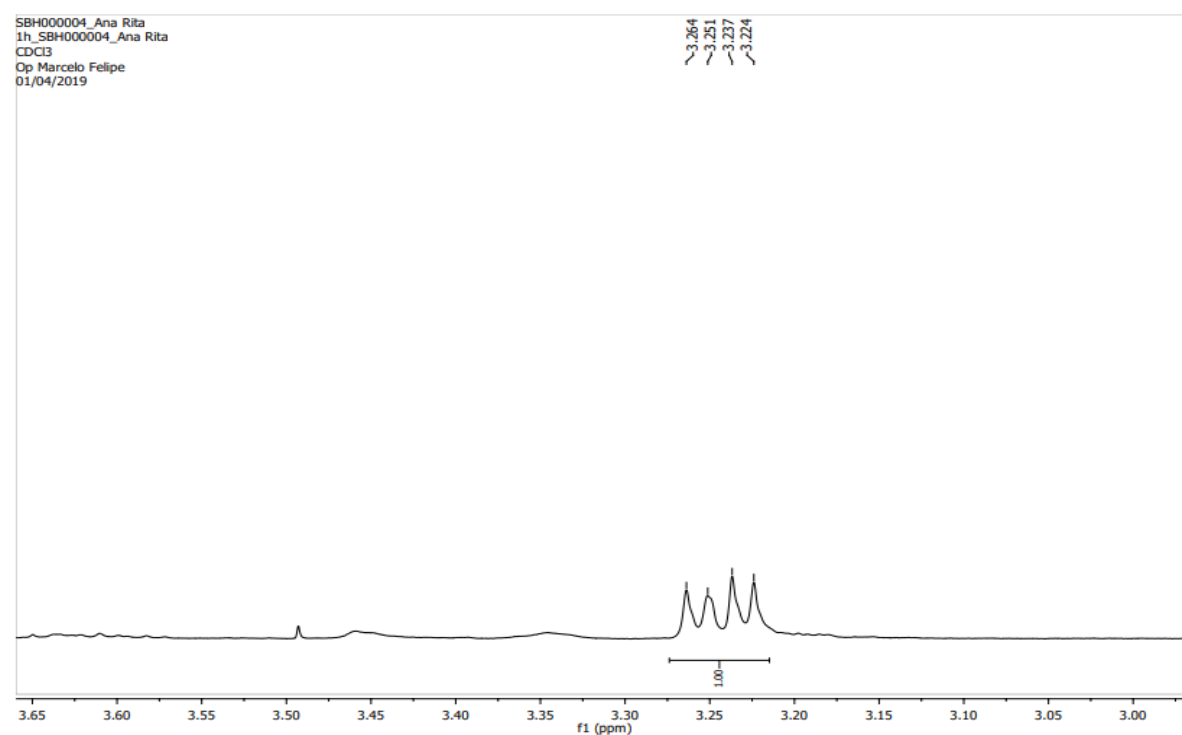
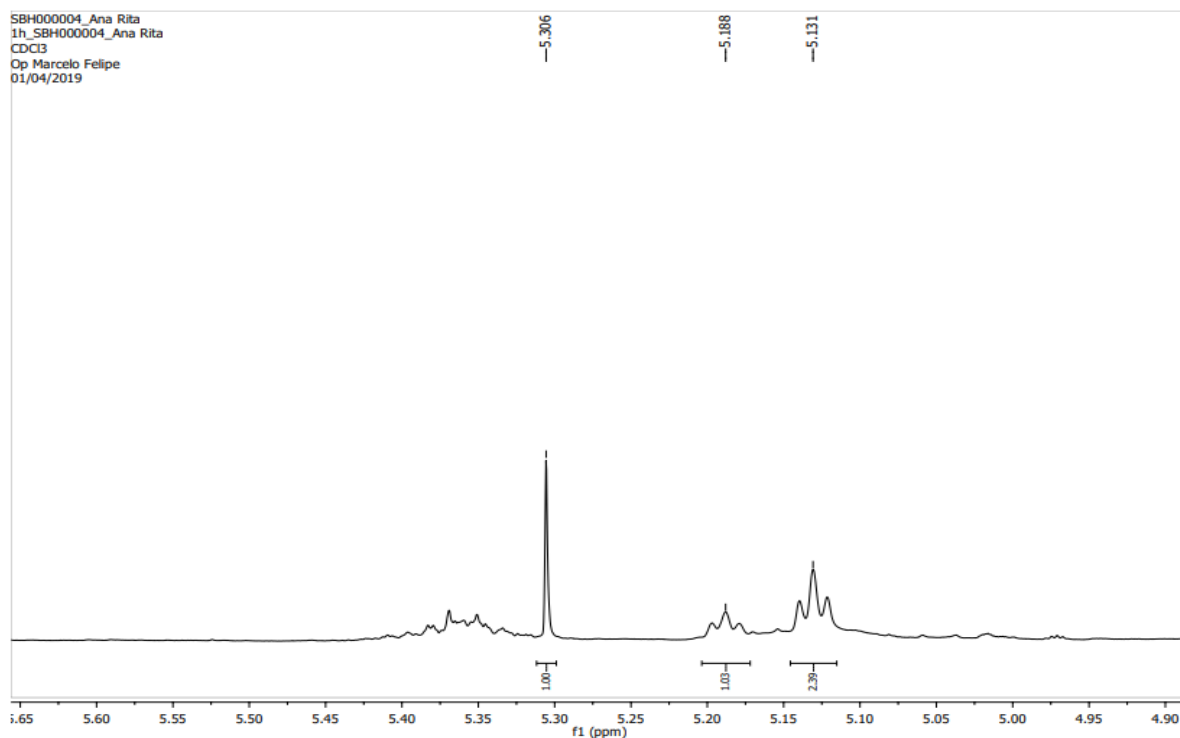


Figura 18. Expansão do espectro de RMN de ^1H de **Sb-1** e **Sb-2** na região de 5,65-4,90 ppm (CDCl_3 , 400 MHz).



5.1.2 Identificação dos compostos presentes na fração 11 da fase hexânica

A fração 11 foi isolada na forma de um pó amorfo verde, solúvel em clorofórmio, apresentando um peso de 30,0 mg representando 0,0008% do extrato etanólico bruto.

No espectro de RMN de ^1H foi observado perfil característico de compostos apolares (Figura 19, pág. 62), esta fração foi submetida a análise por CG/EM. O cromatograma (Figura 20, pág. 62) apresentou um número significativo de picos, representados por 10 picos. Também foi possível observar simetria entre os picos, sendo esta característica da graxa (hidrocarbonetos), indicando que a fração analisada trata-se de uma mistura complexa de compostos apolares. Desta forma, foi proposta a identificação de diversos constituintes, através de análises de seus espectros de massas gerados. Os espectros obtidos experimentalmente foram comparados com o da biblioteca Nist 08. Desta forma foram identificados 9 constituintes da mistura presentes na fração 11 (Tabela 7, pág 63).

Figura 19. Espectro de RMN de ^1H da **fração 11** (CDCl_3 , 400 MHz).

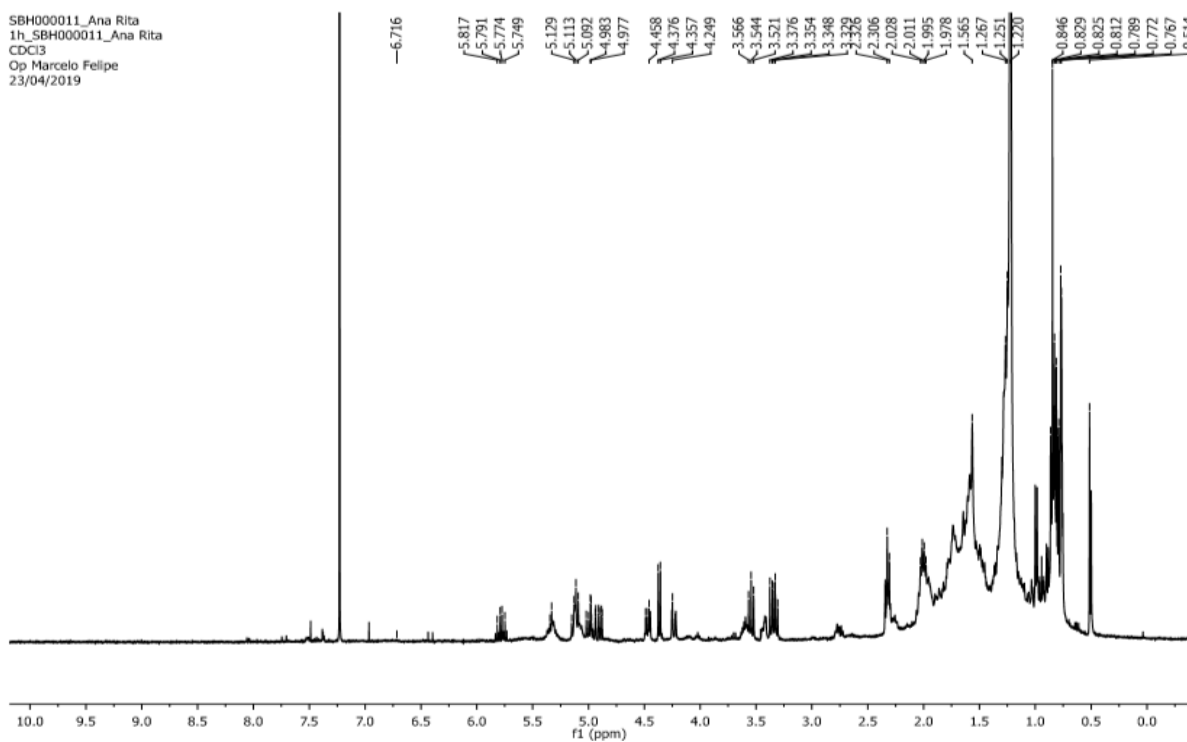


Figura 20. Cromatograma da fração 11 da fase hexânica de *Schwartzia brasiliensis*

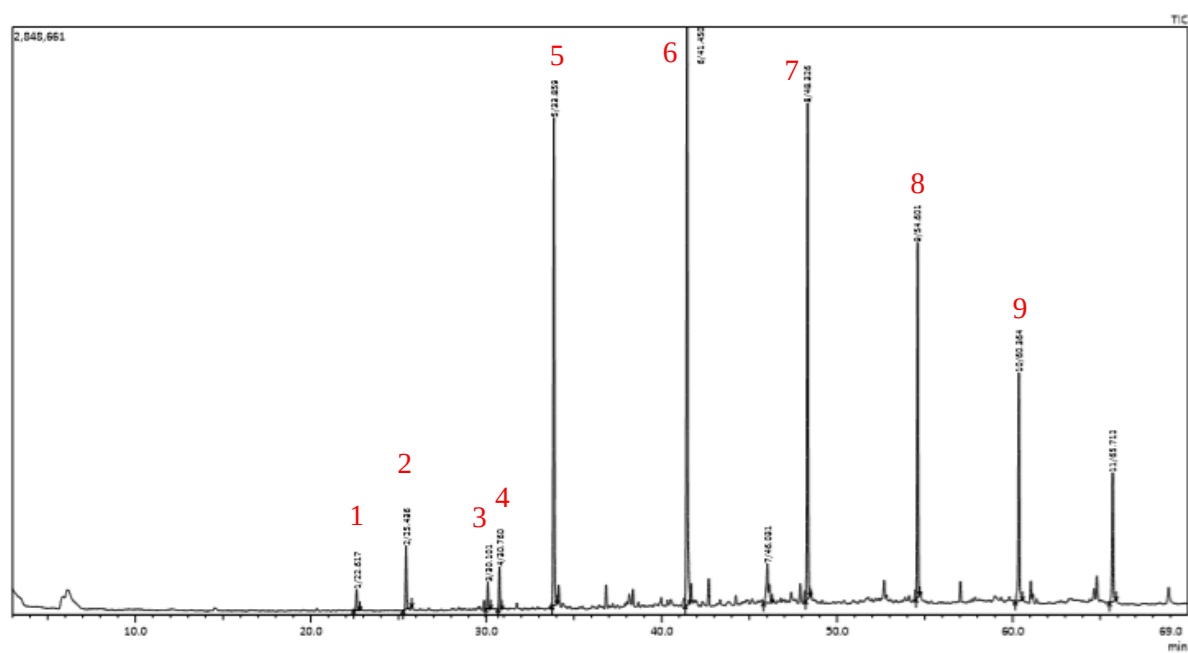
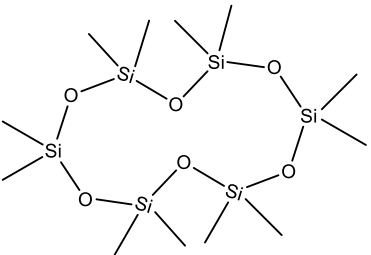
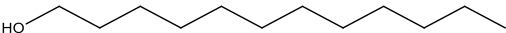
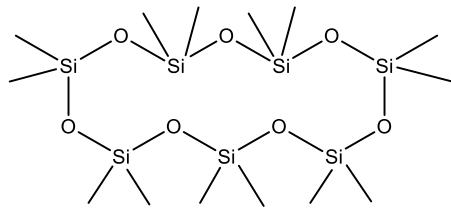
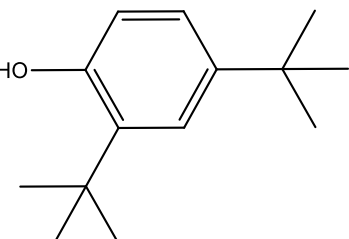
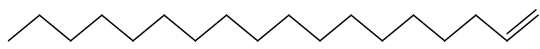
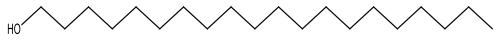
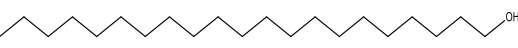
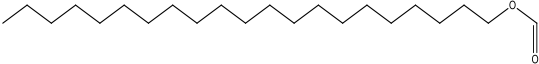


Tabela 7: Identificação proposta por CG/EM de constituintes de amostra da fração 11 obtido a partir da fase hexânica de *Schwartzia brasiliensis*

Pico	Tempo de retenção (min)	Área do pico %	Constituinte proposto	Pico base m/z
1	22.617	0.83	Ciclohexasiloxano	73.00
2	25.436	2.19	1-Dodecanol	83.05
3	30.101	0.92	Cicloheptasiloxano	281.10
4	30.760	1.56	2,4-Di-tert-butilfenol	191.15
5	33.859	18.26	1-Octadeceno	83.05
6	41.450	24.61	1-Eicosanol	97.10
7	48.326	19.70	1-Heneicosanol	97.10
8	54.601	13.70	1-Heneicosil formato	97.10
9	60.364	9.58	1-Tetraconasol	97.10

A seguir, observou-se a identificação de alguns hidrocarbonetos de *Schwartzia brasiliensis* presentes na fração 11:

Quadro 2: Substâncias identificadas na fração 11 da fase hexânica de *Schwartzia brasiliensis*

Ciclohexasiloxano $C_{12}H_{36}O_6Si_6$ 	1-Dodecanol $C_{12}H_{26}O$ 	Cicloheptasiloxano $C_{14}H_{42}O_7Si_7$ 
2,4- Di-tert-butilfenol $C_{14}H_{22}O$ 	1-Octadeceno $C_{18}H_{36}$ 	1-eiconasol $C_{20}H_{42}O$ 
1-Heneicosanol $C_{21}H_{44}O$ 	1-Heneicosil formato $C_{22}H_{44}O_2$ 	1-Tetracosanol $C_{24}H_{50}O$ 

Esta análise indicou a presença de compostos com cadeias carbônicas longas, na fração 11 da fase hexânica (Apêndice). Tais metabólitos podem ser encontrados em óleos vegetais ou na superfície das folhas ou de outros órgãos das plantas, apresentam função de proteção contra a perda de água para o ambiente, por serem hidrofóbicos (MARTINS, 2009). São importantes para a indústria de alimentos, cosméticos, dentre outras, como aditivos, agentes de processamento, controle da alcalinidade de produtos, agindo como tampões ou simplesmente como agentes neutralizantes, além de poderem atuar desde agentes antimicrobiais até antioxidantes (FIORUCCI et al, 2002).

5.1.2 Identificação estrutural de Sb-3

A substância codificada como **Sb-3** foi isolada na forma de pó branco, solúvel em acetona, apresentando um peso de 22 mg, representando 0,0006% do extrato etanólico bruto.

Na análise do espectro de infravermelho (Figura 22, pág. 67) foram visualizados absorções em 3157 cm^{-1} , característicos de grupo hidroxila, e absorções em 1708 cm^{-1} sugestivo da presença carbonila de lactona α,β insaturada, visualizada em valores mais baixos, o que sugere a presença do anel lactônico de seis membros conjugado com anel aromático e ainda a presença da dupla ligação α,β insaturada que move a banda de estiramento normal (1735 cm^{-1}) para uma frequência mais baixa ($1700\text{-}1680\text{ cm}^{-1}$) (SILVERSTEIN et al., 2007; PAVIA et al., 2010).

No espectro de RMN de ^1H (400 MHz, Acetona d_6) (Figura 23, pág. 67) foi observado dois dupletos em δ_{H} 6,15 (d, $J = 9,5\text{ Hz}$, 1H) e δ_{H} 7,86 (d, $J = 9,5\text{ Hz}$, 1H) foram atribuídos aos hidrogênios H-3 e H-4, respectivamente, característicos de esqueleto cumarínico. Também foi possível observar a presença de dois dupletos em δ_{H} 7,51 (d, $J = 8,4\text{ Hz}$), δ_{H} 6,73 (d, $J = 2,0\text{ Hz}$) e um duplo duplete em δ_{H} 6,83 (dd, $J = 8,4\text{ e } 2,0\text{ Hz}$) na região de aromáticos característicos de hidrogênios H-5, H-8 e H-6, respectivamente, reforçando a presença de um anel trissubstituído. A ausência do sinal característico de hidrogênio aromático, permitiu sugerir a presença de uma hidroxila como substituinte no anel aromático na posição 7 (Figura 24, pág. 68).

No espectro de RMN de ^{13}C – APT (100 MHz, Acetona D_6) foram visualizados sinais em δ_{C} 161,68 sugerindo a presença de um grupo hidroxila no C-7, proposto no RMN ^1H , δ_{C} 144,40 referente ao C-4, α,β insaturado ao grupo carbonila, além do sinal em δ_{C} 160,75 referente ao grupo carbonila em C-2, corroborando a presença de anel lactônico. (Figura 25,

pág. 68).

Após a análise dos dados de RMN de ^1H e ^{13}C e a comparação com dados da literatura foi possível identificar o composto codificado como **Sb-3** como a 7-hidroxicumarina (Figura 21) conhecida como umbeliferona isolado pela primeira vez no gênero *Schwartzia* e relatada pela primeira vez nesta espécie, gênero e família (BEZERRA, 2013). Os dados de RMN de ^1H e ^{13}C de **Sb-3** estão compilados na Tabela 8.

Figura 21. 7-hidroxicumarina (**Sb-3**) isolado de *Schwartzia brasiliensis*

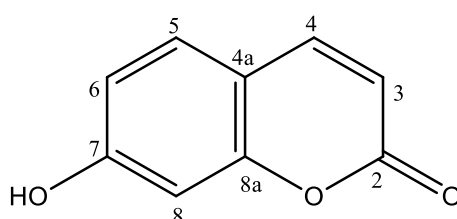


Tabela 8. Comparação dos dados de ^1H e ^{13}C de **Sb-3** em Acetona d_6 com valores da literatura (BEZERRA, 2013). (δ em ppm e J em Hz).

	Sb-2		Bezerra, 2013	
	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}
C				
1		-		-
2	160,75	-	161,14	-
3	112,54	6,15 (d, $J = 9,5$ Hz)	122,96	6,16 (d, $J = 9,5$ Hz)
4	144,40	7,86 (d, $J = 9,5$ Hz)	144,1	7,86 (d, $J = 9,5$ Hz)
4a	112,45		113,92	
5	130,10	7,51 (d, $J = 8,4$ Hz)	130,57	7,51 (d, $J = 8,5$ Hz)
6	113,40	6,83 (dd, $J = 8,4$ e 2,0 Hz)	113,04	6,85 (dd, $J = 8,5$ e 2,0 Hz)
7	161,68	-	162,19	-
8	102,89	δ_{H} 6,73 (d, $J = 2,0$ Hz)	103,47	6,75 (d, $J = 2,5$ Hz)
8a	156,63		157,15	6,16 (d, $J = 9,5$ Hz)

Figura 22. Espectro no Infravermelho (ATR) de **Sb-3**

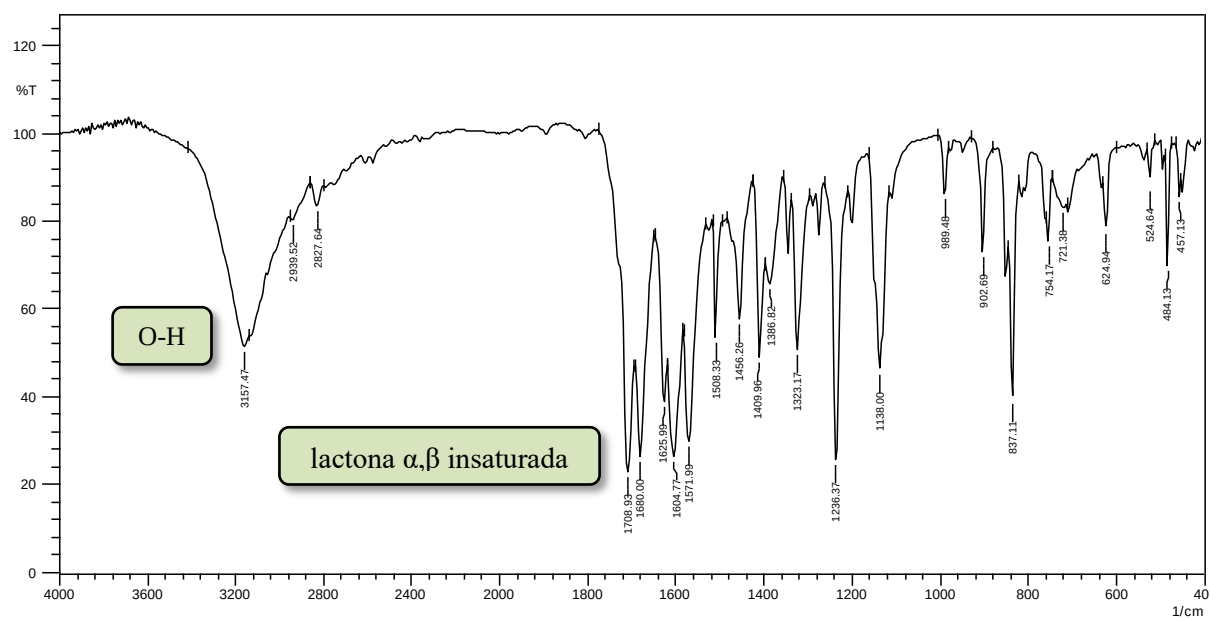


Figura 23. Espectro de RMN de ^1H de **Sb-3** (Acetona d_6 , 400 MHz)

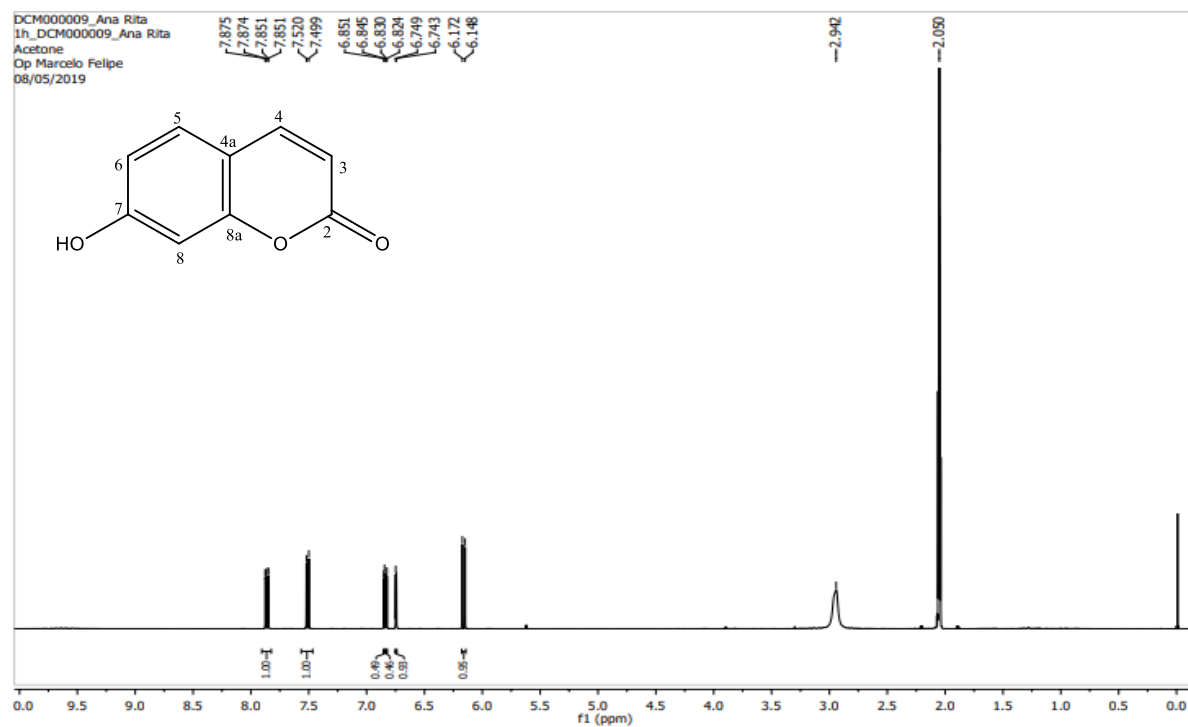


Figura 24. Expansão do espectro de RMN de ^1H de **Sb-3** na região de 8,2-6,1 ppm (Acetona d_6 , 400 MHz)

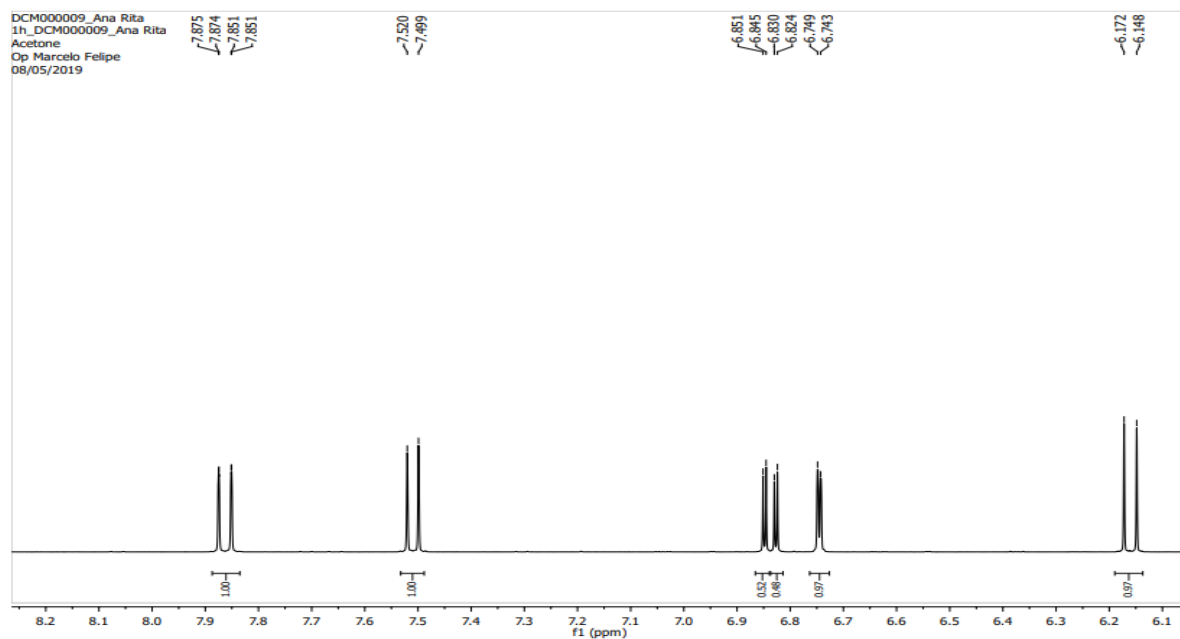
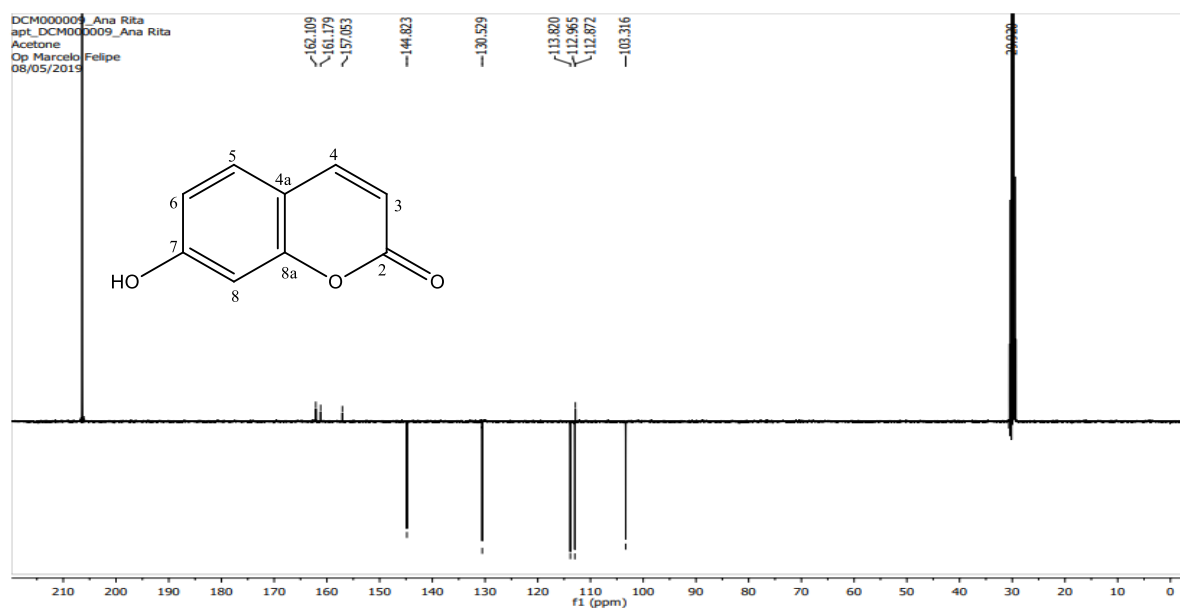


Figura 25. Espectro de RMN de ^{13}C -APT de **Sb-3** (Acetona d_6 , 400 MHz)



5.1.3 Identificação estrutural de Sb-4

A substância codificada como **Sb-4** foi isolada na forma de um pó amarelo, solúvel em metanol, apresentando um peso de 20 mg, representando 0,0005% do extrato etanólico bruto. O espectro de massas de alta resolução (Figura 41, pág 81) mostrou um íon com m/z 1087,5331 $[M-H]^-$ (m/z 1087,5366, calcd.) compatível com a fórmula molecular $C_{53}H_{84}O^{23}$.

O espectro de RMN de ^{13}C -APT (MeOD, 100 MHz) (Figura 28, pág. 74) mostrou a presença de 54 sinais de carbonos, com sinais distribuídos na região de carbonos alifáticos, sendo compatível com a presença de um esqueleto triterpênico e com a presença de quatro unidades osídicas e desta forma, sugerindo que **Sb-4** tratava-se de uma saponina. Foi possível atribuir a presença de 7 metilas para a sapogenina triterpênia δ_C 24,4; 16,1; 16,1; 17,0; 25,0; 31,9; 28,5 referentes as metilas Me-23, Me-24, Me-25, Me-26, Me-27, Me-29 e Me-30 (Figura 29, pág. 74), respectivamente. Outros dois sinais foram observados em δ_C 123,6 atribuído ao C-12 do tipo sp^2 metínico e δ_C 144,7 atribuído ao carbono C-13, um carbono não hidrogenado. A existência de um carbono metilênico em C-19 é confirmada através do sinal em δ_C 47,6 e o sinal em δ_C 30,7 atribuído ao C-20 sugere que esta sapogenina tem o núcleo do tipo oleanano. Foi observado ainda na expansão deste espectro (Figura 30, pág. 74) outros dois sinais de carbonos oximetínicos em δ_C 75,5 e 90,9 atribuídos aos carbonos C-21 e C-3 respectivamente. Foi também observado um sinal em δ_C 37,8 referente ao C-17, carbono no qual se encontra o grupo éster, além de um sinal em δ_C 177,0 atribuído a carbonila presente nessa posição.

No espectro de RMN de 1H (MeOD, 400 MHz) (Figura 31, pág. 75) foi possível observar os sinais atribuídos as 7 metilas, todos com integrais para 3 hidrogênios em: δ_H 1,05; 0,84; 0,96; 0,78; 1,36; 0,86; 0,96 referentes aos hidrogênios Me-23, Me-24, Me-25, Me-26, Me-27, Me-29 e Me-30 respectivamente e corroborando com os dados observados nos espectros de RMN de ^{13}C . Da mesma maneira foi observado em singlete largo em δ_H 5,15 com integral para um hidrogênio, confirmando a existência de um hidrogênio de carbono metínico sp^2 em H-12. Foram observados os sinais em δ_H 3,17 (dd, $J = 11,7$ e $3,6$ Hz, 1H) atribuídos ao H-3 e δ_H 4,50 (dd, $J = 10,8$; $4,0$ Hz, H1) atribuído ao C-21, confirmando que estes carbonos são oximetínicos. Diante disto, e com a junção dos demais dados descritos na Tabela 9 (pág 72), foi possível concluir que a sapogenina de **Sb-4** é um triterpeno do tipo oleanano (MIMAKI et al., 2004; YOKOSUKA et al., 2016; VARSHNEY et al., 1964; VARSHNEY et al., 1961).

Ainda no espectro de RMN de ^{13}C -APT (MeOD, 100 MHz) (Figura 28, pág. 74) foi possível observar 4 sinais em δ_{C} 106,7 (C-1'), 95,5 (C-1''), 101,5 (C-1''') e 105,7 (C-1'''), revelando a presença de unidades osídicas em **Sb-4**. Foram observados ainda os sinais em δ_{C} 172,1 (C-6') característico de carbonila de ácido carboxílico, sugerindo a presença de um açúcar do tipo ácido glucurônico, um sinal em δ_{C} 62,3 (C-5'') atribuído ao carbono metilênico da xilose, um sinal em δ_{C} 17,9 (C-6''') atribuído a metila de ramnose e um sinal em δ_{C} 62,3 (C-6''') atribuído ao carbono metilênico da glicose, assim sendo estes as quatro unidades osídicas presentes em **Sb-4** (MIMAKI et al., 2004). O espectro de RMN de ^1H (MeOD, 400 MHz) (Figura 31, pág. 75) corroborou com a proposta da presença dos quatro açúcares distintos. Foi possível atribuir ao hidrogênio anomérico do ácido glucurônico o sinal em δ_{H} 4,22 (d, $J = 6,0$ Hz, 1H) revelando que este é o β -ácido glucurônico; já o hidrogênio em δ_{H} 5,48 (d, $J = 4,8$ Hz, 1H) foi atribuído ao hidrogênio anomérico da xilose, demonstrado que esta é a α -xilose; o sinal do hidrogênio anomérico da ramnose, apresentou-se como um singlete largo em δ_{H} 5,15 (sl, 1H), sendo esta a α -ramnose e, por fim, um dubleto em δ_{H} 4,51 (d, $J = 6,0$ Hz, 1H), atribuído a uma β -glicose. Os sinais em δ_{H} 3,22 e 3,93 (ambos *m*) e δ_{H} 3,68 e 3,384 (ambos *m*) foram atribuídos ao H-5'' e H-6''', respectivamente, confirmando que estes açúcares possuem carbonos metilênicos. E a presença de um dubleto em δ_{H} 1,29 (d, 3H) com integral para três hidrogênios confirmou a presença da metila na α -ramnose (MIMAKI et al., 2004).

No espectro bidimensional $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HMBC (MeOD, 400/100 MHz) (Figuras 34-37, págs. 77-78), foi possível observar um mapa de contorno referente a correlação do hidrogênio anomérico H-1' (δ_{H} 4,13 d, $J = 6,0$ Hz, 1H) do β -ácido glucurônico a três ligações com o C-3 (δ_{C} 90,0), confirmando a inserção do ácido β -glucurônico na posição 3 da sapogenina. Ainda no HMBC foi observada uma correlação do hidrogênio anomérico H-1'' (δ_{H} 5,48 d, $J = 4,8$ Hz, 1H) da β -xilose a três ligações com C-28 (δ_{C} 177,0) da carbonila do éster, confirmando a inserção da β -xilose nessa posição da sapogenina. Também foi observada no HMBC uma correlação do hidrogênio anomérico H-1''' (δ_{H} 5,15, sl) com C-3'' (δ_{C} 77,8), C2''' (δ_{C} 72,3), e C-5''' (δ_{C} 70,3), confirmando assim a inserção da ramnose em C-3'' da xilose. Neste espectro ainda foi possível observar uma correlação do hidrogênio anomérico da glicose H-1'''' em (δ_{H} 4,51 d $J = 6,0$ Hz) com o C-4''' (δ_{C} 77,8) da ramnose confirmando assim a inserção da glicose nessa posição da ramnose. No espectro de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - HSQC (MeOD, 400/100 MHz) (Figuras 38-40, págs. 79-80) foi possível observar correlações diretas dos principais hidrogênios da sapogenina com seus respectivos carbonos.

Após a análise dos dados de RMN de ^1H e ^{13}C , utilizando técnicas uni e

bidimensionais, além de comparação com dados da literatura (Tabela 9, pág. 72) foi possível identificar o composto codificado por **Sb-4** como (2S, 3S, 4S, 6R)-6-(((3S, 6 α R, 6 β S, 14 β R)-8 α -((((2S, 3S, 4R, 5S)-3-(((2R, 3S, 4R, 5S, 6R)-3,4-dihidroxi-6-metil-5-(((2S, 3R, 5S, 6R)-3,4,5-trihidroxi-6-(hidroximetil) tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi) tetrahidro-2H-piran-2-il) oxi)-4,5-dihidroxitetrahidro-2H-piran-2-il) oxi) carbonil)-10-hidroxi-4,4,6 α , 6 β , 11, 11,14 β -heptametil-1,2,3,4,4 α , 5,6,6 α , 6 β , 7,8,8 α , 9,10,11,12,12 α , 14,14 α , 14 β -icosahidropicen-3-ácido il) oxi)-3,4-di-hidroxitetra-hidro-2H-piran-2-ácido carboxílico (Tabela 10, pág. 73), denominado schwartenozídeo sendo esta substância isolada pela primeira vez na literatura (Figura 26) (MIMAKI et al., 2004; YOKOSUKA et al., 2016; VARSHNEY et al., 1964; VARSHNEY et al., 1961).

Figura 26. Schwartenozídeo (**Sb-4**) isolado de *Schwartzia brasiliensis*.

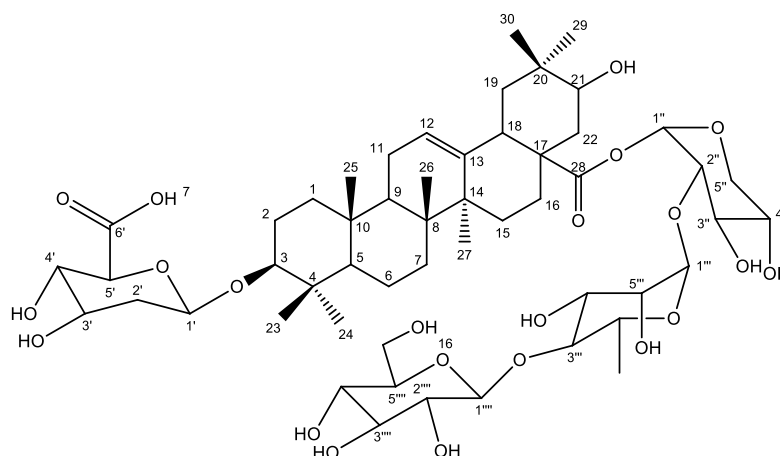
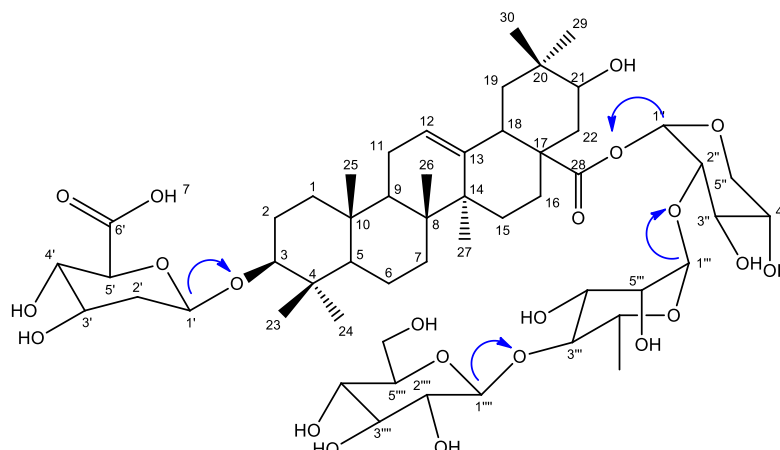


Figura 27. Correlações chaves de HMBC para o composto **Sb-4**.



($\rightarrow$) demonstra as correlações de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$

Tabela 9: Comparação dos dados de RMN de ^{13}C e ^1H de **Sb-4** em MeOD (100 e 400 MHz, respectivamente) com o da sapogenina da Soyasaponina I (NASCIMENTO et al., 2019) e da hidroxí-soyasaponina (MIMAKI et al., 2004).

HSQC			HMBC		NASCIMENTO et al., 2019		MIMAKI et al., 2004	
C	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}
4	38,16	-	-	-	43,3	-	39,7	-
8	40,8	-	-	-	41,8	-	40,0	-
10	36,4	-	-	-	36,0	-	37,1	-
13	144,7	-	-	-	144,3	-	143,0	-
14	42,2	-	-	-	43,3	-	42,3	-
17	37,8	-	-	-	37,0	-	48,9	-
20	30,7	-	-	-	30,3	-	36,7	-
28	177,0	-	-	-	-	-	176,0	-
CH								
3	90,9	3,17 (dd, $J = 11,7$ e $3,6$ Hz)	-	-	90,0	3,12 (m)	88,7	-
5	57,1	nd	-	-	55,5	nd	56,0	-
9	48,1	1,48 (m)	C-8/ C-10/ C-11	C-1/Me25/ Me-26	46,9	1,47 (m)	48,1	-
12	123,6	5,15 (sl)	-	C-9/C-18	121,7	5,16 (sl)	123,1	-
18	41,4	nd	-	-	44,7	nd	41,7	-
21	75,5	4,50 (dd, $J = 10,8$; $4,0$)	-	-	74,2	3,23 (sl)	72,4	-
CH₂								
1	37,9	1,52 (m) 0,89 (m)	C-10	C-9	38,8	1,52 (m); 0,89 (m)	38,9	-
2	26,9	1,62	-	-	25,4	1,65 (d, $J = 9,5$ Hz);	-	-
6	18,3	1,53 (m) 1,36 (m)	C-7	C-10	-	-	-	-
7	31,9	-	-	-	18,1	1,52 (m); 1,30 (m)	18,8	-
11	24,4	-	-	-	32,7	1,44 (m); 1,28 (m)	33,4	-
15	25,0	-	-	-	23,3	1,28 (m)	23,9	-
16	28,5	1,33 (m) 0,91 (m)	C-17	C-22	25,6	1,99 (m); 0,91 (m)	28,8	-
19	46,0	1,67 (m) 0,89 (m)	C-18	Me-29/Me-30	28,0	1,33 (m); 0,95 (m)	24,8	-
22	41,5	1,30 (m)	C-17/ C-21	-	46,1	1,67 (m); 0,88 (m)	47,0	-
CH₃								
23	24,4	1,08 (s)	C-4	C-3/ C-25/ C-24	23,0	1,08 (s)	28,1	-
24	16,1	0,79 (s)	C-4	C-2/ C-5	15,9	0,79 (s)	16,9	-
25	17,0	0,88 (s)	C-10	C-1/C-5	17,0	0,88 (s)	15,8	-
26	25,0	1,04 (s)	C-8	C-7	25,8	1,04 (s)	17,5	-
27	20,4	0,74 (s)	C-14	C-8	28,7	0,74 (s)	25,9	-
29	31,3	0,96 (s)	C-20	C-19/C-21	33,4	0,96 (s)	29,7	-
30	28,5	0,96 (s)	C-20	C19/C-21	21,2	0,96 (s)	17,8	-

Tabela 10: Comparação dos dados de RMN de ^{13}C e ^1H de **Sb-4** em MeOD (100 e 400 MHz, respectivamente) com os açúcares da sapogenina da Soyasaponina I (NASCIMENTO, 2019) e da hidroxí-soyasaponina (MIMAKI et al., 2004).

HSQC			HMBC		NASCIMENTO et al., 2019 / MIMAKI et al., 2004	
C	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	δ_{C}	δ_{H}
1'	106,7	4,22 (d, $J = 6,0$ Hz)	-	C-3	103,9	4,13 (d, $J = 6,0$ Hz)
2'	75,5	3,33 (m)	-	-	77,2	3,33 (m)
3'	77,9	3,30 (m)	-	-	77,1	3,30 (m)
4'	73,7	3,17 (m)	-	-	73,8	3,17 (m)
5'	77,7	3,12 (m)	-	-	76,4	3,12 (m)
6'	172,1	-	-	C-1'	172,8	-
1''	95,5	5,48 (d, $J = 7,0$ Hz)	-	C-28	95,3	6,16 (d, $J = 7,0$ Hz)
2''	75,8	-	-	-	75,5	4,40 (dd, $J = 8,0$ e $9,0$ Hz)
3''	77,8	4,26	-	-	78,0	4,26
4''	70,7	4,150	-	-	70,9	4,16
5''	62,3	3,22 (m) 3,93 (m)	-	-	67,2	3,50 (dd, $J = 8,0$ e $9,0$ Hz)
6''	-	-	-	-	-	-
1'''	101,5	5,15 (sl)	C-3''	C-2''' / C-5'''	101,5	6,44
2'''	72,3	-	-	-	72,2	4,75
3'''	82,9	-	-	-	72,5	4,51 (dd, $J = 3,0$ e $9,0$ Hz)
4'''	73,7	-	C-4'''	-	73,8	4,24
5'''	70,3	1,29	-	-	69,9	5,50
6'''	17,9	-	-	-	18,7	1,76 (d, $J = 6,0$ Hz)
1''''	105,7	4,51 (d, $J = 6,0$ Hz)	-	C-3'''	104,8	4,82 (d, $J = 6,0$ Hz)
2''''	75,4	-	-	-	73,4	3,42 (t, $J = 6,0$ Hz)
3''''	78,3	-	-	-	82,5	3,57 (t, $J = 6,0$ Hz)
4''''	72,4	-	-	-	70,6	3,57 (dd, $J = 8,3$; e $8,3$ Hz)
5''''	75,8	-	-	-	75,9	3,87 (m)
6''''	62,3	3,68 (m) 3,84 (m)	-	-	61,2	4,37 (m) 4,69 (m)

Figura 28. Espectro de RMN de ^{13}C -APT de **Sb-4** (MeOD, 100 MHz).

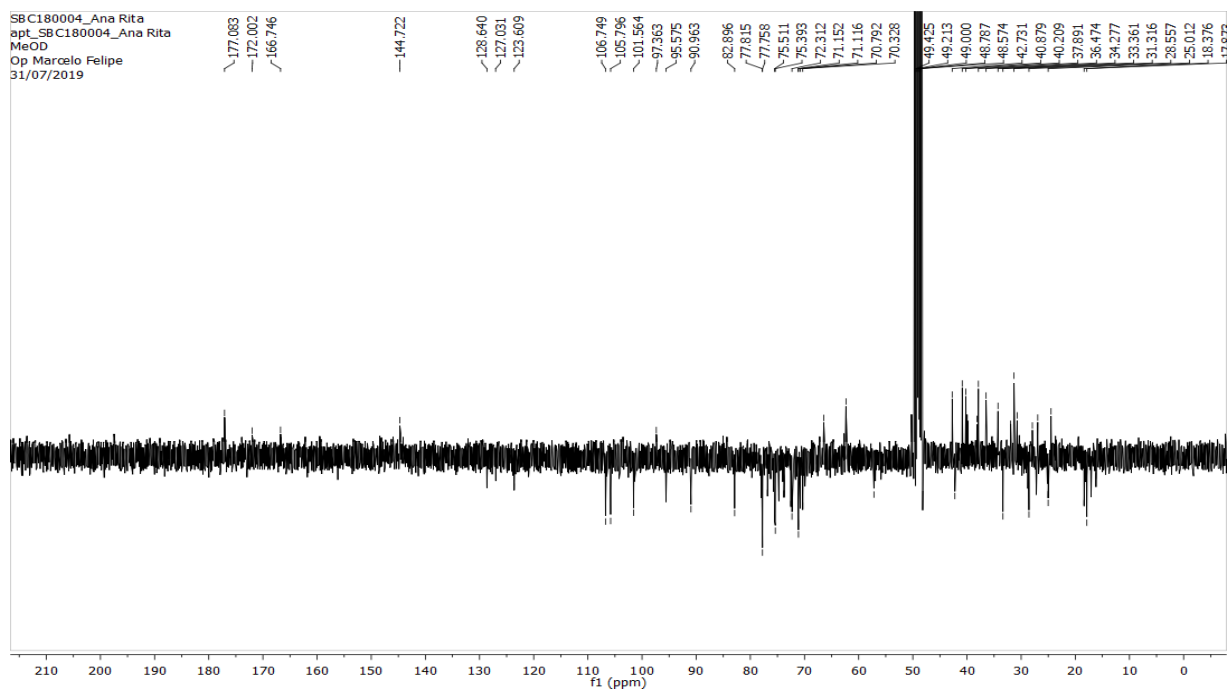


Figura 29. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de **Sb-4** na região de 14-80 ppm (MeOD, 100 MHz).

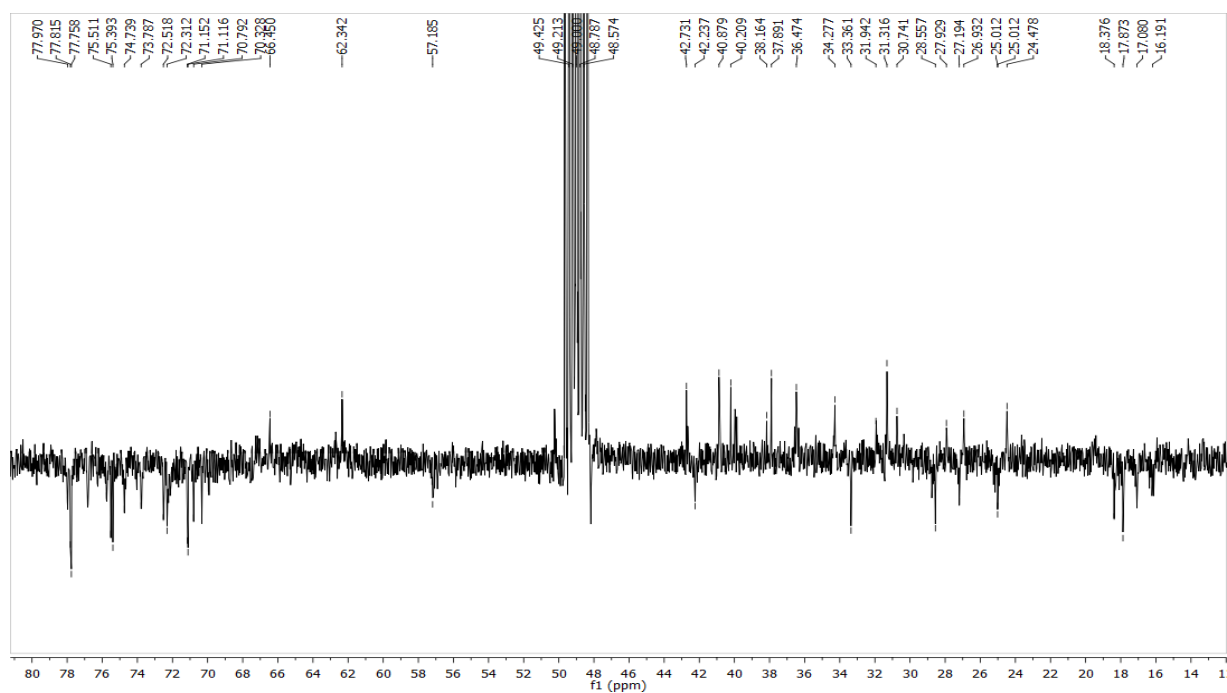


Figura 30. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT de **Sb-4** na região de 70-180 ppm (MeOD, 100 MHz).

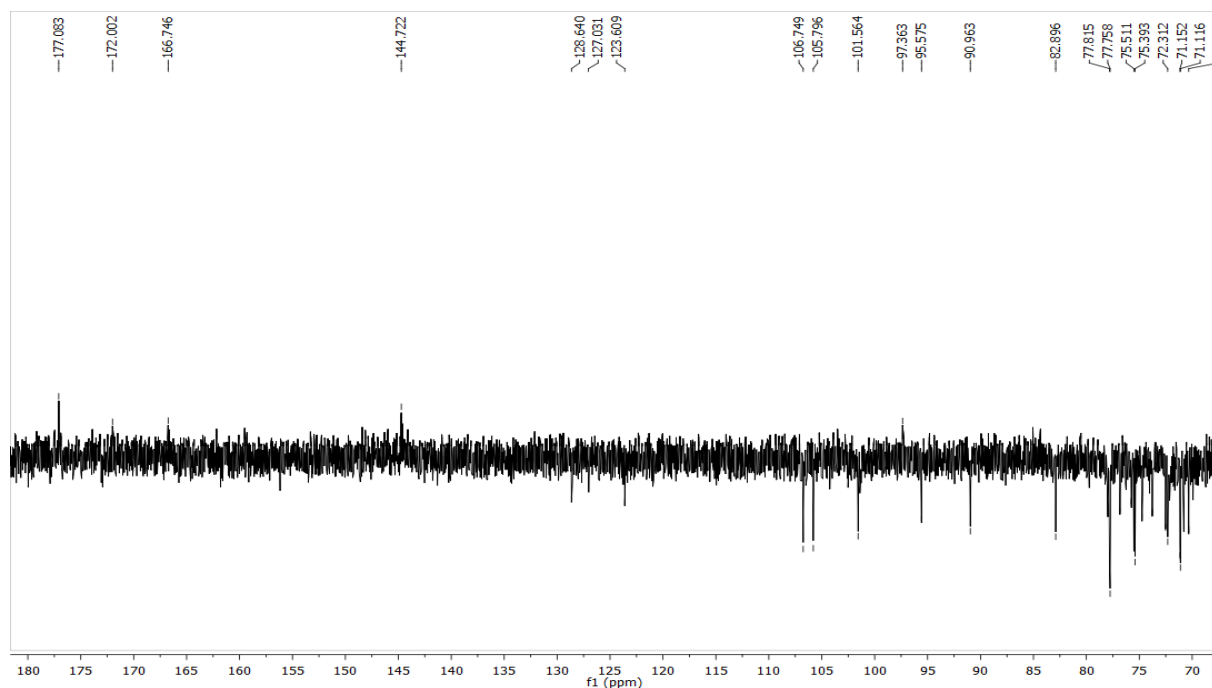


Figura 31. Espectro de RMN de ^1H de **Sb-4** (MeOD, 400 MHz).

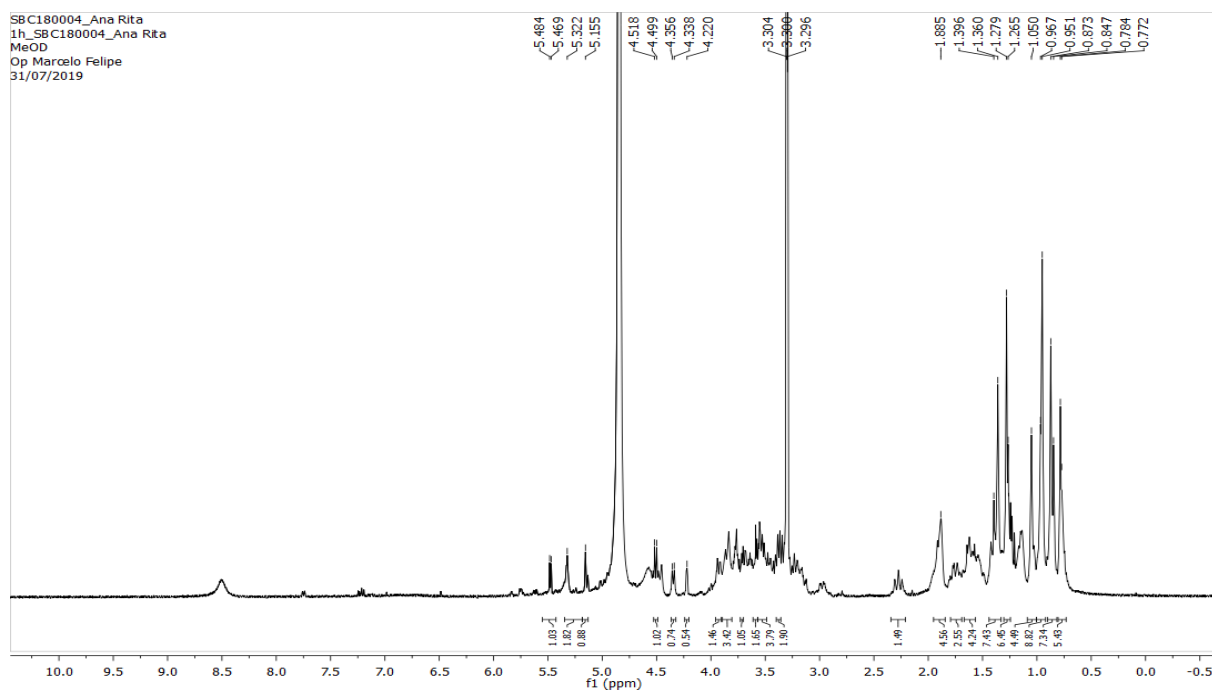


Figura 32. Expansão do espectro de RMN de ^1H de **Sb-4** na região 0,4 - 2,6 ppm (MeOD, 400 MHz).

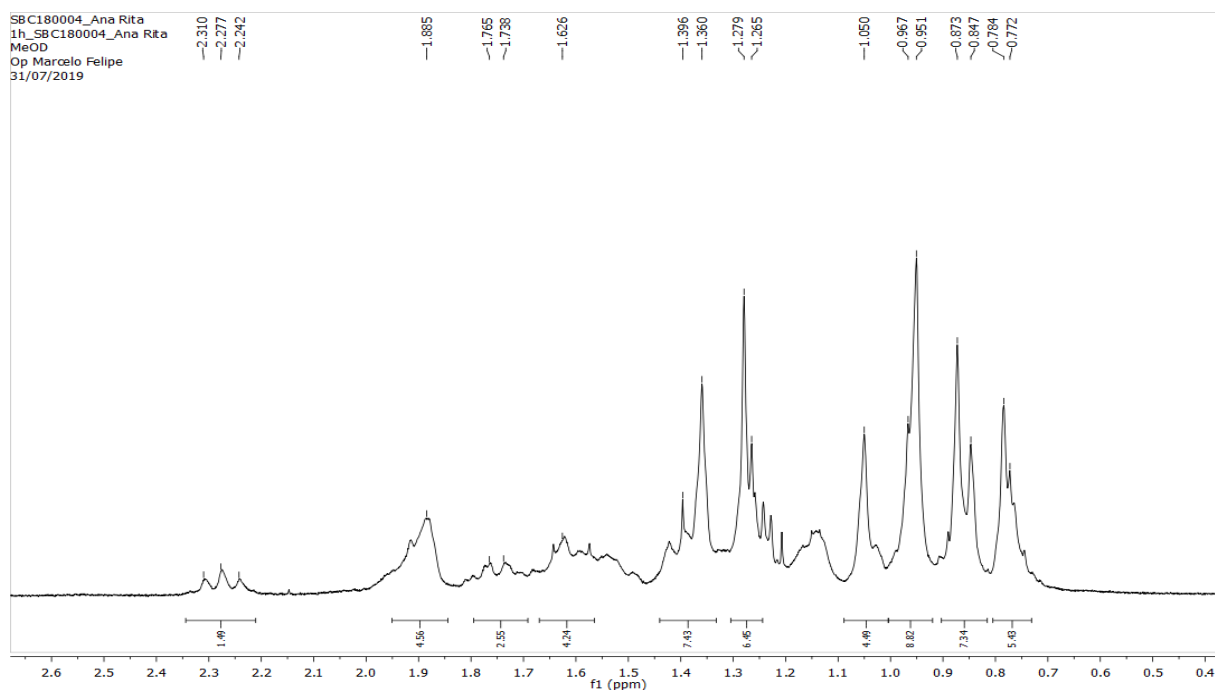


Figura 33. Expansão do espectro de RMN de ^1H de **Sb-4** na região de 2,9 – 5,6 ppm (MeOD, 400 MHz).

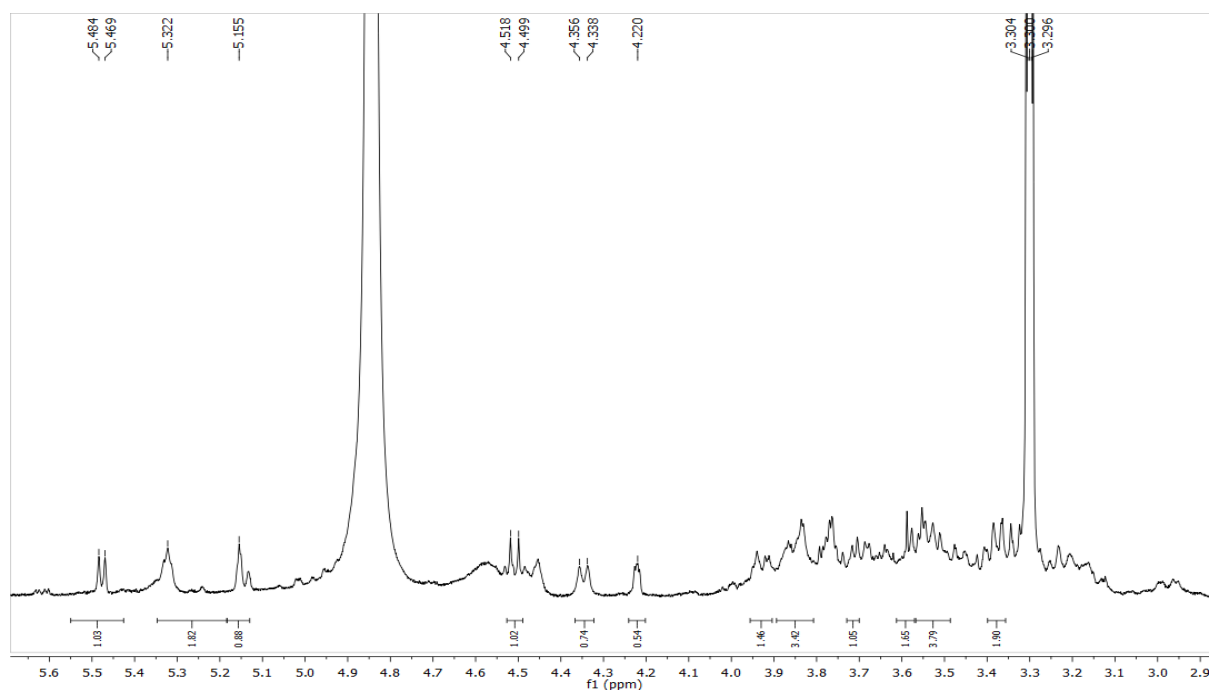


Figura 34. Espectro de HMBC de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (400 x 100 MHz, MeOD) de **Sb-4**

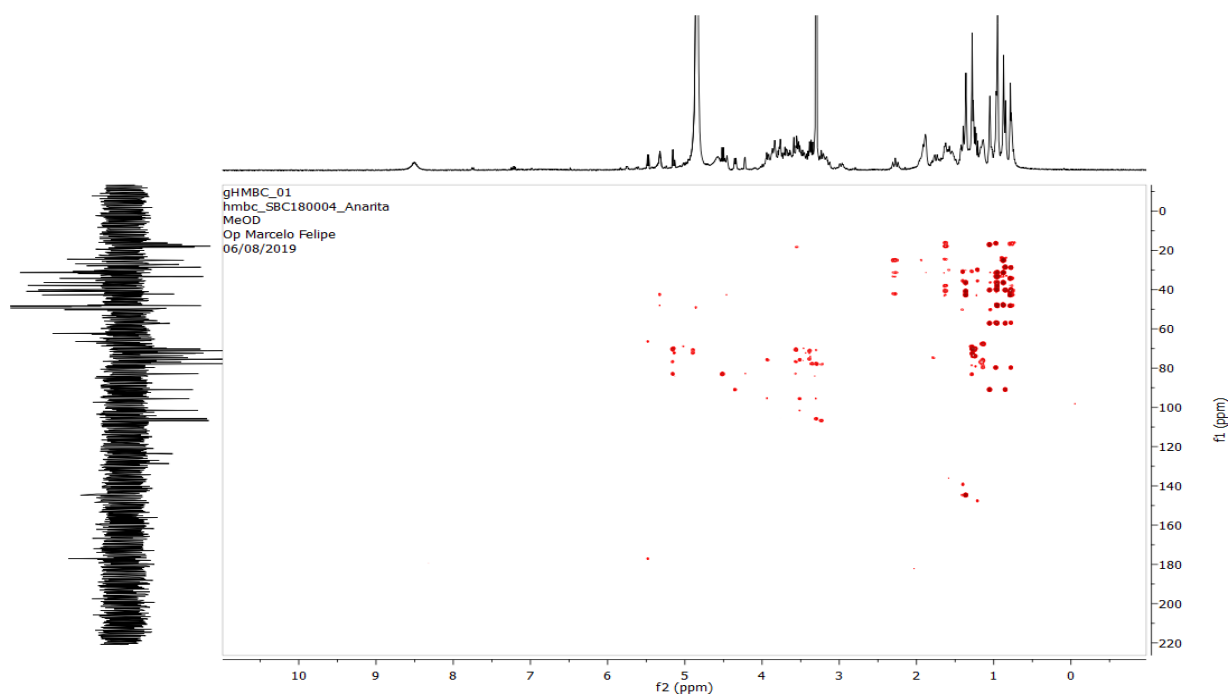


Figura 35. Expansão do espectro de HMBC de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (400 x 100 MHz, MeOD) de **Sb-4**

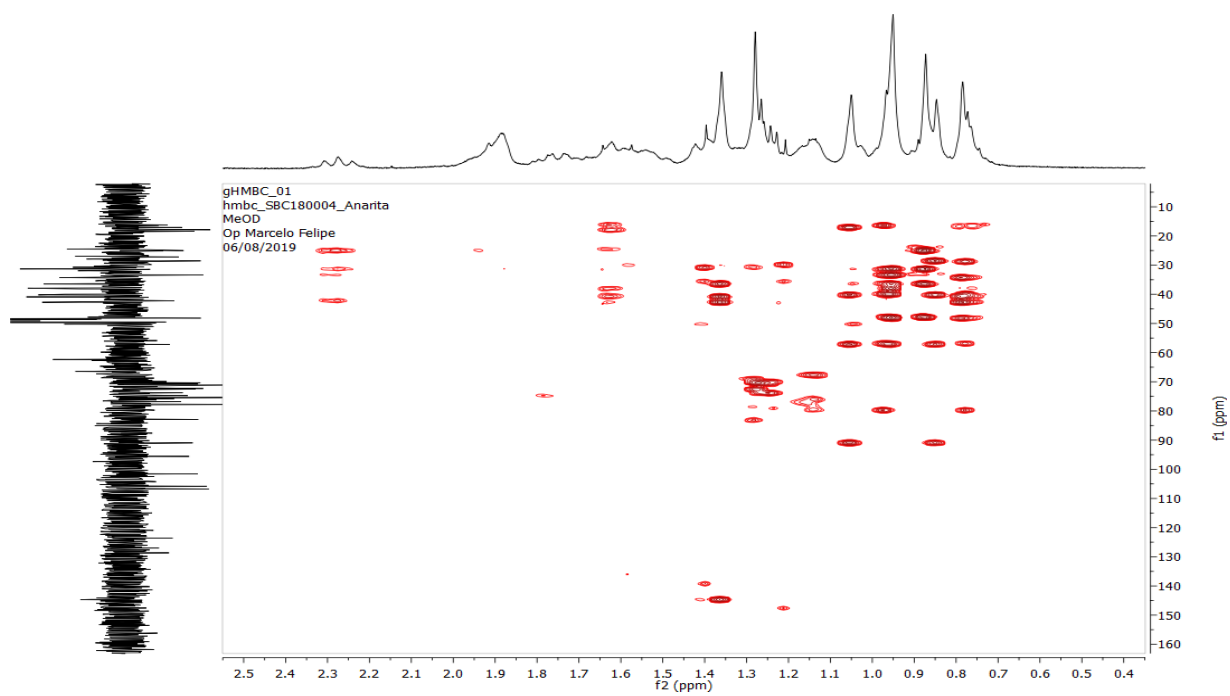


Figura 36. Expansão do espectro de HMBC de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (400 x 100 MHz, MeOD) de **Sb-4**

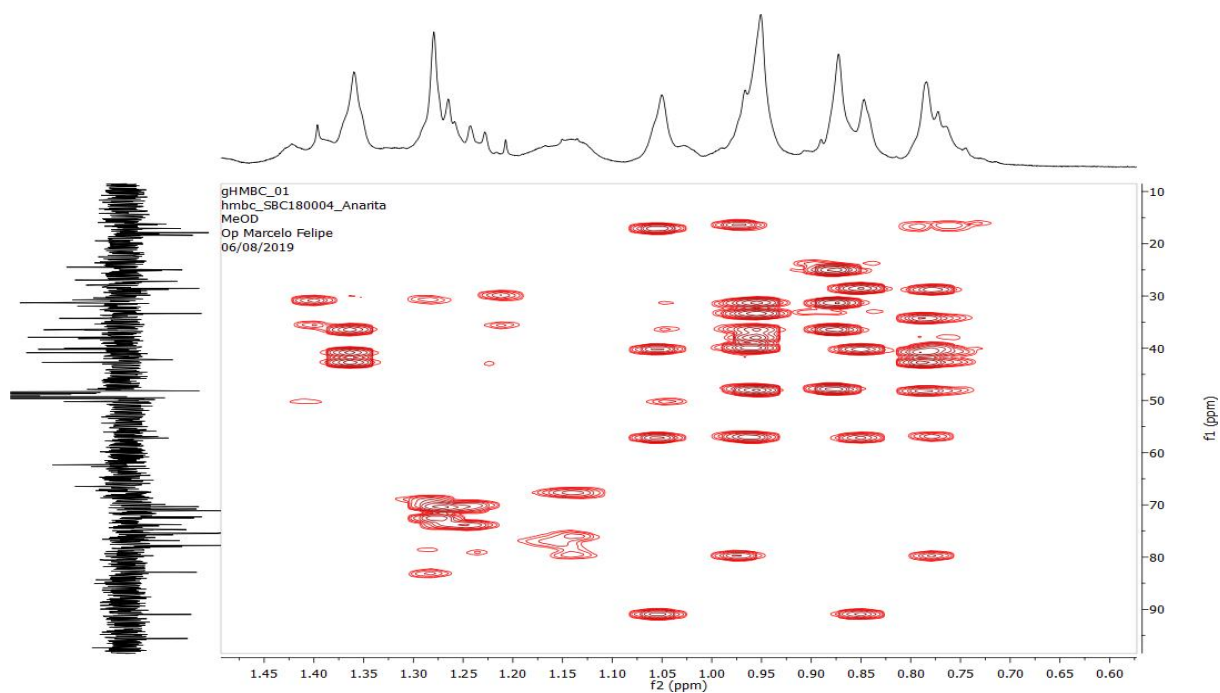


Figura 37. Expansão do espectro de HMBC de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (400 x 100 MHz, MeOD) de **Sb-4**

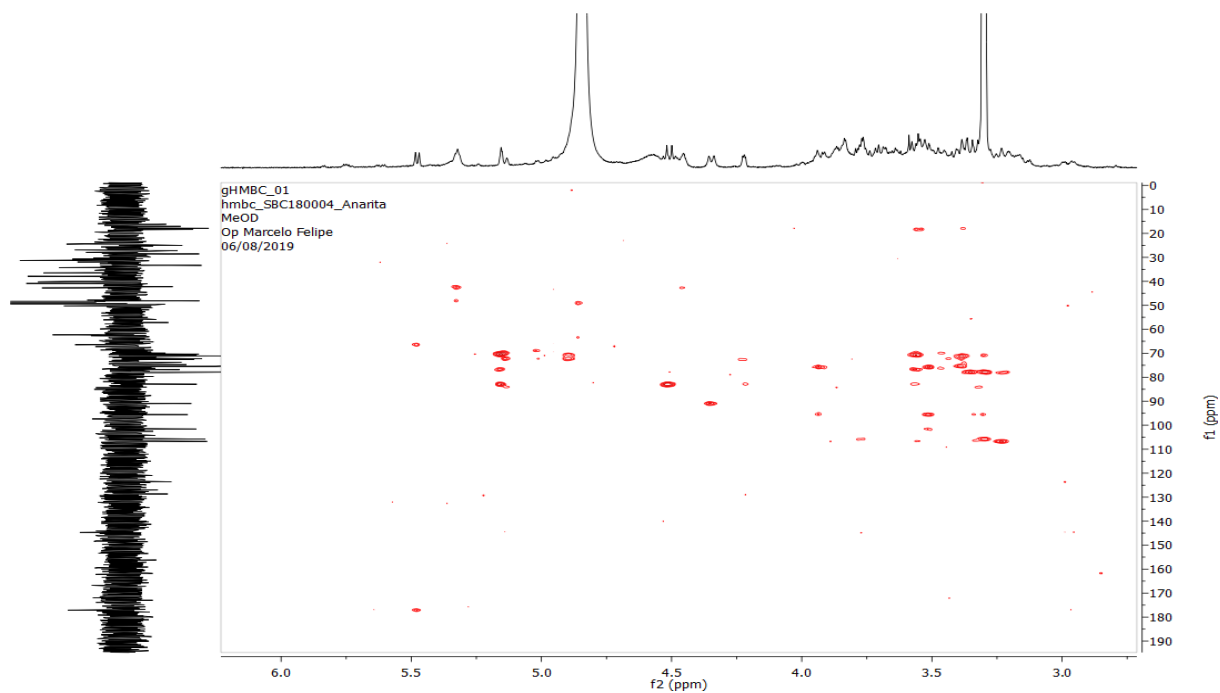


Figura 38. Espectro de HSQC de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (400 x 100 MHz, MeOD) de **Sb-4**

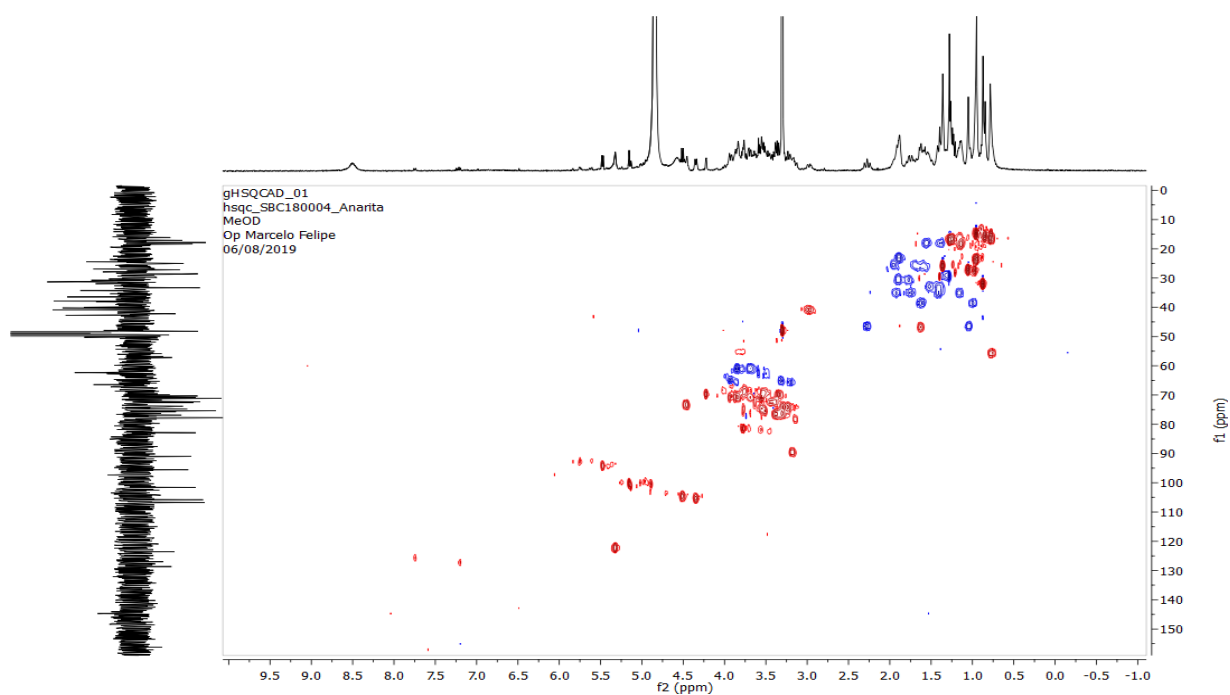


Figura 39. Expansão do espectro de HSQC de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (400 x 100 MHz, MeOD) de **Sb-4**

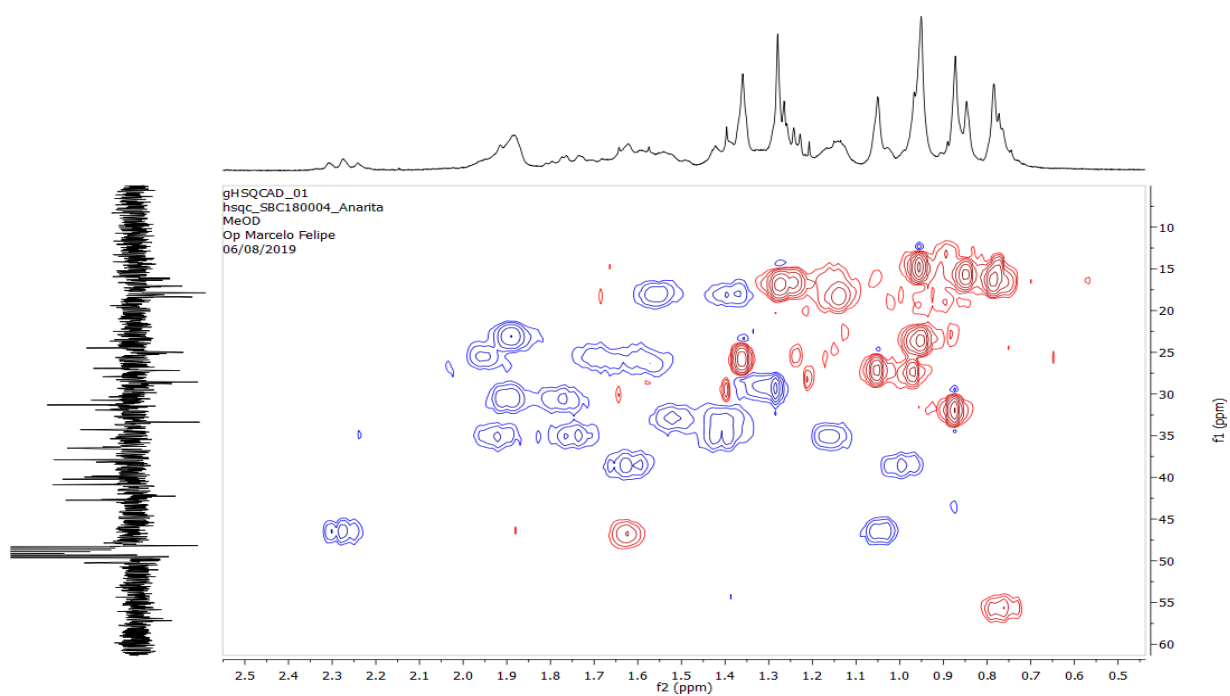
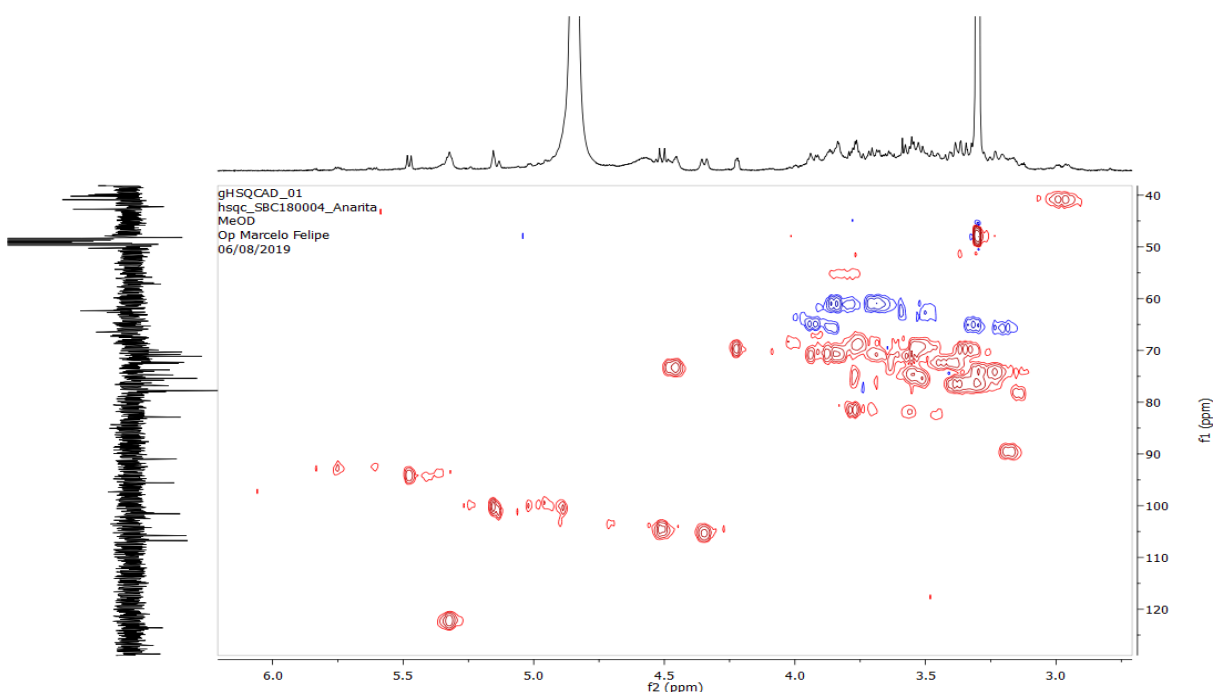


Figura 40. Expansão do espectro de HSQC de ^1H x ^{13}C (400 x 100 MHz, MeOD) de **Sb-4**



5.2 Caracterização da fração de saponinas

5.2.1 Identificação putativa por CLAE- EM do composto 1 (Sb-4)

Foram tentativamente identificadas 4 saponinas, sendo uma delas a saponina isolada anteriormente, que foi utilizada para obtenção do padrão de fragmentação e assim, propor as demais identificadas pela presença deste mesmo padrão de fragmentação. Os dados das saponinas tentativamente identificadas estão descritos na tabela 11.

Tabela 11. Caracterização das saponinas identificadas em *Schwartzia brasiliensis*

Composto	T _R (min)	[M-H] ⁻	[M-H] ⁻ calculado	Fórmula molecular	Error (ppm)	Fragmentos
1	70	1087,5331	1087,5366	C ₅₃ H ₈₄ O ₂₃	-3,3	925,761,647, 471
2	68,8	1057,5225	1057,5278	C ₅₂ H ₈₂ O ₂₂	-5,0	925,779,647, 471
3	68,6	1203,5804	1203,5849	C ₅₈ H ₉₂ O ₂₆	-3,7	1071, 1057, 925, 793, 761, 647, 471
4	65,6	1233,5910	1233,5933	C ₅₉ H ₉₄ O ₂₇	-1,9	1069, 937, 925, 779, 773, 629, 647, 471

No espectro de CLAE-IES-EM-AR do composto 1 (Figura 41, pág 81) foi possível observar um íon com m/z 1087,5331 [M-H]⁻ (m/z 1087,5366, calcd.) compatível com a

fórmula molecular $C_{53}H_{84}O_{23}$. A elucidação de 1 foi apoiada fragmentos obtidos por IES-EM/EM (Fig. 42-44, págs. 81-82), onde foi possível observar o íon com m/z 925 $[M-H\text{-glicose}]^-$ atribuído à perda neutra do resíduo da glicose (162 Da), outro fragmento com m/z 761 $[M-H\text{-glicose-ramnose}]^-$ referente à perda neutra do resíduo da ramnose (164 Da), um fragmento com m/z 647 $[M-H\text{-glicose-ramnose-xilose}]^-$ referente à perda neutra do resíduo de xilose (114 Da) e outro fragmento com m/z 471 $[M-H\text{-glicose-ramnose-xilose-ácido glucurônico}]^-$ referente à perda do resíduo do ácido glucurônico (176 Da), sendo este o íon atribuído a sapogenina identificada como ácido 21-hidroxioleanóico. Diante disto, 1 foi identificado como sendo o composto **Sb-4**, nomeado como schwartenozideo, que teve sua identificação estrutural confirmada por RMN, o que corrobora com as tentativas de identificações ou análises estruturais realizadas nesse trabalho por CLAE-IES-EM/EM.

Figura 41. Espectro de CLAE-IES-EM-AR do composto 1.

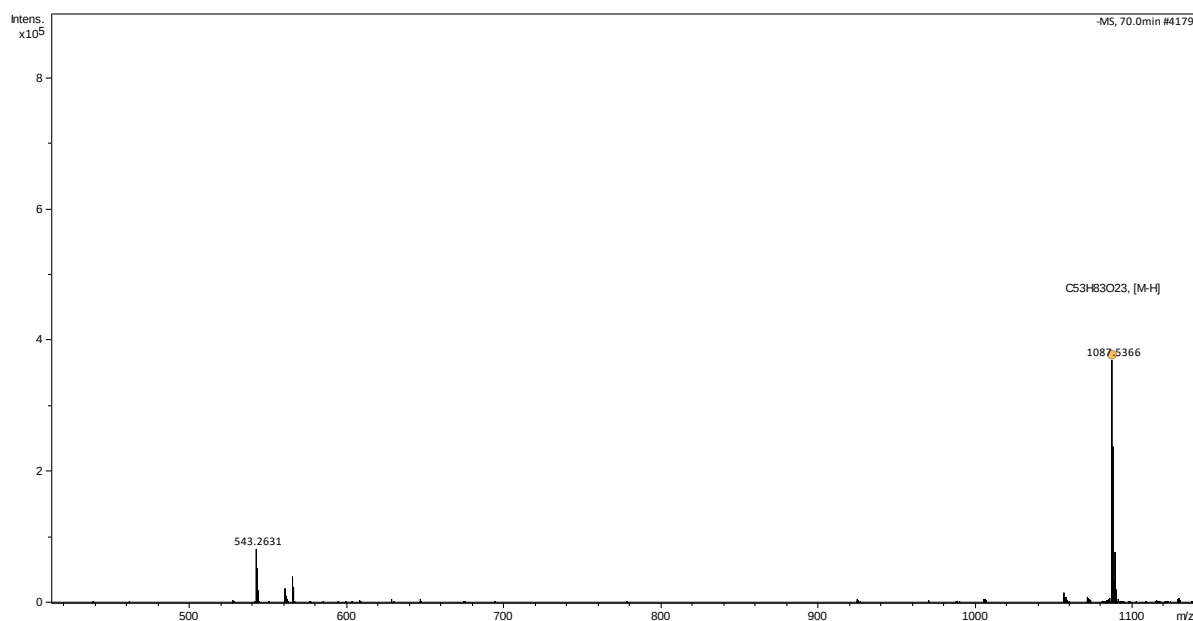
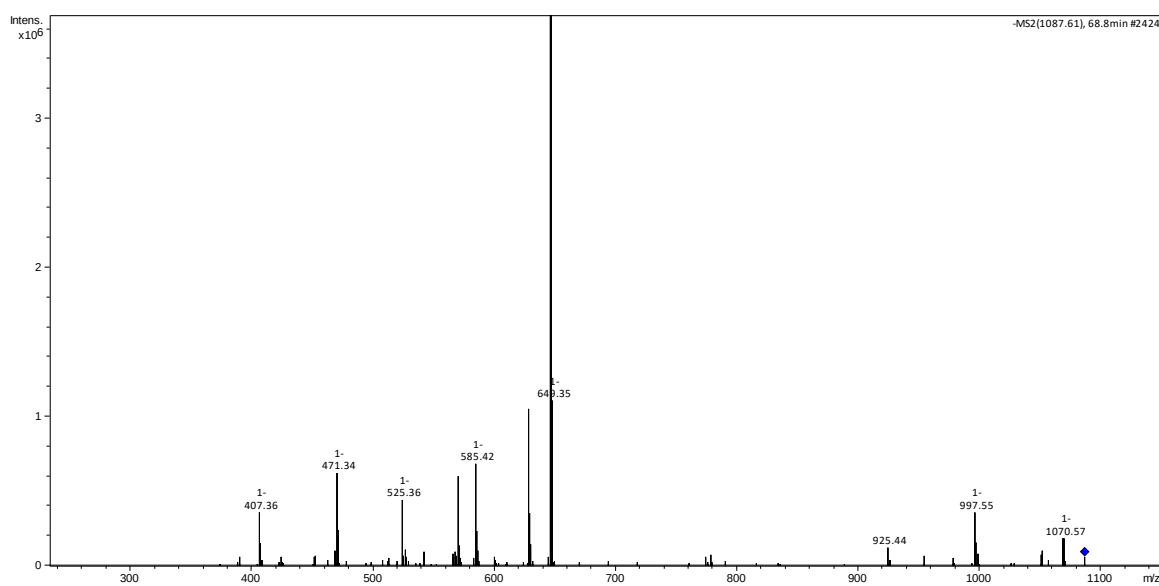
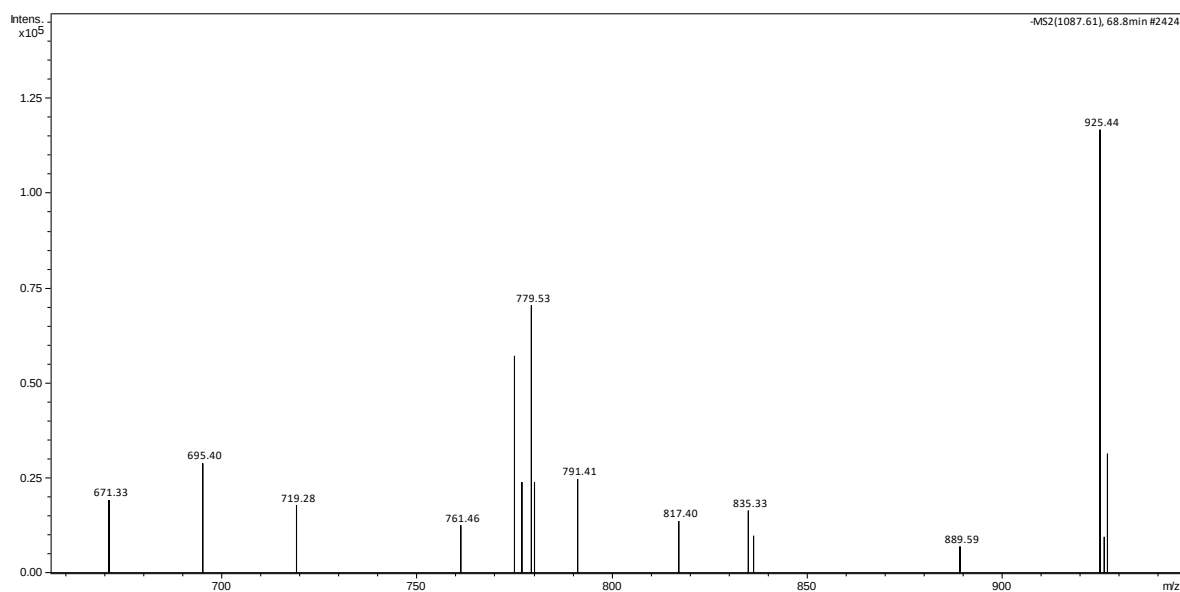
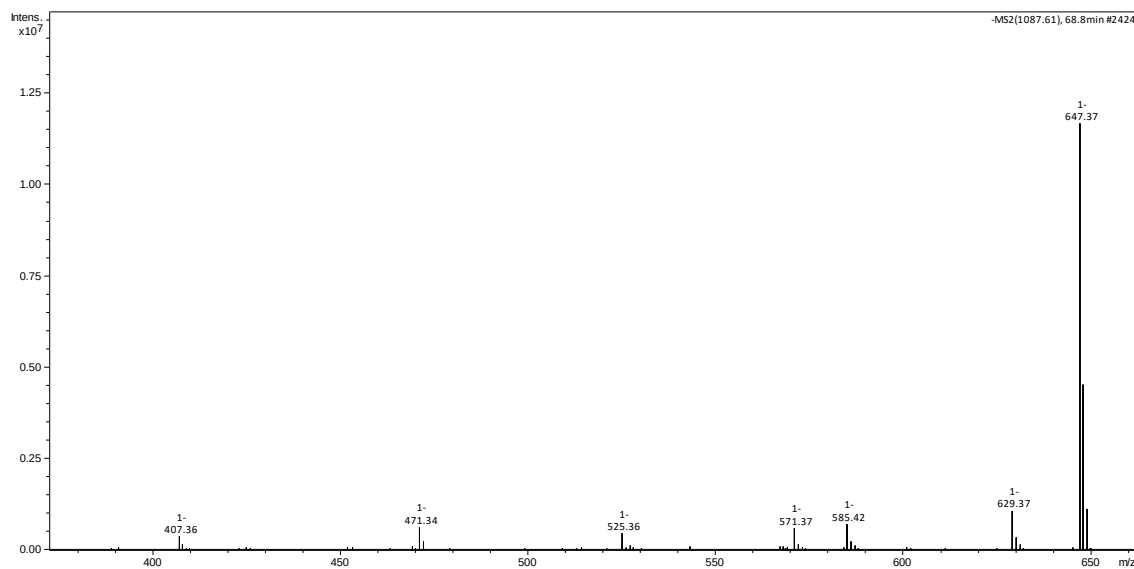
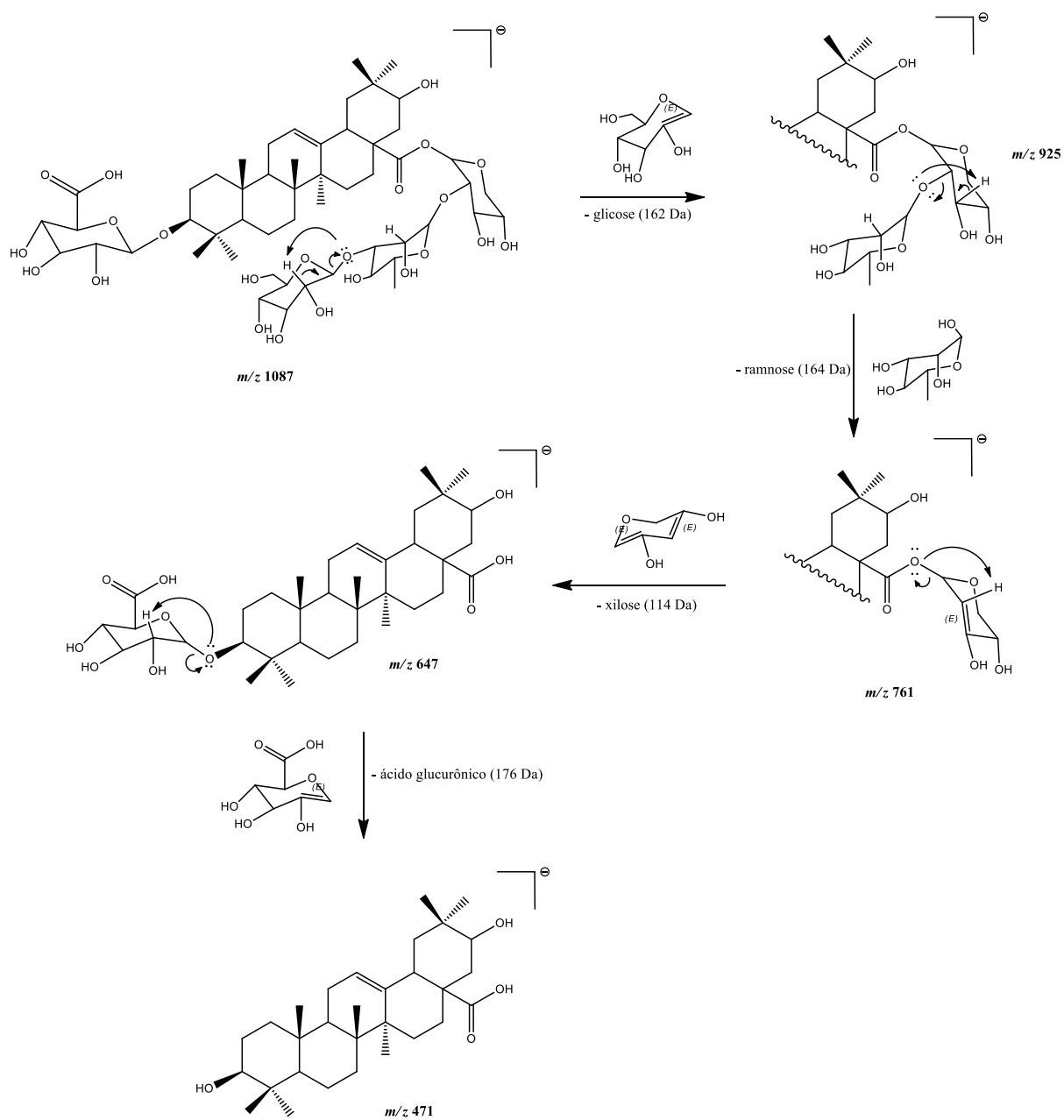


Figura 42 Perfil de fragmentação do composto 1 por IES-EM/EM**Figura 43.** Expansão do perfil de fragmentação do composto 1 por IES-EM/EM na região 925 – 671 m/z **Figura 44.** Perfil de fragmentação do composto 1 por IES-EM/EM na região de 650 – 400 m/z 

Esquema 4. Via de fragmentação sugerida ao composto 1 por CLAE-IES-EM/EM no modo negativo.



5.2.2 Identificação do composto 2

No espectro de CLAE-IES-EM-AR (Figura 45, pág. 87) foi possível observar um íon com m/z 1057,5225 $[M-H]^-$ (m/z 1057,5278, calcd.) compatível com a fórmula molecular $C_{52}H_{82}O_{22}$ atribuído ao composto 2. No experimento de CLAE-IES-EM/EM (Figuras 46-47, págs. 86-87) foi possível identificar a presença de unidade osídica presente na aglicona distinta da observada no composto 1, esta diferença pode já ser evidenciada no íon desprotonado de 2, no qual foi observado uma diferença a menos de 30 Da em relação a 1, assim, sugerindo que o composto 2 não possui uma hexose como um de seus açúcares, mas sim uma pentose. Nos fragmentos do composto 2 foi observado o íon com m/z 925 $[M-H-pentose]^-$ referente a perda neutra do resíduo da pentose (132 Da), o que corrobora com a diferença de 30 Da existentes entre os compostos 1 e 2 se tratar de uma diferença na cadeia glicosídica e não na sapogenina, um outro fragmento com m/z 779 $[M-H-pentose-(6-desoxi-hexose)]^-$ foi atribuído a perda neutra do resíduo da 6-desoxi-hexose (146 Da), um íon com m/z 647 $[M-H-pentose-(6-desoxi-hexose)-pentose]^-$ referente a perda neutra do resíduo da pentose (132 Da), e um fragmento com m/z 471 compatível com a perda neutra do resíduo de ácido urônico (176 Da), sendo o este íon atribuído a mesma sapogenina descrita em 1. Assim, após análises estrutural de 2 por CLAE-IES-EM/EM, foi possível sugerir a via de fragmentação para este composto.

Esquema 5. Via de fragmentação sugerida ao composto 2 em CLAE-IES-EM/EM no modo negativo.

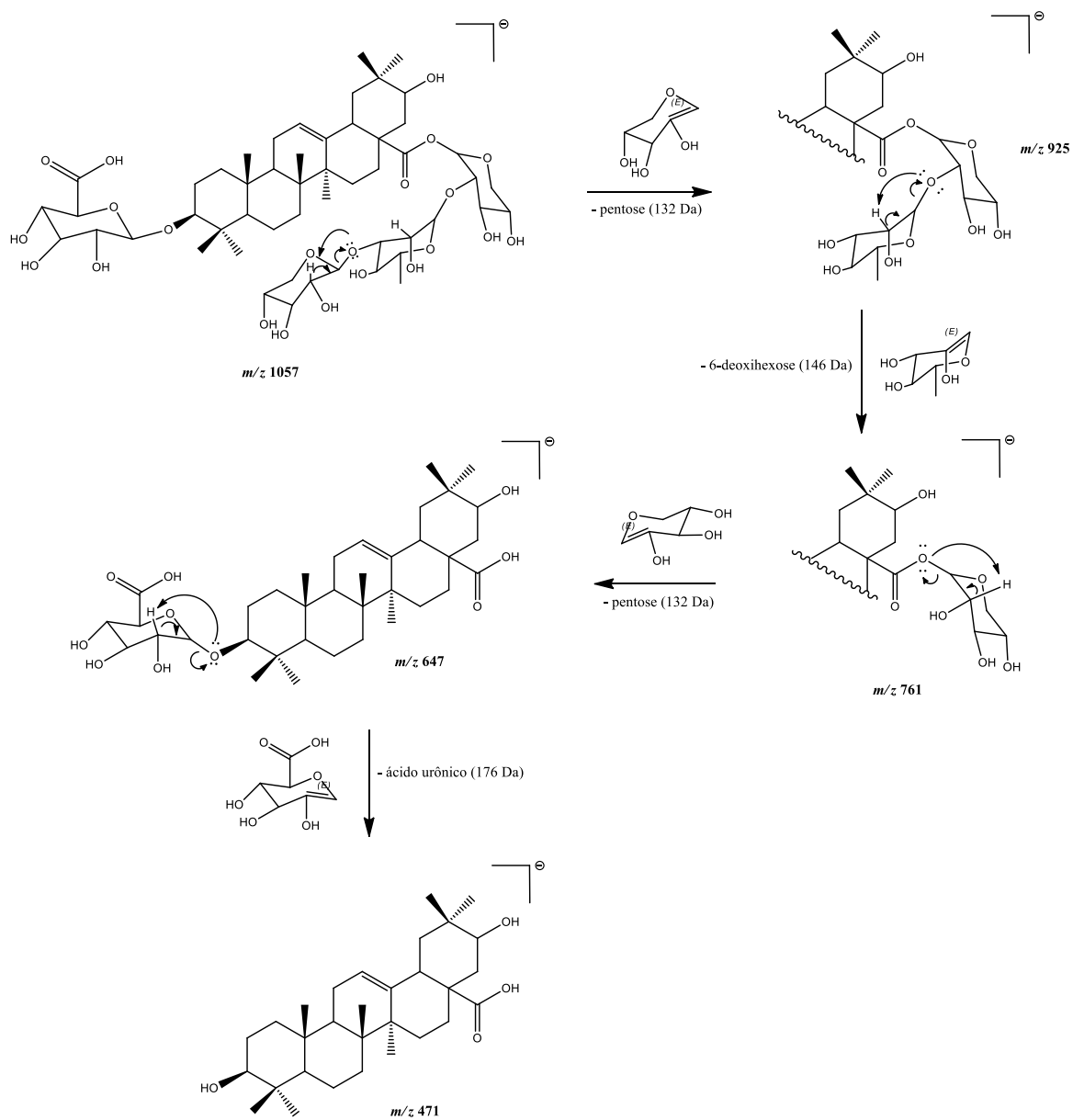


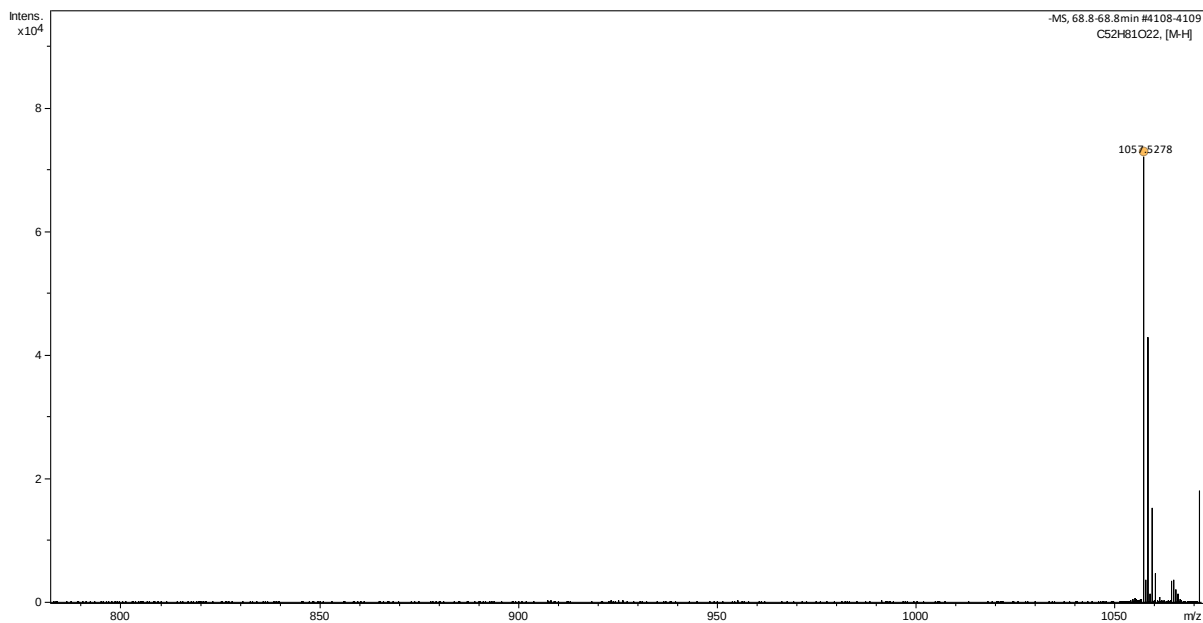
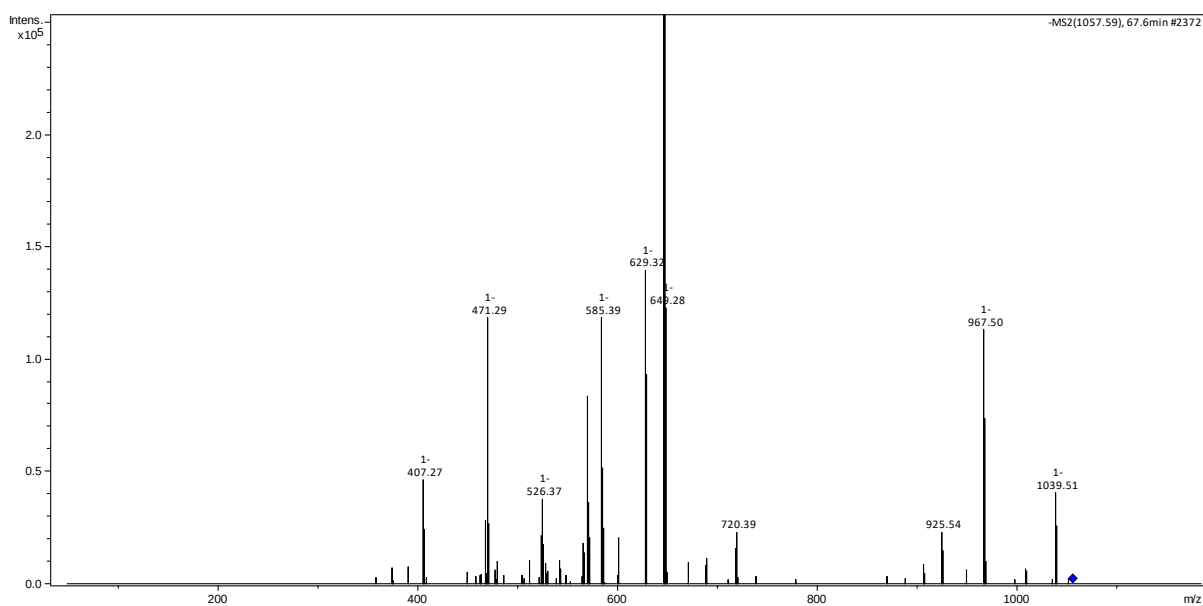
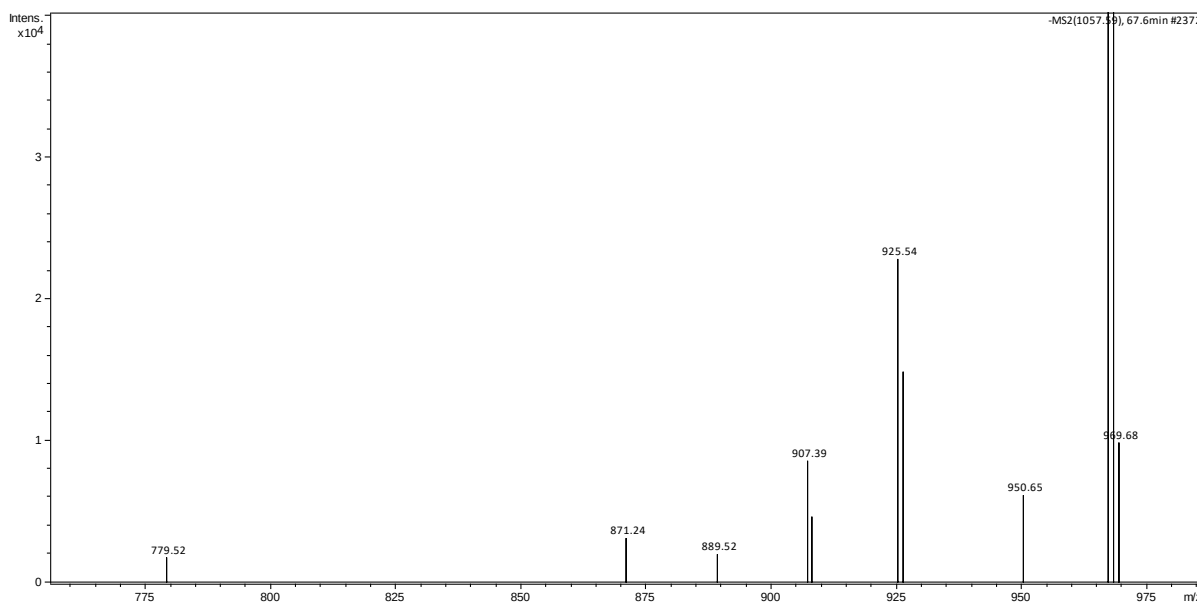
Figura 45. Espectro de CLAE-IES-EM/EM do composto 2.**Figura 46.** Perfil de fragmentação do composto 2 por IES-EM/EM.

Figura 47. Expansão do perfil de fragmentação do composto 2 por IES-EM/EM na região 975 – 700 m/z .



5.2.3 Identificação do composto 3

O composto 3 foi identificado no espectro de CLAE-IES-EM-AR (Figura 48, pág. 89) como o íon com m/z 1203,5804 $[M-H]^-$ (m/z 1203,5849 calcd.) compatível com a fórmula molecular $C_{58}H_{82}O_{22}$. Através dos fragmentos obtidos por CLAE-IES-EM/EM (Figura 50, pág. 93), foi observado que o composto 3 guardava similaridades estruturais com os compostos 1 e 2, foi observado que o íon desprotonado com m/z 1203 era compatível com a presença de um resíduo de 6-desoxi-hexose (146 Da) e mais quando comparado ao composto 2. Nos fragmentos do composto 3 é possível constatar essa proposta, uma vez que foram observados os íons: m/z 1057 referente a perda neutra do resíduo da 6-desoxi-hexose (146 Da), outro íon m/z 925 $[M-H-(6\text{-desoxi-hexose})\text{-pentose}]^-$ referente a perda neutra do resíduo da pentose (132 Da), um outro íon com m/z 761 $[M-H-(6\text{-desoxi-hexose})\text{-pentose}\text{-(6-desoxi-hexose)}]^-$ referente a perda neutra de outro resíduo da 6-desoxi-hexose (146 Da), um íon com m/z 647,35 $[M-H-(6\text{-desoxi-hexose})\text{-pentose}\text{-(6-desoxi-hexose})\text{-pentose}]^-$ referente a perda neutra do resíduo da pentose (132 Da), e um íon com m/z 471,33 referente a perda do resíduo do ácido urônico (176 Da), sendo este o íon referente a sapogenina, o ácido 21 hidroxioleanólico. Um outro íon m/z 1071 foi observado, compatível com a perda de um resíduo de pentose (132 Da), o que corrobora com a presença de uma 6-desoxihexose e uma pentose nas extremidades das cadeias glicosídicas presentes nesta saponina

bidesmosídica tentativamente identificada. O íon m/z 793 atribuído a um fragmento obtido pela perda neutra da cadeia glicosídica inserida na posição C-28, uma vez que essa perda representa 410 Da que é compatível com a união dos resíduos de pentose+6-desoxihexose+pentose, desta forma, a outra cadeia glicosídica inserida em C-3 é formada pela união de um resíduo de 6-desoxihexose+ácido urônico (222 Da). Desta forma, 3 foi tentativamente identificado.

Esquema 6. Via de fragmentação sugerida ao composto 3 em CLAE-IES-EM/EM no modo negativo.

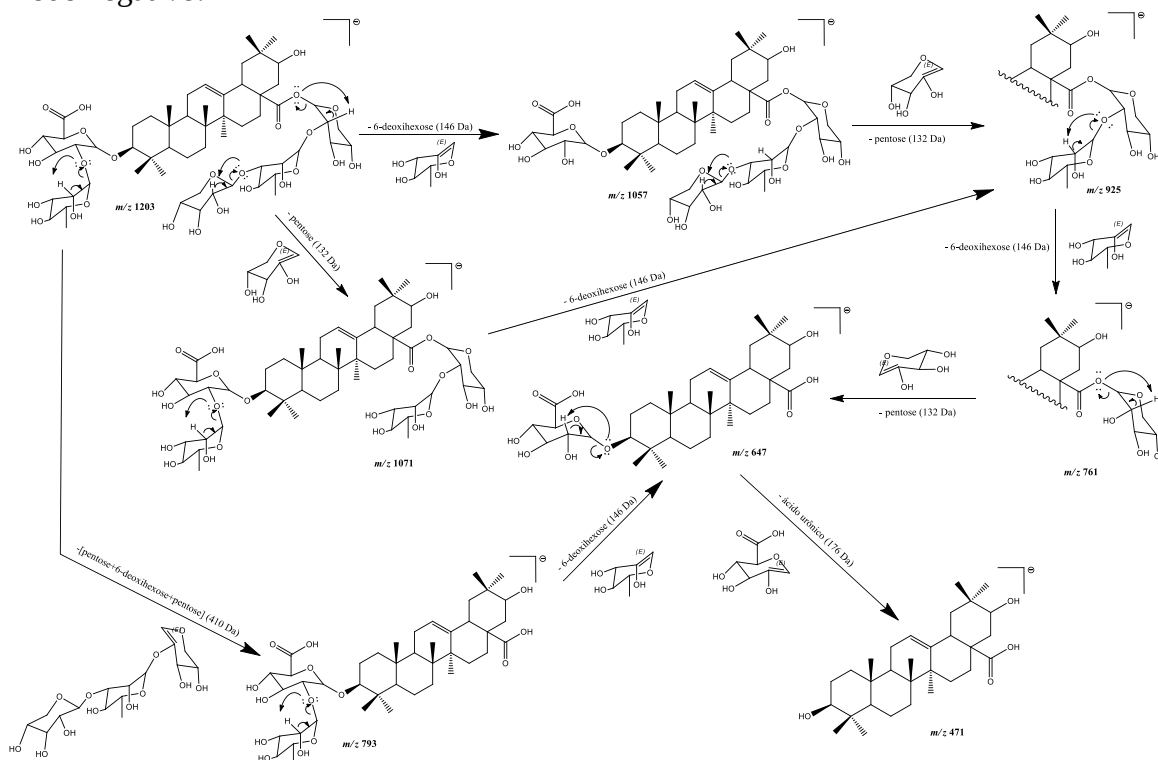


Figura 48. Espectro de CLAE-IES-EM/EM do composto 3.

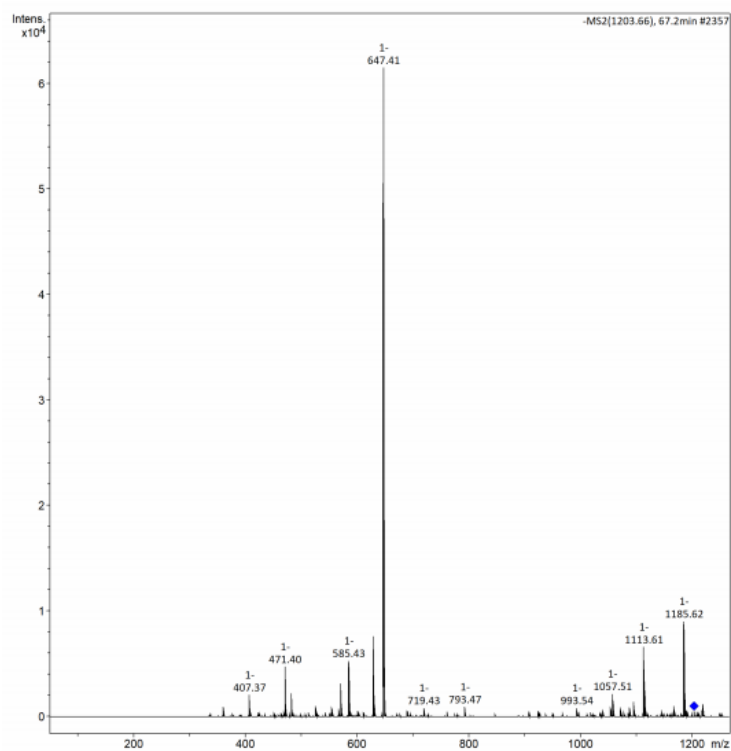
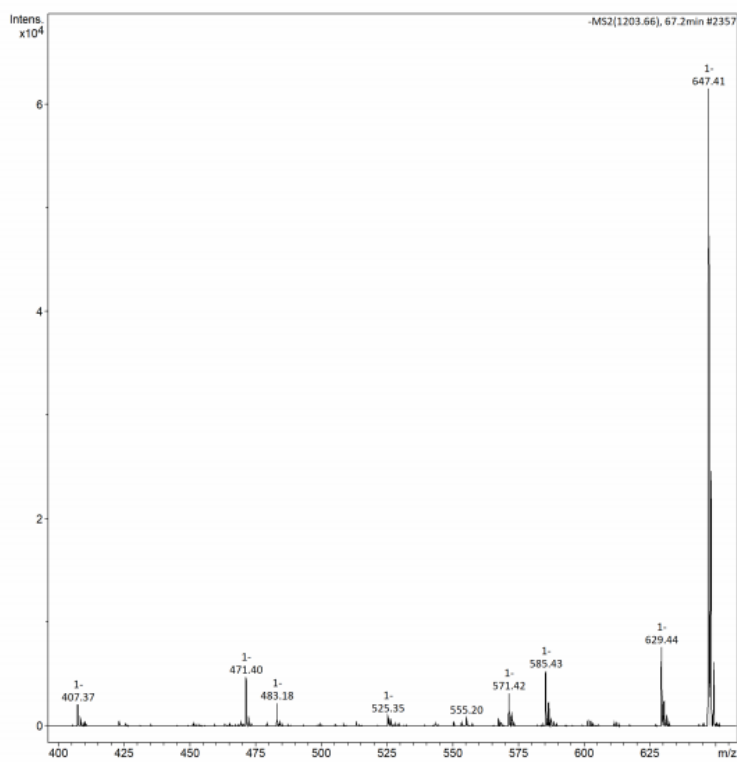


Figura 49. Perfil de fragmentação do composto 3 por IES-EM/EM.



5.2.4 Identificação do composto 4

No espectro de CLAE-IES-EM-AR (Figura 50, pág. 93) foi possível observar um íon com m/z 1233,5910 $[M-H]^-$ (m/z 1233,5933, calcd.) compatível com a fórmula molecular $C_{59}H_{94}O_{27}$. Este íon foi atribuído ao composto 4. O espectro obtido por CLAE-IES-EM/EM (Figuras 51-52, págs. 92-93), revelou a presença de fragmentos semelhantes aos compostos anteriormente descritos, contudo, foi possível observar que a diferença se concentrava nas unidades osídicas, bem como, nas disposições das cadeias glicosídicas. O composto 4 apresentou uma diferença de 146 Da quando comparado com o composto 1, essa diferença pode ser atribuído a uma unidade de 6-desoxihexose. Foi observado um íon com m/z 1069 que foi atribuído a perda neutra de um resíduo de 6-desoxihexose (146 Da) e um íon com m/z 925 resultante da perda neutra de um resíduo de hexose (144 Da), o que revela a hexose estar esterificada na sapogenina e que uma das cadeias glicosídicas presentes na molécula é composta pela união de 6-desoxihexose e uma hexose (308 Da). Outro fragmento representado pelo íon m/z 779 revela uma perda neutra de 454 Da, que é compatível com a união de uma 6-desoxihexose+pentose+ácido urônico, o que demonstra que a outra cadeia glicosídica existente da molécula tenha esta composição, uma vez que o íon m/z 471 é resultado da perda neutra de 308 Da (a cadeia glicosídica anteriormente descrita) a partir do fragmento m/z 779 e representa a sapogenina ácido 21-hidroxioleanóico. Essa proposta é corroborada pelo íon m/z 937 que é o fragmento obtido da perda neutra de um resíduo de pentose (132 Da) oriundo do íon m/z 1069, o que permite localizar na estrutura química os dois resíduos de 6-desoxihexose nas extremidades terminais de ambas as cadeias glicosídicas. O fragmento com m/z 773 é resultante da perda neutra do resíduo de 6-desoxihexose (146 Da) a partir do fragmento m/z 937, o íon m/z 629 representa a perda neutra do resíduo de hexose (144 Da) do fragmento m/z 773 e o íon m/z 471 representa a perda neutra do resíduo de ácido urônico (158 Da) a partir do fragmento m/z 629.

Outra via de fragmentação observada no espectro de CLAE-IES-EM/EM foi oriunda das perdas dos resíduos de 6-desoxihexose e de hexose, respectivamente, que geraram o íon m/z 925. O íon m/z 779 representa a perda neutra de um resíduo de 6-desoxihexose (146 Da), o íon m/z 647 é resultante da perda neutra do resíduo de pentose (132 Da) e o íon m/z 471 é oriundo da perda neutra do resíduo de ácido urônico (176

Da), além de ser o fragmento que representa a sapogenina. Desta forma, esta via proposta, de fragmentação sequenciada, vai ao encontro da anteriormente descrita quanto à composição das cadeias glicosídicas existentes no composto. Diante da análise estrutural por CLAE-IES-EM/EM do composto 4, foi possível identificá-lo putativamente através da fragmentação proposta.

Esquema 7. Via de fragmentação sugerida ao composto 4 em CLAE-IES-EM/EM no modo negativo

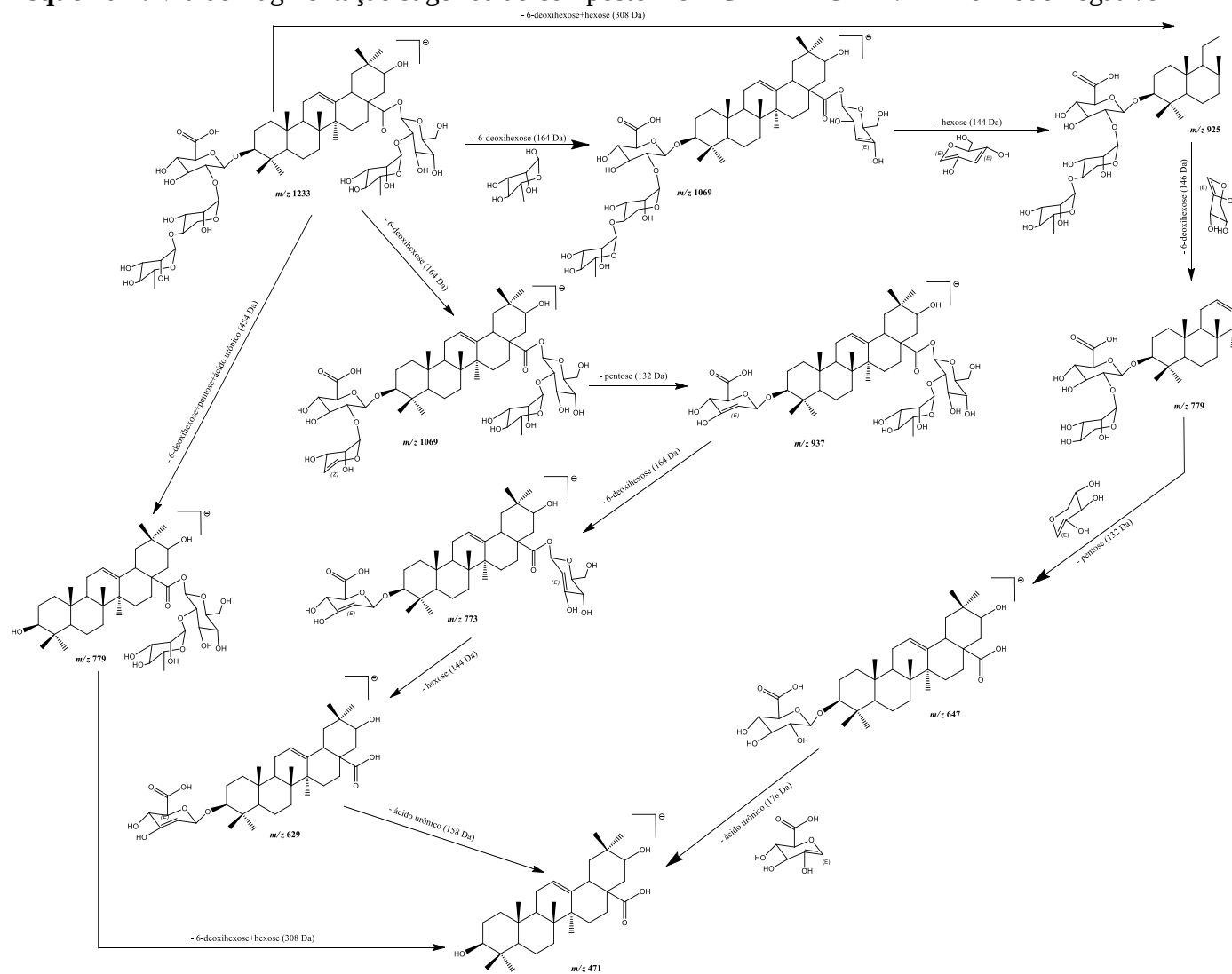


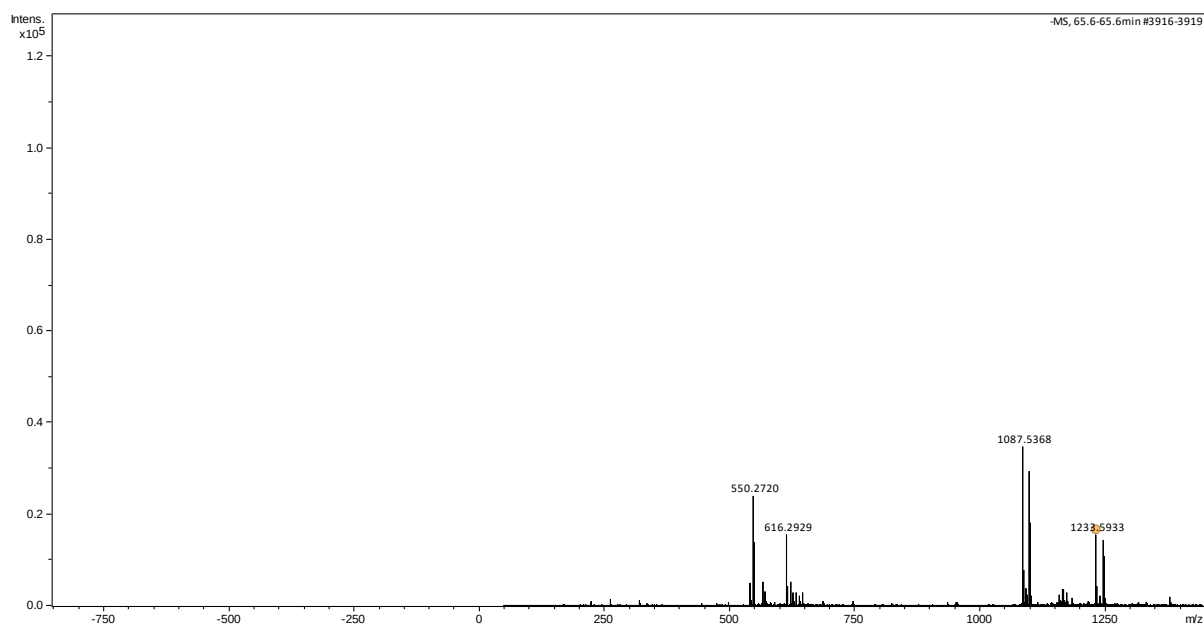
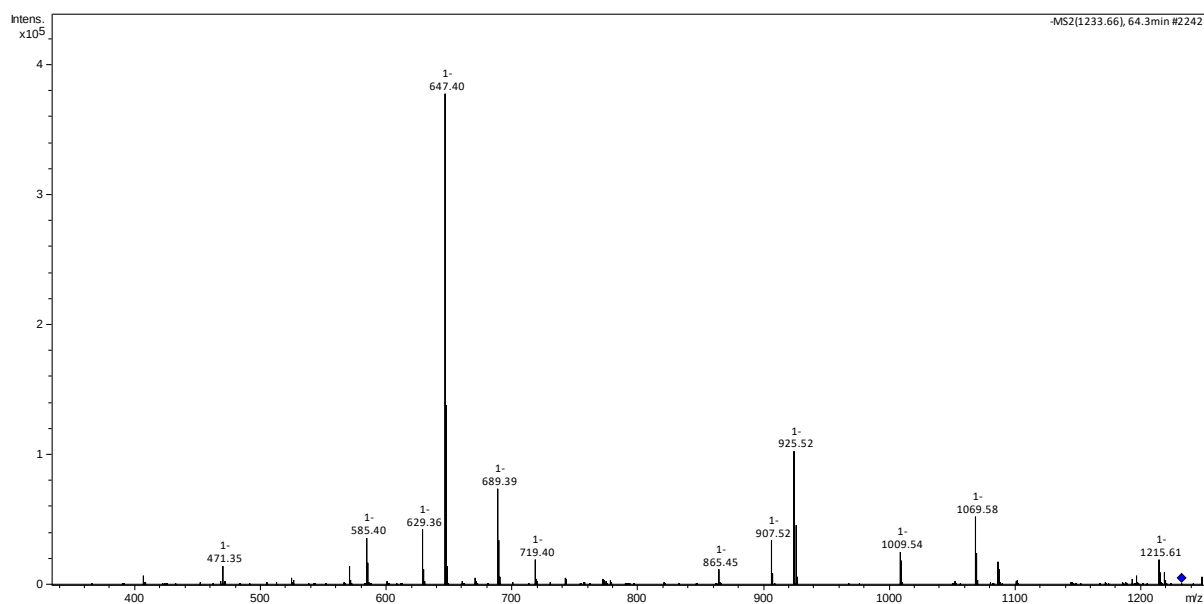
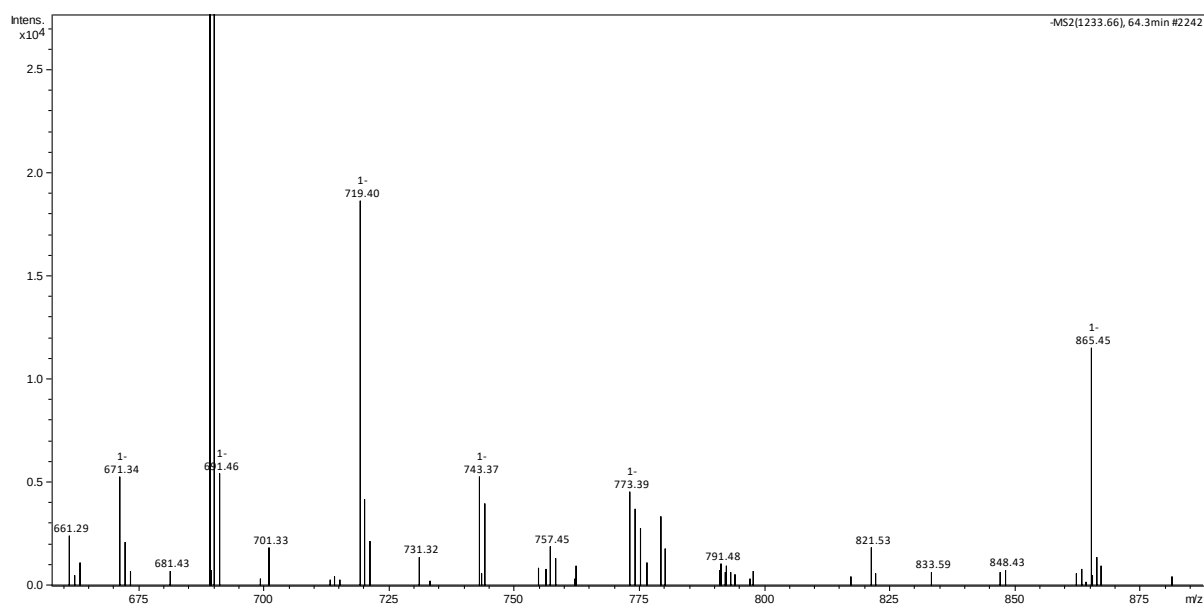
Figura 50. Espectro de IES-EM/EM do composto 4.**Figura 51.** Perfil de fragmentação do composto 4 por IES-EM/EM.

Figura 52. Expansão do perfil de fragmentação do composto 4 por IES-EM/EM na região 875 – 661 m/z .



Conclusões

6 CONCLUSÕES

O estudo fitoquímico de *Schwartzia brasiliensis* possibilitou o isolamento de quatro compostos, sendo dois a mistura triterpênica de α e β amirina (**Sb-1** e **Sb-2**), a 7-hidroxicumarina (**Sb-3**) e uma saponina triterpênica bidesmosídica (**Sb-4**) isolados pela primeira vez na espécie em estudo, evidenciando assim o primeiro relato de saponinas na família Marcgraviaceae.

A partir do isolamento da saponina foi obtida uma fração concentrada por meio de uma metodologia específica de extração para saponinas, e utilizando análise por CLAE-ESI-EM/EM, foi realizada uma caracterização de saponinas presentes na fração concentrada, possibilitando a identificação putativa de 4 saponinas triterpênicas bidesmosídicas, evidenciando o primeiro relato dessas saponinas na família Marcgraviaceae.

Além disso, ainda foi possível identificar, na fase hexânica, a presença de hidrocarbonetos, analisados e identificados por CG/EM.

O isolamento de diversos metabólitos na espécie *Schwartzia brasiliensis* demonstra que é um gênero rico, gerando perspectivas promissoras para estudos posteriores, uma vez que há poucos relatos de estudos fitoquímicos para esta espécie, como também buscar as respostas biológicas produzidas pelos mesmos.

APÊNDICE

- Pico 1: Ciclohexasiloxano

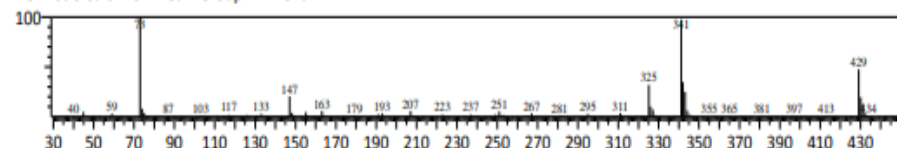
- **Fórmula:** $C_{12}H_{36}O_6Si_6$
- **Peso molecular:** 444.9236

<< Target >>

Line#:7 R.Time:22.615(Scan#:3924) Retention Index:1357 MolWeight:354 MassPeaks:301

RawMode:Averaged 22.610-22.620(3923-3925) BasePeak:73.00(18169)

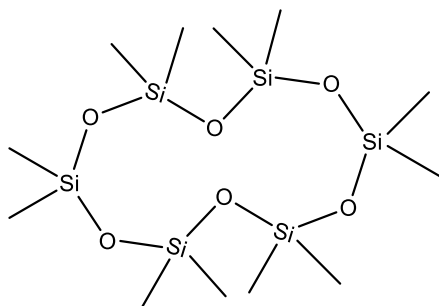
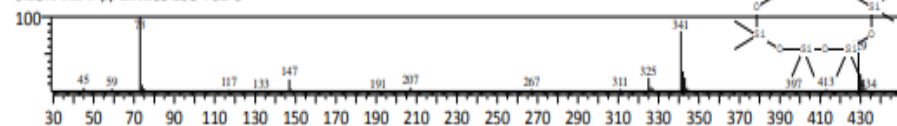
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:584387 Library:Wiley9.lib

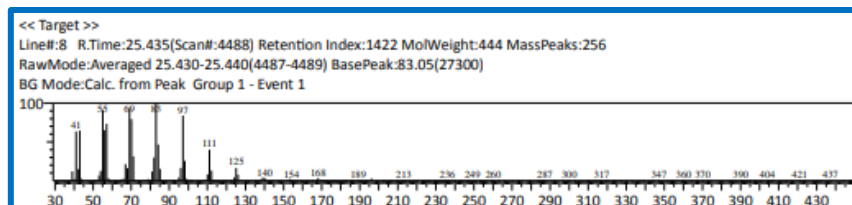
SI:91 Formula: $C_{12}H_{36}O_6Si_6$ CAS:540-97-6 MolWeight:444 BasePeak:73.00 RetIndex:0

CompName:Cyclohexasiloxane, dodecamethyl- (CAS) \$ \$ Dodecamethylcyclohexasiloxane \$ \$ DODECAMETHYL-CYCLOHEXA
SILOXANE \$ \$ 2,2,4,4,6,6,8,8,10,10,12,12-Dodecamethylcyclohexasiloxane \$ \$ 2,2,4,4,6,6,8,8,10,10,12,12-DODECAMETHYL-CYCLOHEXA
SILOXANE # \$ \$ EINECS 208-762-8



- Pico 2: 1-Dodecanol

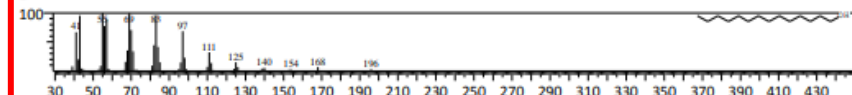
- **Fórmula:** $C_{12}H_{26}O$
- **Peso molecular:** 186.3342



Hit#:1 Entry:175124 Library:Wiley9.lib

SI:95 Formula: $C_{14}H_{30}O$ CAS:112-72-1 MolWeight:214 BasePeak:55.00 RetIndex:0

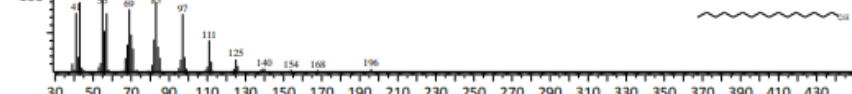
CompName:1-Tetradecanol (CAS) \$ \$ Alfol 14 \$ \$ Tetradecanol \$ \$ Loxanol V \$ \$ Lanette K \$ \$ Lanette Wax KS \$ \$ n-Tetradecanol \$ \$ Myristic alcohol \$ \$ Myristyl alcohol \$ \$ n-Tetradecan-1-ol \$ \$ Tetradecyl alcohol \$ \$ n-Tetradecyl alcohol \$ \$ Lanette Waxd sub 1



Hit#:2 Entry:241953 Library:Wiley9.lib

SI:95 Formula: $C_{16}H_{34}O$ CAS:36653-82-4 MolWeight:242 BasePeak:55.00 RetIndex:0

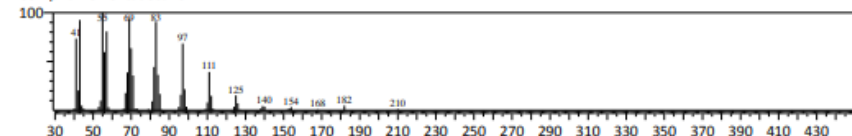
CompName:1-Hexadecanol (CAS) \$ \$ Cetol \$ \$ Ethol \$ \$ Cetanol \$ \$ Cetylol \$ \$ Adol 52 \$ \$ Lanol C \$ \$ Adol 54 \$ \$ Lorol 24 \$ \$ Alfol 16 \$ \$ Aldol 54 \$ \$ Atalco C \$ \$ Cetaffine \$ \$ Loxanol K \$ \$ Adol 52NF \$ \$ Elfacos C \$ \$ Crodacol C \$ \$ Hyfatol 16 \$ \$ Cetanol CA



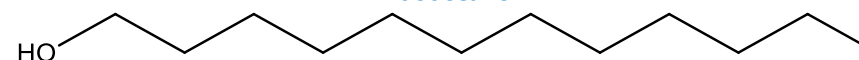
Hit#:3 Entry:1000 Library:FFNSC1.3.lib

SI:94 Formula: $C_{15}H_{32}O$ CAS:629-76-5 MolWeight:228 BasePeak:55.00 RetIndex:1784

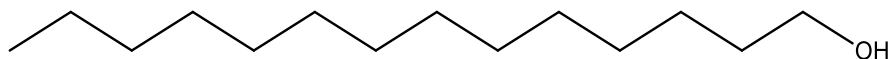
CompName:Pentadecanol <n->



1-dodecanol



1-tetradecanol



- **Pico 3:** Cicloheptasiloxano

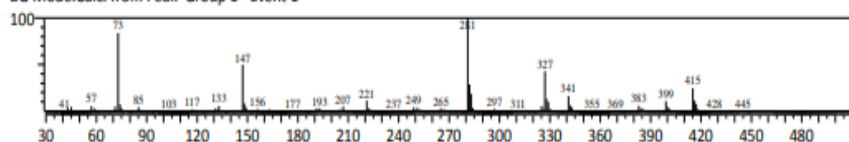
- **Fórmula:** $C_{14}H_{42}O_7Si_7$
- **Peso molecular:** 519.0776

<< Target >>

Line#:9 RTime:30.100(Scan#:5421) Retention Index:1533 MolWeight:228 MassPeaks:317

RawMode:Averaged 30.095-30.105(5420-5422) BasePeak:281.10(20256)

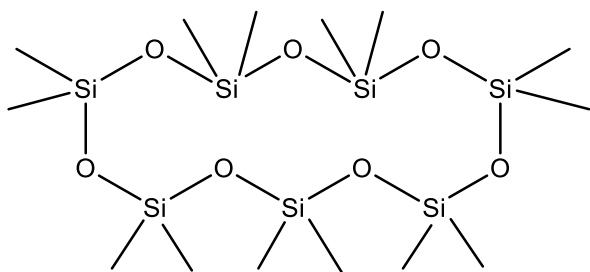
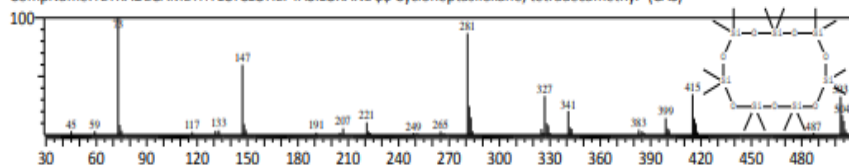
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:624520 Library:Wiley9.lib

SI:87 Formula:C14H42O7Si7 CAS:107-50-6 MolWeight:518 BasePeak:73.00 RetIndex:0

CompName:TETRADECAMETHYLCYCLOHEPTASILOXANE \$\$ Cycloheptasiloxane, tetradecamethyl- (CAS)



- **Pico 4:** 2,4-Di-terc-butilfenol

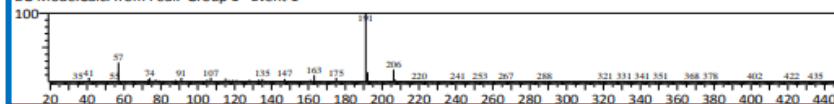
- **Fórmula:** $C_{14}H_{22}O$
- **Peso molecular:** 206.3239

<< Target >>

Line#:10 RTime:30.760(Scan#:5553) Retention Index:1549 MolWeight:518 MassPeaks:290

RawMode:Averaged 30.755-30.765(5552-5554) BasePeak:191.15(71901)

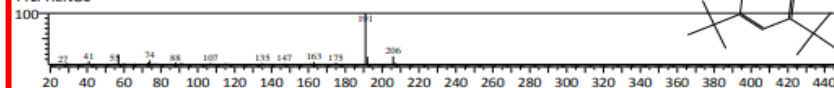
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:156627 Library:Wiley9.lib

SI:93 Formula:C14H22O CAS:96-76-4 MolWeight:206 BasePeak:191.00 RetIndex:0

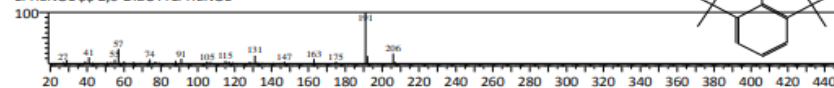
CompName:Phenol, 2,4-bis(1,1-dimethylethyl)- (CAS) \$\$ 2,4-Di-tert-butylphenol \$\$ 2,4-Di-t-butylphenol \$\$ Phenol, 2,4-di-tert-butyl- (CAS) \$\$ 2,4-Bis(1,1-dimethylethyl)phenol \$\$ 2,4-Di-tert-butylphenol \$



Hit#:2 Entry:156636 Library:Wiley9.lib

SI:91 Formula:C14H22O CAS:128-39-2 MolWeight:206 BasePeak:191.00 RetIndex:0

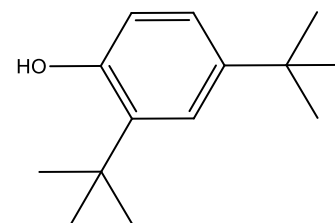
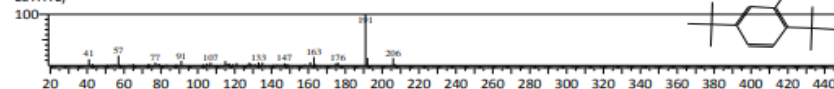
CompName:PHENOL, 2,6-BIS(1,1-DIMETHYLETHYL)- \$\$ 2,6-DITERT-BUTYLPHENOL \$\$ (2,6 DTBP) \$\$ 1,3-DITERT.BUTYL,2-HYDROXY-BENZENE \$\$ 2, 6-BIS(TERT-BUTYL)PHENOL \$\$ 2, 6-DI-TERT-BUTYLPHENOL \$\$ 2,6 DI-TERT-BUTYL PHENOL \$



Hit#:3 Entry:156635 Library:Wiley9.lib

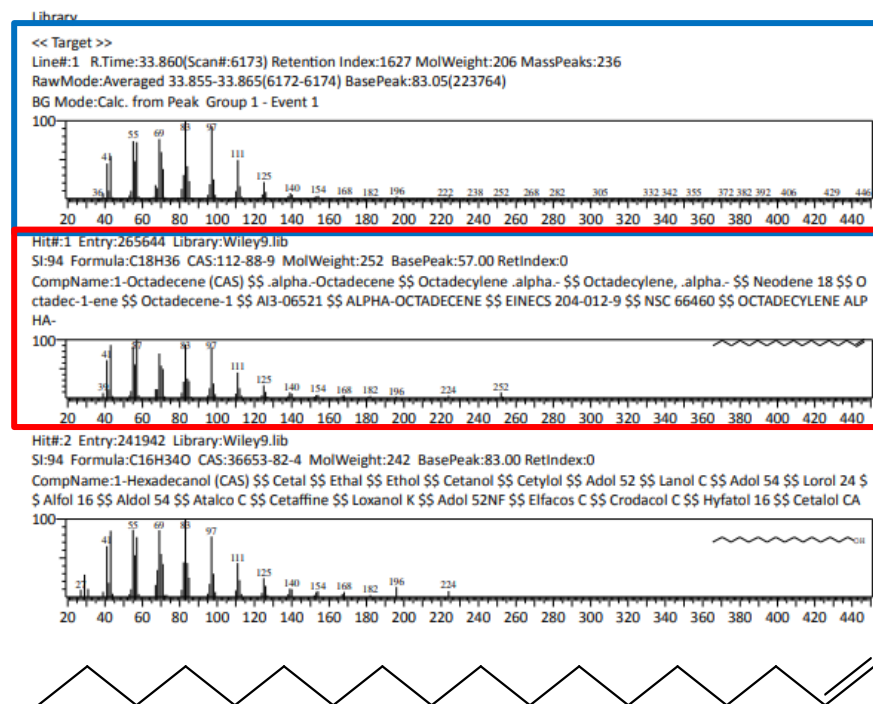
SI:90 Formula:C14H22O CAS:5875-45-6 MolWeight:206 BasePeak:191.00 RetIndex:0

CompName:Phenol, 2,5-bis(1,1-dimethylethyl)- (CAS) \$\$ 2,5-Di-tert-butylphenol \$\$ Phenol, 2,5-di-tert-butyl- (CAS) \$\$ 2,5-Di-tert-butylhydroxybenzene \$\$ EINECS 227-543-8 \$\$ NSC 68767 \$\$ PHENOL, 2, 5-DI-TERT-BUTYL- \$\$ PHENOL, 2,5-BIS (1,1-DIMETHYLETHYL)-



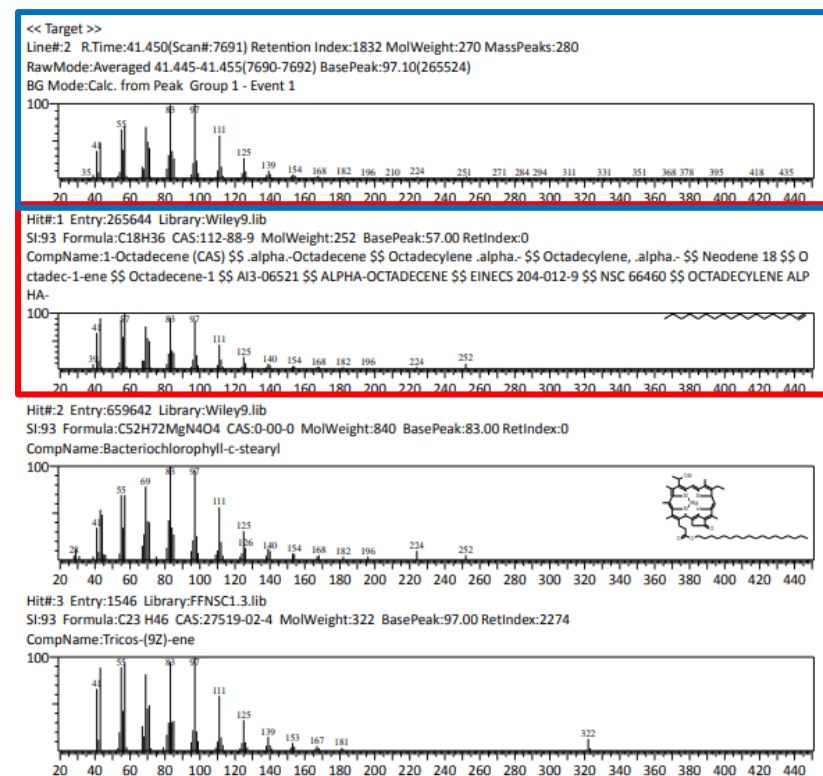
- Pico 5: 1-Octadeceno

- **Fórmula:** $C_{18}H_{36}$
- **Peso molecular:** 252.4784



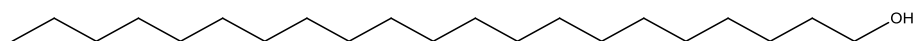
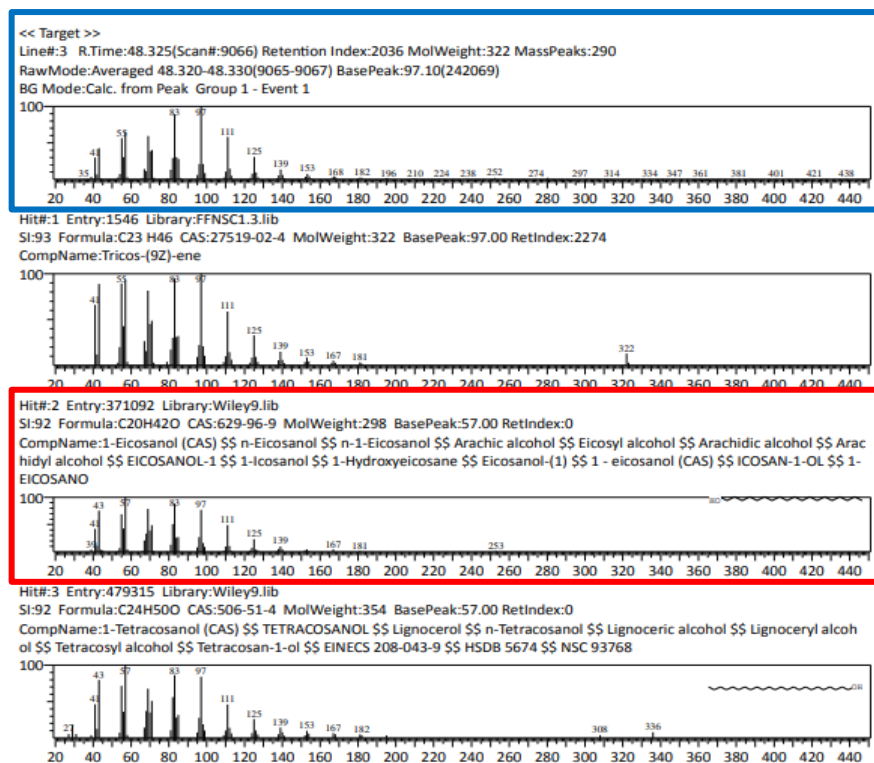
- Pico 6: 1-eicosanol

- **Fórmula:** $C_{20}H_{42}O$
- **Peso molecular:** 298.5469



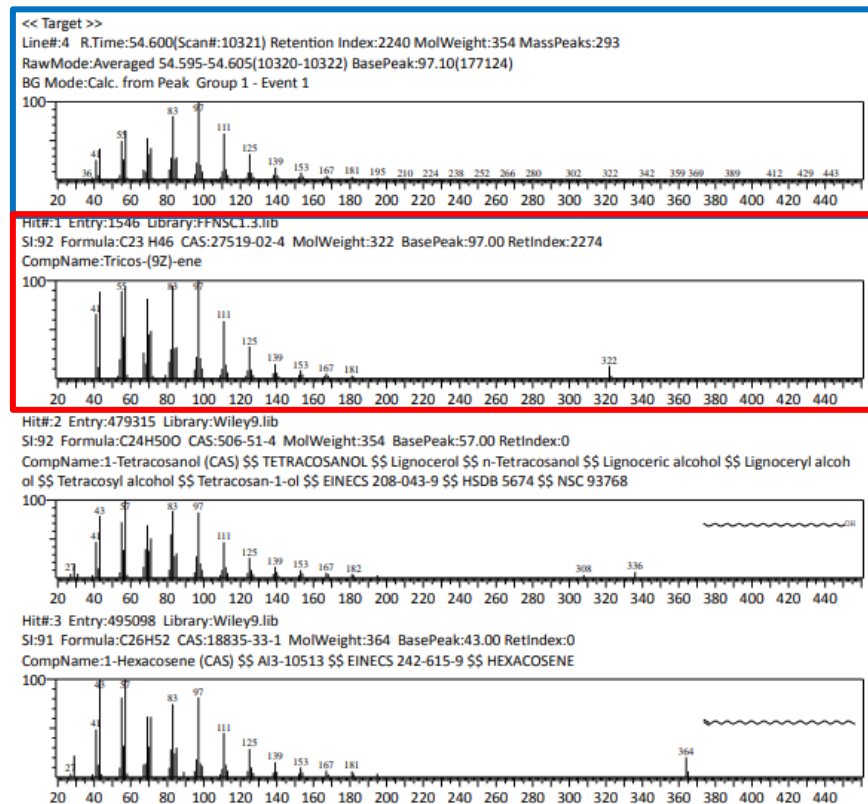
- **Pico 7:** 1-Heneicosanol (Henicosan-1-ol; Heneicosyl alcohol; Heneicosanol; heneicosanol)

- **Fórmula:** $C_{21}H_{44}O$
- **Peso molecular:** 312.573

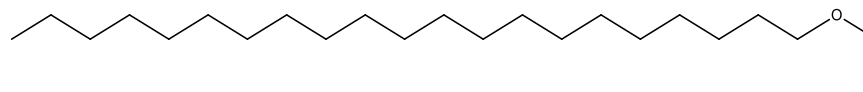


- **Pico 8:** 1-Heneicosil formato

- **Fórmula:** $C_{22}H_{44}O_2$
- **Peso molecular:** 340.5836

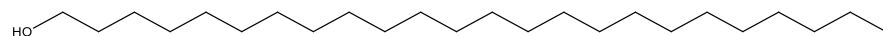
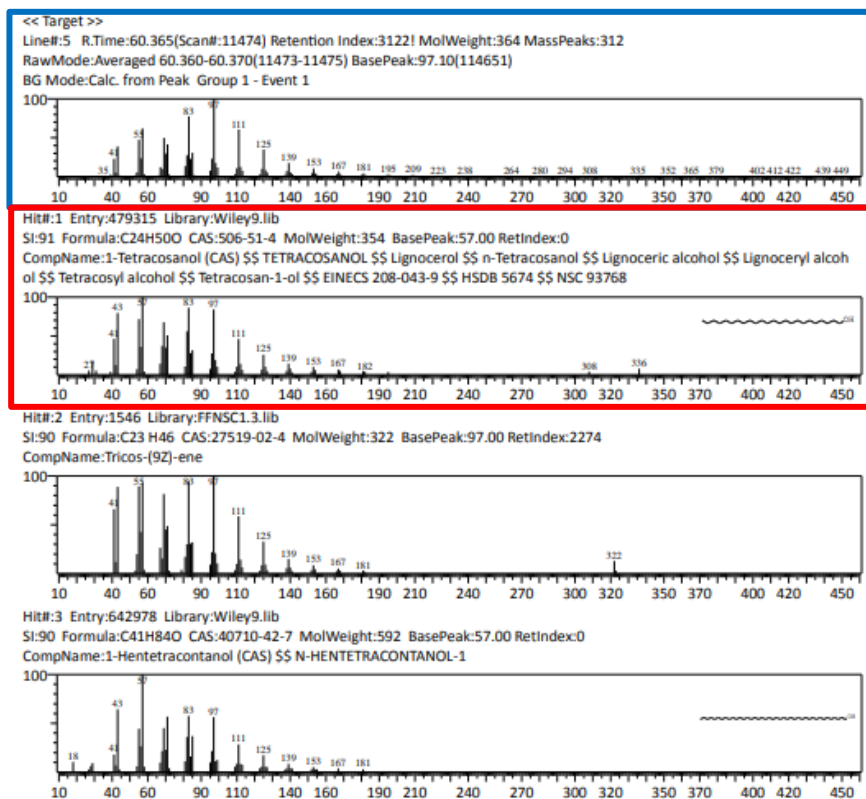


formato 1-heneicosil



- **Pico 9:** n-Tetracosanol-1

- **Fórmula:** $C_{24}H_{50}O$
- **Peso molecular:** 354.6532



REFERÊNCIAS

- AGRIPINO, D. G; YOUNG, M.C.M; MORENO, P. H. Screening of Brazilian plants for antimicrobial and dnadamaging activities: I. Atlantic rain forest. Ecological station juréia-itatins. **Biota Neotrop.** vol.4 no.2 Campinas, 2004.
- AMBREEN, HAQUE, S., SINGH, V., KATIYAR, D., ALI KHAN, M. T., TRIPATHI, V., MISHRA, B. N. Biotransformation of newly synthesized coumarin derivatives by *Candida albicans* as potential antibacterial, antioxidant and cytotoxic agents. **Process Biochemistry**, 2019.
- ANISZEWSKI, T. **Alkaloids: chemistry, biology, ecology and applications**. 2015.
- AQIL, M.; AHAD, A.; SULTANA, Y.; ALI, A. Status of terpenes as skin penetration enhancers. **Drug Discovery Today**, v. 12, n. 23/24, p. 1061-1067, 2007.
- ARAÚJO, E.; CASTRO, C.; ALBUQUERQUE, U. **Dynamics of Brazilian Caatinga –A Review Concerning the Plants, Environment and People**. v. 1, 2007.
- AUGUSTIN, J. M.; KUZINA, V.; ANDERSEN, S. B.; BAK, S. Molecular activities, biosynthesis and evolution of triterpenoid saponins. **Phytochemistry**, v. 72, p. 435-457, 2011.
- BARBOSA, A. P., SILVA, B. P., PARENTE, J. P. A new complex triterpenoid saponin from *Samanea saman* with haemolytic activity and adjuvant effect. **Phytochemistry Letters**, 5, 626-631, 2012
- BAUMANN, E., STOYA, G., VÖLKNER, A., RICHTER, W., LEMKE, C., & LINSS, W. Hemolysis of human erythrocytes with saponin affects the membrane structure. **Acta Histochemica**, v. 102(1), p. 21-35, 2000.
- BEZERRA, D. A. C. Contribuição ao estudo químico de plantas tóxicas do semiárido: *Crotalaria vitellina* Ker Gawl e *Ipomoea philomega* (Vell.) House. Tese (Doutorado Doutorado em Produtos Naturais e sintéticos bioativos) – Universidade Federal da Paraíba, 2013).
- BITENCOURT, CM; FÁVARO-TRINDADE, CS; SOBRAL, PJA Gelatin-based films additivated with curcuma ethanol extract: Antioxidant activity and physical properties of films. **Food Hydrocolloids**. Volume 40, October, Pages 145-152, 2014.
- BOISDE, P. M., MEULY, W. C. & STAFF, U. B. Coumarin. In Kirk - Othmer Encyclopedia of Chemical Technology. **John Wiley & Sons**, Inc (Ed.), 2014.
- CABRERA-OROZCO, A.; JIMÉNEZ-MARTÍNEZ, C.; DÁVILA-ORTIZ, G. Soybean: Non-Nutritional Factors and Their Biological Functionality, Soybean - Bio-Active Compounds, Prof. Hany El-Shemy (Ed.), **InTech**, 2013.
- CARBALLO-ARCE, A. F., TA, C. A. K., ROCHA, M. E. DO N., LIU, R., HARMSSEN, I., MOGG, C. D., ARNASON, J. T. (2015). Antimicrobial activities of Marcgraviaceae species and isolation of a naphthoquinone from *Marcgravia nervosa* (Marcgraviaceae). **Botany**, v.

93(7), p. 413–424, 2015.

CARVALHO, J.; MARTINS, J.; MENDONÇA, M. da C.; LIMA, L. Uso popular das plantas medicinais na comunidade da várzea, Garanhuns - Pe. **Revista de biologia e ciências da terra**, v. 13, n. 2, p. 58–65, 2013.

CH, M. J. The clinical feasibility of natural medicine, venotonic therapy and horsechestnut seed extract in the treatment of venous leg ulceration: a descriptive survey. **Complementary Therapies in Nursing and Midwifery**, v. 10, n. 2, p. 97-109, 2004.

CHUNG, Pooi Yin. Novel targets of pentacyclic triterpenoids in *Staphylococcus aureus*: A systematic review. **Phytomedicine**, 2019.

DE GEYTER, N; GHOLAMI, A; GOORMACHTIG, S; GOOSSENS, A. Transcriptional machineries in jasmonate-elicited plant secondary metabolism. **Trends in Plant Science**. Volume 17, Issue 6, Pages 349-359, 2012.

DE LEO, M., DE TOMMASI, N., SANOGO, R., D'ANGELO, V., GERMANÒ, M.P., BISIGNANO, G., BRACA, A. Triterpenoid saponins from *Pteleopsis suberosa* stem bark. **Phytochemistry**, v. 67, p. 2623–2629, 2006.

DEWICK, P. M. **Medicinal natural products: a biosynthetic approach**. (Wiley, Chichester, UK, 2009).

DRESSLER, S. Marcgraviaceae (shingle plant family) In Flowering plants of the neotropics. Edited by N. Smith, S.A. Mori, A. Henderson, D.W.M. Stevenson, and S. V. Heald. **Princeton University Press**, Princeton, N.J. p. 236–238, 2004.

ESTRADA, A.; KATSELIS, G. S.; LAARVELD, B.; BARL, B. Isolation and evaluation of immunological adjuvant activities of saponins from *Polygala senega* L. **Comparative Immunology Microbiology and Infectious Diseases**, v. 23, n. 1, p. 27-43, 2000.

FAUSTINO, A. R. C. **Preparação de novos triterpenoides semi-sintéticos**. Dissertação (Mestrado em Química Farmacêutica Industrial) – Universidade de Coimbra, Portugal, 2015.

FERNANDES, D. A. Estudo fitoquímico de *Helicteres velutina* K. Schum (Sterculiaceae) e avaliação do seu potencial larvicida contra *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). Tese (Doutorado em Produtos Naturais e sintéticos bioativos) – Universidade Federal da Paraíba, 2017.

FERREIRA, G. L. **Estudo Taxonômico das Espécies Brasileiras do Gênero Norantea Aublet (Marcgraviaceae)**. Arq. Jard. Bot. RJ, v. 33, n. 2, p. 9-53, 1995.

FIALHO, L. G.; DA SILVA, V. P.; REIS, S. R. N. I.; AZEREDO, E. L.; K., M. A. C.; FIGUEIREDO, M. R.; KUBELKA, C. F. Antiviral and Immunomodulatory Effects of *Norantea brasiliensis* Choisy on Dengue Virus-2. **Intervirology**, v. 59, p. 217-227, 2016.

FIORUCCI, AR; SOARES, MHFB; CAVALHEIRO, ÉTG. **Ácidos orgânicos: dos primórdios da química experimental à sua presença em nosso cotidiano**. Repositório, Rio

de Janeiro, Vol. 1, 2002.

GARRARD, A. Coumarins. **Encyclopedia of Toxicology**, p. 1052–1054, 2014.

GIRALDO-CAÑAS, D. Las especies del género *Schwartzia* (Complejo *Norantea*, Marcgraviaceae) en Brasil. **Darwiniana**, v. 42, n.1-4, p. 169-175, 2004.

GIRALDOCAÑAS, D. Relaciones fitogeográficas de las sierras y afloramientos rocosos de la Guayana colombiana: un estudio preliminar Phytogeographical relationships of Sierras and the rocky sandstone outcrops of the Colombian Guayana: a preliminary analysis. **Rev. chil. hist. nat.** v.74 n.2 Santiago jun. 2001.

GIRALDO-CAÑAS, D.; FIASCHI, P. Las Marcgraviaceae (Ericales) de Brasil: Las especies del complejo *Norantea*. **Caldasia**, v. 27, n. 2, p. 173-194, 2005.

GNANAPRAGASAM, A.; EBENEZAR, K. K.; SATHISH, V.; GOVINDARAJU, P.; DEVAKI, T. Protective effect of *Centella asiatica* on antioxidant tissue defense system against adriamycin induced cardiomyopathy in rats. **Life Science**, v. 76, n. 5, p. 585-597, 2004.

GÜÇLÜ-ÜSTÜNDAĞ, O. and G MAZZA. Saponins: properties, applications and processing. **Journal Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. Volume 47, pages 231-258, 2007.

HILL, Robert A.; CONNOLLY, Joseph D. Triterpenoids. **Natural Product Reports**, v. 34, n. 1, p. 90–122, 2017.

HOSTETTMANN, K.; MARSTON, A. Saponins. Cambridge, New York: **Cambridge University Press**, 1995.

IGNEA, C., PONTINI, M., MOTAWIA, M.S. et al. Synthesis of 11-carbon terpenoids in yeast using protein and metabolic engineering. **Nat Chem Biol**, v. 14, p. 1090–1098, 2018.

JUNG, J.; SEO, J.; KIM, J.; KIM, J. H.. Ursolic acid causes cell death in pc-12 cells by inducing apoptosis and impairing autophagy. **Anticancer Research**, 38 (2), p. 847-853, 2018.

KASHIWADA, YO; WANG, H; NAGAO, T; YASUDA, S. K. I. Lee. Anti-AIDS Agents. 30. Anti-HIV Activity of Oleanolic Acid, Pomolic Acid, and Structurally Related Triterpenoids. **J. Nat. Prod.** 61, 9, 1090-1095, 1998.

KENJI, O., MATSUDA, H., MURAKAMI, T., KATAYAMA, S., OHGITANI, T., & YOSHIKAWA, M. Adjuvant and haemolytic activities of 47 saponins derived from medicinal and food plants. **Biological Chemistry**, 381(1), 67-74, 2000.

LACY, A., O'KENNEDY, R. Studies on Coumarins and Coumarin-Related Compounds to Determine their Therapeutic Role in the Treatment of Cancer. **Current Pharmaceutical Design**, v. 10(30), p. 3797–3811, 2004.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas. 2. ed. **Nova Odessa: Plantarum**, p. 544, 2008.

MARTINS, R. A. C. Efeito de adjuvantes sobre absorção de zinco e manganês na adubação foliar. Tese (Doutorado em Agronomia- Área de concentração: Produção Vegetal) Universidade Federal de Goiás – Jataí. 2009.

MATERN, U., LÜER, P., & KREUSCH, D. Biosynthesis of Coumarins. **Comprehensive Natural Products Chemistry**, p. 623–637, 1999.

MATOS, M. J., SANTANA, L., URIARTE, E., ABREU, O. A., MOLINA, E., & YORDI, E. G. Coumarins — An Important Class of Phytochemicals. **Phytochemicals - Isolation, Characterisation and Role in Human Health**, 2015.

MELO JÚNIOR, J. C. F., AMORIM M. W., ARRIOLA, I. A. Anatomia Da Madeira De *Schwartzia Brasiliensis* (Choisy) Bedell Ex. Gir. -Cañas (*Marcgraviaceae*). **Balduinia**, n. 55, p. 08-16, 10-XI, 2016.

MELO, J. I. M., RODRIGUES, E. M., SOUZA, S. M. La familia Marcgraviaceae en el estado de Paraíba, Brasil. The family Marcgraviaceae in Paraíba State, Brazil. 2018.

MENEZES, J. C. J. M. D. S., & DIEDERICH, M. F. Natural dimers of coumarin, chalcones, and resveratrol and the link between structure and pharmacology. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 2019.

MIMAKI, Y., HARADA, H., SAKUMA, C., HARAGUCHI, M., YUI, S., KUDO, T., SASHIDA, Y. Contortisiliosides A–G: Isolation of Seven New Triterpene Bisdesmosides from *Enterolobium contortisiliquum* and Their Cytotoxic Activity. **Helvetica Chimica Acta**, 87(4), 851–865. 2004.

MISA WARD, N., & PRICE, R.A. Phylogenetic relationships of Marcgraviaceae: insights from three chloroplast genes. **Syst. Bot.** v. 27(1), p. 149–160, 2002.

MISHRA, S., PANDEY, A., & MANVATI, S. Coumarin: An emerging antiviral agent. **Heliyon**, v. 6(1), 2020.

MULLALLY, M., KRAMP, K., CAYER, C., SALEEM, A., AHMED, F., MCRAE, C., BAKER, J., GOULAH, A., OTOROLA, M., SANCHEZ, P., GARCIA, M., POVEDA, L., MERALI, Z., DURST, T., TRUDEAU, V.L., & ARNASON, J.T. Anxiolytic activity of a super-critical carbon dioxide extract of *Souroubea sympetala* (Marcgraviaceae). **Phytother. Res.** 25(2): p. 264–270, 2011.

MUSENDE, A.G., EBERDING, A., WOOD, C., ADOMAT, H., FAZLI, L., HURTADO-COLL, A., JIA, W., BALLY, M.B., GUNS, E.T. Pre-clinical evaluation of Rh2 in PC-3 human xenograft model for prostate cancer in vivo: formulation, pharmacokinetics, biodistribution and efficacy. **Cancer Chemotherapy and Pharmacology**, v. 64, p. 1085–1095, 2009.

NASCIMENTO, Y.M; ABREU, L. S.; LIMA, R. L.; COSTA, V. C. O.; MELO, J. I. M.; BRAZ-FILHO, R.; SILVA, M. S.; TAVARES, J. F. Rapid Characterization of Triterpene Saponins from *Zornia brasiliensis* by HPLC-ESI-MS/MS. **Molecules**, , 24, 2519, 2019.

NÚÑEZ, Marvin J. et al. Triterpenoids from *Cassine xylocarpa* and *Celastrus vulcanicola*

(Celastraceae). **Phytochemistry Letters**, v. 6, n. 1, p. 148–151, 2013.

OLIVEIRA, A. C. F. de; NOGUEIRA, J. R.; SILVA, G. F. da; LIMA, E. S.; ALBUQUERQUE, P. M. Estudo Fitoquímico e da Atividade Antioxidante de *Aniba parviflora*. **The Journal of Engineering and Exact Sciences**, v. 3, n. 4, 2017.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S.; VYVYAN, J. R. **Introdução à espectroscopia**. 4º ed., São Paulo: Cengage Learning, 2010.

PENTA, S. Introduction to Coumarin and SAR. **Advances in Structure and Activity Relationship of Coumarin Derivatives**, p. 1–8, 2016.

PIET, M; PADUCH, R. Ursolic and oleanolic acids as potential anticancer agents acting in gastrointestinal tract. **Mini Reviews in Organic Chemistry**, 16 (1), p. 78-91, 2019.

PINHEIRO, M.C.B.; ORMOND, W.T.; LIMA, H.A.; CORREIA, M.C.R. Biologia da Reprodução de *Norantea brasiliensis* Choisy (Marcgraviaceae). **Rev. Brasil. Biol.**, v.55, Supl.1, p.79-88, 1995.

PODOLAK, A; GALANTY, D; SOBOLEWSKA, A.R. Saponins as cytotoxic agents: a review. **Phytochemistry Reviews**. Volume 9, Issue 3, pp 425–474, 2010.

POUMALE, H. M. P., HAMM, R., ZANG, Y., SHIONO, Y., & KUETE, V. Coumarins and Related Compounds from the Medicinal Plants of Africa. **Medicinal Plant Research in Africa**, p. 261–300, 2013.

PUNIANI, E., CAYER, C., KENT, P., MULLALLY, M., SÁNCHEZ-VINDAS, P., POVEDA ÁLVAREZ, L., CAL, V., MERALI, Z., ARNASON, J.T., & DURST, T. Ethnopharmacology of *Souroubea sympetala* and *Souroubea gilgii* (Marcgraviaceae) and identification of betulinic acid as an anxiolytic principle. **Phytochemistry**, v. 113, p. 73–78, 2015.

ROCHA M.E.N. Potencialidades Biodinâmicas de *Norantea brasiliensis* Choisy (Marcgraviaceae). [Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular)]. FIOCRUZ. 2002.

ROON, A.C; DRESSLER, S. New taxa of *Norantea* Aubl. s.l. (Marcgraviaceae) from Central America and adjacent South America. Nuevos taxones de *Norantea* Aubl. s.l. (Marcgraviaceae) de Centroamérica y Suramérica vecina. v. 119, no. 3, p. 327-335, 1997.

SALVADOR, JORGE A.R. et al. Oleanane-, ursane-, and quinone methide friedelanetype triterpenoid derivatives: Recent advances in cancer treatment. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 142, p. 95–130, 2017.

SANTOS, M. A. S. Síntese de ésteres derivados de triterpenos e esteroides com potencial atividade biológica. Tese (Doutorado em Química). **Universidade Federal da Bahia**. Salvador, BA, 2015.

SANTOS, R. A. F. **Avaliação das propriedades biológicas dos derivados sintéticos de ácidos triterpênicos do β -sitosterol e triterpenos**. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal da Bahia. Salvador, BA, 2010.

SANTOS, R. L.; GUIMARAES, G. P.; NOBRE, M. S. C.; PORTELA, A. S. Análise sobre a fitoterapia como prática integrativa no Sistema Único de Saúde. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, n. 4, p. 486–491, 2011.

SANTOS, M.A.S. **Isolamento e síntese de derivados de ácidos triterpênicos e esteroides e avaliação da ação de inibição de proteases**. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal da Bahia. Salvador, BA, 2011.

SAZIMA, I. and STRUSSMANN, C. The snake assemblage of the Pantanal at Poconé, Western Brazil: Faunal composition and ecological summary. **Studies on Neotropical Fauna and Environment**. Volume 28, pages 157-158. 1993.

SCHÖNENBERGER, J.; VON BALTHAZAR, M.; SYSTMA, K.J. Diversity and evolution of floral structure among early diverging lineages in the Ericales. **Phil. Trans. R. Soc. B.**, v. 365, p. 437-448, 2010.

SCHULTZ A.R.H. **Introdução a botânica sistemática**. 4 ed: Editora Universidade; 1984.

SILVA V. P. Estudo Químico e Atividade Biológica de *Norantea brasiliensis* Choisy (Marcgraviaceae). [Dissertação (Mestrado em Química de Produtos Naturais)]. Niversidade Federal do Rio de Janeiro. 2012.

SILVA, F. A.; BIZERRA, A. M. C.; FERNANDES, P. R. D. Testes fitoquímicos em extrato orgânico de *Bixa orellana* L (urucum). **Holos**, v. 02, p. 484-498, 2018.

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

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. Farmacognosia: do produto natural ao medicamento. Porto Alegre/RS: Editora Artmed. 502 pp. 2017

SOUZA, F. H. T. Fitoquímica de *Borrenia verticillata* (L.) G. MEY., *Borrenia ocymoides* (BURM. F.) DC. e *Richardia brasiliensis* (rubiacae). Tese (Doutorado em Produtos Naturais e sintéticos bioativos) – Universidade Federal da Paraíba, 2013.

SOUZA, V.C. Marcgraviaceae. **In: Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2015.

SUN, J.-C., LI, J.-L., JI, C.-B., PENG, Y.-Y., & ZENG, X.-P. Construction of Cyclopropa[c]coumarins via cascade Michael-alkylation process of 3-cyanocoumarin with 2-bromomalonate. **Tetrahedron**, 2019.

SUN, S.-X., LI, Y.-M., FANG, W.-R., CHENG, P., LIU, L., LI, F. Effect and mechanism of AR-6 in experimental rheumatoid arthritis. **Clinical and Experimental Medicine**, v. 10, p. 113–121, 2010.

TEIXEIRA, M. D. R., FIASCHI, P., & AMORIM, A. M. Flora da Bahia: Marcgraviaceae. **Sitientibus série Ciências Biológicas**, v. 13, 2013.

TENG, R., LI, H., CHEN, J., WANG, D., HE, Y., & YANG, C. Complete assignment of ^1H and ^{13}C NMR data for nine protopanaxatriol glycosides. **Magnetic Resonance in Chemistry**, 40(7), 483–488. 2002.

TETALI, S. D. Terpenes and isoprenoids: a wealth of compounds for global use. **Planta**, p. 1–8, 2018.

TRAORE-KEITA, DR. M.; GASQUET C; DI GIORGIO E; OLLIVIER F; DELMAS A; KEITA O; DOUMBO G; BALANSARD P; TIMON-DAVID. Antimalarial activity of four plants used in traditional medicine in Mali. **Phytotherapy Research**. Pages 45–47, 2000.

TU, Q.X.; ZHAO, H.G.; CHENG, Y.P.; CHEN, Y.M.; HUANG, X.P.; CHEN, Y.M.; HAN, M. Comparison study on clinical efficacy of Jitai capsule with lofexidine in the treatment of opiate addicts. **Chin. J. Drug Depend.** 4, 285–287. 1999.

VARANDA, E. A. Atividade mutagênica de plantas medicinais. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.**, v. 27, n. 1, p. 1–7, São Paulo, 2006.

VARSHNEY, I. P., & KHAN, M. S. Y. Saponins and Sapogenins VII. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, 50(11), 923–925. 1961.

VARSHNEY, I. P., & KHAN, S. Y. Saponins and Sapogenins XVIII—Isolation of Proceric Acid, a New Triterpenic Acid, from Maharashtrian Albizzia procera Seeds. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, 53(12), 1532–1533. 1964.

VEIGA-JÚNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M.; Plantas Medicinais: Cura Segura? **Química Nova**, v. 28, n. 3, p. 519–528, 2005.

VENDRUSCOLO, G. S.; RATES, S. M. K.; MENTZ, L. A. Dados químicos e farmacológicos sobre as plantas utilizadas como medicinais pela comunidade do bairro Ponta Grossa, Porto Alegre, Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 4, p. 361–372, 2005.

VENUGOPALA, K. N., RASHMI, V., & ODHAV, B. Review on Natural Coumarin Lead Compounds for Their Pharmacological Activity. **BioMed Research International**, p. 1–14, 2013.

VONBALTHAZAR, M., & SCHÖNENBERGER, J. 2013. Comparative floral structure and systematics in the balsaminoid clade including Balsaminaceae, Marcgraviaceae and Tetrameristaceae (Ericales). **Bot. J. Linn. Soc.** v. 173(3), p. 325–386, 2013.

WANG, S., LIU, L., WANG, L., HU, Y., ZHANG, W., & LIU, R. Structural Characterization and Identification of Major Constituents in Jitai Tablets by High-Performance Liquid Chromatography/Diode-Array Detection Coupled with Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry. **Molecules**, 17(9), 10470–10493. 2012.

WARD, N.; PRICE, R. Phylogenetic relationships of Marcgraviaceae: Insights from three chloroplast genes. **Syst. Bot.**, v. 27, p. 149–160, 2002.

WOODSON, R.E., JR, SCHERY, R.W., & DERON, A.C. 1970. Flora of Panama. Part IV. Family 121. Marcgraviaceae. **Ann. Mo. Bot. Gard.** v. 57(1), p. 29–50, 1970.

XIAO, SULONG et al. Recent progress in the antiviral activity and mechanism study of pentacyclic triterpenoids and their derivatives. **Medicinal Research Reviews**, v. 38, n. 3, p. 951–976, 2018.

YOKOSUKA, A., OKABE, G., TATSUNO, S., & MIMAKI, Y. Stryphnosides G–P, 10 new triterpene glycosides from the pericarps of *Stryphnodendron fissuratum*. **Carbohydrate Research**, 434, 18–26. 2016.

YOUSEF, BASHIR A. et al. Pristimerin exhibits in vitro and in vivo anticancer activities through inhibition of nuclear factor- κ B signaling pathway in colorectal cancer cells. **Phytomedicine**, v. 40, p. 140–147, 2018.

ZAMITH, L.R. & SCARANO, F.R. Produção de mudas de espécies das restingas do município do Rio de Janeiro, RJ, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 18, p. 161-176, 2004.

ZHANG, L., & XU, Z. Coumarin-containing hybrids and their anticancer activities. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 2019.