



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
CURSO DE GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA

EMILLE WANNICK REINALDO DA SILVA

PROSPECÇÃO DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DAS PARTES
AÉREAS DE *Erythroxylum rimosum* O. E. SCHULZ
(ERYTHOXYLACEAE)

JOÃO PESSOA - PB

2021

EMILLE WANNICK REINALDO DA SILVA

**PROSPECÇÃO DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DAS PARTES
AÉREAS DE *Erythroxylum rimosum* O. E. SCHULZ
(ERYTHOXYLACEAE)**

**Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Coordenação do Curso de
Graduação em Farmácia, do Centro de
Ciências da Saúde, da Universidade
Federal da Paraíba, como parte dos
requisitos para obtenção do grau de
Bacharel em Farmácia.**

ORIENTADOR: Prof. Dr Sócrates Golzio dos Santos

COORIENTADOR: Dr. Vicente Carlos de Oliveira Costa

JOÃO PESSOA - PB

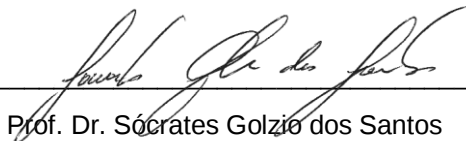
2021

EMILLE WANNICK REINALDO DA SILVA

**PROSPECÇÃO DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DAS PARTES
AÉREAS DE *Erythroxylum rimosum* O. E. SCHULZ
(ERYTHOXYLACEAE)**

**Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Coordenação do Curso de
Farmácia da Universidade Federal da
Paraíba, como pré-requisitos para
obtenção do grau de Bacharel em
Farmácia.**

Aprovado em 02 de Junho de 2021.



Prof. Dr. Sócrates Golzio dos Santos

Orientador - UFPB



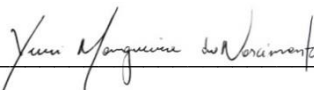
Prof. Dr. Vicente Carlos de Oliveira Costa

Coorientador – UFPB



Dra. Maria Madalena Rocha Silva Teles

Examinadora – UFPB



Dr. Yuri Manguiera do Nascimento - Examinador

Examinador – UFPB

JOÃO PESSOA - PB

2021

“Nos meus dias me disseram que as mulheres não podiam ser químicas.

Não vi motivo para não podermos”

- Gertrude Elion

A minha mãe, exemplo de mulher forte, por todo amor e incentivo ao longo da vida.

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, por estar comigo em todos os momentos, pelos sonhos realizados, e por ter conseguido chegar até aqui.

A minha mãe **Regina Eulina**, meu exemplo de força e calma, por me proteger, me apoiar e me incentivar sempre a conquistar meus sonhos. Tudo isso é por você

Ao meu pai **Lucilo Dias da Silva**, pelos ensinamentos de como enfrentar essa vida.

Ao meu irmão **João Lucas Dias**, por ser meu companheiro em todas as horas, e ser luz em minha vida, desde seu nascimento.

A **minha família, avó, tias, e primas** por acreditarem e apoiarem em cada degrau que já tentei subir.

A minha família em João Pessoa: **Luís Eduardo, Igor Gabriel e Myrelle Dias**, por ser meu porto seguro na maioria das vezes e por todas as vezes que me fizeram sentir-se bem após cada uma de nossas reuniões, mesmo tudo estando complicado.

A minha amiga **Thyfanne**, por estar comigo nos piores e melhores momentos.

Ao meu amigo **João Batista**, por ser meu companheiro na ciência.

As minhas amigas **Radimila, Isabel e Ywkiane**, por cada vez que me ouviram, por cada conselho e pela calma que me trazem.

Ao meu orientador **Vicente Carlos**, por toda ajuda durante os anos de Iniciação Científica, mesmo quando havia deixado de ser meu orientador. Por ser também, pai e amigo.

Ao meu amigo mestre **Pedro Figueiredo**, a quem acompanhei no início da iniciação científica e, sempre me ajudou em todas as dúvidas.

Aos meus amigos **Ana Rita Rodrigues, Arthur Gouveia, Gabriela Ribeiro, Natan e César** pelo companheirismo e acolhimento no laboratório e, pela amizade fora dele.

A toda equipe **SFCB** (Sobral, Fechine, Costa e Barbosa) os pós-graduandos, técnicos, alunos de Iniciação Científica, professores e, terceirizados que constroem essa equipe.

RESUMO

O amplo uso de espécies vegetais para fins terapêuticos deve-se ao fato de que as plantas são fontes de fitoquímicos naturais e, para manter sua homeostase interna, sintetizam e armazenam uma variedade de metabólitos. *Erythroxylum rimosum* O. E. Schulz é um subarbusto com registros nos Estados do Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco e Sergipe. Estudos prévios com *E. rimosum* relataram a presença de triterpenos pentacíclicos, esteroides, alcaloides tropânicos e flavonoides. Entretanto, os estudos acerca dessa espécie ainda são muito escassos. Neste contexto, realizou-se um estudo fitoquímico do extrato etanólico bruto (EEB) das partes aéreas de *E. rimosum*. O material vegetal foi coletado no município de Pirambu, estado de Sergipe e identificado pela Profa. Dra. Ana Paula do Nascimento Prata, do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Sergipe (UFS). Para obtenção do EEB, o material foi seco em estufa, triturado e submetido à maceração com etanol (EtOH) a 95%. O extrato etanólico bruto foi dissolvido em uma solução de metanol:água (7:3 v/v) e submetido a uma partição com os solventes hexano, diclorometano e acetato de etila. A fase acetato de etila foi submetida à cromatografia em coluna, utilizando sílica gel como fase estacionária e como fase móvel, os solventes hexano, acetato de etila e metanol. Foram obtidas 30 frações que foram reunidas de acordo com os seus respectivos fatores de retenção (R_fs). A reunião das frações de 6 a 7, codificada como Eri-1, foi submetida a análise por Ressonância Magnética Nuclear (RMN)¹H,¹³C-apt e comparada com os dados da literatura, sendo identificada como Catequina, já isolada na espécie em estudo. A fase Hexânica foi submetida a cromatografia de média pressão utilizando sílica gel como fase estacionária e, como fase móvel, os solventes hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol. Foram obtidas 86 frações que foram reunidas de acordo com seus R_Fs. A reunião das frações 23 a 26, codificada como Eri-2, foi submetida aos mesmos métodos de análise que Eri-1, sendo identificada como 3-oxo-friedelano, relatado pela primeira vez nesta espécie.

Palavras-chave: Erythroxylaceae. *Erythroxylum*. Flavonoide. Triterpeno.

ABSTRACT

The wide use of plant species for therapeutic purposes is due to the fact that plants are sources of natural phytochemicals and, in order to maintain their internal homeostasis, they synthesize and store a variety of metabolites. *Erythroxylum rimosum* O. E. Schulz is a sub-shrub with records in the States of Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco and Sergipe. Previous studies with *E. rimosum* reported the presence of pentacyclic triterpenes, steroids, tropic alkaloids and flavonoids. However, studies about this species are still very scarce. In this context, a phytochemical study of the crude ethanol extract (BSE) from the aerial parts of *E. rimosum* was carried out. The plant material was collected in the municipality of Pirambu, state of Sergipe and identified by Profa. Dr. Ana Paula do Nascimento Prata, from the Department of Biology at the Federal University of Sergipe (UFS). To obtain the BSE, the material was dried in an oven, crushed and submitted to maceration with 95% ethanol (EtOH). The crude ethanol extract was dissolved in a methanol:water (7:3 v/v) solution and partitioned with hexane, dichloromethane and ethyl acetate solvents. The ethyl acetate phase was subjected to column chromatography, using silica gel as stationary phase and as mobile phase, the solvents hexane, ethyl acetate and methanol. Thirty fractions were obtained and pooled according to their respective retention factors (R_fs). The pooling of fractions from 6 to 7, coded as Eri-1, was analyzed by Nuclear Magnetic Resonance (NMR)¹H,¹³C-ap^t and compared with literature data, being identified as Catechin, already isolated in the species under study. . The Hexanic phase was subjected to medium pressure chromatography using silica gel as stationary phase and, as mobile phase, the solvents hexane, chloroform, ethyl acetate and methanol. 86 fractions were obtained that were pooled according to their R_Fs. The pool of fractions 23 to 26, coded as Eri-2, was submitted to the same methods of analysis as Eri-1, being identified as 3-oxo-friedelane, reported for the first time in this species.

Keywords: Erythroxylaceae. *Erythroxylum*. Flavonoid. Triterpene.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: <i>Erythroxylum rimosum</i>	21
Figura 2: : Esqueleto Flavonoídico Básico.....	22
Figura 3: Rota Biosintética de Flavonoides.....	23
Figura 4 : Classes Flavonoídicas e seus percussores.....	24
Figura 5: Rota do Malonil CoA.....	26
Figura 6: Principais Classes de Triterpenos Pentacíclicos.....	27
Figura 7: Espectro de RMN de ^1H (CD_3OD , 500 MHz) de Eri-1.....	35
Figura 8: Espectro de RMN de ^1H (CD_3OD , 500 MHz) de Eri-1 (Expansão).....	36
Figura 9: Espectro de RMN de ^{13}C (CD_3OD , 125 MHz) de Eri-1.....	36
Figura 10: Espectro de RMN de ^{13}C (CD_3OD , 125 MHz) de Eri-1 (Expansão 1).....	37
Figura 11: Espectro de RMN de ^{13}C (CD_3OD , 125 MHz) de Eri-1 (Expansão 2).....	37
Figura 12 Espectro de RMN de ^{13}C (CD_3OD , 125 MHz) de Eri-1 (Expansão 3).....	38
Figura 13: : Dados de RMN ^1H e ^{13}C -APT para o carbono na posição 2 e 3 de Eri-1 e de seu epímero epicatequina.....	38
Figura 14: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) de Eri-2.....	41
Figura 15: Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz) de Eri-2.....	41
Figura 16: Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz) de Eri-2 (Expansão).....	42
Figura 17: Estrutura da substância 3-oxo-friedelano (Friedelina).....	42
Figura 18: Anel A do esqueleto triterpênico das classes Lupano, Ursano, Oleanano e Friedelano.....	43

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 : Obtenção e fracionamento do extrato etanólico bruto das partes aéreas de *Erythroxylum rimosum* O. E. Schulz.....31

Esquema 2 : Fracionamento cromatográfico da fase acetato de etila das folhas de *Erythroxylum rimosum* O. E. Schulz.....32

Esquema 3 : Fracionamento cromatográfico da fase hexânica das folhas de *Erythroxylum rimosum* O. E. Schulz.....33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Classificação de terpenos de acordo com número de carbonos.....26

Tabela 2: Dados de RMN ^1H e ^{13}C -APT de Eri-1 (500 x 125 MHz em CD_3OD) e da catequina na literatura (400 x 100 MHz em CD_3OD).....39

Tabela 3: Dados de RMN ^1H e ^{13}C -APT de Eri-2 (400 x 100 MHz em CDCl_3) e do 3-oxo-friedelano na literatura (400 x 100 MHz em CDCl_3).....44

LISTA DE ABREVIATURAS

AcOEt	Acetato de etila
APT	“Attached Proton Test”
CC	Cromatografia em Coluna
CCDA	Cromatografia em Camada Delgada Analítica
CD ₃ OD	Metanol Deuterado
CH ₃ OH	Metanol
CHCl ₃	Clorofórmio
d	Dupleto
DCM	Diclorometano
dd	Duplo dupleto
ddd	Duplo duplo dupleto
dddd	Duplo duplo duplo dupleto
DMAPP	Pirofosfato de Dimetilalilo
EEB	Extrato etanólico bruto
ECA	Enzima Conversora de Angiotensina
Er	Erythroxylum rimosum
FDA	“Food and Drug Administration”
EtOH	Etanol
Hex	Hexano
IPP	Difosfato de isopentenilo
m	Multiplete

MeOH	Metanol
MHz	Megahertz
NADPH	Fosfato de dinucleótido de nicotinamida e adenina
OMS	Organização Mundial de Saúde
PNPIC	Política Nacional de Prática Integrativas e Complementares
PNPMF	Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos
ppm	Partes por milhão
RENISUS	Relação Nacional de Plantas de Interesse ao SUS
Rfs	Fatores de retenção
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
RMN ¹³ C	Ressonância Magnética Nuclear de carbono treze
RMN ¹ H	Ressonância Magnética Nuclear de hidrogênio
s	Singleto
sl	Singleto largo
SUS	Sistema Único de Saúde
UFPB	Universidade Federal da Paraíba
UFS	Universidade Federal de Sergipe
δ	Deslocamento químico

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	17
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	18
2.1. Erythroxylaceae.....	18
2.2. Gênero <i>Erythroxylum</i>	19
2.3. <i>Erythroxylum rimosum</i> O. E. Schulz.....	21
2.4. Flavonoides.....	21
2.5. Terpenos.....	25
3. OBJETIVOS.....	28
3.1. Geral.....	28
3.2. Específicos.....	28
4. METODOLOGIA.....	28
4.1. Materiais e Equipamentos.....	28
4.1.1. Cromatografia Clássica.....	28
4.1.2. Cromatografia em Camada Delgada Analítica.....	29
4.1.3. Cromatografia Líquida sob Média Pressão.....	29
4.1.4. Análises por ressonância magnética nuclear de ^1H e ^{13}C	29
4.2. Coleta do Material Vegetal.....	30
4.3. Processamento do material vegetal de <i>Erythroxylum rimosum</i> O. E. Schulz.....	30
4.4. Obtenção do extrato etanólico bruto (EEB) das folhas de <i>Erythroxylum rimosum</i> O. E. Schulz.....	30

4.5. Fracionamento do extrato etanólico bruto (EEB) do material vegetal de <i>Erythroxylum rimosum</i> O. E. Schulz.....	31
4.6. Fracionamento cromatográfico da fase acetato de etila das folhas de <i>Erythroxylum rimosum</i> O. E. Schulz.....	32
4.7. Fracionamento cromatográfico da fase hexânica das folhas de <i>Erythroxylum rimosum</i> O. E. Schulz.....	33
5. RESULTADOS e DISCUSSÃO.....	34
5.1. Estudo Fitoquímico das partes aéreas de <i>Erythroxylum rimosum</i> O. E. Schulz.....	34
5.1.1. Identificação estrutural de Eri-1.....	34
5.1.2. Identificação estrutural de Eri-2.....	39
6. CONCLUSÃO.....	45
7. REFERÊNCIAS.....	46

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

S598p Silva, Emille Wannick Reinaldo da.

Prospecção de metabólitos secundários das partes aéreas
de *Erythroxylum rimosum* O. E. Schulz (Erythroxylaceae) /
Emille Wannick Reinaldo da Silva. - João Pessoa, 2021.
51 f. : il.

Orientação: Sócrates Golzio dos Santos, Vicente Carlos
de Oliveira Costa.
TCC (Graduação) - UFPB/CCS.

1. Erythroxylaceae. 2. Erythroxylum. 3. Flavonoide. 4.
Triterpeno. I. Santos, Sócrates Golzio dos. II. Costa,
Vicente Carlos de Oliveira. III. Título.

UFPB/CCS

CDU 633.881

1. INTRODUÇÃO

Um estudo realizado pela Organização Mundial de Saúde (OMS) que avaliou o uso de fitoterápicos pela população mundial revelou que cerca de 80% da população em países em desenvolvimento aplicam os estudos empíricos milenares das plantas para a cura e a prevenção de doenças (OLIVEIRA et al., 2014). Entre os anos de 1981 e 2014, foi observado que entre as 1211 micromoléculas aprovadas como fármacos pelo FDA (Food and Drug Administration), cerca de 65% possuem uma profunda correlação com as estruturas encontradas nos produtos naturais ou são derivados diretos de alguma fonte biológica (NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M.; J., 2016).

No Brasil, a utilização de plantas medicinais possui alguns facilitadores, como a grande diversidade vegetal e o baixo custo associado à terapêutica, fatores que despertam a atenção dos programas de assistência à saúde e profissionais (IANCK, 2017). Existem políticas nacionais que incentivam a implementação da Fitoterapia: a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMF) e a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC). Através destas políticas, são incrementadas discussões sobre a oportunidade, a importância, as dificuldades, facilidades e vantagens da implementação da Fitoterapia nos Serviços de Saúde do Sistema único de Saúde (SUS). Além destas, a Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (RENISUS) apresenta uma lista com 71 espécies vegetais com potencial para gerar fitoterápicos ao SUS. (BRASIL, 2006; BRASIL, 2009)

O amplo uso de espécies vegetais para fins terapêuticos deve-se ao fato de que as plantas são bancos fitoquímicos naturais e, para manter sua homeostase interna, sintetizam e armazenam uma variedade de metabólitos. Acredita-se que o armazenamento e a síntese de metabólitos sejam utilizados pelas plantas para sobrevivência e para combater vários estresses bióticos e abióticos (WENG, 2014; FÜRSTENBERG-HÄGG et al., 2013). Estes metabólitos são os verdadeiros

responsáveis pelos efeitos terapêuticos, alelopáticos e pesticidas das espécies vegetais. Com isso, o interesse científico e econômico na busca de novos compostos (GODINHO et al., 2015).

Uma das estratégias mais comuns para a investigação de plantas medicinais é a abordagem etnofarmacológica que consiste em combinar informações adquiridas junto a comunidades locais que fazem uso da flora medicinal com estudos fitoquímicos e farmacológicos realizados em laboratórios especializados. Esse tipo de seleção de espécies vegetais constitui um valioso atalho para a descoberta de novos fármacos (KOEHN et al., 2005; BRAZ-FILHO, 2010). No desenvolvimento dessas pesquisas são utilizados métodos extrativos e espectroscópicos que, promovem a extração de constituintes químicos, a realização da triagem fitoquímica qualitativa e/ou quantitativa, que direcionam os métodos cromatográficos e espectroscópicos a um promissor isolamento, purificação e caracterização estrutural dos metabólitos secundários (PICOLLI et al., 2015).

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. Família Erythroxylaceae

Erythroxylaceae é uma das 42 famílias de Angiospermas incluídas atualmente na ordem Malpighiales, juntamente com Euphorbiaceae, Linaceae, Malpighiaceae, Passifloraceae e Rhizophoraceae, dentre outras (XI et al. 2012). Erythroxylaceae apresenta grande afinidade com Rhizophoraceae, como evidenciado em alguns estudos. As principais características compartilhadas entre as duas famílias são a presença de coléteres, gemas terminais protegidas por estípulas e embriões verdes, além de alcaloides tropânicos e pirrolidínicos (JUDD; OLMSTEAD, 2004).

A família Erythroxylaceae compreende quatro gêneros e cerca de 250 espécies com distribuição pantropical, tendo seus principais centros de diversidade e endemismo na Venezuela, Brasil e Madagascar. Os gêneros que compõem a família

são: *Erythroxylum* P. Browne, *Aneulophus* Benth, *Nectaropetalum* Engl., *Pinacopodium* Excell & Mendonca. Dentre estes, o gênero *Erythroxylum* P. Browne certamente é o que possui mais espécies ao redor do mundo (SILVA FILHA, E., 2018).

No Brasil, são encontradas 129 espécies (FLORA DO BRASIL, 2019) das 187 registradas para a América tropical. Para o Nordeste brasileiro foram listadas 66 e uma variedade, dentre as quais 25 (37%) foram registradas apenas para essa região. No estado da Paraíba, pertencente à região Nordeste, foram registradas 13 espécies, sendo uma endêmica (ALBUQUERQUE et al., 2014).

Erythroxylaceae é uma importante família que produz metabólitos secundários ativos que vem demonstrando excelentes resultados frente ao sistema biológico (OLIVEIRA et al., 2012). Estudos farmacológicos com espécies dessa família demonstraram excelentes resultados frente ao sistema biológico como vasorelaxamento em células do músculo liso de ratos, atividade psicoativa, antimicrobiana e antitumoral. (LOIOLA, M. I. B, 2011. AGUIAR, S. J, 2012)

2.2. Gênero *Erythroxylum*

Erythroxylum P. Browne é o principal gênero da Família Erythroxylaceae, apresenta cerca de 240 espécies com ampla distribuição nas zonas tropical e subtropical do planeta. No Brasil, o gênero é composto por aproximadamente 74 espécies com distribuição restrita, correspondendo a 40% de todas as espécies da região tropical, encontradas nos mais diversos tipos de vegetação do país, possuindo ocorrência que se estende desde as florestas da Amazônia e Mata Atlântica, até as matas do Cerrado e Caatinga (SILVA, G.L., et. al., 2001). As plantas deste gênero são largamente usadas na medicina tradicional no tratamento de infecções bacterianas e/ou virais da pele, amenorreia, hemorragia, distúrbios renais e respiratórios, gripes, dores de estômago, para combater a fadiga e a sensação de fome e como estimulante; RODEIRO, I., et. al., 2008).

Quimicamente o gênero se caracteriza pela presença de alcaloides do grupo tropano, dentre os quais se destaca a cocaína, um alcaloide natural que é produzido, principalmente por *Erythroxylum coca* e *Erythroxylum novogranatense*. As espécies *E. coca* e *E. novogranatense*, conhecidas como “plantas de coca” ou simplesmente “coca”, são as principais representantes do gênero por produzirem cocaína de forma significativa em relação a outras que apresentam apenas traços desse alcaloide em sua composição micromolecular (COSTA-LIMA e ALVES, 2015; BIONDICH E JOSLIN, 2016; BROCK, A., 2021). Outros estudos com as espécies do gênero *Erythroxylum* culminaram no isolamento de vários metabólitos secundários, como flavonoides, esteroides, lactonas, cumarinas, açúcares redutores e taninos (GONZÁLEZ-GUEVARA et al., 2004).

A presença de flavonoides e ésteres de ácido graxo de triterpenos demonstram uma característica comum nas espécies brasileiras de *Erythroxylum*. Nas espécies deste gênero, há relatos da presença de compostos flavonoídicos como por exemplo a quercetina-3-O- α -L-ramnosídeo, ombuina-3-rutinosídeo e ombuina-3-rutinosídeo-5-glicosídeo em *Erythroxylum pulchrum*. (Albuquerque et al., 2014), quercetina em *E. Nummularia* (Barreiros et al., 2005), rutina em *E. ovalifolium* (OLIVEIRA et al., 2016) e astilbina em *E. gonocladum* (LUCAS-FILHO et al., 2010); bem como terpenóides como o ent-caur-16-en-3 β -ol em *E. Revolutum* Oliveira et al.(2012), β -sitosterol, lupenona, friedelanol e friedelan-3-ona em *E.daphinites* (ELIAS et al., 2016) , lupeol em *E. ovalifolium* e, friedelina nas folhas de *E. subsessile* (OLIVEIRA et al., 2016).

Algumas plantas desse gênero são alvos de estudos que tentam relacionar a atividade biológica com a composição micromolecular de seus extratos. O extrato etanólico das partes aéreas de *E. gonocladum* exibiu atividade anti-hipertensiva por meio da inibição da enzima conversora de angiotensina (ECA), ação atribuída à presença do composto astilbina na composição dos extratos dessa espécie (FILHO, M.D.L., 2010). Outras espécies apresentaram atividades farmacológicas, entre elas, *E. vacciniifolium* mostrou efeito anti HIV e contra infecções oportunistas em pacientes com HIV (ZANOLARI et al., 2003); Pervilleines A e B, isolados de *E. perville*, inibiram o crescimento de carcinoma de pele em células

KB-VI (MI et al., 2002), e outros tipos de alcaloides extraídos de *E. rotundifolium* também apresentam esta mesma atividade (CHÁVEZ et al., 2002).

2.3. *Erythroxylum rimosum* O. E. Schulz

Com registros nos Estados do Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco e Sergipe (LOIOLA ET AL. 2007, COSTA-LIMA et al. 2014, COSTA LIMA e ALVES, 2015), *Erythroxylum rimosum* habita formações savânicas no Nordeste do Brasil, em áreas de carrasco e nos tabuleiros litorâneos (COSTA-LIMA e ALVES, 2018).

Em estudos prévios do extrato etanólico bruto das folhas de *Erythroxylum rimosum* realizados por RIBEIRO (2011), foram identificados triterpenos pentacíclicos (α -amirina, β -amirina), esteroide (β -sitosterol), alcaloides tropânicos e flavonoides.

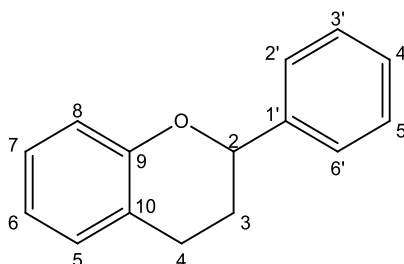
Figura 1: *Erythroxylum rimosum*



2.4 Flavonoides

Os flavonoides são um grande grupo de metabólitos secundários da classe dos polifenóis, componentes de baixo peso molecular encontrados em diversas espécies vegetais, sendo derivados da benzo- γ -pirona. Consistem de um esqueleto de difenil propano ($C_6C_3C_6$) com dois anéis benzênicos (A e B) ligados a um anel pirano (C). Podem ainda, se apresentar na forma de agliconas, glicosídeos ou ligados a outras classes de metabólitos secundários, como por exemplo, as flavolignanas, entretanto, apresentam-se com mais frequência na forma de glicosídeos (BEHLING, 2004).

Figura 2: Esqueleto Flavonoídico Básico



Esses compostos são biossintetizados pela via do ácido chiquímico, um intermediário essencial na síntese de substâncias aromáticas em plantas, tendo por utilidade originar o ácido cinâmico e seus derivados fenólicos, como os ácidos ferúlico, caféico e sináptico, que apresentam nove átomos de carbono. E pela via do acetato que produz um tricetídeo com seis átomos de carbono. Posteriormente ocorre a condensação de um derivado do ácido cinâmico com o tricetídeo, gerando um precursor de todas as classes dos flavonoides com quinze átomos de carbono em sua estrutura (RODRIGUES et al., 2015). Apresentam diversidades estruturais, sendo subdivididos em classes principalmente de acordo com o grau de oxidação e substituição do anel C. Diferentes classes compõem esse grupo, entre elas: as chalconas, flavonas, flavanonas, flavonóis, di-hidroflavonóis (flavononóis), isoflavonas, antocianinas, entre outras (SFORCIN, J., 2016).

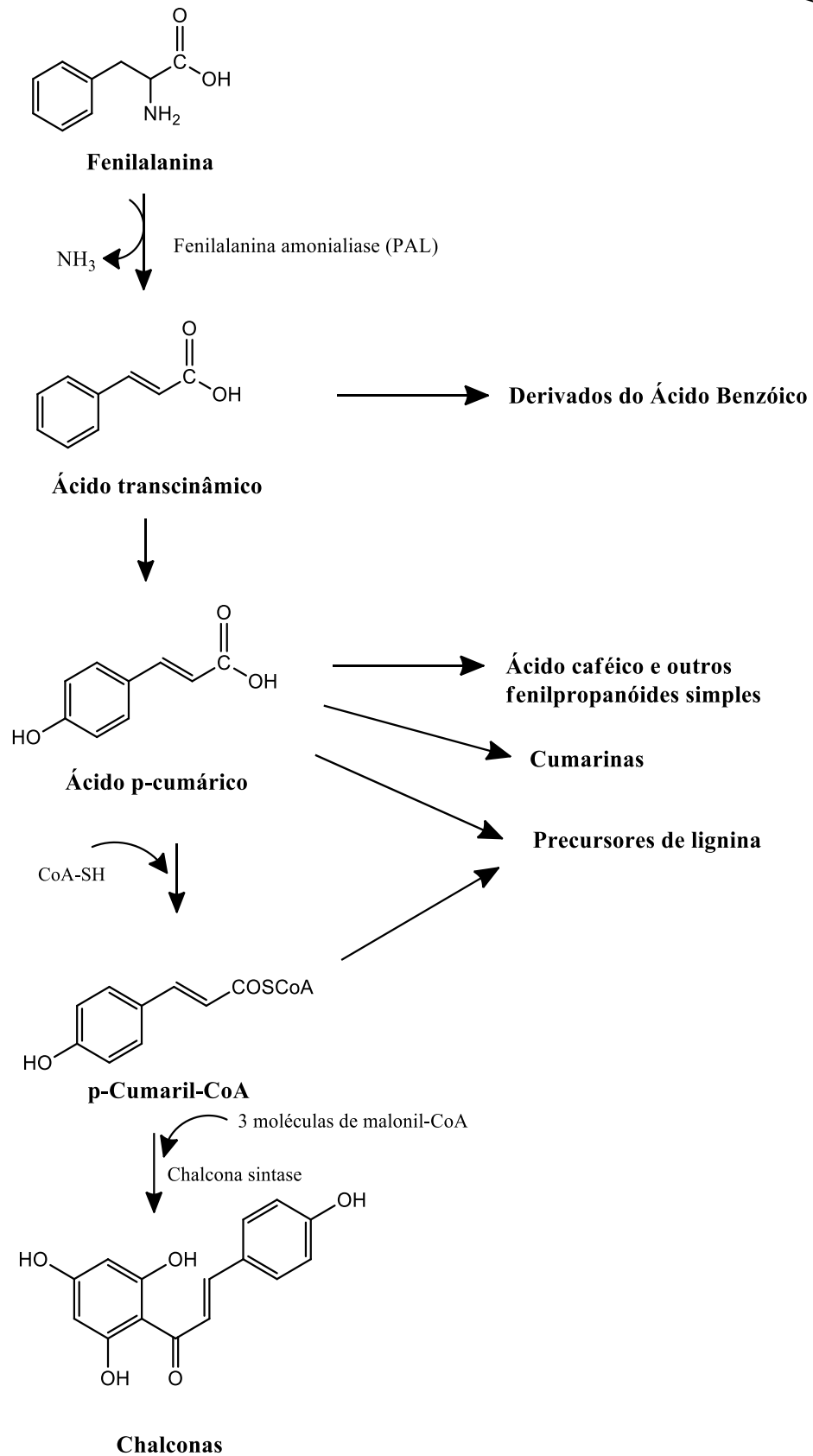
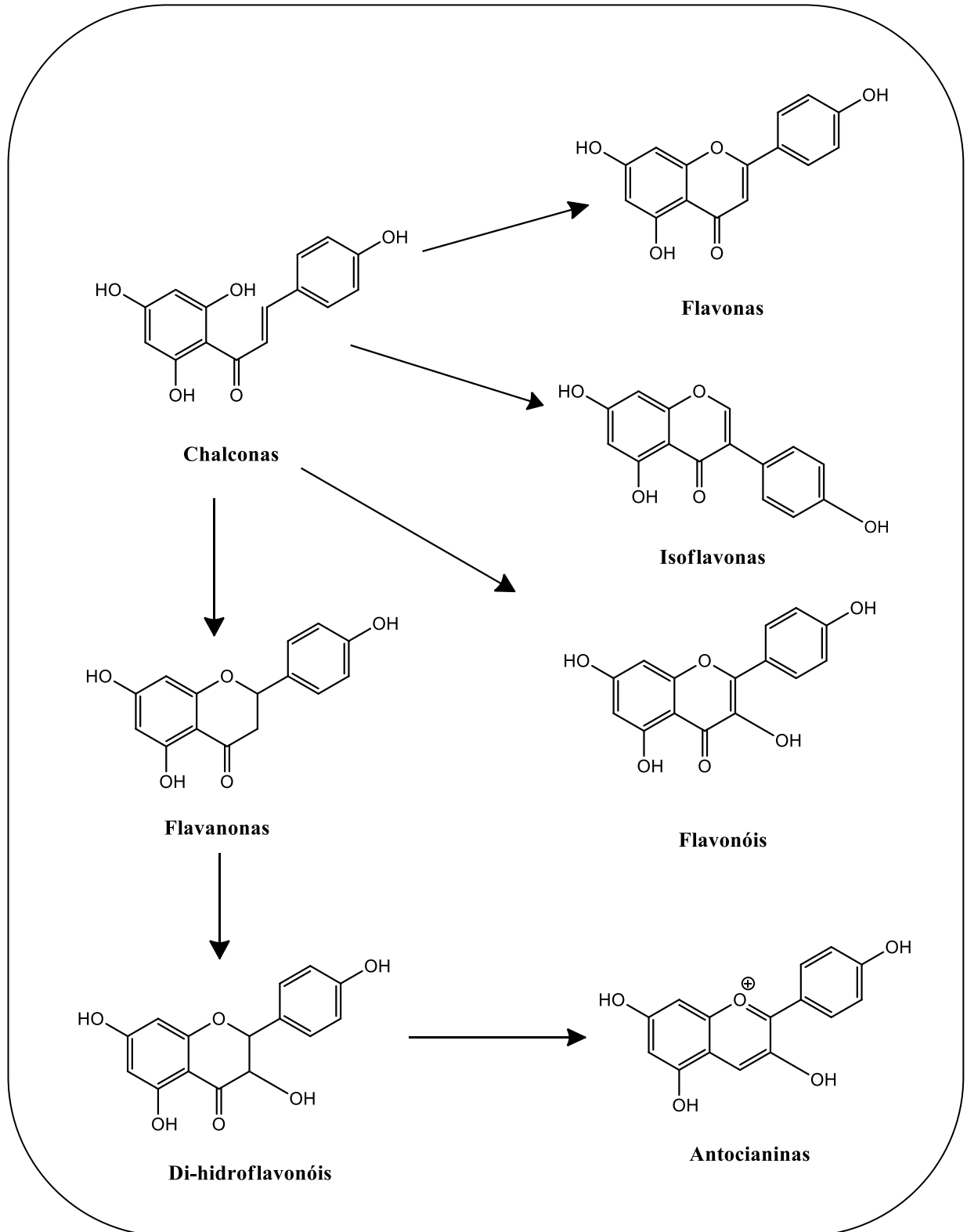
Figura 3: Rota Biosintética de Flavonoides

Figura 4 : Classes Flavonoídicas e seus Percussores



Os flavonoides são de especial interesse na investigação de produtos naturais por apresentar atividade biológica, tais como antioxidante, anti-inflamatória, hepatoprotetora, antibacteriano e antiviral. São abundantes em frutas, vegetais superiores e alimentos, e seu consumo está consistentemente associado à redução no risco de doenças cardiovasculares, câncer e outras doenças crônicas. A capacidade dessas substâncias em sequestrar radicais livres e metais pró oxidantes (ação antioxidante) explica, em parte, esta associação. A capacidade antioxidante de compostos fenólicos é determinada por sua estrutura, em particular pelas hidroxilas que podem doar elétrons, e suportar como resultado a deslocalização em torno do sistema aromático. (KATIYAR, S.K., 2001; KUMAR, S., 2013).

2.5. Terpenos

Os terpenos são metabólitos secundários sintetizados por meio da rota do mevalonato, na qual a acetil coenzima-A é convertida, após algumas etapas, ao difosfato de isopentenilo (IPP) e ao pirofosfato de dimetilalilo (DMAPP) (MIZIORKO, H.M., 2011). Além disso, se configuram como um grande grupo de compostos cíclicos e não cíclicos que possuem sua base constituída por hidrocarbonetos, com a fórmula geral C_5H_8 (unidade isoprênica) (AL-MOSAWI, A. J., 2010). O isopreno é considerado o bloco de construção destas substâncias e, portanto, a quantidade de átomos de carbono presentes em sua composição é sempre múltipla de cinco. Neste contexto, os terpenos são classificados de acordo com o número de unidades de isopreno (SELL, C. S., 2006)

Figura 5: Rota do Malonil CoA

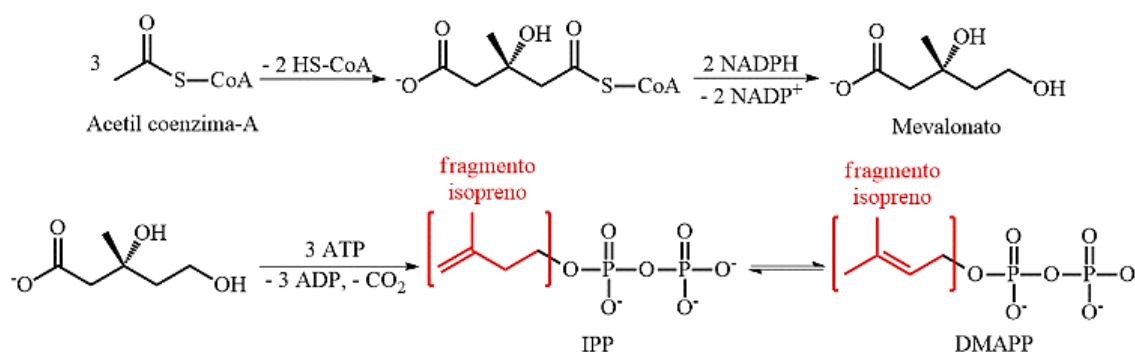


Tabela 1: Classificação de terpenos de acordo com número de carbonos

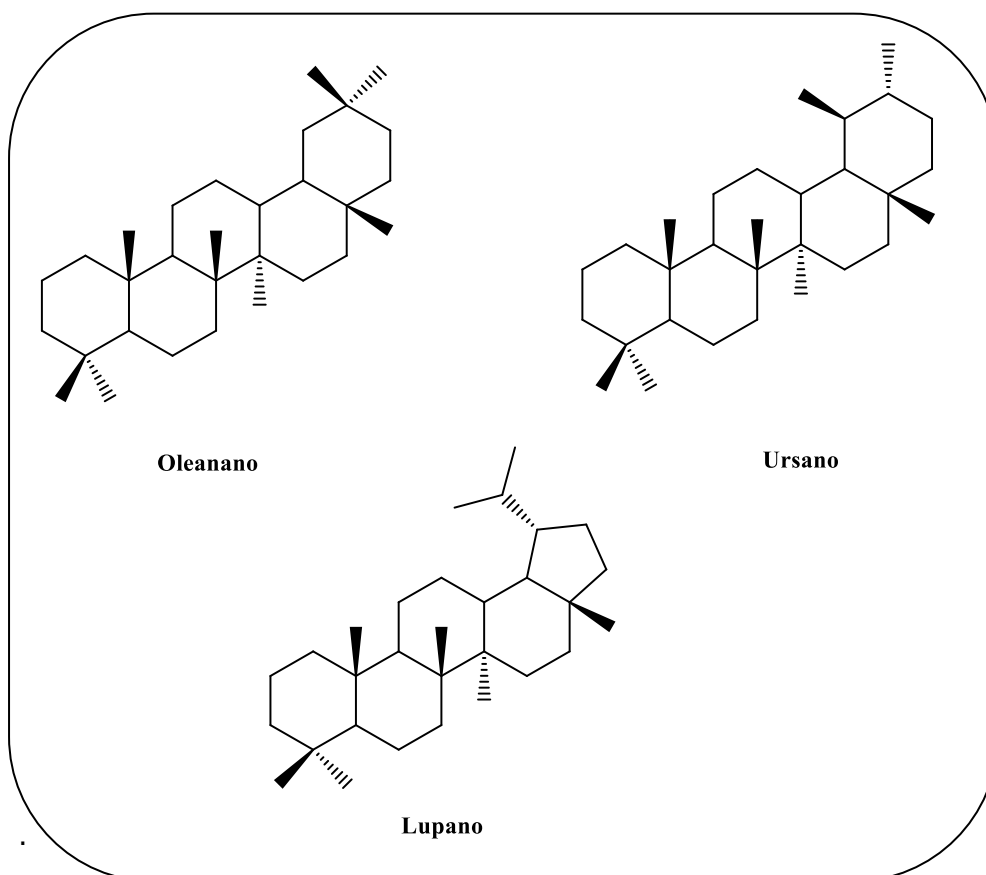
Classificação do Isopreno	Número de carbonos	Exemplo
Hemiterpenoides	5	Piretrinas
Monoterpenoides	10	Óleos essenciais
Sesquiterpenoides	15	Lactonas
Diterpenoides	20	Taxol
Triterpenoides	30	Saponinas
Carotenoides	40	β -caroteno

Estes compostos podem ser definidos como “alcenos naturais”, isto é, apresentam uma dupla ligação carbono-carbono sendo caracterizado como um hidrocarboneto insaturado (MC MURRY, 2011). Por outro lado, se um terpeno contém oxigênio, o mesmo é denominado de terpenoide, podendo apresentar diferentes funções químicas, entre as quais: ácidos, álcoois, aldeídos, cetonas, éteres, fenóis ou epóxidos terpênicos. Os monoterpenos e sesquiterpenos, com estruturas terpênicas de menor massa molecular, apresentam volatilidade acentuada. Essa última característica, por sua vez, apresenta grande importância para o aroma dos produtos naturais, particularmente de frutas cítricas, ervas aromáticas, especiarias e condimentos (FARKAS e MOHÁCSI-FARKAS, 2014). Já os terpenoides com estruturas de maior massa molecular como os diterpenoides

(C₂₀) e triterpenoides pertencem ao grupo de compostos não voláteis, dispondo de uma diversidade de atividades distintas que abrangem os, hormônios, ácidos resínicos e agentes anticancerígenos (PERES, 2004. PADUCH, 2007).

Os triterpenos são estruturalmente diversificados e uma das maiores classes de produtos vegetais, com mais de 20.000 substâncias. Podem ser classificados em tetracíclicos ou pentacíclicos e divididos em grupos conforme seus esqueletos estruturais (SILVA, F. C. O , 2010). Os triterpenos pentacíclicos são os mais abundantes, podendo ser divididos em três principais grupos: oleano, ursano e lupano, os quais possuem como principais representantes os ácidos oleanólico, ursólico e betulínico, respectivamente. Estes compostos são encontrados em diversas espécies vegetais, sendo que as folhas de oliveiras são a principal fonte de ácido oleanólico, o bagaço de maçã Gala de ácido ursólico e as cascas do Platanusa principal fonte de ácido betulínico (JÄGER et al., 2009)

Figura 6: Principais Classes de Triterpenos Pentacíclicos



3. OBJETIVOS

3.1 Geral

Contribuir com o estudo fitoquímico de plantas do Nordeste Brasileiro através do isolamento e identificação dos constituintes químicos das partes aéreas de *Erythroxylum rimosum* O. E. Schulz da família Erythroxylaceae

3.2 Específicos

Isolar, purificar, caracterizar e identificar constituintes químicos das partes aéreas de *Erythroxylum rimosum* O. E. Schulz., utilizando técnicas cromatográficas convencionais e técnicas espectroscópicas através da Ressonância Magnética Nuclear.

4. METODOLOGIA

4.1. Materiais e Equipamentos

4.1.1 Cromatografia Clássica

As cromatografias de adsorção em colunas foram realizadas em colunas de vidro cilíndricas, com dimensões variadas, de acordo com a quantidade de amostra a ser aplicada, utilizando como fase estacionária, sílica gel da Merck, 7734, com partículas de 0,063-0,200 mm de diâmetro.

Também foram empregadas, cromatografias por exclusão molecular em colunas de vidro cilíndricas, utilizando como fase estacionária, Sephadex da Merck, com partículas de 0,063-0,200 de mm de diâmetro.

Como fase móvel da coluna cromatográfica, foram utilizados os solventes comerciais Hexano (Hex), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), clorofórmio (CHCl₃) e metanol (MeOH), puros e em misturas binárias em ordem crescente de polaridade, este último (MeOH), não foi utilizado na forma pura, mas

em mistura binária com o solvente acetato de etila até a proporção de 7:3 (AcOEt:MeOH)

4.1.2 Cromatografia em Camada Delgada Analítica

As cromatografias em Camada Delgada Analítica (CCDA) foram realizadas utilizando placas cromatográficas da Merck, contendo sílica gel com indicador de fluorescência F254, diâmetro de 20 x 20 cm e espessura de 0,25 mm.

As substâncias nas CCDA foram reveladas através da exposição à luz ultravioleta nos comprimentos de onda de 254 e 366 nm e em câmara saturada com vapores de iodo.

4.1.3 Cromatografia Líquida sob Média Pressão

Para o fracionamento da fase hexânica do extrato etanólico bruto de *Erythroxylum rimosum* foi utilizado um aparelho de Média Pressão (BÜCHI Sepacore® Easy Purification Systems), utilizando como fase estacionária sílica gel 60 artigo 7734 (Merck), com partículas 63-200 µm de diâmetro e como suporte uma coluna de vidro cilíndrica adequada. Como fase móvel, foram utilizados os solventes comerciais hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol, em sistema gradiente e isocrático, aumentando-se gradativamente a polaridade.

4.1.4 Análises por ressonância magnética nuclear de ^1H e ^{13}C

Os espectros de RMN foram registrados em espectrômetros VARIAN, operando a 500 MHz para hidrogênio (RMN ^1H) e 125 MHz para carbono-13 (RMN ^{13}C). As amostras a serem analisadas foram preparadas dissolvendo-as em solventes deuterados. Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em partes por milhão (ppm). As multiplicidades da RMN ^1H foram indicadas segundo a convenção: s (simpleto), sl (simpleto largo), d (duplete), dd (duplo duplete), ddd (duplo duplo duplete), dddd (duplo duplo duplo duplete), t (triplete), tl (triplete largo), q (quadruplete) e m (multiplete).

4.2. Coleta do material vegetal

As partes aéreas de *Erythroxylum rimosum* foram coletadas em 2016, em Pirambu - SE. O material vegetal foi identificado pela Profa. Dra. Ana Paula do Nascimento Prata, do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Sergipe (UFS). Uma exsicata encontra-se depositada no Herbário da UFS, sob o código AS37756. Cadastro no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen), sob número A9BB01C.

4.3. Processamento do material vegetal de *Erythroxylum rimosum* O. E. Schulz

As partes aéreas (1 Kg) foram secas em estufa com ar circulante à temperatura média de 40 °C durante 72 horas. Após secagem, o material vegetal foi submetido a um processo de trituração em moinho mecânico, obtendo-se 480 g de pó seco.

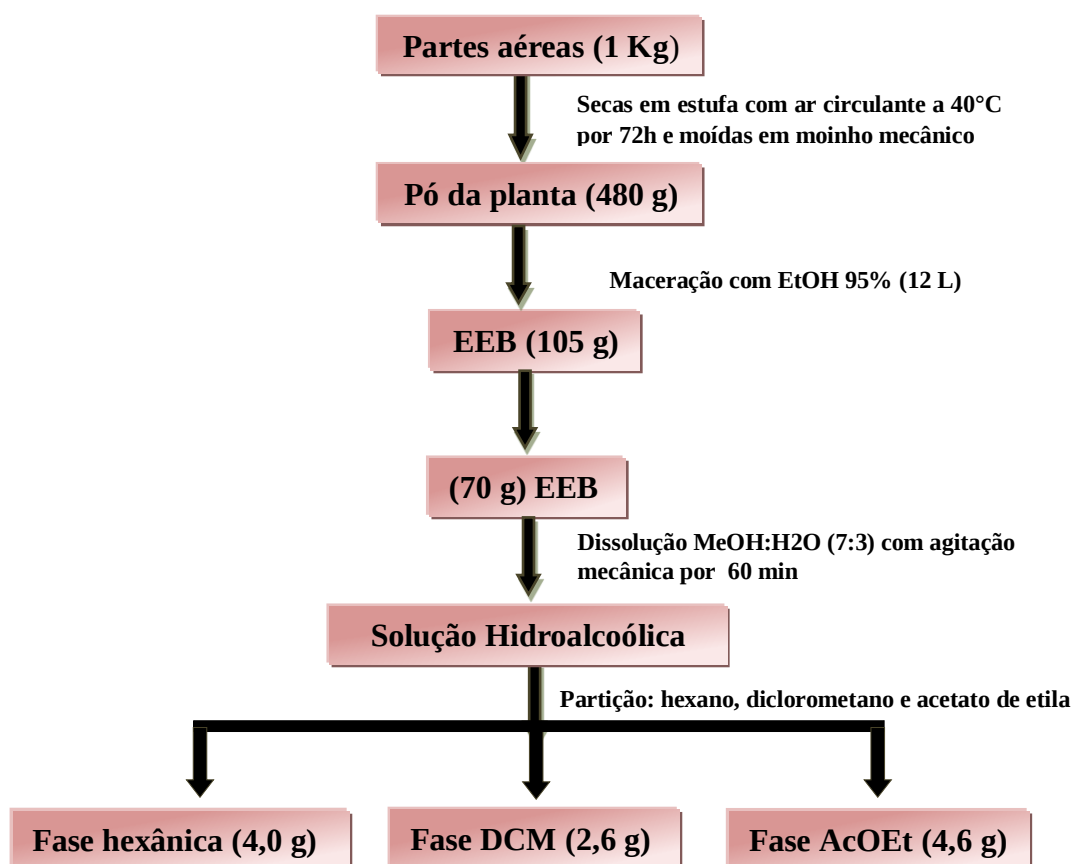
4.4. Obtenção do extrato etanólico bruto (EEB) das folhas de *Erythroxylum rimosum* O. E. Schulz

O material vegetal seco e triturado foi submetido à maceração com etanol (EtOH) a 95%, em um recipiente de aço inoxidável denominado percolador. Foram feitos quatro processos de extração num intervalo de 72 horas entre eles, para garantir uma maior extração dos constituintes químicos. A solução etanólica obtida foi filtrada, fazendo-se, em seguida, a evaporação do solvente com o auxílio de um rotaevaporador a uma temperatura média de 40°C. Após esse processo de evaporação do solvente, obteve-se o extrato etanólico bruto (EEB), que pesou 105 g.

4.5. Fracionamento do extrato etanólico bruto (EEB) do material vegetal de *Erythroxylum rimosum* O. E. Schulz

Para obtenção das fases, foram utilizadas (70 g) do extrato etanólico bruto, este foi dissolvido numa mistura de metanol:água (7:3 v/v) e homogeneizado, obtendo-se uma solução aquosa. Esta solução foi submetida a um processo de partição em ampola de separação, utilizando os solventes hexano, diclorometano e acetato de etila. As respectivas fases foram tratadas com sulfato de sódio anidro para secagem, posteriormente foram concentradas em rotaevaporador sob pressão reduzida a uma temperatura média de 40°C. Fornecendo as fases, hexânica (4,0 g), diclorometano (2,6 g) e acetato de etila (4,6 g) (Esquema 1).

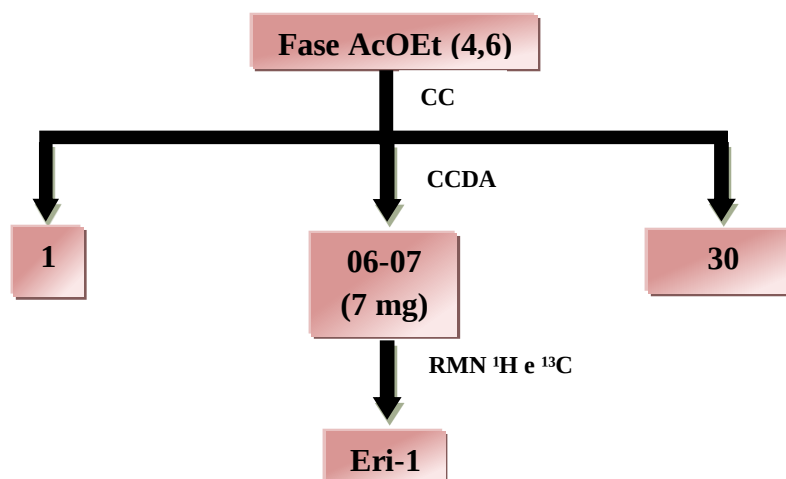
Esquema 1 - Obtenção e fracionamento do extrato etanólico bruto das partes aéreas de *Erythroxylum rimosum* O. E. Schulz.



4.6. Fracionamento cromatográfico da fase acetato de etila das folhas de *Erythroxylum rimosum* O. E. Schulz

A fase acetato de etila foi submetida a uma cromatografia em coluna, utilizando como fase estacionária sílica gel, e como fase móvel hexano, acetato de etila e metanol, puros ou em misturas binárias, em ordem crescente de polaridade. Obtendo-se assim um total de 30 frações. Essas frações foram monitoradas por cromatografia em camada delgada analítica (CCDA) e reunidas de acordo com seus fatores de retenção (R_fs), após visualização na luz ultravioleta e revelação em câmara saturada com vapores de iodo. As frações foram reunidas em grupos. A reunião das frações de 6 a 7 foi submetida à análise de Ressonância magnética nuclear (RMN) de ¹H e ¹³C-APT resultando na substância codificada como Eri-1 (Esquema 2).

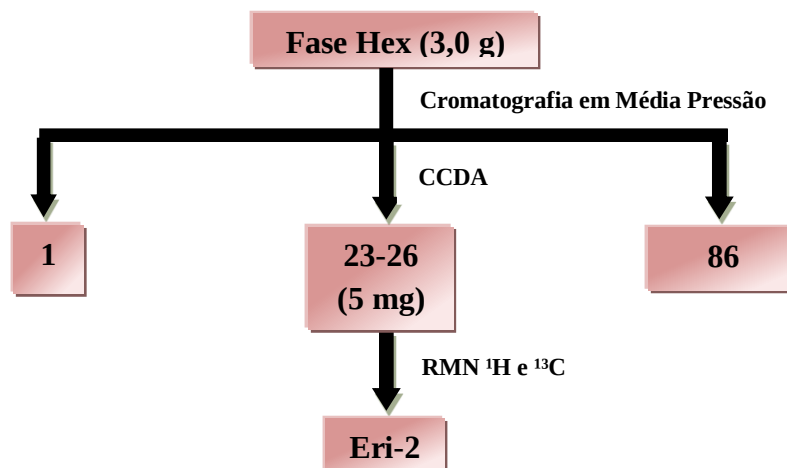
Esquema 2 - Fracionamento cromatográfico da fase acetato de etila das folhas de *Erythroxylum rimosum* O. E. Schulz.



4.7. Fracionamento cromatográfico da fase hexânica das folhas de *Erythroxylum rimosum* O. E. Schulz

A fase hexânica (3 g) foi submetida a uma cromatografia em coluna de média pressão, utilizando como fase estacionária sílica gel, e como fase móvel hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol, puros ou em misturas binárias, em ordem crescente de polaridade. Obtendo-se assim um total de 86 frações. Essas frações foram monitoradas por cromatografia em camada delgada analítica (CCDA) e reunidas de acordo com seus fatores de retenção (Rfs), após visualização na luz ultravioleta e revelação em câmara saturada com vapores de iodo. As frações foram reunidas em grupos. A reunião das frações de 23 a 26 foi submetida à análise de Ressonância magnética nuclear (RMN) de ^1H e ^{13}C -APT resultando na substância codificada como Eri-2 (Esquema 3).

Esquema 3 - Fracionamento cromatográfico da fase hexânica das folhas de *Erythroxylum rimosum* O. E. Schulz.



5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Estudo Fitoquímico das partes aéreas de *Erythroxylum rimosum* O. E. Schulz.

5.1.1. Identificação estrutural de Eri-1

A substância codificada com Eri-1 foi obtida da reunião das frações 6 e 7, resultante do fracionamento da fase AcOEt do extrato etanólico das folhas de *E. rimosum*, e apresentou-se como um sólido de cor castanho (7 mg).

O espectro de RMN ^1H (500 MHz, CD_3OD) (figura 7) mostrou 5 sinais na região de hidrogênios aromáticos: dois dupletos em δ_{H} 5,65 e 5,93, característicos de hidrogênios H-8 e H-6 de flavonas oxigenadas nas posições 5 e 7 e três dupletos em 6,83; 6,6 e 6,72 atribuídos aos hidrogênios H-6'; H-5' e H-2', respectivamente, do anel B de flavona em um sistema ABX, esses sinais evidenciam os anéis A e B di-oxigenados de um flavonol. Os duplos dupletos em 2,51 e 2,84 são característicos de hidrogênios de grupo metilênico ligados a carbonos oximetínicos e são atribuídos aos hidrogênios da posição 4 do anel C em flavanóis. O deslocamento em δ_{H} 3,97 se apresentou como um duplo duplo duplete, acoplando com os hidrogênios em δ_{H} 2,51 (dd, H-4 β), com o hidrogênio em δ_{H} 2,84 (dd, H-4 α) e com o hidrogênio em δ_{H} 4,57 (d, H₂). Esses dados sugerem a presença do esqueleto flavan-3-ol.

No espectro de ^{13}C -apt obtido a 125 MHz em CD_3OD (Figura 9) observou-se a presença de 15 sinais. Sendo 7 deles atribuídos a carbonos não hidrogenados, 7 a carbonos metínicos e 1 carbono metilênico. Os sinais em δ_{C} 157,7; 96,3; 157,4 e 95,5 foram atribuídos aos carbonos aromáticos C-5; C-6; C-7 e C-8 respectivamente, sugerindo tratar-se do padrão de substituição do anel A de flavonas oxigenadas em C-5 e C-7. Os deslocamentos químicos em δ_{C} 115,2; 116,1 e 120,0 correspondentes aos carbonos C-2'; C-5' e C-6' respectivamente, são característicos do anel B de flavonas. Os sinais em δ_{C} 82,7; 68,7 e 28,4 foram atribuídos aos carbonos C-2; C-3 e C-4 respectivamente, sendo condizente com um flavanol oxigenado em C-3.

As atribuições de ^1H e ^{13}C foram comparadas com dados espectrais dos deslocamentos químicos encontrados para a molécula de catequina na literatura (QI et al, 2012). Para distingui-la de seu epímero, a epicatequina, foram comparados os deslocamentos químicos em C_2 e H_2 , e de C_3 e H_3 de ambas, segundo dados da literatura (RIBEIRO, E. M. O, 2011). Dessa forma, observou-se que a catequina apresenta deslocamentos iguais a 82,3 para δ_{C} (C-2) e 4,57 para δ_{H} (H-2), e 68,3 para δ_{C} (C-3) e 4,01 para δ_{H} (H-3), ao passo que a epicatequina possui deslocamento químico em δ_{C} 78,1 (C-2) e em δ_{H} 4,74 (H-2), 64,9 para δ_{C} (C-3) e 4,01 para δ_{H} (H-3) (figura 13). Portanto, através da análise dos espectros de RMN ^1H e ^{13}C e da comparação com dados na literatura (tabela 2) foi possível identificar Eri-1 como (2R,3S)-2-(3,4-dihydroxyphenyl)-3,4-dihydro-2H-chromene-3,5,7-triol (catequina).

Figura 7: Espectro de RMN de ^1H (CD_3OD , 500 MHz) de Eri-1

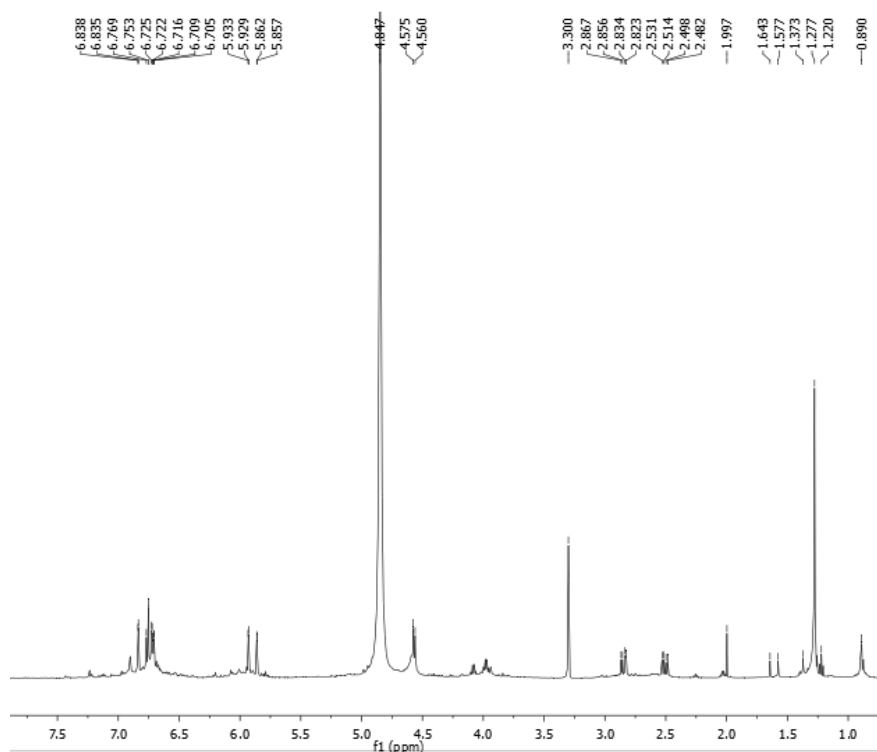


Figura 8: Espectro de RMN de ^1H (CD_3OD , 500 MHz) de Eri-1 (Expansão)

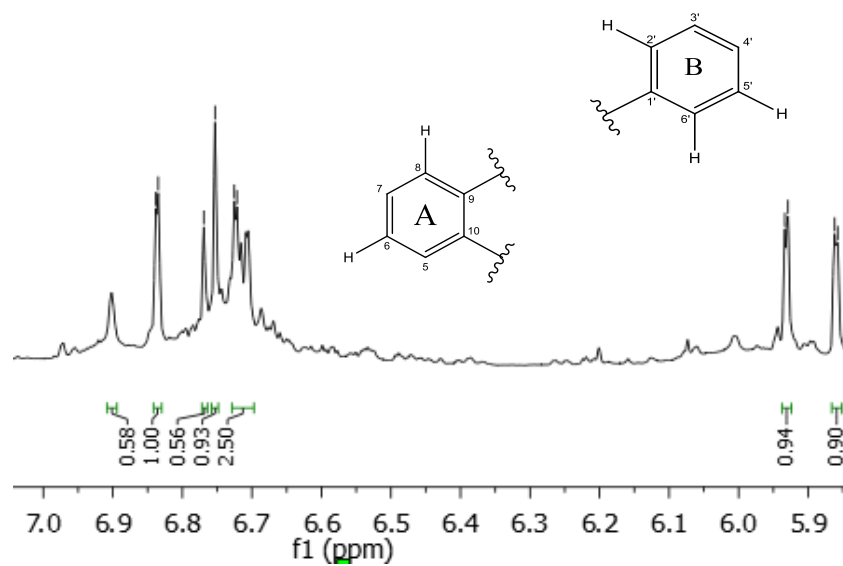


Figura 9: Espectro de RMN de ^{13}C (CD_3OD , 125 MHz) de Eri-1

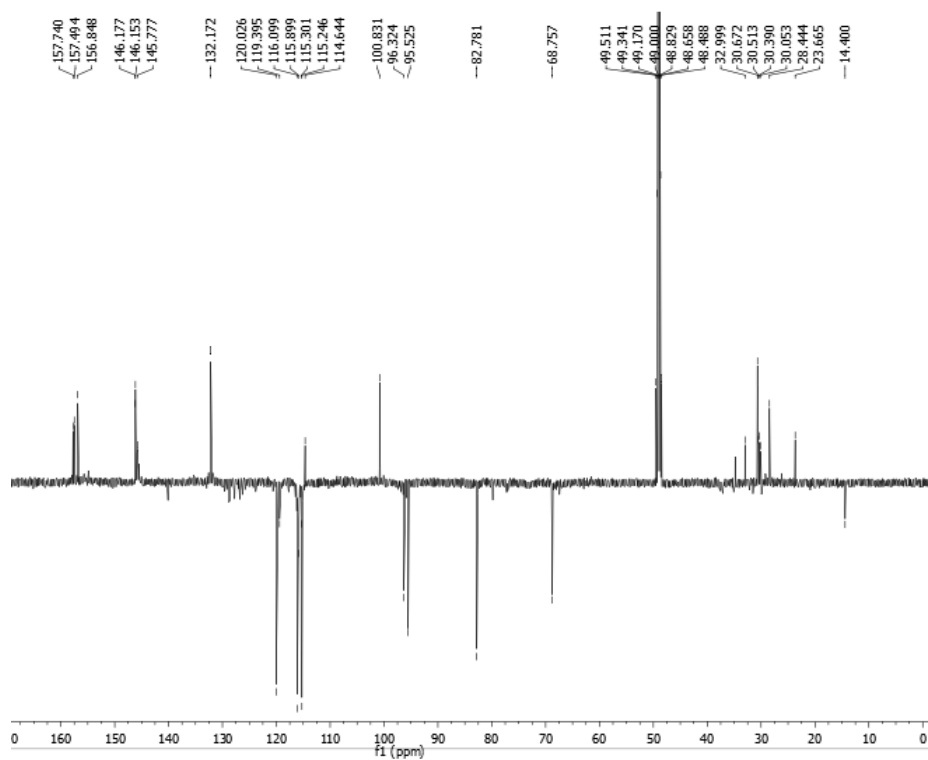


Figura 10: Espectro de RMN de ^{13}C (CD_3OD , 125 MHz) de Eri-1 (Expansão 1)

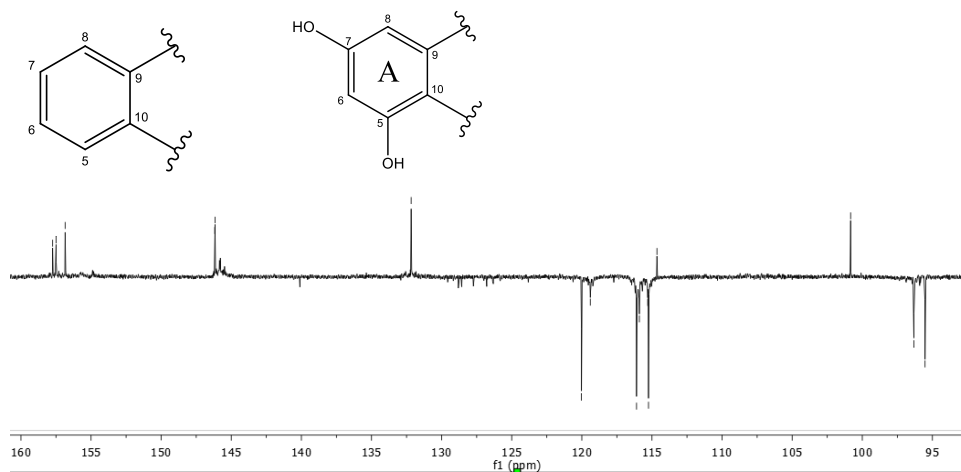


Figura 11: Espectro de RMN de ^{13}C (CD_3OD , 125 MHz) de Eri-1 (Expansão 2)

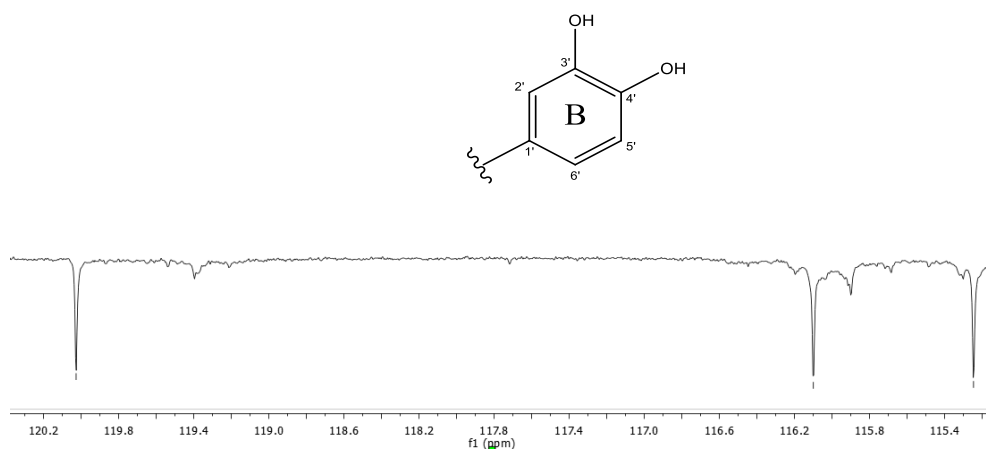


Figura 12: Espectro de RMN de ^{13}C (CD_3OD , 125 MHz) de Eri-1 (Expansão 3)

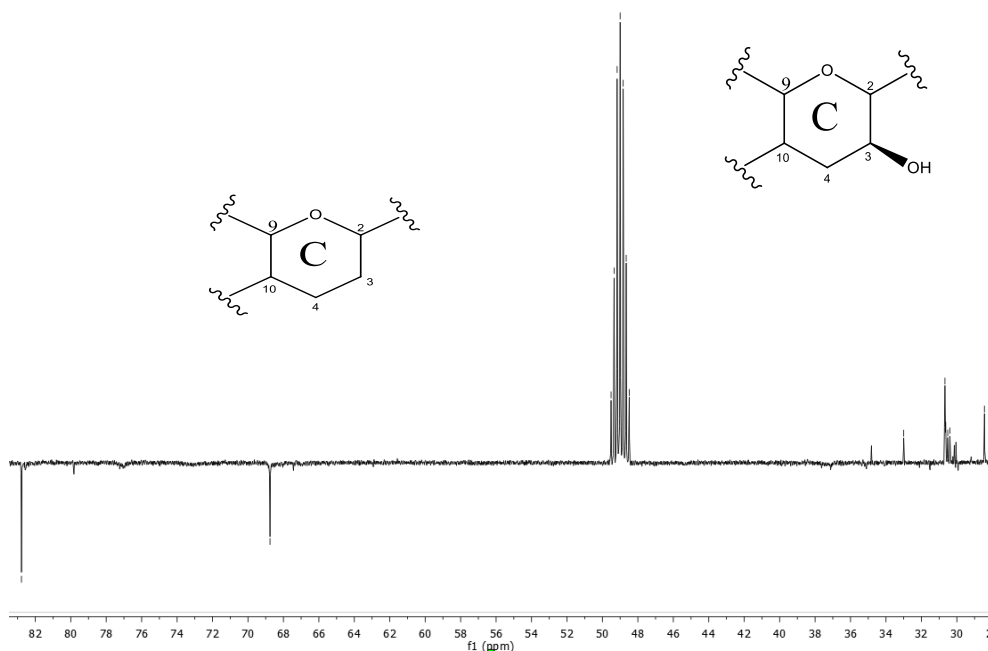


Figura 13: Dados de RMN ^1H e ^{13}C -APT para o carbono na posição 2 e 3 de Eri-1 e de seu epímero epicatequina

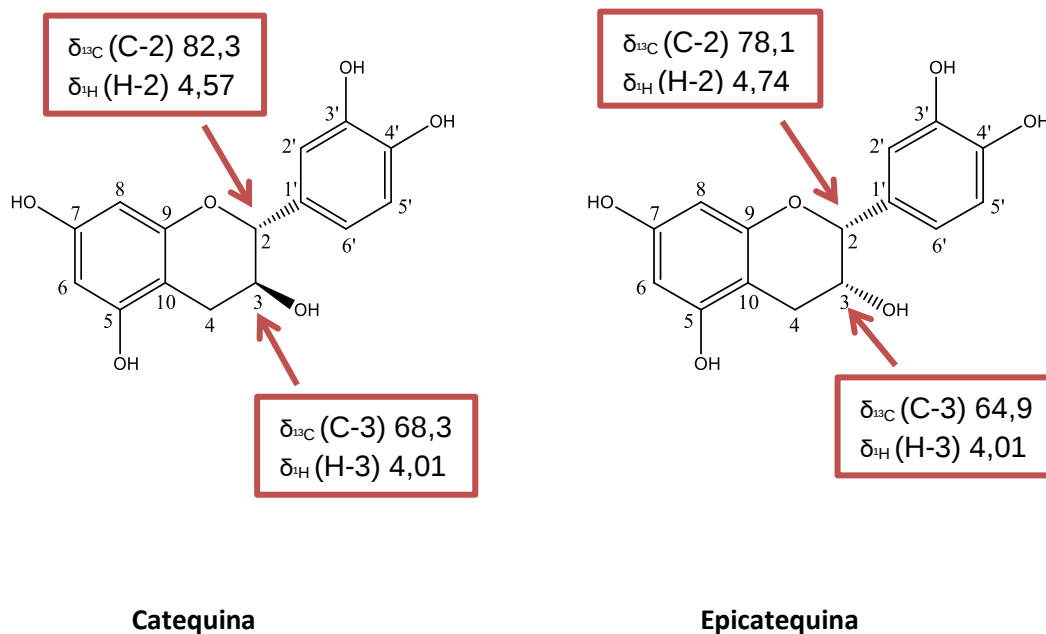


Tabela 2 - Dados de RMN ^1H e ^{13}C -APT de Eri-1 (500 x 125 MHz em CD_3OD) e da catequina na literatura (400 x 100 MHz em CD_3OD)

Eri-1			(QI et al, 2012)	
C	$\delta_{^{13}\text{C}}$	$\delta_{^1\text{H}}$	$\delta_{^{13}\text{C}}$	$\delta_{^1\text{H}}$
2	82,7	4,57 (d)	82,3	4,57 (1H, d)
3	68,7	3,97 (ddd)	68,3	4,01 (ddd)
4	28,4	2,51 (dd) anti 2,84 (dd) syn	28,2	2,52 (dd) 2,88 (dd)
5	157,7	-	156,9	-
6	96,3	5,93 (d)	96,2	5,95 (d)
7	157,4	-	157,0	-
8	95,5	5,85 (d)	95,4	5,88 (d)
9	156,8	-	156,3	-
10	100,8	-	100,7	-
1'	132,2	-	131,6	-
2'	115,2	6,83 (d)	115,0	6,83 (d)
3'	146,0	-	145,6	-
4'	146,0	-	145,7	-
5'	116,1	6,76 (d)	116,0	6,77 (d)
6'	120,0	6,72 (d)	119,9	6,72 (d)

5.1.2. Identificação estrutural de Eri-2

A substância codificada com Eri-2 foi obtida da reunião das frações 23 a 26, resultante do fracionamento da fase Hexânica do extrato etanólico das folhas de *E. rimosum*, e apresentou-se como cristais de cor alaranjada (5 mg).

No espectro de RMN de ^1H , obtido a 400 MHz em CDCl_3 (figura 14), foram registrados seis singletos: δ_{H} 0,69; δ_{H} 0,84; δ_{H} 0,86; δ_{H} 0,93; δ_{H} 1,02; δ_{H} 1,16 que indicaram a presença de 7 metilas; e um duplete em δ_{H} 0,98 atribuído à metila C-23 característica do esqueleto friedelano (JEFFREYS e NUNEZ, 2016). Também foi observado um sinal característico de hidrogênio oximetilênico em δ_{H} 3,61 além de sinais entre δ_{H} 2,34 e 2,40 ppm, indicando a presença hidrogênios α -carbonílicos.

O espectro de RMN de ^{13}C -APT (100 MHz, CDCl_3) (figura 15) revelou a presença de 30 sinais, dos quais sete referentes a carbonos quaternários, quatro a carbonos metínicos, onze a carbonos metilênicos e oito a carbonos metílicos, sugerindo tratar-se de um esqueleto triterpênico pentacíclico. Este espectro mostrou um sinal em δ_{C} 213,3 que indica a presença de um carbono carbonílico em C-3, além de um sinal em δ_{C} 6,8, referente à metila C-23. Estes dois sinais são norteadores para triterpenos da série dos friedelanos substituídos por uma carbonila no anel A. O deslocamento em δ_{C} 58,2 que, de acordo com a literatura (DUARTE, M. C., 2013), é atribuído ao carbono metínico C-4, indica a presença de grupos metil vicinal em C-4 e C-5 no anel A (MAHATO; KANDU, 1994), o que caracteriza mais uma vez o esqueleto friedelano, tendo em vista que as séries oleanano, ursano e lupano possuem um grupo geminal dimetil em C-4 que absorve em regiões diferentes do espectro (figura 18).

As atribuições de ^1H e ^{13}C foram comparadas com os deslocamentos químicos encontrados para o esqueleto triterpênico 3-oxo-friedelando na literatura (tabela 3), permitindo a identificação da substância Eri-2.

Figura 14: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) de Eri-2

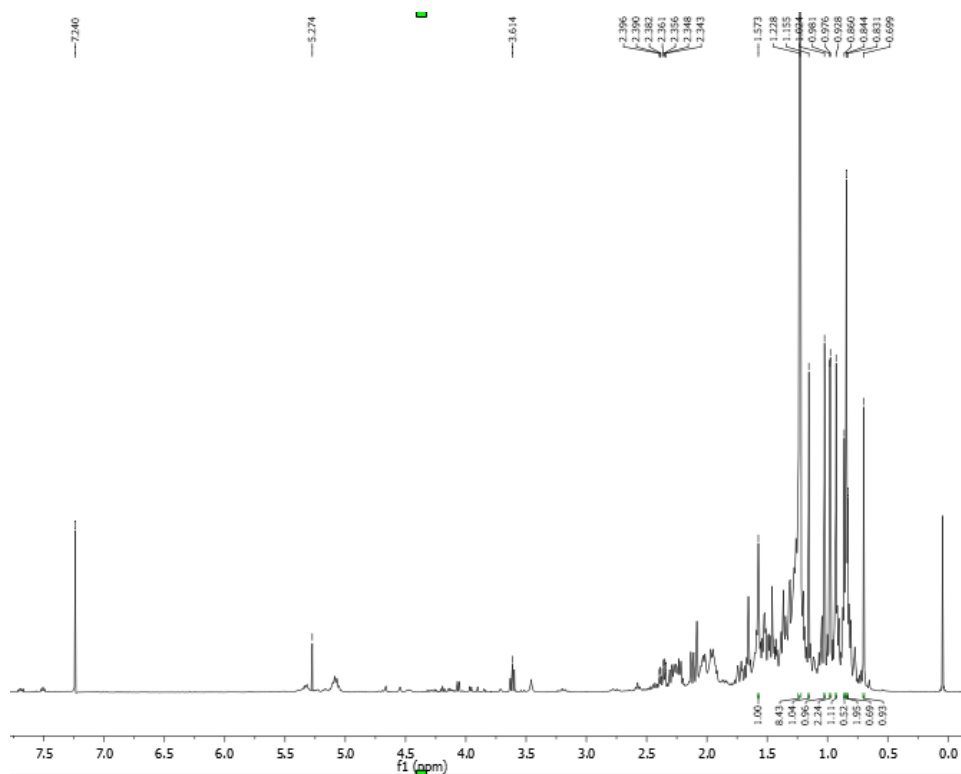


Figura 15: Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz) de Eri-2

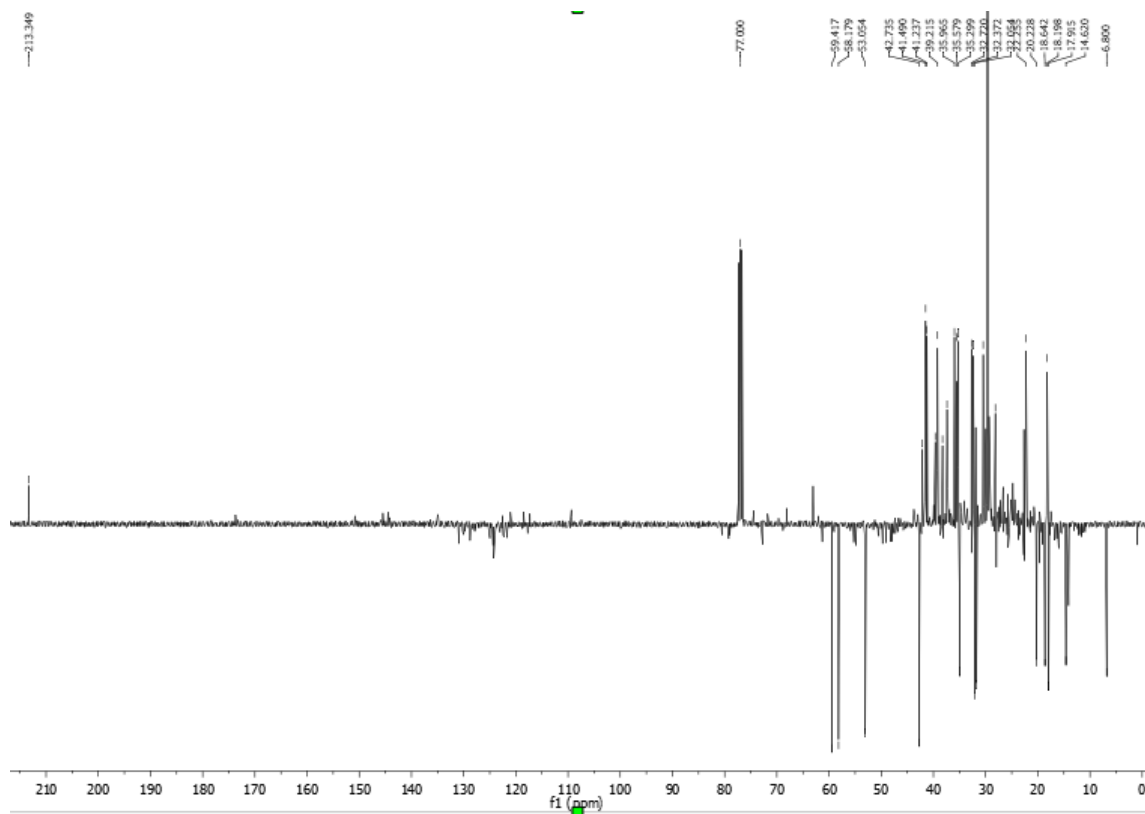


Figura 16: Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz) de Eri-2 (Expansão)

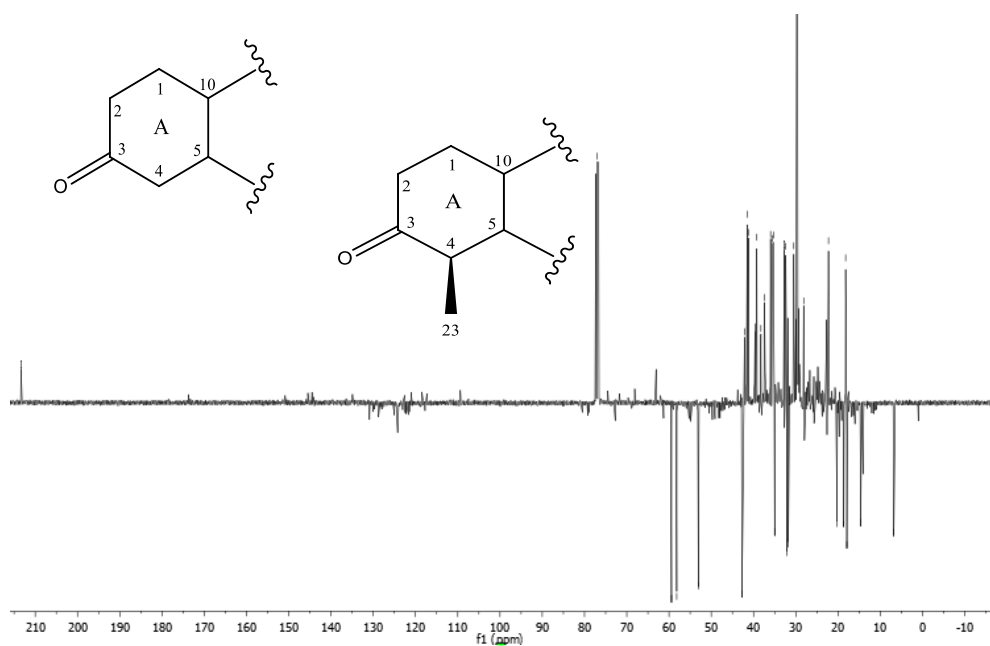


Figura 17: Estrutura da substância 3-oxo-friedelano (Friedelina)

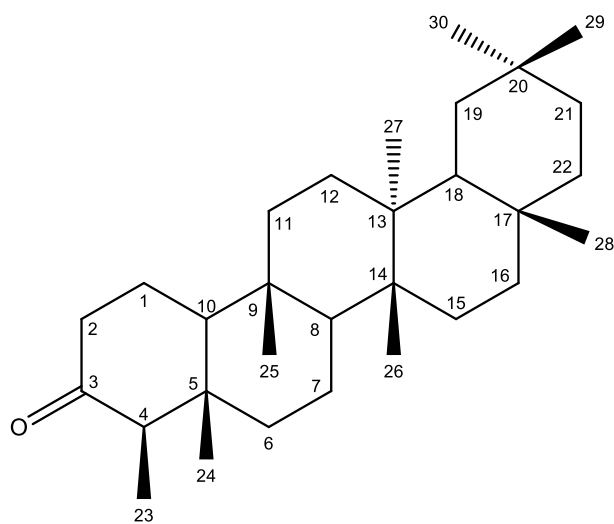
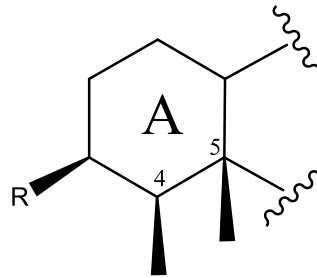
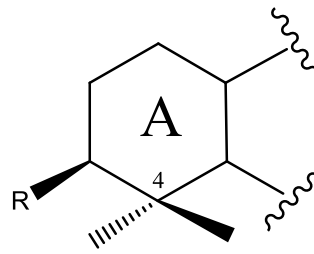


Figura 18: Anel A do esqueleto triterpênico das classes Lupano, Ursano, Oleanano e Friedelano



Família Friedelano



Família Oleanano, Ursano e Lupano

Tabela 3 - Dados de RMN¹H e ¹³C-APT de Eri-2 (400 x 100 MHz em CDCl₃) e do 3-oxo-friedelano na literatura (400 x 100 MHz em CDCl₃)

Eri-2		(DUARTE, M. C., 2013)
C	δ¹³C	δ¹³C
1	22,3	22,3
2	41,5	41,5
3	213,3	213,3
4	58,2	58,2
5	42,1	42,1
6	41,2	41,3
7	18,2	18,2
8	53,1	53,1
9	37,4	37,4
10	59,4	59,5
11	35,6	35,0
12	30,5	30,5
13	38,3	38,3
14	39,7	39,7
15	32,4	32,4
16	35,9	36,0
17	30,5	30,1
18	42,7	42,8
19	35,3	35,3
20	28,1	28,1
21	32,4	32,7
22	39,2	39,2
23	6,8	6,8
24	14,6	14,6
25	17,9	17,9
26	20,2	20,2
27	18,6	18,6
28	32,7	32,1
29	34,9	35,0
30	31,8	31,7

6. CONCLUSÃO

Diante da investigação fitoquímica do extrato etanólico bruto (EEB) das partes aéreas de *E. rimosum* e, de suas fases acetato e hexânica foi possível o isolamento de duas substâncias que, segundo as análises de seus espectros de ^1H e ^{13}C e a comparação com os dados da literatura, foram identificadas como o flavonoide catequina, já relatado nesta espécie em estudos anteriores; e o triterpeno pentacíclico 3-oxo-friedelano, substância encontrada pela primeira vez na espécie estudada. Estes resultados contribuem para a análise quimiotaxonômica desta espécie cujos estudos são tão escassos e, para a caracterização do gênero e família a qual ela pertence. Através deste, será possível a aplicação dos metabólitos identificados em futuros estudos farmacológicos e o isolamento de outros metabólitos secundários.

7. REFERÊNCIAS

AGUIAR, S. J.; OLIVEIRA, S. L.; TAVARES, J. F.; BRANCO, M. V.; LUCENA, H. F.; BARBOSA-FILHO, J. M.; AGRA, M. F.; NASCIMENTO, S. C.; SILVA, T. G.; SIMONE, C. A.; ARAÚJO, J. X. J.; SILVA, M. S.; **Int. J. Mol. Sci.**, v. 13, p. 4121, **2012**.

ALBUQUERQUE, C. H. et al. Flavonoides Glicolisados de *Erythroxylum pulchrum* a. st.-hil. (Erythroxylaceae). **Quimica Nova**, v. 37, n. 4, p. 663-666, 2014.

AL-MOSAWI, A. J. Essential Oil Terpenes: Adjunctive Role in the Management of Childhood Urolithiasis. **Journal of Medicinal Food**, Iraq, v. 2, n. 13, p. 247-250, 2010.

BARREIROS, M. L. Flavonoides e terpenoides de três espécies do gênero *Erythroxylum* e suas atividades biológicas. **Tese (Doutorado em Química)**. Instituto de Química, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2005.

BEHLING, E. B., Flavonoide quercetina: aspectos gerais e ações biológicas. **Alim. Nutr.**, v. 15, n. 3, p. 285-292, 2004.

BIONDICH, A. S.; JOSLIN, J.D. Coca: The History and Medical Significance of an Ancient Andean Tradition. **Emergency Medicine International**, v. 2016, doi: 10.1155/2016/4048764. 2016.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Ciência,Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Assistência Farmacêutica. **Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos**. Brasília: Ministério da Saúde,2006.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Assistência à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Política nacional de práticas integrativas e complementares no sus: pnpic-sus**. Brasília: Ministério da Saúde, 2006.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. RENISUS. **Relação nacional de plantas medicinais de interesse ao SUS**. Espécies vegetais, 2009.

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

BROCK, A.; BIERI, S.; CHRISTEN, P.; DRÄGER, B.; Calystegines in wild and cultivated *Erythroxylum* species. **Phytochemistry**, v. 66, n. 11, p.1231-40, 2005.

COSTA-LIMA, J.L. & ALVES, M. Flora da Usina São José, Igarassu, Pernambuco: Erythroxylaceae. **Rodriguésia**, v. 66, p. 285-295, 2015.

CHÁVEZ, D.; CUI, B.; CHAI, H.B. Reversal of multidrug resistance by tropane alkaloids from the stems of *E. rutundifolium*. **J. Nat. Prod.**, v. 65, p. 606-610, 2002.

COSTA-LIMA, J.L., LOIOLA, M.I.B. & JARDIM, J.G. Erythroxylaceae no Rio Grande do Norte, Brasil. **Rodriguésia**, v. 65, p. 659-671, 2014.

DUARTE, MARCELO CAVALCANTE. Constituintes químicos de *Maytenus distichophylla* Mart. ex Reissek. **Tese (doutorado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos)**. Universidade Federal da Paraíba, 2013.

ELIAS, S. T.; MACEDO, C. S.; SIMEONI, L. A.; SILVEIRA, D.; MAGALHÃES, P. O.; LOFRANO-PORTO, A.; COLETTA, R. D; NEVES, F. A.R & GUERRA, E. N. S. Cytotoxic effect of *Erythroxylum daphnites* extract is associated with G1 cell cycle arrest and apoptosis in oral squamous cell carcinoma. **Cell Cycle**, v. 15, p. 948-956, 2016.

FARKAS, J., MOHÁCSI-FARKAS, C. I. MOTAJERMI, Y. 1º Ed. Safety of foods and beverages: spices and season-ings. Encyclopedia of Food Safety. 3: Foods, Materials, Technologies and Risks. **Elsevier**, v. 3, p. 324-330, 2014.

FILHO, M. D. L.; SILVA, G. C.; CÔRTEZ, S.F.; GUIA, T. R. M.; FERRAZ, V. P.; SERRA, C. P. ACE inhibition by astilbin isolated from *Erythroxylum gonocladum* (Mart.) OE Schulz. **Phytomedicine**, v. 17, n. 5, p. 383-387, 2010.

Flora do Brasil 2020 em construção. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: < <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/> >. Acesso em: 20 Mai. 2019

FÜRSTENBERG-HÄGG, J.; ZAGROBELNY, M.; BAK, S. Plant defense against insect herbivores. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, n. 5, p. 10242–10297, 2013.

GODINHO, C. S.; FIGUEIREDO, M. E.; MICHELIN, D. C.; SANNOMIYA, M.; SILVA, M. A.; DOS SANTOS, L. C.; DE ALMEIDA, L. F. R.; BRITO, A. R. M.; SALGADO, H. R. N.; SILVA, C. M. DA.; MENDES, C. S. O.; FERREIRA, P. R. B.; OLIVEIRA, D. A. DE. Estudo fitoquímico de espécies arbóreas do cerrado. **Revista Multitexto**, v. 3, n. 1, p. 64-70, 2015.

HEGNAUER, R. Chemotaxonomy of Erythroxylaceae (including some ethnobotanical notes on old world species). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 3, p. 279-292, 1981.

IANCK, M. A. et al. Conhecimento e uso de plantas medicinais por usuários de unidades básicas de saúde na região de Colombo-PR. **Revista Saúde e Desenvolvimento**, v. 11, n. 8, p. 29-30, 2017.

JÄGER, S. Pentacyclic Triterpene Distribution in Various Plants –Rich Sources for a New Group of Multi-potent Plant Extracts. **Molecules**, v. 14, p. 2016–2031, 2009.

JEFFREYS & NUNEZ. Triterpenos das folhas de *Piranhea trifoliata* (Picrodendraceae). **Acta Amazonica**, v. 46, n. 2, p. 189 – 194, 2016.

KOEHN, F. E.; CARTER, G.T. The evolving role of natural products in drug discovery. **Nat Ver.**, v. 4, p. 206-220, 2005.

JUDD, Q. S.; OLMSTEAD, R. G. A survey of tricolpate (Eudicot) phylogenetic relationships. **American Journal of Botany**, v. 91, n. 10, p. 1627–1644, 2004

KATIHAR, S.K.; AFAQ, F.; PEREZ, A.; MUKHTAR, H. Green tea polyphenol (-) epigallocatechin-3-gallate treatment of human skin inhibits ultraviolet radiation-induced oxidative stress. **Carcinogenesis**, v. 22, n. 2, p.287-294, 2001.

KUMAR, S.; PANDEY, A.K. Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. **The Sci. World J.** v. 2013, p. 1-16, 2013.

LOIOLA, M. I. B.; AGRA, M. F.; BARACHO, G. S.; QUEIROZ, R. T. . Parâmetros de controle de qualidade de *Psychotria fractistipula* L.B. Sm., Klein & Delprete. **Acta Bot Bras.**, v. 21, p. 473, 2007.

LUCAS-FILHO, M. D.; SILVA, G. C. D.; CÔRTEZ, S. D. F.; MARES-GUIA, T. R. D.; FERRAZ, V. P.; SERRA, C. P.; BRAGA, F. C. ACE inhibition by astilbin isolated from *Erythroxylum gonocladum* (Mart.) OE Schulz. **Phytomedicine**, v. 17, p. 383-387, 2010.

MAHATO, S. B.; KUNDU, A. P. ^{13}C NMR spectra of pentacyclic triterpenoids- a compilation and some salient features. **Phytochemistry**, v. 37, n. 6, p. 1517, 1994.

MC MURRY, J. 7º Ed. Química Orgânica - Combo. São Paulo: Cengage Learning, 2011. 1344 p.

MI, Q.; CUI, B.; SILVA, G. L.; et al. Pervilleines B and C, new tropane alkaloid aromatic esters the reverse the multidrug-resistance in hollow fiber assay. **Cancer Letters**, v. 184, p. 13-20. 2002.

MIZIORKO, H.M. Enzymes of the mevalonate pathway of isoprenoid biosynthesis. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 505, n. 2, p. 131-143, 2011.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M.. Natural Products as Sources of New Drugs from 1981 to 2014. **J. Nat. Prod.** v. 79, p. 629–661, 2016.

OLIVEIRA, A.C; SENA-FILHO, J. G; MENDES-JÚNIOR, L. G; ANJOS, R. Al.; RIBEIRO, T. P; BARBOSA, J. M. F; BRAGAV. A.; MEDEIROS, I. A. *Erythroxylum pungens* elicits vasorelaxation by reducing intracellular calcium concentration in vascular smooth muscle cells of rats. **Rev. bras. Farmacogn.** v. 22, n. 2, p. 436-442, 2012.

OLIVEIRA, E. C.; CRUZ, R. A. S.; AMORIM, N. M.; SANTOS, M. G.; PEREIRA JUNIOR, L. C. ; SANCHEZ, E. O. F; FERNANDES, C.P.; GARRETT, R.; ROCHA, L. M. & FULY, A. L. "Protective effect of the plant extracts of *erythroxylum* sp. against toxic effects induced by the venom of *Lachesis muta* snake. **Molecules**, v. 21, p. 1350, 2016.

OLIVEIRA, S. L. Fitoquímica de espécies de *Erythroxylum* do semiárido: isolamento e determinação estrutural de alcaloides tropânicos, flavonoides e

diterpenos. **Dissertação (Doutorado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos)**, João Pessoa, 2012.

PADUCH, R.; KANDEFER-SZERSZEŃ, M.; TRYTEK, M. Terpenes: substances useful in human healthcare. **Arch. Immunol. Ther. Exp.**, v. 55, p. 315, 2007.

PERES, L. E. P. Metabolismo Secundário. Piracicaba – São Paulo: **Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz**. ESALQ / Universidade de São Paulo, p. 1-10, 2004.

PESSÔA B E MARCELO SOBRAL DA SILVA. Flavonoides glicosilados de *Erythroxylum pulchrum* A. St.-Hil. (Erythroxylaceae). **Quim. Nova**, v. 37, n. 4, p. 663-666, 2014.

PICOLLI, A. L.; ROMAN JUNIOR, W. A.; MORAIS, B.; LOEBLEIN M.; SCHÖNELL, A. P. Atividade antiulcerogênica do extrato aquoso de *Salvia*. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v.17, n. 4, p.774-781, 2015.

QI, S.; WU, D.; MA, Y.; LUO, X. Novel flavane from *Carapa guianensis*. **Acta Botanica Sinica**, v. 45, n. 9, p.1129-1133, 2012.

RIBEIRO, E. M. O. Estudofitoquímico de *Erythroxylum rimosum* O.E.Schulz e *Erythroxylum betulaceum* mart. (erythroxylaceae). **Tese (Doutorado em Química)**. Instituto de Química, Universidade Federal da Bahia, Salvador-BA, 2011.

RODEIRO, I. Potential hepatoprotective effects of new Cuban natural products in rat hepatocytes culture. **Toxicology in vitro**, v. 22, p.1242–1249, 2008.

RODRIGUES, L.; MARTINS, L. V.; BANTIM CALOU, I.; DE DEUS, M. S.; FERREIRA, PINHEIRO, P. M.; PERON, A. P. Flavonóides: constituição química, ações medicinais e potencial tóxico. **Acta Toxicol. Argent**, v. 23, n. 1, p. 36-43, 2015.

SELL, C. S. (2006) Terpenoids. **Encyclopedia of Chemical Technology**. Wiley Online Library. doi: 10.1002/0471238961.2005181602120504.a01.pub2.

SFORCIN, J. M. Biological Properties and Therapeutic Applications of Propolis. **Phytotherapy Research**, v. 30, p. 894–905, 2016.

SILVA FILHA, E. Avaliação da suplementação com extrato da folha de *Erythroxylum mucronatum* (Benth.) associada ao treinamento de força na melhora de desempenho físico de ratos. **Dissertação (mestrado em Ciências da Saúde)** – Universidade Federal de Sergipe, 2018.

SILVA, F. C. O.; FERREIRA, M. K. A.; SILVA, A. W.; MATOS, M. G. C.; MAGALHÃES, F. Bioatividades de Triterpenos Isolados de Plantas: Uma Breve Revisão. **Rev. Virtual Quim.**, v. 2, n.1, p. 234-247, 2020.

WENG, J. The evolutionary paths towards complexity: A metabolic perspective. **New Phytologist**, v. 201, n. 4, p. 1141–1149, 2014.

ZANOLARI, B. On-line identification of tropane alkaloids from *Erythroxylum vacciniifolium* by liquid chromatography-UV detection-multiple mass spectrometry and liquid chromatography-nuclear magnetic resonance spectrometry. **Journal of Chromatography**, v. 1020, p. 75-89, 2003.

ZUANAZZI, J.A.S.; TREMEA, V.; LIMBERGER, R. P.; SOBRAL, M.; HENRIQUES, A. T. Alkaloids of *Erythroxylum* (Erythroxylaceae) species from Southern Brazil. **Biochem Syst Ecol.**, v. 29, n. 8, p. 819-25, 2001.