



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



CAMILA MACAÚBAS DA SILVA

**Substâncias fenólicas de *Helicteres eichleri* K. SCHUM (Malvaceae *sensu lato*) e
avaliação microbiológica de suas quinonas**

JOÃO PESSOA

2022

CAMILA MACAÚBAS DA SILVA

**Substâncias fenólicas de *Helicteres eichleri* K. SCHUM (Malvaceae sensu lato) e
avaliação microbiológica de suas quinonas**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, do Centro de Ciências da Saúde, da Universidade Federal da Paraíba, como requisito para obtenção do título de Mestre em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos. **Área de concentração: Farmacoquímica**

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

JOÃO PESSOA

2022

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

S586s Silva, Camila Macaúbas da.
Substâncias fenólicas de *Helicteres eichleri* K.
SCHUM (Malvaceae sensu lato) e avaliação microbiológica
de suas quinonas / Camila Macaúbas da Silva. - João
Pessoa, 2022.
135 f.

Orientação: Maria de Fátima Vanderlei de Souza.
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCS.

1. Malvaceae sensu lato. 2. Sterculiaceae. 3. Estudo
fitoquímico. 4. Flavonoide sulfatado. 5. Naftoquinonas.
6. Atividade antimicrobiana. I. Souza, Maria de Fátima
Vanderlei de. II. Título.

UFPB/BC

CDU 561.5/.9(043)

CAMILA MACAÚBAS DA SILVA

Substâncias fenólicas de *Helicteres eichleri* K. SCHUM (Malvaceae *sensu lato*) e avaliação microbiológica de suas quinonas

Aprovada em: 24/02/2022

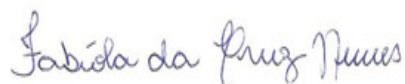
BANCA EXAMINADORA



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

Documento assinado digitalmente
gov.br SOCRATES GOLZIO DOS SANTOS
Data: 27/02/2022 19:43:26-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Prof. Dr. Socrates Golzio dos Santos
(Examinador Interno)



Prof.ª Dr.ª Fabíola da Cruz Nunes
(Examinadora Externa)

Dedico esta dissertação aos meus pais, Francisco Florentino da Silva e Maria de Fátima Macaúbas da Silva, que sempre me apoiaram, ensinaram o melhor caminho a ser seguido e nunca mediram esforços para realizar meus sonhos. Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a **Deus**, pelo dom da vida, por permitir que eu vivesse mais um sonho e por me fortalecer nos momentos difíceis.

Aos meus pais, **Maria de Fátima Macaúbas da Silva e Francisco Florentino da Silva**, por sonharem comigo, me ajudando e apoiando sempre com muito carinho e dedicação, tornando assim essa jornada mais leve.

Ao meu irmão, **Fabiano Florentino Macaúbas da Silva**, e família, **Fabíola dos Santos Souza, Manuela Macaúbas da Silva e Tiffany Alessandra Michassi**, que se fizeram presentes mesmo que de longe, sempre me apoiando e ajudando nos momentos difíceis.

Aos meus amigos de graduação, **Jefferson Bonny, Gabryella Monteiro, Bruna Alves, Maysa Dayane, Ellen Shirmene e Paulo Gomes**, que sempre me apoiaram, ajudaram nos estudos e nos momentos difíceis, me aconselhando da melhor forma.

Aos meus amigos, **Mikaelly Oliveira, Lucas Queiroga e Bianca Ramalho**, e ao meu primo, **Jonatan Maíron** que foram fundamentais nessa fase, sempre estando comigo, demonstrando carinho e cuidado.

Aos meus amigos e colegas de laboratório e de turma, **Diégina Fernandes, Ana Laura Cabral, Pedro Thiago Figueiredo, Nikole Duran, Fernando Sousa, Anauara Lima, Vinícius Ferreira, Yanne Celeste, Rodrigo Andrade**, e principalmente **Janderson Barbosa e Wallace Amorim**, pela convivência científica e amizade, me ajudando sempre que precisei.

A Prof.^a Dr.^a **Maria de Fátima Vanderlei de Sousa**, pela confiança em mim depositada, pela maravilhosa orientação e contribuição tanto para meu crescimento profissional, quanto pessoal.

A Prof.^a Dr.^a **Yanna Carolina Ferreira Teles**, por ter me apoiado no ingresso ao mestrado, sempre me ajudando e aconselhando, desde a graduação.

Ao Prof. Dr. **Samuel Cibulski** e a doutoranda **Adrielly Albuquerque**, pela contribuição na parte biológica deste trabalho e pela paciência em transmitir seus conhecimentos.

Ao Prof. Dr. **Leonardo Pessoa Felix** pela coleta e identificação botânica da espécie vegetal estudada.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, e aos meus ex-professores da graduação, pelos ensinamentos transmitidos, contribuindo para minha formação acadêmica.

Aos técnicos e funcionários do Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, em especial a: **Roseane Malheiros, Caroline Mangueira, Nilmar Medeiros, Raimundo Nonato, Yuri Mangueira, Marcelo e Evandro** pela competência e apoio.

A CAPES, pelo apoio financeiro.

E por fim, a todos aqueles que torcem pelo meu sucesso.

A todos vocês, meus sinceros agradecimentos.

*“As pessoas podem duvidar do que você diz,
mas elas acreditarão no que você faz.”*

(Lewis Cass)

RESUMO

MACAÚBAS-SILVA, Camila. **Substâncias fenólicas de *Helicteres eichleri* K. SCHUM (Malvaceae sensu lato) e avaliação microbiológica de suas quinonas.** 135 p. Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Biativos) – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2022.

Os produtos naturais são utilizados para a cura e tratamento de diversas doenças desde os tempos pré-históricos. Esses compostos apresentam alta diversidade estrutural e despertam interesse de muitos pesquisadores na busca de novas moléculas bioativas. Atualmente a resistência microbiana causada pelo uso inadequado de antibióticos, foi considerada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) uma ameaça à saúde da sociedade, havendo uma procura crescente por novas moléculas bioativas de plantas contra a resistência bacteriana. Diante da ampla gama de estruturas químicas vegetais, dos conhecimentos quimiotaxonômicos e biológicos do gênero *Helicteres*, buscou-se neste estudo os potenciais fitoquímicos e microbianos contra 4 linhagens bacterianas patogênicas, de substâncias isoladas de *Helicteres eichleri* K. Schum, endêmica do Brasil e conhecida popularmente como “fumo-de-macaco”, família Sterculiaceae (Malvaceae sensu lato). Para o estudo fitoquímico, o extrato etanólico bruto foi submetido à cromatografia líquido-líquido, utilizando Hex.; CH₂Cl₂; AcOEt; n-BuOH, obtendo-se suas respectivas fases, além da fase hidroalcoólica. A fase diclorometano (20g) e a fase acetato de etila (8g) foram submetidas a cromatografia em coluna utilizando sílica flash e/ou cartucho C-18 e Sephadex-LH 20, como fases estacionárias. A atividade antimicrobiana de dois compostos isolados (*He-1* e *He-2*) foram investigadas frente a *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Klebsiella pneumoniae* e *Salmonella enterica typhimurium*, por ensaio de disco difusão e por meio da de microdiluição por meio da determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM). O processo cromatográfico levou ao isolamento de quatro constituintes químicos, cujas estruturas químicas foram definidas por interpretação dos espectros de RMN 1H e 13C e bidimensionais, e comparações com modelos da literatura. As substâncias isoladas foram duas *O*-naftoquinonas, ***He-1***: 4-metoxi-3,6,9-trimetil-2,3-di-hidrobenzo [de] cromeno-7, 8-diona (mansonona M) e ***He-2*** :4-Hidroxi-3,6,9-trimetil-2,3-di-hidro-benzo [de] cromeno-7,8-diona (mansonona H), um flavonóide sulfatado ***He-4***: 7,4'-di-O-metil-8-O-sulfato-isoscutelareina e um flavonoide glicosilado ***He-5***: canferol-3-O-β-D-(6''-E-p-coumaroil) glicopiranosídeo (tilirosídeo). A avaliação antimicrobiana realizada com as duas quinonas sesquiterpênicas, demonstrou que ***He-1*** e ***He-2*** apresentou atividade antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis*, e ***He-1*** apresentou baixa atividade contra *Salmonella enterica typhimurium*. As quatro substâncias foram isoladas pela primeira vez na espécie, fortalecendo assim o perfil fitoquímico do gênero *Helicteres* e as *O*-naftoquinonas demonstraram-se promissoras quanto a sua atividade antimicrobiana.

Palavras-chave: Sterculiaceae; Estudo fitoquímico; Flavonoide sulfatado; Naftoquinonas; Atividade antimicrobiana.

ABSTRACT

MACAÚBAS-SILVA, Camila. **Phenolic substances from *Helicteres eichleri* K. SCHUM (Malvaceae sensu lato) and microbiological evaluation of your quinones.** 135 p. Master's Thesis (Graduate Program in Natural Products and Synthetic Bioactive) – Center of Health Sciences, Federal University of Paraíba, João Pessoa, 2017.

Natural products have been used to cure and treat various diseases since prehistoric times. These compounds have high structural diversity and arouse the interest of many researchers in the search for new bioactive molecules. Currently, microbial resistance caused by the inappropriate use of antibiotics was considered by the World Health Organization (WHO) a threat to the health of society, with a growing demand for new bioactive molecules from plants against bacterial resistance. Given the wide range of plant chemical structures, chemotaxonomic and biological knowledge of the genus *Helicteres*, this study sought to identify phytochemical and microbial potentials against 4 pathogenic bacterial strains, of substances isolated from *Helicteres eichleri* K. Schum, endemic to Brazil and popularly known as “monkey smoke”, family Sterculiaceae (Malvaceae sensu lato). For the phytochemical study, the crude ethanol extract was subjected to liquid-liquid chromatography, using Hex.; CH₂Cl₂; AcOEt; n-BuOH, obtaining their respective phases, in addition to the hydroalcoholic phase. The dichloromethane phase (20g) and the ethyl acetate phase (8g) were subjected to column chromatography using flash silica and/or C-18 cartridge and Sephadex-LH 20 as stationary phases. The antimicrobial activity of two isolated compounds (He-1 and He-2) was investigated against *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Klebsiella pneumoniae* and *Salmonella enterica typhimurium*, by disk diffusion assay and by means of microdilution by determining the Minimum Inhibitory (MIC). The chromatographic process led to the isolation of four chemical constituents, whose chemical structures were defined by interpretation of ¹H and ¹³C and two-dimensional NMR spectra, and comparisons with models in the literature. The isolated substances were two O-naphthoquinones, **He-1**: 4-methoxy-3,6,9-trimethyl-2,3-dihydrobenzo[de]chromene-7,8-dione (mansonone M) and **He-2**: 4-Hydroxy-3,6,9-trimethyl-2,3-dihydro-benzo[de]chromene-7,8-dione (mansonone H), a sulfated flavonoid, **He-4**: 7,4'-di -O-methyl-8-O-sulfate-isoscutellarein and a glycosylated flavonoid, **He-5**: kaempferol-3-O-β-D-(6''-Ep-coumaroyl) glycopyranoside (tylyroside). The antimicrobial evaluation performed with the two sesquiterpene quinones showed that **He-1** and **He-2** showed antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*, and **He-1** showed low activity against *Salmonella enterica typhimurium*. The four substances were isolated for the first time in the species, thus strengthening the phytochemical profile of the genus *Helicteres* and the O-naphthoquinones proved to be promising in terms of their antimicrobial activity.

Keywords: Sterculiaceae; Phytochemical study; Sulfated flavonoid; Naphthoquinones; Antimicrobial activity.

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E FÓRMULAS

AcetilCoA: Acetilcoenzima A

AChE: Acetilcolinesterase

AcOEt: Acetate de etila

APG: Angiosperm Phylogeny Group

APS: adenosina-5'-fosfosulfato

APT: Attached Proton Test

ATP: adenosina trifosfato

BChE: Butirilcolinesterase

br d: Broad doublet

br s: Broad simplet

CCDA: Cromatografia em Camada Delgada Analítica

CD₃OD: Metanol deuterado

CDCl₃: Clorofórmio deuterado

CH₂Cl₂: Diclorometano

CHCl₃: Clorofórmio

CIM: Concentração Inibitória Mínima

CLSI: Clinical & Laboratory Standards Institute

d: Dupleto

dd: Duplo dupleto

ddd: Duplo duplo dupleto

DMSO-d₆: Dimetilsulfóxido deuterado

EEB: Extrato Etanólico Bruto

EtOH: Etanol

HMBC: Heteronuclear Multiple Quantum Coherence Spectroscopy

HSQC: Heteronuclear Single Quantum Coherence Spectroscopy

Hz:Hertz

J:Constante de acoplamento

m:Multiplete

MeOH: Metanol

MHz: Megahertz

mm: Milímetros

MRSA: Multirresistente a Meticilina e Oxacilina

nm: Nanômetros

O: Orto

P.A.: Para análise

PAPS: 3'-fosfoadenosina-5'-fosfosulfato

ppm: Partes por milhão

RMN ¹³C: Ressonância Magnética Nuclear de Carbono

RMN ¹H: Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

s.l.: *sensu lato*

s: Singleto

SOTs: sulfotransferases citosólicas

t:Triplete

µg/mL: Microlitros por mL

δ_C:descolamento químico de carbono em ppm

δ_H: descolamento químico de hidrogênio em ppm

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1. Sistemática da família Malvaceae <i>sensu lato</i>	29
Esquema 2. Sistemática da família Sterculiaceae.....	32
Esquema 3. Obtenção do EEB das partes aéreas de <i>Helicteres eichleri</i>	61
Esquema 4. Particionamento do EEB das partes aéreas de <i>Helicteres eichleri</i>	62
Esquema 5. Fracionamento cromatográfico da fase Diclorometano e frações 16/26 e 79/80 da fase diclorometano do EEB das partes aéreas de <i>Helicteres eichleri</i>	64
Esquema 6. Fracionamento cromatográfico da fase Acetato de Etila do EEB das partes aéreas de <i>Helicteres eichleri</i>	65
Esquema 7. Fracionamento cromatográfico das frações da fase Acetato de Etila do EEB das partes aéreas de <i>Helicteres eichleri</i>	66

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Distribuição geográfica mundial da família Malvaceae <i>sensu lato</i>	30
Figura 2. Distribuição geográfica mundial da família Sterculiaceae.....	31
Figura 3. Alguns constituintes químicos isolados da família Sterculiaceae.....	35
Figura 4. Distribuição geográfica mundial do gênero <i>Helicteres</i>	40
Figura 5. Alguns constituintes químicos isolados de espécies do gênero <i>Helicteres</i>	43
Figura 6. <i>Helicteres eichleri</i> - A: ramo; B: flor; C: face interna da pétala completa; D: pétala do lado interno mais aberta; E: face externa; F: pétala aberta do lado de fora mostrando o interior do bolso; G: estaminódio visto pela frente; H: estaminódio visto por trás.....	48
Figura 7. Estrutura básica dos flavonoides.....	52
Figura 8. Classificação das quinonas.....	53
Figura 9. Localização do município de Sertãozinho-PB.....	59
Figura 10. Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 Mz) de <i>He-1</i>	77
Figura 11. Primeira expansão do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de <i>He-1</i>	78
Figura 12. Segunda expansão do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de <i>He-1</i>	78
Figura 13. Terceira expansão do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de <i>He-1</i>	79
Figura 14. Quarta expansão do espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de <i>He-1</i>	79
Figura 15. Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de <i>He-1</i>	80
Figura 16. Espectro HSQC (δ , CDCl_3 , 400 MHz e 100 MHz) de <i>He-1</i>	80
Figura 17. Espectro HMBC (δ , CDCl_3 , 400 MHz e 100 MHz) de <i>He-1</i>	81
Figura 18. Primeira expansão do espectro HMBC (δ , CDCl_3 , 400 MHz e 100 MHz) de <i>He-1</i>	81
Figura 19. Segunda expansão do espectro HMBC (δ , CDCl_3 , 400 MHz e 100 MHz) de <i>He-1</i>	82
Figura 20. Terceira expansão do espectro HMBC (δ , CDCl_3 , 400 MHz e 100 MHz) de <i>He-1</i>	82
Figura 21. Quarta expansão do espectro HMBC (δ , CDCl_3 , 400 MHz e 100 MHz) de <i>He-1</i>	83
Figura 22. Espectro de RMN ^1H (δ ,DMSO, 500 MHz) de <i>He-2</i>	89

Figura 23. Primeira expansão do espectro de RMN ^1H (δ ,DMSO, 500 MHz) de <i>He-2</i>	90
Figura 24. Segunda expansão do espectro de RMN ^1H (δ ,DMSO, 500 MHz) de <i>He-2</i>	90
Figura 25. Espectro de RMN ^{13}C (δ ,DMSO, 125 MHz) de <i>He-2</i>	91
Figura 26. Espectro HSQC (δ ,DMSO, 500 MHz e 125 MHz) de <i>He-2</i>	91
Figura 27. Espectro HMBC (δ ,DMSO, 500 MHz e 125 MHz) de <i>He-2</i>	92
Figura 28. Primeira expansão do espectro HMBC (δ , DMSO, 500 MHz e 125 MHz) de <i>He-2</i>	92
Figura 29. Espectro de RMN ^1H (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 MHz) de <i>He-3</i>	94
Figura 30. Espectro de RMN ^{13}C (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 100 MHz) de <i>He-3</i>	94
Figura 31. Espectro de RMN ^1H (δ ,MeOD, 500 MHz) de <i>He-4</i>	101
Figura 32. Primeira expansão do espectro de RMN ^1H (δ , CD_3OD , 500 MHz) de <i>He-4</i> ..	102
Figura 33. Segunda expansão do espectro de RMN ^1H (δ , CD_3OD , 500 MHz) de <i>He-4</i> ..	102
Figura 34. Terceira expansão do espectro de RMN ^1H (δ , CD_3OD , 500 MHz) de <i>He-4</i> ..	103
Figura 35. Espectro de RMN ^{13}C (δ , CD_3OD , 125 MHz) de <i>He-4</i>	103
Figura 36. Espectro de HSQC (δ , CD_3OD , 500 MHz e 125 MHz) de <i>He-4</i>	104
Figura 37. Expansão do espectro de HSQC (δ , CD_3OD , 500 MHz e 125 MHz) de <i>He-4</i> ..	104
Figura 38. Espectro de HMBC (δ , CD_3OD , 500 MHz e 125 MHz) de <i>He-4</i>	105
Figura 39. Expansão do espectro de HMBC (δ , CD_3OD , 500 MHz e 125 MHz) de <i>He-4</i>	105
Figura 40. Espectro de RMN ^1H (δ , CD_3OD , 400 MHz) de <i>He-5</i>	109
Figura 41. Primeira expansão do espectro de RMN ^1H (δ , CD_3OD , 400 MHz) de <i>He-5</i> ..	110
Figura 42. Segunda expansão do espectro de RMN ^1H (δ , CD_3OD , 400 MHz) de <i>He-5</i> ..	110
Figura 43. Terceira expansão do espectro de RMN ^1H (δ , CD_3OD , 400 MHz) de <i>He-5</i> ..	111
Figura 44. Espectro de RMN ^{13}C (δ , CD_3OD , 100 MHz) de <i>He-5</i>	111
Figura 45. Primeira expansão do espectro de RMN ^{13}C (δ , CD_3OD , 100 MHz) de <i>He-5</i>	112
Figura 46. Ensaio disco-difusão (diâmetro em mm) para mansonona M e H contra <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Staphylococcus epidermidis</i>	113

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Alguns constituintes químicos isolados da família Sterculiaceae.....	34
Quadro 2. Alguns constituintes químicos isolados de espécies do gênero <i>Helicteres</i>	42
Quadro 3. Constituintes químicos isolados de <i>Helicteres eichleri</i>	49
Quadro 4. Substâncias isoladas e identificadas da fase diclorometano e acetato de etila das partes aéreas de <i>Helicteres eichleri</i> K. Schum.....	70

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C de <i>He-1</i> (δ , CDCl_3 , 400 Mz e 100 Mz) com modelo da literatura Mo-1 (δ , CDCl_3 , 500 Mz e 125 Mz) (CHEN; CHEN; HONG, 1990; PUCKHABER; STIPANOVIC, 2004).....	74
Tabela 2. Compilação dos dados de RMN ^1H e ^{13}C , HSQC e HMBC da <i>He-1</i> (δ , CDCl_3 , 400 MHz e 100 MHz).....	76
Tabela 3. Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C de <i>He-2</i> (δ ,DMSO, 500 MHz e 125 MHz) com modelo da literatura Mo-1 (δ ,DMSO, 500 MHz e 125 MHz) (CHEN; CHEN; HONG, 1990).....	86
Tabela 4. Compilação dos dados de RMN ^1H e ^{13}C , HSQC e HMBC de <i>He-2</i> (δ ,DMSO, 500 MHz e 125 MHz).....	88
Tabela 5. Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C de <i>He-4</i> (δ , CD_3OD , 500 MHz e 125 MHz) com modelo da literatura Mo-1 (δ ,DMSO, 300 MHz e 75 MHz) (FERNANDES et al., 2018) e Mo-2 (δ ,DMSO, 400 MHz e 100 MHz) (TELES, 2015b).....	98
Tabela 6. Compilação dos dados de RMN ^1H e ^{13}C , HSQC e HMBC da <i>He-4</i> (δ , CD_3OD , 500 MHz e 125 MHz).....	100
Tabela 7. Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C de <i>He-5</i> (δ , CD_3OD , 400 MHz e 100 MHz) com modelo da literatura Mo-1 (δ , DMSO- <i>d</i> 6, 500 MHz e 125 MHz) (FERNANDES et al., 2018).....	108
Tabela 8. Resultado do teste qualitativo para o Ensaio disco-difusão	113
Tabela 9. Resultado do teste quantitativo para o Ensaio por Concentração Inibitória Mínima (CIM).....	114

SUMÁRIO

1.Introdução.....	19
2.Objetivos.....	23
2.1 Objetivo Geral.....	24
2.2 Objetivos Específicos	24
3.Fundamentação teórica.....	25
3.1 Importância de estudos com Produtos Naturais.....	26
3.2 Aspectos gerais da família Malvaceae <i>sensu lato</i>	28
3.3 Aspectos gerais sobre a família Sterculiaceae	31
3.4 Aspectos gerais sobre o gênero <i>Helicteres</i>	39
3.5 Considerações botânicas e etnofarmacológica da espécie <i>Helicteres eichleri</i> K. SCHUM	47
3.6 Considerações gerais sobre flavonoides	51
3.7 Considerações gerais sobre quinonas	53
3.8 Considerações gerais sobre atividade antimicrobiana	54
4.Metodologia.....	57
4.1 Levantamento Bibliográfico	58
4.2 Coleta e Identificação do Material Vegetal	58
4.3 Estudo fitoquímico.....	59
4.3.1 Isolamento e purificação dos constituintes químicos de <i>Helicteres eichleri</i>	59
4.3.2 Caracterização das substâncias isoladas.....	59
4.3.3 Processamento do material vegetal	60
4.3.4 Obtenção do Extrato Etanólico Bruto das partes aéreas de <i>Helicteres eichleri</i> ...	60
4.3.5 Fracionamento Cromatográfico do Extrato Etanólico Bruto das partes aéreas de <i>Helicteres eichleri</i>	60
4.3.6 Processamento Cromatográfico da fase diclorometano do Extrato Etanólico Bruto das partes aéreas de <i>Helicteres eichleri</i>	61
4.3.6.1 Fracionamento Cromatográfico da fração 16/26 obtida da fase diclorometano do EEB das partes aéreas de <i>Helicteres eichleri</i>	62
4.3.6.2 Fracionamento Cromatográfico da fração 79/80 obtida da fase diclorometano do EEB das partes aéreas de <i>Helicteres eichleri</i>	63

4.3.7 Processamento Cromatográfico da fase acetato de etila do Extrato Etanólico Bruto das partes aéreas de <i>Helicteres eichleri</i>	63
4.3.7.1 Processamento Cromatográfico da fração D obtida da fase acetato de etila do EEB das partes aéreas de <i>Helicteres eichleri</i>	63
4.3.7.2 Processamento Cromatográfico da fração 43/62 obtida da fase acetato de etila do EEB das partes aéreas de <i>Helicteres eichleri</i>	65
4.3.7.3 Processamento Cromatográfico da fração 13/30 obtida da fase acetato de etila do EEB das partes aéreas de <i>Helicteres eichleri</i>	66
4.4 Avaliação da atividade antimicrobiana dos compostos	67
4.4.1 Avaliação da atividade antimicrobiana por ensaio disco-difusão	67
4.4.2 Avaliação da atividade antimicrobiana pelo ensaio de microdiluição por meio da determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM).....	68
5. Resultados e Discussão.....	69
5.1 Substâncias isoladas da fase diclorometano e acetato de etila das partes aéreas de <i>Helicteres eichleri</i> K. Schum.....	70
5.1.1 Caracterização estrutural de <i>He-1</i>	71
5.1.2 Caracterização estrutural de <i>He-2</i>	83
5.1.3 Caracterização estrutural de <i>He-3</i>	93
5.1.4 Caracterização estrutural de <i>He-4</i>	95
5.1.5 Caracterização estrutural de <i>He-5</i>	106
5.2 Avaliação da atividade antimicrobiana dos compostos	112
6. Conclusões.....	115
7. Perspectivas futuras	117
Referências Bibliográficas.....	118

1. Introdução

Os produtos naturais despertam interesse nos humanos e são utilizados para a cura e tratamento de diversas doenças desde os tempos pré-históricos, sendo o registro mais antigo do uso de plantas medicinais a cerca de 2.400 aC (DAVID; WOLFENDER; DIAS, 2015; JAMSHIDI-KIA, 2018; MOURA et al., 2020).

As espécies vegetais produzem constituintes químicos, chamados metabólitos secundários, como resultado da evolução de milhões de anos a adaptação a ou contra estresses bióticos e abióticos (DAVID; WOLFENDER; DIAS, 2015), apresentando alta diversidade estrutural. Devido a sua complexidade, os produtos naturais são moléculas bioativas que despertam interesse de muitos pesquisadores na busca de novos fármacos derivados de plantas (YUAN et al., 2016; CASANOVA; COSTA, 2017).

Dessa forma, a Química de Produtos Naturais progrediu no último século, permitindo o isolamento, elucidação/caracterização estrutural e avaliação dos efeitos farmacológicos dos constituintes químicos derivadas do metabolismo secundário das espécies vegetais (DECORTE, 2016; SIMÕES et al., 2017).

Em vista da grande diversidade vegetal do mundo, com cerca de 500.000 espécies de plantas (VALLI; RUSSO; BOLZANI, 2018; CORLETT, 2016), o Brasil é o país com a maior diversidade, apresentando 18% da biodiversidade vegetal (BIAZOTTO, 2019), compreendendo espécies de plantas superiores, angiospermas, algas, licófitas, samambaias, briófitas e gimnospermas (DUTRA et al., 2016).

A fauna e a flora brasileiras distribuídas em seis biomas, Caatinga, Cerrado, Floresta Amazônica, Mata Atlântica, Pampas e Pantanal, apresentam uma grande diversidade de compostos naturais com estruturas complexas e específicas de grande interesse para a química medicinal, no desenvolvimento de novos fármacos para o tratamento de diversas doenças, cosméticos e agroquímicos (DUTRA et al., 2016; VALLI; RUSSO; BOLZANI, 2018). A família Malvaceae, destaca-se entre a diversidade vegetal, compreendendo cerca de 250 gêneros e 4.200 espécies no mundo, e cerca de 92 gêneros e 1300 espécies no Brasil (BOVINI et al., 2015; DORNELES, 2017). Suas espécies apresentam grande importância econômica e medicinal, apresentando atividade antimicrobiana, antioxidante, antiinflamatória, antitumoral (ABDULLATIF, 2017; CHAVES et al, 2017; DORNELES, 2017; ISLAM, 2019; ABDULLAH et al., 2020; FERNANDES et al., 2020).

Uma análise realizada pela Food and Drug Administration (FDA), relatou que no período de 1981 a 2019, cerca de 50% dos produtos farmacêuticos eram derivados ou projetados a partir de estruturas de produtos naturais (NEWMAN; CRAGG, 2020), indicando que substâncias derivadas de plantas tem grande contribuição no desenvolvimento de fármacos.

Atualmente a resistência microbiana causada pelo uso inadequado de antibióticos, foi considerada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) uma ameaça à saúde da sociedade (WHO Antimicrobial Resistance, 2021), tendo em vista que todos os anos as infecções bacterianas são responsáveis por milhões de mortes (GUPTA, M., SHARMA, R. & KUMAR, 2019; KHAMENEH et al., 2019). O uso de antibióticos administrado de forma incorreta e sem supervisão de um profissional acarretaram resistência das bactérias aos mesmos (HAY; RAO; DOLECEK, 2018), tornando-os ineficazes (KHAMENEH et al., 2019).

Dessa maneira, há uma procura crescente por novas moléculas bioativas de plantas contra a resistência bacteriana (VAOU, 2021). O uso de produtos naturais têm ganhado destaque na utilização como agentes antimicrobianos, agindo sozinhos ou em combinação com antibióticos, restaurando sua atividade antibacteriana (KHAMENEH et al., 2019).

Diante da ampla gama de estruturas químicas vegetais, da importância de novos agentes bioativos derivados de plantas e dos conhecimentos quimiotaxonômicos e biológicos do gênero *Helicteres*, buscou-se neste estudo os potenciais fitoquímicos e antimicrobianos contra 4 linhagens bacterianas patogênicas, de substâncias isoladas de *Helicteres eichleri* K. Schum, endêmica do Brasil e conhecida popularmente como “fumo-de-macaco”, família Sterculiaceae (Malvaceae *sensu lato*), vislumbrando contribuir com os conhecimentos fitoquímicos e biológicos da família.

2. Objetivos

2.1 Objetivo Geral

Contribuir para o conhecimento fitoquímico e biológico da família Sterculiaceae, através de estudos fitoquímicos e biológicos das partes aéreas de *Helicteres eichleri* K. Schum.

2.2 Objetivos Específicos

- Isolar, purificar e identificar ou caracterizar os constituintes químicos das fases e frações do extrato etanólico bruto (EEB) das partes aéreas de *Helicteres eichleri* K. Schum, buscando conhecer o perfil dos metabólitos secundários produzidos por espécie do gênero *Helicteres* através de métodos cromatográficos e espectroscópicos;
- Realizar testes biológicos com as substâncias isoladas contra 4 linhagens bacterianas patogênicas, *Klebsella pneumoniae*, *Salmonella entérica typhimurium*, *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis*, por meio do ensaio disco-difusão e ensaio de microdiluição através da determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM), no intuito de descobrir novos potenciais terapêuticos.

3. Fundamentação teórica

3.1 Importância de estudos com Produtos Naturais

As espécies vegetais biossintetizam uma variedade de substâncias químicas, conhecidas como metabólitos secundários, que são considerados resultado da adaptação, sobrevivência e defesa do organismo ao ambiente. Essas substâncias desempenham um papel importante na resistência da planta ao estresse biótico, exercendo funções como proteção contra insetos, fungos, herbívoros e patógenos, e estabelecimento de simbiose (ISLAM, 2019; ISAH, 2019; YANG et al., 2018). Além desses, fatores externos como o clima da área, luz, tipo e composição do solo, estresse de seca, salinidade e deficiência de nutrientes são considerados estímulos para a produção desses metabólitos, (LI et al., 2020; HASHEMINYA; DEHGHANNYA, 2019). Diante disso, a junção de estresses ambientais causa mudanças no metabolismo da planta, ocorrendo uma maior produção de metabólitos secundários (LI et al., 2020).

Devido a sua estereocomplexidade, diversidade química e bioatividade, os produtos naturais tem despertado grande interesse científico, na indústria farmacêutica, química, cosmética e alimentícia, na busca de novas moléculas bioativas, como também no desenvolvimento de rotas biosintéticas para estes compostos, tendo em vista que apresentam atividades biológicas (CHAMBERLIN et al., 2019; GUERRIERO et al., 2018).

Os produtos naturais apresentam uma variedade de atividades biológicas e efeitos farmacológicos no corpo humano, fornecendo benefícios à saúde, dessa forma a procura por plantas medicinais para fins medicinais nas últimas décadas vem aumentando (THOMFORD et al., 2018; LI et al., 2020).

Exemplos de produtos naturais conhecidos por suas atividades são a morfina (*Papaver somniferum*), composto farmacologicamente ativo utilizado como analgésico para aliviar dores intensas (YUAN et al., 2016; YAZICI, L.; YILMAZ, 2021); o taxol (*Taxus brevifolia*), conhecido por sua atividade anticâncer (AMIRHOSSEIN et al., 2020); o ácido salicílico (*Salix alba*), utilizado para curar febre e dor, apresentando atividade anti-inflamatória (SINHA et al., 2019); e o óleo de citronela (*Cymbopogon citratus*), utilizado como inseticida, repelente e desodorante em cosméticos (OLADEJI et al., 2019); outras substâncias também apresentam atividades larvicida, antiviral, antifúngica, anti-inflamatória, antioxidante, antitumoral, entre outros (HASHEMINYA; DEHGHANNYA,

2019; ANDRADE et al., 2018; RAD et al., 2019; FERNANDES et al., 2018; FERREIRA et al., 2019)

Grande parte dos medicamentos aprovados pelo *Food and Drug Administration* (FDA) são baseados em produtos naturais. Um levantamento realizado sobre os novos medicamentos aprovados no período entre 1981 e 2019, mostrou que 3,8% são produtos naturais; 0,8% são produtos naturais botânicos; 18,9% são derivados de produtos naturais; 11% são fármacos sintéticos com grupo farmacóforo de um produto natural; e 11,5 % são totalmente sintéticos baseados em produtos naturais (NEWMAN; CRAGG, 2020) retratando a contribuição desses compostos no desenvolvimento de fármacos.

Dentre os estudos científicos com espécies vegetais encontra-se a fitoquímica, que tem por objetivo identificar, isolar, purificar, caracterizar e estudar os efeitos farmacológicos dos constituintes químicos presentes nas plantas, e de seus extratos (SIMÕES et al., 2017; SANTHI; SENGOTTUVEL, 2016).

Um ponto importante a ser levado em consideração para a realização de um estudo fitoquímico e descoberta de novos fármacos é a seleção da espécie vegetal. Desta forma, algumas abordagens podem ser utilizadas para o estudo de plantas medicinais, tais como etnodirigida (dirigida por etnobotânica); quimiotaxonômica e ecológica; aleatória e integrada. A abordagem etnodirigida leva em consideração o uso tradicional das plantas e suas atividades biológicas; a quimiotaxonômica e ecológica consiste em classificar a planta com base em seus constituintes químicos; a aleatória consiste na classificação aleatória da planta; e a integrada leva em consideração todas as abordagens citadas anteriormente, podendo utilizar ferramentas matemáticas como auxílio (NINGTHOUJAM et al., 2018).

O estudo etnodirigido tem-se mostrado muito útil e eficaz, tendo em vista que a escolha da espécie é baseada no conhecimento do uso terapêutico da planta, levando em conta suas atividades biológicas e fornecendo uma abordagem satisfatória para a descoberta de novas substâncias (NINGTHOUJAM et al., 2018; AMODEO et al., 2019). Neste contexto, cita-se a família Malvaceae, a qual vêm despertando grande interesse no meio científico por suas espécies apresentarem relevante importância econômica, medicinal, alimentícia e ornamental. Dentre elas o algodão (*Gossypium* ssp.), o cacau (*Theobroma cacao*) e o quiabo (*Abelmoschus esculentus*) destacam-se por serem importantes culturas agrícolas (ISLAM, 2019); a malva branca (*Waltheria viscosissima*)

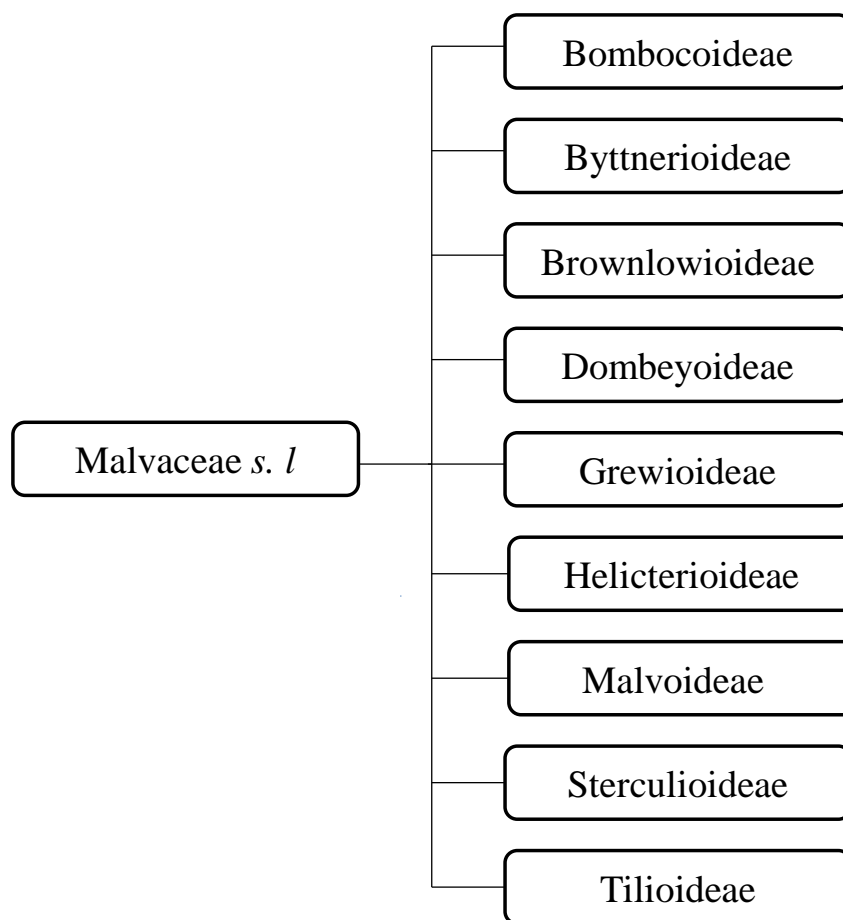
cujo estudo confirmou atividade larvicida contra o *Aedes aegypti* (FERREIRA et al., 2019); e algumas espécies como *Hibiscus rosa-sinensis* que além de apresentar atividades antitumoral e antidiabética, também tem finalidade ornamental (ISLAM, 2019; ABDULLAH et al., 2020).

3.2 Aspectos gerais da família Malvaceae *sensu lato*

A família Malvaceae *sensu stricto* compõe a ordem Malvales e tem grande representatividade na área da Caatinga (RAMALHO et al., 2009). A partir de estudos baseados em dados moleculares, morfológicos e biogeográficos, esta família passou a ser designada família Malvaceae *sensu lato* e nela estão inseridas as famílias Sterculiaceae, Bombacaceae e Tiliaceae, além da Malvaceae *stricto sensu* (LIMA; BOVINI; CONCEIÇÃO, 2019).

A família Malvaceae *sensu lato* divide-se em nove subfamílias, sendo elas, Bombacoideae Burnett (composta pela família Bombacaceae); Byttnerioideae Burnett, Dombeyoideae Beilschm e Sterculioideae Burnett (compostas por gêneros da família Sterculiaceae); Brownlowioideae Burret (composta por gêneros da família Tiliaceae); Grewioideae Hochr. (composta por gêneros da família Tiliaceae); Helicterioideae (Schott e Endl.) Meisn. (composta pelas tribos Helictereae e Durioneae); Malvoideae Burnett (compostas pela família Malvaceae *sensu stricto*); e Tilioideae Arn. (composta pelo gênero *Tilia* da família Tiliaceae) (Esquema 1, pág. 29) (COLLI-SILVA et al., 2019; FERNANDES et al., 2020a; APG, 2016; DORNELES, 2017).

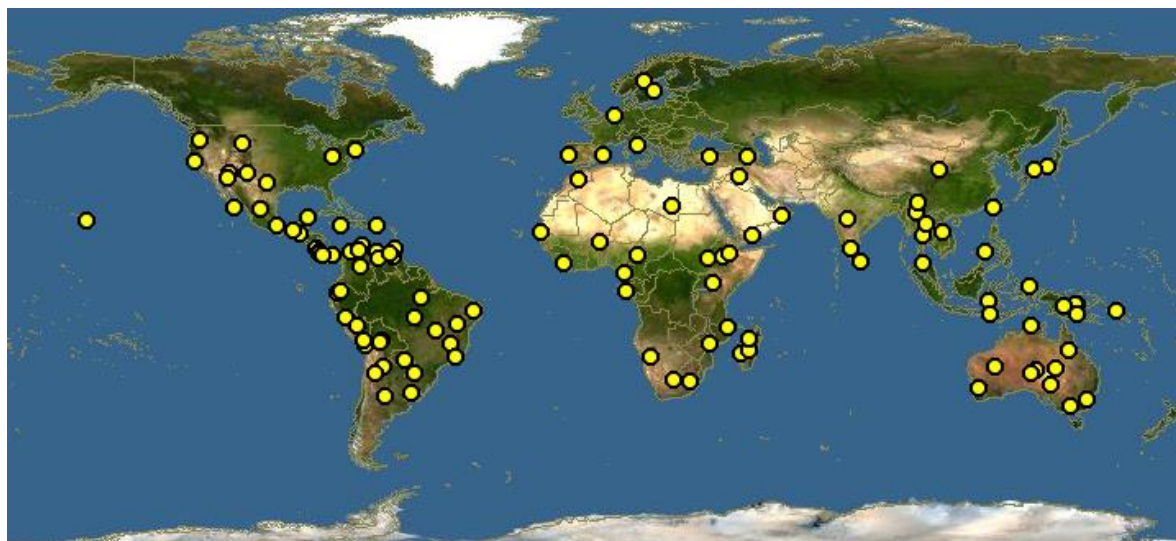
Esquema 1. Sistemática da família *Malvaceae sensu lato*



Fonte: Adaptado de APG IV, 2016.

Malvaceae sensu lato (*s.l.*), compreende cerca de 250 gêneros e 4.200 espécies, tendo distribuição cosmopolita, porém predominantemente pantropical (Figura 1, pág. 30). No Brasil, possui cerca de 92 gêneros e 1300 espécies (DORNELES, 2017; BOVINI et al., 2015), estando 290 destas distribuídas na região Nordeste, sendo 161 na Caatinga (LIMA; BOVINI; CONCEIÇÃO, 2019). Alguns dos maiores gêneros que compõem esta família incluem *Hibiscus* (300), *Sterculia* (250), *Dombeya* (225), *Sida* (200), *Pavonia* (200), *Abutilon* (100) e *Gossypium* (40) (ISLAM, 2019; YOSHIKAWA; DUARTE, 2017).

Figura 1: Distribuição geográfica mundial da família *Malvaceae sensu lato*



Fonte: https://www.discoverlife.org/mp/20m?act=make_map

As espécies de *Malvaceae* L, apresentam grande importância econômica, desde as ornamentais até as alimentícias. Entre as espécies mais conhecidas no âmbito ornamental estão, *Hibiscus rosa-sinensis* L. (hibisco), *Abutilon* spp. (lâmpada-japonesa), *Ceiba speciosa* (A. St.-Hil.) e *Ravenna* (paineira), e entre as espécies alimentícias estão, *Theobroma cacao* L. (cacau), *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench (quiabo), *Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng.) K.Schum. (cupuaçu) (DORNELES, 2017).

Além disso, muitas espécies dessa família são utilizadas na medicina popular, a *Hibiscus rosa-sinensis* L. (hibisco), com atividades antimicrobiana, antioxidante, antitumoral e antidiabética (ABDULLAH et al., 2020); *Malva parviflora* (malva-de-dente), apresentando atividade anti-inflamatória (ABDULLATIF, 2017); *Sida rhombifolia* L. (guanxuma), atuando como vasorelaxante e utilizada para o tratamento de gota e hipertensão (CHAVES et al, 2017); *Luehea divaricata* Mart. & Zucc. (açoita-cavalo), apresentando atividade inflamatória, antianêmica e antinociceptiva (BATISTA et al., 2016); e *Hibiscus mutabilis* L. (rosa-louca), que revelou atividade antibacteriana, antiproliferativa e analgésia (ISLAM, 2019).

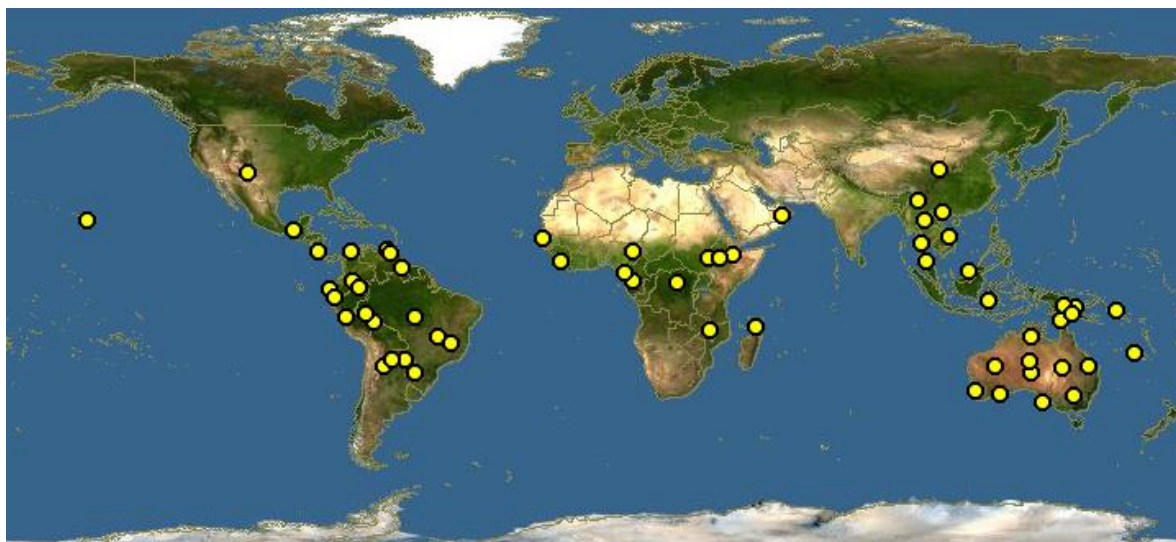
Estudos fitoquímicos anteriores de espécies vegetais pertencentes a família *Malvaceae sensu lato*, apresentaram algumas classes de metabólitos como compostos

fenólicos, flavonoides, esteroides, alcaloides e triterpenos (TELES et al., 2015a; FERNANDES et al., 2018; CHAVES et al., 2017).

3.3 Aspectos gerais sobre a família Sterculiaceae

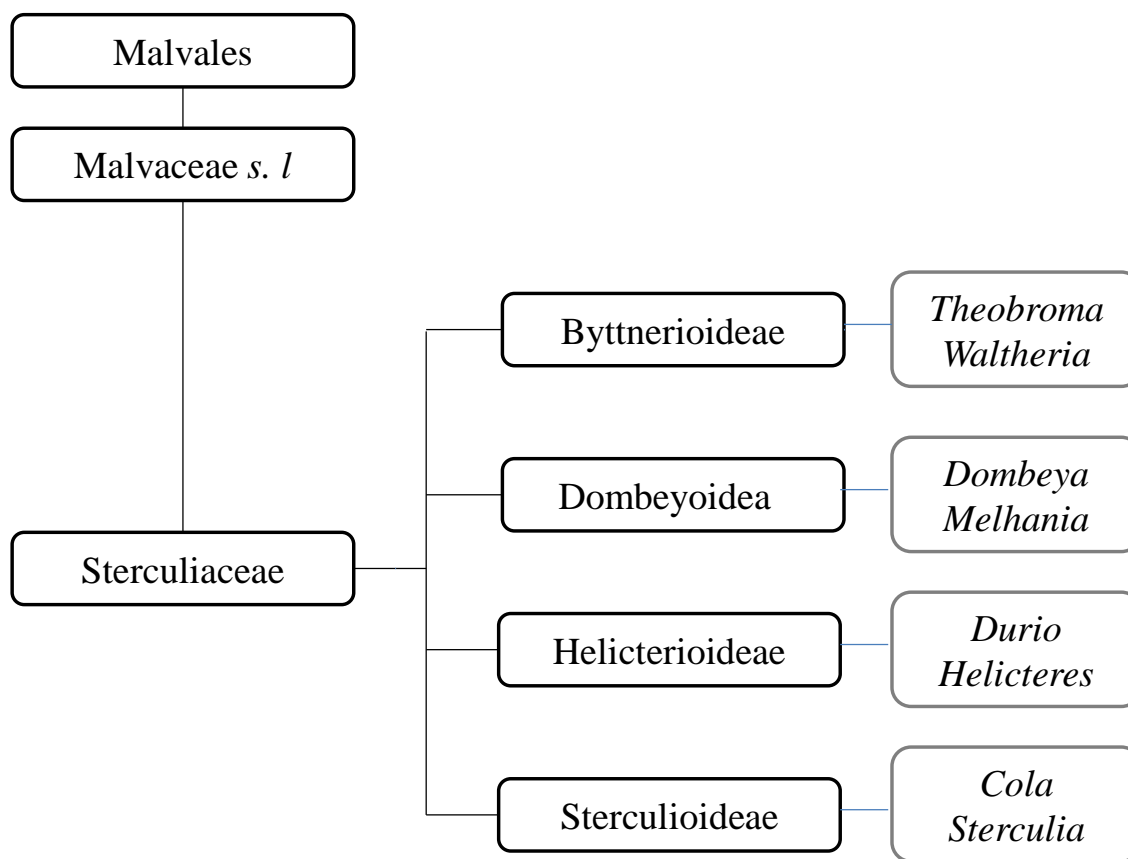
A família Sterculiaceae apresenta distribuição pantropical e em algumas regiões temperadas. É composta por cerca de 70 gêneros e 1500 espécies. No Brasil, encontram-se 14 gêneros e 165 espécies, distribuídas principalmente nas regiões Sudeste e Nordeste (Figura 2, pág. 31) (FERNANDES et al, 2018; CRUZ, 2007). Segundo a classificação do Grupo de Filogenia de Angiospermas (APG) IV, esta família é composta por 4 subfamílias: Byttnerioideae, Dombeyoideae, Helicterioideae e Sterculioideae, compreendendo diferentes gêneros, como *Helicteres* (Esquema 2, pág. 32) (APG, 2016).

Figura 2. Distribuição geográfica mundial da família Sterculiaceae



Fonte: https://www.discoverlife.org/mp/20m?act=make_map

Esquema 2. Sistemática da família Sterculiaceae



Fonte: Adaptado de APG IV, 2016.

As espécies de Sterculiaceae possuem uma grande importância econômica, tanto na área medicinal, como industrial e ornamental. As espécies dessa família apresentam uma ampla gama de atividades farmacológicas, sendo relatado por todas as partes da planta (raiz, casca e folhas), tais como antioxidante, antiinflamatória e antimicrobiana (CRUZ, 2007; AL MUQARRABUN; AHMAT, 2015).

Muitas espécies dessa família são utilizadas na medicina tradicional, como por exemplo a *Guazuma ulmifolia* Lam., utilizada para tratar diarreia e contra malária (HEINRICH; RIMPLER; BARRERA, 1992); a *Melochia corchorifolia* Linn, utilizada para inchaço abdominal e picadas de cobra d'água, possuindo ação hepatoprotetora e antioxidante (BHAKUNI; SHUKLA; THAKUR, 1987; RAO et al., 2013); *Helicteres isora* L., utilizada para tratar picadas de cobra e úlceras gástrica (DAMA et al., 2010; AL

MUQARRABUN; AHMAT, 2015); *Waltheria douradinha* St. Hil., utilizada para tratar distúrbios respiratórios e cicatrização de feridas (AL MUQARRABUN; AHMAT, 2015); *Scaphopetalum thonneri* De Wild. & T.Durand, utilizada para tratar doença renal e feridas no estômago (BOUQUET, 1969); e *Cola lepidota* K. Schum, utilizada para tratar doenças pulmonares e como anticâncer (OGHENEROBO; FALODUN, 2013).

Na indústria farmacêutica são utilizados o “óleo de mutamba”, preparado dos frutos de *Guazuma ulmifolia* Lam., utilizado no combate à queda de cabelo e infecções no couro cabeludo, na região Nordeste do Brasil, como também as cascas de algumas espécies de *Cola* e *Sterculia* que oferecem um tipo de goma utilizado na fabricação de guloseimas (CRUZ, 2007).

Na indústria alimentícia, *Theobroma cacao*, “cacaueiro” e *Theobroma grandiflorum*, “cupuaçu”, destacam-se como os representantes brasileiros de valor econômico expressivo, sendo produzidos o chocolate e a polpa de cupuaçu utilizado para fazer sorvetes e doces, respectivamente (CRUZ, 2007; MENDONÇA, 2016; LORENZI; MATOS, 2002).

Estudos fitoquímicos com espécies de Sterculiaceae levou ao isolamento de alcaloides, terpenoides, flavonoides, lignanas e quinonas (Quadro 1, pág. 34; Figura 3, pág. 35) (BHAKUNI; SHUKLA; THAKUR, 1987; AL MUQARRABUN; AHMAT, 2015).

Quadro 1: Alguns constituintes químicos isolados da família Sterculiaceae

Classe metabólica	Constituintes químicos	Referências
Alcaloides	Chamaedrina(1); Escutianina B (2); Escutianina C (3); Valteriona A (4); Melonovina A(5); Melonovina B(6); Waltherina A(7); Waltherina B(8); Melosatina A(9); Melosatina B(10); Melovinona(11)	DIAS et al., 2007; KAPADIA et al., 1977; MOREL et al., 1999; KAPADIA et al., 1978
Terpenoides	Fridelan-3 α -ol(12); Fridelan-3 β -ol(13); Herranona(14); Herrantriona(15); Cicloartenol(16); 24-metileno-cicloartenol(17)	RIZVI; SULTANA, 1972; WIEDEMANN, 1999; BRUNI et al., 2002
Flavonoides	(-)-epi-catequina(18); Apinegina(19); 3'-metoxi-apinegina(20); Luteolina(21); Pterospermina A(22); Pterospermina B(23); Procianidina B1(24); Procianidina B2(25); Epicatequina-(4 β →6)-epicatequina (26)	DIAS et al., 2007; DIXIT et al., 2011; PORTER; MA; CHAN, 1991
Cumarinas	Escopolina(27); Escopoletina(28); Mansonrina A(29); Mansonrina B(30); Mansonrina C(31); 6-hidroxi-3,4,-dihidro-4,7-dimetilbenzo-1-piran-2-ona(32)	VERDAMIDES et al., 2003; TIEW et al., 2002; CAMBIE; LAL; AHMAD, 1990
Lignanas	Escapopetalona(33); Mensoxetano(34); Lariciresinol (35); (+)-pinoresinol (36);Lirioresinol-B(37)	VERDAMIDES et al., 2003; TIEW et al., 2003; CHEN et al., 2006
Quinonas	Mansonone C(38); Mansonone G (39); Mansonone H(40); 3-hidroxi-5-metoxi-2-metilbenzoquinona (41); Heliquinona (42)	TIEW et al., 2002; ANJANEYULU; RAJU, 1987; WANG; LIU, 1987

Figura 3. Alguns constituintes químicos isolados da família Sterculiaceae

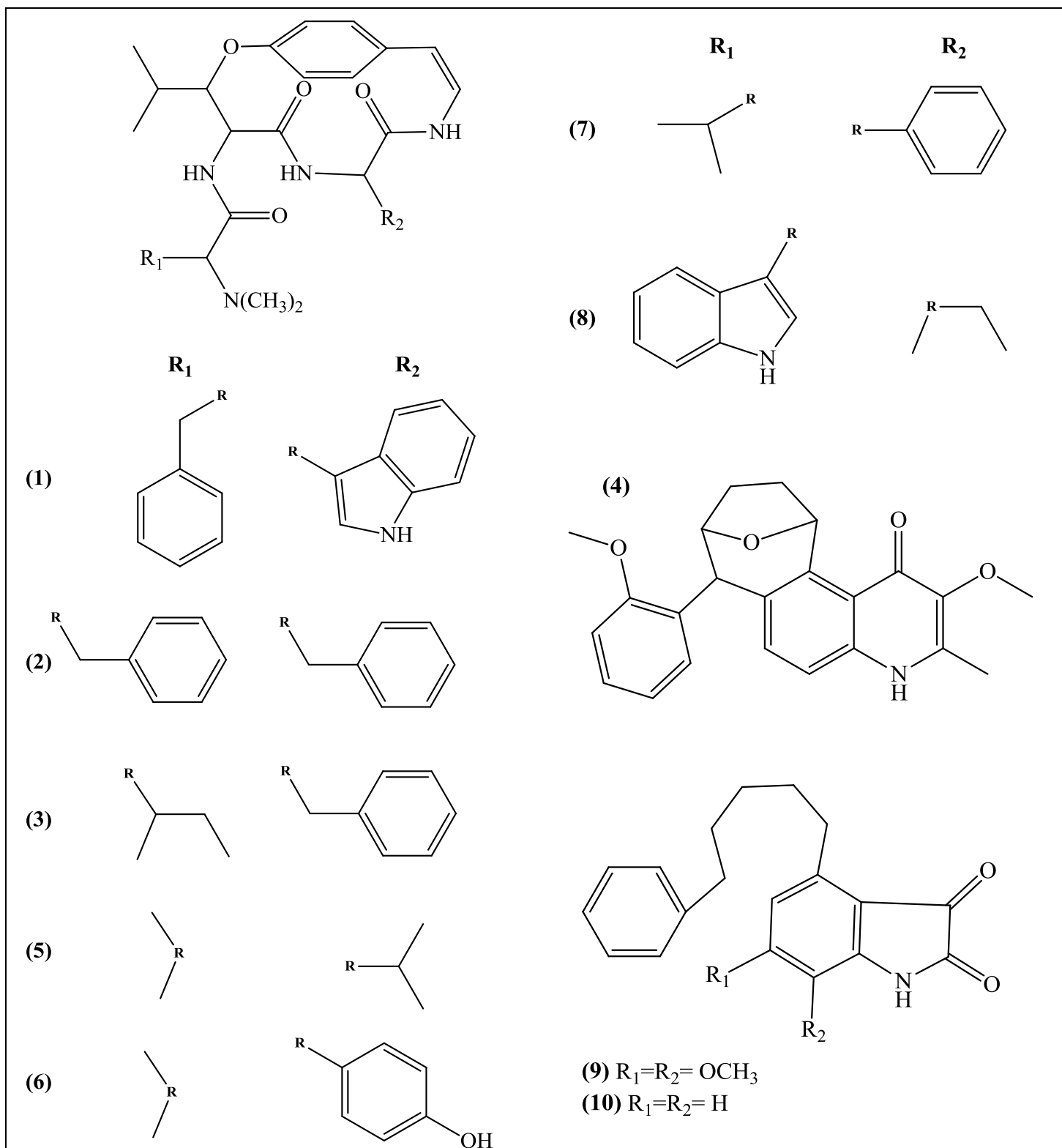
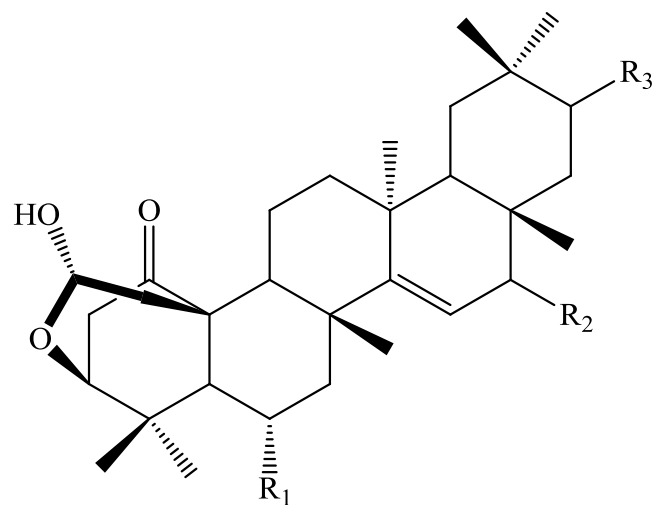
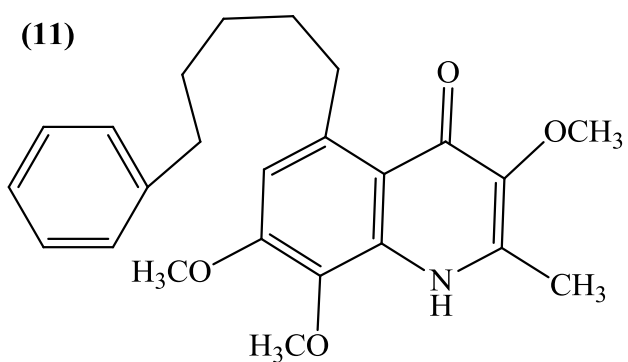


Figura 3 (continuação). Alguns constituintes químicos isolados da família Sterculiaceae



(14) $R_1=R_2=R_3=H_2$

(15) $R_1=OH; R_2=R_3=O$

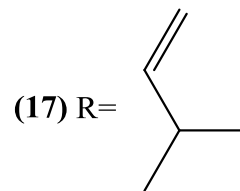
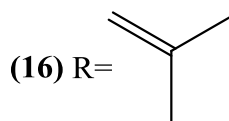
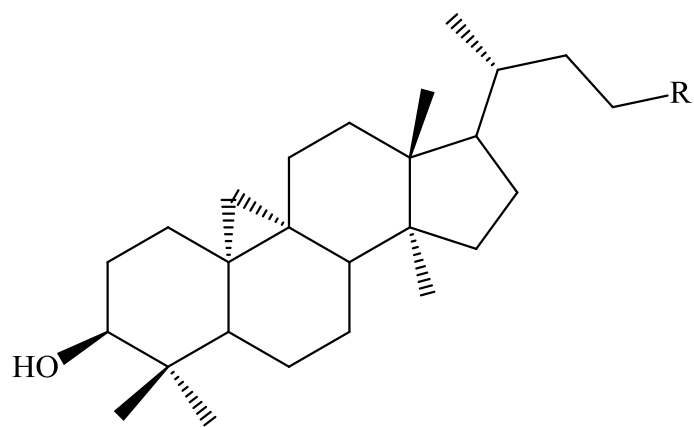
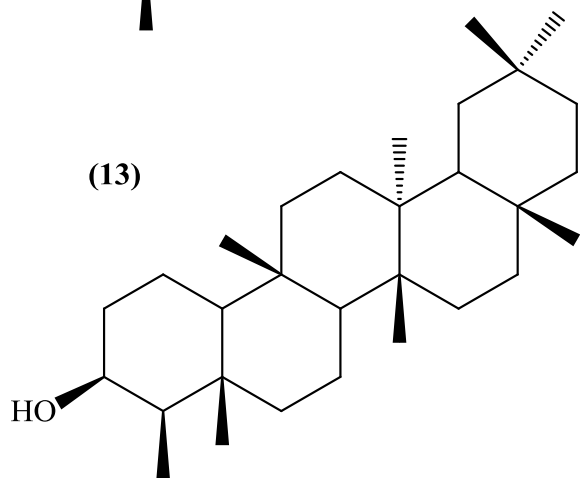
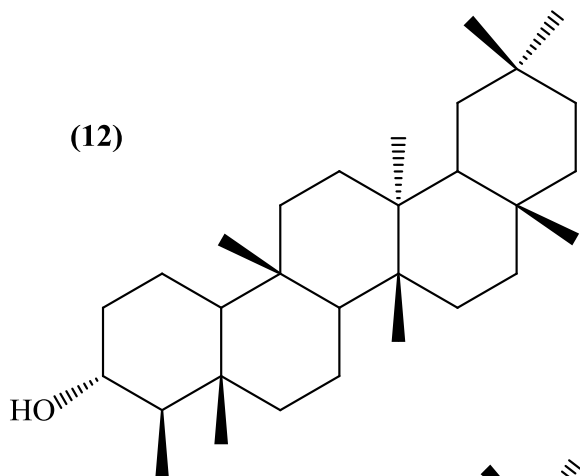


Figura 3 (continuação). Alguns constituintes químicos isolados da família Sterculiaceae

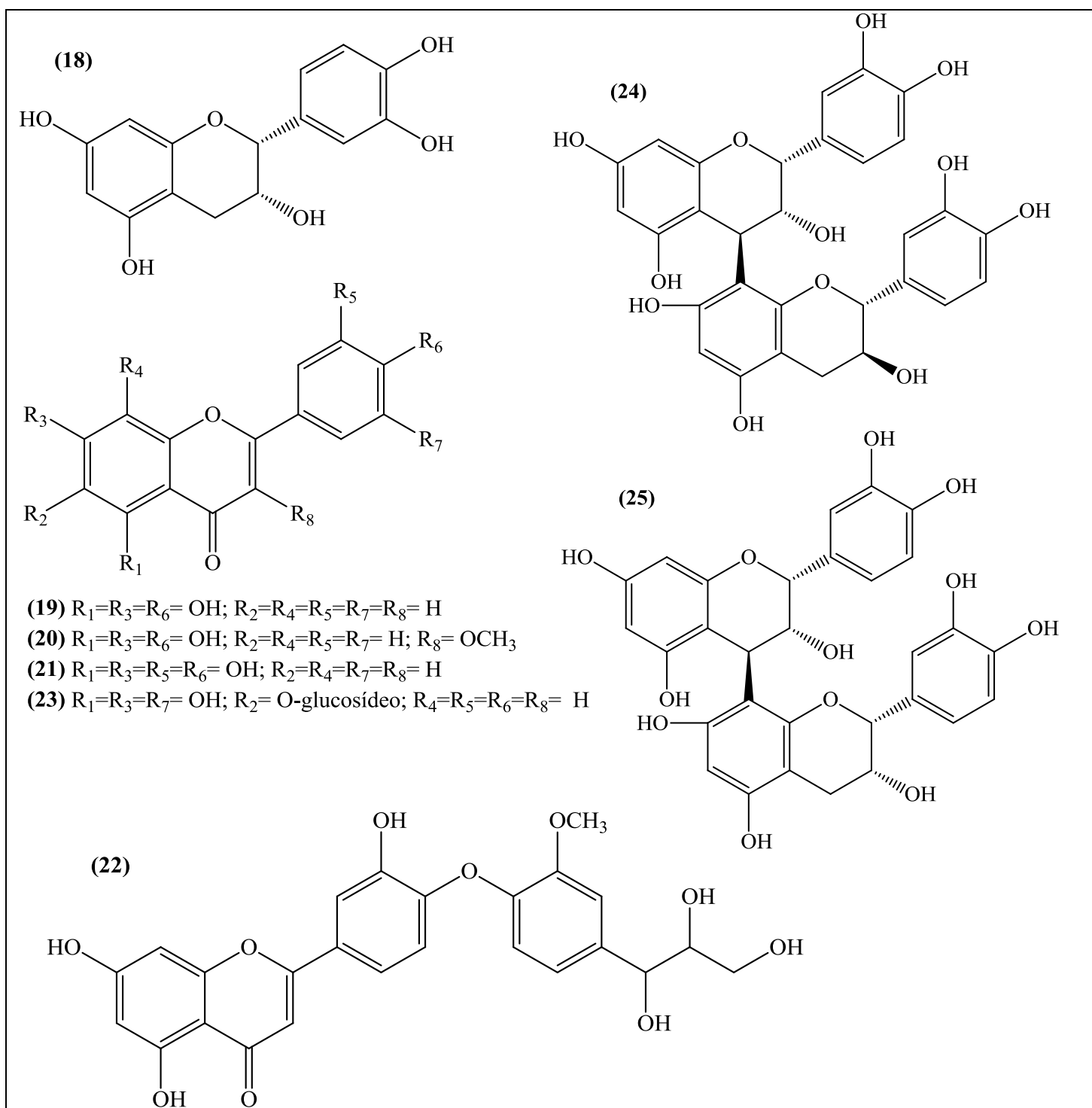


Figura 3 (continuação). Alguns constituintes químicos isolados da família Sterculiaceae

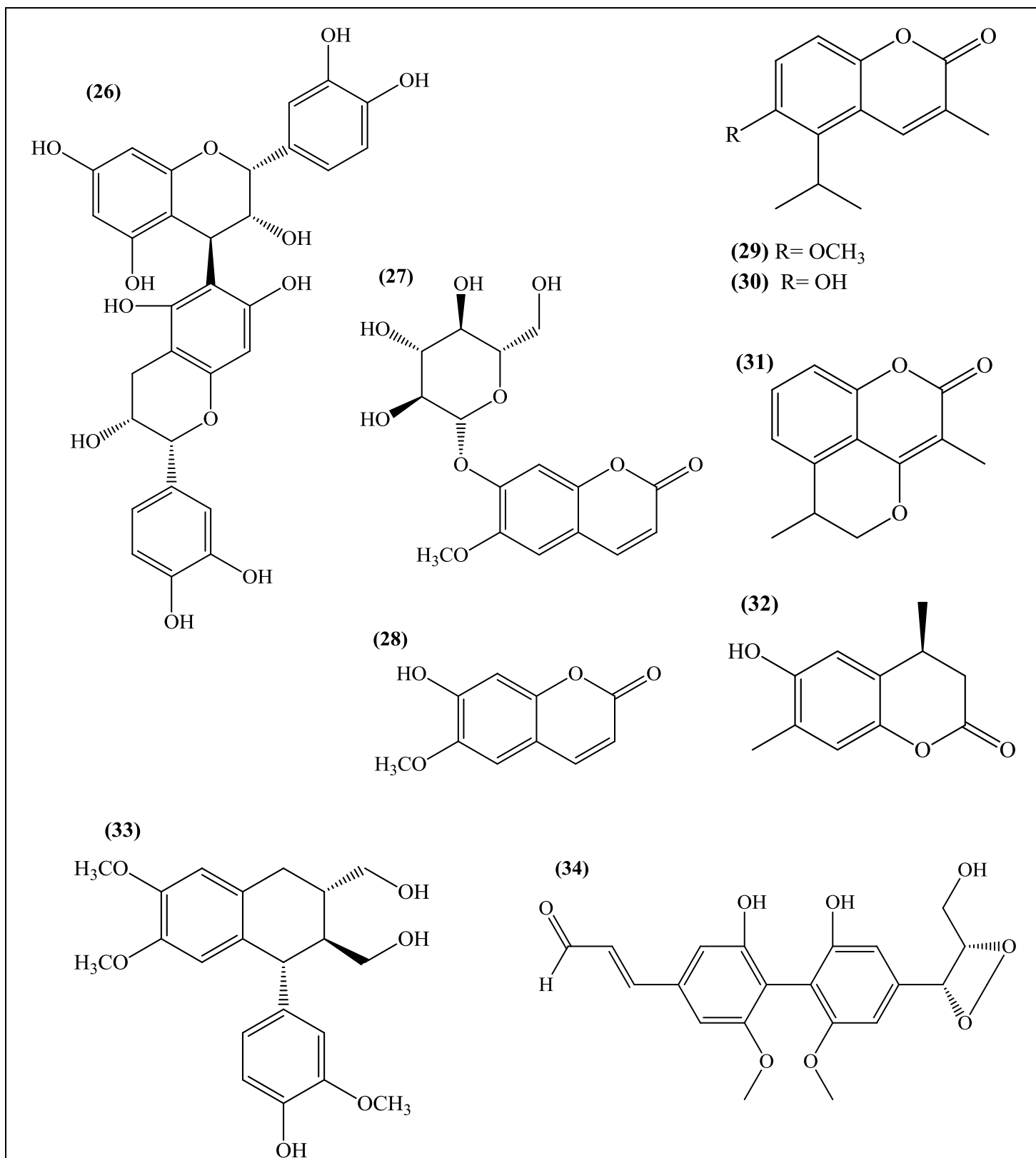
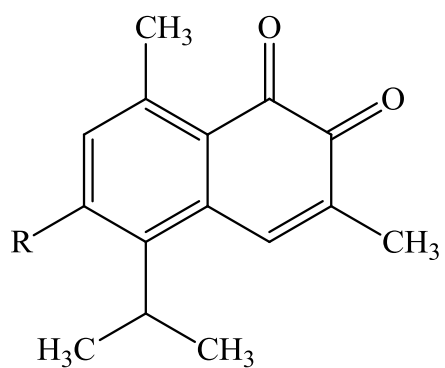
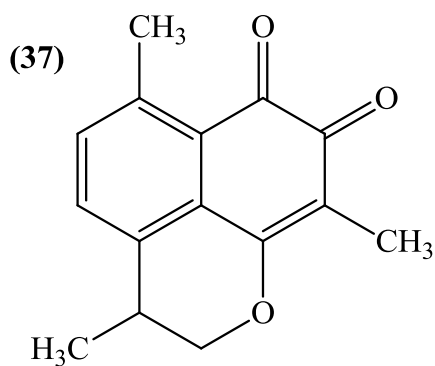


Figura 3 (continuação). Alguns constituintes químicos isolados da família Sterculiaceae

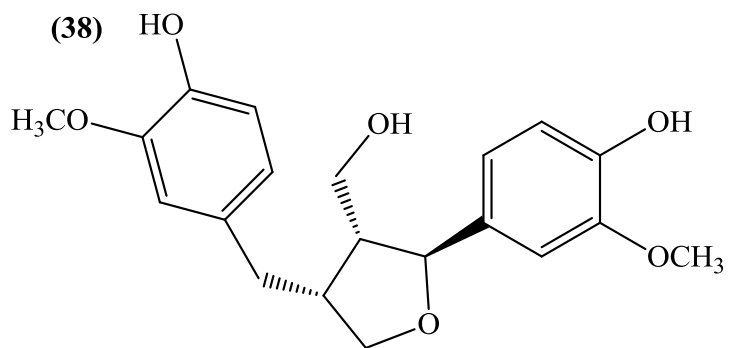


(35) R= H

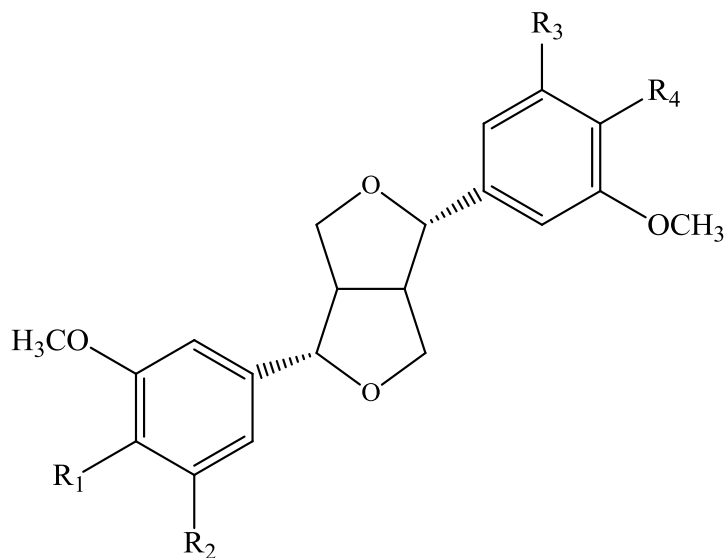
(36) R= OH



(37)



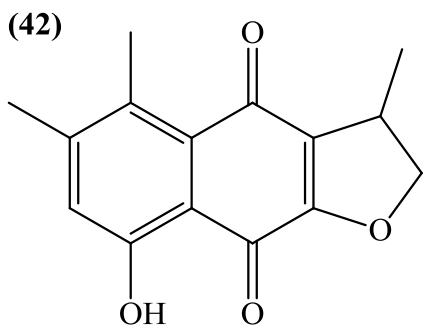
(38)



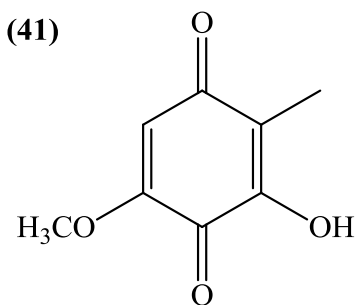
(39) R₁=R₂=R₃=R₄= OH

(40) R₁=R₂=R₃=R₄= OCH₃

(41)



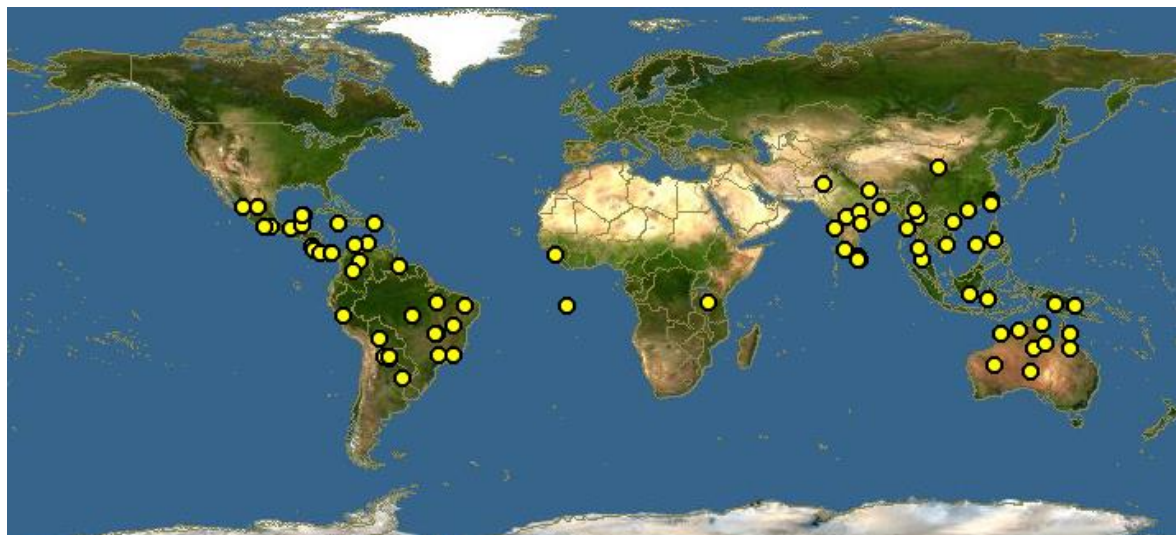
(42)



3.4 Aspectos gerais sobre o gênero *Helicteres*

O gênero *Helicteres*, pertencente a família Sterculiaceae, possui 60 espécies, com distribuição predominantemente pantropical, nos países dos continentes da América e Ásia (Figura 4, pág. 40), em sete seções, *Helicteres*, *Alicteres* (Schott & Endl.) Cristóbal, *Stegogamos* Cristóbal, *Orthohegium* (C.Presl) Cristóbal, *Polyandria* Cristóbal, *Sacarolha* K.Schum. e *Orthocarpaea* DC. (FERNANDES et al., 2018; COLLI-SILVA et al., 2019; NETO; BARACHO, 2010). No Brasil são encontradas cerca de 31 espécies, sobretudo nos domínios fitogeográficos como Amazônia, Caatinga, Cerrado, Pantanal e Mata Atlântica (CRUZ, 2007; CRISTÓBAL, 2001; ESTEVES, 2015).

Figura 4. Distribuição geográfica mundial do gênero *Helicteres*



Fonte: https://www.discoverlife.org/mp/20m?act=make_map

Trata-se de um gênero caracterizado pelo hábito predominantemente arbustivo, facilmente diferenciado por apresentar folhas simples, pétalas planas, fruto espiralado muito particular e flores tubulosas, principalmente vermelho amareladas (COLLI-SILVA et al., 2019; JUNIOR; CRUZ, 2018).

Várias espécies de *Helicteres* são utilizadas na medicina popular devido suas propriedades farmacológicas. *Helicteres isora* é utilizada no tratamento de úlcera gástrica e nefrite crônica, apresentando atividade anti-helmíntica (KAMIYA et al., 2001),

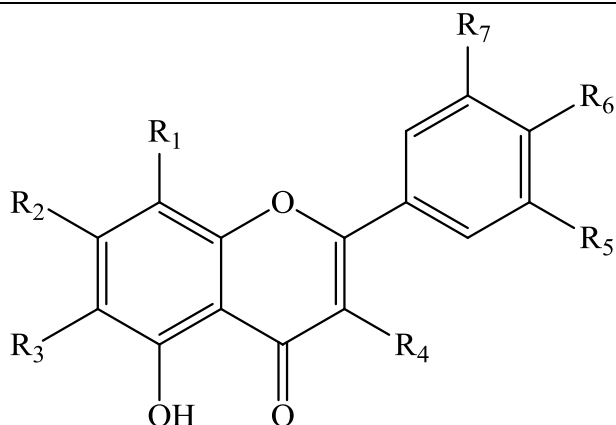
antioxidante, antibacteriana, hepatoprotetora, antidiarreica, anticoagulante (KUMAR et al., 2012); *Helicteres angustifolia* é citada como analgésica, anti-inflamatória, antiviral e antibacteriana (CHEN; LEE; CHEN, 2006; FERNANDES et al., 2020); *Helicteres sacarolha* é utilizada para o alívio de sintomas de úlcera gástrica, hipertensão (BALOGUN; DAMAZO; DE OLIVEIRA MARTINS, 2015), podendo ser utilizado também como anti-sifilítico (FERNANDES et al., 2020); *Helicteres velutina* é utilizada como repelente de insetos (FERNANDES et al., 2018); *Helicteres hirsuta* apresenta atividades antimalárica e antidiabetes (FERNANDES et al., 2020; PHAM et al., 2017).

Estudos fitoquímicos com espécies desse gênero demonstraram que triterpenos, flavonoides e lignanas são seus principais constituintes químicos, podendo apresentar também metabólitos como esteroides, taninos, compostos fenólicos, saponinas, alcaloides, quinonas e cumarinas (Quadro 2, pág. 42; Figura 5, pág. 43) (OLIVAS-QUINTERO et al., 2017; FERNANDES et al., 2020; NGUYEN et al., 2017), evidenciando o potencial das espécies deste gênero.

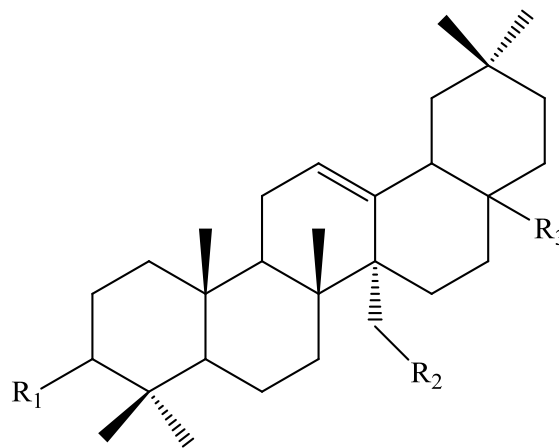
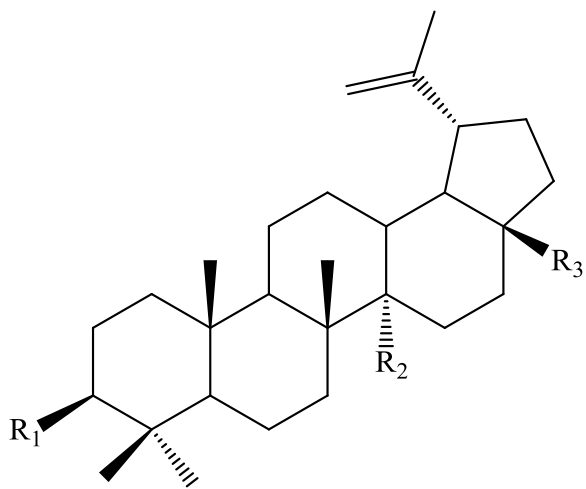
Quadro 2. Alguns constituintes químicos isolados de espécies do gênero *Helicteres*

Classe metabólica	Constituintes químicos	Referências
Flavonóides	7,4'-di-O-metiliscutelarina(43); 7-O-metiliscutelarina (44); Canferol 3-O-β-D-glicopiranosídeo (45); Isoscutelarina4'-metil éter 8-O -β- D -glicuronídeo 6 "- n butil éster (46); Isoscutelarina 4'-metil 8 - O -β- D -glicuronídeo 2 ", 4" -dissulfato(47); Isoscutelarina 8- O -β- D -glicuronídeo 2 ", 4" -disulfato(48);Herbacetina-8-O- glicuronídeo (hibifolina) (49);Canferol (50);Canferol-3-O- galactosídeo (51); 7,4'-di-O-metil-8-O-sulfato de flavona(52)	NGUYEN ET AL., 2017; CHEN et al., 2006; KAMIYA ET AL., 2001; RAMESH; YUVARAJAN, 1995; YIN et al., 2016; FERNANDES et al., 2018
Triterpenóides	Éster metílico de ácido3β-acetoxi-27- (trans-cinamoiloxi) lup-20 (29) -en-28-óico (53); Ácido 3β-acetoxi-27 - [(4-hidroxibenzoil) oxi] lup-20 (29)-en-28-óico (54); Éster metílico de ácido 3β-acetoxi-27 - [(4- hidroxibenzoil) oxi] olean-12-en-28-óico (55); Ácido helicterico (56); Ácido betulínico (57); Cucurbitacina B (58);Cucurbitacina B 2-sulfato(59); Curcubitacina D (60);Cucurbitacina I (61); Cucurbitacina J (62);Isocucurbitacina D(63); Ácido oleanólico (64); Ácido piracrênico(65); Ácido ursólico(66)	PAN et al., 2008; CHEN et al., 2006; CHEN; CHEN; HONG, 1990; SU et al., 2017; WEI et al., 2011; CHEN; LEE; CHEN, 2006; ASSIS, 2019; WANG et al., 2012
Esteróides	β-sitosterol (67); Heligenina A (68); Heligenina B (69); Estigmasterol (70); Glucosídeo β-sitosterol (71)	CHEN et al., 2006; WANG et al., 2012; ASSIS, 2019; FERNANDES et al., 2018
Quinona	Mansonona E (72); Mansonona F (73); Mansonona H (74); Mansonona M (75); Heliquinona (76)	CHEN et al., 1990; CHEN et al., 2006; CHEN; CHEN; HONG, 1990
Composto fenólico	Ácido rosmarínico (77); Ácido 3'-O- (8 "-Z-cafeoil) rosmarínico (78); Catecol (79); Ácido cafeíco (80); Ácido gálico (81); Aldeído protocatecuico(82)	OLIVAS-QUINTERO et al., 2017; NGUYEN et al., 2017; DAYAL et al., 2015; WANG et al., 2012
Lignóides	Álcool dihidrodeidrodiconiferílico (83); Lariciresinol (84); (+)-pinoresinol (85);Lirioresinol-B(86); (±)-medioresinol (87); (±)-siringaresinol (88);(-)- boehmenan (89); Helicterina A (90); Helicterina B (91); Helicterina C (92); Helisterculina A (93); Helisorina (94)	CHEN et al., 2006; CHIN et al. 2006; TEZUCA et al., 2000
Alcalóide	Helicterona A (95)	WANG et al., 2012
Cumarina	6,7,9 α-tri-hidroxi-3,8,11-α-trimetilciclohexo-[d,e]-cumarina (96); 6,7-di-hidroxi-3,8,11-trimetilciclohexo-[d,e]-cumarina (97)	CHEN et al., 2006

Figura 5. Alguns constituintes químicos isolados de espécies do gênero *Helicteres*



- (43) $R_1 = \text{OH}$; $R_2 = R_6 = \text{OCH}_3$; $R_3 = R_4 = R_5 = R_7 = \text{H}$
 (44) $R_1 = \text{OH}$; $R_2 = \text{OCH}_3$; $R_3 = R_4 = R_5 = R_7 = \text{H}$; $R_6 = \text{OH}$
 (45) $R_1 = R_3 = R_5 = R_7 = \text{H}$; $R_2 = R_6 = \text{OH}$; $R_4 = \text{O-}\beta\text{-D-glicopiranosídeo}$
 (46) $R_1 = \text{O-}\beta\text{-D-glicuronídeo, 6''-n butil éster}$; $R_2 = \text{OH}$; $R_3 = R_4 = R_5 = R_7 = \text{H}$; $R_6 = \text{OCH}_3$
 (47) $R_1 = \text{O-}\beta\text{-D-glicuronídeo, 2'', 4''-dissulfato}$; $R_2 = \text{OH}$; $R_3 = R_4 = R_5 = R_7 = \text{H}$; $R_6 = \text{OCH}_3$
 (48) $R_1 = \text{O-}\beta\text{-D-glicuronídeo, 2'', 4''-dissulfato}$; $R_2 = R_6 = \text{OH}$; $R_3 = R_4 = R_5 = R_7 = \text{H}$
 (49) $R_1 = \text{O-glicuronídeo}$; $R_2 = R_4 = R_6 = \text{OH}$; $R_3 = R_5 = R_7 = \text{H}$
 (50) $R_1 = R_3 = R_5 = R_7 = \text{H}$; $R_2 = R_4 = R_6 = \text{OH}$
 (51) $R_1 = R_3 = R_5 = R_7 = \text{H}$; $R_2 = R_6 = \text{OH}$; $R_4 = \text{O-}\beta\text{-D-galactosídeo}$
 (52) $R_1 = \text{OSO}_3\text{H}$; $R_2 = R_6 = \text{OCH}_3$; $R_3 = R_4 = R_5 = R_7 = \text{H}$



- (53) $R_1 = \text{OAc}$; $R_2 = \text{CH}_2\text{-O-trans-cinamoiloxi}$; $R_3 = \text{COOCH}_3$
 (54) $R_1 = \text{OAc}$; $R_2 = \text{CH}_2\text{-O-4-hidroxibenzoil}$; $R_3 = \text{COOH}$
 (56) $R_1 = \text{COCH}_3$; $R_2 = \text{CH}_2\text{-benzoiloxi}$; $R_3 = \text{COOH}$
 (57) $R_1 = \text{OH}$; $R_2 = \text{CH}_3$; $R_3 = \text{COOH}$
 (65) $R_1 = \text{O-trans-cafeoil}$; $R_2 = \text{CH}_3$; $R_3 = \text{COOH}$
 (55) $R_1 = \text{OAc}$; $R_2 = \text{O-4-hidroxibenzoil}$; $R_3 = \text{COOCH}_3$

Figura 5 (continuação). Alguns constituintes químicos isolados de espécies do gênero *Helicteres*

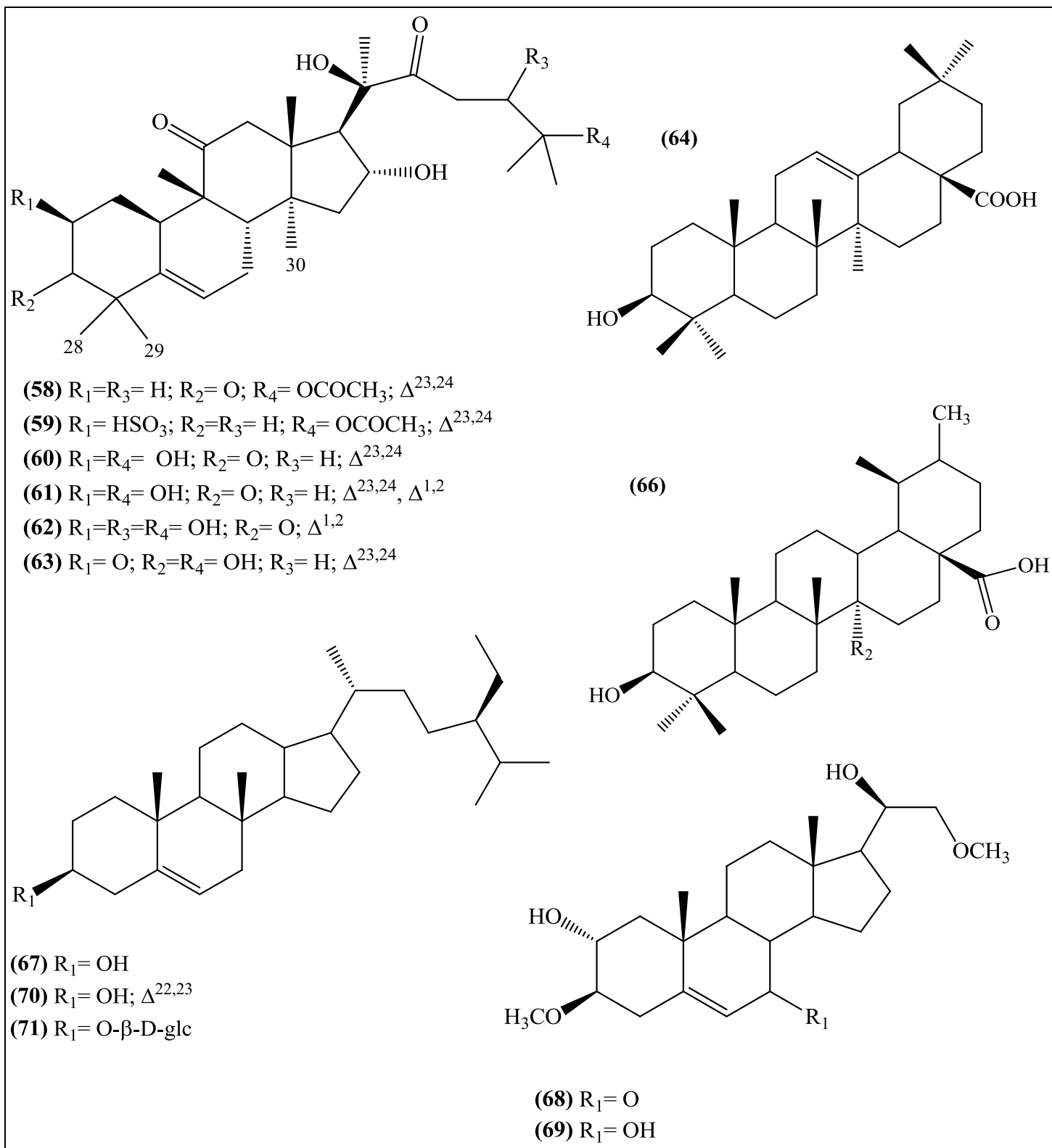
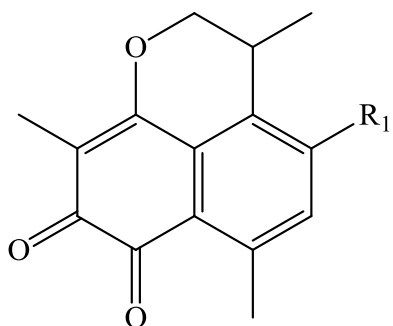


Figura 5 (continuação). Alguns constituintes químicos isolados de espécies do gênero *Helicteres*

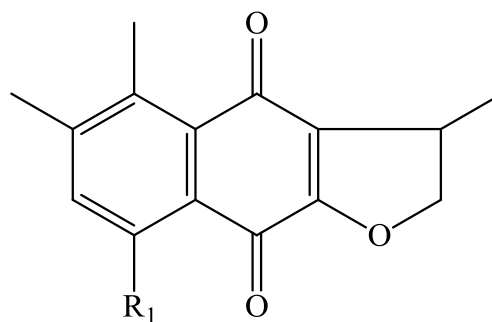


(72) $R_1 = H$

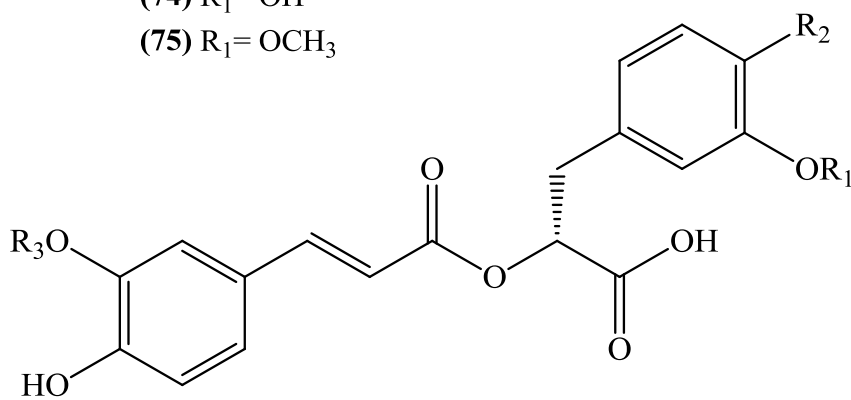
(73) $R_1 = H; \Delta^{2,3}$

(74) $R_1 = OH$

(75) $R_1 = OCH_3$



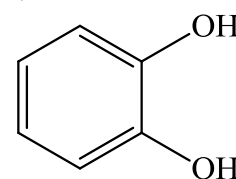
(76) $R_1 = OH$



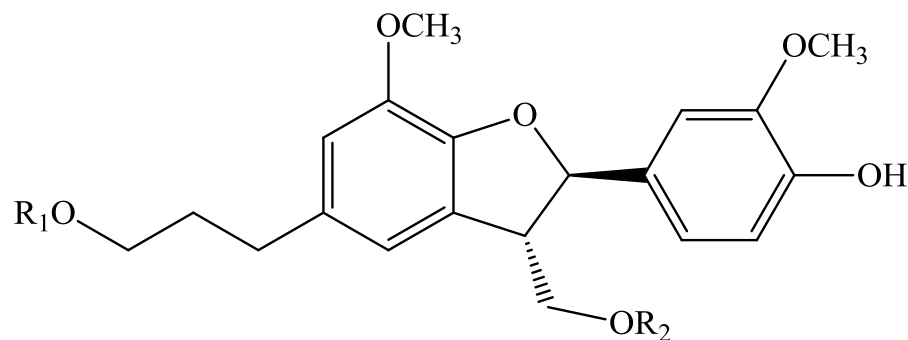
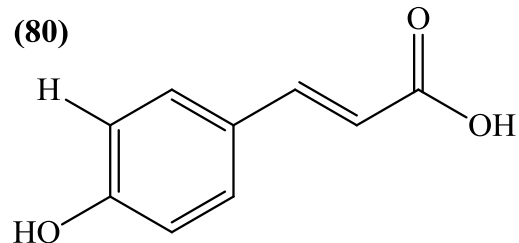
(77) $R_1 = R_3 = H; R_2 = OH$

(78) $R_1 = H; R_2 = OH; R_3 = \text{cafeoil}$

(79)

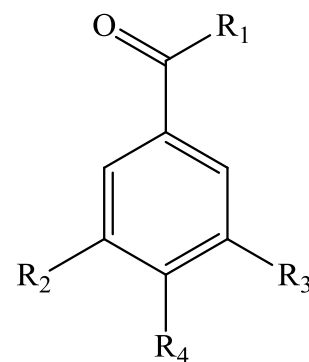


(80)



(83) $R_1 = R_2 = H$

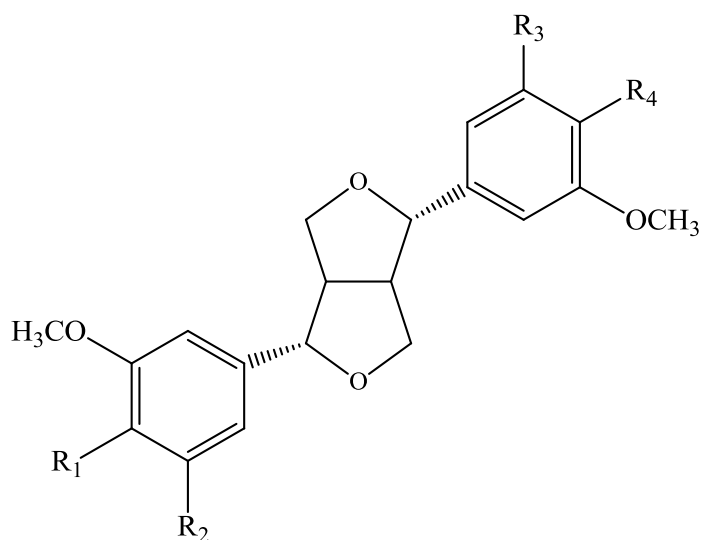
(89) $R_1 = R_2 = \text{feruloil}$



(81) $R_1 = H; R_2 = R_3 = R_4 = OH$

(82) $R_1 = R_2 = H; R_3 = R_4 = OH$

Figura 5 (continuação). Alguns constituintes químicos isolados de espécies do gênero *Helicteres*

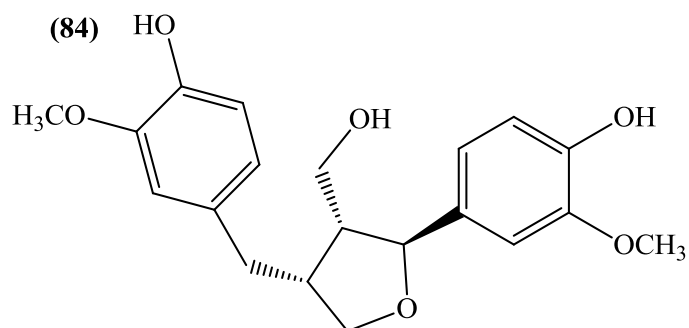


(85) $R_1=R_2=R_3=R_4= OH$

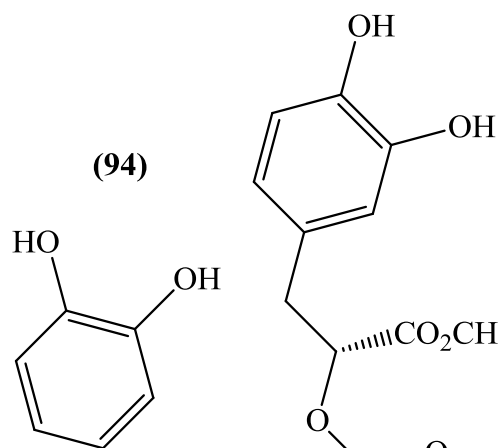
(86) $R_1=R_2=R_3=R_4= OCH_3$

(87) $R_1=R_4= OH$; $R_2= OCH_3$; $R_3= H$

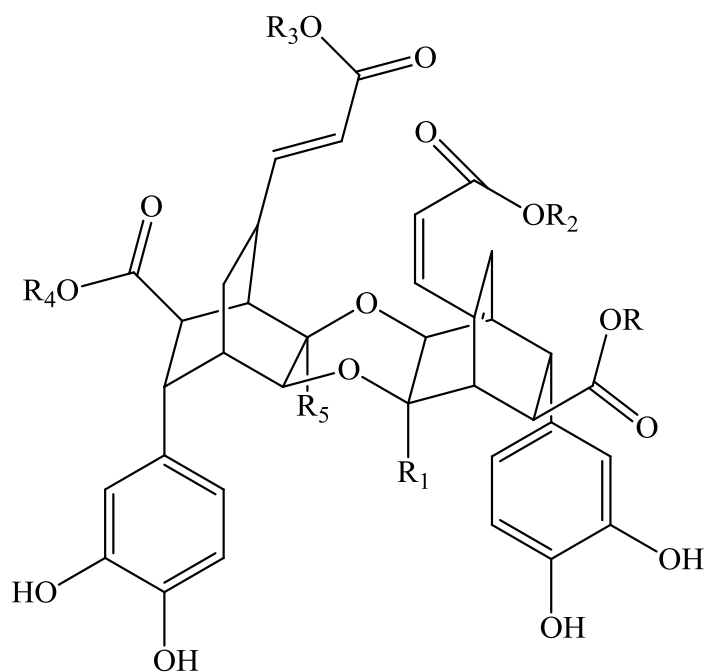
(88) $R_1=R_4= OH$; $R_2=R_3= OCH_3$



(84)



(94)



(90) $R_1=R_5= OCH_3$; $R=R_2=R_3=R_4= X$

(91) $R_1= OH$; $R=R_2=R_3=R_4= X$; $R_5= OCH_3$

(92) $R_1=R_5= OCH_3$; $R= CH_3$; $R_2=R_3=R_4= X$

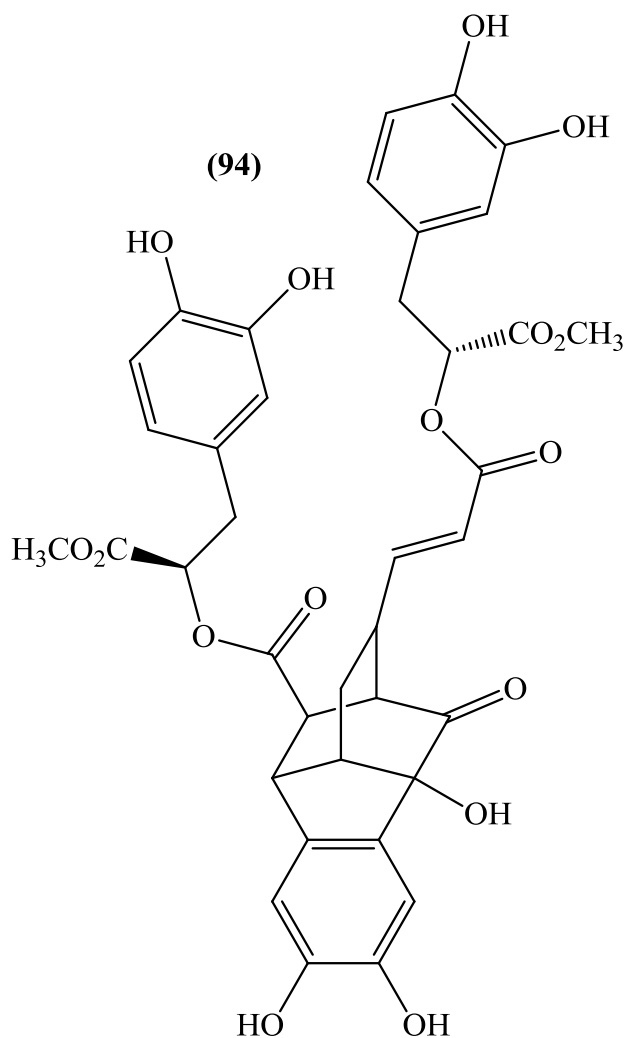
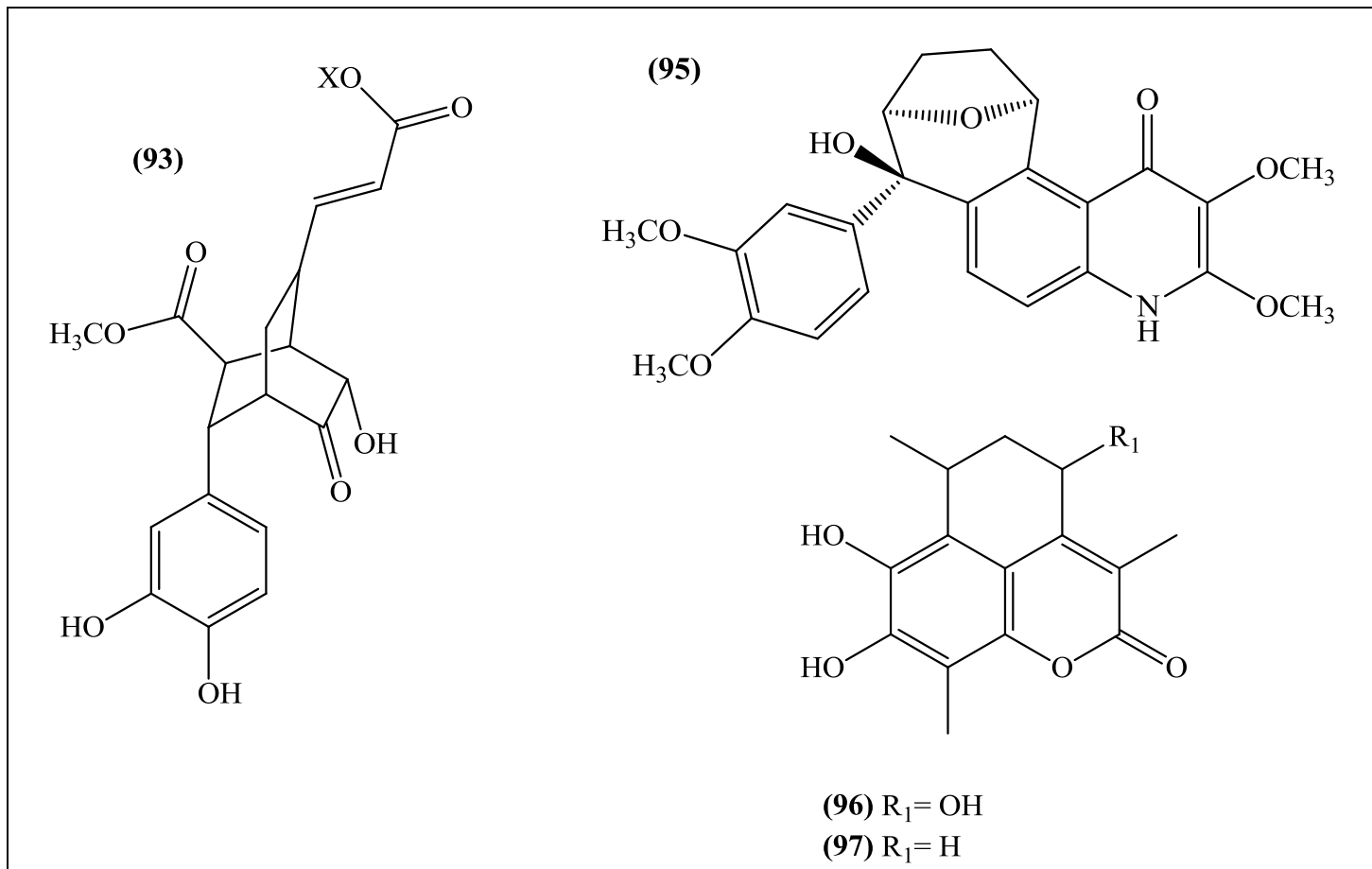


Figura 5 (continuação). Alguns constituintes químicos isolados de espécies do gênero *Helicteres*

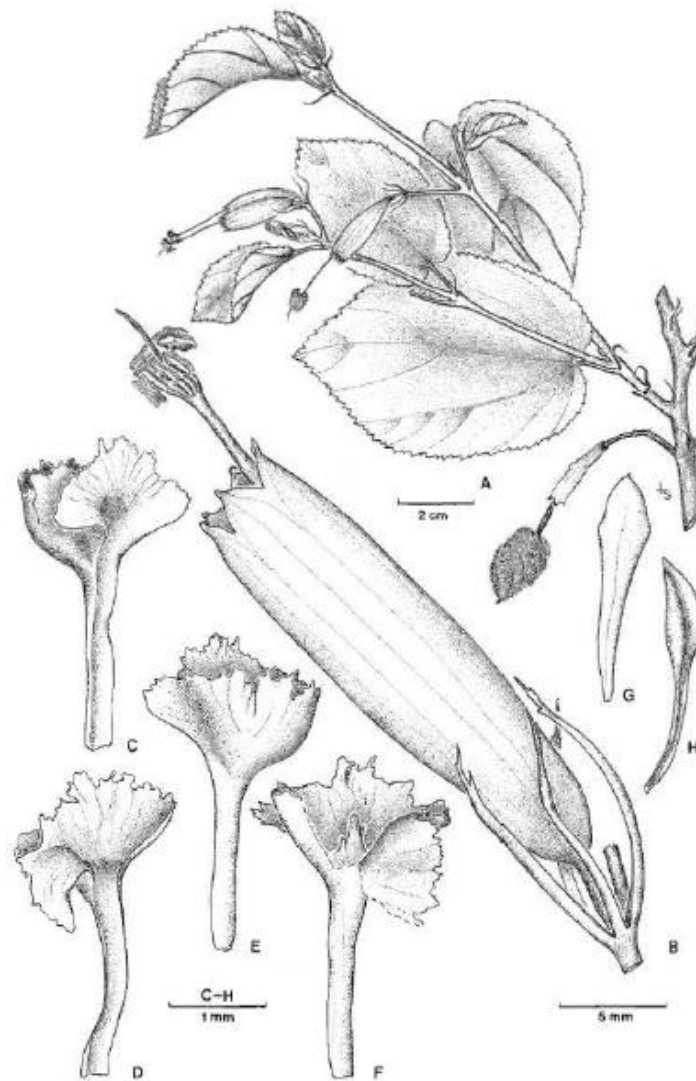


3.5 Considerações botânicas e etnofarmacológica da espécie *Helicteres eichleri* K. SCHUM

A espécie *Helicteres eichleri* K. SCHUM, conhecida popularmente como fumo de macaco (RAMALHO et al., 2009), é endêmica do Brasil, distribuída nos estados de Alagoas, Bahia, Maranhão, Sergipe, Pernambuco e Paraíba, da região Nordeste, sendo presente nos domínios fitogeográficos como Caatinga e Mata Atlântica (ESTEVES, 2015).

Helicteres eichleri se caracteriza como um arbusto entre 1,8 e 2 metros de altura, apresentando ramos tomentosos, estrelado e peludo, sendo mais densos nas exterminadas, possui folhas descoloridas e em espiral alternada, flores retas, membranosas com base vermelha e ápice amarelo. Suas pétalas são glabras, reduzidas a garras flabeliformes. Os seus estames são filamentosos e iguais entre si, com coloração marrom. O cálice é reto, podendo ser encontrado com flores e frutos ao longo do ano (Figura 6, pág. 48) (LIMA; BOVINI; CONCEIÇÃO, 2019; CRISTÓBAL, 2001).

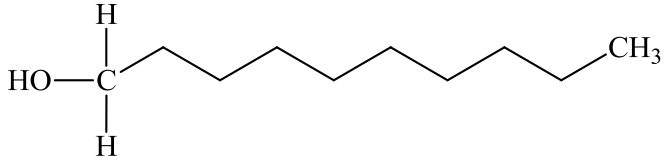
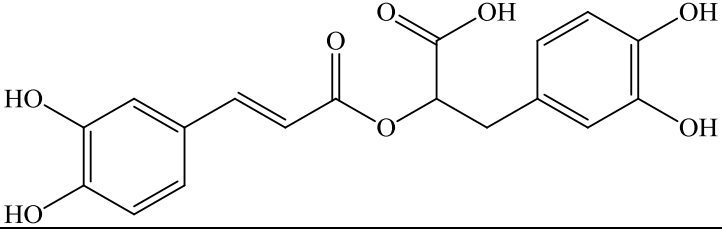
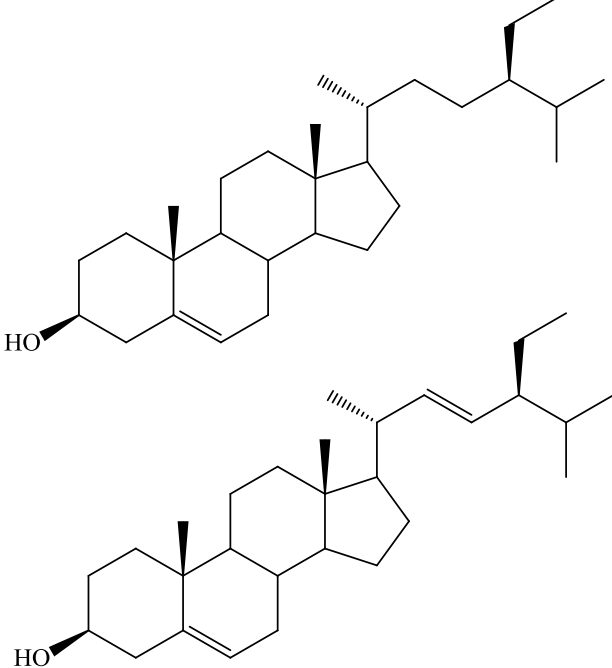
Figura 6. *Helicteres eichleri* - A: ramo; B: flor; C: face interna da pétala completa; D: pétala do lado interno mais aberta; E: face externa; F: pétala aberta do lado de fora mostrando o interior do bolso; G: estaminódio visto pela frente; H: estaminódio visto por trás.



Fonte: (CRISTÓBAL, 2001)

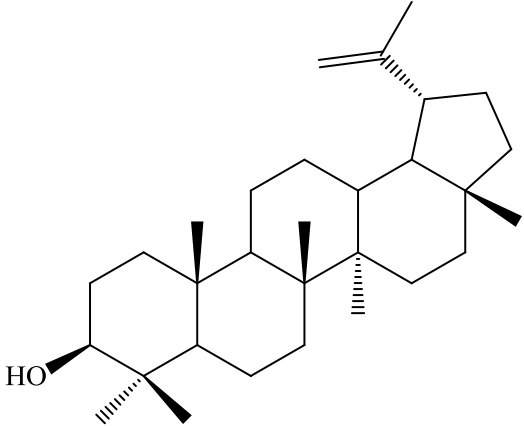
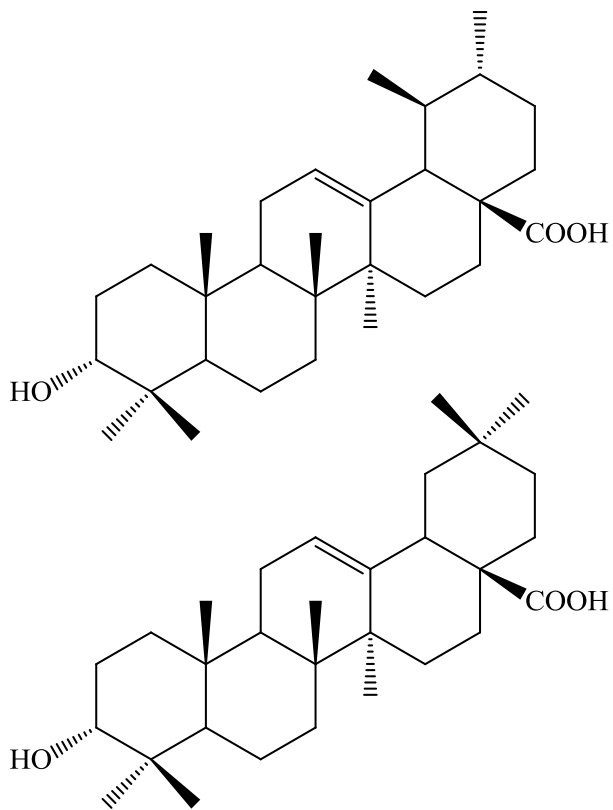
Estudo realizado anteriormente pela nossa equipe com as fases hexânica e n-butanol do EEB das partes aéreas de *Helicteres eichleri* levou ao isolamento de um álcool, um ácido fenólico, esteroides e terpenoides (Quadro 3, pág. 49), além de seu extrato etanólico bruto das partes aéreas apresentar atividade larvicida in vitro contra *Aedes aegypti* (ASSIS, 2019).

Quadro 3. Constituintes químicos isolados de *Helicteres eichleri*

Constituinte químico isolado	Molécula
Decanol (álcool alifático)	
Ácido rosmarínico (ácido fenólico)	
β-sitosterol Estigmasterol (mistura de esteróides)	

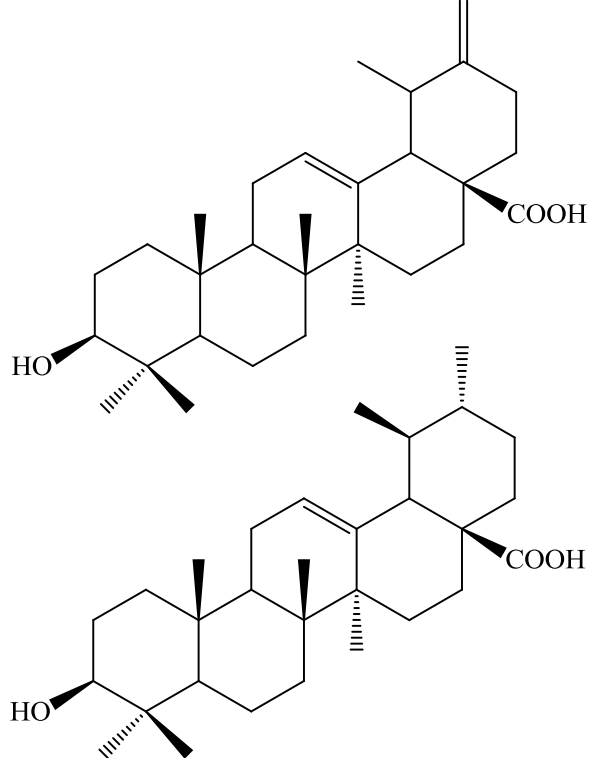
Fonte: (ASSIS, 2019).

Quadro 3 (continuação). Constituintes químicos isolados de *Helicteres eichleri*

Constituinte químico isolado	Molécula
<p>Lupeol (triterpeno)</p>	
<p>Ácido 3-α-hidróxi-urs-12-en-28-óico Ácido 3-α-hidróxi-olean-12-en-28-óico (mistura de triterpenos)</p>	

Fonte: (ASSIS, 2019).

Quadro 3 (continuação). Constituintes químicos isolados de *Helicteres eichleri*

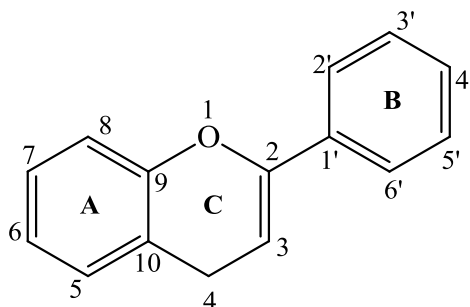
Constituinte químico isolado	Molécula
<p>Ácido micromérico Ácido ursólico (mistura de triterpenos)</p>	 <p>The image shows two chemical structures of pentacyclic triterpenes. The top structure is micromeric acid, and the bottom structure is ursolic acid. Both structures consist of five fused six-membered rings. They feature a carboxylic acid group (-COOH) at the C-28 position and a hydroxyl group (-OH) at the C-3 position. The structures are shown with stereochemistry indicated by wedges and dashes.</p>

Fonte: (ASSIS, 2019).

3.6 Considerações gerais sobre flavonoides

Os flavonoides são os compostos fenólicos mais abundantes, possuindo 15 átomos de carbono, composto por dois anéis aromáticos (A e B) ligados por três átomos de carbono (C), geralmente na forma de um anel heterocíclico (C6-C3-C6) (Figura 7, pág. 52). Estes compostos são derivados da via do mevalonato em que o anel A é originado, e o anel B é originado da via do chiquimato (TANASE; COSARCĂ; MUNTEAN, 2019; VUOLO; LIMA; MARÓSTICA JUNIOR, 2019). A partir das variações de substituições do anel C, os flavonoides são classificados em subclasses: flavonas, flavonóis, flavanóis, flavanonas, antocianinas, isoflavonas e neoflavonoides (PEREIRA, R. C.; ANGELIS-PEREIRA, 2014; VUOLO; LIMA; MARÓSTICA JUNIOR, 2019).

Figura 7. Estrutura básica dos flavonoides



Fonte: (KARAK, 2019).

Esses compostos são encontrados em uma grande variedade de vegetais, frutas e plantas medicinais, estando presente geralmente em todos os seus órgãos. Apresentam-se em sua forma livre, como também glicosiladas e derivados metilados, acetilados e sulfatados (TELES; SOUZA; SOUZA, 2018; KARAK, 2019; GÓRNIAK; BARTOSZEWSKI; KRÓLICZEWSKI, 2019).

Os flavonoides sulfatados são ésteres de sulfato ou multi-sulfato de flavonoides conhecidos, sendo a maioria baseado em flavonas ou flavonóis, menos comumente encontrados em algumas famílias, com cerca de 150 compostos identificados. Estão presentes em angiospermas, podendo ser encontrados principalmente nas famílias, Asteraceae (Compositae), Arecaceae (Palmae), Bixaceae, Dilleniaceae, Gramineae, Juncaceae, Malvaceae, Umbelliferae e Verbenaceae (TELES et al., 2015; TELES; SOUZA; SOUZA, 2018). Dentre os representantes da família Malvaceae, as espécies *Helicteres velutina*, *Sidastrum paniculatum*, *Wissadula periplocifolia* e *Malva Sylvestris*, apresentaram flavonoides sulfatados (FERNANDES et al. 2018; MARQUES, 2017; TELES et al. 2015; TELES; SOUZA; SOUZA, 2018).

Na biossíntese desses compostos, as espécies vegetais assimilam o sulfato do solo. A ATP-sulfurilase (adenosina trifosfato), retirada do solo, catalisa esta assimilação em adenosina-5'-fosfosulfato (APS), podendo ser fosforilada, formando 3'-fosfoadenosina-5'-fosfosulfato (PAPS), utilizada em reações de sulfatação no metabolismo secundário, como na produção de flavonoides sulfatados. A PAPS é catalisada a partir das sulfotransferases

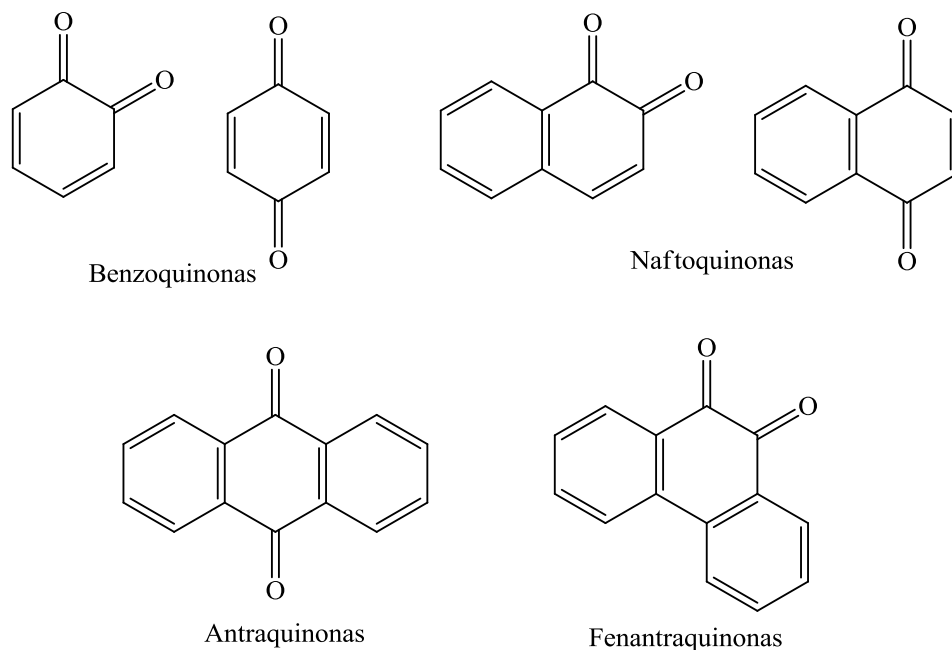
citossólicas (SOTs), que transferem o grupo enxofre das PAPS para substâncias hidroxiladas (DAVIDIAN; KOPRIVA, 2010; TELES et al., 2018).

Os flavonoides sulfatados se caracterizam por apresentarem atividades anticoagulante (CORREIA-DA-SILVA; SOUSA; PINTO, 2014), antitumoral (TELES et al., 2015), antimicrobiana (GADETSKAYA et al., 2015), antioxidante e antiinflamatória (TELES; SOUZA; SOUZA, 2018).

3.7 Considerações gerais sobre quinonas

As quinonas são compostos orgânicos produzidos principalmente por espécies vegetais, que apresentam dois grupos carbonila em um anel insaturado com seis átomos de carbono, podendo estar situados nas posições “orto” ou “para”. De acordo com o tipo de sistema aromático, as quinonas podem ser classificadas como benzoquinonas, naftoquinonas, antraquinonas e fenantraquinonas (Figura 8, pág. 53) (SOUSA, 2013; LEONARDO; ROCHA; MENDOZA, 2015; SOUSA; LOPES; ANDRADE, 2016).

Figura 8. Classificação das quinonas



Fonte: (SOUSA; LOPES; ANDRADE, 2016).

As plantas contendo quinonas têm sido usadas desde a antiguidade, no tratamento de diversas enfermidades e como fonte de corantes, tendo em vista que uma característica forte dessas substâncias é sua coloração variando do amarelo ao vermelho, podendo ser também azul ou preto (LEONARDO; ROCHA; MENDOZA, 2015; SIMÕES et al., 2017). Apresentam uma atividade importante, chamada “biodinamicidade”, sendo a capacidade de uma molécula de possuir várias propriedades biológicas, como atividade laxante (SIMÕES et al., 2017) antimicrobiana, anticancerígena, antitumoral, antiangiogênica (SOUSA, 2013), antiinflamatória e antioxidante (SEVERIANO, 2016). Além disso, a citotoxicidade apresentada por essas substâncias leva a hipótese de que ocorra devido a uma propriedade intrínseca do núcleo quinolínico, sendo responsável pela alta atividade antitumoral (SILVA, 2014).

Estes compostos são amplamente encontrados na natureza, principalmente em algumas famílias, como Rubiaceae, Fabaceae, Rhamnaceae, Bignoniaceae, Myrsinaceae, Boraginaceae, Irideaceae, Malvaceae, Verbenaceae, Ebanaceae, Droseraceae e Lythraceae (SILVA, 2014; SIMÕES et al., 2017).

As naftoquinonas são as quinonas que apresentam núcleo naftalênico (SEVERIANO, 2016). Dentre as naftoquinonas mais conhecidas, destacam-se, o lapachol, um dos principais representantes dessa classe, apresentando atividades antitumoral, antiinflamatória, antiparasitária, antimicrobiana e antifúngica contra espécies de *Helicobacter pylori*, *Staphylococcus*, *Bacillus* e *Mycobacterium tuberculosis*; a vitamina K1 e K2, responsáveis pelo mecanismo de coagulação do sangue; e a lausona e a alcanina, utilizada como corante natural para corpo e cabelo (SILVA, 2014; SEVERIANO, 2016).

3.8 Considerações gerais sobre atividade antimicrobiana

As infecções microbianas afetam diretamente a saúde da sociedade, sendo responsável por milhões de mortes em todo o mundo. Devido ao uso inapropriado e indiscriminado de antibióticos ocorreu o surgimento da resistência antimicrobiana contra os antibióticos, tornando os medicamentos disponíveis para tal finalidade, menos eficazes ou até mesmo ineficazes, causando grande preocupação nos dias atuais (KHAMENEH et al., 2019; VAOU et al., 2021).

Diante disso, os pesquisadores buscam alternativas para minimização da resistência antimicrobiana, sendo um deles a procura de novos compostos. Tendo em vista, que cerca de 50% dos fármacos atuais são derivados de produtos naturais, e que os mesmos apresentam atividade antimicrobiana, estas substâncias tornam-se uma interessante alternativa para a triagem de novos agentes antimicrobianos (VAOU et al., 2021; ATANASOV et al., 2021).

Uma das estratégias propostas é a utilização dos produtos naturais em combinação com os antibióticos (KHAMENEH et al., 2019). Os extratos de plantas medicinais também são uma alternativa útil contra a resistência das bactérias, na qual sua eficácia é referida ao efeito sinérgico dos compostos ativos presentes nos mesmos, provenientes da maior disponibilidade, diferentes efeitos e mecanismos, capazes de eliminar a resistência bacteriana (VAOU et al., 2021).

Cerca de 30.000 compostos potenciais antimicrobianos foram isolados de plantas e muitos têm apresentado resultados promissores na superação da resistência a antibióticos (KHAMENEH et al., 2019), variando a atividade antimicrobiana de acordo com suas estruturas, como número de substituinte e ligações glicosídicas (VAOU et al., 2021). Devido a sua complexidade química, tais compostos apresentam uma quantidade menor de efeitos colaterais em relação às drogas sintéticas (AYAZA, et al., 2019). Além disso, os antimicrobianos de produtos naturais também são mais seguros e acessíveis (VAOU et al., 2021).

Uma variedade de agentes antimicrobianos usados são derivados de plantas, tais como penicilinas, tetraciclina, rifamicina, cefalosporinas e vancomicina (AYAZA, et al., 2019). Os produtos naturais que apresentam atividade antimicrobiana são atribuídos às classes dos fenólicos, flavonoides, quinonas, cumarinas, taninos, terpenos, lignanas, alcaloides, saponinas, entre outros (ANAND et al., 2019; CHANDRA et al., 2017).

Alguns exemplos como, uma antraquinona de *Hypericum perforatum*, hipericina, apresentou atividade contra *Staphylococcus* resistente à metilina e sensível a metilina (CHANDRA et al., 2017); 5,7-di-hidroxi-3,8,4'-trimetoxiflavona exibiu atividade contra *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli* (OLIVEIRA, 2019); espécies do gênero *Sida*, como *Sida corymbosa* apresentou atividade contra *Pseudomonas aeruginosa* e *Streptococcus pyogenes* (JACOB et al., 2018) e *Sida acuta* apresentou

atividade contra cepas de *Staphylococcus aureus* (CHUMPOL et al., 2018); o extrato etanólico de *Helicteres isora* apresentou atividade contra *Staphylococcus aureus* (SIRIMONGKOLVORAKUL; JASANCHEUN, 2021) e seu extrato clorofórmico apresentou potente atividade contra *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* e *Aspergillus, niger* (MAHIRE; PATEL, 2020).

4. Metodologia

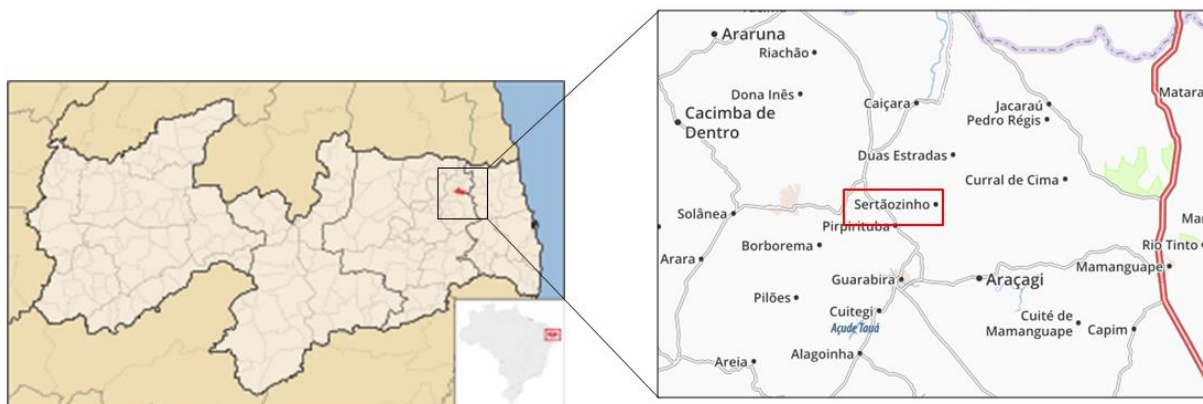
4.1 Levantamento Bibliográfico

O levantamento bibliográfico foi realizado utilizando bases de dados como *Web of Science*, *SciFinder*, Portal de Periódicos Capes, bem como pesquisas na Internet, buscando informações que viessem a contribuir com a pesquisa.

4.2 Coleta e Identificação do Material Vegetal

As partes aéreas de *Helicteres eichleri* K. Schum foram coletadas em fevereiro de 2020 no município de Sertãozinho-PB, cujas coordenadas são 6° 43' 52" Sul e 35° 25' 59" Oeste (Figura 9, pág. 58) (CIDADE-BRASIL, 2021).

Figura 9. Localização do município de Sertãozinho-PB



Fonte: Adaptado de: <https://www.viamichelin.pt/web/Mapas-plantas/Mapa_planta-Sertaozinho-58268-Paraiba-Brasil>; <https://www.familysearch.org/wiki/pt/Sert%C3%A3ozinho,_Para%C3%ADba_-_Genealogia>. Acesso em 26 dezembro 2021.

O material botânico foi coletado e identificado pelo Prof. Dr. Leonardo Pessoa Felix do Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Paraíba, Campus II, Areia (CCA/UFPB) e uma exsicata encontra-se depositada no Herbário Jaime Coelho de Moraes (CCA/UFPB) sob o código JMPCordeiro 1147 e número de entrada 23402. Esta pesquisa encontra-se registrada no Sistema Nacional de Gerenciamento de Recursos Genéticos e de Conhecimento Tradicional Associado (SisGen - A568B8A).

4.3 Estudo fitoquímico

O estudo fitoquímico de *Helicteres eichleri* foi realizado nas dependências do Laboratório de Fitoquímica Prof. Dr. Raimundo Braz Filho e Laboratório Multiusuário de Caracterização e Análise (LMCA), pertencentes ao Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos/Centro de Ciências da Saúde (CCS) /Universidade Federal da Paraíba (UFPB).

4.3.1 Isolamento e purificação dos constituintes químicos de *Helicteres eichleri*

O isolamento dos constituintes químicos de *Helicteres eichleri* foi realizado através de métodos cromatográficos, como: Cromatografia em Coluna com sílica *flash* (70-230 mesh) e/ou Sephadex LH-20 (Merck), realizados em colunas de vidro cilíndricas com dimensões alterando de acordo com a quantidade de amostra a ser cromatografada. Como fase móvel foram utilizados solventes comerciais P.A., hexano, diclorometano, clorofórmio, acetato de etila, metanol e *n*-butanol. Cromatografia em Camada Delgada Analítica (CCDA) foi realizada para análise e reunião das frações obtidas por cromatografia em coluna.

As análises das substâncias em CCDA foram realizadas através do uso de radiação ultravioleta nos comprimentos de onda de 254 e 366 nm, sendo reunidas de acordo com a semelhança do seu perfil cromatográfico.

4.3.2 Caracterização das substâncias isoladas

A identificação ou elucidação estrutural das substâncias isoladas de *Helicteres eichleri* foi realizada através de análise dos espectros de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio e Carbono, utilizando técnicas uni (RMN ^1H e RMN ^{13}C), e bidimensionais (HSQC e HMBC), bem como comparações com modelos da literatura.

- *Ressonância Magnética Nuclear*

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear das substâncias isoladas foram obtidos utilizando o espectrômetro BRUKER a 400 ou 500 MHz (RMN ^1H) e 100 ou 125 MHz (RMN ^{13}C) do LMCA- UFPB. Os solventes deuterados utilizados na dissolução das amostras foram clorofórmio (CDCl_3), metanol (CD_3OD), dimetilsulfóxido (DMSO-d_6) e piridina ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$). Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em partes por milhão (ppm) e as constantes de acoplamento (J) em Hz.

4.3.3 Processamento do material vegetal

As partes aéreas de *Helicteres eichleri* (15 kg) foram desidratadas em estufa com ar circulante a 40°C por 72 horas, e em seguida trituradas em moinho mecânico obtendo-se 6 kg do pó da planta.

4.3.4 Obtenção do Extrato Etanólico Bruto das partes aéreas de *Helicteres eichleri*

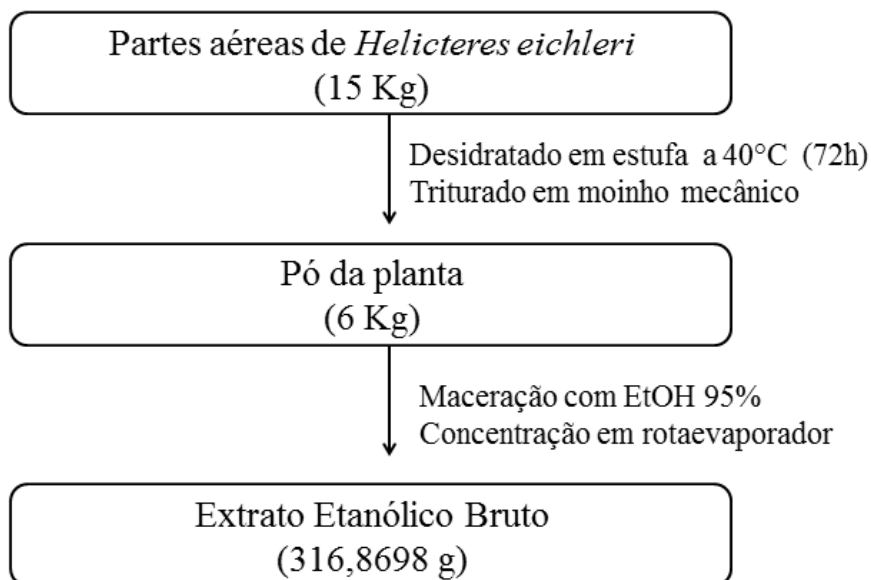
O pó da planta foi submetido à maceração com etanol (EtOH) a 95% durante 72 horas, sendo esse processo repetido por três vezes para garantia de uma eficiente extração dos constituintes químicos. Posteriormente, a solução extrativa resultante foi filtrada com o auxílio de papel filtro, e concentrada em evaporador rotativo a 40°C sob pressão reduzida, obtendo-se aproximadamente 317 g do EEB (Esquema 3, pág. 61).

4.3.5 Fracionamento Cromatográfico do Extrato Etanólico Bruto das partes aéreas de *Helicteres eichleri*

O extrato etanólico bruto (EEB) (230g) das partes aéreas de *Helicteres eichleri* foi dissolvido em etanol:água (7:3) obtendo-se a solução hidroalcolica e submetido à extração líquido-líquido, utilizando solventes em ordem crescente de polaridade, hexano, diclorometano, acetato de etila, n-butanol. As soluções extrativas fornecidas foram concentrados em evaporador rotativo a 40°C sob pressão reduzida, e resultaram nas

respectivas fases hexânica (88,2641g), diclorometano (30,3449 g), acetato de etila (13,7646 g), *n*-butanólica (10,5544 g), além da fase hidroalcoólica (85,5528 g) (Esquema 4, pág. 62).

Esquema 3. Obtenção do EEB das partes aéreas de *Helicteres eichleri*



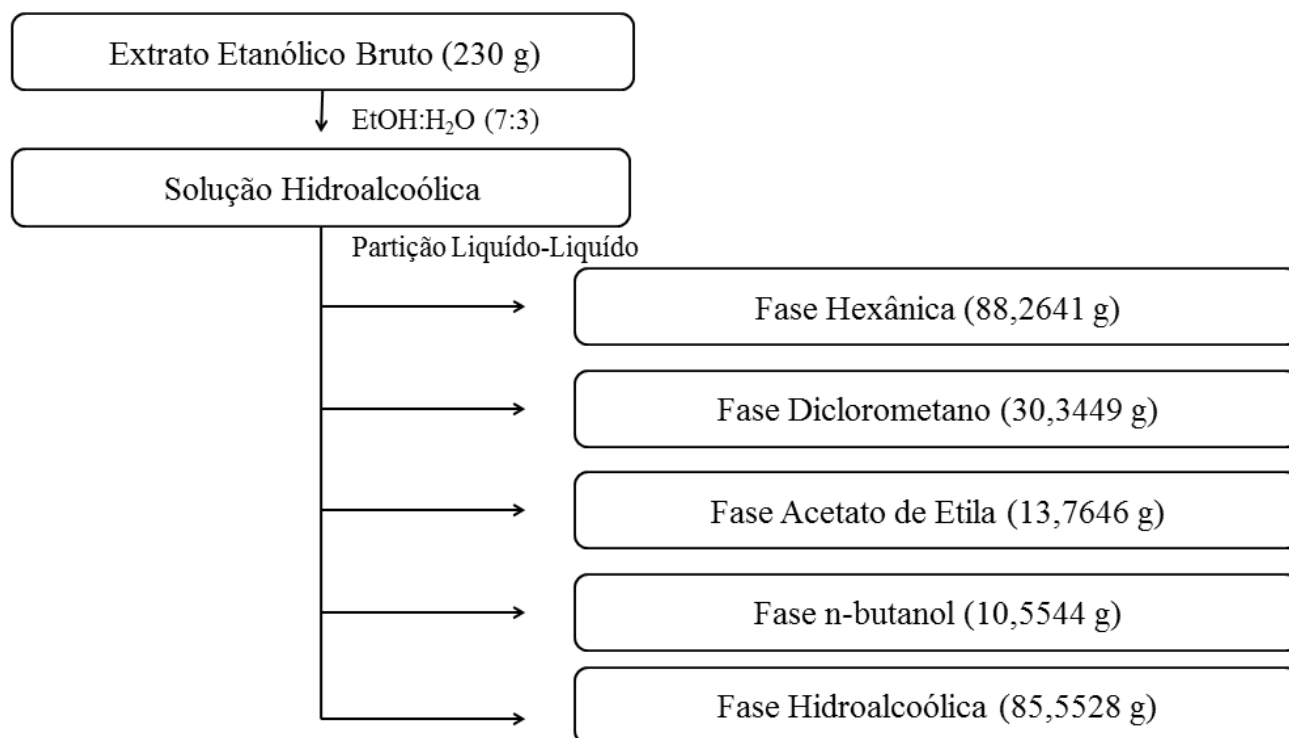
4.3.6 Processamento Cromatográfico da fase diclorometano do Extrato Etanólico Bruto das partes aéreas de *Helicteres eichleri*

A fase diclorometano (20g) (Esquema 5, pág. 64) oriunda da cromatografia líquido-líquido do EEB foi submetida a cromatografia em coluna aberta, utilizando como fase fixa a sílica flash e como fase móvel o hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol puros ou em misturas binárias seguindo gradiente crescente de polaridade, onde foram coletadas 81 frações. Essas frações foram concentradas em evaporador rotativo e analisadas por Cromatografia em Camada Delgada Analítica (CCDA) em vários sistemas de solventes. Após análises das CCDA e semelhança do seu perfil cromatográfico obteve-se 10 frações, codificadas em 1/15, 16/26, 27/30, 31, 32/67, 68/70, 71, 72/78, 79/80 e 81.

4.3.6.1 Fracionamento Cromatográfico da fração 16/26 obtida da fase diclorometano do EEB das partes aéreas de *Helicteres eichleri*

A fração 16/26 (209mg) foi aplicada em uma coluna cromatográfica utilizando sílica flash como fase estacionária, e como fase móvel hexano, acetato de etila e metanol, sozinhos ou em misturas binárias. Desta cromatografia obteve-se 59 frações, que foram analisadas seguindo a metodologia anterior e reunidas em 8 sub-frações. A sub-fração 21/23 (3 mg) secou, sendo obtida na forma de um pó amorfo laranja foi codificada como *He-1* (Esquema 6, pág. 65).

Esquema 4. Particionamento do EEB das partes aéreas de *Helicteres eichleri*



4.3.6.2 Material obtido a partir da secagem das Frações 31 e 71 obtidas da fase diclorometano do EEB das partes aéreas de *Helicteres eichleri*

A fração 31 (24mg) foi obtida na forma de um pó vermelho, enquanto que a fração 71 (48mg) apresentou-se na forma de um sólido amorfo branco, sendo codificadas como *He-2* e *He-3*, respectivamente (Esquema 5, pág. 64).

4.3.6.3 Fracionamento Cromatográfico da fração 79/80 obtida da fase diclorometano do EEB das partes aéreas de *Helicteres eichleri*

A fração 79/80 (852 mg) foi aplicada em uma coluna cromatográfica utilizando Sephadex LH-20 como fase estacionária, e como fase móvel metanol e clorofórmio, sozinhos ou em misturas binárias, obtendo-se 46 frações, que foram analisadas por CCDA e reunidas em 5 sub-frações. A sub-fração 26/27 (8mg) secou, sendo obtida na forma de um pó amarelo, foi codificada como *He-4* (Esquema 5, pág. 64).

4.3.7 Processamento Cromatográfico da fase acetato de etila do Extrato Etanólico Bruto das partes aéreas de *Helicteres eichleri*

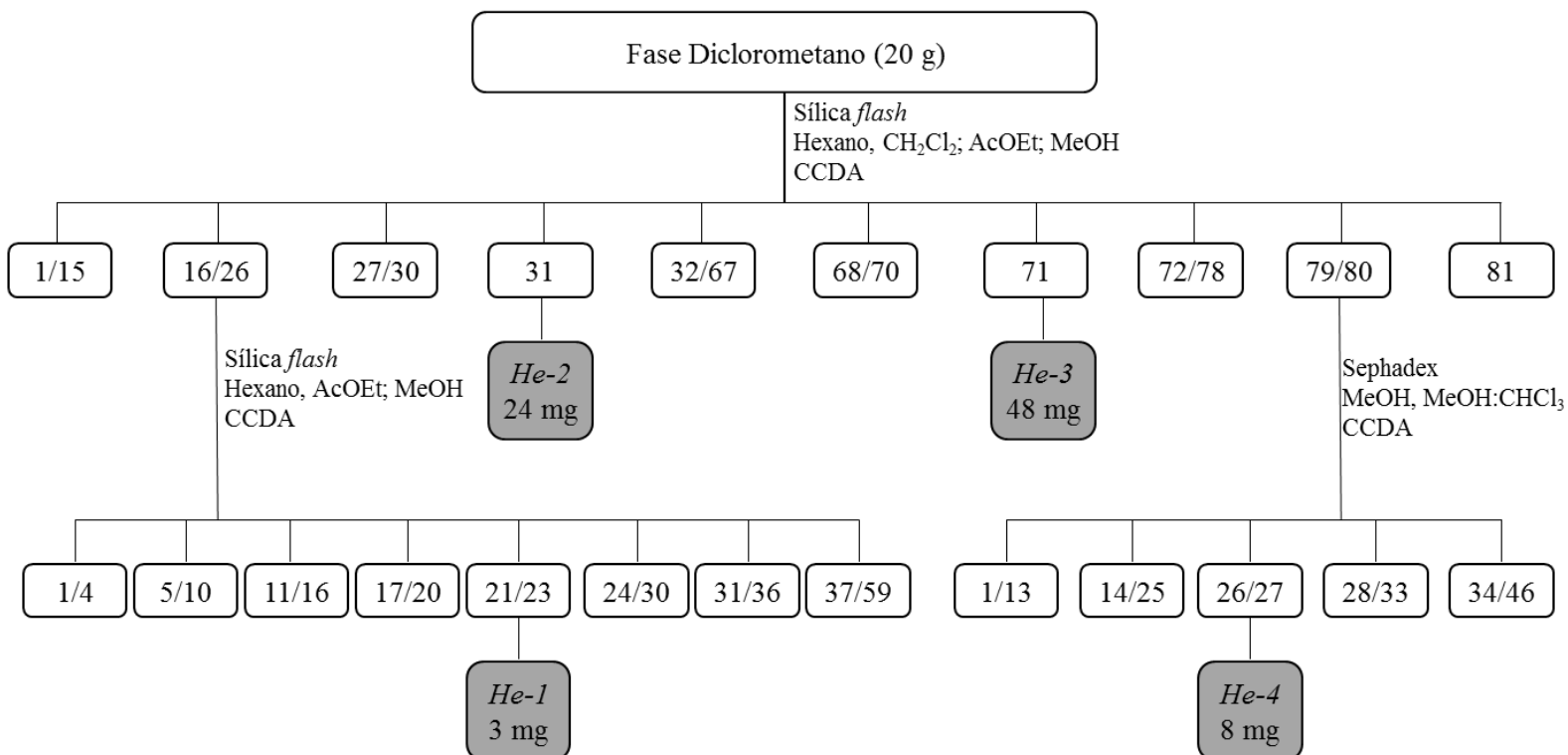
A fase acetato de etila (8g) oriunda da cromatografia líquido-líquido do EEB foi submetida à Coluna Cromatográfica utilizando um cartucho C-18 como fase estacionária e como fase móvel água, metanol, clorofórmio, hexano e acetona puros ou em misturas binárias seguindo gradiente crescente de polaridade, onde foram coletadas 10 frações, codificadas em A, B, C, D, E, F, G, H, I e J (Esquema 6, pág. 65). Essas frações foram concentradas em evaporador rotativo e analisadas por Cromatografia em Camada Delgada Analítica (CCDA) em vários sistemas de solventes.

4.3.7.1 Processamento Cromatográfico da fração D obtida da fase acetato de etila do EEB das partes aéreas de *Helicteres eichleri*

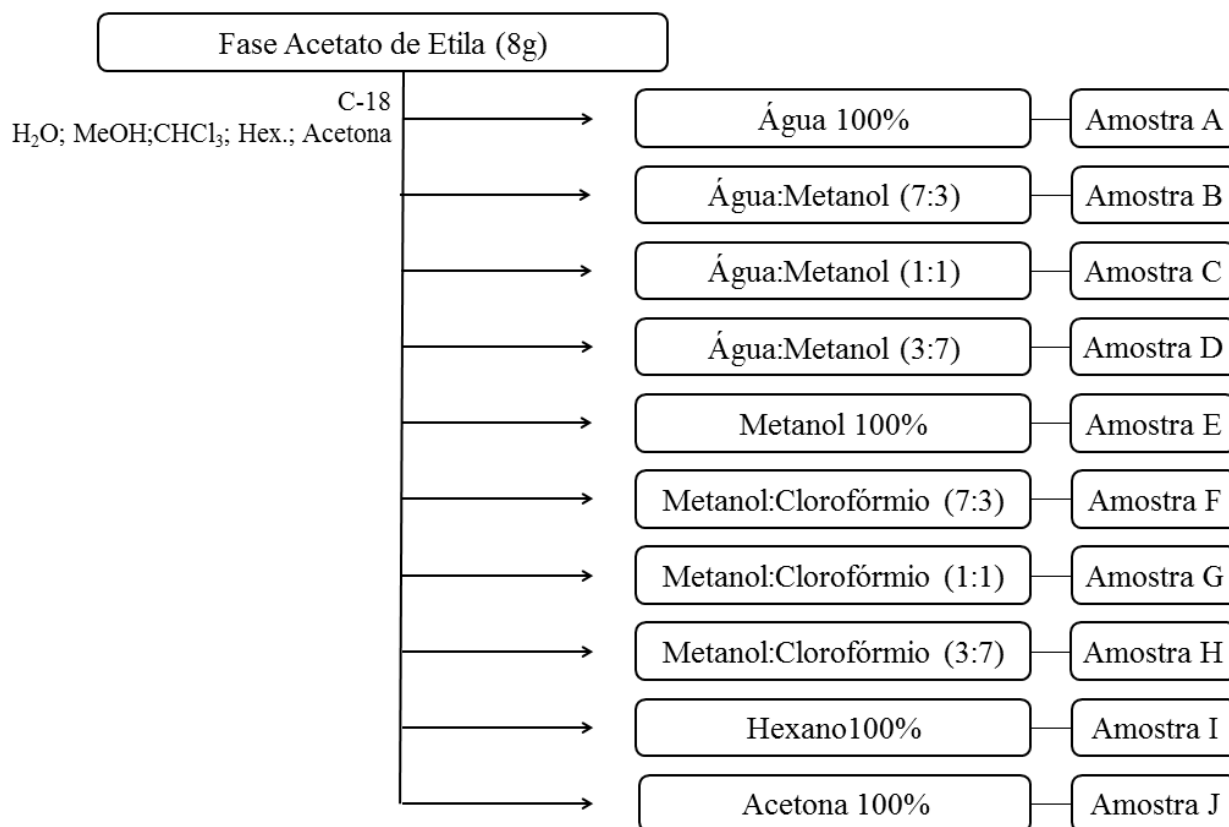
A fração D (355 mg) foi aplicada em uma coluna cromatográfica utilizando sephadex LH-20 como fase estacionária, e como fase móvel metanol e clorofórmio,

sozinhos ou em misturas binárias, obtendo-se 62 frações, que foram analisadas por CCDA e reunidas em 13 sub-frações (Esquema 7, pág. 66). A sub-fração 43/62 (55 mg) mostrou-se promissora por mostrar uma mancha majoritária na CCDA e poucas manchas abaixo.

Esquema 5. Fracionamento cromatográfico da fase Diclorometano e frações 16/26 e 79/80 da fase diclorometano do EEB das partes aéreas de *Helicteres eichleri*



Esquema 6. Fracionamento cromatográfico da fase Acetato de Etila do EEB das partes aéreas de *Helicteres eichleri*



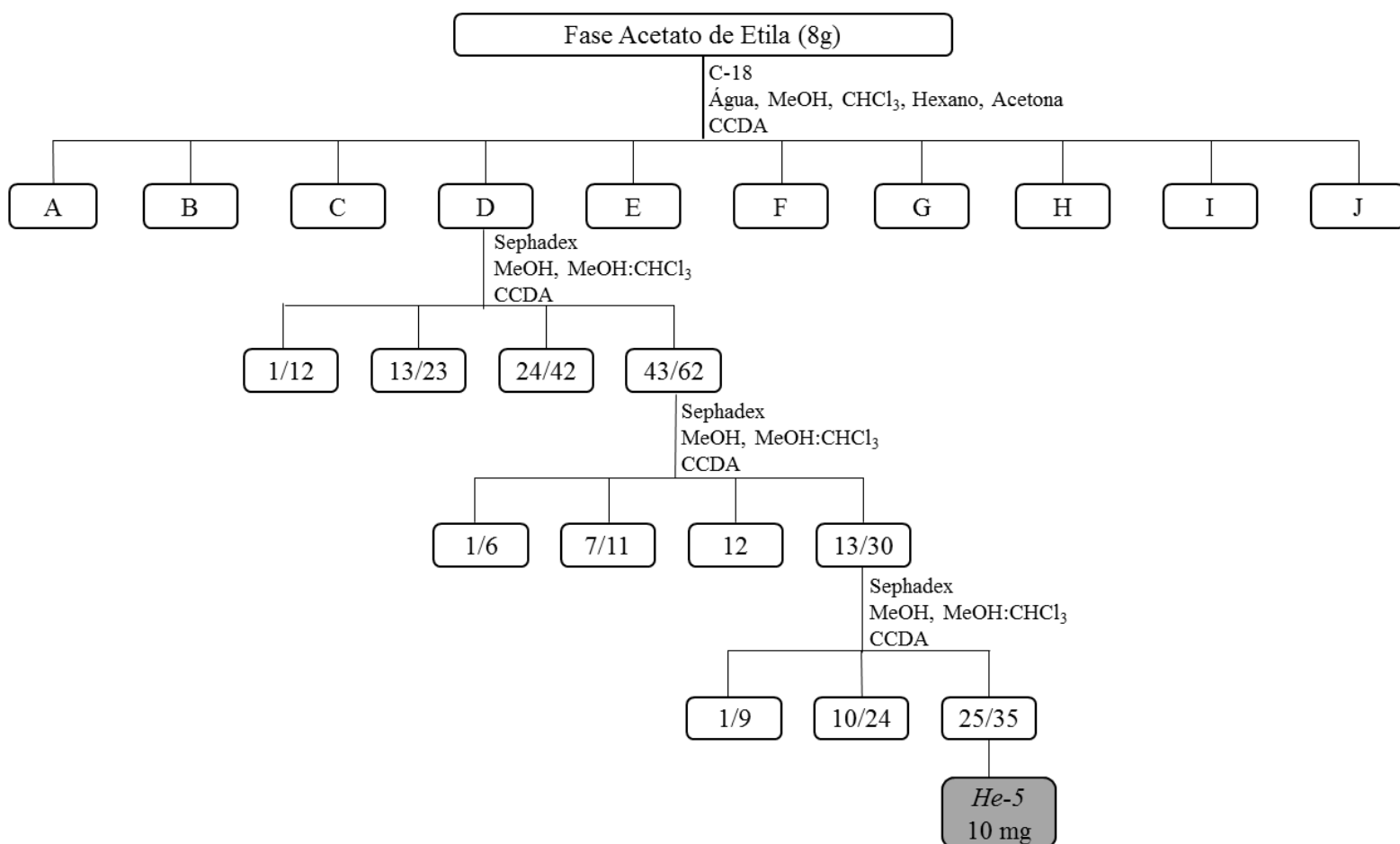
4.3.7.2 Processamento Cromatográfico da fração 43/62 obtida da fase acetato de etila do EEB das partes aéreas de *Helicteres eichleri*

A fração 43/62 (55 mg) foi aplicada em uma coluna cromatográfica utilizando sephadex LH-20 como fase estacionária, e como fase móvel metanol e clorofórmio, sozinhos ou em misturas binárias, obtendo-se 30 frações, que foram analisadas por CCDA e reunidas em 10 sub-frações (Esquema 7, pág. 66). A sub-fração 13/30 (46 mg) mostrou-se promissora por mostrar uma mancha majoritária na CCDA e poucas manchas abaixo.

4.3.7.3 Processamento Cromatográfico da fração 13/30 obtida da fase acetato de etila do EEB das partes aéreas de *Helicteres eichleri*

A fração 13/30 (46 mg) foi aplicada em uma coluna cromatográfica utilizando sephadex LH-20 como fase estacionária, e como fase móvel metanol e clorofórmio, sozinhos ou em misturas binárias, obtendo-se 35 frações, que foram analisadas por CCDA e reunidas em 9 sub-frações. A sub-fração 25/35 (10 mg) secou, sendo obtida na forma de um pó amarelo, foi codificada como *He-5* (Esquema 7, pág. 66).

Esquema 7. Fracionamento cromatográfico das frações da fase Acetato de Etila do EEB das partes aéreas de *Helicteres eichleri*



4.4 Avaliação da atividade antimicrobiana dos compostos

Os ensaios microbiológicos foram realizados no Laboratório de Biotecnologia Celular e Molecular do Departamento de Biotecnologia da Universidade Federal da Paraíba, sob a coordenação do Prof^o. Dr. Demetrius Antônio Machado de Araújo. As cepas utilizadas fazem parte da coleção microbiológica do referido laboratório que incluem as cepas *American Type Culture Collection* (ATCC), sendo elas: os gram-positivos *Staphylococcus aureus* MRSA ATCC 43300 e *Staphylococcus epidermidis* ATCC 29641 e os gram-negativos, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 e *Salmonella enterica typhimurium* ATCC 14028.

A atividade antimicrobiana de dois compostos isolados (*He-1* e *He-2*) foram investigadas frente a 4 linhagens bacterianas patogênicas por meio do ensaio disco-difusão e ensaio de microdiluição por meio da determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM), seguindo a metodologia estabelecida pelo *Clinical & Laboratory Standards Institute* (CLSI) (CLSI, 2012a; CLSI, 2012b).

4.4.1 Avaliação da atividade antimicrobiana por ensaio disco-difusão

Inicialmente, foi preparada uma suspensão dos compostos, *He-1* e *He-2*, em metanol (1 mg/mL), em duplicata. Em seguida, 10 µL da suspensão foi adicionada ao disco de papel Whatman qualitativo com diâmetro igual a 6 mm. Aguardou-se 1 h, a temperatura ambiente para que o solvente evaporasse do disco. Posteriormente, cada disco foi posicionado sobre a placa contendo ágar Muller-Hinton previamente inoculada com uma suspensão da bactéria patogênica teste com uma turbidimetria igual a 0,5 McFarland (equivalente a $1,5 \times 10^8$ UFC (unidade de formação de colônias)/ mL). Como controle positivo foi utilizado a ampicilina, e como controle negativo o solvente (metanol). Os diâmetros das zonas de inibição foram mensurados após 20 h de incubação a 37 °C, com o auxílio de uma régua (BAUER et al., 1966; NÚÑEZ-MONTERO et al., 2019).

4.4.2 Avaliação da atividade antimicrobiana pelo ensaio de microdiluição por meio da determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

Os compostos foram diluídos serialmente em meio Muller-Hinton (512, 256, 128, 64, 32, 16, 8 e 4 µg/mL). Posteriormente, 90 µL das diluições foram distribuídas em triplicata na placa de 96 poços. Em seguida, cada poço foi inoculado com 10 µL da suspensão do microrganismo patogênico teste com aproximadamente 5×10^5 UFC/mL.

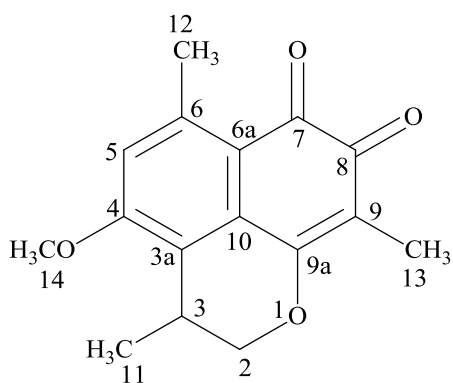
Após inocular os microrganismos, a placa foi incubada a 37°C durante 20 h. Adicionalmente, o controle positivo utilizado foi a ampicilina nas concentrações 32, 16, 8, 4, 2, 1, 0,5 e 0,25 µg/mL, e o controle negativo foi preparado com 90 µL de meio Miller-Hinton e 10 µL de inóculo. O branco, também utilizado como controle de qualidade do ensaio, foi preparado com 100 µL do meio de cultivo. A densidade óptica foi mensurada a 630 nm para estimar o crescimento microbiano exposto a diferentes concentrações dos compostos avaliados e determinar a concentração inibitória mínima através da diferença de crescimento quando comparado ao controle negativo (NÚÑEZ-MONTERO et al., 2019).

5. Resultados e Discussão

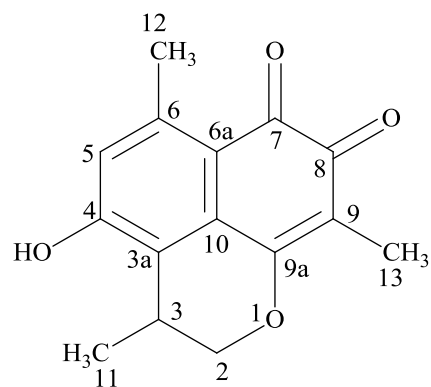
5.1 Substâncias isoladas da fase diclorometano e acetato de etila das partes aéreas de *Helicteres eichleri* K. Schum

O estudo fitoquímico das partes aéreas de *Helicteres eichleri* possibilitou o isolamento dos constituintes químicos apresentados no Quadro 4.

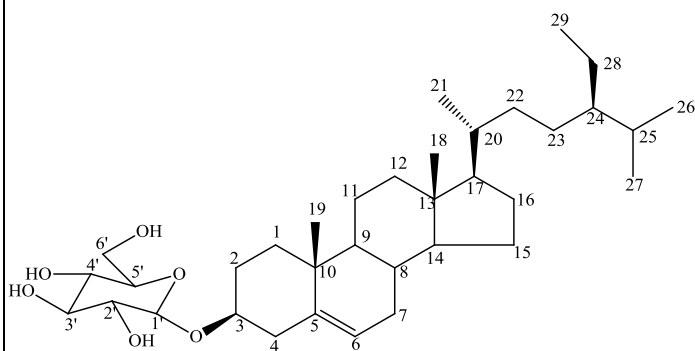
Quadro 4. Substâncias isoladas e identificadas da fase diclorometano e acetato de etila das partes aéreas de *Helicteres eichleri* K. Schum



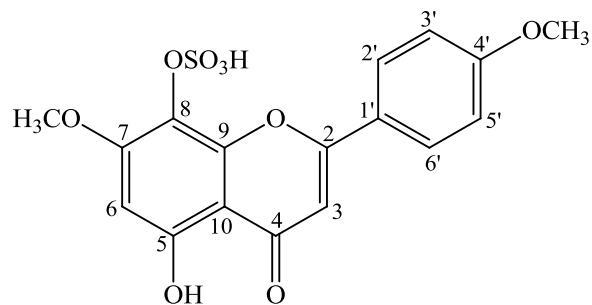
He-1: Mansonona M



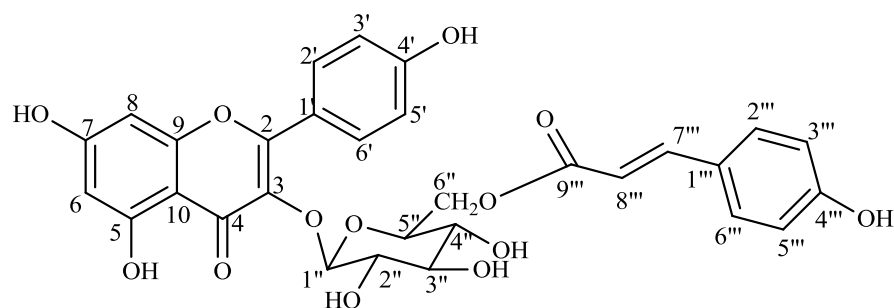
He-2: Mansonona H



He-3: sitosterol-3-O- β -D-glicopiranosídeo



He-4: 7,4'-dimetoxi, 8-O-Sulfato Isoscutelareina



He-5: canferol-3-*O*- β -D-(6''-*E*-*p*-coumaroil) glicopiranosídeo (tilirosídeo)

5.1.1 Caracterização estrutural de *He-1*

A substância codificada como *He-1*, apresentou-se na forma de um pó laranja amorfo.

O espectro de RMN ^1H (Fig. 10, pág. 77) foi realizado em 400 MHz, utilizando como solvente o CDCl_3 e as absorções levaram a se pensar que a molécula em análise tratava-se de uma substância do tipo quinona que possuía apenas um carbono aromático não substituído, uma vez que exibiu somente um singlete em δ_{H} 6,67 (s, 1H) e essa classe de substância foi isolada anteriormente de espécies de Sterculiaceae (Quadro 1, pág. 34) (ANJANEYULU; RAJU, 1987; WANG; LIU, 1987).

A análise do espectro e suas expansões exibiram a presença de três metilas, sendo uma na forma de um dubleto em δ_{H} 1,28 referente a metila CH_3 -11, a metila periplanar a carbonila da quinona na forma de um singlete em δ_{H} 2,67 referente a metila CH_3 -12 (CHEN; CHEN; HONG, 1990) e outro singlete em δ_{H} 1,94 atribuída ao grupo CH_3 -13 α a carbonila do anel quinona (Figura 11 e 12, pág. 78; Tabela 1, pág. 74). Um singlete em δ_{H} 3,94 indica a presença de uma metoxila, atribuída ao OCH_3 -14, uma vez que um singlete apresentado em δ_{H} 6,67 indica que a posição C-5 não possui substituinte (CHEN; CHEN; HONG, 1990; PUCKHABER; STIPANOVIC, 2004 (Figuras 12 e 13, pág. 78 e 79; Tabela 1, pág. 74).

A expansão do espectro de RMN ^1H (Figura 12, pág. 78) exibiu um multipletto em δ_{H} 3,24 com $J = 7,0, 3,3$ e $1,0$ Hz que pode ser atribuído a um hidrogênio metínico (CH-3),

e dois duplos dubletos em δ_H 4,38 com $J = 10,8$ e $1,1$ Hz e δ_H 4,25 com $J = 10,8$ e $3,2$ Hz, (Figura 12 e 14, págs. 78 e 79) condizentes com dois hidrogênios do carbono oximetilênico (OCH₂-2) (CHEN; CHEN; HONG, 1990). Esses sinais permitiram propor para *He-1* a existência de um anel pirano, proposta essa que foi levantada por existir esta substância no gênero *Helicteres* (Quadro 2, pág. 42).

O espectro de RMN ¹³C, realizado a 100 MHz, utilizando a técnica APT (Fig. 15, pág. 80), apresentou 16 sinais, sendo dez aromático, que sugeriu a presença de um núcleo naftoquinônico e fortaleceu a proposta levantada pela análise do RMN ¹H. Destes apenas um carbono é não substituído e absorveu em δ_C 115,10 (Tabela 1, pág. 74). A existência do anel pirano é corroborada nessa análise pelos sinais em δ_C 72,21 atribuído ao carbono oximetilênico (OCH₂-2) e um sinal em δ_C 26,64 atribuído ao carbono metínico (CH-3). A presença de dois sinais em δ_C 180,91 e 182,35, evidenciam duas carbonilas em orto do núcleo quinona, nas posições C-7 e C-8, respectivamente. Três sinais em δ_C 17,78, 23,97 e 8,40 indicam a presença de três metilas substituintes nas posições, C-3 (CH₃-11), C-6 (CH₃-12) e C-9 (CH₃-13), respectivamente. Sinais em δ_C 160,45 e 162,03, são atribuídos aos carbonos sp² das posições C-4 e C-9a do núcleo naftoquinona, e um sinal em δ_C 56,35 confirma a presença de um grupo metoxila na posição OCH₃-14 (Figura 15, pág. 80; Tabela 1, pág. 74).

Os dados de RMN ¹H (Figura 10, pág. 77) e suas expansões como também os dados de RMN ¹³C e suas expansões (Figura 15, pág. 79), permitiram propor que *He-1* tratava-se da 4-metoxi-3,6,9-trimetil-2,3-di-hidrobenczo [de] cromeno-7, 8-diona (mansonona M). Para concluir essa proposta passou-se a analisar os espectros de correlação heteronuclear.

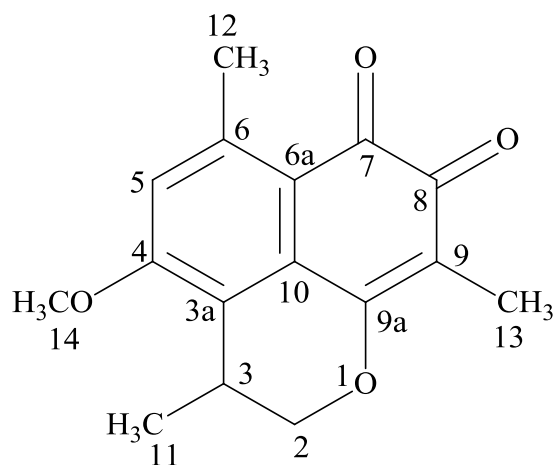
Os dados de correlação direta heteronuclear (HSQC) e suas expansões, mostraram as correlações entre hidrogênios e seus respectivos carbonos e juntamente com os dados obtidos da literatura, confirmaram a proposta descrita (Figura 16, pág. 80) (CHEN; CHEN; HONG, 1990; PUCKHABER; STIPANOVIC, 2004).

As análises do espectro heteronuclear HMBC (Figura 17; pág. 81) e suas expansões permitiram confirmar a presença das metilas nas posições C-3 (CH₃-11), C-6 (CH₃-12) e C-9 (CH₃-13), e metoxila na posição C-4 (OCH₃-14), sendo consolidadas por correlações a duas (²J), três (³J) e quatro ligações (⁴J). Correlações de CH₃-11 a três ligações (³J) com C-2 e C-3a, e a quatro ligações (⁴J) com C-10 (Figura 18, pág. 81; Tabela 2, pág.77); de CH₃-12

a três ligações (3J) com C-5 e C-6a, e a quatro ligações (4J) com C-7 (Figura 19, pág. 82; Tabela 2, pág. 76); de CH₃-13 a três ligações (3J) com C-8 e C-9a, e a quatro ligações (4J) com C-10 (Figura 20, pág. 82; Tabela 2, pág. 76); e de OCH₃-14 a duas ligações (2J) com C-4 (Figura 21, pág. 83; Tabela 2, pág. 76).

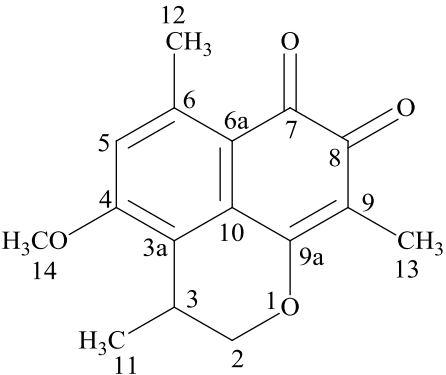
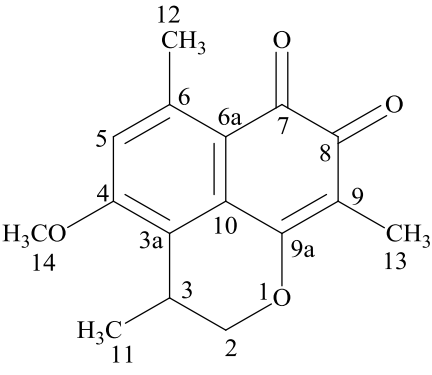
O espectro heteronuclear HMBC (Figura 17; pág. 81) e suas expansões também permitiram confirmar a presença dos carbonos nas posições C-4, C-7, C-8 e C-9a, ligados a oxigênio, e C-5 e C-6a que não foram bem observados no espectro de carbono utilizando a técnica APT, que pode ser explicado em virtude da pouca quantidade de amostra ou ao tempo de relaxação dos núcleos (OLIVEIRA et al., 2015).

Deste modo, dados de RMN 1H e ^{13}C uni e bidimensionais, juntamente com os dados obtidos na literatura (Tabela 1, pág. 74) permitiu identificar *He-1* como 4-metoxi-3,6,9-trimetil-2,3-di-hidrobenzo [de] cromeno-7, 8-diona, mansonona M, uma *O*-naftoquinona, isolada anteriormente de *Helicteres angustifolia* (CHEN; CHEN; HONG, 1990), pertencente ao gênero *Helicteres*, sendo relatada pela primeira vez na espécie *Helicteres eichleri*.



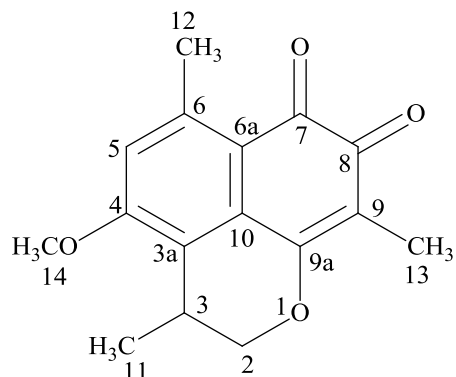
He-1:4-metoxi-3,6,9-trimetil-2,3-di-hidrobenzo [de] cromeno-7, 8-diona (mansonona M)

Tabela 1. Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C de *He-1* (δ, CDCl_3 , 400 MHz e 100 MHz) com modelo da literatura *Mo-1* (δ, CDCl_3 , 500 MHz e 125 MHz) (CHEN; CHEN; HONG, 1990; PUCKHABER; STIPANOVIC, 2004)

Mo-1 (Mansonona M)			<i>He-1</i>	
				
C	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1	-	-	-	-
2	4,36 (dd, $J=10,8, 0,8$ Hz) 4,23 (dd, $J=10,8, 3,2$ Hz)	71,7	4,38 (dd, $J=10,8, 1,1$ Hz, 1H) 4,25 (dd, $J=10,8, 3,2$ Hz, 1H)	72,21
3	3,22 (m)	26,1	3,24 (ddd, $J=7,0, 3,3, 1,0$ Hz, 1H)	26,64
3a	-	126,5	-	127,00
4	-	160,0	-	160,45
5	6,66 (s)	114,6	6,67 (s, 1H)	115,10
6	-	146,1	-	146,51
6a	-	120,7	-	121,39
7	-	180,5	-	180,91
8	-	181,0	-	182,35
9	-	116,6	-	117,10

9a	-	161,6	-	162,03
10	-	128,1	-	128,55
11- CH ₃	1,28 (d, <i>J</i> =7,0 Hz)	17,4	1,30 (d, <i>J</i> = 7,0 Hz)	17,78
12- CH ₃	2,66 (s)	23,5	2,67 (s, 3H)	23,97
13- CH ₃	1,93 (s)	7,9	1,94 (s, 3H)	8,40
14- OCH ₃	3,93 (s)	55,9	3,94 (s)	56,35

Tabela 2. Compilação dos dados de RMN ^1H e ^{13}C , HSQC e HMBC da *He-1* (δ , CDCl_3 , 500 MHz e 125 MHz)



HSQC			HMBC		
C	δ_{H}	δ_{C}	^2J	^3J	^4J
1	-	-	-	-	-
2	4,38 (dd, $J = 10,8$, 1,1 Hz, 1H) 4,25 (dd, $J = 10,8$, 3,2 Hz, 1H)	72,21	C-3	3-CH ₃ , C-3a, C-9a	-
3	3,24 (ddd, $J = 7,0$, 3,3, 1,0 Hz, 1H)	26,64	3-CH ₃	C-10	C-9a
3a	-	127,00	-	-	-
4	-	160,45	-	-	-
5	6,67 (s, 1H)	115,10	-	C-6a	C-4, C-10
6	-	146,51	-	-	-
6a	-	121,39	-	-	-
7	-	180,91	-	-	-
8	-	182,35	-	-	-
9	-	117,10	-	-	-

9a	-	162,03	-	-	-
10	-	128,55			
11- CH ₃	1,30 (d, <i>J</i> = 7,0 Hz)	17,78	C-3	C-2, C-3a	C-10
12- CH ₃	2,67 (s, 3H)	23,97	C-6	C-5, C-6a	C-7
13- CH ₃	1,94 (s, 3H)	8,40	C-9	C-8, C-9a	C-10
14- OCH ₃	3,94 (s)	56,35	C-4	-	-

Figura 10. Espectro de RMN ¹H (δ,CDCl₃, 400 MHz) de *He-1*

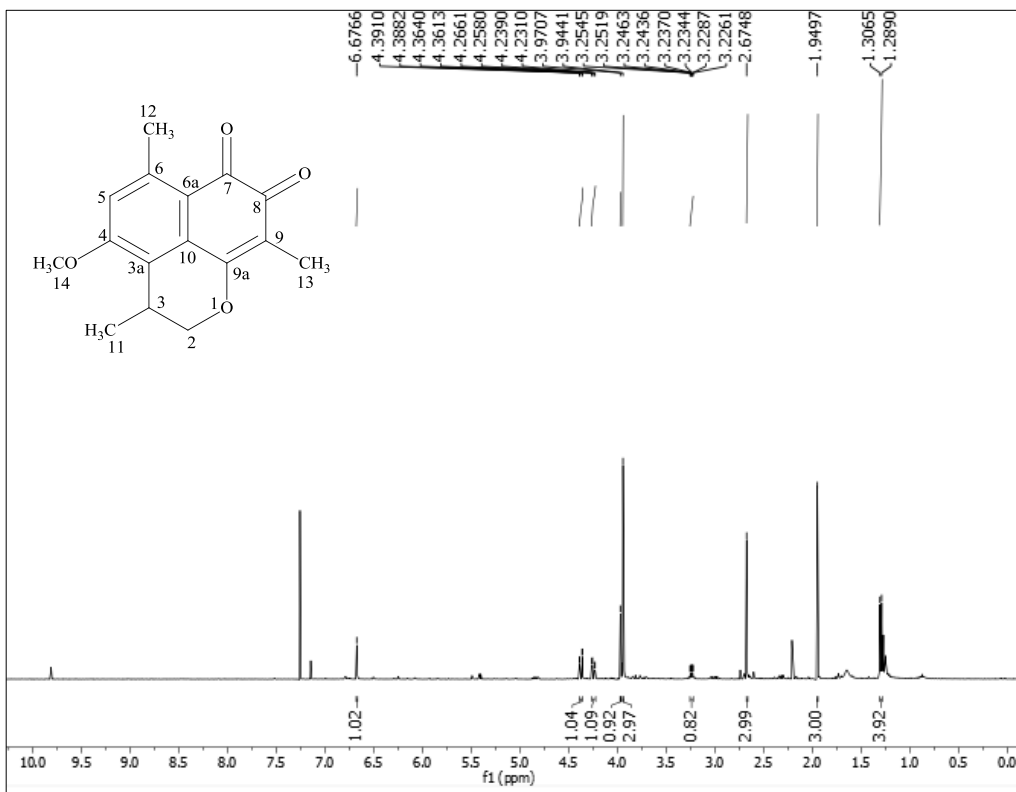


Figura 11. Primeira expansão do espectro de RMN ^1H (δ, CDCl_3 , 400 MHz) de *He-1*

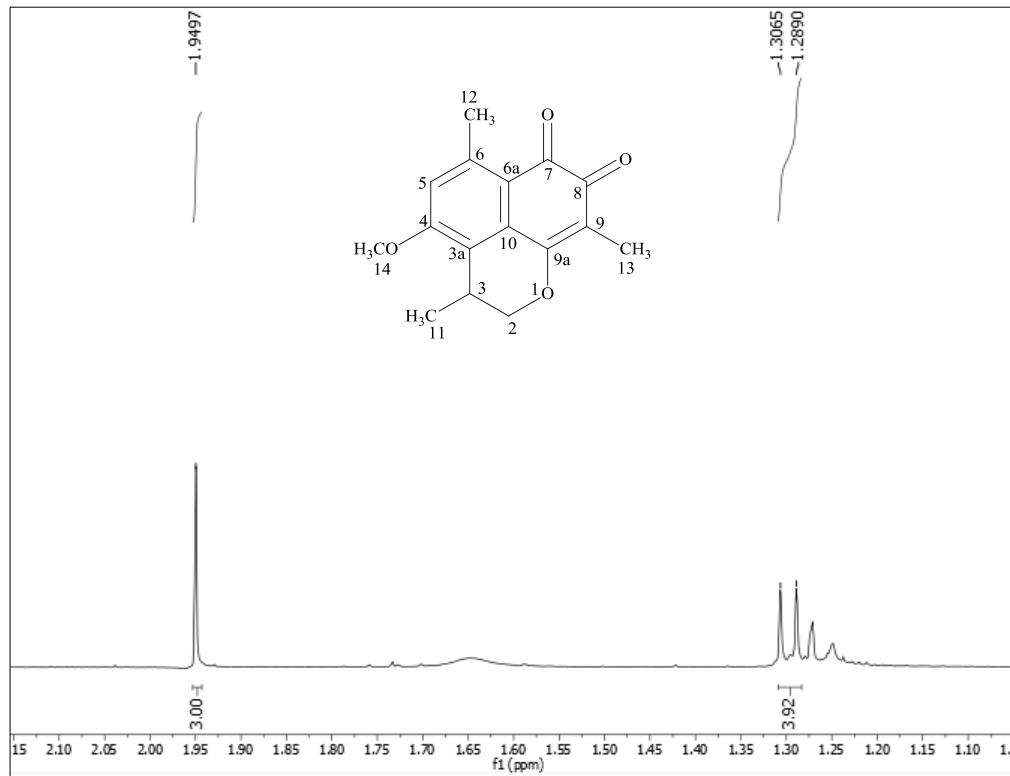


Figura 12. Segunda expansão do espectro de RMN ^1H (δ, CDCl_3 , 400 MHz) de *He-1*

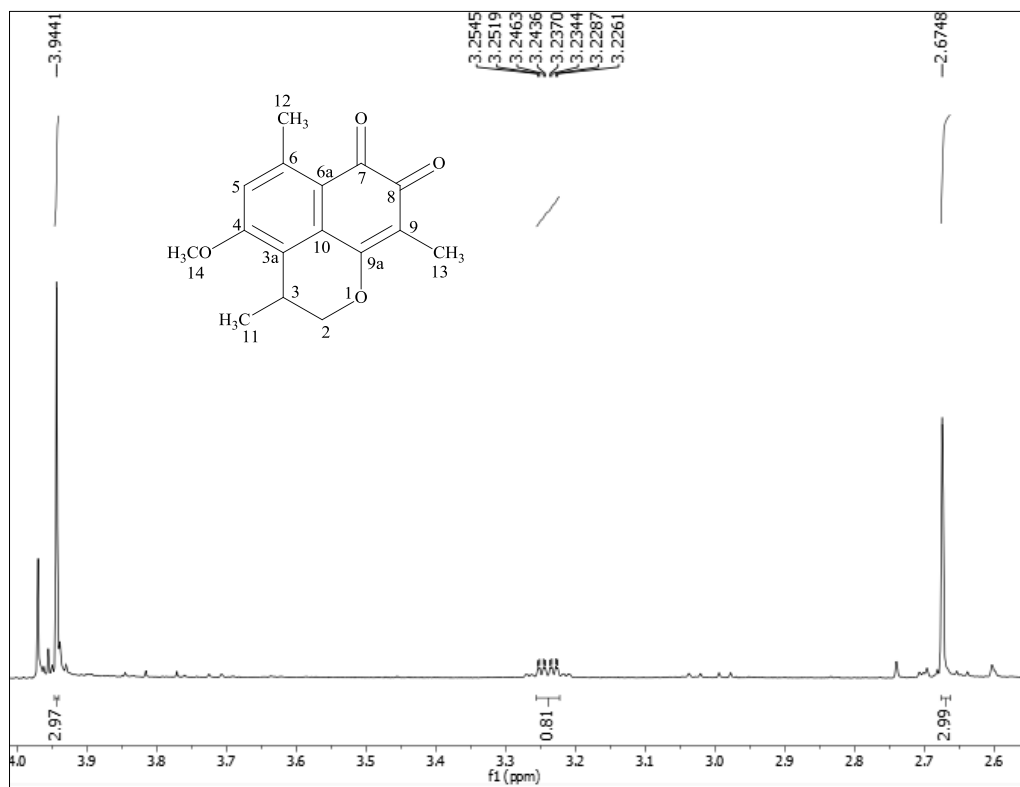


Figura 13. Terceira expansão do espectro de RMN ^1H (δ, CDCl_3 , 400 MHz) de *He-1*

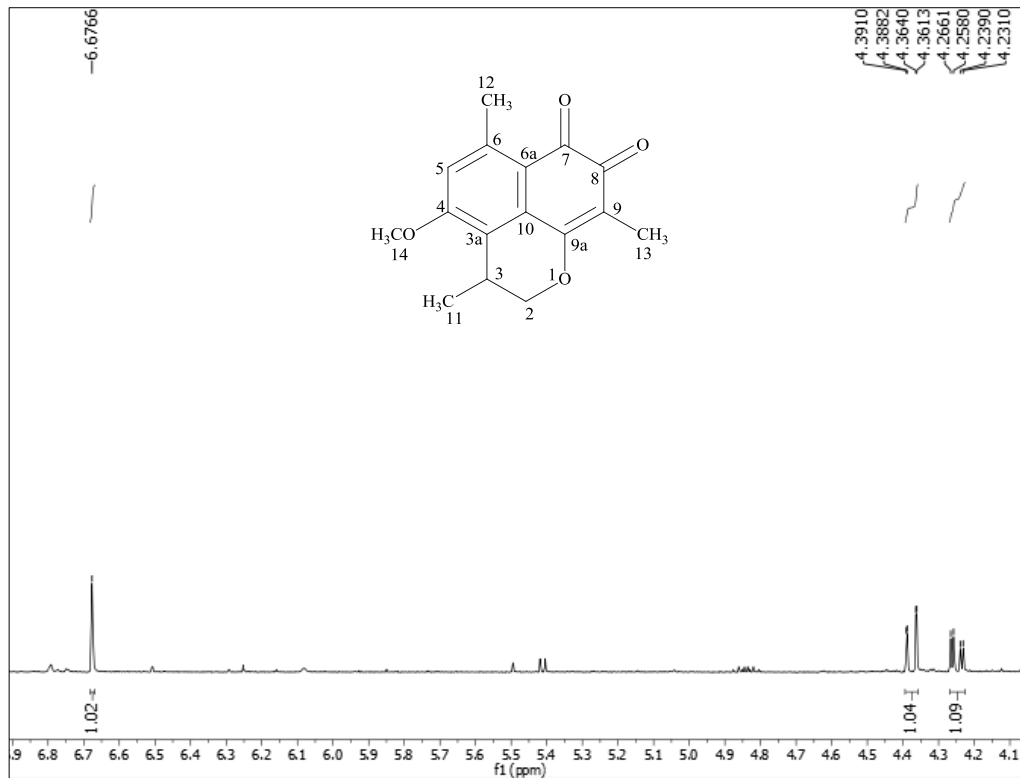


Figura 14. Quarta expansão do espectro de RMN ^1H (δ, CDCl_3 , 400 MHz) de *He-1*

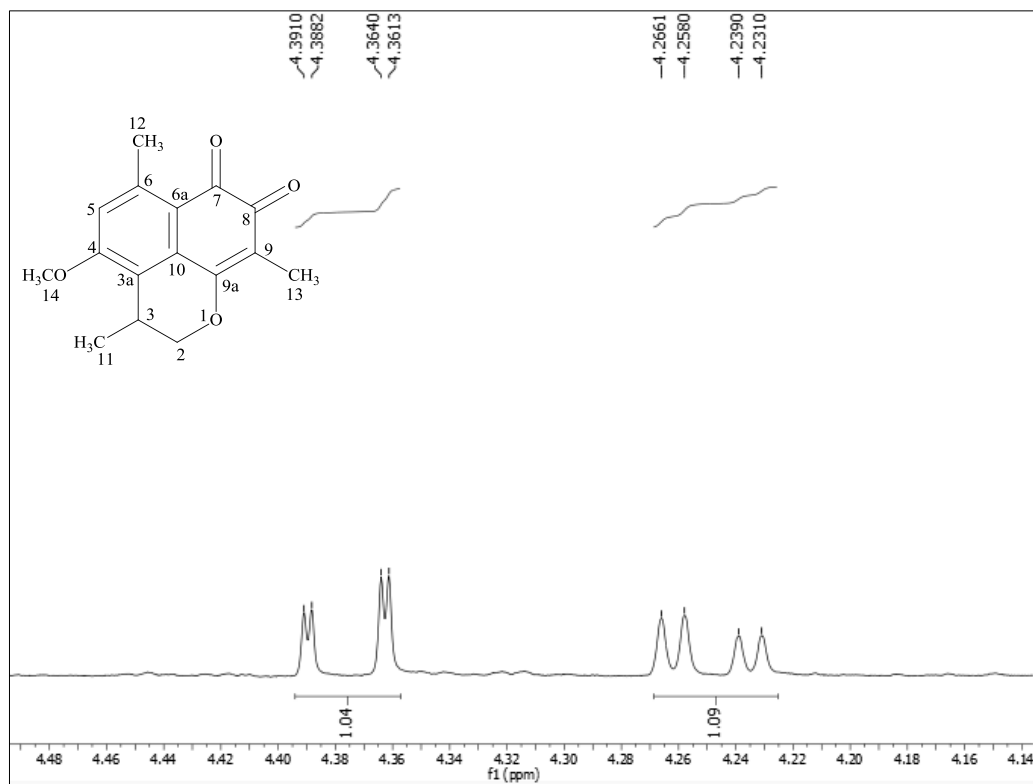


Figura 15. Espectro de RMN ^{13}C (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de *He-1*

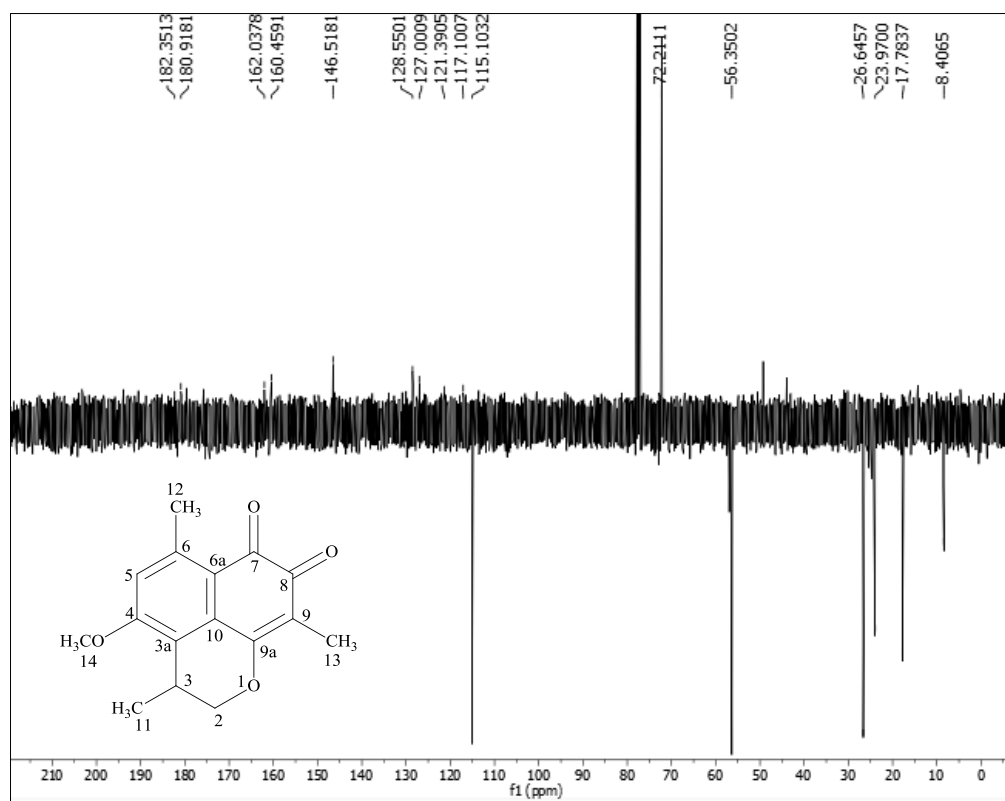


Figura 16. Espectro HSQC (δ , CDCl_3 , 400 MHz e 100 MHz) de *He-1*

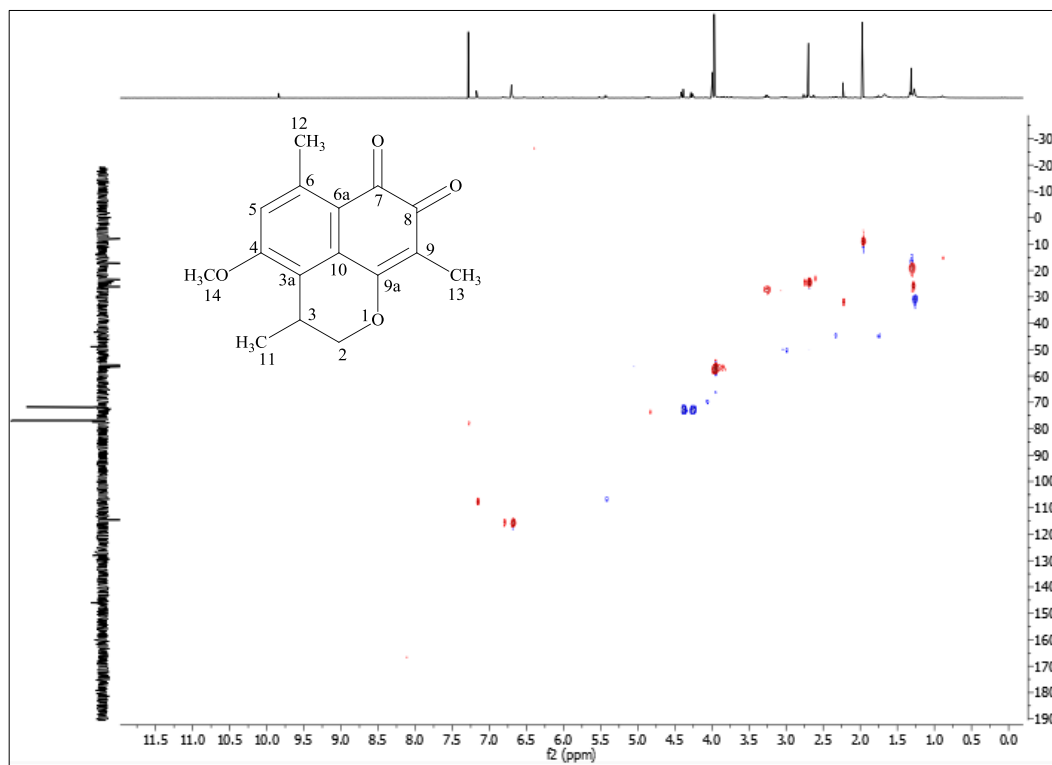


Figura 17. Espectro HMBC (δ , CDCl₃, 400 MHz e 100 MHz) de *He-1*

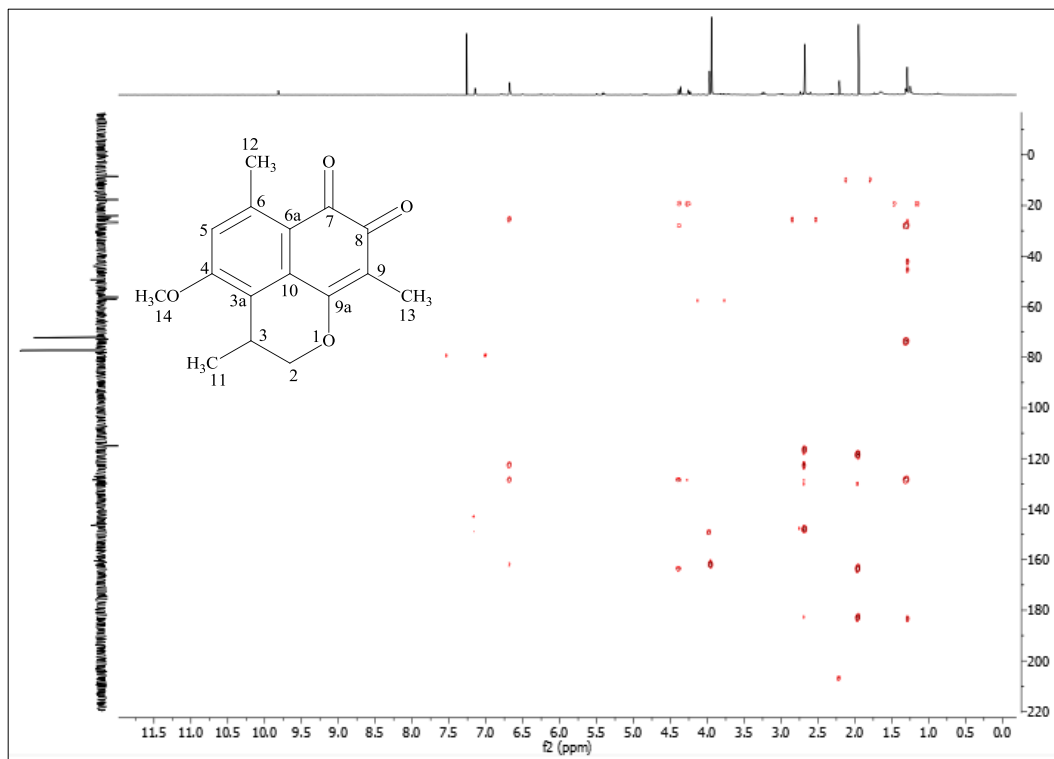


Figura 18. Primeira expansão do espectro HMBC (δ , CDCl₃, 400 MHz e 100 MHz) de *He-1*

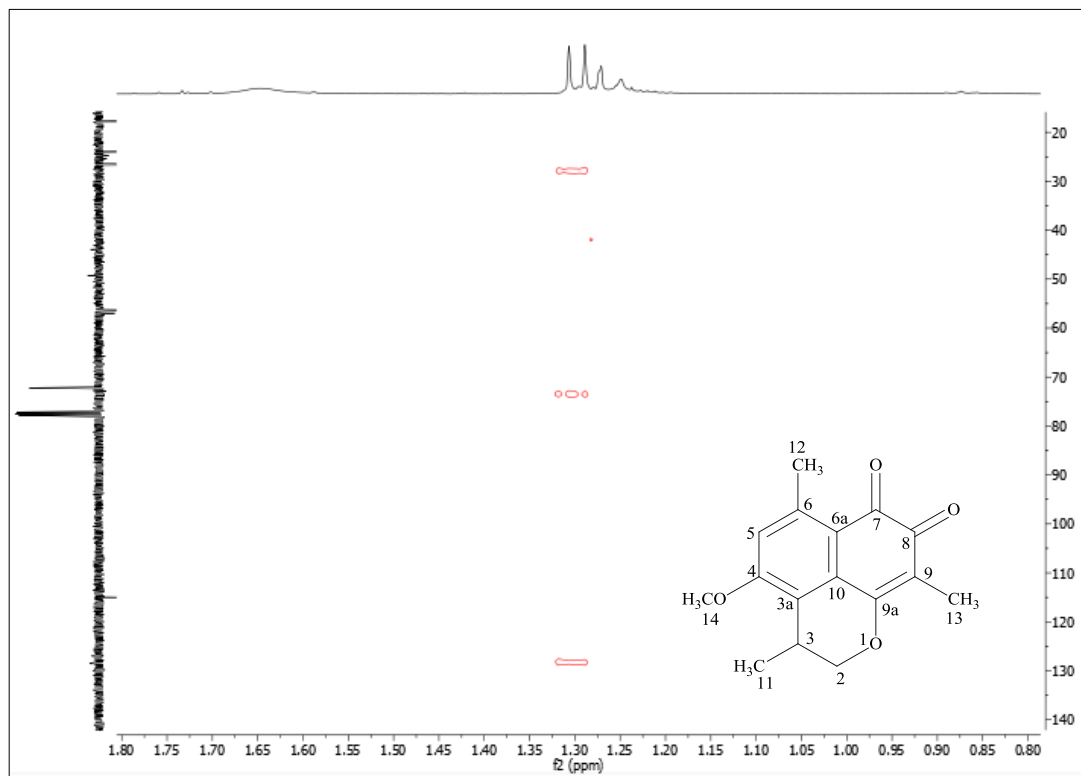


Figura 19. Segunda expansão do espectro HMBC (δ ,CDCl₃, 400 MHz e 100 MHz) de *He-1*

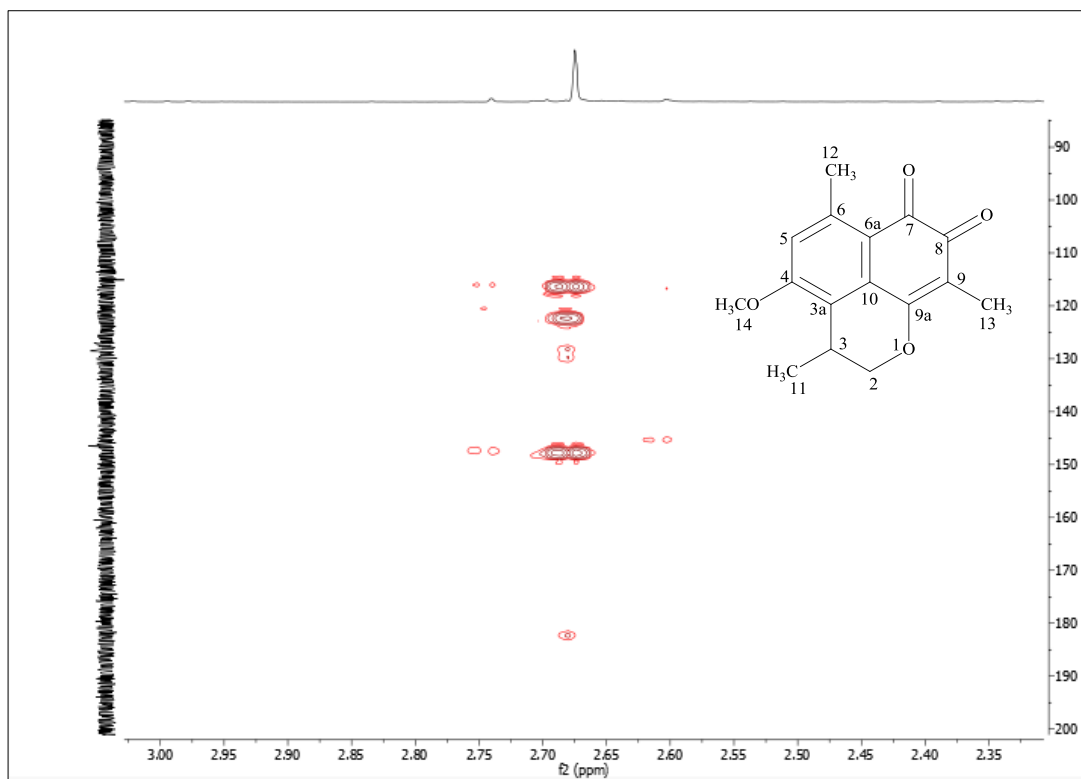


Figura 20. Terceira expansão do espectro HMBC (δ ,CDCl₃, 400 MHz e 100 MHz) de *He-1*

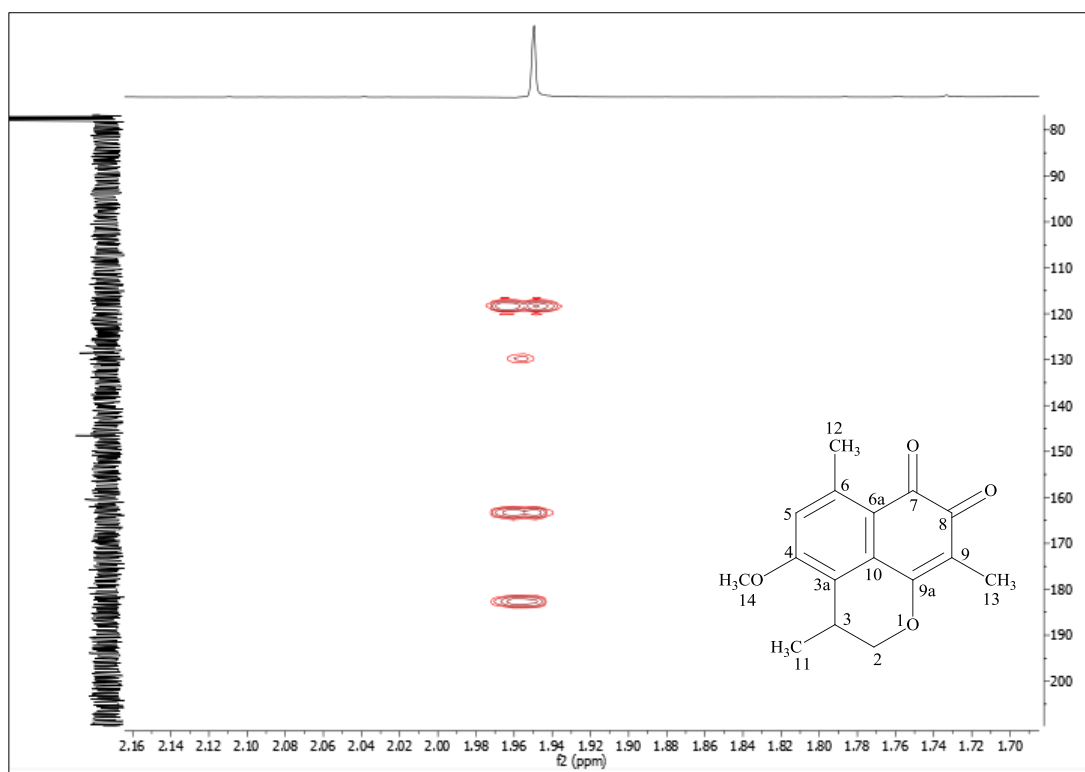
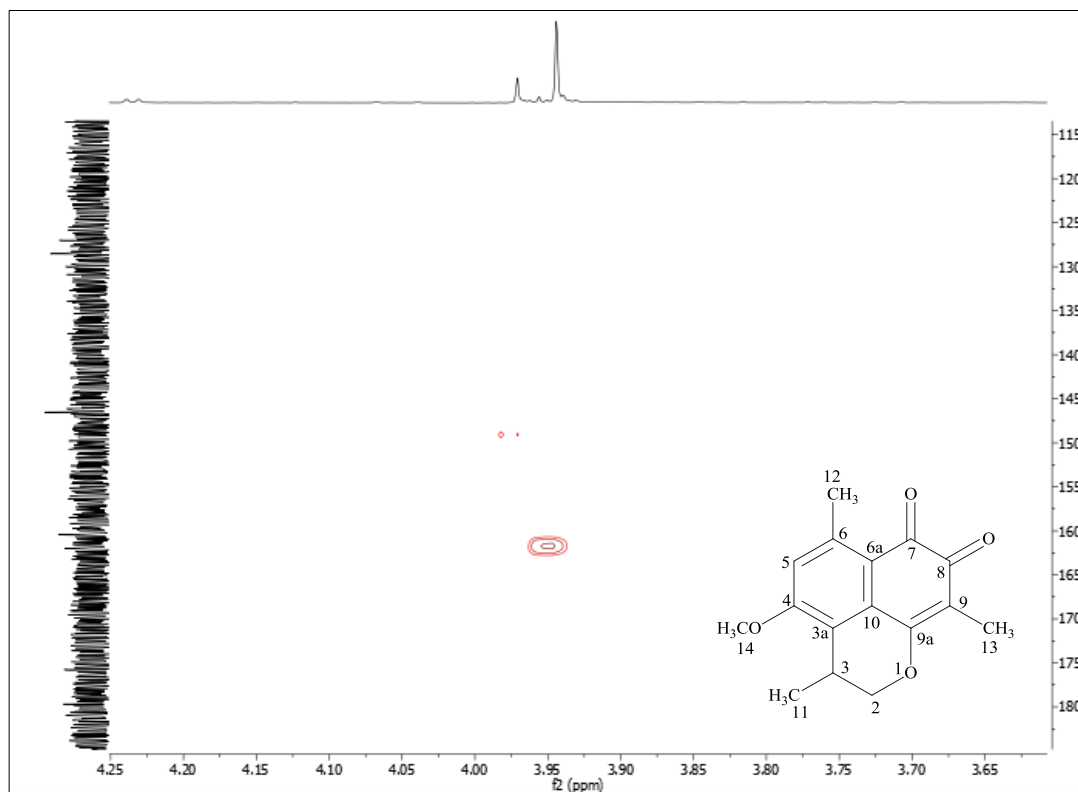


Figura 21. Quarta expansão do espectro HMBC (δ , CDCl₃, 400 MHz e 100 MHz) de *He-1*



5.1.2 Caracterização estrutural de *He-2*

A substância codificada como *He-2*, apresentou-se na forma de um pó vermelho amorfo.

O espectro de RMN ¹H (Figura 22; pág. 91) foi realizado em 500 MHz, utilizando como solvente o DMSO e as absorções levaram a se pensar que a molécula em análise se tratava de uma substância fenólica do tipo quinona que possuía apenas um carbono aromático não substituído, uma vez que exibiu somente um singlete em 6,75 (s, 1H).

A análise do espectro e suas expansões exibiram a presença de três metilas, sendo uma na forma de um dubleto em δ_H 1,20 referente a metila CH₃-11, a metila periplanar a carbonila da quinona na forma de um singlete em δ_H 2,46 referente a metila CH₃-12 (CHEN; CHEN; HONG, 1990) e outro singlete em δ_H 1,79 atribuída ao grupo CH₃-13 α a carbonila do anel quinona (Fig. 23; pág. 90 ; Tabela 3, pág. 86).

A expansão do espectro de RMN ^1H (Fig. X, pág. Y) exibiu um multipletto em δ_{H} 3,16 que pode ser atribuído a um hidrogênio metínico (CH-3), e dois duplos dubletos em δ_{H} 4,41 com $J = 10,9$ e $1,0$ Hz e δ_{H} 4,27 com $J = 10,9$ e $3,3$ Hz, (Figura 24, pág. 90; Tabela 3, pág. 86) condizentes com dois hidrogênios do carbono oximetilênico (OCH₂-2) (CHEN; CHEN; HONG, 1990), permitindo propor para *He-2* a presença de um anel pirano.

A presença de um singletto em δ_{H} 6,75 indicando que a posição C-5 não possui substituinte (Figura 22; pág. 89), e a ausência de sinal na região de metoxila, diferentemente de *He-1*, nos permitiram propor para *He-2*, a existência de um substituinte hidroxila na posição C-4.

O espectro de RMN ^{13}C , realizado em 125 MHz, utilizando a técnica APT (Figura 25, pág. 91), apresentou 16 sinais, sendo dez aromáticos, que sugeriu a presença de um núcleo naftoquinônico e fortaleceu a proposta levantada pela análise do RMN ^1H . Destes apenas um carbono é não substituído e absorveu em δ_{C} 119,11. A existência do anel pirano é corroborada nessa análise pelos sinais em δ_{C} 71,77 atribuído ao carbono oximetilênico (OCH₂-2) e um sinal em δ_{C} 25,68 atribuído ao carbono metínico (CH-3). A presença de dois sinais em δ_{C} 180,19 e 179,66, evidenciam duas carbonilas em orto do núcleo quinona, nas posições C-7 e C-8, respectivamente. Três sinais em δ_{C} 17,07, 22,80 e 7,88 indicam a presença de três metilas substituintes nas posições, C-3 (CH₃-11), C-6 (CH₃-12) e C-9 (CH₃-13), respectivamente. Sinais em δ_{C} 159,60 e 161,82, são atribuídos aos carbonos sp^2 nas posições C-4 e C-9a do núcleo naftoquinona (Figura 25, pág. 91; Tabela 3, pág. 86).

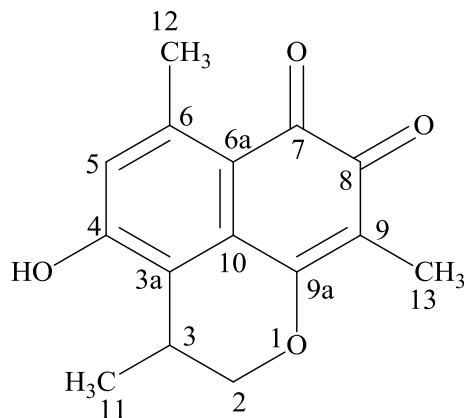
Os dados de RMN ^1H (Figura 22; pág. 89) e suas expansões como também os dados de RMN ^{13}C (Figura 25, pág. 91), permitiram propor que *He-2* tratava-se da 4-Hidroxi-3,6,9-trimetil-2,3-di-hidro-benzo [de] cromeno-7,8-diona (mansonona H). Para concluir essa proposta passou-se a analisar os espectros de correlação heteronuclear.

Os dados de correlação direta heteronuclear (HSQC) (Figura 26, pág. 91; Tabela 4, pág. 88) e suas expansões, mostraram as correlações entre hidrogênios e seus respectivos carbonos e juntamente com os dados obtidos da literatura, confirmaram a proposta descrita (CHEN; CHEN; HONG, 1990; PUCKHABER; STIPANOVIC, 2004)

As análises do espectro heteronuclear HMBC (Figura 27; pág. 92) e suas expansões permitiram confirmar a presença das metilas nas posições C-3 (CH₃-11), C-6 (CH₃-12) e C-

9 (CH₃-13) sendo consolidadas por correlações a duas ligações (²J), e a três ligações (³J) de CH₃-12 com C-5 e 9-CH₃ com C-9a (Figura 28, pág. 92; Tabela 4, pág. 88).

Os dados de RMN ¹H e ¹³C uni e bidimensionais, juntamente com os dados obtidos na literatura (Tabela 3, pág. 86) permitiu identificar *He-2* como 4-Hidroxi-3,6,9-trimetil-2,3-di-hidro-benzo [de] cromeno-7,8-diona (mansonona H), uma *O*-naftoquinona sesquiterpênica, isolada anteriormente de *Thespesia populnea* (SENGAB; ELGINDI;MANSOUR, 2013), *Hibiscus taiwanensis* (Wu et al., 2005) e *Mansonia gagei* (TIEW et al., 2002) pertencentes a família Malvaceae, e *Helicteres angustifólia* (CHEN; CHEN; HONG, 1990), pertencente ao gênero *Helicteres*, sendo relatada pela primeira vez na espécie *Helicteres eichleri*.



He-2: 4-Hidroxi-3,6,9-trimetil-2,3-di-hidro-benzo [de] cromeno-7,8-diona (mansonona H)

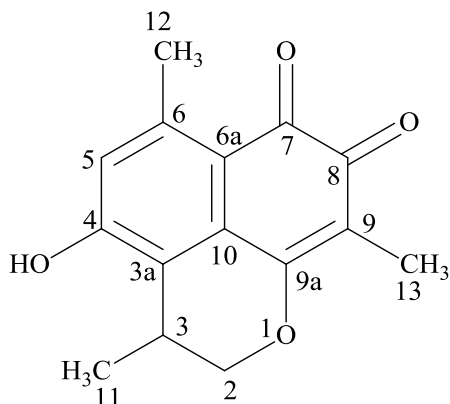
Foi relatada atividade inibitória de mansonona H, isolada de *Thespesia populnea*, sobre as enzimas acetilcolinesterase (AChE) e butirilcolinesterase (BChE) (CHANDWONG et al., 2012). Wu et al. (2005) relatou inibição da replicação do HIV em células linfocíticas H9, de mansonona H isolada de *Hibiscus taiwanensis*. Esta substância também apresentou atividades antifúngica contra *Phytophthora parasítica* (Mongkol; Chavasiri, 2016).

Tabela 3. Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C de *He-2* (δ , DMSO, 500 MHz e 125 MHz) com modelo da literatura *Mo-1* (δ , DMSO, 500 Mz e 125 Mz) (CHEN; CHEN; HONG, 1990)

Mo-1 (Mansonona H)			<i>He-2</i>	
C	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1	-	-	-	-
2	4,40 (<i>br d</i> , 1,8) 4,26 (<i>dd</i> , 10,8, 3,0)	71,69	4,41 (<i>dd</i> , $J = 10,9, 1,0$ Hz, 1H) 4,27 (<i>dd</i> , $J = 10,9, 3,3$ Hz, 1H)	71,77
3	3,16 (<i>m</i>)	25,57	3,16 (<i>m</i> , $J = 7,0, 3,3,$ 1,0 Hz, 1H)	25,68
3a	-	119,14	-	119,18
4	-	159,59	-	159,60
5	6,75 (<i>s</i>)	119,14	6,74 (<i>s</i> , 1H)	119,11
6	-	144,68	-	144,76
6a	-	128,10	-	128,10
7	-	180,22	-	180,19
8	-	179,69	-	179,66

9	-	114,67	-	114,73
9a	-	161,74	-	161,82
10	-	125,45	-	125,53
11- CH ₃	1,20 (<i>d</i> , 7,0)	16,97	1,20 (<i>d</i> , <i>J</i> = 7,0 Hz)	17,07
12- CH ₃	2,48 (<i>s</i>)	22,69	2,46 (<i>s</i> , 3H)	22,80
13- CH ₃	1,80 (<i>s</i>)	7,88	1,79 (<i>s</i> , 3H)	7,99
4-OH	11,17 (<i>br s</i>)	-	-	-

Tabela 4. Compilação dos dados de RMN ^1H e ^{13}C , HSQC e HMBC de *He-2* (δ , DMSO, 500 MHz e 125 MHz)



HSQC			HMBC		
C	δ_{H}	δ_{C}	^2J	^3J	^4J
1	-	-	-	-	-
2	4,41 (dd, $J = 10,9$, 1,0 Hz, 1H) 4,27 (dd, $J = 10,9$, 3,3 Hz, 1H)	71,77	C-3	11-CH ₃ , C-9a	C-10
3	3,16 (m, $J = 7,0$, 3,3, 1,0 Hz, 1H)	25,68	11-CH ₃	C-4, C-10	-
3a	-	119,18	-	-	-
4	-	159,60	-	-	-
5	6,74 (s, 1H)	119,11	C-4	C-3a, 12- CH ₃ , C-6a	-
6	-	144,76	-	-	-
6a	-	128,10	-	-	-
7	-	180,19	-	-	-
8	-	179,66	-	-	-

9	-	114,73	-	-	-
9a	-	161,82	-	-	-
10	-	125,53	-	-	-
11- CH ₃	1,20 (d, <i>J</i> = 7,0 Hz)	17,07	C-3	C-2	C-10
12- CH ₃	2,46 (s, 3H)	22,80	C-6	C-5	C-7
13- CH ₃	1,79 (s, 3H)	7,99	C-9	C-9a	C-8
4-OH	-	-	-	-	-

Figura 22. Espectro de RMN ¹H (δ,DMSO, 500 MHz) de *He-2*

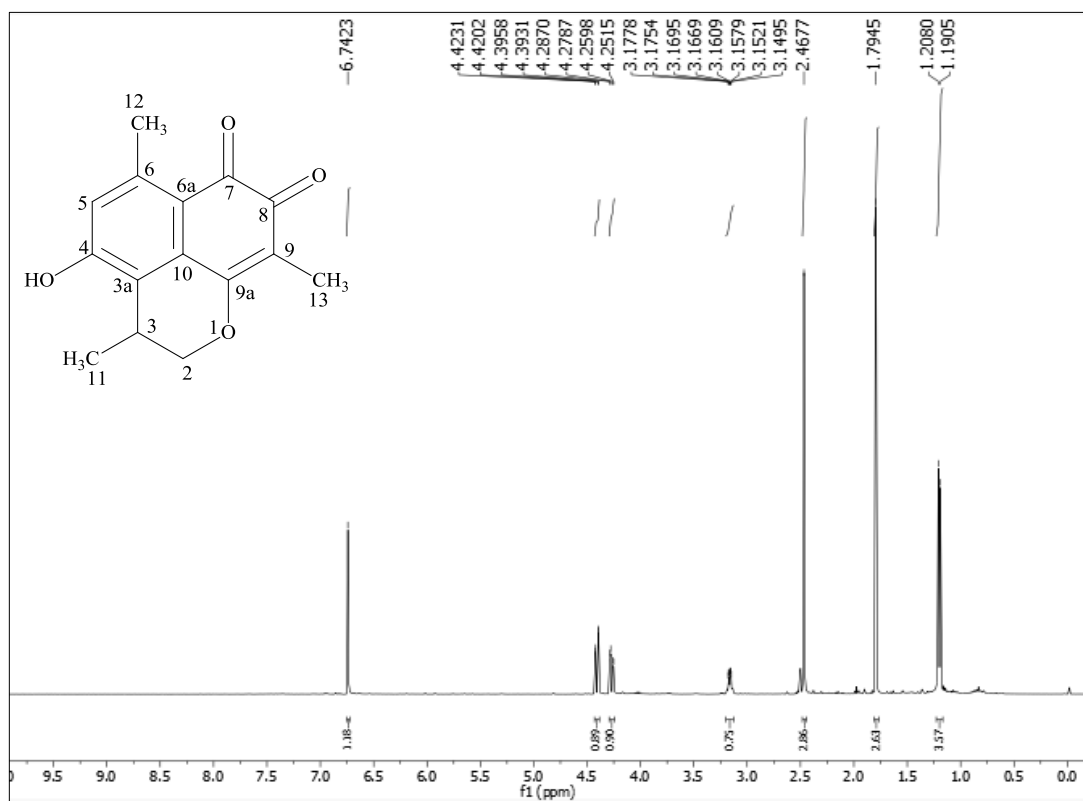


Figura 23. Primeira expansão do espectro de RMN ^1H (δ ,DMSO, 500 MHz) de *He-2*

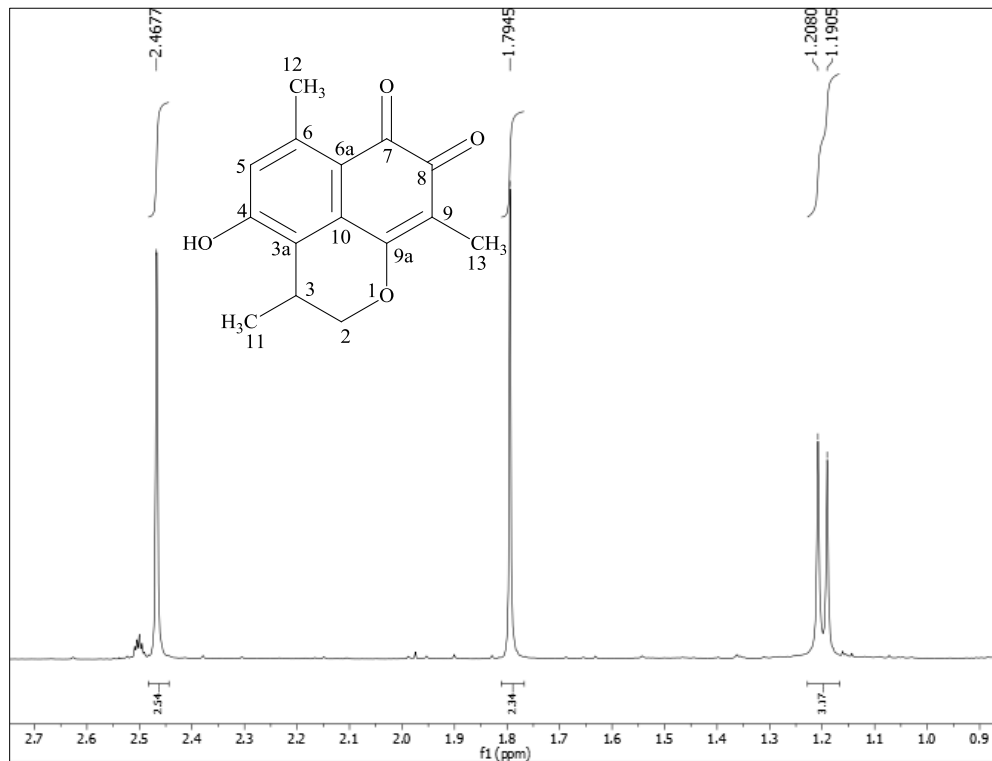


Figura 24. Segunda expansão do espectro de RMN ^1H (δ ,DMSO, 500 MHz) de *He-2*

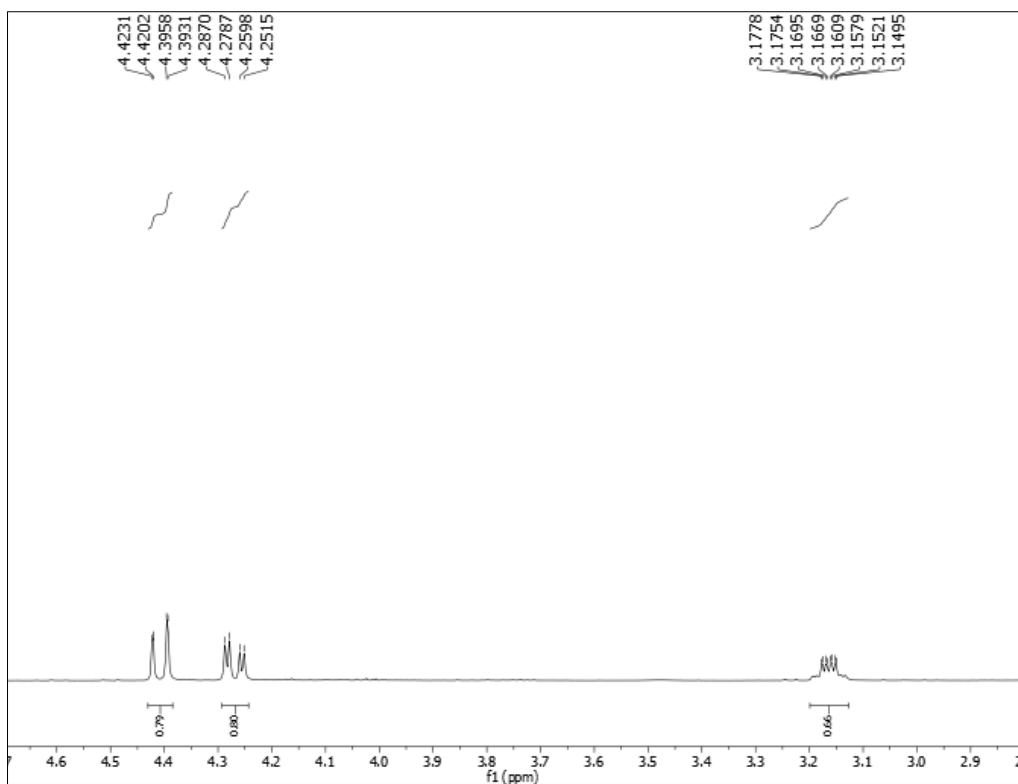


Figura 25. Espectro de RMN ^{13}C (δ ,DMSO, 125 MHz) de *He-2*

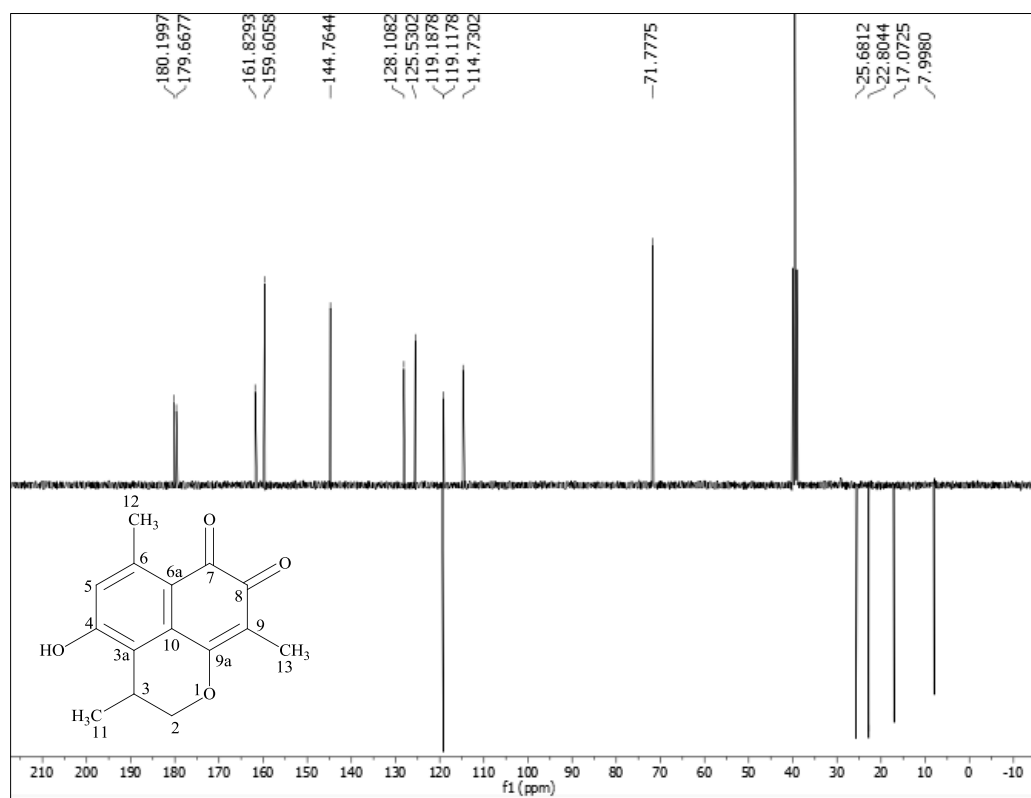


Figura 26. Espectro HSQC (δ ,DMSO, 500 MHz e 125 MHz) de *He-2*

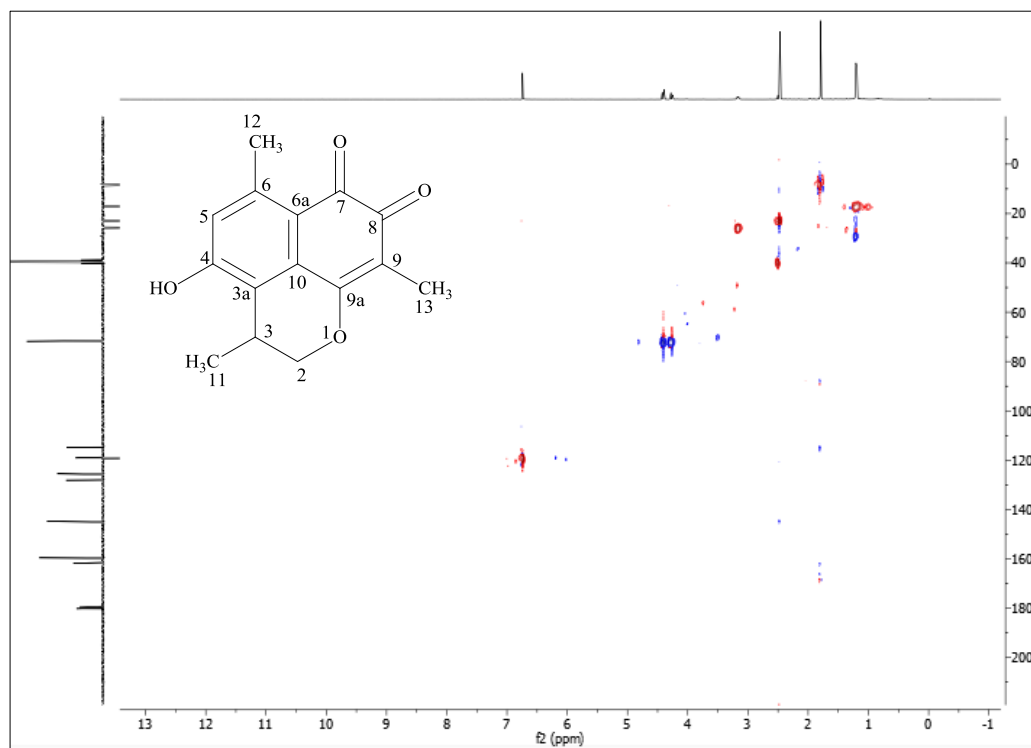


Figura 27. Espectro HMBC (δ ,DMSO, 500 MHz e 125 MHz) de *He-2*

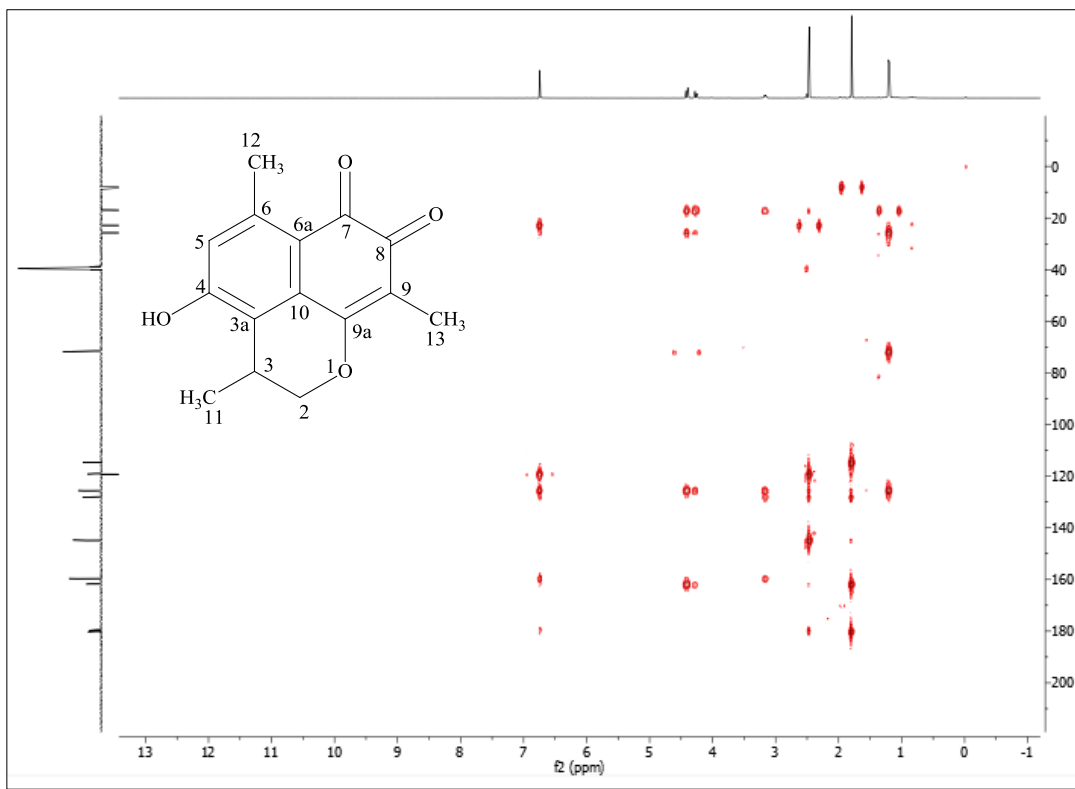
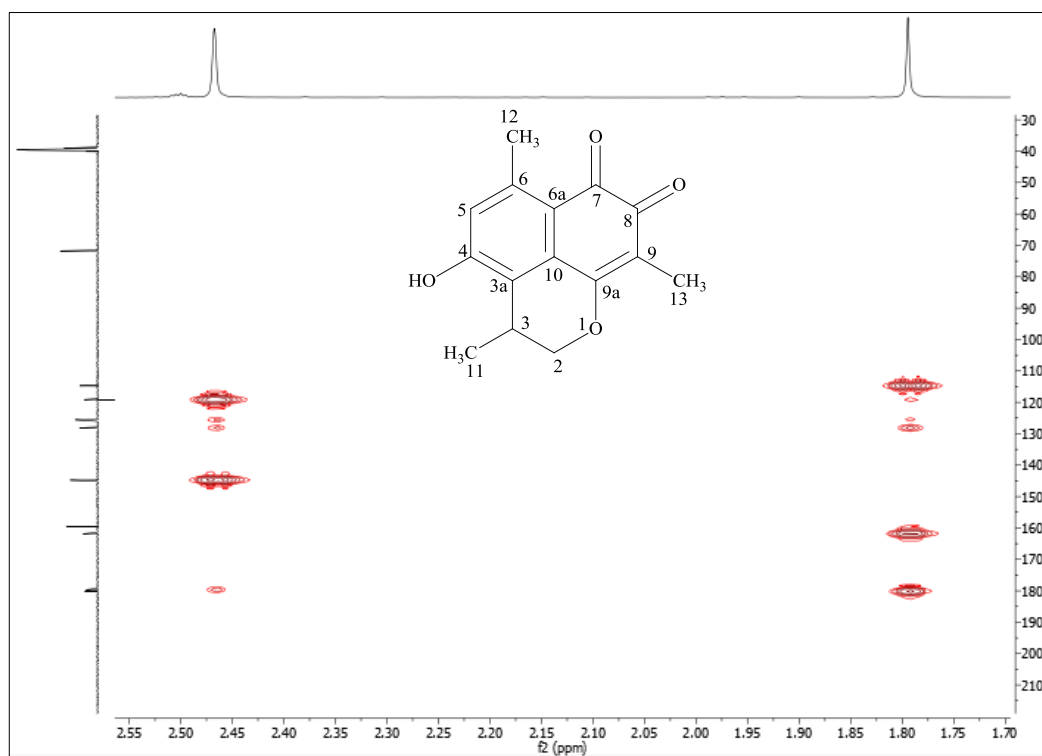


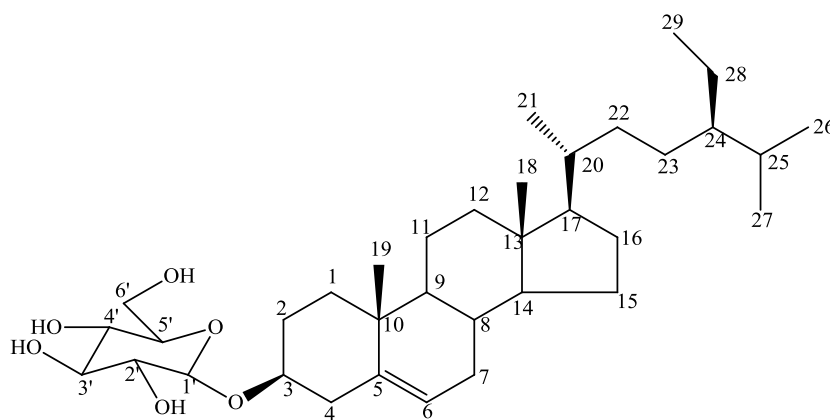
Figura 28. Primeira expansão do espectro HMBC (δ ,DMSO, 500 MHz e 125 MHz) de *He-2*



5.1.3 Caracterização estrutural de He-3

A substância *He-3*, apresentou-se como um sólido amorfo branco.

Os espectros de RMN ^1H e ^{13}C , foram obtidos em $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ a 400 e 100 MHz, respectivamente. As análises dos espectros permitiram observar um conjunto de sinais de alta multiplicidade na região de δ_{H} 0,68 – 2,18, indicando hidrogênios metílicos, metilênicos e metínicos característicos de esqueleto triterpênico ou esteroidal (XUAN et al., 2019) e sinais apresentados entre δ_{H} 4,08 – 5,08 sugeriram a presença de uma unidade osídica (Figura 29 , pág. 94), sendo reforçada através da presença do sinal em δ_{C} 103,11 característico do carbono anomérico da glicose (Figura 30; pág. 94) (FERNANDES, 2017). Os dados de RMN ^1H e ^{13}C comparados com os valores obtidos na literatura permitiram identificar *He-3* como, sitosterol-3-*O*- β -*D*-glicopiranosídeo (β -sitosterol glicosilado), isolado anteriormente na espécie *Helicteres angustifolia*, *Helicteres isora* e *Helicteres velutina* (FERNANDES et al., 2018; DAYAL et al., 2015; GUO et al., 2003) e pela primeira vez na espécie *Helicteres eichleri*.



He-3: sitosterol-3-*O*- β -*D*-glicopiranosídeo (β -sitosterol glicosilado)

Figura 29. Espectro de RMN ^1H (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 MHz) de *He-3*

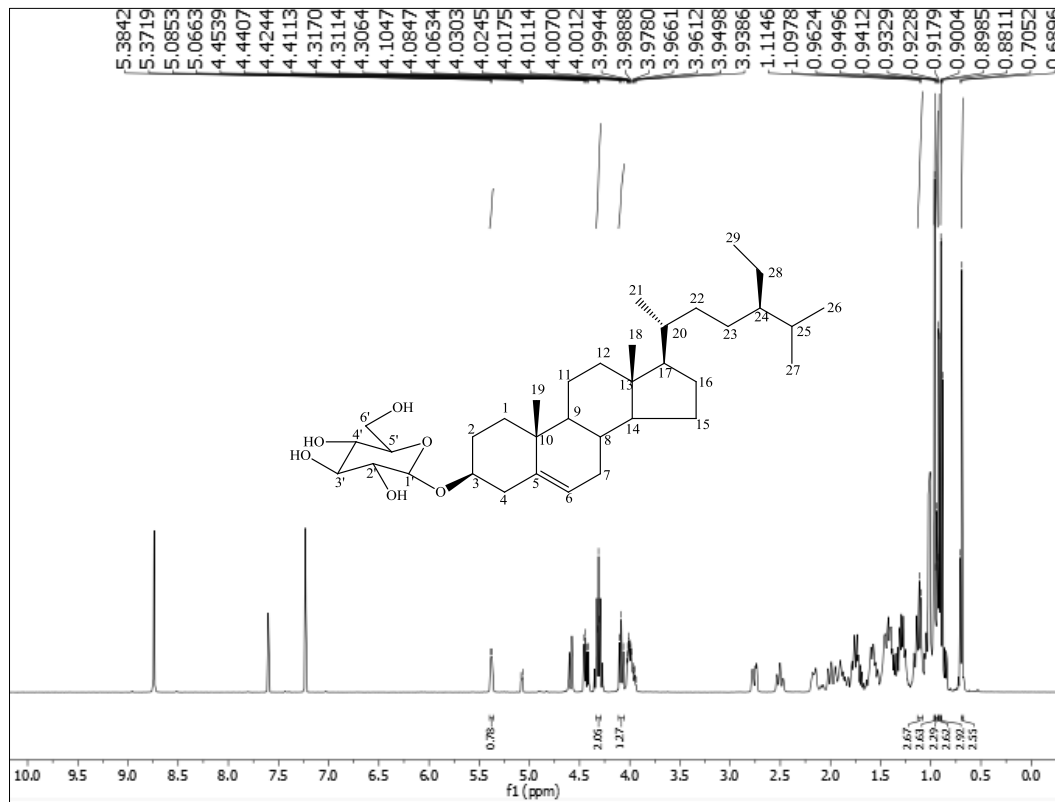
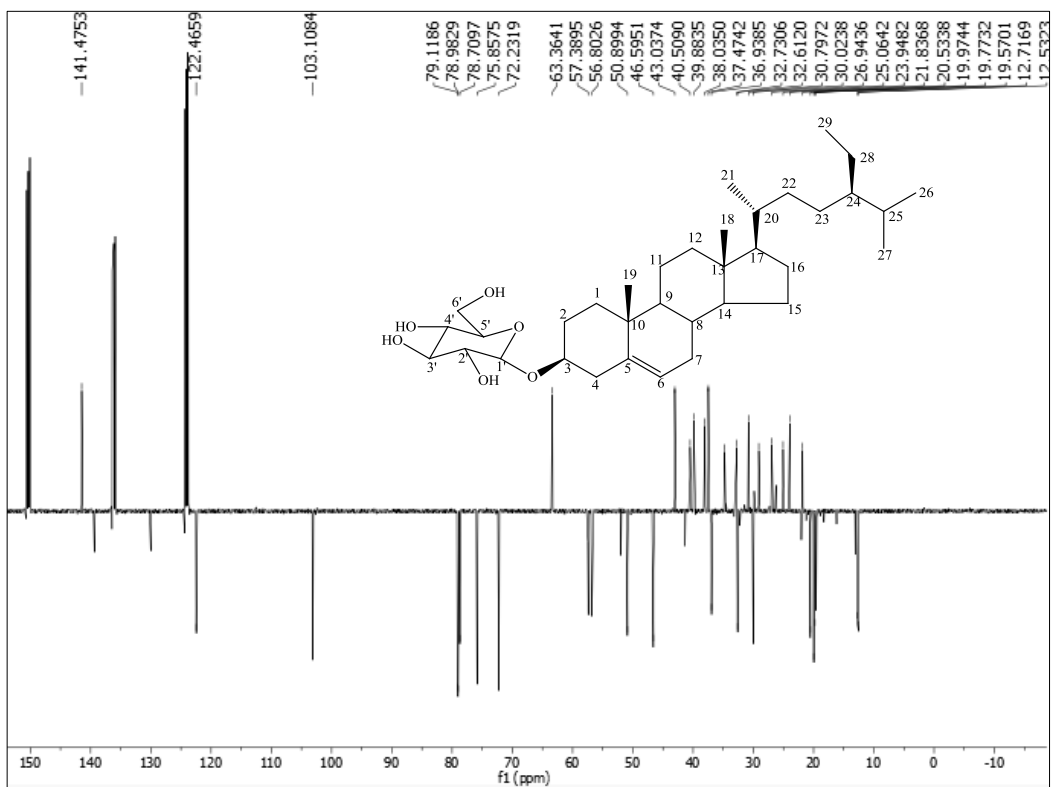


Figura 30. Espectro de RMN ^{13}C (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 100 MHz) de *He-3*



5.1.4 Caracterização estrutural de He-4

A substância codificada como *He-4* apresentou-se como um pó amarelo.

O espectro de RMN ^1H (Figura 31, pág. 101) foi realizado em 500 MHz, utilizando como solvente o CD_3OD e as absorções levaram a se pensar que a molécula em análise se tratava de uma substância fenólica do tipo flavonoide, exibindo um conjunto de deslocamentos químicos na região de hidrogênios aromáticos entre δ_{H} 6,52 e δ_{H} 8,20.

A análise do espectro e suas expansões exibiram dois dubletos em δ_{H} 7,08 e δ_{H} 8,20, com $J = 8,9$ Hz e $9,0$ Hz, respectivamente, e integração para 2 hidrogênios cada, indicando acoplamento orto entre os hidrogênios das posições H-3'/H-5' e H-2'/H-6', característico do sistema AA'BB' do anel B do núcleo de flavonoide (Figura 32, pág. 102) ; Tabela 5, pág. 98) (FERNANDES et al., 2018).

A expansão do espectro de RMN ^1H (Figura 33, pág. 102) exibiu um singlete em δ_{H} 6,67 indica que a posição C-3 do anel C não possui substituinte, característico de uma flavona (YANG et al., 2019).

A presença de um singlete em δ_{H} 6,52 indica o H-6 do anel A, sugerindo substituições nas outras posições do anel (Figura 33, pág. 102). A presença de dois singletos em δ_{H} 3,88 e 3,95 permitem propor para *He-4* a existência de duas metoxilas (Figura 34, pág. 103).

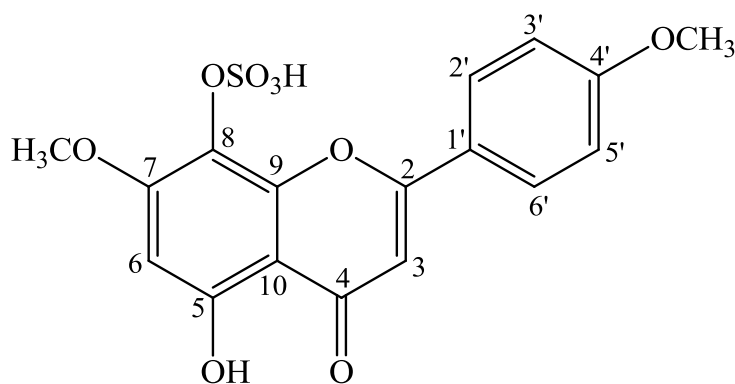
A análise do espectro de RMN ^{13}C , realizado em 125 MHz (Figura 34, pág. 103), utilizando a técnica APT, reforçou a sugestão anterior. O espectro apresentou 17 sinais, sendo 2 metoxílicos, 6 metínicos e 9 carbonos não hidrogenados. A presença de dois sinais em δ_{C} 115,5 e 130,19 correspondem aos carbonos das posições C-3'/C-5' e C-2'/C-6' do anel B, respectivamente, reforçando a presença do sistema AA'BB' (FERNANDES et al., 2018), e a presença do sinal em δ_{C} 184,24 indica a presença de carbonila (C=O) no núcleo flavona. Sinais em δ_{C} 56,04 e 57,07 reforçam a sugestão da presença de duas metoxilas substituintes.

Em análise comparativa de *He-4* com Mo-2 (TELES, 2015b), observou-se que os deslocamentos químicos dos carbonos C-5, C-6, C-7, C-8 e C-9 diferiram, onde C-5, C-6, C-7 e C-9 encontram-se desprotegidos e C-8 encontra-se protegido, sugerindo a presença de um substituinte sulfatado na posição C-8. Esta sugestão foi confirmada em comparação

de *He-3* com Mo-1 (FERNANDES et al., 2018) (Tabela 5, pág. 98), permitiram propor que *He-4* tratava-se da 7,4'-di-O-metil-8-O-sulfato-isoscutelareina. Para concluir essa proposta passou-se a analisar os espectros de correlação heteronuclear.

O espectro bidimensional de correlação direta heteronuclear (HSQC) e sua expansão mostrou as correlações entre os hidrogênios e seus respectivos carbonos (Figura 36 e 37, pág. 104). A partir de análises do espectro bidimensional heteronuclear HMBC (Figura 38, pág. 105), foi possível designar a presença dos grupos metoxila e sulfato na molécula. A localização das metoxilas nas posições C-7 e C-4' foram evidenciadas pelas correlações a três ligações (3J) entre δ_H 3,95 com δ_C 160,89 (H₃-C-O-7/C-7) e δ_H 3,88 com δ_C 164,61 (H₃-C-O-4'/C-4') (Figura 39, pág. 105; Tabela 6, pág. 100). Já a localização do grupo sulfato na posição C-8 foi evidenciada pela correlação a três ligações (3J) entre H-6 δ_H 6,52 e o C-8 δ_C 123,28 (Figura 38, pág. 105; Tabela 6, pág. 100).

Os dados de RMN 1H e ^{13}C uni e bidimensionais, juntamente com comparação dos valores obtidos na literatura (Tabela 5, pág. 98) permitiu identificar *He-4* como 7,4'-di-O-metil-8-O-sulfato-isoscutelareina, uma flavona isolada anteriormente de *Helicteres velutina* (FERNANDES et al., 2018) e *Wissadula periplocifolia* (TELES et al., 2015), pertencentes a família Malvaceae, e relatada pela primeira vez na espécie *Helicteres eichleri*.

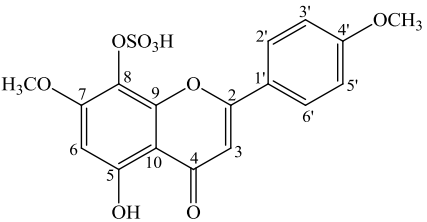
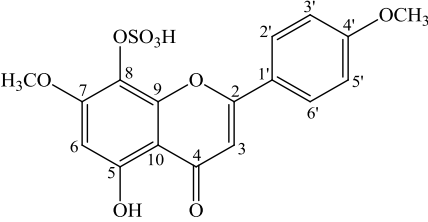
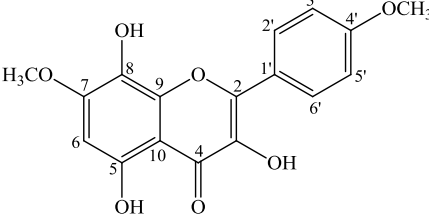


He-4: 7,4'-di-O-metil-8-O-sulfato-isoscutelareina

Em estudos anteriores, a 7,4'-di-*O*-metil-8-*O*-sulfato isoscutelarina apresentou atividade larvicida frente ao *Aedes aegypti*, indicando que a presença do grupo *O*-sulfato está associada a atividade quando comparada com a da 7,4'-di-*O*-metil isoscutelarina, que

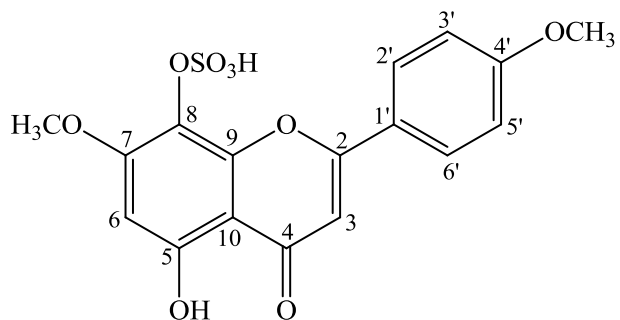
não apresenta o grupo *O*-sulfato (FERNANDES, 2019). Alguns flavonóides sulfatados apresentaram atividades antimicrobianas como, quercetina 7,3'-dimetil éter 3-sulfato e kaempferol 7-metil éter 3-sulfato isolados de *Argyreia speciose* apresentam atividade contra *Mycobacterium tuberculosis* (HABBU et al., 2009) e miricetina 3'-sulfato apresentou atividade contra *Trypanosoma brucei* (GADETSKAYA et al., 2015).

Tabela 5. Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C de *He-4* (δ , CD_3OD , 500 Mz e 125 MHz) com modelo da literatura *Mo-1* (δ , DMSO , 300 MHz e 75 MHz) (FERNANDES et al., 2018) e *Mo-2* (δ , DMSO , 400 MHz e 100 MHz) (TELES, 2015b)

Mo-1 (7,4'-di-O-metil-8-O-sulfato-isoscutelareina)			<i>He-4</i>		Mo-2 (7,4'-di-O-metil-isoscutelareina)	
						
C	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1	-	-	-	-	-	-
2	-	164,0	-	166,55	-	164,0
3	6,86 (s, 1H)	102,7	6,67 (s, 1H)	103,75	6,87 (s, 1H)	103,6
4	-	182,1	-	184,24	-	182,9
5	-	156,9	-	159,82	-	153,1
6	6,52 (s, 1H)	96,0	6,52 (s, 1H)	96,92	6,53 (s, 1H)	96,2
7	-	159,1	-	160,89	-	154,8
8	-	122,7	-	123,28	-	126,8
9	-	149,4	-	151,31	-	145,0
10	-	103,7	-	105,38	-	104,4
1'	-	123,1	-	124,58	-	123,5
2'	8,27 (d, $J = 8,9$ Hz, 2H)	129,1	8,20 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H)	130,19	8,12 (dd, $J = 8,12$ Hz, 2H)	129,0
3'	7,07 (d, $J = 8,9$ Hz, 2H)	114,3	7,08 (d, $J = 8,9$ Hz, 2H)	115,50	7,13 (dd, $J = 8,6$ Hz, 2H)	115,1

4'	-	162,3	-	164,51	-	162,9
5'	7,07 (d, J= 8,9 Hz, 2H)	114,3	7,08 (d, J = 8.9 Hz, 2H)	115,50	7,13 (dd, J= 8,6 Hz, 2H)	115,1
6'	8,27 (d, J= 8,9 Hz, 2H)	129,1	8,20 (d, J = 9.0 Hz, 2H)	130,19	8,12 (dd, J= 8,12 Hz, 2H)	129,0
OCH ₃ -4'	3,86 (s, 3H)	55,5	3,88 (s, 3H)	56,04	3.86 (s, 3H)	56,1
OCH ₃ -7	3,85 (s, 3H)	56,4	3,95 (s, 3H)	57,07	3,90 (s, 3H)	56,9
OH-5	12,85 (s, 1H)	-	-	-	12,44 (s, 1H)	-

Tabela 6. Compilação dos dados de RMN ^1H e ^{13}C , HSQC e HMBC da *He-4* (δ , CD_3OD , 500 MHz e 125 MHz)



HSQC			HMBC	
C	δ_{H}	δ_{C}	^2J	^3J
1	-	-	-	-
2	-	166,55	-	-
3	6,67 (s, 1H)	103,75	C-4, C-2	C-10, C-1'
4	-	184,24		
5	-	159,82		
6	6,52 (s, 1H)	96,92	C-5, C-7	C-8, C-10
7	-	160,89	-	-
8	-	123,28	-	-
9	-	151,31	-	-
10	-	105,38	-	-
1'	-	124,58	-	-
2'	8,20 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H)	130,19	C-3'	C-4', C-6', C-2
3'	7,08 (d, $J = 8,9$ Hz, 2H)	115,50	C-4'	C-1', C-5'
4'	-	164,51	-	-

5'	7,08 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H)	115,50	C-4'	C-1', C-3'
6'	8,20 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H)	130,19	C-5'	C-4', C-2', C-2
OCH ₃ -4'	3,88 (s, 3H)	56,04	-	C-4'
OCH ₃ -7	3,95 (s, 3H)	57,07	-	C-7
OH-5	-	-	-	-

Figura 31. Espectro de RMN ¹H (δ , CD₃OD, 500 MHz) de *He-4*

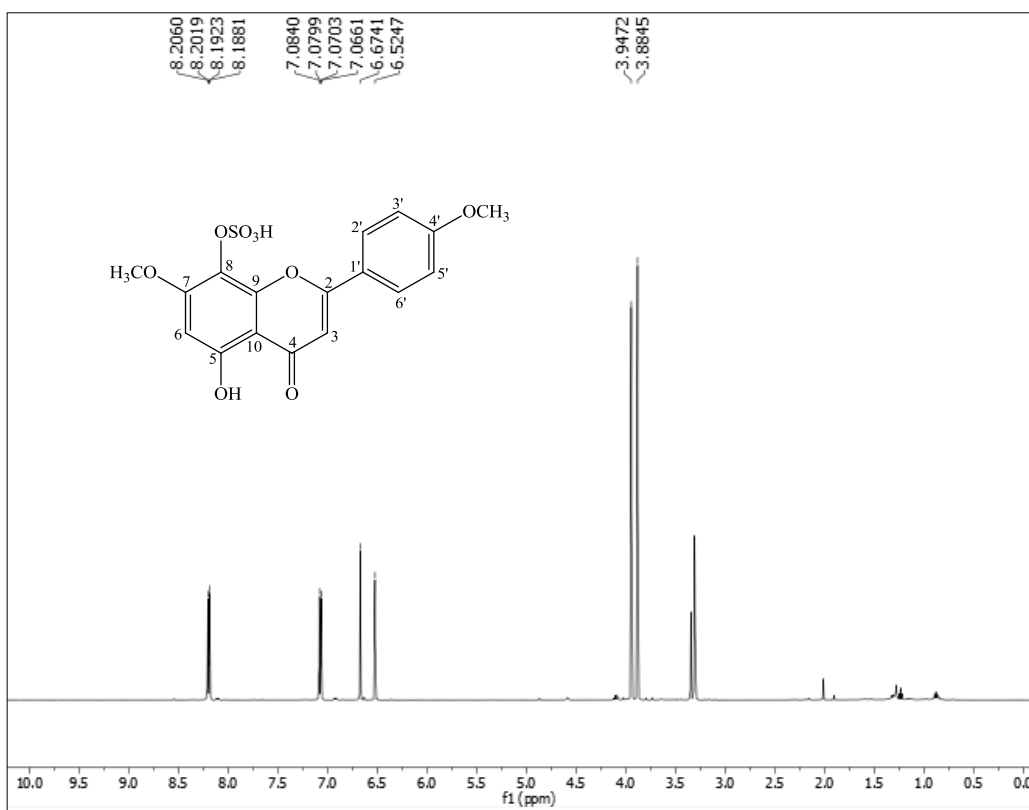


Figura 32. Primeira expansão do espectro de RMN ^1H (δ , CD_3OD , 500 MHz) de *He-4*

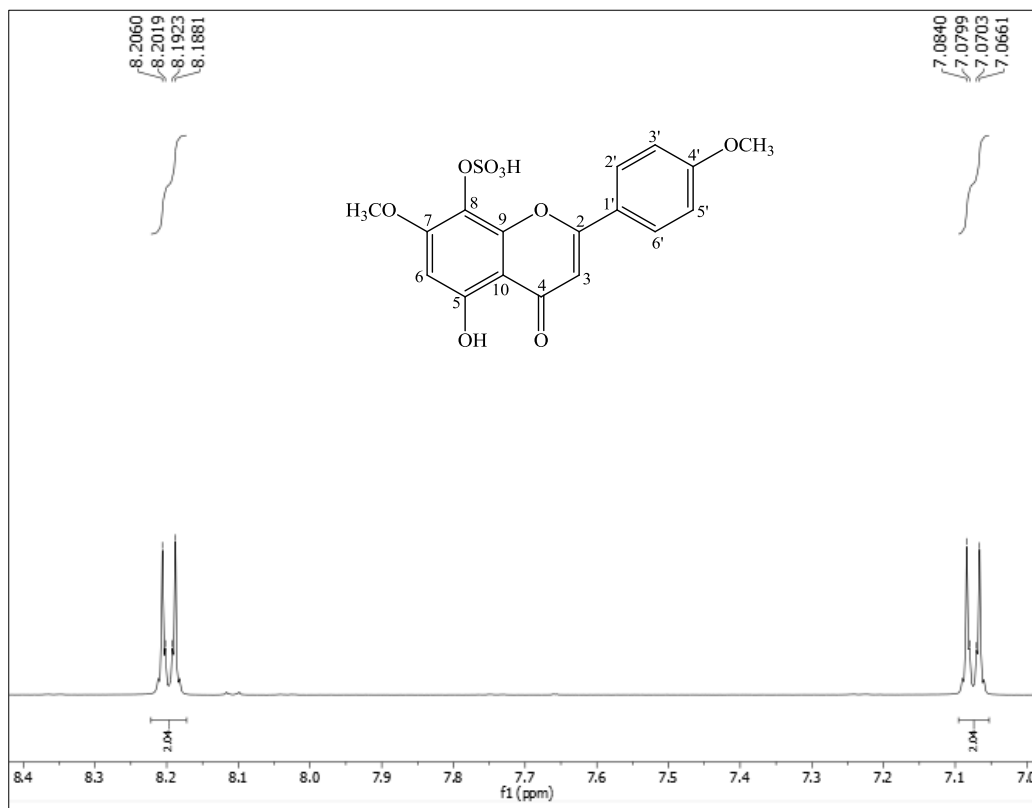


Figura 33. Segunda expansão do espectro de RMN ^1H (δ , CD_3OD , 500 MHz) de *He-4*

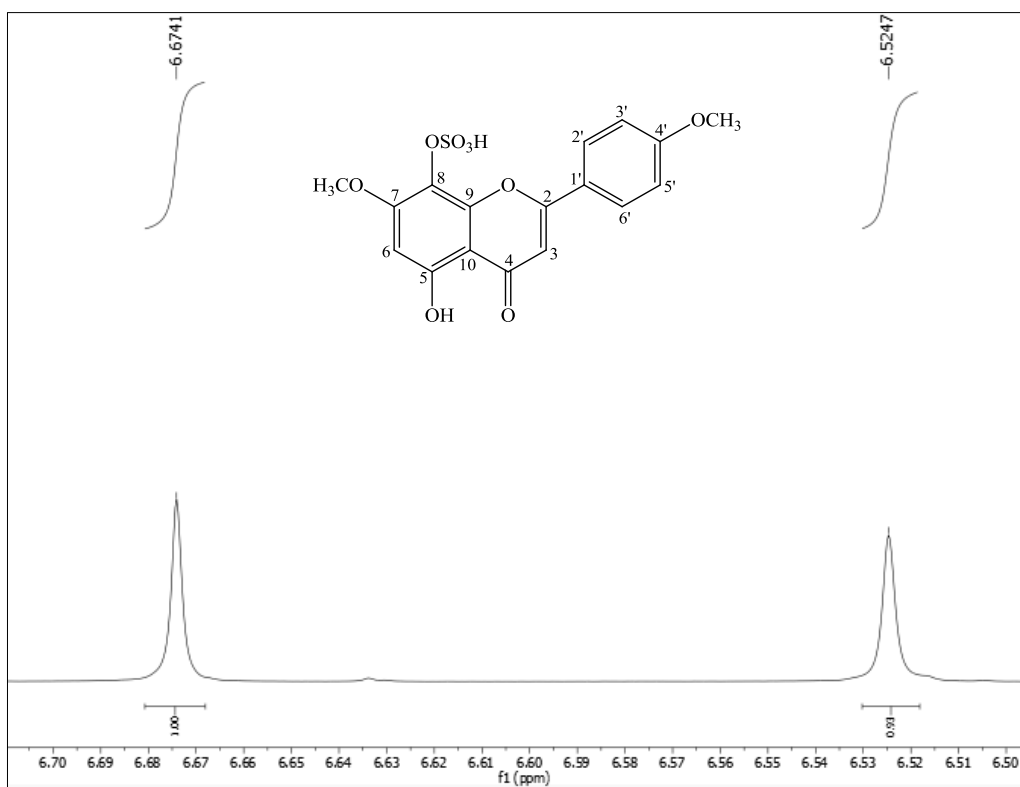


Figura 34. Terceira expansão do espectro de RMN ^1H (δ , CD_3OD , 500 MHz) de *He-4*

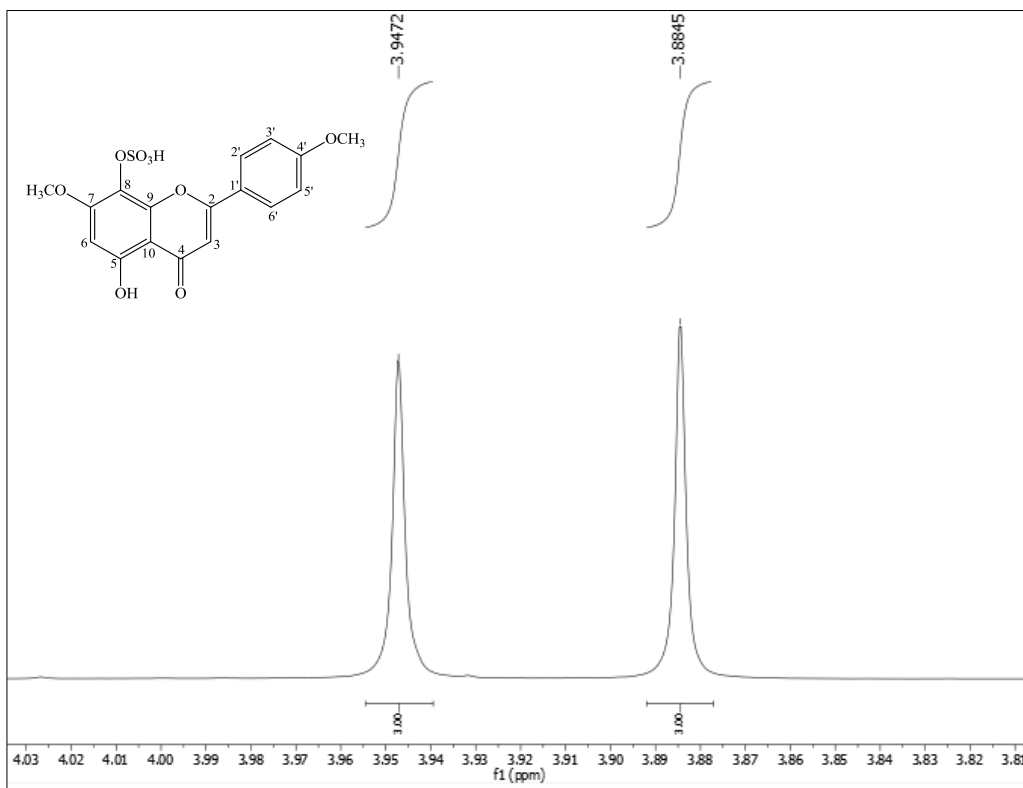


Figura 35. Espectro de RMN ^{13}C (δ , CD_3OD , 125 MHz) de *He-4*

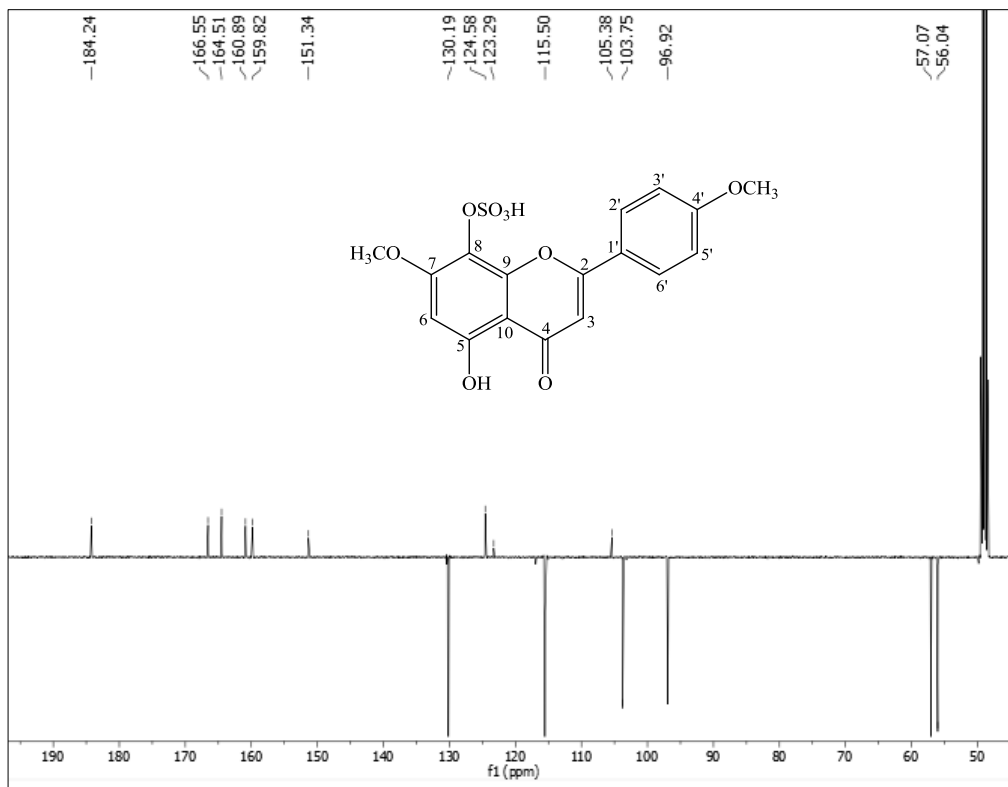


Figura 36. Espectro de HSQC (δ , CD₃OD, 500 MHz e 125 MHz) de *He-4*

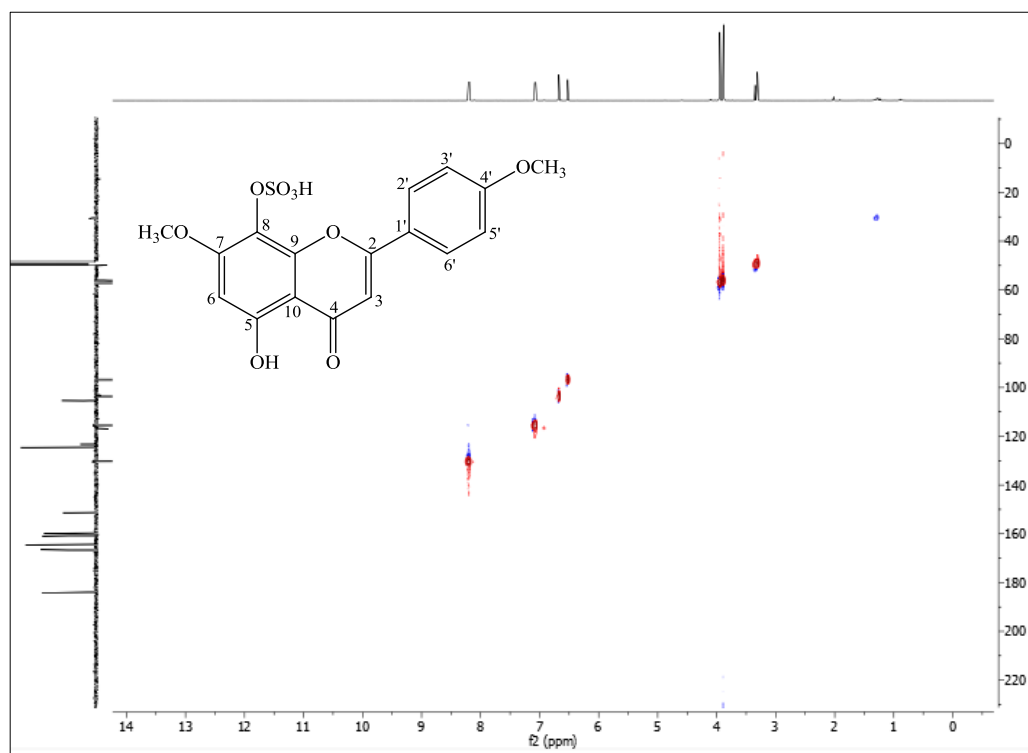


Figura 37. Expansão do espectro de HSQC (δ , CD₃OD, 500 MHz e 125 MHz) de *He-4*

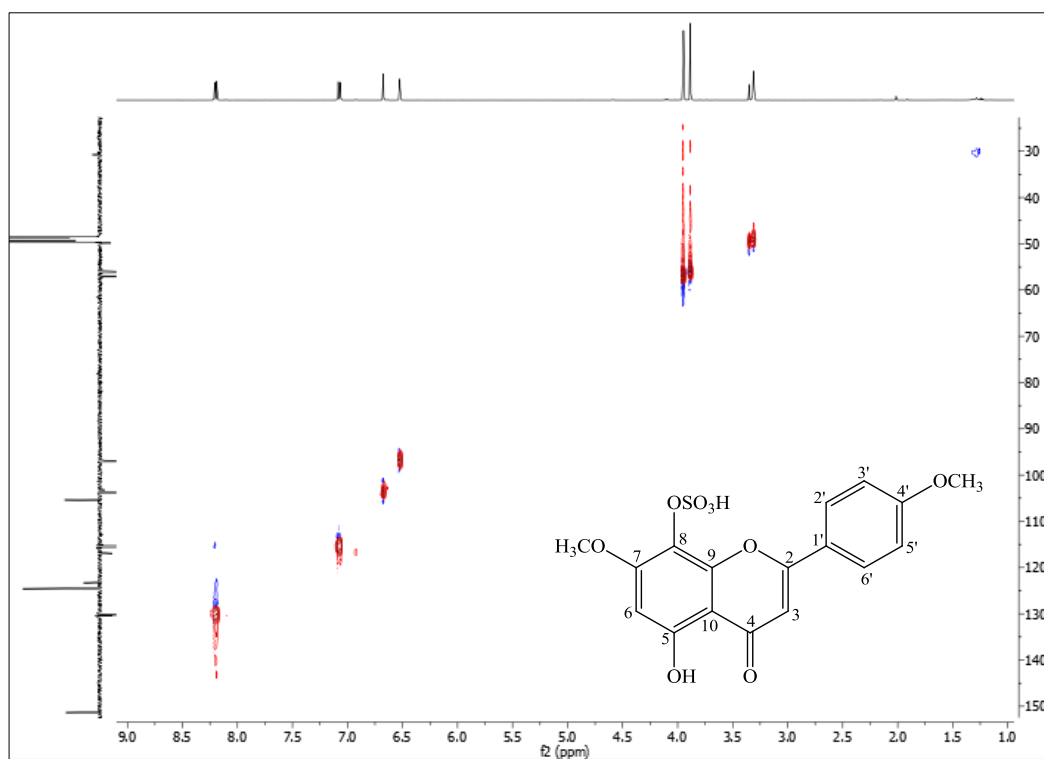


Figura 38. Espectro de HMBC (δ , CD₃OD, 500 MHz e 125 MHz) de *He-4*

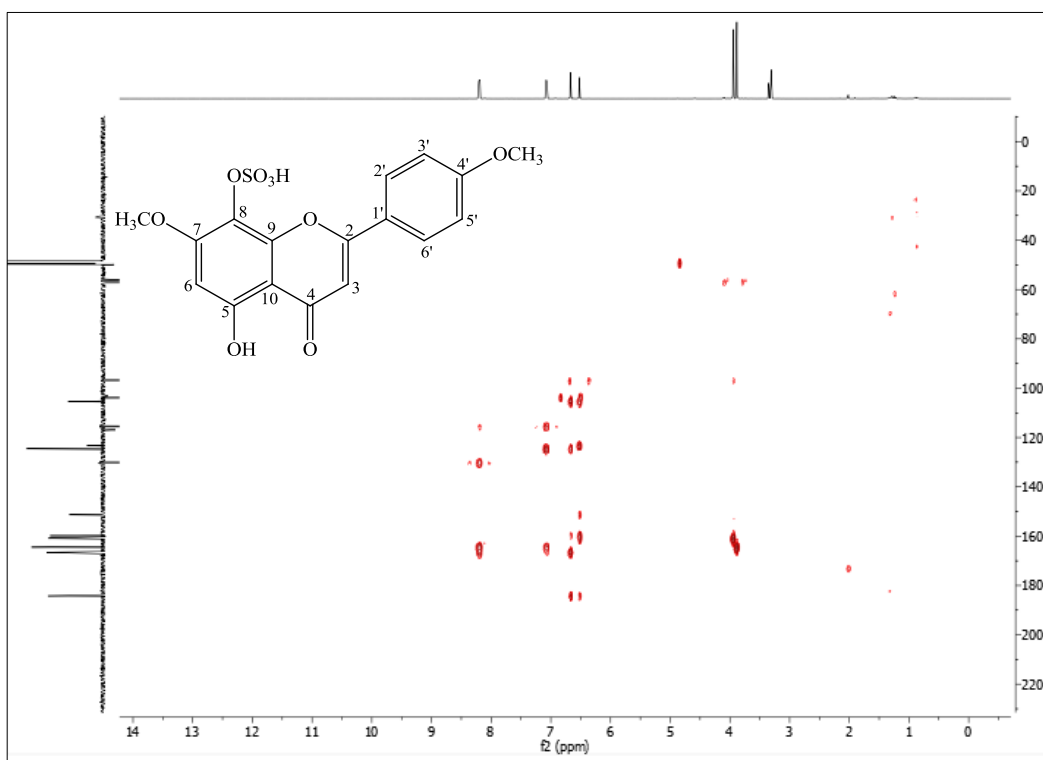
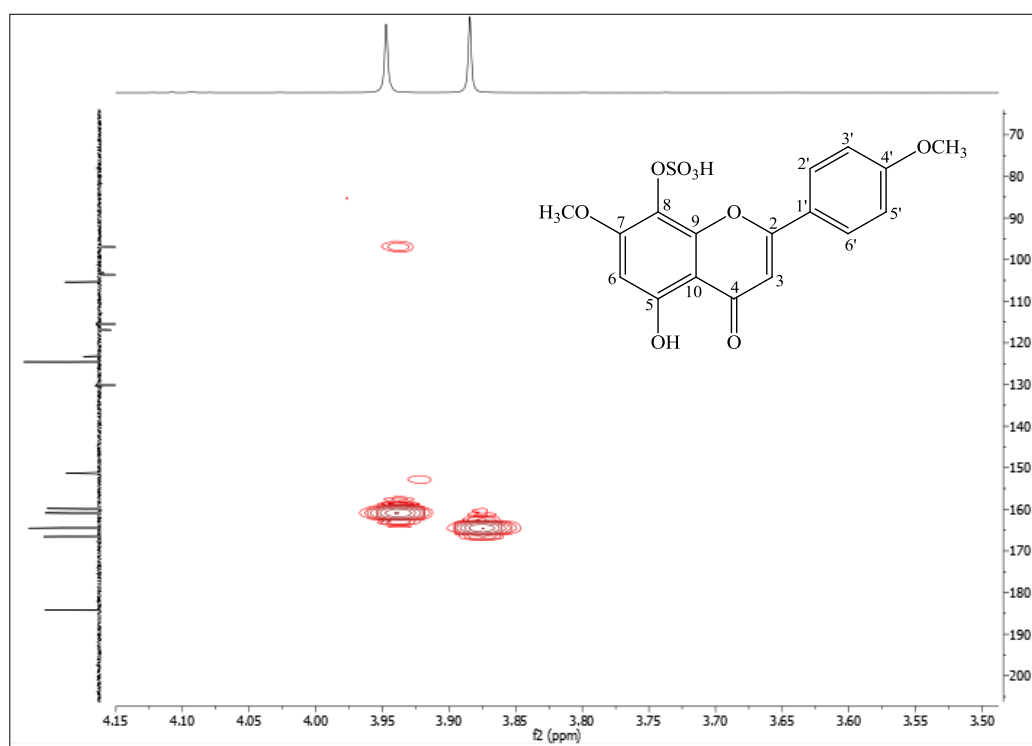


Figura 39. Expansão do espectro de HMBC (δ , CD₃OD, 500 MHz e 125 MHz) de *He-4*



5.1.5 Caracterização estrutural de *He-5*

A substância codificada como *He-5* apresentou-se como um pó amarelo.

O espectro de RMN ^1H (Figura 40, pág. 109) foi realizado em 400 MHz, utilizando como solvente o CD_3OD e as absorções levaram a se pensar que a molécula em análise também se tratava de uma substância fenólica do tipo flavonoide, exibindo um conjunto de deslocamentos químicos na região de hidrogênios aromáticos entre δ_{H} 6,10 e δ_{H} 7,98.

A análise do espectro e suas expansões exibiram dois dubletos em δ_{H} 6,80 e em δ_{H} 7,98, com $J= 8,6$ Hz e 8,9 Hz, respectivamente, e integração para 2 hidrogênios cada, indicando acoplamento orto entre os hidrogênios das posições H-3'/H-5' e H-2'/H-6' (Figura 41, pág. 110; Tabela 7, pág. 108), característico do sistema AA'BB' do anel B do núcleo de flavonoide (FERNANDES, 2017), como relatado em *He-4*.

A presença de um singlete em δ_{H} 6,10, com $J= 2,1$ Hz e outro em δ_{H} 6,26, com $J= 2,0$ Hz indicando um acoplamento meta entre H-6 e H-8 não substituídos do anel A, sugerindo substituições nas posições C-5 e C-7 do anel (Figura 41, pág. 110).

A expansão do espectro de RMN ^1H (Figura 42, pág. 110) exibiu um dubleto em δ_{H} 5,19 condizente com um hidrogênio anomérico, permitindo propor para *He-5* a existência de uma unidade osídica. Essa proposta foi fortalecida através da presença de dois duplos dubletos em δ_{H} 4,18, com $J= 11,8$ Hz e 2,2 Hz e 4,30, com $J= 11,8$ Hz e 6,6 Hz, referente aos hidrogênios H-6'' desta unidade, sugerindo que a unidade osídica tratava-se de uma glicose (Figura 43, pág. 111) (TELES, 2015b).

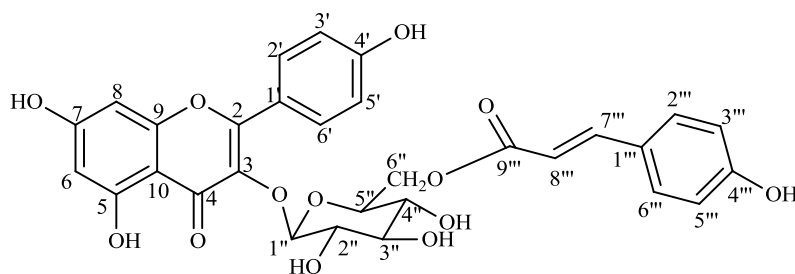
A ausência de um singlete na região de δ_{H} 6,60 indica que a posição C-3 do anel C possui substituinte, diferentemente de *He-4* que possui um núcleo flavona, permitindo propor que a unidade osídica pode estar ligada nesta posição em *He-5*.

A expansão do espectro de RMN ^1H (Figura 41, pág. 110) também exibiu dois dubletos em δ_{H} 7,31 com $J= 8,6$ Hz e em δ_{H} 6,79 com $J= 6,6$ Hz, e integração para 2 hidrogênios cada, indicando acoplamento orto, sugerindo outro sistema AA'BB'. A presença de dois dubletos em δ_{H} 6,08 e δ_{H} 7,40 com $J= 15,9$ Hz para ambos e integração para 1 hidrogênio cada, referente a hidrogênios olefínicos em configuração *trans*, sugerindo uma unidade p-cumaroil, ligada ao oxigênio do H-6'' da glicose (TELES, 2015b).

A análise do espectro de RMN ^{13}C , realizado a 100 MHz (Figura 44, pág. 111), utilizando a técnica APT, reforçou a sugestão anterior. O espectro apresentou 26 sinais equivalentes a 30 carbonos. A presença de dois sinais em δ_{C} 117,04 e 131,40 correspondem aos carbonos das posições C-3'/C-5' e C-2'/C-6' do anel B, respectivamente, reforçando a presença do sistema AA'BB' (FERNANDES et al., 2018), e a presença do sinal em δ_{C} 179,35 confirma a presença de carbonila (C=O) na posição C-4. A presença de dois sinais em δ_{C} 116,25 e 132,36 correspondem aos carbonos das posições C-3'''/C-5''' e C-2'''/C-6''', confirmando a presença de outro grupo AA'BB'.

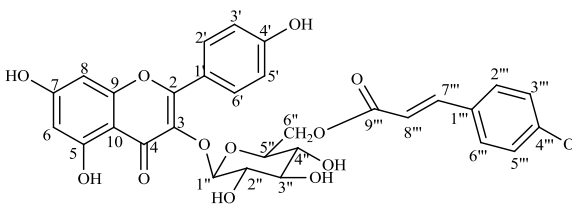
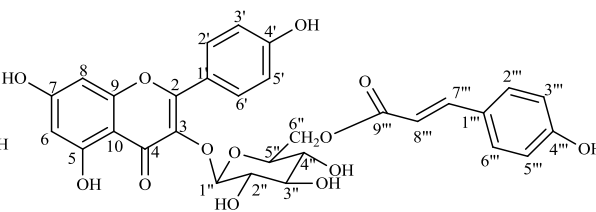
Os sinais em δ_{C} 135,34 (C-3), δ_{C} 162,99 (C-5), δ_{C} 169,06 (C-7), δ_{C} 161,71 (C-4') e δ_{C} 161,45 (C-4''') reforçam a presença de substituintes oxigenados na substância (Figura 45, pág. 112). A presença do sinal em δ_{C} 104,44, característico ao carbono anomérico da glicose, confirmam a presença da unidade osídica.

Os dados de RMN ^1H e ^{13}C unidimensionais, juntamente com comparação dos valores obtidos na literatura (Tabela 7, pág. 108) permitiu identificar *He-5* como canferol-3-*O*- β -D-(6''-*E*-*p*-coumaroil) glicopiranosídeo (tilirosídeo), um flavonoide isolado anteriormente de *Helicteres velutina* (FERNANDES et al., 2018) e *Helicteres angustifolia* (CHEN et al., 2006) pertencentes ao gênero *Helicteres*, e em espécies da família Malvaceae (TELES et al., 2015; FERREIRA et al., 2019; CHAVES et al., 2016) e relatada pela primeira vez na espécie *Helicteres eichleri*.



He-5: canferol-3-*O*- β -D-(6''-*E*-*p*-coumaroil) glicopiranosídeo (tilirosídeo)

Tabela 7. Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C de *He-5* (δ , CD_3OD , 400 MHz e 100 MHz) com modelo da literatura *Mo-1* (δ , $\text{DMSO}-d_6$, 500 MHz e 125 MHz) (FERNANDES et al., 2018)

Mo-1 (Tilirosídeo)			He-5	
				
C	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
2	-	156,4	-	159,29
3	-	133,0	-	135,34
4	-	177,3	-	179,35
5	-	161,1	-	162,99
6	6,11 (d, $J=2,0$ Hz; 1H)	98,8	6,10 (d, $J = 2,1$ Hz, 1H)	100,94
7	-	164,5	-	169,06
8	6,35 (d, $J=2,0$ Hz; 1H)	93,7	6,26 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H)	95,57
9	-	156,3	-	158,77
10	-	103,7	-	105,17
1'	-	120,7	-	122,97
2'	7,97 (d, $J= 6,9$ Hz; 2H)	130,1	7,98 (d, $J = 8,9$ Hz, 2H)	131,40
3'	6,84 (d, $J= 6,9$ Hz; 2H)	115,7	6,80 (dd, $J = 8,6$ Hz, 2H)	117,04
4'	-	159,9	-	161,71
5'	6,84 (d, $J= 6,9$ Hz; 2H)	115,7	6,80 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H)	117,04
6'	7,97 (d, $J= 6,9$ Hz; 2H)	130,1	7,98 (d, $J = 8,9$ Hz, 2H)	131,40
1''	5,43 (d, $J=7,5$ Hz; 1H)	101,0	5,19 (d, 1H)	104,44
2''	3,26 – 3,14 (m)	74,2	3,50 – 3,42 (m)	75,99
3''	3,26 – 3,14 (m)	76,2	3,50 – 3,42 (m)	78,23
4''	3,16 (m)	69,9	3,50 – 3,42 (m)	71,90
5''	3,26 (m)	74,1	3,50 – 3,42 (m)	75,91
6''	4,27 (dd, $J=2,0$ e 12,0 Hz; 1H) e 4,02 (dd, $J=6,5$ e 12,0 Hz; 1H)	62,9	4,30 (dd, $J = 11,8, 2,2$ Hz, 1H) e 4,18 (dd, $J = 11,8, 6,6$ Hz, 1H)	64,54
1'''	-	124,9	-	127,26

2''' e 6'''	7,35 (d, $J=8,5$ Hz; 2H)	130,7	7,31 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H)	132,36
3''' e 5'''	6,77 (d, $J=6,8$ Hz; 2H)	115,0	6,79 (d, $J = 6,6$ Hz, 2H)	116,25
4'''	-	159,7	-	161,45
7'''	7,33 (d, $J=15,5$ Hz; 1H)	144,5	7,40 (d, $J = 15,9$ Hz, 1H)	146,81
8'''	6,09 (d, $J=16,0$ Hz; 1H)	113,6	6,08 (d, $J = 15,9$ Hz, 1H)	114,90
9'''	-	166,1	-	169,06
OH-5	12,54 (s)	-	-	-

Figura 40. Espectro de RMN ^1H (δ , CD_3OD , 400 MHz) de *He-5*

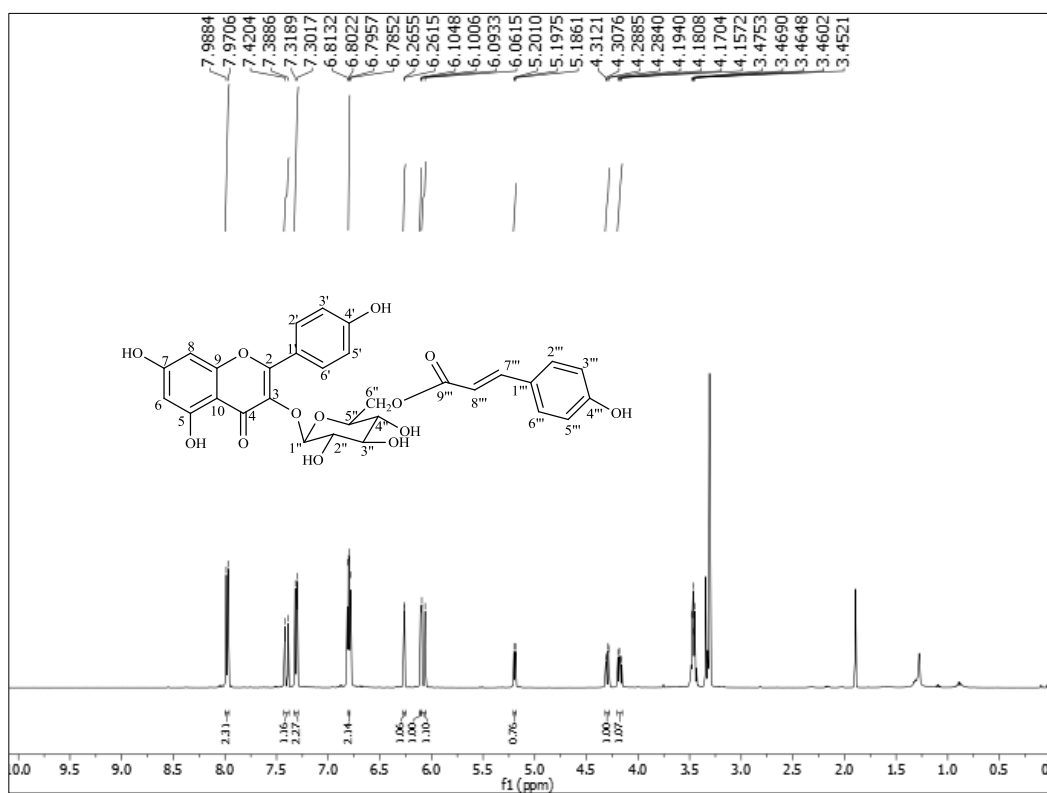


Figura 41. Primeira expansão do espectro de RMN ^1H (δ , CD_3OD , 400 MHz) de *He-5*

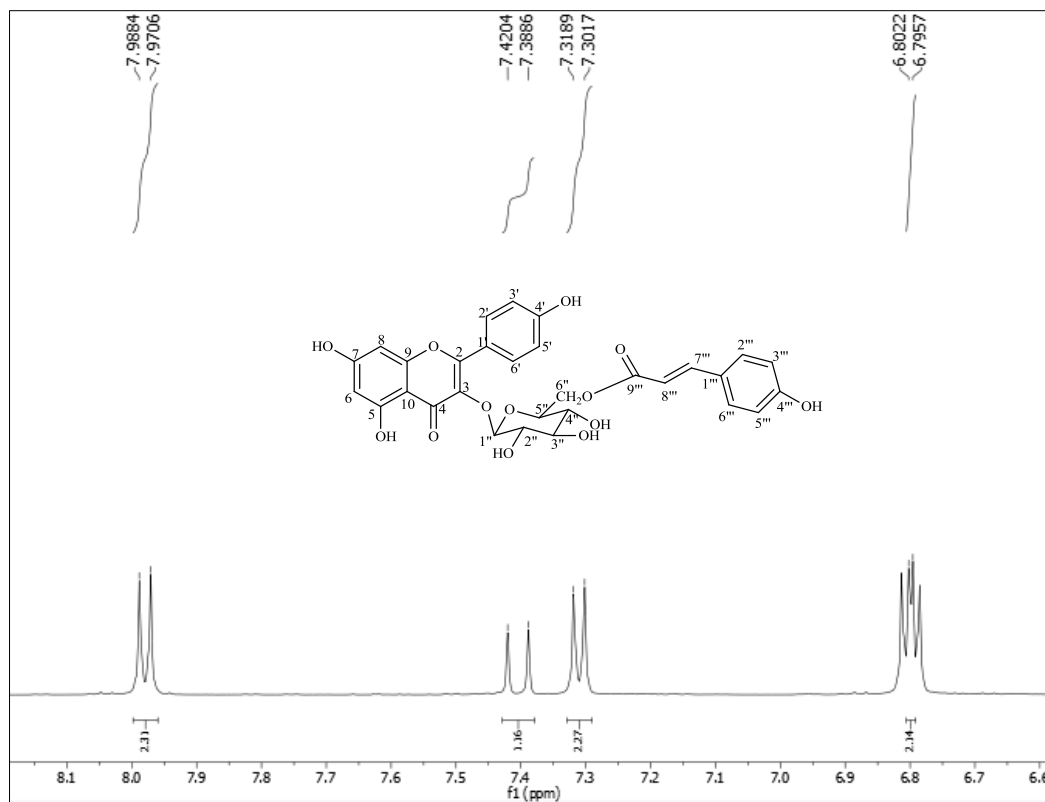


Figura 42. Segunda expansão do espectro de RMN ^1H (δ , CD_3OD , 400 MHz) de *He-5*

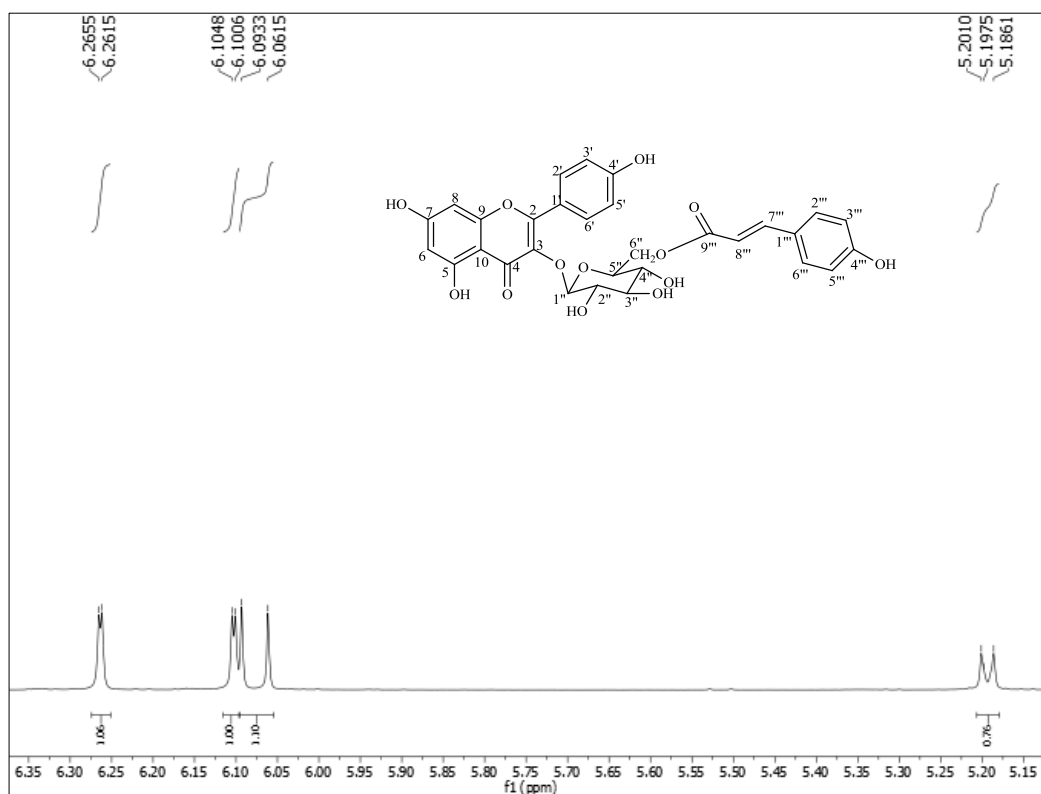


Figura 43. Terceira expansão do espectro de RMN ^1H (δ , CD_3OD , 400 MHz) de *He-5*

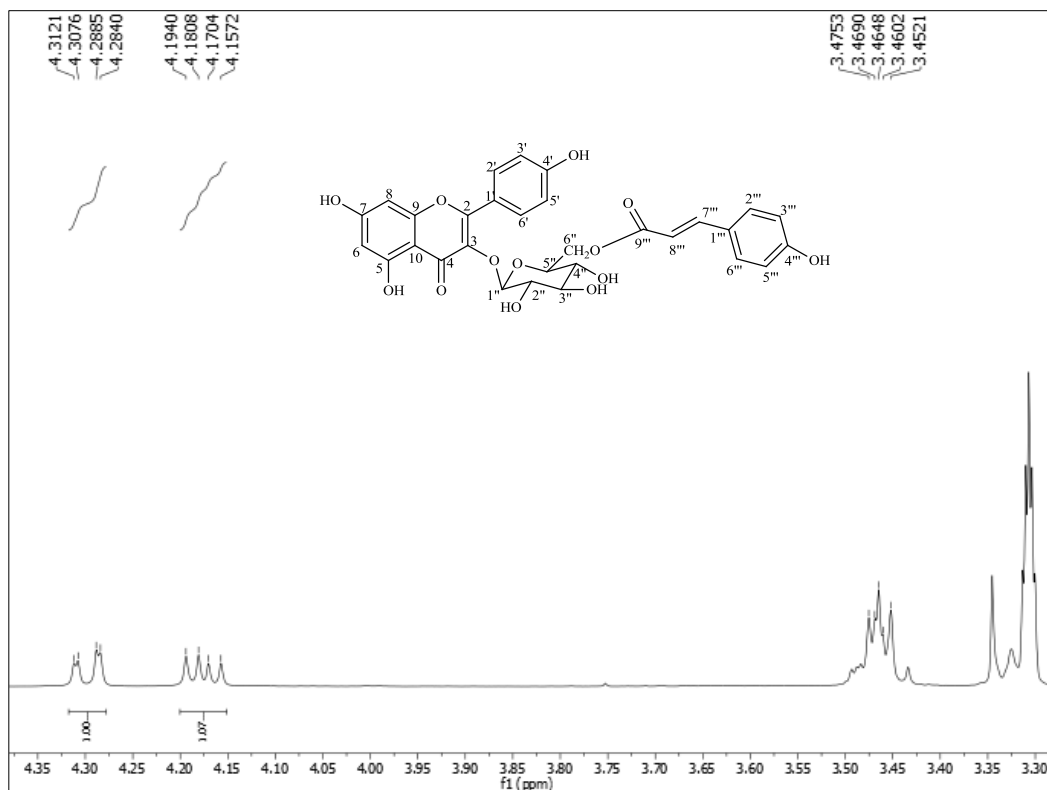


Figura 44. Espectro de RMN ^{13}C (δ , CD_3OD , 100 MHz) de *He-5*

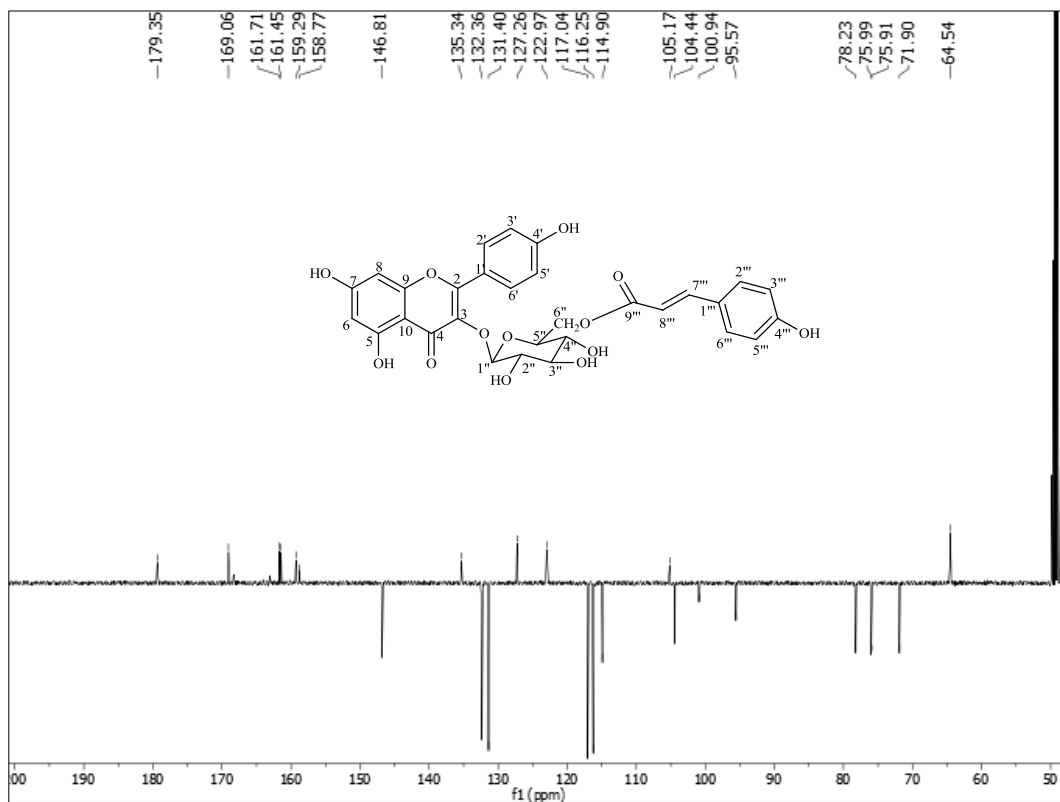
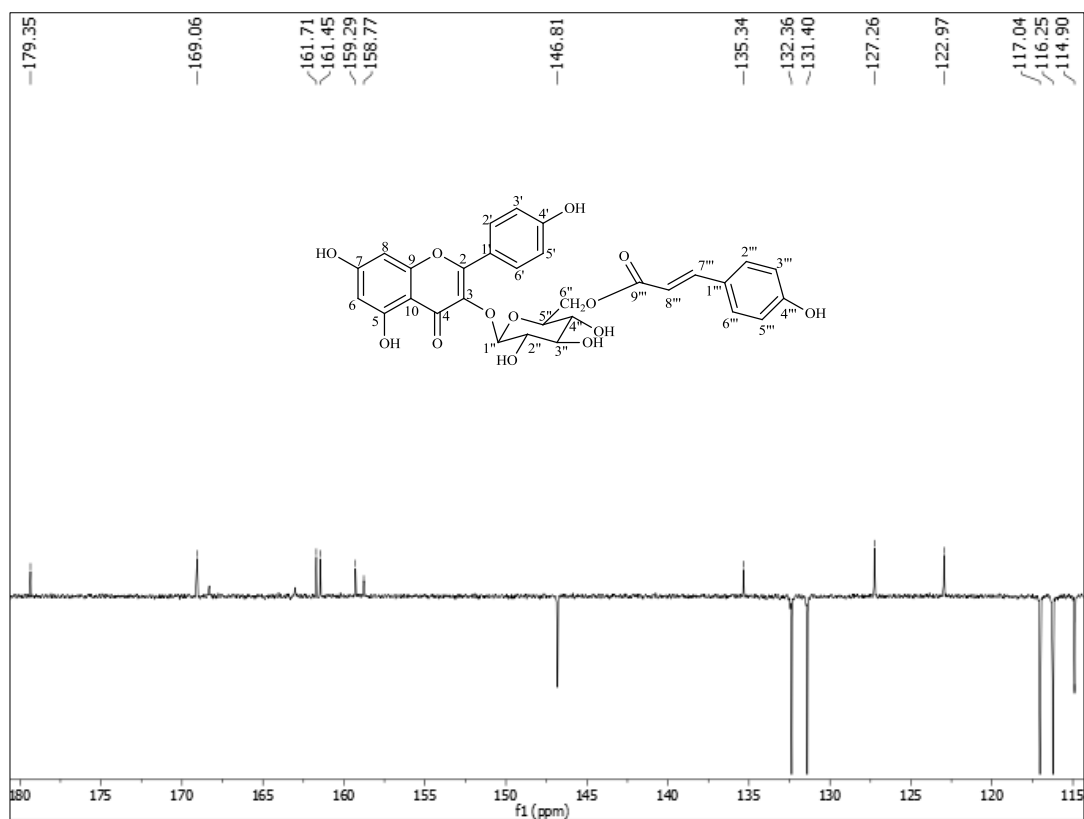


Figura 45. Primeira expansão do espectro de RMN ^{13}C (δ , CD_3OD , 100 MHz) de *He-5*



5.2 Avaliação da atividade antimicrobiana dos compostos

As Tabelas 8 e 9 (Pág. 113 e 114) apresentam os resultados da atividade antimicrobiana das substâncias mansonona M (*He-1*) e mansonona H (*He-2*) frente aos microrganismos patogênicos gram-positivos, (*Staphylococcus aureus* MRSA (multirresistente a meticilina e oxacilina) ATCC 43300 e *Staphylococcus epidermidis* ATCC 29641), e gram-negativos, (*Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 e *Salmonella enterica typhimurium* ATCC 14028).

No teste qualitativo através do ensaio de disco-difusão, a mansonona M apresentou um halo de inibição de $21,05 \pm 0,07$ mm frente ao microrganismo *Staphylococcus aureus*, apresentando sendo este um resultado melhor do que o controle positivo ($9,2 \pm 0,0$ mm) e um halo de inibição de $13,8 \pm 1,13$ mm frente ao microrganismo *Staphylococcus*

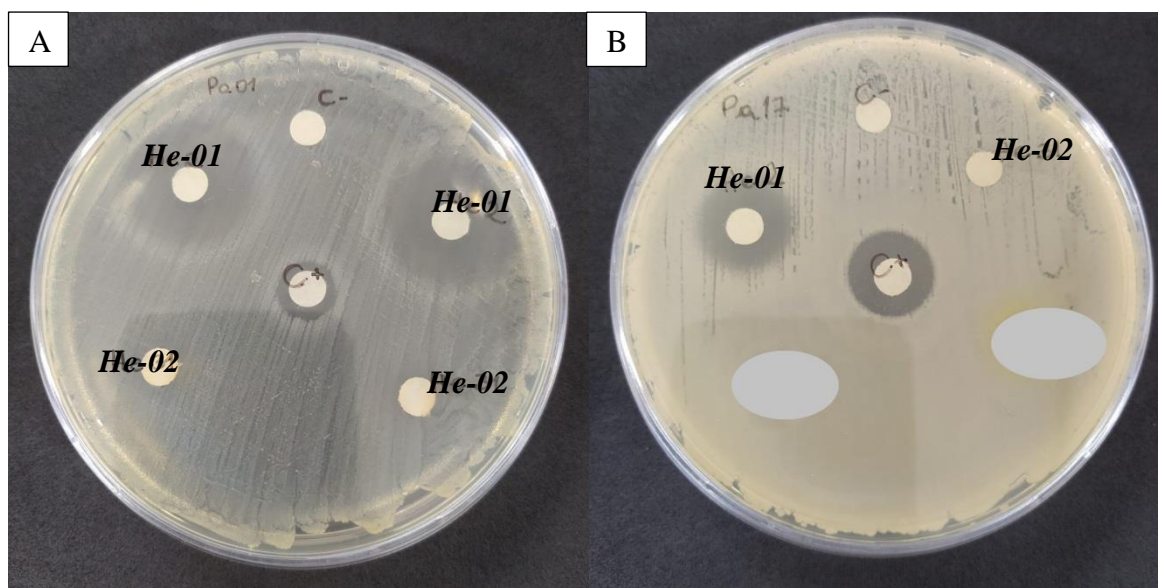
epidermidis.; enquanto que a substância mansonona H não demonstrou inibição de crescimento de todos os microrganismos (Tabela 8, pág. 113; Figura 46, pág. 113).

Tabela 8. Resultado do teste qualitativo para o Ensaio disco-difusão

Substâncias testadas (1mg/mL)	Microorganismos testados			
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Salmonella enterica typhimurium</i>
Mansonona M	21,05 ± 0,07	13,8 ± 1,13	-	-
Mansonona H	-	-	-	-
Ampicilina	9,2 ± 0,0	14,6 ± 0,56	+	+

(+): Houve inibição de crescimento do microorganismo em milímetros (mm); (-): Não houve inibição de crescimento do microorganismo

Figura 46. Ensaio disco-difusão (diâmetro em mm) para mansonona M e H contra *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis*



A: Resultados para halos de inibição de *Staphylococcus aureus*; C-: controle negativo (metanol); C+: controle positivo (ampicilina); He-01: Mansonona M; He-02: Mansonona H. **B:** Resultados para halos de inibição de *Staphylococcus epidermidis*; C-: controle negativo (metanol); C+: controle positivo (ampicilina); He-01: Mansonona M; He-02: Mansonona H.

No teste qualitativo para a Concentração Inibitória Mínima (CIM), a mansonona M apresentou atividade antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* e *Salmonella enterica typhimurium*, nas concentrações de 128 µg/mL, 128

µg/mL e >512 µg/mL, respectivamente., enquanto que mansonona H apresentou atividade contra *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis*, na concentração de 128 µg/mL cada (Tabela 9, pág. 114).

Tabela 9. Resultado do teste quantitativo para o Ensaio por Concentração Inibitória Mínima (CIM)

Substâncias testadas (µg/mL)	Microorganismos testados			
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Salmonella enterica typhimurium</i>
Mansonona M	128 µg/mL	128 µg/mL	+	> 512 µg/mL
Mansonona H	128 µg/mL	128 µg/mL	+	+
Ampicilina	8	1	> 32 µg/mL	4 µg/mL
Microorganismo	+	+	+	+
Meio de cultura	-	-	-	-

(+): Crescimento do microorganismo; (-): Não houve crescimento do microorganismo

Em estudo já realizado anteriormente com a mansonona H, foi relatado que a substância não foi ativa contra *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* (TISTR517), *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis* e *Shigella sonnei* (BOONSRI et al., 2008). Pode-se observar que não foi apresentado resultado antimicrobiano com uma cepa diferente de *Staphylococcus aureus*, que pode ser explicado pela concentração utilizada de 10 µg/mL, menor do que a utilizada no presente trabalho.

Estudos anteriores relataram atividade antimicrobiana de extratos, fases e substâncias isoladas de espécies da família Malvaceae (TELES, 2015; GOMES et al., 2015; CHAVES, 2016).

A atividade antimicrobiana de mansonona M e H está sendo relatada pela primeira vez. A mansonona M, apresentou resultados melhores em relação a mansonona H, no ensaio de disco-difusão e contra *Salmonella enterica typhimurium*, que pode ser explicado pela presença da metoxila. Marques et al. (2020) relataram que a presença de metoxila em chalconas aumentou a atividade antibacteriana e antifúngica, e Wang et al. (2017) apresentaram que em xantonas também aumentou a atividade citotóxica.

A busca por novos fármacos provenientes de produtos naturais que apresentam atividade antimicrobiana torna-se uma alternativa para conter o crescimento de mortalidade por infecções através desses patógenos.

6. Conclusões

O estudo fitoquímico da fase diclorometano do extrato etanólico bruto das partes aéreas de *Helicteres eichleri* K. Schum (Sterculiaceae), realizado através de métodos cromatográficos, utilizando sílica flash e sephadex LH-20, e técnicas espectroscópicas de RMN ¹H e ¹³C uni e bidimensionais, bem como comparações com dados da literatura, permitiram isolar e identificar as estruturas de três substâncias, sendo duas *O*-naftoquinonas, 4-metoxi-3,6,9-trimetil-2,3-di-hidrobenzo [de] cromeno-7, 8-diona (mansonona M) e: 4-Hidroxi-3,6,9-trimetil-2,3-di-hidro-benzo [de] cromeno-7,8-diona (mansonona H), um flavonóide sulfatado, 7,4'-di-O-metil-8-O-sulfato-isoscutelareina, e um flavonoide glicosilado canferol-3-*O*-β-D-(6''-*E*-p-coumaroil) glicopiranosídeo (tilirosídeo) isoladas pela primeira vez na espécie, fortalecendo assim o perfil fitoquímico da família Malvaceae, como também do gênero *Helicteres*.

A avaliação da atividade microbiológica das quinonas, mansonona M e H, isoladas da fase diclorometano, apresentaram resultados positivos frente a *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis* na concentração de 128 µg/mL, e mansonona M apresentou resultado positivo também contra *Salmonella enterica typhimurium* em concentração >512 µg/mL. Dessa forma, as *O*-naftoquinonas demonstraram-se promissoras diante de tal atividade, podendo ser melhor exploradas frente a outros micro-organismos, como também para a produção de novos antibióticos.

7. Perspectivas futuras

Diante dos resultados promissores obtidos durante o mestrado, como perspectivas futuras, no doutorado, será dada continuidade ao estudo fitoquímico e biológico com *Helicteres eichleri* K. Schum. Esse estudo está tornando possível contribuir para um conhecimento quimiosistemático e quimiotaxônomico da família Malvaceae *sensu lato*.

Referências Bibliográficas

ABDULLAH;MEHMOOD, F.; SHAHZADI, I.; WASEEM, S.; MIRZA, B.; AHMED, I.; WAHEED, M. T. Chloroplast genome of *Hibiscus rosa-sinensis* (Malvaceae): Comparative analyses and identification of mutational hotspots. **Genomics**, v. 112, n. 1, p. 581-591, 2020.

ABOTALEB, M.; SAMUEL, S. M.; VARGHESE, E.; VARGHESE, S.; KUBATKA, P.; LISKOVA, A.; BÜSSELBERG, D. Flavonoids in Cancer and Apoptosis. **Cancers**, v.11, n. 1, p. 28, 2019.

AL MUQARRABUN, L. M .R. ; AHMAT, N. Medicinal uses, phytochemistry and pharmacology of family Sterculiaceae: a review. **Eur J Med Chem**, v. 6, n.92, p. 514-30, 2015.

ALBUQUERQUE, B. R.; Heleno, S. A.; Oliveira, M. B. P. P.; Barros, L.; Ferreira. I. C. F. R. Phenolic compounds: current industrial applications, limitations and future challenges. **Food Funct.** , v. 12, n. 1, p. 14-29, 2021.

ALBUQUERQUE, U. P.; RAMOS, M. A.; MELO, J. G. New strategies for drug discovery in tropical forests based on ethnobotanical and chemical ecological studies. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 140, n. 1, p. 197–201, 2012.

ALBUQUERQUE, U.P.; HANAZAKI, N. As pesquisas etnodirigidas na descoberta de novo fármacos de interesse médico e farmacêutico: Fragilidades e perspectivas. **Revista brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n. 1, p. 678-689, 2006.

AMODEO, V.; MARRELLI, M.; PONTIERI, V.; CASSANO, R.; TROMBINO, S.; CONFORTI, F.; STATTI, G. *Chenopodium album* L. and *Sisymbrium officinale* (L.) Scop.: Phytochemical Content and In Vitro Antioxidant and Anti-Inflammatory Potential. **Plants**, v. 8, n. 11, p. 505, 2019.

ANAND, U.; JACOBO-HERRERA, N.; ALTEMIMI, A.; LAKHSSASSI, N. A. Comprehensive Review on Medicinal Plants as Antimicrobial Therapeutics: Potential Avenues of Biocompatible Drug Discovery. **Metabolites**, v. 9, n. 11, p. 258, 2019.

ANDRADE, J. M.; FAUSTINO, C.; GARCIA, C.; LADEIRAS, D.; REIS, C. P.; RIJO, P. *Rosmarinus officinalis* L.: an update review of its phytochemistry and biological activity. **Future Science**, v. 4, n. 4, 2018.

ANJANEYULU, A.S.R.; RAJU, S.N. Cyclotriterpenes from the heartwood of *Pterospermum heyneanum*. **Phytochemistry**, v.26, 1987.

ASSIS, E. B. **Estudo fitoquímico e abordagem sobre a atividade larvicida de *Helicteres eichleri* K. Schum (Sterculiaceae) frente a *Aedes aegypti* L.** Dissertação (Mestrado). Centro de Ciências da Saúde. Universidade Federal da Paraíba. 117f. 2019.

APG IV - Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. **Botanical Journal of the Linnaean Society**, v. 181: 1-20, 2016.

ATANASOV, A.G.; ZOTCHEV, S. B.; DIRSCH, V.M.; SUPURAN, C. T. Natural products in drug discovery: advances and opportunities. **Nat Rev Drug Discov.**, v.20, p.200–216, 2021.

AYAZA, M.; ULLAHA, F.; SADIQA, A.; ULLAHB, F.; OVAISC, M.; AHMEDD, J.; DEVKOTA, H. P. Synergistic interactions of phytochemicals with antimicrobial agents: Potential strategy to counteract drug resistance. **Chemico-Biological Interactions**, v. 308, p. 294–303, 2019.

AZAB, A. Malva: food, medicine and chemistry. **Eur. Chem. Bull.**, v. 6, n. 7, p. 295-320, 2017.

BALOGUN, S. O.; DAMAZO, A. S.; MARTINS, D. T. O. *Helicteres sacarolha* A. St.-Hil. et al.: gastroprotective and possible mechanism of actions in experimental animals. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 166, p.176-184, 2015.

BATISTA, E. K.; TRINDADE, H. I.; LIRA, S. R. S.; MULLER, J. B. B. S.; SILVA, L. L. B.; BATISTA, M. C. S. Anti-nociceptive and anti-inflammatory activities of the ethanol extract of *Luehea divaricata*. **Brazilian Journal of Medicinal Plants**, v.18, n. 2, p. 433–441, 2016.

BAUER, A. W.; KIRBY, W. M.; SHERRIS, J. C.; TURCK, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **Am J Clin Pathol.**, v.45, n.4, p. 493 – 496, 1966.

BAUER, R. Activity-guided isolation of anti-inflammatory constituents from the aerial parts of the vietnamese medicinal plant *Helicteres hirsuta* lour. **Reviews of clinical pharmacology and drug therapy**, v.15, n.48, 2017.

BHAKUNI, R. S.; SHUKLA, Y. N.; THAKUR, R. S. Cyclopeptide alkaloids from *Melochia corchorifolia*. **Phytochemistry**, v. 26, n. 1, p. 324 – 325, 1987.

BIAZOTTO, K. R.; MESQUITA, L. M. S.; NEVES, B. V.; BRAGA, A. R. C.; TANGERINA, M. M. P.; VILEGAS, W.; MERCADANTE, A. Z.; ROSSO, V. V. Brazilian Biodiversity Fruits: Discovering Bioactive Compounds from Underexplored Sources. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 67, n. 7, p.1860-1876, 2019.

BOONSRI, S.; KARALAI, C.; PONGLIMANONT, C.; CHANTRAPROMMA, S.; KANJANA-OPAS, A. Sesquiterpenos citotóxicos e antibacterianos de *Thespesia populnea*. **Journal of Natural Products**, v. 71, n. 7, p. 1173–1177, 2008.

- BORGES, L. P.; AMORIM, V. A. Metabólitos secundários de plantas. **Revista Agrotecnologia**, v. 11, n. 1, p. 54-67, 2020.
- BOUQUET, A. **Fetichers et medecines traditionnelles du Congo Brazzaville**. ORSTOM, Paris. 1969. 305p.
- BOVINI, M.G.; ESTEVES, G.; DUARTE, M.C.; TAKEUCHI, C.; KUNTZ, J. 2015 *Malvaceae* in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB156>>. Acesso em 23 fev. 2021.
- BRUNI, R.; MEDICI, A.; GUERRINI, A.; SCALIA, S.; POLI, F.; ROMAGNOLI, C.; MUZZOLI, M.; SACCHETTI, G. Tocopherol, fatty acids and sterol distributions in wild Ecuadorian *Theobroma subincanum* (Sterculiaceae) seeds. **Food Chemistry**, v.77, n. 3, p. 337–341, 2002.
- CAMBIE, R. C.; LAL, A. R.; AHMAD, F. Sesquiterpenes from *Heritiera ornithocephala*. **Phytochemistry**, v. 29, n. 7, p. 2329–2331, 1990.
- CASANOVA, L, M; COSTA, S. S. Synergistic Interactions in Natural Products: Therapeutic Potential and Challenges. **Revista Virtual de Química**, v. 9, n. 2, p. 575-595, 2017.
- CAVALLARO, V.; ESTEVEZ BRAUN, A.; GUTIERREZ, R. A.; MURRAY, A. P. Sulfated flavonoid isolated from *Flaveria bidentis* and its semisynthetic derivatives the potential drugs for Alzheimer's disease. **Anais da 17ª Conferência Eletrônica Internacional sobre Química Orgânica Sintética**, 2013.
- CHAMBERLIN, S. R.; BLUCHER, A.; WU, G.; SHINTO, L.; CHOONOO, G.; KULESZ-MARTIN, M.; MCWEENEY, S. Natural Product Target Network Reveals Potential for Cancer Combination Therapies. **Frontiers in Pharmacology**, v. 10, p. 557, 2019.
- CHANDRA, H.; BISHNOI, P.; YADAV, A.; PATNI, B.; MISHRA, A.P.; NAUTIYAL, A.R. Antimicrobial Resistance and the Alternative Resources with Special Emphasis on Plant-Based Antimicrobials—A Review. **Plants**, v. 6, n. 2, p. 16, 2017.
- CHANGWONG, N.; SABPHON, C.; INGKANINAN, K.; SAWASDEE, P. Acetyl- and butyryl-cholinesterase inhibitory activities of mansorins and mansonones. **Phytotherapy Research**, v. 26, n. 3, p. 392-396, 2012.
- CHAVES, O. S. **Estudo fitoquímico e antimicrobiano de duas espécies de Malvaceae: *Pavonia malacophylla* (Link&Otto) Garke e *Sida rhombifolia* L.** Tese (Doutorado). Programa de Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa-PB. 197f. 2016.
- CHAVES, O. S.; TELES, Y. C. F.; MONTEIRO, M. M. O.; MENDES-JUNIOR, L. D. G.; AGRA, M. D. F.; BRAGA, V. D. A.; SILVA, T. M. S.; SOUZA, M. F.V. Alkaloids

and Phenolic Compounds of *Sida rhombifolia* L. (Malvaceae) and Vasorelaxant Activity of Two Indoquinoline Alkaloids. **Molecules**, v. 22, n. 1, p. 94, 2017.

CHAVES, O. S.; TELES, Y.C.; MONTEIRO, M.M.O.; MENDES-JUNIOR, L.G.; AGRA, CHEN, C. M.; CHEN, Z. T.; HONG, Y.L. A mansonone from *Helicteres angustifolia*. **Phytochemistry**, v. 29, n. 3, p. 980–982, 1990.

CHEN, W.; TANG, W.; LOU, L.; ZHAO, W. Pregnane, coumarin and lupane derivatives and cytotoxic constituents from *Helicteres angustifolia*. **Phytochemistry**, v. 67, n. 10, p. 1041-1047, 2006.

CHEN, Z. T.; LEE, S. W.; CHEN, C. M. Pharmaceutical Society of Japan Cucurbitacin B 2-Sulfate and Cucurbitacin Glucosides from the Root Bark of *Helicteres angustifolia*. **Chem. Pharm. Bull**, v. 54, n. 1, p. 1605—1607, 2006.

CHIKEZIE, P.C.; IBEGBULEM, C.O.; MBAGWU, F.N. Bioactive principles from medicinal plants. **Research Journal of Phytochemistry**, v. 9, n. 3, p. 88–115, 2015.

CHIN, Y. W.; JONES, W. P.; RACHMAN, I.; RISWAN, S.; KARDONO, L. B. S.; CHAI, H. B.; FARNSWORTH, N. R.; CORDELL, G. A.; SWANSON, S. M.; CASSADY, J. M.; KINGHORN, A. D. Cytotoxic Lignans from the Stems of *Helicteres hirsute*. Collected in Indonesia. **Phytother. Res.**, v.20, p.62–65, 2006

CIDADE-BRASIL. Município de Sertãozinho. Disponível em: <<https://www.cidade-brasil.com.br/municipio-sertaozinho.html>>. Acesso em 12 setembro 2021.

CLSI - Clinical & Laboratory Standards Institute. **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically**; Approved Standard—Ninth Edition. M07-A9, v. 32, n. 2, 2012b.

CLSI - Clinical & Laboratory Standards Institute. **Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests**; Approved Standard—Eleventh Edition. M02-A11, v. 32, n. 1, 2012a.

COLLI-SILVA, M.; ESTEVES, G. L.; DUARTE, M. C. Flora da serra do cipó, minas gerais: Byttnerioideae, Helicterioideae e Sterculioideae (Malvaceae). **Bol. Bot. Univ.**, São Paulo, v. 37, p. 27-48, 2019.

COLPO, J.F.; JAHNKE, S.M.; FÜLLER, T. Potencial inseticida de óleos de origem vegetal sobre *Grapholita molesta* (Busck) (Lepidoptera: Tortricidae). **Rev. Bras. Plantas Med.**, v.16, n.2, p. 182-188, 2014.

CORREIA-DA-SILVA, M.; SOUSA, E.; PINTO, M. M. Emerging sulfated flavonoids and other polyphenols as pharmaceuticals: nature as inspiration. **Med. Res. Rev.**, v. 34, n. 2, p. 223–279, 2014.

CRISTÓBAL, C.L. Taxonomía del género *Helicteres* (Sterculiaceae). Revisión de las

especies americanas. **Bonplandia**, v. 11, n. 1-4, p. 1-206, 2001.

CRUZ, F. R. **Sterculiaceae Vent. no Estado de São Paulo**. 108 p. Dissertação (Mestrado). Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente, 2007.

CUNHA, L. C. S. **Estudo fitoquímico , atividades antioxidante, antimicrobiana e citotóxica da espécie *Cassia bakeriana* Craib**. Tese (Doutorado). Programa de Pós-Graduação em Química - Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia – MG. 285f. 2013.

DAMA, G. Y.; BIDKAR, J. S.; DEORE, S. R.; TARE, H. L. Ethnopharmacognostical survey of the plants available in the Western ghats of India. **Deccan J. Nat. Prod.**, v.1, 2010.

DAVID, B., WOLFENDER, JL. & DIAS, DA. A indústria farmacêutica e os produtos naturais: situação histórica e novas tendências. *Phytochem Rev* **14**, 299–315 (2015).

DAVIDIAN J.C., KOPRIVA S. Regulation of Sulphate Uptake and Assimilation—The Same or Not the Same? **Mol. Plant**, v. 3, p. 314–325, 2010.

DAYAL, R.; SINGH, A.; OJHA, R. P.; MISHRA, K. P. Possible therapeutic potential of *Helicteres isora* (L.) and it' s mechanism of action in diseases. **Journal of Medicinal Plants Studies**, v. 3, n. 2, p. 95-100, 2015.

DAYAL, R.; SINGH, A.; OJHA, R.P.; MISHRA, K.P. Possible therapeutic potential of *Helicteres isora* (L.) and it' s mechanism of action in diseases. **Journal of Medicinal Plants Studies**, v. 3, p. 95-100, 2015.

DECORTE, B. L. Underexplored Opportunities for Natural Products in Drug Discovery. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 59, n. 20, p. 9295–9304, 2016.

DIAS, D. A.; URBAN, S.; ROESSNER, U. Uma visão geral histórica dos produtos naturais na descoberta de drogas. **Metabolites**, v. 2, n. 2, p. 303-336, 2012.

DIAS, G. C. D.; GRESSLER, V.; HOENZEL, S. C. S. M.; SILVA, U. F.; DALCOL, I. I.; MOREL, A. F. Constituents of the roots of *Melochia chamaedrys*. **Phytochemistry**, v. 68, n. 5, p. 668-672, 2007.

DIXIT, P., KHAN, M. P., SWARNKAR, G., CHATTOPADHYAY, N., & MAURYA, R. Osteogenic constituents from *Pterospermum acerifolium* Willd.flowers. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 21, n. 15, p. 4617–4621, 2011.

DORNELES, W. M. **Espécies da família malvaceae citadas como medicinais no Rio Grande do Sul, Brasil**. Ciências Biológicas. INSTITUTO DE BIOCÍENCIAS - UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL. Porto Alegre, 2017.

DUTRA, R. C.; CAMPOS, M. M.; SANTOS, A. R. S.; CALIXTO, J. B. Medicinal plants in Brazil: pharmacological studies, drug discovery, challenges and perspectives. **Pharmacological Research**, v. 112, p. 4-29, 2016.

DZOYEM, J. P.; MELONG, R.; TSAMO, A. T.; TCHINDA, A. T.; KAPCHE, D. G.; NGADJUI, B. T.; MCGAW, L. J.; ELOFF, J. N. Cytotoxicity, antimicrobial and antioxidant activity of eight compounds isolated from *Entada abyssinica* (Fabaceae). **BMC Research Notes**, v. 10, n. 1, p. 118, 2017.

ESTEVEES, G. 2015 *Helicteres* in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB9068>>. Acesso em 23 fev. 2021.

FARHADI, F.; KHAMENEH, B.; IRANSHAHI, M.; IRANSHAHY, M. Antibacterial activity of flavonoids and their structure-activity relationship: An update review. **Phytotherapy Research.**, v. 33, n. 1, p. 13–40, 2019.

FERNANDES, D. A. **Estudo fitoquímico de *Helicteres velutina* K. Schum (Sterculiaceae) e avaliação do seu potencial larvicida contra *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae)**. Dissertação (Mestrado). Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos - Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa-PB. 2017. 136f.

FERNANDES, D. A.; ASSIS, E. B.; SOUZA, M. S. R.; SOUZA, P. I. V.; SOUZA, M. F. V. *Helicteres* L. species (Malvaceae *sensu lato*) as a source of new drugs: a review. **Quím. Nova**, v.43, n.6, p. 787-803, 2020.

FERNANDES, D. A. et al. Fatty acids analysis and chemotaxonomic considerations of malvoideae (malvaceae) species. **Quím. Nova**, v. XY, n. 00, p.1-5, 2020a.

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

FERNANDES, D. A.; BARROS, R. P. C. ; TELES, Y. C. F. ; OLIVEIRA, L. H. G.; LIMA, J. B.; SCOTTI, M. T.; NUNES, F. C.; CONCEIÇÃO, A. S.; SOUZA, M. F. V. Larvicidal compounds extracted from *Helicteres velutina* K. Schum (Sterculiaceae) evaluated against *Aedes aegypti* L. **Molecules**, v. 24, n. 12, p. 2315, 2019.

FERREIRA, M. D.; FERNANDES, D. A.; NUNES, F. C.; TELES, Y. C. F.; ROLIM, Y. M.; SILVA-MACAÚBAS, C.; ALBUQUERQUE, J. B. L.; AGRA, M. F.; SOUZA, M. F. V. Phytochemical study of *Waltheria viscosissima* and evaluation of its larvicidal activity against *Aedes aegypti*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 29, n. 5, p. 582–590, 2019.

GADETSKAYA, A. V.; TARAWNEH, A. H. ; ZHUSUPOVA, G. E.; GEMEJIYEVA, N. G.; CANTRELL, C. L.; CUTLER, S. J.; ROSS, S.A. Sulfated phenolic compounds from

Limonium caspium: Isolation, structural elucidation, and biological evaluation. **Fitoterapia**, v. 104 , p. 80–85, 2015.

GOMES, R. A.; TELES, Y. C. F.; PEREIRA, F. O.; RODRIGUES, L. A. S.; LIMA, E. O.; AGRA, M. F.; SOUZA, M. F. V. Phytoconstituents from *Sidastrum micranthum* (A. St.-Hil.) Fryxell (Malvaceae) and antimicrobial activity of pheophytin A. **Braz. J. Pharm. Sci.**, v. 51, n. 4, p. 861–867, 2015.

GÓRNIAK, I.; BARTOSZEWSKI, R.; KRÓLICZEWSKI, J. Comprehensive review of the antimicrobial activities of plant flavonoids. **Phytochem Rev.**, v.18, p. 241–272, 2019.

GUERRIERO, G.; BERNI, R.; MUÑOZ-SANCHEZ , J. A.; APONE, F.; ABDEL-SALAM, E. M.; QAHTAN, A. A.; ALATAR, A. A.; CANTINI, C.; CAI, G.; HAUSMAN, J. F.; SIDDIQUI, K. S.; HERNÁNDEZ-SOTOMAYOR, S. M. T.; FAISAL, M. Production of Plant Secondary Metabolites: Examples, Tips and Suggestions for Biotechnologists. **Genes**, v. 9, p. 309, 2018.

GUO, X. D.; AN, L. K.; XI, D.; MA, L.; GU, L. Q. Chemical constituents of *Helicteres angustifolia* Linn. **Nat. Sci. Ed.**, v. 42, n. 52, 2003.

GUPTA, M.; SHARMA, R.; KUMAR, A. Comparative potential of Simvastatin, Rosuvastatin and Fluvastatin against bacterial infection: An In silico and In vitro study. **Orient Pharm Exp Med**, v. 19, n. 3, p. 259–275, 2019.

HABBU, P. V.; MAHADEVAN, K. M.; SHASTRY, R. A.; MANJUNATHA, H. Antimicrobial activity of flavonoid sulfates and other fractions of *Argyreia speciosa* (Burm.F) Boj. **Indian J. Exp. Biol.**, v. 47, n. 2, p.121–128, 2009.

HAMILTON, G.R.; BASKETT, T.F. In the arms of Morpheus the development of morphine for postoperative pain relief. **Can. J. Anaesth.**, v. 47, p. 367–374, 2000.

HASHEMINYA, S. M.; DEHGHANNYA, J. Composition, phenolic content, antioxidant and antimicrobial activity of Pistacia atlantica subsp. kurdica hulls' essential oil. **Food Bioscience**, v. 34, n. 1, p. 100510, 2019.

HAY, S. I.; RAO, P. C.; DOLECEK, C.; DAY, N. P. J.; STERGACHIS, A.; LOPEZ, A. D.; MURRAY, C. J. L. Measuring and mapping the global burden of antimicrobial resistance. **BMC Med**, v. 16, n. 78, 2018.

HEINRICH, M.; RIMPLER, H.; BARRERA, N. A. Indigenous phytotherapy of gastrointestinal disorders in a lowland Mixe community (Oaxaca, Mexico): Ethnopharmacologic evaluation. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 36, n. 1, p. 63–80, 1992.

ISAH, T. Stress and defense responses in plant secondary metabolites production. **Isah Biol Res**, v. 52, n. 39, 2019.

ISLAM, M. S.; UPAMA, D. A Review Study on Different Plants in Malvaceae Family and Their Medicinal Uses. **Am J Biomed Sci & Res.**, v. 3, n. 2, 2019.

JAMSHIDI-KIA, F.; LORIGOOINI, Z; AMINI-KHOEI, H. Medicinal plants: Past history and future perspective. **Journal of Hermed Pharmacology**, v.7, p.1-7, 2018.

JUNIOR, A. J. F.; CRUZ, A. P. O. Flora of the canga of the Serra dos Carajás, Pará, Brazil: Malvaceae. **Rodriguésia**, v.69, n.3, p.1237-1254, 2018.

KAMIYA, K.; SAIKI, Y.; HAMA, T.; FUJIMOTO, Y.; ENDANG, H.; UMAR, M.; SATAKE, T. Glucuronídeos flavonóides da *Helicteres isora*. **Phytochemistry**, v. 57, n. 2, p. 297-301, 2001.

KAPADIA, G. J.; SHUKLA, Y. N.; BASAK, S. P.; FALES, H. M.; SOKOLOSKI, E. A. Melovinone, an open-chain analog of *Melochia tomentosa* melochinone. **Phytochemistry**, v. 17, n. 8, p. 1444-1445, 1978.

KAPADIA, G. J.; SHUKLA, Y. N.; MORTON, J. F.; LLOYD, H. A. New cyclopeptide alkaloids from *Melochia tomentosa*. **Phytochemistry**, v.16, n. 9, p. 1431-1433, 1977.

KARAK, P. Biological activities of flavonoids: an overview. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 10, n. 4, p.1567-1574, 2019.

KATZ, L.; BALTZ, R. H. Natural product discovery: past, present, and future. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**, v. 43, n. 2-3, p. 155–176, 2016.

KHAMENEH, B.; IRANSHAHY, M.; SOHEILI, V.; BAZZAZ, B. S. F. Review of plant antimicrobials: a mechanistic view. **Antimicrob Resist Infect Control.**, v. 8, p. 118, 2019.

KIM, J. P.; KIM, W. G.; KOSHINO, H.; JUNG, J.; YOO, I. D. Sesquiterpene O-naphthoquinones from the root bark of *Ulmus davidiana*. **Phytochemistry**, v. 43, n. 2, p. 425–430, 1996.

KLEINSCHMIDT, S.; HUYGENS, F.; FAOAGALI, J.; RATHNAYAKE, I. U.; HAFNER, L. M. *Staphylococcus epidermidis* como causa de bacteremia. **Future Microbiology**, v. 10 n. 11, p. 1859–1879, 2015.

KUMAR, T. M.; CHRISTY, A. M.; RAMYA, R. C.; MALAISAMY, M.; SIVARAJ, C.; ARJUN, P.; RAAMAN, N.; BALASUBRAMANIAN, K. Atividade antioxidante e anticâncer de extratos solventes de frutas secas de *Helicteres isora*. **J Acad Indus Res.**, v. 1, n. 3, p. 148-152, 2012.

LI, Y.; KONG, D.; FU, Y.; SUSSMAN, M. R.; WU, H. The effect of developmental and environmental factors on secondary metabolites in medicinal plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 148, p. 80 – 89, 2020.

- LIMA, J. B.; BOVINI, M. G.; CONCEIÇÃO, A. S. Bombacoideae, Byttnerioideae, Grewioideae and Helicterioideae (Malvaceae *s.l.*) in the Raso da Catarina Ecoregion, Bahia, Brazil. **Biota Neotrop.**, Campinas., v.19, n.3, 2019.
- LIN, D .; XIAO, M .; ZHAO, J .; LI, Z .; XING, B .; LI, X .; KONG, M .; LI, L .; ZHANG, Q .; LIU, Y .; CHEN, H .; QIN, W .; WU, H .; CHEN, S. An Overview of Plant Phenolic Compounds and Their Importance in Human Nutrition and Management of Type 2 Diabetes. **Molecules**, v. 21, n. 10, p. 1374, 2016.
- LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas Medicinais no Brasil**. Instituto Plantarum, São Paulo. 2002. 512p.
- M.F.; BRAGA, V.A.; SILVA, T.M.S.; SOUZA, M.F.V. Alkaloids and Phenolic Compounds from *Sida rhombifolia* L. (Malvaceae) and Vasorelaxant Activity of Two Indoquinoline Alkaloids. **Molecules**, v. 22, n. 1, p. 94, 2017.
- MAHIRE, S. P.; PATEL, S. N. Extraction of phytochemicals and study of the antimicrobial and antioxidant activity of *Helicteres isora* L. **Clin Phytosci.**, v. 6, n. 40, 2020.
- MAMADALIEVA, N. Z.; YOUSSEF, F. S.; ASHOUR, M. L.; SASMAKOV, S. A.; TIEZZI, A.; AZIMOVA, S. S. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils of three Uzbek Lamiaceae species. **Nat Prod Res.**, v. 33, n. 16, p. 2394–2397, 2018.
- MANANDHAR, S.; LUITEL, S.; DAHAL, R. In Vitro Antimicrobial Activity of Some Medicinal Plants against Human Pathogenic Bacteria. **J. Trop. Med.** **2019**, v. 5, p.1-5, 2019.
- MARQUES, BEATRIZ C.; ANSELMO, D. B.; MONTEIRO, D.A.; GOMES, E.; SAIKI, M. F. C.; RAHAL, P.; ROSALEN, P. L.; SARDI, J. C. O.; REGASINI, L. O. Methoxychalcones: Effect of methoxyl group on the antifungal, antibacterial and antiproliferative activities. **Medicinal Chemistry**, v. 16, n. 7, p. 881-891, 2020.
- MARQUES, SANY DELANY GOMES. Isolamento e caracterização estrutural de substâncias polares da *Sidastrum paniculatum*. Tese (Doutorado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) - Universidade Federal da Paraíba, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, 2017.
- MENDONÇA, T. A.; DANTAS, E. A.; GOUVEA, A. A. L.; OLIVEIRA, R. S.; ALVES, A. R. C.; PADILHA, F. F.; MACHADO, B. A. S. Prospecção Tecnológica sobre a Utilização de Cacau Fino. **Revista Virtual de Química**, v. 8, n. 4, p. 1094-1103, 2016.
- MIGUEL-CHÁVEZ, R. S. **Phenolic antioxidant capacity: a review of the state of the art**. In: Phenolic compounds - biological activity. Rijeka: InTech. 2017. p. 59–74.

MIKLASIŃSKA-MAJDANIK, M.; KĚPA, M.; WOJTYCZKA, R. D.; IDZIK, D.; WASIK, T. J. Phenolic Compounds Diminish Antibiotic Resistance of *Staphylococcus Aureus* Clinical Strains. **Int. J. Environ. Res. Public Health**, v. 15, n. 10, p. 2321, 2018.

MIN, N.; LEONG, P. T.; LEE, R. C. H.; KHUAN, J. S. E.; CHU, J. J. H. A flavonoid compound library screen revealed potent antiviral activity of plant-derived flavonoids on human enterovirus A71 replication. **Antiviral Research**, v. 150, p. 60–68, 2018.

MLCEK, J.; JURIKOVA, T.; SKROVANKOVA, S.; SOCHOR, J. Quercetin and Its Anti-Allergic Immune Response. **Molecules**, v. 21, n. 5, p. 623, 2016.

MOJZER, E. B.; HRNČIČ, M. K.; ŠKERGET, M.; KNEZ, Ž.; BREN, U. Polyphenols: extraction methods, antioxidant action, bioavailability and anticarcinogenic effects. **Molecules**, v. 21, n. 7, p. 901, 2016.

MONGKOL, R.; CHAVASIRI, W. Antimicrobial, herbicidal and antifeedant activities of mansonone E from the heartwoods of *Mansonia gagei* Drumm. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 15, n. 12, p. 2795–2802, 2016.

MORAIS, S. M.; CALIXTO-JÚNIOR, J. T.; RIBEIRO, L.M.; SOUSA, H.A.; SILVA, A. A. S.; FIGUEIREDO, F. G.; MATIAS, E. F. F.; BOLIGON, A. A.; ATHAYDE, M. L.; MORAIS-BRAGA, M. F. B.; COUTINHO, F. M. D. Phenolic composition and antioxidant, anticholinesterase and antibiotic-modulating antifungal activities of *Guazuma ulmifolia* Lam. (Malvaceae) ethanol extract. **South African Journal of Botany**, v. 110, p. 251-257, 2017.

MOREL, A. F.; GEHRKE, I. T.; MOSTARDEIRO, M. A.; ETHUR, E. M.; ZANATTA, N.; MACHADO, E. C. Cyclopeptide alkaloids of *Waltheria douradinha* bark. **Phytochemistry**, v. 51, n. 3, p. 473-477, 1999.

MOURA, D. F.; BARROS, D. M.; ROCHA, T. A.; SILVA, F. A.; SILVA, G. M.; OLIVEIRA, G. B.; MEDEIROS, S. M. F. R. S.; CAVALCANTI, D. L.; MACÊDO, D. C. S.; SOARES, J. C. S.; NUNES, J. S.; ALMEIDA, T. T. The Importance of Biosafety in the Production and Use of Natural and Herbal Products. **Braz. J. of Develop.**, v. 6, n. 2, p.7054-7062, 2020.

NAZHAND, A.; DURAZZO, A.; LUCARINI, M.; MOBILIA, M. A.; OMRI, B.; SANTINI, A. Rewiring cellular metabolism for heterologous biosynthesis of Taxol. **Natural Product Research**, v. 34, n. 1, p. 110-121, 2020.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural Products as Sources of New Drugs from 1981 to 2014. **J Nat Prod**, v. 79, n. 3, p. 629-661, 2016.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019. **J. Nat. Prod.**, v. 83, n. 3, p. 770–803, 2020.

NGUYEN, T.T.; GAO, X.; NIKLES, S.; PFERSCHY-WENZING, E.M.; KUNERT, O.; BAUER, R. Activity-guided isolation of anti-inflammatory constituents from the aerial parts of the vietnamese medicinal plant *Helicteres hirsuta* Lour. **Reviews of clinical pharmacology and drug therapy**, v.15, n.48, 2017.

NINGTHOUJAM, S. S.; TALUKDAR, A. D.; SARKER, S. D.; NAHAR, L.; CHOUDHURY, M. D. Prediction of Medicinal Properties Using Mathematical Models and Computation, and Selection of Plant Materials. **Computational Phytochemistry**, p. 43–73, 2018.

NÚÑEZ-MONTERO, K.; LAMILLA, C.; ABANTO, M.; MARUYAMA, F.; JORQUERA, M. A.; SANTOS, A.; URTAZA, J. M.; BARRIENTOS, L. Antarctic *Streptomyces fildesensis* So13.3 strain as a promising source for antimicrobials discovery. **Sci Rep**, v. 9, n. 7488, 2019.

OGHENEROBO, V. I.; FALODUN, A. Antioxidant Activities of the Leaf Extract and Fractions of *Cola lepidota* K. Schum (Sterculiaceae). **Nig J. Biotech.**, v. 25, p. 31-36, 2013.

OLADEJI, O. S.; ADELOWO, F. E.; AYODELE, D. T.; ODELADE, K. A. Phytochemistry and pharmacological activities of *Cymbopogon citratus* : A review. **Scientific African**, v. 6, 2019.

OLIVAS-QUINTERO, S.; LÓPEZ-ANGULO, G.; MONTES-AVILA, J.; DÍAZ-CAMACHO, S. P.; VEGA-AVIÑA, R.; LÓPEZ-VALENZUELA, J. A.; SALAZAR-SALAS, N. Y.; DELGADO-VARGAS, F. Chemical composition and biological activities of *Helicteres vegae* and *Heliopsis sinaloensis*. **Pharm. Biol.**, v.55, n.1, p.1473-1482, 2017.

OLIVEIRA, M. S. **Estudo fitoquímico de Pavonia glazioviana Gurke e Sida rhombifolia L. (Malvaceae), preparação de derivados de criptolepinona, avaliação antimicrobiana e antioxidante dos compostos obtidos.** Tese (Doutorado). Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Medicamentos – Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa-PB. 201f. 2019.

OLIVEIRA, V. C. S. P.; TAVARES, M. I. B.; SILVA, E. M. B.; LIMA, B. N. B.; NETO, R. P. C. Uso de RMN de baixa resolução na avaliação da dinâmica molecular do *Origanum vulgare*. **Quim.Nova**, v. 38, n. 3, p. 351-355, 2015.

PACZOSA, M. K.; MECSAS, J. *Klebsiella pneumoniae*: Going on the Offense with a Strong Defense. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 80. n. 3, p. 629–661, 2016.

PAN, M. H.; CHEN, C. M.; LEE, S. W.; CHEN, Z. T. Cytotoxic Triterpenoids from the Root Bark of *Helicteres angustifolia*. **Chemistry & Biodiversity**, v. 5, n. 4, p. 565–574, 2008.

- PANCHE, N.; DIWAN, A. D.; CHANDRA, S. R. Flavonoids: an overview. **Journal of Nutritional Science**, v. 5, n.47, p. 1-15, 2016.
- PEREIRA, R. C.; ANGELIS-PEREIRA, M. C. **Compostos fenólicos na saúde humana: do alimento ao organismo** (Texto Acadêmico) Lavras : Ed. UFLA, 2014, p. 90.
- PEREIRA, R. J.; CARDOSO, M. G. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 3, n. 4, p. 146-152, 2012.
- PHAM, H.N.T.; NGUYEN, V.T.; VUONG, Q.V.; BOWYER, M.C.; SCARLETT, C. J. Bioactive compound yield and antioxidant capacity of *Helicteres hirsuta* Lour. stem as affected by various solvents and drying methods. **Journal of Food Processing and Preservation**, v.41, p.1745-4549, 2017.
- PORTER, L. J.; MA, Z.; CHAN, B. G. Cacao procyanidins: major flavanoids and identification of some minor metabolites. **Phytochemistry**, v. 30, n. 5, p. 1657–1663, 1991.
- PUCKHABER, L. S.; STIPANOVIC, R. D. Thespesenone and Dehydrooxoperezinone -6-methyl Ether, New Sesquiterpene Quinones from *Thespesia populnea*. **Journal of Natural Products**, v. 67, n. 9, p. 1571–1573, 2004.
- QUANG, D. N.; PHAM, C. T.; LE, L. T. K.; TA, Q. N.; DANG, N. K.; HOANG, N. T.; PHAM, D. H. Cytotoxic constituents from *Helicteres hirsuta* collected in Vietnam. **Natural Product Research**, v.34, n. 4, p.585-589, 2018.
- RAMALHO, C. I.; ANDRADE, A. P.; FÉLIX, L. P.; LACERDA, A. V.; MARACAJÁ, P. B. Flora arbóreo-arbustiva em áreas de caatinga no semiárido baiano, Brasil. **Revista Caatinga**, v. 22, n. 3, p. 178-186, 2009.
- RAMESH, P.; YUVARAJAN, C. R. Um novo éter metílico de flavona da *Helicteres isora*. **Journal of Natural Products**, v. 58, n. 8, p. 1242–1243, 1995.
- RAO, B. G.; RAO, Y. V.; RAO, T. M. Hepatoprotective and antioxidant capacity of *Melochia corchorifolia* extracts. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 6, n. 7, p. 537-543, 2013.
- RIZVI, S. A. I.; SULTANA, T. Phytochemical studies of the flowers of *Pterospermum acerifolium*. **Phytochemistry**, v. 11, n. 2, p. 856–858, 1972.
- SAITO, Y.; KOBAYASHI, H.; UETERA, Y.; YASUHARA, H.; KAJIURA, T.; OKUBO, T. Microbial contamination of surgical instruments used for laparotomy. **American Journal of Infection Control**, v. 42, n. 1, p. 43-47, 2014.
- SANHUEZA, L.; MELO, R.; MONTERO, R.; MAISEY, K.; MENDOZA, L.; WILKENS, M. Synergistic interactions between phenolic compounds identified in grape pomace extract with antibiotics of different classes against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. **PLoS One**, v. 12, n. 2, 2017.

SANTHI, K.; SENGOTTUVEL, R. Qualitative and Quantitative Phytochemical analysis of *Moringa concanensis* Nimmo. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 5, n. 1, p. 633-640, 2016.

SANTOS, A. M. P.; FERRARI, R. G.; CONTE-JUNIOR, C. A. Virulence Factors in *Salmonella Typhimurium*: The Sagacity of a Bacterium. **Curr Microbiol.**, v.76, n. 6, p. 762–773, 2019.

SANTOS, E. A.; CARVALHO, C. M.; COSTA, A. L. S.; CONCEIÇÃO, A. S.; MOURA, F. B. P.; SANTANA, A. E. G. Bioactivity Evaluation of Plant Extracts Used in Indigenous Medicine against the Snail, *Biomphalaria glabrata*, and the Larvae of *Aedes aegypti*. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 1, n.1, p.1-9, 2012.

SENGAB, A. E. B.; ELGINDI, M. R.; MANSOUR. M. A. Sesquiterpenes Quinones from *Thespesia populnea* and Their Biological Studies. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 2, n. 3, p. 136-139, 2013.

SERINO, A.; SALAZAR, G. Protective role of polyphenols against vascular inflammation, aging and cardiovascular disease. **Nutrients**, v. 11, n. 1, p. 1-23, 2019.

SEVERIANO, M. E. **Biotransformação de naftoquinonas por fungos filamentosos e bactérias do gastro intestinal e avaliação da atividade citotóxica dos derivados obtidos**. Tese (Doutorado). Produtos Naturais e Sintéticos. Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – USP. Ribeirão Preto-SP. 215p.2016.

SHARIFI-RAD, J.; OZLEYEN, A.; TUMER, T. B.; ADETUNJI, C. O.; OMARI, N. E.; BALAHBIB, A.; TAHERI, Y.; BOUYAHYA, A.; MARTORELL, M.; MARTINS, N.; CHO, W. C. Natural Products and Synthetic Analogs as a Source of Antitumor Drugs. **Biomolecules**, v. 9, n. 11, p. 679, 2019.

SILVA, F. S.; ALBUQUERQUE, U. P.; COSTA JÚNIOR, L. M.; LIMA, A. S.; NASCIMENTO, A. L. B.; MONTEIRO, J. M. An ethnopharmacological assessment of the use of plants against parasitic diseases in humans and animals. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 155, n. 2, p. 1332–1341, 2014.

SILVA, J. D. **Síntese de novos derivados naftoquinônicos e avaliação da sua atividade biológica**. Mestrado (Dissertação). Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas do Centro de Ciências da Saúde – Universidade Federal de Pernambuco. Recife-PE. 153f. 2014.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto alegre: Editora da UFSC e UFRGS, 2010.

SINGH, J. P.; KAUR, A.; SINGH, N.; NIM, L.; SHEVKANI, K.; KAUR, H.; ARORA, D. S. *In vitro* antioxidant and antimicrobial properties of jambolan (*Syzygium cumini*) fruit polyphenols. **LWT - Food Sci. Technol.**, v. 65, p. 1025 -1030, 2016.

SINHA, P.; SRIVASTAVA, N.; RAI, V. K.; MISHRA, R.; AJAYAKUMAR, P. V.; YADAV, N. P. A novel approach for dermal controlled release of salicylic acid for improved anti-inflammatory action: Combination of hydrophilic-lipophilic balance and response surface methodology. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 52, p. 870 – 884, 2019.

SIRIMONGKOLVORAKUL, S.; JASANCHEUN, A. Evaluation of in vitro antimicrobial effects of *Helicteres isora* extract against *Staphylococcus aureus*. **Vet World.**, v. 14, n. 9, p. 2313–2316, 2021.

SIRIWONG, S.; TEETHAISONG, Y.; THUMANU, K.; DUNKHUNTHOD, B.; EUMKEB, G. Synergy and mode of action of quercetin plus amoxicillin against amoxicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis*. **BMC Pharmacology and Toxicology**, v.17, n. 1, p. 39 , 2016.

SU, D.; GAO, Y. Q.; DAI, W. B.; HU, Y.; WU, Y. F.; MEI, Q. X. Helicteric acid, oleanic acid, and betulinic acid, three triterpenes from *Helicteres angustifolia* L., inhibit proliferation and induce apoptosis in HT-29 colorectal cancer cells via suppressing NF- κ B and STAT3 Signaling. **Evid-Based Compl.Alt**, 2017.

TANASE, C.; COȘARCĂ, S.; MUNTEAN, D. L. A critical review of phenolic compounds extracted from the bark of woody vascular plants and their potential biological activity. **Molecules**, v. 24, n. 6, p. 1182, 2019.

TAYLOR, T. A.; UNAKAL, C.G. *Staphylococcus Aureus*. **Treasure Island (FL): StatPearls Publishing**, 2021.

TELES, Y.C.F.; HORTA, C.C.R; AGRA, M.F.; SIHERI, W.; BOYD, M.; IGOLI, J.O.; GRAY A. I.; SOUZA, M.F.V. New Sulphated Flavonoids from *Wissadula periplocifolia* (L.) C. Presl (Malvaceae). **Molecules**, v. 20, p. 20161- 20172, 2015.

TELES, Y. C. F.; RIBEIRO-FILHO, J.; BOZZA, P. T.; AGRA, M. F.; SIHERI, W.; IGOLI, J. O.; GREY, A. I.; SOUZA, M. F. V. Phenolic constituents from *Wissadula periplocifolia*(L.) C. Presl. and anti-inflammatory activity of 7,4'-di-O-methylisoscutellarein. **Natural Product Research**, v. 30, n. 16, p. 1880–1884, 2015a.

TELES, Y.C.F. **Estudo fitoquímico de *Wissadula periplocifolia* (L.) C. Presl (Malvaceae) e desenvolvimento de metodologia analítica para quantificação do seu marcador químico**. Tese (Doutorado). Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Medicamentos – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa-PB. 376f. 2015b.

TELES, Y. C. F.; SOUZA, M.; SOUZA, M. Sulphated flavonoids: biosynthesis, structures and biological activities. **Molecules**, v. 23, n. 2, p. 480, 2018.

TEZUKA, Y.; TERAZONO, M.; KUSUMOTO, T.I.; HATANAKA, Y.; KADOTA, S.; HATTORI, M.; NAMBA, T. and KIKUCHI, T. Helisterculins A-F, Six newdimeric (7.5',8.2')-neolignans, from the Indonesian Medicinal Plant *Helicteres isora*. **Helvética Chimica Acta**, v.83, p. 2908-2919, 2000.

THOMFORD, N.; SENTHEBANE, D.; ROWE, A.; MUNRO, D.; SEELE, P.; MAROYI, A.; DZOBO, K. Natural Products for Drug Discovery in the 21st Century: Innovations for Novel Drug Discovery. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 6, p. 1578, 2018.

TIEW, P.; IOSET, J. R.; KOKPOL, U.; CHAVASIRI, W.; HOSTETTMANN, K. Antifungal, antioxidant and larvicidal activities of compounds isolated from the heartwood of *Mansonia gagei*. **Phytotherapy Research**, v. 17, n. 2, p. 190–193, 2003.

TIEW, P.; PUNTUMCHAI, A.; KOKPOL, U.; CHAVASIRI, W. Coumarins from the heartwoods of *Mansonia gagei* Drumm. **Phytochemistry**, v. 60, n. 8, p. 773–776, 2002.

TIEW, P.; TAKAYAMA, H.; KITAJIMA, M.; AIMI, N.; KOKPOL, U.; CHAVASIRI, W. A novel neolignan, mansoxetane, and two new sesquiterpenes, mansonones R and S, from *Mansonia gagei*. **Tetrahedron Letters**, v. 44, n. 35, p. 6759–6761, 2003.

TONG, S. Y.; DAVIS, J. S.; EICHENBERGER, E.; HOLLAND, T. L.; FOWLER, V. *G. Staphylococcus aureus* infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. **Clin Microbiol Rev.**, v. 28, n. 3, p. 603-61, 2015.

TUNGMUNNITHUM, D.; THONGBOONYOU, A.; PHOLBOON, A.; YANGSABAI, A. Flavonoids and Other Phenolic Compounds from Medicinal Plants for Pharmaceutical and Medical Aspects: An Overview. **Medicines**, v. 5, n. 3, p. 93, 2018.

VALLI, M.; RUSSO, H. M.; BOLZANI, V. S. The potential contribution of the natural products from Brazilian biodiversity to bioeconomy. **Anais Da Academia Brasileira de Ciências**, v. 90 (1 suplemento 1), p. 763–778, 2018.

VAOU, N.; STAVROPOULOU, E.; VOIDAROU, C.; TSIGALOU, C.; BEZIRTZOGLU, E. Towards Advances in Medicinal Plant Antimicrobial Activity: A Review Study on Challenges and Future Perspectives. **Microorganisms.**, v. 9, n. 10, p. 2041, 2021.

VARDAMIDES, J.; AZEBAZE, A. G.; NKENGFACK, A.; VAN HEERDEN, F.; FOMUM, Z.; NGANDO, T.; KRAUS, W. Scaphopetalone and scaphopetalumate, a lignan and a triterpene ester from *Scaphopetalum thonneri*. **Phytochemistry**, v. 62, n.4, p. 647–650, 2003.

VICENTE, O.; BOSCAIU, M. Flavonoids: Antioxidant Compounds for Plant Defence and for a Healthy Human Diet. **Not Bot Horti Agrobo**, v. 46, n. 1, p.14-21, 2018.

VUOLO, M. M.; LIMA, V. S.; MARÓSTICA-JUNIOR, M. R. **Phenolic compounds: Structure, classification, and antioxidant power.** In Bioactive Compounds: Health Benefits and Potential Applications; Segura-Campos, M.R., Ed.; Elsevier Inc.: Amsterdam, The Netherlands, p. 33–50. 2018.

WANG, G. C.; LI, T.; WEI, Y. R.; ZHANG, Y.B.; LI, Y. L.; SZE, S. C. W.; YE, W.C. Two pregnane derivatives and a quinolone alkaloid from *Helicteres angustifolia*. **Phytochemistry**, v. 83, n. 8, p. 1643–1647, 2012.

WANG, M.; LIU, W. A naphthoquinone from *Helicteres angustifolia*. **Phytochemistry**, v. 26, n. 2, p. 578 - 579, 1987.

WANG, Q.; MA, C.; MA, Y.; LI, X.; CHEN, Y.; CHEN, J. Structure-activity relationships of diverse xanthenes against multidrug resistant human tumor cells. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 27, n. 3, p.447–449, 2017.

WANG, Y. R.; CUI, B. S.; HAN, S. W.; LI, S. New dammarane triterpenoid saponins from the leaves of *Cyclocarya paliurus*. **Journal of Asian Natural Products Research**, v. 20, n. 11, p. 1019-1027, 2018.

WANI, M.C.; HORWITZ, S.B. Nature as a remarkable chemist: A personal story of the discovery and development of Taxol. **Anticancer Drugs**, v. 25, p. 482–487, 2014.

WEI, Y.; WANG, G.; ZHANG, X.; WANG, Y.; YE, W. Studies on chemical constituents in roots of *Helicteres angustifolia*. **China J. Chin.Mater.Med.** v.36, n.1193-1197, 2011.

WHO – World Health Organization. **Antimicrobial Resistance.** Disponível em: <<https://www.who.int/health-topics/antimicrobial-resistance>>. Acesso em 26 december 2021.

WIEDEMANN, B. Two novel triterpenoids from the stemwood of *Herrania cuatrecasana*. **Phytochemistry**, v. 52, n. 2, p. 333–337, 1999.

WU, P. L.; WU, T. S.; HE, C. X.; SU, C. H.; LEE, K. H. Constituents from the Stems of *Hibiscus taiwanensis*. **Chem. Pharm. Bull.**, v. 53, n.1, p. 56-59, 2005.

WYRES, K. L.; LAM, M. M. C.; HOLT, K. E. Population genomics of *Klebsiella pneumoniae*. **Nat Rev Microbiol.**, v. 18, n. 6, p. 344-359, 2020.

XUAN, T.Y.; TAN, J.; SUN, H. H.; YANG, C.; LV, W. Y.; ZHANG, J. H.; ZHANG, K. Q.; NIE, Z. Q.; YE, Z. J.; HE, X. A.; ZHU, G. Z.; XU, K. P. Cyclocarioside O-Q, three novel seco-dammarane triterpenoid glycosides from the leaves of *Cyclocarya paliurus*. **Natural Product Research**, v. 35, n. 1, p. 167-173, 2019.

YANG, L.; WEN, K. S.; RUAN, X.; ZHAO, Y. X.; WEI, F.; WANG, Q. Response of Plant Secondary Metabolites to Environmental Factors. **Molecules**, v. 23, n. 4, p. 762, 2018.

YANG, Y. N.; LIU, Y. Y.; FENG, Z. M.; JIANG, J. S.; ZHANG, P.C. Seven new flavonoid glycosides from the roots of *Glycyrrhiza uralensis* and their biological activities. **Carbohydrate Research**, v. 485, p. 107820, 2019.

YAZICI, L.; YILMAZ, G. Investigation of Alkaloids in Opium Poppy (*Papaver somniferum* L.) Varieties and Hybrids. **Journal of Agricultural Sciences**, v. 27, n. 1, p. 62-68, 2021.

YIN, X.; LU, Y.; CHENG, Z. H.; CHEN, D. F. Anti-Complementary Components of *Helicteres angustifolia*. **Molecules**, v. 21, n.1506, 2016.

YOSHIKAWA, V, N.; DUARTE, M, C. Estudo taxonômico de Malvaceae no Parque Natural Municipal Francisco Affonso de Mello, Mogi das Cruzes, SP. **Revista Científica Universidade de Mogi das Cruzes**, v. 2, n. 2, 2017.

YUAN, H.; MA, Q.; YE, L.; PIAO, G. The Traditional Medicine and Modern Medicine from Natural Products. **Molecules**, v. 21, n. 5, p. 559, 2016.