



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

EMILLE WANNICK REINALDO DA SILVA

SESQUITERPENOS DE *Guatteria olivacea* R. E. FR. (ANNONACEAE)

JOÃO PESSOA-PB
2023

EMILLE WANNICK REINALDO DA SILVA

SESQUITERPENOS DE *Guatteria olivacea* R. E. FR. (ANNONACEAE)

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Produtos
Naturais e Sintéticos Bioativos do Centro de
Ciências da Saúde da Universidade Federal
da Paraíba, em cumprimento às exigências
para obtenção do título de mestre em
Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos.
Área de concentração: Farmacoquímica.

ORIENTADOR: Prof. Dr. Sócrates Golzio dos Santos

COORIENTADOR: Prof. Dr. Yuri Manguiera do Nascimento

**JOÃO PESSOA-PB
2023**

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

S586s Silva, Emille Wannick Reinaldo da.
Sesquiterpenos de Guatteria Olivacea R. E. FR.
(Annonaceae) / Emille Wannick Reinaldo da Silva. - João
Pessoa, 2023.
121 f. : il.

Orientação: Sócrates Golzio dos Santos.
Coorientação: Yuri Mangueira do Nascimento.
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCS.

1. Annonaceae. 2. Guatteria olivacea. 3.
Terpenoides. 4. Sesquiterpenos. I. Santos, Sócrates
Golzio dos. II. Nascimento, Yuri Mangueira do. III.
Título.

UFPB/BC

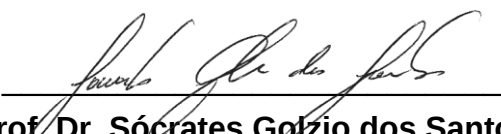
CDU 547.9(043)

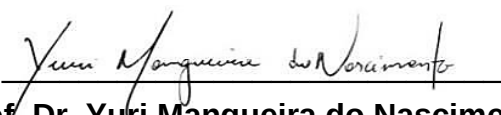
EMILLE WANNICK REINALDO DA SILVA

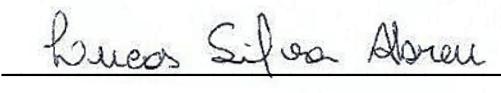
SESQUITERPENOS DE *Guatteria olivacea* R. E. FR. (ANNONACEAE)

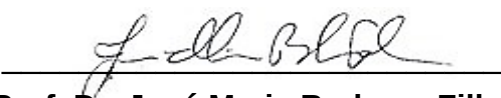
Dissertação aprovada em 05/04/2023

COMISSÃO EXAMINADORA


Prof. Dr. Sócrates Golzio dos Santos
Orientador


Prof. Dr. Yuri Manguiera do Nascimento
Coorientador


Prof. Dr. Lucas Abreu Silva
Examinador externo


Prof. Dr. José Maria Barbosa Filho
Examinador interno

*“Temos que falar sobre libertar mentes tanto quanto sobre
libertar a sociedade.”
(Angela Davis)*

AGRADECIMENTOS

À minha mãe, Regina, por todo amor e cuidado. Por toda força e por não medir esforços para me proporcionar uma educação de extrema qualidade.

Ao meu pai, Lucilo, pelos ensinamentos tão essenciais para minha evolução. Também pelo suporte, apoio e incentivo em todos os momentos.

Aos demais familiares pela preocupação e por terem torcido por minhas conquistas, em especial ao meu irmão João Lucas, pelo companheirismo; minha avó Helena, minhas primas Veridiane, Lara e Kailhayne e todas as minhas tias, mulheres de grande força.

Aos Professores Sócrates Golzio dos Santos e Yuri Manguiera, pela orientação neste projeto.

Ao Professor Josean, pelo apoio fundamental durante todo o mestrado. Por todas as sugestões, dicas e participação ativa no desenvolvimento deste trabalho.

Ao Professor Marcelo, por todas as discussões enriquecedoras sobre espectroscopia e por ser um exemplo de profissional.

Aos amigos Natanael, Mariana, Ana Rita e Gabriela pelo companheirismo nos desafios da pós-graduação. Agradeço ainda a todos os outros que fazem parte do Laboratório Multiusuário de Caracterização e Análise (LMCA), que enfrentam diariamente os desafios acadêmicos e com quem pude compartilhar momentos e conhecimento.

Aos servidores da UFPB, Marcelo, Evandro, Nonato, Gilmário e Seu Ivan; pela contribuição profissional e pelo incentivo, suporte e ajuda.

A todos os outros que contribuíram para conclusão deste projeto, direta ou indiretamente.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior — Brasil (CAPES) — Código de Financiamento 001.

A todos, muito obrigada.

RESUMO

SILVA, E. W. SESQUITERPENOS DE *Guatteria olivacea* R. E. FR (ANNONACEAE). Dissertação de mestrado, Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos – Farmacoquímica, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2023.

Cerca de 80% da população de países em desenvolvimento depende da medicina tradicional ou fitoterápica para tratar e prevenir doenças e, no Brasil, o uso de plantas medicinais é facilitado pela rica diversidade vegetal do país. As espécies da família Annonaceae possuem alto valor econômico, são utilizadas como matéria-prima de alimentos e fármacos e possuem uma gama de atividades biológicas. Sobre uma destas, a *Guatteria olivacea* encontrada principalmente no Amazonas, Acre e Pará, foram publicados estudos com identificação de alcaloides e terpenoides, com relatos de atividade antitumoral *in vitro*. A partir disto, buscou-se nesse trabalho ampliar o conhecimento sobre essa planta, mediante estudo fitoquímico de seu extrato hexânico. Para tal, o material vegetal foi coletado na cidade de Manaus, Amazonas, Brasil e submetido a processos de extração, purificação e análise dos constituintes químicos. Esses procedimentos foram realizados por métodos laboratoriais clássicos, assim como por técnicas modernas de CLAE e RMN. Portanto, a partir do extrato hexânico das folhas da planta, foi possível isolar e caracterizar as estruturas químicas de dois sesquiterpenos (alismóxido, oplodiol), uma mistura do sesquiterpeno precarabrona com uma fitoalexina (4-bis(2-fenilpropan-2-il)fenol) e um disesquiterpeno, isolados pela primeira vez em *Guatteria olivacea*. Por fim, os resultados obtidos no desenvolvimento deste trabalho contribuíram com o conhecimento químico desta espécie e da família Annonaceae.

Palavras-chave: Annonaceae; *Guatteria olivacea*; terpenoides; sesquiterpenos

ABSTRACT

SILVA, E. W. SESQUITERPENES OF *Guatteria olivacea* R. E. FR (ANNONACEAE). Master's dissertation, Postgraduate Program in Natural and Synthetic Bioactive Products - Pharmacochemistry, Health Sciences Center, Federal University of Paraíba, João Pessoa, 2023.

About 80% of the population in developing countries depends on traditional or herbal medicine to treat and prevent diseases and, in Brazil, the use of medicinal plants is facilitated by the country's rich plant diversity. Species of the Annonaceae family have a high economic value, are used as raw material for cosmetics and perfumery and have a range of biological activities. About one of them, *Guatteria olivacea* found mainly in Amazonas, Acre and Pará, studies were published identifying alkaloids and terpenoids, with reports of in vitro antitumor activity. From this, this work sought to expand the knowledge about this plant, through a phytochemical study of its hexane extract. For this, the plant material was collected in the city of Manaus, Amazonas, Brazil and given to processes of inheritance, purification and analysis of chemical constituents. These procedures were performed by classical laboratory methods as well as by modern HPLC and NMR techniques. Therefore, from the hexane extract of the leaves of the plant, it was possible to isolate and characterize the chemical structures of two sesquiterpenes (alismoxide, oplodiol), a mixture of the sesquiterpene precarabrone with a phytolexin (4-bis(2-phenylpropan-2-yl) phenol) and a disquiterpene, isolated for the first time in *Guatteria olivacea*. Finally, the results obtained in the development of this work cultivated with the chemical knowledge of this and Annonaceae family species.

Keywords: Annonaceae; *Guatteria olivacea*; terpenoids; sesquiterpenes

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E FÓRMULAS

ACN	Acetonitrila
AcOEt	Acetato de etila
APT	<i>“Attached Proton Test”</i>
CC	Cromatografia em coluna
CCDA	Cromatografia em camada delgada analítica
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
CLMP	Cromatografia líquida de média pressão
COSY	<i>“Correlation Spectroscopy”</i>
<i>d</i>	Dupleto
DAD	Detector de arranjo de díodos
DCM	Diclorometano
<i>dd</i>	Duplo dupleto
DEPT	<i>“Distortionless Enhancement by Polarization Transfer”</i>
<i>dl</i>	Dupleto largo
DMAPP	Dimetilalil difosfato
EH	Extrato hexânico
GGPP	Geranilgeranil difosfato
GPP	Geranil difosfato
Hex	Hexano
HMBC	<i>“Heteronuclear Multiple Bond Correlation”</i>
HSQC	<i>“Heteronuclear Single Quantum Correlation”</i>
Hz	Hertz
IPP	Isopentenil difosfato
<i>J</i>	Constante de acoplamento
<i>m</i>	Múltiplo
MEP	2-C-metileritritol-4-fosfato
mg	Miligrama
MHz	Megahertz
MVA	Ácido mevalônico

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E FÓRMULAS

NOESY	“Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy”
OMS	Organização Mundial da Saúde
ppm	Partes por milhão
<i>q</i>	Quarteto
RMN	Ressonância magnética nuclear
RMN ¹³C	Ressonância magnética nuclear de carbono treze
RMN ¹H	Ressonância magnética nuclear de hidrogênio
<i>s</i>	Simpleto
<i>s/</i>	Simpleto largo
<i>t</i>	Tripleto
UV	Ultravioleta
δ	Deslocamento químico
μm	Micromêtro

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Distribuição geográfica da família Annonaceae.....	24
Figura 2	<i>Annona cherimola</i> Mill. (“Cherimólia”), <i>Annona muricata</i> L. (graviola) e <i>Annona squamosa</i> L. (“pinha”)	25
Figura 3	Estrutura química de alcaloides comuns em Annonaceae..	26
Figura 4	Diterpenos encontrados em espécies de Annonaceae.....	26
Figura 5	<i>Guatteria oregou</i> , <i>Guatteria guianensis</i> , <i>Guatteria modesta</i>	28
Figura 6	Alcaloides bioativos do gênero <i>Guatteria</i> Ruiz & Pav.....	35
Figura 7	<i>Guatteria olivacea</i> R. E. Fr.....	36
Figura 8	Distribuição geográfica da espécie <i>Guatteria olivacea</i>	36
Figura 9	Compostos identificados em óleo essencial de <i>G. olivacea</i>	37
Figura 10	Condensação cabeça-cauda de unidades de isopreno.....	38
Figura 11	Sesquiterpenos do gênero <i>Annona</i>	42
Figura 12	Sesquiterpenos do gênero <i>Xylopia</i>	43
Figura 13	Sesquiterpenos do gênero <i>Guatteria</i>	44
Figura 14	Cromatograma da Fr. 25 obtido por CLAE preparativa.....	54
Figura 15	Estrutura de SES-01 (Alismóxido).....	56
Figura 16	Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de SES-01.....	58
Figura 17	Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de SES-01.....	58
Figura 18	Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de SES-01.....	59

LISTA DE FIGURAS

Figura 19	Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de SES-01.....	59
Figura 20	Espectro de RMN de ^{13}C - BB (100 MHz, CDCl_3) de SES-01.....	60
Figura 21	Expansão do espectro de RMN de ^{13}C - BB (100 MHz, CDCl_3) de SES-01.....	60
Figura 22	Expansão do espectro de RMN de ^{13}C - BB (100 MHz, CDCl_3) de SES-01.....	61
Figura 23	Expansão do espectro de RMN de ^{13}C - BB (100 MHz, CDCl_3) de SES-01.....	61
Figura 24	Expansão do espectro de RMN de ^{13}C - BB (100 MHz, CDCl_3) de SES-01.....	62
Figura 25	Espectro de RMN de ^{13}C – dept135 (100 MHz, CDCl_3) de SES-01.....	62
Figura 26	Expansão do espectro de RMN de ^{13}C – dept135 (100 MHz, CDCl_3) de SES-01.....	63
Figura 27	Expansão do espectro de RMN de ^{13}C – dept135 (100 MHz, CDCl_3) de SES-01.....	63
Figura 28	Expansão do espectro de RMN de ^{13}C – dept135 (100 MHz, CDCl_3) de SES-01.....	64
Figura 29	Espectro de RMN de ^1H - ^{13}C – ^1J HSQC (400x100 MHz, CDCl_3) de SES-01.....	64
Figura 30	Expansão do espectro de RMN de ^1H - ^{13}C – ^1J HSQC (400x100 MHz, CDCl_3) de SES-01.....	65
Figura 31	Expansão do espectro de RMN de ^1H - ^{13}C – ^1J HSQC (400x100 MHz, CDCl_3) de SES-01.....	65
Figura 32	Espectro de RMN de ^1H - ^{13}C – $^2\text{-}^3\text{J}$ HMBC (400x100 MHz, CDCl_3) de SES-01.....	66

LISTA DE FIGURAS

Figura 33	Expansão do espectro de RMN de ^1H - ^{13}C – $^2\text{-}^3\text{J}$ HMBC (400x100 MHz, CDCl_3) de SES-01.....	66
Figura 34	Expansão do espectro de RMN de ^1H - ^{13}C – $^2\text{-}^3\text{J}$ HMBC (400x100 MHz, CDCl_3) de SES-01.....	67
Figura 35	Expansão do espectro de RMN de ^1H - ^{13}C – $^2\text{-}^3\text{J}$ HMBC (400x100 MHz, CDCl_3) de SES-01.....	67
Figura 36	Espectro de RMN de NOESY (400 MHz, CDCl_3) de SES-01.....	68
Figura 37	Expansão do espectro de RMN de NOESY (400 MHz, CDCl_3) de SES-01.....	68
Figura 38	Expansão do espectro de RMN de NOESY (400 MHz, CDCl_3) de SES-01.....	69
Figura 39	Monômeros formadores de SES-02.....	70
Figura 40	Estrutura planar de SES-02 e da Vieloplanina A.....	71
Figura 41	Correlações do NOESY de SES-02.....	72
Figura 42	Estrutura de SES-02.....	72
Figura 43	Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de SES-02.....	74
Figura 44	Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de SES-02.....	74
Figura 45	Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de SES-02.....	75
Figura 46	Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de SES-02.....	75

LISTA DE FIGURAS

Figura 47	Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de SES-02.....	76
Figura 48	Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de SES-02.....	76
Figura 49	Espectro de RMN de ^{13}C - BB (100 MHz, CDCl_3) de SES-02.....	77
Figura 50	Expansão do espectro de RMN de ^{13}C - BB (100 MHz, CDCl_3) de SES-02.....	77
Figura 51	Expansão do espectro de RMN de ^{13}C - BB (100 MHz, CDCl_3) de SES-02.....	78
Figura 52	Expansão do espectro de RMN de ^{13}C - BB (100 MHz, CDCl_3) de SES-02	78
Figura 53	Expansão do espectro de RMN de ^{13}C - BB (100 MHz, CDCl_3) de SES-02.....	79
Figura 54	Expansão do espectro de RMN de ^{13}C - BB (100 MHz, CDCl_3) de SES-02.....	79
Figura 55	Espectro de RMN de ^{13}C – dept135 (100 MHz, CDCl_3) de SES-02.....	80
Figura 56	Expansão do espectro de RMN de ^{13}C – dept135 (100 MHz, CDCl_3) de SES-02.....	80
Figura 57	Expansão do espectro de RMN de ^{13}C – dept135 (100 MHz, CDCl_3) de SES-02.....	81
Figura 58	Expansão do espectro de RMN de ^{13}C – dept135 (100 MHz, CDCl_3) de SES-02.....	81
Figura 59	Espectro de RMN de ^1H - ^{13}C – ^1J HSQC (400x100 MHz, CDCl_3) de SES-02.....	82
Figura 60	Expansão do espectro de RMN de ^1H - ^{13}C – ^1J HSQC (400x100 MHz, CDCl_3) de SES-02.....	82

LISTA DE FIGURAS

Figura 61	Expansão do espectro de RMN de ^1H - ^{13}C – ^1J HSQC (400x100 MHz, CDCl_3) de SES-02.....	83
Figura 62	Expansão do espectro de RMN de ^1H - ^{13}C – ^1J HSQC (400x100 MHz, CDCl_3) de SES-02.....	83
Figura 63	Espectro de RMN de ^1H - ^{13}C – ^{2-3}J HMBC (400x100 MHz, CDCl_3) de SES-02.....	84
Figura 64	Expansão do espectro de RMN de ^1H - ^{13}C – ^{2-3}J HMBC (400x100 MHz, CDCl_3) de SES-02.....	84
Figura 65	Expansão do espectro de RMN de ^1H - ^{13}C – ^{2-3}J HMBC (400x100 MHz, CDCl_3) de SES-02.....	85
Figura 66	Expansão do espectro de RMN de ^1H - ^{13}C – ^{2-3}J HMBC (400x100 MHz, CDCl_3) de SES-02.....	85
Figura 67	Expansão do espectro de RMN de ^1H - ^{13}C – ^{2-3}J HMBC (400x100 MHz, CDCl_3) de SES-02.....	86
Figura 68	Espectro de RMN de NOESY (400 MHz, CDCl_3) de SES-02.....	86
Figura 69	Expansão do espectro de RMN de NOESY (400 MHz, CDCl_3) de SES-02.....	87
Figura 70	Expansão do espectro de RMN de NOESY (400 MHz, CDCl_3) de SES-02.....	87
Figura 71	Expansão do espectro de RMN de NOESY (400 MHz, CDCl_3) de SES-02.....	88
Figura 72	Expansão do espectro de RMN de NOESY (400 MHz, CDCl_3) de SES-02.....	88
Figura 73	Expansão do espectro de RMN de NOESY (400 MHz, CDCl_3) de SES-02.....	89

LISTA DE FIGURAS

Figura 74	Expansão do espectro de RMN de NOESY (400 MHz, CDCl ₃) de SES-02.....	89
Figura 75	Estrutura de SES-03 (Oplodiol).....	90
Figura 76	Espectro de RMN de ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) de SES-03.....	92
Figura 77	Expansão do espectro de RMN de ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) de SES-03.....	92
Figura 78	Expansão do espectro de RMN de ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) de SES-03.....	93
Figura 79	Expansão do espectro de RMN de ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) de SES-03.....	93
Figura 80	Espectro de RMN de ¹³ C - BB (125 MHz, CDCl ₃) de SES-03.....	94
Figura 81	Expansão do espectro de RMN de ¹³ C - BB (125 MHz, CDCl ₃) de SES-03.....	94
Figura 82	Expansão do espectro de RMN de ¹³ C - BB (125 MHz, CDCl ₃) de SES-03.....	95
Figura 83	Espectro de RMN de ¹³ C – dept135 (125 MHz, CDCl ₃) de SES-03.....	95
Figura 84	Expansão do espectro de RMN de ¹³ C – dept135 (125 MHz, CDCl ₃) de SES-03.....	96
Figura 85	Expansão do espectro de RMN de ¹³ C – dept135 (125 MHz, CDCl ₃) de SES-03.....	96
Figura 86	Estruturas de SESM-04a e de SESM-04b.....	100

LISTA DE FIGURAS

Figura 87	Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de SESM-04.....	102
Figura 88	Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de SESM-04.....	102
Figura 89	Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de SESM-04.....	103
Figura 90	Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de SESM-04.....	103
Figura 91	Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de SESM-04.....	104
Figura 92	Espectro de RMN de ^{13}C - BB (100 MHz, CDCl_3) de SESM-04.....	104
Figura 93	Expansão do espectro de RMN de ^{13}C - BB (100 MHz, CDCl_3) de SESM-04.....	105
Figura 94	Expansão do espectro de RMN de ^{13}C - BB (100 MHz, CDCl_3) de SESM-04.....	105
Figura 95	Expansão do espectro de RMN de ^{13}C - BB (100 MHz, CDCl_3) de SESM-04.....	106
Figura 96	Espectro de RMN de ^{13}C – dept135 (100 MHz, CDCl_3) de SESM-04.....	106
Figura 97	Expansão do espectro de RMN de ^{13}C – dept135 (100 MHz, CDCl_3) de SESM-04.....	107
Figura 98	Expansão do espectro de RMN de ^{13}C – dept135 (100 MHz, CDCl_3) de SESM-04.....	107
Figura 99	Espectro de RMN de ^1H - ^{13}C – ^1J HSQC (400x100 MHz, CDCl_3) de SESM-04.....	108

LISTA DE FIGURAS

Figura 100	Expansão do espectro de RMN de ^1H - ^{13}C – ^1J HSQC (400x100 MHz, CDCl_3) de SESM-04.....	108
Figura 101	Expansão do espectro de RMN de ^1H - ^{13}C – ^1J HSQC (400x100 MHz, CDCl_3) de SESM-04.....	109
Figura 102	Espectro de RMN de ^1H - ^{13}C – ^{2-3}J HMBC (400x100 MHz, CDCl_3) de SESM-04.....	109
Figura 103	Expansão do espectro de RMN de ^1H - ^{13}C – ^{2-3}J HMBC (400x100 MHz, CDCl_3) de SESM-04.....	110
Figura 104	Expansão do espectro de RMN de ^1H - ^{13}C – ^{2-3}J HMBC (400x100 MHz, CDCl_3) de SESM-04.....	110
Figura 105	Expansão do espectro de RMN de ^1H - ^{13}C – ^{2-3}J HMBC (400x100 MHz, CDCl_3) de SESM-04.....	111
Figura 106	Expansão do espectro de RMN de ^1H - ^{13}C – ^{2-3}J HMBC (400x100 MHz, CDCl_3) de SESM-04.....	111
Figura 107	Expansão do espectro de RMN de ^1H - ^{13}C – ^{2-3}J HMBC (400x100 MHz, CDCl_3) de SESM-04.....	112
Figura 108	Constituintes isolados do extrato hexânico de <i>Guatteria olivacea</i>	113

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1	Rota do mevalonato (MAV) e do fosfato de metileritritol (MEP).....	39
Esquema 2	Ciclização do FPP e formação do germacreno A	41
Esquema 3	Obtenção e fracionamento do extrato hexânico das folhas de <i>G. olivacea</i>	50
Esquema 4	Isolamento dos constituintes químicos da Fr-25.....	52
Esquema 5	Isolamento dos constituintes químicos da Fr-06.....	53

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Constituintes químicos encontrados em folhas e cascas de espécies de <i>Guatteria</i>	29
Tabela 2	Dados do fracionamento do EH de <i>G. olivacea</i>	51
Tabela 3	Dados do fracionamento da Fr.6 do EH de <i>G. olivacea</i>	53
Tabela 4	Deslocamentos químicos de RMN ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) em CDCl_3 de SES-01.....	56
Tabela 5	Deslocamentos químicos de RMN ^{13}C em CDCl_3 de SES-01, alismol e alismóxido	57
Tabela 6	Deslocamentos químicos de RMN ^{13}C em CDCl_3 de SES-02 e Vieloplanina A.....	73
Tabela 7	Deslocamentos químicos de RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) em CDCl_3 de SES-03 comparados com a literatura	91
Tabela 8	Deslocamentos químicos de RMN ^1H (400 MHz) e ^{13}C em CDCl_3 (100 MHz) de SESM-04a comparados com os deslocamentos de RMN ^1H da literatura.....	100
Tabela 9	Deslocamentos químicos de RMN ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) em CDCl_3 de SESM-04b comparados com a literatura.....	101

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	22
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	24
2.1. Considerações sobre a família Annonaceae	24
2.2. Considerações sobre o gênero <i>Guatteria</i> Ruiz & Pav.....	27
2.3. <i>Guatteria olivacea</i> R. E. Fr.....	35
2.4. Considerações sobre os terpenoides	37
2.4.1. Sesquiterpenos.....	40
3. OBJETIVOS.....	45
3.1. Objetivo geral.....	45
3.2. Objetivos específicos.....	42
4. MATERIAIS E MÉTODOS	46
4.1. Equipamentos, materiais e procedimentos gerais	46
4.2. Equipamentos e procedimentos analíticos	47
4.2.1. Ressonância Magnética Nuclear	47
4.2.2. Material vegetal	48
4.2.3. Obtenção e fracionamento do extrato hexânico	48
4.2.4. Isolamento dos constituintes químicos da Fr-25	51
4.2.5. Isolamento dos constituintes químicos da Fr-06	52
5. RESULTADOS.....	54
5.1. Determinação estrutural de SES-01.....	54
5.2. Determinação estrutural de SES-02.....	70
5.3. Determinação estrutural de SES-03.....	70
5.4. Determinação estrutural de SESM-04.....	97
6. CONCLUSÃO.....	113
REFERÊNCIAS.....	114

1. INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais, seus extratos e princípios ativos no tratamento de doenças é uma prática ancestral da história humana. Nas últimas décadas, o número de pesquisas que buscam aproveitar esse potencial tem crescido exponencialmente, impulsionado pelos avanços da biologia molecular e pelo uso de novas técnicas de identificação, extração e purificação de compostos. Uma parcela significativa de medicamentos aprovados pelo FDA (Food and Drug Administration), por exemplo, tem origem em fontes naturais: das 1881 micromoléculas aprovadas como fármacos pelo FDA, entre os anos de 1981 e 2019, cerca de 53% possuem uma profunda correlação com as estruturas encontradas nos produtos naturais ou são derivados diretos de alguma fonte biológica (NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M., 2020; ROCHA, L. P. B. et al., 2021).

No Brasil, o uso de plantas medicinais é facilitado pela rica diversidade vegetal do país e pelo baixo custo associado ao uso de fitoterápicos. Esses fatores têm chamado a atenção dos programas de saúde e têm tornado o uso da fitoterapia uma opção atraente. Existem no Brasil políticas nacionais que incentivam o uso de fitoterápicos, elas incluem a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMF) e a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC). A implementação de políticas nacionais de apoio ao uso de fitoterápicos é um passo positivo, mas também é importante garantir que os medicamentos fitoterápicos sejam obtidos de fontes confiáveis e usados sob a orientação de profissionais de saúde qualificados (TESSER, C. D.; DALLEGRAVE, D., 2020; HABIMORAD, P. H. L. et al; IANCK, M. A. et al., 2020).

A utilização de espécies vegetais para fins terapêuticos é sustentada pela grande diversidade de compostos químicos presentes nas plantas. As espécies vegetais sintetizam e armazenam uma ampla gama de metabólitos primários e secundários para manter sua homeostase interna e combater estresses bióticos e abióticos. Esses metabólitos são responsáveis por seus efeitos terapêuticos, alelopáticos e pesticidas. Por meio do estudo destes compostos vegetais, pesquisadores podem identificar e isolar novas substâncias com propriedades terapêuticas, que podem ser posteriormente transformados em medicamentos ou agentes de proteção de cultivos (PILON, A. C. et al., 2020; SALEHI, B. et al., 2018).

No estudo fitoquímico são empregadas técnicas extrativas e análises espectroscópicas e espectrométricas que auxiliam na pesquisa de constituintes químicos de forma qualitativa e/ou quantitativa. Usando essas informações, os pesquisadores podem conduzir seus esforços para purificação, isolamento e caracterização de metabólitos secundários de maneira direcionada. Ao identificar e caracterizar esses metabólitos pode-se obter uma melhor compreensão de suas possíveis aplicações na medicina, agricultura e outros campos (PILON, A. C. et al., 2020)

A família Annonaceae, por exemplo, é conhecida por suas propriedades farmacológicas e contém diversas plantas que são utilizadas na medicina tradicional. Essas propriedades são atribuídas à presença de constituintes químicos de diferentes classes, como alcaloides, acetogeninas e flavonoides, que são amplamente descritos na literatura por possuírem propriedades antitumorais, antimicrobianas, antivirais, anti-inflamatórias e analgésicas (XAVIER, M. N. et al., 2016; SALEHI, B. et al, 2018; MENEZES, R. P. B. et al., 2021).

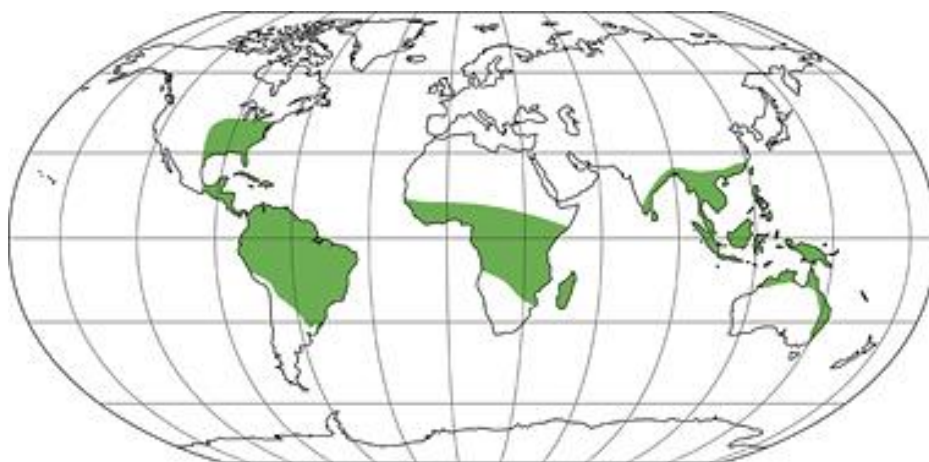
Portanto, em razão da importância dos estudos fitoquímicos e da família Annonaceae como produtora de metabólitos secundários de ampla variedade estrutural, o presente trabalho visa explorar a diversidade química desta família, identificando novos compostos com potencial terapêutico e contribuindo com o estudo quimiotaxonômico da mesma.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. Considerações sobre a família Annonaceae

Annonaceae é uma família pantropical (figura 1, pág. 24) de árvores com flores, arbustos e lianas, crescendo predominantemente em clima tropical, florestas nativas e subtropicais de baixa altitude. A família tem sido listada entre as mais diversificadas da floresta tropical devido à sua heterogeneidade e abundância: apresenta cerca de 108 gêneros e cerca de 2400 espécies, dos quais 31 gêneros e 387 espécies ocorrem no Brasil. A Floresta Atlântica, bastante ameaçada e considerada um centro de grande biodiversidade, é o segundo domínio do país mais rico em espécies de Annonaceae, com cerca de 97 espécies, sendo a Amazônia o primeiro, onde 269 táxons estão presentes (FILARDI, F. L., 2018; COUVREUR, T. L. P. et al., 2011; LOBÃO, A. Q. et al., 2020; MASSONI, J.; FOREST, F.; SAUQUET, H., 2014).

Figura 1 - Distribuição geográfica da família Annonaceae



Fonte: http://www.thecompositaehut.com/www_tch/images/webcurso_spv/mapas/annonaceae.jpg
<Acesso em 19 de janeiro de 2023>

Algumas espécies de Annonaceae possuem alto valor econômico no mercado internacional de frutas frescas, como *Annona cherimola* Mill. (“Cherimólia”), *Annona muricata* L. (graviola) e *Annona squamosa* L. (“pinha”) (figura 2, pág. 25). As espécies conhecidas da família também são utilizadas como matéria-prima de cosméticos e perfumaria, antimicrobianos, inseticidas e na medicina natural, como antimalárica.

Além de possuir atividade analgésica, antipirética, anti úlcera, anti-hipertensiva, hipoglicemiante e atuar na cicatrização de feridas. Sesquiterpenos e diterpenos isolados em espécies de Annonaceae também têm mostrado atividade anti-inflamatória promissora, fazendo desta um banco de potenciais candidatos a medicamentos anti-inflamatórios (ANSANTE, T. F. et al., 2015; ATTIQ, A.; JALIL, J.; HUSAIN, K., 2017).

Figura 2 - *Annona cherimola* Mill. ("Cherimólia"), *Annona muricata* L. (graviola) e *Annona squamosa* L. ("pinha")

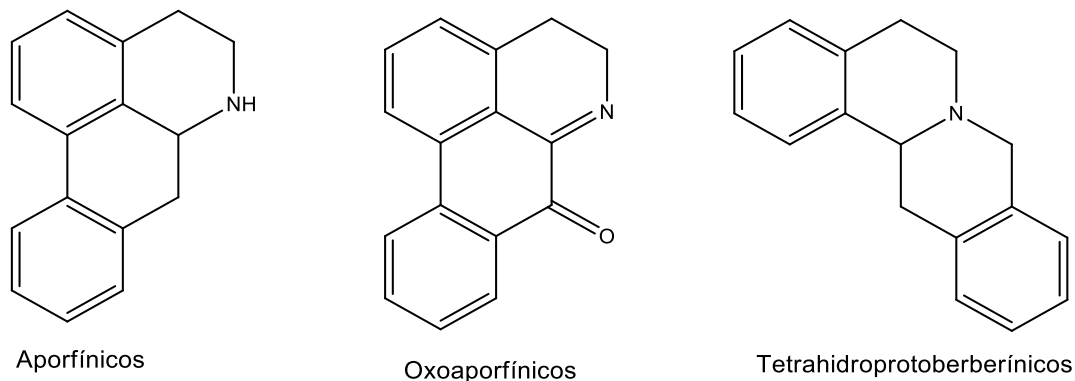


Fontes: <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:927235-1> <Acesso em 19 de janeiro de 2023>

Nesta família, há uma grande variedade de compostos químicos. Entre as classes de metabólitos encontrados estão alcaloides, terpenos, acetogeninas e esteroides. Acetogeninas, uma classe de metabólitos (C35/C37) derivados de ácidos graxos de cadeia longa (C32/C34) da via dos policetídeos, representam um grupo muito proeminente entre constituintes das annonaceas. Exibindo uma atividade antitumoral impressionante, no entanto, apresentam toxicidade severa, especialmente neurotoxicidade. (LEMOS, E. E. P., 2014; FRAUSIN, G. et al., 2014).

Outro grupo característico que recebeu grande interesse no desenvolvimento de drogas são os alcaloides aromáticos policíclicos, a maioria dos quais são derivados biossinteticamente de precursores aporfinoídeos (figura 3, pág. 26) (BITENCOURT, H. R. et al., 2020).

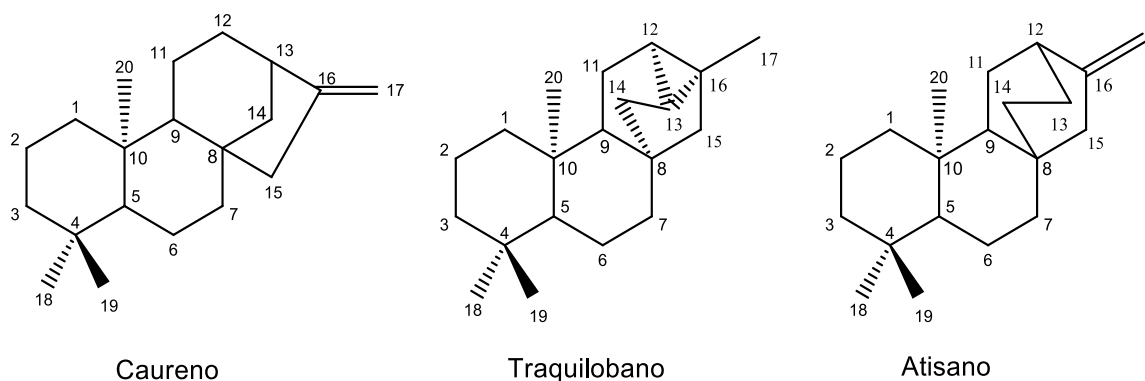
Figura 3 - Estrutura química de alcaloides comuns em Annonaceae



Fonte: Adaptado de BITENCOURT, H. R. et al., 2020

Os terpenos, também são comuns em Annonaceae, e ocorrem em todas as subclasses (mono-, di-, sesqui- e triterpenos), sendo os diterpenos os mais abundantes. Os diterpenos mais frequentes são caureno, traquilobano e atisano (figura 4, pág. 26). Alguns gêneros são caracterizados por produzirem metabólitos específicos em maior quantidade, como por exemplo, as acetogeninas, alcaloides e flavonoides presentes em *Annona* e diterpenos no gênero *Xylopia* (BARBOSA, L. T. C.; VEGA, M. R. G., 2017; MENEZES, R. P. B. et al., 2021; NESKE, A. et al., 2020).

Figura 4 - Diterpenos encontrados em espécies de Annonaceae



Fonte: ALEXANDRE, F. S. O., 2017

Portanto, devido ao acervo de substâncias ativas presentes em espécies de Annonaceae, estudos farmacológicos acerca destas têm aumentado. Foram então observados, a partir de ensaios biológicos, resultados promissores relacionados às atividades leishmanicida, tripanocida, antiviral, antimicrobiana, citotóxica e antioxidante (BRÍGIDO, H. P. C. et al., 2020; KAMDEM, M. H. K. et al, 2022; OKPEKON, T. A. et al., 2021; RODRIGUES, A. M. et al., 2021; SOUZA, C. A. S. de, 2020; TRINDADE, T. M. L. S.; de CARVALHO JUNIOR, A. R.; FERREIRA, R. O., 2021).

2.2. Considerações sobre o gênero *Guatteria* Ruiz & Pav

Um dos maiores gêneros pertencentes à família Annonaceae, é o gênero *Guatteria* Ruiz & Pav. Este é um gênero que apresenta cerca de 307 espécies que são amplamente distribuídas pela Mesoamérica, Caribe e América do Sul, com grande diversidade na Amazônia. As espécies de *Guatteria* são frequentemente encontradas em florestas e possuem hábito predominantemente arbóreo, existindo apenas algumas espécies lianascentes e nenhuma herbácea. No Brasil, 88 espécies são descritas das quais 47 são endêmicas. A maioria das espécies é conhecida popularmente como “envireiras” devido à presença de fibras longas e duras na casca (MAAS, P. J. M. et al., 2015; MAAS, P. J. M. et al., 2019; LI, Z. et al., 2017; LOBÃO, A. Q. et al., 2012).

Espécies deste gênero são conhecidas há muito tempo por suas fragrâncias aromáticas e suas propriedades medicinais. Foram relatados, por exemplo, o uso de sementes de *Guatteria ouregou* (figura 5, pág. 28), no tratamento de dispepsia, dor estomacal e cólica, no norte do Brasil; assim como de cascas de *Guatteria guianensis* (figura 5, pág. 28) no tratamento de doenças genito-urinárias e como febrífugas, na Guiana Francesa; além do uso de cascas de *Guatteria modesta* (figura 5, pág. 28) como contraceptivos, no Peru. As espécies do *Guatteria* são utilizadas também como antiparasitárias (*G. amplifoliam* e *G. foliosa*), vermífugas (*G. boliviana*) e inseticidas (*G. foliosa*) (PAREDES, A., et al., 2001; MAHIOU, V. et al., 2000).

Figura 5 - *Guatteria oregou*, *Guatteria guianensis*, *Guatteria modesta*



Fonte: <https://plantidtools.fieldmuseum.org/pt/rrc/catalogue/3118135> <Acesso em 02 de fevereiro de 2023>

Estudos farmacológicos têm revelado que essas importantes propriedades estão associadas aos constituintes químicos presentes nas espécies de *Guatteria*. O gênero possui, em sua composição química, alcaloides isoquinolínicos e aporfínicos, lactonas sesquiterpênicas com esqueleto guaianolídeo, além de monoterpenos e sesquiterpenos que compõem os óleos essenciais de suas espécies, com prevalência deste último (tabela 1, pág. 29) (ARAÚJO, M. S. et al., 2020; COSTA, E. V. et al., 2022; COSTA, E. V. et al., 2018; MAIA, J. G. S. et al., 2005; MEIRA, C. S. et al., 2017; SANTOS, A. R. et al., 2017; SIQUEIRA, C. A. T. et al., 2015).

Tabela 1 - Constituintes químicos encontrados em folhas e cascas de espécies de *Guatteria*

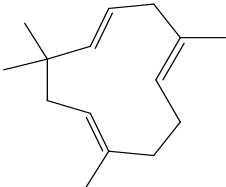
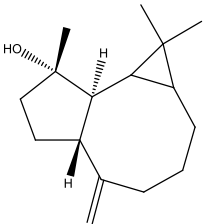
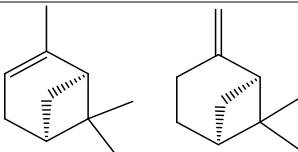
	Metabólitos secundários de <i>Guatteria</i>	Espécie	Fonte
Folhas	 Sesquiterpenos (humuleno)	<i>Guatteria poeppigiana</i>	MAIA, J. G. S. et al., 2005
Folhas	 Sesquiterpenos espatulenol)	<i>Guatteria poeppigiana</i>	MAIA, J. G. S. et al., 2005
Folhas	 Monoterpenos (α e β-pineno)	<i>Guatteria juruensis</i>	MAIA, J. G. S. et al., 2005

Tabela 1 (Cont.) - Constituintes químicos encontrados em folhas e cascas de espécies de *Guatteria*

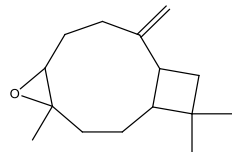
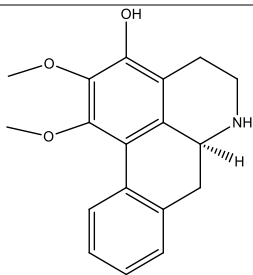
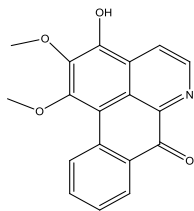
	Metabólitos secundários de <i>Guatteria</i>	Espécie	Fonte
Folhas	 Óxido de cariofileno (sesquiterpenos)	<i>Guatteria microcalyx</i>	MAIA, J. G. S. et al., 2005
Folhas	 3-hidroxinornuciferina (alcaloide aporfínico)	<i>Guatteria latifolia</i>	SANTOS, A. R. et al., 2017
Folhas	 Isomoschatolina (alcaloide oxoaporfínico)	<i>Guatteria latifolia</i>	SANTOS, A. R. et al., 2017

Tabela 1 (Cont.) - Constituintes químicos encontrados em folhas e cascas de espécies de *Guatteria*

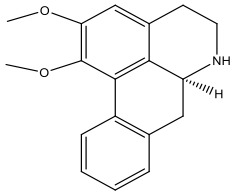
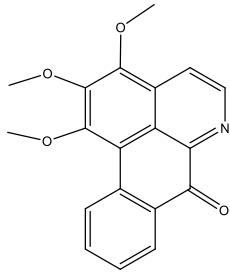
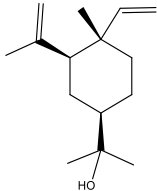
	Metabólitos secundos de <i>Guatteria</i>	Espécie	Fonte
Folhas	 Nornuciferina (alcaloide aporfínico)	<i>Guatteria sellowiana</i>	SANTOS, A. R. et al., 2017
Folhas	 O-metil moscatolina (alcaloide oxoaporfínico)	<i>Guatteria sellowiana</i>	SANTOS, A. R. et al., 2017
Folhas	 Elemol (monoterpeno)	<i>Guatteria friesiana</i>	MEIRA, C. S. et al., 2017

Tabela 1 (Cont.) - Constituintes químicos encontrados em folhas e cascas de espécies de *Guatteria*

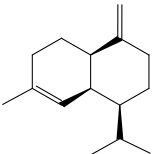
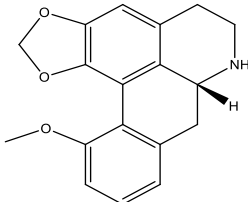
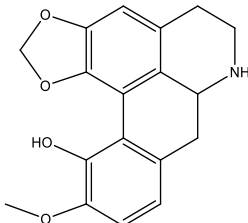
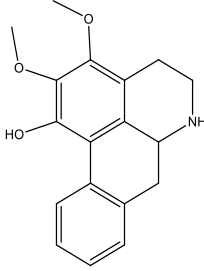
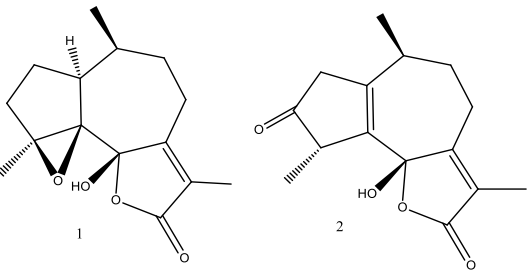
	Metabólitos secundários de <i>Guatteria</i>	Espécie	Fonte
Folhas	 γ-amorfenos (sesquiterpeno)	<i>Guatteria pogonopus</i>	MEIRA, C. S. et al., 2017
Cascas do caule	 Puterina (alcaloide aporfínico)	<i>Guatteria pogonopus</i>	SANTOS, M. D. F. C. et al., 2015
Cascas do caule	 Launobina (alcaloide aporfínico)	<i>Guatteria pogonopus</i>	SANTOS, M. D. F. C. et al., 2015

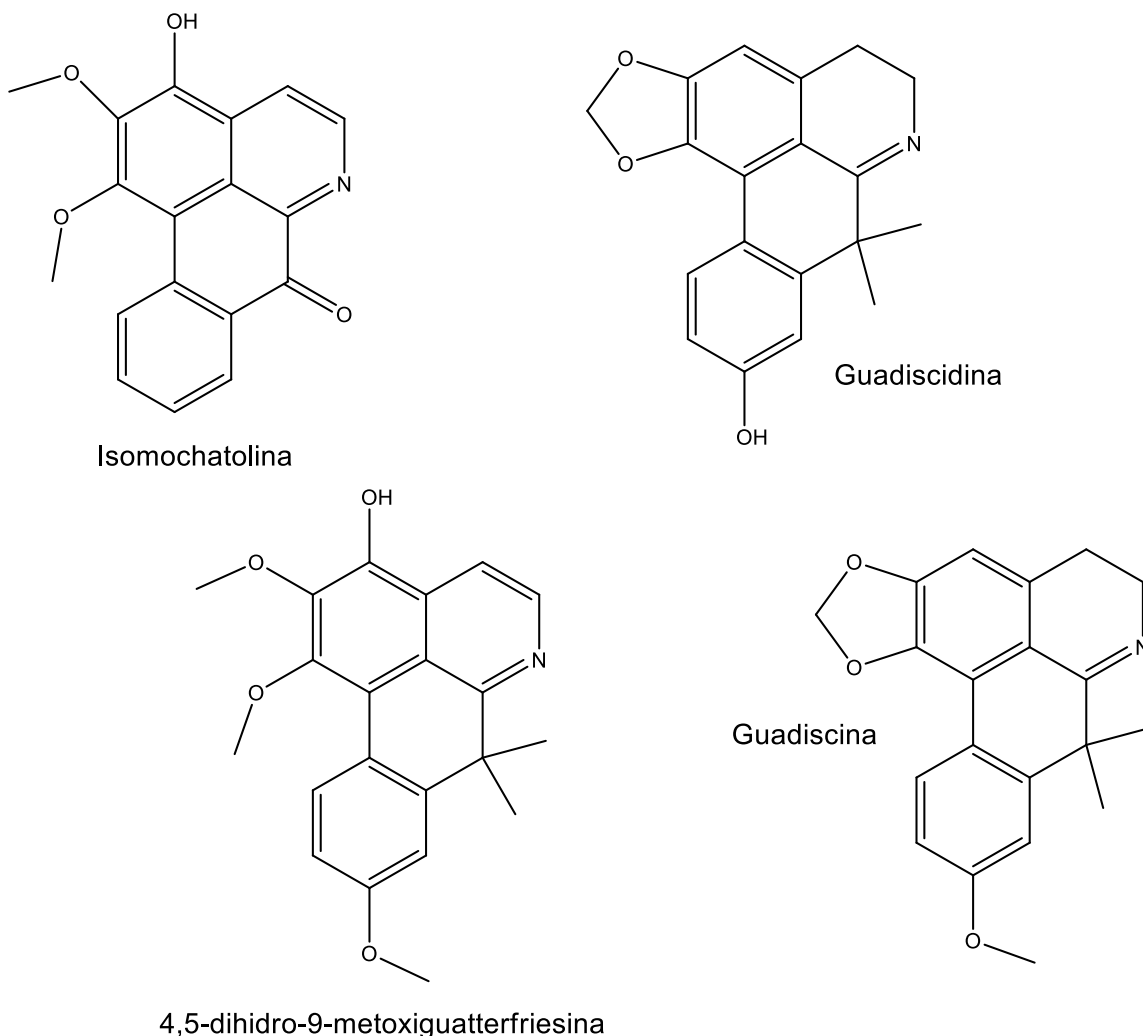
Tabela 1 (Cont.) - Constituintes químicos encontrados em folhas e cascas de espécies de *Guatteria*

	Metabólitos secundários de <i>Guatteria</i>	Espécie	Fonte
Cascas do caule	 Isopilina (alcaloide aporfínico)	<i>Guatteria pogonopus</i>	SANTOS, M. D. F. C. et al., 2015
Cascas do caule	 Guatterfriesol A (1) e C (2) (Lactonas sesquiterpênicas)	<i>Guatteria friesiana</i>	COSTA, E. V. et al., 2018

Investigações químicas e farmacológicas em algumas espécies do gênero revelaram a presença de compostos que exibiram citotoxicidade contra linhagens de células tumorais humanas e atividade antimicrobiana. Resultados obtidos por SOUZA, D. P. (2022) revelaram que o tratamento com o óleo essencial de *Guatteria citriodora* foi capaz de suprimir a germinação de conídios de *A. alternata*, induzir a liberação de marcadores celulares específicos (por exemplo, ácidos nucleicos e proteínas) e alterar a morfologia dos conídios, causando danos ao sistema de membranas celulares. O que torna o óleo essencial desta espécie um potencial candidato a antifúngico. O alcaloide Isomoschatolina (figura 6, pág. 35), de *G. blepharophylla* mostrou atividade antifúngica significativa, contra *C. albicans*. Óleos essenciais extraídos de *G. australis*, *G. ferruginea*, *G. latifolia* e *G. sellowiana* também foram analisados e todos mostraram forte atividade antibacteriana contra cepas de *Rhodococcus equi*. Todos os óleos continham os sesquiterpenos oxigenados espatulenol (tabela 1, pág. 29) e óxido de cariofileno (figura 9, pág. 37) como constituintes predominantes (COSTA, E. V. et al., 2011; SANTOS, A. R. et al., 2017).

Além destes, estudos de docking molecular associados a ensaios *in vitro* realizados por BRANCHES, A. D. S. et al. (2019) mostraram que o alcaloide 4,5-dihidro-9-metoxiguatterfriesina (figura 6, pág. 35), isolado de *Guatteria friesiana* possui atividade antitumoral expressiva contra células de carcinoma hepatocelular humano. Os alcaloides guadiscina e guadiscidina (*Guatteria friesiana*) (figura 6, pág. 35), também demonstraram potencial antitumoral contra essa linhagem celular. Em outro ensaio de citotoxicidade *in vitro*, desta vez com *G. megalophylla*, observou-se que o tratamento com OE causou aumento da externalização de fosfatidilserina e fragmentação do DNA sem aumento de ROS em células de leucemia promielocítica humana (COSTA, R. G. et al., 2020; COSTA, R. G. et al., 2021).

Figura 6 - Alcaloides bioativos do gênero *Guatteria* Ruiz & Pav.



Fonte: Autora

2.3. *Guatteria olivacea* R. E. Fr

Popularmente conhecida como “envira-bobó”, “envira-fofa”, “envireira”, “embira”, “embira-branca”, “embira-preta”, “envira-branca” e “envira-preta”, *Guatteria olivacea* R. E. Fr. (sinônimo *Guatteria punctata* (Aubl.) R. A. Howard) (figura 8, pág. 36) é encontrada principalmente no Amazonas, Acre e Pará (figura 9, pág. 37). É facilmente reconhecida por suas folhas que são pretas a marrom-escuras quando secas. Trata-se de uma árvore de 10–27 m de altura e 20–32 cm de diâmetro, com casca espessa e esverdeada. Sua madeira é amplamente utilizada na construção de móveis e utensílios domésticos decorativos, brinquedos, lençóis, caixas e engradados. No Suriname, é utilizada como fruto

comestível, e suas folhas em banhos de ervas (MAAS, P. J. M. et al., 2007; MAAS, P. J. M. et al, 2015).

Figura 7 - *Guatteria olivacea* R. E. Fr



Fonte: ARAÚJO, M.S. & COSTA, E.V. 2017

Figura 8 - Distribuição geográfica da espécie *Guatteria olivacea*

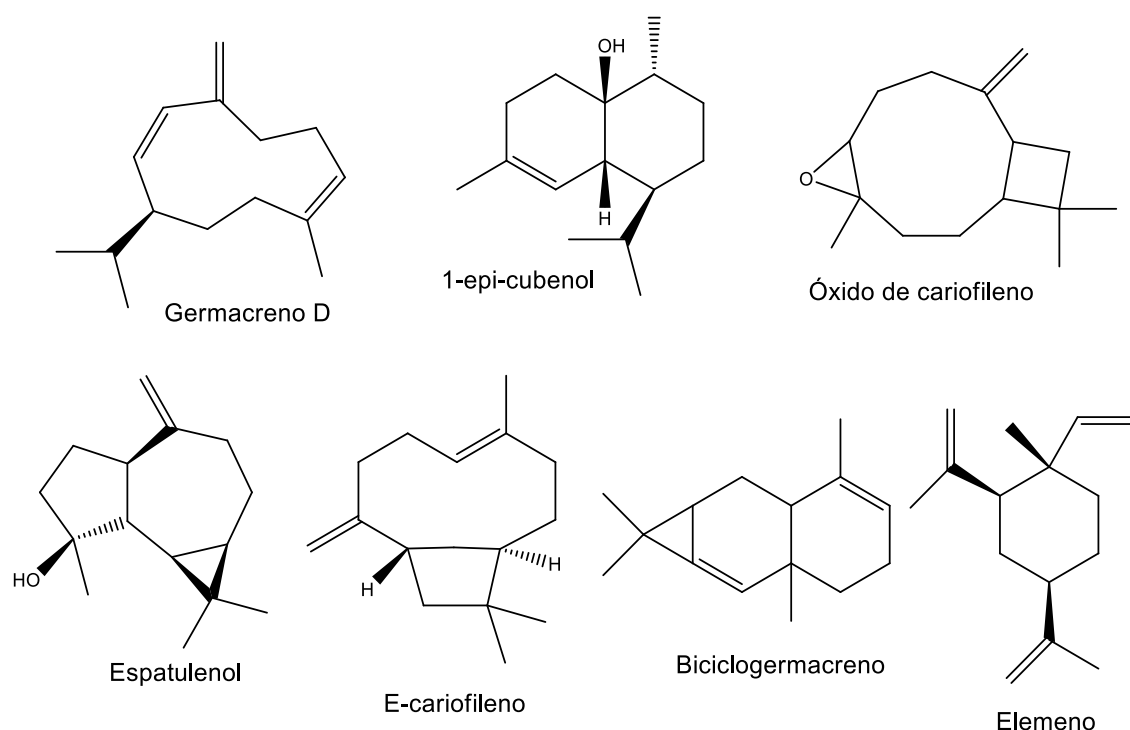


Fonte: https://ferramentas.sibbr.gov.br/ficha/bin/view/especie/guatteria_olivacea#HDistribuiE7E3oGeogrE1fica28Estados29 <Acesso em 02 de fevereiro de 2023>

Em uma análise do óleo essencial de *G. olivacea*, os sesquiterpenos foram a classe de metabólitos secundários dominante, compreendendo 94,10% da composição do OE. Monoterpenos também foram observados, mas foram

representados por apenas 2,75% da amostra de OE. Os principais compostos identificados no OE foram germacreno D, 1-epi-cubenol, óxido de cariofileno, espatulenol, (E)-cariofileno, biciclogermacreno e δ -elemeno (figura 9, pág. 37). Este óleo essencial apresentou atividade tripanocida contra as formas amastigotas e tripomastigotas do *T. cruzi* e, potencial antitumoral contra câncer de fígado (GALVÃO, A. F. et al., 2022).

Figura 9 - Compostos identificados em óleo essencial de *G. olivacea*



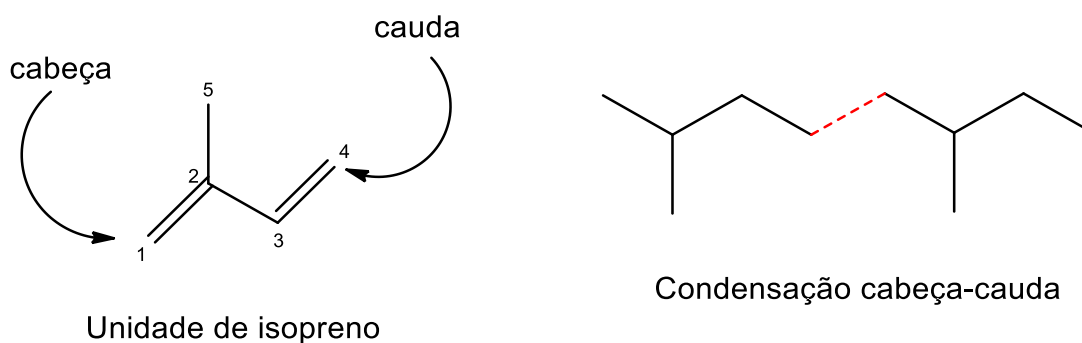
Fonte: Autora

2.4. Considerações sobre os terpenoides

Terpenoides, o maior grupo de metabólitos secundários em plantas, inclui mais de 40.000 estruturas que são usadas nas indústrias de aromas, fragrâncias, químicas e farmacêuticas. As estruturas dos terpenos são baseadas na ligação de unidade de isopreno (C_5H_8) (figura 10, pág. 38). Dois ou mais componentes C_5 geram vários terpenos através de uma reação de condensação cabeça-cauda (figura 10, pág. 38), desta forma, estes metabólitos são agrupados de acordo com o número de cinco unidades de carbono em seus esqueletos: hemi- (C_5), mono- (C_{10}) sesqui- (C_{15}), di- (C_{20}), sester- (C_{25}), tri- (C_{30}) e tetra- (C_{40}):

carotenoides) terpenoides (DUBEY, V. S.; BHALLA, R.; LUTHRA, R., 2003; MITIC, Z. S. et al., 2017; PICHERSKY, E.; NOEL, J. P.; DUDAREVA, N., 2006; ZHOU, Z. Y. et al., 2021).

Figura 10 - Condensação cabeça-cauda de unidades de isopreno

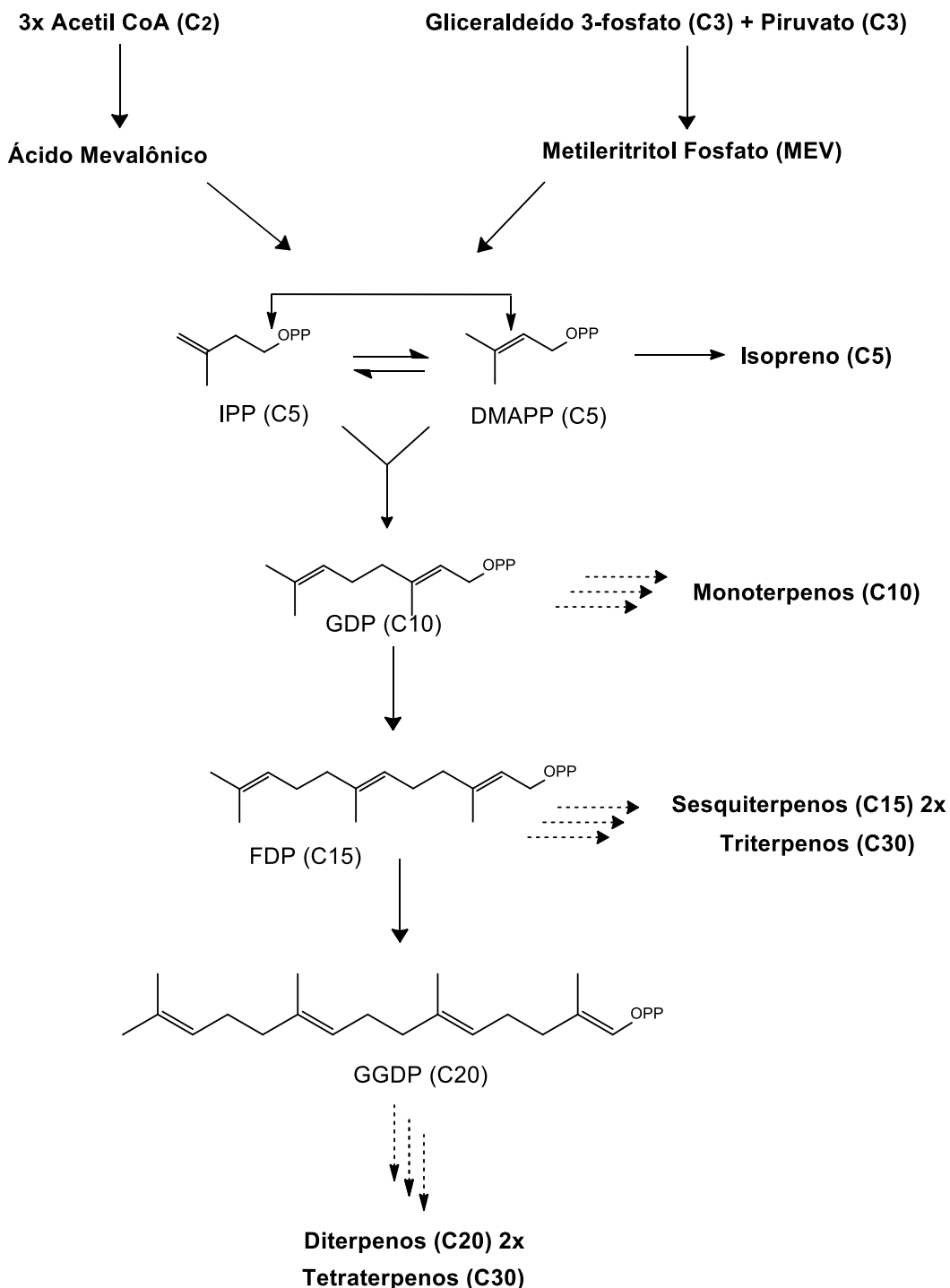


Fonte: Autora

Os terpenoides são sintetizados a partir de duas moléculas independentes, mas vias separadas: o ácido mevalônico (MVA) e fosfato de metileritritol (MEP) (esquema 1, pág. 39). A via MEP é a principal responsável pela biossíntese de mono e diterpenos, produzindo aproximadamente 53 e 1% do total de terpenoides florais, respectivamente. Sesquiterpenos são sintetizados a partir da via MVA, contribuindo aproximadamente com 28% do total de terpenoides florais (MUHLEMANN, J. K.; KLEMPIEN, A.; DUDAREVA, N.; 2014).

Os menores terpenoides vegetais, os hemiterpenoides (C₅), podem ser formados diretamente do dimetilalil difosfato (DMAPP) pela atividade da terpenoide sintase (TPs). Alternativamente, a montagem de duas, três ou quatro unidades C₅ por prenil transferases (PT) produz geranildifosfato (GDP; C₁₀), farnesil difosfato (FDP; C₁₅) e geranilgeranil difosfato (GGDP; C₂₀). GDP, FDP e GGDP são substratos para famílias de enzimas TPs, e servem como precursores imediatos para os diversos grupos de todos os monoterpénoides (C₁₀), sesquiterpenoides (C₁₅) e diterpenoides (C₂₀), respectivamente. Além disso, a condensação aos pares de FDP e GGDP dá origem às classes de triterpenoides (C₃₀) e tetraterpenoides (C₄₀), respectivamente (esquema 1, pág. 39) (ASAWATRERATANAKUL, K. et al., 2003; CHRISTIANSON, D. W. et al, 2006).

Esquema 1 - Rota do mevalonato (MAV) e do fosfato de metileritritol (MEP)



Fonte: Adaptado de TAIZ, L.; ZEIGER, E., 2004

Terpenos e terpenoides têm diferentes atividades biológicas. Seus papéis em várias doenças humanas, como doenças inflamatórias, tumorigênese e neurodegeneração, têm sido estudados por modelos celulares e animais há

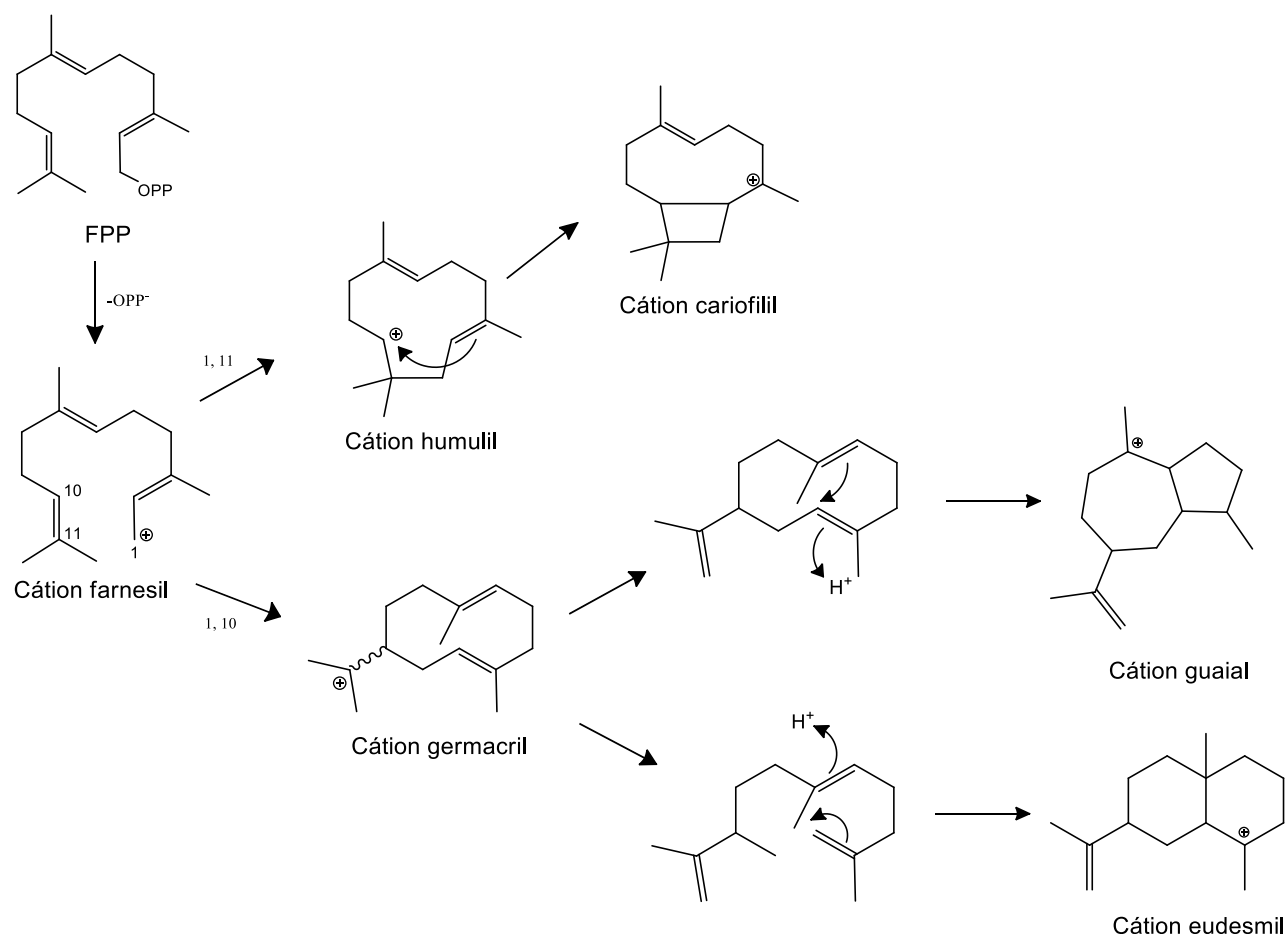
décadas, sugerindo que estes são potenciais drogas quimiopreventivas e terapêuticas para várias doenças. Nos últimos anos, alguns novos terpenoides foram isolados ou sintetizados, fornecendo mais compostos com potencial valor quimioterapêutico para pesquisa clínica (ASHRAFIZADEH, M. et al., 2020; CHO, K. S. et al., 2017; HUANG, M. et al., 2012; RABI, T.; BISHAYEE, A., 2009; ZHU, W. et al., 2018).

2.4.1. Sesquiterpenos

Os sesquiterpenos pertencem ao maior grupo de metabólitos secundários de plantas (terpenoides), e são formados a partir de três unidades de isopreno. Esses compostos estão amplamente distribuídos em várias angiospermas, algumas gimnospermas e briófitas, sendo biossintetizados em várias partes da planta, incluindo folhas, frutos e raízes. Nas últimas duas décadas, esses compostos demonstraram perspectivas de promoção da saúde contra uma ampla gama de síndromes metabólicas, como hiperglicemia, hiperlipidemia, complicações cardiovasculares, distúrbios neurais, diabetes e câncer (ABU-IZNEID, T. et al., 2020; IVANESCU, B. et al., 2015; KREUGER, M. R. O. et al., 2012).

O precursor direto para toda a variedade de sesquiterpenos cíclicos na natureza é o farnesil pirofosfato (FPP). Por meio da ação de sesquiterpenos sintases, o FPP é ciclizado através da abstração do difosfato para fornecer o cátion farnesil reativo. O ataque da dupla ligação C10=C11 a C1 pode produzir o cátion germacril por 1,10- ou o cátion humulil por 1,11-ciclização. Estes cátions sofrem ataques eletrofílicos que possibilitam o deslocamento das duplas ligações e a formação dos cátions guaial, eudesmil e cariofil (esquema 2, pág. 41) (ZHANG, Y. L. et al, 2016; CHRISTIANSON, D. W. et al., 2017; DICKSCHAT, J. S., 2016; QUIN, M. B.; FLYNN, C. M.; SCHMIDT-DANNERT, C., 2014).

Esquema 2 - Ciclização do FPP e formação do germacreno A

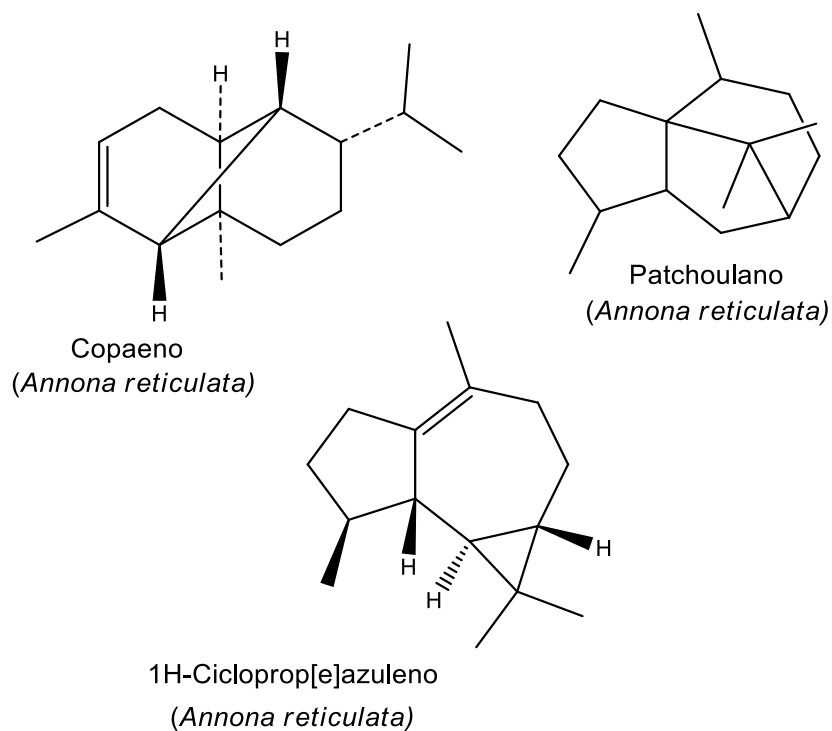


Fonte: Adaptado XU, H.; DICKSCHAT, J. S., 2020

Os sesquiterpenos representam um grupo comum de componentes químicos encontrados em espécies de Annonaceae. Dentre os principais constituintes químicos identificados nos óleos essenciais de espécies de Annonaceae de ocorrência no Brasil estão, por exemplo, *E*-cariofileno, germacreno-*D*, biciclogermacreno, espatulenol, óxido de cariofileno (CASCAES, M. M. et al., 2021).

Em espécies do gênero *Annona*, o maior gênero pertencente a esta família, foram encontrados óxido de cariofileno e espatulenol, através do fracionamento do extrato de éter de petróleo das folhas de *Annona pickelii*; outros sesquiterpenos obtidos através desta mesma metodologia, mas desta vez na espécie *Annona reticulata*, foram copaeno, patchoulano e 1H-Cicloprop[e]azuleno (figura 11, pág. 42) (CHAVAN, M. J.; WAKTE, P. S.; SHINDE, D. B., 2012; DUTRA, L. M. et al., 2012).

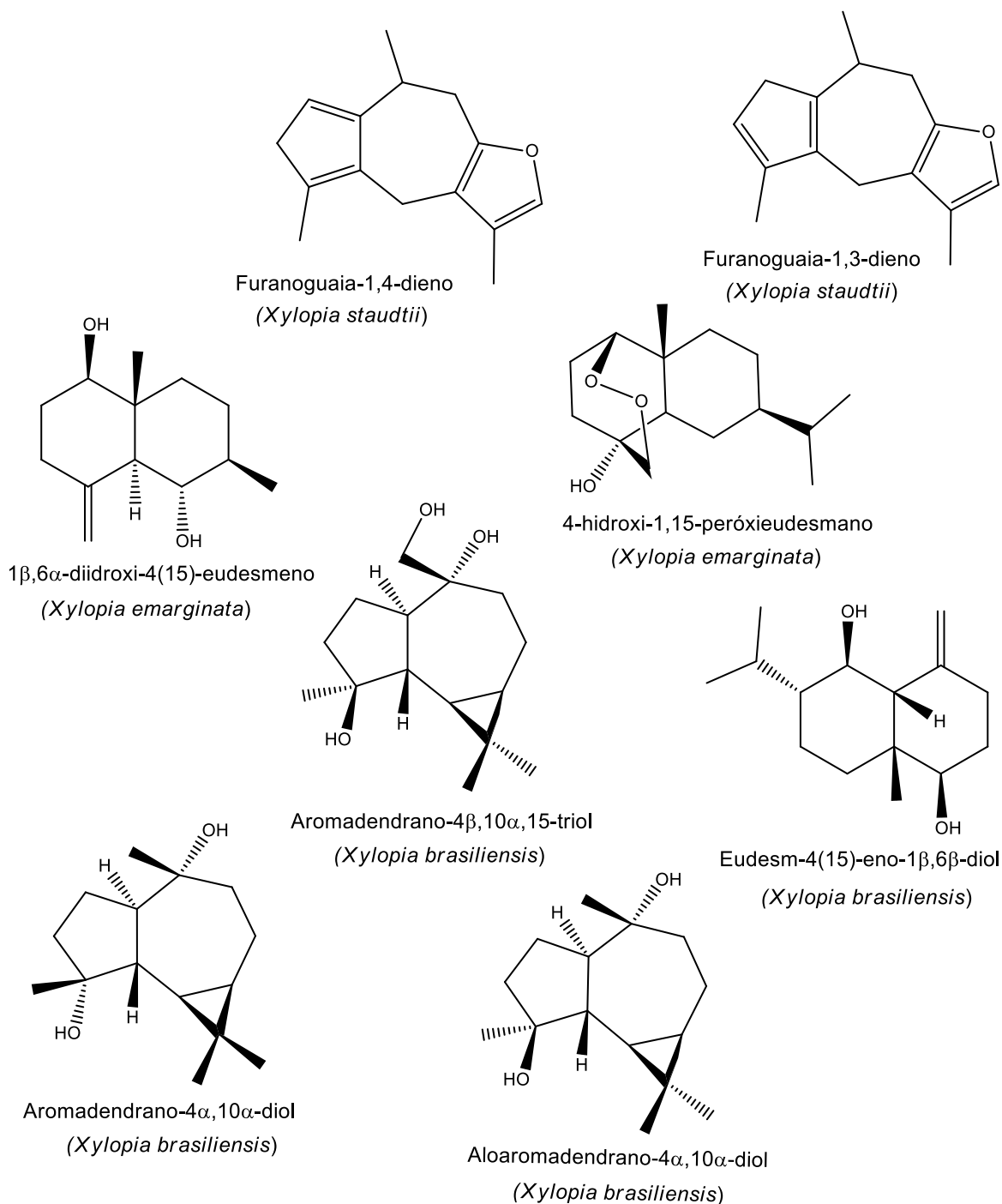
Figura 11 - Sesquiterpenos do gênero *Annona*



Fonte: Autora

O segundo maior gênero desta família, é o gênero *Xylopi*a, no qual foram encontrados os sesquiterpenos furanoguaian-1,3-dieno e furanoguai-1,4-eno (folhas de *Xylopi*a *staudtii*); óxido de cariofileno; espatulenol; 1 β ,6 α -diidrox-4(15)-eudesmeno e 4-hidroxi-1,15-peroxieudesmano (extrato hexânico dos frutos de *Xylopi*a *emarginata*); eudesm-4(15)-eno-1 β ,6 β -diol; aromadendrano-4 β ,10 α ,15-triol; aromadendrano-4 α ,10 α -diol e aloaromadendrano-4 α ,10 β -diol (ramos de *X. brasiliensis*) (figura 12, pág. 43) (FERRAZ, R. P. C. et al., 2013; MOREIRA, I. C. et al., 2007; YAPI, T. A. et al., 2015).

Figura 12 - Sesquiterpenos do gênero *Xylopi*

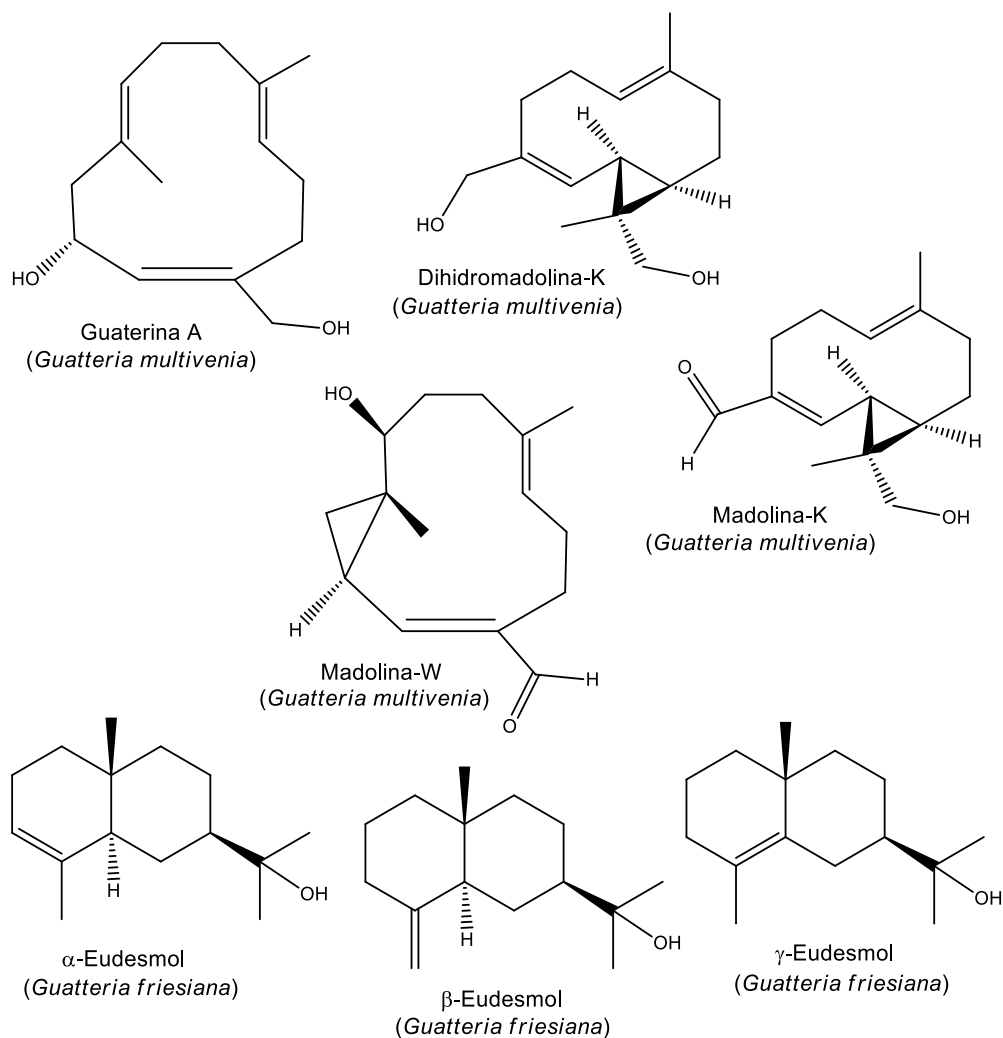


Fonte: Autora

Já no gênero *Guatteria*, foram isolados guaterina A, dihidromadolina-K, madolina-K e madolina-W do extrato etanólico das raízes de *G. multivenia*; bem como α-, β-, e γ-eudesmol nas folhas de *G. friesiana*; além destes, os sesquiterpenos oxigenados espatulenol e óxido de cariofileno são comumente encontrados em óleos essenciais de *Guatteria*, e podem ser considerados como

marcadores químicos para o gênero (figura 13, pág. 44) (BRITTO, A. C. S. et al., 2012; RAJCA, A. K. et al., 2018; ZHANG, Z. et al., 2002).

Figura 13 - Sesquiterpenos do gênero *Guatteria*



Fonte: Autora

Entretanto, para a espécie *Guatteria olivacea*, apesar de serem relatados sesquiterpenos em sua composição química, as metodologias desenvolvidas até então envolvem a quantificação destes no óleo essencial de suas folhas, o que dificulta a identificação de sesquiterpenos mais funcionalizados. Desta forma, neste trabalho, foi utilizado o fracionamento do extrato hexânico das folhas de *G. olivacea*, com solventes como hexano, diclorometano, acetato e metanol para posterior isolamento de sesquiterpenos mais polares, contribuindo assim, para o estudo fitoquímico desta espécie.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Contribuir com a ampliação do conhecimento químico da família Annonaceae por meio do estudo fitoquímico da espécie *Guatteria olivacea*.

3.2. Objetivos específicos

- Separar e isolar os metabólitos secundários presentes no extrato hexânico das folhas de *Guatteria olivacea* através de métodos cromatográficos clássicos e modernos;
- Desenvolver metodologias analíticas em cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) para isolamento e purificação dos compostos presentes nas frações oriundas do extrato hexânico
- Identificar e elucidar as estruturas químicas dos constituintes de *Guatteria olivacea* utilizando a técnica espectroscópica de Ressonância Magnética Nuclear (RMN).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Equipamentos, materiais e procedimentos gerais

A análise, o fracionamento, o isolamento e a purificação dos constituintes químicos do material vegetal ocorreram por uso de técnicas de cromatografia em coluna clássica (CC) e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

Para CC, foram utilizados como fase móvel os solventes comerciais hexano (Hex), diclorometano (CH_2Cl_2), acetato de etila (AcOEt), metanol (MeOH) e acetonitrila (ACN), puros ou em misturas binárias. Para CLAE, foram utilizados ACN grau de pureza HPLC (Tedia®) e água ultrapura (purificada em sistema Milli-Q®), puros ou em misturas binárias. Para o isolamento dos sesquiterpenos, a fase aquosa foi acidificada com ácido fórmico (0,1%).

Na CC, foi utilizada como fase estacionária sílica gel (SiliaFlash® G60 da SiliCycle®, com partículas de 60-200 μm , 70-230 mesh, 60 Å). Já na CLMP a fase estacionária utilizada foi sílica gel, porém com menor tamanho de partícula (SiliaFlash® F60 da SiliCycle®, com partículas de 40-63 μm , 230-400 mesh, 60 Å). Nas duas técnicas (CC e CLMP), utilizou-se como suporte colunas cilíndricas de vidro cujo comprimento e diâmetro variaram de acordo com a quantidade da amostra e da fase estacionária utilizadas.

Para a CLMP, utilizou-se o equipamento automatizado BUCHI® conectado a um computador contendo um aplicativo gerenciador e composto por um sistema de duas bombas modelo C-605, unidade de controle C-620, detector fotométrico UV C- 640 e coletor de frações C-660. O fluxo empregado para todas as análises foi de 15 mL/min.

As frações obtidas por CLMP foram analisadas por CCDA utilizando-se placas de sílica gel com suporte de alumínio (SiliaPlate® com indicador F-254, espessura de 200 μm e 20x20 cm de dimensão) adquiridas comercialmente. Após aplicação das amostras, as placas foram reveladas por exposição à luz UV nos comprimentos de onda 254 e 365 nm, no aparelho BOIT-LUB01 da marca Boitton.

As amostras utilizadas nas análises e purificações por CLAE foram preparadas acrescentando-se ACN e, em seguida, colocando-as em banho de ultrassom, no aparelho USC-1600 da marca Unique, para favorecer a

solubilização. Em seguida, as amostras foram filtradas em filtro de PVDF com poro de 0,45 µm de diâmetro.

Para as purificações por CLAE, primeiramente desenvolveu-se um método na escala analítica para posterior transposição para a escala preparativa. Portanto, todas as frações purificadas por essa técnica passaram pela mesma etapa de desenvolvimento de método analítico prévio.

Para CLAE na escala analítica, utilizou-se o equipamento Shimadzu Prominence composto por controlador de sistema modelo CBM-20A, bomba LC-20AT, degaseificador DGU-20A 5R, auto-injetor SIL-20A HT e detector de arranjo de diodo (DAD) SPD-M20A. Foram utilizadas as colunas analíticas ACE 5 C18 (250 mm x 4,6 mm e partículas de 5 µm) conectada a uma pré-coluna C18 (4 mm x 3,0 mm e partículas de 5 µm), Kromasil 100-10-C18 (250 mm x 4,6 mm e partículas de 10 µm) conectada a uma pré-coluna C18 (4 mm x 3,0 mm e partículas de 10 µm). O fluxo empregado para as análises foi de 0,6 mL/min, o volume de injeção foi de 20 µl e as amostras preparadas na concentração de 1 mg/mL.

Os isolamentos em CLAE na escala preparativa ocorreram no equipamento Shimadzu com controlador de sistema modelo SLC-10A vp, duas bombas LC-6AD, injetor manual Rheodyne e detector DAD SPD-M10A vp. A coluna preparativa utilizada no procedimento foi uma ACE 5 C18 (250 mm x 21,2 mm e partículas de 5 µm). O fluxo da fase móvel foi de 8,0 mL/min, com volume de injeção da amostra de 100 µl, as quais foram preparadas em concentrações de até 100 mg/mL, variando de acordo com as características das frações.

4.2. Equipamentos e procedimentos analíticos

4.2.1. Ressonância Magnética Nuclear

Os espectros de RMN 1D e 2D foram registrados nos equipamentos Bruker AVANCE III HD (400 e 100 MHz para ^1H e ^{13}C , respectivamente) e Varian NMR (500 e 125 MHz para ^1H e ^{13}C , respectivamente). Para dissolução das amostras foram utilizados clorofórmio deuterado (CDCl_3) e CHCl_3 residual (δH 7,24 e δC 77,0) como padrão interno. Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em partes por milhão (ppm) e as constantes de acoplamento J em Hz.

Utilizaram-se as convenções s (simpleto), d (dupleto), dd (dupleto duplo), ddd (duplo dupleto duplo), dt (tripleto duplo), t (tripleto) em (multipleto) para indicar as multiplicidades dos sinais de ^1H .

4.2.2. Material vegetal

As folhas de *Guatteria olivacea* foram coletadas em 27 de maio de 2017 sob as coordenadas 2°54'47" S e 59°58'48" W, na cidade de Manaus, Amazonas, Brasil. A espécie foi identificada pelo professor Dr. Antônio Carlos Webber do Departamento de Biologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Amazonas (DB/ICE/UFAM). Uma exsicata da espécie, sob o código 11423, encontra-se depositada no herbário (HUAM) do Departamento de Biologia da própria UFAM, coordenado pelo professor Dr. Emmanoel Vilaça Costa. O acesso (espécime) foi cadastrado no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SISGEN) sob o código de registro A70EDCD.

4.2.3. Obtenção e fracionamento do extrato hexânico

As folhas coletadas foram desidratadas em estufa com ar circulante à temperatura de 40 °C por um período de 72 h. Em seguida, o material obtido foi pulverizado em moinho mecânico, dando origem a 1.289,70 g de pó seco. Com o peso obtido, a amostra vegetal foi submetida à extração a frio pelo método de maceração, onde foi transferida para um frasco Mariotte com adição de solventes em ordem crescente de polaridade, com renovação a cada 72 horas. Inicialmente foi utilizado hexano e posteriormente metanol. A cada etapa de maceração, os extratos obtidos foram concentrados em evaporador rotativo à pressão reduzida e temperatura entre 40-50 °C, sendo posteriormente secos em dessecador. O solvente evaporado foi reutilizado em cada etapa da maceração, houve um gasto inicial 3 L de solvente e a cada renovação necessitou-se acrescentar mais 250 mL, totalizando um gasto de 5 L de hexano e 5 L de metanol. Ao término do processo, o resíduo vegetal proveniente da extração foi descartado, e ambos os solventes foram recuperados e redistilados para posterior uso. Após completa

secagem, o extrato hexânico rendeu 24,41 g e o extrato metanólico 192,39 g (esquema 3, pág. 50).

Uma alíquota do EH (10,0 g) foi submetida a uma CC com sílica gel eluída com concentrações crescentes de *n*-hexano:CH₂Cl₂ (100:0 a 30:70, v/v), CH₂Cl₂:EtOAc (100:0 a 30:70, v/v), e EtOAc:MeOH (100:0 a 50:50, v/v) (tabela 2, pág. 51), gerando 30 frações (500 mL cada) (esquema 3, pág. 50).

Esquema 3 - Obtenção e fracionamento do extrato hexânico das folhas de *G. olivacea*

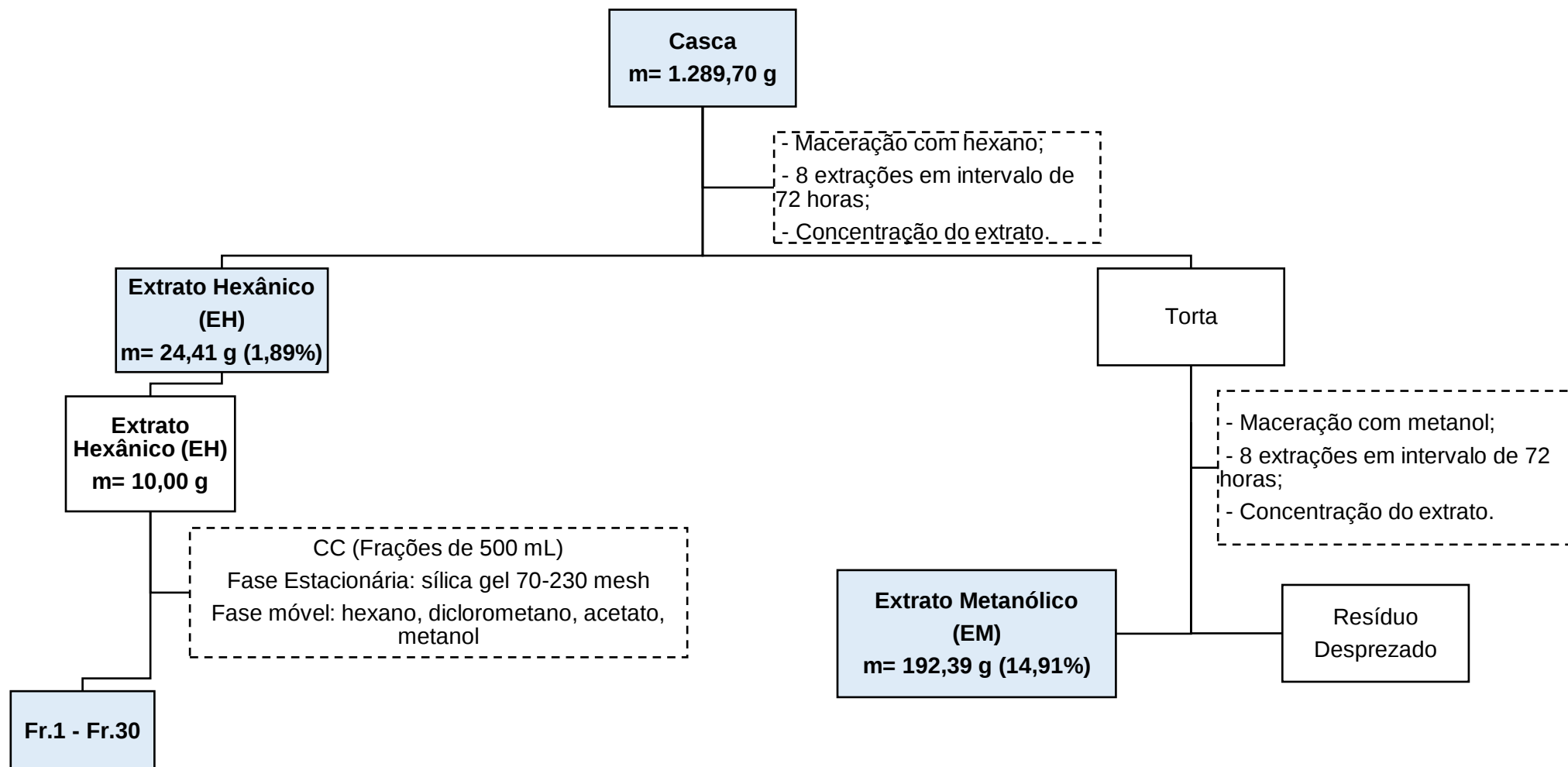


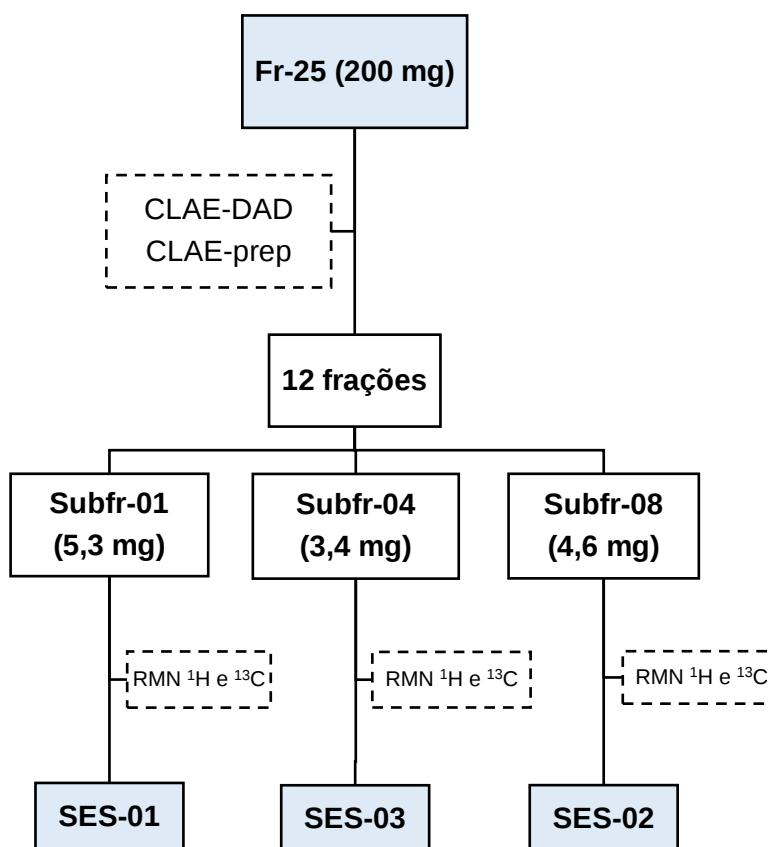
Tabela 2 - Dados do fracionamento do **EH** de *G. olivacea*

Sistema eluente	Frações EH
Hexano	01-03
Hex:CH ₂ Cl ₂ (1:1)	04-06
Hex: CH ₂ Cl ₂ (3:7)	07-10
CH ₂ Cl ₂	11-14
CH ₂ Cl ₂ :AcOEt (7:3)	15-18
CH ₂ Cl ₂ :AcOEt (1:1)	19-22
CH ₂ Cl ₂ :AcOEt (3:7)	23-25
AcOEt	26-27
AcOEt:MeOH (7:3)	28-29
AcOEt:MeOH (1:1)	30

4.2.4. Isolamento dos constituintes químicos da Fr-25

A fração 25 (CH₂Cl₂:AcOEt 3:7 v/v), com 276,2 mg, foi fracionada em CLAE preparativa (200 mg). O método analítico compreendeu um gradiente dos eluentes água (0,1% de ác. fórmico) (A) e ACN (B) e leitura em 254 nm. Assim, o gradiente foi iniciado (0,01 min) com 45% de B até 55% em 15 min, permanecendo em eluição isocrática (55%) até 60 min. O método utilizado permitiu a separação de 12 subfrações, das quais a 01 (5,3 mg, em 55% de B), a 04 (3,4 mg, em 55% de B) e a 08 (4,6 mg, em 55% de B), todas foram levadas para análise por espectrometria de RMN e foram codificadas como SES-01, SES-03 e SES-02, respectivamente (esquema 4, pág. 52).

Esquema 4 - Isolamento dos constituintes químicos da Fr-25



4.2.5. Isolamento dos constituintes químicos da Fr-06

Para o fracionamento da Fr-06 do EH, uma alíquota de 800 mg foi submetida à CLMP com sílica gel e os eluentes Hex:AcOEt (100:0 até 0:100) (tabela 3, pág. 53), gerando no total 16 frações de 50 mL. Após análise das amostras por CCDA, a subfração 10, com 5,7 mg, obtida em Hex:AcOEt (8:2), foi encaminhada para análise por espectrometria de RMN e foi codificada como SESM-04 (esquema 5, pág. 53).

Esquema 5 - Isolamento dos constituintes químicos da Fr-06

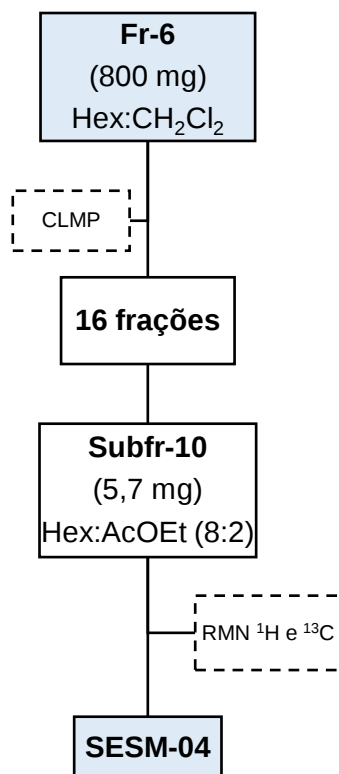


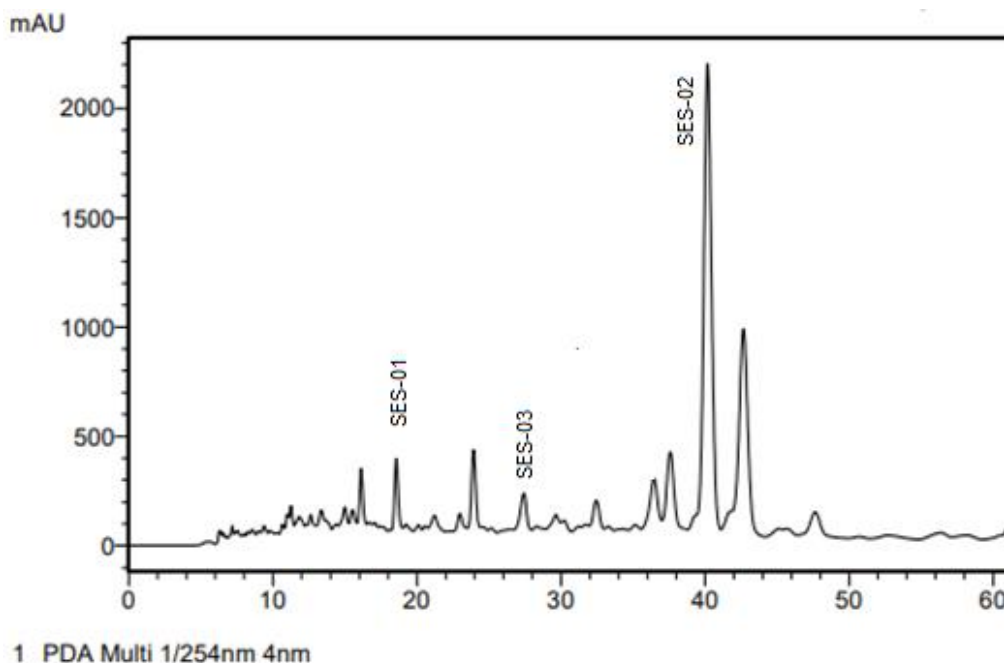
Tabela 3 - Dados do fracionamento da Fr.6 do **EH** de *G. olivacea*

Sistema eluente	Subfrações
Hexano	01-04
Hex:AcOEt (9:1)	05-06
Hex: AcOEt (8:2)	07-10
Hex: AcOEt (1:1)	11-12
Hex:AcOEt (2:8)	13-14
AcOEt	15-16

5. RESULTADOS

Através da separação por cromatografia líquida de alta eficiência, foi possível isolar SES-01, SES-02 e SES-03. O cromatograma obtido encontra-se na figura 14 (pág. 53).

Figura 14 - Cromatograma da Fr.25 obtido por CLAE preparativa



5.2. Determinação estrutural de SES-01

A substância codificada como SES-01 foi isolada na forma de um pó branco, pesando 5,3 mg.

Nos espectros de RMN de ^{13}C – BB (figuras 20-24, pág. 60-62) e dept-135 (100 MHz, CDCl_3) (figuras 25-28, pág. 62-64), foi possível verificar a presença de 15 sinais correspondentes a 15 átomos de carbono. Estes sinais foram atribuídos a 4 carbonos metínicos (C-1, C-5, C-6 e C-11), 4 carbonos metílicos (C-12, C-13, C-14 e C-15), 4 carbonos metilênicos (C-2, C-3, C-8 e C-9) e 3 carbonos não hidrogenados, sendo um carbono com uma ligação dupla trissubstituída (C-7) e dois carbonos hidroxilados nas posições C-4 e C-10.

Por meio dos dados espectrais de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) (figuras 16-19, pág. 58-59), foi possível observar a presença de um duplo duplete em δ_{H}

0,96 ppm com integral para 6 hidrogênios e $J = 3,6$ e $6,8$ Hz, estes sinais foram atribuídos aos hidrogênios das Me-12 e Me-13, que possuem o mesmo deslocamento por se tratar de metilas de um grupo isopropil. Além disso, o deslocamento químico atribuído ao hidrogênio metínico (H-11) do grupo isopropil em δ_H 2,21 (1H, *m*) mostrou que este grupo está diretamente ligado a um carbono sp^2 . Também foram observados um sinal de hidrogênio olefínico em δ_H 5,48 (1H, *d*, $J = 3,2$ Hz) referente ao hidrogênio H-6, e sinais característicos de hidrogênios metílicos em δ_H 1,25 (3H, *s*) e δ_H 1,19 (3H, *s*) referentes as Me-14 e Me-15, respectivamente. Ainda no espectro de RMN de 1H , foram verificados sinais em δ_H 1,92 (1H, *m*) e δ_H 2,18 (1H, *m*), compatíveis com os hidrogênios diastereotópicos H-8a e H-8b e em δ_H 1,80 (1H, *dd*, $J = 1,6$ e $4,8$) e $1,45$ (1H, *dd*, $J = 1,6$ e $3,2$) atribuídos aos hidrogênios H-9a e H-9b, também diastereotópicos. Os sinais em δ_H 1,85 (1H, *m*); δ_H 1,75 (2H, *m*); δ_H 1,63 (2H, *m*) e δ_H 2,15 (1H, *m*) foram respectivamente atribuídos aos hidrogênios H-1, H-2, H-3 e H-5.

Os dados obtidos (tabela 4, pág. 56) foram comparados com dados de outros hidroxi-sesquiterpenos (alismol e alismóxido) (tabela 5, pág. 57) na literatura (PENG, G. P. et al., 2003; JIANG, Z. Y. et al., 2022) e, desta forma, foi possível estabelecer que SES-01 possui um esqueleto guaiano com uma ligação dupla em C-6 (δ_C 121,3) e grupos hidroxilas em C-10 (δ_C 75,3) e C-4 (δ_C 80,3).

As correlações entre prótons e carbonos foram atribuídas também através da análise dos espectros de HSQC e HMBC. No espectro de HSQC (figuras 29-31, pág. 64-65) foram analisadas as correlações diretas entre hidrogênios e carbonos e, no espectro de HMBC e em suas expansões (figuras 32-36, pág. 66-67), foi possível observar correlações entre H-6 (δ_H 5,48) e os carbonos C-1 (δ_C 50,7), C-4 (δ_C 80,3), C-8 (δ_C 42,6) e C-11 (δ_C 37,3); H-12/13 (δ_H 0,96) com C-7 (δ_C 149,7) e C-11 (δ_C 37,3); H-15 (δ_H 1,19) com C-3 (δ_C , 40,5), C-4 (δ_C 80,3), e C-5 (δ_C 50,3); H-14 (δ_H 1,25) com C-9 (δ_C 42,6), C-1 (δ_C 50,7) e C-10 (δ_C 75,3). Esses dados confirmaram a estrutura planar de SES-01 como um guai-6-en-4,10-diol (alismóxido) (figura 16, pág. 56).

Para confirmar a estereoquímica de SES-01 como sendo a mesma do alismóxido, foram observados o espectro de NOESY e suas expansões (figuras 36-38, pág. 68-69). Nestes, não foram observadas correlações entre os hidrogênios das metilas 14 (3H, δ_H 1,25, *s*) e 15 (3H, δ_H 1,19, *s*), indicando que elas estão em lados opostos da molécula. Também foi observado correlações

entre H-1 (1H, δ_H 1,85, *m*) e H-15 (3H, δ_H 1,19, *s*); e entre H-5 (1H, δ_H 2,15, *m*) e H-14 (3H, δ_H 1,25, *s*), indicando que H-1 e H-15 estão do mesmo lado da molécula, assim como H-5 e H-14.

TABELA 4 - Deslocamentos químicos de RMN ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) em CDCl_3 de SES-01

SES-01	δ_H	δ_C
1	1,85 (1H, <i>m</i>)	50,7
2	1,75 (2H, <i>m</i>)	21,5
3	1,63 (2H, <i>m</i>)	40,5
4	-	80,3
5	2,15 (1H, <i>m</i>)	50,3
6	5,48 (1H, <i>d</i> , $J = 3,2$)	121,3
7	-	149,7
8	1,92 (1H, <i>m</i>)	25,1
	2,17 (1H, <i>m</i>)	
9	1,80 (1H, <i>dd</i> , $J = 1,6$ e 4,8)	42,6
	1,45 (1H, <i>dd</i> , $J = 1,6$ e 3,2)	
10	-	75,3
11	2,21 (1H, <i>m</i>)	37,3
12	0,96 (3H, <i>dd</i> , $J = 3,6$ e 6,8)	21,4
13	0,96 (3H, <i>dd</i> , $J = 3,6$ e 6,8)	21,3
14	1,25 (3H, <i>s</i>)	21,2
15	1,19 (3H, <i>s</i>)	22,6

FIGURA 15 - Estrutura de SES-01 (Alismóxido)

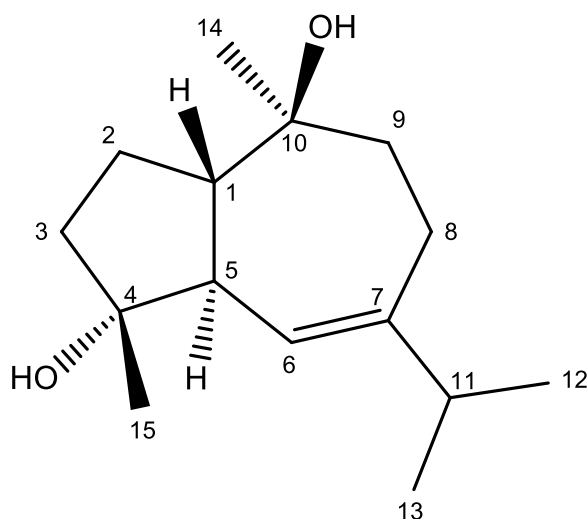


TABELA 5 - Deslocamentos químicos de RMN ^{13}C em CDCl_3 de SES-01, alismol e alismóxido

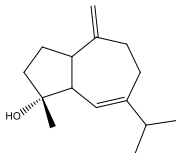
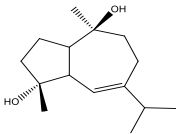
SES-01 (δ_c)		 Alismol (δ_c, CDCl_3) (PENG, G. P. et al, 2003)	 Alismóxido (δ_c, CDCl_3) (JIANG, Z. Y. et al, 2022)
1	50,7	55,1	50,8
2	21,5	24,8	21,6
3	40,5	40,3	40,6
4	80,3	80,6	80,3
5	50,3	47,3	50,4
6	121,3	121,4	121,5
7	149,7	149,6	149,7
8	25,1	30,0	25,2
9	42,6	37,1	42,7
10	75,3	153,9	75,4
11	37,3	37,4	37,4
12	21,4	21,3	21,6
13	21,3	21,5	21,5
14	21,2	24,1	21,3
15	22,6	106,4	22,7

Figura 16 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de SES-01

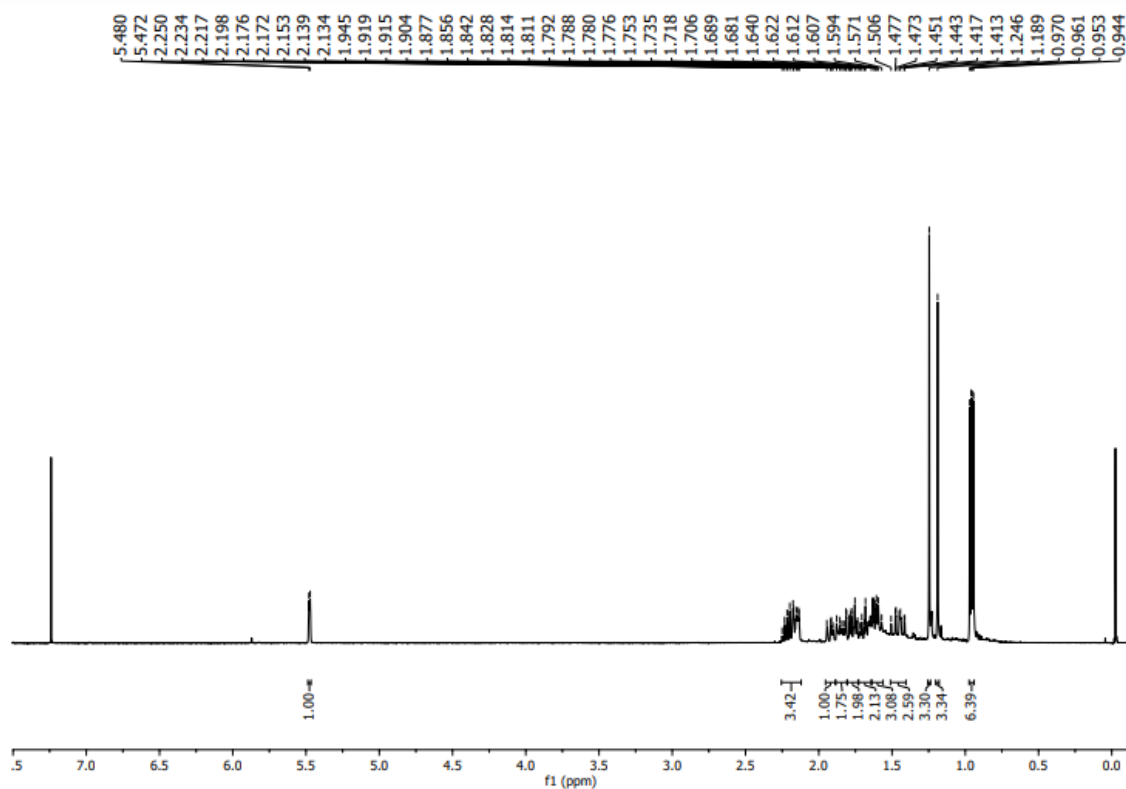


Figura 17 - Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de SES-01

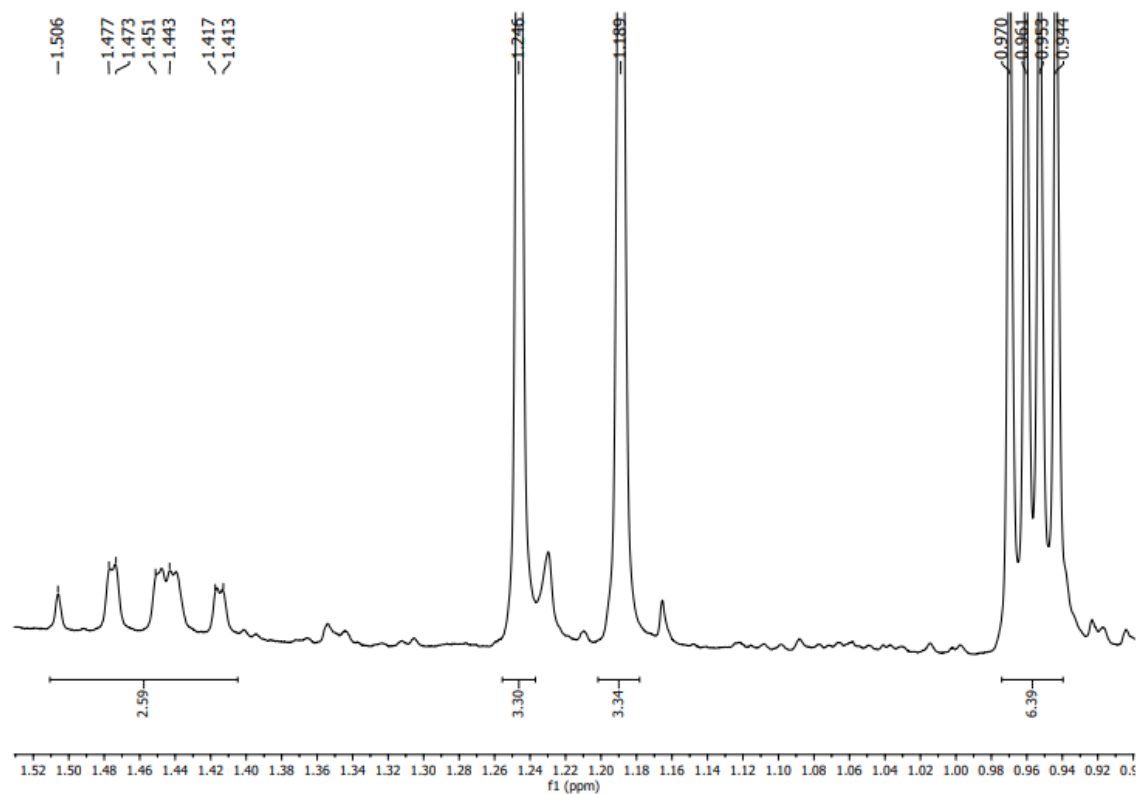


Figura 18 - Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de SES-01

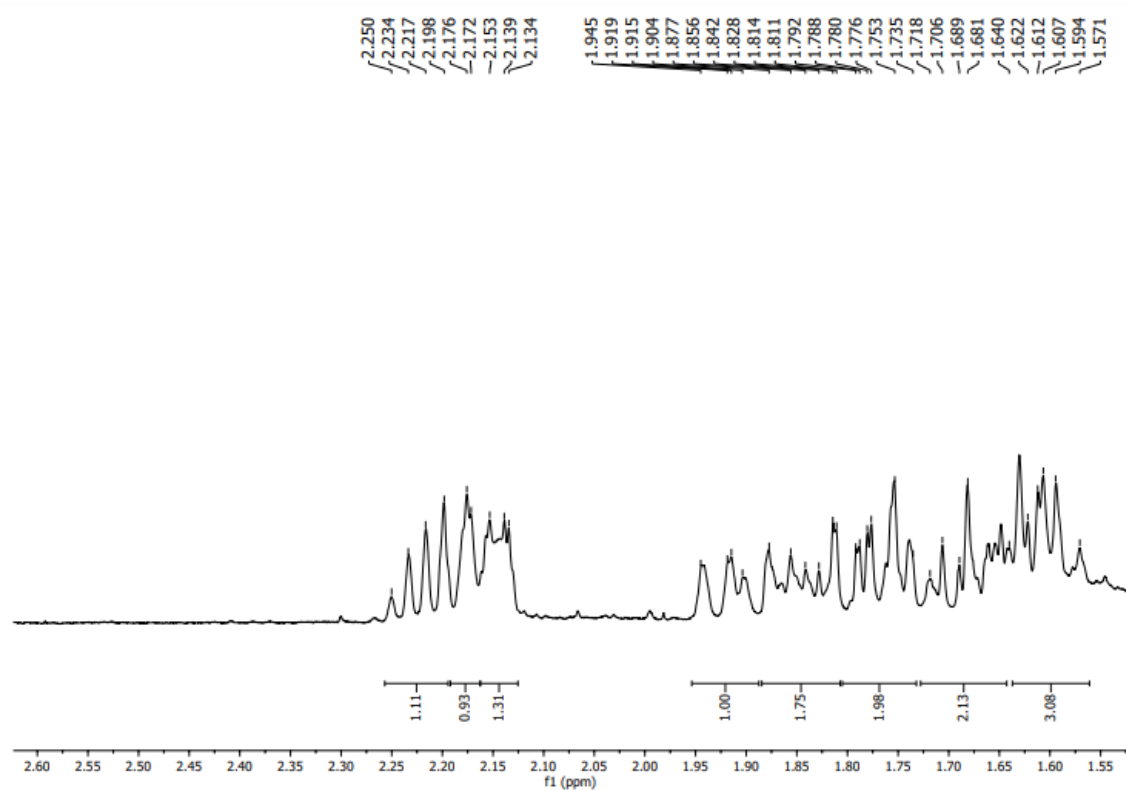


Figura 19 - Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de SES-01

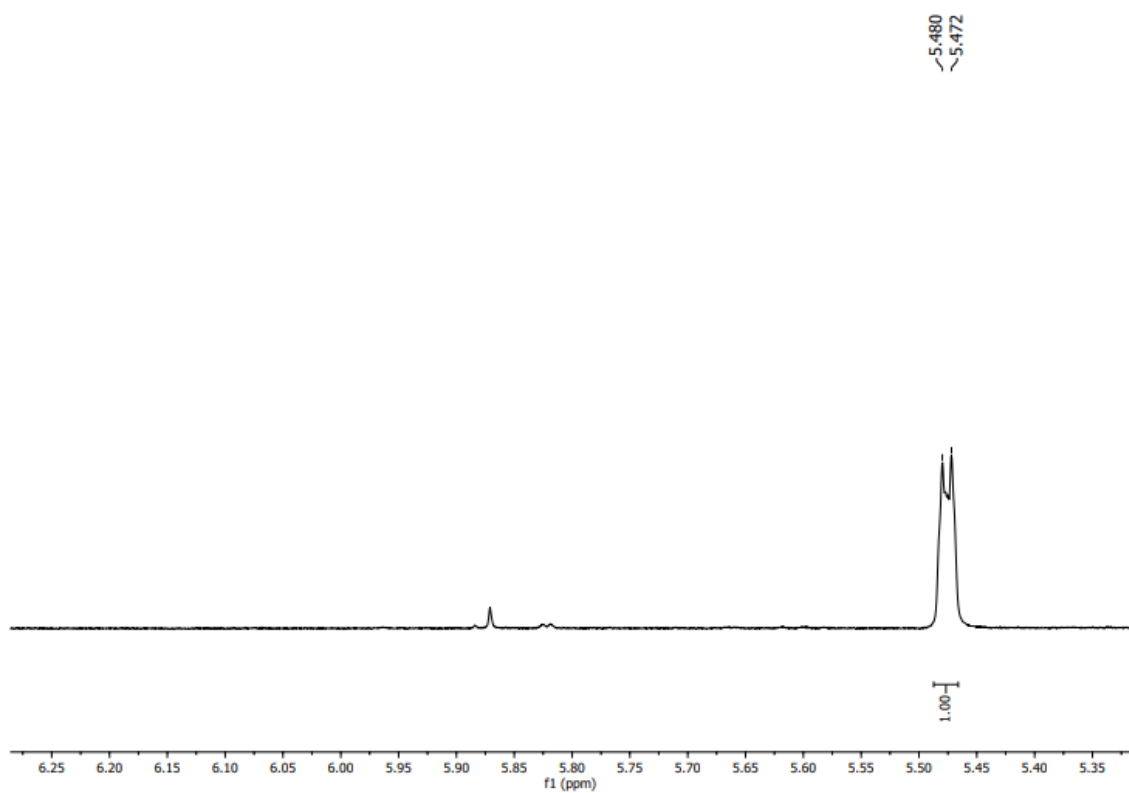


Figura 20 - Espectro de RMN de ^{13}C - BB (100 MHz, CDCl_3) de SES-01

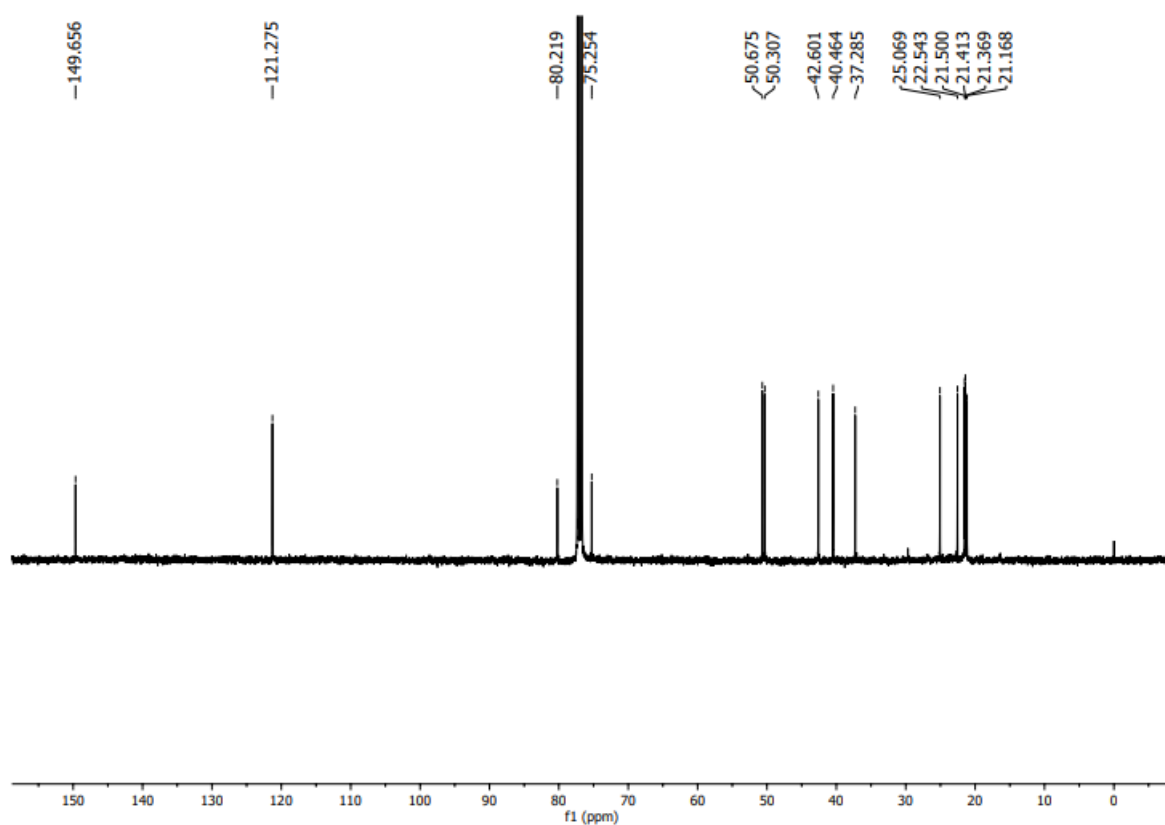


Figura 21 - Expansão do espectro de RMN de ^{13}C - BB (100 MHz, CDCl_3) de SES-01

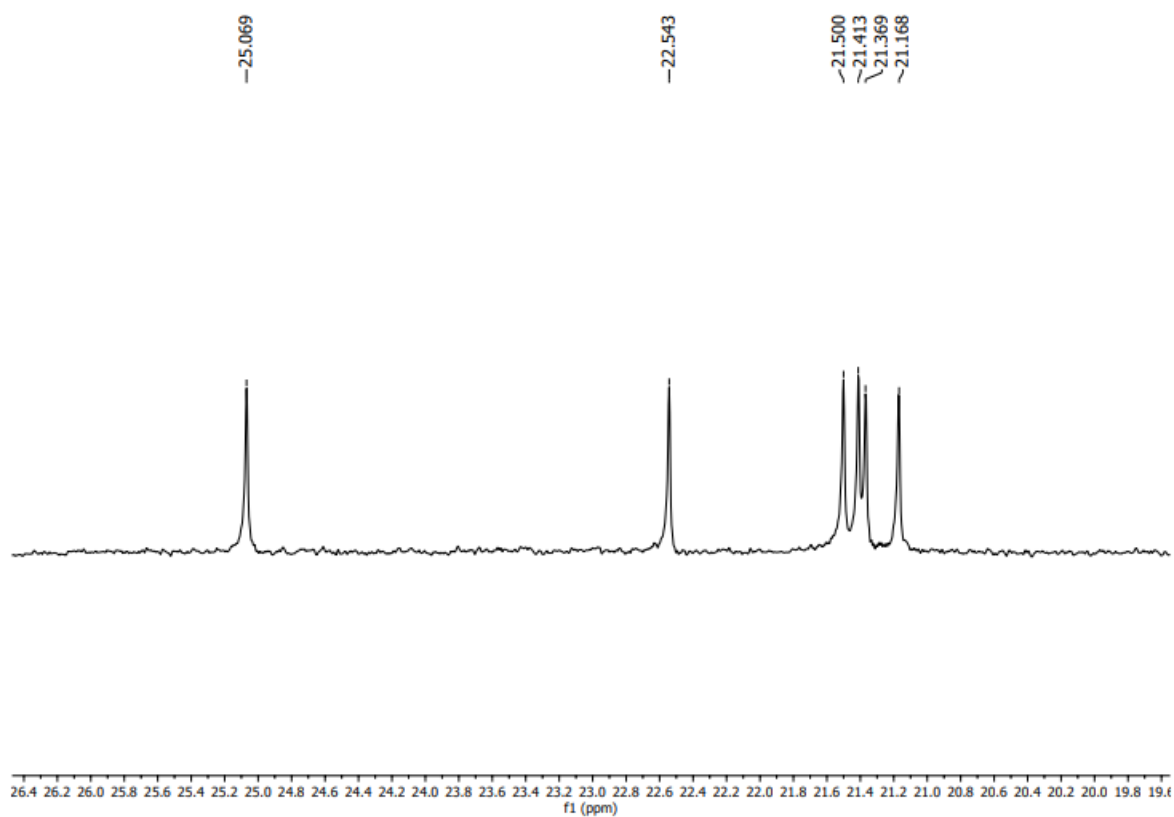


Figura 22 - Expansão do espectro de RMN de ^{13}C - BB (100 MHz, CDCl_3) de SES-01

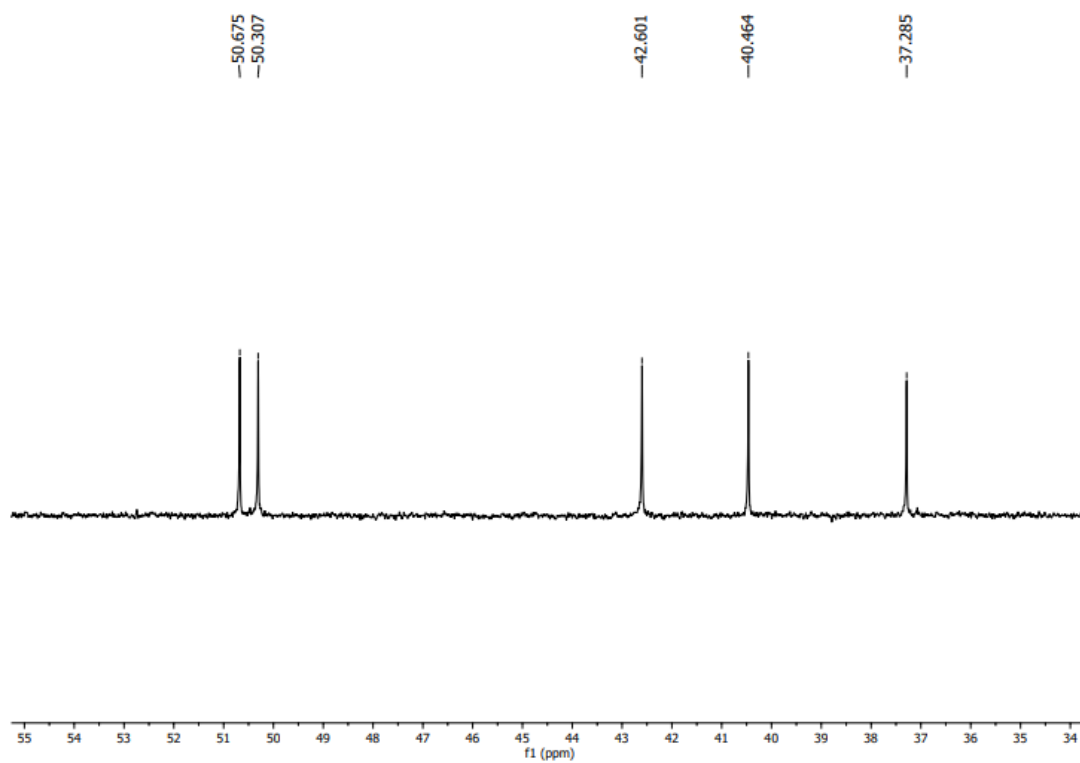


Figura 23 - Expansão do espectro de RMN de ^{13}C - BB (100 MHz, CDCl_3) de SES-01

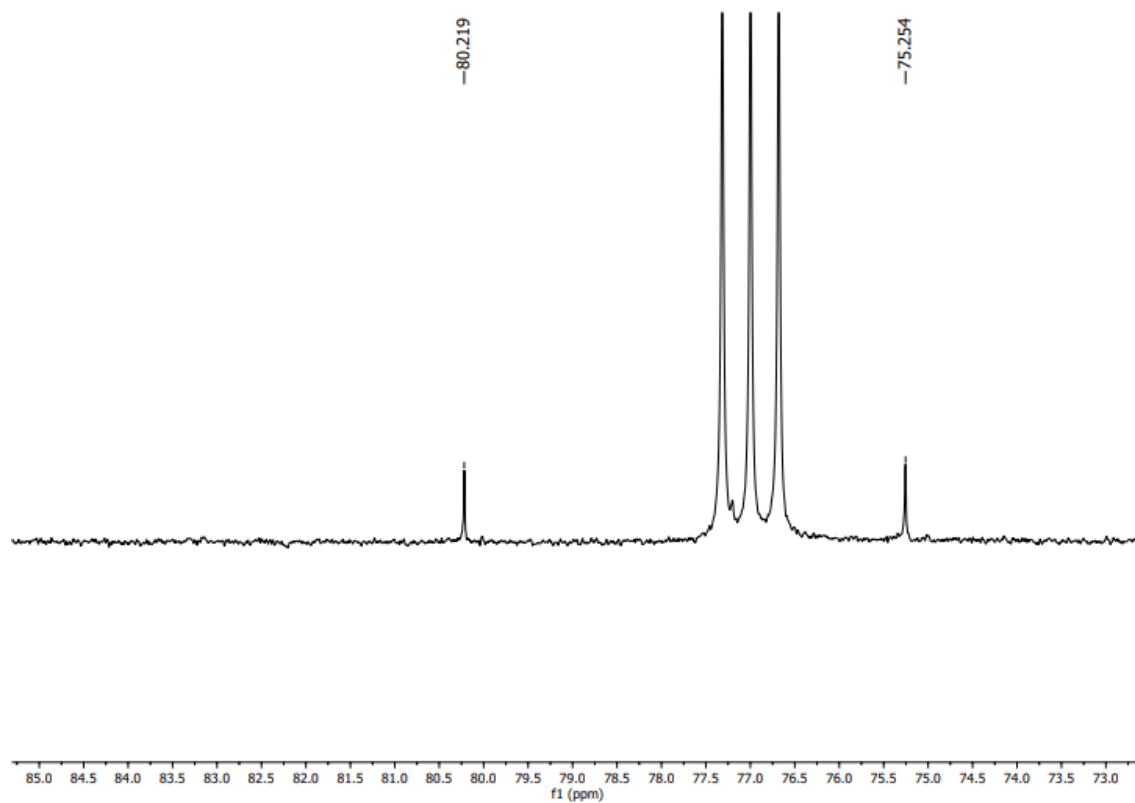


Figura 24 - Expansão do espectro de RMN de ^{13}C - BB (100 MHz, CDCl_3) de SES-01

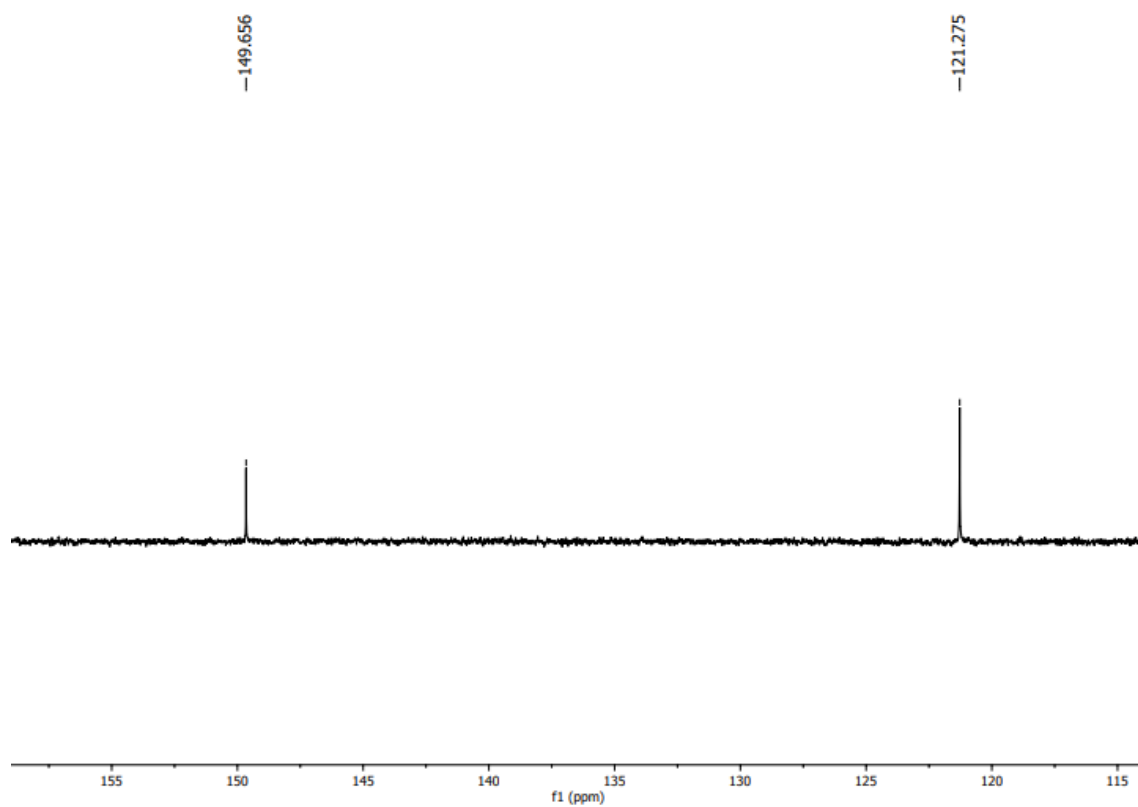


Figura 25 - Espectro de RMN de ^{13}C – dept135 (100 MHz, CDCl_3) de SES-01

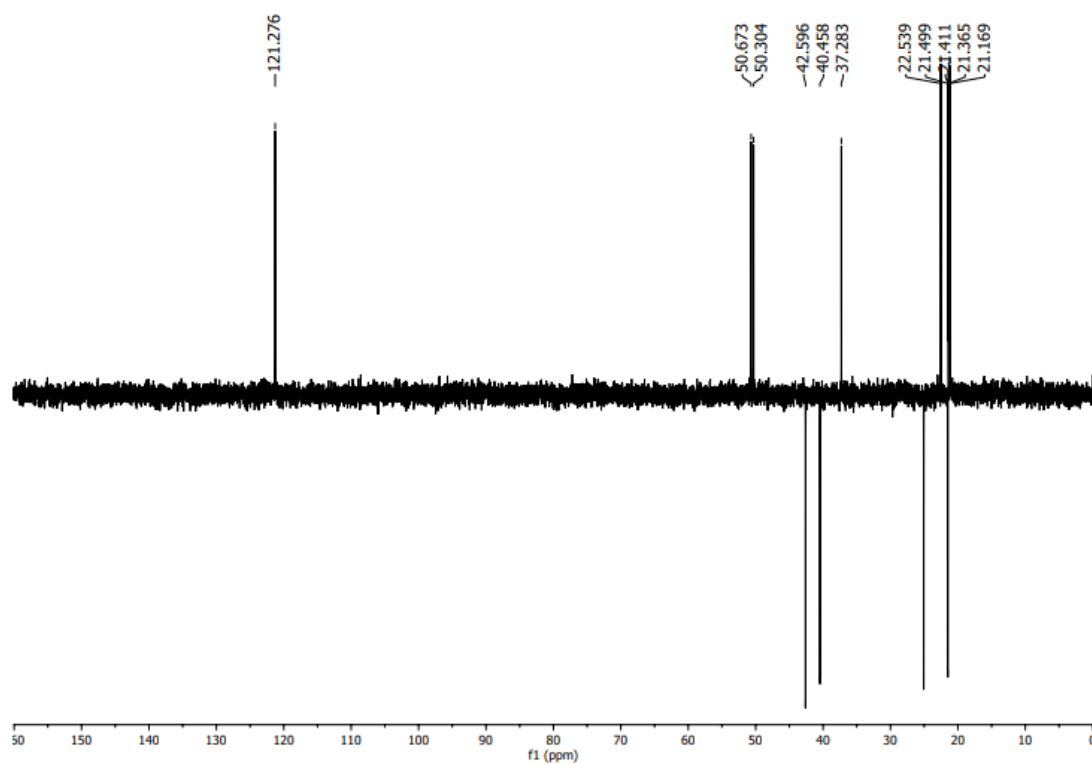


Figura 26 - Expansão do espectro de RMN de ^{13}C – dept135 (100 MHz, CDCl_3) de SES-01

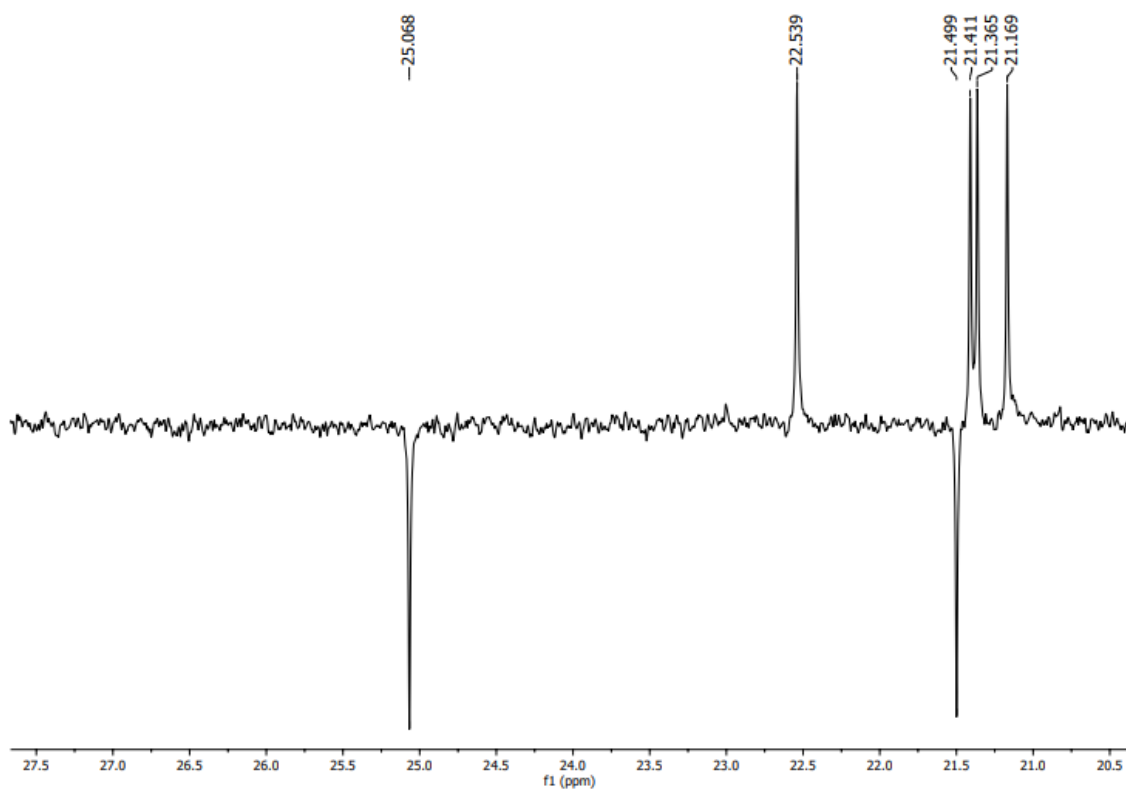


Figura 27 - Expansão do espectro de RMN de ^{13}C – dept135 (100 MHz, CDCl_3) de SES-01

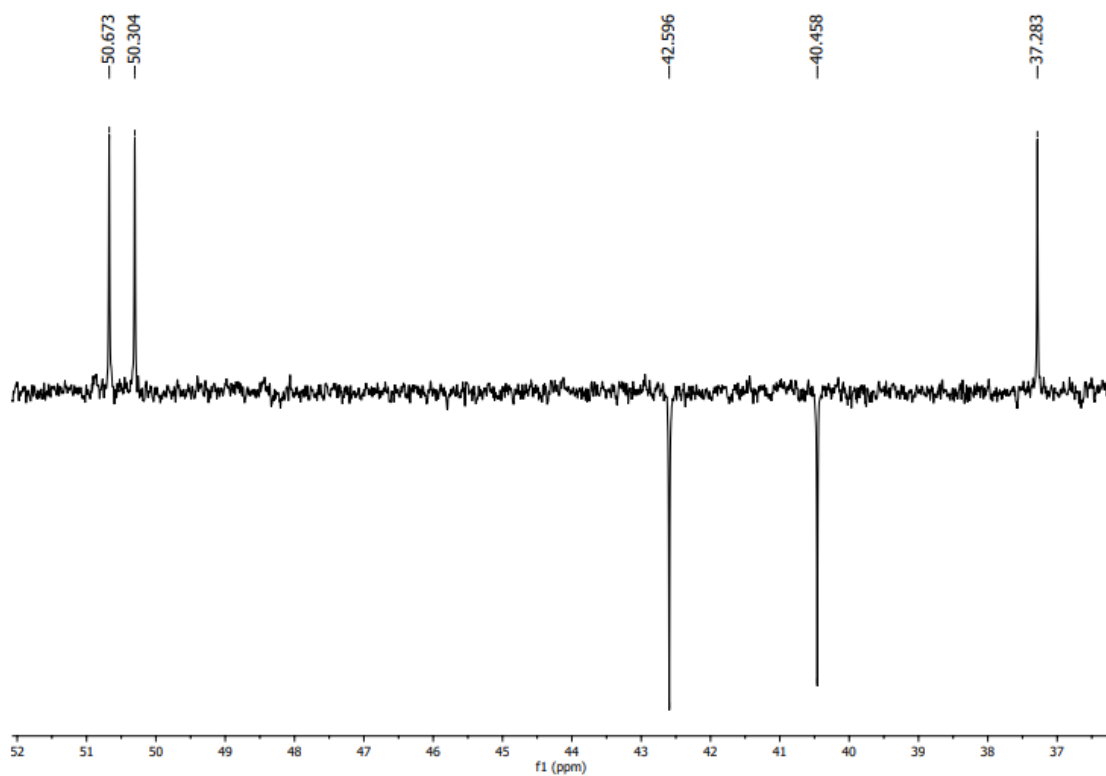


Figura 28 - Expansão do espectro de RMN de ^{13}C – dept135 (100 MHz, CDCl_3) de SES-01

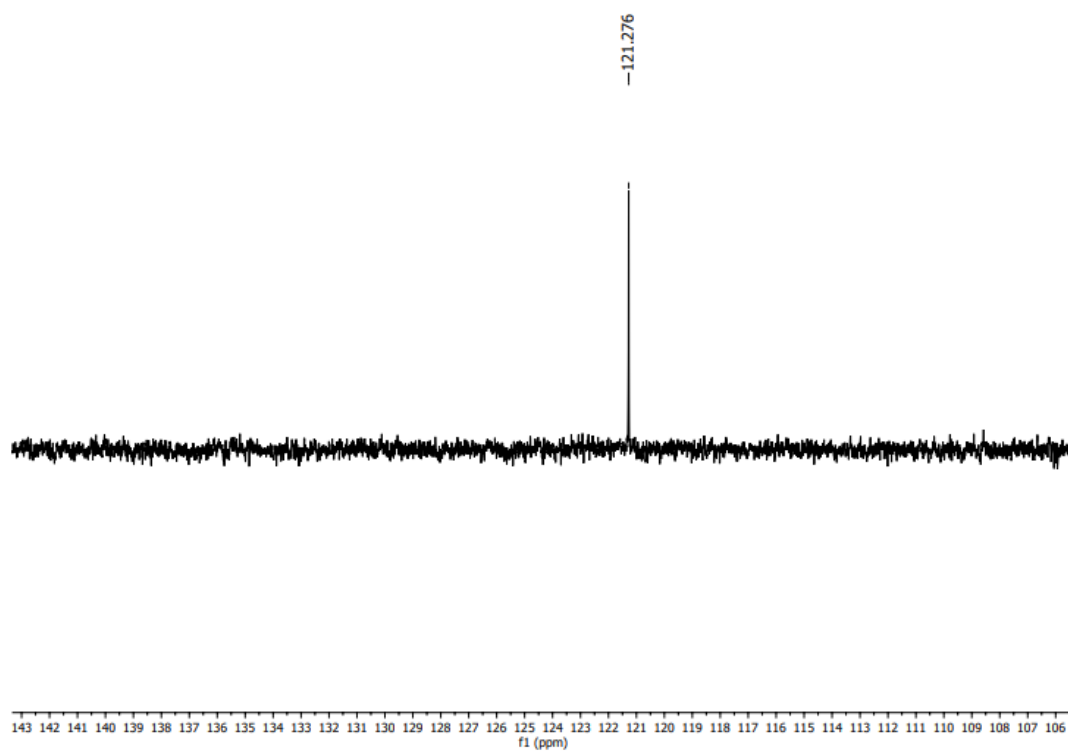


Figura 29 - Espectro de RMN de ^1H - ^{13}C – ^1J HSQC (400x100 MHz, CDCl_3) de SES-01

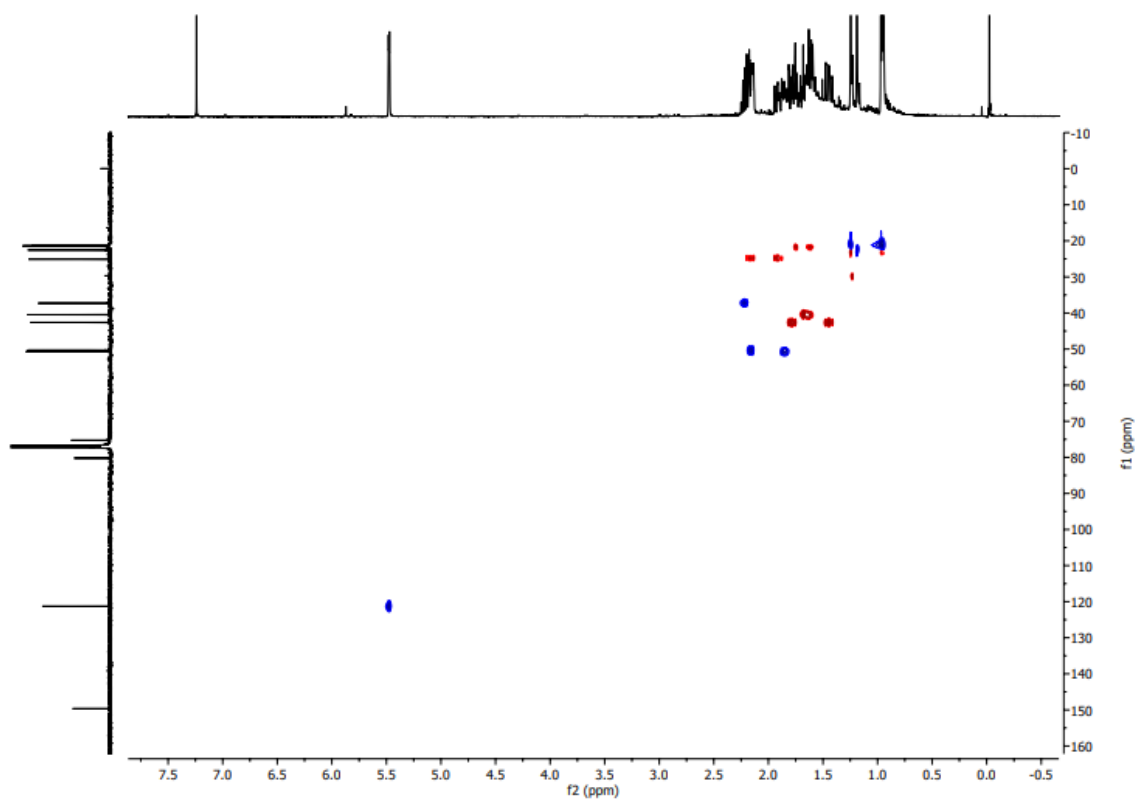


Figura 30 - Expansão do espectro de RMN de ^1H - ^{13}C - ^1J HSQC (400x100 MHz, CDCl_3) de SES-01

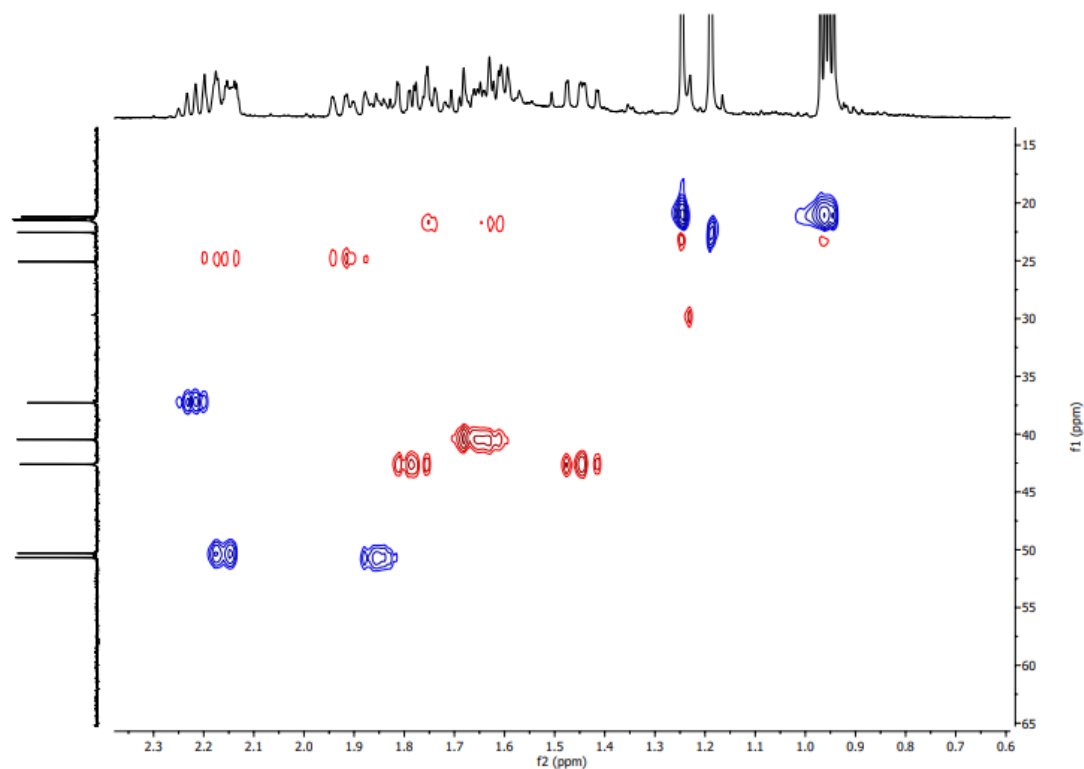


Figura 31 - Expansão do espectro de RMN de ^1H - ^{13}C - ^1J HSQC (400x100 MHz, CDCl_3) de SES-01

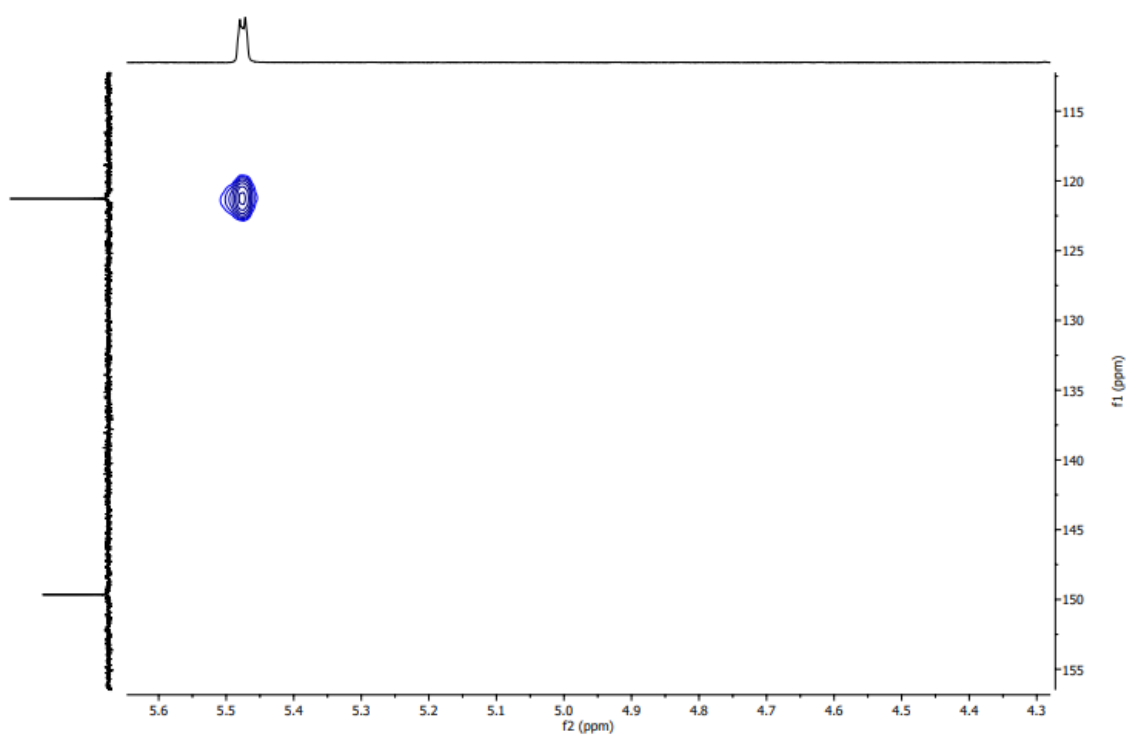


Figura 32 - Espectro de RMN de ^1H - ^{13}C - $2\text{-}^3\text{J}$ HMBC (400x100 MHz, CDCl_3) de SES-01

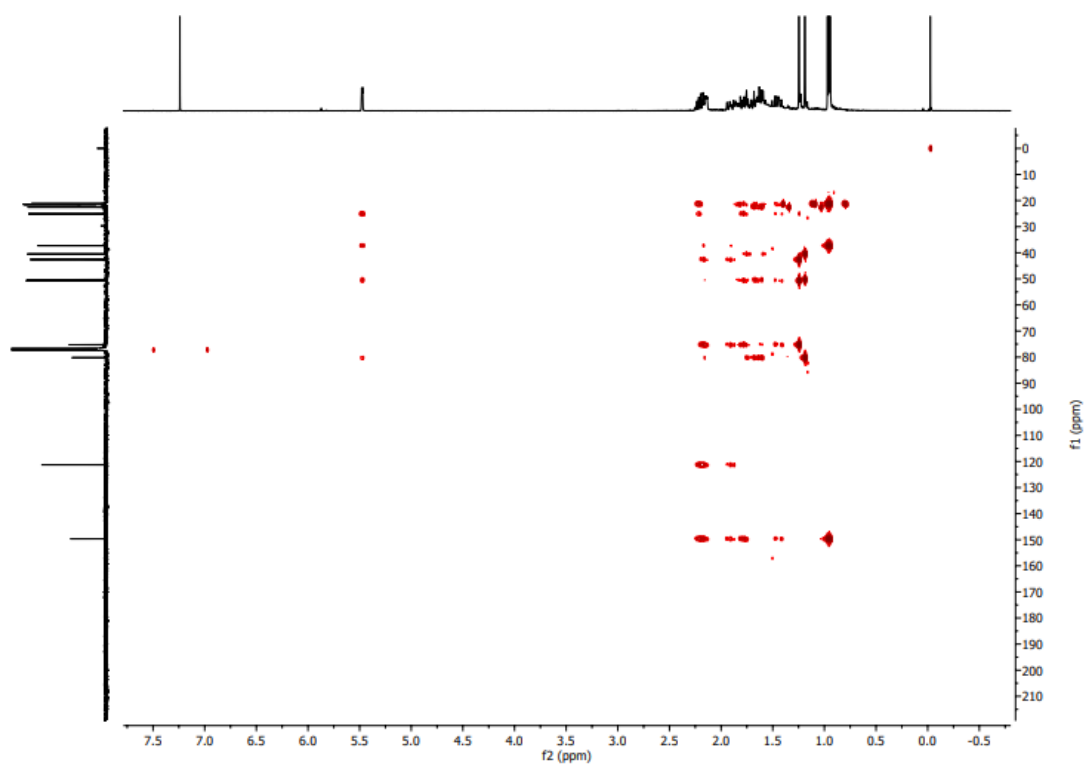


Figura 33 - Expansão do espectro de RMN de ^1H - ^{13}C - $2\text{-}^3\text{J}$ HMBC (400x100 MHz, CDCl_3) de SES-01

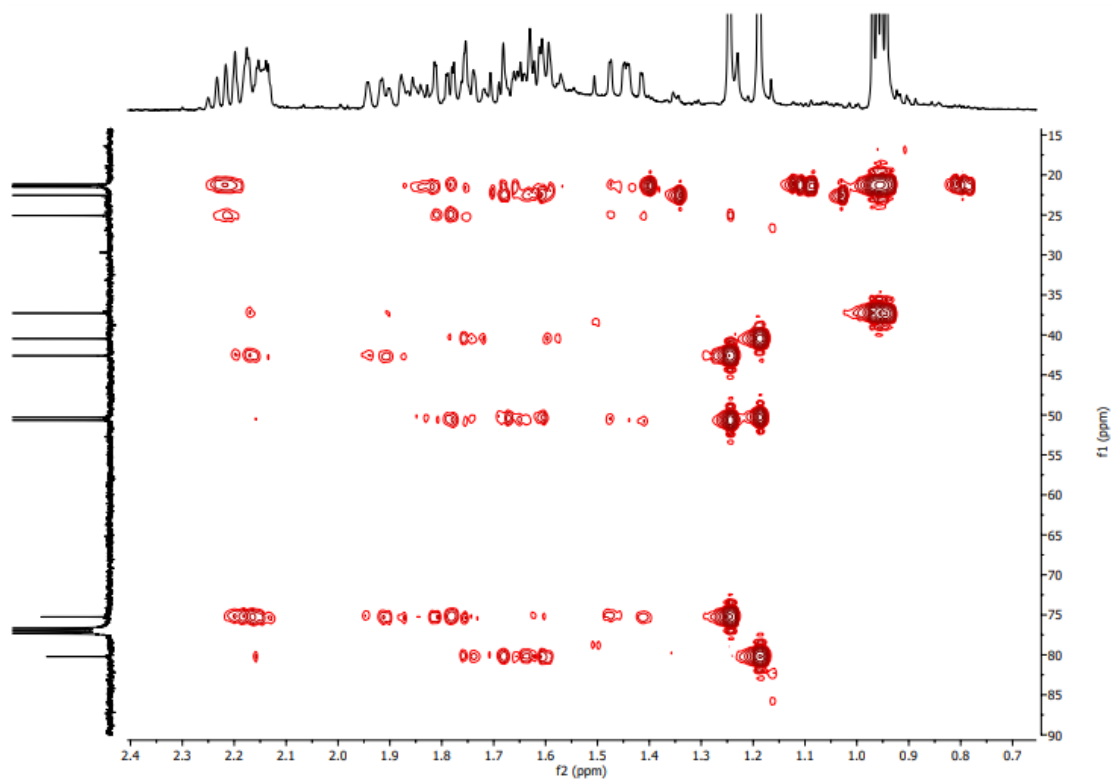


Figura 34 - Expansão do espectro de RMN de ^1H - ^{13}C – $2-3J$ HMBC (400x100 MHz, CDCl_3) de SES-01

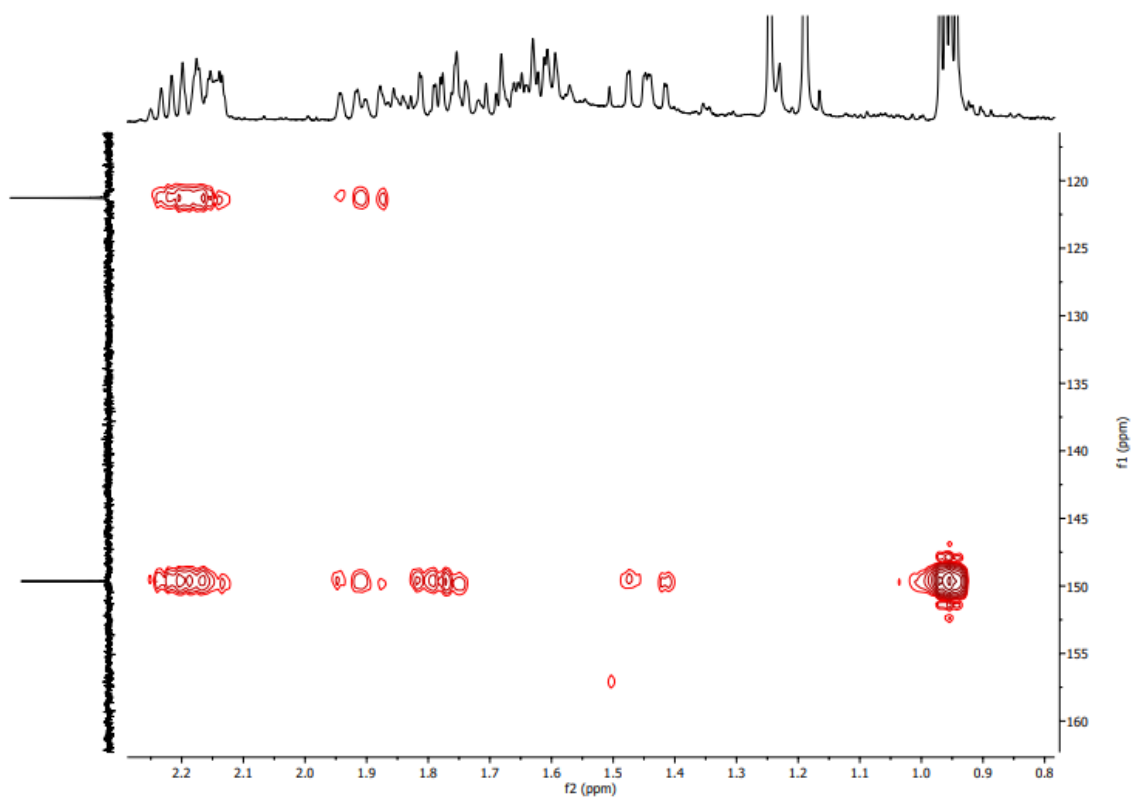


Figura 35 - Expansão do espectro de RMN de ^1H - ^{13}C – $2-3J$ HMBC (400x100 MHz, CDCl_3) de SES-01

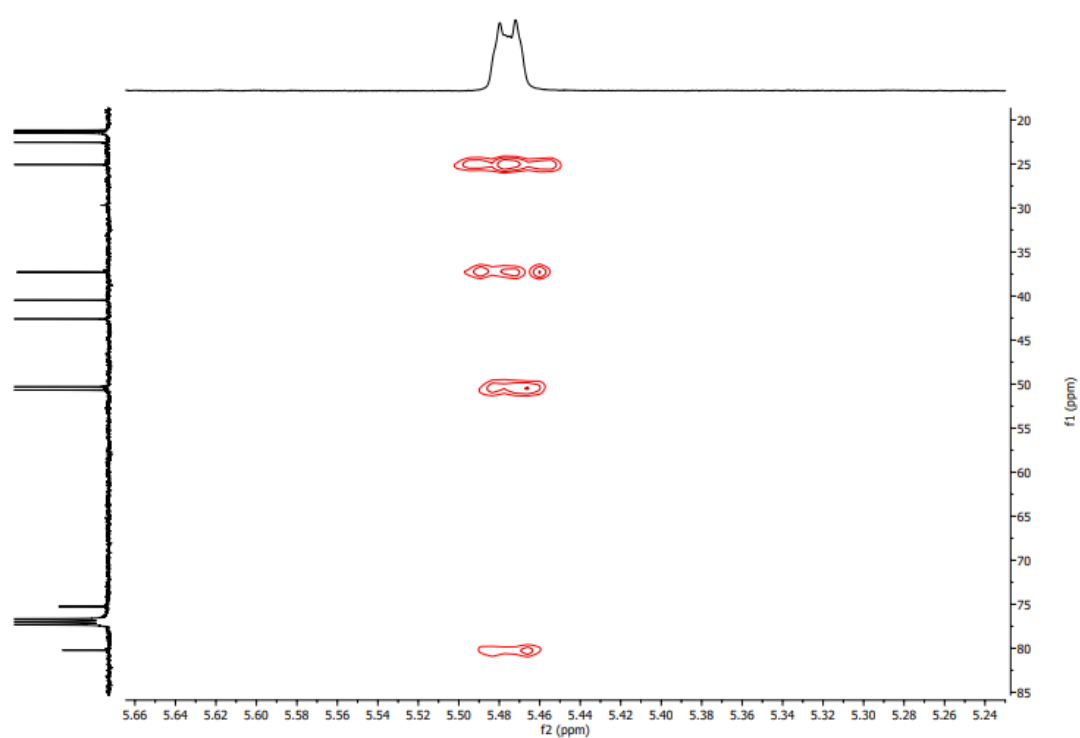


Figura 36 - Espectro de RMN de NOESY (400 MHz, CDCl_3) de SES-01

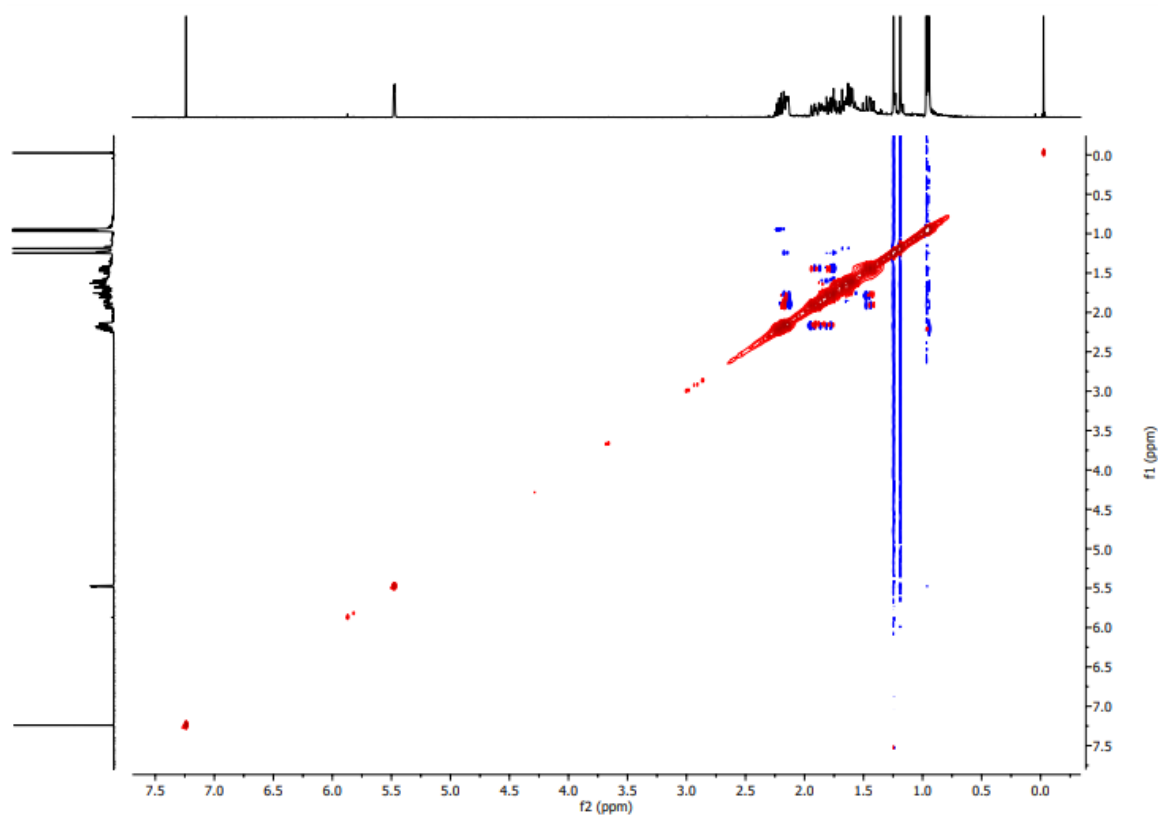


Figura 37 - Expansão do espectro de RMN de NOESY (400 MHz, CDCl_3) de SES-01

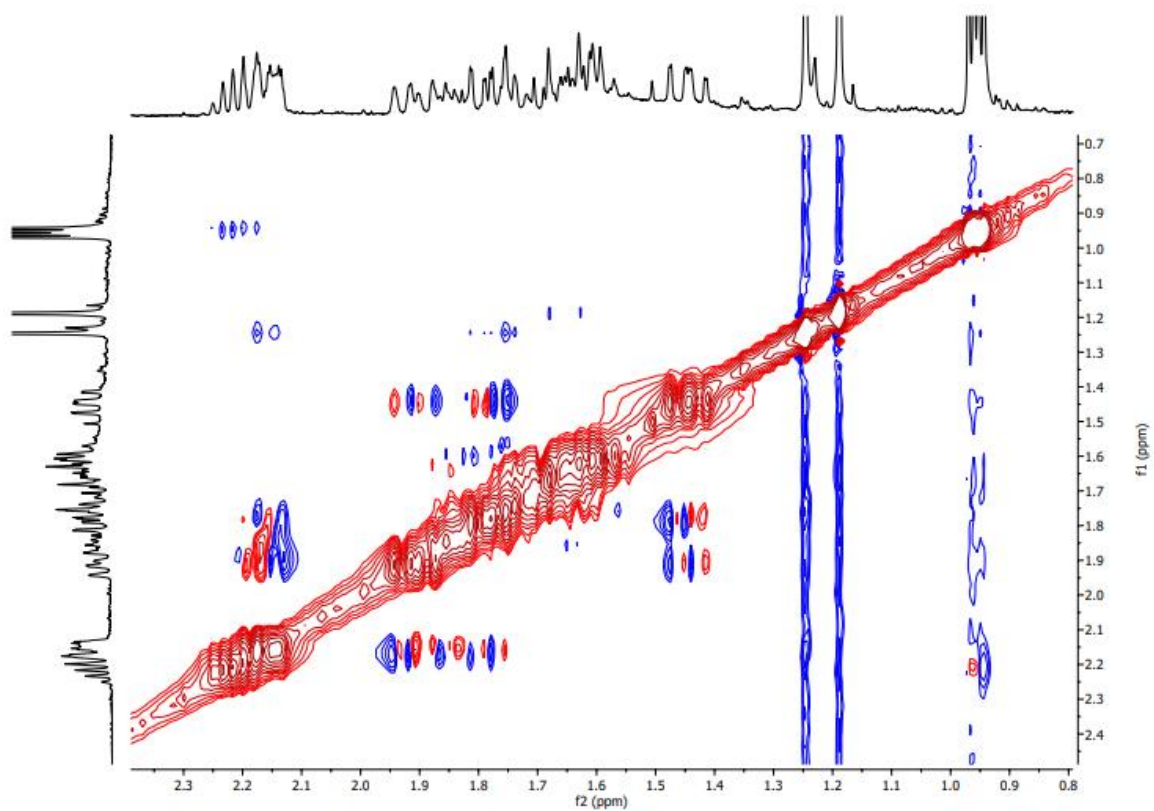
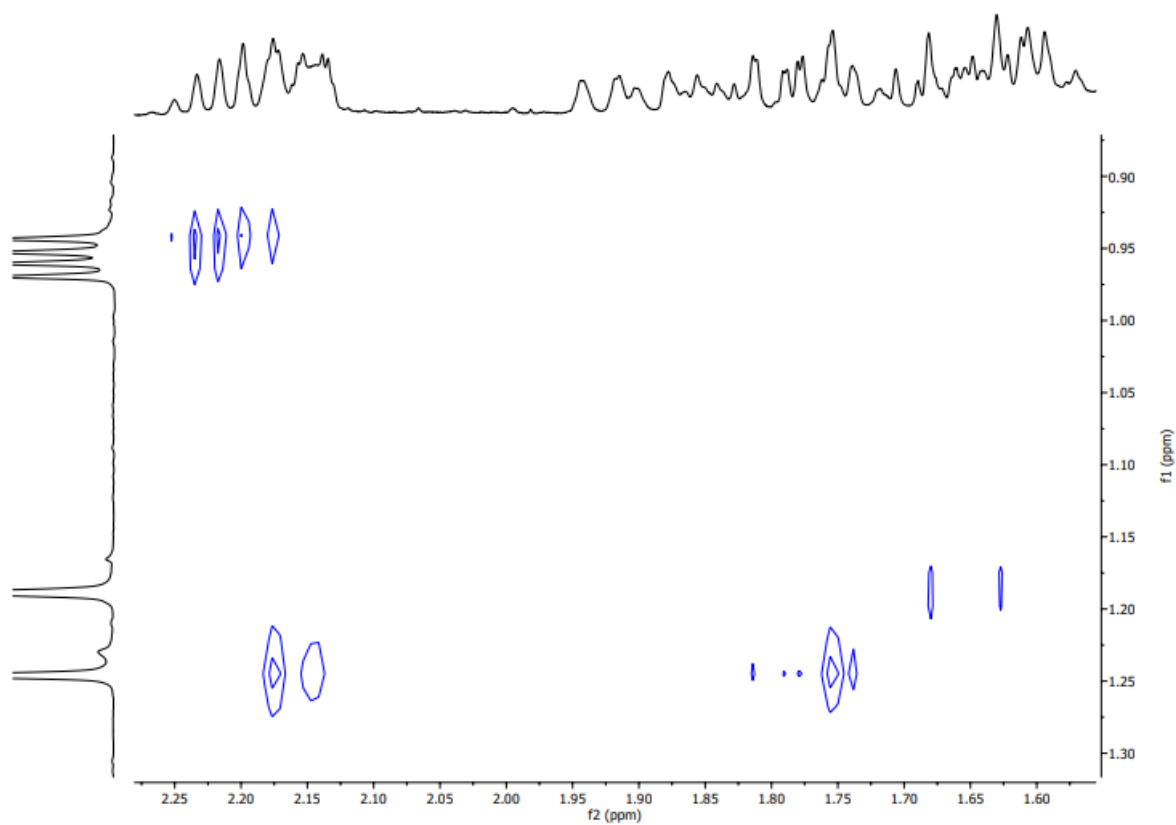


Figura 38 - Expansão do espectro de RMN de NOESY (400 MHz, CDCl_3) de SES-01

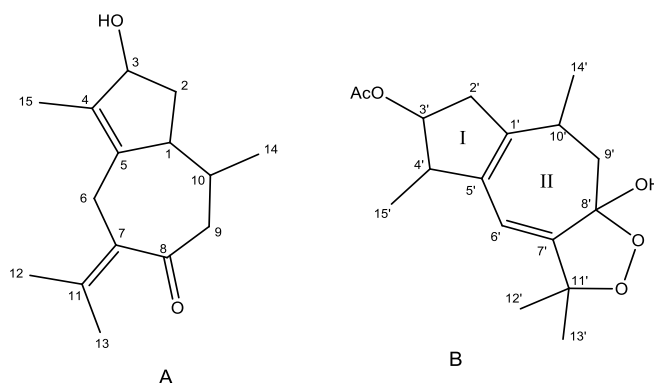


5.3. Determinação Estrutural de SES-02

SES-02 foi isolada na forma de um pó branco, pesando 4,6 mg. Em seu espectro de RMN de ^1H (figuras 43-48, pág. 74-76) foram observados deslocamentos característicos de grupos metil em δ_{H} 1,81 (3H, s, H-12), δ_{H} 1,99 (3H, *d*, $J = 2,1$, H-13), δ_{H} 1,42 (3H, s, H-12') e δ_{H} 1,45 (3H, s, H-13'), também observou-se dupletos em δ_{H} 1,02 (3H, H-14) e em δ_{H} 1,23 (3H, H-14'), também característicos de hidrogênios metílicos, ambos acoplando com os hidrogênios metínicos H-10 (1H, δ_{H} 2,67, *m*) e H-10' (1H, δ_{H} 2,69, *m*), respectivamente. Foi observada ainda, a presença de dois grupos metil, sendo um, vinílico (H-15) em δ_{H} 1,39 (3H, s), e em δ_{H} 1,52 (3H, s) (H-15'). Também foram vistos sinais característicos de metila de grupo acetil em δ_{H} 2,04 (3H, s) e de um hidrogênio olefínico em δ_{H} 5,54 (1H, s) (H-6).

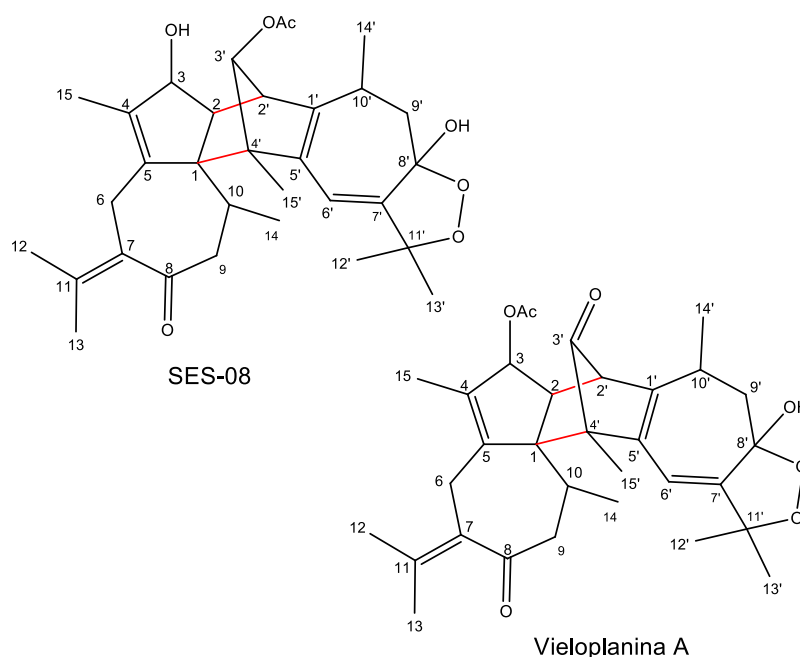
Os espectros de RMN de ^{13}C -BB (figuras 49-54, pág. 77-79) e dept135 (figuras 55-58, pág. 80-81), interpretados com a ajuda do espectro HSQC (figuras 59-62, pág. 82-83), mostraram a presença de 30 átomos de carbonos, destes, nove são metílicos, três metilênicos, sete metínicos e 11 são carbonos não hidrogenados, sendo dois carbonílicos, oito olefínicos e quatro carbonos oxigenados. Os sinais em δ_{C} 154,9, δ_{C} 103,2 e δ_{C} 85,5 revelam a presença de um anel de peróxido de cinco membros e o sinal de carbono metínico em δ_{C} 80,12 (C-3) sugere a presença de um grupo hidroxila ligado a este carbono. Os deslocamentos de RMN de ^1H e de ^{13}C (tabela 6, pág. 73) comparados com os dados encontrados na literatura (XIE, Y. et al., 2019), sugerem a presença de duas unidades (A e B) de sesquiterpenos com esqueleto guaiano (figura 39, pág. 70).

Figura 39 - Monômeros formadores de SES-02



No espectro HMBC (figuras 63-67, pág. 84-86), foi observado um anel de cinco membros (I) na unidade “B” pela existência de um mapa de contorno atribuído as correlações de H-3' com C-2'/C-5' e de Me-15' com C-3'/C-4'/C-5'. Além disso, correlações de H-6' a C-1'/C-7'/C-8'/, de H-10' com C-1'/C-8'/C-9', de H2-9' com C-1'/C-8'/C-10' e de H3-14' com C-1'/C-9'/C-10' indicaram que o anel de sete membros (II) está conectado com o anel de cinco membros (I) via ligação dupla C-1'/C-5'. O anel peróxido de cinco membros é conectado com o anel de sete membros (II) através de uma ligação simples C-7'/C-8' com base nas correlações entre H-6' a C-7'/C-8'/C-11', de H3-12' a C-11'/C-7' e H3-13' a C-11'/C-7'. De acordo com a análise espectral, confirma-se que as duas unidades constituintes de SES-02 são monômeros com esqueleto guaiano. As unidades A e B são conectadas por meio de ligações C-1 a C-4' e C-2 a C-2' com base nas correlações de HMBC de H-2 com C-1', de H-3' com C-2, e de H3-15' com C-1. Consequentemente, a estrutura planar de SES-02 foi confirmada conforme mostrado na figura 40 (pág. 71), sendo semelhante a estrutura da Vieloplanina A (XIE, Y. et al., 2019). Entretanto, a Vieloplanina possui o grupo acetil ligado em C-3 e um grupo cetona em C-3', ao passo que SES-02 possui uma hidroxila em C-3 e o grupo acetil ligado em C-3', isso implica em uma desproteção do carbono C-3 da Vieloplanina em comparação com SES-02.

Figura 40 - Estrutura planar de SES-02 e da Vieloplanina A



Portanto, SES-02 foi identificada como sendo um disesquiterpeno com esqueleto guaiano-guaiano (figura 42, pág. 72) isolado pela primeira vez na literatura e na espécie *Guatteria olivacea*.

The diagram shows a complex polycyclic molecule with two fused ring systems. The left ring system has carbons numbered 1 through 13, with a double bond between 4 and 5, and a ketone group at C8. The right ring system has carbons numbered 1' through 15', with a double bond between 5' and 6', and an acetoxy group (OAc) at C3'. Various functional groups are present: a hydroxyl group (OH) at C10', an acetoxy group (OAc) at C3', a hydrogen atom (Ha) at C6, and a hydrogen atom (Hb) at C6. Blue arrows indicate a reaction pathway starting from the OAc group, proceeding through the C3' position, then through the C1' and C2' positions, and finally through the C10' position, suggesting a rearrangement or elimination reaction.

Tabela 6 - Deslocamentos químicos de RMN ^{13}C em CDCl_3 de SES-02 e Vieloplanina A

SES-02 (δ_{H} e δ_{C} , CDCl_3)			Vieloplanina A (δ_{H} e δ_{C} , CDCl_3) (XIE, Y. et al., 2019)	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1	-	67,08	-	66,2
2	2.64 (<i>m</i>)	55,53	2.48 (<i>m</i>)	56,4
3	3.89 (<i>s</i>)	80,18	5.09 (<i>s</i>)	85,09
4	-	140,44	-	133,3
5	-	140,72	-	134,6
6	3.06 (<i>dd</i> , <i>J</i> = 4.6, 2.30) 2.63 (<i>m</i>)	28,98	3.47 (<i>d</i> , 15.2) 3.15 (<i>d</i> , 15.2)	26,4
7	-	132,13	-	133,8
8	-	203,86	-	205,7
9	3.25 (<i>dd</i> , <i>J</i> = 11.8, 2.7) 2.26 (<i>dd</i> , <i>J</i> = 11.8, 6.6)	48,44	2.73 (<i>m</i>) 2.43 (<i>m</i>)	52,8
10	2.67 (<i>m</i>)	33,81	2.66 (<i>m</i>)	30,4
11	-	141,68	-	134,2
12	1.81 (<i>s</i>)	22,95	1.73 (<i>s</i>)	20,6
13	1.99 (3H, <i>d</i> , <i>J</i> = 2,1)	22,97	2.02 (<i>s</i>)	21,3
14	1.02 (3H, <i>d</i> , <i>J</i> = 7,1)	18,77	1.21 (<i>d</i> , 6.5)	19,9
15	1.42 (<i>s</i>)	11,54	1.55 (<i>s</i>)	14,3
1'	-	146,41	-	147,1
2'	3.09 (<i>m</i>)	48,5	3.11 (<i>m</i>)	50,9
3'	4.40 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 2,1)	88,57	-	205,7
4'	-	57,62	-	53,7
5'	-	133,40	-	161,4
6'	5.54 (1H, <i>s</i>)	111,78	5.91 (<i>s</i>)	113,7
7'	-	154,90	-	161,9
8'	-	103,22	-	102,9
9'	2.02 (<i>m</i>) 1.62 (<i>m</i>)	38,11	2.16 (<i>m</i>) 1.72 (<i>m</i>)	39,61
10'	2.69 (<i>m</i>)	33,59	2.89 (<i>m</i>)	27,9
11'	-	85,53	-	85,8
12'	1.40 (<i>s</i>)	27,71	1.45 (<i>s</i>)	23,8
13'	1.45 (<i>s</i>)	24,99	1.49 (<i>s</i>)	21,8
14'	1.23 (<i>d</i> , <i>J</i> = 7,1)	19,24	1.25 (<i>d</i> , <i>J</i> = 7,1)	18,5
15'	1.52 (<i>s</i>)	14,57	1.59 (<i>s</i>)	24,5
AcO-3'	- 2.04 (<i>s</i>)	170,43 21,41	- 2.03 (<i>s</i>)	170,0 21,3

Figura 43 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de SES-02

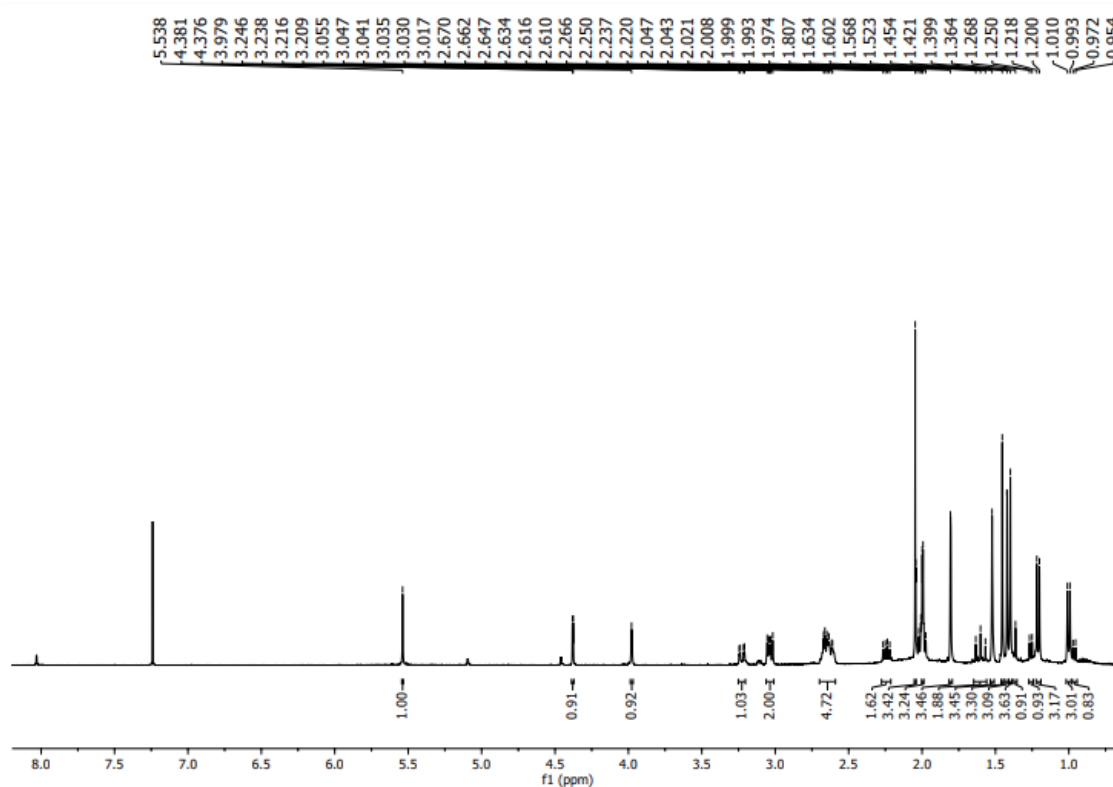


Figura 44 - Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de SES-02

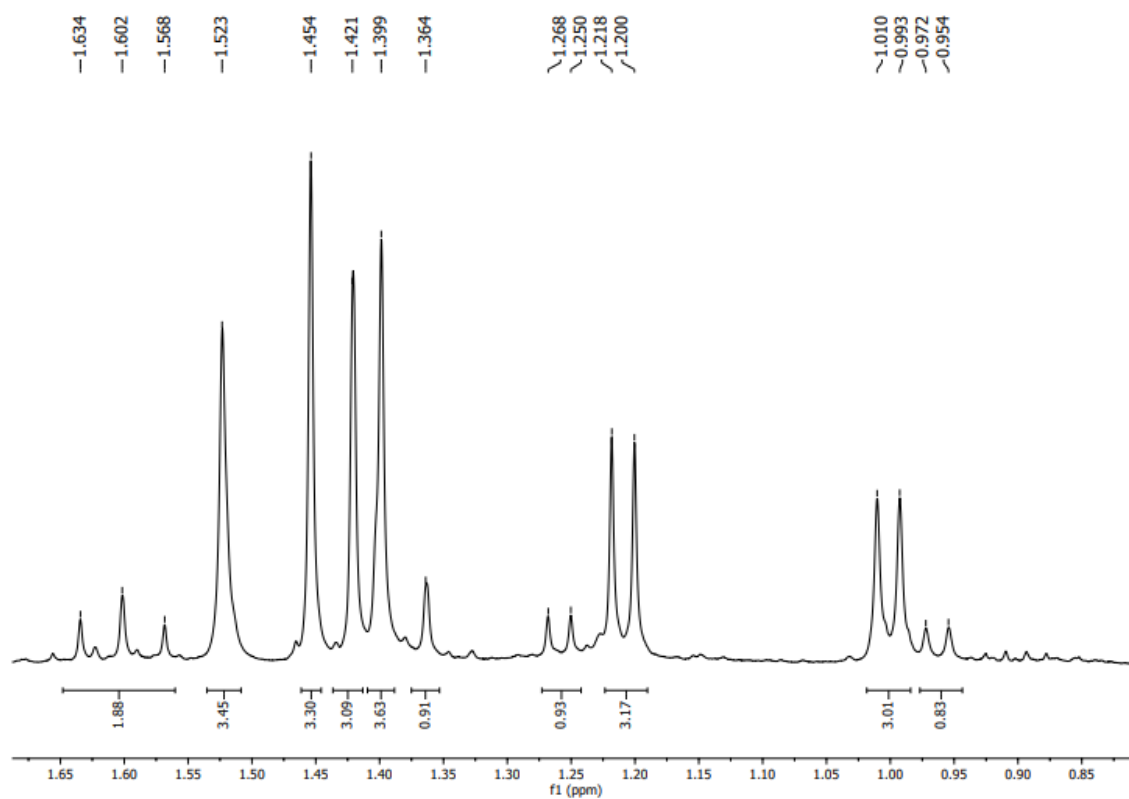


Figura 45 - Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de SES-02

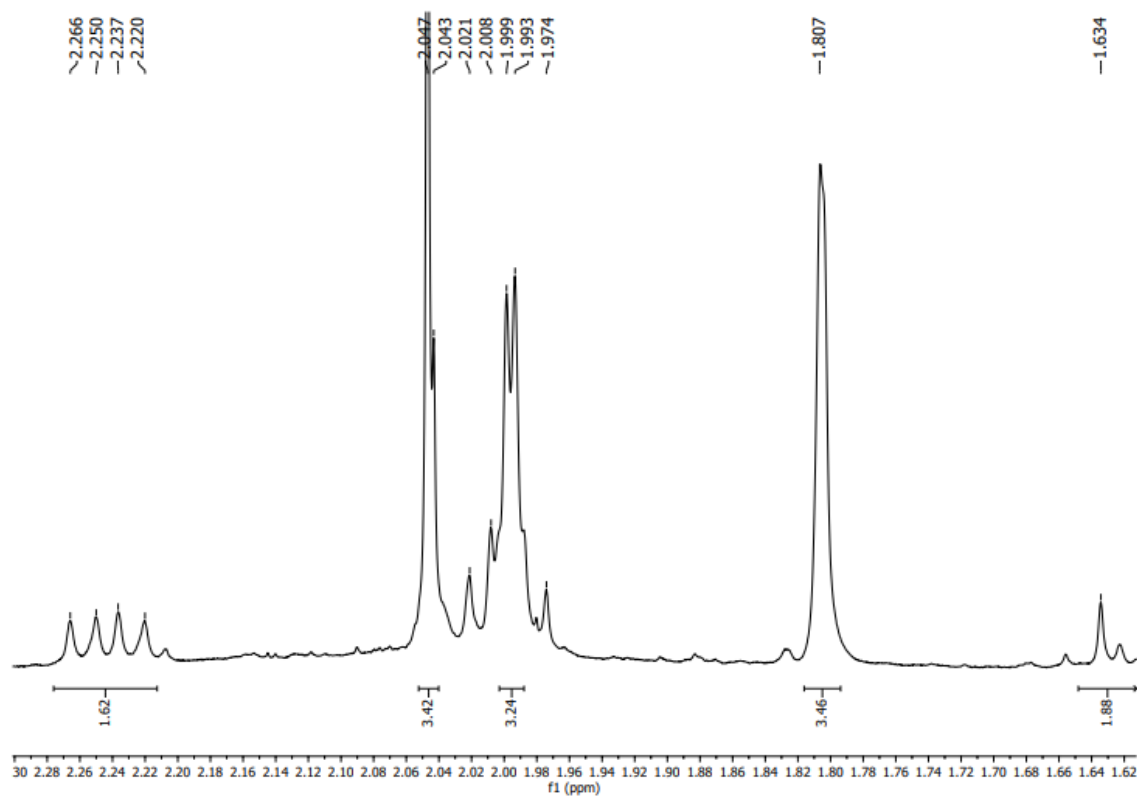


Figura 46 - Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de SES-02

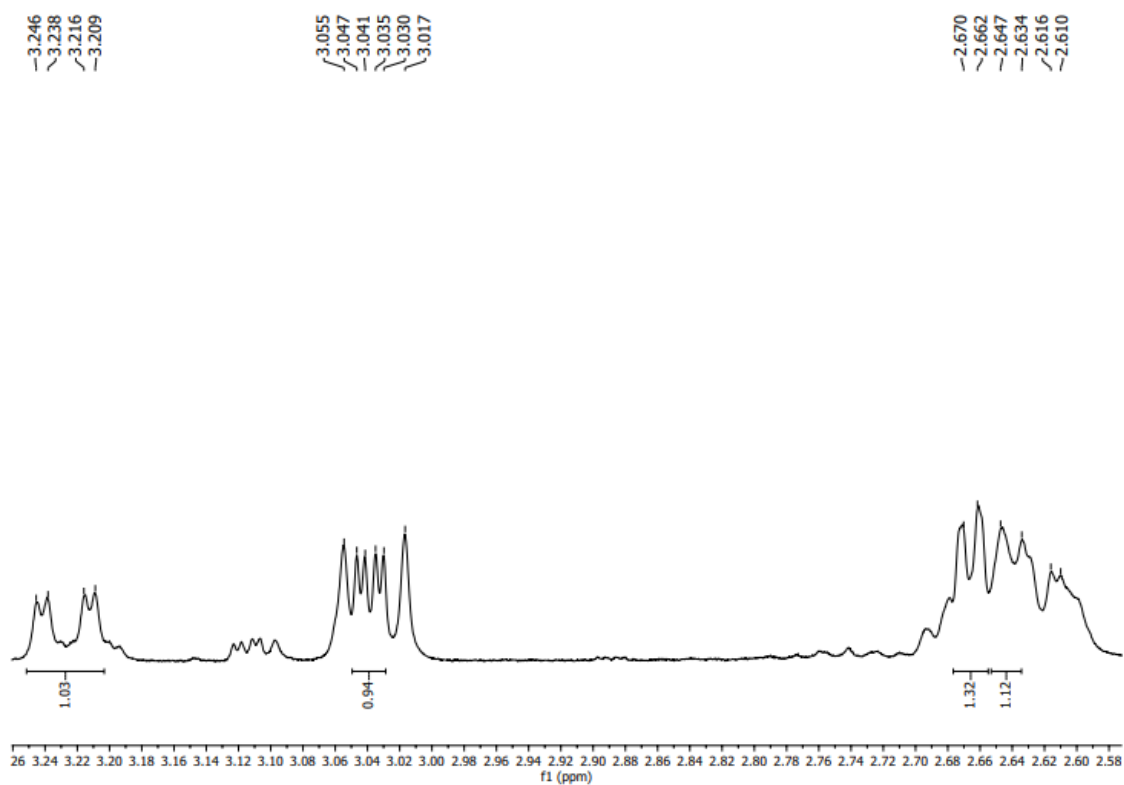


Figura 47 - Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de SES-02

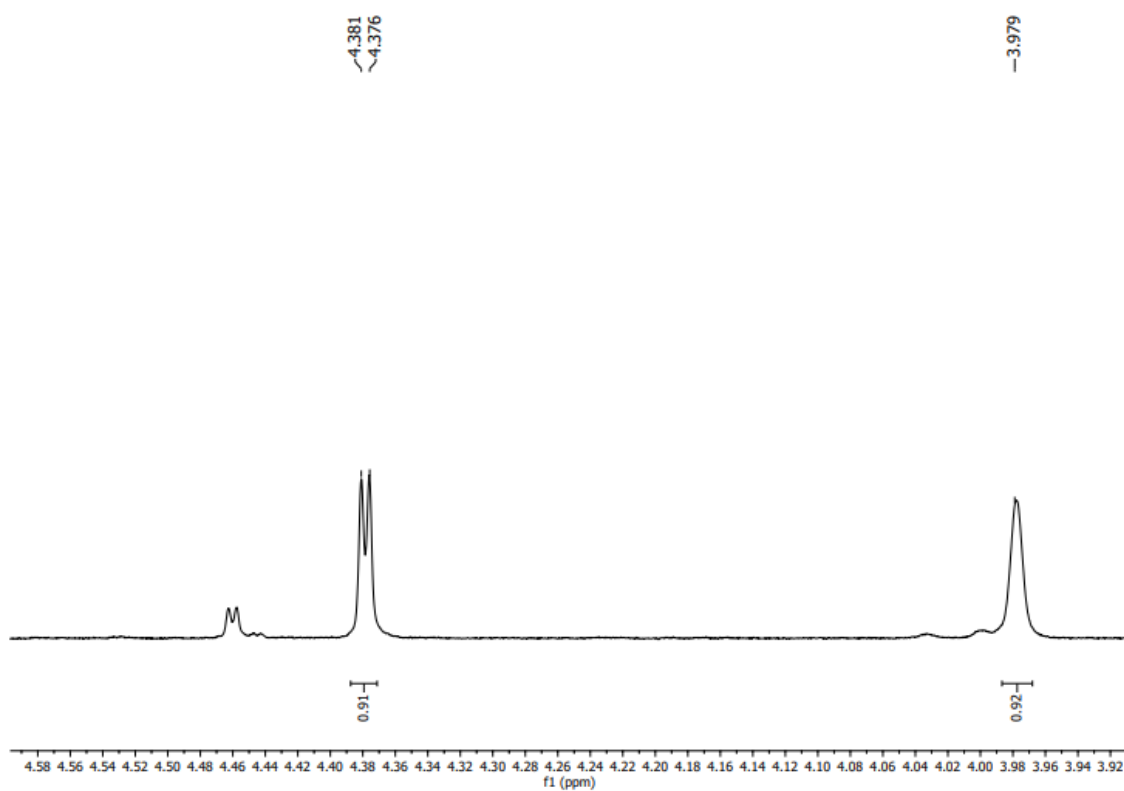


Figura 48 - Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de SES-02

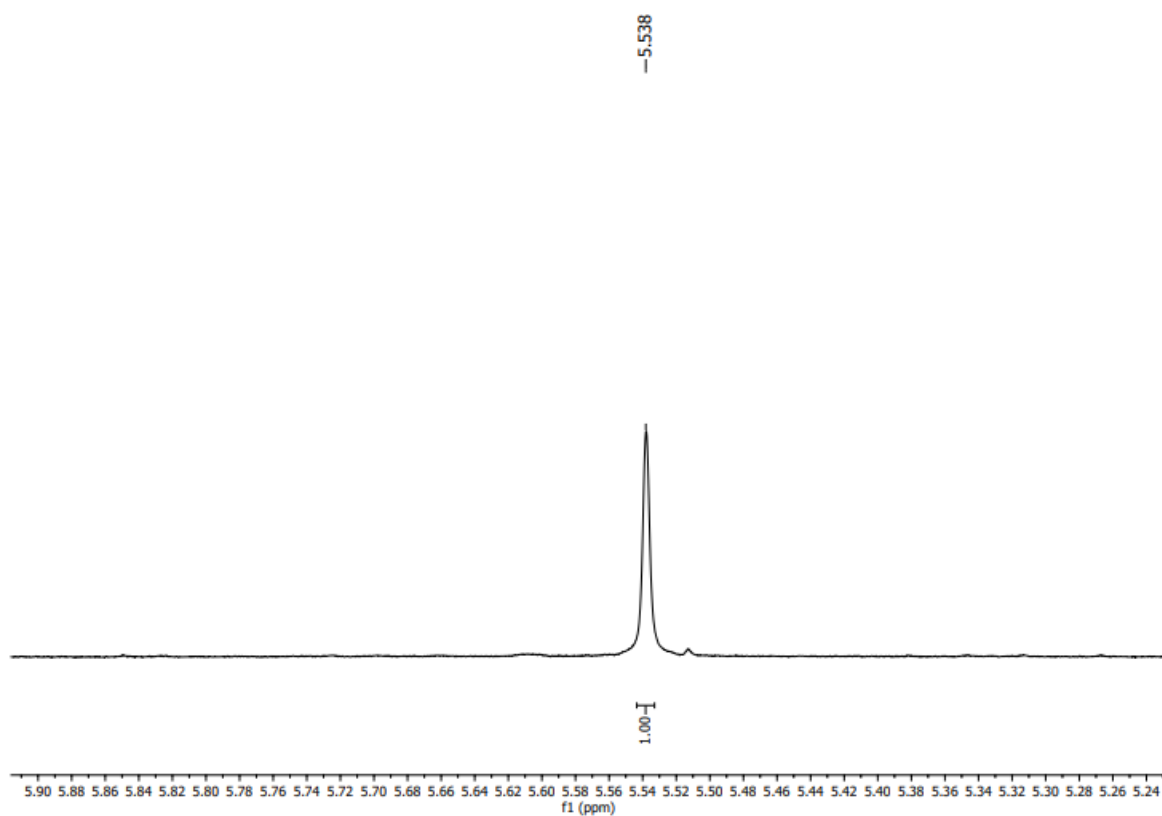


Figura 49 - Espectro de RMN de ^{13}C - BB (100 MHz, CDCl_3) de SES-02

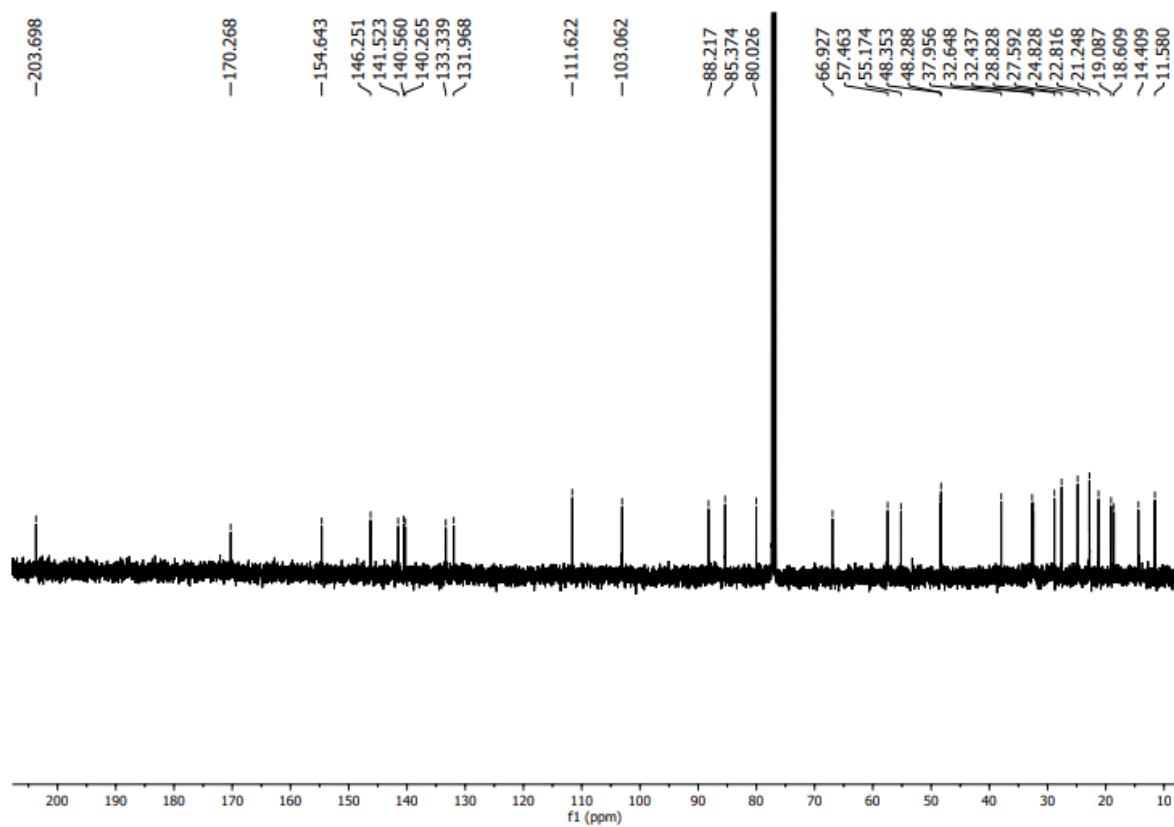


Figura 50 - Expansão do espectro de RMN de ^{13}C - BB (100 MHz, CDCl_3) de SES-02

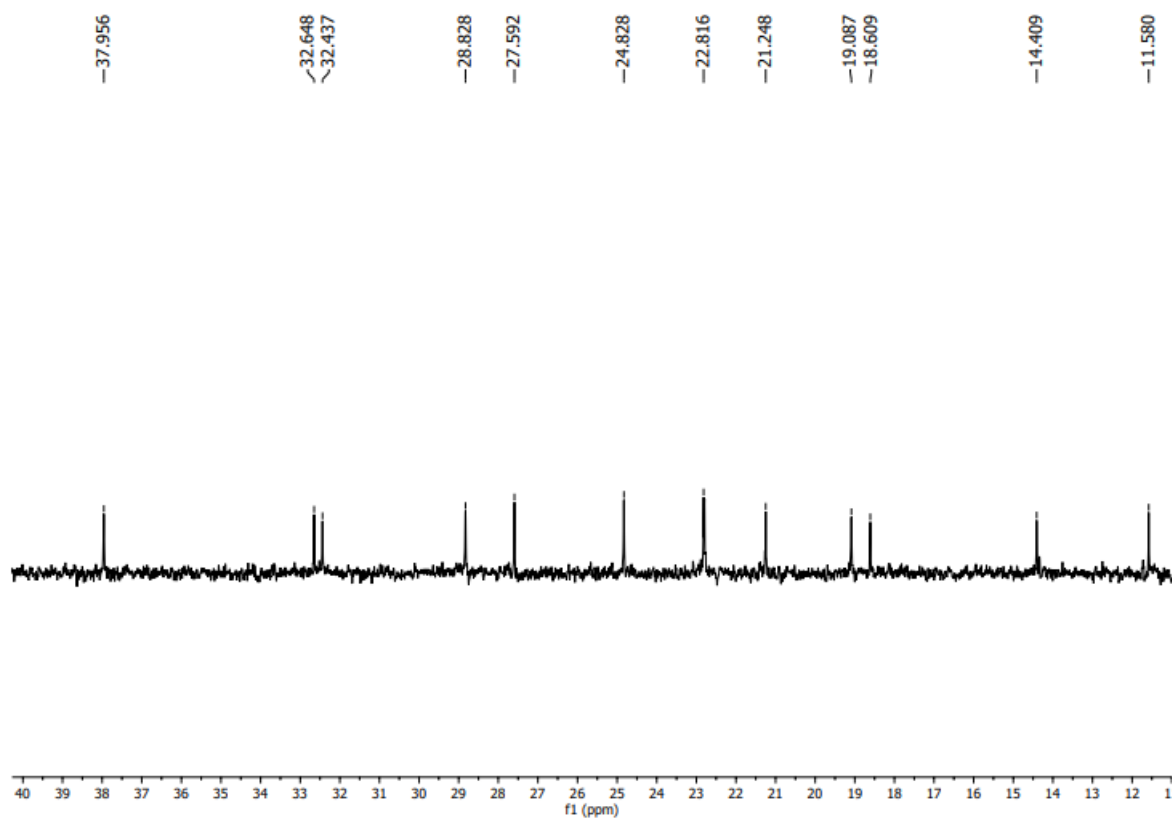


Figura 51 - Expansão do espectro de RMN de ^{13}C - BB (100 MHz, CDCl_3) de SES-02

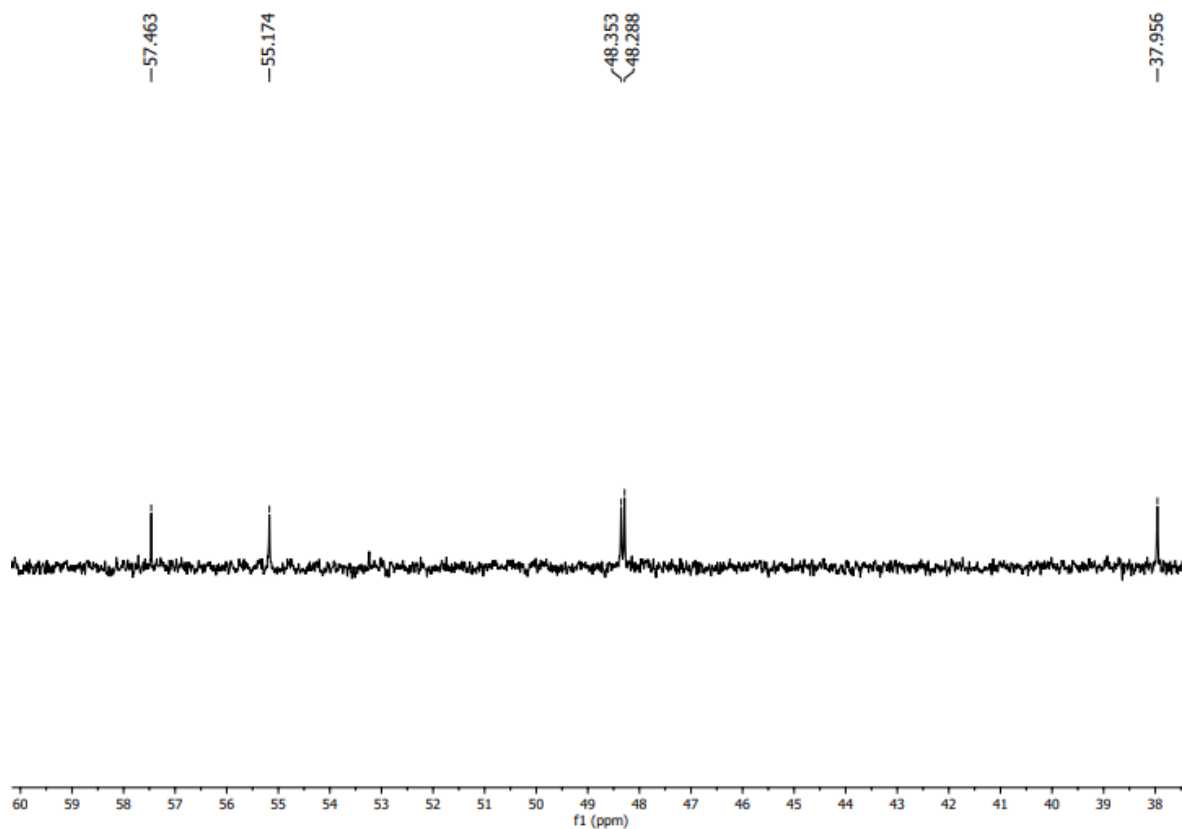


Figura 52 - Expansão do espectro de RMN de ^{13}C - BB (100 MHz, CDCl_3) de SES-02

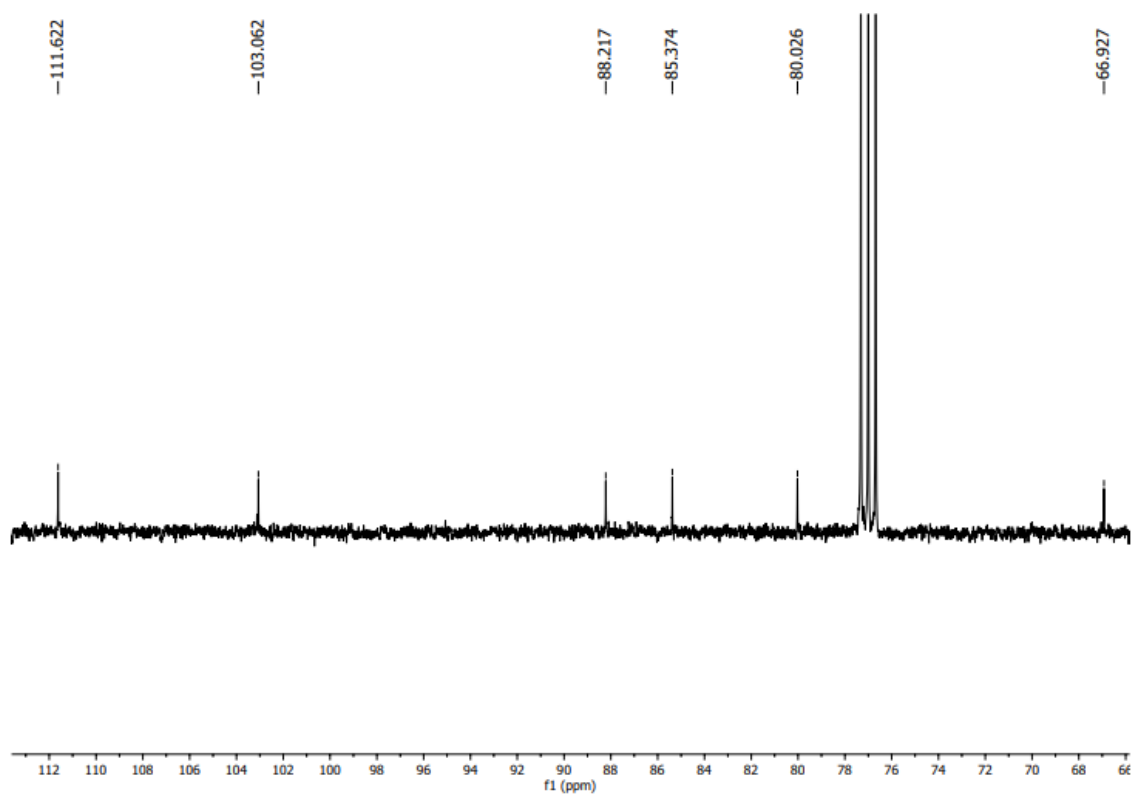


Figura 53 - Expansão do espectro de RMN de ^{13}C - BB (100 MHz, CDCl_3) de SES-02

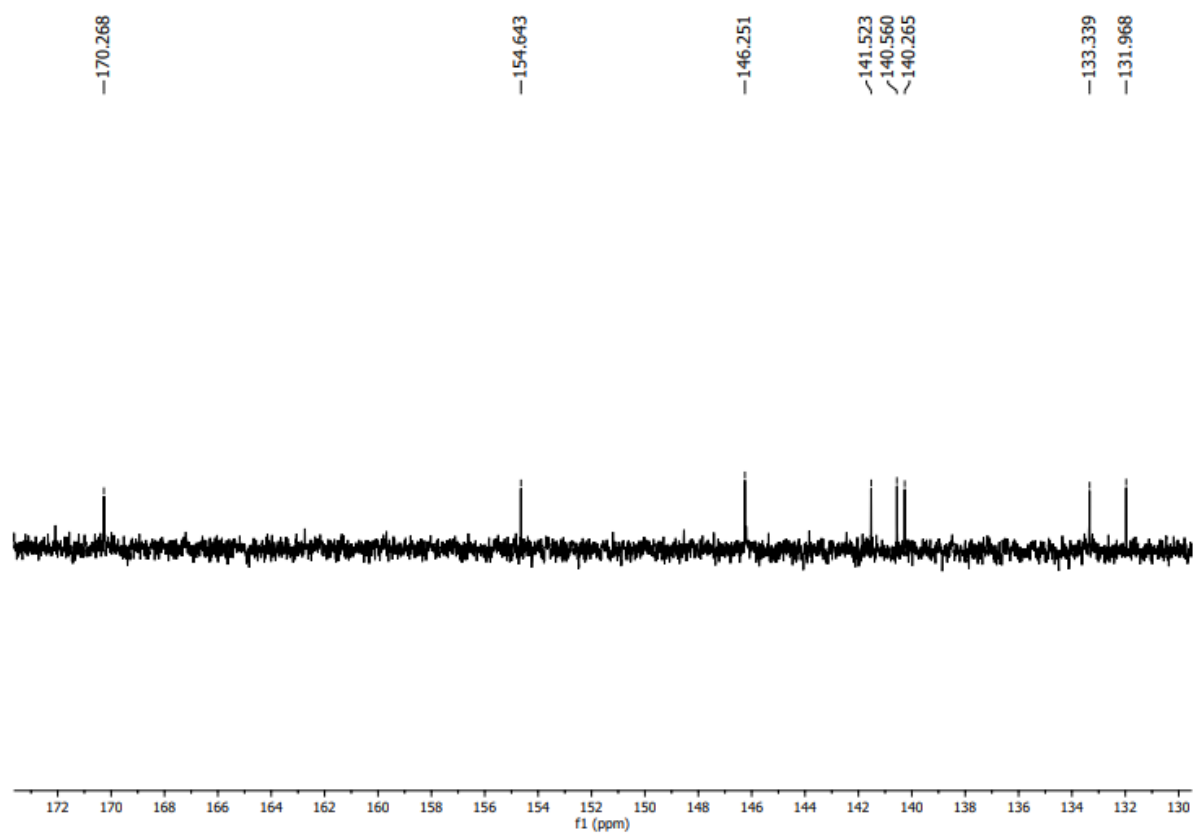


Figura 54 - Expansão do espectro de RMN de ^{13}C - BB (100 MHz, CDCl_3) de SES-02

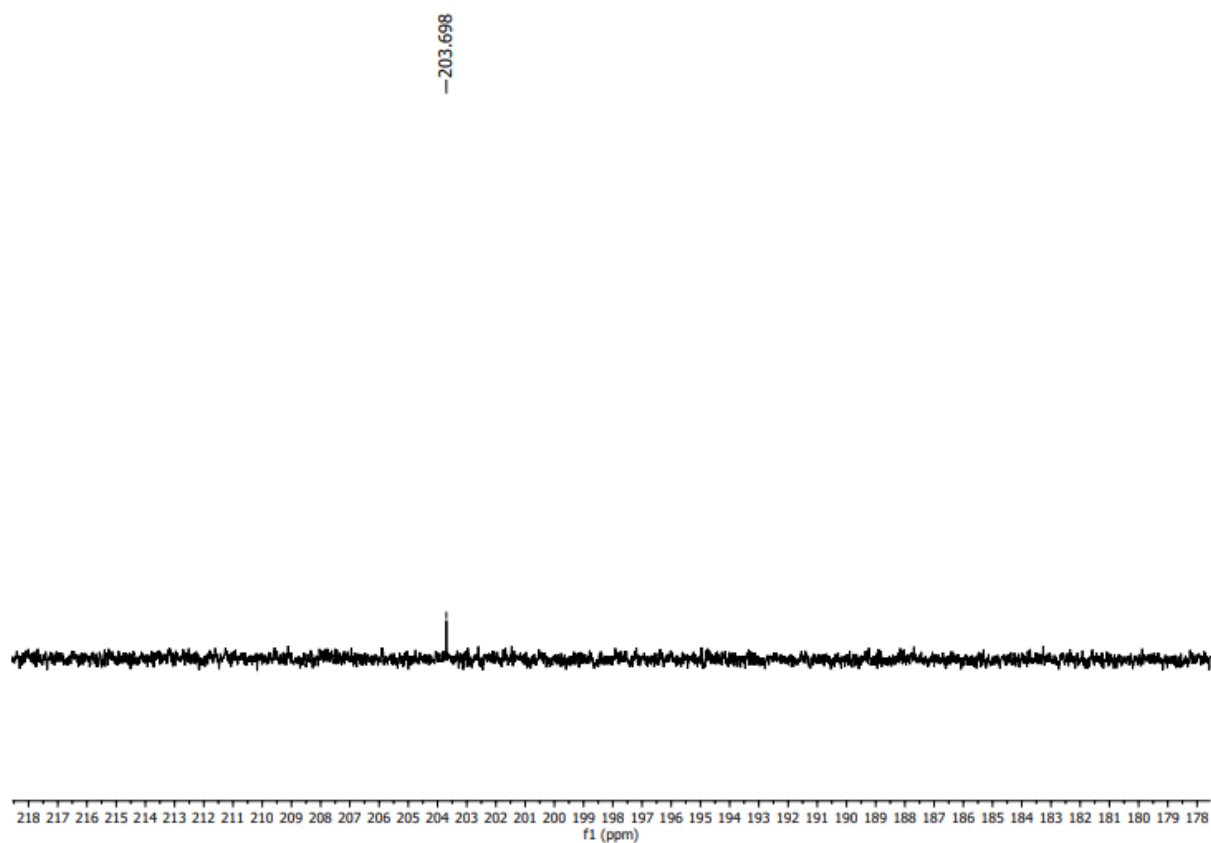


Figura 55 - Espectro de RMN de ^{13}C – dept135 (100 MHz, CDCl_3) de SES-02

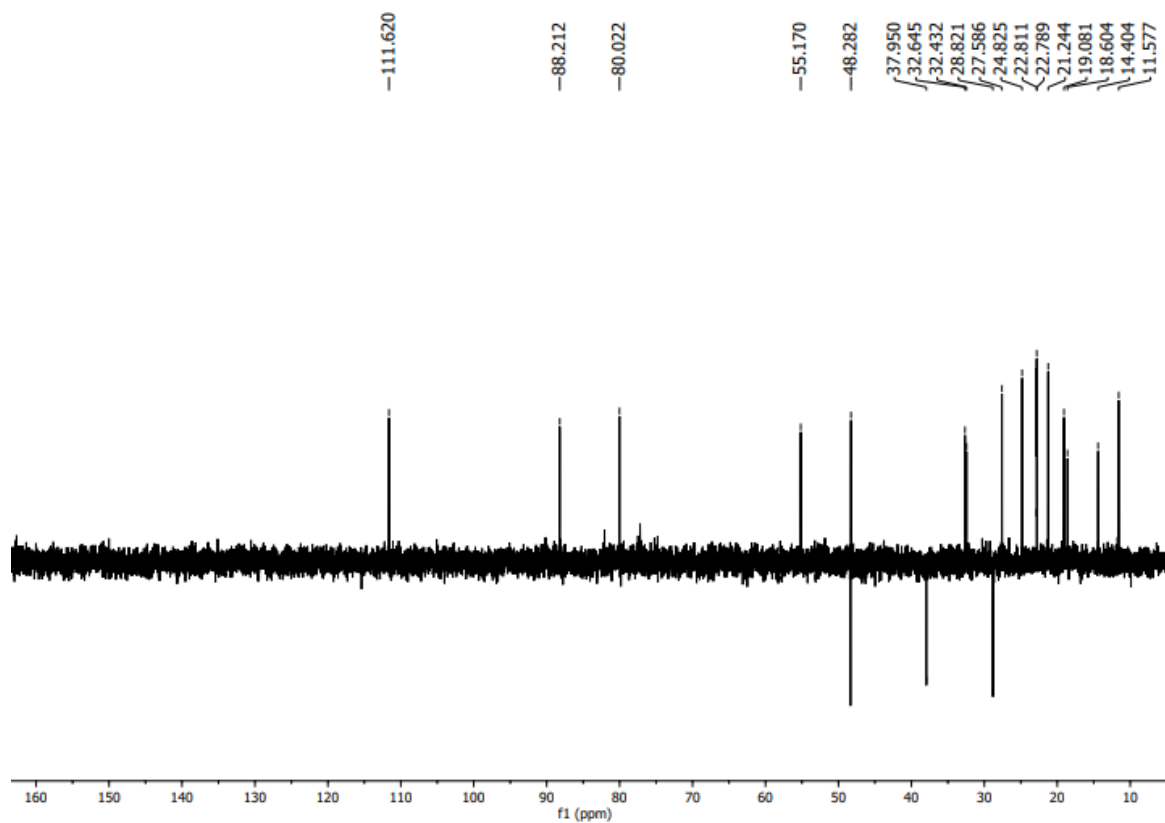


Figura 56 - Expansão do espectro de RMN de ^{13}C – dept135 (100 MHz, CDCl_3) de SES-02

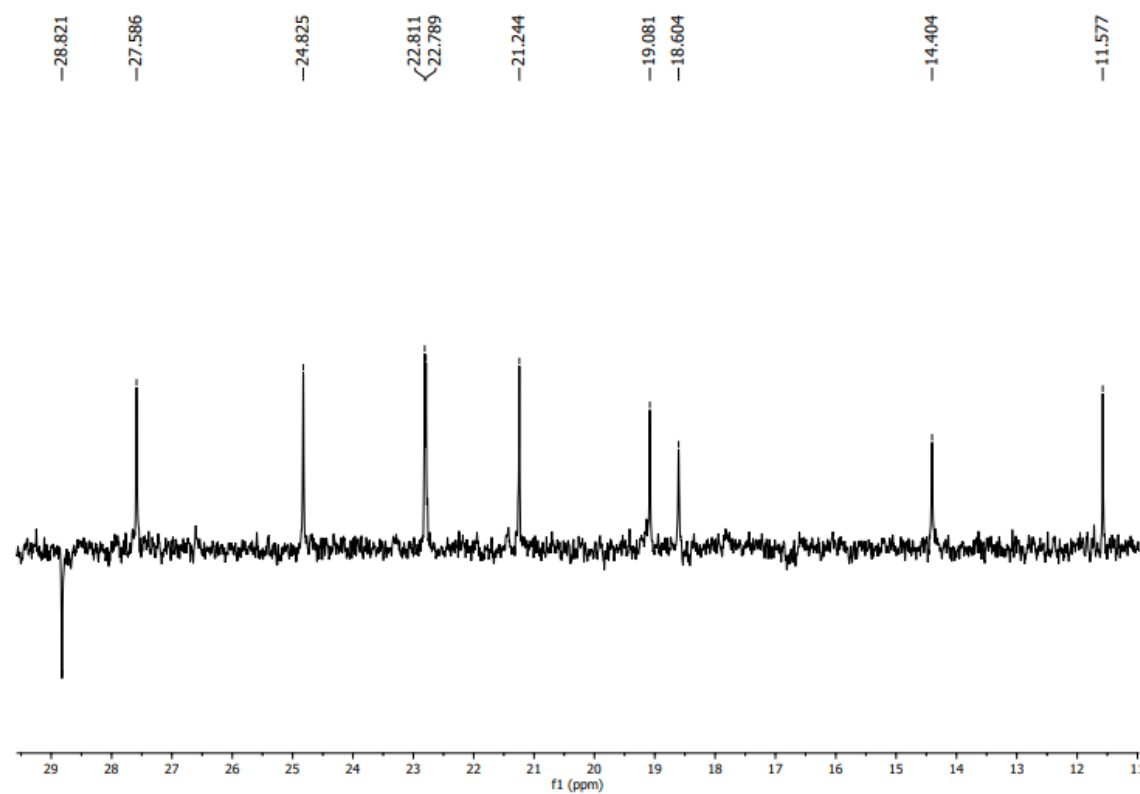


Figura 57 - Expansão do espectro de RMN de ^{13}C – dept135 (100 MHz, CDCl_3) de SES-02

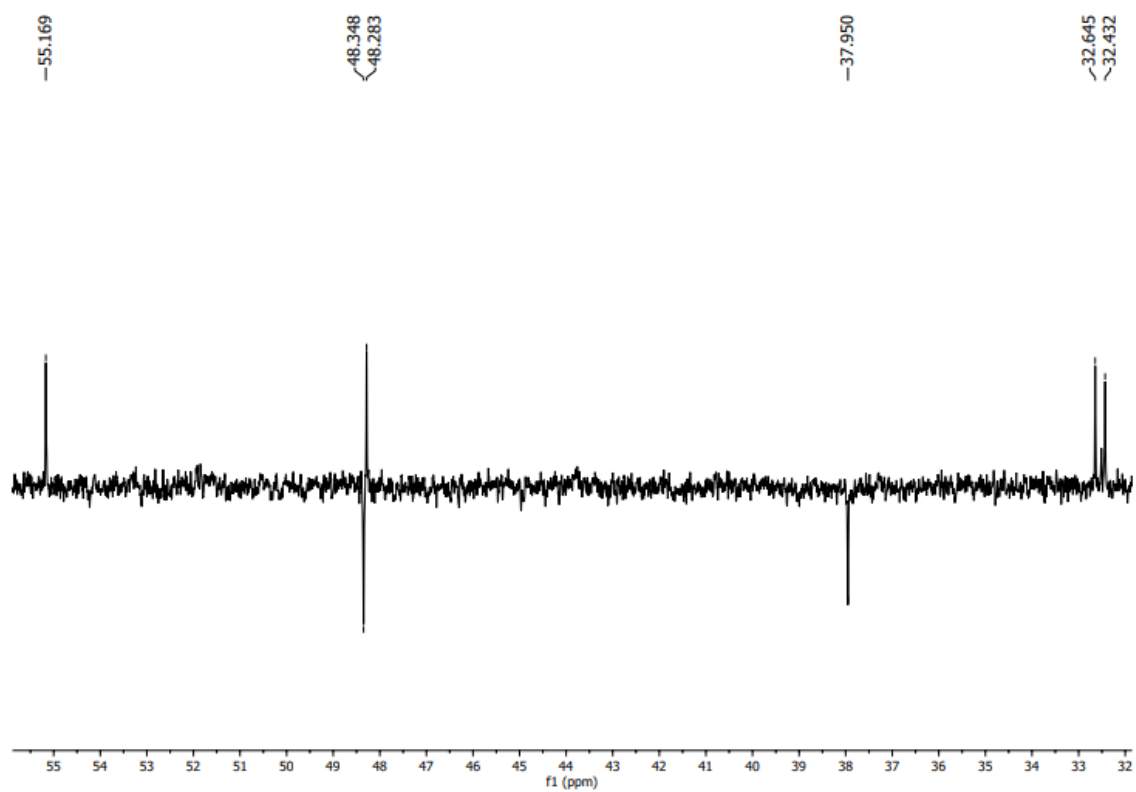


Figura 58 - Expansão do espectro de RMN de ^{13}C – dept135 (100 MHz, CDCl_3) de SES-02

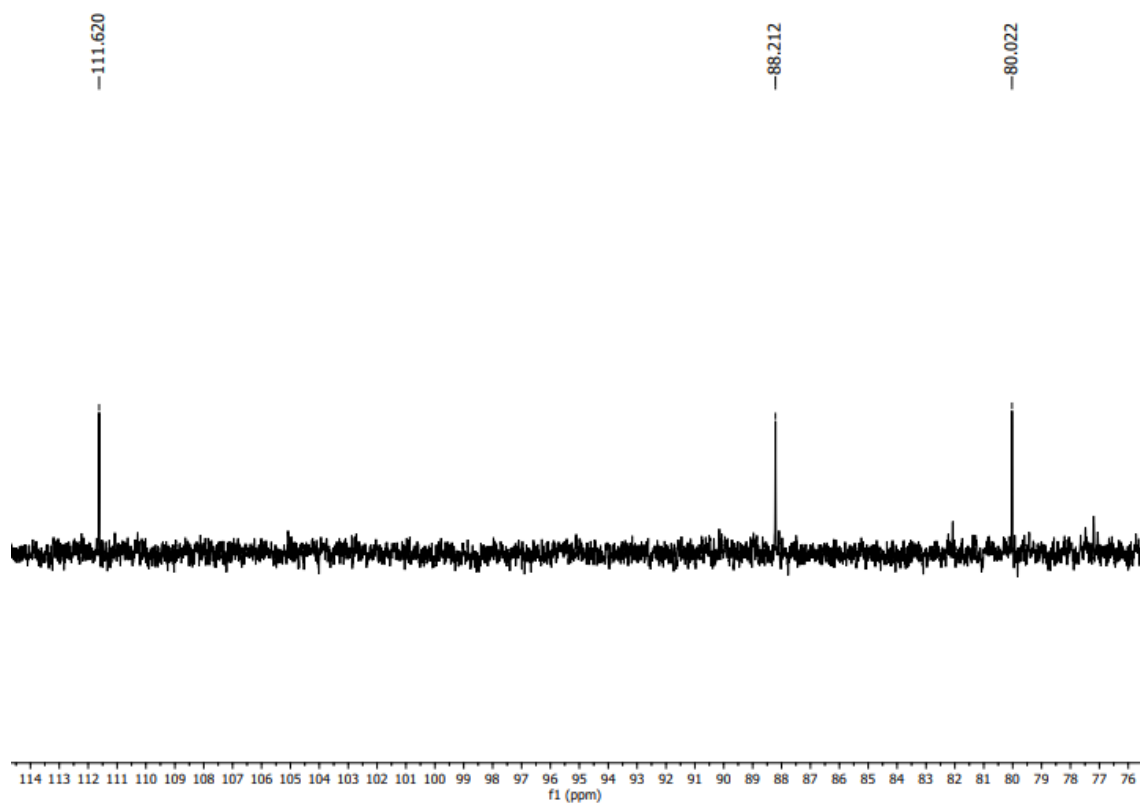


Figura 59 - Espectro de RMN de ^1H - ^{13}C - ^1J HSQC (400x100 MHz, CDCl_3) de SES-02

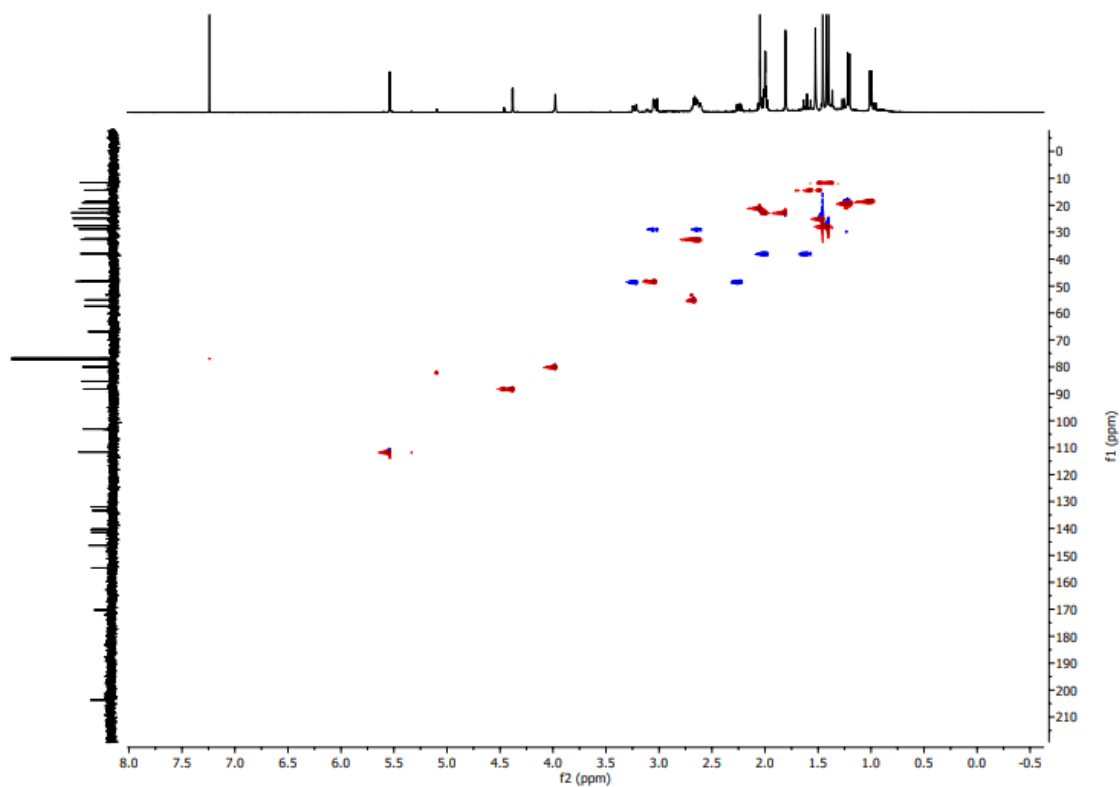


Figura 60 - Expansão do espectro de RMN de ^1H - ^{13}C - ^1J HSQC (400x100 MHz, CDCl_3) de SES-02

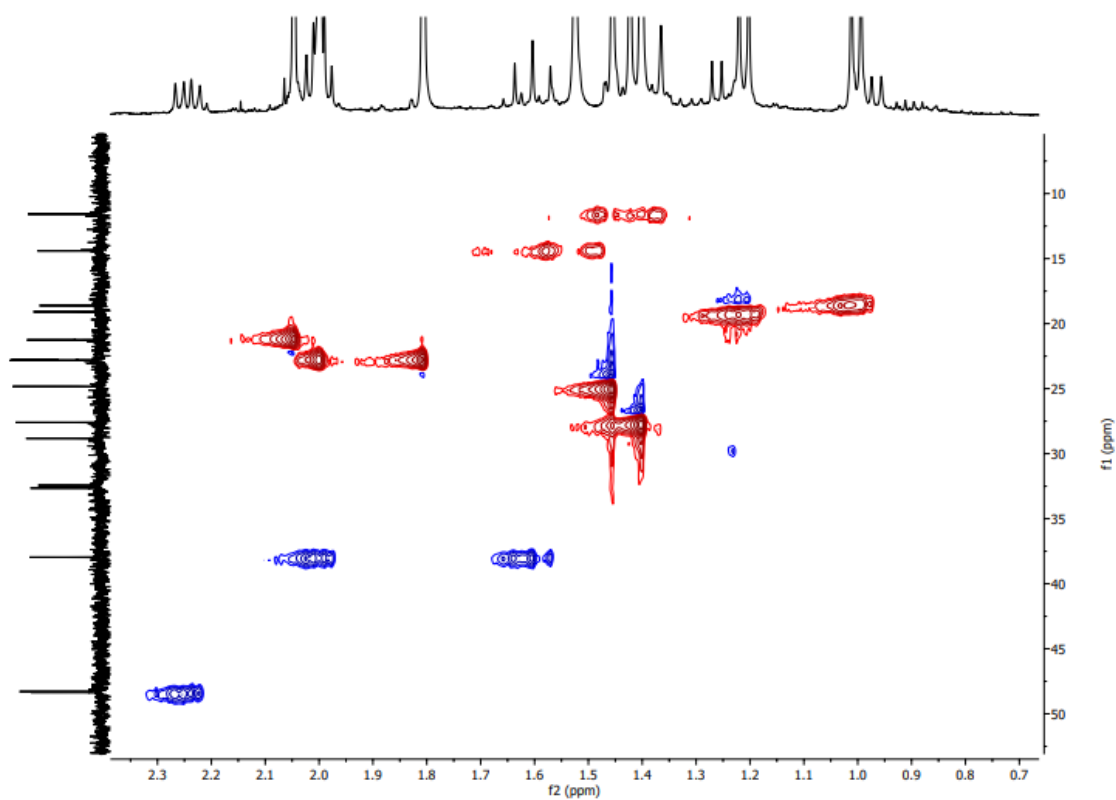


Figura 61 - Expansão do espectro de RMN de ^1H - ^{13}C - ^1J HSQC (400x100 MHz, CDCl_3) de SES-02

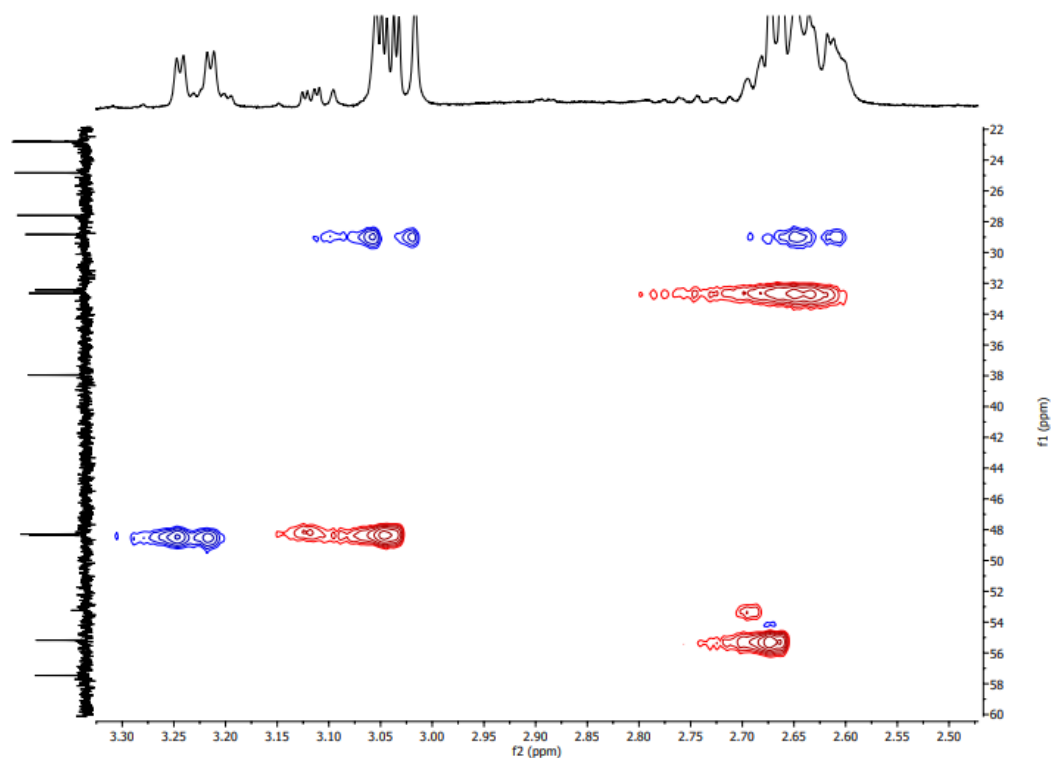


Figura 62 - Expansão do espectro de RMN de ^1H - ^{13}C - ^1J HSQC (400x100 MHz, CDCl_3) de SES-02

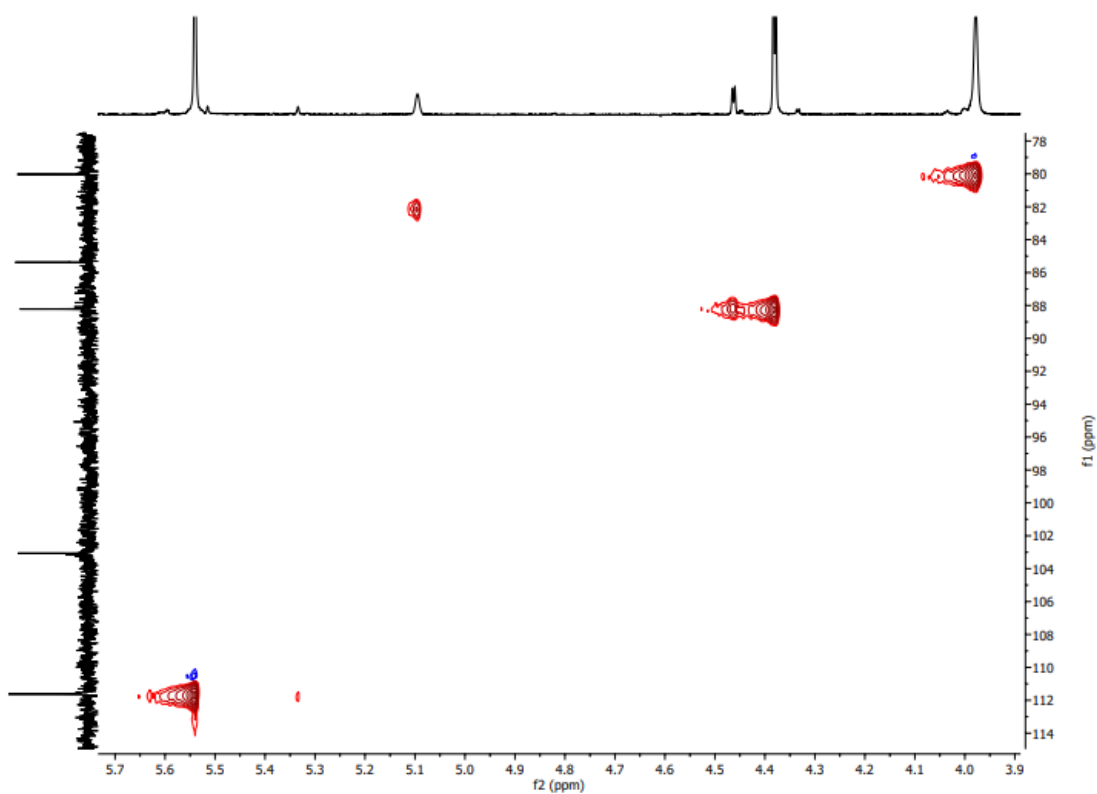


Figura 63 - Espectro de RMN de ^1H - ^{13}C - $^2\text{-}^3\text{J}$ HMBC (400x100 MHz, CDCl_3) de SES-02

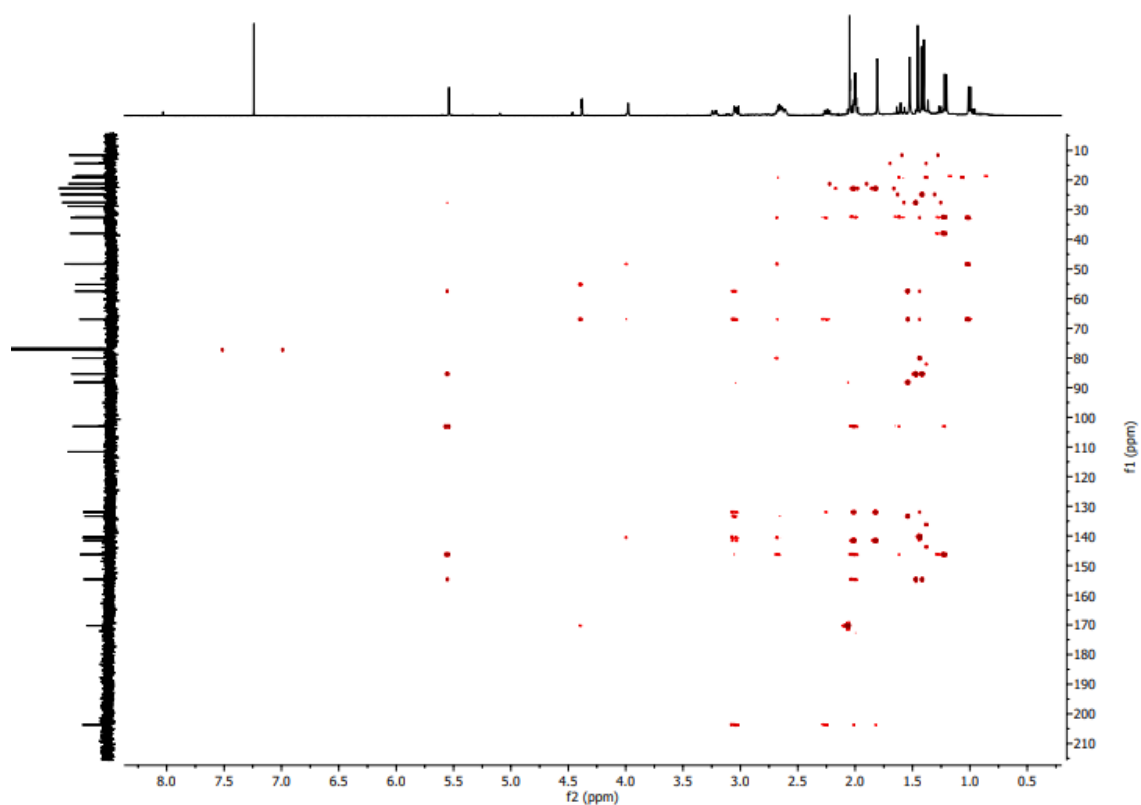


Figura 64 - Expansão do espectro de RMN de ^1H - ^{13}C - $^2\text{-}^3\text{J}$ HMBC (400x100 MHz, CDCl_3) de SES-02

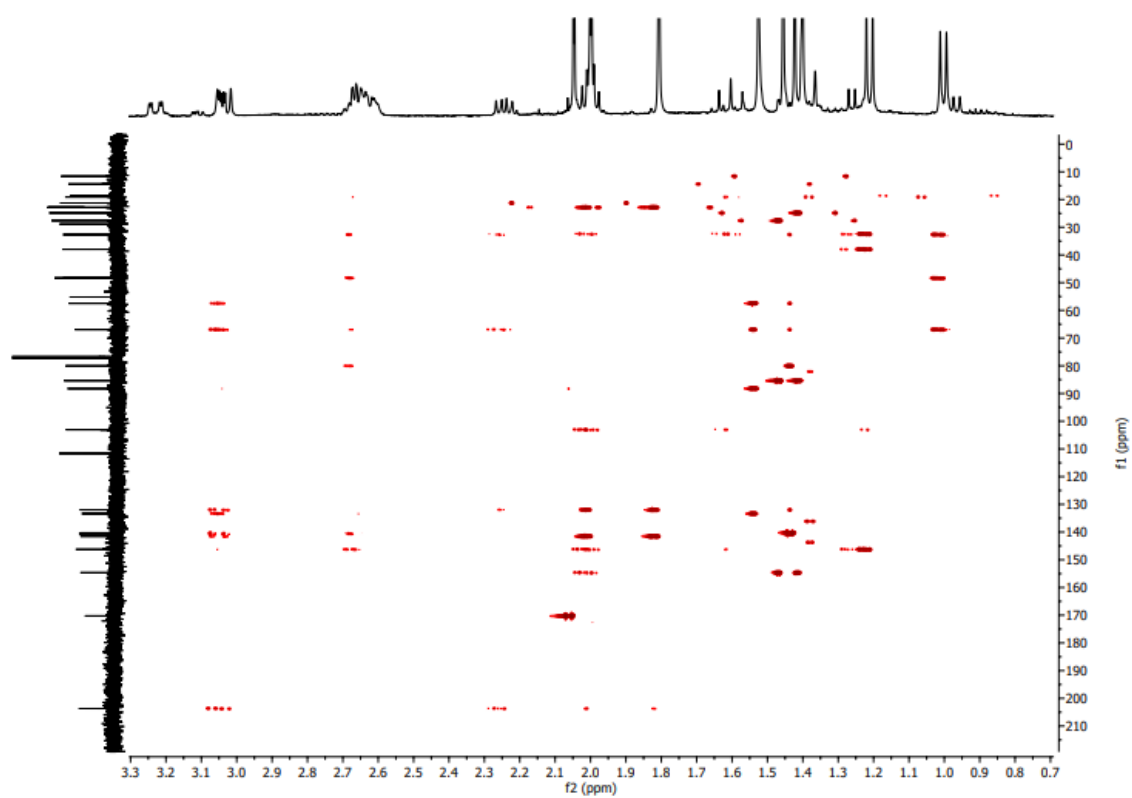


Figura 65 - Expansão do espectro de RMN de ^1H - ^{13}C – $2-3J$ HMBC (400x100 MHz, CDCl_3) de SES-02

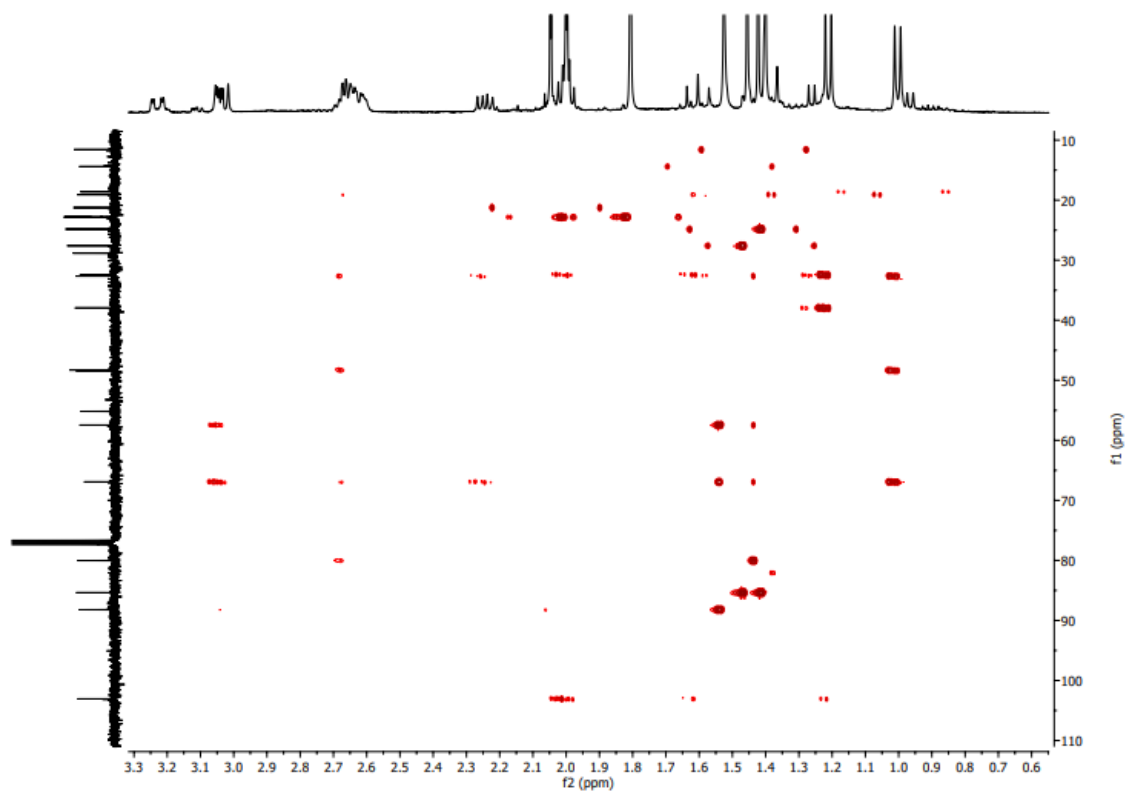


Figura 66 - Expansão do espectro de RMN de ^1H - ^{13}C – $2-3J$ HMBC (400x100 MHz, CDCl_3) de SES-02

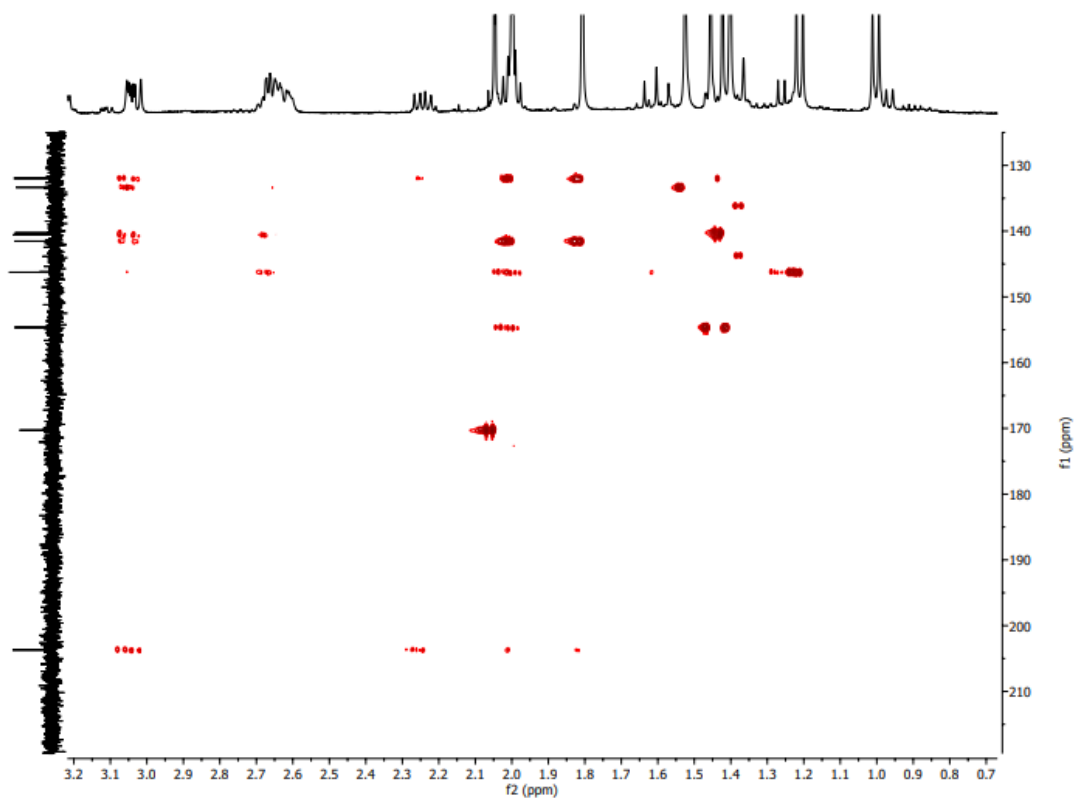


Figura 67 - Expansão do espectro de RMN de ^1H - ^{13}C - $2-3J$ HMBC (400x100 MHz, CDCl_3) de SES-02

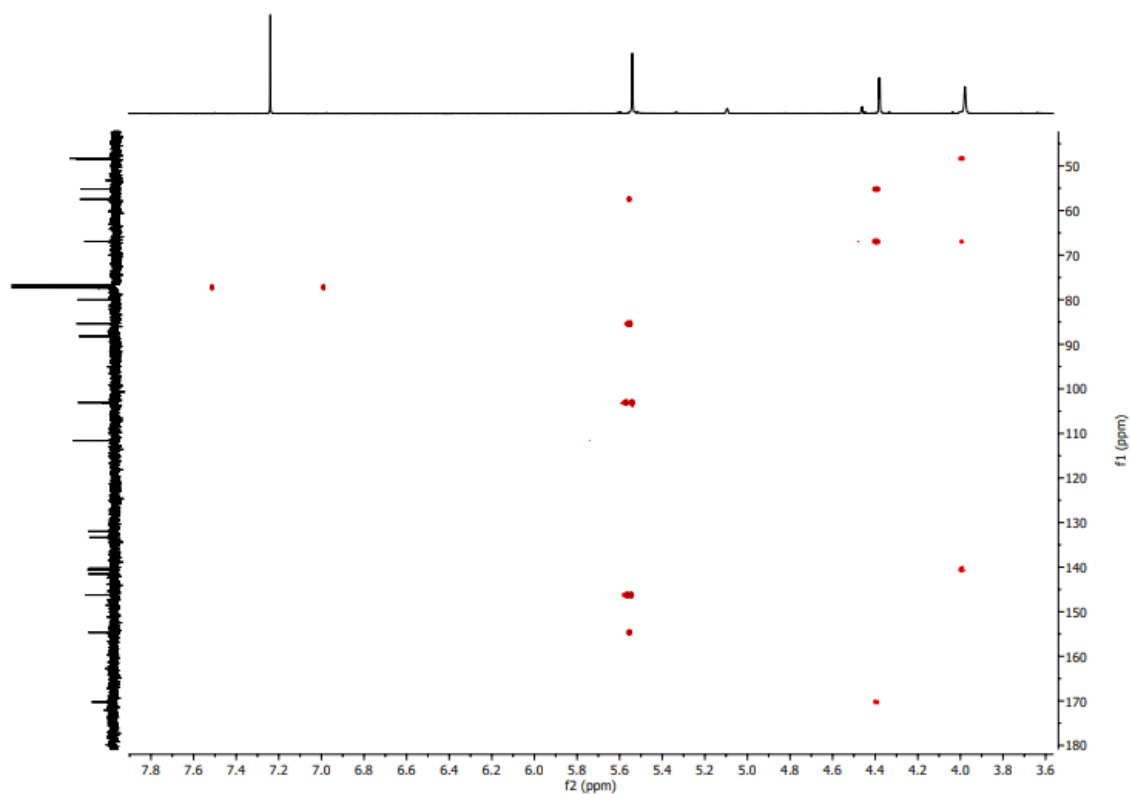


Figura 68 - Espectro de RMN de NOESY (400 MHz, CDCl_3) de SES-02

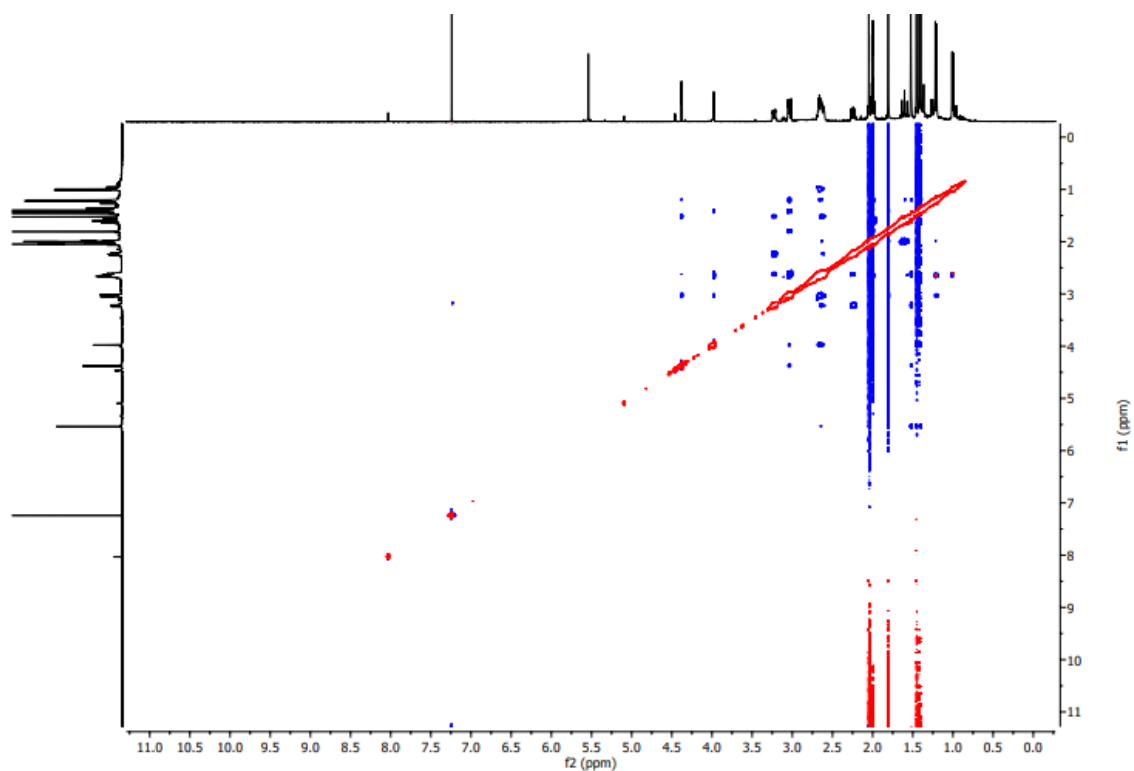


Figura 69 - Expansão do espectro de RMN de NOESY (400 MHz, CDCl_3) de SES-02

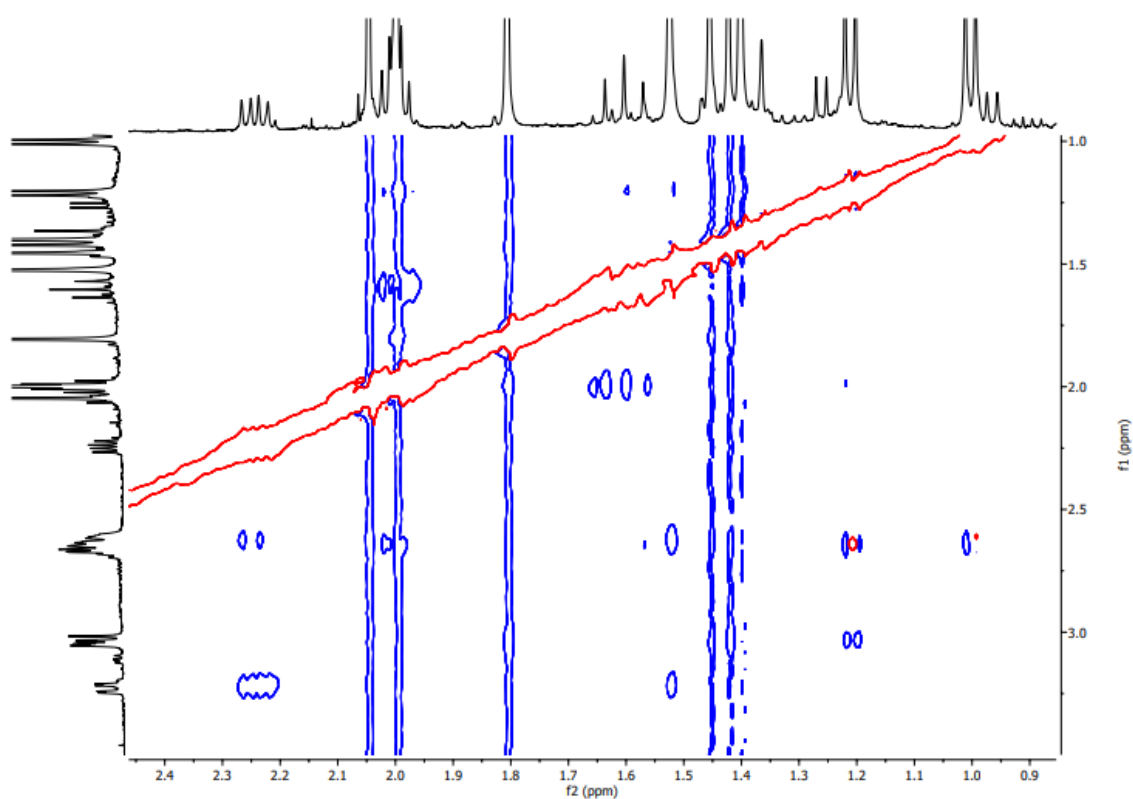


Figura 70 - Expansão do espectro de RMN de NOESY (400 MHz, CDCl_3) de SES-02

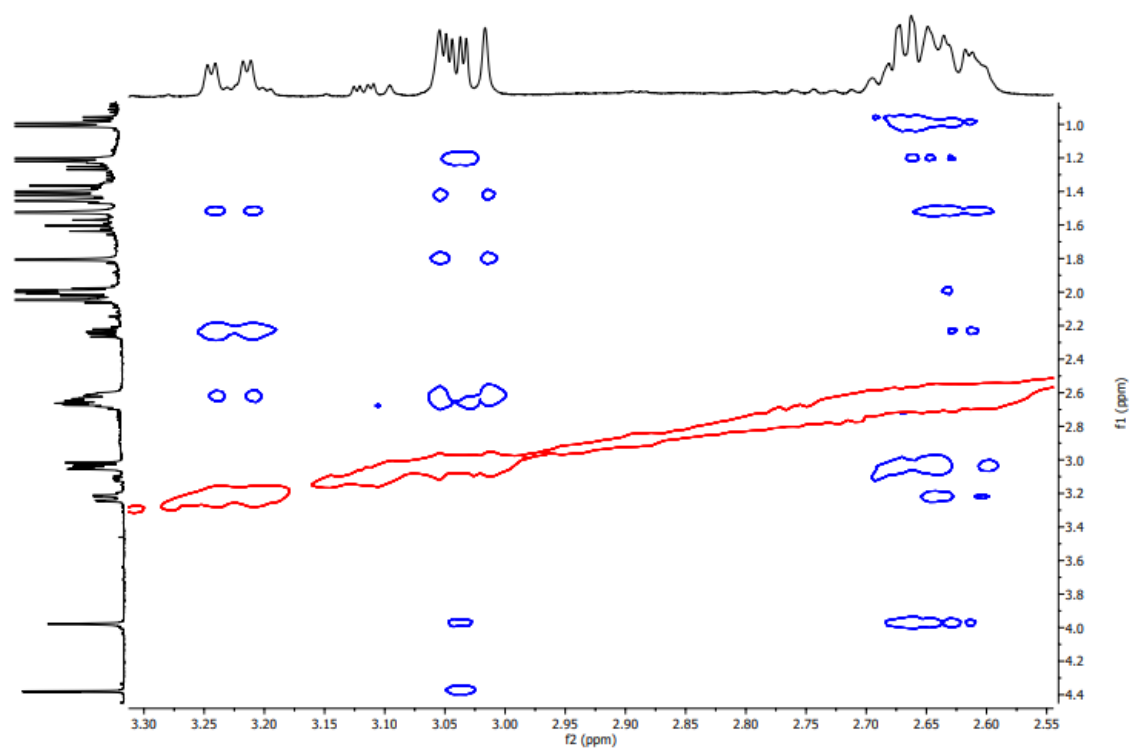


Figura 71 - Expansão do espectro de RMN de NOESY (400 MHz, CDCl_3) de SES-02

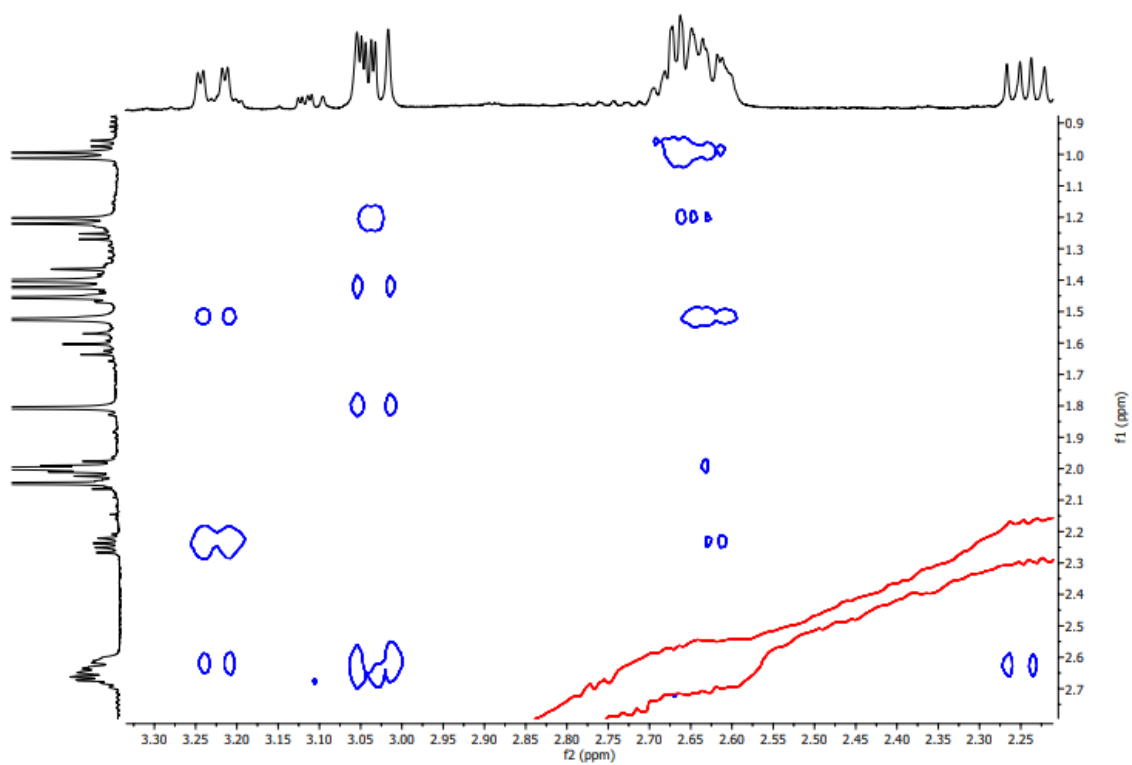


Figura 72 - Expansão do espectro de RMN de NOESY (400 MHz, CDCl_3) de SES-02

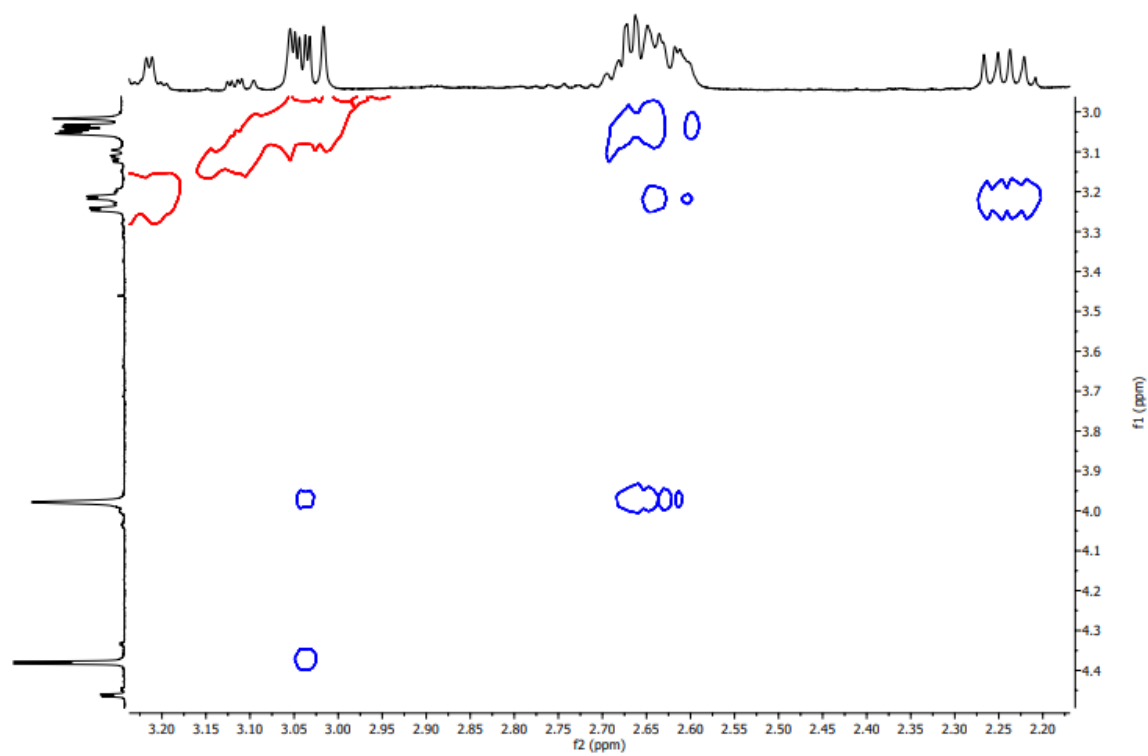


Figura 73 - Expansão do espectro de RMN de NOESY (400 MHz, CDCl_3) de SES-02

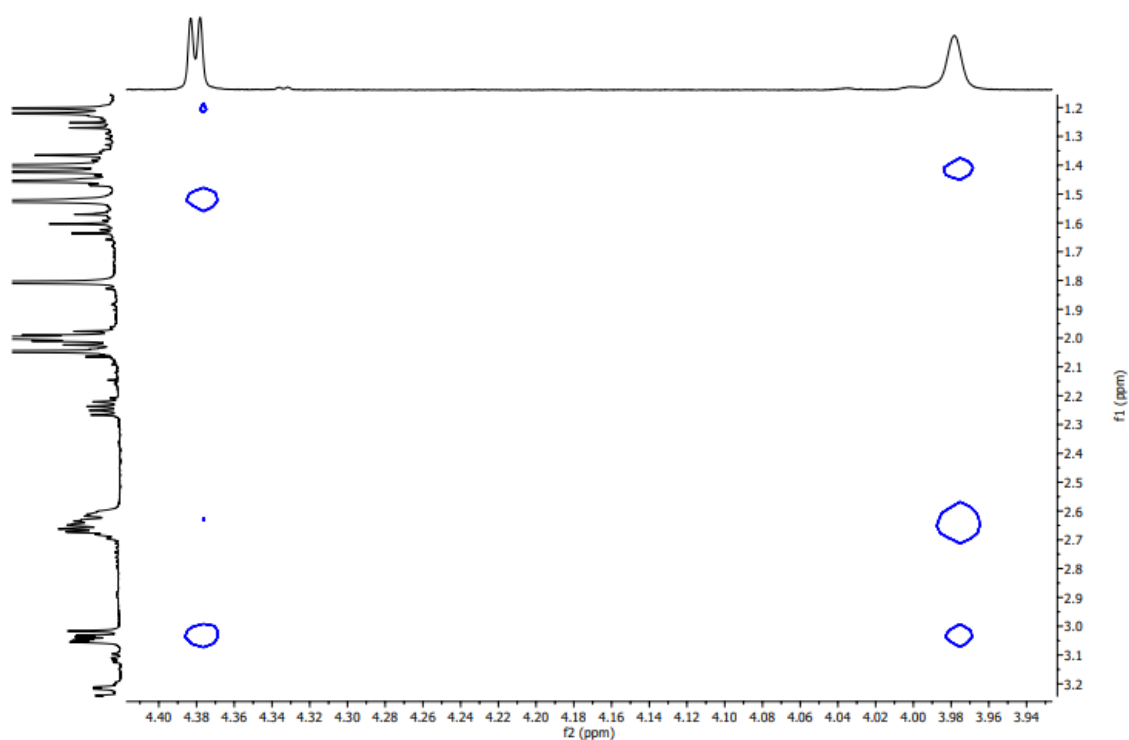
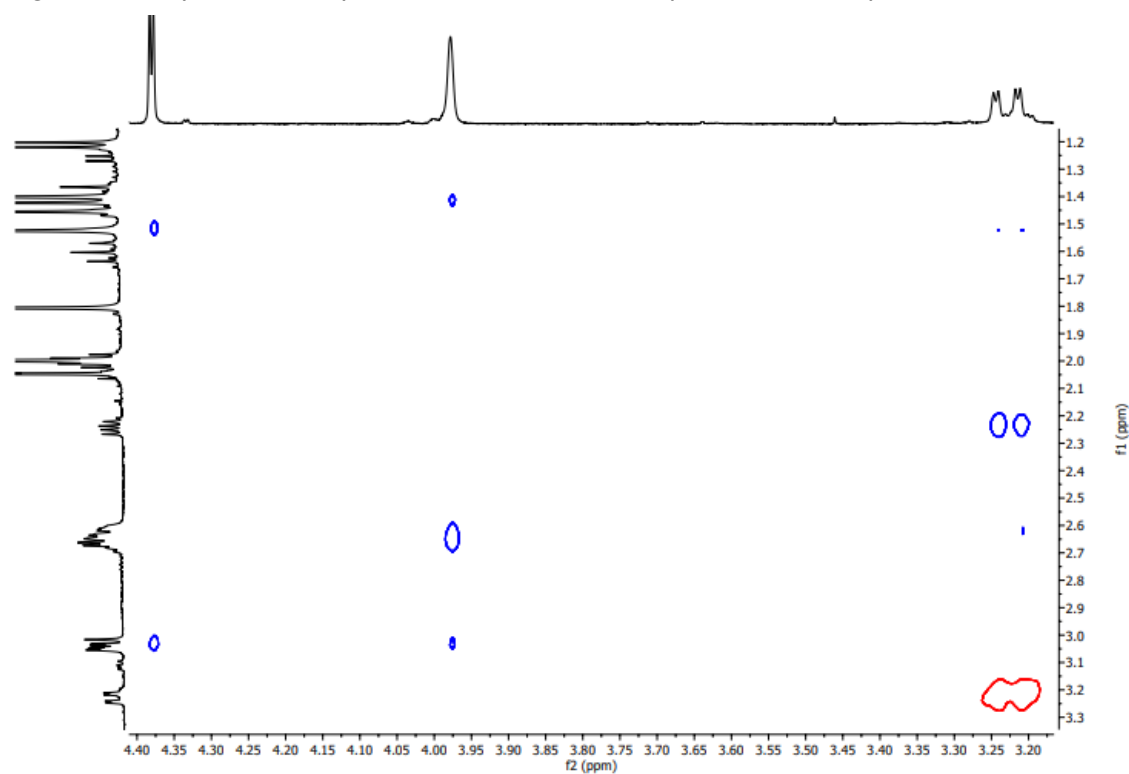


Figura 74 - Expansão do espectro de RMN de NOESY (400 MHz, CDCl_3) de SES-02



5.4. Determinação estrutural de SES-03

SES-03 foi isolada na forma de cristais pesando 3,4 mg. Em seu espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) (figuras 76-79, pág. 92-93) foram observados sinais característicos de um hidrogênio olefínico em δ_{H} 5,32 (1H, *dl*, $J = 4,5$ Hz) referente ao H-8; um hidrogênio metínico (H-1) em δ_{H} 3,28 (1H, *dd*, $J = 12,0$ e $4,0$ Hz) característico de hidrogênio ligado a carbono oxigenado; e sinais indicativos da presença de um grupo isopropil, sendo o deslocamento em δ_{H} 2,18 (1H, *m*) atribuído ao hidrogênio metínico (H-11) que sustenta as duas metilas (Me-12 e Me-13) com deslocamento δ_{H} 1,01 (3H, *d*, $J = 3,0$ Hz) e δ_{H} 0,99 (3H, *d*, $J = 3,0$ Hz). Foram observados ainda, dois hidrogênios metil terciários em δ_{H} 1,16 (3H, *s*) δ_{H} 0,94 (3H, *d*, $J = 1$ Hz), atribuídos respectivamente aos prótons H-15 e H-14.

Os espectros de RMN de ^{13}C – BB e dept 135 (125 MHz, CDCl_3) (figuras 80-85, pág. 94-96) demonstraram a presença de 15 sinais, destes, foram observados dois sinais de carbonos olefínicos em δ_{C} 142,0 (C-7) e em δ_{C} 116,0 (C-8); dois sinais de carbonos oxigenados em δ_{C} 79,9 (C-1) e δ_{C} 70,9 (C-4); e sinais característicos de um grupo isopropil, sendo um carbono metínico em δ_{C} 35,0 (C-11) e dois metílicos em δ_{C} 21,8 (C-12) e δ_{C} 21,3 (C-13); o espectro demonstrou outros dois carbonos metílicos em δ_{C} 11,7 (C-14) e δ_{C} 29,8 (C-15). Estes dados espectrais, comparados com os dados encontrados na literatura (JUNG, K. Y. et al., 1997) (tabela 7, pág. 91), sugeriram que SES-03 se trata do oplodiol (figura 41, pág. 90), um sesquiterpeno que possui um esqueleto eudesmano, com um grupo hidroxila secundário e um terciário e uma ligação dupla trissubstituída.

FIGURA 41 - Estrutura de SES-03 (Oplodiol)

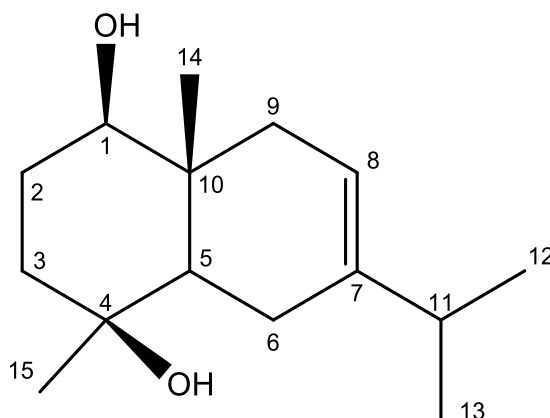


TABELA 7 - Deslocamentos químicos de RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) em CDCl_3 de SES-03 comparados com a literatura

SES-03 (δ_{H} e δ_{C} , CDCl_3)			Oplodiol (δ_{H} e δ_{C} , CDCl_3) (JUNG, K. Y. et al., 1997)	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1	3,28 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 4 e 12 Hz)	79,9	3,32 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 11,4 e 3,9 Hz)	79,9
2	1,97 (1H, <i>m</i>) 1,82 (1H, <i>m</i>)	40,7	1,92 (1H, <i>m</i>) 1,80 (1H, <i>m</i>)	40,7
3	1,71 (1H, <i>m</i>) 1,57 (1H, <i>m</i>)	39,4	1,74 (1H, <i>m</i>) 1,56 (1H, <i>m</i>)	39,4
4	-	70,9	-	70,9
5	1,28 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 5 e 12 Hz)	46,2	1,33 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 11,5 e 5,9 Hz)	46,2
6	2,05 (2H, <i>m</i>)	26,7	2,07 (2H, <i>m</i>)	23,0
7	-	141,9	-	141,9
8	5,32 (1H, <i>dl</i> , <i>J</i> = 4,5 Hz)	116,0	5,36 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 3,4 e 2,1 Hz)	116,1
9	2,08 (1H, <i>m</i>) 1,87 (1H, <i>m</i>)	23,0	2,13 (1H, <i>m</i>) 1,92 (1H, <i>m</i>)	23,0
10	-	37,7	-	37,6
11	2,18 (1H, <i>m</i>)	34,9	2,33 (1H, <i>sept</i> , <i>J</i> = 6,8 Hz)	34,9
12	1,01 (3H, <i>d</i> , <i>J</i> = 3 Hz)	21,8	1,06 (3H, <i>d</i> , <i>J</i> = 6,8)	21,8
13	0,99 (3H, <i>d</i> , <i>J</i> = 3 Hz)	21,2	1,06 (3H, <i>d</i> , <i>J</i> = 6,8)	21,2
14	0,94 (3H, <i>s</i>)	11,7	0,99 (3H, <i>s</i>)	11,7
15	1,16 (3H, <i>s</i>)	29,9	1,21 (3H, <i>s</i>)	29,8

Figura 76 - Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de SES-03

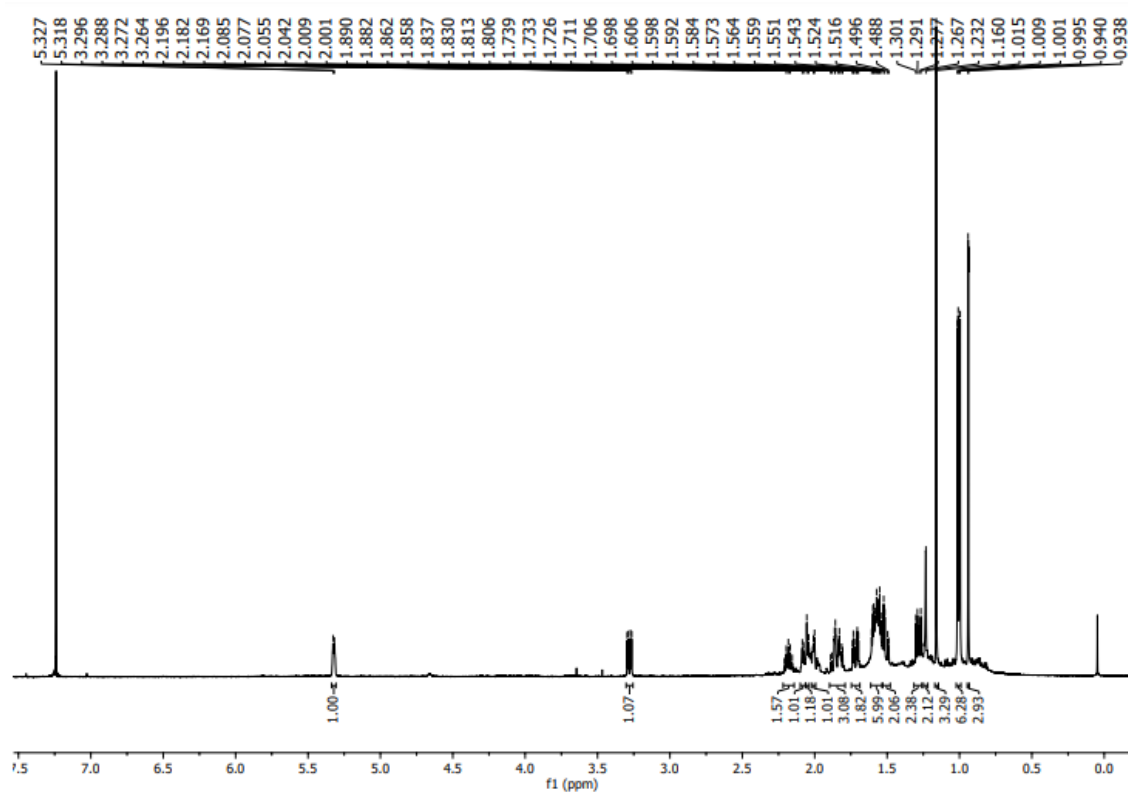


Figura 77 - Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de SES-03

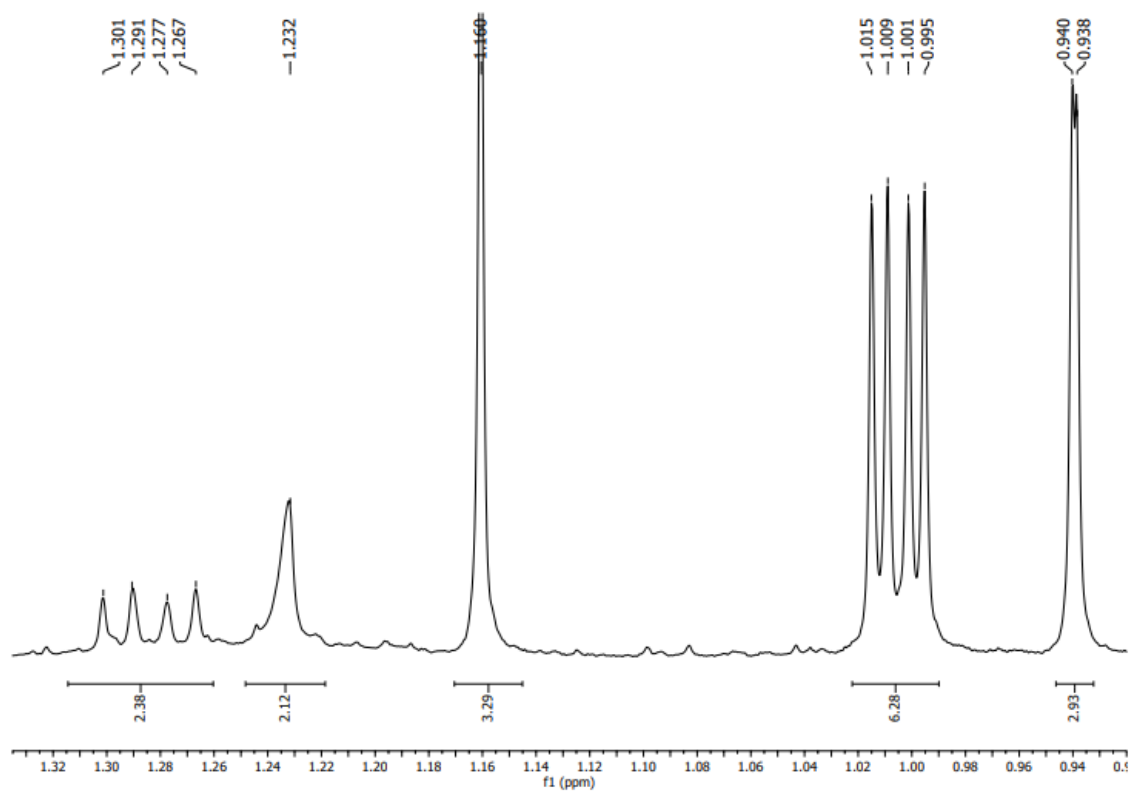


Figura 78 - Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de SES-03

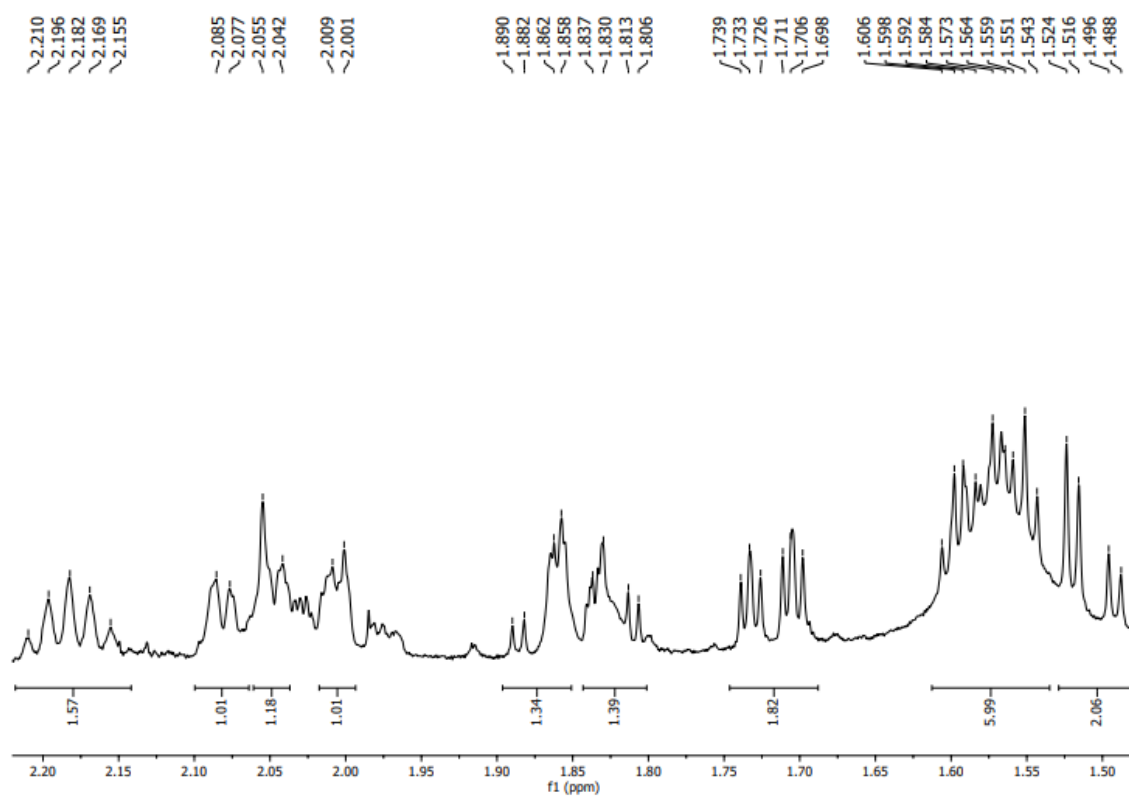


Figura 79 - Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de SES-03

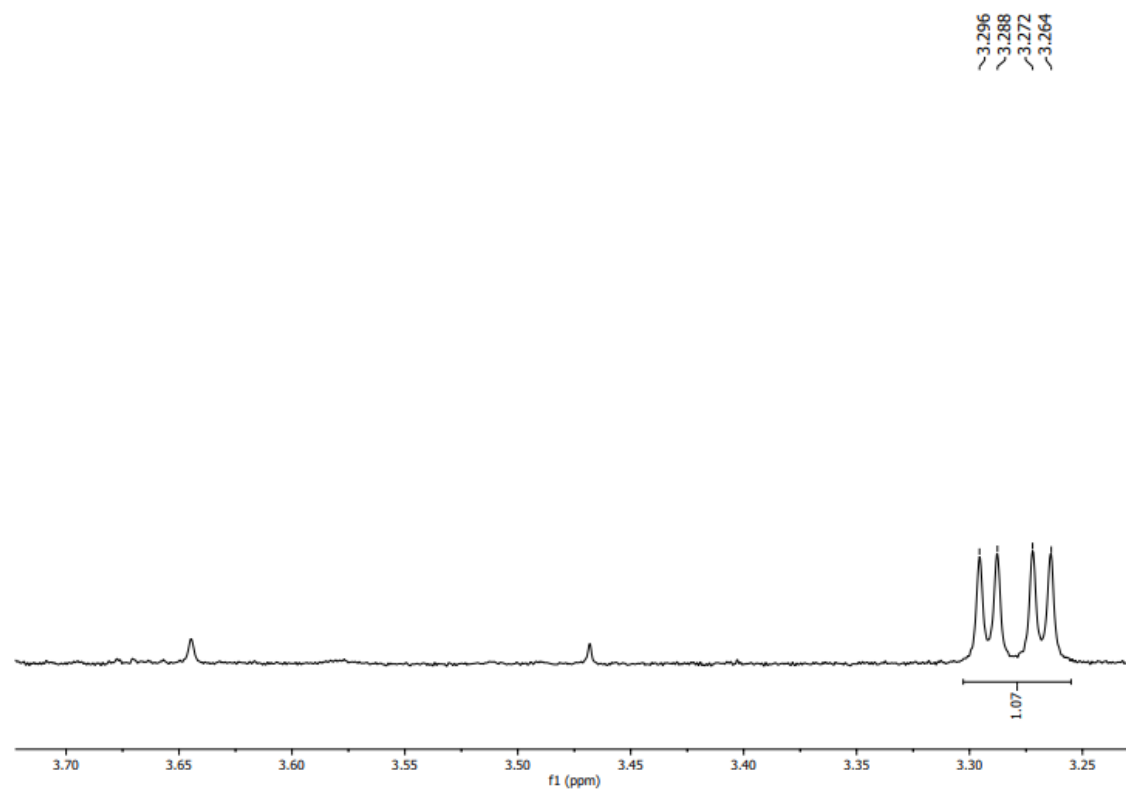


Figura 80 - Espectro de RMN de ^{13}C - BB (125 MHz, CDCl_3) de SES-03

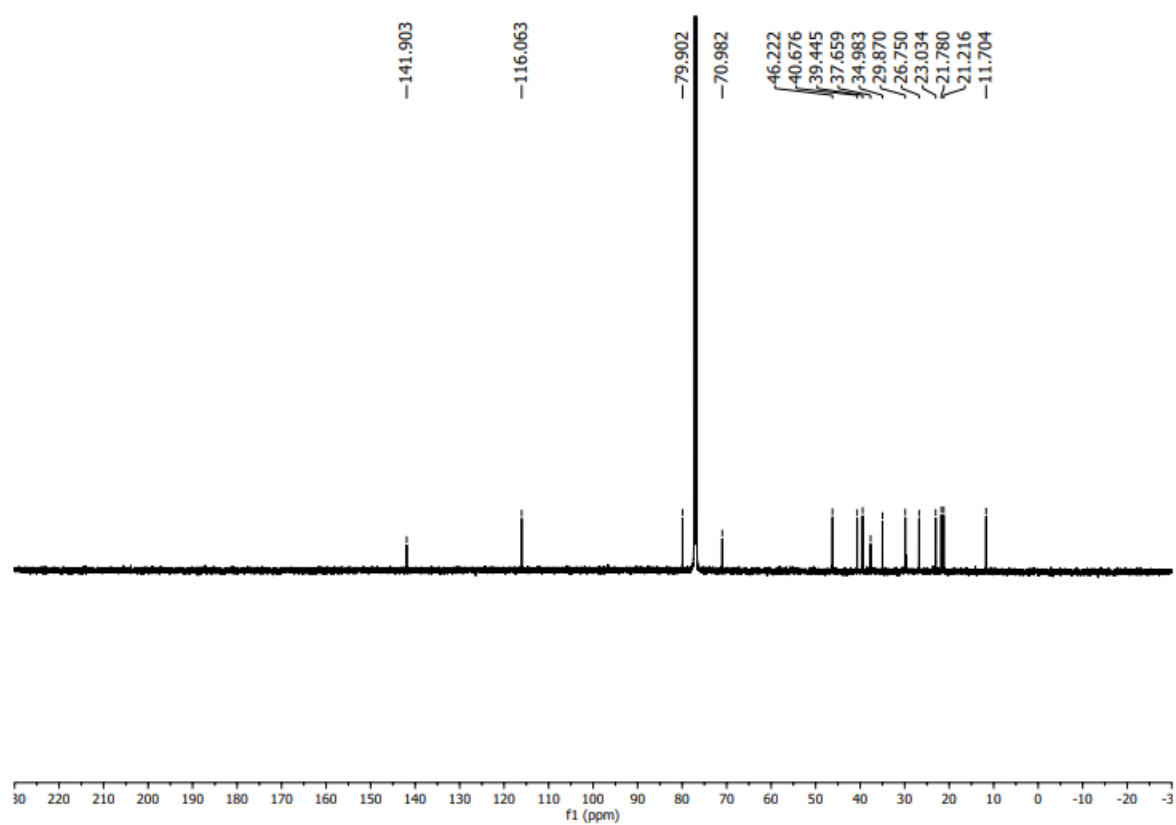


Figura 81 - Expansão do espectro de RMN de ^{13}C - BB (125 MHz, CDCl_3) de SES-03

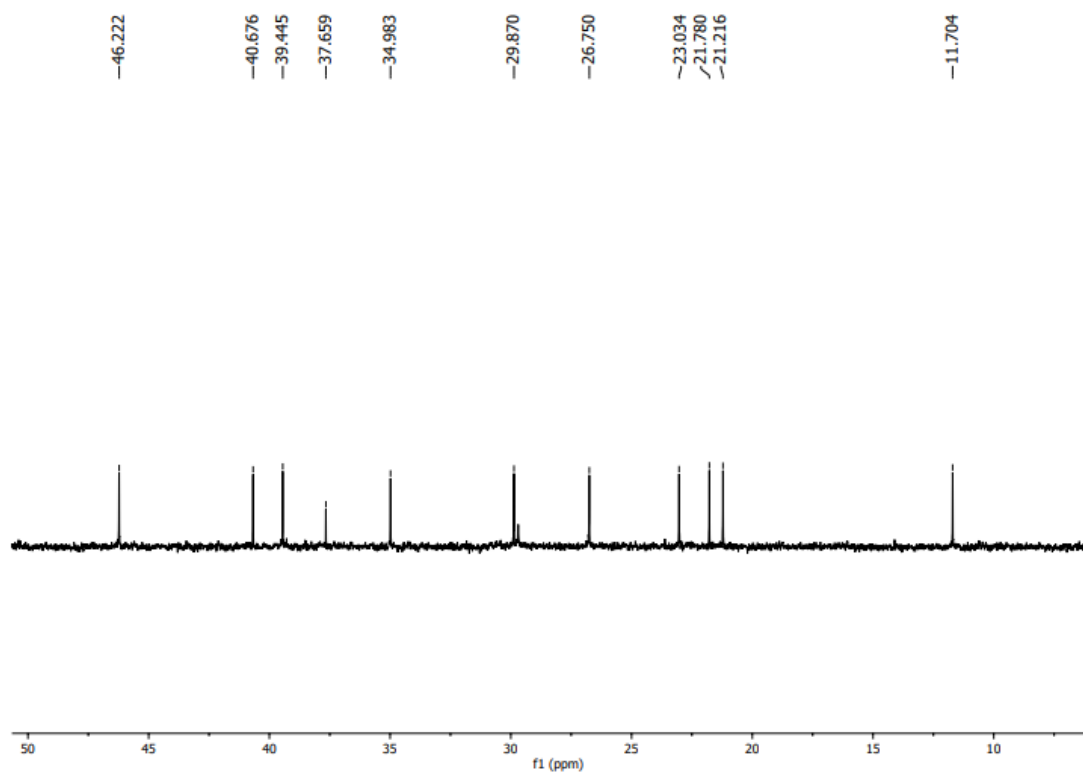


Figura 82 - Expansão do espectro de RMN de ^{13}C - BB (125 MHz, CDCl_3) de SES-03

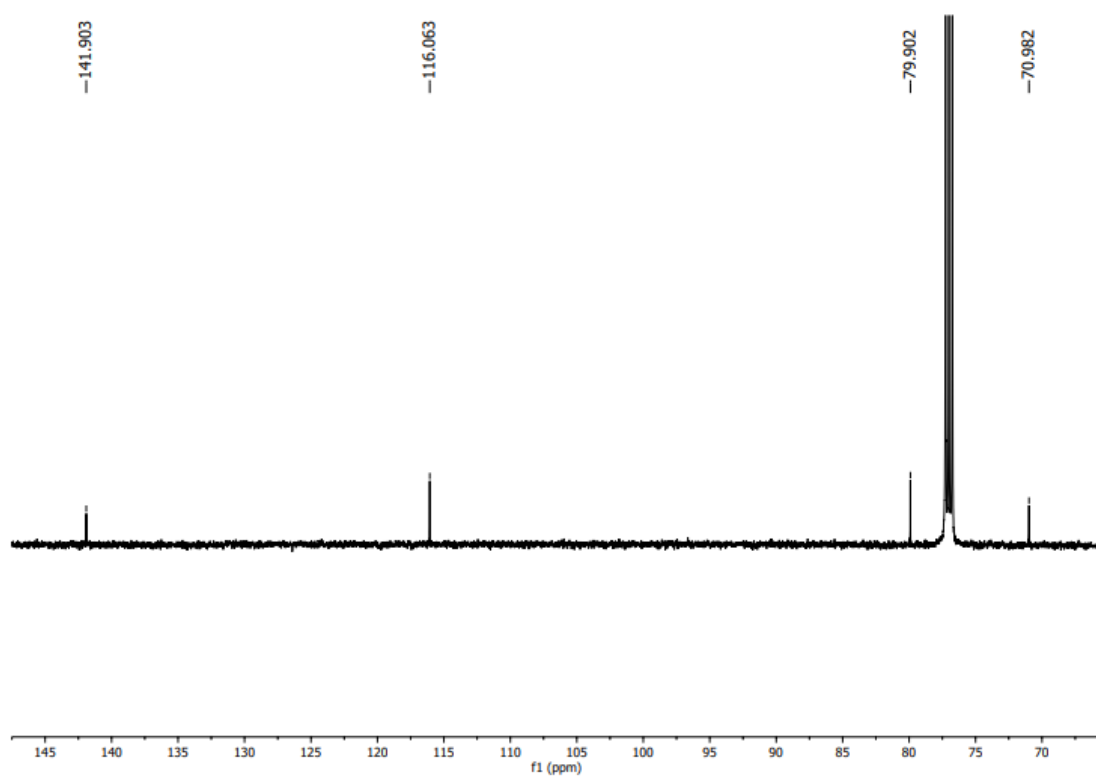


Figura 83 - Espectro de RMN de ^{13}C – dept135 (125 MHz, CDCl_3) de SES-03

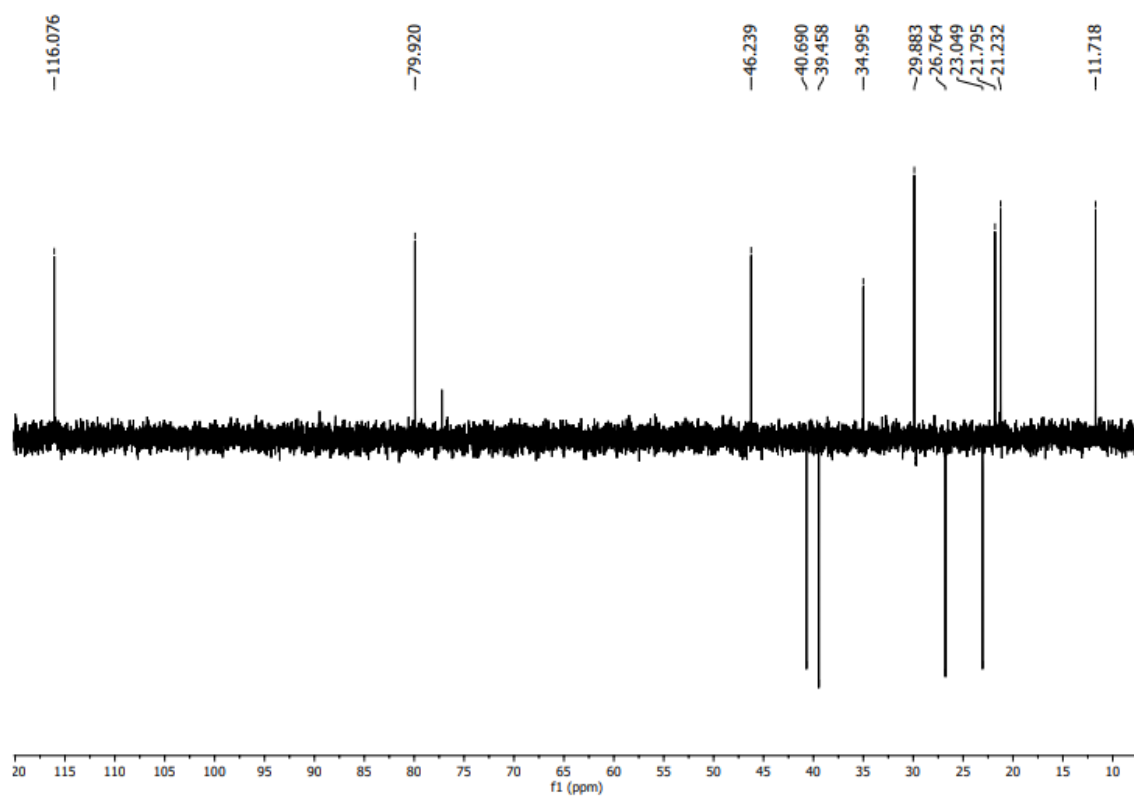


Figura 84 - Expansão do espectro de RMN de ^{13}C – dept135 (125 MHz, CDCl_3) de SES-03

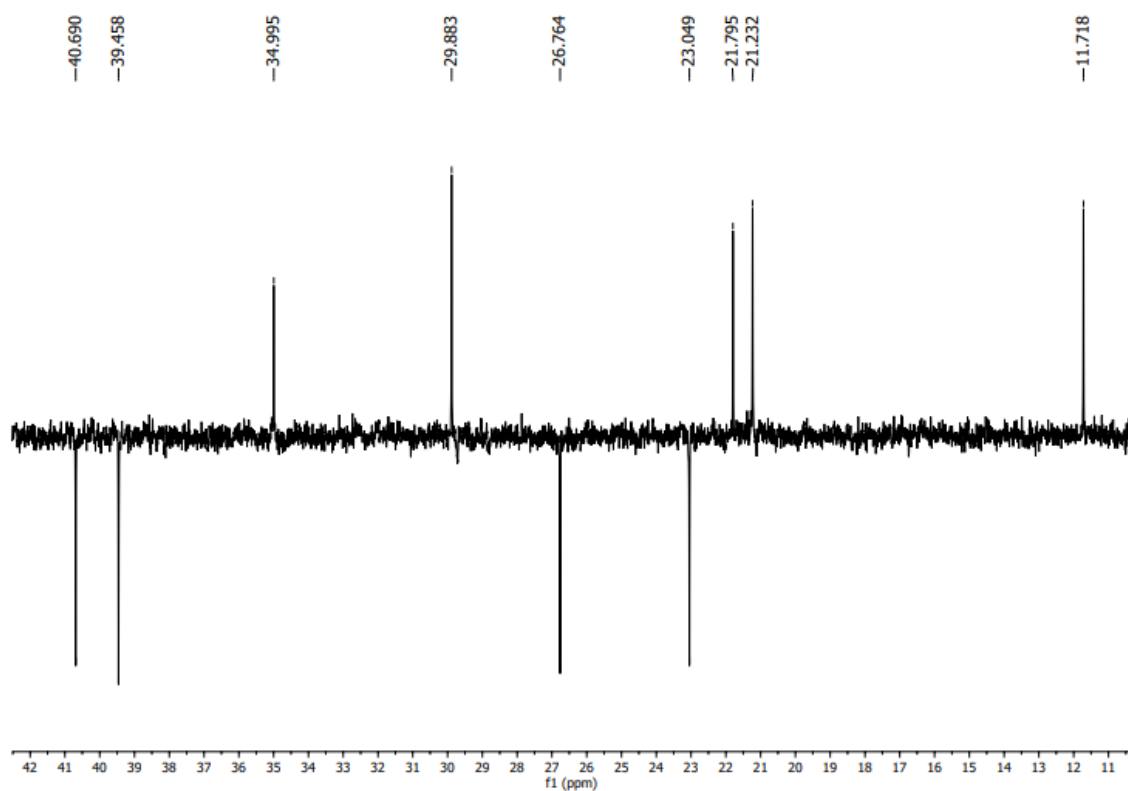
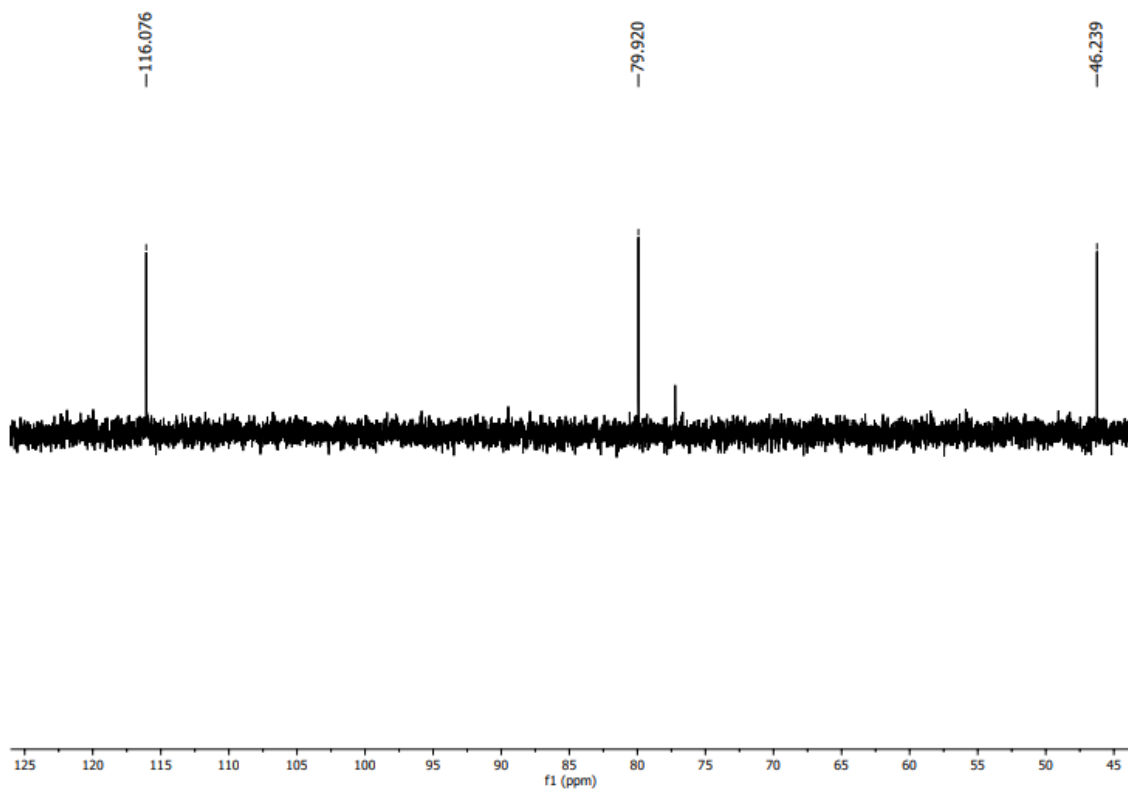


Figura 85 - Expansão do espectro de RMN de ^{13}C – dept135 (125 MHz, CDCl_3) de SES-03



5.5. Determinação estrutural de SESM-04

A substância codificada como SESM-04 foi isolada na forma de um óleo amarelo, pesando 5,7 mg. Inicialmente a análise dos dados espectrais permitiu sugerir que SESM-04 como uma mistura de duas substâncias denominadas como SESM-04a e SESM-04b.

A análise do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) e de suas expansões (figuras 87-91, pág. 102-104) permitiu observar sinais em δ_{H} 0,90 (6H, *dd*, $J = 4,0$ e $6,4$ Hz) característicos de hidrogênios metílicos e um sinal de hidrogênio metínico em δ_{H} 2,06 (1H, *m*), estes sinais indicam a presença de um grupo isopropil e o deslocamento de H-11 (1H, δ_{H} 2,06, *m*) mostra que este grupo está conectado à uma ligação dupla, assim como em SES-01 e em SES-03. A presença desta ligação π pode ser confirmada pela presença de um hidrogênio olefínico em δ_{H} 5,64 (1H, *d*, $J = 6$ Hz, H-6). Foram observados ainda, sinais característicos de hidrogênios metilênicos em δ_{H} 1,59 (H-2), δ_{H} 2,45 (H-3), δ_{H} 1,81 (H-8) e δ_{H} 1,38 (H-9), sendo H-3 mais desprotegido destes sinais por estar na posição α à função carbonila. Os sinais em δ_{H} 1,11 (3H, *s*, Me-14) e em δ_{H} 2,11 (3H, *s*, Me-15) indicam a presença de metilas, e o deslocamento de Me-15 é indicativo de uma metila na posição α a carbonila. Hidrogênios referentes a um anel ciclopropano também foram observados em δ_{H} 0,87 (1H, *m*, H-1) e δ_{H} 0,57 (1H, *m*, H-5). Estes sinais foram semelhantes aos dados espectrais de RMN de ^1H relatados por BOHLMANN, F.; ROTARD, W (1987) (tabela 8, pág. 100) para a substância conhecida como precarabrona (figura 86, pág. 100), já isolada da espécie *Silphium perfoliatum* (Asteraceae),

Os deslocamentos de ^{13}C foram atribuídos por HSQC através da análise das correlações diretas $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$ (figuras 99-101, pág. 108-109). A partir desta análise, os sinais em δ_{C} 209,0 (C-4) e δ_{C} 30,1 (C-15), confirmaram a presença de um grupo acetil ligado a C-3 e os sinais em δ_{C} 34,8 (C-11), δ_{C} 20,9 (C-12) e δ_{C} 21,4 (C-13) confirmaram a presença do grupo isopropil. Os sinais em δ_{C} 23,0 (C-10) e δ_{C} 25,2 (C-5) foram atribuídos ao anel ciclopropano, e sinais δ_{C} 119,0 e δ_{C} 142,63 a existência de uma dupla ligação, todas essas informações associadas a presença de mais uma metila com deslocamento químico em δ_{C} 19,0 (C-14) confirma que SESM-04a é a precarabrona, sendo este o primeiro relato deste composto químico em Annonaceae e a primeira descrição dos dados de RMN

de ^{13}C para este metabólito. Todos os deslocamentos de RMN de ^{13}C de SESM-04a encontram-se na tabela 8.

A subtração dos sinais do espectro de RMN de ^1H (figuras 87-91, pág. 102-104) referentes à SESM-04a, possibilitou o assinalamento dos sinais de SESM-04b, nestes pode-se observar um conjunto de sinais entre δ_{H} 7,31 - 7,13 com integral para 10 hidrogênios, o que sugere a presença de dois anéis aromáticos monossustituídos. Na região de aromáticos, foram observados sinais em δ_{H} 7,28 (1H, *d*, $J = 2,4$ Hz, H-3), δ_{H} 6,98 (1H, *dd*, $J = 2,4; 8,4$ Hz, H-5) e δ_{H} 6,60 (1H, *d*, $J = 8,4$ Hz, H-6), compatíveis com um sistema ABX, sugerindo a presença de um anel aromático trissustituído. Ainda neste espectro, foram observados dois simpletos em δ_{H} 1,57 (H-8 e H-9) e δ_{H} 1,68 (H-8' e H-9'), ambos com integrais para 6 hidrogênios. Ainda foi observado um sinal em δ_{H} 4,17 (1H, *s*), atribuído ao hidrogênio de uma hidroxila ligada em C-1.

Nos espectros de RMN de ^{13}C – BB (figuras 92-95, pág.104-106) e ^{13}C – dept135 (figuras 96-98, pág. 106-107) (100 MHz, CDCl_3), foram observados 8 sinais entre δ_{C} 129,1 - δ_{C} 124,7, referentes a carbonos metínicos aromáticos, alguns deles mais intensos por se tratar de carbonos simétricos, corroborando com a presença de dois anéis aromáticos monossustituídos. Também foram observados 5 sinais em δ_{C} 151,6 (C-1), δ_{C} 151,5 (C-1''), δ_{C} 142,6 (C-4), δ_{C} 148,5 (C-1') e δ_{C} 134,4 (C-2) atribuídos aos carbonos não hidrogenados presentes nos anéis aromáticos. Outros sinais característicos de carbonos não hidrogenados, contudo pertencentes a um sistema alifático foram observados em δ_{C} 42,6 (C-7') e δ_{C} 41,8 (C-7). A presença das metilas foi confirmada pelos sinais em δ_{C} 31,0 (C-8' e C-9') e δ_{C} 29,7 (C-8 e C-9).

A hidroxila teve sua posição confirmada após observar no espectro de correlação heteronuclear a múltiplas ligações (HMBC) (figuras 102-107, pág. 109-112) um mapa de contorno que revelou uma correlação do hidrogênio em δ_{H} 4,17 (1H, *s*) a duas ligações com C-1 (δ_{C} 151,6) e com C-6 (δ_{C} 117,1) e a três ligações com C-2 (δ_{C} 134,4); sendo assim possível confirmar a inserção da hidroxila em C-1. A posição das metilas 8 e 9 foi confirmada a partir do mapa de contorno observado nesse mesmo espectro de HMBC que revelou uma correlação dos hidrogênios H-8 e H-9 (6H, δ_{H} 1,57; *s*) com C-2 (δ_{C} 134,4) e C-1' (δ_{C} 148,5) a três ligações e com C-7 (δ_{C} 41,8) a duas ligações. Já a posição das metilas 8' e 9' foram confirmadas através da correlação dos hidrogênios H-8' e

H-9' (6H, δ_H 1,68; s) com C-4 (δ_C 142,6) e C-1'' (δ_C 151,5) a três ligações e com C-7' (δ_C 42,6) a duas ligações. Diante destes dados e em comparação com os dados da literatura (tabela 9, pág. 101), foi possível identificar SESM-04b como sendo uma mistura do sesquiterpeno precarabrona e do composto fenólico do tipo fitoalexina “4-bis-2-fenilpropan-2-il-fenol”) (figura 86, pág. 100) (ANDRADE, R. S., 2020; BOHLMANN, F. e ROTARD, W., 1987).

Com base nestas informações espectrais e também na ausência de correlações entre os sinais atribuídos a SESM-04a e SESM-04b, afastou a possibilidade de SESM-04 ser formada por um único metabólito secundário, e confirmou que essa fração se trata de uma mistura composta por duas estruturas químicas distintas.

A proporção de SESM-04a e de SESM-04b na mistura foi calculada de acordo com os valores das integrais dos picos de RMN- 1H . A integral do hidrogênio 6 da precarabrona mais a integral do hidrogênio 5 de 4-bis-2-fenilpropan-2-il-fenol equivalem a dois hidrogênios na mistura, sendo assim, foi possível descobrir a proporção de cada uma das substâncias na mistura, calculando quanto cada integral dos hidrogênios contribui para 100% da área relativa a dois hidrogênios na mistura.

Integral de H-6 (precarabrona) + Integral de H-5 (4-bis-2-fenilpropan-2-il-fenol) = (1,00) + (2,67) = 3,67

3,67..... 100% da área de 2 1H da mistura

2,67 (integral de H-5 de 4-bis-2-fenilpropan-2-il-fenol)X

X = 72,7 % da área de 2 1H da mistura (4-hidroxibenzenoacetonitrila)

3,67.....100%

1,00 (integral de H-6 da precarabrona)X

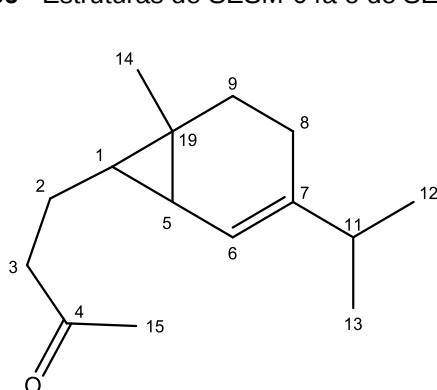
X = 27,2 % da área de 2 1H da mistura (precarabrona)

Portanto, a mistura é composta por 72,5% de 4-bis-2-fenilpropan-2-il-fenol e 27,6% de precarabrona.

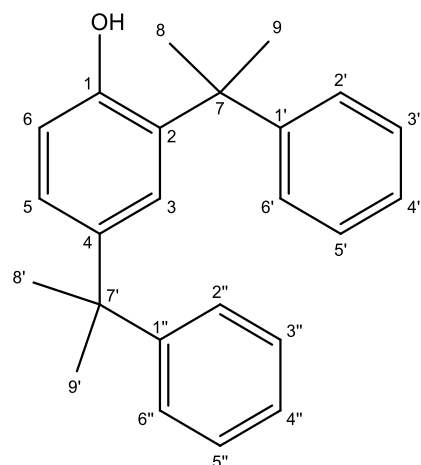
TABELA 8 - Deslocamentos químicos de RMN ^1H (400 MHz) e ^{13}C em CDCl_3 (100 MHz) de SESM-04a comparados com os deslocamentos de RMN ^1H da literatura

SESM-04a (δ_{H} e δ_{C} , CDCl_3)			Precarabrona (δ_{H} , CDCl_3) (BOHLMANN, F. e ROTARD, W; 1987)
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}
1	0,87 (1H, <i>m</i>)	26,9	0,90 (1H, <i>m</i>)
2	1,59 (2H, <i>m</i>)	23,7	1,61 (1H, <i>m</i>)
3	2,45 (2H, <i>m</i>)	44,0	2,49 (1H, <i>m</i>)
4	-	209,0	-
5	0,57 (1H, <i>m</i>)	25,2	0,61 (1H, <i>m</i>)
6	5,64 (1H, <i>d</i>)	119,2	5,68 (1H, <i>d</i> , brt)
7	-	139,4	-
8	1,81 (2H, <i>m</i>)	23,0	1,84 (2H, <i>m</i>)
9	1,38 (2H, <i>m</i>)	28,7	1,41 (2H, <i>m</i>)
10	-	23,0	-
11	2,06 (1H, <i>qq</i>)	34,8	2,00 (2H, <i>qq</i>)
12	0,9 (3H, <i>dd</i> , $J = 4$ e 6,4 Hz)	21,9	0,95 (3H, <i>d</i> , $J = 7$)
13	0,9 (3H, <i>dd</i> , $J = 4$ e 6,4 Hz)	21,4	0,94 (3H, <i>d</i> , $J = 7$)
14	1,11 (3H, <i>s</i>)	19,0	1,15 (3H, <i>s</i>)
15	2,11 (3H, <i>s</i>)	30,1	2,15 (3H, <i>s</i>)

FIGURA 86 - Estruturas de SESM-04a e de SESM-04b



Precarabrona



4-bis-2-fenilpropan-2-il-fenol

TABELA 9 - Deslocamentos químicos de RMN ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) em CDCl_3 de SESM-04b comparados com a literatura

SESM-04b (δ_{H} e δ_{C} , CDCl_3)			4-bis-2-fenilpropan-2-il-fenol (δ_{H} e δ_{C} , CDCl_3) (ANDRADE, R. S., 2020)	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1	-	151,6	-	151,7
2	-	134,4	-	134,6
3	7,28 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 2,4 Hz)	124,7	7,32 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 2,4 Hz)	124,9
4	-	142,6	-	142,8
5	6,98 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 2,4 e 8,4 Hz)	126,7	7,02 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 2,4 e 8,4 Hz)	126,6
6	6,60 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 8,4 Hz)	117,1	6,64 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 8,4 Hz)	117,2
7	-	41,8	-	41,9
8	1,57 (3H, <i>s</i>)	29,6	1,60 (3H, <i>s</i>)	29,7
9	1,57 (3H, <i>s</i>)	29,6	1,60 (3H, <i>s</i>)	29,7
1'	-	148,5	-	148,6
2'	7,31 – 7,18 (11H, <i>m</i>)	129,1-124,7	7,34 – 7,15 (11H, <i>m</i>)	129,3-124,9
3'	7,31 – 7,18 (11H, <i>m</i>)	129,1-124,7	7,34 – 7,15 (11H, <i>m</i>)	129,3-124,9
4'	7,31 – 7,18 (11H, <i>m</i>)	129,1-124,7	7,34 – 7,15 (11H, <i>m</i>)	129,3-124,9
5'	7,31 – 7,18 (11H, <i>m</i>)	129,1-124,7	7,34 – 7,15 (11H, <i>m</i>)	129,3-124,9
6'	7,31 – 7,18 (11H, <i>m</i>)	129,1-124,7	7,34 – 7,15 (11H, <i>m</i>)	129,3-124,9
7'	-	42,6	-	42,8
8'	1,68 (3H, <i>s</i>)	31,0	1,70 (3H, <i>s</i>)	31,2
9'	1,68 (3H, <i>s</i>)	31,0	1,70 (3H, <i>s</i>)	31,2
1''	-	151,5	-	151,3
2''	7,31 – 7,18 (11H, <i>m</i>)	129,1-124,7	7,34 – 7,15 (11H, <i>m</i>)	129,3-124,9
3''	7,31 – 7,18 (11H, <i>m</i>)	129,1-124,7	7,34 – 7,15 (11H, <i>m</i>)	129,3-124,9
4''	7,31 – 7,18 (11H, <i>m</i>)	129,1-124,7	7,34 – 7,15 (11H, <i>m</i>)	129,3-124,9
5''	7,31 – 7,18 (11H, <i>m</i>)	129,1-124,7	7,34 – 7,15 (11H, <i>m</i>)	129,3-124,9
6''	7,31 – 7,18 (11H, <i>m</i>)	129,1-124,7	7,34 – 7,15 (11H, <i>m</i>)	129,3-124,9
OH	4,17 (1H, <i>s</i>)	-	4,20 (1H, <i>s</i>)	-

Figura 87 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de SESM-04

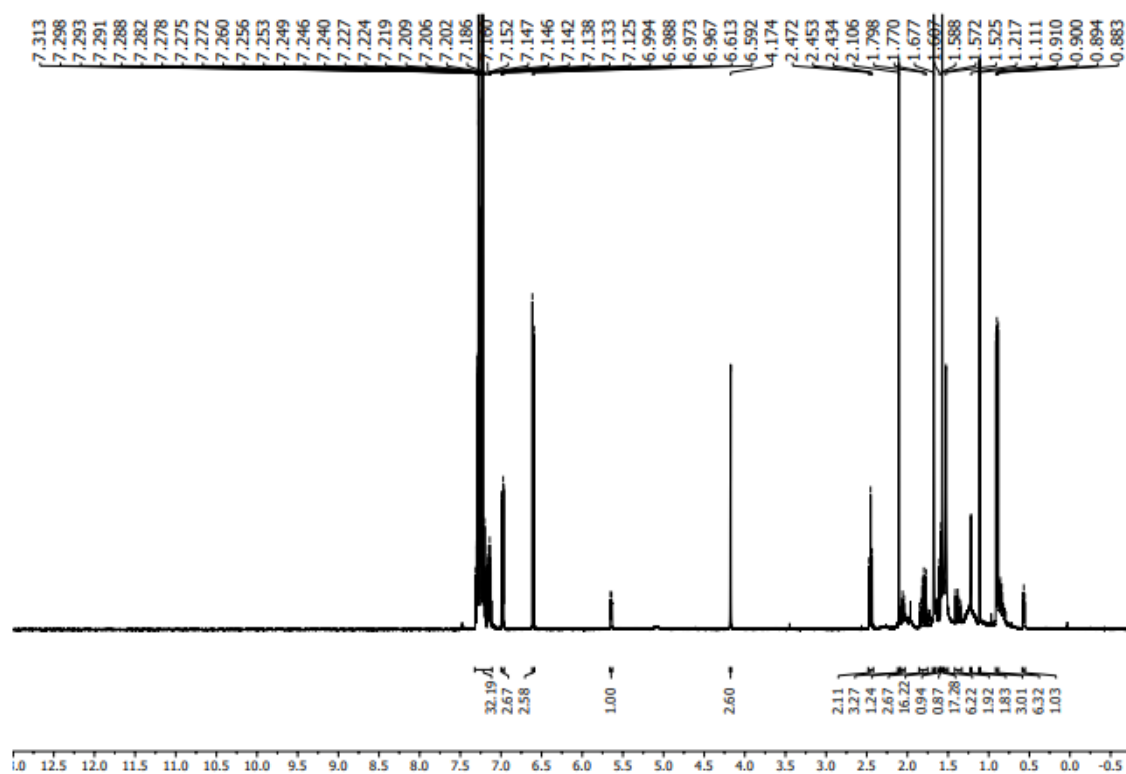


Figura 88 - Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de SESM-04

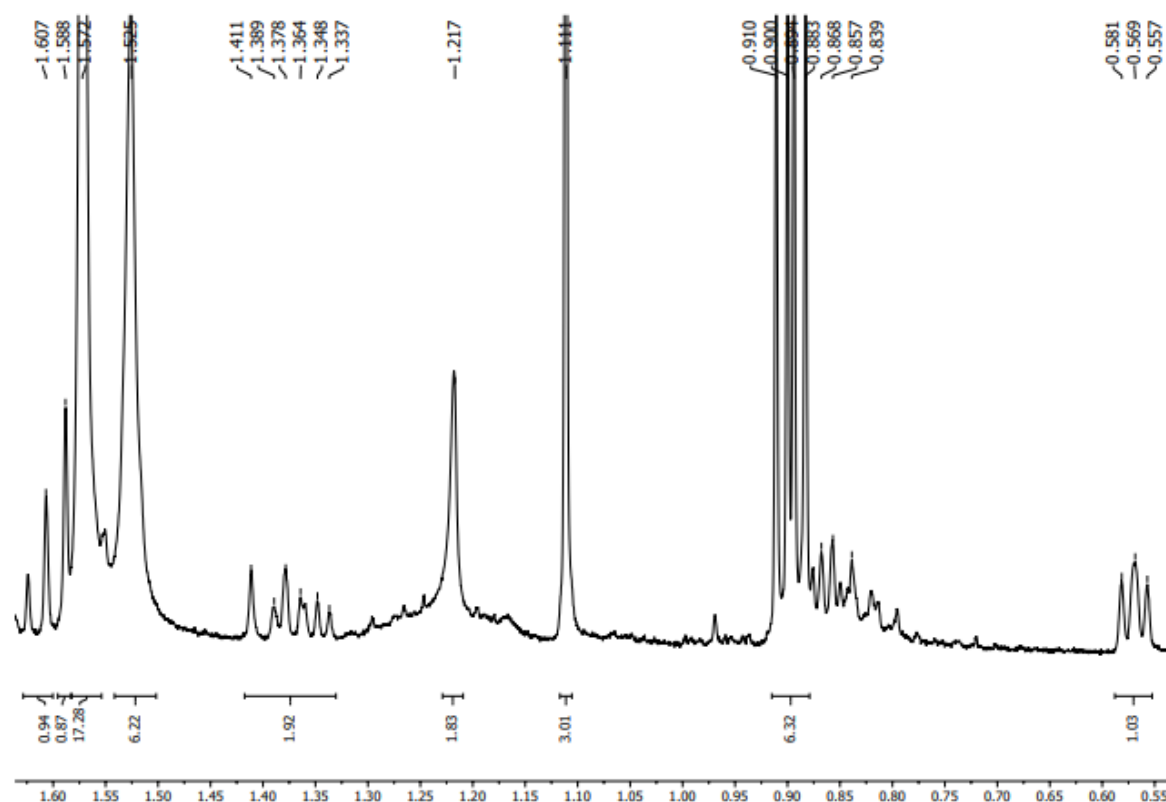


Figura 89 - Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de SESM-04

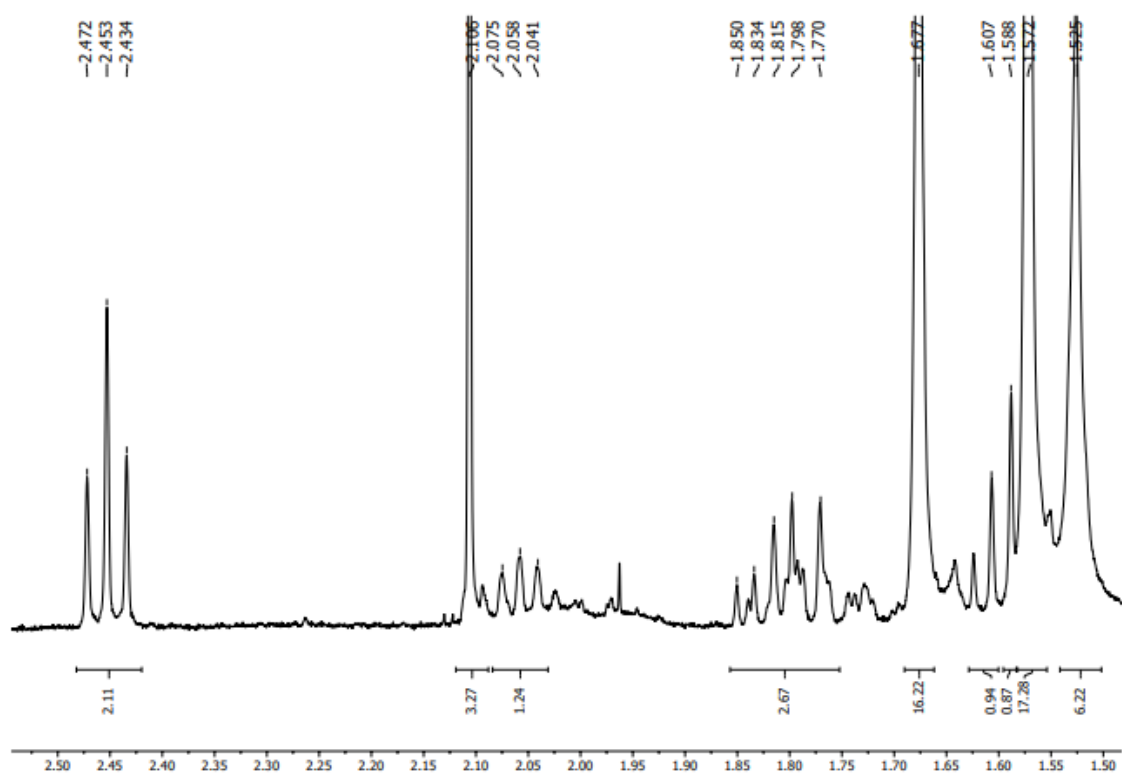


Figura 90 - Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de SESM-04

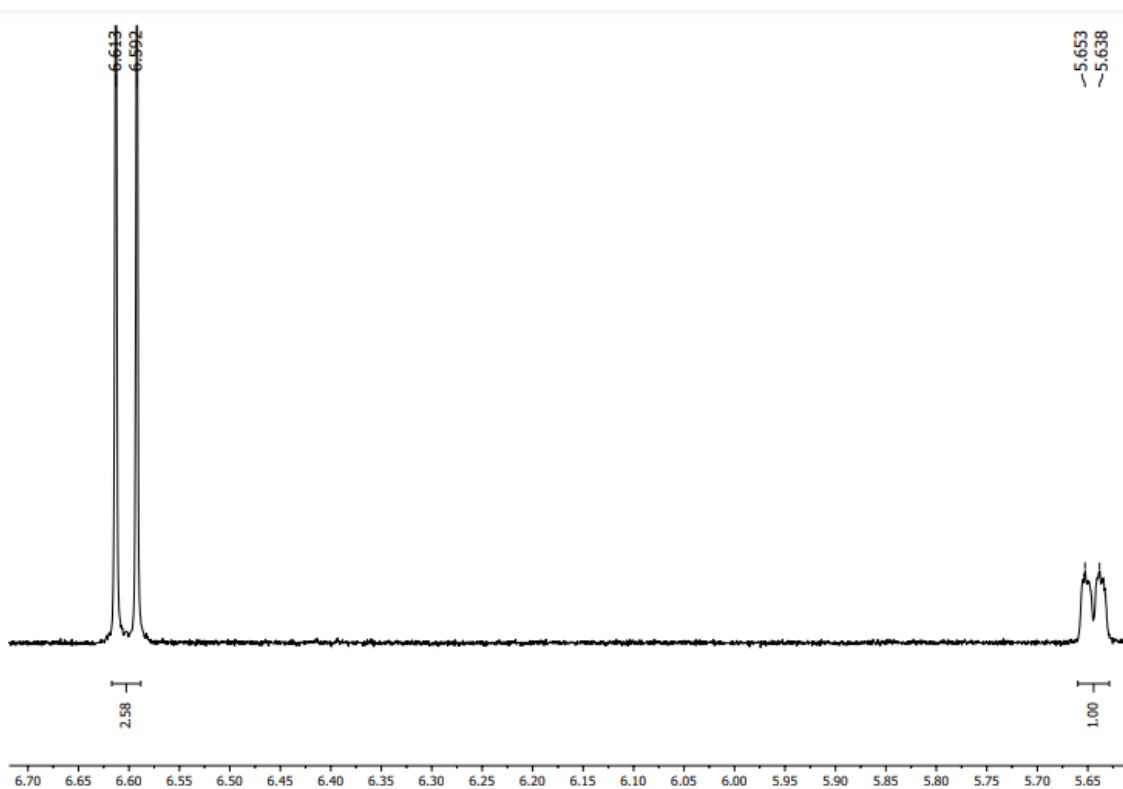


Figura 91 - Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) de SESM-04

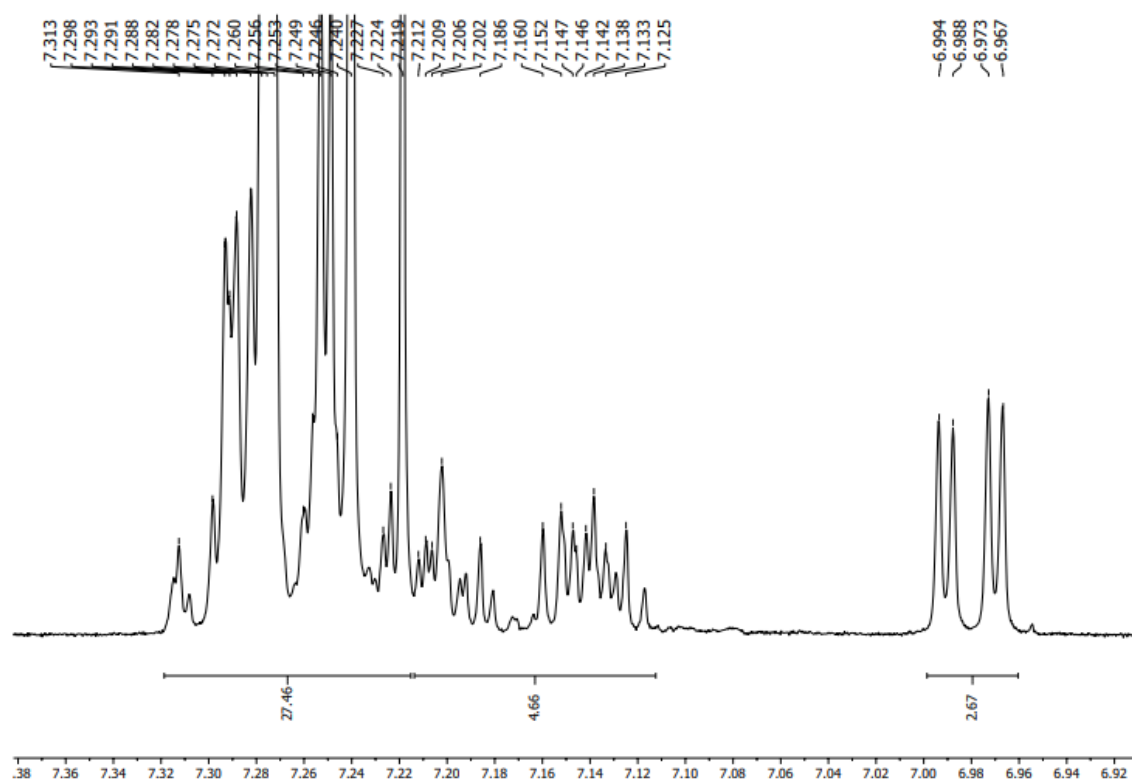


Figura 92 - Espectro de RMN de ^{13}C - BB (100 MHz, CDCl_3) de SESM-04

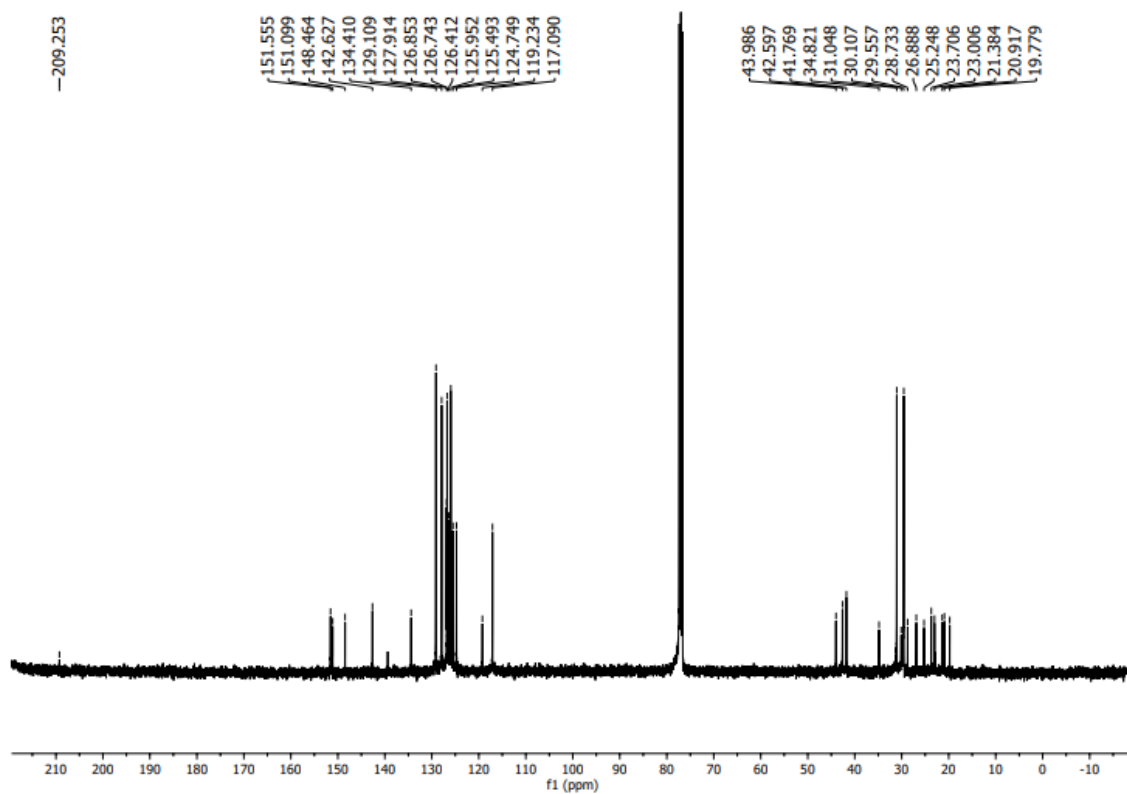


Figura 93 - Expansão do espectro de RMN de ^{13}C - BB (100 MHz, CDCl_3) de SESM-04

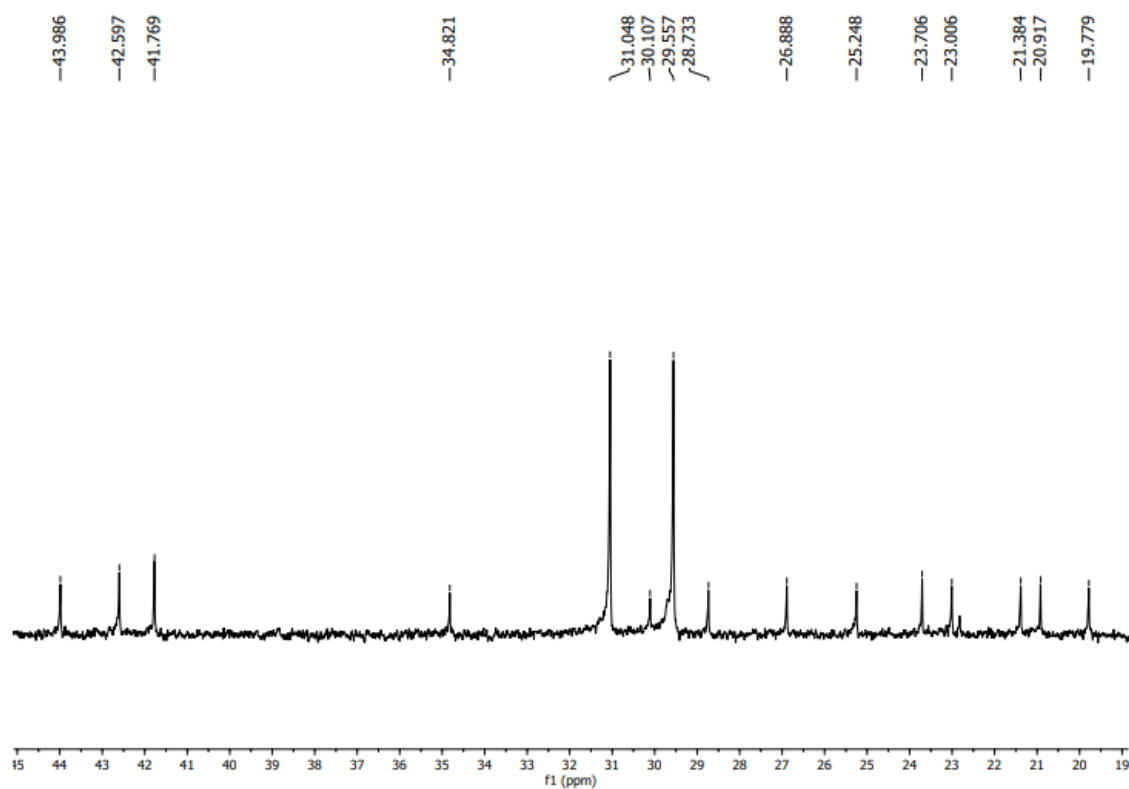


Figura 94 - Expansão do espectro de RMN de ^{13}C - BB (100 MHz, CDCl_3) de SESM-04

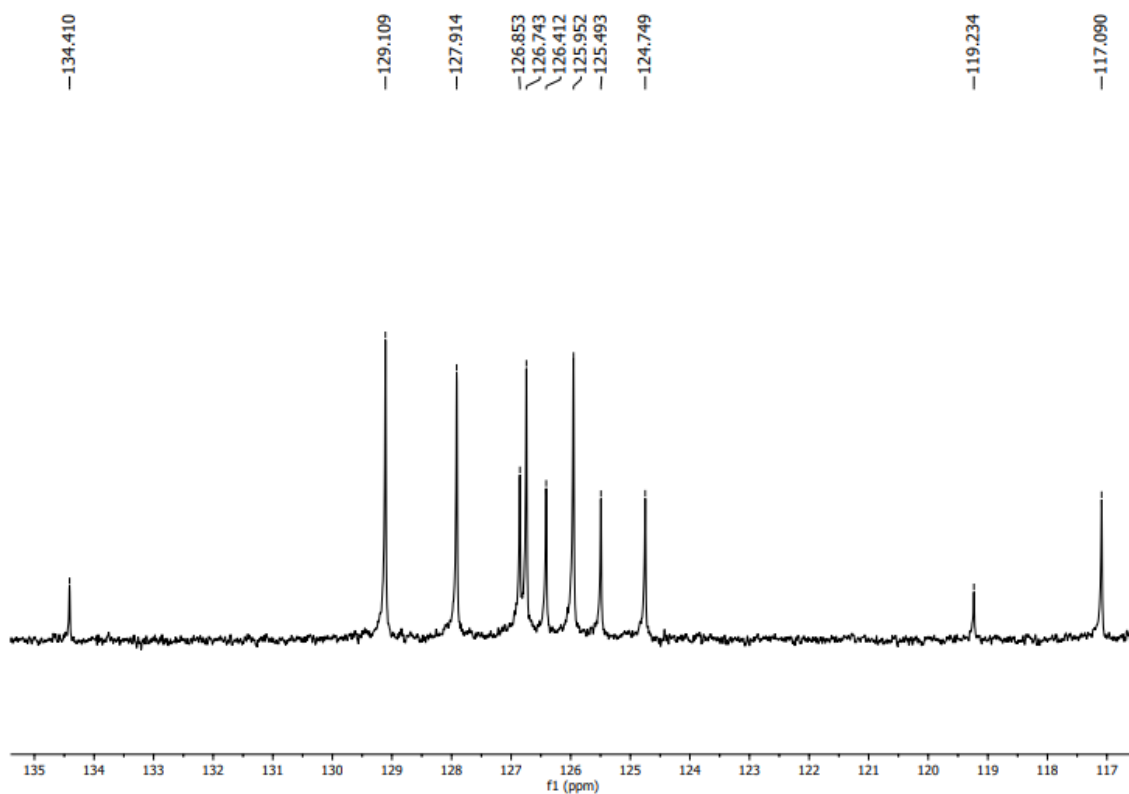


Figura 95 - Expansão do espectro de RMN de ^{13}C - BB (100 MHz, CDCl_3) de SESM-04

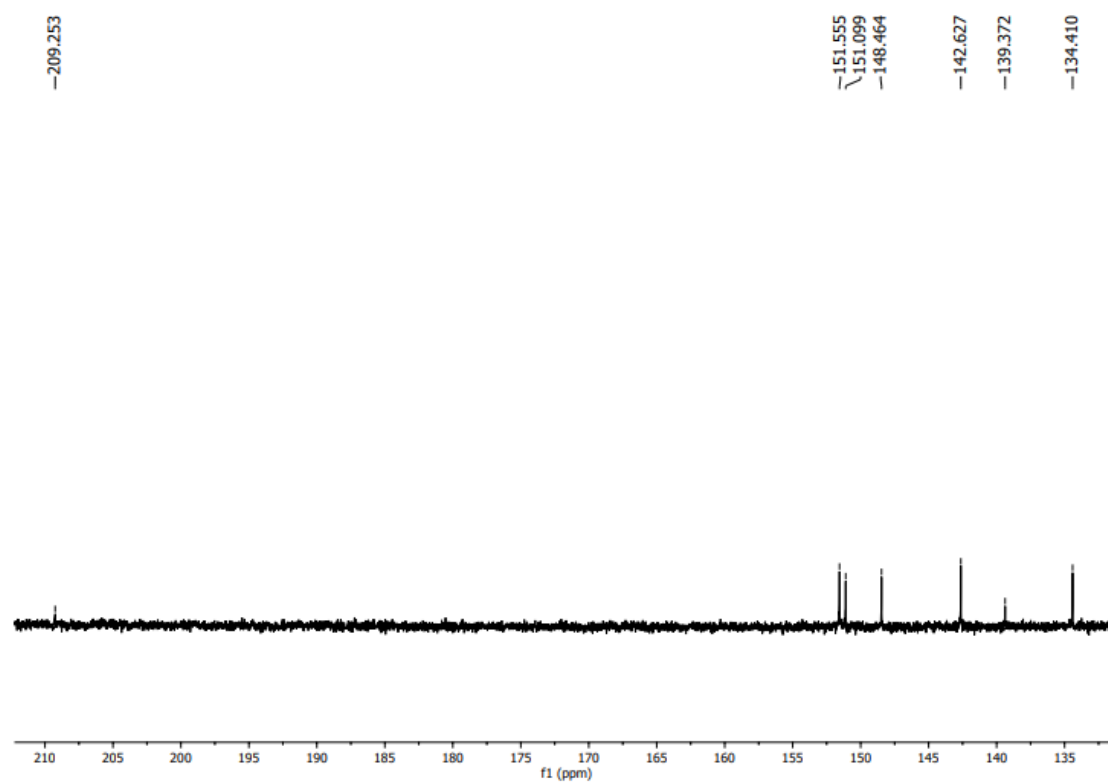


Figura 96 - Espectro de RMN de ^{13}C – dept135 (100 MHz, CDCl_3) de SESM-04

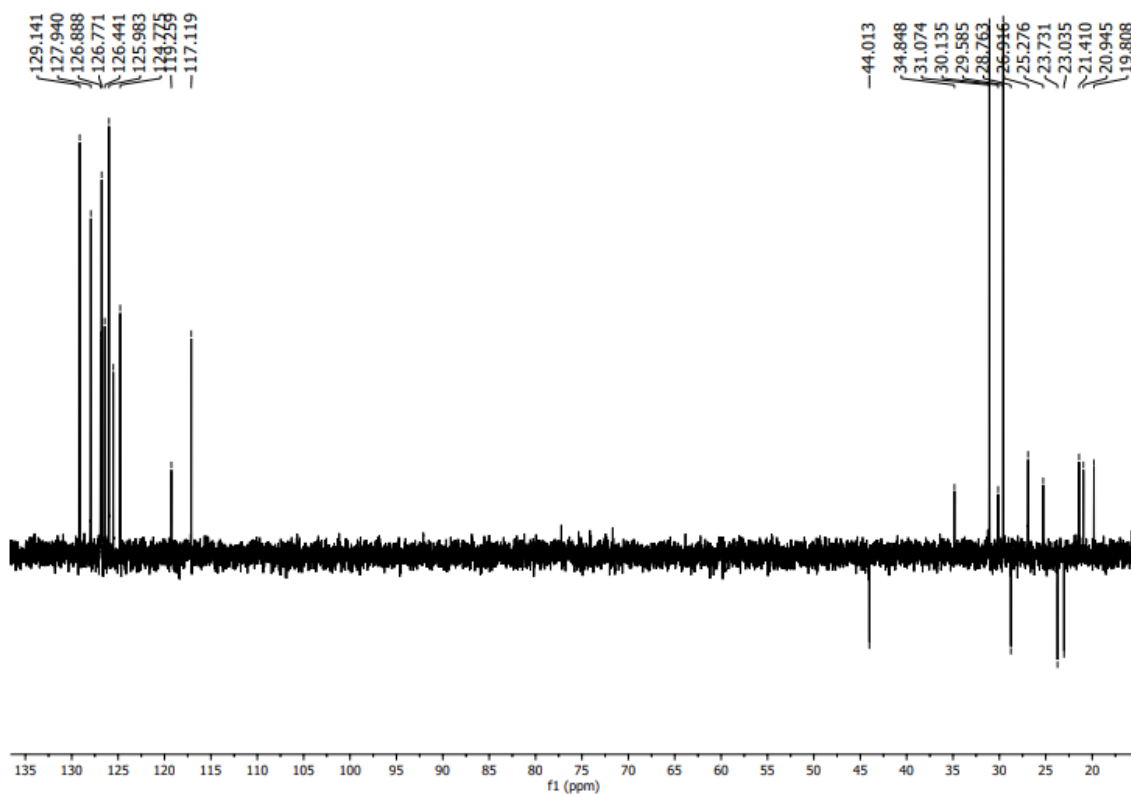


Figura 97 - Expansão do espectro de RMN de ^{13}C – dept135 (100 MHz, CDCl_3) de SESM-04

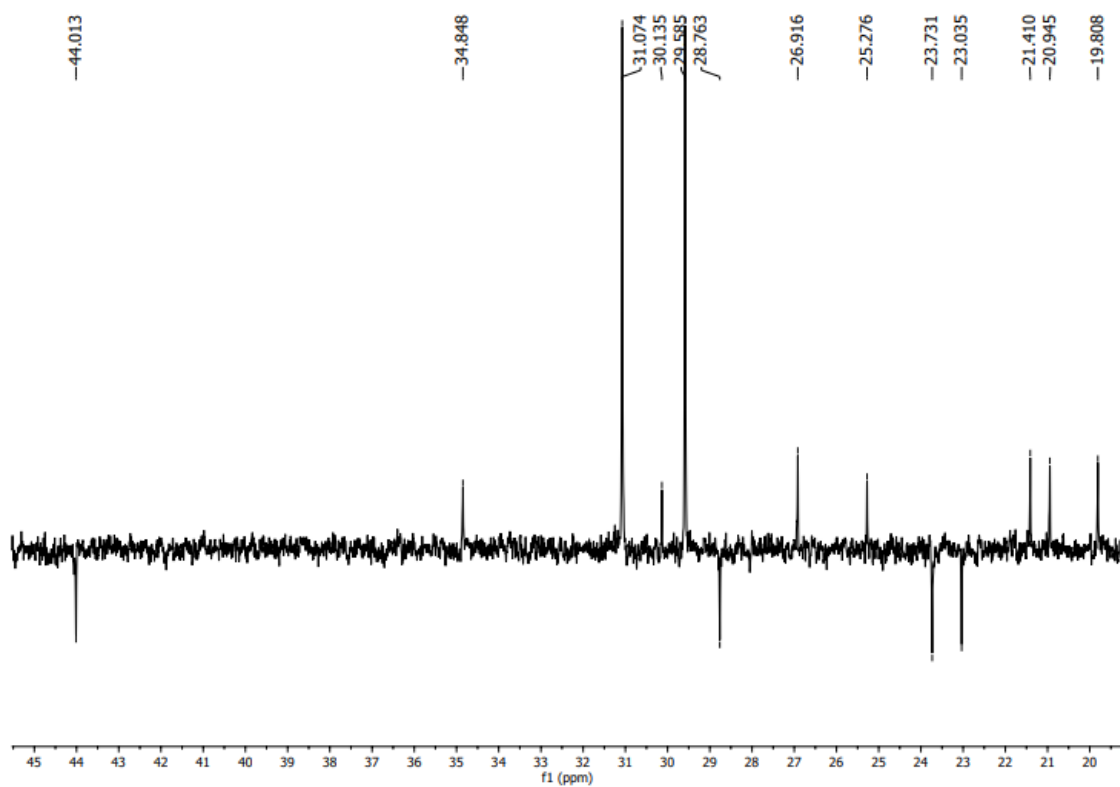


Figura 98 - Expansão do espectro de RMN de ^{13}C – dept135 (100 MHz, CDCl_3) de SESM-04

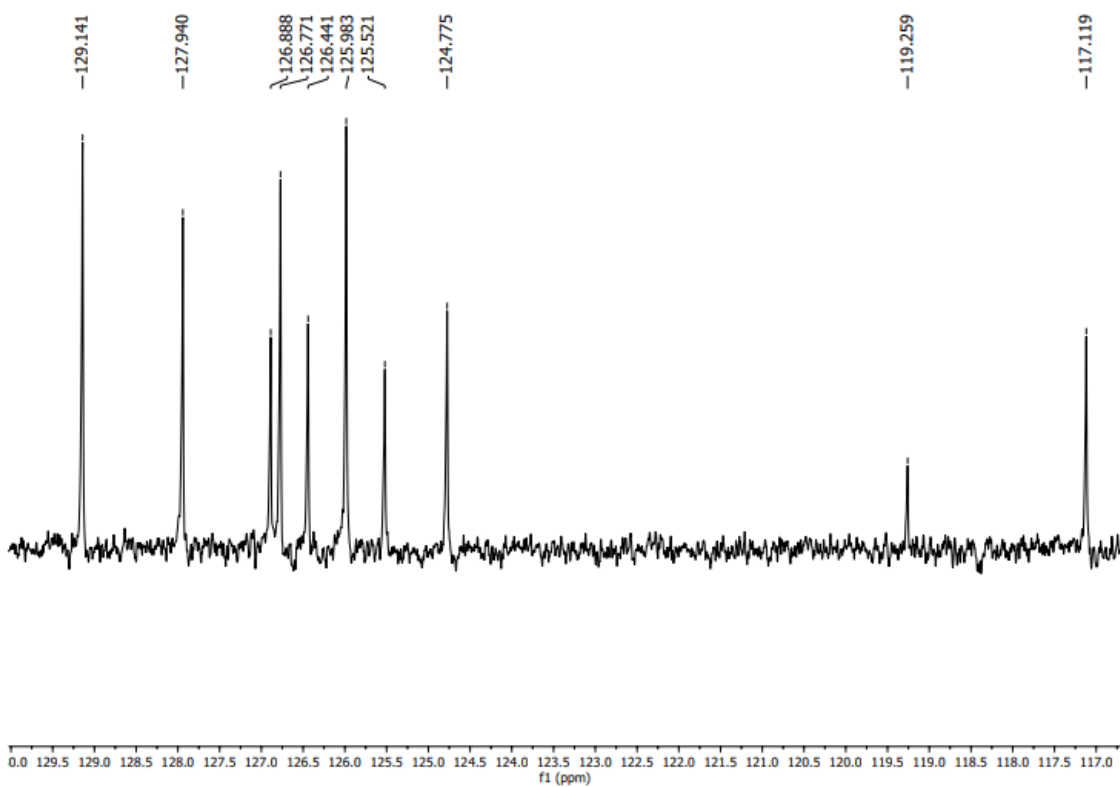


Figura 99 - Espectro de RMN de ^1H - ^{13}C - ^1J HSQC (400x100 MHz, CDCl_3) de SESM-04

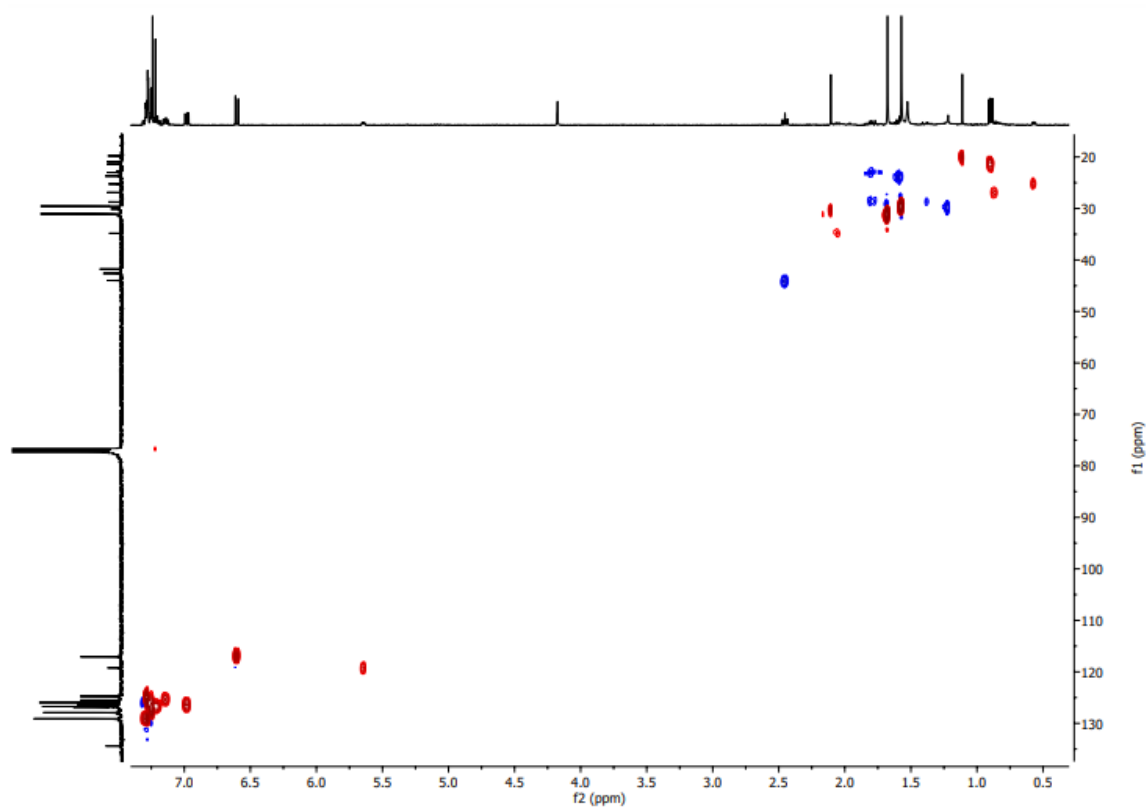


Figura 100 - Expansão do espectro de RMN de ^1H - ^{13}C - ^1J HSQC (400x100 MHz, CDCl_3) de SESM-04

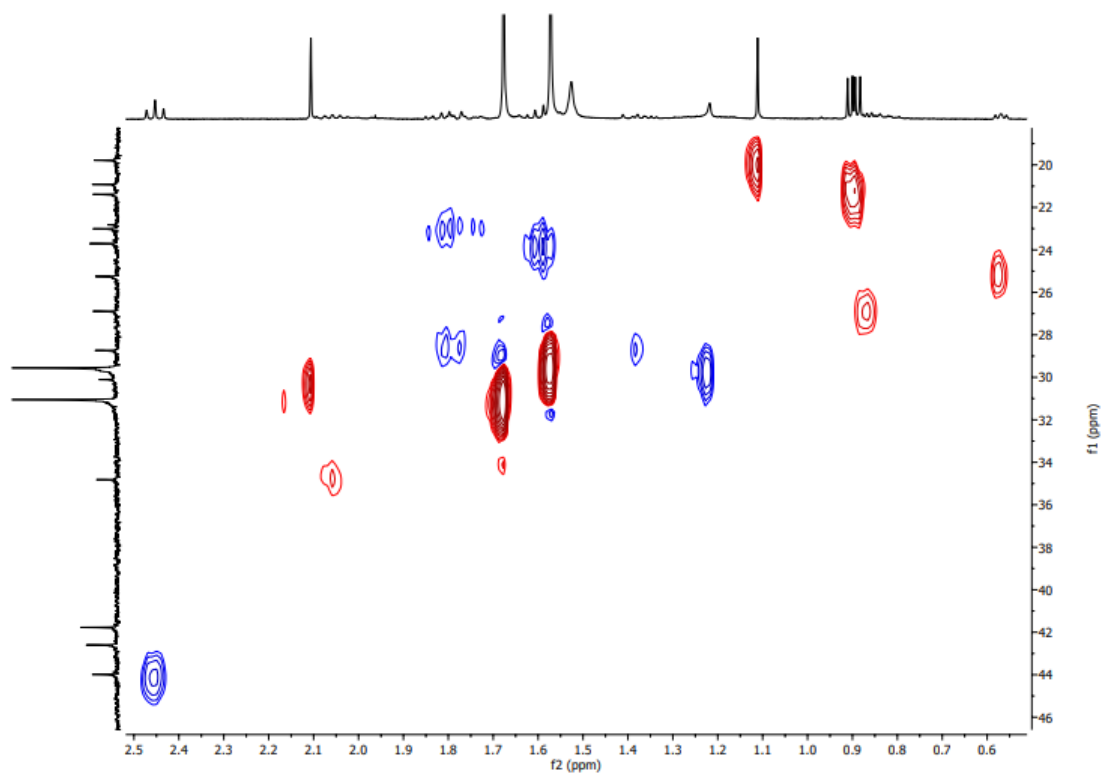


Figura 101 - Expansão do espectro de RMN de ^1H - ^{13}C - ^1J HSQC (400x100 MHz, CDCl_3) de SESM-04

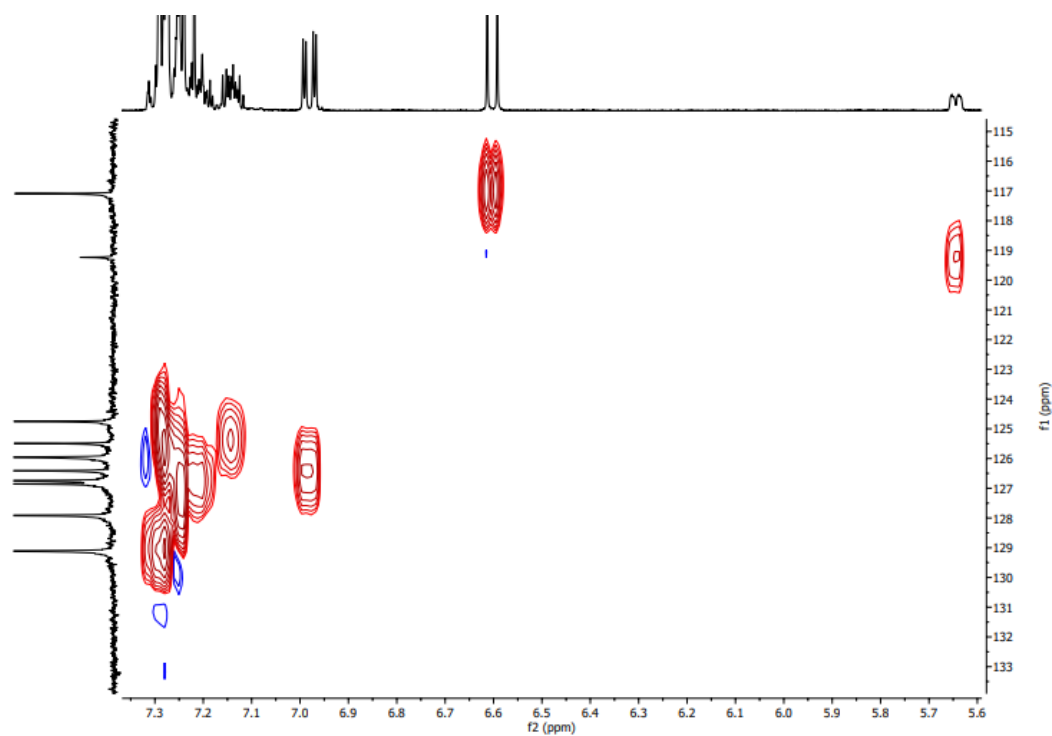


Figura 102 - Espectro de RMN de ^1H - ^{13}C - ^2-3J HMBC (400x100 MHz, CDCl_3) de SESM-04

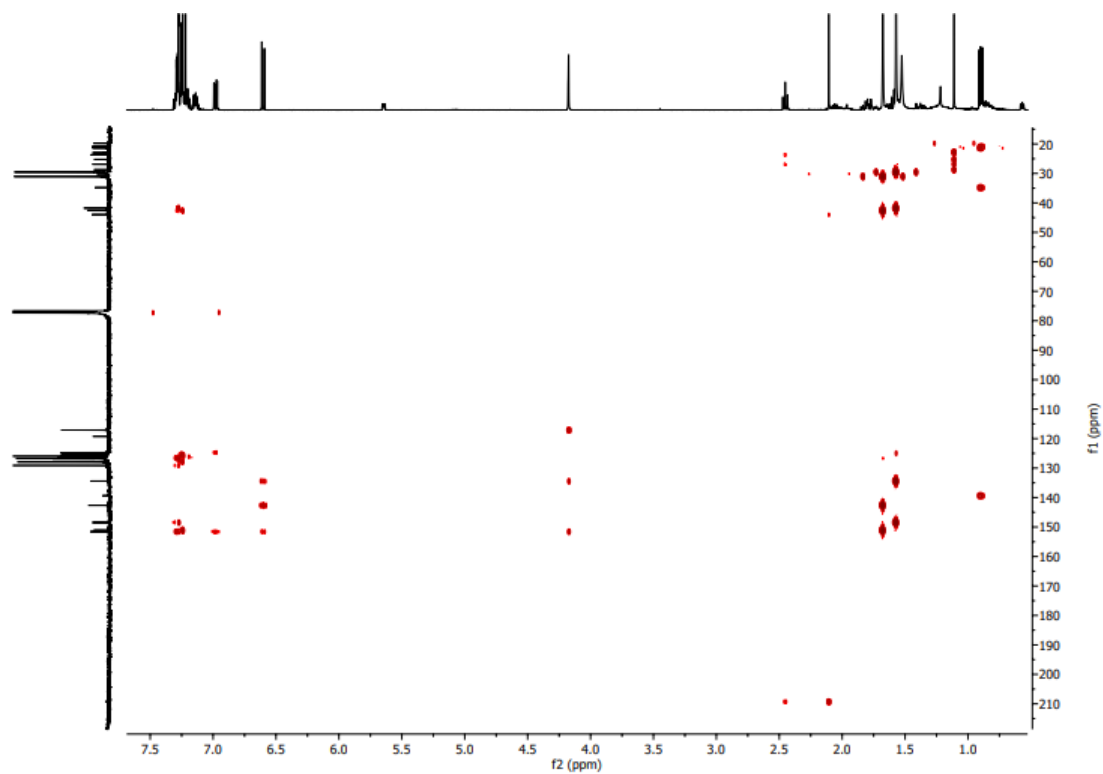


Figura 103 - Expansão do espectro de RMN de ^1H - ^{13}C - $2-3\text{J}$ HMBC (400x100 MHz, CDCl_3) de SESM-04

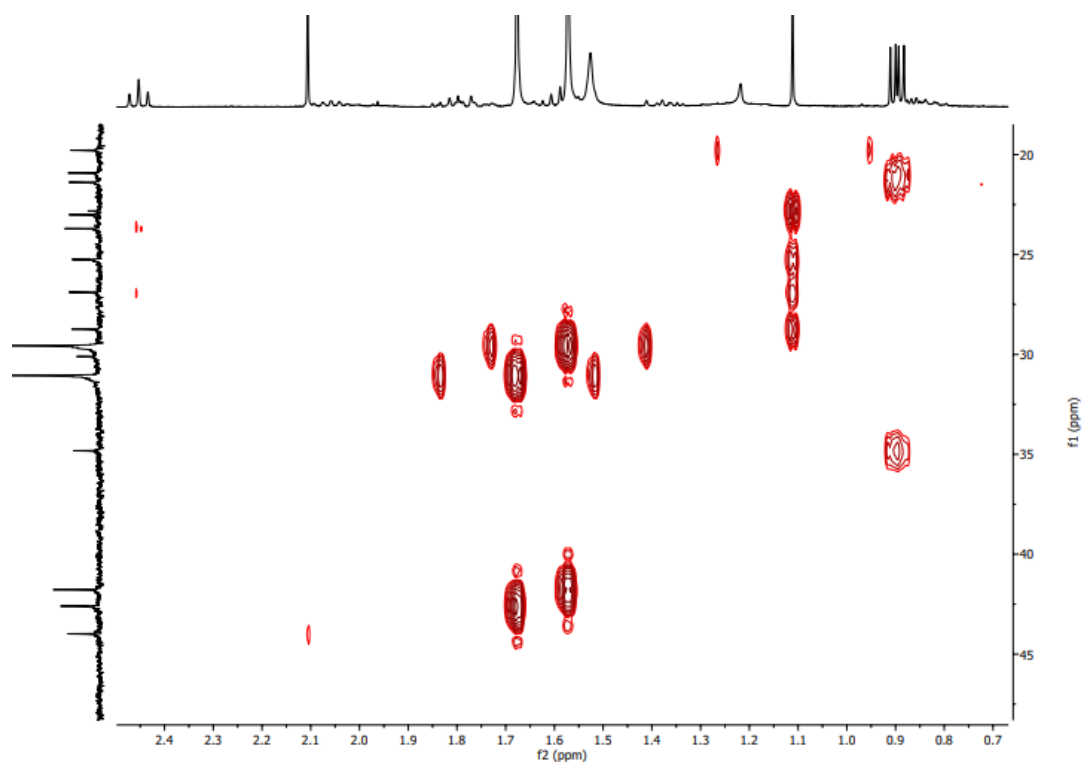


Figura 104 - Expansão do espectro de RMN de ^1H - ^{13}C - $2-3\text{J}$ HMBC (400x100 MHz, CDCl_3) de SESM-04

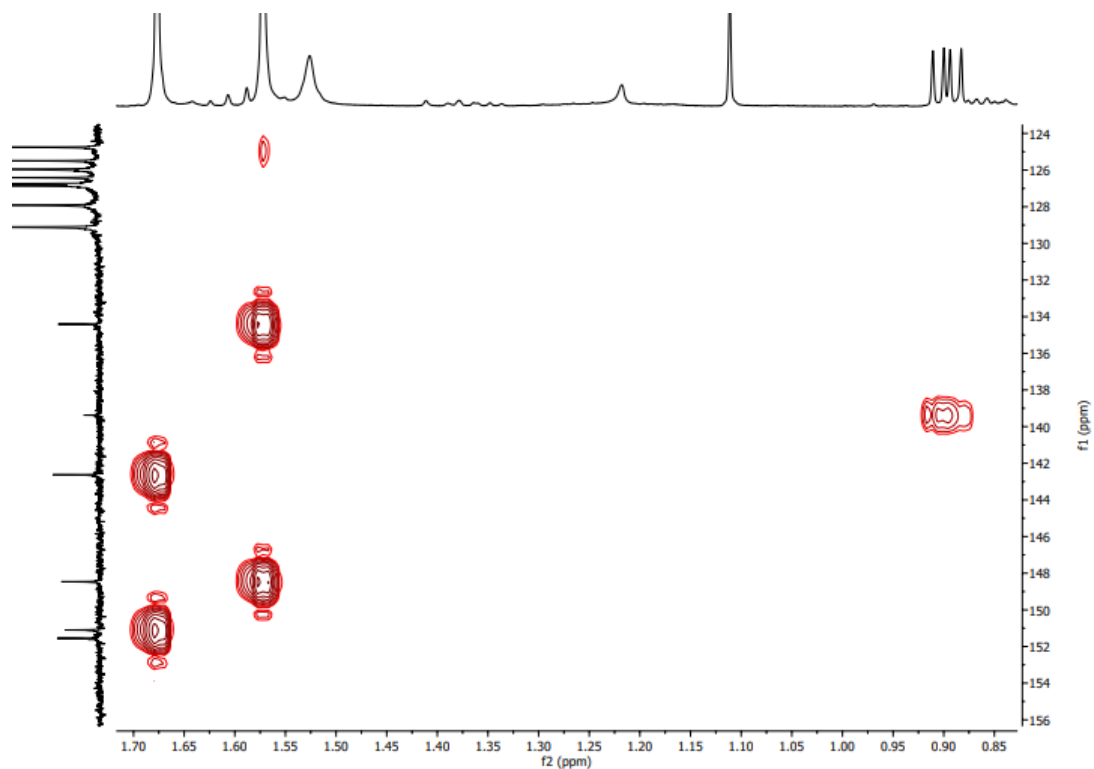


Figura 105 - Expansão do espectro de RMN de ^1H - ^{13}C - $^2\text{-}^3\text{J}$ HMBC (400x100 MHz, CDCl_3) de SESM-04

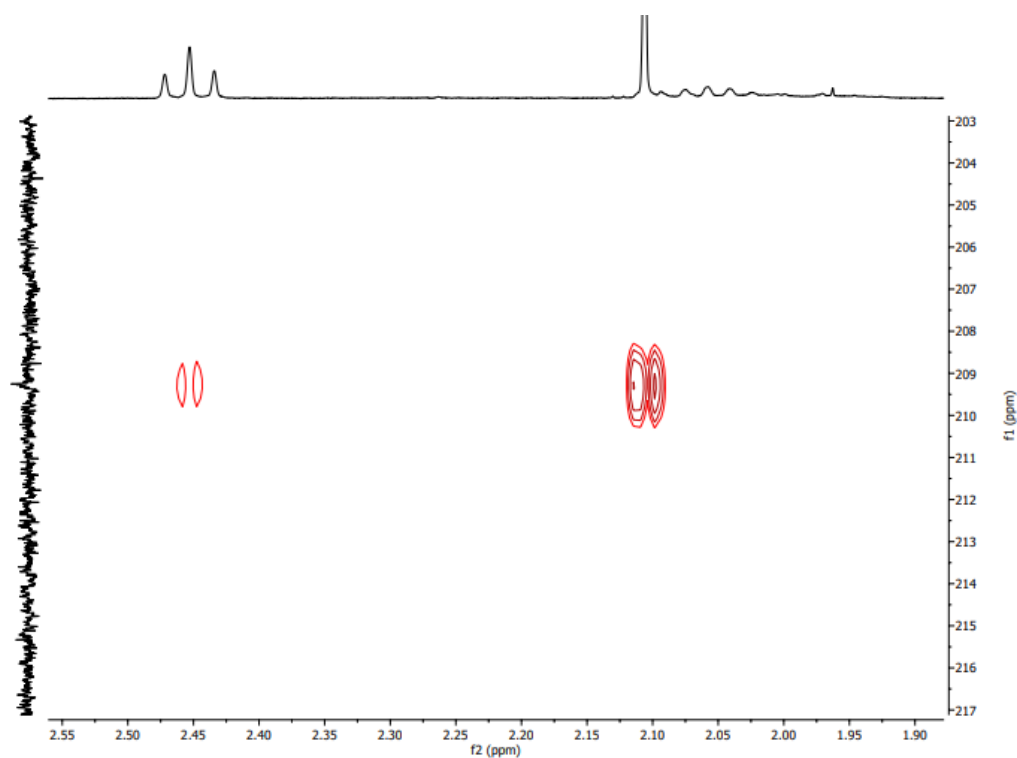


Figura 106 - Expansão do espectro de RMN de ^1H - ^{13}C - $^2\text{-}^3\text{J}$ HMBC (400x100 MHz, CDCl_3) de SESM-04

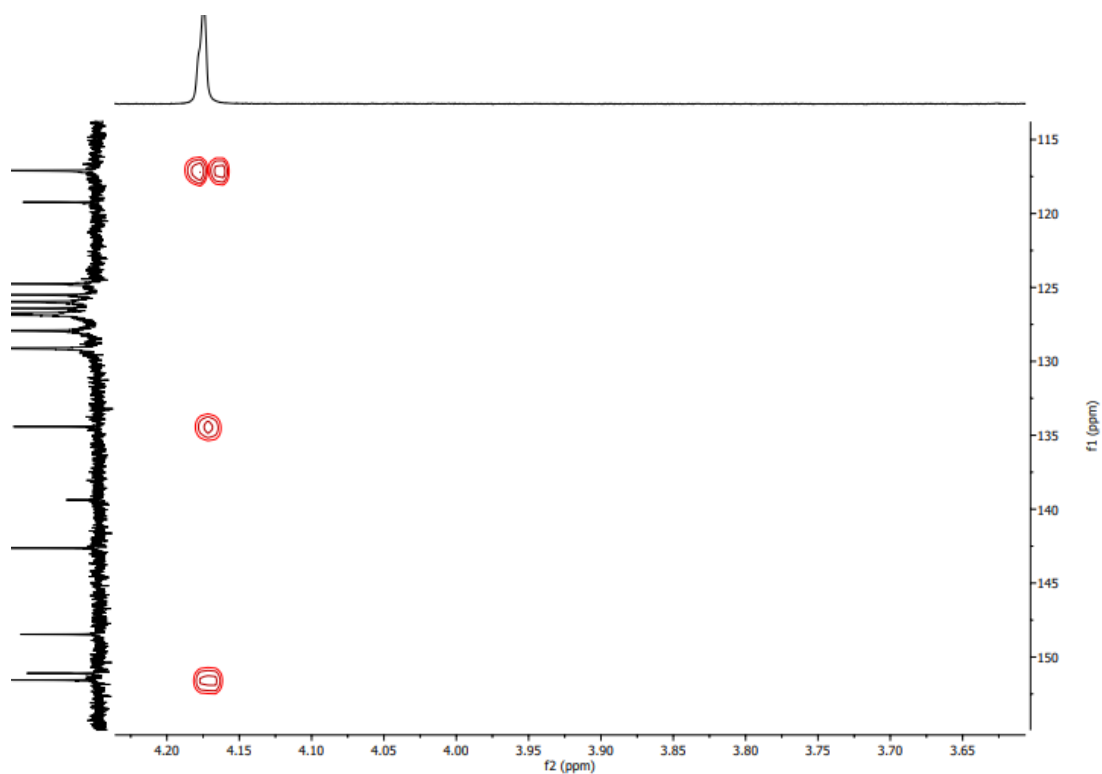
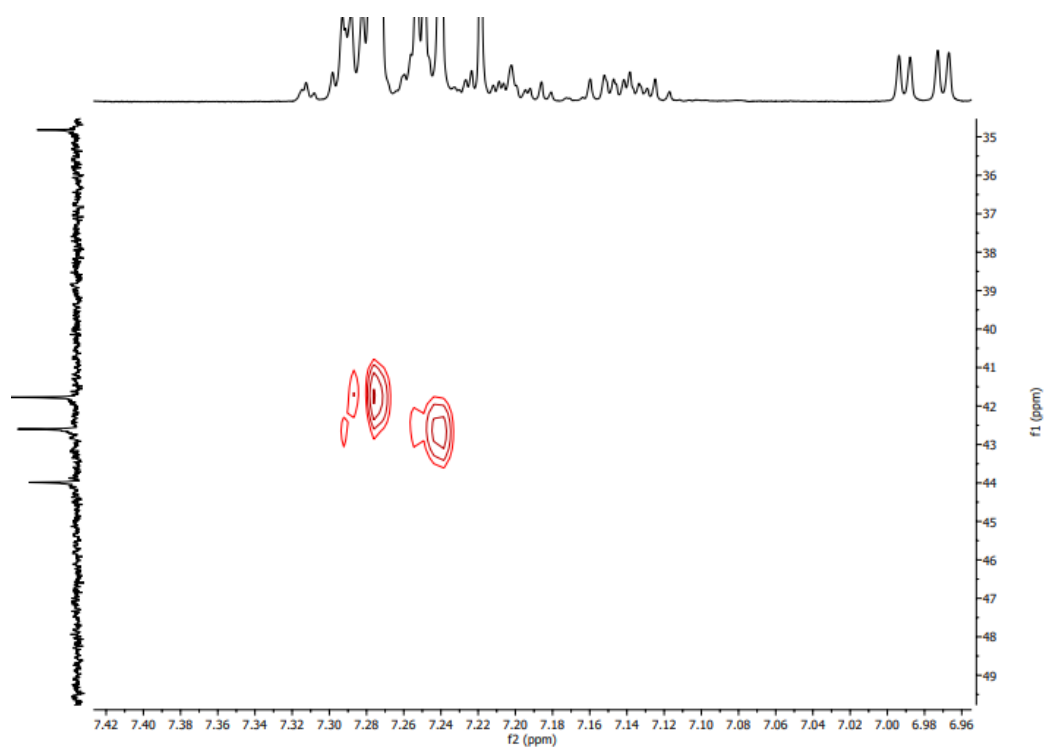


Figura 107 - Expansão do espectro de RMN de ^1H - ^{13}C - $2\text{-}^3\text{J}$ HMBC (400x100 MHz, CDCl_3) de SESM-04



6. CONCLUSÃO

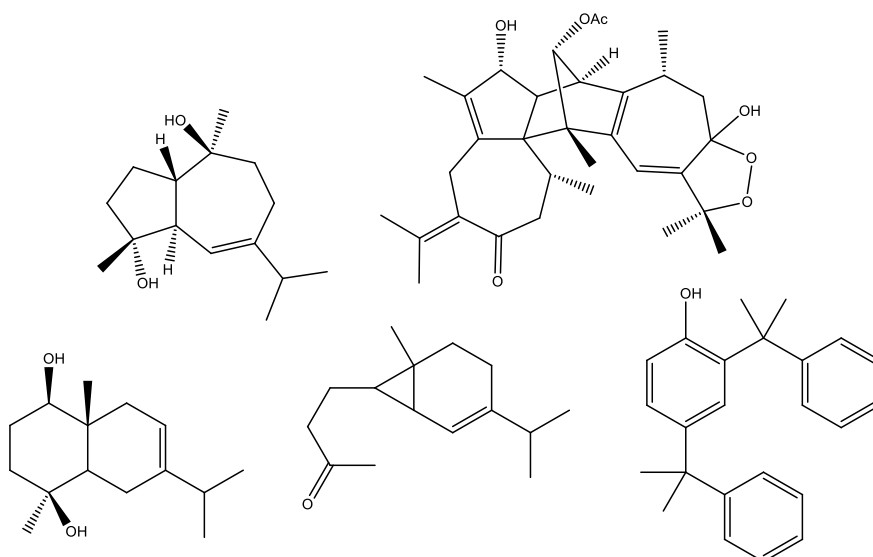
O estudo fitoquímico do extrato hexânico das folhas de *G. olivacea*, possibilitou o isolamento e caracterização de cinco metabólitos secundários, sendo três puros e uma mistura com dois constituintes obtidos através de técnicas cromatográficas como CLAE e CLMP, e identificados por meio de métodos espectroscópicos.

Fato que revelou esta espécie como detentora de uma diversidade de esqueletos sesquiterpênicos em sua constituição química como demonstrado através do isolamento de um sesquiterpeno com esqueleto guaiano (alismóxido), outro com o esqueleto eudesmano (oplodiol); uma mistura do sesquiterpeno precarabrona com uma fitoalexina e um disesquiterpeno com duas unidades guaiano (isolado pela primeira vez na literatura) (figura 108, pág. 113).

Os compostos isolados estão sendo relatados pela primeira vez na espécie *Guatteria olivacea*. O sesquiterpeno precarabrona ainda não foi descrito em espécies da família Annonaceae, sendo esta a primeira descrição dos dados de RMN de ^{13}C para esta substância. Além disso, ainda não há relatos de dímeros de sesquiterpenos na espécie em estudo.

Estes achados corroboram com a literatura, que cita a presença dos mais variados sesquiterpenos nas espécies da família Annonaceae. Assim, contribuem com o conhecimento quimiotaxonômico e dão subsídios à realização de novos estudos, como os ensaios farmacológicos e químicos.

Figura 108 - Constituintes isolados do extrato hexânico de *Guatteria olivacea*



REFERÊNCIAS

ABU-IZNEID, T. et al. Sesquiterpenes and their derivatives-natural anticancer compounds: An update. **Pharmacological Research**, v. 161, p. 105165, 2020.

ALEXANDRE, F. S. O. *Croton blanchetianus* Baill: variação intraespecífica da composição química volátil e não-volátil. **Dissertação de Mestrado**. 2017.

ANDRADE, R. S. Contribuição ao conhecimento fitoquímico de *Krameria tomentosa* A. St.-Hil (Krameriaceae). **Dissertação de Mestrado**. 2020.

ANSANTE, T. F. et al. Secondary metabolites from Neotropical Annonaceae: Screening, bioguided fractionation, and toxicity to *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Industrial Crops and Products**, v. 74, p. 969-976, 2015.

ARAÚJO, M. S. et al. Isoquinoline-derived alkaloids from the bark of *Guatteria olivacea* (Annonaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 92, p. 104105, 2020.

ASAWATRERATANAKUL, K. et al. Molecular cloning, expression and characterization of cDNA encoding cis-prenyltransferases from *Hevea brasiliensis*: a key factor participating in natural rubber biosynthesis. **European Journal of Biochemistry**, v. 270, n. 23, p. 4671-4680, 2003.

ASHRAFIZADEH, M. et al. Monoterpenes modulating autophagy: A review study. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, v. 126, n. 1, p. 9-20, 2020.

ATTIQ, A.; JALIL, J.; HUSAIN, K. Annonaceae: breaking the wall of inflammation. **Front Pharmacology**, v. 8, p. 752, 2017.

BARBOSA, L. T. C.; VEGA, M. R. G. Diterpenos do Gênero *Xylopia*. **Revista Virtual de Química**, v. 9, n. 4, 2017.

BITENCOURT, H. R. et al. Aproveitamento das folhas de *Annona mucosa*. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 12, p. 102924-102933, 2020.

BOHLMANN, F.; ROTARD, W. Natürlich vorkommende Terpen-Derivate, 446. Synthese von Precarabron. **Liebigs Annalen der Chemie**, v. 1982, n. 6, p. 1211-1215, 1982.

BRANCHES, A. D. S. et al. Theoretical and experimental study by DFT, molecular docking calculations and cytotoxicity assay of 7, 7-dimethylaporphine alkaloids type isolated from *Guatteria friesiana* (Annonaceae). **Journal of Molecular Structure**, v. 1177, p. 347-362, 2019.

BRÍGIDO, H. P. C. et al. Antileishmanial activity of *Annona* species (Annonaceae). **SN Applied Sciences**, v. 2, p. 1-8, 2020.

BRITTO, A. C. S. et al. In vitro and in vivo antitumor effects of the essential oil from the leaves of *Guatteria friesiana*. **Planta medica**, v. 78, n. 05, p. 409-414, 2012.

CASCAES, M. M. et al. Essential oils from Annonaceae species from Brazil: a systematic review of their phytochemistry, and biological activities. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 22, p. 12140, 2021.

CHAVAN, M. J.; WAKTE, P. S.; SHINDE, D. B. Analgesic and anti-inflammatory activities of the sesquiterpene fraction from *Annona reticulata* L. bark. **Natural Product Research**, v. 26, n. 16, p. 1515-1518, 2012.

CHO, K. S. et al. Terpenes from forests and human health. **Toxicological Research**, v. 33, p. 97-106, 2017.

CHRISTIANSON, D. W. Structural and chemical biology of terpenoid cyclases. **Chemical Reviews**, v. 117, n. 17, p. 11570-11648, 2017.

CHRISTIANSON, D. W. et al. Unearthing the roots of the terpenome. **Current Opinion in Chemical Biology**, v. 12, n. 2, p. 141-150, 2008.

COSTA, E. V. et al. A novel eudesmol derivative from the leaf essential oil of *Guatteria friesiana* (Annonaceae) and evaluation of the antinociceptive activity. **Zeitschrift für Naturforschung C**, n. 0, 2022.

COSTA, E. V. et al. Chemical constituents isolated from the bark of *Guatteria blepharophylla* (Annonaceae) and their antiproliferative and antimicrobial activities. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 22, p. 1111-1117, 2011.

COSTA, E. V. et al. Guaianolide sesquiterpene lactones and aporphine alkaloids from the stem bark of *Guatteria friesiana*. **Phytochemistry**, v. 145, p. 18-25, 2018.

COSTA, R. G. et al. Experimental and theoretical study on spectral features, reactivity, solvation, topoisomerase I inhibition and in vitro cytotoxicity in human HepG2 cells of guadiscine and guadiscidine aporphine alkaloids. **Journal of Molecular Structure**, v. 1229, p. 129844, 2021.

COSTA, R. G. et al. In vitro and in vivo growth inhibition of human acute promyelocytic leukemia HL-60 cells by *Guatteria megalophylla* Diels (Annonaceae) leaf essential oil. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 122, p. 109713, 2020.

COUVREUR, T. L. P. et al. Early evolutionary history of the flowering plant family Annonaceae: steady diversification and boreotropical geodispersal. **Journal of Biogeography**, v. 38, n. 4, p. 664-680, 2011.

DICKSCHAT, J. S. Bacterial terpene cyclases. **Natural Product Reports**, v. 33, n. 1, p. 87-110, 2016.

DUBEY, V. S.; BHALLA, R.; LUTHRA, R. An overview of the non-mevalonate pathway for terpenoid biosynthesis in plants. **Journal of Biosciences**, v. 28, p. 637-646, 2003.

DUTRA, L. M. et al. Chemical constituents from the leaves of *Annona pickelii* (Annonaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 41, p. 115-118, 2012.

FERRAZ, R. P. C. et al. Antitumour properties of the leaf essential oil of *Xylopia frutescens* Aubl. (Annonaceae). **Food Chemistry**, v. 141, n. 1, p. 196-200, 2013.

FILARDI, F. L. Ranzato et al. Brazilian Flora 2020: innovation and collaboration to meet Target 1 of the Global Strategy for Plant Conservation (GSPC). **Rodriguésia**, v. 69, p. 1513-1527, 2018.

FRAUSIN, G. et al. Plants of the Annonaceae traditionally used as antimalarials: a review. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, p. 315-337, 2014.

GALVÃO, A. F. et al. Antitumor effect of *Guatteria olivacea* RE Fr. (Annonaceae) leaf essential oil in liver cancer. **Molecules**, v. 27, n. 14, p. 4407, 2022.

HABIMORAD, P. H. L. et al. Potencialidades e fragilidades de implantação da Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 25, p. 395-405, 2020.

HUANG, M. et al. Terpenoids: natural products for cancer therapy. **Expert Opinion on Investigational Drugs**, v. 21, n. 12, p. 1801-1818, 2012.

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

IVANESCU, B. et al. Sesquiterpene lactones from *Artemisia* genus: Biological activities and methods of analysis. **Journal of Analytical Methods in Chemistry**, v. 2015, 2015.

JIANG, Z. Y. et al. Bioactive constituents from the leaves of *Croton tiglium*. **Phytochemistry Letters**, v. 49, p. 65-72, 2022.

JUNG, K. Y. et al. Sesquiterpene components from the flower buds of *Magnolia fargesii*. **Archives of Pharmacal Research**, v. 20, p. 363-367, 1997.

KAMDEM, M. H. K, et al. Cytotoxic and antimicrobial activities of new phytosteroids from the leaves of *Anonidium mannii* (Oliv.) Engl. & Diels (Annonaceae). **South African Journal of Botany**, v. 147, p. 628-635, 2022.

KREUGER, M. R. O. et al. Sesquiterpene lactones as drugs with multiple targets in cancer treatment: focus on parthenolide. **Anti-Cancer Drugs**, v. 23, n. 9, p. 883-896, 2012.

LEMOS, E. E. P. A produção de anonáceas no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, p. 77-85, 2014.

LI, Z., et al. Deep learning based radiomics (DLR) and its usage in noninvasive IDH1 prediction for low grade glioma. **Scientific reports**, v. 7, n. 1, p. 1-11, 2017.

LOBÃO, A. Q. et al.; *Guatteria* (Annonaceae) of the Brazilian Atlantic Forest. **Rodriguésia**, v. 63, p. 1039-1064, 2012.

LOBÃO, A. Q. et al. **Annonaceae in Flora do Brasil 2020**. Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2020.

MAAS, P. J. M. et al. Confronting a morphological nightmare: revision of the neotropical genus *Guatteria* (Annonaceae). **Blumea-Biodiversity, Evolution and Biogeography of Plants**, v. 60, n. 1-2, p. 1-219, 2015.

MAAS, P. J. M. et al. Flora da Reserva Ducke, Amazonas, Brasil: Annonaceae. **Rodriguésia**, v. 58, p. 617-662, 2007.

MAAS, P. J. M. et al. Twelve new and exciting Annonaceae from the Neotropics. **PhytoKeys**, v. 126, p. 25, 2019.

MAHIOU, V. et al. Bisbenzylisoquinoline alkaloids from *Guatteria boliviana* (Annonaceae). **Phytochemistry**, v. 54, n. 7, p. 709-716, 2000.

MAIA, J. G. S. et al. Essential oils of the Amazon *Guatteria* and *Guatteriopsis* species. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 20, n. 5, p. 478-480, 2005.

MASSONI, J.; FOREST, F.; SAUQUET, H. Increased sampling of both genes and taxa improves resolution of phylogenetic relationships within Magnoliidae, a large and early-diverging clade of angiosperms. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 70, p. 84-93, 2014.

MEIRA, C. S. et al. Chemical composition and antiparasitic activity of essential oils from leaves of *Guatteria friesiana* and *Guatteria pogonopus* (Annonaceae). **Journal of Essential Oil Research**, v. 29, n. 2, p. 156-162, 2017.

MENEZES, R. P. B. et al. Secondary metabolites extracted from Annonaceae and chemotaxonomy study of terpenoids. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 32, p. 2061-2070, 2021.

MITIC, Z. S. et al. Needle terpenes as chemotaxonomic markers in *Pinus*: subsections *Pinus* and *Pinaster*. **Chemistry & Biodiversity**, v. 14, n. 5, p. e1600453, 2017.

MOREIRA, I. C. et al. Sesquiterpenos e hidrocarbonetos dos frutos de *Xylopia emarginata* (Annonaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, p. 55-58, 2007.

MUHLEMANN, J. K.; KLEMPIEN, A.; DUDAREVA, N. Floral volatiles: from biosynthesis to function. **Plant, Cell & Environment**, v. 37, n. 8, p. 1936-1949, 2014.

NESKE, A. et al. Acetogenins from Annonaceae family. Their potential biological applications. **Phytochemistry**, v. 174, p. 112332, 2020.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural products as sources of new drugs over the nearly four decades from 01/1981 to 09/2019. **Journal of Natural Products**, v. 83, n. 3, p. 770-803, 2020.

OKPEKON, T. A., et al. Apoprunellelactone (APL), an antiprotozoal lactone from the stem barks of *Isolona cooperi* Hutch. & Dalziel (Annonaceae). **Natural Product Research**, v. 35, n. 23, p. 5112-5119, 2021.

PAREDES, A. et al. Biological activity of *Guatteria cardoniana* fractions. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 78, n. 2-3, p. 129-132, 2001.

PENG, G. P. et al. Guaiane-type sesquiterpenoids from *Alisma orientalis*. **Phytochemistry**, v. 63, n. 8, p. 877-881, 2003.

PICHERSKY, E.; NOEL, J. P.; DUDAREVA, N. Biosynthesis of plant volatiles: nature's diversity and ingenuity. **Science**, v. 311, n. 5762, p. 808-811, 2006.

PILON, A. C. et al. Metabolômica de plantas: métodos e desafios. **Química Nova**, v. 43, p. 329-354, 2020.

QUIN, M. B.; FLYNN, C. M.; SCHMIDT-DANNERT, C. Traversing the fungal terpenome. **Natural Product Reports**, v. 31, n. 10, p. 1449-1473, 2014.

RABI, T.; BISHAYEE, A. Terpenoids and breast cancer chemoprevention. **Breast Cancer Research and Treatment**, v. 115, p. 223-239, 2009.

RAJCA, A. K. et al. Chemical composition and biological activities of *Guatteria elliptica* RE Fries (Annonaceae) essential oils. **Journal of Essential Oil Research**, v. 30, n. 1, p. 69-76, 2018.

ROCHA, L. P. B. et al. Uso de plantas medicinais: Histórico e relevância. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 10, p. e44101018282-e44101018282, 2021.

RODRIGUES, A. M. et al. Larvicidal activity of *Annona mucosa* Jacq. extract and main constituents rolliniastatin and rollinacin against *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. **Industrial Crops and Products**, v. 169, p. 113678, 2021.

SALEHI, B. et al. J. Phytochemicals in *Helicobacter pylori* infections: What are we doing now. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 8, p. 2361, 2018.

SANTOS, A. R. et al. In vitro antiproliferative and antibacterial activities of essential oils from four species of *Guatteria*. **Chemistry & Biodiversity**, v. 14, n. 10, p. e1700097, 2017.

SANTOS, A. R. et al. Isoquinoline alkaloids isolated from three *Guatteria* species. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 73, p. 1-2, 2017.

SANTOS, M. D. F. C. et al. Estudo fitoquímico e investigação da atividade citotóxica das folhas e cascas do caule de *Guatteria pogonopus* (Annonaceae). **Dissertação de Mestrado**. 2015.

SIQUEIRA, C. A. T. et al. Bioactivity and chemical composition of the essential oil from the leaves of *Guatteria australis* A. St.-Hil. **Natural Product Research**, v. 29, n. 20, p. 1966-1969, 2015.

SOUZA, C. A. S. Constituintes químicos e investigação do efeito citotóxico das cascas e folhas de *Duguetia pycnastera* (Annonaceae). **Dissertação de Mestrado**. 2020.

SOUZA, D. P. et al. Untargeted metabolomics used to describe the chemical composition and antimicrobial effects of the essential oil from the leaves of *Guatteria citriodora* Ducke. **Industrial Crops and Products**, v. 186, p. 115180, 2022.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; trad. SANTAREM et al. **Fisiologia Vegetal**. 3^a ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.

TESSER, C. D; DALLEGRAVE, D. Práticas integrativas e complementares e medicalização social: indefinições, riscos e potências na atenção primária à saúde. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 36, 2020.

TRINDADE, T. M. L. S.; de CARVALHO JUNIOR, A. R.; FERREIRA, R. O. Prospecção fitoquímica, teor de fenóis totais e atividade antiradicalar de extrato e frações de folhas de *Annona sylvatica* (Annonaceae). **Research, Society and Development**, v. 10, n. 15, p. e340101522811-e340101522811, 2021.

XAVIER, M. N. et al. Composição química do óleo essencial de *Cardiopetalum calophyllum* Schltdl. (Annonaceae) e suas atividades antioxidante, antibacteriana e antifúngica. **Revista Virtual de Química**, v. 8, n. 5, 2016.

XIE, Y. et al. Vieloplains AG, seven new guaiane-type sesquiterpenoid dimers from *Xylopia vielana*. **Bioorganic Chemistry**, v. 88, p. 102891, 2019.

XU, H.; DICKSCHAT, J. S. Germacrene A—A central intermediate in sesquiterpene biosynthesis. **Chemistry—A European Journal**, v. 26, n. 72, p. 17318-17341, 2020.

YAPI, T. A. et al. Composition and chemical variability of Ivoirian *Xylopia staudtii* leaf oil. **Natural Product Communications**, v. 10, n. 6, p. 1934578X1501000666, 2015.

ZENG, L. et al. Recent advances in annonaceous acetogenins. **Natural Product Reports**, v. 13, n. 4, p. 275-306, 1996.

ZHANG, Z. et al. New sesquiterpenoids from the root of *Guatteria multivenia*. **Journal of Natural Products**, v. 65, n. 6, p. 856-859, 2002.

ZHANG, Y. L. et al. Rhodomyrtals A and B, two meroterpenoids with a triketone-sesquiterpene-triketone skeleton from *Rhodomyrtus tomentosa*: structural elucidation and biomimetic synthesis. **Organic letters**, v. 18, n. 16, p. 4068-4071, 2016.

ZHOU, Z. Y. et al. Volatile metabolic profiling and functional characterization of four terpene synthases reveal terpenoid diversity in different tissues of *Chrysanthemum indicum* L. **Phytochemistry**, v. 185, p. 112687, 2021.

ZHU, W. et al. Discovery of a novel series of α -terpineol derivatives as promising anti-asthmatic agents: Their design, synthesis, and biological evaluation. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 143, p. 419-425, 2018.