

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS - UFAM
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA – INPA
LABORATÓRIO DE BIOPROSPECÇÃO E BIOTECNOLOGIA - LABB

**ESTRUTURA MOLECULAR E ATIVIDADE BIOLÓGICA DE METABÓLITOS
SECUNDÁRIOS DE ESPÉCIES DE *Vismia* VAND (HYPERICACEAE)**

LAILA DA SILVA PEDROZA

MANAUS

2019

LAILA DA SILVA PEDROZA

**ESTRUTURA MOLECULAR E ATIVIDADE BIOLÓGICA DE METABÓLITOS
SECUNDÁRIOS DE ESPÉCIES DE *Vismia* VAND (HYPERICACEAE)**

Tese apresentada à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Estado do Amazonas (UFAM), como parte dos requisitos para obtenção do título de “Doutora em Química”.

ORIENTADORA: PROFA. DRA. CECILIA VERONICA NUNEZ

MANAUS

2019

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

P372e Pedroza, Laila da Silva
Estrutura molecular e atividade biológica de metabólitos secundários de espécies de *Vismia* Vand (Hypericaceae) / Laila da Silva Pedroza. 2019
207 f.: il. color; 31 cm.

Orientadora: Cecília Verônica Nunez
Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal do Amazonas.

1. *Vismia*. 2. terpenos. 3. antraquinonas. 4. atividades biológicas.
I. Nunez, Cecília Verônica II. Universidade Federal do Amazonas III.
Título

“Estrutura molecular e atividade biológica de metabólitos secundários de espécies de *Vismia* Vand (Hypericaceae)”

Laila da Silva Pedroza

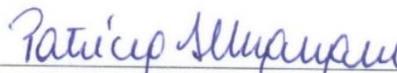
Tese de doutorado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Química, do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal do Amazonas como requisito parcial para a obtenção do Grau de Doutora em Química.

Aprovado, em 31 de maio de 2019.

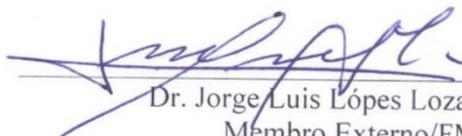
BANCA EXAMINADORA



Dra. Cecília Verônica Nunez
Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia
Orientadora



Dra. Patrícia Melchionna Albuquerque
Membro Externo/UEA



Dr. Jorge Luis López Lozano
Membro Externo/FMT



Dr. Sergio Massayoshi Nunomura
Membro INPA



Dra. Nádia Cristina Falcão Bucker
Membro Externo/INPA

Universidade Federal do Amazonas
Manaus, 31 de maio de 2019.

Dedicatória

*À minha mãe, pela força
e apoio que sempre me deu. Não
existem palavras que expressem a
gratidão que sinto.*

“Epígrafe”

*Nada na vida deve ser temido,
somente compreendido. Agora é hora de
compreender mais para temer menos.*

(Marie Curie)

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus, pelas bênçãos que tem realizado em minha vida.

Aos meus pais, por terem me ensinado a ser a pessoa que sou hoje, em especial a minha querida mãe por sempre estar ao meu lado, dando apoio durante essa jornada de trabalho e sempre dizendo que tudo daria certo, mãe você foi meu alicerce nessa conquista.

À minha orientadora, Prof. Dra. Cecilia Veronica Nunez, com quem aprendi muito mais que conhecimentos químicos, a qual me acompanha nesta vida acadêmica desde o PIBIC, mestrado e agora doutorado, agradeço os ensinamentos e a confiança em mim colocada.

Ao professor Adrian Pohlit e a sua aluna Lais pela colaboração na realização dos ensaios antimaláricos.

À Dra. Nádia pela colaboração na realização dos ensaios antiangiogênicos e pelas conversas de apoio.

À minha amiga Maria Izabel (Bel, princesa Isabel), pela pessoa maravilhosa que você é, e parceria de laboratório, “parceira de *Vismia*”, foi ótimo dividir a planta com você, não teria pessoa melhor para isso, com você não só compartilhei meus conhecimentos, mas também aprendi muito, agradeço pelo carinho e ajuda infinita.

À minha amiga Maria Tereza (Maite), pela amizade neste doutorado, dividimos as angústias e felicidades desde o processo de seleção do doutorado, agradeço pelos conselhos, e pela ajuda na realização dos testes antioxidantes e antibacterianos.

Ao meu amigo André (menino Sapo) agradeço a ajuda nas tentativas de análises quimiométricas e também por aturar os choros e ao Wendell que mesmo no fim do doutorado incentivou e deu forças nos momentos de ansiedade, sempre afirmando vai dar certo.

Aos demais amigos do laboratório, os que fazem parte ou já fizeram parte desde jornada, Fábio, Jessica, Rodrigo, Laura, Tais, Weison, Carol, Julio e William que mesmo alguns chegando e participando no fim do doutorado fizeram parte desta conquista, agradeço a todos pela compreensão e por fazerem parte desta conquista.

Ao Marcos Salazar pelas conversas no início do doutorado e pela contribuição na bancada que deu durante um período do doc. Pelo apoio que dava quando já estava cansada e mesmo assim me incentivava a continuar. Mesmo distante agora, você contribuiu para o desenvolvimento desta tese.

Ao Michael que mesmo com todas as nossas discordâncias e apesar da briga, sei que você deu força em diversos momentos e dizendo que eu era capaz. Espero também de alguma forma ter contribuído no seu mestrado.

Aos meus queridos amigos “trio parada dura”, Haniel, Júlio e Everton, vocês com certeza fizeram parte desta conquista, aturavam minhas chatices e tentavam entender, mesmo sem entender nada do meu trabalho, do jeito de vocês me deram apoio e contribuíram muito para essa conquista. Everton e Haniel em especial no final do meu doutorado, pelas conversas sobre os trabalhos de pós e pelos cafés científicos.

Aos técnicos da Central Analítica do INPA, em especial ao Magno, pela aquisição dos espectros tanto de RMN como de massas e pela ajuda com o programa Data Analysis.

Ao Programa de Pós-Graduação em química, aos professores das disciplinas e aos colegas de curso.

À CAPES e CNPq pelo apoio financeiro para realização deste projeto.

A todos que talvez tenha esquecido os nomes que de alguma forma, direta ou indiretamente, me auxiliaram na execução deste projeto, ou até mesmo só estavam na torcida, agradeço do fundo do meu coração e meu muito obrigada a todos.

Resumo

Espécies de *Vismia* são produtoras de antraquinonas, xantonas, terpenoides, ligninas e flavonoides e por apresentarem atividades como: antioxidante, antibacteriana, citotóxica, leishmanicida, antimalárica, entre outras. Assim, este estudo teve como objetivo realizar o estudo químico e biológico de três espécies do gênero *Vismia* (*V. japurensis*, *V. cauliflora* e *V. sandwithii*). Foram realizadas três coletas de *V. japurensis*, uma de *V. sandwithii* e uma de *V. cauliflora*. Os materiais foram secos, moídos e extraídos com hexano, metanol e água. Os extratos hexânicos das três espécies foram submetidos a uma comparação do perfil químico por cromatografia em camada delgada comparativa (CCDC) e ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN de ^1H). Os extratos hexânicos das espécies *V. japurensis* e de *V. sandwithii* foram submetidos a diversos fracionamentos cromatográficos. A determinação estrutural das substâncias isoladas foi realizada pela utilização de métodos espectroscópicos (RMN de ^1H e de ^{13}C , incluindo as técnicas bidimensionais: HSQC, HMBC, COSY e NOESY) e espectrometria de massas, além de comparação com dados da literatura. Os extratos e as substâncias isoladas da espécie *V. japurensis* foram avaliados quanto ao seu potencial de toxicidade frente *Artemia salina*, antioxidante, antimalárico, antibacteriano e antioangiogênico. Pela análise do perfil químico das três espécies de *Vismia* foi possível verificar a presença de antraquinonas, triterpenos e flavonoides, tanto pelas análises em CCDC quanto por RMN. Do estudo fitoquímico dos extratos hexânicos das folhas de *V. japurensis* foram isolados dois triterpenos (friedelina e friedelan- 3β -ol) e três antraquinonas (madagascina, fisciona e vismiaquinona A). Já do extrato hexânico da espécie *V. sandwithii* foram isolados um triterpeno (friedelina), uma antraquinona (fisciona) e um esteroide (β -sitosterol). Quanto às atividades realizadas com os extratos das folhas de *Vismia japurensis* foram observadas: atividade antioxidante dos extratos MEOH, com uma equivalência de 1,620, considerado ativo para o extrato da primeira coleta e com uma equivalência de 3,123, considerado média atividade para o extrato da segunda coleta, quando comparados ao padrão ácido ascórbico. Quanto à atividade antimalárica, o extrato hexânico da segunda coleta foi considerado ativo na concentração de 5 $\mu\text{g/mL}$ apresentando inibição de 97,19 % da parasitemia em relação ao controle livre de droga. E quanto à atividade de toxicidade frente a *Artemia salina*, os extratos hexânicos das duas coletas apresentaram uma toxicidade na concentração de 1000 $\mu\text{g/mL}$, com mortalidade de 100% das larvas. Para a atividade de antiangiogênica, o extrato hexânico da segunda coleta apresentou uma atividade na concentração de 500 $\mu\text{g/mL}$, e as substâncias isoladas apresentaram uma boa atividade

antiangiogênica, com inibição acima de 60% na concentração de 50 µg/mL. Para a atividade antibacteriana os extratos da primeira e segunda coleta foram considerados ativos com CIM de 500 µg/mL frente às bactérias *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter freundii*, *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus epidermidis*. As substâncias isoladas foram avaliadas e o triterpeno friedelina apresentou uma atividade frente a bactéria *Citrobacter freundii* na concentração de 125 µg/mL, inibindo mais de 50% do crescimento bacteriano com relação ao controle. Estes são os primeiros relatos de atividades biológicas para a espécie *V. japurensis*, e o primeiro relato do isolamento das antraquinonas madagascina e fisciona nesta espécie. Sendo este também o primeiro estudo químico realizado com a espécie *V. sandwithii*.

Palavras – chaves: *Vismia*, antraquinonas, terpenoides, atividades biológicas.

Abstract

Vismia species are producers of anthraquinones, xanthenes, terpenoids, lignins and flavonoids and have activities such as: antioxidant, antibacterial, cytotoxic, leishmanicide, antimalarial, among others. Thus, this study aimed to conduct the chemical and biological study of three species of the genus *Vismia* (*V. japurensis*, *V. cauliflora* and *V. sandwithii*). Three collections of *V. japurensis*, one from *V. sandwithii* and one from *V. cauliflora* were performed. The materials were dried, ground and extracted with hexane, methanol and water. The hexane extracts of the three species were subjected to a comparison of the chemical profile by comparative thin layer chromatography (CCDC) and hydrogen nuclear magnetic resonance (^1H NMR). The hexane extracts of the species *V. japurensis* and *V. sandwithii* were submitted to several chromatographic fractionations. Structural determination of the isolated substances was performed using spectroscopic methods (^1H and ^{13}C NMR, including two-dimensional techniques: HSQC, HMBC, COSY and NOESY) and mass spectrometry, as well as comparison with literature data. Extracts and substances isolated from the species *V. japurensis* were evaluated for their potential toxicity against *Artemia salina*, antioxidant, antimalarial, antibacterial and antioangiogenic. By analyzing the chemical profile of the three species of *Vismia* it was possible to verify the presence of anthraquinones, triterpenes and flavonoids, both by CCDC and NMR analyzes. From the phytochemical study of hexane extracts of *V. japurensis* leaves, were isolated, two triterpenes (friedelina and friedelan-3- β -ol) and three anthraquinones (madagascin, fisciona and vismiaquinone A). From the hexane extract of the species *V. sandwithii*, were isolated, a triterpene (friedelin), an anthraquinone (fiscione) and a steroid (β -sitosterol). Regarding the activities performed with the leaves extracts of *Vismia japurensis* were observed: antioxidant activity of MEOH extracts, with an equivalence of 1.620, considered active for the extract of the first collection and with an equivalence of 3.133, considered average activity for the extract of the second. when compared to the ascorbic acid standard. Regarding antimalarial activity, the hexane extract from the second collection was considered active at a concentration of 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ with 97.19% inhibition of parasitemia in relation to drug free control. Regarding the toxicity activity against *Artemia salina*, the hexane extracts of the two collections presented a toxicity in the concentration of 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$, with 100% mortality of the larvae. For the antiangiogenic activity, the hexane extract from the second collection showed an activity at a concentration of 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$, and the isolated substances showed a good antiangiogenic activity, with inhibition above 60% at a concentration of 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$. For antibacterial activity extracts from

the first and second collection were considered active with MIC of 500 µg/mL against bacteria *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter freundii*, *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus epidermidis*. The isolated substances were evaluated and the triterpene friedelin presented activity against the bacterium *Citrobacter freundii* at a concentration of 125 µg/mL, inhibiting more than 50% of the bacterial growth in relation to the control. These are the first reports of biological activities for the species *V. japurensis*, and the first report of the isolation of anthraquinones madagascina and supervises in this species. This is also the first chemical study conducted with *V. sandwithii*.

Keywords: *Vismia*, anthraquinones, terpenoids, biological activities

Lista de Figuras

Figura 1: Medicamentos derivados de plantas	24
Figura 2: Distribuição mundial da família Hypericaceae.....	26
Figura 3: Distribuição geográfica da família Hypericaceae no Brasil	27
Figura 4: Algumas substâncias identificadas em Hypericaceae.....	32
Figura 5: Distribuição mundial do Gênero <i>Vismia</i>	37
Figura 6: Distribuição geográfica do gênero <i>Vismia</i> no Brasil	38
Figura 7: Algumas substâncias isoladas de espécies do gênero <i>Vismia</i>	48
Figura 8: Distribuição geográfica da espécie <i>V. japurensis</i> no Brasil	50
Figura 9: Ilustração de <i>Vismia japurensis</i>	50
Figura 10: Ramos com folhas e inflorescências de <i>Vismia japurensis</i>	51
Figura 11: Substâncias isoladas da espécie <i>Vismia japurensis</i>	52
Figura 12: Ramos com folhas da espécie <i>Vismia sandwithii</i>	53
Figura 13: Distribuição geográfica no Brasil da espécie <i>V. sandwithii</i>	53
Figura 14: Ilustração botânica da espécie <i>Vismia cauliflora</i>	54
Figura 15: Ramos com folhas de <i>Vismia cauliflora</i>	55
Figura 16: Distribuição geográfica no Brasil da espécie <i>Vismia cauliflora</i>	55
Figura 17: Substâncias identificadas na espécie <i>Vismia cauliflora</i>	56
Figura 30: Exemplos de terpenoides	58
Figura 31: Exemplos de antraquinonas	60
Figura 18: Imagens da espécie <i>V. japurensis</i> . (A) aspecto geral da árvore, (B) ramos com fohas e inflorescências, (C) folhas e (D) frutos.	68
Figura 19: Imagens da espécie <i>V. sandwithii</i> . (A) aspecto geral da árvore, (B) Galho, (C) folha	69
Figura 20: Imagens da espécie <i>V. cauliflora</i> . (A) comparação das folhas de <i>Vismia sandwithii</i> e <i>Vismia cauliflora</i> , (B) fruto, (C) folhas	69
Figura 21: Fluxograma do preparo dos extratos vegetais	70
Figura 32: Fluxograma dos fracionamentos da fração 50- 70.....	74
Figura 33: Figura: CCDC da fração 16.	75
Figura 34: CCDC da fração 8 – 11.....	75

Figura 35: Fluxograma dos fracionamentos da fração 106-122.....	80
Figura 36: CCDC da fração 58-63C.....	81
Figura 37: Fluxograma dos fracionamentos da fração 130-147.....	83
Figura 38: CCDC da Fração 9-11	84
Figura 39: CCDC da fração 3.....	87
Figura 40: Fluxograma dos fracionamentos da fração 30-31.....	88
Figura 41: CCDC da fração 19.....	91
Figura 42: CCDC da fração 7.....	91
Figura 43: Fluxograma dos fracionamentos da fração 27-29.....	92
Figura 44: CCDC da fração 38-43	94
Figura 45: CCDC da fração 36.....	94
Figura 46: fluxograma dos fracionamentos da fração 43-48.....	95
Figura 47: CCDC da fração 19.....	98
Figura 48: CCDC da fração 54.....	99
Figura 49: CCDC da fração 5-8	100
Figura 50: Fluxograma dos fracionamentos da fração 5	101
Figura 51: CCDC da fração 22.....	102
Figura 52: Fluxograma da fração 10	103
Figura 22: Análise em CCDC dos extratos hexânicos das folhas de <i>V. japurensis</i> , <i>V. cauliflora</i> e <i>V. sandwithii</i>	111
Figura 23: Espectros de RMN de ¹ H de todos os extratos hexânicos das três espécies de <i>Vismia</i>	112
Figura 24: Expansão dos Espectros de RMN de ¹ H, de todos os extratos hexânicos das três espécies de <i>Vismia</i> , da região 0,6 a 1,8 ppm	113
Figura 25: Expansão dos Espectros de RMN de ¹ H, de todos os extratos hexânicos das três espécies de <i>Vismia</i> , da região 1,8 a 2,5 ppm	113
Figura 26: Figura: Expansão dos Espectros de RMN de ¹ H, de todos os extratos hexânicos das três espécies de <i>Vismia</i> , da região 3,0 a 4,0 ppm	114
Figura 27: Expansão dos Espectros de RMN de ¹ H, de todos os extratos hexânicos das três espécies de <i>Vismia</i> , da região 4,6 a 5,8 ppm	114
Figura 28: Figura: Expansão dos Espectros de RMN de ¹ H, de todos os extratos hexânicos das três espécies de <i>Vismia</i> , da região 6,0 a 8,0 ppm	115

Figura 29: Figura: Expansão dos Espectros de RMN de ^1H , de todos os extratos hexânicos das três espécies de <i>Vismia</i> , da região 10,0 a 16,5 ppm	115
Figura 53: Estrutura da friedelan-3-ona (substância I).....	118
Figura 54: Espectro de RMN de ^1H da substância I, friedelina (CDCl_3 , 300MHz).....	118
Figura 55: Expansão na região de 0,72 a 2,5 ppm do espectro de RMN de ^1H da substância I, friedelina (CDCl_3 , 300MHz).....	120
Figura 56: Expansão na região de 0,72 a 1,2 ppm do espectro de RMN de ^1H da substância I, friedelina (CDCl_3 , 300MHz).....	121
Figura 57: Espectro de RMN de ^{13}C da substância I, friedelina (CDCl_3 , 75 MHz).....	122
Figura 58: Expansão da região de 6,0 a 60 ppm do espectro de RMN de ^{13}C da substância I, friedelina (CDCl_3 , 75 MHz)	123
Figura 59: Mapa de contorno HMBC da substância I, friedelina (CDCl_3 , 300 MHz).....	124
Figura 60: Expansões do Mapa de contorno HMBC e correlações da substância I, friedelina (CDCl_3 , 300 MHz).....	125
Figura 61: Comparação dos espectros de RMN de ^1H das frações 16-20, 6-8, 15-16, 161-165, 13-14, 19, 38-43, 19 e 22 (CDCl_3 , 300 MHz)	126
Figura 62: Estrutura da madagascina (Substância II).....	128
Figura 63: Correlações observadas nos espectros bidimensionais da substância II.....	130
Figura 64: Espectro de massas da substância II, madagascina	131
Figura 65: Espectro de RMN de ^1H da substância II, madagascina (CDCl_3 , 300MHz)	132
Figura 66: Expansões da região dos aromáticos (6,5 a 7,6 ppm) do espectro de RMN de ^1H da substância II, madagascina (CDCl_3 , 300MHz).....	133
Figura 67: Expansão da região 4,5 a 5,6 ppm do espectro de RMN de ^1H da substância II, madagascina (CDCl_3 , 300MHz).....	134
Figura 68: Expansão da região 1,8 a 2,5 ppm do espectro de RMN de ^1H da substância II, madagascina (CDCl_3 , 300MHz).....	134
Figura 69: Espectro de RMN de ^{13}C da substância II, madagascina (CDCl_3 , 75 MHz)	135
Figura 70: Mapa de contorno HMBC da substância II, madagascina (CDCl_3 , 300 MHz) ...	136
Figura 71: Expansões do Mapa de contorno HMBC e correlações da substância II, madagascina (CDCl_3 , 300 MHz).....	137
Figura 72: Mapa de contorno HSQC da substância II, madagascina (CDCl_3 , 300 MHz)	137
Figura 73: Mapa de contorno COSY da substância II, madagascina (CDCl_3 , 300 MHz)	138
Figura 74: Mapa de contorno NOESY da substância II, madagascina (CDCl_3 , 300 MHz)..	138
Figura 75: Estrutura da friedelan-3- β -ol	141

Figura 76: Espectro de RMN de ^1H da substância III, friedelanol (CDCl_3 , 300MHz)	142
Figura 77: Expansão na região de 0,8 a 1,3 ppm do espectro de RMN de ^1H da substância III, friedelanol (CDCl_3 , 300MHz)	143
Figura 78: Espectro de RMN de ^{13}C da substância I, friedelina (CDCl_3 , 75 MHz).....	144
Figura 79: Comparação dos espectros de RMN de ^1H das frações 58-63C, 9-11 e 39-40 ...	145
Figura 80: Estrutura da fisciona (substância IV).....	148
Figura 81: Correlações observadas nos espectros bidimensionais da fisciona	148
Figura 82: Espectro de Massas da substância IV, fisciona	148
Figura 83: Espectro de RMN de ^1H da substância IV, fisciona (CDCl_3 , 300MHz).....	149
Figura 84: Expansões da região dos aromáticos (6,5 a 7,6 ppm) do espectro de RMN de ^1H da substância IV, fisciona (CDCl_3 , 300MHz)	151
Figura 85: Expansões da região da metila e metoxila (2,4 a 4,0 ppm) do espectro de RMN de ^1H da substância IV, fisciona (CDCl_3 , 300MHz)	151
Figura 86: Mapa de contorno HSQC da substância IV, fisciona (CDCl_3 , 300 MHz).....	152
Figura 87: Mapa de contorno HMBC da substância IV, fisciona (CDCl_3 , 300 MHz).....	153
Figura 88: Expansões do Mapa de contorno HMBC e correlações da substância IV, fisciona (CDCl_3 , 300 MHz).....	154
Figura 89: Mapa de contorno COSY da substância IV, fisciona (CDCl_3 , 300 MHz).....	154
Figura 90: Comparação dos espectros de RMN de ^1H das frações 3, 6, 3, 7 e 19 (CDCl_3 , 300 MHz).....	155
Figura 91: Estrutura da vismiaquinona A (substância V)	157
Figura 92: Correlações observadas nos espectros bidimensionais da substância V, vismiaquinona A.....	158
Figura 93: Espectro de massas da substância V, vismiaquinona A	159
Figura 94: Espectro de RMN de ^1H da substância V, vismiaquinona A (CDCl_3 , 300MHz)	160
Figura 95: Expansões da região dos aromáticos (7,1 a 7,7 ppm) do espectro de RMN de ^1H da substância V, vismiaquinona A (CDCl_3 , 300MHz).....	161
Figura 96 : Expansões da região de 2,5 a 4,0 ppm do espectro de RMN de ^1H da substância V, vismiaquinona A (CDCl_3 , 300MHz)	162
Figura 97: Expansões da região (6,5 a 6,9 ppm) dos hidrogênios olefínicos na posição trans do grupo dimetilalila do espectro de RMN de ^1H da substância V, vismiaquinona A (CDCl_3 , 300MHz).....	162
Figura 98: Mapa de contorno HSQC da substância V, vismiaquinona A (CDCl_3 , 300 MHz)	163

Figura 99: Mapa de contorno HMBC da substância V, vismiaquinona A (CDCl ₃ , 300 MHz)	163
Figura 100: Expansões do Mapa de contorno de HMBC da substância V, vismiaquinona A (CDCl ₃ , 300 MHz)	164
Figura 101: Mapa de contorno COSY da substância V, vismiaquinona A (CDCl ₃ , 300 MHz)	165
Figura 102: Comparação dos espectros de RMN de ¹ H das frações 8-15, 36, 38-43 e 19 (CDCl ₃ , 300 MHz)	166
Figura 103: Estruturas das substâncias VI	167
Figura 104: Espectro de RMN de ¹ H das substância VI, β-sitosterol (CDCl ₃ , 300MHz)	167
Figura 105: Comparação dos espectros de RMN de ¹ H das substância VI com padrão	168
Figura 106: Valores obtidos para o crescimento bacteriano (média e desvio padrão) em diferentes concentrações para as substâncias obtida a partir do extrato hexânico das folhas de <i>Vismia japurensis</i> frente a <i>C. freundii</i>	176
Figura 107: Atividade antiangiogênica dose-dependente apresentada pelo extrato hexânico da primeira coleta das folhas de <i>V. japurensis</i>	178
Figura 108: Atividade antiangiogênica dose-dependente apresentada pelo extrato hexânico da segunda coleta das folhas de <i>V. japurensis</i>	179
Figura 109: Atividade antiangiogênica dose-dependente apresentada pelo triterpeno friedelina isolada das folhas de <i>V. japurensis</i> e <i>Vismia sandwithii</i>	179
Figura 110: Atividade antiangiogênica dose-dependente apresentada pela antraquinona madagascina isolada das folhas de <i>V. japurensis</i>	180
Figura 111: Atividade antiangiogênica dose-dependente apresentada pelo triterpeno fridelanol isolado das folhas de <i>V. japurensis</i>	180
Figura 112: Atividade antiangiogênica dose-dependente apresentada pela antraquinona físciona isolada das folhas de <i>V. japurensis</i>	181
Figura 113: Atividade Antiangiogênica dose-dependente apresentada pela antraquinona vismiaquinona A isolada das folhas de <i>V. japurensis</i>	181

Listas de Tabela

Tabela 4: Dados do fracionamento 1FVJ-H do extrato hexânico das folhas de <i>Vismia japurensis</i> da primeira coleta.....	72
Tabela 5: Dados do fracionamento da fração 50-70.....	75
Tabela 6: Dados do fracionamento da fração 10-11.....	76
Tabela 7: Dados do fracionamento da fração 5-8.....	76
Tabela 8: Dados do fracionamento da fração 9-15.....	76
Tabela 9: Dados do fracionamento da fração 12-16.....	77
Tabela 10: Dados do fracionamento da fração 13-17.....	77
Tabela 11: Dados do fracionamento da fração 23-42.....	78
Tabela 12: Dados do fracionamento da fração 43-69.....	79
Tabela 13: Dados do fracionamento da fração 106-122.....	81
Tabela 14: Dados do fracionamento da fração 47-66.....	82
Tabela 15: Dados do fracionamento da fração 130-147.....	84
Tabela 16: Dados do fracionamento da fração 7-16.....	85
Tabela 17: Dados do fracionamento da fração 17-29.....	85
Tabela 18: Dados do fracionamento 2FVJ-H do extrato hexânico das folhas de <i>Vismia japurensis</i>	86
Tabela 19: Dados do fracionamento da fração 30-31	89
Tabela 20: Dados do fracionamento da fração 51-88.....	89
Tabela 21: Dados do fracionamento da fração 16-50.....	89
Tabela 22: Dados do fracionamento da fração 9-16.....	90
Tabela 23: Dados do fracionamento da fração 17-22.....	90
Tabela 24: Dados do fracionamento da fração 27-29.....	93
Tabela 25: Dados do fracionamento da fração 28-42.....	93
Tabela 26: Dados do fracionamento da fração 43-48.....	96
Tabela 27: Dados do fracionamento da fração 10-27.....	96
Tabela 28: Dados do fracionamento da fração 28-60.....	97
Tabela 29: Dados do fracionamento 1FVS do extrato hexânico das folhas de <i>Vismia sandwithii</i>	98

Tabela 30: Dados do fracionamento da fração 5	100
Tabela 31: Dados do fracionamento da fração 10	102
Tabela 1: Rendimentos dos extratos obtidos de <i>Vismia japurensis</i>	109
Tabela 2: Rendimentos dos extratos obtidos de <i>V. cauliflora</i>	109
Tabela 3: Rendimentos dos extratos obtidos de <i>V. sandwithii</i>	110
Tabela 32: Dados de RMN de ¹³ C da substância 1 e comparação com a literatura MAHATO & KUNDU (1994)	117
Tabela 33: Dados de RMN de ¹ H e ¹³ C, HSQC, HMBC, COSY e NOESY da substância II comparados com a literatura (NAGEM & OLIVEIRA, 1997)	129
Tabela 34: Dados de RMN de ¹³ C da substância III comparados com a literatura (SALAZAR, 2000)	140
Tabela 35: Dados de RMN de ¹ H, ¹³ C, HSQC, HMBC e COSY da substância IV comparados com a literatura (SIMETANINA et al., 2007)	147
Tabela 36: Dados de RMN de ¹ H, ¹³ C, HSQC, HMBC e COSY da substância V comparados com a literatura (NAGEM & OLIVEIRA (1997)	157
Tabela 41: Resultados do teste de toxicidade frente <i>Artemia salina</i>	170
Tabela 37: Escala de resultados da atividade antioxidante conforme Martins e colaboradores (2014).	171
Tabela 38: Resultado da avaliação antioxidante dos extratos brutos das folhas de <i>V. japurensis</i>	172
Tabela 40: Inibição do crescimento in vitro da cepa K1 de <i>P. falciparum</i> frente aos extratos hexânicos da 1ª e 2ª coleta das folhas de <i>Vismia japurensis</i>	173
Tabela 39: Concentração Inibitória Mínima – CIM (µg/mL) dos extratos hexânicos e substâncias isoladas das folhas de <i>Vismia japurensis</i>	175

Lista de Quadros

Quadro 1: Levantamento parcial de substâncias identificadas em espécies da família Hypericaceae	29
Quadro 2: Levantamento parcial de estudos biológicos em algumas espécies do gênero <i>Vismia</i>	39
Quadro 3: Levantamento parcial de substâncias identificadas em algumas espécies do gênero <i>Vismia</i>	44
Quadro 4: Substâncias isoladas da espécie <i>Vismia japurensis</i>	52
Quadro 5: Substâncias identificadas na espécie <i>Vismia cauliflora</i>	56

Lista de abreviaturas

CCA- Cromatografia por adsorção em coluna aberta;

CCP – Cromatografia em placa preparativa

CCDC -Cromatografia em camada delgada comparativa

DMAPP – Difosfato de dimetilalila

ERO - espécies reativas do oxigênio

Hex – Hexano

IFAM - Instituto Federal de Ciência e Tecnologia do Amazonas

INPA - Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia

IPP – isopentenila

MeOH - metanol

MEP - 1-desoxi-D-xilulose e 2-fosfato-metileritritol

MHz – Mega Hertz

PPM – partes por milhão

RMN – Ressonância Magnética Nuclear

COSY – Espectroscopia de correlação

HSQC – Correlação heteronuclear singular-quântica

HMBC – Correlação Heteronuclear Múltiplo- quântica

1-FVJ-H – Primeira coleta *Vismia japurensis* extrato hexânico

2-FVJ-H – Segunda coleta *Vismia japurensis* extrato hexânicos

1-FVS-H – Primeira coleta *Vismia sandwithii* extrato hexânico

1-FVC-H – Primeira coleta *Vismia cauliflora* extrato hexânico

Sumário

1. Introdução Geral	24
2. Referencial Teórico	26
2.1 Família Hypericaceae	26
2.2 Gênero <i>Vismia</i> Vand	37
2.2.1 <i>Vismia japurensis</i> Reichardt	49
2.2.2 <i>Vismia sandwithii</i> Ewan	52
2.2.2 <i>Vismia cauliflora</i> A. C. Sm	54
2.3 Metabolitos secundários presentes no Gênero <i>Vismia</i>	56
2.3.1. Terpenoides	57
2.3.2 Antraquinonas.....	59
2.4 Atividades Química e Biológica	61
2.4.1 Atividade de toxicidade frente <i>Artemia salina</i>	61
2.4.2 Atividade Antioxidante	62
2.4.3 Atividade Antimalárica	63
2.4.3 Atividade Antibacteriana.....	65
2.4.4 Atividade Angiogênica	66
3. Objetivos.....	67
3.1 Objetivo geral:	67
3.2 Objetivos específicos:	67
4. Materiais e Métodos	68
4.1 Coleta do Material Vegetal	68
4.2 Preparo dos Extratos Vegetais	69
4.3 Análise dos extratos hexânicos por Cromatografia em Camada Delgada Comparativa.....	71
4.4 Análise dos Extratos hexânicos por Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio.....	71
4.5 Isolamento dos constituintes Químicos das Folhas de <i>Vismia japurensis</i>	72
4.5.1 Fracionamento do extrato hexânico das folhas de <i>V. japurensis</i> da primeira coleta.....	72
4.5.2 Fracionamento do extrato hexânico das folhas de <i>V. japurensis</i> da segunda coleta.....	86
4.6 Isolamento dos Constituinte Químicos das folhas de <i>Vismia sandwithii</i>	97
4.6.1 Fracionamento do extrato hexânico das folhas de <i>Vismia sandwithii</i>	98

4.7	Avaliação das atividades química e biológicas.....	104
4.7.1	Atividade de toxicidade frente à <i>Artemia salina</i>	104
4.7.2	Avaliação da Atividade Antioxidante.....	104
4.7.3	Atividade antibacteriana	106
4.7.4	Atividade antimalárica.....	107
4.7.5	Atividade antiangiogênica	107
5.	Resultados e Discussão.....	109
5.1	Rendimentos dos extratos vegetais	109
5.2	Análise cromatográfica dos extratos hexânicos brutos.....	110
5.3	Análise dos extratos hexânicos por Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio.....	111
5.4	Identificação das substâncias isoladas de <i>Vismia japurensis</i> e <i>V. sandwithii</i>	116
5.4.1	Identificação da substância I.....	116
5.4.2	Identificação da substância II	127
5.4.3	Identificação da substância III.....	139
5.4.4	Identificação da substância IV.....	146
5.4.5	Identificação da substância V	156
5.4.6	Identificação da substância VI.....	167
5.5	Avaliação das atividades química e biológicas.....	170
5.5.1	Atividade de toxicidade frente à <i>Artemia salina</i>	170
5.5.2	Atividade Antioxidante	170
5.5.3	Atividade Antimalárica	172
5.5.4	Atividade Antibacteriana.....	173
5.5.5	Atividade Antiangiogênica	176
6.	Conclusão Geral	182
7.	Referências Bibliográficas.....	184

1. Introdução Geral

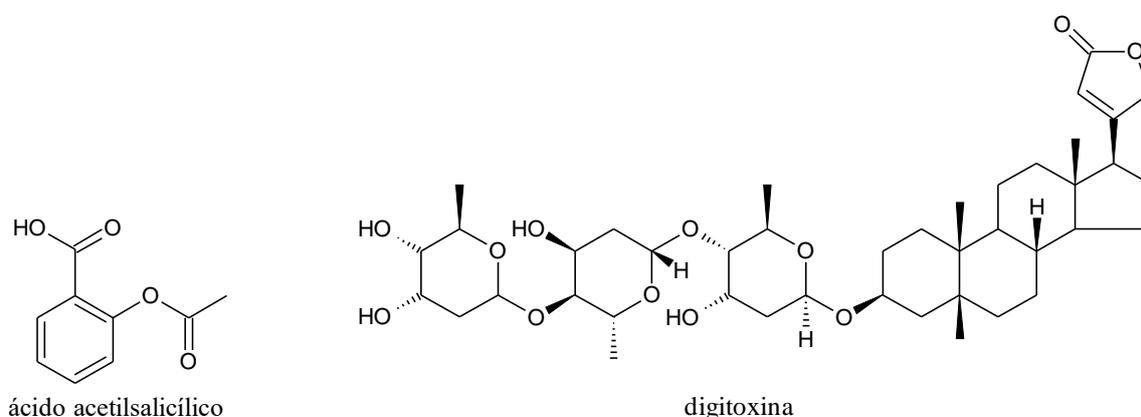
A grande diversidade biológica mundial não é conhecida com precisão devido a sua complexidade, estimando-se a existência de mais de dois milhões de espécies distintas de plantas, animais e microrganismos (NODARI & GUERRA, 2004).

O Brasil detém uma grande parte desta diversidade, e é considerado um país megadiverso, com uma biota com cerca de 31% da riqueza mundial conhecida, possuindo assim uma das biotas mais ricas do planeta, o que o torna uma fonte para pesquisas científicas e tecnológicas na área de produtos naturais (STEHMANN & SOBRAL, 2017).

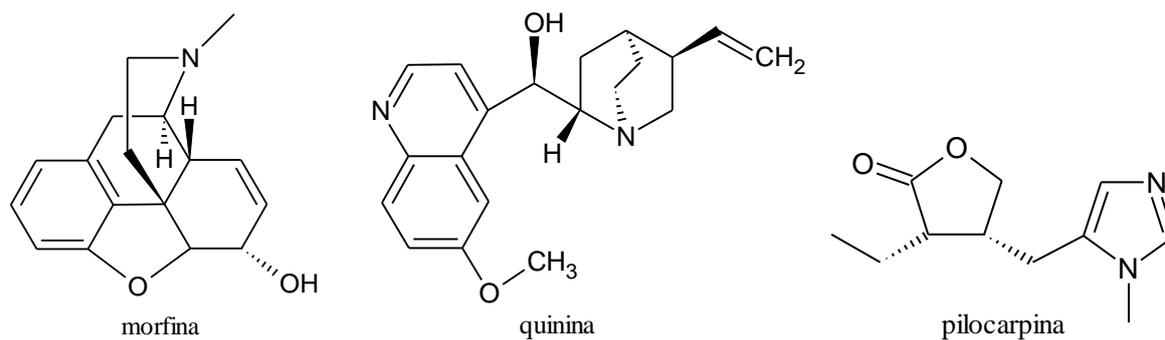
O reino Plantae está entre os grupos mais bem estudados no Brasil, reconhecendo-se a ocorrência de 34.916 espécies, sendo 19.187 (55%) espécies endêmicas do Brasil (COSTA & PERALTA, 2015). Ainda que as plantas estejam entre os grupos mais bem estudados no Brasil, há razões para se acreditar que seu conhecimento ainda tem lacunas importantes a serem destacadas (STEHMANN & SOBRAL, 2017).

Na busca por novos fármacos, os produtos naturais destacam-se pela diversidade estrutural e atividades biológicas, favorecendo a descoberta de novas substâncias (BRANDÃO et al., 2010; GIORDANI et al., 2008; BARBOSA-FILHO et al., 2007). Há vários medicamentos comerciais derivados de plantas, tais como aspirina, digitoxina, morfina, quinina e pilocarpina (Figura 1) (BUTLER, 2004), e muitos outros produtos naturais foram isolados de espécies de plantas e possuem propriedades bioativas como fungicidas, inseticidas, reguladores de crescimento e antioxidantes (DUVAL et al., 2016).

Figura 1: Medicamentos derivados de plantas



Continuação da Figura 1



Diversos são os estudos com produtos naturais realizados com plantas e dentre estes podemos destacar estudos realizados com as espécies da família Hypericaceae, em especial do gênero *Vismia*, do qual são conhecidas atividades biológicas contra diferentes tipos de patógenos e uma diversidade estrutural química interessante. Com base nesse potencial químico e biológico do gênero *Vismia*, e devido à escassez de estudos químicos ou biológicos realizados com as folhas de *V. japurensis*, *V. sabdwithii* e *V. cauliflora*, este trabalho consiste em realizar o estudo químico e biológico das três espécies.

2. Referencial Teórico

2.1 Família Hypericaceae

A família Hypericaceae é pertencente à ordem Malpighiales (APG III, 2009; STEVENS, 2019). Ela esteve incluída por um longo tempo na família Clusiaceae, a qual era conhecida como Guttiferae (STANDLEY & WILLIAMS, 1961; RODRÍGUEZ, 2001; HAMMEL & ROBSON, 2001). Foi segregada de Clusiaceae, recentemente com base em dados de estudos moleculares, filogenéticos e por caracteres morfológicos, sendo então reconhecida como uma família independente (APG III, 2009; DAVIS et al., 2005; ROBSON, 1978; TOKUOKA & TOBE, 2006). Atualmente está filogeneticamente posicionada mais próxima a família Podostemaceae (OLIVEIRA et al., 2015; GUSTAFSSON et al., 2002; WEITZMAN & STEVENS, 1997; RUHFEL et al. 2011, 2016; APG IV, 2016).

A família Hypericaceae possui distribuição cosmopolita (Figura 2) e encontra-se representada por 11 gêneros (*Ascyrum*, *Cratoxylum*, *Eliea*, *Harungana*, *Hypericum*, *Lianthus*, *Psorospermum*, *Santomasia*, *Thornea*, *Triadenum* e *Vismia*) e aproximadamente 1356 espécies (THE PLANT LIST, 2019; STEVENS, 2016). Sendo estes 11 gêneros distribuídos em três tribos: Vismieae Choisy, Hypericeae Choisy e Cratoxyleae Bentham (STEVENS, 2007).

Figura 2: Distribuição mundial da família Hypericaceae

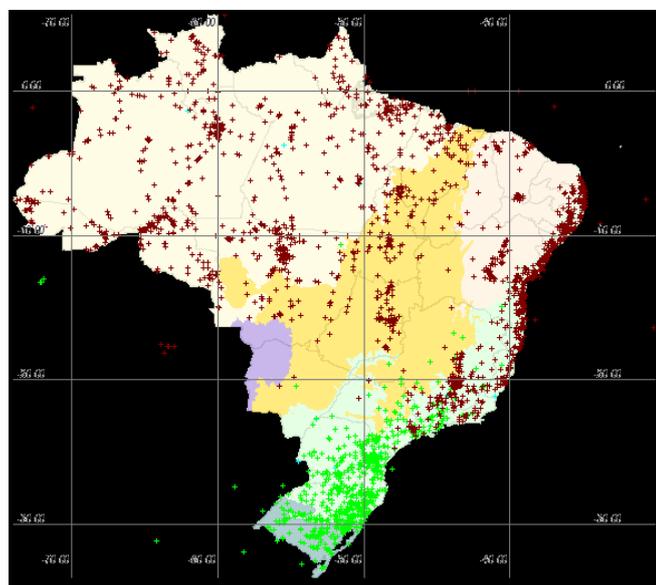


Fonte: <http://www.tropicos.org/Name/42000447?tab=maps>

No Brasil (Figura 3), ocorrem apenas dois gêneros sendo eles: *Hypericum* e *Vismia*, desses dois são encontradas 53 espécies, sendo 19 espécies endêmicas, ocorrendo nos domínios fitogeográficos da Floresta Amazônica, da Caatinga, do Cerrado, da Mata Atlântica

e no Pampa (MARTINS et al., 2018; VOGEL ELY et al., 2019). No Estado do Amazonas, a família Hypericaceae está representada por 18 espécies de *Vismia* (MARTINS et al., 2018; VOGEL ELY et al., 2019)

Figura 3: Distribuição geográfica da família Hypericaceae no Brasil



Legenda	
	Distribuição do gênero <i>Hypericum</i>
	Distribuição do gênero <i>Vismia</i>

Fonte: <http://www.splink.org.br/>

Dos 11 gêneros de Hypericaceae, 8 são os gêneros que apresentaram relatos de estudos químicos e biológicos na literatura, sendo eles: *Ascyrum*, *Cratoxylum*, *Eliea*, *Harungana*, *Hypericum*, *Psorospermum*, *Triadenum* e *Vismia* (Quadro 1) (Figura 4).

A família caracteriza-se pela produção de metabólitos com grande potencial farmacológico, dentre os quais podemos citar: atividade antimicrobiana, antifúngica, anti-inflamatória, antioxidante e antidepressiva (NGUEMEVING et al., 2006; MEIRELLES et al., 2017; TANKEO et al., 2016; VIEIRA et al., 2013; RABANAL et al., 2005, CONFORTI et al., 2002).

Em estudo realizado com as folhas de *Ascyrum* foram isolados diversos tipos de flavonoides glicosilados, como flavonóis derivados de quercetina e canferol e flavonas derivadas de apigenina e luteolina (CALIE et al., 1983).

De espécies do gênero *Cratoxylum* foram isoladas xantonas, substâncias fenólicas e triterpenos (NGUYEN & HARRISON, 1998; NGUYEN et al., 2011; UDOMCHOTPHRUET et al., 2012; MAHABUSARAKAM et al., 2006), sendo apresentadas as atividades

antioxidante, antibacteriana e citotoxicidade para algumas substâncias isoladas (UDOMCHOTPHRUET et al., 2012; MAHABUSARAKAM et al., 2008).

Para o gênero *Eliea* na literatura é relatado um estudo, a partir da casca da raiz da espécie *Eliea articulata*, uma espécie de planta medicinal endêmica em Madagascar, foram isolados uma xantona denominada elieaxantona e uma flavonona denominada elieaflavonona (RUPHIN et al., 2015).

As espécies do gênero *Harungana*, apresentaram as seguintes atividades: antibacteriana, toxicidade, antiprotozoário e antioxidante para extratos, frações e substâncias isoladas (TANKEO et al., 2016; KENGNI et al., 2016; IWALEWA et al., 2008; KOUAM et al., 2005), da espécie *Harunga madagascariensis*, foram isolados antranoides prenilados e flavononas (TANKEO et al., 2016; TIH et al., 2006; MOULARI et al., 2006).

Para o gênero *Psorospermum* são relatados o isolamento de antraquinonas, proantocianinas, proantocianidinas e catequinas (TANEMOSSU et al., 2015). Algumas espécies apresentaram atividade antifúngica sobre *Candida albicans* e *C. stelloroides* (ZUBAIR et al., 2011)

Do gênero *Triadenum*, na literatura há relatos de estudo para a espécie *T. fraseri*, sendo isolado do extrato metanólico, miricitrina, quercitrina, nicotiflorina, rutina (LI et al., 2010). Contudo não há relatos de estudos biológicos para este gênero.

Os gêneros que mais apresentam estudos químicos e biológicos são os gêneros *Hypericum* e *Vismia*. O gênero *Hypericum* ganhou repercussão mundial, por serem espécies cultivadas como ornamentais e usadas como plantas medicinais (CROCKETT et al., 2016; CROCKETT et al 2011). Tem atraído o interesse científico devido relatos de muitas substâncias bioativas e à utilização de *Hypericum perforatum* para obtenção de medicamentos antidepressivos (FIEBICH et al., 2011; CIRAK et al., 2017).

Estudos com espécies do gênero *Hypericum* são alvos de pesquisas por apresentarem metabólitos secundários com comprovados efeitos medicinais, tais como antidepressivo, antiviral, antimicrobiano, antinociceptivos e antitumoral (BRIDI et al., 2018; TAKAHASHI et al., 1989; LAVIE et al., 1995; VAN DE PUTTE et al., 2008). Dentre as classes químicas mais encontradas em estudos com o gênero *Hypericum* são substâncias fenólicas, e as mais comuns isoladas são quinonas, xantonas, flavonoides, derivados floroglucinois, benzopiranos e benzonfenonas (ROCHA et al., 1995). Deste podem-se relatar os estudos realizados com as espécies: *Hypericum perforatum*, *Hypericum perforatum*, *Hypericum brasiliense*, *Hypericum caprifoliatum*, *Hypericum scruglii* e *H. hircinum*.

Hypericum perforatum (Erva de São João), da qual foram isolados flavonoides, entre os presentes encontram-se a quercetina, isoquercetina, a rutina, a quercitrina e a amentoflavona (BOMBARDELLI & MORAZZONI, 1995; DIAS et al., 1998). Observou-se que a rutina, entre outros flavonoides, pode participar das propriedades antidepressivas observadas para *H. perforatum* (BUTTERWECK et al., 2000; NÖLDNER & SCHÖTZ, 2002);

Da espécie *Hypericum brasiliense* foi realizado o isolamento de floroglucínóis, xantonas, ácido betulínico e flavonoides, e comprovaram a ação antifúngica e antibacteriana, resultantes da ação de xantonas e floroglucínóis (ROCHA et al., 1994; ROCHA et al., 1995; ROCHA et al., 1996).

Hypericum caprifoliatum, da qual foram realizados estudos farmacológicos onde foi possível demonstrar que seus extratos possuem atividade antidepressiva e antinociceptiva em roedores (DAUDT et al., 2000; VIANA et al., 2005).

O estudo dos extratos metanólicos realizado por MANDRONE e colaboradores (2017) com as espécies *Hypericum scruglii* e *H. hircinum*, apresentou a atividade inibidora de α -glucosidase (IC₅₀ 7,25 e 14,05 μ g/mL respectivamente) dos extratos metanólicos, mostrando que eram mais ativos até que os de *H. perforatum*. Da espécie *H. scruglii*, foram identificados dois derivados de floroglucínol, o 3-geranil-1-(2'-metilbutanoil)-floroglucínol e 3-geranil-1-(2'-metilpropanoil)-floroglucínol.

Quadro 1: Levantamento parcial de substâncias identificadas em espécies da família Hypericaceae

Espécie	Estudos Químicos			Referências
	Substâncias isoladas	Número	Parte vegetal estudada	
<i>Ascyrum</i> sp.	canferol-3- <i>O</i> -galactosídeo	(1)	Folhas	CALIE et al., 1983
	quercetina-3- <i>O</i> -glucosídeo	(2)		
	quercitrina	(3)		
	quercetina-3- <i>O</i> -galactosídeo	(4)		
	luteolina-7- <i>O</i> -glucosídeo	(5)		
	luteolina-6- <i>C</i> -glucosídeo	(6)		
	apeginina-7- <i>O</i> -glucosídeo	(7)		
	apeginina-6- <i>C</i> -glucosídeo	(8)		

Continuação do Quadro 1

<i>Cratoxylum cochinchinense</i>	cochinchinoxantona A	(9)	Raízes	LI et al., 2018
	cochinchinoxantona B	(10)		
	Cochinchinoxantona C	(11)		
	cochinchinoxantona D	(12)		
	cochinchinona C	(13)		
	cochinchinoxantona	(14)		
<i>Cratoxylum formosum</i>	formoxantona A	(15)	Raízes	BOONSRI et al., 2006
	formoxantona B	(16)		
	formoxantona C	(17)		
	macluraxantona	(18)		
	xantona V ₁	(19)		
	gerontoxantona I	(20)		
	3-geraniloxi-6-metil-1,8-dihidroxi-antraquinona	(21)		
	vismiaquinona A	(22)		
	madagascina	(23)		
<i>Eliea articulata</i>	elieaxantona	(24)	Casca da raiz	RUPHIN et al., 2015
	eliaflavonona	(25)		
<i>Harungana madagascariensis</i>	ácido betulínico	(26)	Casca	TANKEO et al., 2016
	madagascina	(23)		
	ferruginina A	(27)		
	canferol-3-O- β -D-glucopiranosídeo	(28)	Casca do caule	KOUAM et al., 2005
	harunmadagascarina A	(29)		
	harunmadagascarina B	(30)		
	harungina	(31)		
	harunganol	(32)		
	metil-3-formil-2,4-dihidroxi-6-metil-benzoato	(33)		

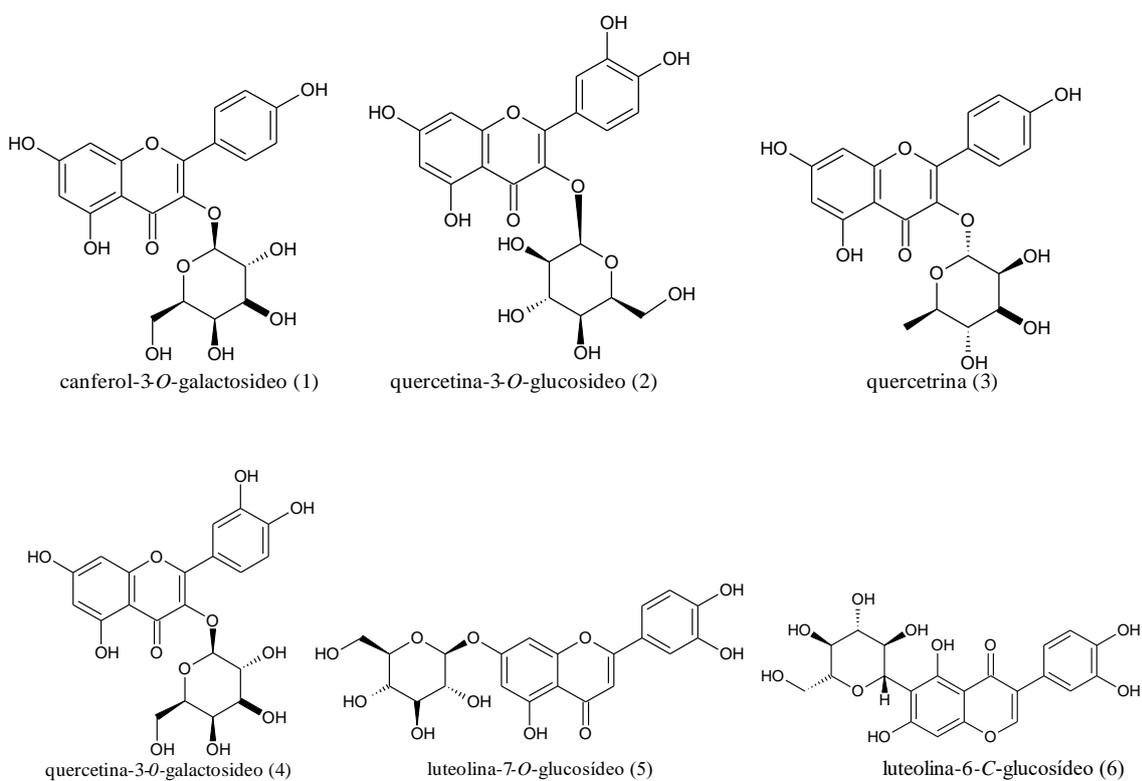
Continuação do Quadro 1

<i>Harungana madagascariensis</i>	friedelina	(34)	Casca do caule	KOUAM et al., 2005
	lupeol	(35)		
	ácido betulínico	(26)		
<i>Hypericum austrobrasiliense</i>	austrobrasilol A	(36)	Flores	BRIDI et al., 2016
	austrobrasilol B	(37)		
	isoaustrobrasilol B	(38)		
<i>Hypericum andinum</i>	andinina A	(39)	Raízes	CCANA-CCAPATINTA et al., 2014
	uliginosina A	(40)		
	uliginosina B	(41)		
	isougiliginosina B	(42)		
<i>Hypericum perforatum</i>	hipericina	(43)	Flores	BROLIS et al., 1998
	rutina	(44)		
	quercetina	(45)		
	isoquercetrina	(46)		
	quercitrina	(3)		
<i>Psorospermum densipuntatum</i>	3-geranilemodina	(47)	Galhos	TANEMOSSU et al. 2015
	vismiaquinona A	(22)		
	2-geranilemodina	(48)		
	(-)-epicatequina	(49)		
	proantocianidina A-2	(50)		
	proantocianidina B-1	(51)		
	proantociadina B-2	(52)		
	proantocinina C-1	(53)		
<i>Psorospermum febrifugum</i>	kielcorina	(54)	Raízes	ABOU-SHOER et al., 1989
	cadensina D	(55)		
	isocadensina D	(56)		
	monoacetato de isocadensina D	(57)		
	cadensina F	(58)		

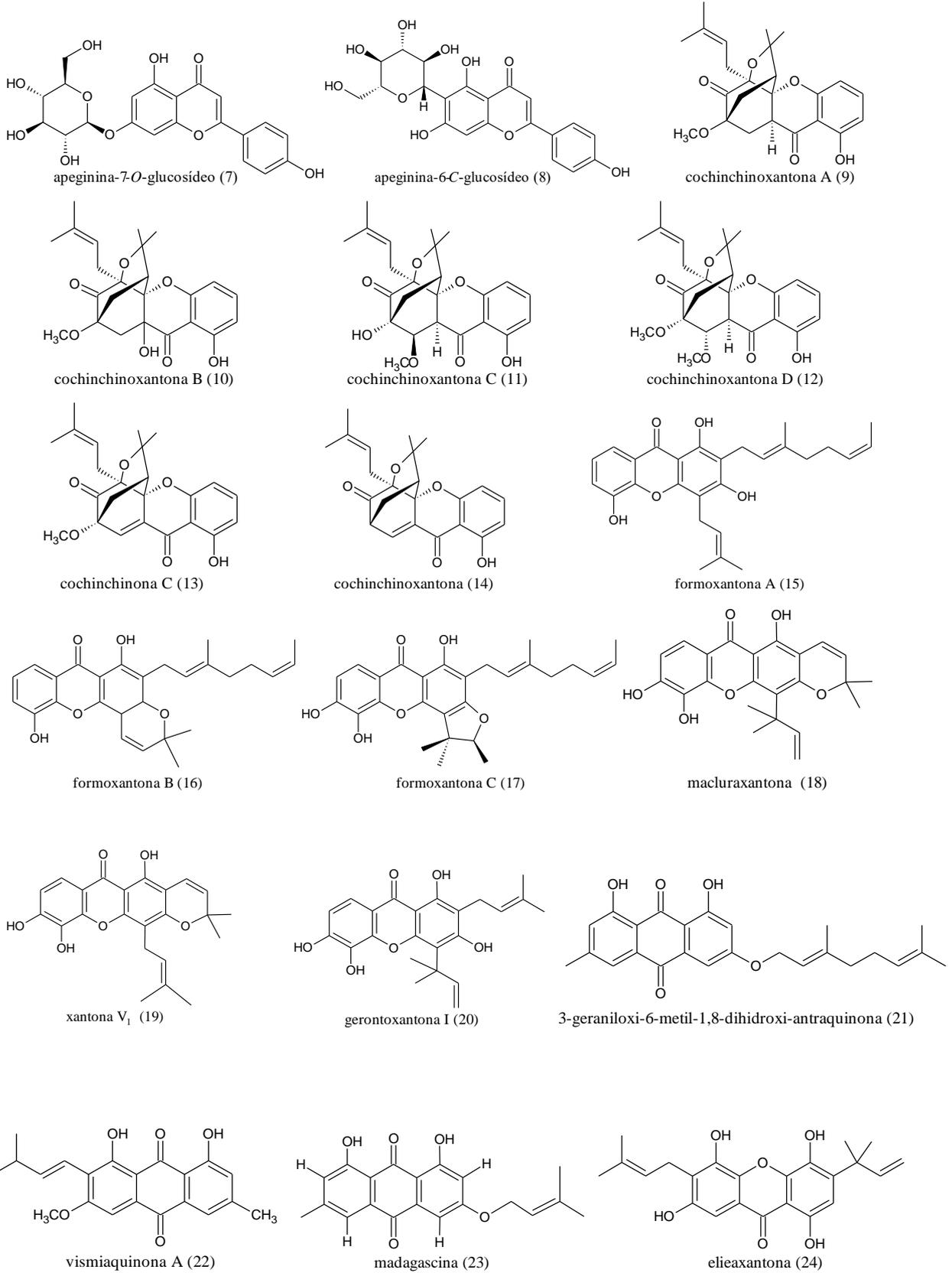
Continuação do Quadro 1

<i>Psorospermum febrifugum</i>	6-hidroxi-isocadensina F	(59)	Raízes	ABOU-SHOER et al., 1989
	cadensina G	(60)		
<i>Triadenum fraseri</i>	miricitrina	(61)	Folhas	LI et al., 2010
	quercitrina	(3)		
	nicotiflorina	(62)		
	rutina	(44)		
	miricitrina-3-O-glucosídeo	(63)		
	ácido 3-p-coumaroilquínico	(64)		
picearanol-4-O-β-D-glucopianosídeo	(65)			

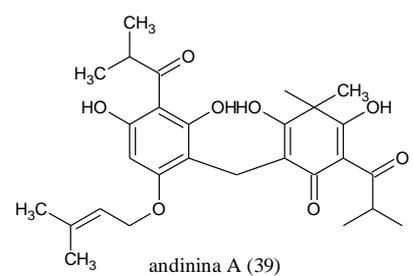
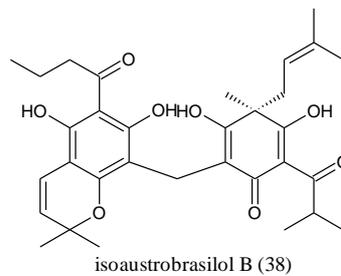
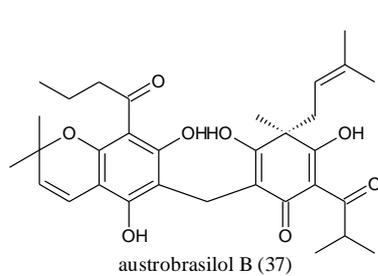
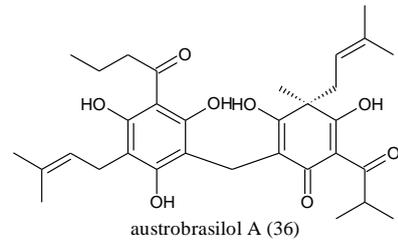
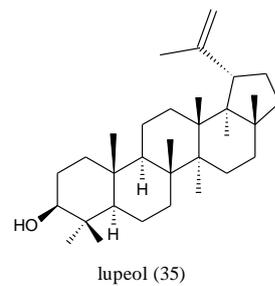
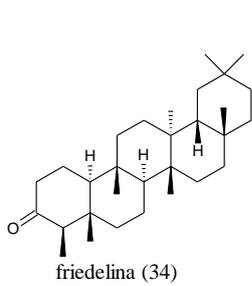
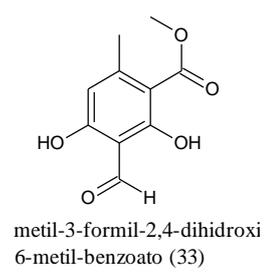
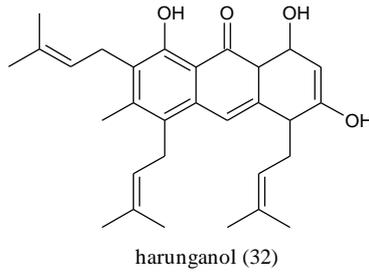
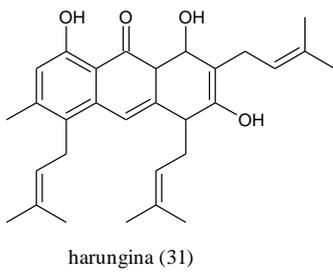
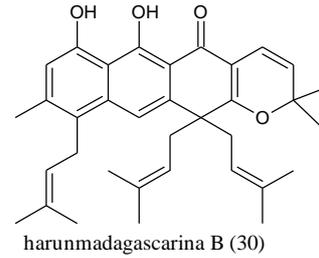
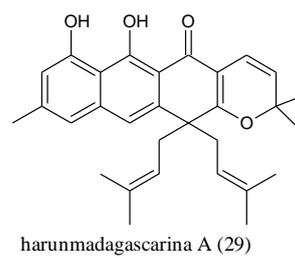
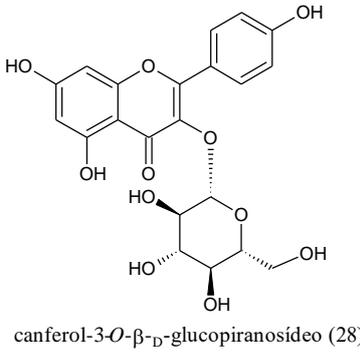
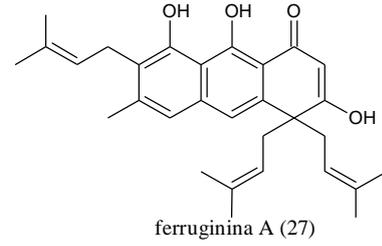
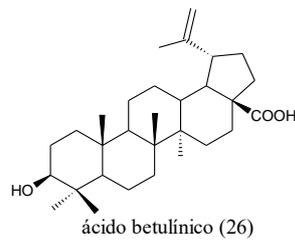
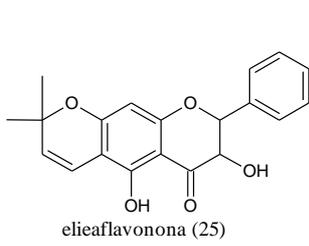
Figura 4: Algumas substâncias identificadas em Hypericaceae



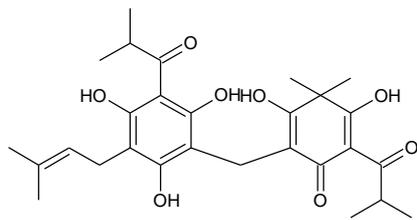
Continuação Figura 4



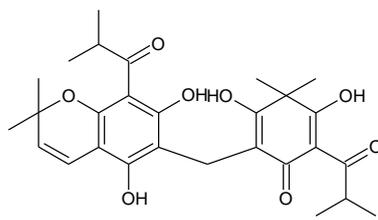
Continuação Figura 4



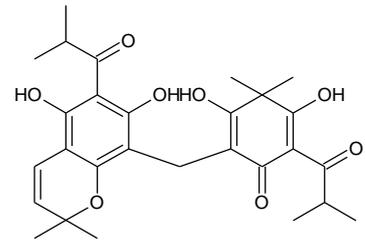
Continuação Figura 4



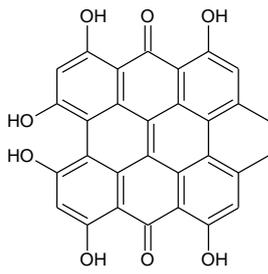
uliginosina A (40)



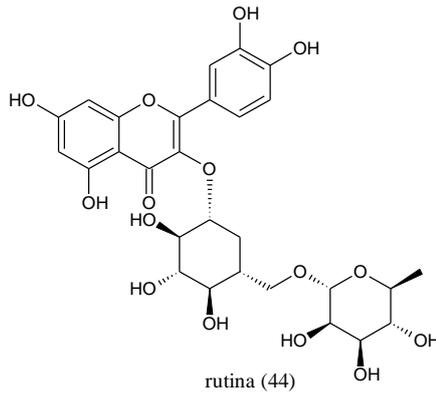
uliginosina B (41)



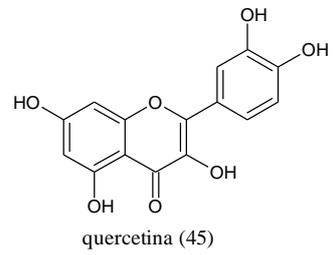
isouliginosina B (42)



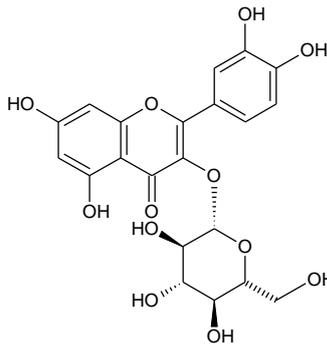
hipericina (43)



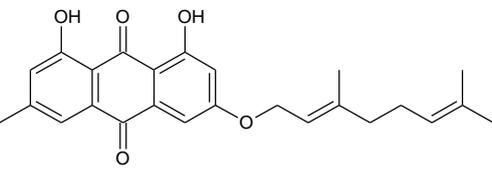
rutina (44)



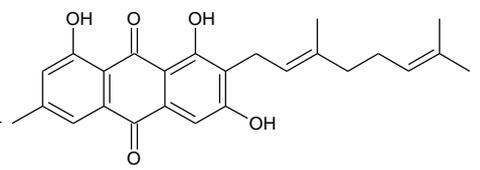
quercetina (45)



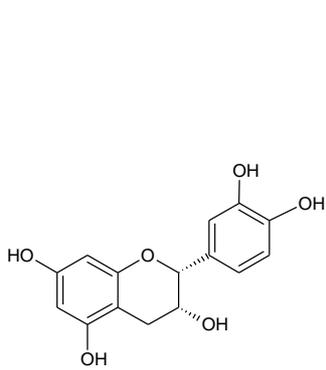
isoquercetrina (46)



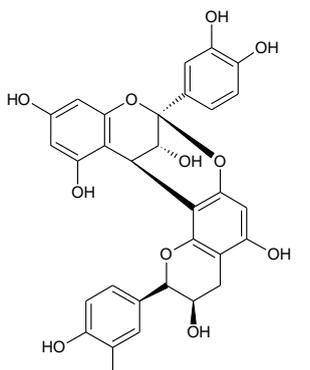
3-geranilemodina (47)



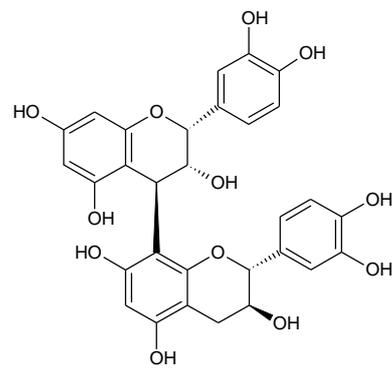
2-geranilemodina (48)



(-)-epicatequina (49)

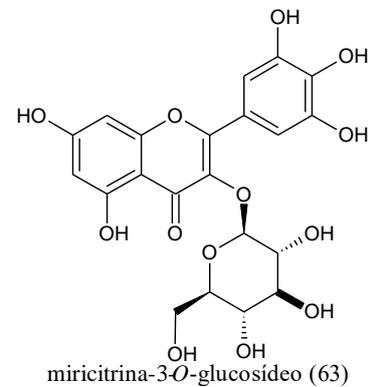
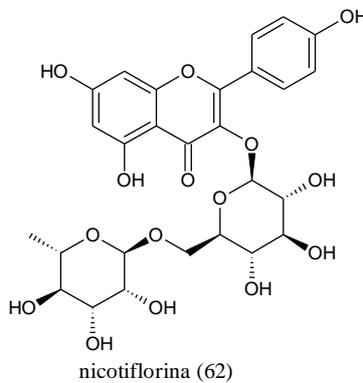
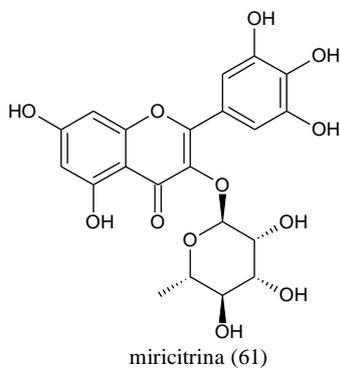
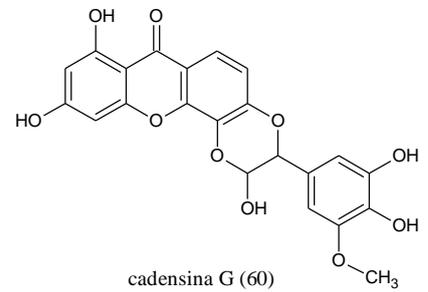
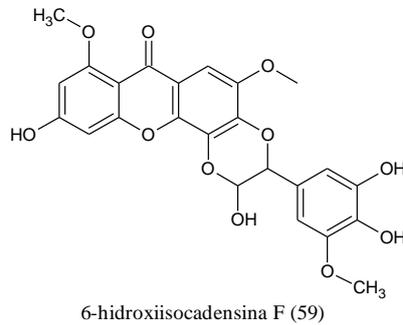
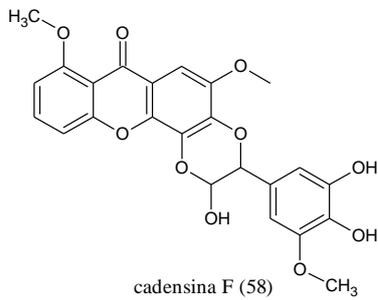
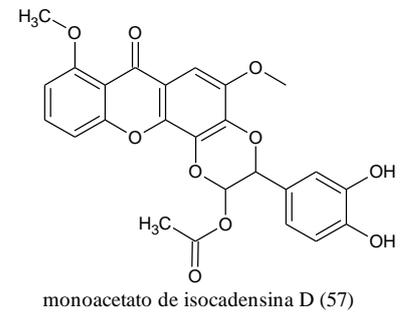
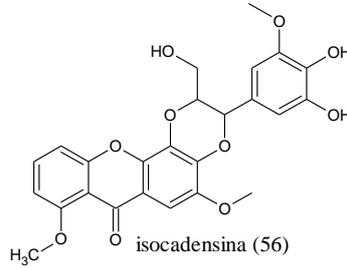
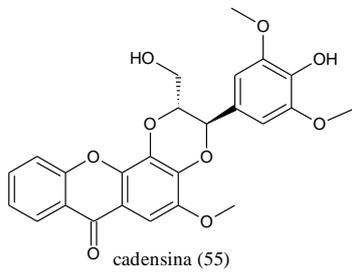
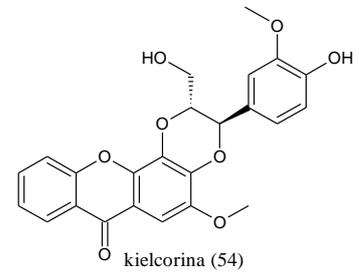
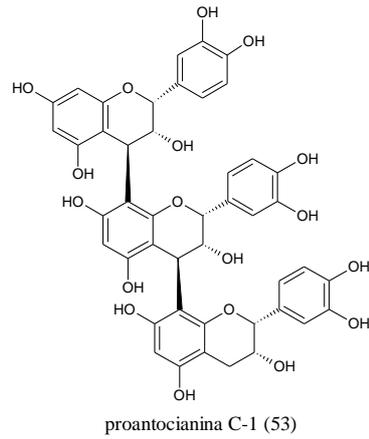
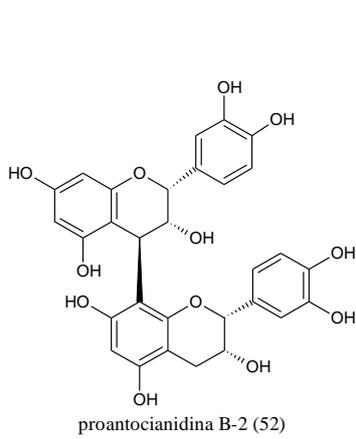


proantocianidina A-2 (50)

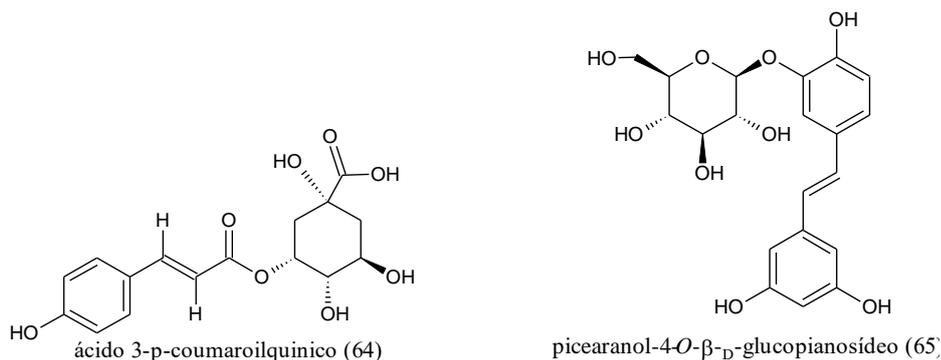


proantocianidina B-1 (51)

Continuação Figura 4



Continuação Figura 4



2.2 Gênero *Vismia* Vand

O gênero *Vismia* Vand possui 61 espécies (TROPICOS, 2017; THE PLANT LIST, 2017), sendo 41 espécies encontradas no Brasil (VOGEL ELY et al., 2019).

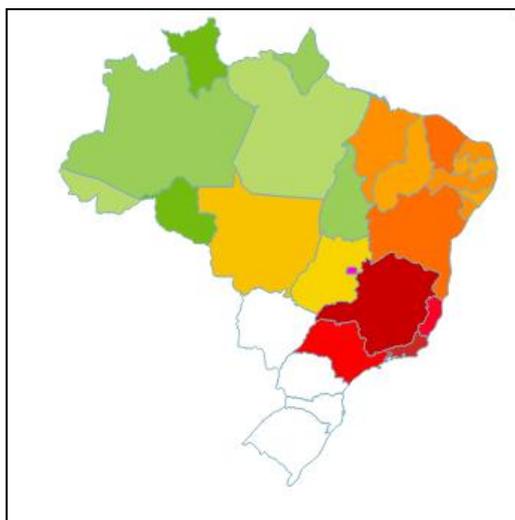
As espécies desse gênero habitam as regiões tropicais e subtropicais da América do Sul e Central e apenas algumas espécies são encontradas na África (Figura 5) (BOTTA et al., 1986; DI STASI et al., 2002). No Brasil ocorrem nas regiões Norte, Nordeste, Centro-Oeste e Sudeste (Figura 6), em domínios fitogeográficos como Amazônia, Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica (VOGEL ELY et al., 2019). As espécies mais conhecidas no Brasil são *Vismia brasiliensis* e *V. guianensis* (DI STASI et al., 2002).

Figura 5: Distribuição mundial do Gênero *Vismia*.



Fonte: <http://www.tropicos.org/Name/40024614?tab=maps>

Figura 6: Distribuição geográfica do gênero *Vismia* no Brasil



Legenda: Estados coloridos indicam a presença do gênero *Vismia*, estados em branco não há presença do gênero.

Fonte: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/listaBrasil/ConsultaPublicaUC>

São árvores ou arvoretas com base do tronco reta, possuem folhas com pilosidade ferrugínea apresentando coloração verde na região superior e marrom na região inferior, possuem também látex alaranjado, e geralmente ocorrem em vegetação secundária (RIBEIRO et al., 1999).

Dos metabólitos presentes em espécies do gênero *Vismia* as quinonas e terpenos são consideradas marcadores químicos para o gênero (TALA et al., 2013; VIZCAYA et al., 2012), mas também estudos anteriores relataram a presença de antranoides prenilados, biantraquinonas, benzofenonas, xantonas, flavonoides, flavonóis, lignanas e substâncias voláteis em várias espécies de *Vismia* (Quadro 3) (Figura 7) (BOTTA et al., 1986; PINHEIRO et al., 1984; TALA et al., 2007; TAMOKOU et al., 2009; MIRAGLIA et al., 1981; NOUNGOUE et al., 2008; SEO et al., 2000; BOTTA et al., 1983; NGUEMEVING et al., 2006; NAGEM E DE OLIVERA, 1997; BILIA et al., 2000; SANTOS et al., 2000; NGUEMEVING et al., 2006; TALA et al., 2007; WABO et al., 2007, HUSSEIN et al., 2012; VIZCAYA et al., 2012).

Os estudos farmacológicos dos extratos vegetais e de vários constituintes químicos isolados de espécies de *Vismia* mostram diversas propriedades biológicas como demonstradas no Quadro 2.

Quadro 2: Levantamento parcial de estudos biológicos em algumas espécies do gênero *Vismia*.

Espécie	Atividade biológica		Referências
	Tipo de ensaio	Tipo de amostra	
<i>V. bacifera</i>	Atividade citotóxica para linhagem tumoral HepG2 (CL ₅₀ = 35 µg/mL)	Extrato aquoso	LIZCANO et al., 2015
	Atividade antibacteriana frente: <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923), <i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 29212), <i>Escherichia coli</i> (ATCC 25992), <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853) e <i>Klebsiella pneumoniae</i> (ATCC 23357) com valores de MIC variando de 9 a 37 µg/mL	Óleo essencial	ROJAS et al., 2011
	Atividade antioxidante pelo método de capacidade antioxidante equivalente Trolox (TEAC) 20,5 µmol Trolox/g	Extrato aquoso	LIZCANO et al., 2010
	Atividade antioxidante pelo método de sequestro de radicais DPPH (CI ₅₀ 5,87 µg/mL)	Extrato metanólico	BUITRAGO et al., 2016
	Atividade antioxidante (CI ₅₀ 4,46 µg/mL)	Extrato acetato de etila	ÁLVAREZ et al., 2008
	Atividade antifúngica frente <i>Candida krusei</i> (CIM=1,60 µg/mL)	Óleo essencial	Vizcaya et al., 2014

Continuação do Quadro 2

<i>V. bacifera</i>	Atividade leishmanicida (CI ₅₀ >100 µg/mL)	Extrato etanólico	VALADEAU et al., 2009
<i>V. cauliflora</i>	Atividade antioxidante CI ₅₀ de 0,9 a 11,5 g/mL	Extrato bruto das flores e cascas do caule	CRISTÉ et al., 2014
	Atividade antioxidante em neutrófilos humanos (CI ₅₀ de 3 a 15 µg/mL) e eritrócitos humanos (IC ₅₀ de 18 µg/mL)	Extrato bruto das flores e cascas do caule	RIBEIRO et al., 2014
<i>V. cayennensis</i>	Atividade Anti-HIV (CI ₅₀ de 11 µg/mL)	vismiafenona D	CUESTA-RUBIO et al., 2005
<i>V. guianensis</i>	Atividade antioxidante (CI ₅₀ de 3,72 µg/mL)	Extrato acetato de etila	ÁLVAREZ et al., 2008
	Atividade sequestradora frente ao radical livre ABTS ^{•+} (CE ₅₀ =6,82±0,11 µg mL ⁻¹)	Fase acetato de etila	LINS et al., 2016
	Atividade sequestradora frente ao radical livre DPPH [•] CE ₅₀ = 6,61±0,03 µg mL ⁻¹	Fase acetato de etila	LINS et al., 2016
	Atividade antibacteriana frente: <i>Aeromonas hydrophila</i> (ATCC 7966) <i>Bacillus subtilis</i> (ATCC 6633)	Extrato metanólico	CHAGAS, 2009
	Atividade antifúngica frente: <i>Aspergillus ochraceus</i>	Extrato metanólico	CHAGAS, 2009
	Atividade inseticida frente: <i>Leucoptera coffeella</i> (bicho mineiro do cafeeiro)	Extrato metanólico	CHAGAS, 2009

Continuação do Quadro 2

<i>V. guianensis</i>	Atividade antifúngica frente: <i>Sporothrix schenckii</i> (ATCC 16345) (CIM = 3,9 µg/mL)	Extrato etanólico das folhas e cascas	OLIVEIRA et al., 2017
	Atividade anti-inflamatória	Extrato etanólico das folhas e cascas	OLIVEIRA et al., 2017
	Atividade citotóxica contra as linhagens celulares de carcinoma de ovário e melanocarcinoma.	vismiona	PASQUA et al., 1995
	Atividade mutagênico na concentração de 2,5 µg/mL	vismiaguianona B	SEO et al., 2000
	Atividade citotóxica para linhagem CE ₅₀ 2,4, 3,3 e 1,3 µg/mL respectivamente.	vismiaguianona D, vismiaguianona E e vismiaguianina A	SEO et al., 2000
	Atividade citotóxica contra a linhagem celular de câncer de cólon Com 100 % de letalidade na concentração de 100 µg/mL	Extrato aquoso	SUFFREDINI et al., 2007
<i>V. guineenses</i>	Atividade antimicrobiana	Extrato de éter de petróleo	MBAVENG et al., 2008
	Atividade antiplasmodica (CI ₅₀ de 20 µg/mL)	Extrato pentano	MÉNAN et al., 2006
<i>V. guineenses</i>	Atividade antiplasmodica (CI ₅₀ de 0,088 µg/mL)	vismiona H	FRANÇOIS et al., 1999
<i>V. laurentii</i>	Atividade antiplasmodica (CI ₅₀ 10 µg/mL)	Extratos hexano e acetato de etila	NOUNGOUE et al., 2008
	Atividade antibacteriana frente: <i>Streptococcus faecalis</i> (CIM = 1,22 e 3,37 µg/mL)	laurentixantona A laurentixantona B	NGUEMEVING et al., 2006

Continuação do Quadro 2

	Atividade antifúngica frente: <i>Candida gabrata</i> (CIM = 2,44 e 6,64 µg/mL)	laurentixantona A laurentixantona B	NGUEMEVING et al., 2006
	Atividade antibacteriana frente: <i>Bacillus stearothermophilus</i> (CIM = 19,53; 9,76 e 4,88 µg/mL respectivamente)	Extrato metanólico e friedelina fisciona	KUETE et al., 2007
	Atividade antifúngica frente <i>Candida gabrata</i> (CIM = 78,12 e 4,88 µg/mL respectivamente)	Extrato metanólico e friedelina	KUETE et al., 2007
	Atividade antiplasmódica (CI ₅₀ 1,18 e 1,42 µM)	tirucalla-7,24-dien-3-ona vismiaquinona A	NOUNGOUE et al., 2009
<i>V. macrophylla</i>	Atividade antioxidante (CI ₅₀ 5,35 µg/mL)	Extrato metanólico	BUITRAGO et al., 2016
<i>V. mexicana</i>	Atividade citotóxica contra as linhagens celulares de carcinoma de ovário e melanocarcinoma.	vismiona	PASQUA et al., 1995
<i>V. orientalis</i>	Atividade antiprotozoária frente a <i>Trypanosoma brucei rhodesiense</i> , <i>T. cruzi</i> (CI ₅₀ 10 µg/mL) <i>Leishmania donavani</i> (CI ₅₀ 0,37 µg/mL) e <i>P. falciparum</i> (CI ₅₀ 1,0 µg/mL)	vismiona D	MBWAMBO et al., 2004
	Atividade leishmanicida (CI ₅₀ 2,0 µg/mL)	emodina	MBWAMBO et al., 2004
<i>V. pozuzoensis</i>	Atividade leishmanicida (CI ₅₀ >100 µg/mL)	Extrato etanólico	VALADEAU et al., 2009

Continuação do Quadro 2

<i>V. pozuzoensis</i>	Atividade antimalárica (CI ₅₀ de 22,9 µg/mL)	Extrato etanólico	VALADEAU et al., 2009
<i>V. rubescens</i>	Atividade antioxidante (CI ₅₀ = 2,18; 1,73; 1,96 e 2,08 µg/mL respectivamente)	Extratos metanólico e 1,2,8- trihidroxixantona 1,4,8- trihidroxixantona xantona V ₁	TALA et al., 2011
	Atividade antibacteriana frente: <i>Staphylococcus aureus</i> (CIM = 125; 12,50; 6,25 e 50 µg/mL)	Extrato metanólico e 1,4,8- trihidroxixantona 1,7- dihidroxixatona Fisciona	TAMOKOU et al., 2009
	Atividade antifúngica frente: <i>Cryptococcus neoformans</i> (CIM = 500; 12,50; 3,12 e 12,50 µg/mL)	Extrato metanólico e 1,4,8- trihidroxixantona 1,7- dihidroxixatona Fisciona	TAMOKOU et al., 2009
<i>V. tomentosa</i>	Atividade leishmanicida contra <i>Leishmania</i> <i>amazonenses</i> (CI ₅₀ de 52,4 µg/mL)	Extrato etanólico	ESTEVEZ et al., 2007

Quadro 3: Levantamento parcial de substâncias identificadas em algumas espécies do gênero *Vismia*

Espécie	Estudos Químicos		Referências
	Substâncias Isoladas	Número	
<i>V. bacifera</i>	vismiaquinona A	(22)	HUSSEIN et al., 2003
			SALA et al., 2008
			ÁLVAREZ et al., 2008
	ferruginina A	(27)	ÁLVAREZ et al., 2008
	γ -hidroxiferruginina A	(66)	ÁLVAREZ et al., 2008
<i>V. cayennensis</i>	fisciona	(67)	MIRAGLIA et al., 1981
			PINHEIRO et al., 1984
	α -amirina	(68)	MIRAGLIA et al., 1981
	β -sitosterol	(69)	MIRAGLIA et al., 1981
			PINHEIRO et al., 1984
	ácido betulínico	(26)	MIRAGLIA et al., 1981
	(-)-isocariofileno	(70)	PINHEIRO et al., 1984
	α -selineno	(71)	PINHEIRO et al., 1981
	<i>trans</i> - α -farneseno	(72)	PINHEIRO et al., 1984
	ácido crisofânico	(73)	PINHEIRO et al., 1984
<i>V. guianensis</i>	β - sitosterol	(69)	LINS et al., 2016

Continuação do Quadro 3

	estigmasterol	(74)	LINS et al., 2016
	vismiona a	(75)	ÁLVAREZ et al., 2008
	ferruginina A	(27)	ÁLVAREZ et al., 2008
	vismiaquinona A	(22)	LINS et al., 2016
<i>V. guianensis</i>	vismiaquinona A	(22)	ÁLVAREZ et al., 2008
<i>V. guineenses</i>	vismiquinona A	(22)	TALA et al., 2013
			MBAVENG et al., 2008
	vismiquinona B	(76)	TALA et al., 2013
	laurentiquinona A	(77)	TALA et al., 2013
	laurentiquinona B	(78)	TALA et al., 2013
	laurentiquinona C	(79)	TALA et al., 2013
	ácido betulínico	(26)	TALA et al., 2013
	lupeol	(35)	TALA et al., 2013
	estigmast-4-en-3-ona	(80)	TALA et al., 2013
	β -sitostetol	(69)	TALA et al., 2013
	estigmasterol	(74)	TALA et al., 2013
<i>V. laurentii</i>	3-geranilemodina	(47)	NOUNGOUE et al., 2009
			NGUEMEVING et al., 2006
	fisciona	(67)	NGUEMEVING et al., 2006
	vismiaquinona A	(22)	NGUEMEVING et al., 2006
TALA et al., 2007			
TALA et al., 2011			

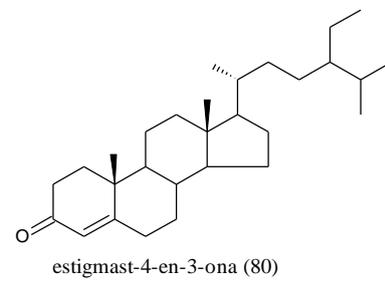
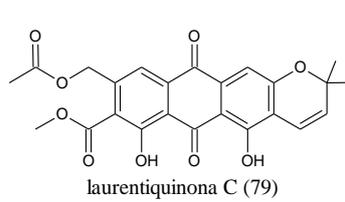
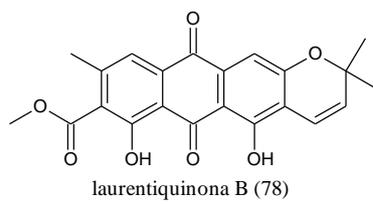
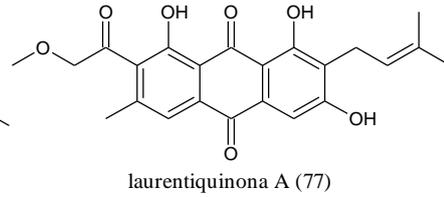
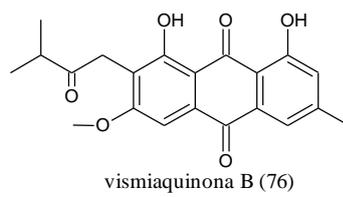
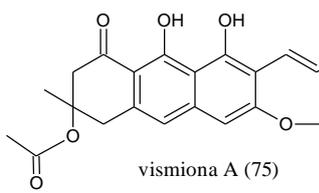
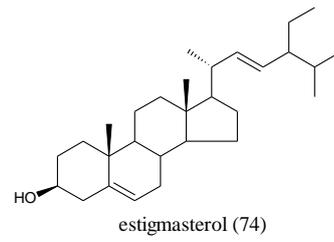
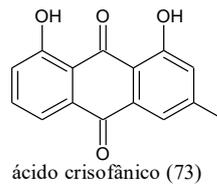
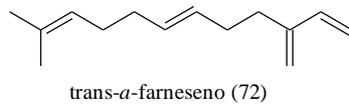
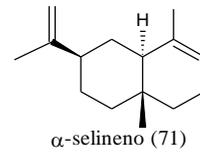
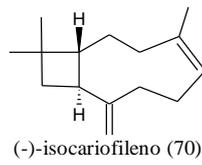
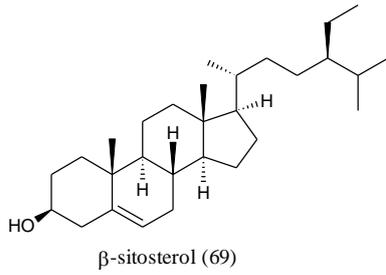
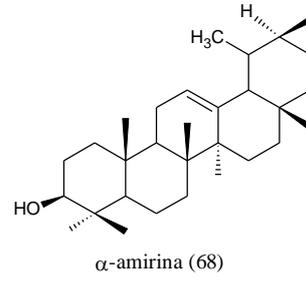
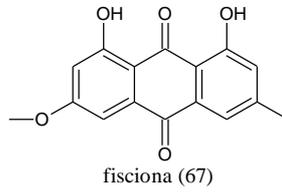
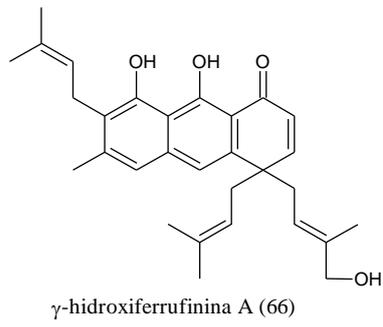
Continuação do Quadro 3

<i>V. laurentii</i>	vismiaquinona B	(76)	NGUEMEVING et al., 2006
	laurentiquinona A	(77)	NOUGOUE et al., 2008
			NGUEMEVING et al., 2006
	laurentiquinona B	(78)	NOUGOUE et al., 2008
			NGUEMEVING et al., 2006
	laurentiquinona C	(79)	NOUGOUE et al., 2008
	1,7-dihidroxiantrona	(80)	NGUEMEVING et al., 2006
	canferol	(81)	NGUEMEVING et al., 2006
6-deoxiisojacareubina	(82)	NGUEMEVING et al., 2006	
<i>V. martiana</i>	vismiaquinona A	(22)	NAGEN e FARIA DE JESUS, 1990
	vismiaquinona B	(76)	NAGEN e FARIA DE JESUS, 1990
	vismiaquinona C	(83)	NAGEN e FARIA DE JESUS, 1990
<i>V. mexicana</i>	(-)-isocariofileno	(70)	PINHEIRO et al 1984
	<i>cis</i> - α -farneseno	(84)	PINHEIRO et al., 1984
	vismiona A	(75)	PINHEIRO et al., 1984
	vismiona B	(85)	PINHEIRO et al., 1984

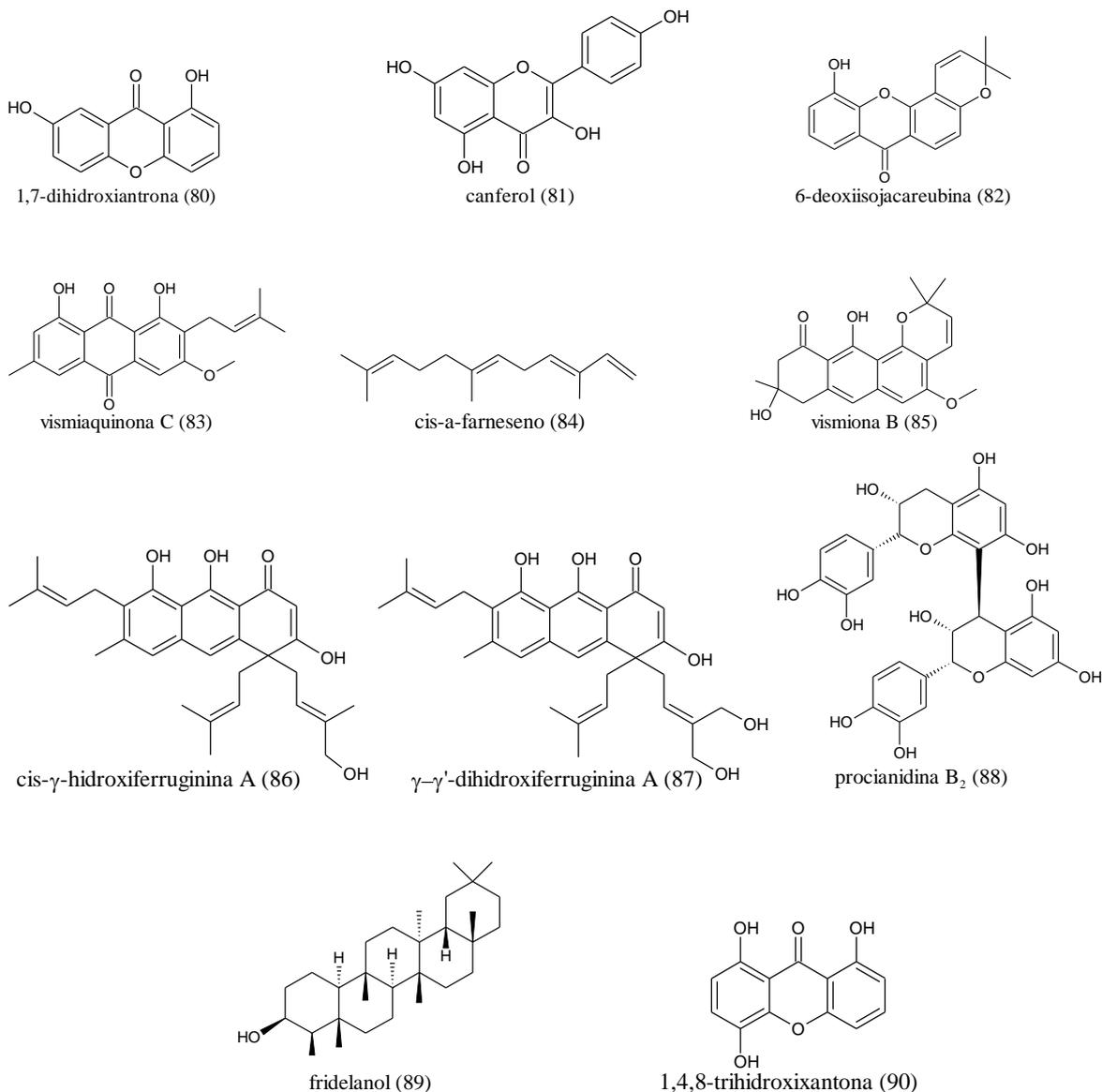
Continuação do Quadro 3

<i>V. mexicana</i>	ferruginina A	(27)	PINHEIRO et al., 1984
	<i>cis</i> - γ -hidroxiferruginina A	(86)	PINHEIRO et al., 1984
	vismiaquinona A	(22)	PINHEIRO et al., 1984
	γ,γ' -dihidroxiferruginina A	(87)	PINHEIRO et al., 1984
	quercetina	(45)	PINHEIRO et al., 1984
	(-)-epicatequina	(49)	PINHEIRO et al., 1984
	procianidina B ₂	(88)	PINHEIRO et al., 1984
<i>V. parviflora</i>	vismiaquinona A	(22)	NAGEM e FAUSTINO, 1997
	vismiaquinona C	(83)	NAGEM e FAUSTINO, 1997
<i>V. reichartiana</i>	vismiaquinona A	(22)	GONÇALVES e MORS, 1981
<i>V. rubescens</i>	fisciona	(67)	TAMOKOU et al, 2009
	friedelina	(34)	TAMOKOU et al, 2009
	fridelanol	(89)	TAMOKOU et al, 2009
	1,4,8-trihidroxixantona	(90)	TAMOKOU et al, 2009
	1,7-dihidroxiantrona	(80)	TAMOKOU et al, 2009

Figura 7: Algumas substâncias isoladas de espécies do gênero *Vismia*.



Continuação Figura 7



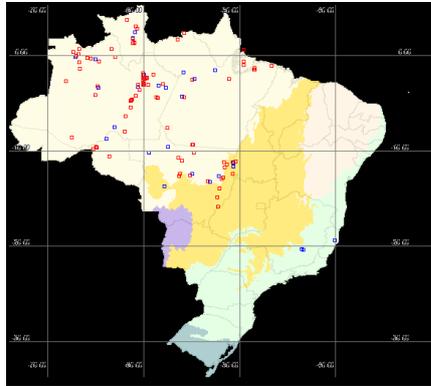
Neste trabalho será dado destaque a três espécies do gênero *Vismia* sendo elas: *V. japurensis*, *V. cauliflora* e *V. sandwithii*.

2.2.1 *Vismia japurensis* Reichardt

A espécie *Vismia japurensis* (Figura 9 e 10) é conhecida popularmente como pau-de-lacre, picharina, lacrão, purga-de-vento e lacre (DI STASI et al., 2002; VAN DEN BERG, 1982) encontrada em alguns países da América do Sul, como Brasil, Colômbia, Equador e

Venezuela (TROPICOS, 2017). No Brasil são encontradas nos estados do Amazonas, Pará, Rondônia e Mato Grosso (Figura 8) (VOGEL ELY et al., 2019).

Figura 8: Distribuição geográfica da espécie *V. japurensis* no Brasil

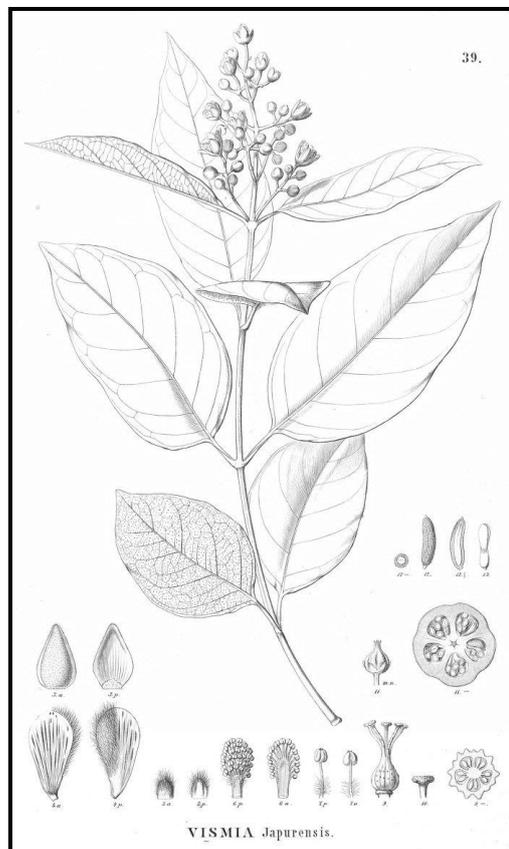


Legenda: distribuição da espécie *Vismia japurensis* no Brasil em destaque na cor vermelha

Fonte: <http://www.splink.org.br/>

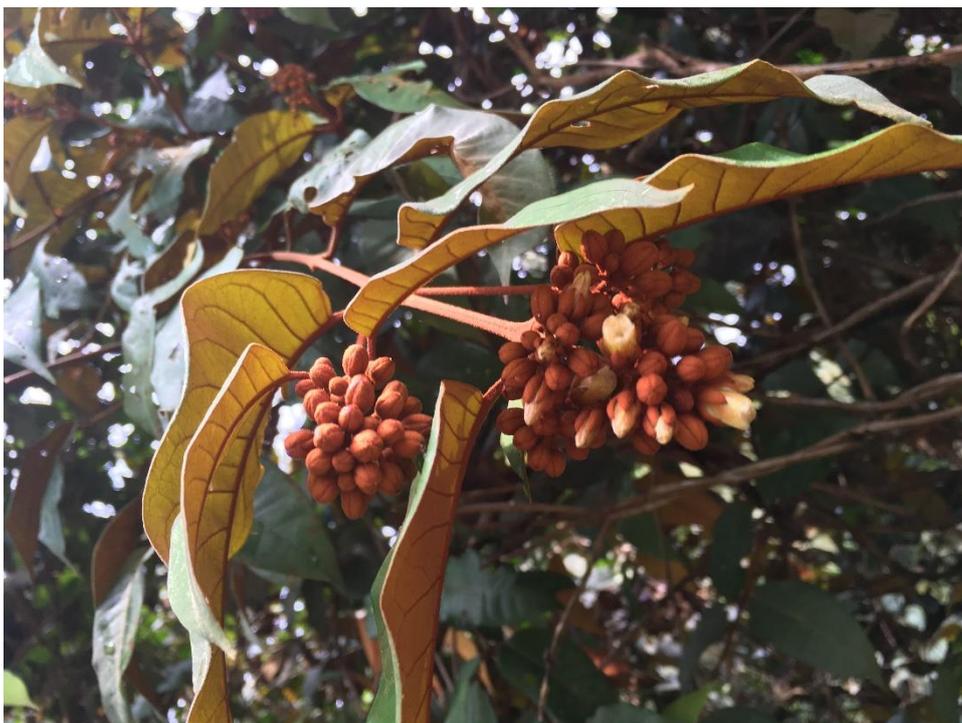
É considerada uma árvore pioneira, geralmente ocorre em vegetação secundária, apresenta de 3-10 m de altura e possui látex alaranjado (MONACO et al., 2003; RIBEIRO et al., 1999; MACIEL et al., 2003; BENTOS et al., 2008).

Figura 9: Ilustração de *Vismia japurensis*



Fonte: <http://www.tropicos.org/Name/7801572?tab=images>

Figura 10: Ramos com folhas e inflorescências de *Vismia japurensis*



Fonte: PEDROZA, L. S., 2018

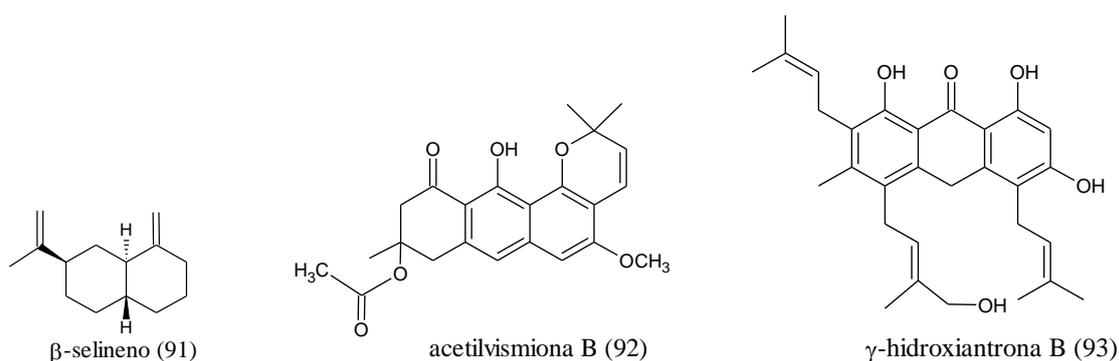
No levantamento bibliográfico foram encontrados apenas dois estudos fitoquímicos de *V. japurensis*, o primeiro realizado por Miraglia e colaboradores (1981), no qual foi realizado o fracionamento do extrato benzênico da madeira onde foram isoladas as antraquinonas vismiaquinona e vismiaquinona B, os triterpenos friedelina e friedelan-3- β -ol e o esteroide sitosterol. O segundo foi realizado por Pinheiro e colaboradores (1984), estudo com o extrato clorofórmico das bagas, isolando α -selineno, β -selineno, vismiaquinona, triglicerídeos, vismiona A, acetilvismiona B, γ -hidroxiantrona e *trans*- γ -hidroxiferruginina A (Quadro 4) (Figura 10).

Sobre seu potencial biológico há relatos apenas de estudos realizados pelo nosso grupo de pesquisa sobre a atividade antioxidante do extrato metanólico das folhas (GOMES et al., 2011). Não há relatos de estudos químicos e biológicos realizados com as folhas de *V. japurensis*.

Quadro 4: Substâncias isoladas da espécie *Vismia japurensis*

Parte Vegetal	Substâncias isoladas	Número	Referências
Madeira	vismiaquinona A	(22)	MIRAGLIA et al., 1981
Baga			PINHEIRO et al., 1984
Madeira	friedelina	(34)	MIRAGLIA et al., 1981
	friedelanol	(89)	
	β -sitosterol	(69)	
	vismiaquinona B	(76)	
Baga	α -selineno	(71)	PINHEIRO et al, 1984
	β -selineno	(91)	
	vismiona A	(75)	
	acetilvismiona B	(92)	
	γ -hidroxiantrona B	(93)	
	<i>cis</i> - γ -hidroxiferruginina A	(86)	

Figura 11: Substâncias isoladas da espécie *Vismia japurensis*



2.2.2 *Vismia sandwithii* Ewan

A espécie *Vismia sandwithii* (Figura 12) é uma árvore que possui cerca de 5 a 16 metros de altura, apresenta exsudato alaranjado a vermelho-alaranjado, seus frutos se apresentam na forma de bagas com cerca de 0,8 cm de comprimento na coloração verde-acinzentada a verde-arroxeadas, essa espécie pode ser reconhecida pelas pontuações na coloração preta (glândulas) fortemente evidentes na face abaxial das folhas (MARTINS et al., 2018).

Figura 12: Ramos com folhas da espécie *Vismia sandwithii*



Fonte: MARTINS et al., 2018

São espécies que podem ser encontradas no Brasil, Colômbia, Equador, Guiana, Guiana Francesa, Suriname e Venezuela (ROBSON, 1998). No Brasil há registros para essa espécie na região Norte nos estados do Acre, Amazonas, Amapá, Pará e Roraima (Figura 13), sendo encontrada em capoeiras e floresta de terra firme (MARTINS et al., 2018, VOGEL et al., 2019).

Não há relatos de estudos químicos e biológicos com essa espécie. Sendo o estudo apresentado nesta tese o primeiro relato de dados químicos apresentados para essa espécie.

Figura 13: Distribuição geográfica no Brasil da espécie *V. sandwithii*.

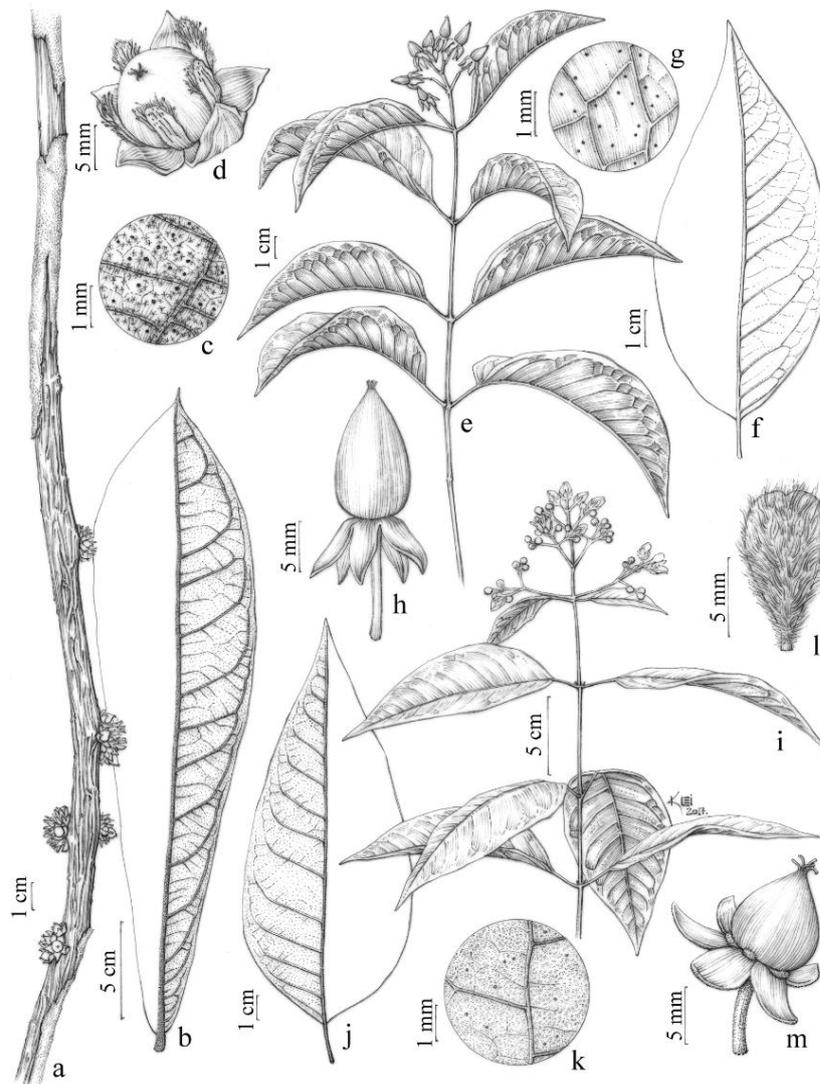


Legenda: Distribuição da espécie *V. sandwithii* no Brasil em destaque na cor verde.

2.2.2 *Vismia cauliflora* A. C. Sm

As espécies *Vismia cauliflora* (Figura 14 e 15) são árvores de 4 a 13 metros de altura, são espécies que possuem velutinos (aparência de veludo nos ramos próximos as folhas) e exsudato alaranjado. Seus frutos se apresentam na forma de bagas 0,7 a 1,2 cm com uma coloração acinzentada (MARTINS et al., 2018; VOGEL et al, 2019). Há relatos da presença de *V. cauliflora* apenas no Brasil, no estado do Amazonas (Figura 16), esta espécie distingue-se facilmente das demais espécies de *Vismia*, pelas inflorescências caulifloras, dispostas em fascículos com poucas flores e pelas folhas compridas, de até 75 cm de comprimento.

Figura 14: Ilustração botânica da espécie *Vismia cauliflora*



Fonte: MARTINS et al., 2018

Figura 15: Ramos com folhas de *Vismia cauliflora*



Fonte: MARTINS et al., 2018

Figura 16: Distribuição geográfica no Brasil da espécie *Vismia cauliflora*



Legenda: Em verde distribuição da espécie *Vismia cauliflora* no Brasil

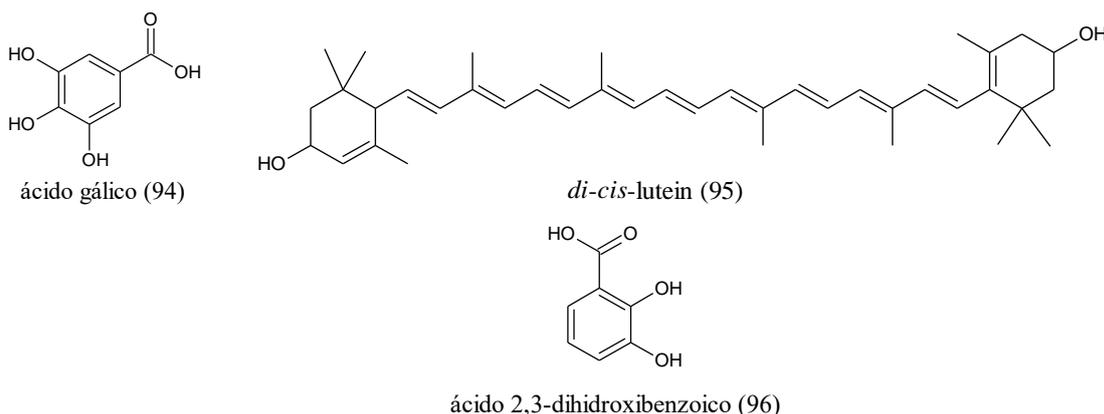
Fonte: http://servicos.jbrj.gov.br/flora/search/Vismia_cauliflora

Na literatura há relato de estudos realizados com *V. cauliflora* que avaliaram o seu potencial antioxidante e identificação e quantificação de suas substâncias fenólicas e carotenoides (Quadro 5) (Figura 17) (CHIST et al., 2014; RIBEIRO et al., 2014).

Quadro 5: Substâncias identificadas na espécie *Vismia cauliflora*

Substâncias	Número	Referências
ácido gálico	(94)	RIBEIRO et al., 2014
<i>di-cis</i> -luteína	(95)	RIBEIRO et al., 2014
(-)-epicatequina	(49)	RIBEIRO et al., 2014
ácido dihidroxibenzoico	(96)	RIBEIRO et al., 2014

Figura 17: Substâncias identificadas na espécie *Vismia cauliflora*



2.3 Metabólitos secundários presentes no Gênero *Vismia*

As quinonas e terpenos são utilizados como marcadores químicos para o gênero *Vismia* (TALA et al., 2013; VIZCAYA et al., 2012), mas também estudos anteriores relataram a presença de terpenoides, antranoides prenilados, biantraquinonas, benzofenonas, xantonas, flavonoides, flavonóis, lignanas e compostos voláteis em várias espécies de *Vismia* (BOTTA et al., 1986; PINHEIRO et al., 1984; TALA et al., 2007; TAMOKOU et al., 2009; MIRAGLIA et al., 1981; NOUNGOUE et al., 2008; SEO et al., 2000; BOTTA et al., 1983; NGUEMEVING et al., 2006; NAGEM E DE OLIVERA, 1997; BILIA et al., 2000; SANTOS

et al., 2000; NGUEMEVING et al., 2006; TALA et al., 2007; WABO et al., 2007, HUSSEIN et al., 2012; VIZCAYA et al., 2012).

Nesta tese será dado destaque as classes dos terpenoides e antraquinonas.

2.3.1. Terpenoides

Os terpenoides pertencem a uma das maiores e mais diversificada classe de substâncias naturais (MARTINS et al., 2017), cujas estruturas (Figura 30) apresentam um esqueleto derivado do 2-metilbutadieno, também denominado isopreno (HEINZMANN et al., 2017; LOBO & LOURENÇO, 2007).

A biossíntese dos terpenoides deriva do difosfato de isopentenila (IPP), um isopreno na forma ativa que está em equilíbrio com seu isômero, o difosfato de dimetilalila (DMAPP) (KREIS et al., 2017).

A via metabólica dos terpenoides pode ser dividida em duas vias biossintéticas: a primeira via do ácido mevalônico, ocorre pela condensação de três moléculas de acetil-CoA e descarboxilação subsequente. A segunda é a via alternativa, formada a partir da glicose, que leva à formação de dois intermediários, o 1-desoxi-D-xilulose e 2-metileritritol fosfato (MEP) (KREIS et al., 2017; LOBO et al., 2007; DEWICK, 2009; LICHTENTHALER, 1999; NEWMAN & CHAPPEL, 1999; SAPIR-MIR et al., 2008).

Os esqueletos são formados pela condensação de um número variável de unidades de isopreno, de acordo com a regra do isopreno, sendo uma condensação cabeça-cauda (SIMÕES & SPITZER, 2004; LIMA et al., 2016).

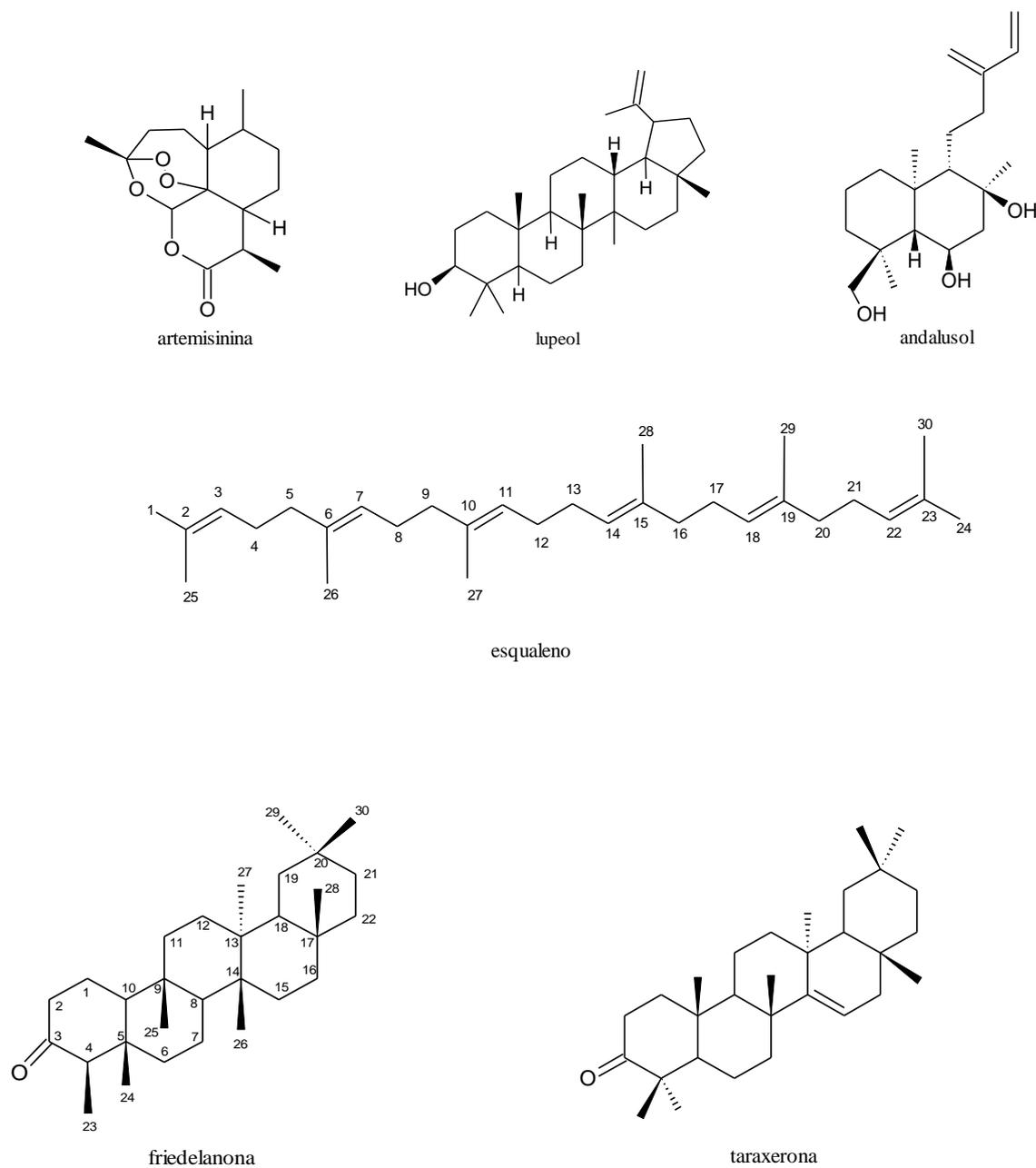
A condensação cabeça-cauda entre as unidades DMAP e IPP forma a cadeia de difosfato de geranila (GPP), precursora dos monoterpenos (C₁₀). Para formar a cadeia do difosfato de farnesila (C₁₅) é acrescentada mais uma unidade de IPP, que seguida de condensações sucessivas com IPP forma o difosfato de geranilgeranila (C₂₀) e difosfato de geranilfarnesila (C₂₅), que são precursores dos sesquiterpenos, diterpenos e sesterterpenos, respectivamente. Para formação do precursor dos triterpenos, o esqualeno (C₃₀), ocorre a condensação de duas cadeias de difosfato de farnesila (C₁₅), e para a formação do fitoeno (C₄₀) precursor dos tetraterpenos ocorre a condensação de duas cadeias de difosfato de geranilgeranila (DEWICK, 2009; LOBO & LOURENÇO, 2007; MEWALAL et al., 2017).

Os terpenoides podem sofrer modificações estruturais, incluindo esterificação, metilação, glicosilação, isomerização, oxidação, redução, aumentando assim a variedade

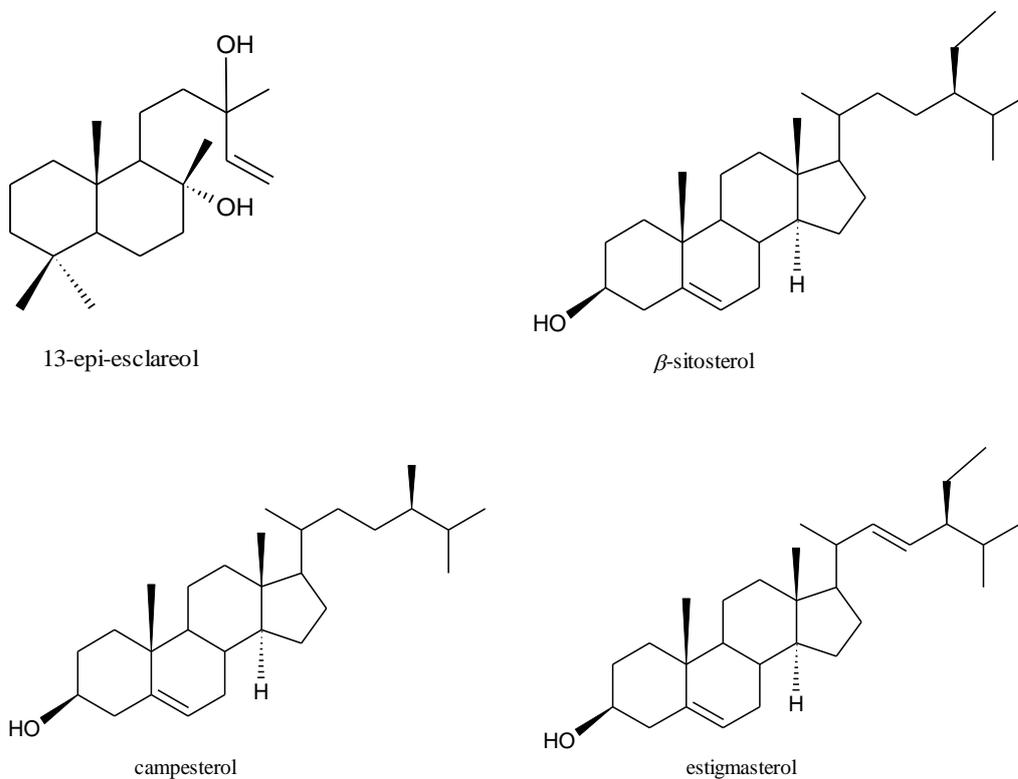
estrutural e proporcionando assim mais de 40000 estruturas relacionadas, assim como demonstradas na figura 30 (MEWALAL et al., 2017).

Várias são as propriedades biológicas apresentadas na literatura para a classe dos terpenoides como: atividades antimicrobianas (TAMOKOU et al., 2009), antivirais, anti-inflamatórias, antialérgicas, antineoplásicas, entre outras (PADUCH et al., 2007);

Figura 18: Exemplos de terpenoides



Continuação da Figura 30



2.3.2 Antraquinonas

Muitas espécies de plantas são produtoras de antraquinonas, as quais são substâncias naturais que possuem várias propriedades biológicas e uma aplicação industrial como corantes naturais, para substituir produtos químicos sintéticos na formulação (DUVAL et al., 2016).

As antraquinonas são substâncias que se apresentam normalmente na coloração amarela, vermelha ou laranja, a cor sob a luz visível é justificada pelo número de ligações duplas conjugadas presente em sua estrutura, que proporciona absorver na região do ultravioleta (FALKENBERG, 2017).

Esta classe de metabólitos se distribui largamente nas plantas, desde as espécies superiores até os fungos e líquens (SANTOS et al., 2008). Elas podem ser encontradas em todas as partes das plantas, raízes, rizomas, frutas, flores e folhas (DUVAL et al., 2016; DAVE & LEDWANI, 2012)

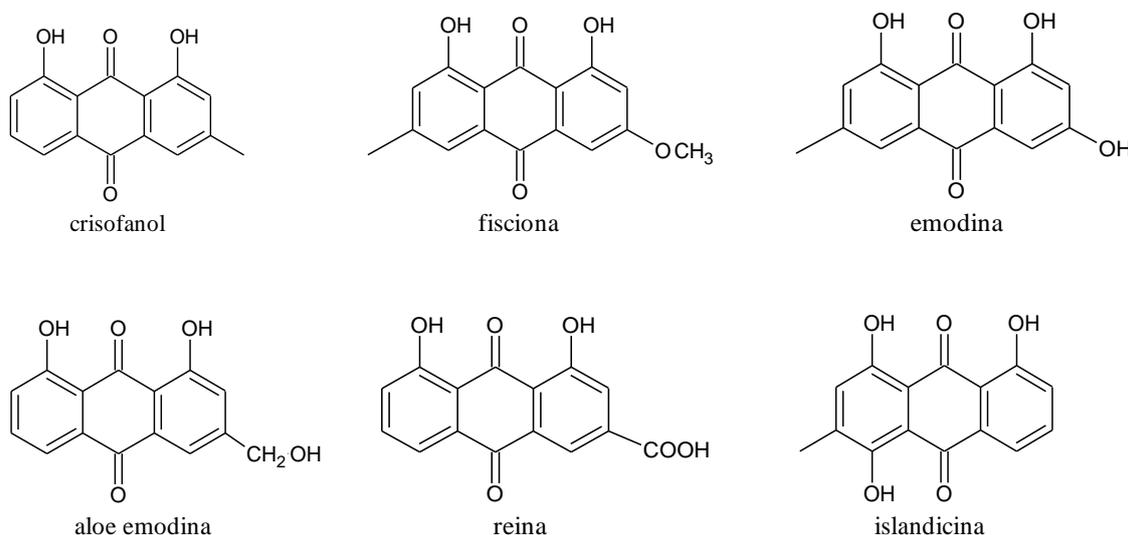
Constituem o grupo mais importante das quinonas naturais, podem ser produzidas a partir das rotas biossintéticas: via ácido chiquímico e acetato ou totalmente pela via do acetato (SANTOS, 2004; DEWICK, 2002; DEWICK, 2009; FALKENBERG, 2017) e são substâncias orgânicas derivadas do antraceno (VIZCAYA et al., 2012).

Em derivados antracênicos é característico a presença de grupos hidroxilas em C-1 e C-8, e duas carbonilas em C-9 e C-10, e também se observa a presença de grupos metílicos, metoxilas e até de carboxila na posição C-6 (FALKENG, 2017; IZHAKI, 2002).

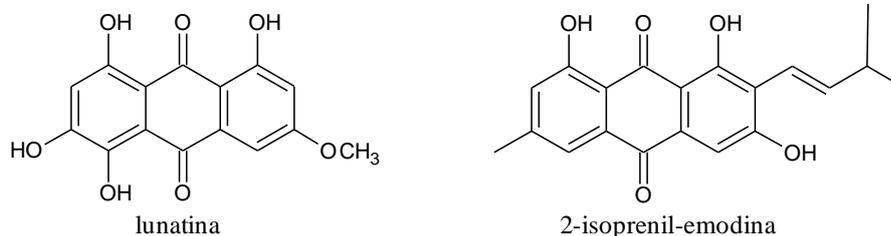
O potencial das antraquinonas para inibir ou prevenir o crescimento fúngico e bacteriano são duas propriedades biológicas interessantes, mas muitas outras propriedades são atribuídas a elas, como, anticancerígenas (AL-OTAIBI & EL GOGARY, 2017), antivirais, antioxidantes antibacterianas, antifúngicas, antineoplásicas, anti-inflamatória, adstringente, laxantes, diurética entre outras atividades biológicas (DUVAL et al., 2016; MANOJLOVIC et al., 2005; WANG et al., 2016; CHIEN et al., 2015).

As antraquinonas mais conhecidas são: reína, aloe emodina, emodina, fisciona e crisofanol, estas são consideradas responsáveis por várias propriedades biológicas (Figura 31) (DUVAL et al., 2016).

Figura 19: Exemplos de antraquinonas



Continuação da Figura 30



2.4 Atividades Química e Biológica

Uma planta pode produzir milhares de substâncias diferentes. Apenas uma ou algumas substâncias podem ser responsáveis pela atividade terapêutica ou tóxica. Para comprovar esta atividade é necessário realizar ensaios químicos e biológicos e isolar substâncias puras dos extratos responsáveis pelos efeitos farmacológicos (HOSTETTMANN et al., 2003; CECHINEL FILHO e YUNES, 1998).

Várias atividades biológicas e farmacológicas relevantes tem direcionado a busca por novas substâncias bioativas, sendo específicas para um determinado alvo. Na literatura existe um vasto relato de atividades para o gênero *Vismia*. Nesta tese será dado enfoque principalmente para as atividades: toxicidade frente *Artemia salina*, antioxidante, antimalárica, antibacteriana e antiangiogênica.

2.4.1 Atividade de toxicidade frente *Artemia salina*

A *Artemia salina* é um microcrustáceo de água salgada, pertencente ao filo Arthropoda, conhecidas como *Artemia* (PEREZ & LAZO, 2010). É utilizada na aquicultura e aquários (LIBRALATO et al., 2016) e pode ser utilizada como alimento para peixes e outros crustáceos, pássaros e vários invertebrados (MILHEM et al, 2008; PEREZ & LAZO, 2010).

O ensaio com *Artemia salina* é um bioensaio preliminar de atividade de produtos naturais. Foi proposto como um substituto mais barato e simples, para o ensaio de citotoxicidade com células (MEYER et al., 1982). Neste ensaio a toxicidade é determinada pela concentração letal de 50% (CL₅₀) de extratos de plantas em meio salino (KANWAR, 2007), e é um dos ensaios mais utilizados para uma avaliação preliminar de toxicidade (AMARANTE et al., 2011).

Ensaio realizados com *A. salina* demonstram que essa toxicidade obtida apresenta uma boa correlação com a atividade citotóxica contra tumores humanos (McLAUGHLIN et al., 1991), e também uma correlação com testes de toxicidade oral em camundongos (PARRA et al., 2001). Extratos de plantas que apresentam toxicidade contra *A. salina* indicam um possível potencial para diversas atividades biológicas. Além de ser uma análise preliminar de toxicidade geral e com atividade pesticida (LUNA et al., 2005; PARRA et al., 2001; LIBRALATO et al., 2016)

O uso deste teste é favorecido pelas vantagens que proporciona como: simplicidade no manuseio, um rápido e simples monitoramento da resposta biológica, onde se mede somente um parâmetro: morte ou vida (CAVALCANTE et al., 2000). Outros fatores que favorecem o seu uso são: custo, disponibilidade e pouca quantidade de amostra (LUNA et al., 2005; PARRA et al., 2001; LIBRALATO et al., 2016), é um método seguro, econômico e prático para analisar a bioatividade de extratos e substâncias naturais (SILVA et al., 2007; KANWAR, 2007).

2.4.2 Atividade Antioxidante

Os ensaios químicos para avaliação da atividade antioxidante têm como objetivo a investigação da capacidade dos extratos ou substâncias em reagirem com espécies reativas do oxigênio (ERO), e comparar com a atividade de um antioxidante padrão.

As espécies reativas do oxigênio são moléculas instáveis, extremamente reativas (SILVA e GONÇALVES, 2010) e possuem um número ímpar de elétrons e para atingir a estabilidade, elas necessitam adquirir elétrons e, portanto, reagem com a maioria dos compostos vizinhos, oxidando-os, ou são moléculas neutras altamente reativas (SÁNCHEZ-MORENO, 2002). As Ero são subprodutos do metabolismo aeróbico, e incluem superóxidos, peróxidos de hidrogênio e os radicais hidroxila (SCHIEBER & CHANDEL, 2014).

Estas espécies reativas desempenham papel importante no organismo, mas o excesso é considerado a principal causa do estresse oxidativo, resultando em múltiplos efeitos adversos, como a oxidação de proteínas e lipídios, bem como danos ao DNA. As células apresentam um sistema de defesa antioxidante para manter o equilíbrio entre a produção e a eliminação destas espécies reativas, mas o desequilíbrio geralmente ocorre levando ao excesso de espécies reativas (MENG et al., 2017).

A geração desordenada provoca danos oxidativos em macromoléculas causando mutações que podem ser associadas a doenças neurodegenerativas e ao câncer. A oxidação de lipoproteínas é a principal causa de doenças no coração e aterosclerose, e o estresse oxidativo é o maior causador de isquemia cerebral (VALKO et al., 2007; AMES et al., 1995; ROESLER et al., 2007, PASCUAL TERESA e SANCHEZ - BALLESTA, 2008; BANERJEE et al., 2005; EINBOND et al., 2004; MULABAGAL et al., 2009; HOGAN et al., 2010; DAI et al., 2009; SCHWARZ et al., 2003; SHIN et al., 2006) e o uso de antioxidantes exógenos é indicado para diminuir o excesso de ERO (ABOUL-ENEIN et al., 2013).

Os antioxidantes são substâncias que, presentes em baixas concentrações, quando comparadas ao substrato oxidável, inibem o processo oxidativo. Eles destacam-se por prevenir a formação e a ação das espécies reativas de oxigênio e nitrogênio que são associadas aos danos oxidativos, portanto, estudos sobre substâncias antioxidantes são necessários para prevenir o estresse oxidativo (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 2000; VANNUCCHI, 1998; MENG et al., 2017).

2.4.3 Atividade Antimalárica

A malária é uma doença tropical, parasitária, cujo agente etiológico é um protozoário do gênero *Plasmodium*. Quatro são as espécies de grande importância para manifestação da doença em seres humanos: *P. malariae*, *P. ovale*, *P. vivax* e *P. falciparum*.

A infecção causada pelo *Plasmodium falciparum*, em particular, é a mais letal das espécies de parasita da malária humana, responsável por quase um milhão de mortes por ano, cerca de 95% dos casos, sendo transmitida ao homem pela picada do mosquito do gênero *Anopheles* (HU et al., 2017a).

A malária é uma das doenças infecciosas mais devastadoras e comuns em todo mundo e uma das principais ameaças em matéria de saúde pública em mais de 90 países (VÁLDES et al., 2010; LENTA et al., 2010; HU et al., 2017a). Ela é uma das doenças negligenciadas altamente recorrente em países tropicais e subtropicais (ADITYA et al., 2013).

Em 2015 foram relatados 212 milhões de casos clínicos e 429 mil mortes, ocorrendo em grávidas e, principalmente em crianças, sendo 78% dos casos fatais se aplicam a menores de cinco anos relatados na África de acordo com a OMS (WHO, 2016).

A ineficácia do tratamento antimalárico disponível é a principal razão por trás da sua ameaça. Esse grande problema está na resistência do *Plasmodium falciparum*, aos fármacos existentes e toxicidade de drogas em seres humanos (OLLIARIO, 2001; GUERIN, 2002; RAI et al., 2017; GOMES et al., 2017). Como medidas utilizadas no controle desta doença podemos incluir: controle vetorial por inseticidas, quimioprevenção, diagnóstico e tratamento (WHO, 2015).

Os tratamentos utilizados após o diagnóstico da doença geralmente incluem dois medicamentos associados que causam alguns efeitos colaterais e têm pouca adesão do paciente (SANTOS – MAGALHAES & MOSQUEIRA, 2010). Este tratamento é bastante complexo, longo e muitas vezes ineficaz devido à reinfeção do paciente, muito comum nas áreas de incidência da doença (SOARES e RODRIGUES, 1998).

As principais drogas antimaláricas atualmente utilizadas são divididas em quatro categorias: quinolinas (quinina, cloroquina, amodiaquina, mefloquina e primaquina), antifolatos (pirimetamina, proguanil e sulfadoxina), derivados da artemisinina (artemisinina, artesunato, arteméter e arteéter) e hidroxinaftoquinonas (atovaquina) (SAIFI et al., 2013).

Devido às dificuldades encontradas durante o tratamento da doença, parte da população utiliza plantas medicinais no tratamento da malária, e algumas plantas já demonstraram o seu potencial para fornecer medicamentos eficazes para o tratamento da doença, tais como a quinina e artemisinina que são derivados de plantas. O que gera um interesse em procurar nas plantas novas alternativas terapêuticas com eficácia igual ou maior às já existentes (VALDÉS et al., 2010).

A quinina foi isolada da casca da *Cinchona officinalis*, ativa contra o *P. falciparum* e *P. vivax*. Já a artemisinina provém da planta *Artemisia annua*, desde o seu isolamento e caracterização como antimalárico eficaz.

A artemisinina foi base de vários derivados artemisínicos, estes apresentam rápida ação, melhoram o estado febril em menos de 32 horas. Quimicamente a artemisinina é uma lactona sesquiterpênica, com um grupo endoperóxido, essencial para sua atividade antimalárica (MESHNICK, 1996).

O surgimento de cepas de *P. falciparum* resistentes a quase todos os antimaláricos levaram químicos e biólogos a estudar a sua substituição efetiva com um mecanismo de ação alternativo e novas moléculas (HU et al., 2017). Dentro destas perspectivas, pesquisas em busca de novas substâncias bioativas extraídas de plantas medicinais se tornaram um importante ponto a ser considerado.

2.4.3 Atividade Antibacteriana

O surgimento de micro-organismos multirresistentes às drogas padrão, tem sido um alerta para os pesquisadores, e um incentivo para a busca de novos agentes terapêuticos para combatê-las (STROBEL & DAISY, 2003; BALOURI et al., 2016). Assim muitos pesquisadores se concentraram na investigação de produtos naturais como fonte de novas moléculas bioativas devido à falha de antimicrobianos disponíveis para tratar doenças infecciosas (VERAS, 2017).

Os agentes patógenos clínicos mais comuns Gram-positivos são: *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *S. pneumoniae*, *Enterococcus faecalis* e *E. faecium* e Gram-negativa as bactérias *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Chlamydomphila pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Legionella pneumophila* e *Acinetobacter baumannii* que são causadoras de graves e até mesmo fatais infecções (HU et al., 2017; WHO et al., 2018).

Os principais mecanismos de resistência bacteriana são a alteração do alvo do antibiótico, a mutação ou inativação enzimática e a alteração da permeabilidade da bactéria ao fármaco (VERAS, 2017).

A resistência das bactérias aos antibióticos desenvolve-se rapidamente e se espalha amplamente em todo o mundo devido ao uso inadequado e abusivo de antibióticos, estando associada a uma mortalidade considerável (HU et al., 2017).

Esses são fatores que reforçam o interesse em pesquisas que visem obter novas drogas com potencial antibacteriano (STROBEL et al., 2004). Muitas espécies de plantas foram testadas *in vitro* contra muitas cepas bacterianas e um bom número de extratos e substâncias puras já foram comprovadamente ativos contra bactérias Gram-positivas e Gram negativas e apresentam grande potencial medicinal (BEHAL, 2001; MAHADY et al., 2008), no entanto, apenas alguns extratos de plantas antibacterianas e substâncias isoladas foram testadas em ensaios pré-clínicos ou clínicos (SHARMA et al., 2017).

De todos os medicamentos atualmente aprovados como novas entidades químicas antibacterianas, uma porcentagem significativa desses são de produtos naturais ou foram derivados de um produto natural (BROWN et al., 2014; HU et al., 2017a).

2.4.4 Atividade Angiogênica

Angiogênese é um processo biológico que envolve a formação de novos vasos sanguíneos a partir de uma vascularização pré-existentes (STOCKMANN et al., 2014).

Ela é fundamental no crescimento, reprodução, menstruação, ovulação, cicatrização de feridas e outros. Mas ela também pode está relacionada a processos patológicos de diferentes doenças como retinopatia diabética, na psoríase, artrite reumatoide, endometriose obesidade e no crescimento de tumores e de metástases cancerígenas. (GONZÁLEZ et al., 2000; CARMELIET, 2005; FOLKMAN, 2007; PRATHEESHKUMAR et al., 2012; SUREKHA et al., 2013).

O grande interesse na antiangiogenese está no fato de que nos tumores cancerígenos a angiogênese é o processo pelo qual as células tumorais aumentam a formação de novos vasos, que serão utilizados para o fornecimento dos nutrientes essenciais para o seu crescimento acelerado (FOLKMAN e SHING, 1992). A inibição da angiogênese é atualmente umas das estratégias promissoras no tratamento do câncer (PRATHEESHKUMAR et al., 2012)

Na busca por novas substâncias antiangiogênicas, várias técnicas têm sido utilizadas para investigação tanto para substâncias pro-angiogênica e antiangiogênicas um dos métodos utilizados é o ensaio em membrana corialontoica de embrião de galinha (CAM), que possui algumas vantagens, destaca-se pois e um método simples e de baixo custo, além de permitir a observação da densidade dos vasos (aumento ou redução) em um curto período de tempo (RIBATTI et al., 2001; EGOSHI et al., 2015),

3. Objetivos

3.1 Objetivo geral:

- Realizar o estudo químico e biológico de três espécies do gênero *Vismia*. Vand.

3.2 Objetivos específicos:

- Analisar por espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio e Cromatografia em Camada Delgada Comparativa os extratos hexânicos das folhas de *V. japurensis*, *V. cauliflora* e *V. sandwithii*;
- Realizar o estudo químico dos extratos hexânicos das folhas de *V. japurensis* e *V. sandwithii*;
- Avaliar as atividades antioxidante, antimicrobiana, antimalárica, antiangiogênica e de toxicidade frente à *Artemia salina*, dos extratos e das substâncias isoladas de *V. japurensis*.

4. Materiais e Métodos

4.1 Coleta do Material Vegetal

Foram coletadas folhas de três espécies do gênero *Vismia*, sendo elas: *V. japurensis*, *V. sandwithii* e *V. cauliflora*.

Para a espécie *Vismia japurensis* (Figura 18) foram realizadas três coletas do material vegetal, sendo a primeira e a terceira coletas realizadas no Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA Campus 1, Manaus – AM, em 09 de junho de 2013 e 04 de agosto de 2014, e a segunda coleta realizada na Reserva Florestal Adolpho Ducke – Manaus – AM, em 04 de agosto de 2014. A exsicata da primeira coleta foi depositada no Herbário da Coordenação de Botânica do INPA, sob o número de 259225. A exsicata da segunda coleta foi registrada no Herbário do Instituto Federal de Ciência e Tecnologia do Amazonas – IFAM sob o número 10479. Como a terceira coleta foi realizada com o mesmo indivíduo da primeira coleta não foi necessário depositar a exsicata.

Para a espécie *Vismia sandwithii* (Figura 19) foi realizada uma coleta do material vegetal na Reserva Florestal Adolpho Ducke – Manaus – AM, em 26 de abril de 2018. Sua exsicata foi depositada no Herbário da Coordenação de Botânica do INPA sob o número de 283644.

Para a espécie *Vismia cauliflora* (Figura 20) foi realizada uma coleta do material vegetal na Reserva Florestal Adolpho Ducke – Manaus – AM, em 26 de abril de 2018. Sua exsicata foi depositada no Herbário da Coordenação de Botânica do INPA sob o número de 283643.

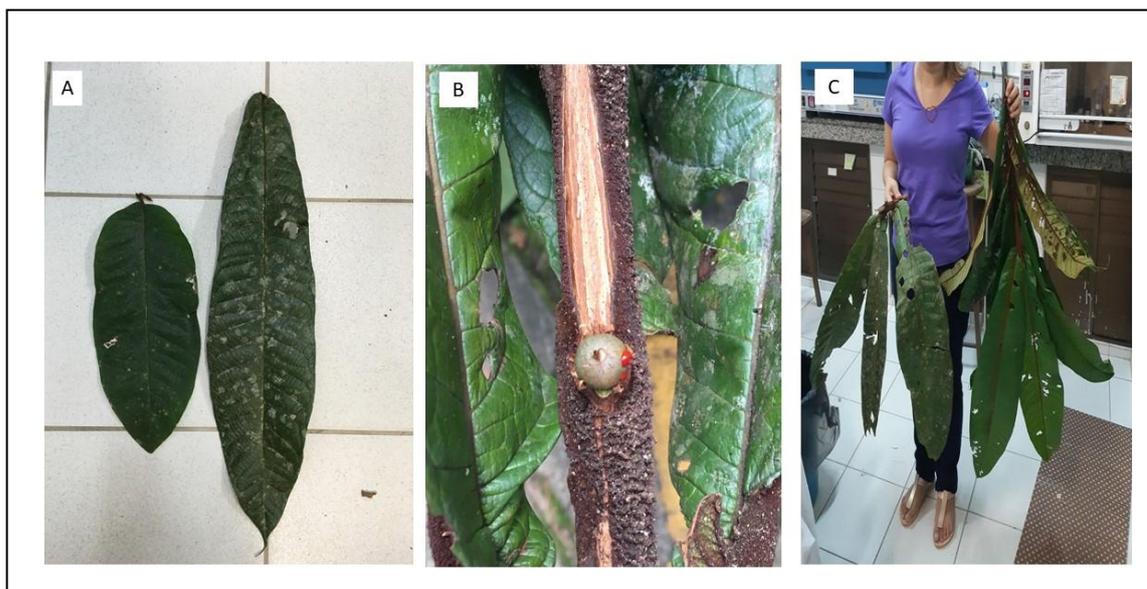
Figura 20: Imagens da espécie *V. japurensis*. (A) aspecto geral da árvore, (B) ramos com folhas e inflorescências, (C) folhas e (D) frutos.



Figura 21: Imagens da espécie *V. sandwithii*. (A) aspecto geral da árvore, (B) Galho, (C) folha



Figura 22: Imagens da espécie *V. cauliflora*. (A) comparação das folhas de *Vismia sandwithii* e *Vismia cauliflora*, (B) fruto, (C) folhas



4.2 Preparo dos Extratos Vegetais

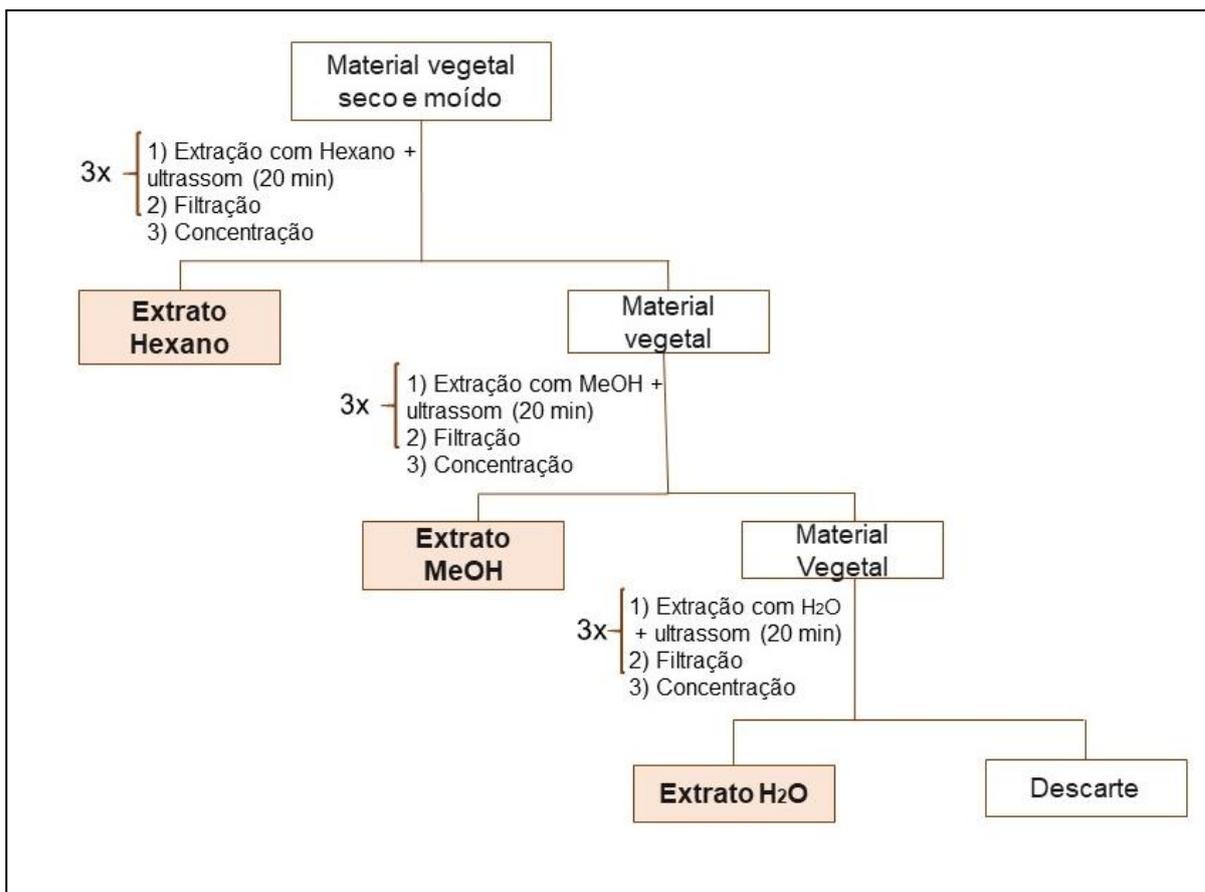
O material vegetal foi levado ao Laboratório de Bioprospecção e Biotecnologia do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA. As folhas foram secas em estufa a 50 °C por aproximadamente três dias e posteriormente triturados em moinhos de facas.

O material seco e moído foi extraído com solventes de polaridade crescente, hexano (Hex), metanol (MeOH) e água (H₂O) (figura 21). Foram realizadas três extrações utilizando ultrassom por 20 minutos. Após cada extração, os extratos obtidos foram filtrados e secos utilizando evaporador rotativo com pressão reduzida em temperatura < 50 °C para os extratos Hex e MeOH, e liofilizador para os extratos aquosos.

Para determinação do rendimento (%), foram realizados cálculos utilizando-se o peso total do material seco e moído, que foi submetido à extração e o peso final do extrato seco e concentrado, conforme fórmula a baixo.

$$\% = \text{massa do extrato obtido} \times 100 / \text{massa do material vegetal}$$

Figura 23: Fluxograma do preparo dos extratos vegetais



4.3 Análise dos extratos hexânicos por Cromatografia em Camada Delgada Comparativa

Os extratos hexânicos das folhas das três espécies obtidos foram analisados em cromatografia de camada delgada comparativa (CCDC) para detecção das classes dos constituintes químicos presentes em cada extrato. As amostras foram solubilizadas em solventes voláteis e aplicadas em cromatoplasmas na forma de soluções. A eluição ocorreu em cubas cromatográficas com a fase móvel escolhida sendo sistemas apropriados e de acordo com a sua polaridade.

Após eluição, as placas foram reveladas com luz UV (comprimento de onda de 254 e 365 nm) e diversos reagentes químicos tais como: $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ para detecção de terpenos, anisaldeído um revelador universal, FeCl_3 para detecção de substâncias fenólicas, AlCl_3 para confirmar a presença de flavonoides, KOH para a confirmação da presença de quinonas e NP-PEG para detectar flavonoides. Assim, conseqüentemente, foi possível estabelecer uma estratégia para a separação e purificação de suas moléculas.

4.4 Análise dos Extratos hexânicos por Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ^1H dos extratos hexânicos brutos das folhas das três espécies foram registrados em espectrômetro Bruker BioSpin AG, modelo Fourier 300 Ultrashield, 300 MHz. Utilizando 20 mg de cada extrato bruto e o 500 μL de clorofórmio deuterado (CDCl_3) para dissolução das amostras e adicionado TMS como referência interna para o deslocamento químico dos sinais de ressonância nos espectros, sendo a ele atribuído o valor de 0,00 ppm. Os espectros de hidrogênios foram obtidos na frequência de 300 MHz, processados e exportados do programa TopSpinTM, versão 4.0.6. O processamento usado consistiu na correção nas distorções de fase e linha de base de forma manual e referenciou-se no 0,0 ppm pelo sinal do padrão interno Tetrametilsilano (TMS).

4.5 Isolamento dos constituintes Químicos das Folhas de *Vismia japurensis*

Os extratos escolhidos para o fracionamento foram os hexânicos da 1ª e 2ª coleta. As frações obtidas foram analisadas em CCDC utilizando diferentes sistemas de eluição e reunidas quando semelhantes de acordo com os perfis cromatográficos, após análises com reveladores físicos e químicos.

As subfrações purificadas foram analisadas por Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ^1H e de ^{13}C mono e bidimensionais para identificação.

4.5.1 Fracionamento do extrato hexânico das folhas de *V. japurensis* da primeira coleta

Visando o isolamento das substâncias, o extrato hexânico (5 g) das folhas de *V. japurensis* da primeira coleta (1-FVJ-H) foi submetido a um fracionamento em cromatografia em coluna aberta (CCA) ($h \times \phi = 63,0 \times 3,5$ cm) utilizando sílica gel (200g) como fase estacionária e eluída com misturas dos solventes hexano (Hex), acetona e metanol (MeOH), utilizando um volume de 1000 mL para cada mistura de gradiente (Tabela 4). Após análises em CCDC as frações que apresentaram semelhança foram reunidas, resultando em 22 frações.

A partir destas 22 frações, três foram selecionadas (50-70, 106-122 e 130-147) para continuar o fracionamento, por apresentarem características da presença de antraquinonas quando analisadas por CCDC e RMN de ^1H .

Tabela 1: Dados do fracionamento 1FVJ-H do extrato hexânico das folhas de *Vismia japurensis* da primeira coleta.

Fração: 1-FVJ-H	
Massa da amostra: 5 g	$h \times \phi$ da coluna: 63 x 3,5 cm
Massa da sílica: 200 g	volume de eluente utilizado: 1000 mL
Sistemas de eluição	Frações coletadas
hexano/acetona 99:1	0-34
hexano/acetona 98:2	35-48
hexano/acetona 97:3	49-80
hexano/acetona 96:4	81-120
hexano/acetona 95:5	121-151

hexano/acetona 90:10	152-180
hexano/acetona 80:20	181-200
hexano/acetona 70:30	201-216
hexano/acetona 60:40	217-225
hexano/acetona 1:1	226-240
hexano/acetona 3:7	241-266
hexano/acetona 1:9	267-275
acetona 100%	276-277
acetona/metanol 1:1	278-279
metanol 100%	280-283

4.5.1.1 Fracionamento da fração 50-70

A fração 50-70 (849,5 mg) (Figura 32) foi submetida à cromatografia em coluna de sílica gel, e eluída com Hex/AcOEt (acetato de etila) e MeOH em diferentes gradientes, fornecendo a fração 10-11 (72,7 mg), que foi submetida a cromatografia em coluna de sílica gel e eluída com misturas dos solventes Hex/AcOEt e MeOH em diferentes gradientes, obtendo-se as frações 16-20 (14,9 mg) (Figura 33), denominada de substância I (S-1) e a fração 9-15 (19,1 mg) que foi fracionada utilizando cromatografia em coluna de sílica gel e eluída com os solventes Hex/DCM/Acetona e MeOH em diferentes gradientes, resultando na subfração 8-11 (2,5 mg) (Figura 34), denominada de substância II (S-2).

As subfrações 6-8 (8,0 mg), 15-18 (8,1 mg), 161-165 (17,6 mg) e 13-14 (2,2) foram comparadas com a subfração 16-20 por RMN de ^1H e verificou-se que as mesmas também resultaram na substância I.

Todos os dados dos fracionamentos sucessivos da fração 50-70 estão descritos nas tabelas de 5 a 12.

Figura 24: Fluxograma dos fracionamentos da fração 50- 70

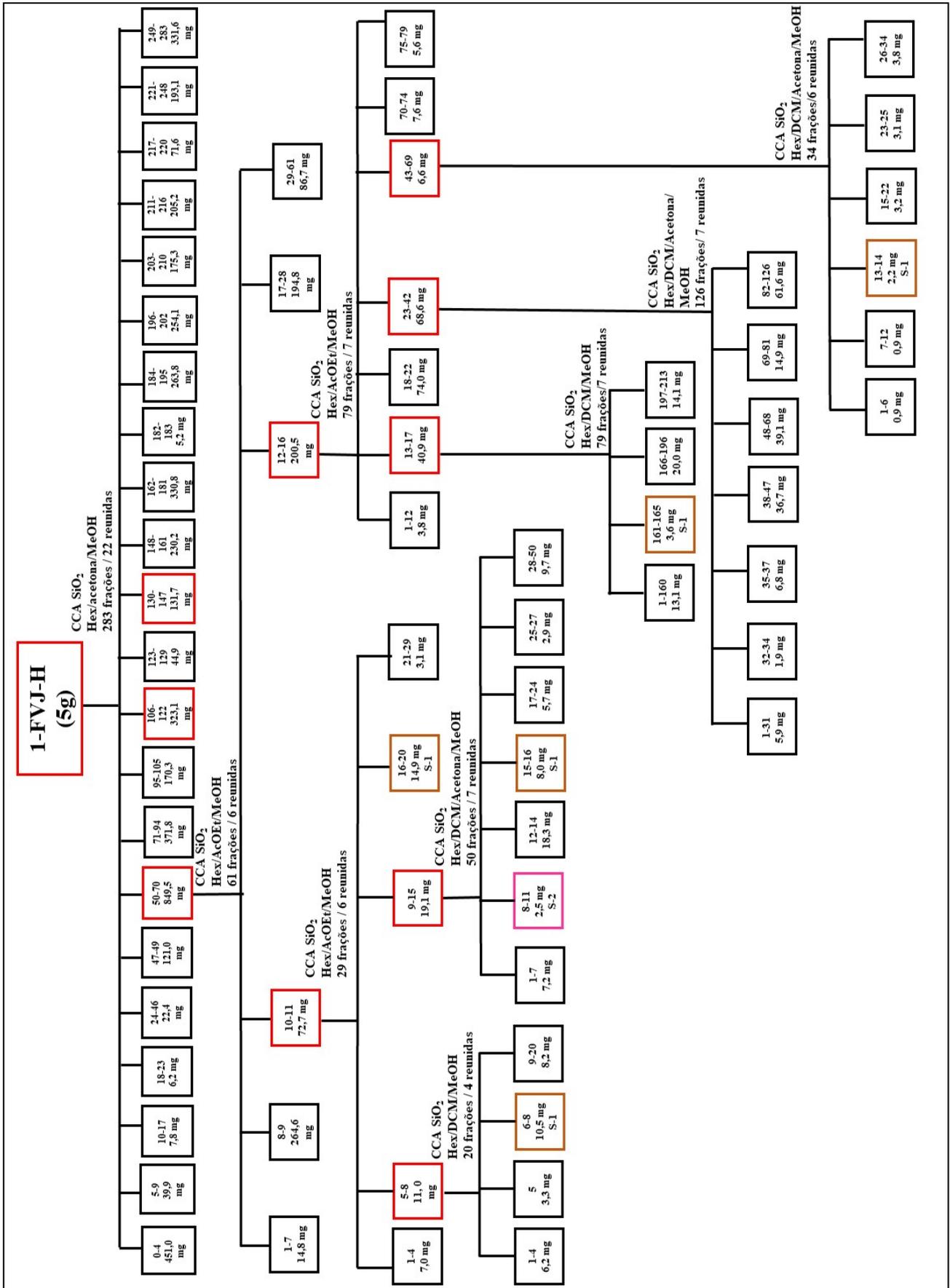


Figura 25: Figura: CCDC da fração 16.

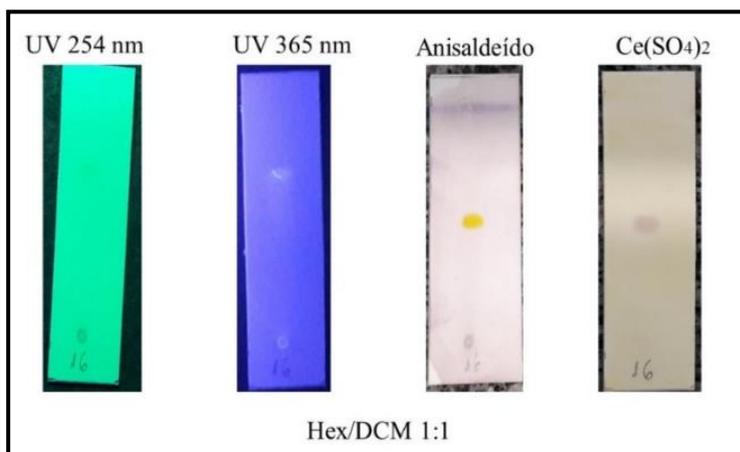


Figura 26: CCDC da fração 8 – 11

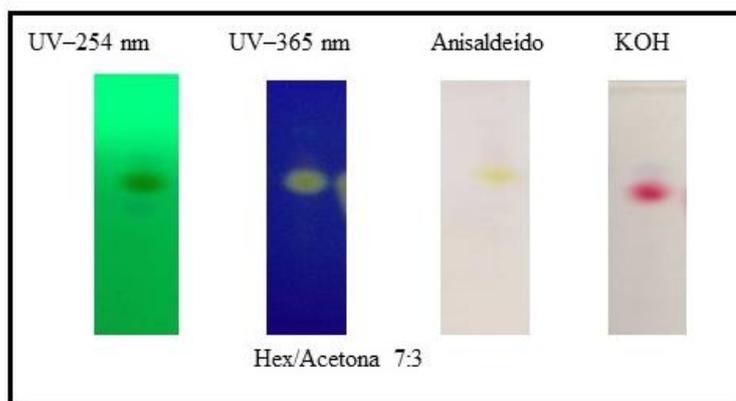


Tabela 2: Dados do fracionamento da fração 50-70

Fração: 50-70 (coluna aberta)	
Massa da amostra: 849,5 mg	h x ϕ da coluna: 35,0 x 2,0 cm
Massa da sílica: 40,0 g	volume de eluente utilizado: 100,0 mL
Sistemas de eluição	Frações coletadas
hexano 100%	0-1
hexano/acetato de etila 98:2	2-6
hexano/acetato de etila 95:5	7-17
hexano/acetato de etila 90:10	18-25
hexano/acetato de etila 80:20	26-33
hexano/acetato de etila 70:30	34-38
hexano/acetato de etila 60:40	39-42
acetato de etila 100 %	43-48
metanol 100%	49-51

Tabela 3: Dados do fracionamento da fração 10-11

Fração: 50-70.10-11 (coluna aberta)	
Massa da amostra: 72,1 mg	h x ϕ da coluna: 30 x 1,0 cm
Massa da sílica: 14,0 g	volume de eluente utilizado: 100,0 mL
Sistemas de eluição	Frações coletadas
hexano/acetato de etila 95:5	1-16
hexano/acetato de etila 90:10	17-21
hexano/acetato de etila 80:20	22-23
hexano/acetato de etila 70:30	24-25
hexano/acetato de etila 1:1	26-29

Tabela 4: Dados do fracionamento da fração 5-8

Fração: 50-70.10-11.5-8 (coluna aberta)	
Massa da amostra: 8,9 mg	h x ϕ da coluna: 12,0 x 0,5 cm
Massa da sílica: 1,0 g	volume de eluente utilizado: 20,0 mL
Sistemas de eluição	Frações coletadas
hexano/diclorometano 6:4	1-8
hexano/diclorometano 1:1	9-12
diclorometano 100%	13-17
diclorometano/metanol 9:1	18-19
Metanol 100%	20

Tabela 5: Dados do fracionamento da fração 9-15

Fração: 50-70.10-11.9-15 (coluna aberta)	
Massa da amostra: 19,1 mg	h x ϕ da coluna: 19,0 x 0,5 cm
Massa da sílica: 2,0 g	volume de eluente utilizado: 20,0 mL
Sistemas de eluição	Frações coletadas
hex/diclorometano 7:3	1-10
hex/diclorometano 6:4	11-15
hex/diclorometano 1:1	16-19

Continuação da Tabela 8

diclorometano 100%	20-21
diclorometano/acetona 9:1	22-27
diclorometano/acetona 8:2	28-31
diclorometano/acetona 7:3	32-35
diclorometano/acetona 6:4	36-39
diclorometano/acetona 1:1	40-47
metanol 100%	48-50

Tabela 6: Dados do fracionamento da fração 12-16

Fração: 50-70.12-16 (coluna aberta)

Massa da amostra: 200,5 mg

h x ϕ da coluna: 40 x 1,5 cm

Massa da sílica: 20,05 g

volume de eluente utilizado: 100,0 mL

Sistemas de eluição	Frações coletadas
Hexano 100%	1-7
Hexano/acetato de etila 95:05	8-32
Hexano/acetato de etila 90:10	33-45
Hexano/acetato de etila 85:15	46-53
Hexano/acetato de etila 70:30	54-61
Hexano/acetato de etila 1:1	62 – 65
Acetato de etila 100 %	66
Acetato de etila/metanol 9:1	67-69

Tabela 7: Dados do fracionamento da fração 13-17

Fração: 50-70.12-16.13-17 (coluna aberta)

Massa da amostra: 40,9 mg

h x ϕ da coluna: 11,5 x 1,5 cm

Massa da sílica: 6 g

volume de eluente utilizado: 15,0 mL

Sistemas de eluição	Frações coletadas
Hexano 100%	1-85
Hexano/diclorometano 99:1	86-107
Hexano/diclorometano 98:2	108-130
Hexano/diclorometano 97:3	131-146

Continuação da tabela 10

Hexano/diclorometano 95:5	147-164
Hexano/diclorometano 9:1	165-171
Hexano/ diclorometano 8:2	172-177
Hexano/diclorometano 7:3	178-186
Hexano/diclorometano 6:4	187-193
Hexano/diclorometano 1:1	194-199
Diclorometano 100%	200-204
Diclorometano/metanol 9:1	205-211
Metanol 100%	212-213

Tabela 8: Dados do fracionamento da fração 23-42

Fração: 50-70.12-16.23-42 (coluna aberta)

Massa da amostra: 68,6 mg

h x ϕ da coluna: 30 x 1,5 cm

Massa da sílica: 6,86 g

volume de eluente utilizado: 60,0 mL

Sistemas de eluição	Frações coletadas
Hexano/diclorometano 99:1	1-10
Hexano/diclorometano 98:2	11-15
Hexano/diclorometano 96:4	16-24
Hexano/diclorometano 9:1	25-32
Hexano/diclorometano 9:1	33-42
Hexano/diclorometano 8:2	43-51
Hexano/diclorometano 7:3	52-59
Hexano/diclorometano 6:4	60-66
Hexano/diclorometano 1:1	67-76
Hexano/diclorometano 4:6	77-86
Hexano/diclorometano 3:7	87-93
Hexano/diclorometano 2:8	94-100
Hexano/diclorometano 1:9	101-104
Diclorometano 100%	105-110
Diclorometano/acetona 9:1	111-118
Diclorometano/acetona 7:3	119-123
Metanol 100%	124-126

Tabela 9: Dados do fracionamento da fração 43-69

Fração: 50-70.12-16.43-69 (coluna aberta)	
Massa da amostra: 6,6 mg	h x ϕ da coluna: 10 x 0,5 cm
Massa da sílica: 2 g	volume de eluente utilizado: 10,0 mL
Sistemas de eluição	Frações coletadas
Hexano/diclorometano 90:10	1-4
Hexano/diclorometano 85:15	5-10
Hexano/diclorometano 80:20	11-15
Hexano/diclorometano 70:30	16-17
Hexano/diclorometano 60:40	18-22
Diclorometano 100%	23-26
Diclorometano/acetona 9:1	27-32
Acetona 100%	33
Metanol 100%	34

4.5.1.2 Fracionamento da fração 106-122

A fração 106-122 (323,1 mg) (Figura 35) foi submetida a cromatografia em sílica gel e eluída com os solventes Hex/DCM e acetona em diferente gradiente. Obteve-se a fração 58-63C que apresentou um precipitado cristalino e branco, esta então foi lavada com acetona e foi denominada de substância III (S-3) (Figura 36), e a fração 47-66 (34,4 mg) que foi fracionada, utilizando cromatografia em coluna de sílica gel e eluída com os solventes Hex, DCM e MeOH em diferentes gradientes, resultando na subfração 39-40 (14,9 mg) que foi comparada com a fração 58-63C por RMN de ^1H e verificou-se que as mesmas também resultaram na substância III.

Todos os dados dos fracionamentos sucessivos da fração 106-122 estão descritos nas tabelas 13 e 14.

Figura 27: Fluxograma dos fracionamentos da fração 106-122

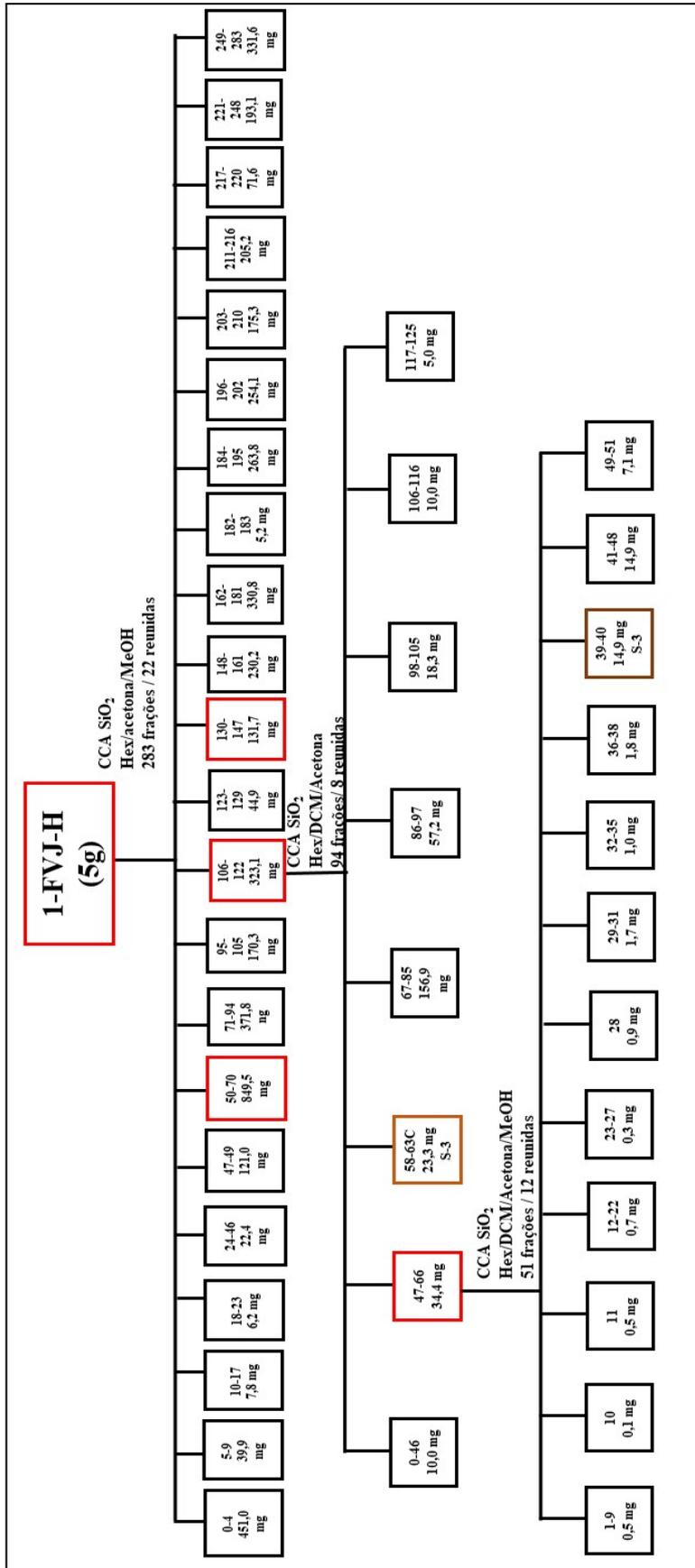


Figura 28: CCDC da fração 58-63C

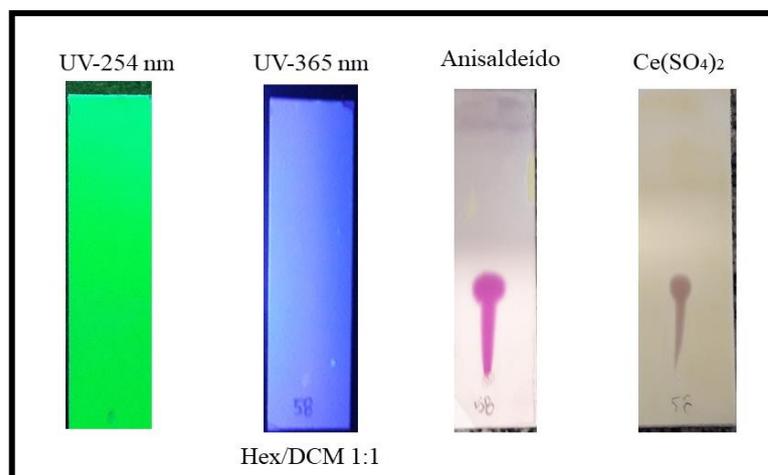


Tabela 10: Dados do fracionamento da fração 106-122

Fração: 106-122 (coluna aberta)

Massa da amostra: 323,1 mg

h x ϕ da coluna: 45 x 2,0 cm

Massa da sílica: 32,41 g

volume de eluente utilizado: 200,0 mL

Sistemas de eluição	Frações coletadas
Hexano/diclorometano 95:5	1-6
Hexano/diclorometano 90:10	7-21
Hexano/diclorometano 85:15	22-30
Hexano/diclorometano 80:20	31-39
Hexano/diclorometano 7:3	40-45
Hexano/diclorometano 6:4	46-53
Hexano/diclorometano 1:1	54-61
Hexano/diclorometano 4:6	62-69
Hexano/diclorometano 2:8	70-77
Diclorometano 100%	78-89
Diclorometano/acetona 9:1	90-102
Diclorometano/acetona 8:2	103-113
Acetona 100%	114-122

Tabela 11: Dados do fracionamento da fração 47-66

Fração: 106-122.47-66 (coluna aberta)	
Massa da amostra: 34,4 mg	h x ϕ da coluna: 7,0 x 1,0 cm
Massa da sílica: 8 g	volume de eluente utilizado: 20,0 mL
Sistemas de eluição	Frações coletadas
Hexano 100%	1-13
Hexano/diclorometano 98:2	14-24
Hexano/diclorometano 96:4	25-35
Hexano/diclorometano 9:1	36-37
Hexano/diclorometano 8:2	38-39
Hexano/diclorometano 7:3	40-41
Hexano/diclorometano 6:4	43-44
Hexano/diclorometano 1:1	45-46
Diclorometano 100%	47-48
Diclorometano/metanol 1:1	49
Metanol 100%	50-51

4.5.1.3 Fracionamento da fração 130-147

A fração 130-147 (131,7 mg) (Figura 38), foi submetida à cromatografia em coluna aberta de sílica gel, e eluída com HEX, DCM e MeOH em diferentes gradientes, obtendo-se a fração 7-16 (98 mg) que foi submetida a cromatografia em coluna de sílica gel e eluída com misturas dos solventes HEX, DCM e MeOH, obteve-se a subfração 9-11 (1,6 mg) (Figura 37), essa foi comparada com a subfração 58-63C por RMN de ^1H e verificou-se que a mesma também resultou na substância denominada III.

Todos os dados dos fracionamentos sucessivos da fração 130-147 estão descritos nas tabelas 15 a 17.

Figura 29: Fluxograma dos fracionamentos da fração 130-147

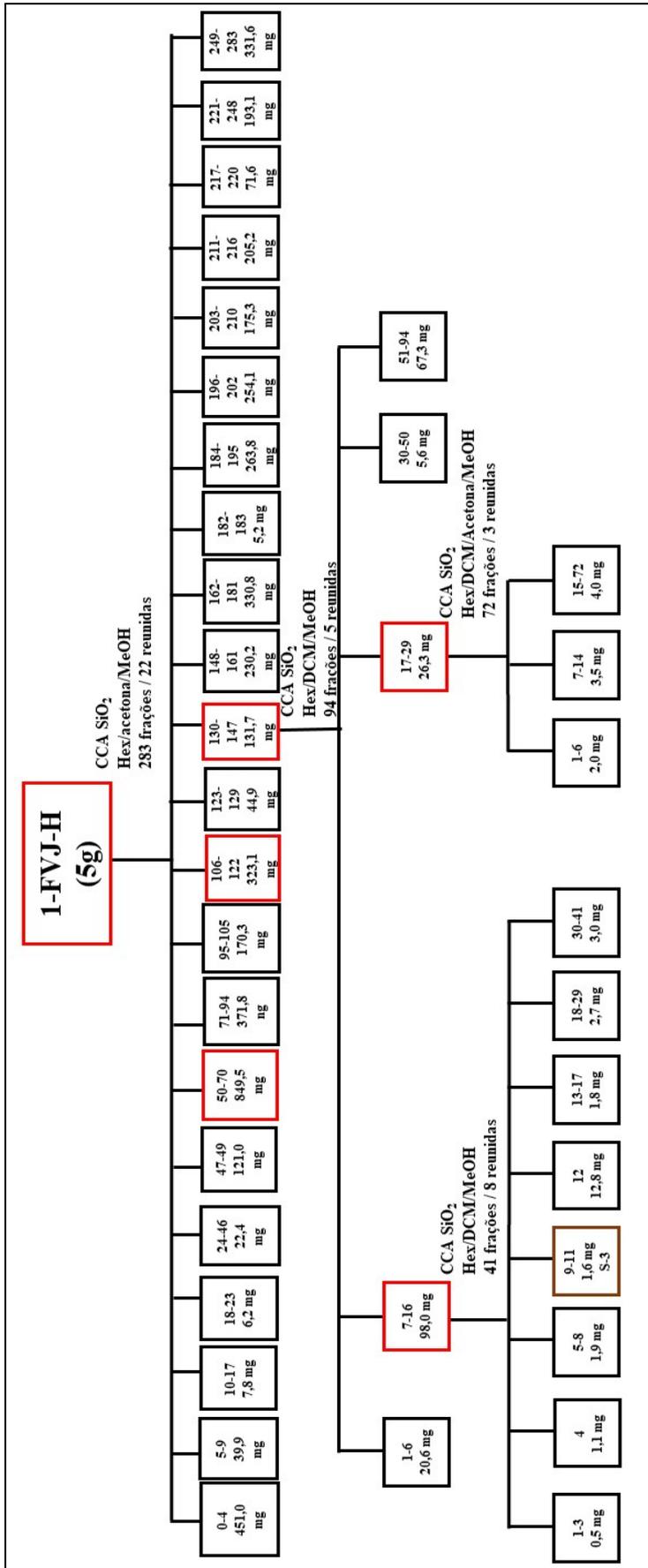


Figura 30: CCDC da Fração 9-11

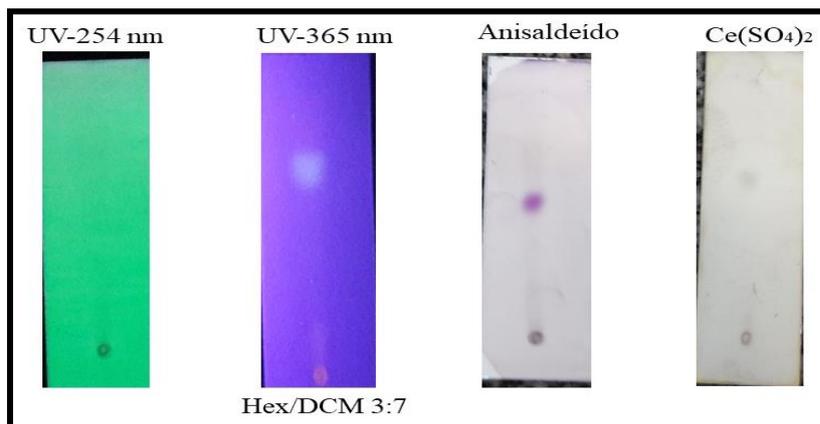


Tabela 12: Dados do fracionamento da fração 130-147

Fração: 130-147 (coluna aberta)

Massa da amostra: 131,7 mg

h x ϕ da coluna: 25 x 1,5 cm

Massa da sílica: 13,17 g

volume de eluente utilizado: 100,0 mL

Sistemas de eluição	Frações coletadas
Hexano/diclorometano 7:3	1-7
Hexano/diclorometano 6:4	8-13
Hexano/diclorometano 1:1	14-19
Hexano/diclorometano 4:6	20-30
Hexano/diclorometano 3:7	31-47
Hexano/diclorometano 2:8	48-55
Hexano/diclorometano 1:9	56-63
Diclorometano 100%	64-70
Diclorometano/metanol 9:1	71-78
Diclorometano/metanol 8:2	79-84
Diclorometano/metanol 7:3	85-90
Diclorometano/metanol 6:4	91-94

Tabela 13: Dados do fracionamento da fração 7-16

Fração: 130-147. 7-16 (coluna aberta)	
Massa da amostra: 98 mg	h x ϕ da coluna: 17,0 x 5 cm
Massa da sílica: 2 g	volume de eluente utilizado: 20,0 mL
Sistemas de eluição	Frações coletadas
Hexano/diclorometano 6:4	1-15
Hexano/diclorometano 1:1	16-19
Hexano/diclorometano 4:6	20-22
Hexano/diclorometano 3:7	23-25
Hexano/diclorometano 2:8	26-31
Hexano/diclorometano 1:9	32-34
Diclorometano 100%	35-37
Diclorometano/metanol 1:1	38-40
Metanol 100%	41

Tabela 14: Dados do fracionamento da fração 17-29

Fração: 130-147. 17-29 (coluna aberta)	
Massa da amostra: 20,6 mg	h x ϕ da coluna: 9,0 x 1,5 cm
Massa da sílica: 4,0 g	volume de eluente utilizado: 20,0 mL
Sistemas de eluição	Frações coletadas
Hexano/diclorometano 1:1	1-8
Hexano/diclorometano 4:6	9-15
Hexano/diclorometano 3:7	16-21
Hexano/diclorometano 2:8	22-27
Hexano/diclorometano 1:9	28-32
Diclorometano 100%	33-38
Diclorometano/acetona 9:1	39-46
Diclorometano/acetona 8:2	47-52
Diclorometano/acetona 7:3	53-56
Diclorometano/acetona 6:4	57-61
Diclorometano/acetona 1:1	62-66
Acetona 100%	67-69
Acetona/metanol 1:1	70
Metanol 100%	71-72

4.5.2 Fracionamento do extrato hexânico das folhas de *V. japurensis* da segunda coleta

O extrato hexânico da segunda coleta (2FVJ-H) (5 g) foi fracionado em CCA (h x Ø = 50 x 3,0 cm) utilizando sílica gel (270 g) como fase estacionária e eluída com misturas dos solventes, hexano, acetona e metanol, utilizando um volume de 1000 mL para cada mistura de gradiente (Tabela 18).

Após análises em CCDC as frações que apresentaram semelhança foram reunidas, resultando em 14 frações. Destas, três frações (30-31, 27-29, 43-48) foram escolhidas para continuar o fracionamento, por apresentarem características químicas interessantes.

Tabela 15: Dados do fracionamento 2FVJ-H do extrato hexânico das folhas de *Vismia japurensis*.

Fração: 2-FVJ-H	
Massa da amostra: 5 g	h x Ø da coluna: 50 x 3,5 cm
Massa da sílica: 270 g	volume de eluente utilizado: 1000 mL
Sistemas de eluição	Frações coletadas
hexano/acetona 99:1	1-21
hexano/acetona 98:2	22-36
hexano/acetona 7:3	37-51
hexano/acetona 6:4	52-61
hexano/acetona 1:1	62-71
acetona 100%	72-79
acetona/metanol 9:1	80-89
Acetona/metanol 8:2	90-100
metanol 100%	101-111

4.5.2.1 Fracionamento da fração 30-31

A fração 30-31 (63,4 mg) (Figura 40) foi fracionada em Florisil e eluída com Hex, DCM e MeOH em diferentes gradientes, resultando nas frações 8-15 (18,1 mg) que foi lavada com MeOH, resultando denominada de substância V (S-5) e nas frações 51-88 e 16-50. A

fração 51-88 (8,0 mg) foi submetida a uma cromatografia em camada delgada preparativa e eluída com Hex/DCM 7:3 resultando na fração 3 (1,4 mg) (Figura 39) que foi denominada de substância IV (S-4). A fração 16-50 (24,4 mg) foi submetida a cromatografia em coluna de sílica gel e eluída com misturas dos solventes Hex, AcOEt e MeOH em diferentes gradientes, obtendo-se as frações 9- 16 (13,5 mg) e a fração 17-22 (2,8 mg) ambas foram submetida a uma cromatografia em camada delgada preparativa resultando nas frações 4 (2,0 mg) e 6 (2,4 mg) que foram comparadas com a subfração 3 por RMN de ^1H e verificou-se que as mesmas também resultaram na substância IV.

Todos os dados dos fracionamentos sucessivos da fração 30-31 estão descritos nas tabelas 19 a 23

Figura 31: CCDC da fração 3

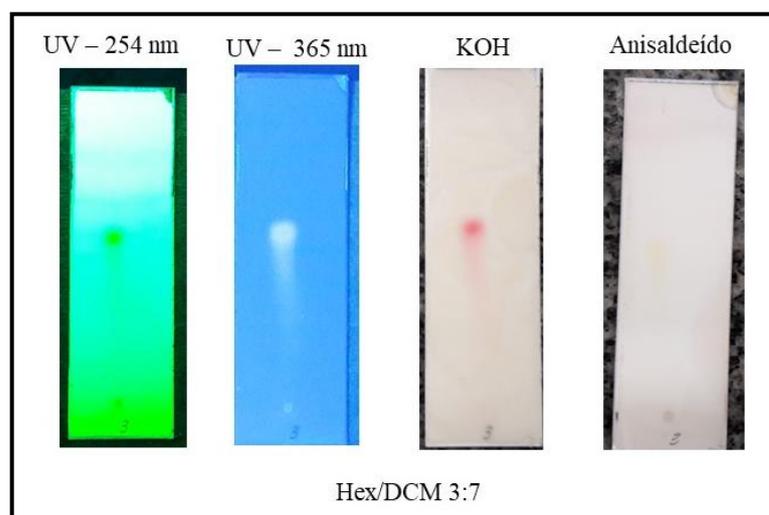


Figura 32: Fluxograma dos fracionamentos da fração 30-31

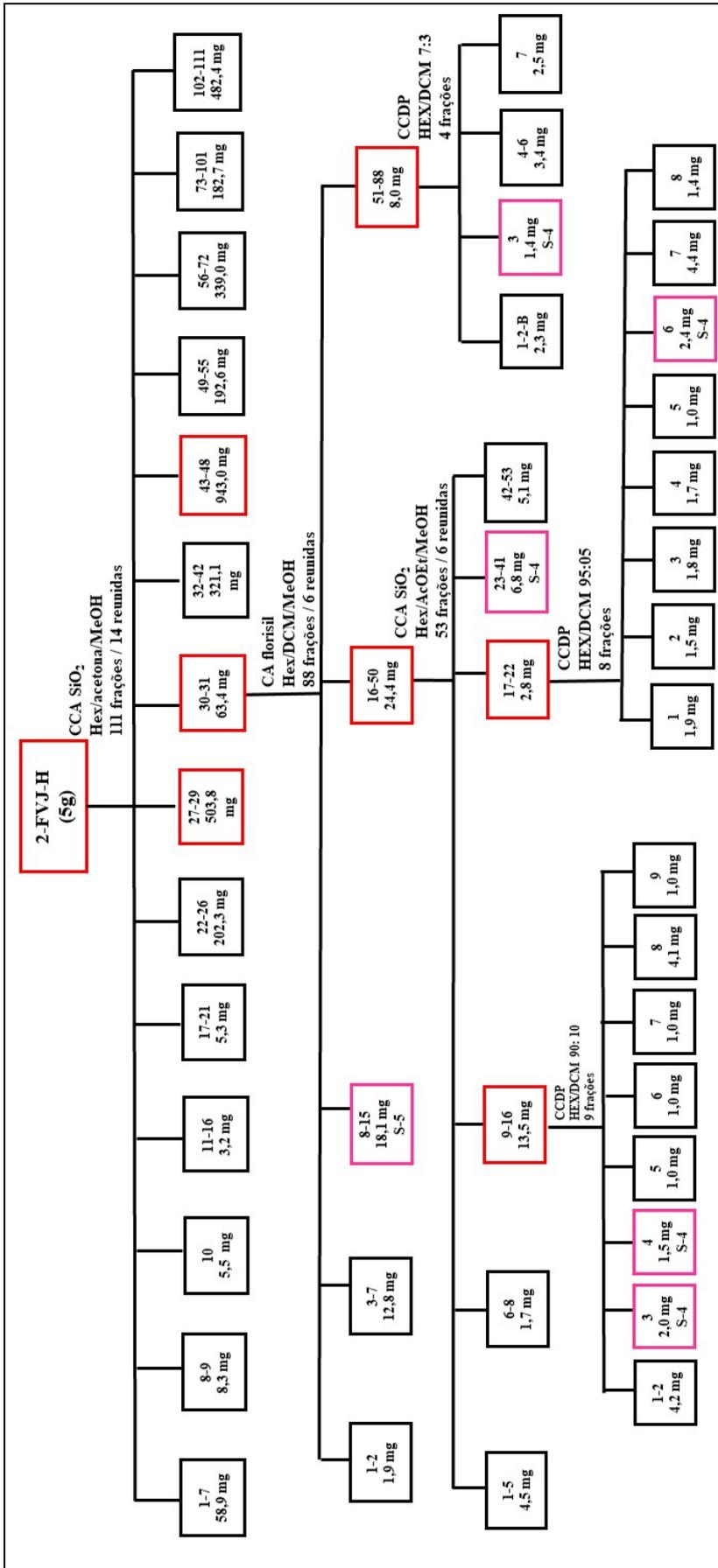


Tabela 16: Dados do fracionamento da fração 30-31

Fração: 30-31 (coluna aberta)	
Massa da amostra: 63,4 mg	h x ϕ da coluna: 7,0 x 1,5 cm
Massa da sílica: 4,61 g	volume de eluente utilizado: 40 mL
Sistemas de eluição	Frações coletadas
Hexano/diclorometano 8:2	1-8
Hexano/diclorometano 75:25	9-13
Hexano/diclorometano 70:20	14-19
Hexano/diclorometano 65:35	20-25
Hexano/diclorometano 60:40	26-31
Hexano/diclorometano 1:1	32-37
Hexano/diclorometano 4:6	38-43
Hexano/diclorometano 3:7	44-49
Hexano/diclorometano 2:8	50-56
Hexano/diclorometano 1:9	57-61
Diclorometano 100%	62-69
Diclorometano/metanol 9:1	70-75
Diclorometano/metanol 8:2	76-82
Metanol 100%	83-89

Tabela 17: Dados do fracionamento da fração 51-88

Fração: 30-31.51-88 (cromatografia em camada delgada preparativa)	
Massa da amostra: 8 mg	
Placa de sílica 20 x 20 cm	
Sistemas de eluição	Frações coletadas
Hexano/diclorometano 7:3 eluída 3 vezes	1-7

Tabela 18: Dados do fracionamento da fração 16-50

Fração: 30-31. 16-50 (coluna aberta)	
Massa da amostra: 12,50 mg	h x ϕ da coluna: 5,0 x 0,5 cm
Massa da sílica: 1,25 g	volume de eluente utilizado: 20 mL
Sistemas de eluição	Frações coletadas
Hexano/acetato de etila 98:2	1-4

Continuação da tabela 21

Hexano/acetato de etila 96:4	5-8
Hexano/acetato de etila 95:5	9-12
Hexano/acetato de etila 90:10	13-16
Hexano/acetato de etila 80:20	17-20
Hexano/acetato de etila 70:30	21-24
Hexano/acetato de etila 60:40	25-28
Hexano/acetato de etila 1:1	29-32
Acetato de etila 100%	33-36
Acetato de etila/metanol 8:2	37-40
Acetato de etila/ metanol 6:4	41-44
Acetato de etila/metanol 1:1	45-48
Metanol 100%	49-53

Tabela 19: Dados do fracionamento da fração 9-16

Fração: 30-31.16-50.9-16 (cromatografia em camada delgada preparativa)

Massa da amostra: 3,5 mg

Placa de sílica 20 x 20 cm

Sistemas de eluição	Frações coletadas
Hexano/diclorometano 95:5 eluída 6 vezes	1-9

Tabela 20: Dados do fracionamento da fração 17-22

Fração: 30-31.16-50.17-22 (cromatografia em camada delgada preparativa)

Massa da amostra: 2,8 mg

Placa de sílica 20 x 20 cm

Sistemas de eluição	Frações coletadas
Hexano/diclorometano 95:5 eluída 6 vezes	1-8

4.5.2.2 Fracionamento da fração 27-29

A fração 27-29 (503,8 mg) foi fracionada em sílica gel (Figura 43) e eluída com Hex, DCM e MeOH em diferentes gradientes, resultando na fração 19 (13,1 mg) (Figura 41), que após análises por ressonância magnética nuclear de ^1H foi possível verificar que se tratava da mistura das substâncias denominadas I e V. A fração 28-42 (14,0 mg) que foi submetida a uma cromatografia em camada delgada preparativa e eluída com Hex/Acetona 98:2 resultando na fração 7 (1,0 mg) (Figura 42) que foi denominada de substância IV (S-4) após comparação com a subfração 3 obtidas de fracionamentos da fração 30-31.

Todos os dados dos fracionamentos sucessivos da fração 27-29 estão descritos nas tabelas 24 e 25.

Figura 33: CCDC da fração 19

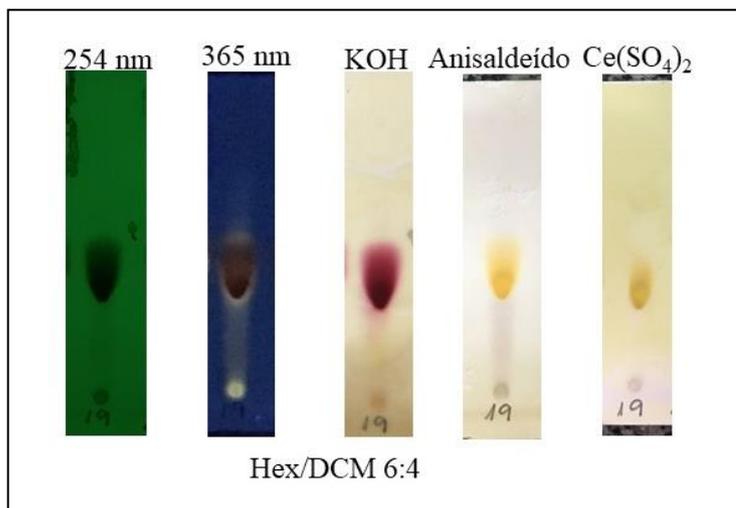


Figura 34: CCDC da fração 7

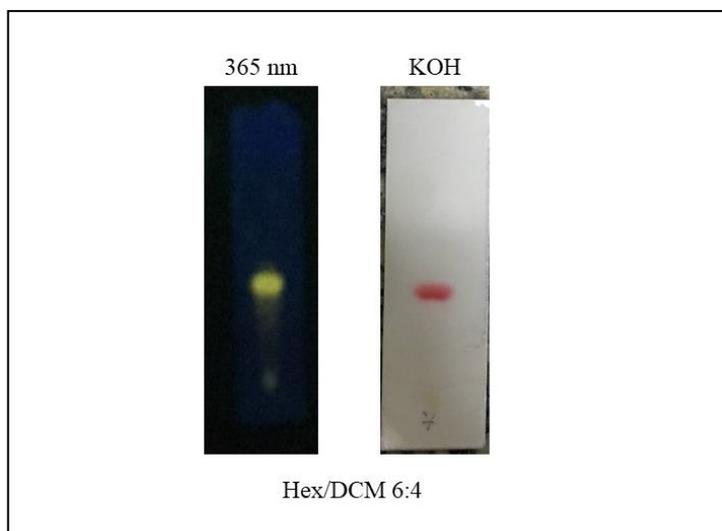


Figura 35: Fluxograma dos fracionamentos da fração 27-29

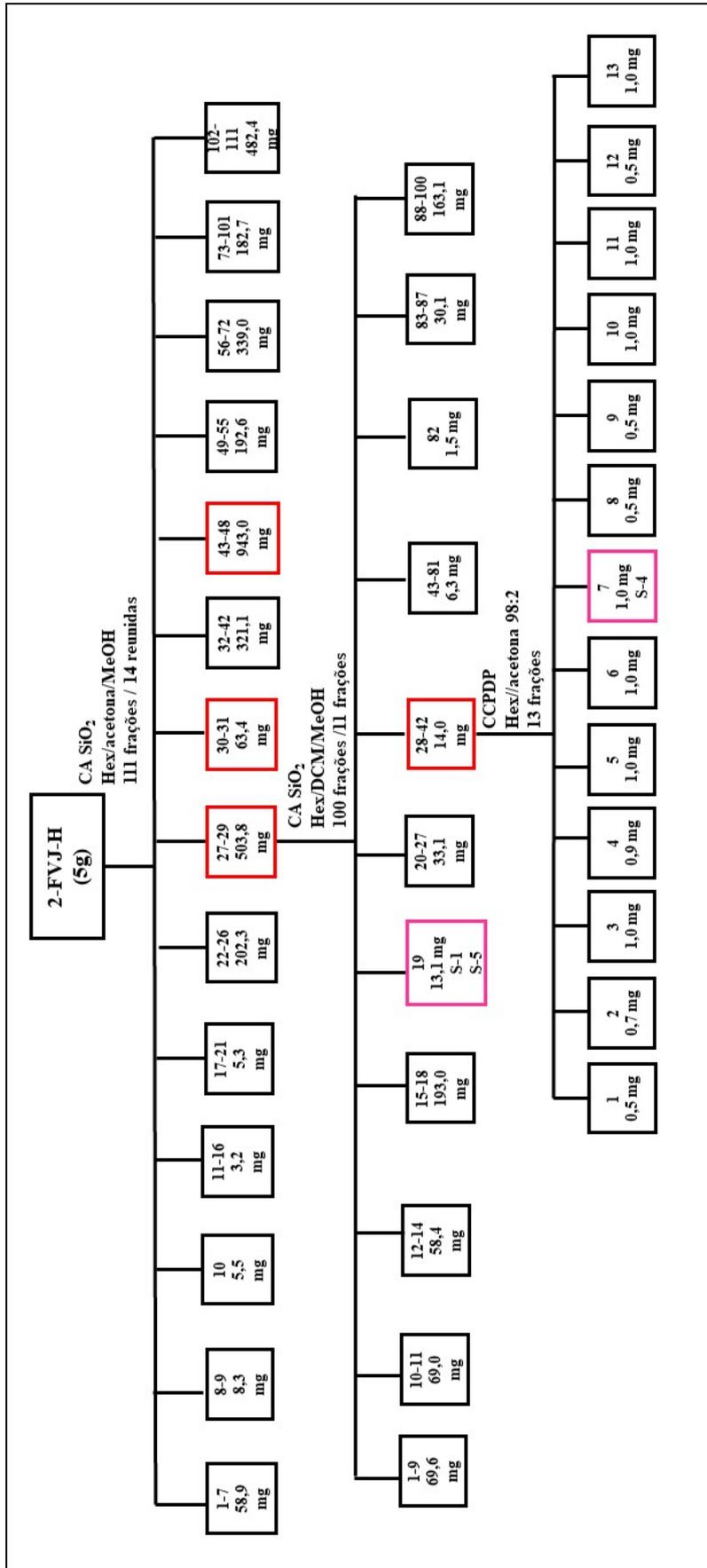


Tabela 21: Dados do fracionamento da fração 27-29

Fração: 27-29 (coluna aberta)	
Massa da amostra: 503,8 mg	h x ϕ da coluna: 25 x 1,5 cm
Massa da sílica: 50 g	volume de eluente utilizado: 300 mL
Sistemas de eluição	Frações coletadas
Hexano 100%	1-11
Hexano/diclorometano 95:5	12-22
Hexano/diclorometano 9:1	23-26
Hexano/diclorometano 8:2	27-37
Hexano/diclorometano 7:3	38-46
Hexano/diclorometano 6:4	47-58
Hexano/diclorometano 1:1	59-63
Diclorometano 100%	64-75
Diclorometano/metanol 9:1	76-83
Diclorometano/metanol 8:2	84-90
Diclorometano/metanol 1:1	91-94
Metanol 100%	95-100

Tabela 22: Dados do fracionamento da fração 28-42

Fração: 27-29.28-42 (cromatografia em camada delgada preparativa)	
Massa da amostra: 14,0 mg	
Placa de sílica 20 x 20 cm	
Sistemas de eluição	Frações
Hexano/acetona 98:2 eluída 3 vezes	1-13

4.5.2.3 Fracionamento da fração 43-48

A fração 43-48 (943,0 mg), foi submetida à cromatografia em coluna de sílica gel (Figura 46), e eluída com Hex, DCM e MeOH em diferentes gradientes, fornecendo a fração 10-27 (40,0 mg), que foi submetida a cromatografia em coluna de sílica gel e eluída com misturas dos solventes Hex, DCM e MeOH em diferentes gradientes, obtendo-se as frações

38-43 (7,8 mg) (Figura 44), que após análises por ressonância magnética nuclear de ^1H foi possível verificar que se tratava da mistura das substâncias denominadas I e V. A fração 28-60 (217,0 mg) foi fracionada utilizando cromatografia em coluna de sílica gel e eluída com os solventes Hex, DCM e MeOH em diferentes gradientes, resultando na fração 36 (2,0 mg) (Figura 45) e 37-40 (5,0 mg) que também foram denominadas de substância V após comparação com a fração 8-15 obtida do fracionamento da fração 30-31.

Todos os dados dos fracionamentos sucessivos da fração 43-48 estão descritos nas tabelas 26 a 28.

Figura 36: CCDC da fração 38-43

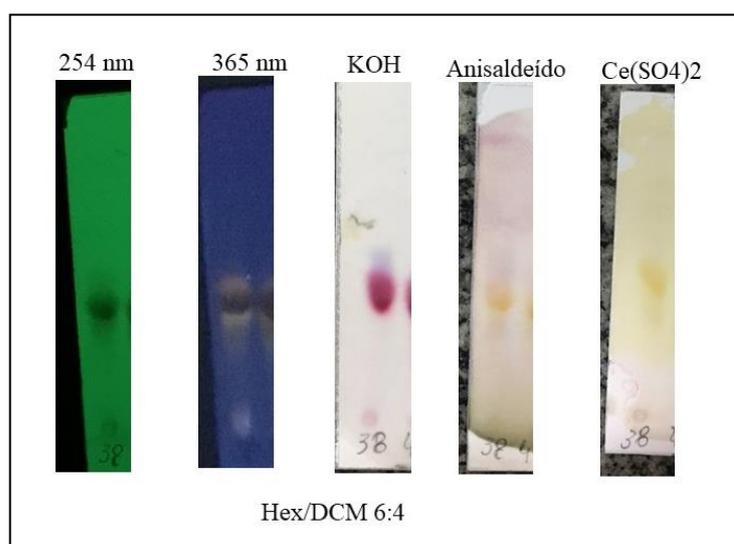


Figura 37: CCDC da fração 36

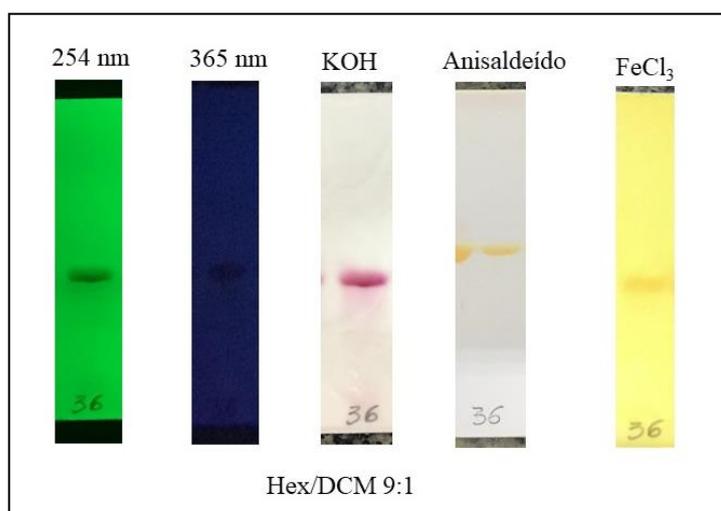


Figura 38: fluxograma dos fracionamentos da fração 43-48

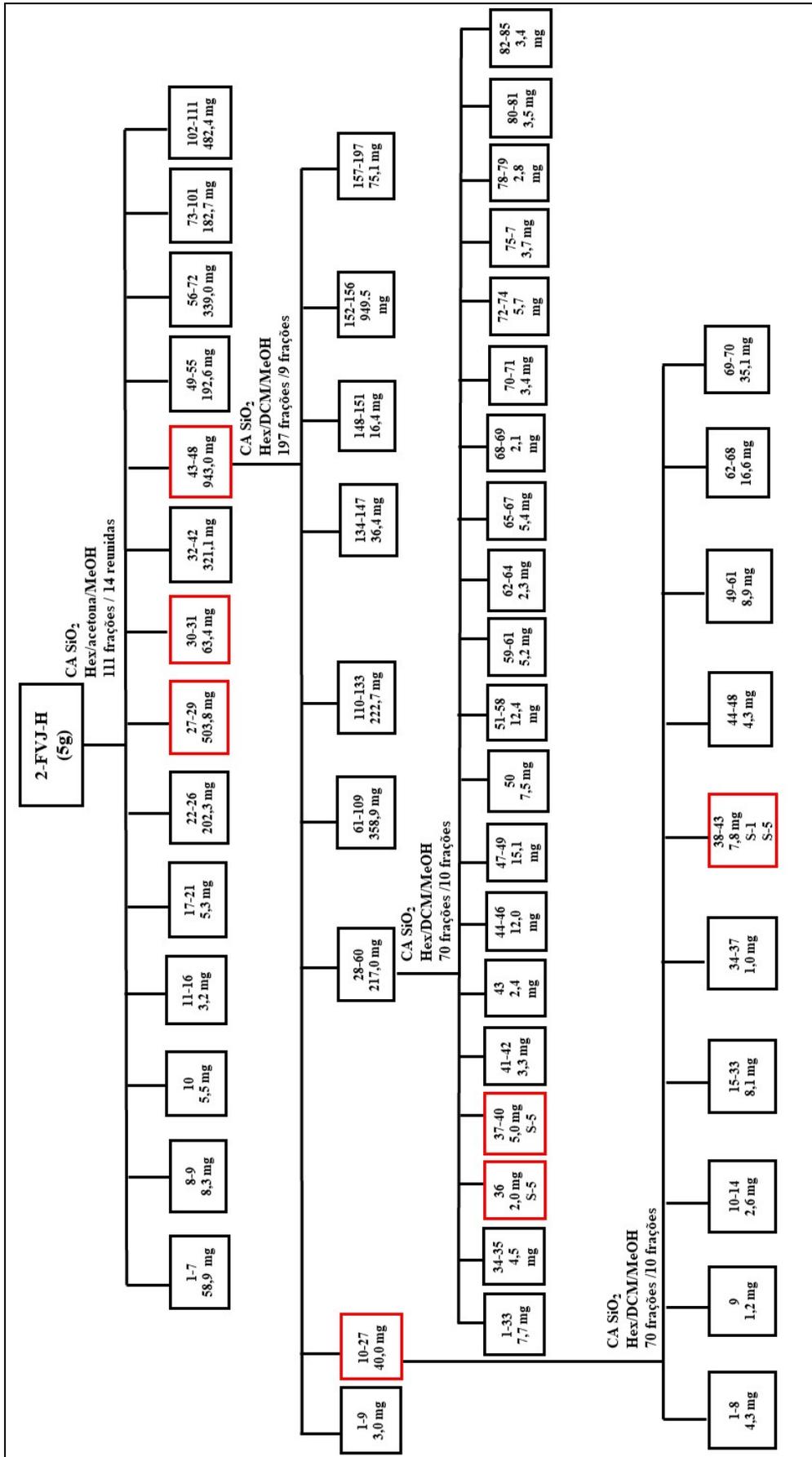


Tabela 23: Dados do fracionamento da fração 43-48

Fração: 43-48 (coluna aberta)	
Massa da amostra: 943,0 mg	h x ϕ da coluna: 38,0 x 3,0cm
Massa da sílica: 94,3 g	volume de eluente utilizado: 400 mL
Sistemas de eluição	Frações coletadas
Hexano 100%	1-31
Hexano/diclorometano 9:1	32-48
Hexano/diclorometano 8:2	49-71
Hexano/diclorometano 7:3	72-86
Hexano/diclorometano 6:4	87-104
Hexano/diclorometano 1:1	105-123
Diclorometano 100%	124-138
Diclorometano/metanol 9:1	139-155
Diclorometano/metanol 8:2	156-177
Diclorometano/metanol 7:3	178-191
Diclorometano/metanol 6:4	192-195
Metanol 100%	196-200

Tabela 24: Dados do fracionamento da fração 10-27

Fração: 43-48.10-27 (coluna aberta)	
Massa da amostra: 40,0 mg	h x ϕ da coluna: 18 x 1,2 cm
Massa da sílica: 8 g	volume de eluente utilizado: 50 mL
Sistemas de eluição	Frações coletadas
Hexano/diclorometano 9:1	1-37
Hexano/diclorometano 8:2	38-42
Hexano/diclorometano 7:3	48-53
Hexano/diclorometano 6:4	54-61
Diclorometano 100%	62-66
Diclorometano/metanol 8:2	67
Metanol 100%	68

Tabela 25: Dados do fracionamento da fração 28-60

Fração: 43-48.28-60 (coluna aberta)	
Massa da amostra: 217,0 mg	h x ϕ da coluna: 31,0 x 2,0 cm
Massa da sílica: 40 g	volume de eluente utilizado: 100 mL
Sistemas de eluição	Frações coletadas
Hexano/diclorometano 9:1	1-14
Hexano/diclorometano 8:2	15-28
Hexano/diclorometano 7:3	29-41
Hexano/diclorometano 6:4	42-53
Hexano/diclorometano 1:1	54-64
Diclorometano 100%	65-75
Diclorometano/metanol 9:1	76-82
Metanol 100%	83

4.6 Isolamento dos Constituinte Químicos das folhas de *Vismia sandwithii*

O extrato escolhido para fracionamento foi o extrato hexânico das folhas (1FVS-H) (obtido no item 1.2.2), pois quando analisado por CCDC e apresentou características da presença das classes químicas antraquinonas, terpenos e flavonoides quando revelados com anisaldeído sulfúrico, sulfato cérico, KOH e NP-PEG.

Os fracionamentos realizados foram monitorados por CCDC e as placas reveladas com os reveladores físicos luz ultravioleta 254 e 365 nm e reveladores químicos anilsadeído, sulfato cérico e KOH e utilizando diferentes sistemas de eluição e reunidas quando semelhantes de acordo com os perfis cromatográficos.

As substâncias isoladas foram analisadas por Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ^1H e de ^{13}C mono e bidimensionais.

4.6.1 Fracionamento do extrato hexânico das folhas de *Vismia sandwithii*

O extrato hexânico (1-FVS-H) (6 g) das folhas de *V. sandwithii* foi submetido a um fracionamento em cromatografia em coluna aberta (CCA) (h x ϕ da coluna: 42 x 6 cm) utilizando sílica gel (250 g) como fase estacionária e eluída com misturas de solventes hexano, acetona e metanol, utilizando um volume de 1000 mL para cada mistura de gradiente (tabela 29). Foram obtidas 130 frações e após análises em CCDC as frações que apresentaram semelhança foram reunidas, resultando em 22 frações.

A partir dessas, duas foram selecionadas (5, 10) para continuar o fracionamento, por apresentarem características da presença de antraquinonas quando analisadas por CCDC e RMN de ^1H .

A fração 19 (105,6 mg) (Figura 57) foi analisada por RMN e foi possível verificar que se trata de uma mistura das substâncias denominadas substância I e IV.

Figura 39: CCDC da fração 19

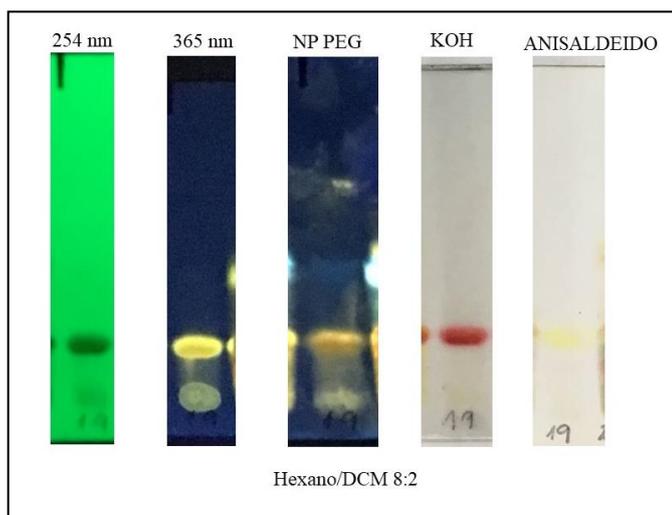


Tabela 26: Dados do fracionamento 1FVS do extrato hexânico das folhas de *Vismia sandwithii*

Fração: 1-FVS-H (coluna aberta)	
Massa da amostra: 6 g	h x ϕ da coluna: 42 x 6 cm
Massa da sílica: 250 g	volume de eluente utilizado: 1000 mL
Sistemas de eluição	Frações coletadas
hexano/acetona 98:2	1-9
hexano/acetona 96:4	10-20

Continuação da Tabela 29

hexano/acetona 94:6	21-31
hexano/acetona 92:8	32-40
hexano/acetona 9:1	41-49
hexano/acetona 85:15	50-60
hexano/acetona 70:30	61-69
hexano/acetona 60:40	70-79
hexano/acetona 1:1	80-90
acetona 100%	91-100
acetona/metanol 9:1	101-110
acetona/metanol 8:2	111-119
metanol 100%	120-130

4.6.1.2 Fracionamento da fração 5

A fração 5 (389,7 mg), foi submetida à cromatografia em coluna de sílica gel, eluída com Hex, DCM e MeOH em diferentes gradientes, obtendo-se as frações 54 (4,2 mg) (Figura 48) e 60 (3,4 mg), que foram analisadas por RMN e foi denominada de substância VI.

Todos os dados do fracionamento da fração 5 estão descritos na tabela 30.

Figura 40: CCDC da fração 54

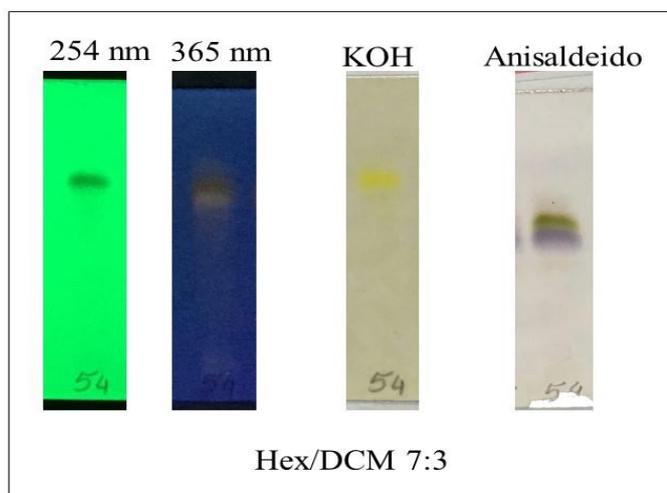


Figura 41: CCDC da fração 5-8

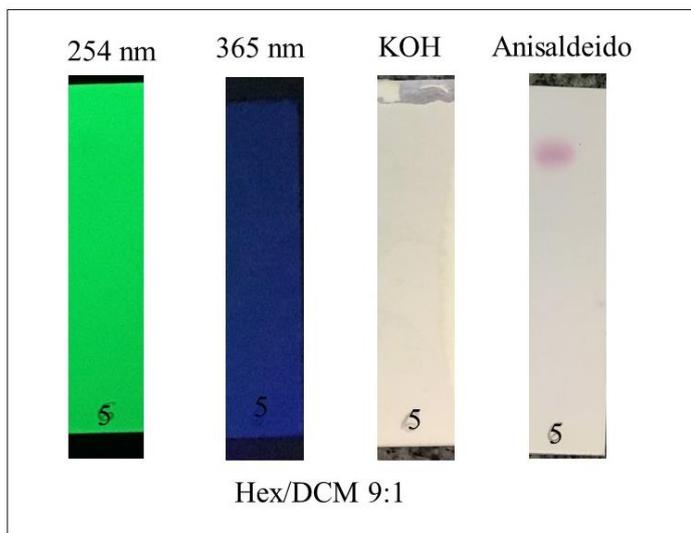
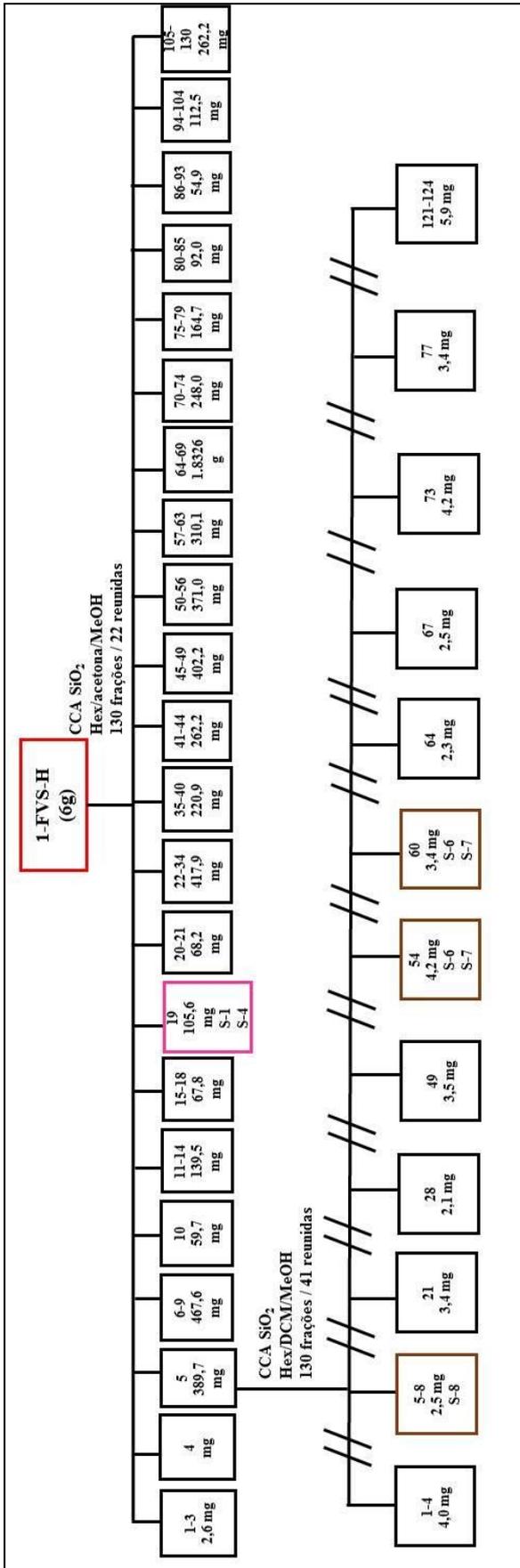


Tabela 27: Dados do fracionamento da fração 5

Fração: 5 (coluna aberta)	
Massa da amostra: 389,7 mg	h x ϕ da coluna: 33 x 2,0 cm
Massa da sílica: 38,97 g	volume de eluente utilizado: 300 mL
Sistemas de eluição	Frações coletadas
Hexano 100%	1-14
Hexano/diclorometano 95:5	15-27
Hexano/diclorometano 9:1	28-42
Hexano/diclorometano 85:15	43-58
Hexano/diclorometano 8:2	59-69
Hexano/diclorometano 7:3	70-82
Hexano/diclorometano 6:4	83-95
Hexano/diclorometano 1:1	96-104
Diclorometano 100%	105-111
Diclorometano/metanol 9:1	112-124
Metanol 100%	125

Figura 42: Fluxograma dos fracionamentos da fração 5



4.6.1.3 Fracionamento da fração 10

A fração 10 (59,2 mg) foi submetida à cromatografia em coluna de sílica gel (Figura 52), eluída com Hex, DCM e MeOH, em diferentes gradientes, obtendo-se as frações 21 (3,4 mg), 22 (1,7 mg) (Figura 51), 26 (2,3 mg) denominadas de substância I (S-1).

Todos os dados do fracionamento da fração 5 estão descritos na tabela 31.

Figura 43: CCDC da fração 22

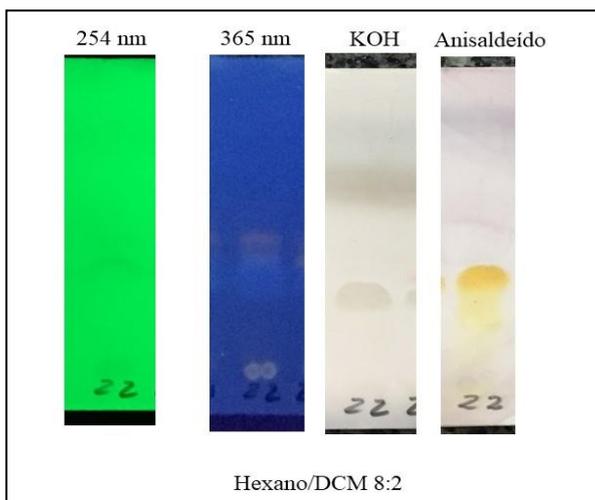


Tabela 28: Dados do fracionamento da fração 10

Fração: 10 (coluna aberta)

Massa da amostra: 59,2 mg

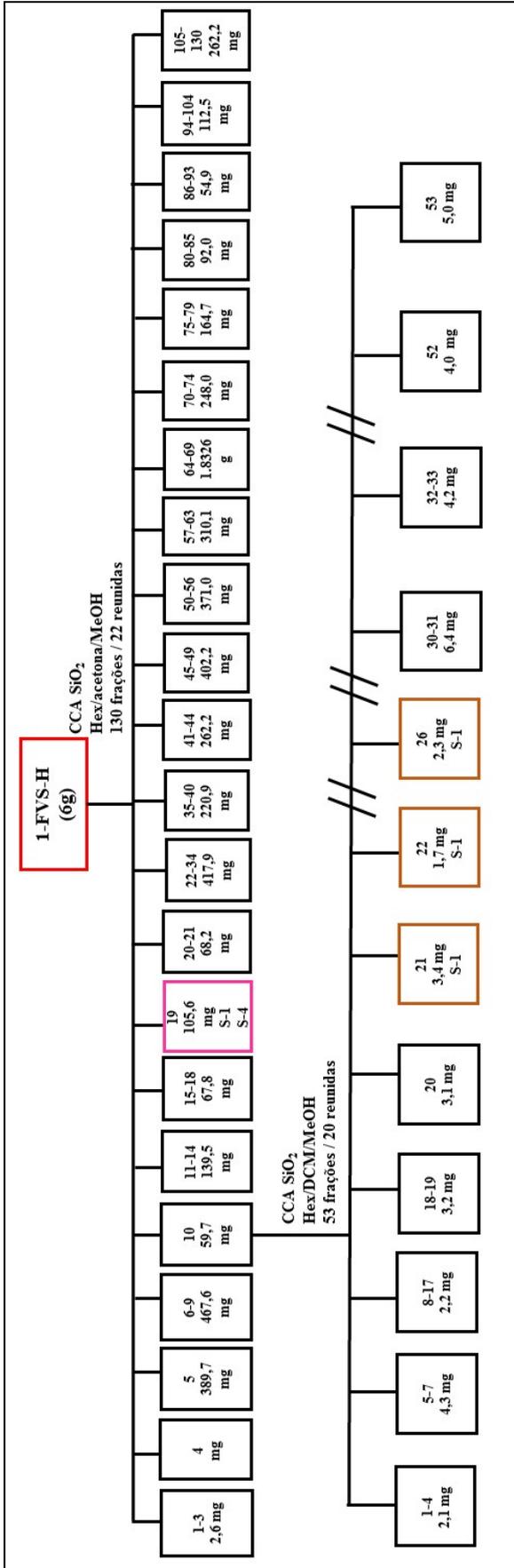
h x ϕ da coluna: 16 x 1,0 cm

Massa da sílica: 7 g

volume de eluente utilizado: 60 mL

Sistemas de eluição	Frações coletadas
Hexano 100%	1-4
Hexano/diclorometano 95:5	5-18
Hexano/diclorometano 9:1	19-23
Hexano/diclorometano 8:2	24-26
Hexano/diclorometano 7:3	27-34
Hexano/diclorometano 6:4	35-38
Hexano/diclorometano 1:1	39-42
Diclorometano 100%	43-47
Diclorometano/metanol 9:1	48-50
Metanol 100%	53

Figura 44: Fluxograma da fração 10



4.7 Avaliação das atividades química e biológicas

4.7.1 Atividade de toxicidade frente à *Artemia salina*

Conforme métodos descritos por Meyer e colaboradores (1982), foi avaliada a sensibilidade do microcrustáceo *Artemia salina*, quando na presença dos extratos ou substâncias.

Os cistos de *A. salina* (10 mg) foram eclodidos em solução salina 3,8%, em temperatura ambiente e sob iluminação com lâmpada fluorescente, durante 48 horas. Após a eclosão das larvas, em uma placa de 24 poços, foram distribuídas 10 larvas em cada poço e adicionando os extratos na de 1000 µg/mL, foi realizado em triplicata, e permanecendo sob as mesmas condições para contagem de sobrevivência das larvas após 24h. Para o controle positivo foi usado dicromato de potássio 0,1% e para o controle negativo adicionou-se DMSO 5%.

4.7.2 Avaliação da Atividade Antioxidante

A avaliação da atividade antioxidante foi realizada medindo a capacidade de sequestro de radicais livres do radical Fe^{3+} -fenantrolina e do DPPH conforme MARTINS e colaboradores (2014).

4.7.2.1 Preparação da curva do ácido ascórbico

Primeiro foi preparada uma solução mãe de ácido ascórbico com água deionizada a uma concentração de 900 mg/mL a partir da qual foram retiradas alíquotas de 800, 600, 400, 200 e 100 µL, e acrescentada a quantidade necessária de água destilada para completar 1 mL de dissolução. Preparando assim os diferentes pontos da curva de calibração: 720, 540, 360, 180 e 90 µg/mL de ácido ascórbico.

- Curva com DPPH: foi feita adicionando 990 µL de DPPH e em seguida adicionando-se 10 µL da solução de ácido ascórbico nas diferentes concentrações. Após 30 minutos realizou-se a leitura da absorbância em espectrofotômetro no comprimento de 517 nm.
- Curva em Fe^{3+} -fenantrolina: Para o procedimento com Fe^{3+} , preparou-se a solução padrão de Fe^{3+} , pesou-se 8,6341 g de sulfato férrico amoniacal ($NH_4Fe(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$),

solubilizou-se e avolumou-se para um 1 L com ácido clorídrico (HCl), para a preparação da solução de 1,10-fenantrolina 0,25% (m/v), pesam-se 0,25 g de 1,10-fenantrolina ($C_{12}H_8N_2 \cdot H_2O$) e solubiliza-se com solução tampão de acetato de sódio, completa-se o volume para 1000 mL. Foi então transferido 10 μ L da solução padrão de Fe^{3+} , 980 μ L da solução de 1,10-fenantrolina e em seguida adicionando-se 10 μ L da solução de ácido ascórbico nas diferentes concentrações. Após 1 hora realizou-se a leitura da absorvância em espectrofotômetro no comprimento de 515 nm.

Após a verificação da curva de calibração e sua linearidade, os experimentos para medir a atividade antioxidante dos extratos foram realizados.

4.7.2.2 Preparação das amostras

Para realização do teste pesaram-se 10,0 mg de cada extrato a ser analisado, as amostras foram preparadas a partir da solubilização dos extratos com o solvente, HEX ou MEOH, e então avolumadas até 10 mL com MeOH grau PA, obtendo a concentração 1mg/mL.

4.7.2.3 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH)

Para o procedimento usando o DPPH como agente oxidante. A reação iniciou-se pela adição de 990 μ L da solução de DPPH e 10 μ L de cada amostra (1 mg/mL, da solução mãe), sendo realizado em triplicata com leituras após 30 minutos, em um espectrofotômetro a um comprimento de onda de 517 nm. O controle é preparado de modo semelhante, substituindo a amostra por água deionizada.

4.7.2.4 Fe^{3+} -fenantrolina

Para o procedimento usando Fe^{3+} -fenantrolina como agente oxidante, transferiu-se 10 μ L da solução padrão de Fe^{3+} com concentração de 1000 μ g/mL para um micro-tubo. Adicionaram-se 10 μ L da amostra que foi agitada até a mistura homogeneizar. Em seguida acrescentaram-se 980 μ L da solução de fenantrolina. O branco foi preparado de modo semelhante substituindo a amostra por água deionizada. O procedimento foi realizado em

triplicata com leituras após uma hora em espectrofotômetro a um comprimento de onda de 515 nm.

4.7.3 Atividade antibacteriana

Para os ensaios antibacterianos foram utilizadas as bactérias: *Aeromonas hydrophila* IOC/FDA 110-36, *Staphylococcus aureus* ATCC 12600, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Citrobacter freundii* ATCC 8090, *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Edwardsiella tarda* ATCC 15947 e *Salmonella enterica* ATCC 13076.

As avaliações dos extratos e substâncias foram realizadas pelo método de microdiluição em caldo, segundo orientações propostas por CLSI (2012). Para a realização do ensaio, inicialmente os micro-organismos testes foram repicados em caldo Mueller – Hinton, sendo incubados durante um período de 16 a 24 horas, para a reativação.

Para a realização do ensaio, o inóculo foi previamente ajustado em espectrofotômetro, obtendo-se uma absorbância de 0,08 em 625 nm (o que equivale à escala 0,5 de McFarland), este então foi diluído 20 vezes. Assim, o volume final de bactéria aplicado em cada poço foi de aproximadamente 5×10^4 UFC.

Os extratos foram primeiramente solubilizados em DMSO a 5%, e em seguida realizadas diluições sucessivas. Em seguida foram adicionados em cada um dos poços (microplaca de 96 poços) 10 µL desta solução de inóculo de 90 µL de cada concentração dos extratos ou substâncias isoladas.

Para controle negativo foram utilizados 95 µL de caldo Mueller – Hinton contendo 5% de DMSO e 5 µL de inóculo. Para o controle positivo foram utilizados 90 µL do antibiótico oxitetraciclina na concentração de 125 µg/mL e 10 µL de inóculo.

Para a avaliação dos extratos foram utilizadas as concentrações de 1000 e 500 µg/mL, para as substâncias isoladas foram utilizadas as concentrações de 125 µg/mL, 62,5 µg/mL e 31,2 µg/mL.

Todos os testes foram realizados em triplicata. Em seguida a placa foi incubada à temperatura e tempo adequados para cada micro-organismo (30 ou 37 °C). Cada microplaca foi avaliada através da leitura espectrofotométrica em 625 nm. Os dados obtidos foram processados utilizando-se o programa estatístico Origin 8.

4.7.4 Atividade antimalárica

4.7.4.1 Cepa K1 de *P. falciparum*

A cepa multi-resistente K1 (MRA-159, MR4, ATCC Manassas Virginia) foi mantida em cultivo contínuo segundo método de Trager e Jensen (1976). Para o microteste foi utilizada uma parasitemia inicial de 1 – 2% e hematócrito de 2%.

4.7.4.2 Extratos

As amostras foram solubilizadas em DMSO na concentração estoque de 10 mg/mL, e posteriormente diluídas em meio completo para obtenção das concentrações de teste (50 e 5 µg/mL).

4.7.4.3 Teste antimalárico

O teste foi realizado como descrito por Andrade-Neto et al. (2007). As diluições das amostras foram aplicadas em poços de micro-placa contendo hemácias parasitadas. Cada concentração foi testada em triplicata. A placa foi incubada por 48 h a 37 °C. Após a incubação, o conteúdo dos poços foi avaliado mediante microscopia óptica. A inibição do crescimento dos parasitos foi determinada pela comparação com os controles de crescimento sem amostra, segundo fórmula abaixo:

$$\% \text{ inibição} = \left(\frac{\text{parasitemia do controle} - \text{parasitemia com amostra}}{\text{parasitemia do controle}} \right) \times 100$$

4.7.5 Atividade antiangiogênica

A avaliação da atividade antiangiogênica dos extratos e das substâncias puras foram realizadas de acordo com a metodologia descrita por NGUYEN, SHING e FOLMAN (1994).

Os ovos fertilizados da espécie *Gallus domesticus* foram incubados em uma incubadora automática e digital Chocmaster®, na posição horizontal, à temperatura de 37 °C e sob umidade relativa do ar de 33%.

Após 48 h de incubação (idade embrionária E2), uma pequena janela de 5 mm de diâmetro foi aberta na casca, na região onde a câmara de ar do ovo está localizada e assim, uma quantidade de cerca de 5 mL de clara foi retirada afim de evita-se a aderência dos embriões nas membranas ovulares. Concomitante, outra janela foi aberta com aproximadamente 15 mm de diâmetro na região localizada acima da membrana corioalantóica. Com uma fita adesiva e fita isolante as janelas foram fechadas para minimizar a perda de umidade.

Assim, os embriões foram incubados por mais 72 h para que alcançassem a fase embrionária de 6 dias (E6). Nesta fase, os ovos foram novamente abertos e os discos de metilcelulose adsorvidos com os extratos e substâncias isoladas, foram implantados exatamente no terço externo da membrana corioalantóica. Os ovos foram novamente fechados, e incubados por mais 48 h, até que se chegasse a idade embrionária de 8 dias (E8), quando foi então verificada a avaliação da atividade antiangiogênica.

Uma câmera fotográfica foi utilizada para registrar as imagens de cada ovo em triplicata. As imagens foram analisadas para a contagem dos vasos sanguíneos que interceptaram o disco e vasos presentes em uma área de 0,9 cm.

Os extratos foram analisados nas concentrações de 1000, 500 e 100 µg/mL, e as substâncias isoladas foram testadas nas concentrações de 50, 25 e 1 µg/mL. Os resultados foram expressos como percentual de vasos \pm desvio padrão da média.

5. Resultados e Discussão

5.1 Rendimentos dos extratos vegetais

Dos extratos obtidos, foi observado que os extratos metanólicos para as três coletas de *Vismia japurensis* (Tabela 1) foram os que apresentaram uma maior porcentagem de rendimento, destacando-se principalmente a 2ª coleta com 34,81% corroborando com os dados apresentados por Álvarez e colaboradores (2008) que obteve os maiores rendimentos para os extratos metanólicos de duas espécies de *Vismia*, sendo 30,40% para *V. guianensis* e 31,60% para *V. baccifera*, já os demais extratos de *Vismia japurensis*, hexano e aquoso, obtiveram rendimentos inferiores a 3%.

Os extratos hexânicos de *Vismia cauliflora* (Tabela 2) e *Vismia sandwithii* (Tabela 3) apresentaram rendimentos de 1,48% e 3,48%, respectivamente e podendo ser considerados bons rendimentos quando comparados aos rendimentos obtidos da *Vismia japurensis* levando em consideração que a quantidade de material vegetal utilizado para esta espécie foi superior.

Tabela 29: Rendimentos dos extratos obtidos de *Vismia japurensis*

Extratos	Material vegetal (g)	Massa extrato (g)	Rendimento (%)
1-F-VJ-Hexano	688,65	10,92	1,58
1-F-VJ-MeOH	688,65	78,69	11,42
1-F-VJ-H ₂ O	688,65	9,3	1,35
2-F-VJ-Hexano	311,11	7,9	2,5
2-F-VJ-MeOH	311,11	108,31	34,81
2-F-VJ-H ₂ O	225,6	5,0	2,21
3-F-VJ-Hexano	381,0	9,5	2,49
3-F-VJ-MeOH	381,0	55,13	14,43
3-F-VJ-H ₂ O	381,0	14,87	3,90

Tabela 30: Rendimentos dos extratos obtidos de *V. cauliflora*

Extratos	Material vegetal (g)	Massa extrato (g)	Rendimento (%)
1-F-VC-Hexano	50	0,74	1,48
1-F-VC-MeOH	50	2,71	5,42

Tabela 31: Rendimentos dos extratos obtidos de *V. sandwithii*

Extratos	Material vegetal (g)	Massa extrato (g)	Rendimento (%)
1-F-VS-Hexano	293	10,2	3,48
1-F-VS-MeOH	50	3,65	7,28

5.2 Análise cromatográfica dos extratos hexânicos brutos

Os extratos hexânicos das folhas de *V. japurensis*, *V. cauliflora* e *V. sandwithii* foram analisados e comparados por CCDC (Figura 22) com o objetivo de averiguar a complexidade química dos extratos e semelhança das classes químicas presentes nos mesmos.

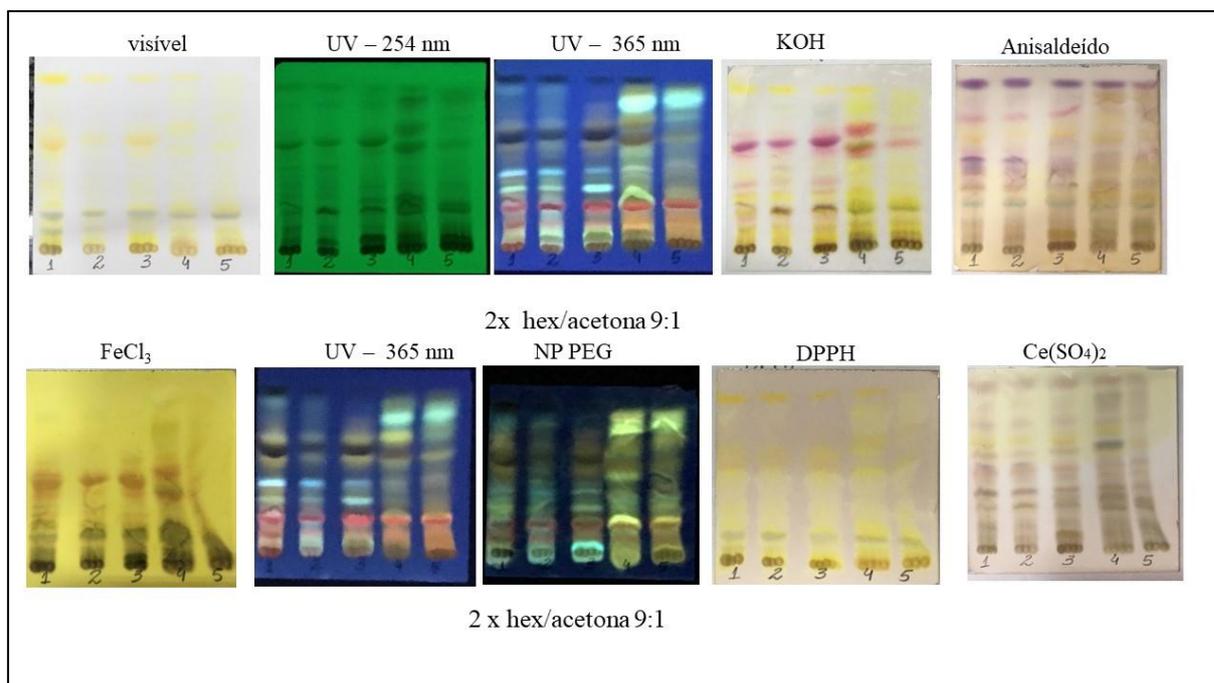
Os resultados obtidos apresentaram a presença de terpenos em todos os extratos analisados das três espécies quando revelados com sulfato cérico (coloração marrom) e quando revelados com anisaldeído sulfúrico (coloração lilás). Observou-se a presença de substâncias fenólicas, após serem reveladas com cloreto férrico. Quando revelados com KOH, observaram-se algumas bandas com a coloração rosa, sendo este um indicativo da presença de quinonas bem característico para o gênero *Vismia*. Resultados estes que corroboram com a literatura onde são relatados diversos terpenoides, substâncias fenólicas e quinonas isoladas de diferentes espécies do gênero *Vismia* (HUSSAIN et al., 2012; VIZCAYA et al., 2012).

Observou-se também a presença de substâncias fluorescentes sob a luz UV, no comprimento de onda de 365 nm, um indicativo da presença de cromóforos. Quando revelados com DPPH mostraram a presença de possíveis antioxidantes pela coloração amarela fluorescente. Verificou-se também a presença e flavonoides nas três espécies de *Vismia*, quando analisados com NP-PEG, pois houve uma intensificação das fluorescências.

Ao comparar as três coletas de *V. japurensis* é possível observar que há pouca diferença entre as três coletas realizadas, mesmo ocorrendo diferença nas localidades e época de coletas.

Todos os extratos analisados por CCDC mostraram-se ricos quimicamente revelando uma grande quantidade de possíveis substâncias a serem isoladas.

Figura 45: Análise em CCDC dos extratos hexânicos das folhas de *V. japurensis*, *V. cauliflora* e *V. sandwithii*



Legenda: 1 = 1ª coleta *V. japurensis*, 2 = 2ª coleta *V. japurensis*, 3 = 3ª coleta *V. japurensis*, 4 = 1ª coleta *V. cauliflora*, 5 = 1ª coleta *V. sandwithii*

5.3 Análise dos extratos hexânicos por Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

Os extratos hexânicos brutos das três espécies de *Vismia* foram analisados por RMN de ^1H . Os espectros das coletas 1ª, 2ª e 3ª coleta de *V. japurensis*, 1ª coleta de *V. cauliflora* e 1ª coleta de *V. sandwithii* estão apresentados em uma sobreposição para verificar as diferenças entre as três espécies (Figura 23).

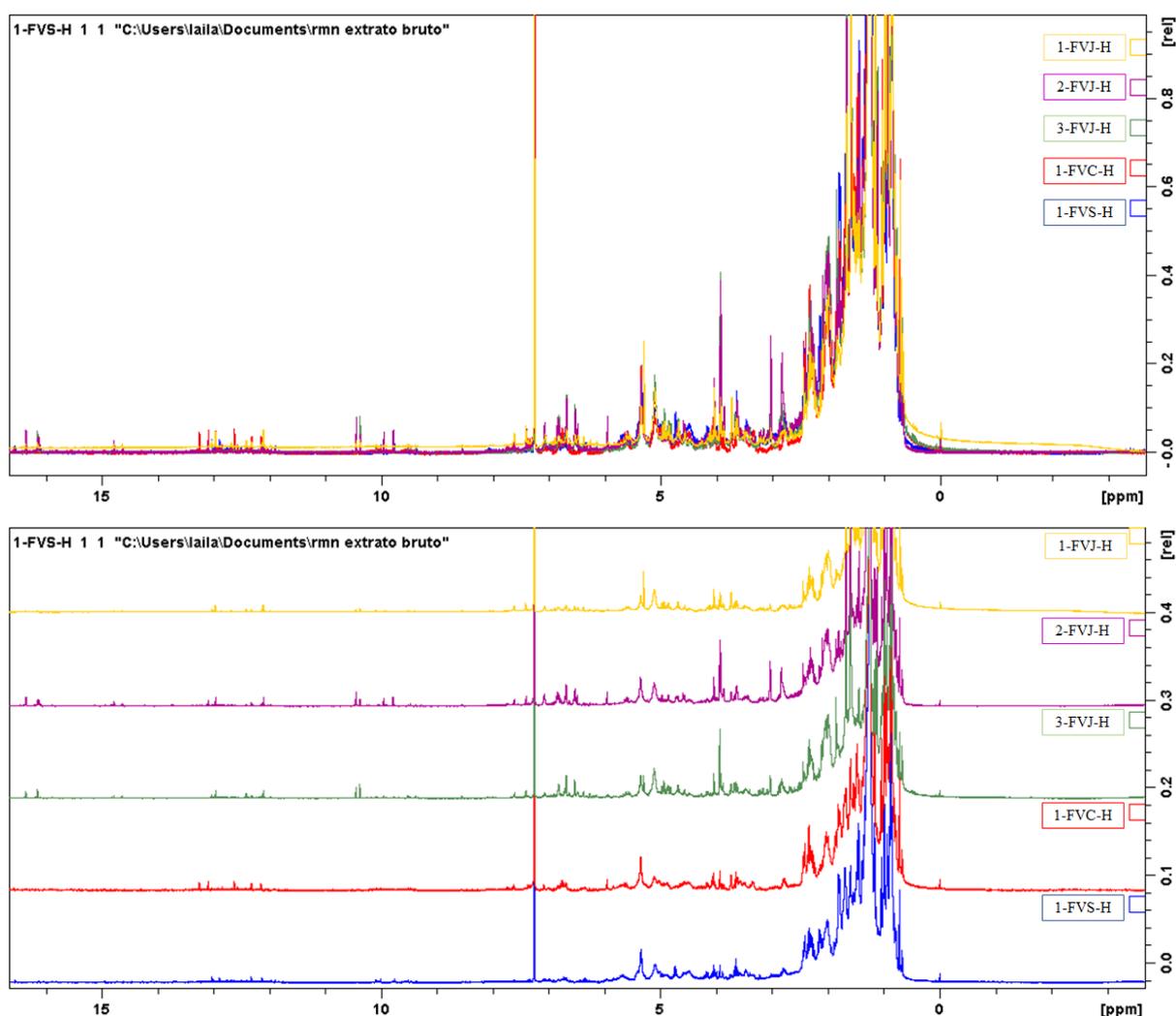
O perfil dos extratos das três espécies apresentou bastante semelhança na região de 0,60 a 1,8 ppm (Figura 24) onde foi observada a presença dos hidrogênios das metilas presentes nos terpenoides bem característico para o gênero, pois na literatura são descritos os isolamentos de uma grande quantidade de terpenos. Apresentam também um sinal intenso em 1,25 ppm que correspondentes aos hidrogênios dos ácidos graxos.

Na região de 1,8 a 2,5 ppm, observou-se a presença de hidrogênios metilênicos e metínicos (Figura 25). Na região de 3,0 a 4,0 ppm (Figura 26) apresentou sinais característicos de metoxilas. Na região entre 5,0 e 5,5 ppm foi observado sinais indicando a presença de hidrogênios olefínicos (Figura 27).

Apresentaram uma grande quantidade de sinais na região dos hidrogênios aromáticos na região entre 6,0 a 8,0 ppm (Figura 28), sinais esses que podem ser um indicativo da presença de quinonas, consideradas marcadores químicos do gênero, e dados estes que corroboram os obtidos nas análises em cromatografia em camada delgada comparativa, quando reveladas com KOH.

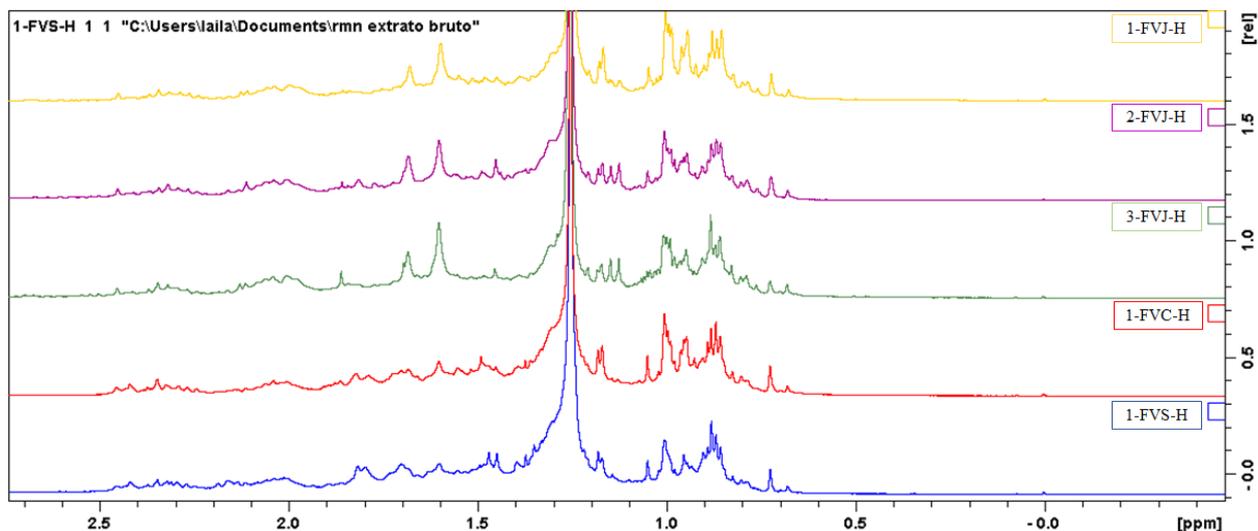
Na região de 10,0 a 13,0 ppm apresentou sinais que podem ser atribuídos a hidroxilas queladas e a presença de ácidos carboxílicos. Observou-se sinais na região de 14 a 16,5 ppm indicando a presença de dicetonas, apenas nos três extratos da espécie *Vismia japurensis* (Figura 29).

Figura 46: Espectros de RMN de ^1H de todos os extratos hexânicos das três espécies de *Vismia*.



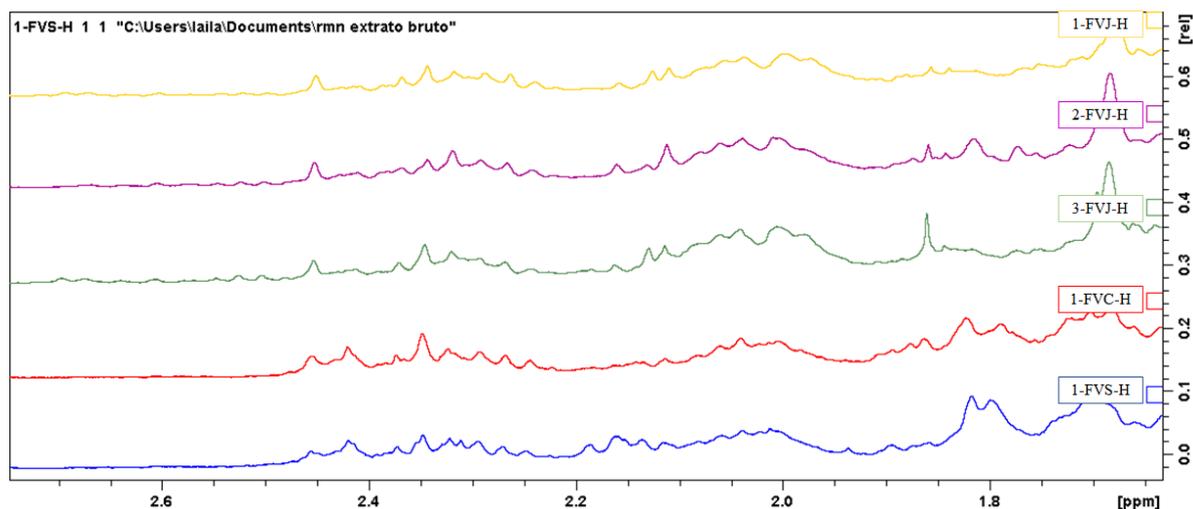
Legenda: 1-FVS-H = extrato hexânico de *V. sandwithii*; 1-FVC-H = extrato hexânico de *V. cauliflora*; 1-FVJ-H = extrato hexânico da primeira coleta; 2-FVJ-H = extrato hexânico da segunda coleta; 3-FVJ-H = extrato hexânico da terceira coleta

Figura 47: Expansão dos Espectros de RMN de ^1H , de todos os extratos hexânicos das três espécies de *Vismia*, da região 0,6 a 1,8 ppm



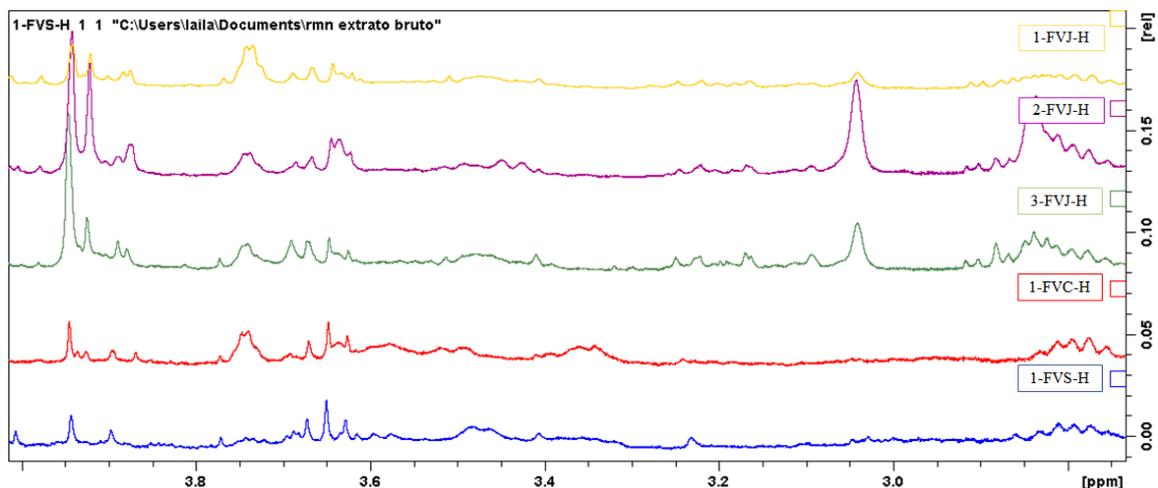
Legenda: 1-FVS-H = extrato hexânicos de *V. sandwithii*; 1-FVC-H = extrato hexânicos de *V. cauliflora*; 1-FVJ-H = extrato hexânico da primeira coleta; 2-FVJ-H = extrato hexânico da segunda coleta; 3-FVJ-H = extrato hexânicos da terceira coleta

Figura 48: Expansão dos Espectros de RMN de ^1H , de todos os extratos hexânicos das três espécies de *Vismia*, da região 1,8 a 2,5 ppm



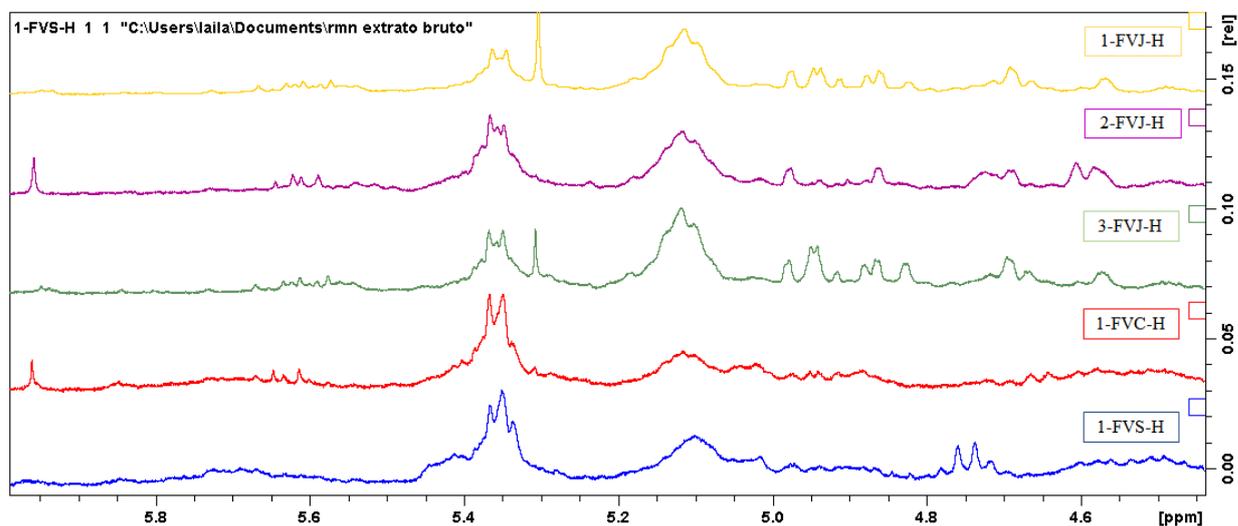
Legenda: 1-FVS-H = extrato hexânicos de *V. sandwithii*; 1-FVC-H = extrato hexânicos de *V. cauliflora*; 1-FVJ-H = extrato hexânico da primeira coleta; 2-FVJ-H = extrato hexânico da segunda coleta; 3-FVJ-H = extrato hexânicos da terceira coleta

Figura 49: Figura: Expansão dos Espectros de RMN de ^1H , de todos os extratos hexânicos das três espécies de *Vismia*, da região 3,0 a 4,0 ppm



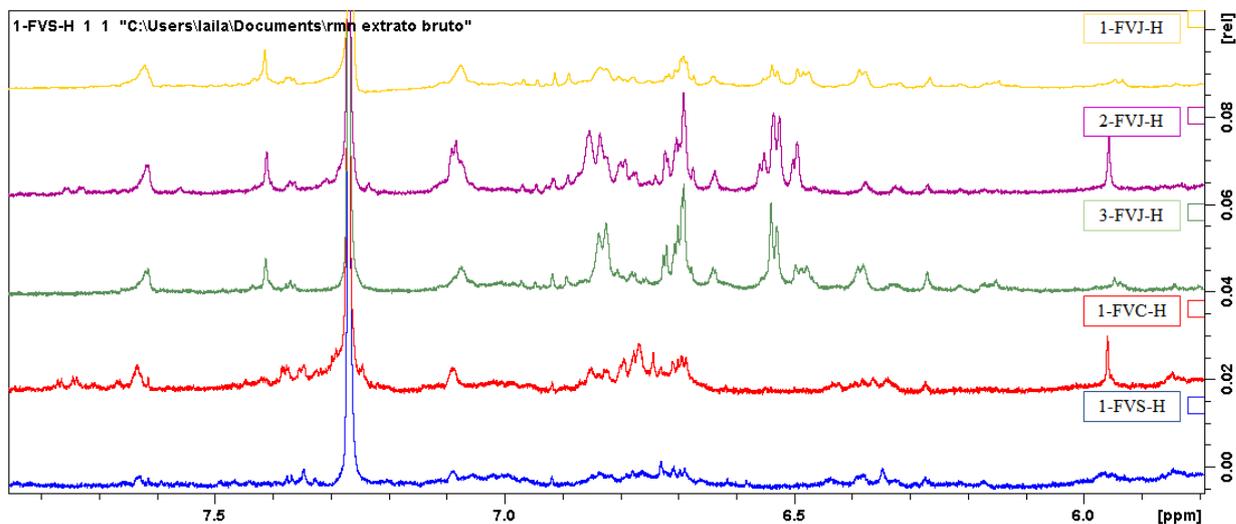
Legenda: 1-FVS-H = extrato hexânicos de *V. sandwithii*; 1-FVC-H = extrato hexânicos de *V. cauliflora*; 1-FVJ-H = extrato hexânico da primeira coleta; 2-FVJ-H = extrato hexânico da segunda coleta; 3-FVJ-H = extrato hexânicos da terceira coleta

Figura 50: Expansão dos Espectros de RMN de ^1H , de todos os extratos hexânicos das três espécies de *Vismia*, da região 4,6 a 5,8 ppm



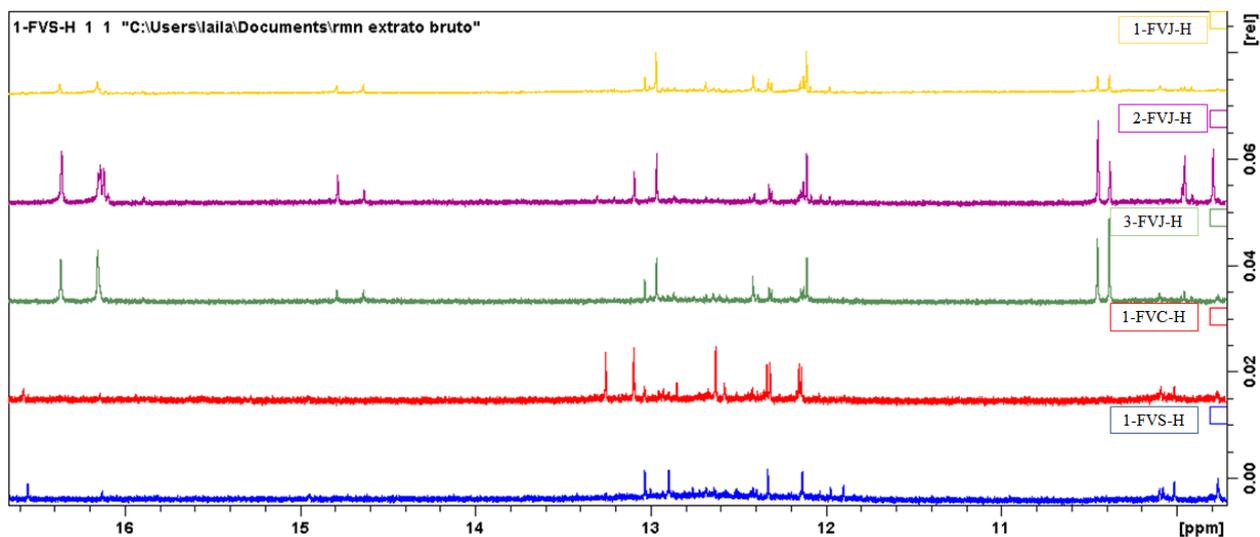
Legenda: 1-FVS-H = extrato hexânicos de *V. sandwithii*; 1-FVC-H = extrato hexânicos de *V. cauliflora*; 1-FVJ-H = extrato hexânico da primeira coleta; 2-FVJ-H = extrato hexânico da segunda coleta; 3-FVJ-H = extrato hexânicos da terceira coleta

Figura 51: Figura: Expansão dos Espectros de RMN de ^1H , de todos os extratos hexânicos das três espécies de *Vismia*, da região 6,0 a 8,0 ppm



Legenda: 1-FVS-H = extrato hexânico de *V. sandwithii*; 1-FVC-H = extrato hexânico de *V. cauliflora*; 1-FVJ-H = extrato hexânico da primeira coleta; 2-FVJ-H = extrato hexânico da segunda coleta; 3-FVJ-H = extrato hexânico da terceira coleta

Figura 52: Figura: Expansão dos Espectros de RMN de ^1H , de todos os extratos hexânicos das três espécies de *Vismia*, da região 10,0 a 16,5 ppm



Legenda: 1-FVS-H = extrato hexânico de *V. sandwithii*; 1-FVC-H = extrato hexânico de *V. cauliflora*; 1-FVJ-H = extrato hexânico da primeira coleta; 2-FVJ-H = extrato hexânico da segunda coleta; 3-FVJ-H = extrato hexânico da terceira coleta

5.4 Identificação das substâncias isoladas de *Vismia japurensis* e *V. sandwithii*

Os fracionamentos realizados permitiram o isolamento de 7 substâncias dos extratos hexânicos de *Vismia japurensis* e *V. sandwithii*, sendo que:

- Substância I: isolada do extrato hexânico da primeira coleta de *Vismia japurensis* e também do extrato hexânico de *Vismia sandwithii*;
- Substância II: isolada do extrato hexânico da primeira coleta de *Vismia japurensis*;
- Substância III: isolada do extrato hexânico da primeira coleta de *Vismia japurensis*;
- Substância IV: isolada do extrato hexânico da segunda coleta de *Vismia japurensis* e do extrato hexânico de *Vismia sandwithii*;
- Substância V: isolada do extrato hexânico da segunda coleta de *Vismia japurensis*;
- Substância VI: isolada do extrato hexânico de *Vismia sandwithii*;
- Substância VII: isolada do extrato hexânico de *Vismia sandwithii*.

A identificação estrutural de cada uma está descrita a seguir:

5.4.1 Identificação da substância I

A fração 16-20 (14,9 mg) obtida do extrato hexânico das folhas da 1ª coleta, apresentou-se na forma de cristais brancos, e quando revelada com $\text{Ce}(\text{SO}_2)_4$ verificou-se a coloração vermelha indicativo de terpeno, com $R_f = 0,55$, quando eluída com Hex/DCM 1:1.

O seu espectro de RMN de ^1H (Figura 54) apresentou sinais na região de δ_{H} 0,73 a 1,26, sendo sete simpletos em δ_{H} 0,73; 0,89; 0,96; 1,0; 1,01; 1,05; 1,18, todos com integral para 3 hidrogênios, e um duplete em δ_{H} 0,88 (d , $J = 6,58$ Hz, 3H) totalizando as 8 metilas de um triterpeno (Figuras 55 e 56). Foram observados também sinais na região de δ_{H} 1,26 a 1,58 referentes a hidrogênios metilênicos e δ_{H} 2,17 a 2,45 referentes aos hidrogênios metínicos da molécula. A ausência de ligações duplas na região entre δ_{H} 5,0 e 6,0, foi um indicativo da presença de um triterpeno de esqueleto friedelano.

O espectro de RMN de ^{13}C (Figura 57) mostrou a presença de 30 sinais, sendo um sinal em δ_{C} 213,0 indicando a presença de uma carbonila. Também foi possível confirmar a ausência de sinais de ligação dupla nas regiões de δ_{C} 100 a 150. Em δ_{C} 6,8 observou-se o sinal referente à metila na posição C-23 (Figura 58), característico do esqueleto friedelano.

No mapa de contorno HMBC (Figura 59) foi possível observar as correlações entre o hidrogênio δ_H 0,88 referente à metila em C-23 com o carbono da carbonila em δ_C 213,1. Mostrou também a correlação entre o hidrogênio em δ_H 2,24 com o carbono e δ_C 213,0. Observou-se também as correlações entre o hidrogênio δ_H 2,24 com o carbono em δ_C 42,1 e também do hidrogênio δ_H 0,73 com o carbono em δ_C 58,3, confirmando assim as posições da metila em C-23 e C-24 respectivamente (Figura 60).

De acordo com a literatura foi possível confirmar os deslocamentos químicos de ^{13}C identificando a substância I como o triterpeno friedelan-3-ona (Figura 53) (Tabela 32) (MAHATO & KUNDU, 1994). Este é o primeiro relato deste triterpeno em *Vismia sandwithii* e nas folhas de *V. japurensis*, pois Miraglia e colaboradores (1981), isolaram este triterpeno da madeira de *V. japurensis*.

Tabela 32: Dados de RMN de ^{13}C da substância 1 e comparação com a literatura MAHATO & KUNDU (1994)

Posição	δ_c	δ_c	Tipo de Carbonos
	Observado	Literatura	
1	22,3	22,3	CH ₂
2	41,5	41,5	CH ₂
3	213,1	213,2	C
4	58,3	58,2	CH
5	42,1	42,1	CH
6	41,3	41,3	CH
7	18,3	18,2	CH ₂
8	53,1	53,1	CH ₂
9	37,5	37,4	C
10	59,3	59,4	CH
11	35,6	35,6	CH ₂
12	30,5	30,5	CH ₂
13	39,7	39,7	C
14	38,3	38,3	C
15	32,4	32,4	CH ₂
16	36,0	36,0	CH ₂

Continuação da Tabela 32

17	30,0	30,0	C
18	42,8	42,8	CH
19	35,3	35,3	CH ₂
20	28,2	28,1	C
21	32,8	32,7	CH ₂
22	39,3	39,2	CH ₂
23	6,8	6,8	CH ₃
24	14,7	14,6	CH ₃
25	17,9	17,9	CH ₃
26	20,3	20,2	CH ₃
27	18,6	18,6	CH ₃
28	32,1	32,1	CH ₃
29	35,0	35,0	CH ₃
30	31,8	31,8	CH ₃

Figura 53: Estrutura da friedelan-3-ona (substância I)

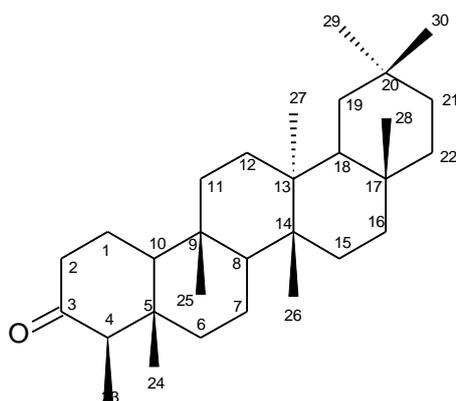


Figura 54: Espectro de RMN de ¹H da substância I, friedelina (CDCl₃, 300MHz)

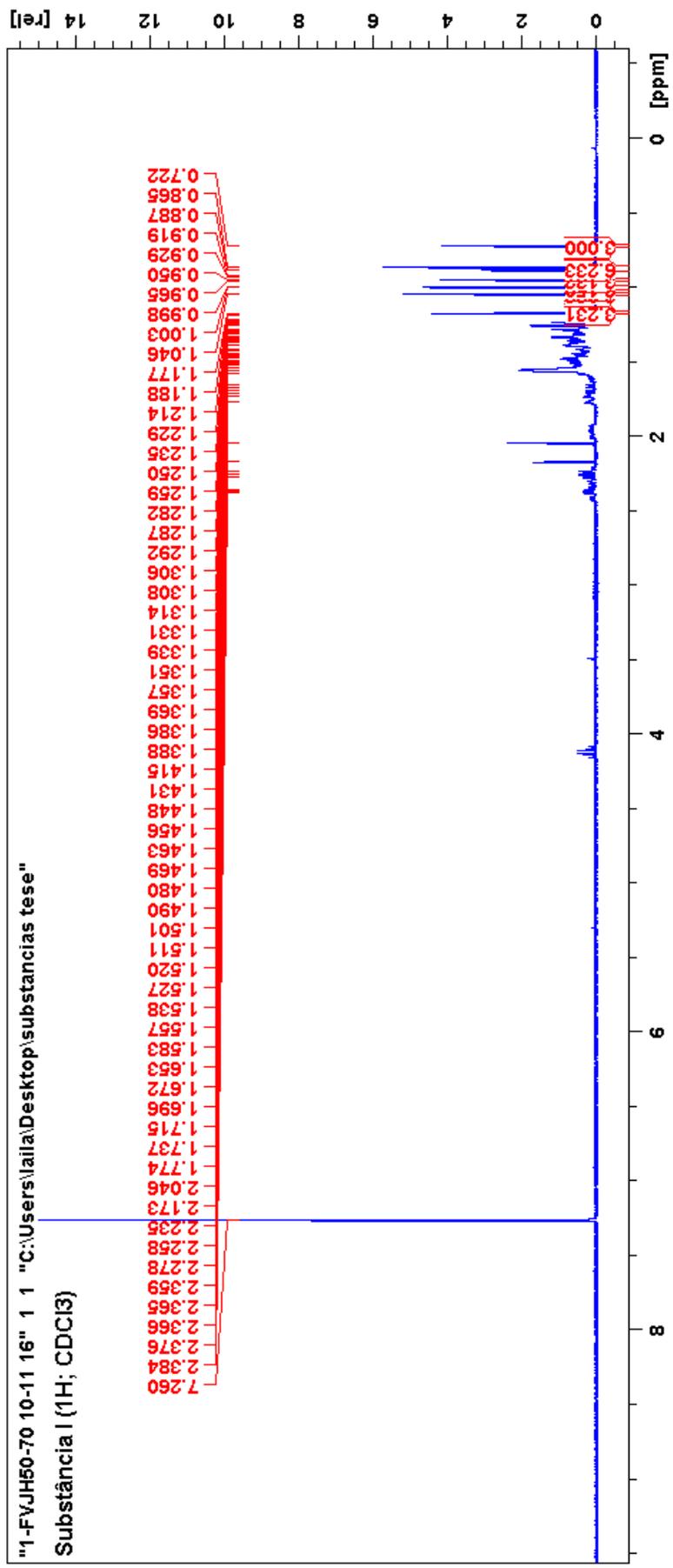


Figura 55: Expansão na região de 0,72 a 2,5 ppm do espectro de RMN dec ^1H da substância I, friedelina (CDCl₃, 300MHz)

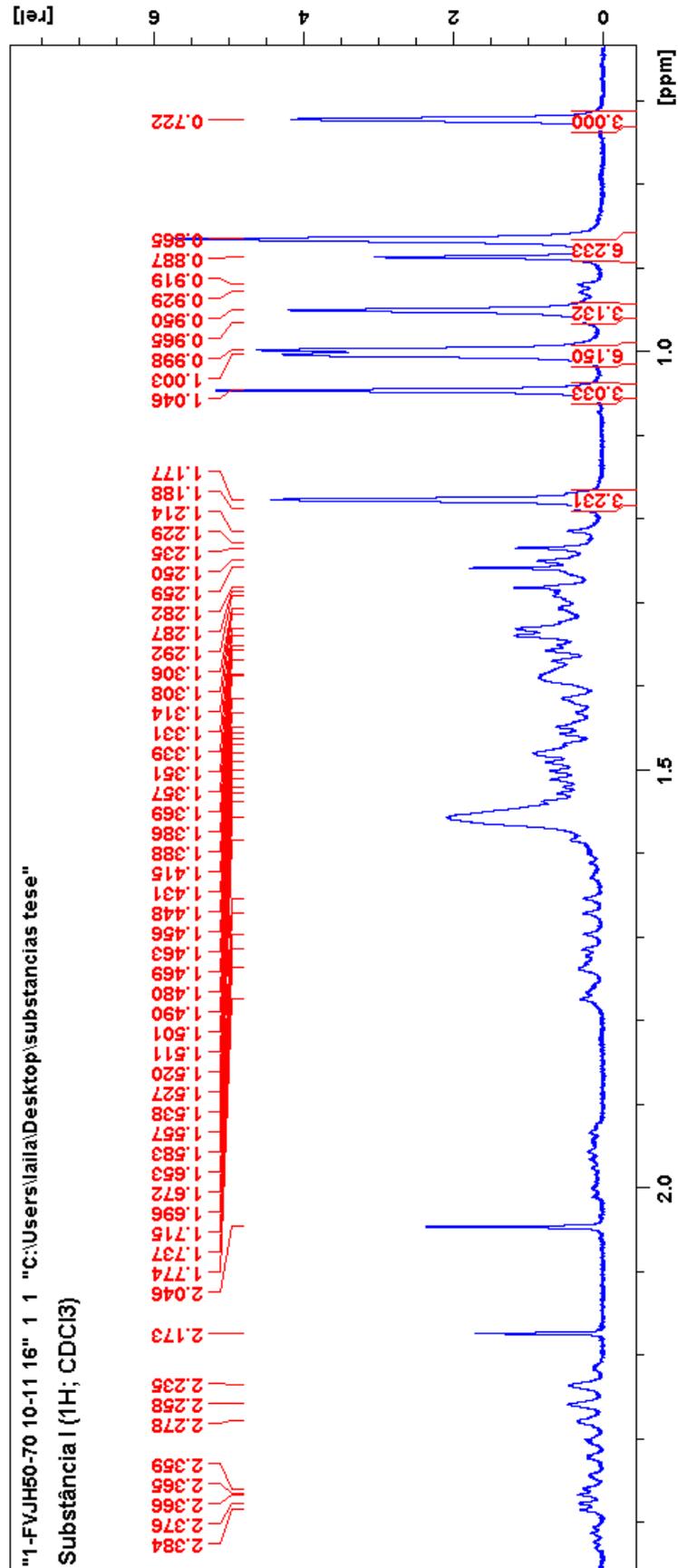


Figura 56: Expansão na região de 0,72 a 1,2 ppm do espectro de RMN dec ^1H da substância I, friedelina (CDCl_3 , 300MHz)

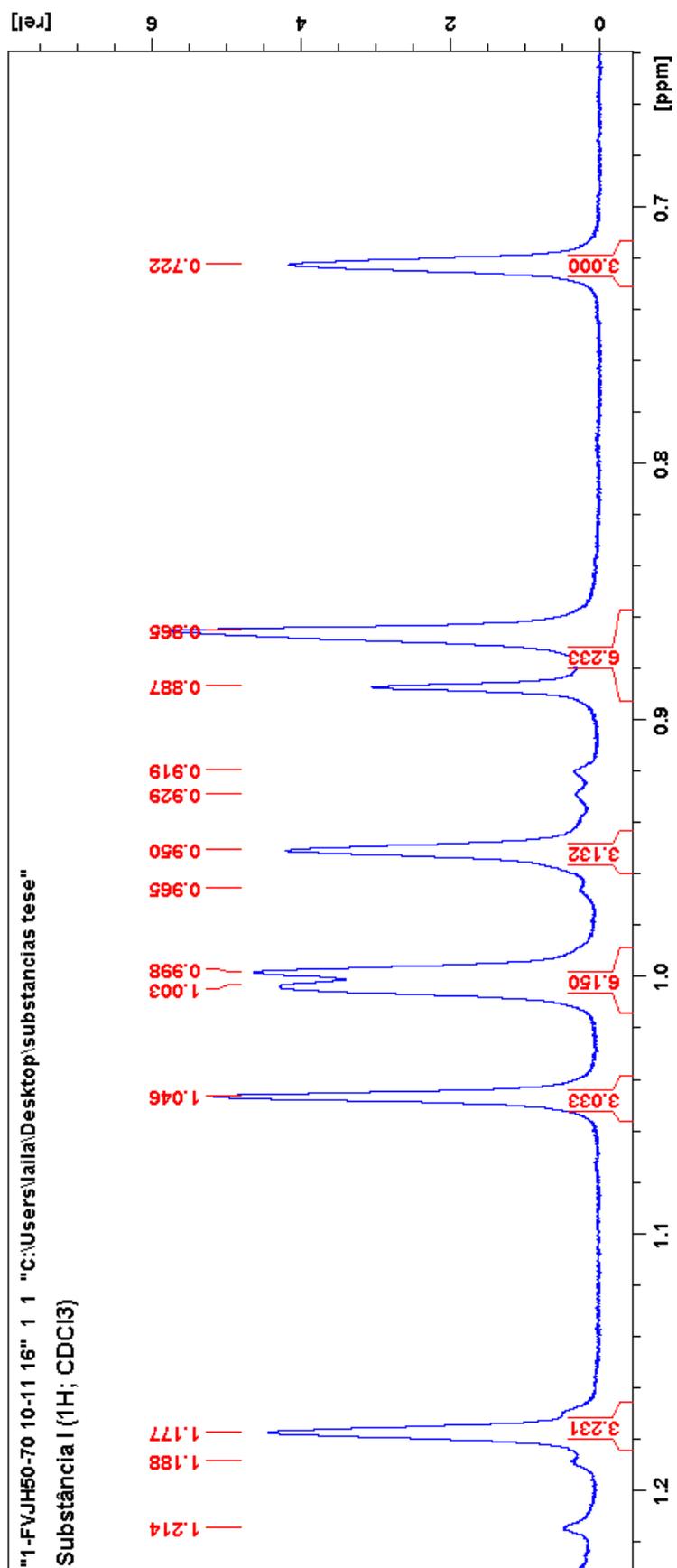


Figura 57: Espectro de RMN de ^{13}C da substância I, friedelina (CDCl_3 , 75 MHz)

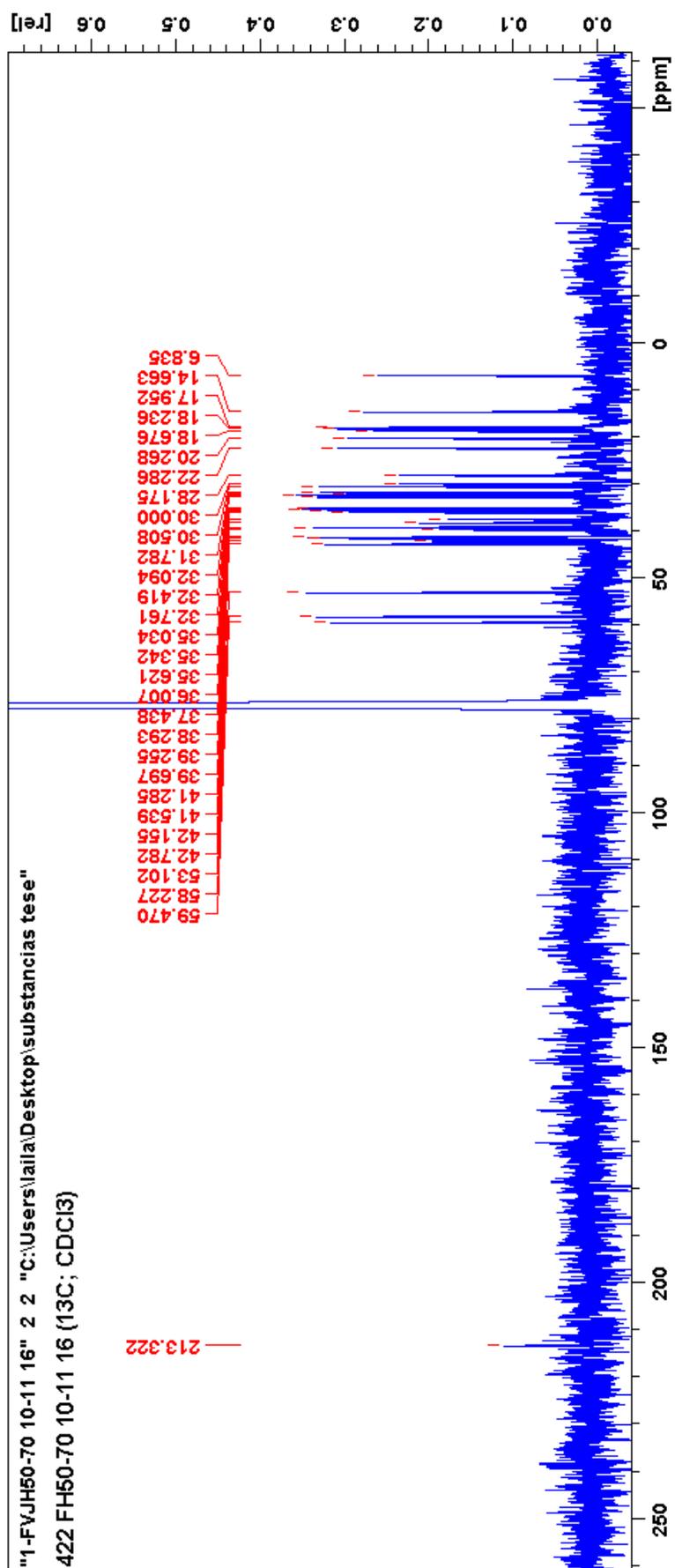


Figura 58: Expansão da região de 6,0 a 60 ppm do espectro de RMN de ^{13}C da substância I, friedelina (CDCl_3 , 75 MHz)

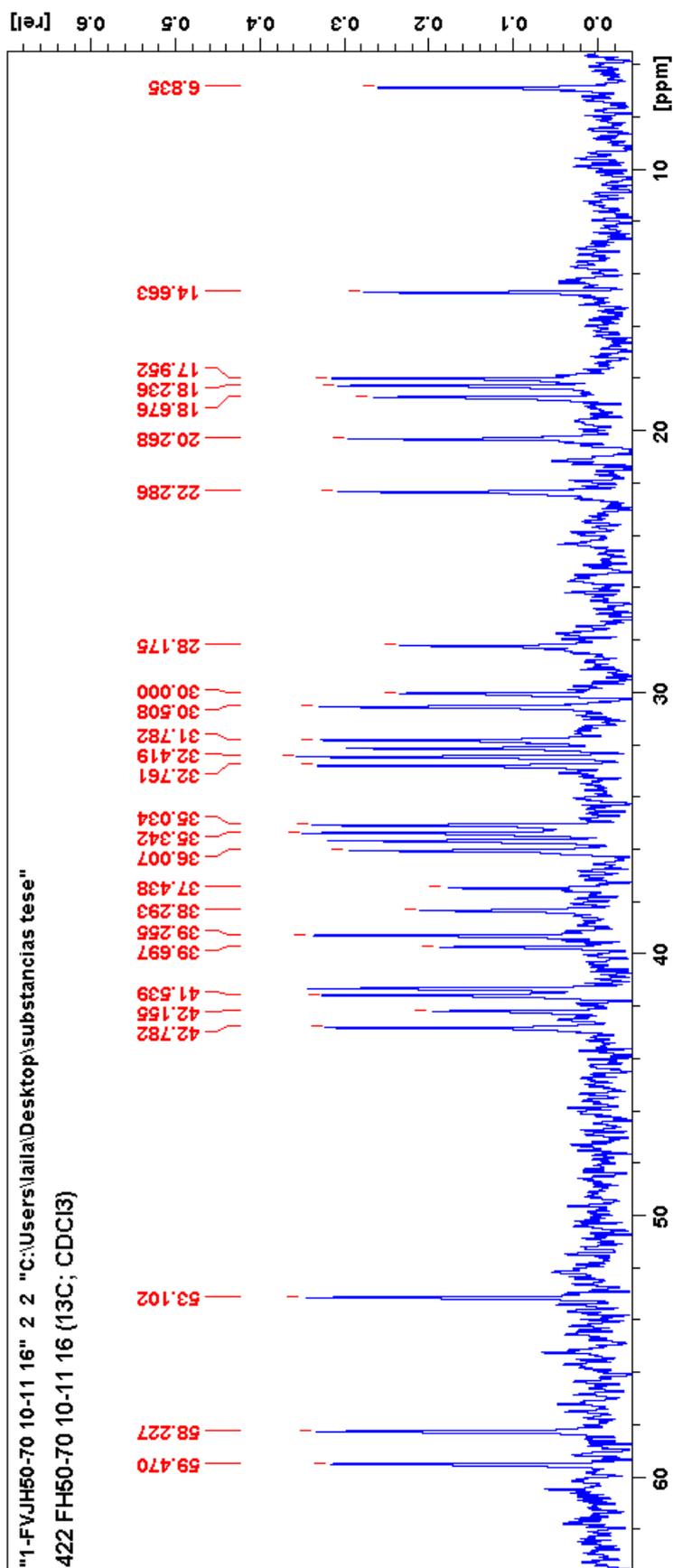


Figura 59: Mapa de contorno HMBC da substância I, friedelina (CDCl₃, 300 MHz)

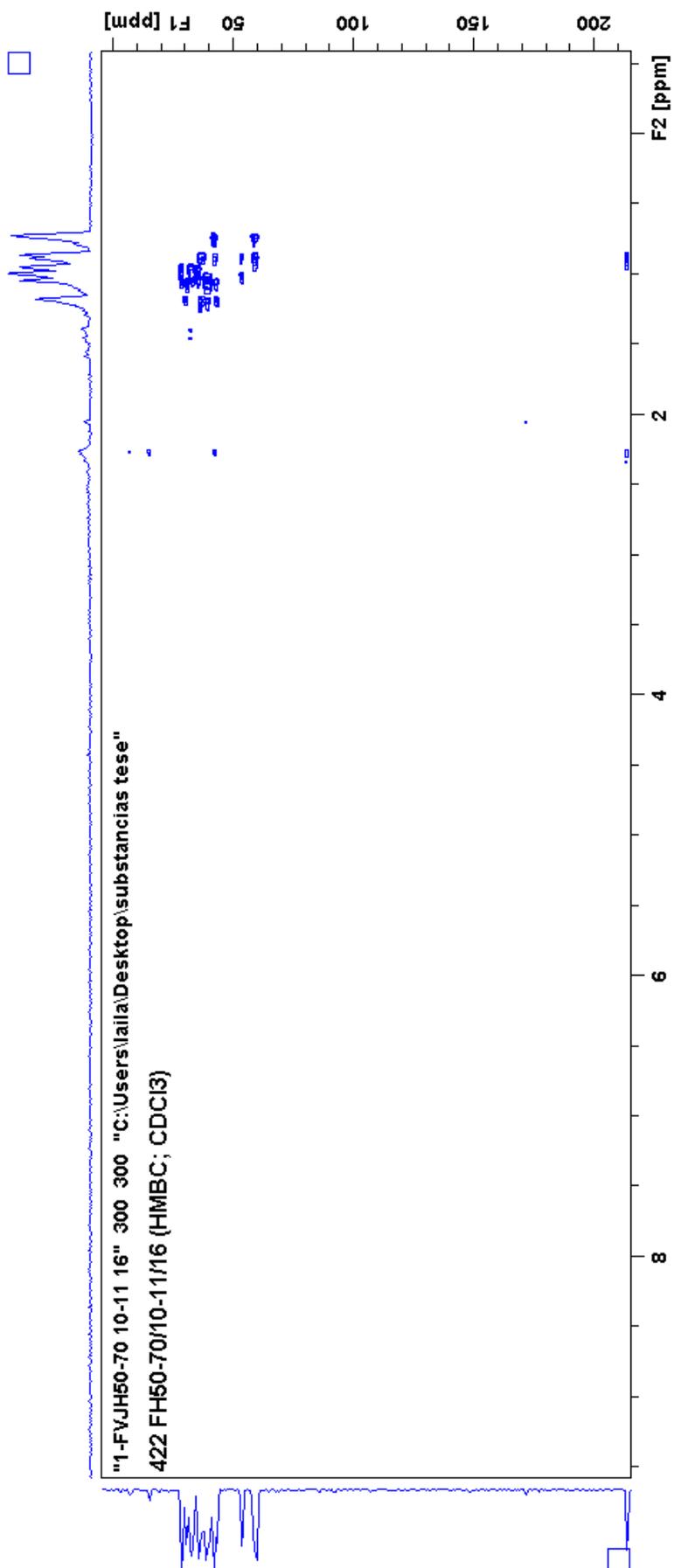
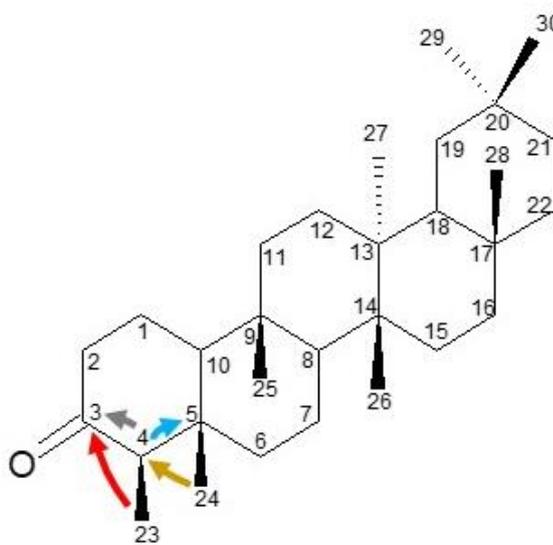
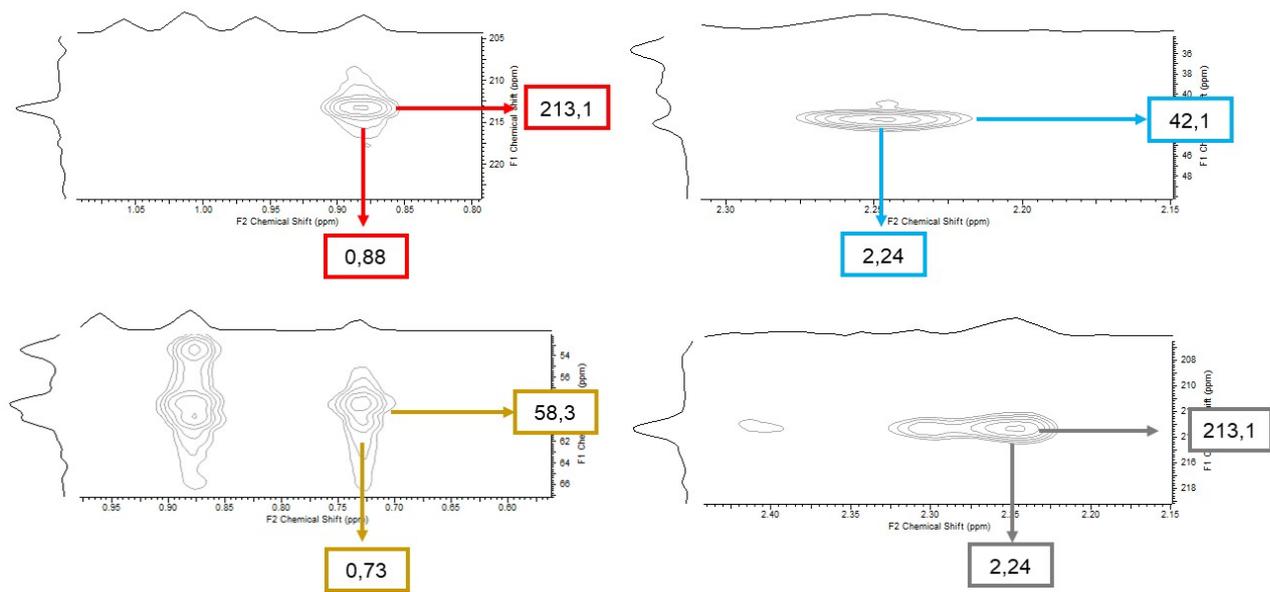
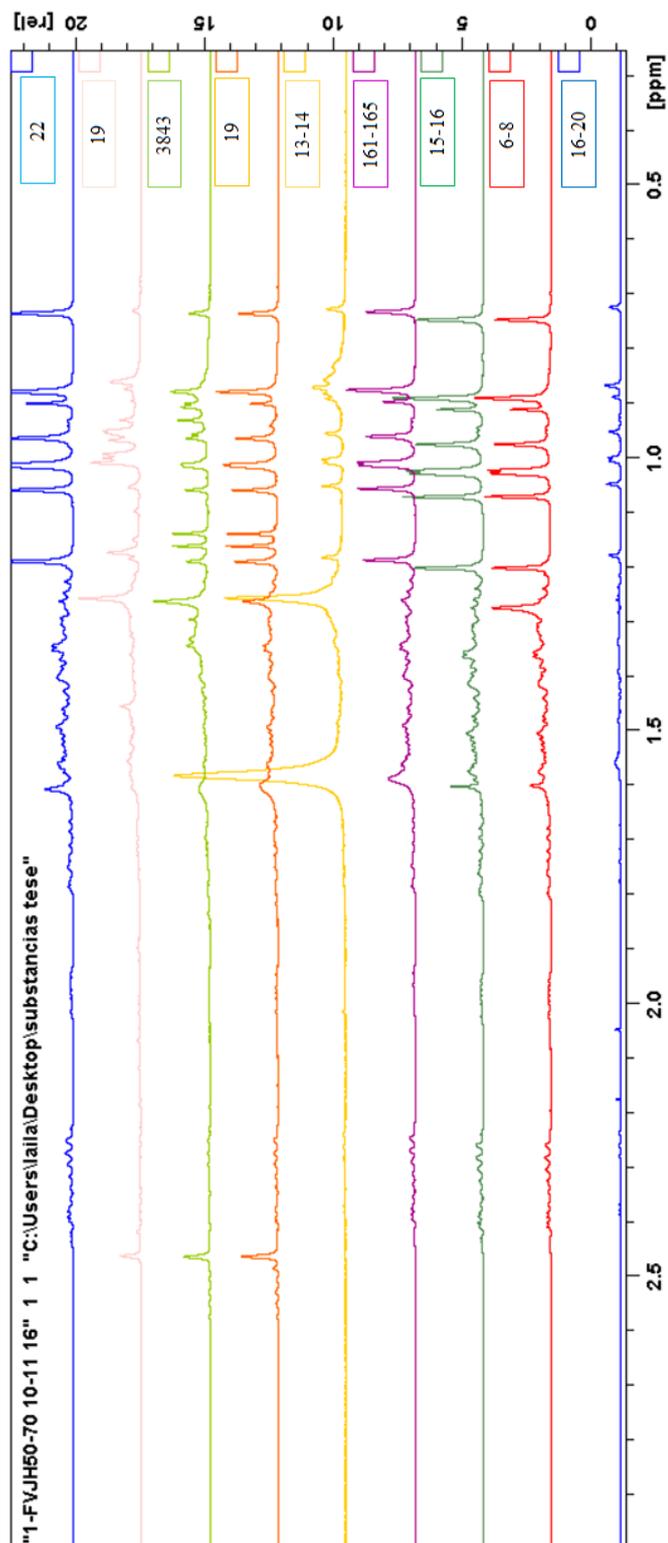


Figura 60: Expansões do Mapa de contorno HMBC e correlações da substância I, friedelina (CDCl₃, 300 MHz)



Os espectros das frações 6-8, 15-16, 161-165, 13-14, 19, 38-43, 19 e 22 foram comparados com o espectro da fração 16-20 (Figura 61) e constatou-se que se tratava do triterpeno friedelan-3-ona.

Figura 61: Comparação dos espectros de RMN de ^1H das frações 16-20, 6-8, 15-16, 161-165, 13-14, 19, 38-43, 19 e 22 (CDCl_3 , 300 MHz)



5.4.2 Identificação da substância II

A fração 8-11 (2,0 mg) foi obtida do extrato hexânico das folhas da 1ª coleta, apresentou-se na forma de cristais na coloração laranja, e quando revelada com KOH verificou-se a coloração rosa, consistente com a presença de uma antraquinona, com $R_f=0,56$, quando eluída com hex/acetona 7:3. Foi observado por análise por MS em alta resolução no modo positivo por infusão direta o íon *quasi*-molecular m/z 338, 2257 condizente com a fórmula $C_{20}H_{18}O_5$ (Figura 64).

O seu espectro de RMN de 1H (Figura 65) mostrou dois sinais em δ_H 12,15 (*s*, 1H) e 12,31 (*s*, 1H), referentes a duas hidroxilas queladas por ligações de hidrogênio, comumente encontradas em esqueletos de antraquinonas, e em δ_H 2,45 (Figura 68), um sinal integrado para três hidrogênios referentes a uma metila, característica para metila ligada a anel aromático. Na região dos aromáticos (Figura 66), observaram-se os sinais: dois duplos dupletos e dois dupletos, todos com integrais para um hidrogênio cada em δ_H 7,63 (*dd*, $J=1,6$; 0,5 Hz, H-4), δ_H 7,38 (*d*, $J=2,6$ Hz, H-5), δ_H 7,08 (*dd*, $J=1,6$; 0,8 Hz, H-2), δ_H 6,68 (*d*, $J=2,6$ Hz, H-7), referentes a acoplamentos na posição meta, levando a sugerir, quando comparados com os dados da literatura, que a substância II possui um núcleo antraquinônico substituído nas posições C-1, C-3, C-6 e C-8, se tratando assim de uma antraquinona tetrasubstituída.

Apresentou também duplete na região de δ_H 4,65 (*d*, $J = 6,5$ Hz, 2H), atribuídos a hidrogênios metilênicos ligados a um oxigênio do grupo *O*-dimetilalila (Figura 67). Apresentou sinais referentes a hidrogênio olefínico do grupo *O*-dimetilalila em δ_H 5,48 (*m*, 1H), e dois sinais em δ_H 1,82 (*s*, 3H) e δ_H 1,78 (*s*, 3H), referentes aos deslocamentos químicos dos hidrogênios das metilas ligadas a um carbono de dupla ligação do grupo *O*-dimetilalila.

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 69), podem se observar os carbonos com deslocamentos em δ_C 190,74 e 182,12 característicos de carbonilas de antraquinona, na região dos aromáticos observaram-se os sinais δ_C 124,48; 121,25; 108,77 e 107,48. Os sinais em δ_C 165,89; 165,1 e 162,49 indicam a presença de três carbonos oxigenados. Pode-se também observar um carbono com deslocamento em δ_C 65,77, característico de um éter, e os sinais de metilas na região de δ_C 25,83; 22,15 e 18,32.

No espectro bidimensional de correlação heteronuclear HMBC (Figura 70), observaram-se as correlações entre os hidrogênios da metila em δ_H 2,45 com os carbonos em δ_C 148,37; 124,48 e 121,25 confirmando a metila na posição C-3. Observaram-se também as

correlações entre os hidrogênios em δ_H 4,65 e 1,82 com o carbono em δ_C 139,83 do grupo *O*-dimetilalila, confirmando o carbono δ_C 139,83 na posição 3', diferente do relatado por NAGEM & OLIVEIRA (1997), que relatam os carbonos δ_C 148,37 e 139,83 em posições contrárias 3' e 3 (Figura 71).

No espectro de COSY (Figura 73) observaram-se as correlações entre os hidrogênios da metila em δ_H 2,45 com os hidrogênios aromáticos com deslocamentos químicos em δ_H 7,08 e 7,63, confirmando a metila na posição C-3. Mostrou também o acoplamento do hidrogênio olefínico em δ_H 5,48 com os hidrogênios em δ_H 4,65, 1,82 e 6,68 assim como as correlações entre os hidrogênios δ_H 7,08 com 7,63 e 7,38 com 6,68.

No espectro de NOESY (Figura 74) é possível verificar a interação entre os hidrogênios δ_H 12,15 e 7,08, confirmando a hidroxila quelada na posição C-1, e os hidrogênios em δ_H 12,31 e 6,68 confirmando a segunda hidroxila na posição C-8. Pode-se também observar as correlações entre os hidrogênios em δ_H 7,63 e 7,08 com os hidrogênios da metila em δ_H 2,45, confirmando a metila na posição C-3, assim como também estava no mapa de correlações de COSY. Observou-se também a correlação entre os hidrogênios em δ_H 6,68 e 4,65, confirmando a posição do grupo *O*-dimetilalila na posição C-6.

Os dados de RMN de 1H e ^{13}C uni e bidimensionais (Tabela 33) permitem sugerir que a substância II se trata da 1,8-dihidroxi-3-metil-6-[(3-metil-but-2-em-1-il)oxi]-9,10-dihidroantraceno-9,10-diona conhecida como madagascina (Figura 62). Este é o primeiro relato do isolamento de madagascina em *Vismia japorensis*. Na literatura há relatos do isolamento de madagascina em outras espécies de *Vismia* como em: *V. parviflora* (NAGEM & OLIVEIRA, 1997). E há relatos do isolamento de madagascina em outras espécies da família Hypericaceae como em *Harungana madascariensis* (TANKEO et al., 2016; TIH et al., 2006).

Figura 62: Estrutura da madagascina (Substância II)

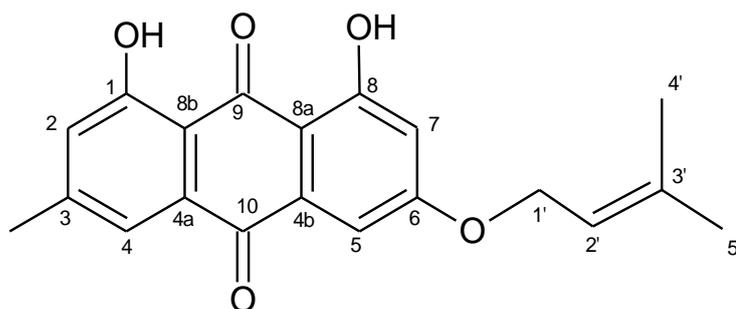


Tabela 33: Dados de RMN de ^1H e ^{13}C , HSQC, HMBC, COSY e NOESY da substância II comparados com a literatura (NAGEM & OLIVEIRA, 1997)

Posição	Literatura				Observado			
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	HSQC (δ_{C})	HMBC (δ_{C})	COSY (δ_{H})	NOESY (δ_{H})
1	-	164,9	-	162,49	-	-	-	-
2	6,50	124,3	7,08	124,48	124,48	22,15/ 121,25	2,45/7,63	-
3	-	139,7	-	148,37	-	-	-	-
4	7,23	121,1	7,63	121,25	121,25	22,15	2,45/7,08	2,45
4a	-	133,1	-	133,23	-	-		
4b	-	135,0	-	135,17	-	-		
5	7,50	107,4	7,38	108,77	108,77	107,48	6,68	-
6	-	165,7	-	165,89	-	-		
7	6,91	108,6	6,68	107,48	107,48	-	7,38/5,48	
8	-	162,3	-	165,10	-	-		
8a	-	108,0	-	110,12	-	-		
8b	-	110,0	-	113,70	-	-		
9	-	190,5	-	190,74	-	-		
10	-	182,0	-	182,77	-	-		
1'	4,54	65,6	4,65	65,77	65,77	118,16/139,83/ 165,89	5,48/1,82	1,82
2'	5,40	118,1	5,48	118,16	118,16	-	4,65/1,82/6,68	1,82
3'	-	143,5	-	139,83	-	-		
5'	1,75	18,3	1,82	25,83	25,83	18,32/118,16		
OH	12,26	-	12,31	-	-	165,10		6,68
OH	12,10	-	12,15	-	-	113,70/124,48		7,08
Me	2,34	22,1	2,45	22,15	22,15	121,25/148,37	7,63/7,08	

A figura 63 mostra as correlações observadas nos espectros bidimensionais da substância II.

Figura 63: Correlações observadas nos espectros bidimensionais da substância II

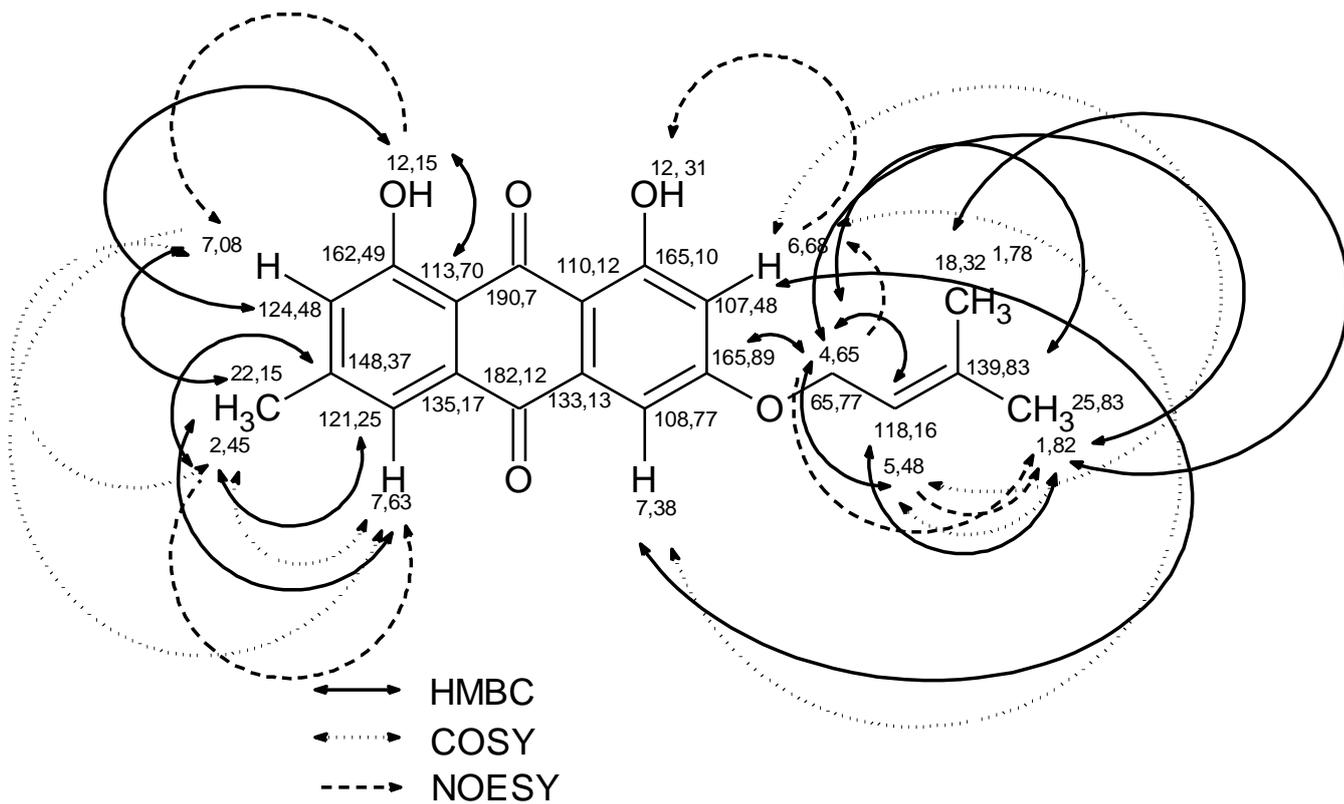


Figura 64: Espectro de massas da substância II, madagascina

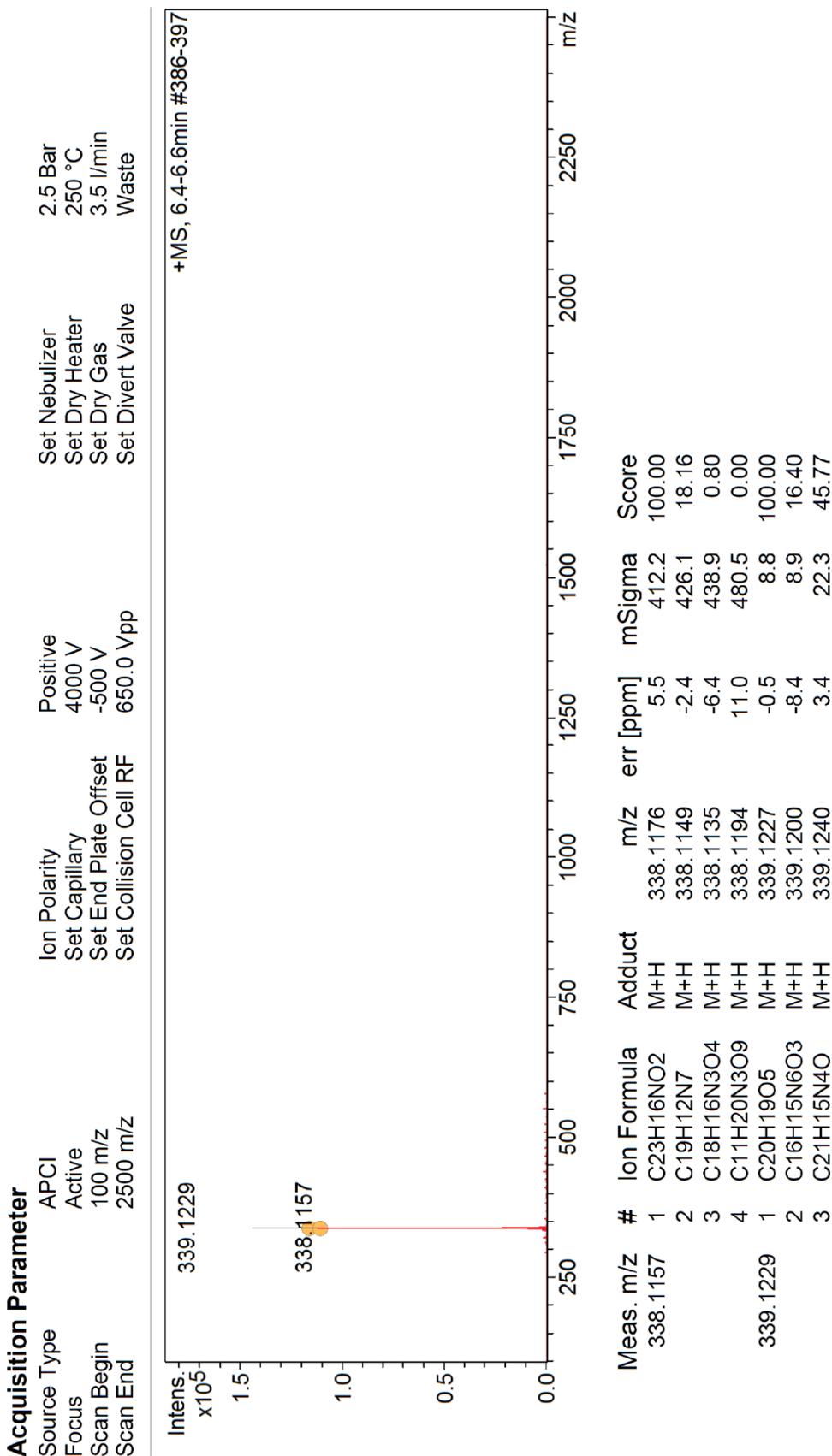


Figura 65: Espectro de RMN de ^1H da substância II, madagascina (CDCl_3 , 300MHz)

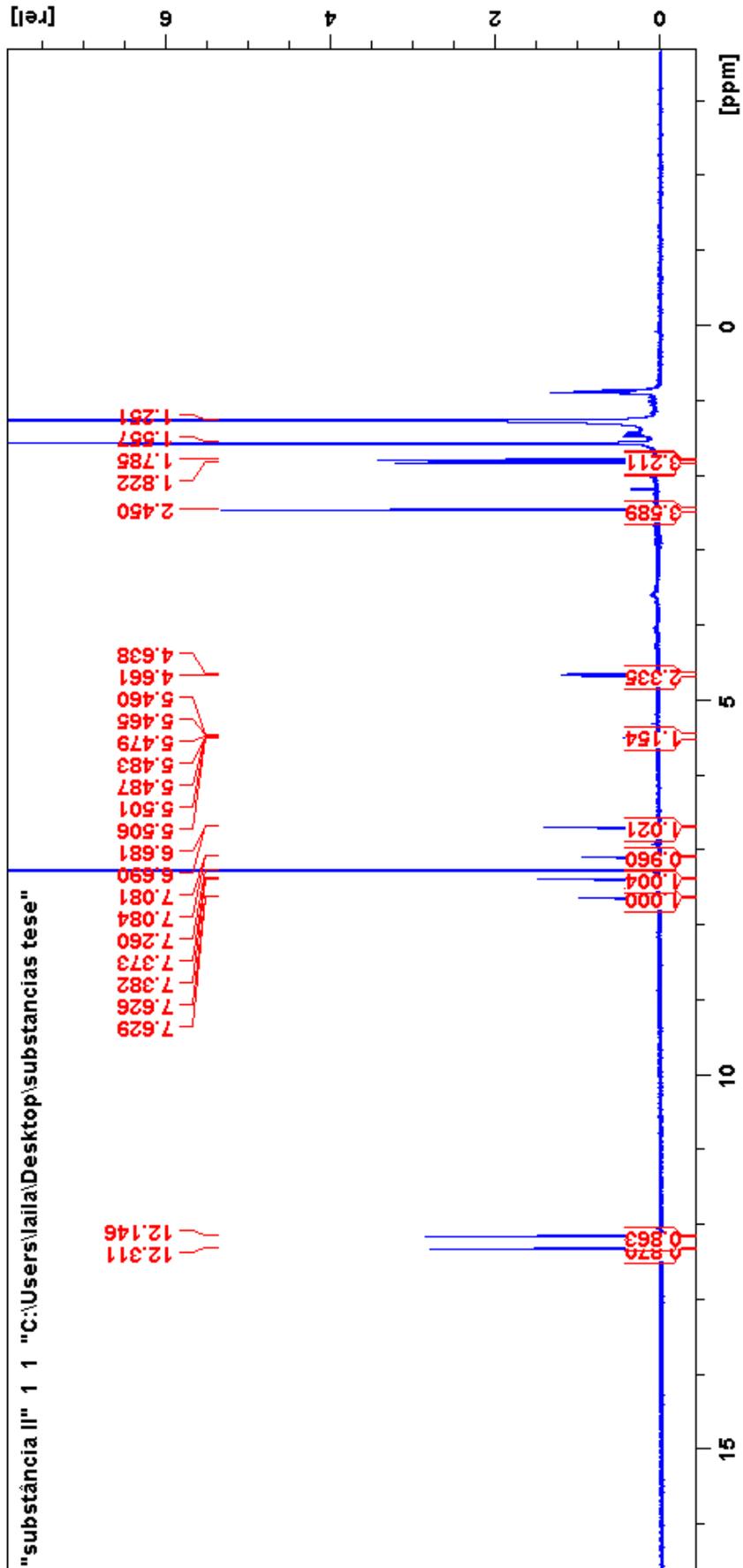


Figura 66: Expansões da região dos aromáticos (6,5 a 7,6 ppm) do espectro de RMN de ^1H da substância II, madagascina (CDCl_3 , 300MHz)

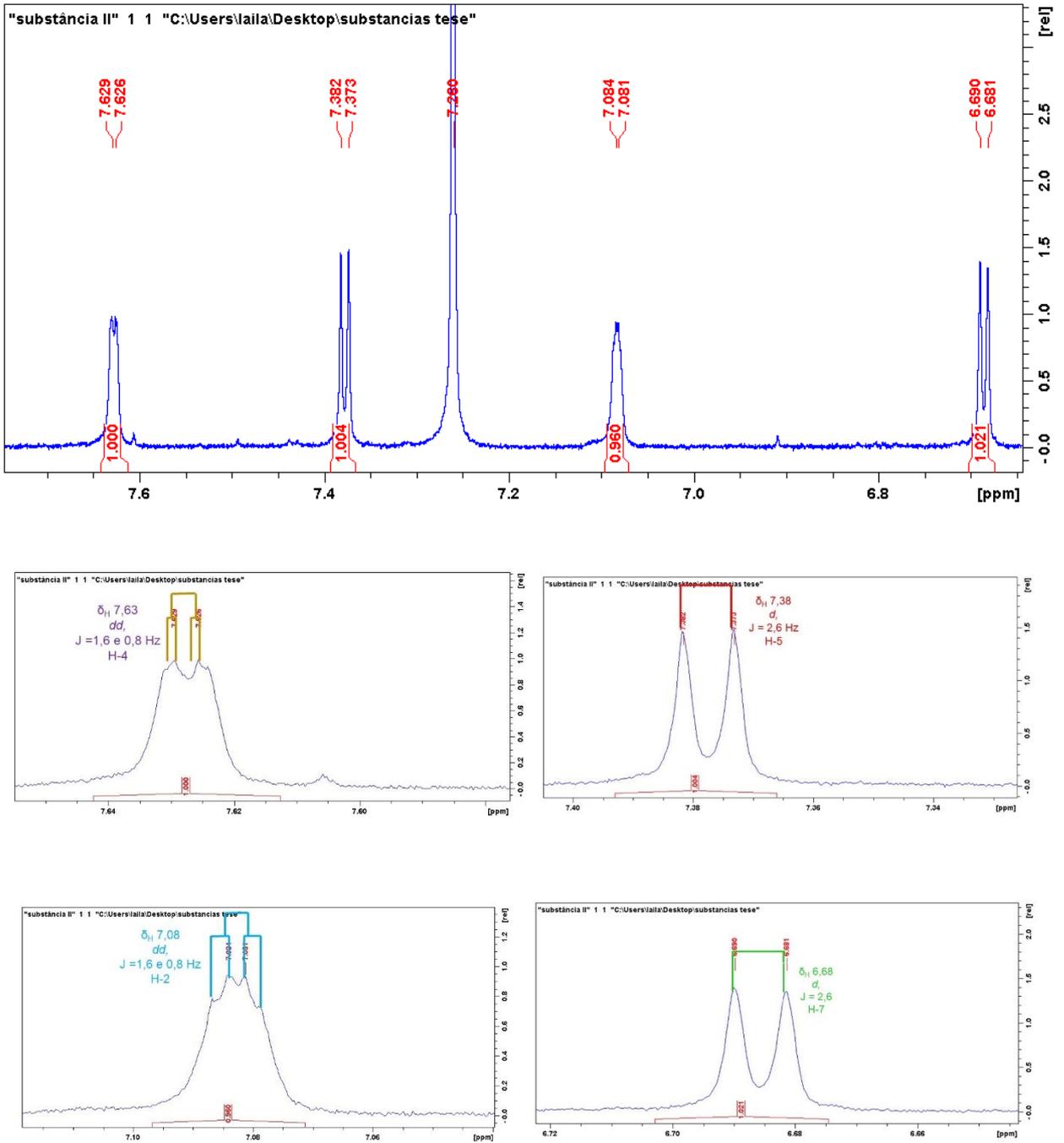


Figura 67: Expansão da região 4,5 a 5,6 ppm do espectro de RMN de ^1H da substância II, madagascina (CDCl_3 , 300MHz)

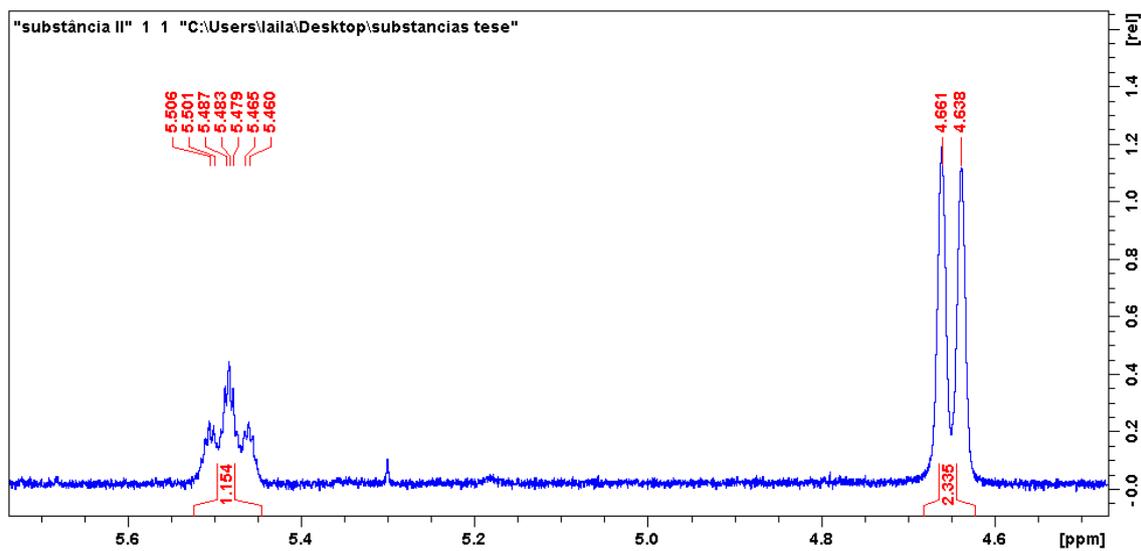


Figura 68: Expansão da região 1,8 a 2,5 ppm do espectro de RMN de ^1H da substância II, madagascina (CDCl_3 , 300MHz)

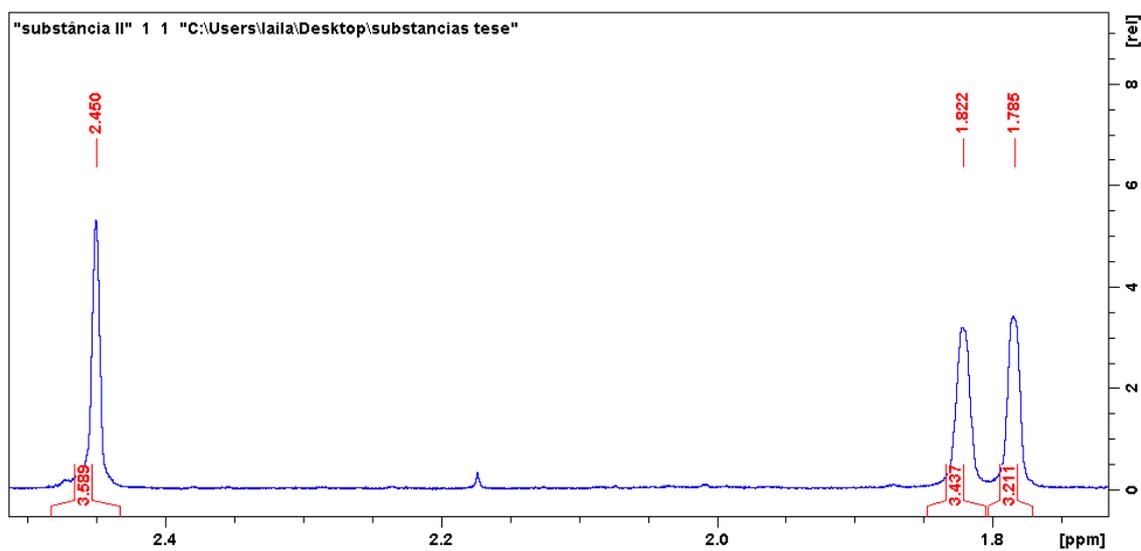


Figura 69: Espectro de RMN de ^{13}C da substância II, madagascina (CDCl_3 , 75 MHz)

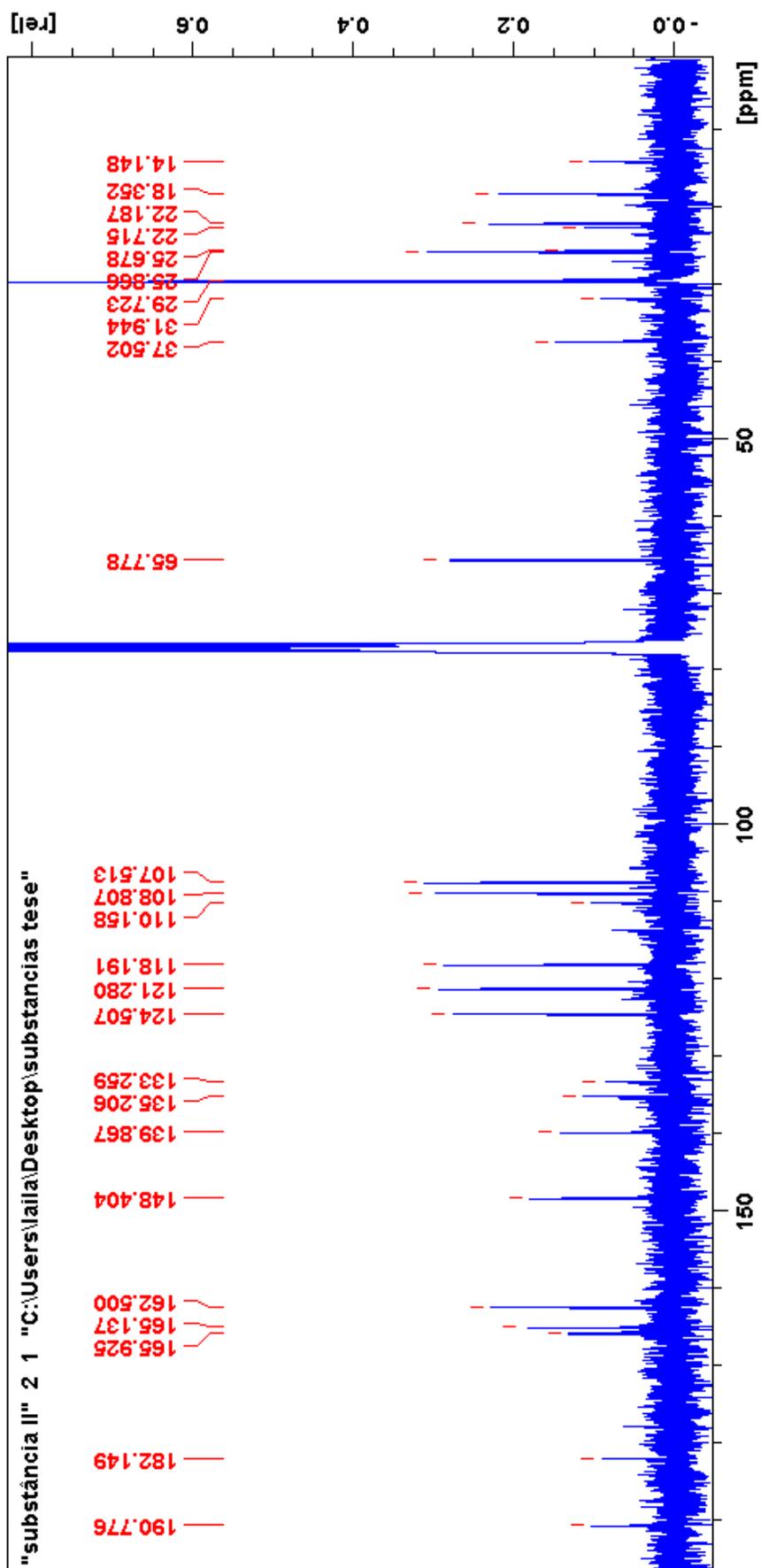


Figura 70: Mapa de contorno HMBC da substância II, madagascina (CDCl₃, 300 MHz)

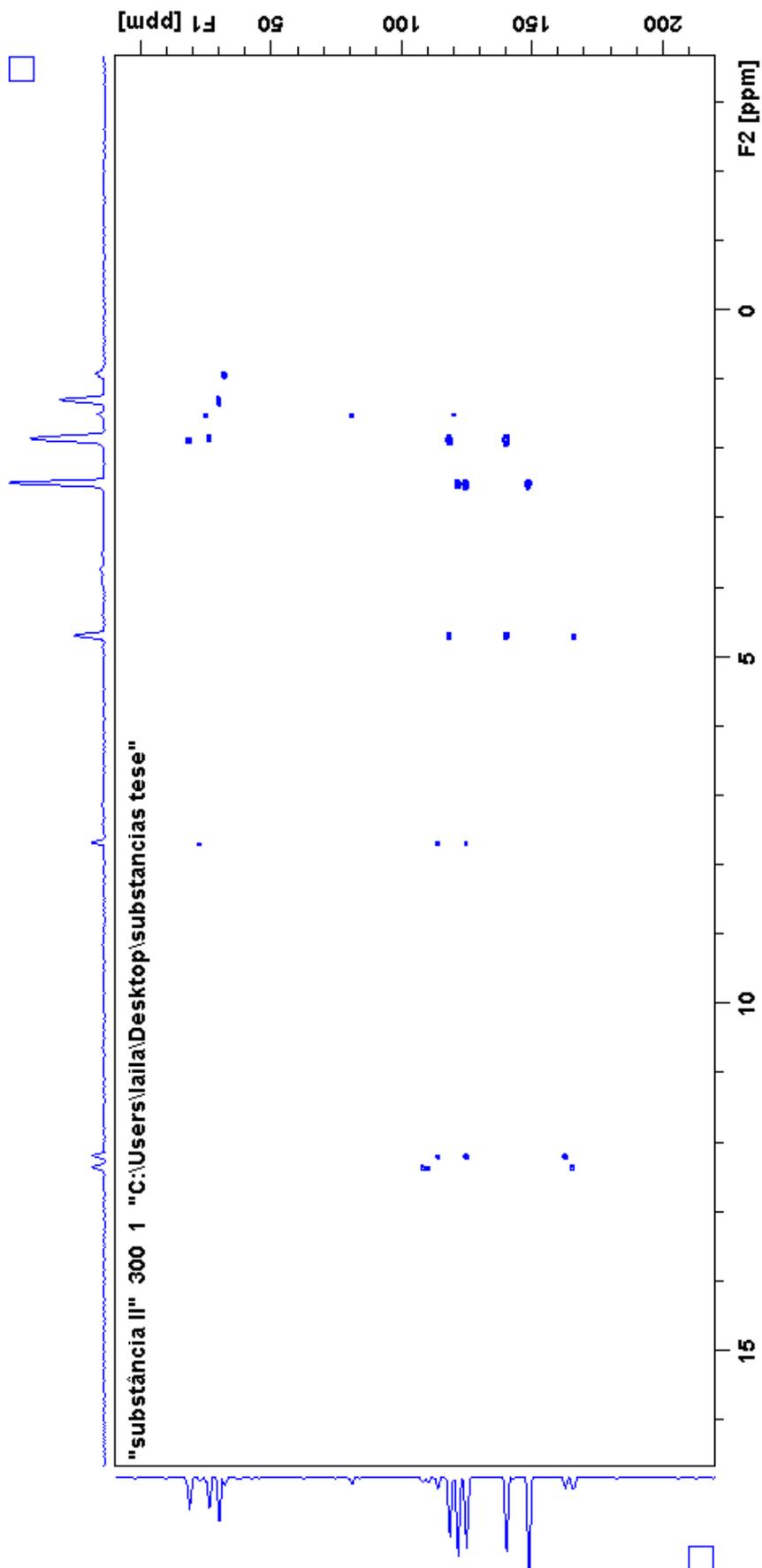


Figura 71: Expansões do Mapa de contorno HMBC e correlações da substância II, madagascina (CDCl₃, 300 MHz)

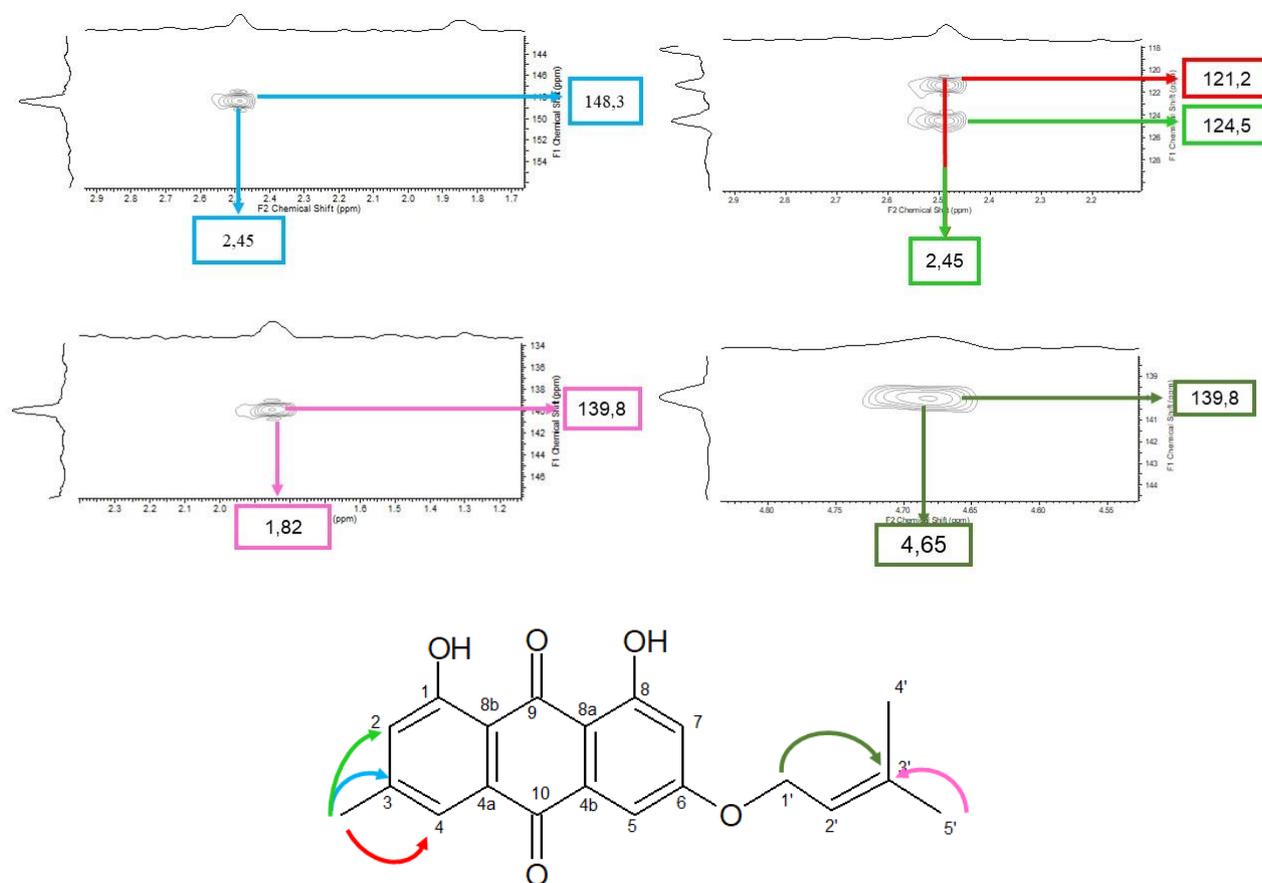


Figura 72: Mapa de contorno HSQC da substância II, madagascina (CDCl₃, 300 MHz)

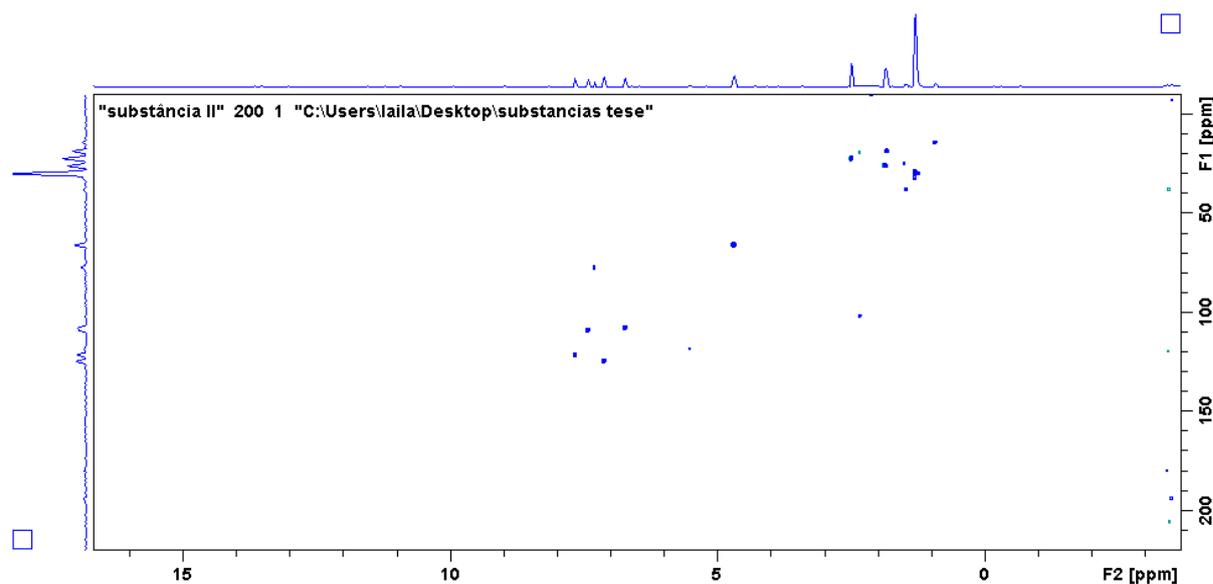


Figura 73: Mapa de contorno COSY da substância II, madagascina (CDCl₃, 300 MHz)

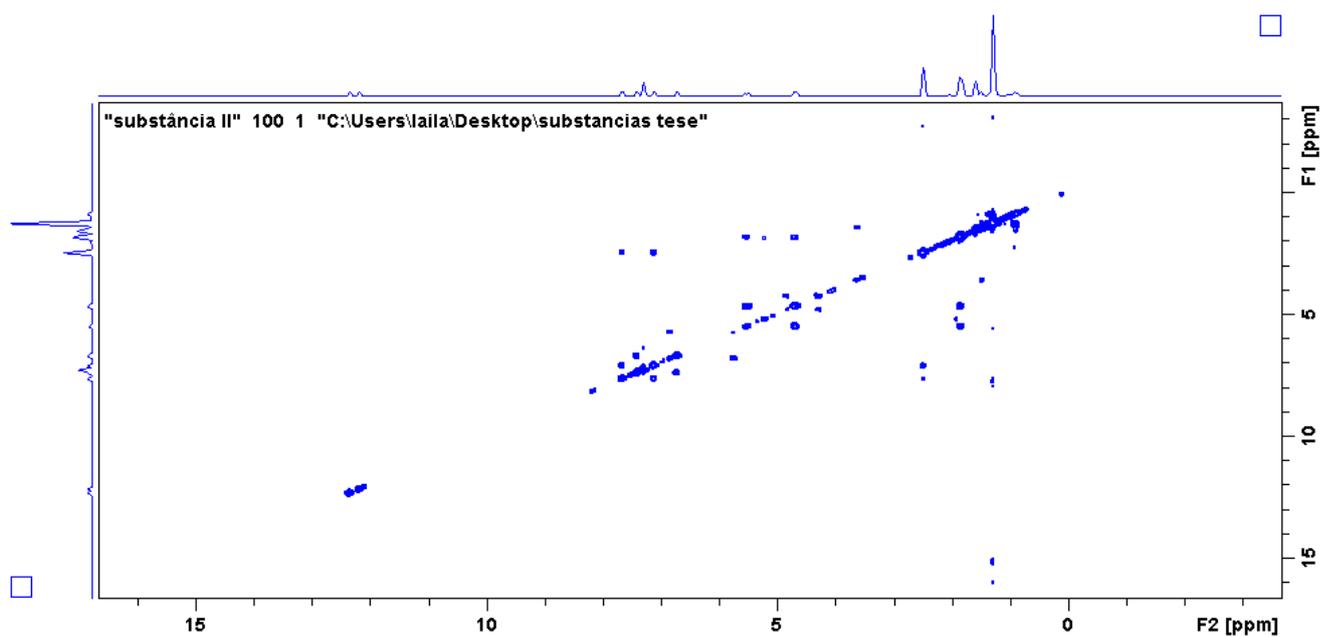
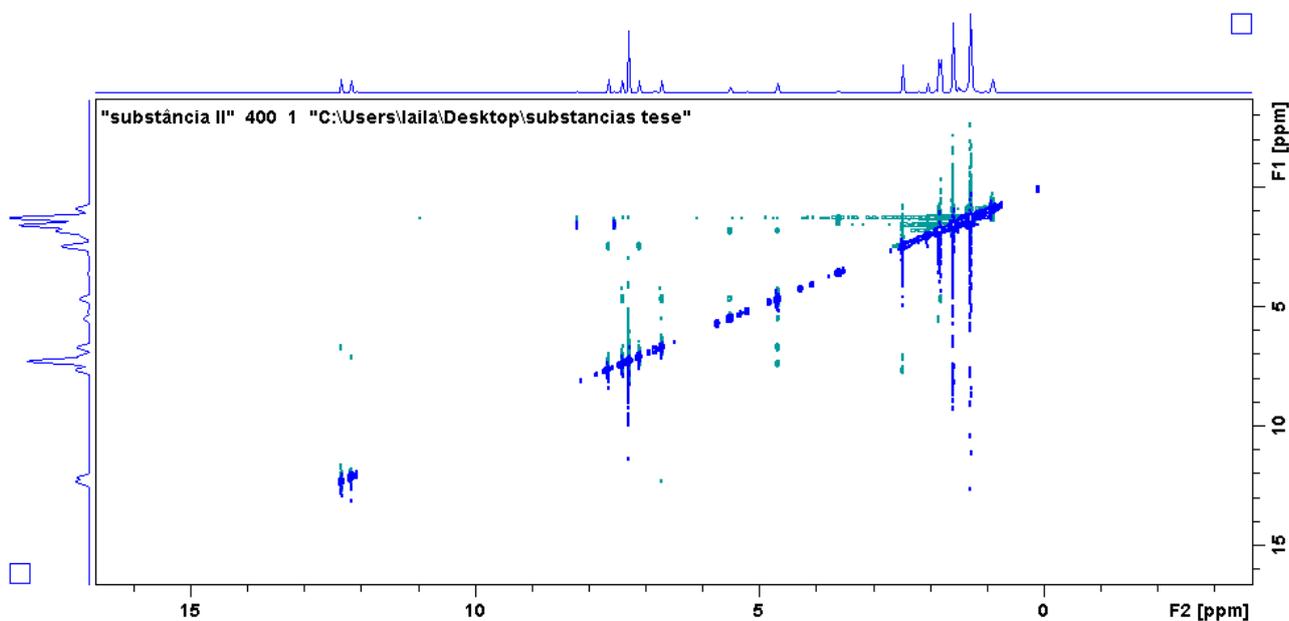


Figura 74: Mapa de contorno NOESY da substância II, madagascina (CDCl₃, 300 MHz)



5.4.3 Identificação da substância III

A fração 9-11 (2 mg) foi obtida do extrato hexânico das folhas da 1ª coleta, apresentou-se na forma de cristais em agulha na coloração branca, e quando revelada com $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ verificou-se a coloração rosa indicativo de terpenos, com $R_f = 0,44$, quando eluída com Hex/DCM 1:1.

O seu espectro de RMN de ^1H (Figuras 76 e 77) mostrou a presença de 8 sinais na região de δ_{H} 0,86 a 1,17, sendo 7 simpletos em δ_{H} 0,86; 0,94; 0,95; 0,96; 0,99; 1,0; 1,7, todos com integral para 3 hidrogênios, e um duplete em δ_{H} 0,97 (d , $J = 7,73$ Hz, 3H) totalizando 8 metilas de um triterpeno. Também foi observado sinais na região de δ_{H} 1,21 a 2,10 referentes a hidrogênios metilênicos e metínicos da molécula. apresentou um sinal em δ_{H} 3,73 (q , $J = 2,42$ e Hz, 1H), correspondendo a um hidrogênio carbinólico. A ausência de ligações duplas na região entre δ_{H} 5,0 e 6,0, foi um indicativo da presença de um triterpeno de esqueleto friedelano.

O espectro de RMN de ^{13}C (Figura 78) mostrou a presença de 30 átomos de carbono na região de δ_{C} 11,0 a 73,0, correspondente a um triterpeno com esqueleto sem ligações duplas, corroborando com os dados do espectro de hidrogênio, para um esqueleto friedelano. O espectro de RMN de DEPT-135, mostrou que desses 24 sinais, sendo portanto, 6 correspondentes a carbonos quaternários, sendo eles 28,18; 30,01; 37,08; 37,81; 38,35 e 39,65, pelo RMN de DEPT -135 foi possível observar também 8 carbonos metílicos, bem característicos de triterpenos, e 11 sinais de carbonos metilênicos, na região de δ_{C} 72,76 mostrou um sinal característico de um carbono carbinólico.

Comparando os dados com a literatura (Tabela 34) foi possível confirmar os deslocamentos químicos de ^{13}C identificando a substância III como o triterpeno friedelan-3- β -ol (Figura 75) (SALAZAR et al., 2000). Este é o primeiro relato deste triterpeno nas folhas de *V. japurensis*, sendo que MIRAGLIA e colaboradores (1981), isolaram este triterpeno da madeira de *V. japurensis*.

Tabela 34: Dados de RMN de ^{13}C da substância III comparados com a literatura (SALAZAR, 2000)

Posição	δ_c		Carbonos
	Observado	Literatura	
1	16,16	16,40	CH ₂
2	36,14	36,05	CH ₂
3	71,59	72,76	CH
4	49,62	49,14	CH
5	38,09	37,81	CH
6	41,99	41,69	CH
7	17,69	17,53	CH ₂
8	53,27	53,17	CH ₂
9	37,18	37,08	C
10	61,65	61,30	CH
11	35,66	35,32	CH ₂
12	30,69	39,65	CH ₂
13	38,38	38,35	C
14	39,69	39,65	C
15	32,34	32,30	CH ₂
16	35,90	35,53	CH ₂
17	30,02	30,01	C
18	42,88	42,77	CH
19	35,36	35,14	CH ₂
20	28,17	28,18	C
21	32,88	32,77	CH ₂
22	39,28	39,27	CH ₂
23	12,09	11,63	CH ₃
24	16,58	15,78	CH ₃
25	18,35	18,25	CH ₃
26	20,13	20,13	CH ₃
27	18,69	18,67	CH ₃
28	32,12	32,08	CH ₃

Continuação da Tabela 34

29	35,02	35,04	CH3
30	31,85	31,79	CH3

Figura 75: Estrutura da friedelan-3- β -ol

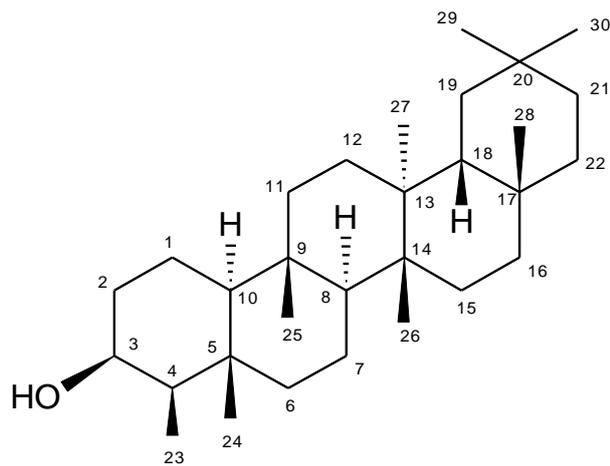


Figura 76: Espectro de RMN de ^1H da substância III, friedelanol (CDCl_3 , 300MHz)

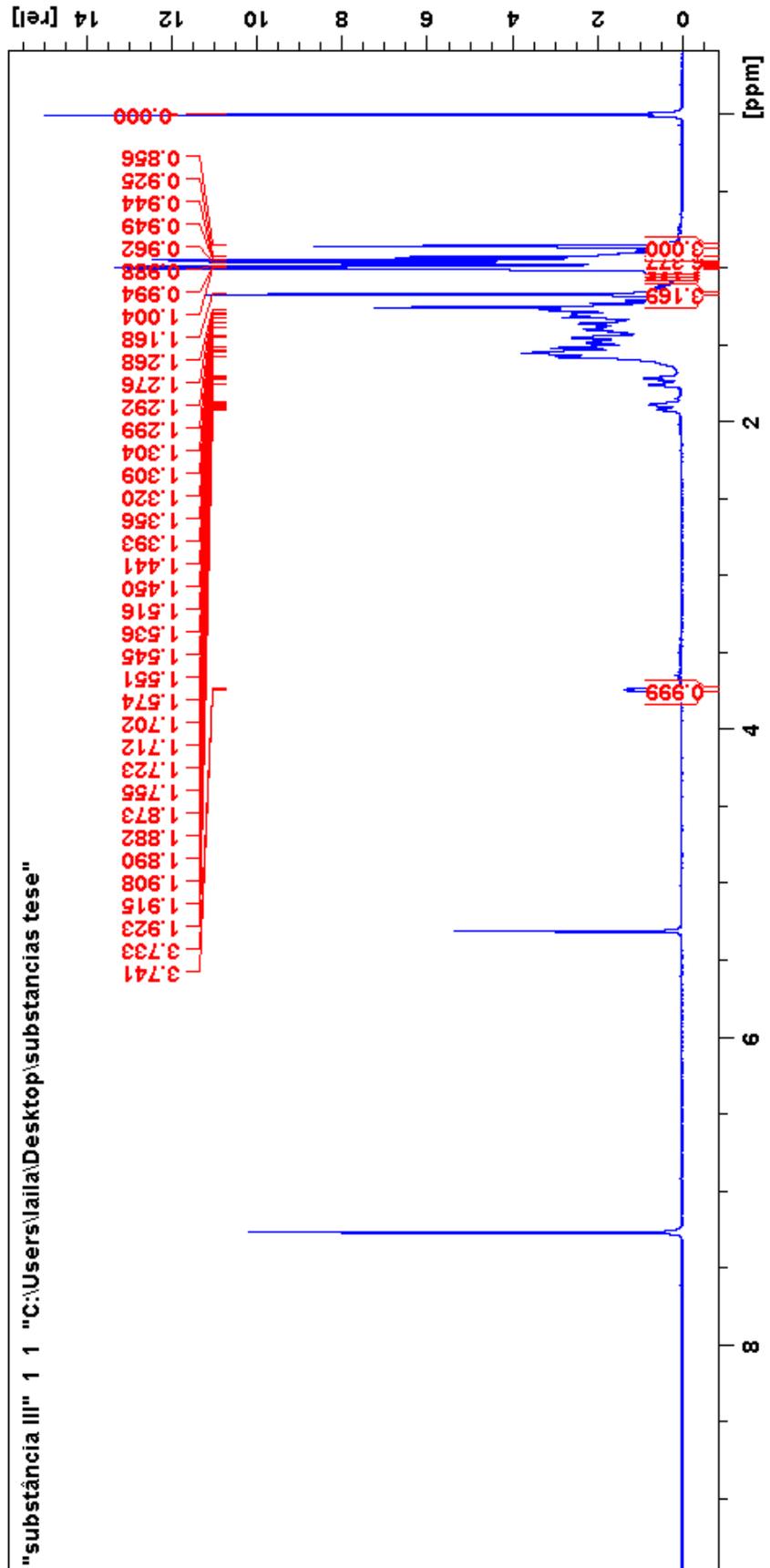


Figura 77: Expansão na região de 0,8 a 1,3 ppm do espectro de RMN dec ^1H da substância III, friedelanol (CDCl_3 , 300MHz)

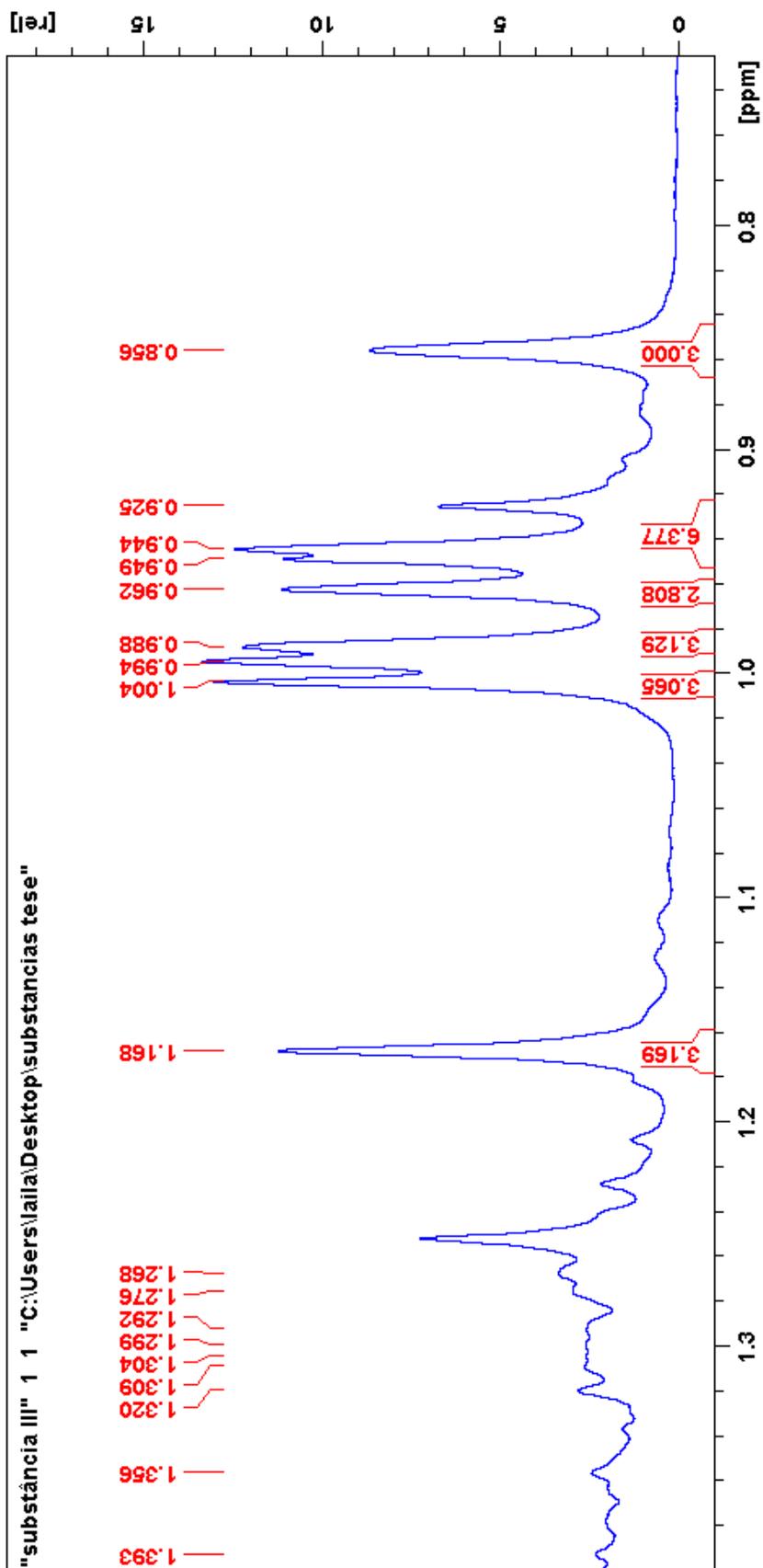
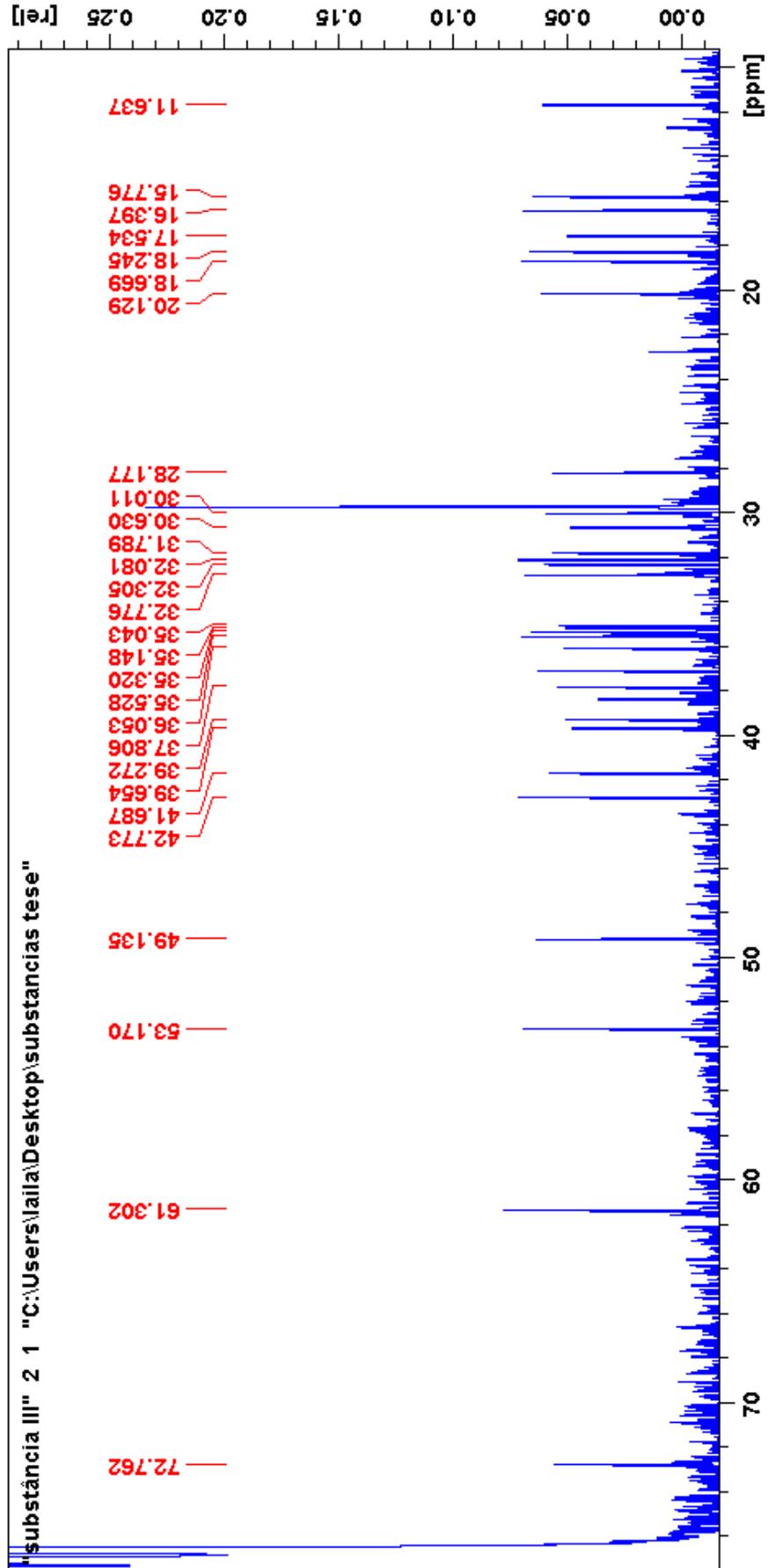
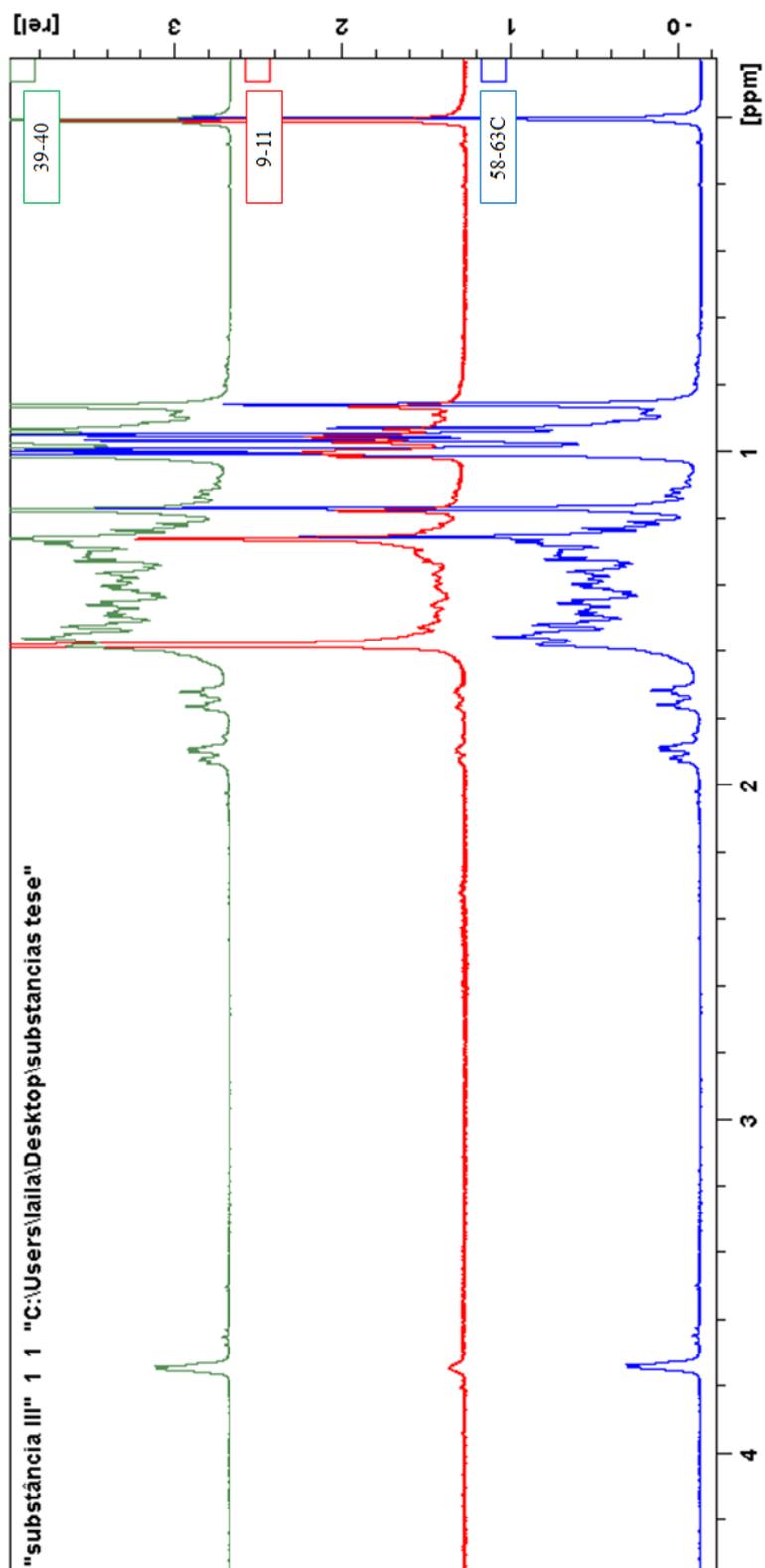


Figura 78: Espectro de RMN de ^{13}C da substância I, friedelina (CDCl_3 , 75 MHz)



Os espectros de RMN de ^1H das frações 9-11 e 39-40 foram comparados com os espectros 58-63C (Figura 79) e constatou-se que também se tratava do triterpeno fridelanol.

Figura 79: Comparação dos espectros de RMN de ^1H das frações 58-63C, 9-11 e 39-40



5.4.4 Identificação da substância IV

A fração 3 (2,8 mg) foi obtida do extrato hexânico das folhas da 2ª coleta, apresentou-se na forma de cristais na coloração amarela, e quando revelada com KOH verificou-se a coloração rosa indicativo de antraquinona, com $R_f=0,6$, quando eluída com Hex/DCM 3:7. Foi observado por análise por MS em alta resolução no modo positivo por infusão direta o íon *quasi*-molecular m/z 284,0762 condizente com a fórmula $C_{16}H_{12}O_5$. (Figura 82).

O espectro de RMN de 1H (Figuras 83) mostrou dois sinais em δ_H 12,14 (*s*, 1H, OH) e 12,33 (*s*, 1H, OH), referentes a duas hidroxilas queladas a grupos carbonilas (C=O), comumente encontrada em esqueletos de antraquinonas.

Na região dos aromáticos (Figura 84), observou-se 4 sinais, dois dupletos e dois duplos dupletos, todos com integrais para um hidrogênio cada δ_H 7,64 (*dd*, $J=1,58$ Hz; 0,93 Hz, H-4), δ_H 7,38 (*d*, $J=2,51$ Hz, H-5), δ_H 7,08 (*dd*, $J=1,4$; 0,93 Hz, H-2); δ_H 6,70 (*d*, $J=2,51$ Hz, H-7), referentes a acoplamentos na posição *meta*, levando a sugerir, que possui um esqueleto antraquinônico tetrasubstituído nas posições C-1, C-3, C-6 e C-8.

Em δ_H 2,46 (*s*, 3H), um sinal integrado para três hidrogênios referentes a uma metila, característica para metila ligada a anel aromático. E em δ_H 3,94 (*s*, 3H) um sinal também com integral para três hidrogênios referentes a um grupo metoxila (Figura 85).

Devido à pouca massa obtida da substância IV, não foi possível a realização do experimento de RMN de ^{13}C .

No espectro bidimensional de correlação heteronuclear HSQC (Figura 86), observou-se que os hidrogênios aromáticos em δ_H 7,64, 7,38, 7,08 e 6,70, se correlacionavam respectivamente com os carbonos em δ_C 121,31, 108,20, 124,49, e 106,88. Apresentou também as correlações dos hidrogênios em δ_H 2,46 com o carbono em δ_C 22,29 indicando, portanto, a presença do grupo metila. A correlação entre os hidrogênios em δ_H 3,94 com o carbono em δ_C 56,11, característico de um grupo metoxila. Verificando-se assim a presença dos carbonos hidrogenados da substância IV.

No espectro bidimensional de correlação heteronuclear HMBC, (Figura 87), observaram-se as correlações entre os hidrogênios da metila em δ_H 2,46 com os carbonos em δ_C 148,37, 124,49 e 121,31 confirmando a metila na posição C-3. Observou-se também as correlações entre os hidrogênios de uma metoxila em δ_H 3,94 com o carbono em δ_C 162,88, confirmando na metoxila na posição 6 (Figura 88).

No espectro bidimensional de correlação heteronuclear de COSY (Figura 89) observaram-se as correlações entre os hidrogênios aromáticos em δ_H 7,08 e 7,64 confirmando os hidrogênios nas posições C-2 e C-4 respectivamente. E as correlações entre os hidrogênios aromáticos das posições C-5 e C-7, sendo eles δ_H 7,38 e δ_H 6,70.

Os dados de RMN de 1H e ^{13}C (Tabela 35) uni e bidimensionais, foram comparados com a literatura (OTTOBELLI et al., 2011; CHEN et al., 2012; SIMETANINA et al., 2007) permitindo assim sugerir que a substância IV se trata da 1,8-dihidroxi-3-metil-6-metoxiantraquinona conhecida como fisciona (Figuras 80 e 81). Este é o primeiro relato do isolamento de fisciona em *Vismia japurensis* e *Vismia sandwithii*. Na literatura há relatos do isolamento de fisciona em outras espécies de *Vismia* como em: *Vismia cayennensis* (MIRAGLIA et al., 1981; PINHEIRO et al., 1984). Trabalhos na literatura atribuem para esta substância, atividades biológicas como atividade antifúngica frente a *Candida albicans*, anticancerígena e bactericida, ela apresentou também efeitos protetores contra acidentes vasculares cerebrais em ratos (ZHOU et al. 2006; COOPOOSAMY & MAGWA, 2006; GARCÍA-ROSA et al. 2006; MINKYUN et al. 2008).

Tabela 35: Dados de RMN de 1H , ^{13}C , HSQC, HMBC e COSY da substância IV comparados com a literatura (SIMETANINA et al., 2007)

Posição	Literatura		Observado			
	δ_H	δ_c	δ_H	HSQC (δ_c)	HMBC (δ_c)	COSY (δ_H)
1	-	162,5	-	-	-	-
2	7,08	124,5	7,09	124,49	-	2,43 / 7,63
3	-	148,4	-	-	-	-
4	7,64	121,3	7,64	121,31	-	2,43 / 7,08
4 ^a	-	133,2	-	-	-	-
4b	-	-	-	-	-	-
5	-	108,2	7,38	108,20	-	6,70
6	-	166,5	-	-	-	-
7	6,69	106,8	6,70	106,78	-	7,39
8	-	165,2	-	-	-	-
8 ^a	-	110,3	-	-	-	-
8b	-	113,7	-	-	-	-

Continuação da tabela 35

9	-	190,8	-	-	-	-
10	-	182,0	-	-	-	-
Me	2,45	22,1	2,46	22,29	124,31 / 121,31 / 148,31	7,63 / 7,08
OMe	3,94	56,11	3,94	56,11	162,78	-
OH	-	-	12,11		-	-
OH	-	-	12,31		-	-

Figura 80: Estrutura da fisciona (substância IV)

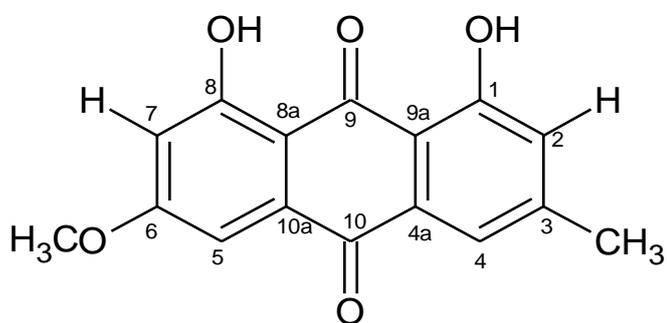
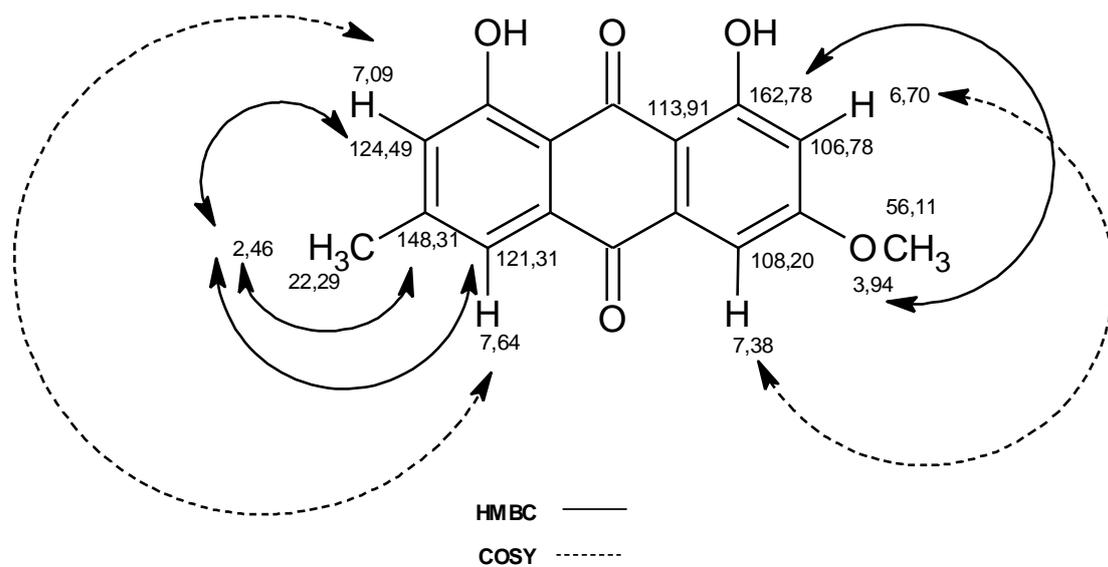


Figura 81: Correlações observadas nos espectros bidimensionais da fisciona



da substância IV, fisciona

Figura 82: Espectro de Massas

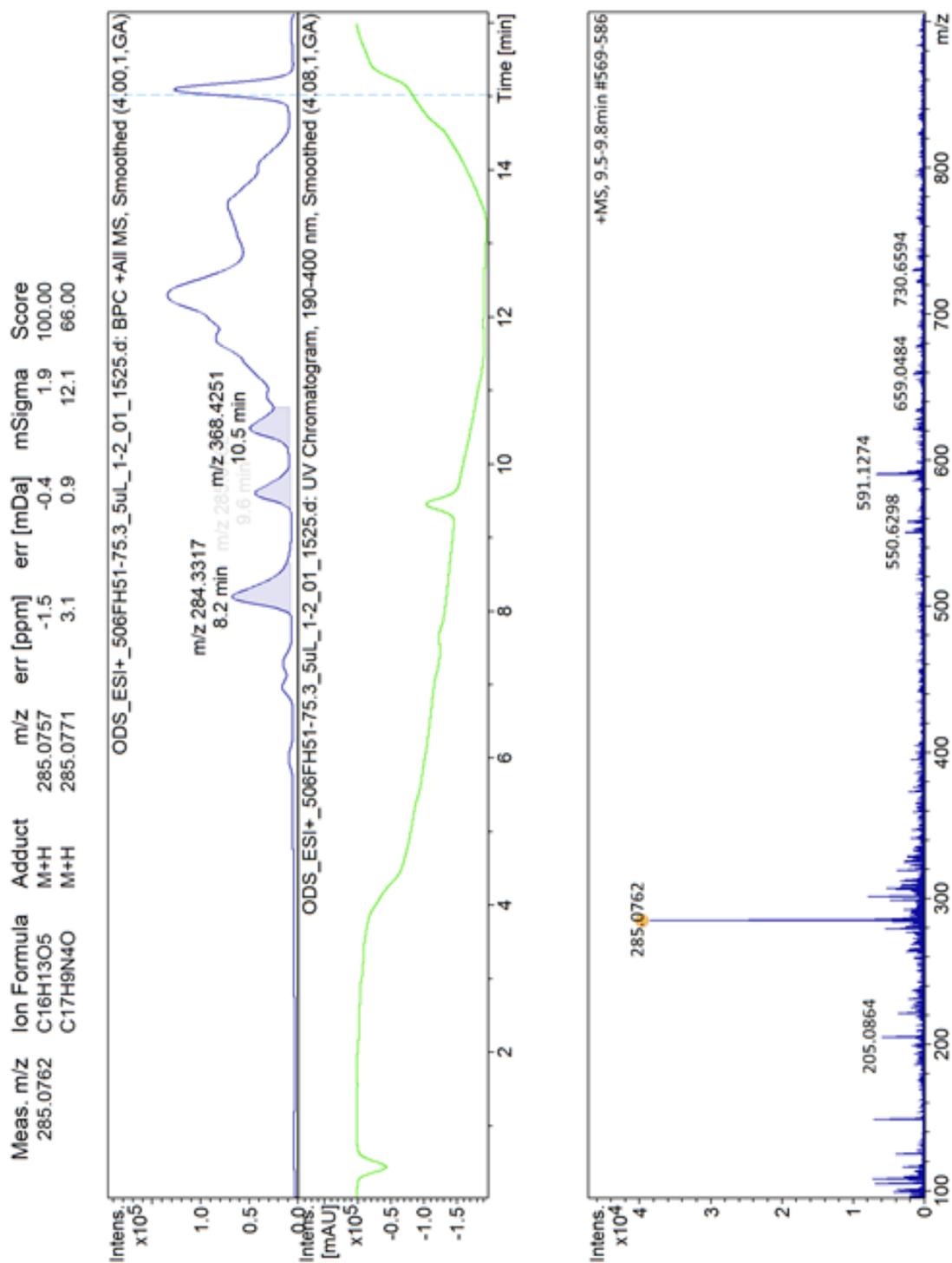


Figura 83: Espectro de RMN de ¹H da substância IV, fisciona (CDCl₃, 300MHz)

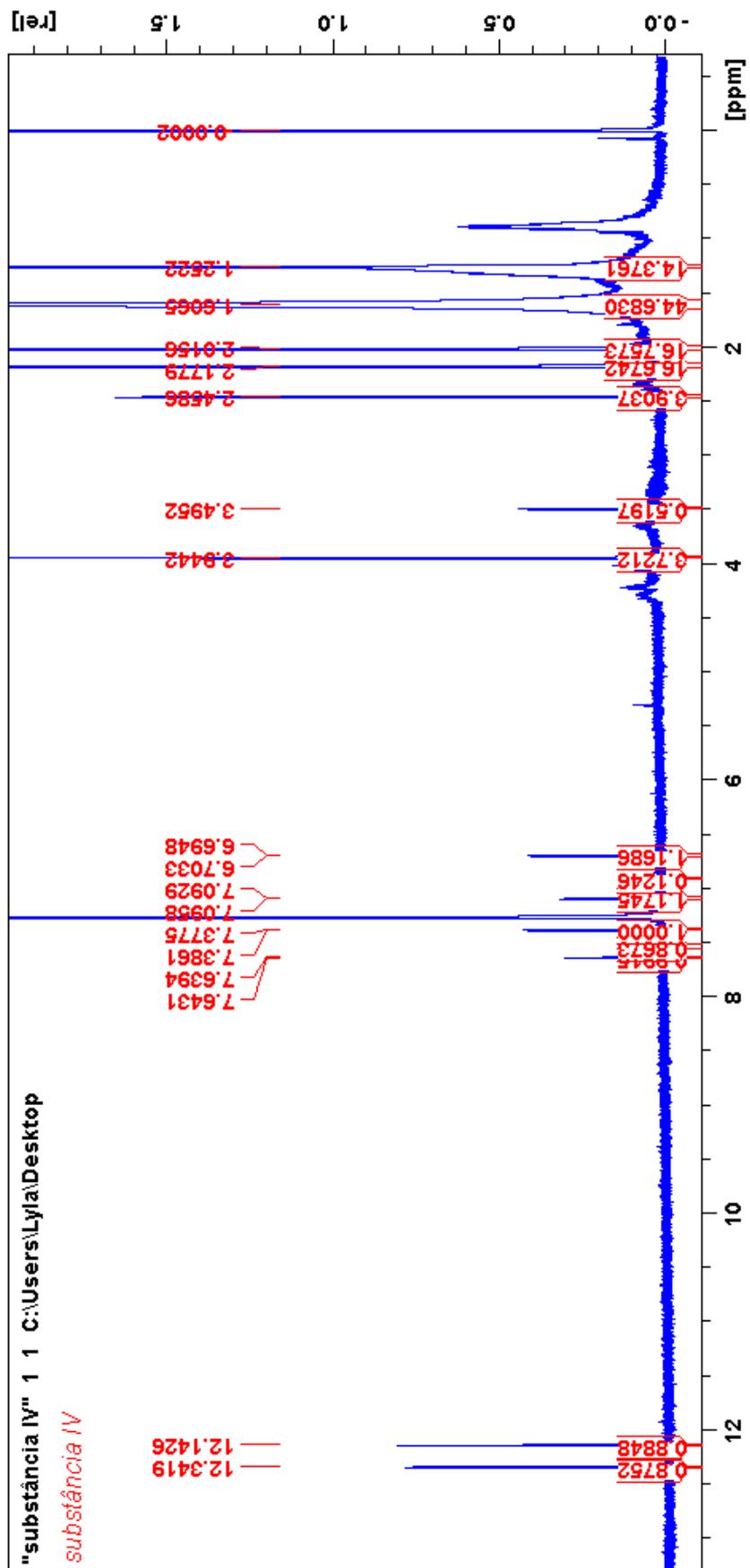


Figura 84: Expansões da região dos aromáticos (6,5 a 7,6 ppm) do espectro de RMN de ^1H da substância IV, fisiona (CDCl_3 , 300MHz)

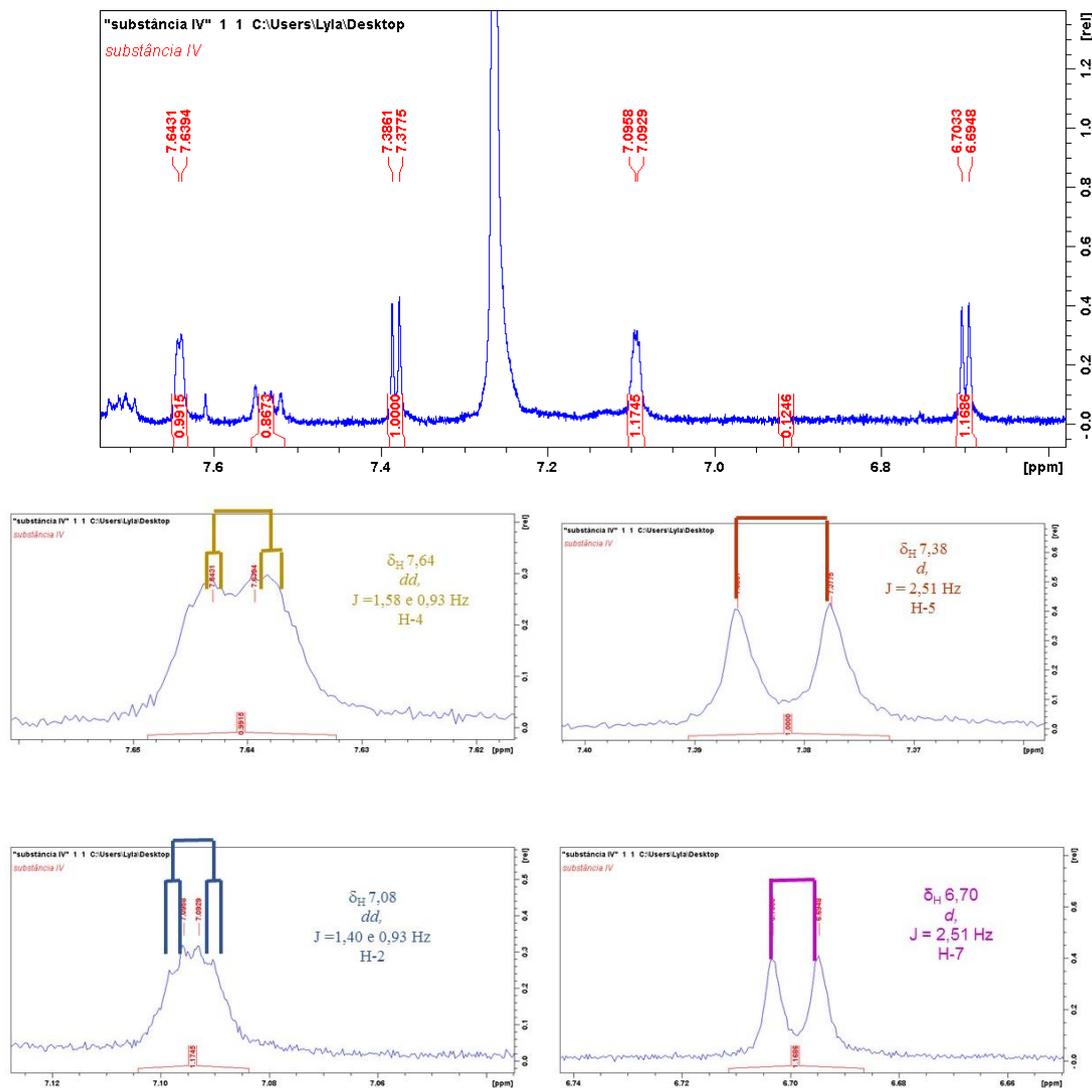


Figura 85: Expansões da região da metila e metoxila (2,4 a 4,0 ppm) do espectro de RMN de ^1H da substância IV, fisiona (CDCl_3 , 300MHz)

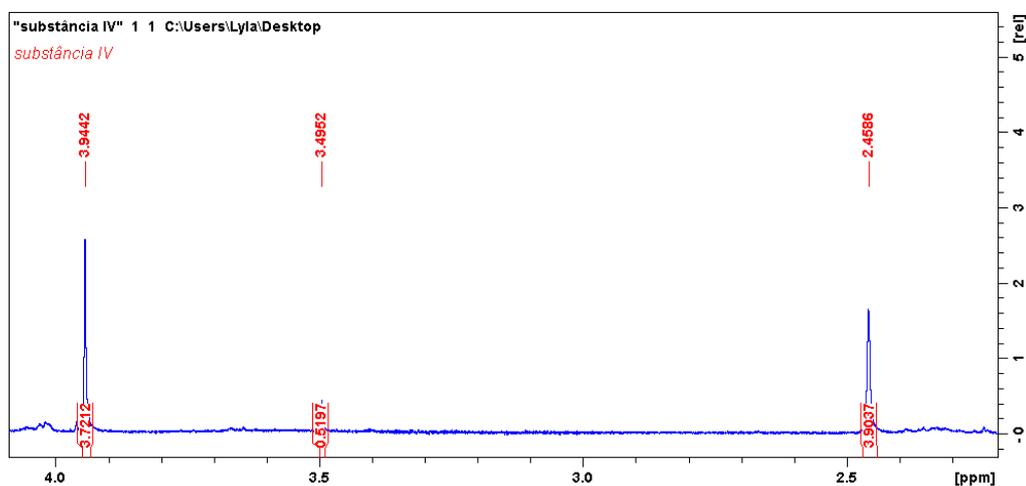


Figura 86: Mapa de contorno HSQC da substância IV, fisciona (CDCl₃, 300 MHz)

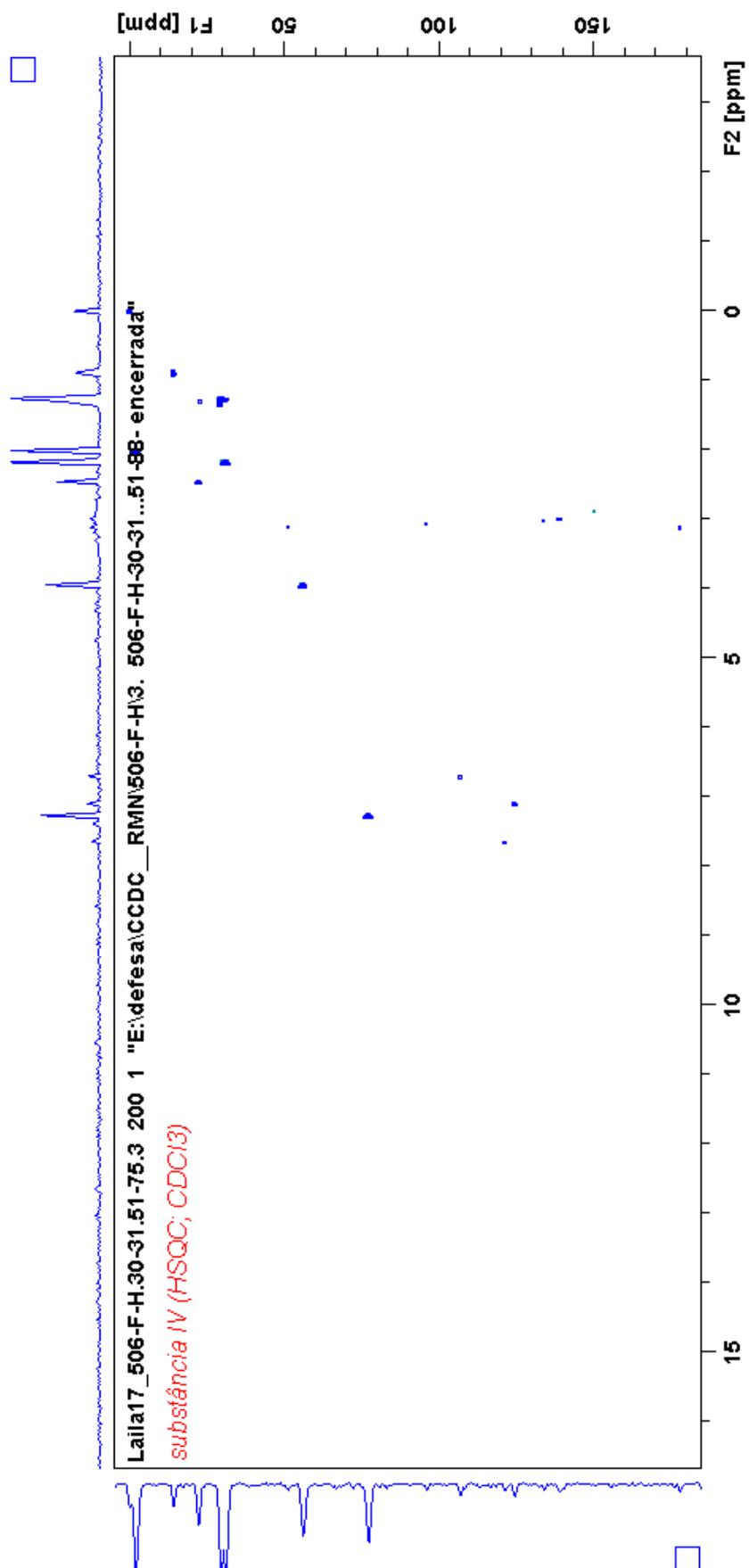


Figura 87: Mapa de contorno HMBC da substância IV, fisiona (CDCl₃, 300 MHz)

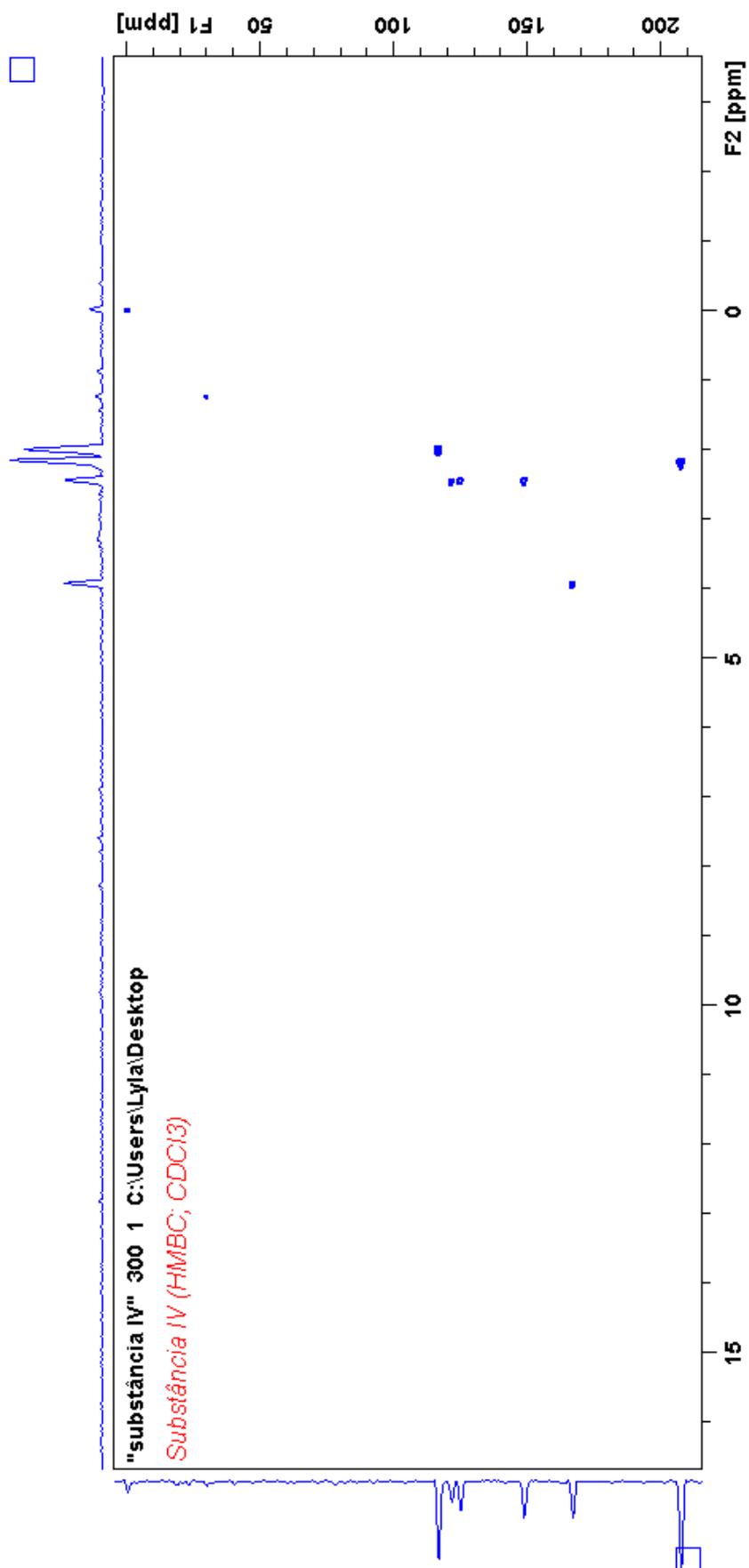


Figura 88: Expansões do Mapa de contorno HMBC e correlações da substância IV, fisciona (CDCl_3 , 300 MHz)

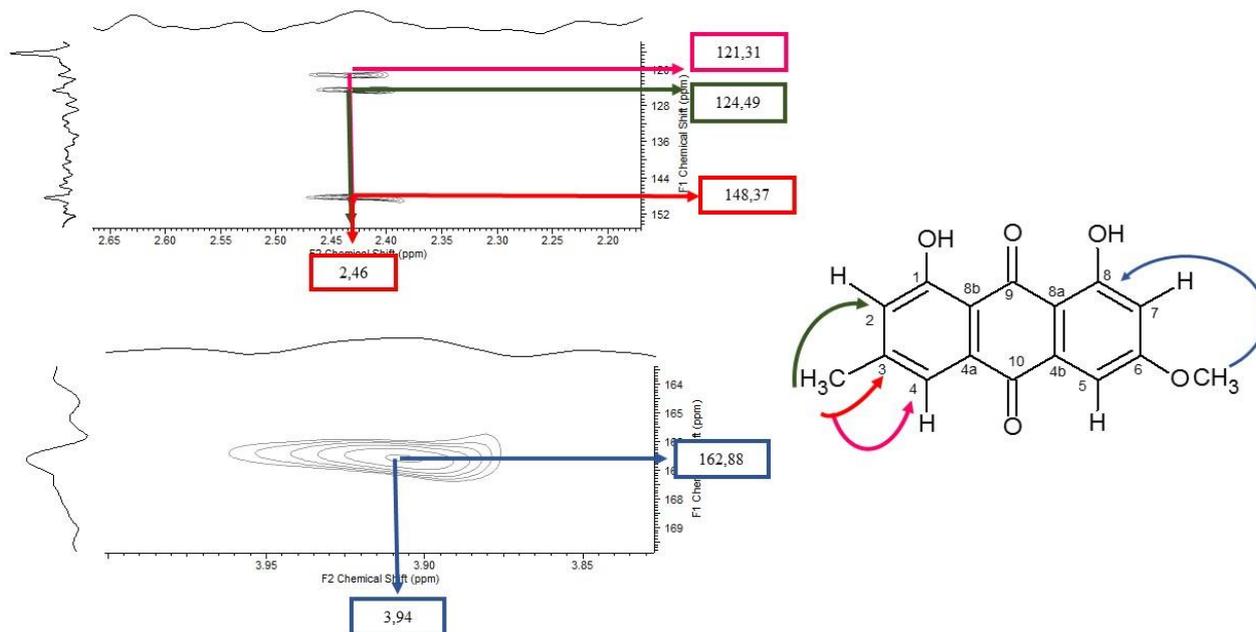
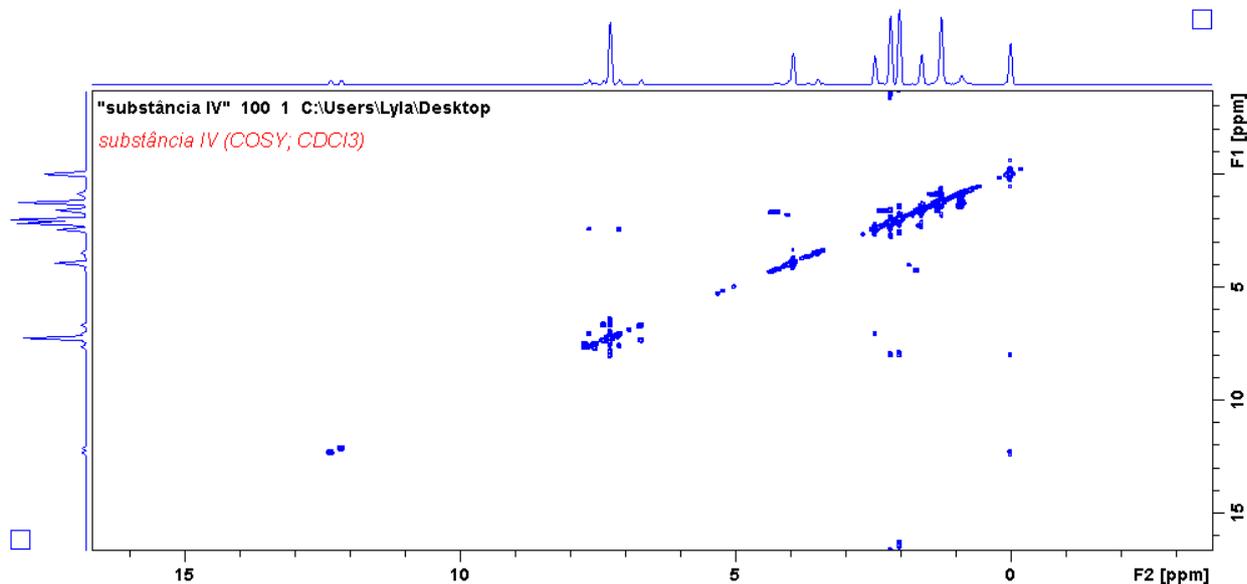
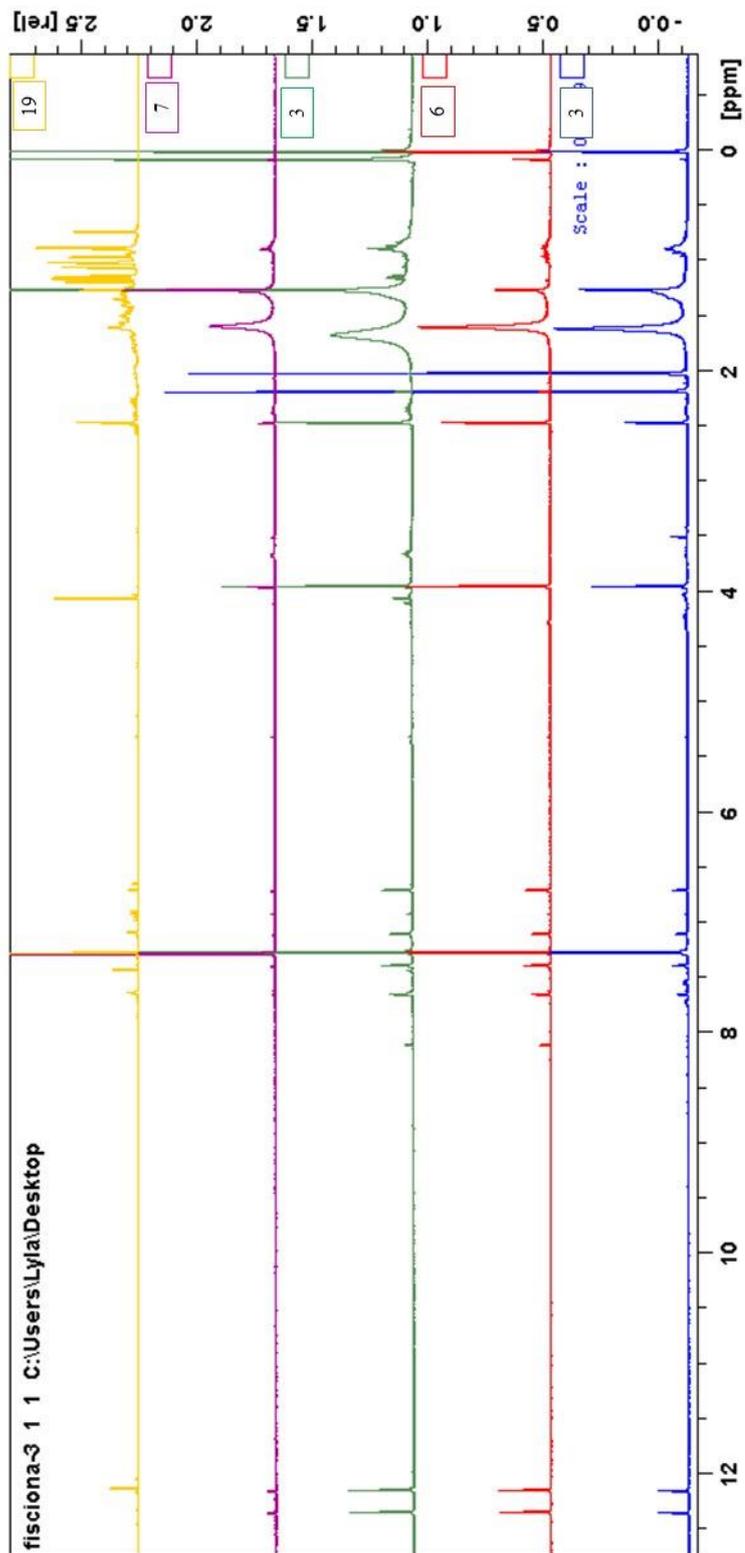


Figura 89: Mapa de contorno COSY da substância IV, fisciona (CDCl_3 , 300 MHz)



Os espectros das frações 6, 3, 7 e 19 foram comparados com o espectro da fração 3 (Figura 90) e constatou-se que continham a antraquinona fisciona.

Figura 90: Comparação dos espectros de RMN de ^1H das frações 3, 6, 3, 7 e 19 (CDCl_3 , 300 MHz)



5.4.5 Identificação da substância V

A fração 8-15 (18,1 mg) foi obtida do extrato hexânico das folhas da 2ª coleta, apresentou-se na forma de cristais na coloração laranja, e quando revelada com KOH verificou-se a coloração rosa, consistente com a presença de uma antraquinona, com $R_f = 0,44$, quando eluída hex/DCM 4:6. Pelo espectro de massas (Figura 93), foi obtido o íon molecular de 352,1388 e a fórmula molecular. Foi observado por análise por MS em alta resolução no modo negativo por infusão direta o íon *quasi*-molecular m/z 351,1285 condizente com a fórmula $C_{21}H_{20}O_5$ (Figura 93).

O seu espectro de RMN de 1H (Figura 94) mostrou dois sinais em δ_H 12,97 (*s*, 1H, OH) e 12,11 (*s*, 1H, OH), referentes a duas hidroxilas queladas a grupos carbonilas (C=O), comumente encontrada em esqueletos de antraquinonas.

Na região dos aromáticos (Figura 95), observou-se 3 sinais, dois duplos dupletos e 1 simpleto largo, todos com integrais para um hidrogênio cada δ_H 7,62 (*dd*, $J = 1,58$ Hz; 0,37 Hz, H-4), δ_H 7,41 (*sl*, 1H, H-5), δ_H 7,08 (*dd*, $J = 1,58$; 0,84 Hz, H-2), referentes a acoplamentos na posição *meta*, levando a sugerir, que possui um esqueleto antraquinônico substituído nas posições C-1, C-3, C-6, C-7 e C-8.

Em δ_H 2,45 (*s*, 3H), um sinal integrado para três hidrogênios referentes a uma metila, característica para metila ligada a anel aromático. Em δ_H 4,05 (*s*, 3H) um sinal também com integral para três hidrogênios referentes a um grupo metoxila (Figura 96).

Apresentou também dois duplos dupletos na região de δ_H 6,93 (*dd*, $J = 7,17$; 16,30 Hz, 1H), e δ_H 6,66 (*dd*, $J = 1,21$; 16,21 Hz, 1H) atribuídos a hidrogênios olefínicos na posição *trans* do grupo dimetilalila (Figura 97). Apresentou um sinal δ_H 2,52 (*m*, 1H) atribuído a um hidrogênio metínico e dois sinais em δ_H 1,15 (*s*, 3H) e δ_H 1,13 (*s*, 3H), referentes aos deslocamentos químicos dos hidrogênios das metilas do grupo dimetilalila.

No espectro bidimensional de correlação heteronuclear HSQC (Figura 98), observou-se que os hidrogênios aromáticos em δ_H 7,62, 7,41 e 7,08, se correlacionavam respectivamente com os carbonos em δ_C 121,11, 103,37 e 124,436. Apresentou também as correlações dos hidrogênios em δ_H 2,45 com o carbono em δ_C 22,16 indicando, portanto, a presença do grupo metila. A correlação entre os hidrogênios em δ_H 4,05 com o carbono em δ_C 56,30, característico de um grupo metoxila. Verificando-se assim a presença dos carbonos hidrogenados da substância V.

No espectro bidimensional de correlação heteronuclear HMBC (Figura 99), observaram-se as correlações entre os hidrogênios da metila em δ_H 2,45 com os carbonos em δ_C 148,36, 124,54 e 121,19 confirmando a metila na posição C-3. Observou-se também as correlações entre os hidrogênios de uma metoxila em δ_H 4,05 com o carbono em δ_C 162,89, confirmando na metoxila na posição 6. Observou-se também a correlação entre o hidrogênio em δ_H 6,63 com o carbono em δ_C 162,33, confirmando o grupo dimetilalila na posição 7 (Figura 100).

No espectro de COSY (Figura 101) observaram-se as correlações entre os hidrogênios da metila em δ_H 2,45 com os hidrogênios aromáticos com deslocamentos químicos em δ_H 7,08 e 7,62, confirmando a metila na posição C-3.

Os dados de RMN de 1H (Tabela 36) uni e bidimensionais permitiram identificar a substância V como sendo a 1,8-dihidroxi-7-isoprenil-6-metoxi-3-metil-atraquinona conhecida como vismiaquinona A (Figura 91 e 92). Este é o primeiro relato do isolamento desta antraquinona nas folhas de *Vismia japurensis*. Miraglia e colaboradores (1981), isolaram da madeira e Pinheiro e colaboradores (1984), isolaram dos frutos de *Vismia japurensis*. Na literatura há relatos do isolamento de vismiaquinona A em outras espécies do gênero *Vismia*, como nos estudos realizados por LINS e colaboradores (2016), com *Vismia guianensis*, e Gonçalves e colaboradores (1981), também relataram a presença desta antraquinona em estudos realizados com a espécie *Vismia reichardtiana*.

Figura 91: Estrutura da vismiaquinona A (substância V)

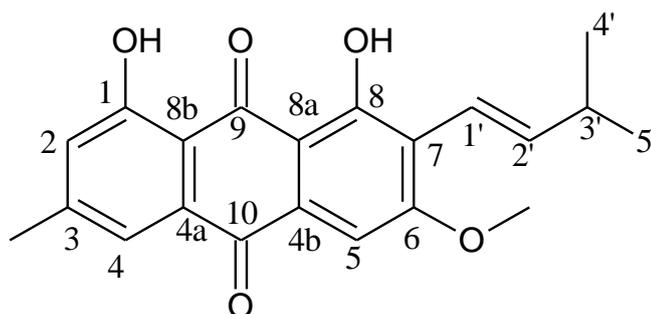


Tabela 36: Dados de RMN de 1H , ^{13}C , HSQC, HMBC e COSY da substância V comparados com a literatura (NAGEM & OLIVEIRA (1997))

Posição	Literatura		Observado				
	δ_H	δ_C	δ_H	δ_C	HSQC (δ_C)	HMBC (δ_C)	COSY (δ_H)
1	-	162,8	-	162,06	-		
2	6,93	124,2	7,08	124,36	124,36	113,63/121,11/22,16	2,45
3	-	148,3	-	148,3	-		
4	7,24	121,0	7,62	121,11	121,11	181,86/124,36/113,64/22,15	2,45

4ª	-	131,9	-	-	-
----	---	-------	---	---	---

Continuação da Tabela 36

4b	-	133,0	-	131,97	-		
5	7,46	110,3	7,41	103,37	103,37	110,63/119,90/131,97	
6	-	161,9	-	-	-		
7	-	114,0	-	119,90	-		
8	-	162,3	-	162,33	-		
8ª	-	110,4	-	110,63	-		
8b	-	115,7	-	113,64	-		
9	-	191,2	-	-	-		
10	-	181,7	-	181,86	-		
1'	6,50	132,0	6,66	115,69	115,69	162,33/146,5	
2'	6,85	146,6	6,93	146,5	146,5	119,90/115,69	2,53
3'	2,40	33,4	2,53	33,50	-		
4'	1,04	22,7	1,15	22,85	22,85		
5'	1,05	22,4	1,13	22,53	22,53	146,51/33,50	
Me	2,34	22,1	2,45	22,16	22,16	148,5/124,36/121,11	
OMe	3,93	56,2	4,05	56,3	56,3	162,33	
OH	11,96	-	12,11	-	-	162,06/124,36/113,64	
OH	12,80	-	12,97	-	-	162,3/119,90/110,63	

Figura 92: Correlações observadas nos espectros bidimensionais da substância V, vismiaquinona A

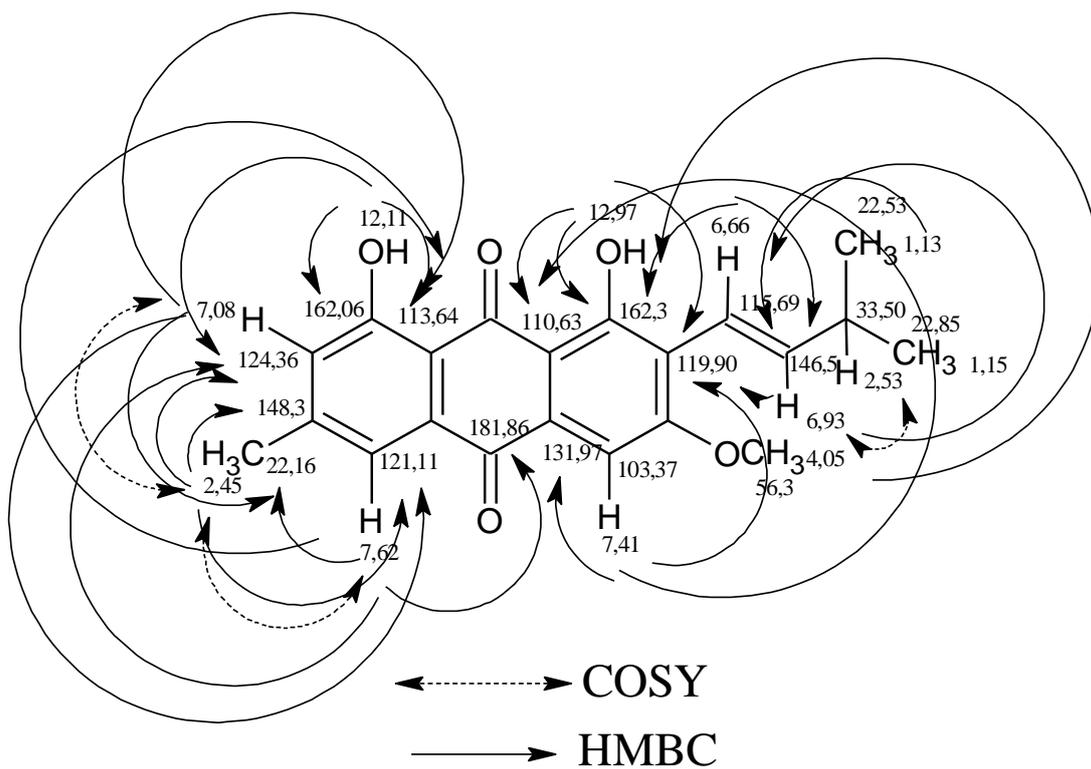


Figura 93: Espectro de massas da substância V, vismiaquinona A

Analysis Info

Acquisition Date 4/10/2018 12:35:58 PM
Analysis Name D:\Data\Usuarios\2018\Cecilia\Laila\Data\LC-MS\10-04-2018\ODS_APCI-_506FH_8-15_1uL_1-2_01_2384.d
Method TuneLow_APCI-_Laila_50-1600_20min.m Operator BDAL@DE
Sample Name ODS_APCI-_506FH_8-15_1uL Instrument micrOTOF-Q
Comment ODS 50x2,0mm
Flx=0,4 mL/min[sem Split]; P:3185psi;C=1mg/mL (ACN);Inj=1uL;
A(H2O+0,1%HCOOH)/B(ACN+0,1%HCOOH)
0-12min_30-100%
12-16min_100%
16-18min_100-30%
18-20min_30%
injetor: ACN
Calib.:TuneAPCI_end

Meas. m/z	Adduct	Ion Formula	m/z	err [ppm]	mSigma	Score
351.1285	M-H	C22H15N4O	351.1251	-9.6	69.8	100.00
	M-H	C21H19O5	351.1238	-13.4	82.6	12.19
	M-H	C16H15N8O2	351.1323	10.9	99.0	17.58
	M-H	C15H19N4O6	351.1310	7.1	111.8	35.89
	M-H	C12H11N14	351.1297	3.3	112.8	91.04
	M-H	C14H23O10	351.1297	3.3	124.7	47.38
	M-H	C11H15N10O4	351.1283	-0.5	125.4	75.14
	M-H	C10H19N6O8	351.1270	-4.3	138.3	17.02

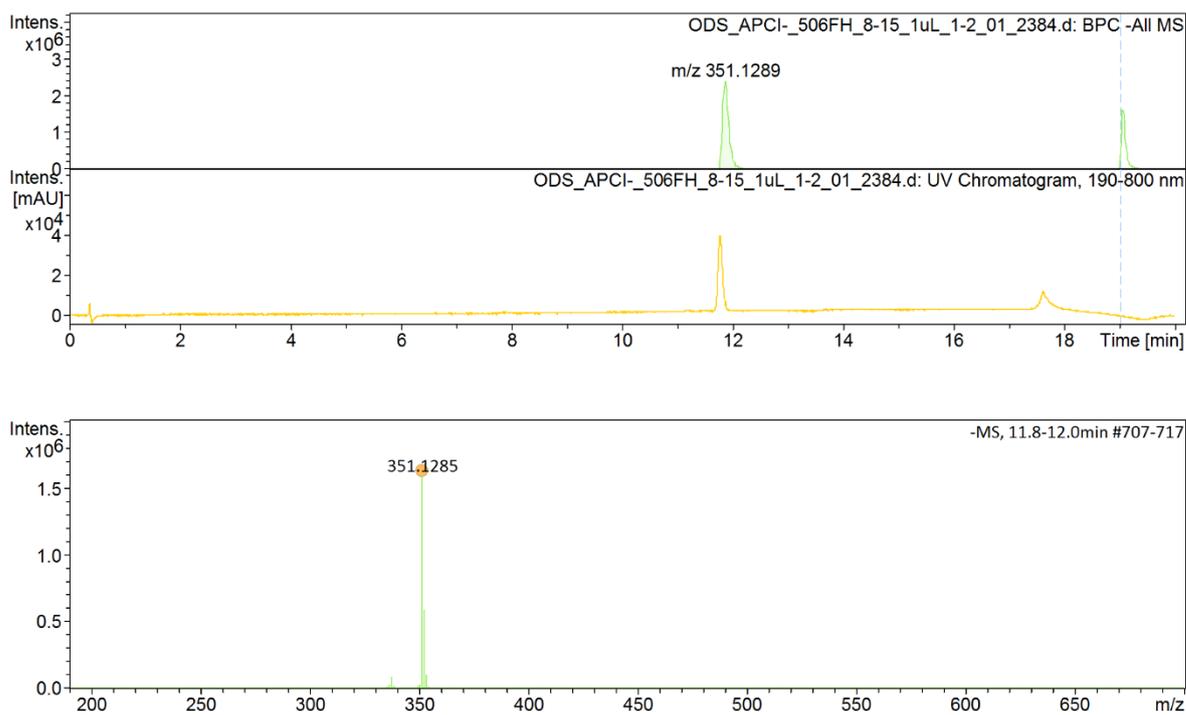


Figura 94: Espectro de RMN de ¹H da substância V, vismiaquinona A (CDCl₃, 300MHz)

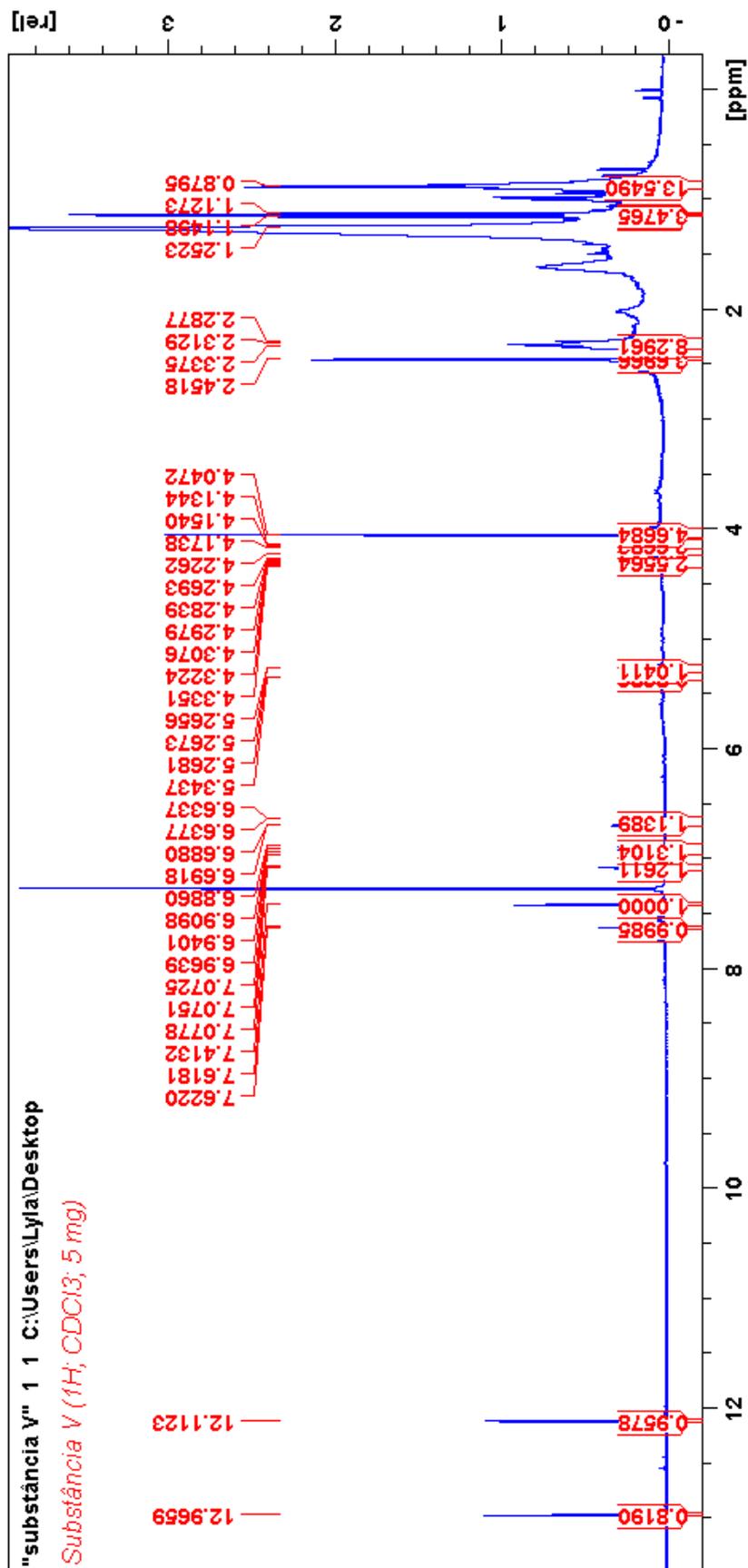


Figura 95: Expansões da região dos aromáticos (7,1 a 7,7 ppm) do espectro de RMN de ¹H da substância V, vismiaquinona A (CDCl₃, 300MHz)

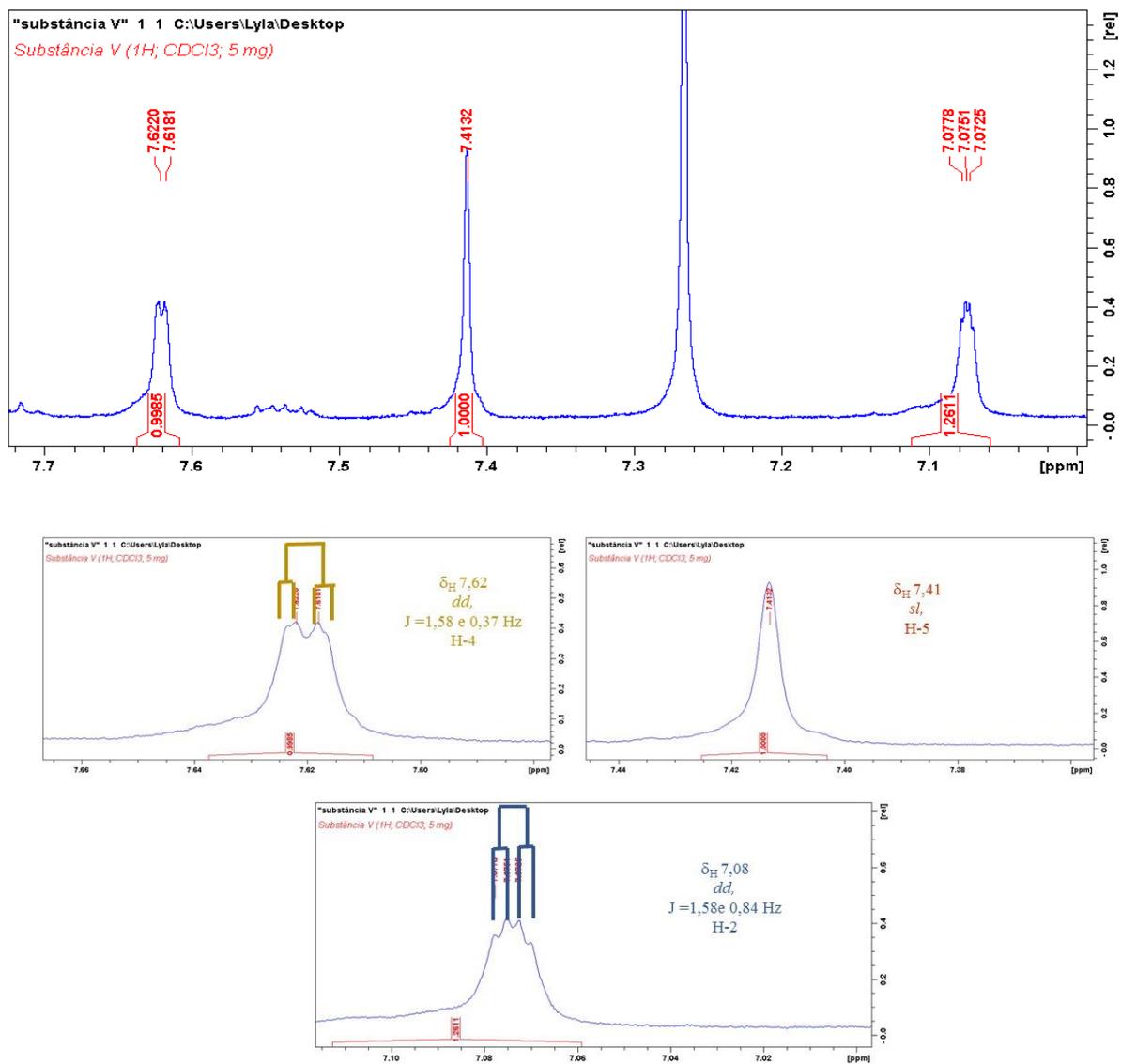


Figura 96 : Expansões da região de 2,5 a 4,0 ppm do espectro de RMN de ^1H da substância V, vismiaquinona A (CDCl_3 , 300MHz)

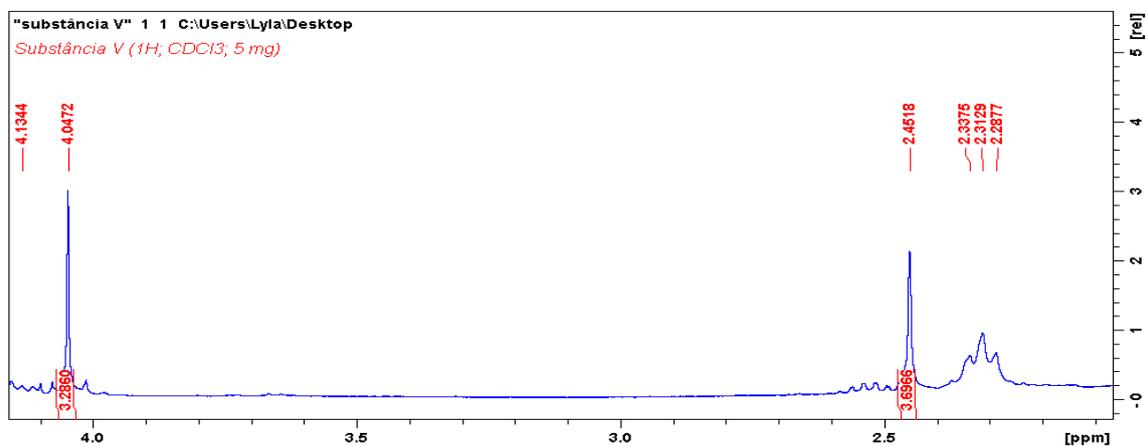


Figura 97: Expansões da região (6,5 a 6,9 ppm) dos hidrogênios olefínicos na posição *trans* do grupo dimetilalila do espectro de RMN de ^1H da substância V, vismiaquinona A (CDCl_3 , 300MHz)

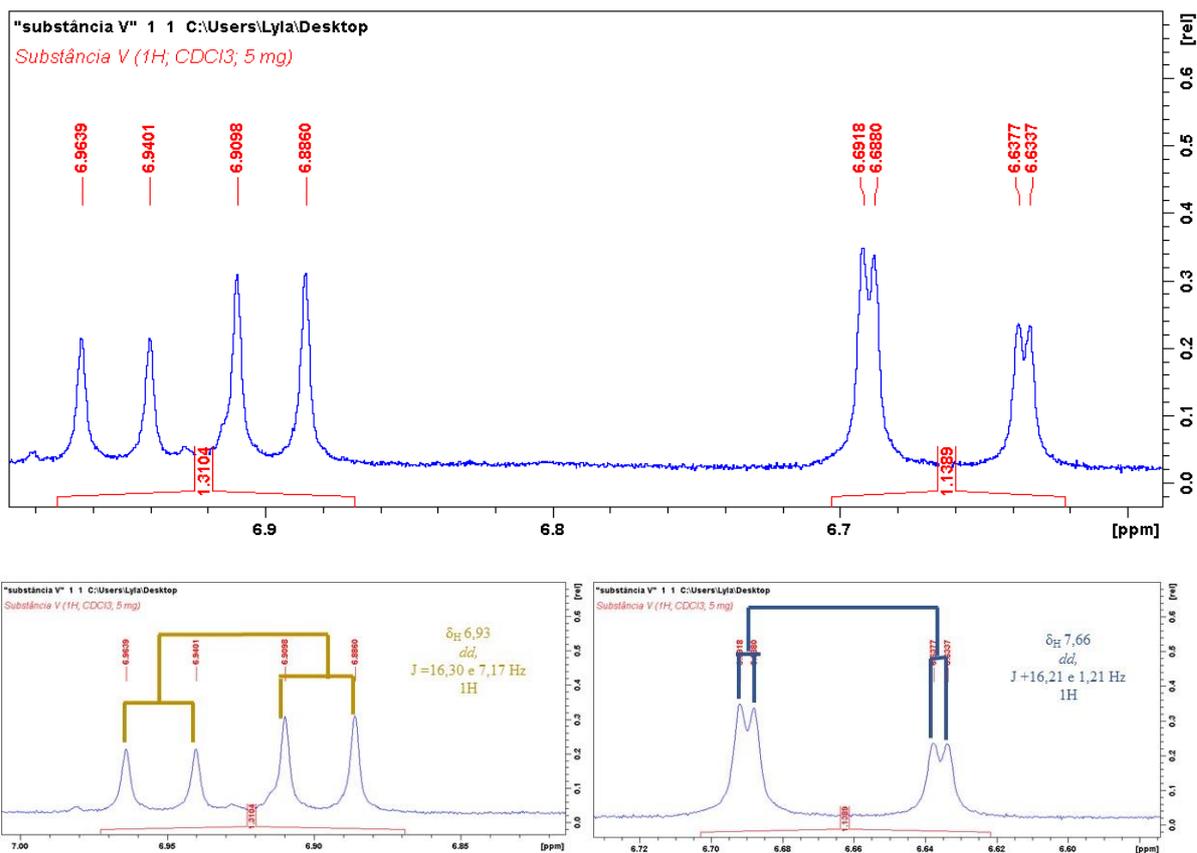


Figura 98: Mapa de contorno HSQC da substância V, vismiaquinona A (CDCl₃, 300 MHz)

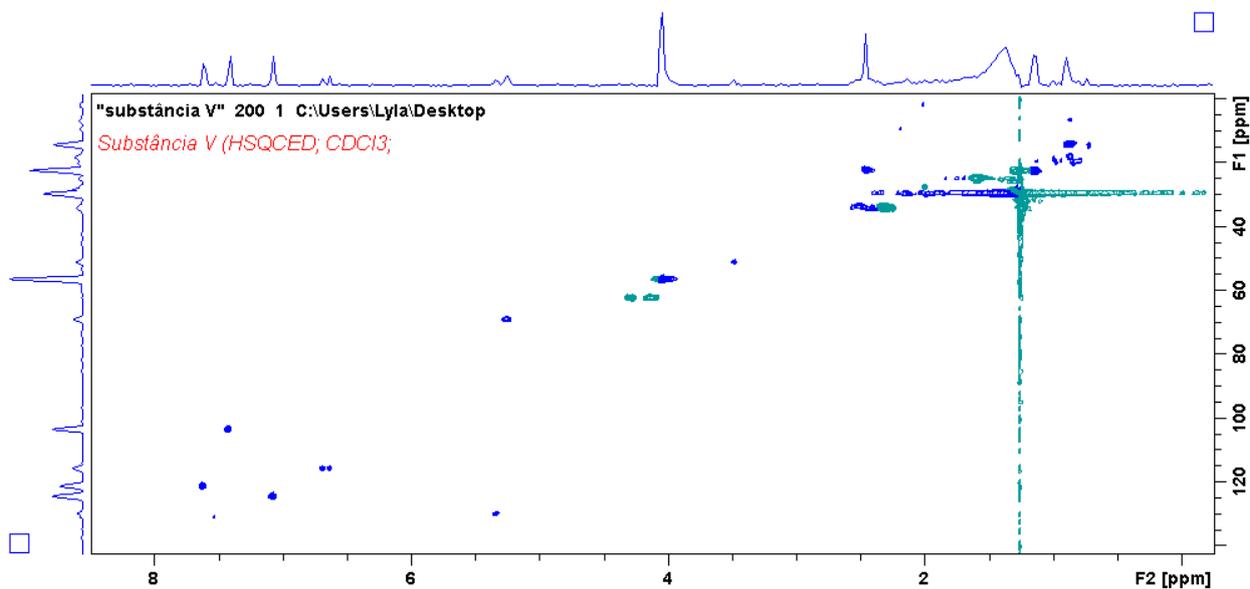


Figura 99: Mapa de contorno HMBC da substância V, vismiaquinona A (CDCl₃, 300 MHz)

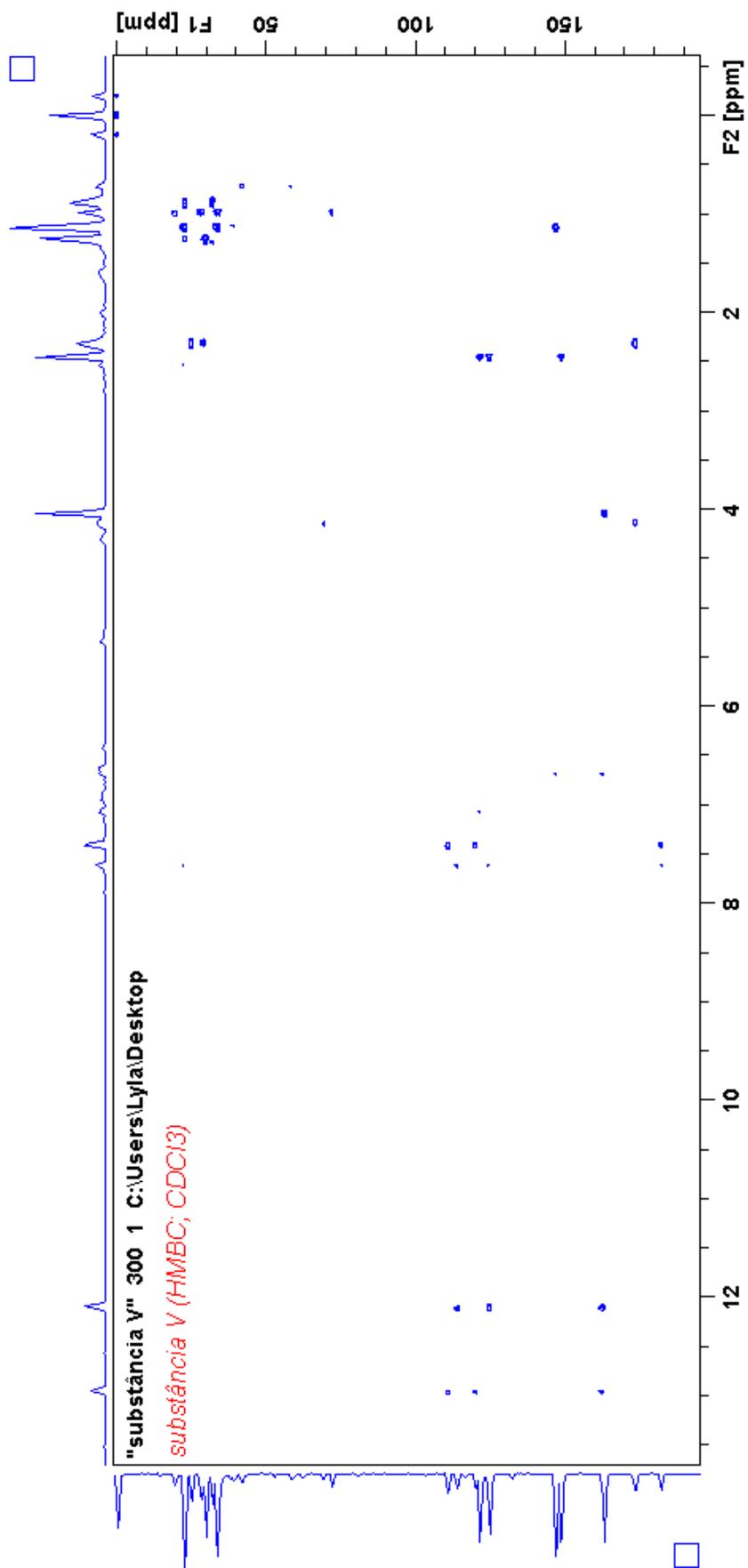


Figura 100: Expansões do Mapa de contorno de HMBC da substância V, vismiaquinona A (CDCl₃, 300 MHz)

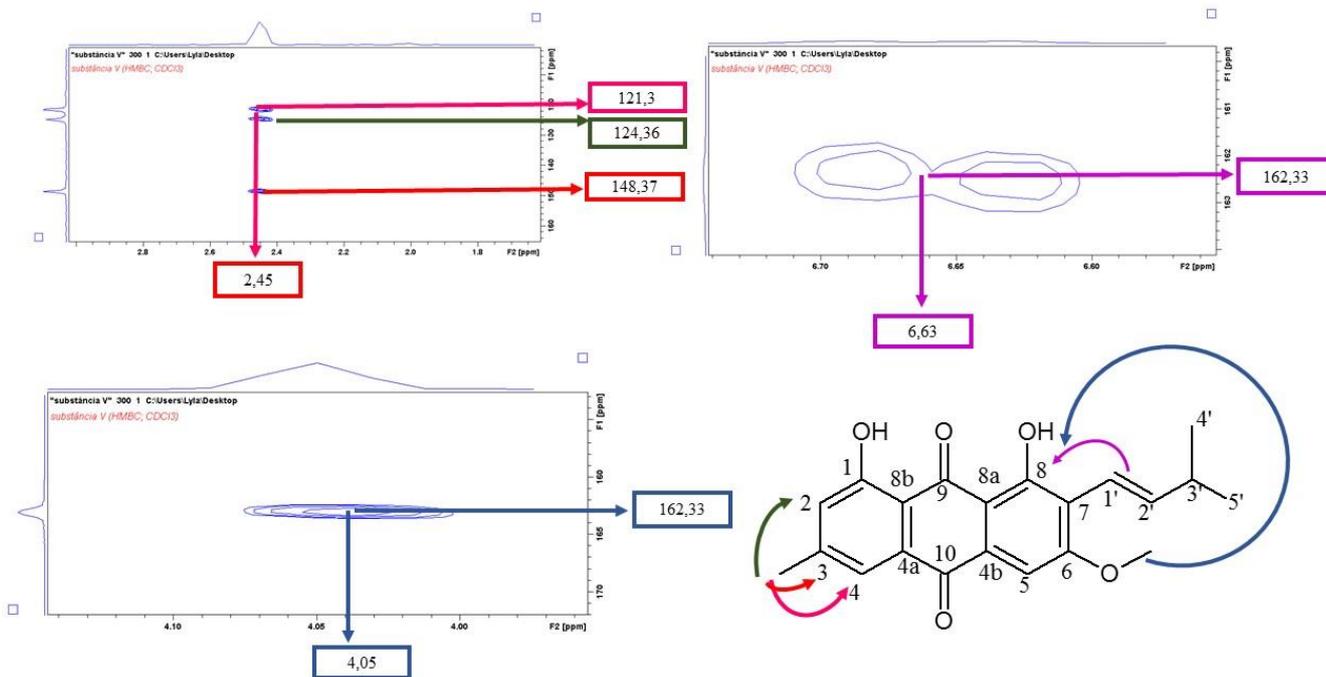
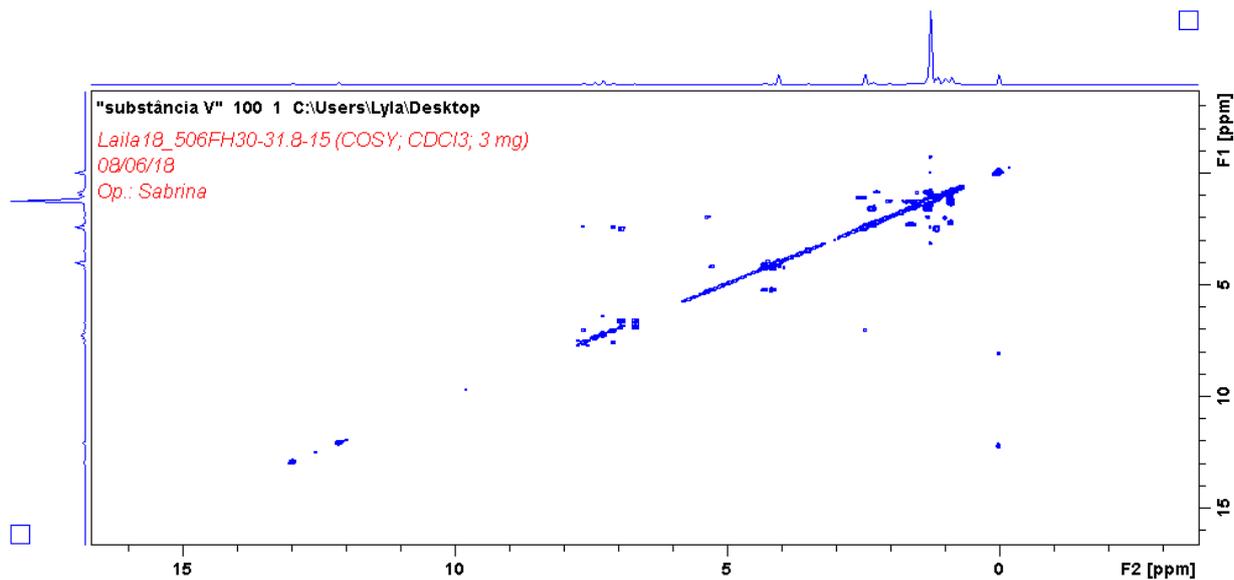
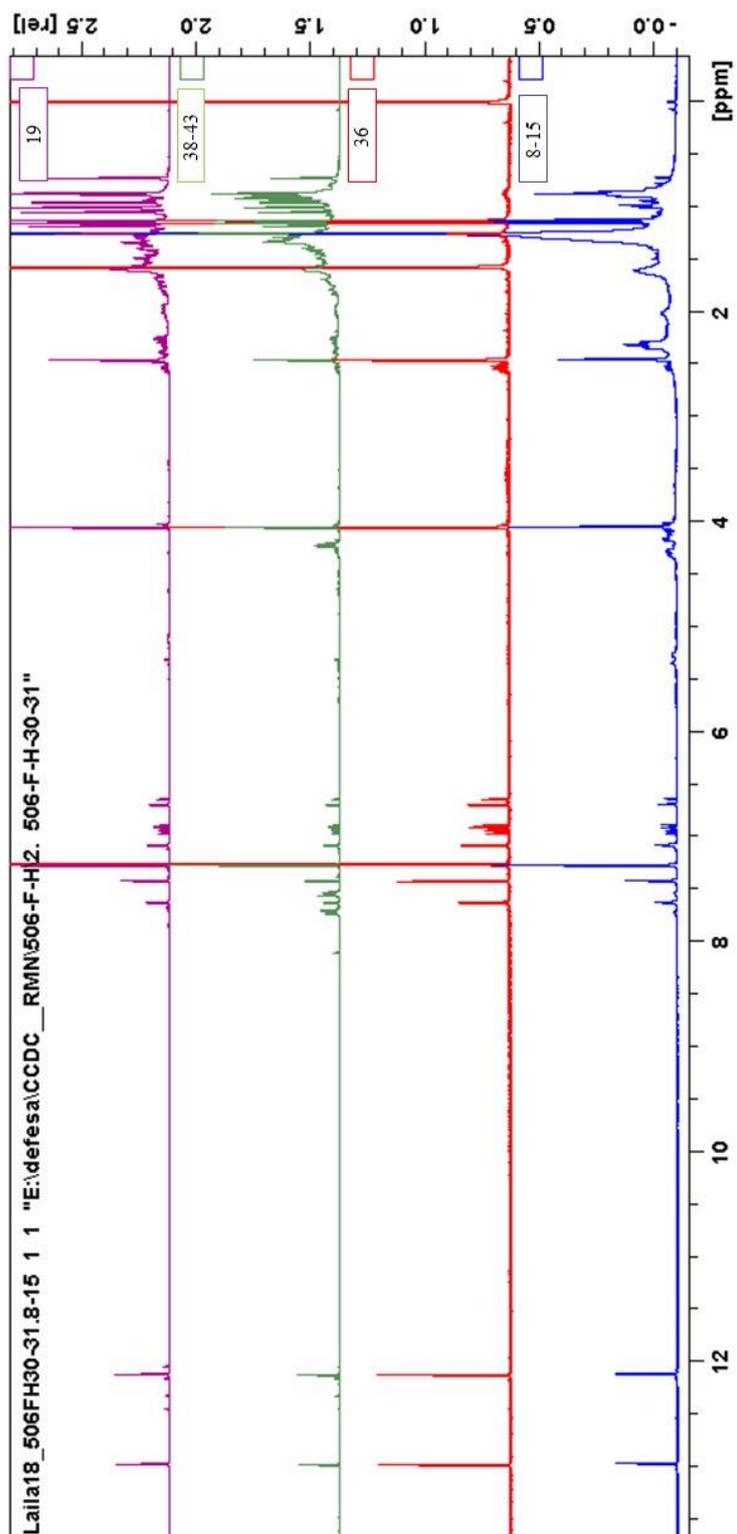


Figura 101: Mapa de contorno COSY da substância V, vismiquinona A (CDCl₃, 300 MHz)



Os espectros das frações 36, 38-43 7 e 19 foram comparados com o espectro da fração 8-15 (Figura 102) e constatou-se que se tratava da antraquinona vismiquinona A.

Figura 102: Comparação dos espectros de RMN de ^1H das frações 8-15, 36, 38-43 e 19 (CDCl_3 , 300 MHz)



5.4.6 Identificação da substância VI

A fração 54 (4,2 mg) obtida do extrato hexânico das folhas da 1ª coleta de *Vismia sandwithii*, apresentou-se na forma de cristais brancos, e quando revelada com anisaldeído verificou-se a coloração lilás, indicativo de terpenos ou esteroides, com Rf= 0,4, quando eluída com Hex/DCM 7:3.

O espectro de RMN de ^1H (Figura 104 e 105) da substância VI apresentou sinais nas regiões entre δ_{H} 0,69 a 2,33 ppm, referentes a hidrogênios de metílicos, metilênicos e metínicos, característicos de triterpenos e esteroides, com a presença do sinal em δ_{H} 0,69, um simpleto largo com integral para três hidrogênios, que é característico dos esteroides estigmasterol e β -sitosterol,

Apresentou também um multipeto em δ_{H} 3,52 ppm atribuído a um hidrogênio ligado a carbono carbinólico, H-3 de ambos os esteroides. Em δ_{H} em 5,35 (2H, *dl*, $J= 5,12$ Hz), atribuído ao hidrogênio olefínico na posição H-6 de um esteroide. A comparação dos dados espectroscópicos obtidos com os descritos na literatura permitiu inferir que a substância VI é o conhecido esteroide β -sitosterol (Figura 103), sendo este esteroide comumente encontrados em plantas.

Figura 103: Estruturas das substâncias VI

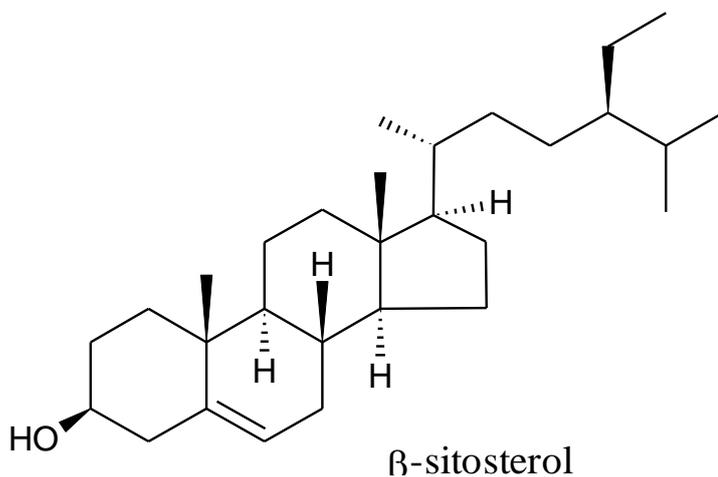


Figura 104: Espectro de RMN de ^1H das substância VI, β -sitosterol (CDCl_3 , 300MHz)

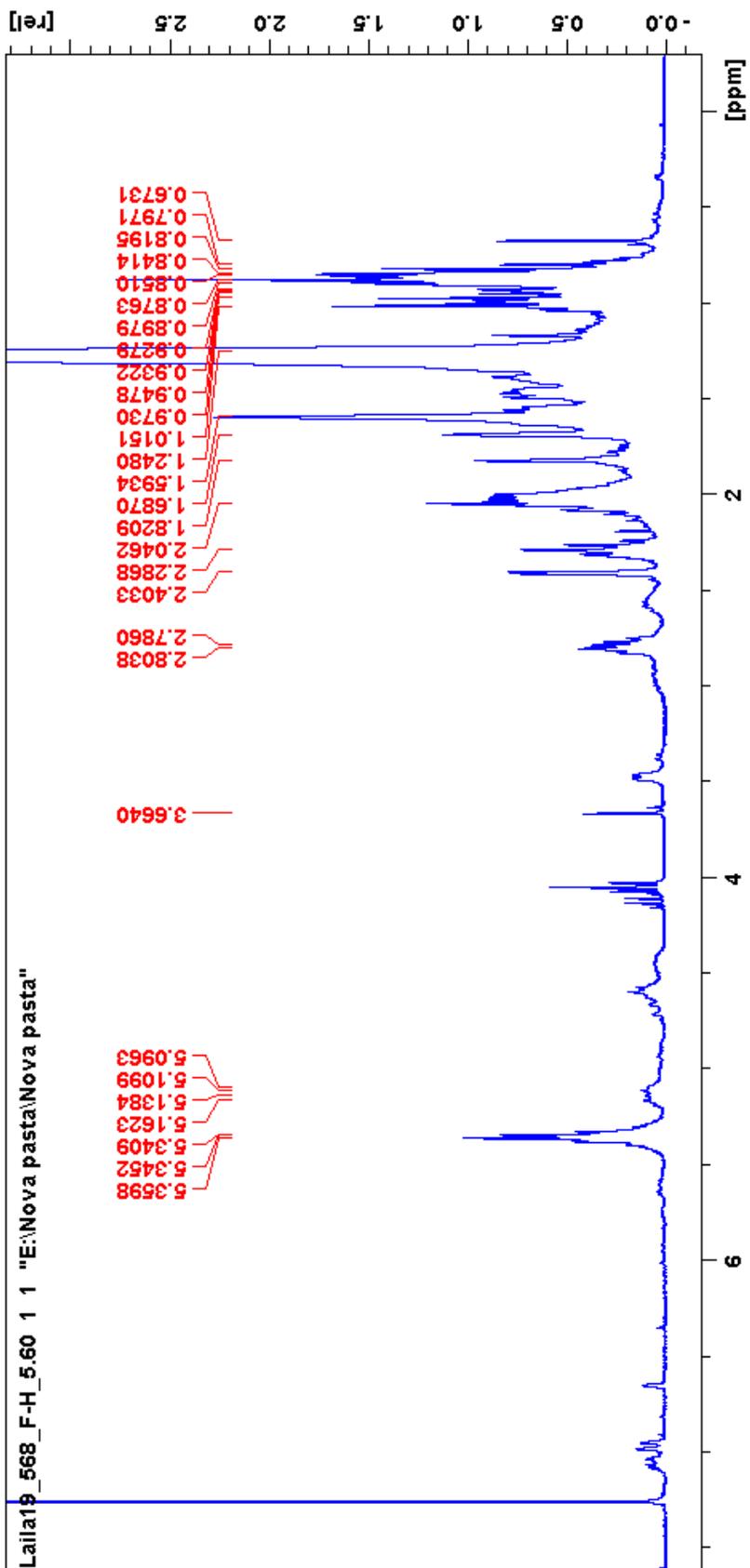
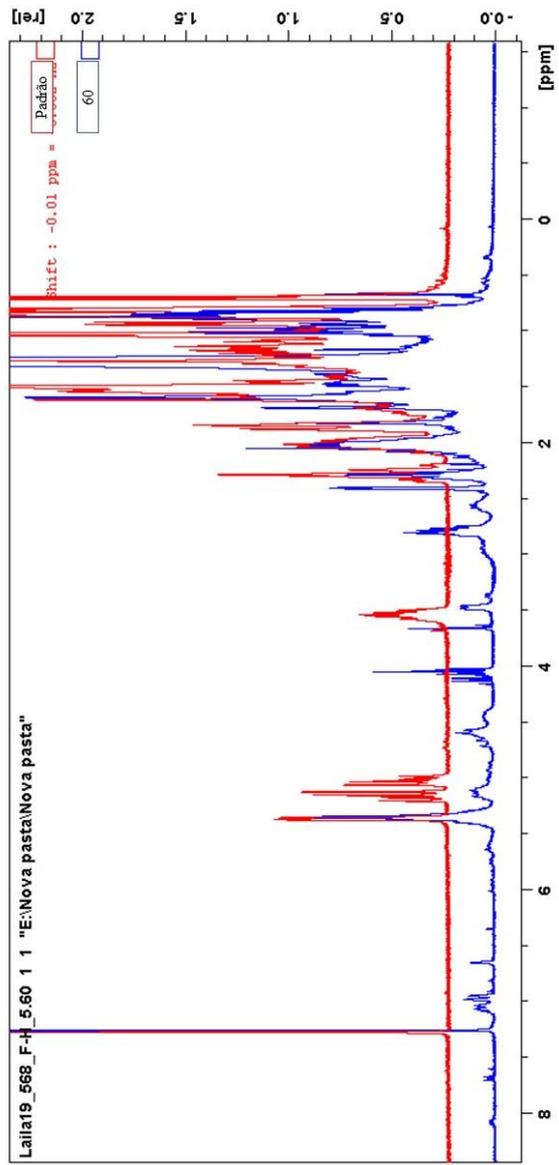
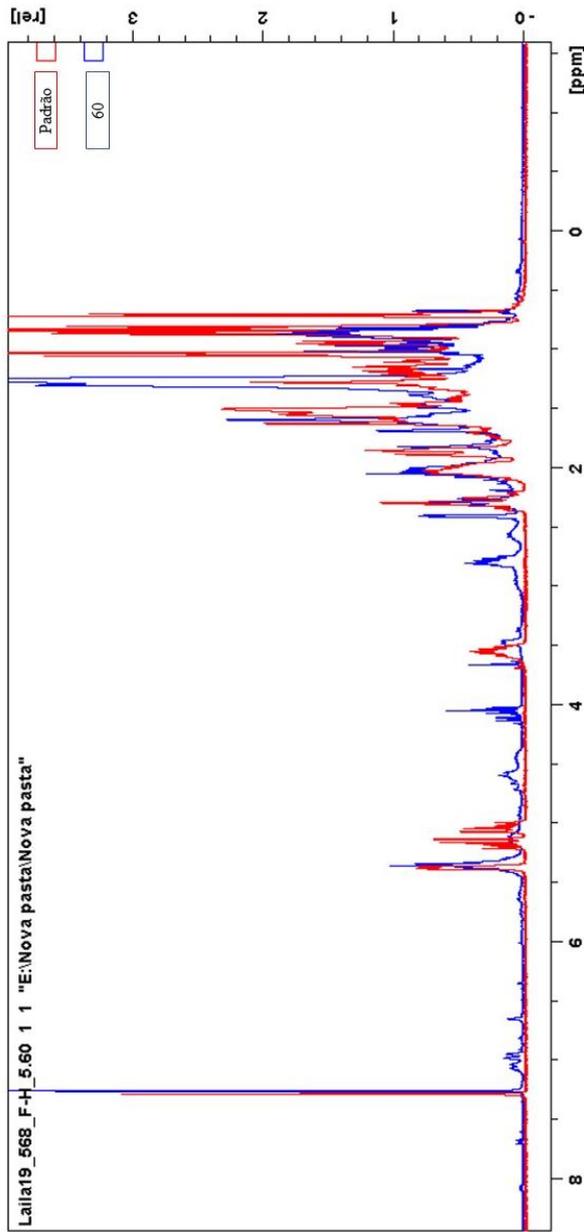


Figura 105: Comparação dos espectros de RMN de ^1H das substância VI com padrão.



5.4 Avaliação das atividades química e biológicas

5.5.1 Atividade de toxicidade frente à *Artemia salina*

Os extratos hexânicos das folhas das duas coletas, apresentaram mortalidade apenas na concentração de 1000 µg/mL (Tabela 10), com mortalidade de 100% das larvas de *Artemia salina*. Os demais extratos testados apresentaram baixa mortalidade entre 30% e 20% para os extratos metanólicos ou nenhuma mortalidade 0% para os extratos aquosos.

MEYER e colaboradores (1982) estabeleceram uma relação entre o grau de toxicidade e a dose letal média, CL₅₀, apresentada por extratos de plantas sobre larvas de *A. salina*, desde então, considera-se que quando são verificados valores acima de 1000 µg/mL, estes, são considerados atóxicos.

Sendo assim quanto menor a concentração e ainda mantendo a mortalidade dos microcrustáceos de *Artemia salina*, maior a atividade (mais tóxico), entretanto os extratos testados das 2 coletas apresentaram uma baixa atividade

Tabela 37: Resultados do teste de toxicidade frente *Artemia salina*.

Extratos	Mortalidade (%) em 1000 µg/mL
1-FVJ-H	100%
1-FVJ-MeOH	33%
1-FVJ-H ₂ O	0%
2-FVJ-H	100%
2-FVJ-MeOH	26%
2-FVJ-H ₂ O	0%

5.5.2 Atividade Antioxidante

Os resultados obtidos foram expressos conforme MARTINS e colaboradores (2014) (Tabela 37), que expressa os resultados por equivalência com o ácido ascórbico, permitindo correlacionar a resposta obtida do extrato vegetal com a do antioxidante padrão e quanto mais próximo de 1,0 mais semelhante é a capacidade antioxidante da amostra frente ao ácido ascórbico.

Tabela 38: Escala de resultados da atividade antioxidante conforme Martins e colaboradores (2014).

Atividade antioxidante (mg de extrato/mg de ácido ascórbico)	Escala
Menor que 0,99	Muito ativo
Entre 1,0 e 1,99	Ativo
Entre 2,0 e 2,99	Moderado
> 3,0	Inativo

O extrato metanólico da primeira coleta foi considerado ativo, apresentando uma equivalência de 1,620 para o método usando DPPH e foi observada uma atividade moderada para o método usando F^{3+} -fenantrolina com equivalência 2,14 (Tabela 38). Os demais extratos não apresentaram atividade relevante quando comparados com ácido ascórbico.

Esta atividade antioxidante pode estar relacionada com a presença de algumas antraquinonas presentes no extrato bruto, e na literatura há relatos que algumas espécies de *Vismia* já apresentaram atividade antioxidante, tanto para extratos brutos como para substâncias isoladas, como os observados por:

- TALA e colaboradores (2011), apresentaram que os extratos de *V. rubescens* e *V. laurentii*, bem como algumas de suas substâncias isoladas, como 1,2,8-tri-hidroxi-fantona, 1,4,8-trihidroxi-fantona, laurenquinona A, xantona V1, vismiaquinona B e a bivismiaquinona possuem potenciais propriedades antioxidantes e, portanto, podem ser úteis para o tratamento de danos oxidativos.

- LINS e colaboradores (2016), também observaram atividade antioxidante para os extratos etanólicos das partes aéreas e a fração acetato de etila da espécie de *Vismia guianensis* com um $CE_{50} = 6,76 \pm 0,05 \mu\text{g/mL}$ para o extrato e $CE_{50} = 6,61 \pm 0,03 \mu\text{g/mL}$ para a fração acetato de etila.

- ÁLVAREZ e colaboradores (2008), observaram a atividade antioxidante apresentada pelos extratos acetato de etila para as espécies *V. baccifera* e *V. guianensis* com $IC_{50} = 4,46 \pm 0,19 \mu\text{g/mL}$ e $IC_{50} = 3,72 \pm 0,13 \mu\text{g/mL}$.

- BUITRAGO e colaboradores (2016), assim como ALVAREZ e colaboradores (2008) também observaram a atividade antioxidante para extratos de *Vismia baccifera* sendo que neste uma maior atividade apresentada para os extratos metanólicos com um $IC_{50} = 5,87 \mu\text{g/mL}$.

Todos estes dados corroboram com os resultados obtidos neste trabalho, mostrando que espécies do gênero *Vismia* possuem um grande potencial para atividade antioxidante.

Tabela 39: Resultado da avaliação antioxidante dos extratos brutos das folhas de *V. japurensis*.

Extrato	Método usando DPPH•			Método usando Fe ³⁺		
	Valores médios			Valores médios		
	[DABS ₅₁₇]	[AA] _{eq}	Equiv.	[Fe ²⁺]	[AA] _{eq}	Equiv.
1-FVJ-H	0,089	0,528	19,007	1,517	2,915	61,26
1-FVJ-MeOH	0,731	6,171	1,620	2,406	4,701	2,14
2-FVJ-H	0,129	0,876	11,473	0,362	0,593	17,22
2-FVJ-MeOH	0,395	3,218	3,123	2,061	4,007	2,50

Legenda: 1-FVJ-H = extrato hexânico das folhas da primeira coleta de *V. japurensis*; 1-FVJ-MeOH = extrato metanólico das folhas da primeira coleta de *V. japurensis*; 2-FVJ-H = extrato hexânico das folhas da segunda coleta de *V. japurensis*; 2-FVJ-MeOH = extrato metanólico das folhas da segunda coleta de *V. japurensis*

5.5.3 Atividade Antimalárica

As amostras foram testadas em 2 concentrações de 50 e 5 µg/mL. Como critério de atividade *in vitro* foi estabelecido que as amostras que inibirem o crescimento dos parasitos de: 80 a 100% = ativas (A), 50 a 79% = parcialmente ativas (PA) e < 50% = inativa (I).

O extrato hexânico das folhas da primeira coleta foi considerado ativo na concentração de 50 µg/mL com redução de parasitemia de 98,07 % e considerado inativo na concentração de 5 µg/mL.

Já o extrato hexânico das folhas da segunda coleta foi considerado ativo nas duas concentrações testadas apresentando inibição de 98,77% e 97,19% da parasitemia nas concentrações de 50 µg/mL e 5 µg/mL respectivamente em relação ao controle livre de drogas (Tabela 40).

Dados estes que também corroboram os resultados apresentados por VALADEAU e colaboradores (2009), que relataram que o extrato etanólico das folhas de *V. pozuensis* que é

utilizada por tribos peruanas para controlar calafrios, apresentou $IC_{50} = 22,9 \pm 8,9 \mu\text{g/mL}$ contra malária.

Esta atividade do extrato hexânico pode ser atribuída ao fato do mesmo ser rico em antraquinonas, pois há relatos na literatura atribuídos a algumas antraquinonas isoladas de espécies do gênero *Vismia* spp, como no caso das laurentiquinonas A, B e C isolados de *Vismia laurentii*, que demonstraram atividade antimalárica contra o *Plasmodium falciparum* (NOUNGOUE et al., 2008; NOUNGOUE et al., 2009). Foi relatada também atividade para a substância vismiona H isolada de *Vismia guianensis*, a qual foi atribuída uma $IC_{50} = 0,088 \mu\text{g/mL}$ (MÉNAN et al., 2006).

Foi observada também para a substância friedelina, isolada neste trabalho, a atividade antimalárica frente ao *Plasmodium falciparum* na concentração de $7,70 \mu\text{M}$ (LENTA et al., 2007). Mostrando assim que *Vismia japurensis* é uma fonte de possíveis substâncias com atividade antimalárica.

Tabela 40: Inibição do crescimento in vitro da cepa K1 de *P. falciparum* frente aos extratos hexânicos da 1ª e 2ª coleta das folhas de *Vismia japurensis*.

Extratos	Classificação da atividade*	Redução do crescimento do parasito (%)	
		50 ($\mu\text{g/mL}$)	5 ($\mu\text{g/mL}$)
1-FVJ-H	A	98,07	9,45
2-F-VJ-H	A	98,77	97,19

5.5.4 Atividade Antibacteriana

Os extratos hexânicos e as substâncias isoladas de *Vismia japurensis* foram testadas pelo método de microdiluição, os extratos da primeira e segunda coleta foram considerados ativos com CIM de $500 \mu\text{g/mL}$ frente às bactérias *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter freundii*, *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus epidermidis* (Tabela 39). Quanto as substâncias isoladas, a substância I (friedelina) apresentou uma atividade frente a bactéria *Citrobacter freundii* na concentração de $125 \mu\text{g/mL}$, conseguindo

inibir mais de 50% do crescimento bacteriano com relação ao controle (Figura 106), dados estes que corroboram com os obtidos por KUETE e colaboradores (2007) que relatam a atividade deste triterpeno para a bactéria *Critrobacter freudii* (MIC = 4,88 µg/mL).

A atividade observada nos extratos hexânicos pode estar correlacionada com a presença de algumas antraquinonas e terpenoides presentes neste extrato, pois foi observado na literatura relatos de estudos onde algumas atividades antibacterianas apresentadas por extratos e substâncias isoladas. Assim como nos estudos realizados por TAMOKOU e colaboradores (2009) onde foi observado que o extrato metanólico e as cinco substâncias isoladas das cascas de *Vismia rubescens* apresentaram atividade antimicrobiana, o extrato apresentou uma atividade com um MIC de 125 µg/mL frente à bactéria *Staphylococcus aureus*, já as substâncias isoladas exibiram atividade antibacterianas que variaram entre as espécies microbianas com concentrações inibitórias mínima entre 3,12 e 1000 µg/mL.

SUFREDINI e colaboradores (2006) relataram que os extratos de *V. guianensis* e *V. schultesii* apresentaram atividade antibacteriana na concentração mínima bactericida de 200 µg/mL frente às bactérias *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*.

SILVESTRE e colaboradores (2012) relataram que o óleo essencial de *V. guianensis* apresentou atividade antibacteriana contra as bactérias *Bacillus cereus* e *Staphylococcus aureus* na concentração de 12 mg/mL.

E até mesmo as substâncias isoladas neste trabalho apresentam algumas atividades antibacterianas relatadas na literatura como para a substância friedelina é relatada a atividade antimicrobiana que este triterpeno apresentou frente às seguintes bactérias *Salmonella typhi* (MIC = 25 µg/mL), *Staphylococcus aureus* (MIC = 200 µg/mL), *Pseudomonas aeruginosa* (MIC = 100 µg/mL) (TAMOKOU et al., 2009). Kuete e colaboradores (2007) observaram pelo método de microdiluição a atividade antibacteriana frente as bactérias *Morganella morganii* (MIC de 4,88 µg/mL), *Proteus mirabilis*, *Bacillus stearothermophilus* e *Bacillus subtilis* (MIC de 9,76 µg/mL), *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Streptococcus faecalis* e *Bacillus megaterium* (MIC de 2,44 µg/mL) e antifúngica frente as leveduras *Candida albicans* (MIC = 2,44 µg/mL) e *Candida gabratai* (MIC de 4,88 µg/mL).

Para a substância madagascina foi observada por TANKEO e colaboradores (2016), que apresentou atividade antibacteriana frente as bactérias *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Providencia stuartii*, *Enterobacter cloacae* ambas com um MIC na concentração

de 256 µg/mL e as bactérias *Enterobacter aerogenes* e *Klebsiella pneumoniae* com um MIC na concentração de 126 µg/mL.

TAMOKOU e colaboradores (2009), relataram que a substância friedelanol apresentou atividade antibacteriana frente as seguintes bactérias *Salmonella typhi* (MBC = 25 µg/mL), *Staphylococcus aureus* (MBC = 100 µg/mL), e *Pseudomonas aeruginosa* (MBC = 50 µg/mL).

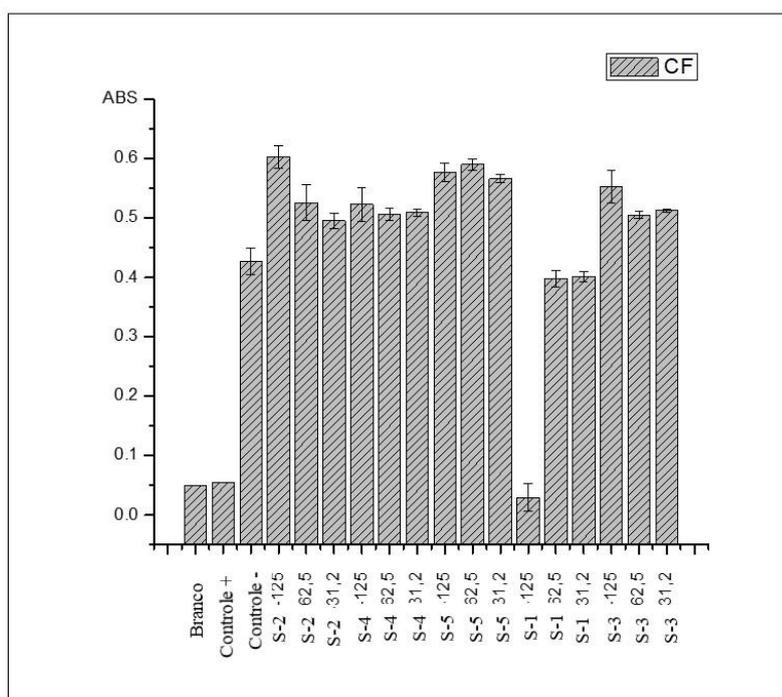
Para a substância vismiaquinona A é atribuída a atividade antibacteriana frente a bactéria *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 11296, Kp 55, Kp 65), nas concentrações 256, 256 e 128 mg/L respectivamente (KUETE et al., 2011). Apresentou também atividade antimicrobiana frente aos micro-organismos *Morganella morganii* (MIC = 4,88 µg/mL), *Pseudomona aeruginosa* (MIC = 2,44 µg/mL), *Shigella flexneri* (MIC = 2,44 µg/mL), *Streptococcus faecalis* (MIC = 4,88 µg/mL), *Staphylococcus aureus* (MIC = 39,06 µg/mL), *Bacillus cereus* (MIC = 78,12 µg/mL), *Bacillus megaterium* (MIC = 78,12 µg/mL), *Baciullus subtilis* (MIC=4,88 µg/mL), *Candida albicans* (MIC = 2,44 µg/mL), *Candida gabrata* (MIC = 2,44 µg/mL) (KUETE et al., 2007).

Tabela 41: Concetração Inibitória Mínima – CIM (µg/mL) dos extratos hexânicos e substâncias isoladas das folhas de *Vismia japurensis*

Bactérias	Extratos hexânicos		Substâncias isoladas				
	1-FVJ-H	2-FVJ-H	1	2	3	4	5
<i>Aeromonas hydrophila</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	500	500	-	-	-	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	500	500	-	-	-	-	-
<i>Citrobacter freundii</i>	500	500	125	-	-	-	-
<i>Acinetobacter baumannii</i>	500	500	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	500	500	-	-	-	-	-
<i>Edwardsiella tarde</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>Salmonella entérica</i>	-	-	-	-	-	-	-

Legenda: - = não ativo

Figura 106: Valores obtidos para o crescimento bacteriano (média e desvio padrão) em diferentes concentrações para as substâncias obtida a partir do extrato hexânico das folhas de *Vismia japurensis* frente a *C. freundii*.



5.5.5 Atividade Antiangiogênica

Nos ensaios para avaliação da atividade angiogênica, os extratos podem ser avaliados quanto ao seu potencial pro-angiogênico (aumento da densidade de vasos) e antiangiogênico (redução da densidade de vasos).

Os extratos hexânicos da primeira e segunda coleta e as substâncias isoladas (I, II, III, IV e V) foram avaliados pelo método *in vivo* em membrana corialontoica de embrião de galinha (CAM).

Foi observado que os extratos hexânicos das duas coletas de *V. japurensis*, testados nas concentrações de 1000, 500 e 100 µg/mL, demonstraram um efeito inibitório significativo da angiogênese nas duas concentrações menores, quando comparados ao controle negativo.

Para o extrato hexânico da primeira coleta, apresentou uma redução de 40 % na redução da formação de vascularização na concentração de 100 µg/mL, do ovo embrionado de galinha (Figura 107)

Já quando foi analisado o extrato hexânico da segunda coleta foi também observada uma atividade antiangiogênica, sendo considerado ativo na concentração de 500 µg/mL, apresentou uma significativa redução de cerca de 70% na formação da vascularização, do ovo embrionado de galinha (Figura 108).

Com base nos resultados observados, concluímos que os dois extratos hexânicos das duas coletas de *Vismia japurensis* são potenciais agentes inibidores da angiogênese.

As cinco substâncias testadas mostraram inibição significativa da angiogênese em CAM após comparação da formação de vascularização do controle negativo com os tratamentos realizados com as substâncias isoladas.

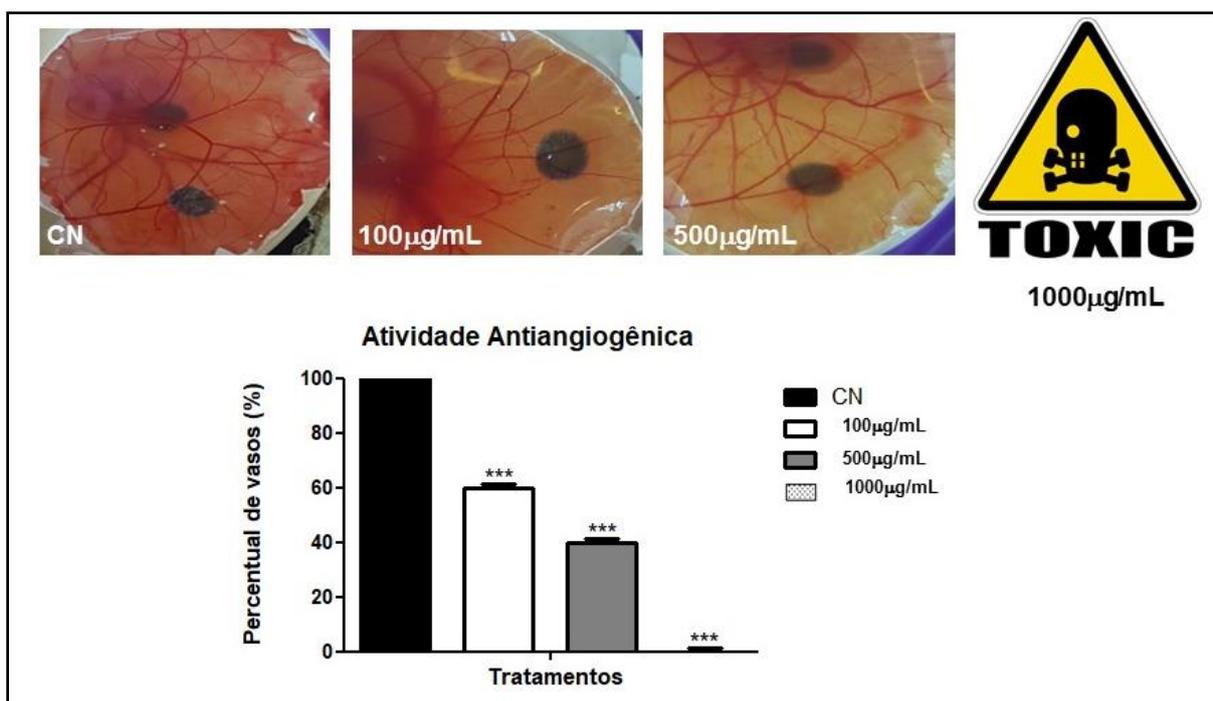
Para o triterpeno friedelina (Figura 109) foi observado o percentual de redução dos vasos de 80%, 60% e 40% nas concentrações de 50 µg/mL, 25 µg/mL e 1 µg/mL respectivamente. Dados estes que corroboram com os obtidos por PEREIRA e colaboradores (2018) que observaram um percentual de redução de cerca de 50% do crescimento dos vasos na concentração de 100 µg/mL para este triterpeno, exibindo uma atividade de inibição similar ao controle positivo. Para o triterpeno friedelanol (Figura 111) foi observado o percentual de redução dos vasos de 70% na concentração de 1 µg/mL, nas demais concentrações este triterpeno foi considerado tóxico. PEREIRA e colaboradores (2018), observaram percentual de redução dos vasos acima de 60% na concentração de 100 µg/mL para alguns triterpenos com esqueletos da classe do friedelano.

Para a antraquinona madagascina (Figura 110) foi observado o percentual de redução dos vasos de 75%, 60% e 30% nas concentrações de 50 µg/mL, 25 µg/mL e 1 µg/mL respectivamente. Para a antraquinona fisciona (Figura 112) foi observado o percentual de redução dos vasos de 65% na concentração de 1 µg/mL, nas demais concentrações esta antraquinona foi tóxica. Para a antraquinona vismiaquinona A (Figura 113) foi observado o percentual de redução dos vasos de 60% na concentração de 1 µg/mL, nas demais concentrações esta antraquinona foi tóxica. Esta atividade antiangiogênica apresentada pelas antraquinonas deste trabalho corroboram os dados encontrados na literatura de atividade

antiangiogênica para outras antraquinonas, como exemplo podemos citar emodina que em estudo realizado LJUBIMOV e colaboradores (2004) observaram uma redução de 70 % da neovascularização da retina em ratos. Assim como o estudo realizado por CARDENAS e colaboradores (2006), que observaram a atividade antiangiogênica para a antraquinona aloemodina produziu inibição *in vivo* da angiogênese em 60% dos ovos tratados na concentração de 50 nmol/ovo, e 50% de inibição na concentração de 30 nmol/ovo.

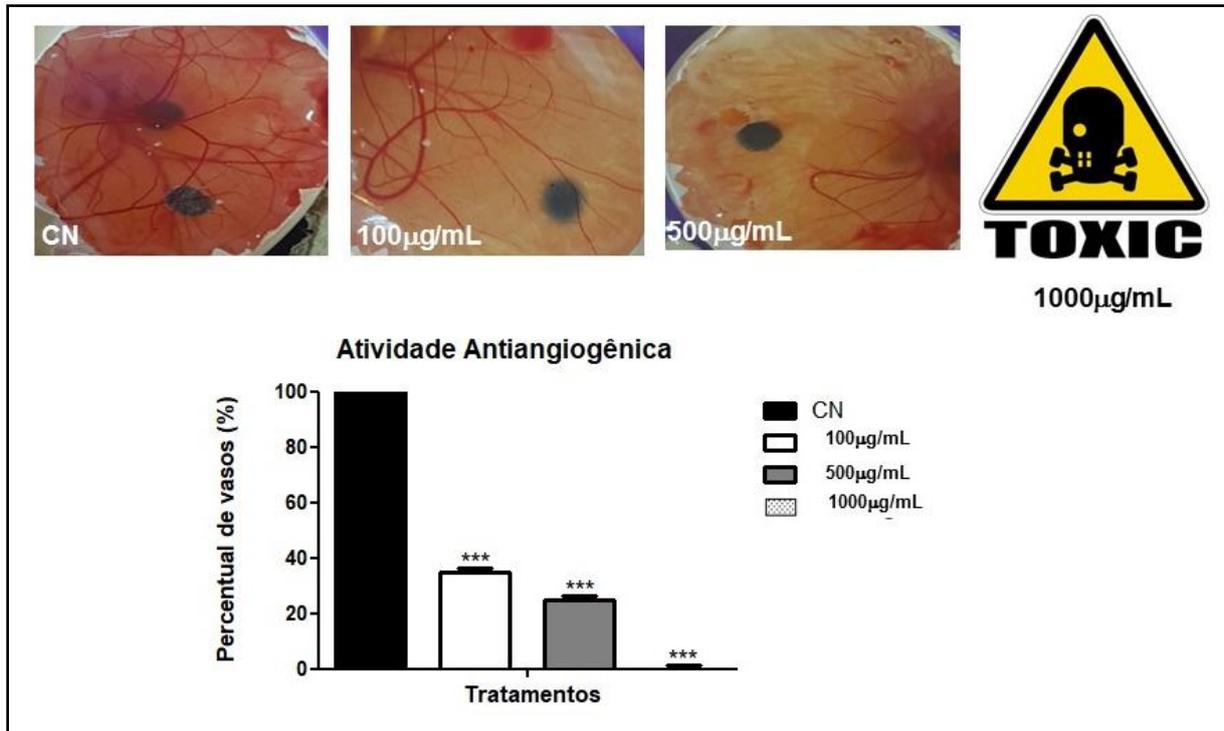
O ensaio *in vivo* em membrana corialontoica de embrião de galinha (CAM), permitiu identificar friedelina e madagascina como substâncias antiangiogênicas, mas não fornece dados sobre quais etapas da angiogênese são alvos destas substâncias.

Figura 107: Atividade antiangiogênica dose-dependente apresentada pelo extrato hexânico da primeira coleta das folhas de *V. japurensis*



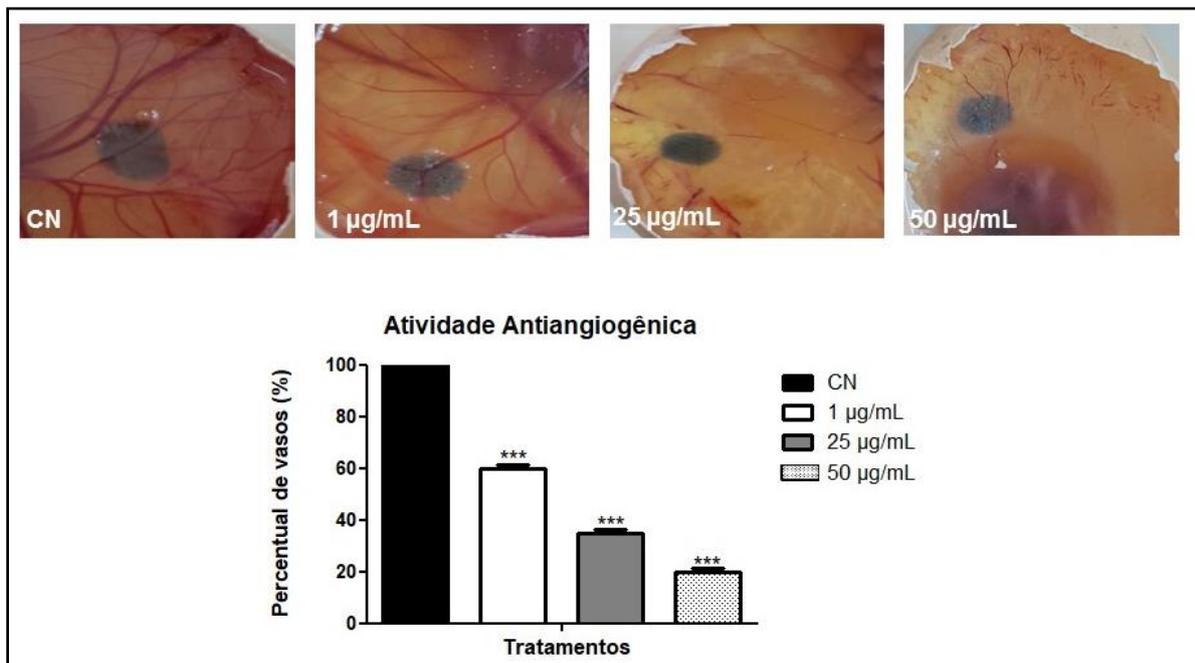
Legenda: Os resultados foram expressos como Média \pm Desvio Padrão, n=3. (***) representa diferença estatística significativa ($p < 0,001$) em relação ao grupo controle negativo (CN).

Figura 108: Atividade antiangiogênica dose-dependente apresentada pelo extrato hexânico da segunda coleta das folhas de *V. japurensis*



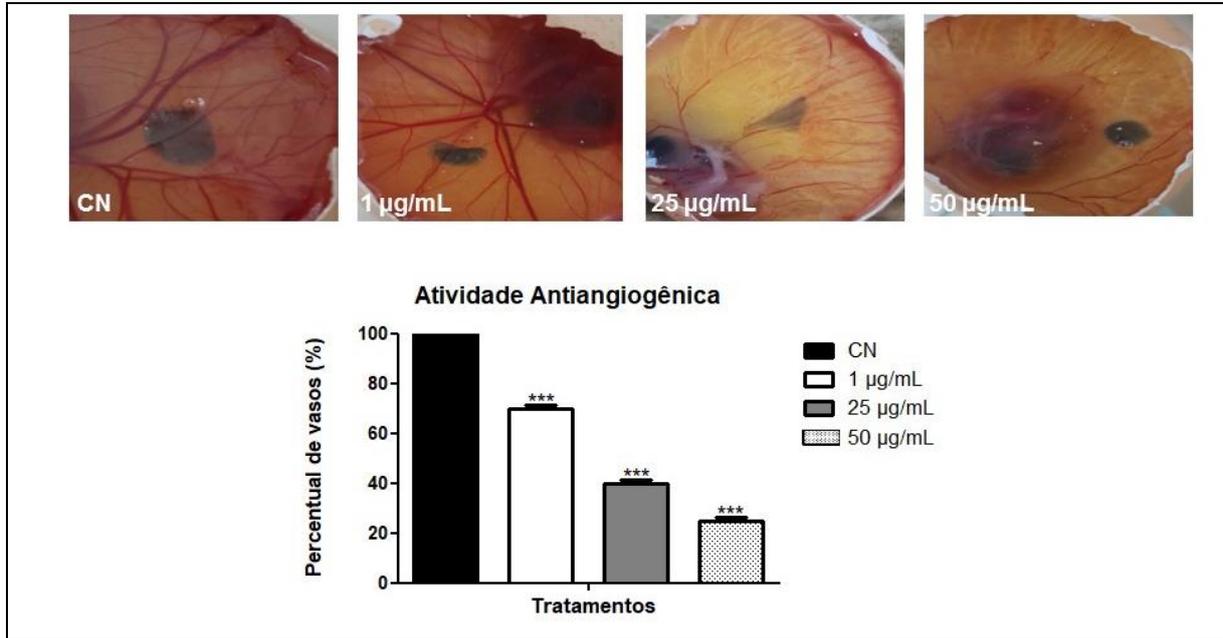
Legenda: Os resultados foram expressos como Média \pm Desvio Padrão, n=3. (***) representa diferença estatística significativa ($p < 0,001$) em relação ao grupo controle negativo (CN).

Figura 109: Atividade antiangiogênica dose-dependente apresentada pelo triterpeno friedelina isolada das folhas de *V. japurensis* e *Vismia sandwithii*



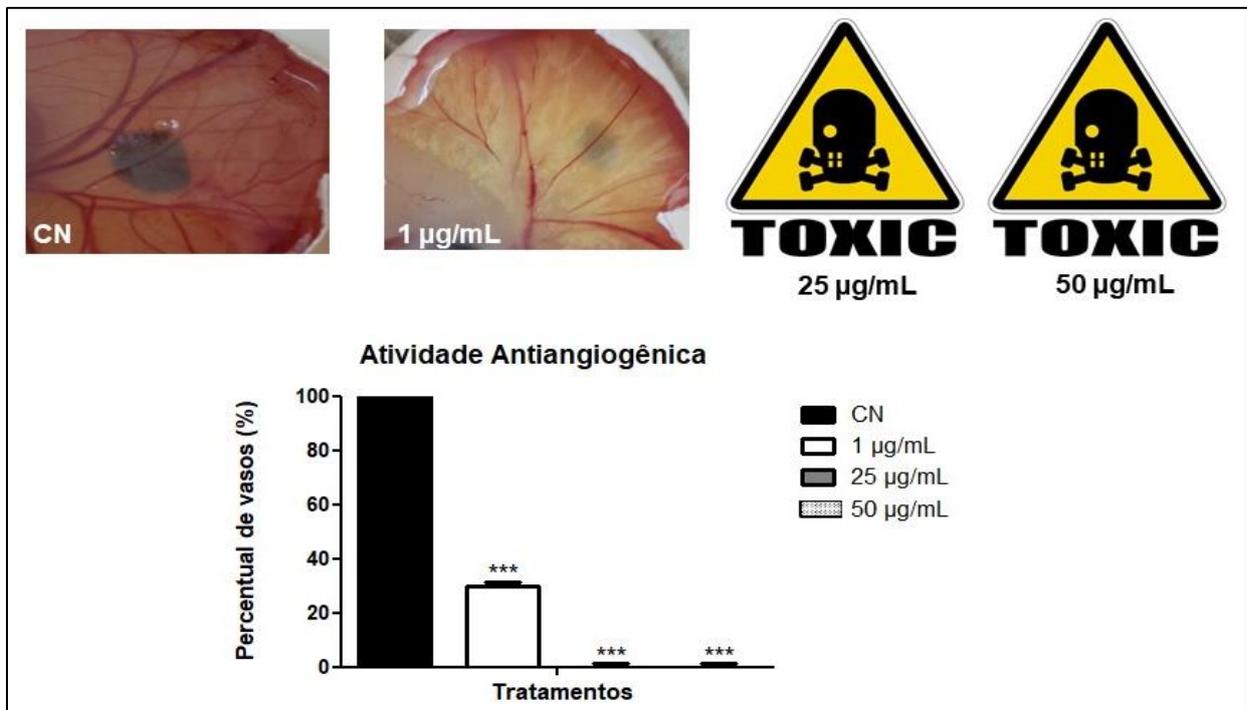
Legenda: Os resultados foram expressos como Média \pm Desvio Padrão, n=3. (***) representa diferença estatística significativa ($p < 0,001$) em relação ao grupo controle negativo (CN).

Figura 110: Atividade antiangiogênica dose-dependente apresentada pela antraquinona madagascina isolada das folhas de *V. japurensis*



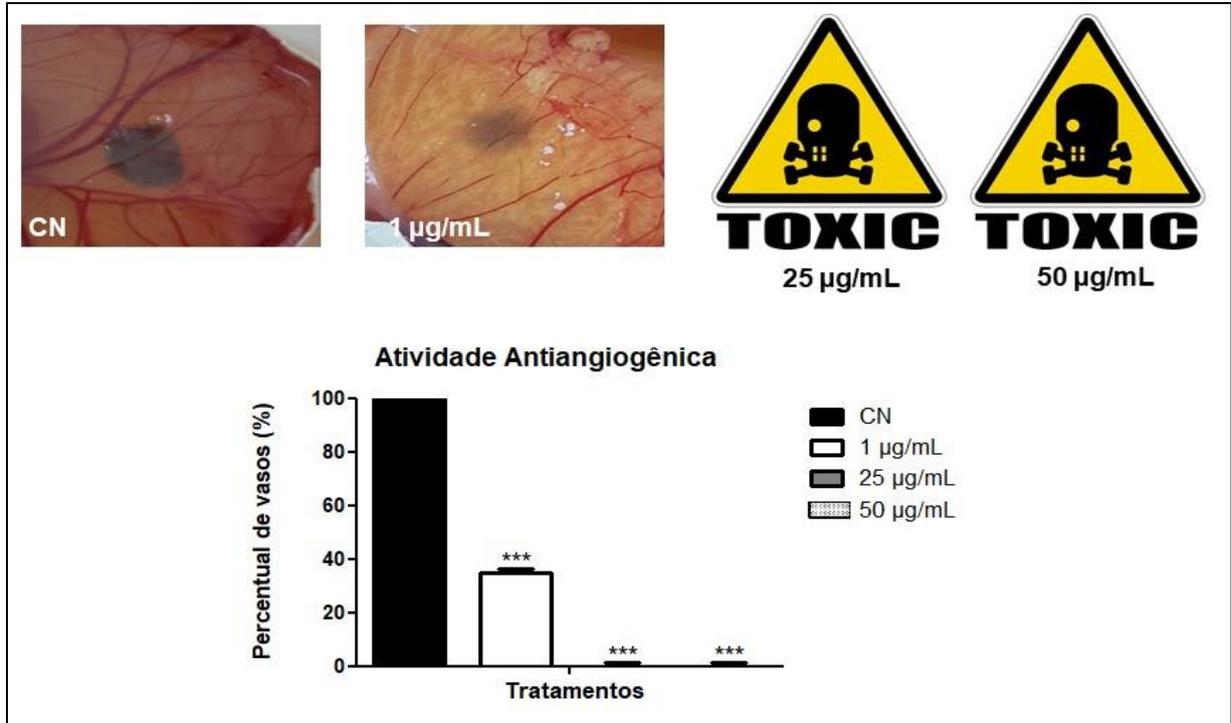
Legenda: Os resultados foram expressos como Média ± Desvio Padrão, n=3. (***) representa diferença estatística significativa ($p < 0,001$) em relação ao grupo controle negativo (CN).

Figura 111: Atividade antiangiogênica dose-dependente apresentada pelo triterpeno fridelanol isolado das folhas de *V. japurensis*



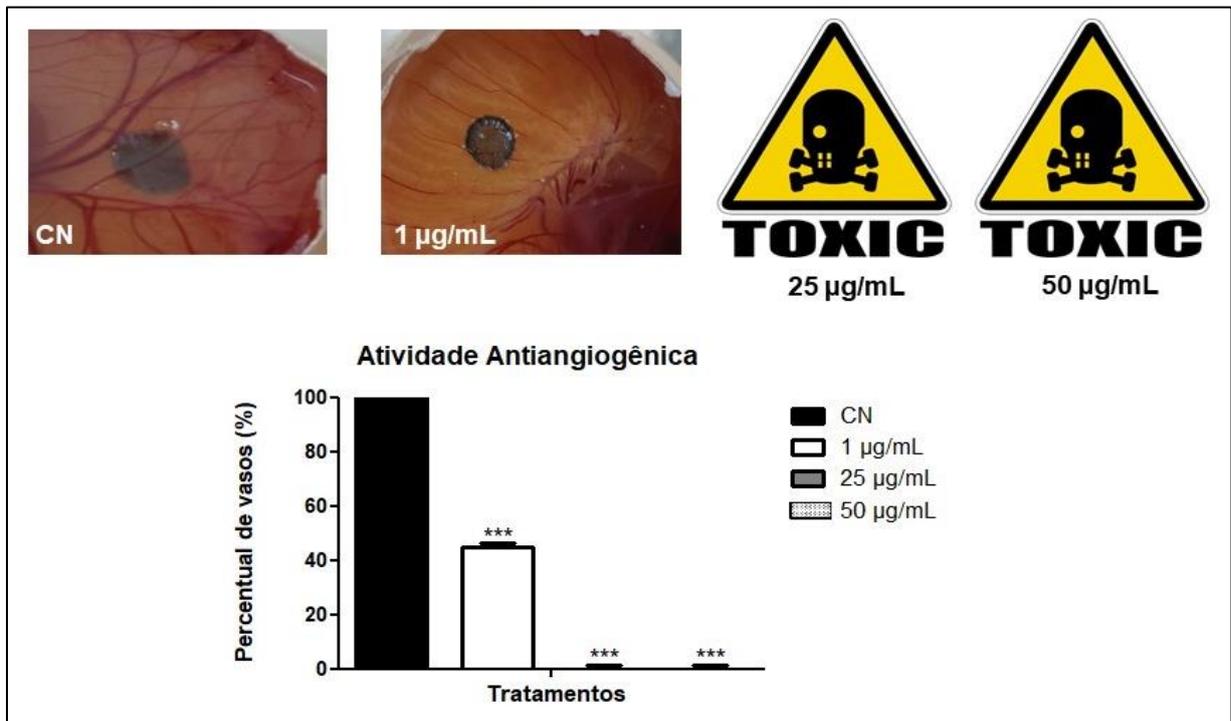
Legenda: Os resultados foram expressos como Média ± Desvio Padrão, n=3. (***) representa diferença estatística significativa ($p < 0,001$) em relação ao grupo controle negativo (CN).

Figura 112: Atividade antiangiogênica dose-dependente apresentada pela antraquinona fisiona isolada das folhas de *V. japurensis*



Legenda: Os resultados foram expressos como Média \pm Desvio Padrão, n=3. (***) representa diferença estatística significativa ($p < 0,001$) em relação ao grupo controle negativo (CN).

Figura 113: Atividade Antiangiogênica dose-dependente apresentada pela antraquinona vismiaquinona A isolada das folhas de *V. japurensis*



Legenda: Os resultados foram expressos como Média \pm Desvio Padrão, n=3. (***) representa diferença estatística significativa ($p < 0,001$) em relação ao grupo controle negativo (CN).

6. Conclusão Geral

Neste estudo foram estudadas as folhas de três espécies do gênero *Vismia*: *V. japurensis*, *V. cauliflora* e *V. sandwithii*. O estudo comparativo das três espécies por CCDC e RMN de ^1H , revelou que os extratos hexânicos das três espécies são ricos em quinonas e triterpenos o que está de acordo com os dados obtidos na literatura, que mostram que as quinonas são os marcadores químicos deste gênero. Mas mostrou também a presença de flavonoides entre outras substâncias químicas.

Do estudo fitoquímico das folhas de *Vismia japurensis*, após fracionamentos consecutivos do extrato hexânico da primeira e segunda coleta, conduziram ao isolamento de cinco substâncias, dois triterpenos (friedelan-3-ona e friedelan-3- β -ol) e três antraquinonas (madagascina, fisciona e vismiaquinona A), estes resultados corroboram os estudos encontrados na literatura, que relatam que as substâncias mais isoladas de espécies de *Vismia*, são terpenos e quinonas.

Do estudo fitoquímico realizado com as folhas de *Vismia sandwithii*, após fracionamentos do extrato hexânico foi possível a identificação de quatro substâncias, um triterpeno (friedelina), dois esteroides (estigmasterol e β -sitosterol) e uma antraquinona (fisciona), sendo este o primeiro relato de estudo fitoquímico com esta espécie.

Quanto às atividades química e biológicas avaliadas dos extratos e substâncias isoladas da espécie *Vismia japurensis* foi possível observar que: o extrato metanólico da primeira coleta apresentou atividade antioxidante com uma equivalência de 1,620 para DPPH. Quanto a atividade antibacteriana os extratos da primeira e segunda coleta foram considerados ativos com CIM de 500 $\mu\text{g/mL}$ frente às bactérias *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter freundii*, *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus epidermidis* e a substância friedelina apresentou atividade frente a bactéria *Citrobacter freundii* na concentração de 125 $\mu\text{g/mL}$.

Para a atividade antimalárica foi possível observar que os extratos hexânico das folhas da primeira e segunda coletas apresentaram atividade com redução acima de 90 % na concentração de 50 $\mu\text{g/mL}$. Quanto à atividade antiangiogênica os extratos apresentaram um grande potencial, pois inibiram o crescimento de vasos nas concentrações de 100 e 500 $\mu\text{g/mL}$. Já as substâncias testadas também apresentaram uma boa atividade antiangiogênica com inibição dos vasos a cima de 60% na concentração de 50 $\mu\text{g/mL}$. Para atividade de toxicidade frente *Artemia salina*, os extratos apresentaram uma baixa atividade.

Os resultados obtidos neste trabalho contribuem para o conhecimento químico e biológico para o gênero *Vismia*. Vale ressaltar que este é um estudo químico inédito com a espécie *Vismia sandwithii* e para a espécie *Vismia japurensis* e o primeiro relato das antraquinonas madagascina e fisciona, assim como as atividades biológicas estão sendo descritas pela primeira vez na literatura para a espécie *V. japurensis*.

7. Referências Bibliográficas

- ABOUL-ENEIN, A. Y.; BERCZYNSKI, P.; KRUK, I. Phenolic Compounds: the Role of Redox Regulation in Neurodegenerative Disease and Cancer. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, v.13, 385-398, 2013.
- ABOU-SHOER, M.; HABIB, A. A.; CHANG, C. J.; CASSADY, J. M. Seven xanthonolignoids from *Psorospermum febrifugum*. **Phytochemistry**, v. 28, No. 9, pp. 2483-2487, 1989.
- ADITYA, N. P.; VATHSALA, P.G.; VIEIRA, V.; MURTHY, R. S. R.; SOUTO, E. B. Advances in nanomedicines for malaria treatment. **Advances in Colloid and Interface Science**, 201-202, 1-17, 2013.
- AL-OTAIBI, J.; EL GOGARY, T. M. Synthesis of novel anthraquinones: Molecular structure, molecular chemical reactivity descriptors and interactions with DNA as antibiotic and anti-cancer drugs. **Journal of Molecular Structure**, 1130, 799-809, 2017.
- ÁLVAREZ, E. R.; JÍMENEZ, O. J. G.; POSADA, C. M. A.; ROJANO, B. A.; GIL, J. H. G.; GARCÍA, C. M. P.; DURANGO, D. L. R. Actividad antioxidante y contenido fenólico de los extracto provenientes de las bayas de dos especies del género *Vismia* (Guttiferae). **Vitae, Revista de la Facultad de Química Farmacéutica**. v. 15, n. 1, 165-172, 2008.
- AMARANTE, C. B.; MULLER, A. H.; PÓVOA, M. M.; DOLABELA, M. F. Estudo fitoquímico biomonitorado pelos ensaios de toxicidade frente à *Artemia salina* e de atividade antiplasmódica do caule de aninga (*Montrichardia linifera*). **Acta Amazonia**, vol. 41(3), 431-434, 2011.
- AMES, B. N.; GOLD, L. S.; WILET, W. C. The causes and prevention of cancer. **Proceedings of the National Academy of Sciences, U.S.A.** v. 92, n. 12, p. 5258-5265, 1995.
- ANDRADE-NETO, V.F.; POHLIT, A.M.; PINTO, A.C.; SILVA, E.C.; NOGUEIRA, K.L.; MELO, M.R.; HENRIQUE, M.C.; AMORIM, R.C.; SILVA, L.F.; COSTA, M.R.; NUNOMURA, R.C.; NUNOMURA, S.M.; ALECRIM, W.D.; ALECRIM, M.G.; CHAVES, F.C.; and VIEIRA, P.P. In vitro inhibition of *Plasmodium falciparum* by substances isolated from Amazonian antimalarial plants. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 102, n. 3, p. 359-365, 2007

- APG III. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants. In: **APG III. Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 161, p. 105-121, 2009.
- APG IV. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. *Botanical Journal of the Linnean Society* 181: 1-20, 2016
- BALOURI, M.; SADIKI, M.; IBNSOUDA, S. K. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. **Journal of Pharmaceutical Analysis**, 6, 71-79, 2016
- BANERJEE, A.; DASGUPTA, N.; DE, B. In vitro study of antioxidant activity of *Syzygium cumini* fruit. **Food Chemistry**, v. 90, n. 4, p. 727-733, 2005.
- BARBOSA-FILHO, J. M.; NASCIMENTO JUNIOR, F. A.; TOMAZ, A. C. A.; ATHAYDE-FILHO, P. F.; SILVA, M. S.; CUNHA, E. V. L.; SOUZA, M. F. V.; BATISTA, L. M.; DINIZ, M. F. F. M. Natural products with antileprotic activity. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 17 (1): 141-148, 2007.
- BEHAL, V. Nontraditional microbial bioactive metabolites. **Folia Microbiologica**, v. 46, n. 5, p. 363-370, 2001.
- BENTOS, T. V.; MESQUITA, R. C. G.; WILLIAMSON, G. B. Reproductive phenology of central Amazon pioneer trees. **Tropical Conservation Science**. 1(3): 186-203, 2008.
- BILIA, A. R.; YUSUF, A. W.; BRACA, A.; KEITA, A.; MORELLI, I. (2000) New prenylated anthraquinones and xanthenes from *Vismia guineensis*. **Journal of Natural Products**. v. 63, n. 1, p. 16-21, 2000.
- BOMBARDELLI, E.; MORAZZONI, P. *Hypericum perforatum*. *Fitoterapia*, v. 66, n.1, p. 43-60, 1995.
- BOONSRI, S.; KARALAI, C.; PONGLIMANONT, C.; KANJANA-OPAS, A.; CHANTRAPROMMA, K. Antibacterial and cytotoxic xanthenes from the roots of *Cratoxylum formosum*. **Phytochemistry**, v.67, p. 723-727, 2006.
- BOTTA, B.; DELLE MONACHE, F.; DELLE MONACHE, G., MARTINI-BETTOLO, G. B.; OGUAKWA, J. U. 3-Geranyloxy-6-methyl-1,8-dihydroxyanthraquinone and vismiones C, D and E from *Psorospermum febrifugum*. **Phytochemistry**, v. 22, p. 539-542, 1983.
- BOTTA, B.; DELLE MONACHE, G.; DELLE MONACHE, F.; MARINI-BETTOLO, G. B.; MENICHINI, F. Vismione H and prenylated xanthenes from *Vismia guianeensis*. *Phytochemistry*, v. 25, p. 1217-1219, 1986.

- BRANDÃO, H. N.; DAVID, J. P.; COUTO, R. D.; NASCIMENTO, J. A. P.; DAVID, J. M. Química e farmacologia de quimioterápicos antineoplásicos derivados de plantas. **Química Nova**, Vol. 33, Nº 6, 1359-1369, 2010.
- BRIDI, H.; CCANA-CCAPATINTA, G. V.; STOLZ, E. D.; MEIRELLES, G. C.; BORDIGNON, S. A. L.; RATES, S. M. K.; POSER, G. L. V. Dimeric acylphloroglucinols from *Hypericum austrobrasiliense* exhibiting antinociceptive activity in mice **Phytochemistry**, v. 122, p. 178–183, 2016.
- BRIDI, H.; MEIRELLES, G. C.; POSER, G. L. V. Structural diversity and biological activities of phloroglucinol derivatives from *Hypericum* specie. **Phytochemistry**, v. 155, p. 203–232, 2018.
- BROLIS M.; GABETTA, B.; FUZZATI, N.; PACE, R.; PANZERI, F.; PETERLONGO, F. Identification by high-performance liquid chromatography–diode array detection–mass spectrometry and quantification by highperformance liquid chromatography–UV absorbance detection of active constituents of *Hypericum perforatum*. **Journal of Chromatography A**, v. 825, p. 9–16,1998.
- BROWN, D. G.; LISTER, T.; MAY-DRACKA, T. L.; New natural products as new leads for antibacterial drug Discovery. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 24, 413-418, 2014.
- BUITRAGO, A. D.; ROJAS-VERA, J.; PENALOZA, Y. *In vitro* antioxidant activity and qualitative phytochemical analysis of two *Vismia* (Hypericaceae) species collected in Los Andes, Venezuela. **Revista de Biología Tropical**, v. 64, n. 4, p. 1431-1439, 2016
- BUTLER, M. S. The role of natural product chemistry in drug discovery. **Journal of Natural Products**, v. 67, n. 12, p. 2141-2153, 2004.
- BUTTERWECK, V.; JÜRGENLIEMK, G.; NAHRSTEDT, A.; WINTERHOFF, H. Flavonoids from *Hypericum perforatum* show antidepressant activity in the forced swimmingtest. **Planta Medica**, v. 66, n. 1, p. 3-6, 2000.
- CALIE, P. J.; SCHILLING, E. E.; WEBB, D. H. Flavonoid Chemistry of the Generic Segregates *Ascyrum* and *Crookea* of *Hypericum*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 11, n. 2, pp. 107-109, 1983.
- CÁRDENAS, C.; QUESADA, A. R.; MEDINA, M. A. Evaluation of the anti-angiogenic effect of aloe-emodin. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 3, p. 3083-3089, 2006.

- CARMELIET, P. VEGF as key mediator of angiogenesis in cancer. **Oncology**, v. 69 (3) p. 4-10, 2005.
- CARVALHO, M. G.; VELANDIA, J. R.; OLIVEIRA, L. F.; BEZERRA, F. B.; Triterpenos isolados de *Eschweilera longipes* Miers (Lecythidaceae). **Química Nova**, v. 21 n. 6, p. 740-743, 1998.
- CAVALCANTE, M. F.; OLIVEIRA, M. C. C.; VELENDIA, J. R.; ECHEVARRIA, A. Síntese de 1,3,5-triazinas substituídas e avaliação da toxicidade frente a *Artemia salina* Leach. **Química Nova**, v. 23, n. 1, p. 20-22, 2000.
- CCANA-CCAPATINTA, G. V.; STOLZ, E. D.; COSTA, P. F.; RATES, S. M. K. POSER, G. L. V. Acylphloroglucinol Derivatives from *Hypericum andinum*: Antidepressant-like Activity of Andinin A.
- CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R. A. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais: conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. **Química Nova**, v. 21, n.1, 99-105, 1998.
- CHAGAS, R. C. R. Estudo fitoquímico de *Vismia brasiliensis* Choisy (Clusiaceae). Tese de doutorado, Universidade Federal de Lavras, p. 253, 2009.
- CHEN, J. Y.; XIE, Y. F.; ZHOU, T. X.; QIN, G. W. Chemical constituents of *Menispermum dauricum*. **Chinese Journal of Natural Medicines**, v. 10, n. 4, 292-294, 2012.
- CHIEN, S. C.; WU, Y. C.; CHEN, Z. W. YANG, W. C. Naturally Occurring Anthraquinones: Chemistry and Therapeutic Potential in Autoimmune Diabetes. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2015, 1-14, 2015.
- CHIST, R. C.; RIBEIRO, A. B.; BERTO, A.; FREITAS, M.; VISENTAINER, J. V.; FERNANDES, E. *Vismia cauliflora* extracts: bioactive compounds and the in vitro scavenging capacity against reactive oxygen and nitrogen species. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 75, p. 26, 2014.
- CIRAK, C.; RADUSIENE, J.; JAKSTAS, V.; IVANAUSKAS, L.; SEVIS, F.; YAYLA, F. Altitudinal changes in secondary metabolite contents of *Hypericum androsaemum* and *Hypericum polyphyllum*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v.70,108-115, 2017.
- CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. - Padronização dos testes de sensibilidade a antimicrobianos por disco-difusão. NCCLS/CLSI. **Approved Standard**. M2-A8, v. 23, n. 1. USA. 2012.

- CONFORTI, F.; STATTI, G. A.; TUNDIS, R.; MENICHINI, F.; HOUGHTON, P. Antioxidant activity of methanolic extract of *Hypericum triquetrifolium* Turra aerial part. **Fitoterapia**, v. 73, 479-483, 2002.
- COOPOOSAMY, R. M.; MAGWA, M. L. Antibacterial activity of chrysophanol isolated from *Aloe excelsa* (berger). **African Journal of Biotechnology**, 5: 1508-1510, 2006.
- COSTA, D. P.; PERALTA, D. F. Bryophytes diversity in Brasil. **Rodriguésia**. 66 (4): 1063-1071, 2015.
- CROCKETT, S. L.; ROBSON, N.K.B. Taxonomy and Chemotaxonomy of the Genus *Hypericum*. *Medicinal Aromatic Plant Science and Biotechnology*, v. 5, n. 1, p. 1-13, 2011.
- CROCKETT, S.; BAUR, R.; KURNET, O.; BELAJ, F.; SIGEL, E. A new chromanone derivative isolated from *Hypericum lissophloeus* (Hypericaceae) potentiates GABA_A receptor currents in a subunit specific fashion. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 24, 681-685, 2016.
- CUESTA-RUBIO, O.; PICCINELLI, A. L.; RASTRELLI, L. Chemistry and Biological Activity of Polyisoprenylated Benzophenone Derivatives. **Studies in Natural Products Chemistry**, v. 32, p. 671-720, 2005.
- DAI, J.; GUPTE, A.; GATES, L.; MUMPER, R. J. A comprehensive study of anthocyaninscontaining extracts from selected blackberry cultivars: extraction methods, stability, anticancer properties and mechanisms. **Food and Chemical Toxicology**, v. 47, n. 4, p. 837-847, 2009.
- DAUDT, R.; VON POSER, G. L.; NEVES, G.; RATES, S. M. K. Screening for the antidepressant activity of some species of *Hypericum* from South Brasil. **Phytotherapy Research**, v. 14, n. 5, p. 344-346, 2000.
- DAVE, H.; LEDWANI, L. A review on anthraquinones isolated from *Cassia* species and their applications. **Indian Journal of Natural Products and Resources**. v.3, n.3, 291-319, 2012
- DAVIS, C. C.; WEBB, C. O.; WURDACK, K. J.; JARAMILLO, C. A.; DONOGHUE, M. J. Explosive radiation of Malpighiales supports a mid-cretaceous origin of modern tropical rainforest. **The American Naturalist**, v. 156, n. 3, p. E36-E65, 2005.
- DEMAIN, A. L. FANG, A. Q. The Natural functions of secondary metabolites. **History of Morden Biotechnology I**, v.69, p.1-39, 2000.

- DEWICK, P. M. **Medicinal natural products: a biosynthetic approach**. 3rd ed. Inglaterra: John Wiley & Sons Ltd, 2002.
- DEWICK, P. M. **Medicinal natural products: a biosynthetic approach**. 3rd ed. Inglaterra: John Wiley & Sons Ltd, 2009.
- DI STASI, L. C. **Plantas medicinais: arte e ciência, um guia para uma pesquisa interdisciplinar**. São Paulo: Fundação Editora Unesp, 1996.
- DI STASI, L. C.; HIRUMA-LIMA, C. A.; SOUZA-BRITO, A. R. M.; MARRIOT, A.; SANTOS, C. M. Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica: -2. ed. rev. e ampl. São Paulo; Editora UNESP, 2002.
- DIAS, A. C. P.; TOMÁS-BARBERÁN, F. A.; FERNANDES-FERREIRA, M.; FERRERES F. Unusual flavonoids produced by callus of *Hypericum perforatum*. **Phytochemistry**, v. 48, n. 7, p. 1165-1168, 1998.
- DUVAL, J.; PECHER, V.; POUJOL, M.; LESELLIER, E.; Research advances for the extraction, analysis and uses of anthraquinones: A review. **Industrial Crops and Products**. 94, 812-833, 2016.
- EGOSHI, C. T.; ZERBINI, D.; UTUMI, P. H.; STUELP-CAMPELO, P. M.; ZISCHLER, L. C. M.; MORENO-AMARAL, A. N.; ELIFIO-ESPOSITO, S. Quantificação da angiogênese induzida por tumor em membrana corioalantóica de embrião de galinha. **Bioscience Journal**, v. 31, n. 1, p. 303-310, 2015
- EINBOND, L. S.; REYNERTSON, K. A.; LUO, X.; BASILE, M. J.; KENNELLY, E. J. Anthocyanin antioxidants from edible fruits. **Food Chemistry**, v. 84, n.1 p. 23 - 28, 2004.
- ESTEVEZ, Y.; CASTILLO, D.; PISANGO, M. T.; AREVALO, J.; ROJAS, R.; ALBAN, J. DEHARO, E.; BOURDY, G. SAUVAIN, M. Evaluation of the leishmanicidal activity of plants used by Peruvian Chayahuita ethnic group. **Journal of Ethnopharmacology**, v.114, p. 254–259, 2007.
- FALKENBERG, M. B. Quinonas In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Porto Alegre: Artmed, 2017.
- FIEBICH, B. L.; KNORLEC, R.; APPEL, K.; KAMMLER, T.; WEISS, G. Pharmacological studies in an herbal drug combination of St. John's Wort (*Hypericum perforatum*) and passion flower (*Passiflora incarnata*): In vitro and in vivo evidence of synergy between

- Hypericum and Passiflora in antidepressant pharmacological models. **Fitoterapia**, v. 82, 474-480, 2011.
- FLORA DO BRASIL 2020 em construção. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <[HTTP://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB84131](http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB84131)> (Acesso em 26 julho 2017).
- FOLKMAN, J. Is angiogenesis in organizing principle in biology and medicine? *Journal Pediatric Surgery*. 42 (1) 1-11. 2007.
- FOLKMAN, J.; SHING, Y. Angiogenesis. **The Journal of Biological Chemistry**. V. 267, (16), pp. 10931-10934, 1992
- FRANÇA, S. C. Bioprocessos inovadores para produção de metabólitos ativos de plantas. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Porto Alegre: Artmed, 2017.
- FRANÇOIS, G.; STEENACKERS, T.; ASSI, L. A.; STEGLICH, W.; LAMOTTKE, K.; HOLENS, J.; BRINGMANN, G. Vismione H and structurally related anthranoid compounds of natural and synthetic origin as promising drugs against the human malaria parasite *Plasmodium falciparum*: structure-activity relationships. **Parasitology Research**, v. 85, p. 582–588, 1999.
- FULLER, R. W.; WESTERGAARD, C. K.; COLLINS, J. W.; CARDELIN, J. H.; BOYD, M. R. Vismiaphenones D-G, new prenylated benzophenones from *Vismia cayennensis*. *Journal Natural Products*. v. 62, n. 1, p. 67-69, 1999.
- FUMAGALI, E.; GONÇALVES, R. A. C.; MACHADO, M. F. P. S.; VIDOTI, G. J.; OLIVEIRA, A. J. B. Produção de metabólitos secundários em cultura de células e tecidos de plantas: O exemplo dos gêneros *Tabernaemontana* e *Aspidosperma*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. 18(4): 627-641, 2008.
- GARCÍA-ROSA, K.; VILLARREAL-ALVAREZ, N.; LÜBBEN, P.; PEÑA-RODRÍGUEZ, L.M. Chrysophanol, an Antimicrobial Anthraquinone from the root extract of *Colubrina greggii*. **Journal Mexican Chemistry Society**, 50: 76-78, 2006.
- GIORDANI, R. B.; PAGLIOSA, L. B.; HENRIQUES, A. T. ZUANAZZI, J. A. Investigação do potencial antioxidante e antiolinesterásico de *Hippeastrum* (Amaryllidaceae). **Química Nova**. v. 31, n. 8, 2042-2046, 2008.
- GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.

- GOMES, A. R.; RAVENHALL, M.; BENAVENTE, E. D.; TALMAN, A.; SUTHERLAND, C.; ROPER, C.; CLARK, T. G.; CAMPINO, S. Genetic diversity of next generation antimalarial targets: A baseline for drug resistance surveillance programmes. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*, v. 7, p. 174-180, 2017.
- GOMES, O. C.; SANTOS, F. N.; NUNEZ, C. V. Estudo químico de *Vismia japurensis* Reich (Clusiaceae) visando substâncias antioxidantes. XX Jornada de Iniciação Científica PIBIC INPA - CNPq/FAPEAM. Anais. Manaus: 2011.
- GONÇALVES, M. L. S.; MORS, W. B. Vismiaquinone, a Δ^1 -isopentenyl substituted anthraquinone from *Vismia reichardtiana*. *Phytochemistry*, v. 20, n.8, 1947-1950, 1981.
- GONZALEZ, R. P.; LEYVA, A. M.; RAMON, A. B. Método para o estudo in vivo da angiogênese: indução de neovascularização na córnea de coelho. *Acta Cirúrgica Brasileira*, v. 15, n. 3, p. 168-173, 2000
- GUERIN, P. J.; OLLIARO, P.; NOSTEN, F.; DRUILHE, P.; LAXMINARAYAN, R.; BINKA, F.; KILAMA, W. L.; FORD, N.; WHITE, N. J. Malaria: current status of control, diagnosis, treatment, and a proposed agenda for research and development. *The Lancet Infectious Diseases*, v. 2, p. 564-573, 2002.
- GUSTAFSSON, M.H. G; BITTRICH, V.; STEVENS, P. F. Phylogeny of Clusiaceae based on rbcL sequences. *International Journal of Plant Sciences* 163: 10451054, 2002.
- HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. Free radicals in biology and medicine. 3ed. New York: Oxford Science Publications, 936p, 2000
- HAMMEL, E.B.; ROBSON, N.K.B. Clusiaceae. In: STEVENS, W. D.; ULLOA, C.; POOL, A.; MONTIEL, O.M. (EE.). Flora de Nicaragua. Monographs. *Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden*. v. 85, n. 1, p. 616-631, 2001.
- HARBORNE, J. B.; WILLIAMS, C. A. Anthocyanins and other flavonoids. *Natural Product Reports*, v. 12 n. 6, p. 639-57, 1995
- HEINZMANN, B. M.; SPITZER, V.; SIMÕES, C. M. O. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. *Farmacognosia: do produto natural ao medicamento*. Porto Alegre: Artmed, 2017.

- HOGAN, S.; CHUNG, H.; ZHANG, L.; LI, J.; LEE, Y.; DAI, Y.; ZHOU, K. Antiproliferative and antioxidant properties of anthocyanins-rich extract from açai. **Food Chemistry**, v.118, n. 2, p. 208-214, 2010.
- HOSTETTMANN, K.; QUEIROZ, E. F.; VIEIRA, P. C.; **Princípios ativos de Plantas Superiores**". EdUFSCar, 2003.
- HU, Y. Q.; ZHANG, S.; XU, Z.; SHENG, Z.; LIU, M. L.; FENG, L. S. 4-Quinolone hybrids and their antibacterial activities. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v.141, p. 335-345, 2017.
- HU, Y. Q.; GAO, CHUAN; ZHANG, S.; XU, LEI; XU, ZHI; FENG, L. S.; WU, X. ZHAO, F. Quinoline hybrids and their antiplasmodial and antimalarial activities. **European Journal of Medicinal Chemistry**. v. 20, n. 139, p. 22-47, 2017a
- HUSSAIN, A. A.; BOZZI, B.; CORREA, M.; CAPSON, T. L.; KURSAR, T. A.; COLEY, P. D.; SOLIS, P. N.; GUPTA, M. P. Bioactive Constituents from three *Vismia* species. **Journal Natural Products**, v. 66, 858-860, 2003.
- HUSSAIN, H.; HUSSAIN, J.; AL-HARRASI, A.; SALEEM, M.; GREEN, I. R.; REE, T. V.; GHULAM, A. Chemistry and biology of genus *Vismia*. **Phaceutical Biology**, v. 50, n. 11, p. 1448-1462, 2012.
- IWALEWA, E. O.; OMISORE, N. O.; ADEWUNMI, C. O.; GBOLADE, A. A.; ADEMOWO, O. G.; NNEJI, C.; AGBOOLA, O. I.; DANIUAN. O. M. Anti-protozoan activities of *Harungana madagascariensis* stem bark extract on trichomonads and malaria. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 117, 507-511, 2008.
- IZHAKI, I. Emodin – a secondary metabolite with multiple ecological functions in higher plants. **New Phytologist**. v. 155, p. 205-217, 2002.
- JEFFREYS, M. F., NUNEZ, C. V. Triterpenos das folhas de *Piranhea trifoliata* (Picrodendraceae). **Acta Amazonica**, v. 46 n. 2, p. 189-194, 2016.
- KANJOORMANA, M.; KUTTAN, G. Antiangiogenic Activity of Ursolic Acid. **Integrative Cancer Therapies**, v.9, p. 224 – 235, 2010.
- KANWAR, A. S. Brine shrimp (*Artemia salina*) – a marine animal for sample and rapidbiological assays. **Journal of Chinese Clinical Medicine**, v. 2, n. 4, p. 236-240, 2007
- KENGNI, F.; FODOUOP, S. P. C.; TALA, D. S.; DJIMELI, M. N.; FOKUNANG, C.; GATSING, D. Antityphoid properties and toxicity evaluation of *Harungana*

- madagascariensis* Lam (Hypericaceae) aqueous leaf extract. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 179, 137-145, 2016.
- KOUAM, S. F.; NGADJUI, B. T.; KROHN, K.; WAFO, P.; AJAZ, A.; CHOUDHARY, M. I. Prenylated anthronoid antioxidants from the stem bark of *Harungana madagascariensis*. **Phytochemistry**, v. 66, 1174- 1179, 2005.
- KREIS, W.; MUNKERT, J.; PÁDUA, R. M. Biossíntese de metabólitos primários e secundários. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Porto Alegre: Artmed, 2017.
- KUETE, V.; EFFERTH, T. Pharmacogenomics of Cameroonian traditional herbal medicine for cancer therapy. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 137, p. 752-766, 2011.
- KUETE, V.; NGUEMEVING, J. R.; BENG, V. P.; AZEBAZE, A. G. B.; ETOA, F. X.; MEYER, M.; BODO, B; NKENGFACK, A. E. Antimicrobial activity of the methanolic extracts and compounds from *Vismia laurentii* De Wild (Guttiferae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 109, p. 372-379, 2007
- LAVIE, G.; MAZUR, Y.; LAVIE, D.; PRINCE, A.M.; PASCUAL, D.; LIEBES, L.; LEVIN, B.; MERUELO, D. Hypericin as na inactivator of infectious viruses in blood components. **Transfusion**, v. 35, n. 5, p. 392. 1995.
- LENTA, B. N.; NGOUELA, S.; BOYOM, F. F; TANTANGMO, F.; TCHOUYA, G. R. F.; TSAMO, E.; GUT, J.; ROSENTHAL, P. J.; CONNOLLY, J. D. Anti-plasmodial Activity of Some Constituents of the Root Bark of *Harungana madagascariensis* Lam. (Hypericaceae). **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 55, n. 3, 464-467, 2007.
- LEWINSOHN, E.; GIJZEN, M. Phytochemical diversity: The sounds of silent metabolism. **Plant Science**, v. 176, p. 161-169, 2009.
- LI, L.; WOOLRIDGEM D.; SAING, S. R. S. JENNINGS, J.; HENRY, G. E.; SEERAMA, N. P. Flavonoids and a stilbene from *Triadenum fraseri* (Spach) Gleason. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 38, p. 1074-1076, 2010.
- LI, Z. P.; LEE, H. H; UDDIN, Z.; SONG, Y. H.; PARK, K. H.; Caged xanthenes displaying protein tyrosine phosphatase 1B (PTP1B) inhibition from *Cratoxylum cochinchinense*. **Bioorganic Chemistry**, v. 78, p. 39–45, 2018.
- LIBRALATO, G.; PRATO, E.; MIGLIORE, L; CICERO, A. M.; MANFRA, L. A review of toxicity testing protocols and endpoints with *Artemia* spp. **Ecological Indicators**, v, 69, p. 35-49, 2016.

- LICHTENTHALER, H. The 1-Deoxy-D-xylulose-5-phosphate pathway of isoprenoid biosynthesis in plants. **Annual review of plant physiology and plant molecular biology**. V. 50, p. 47-65, 1999.
- LIMA, P. S. S.; LUCHESEA, A. M.; ARAUJO-FILHO, H. G.; MENESES, P. P.; ARAÚJO, A. A. S.; QUINTANS-JUNIOR, L. J.; QUINTANS, J. S. S. Inclusion of terpenes in cyclodextrins: Preparation, characterization and pharmacological approaches. v. 151, p. 965-987, 2016.
- LINS, A. C. S.; AGRA, M. F.; CONCEIÇÃO, D. C. O.; PINTO, F. C. T.; CAMARA, C. A.; SILVA, T. M. S. Constituintes Químicos e Atividade Antioxidante das Partes Aéreas de *Clusia paralicola* (Clusiaceae) e *Vismia guianensis* (Hypericaceae). **Revista Virtual de Química**, v. 8, n.1, p. 157-168, 2016.
- LIZCANO, L. J.; BAKKALI, F.; RUIZ-LARREA, M. B.; RUIZ-SANZ, J. I. Antioxidant activity and polyphenol content of aqueous extracts from Colombian Amazonian plants with medicinal use. **Food Chemistry**, v.119, p. 1566–1570, 2010.
- LIZCANO, L. J.; SILES, M.; TREPIANA, J.; HERNÁNDEZ, M. L.; NAVARRO, R.; RUIZ-LARREA, M. B.; RUIZ-SANZ, J. I. *Piper* and *Vismia* Species from Colombian Amazonia Differentially Affect Cell Proliferation of Hepatocarcinoma Cells. **Nutrients**. v. 7, 179-195, 2015.
- LJUBIMOV, A. V.; CABALLERO, S.; AOKI, A. M.; PINNA, L. A.; GRANT, M. B.; CASTELLON, R. Involvement of Protein Kinase CK2 in Angiogenesis and Retinal Neovascularization. **Investigate Ophthalmology & Visual Science**. v.45, n.12, p. 4583–4591, 2004.
- LOBO, A. M.; LOURENÇO, A. M. **Biossítese de produtos naturais**. Editora IST Press. Lisboa Portugal, 272p, 2007.
- LUNA, J. S.; SANTOS, A.F.; LIMA, M. R. F.; OMENA, M. C.; MENDONÇA, F. A. C.; BIEBER, L. W.; SANT'ANA, A. E. G. A study of the larvicidal and molluscicidal activities of some medicinal plants from northeast Brazil. **Journal Ethnopharmacology**, v. 97 n. 2, p. 199-206, 2005.
- MACIEL, M. N. M.; WATZLAWICK, L. F.; SCHOENINGER, E. R.; YAMAJU, F.M. 2003. Classificação ecológica das espécies arbóreas. **Revista Acadêmica: ciências agrárias e ambientais**. v. 1, n. 2, p. 69-78, 2003.

- MAHABUSARAKAM, W.; NUANGNAOWARAT, W.; TAYLOR, W. C. Xanthone derivatives from *Cratoxylum cochinchinense* roots. **Phytochemistry**, v. 67, 470-474, 2006.
- MAHADY, G. B.; HUANG, Y.; DOYLE, B. J.; LOCKLEAR, T. Natural Products as Antibacterial Agents. **Studies in Natural Products Chemistry**, v. 35, 423-444, 2008.
- MAHATO, S. B. e KUNDU, A. P. ¹³C NMR Spectra of Pentacyclic Triterpenoids Compilation and some Salient Features. **Phytochemistry**. p. 1517- 1575, 1994.
- MANDRONE, M.; SCOGNAMIGLIO, M.; FIORENTINO, A.; SANNA, C.; CORNIOLI, L.; ANTOGNONI, F.; BONVICINI, F.; POLI, F. Phytochemical profile and α -glucosidase inhibitory activity of Sardinian *Hypericum scruglii* and *Hypericum hircinum*. **Fitoterapia**, v. 120, p. 184-195, 2017.
- MANOJLOVIC, N. T. SOLUJIC, S.; MILOSEV, M. Antifungal activity of *Rubia tinctorum*, *Rhamnus frangula* and *Caloplaca cerina*. **Fitoterapia**, v. 76, p. 244-246, 2005.
- MARTINS, D.; FACHIN-ESPINAR, M.T.; OLIVEIRA, T.A.; LIMA, C.S.K.; CAVALCANTI, M. R.; TELES, R.B.; NUNEZ, C.V. Tamizaje fitoquímico y evaluación de las actividades biológicas de *Duroia macrophylla* (Rubiaceae). Asociación Académica de Ciencias Farmacéuticas de Antofagasta (ASOCIFA). **Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research**, v. 6, n. 2, p. 158-171, 2014
- MARTINS, E. R.; CASTRO, D. M. DE; CASTELLANI, D. C.; DIAS, J. E. Plantas medicinais: do cultivo a terapêutica. 6. ed. Petrópolis: Vozes, 247 p. 2003
- MARTINS, M. A. R.; SILVA, L. P.; FERREIRA, O.; SCHRODER, B.; COUTINHO, J. A. P.; PINHO, S. P. Terpenes solubility in water and their environmental distribution. **Journal of Molecular Liquids**. v. 241, p. 996-1002, 2017.
- MARTINS, M. V.; SHIMIZUL, G. H.; BITTRICHI, V. Flora da Reserva Ducke, Estado do Amazonas, Brasil: Hypericaceae. **Hoehnea**: v. 201, p. 1-11, 2018
- MBAVENG, A. T.; KUETE, V.; NGUEMEVING, J. R.; KROHN, K.; NKENGFAK, A. E.; MEYER, J. J. M.; LALL, N. Antimicrobial activity of the extracts and compounds from *Vismia guineensis* (Guttiferae), **Asian Journal of Tradicional Medicines**. v. 3, p. 211-223, 2008.
- MBWAMBO, Z. H.; APERS, S.; MOSHI, M. J.; KAPINGU, M. C.; MIERT, S. V.; CLAEYS, M.; BRUN, R.; COS, P.; PIETERS, L.; VLIETINCK, A. Anthranoid compounds with antiprotozoal activity from *Vismia orientalis*. **Planta Medica**, v. 70, n.8, p.706-710, 2004.

- MCLAUGHLIN, J.L.; CHANG, C.J.; SMITH, D.L. —Bench-top bioassays for the discovery of bioactive natural products: an update, p. 383-409. In: Rahman, A. (Org.). **Studies in Natural Product Chemistry**, 9th ed., Elsevier, Amsterdam, 1991.
- MEIRELLES, G. C.; PIPPI, B.; HATWING, C.; BARROS, F. M. C.; OLIVEIRA, L. F. S.; POSER, G. L. V.; FUENTEFRIA, A. M. Synergistic antifungal activity of the lipophilic fraction of *Hypericum carinatum* and fluconazole. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.27, 118-123, 2017.
- MENAN, H.; BANZOUZI, J. T.; HOCQUETTE, A.; PELISSIER, Y.; BLACHE, Y.; MALLIÉ, M.; ASSI, L. A.; VALENTIN, A. Antiplasmodial activity and cytotoxicity of plants used in West African traditional medicine for the treatment of malaria. **Journal of ethnopharmacology**, v. 105, p. 131-136, 2006
- MENG, D.; ZHANG, P.; ZHANG, L.; WANG, H.; HO, C. T.; LI, S.; SHAHIDI, F. ZHAO, H. Detection of cellular redox reactions and antioxidant activity assays. **Journal of Functional Foods**, v. 37, p. 467-479, 2017.
- MESHNICK, S. R.; TAYLOR, T. E.; KAMCHONWONGPASAIN, S. Artemisinin and the antimalarial endoperoxides: from herbal remedy to targeted chemotherapy. **Microbiological Reviews**, v. 60, n.2, p. 301-315, 1996.
- MEWALAL, R.; RAI, D. K.; KAINER, D.; CHEN, F.; KULHEIM, C.; PETER, F. P.; TUSKAN, G. A. Plant-Derived Terpenes: A Feedstock for Specialty Biofuels. **Trends in Biotechnology**. v. 35, n. 3, 227-240, 2017.
- MEYER, B.N.; FERRINGI, N. R.; PUTMAM, J. B.; JACOBSEN, L. B.; NICHOLS, D.E.; McLAUGHLIN, J. L.; Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. **Planta Medica**, v. 45, p. 31-34, 1982.
- MIKIRILIA, N.; LAPPAL, T.; XYLA, V.; NIKOLAIDS, I.; SYRIGOS, K. The role of angiogenesis in solid tumours: an overview. **European Journal of Internal Medicine**, v. 20, p.663-671, 2009.
- MILHEM, M. M.; AL-HIYASAT, A. S.; DARMANI, H. Toxicity Testing of Restorative Dental Materials Using Brine Shrimp Larvae (*Artemia salina*). **Journal of Applied Oral Science**, v. 16, n. 4, p. 297-301, 2008
- MINKYUN, N.; JIN, W.Y.; MIN, B.S.; AHN, J.S.; BAE, K. Protein tyrosine Phosphatase 1b inhibitory Activity of Anthraquinones and stilbenes. **Natural Product Sciences**, v. 14, p. 143-146, 2008

- MIRAGLIA, M. C. M.; MESQUITA, A. A. L.; GOTTLIEB, O. R. ; GOTTLIEB, H. E.. Anthraquinones from *Vismia* species. **Phytochemistry**, v. 20, n. 8, p. 2041-2042, 1981.
- MONACHE, F. D.; TORRES, F. F.; MARINI-BETOLLO, G. B. Chemistry of *Vismia* genus. Note V: γ -hydroxy- and γ, γ' -dihydroxy-ferruginin A. **Journal of Natural Products**, v. 43, n. 4, p. 487-494, 1980.
- MONACO, L. M.; MESQUITA, R.C.E; WILLIAMSON, G. B.; Banco de sementes de uma floresta secundária Amazônica dominada por *Vismia*. **Acta Amazônica**. v.33, n. 1, p. 41-52, 2003.
- MOULARI, B.; PELLEQUER, Y.; LBOUTOUNNE, H.; GIRARD, C.; CHAUMONT, J. P.; MILLET, J.; MUYARD, F. Isolation and in vitro antibacterial activity of astilbin, the bioactive flavanone from the leaves of *Harungana madagascariensis* Lam. ex Poir. (Hypericaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 106, p. 272-278, 2006.
- MULABAGAL, V.; WANG, H.; NGOUAJIO, M.; NAIR, M. G. Characterization and quantification of health beneficial anthocyanins in leaf chicory (*Chicorium intybus*) varieties. **European Food Reserch Technology**, v. 230, n. 1, p. 47-53, 2009.
- NAGEM, T. J.; FARIA, T. J. Quinoid and other constituents of *Vismia martiana*. **Phytochemistry**, v. 29, n. 10, p. 3362-3364, 1990.
- NAGEM, T. J.; OLIVEIRA, F. F. Xanthonenes and other constituents of *Vismia parviflora*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 8, n. 5, p. 505-508, 1997.
- NEWMAN, J. D.; CHAPPELL, J. Isoprenoid Biosynthesis in Plants: Carbon Partitioning Within the Cytoplasmic Pathway. **Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology**. v. 34, n. 2, p. 95-106, 1999.
- NGUEMEVING, J. R.; AZEBAZE, A. G. B.; KUETE, V.; CARLY, N. N. E.; BENG, V. P.; MEYER, M.; BLOND, A.; BODO, B. NKENGFACK, A. E. Laurentixanthonenes A and B, antimicrobial xanthonenes from *V. laurentii*. **Phytochemistry**, v. 67, 1341-1346, 2006.
- NGUEMEVING, J. R.; AZEBAZE, A. G. B.; KUETE, V.; CARLY, N. N. E.; BENG, V. P.; MEYER, M.; BLOND, A.; BODO, B. NKENGFACK, A. E. Laurentixanthonenes A and B, antimicrobial xanthonenes from *V. laurentii*. **Phytochemistry**, v. 67, 1341-1346, 2006.
- NGUYEN, H. D.; TRINH, B. T. D.; NGUYEN, N. K.; DANG, S. V.; PHAM, H. D.; NGUYEN, L. H. D. Xanthonenes from the twigs of *Cratoxylum cochinchinense*. **Phytochemistry Letters**, v. 4, 48-51, 2011.
- NGUYEN, L. H. D.; HARRISON, L. J. Triterpenoid and xanthone constituents of *Cratoxylum cochinchinense*. **Phytochemistry**, v.50, 471-476, 1998.

- NGUYEN, M., SHING, Y. FOLKMAN, J. Quantitation of angiogenesis and antiangiogenesis in the chick-embryo chorioallantoic membrane. **Microvascular Research**, v.47, n.1, p.31-40, 1994.
- NODARI, R. O.; GUERRA, M. P. Biodiversidade: aspectos biológicos, geográficos, legais e éticos. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5ª ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 2004.
- NÖLDNER, M.; SCHÖTZ, K. Rutin is essential for the antidepressant activity of *Hypericum perforatum* extracts in the forced swimming test. **Planta Medica** v. 68, n. 7, p. 577-580, 2002.
- NOUNGOUE, D. T.; ANTHEAUME, C.; CHAABI, M.; NDJAKOU, B. L.; NGOUELA, S.; LOBSTEIN, A.; TSAMO, E. Anthraquinones from the fruits of *Vismia laurentii*, **Phytochemistry**, v. 69, p. 1024-1028, 2008.
- NOUNGOUE, D. T.; CHAABI M.; NGOUELA, S.; ANTHEAUME, C.; BOYOM, F. F.; GUT, J.; ROSENTHAL, P. J.; LOBSTEIN, A.; TSAMO, E. Antimalarial Compounds from the Stem Bark of *Vismia laurentii*. **Zeitschrift für Naturforschung C**, v. 64, n. 3-4, p. 210-214, 2009.
- OLIVEIRA, A. H.; OLIVEIRA, G. G.; CARNEVALE NETO, F.; PORTUONDO, D. F.; BATISTA-DUHARTE, A.; CARLOS, I. Z. Anti-inflammatory activity of *Vismia guianensis* (Aubl.) Pers. extracts and antifungal activity against *Sporothrix schenckii*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 195, p. 266–274, 2017.
- OLIVEIRA, T. T.; BONADEU, F.; SANTOS, J. U. M.; GURGEL, E. S. C.; BASTOS, M. N. C. Clusiaceae Lindl. e Hypericaceae Juss. nas restingas do Estado do Pará, Amazônia Oriental, Brasil. **Biota Amazônia**, v. 5, n. 4, p. 15-21, 2015.
- OLLIARO, P. Mode of action and mechanisms resistance for antimalarial drug. **Pharmacology & Therapeutics**. v. 89, p. 207-219, 2001.
- OTROCK, Z.K.; MAHFOUZ, R.A.R.; MAKAREM, J.A.; SHAMSEDDINE, A.I. Understanding the biology of angiogenesis: Review of the most important molecular mechanisms. **Blood Cells Mol. Dis.** v. 39, p. 212-220. 2007.
- OTTOBELLI, I.; FACUNDO, V. A.; ZULINI, J.; LUZ, C. C.; BRASIL, H. O. B. B.; MILITAO, J. S. L. T.; BRAZ-FILHO, R. Estudo químico de duas plantas medicinais da amazônia: *Philodendron scabrum* k. Krause (araceae) e *Vatairea guianensis* aubl. (fabaceae). v.41, n. 3, 393-400, 2011.

- PADUCH, R.; KANDEFER-SZERSZÉN, M.; TRYTEK, M.; FIEDUREK, J. Terpenes: substances useful in human healthcare. **Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis**, v. 55, p. 315-327, 2007.
- PARRA, A. L.; YHEBRA, R. S.; SARDIÑAS, I.G; BUELA, L.I. Comparative study of the assay of *Artemia salina* L. and the estimate of the medium lethal dose (LD50 value) in mice, to determine oral acute toxicity of plant extracts. **Phytomedicine.**, v. 8, n. 5, p. 395-400, 2001
- PASCUAL-TERESA, S.; SANCHEZ-BALLESTA, M. T. Anthocynins: from plant to health. **Phytochemistry Reviews**, v. 7, n. 2, p. 281-299, 2008.
- PASQUA, G.; MONACELLI, B.; CUTERI, A.; SPUNTARELLI, F.; RASCIO, N.; BOTTA, B.; MONACHE, D. G.; SCURRIA, R. Accumulation of vismione A in regenerated plants of *Vismia guianensis* DC. **Protoplasma**, v. 189, 9-16, 1995.
- PEREIRA, R. C. G.; SOARES, D. C. F.; OLIVEIRA, D. C. P.; SOUSA, G. F.; VIEIRA-FILHO, S. A.; MERCADANTE-SIMÕES, M. O.; LULA, I.; SILVA-CUNHA, A.; DUARTE, L. P. Triterpenes from leaves of *Cheiloclinium cognatum* and their *in vivo* antiangiogenic activity. **Magnetic Resonance in Chemistry**. v. 56, n. 5, p. 360-366, 2018.
- PÉREZ, O. P.; LAZO, F. J. Ensayo de *Artemia*: Útil herramienta de trabajo para ecotoxicólogos y químicos de productos naturales. **Revista de Protección Vegetal**. v. 22, n.1, p. 34-43, 2010
- PINHEIRO, R. M.; MAC-QUHAE, M. M.; BETOLLO, G. B. M.; MONACHE, F. D.; Prenylated anthranoids from *Vismia* species. **Phytochemistry**, v. 23, n. 8, p. 1737-1740, 1984.
- POSER, G. L. A quimiotaxonomia na sistemática dos seres vivos. In SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Porto Alegre: Artmed, 2017.
- PRATHEESHKUMAR, P.; BUDHRAJA, A.; SON, Y. O.; WANG, X.; ZHANG, Z.; DING, S.; WANG, L.; HITRON, A.; LEE, J. C.; XU, M.; CHEN, G.; LUO, J.; SHI, X. Quercetin Inhibits Angiogenesis Mediated Human Prostate Tumor Growth by Targeting VEGFR- 2 Regulated AKT/mTOR/P70S6K Signaling Pathways. **PloS one**, v. 7, n. 10, p. e47516, 2012.

- RABANAL, R. M. BONKANKA, C. X.; HERNÁNDEZ-PÉREZ, M.; SÁNCHEZ-MATEO, C. C. Analgesic and topical anti-inflammatory activity of *Hypericum canariense* L. and *Hypericum glandulosum* Ait. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 96, p. 591-596, 2005.
- RAI, M.; INGLE, A. P.; PARALIKAR, P.; GUPTA, I.; MEDICI, S.; SANTOS, C. A. Recent advances in use of silver nanoparticles as antimalarial agentes. **International Journal of Pharmaceutics**, v.526, p. 254-270, 2017
- RIBATTI, D.; NICO, B.; VACCA, A.; RONCALI, L.; BURRI, P. H.; DJONOV, V. Chorioallantoic Membrane Capillary Bed: A Useful Target for Studying Angiogenesis and Anti-Angiogenesis In Vivo. **The anatomical record**, v. 264, p. 317-324, 2001.
- RIBEIRO, A. B.; BERTO, A.; RIBEIRO, D.; FREITAS, M.; CHISTÉ, R. C.; VISENTAINER, J. V.; FERNANDES, E. Stem bark and flower extracts of *Vismia cauliflora*: modulation of oxidative burst in human neutrophils' and inhibition of oxidative damage in human erythrocytes. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 75, 2014
- RIBEIRO, J. E. L. S.; HOPKINS, M. J. G.; VICENTINI, A.; SOTHERS, C. A.; COSTA, M. A. S.; BRITO, J. M.; SOUZA, M. A. D.; MARTINS, L. H. P.; LOHMANN, L. G.; ASSUNCAO, P. A. C. L.; PEREIRA, E. C.; SILVA, C. F.; MESQUITA, M. R.; PROCOPIO, L. C. Flora da Reserva Ducke. Guia de identificação das plantas vasculares de uma floresta de terra-firme na Amazônia Central. INPA-DFID, Manaus, Brasil, 816 pp, 1999.
- ROBSON, N. K. B. Hypericaceae. In: WOODSON Jr., R. E.; SCHERY, R. W. (EE.). Flora of Panama. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 65, n. 4, p. 9-26, 1978.
- ROCHA, L.; MARTSON, A.; KAPLAN, M. A. C.; EVANS, H. S.; TULL, U.; TESTA, B.; HOSTETTMANN, K. An antifungal gamma-pyrone and xanthenes with monoaminoxidase inhibitory activity from *Hypericum Brasiliense*. **Phytochemistry**, v. 36, n. 6, p. 1381-1385, 1994.
- ROCHA, L.; MARTSON, A.; POTTERAT, O.; KAPLAN, M. A. C.; EVANS, H. S.; HOSTETTMANN, K. More phloroglucinols from *Hypericum brasiliense*. **Phytochemistry**, v. 42, n. 1, p. 185-188, 1996.
- ROCHA, L.; MARTSON, A.; POTTERAT, O.; KAPLAN, M. A. C.; HOSTETTMANN, K. Antibacterial phloroglucinol and flavonoids from *Hypericum brasiliense*. **Phytochemistry**, v. 40, n. 5, p. 1447-1452, 1995.

- RODRÍGUEZ, J. C. Guttiferae. In: CALDERÓN DE RZEDOWSKI, G.; J. R. ZEDOWSKI (EE.). **Flora Fanerogámica del Valle de México**. 2 ed. Vera cruz: Instituto de Ecología, v. 1, p. 410-414, 2001.
- ROESLER, R.; MALTA, L. G.; CARRASCO, L. C.; HOLANDA, R. B.; SOUSA, C. A. S.; PASTORE, G. M. Atividade antioxidante de frutas do cerrado. **Food Science and Technology**, v. 27, n. 1, p. 53-60, 2007.
- ROJAS, J.; BUITRAGO, A.; ROJAS, L.; MORALES, A. Essential Oil Composition of *Vismia macrophylla* Leaves (Guttiferae). **Natural Product Communications**, v. 6, n.1, p. 85-86, 2011.
- RUHFEL, B.R., BITTRICH, V., BOVE, C.P., GUSTAFSSON, M.H.G., PHILBRICK, C.T., RUTISHAUSER, R., XI, Z. & DAVIS, C.C. Phylogeny of the Clusioid clade (Malpighiales): evidence from the plastid and mitochondrial genomes. **American Journal of Botany**, v. 98, p. 306-325, 2011
- RUPHIN, F. P.; BAHOLY, R. B.; BARTHELEMY, F.; AMELIE, R.; MARTIN, M. T.; NGBOLU, K. N. Isolation and structural elucidation of two new compounds Elieaxanthone and Elieaflavonone from *Eliea articulata* Cambess (Clusioid Clade, Family Hypericaceae, and Tribe Cratoxyleae) originated from Madagascar. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 3, n.6, p. 155-160, 2015.
- SAIFI, M. A.; BEG, T.; HARRATH, A. M.; ALTAYALAN, F. S. H.; AL-QURAI SHY, S.; Antimalarial drugs: mode of action and status of resistance. **African Journal Pharmacy and Pharmacology**, v. 7, n. 5, p. 148– 156, 2013.
- SALAS, F. VELASCO, J.; ROJAS, J.; MORALES, A. Antibacterial Activity of the Crude Extract and Constituents of *Vismia baccifera* var. dealbata (Guttiferae) Collected in Venezuela. **Natural product communications**. v. 2, n. 2, p. 185-188, 2007
- SALAZAR, G. C. M.; SILVA. G. D. F.; DUARTE, L. P.; VIEIRA FILHO, S. A.; LULA, I. S. Two epimeric friedelane triterpenes isolated from *Maytenus truncana* Reiss: ¹H and ¹³C chemical shift assignments. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 38, p. 977-980, 2000.
- SÁNCHEZ-MORENO, C. Review: Methods Used to Evaluate the Free Radical Scavenging Activity in Foods and Biological Systems. **Food Science & Technology**, v. 8, n. 3, p. 121137, 2002.
- SANTOS, M. H.; NAGEM, T. J.; SILVA, M. C.; SILVA, L. G. F. Xanthonenes from *Vismia latifolia*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 11, n. 5, p. 537-539, 2000.

- SANTOS, R. I. Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5ª ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 2004.
- SANTOS-MAGALHAES, N. S.; MOSQUEIRA, V. C. F. Nanotechnology applied to the treatment of malaria. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 62, p. 560–575, 2010.
- SAPIR-MIR, M.; METT, A.; BELAUSOV, E.; TAL-MESHULAM, S.; FRYDMAN, A.; GIDONI, D.; EYAL, Y. Peroxisomal Localization of Arabidopsis Isopentenyl Diphosphate Isomerases Suggests That Part of the Plant Isoprenoid Mevalonic Acid Pathway Is Compartmentalized to Peroxisomes. **Plant Physiology**. v.148, n. 3, p. 1219-1228, 2008.
- SCHIEBER, M.; CHANDEL, N. S. ROS Function in Redox Signaling and Review Oxidative Stress. **Current Biology**, v. 24, p. 453-462, 2014.
- SCHWARZ, M.; HILLEBRAND, S.; HABBEN, S.; DEGENHARDT, A.; WINTERHALTER, P. Application of high-speed countercurrent chromatography to the largescale isolation of anthocyanins. **Biochemical Engineering Journal**, v. 14, n. 3, p. 179-189, 2003.
- SEO E. U.; WANI, M. C.; WALL, M. E.; NAVARRO, H.; MUKHERJEE, R.; FARNSWORTH, N. R. New bioactive aromatic compounds from *Vismia guianensis*. **Phytochemistry**. v. 55, n. 1, p. 35-42, 2000.
- SHARMA, A.; FLORES-VALLEJO, R. C.; TAKETA, A. C.; VILLARREAL, M. L. Antibacterial activities of medicinal plants used in Mexican traditional medicine. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 208, p. 264-329, 2017.
- SHIN, W-H.; PARK, S-J.; KIM, E-J. Protective effect of anthocyanins in middle cerebral artery occlusion and reperfusion model of cerebral ischemia in rats. **Life Science**, v. 79, n. 2, p. 130-137, 2006.
- SILVA, A. A.; GONÇALVES, R. C. Espécies reativas do oxigênio e as doenças respiratórias em grandes animais. **Ciência Rural**, v. 40, n.4, p. 994-1002, 2010.
- SILVA, T. M. S.; NASCIMENTO, R. J. B.; BATISTA, M. M.; AGRA, M. F.; CAMARA C. A. Brine shrimp bioassay of some species of Solanum from northeastern Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 1, p. 35-38, 2007.
- SILVESTRE, R. G.; MORAES, M. M.; LINS, A. C. S.; RALPH, M. T.; LIMA-FILHO, J. V.; CAMARA, C. A.; SILVA, T. M. S. Chemical composition, antibacterial and

- antioxidant activities of the essential oil from *Vismia guianensis* fruits. **African Journal of Biotechnology** v. 11, n. 41, p. 9888-9893, 2012.
- SIMETANINA, O. F.; KALINOVSKII, A. I.; KHUUDYAKOVA, Y. V.; SLINKINA, N. N.; PIVKIN, M. V.; KUZNETSOVAM, T. A. Metabolites From The Marine Fungus *Eurotium Repens*. **Chemistry of Natural Compounds**, v. 43, n.4, p. 395-396, 2007.
- SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5ª ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 2004.
- SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Porto Alegre: Artmed, 2017.
- SOARES, I. S.; RODRIGUES, M. M. Malaria vaccine: roadblocks and possible solutions. **Brazilian Journal Medical and Biological Research**, v.31, p. 317-332, 1998.
- STANDLEY, P. C.; WILLIAMS, L. O. Guttiferae. In: STANDLEY, P. C.; WILLIAMS, L. O. (EE.) **Flora of Guatemala. Fieldiana Botani**, v. 24, n. 7/1, p. 36-61, 1961.
- STEHMANN, J. R.; SOBRAL, M. Biodiversidade no Brasil. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Porto Alegre: Artmed, 2017.
- STEVENS, P. F. Clusiaceae-Guttiferae, Hypericaceae. IN: K. KUBITZKI [ed], **The families and genera of vascular plants**, vol. IX, Flowering plants. Eudicots. Berberidopsodales, Bruxales, Cromossomatales, Fabales pp., Geraniales, Gunnerale, Myrtales pp., Proteales, Saxifragales, Vitales, Zigophyllales, Clusiaceae alliance, Passifl oraceae alliance, Dilleniaceae, Huaceae, Picramniaceae, Sabiaceae, 48-66, 194-201. Springer, Berlin, Germany, 2007.
- STEVENS, P.F. **Angiosperm Phylogeny Website**. Versão 12, Julho 2012 [and more or less continuously updated since]. Disponível em: <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>; acesso em: 23 abr. 2019.
- STOCKMANN, C.; SCHADENDORF, D.; KLOSE, R.; HELFRICH, I. The Impact of the Immune System on Tumor: Angiogenesis and Vascular Remodeling. **Frontiers in Oncology**, v. 4, p. 69, 2014.
- STROBEL, G. A.; DAISY, B. Bioprospecting for Microbial Endophytes and Their Natural Products. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v.67, n. 4, p. 491-502, 2003.

- STROBEL, G. A.; DAISY, B.; CASTILLO, U.; HARPER, J. Natural products from endophytic microorganisms. **Journal of Natural Products**, v. 67, n. 2, p. 257-268, 2004.
- SUFFREDINI, I. B.; PACIENCIA, M. L. B.; VARELLA, A. D. YOUNES, R. N *In vitro* cytotoxic activity of Brazilian plant extracts against human lung, colon and CNS solid cancers and leukemia. **Fitoterapia**, v. 78, p. 223-226, 2007.
- SUFREDINI, I. B.; PACIENCIA, M. L. B.; NEPOMUCENO, D. C.; YOUNES, R. N.; VARELLA, A. D. Antibacterial and cytotoxic activity of Brazilian plant extracts – Clusiaceae. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 101, n.3, 287-290, 2006.
- SUREKHA, K. L.; WAGHCHOUDE, M.; GHASKADBI, S. Enhancement of angiogenesis by a 27 kDa lectin from perivitelline fluid of horseshoe crab embryos through upregulation of VEGF and its receptor. **Journal of Natural Products**, Cincinnati, v. 76, n. 1, p. 117-120, 2013.
- TAKAHASHI, I.; NAKANISHI, S.; KOBAYASHI, E.; NAKANO, H.; SUZUKI, K.; TAMAOKI, T. Hypericin and Pseudohypericin Specifically Inhibit Protein Kinase C: Possible Relation To Their Antiretroviral Activity. **Biochemical and Biophysical Research communications**, v. 165, n.3, 1989.
- TALA, M. F.; KROHN, K.; HUSSAIN, H.; KOUAM, S. F.; WABO, H. K.; TANE, P.; SCHULZ, B.; HU, Q. Laurentixanthone C: A new antifungal and algicidal xanthone from stem bark of *Vismia laurentii*. **Zeitschrift fur Naturforschung - Section B Journal of Chemical Sciences**. v. 62, n. 4. p. 565-568, 2007.
- TALA, M. F.; TALONTSI, F. M.; WABO, H. K.; LANTOVOLOLONA, J. E. R.; TANE, P.; LAATSH, H. Anthraquinones and triterpenoids from seeds of *Vismia guineensis*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 50, p. 310-312, 2013.
- TALA, M. F.; TAMOKOU, J. D. D.; TCHAKAM, P. D.; TANE, P.; KUIATE, J. R.; WABO, H. K. Antioxidant xanthenes, anthraquinones and semi-synthetic derivatives from *Vismia rubescens* and *Vismia laurentii*. **Pharmacologyonline**, v. 3, p. 1410-1418, 2011.
- TAMOKOU, J. D. D.; TALA, M. F.; WABO, H. K.; KUIATE, J. R.; TANE, P. Antimicrobial activities of methanol extract and compounds from stem bark of *Vismia rubescens*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 124, p. 571-575, 2009.
- TANEMOSSU, S. A. F.; FRANKE, K.; SCHIMIDT, J.; WESSJOHANN, L. Chemical constituents of *Psorospermum densipunctatum* (Hypericaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 59, p. 174-176, 2015.

- TANKEO, S. B.; DAMEN, F.; SANDJO, L. P.; CELIK, I.; KUETE, V. Antibacterial activities of the methanol extracts, fractions and compounds from *Harungana madagascariensis* Lam. exPoir. (Hypericaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 190, p. 100-105, 2016.
- THE PLANT LIST. Version 1.1. Published on the internet; <http://www.theplantlist.org/> (Acesso em 25 de abril de 2019).
- TIH, A. E.; GHOGOMU, R. T.; SONDEGAM, B. L.; CAUX, C.; BODO, B. Minor constituents of *Harungana madagascariensis* stem bark. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 34, p. 267-269, 2006.
- TOKUOKA, T.; TOBE, H. Phylogenetic analysis of Malpighiales using plastid and nuclear DNA sequences, with particular reference to the embryology of Euphorbiaceae sens. str. **Journal of Plant Research**, v. 119, n. 6, p. 599-616, 2006.
- TROPICOS. Org. Missouri Botanical Garden. <<http://www.tropicos.org/Name/780152>> (Acesso em 26 de julho de 2017).
- UDOMCHOTPHRUET, S.; PHUWAPRAISIRISAN, P.; SICHAEM, J.; TIP-PYANG, S. Xanthones from the stems of *Cratoxylum cochinchinense*. **Phytochemistry**, v. 73, p. 148-151, 2012.
- VALADEAU, C.; ADRIANA, P.; ERIC, D.; JOAQUINA, A; C.; YANNICK, E.; AUGUSTO, L. F.; ROSÁRIO, R.; DIONICIA, G.; MICHEL, S.; DENIS, C.; GENEVIÉVE, B. Medicinal plants from the Yanasha (Peru): Evaluation of the leishmanicidal and antimalarial activity of selected extracts. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 123, p. 413-422, 2009.
- VALDÉS, A. F.; MARTÍNEZ, J. M.; LIZAMA, R. S. GAITÉN, Y, G.; RODRÍGUEZ, D. A. PAYROL, J. A. In vitro antimalarial activity and cytotoxicity of some selected cuban medicinal plants. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 52, n. 4, p. 197-201, 2010.
- VALKO, M.; LEIBFRITZ, D.; MONCOL, J.; CRONIN, M. T.D.; MAZUR, M.; TELSER, J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**. v. 39, p. 44–84, 2007.
- VAN DE PUTTE, M.; WANG, H.; CHEN, F.; WITTE, P. A. M.; NI, Y.; Hypericin as a Marker for Determination of Tissue Viability After Intratumoral Ethanol Injection in a Murine Liver Tumor Model. **Academic Radiology**, v. 15, n. 1, p. 107-113, 2008.

- VAN DER BERG, M. E. Plantas Medicinais na Amazônia: contribuição ao seu conhecimento sistemático. Belém. CNPQ, 223p, 1982.
- VANNUCCHI, H.; MOREIRA, E. A. M.; CUNHA, D. F.; JUNQUEIRA-FRANCO, M. V. M.; BERNARDES, M. M.; JORDÃO JUNIOR, A. A. Role of nutrients on lipid peroxidation and antioxidant defense system. **Medicina**, v. 31, n. 1, p. 31- 44, 1998.
- VERAS, H. N. H.; RODRIGUES, F. F. G.; BOTELHO, M. A.; MENEZES, I. R. A.; COUTINHO, H. D. M.; COSTA, J. G. M. Enhancement of aminoglycosides and β -lactams antibiotic activity by essential oil of *Lippia sidoides* Cham. and the Thymol. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 10, p. 790-795, 2017.
- VIANA, A.; DO REGO, J. C.; VO POSER, G.; FERRAZ, A.; HECKLER, A. P.; COETENTIN, J.; KUZE RATES, S. M. The antidepressant – like effect of *Hypericum caprifoliatum* Cham & Scheecht (Guttiferae) on Forced Swimming test results from na inhibition of Neuronal Monoamine uptake. **Neuropharmacology**, v. 49, n. 7, p. 1042-1052, 2005.
- VIEGA JR., C.; BOLZANI, V. S.; BARREIRO, E. J. Os Produtos Naturais e a Química Medicinal Moderna. **Química Nova**, v. 29 n. 2, p. 326-337, 2006.
- VIEIRA, V. A.; CAMPOS, L. V.; SILVA, L. R.; GUERRA, M. O.; PETERS, V. M.; SÁ, R. C. Evaluation of postpartum behaviour in rats treated with *Hypericum perforatum* during gestation. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 23, p. 796-801, 2013.
- VIZCAYA, M.; MORALES, A.; ROJAS, J.; NUÑEZ, R. Revisión bibliográfica sobre la composición química y actividades farmacológicas del género *Vismia* (Guttiferae). **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y aromáticas**, v. 11, n. 1, p. 12-34, 2012.
- VIZCAYA, M.; PÉREZ, C.; ROJAS, J.; ROJAS-FERMÍN, L.; PLAZA, C.; MORALES, A.; PEREZ, P. Composición química y evaluación de la actividad antifúngica del aceite esencial de corteza de *Vismia baccifera* var. *dealbata*. **Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología**, v. 34, p. 86-90, 2014.
- VOGEL ELY, C.; SHIMIZU, G. H.; MARTINS, M. V.; MARINHO, L. C. Hypericaceae. IN: **Flora do Brasil 2020 em construção**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB84140>. Acesso em: 07 Mai. 2019.
- WABO, H. K.; KOUAM, S. F.; KROHN, K.; HUSSAIN, H.; TALA, M. F.; TANE, P.; REE, T. V.; HU, Q.; SCHULZ, B. Prenylated Anthraquinones and Other Constituents from

- the Seeds of *Vismia laurentii*. **Chemical and Pharmaceutica Bulletin**, v. 55, n. 11, p. 1640-1642, 2007.
- WALL, M. E.; WANI, M. C. Camptothecin and taxol: from discovery to clinic. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 51, n. 1-3, p. 239 – 254, 1996.
- WANG, J. L.; OIN, X.; CHEN, Z.; JU, Z.; He, W.; TAN, Y.; ZHOU, X.; TU, Z.; LU, F. LIU, Y. Two new anthraquinones with antiviral activities from the barks of *Morinda citrifolia* (Noni). **Phytochemistry Letters**, v. 15, p. 13-15, 2016
- WEITZAMAN, A. L.; STEVENS, P. F. Notes on the circumscription of Bonnetiaceae and Clusiaceae, with taxa and new combinations. **BioLlania**, Edición Especial v. 6, p. 551-564, 1997.
- WHO, 2018._Global Priority List of Antibiotic-Resistant Bacteria to Guide Research, Discovery, and Development of New Antibiotics. Disponível em: <http://www.who.int/medicines/publications/global-priority-list-antibiotic-resistant-bacteria/en/> Acesso em: 04/01/2018.
- WOLFENDER, J. L.; MARTI, G.; THOMAS, A.; BERTRAND, S. Current approaches and challenges for the metabolite profiling of complex natural extracts. **Journal of Chromatography A**, v. 1382, p. 136-164, 2015.
- World Malaria Report, World Health Organization, 2015.
- World Malaria Report, World Health Organization, 2016.
- ZHOU, X.; SONG, B.; JIN, L.; HU, D.; DIAO, C.; XU, G.; ZOU, Z.; YANG, S. Isolation and inhibitory activity against erK Phosphorylation of hydroxyanthraquinones from rhubarb. **Bioorganic e Medicinal Chemistry Letters**, v. 16, p. 563–568, 2006.
- ZUBAIR, M. F.; OLADOSU, I. A.; OLAWORE, N. O.; USMAN, L. A.; FAKUNLE, C. O.; HAMID, A. A.; ALI, M. S. Bioactive Steroid from the Root Bark of *Psorospermum corymbiferum*. **Chinese Journal of Natural Medicines**, v. 9, n. 4, p. 264-266, 2011.