



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO DE QUÍMICA

**ESTUDO DOS METABÓLITOS SECUNDÁRIOS E ATIVIDADE  
ANTIFÚNGICA EM RESÍDUOS MADEIREIROS DE *Hymenaea courbaril*  
L.**

JENNIFER DE OLIVEIRA LIMA SANTIAGO

Manaus/AM

2020



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO DE QUÍMICA

JENNIFER DE OLIVEIRA LIMA SANTIAGO

**ESTUDO DOS METABÓLITOS SECUNDÁRIOS E ATIVIDADE  
ANTIFÚNGICA EM RESÍDUOS MADEIREIROS DE *Hymenaea courbaril*  
L.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Amazonas, como requisito parcial para a obtenção do título de MESTRE EM QUÍMICA, área de concentração Química Orgânica.

Orientadora: Dra. Maria da Paz Lima  
Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA)

Manaus/AM

2020

### Ficha Catalográfica

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

S235e Santiago, Jennifer de Oliveira Lima  
Estudo dos metabólitos secundários e atividade antifúngica em  
resíduos madeireiros de *Hymenaea courbaril* L. / Jennifer de  
Oliveira Lima Santiago . 2020  
133 f.: il. color; 31 cm.

Orientadora: Maria da Paz Lima  
Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal do  
Amazonas.

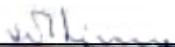
1. Resíduos madeireiros. 2. jatobá. 3. flavonoides. 4. ressonância  
magnética nuclear. 5. resorcinol. I. Lima, Maria da Paz. II.  
Universidade Federal do Amazonas III. Título

ESTUDO DOS METABÓLITOS SECUNDÁRIOS E  
ATIVIDADE ANTIFÚNGICA EM RESÍDUOS  
MADEIREIROS DE *Hymenaea courbaril* L.

**JENNIFER DE OLIVEIRA LIMA SANTIAGO**

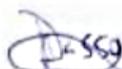
Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Química, do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal do Amazonas como requisito parcial para a obtenção do Grau de Doutor(a) em Química.

Aprovada em 03 de agosto de 2020.



---

Dra. Maria da Paz Lima (CPPN/INPA)  
Presidente/Orientadora



---

Dr. Joel Aparecido Passo (DQ/UFAM)  
Membro Interno



---

Dra. Jaqueline de Araújo Bezerra (IFAM)  
Membro Externo

## **DEDICATÓRIA**

**Dedico esse trabalho primeiramente a Deus  
pois sem Ele nada seria possível e aos meu pais  
que sempre investiram na minha educação  
e acreditaram no meu potencial.**

“Mas, buscai primeiro o reino de Deus, e a sua justiça, e todas estas coisas vos serão acrescentadas.”

Mateus 6:33

## AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus que me guia e me orienta desde o nascimento e me mostra que eu não estou só nas situações mais difíceis e de vitórias também;

Aos meus pais Antonio e Rosanilda Lima que investiram na minha educação desde a infância e me incentivaram, mesmo quando eu as vezes não acreditava mais em mim.

Ao meu querido esposo Romário por ter estado sempre ao meu lado com amor, companheirismo, disposição e paciência. Obrigada por torcer e acreditar em mim do seu jeito;

A Dr<sup>a</sup> Maria da Paz Lima por ter toda paciência e disposição para transmitir seu vasto conhecimento científico, principalmente por fornecer mais que uma orientação, por compartilhar lições de vida e o apoio nos momentos difíceis da vida pessoal.

Aos meus amigos de laboratório Priscila, Henrique, Ayrton, Paulo, Bruno, Dani, Jéssica e Lorena por terem sido verdadeiros parceiros com apoio mútuo em todas as atividades laboratoriais. E por dizerem muitas vezes palavras de ânimo quando nada estava dando certo.

Aos técnicos de laboratório Magno, Sabrina e Zelina da Central Analítica do Laboratório Temático de Química de Produtos Naturais (CALTPQN) por todas as análises realizadas com todo cuidado, atenção, e pelo bom atendimento quanto a solicitação de análises.

A Dra Claudete pelo fornecimento do resíduo madeireiro, ao anatomista da madeira Jorge Freitas pela identificação do mesmo e pela total atenção de ambos para o atendimento quanto as dúvidas.

Ao laboratório de micologia do INPA na pessoa da Dr<sup>a</sup> Ana Cortês e aluna Valéria por terem aceitado fazer o ensaio antifúngico em um curto período de tempo e não mediram esforços para realização do mesmo.

Enfim as instituições INPA e UFAM que proporcionaram a realização da minha formação e desenvolvimento do projeto e a CAPES por financiar toda essa minha formação de mestrado em química.

APENAS GRATIDÃO!!!!

## RESUMO

O Brasil possui uma extensa área florestal, com diversidade de espécies arbóreas. Há relatos de diversos estudos químicos com a finalidade de identificar substâncias com potencial econômico e/ou biológico nas diferentes partes vegetativas, tais como, folhas, cascas, fruto, resina e sementes, porém grande parte das espécies exploradas não possuem estudos químicos dos metabólitos secundários encontrados na madeira. Dentre as famílias vegetais encontra-se a Fabaceae da qual constitui-se a terceira maior família das angiospermas, caracterizada quimicamente por compostos como alcaloides, lignanas, terpenos, entre outras. A espécie selecionada para este trabalho foi *Hymenaea courbaril* L. com o objetivo de avaliar os constituintes químicos dos resíduos madeireiros (cerne) e buscar atividade biológica das substâncias isoladas. O estudo fitoquímico fez uso de técnicas cromatográficas em coluna (fases estacionárias de sílica gel e sephadex LH-20), em camada delgada e preparativa, utilizando para identificação a técnica espectroscópica de ressonância magnética nuclear (unidimensional e bidimensional) e espectrometria de massas de baixa resolução. Com o fracionamento do extrato hexânico obteve-se a purificação do diterpeno ácido eperúico (**1**), o qual constitui cerca de 8% deste extrato. O fracionamento com o extrato metanólico conduziu ao isolamento do diterpeno (**1**) e seu éster metílico (**2**), os triterpenos ácido oleanólico (**3**) e hederagenina (**10**), os derivados do resorcinol metóxikermadecina H (**4**) e kermadecina H (**5**), e os flavonoides quercetina (**6**), fisetinediol (**7**), liqueritigenina (**8**), e 3-metóxi-5,7,3',5'-tetrahidroxiflavanona (**9**). Sendo as substâncias metóxikermadecina H e 3-metóxi-5,7,3',5'-tetrahidroxiflavanona inéditas na literatura. Considerando a necessidade de novos antifúngicos de origem natural e o potencial biológico das classes de flavonoides, terpenos e derivados do resorcinol foi realizado o ensaio antifúngico com as substâncias **1**, **2**, **4**, **5**, **6** e **9** isoladas dos resíduos madeireiros frente as cepas *Candida albicans* (ATCC 60193) e *Cryptococcus gattii* (CFP 61), onde a kermadecina H (**5**) se destacou entre as substâncias testadas.

**Palavras-chaves:** Fabaceae, Ressonância Magnética Nuclear, Flavonoides, resorcinol, antifúngico.

## ABSTRACT

Brazil has an extensive forest area, with a diversity of tree species. There are reports of several chemical studies in order to identify substances with economic and biological potential in the different vegetative parts, such as leaves, bark, fruit, resin and seeds, however most of the explored species do not have chemical studies of the secondary metabolites. found in wood. Among the plant families is Fabaceae, which is the third largest family of angiosperms, chemically characterized by compounds such as alkaloids, lignans, terpenes, among others. The species selected for this work was *Hymenaea courbaril* L. in order to evaluate the chemical constituents of wood residues (heartwood) and to search for biological activity of the isolated substances. The phytochemical study used column chromatographic techniques (silica gel and sephadex LH-20 stationary phases), in a thin and preparative layer, using the nuclear magnetic resonance spectroscopic technique (one- and two-dimensional) and low resolution mass spectrometry. With the fractionation of the hexane extract, the purification of the eperúic acid diterpene (**1**) was obtained, which constitutes about 8% of this extract. Fractionation with the methanolic extract led to the isolation of diterpene (**1**) and its methyl ester (**2**), the triterpenes oleanolic acid (**3**) and hederagenin (**10**), the derivatives of resorcinol metoxikermadecine H (**4**) and kermadecine H (**5**), and the flavonoids quercetin (**6**), fisetinediol (**7**), liquerythigenin (**8**), and 3-methoxy-5,7,3',5'-tetrahydroxyflavanone (**9**). Since the substances metoxikermadecine H and 3-methoxy-5,7,3',5'-tetrahydroxyflavane are unprecedented in the literature. Considering the need for new antifungal agents of natural origin and the biological potential of the classes of flavonoids, terpenes and resorcinol derivatives, an antifungal test was carried out with substances **1**, **2**, **4**, **5**, **6** and **9** isolated from wood residues against *Candida albicans* (ATCC 60193) and *Cryptococcus gattii* (CFP 61), where kermadecine H (**5**) stood out among the tested substances.

**Keywords:** Fabaceae, Nuclear Magnetic Resonance, Flavonoids, resorcinol, antifungal.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Distribuição geográfica mundial da família Fabaceae. Fonte: (Tropicos, 2019)	20
<b>Figura 2.</b> Árvore <i>H. courbaril</i> (A) e seu fruto (B). Fonte:www.arvores.brasil.com.br.	23
<b>Figura 3.</b> Macrofotografia do plano transversal (10 X) de <i>Hymenaea courbail</i> L.	49
<b>Figura 4.</b> Estrutura química da substância 1 (ácido eperúico).	51
<b>Figura 5.</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H da substância 1 (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ).	53
<b>Figura 6.</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C da substância 1 (75 MHz; CDCl <sub>3</sub> ).	54
<b>Figura 7.</b> Espectro de DEPT -135° da substância 1 (75 MHz; CDCl <sub>3</sub> ).	55
<b>Figura 8.</b> Mapa de contorno HSQC da substância 1 (75 MHz; CDCl <sub>3</sub> ).	56
<b>Figura 9.</b> Mapa de contorno HMBC da substância 1 (75 MHz; CDCl <sub>3</sub> )	57
<b>Figura 10.</b> Estrutura química da substância 2 (éster metílico do ácido eperúico).	58
<b>Figura 11.</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H da substância 2 (300 MHz; Acetona-D6).	60
<b>Figura 12.</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C da substância 2 (75 MHz; Acetona-D6).	61
<b>Figura 13.</b> Espectro de DEPT -135° da substância 2 (75 MHz; Acetona-D6).	62
<b>Figura 14.</b> Estrutura química da substância 3 (ácido oleanólico).	63
<b>Figura 15.</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H da substância 3 (300 MHz; CDCl <sub>3</sub> ).	65
<b>Figura 16.</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C da substância 3 (75 MHz; CDCl <sub>3</sub> ).	66
<b>Figura 17.</b> .Espectro de DEPT -135° da substância 3 (75 MHz; CDCl <sub>3</sub> ).	67
<b>Figura 18.</b> Mapa de contorno HSQC da substância 3 (75 MHz; CDCl <sub>3</sub> ).	68
<b>Figura 19.</b> Mapa de contorno HMBC da substância 3 (75 MHz; CDCl <sub>3</sub> ).	69
<b>Figura 20.</b> Estrutura química da substância 4 (metóxicemardecina H).	71
<b>Figura 21.</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H da substância 4 (300 MHz; Acetona D6).	73
<b>Figura 22.</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C da substância 4 (75 MHz; Acetona D6).	74
<b>Figura 23.</b> Mapa de contorno HSQC da substância 4 (75 MHz; Acetona D6).	75
<b>Figura 24.</b> Mapa de contorno HMBC da substância 4 (75 MHz; Acetona D6).	76
<b>Figura 25.</b> Espectro de massas da substância 4 (ESI, modo positivo).	77
<b>Figura 26.</b> Estrutura química da substância 5 (kemardecina H)	79
<b>Figura 27.</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H da substância 5 (300 MHz; Acetona D6)	81
<b>Figura 28.</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C da substância 5 (75 MHz; Acetona D6).	82
<b>Figura 29.</b> Mapa de contorno HSQC da substância 5 (75 MHz; Acetona D6).	83
<b>Figura 30.</b> Mapa de contorno HMBC da substância 5 (75 MHz; Acetona D6).	84
<b>Figura 31.</b> Espectro de Massas da substância 5 (ESI, modo positivo)	85

<b>Figura 32.</b> Estrutura química da substância 6 (quercetina).	88
<b>Figura 33.</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H da substância 6 (300 MHz; Acetona-D6).	89
<b>Figura 34.</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C da substância 6 (75 MHz; Acetona-D6).	90
<b>Figura 35.</b> Mapa de contorno de HMBC da substância 6 (75 MHz; Acetona-D6).	91
<b>Figura 36.</b> Estrutura química da substância 7 (fisetinediol).	93
<b>Figura 37.</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H da substância 7 (300 MHz; Acetona D6).	94
<b>Figura 38.</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C da substância 7 (75 MHz; Acetona D6).	95
<b>Figura 39.</b> Mapa de contorno HSQC da substância 7 (75 MHz; Acetona D6).	96
<b>Figura 40.</b> Mapa de contorno HMBC da substância 7 (75 MHz; Acetona D6).	97
<b>Figura 41.</b> Estrutura química da substância 8 (liquiritigenina)	99
<b>Figura 42.</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H da substância 8 (300 MHz; Acetona D6)	100
<b>Figura 43.</b> Projeção de espectro de RMN de <sup>13</sup> C da substância 8 pelo mapa de contorno HSQC.	101
<b>Figura 44.</b> Projeção de espectro de RMN de <sup>13</sup> C da substância 8 pelo mapa de contorno HMBC.	102
<b>Figura 45.</b> Mapa de contorno HSQC da substância 8 (75 MHz; Acetona D6).	103
<b>Figura 46.</b> Mapa de contorno HMBC da substância 8 (75 MHz; Acetona D6)	104
<b>Figura 47.</b> Estrutura química da substância 9 (3-metóxi-5,7,3',5'-tetrahidroxiflavanona)	106
<b>Figura 48.</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H da substância 9 (300 MHz; Acetona D6).	107
<b>Figura 49.</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C da substância 9 (75 MHz; Acetona D6).	108
<b>Figura 50.</b> Mapa de contorno HSQC da substância 9 (75 MHz; Acetona D6).	109
<b>Figura 51.</b> Mapa de contorno HMBC da substância 9 (75 MHz; Acetona D6)	110
<b>Figura 52.</b> Estrutura química da substância 10 (hederegenina)	112
<b>Figura 53.</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H da substância 10 (300 MHz; Acetona-D6 e CD3OD).	114
<b>Figura 54.</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C da substância 10 (75 MHz; Acetona-D6 e CD3OD).	115
<b>Figura 55.</b> Mapa de contorno de HSQC da substância 10 (75 MHz; Acetona-D6 e CD3OD).	116
<b>Figura 56.</b> Mapa de contorno de HMBC da substância 10 (75 MHz; Acetona-D6 e CD3OD).	117

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Diterpenos identificados em <i>Hymenaea courbaril</i> .	26
<b>Tabela 2.</b> Flavonoides, cumarinas e procianidina de <i>Hymenaea courbaril</i>	28
<b>Tabela 3.</b> Substâncias que apresentaram atividade biológica no gênero <i>Hymenaea</i> .	30
<b>Tabela 4.</b> Reunião das frações obtidas de HCH.	36
<b>Tabela 5.</b> Reunião das subfrações obtidas de HCH-43.	37
<b>Tabela 6.</b> Reunião das frações obtidas de HCM.	39
<b>Tabela 7.</b> Reunião das subfrações obtidas dos fracionamentos de HCM-8, HCM-8.4, HCM-8.4.8, HCM-8.4.8.14 e HCM-8.6.	41
<b>Tabela 8.</b> Reunião das subfrações obtidas do fracionamento de HCM-11, HCM-11.6, HCM-11.6.13, HCM-11.	45
<b>Tabela 9.</b> Reunião das subfrações obtidas de HCM-12.	46
<b>Tabela 10.</b> Cepas fúngicas utilizadas nos testes	47
<b>Tabela 11.</b> Rendimento dos extratos obtidos de <i>H. courbaril</i> .	50
<b>Tabela 12.</b> Dados de RMN <sup>1</sup> H (300 MHz), <sup>13</sup> C e HMBC (75 MHz) em CDCl <sub>3</sub> da substância <b>1</b> .	52
<b>Tabela 13.</b> Dados de RMN <sup>1</sup> H (300 MHz), <sup>13</sup> C e DEPT-135° (75 MHz) em Acetona-D <sub>6</sub> da substância <b>2</b> .	59
<b>Tabela 14.</b> Dados de RMN <sup>1</sup> H (300 MHz), <sup>13</sup> C e DEPT-135° (75 MHz) em CDCl <sub>3</sub> , da substância <b>3</b> em comparação com a literatura.	64
<b>Tabela 15.</b> Dados de RMN <sup>1</sup> H (300 MHz), <sup>13</sup> C e HMBC (75 MHz) em Acetona D <sub>6</sub> , da substância <b>4</b> em comparação com a literatura.	72
<b>Tabela 16.</b> Dados de RMN <sup>1</sup> H (300 MHz), <sup>13</sup> C e HMBC (75 MHz) em Acetona D <sub>6</sub> , da substância <b>5</b> em comparação com a literatura.	80
<b>Tabela 17.</b> Dados de RMN <sup>1</sup> H (300 MHz), <sup>13</sup> C e HMBC (75 MHz) em Acetona D <sub>6</sub> , da substância <b>6</b> em comparação com a literatura.	88
<b>Tabela 18.</b> Dados de RMN <sup>1</sup> H (300 MHz), <sup>13</sup> C e HMBC (75 MHz) em Acetona D <sub>6</sub> , da substância <b>7</b> em comparação com a literatura.	93
<b>Tabela 19.</b> Dados de RMN <sup>1</sup> H (300 MHz), <sup>13</sup> C e HMBC (75 MHz) em Acetona D <sub>6</sub> , da substância <b>8</b> em comparação com a literatura.	99
<b>Tabela 20.</b> Dados de RMN <sup>1</sup> H (300 MHz), <sup>13</sup> C e HMBC (75 MHz) em Acetona D <sub>6</sub> , da substância <b>9</b> em comparação com a literatura.	106

<b>Tabela 21.</b> Dados de RMN <sup>1</sup> H (300 MHz), <sup>13</sup> C e HMBC (75 MHz) em CD <sub>3</sub> OD e Acetona D <sub>6</sub> , da substância <b>10</b> em comparação com a literatura.	112
<b>Tabela 22.</b> Resultados da CIM das substâncias sobre as cepas de fungos.	120

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1.</b> Estrutura química dos tipos de diterpenos em <i>Hymenaea</i> .	22
<b>Quadro 2.</b> Estrutura química dos esqueletos de flavonoides em <i>Hymenaea</i> .	22
<b>Quadro 3.</b> Estrutura química dos ácidos graxos identificados em <i>H. courbaril</i> L.	24
<b>Quadro 4.</b> Estrutura química dos compostos majoritários do óleo essencial de <i>H. courbaril</i> .	25
<b>Quadro 5.</b> Estruturas químicas dos diterpenos identificados em <i>H. courbaril</i> .	27
<b>Quadro 6.</b> Estrutura química dos flavonoides de <i>Hymenaea courbaril</i> .	29
<b>Quadro 7.</b> Estrutura química das cumarinas de <i>H. courbaril</i> .	30
<b>Quadro 8.</b> Metabólitos secundários identificados em resíduos madeireiros de <i>H. courbaril</i> .	118

## LISTA DE ESQUEMAS

<b>Esquema 1.</b> Obtenção dos extratos de <i>H. courbaril</i> .	35
<b>Esquema 2.</b> Fracionamento cromatográfico HCH.	36
<b>Esquema 3.</b> Fracionamento cromatográfico HCH-43 e HCH-43.4.	37
<b>Esquema 4.</b> Fracionamento cromatográfico HCM.	38
<b>Esquema 5.</b> Fracionamento cromatográfico de HCM-8, HCM-8.4, HCM-8.6, HCM-8.4.8 e HCM-8.4.8.1	40
<b>Esquema 6.</b> Fracionamento cromatográfico HCM-11, HCM-11.6, HCM-11.6.13, HCM-11.7 e HCM-11.7.10.	44
<b>Esquema 7.</b> Fracionamento cromatográfico HCM-12.	46
<b>Esquema 8.</b> Proposta de fragmentação da metóxikemardecina H.	78
<b>Esquema 9.</b> Proposta de fragmentação da kemardecina H.	86

## LISTA DE ABREVIATURA E SÍMBOLOS

CALTPQN	Laboratório da Central Analítica do Laboratório Temático de Química de Produtos Naturais
CC	Cromatografia em Coluna
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CCDP	Cromatografia em Camada Delgada Preparativa
CE <sub>50</sub>	Concentração Efetiva 50
CG-EM	Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas
CG	Cromatografia Gasosa
CPPN	Coordenação de Pesquisa de Produtos Naturais
COTI	Coordenação de Tecnologia e Inovação
EM	Espectrômetro de Massas
LQPN	Laboratório de Química dos Produtos Naturais
HCH	Extrato hexânico de <i>Hymenaea courbaril</i> L.
HCM	Extrato metanólico de <i>Hymenaea courbaril</i> L.
Hz	Hertz
IBAMA	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis
IC <sub>50</sub>	Concentração inibitória 50
IMAZON	Instituto do Homem e Meio Ambiente da Amazônia
INCT	Instituto Nacional de Ciências e Tecnologia
INPA	Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia
LTM	Laboratório de Tecnologia da Madeira
MHz	MegaHertz
CIM	Concentração inibitória mínima

mm	Milímetro
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
RMN <sup>1</sup> H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
RMN <sup>13</sup> C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13
TMS	Tetrametilsilano
$\delta$	Deslocamento Químico em Parte por milhão
<i>J</i>	Constante de acoplamento
<i>s</i>	singleto
<i>d</i>	dubleto
<i>dd</i>	duplo dubleto
<i>t</i>	tripleto
<i>m</i>	multipleto

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b>	<b>18</b>
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	<b>20</b>
2.1. A Família Fabaceae	20
2.2. O Gênero <i>Hymenaea</i>	21
2.3. A Espécie <i>Hymenaea courbaril</i> L.	23
2.4 Atividade antifúngica	31
<b>3. OBJETIVOS</b>	<b>32</b>
3.1 Geral	32
3.2 Específicos	32
<b>4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL</b>	<b>33</b>
4.1 Materiais e equipamentos	33
4.2 Obtenção e identificação das espécies	34
4.3 Obtenção dos extratos brutos	34
4.4 Fracionamento Cromatográfico do extrato hexânico de <i>Hymenaea courbaril</i> (HCH)	35
4.4.1 Fracionamento Cromatográfico de HCH-43	36
4.5. Fracionamento cromatográfico do extrato metanólico de <i>Hymenaea courbaril</i> (HCM)	37
4.5.1 Fracionamento Cromatográfico de HCM-8	39
4.5.2 Fracionamento Cromatográfico de HCM-11	43
4.5.3 Fracionamento Cromatográfico de HCM-12	46
4.6 Ensaio antifúngico	47
4.6.1 Cepas testadas e preparação dos inóculos fúngicos.	47
4.6.2 Realização do teste de microdiluição em caldo.	48
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>49</b>
5.1. Identificação da espécie madeireira	49
5.2. Rendimentos dos extratos brutos	50

5.3 Identificação estrutural das substâncias isoladas de <i>H. courbaril</i>	50
5.3.1 Identificação da substância 1 (HCM-8.4.8.14.12)	50
5.3.2 Identificação da substância 2 (HCM-8.4.8.9)	58
5.3.3 Identificação da substância 3 (HCM-8.4.8.20)	63
5.3.4 Identificação da substância 4 (HCM-8.6.6)	70
5.3.5. Identificação da substância 5 (HCM-8.6.13)	79
5.3.6 Identificação da substância 6 (HCM-11.11)	87
5.3.7 Identificação da substância 7 (HCM- 11.6.13.9)	92
5.3.8 Identificação da substância 8 (HCM- 11.7.10.9)	98
5.3.9 Identificação da substância 9 (HCM-11.7.15)	105
5.3.10 Identificação da substância 10 (HCM- 12.3)	111
5.3.11 Substâncias isoladas dos resíduos madeireiros de <i>H. courbaril</i> .	118
5.4 Atividade anitfúngica sobre as cepas de <i>Candida</i> e <i>Cryptococcus</i>	120
<b>6. CONCLUSÃO</b>	<b>121</b>
<b>7. REFERÊNCIAS</b>	<b>122</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A maior biodiversidade do planeta encontra-se no Brasil (Ministério do Meio Ambiente, 2016). Com uma extensa área florestal, onde se destaca a Amazônia brasileira, que abriga um terço das florestas tropicais do mundo e milhares de espécies arbóreas. No passado, o setor madeireiro estava bem presente em todos os estados que compõe a Amazônia Legal, fazendo desta, a principal região produtora de madeira no Brasil e a segunda do mundo (Barros e Veríssimo, 2002).

Contudo, a indústria madeireira produzia aproximadamente 27,750 milhões toneladas de resíduos madeireiros por ano, correspondendo a 91% de todo o resíduo madeireiro do Brasil, (Sfb e Imazon, 2010). Com isso surgiu uma preocupação com o meio ambiente na busca por alternativas para o destino desses resíduos, que podem ser usados, por exemplo, como fonte de matéria-prima para novos produtos, como a confecção de pequenos objetos de madeira (Mendoza *et al.*, 2010).

No passado a exploração desordenada da floresta, aliada com à carência de tecnologias e fiscalização, fez com que várias espécies arbóreas de grande importância para a região amazônica entrassem em processo de extinção (Rosa e Ohashi, 1999). Dentre as ameaçadas encontrava-se o pau-rosa (*Aniba rosaeodora* Ducke) de onde se extrai o óleo essencial contendo grande quantidade do monoterpene linalol, utilizado principalmente como componente de perfumes finos na indústria de cosméticos (Alencar e Fernandes, 1978) e o mogno (*Swietenia macrophylla*) onde sua madeira era muito apreciada para a fabricação de móveis de luxo e artigos de decoração (Rizzini, 1990).

Atualmente o órgão responsável para fiscalização do corte, transporte e resíduos de madeira é o Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), que publicou uma lista em 2014, contendo 46 espécies ameaçadas de extinção e nenhuma das duas espécies citadas acima encontra-se nessa lista. Nas últimas décadas, com a ação de fiscalização desse órgão, percebeu-se uma diminuição relevante da exploração florestal desordenada (Ibama, 2014).

Se tratando das características e propriedades da madeira, esta é um material heterogêneo, que em geral é agrupada em duas categorias: as “moles” (coníferas) e “duras” (folhosas). As madeiras coníferas pertencem ao grupo das gimnospermas e as madeiras folhosas das angiospermas. As características que distinguem esses grupos estão nas folhas em formas de agulha e na ausência de frutos para as gimnospermas, enquanto as angiospermas têm folhagem larga e sementes encerradas em frutos (Carvalho *et al.*, 2009).

As plantas possuem os metabólitos primários e secundários. Os metabólitos primários são responsáveis pela estruturação, plasticidade e armazenamento de energia. Os secundários são os metabólitos essenciais para a sobrevivência e perpetuação da espécie, sendo encontrado em baixas concentrações nas plantas. Estes são de grande interesse quanto as atividades biológicas, mas principalmente pelas propriedades medicinais (Simões *et al.*, 2007). Por isso, diversos estudos fitoquímicos são relatados com as folhas, cascas, fruto e sementes, contudo há poucos estudos com a madeira.

Desta forma, o grupo de pesquisa “Plantas da Amazônia: Química, Quimiosistemática e Atividade Biológica”, coordenado pela Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Maria da Paz Lima do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA) vem sendo um dos pioneiros do Brasil no estudo fitoquímico dos metabólitos secundários da madeira, com o intuito de agregar valor ao resíduo que seria descartado. Assim Hayasida e colaboradores (2008) isolou dos resíduos do cerne de pau-rainha (*Brosimum rubescens*) um alto teor de xantiletina (cumarina), a qual apresentou no estudo realizado por Magiatis e colaboradores (1998) atividade antitumoral e antibacteriana.

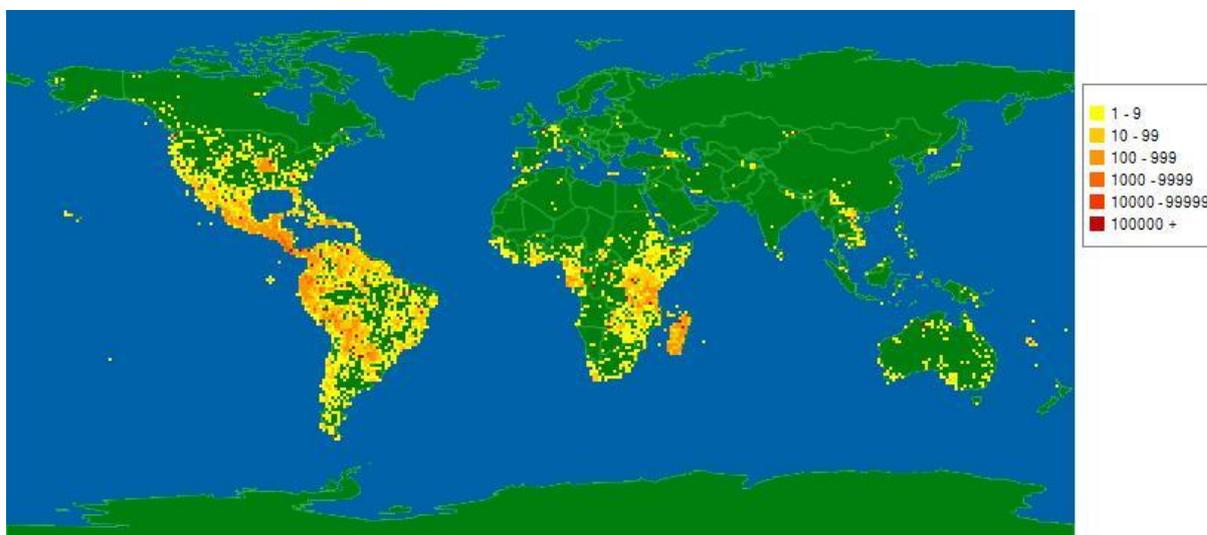
Outros estudos deste grupo com os resíduos madeireiros mostraram-se promissores, como o de Garcia e colaboradores (2018) que identificaram oito isoflavonoides do cerne e alburno de três espécies da família fabaceae, sendo elas: saboarana (*Swartzia laevisarpa*), cumaru (*Dipteryx odorata*), e sucupira-vermelha (*Andira parviflora*). Através do estudo da madeira de demolição proveniente da cobertura de prédios do INPA, que possuía cerca de quarenta e cinco anos isolou-se compostos voláteis monoterpênicos (Alcântara *et al.*, 2019). Do resíduo de ipê amarelo (*Handroanthus serratifolius* (Vahl) S. Grose) obteve-se três naftoquinonas que apresentaram atividade antiplasmódica contra *Plasmodium falciparum* e atividade antifúngica significativa contra *Cryptococcus neoformans* (Melo *et al.*, 2019).

Portanto, considerando a escassez de estudos fitoquímicos com a madeira (cerne e alburno) da espécie *Hymenaea courbaril* L., e a disponibilidade de resíduos de madeiras desta espécie no Laboratório de Tecnologia da Madeira da COTI/NPA, é que surge a oportunidade do estudo em parceria.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. A Família Fabaceae

A família Fabaceae também conhecida como Leguminosae está distribuída no globo terrestre nas regiões tropicais e subtropicais (Figura 1). É considerada a terceira maior família das angiospermas, contendo cerca de 727 gêneros abrangendo 19.325 espécies (Lewis *et al.*, 2005; Tropicos, 2019). Está dividida em três subfamílias, são elas: Caesalpiniaceae, Mimosaceae e Papilionoideae. Desta a maior subfamília é Papilionoideae com cerca de 476 gêneros e 14.000 espécies, conhecida por suas espécies fornecedoras de feijões (*Phaseolus*); Mimosaceae com 77 gêneros (incluindo *Acacia*, *Dinizia*, *Inga*) e aproximadamente 3.000 espécies e Caesalpiniaceae com 162 gêneros e cerca de 3.000 espécies, na qual pertence o gênero *Hymenaea* (Doyle e Luckow, 2003).



**Figura 1.** Distribuição geográfica mundial da família Fabaceae. Fonte: (Tropicos, 2019)

As espécies da subfamília Caesalpinioideae, possuem o habitat em regiões tropicais e subtropicais dos hemisférios, somando para a vegetação primária nos continentes americanos, africanos e asiáticos. Na flora da América do Sul ocorrem 65 gêneros, sendo 30 gêneros endêmicos, principalmente do Brasil (Ulibarri, 2008). As Caesalpinioideae são consideradas de grande relevância como grupo taxonômico. Assim como as Mimosoideae e as Papilionoideae possuem alto valor ornamental e comercial, muitas utilizadas no passado pela indústria moveleira e construção civil (Reitz *et al.*, 1978).

A Fabaceae é considerada a segunda maior família em importância econômica especialmente para o setor alimentício com espécies *Lens culinaris* (lentilha), *Tamarindus indica* (tamarindo) e *Arachis hypogaea* (amendoim). Algumas espécies fornecem forragem

como *Trifolium repens* (trevo) e *Vicia faba* (fava). Há muitas espécies ornamentais incluindo *Mimosa caesalpiniiifolia*, *Lupinus arboreus*, *Delonix regia*, *Cassia fistula* (Judd *et al.*, 2009). Dos gêneros *Acacia* e *Hymenaea* são extraídas gomas e resinas que são de uso comercial na indústria alimentícia (Velasco e Forero, 2018) e de vernizes (Pinto, 1995) respectivamente. Quimicamente, a família caracteriza-se pela presença de flavonoides (incluindo os isoflavonoides), alcaloides, lignanas, diterpenos dentre outras nas diversas partes vegetativas.

## 2.2. O Gênero *Hymenaea*

O gênero *Hymenaea* tem as suas espécies conhecidas popularmente como “jatobás”. As espécies desse gênero tiveram origem nas florestas equatoriais africanas, no entanto, apresentaram excelente adaptação em ecossistemas tropicais da América do Sul e Central (Langenheim e Lee, 1974). Em *Hymenaea* são reconhecidas 16 espécies, distribuídas do México à América do Sul, exceto Uruguai e Chile (Lewis *et al.*, 2005). Destas, 13 espécies são encontradas no Brasil, e apresentam grande variedade morfológica entre si, fato que as colocam em 23 táxons diferentes, delimitados principalmente pelos caracteres biométricos e reprodutivos, com ênfase as folhas, estruturas florais e frutos (Lee e Langenheim, 1975; Lewis *et al.*, 2005).

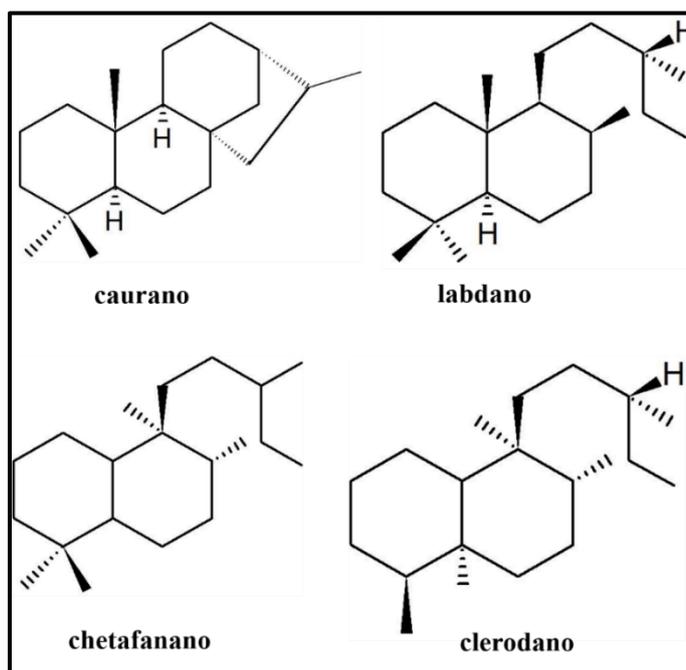
As partes vegetativas das espécies desse gênero vem sendo usada pelos povos indígenas para tratar diversas doenças, como diarreia, cólica intestinal, anemia, fraqueza pulmonar, asma, dor de garganta e distúrbios virais (Bezerra *et al.*, 2013; Cartaxo *et al.*, 2010).

Os estudos fitoquímicos em *Hymenaea* foram relatados em 6 espécies que estão distribuídas pelo Brasil (regiões norte, nordeste, centro-oeste e sudeste), Jamaica, Suriname e Quênia. Estudos efetuados com a espécie *H. stigonocarpa* identificou-se ácidos graxos (Matuda *et al.*, 2005; Silva *et al.*, 2014), diterpenos (Quadro 1) do tipo caurano (Andreão *et al.*, 2010), labdano (Monteiro *et al.*, 2015; Nogueira *et al.*, 2001) e clerodano (Nogueira *et al.*, 2001) além de flavanonol (Quadro 2) (Maranhão *et al.*, 2013). Em *H. oblongifolia*, os diterpenos identificados são do tipo labdano (Cunningham *et al.*, 1973) e quesnano (Jossang *et al.*, 2008). Diterpenos do tipo labdano também foram encontrados na espécie *H. verrucosa* (Martin e Langenheim, 1974). Há relatos de flavonoides do tipo flavanonol glicosilado (Carneiro *et al.*, 1993), esteroide e cromona (Carneiro *et al.*, 1993) em *H. martiana*, flavanonol glicosilado na espécie *H. parvifolia* (Ishibashi *et al.*, 1999).

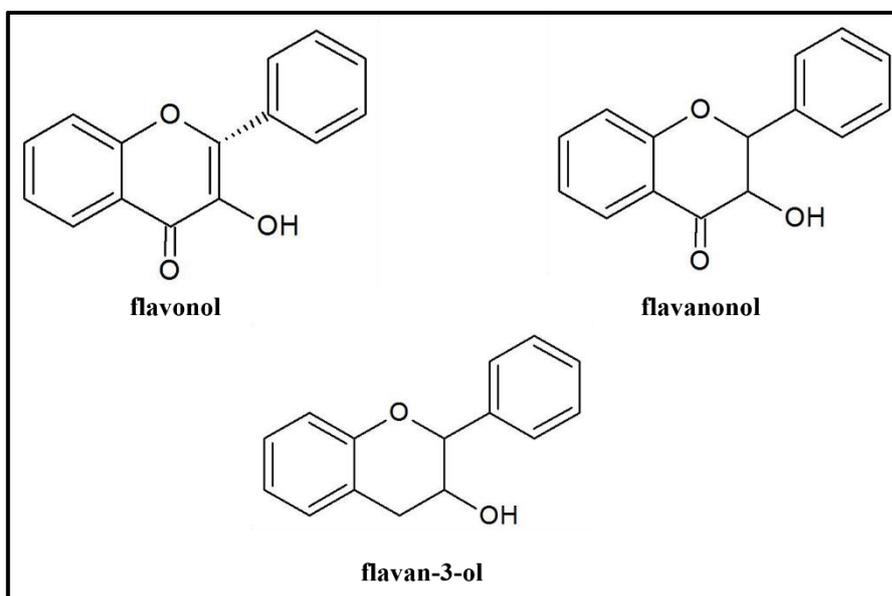
A espécie que possui mais estudos químicos é *H. courbaril* contendo diterpenos (Quadro 1) do tipo labdano (Nakano e Djerassi, 1961; Bandeira *et al.*, 2015; Cunningham *et al.*, 1974;

Marsaioli *et al.*, 1975; Jayaprakasam *et al.*, 2007; Nogueira *et al.*, 2002), clerodano (Jayaprakasam *et al.*, 2007; Nogueira *et al.*, 2002;) e chetafanano ( Abdel-Kader *et al.*, 2002). Essa espécie é rica em flavonoides (Quadro 2) do tipo flavanonol glicosilado (Artavia *et al.*, 1995; Bezerra *et al.*, 2013), flavanonol aglicona (Da Costa *et al.*, 2014), flavan-3-ol (Artavia *et al.*, 1995; Da Costa *et al.*, 2014) e flavonol (Da Costa *et al.*, 2014), além de cumarinas (Simões *et al.*, 2009; Fernandes *et al.*, 2015).

**Quadro 1.** Estrutura química dos tipos de diterpenos em *Hymenaea*.



**Quadro 2.** Estrutura química dos esqueletos de flavonoides em *Hymenaea*.

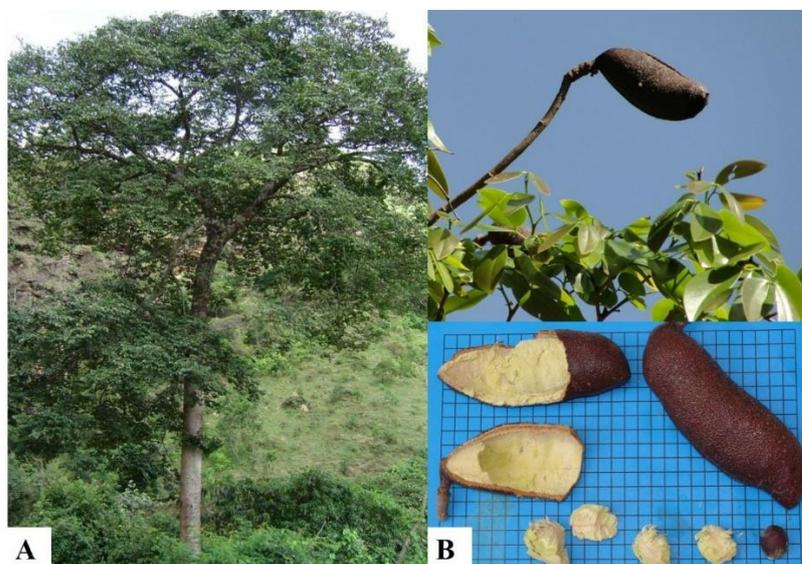


### 2.3. A Espécie *Hymenaea courbaril* L.

*Hymenaea courbaril* L. (Figura 2), contém 13 sinónimas (Tropicos, 2019; Lista 1). Tem ampla distribuição na América do Sul e América Central, do México até o Paraguai. Ocorre de forma dispersa na mata de terra firme e de certas várzeas altas (Shanley e Medina, 2005). É popularmente conhecida como jatobá, jutaí, jutaí-amarelo, dentre outros. Sua árvore pode chegar de 15-20 metros de altura. Seus frutos (Figura 2) apresentam formato de vagem com casca e sementes marrom escura, polpa de cor amarela intensa, sabor doce e aroma característico. Quando frescos, são apreciados pela população e animais. A polpa da fruta pode ser usada na formulação de lanches extrusados para fornecer melhor sabor e enriquecer o alimento com fibras (Chang *et al.*, 1998).

A madeira é dura, pesada e no passado possuía grande valor comercial, sendo muito valorizada por sua durabilidade e característica de não apresentar rachaduras, isso fez desta uma das madeiras mais aceitas no mercado externo. Era empregada na construção civil, para confecção de artigos de esportes, cabos de ferramentas, esquadrias, móveis e na construção de canoas por ribeirinhos do norte do país. Na medicina popular, até hoje, há indicação de uso do chá contra gripe, bronquite, cistite, diarreia, verme, cólicas, infecções, para ajudar na digestão (Shanley e Medina, 2005; Lorenzi, 1992).

A resina exsudada do tronco tem coloração amarelo transparente que se concentra cristalizada em pedaços sobre as raízes e possui aroma. Ficou conhecida como “jutaicica” e “Brasil Copal”. Desde a antiguidade foi empregada em obras de artes e com mais vigor na indústria de vernizes e pela população ribeirinha na calafetação de barcos (Pinto, 1995).



**Figura 2.** Árvore *H. courbaril* (A) e seu fruto (B). Fonte: [www.arvores.brasil.com.br](http://www.arvores.brasil.com.br).

**Lista 1.** Sinonímias botânicas de *Hymenaea courbaril* L.

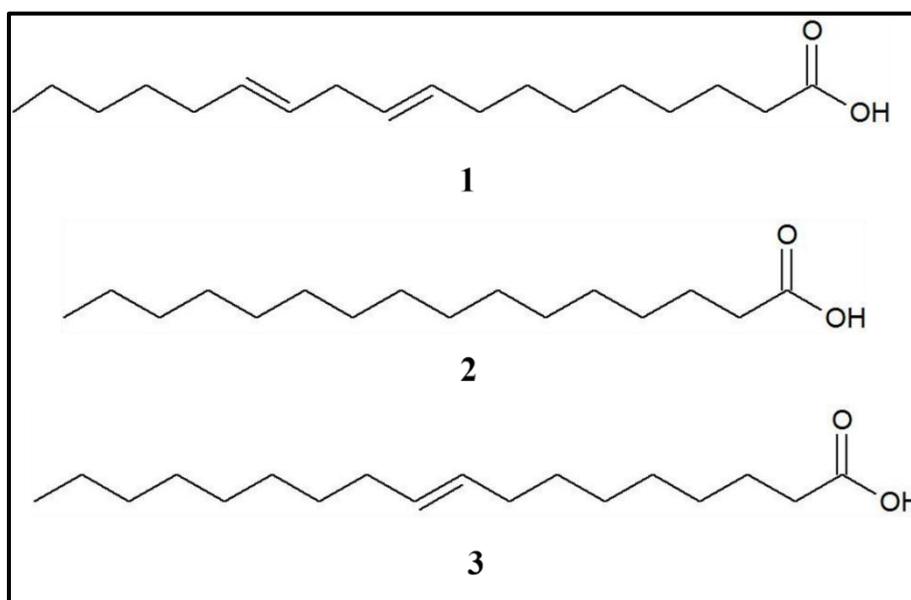
---

*Hymenaea animifera* Stokes  
*Hymenaea candolleana* Kunth  
*Hymenaea confertifolia* Hayne  
*Hymenaea courbaril* var. *obtusifolia* Ducke  
*Hymenaea courbaril* var. *stilbocarpa* (Hayne) Y.T. Lee & Langenh.  
*Hymenaea courbaril* var. *subsessilis* Ducke  
*Hymenaea courbaril* var. *villosa* Y.T. Lee & Andrade-Lima  
*Hymenaea multiflora* Kleinhoonte  
*Hymenaea resinifera* Salisb.  
*Hymenaea retusa* Willd. ex Hayne  
*Hymenaea splendida* Vogel  
*Hymenaea stilbocarpa* Hayne  
*Inga megacarpa* M.E. Jones

---

O fruto do jatobá é consumido desde antiguidade pelas populações de várias regiões. Dias *et al.* (2013) avaliou a composição nutricional de partes vegetativas do jatobá, estes encontraram algumas substâncias com alto potencial nutricional. Na fração lipídica pode-se identificar como majoritários o ácido linoleico (**1**) com 47,91 % e palmítico (**2**) tendo 25,04% na polpa e semente, respectivamente; o ácido oleico (**3**) com 46,09 % na polpa e 24,96 % no óleo (Quadro 3).

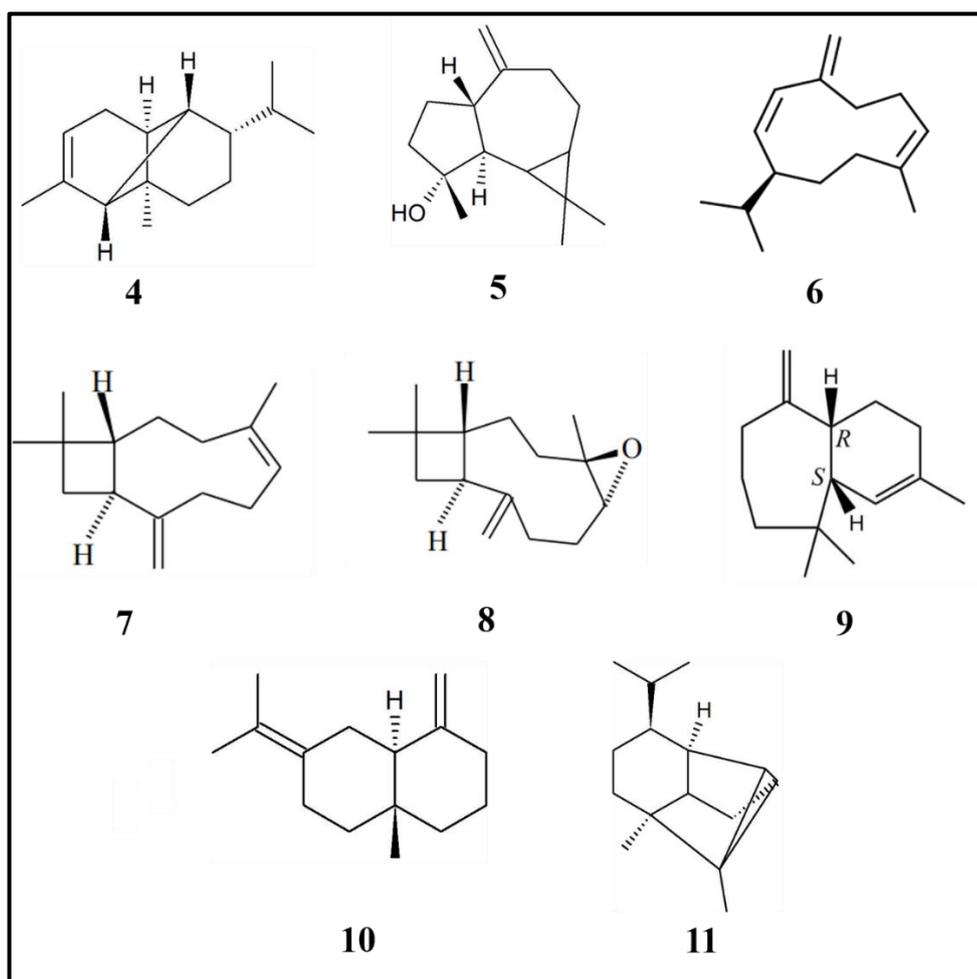
**Quadro 3.** Estrutura química dos ácidos graxos identificados em *H. courbaril* L.



1- ácido linoleico; 2- ácido palmítico; 3- ácido oleico

A espécie *H. courbaril* é rica em compostos químicos voláteis provenientes do óleo essencial extraído da casca do fruto, folhas e resina onde há predominância de compostos sesquiterpênicos (Quadro 4). No óleo essencial extraído da casca do fruto maduro identificou-se os produtos majoritários  $\alpha$ -copaeno (**4**) e espatulenol (**5**) com 11,1% e 10,1%, respectivamente, já na casca do fruto verde há o germacreno-D (**6**) e  $\beta$ -cariofileno (**7**) contendo 31,9% e 27,1%, respectivamente (Aguiar *et al.*, 2010). Mercês e colaboradores (2018) identificaram o óxido de cariofileno (**8**) com 20,63% nas folhas frescas. Da resina da vargem  $\alpha$ -himachaleno (**9**), selina-4-(14),7(11)-dieno (**10**) e ciclosativeno (**11**) (Quadro 4) (Khoo *et al.*, 1973).

**Quadro 4.** Estrutura química dos compostos majoritários do óleo essencial de *H. courbaril*.



**4-**  $\alpha$ -copaeno; **5-** espatulenol; **6-** germacreno-D; **7-**  $\beta$ -cariofileno; **8-** óxido de cariofileno; **9-**  $\alpha$ -himachaleno; **10-** selina-4-(14),7(11)-dieno; **11-** ciclosativeno

Os diterpenos possuem predominância nessa espécie, tendo mais substâncias isoladas em comparação com outras classes. Inclusive os primeiros estudos com jatobá identificaram o diterpeno ácido copálico na resina (Nakano e Djerassi, 1961). Estudos posteriores realizados

em diferentes partes vegetativas como, casca, resina, semente, folhas, fruto e galhos isolaram substâncias dessa classe com os esqueletos dos tipos labdano (**12-16, 19, 22 e 26-30**), clerodano (**17, 18, 20 e 21**) e chefatano (**23-25**), sendo mais abundante do tipo labdano (Quadro 5, Tabela 1).

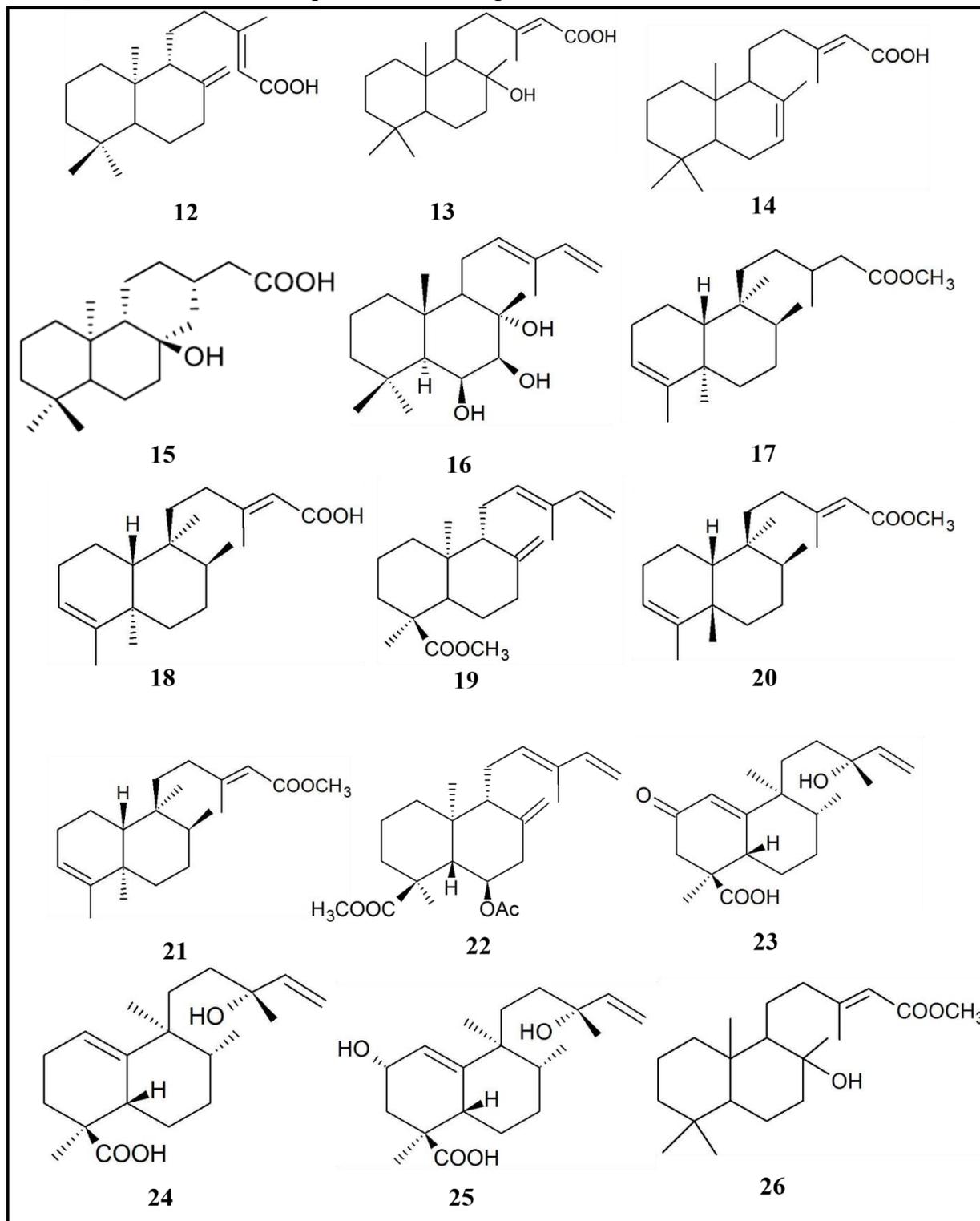
**Tabela 1.** Diterpenos identificados em *Hymenaea courbaril*.

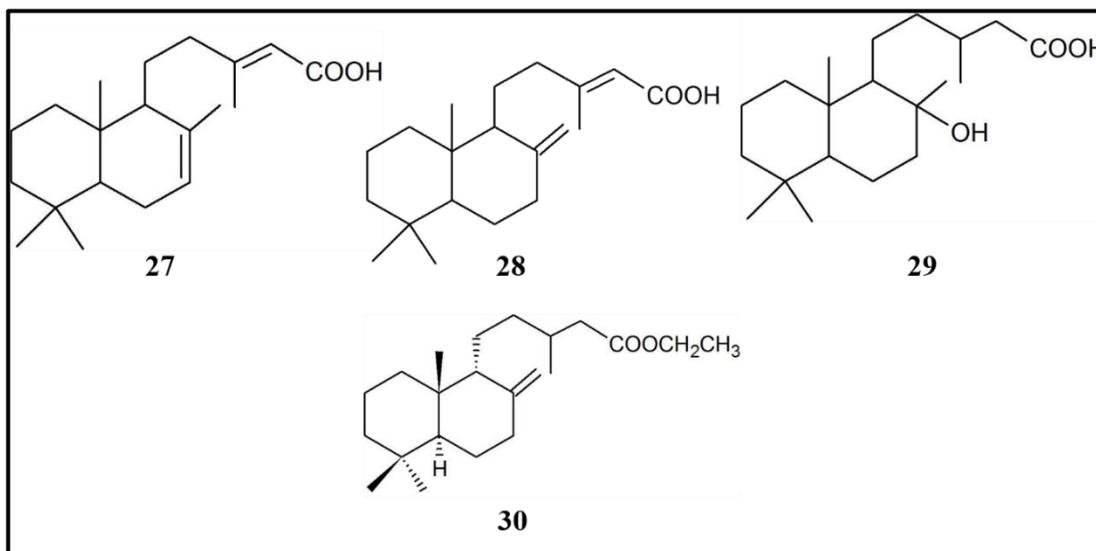
Nº	Substância	[Parte vegetativa] referência
12	(-)-Ácido copálico	[R] <sup>a, b</sup>
13	Ácido labd-13-en-8-ol-15-óico	[R] <sup>c</sup> ; [C] <sup>d</sup> ; [FR] <sup>e</sup>
14	Ácido eperua-7,13-dien-15-óico	[C] <sup>d</sup>
15	Ácido labdan-8-β-ol-15-óico	[C] <sup>d</sup>
16	Crotomaclina	[S] <sup>e</sup>
17	Metil(-)-(5R,8S,9S,10R)-clerod-3-en-15-oato	[C] <sup>g</sup>
18	Ácido (5R,8S,9S,10R)-cleroda-3,13E-dien-15-óico	[S] <sup>f</sup>
19	(-)-Ozato de metila	[C] <sup>g</sup>
20	Metil(5S,8S,9S,10R)-clero-3,13-dien-15-oato	[S] <sup>e</sup> ; [C] <sup>g</sup>
21	Metil(5R,8S,9S,10R)-clero-3,13-dien-15-oato	[C] <sup>g</sup>
22	(-)-Zanzibarato de metila	[C] <sup>g</sup>
23	Ácido (13R)-2-oxo-13-hidroxi-1(10),14-ent-halimadien-18-óico	[F]; [CA]; [G] <sup>h</sup>
24	Ácido (13R)-13-hidroxi-1(10),14-ent-halimadien-18-óico	[F]; [CA]; [G] <sup>h</sup>
25	Ácido (2S,13R)-2,13-di-hidroxi-1(10),14-ent-halimadien-18-óico	[F]; [CA]; [G] <sup>h</sup>
26	Éster metílico do ácido labd-13E-em-8-ol-15-óico	[S] <sup>e</sup>
27	Ácido (13E)-labd-7,13-dien-15-óico	[S]; [F] <sup>e</sup>
28	Ácido labd-8(17),13E-dien-15-óico	[S] <sup>e</sup>
29	Ácido labdanólico	[S] <sup>e</sup>
30	(5S,9S,10R)-ent-labd-8(17)-en-15-acetato de etila	[R] <sup>b</sup>

**R-** Resina; **C-** casca; **FR-** fruto; **S-** semente; **F-** Folha; **CA-** caule; **G-** galhos

a-Nakano *et al.*, 1961; b- Bandeira *et al.*, 2015; c- Cunningham *et al.*, 1974; d- Marsaioli *et al.*, 1975; e- Jayaprakasam *et al.*, 2007; f- Nogueira *et al.*, 2001; g-Nogueira *et al.*, 2002; h- Abdel-Kader *et al.*, 2002.

**Quadro 5.** Estruturas químicas dos diterpenos identificados em *H. courbaril*.





**12-** (-)-Ácido copálico; **13-** Ácido labd-13-en-8-ol-15-óico; **14-** Ácido eperua-7,13-dien-15-óico; **15-** Ácido labdan-8-β-ol-15-óico; **16-** Crotomaclina; **17-** Metil(-)-(5R, 8S, 9S, 10R)-clerod-3-en-15-oato; **18-** Ácido (5R, 8S, 9S, 10R)-cleroda-3,13E-dien-15-óico; **19-** (-)-Ozato de metila; **20-** Metil(5S, 8S, 9S, 10R)-clero-3,13-dien-15-oato; **21-** Metil(5R, 8S, 9S, 10R)-clero-3,13-dien-15-oato; **22-** (-)-Zanzibarato de metila; **23-** Ácido (13R)-2-oxo-13-hidroxi-1(10), 14-ent-halimadien-18-óico; **24-** Ácido (13R)-13-hidroxi-1(10), 14-ent-halimadien-18-óico; **25-** Ácido (2S, 13R)-2,13-di-hidroxi-1(10), 14-ent-halimadien-18-óico; **26-** Éster metílico do ácido labd-13E-em-8-ol-15-óico; **27-** Ácido (13E)-labd-7,13-dien-15-óico; **28-** Ácido labd-8(17), 13E-dien-15-óico; **29-** Ácido labdanólico; **30-** (5S, 9S, 10R)-ent-labd-8 (17)-en-15 acetato de etila.

Obs: Continuação do **Quadro 5**, pág.25.

Há relatos de substâncias fenólicas nas folhas e na seiva, no qual isolou-se os flavonoides com os tipos flavan-3-ol **31** e **33**, flavonol **32** e flavanonol **33** e **34** (Quadro 6, Tabela 2). Simões *et al* (2009) e Fernandes *et al* (2015) a partir das sementes isolaram quatro cumarinas (**36-39**) onde as ipomopsina (**36**) e himenaina (**37**) apresentaram atividade antioxidante (Quadro 7, Tabela 2).

**Tabela 2.** Flavonoides, cumarinas e procianidina de *Hymenaea courbaril*

Substância	[Parte vegetativa] referência
<b>31</b> (-)-Epicatequina	[F] <sup>a</sup>
<b>32</b> Fisetina	[SX] <sup>b</sup>
<b>33</b> Fisetinediol	[SX] <sup>b</sup>
<b>34</b> Fustina	[SX] <sup>b</sup>
<b>35</b> 3-O-Metil-2,3-trans-faustina	[SX] <sup>b</sup>

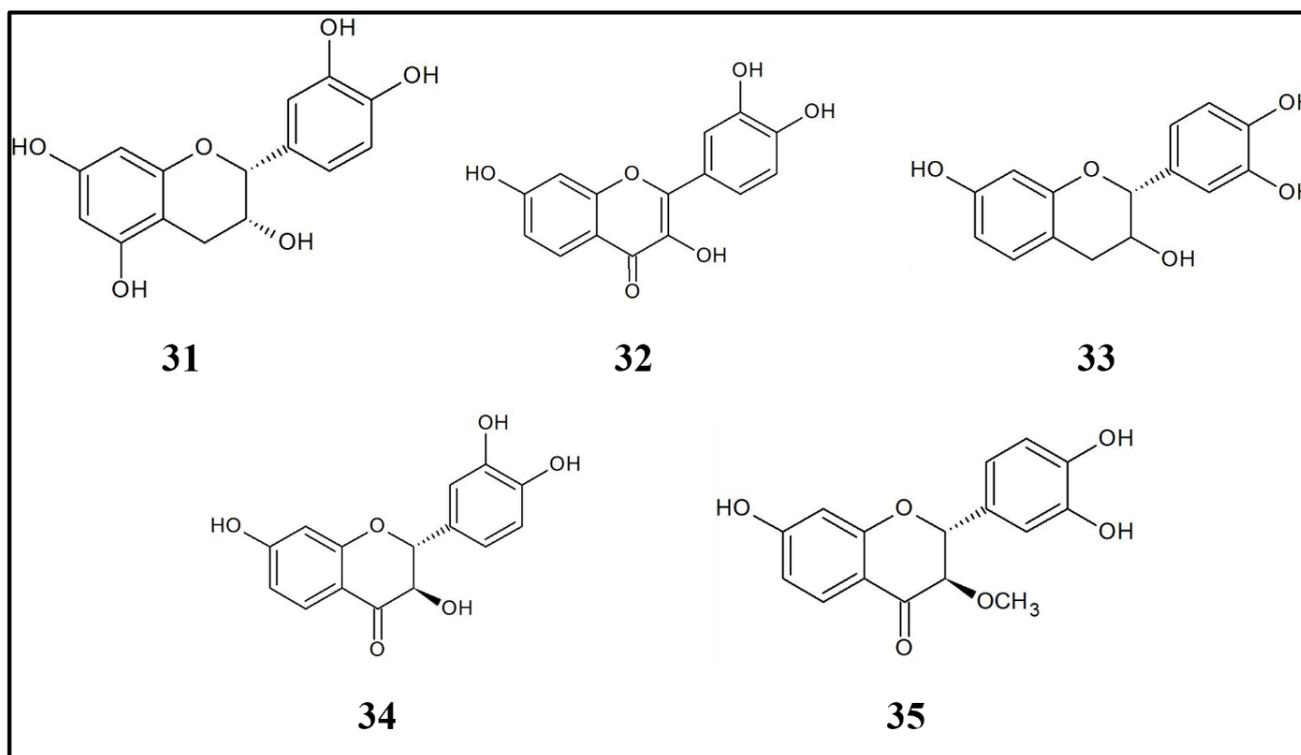
Cumarinas		
36	Ipomopsina	[S] <sup>c</sup>
37	Himenaina	[S] <sup>c</sup>
38	Himenaina 7-O-β-glucopiranosil-(1-2)-O-α-apiofuranosídeo	[S] <sup>d</sup>
39	Himenaina 7-O-β-glucopiranosil-(1-2)-O-α-apiofuranosil-(1-2)-O-α-galactopiranosídeo	[S] <sup>d</sup>
Procianidina		
40	Epicatequina-4-(Benzilítio)	[C] <sup>e</sup>

F- folha; SX- seiva do xilema; S-semente; C- casca

a- Artavia *et al.*, 1995; b- Da Costa *et al.*, 2014; c- Simões *et al.*, 2009; d- Fernandes *et al.*, 2015.

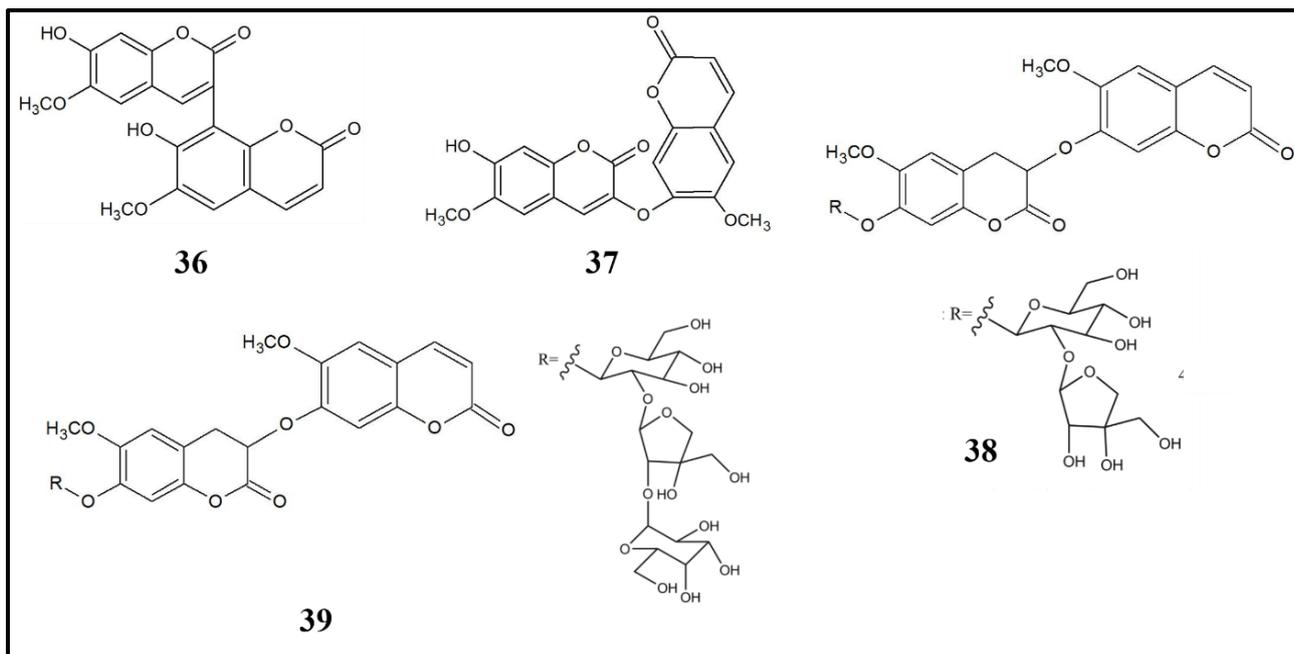
Obs: Continuação da Tabela 2, pág.26.

Quadro 6. Estrutura química dos flavonoides de *Hymenaea courbaril*.



31- (-)-Epicatequina; 32- Fisetina; 33- Fisetinediol; 34- Fustina; 35- 3-O-Metil-2,3-trans-faustina.

**Quadro 7.** Estrutura química das cumarinas de *H. courbaril*.



**36-** Ipomopsina; **37-** Himenaina; **38-** Himenaina 7-*O*- $\beta$ -glucopiranosil- (1-2)-*O*- $\alpha$ -apiofuranosídeo; **39-** Himenaina 7-*O*- $\beta$ -glucopiranosil-(1-2)-*O*- $\alpha$ -apiofuranosil-(1-2)-*O*- $\alpha$ -galactopiranosídeo.

A literatura reporta diversos estudos realizados com os extratos das diferentes partes das plantas (folhas, caule, polpa, tronco, casca, frutos e sementes) de espécies do gênero *Hymenaea*, alguns deles são: atividade anti-inflamatória (Bezerra *et al.*, 2013; Orsi *et al.*, 2012), antileishmanial (Ribeiro *et al.*, 2014), larvicida (Aguiar *et al.*, 2010), antiviral (Cecílio *et al.*, 2012), antimicrobiana (Fernandes *et al.*, 2015) e antidiarreica (Orsi *et al.*, 2012). Para substâncias isoladas são escassos os estudos sendo reportado apenas para sete substâncias, que estão relatadas na Tabela 3.

**Tabela 3.** Substâncias que apresentaram atividade biológica no gênero *Hymenaea*.

Atividade	Substância	Efeito	Espécies <sup>Referências</sup>
Antioxidante	fisetinediol	CE <sub>50</sub> : 28 µg/mL	<i>H. courbaril</i> <sup>a</sup>
	taxifolina	CE <sub>50</sub> : 48 µg/mL	<i>H. courbaril</i> <sup>a</sup>
	ipomopsina	CE <sub>50</sub> : 100 µm	<i>H. courbaril</i> <sup>b</sup>
	himenaina	CE <sub>50</sub> : 100 µm	<i>H. courbaril</i> <sup>b</sup>
Antifungal	fisetina	MIC: <128 µg/mL IC <sub>50</sub> = 109 µg/mL	<i>H. parvifolia</i> <sup>c</sup>
Miorelaxante	Astilbina	49,87% contração	<i>H. parvifolia</i> <sup>c</sup>

de 100 µg/mL			
Inibição da	Astilbina e	DE <sub>50</sub> : 7 e 9 µm	<i>H. courbaril</i> <sup>d</sup>
caseína quinase	neoastilbina	(para ambas)	

**a-** Imai *et al.*, 2008; **b-** Simões *et al.*, 2009; **c-** Ishibashi *et al.*, 1999; **d-** Da Costa *et al.*, 2014.

Obs: Continuação da **Tabela 3**, pág.28.

## 2.4 Atividade antifúngica

No Brasil, as infecções fúngicas humanas são predominantes pois cerca de 3,8 milhões de indivíduos no país estão sofrendo de infecções fúngicas graves, principalmente pacientes com câncer maligno, transplantados, asma, tuberculose prévia, infecção pelo HIV e aqueles que vivem em áreas endêmicas para fungos verdadeiramente patogênicos (Ahmad *et al.*, 2011; Giacomazzi *et al.*, 2016). Dentre os fungos mais causadores de infecções encontra-se *Cryptococcus spp* e *Candida spp*.

Estudos na área de pesquisa de *Cryptococcus* tem se expandido globalmente isso está ligado à alarmante mortalidade associada às doenças causadas por *C. neoformans* e *C. gattii*. Estima-se que aproximadamente 1.000.000 de casos de meningite criptocócica ocorrem a cada ano em pacientes com AIDS resultando em aproximadamente 600.000 mortes dentro de três meses após a infecção (Albuquerque e Rodrigues, 2012).

Estima-se que cerca de 25 à 75% dos indivíduos saudáveis podem apresentar *Candida spp*. (Williams *et al.*, 1997). A espécie *Candida albicans* é predominante em cerca de 20 à 30% das mulheres, sendo colonizada na mucosa vaginal (Oliveira *et al.*, 1993; Val e Almeida Filho, 2001). Apesar da disponibilidade de agentes antifúngicos é elevada a taxa de mortalidade no ambiente da UTI por infecções causadas por *Candida* em pacientes cirúrgicos (Tortorano *et al.*, 2011).

Com o aumento do uso de drogas antifúngicas, o número de relatos de resistência aos medicamentos antifúngicos também aumentou, tornando-se necessário descobrir novos agentes antifúngicos (Vieira e Santos, 2016). As classes dos metabólitos secundários como, taninos, alcaloides, terpenoides e flavonoides vem sendo relatadas por suas propriedades antifúngicas testadas *in vitro* (Tiwari e Mishra, 2011; Salas *et al.*, 2011; Serpa *et al.*, 2012). Considerando a predominância das classes dos terpenos e flavonoides no gênero *Hymenaea* e os poucos estudos relatados com substâncias isoladas é de grande relevância isolar e identificar substâncias da madeira e testar sua atividade antifúngica.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Geral**

Realizar estudos químicos dos resíduos madeireiros de *Hymenaea courbaril* L., buscando atividade antifúngica nas substâncias isoladas.

#### **3.2 Específicos**

- ✓ Isolar as substâncias dos extratos metanólico e hexânico de *Hymenaea courbaril*;
- ✓ Identificar ou elucidar as substâncias isoladas dos extratos por técnicas espectroscópicas e espectrométricas;
- ✓ Realizar ensaio de atividade antifúngica das substâncias isoladas;
- ✓ Contribuir para o conhecimento químico dos resíduos madeireiros de *Hymenaea courbaril* L.;

## 4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Os resíduos madeireiros foram obtidos no Laboratório de Tecnologia da Madeira (LTM) da Coordenação de Tecnologia e Inovação (COTI). Os procedimentos fitoquímicos foram realizados no Laboratório de Química de Produtos Naturais- LQPN, localizado na Coordenação de Tecnologia e Inovação – COTEI. Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) e espectros de massas (EM) foram obtidos na Central Analítica do Laboratório Temático de Química de Produtos Naturais (CALTPQN). Todos os laboratórios estão localizados no Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA)

### 4.1 Materiais e equipamentos

**Cromatografia em coluna (CC):** Os fracionamentos cromatográficos foram realizados em coluna de vidro com comprimentos e diâmetros variados, conforme a quantidade de amostra a ser fracionada, utilizando as seguintes fases estacionárias: sílica gel 60 com partículas entre 70-230 e 230-400 mesh ASTM (Sigma-Aldrich) e Sephadex-LH20 (Sigma-Aldrich).

**Cromatografia em camada delgada (CCD):** As análises em camada delgada foram realizadas em cromatofolhas de alumínio de 0,2 mm de espessura com sílica gel 60 tendo indicador de fluorescência F<sub>254</sub> (Merck).

**Cromatografia em camada delgada preparativa (CCDP):** As análises em escala preparativa foram desenvolvidas em cromatoplasmas de vidro impregnada com sílica gel, com tamanho 20 x 20 cm com espessura de sílica gel de 1,0 mm. A placa foi ativada em estufa a 100°C por 30 minutos. A recuperação das amostras foi efetuada utilizando o solvente diclorometano.

**Reveladores:** A revelação das faixas (*spots*) foi feita por meio de radiação ultravioleta (254 nm e 365 nm) e em solução alcoólica de vanilina sulfúrica com aquecimento em chapa aquecedora.

**Solventes:** Para cromatografia foram utilizados solventes comerciais destilados no LQPN-INPA, sendo eles hexano, diclorometano, acetato de etila, acetona e metanol. Para análises em RMN utilizou-se os solventes deuterados: clorofórmio, acetona e metanol (Sigma-Aldrich) e para a análise de Espectrometria de Massas os solventes possuíam grau de pureza HPLC.

- **Agitador Magnético com Aquecimento:** Fisatom, Modelo 753°
- **Balança Analítica:** Shimadzu, Modelo AUY220, com capacidade até 220 g

- **Chapa de aquecimento** - marca Fisatom, modelo 753
- **Lavador Ultrassônico:** Ultronique, Modelo Q3\_8/40
- **Lâmpada Ultravioleta:** Spectroline, Modelo ENF-240C/FE
- **Evaporador Rotativo:** Yamato, modelo RE500, equipado com banho Yamato BM 200
- **Moinho elétrico:** Modelo MA 340
- **Ressonância Magnética Nuclear (RMN):** Aparelho Bruker, Modelo Fourier-300 (300 MHz para RMN  $^1\text{H}$  e 75 MHz para RMN  $^{13}\text{C}$ ) e tendo em algumas amostras como padrão interno tetrametilsilano (TMS). Os espectros foram processados no programa TopSpin da Bruker versão 4.0.7.
- **Espectrômetro de Massas (EM):** Os espectros de massas de baixa resolução foram obtidos no espectrômetro AmazonSpeed (BrukerDaltonics) por injeção direta com fonte de ionização ESI no modo positivo com faixa de detecção de 100-1000 Da. Os espectros de massas foram processados através do programa Xcalibur 2.1. As amostras foram preparadas na concentração de 1 mg/mL em Acetonitrila.

#### 4.2 Obtenção e identificação das espécies

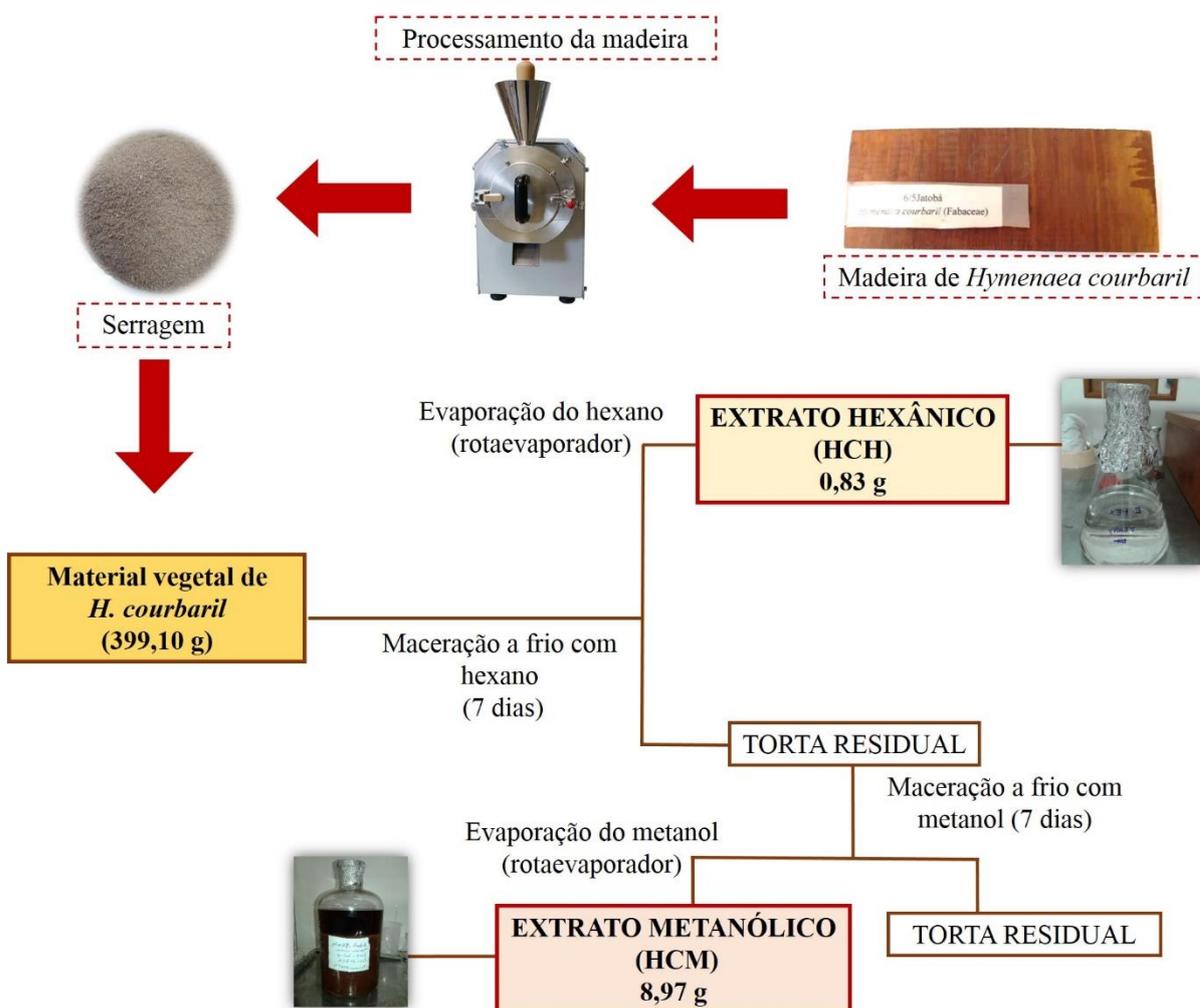
As amostras dos resíduos madeireiros de *Hymenaea courbaril* L são provenientes do projeto INCT-Madeiras da Amazônia. E sua identificação foi realizada pelo Anatomista de Madeira Jorge Alves de Freitas no Laboratório de Anatomia e Identificação de Madeiras (Xiloteca) da Coordenação de Tecnologia e Inovação- COTI-INPA. A análise foi efetuada com bases nas técnicas de identificação anatômica macroscópica da madeira, seguindo as orientações nas normas técnicas (Copant, 1974; Ibama, 1991).

#### 4.3 Obtenção dos extratos brutos

Para a preparação dos extratos, os resíduos foram cortados em pedaços menores, em seguida moídos em um moinho elétrico, apresentando um aspecto físico de pó e pesado em uma balança analítica. Este, em frasco mariote, foi submetido a macerações à frio de baixa polaridade e alta polaridade (hexano e metanol, Esquema 1), separadamente, por um período de sete dias para cada solvente. O extrato hexânico apresentou coloração incolor e o metanólico marrom escuro. Em seguida, os solventes foram concentrados e os extratos colocados em um frasco seco e limpo para secagem seguida de pesagem.

Os extratos hexânico e metanólico foram codificados, respectivamente, como HCH e HCM cujo teor extrativo foi calculado pela seguinte fórmula:

$$\text{Rendimento (\%)} = \frac{\text{Massa do extrato (g)} \times 100}{\text{Massa inicial da amostra seca (g)}}$$

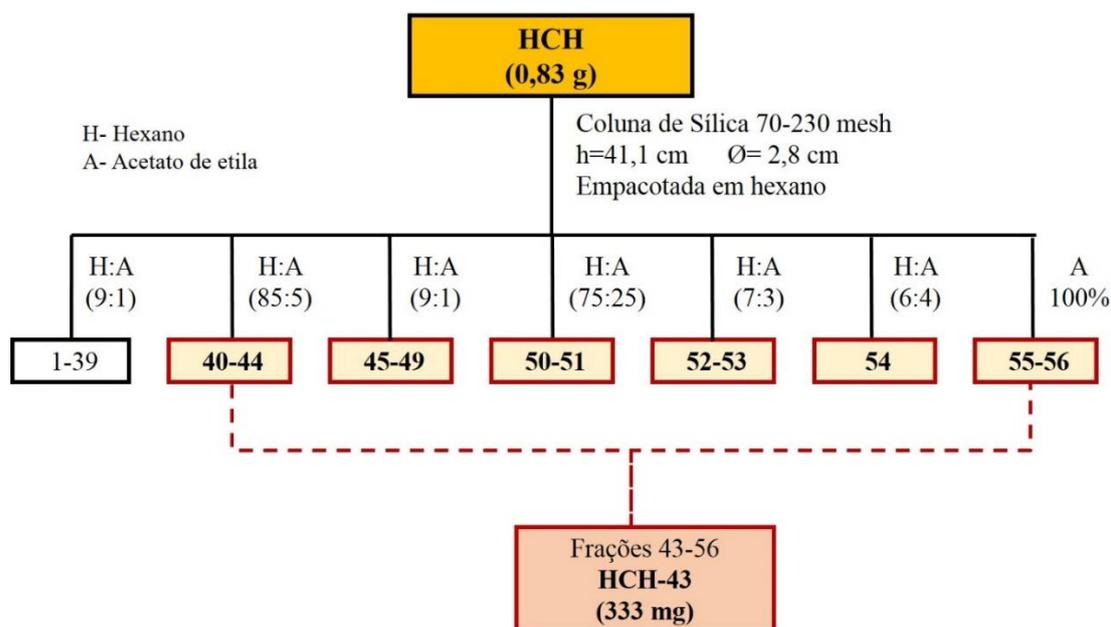


**Esquema 1.** Obtenção dos extratos de *H. courbaril*.

#### 4.4 Fracionamento Cromatográfico do extrato hexânico de *Hymenaea courbaril* (HCH)

O extrato hexânico (HCH) avaliado em CCD mostrou-se promissor para fracionamento cromatográfico, o qual foi efetuado em coluna de sílica gel (230-400 mesh), eluída em hexano e acetato de etila, em mistura de polaridades crescente resultando em 56 frações (Esquema 2; Tabela 4). As frações 43-56 foram reunidas (HCH-43; 333 mg) e submetida a novos fracionamentos conforme Esquema 3 (subtópico 4.5.1). Todas as frações e subfrações foram

analisadas em CCD, reunidas, codificadas e pesadas. As substâncias isoladas foram analisadas em RMN.



**Esquema 2.** Fracionamento cromatográfico HCH.

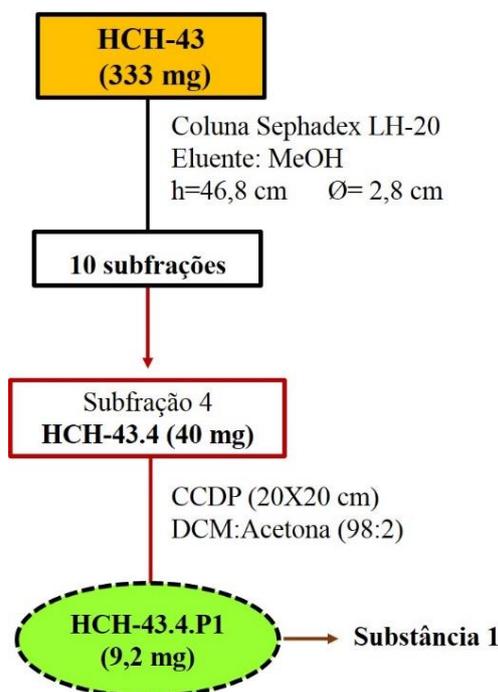
**Tabela 4.** Reunião das frações obtidas de HCH.

Frações reunidas	Código	Massa (mg)
1-8	HCH-1	42
9	HCH-9	4
10-15	HCH-10	218
16-42	HCH-16	75
<b>43-56</b>	<b>HCH-43</b>	<b>333</b>

#### 4.4.1 Fracionamento Cromatográfico de HCH-43

A fração HCH-43 (333 mg) foi fracionada em coluna Sephadex LH-20 (h= 46,8 e Ø=2,8 cm) eluída em metanol fornecendo 10 frações (Esquema 3; Tabela 5). Da subfração 4 (HCH-43.4; 289,4 mg) retirou-se 40 mg da amostra para purificação por cromatografia em camada delgada preparativa (CCDP) em sílica gel. Esta solubilizou-se em diclorometano (DCM) submetendo-a uma corrida em placa cromatográfica, tendo como eluente DCM: acetona (98:2) revelado na luz UV (254 nm). As faixas da placa contendo as substâncias foram raspadas da placa e extraídas da sílica com o solvente DCM, sendo posteriormente filtradas a vácuo em

funil, evaporadas e pesadas. Verificou-se em CCD a presença de uma substância isolada, que foi codificada como HCH-43.4. P1 (**substância 1**; 9,2 mg).



**Esquema 3.** Fracionamento cromatográfico HCH-43 e HCH-43.4.

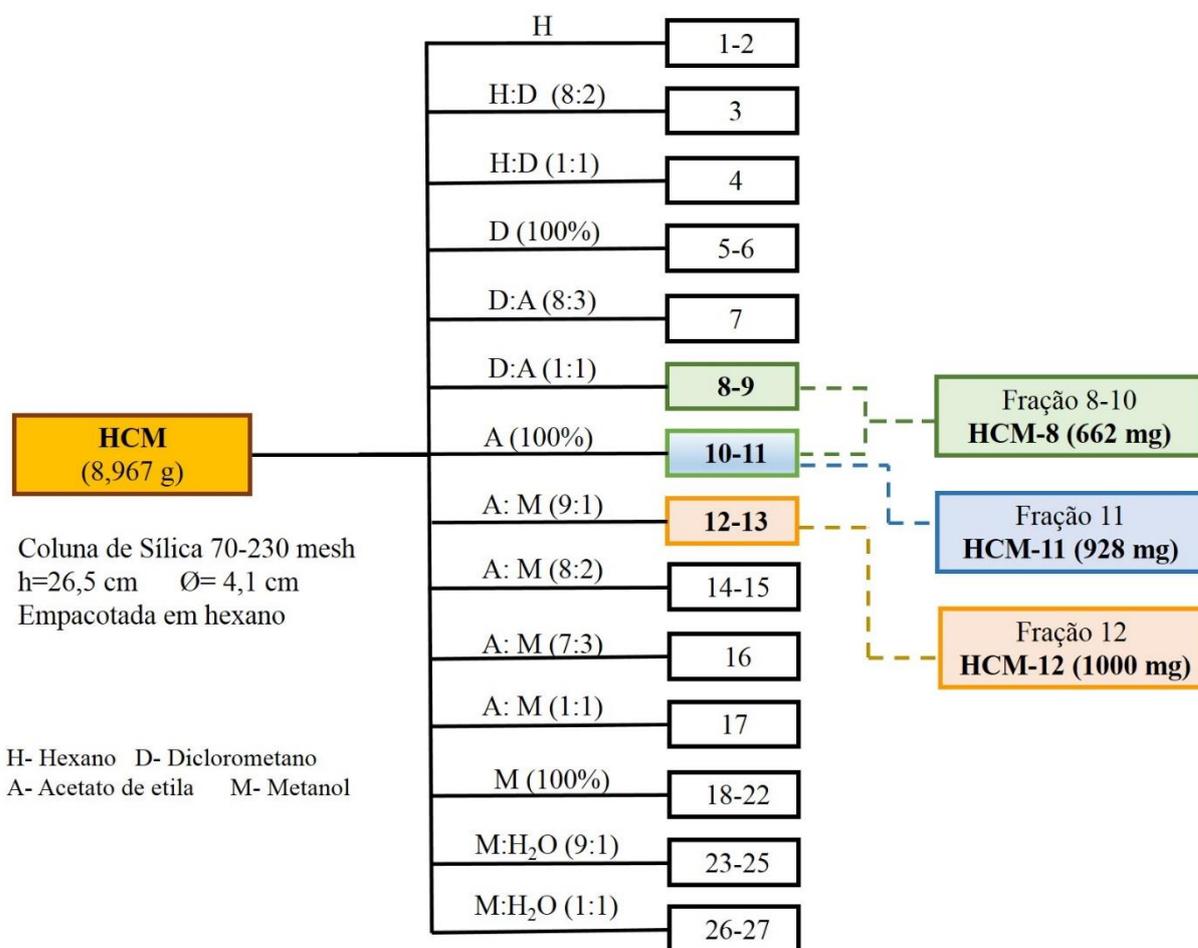
**Tabela 5.** Reunião das subfrações obtidas de HCH-43.

Subfrações reunidas	Código	Massa (mg)
1	HCH-43.1	0,3
2	HCH-43.2	0,3
3	HCH-43.3	29,5
<b>4</b>	<b>HCH-43.4</b>	<b>289,4</b>
5	HCH-43.5	15,9
6-10	HCH-43.6	2,3

#### 4.5. Fracionamento cromatográfico do extrato metanólico de *Hymenaea courbaril* (HCM)

O extrato metanólico (HCM) foi submetido a um fracionamento cromatográfico em coluna filtrante de sílica gel comum (70-230 mesh), eluída em hexano, diclorometano, acetato de etila, metanol e água em gradiente crescente de polaridade, como apresentado no Esquema 4. Obteve-se 27 frações que após análise em CCD foram reunidas, pesadas e codificadas

(Tabela 6). As frações reunidas 8-10 (HCM-8), 11 (HCM-11) e 12 (HCM-12) passaram por novos fracionamentos cromatográficos, conforme mostra os Esquemas 5, 6 e 7, respectivamente. Todas as subfrações foram analisadas em CCD, reunidas, codificadas e pesadas. As substâncias isoladas foram analisadas em RMN.



**Esquema 4.** Fracionamento cromatográfico HCM.

**Tabela 6.** Reunião das frações obtidas de HCM.

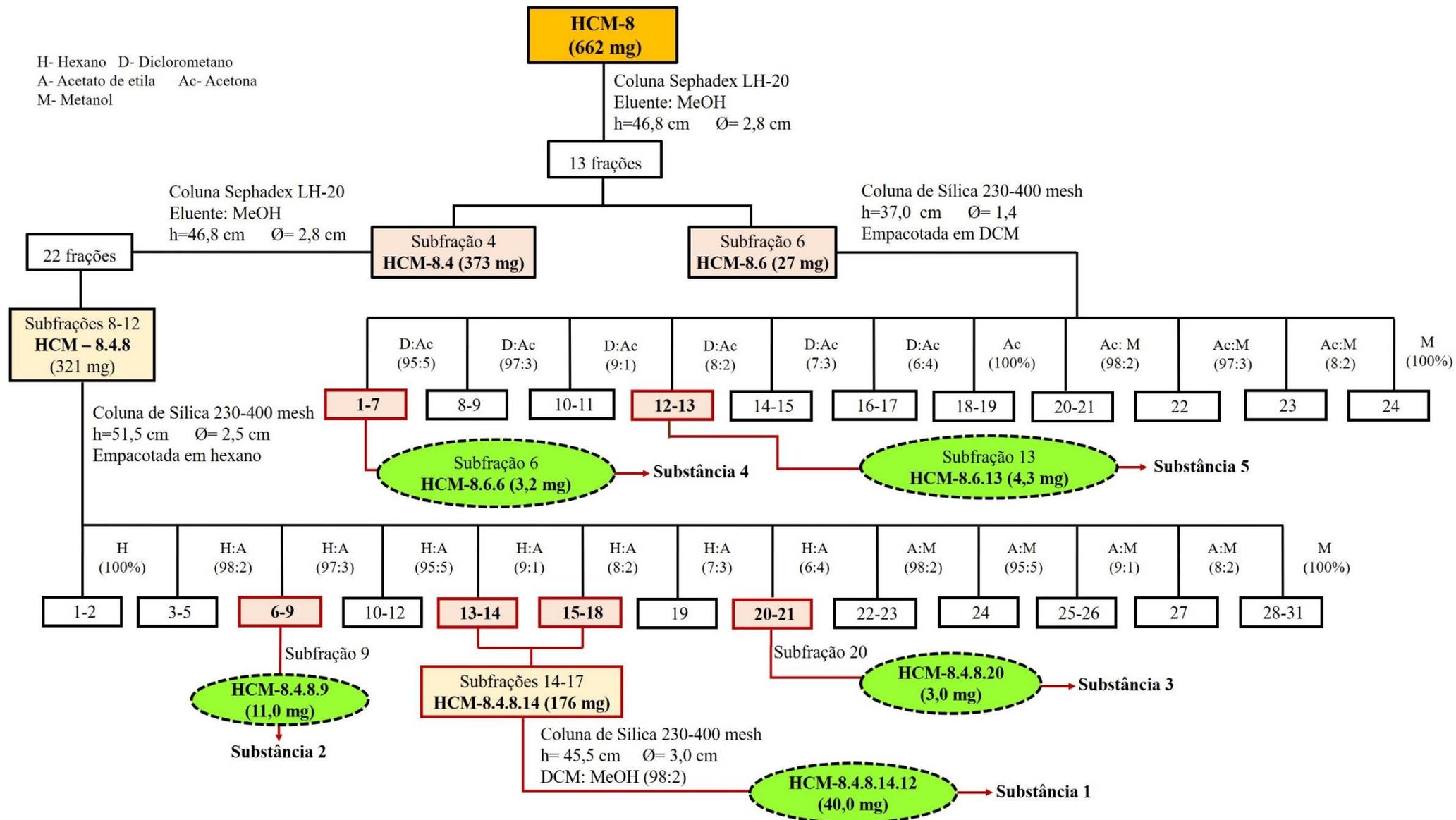
<b>Frações reunidas</b>	<b>Código</b>	<b>Massa (mg)</b>
1	HCM-1	2
2-4	HCM-2	21
5	HCM-5	44
6-7	HCM-6	75
<b>8-10</b>	<b>HCM-8</b>	<b>662</b>
<b>11</b>	<b>HCM-11</b>	<b>928</b>
<b>12</b>	<b>HCM-12</b>	<b>1417</b>
13	HCM-13	871
14-17	HCM-14	2149
18	HCM-18	1105
19-26	HCM-19	2852
<b>27</b>	<b>HCM-27</b>	<b>28</b>

#### **4.5.1 Fracionamento Cromatográfico de HCM-8**

A fração HCM-8 (662 mg) foi submetida a uma coluna em Sephadex LH-20 ( $h = 46,8$  e  $\emptyset = 2,8$  cm) (Esquema 5, Tabela 7), fornecendo 13 subfrações, das quais as subfrações 4 (HCM-8.4) e 6 (HCM-8.6) passaram por novos fracionamentos cromatográficos.

A subfração HCM-8.4 (373 mg) foi fracionada em coluna Sephadex LH-20 ( $h = 46,8$  e  $\emptyset = 2,8$  cm), gerando 22 subfrações. As subfrações de 8-12 (HCM 8.4.8; 321 mg) foram reunidas e fracionadas em coluna de sílica gel (230-400 mesh) resultando em 31 subfrações, das quais as subfrações 9 (HCM-8.4.8.9) e 20 (HCM-8.4.8.20,) forneceram as substâncias **2** (11,0 mg) e **3** (3,0 mg), respectivamente. O fracionamento em coluna de sílica gel das subfrações 14-17 (HCM-8.4.8.14) proporcionou novamente o isolamento da substância **1** (40 mg).

A subfração HCM-8.6 (27 mg) foi fracionada em coluna de sílica gel 230-400 mesh ( $h = 37,0$  e  $\emptyset = 1,4$ ) eluída em diclorometano, acetona e metanol em gradiente crescente de polaridade, obtendo-se 24 subfrações. As subfrações 6 (HCM-8.6.6) e 13 (HCM-8.6.13) forneceram as substâncias **4** (3,2 mg) e **5** (4,3 mg), respectivamente.



**Esquema 5.** Fracionamento cromatográfico de HCM-8, HCM-8.4, HCM-8.6, HCM-8.4.8 e HCM-8.4.8.1

**Tabela 7.** Reunião das subfrações obtidas dos fracionamentos de HCM-8, HCM-8.4, HCM-8.4.8, HCM-8.4.8.14 e HCM-8.6.

	Subfrações reunidas	Código	Massa (mg)	
<b>HCM-8</b>	1	HCM-8.1	2,0	
	2	HCM-8.2	72,0	
	3	HCM-8.3	55,0	
	<b>4</b>	<b>HCM-8.4</b>	<b>373,0</b>	
	<b>5</b>	HCM-8.5	65,0	
	6	HCM-8.6	27,0	
	7	HCM-8.7	20,0	
	8	HCM-8.8	3,0	
	9-12	HCM-8.9	9,5	
	13	HCM-8.13	4,0	
	<b>HCM-8.4</b>	<b>1</b>	HCM-8.4.1	3,0
		<b>2-7</b>	HCM-8.4.2	12,0
		<b>8-12</b>	<b>HCM-8.4.8</b>	<b>321,0</b>
13		HCM-8.4.13	14,0	
14-22		HCM-8.4.14	2,0	
<b>HCM-8.4.8</b>	1-8	HCM-8.4.8.1	11,0	
	<b>9</b>	<b>HCM-8.4.8.9</b>	<b>11,0</b>	
	10-13	HCM-8.4.8.10	5,0	
	<b>14-17</b>	<b>HCM-8.4.8.14</b>	<b>176,0</b>	
	18	HCM-8.4.8.18	17,0	
	19	HCM-8.4.8.19	12,0	
	<b>20</b>	<b>HCM-8.4.8.20</b>	<b>3,0</b>	
	21	HCM-8.4.8.21	5,0	
	22-31	HCM-8.4.8.22	29,0	

<b>HCM-8.4.8.14</b>	1	HCM-8.4.8.14.1	3,0
	2-3	HCM-8.4.8.14.2	4,0
	4	HCM-8.4.8.14.4	2,0
	5	HCM-8.4.8.14.5	2,0
	6	HCM-8.4.8.14.6	2,0
	7-8	HCM-8.4.8.14.7	4,0
	9	HCM-8.4.8.14.9	2,0
	10-11	HCM-8.4.8.14.10	5,0
	<b>12</b>	<b>HCM-8.4.8.14.12</b>	<b>40,0</b>
	13-17	HCM-8.4.8.14.13	21,0
18	HCM-8.4.8.14.18	7,0	
<b>HCM-8.6</b>	1-2	HCM-8.6.1	1,1
	3	HCM-8.6.3	1,0
	4-5	HCM-8.6.4	2,5
	<b>6</b>	<b>HCM-8.6.6</b>	<b>3,2</b>
	7	HCM-8.6.7	2,8
	8	HCM-8.6.8	2,1
	9-11	HCM-8.6.9	1,0
	12	HCM-8.6.12	3,0
	<b>13</b>	<b>HCM-8.6.13</b>	<b>4,1</b>
	14-15	HCM-8.6.14	2,0
16-24	HCM-8.6.16	5,0	

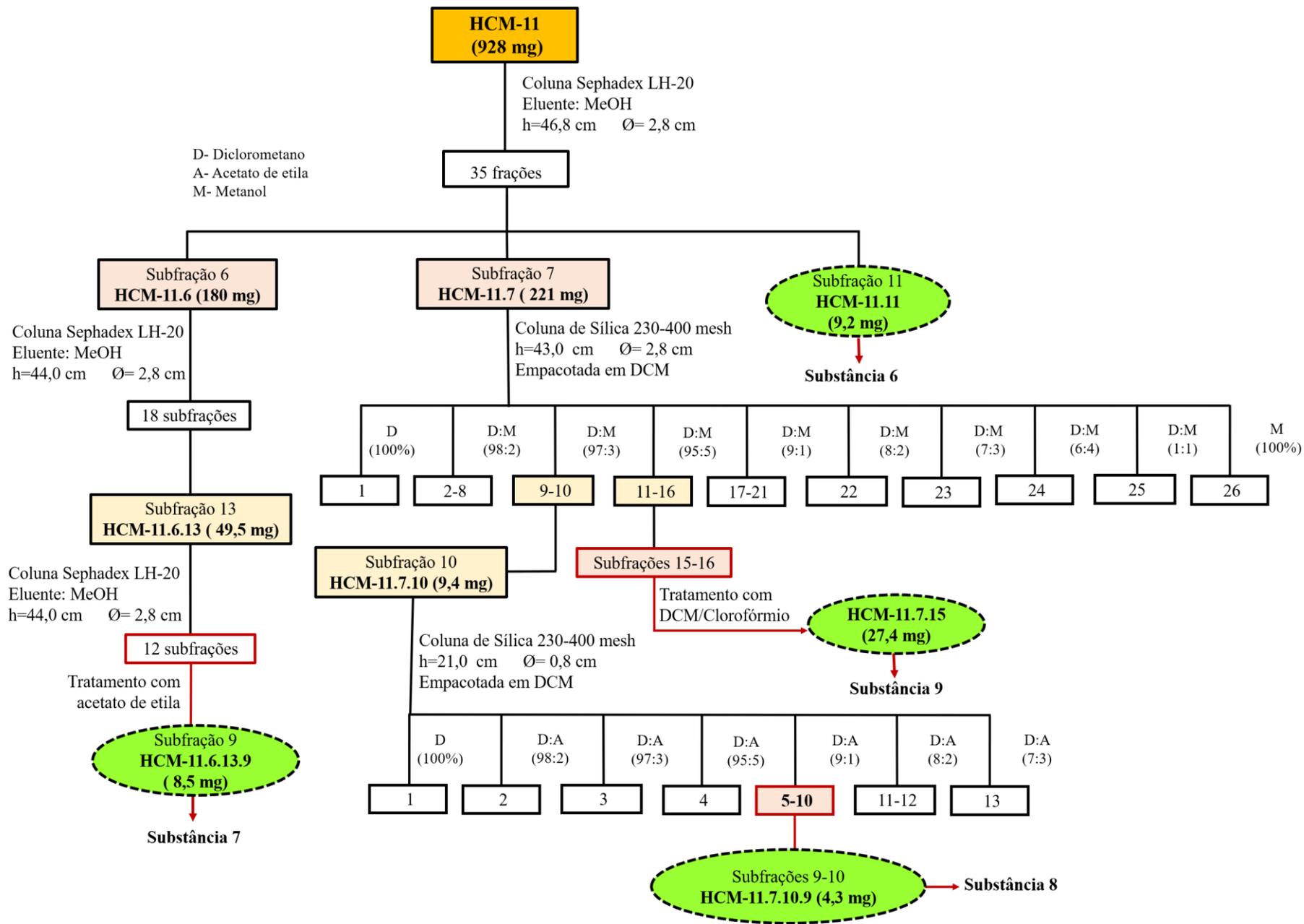
Obs: Continuação da **Tabela 7**, pág. 39

#### 4.5.2 Fracionamento Cromatográfico de HCM-11

A fração 11 (HCM-11; 928 mg) foi submetida ao fracionamento em coluna com Sephadex LH-20 (h = 46,8 e Ø = 2,8 cm) eluída em metanol fornecendo 35 frações, conforme Esquema 6 e Tabela 8. As subfrações 6 (HCM-11.6) e 7 (HCM-11.7) passaram por novos fracionamentos cromatográficos. A subfração 11 (HCM-11.11) apresentou uma substância com cristais amarelo (**Substância 6**; 11,6 mg).

Com a subfração 6 (HCM-11.6; 180 mg) foram realizados dois sucessivos fracionamentos em coluna Sephadex-LH 20 (h = 43,0 e Ø = 2,8 cm), eluídas em metanol e metanol:acetato (1:1), resultando na substância **7** (8,5 mg), após tratamento do material sólido com acetato de etila.

A subfração 7 (HCM-11.7; 221 mg) foi fracionada em coluna de sílica gel 230-400 mesh, eluída em diclorometano e metanol (gradiente crescente de polaridade). A subfração 10 (HCM-11.7.10; 9,4 mg) fracionada em sílica gel 230-400 mesh (h = 21,0 e Ø = 0,8 cm) proporcionou o isolamento da substância **8** (4,3 mg) e a subfração 15-16 (HCM-11.7.15) contendo material sólido após tratamento com clorofórmio e DCM à frio forneceu a substância **9** (27,4 mg).



**Esquema 6.** Fracionamento cromatográfico HCM-11, HCM-11.6, HCM-11.6.13, HCM-11.7 e HCM-11.7.10.

**Tabela 8.** Reunião das subfrações obtidas do fracionamento de HCM-11, HCM-11.6, HCM-11.6.13, HCM-11.

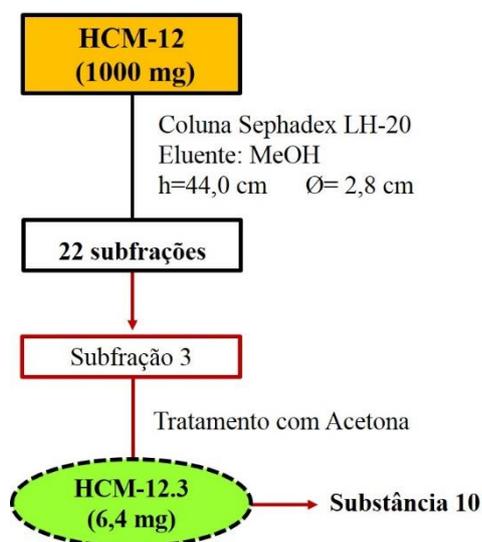
	Subfrações reunidas	Código	Massa (mg)
HCM-11	1-2	HCM-11.1	6,0
	3	HCM-11.3	21,0
	4	HCM-11.4	62,0
	5	HCM-11.5	29,0
	<b>6</b>	<b>HCM-11.6</b>	<b>211,0</b>
	<b>7</b>	<b>HCM-11.7</b>	<b>228,0</b>
	8	HCM-11.8	240,0
	9	HCM-11.9	43,0
	10	HCM-11.10	26,0
	<b>11</b>	<b>HCM-11.11</b>	<b>49,0</b>
	12	HCM-11.12	6,0
	13-35	HCM-11.13	77,0
	HCM-11.6	1-5	HCM-11.6.1
6		HCM-11.6.6	4,1
7-8		HCM-11.6.7	4,3
9		HCM-11.6.9	0,8
10-11		HCM-11.6.10	27,1
12		HCM-11.6.12	105,8
<b>13</b>		<b>HCM-11.6.13</b>	<b>49,5</b>
14		HCM-11.6.14	8,9
15-18		HCM-11.6.15	12,0
HCM-11.6.13	1-3	HCM-11.6.13.1	3,0
	4-8	HCM-11.6.13.4	7,2
	<b>9</b>	<b>HCM-11.6.13.9</b>	<b>16,9</b>
	10	HCM-11.6.13.10	19,6
	11-12	HCM-11.6.13.11	4,5
	1-3	HCM-11.7.1	5,0
	4-6	HCM-11.7.4	4,7

<b>HCM-11.7</b>	7-8	HCM-11.7.7	4,2
	9	HCM-11.7.9	1,8
	<b>10-11</b>	<b>HCM-11.7.10</b>	<b>9,4</b>
	12	HCM-11.7.12	1,9
	13-14	HCM-11.7.13	9,4
	<b>15-16</b>	<b>HCM-11.7.15</b>	<b>48,8</b>
	17-18	HCM-11.7.17	12,2
	19	HCM-11.7.19	10,6
	20-22	HCM-11.7.20	91,8
	23-28	HCM-11.7.23	25,0
<b>HCM-11.7.10</b>	1-6	HCM-11.7.10.1	2,1
	7-8	HCM-11.7.10.7	2,7
	<b>9-10</b>	<b>HCM-11.7.10.9</b>	<b>4,3</b>
	11-13	HCM-11.7.10.11	0,8

Obs: Continuação da **Tabela 8**, pág. 43

#### 4.5.3 Fracionamento Cromatográfico de HCM-12

A fração 12 (HCM-12; 1000,0 mg) foi fracionada em coluna Sephadex LH-20 (h = 44,0 e Ø = 2,8 cm) (Esquema 7, Tabela 9), obtendo-se 22 subfrações. A subfração 3 após tratamento com acetona a frio concedeu a substância **10** (6,4 mg).



**Esquema 7.** Fracionamento cromatográfico HCM-12.

**Tabela 9.** Reunião das subfrações obtidas de HCM-12.

Frações reunidas	Código	Massa (mg)
1	HCM-12.1	4,4
2	HCM-12.2	16,9
<b>3</b>	<b>HCM-12.3</b>	<b>28,2</b>
4	HCM-12.4	47,7
5	HCM-12.5	17,5
6	HCM-12.6	13,8
7-8	HCM-12.7	68,7
9	HCM-12.9	178,0
10	HCM-12.10	154,9
11	HCM-12.11	87,7
12-13	HCM-12.12	105,0
14-17	HCM-12.14	143,7
18-22	HCM-12.18	42,2

#### 4.6 Ensaio antifúngico

##### 4.6.1 Cepas testadas e preparação dos inóculos fúngicos.

Para os testes de atividade antifúngica, foram utilizadas as cepas padrão da *American Type Culture Collection* (ATCC) e da (CFP 61), mantida na coleção de micro-organismos de interesse médico do INPA. Na Tabela 10 encontramos as cepas fúngicas utilizadas nos testes.

**Tabela 10.** Cepas fúngicas utilizadas nos testes

Tipo de fungo	Espécie	Cepas
Levedura	<i>Candida albicans</i>	ATCC 60193
	<i>Cryptococcus gattii</i>	CFP 61

Os fungos foram cultivados no meio de cultura Ágar Sabouraud Dextrose e as cepas selecionadas (Tabela 10) passaram por repiques para posteriormente serem utilizadas na preparação dos inóculos fúngicos, as quais seguiram as recomendações do protocolo M27-A3 da *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) (2008). As células foram submetidas ao

processo de suspensão em 5 mL de solução salina esterilizada à 0,85%. Em seguida, foram quantificadas em câmara de Neubauer através da leitura no microscópio óptico e, por fim, foram realizadas diluições da suspensão-padrão da levedura com meio líquido RPMI 1640 para obter uma concentração final de  $2,5 \times 10^3$  células/mL.

#### **4.6.2 Realização do teste de microdiluição em caldo.**

O ensaio de sensibilidade antifúngica foi realizado no Laboratório de Micologia do INPA, com base na técnica de microdiluição em caldo - protocolo M27-A3, determinada pela CLSI (2008).

Inicialmente foram preparados os inóculos de *Candida albicans* e *Cryptococcus gattii* na concentração final de aproximadamente  $2,5 \times 10^3$  células/mL como descrito no item anterior. As substâncias **1**, **2**, **4**, **5**, **6** e **9** provenientes do isolamento cromatográfico dos resíduos de madeira de *H. courbaril* foram testadas como agente antifúngico. Estas passaram por diluições seriadas, partindo de uma concentração de 320 µg/mL à 0,625 µg/mL em microplaca de 96 poços em duplicata, com posterior incubação a 35 °C durante 24 h para *C. albicans* e 72 h para *C. gattii*. Após esse período, realizou-se a leitura macroscópica da placa para avaliar a concentração inibitória mínima (CIM) das substâncias, considerando o score à 100% de inibição. A leitura foi realizada comparando os poços do controle positivo (Inóculo fúngico + meio de cultivo RPMI) e os poços contendo as substâncias testadas. A anfotericina B foi utilizada como droga controle de sensibilidade para os dois tipos de fungos e os testes foram realizados em duplicata (CLSI, 2008).

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

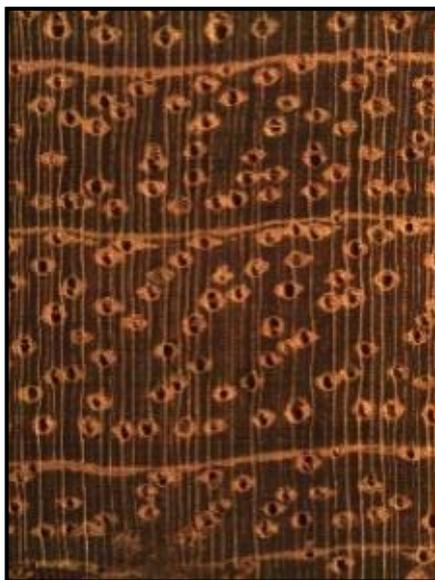
### 5.1. Identificação da espécie madeireira

A identificação botânica da espécie madeireira foi efetuada com base nas características sensoriais e anatômicas macroscópicas, corroborando com critérios de observações, através do método de comparação (confronto), tendo como suporte a Coleção Botânica - Xiloteca/COTI/INPA. Esse trabalho de identificação anatômica gerou um laudo técnico (Nº 07/2019), que confirma a espécie madeireira sendo:

**Nome Científico:** *Hymenaea courbaril* L.

A espécie *Hymenaea courbaril* L. pertence à família Fabaceae (subfamília Caesalpiaceae). Apresenta como principais nomes populares jatobá, jutaí e jutaí-açu. Tendo como principais características sua madeira de densidade média, cerne de cor vermelha acentuada a castanho-avermelhado com manchas escuras, o alburno de cor esbranquiçada, grã direita para ondulada com textura média e gosto e cheiro característico, tendo a superfície de brilho moderado.

A descrição macroscópica para a espécie estudada é de parênquima axial paratraqueal aliforme simples, com confluências e em faixas terminais. Parênquima radial em disposição irregular (plano tangencial). Poros médios à grandes, predominantemente solitários, múltiplos de 2-3, vazios e alguns obstruídos (Figura 3).



**Figura 3.** Macrofotografia do plano transversal (10 X) de *Hymenaea courbaril* L.

## 5.2. Rendimentos dos extratos brutos

Os rendimentos dos extratos podem ser observados na Tabela 11, na qual fica evidente o maior rendimento para o extrato metanólico do resíduo de jatobá. Apesar do baixo rendimento do extrato hexânico este foi selecionado para fracionamento pois apresentou em CCD uma mancha roxa intensa quando revelado em vanilina.

**Tabela 11.** Rendimento dos extratos obtidos de *H. courbaril*.

Espécie	Massa do resíduo	Extrato	m (g)	%
<i>Hymenaea courbaril</i> L.	399,10 g	Hexânico	0,83	0,21
		Metanólico	8,97	2,24

## 5.3 Identificação estrutural das substâncias isoladas de *H. courbaril*

### 5.3.1 Identificação da substância 1 (HCM-8.4.8.14.12)

As substâncias **HCM-8.4.8.14.12** (40 mg; Esquema 5) e **HCH-43.4.P1** (9,2 mg; Esquema 2) isoladas do extrato metanólico e hexânico, respectivamente, possuem aspecto oleoso e amarelado, na análise em CCD apresentaram-se com ausência de fluorescência na luz UV (254 nm e 365 nm) e o mesmo  $R_f$  revelando uma mancha roxa em vanilina sulfúrica, assim como o mesmo perfil de espectro de RMN  $^1\text{H}$ . A caracterização da substância **1** foi realizada através das técnicas de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , DEPT 135° e HMBC obtidas com amostras de **HCM-8.4.8.14.12**.

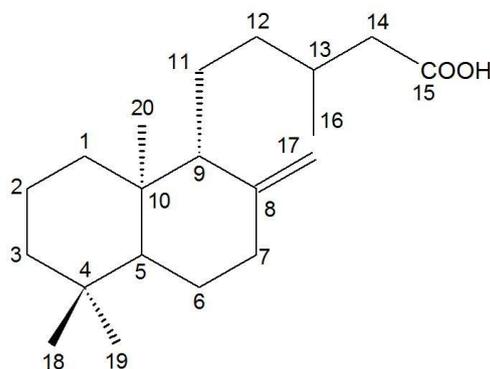
O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 5) apresentou sinais característicos de diterpenos, onde mostrou três sinais de singletos  $\delta$  0,67 (H-20), 0,80 (H-18), 0,87 (H-19), e um dubleto em  $\delta$  0,97 ( $J = 6,6$  Hz; H-16) correspondentes as metilas. Apresentou também sinais característicos de dupla ligação exocíclica com singletos largos em  $\delta$  4,80 e 4,47 (H-17).

O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 6) apresentou 20 sinais e confirmou-se a presença da carbonila de ácido em C-15 ( $\delta$  179,11) e de dupla ligação exocíclica com os deslocamentos  $\delta$  148,73 e 106,24 para os carbonos C-8 e C-17. Os sinais foram caracterizados pelo DEPT 135° (Figura 7) como sendo quatro carbonos metílicos, nove metilênicos, três metínicos e quatro carbonos desidrogenados.

No espectro de longa distância HMBC (Figura 9) o hidrogênio em  $\delta$  2,39 e 2,12 (H-14) correlaciona com o carbono carbonílico em  $\delta$  179,11 (C-15), carbono metilênico em  $\delta$  35,85 (C-12), metínico em  $\delta$  30,91 (C-13) e metílico em  $\delta$  19,92 (C-16). Os hidrogênios  $\delta$  4,80 e 4,47

(H-17) da ligação exocíclica mostram a correlação com os sinais de carbonos metínico  $\delta$  57,12 (C-9) e metilênico  $\delta$  38,53 (C-7). As demais correlações encontram-se na Tabela 12.

O resultado da análise dos espectros e mapa de correlação bidimensional, assim como comparações com os dados da literatura (Marchesini *et al.*, 2009; Tabela 12) permitiram identificar a substância **1** como, um diterpeno denominado ácido eperúico (ácido labd-8(17)-eno-15-oico) cuja estrutura química encontra-se na Figura 4. Já há relatos na literatura deste diterpeno na espécie *Hymenaea stigonocarpa* Mart., onde Doménech-Carbó (2009) e colaboradores identificaram da resina do tronco. Contudo este é o primeiro registro do ácido eperúico nesta espécie. Na literatura já há uma patente registrada para o ácido eperúico como acelerador da produção de colágeno (Yamamoto *et al.*, 2005).



**Figura 4.** Estrutura química da substância **1** (ácido eperúico).

**Tabela 12.** Dados de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz),  $^{13}\text{C}$  e HMBC (75 MHz) em  $\text{CDCl}_3$  da substância 1.

Nº	$^1\text{H}$		$^{13}\text{C}$		HMBC
	$\delta$ (ppm), mult; J(Hz)		$\delta$ (ppm)		
	Substância 1	Marchesini <i>et al</i> , 2009*	Substância 1	Marchesini <i>et al</i> , 2009*	
1	1,76 e 1,03	1,70 (m) e 0,95 (td; 13,0 e 4,0)	39,1	39,1	
2	1,03	1,46 (m) e 1,41 (m)	19,4	19,4	
3	1,36 (m), 1,18 (m)	1,32 (dt; 12,5 e 3,5) e 1,11 (td; 12,5 e 3,0)	42,2	42,2	
4	-----	-----	33,6	33,6	
5	1,08 (dd; 12,4 e 2,8)	1,02 (dd; 12,5 e 2,5)	55,5	55,6	
6	1,74	1,65 (dddd; 12,5; 5,2; 2,5 e 2,0) 1,24 (qd; 12,5 e 4,0)	24,4	24,4	
7	2,40 e 1,97	2,30 (ddd; 13,1; 4,0 e 2,0) 1,89 (ddd; 13,1; 12,5 e 5,2)	38,5	38,4	
8	-----	-----	148,7	148,7	
9	1,53	1,46	57,1	57,2	
10	----	-----	39,7	39,7	
11	1,51	1,70 e 1,46	20,9	20,9	
12	1,51	1,70 e 1,46	35,8	35,9	
13	1,96 (m)	1,02 (m)	30,9	30,9	
14	2,39 (dd; 14,9 e 5,6) 2,12 (dd; 14,9 e 8,5)	2,30 (dd; 15,0 e 5,5) 2,04 (dd; 15,0 e 8,5)	41,2	41,2	C-15, C-12, C13 e C-16
15	----	-----	179,1	178,9	
16	0,97 (d; 6,6)	0,90 (d; 6,5)	19,9	19,9	C-14, C-12 e C-13
17	4,80 (sl), 4,47(sl)	4,73 e 4,40 (d; 1,5)	106,2	106,3	C-9 e C-7
18	0,80 (s)	0,80 (s)	21,7	33,6	C-5, C-3 e C-4
19	0,87 (s)	0,73 (s)	33,6	21,7	C-5, C-3, C-4 3 C-18
20	0,67 (s)	0,60 (s)	14,4	14,4	C-9, C-19 e C-1

\*Solvente:  $\text{CDCl}_3$



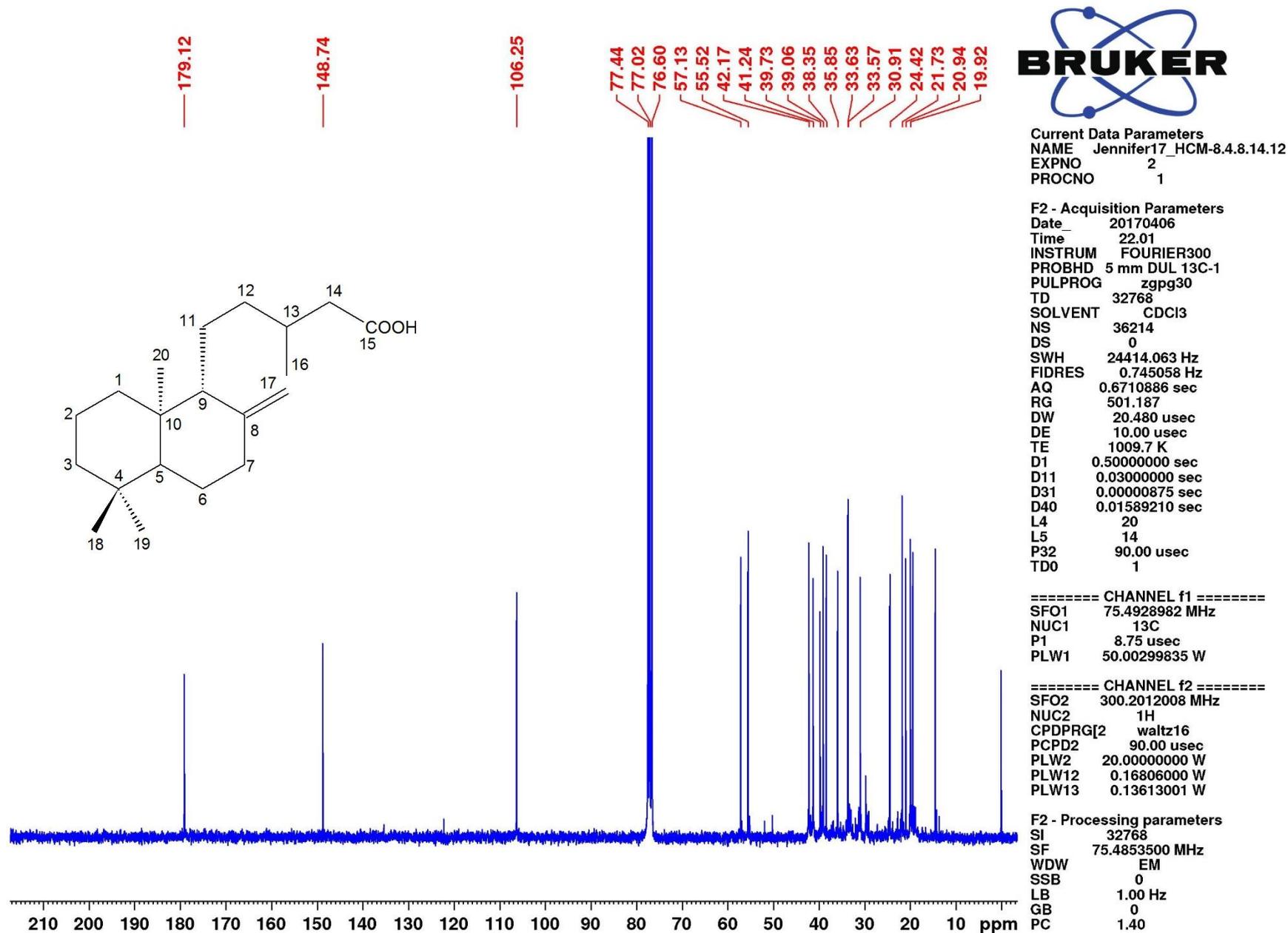
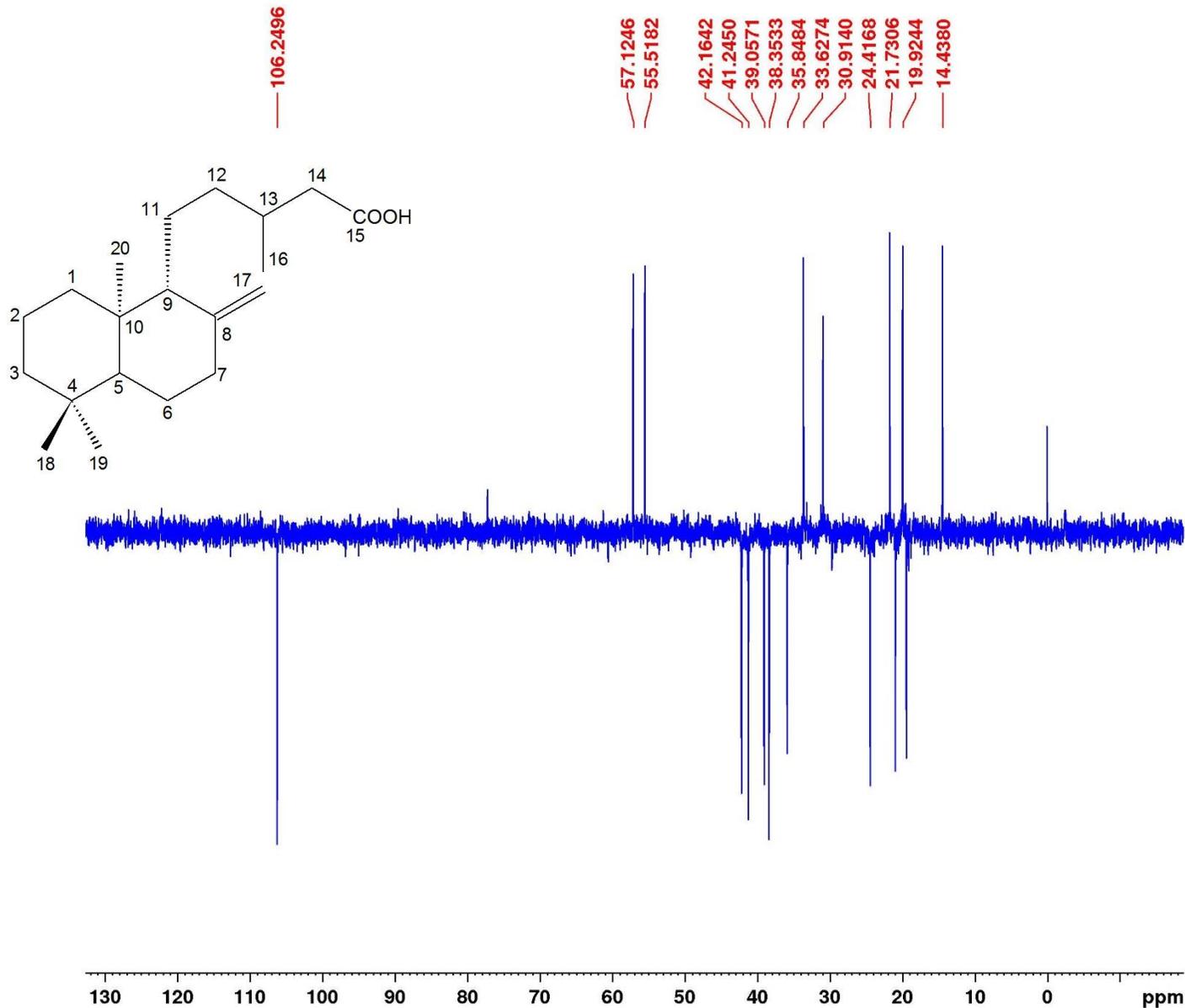


Figura 6. Espectro de RMN <sup>13</sup>C da substância 1 (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>).



Current Data Parameters  
 NAME Jennifer17\_HCM-8.4.8.14.1  
 EXPNO 4  
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
 Date\_ 20170413  
 Time 16.17  
 INSTRUM FOURIER300  
 PROBHD 5 mm DUL 13C-1  
 PULPROG dept135  
 TD 65536  
 SOLVENT CDCl3  
 NS 732  
 DS 8  
 SWH 24414.063 Hz  
 FIDRES 0.372529 Hz  
 AQ 1.3421773 sec  
 RG 501.187  
 DW 20.480 usec  
 DE 10.00 usec  
 TE 1007.1 K  
 CNST2 145.0000000  
 D1 2.0000000 sec  
 D2 0.00344828 sec  
 D14 0.00001114 sec  
 D33 0.00000825 sec  
 D34 0.00344053 sec  
 D35 0.00345340 sec  
 L4 40  
 P32 90.00 usec  
 TD0 1

===== CHANNEL f1 =====  
 SFO1 75.4913881 MHz  
 NUC1 13C  
 P1 8.75 usec  
 P2 17.50 usec  
 PLW1 50.00299835 W

===== CHANNEL f2 =====  
 SFO2 300.2009601 MHz  
 NUC2 1H  
 CPDPRG[2] waltz16  
 P3 8.25 usec  
 P4 16.50 usec  
 PCPD2 90.00 usec  
 PLW2 20.00000000 W  
 PLW12 0.16806000 W

F2 - Processing parameters  
 SI 32768  
 SF 75.4853500 MHz  
 WDW EM  
 SSB 0  
 LB 1.00 Hz  
 GB 0  
 PC 1.40

Figura 7. Espectro de DEPT -135° da substância 1 (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>).



Current Data Parameters  
NAME Jennifer17\_HCM-8.4.8.14.12  
EXPNO 200  
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters

Date\_ 20170406  
Time 15.49  
INSTRUM FOURIER300  
PROBHD 5 mm DUL 13C-1  
PULPROG hsqcgpqh  
TD 2048  
SOLVENT CDCl3  
NS 64  
DS 16  
SWH 3051.758 Hz  
FIDRES 1.490116 Hz  
AQ 0.3355443 sec  
RG 501.187  
DW 163.840 usec  
DE 10.00 usec  
TE 300.2 K  
CNST2 145.000000  
D0 0.0000300 sec  
D1 1.0000000 sec  
D4 0.00172414 sec  
D11 0.0300000 sec  
D13 0.0000400 sec  
D16 0.0002000 sec  
D31 0.00000764 sec  
D32 0.0001528 sec  
D33 0.0000930 sec  
D34 0.00001860 sec  
D36 0.00100000 sec  
D37 0.0000083 sec  
D38 0.00001745 sec  
D42 0.00000166 sec  
D43 0.00002128 sec  
D44 0.00120000 sec  
D45 0.00051614 sec  
IN0 0.00003400 sec  
L4 36  
P35 75.00 usec

===== CHANNEL f1 =====  
SFO1 300.2013509 MHz  
NUC1 1H  
P1 7.64 usec  
P2 15.28 usec  
PLW1 20.0000000 W

===== CHANNEL f2 =====  
SFO2 75.4821437 MHz  
NUC2 13C  
CPDPRG2 garp  
P3 9.30 usec  
P4 18.60 usec  
PCPD2 75.00 usec  
PLW2 50.0000000 W  
PLW12 0.80352998 W

===== GRADIENT CHANNEL =====  
GPNAM[1] SINE.100  
GPNAM[2] SINE.100  
GPNAM[3] SINE.100  
GPZ1 80.00 %  
GPZ2 30.00 %  
GPZ3 20.10 %  
P16 100.00 usec

F1 - Acquisition parameters  
TD 256  
SFO1 75.48214 MHz  
FIDRES 111.926933 Hz  
SW 185.777 ppm  
FMODE TPPI

F2 - Processing parameters  
SI 4096  
SF 300.2000000 MHz  
WDW CSINE  
SSB 2  
LB 0 Hz  
GB 0  
PC 1.40

F1 - Processing parameters  
SI 4096  
MC2 TPPI  
SF 75.4853900 MHz  
WDW CSINE  
SSB 2  
LB 0 Hz  
GB 0

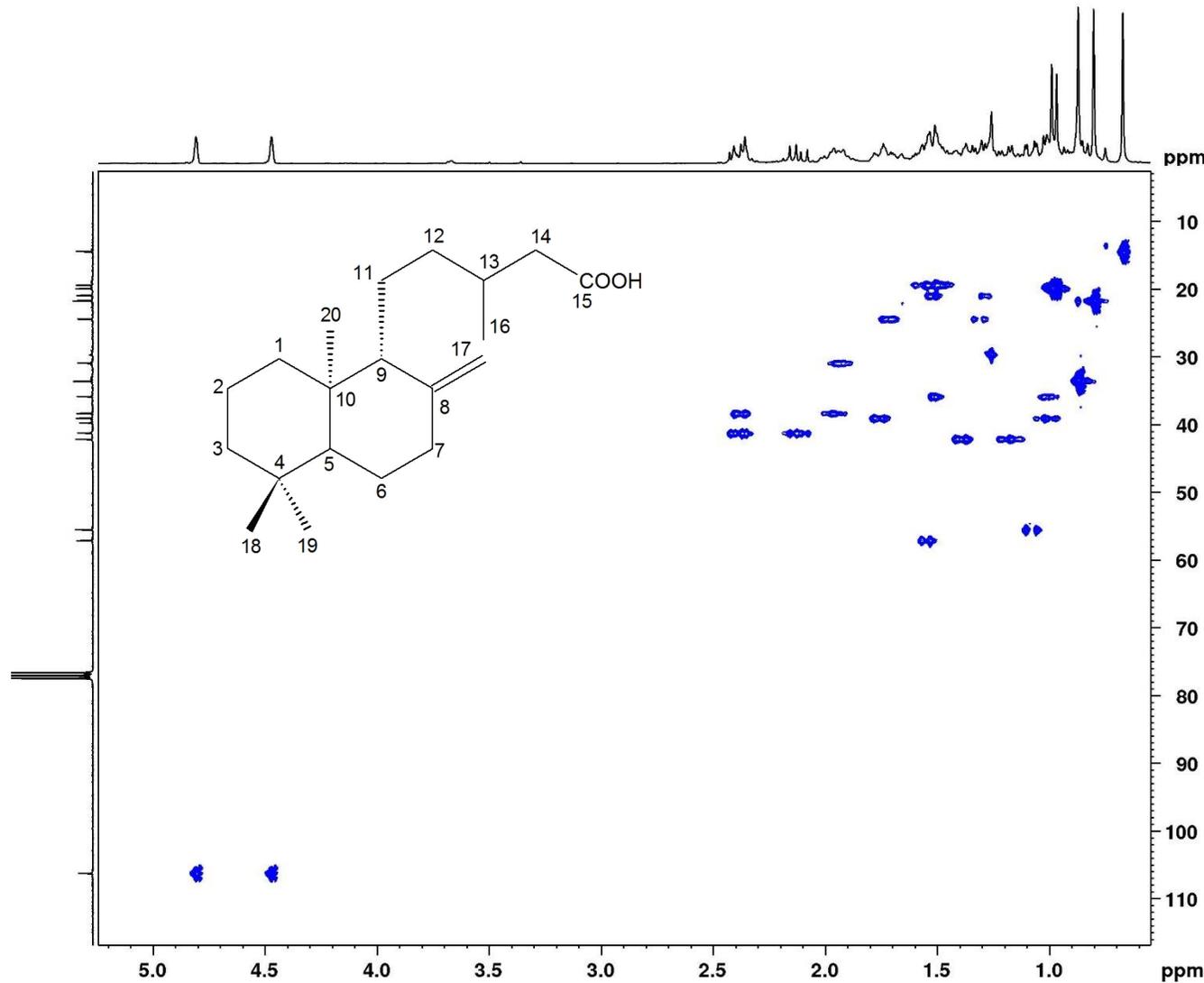


Figura 8. Mapa de contorno HSQC da substância 1 (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>).



Current Data Parameters  
NAME Jennifer17\_HCM-8.4.8.14.12  
EXPNO 300  
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
Date\_ 20170413  
Time 11:22  
INSTRUM FOURIER300  
PROBHD 5 mm DUL 13C-1  
PULPROG hmbcgp1pndqf  
TD 2048  
SOLVENT CDCl3  
NS 80  
DS 16  
SWH 3051.758 Hz  
FIDRES 1.490116 Hz  
AQ 0.335443 sec  
RG 501.187  
DW 163.840 usec  
DE 10.00 usec  
TE 1007.1 K  
CNST2 145.0000000  
CNST13 8.0000000  
D0 0.00000300 sec  
D1 1.00000000 sec  
D2 0.00344628 sec  
D6 0.06250000 sec  
D16 0.00020000 sec  
D31 0.00000764 sec  
D32 0.00001528 sec  
D33 0.00000950 sec  
D36 0.00100000 sec  
D38 0.00002880 sec  
IN0 0.00002880 sec

===== CHANNEL f1 =====  
SFO1 300.2013509 MHz  
NUC1 1H  
P1 7.64 usec  
P2 15.28 usec  
PLW1 20.00000000 W

===== CHANNEL f2 =====  
SFO2 75.4932760 MHz  
NUC2 13C  
P3 9.30 usec  
PLW2 50.00000000 W

===== GRADIENT CHANNEL =====  
GPNAM[1] SINE.100  
GPNAM[2] SINE.100  
GPNAM[3] SINE.100  
GPZ1 50.00 %  
GPZ2 30.00 %  
GPZ3 40.10 %  
P16 1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters  
TD 152  
SFO1 75.49328 MHz  
FIDRES 228.435669 Hz  
SW 229.969 ppm  
FnMODE QF

F2 - Processing parameters  
SI 4096  
SF 300.2000000 MHz  
WDW SINE  
SSB 0  
LB 0 Hz  
GB 0  
PC 1.40

F1 - Processing parameters  
SI 4096  
MC2 QF  
SF 75.4853500 MHz  
WDW SINE  
SSB 0  
LB 0 Hz  
GB 0

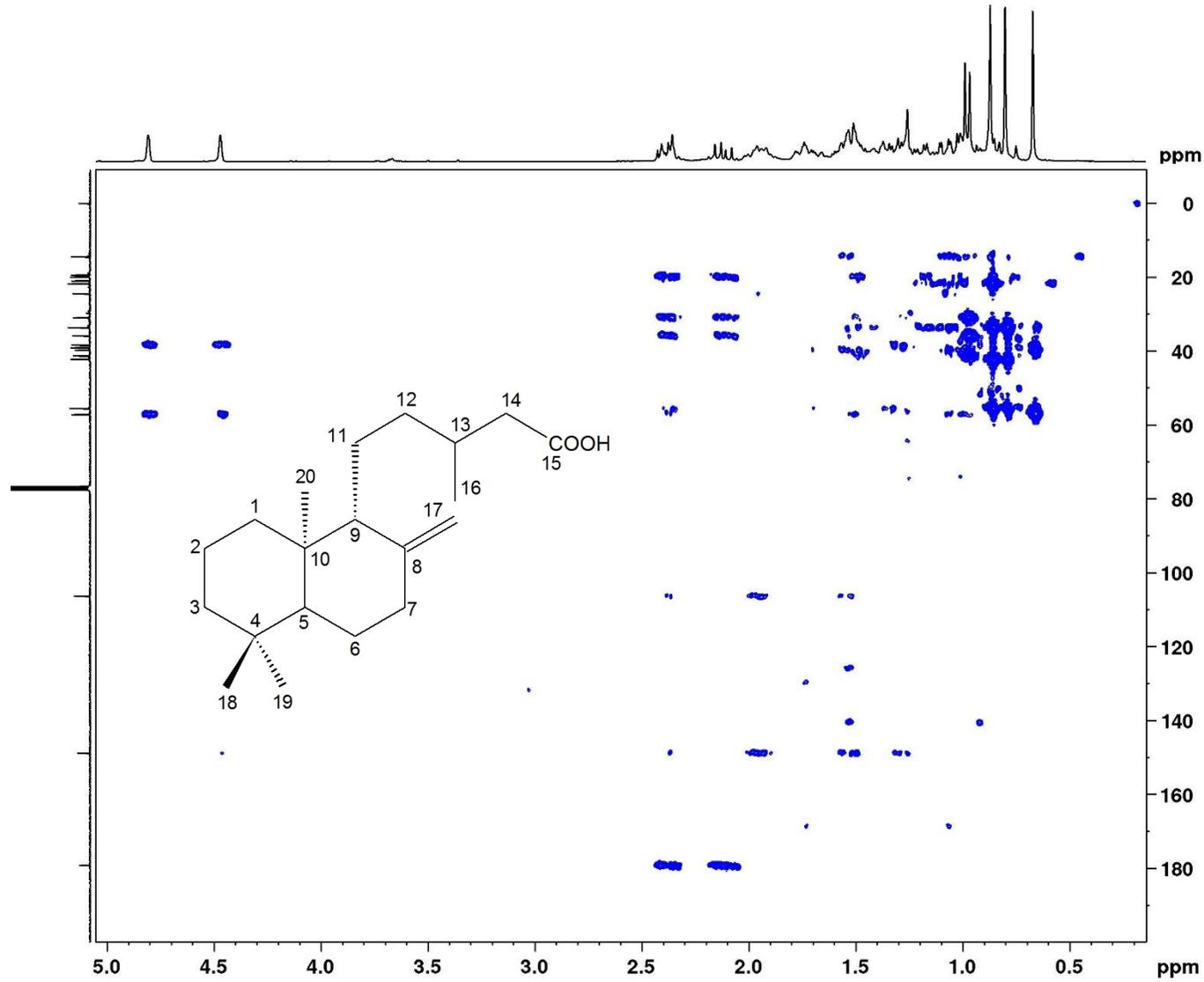


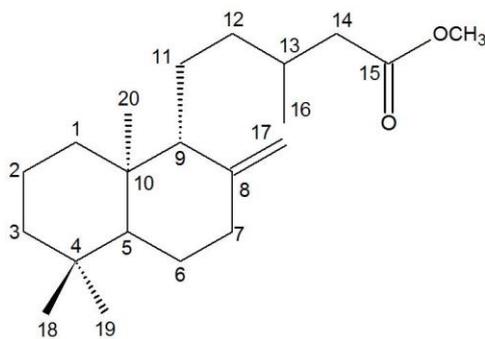
Figura 9. Mapa de contorno HMBC da substância 1 (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>)

### 5.3.2 Identificação da substância 2 (HCM-8.4.8.9)

A substância **2** (HCM-8.4.8.9; 11,0 mg), isolada do extrato metanólico (Esquema 5), apresentou aspecto oleoso com sólidos brancos e em análise em CCD mostrou mancha majoritária roxa em vanilina sulfúrica e ausência de fluorescência na luz UV (254 nm e 365 nm). A substância foi caracterizada através das técnicas de RMN ( $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ ).

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 11) verificou-se o mesmo perfil de sinais do espectro da substância **1**, com exceção do singlete em  $\delta$  3,60 referentes a metoxila do grupo acetato. No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 12) os sinais característicos desse grupo foram verificados em  $\delta$  50,50 correspondentes ao carbono da metoxila e em  $\delta$  172,72 da carbonila. Todos os sinais foram caracterizados utilizando o DEPT 135° (Figura 13) sendo: cinco metílicos, com um do grupo acetato, nove metilênicos, três metínicos e quatro carbonos desidrogenados.

O resultado da análise dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$ , de  $^{13}\text{C}$  e DEPT 135° em comparação com os dados da literatura (Marchesini *et al.*, 2009), permitiram identificar a substância **2** como o éster do ácido eperúico, cuja estrutura química encontra-se na Figura 10. Há registro na literatura deste diterpeno na espécie *Hymenaea stigonocarpa* Mart., onde Doménech-carbó (2009) e colaboradores o identificaram da resina do tronco. Contudo este é o primeiro registro do éster metílico do ácido eperúico nesta espécie.



**Figura 10.** Estrutura química da substância **2** (éster metílico do ácido eperúico).

**Tabela 13.** Dados de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz),  $^{13}\text{C}$  e DEPT-135° (75 MHz) em Acetona-D<sub>6</sub> da substância 2.

N°	$^1\text{H}$		$^{13}\text{C}$		DEPT-135°
	$\delta$ (ppm), mult; J(Hz)		$\delta$ (ppm)		
	Substância 2	Marchesini <i>et al</i> , 2009*	Substância 2	Marchesini <i>et al</i> , 2009*	Substância 2
1	1,68 e 1,02	1,70 (m) e 0,95 (td; 13,0 e 4,0)	38,8	39,1	CH <sub>2</sub>
2	1,02	1,46 (m) e 1,41 (m)	19,1	19,4	CH <sub>2</sub>
3	1,30 (m), 1,17 (m)	1,32 (dt; 12,5 e 3,5) e 1,11 (td; 12,5 e 3,0)	41,9	42,2	CH <sub>2</sub>
4	----	-----	33,2	33,6	C
5	1,18, (dd; 12,8 e 2,7)	1,02 (dd; 12,5 e 2,5)	55,3	55,6	CH
6	1,70	1,65 (dddd; 12,5; 5,2; 2,5 e 2,0) 1,24 (qd; 12,5 e 4,0)	24,3	24,4	CH <sub>2</sub>
7	2,36 e 1,98	2,30 (ddd; 13,1; 4,0 e 2,0) 1,89 (ddd; 13,1; 12,5 e 5,2)	38,1	38,4	CH <sub>2</sub>
8	----	-----	148,5	148,7	C
9	1,54	1,46	57,1	57,2	CH
10	----	-----	39,5	39,7	C
11	1,51	1,70 e 1,46	20,8	20,9	CH <sub>2</sub>
12	1,51	1,70 e 1,46	35,7	35,9	CH <sub>2</sub>
13	1,95 (m)	1,02 (m)	30,9	30,9	CH
14	2,35 (dd; 14,9 e 5,6) 2,13 (dd; 14,9 e 8,5)	2,30 (dd; 15,0 e 5,5) 2,04 (dd; 15,0 e 8,5)	40,8	41,2	CH <sub>2</sub>
15	----	-----	172,7	178,9	C
O	3,60 (s)		50,5		
C					
H <sub>3</sub>					
16	0,93 (d; 6,6)	0,90 (d; 6,5)	19,4	19,9	CH <sub>3</sub>
17	4,82 (sl), 4,52 (sl)	4,73 e 4,40 (d; 1,5)	105,9	106,3	CH <sub>2</sub>
18	0,82 (s)	0,80 (s)	21,1	33,6	CH <sub>3</sub>
19	0,88 (s)	0,73 (s)	33,0	21,7	CH <sub>3</sub>
20	0,70 (s)	0,60 (s)	13,9	14,4	CH <sub>3</sub>

\*Solvente: CDCl<sub>3</sub>



Current Data Parameters  
NAME Jennifer17\_HCM-8.4.8.9  
EXPNO 1  
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
Date\_ 20170511  
Time 17.15  
INSTRUM FOURIER300  
PROBHD 5 mm DUL 13C-1  
PULPROG zg  
TD 65536  
SOLVENT Acetone  
NS 32  
DS 0  
SWH 6103.516 Hz  
FIDRES 0.093132 Hz  
AQ 5.3687091 sec  
RG 7.14004  
DW 81.920 usec  
DE 10.00 usec  
TE 990.6 K  
D1 1.00000000 sec  
TD0 1

===== CHANNEL f1 =====  
SFO1 300.2019513 MHz  
NUC1 1H  
P1 7.64 usec  
PLW1 20.00000000 W

F2 - Processing parameters  
SI 65536  
SF 300.2000000 MHz  
WDW EM  
SSB 0  
LB 0 Hz  
GB 0  
PC 1.00

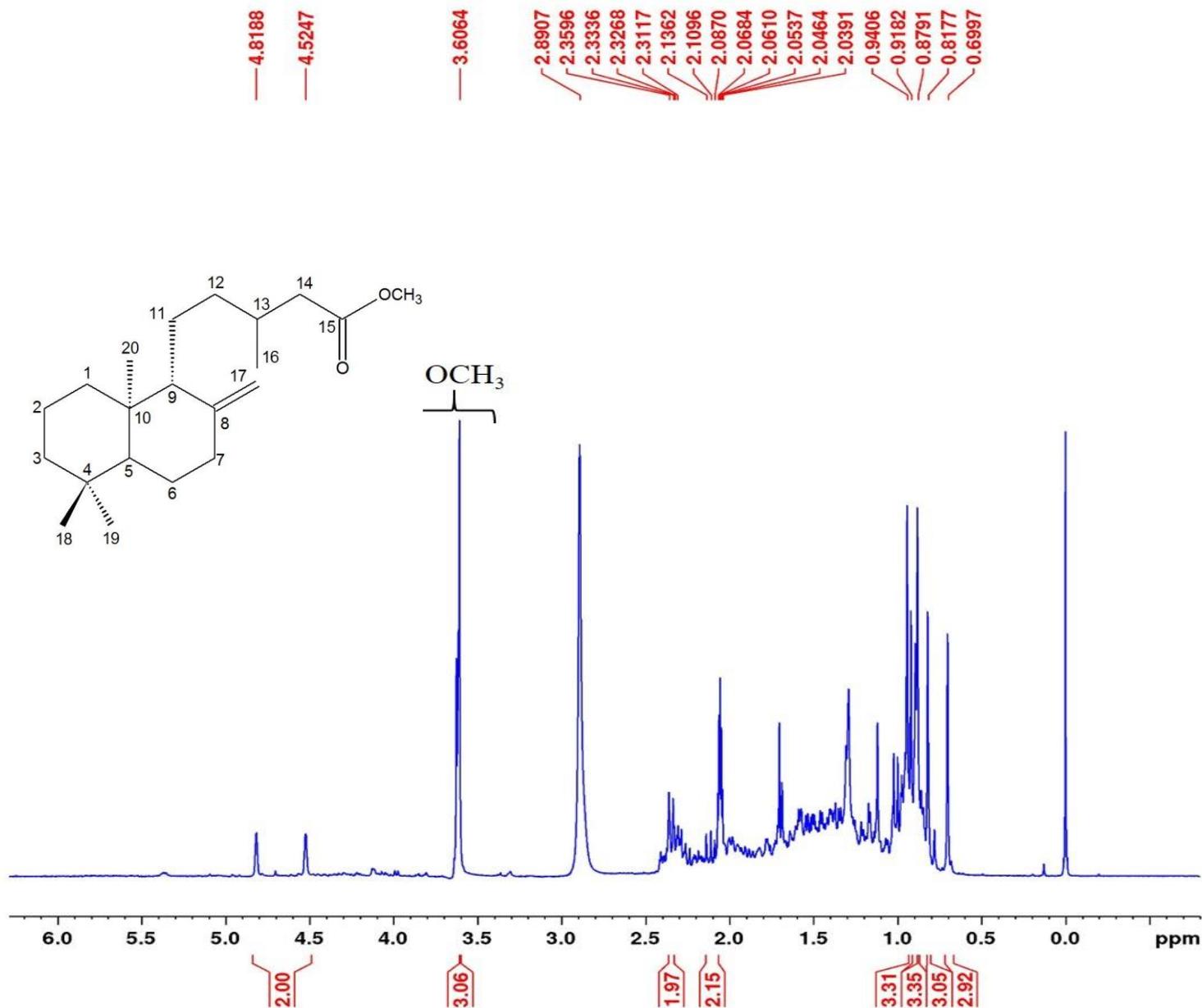


Figura 11. Espectro de RMN <sup>1</sup>H da substância 2 (300 MHz; Acetona-D6).

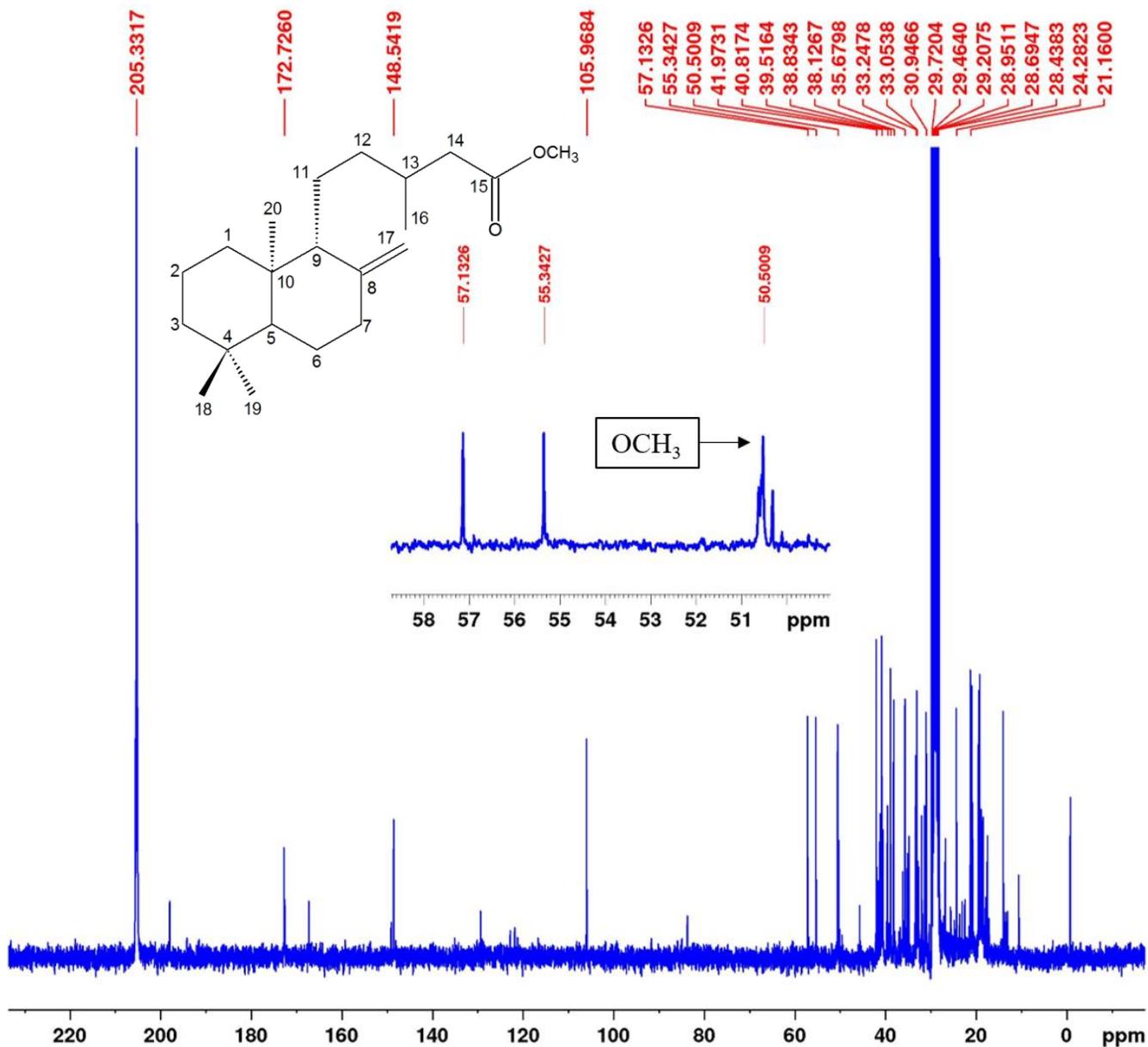


Figura 12. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  da substância 2 (75 MHz; Acetona-D<sub>6</sub>).

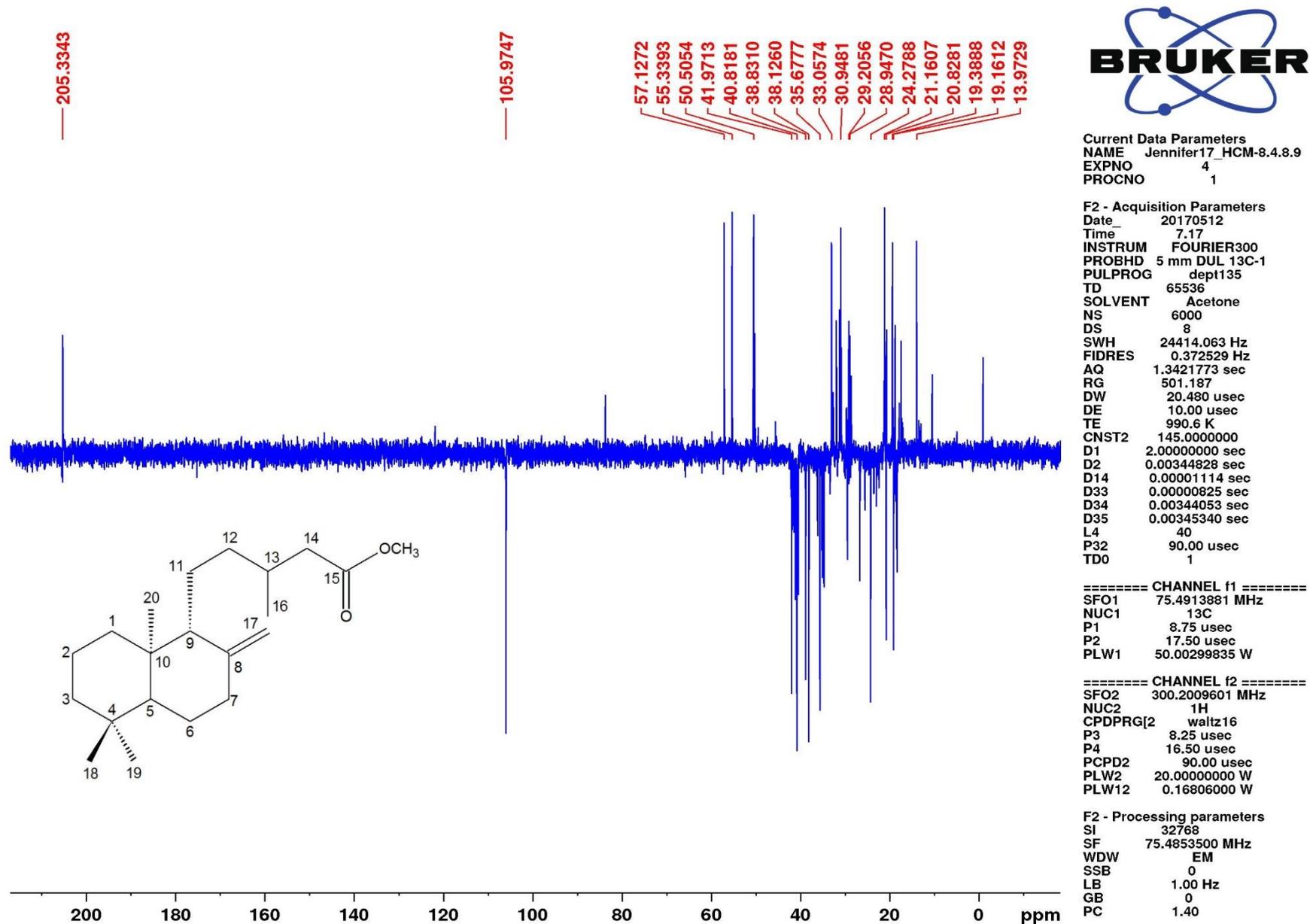


Figura 13. Espectro de DEPT -135° da substância 2 (75 MHz; Acetona-D6).

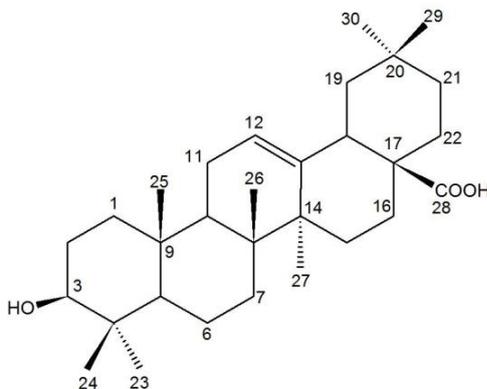
### 5.3.3 Identificação da substância 3 (HCM-8.4.8.20)

A substância **3** (HCM-8.4.8.20; 3,0 mg) foi isolada do extrato metanólico (Esquema 5) como um sólido amorfo branco que em análise em CCD apresentou mancha majoritária roxa em vanilina e ausência de fluorescência na luz UV (254 nm e 365 nm). A substância foi caracterizada através das técnicas de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e DEPT-135°.

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 15) da substância **HCM-8.4.8.20** mostrou a presença de sete singletos ( $\delta$  0,76, 0,78, 0,91, 0,92, 0,93, 0,99 e 1,14) características de sinais de átomos de hidrogênio de grupamentos metila, um duplo dubleto em  $\delta$  3,25 ( $J = 10,2$  Hz e 5,1 Hz), correspondente ao H-3, característicos de hidrogênio ligado a carbono oxigenado, um tripleto em  $\delta$  5,30 ( $J = 3,7$  Hz), típico de hidrogênio olefínico que foi atribuído ao H-12.

O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 16) apresentou trinta sinais, sendo um destes em  $\delta$  79,2, referente ao sinal de carbono oxigenado (C-3) e outro em  $\delta$  182,17 que foi atribuído ao sinal de grupo carboxila (C-28). Esse espectro ainda apresentou sinais em  $\delta$  122,64 e 143,56 que permitiram identificar a ligação dupla trissubstituída entre C-12 e C-13. Os outros sinais foram caracterizados pelo DEPT 135° (Figura 17) como sendo sete carbonos metílicos, dez metilênicos, cinco metínicos e sete carbonos desidrogenados.

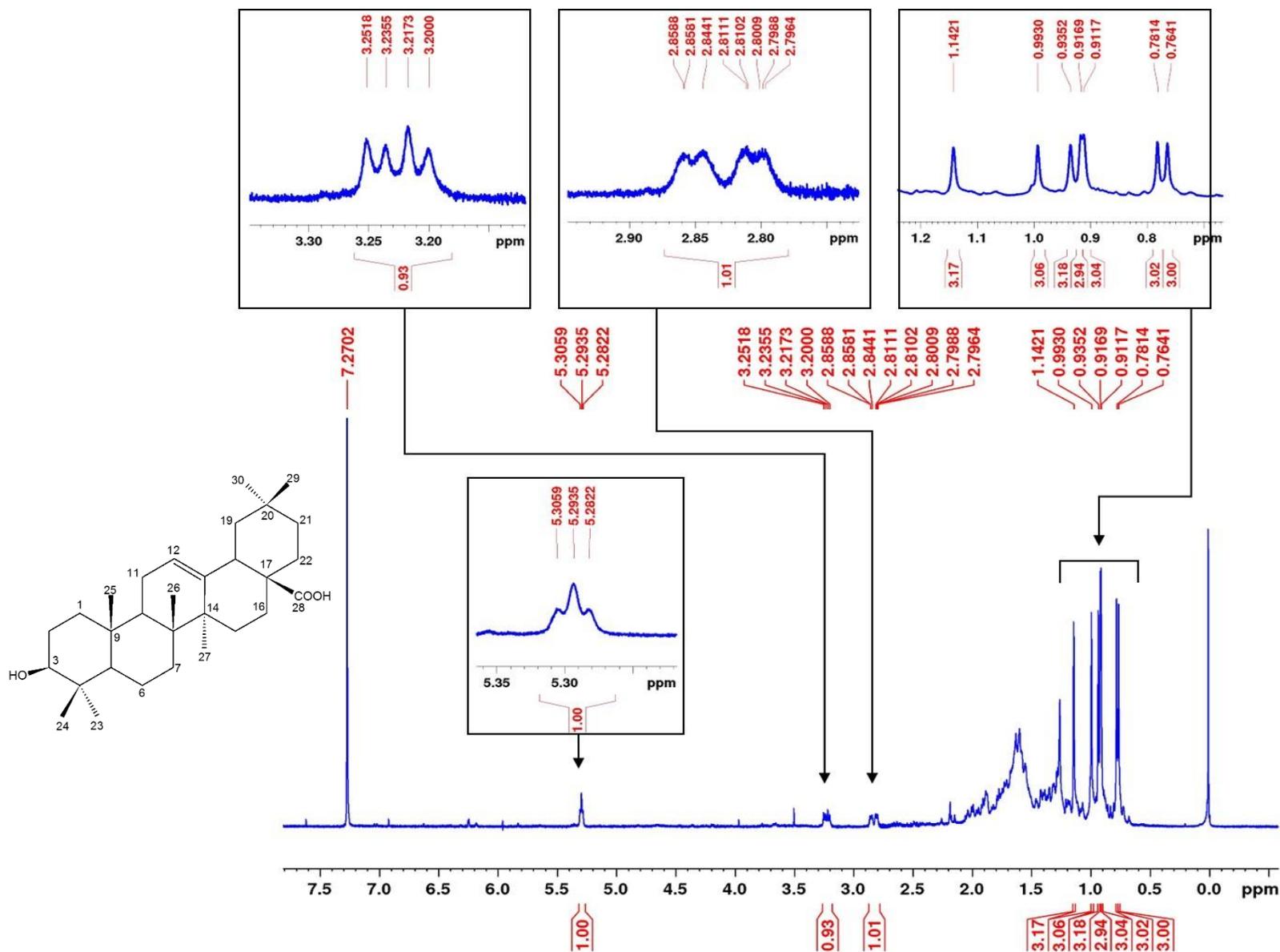
O resultado da análise dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$ , de  $^{13}\text{C}$  e DEPT-135° e comparação desses dados descritos na literatura (Mahato e Kundu, 1994), permitiram identificar a substância **3** como o triterpeno ácido oleanólico (Figura 14), sendo este o primeiro relato no gênero. A Tabela 14 mostra os dados espectroscópicos obtidos. Estudos prévios mostram atividade antidiabética (Khathi *et al.*, 2013; Lin *et al.*, 2011), anticolesterolêmica, anti-hepatotóxica, antioxidante, anti-inflamatória e antifúngica (Kelecom *et al.*, 2002).



**Figura 14.** Estrutura química da substância 3 (ácido oleanólico).

**Tabela 14.** Dados de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz),  $^{13}\text{C}$  e DEPT-135° (75 MHz) em  $\text{CDCl}_3$ , da substância 3 em comparação com a literatura.

Nº	$^1\text{H}$	$^{13}\text{C}$		DEPT-135°
	$\delta$ (ppm), mult; $J$ (Hz)	$\delta$ (ppm)	$\delta$ (ppm)	
	Substância 3	Substância 3	Mahato e Kundu, 1994	Substância 3
1		38,3	38,5	$\text{CH}_2$
2		27,1	27,4	$\text{CH}_2$
3	3,25 (dd; 10,2 e 5,1)	79,0	78,7	CH
4	-----	38,7	38,7	C
5		55,2	55,2	CH
6		18,3	18,3	$\text{CH}_2$
7		32,6	32,6	$\text{CH}_2$
8	-----	39,2	39,3	C
9		47,6	47,6	CH
10	-----	37,0	37,0	C
11		22,9	23,1	$\text{CH}_2$
12	5,30 (t; 3,7)	122,6	122,1	CH
13	-----	143,6	143,4	C
14	-----	41,6	41,6	C
15		27,7	27,7	$\text{CH}_2$
16		23,4	23,4	$\text{CH}_2$
17	-----	46,5	46,6	C
18	2,85 (dd; 14,2 e 4,0)	41,0	41,3	CH
19		45,8	45,8	$\text{CH}_2$
20	-----	30,6	30,6	C
21		33,8	33,8	$\text{CH}_2$
22		32,4	32,3	$\text{CH}_2$
23	0,99 (s)	28,1	28,1	$\text{CH}_3$
24	0,92 (s)	15,5	15,6	$\text{CH}_3$
25	0,78 (s)	15,3	15,3	$\text{CH}_3$
26	0,76 (s)	17,1	16,8	$\text{CH}_3$
27	1,14 (s)	25,9	26,0	$\text{CH}_3$
28	-----	182,2	181,0	C
29	0,91 (s)	33,1	33,1	$\text{CH}_3$
30	0,93 (s)	23,6	23,6	$\text{CH}_3$



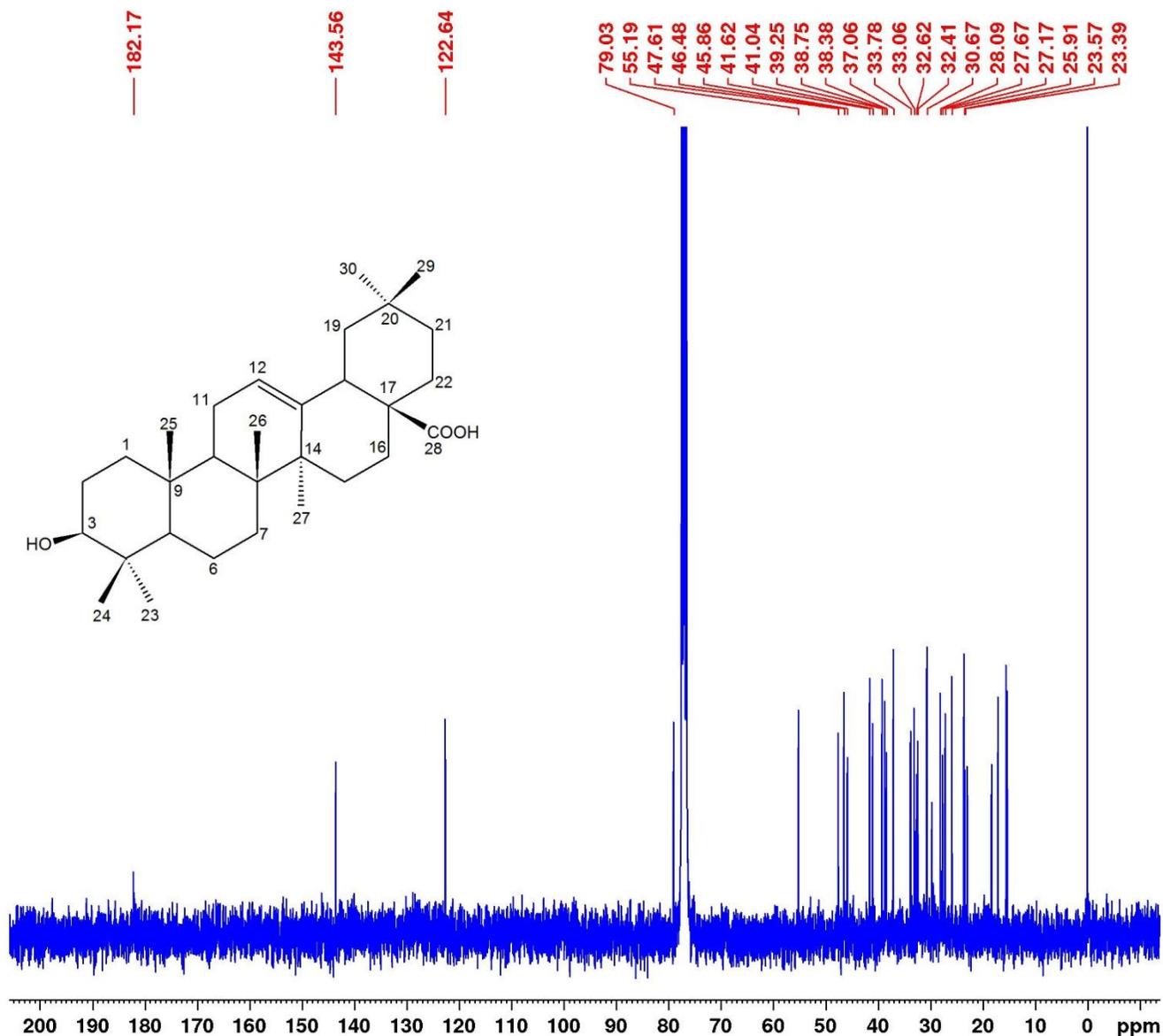
Current Data Parameters  
 NAME Jennifer17\_HCM-8.4.8.20  
 EXPNO 1  
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
 Date\_ 20170316  
 Time 12.25  
 INSTRUM FOURIER300  
 PROBHD 5 mm DUL 13C-1  
 PULPROG zg  
 TD 65536  
 SOLVENT CDCl3  
 NS 64  
 DS 0  
 SWH 3051.758 Hz  
 FIDRES 0.046566 Hz  
 AQ 10.7374182 sec  
 RG 31.623  
 DW 163.840 usec  
 DE 10.00 usec  
 TE 1013.7 K  
 D1 1.00000000 sec  
 TD0 1

===== CHANNEL f1 =====  
 SFO1 300.2013509 MHz  
 NUC1 1H  
 P1 7.64 usec  
 PLW1 20.00000000 W

F2 - Processing parameters  
 SI 65536  
 SF 300.2000000 MHz  
 WDW EM  
 SSB 0  
 LB 0 Hz  
 GB 0  
 PC 1.00

Figura 15. Espectro de RMN <sup>1</sup>H da substância 3 (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>).



Current Data Parameters  
 NAME Jennifer17\_HCM-8.4.8.20  
 EXPNO 2  
 PROCNO 1

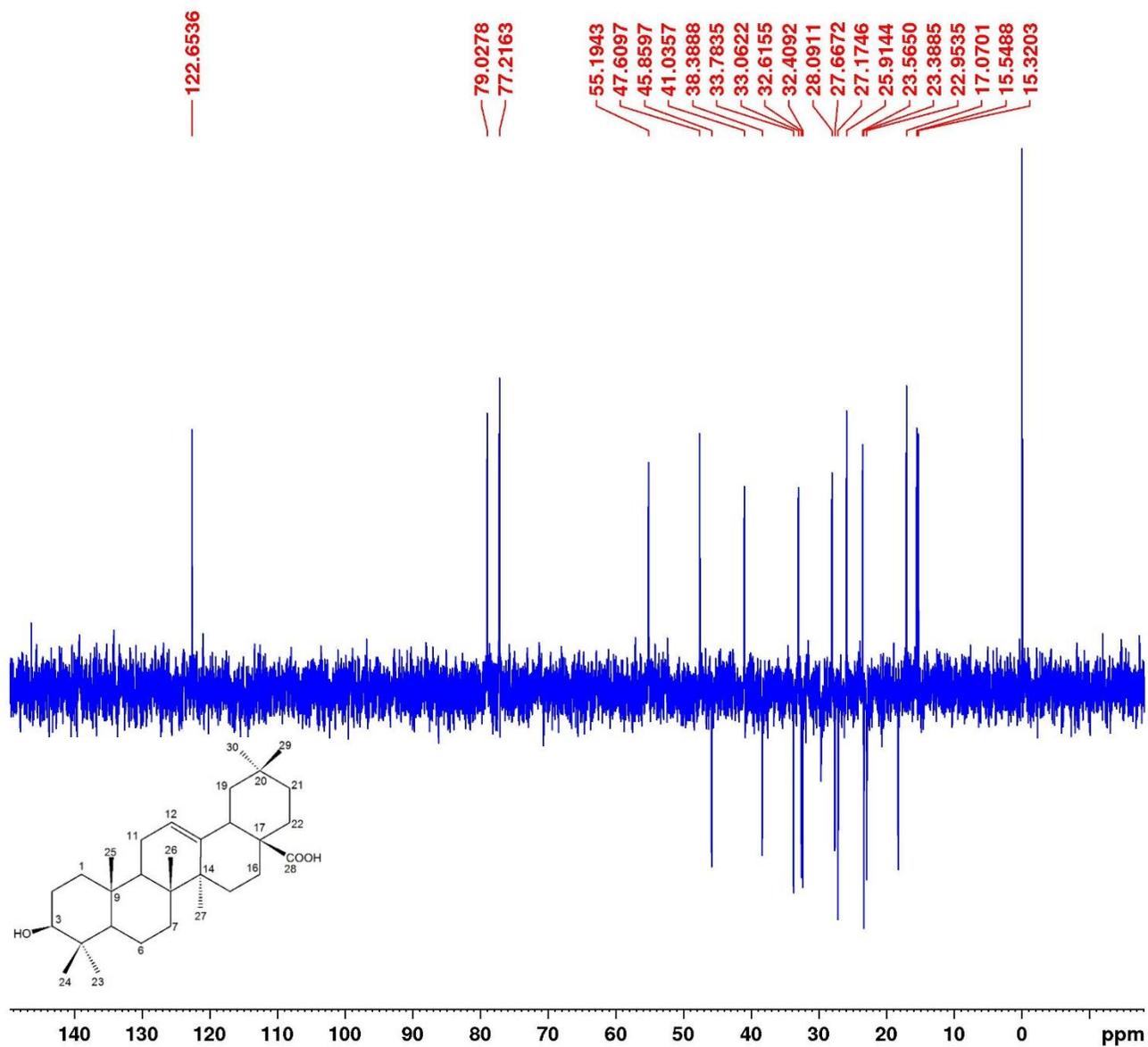
F2 - Acquisition Parameters  
 Date\_ 20170316  
 Time 12.38  
 INSTRUM FOURIER300  
 PROBHD 5 mm DUL 13C-1  
 PULPROG zgpg30  
 TD 32768  
 SOLVENT CDCl3  
 NS 108544  
 DS 0  
 SWH 24414.063 Hz  
 FIDRES 0.745058 Hz  
 AQ 0.6710886 sec  
 RG 501.187  
 DW 20.480 usec  
 DE 10.00 usec  
 TE 1013.7 K  
 D1 0.10000000 sec  
 D11 0.03000000 sec  
 D31 0.0000875 sec  
 D40 0.03084430 sec  
 L4 20  
 L5 2  
 P32 90.00 usec  
 TD0 1

==== CHANNEL f1 =====  
 SFO1 75.4928982 MHz  
 NUC1 13C  
 P1 8.75 usec  
 PLW1 50.00299835 W

==== CHANNEL f2 =====  
 SFO2 300.2012008 MHz  
 NUC2 1H  
 CPDPRG[2] waltz16  
 PCPD2 90.00 usec  
 PLW2 20.00000000 W  
 PLW12 0.16806000 W  
 PLW13 0.13613001 W

F2 - Processing parameters  
 SI 32768  
 SF 75.4853500 MHz  
 WDW EM  
 SSB 0  
 LB 1.00 Hz  
 GB 0  
 PC 1.40

Figura 16. Espectro de RMN <sup>13</sup>C da substância 3 (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>).



Current Data Parameters  
 NAME Jennifer17\_HCM-8.4.8.20  
 EXPNO 4  
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
 Date\_ 20170330  
 Time\_ 18.33  
 INSTRUM FOURIER300  
 PROBHD 5 mm DUL 13C-1  
 PULPROG dept135  
 TD 65536  
 SOLVENT CDCl3  
 NS 15896  
 DS 8  
 SWH 24414.063 Hz  
 FIDRES 0.372529 Hz  
 AQ 1.3421773 sec  
 RG 501.187  
 DW 20.480 usec  
 DE 10.00 usec  
 TE 295.2 K  
 CNST2 145.0000000  
 D1 2.0000000 sec  
 D2 0.00344828 sec  
 D14 0.00001114 sec  
 D33 0.0000825 sec  
 D34 0.00344053 sec  
 D35 0.00345340 sec  
 L4 40  
 P32 90.00 usec  
 TD0 1

===== CHANNEL f1 =====  
 SFO1 75.4932760 MHz  
 NUC1 13C  
 P1 8.75 usec  
 P2 17.50 usec  
 PLW1 50.00299835 W

===== CHANNEL f2 =====  
 SFO2 300.2009601 MHz  
 NUC2 1H  
 CPDPRG[2] waltz16  
 P3 8.25 usec  
 P4 16.50 usec  
 PCPD2 90.00 usec  
 PLW2 20.0000000 W  
 PLW12 0.16806000 W

F2 - Processing parameters  
 SI 32768  
 SF 75.4853500 MHz  
 WDW EM  
 SSB 0  
 LB 1.00 Hz  
 GB 0  
 PC 1.40

Figura 17. Espectro de DEPT -135° da substância 3 (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>).

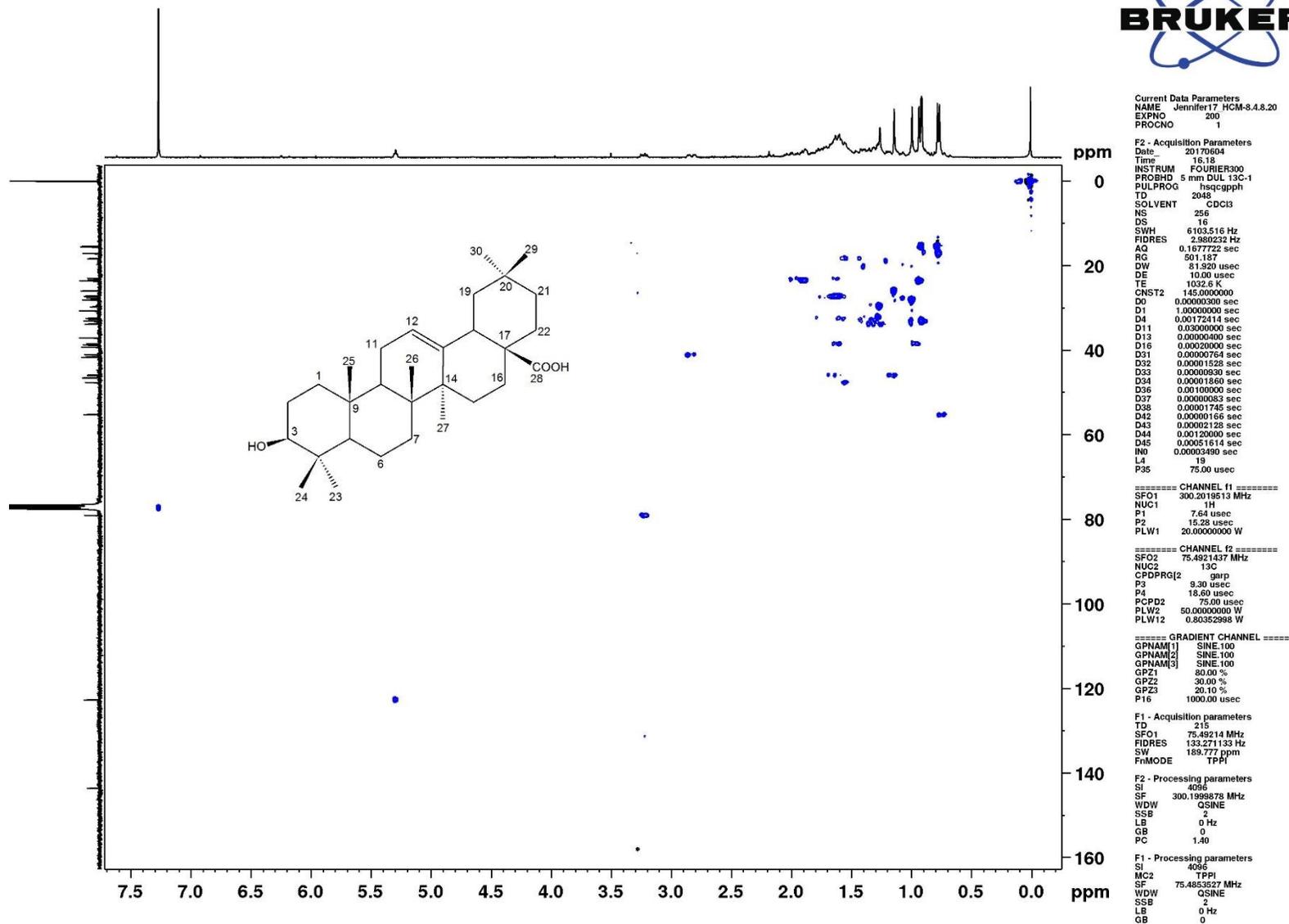
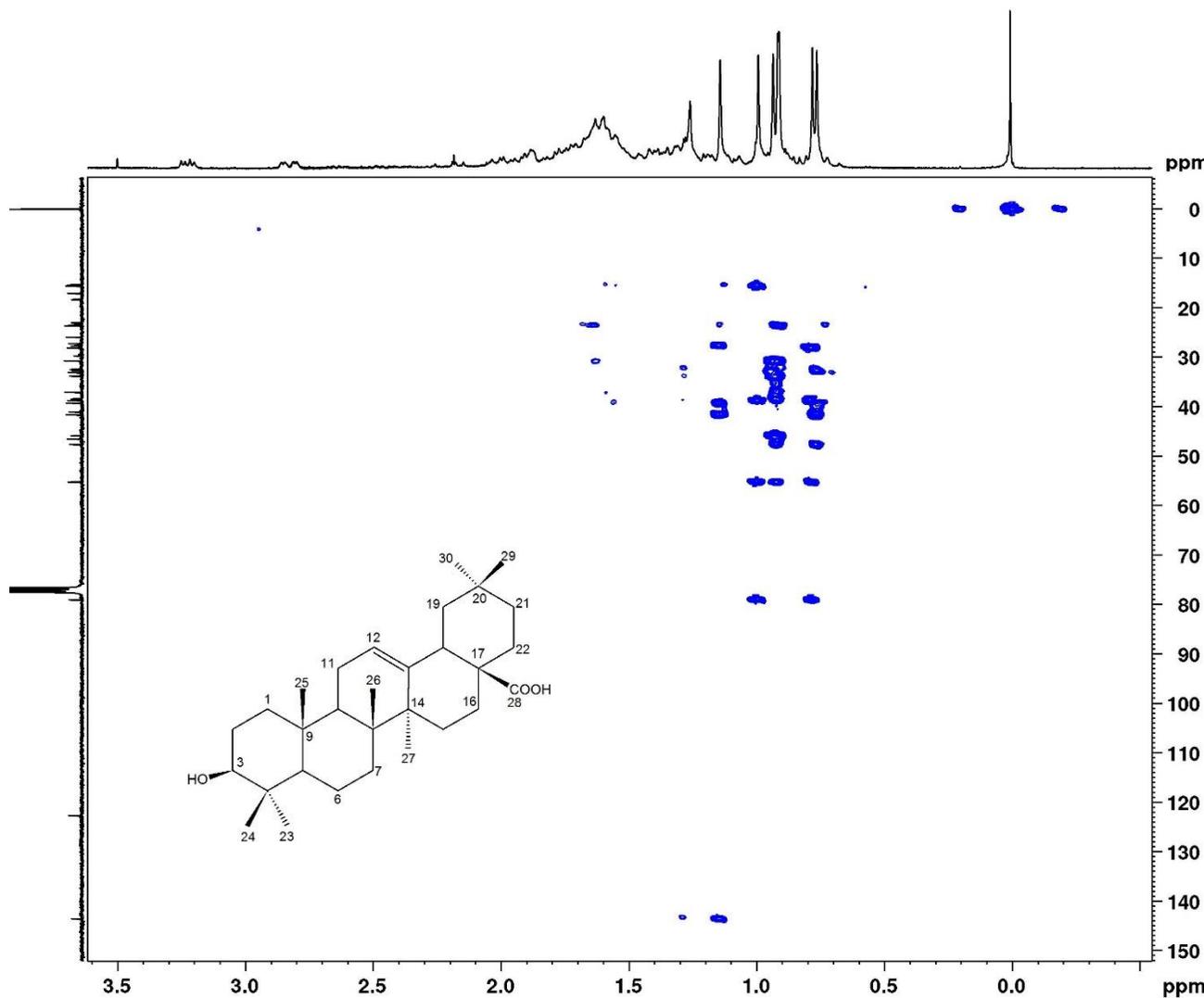


Figura 18. Mapa de contorno HSQC da substância 3 (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>).



Current Data Parameters  
NAME Jennifer7\_HCM-8.4.8.20  
EXPNO 300  
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
Date\_ 20170420  
Time 10.28  
INSTRUM FOURIER300  
PROBHD 5 mm DUL 13C-1  
PULPROG hmbcgp1pndqf  
TD 2048  
SOLVENT CDCl3  
NS 88  
DS 16  
SWH 6103.516 Hz  
FIDRES 2.980232 Hz  
AQ 0.1677722 sec  
RG 501.187  
DW 81.920 usec  
DE 10.00 usec  
TE 985.0 K  
CNST2 145.000000  
CNST13 8.0000000  
D0 0.00000300 sec  
D1 1.00000000 sec  
D2 0.00344828 sec  
D3 0.06250000 sec  
D16 0.00020000 sec  
D31 0.0000764 sec  
D32 0.0001528 sec  
D33 0.0000930 sec  
D36 0.0010000 sec  
D38 0.0002880 sec  
INO 0.0002880 sec

==== CHANNEL f1 =====  
SFO1 300.2019513 MHz  
NUC1 1H  
P1 7.64 usec  
P2 15.28 usec  
PLW1 20.0000000 W

==== CHANNEL f2 =====  
SFO2 75.4932760 MHz  
NUC2 13C  
P3 9.30 usec  
PLW2 50.0000000 W

==== GRADIENT CHANNEL =====  
GPNAM1] SINE.100  
GPNAM2] SINE.100  
GPNAM3] SINE.100  
GPZ1 50.00 %  
GPZ2 30.00 %  
GPZ3 40.10 %  
P16 1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters  
TD 256  
SFO1 75.49328 MHz  
FIDRES 135.633682 Hz  
SW 229.969 ppm  
FnMODE QF

F2 - Processing parameters  
SI 4096  
SF 300.1999956 MHz  
WDW SINE  
SSB 0  
LB 0 Hz  
GB 0  
PC 1.40

F1 - Processing parameters  
SI 4096  
MC2 QF  
SF 75.4853821 MHz  
WDW SINE  
SSB 0  
LB 0 Hz  
GB 0

Figura 19. Mapa de contorno HMBC da substância 3 (75 MHz; CDCl<sub>3</sub>).

### 5.3.4 Identificação da substância 4 (HCM-8.6.6)

A substância **4** (3,2 mg) foi isolada do extrato metanólico (Esquema 5) como um sólido amorfo branco que apresentou fluorescência na luz UV (254 nm) e mancha rosa em CCD após revelação em vanilina sulfúrica. A substância foi caracterizada através das técnicas de RMN ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , HSQC EDIT e HMBC) e EM.

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 21) observou-se três sinais de hidrogênios aromáticos. O par de dubletos em  $\delta$  6,35 (H-23) e  $\delta$  6,42 (H-25) acoplam entre si em meta com constante de  $J = 2,3$  Hz. O sinal em  $\delta$  6,29 integrou para 2H, evidenciando uma simetria nesse anel aromático correspondendo aos hidrogênios H-16 e H-20. O espectro mostrou também um singlete em  $\delta$  3,60 que indica a presença da metoxila e um multiplete em  $\delta$  5,34 característicos de hidrogênios de dupla ligação olefina.

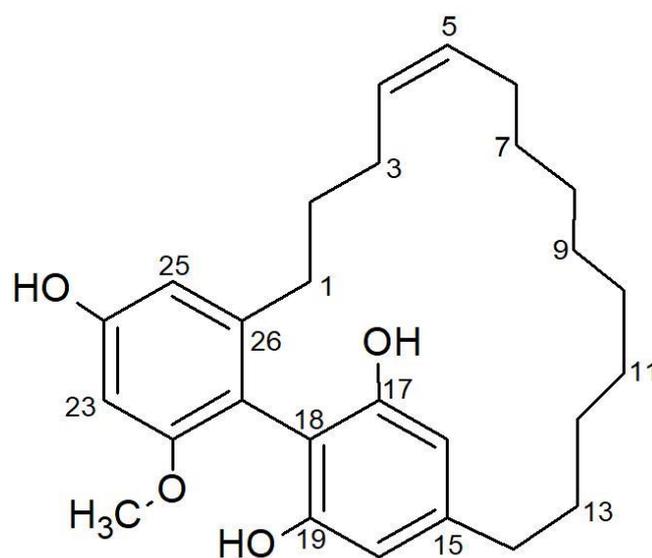
O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 22) mostrou 10 sinais de carbonos de anel aromáticos, sendo os sinais em  $\delta$  107,0 (C-16; C-20) e  $\delta$  155,6 (C-17; C-19) atribuídos para mais de um carbono devido a intensidade do sinal. O carbono em  $\delta$  54,7 confirma a presença da metoxila. Observou-se também vários sinais na região de carbonos metilênicos sugerindo uma cadeia lateral carbônica fechada pela ausência de sinal para metila terminal. Esta afirmação pode ser confirmada pelo mapa de contorno HSQC editado (Figura 23), assim como a correlação dos hidrogênios em  $\delta$  5,34 com os carbonos C-4  $\rightarrow$   $\delta$  129,7 e C-5  $\rightarrow$   $\delta$  129,5 da dupla ligação na cadeia lateral.

Através do mapa de contorno HMBC (Figura 24) foi possível posicionar a metoxila em C-22 pela correlação do hidrogênio  $\delta$  3,60 com os carbonos metínicos em  $\delta$  159,5 (C-22) e 158,2 (C-24). Assim como a dupla ligação em C-4 e C-5, pela correlação dos hidrogênios em  $\delta$  5,34 com os carbonos C-3 ( $\delta$  27,5) e C-6 ( $\delta$  25,6). Dois grupos hidroxílicos foram posicionados em C-17 e C-19 com base nas correlações dos hidrogênios das hidroxilas em  $\delta$  6,89 com os carbonos em  $\delta$  155,6 (C-17; C-19),  $\delta$  108,8 (C-18) e  $\delta$  107,0 (C-16; C-20). O outro grupo OH foi atribuído ao C-24 pela correlação do hidrogênio  $\delta$  8,26 com os carbonos C-23 ( $\delta$  97,0), C-24 (158,2) e C-25 ( $\delta$  107,7).

O espectro de massas (Figura 25) gerado no modo positivo utilizando fonte de ionização eletrospray (ESI), produziu o íon molecular em  $m/z$  425 ( $[\text{M}+1]^+$ ) e os fragmentos em  $m/z$  259 ( $[\text{M}+\text{X}]^+$ ), correspondente a massa molecular do íon mais estável, 245 ( $[\text{M}-\text{X}-\text{C}_{13}\text{H}_{24}]^+$ ) e 299 ( $[\text{M}-\text{X}-\text{C}_9\text{H}_{18}]^+$ ), conforme Esquema 8. Através dos dados obtidos da espectrometria de massas, pode-se propor a fórmula molecular  $\text{C}_{27}\text{H}_{36}\text{O}_4$  para substância 4. O pico do íon molecular em

m/z 425 ( $[M+1]^+$ ) e o fragmento em m/z 245 ( $[M+1]^+$ ), indica a perda de  $C_{13}H_{24}$  referente a cadeia lateral do derivado do ciclofano bisresorcinol (Esquema 8).

Na literatura consultada não foi encontrado nenhum relato sobre o isolamento e a identificação da substância 4, cuja estrutura está sendo descrita pela primeira vez. Contudo, com o resultado da análise dos espectros de RMN e EM (Tabela 15) e comparando esses dados com os descritos na literatura sobre a Kermadecina H (Jolly *et al*, 2008), permitiram identificar a **substância 4** como a metóxicemardecina H (Figura 20).

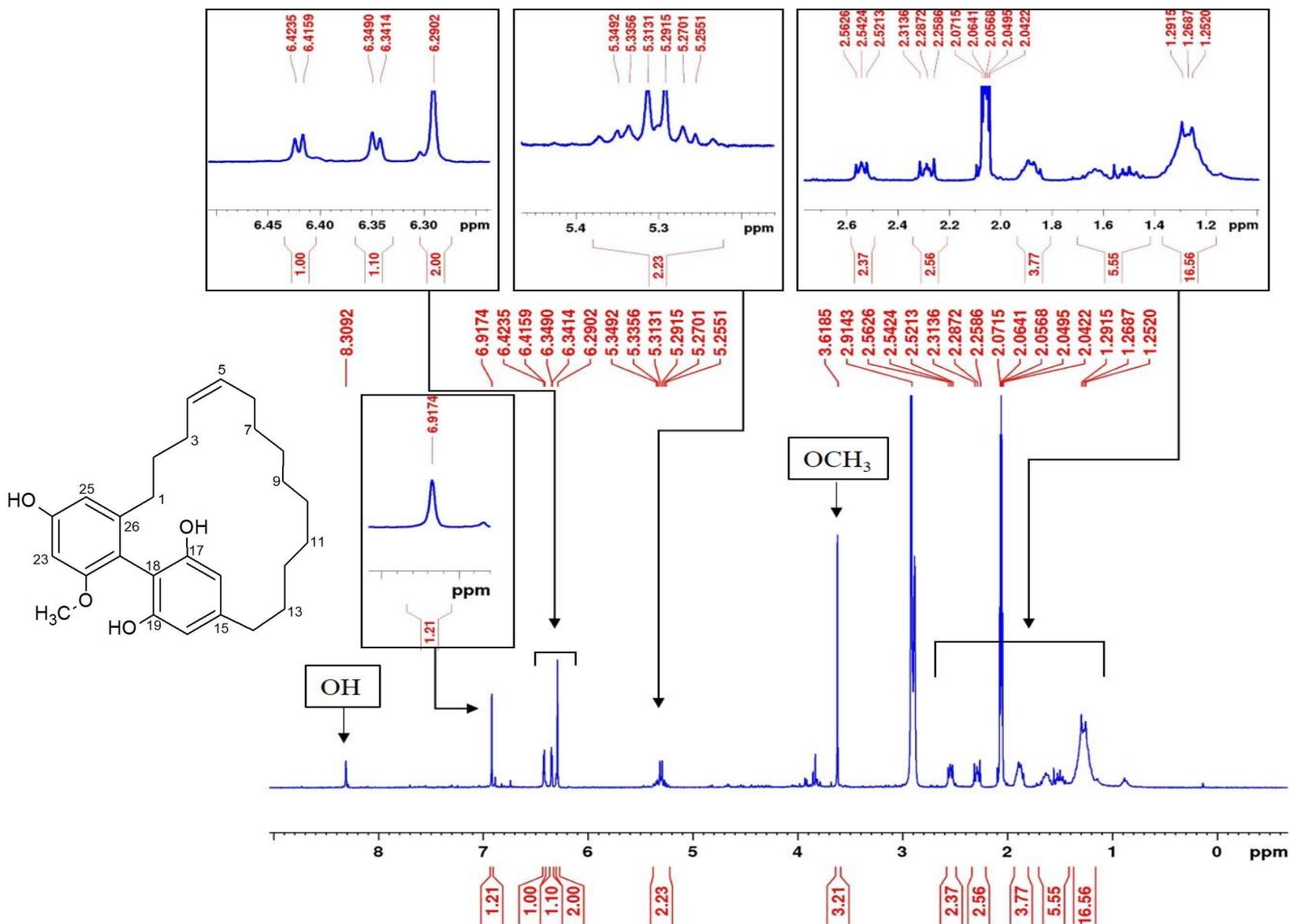


**Figura 20.** Estrutura química da substância 4 (metóxicemardecina H).

**Tabela 15.** Dados de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz),  $^{13}\text{C}$  e HMBC (75 MHz) em Acetona D<sub>6</sub>, da substância **4** em comparação com a literatura.

N <sup>o</sup>	$^1\text{H}$		$^{13}\text{C}$		HMBC
	$\delta$ (ppm), mult; <i>J</i> (Hz)		$\delta$ (ppm)		
	Substância 4	Jolly <i>et al.</i> , 2008*	Substância 4	Jolly <i>et al.</i> , 2008*	Substância 4
<b>1</b>	2,31 (m)	2,25 (m)	33,5	35,2	C-2, C-3, C-21, C-25 e C-26
<b>2</b>	1,55 (m)	1,38 (m)	31,2	32,2	
<b>3</b>	1,88 (m)	1,88 (m)	27,5	29,0	C-1, C-2 e C-4
<b>4</b>	5,34 (m)	5,26 (m)	129,7	130,9	C-3 e C-6
<b>5</b>	5,34 (m)	5,26 (m)	129,5	131,1	C-3 e C-6
<b>6</b>	1,89 (m)	1,88 (m)	25,6	27,1	
<b>7-11</b>	1,29 - 1,24 (m)	1,3 - 1,4 (m)	27,0 -26,0	28,0 - 30,0	
<b>12</b>	1,25 (m)	1,30 (m)	26,5	28,0	
<b>13</b>	1,67 (m)	1,65 (m)	29,9	31,6	
<b>14</b>	2,56 (m)	2,56 (t; 6,9)	34,9	36,7	C-12, C-13, C-15, C-16 e C-20
<b>15</b>	-----	-----	142,6	144,8	
<b>16</b>	6,29 (sl)	6,30 (s)	107,0	108,7	C-14, C-17, C-18, C-19 e C-20
<b>17</b>	-----	-----	155,6	157,4	
<b>18</b>	-----	-----	108,8	109,7	
<b>19</b>	-----	-----	155,6	157,4	
<b>20</b>	6,29 (sl)	6,30 (s)	107,0	108,7	C-14, C-16, C-17, C-18 e C-19
<b>21</b>	-----	-----	111,7	112,6	
<b>22</b>	-----	-----	159,5	157,7	
<b>23</b>	6,35 (d; 2,3)	6,26 (d; 2,4)	97,0	101,6	C-21, C-24 e C-25
<b>24</b>	-----	-----	158,2	159,1	
<b>25</b>	6,42 (d; 2,3)	6,33 (d; 2,4)	107,7	108,9	C-1, C-21 e C-23
<b>26</b>	-----	-----	145,6	147,1	
<b>OMe</b>	3,62 (s)		54,7	-----	C-22
<b><u>OH</u></b> (C-17, C-19)	6,89 (s)				C-16, C-17, C-18 e C-19
<b><u>OH</u></b> (C-24)	8,26 (s)				C-23, C-24 e C-25

\*Solvente: CD<sub>3</sub>OD



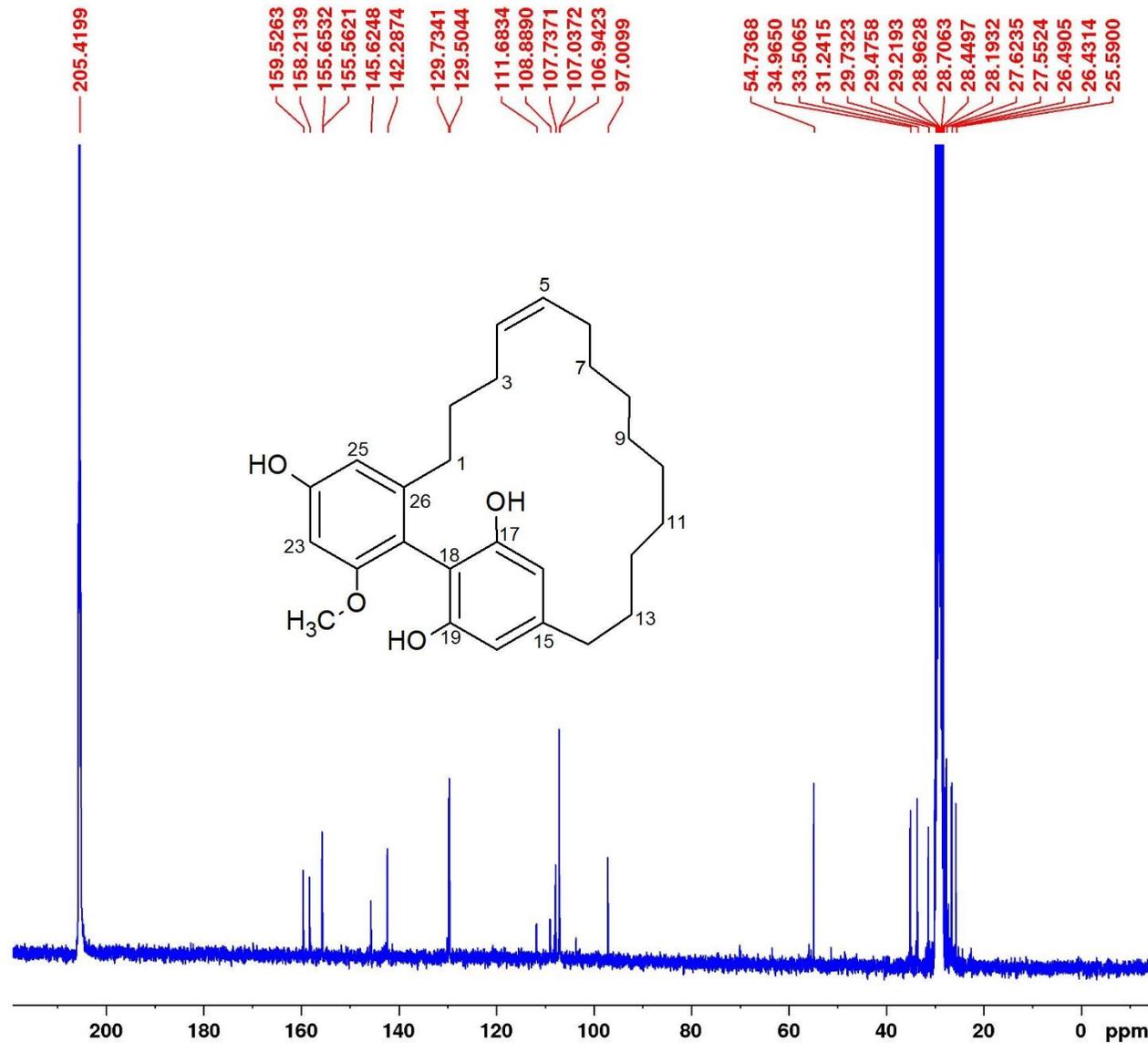
Current Data Parameters  
 NAME Jennifer19\_HCM-8.6.6  
 EXPNO 12  
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
 Date\_ 20190913  
 Time 17.18  
 INSTRUM FOURIER300  
 PROBHD 5 mm DUL 13C-1  
 PULPROG zg  
 TD 65536  
 SOLVENT Acetone  
 NS 32  
 DS 2  
 SWH 6103.516 Hz  
 FIDRES 0.093132 Hz  
 AQ 5.3687091 sec  
 RG 20.7568  
 DW 81.920 usec  
 DE 10.00 usec  
 TE 293.6 K  
 D1 1.00000000 sec  
 TD0 1

===== CHANNEL f1 =====  
 SFO1 300.2019513 MHz  
 NUC1 1H  
 P1 7.88 usec  
 PLW1 20.00000000 W

F2 - Processing parameters  
 SI 65536  
 SF 300.2000000 MHz  
 WDW EM  
 SSB 0  
 LB 0 Hz  
 GB 0  
 PC 1.00

Figura 21. Espectro de RMN <sup>1</sup>H da substância 4 (300 MHz; Acetona D6).



Current Data Parameters  
NAME Jennifer19\_HCM-8.6.6  
EXPNO 2  
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
Date\_ 20190913  
Time 17.31  
INSTRUM FOURIER300  
PROBHD 5 mm DUL 13C-1  
PULPROG zgpg30  
TD 32768  
SOLVENT Acetone  
NS 184320  
DS 0  
SWH 24414.063 Hz  
FIDRES 0.745058 Hz  
AQ 0.6710886 sec  
RG 501.187  
DW 20.480 usec  
DE 10.00 usec  
TE 293.7 K  
D1 0.50000000 sec  
D11 0.03000000 sec  
D31 0.00000875 sec  
D40 0.01589210 sec  
L4 20  
L5 14  
P32 90.00 usec  
TD0 1

===== CHANNEL f1 =====  
SFO1 75.4928982 MHz  
NUC1 13C  
P1 8.75 usec  
PLW1 50.00299835 W

===== CHANNEL f2 =====  
SFO2 300.2012008 MHz  
NUC2 1H  
CPDPRG[2] waltz16  
PCPD2 90.00 usec  
PLW2 20.00000000 W  
PLW12 0.16806000 W  
PLW13 0.13613001 W

F2 - Processing parameters  
SI 32768  
SF 75.4853500 MHz  
WDW EM  
SSB 0  
LB 1.00 Hz  
GB 0  
PC 1.40

Figura 22. Espectro de RMN <sup>13</sup>C da substância 4 (75 MHz; Acetona D6).



Current Data Parameters  
NAME Jennifer19\_HCM-8.6.6  
EXPNO 201  
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
Date\_ 20191021  
Time 17.42  
INSTRUM FOURIER300  
PROBHD 5 mm DUL 13C-1  
PULPROG hsqcaddpph  
TD 2048  
SOLVENT Acetone  
NS 230  
DS 16  
SWH 6103.516 Hz  
FIDRES 2.980232 Hz  
AQ 0.1677722 sec  
RG 501.187  
DW 91.920 usec  
DE 10.00 usec  
TE 293.0 K  
CNST2 145.0000000  
D0 0.0000000 sec  
D1 1.0000000 sec  
D4 0.00172414 sec  
D11 0.03000000 sec  
D13 0.00000400 sec  
D16 0.00020000 sec  
D21 0.00344828 sec  
D31 0.00000764 sec  
D32 0.00001528 sec  
D33 0.00000930 sec  
D34 0.00001860 sec  
D36 0.00100000 sec  
D38 0.00001745 sec  
D41 0.00000166 sec  
D42 0.00000332 sec  
D43 0.00002128 sec  
D44 0.00224428 sec  
D45 0.00051814 sec  
INO 0.00003490 sec  
L4 19  
P35 75.00 usec

===== CHANNEL f1 =====  
SFO1 300.2019513 MHz  
NUC1 1H  
P1 7.64 usec  
P2 15.28 usec  
PLW1 20.0000000 W

===== CHANNEL f2 =====  
SFO2 75.4921437 MHz  
NUC2 13C  
CPDPRG2 gmrp  
P3 9.30 usec  
P4 18.60 usec  
PCPD2 75.00 usec  
PLW2 50.0000000 W  
PLW12 0.80352968 W

===== GRADIENT CHANNEL =====  
GPNAM[1] RECT.1  
GPNAM[2] RECT.1  
GPNAM[3] RECT.1  
GPZ1 30.00 %  
GPZ2 80.00 %  
GPZ3 20.10 %  
P16 1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters  
TD 212  
SFO1 75.49214 MHz  
FIDRES 134.522507 Hz  
SW 199.777 ppm  
FMODE TPPI

F2 - Processing parameters  
SI 8096  
SF 300.2000000 MHz  
WDW QSINE  
SSB 2  
LB 0 Hz  
GB 0  
PC 1.40

F1 - Processing parameters  
SI 4096  
MC2 TPPI  
SF 75.4853500 MHz  
WDW QSINE  
SSB 2  
LB 0 Hz  
GB 0

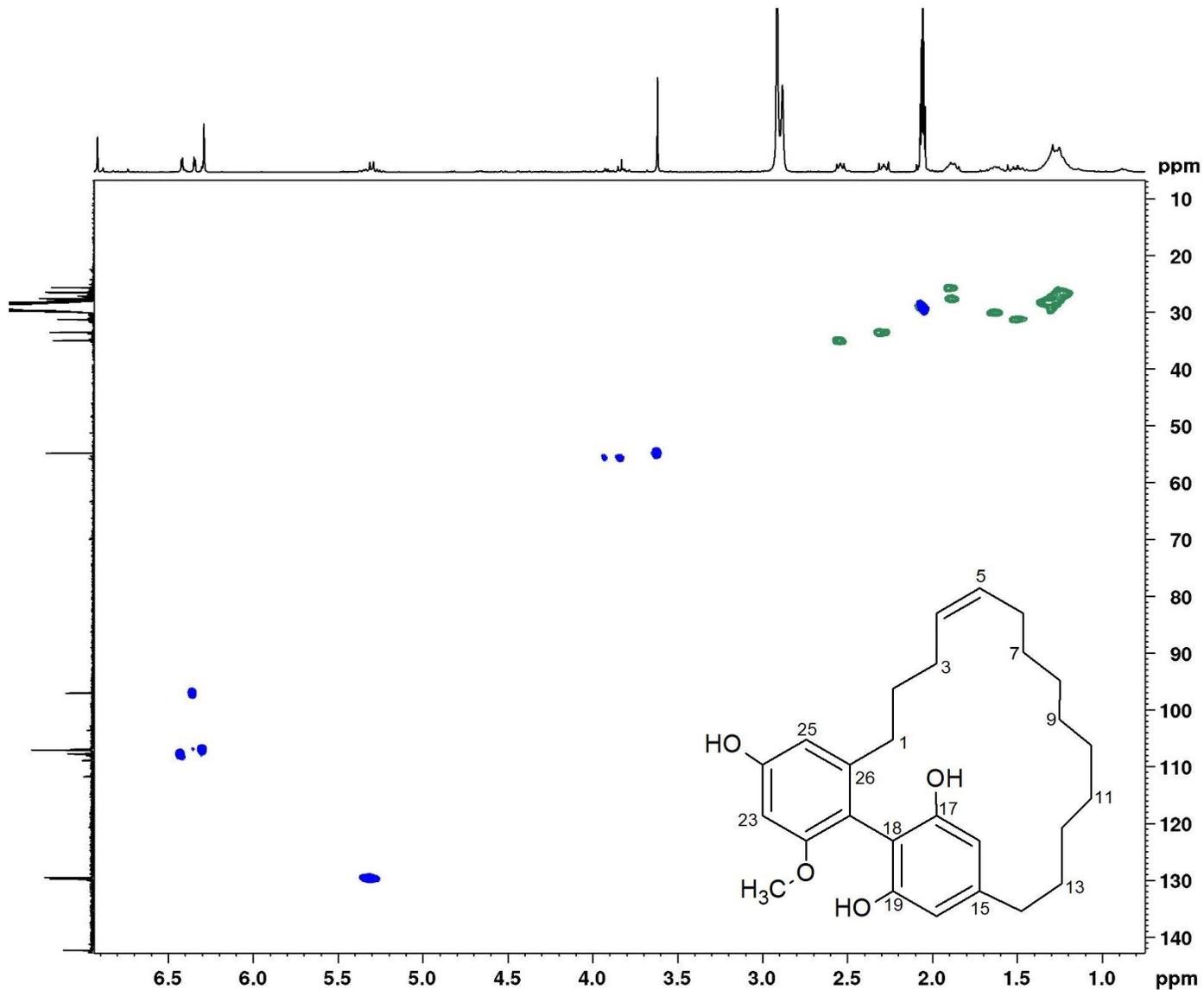


Figura 23. Mapa de contorno HSQC da substância 4 (75 MHz; Acetona D6).



Current Data Parameters  
NAME Jennifer19\_HCM-8.6.6  
EXPNO 300  
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
Date\_ 20190906  
Time 15.26  
INSTRUM FOURIER300  
PROBHD 5 mm DUL 13C-1  
PULPROG hmbcgp1pndqf  
TD 2048  
SOLVENT Acetone  
NS 576  
DS 16  
SWH 6103.516 Hz  
FIDRES 2.980232 Hz  
AQ 0.1677722 sec  
RG 501.187  
DW 81.920 usec  
DE 10.00 usec  
TE 292.9 K  
CNST2 145.000000  
CNST13 7.000000  
D0 0.00000300 sec  
D1 1.00000000 sec  
D2 0.09344828 sec  
D6 0.07142857 sec  
D16 0.00020000 sec  
D31 0.00000764 sec  
D32 0.00001528 sec  
D33 0.00000830 sec  
D36 0.00100000 sec  
D38 0.00003010 sec  
IN0 0.00003010 sec

==== CHANNEL f1 =====  
SFO1 300.2019813 MHz  
NUC1 1H  
P1 7.64 usec  
P2 15.28 usec  
PLW1 20.00000000 W

==== CHANNEL f2 =====  
SFO2 75.4932760 MHz  
NUC2 13C  
P3 9.30 usec  
PLW2 50.00000000 W

==== GRADIENT CHANNEL =====  
GPNAM[1] SINE:100  
GPNAM[2] SINE:100  
GPNAM[3] SINE:100  
GPZ1 50.00 %  
GPZ2 30.00 %  
GPZ3 40.10 %  
P16 1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters  
TD 256  
SFO1 75.49328 MHz  
FIDRES 129.775742 Hz  
SW 220.037 ppm  
FnMODE QF

F2 - Processing parameters  
SI 4096  
SF 300.2000000 MHz  
WDW SINE  
SSB 0  
LB 0 Hz  
GB 0  
PC 1.40

F1 - Processing parameters  
SI 4096  
MC2 QF  
SF 75.4853900 MHz  
WDW SINE  
SSB 0  
LB 0 Hz  
GB 0

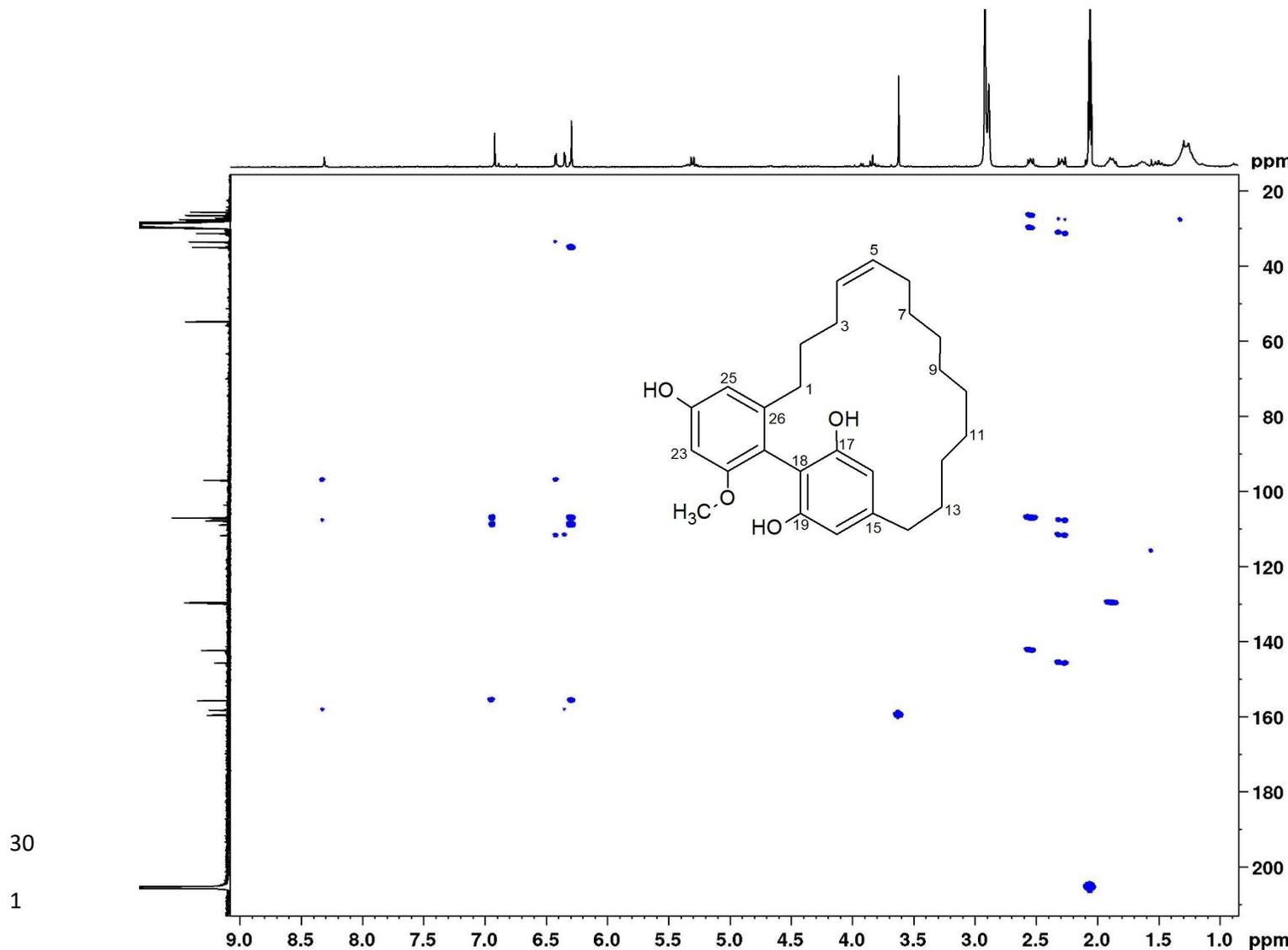


Figura 24. Mapa de contorno HMBC da substância 4 (75 MHz; Acetona D6).

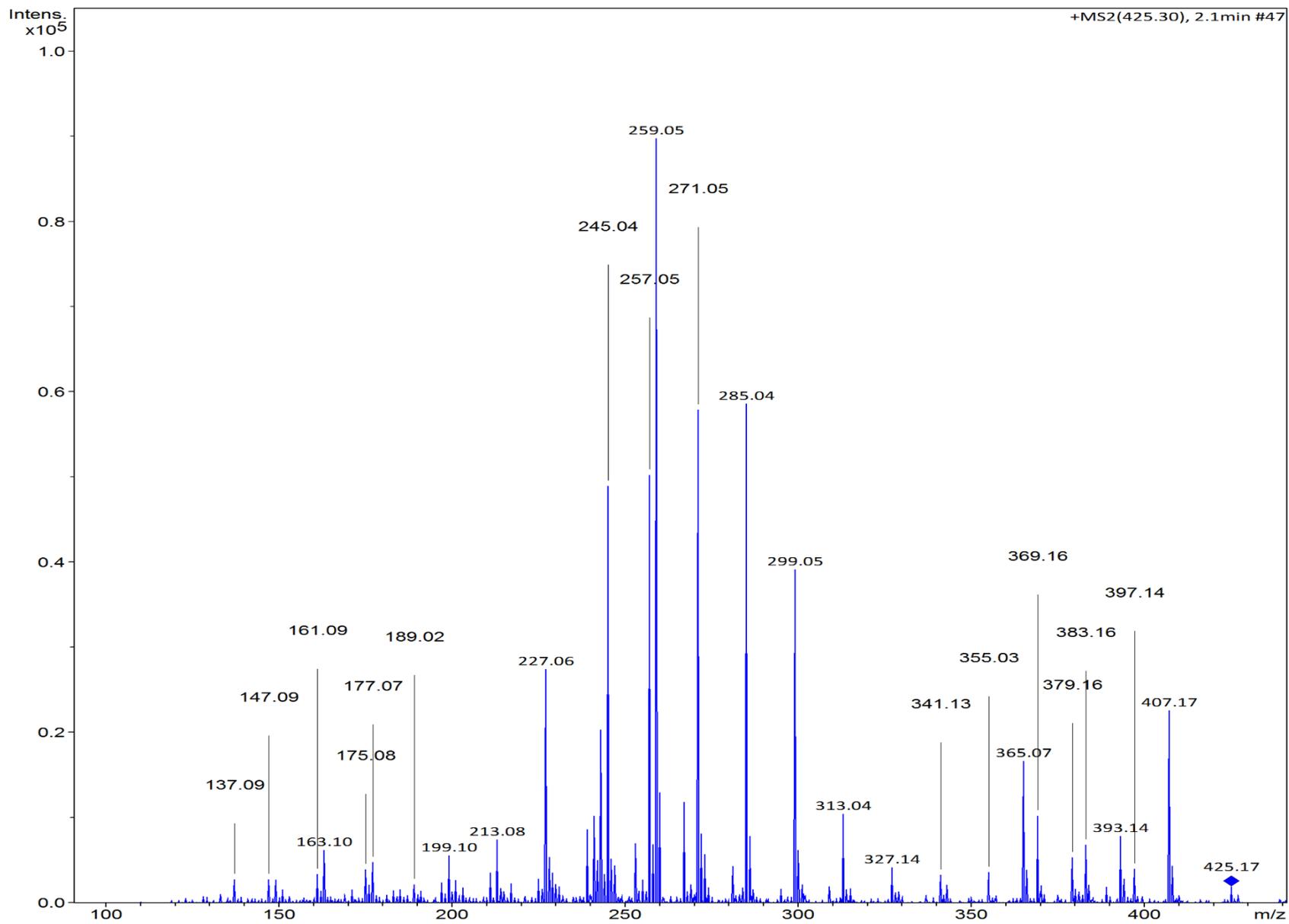
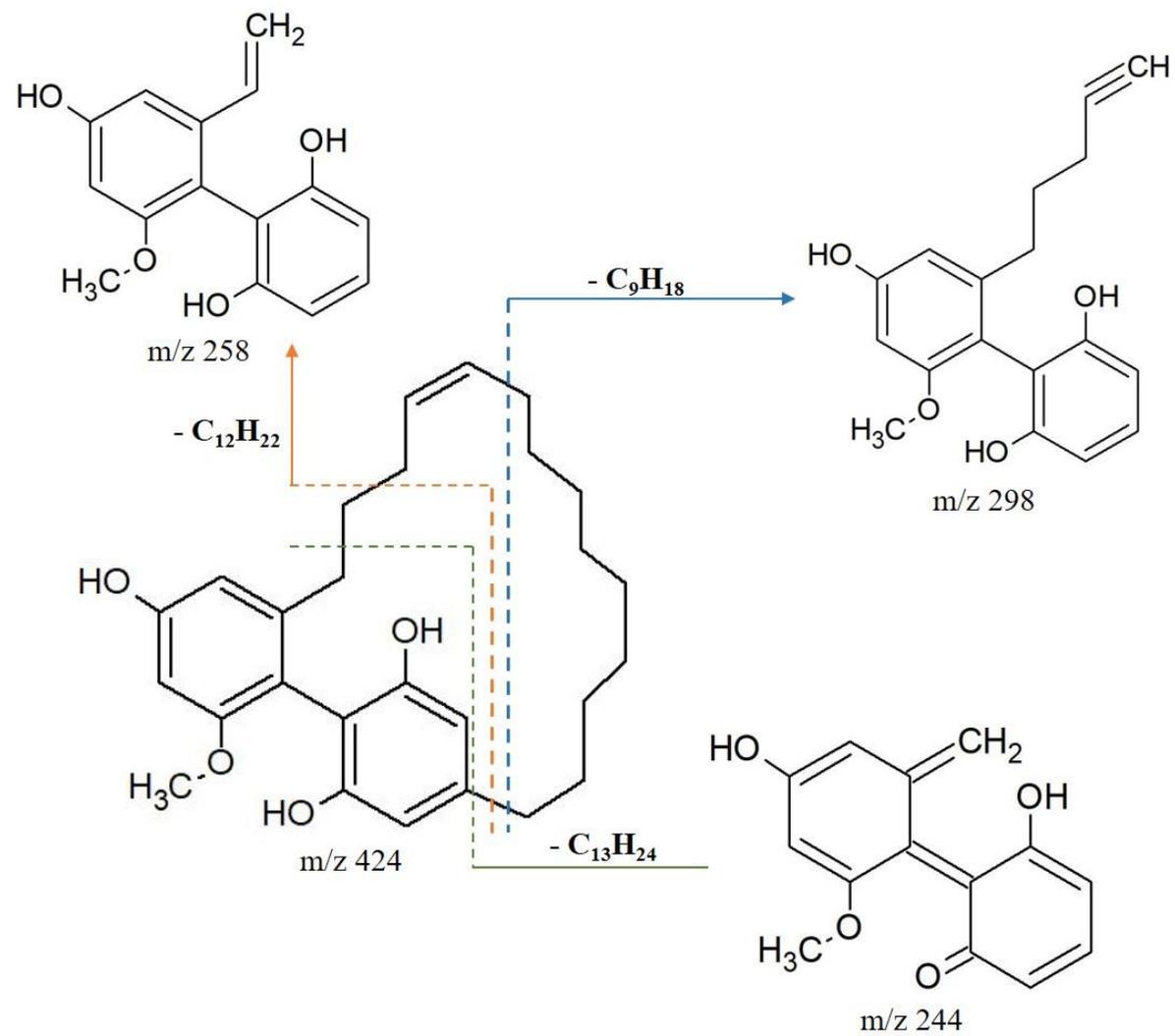


Figura 25. Espectro de massas da substância 4 (ESI, modo positivo).



**Esquema 8.** Proposta de fragmentação da metóxicemardecina H

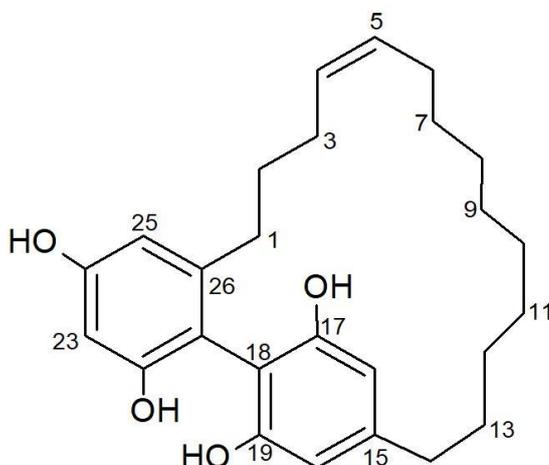
### 5.3.5. Identificação da substância 5 (HCM-8.6.13)

A substância **5** (4,3 mg) foi isolada do extrato metanólico (Esquema 5) como um sólido amorfo amarelo que apresentou fluorescência na luz UV (254 nm) e mancha rosa em CCD após revelação em vanilina sulfúrica. A substância foi caracterizada através das técnicas de RMN ( $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , HSQC EDIT e HMBC) e EM.

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 27) verificou-se o mesmo perfil de sinais do espectro da substância **4**, com exceção de um singlete em  $\delta$  7,16 característico de grupo hidroxila e da ausência de sinal de metoxila ( $\delta$  3,60). Assim como, ausência do sinal de metoxila no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 28). No mapa de contorno HMBC (Figura 30) o hidrogênio em  $\delta$  7,16 do grupo hidroxila correlacionou com os carbonos em  $\delta$  109,9 (C-21), 156,7 (C-22) e 100,4 (C-23), podendo posicioná-lo em C-22.

No espectro de EM (Figura 31) gerado no modo positivo utilizando fonte de ionização eletrospray (ESI), produziu o íon molecular em  $m/z$  411 ( $[\text{M}+1]^+$ ) e os fragmentos em  $m/z$  245 ( $[\text{M}+\text{X}]^+$ ), correspondente a massa molecular do íon mais estável, 231 ( $[\text{M}-\text{X}-\text{C}_{13}\text{H}_{24}]^+$ ) e 285 ( $[\text{M}-\text{X}-\text{C}_9\text{H}_{18}]^+$ ), conforme Esquema 9. Através dos dados obtidos da espectrometria de massas, pode-se propor a fórmula molecular  $\text{C}_{26}\text{H}_{34}\text{O}_4$  para substância 4. O pico do íon molecular em  $m/z$  411 ( $[\text{M}+1]^+$ ) e o fragmento em  $m/z$  231 ( $[\text{M}+1]^+$ ), indica a perda de  $\text{C}_{13}\text{H}_{24}$  referente a cadeia lateral do derivado do ciclofano bisresorcinol (Esquema 9).

Com o resultado da análise dos espectros de RMN e EM (Tabela 16) e comparando esses dados com os descritos na literatura (Jolly *et al.*, 2008), permitiram identificar a **substância 5** como a kemardecina H (Figura 26). Sendo este o primeiro relato da substância na família Fabaceae.

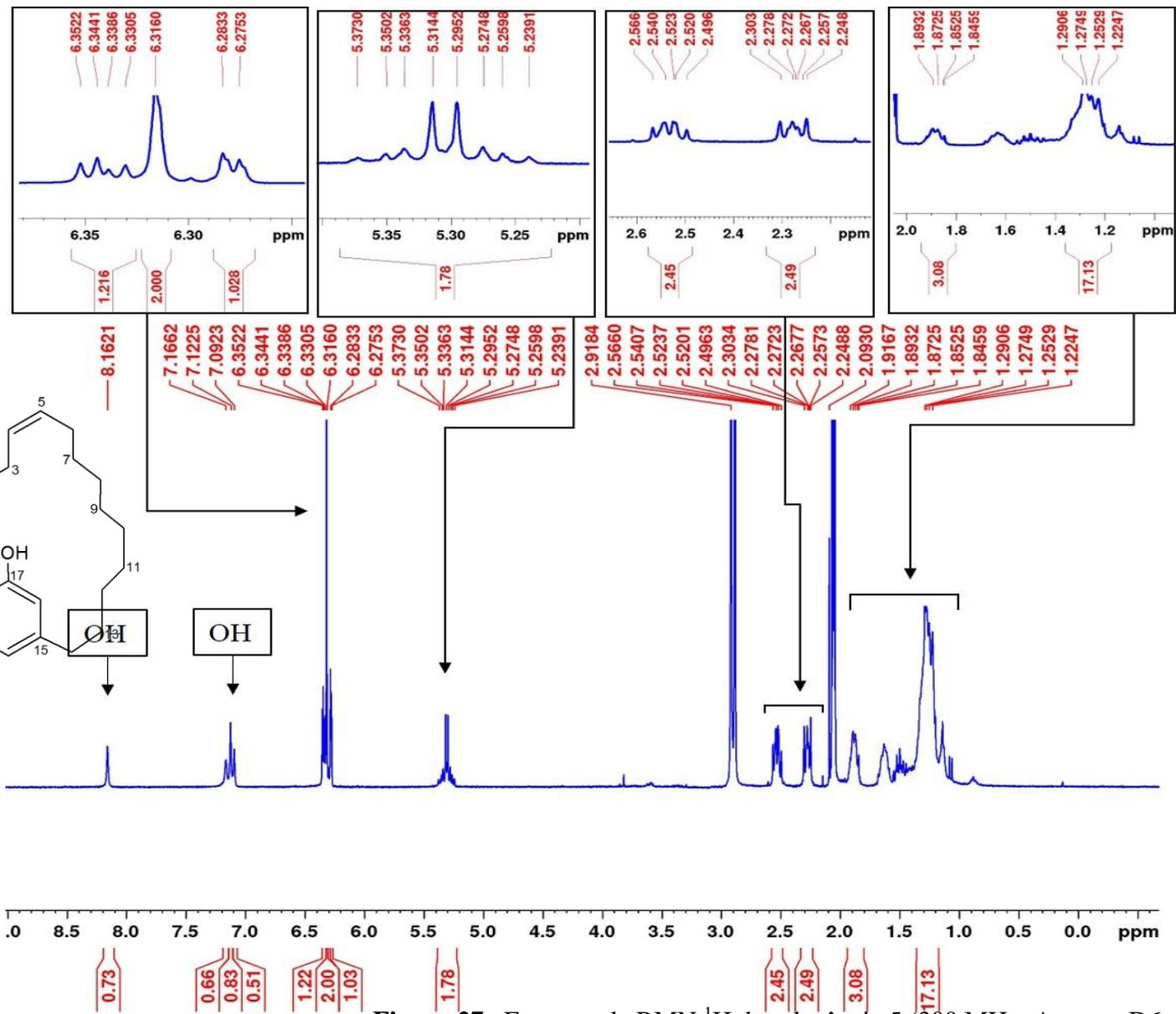


**Figura 26.** Estrutura química da substância 5 (kemardecina H)

**Tabela 16.** Dados de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz),  $^{13}\text{C}$  e HMBC (75 MHz) em Acetona D6, da substância **5** em comparação com a literatura.

N <sup>o</sup>	$^1\text{H}$		$^{13}\text{C}$		HMBC
	$\delta$ (ppm), mult; $J$ (Hz)		$\delta$ (ppm)		
	Substância 5	Jolly <i>et al.</i> , 2008*	Substância 5	Jolly <i>et al.</i> , 2008*	
<b>1</b>	2,31 (m)	2,25 (m)	33,6	35,2	C-2, C-3, C-25, C-21 e C-26
<b>2</b>	1,59 (m)	1,38 (m)	31,2	32,2	
<b>3</b>	1,88 (m)	1,88 (m)	27,6	29,0	C-1, C-2 e C-4
<b>4</b>	5,37 (m)	5,26 (m)	129,7	130,9	C-6 e C-3
<b>5</b>	5,37 (m)	5,26 (m)	129,4	131,1	C-6 e C-3
<b>6</b>	1,91 (m)	1,88 (m)	25,6	27,1	
<b>7-11</b>	1,29 -1,22 (m)	1,3 - 1,4 (m)	27,0-26,0	28,0 -30,0	
<b>12</b>	1,29 (m)	1,30 (m)	27,2	28,0	
<b>13</b>	1,65 (m)	1,65 (m)	27,9	31,6	
<b>14</b>	2,56 (t; 6,9)	2,56 (t; 6,9)	34,9	36,7	C-15, C-16 e C-20
<b>15</b>	-----	-----	143,0	144,8	
<b>16</b>	6,31 (sl)	6,30 (s)	107,2	108,7	C-14, C-20 e C-21
<b>17</b>	-----	-----	156,1	157,4	
<b>18</b>	-----	-----	109,6	109,7	
<b>19</b>	-----	-----	156,1	157,4	
<b>20</b>	6,31 (sl)	6,30 (s)	107,2	108,7	C-14, C-16 e C-21
<b>21</b>	-----	-----	109,9	112,6	
<b>22</b>	-----	-----	156,7	157,7	
<b>23</b>	6,28 (d; 2,4)	6,26 (d; 2,4)	100,4	101,6	C-24
<b>24</b>	-----	-----	158,1	159,1	
<b>25</b>	6,35 (d; 2,4)	6,33 (d; 2,4)	107,5	108,9	C-23 e C-21
<b>26</b>	-----	-----	145,6	147,1	
<b><u>OH</u></b> (C-17, C-19)	7,12 (s)				C-20, C-16, C-17 e C-18
<b><u>OH</u></b> (C-22)	7,16 (s)				C-23, C-21 e C-22
<b><u>OH</u></b> (C-24)	8,16 (s)				C-23, C-25 e C-24

\*Solvente: CD<sub>3</sub>OD



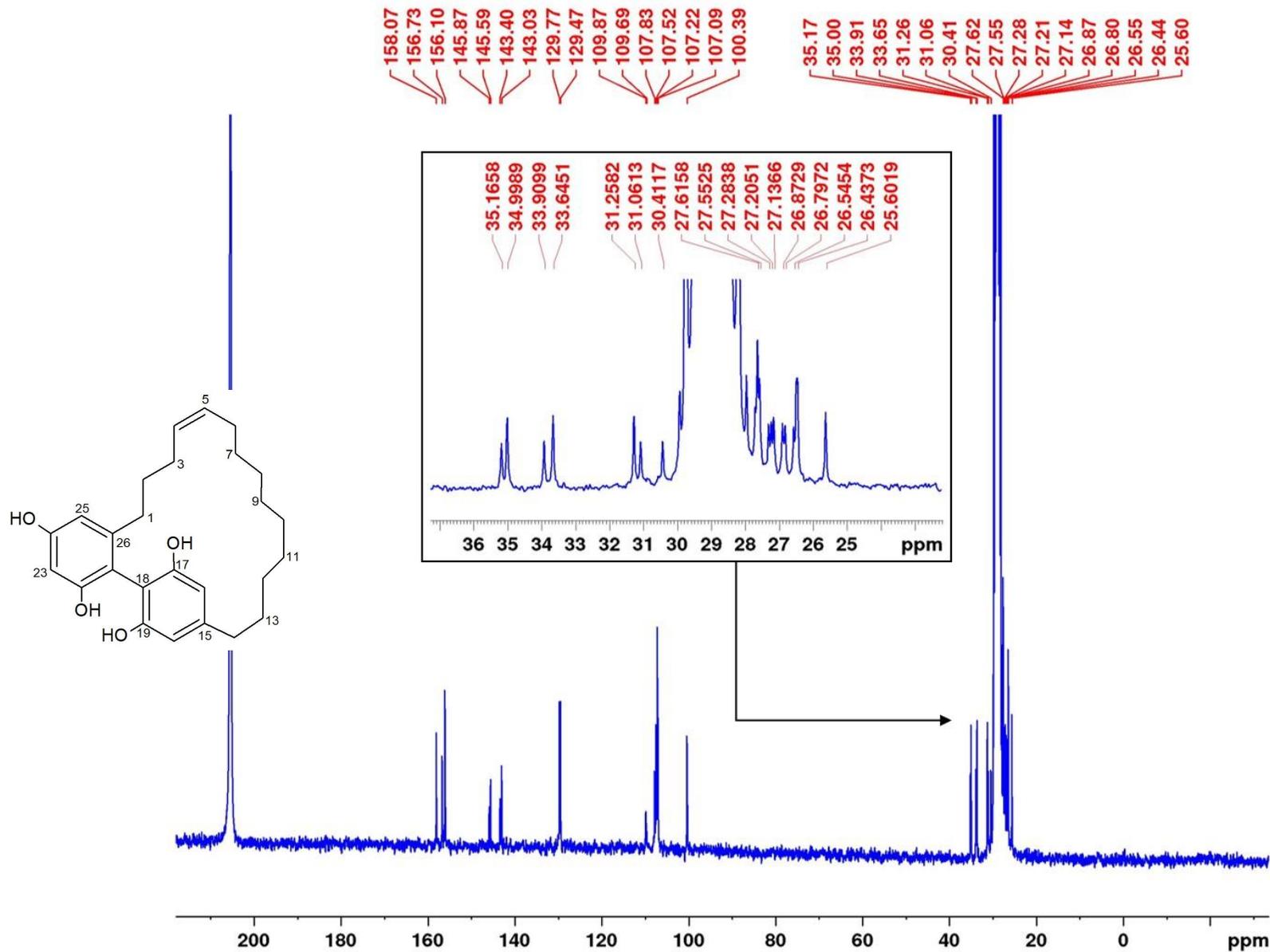
Current Data Parameters  
 NAME Jennifer19\_HCM-8.6.13  
 EXPNO 1  
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
 Date\_ 20190823  
 Time 9.14  
 INSTRUM FOURIER300  
 PROBHD 5 mm DUL 13C-1  
 PULPROG zg  
 TD 65536  
 SOLVENT Acetone  
 NS 32  
 DS 0  
 SWH 6103.516 Hz  
 FIDRES 0.093132 Hz  
 AQ 5.3687091 sec  
 RG 18.789  
 DW 81.920 usec  
 DE 10.00 usec  
 TE 293.3 K  
 D1 1.00000000 sec  
 TD0 1

==== CHANNEL f1 =====  
 SFO1 300.2019513 MHz  
 NUC1 1H  
 P1 7.64 usec  
 PLW1 20.00000000 W

F2 - Processing parameters  
 SI 65536  
 SF 300.2000000 MHz  
 WDW EM  
 SSB 0  
 LB 0 Hz  
 GB 0  
 PC 1.00

Figura 27. Espectro de RMN <sup>1</sup>H da substância 5 (300 MHz; Acetona D6)



Current Data Parameters  
 NAME Jennifer19\_HCM-8.6.13  
 EXPNO 2  
 PROCNO 1

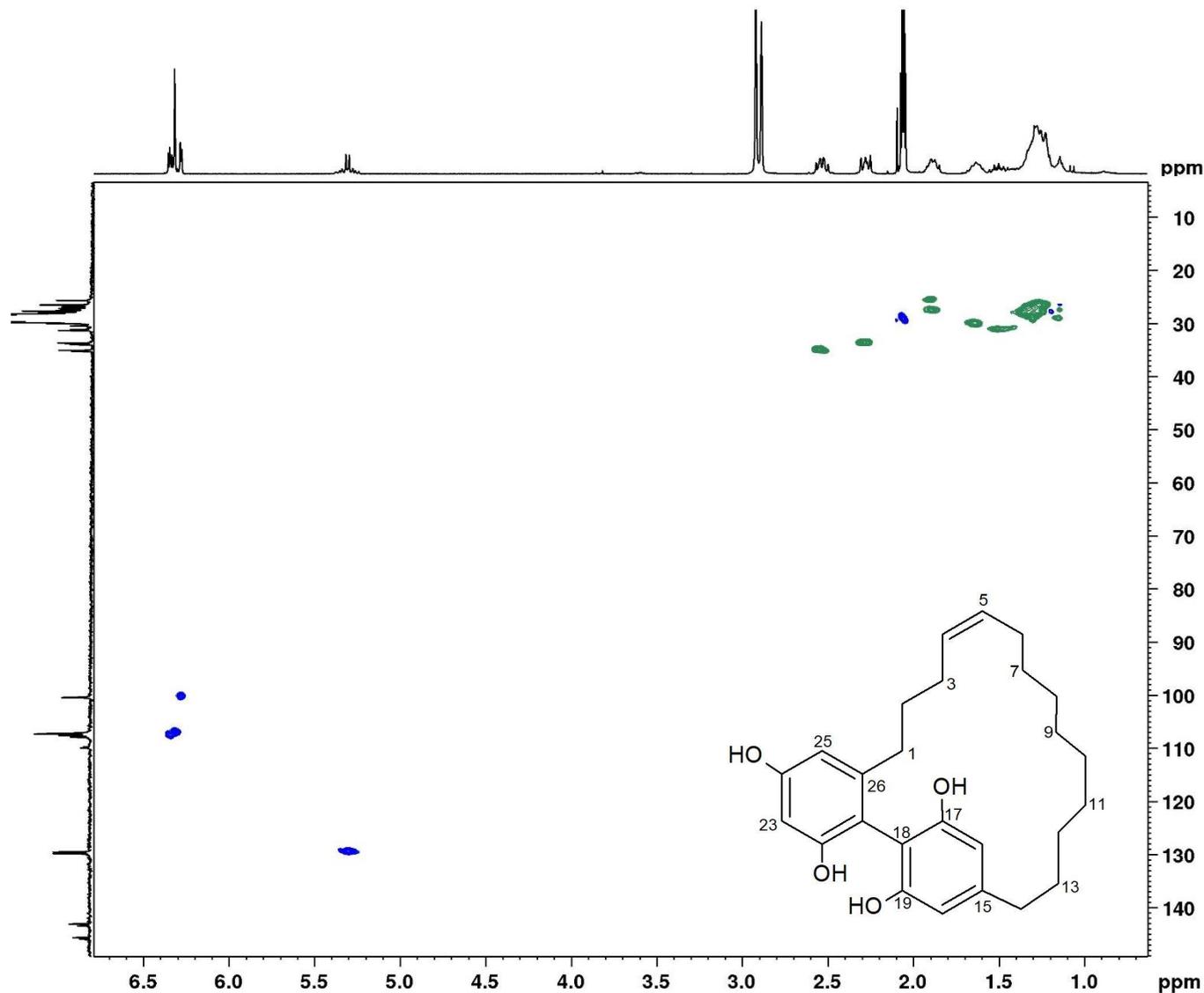
F2 - Acquisition Parameters  
 Date\_ 20190928  
 Time 17.03  
 INSTRUM FOURIER300  
 PROBHD 5 mm DUL 13C-1  
 PULPROG zgpg30  
 TD 32768  
 SOLVENT Acetone  
 NS 133120  
 DS 0  
 SWH 24414.063 Hz  
 FIDRES 0.745058 Hz  
 AQ 0.6710886 sec  
 RG 501.187  
 DW 20.480 usec  
 DE 10.00 usec  
 TE 292.3 K  
 D1 0.3000001 sec  
 D11 0.03000000 sec  
 D31 0.00000875 sec  
 D40 0.02336821 sec  
 L4 20  
 L5 8  
 P32 90.00 usec  
 TD0 1

==== CHANNEL f1 =====  
 SFO1 75.4928982 MHz  
 NUC1 13C  
 P1 8.75 usec  
 PLW1 50.00299835 W

==== CHANNEL f2 =====  
 SFO2 300.2012008 MHz  
 NUC2 1H  
 CPDPRG[2] waltz16  
 PCPD2 90.00 usec  
 PLW2 20.00000000 W  
 PLW12 0.16806000 W  
 PLW13 0.13613001 W

F2 - Processing parameters  
 SI 32768  
 SF 75.4853500 MHz  
 WDW EM  
 SSB 0  
 LB 3.00 Hz  
 GB 0  
 PC 1.40

Figura 28. Espectro de RMN <sup>13</sup>C da substância 5 (75 MHz; Acetona D<sub>6</sub>).



Current Data Parameters  
NAME Jennifer19\_HCM-8.6.13  
EXPNO 200  
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
Date\_ 20190923  
Time 17.26  
INSTRUM FOURIER300  
PROBHD 5 mm DUL 13C-1  
PULPROG hsqcedgpph  
TD 2048  
SOLVENT Acetone  
NS 196  
DS 16  
SWH 6103.516 Hz  
FIDRES 2.980232 Hz  
AQ 0.1677722 sec  
RG 501.187  
DW 81.920 usec  
DE 10.00 usec  
TE 293.2 K  
CNST2 145.0000000  
D0 0.00000300 sec  
D1 1.00000000 sec  
D4 0.00172414 sec  
D11 0.03000000 sec  
D13 0.00000400 sec  
D16 0.00020000 sec  
D21 0.00344828 sec  
D31 0.00000764 sec  
D32 0.00001528 sec  
D33 0.00000930 sec  
D34 0.00001860 sec  
D38 0.00100000 sec  
D38 0.00001745 sec  
D41 0.00000166 sec  
D42 0.00000332 sec  
D43 0.00002128 sec  
D44 0.00224428 sec  
D45 0.00051614 sec  
INO 0.00003490 sec  
L4 19  
P35 75.00 usec

==== CHANNEL f1 =====  
SFO1 300.2019513 MHz  
NUC1 1H  
P1 7.64 usec  
P2 15.28 usec  
PLW1 20.0000000 W

==== CHANNEL f2 =====  
SFO2 75.4921437 MHz  
NUC2 13C  
CPDPRG2 garp  
P3 9.30 usec  
P4 18.60 usec  
PCPD2 75.00 usec  
PLW2 50.0000000 W  
PLW2 0.80352998 W

==== GRADIENT CHANNEL =====  
GPNAM[1] RECT.1  
GPNAM[2] RECT.1  
GPNAM[3] RECT.1  
GPZ1 30.00 %  
GPZ2 80.00 %  
GPZ3 20.10 %  
P16 1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters  
TD 256  
SFO1 75.49214 MHz  
FIDRES 111.9298933 Hz  
SW 189.777 ppm  
FnMODE TPPI

F2 - Processing parameters  
SI 4096  
SF 300.2000026 MHz  
WDW GSINE  
SSB 2  
LB 0 Hz  
GB 0  
PC 1.00

F1 - Processing parameters  
SI 4096  
MC2 TPPI  
SF 75.4853672 MHz  
WDW GSINE  
SSB 2  
LB 0 Hz  
GB 0

Figura 29. Mapa de contorno HSQC da substância 5 (75 MHz; Acetona D6).

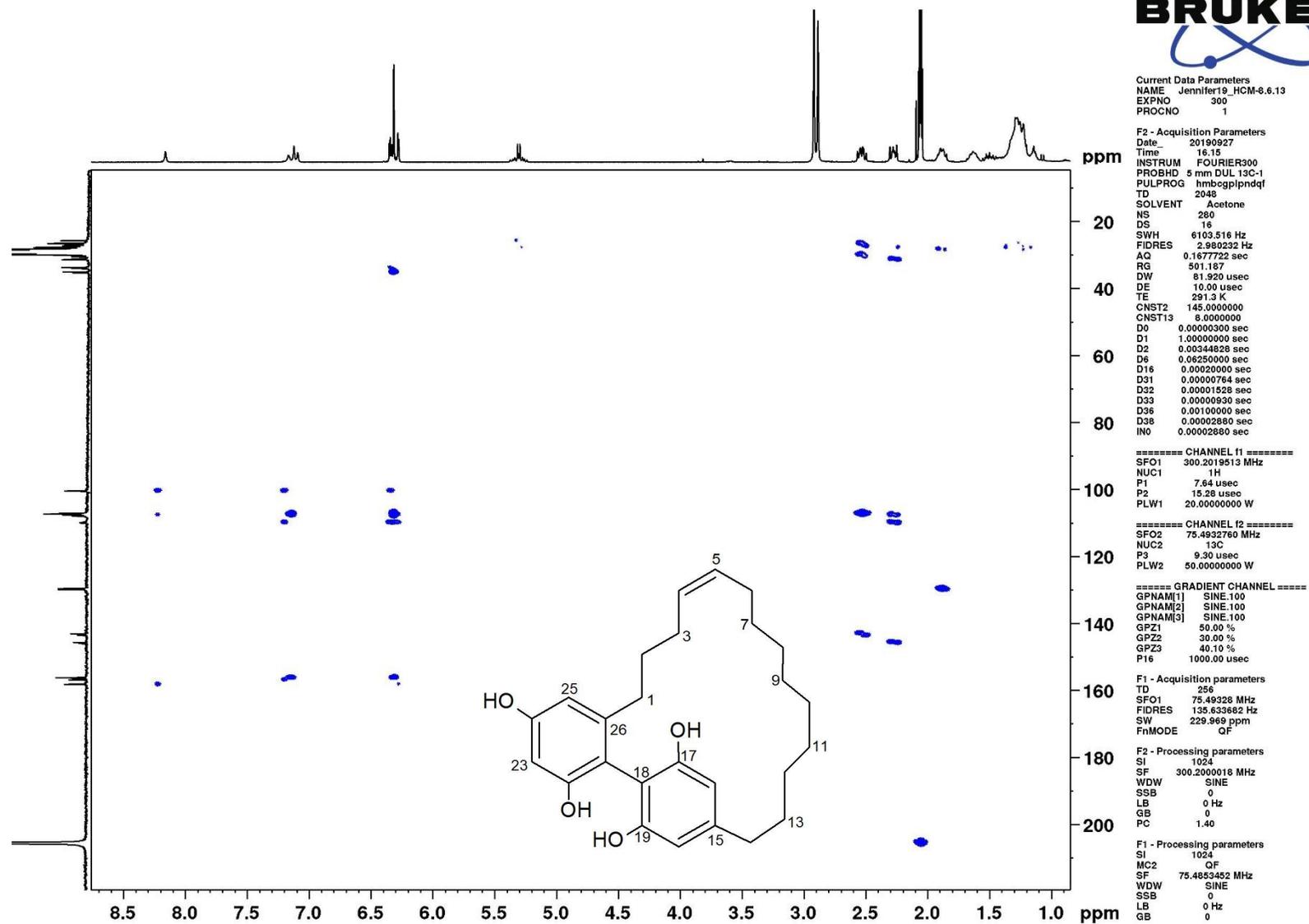


Figura 30. Mapa de contorno HMBC da substância 5 (75 MHz; Acetona D6).

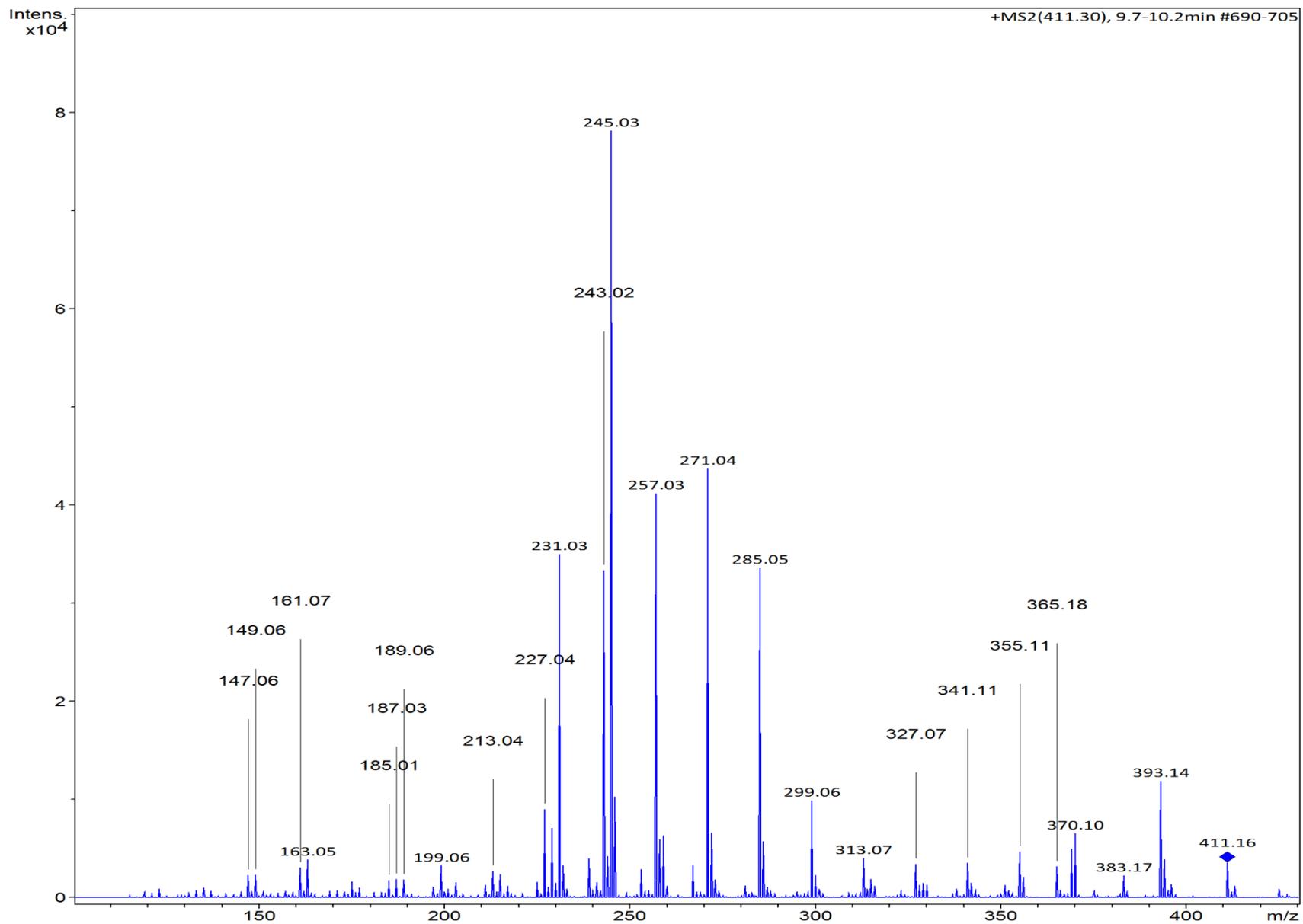
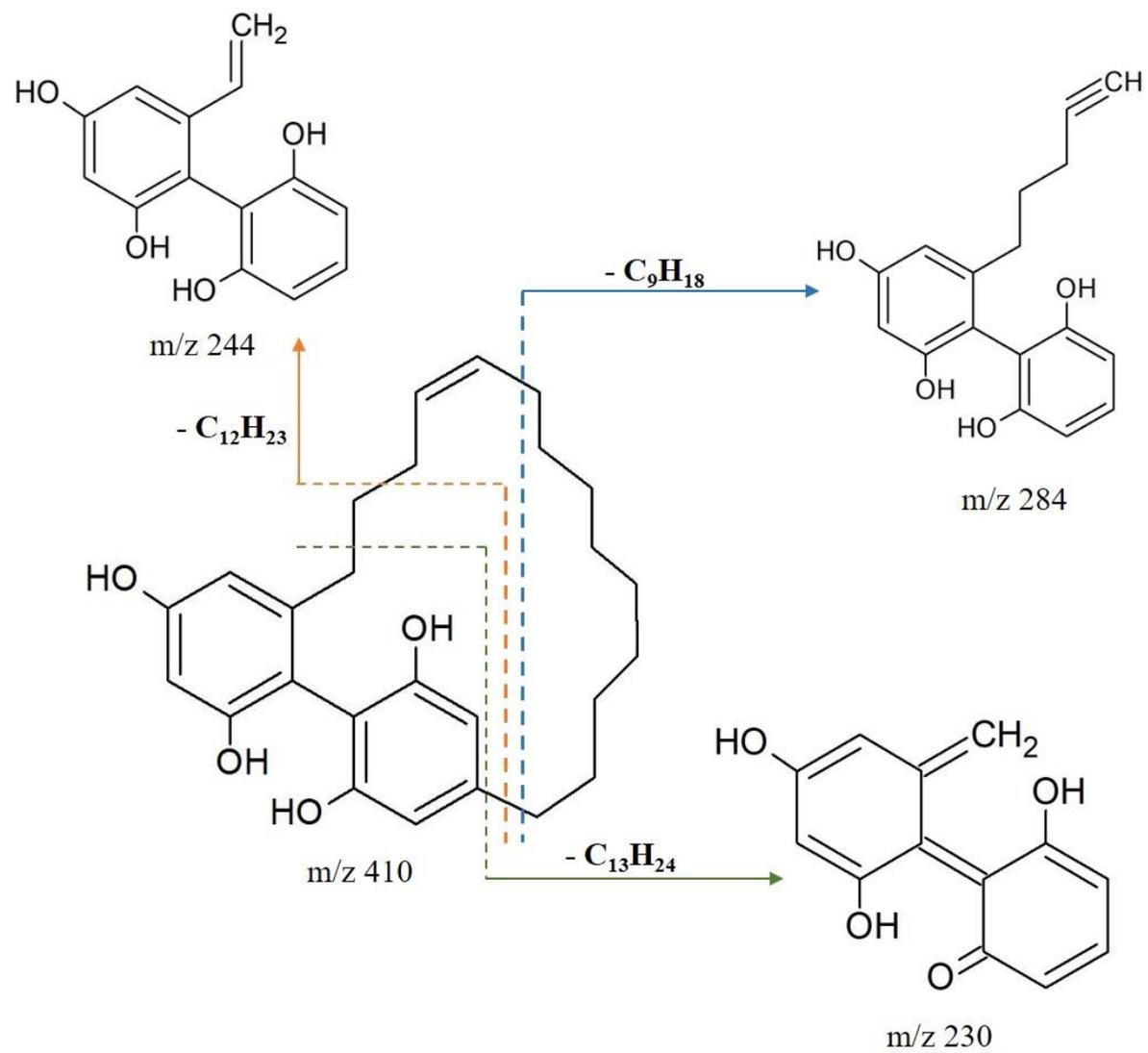


Figura 31. Espectro de Massas da substância 5 (ESI, modo positivo)



**Esquema 9.** Proposta de fragmentação da kemardecina H.

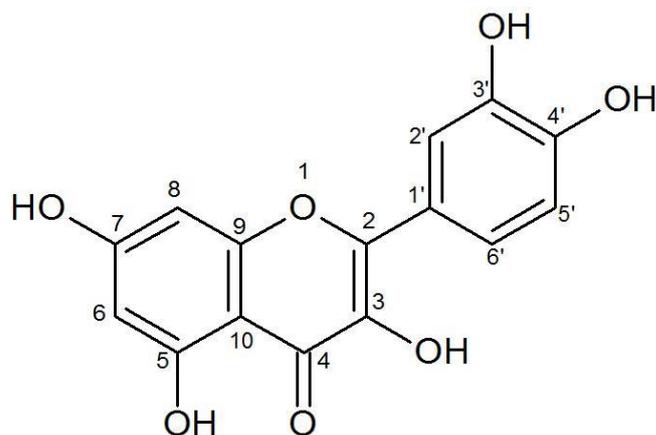
### 5.3.6 Identificação da substância 6 (HCM-11.11)

A substância **6** (9,2 mg), foi isolada do extrato metanólico (Esquema 7) como cristais de sólido amarelo, em análise em CCD apresentou fluorescência na lâmpada de UV (254 nm) e mancha amarela após revelação em vanilina sulfúrica. A substância foi caracterizada através das técnicas de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e HMBC.

No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (Figura 34) apresentou 15 sinais, sugerindo o esqueleto carbônico de um flavonoide, sendo o sinal em  $\delta$  175,7 referente ao carbono carbonílico (C-4). O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Figura 33) mostrou 5 sinais característicos de sistemas aromáticos. Os sinais observados como dubletos em  $\delta$  6,26 ( $J = 2,0$  Hz) e  $\delta$  6,52 ( $J = 2,0$  Hz) evidenciaram acoplamentos em meta entre H-6 e H-8, os quais correspondem ao anel A do flavonoide substituído em C-5 e C-7. Os sinais em  $\delta$  7,70 dd ( $J = 8,5$  Hz e 2,2 Hz),  $\delta$  7,82 d ( $J = 2,2$  Hz) e  $\delta$  6,99 d ( $J = 8,5$  Hz) caracterizaram uma dioxigenação do anel B em C-3' e C-4'. A presença de um singlete em  $\delta$  12,19 é característico da ligação de hidrogênio intramolecular da hidroxila com o oxigênio do carbono carbonílico.

O mapa de contorno HMBC (Figura 35) mostrou o hidrogênio da hidroxila em  $\delta$  12,19 correlacionando com o carbono metínico  $\delta$  98,2 (C-6) e com os carbonos desidrogenados  $\delta$  161,4 (C-5) e  $\delta$  103,2 (C-10). O sinal de hidrogênio em  $\delta$  7,82 (H-2') correlaciona com o carbono metínico  $\delta$  120,5 (C-6') e com os carbonos desidrogenados  $\delta$  145,0 (C-4') e  $\delta$  147,5 (C-2). O hidrogênio  $\delta$  6,99 (H-5') faz correlação com carbonos desidrogenados  $\delta$  147,5 (C-2),  $\delta$  122,8 (C-1') e  $\delta$  145,0 (C-4'). O hidrogênio  $\delta$  7,70 (H-6') correlaciona com o carbono metínico  $\delta$  114,8 (C-2') e com o carbono desidrogenado  $\delta$  147,5 (C-2). As demais correlações encontram-se na Tabela 17.

O resultado da análise dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$ , de  $^{13}\text{C}$ , bem como o espectro bidimensional de correlação heteronuclear de HMBC (Tabela 17) e comparação desses dados descrito literatura (Maranhão *et al.*, 2013) permitiram identificar a **substância 6** como um flavonoide quercetina (Figura 32), sendo este o primeiro relato na espécie. Estudos relatam o potencial antioxidante, anticarcinogênico e seus efeitos protetores aos sistemas renal, cardiovascular e hepático (Behling *et al.*, 2004).



**Figura 32.** Estrutura química da substância 6 (quercetina).

**Tabela 17.** Dados de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz),  $^{13}\text{C}$  e HMBC (75 MHz) em Acetona D<sub>6</sub>, da substância 6 em comparação com a literatura.

N <sup>o</sup>	$^1\text{H}$		$^{13}\text{C}$		HMBC
	$\delta$ (ppm), mult; J(Hz)		$\delta$ (ppm)		
	Substância 6	Maranhão <i>et al.</i> , 2013*	Substância 6	Maranhão <i>et al.</i> , 2013*	
<b>2</b>	-----	-----	147,5	147,4	
<b>3</b>	-----	-----	135,9	135,9	
<b>C=O</b>	-----	-----	175,7	175,9	
<b>5</b>	-----	-----	161,4	161,2	
<b>OH</b>	12,19 (s)	-----	-----	-----	C-5, C-6 e C-10
<b>6</b>	6,26 (d; 2,0)	6,26 (d; 1,8)	98,2	120,3	C-5, C-7, C-8 e C-10
<b>7</b>	-----	-----	164,2	164,2	
<b>8</b>	6,52 (d; 2,0)	6,52 (d; 1,8)	93,5	93,0	C-6, C-7, C-9 e C-10
<b>9</b>	-----	-----	156,8	156,8	
<b>10</b>	-----	-----	103,2	103,2	
<b>1'</b>	-----	-----	122,8	122,8	
<b>2'</b>	7,82 (d; 2,2)	7,82 (d; 1,8)	114,8	114,6	C-4', C-6' e C-2
<b>3'</b>	-----	-----	146,1	146,6	
<b>4'</b>	-----	-----	145,0	144,9	
<b>5'</b>	6,99 (d; 8,5)	6,99 (d; 8,5)	115,3	114,9	C-1', C-4', C-5' e C-2
<b>6'</b>	7,70 (dd; 8,5 e 2,2)	7,69 (dd; 8,5 e 1,8)	120,5	97,9	C-2 e C-2'

\*Solvente: CD<sub>3</sub>OD

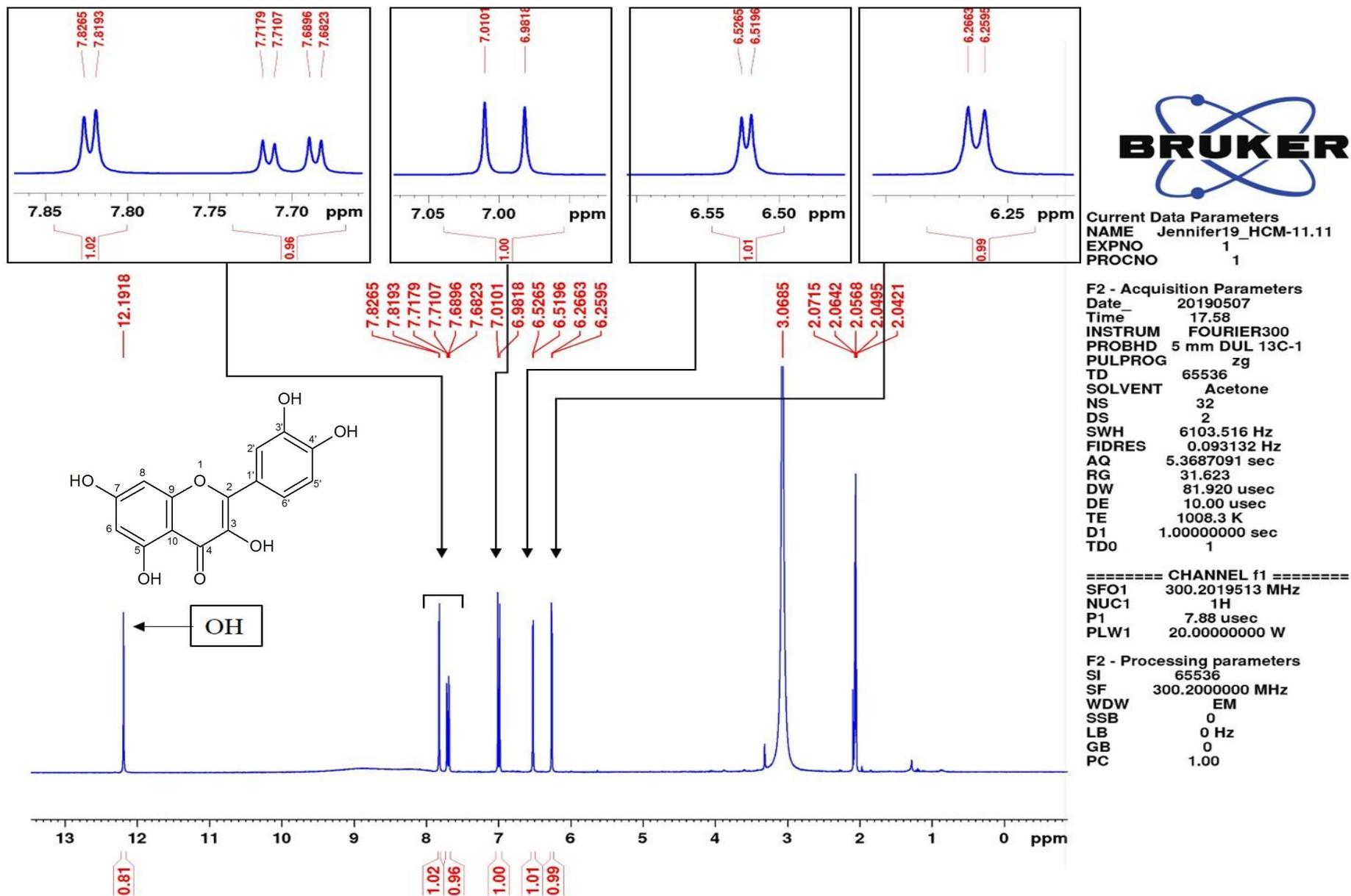
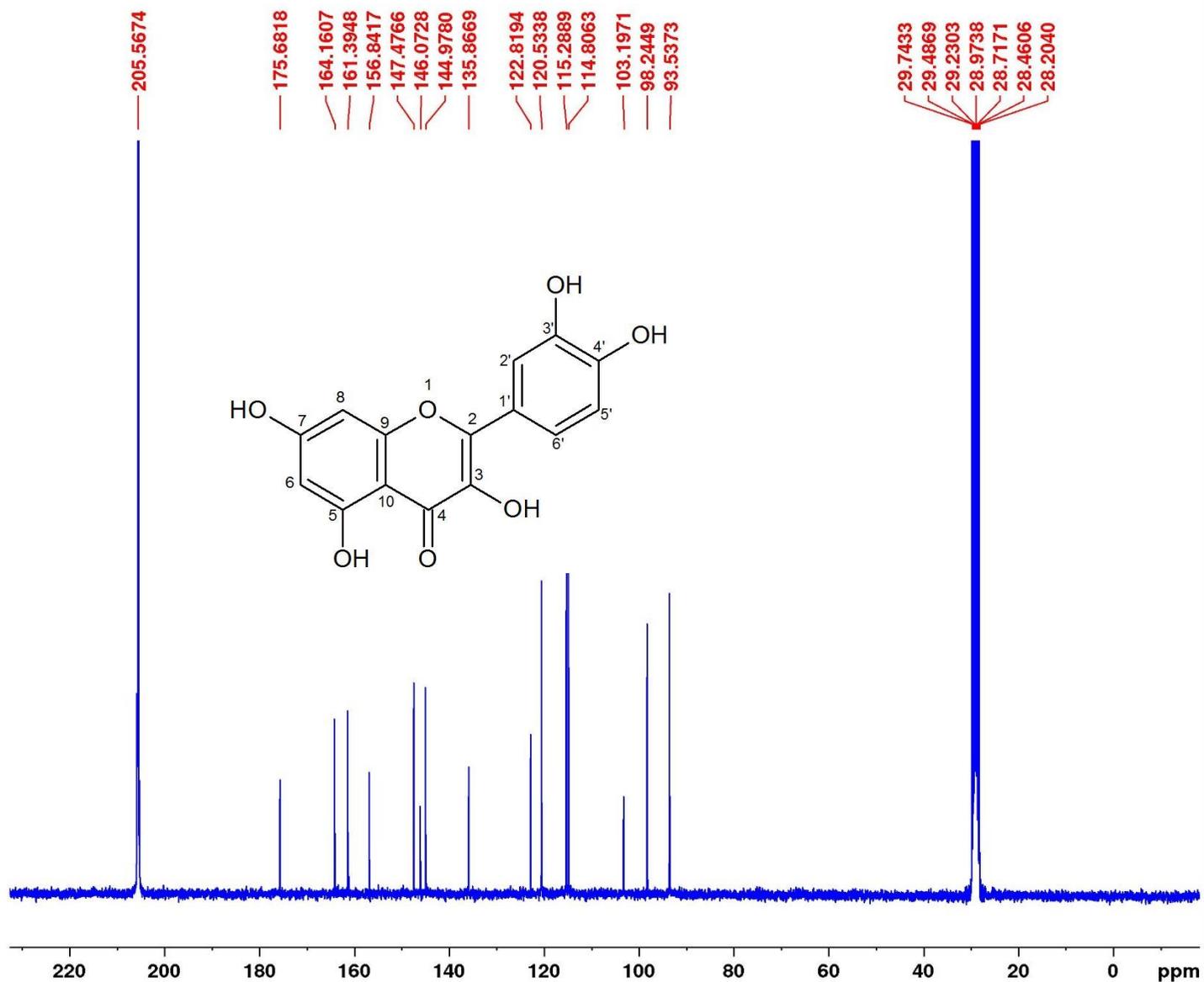


Figura 33. Espectro de RMN <sup>1</sup>H da substância 6 (300 MHz; Acetona-D6).



Current Data Parameters  
 NAME Jennifer19\_HCM-11.11  
 EXPNO 2  
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
 Date\_ 20190507  
 Time 18.02  
 INSTRUM FOURIER300  
 PROBD 5 mm DUL 13C-1  
 PULPROG zgpg30  
 TD 32768  
 SOLVENT Acetone  
 NS 53248  
 DS 0  
 SWH 24414.063 Hz  
 FIDRES 0.745058 Hz  
 AQ 0.6710886 sec  
 RG 501.187  
 DW 20.480 usec  
 DE 10.00 usec  
 TE 1008.3 K  
 D1 0.3000001 sec  
 D11 0.0300000 sec  
 D31 0.0000875 sec  
 D40 0.02336821 sec  
 L4 20  
 L5 8  
 P32 90.00 usec  
 TD0 1

===== CHANNEL f1 =====  
 SFO1 75.4928982 MHz  
 NUC1 13C  
 P1 8.75 usec  
 PLW1 50.00299835 W

===== CHANNEL f2 =====  
 SFO2 300.2012008 MHz  
 NUC2 1H  
 CPDPRG[2] waltz16  
 PCPD2 90.00 usec  
 PLW2 20.0000000 W  
 PLW12 0.1680600 W  
 PLW13 0.13613001 W

F2 - Processing parameters  
 SI 32768  
 SF 75.4853500 MHz  
 WDW EM  
 SSB 0  
 LB 1.00 Hz  
 GB 0  
 PC 1.40

Figura 34. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  da substância 6 (75 MHz; Acetona-D<sub>6</sub>).

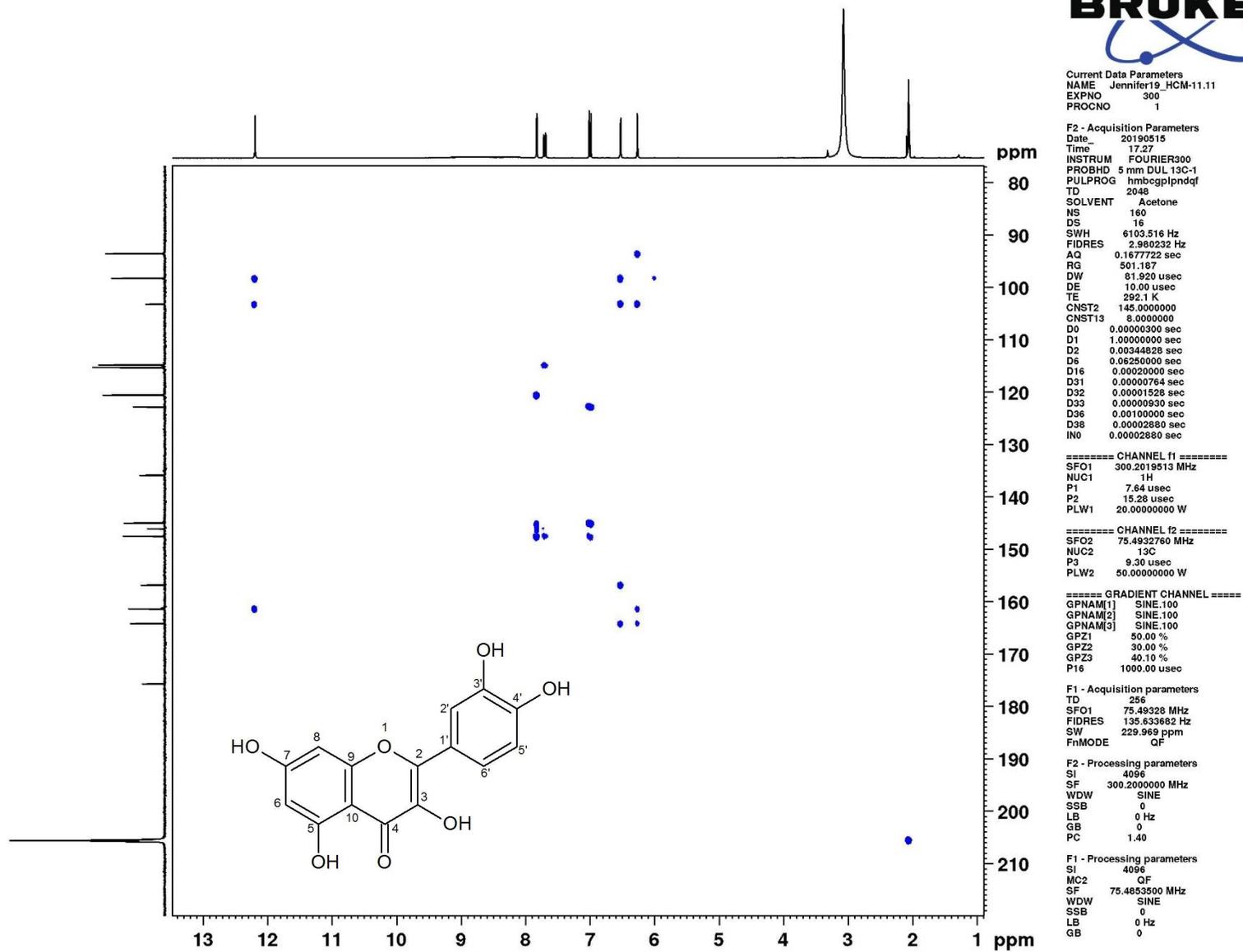


Figura 35. Mapa de contorno de HMBC da substância 6 (75 MHz; Acetona-D<sub>6</sub>).

### 5.37 Identificação da substância 7 (HCM- 11.6.13.9)

A substância 7 (8,5 mg), foi isolada do extrato metanólico conforme Esquema 6 como sólido amarelo castanho, em análise em CCD apresentou fluorescência na lâmpada de UV (254 nm) e mancha marrom em vanilina sulfúrica. A substância foi caracterizada através das técnicas de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , HSQC EDIT e HMBC.

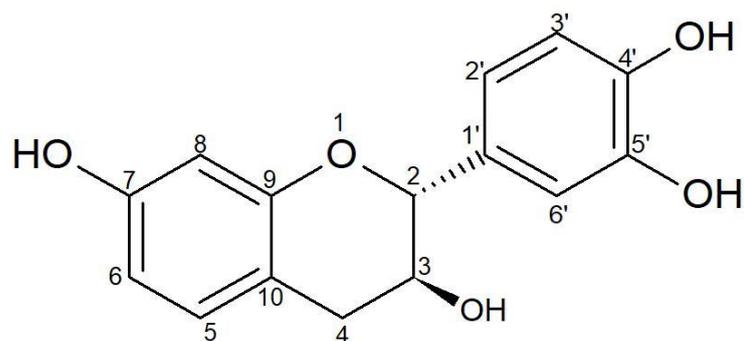
O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Figura 37) mostrou 6 sinais típicos de sistemas aromáticos. O sinal observado como duplo dubleto em  $\delta$  6,40 ( $J = 8,2$  Hz e  $2,5$  Hz) corresponde ao acoplamento *orto* e *meta* de H-6 com os hidrogênios H-5 e H-6, respectivamente. Assim como os dubletos em  $\delta$  6,30 ( $J = 2,5$  Hz) e  $\delta$  6,90 ( $J = 8,2$  Hz) mostram os acoplamentos *meta* de H-8 com H-6 e *orto* entre H-5 e H-6, os quais correspondem ao anel A do flavonoide substituído em C-7. No mapa de contorno HMBC (Figura 40) para o anel A o hidrogênio em  $\delta$  6,90 (H-5) apresenta correlação com o carbono metilênico em  $\delta$  32,6 (C-4) e com os carbonos desidrogenados  $\delta$  156,8 (C-7) e  $\delta$  155,2 (C-9).

O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (Figura 38) apresentou 15 sinais com predominância de sinais característicos de carbonos aromáticos. Percebeu-se a ausência de sinal de carbonila e presença de um carbinólico sugerindo um esqueleto de flavonoide flavan-3-ol.

Para o anel B os sinais de hidrogênio em  $\delta$  6,76 dd ( $J = 8,1$  Hz e  $2,0$  Hz), 6,81 d ( $J = 8,1$  Hz) e 6,89 d ( $J = 2,0$  Hz) caracterizaram uma dioxigenação do anel em C-4' e C-5'. Já no mapa de contorno no HMBC (Figura 40) o hidrogênio em  $\delta$  6,76 (H-2') correlaciona com os carbonos desidrogenados C-2 (82,0) e C-4' (144,7) e com o carbono metínico C-6' (114,2).

No anel C os sinais de par de duplos dubletos no espectro de RMN  $^1\text{H}$  em  $\delta$  2,74 (H-4a) e 2,93 (H-4b) acoplam entre si com constante de  $J = 15,78$  Hz e com o H-3 com constantes de 8,6 e 5,01 Hz respectivamente. No mapa de contorno HSQC editado (Figura 39) observou-se a correlação dos hidrogênios H-4a e H-4b com um carbono metilênico em  $\delta$  32,6 (C-4), confirmando o esqueleto de flavonoide sugerido acima.

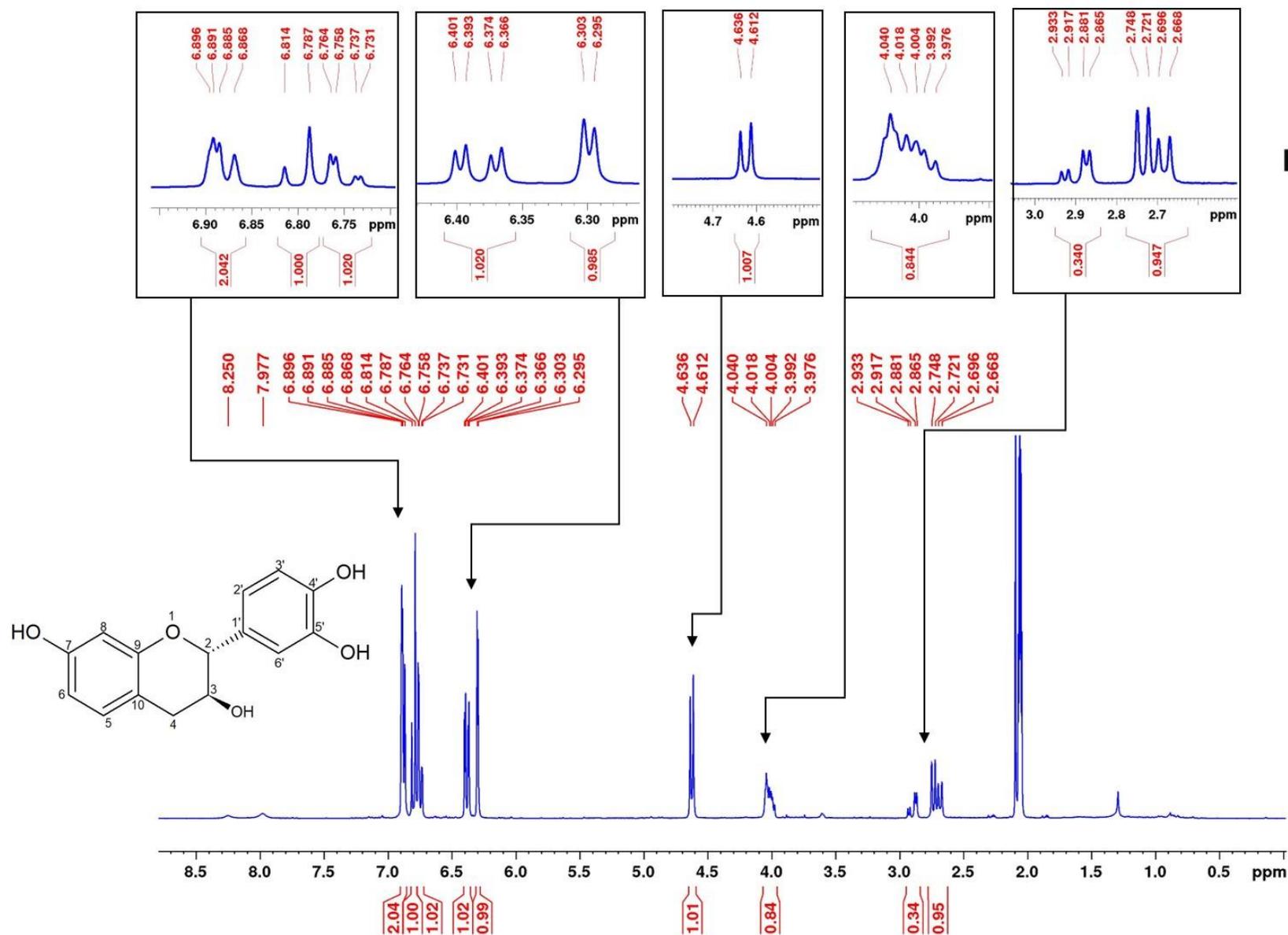
Com as análises dos dados espectrais em comparação com os dados descritos na literatura (Da Costa *et al.*, 2014), os quais encontram-se na Tabela 18, foi possível identificar a **substância 7** como o flavonoide fisetinediol (Figura 36), o qual já possui relatos na espécie. Estudos prévios com esta substância mostram atividade antioxidante (Imai *et al.*, 2008)



**Figura 36.** Estrutura química da substância 7 (fisetinediol).

**Tabela 18.** Dados de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz),  $^{13}\text{C}$  e HMBC (75 MHz) em Acetona D<sub>6</sub>, da substância 7 em comparação com a literatura.

N <sup>o</sup>	$^1\text{H}$ $\delta$ (ppm), mult; $J$ (Hz)		$^{13}\text{C}$ $\delta$ (ppm)		HMBC Substância 7
	Substância 7	Da Costa <i>et al.</i> , 2014	Substância 7	Da Costa <i>et al.</i> , 2014	
2	4,63 (d;7,3)	4,63 (d; 7,2)	82,0	83,0	C-3, C-4, C-1', C-2' e C-6'
3	4,04 (m)	3,99 (ddd; 7,8; 7,2 e 5,1)	67,4	68,8	C-4
4 Ha	2,74 (dd; 15,8 e 8,6)	2,67 (dd; 15,9 e 7,8)	32,6	33,1	C-3, C-5, C-9 e C-10
4 Hb	2,93 (dd; 15,8 e 5,0)	2,87 (dd; 15,9 e 5,1)	32,6	33,1	C-3, C-5, C-9 e C-10
5	6,90 (d; 8,2)	6,85 (d; 8,1)	130,1	131,3	C-4, C-7 e C-9,
6	6,40 (dd; 8,2 e 2,5)	6,33 (dd; 8,1 e 2,4)	108,1	109,4	C-8 e C-10
7	-----		156,8	157,9	
8	6,30 (d; 2,5)	6,27 (d; 2,4)	102,5	103,6	C-6, C-7, C-9 e C-10
9	-----		155,2	156,2	
10	-----		111,6	112,5	
1'	-----		131,2	132,2	
2'	6,76 (dd; 8,1 e 2,0)	6,69 (dd; 8,1 e 2,1)	119,0	119,8	C-2, C-4' e C-6'
3'	6,81 (d; 8,1)	6,75 (d; 8,1)	114,8	116,1	C-1' e C-4'
4'	-----		144,7	146,3	
5'	-----		144,8	146,3	
6'	6,89 (d; 2,0)	6,81 (2,1)	114,2	115,1	C-2, C-2' e C-5'



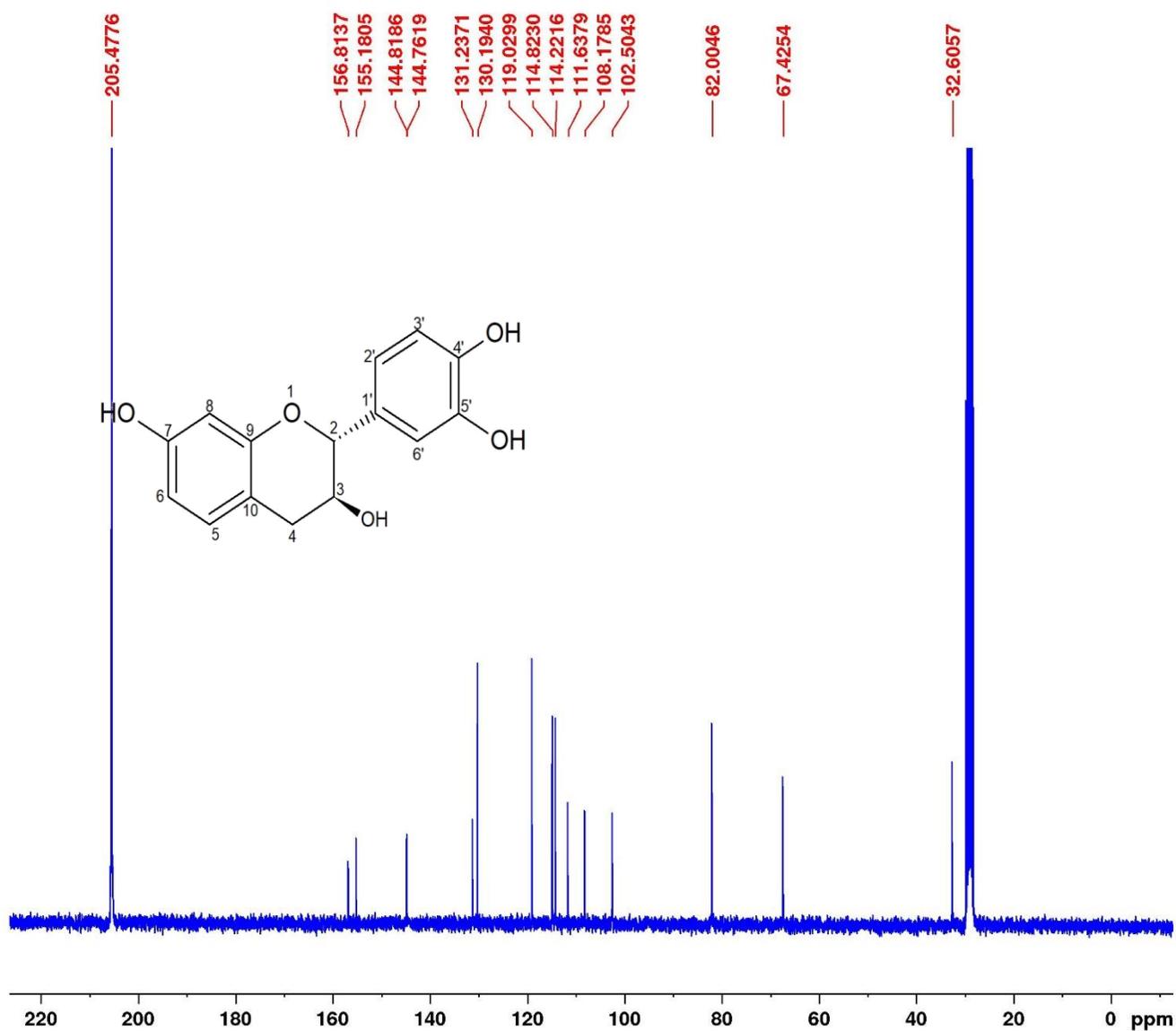
Current Data Parameters  
 NAME Jennifer20\_HCM-11.6.13.  
 EXPNO 11  
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
 Date\_ 20200108  
 Time 17.03  
 INSTRUM FOURIER300  
 PROBHD 5 mm DUL 13C-1  
 PULPROG zgpgpr  
 TD 65536  
 SOLVENT Acetone  
 NS 32  
 DS 4  
 SWH 6103.516 Hz  
 FIDRES 0.093132 Hz  
 AQ 5.3687091 sec  
 RG 32.5079  
 DW 81.920 usec  
 DE 10.00 usec  
 TE 293.6 K  
 D1 2.00000000 sec  
 D12 0.00002000 sec  
 P41 2000000.00 usec  
 TD0 1

===== CHANNEL f1 =====  
 SFO1 300.2008998 MHz  
 NUC1 1H  
 P1 7.88 usec  
 PLW1 20.00000000 W  
 PLW9 0.00001000 W

F2 - Processing parameters  
 SI 65536  
 SF 300.2000000 MHz  
 WDW EM  
 SSB 0  
 LB 0.30 Hz  
 GB 0  
 PC 1.00

Figura 37. Espectro de RMN <sup>1</sup>H da substância 7 (300 MHz; Acetona D6).



Current Data Parameters  
 NAME Jennifer20\_HCM-11.6.13.9  
 EXPNO 2  
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
 Date\_ 20200117  
 Time 15.32  
 INSTRUM FOURIER300  
 PROBHD 5 mm DUL 13C-1  
 PULPROG zgpg30  
 TD 32768  
 SOLVENT Acetone  
 NS 10240  
 DS 0  
 SWH 24414.063 Hz  
 FIDRES 0.745058 Hz  
 AQ 0.6710886 sec  
 RG 501.187  
 DW 20.480 usec  
 DE 10.00 usec  
 TE 296.3 K  
 D1 0.10000000 sec  
 D11 0.03000000 sec  
 D31 0.00000875 sec  
 D40 0.03084430 sec  
 L4 20  
 L5 2  
 P32 90.00 usec  
 TD0 1

===== CHANNEL f1 =====  
 SFO1 75.4928982 MHz  
 NUC1 13C  
 P1 8.75 usec  
 PLW1 50.00299835 W

===== CHANNEL f2 =====  
 SFO2 300.2012008 MHz  
 NUC2 1H  
 CPDPRG[2] waltz16  
 PCPD2 90.00 usec  
 PLW2 20.00000000 W  
 PLW12 0.16806000 W  
 PLW13 0.13613001 W

F2 - Processing parameters  
 SI 32768  
 SF 75.4853500 MHz  
 WDW EM  
 SSB 0  
 LB 1.00 Hz  
 GB 0  
 PC 1.40

Figura 38. Espectro de RMN <sup>13</sup>C da substância 7 (75 MHz; Acetona D<sub>6</sub>).

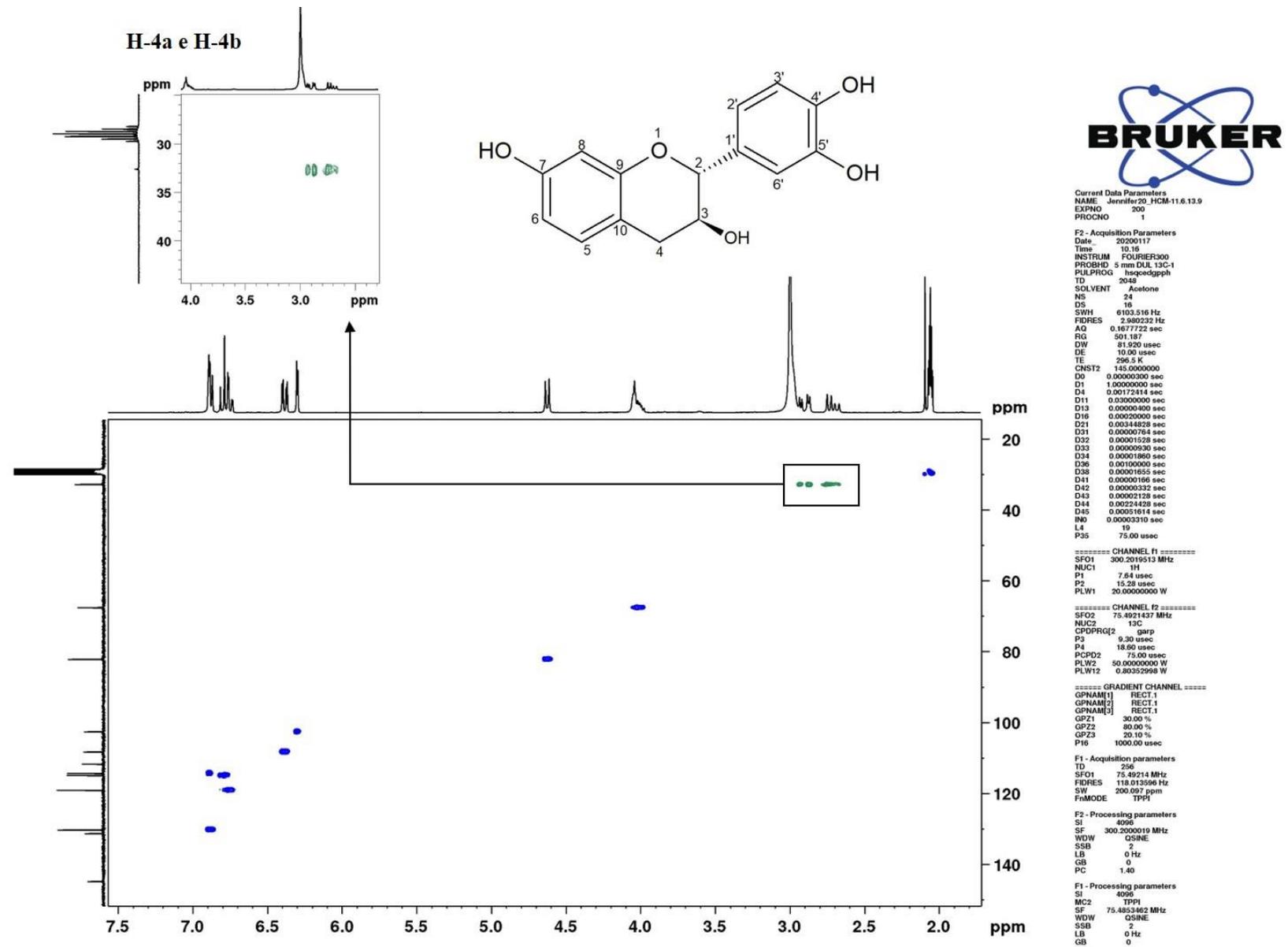


Figura 39. Mapa de contorno HSQC da substância 7 (75 MHz; Acetona D6).

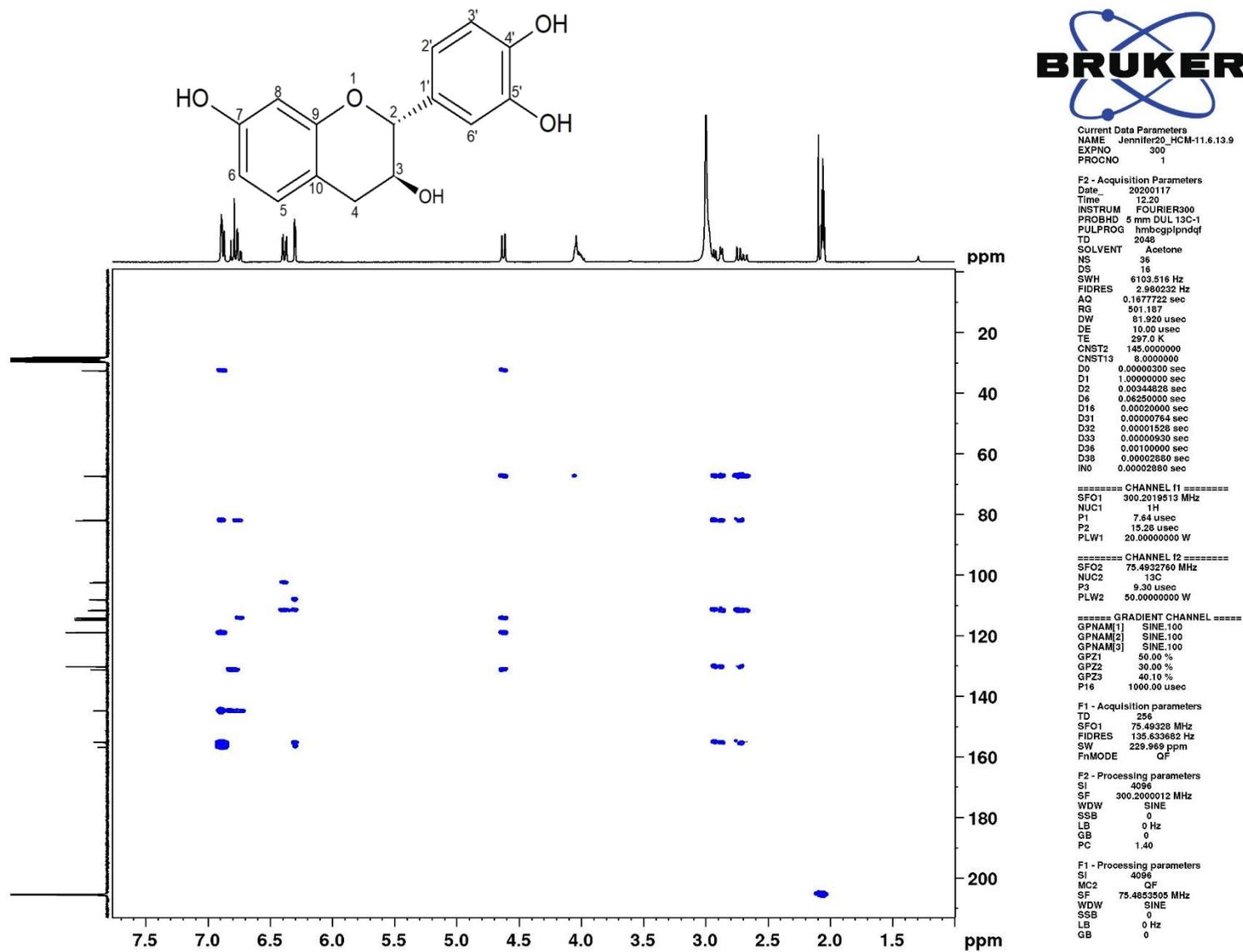


Figura 40. Mapa de contorno HMBC da substância 7 (75 MHz; Acetona D6).

### 5.3.8 Identificação da substância 8 (HCM- 11.7.10.9)

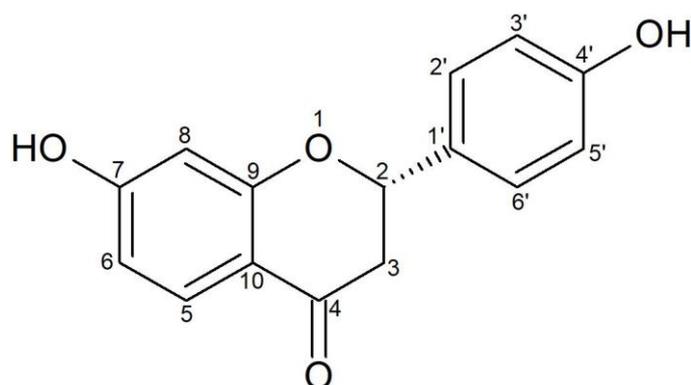
A substância **8** (4,3 mg), foi isolada do extrato metanólico conforme Esquema 6 como sólido amarelo claro, em análise em CCD apresentou fluorescência na lâmpada de UV (254 nm) e mancha amarela após revelação em vanilina sulfúrica. A substância foi caracterizada através das técnicas de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , HSQC EDIT e HMBC.

No espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Figura 42) observou-se sinais característicos de sistemas ABX. Observou-se o sinal duplo dubleto do hidrogênio H-6 em  $\delta$  6,58 ( $J = 8,6$  Hz e 2,3 Hz) acoplado em *orto* com H-5 ( $\delta$  7,73) e em *meta* com H-8 ( $\delta$  6,41), conseqüentemente, estes acoplam com H-6 ( $\delta$  6,58) em *orto* e *meta* respectivamente. O mapa de contorno HSQC editado (Figura 45) mostra o hidrogênio em  $\delta$  7,73 (H-5) correlacionando com o carbono em  $\delta$  128,6 (C-5). Assim evidenciam um benzeno 7,9,10-trissubstituído no anel A.

Para o anel B observa-se uma simetria, pois no espectro de hidrogênio ambos os duplos dubletos ( $\delta$  7,41 e  $\delta$  6,90) integram para 2H e acoplam entre si com valores de constantes em *orto* e *meta*. Os sinais de hidrogênio em  $\delta$  7,41 (H-2' e H-6') e  $\delta$  6,90 (H-3' e H-5') exibem correlação no mapa de contorno HSQC editado com os carbonos em  $\delta$  128,1 (C-2' e C-6') e  $\delta$  115,2 (C-3' e C-5') respectivamente. No mapa de contorno HMBC (Figura 46) o hidrogênio H-2' correlaciona com o C-6' ( $\delta$  115,2), C-4' ( $\delta$  157,7), C-5' ( $\delta$  115,2) e C-2 ( $\delta$  79,6). Essas evidências dão ao anel B a característica de um benzeno 4-substituído.

Para o anel C o espectro de RMN  $^1\text{H}$  apresentou uma sobreposição de sinal em  $\delta$  3,10 (H-3b). Contudo o mapa de contorno HSQC editado mostrou a correlação dos hidrogênios em  $\delta$  2,69 (H-3a) e 3,10 (H-3b) com o sinal de carbono metileno em  $\delta$  43,8 (C-3) evidenciando que o sinal de H-3b no espectro de hidrogênio que apesar de estar sobreposto pelo sinal do solvente é um sinal presente do esqueleto da flavanona, o qual só foi possível definir pela projeção dos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  dos mapas de contorno bidimensionais (Figuras 43 e 44).

Os dados espectrais obtidos em comparação com os dados descritos na literatura (Zhao *et al.*, 2011; Tabela 19) permitiram identificar a substância **8** como liquiritigenina (Figura 41). Este é o primeiro relato da flavanona no gênero *Hymenaea*. Estudos relatam atividade anticâncer (Khamsan *et al.*, 2012) e antibacteriana (Son *et al.*, 2018).

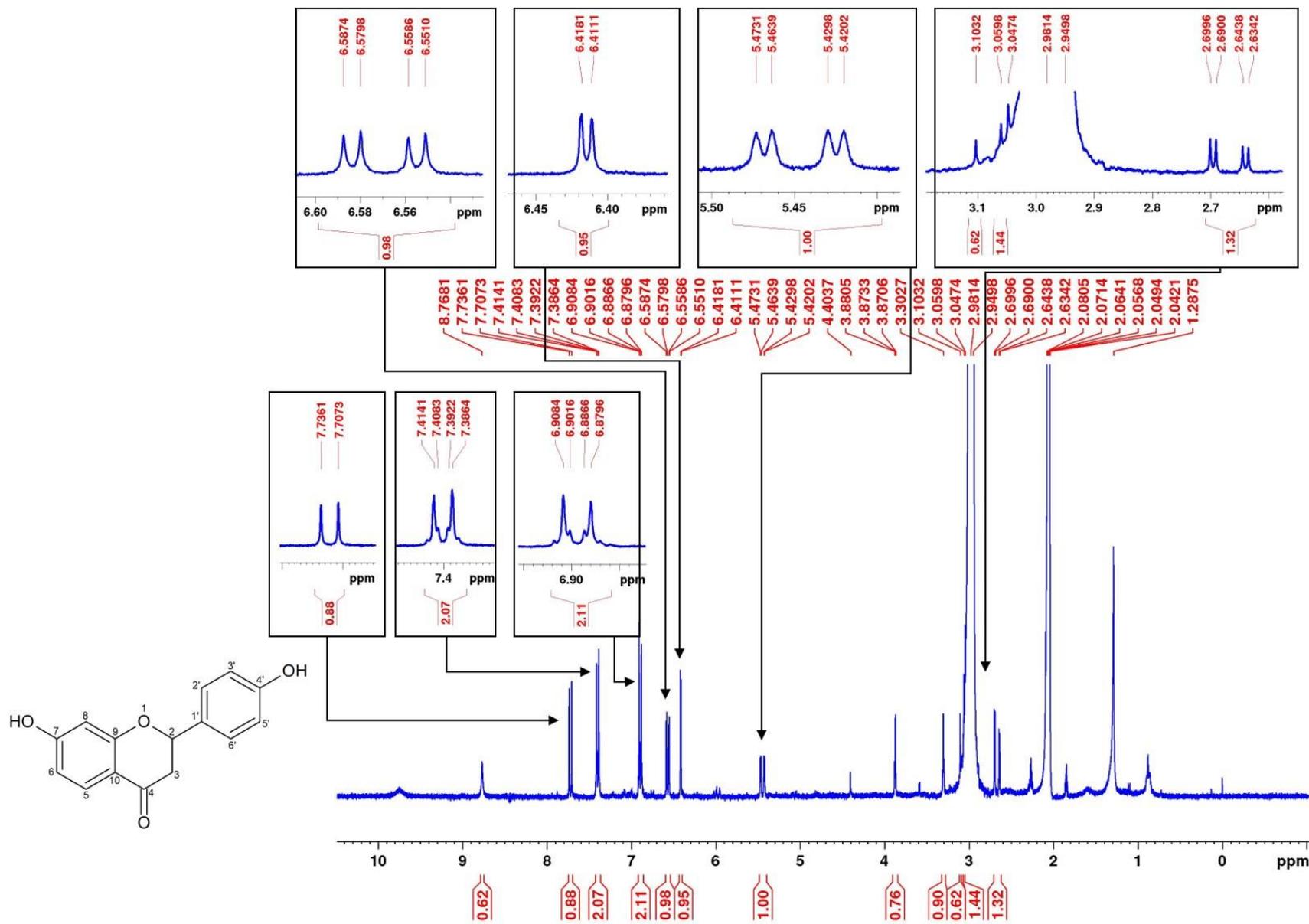


**Figura 41.** Estrutura química da substância 8 (liquiritigenina)

**Tabela 19.** Dados de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz),  $^{13}\text{C}$  e HMBC (75 MHz) em Acetona D6, da substância 8 em comparação com a literatura.

N <sup>o</sup>	$^1\text{H}$		$^{13}\text{C}$		HMBC
	$\delta$ (ppm), mult; J(Hz)		$\delta$ (ppm)		
	Substância 8	Zhao et al., 2011*	Substância 8	Zhao et al., 2011*	Substância 8
<b>O</b>					
<b>2</b>	5,47 (dd; 13,0 e 2,8)	5,58 (dd; 13,0 e 2,8)	79,6	80,3	
<b>3 Ha</b>	2,69 (dd; 16,7 e 2,8)	2,95 (dd; 16,9 e 2,8)	43,8	44,5	
<b>3 Hb</b>	3,10 <sup>a</sup> (dd; 16,7 e 13,0)	3,26 (dd; 16,9 e 13,2)	43,8	44,5	C-2 e C-4
<b>C=O</b>	-----	-----	189,7	193,0	
<b>5</b>	7,73 (d; 8,6)	7,97 (d; 8,7)	128,6	129,5	C-7
<b>6</b>	6,58 (dd; 8,6 e 2,3)	6,74 (dd; 8,7 e 2,2)	110,3	111,5	
<b>7</b>	-----	-----	164,0	166,0	
<b>8</b>	6,41 (d; 2,3)	6,62 (d; 2,2)	102,7	103,6	
<b>9</b>	-----	-----		164,8	
<b>10</b>	-----	-----	131,1	114,1	
<b>1'</b>	-----	-----	130,3	130,5	
<b>2'</b>	7,41 (dd; 6,6 e 1,8)	7,53 (d; 8,6)	128,1	128,4	C-2, C-4' e C-6'
<b>3'</b>	6,90 (dd; 6,6 e 1,8)	7,08 (d; 8,6)	115,2	116,1	C-1'
<b>4'</b>	-----	-----	157,7	158,1	
<b>5'</b>	6,90 (dd; 6,6 e 2,0)	7,08 (d; 8,6)	115,2	116,1	C-1'
<b>6'</b>	7,41 (dd; 6,6 e 2,0)	7,53 (d; 8,6)	128,1	128,4	

\*Solvente: CD<sub>3</sub>OD <sup>a</sup> Sobreposição de sinal



Current Data Parameters  
 NAME Jennifer19\_HCM-11.7.10.9  
 EXPNO 1  
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
 Date\_ 20191119  
 Time 15.35  
 INSTRUM FOURIER300  
 PROBHD 5 mm DUL 13C-1  
 PULPROG zg  
 TD 65536  
 SOLVENT Acetone  
 NS 64  
 DS 2  
 SWH 6103.516 Hz  
 FIDRES 0.093132 Hz  
 AQ 5.3687091 sec  
 RG 15.1704  
 DW 81.920 usec  
 DE 10.00 usec  
 TE 293.0 K  
 D1 1.00000000 sec  
 TD0 1

===== CHANNEL f1 =====  
 SFO1 300.2019513 MHz  
 NUC1 1H  
 P1 7.88 usec  
 PLW1 20.00000000 W

F2 - Processing parameters  
 SI 65536  
 SF 300.2000000 MHz  
 WDW EM  
 SSB 0  
 LB 0 Hz  
 GB 0  
 PC 1.00

Figura 42. Espectro de RMN <sup>1</sup>H da substância 8 (300 MHz; Acetona D<sub>6</sub>)

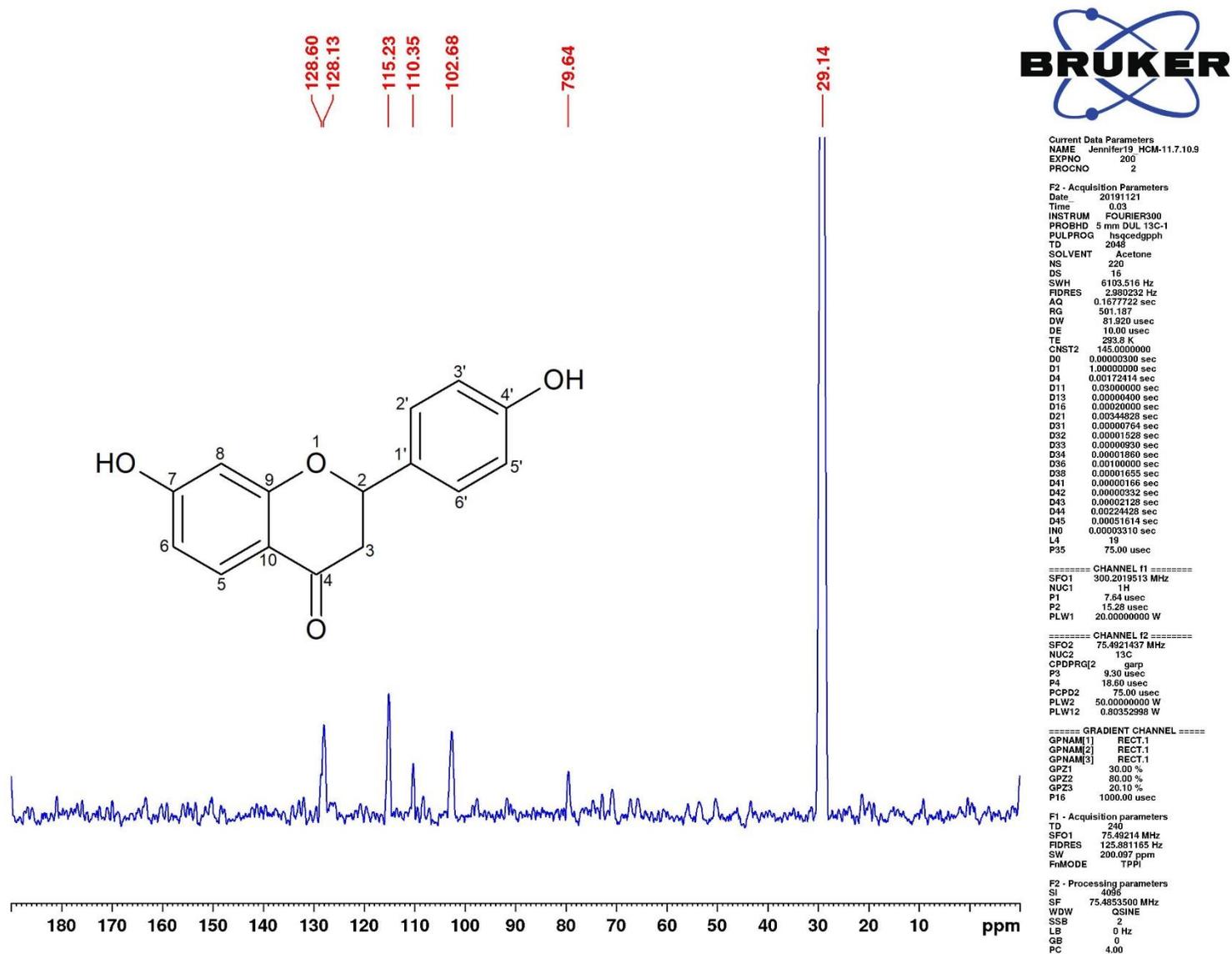
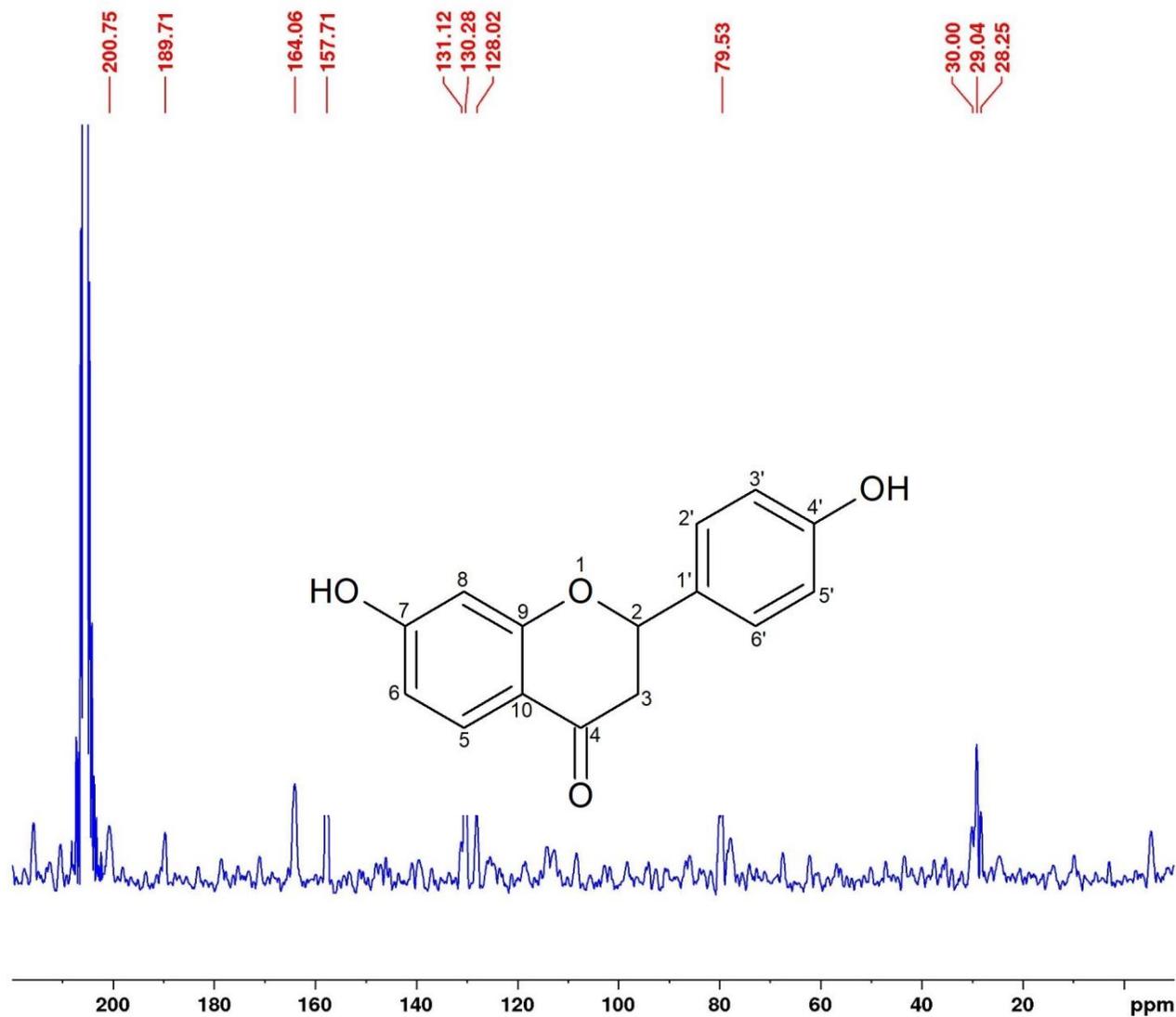


Figura 43. Projeção de espectro de RMN de <sup>13</sup>C da substância 8 pelo mapa de contorno HSQC.



Current Data Parameters  
 NAME Jennifer19\_HCM-11.7.10.9  
 EXPNO 300  
 PROCNO 2

F2 - Acquisition Parameters  
 Date\_ 20191119  
 Time 16.10  
 INSTRUM FOURIER300  
 PROBHD 5 mm DUL 13C-1  
 PULPROG hmbcgp1pndqf  
 TD 2048  
 SOLVENT Acetone  
 NS 360  
 DS 16  
 SWH 6103.516 Hz  
 FIDRES 2.980232 Hz  
 AQ 0.1677722 sec  
 RG 501.187  
 DW 81.920 usec  
 DE 10.00 usec  
 TE 292.8 K  
 CNST2 145.000000  
 CNST13 8.000000  
 D0 0.00000300 sec  
 D1 1.00000000 sec  
 D2 0.00344828 sec  
 D6 0.06250000 sec  
 D16 0.00020000 sec  
 D31 0.00000764 sec  
 D32 0.00001528 sec  
 D33 0.00000930 sec  
 D36 0.00100000 sec  
 D38 0.00002880 sec  
 IN0 0.00002880 sec

===== CHANNEL f1 =====  
 SFO1 300.2019513 MHz  
 NUC1 1H  
 P1 7.64 usec  
 P2 15.28 usec  
 PLW1 20.00000000 W

===== CHANNEL f2 =====  
 SFO2 75.4932760 MHz  
 NUC2 13C  
 P3 9.30 usec  
 PLW2 50.00000000 W

===== GRADIENT CHANNEL =====  
 GPNAM[1] SINE.100  
 GPNAM[2] SINE.100  
 GPNAM[3] SINE.100  
 GPZ1 50.00 %  
 GPZ2 30.00 %  
 GPZ3 40.10 %  
 P16 1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters  
 TD 256  
 SFO1 75.49328 MHz  
 FIDRES 135.633682 Hz  
 SW 229.969 ppm  
 FnMODE QF

F2 - Processing parameters  
 SI 4096  
 SF 75.4853500 MHz  
 WDW SINE  
 SSB 0  
 LB 0 Hz  
 GB 0  
 PC 4.00

Figura 44. Projeção de espectro de RMN de <sup>13</sup>C da substância 8 pelo mapa de contorno HMBC.

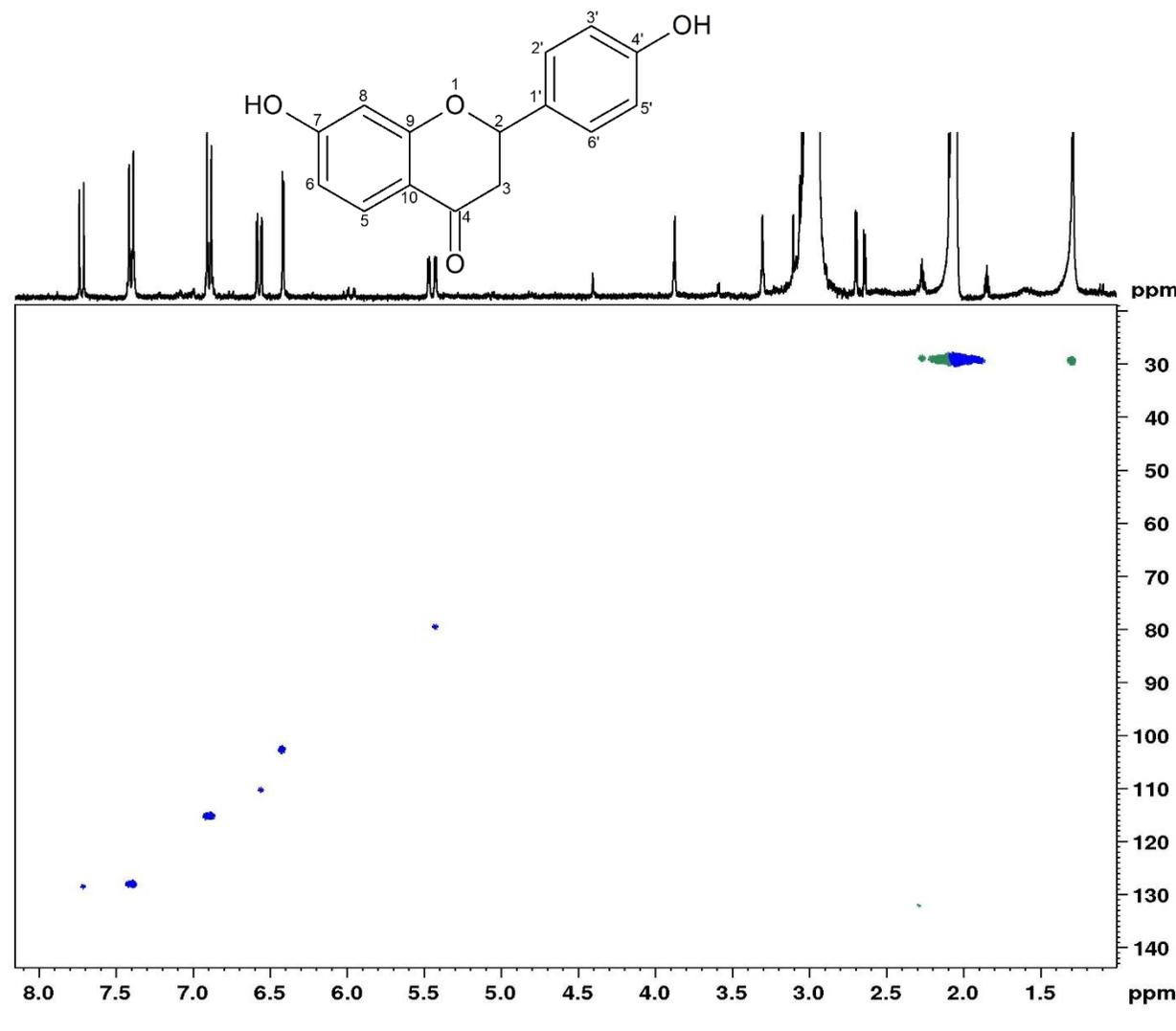


Figura 45. Mapa de contorno HSQC da substância 8 (75 MHz; Acetona D6).

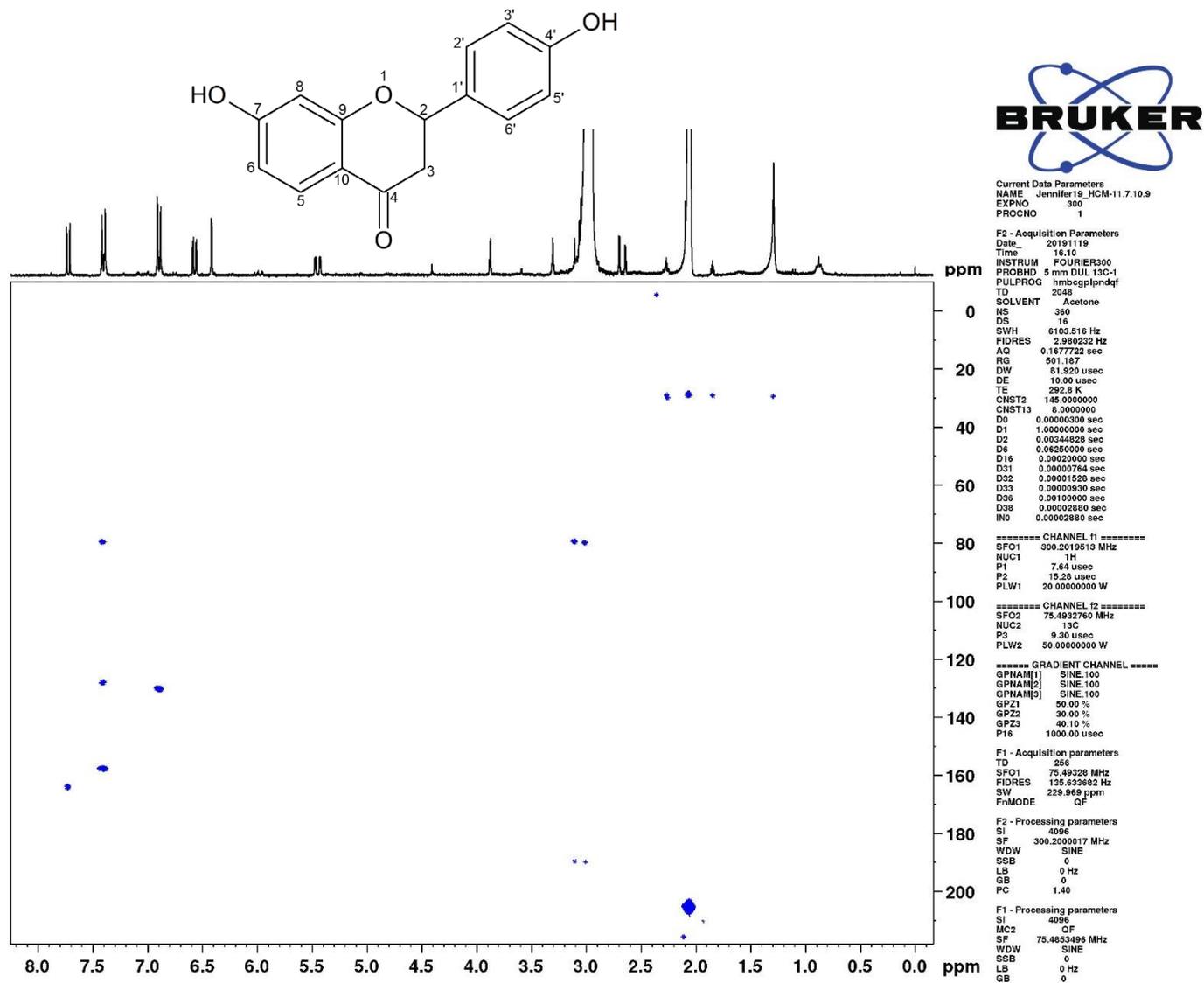


Figura 46. Mapa de contorno HMBC da substância 8 (75 MHz; Acetona D6)

### 5.3.9 Identificação da substância 9 (HCM-11.7.15)

A substância **9** (27,4 mg), foi isolada do extrato metanólico conforme Esquema 7 como sólido amarelo claro, em análise em CCD apresentou fluorescência na lâmpada UV (254 nm) e mancha rosa após revelação em vanilina sulfúrica. A substância foi caracterizada através das técnicas de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , HSQC EDIT e HMBC.

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 48) observou-se sinais característicos de sistemas aromáticos. No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (Figura 49) apresentou 16 sinais, sugerindo o esqueleto carbônico de um flavonoide com metoxila, sendo o sinal em  $\delta$  196,2, referente ao carbono carbonílico (C-4).

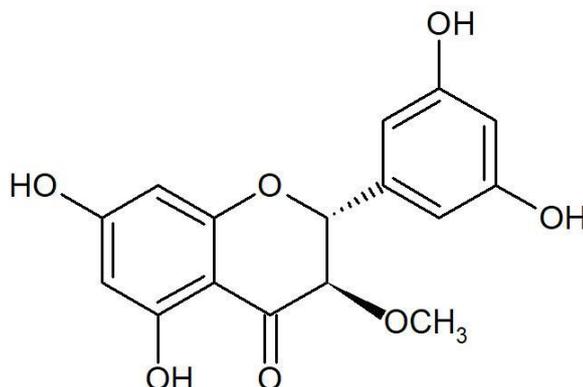
No anel A o par de dubletos em  $\delta$  5,97 ( $J = 2,1$  Hz) e 5,94 ( $J = 2,1$  Hz) evidencia o acoplamento *meta* entre os hidrogênios H-6 e H-8, respectivamente, referente ao anel A 5,7,9,10-tetrasubstituído. O espectro mostrou também um singlete em  $\delta$  3,41 que indica a presença da metoxila. no mapa de contorno HSQC (Figura 50) observa-se a correlação dos hidrogênios  $\delta$  5,97 e 5,94 com os carbonos em  $\delta$  96,2 (C-6) e 94,9 (C-8), respectivamente. No mapa de contorno HMBC (Figura 51), verifica-se a correlação do H-6 ( $\delta$  5,97) com os carbonos desprotonados C-5 ( $\delta$  164,4), C-7 (166,9), C-10 (101,2) e com o carbono metínico C-8 ( $\delta$  94,9). Outras correlações do anel podem ser verificadas na Tabela 20.

Para o anel B foi possível verificar no espectro de hidrogênio sinais de sistema aromático com acoplamentos em *meta* em  $\delta$  6,87 ( $J = 1,5$  Hz) integrando para 2 hidrogênios (H-2', H-6') e em  $\delta$  7,03 (sl; H-4'), caracterizaram o anel como 3', 5'-dissubstituído. No mapa de contorno HSQC (Figura 50) verificou-se a correlação dos hidrogênios H-1' e H-6' ( $\delta$  6,87) com os carbonos em  $\delta$  115,0 (C-2') e  $\delta$  119,4 (C-6') respectivamente. Assim como do hidrogênio em  $\delta$  7,03 (H-4') com o carbono em  $\delta$  114,5 (C-4'), onde este hidrogênio pelo mapa de contorno HMBC (Figura 51) apresenta correlação com os carbonos em  $\delta$  81,9 (C-2),  $\delta$  145,9 (C-3'),  $\delta$  145,0 (C-5') e  $\delta$  119,4 (C-6') confirmando um padrão não característico de oxigenação no anel B dos flavonoides.

No anel C o par de dubletos em  $\delta$  5,17 ( $J = 9,8$  Hz) e 4,30 ( $J = 9,8$  Hz) sugere um acoplamento do tipo axial-axial, entre os hidrogênios nas posições H-2 e H-3 do anel C, evidenciando que a estrutura possui um esqueleto do tipo flavanonol.

Na literatura consultada não foi encontrado nenhum relato sobre o isolamento e a identificação do flavanonol **9** cuja estrutura está sendo descrita pela primeira vez. Porém, a comparação dos dados espectrais obtidos, em comparação com os dados da literatura (Kwak *et al.*, 2009) da substância 3, 3', 5, 5', 7-Pentahidroxi-flavanona que apresenta estrutura similar,

permitiram identificar a substância **9** como 3-metóxi-5,7,3',5'-tetrahidroxiflavanona (Figura 47; Tabela 20).



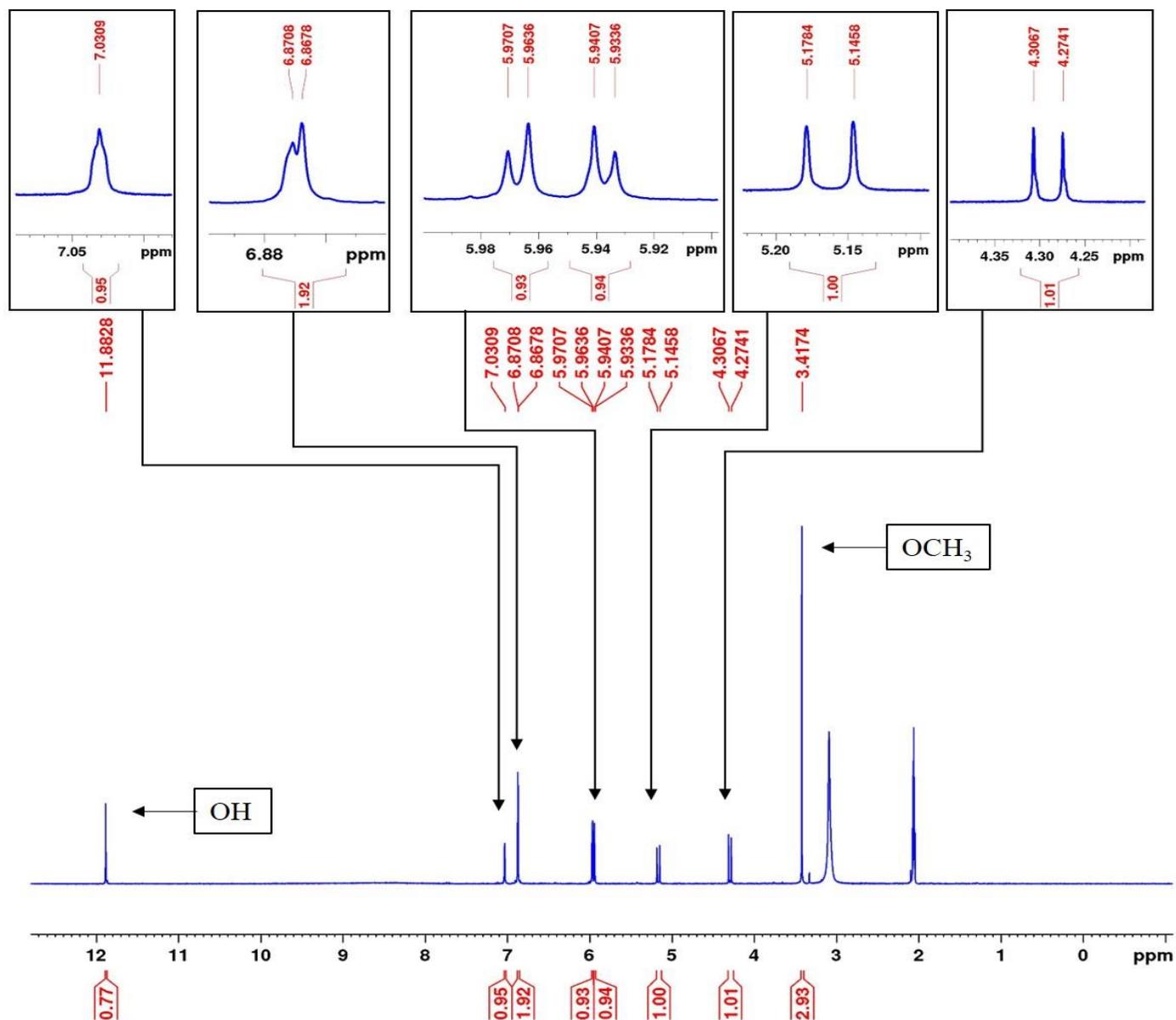
**Figura 47.** Estrutura química da substância **9** (3-metóxi-5,7,3',5'-tetrahidroxiflavanona)

**Tabela 20.** Dados de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz),  $^{13}\text{C}$  e HMBC (75 MHz) em Acetona D<sub>6</sub>, da substância **9** em comparação com a literatura.

N <sup>o</sup>	$^1\text{H}$		$^{13}\text{C}$		HMBC
	$\delta$ (ppm), mult; J(Hz)		$\delta$ (ppm)		
	Substância 9	Kwak <i>et al.</i> , 2009*	Substância 9	Kwak <i>et al.</i> , 2009*	Substância 9
<b>2</b>	5,17 (d; 9,8)	4,94 (d; 11,3)	81,9	83,7	C-3, C-4, C-9, C-1', C-4' e C-6'
<b>3</b>	4,30 (d; 9,8)	4,46 (d; 11,3)	80,3	72,3	Me, C-2, C-3, C-4 e C-1'
<b>OCH<sub>3</sub></b>	3,41 (s)		59,5		
<b>C=O</b>	-----	-----	196,2	198,3	
<b>5</b>	-----	-----	164,4	164,0	
<b>6</b>	5,97(d; 2,1)	5,79 (d; 2,0)	96,2	96,7	C-5, C-7, C-8 e C-10
<b>7</b>	-----	-----	166,9	167,8	
<b>8</b>	5,94 (d; 2,1)	5,84 (d; 2,0)	94,9	95,8	C-6, C-10, C-7 e C-9
<b>9</b>	-----	-----	162,6	163,2	
<b>10</b>	-----	-----	101,2	101,1	
<b>1'</b>	-----	-----	128,5	128,8	
<b>2'</b>	6,87 (d; 1,5)	6,74 (d; 1,5)	115,0	116,0	C-2, C-1', C-6, C-4' e C-5'
<b>3'</b>	-----	-----	145,6	146,5	
<b>4'</b>	7,03 (sl)	6,87 (d; 1,5)	114,5	115,8	C-2, C-3', C-6' e C-5'
<b>5'</b>	-----	-----	145,0	145,6	
<b>6'</b>	6,87 (d; 1,5)	6,74 (d; 1,5)	119,4	120,1	C-2, C-1', C-2', C-4', e C-5' C-5, C-6 e C-10
<b>OH</b>					

\*Solvente: DMSO-d<sub>6</sub>

\*Comparação com a substância 3, 3', 5, 5', 7-Pentahidroxiflavanona



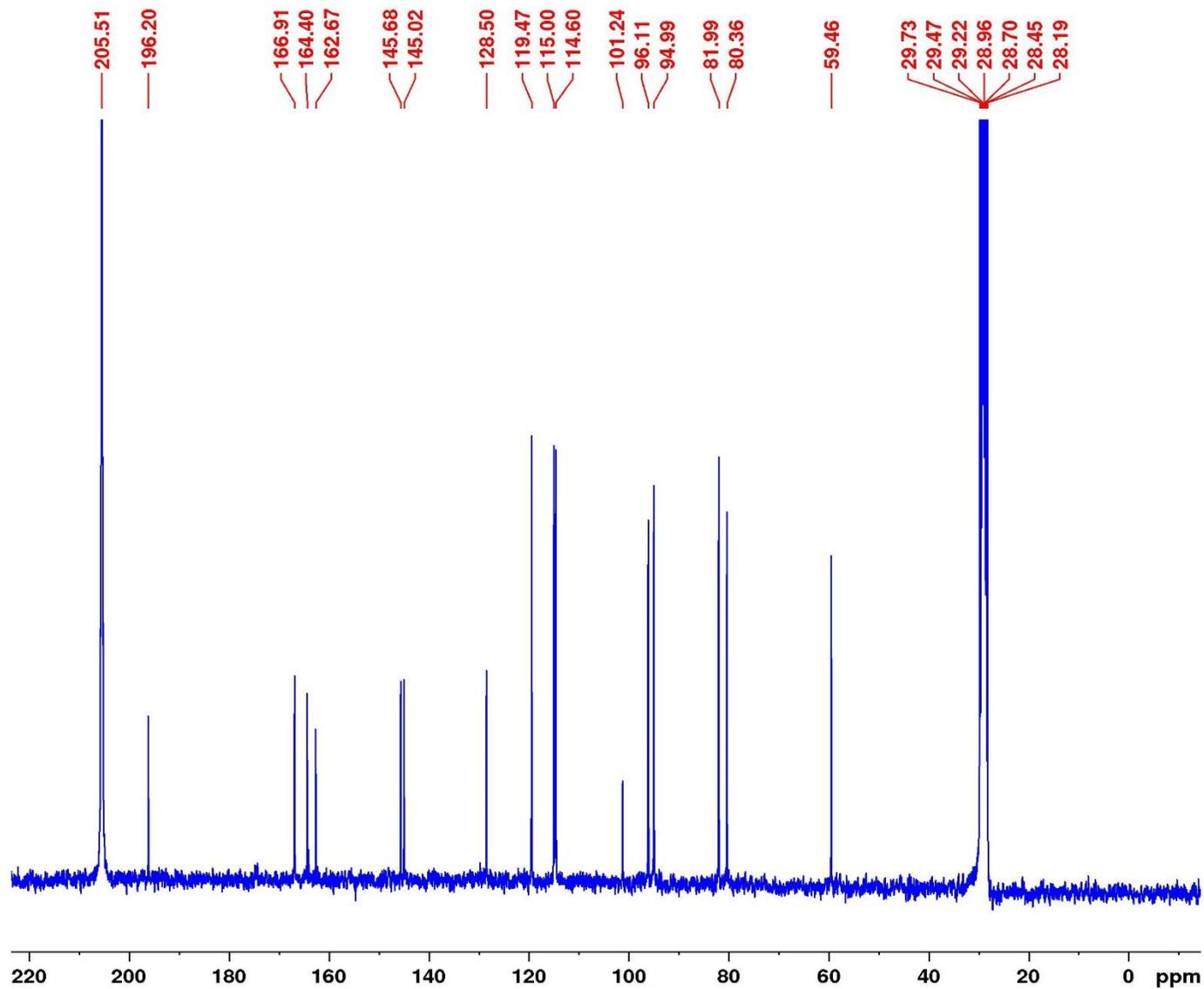
Current Data Parameters  
 NAME Jennifer19\_HCM-11.7.16  
 EXPNO 11  
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
 Date\_ 20191223  
 Time 11.33  
 INSTRUM FOURIER300  
 PROBHD 5 mm DUL 13C-1  
 PULPROG zg  
 TD 65536  
 SOLVENT Acetone  
 NS 1  
 DS 0  
 SWH 6103.516 Hz  
 FIDRES 0.093132 Hz  
 AQ 5.3687091 sec  
 RG 15.849  
 DW 81.920 usec  
 DE 10.00 usec  
 TE 294.4 K  
 D1 1.00000000 sec  
 TD0 1

===== CHANNEL f1 =====  
 SFO1 300.2019513 MHz  
 NUC1 1H  
 P1 7.88 usec  
 PLW1 20.00000000 W

F2 - Processing parameters  
 SI 65536  
 SF 300.2000000 MHz  
 WDW EM  
 SSB 0  
 LB 0 Hz  
 GB 0  
 PC 1.00

Figura 48. Espectro de RMN <sup>1</sup>H da substância 9 (300 MHz; Acetona D<sub>6</sub>).



Current Data Parameters  
NAME Jennifer19\_HCM-11.7.16  
EXPNO 2  
PROCNO 1

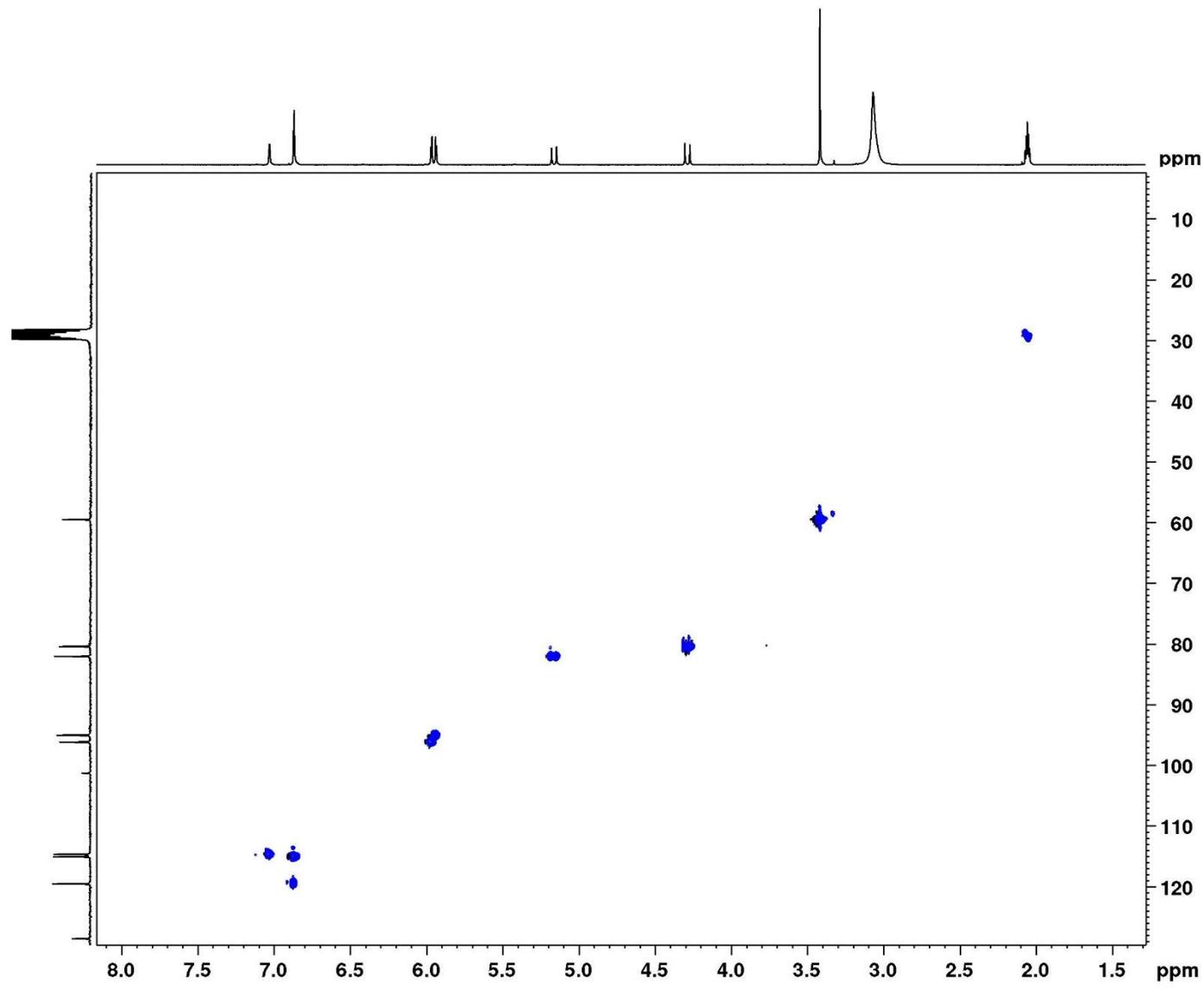
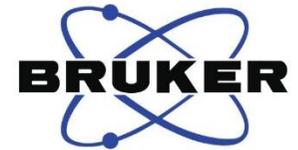
F2 - Acquisition Parameters  
Date\_ 20191220  
Time 3.38  
INSTRUM FOURIER300  
PROBHD 5 mm DUL 13C-1  
PULPROG zgpg30  
TD 32768  
SOLVENT Acetone  
NS 21890  
DS 0  
SWH 24414.063 Hz  
FIDRES 0.745058 Hz  
AQ 0.6710886 sec  
RG 501.187  
DW 20.480 usec  
DE 10.00 usec  
TE 294.5 K  
D1 0.20000000 sec  
D11 0.03000000 sec  
D31 0.00000875 sec  
D40 0.02710625 sec  
L4 20  
L5 5  
P32 90.00 usec  
TD0 1

==== CHANNEL f1 =====  
SFO1 75.4928982 MHz  
NUC1 13C  
P1 8.75 usec  
PLW1 50.00299835 W

==== CHANNEL f2 =====  
SFO2 300.2012008 MHz  
NUC2 1H  
CPDPRG[2] waltz16  
PCPD2 90.00 usec  
PLW2 20.00000000 W  
PLW12 0.16806000 W  
PLW13 0.13613001 W

F2 - Processing parameters  
SI 32768  
SF 75.4853500 MHz  
WDW EM  
SSB 0  
LB 3.00 Hz  
GB 0  
PC 1.40

Figura 49. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  da substância 9 (75 MHz; Acetona D6).



Current Data Parameters  
NAME Jennifer19\_HCM-11.7.16  
EXPNO 200  
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
Date\_ 20191219  
Time 18.34  
INSTRUM FOUJRIER200  
PROBHD 5 mm DUL 13C-1  
PULPROG hsqcedgpph  
TD 2048  
SOLVENT Acetone  
NS 106  
DS 16  
SWH 6103.516 Hz  
FIDRES 2.980232 Hz  
AQ 0.1677722 sec  
RG 801.187  
DW 81.920 usec  
DE 10.00 usec  
TE 292.3 K  
CNST2 145.0000000  
D0 0.00000300 sec  
D1 1.00090000 sec  
D4 0.00172114 sec  
D11 0.03000000 sec  
D13 0.00000400 sec  
D16 0.00020000 sec  
D21 0.00344828 sec  
D31 0.00000764 sec  
D32 0.00001528 sec  
D33 0.00000930 sec  
D34 0.00001860 sec  
D36 0.00100000 sec  
D38 0.00001655 sec  
D41 0.00000166 sec  
D42 0.00000332 sec  
D43 0.00002128 sec  
D44 0.00224428 sec  
D45 0.00051614 sec  
INO 0.00003310 sec  
L4 19  
P35 75.00 usec

===== CHANNEL f1 =====  
SFO1 300.2019513 MHz  
NUC1 1H  
P1 7.64 usec  
P2 15.28 usec  
PLW1 20.0000000 W

===== CHANNEL f2 =====  
SFO2 75.4921437 MHz  
NUC2 13C  
CPDPRG2 garp  
P3 9.30 usec  
P4 18.60 usec  
PCPD2 75.00 usec  
PLW2 50.0000000 W  
PLW12 0.80352998 W

===== GRADIENT CHANNEL =====  
GPNAM[1] RECT.1  
GPNAM[2] RECT.1  
GPNAM[3] RECT.1  
GPZ1 30.00 %  
GPZ2 80.00 %  
GPZ3 20.10 %  
P16 1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters  
TD 256  
SFO1 75.49214 MHz  
FIDRES 118.013906 Hz  
SW 200.087 ppm  
F1MODE TPPI

F2 - Processing parameters  
SI 4096  
SF 300.2000000 MHz  
WDW COSINE  
SSB 2  
LB 0 Hz  
GB 0  
PC 1.40

F1 - Processing parameters  
SI 4096  
MC2 TPPI  
SF 75.4853500 MHz  
WDW COSINE  
SSB 2  
LB 0 Hz  
GB 0

Figura 50. Mapa de contorno HSQC da substância 9 (75 MHz; Acetona D6).



Current Data Parameters  
NAME Jennifer19\_HCM-11.7.16  
EXPNO 300  
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
Date\_ 20191223  
Time 11.34  
INSTRUM FOURIER300  
PROBHD 5 mm DUL 13C-1  
PULPROG hmbcgp1pndqf  
TD 2048  
SOLVENT Acetone  
NS 100  
DS 16  
SWH 6103.516 Hz  
FIDRES 2.980232 Hz  
AQ 0.1677722 sec  
RG 501.187  
DW 81.820 usec  
DE 10.00 usec  
TE 294.5 K  
CNST2 145.0000000  
CNST13 8.0000000  
D0 0.00000300 sec  
D1 1.00000000 sec  
D2 0.00344828 sec  
D6 0.08250000 sec  
D16 0.00020000 sec  
D31 0.00000764 sec  
D32 0.0001528 sec  
D33 0.00000930 sec  
D36 0.00100000 sec  
D38 0.00002880 sec  
IN0 0.00002880 sec

===== CHANNEL f1 =====  
SFO1 300.2019513 MHz  
NUC1 1H  
P1 7.64 usec  
P2 15.28 usec  
PLW1 20.00000000 W

===== CHANNEL f2 =====  
SFO2 75.4932760 MHz  
NUC2 13C  
P3 9.30 usec  
PLW2 50.00000000 W

===== GRADIENT CHANNEL =====  
GPNAM[1] SINE.100  
GPNAM[2] SINE.100  
GPNAM[3] SINE.100  
GPZ1 50.00 %  
GPZ2 30.00 %  
GPZ3 40.10 %  
P16 1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters  
TD 135  
SFO1 75.49328 MHz  
FIDRES 257.201660 Hz  
SW 229.969 ppm  
FnMODE QF

F2 - Processing parameters  
SI 4096  
SF 300.2000015 MHz  
WDW SINE  
SSB 0  
LB 0 Hz  
GB 0  
PC 1.40

F1 - Processing parameters  
SI 4096  
MC2 QF  
SF 75.4853504 MHz  
WDW SINE  
SSB 0  
LB 0 Hz  
GB 0

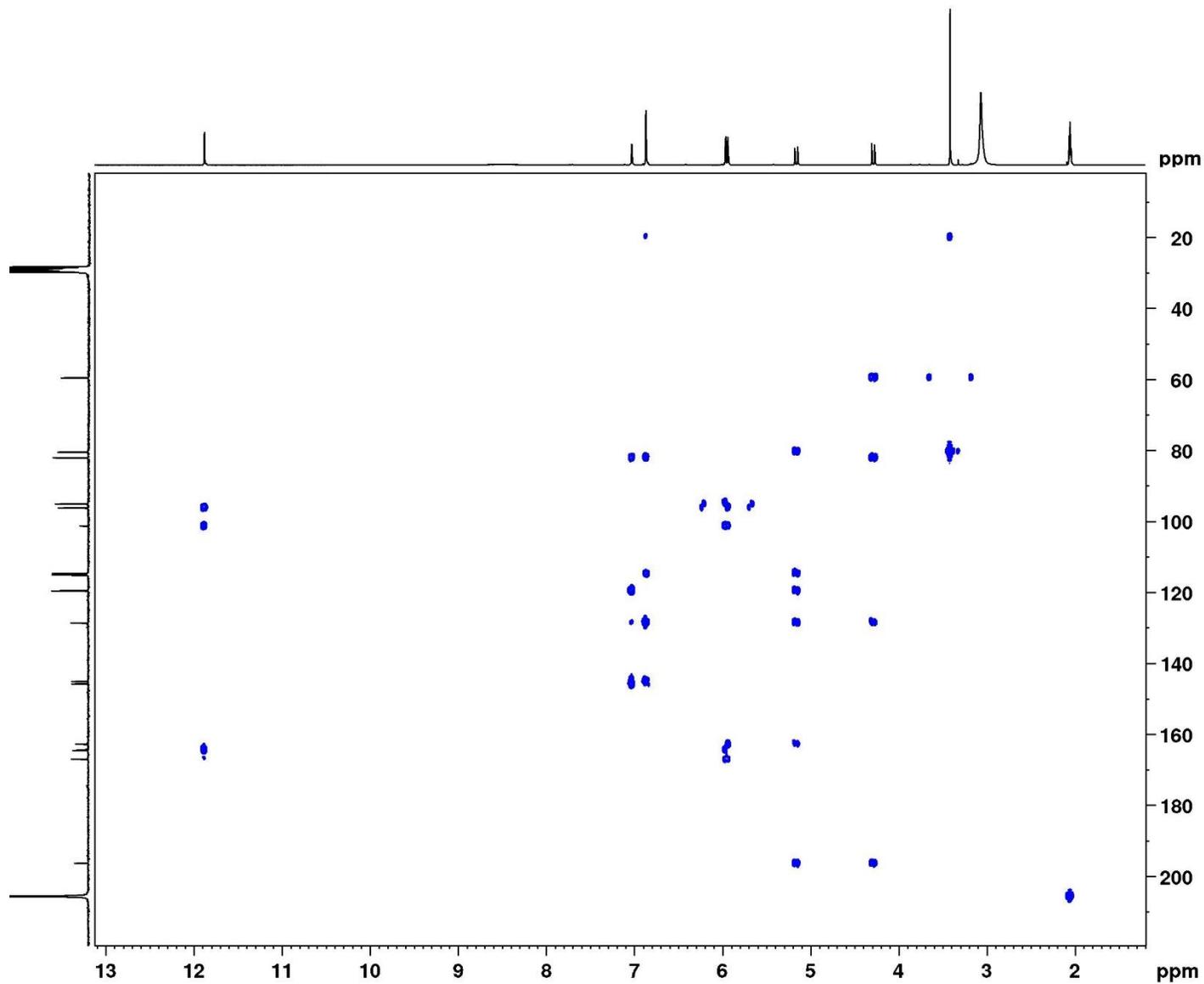


Figura 51. Mapa de contorno HMBC da substância 9 (75 MHz; Acetona D6)

### 5.3.10 Identificação da substância 10 (HCM- 12.3)

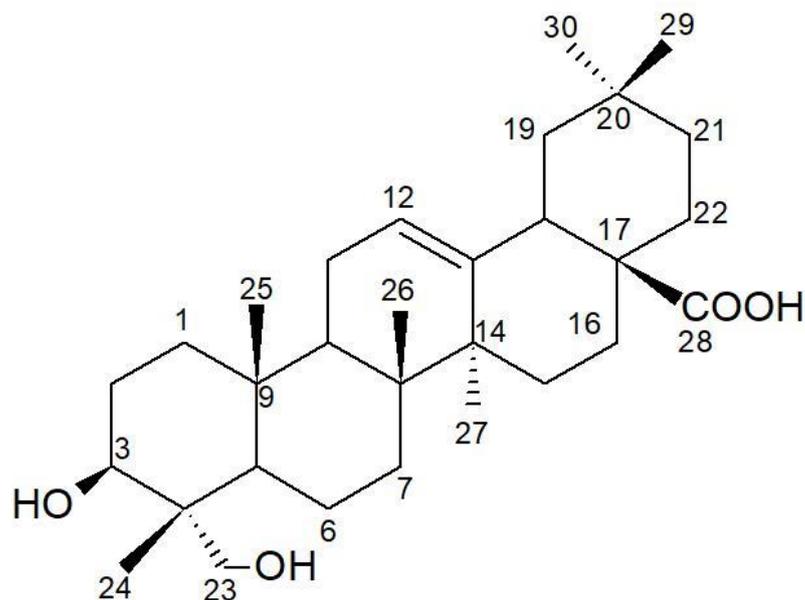
A substância **10** (27,4 mg), foi isolada do extrato metanólico conforme Esquema 7 como sólido branco, em análise em CCD apresentou fluorescência na lâmpada UV (254 nm) e mancha preta após revelação em vanilina sulfúrica. A substância foi caracterizada através das técnicas de RMN  $^1\text{H}$ , RMN  $^{13}\text{C}$ , HSQC EDIT e HMBC.

O espectro de hidrogênio RMN  $^1\text{H}$  (Figura 53) apresentou seis sinais de singletos em  $\delta$  0,70, 0,98, 0,82, 1,17, 0,91 e 0,94, característicos de sinais de átomos de hidrogênio de grupamentos metila. Observou-se sinais de duplo dubleto em  $\delta$  3,64 ( $J = 11,1$  Hz e 4,9 Hz) correspondente ao H-3, característicos de hidrogênio ligado ao carbono oximetínico na posição  $\alpha$  (Mahato e Kundu, 1994). O sinal de um tripleto em  $\delta$  5,25 ( $J = 3,3$  Hz) é típico de um hidrogênio olefínico que foi atribuído ao H-12. Essas características indicam o esqueleto de um triterpeno oleonano.

O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 54) apresentou trinta sinais. O sinal em  $\delta$  72,5 foi atribuído ao carbono oxigenado (C-3), devido ao posicionamento de sua hidroxila em equatorial, possibilitando ao grupamento  $\text{CH}_2\text{-OH}$  (C-23) conferir maior proteção ao carbono metínico C-3 (Mahato e Kundu, 1994). O sinal em  $\delta$  180,5 foi atribuído ao grupo carboxila (C-28). A identificação da ligação dupla trissubstituída foi evidenciada pelos sinais em  $\delta$  122,1 e 143,9 referente aos carbonos C-12 e C-13 respectivamente.

No mapa de contorno HMBC (Figura 56) observou-se a correlação dos hidrogênios em  $\delta$  3,55 (H-23a) e 3,28 (H-23b) com os carbonos C-3 ( $\delta$  72,5), C-4 ( $\delta$  41,8), C-5 ( $\delta$  47,3) e C-24 ( $\delta$  11,3), assim como no mapa de contorno do HSQC editado (Figura 55) verificou-se a correlação desses hidrogênios com o carbono metilênico em  $\delta$  65,9 (C-23), pode-se confirmar a substituição na metila C-23, onde o agrupamento proporcionou uma maior blindagem para o C-3. O sinal de hidrogênio em  $\delta$  0,70 (H-24) correlaciona com os carbonos metilênicos C-6 ( $\delta$  32,0) e C-23 ( $\delta$  65,9), com o carbono metínico C-3 ( $\delta$  72,5) e com os carbonos desidrogenados C-4 ( $\delta$  41,8) e C-5 ( $\delta$  47,3). As demais metilas foram posicionadas pelas correlações obtidas pelo mapa de contorno HMBC conforme os dados da Tabela 21.

Os dados espectrais obtidos em comparação com os dados descritos na literatura (Joshi *et al.*, 1999; Tabela 21) permitiram identificar a **substância 10** (Figura 52) como o triterpeno hederagenina (Ácido  $3\beta,23$ -dihidroxiolean-12-em-28-oico). Sendo este o primeiro relato do gênero *Hymenaea*. Estudos relatam atividade antitumoral (Tatia *et al.*, 2019), antimicrobiana (Ndjateu *et al.*, 2014) e potencial valor de aplicação para a prevenção e tratamento da osteoporose mediada por osteoclastos e outras doenças ósseas osteolíticas (Tiana *et al.*, 2020).



**Figura 52.** Estrutura química da substância 10 (hederegenina)

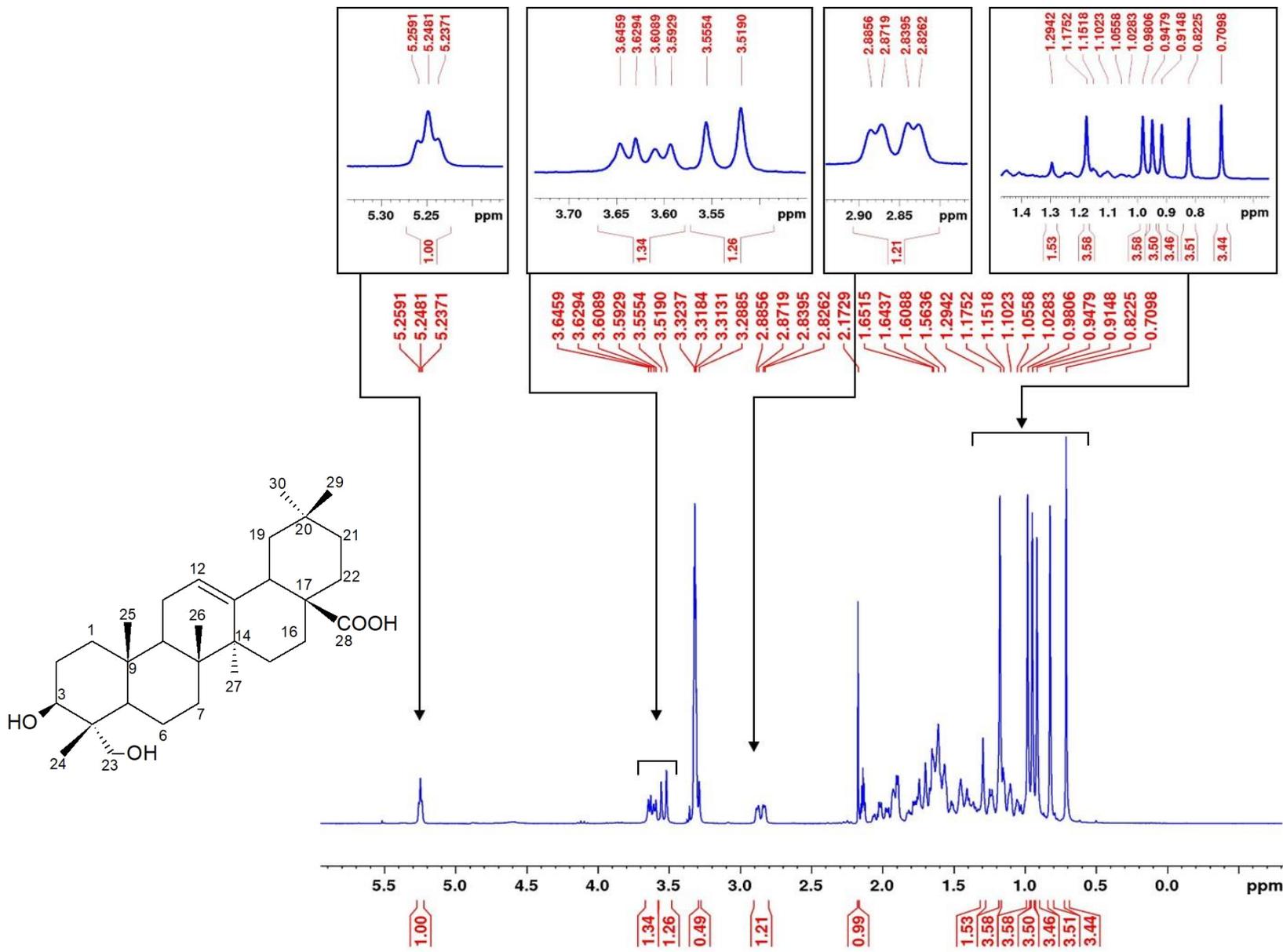
**Tabela 21.** Dados de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz),  $^{13}\text{C}$  e HMBC (75 MHz) em  $\text{CD}_3\text{OD}$  e Acetona  $\text{D}_6$ , da substância **10** em comparação com a literatura.

Nº	$^1\text{H}$	$^{13}\text{C}$		HMBC	
	$\delta$ (ppm), mult; $J$ (Hz)	$\delta$ (ppm)			
	Substância 10	Joshi <i>et al.</i> , 1999*	Substância 10	Joshi <i>et al.</i> , 1999*	Substância 10
<b>1</b>	1,65 e 1,05 (m)	1,59 e 1,07	38,1	38,9	C-4, C-8, C-10, C-25 e C-26
<b>2</b>	1,69 e 1,60 (m)	1,89 e 1,69	26,0	27,6	C-10
<b>3</b>	3,64 (dd; 11,1 e 4,9)	4,23	72,5	73,5	C-24
<b>4</b>	-----	-----	41,8	43,0	
<b>5</b>	1,15 (m)	1,53	47,3	48,7	C-24 e C-25
<b>6</b>	1,29 e 1,24 (m)	1,69 e 1,48	32,0	18,7	C-7
<b>7</b>	2,17 e 1,29 (m)	1,67 e 1,32	29,4	33,1	C-5
<b>8</b>	-----	-----		39,9	
<b>9</b>	1,64 (m)	1,78	47,5	48,3	C-8, C-10, C-14, C-25 e C-26
<b>10</b>	-----	-----	36,5	37,4	
<b>11</b>	1,93 e 1,90	1,95	23,1	24,0	C-12 e C-13
<b>12</b>	5,25 (t; 3,3)	5,51	122,1	122,7	C-9 e C-18
<b>13</b>	-----	-----	143,9	145,0	
<b>14</b>	-----	-----	41,5	42,3	
<b>15</b>	1,77 e 1,10	2,13 e 1,18	27,4	28,5	C-26
<b>16</b>	1,45 e 1,40	2,13 e 1,99	17,7	23,8	C-27

<b>17</b>	-----	-----		46,9	
<b>18</b>	2,88 (dd; 13,8 e 4,1)	3,31	41,3	42,1	C-12, C-13 e C-30
<b>19</b>	1,64 e 1,16 (m)	1,81 e 1,33	46,2	46,6	C-13 e C-30
<b>20</b>	-----	-----	30,2	31,1	
<b>21</b>	1,74 e 1,10 (m)	1,45 e 1,22	45,8	34,3	C-29
<b>22</b>	1,44 e 1,40	2,03 e 1,80	33,4	33,4	C-3, C-4, C-5 e C-24
<b>23</b>	3,55 (d; 10,9)	4,18	65,9	67,8	C-3, C-4, C-5 e C-24
<b>Ha</b>					
<b>23</b>	3,28 <sup>a</sup>	3,73	65,9	67,8	C-3, C-4, C-5 e C-24
<b>Hb</b>					
<b>24</b>	0,70 (s)	1,05	11,3	13,3	C-3, C-4, C-5, C-6 e C-23
<b>25</b>	0,98 (s)	0,97	14,9	16,1	C-1, C-5 e C-10
<b>26</b>	0,82 (s)	1,04	16,4	17,7	C-6, C-8, C-9 e C-14
<b>27</b>	1,17 (s)	1,26	25,1	26,3	C-8, C-15, C-13 e C-14
<b>28</b>	-----	-----	180,5	180,6	
<b>29</b>	0,91 (s)	0,95	32,2	33,4	C-20, C-21, C-22 e C-30
<b>30</b>	0,94 (s)	1,02	22,6	23,9	C-20, C-21 e C-29

<sup>a</sup> sobreposição de sinal

\*Solvente: piridina-D<sub>5</sub>



Current Data Parameters  
 NAME Jennifer20\_HCM-12.3  
 EXPNO 12  
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
 Date\_ 20200108  
 Time 16.48  
 INSTRUM FOURIER300  
 PROBHD 5 mm DUL 13C-1  
 PULPROG zgpcpr  
 TD 65536  
 SOLVENT MeOD  
 NS 32  
 DS 4  
 SWH 6103.516 Hz  
 FIDRES 0.093132 Hz  
 AQ 5.3687091 sec  
 RG 21.7103  
 DW 81.920 usec  
 DE 10.00 usec  
 TE 293.6 K  
 D1 2.00000000 sec  
 D12 0.00002000 sec  
 P41 2000000.00 usec  
 TD0 1

==== CHANNEL f1 =====  
 SFO1 300.2014670 MHz  
 NUC1 1H  
 P1 7.88 usec  
 PLW1 20.0000000 W  
 PLW9 0.00001000 W

F2 - Processing parameters  
 SI 65536  
 SF 300.2000000 MHz  
 WDW EM  
 SSB 0  
 LB 0.30 Hz  
 GB 0  
 PC 1.00

Figura 53. Espectro de RMN <sup>1</sup>H da substância 10 (300 MHz; Acetona-D6 e CD3OD).

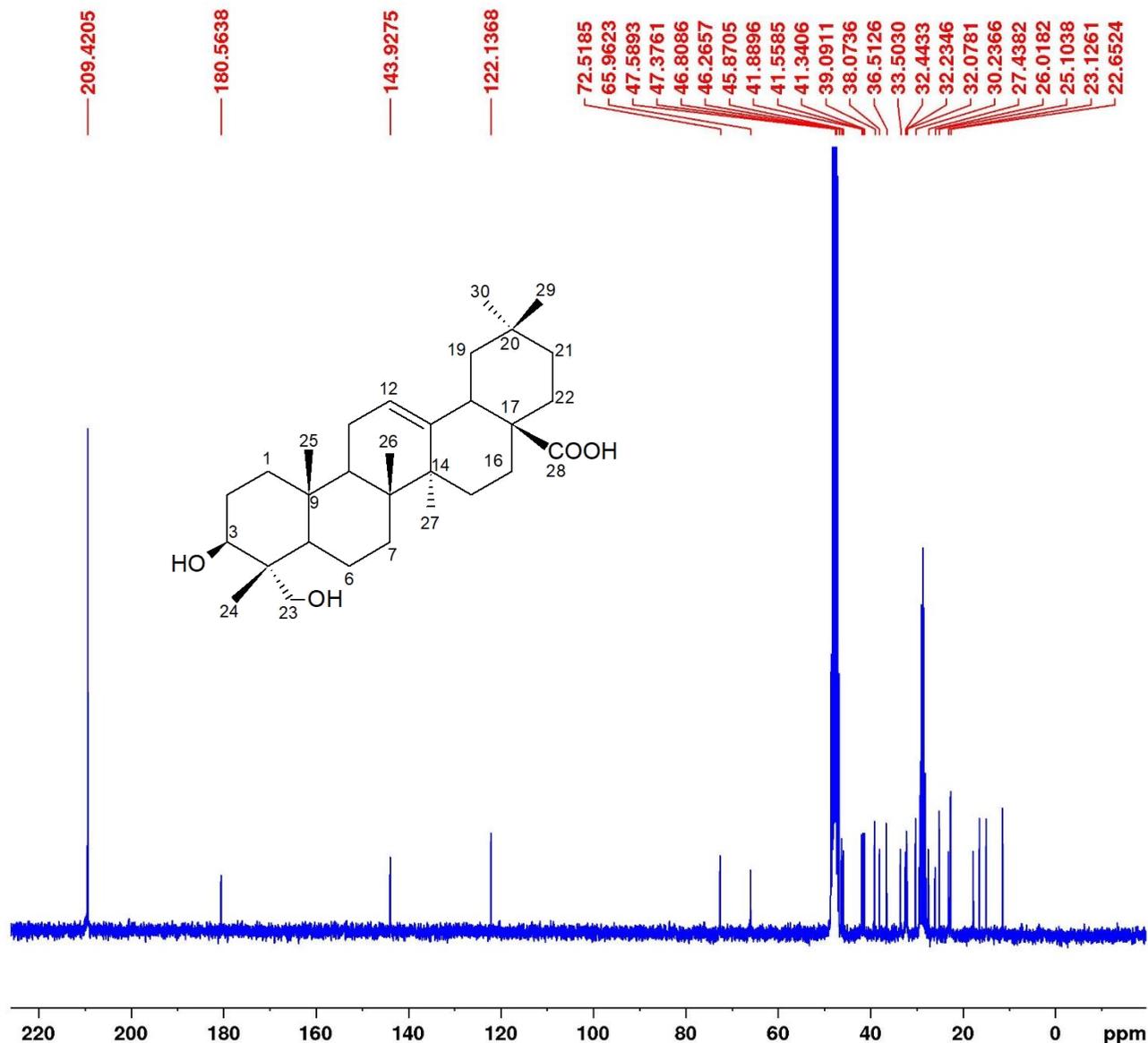


Figura 54. Espectro de RMN <sup>13</sup>C da substância 10 (75 MHz; Acetona-D6 e CD3OD).

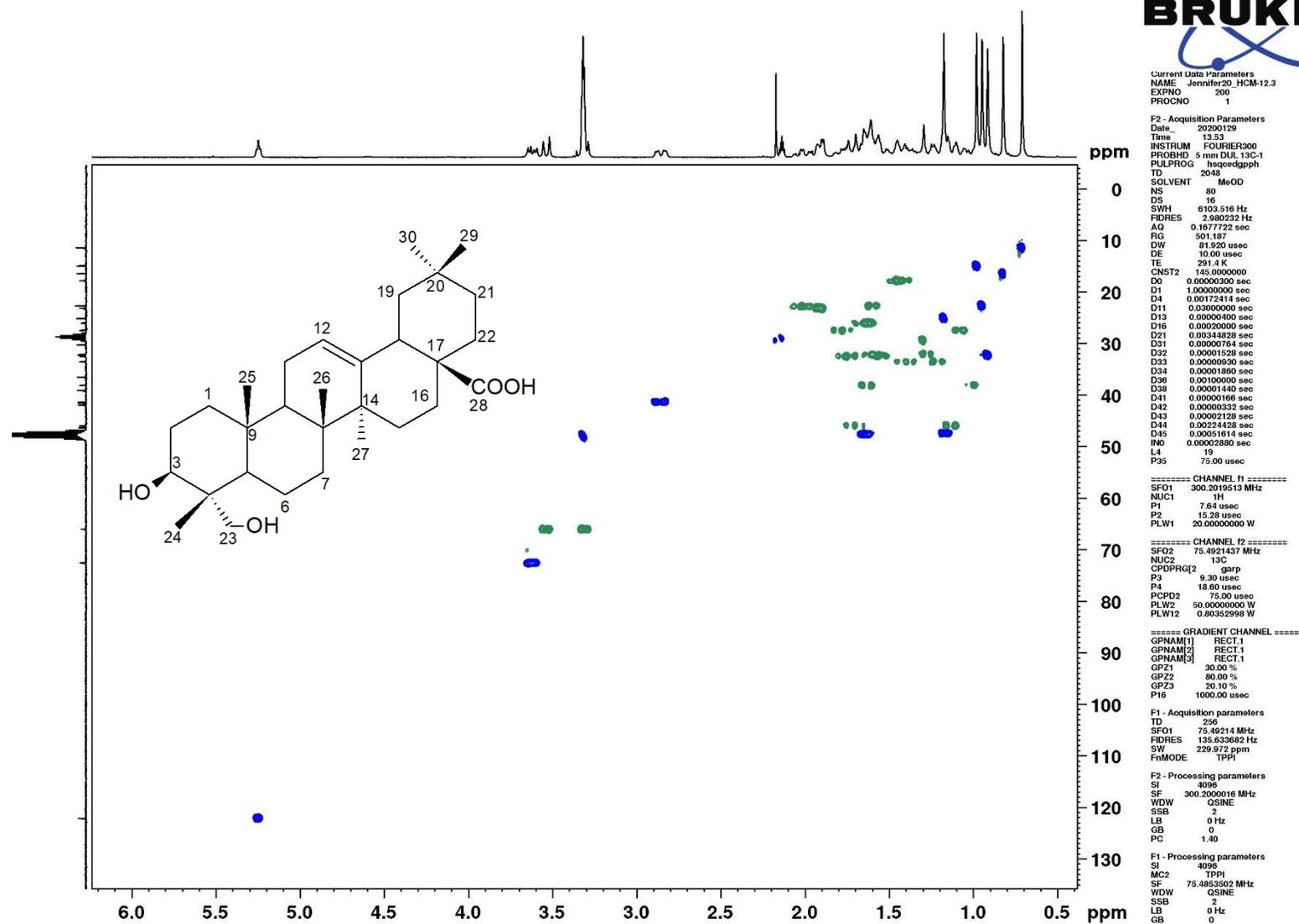


Figura 55. Mapa de contorno de HSQC da substância 10 (75 MHz; Acetona-D6 e CD3OD).



Current Data Parameters  
NAME Jennifer20\_HCM-12.3  
EXPNO 300  
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters  
Date\_ 20200129  
Time 20.43  
INSTRUM FOURIER300  
PROBHD 5 mm DUL 13C-1  
PULPROG hmbcgp1pndqf  
TD 2048  
SOLVENT MeOD  
NS 100  
DS 16  
SWH 6103.516 Hz  
FIDRES 2.980232 Hz  
AQ 0.1677722 sec  
RG 501.167  
DW 81.920 usec  
DE 10.00 usec  
TE 293.9 K  
CNST2 145.000000  
CNST13 8.000000  
D0 0.00000300 sec  
D1 1.00000000 sec  
D2 0.00344828 sec  
D6 0.06250000 sec  
D16 0.00020000 sec  
D31 0.00000764 sec  
D32 0.00001528 sec  
D33 0.00000930 sec  
D36 0.00100000 sec  
D38 0.00002890 sec  
INO 0.00002880 sec

===== CHANNEL f1 =====  
SFO1 300.2019513 MHz  
NUC1 1H  
P1 7.64 usec  
P2 15.28 usec  
PLW1 20.00000000 W

===== CHANNEL f2 =====  
SFO2 75.4932760 MHz  
NUC2 13C  
P3 9.30 usec  
PLW2 50.00000000 W

===== GRADIENT CHANNEL =====  
GPNAM[1] SINE.100  
GPNAM[2] SINE.100  
GPNAM[3] SINE.100  
GPZ1 50.00 %  
GPZ2 30.00 %  
GPZ3 40.10 %  
P16 1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters  
TD 256  
SFO1 75.49328 MHz  
FIDRES 135.633682 Hz  
SW 229.969 ppm  
FnMODE QF

F2 - Processing parameters  
SI 4096  
SF 300.2000000 MHz  
WDW SINE  
SSB 0  
LB 0 Hz  
GB 0  
FC 1.40

F1 - Processing parameters  
SI 4096  
MC2 QF  
SF 75.4853500 MHz  
WDW SINE  
SSB 0  
LB 0 Hz  
GB 0

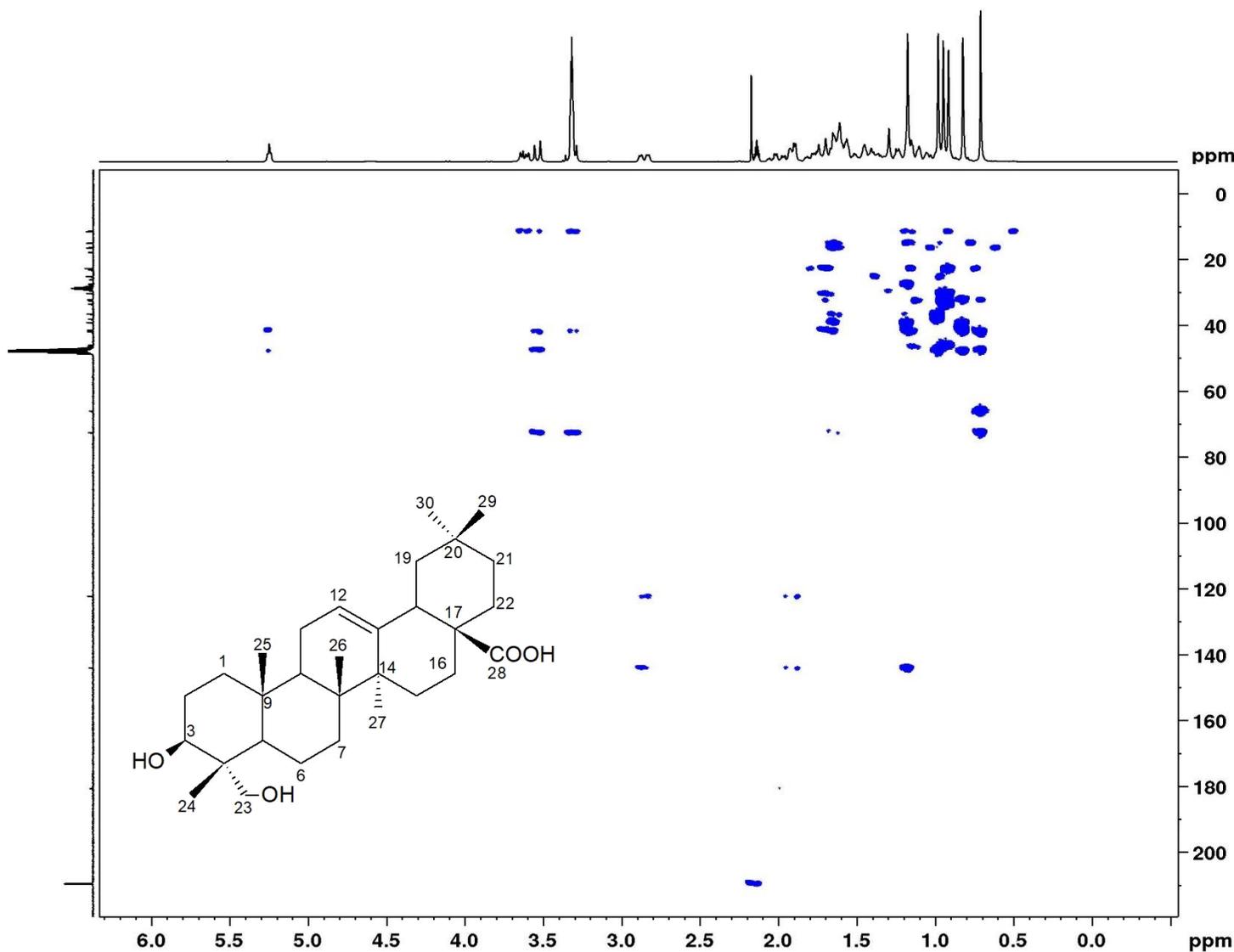
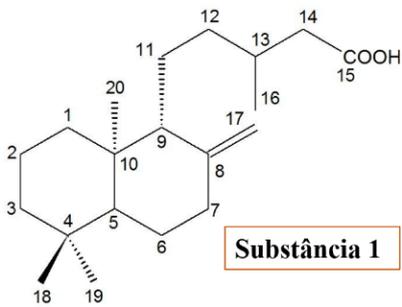
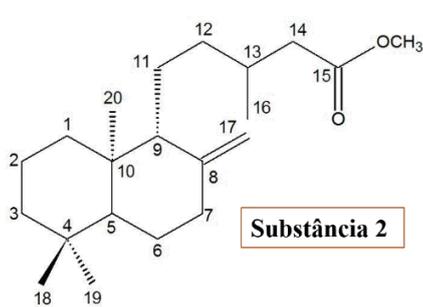
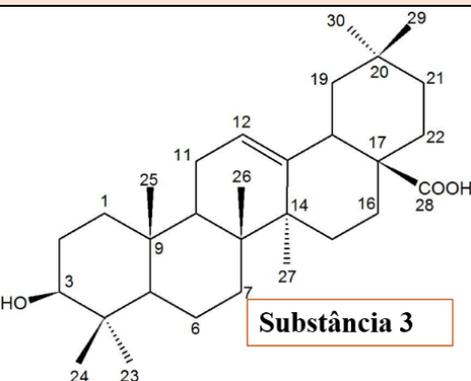
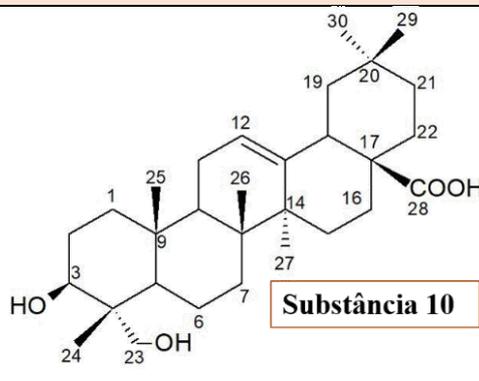
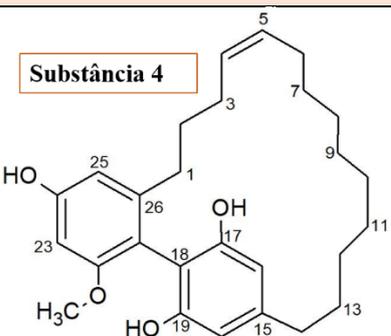
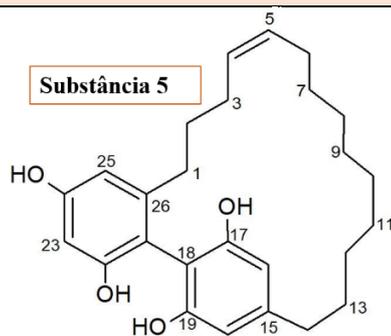
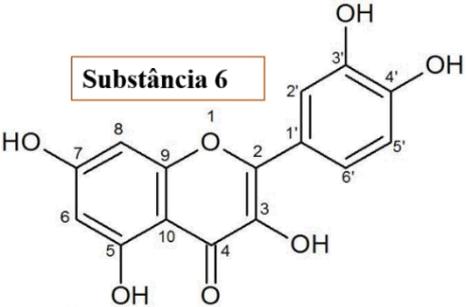
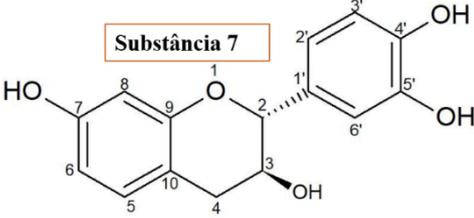
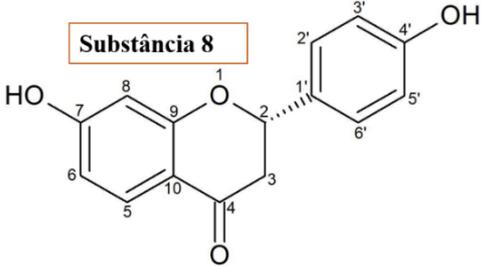
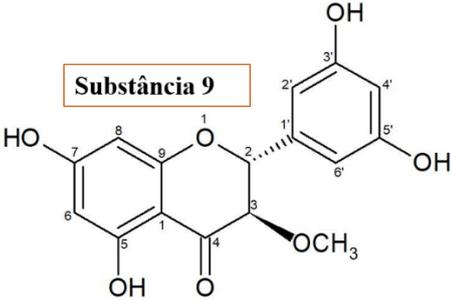


Figura 56. Mapa de contorno de HMBC da substância 10 (75 MHz; Acetona-D6 e CD3OD).

### 5.3.11 Substâncias isoladas dos resíduos madeiros de *H. courbaril*.

**Quadro 8.** Metabólitos secundários identificados em resíduos madeiros de *H. courbaril*.

DITERPENOS	
 <p style="text-align: right;"><b>Substância 1</b></p>	 <p style="text-align: right;"><b>Substância 2</b></p>
<p><b>Nome:</b> Ácido Eperúico  <b>Massa:</b> 49,2 mg  <b>Origem:</b> Extrato hexânico e metanólico  <b>Isolamento:</b> pág. 35 e 38  <b>Identificação estrutural:</b> pág. 48-55</p>	<p><b>Nome:</b> Éster metílico do Ácido Eperúico  <b>Massa:</b> 11,0 mg  <b>Origem:</b> Extrato metanólico  <b>Isolamento:</b> pág. 38  <b>Identificação estrutural:</b> pág. 56-60</p>
TRITERPENOS	
 <p style="text-align: right;"><b>Substância 3</b></p>	 <p style="text-align: right;"><b>Substância 10</b></p>
<p><b>Nome:</b> Ácido Oleanólico  <b>Massa:</b> 3,0 mg  <b>Origem:</b> Extrato metanólico  <b>Isolamento:</b> pág. 38  <b>Identificação estrutural:</b> pág. 61-67</p>	<p><b>Nome:</b> Hederegenina  <b>Massa:</b> 6,4 mg  <b>Origem:</b> Extrato metanólico  <b>Isolamento:</b> pág.44  <b>Identificação estrutural:</b> pág.110-117</p>
DERIVADOS DO RESORCINOL	
 <p style="text-align: right;"><b>Substância 4</b></p>	 <p style="text-align: right;"><b>Substância 5</b></p>
<p><b>Nome:</b> Metóxikemardecina H  <b>Massa:</b> 3,2 mg  <b>Origem:</b> Extrato metanólico</p>	<p><b>Nome:</b> kemardecina H  <b>Massa:</b> 4,3 mg  <b>Origem:</b> Extrato metanólico</p>

<b>Isolamento:</b> pág. 38 <b>Identificação estrutural:</b> pág. 68-76	<b>Isolamento:</b> pág. 38 <b>Identificação estrutural:</b> pág. 77-84
<b>FLAVONOIDES</b>	
<div style="text-align: center;">  <p><b>Substância 6</b></p> </div> <p><b>Nome:</b> Quercetina  <b>Massa:</b> 9,2 mg  <b>Origem:</b> Extrato metanólico  <b>Isolamento:</b> pág. 42  <b>Identificação estrutural:</b> pág. 85-89</p>	<div style="text-align: center;">  <p><b>Substância 7</b></p> </div> <p><b>Nome:</b> Fisetinediol  <b>Massa:</b> 8,5 mg  <b>Origem:</b> Extrato metanólico  <b>Isolamento:</b> pág. 42  <b>Identificação estrutural:</b> pág. 90-95</p>
<div style="text-align: center;">  <p><b>Substância 8</b></p> </div> <p><b>Nome:</b> Liquiritigenina  <b>Massa:</b> 4,7 mg  <b>Origem:</b> Extrato metanólico  <b>Isolamento:</b> pág. 42  <b>Identificação estrutural:</b> pág. 96-103</p>	<div style="text-align: center;">  <p><b>Substância 9</b></p> </div> <p><b>Nome:</b> 3-metóxi-5,7,3',5'-tetrahydroflavanona  <b>Massa:</b> 27,4 mg  <b>Origem:</b> Extrato metanólico  <b>Isolamento:</b> pág. 42  <b>Identificação estrutural:</b> pág. 104-109</p>

Obs: continuação do **Quadro 8**, pág. 116

#### 5.4 Atividade antifúngica sobre as cepas de *Candida* e *Cryptococcus*

Para avaliar atividade antifúngica dos diterpenos **1** e **2**, os derivados do resorcinol **4** e **5**, os flavonoides **8** e **9** (Quadro 8), foram submetidos à teste de sensibilidade antifúngica pela técnica de microdiluição em caldo, que investigou a Concentração Inibitória Mínima (CIM) frente às linhagens de *Candida albicans* (ATCC 60193) e *Cryptococcus gattii* (CFP 61). A Tabela 22 apresenta os resultados encontrados para os testes *in vitro* das substâncias provenientes dos resíduos de madeira de *H. courbaril* frente às diferentes linhagens de fungos.

Os resultados demonstram que para os diterpenos **1** e **2**, o derivado do resorcinol **4**, e os flavonoides **8** e **9** não houve nenhuma redução do crescimento contra as cepas de *C. albicans* e *C.gattii*. Assim, apenas o derivado resorcinol **5** apresentou inibição de 100% de atividade nos testes com as cepas de *C. albicans* e *C. gattii* com a concentração inicial de 160 µg/ml e 5 µg/ml respectivamente. Percebe-se uma alta atividade inibitório da kemardecina H (**5**) frente a cepa *C. gattii*, pois sua CIM está bem próxima da concentração do controle anfotericina B.

**Tabela 22.** Resultados da CIM das substâncias sobre as cepas de fungos.

Substâncias	Concentração Inibitória Mínima (µg/mL)	
	<i>Candida albicans</i>	<i>Cryptococcus gattii</i>
<b>1</b>	>320	>320
<b>2</b>	>320	>320
<b>4</b>	>320	>320
<b>5</b>	<b>160</b>	<b>5</b>
<b>8</b>	>320	>320
<b>9</b>	>320	>320
Controle Anfotericina B	0,25	0,5

## 6. CONCLUSÃO

Através da investigação química e biológica dos resíduos madeiros (cerne) de *Hymenaea courbaril*, pode-se obter novas contribuições científicas para o gênero e espécie em estudo, tais como:

O estudo fitoquímico resultou no isolamento dos diterpenos ácido eperúico (**1**) que constitui cerca de 8% do extrato hexânico e seu éster metílico (**2**), os triterpenos ácido oleanólico (**3**) e hederagenina (**10**), os derivados do resorcinol metóxikermadecina (**4**) e kermadecina (**5**), e os flavonoides quercetina (**6**), fisetinediol (**7**), liqueritigenina (**8**), e 3-metóxi-5,7,3',5'-tetrahidroxiflavanona (**9**). As substâncias **1**, **2** e **7** já possuem relatos na espécie em outras partes vegetativas. Contudo o flavonoide **6** está sendo relatado pela primeira vez na mesma. As substâncias **3**, **5**, **8**, e **10** apresentam o primeiro relato do gênero *Hymenaea*. Já as substâncias **4** e **9** são inéditas na literatura.

Na busca por substâncias com potencial biológico, o derivado do resorcinol kermadecina apresentou atividade contra as cepas de *C. albicans* (CIM 160 µg/ml) e *C. gattii* (CIM 5 µg/ml) pela técnica de microdiluição em caldo com destaque para última cepa que apresentou o melhor resultado.

E por fim, este trabalho descreveu a relevância dos estudos dos metabólitos secundários desta espécie, assim como, do estudo fitoquímico da madeira para plantas que ainda não possuem relatos químicos dessa parte vegetativa. Essa pesquisa sugere que substâncias com potencial biológico podem surgir a partir de metabólitos secundários isoladas de resíduos de madeira.

## 7. REFERÊNCIAS

- ABDEL-KADER, M.; BERGER, J.M.; SLEBODNICK, C.; HOCH, J.; MALONE, S.; WISSE, J.H.; WERKHOVEN, M.C.; MAMBER, S.; KINGSTON, D.G. 2002. Isolation and absolute configuration of ent-halimane diterpenoids from *Hymenaea courbaril* from the Surinamera in forest. *Journal Natural Products*, 65(1): 11–15.
- AGUIAR, J.C.D.; SANTIAGO, G.M.P.; LAVOR, P.L.; VERAS, H.N.H.; FERREIRA, Y.S.; LIMA, M.A.A.; ARRIAGA, A.M.; LEMOS, T.L.G.; LIMA, J.Q.; DE JESUS, H.C.R.; ALVES, P.B. BRAZ-FILHO, R. 2010. Chemical Constituents and Larvicidal Activity of *Hymenaea courbaril* Fruit Peel. *Natural Product Communications*, 5(12): 1977–1980.
- AHMAD, A.; KAHN, A.; KUMAR, P.; BHATT, R. P.; MANZOOR, N. 2011. Antifungal activity of *Coriaria nepalensis* essential oil by disrupting ergosterol biosynthesis and membrane integrity against *Candida*. *Yeast*, 28(8): 611–617.
- ALBUQUERQUE, P.C.; RODRIGUES, M.L. 2012. Research trends on pathogenic *Cryptococcus* species in the last 20 years: a global analysis with focus on Brazil. *Future Microbiology*, 7(3): 319–329.
- ALCÂNTARA, J.M.; NASCIMENTO, C.C.; MARQUES, M.O.M.; FREITAS, R.F.J.A.; LIMA, M.P. 2019. Volatile composition, anatomical and technological aspects of demolition wood from *Ocotea neesiana* (MIQ.) KOSTERM. *Review of Research*, 8(5): 1–7.
- ALENCAR, J.C.; FERNANDES, N.P. 1978. Desenvolvimento de árvores nativas em ensaios de espécies. I. Pau-rosa (*Aniba dukei* Kostermans). *Acta Amazonica*, 8(4): 523–541.
- ANDREAO, P.S.A. 2010. Estudo fitoquímico e avaliação da bioatividade de substâncias isoladas e derivatizadas de *Hymenaea stigonocarpa* (Fabaceae). Campos dos Goytacazes, Centro de Ciência e Tecnologia – UENF. Tese de doutorado. p. 311.
- ARTAVIA, D.; BARRIOS, M.; CASTRO, O. 1995. A flavononol rhamnoside from *Hymenaea courbaril* leaves. *Fitoterapia*, 66(1): 91–92.

BANDEIRA, P.N.; SANTOS, H.S.; ALBUQUERQUE, M.R.J.R.; LEMOS, T.L.G.; BRAZ-FILHO, R. 2015. A new diterpene isolated from the resin of *H. courbaril*. *Chemistry Natural Compounds*, 51(4): 693–696.

BARRERO, A.F.; SANCHEZ, J.F.; BARRON, A.; CORRALES, F.; RODRIGUEZ, J. 1989. Resorcinol derivatives and other components of *Ononis speciosa*. *Phytochemistry*, 28(1): 161–164.

BARROS, A. C.; VERÍSSIMO, A. 2002. A Expansão madeireira na Amazônia: impactos e perspectivas para o desenvolvimento sustentável no Pará. Belém, Imazon, p. 7.

BEHLING, E.B.; SENDÃO, M.C.; FRANCESCATO, H.D.C. *et al.* 2004. Flavonoide Quercetina: Aspectos gerais e ações biológicas. *Alimentos e Nutrição Araraquara*, 15(3): 285–292.

BEZERRA, G.P.; GÓIS, R.W.; DE BRITO, T.S.; DE LIMA, F.J.; BANDEIRA, M.A.; ROMERO, N.R., MAGALHÃES, P.J., SANTIAGO, G.M. 2013. Phytochemical study guided by the myorelaxant activity of the crude extract, fractions and constituent from stem bark of *Hymenaea courbaril* L. *Journal Ethnopharmacologic*, 149(1): 62–69.

CAÑEDO, L.M; CORRAL, J.M. M.; FELICIANO, A. S. 1997. 5-alkylresorcinols from *Ononis natrix*. *Phytochemistry*, 44(8):1559–1563.

CARNEIRO, E.; CALIXTO, J.B.; DELLE MONACHE, F.; YUNES, R.A. 1993. Isolation, chemical identification, and pharmacological evaluation of eucryphin, astilbin, and engelitin obtained from the bark of *Hymenaea martiana*. *International Journal Pharmacognosy*, 31(1): 38–46.

CARVALHO, W.; CANILHA, L.; FERRAZ, A.; MILAGRES, A.M.F. 2009. Uma visão sobre a estrutura, composição e biodegradação da madeira. *Química Nova*, 32(8): 2191–2195.

CARTAXO, S.L.; SOUZA, M.M.A.; ALBUQUERQUE, U.P. 2010. Medicinal plants with bioprospecting potential used in semi-arid Northeastern Brazil. *Journal of Ethnopharmacology*, 131(2): 326–342.

CECÍLIO, A.B.; DE FARIA, D.B.; OLIVEIRA, P.de C.; CALDAS, S.; DE OLIVEIRA, D.A.; SOBRAL, M.E.; DUARTE, M.G.; MOREIRA, C.P.; SILVA, C.G.; DE ALMEIDA, V.L. 2012. Screening of Brazillian medicinal plants for antiviral activity against rotavirus. *Journal of Ethnopharmacol.* 141(3): 975–981.

CHANG, Y.K.; SILVA, M.R.; GUTKOSKI, L.C.; SEBIO, L.; DA SILVA, M.A.A.P. 1998. Development of extruded snacks using jatoba (*Hymenaea stigonocarpa* Mart) flour and cassava starch blends. *Journal of the Science of Food Agriculture*, 78(1): 59–66.

CLSI - Clinical And Laboratory Standards Institute. 2008. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts, CLSI M27 – A3 (28). 3rd ed.

COMISIÓN PANAMERICANA DE NORMAS TÉCNICAS – COPANT. 1974. Descripción de características generales, macroscópicas de las maderas angiospermas dicotiledóneas, vol. 30, p. 1-19.

CUNNINGHAM, A.; MARTIN, S.S.; LANGENHEIM, J.H. 1973. Resin acids from two Amazonian species of *Hymenaea*. *Phytochemistry*, 12(3): 633–635.

CUNNINGHAM, L.; MARTIN, S.S.; LANGENHEIM, J.H. 1974. Labd-13-en-8-ol-15-oic acid in the trunk resin of Amazonian *Hymenaea courbaril*. *Phytochemistry*, 13(1): 294–295.

DA COSTA, M.P.; BOZINIS, M.C.; ANDRADE, W.M.; COSTA, C.R.; DA SILVA, A.L.; ALVES, C.M.O.; KATO, L., FERNANDES, O.F.; SOUZA, L.K.; SILVA M.R. 2014. Antifungal and cytotoxicity activities of the fresh xylem sap of *Hymenaea courbaril* L. and its major constituent fisetin. *BMC Complementary Alternative Medicine*, 14(245):1–7.

DIAS, L.S.; LUZIA, D.M.M.; JORGE, N. 2013. Physicochemical and bioactive properties of *Hymenaea courbaril* L. pulp and seed lipid fraction. *Industrial Crops and Products*, 49(13): 610– 618.

DOMÉNECH-CARBÓ, M.T.; CRUZ-CANIZARES, J.; Cortinaa, L.O.; DOMÉNECH-CARBÓ, A.; DAVID, H. 2009. Ageing behaviour and analytical characterization of the Jatobá resin collected from *Hymenaea stigonocarpa* Mart. *International Journal of Mass Spectrometry*, 284(1-3): 81–92.

DOYLE, J.J.; LUCKOW, M.A. 2003. The Rest of the Iceberg. Legume Diversity and Evolution in a Phylogenetic Context, *Plant Physiology*, 131(3): 900–910.

FERNANDES, H.P.; SINHORIN, A.P.; SINHORIN, V.D.G.; VIEIRA-JUNIOR, G.M.; SILVA, V.C.; DE CARVALHO, M.G. 2015. New glycosylated biscoumarins from *Hymenaea coubaril* L. seeds. *Phytochemistry Letter*, 13(3): 413–416.

GARCIA, M. G.; NASCIMENTO, C. C.; FERREIRA, A. G.; LIMA, M. P. 2018. Identification of isoflavonoids in wood residue from *Swartzia laevis*, *Dipteryx odorata*, and *Andira parviflora*. *Chemistry of Natural Compounds*, 54(5): 856–859.

GIACOMAZZI, J.; BAETHGEN, L.; CARNEIRO, L.C.; MILLINGTON, M.A.; DENNING, D.W.; COLOMBO, A.L.; PASQUALOTTO, A.C. 2016. The burden of serious human fungal infections in Brazil. *Mycoses*, 59(3): 145–150.

HAYASIDA, W.; SOUSA, A. S.; LIMA, M. P.; NASCIMENTO, C. C.; FERREIRA, A. G. 2008. Proposta de aproveitamento em resíduos de pau-rainha (*Brosimum rubescens*) descartados pelo setor madeireiro. *Acta Amazonica*, 38(4):749–752.

IBAMA. 1991. Padronização da nomenclatura comercial brasileira das madeiras tropicais amazônicas. Brasília, IBAMA, p. 85.

IBAMA. 2014. Espécies da flora ameaçadas de extinção. Disponível em < [https:// www.ibama.gov.br](https://www.ibama.gov.br)> Acessado em 29 de julho de 2019.

ISHIBASHI, M.; ODA, H.; MITAMURA, M.; OKUYAMA, E.; KOMIYAMA, K.; KAWAGUCHI, K.; WATANABE, T.; ALVES, S. M.; MAEKAWA, T. OHTSUKI, K., 1999. Casein kinase II inhibitors isolated from two brazilian plants *Hymenaea parvifolia* and *Wulffia baccata*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 9(15): 2157–2160.

IMAI, T., INOUE, S., OHDAIRA, N., MATSUSHITA, Y., SUZUKI, R., SAKURAI, M., HENRIQUES DE JESUS, J.M., OZAKI, S.K., FINGER, Z., FUKUSHIMA, K., 2008. Heartwood extractives from the Amazonian trees *Dipteryx odorata*, *Hymenaea courbaril*, and *Astronium lecointei* and their antioxidant activities. *Journal of Wood Science*, 54(6): 470–475.

JAYAPRAKASAM, B.; LINDO, R.L.A.; DEWITT, D.I.; NAIR, M.G. 2007. Terpenoids from stinking toe (*Hymenaea courbaril*) fruits with cyclooxygenase and lipid peroxidation inhibitory activities. *Food Chemistry*. 105(2): 485–490.

JOLLY, C.; THOISON, O.; MARTIN, M.T.; DUMONTET, V.; GILBERT, A.; PFEIFFER, B.; LÉONCE, S.; SÉVENET, T.; GUÉRITTE, F.; LITAUDON, M. 2008. Cytotoxic turrianes of *Kermadecia elliptica* from the New Caledonian rainforest. *Phytochemistry*, 69 (2): 533–540.

JOSSANG, J.; BEL-KASSAOUI, H.; JOSSANG, A.; SEULEIMAN, M.; NEL, A. 2008. Quesnoin, a novel pentacyclic ent-diterpene from 55 million years Old Oise Amber. *Journal Organic Chemistry*, 73(2): 412–417.

JOSHI, B. S.; SINGH, K. L.; ROY, R. 1999. Complete assignments of  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR spectra of the pentacyclic triterpene hederagenin from *Nigella sativa* Linn. *Magnetic Resonance in Chemistry*, 37(4): 295-298.

JUDD, W. S.; CAMPBELL, C. S.; KELLOGG, E. A.; STEVENS, P. F.; DONOGHUE, M. J. 2009. Sistemática Vegetal. Um Enfoque Filogenético. Porto Alegre, Artmed, p. 390.

KELECOM, A.; ROCHA, M.A.; MAJDALANI, E.C.; GONZALEZ, M.S.; MELLO, C.B. 2002. Novas atividades biológicas em antigos metabólitos: ácido oleanólico e eugenol de *Eugenia caryophyllata*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 12(1): 70–71.

KHAMSAN, S.; LIAWRUANGRATH, S.; TEERAWUTKULRAG, A.; PYNE, S.G.; GARSON, M.J.; LIAWRUANGRATH, B. 2012. The isolation of bioactive flavonoids from *Jacaranda obtusifolia* H. B. K. ssp. *rhombofolia* (G. F. W. Meijer) Gentry. *Acta Pharmaceutica*, 62(2): 181–190.

KHATHI, A.; SERUMULA, M.R.; MYBURG, R.B.; VAN HEERDEN, F.R.; MUSABAYANE, C.T. 2013. Effects of *Syzygium aromaticum*-derived triterpenes on postprandial blood glucose in streptozotocin-induced diabetic rats following carbohydrate challenge. *Plos One*, 8(11): 1–8.

KHOO, S.F.; OEHLISCHLAGER, A.C. 1973. Structure and stereochemistry of the diterpenes of *Hymenaea courbaril* (caesalpinioideae) seed pod resin. *Tetrahedron*, 29(21): 3379–3388.

KWAK, J.H.; KANG, M.W.; ROH, J.H.; CHOI, S.U.; ZEE, O.P. 2009. Cytotoxic phenolic compounds from *Chionanthus retusus*. *Archives of Pharmacal Research*, 32(12): 1681–1687.

LANGENHEIM, J.H.; LEE, Y.-T.; 1974. Reinstatement of the genus *Hymenaea* (Leguminosae: caesalpinioideae) in Africa. *Brittonia*, 26(1): 3–21.

LEE, Y. T.; LANGENHEIM, J. H. 1975. Systematics of the genus *Hymenaea* (Leguminosae: Caesalpinioideae, Detarieae). *University of California Publications in Botany*, 69(1): 109–111.

LEWIS, G. P.; SCHRIRE, B.; MACKINDER, B.; LOCK, M. 2005. Legumes of the world. Londres: *Royal Botanic Gardens*, 28 (1): 111–125.

LORENZI. 1992. Árvores Brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. São Paulo, Plantarum, p. 352.

LIN, M.H.; LIU, H.K.; HUANG, W.J.; HUANG, C.C.; WU, T.H.; HSU, F.L. .2011. Evaluation of the potential hypoglycemic and beta-cell protective constituents isolated from *Corni fructus* to tackle insulin-dependent diabetes mellitus. *Journal Agricola Food Chemistry*, 59(14): 7743–7751.

MAGIATIS, P.; MELLIU, E.; SKALTSOUNIS, A.L.; MITAKU, S.; LÉONCE, S.; RENARD, P.; PIERRÉ, A.; ATASSI, G. 1998. Synthesis and Cytotoxic Activity of Pyranocoumarins of the Seselin and Xanthyletin Series. *Journal Natural. Products*, 61(8): 982–986.

MAHATO, S.B.; KUNDU, A.P. 1994. <sup>13</sup>C NMR Spectra of pentacyclic triterpenoids- A compilation and some salient features. *Phytochemistry*, 37(6): 1517–1575.

MARANHÃO, C.A.; PINHEIRO, I.O.; SANTANA, A.L.B.D.; OLIVEIRA, L.S.; NASCIMENTO, M.S.; BIEBER, L.W. 2013. Antitermitic and antioxidant activities of heartwood extracts and main flavonoids of *Hymenaea stigonocarpa* Mart. *Internacional Biodeterioration & Biodegradation*, 79(1): 9–13.

MARCHESINI, A.M.; PRADO, G.G.; MESSIANO, G.B.; MACHADO, M.B.; LOPES. L.M.X. 2009. Chemical Constituents of *Aristolochia giberti*. *Jornaul Brazilian Chemical Society*, 20(9):1598–1608.

MARSAIOLI, A.J.; LEITAO FILHO, H.F.; CAMPELLO, J.P. 1975. Diterpenes in the bark of *Hymenaea courbaril*. *Phytochemistry*, 14(8): 1882–1883.

MARTIN, S.S.; LANGENHEIM, J.H. 1974. Enantio-8(17),13(16),14-labdatrien-18-oic acid from trunk resin of Kenyan *Hymenaea verrucosa*. *Phytochemistry*, 13(2): 523–555.

MATUDA, T.G.; NETTO, F.M. 2005. Caracterização química parcial da semente de jatobá-do-cerrado (*Hymenaea stigonocarpa* Mart.). *Ciência Tecnologia de Alimentos*, Campinas, 25 (2): 353–357.

MELO, L.E.S.; CRUZ, K.S.; SOARES, P.I.L.; NASCIMENTO, C.C.; SOUZA, J.V.B.; MARCELINO, B.M.M.; ANDRADE NETO, V.F.; FERREIRA, A.G.; LIMA, M.P. 2019. Antifungal and antiplasmodial activity of isolated compounds from *Handroanthus serratifolius* (Vahl) S. Grose Sawdusts. *International Journal of Advanced Engineering Research and Science*, 6(9): 270–275.

MERCÊS, P.F.F.; BESSA, C.M.A.S.; MALAFAIA, C.B.; CÂMARA, C.A.G.; SILVA, M.M.C.; SILVA, P.C.B.; NAVARRO, D.M.A.F.; NAPOLEÃO, T.H.; CORREIA, M.T.S.; SILVA, M.V.; OLIVA, M.L.V. 2018. Caracterização fitoquímica e avaliação do potencial acaricida e inseticida do óleo essencial de *Hymenaea courbaril* L. var. *courbaril* sobre o ácaro-rajado e o gorgulho do milho. *Journal of Environmental Analysis and Progress*, 3 (4): 417–428.

MENDOZA, Z. M. S. H.; EVANGELISTA, W.V.; ARAÚJO, S.O.; SOUZA, C.C.; RIBEIRO, F.D.L.; SILVA, J.C. 2010. Análise dos resíduos madeireiros gerados nas marcenarias do município de Viçosa - Minas Gerais. *Revista Árvore*. 34(4): 755–760.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE 2016. Biodiversidade Brasileira. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br>>. Acesso em: 23 de julho de 2019.

MONTEIRO, A.F.; BATISTA, J.M.; JR MACHADO, M.A.; SEVERINO, R.P.; BLANCH, E.W.; BOLZANI, V.S.; VIEIRA, P.C.; SEVERINO, V.G. 2015. Structure and absolute configuration of diterpenoids from *Hymenaea stigonocarpa*. *Journal Natural Products*, 78(6): 1451–1455.

NAKANO, T.; DJERASSI, C. 1961. Terpenoids. XLVI.1 Copalic Acid<sup>2</sup>. *Journal Organic Chemistry*, 26(1): 1167-173.

NDJATEU, F.S.T.; TSAFACK, R.B.N.; NGANOU, B.K.; AWOUAFACK, M.D.; WABOA, H.K.; TENE, M.; TANE, P.; ELOFF, J.N. 2014. Antimicrobial and antioxidant activities of extracts and ten compounds from three Cameroonian medicinal plants: *Dissotis perkinsiae* (Melastomaceae), *Adenocarpus mannii* (Fabaceae) and *Barteria fistulosa* (Passifloraceae). *South African Journal of Botany*, 91(2): 37-42.

NOGUEIRA, R.T.; SHEPHERD, G.J.; LAVERDE, A. Jr.; MARSAIOLI, A.J.; IMAMURA, P.M. 2001. Clerodane-type diterpenes from the seed pods of *Hymenaea courbaril* var. *stilbocarpa*. *Phytochemistry*, 58(8): 1153–1157.

NOGUEIRA, R.T.; GIACOMINI, R.A.; SHEPHERD, G.J.; IMAMURA, P.M. 2002. A new entclerodane diterpene from *Hymenaea courbaril* var. *altissima*. *Journal Brazilian Chemistry Society*, 13(3): 389–391.

OLIVEIRA, J. M.; CRUZ, A. S.; FONSECA, A. F.; VAZ, C. P.; RODRIGUES, A.; AUREA, F. 1993. Prevalence of *Candida albicans* in vaginal fluid of asymptomatic Portuguese women. *The Journal of Reproductive Medicine*, 38(1): 41–42.

ORSI, P.R.; BONAMIN, F.; SEVERI, J.A.; SANTOS, R.C.; VILEGAS, W.; HIRUMA-LIMA, C.A.; DI STASI, L.C. 2012. *Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne: a Brazilian medicinal plant with gastric and duodenal anti-ulcer and antidiarrheal effects in experimental rodent models. *Journal of Ethnopharmacology*, 143(1): 81–90.

PINTO, A.C. O. 1995. Brasil dos viajantes e dos exploradores e a química de produtos naturais brasileira. *Química Nova*, 18(6): 608–615.

REITZ, R.; KLEIN, R.M.; REIS, A. 1978. Projeto madeiras de Santa Catarina. Herbário Barbosa Rodrigues, Itajaí. p. 320.

RIZZINI, C.T. 1990. Árvores e madeiras úteis do Brasil – manual de dendrologia brasileira. São Paulo, Edgard Blucher, p.286.

RIBEIRO, T.G.; CHÁVEZ-FUMAGALLI, M.A.; VALADARES, D.G.; FRANCA, J.R.; LAGE, P.S.; DUARTE, M.C.; ANDRADE, P.H.; MARTINS, V.T.; COSTA, L.E.; ARRUDA, A.L.; FARACO, A.A.; COELHO, E.A.; CASTILHO, R.O. 2014. Antileishmanial activity and cytotoxicity of Brazilian plants. *Experimental Parasitology*, 143(1): 60–68.

ROSA, L. dos S.; OHASHI, S. T. 1999. Influência do substrato e do grau de maturação dos frutos sobre a germinação do pau-rosa (*Aniba rosaeodora* Ducke). *Revista de Ciências Agrárias*, 31(1): 49–55.

SALAS, P.M.; CÉLIZ, G.; GERONAZZO, H.; DAZ, M.; RESNIK, S.L. 2011. Antifungal activity and enzymatically – modified flavonoids isolated from citrus species. *Food Chemistry*, 124(4): 1411–1415.

SERVIÇO FLORESTAL BRASILEIRO–SFB; INSTITUTO DO HOMEM E MEIO AMBIENTE DA AMAZÔNIA – IMAZON (Orgs.). 2010. A atividade madeireira na Amazônia brasileira: produção, receita e mercados. Belém, Imazon, p. 31.

SERPA, R.; FRANÇA, E.J.G.; MAIA, L.F.; ANDRADE, C.G.T.J.; DINIZ, A.; FURLANETO, M.C. 2012. In vitro antifungal activity of the flavonoid baicalein against *Candida* species. *Journal of Medical Microbiology*, 61(12): 1704–1709.

SHANLEY, P. e MEDINA, G. 2005. Frutíferas e plantas úteis na vida da Amazônica. Belém, Imazon, p. 106.

SIMÕES, K.; JIANG, D.; PESSONI, R.A.B.; CARDOSO-LOPES, E.M.; VIVANCO, J.M.; STERMITZ, F.R.; BRAGA, M.R. 2009. Ipomopsin and hymenain, two biscoumarins from seeds of *Hymenaea courbaril*. *Phytochemistry Letter*, 2(2): 59–62.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMAN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. 2007. Farmacognosia: da planta ao medicamento. Florianópolis, Editora da UFSC, p. 1102.

SILVA, C.P.; SOUSA, M.S.B.; SIGUEMOTO, E.S.; SOARES, R.A.M.; ARÊAS, J.A.G. 2014. Chemical composition and antioxidant activity of jatobá-do-cerrado (*Hymenaea stigonocarpa* Mart.) flour. *Food Science and Technology*, Campinas, 34 (3): 597–603.

SON, N.T.; ODAC, M.; HAYASHIC, N.; YAMAGUCHIC, D.; KAWAGISHIC, Y.; TAKAHASHIC, F.; HARADAA, K.; CUONGB, N.M.; FUKUYAMAA, Y. 2018. Antimicrobial Activity of the Constituents of *Dalbergia tonkinensis* and Structural-Bioactive Highlights. *Natural Product Communications*, 13(2): 157–161.

TATIA, R.; ZALARU, C.; TARCOMNICU, I.; MOLDOVAN, L.; CRACIUNESCU, O.; CALINESCU, I. 2019. Isolation and Characterization of Hederagenin from *Hedera helix* L. Extract with Antitumor Activity. *Revista de Chime*, 70(4): 1157–1161.

TIWARI, V.K.; MISHRA, B.B. 2011. Opportunity, Challenge and Scope of Natural Products in Medicinal Chemistry, Índia, Research Signpost, p. 283–311.

TIANA, K.; SUA, Y.; DINGA, J.; WANGA, D.; ZHANA, Y.; LIA, Y.; LIANGA, J.; LINA, X.; SONGA, F.; WANGC, Z.; XUC, J.; LIUA, Q.; ZHAOA, J. 2020. Hederagenin protects mice against ovariectomy-induced bone loss by inhibiting RANKL-induced osteoclastogenesis and bone resorption. *Life Sciences*, 244(2): 117336.

TORTORANO, A.M.; DHO, G.; PRIGITANO, A.; BREDA, G.; Grancini, A.; EMMI, V.; Cavanna, C.; MARINO, G.; MORERO, S.; OSSI, C.; DELVECCHIO, G.; PASSERA, M.; CUSUMANO, V.; DAVID, A.; BONACCORSO, G.; CORONA, A.; FAVARO, M.; VISMARA, C.; GARAU, M.G.; FALCHI, S.; TEJADA, M.R. 2012. Invasive fungal infections in the intensive care unit: a multicentre, prospective, observational study in Italy (2006–2008). *Mycoses*, 55(1): 73–79.

TROPICOS.ORG. Missouri Botanical Garden. 2019. Disponível em: <<http://www.tropicos.org>>. Acesso em: 21 de junho de 2019.

VAL, I. C. C.; ALMEIDA FILHO, G. L. 2001. Abordagem atual da candidíase vulvovaginal. *DST Jornal Brasileiro das Doenças Sexualmente Transmissíveis*, 13(4): 3–5.

VELASCO, D.M.L.; FORERO, O.J.S. 2018. Gomas empleadas en la industria de alimentos. *Revista de Investigaciones Carmentas*, 1(1): 43–48.

VIEIRA, A.J.H.; SANTOS, J.I. 2017. Mecanismos de resistência de *Candida albicans* aos antifúngicos anfotericina B, fluconazol e caspofungina. *Revista Brasileira de Análises Clínicas*, 49(3): 235–239.

WILLIAMS, D. W.; POTTS, A. J.; WILSON, M. J.; MATTHEWS, J. B.; LEWIS, M. A. 1997. Characterisation of the inflammatory cell infiltrate in chronic hyperplastic candidosis of the oral mucosa. *Journal of Oral Pathology & Medical*, 26(2): 83–89.

ULIBARRI, E.A. 2008. Los géneros de Caesalpinioideae (leguminosae) presentes en sudamérica. *Darwiniana*, 46(1): 169–163.

YAMAMOTO, T.; YAMAMOTO, K. 2005. Accelerator of collagen production. US 2005/0004217 A1. United States Patent Application Publicati.

ZHAO, X.; MEI, W.; GONG, M.; ZUO, W.; BAI, H.; DAI, H. 2011. Antibacterial Activity of the Flavonoids from *Dalbergia odorifera* on *Ralstonia solanacearum*. *Molecules*, 16(12): 9775–978.