

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

MAGALI SILVA DE AMORIM

*Sinningia hatschbachii* E *S. gerdtiana*: ESTUDO FITOQUÍMICO E  
AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTIMICROBIANA, ANTIOXIDANTE  
E CITOTÓXICA

Curitiba

2018

MAGALI SILVA DE AMORIM

*Sinningia hatschbachii* E *S. gerdtiana*: ESTUDO FITOQUÍMICO E  
AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTIMICROBIANA, ANTIOXIDANTE  
E CITOTÓXICA

Tese apresentada ao curso de Pós-Graduação em Química, Departamento de Química, Setor de Ciências Exatas, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Química, Área de concentração: Química Orgânica.

Orientadora:

Profa. Dra. Maria Élica Alves Stefanello

Curitiba

2018

Catálogo na Fonte: Sistema de Bibliotecas, UFPR  
Biblioteca de Ciência e Tecnologia

A524s

Amorim, Magali Silva de

*Sinningia hatschbachii* e *S. gerdiana*: estudo fitoquímico e avaliação das atividades antimicrobiana, antioxidante e citotóxica [recurso eletrônico] / Magali Silva de Amorim. – Curitiba, 2018.

Tese - Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Química, 2018.

Orientador: Maria Élica Alves Stefanello .

1. Química vegetal. 2. Antimicrobianos. 3. Antioxidante. 4. Antineoplásicos. 5. Gesneriaceae. 6. *Sinningia hatschbachii*. 7. *S. gerdiana*.  
I. Universidade Federal do Paraná. II. Stefanello, Maria Élica Alves. III. Título.

CDD: 581.19

Bibliotecário: Elias Barbosa da Silva CRB-9/1894



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
SETOR SETOR DE CIÊNCIAS EXATAS  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO QUÍMICA

## TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em QUÍMICA da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da tese de Doutorado de **MAGALI SILVA DE AMORIM** intitulada: **Sinningia hatschbachii e S. gerdiana: estudo fitoquímico e avaliação das atividades antimicrobiana, antioxidante e citotóxica.**, após terem inquirido a aluna e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de doutor está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

Curitiba, 17 de Dezembro de 2018.

MARIA ÉLIDA ALVES STEFANELLO  
Presidente da Banca Examinadora

CLAUDINEY SOARES CORDEIRO  
Avaliador Interno (UFPR)

ANDERSSON BARISON  
Avaliador Interno (UFPR)

GUILHERME LANZI SASSAKI  
Avaliador Externo (UFPR)

PALIMECIO GIMENES GUERRERO JUNIOR  
Avaliador Externo (UFPR)



### Dedicatória

Dedico esta tese ao meu pai, Luiz Amorim (*in memoriam*), à minha mãe, Zenira Amorim e, à minha sobrinha Nicole Amorim.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço imensamente à minha família. À minha mãe, que aprendeu a desgrudar um pouco da filha para que ela pudesse voar um pouco mais, muito obrigada Mainha (Zenira). Agradeço sempre ao meu pai (*in memoriam*), pois ele foi o primeiro a dizer que eu ia ser Doutora, mesmo sem saber como tudo funciona. Sempre foi minha inspiração, pois comecei a acreditar que era capaz com ele, mesmo sendo analfabeto, esteve sempre elevando minha autoestima, e infelizmente não pôde ver isso acontecer, mas o amor e o agradecimento são eternos. Obrigada Painho! Obrigada também ao meu irmão, Rafael Amorim, e cunhada, Adriana Chagas, obrigada por tudo, vocês fizeram parte disso.

Aos meus amigos-irmãos que fiz nesses quatro anos, amigos mais próximos, que fizeram deste doutorado um momento muito mais leve. São eles: Maria Helena, Alan Diego, Vanessa Winiewski, Cristhian Oliveira, Tassya Thaiza e Yane Honorato. Muito, mas muito obrigada por todo carinho e amor compartilhado, foi MEGA importante à presença de vocês nesse tempo. Principalmente a Alan Diego e Maria Helena que mesmo longe não deixaram de está tão próximos.

Aos amigos, não menos importantes, muito obrigado por todos os momentos agradáveis fora e dentro da universidade (UFPR): Felipe Barbosa, Leociley, Livia Dutra, Maria de Fátima, Patrícia Manuitt, Oranys Marín, Nayane Cristina e Meira Ballesteros.

Aos amigos-parceiros do LABPPAM: Juliana Schutz, Patricia Andrade, Estela Cardoso, Mayara Gonçalves, Mayara Fornari e Paulo Apolinário. Obrigada por estarem comigo em todos os momentos tristes e felizes.

Agradeço às minhas amigas de Recife, que mesmo distantes foram presentes em conselhos, atenção e amor. Por que para isso não precisamos estar perto. Muito obrigada, Priscilla Botelho e Suelayne Andrade. Vocês foram essenciais nessa fase.

A minha orientadora, Prof. Dra. Élide Stefanello, muito OBRIGADA! Por toda paciência, confiança, amizade e por sua excelente orientação. Um exemplo de profissional, muito dedicada e sempre disponível para nos ajudar contribuindo de forma direta na nossa formação. Serei sempre agradecida por tudo!

Aos professores da pós-graduação em Química da UFPR por toda contribuição na minha formação: Jaísa Fernandes, Francisco de Assis Marques, Leandro Piovan, Daniel Rampos, Claudiney Soares Cordeiro, Elisa Orth e Andersson Barison.

Ao professor Dr. Marcos José Salvador do Instituto de Biologia da Unicamp, pelos ensaios biológicos.

À Clarisse B. Poliquesi, do Museu Botânico Municipal de Curitiba, pela identificação das espécies deste trabalho.

Aos técnicos do DQ-UFPR, principalmente ao hialotécnico Geraldo Batista de Paiva, por todo suporte dado.

Ao centro de Ressonância Magnética Nuclear da UFPR, pelo auxílio e disponibilidade dos equipamentos, principalmente ao Prof. Dr. Antônio Gilberto Ferreira (UFSCar), pelo empréstimo da sonda TXI para o equipamento de RMN de 600 MHz.

Ao programa de pós-graduação em Química da UFPR, pela estrutura e oportunidade.

À universidade Federal do Paraná, pela estrutura.

A CAPES pela bolsa de estudo.

A todos que de forma direta ou indireta auxiliaram na realização deste trabalho.

Obrigada!



*"Nobody said it was easy. No one ever said it would be this hard." Coldplay*



## RESUMO

A família Gesneriaceae Rich. & Juss compreende cerca de 150 gêneros e aproximadamente 3000 espécies de plantas ornamentais, de distribuição pantropical, sendo constituída de ervas, cipós ou arbustos. *Sinningia* é um dos gêneros desta família que compreende cerca de 70 espécies, distribuídas desde o México até a Argentina. Neste trabalho foram estudadas duas espécies, *Sinningia hatschbachii*, uma pequena erva com tubérculos perenes, encontrada na Mata Atlântica e, *Sinningia gerdtiana*, uma erva perene que não apresenta tubérculos, encontrada em uma pequena área da bacia do Rio Ribeira. Estas espécies não tinham sido estudadas previamente, quanto à sua caracterização química e atividade biológica. O material vegetal seco (tubérculos de *S. hatschbachii* e partes aéreas de *S. gerdtiana*) foi extraído com solventes de diferentes polaridades e os extratos fracionados através de técnicas cromatográficas como CCD, CC e CLAE. Para identificação das substâncias isoladas foram utilizados métodos espectroscópicos, principalmente ressonância magnética nuclear, além de comparação com a literatura. De *S. hatschbachii* foram isoladas 14 substâncias: 6-hidroxi-2-O-metil-7-metoxidunniol (**SH1**), 7-hidroxi- $\alpha$ -dunniona (**SH2**), 7-hidroxi-6-metoxi- $\alpha$ -dunniona (**SH3**), 6-hidroxi-7-metoxi- $\alpha$ -dunniona (**SH4**), 2,4,4',6-tetrametoxididrochalcona (**SH5**), 4'-hidroxi-2,4,6-trimetoxididrochalcona (**SH6**), 4',2-dihidroxi-4,6-dimetoxididro-chalcona (**SH7**), calceolariosídeo B (**SH8**), conandrosídeo (**SH9**), 1,4-dimetoxi-2-naftoato de metila (**SH10**), 1-hidroxi-4-metoxi-2-naftoato de metila (**SH11**), *p*-hidroxibenzoato de metila (**SH12**), sitosterol (**SH13**) e, estigmasterol (**SH14**). As substâncias **SH9**, **SH13** e **SH14** também foram isoladas de *S. gerdtiana*, juntamente com sanangosídeo (**SG1**), halleridona (**SG2**), acetilcleroindicina B (**SG3**) e cleroindicina C (**SG4**). Destas, **SH1** é inédita, enquanto que **SH4**, **SH5**, **SH6**, **SH7**, **SH10**, **SH11**, **SG1** e **SG3** estão sendo relatadas pela primeira vez no gênero. Os extratos dos tubérculos de *S. hatschbachii* em hexano (**SHA**), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (**SHB**), AcOEt (**SHC**) e EtOH (**SHD**) foram avaliados para as atividades antimicrobiana, antioxidante e citotóxica. A atividade antimicrobiana foi avaliada *in vitro*, contra bactérias Gram-positivas (*Staphylococcus aureus* ATCC 14458, *S. epidermidis* ATCC 12228), Gram-negativas (*Escherichia coli* ATCC 10799, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) e fungos (*Candida albicans* ATCC 10231, *C. glabrata* ATCC 30070, *C. dubliniensis* ATCC 778157 e *C. parapsilosis* ATCC 22019). Todas as amostras mostraram-se inativas (CIM > 200  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ). A capacidade antioxidante dos extratos foi avaliada pelo ensaio ORAC (Capacidade de absorção de radicais de oxigênio), utilizando a fluoresceína como reagente e o trolox como padrão. Os resultados foram expressos em  $\mu\text{mol}$  de trolox equivalente por grama de extrato seco ( $\mu\text{mol TE g}^{-1}$ ). Foram ativos os extratos em diclorometano (1.095,6  $\mu\text{mol TE g}^{-1}$ ), AcOEt (2.843,3  $\mu\text{mol TE g}^{-1}$ ) e EtOH (5.981,2  $\mu\text{mol TE g}^{-1}$ ). No ensaio de atividade citotóxica, os extratos em hexano, diclorometano e AcOEt foram ativos contra as linhagens de células tumorais humanas PC-3 (próstata) e SKMEL 103 (melanoma). Os extratos em AcOEt e EtOH de *S. gerdtiana* foram testados para atividade antioxidante, sendo que ambos foram ativos (1.185,0 e 4.888,6  $\mu\text{mol TE g}^{-1}$ , respectivamente).

Palavras-chave: Gesneriaceae, *Sinningia hatschbachii*, *S. gerdtiana*, naftoquinonas, diidrochalconas, glicosídeos fenólicos, etilciclohexanoides, atividade antimicrobiana, citotóxica e antioxidante.

## ABSTRACT

The Gesneriaceae Rich. & Juss family comprises about 150 genera and approximately 3000 ornamental species of pantropical distribution, consisting of herbs, vines or shrubs. *Sinningia* is one of the genera of this family that comprises around 70 species, distributed from Mexico to Argentina. In this work were investigated two species, *Sinningia hatschbachii*, a small herb with perennial tubers, found in the Atlantic Forest, and *Sinningia gerdtiana*, a perennial herb without tubers, found in a small area of the Ribeira River basin. There were not chemical or biological studies on these species. Dried plant material (tubers of *S. hatschbachii* and aerial parts of *S. gerdtiana*) was extracted with solvents of different polarities, and the extracts were fractionated by chromatographic techniques, such as TLC, CC and HPLC. Spectroscopic methods, mainly nuclear magnetic resonance, were used to identify the isolated compounds, in addition to comparison with the literature. From *S. hatschbachii* were isolated 14 compounds: 6-hydroxy-2-O-methyl-7-methoxydunnionol (**SH1**), 7-hydroxy- $\alpha$ -dunnione (**SH2**), 7-hydroxy-6-methoxy- $\alpha$ -dunnione (**SH3**), 6-hydroxy-7-methoxy- $\alpha$ -dunnione (**SH4**), 2,4,4',6-tetramethoxydihydrochalcone (**SH5**), 4'-hydroxy-2,4,6-trimethoxydihydrochalcone (**SH6**), 2-dihydroxy-4,6-dimethoxydihydrochalcone (**SH7**), calceolarioside B (**SH8**), conandroside (**SH9**), methyl 1,4-dimethoxy-2-naphthoate (**SH10**), methyl 1-hydroxy-4-methoxy-2-naphthoate (**SH11**), methyl 4-hydroxybenzoate (**SH12**), sitosterol (**SH13**), and stigmasterol (**SH14**). Compounds **SH9**, **SH13**, and **SH14** were also isolated from *S. gerdtiana*, together with sanangoside (**SG1**), halleridone (**SG2**), acetylcleroindicin B (**SG3**), and cleroindicin C (**SG4**). Among these compounds, **SH1** is new, while **SH4**, **SH5**, **SH6**, **SH7**, **SH10**, **SH11**, **SG1** e **SG3** are being reported for the first time in *Sinningia*. Hexane, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, EtOAc, and EtOH extracts from *S. hatschbachii* were evaluated for antimicrobial, antioxidant and cytotoxic activities. *In vitro* antimicrobial activity was tested against Gram-positive (*Staphylococcus aureus* ATCC 14458, *S. epidermidis* ATCC 12228), Gram-negative (*Escherichia coli* ATCC 10799, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) and fungi (*Candida albicans* ATCC 10231, *C. glabrata* ATCC 30070, *C. dubliniensis* ATCC 778157 and *C. parapsilosis* ATCC 22019). All samples were inactive (MIC > 200  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ). The antioxidant capacity of the extracts was evaluated by ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) assay using fluorescein as reagent, and trolox as standard. The results were expressed in  $\mu\text{mol}$  of trolox equivalent by gram of dried extract ( $\mu\text{mol TE g}^{-1}$ ). The extracts in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1,095.6  $\mu\text{mol TE g}^{-1}$ ), EtOAc (2,843.3  $\mu\text{mol TE g}^{-1}$ ), and EtOH (5,981.2  $\mu\text{mol TE g}^{-1}$ ) were active. In the cytotoxic assay, the extracts in hexane, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, and EtOAc were active against the human tumor cell lines PC-3 (prostate), and SKMEL 103 (melanoma). AcOEt and EtOH extracts from *S. gerdtiana* were tested for antioxidant activity, and both were active (1,185.0 e 4,888.6  $\mu\text{mol TE g}^{-1}$ , respectively).

Key words: Gesneriaceae, *Sinningia hatschbachii*, *S. gerdtiana*, naphthoquinones, Dihydrochalcones, phenolic glycosides, ethylcyclohexanoids, antimicrobial, cytotoxic and antioxidant activities.

## LISTA DE FIGURAS

<b>FIGURA 1</b> - ESPÉCIES DE GESNERIACEAE. (A): <i>Saintpaulia ionantha</i> (VIOLETA AFRICANA) ( <a href="http://www.uesb.br/flower/alunos/violeta">www.uesb.br/flower/alunos/violeta</a> ) (B): <i>Sinningia speciosa</i> (GLOXÍNIA) (FONTE: O AUTOR). .....	29
<b>FIGURA 2</b> - DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DE ESPÉCIES DO GÊNERO <i>Sinningia</i> NO BRASIL. A COR BRANCA INDICA AUSÊNCIA DE REGISTRO NAQUELE ESTADO (ARAUJO;CHAUTEMS, 2018). .....	30
<b>FIGURA 3</b> - ANTRAQUINONAS (1-8) E CROMENOS (9-15) ISOLADOS DE <i>Sinningia</i> spp. ....	35
<b>FIGURA 4</b> - ETILCICLOEXANOIDES (16-19), ESTEROIDES (20-25), FLAVONOIDES (26-30), SUBSTÂNCIAS GLICOSILADAS (31-32), GLICOSÍDEOS FENÓLICOS (33-38) ISOLADOS DE <i>Sinningia</i> spp. ....	36
<b>FIGURA 5</b> - HIDRONAFTOQUINONAS (39-41), NAFTOQUINONAS (42-55) E DERIVADOS DE NAFTOQUINONAS (56-57) ISOLADAS DE <i>Sinningia</i> spp. ....	37
<b>FIGURA 6</b> - SESQUITERPENOS (58-60), TRITERPENOS (61-64) E OUTRAS (66-75) SUBSTÂNCIAS ISOLADSS DE <i>Sinningia</i> spp. ....	38
<b>FIGURA 7</b> - FOTO DOS TUBÉRCULOS DE <i>S. hatschbachii</i> . ....	39
<b>FIGURA 8</b> - FOTOS DE UM EXEMPLAR DE <i>S. hatschbachii</i> . ....	40
<b>FIGURA 9</b> - FOTOS DE UM EXEMPLAR DE <i>S. gerdiana</i> . ....	41
<b>FIGURA 10</b> - ESTRUTURA DO DUNNIOL .....	65
<b>FIGURA 11</b> - ESTRUTURA E PRINCIPAIS CORRELAÇÕES NO HMBC DA SUBSTÂNCIA <b>SH1</b> . ....	66
<b>FIGURA 12</b> - ESPECTRO DE MASSAS DE <b>SH1</b> .....	67
<b>FIGURA 13</b> - ESPECTRO NO UV-VIS DE <b>SH1</b> .....	67
<b>FIGURA 14</b> - ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ DE <b>SH1</b> (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ). ....	68
<b>FIGURA 15</b> - EXPANSÃO DO ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ DE <b>SH1</b> DOS SINAIS EM $\delta_{\text{H}}$ 6,23; 4,93 E 4,91 (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) .....	68
<b>FIGURA 16</b> - MAPA DE CORRELAÇÃO $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ A UMA LIGAÇÃO DE <b>SH1</b> (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ). ....	69
<b>FIGURA 17</b> - MAPA DE CORRELAÇÃO $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ A LONGA DISTÂNCIA DE <b>SH1</b> (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ). ....	69
<b>FIGURA 18</b> - ESTRUTURA DE <b>SH2</b> COM AS PRINCIPAIS CORRELAÇÕES NO HMBC. ....	71
<b>FIGURA 19</b> - ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ DE <b>SH2</b> (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) .....	72
<b>FIGURA 20</b> - EXPANSÃO DO ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ DE <b>SH2</b> DA REGIÃO ENTRE $\delta_{\text{H}}$ 8,0 A 7,0 (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ). ....	72
<b>FIGURA 21</b> - EXPANSÃO DO ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ DE <b>SH2</b> DA REGIÃO ENTRE $\delta_{\text{H}}$ 1,52 A 1,20 (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ). ....	73
<b>FIGURA 22</b> - MAPA DE CORRELAÇÃO $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ A UMA LIGAÇÃO DE <b>SH2</b> (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ). ....	73
<b>FIGURA 23</b> - MAPA DE CORRELAÇÃO $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ A LONGA DISTÂNCIA DE <b>SH2</b> (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ). ....	74

<b>FIGURA 24</b> - CROMATOGRAMA DA PURIFICAÇÃO DE SHAB 24-B .....	74
<b>FIGURA 25</b> - ESTRUTURA DE <b>SH3</b> .....	75
<b>FIGURA 26</b> - ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ DE <b>SH3</b> EM COMPARAÇÃO COM O ESPECTRO DE 7-HIDROXI-6-METOXI- $\alpha$ -DUNNIONA (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ). .....	76
<b>FIGURA 27</b> - EXPANSÃO DO ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ DE <b>SH3</b> E DE 7-HIDROXI-6-METOXI- $\alpha$ -DUNNIONA DA REGIÃO ENTRE $\delta_{\text{H}}$ 7,7 A 7,4 (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ). .....	77
<b>FIGURA 28</b> - EXPANSÃO DO ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ DE <b>SH3</b> E DE 7-HIDROXI-6-METOXI- $\alpha$ -DUNNIONA NA REGIÃO ENTRE $\delta_{\text{H}}$ 1,5 A 1,25 (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ). .....	77
<b>FIGURA 29</b> - ESTRUTURA DE <b>SH4</b> COM AS PRINCIPAIS CORRELAÇÕES $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ A LONGA DISTÂNCIA .....	78
<b>FIGURA 30</b> - ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ DE <b>SH4</b> (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ). .....	79
<b>FIGURA 31</b> - EXPANSÃO DO ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ DE <b>SH4</b> DOS SINAIS EM $\delta_{\text{H}}$ 7,53; 7,51 E 4,56 (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ). .....	80
<b>FIGURA 32</b> - EXPANSÃO DO ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ DE <b>SH4</b> DA REGIÃO ENTRE $\delta_{\text{H}}$ 1,6 A 1,15 (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ). .....	80
<b>FIGURA 33</b> - ESPECTRO DE RMN DE $^{13}\text{C}$ $\{^1\text{H}\}$ DE <b>SH4</b> (100 MHz, $\text{CDCl}_3$ ). .....	81
<b>FIGURA 34</b> - MAPA DE CORRELAÇÃO $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ A UMA LIGAÇÃO DE <b>SH4</b> (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ). .....	82
<b>FIGURA 35</b> - MAPA DE CORRELAÇÃO $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ A LONGA DISTÂNCIA DE <b>SH4</b> (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ). .....	82
<b>FIGURA 36</b> - ESTRUTURA E PRINCIPAIS CORRELAÇÕES NO HMBC DA SUBSTÂNCIA <b>SH5</b> . .....	84
<b>FIGURA 37</b> - ESPECTRO NO UV-VIS DE <b>SH5</b> . .....	85
<b>FIGURA 38</b> - ESPECTROS DE RMN DE $^1\text{H}$ DE <b>SH5</b> (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ). .....	85
<b>FIGURA 39</b> - EXPANSÃO DO ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ DE <b>SH5</b> ENTRE $\delta_{\text{H}}$ 8,2 A 6,8 (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ). .....	86
<b>FIGURA 40</b> - EXPANSÃO DO ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ DE <b>SH5</b> DE $\delta_{\text{H}}$ 3,01 E 2,99 (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ). .....	86
<b>FIGURA 41</b> - ESPECTRO DE RMN DE $^{13}\text{C}$ $\{^1\text{H}\}$ DE <b>SH5</b> (100 MHz, $\text{CDCl}_3$ ). .....	87
<b>FIGURA 42</b> - MAPA DE CORRELAÇÃO DIRETA $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ DA SUBSTÂNCIA <b>SH5</b> ...	87
<b>FIGURA 43</b> - MAPA DE CORRELAÇÃO A LONGA DISTÂNCIA $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ DA SUBSTÂNCIA <b>SH5</b> .....	88
<b>FIGURA 44</b> - ESTRUTURA E PRINCIPAIS CORRELAÇÕES NO HMBC DA SUBSTÂNCIA <b>SH6</b> .....	89
<b>FIGURA 45</b> - ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ DE <b>SH6</b> (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ). .....	90
<b>FIGURA 46</b> - EXPANSÃO DO ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ DE <b>SH6</b> DE $\delta_{\text{H}}$ 8,2 E 6,0 (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ). .....	90
<b>FIGURA 47</b> - EXPANSÃO DO ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ DE <b>SH6</b> DE $\delta_{\text{H}}$ 3,1 E 2,90 (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ). .....	91
<b>FIGURA 48</b> - MAPA DE CORRELAÇÃO DIRETA $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ DA SUBSTÂNCIA <b>SH6</b> ...	91
<b>FIGURA 49</b> - MAPA DE CORRELAÇÃO A LONGA DISTÂNCIA $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ DA SUBSTÂNCIA <b>SH6</b> .....	92

<b>FIGURA 50</b> - ESTRUTURA DA SUBSTÂNCIA <b>SH7</b> COM AS PRINCIPAIS CORRELAÇÕES HMBC .....	93
<b>FIGURA 51</b> - ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) DA SUBSTÂNCIA <b>SH7</b> + <b>SH6</b> .....	94
<b>FIGURA 52</b> - EXPANSÃO DO ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ DE <b>SH7</b> + <b>SH6</b> ENTRE $\delta_{\text{H}}$ 6,3 E 6,0 (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....	94
<b>FIGURA 53</b> - MAPA DE CORRELAÇÃO DIRETA $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ DA SUBSTÂNCIA <b>SH7</b> + <b>SH6</b> (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....	95
<b>FIGURA 54</b> - MAPA DE CORRELAÇÃO A LONGA DISTÂNCIA $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ DA SUBSTÂNCIA <b>SH7</b> + <b>SH6</b> (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....	95
<b>FIGURA 55</b> - ESTRUTURA E PRINCIPAIS CORRELAÇÕES NO HMBC DO GRUPO CAFEOILA.....	97
<b>FIGURA 56</b> - ESTRUTURA E PRINCIPAIS CORRELAÇÕES NO HMBC DO GRUPO 3,4-DIIDROXIFENILETOXILA.....	97
<b>FIGURA 57</b> - ESTRUTURA DO AÇÚCAR $\beta$ -GLUCOSE .....	98
<b>FIGURA 58</b> - ESTRUTURA DA SUBSTÂNCIA <b>SH8</b> .....	98
<b>FIGURA 59</b> - ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ DA SUBSTÂNCIA <b>SH8</b> (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ). .....	100
<b>FIGURA 60</b> - EXPANSÃO ENTRE $\delta_{\text{H}}$ 6,0 E 7,7 DO ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ DE <b>SH8</b> (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....	100
<b>FIGURA 61</b> - MAPA DE CORRELAÇÃO $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ A UMA LIGAÇÃO DE <b>SH8</b> (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....	101
<b>FIGURA 62</b> - MAPA DE CORRELAÇÃO $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ A LONGA DISTÂNCIA DE <b>SH8</b> (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....	101
<b>FIGURA 63</b> - ESTRUTURA DA XILOSE.....	102
<b>FIGURA 64</b> - ESTRUTURA E AS PRINCIPAIS CORRELAÇÕES NO HMBC DA SUBSTÂNCIA <b>SH9</b> .....	103
<b>FIGURA 65</b> - ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) DA SUBSTÂNCIA <b>SH9</b> .....	105
<b>FIGURA 66</b> – EXPANSÃO ENTRE $\delta_{\text{H}}$ 7,7 – 6,1 DO ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ DA SUBSTÂNCIA <b>SH9</b> (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....	105
<b>FIGURA 67</b> - EXPANSÃO DA REGIÃO ENTRE $\delta_{\text{H}}$ 4,30-5,0 DO ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ DE <b>SH9</b> (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....	106
<b>FIGURA 68</b> - MAPA DE CORRELAÇÃO $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ A UMA LIGAÇÃO DE <b>SH9</b> (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....	106
<b>FIGURA 69</b> - MAPA DE CORRELAÇÃO $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ A LONGA DISTÂNCIA DE <b>SH9</b> (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....	107
<b>FIGURA 70</b> - ESTRUTURA E PRINCIPAIS CORRELAÇÕES NO HMBC DA SUBSTÂNCIA <b>SH10</b> .....	108
<b>FIGURA 71</b> - ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ (600 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) DA SUBSTÂNCIA <b>SH10</b> .....	109
<b>FIGURA 72</b> - EXPANSÃO ENTRE $\delta_{\text{H}}$ 7,50 E 8.30 DO ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ DE <b>SH10</b> (600 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....	110

<b>FIGURA 73</b> - MAPA DE CORRELAÇÃO $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ A UMA LIGAÇÃO DE <b>SH10</b> (600 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....	111
<b>FIGURA 74</b> - MAPA DE CORRELAÇÃO $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ A LONGA DISTÂNCIA DE <b>SH10</b> (600 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....	111
<b>FIGURA 75</b> - ESTRUTURA E PRINCIPAIS CORRELAÇÕES NO HMBC DA SUBSTÂNCIA <b>SH11</b> .....	113
<b>FIGURA 76</b> - ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ (600 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) DA SUBSTÂNCIA <b>SH11</b> .....	114
<b>FIGURA 77</b> - EXPANSÃO ENTRE $\delta_{\text{H}}$ 7,40 E 8,40 DO ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ DE <b>SH11</b> (600 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....	114
<b>FIGURA 78</b> - MAPA DE CORRELAÇÃO $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ A UMA LIGAÇÃO DE <b>SH11</b> (600 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....	115
<b>FIGURA 79</b> - MAPA DE CORRELAÇÃO $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ A LONGA DISTÂNCIA DE <b>SH11</b> (600 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....	115
<b>FIGURA 80</b> - ESTRUTURA E PRINCIPAIS CORRELAÇÕES NO HMBC DA SUBSTÂNCIA <b>SH12</b> .....	116
<b>FIGURA 81</b> - ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{MeOH-D}_4$ ) DA SUBSTÂNCIA <b>SH12</b> .....	117
<b>FIGURA 82</b> - EXPANSÃO ENTRE $\delta_{\text{H}}$ 8,0 E 7,6 DO ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ DE <b>SH12</b> (400 MHz, $\text{MeOH-D}_4$ ).....	118
<b>FIGURA 83</b> - MAPA DE CORRELAÇÃO $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ A UMA LIGAÇÃO DE <b>SH12</b> (400 MHz, $\text{MeOH-D}_4$ ) .....	118
<b>FIGURA 84</b> - MAPA DE CORRELAÇÃO $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ A LONGA DISTÂNCIA DE <b>SH12</b> (400 MHz, $\text{MeOH-D}_4$ ) .....	119
<b>FIGURA 85</b> - ESTRUTURA E AS PRINCIPAIS CORRELAÇÕES DAS SUBSTÂNCIAS <b>SH13</b> E <b>SH14</b> .....	121
<b>FIGURA 86</b> - ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ (600 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) DAS SUBSTÂNCIAS <b>SH13</b> + <b>SH14</b> .....	123
<b>FIGURA 87</b> - EXPANSÃO ENTRE $\delta_{\text{H}}$ 2,40 E 0,50 DO ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ DAS SUBSTÂNCIAS <b>SH13</b> + <b>SH14</b> (600 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....	123
<b>FIGURA 88</b> - EXPANSÃO ENTRE $\delta_{\text{H}}$ 3,50 E 3,60 DO ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ DAS SUBSTÂNCIAS <b>SH13</b> + <b>SH14</b> (600 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....	124
<b>FIGURA 89</b> - EXPANSÃO ENTRE $\delta_{\text{H}}$ 5,00 E 5,40 DO ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ DAS SUBSTÂNCIAS <b>SH13</b> + <b>SH14</b> (600 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....	124
<b>FIGURA 90</b> - ESPECTRO DE $^{13}\text{C}$ $\{^1\text{H}\}$ DAS SUBSTÂNCIAS <b>SH13</b> + <b>SH14</b> (150 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....	125
<b>FIGURA 91</b> - EXPANSÃO ENTRE $\delta_{\text{C}}$ 60 E 10 DO ESPECTRO DE RMN DE $^{13}\text{C}$ DAS SUBSTÂNCIAS <b>SH13</b> + <b>SH14</b> (600 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....	125
<b>FIGURA 92</b> - MAPA DE CORRELAÇÃO $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ A UMA LIGAÇÃO DAS SUBSTÂNCIAS <b>SH13</b> + <b>SH14</b> (600 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....	126
<b>FIGURA 93</b> - MAPA DE CORRELAÇÃO $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ A LONGA DISTÂNCIA DAS SUBSTÂNCIAS <b>SH13</b> + <b>SH14</b> (600 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....	126
<b>FIGURA 94</b> - ESTRUTURA DO AÇÚCAR $\beta$ -ALLOPIRANOSE .....	128

<b>FIGURA 95</b> - ESTRUTURA E AS PRINCIPAIS CORRELAÇÕES NO HMBC DA SUBSTÂNCIA <b>SG1</b> .....	128
<b>FIGURA 96</b> - ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) DA SUBSTÂNCIA <b>SG1</b> .....	130
<b>FIGURA 97</b> - EXPANSÃO ENTRE $\delta_{\text{H}}$ 6,20-7,7 DO ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ DE <b>SG1</b> (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....	130
<b>FIGURA 98</b> - EXPANSÃO ENTRE $\delta_{\text{H}}$ 2,5-4,2 DO ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ DE <b>SG1</b> (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....	131
<b>Figura 99</b> - EXPANSÃO ENTRE $\delta_{\text{H}}$ 4,1 – 5,8 DO ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ DE <b>SG1</b> (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....	131
<b>FIGURA 100</b> - MAPA DE CORRELAÇÃO $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ A UMA LIGAÇÃO DE <b>SG1</b> (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....	132
<b>FIGURA 101</b> - MAPA DE CORRELAÇÃO $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ A LONGA DISTÂNCIA DE <b>SG1</b> (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....	132
<b>FIGURA 102</b> - ESTRUTURA E PRINCIPAIS CORRELAÇÕES NO HMBC DA SUBSTÂNCIA <b>SG2</b> .....	134
<b>FIGURA 103</b> - ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ (600 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) DA SUBSTÂNCIA <b>SG2</b> .....	135
<b>FIGURA 104</b> - EXPANSÃO ENTRE $\delta_{\text{H}}$ 6,7 - 6,8 E $\delta_{\text{H}}$ 6,02 - 5,9 DO ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ DA SUBSTÂNCIA <b>SG2</b> (600 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....	136
<b>FIGURA 105</b> - EXPANSÃO ENTRE $\delta_{\text{H}}$ 3,90 E 4,30 DO ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ DA SUBSTÂNCIA <b>SG2</b> (600 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....	136
<b>FIGURA 106</b> - EXPANSÃO ENTRE $\delta_{\text{H}}$ 2,20 E 2,90 DO ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ DA SUBSTÂNCIA <b>SG2</b> (600 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....	137
<b>FIGURA 107</b> - ESPECTRO DE RMN DE $^{13}\text{C}$ (600 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) DA SUBSTÂNCIA <b>SG2</b> .....	137
<b>FIGURA 108</b> - MAPA DE CORRELAÇÃO $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ A UMA LIGAÇÃO DA SUBSTÂNCIA <b>SG2</b> (600 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....	138
<b>FIGURA 109</b> - MAPA DE CORRELAÇÃO $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ A LONGA DISTÂNCIA DA SUBSTÂNCIA <b>SG2</b> (600 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....	138
<b>FIGURA 110</b> - ESTRUTURA E PRINCIPAIS CORRELAÇÕES NO HMBC DA SUBSTÂNCIA <b>SG3</b> .....	140
<b>FIGURA 111</b> - ESTRUTURA E PRINCIPAIS CORRELAÇÕES NO HMBC DA SUBSTÂNCIA <b>SG4</b> .....	140
<b>FIGURA 112</b> - ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ (600 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) DAS SUBSTÂNCIAS <b>SG2</b> + <b>SG3</b> + <b>SG4</b> .....	142
<b>FIGURA 113</b> - EXPANSÃO ENTRE $\delta_{\text{H}}$ 3,90 E 4,30 DO ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ DAS SUBSTÂNCIAS <b>SG2</b> + <b>SG3</b> + <b>SG4</b> (600 MHz, $\text{CDCl}_3$ ). OS PICOS ASSINALADOS SÃO DE <b>SG3</b> ( $\delta_{\text{H}}$ 4,31); <b>SG4</b> ( $\delta_{\text{H}}$ 4,24 E 3,91).....	142
<b>FIGURA 114</b> - EXPANSÃO ENTRE $\delta_{\text{H}}$ 1,00 E 2,90 DO ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ DAS SUBSTÂNCIAS <b>SG2</b> + <b>SG3</b> + <b>SG4</b> (600 MHz, $\text{CDCl}_3$ ). ALÉM DOS SINAIS DO <b>SG2</b> , MOSTRADOS ANTERIORMENTE, FORAM ASSINALADOS OS SINAIS DE <b>SG3</b> ( $\delta_{\text{H}}$ 2,68; 2,22; 2,07; 1,93; 1,80 E 178), E DE <b>SG4</b> ( $\delta_{\text{H}}$ 2,89; 2,74; 2,29; 2,24; 2,11; 2,02 E 1,77).....	143

<b>FIGURA 115</b> - ESPECTRO DE RMN DE $^{13}\text{C}$ $\{^1\text{H}\}$ (150 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) DAS SUBSTÂNCIAS <b>SG2</b> + <b>SG3</b> + <b>SG4</b> . OS SINAIS ASSINALADOS SÃO DE SG3 ( $\delta_{\text{C}}$ 211,8; 171,1; 69,6; 60,8; 40,3; 36,8; E 21,1) E SG4 ( $\delta_{\text{C}}$ 209,5; 83,5; 66,0; 42,4; 40,6; 35,0 E 33,4).....	143
<b>FIGURA 116</b> - EXPANSÃO ENTRE $\delta_{\text{C}}$ 20 E 90 DO ESPECTRO DE RMN DE $^{13}\text{C}$ $\{^1\text{H}\}$ (150 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) DAS SUBSTÂNCIAS <b>SG2</b> + <b>SG3</b> + <b>SG4</b> . FORAM ASSINALADOS OS SINAIS DE <b>SG3</b> ( $\delta_{\text{C}}$ 69,6; 60,8; 40,3; 36,8; E 21,1) E <b>SG4</b> ( $\delta_{\text{C}}$ 83,5; 66,0; 42,4; 40,6; 35,0 E 33,4).....	144
<b>FIGURA 117</b> - MAPA DE CORRELAÇÃO $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ A UMA LIGAÇÃO DAS SUBSTÂNCIAS <b>SG2</b> + <b>SG3</b> + <b>SG4</b> (600 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....	144
<b>FIGURA 118</b> - MAPA DE CORRELAÇÃO $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ A LONGA DISTÂNCIA DAS SUBSTÂNCIAS <b>SG2</b> + <b>SG3</b> + <b>SG4</b> (600 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....	145
<b>FIGURA 119</b> - CROMATOGRAMA DA MISTURA SG2 + SG3 + SG4 .....	145
<b>FIGURA 120</b> - ESPECTRO DE MASSA DA SUBSTÂNCIA <b>SG2</b> .....	146
<b>FIGURA 121</b> - ESPECTRO DE MASSA DA SUBSTÂNCIA <b>SG4</b> .....	147
<b>FIGURA 122</b> - ESPECTRO DE MASSA DA SUBSTÂNCIA <b>SG3</b> .....	147
<b>FIGURA 123</b> - ESTRUTURAS DE AAPH, FLUORESCEÍNA, QUERCETINA, ISOQUERCETINA, ÁCIDO CAFEÍCO, ÁCIDO CLOROGÊNICO E TROLOX. ....	151
<b>FIGURA 124</b> - ESTRUTURA DA DOXORRUBICINA .....	153



## LISTA DE TABELAS

<b>TABELA 1</b> - RELAÇÃO DAS ESPÉCIES DE <i>Sinningia</i> COM ESTUDOS FITOQUÍMICOS E OS METABÓLITOS SECUNDÁRIOS ISOLADOS (ANTRAQUINONAS, CROMENOS, ETILCICLOEXANOIDES, ESTEROIDES, FLAVONOIDES E GLICOSÍDEOS FENÓLICOS) (FIGURAS 3-4).....	32
<b>TABELA 2</b> - RELAÇÃO DAS ESPÉCIES DE <i>Sinningia</i> COM ESTUDOS FITOQUÍMICOS E OS METABÓLITOS SECUNDÁRIOS (NAFTOQUINONAS, HIDRONAFTOQUINONAS E DERIVADOS) ISOLADOS (FIGURAS 5). ....	33
<b>TABELA 3</b> - RELAÇÃO DAS ESPÉCIES DE <i>sinningia</i> COM ESTUDOS FITOQUÍMICOS E OS METABÓLITOS SECUNDÁRIOS (SESQUITERPENOS, TRITERPENOS E OUTRAS) (FIGURAS 6). ....	34
<b>TABELA 4</b> - MÉTODOS 1 E 2 ISOCRÁTICO. ....	43
<b>TABELA 5</b> - EXTRATOS OBTIDOS DE <i>S. hatschbachii</i> ( <b>SH</b> ) E DE <i>S. gerdiana</i> ( <b>SG</b> ) E SEUS RENDIMENTOS A PARTIR DOS TUBÉRCULOS SECOS E DAS PARTES AÉREAS, RESPECTIVAMENTE.....	45
<b>TABELA 6</b> - FRAÇÕES OBTIDAS DA COLUNA DE SHAB. ....	47
<b>TABELA 7</b> - FRAÇÕES DA COLUNA DE SHAB 12.....	47
<b>TABELA 8</b> - REUNIÃO DAS SUBFRAÇÕES DA COLUNA DE SHAB 22.....	48
<b>TABELA 9</b> - SUBFRAÇÕES DA COLUNA DE SHAB 26. ....	48
<b>TABELA 10</b> - REUNIÃO DAS FRAÇÕES DA COLUNA DE SHC. ....	51
<b>TABELA 11</b> - REUNIÃO DAS FRAÇÕES DA COLUNA DE SHC 1. ....	51
<b>TABELA 12</b> - SUBFRAÇÕES DA COLUNA DE SHC 4.....	52
<b>TABELA 13</b> - REUNIÃO DAS FRAÇÕES DA COLUNA DE SHC 6. ....	53
<b>TABELA 14</b> - FRAÇÕES DA COLUNA DE SGBC. ....	55
<b>TABELA 15</b> - FRAÇÕES DA COLUNA DE SGDBut. ....	56
<b>TABELA 16</b> - REUNIÃO DAS FRAÇÕES DA COLUNA DE SGDBUT 7. ....	56
<b>TABELA 17</b> - DADOS DE RMN DE <b>SH1</b> (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz). ....	66
<b>TABELA 18</b> - DADOS DE RMN DE <b>SH2</b> (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz), EM COMPARAÇÃO COM OS DADOS DA LITERATURA DA 7-HIDROXI- $\alpha$ -DUNNIONA (ACETONA- <i>d</i> <sub>6</sub> , 500 MHz) (CAI et al., 2005).....	71
<b>TABELA 19</b> - DADOS DE RMN DE <b>SH3</b> (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz), EM COMPARAÇÃO COM OS DADOS DA LITERATURA DA 7-HIDROXI-6-METOXI- $\alpha$ -DUNNIONA (ACETONA- <i>d</i> <sub>6</sub> , 500 MHz) (CAI et al., 2005).....	76

<b>TABELA 20</b> - DADOS DE RMN DE <b>SH4</b> (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz), EM COMPARAÇÃO COM OS DADOS DA 6-HIDROXI-7-METOXI- $\alpha$ -DUNNIONA (MeOD, 400 MHz) (SHERIDAN et al., 2011).....	79
<b>TABELA 21</b> - DADOS DE RMN DE <b>SH5</b> (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz) .....	84
<b>TABELA 22</b> - DADOS DE RMN DE <b>SH6</b> (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz), EM COMPARAÇÃO COM OS DADOS DA LITERATURA DE LOUREIRIN B (CDCl <sub>3</sub> , 360 e 80,8 MHz) (MEKSURIYEN; CORDELL, 1988). .....	89
<b>TABELA 23</b> - DADOS DE RMN DE <b>SH7</b> (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz), EM COMPARAÇÃO COM OS DADOS DA LITERATURA DA 4',2-DIHIDROXI-4,6-DIMETOXIDIIDROCHALCONA (Acetona- <i>d</i> <sub>6</sub> , 270 e 67,8 MHz) (ICHIKAWA et al., 1997).....	93
<b>TABELA 24</b> - DADOS DE RMN DE <b>SH8</b> (MeOD, 400 MHz), EM COMPARAÇÃO COM OS DADOS DA LITERATURA DO CALCEOLARIOSÍDEO B (MeOD, 250 MHz) (DAMTOFT; JENSEN, 1994).....	99
<b>TABELA 25</b> - DADOS DE RMN DE <b>SH9</b> (MeOD, 400 MHz), EM COMPARAÇÃO COM OS DADOS DA LITERATURA DO CONANDROSÍDEO (MeOD, 500 MHz) (KAWADA et al., 2000).....	103
<b>TABELA 26</b> - DADOS DE RMN DE <b>SH10</b> (CDCl <sub>3</sub> , 600 MHz), EM COMPARAÇÃO COM OS DADOS DA LITERATURA DO 1,4-DIMETOXI-2-NAFTOATO DE METILA (CDCl <sub>3</sub> , 250 MHz) (FLADER; LIU; BORCH, 2000).....	109
<b>TABELA 27</b> - DADOS DE RMN DE <b>SH11</b> (CDCl <sub>3</sub> , 600 MHz), EM COMPARAÇÃO COM OS DADOS DA LITERATURA DE 1-HIDROXI-4-METOXI-2-NAFTOATO DE METILA (CDCl <sub>3</sub> , 500 MHz) (FRAGA; DÍAZ; QUINTANA, 2010).....	113
<b>TABELA 28</b> - DADOS DE RMN DE <b>SH12</b> (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz), EM COMPARAÇÃO COM OS DADOS DA LITERATURA PARA O <i>p</i> -HIDROXIBENZOATO DE METILA (CDCl <sub>3</sub> , 250 MHz) (KANNATHASAN et al., 2011).....	117
<b>TABELA 29</b> - DADOS DE RMN DE <b>SH13</b> E <b>SH14</b> (CDCl <sub>3</sub> , 600 MHz), EM COMPARAÇÃO COM OS DADOS DA LITERATURA DE SITOSTEROL E ESTIGMASTEROL (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz, KOJIMA et al., 1990). .....	122
<b>TABELA 30</b> - DADOS DE RMN DE <b>SG1</b> (MeOD, 400 MHz), EM COMPARAÇÃO COM OS DADOS DA LITERATURA DE SANANGOSÍDEO (MeOD, 500 MHz) (JENSEN, 1996).....	129

<b>TABELA 31</b> - DADOS DE RMN DE <b>SG2</b> (CDCl <sub>3</sub> , 600 MHz), EM COMPARAÇÃO COM OS DADOS DA LITERATURA DE HALLERIDONA (CDCl <sub>3</sub> , 250 MHz, MESSANA et al., 1984).....	135
<b>TABELA 32</b> - DADOS DE RMN DE <b>SG3</b> E <b>SG4</b> (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz), EM COMPARAÇÃO COM OS DADOS DA LITERATURA PARA ACETILCLEROINDICINA B (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz, ABDULLAHI et al., 1986) E CLEROINDICINA C (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz, SG4, TIAN et al., 1997). ....	141
<b>TABELA 33</b> - ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS EXTRATOS DE <i>S. hatschbachii</i> .....	148
<b>TABELA 34</b> - CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DOS EXTRATOS DE <i>S. hatschbachii</i> E <i>S. gerdiana</i> .....	150
<b>TABELA 35</b> - ATIVIDADE CITOTÓXICA <i>IN VITRO</i> DOS EXTRATOS DE <i>S. hatschbachii</i> CONTRA LINHAGENS DE CÉLULAS TUMORAIS HUMANAS.....	153

## LISTA DE SIGLAS E SIMBOLOS

<b>ACN</b>	Acetonitrila
<b>CC</b>	Cromatografia clássica em coluna aberta
<b>CCDA</b>	Cromatografia em camada delgada analítica
<b>CCDP</b>	Cromatografia em camada delgada preparativa
<b>CG-EM</b>	Cromatografia Gasosa acoplado à espectrometria de massas
<b>CLAE</b>	Cromatografia líquida de alta eficiência
<b>DCM</b>	Diclorometano
$\delta$	Deslocamento químico
<i>d</i>	Dupleto
<i>dd</i>	Duplo duplete
<i>ddd</i>	Duplo duplo duplete
<b>EM</b>	Espectrometria de massas
<b>EM-AR</b>	Espectrometria de massas de alta resolução
<b>Hex</b>	Hexano
<b>HMBC</b>	<i>Heteronuclear multiple bond correlation</i> (correlação heteronuclear à múltiplas ligações)
<b>HPLC</b>	<i>High performance liquid chromatography</i> (CLAE)
<b>HSQC</b>	<i>Heteronuclear single quantum coherence</i> (correlação heteronuclear a uma ligação)
<b>I<sub>R</sub></b>	Índice de retenção
<b>N.O.</b>	Não observado
<i>q</i>	Quarteto
<b>SH</b>	Material botânico proveniente da coleta dos tubérculos de <i>Sinningia hatschbachii</i>
<b>SHA</b>	Extrato em hexano dos tubérculos de <i>Sinningia hatschbachii</i>
<b>SHB</b>	Extrato em diclorometano dos tubérculos de <i>Sinningia hatschbachii</i>
<b>SHC</b>	Extrato em acetato de etila dos tubérculos de <i>Sinningia hatschbachii</i>
<b>SHD</b>	Extrato em etanol dos tubérculos de <i>Sinningia hatschbachii</i>
<b>SG</b>	Material botânico proveniente da coleta das partes aéreas de <i>Sinningia gerdiana</i>
<b>SGA</b>	Extrato em hexano das partes aéreas de <i>Sinningia gerdiana</i>

<b>SGB</b>	Extrato em diclorometano das partes aéreas de <i>Sinningia gerdtiana</i>
<b>SGC</b>	Extrato em acetato de etila das partes aéreas de <i>Sinningia gerdtiana</i>
<b>SGD</b>	Extrato em etanol das partes aéreas de <i>Sinningia gerdtiana</i>
<b><i>t</i></b>	Tripleto
<b>T<sub>R</sub></b>	Tempo de retenção

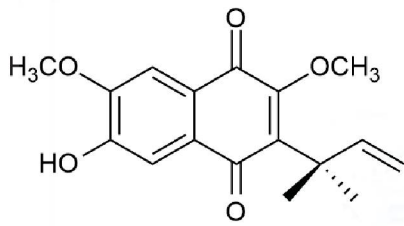


## SUMÁRIO

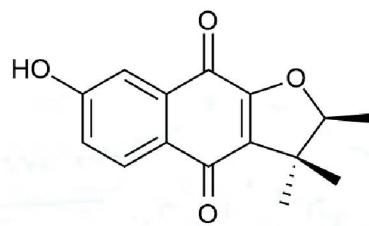
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	27
1.1 FAMÍLIA GESNERIACEAE .....	28
1.2 O GÊNERO <i>Sinningia</i> .....	29
1.3 AS ESPÉCIES <i>Sinningia hatschbachii</i> E <i>S. gerdiana</i> .....	39
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	41
2.1 OBJETIVO GERAL: .....	41
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS: .....	41
<b>3. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	42
3.1 PROCEDIMENTOS GERAIS .....	42
3.2 MATERIAL VEGETAL .....	44
3.3 PREPARAÇÃO DE EXTRATOS .....	44
3.4 ISOLAMENTO DOS METABÓLITOS SECUNDÁRIOS .....	46
3.4.1. <i>Sinningia hatschbachii</i> (SH) .....	46
3.4.1.1 FRACIONAMENTO CROMATOGRÁFICO DE <b>SHA</b> E <b>SHB</b> .....	46
3.4.1.2 FRACIONAMENTO CROMATOGRÁFICO DE <b>SHC</b> .....	51
3.4.2. <i>Sinningia gerdiana</i> (SG) .....	55
3.4.2.1. FRACIONAMENTO CROMATOGRÁFICO DE SGBC E SGBut ...	55
4. ATIVIDADES ANTIOXIDANTE, ANTIMICROBIANA E CITOTÓXICA ...	58
4.1 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE .....	58
4.2 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA .....	58
4.3 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA .....	59
4.4 <b>DADOS FÍSICOS E ESPECTROMÉTRICOS DAS SUBSTÂNCIAS</b>	
<b>ISOLADAS</b> .....	60
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	64
5.1 SUBSTÂNCIAS ISOLADAS DE <i>S. hatschbachii</i> . .....	64
5.1.1 NAFTOQUINONAS PRENILADAS .....	64
5.1.1.1 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE <b>SH1</b> .....	64
5.1.1.2 IDENTIFICAÇÃO DE <b>SH2</b> .....	70
5.1.1.3 IDENTIFICAÇÃO DE <b>SH3</b> E DE <b>SH4</b> .....	74
5.1.2 DIIDROCHALCONAS .....	83

5.1.2.1 IDENTIFICAÇÃO DE <b>SH5</b> .....	83
5.1.2.2 IDENTIFICAÇÃO DE <b>SH6</b> .....	88
5.1.2.3 IDENTIFICAÇÃO DE <b>SH7</b> .....	92
5.1.3 GLICOSÍDEOS FENÓLICOS.....	96
5.1.3.1 IDENTIFICAÇÃO DE <b>SH8</b> .....	96
5.1.3.2 IDENTIFICAÇÃO DE <b>SH9</b> .....	102
5.1.4 OUTRAS SUBSTÂNCIAS AROMÁTICAS .....	107
5.1.4.1 IDENTIFICAÇÃO DE <b>SH10</b> .....	107
5.1.4.2 IDENTIFICAÇÃO DE <b>SH11</b> .....	112
5.1.4.3 IDENTIFICAÇÃO DE <b>SH12</b> .....	116
5.1.5. ESTERÓIDES.....	119
5.1.5.1 IDENTIFICAÇÃO DE <b>SH13</b> E <b>SH14</b> .....	119
5.2 SUBSTÂNCIAS ISOLADAS DE <i>S. gerdiana</i> .....	127
5.2.1 GLICOSÍDEO FENÓLICO .....	127
5.2.1.1 IDENTIFICAÇÃO DE <b>SG1</b> .....	127
5.2.2 ETILCICLOEXANÓIDES.....	133
5.2.2.1 IDENTIFICAÇÃO DE <b>SG2</b> .....	133
5.2.2.2 - IDENTIFICAÇÃO DE <b>SG3</b> E <b>SG4</b> .....	139
<b>6. ATIVIDADES BIOLÓGICAS</b> .....	147
6.1 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS EXTRATOS DE <i>S. hatschbachii</i> .....	148
6.2 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DOS EXTRATOS DE <i>S. hatschbachii</i> e <i>S. gerdiana</i> .....	149
6.3 ATIVIDADE CITOTÓXICA DOS EXTRATOS DE <i>S. hatschbachii</i> .....	152
<b>7. CONCLUSÃO</b> .....	154
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	155

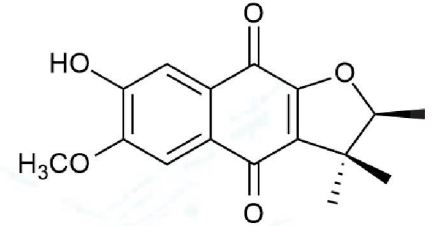
## ESTRUTURAS DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS



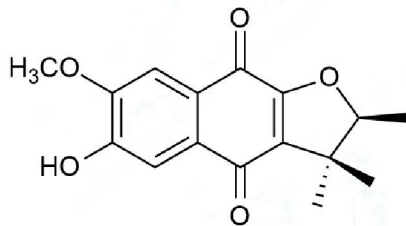
SH1



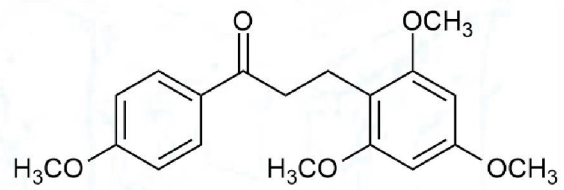
SH2



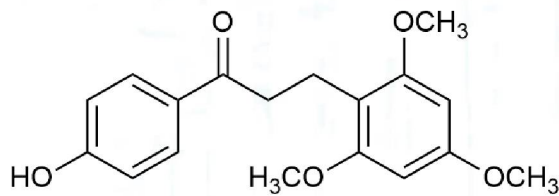
SH3



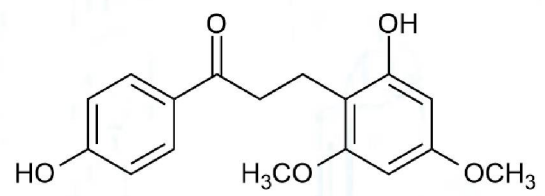
SH4



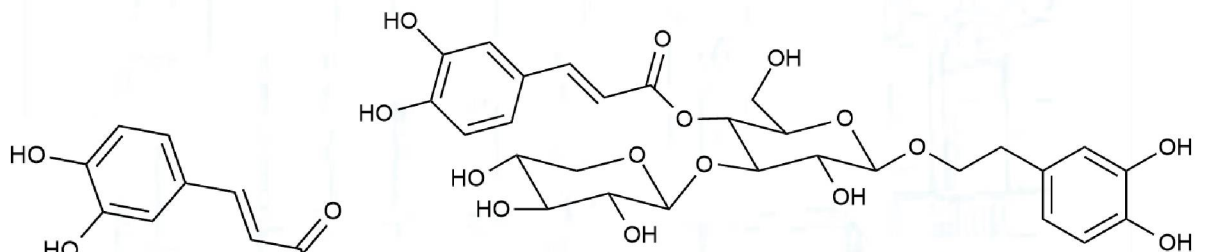
SH5



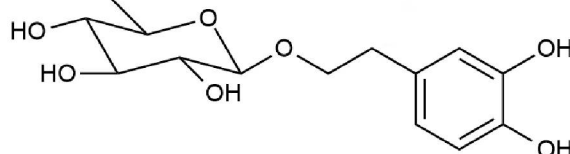
SH6



SH7

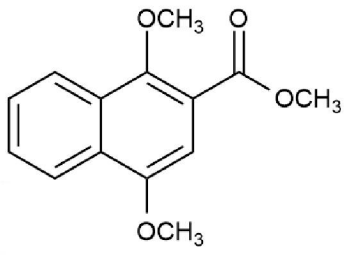


SH9

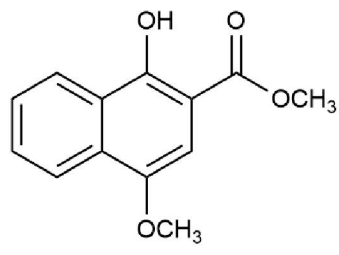


SH8

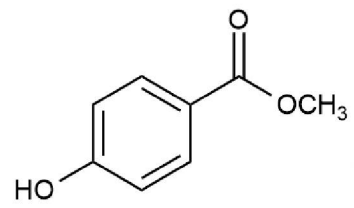




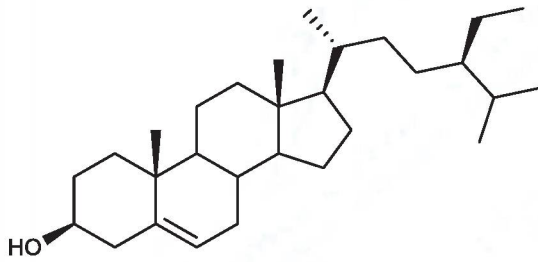
SH10



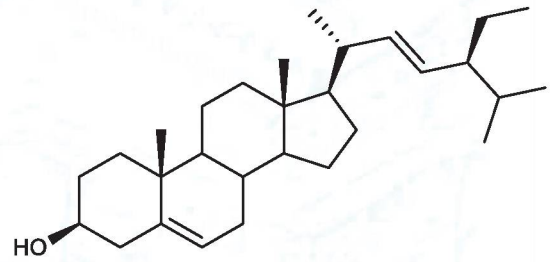
SH11



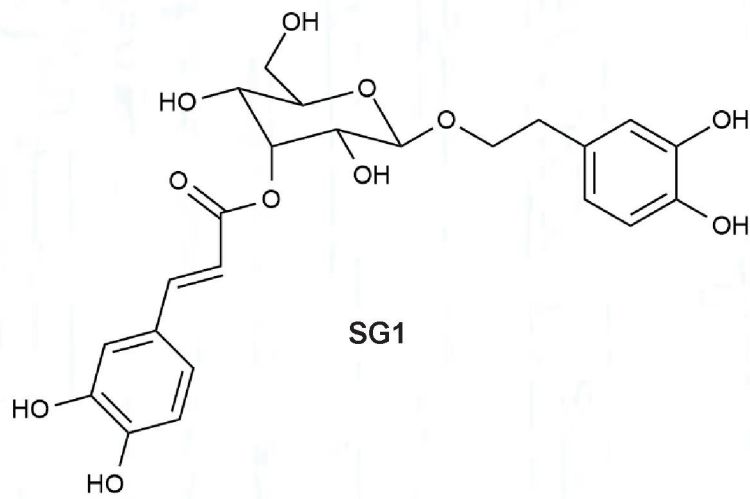
SH12



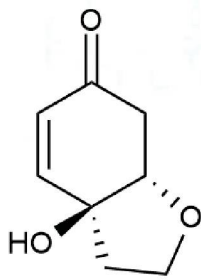
SH13



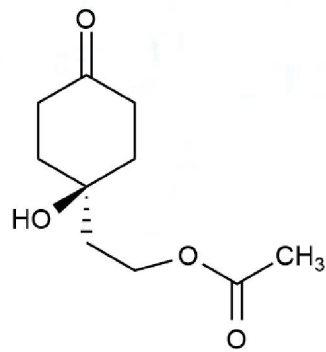
SH14



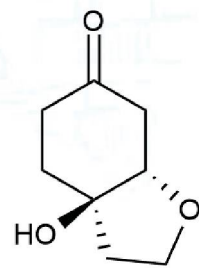
SG1



SG2



SG3



SG4

**OS RESULTADOS PARCIAIS DESTA PESQUISA FORAM DESCRITOS NO  
SEGUINTE ARTIGO:**

- Magali S. Amorim, Alessandra F. Serain, Marcos José Salvador and Maria Élide A. Stefanello, Chemical Constituents of *Sinningia hatschbachii*. **Natural Product Communications**, v. 12, n. 11, 1763-1764, 2017.

## 1. INTRODUÇÃO

A flora brasileira tem sido muito explorada como fonte de constituintes químicos, biologicamente ativos para o controle de doenças e pragas. Esta importante reserva de recursos genéticos coloca o Brasil no grupo dos países denominados de megadiversos. Estudos como estes, se baseiam no conhecimento quantitativo da composição, estrutura, funcionamento, dinâmica, distribuição e relações ambientais das comunidades vegetais em foco.

A teoria evolucionista relata que todos os seres vivos são derivados de um ancestral comum, o que explica, por exemplo, porque as principais macromoléculas (carboidratos, lipídeos, proteínas e ácidos nucleicos) são essenciais à vida dos seres vivos. Essas substâncias essenciais à vida são classificadas como metabólitos primários. Existem também substâncias que são produzidas em pequenas quantidades, se comparadas com os metabólitos primários, as quais nem sempre são essenciais à vida, mas são importantes para a sobrevivência desses seres vivos. Estas substâncias são classificadas como metabólitos secundários (FUMAGALI et al., 2008; SIMÕES et al., 2007).

Nas plantas, os metabólitos secundários são constituintes químicos extremamente diversos, responsáveis por desempenhar um papel importante na sobrevivência das plantas, como protegê-las de herbívoros, ataque de patógenos, bem como beneficiá-las na competição com outras espécies e favorece-las na atração de polinizadores, como os animais dispersores de sementes e microrganismos simbiotes (bactérias e fungos que não prejudicam seu hospedeiro, mas ajudam no crescimento das plantas). Além dos fatores bióticos, dito anteriormente, os metabólitos secundários também protegem o vegetal de influências externas por fatores abióticos, tais como, temperatura, umidade, proteção contra raios UV e deficiência de nutrientes (VAISHNAV;DEMAIN, 2010; STROHL, 2000).

A utilização de produtos naturais para a prevenção e cura de enfermidades está presente em toda a sociedade humana, e até hoje, grande parte da população mundial se utiliza deste recurso natural para suprir suas necessidades básicas de saúde. É importante ressaltar que a ciência como um todo, principalmente nas áreas de farmacologia, química, bioquímica, toxicologia, biologia molecular tem avançado muito, e desenvolver novos

estudos nesta área é importante para o desenvolvimento de novos fármacos (NEWMAN; CRAGG; KINGSTON, 2008; YUNES; FILHO, 2016).

Muitos metabólitos secundários possuem importantes atividades biológicas, e mesmo diante dessa importância, é estimado que apenas 6% de aproximadamente 300.000 espécies de plantas superiores foram ou estão sendo investigados no ponto de vista biológico e apenas 15% com relação a estudos químicos (YUNES; FILHO, 2016). Portanto, há ainda muito a ser estudado. E a investigação química e biológica de plantas medicinais é o primeiro passo para o estudo multidisciplinar no desenvolvimento de novos fármacos. Além do que, a biodiversidade tem perdido várias espécies por mudanças ambientais, muitas se tornando extintas, e há muitas regiões no mundo e muitos “habitats” diferentes, nos quais uma biodiversidade nova e incomum ainda é desconhecida ou está sendo descoberta (COSTA-LUTUFO et al., 2010).

Assim, torna-se cada vez mais importante estudar novas espécies de plantas com o intuito de ampliar o conhecimento científico sobre compostos bioativos, além de contribuir para a quimiosistemática das espécies vegetais.

## **1.1 FAMÍLIA GESNERIACEAE**

O nome “gesneria” é uma homenagem ao suíço Conradus Gesnerus, considerado um naturalista na época. Gesneriaceae é uma das 24 famílias de Angiospermas que pertencem à ordem das Lamiales, junto com Lamiaceae, Verbenaceae, Bignoniaceae, Calceolariaceae e Scrophulariaceae (REFULIO-RODRIGUEZ; OLMSTEAD, 2014).

A família Gesneriaceae Rich. & Juss compreende cerca de 150 gêneros e aproximadamente 3000 espécies de plantas ornamentais, de distribuição pantropical, sendo constituída de ervas, cipós ou arbustos. É uma família com ampla distribuição em todo o mundo, sendo suas espécies bem representadas nos trópicos e subtropicais, com poucas espécies nativas em regiões temperadas (FIGURA 1; p. 29). Algumas das suas espécies são utilizadas na medicina tradicional, principalmente contra febre, tosse, resfriado, dores, doenças infecciosas e inflamatórias (HINOSHITA, 2017; VERDAN;

STEFANELLO, 2012). No Brasil ocorrem 27 gêneros e 220 espécies, sendo 140 endêmicas (ARAUJO; CHAUTEMS; FERREIRA, 2018).

Por terem flores vistosas, cultivo fácil e propagação vegetativa, espécies de Gesneriaceae tem importância econômica como plantas ornamentais. Incluem-se nessa família os gêneros *Streptocarpus*, *Aeschynanthus*, *Codonanthe*, *Columnea*, *Episcia*, *Gloxinia*, *Kohleria*, *Nautilocalyx*, *Nematanthus*, *Sinningia* e *Santipaulia*. Espécies do gênero *Santipaulia*, como *Santipaulia ionantha* (FIGURA 1), conhecida como violeta africana, e a gloxínia, *Sinningia speciosa* (FIGURA 1) do gênero *Sinningia* são exemplos de espécies muito comercializadas no Brasil (HINOSHITA, 2017; GASPARINO, 2008).

**FIGURA 1** - ESPÉCIES DE GESNERIACEAE. **(A)**: *Santipaulia ionantha* (VIOLETA AFRICANA) ([www.uesb.br/flower/alunos/violeta](http://www.uesb.br/flower/alunos/violeta)) **(B)**: *Sinningia speciosa* (GLOXÍNIA) (FONTE: O AUTOR).



FONTE: o autor (2018)

## 1.2 O GÊNERO *Sinningia*

A origem de *Sinningia* ocorreu na região sudeste do Brasil, na Mata Atlântica, região que abriga a sua maior diversidade (PERRET et al., 2003). O gênero não é endêmico do país, sendo encontrado desde o México até a Argentina. Atualmente, são reconhecidas 74 espécies, das quais 72 são encontradas em território brasileiro (ARAUJO; CHAUTEMS, 2018) (FIGURA 2; p. 30), sendo que a maioria está nas regiões sul e sudeste (FERREIRA; WAECHTER; CHAUTEMS, 2014).

**FIGURA 2** - DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DE ESPÉCIES DO GÊNERO *Sinningia* NO BRASIL. A COR BRANCA INDICA AUSÊNCIA DE REGISTRO NAQUELE ESTADO (ARAUJO;CHAUTEMS, 2018).



FONTE: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB7879>>.

No Estado do Paraná são encontradas 23 espécies de *Sinningia*, que é o maior gênero de Gesneriaceae no Brasil e também o mais abundante no estado (HINOSHITA, 2017).

As espécies de *Sinningia* são ervas terrestres, rupícolas (crescendo em cima de pedras) ou epifíticas (crescendo em cima de árvores), com caule carnoso ou lenhoso na parte basal, sem raízes adventícias e com sistema subterrâneo tuberoso perene, em alguns casos obsoleto (CHAUTEMS; BARACHO; SIQUEIRA FILHO, 2000).

A maioria das espécies de *Sinningia* apresenta um ciclo anual de desenvolvimento. As partes aéreas crescem durante o período chuvoso (primavera/verão) e fenecem no período de seca (outono/inverno), deixando as gemas dormentes nos tubérculos, que renascem na próxima primavera (CHAUTEMS, 2003). Entretanto algumas espécies são exceção a este padrão. Como exemplo, podemos citar *S. nordestina*, distinta dos demais membros do gênero pela presença de tubérculos vestigiais, que não rebrotam (CHAUTEMS; BARACHO; SIQUEIRA FILHO, 2000). Existem poucos relatos de uso de espécies de *Sinningia* na medicina popular. Como exemplos têm-se *S. incarnata* que é utilizada pelos indígenas mexicanos como contraceptivo e contra diarreia, enquanto que *S. tubiflora* é empregada como purgativo na Argentina (WIEHLER, 1995). *S. warmingii* é usada para o tratamento de problemas ginecológicos no nordeste do Peru (CASANA et al., 2012). No

Brasil, os tubérculos de *S. allagophylla* são usados como tônico e emoliente, e as partes aéreas como diurético e febrífugo (MORS; RIZZINI; PEREIRA, 2000; GOMES; SHEPHERD, 2000).

Com relação aos estudos químicos de espécies de *Sinningia*, substâncias de várias classes de metabólitos secundários têm sido isoladas, como naftoquinonas, antraquinonas, flavonoides, cromenos, sesquiterpenos, diterpenos, triterpenos, glicosídeos fenólicos e compostos fenólicos simples (TABELAS 1 - 3; p. 32-34). Algumas das substâncias isoladas apresentaram atividade biológica. Como exemplo tem-se a naftoquinona 8-hidroxideidrounniona (**53**; p. 35), isolada de *S. reitzii*, que apresentou atividades antiinflamatória e antinociceptiva (SOARES et al., 2017). A substância agregatina D (**39**; p. 35), isolada de *S. aggregata* e *S. warmingii*, apresentou atividade citotóxica contra as linhagens de células tumorais humanas de melanona, rim e ovários. A concentração necessária para inibir 50% do crescimento das células ( $IC_{50}$ ) variou de 0,30-12,8  $\mu\text{g mL}^{-1}$  (VERDAN et al., 2015a). Essa substância também apresentou atividade analgésica na dor de origem inflamatória (SOUZA et al., 2015).

**TABELA 1** - RELAÇÃO DAS ESPÉCIES DE *Sinningia* COM ESTUDOS FITOQUÍMICOS E OS METABÓLITOS SECUNDÁRIOS ISOLADOS (ANTRAQUINONAS, CROMENOS, E ETILCICLOEXANOIDES). (FIGURAS 3-4).

Classes	Substâncias	Nº	Espécies	Referências
<b>Antraquinonas</b>	tectoquinona	1	<i>S. aggregata</i> ; <i>S. canescens</i> ; <i>S. allagophylla</i> ; <i>S. warmingii</i>	VERDAN et al., 2015b; 2014; RIVA et al., 2012; WINIEWSKI et al., 2017.
	1-hidroxitectoquinona	2	<i>S. aggregata</i> ; <i>S. warmingii</i>	VERDAN et al., 2015b; WINIEWSKI et al., 2017.
	7-metoxitectoquinona	3	<i>S. aggregata</i> ; <i>S. speciosa</i> ; <i>S. warmingii</i>	VERDAN et al., 2010; 2009; WINIEWSKI et al., 2017.
	7- hidroxitectoquinona	4	<i>S. aggregata</i> ; <i>S. allagophylla</i> ; <i>S. warmingii</i>	VERDAN et al., 2010; SCHARF et al., 2016; WINIEWSKI et al., 2017.
	1,6-diidroxitectoquinona	5		VERDAN et al., 2015b;
	6-hidroxitectoquinona	6	<i>S. aggregata</i>	
	7-hidroxi-6-metoxitectoquinona (pustulina)	7		
	1-hidroxi-7-metoxitectoquinona (rubiawallina B)	8	<i>S. speciosa</i>	VERDAN et al., 2009.
<b>Cromenos</b>	lapachenol	9	<i>S. allagophylla</i> <i>S. warmingii</i>	RIVA et al., 2012 ; VERDAN et al., 2014.
	8-metoxilapachenol	10		RIVA et al., 2012; SCHARF et al., 2016.
	(2S)-12-hidroxilapachenol	11	<i>S. allagophylla</i>	
	(3R)-3,4-diidro-3-hidroxi-4-oxo-8-metoxilapachenol	12		
	allagophylldímeros A-C	13 - 15		
<b>Etilcicloexanoides</b>	halleridona	16	<i>S. aggregata</i> ; <i>S. allagophylla</i> ; <i>s. canescens</i> ; <i>S. leucotricha</i> ; <i>S. warmingii</i> .	VERDAN et al., 2015; SCHARF et al., 2016; VERDAN et al., 2014; VERDAN et al., 2017; WINIEWSKI et al., 2017.
	cleroindicina C	17	<i>S. leucotricha</i>	VERDAN et al., 2017
	cleroindicina B	18	<i>S. leucotricha</i> ; <i>S. speciosa</i> ; <i>S. warmingii</i> .	VERDAN et al., 2017; VERDAN et al., 2009; WINIEWSKI et al., 2017.
	Isorengiol	19	<i>S. speciosa</i>	VERDAN et al., 2009.



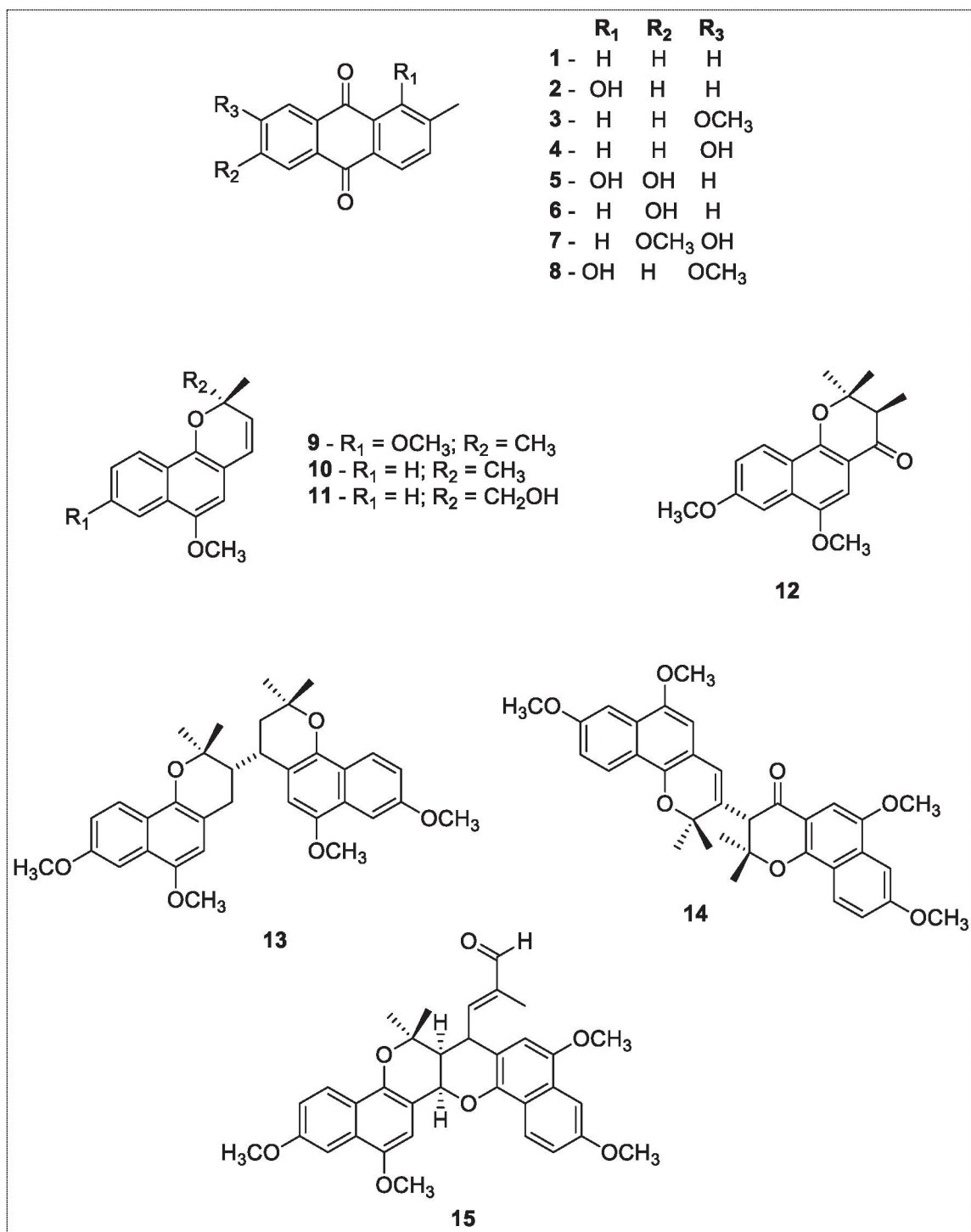
**TABELA 2** - RELAÇÃO DAS ESPÉCIES DE *Sinningia* COM ESTUDOS FITOQUÍMICOS E OS METABÓLITOS SECUNDÁRIOS ISOLADOS (ESTEROIDES, FLAVONÓIDES, SUBSTÂNCIAS GLICOSILADAS, GLICOSÍDEOS FENÓLICOS, E HIDRONAFTOQUINONAS). (FIGURAS 4 E 5).

Classes	Substâncias	Nº	Espécies	Referências
Esteroides	Sitosterol	20	<i>S. aggregata</i> ; <i>S. speciosa</i> ; <i>S. canescens</i> .	VERDAN et al., 2010; VERDAN et al., 2015b; VERDAN et al., 2009.
	Estigmasterol	21	<i>S. aggregata</i> ; <i>S. speciosa</i> ; <i>S. canescens</i> .	VERDAN et al., 2010; VERDAN et al., 2015b; VERDAN et al., 2009.
	oleato e linoleato de sitosterila	22-23	<i>S. allagophylla</i>	RIVA et al., 2012.
	oleato e linoleato de estigmasterila	24-25		
Flavonoides	luteolinidina-5-O-glucopiranosídeo	26	<i>S. cardinalis</i>	SWINNY et al., 2000; WINEFIELD et al., 2005.
	apigeninidina-5-O-glucopiranosídeo	27		
	luteolina-7-O-glicosídeo	28		
	luteolina-7-O-glucuronídeo	29		
	apigenina-7-O-glucuronídeo	30		
Substâncias glicosiladas	Cornosídeo	31	<i>S. aggregata</i> ; <i>S. leucotricha</i>	VERDAN et al., 2015b; 2017; WINIEWSKI et al., 2017.
	Etilglucosídeo	32	<i>S. warmingii</i> <i>S. leucotricha</i>	VERDAN et al., 2017.
Glicosídeos fenólicos	calceolariosídeo B	33	<i>S. aggregata</i> ; <i>S. canescens</i> ; <i>S. leucotricha</i>	VERDAN et al., 2015b; 2017.
	calceolariosídeo A	34		
	plantainosídeo A	35	<i>S. canescens</i>	VERDAN et al., 2017;
	conandrosídeo	36		
	isoverbascosídeo	37		
verbascosídeo	38	<i>S. cardinalis</i>	JENSEN, 1996;	
Hidronaftoquinonas	aggregatina D	39	<i>S. aggregata</i> ; <i>S. warmingii</i>	VERDAN et al., 2010; 2014.
	aggregatina E	40	<i>S. aggregata</i> ; <i>S. allagophylla</i> ; <i>S. warmingii</i>	VERDAN et al., 2015b; SCHARF et al., 2016; WINIEWSKI et al., 2017.
	aggregatina F	41	<i>S. aggregata</i> ; <i>S. warmingii</i>	VERDAN et al., 2015b; WINIEWSKI et al., 2017.

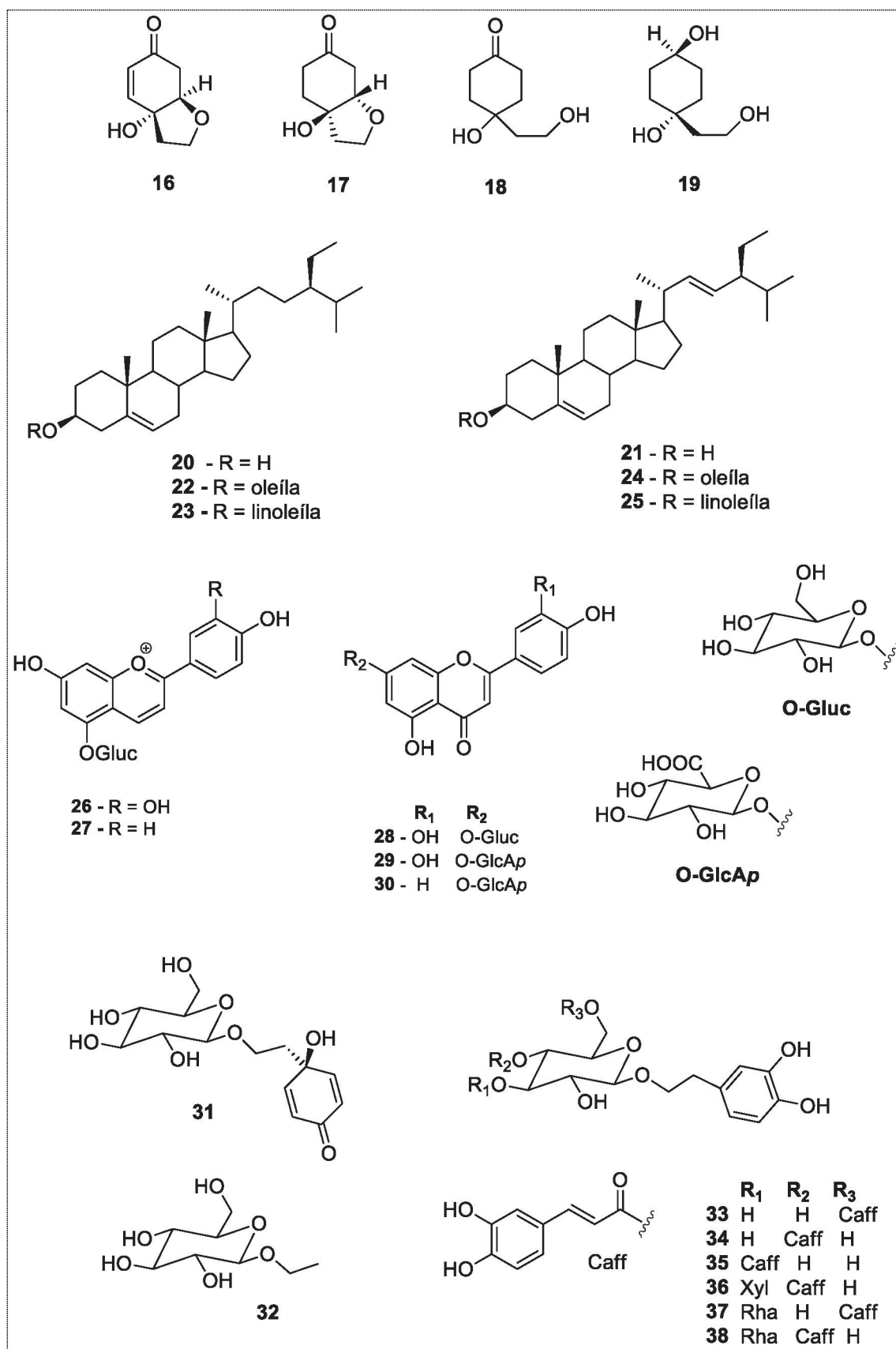
**TABELA 3 - RELAÇÃO DAS ESPÉCIES DE *Sinningia* COM ESTUDOS FITOQUÍMICOS E OS METABÓLITOS SECUNDÁRIOS (NAFTOQUINONAS, SESQUITERPENOS, TRITERPENOS E OUTRAS) (FIGURAS 5 E 6).**

Classes	Substâncias	Nº	Espécies	Referências
Naftoquinonas (42-55) e derivados (56-57)	$\alpha$ -dunniona	42	<i>S. allagophylla</i>	SCHARF et al., 2016.
	7-hidroxi- $\alpha$ -dunniona	43	<i>S. canescens</i> ; <i>S. leucotricha</i> ; <i>S. reitzii</i>	VERDAN et al., 2017; SOARES et al., 2017.
	7-hidroxi-6-metoxi- $\alpha$ -dunniona	44	<i>S. canescens</i> ; <i>S. leucotricha</i>	VERDAN et al., 2017.
	8-hidroxi-7-metoxi- $\alpha$ -dunniona	45	<i>S. canescens</i>	VERDAN et al., 2017.
	5-hidroxi-6,7-dimetoxi- $\alpha$ -dunniona	46	<i>S. reitzii</i>	SOARES et al., 2017.
	dunniol	47	<i>S. allagophylla</i>	RIVA et al., 2012.
	5-hidroxi-6,7-dimetoxidunniol	48	<i>S. reitzii</i>	SOARES et al., 2017.
	6,8-diidroxi-7-metoxi-2-O-metildunniol	49	<i>S. reitzii</i>	SOARES et al., 2017.
	dunniona	50	<i>S. allagophylla</i>	SCHARF et al., 2016.
	8-hidroxidunniona	51	<i>S. allagophylla</i> ; <i>S. reitzii</i>	SCHARF et al., 2016; SOARES et al., 2017.
	7,8-dimetoxidunniona	52	<i>S. leucotricha</i> , <i>S. canescens</i>	VERDAN et al., 2015a; 2017.
	8-hidroxideidrodunniona	53	<i>S. reitzii</i>	SOARES et al., 2017
	7-hidroxideidrodunniona	54	<i>S. reitzii</i>	SOARES et al., 2017
	8-hidroxi-7-metoxi-2-O-metilstreptocarpona	55	<i>S. reitzii</i>	SOARES et al., 2017
	warmingiina A e B	56-57	<i>S. warmingii</i>	WINIEWSKI et al., 2017.
Sesquiterpenos (58-60) e triterpenos (61-64)	ácido leucotrichóico	58	<i>S. leucotricha</i>	VERDAN et al., 2013.
	11- <i>epi</i> -subergorgiol	59	<i>S. leucotricha</i>	VERDAN et al., 2017.
	cedrol	60	<i>S. allagophylla</i> ; <i>S. canescens</i> .	SCHARF et al., 2016; VERDAN et al., 2017.
	ácido oleanólico	61	<i>S. allagophylla</i>	SCHARF et al., 2016.
	hederagenina	62	<i>S. leucotricha</i>	VERDAN et al., 2013.
	ácido 23-hidroxiursólico	63	<i>S. leucotricha</i>	VERDAN et al., 2013.
ácido betulínico	64	<i>S. leucotricha</i> , <i>S. canescens</i>	VERDAN et al., 2017.	
Outros	agregatinas A-B	65-66	<i>S. aggregata</i>	VERDAN et al., 2010.
	Aggregatina C	67	<i>S. aggregata</i> ; <i>S. warmingii</i>	VERDAN et al., 2010; 2014.
	4-hidroxibenzoato de etila e de metila	68, 71	<i>S. canescens</i>	VERDAN et al., 2017.
	ferulato de icosila	69	<i>S. aggregata</i>	VERDAN et al., 2015b.
	6-metoxi-7,8-benzocumarina	70	<i>S. allagophylla</i>	SCHARF et al., 2016.
	tirosol	72	<i>S. aggregata</i>	VERDAN et al., 2015b.
	sinningial A	73	<i>S. canescens</i>	VERDAN et al., 2017.
	sinningial B	74	<i>S. leucotricha</i>	VERDAN et al., 2017.
ácido cinâmico	75	<i>S. cardinalis</i>	WINEFIELD et al., 2005.	

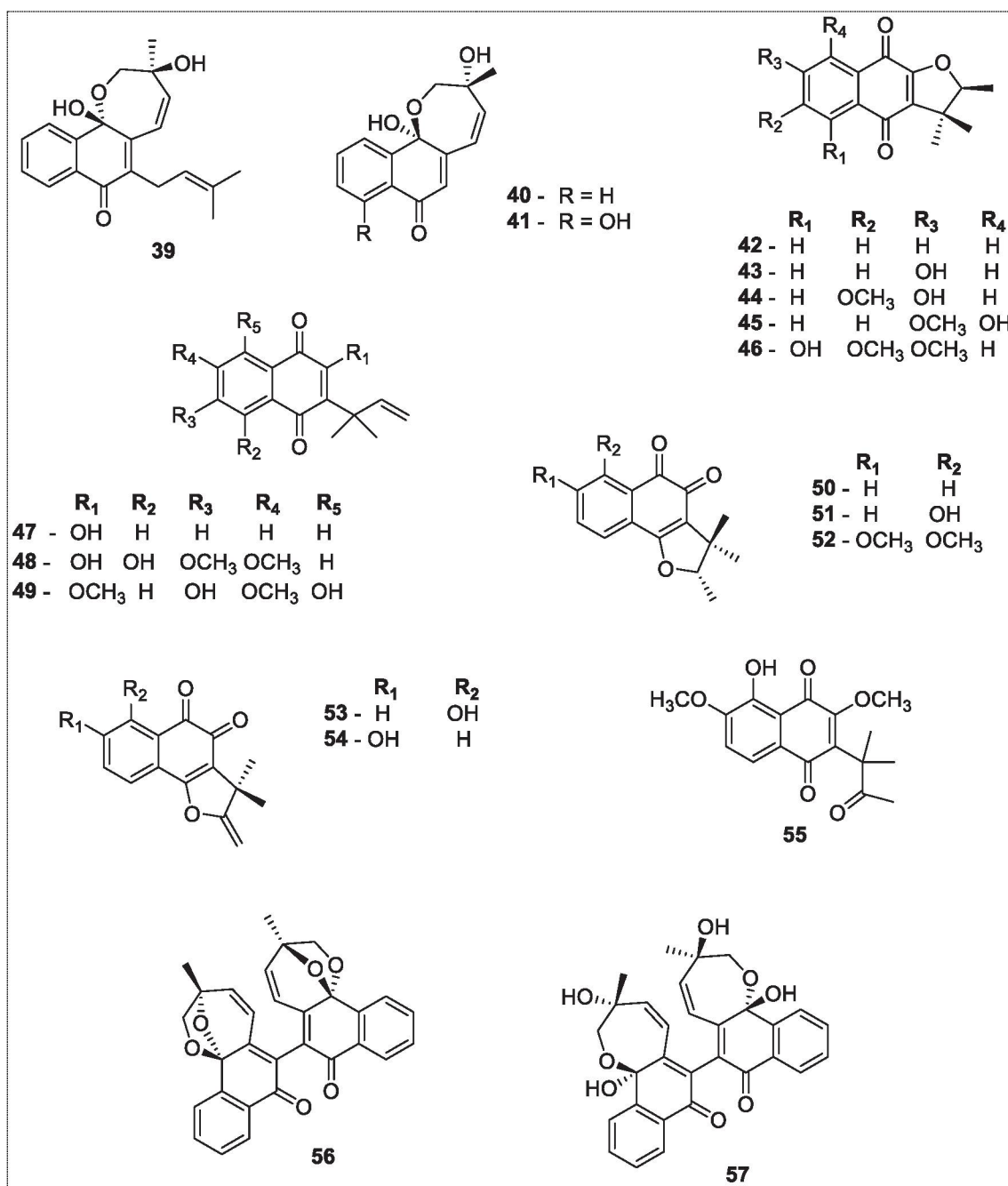
FIGURA 3 - ANTRAQUINONAS (1-8) E CROMENOS (9-15) ISOLADOS DE *Sinningia* spp.



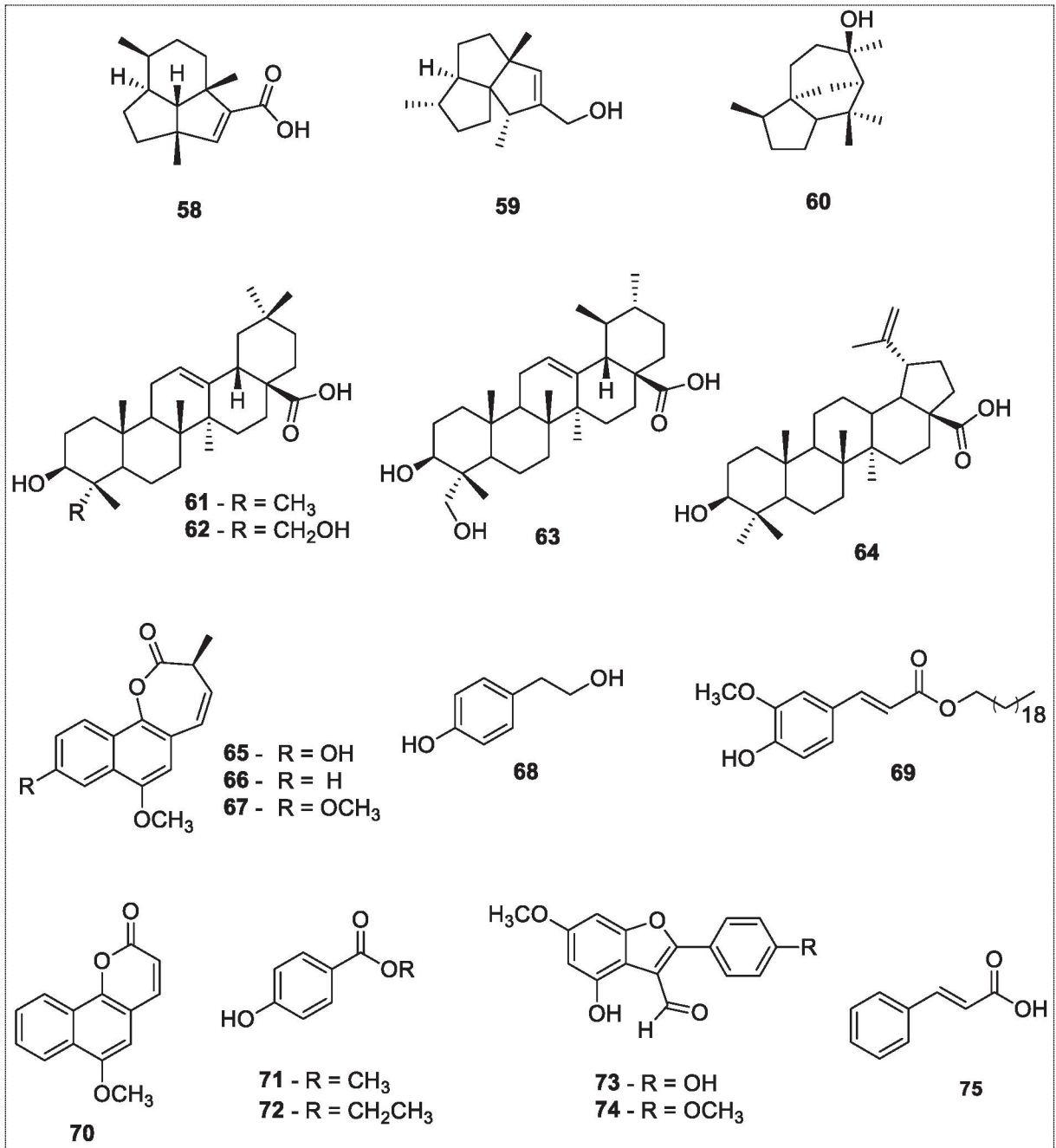
**FIGURA 4** - ETILCICLOEXANOIDES (16-19), ESTEROIDES (20-25), FLAVONOIDES (26-30), SUBSTÂNCIAS GLICOSILADAS (31-32), GLICOSÍDEOS FENÓLICOS (33-38) ISOLADOS DE *Sinningia* spp.



**FIGURA 5 - HIDRONAFTOQUINONAS (39-41), NAFTOQUINONAS (42-55) E DERIVADOS DE NAFTOQUINONAS (56-57) ISOLADAS DE *Sinningia* spp.**



**FIGURA 6** - SESQUITERPENOS (58-60), TRITERPENOS (61-64) E OUTRAS (66-75) SUBSTÂNCIAS ISOLADAS DE *Sinningia* spp.



### 1.3 AS ESPÉCIES *Sinningia hatschbachii* E *S. gerdiana*

*Sinningia hatschbachii* Chautems (FIGURA 8; p. 40) é uma espécie endêmica da Serra do Mar, sendo encontrada nos estados de São Paulo, Paraná e Santa Catarina (CHAUTEMS, 2003). No Paraná é encontrada na Floresta Ombrófila Densa principalmente Alto Montana (HINOSHITA, 2017). É uma erva rupícola, ou seja, cresce em cima de pedras, com caule de 8-20 cm, herbáceo, ereto, raramente ramificado. Esta espécie é de ciclo anual, com tubérculo, e floresce de novembro a fevereiro (CHAUTEMS, 2003; ARAÚJO; CHAUTEMS, 2018). Os tubérculos (FIGURA 7) servem para armazenar nutrientes e preservar a planta enquanto estiver adormecida na fase de não crescimento do ciclo anual (HINOSHITA, 2017).

FIGURA 7 - FOTO DOS TUBÉRCULOS DE *S. hatschbachii*.



FONTE: o autor (2018)

Essa espécie tem suas flores vermelhas (FIGURA 8; p. 40) como tubo de corola, com uma parte curta e anteras vermelhas, provavelmente associadas à polinização por beija-flores. Das espécies de Gesneriaceae ocorrentes no estado do Paraná somente *S. hatschbachii* é considerada em perigo de extinção (HINOSHITA, 2017).

**FIGURA 8** - FOTOS DE UM EXEMPLAR DE *S. hatschbachii*.



FONTE: o autor (2018)

*Sinningia gerdtiana* Chautems (FIGURA 9; p. 41) é uma planta bastante rara, pois ocorre somente em uma pequena área da bacia do Rio Ribeira, na divisa entre São Paulo e Paraná (CHAUTEMS et al., 2010). No Paraná é encontrada no Serro Azul, pertencente ao Vale do Rio Ribeira de Iguape (HINOSHITA, 2017).

Esta espécie é uma erva perene, terrestre, com caule de 30-80 cm, ereto, ramificado, e não apresenta tubérculo. As flores são brancas (FIGURA 9; p. 41) ou levemente amareladas e surgem nos meses de fevereiro e março (ARAUJO;CHAUTEMS, 2018).

*S. hatschbachii* e *S. gerdtiana* foram identificadas pelo botânico Alain Chautems, que é um especialista na família Gesneriaceae. Os nomes dessas plantas foram escolhidos para homenagear o botânico Gerdt Hatschbach, fundador do Museu Botânico Municipal de Curitiba.

Até o início deste trabalho não havia nenhum relato na literatura acerca de estudo químico e/ou biológico de *S. hatschbachii* e *S. gerdtiana*.



**FIGURA 9** - FOTOS DE UM EXEMPLAR DE *S. gerdiana*.



FONTE: o autor (2018).

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL:

Realizar o estudo fitoquímico e avaliar a atividade biológica das espécies *Sinningia hatschbachii* e *S. gerdiana*, de modo a contribuir para a quimiosistemática da família Gesneriaceae e para a descoberta de substâncias com potencial terapêutico.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- ✓ Isolar os principais metabólitos secundários dos tubérculos de *S. hatschbachii* e das partes aéreas de *S. gerdiana*;
- ✓ Identificar os metabólitos secundários isolados utilizando ressonância magnética nuclear, e outras técnicas que forem necessárias;
- ✓ Realizar testes de atividade antimicrobiana *in vitro*, atividade antioxidante e atividade citotóxica contra linhagens de células tumorais humanas dos extratos brutos.

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 PROCEDIMENTOS GERAIS

Nas separações por cromatografia em coluna (CC) foi usada Sílica-gel 60 (Merck, 7734). Para preparar as placas cromatográficas usadas em cromatografia de camada delgada preparativa (CCDP), espalhou-se uma suspensão de Sílica-gel 60 PF254 (Macherey-Nagel ou Vetec) em água destilada sobre placas de vidro, obtendo-se uma espessura de 1,00 mm. Placas comerciais (Macherey-Nagel, Whatman ou Merck) foram usadas para a comparação das frações (CCDA). Na revelação destas placas usou-se radiação UV (366 e 254 nm) e/ou solução a 5% de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> em etanol. Os solventes utilizados foram produtos analíticos das marcas Synth ou Vetec.

Para identificação das substâncias isoladas foi utilizada principalmente a técnica de Ressonância Magnética Nuclear (RMN). Os espectros foram obtidos no Centro de RMN da Universidade Federal do Paraná (UFPR), em espectrômetros DPX-200, Avance-400 e/ou Avance III 600, operando a 4,7; 9,4 e 14,1 Teslas (T), respectivamente, e operando a 200, 400 e 600 MHz para <sup>1</sup>H e 50, 100 e 150 MHz para <sup>13</sup>C {<sup>1</sup>H}, usando-se técnicas uni e bidimensionais. Clorofórmio e/ou metanol deuterados foram utilizados como solventes e TMS (tetrametilsilano) como referência interna. Os dados obtidos foram analisados no *software* Topspin e comparados com aqueles publicados na literatura.

Os espectros de absorção na região do ultravioleta e visível (UV-vis) foram obtidos em um espectrofotômetro de UV – Vis Shimadzu, modelo UV – 2401 PC, em cubetas de quartzo de 1mm, no comprimento de onda entre 200 e 800 nm, usando MeOH para solubilização da amostra. Essa análise foi realizada no Departamento de Química da UFPR.

A medida de rotação específica foi realizada no Departamento de Química da UFPR, em um polarímetro JASCO P-2000, a 25°C, utilizando metanol como solvente. Os valores da rotação específicos foram calculados utilizando a seguinte fórmula:

$$[\alpha]_D^{25} = \frac{\text{Rotação observada (graus)} \times 100}{\text{Caminho ótico (dm)} \times \text{concentração (g 100 mL}^{-1}\text{)}}$$

As análises por CG-EM (cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas) foram realizadas utilizando injeção automática (TripPlus As, Thermo) em um cromatógrafo à gás (Focus GC, Thermo), acoplado a um espectrômetro de massas de íon trap (Polaris Q, Thermo). As amostras foram injetadas com divisão de fluxo (Split) 1:50 (1 µL), e separadas através de coluna cromatográfica modelo DB-5 (30 m x 0,025 mm, Agilent). A separação dos compostos foi feita com temperatura do injetor a 230°C, linha de transferência a 250°C, com fluxo constante e compensação a vácuo. Programação de temperatura do forno: 40°C, isoterma de 6 min, aquecimento até 300°C na taxa de 3°C min<sup>-1</sup>, com isoterma final de 5 min. O espectrômetro de massas foi operado no modo positivo de ionização por impacto de elétrons a 70 eV, com temperatura da fonte de íons em 200°C.

As análises por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) foram realizadas no Departamento de Química da UFPR em um equipamento HPLC Waters composto por bomba quartenária, injetor automático, detector PDA 2998 e acoplado a um sistema de aquisição de dados Empower *software*. As colunas utilizadas são de fase estacionária C18, tamanho de partícula de 5 µm e 250 mm de comprimento, a coluna semipreparativa (X-terra) tem 10 mm de diâmetro e a coluna analítica (Macherey-Nagel) tem 4,6 mm de diâmetro e uma pré-coluna (Macherey-Nagel) C18 com 3 mm de comprimento. As fases móveis utilizadas foram solventes orgânicos grau HPLC, filtrados em membranas de náilon (0,45 µm) (Millipore) e a água ultrapura (Milli-Q) degaseificados por 30 minutos em um banho de ultrassom. As amostras solubilizadas foram filtradas em filtro Millex HV de PVDF (0,45 µm) da Millipore (Cork, Ireland). A detecção dos compostos foi realizada em diferentes comprimentos de onda, variando de 210 a 400 nm. Foram utilizados dois métodos cromatográficos isocráticos (TABELA 4).

**TABELA 4 - MÉTODOS 1 E 2 ISOCRÁTICO.**

Métodos	Coluna C-18	Tempo (min.)	Fluxo (mL min <sup>-1</sup> )	H <sub>2</sub> O (% v/v)	ACN (% v/v)
1	Analítica	15	1,0	50	50
2	Semipreparativa	10	2,8	20	80

O espectro de massas de alta resolução da substância **SH1** foi obtido em um espectrômetro de massas Micromass ESI-Qq Tof no Laboratório de Espectrometria de Massas ThoMson da Universidade Estadual de Campinas (Unicamp) com

ionização de eletronebulização. As amostras foram solubilizadas em metanol / H<sub>2</sub>O (7:3, v/v) com H<sup>+</sup>, e posteriormente submetida à infusão direta da fonte de ionização com fluxo de 5 µL min<sup>-1</sup>.

### 3.2 MATERIAL VEGETAL

Exemplares de *Sinningia hatschbachii* (**SH**) foram coletados em jan/2003, de uma população natural de Morretes, PR (25° 28' 37''S; 48° 50' 02'' W), e mantidos em cultivo na estufa do Museu Botânico Municipal de Curitiba. Tubérculos desses exemplares cultivados (611,6 g) foram coletados em abril/2012.

Exemplares de *Sinningia gerdtiana* (**SG**) foram coletados em Barra do Turvo, SP (24° 45' 23''S; 48° 30' 17'' W), em fev/2004. As plantas foram mantidas em cultivo no Museu Botânico Municipal de Curitiba, até mar/2013, quando foram transferidas para uma propriedade particular. Partes aéreas destes exemplares cultivados foram coletadas em Fevereiro/2017 (973,6 g).

As plantas foram identificadas pela botânica Clarisse Bolfe Poliquesi, a qual depositou as respectivas exsicatas no herbário do Museu Botânico Municipal de Curitiba (MBM 276.542 para *S. hatschbachii* e MBM 296.531 para *S. gerdtiana*).

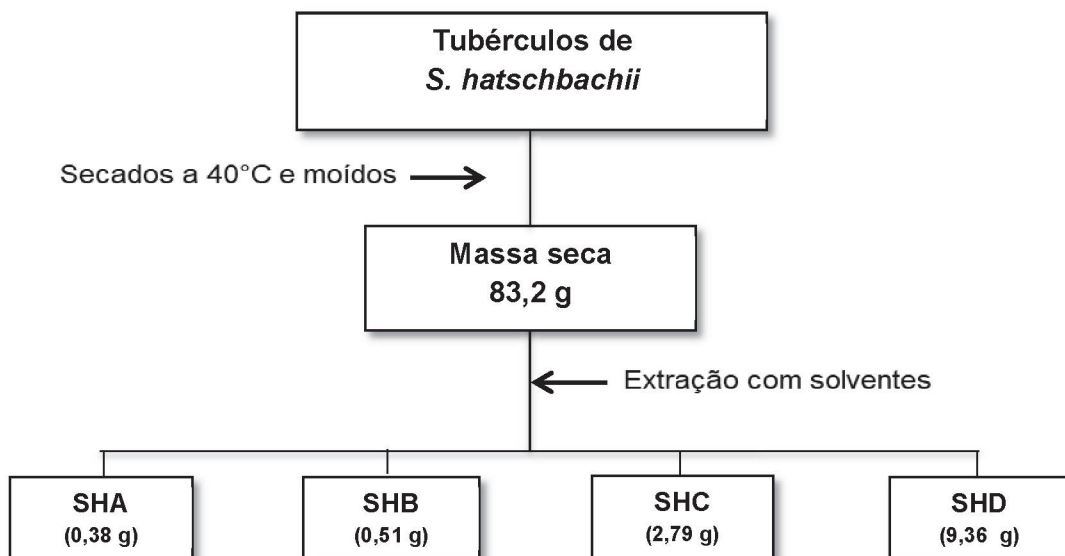
### 3.3 PREPARAÇÃO DE EXTRATOS

Os tubérculos de *S. hatschbachii* (**SH**) e as partes aéreas de *S. gerdtiana* (**SG**) foram secados em estufa a 40 °C por uma semana, e posteriormente pulverizado. Os tubérculos de *S. hatschbachii* renderam 83,2 g, enquanto as partes aéreas de *S. gerdtiana* renderam 107,9 g. Os extratos foram obtidos pela técnica de maceração a frio, na qual o material vegetal pulverizado foi deixado em contato com o solvente extrator por 24 horas, a temperatura ambiente. Após esse período, a solução foi filtrada e o solvente removido em evaporador rotativo. Este procedimento foi repetido três vezes, rendendo ao término o respectivo extrato. Os solventes utilizados foram: hexano (hex), diclorometano (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), acetato de etila (AcOEt) e etanol (EtOH). O volume utilizado foi de 500 mL de solvente para cada 100 g de material (ESQUEMA 1 E 2; p. 45-46). A TABELA 5 (p.45) apresenta o rendimento de cada extrato.

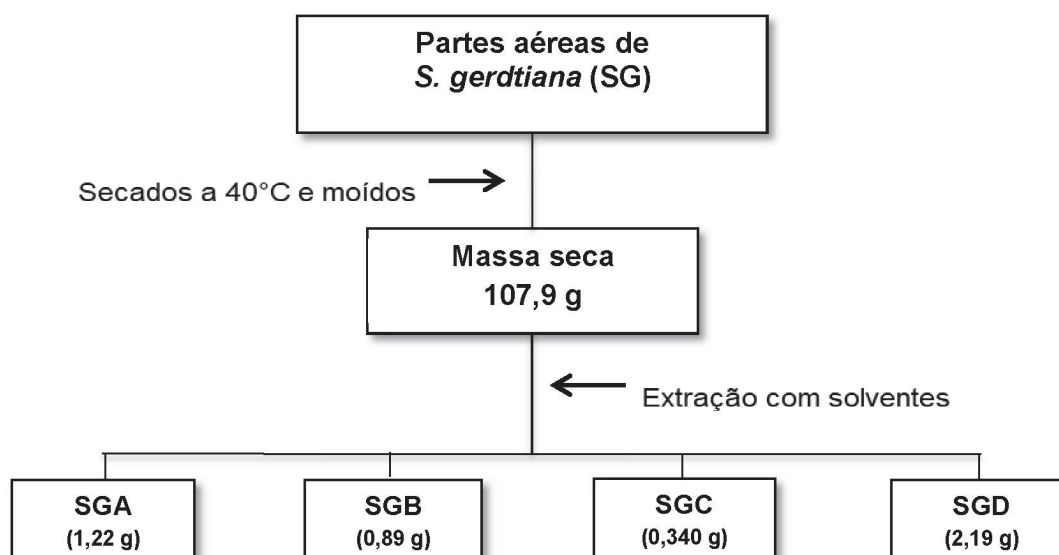
**TABELA 5** - EXTRATOS OBTIDOS DE *S. hatschbachii* (SH) E DE *S. gerdiana* (SG) E SEUS RENDIMENTOS A PARTIR DOS TUBÉRCULOS SECOS E DAS PARTES AÉREAS, RESPECTIVAMENTE.

Espécie vegetal	Massa (g)	Extratos	Solventes	Massa (g)
<i>S. hatschbachii</i> (SH)	83,2 g	SHA	Hexano	0,38
		SHB	Diclorometano	0,51
		SHC	Acetato de etila	2,79
		SHD	Etanol	9,36
<i>S. gerdiana</i> (SG)	107,9 g	SGA	Hexano	1,22
		SGB	Diclorometano	0,89
		SGC	Acetato de etila	0,34
		SGD	Etanol	2,19

**ESQUEMA 1** - PROCEDIMENTO DA EXTRAÇÃO DOS TUBÉRCULOS DE *S. hatschbachii*



**ESQUEMA 2 - PROCEDIMENTO DA EXTRAÇÃO DAS PARTES AEREAS DE *S. gerdiana***



### 3.4 ISOLAMENTO DOS METABÓLITOS SECUNDÁRIOS

#### 3.4.1. *Sinningia hatschbachii* (SH)

##### 3.4.1.1 FRACIONAMENTO CROMATOGRÁFICO DE SHA E SHB

Os extratos **SHA** e **SHB** foram reunidos (**SHAB**) após análise por CCDA. Parte de cada extrato (20 mg) foi reservada para testes biológicos.

O extrato reunido (**SHAB**, 0,85 g) foi submetido à CC eluída primeiramente com hexano (100 mL), depois com misturas de hex:acetona 95:5 (240 mL), 9:1 (210 mL), 8:2 (150 mL), 1:1 (90 mL), acetona pura (90 mL) e por fim metanol (50 mL). Foram recolhidas 35 frações de 30 mL cada, que foram reunidas em 12 por similaridade após a análise por CCDA (TABELA 6; p. 47).

TABELA 6 - FRAÇÕES OBTIDAS DA COLUNA DE SHAB.

Fração	Código	Eluente	Massa (mg)	Substâncias isoladas/identificada
1 - 2	SHAB 1	Hexano	15,2	-
3	SHAB 3	Hexano	23,6	-
4-11	SHAB 4	hexano: acetona 95:5	9,3	-
12-13	SHAB 12	hexano: acetona 95:5	156,4	SH11
14-18	SHAB 14	hexano: acetona 9:1	49,6	-
19-21	SHAB 19	hexano: acetona 9:1	9,6	-
22-23	SHAB 22	hexano: acetona 8:2	111,7	SH5 e SH1
24-25	SHAB 24	hexano: acetona 8:2	28,4	SH3 e SH4
26-28	SHAB 26	hexano: acetona 1:1	124,9	SH6 e SH7
29-30	SHAB 29	Acetona	23,5	-
31	SHAB 31	Acetona	8,2	-
32-35	SHAB 32	Metanol	39,4	-

A fração SHAB-12 (156,4 mg) foi submetida à CC eluída com hexano: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 1:1 (50 mL), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (50 mL) e por fim MeOH puro (15 mL). Foram recolhidas 14 subfrações de 10 mL cada, que foram reunidas em oito subfrações (TABELA 7).

TABELA 7 - FRAÇÕES DA COLUNA DE SHAB 12.

Subfração	Código	Eluente	Massa (mg)	Substâncias isoladas/identificadas
1-2	SHAB 12-2	hexano: CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 1:1	21,4	SH11
3-4	SHAB 12-3	hexano: CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 1:1	25,9	SH11
5-6	SHAB 12-5	hexano: CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 1:1	4,4	-
7-8	SHAB 12-7	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	8,0	SH13 e SH14
9	SHAB 12-2	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	15,0	-
10-12	SHAB 12-3	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	21,8	-
13	SHAB 12-5	MeOH	1,0	-
14	SHAB 12-7	MeOH	5,7	-

As subfrações SHAB 12-2 (21,4 mg) e SHAB 12-3 (25,9 mg) forneceram **SH11** (4,7 mg) após CCDP eluída com Hexano: AcOEt 9:1.

A fração SHAB 12-7 (8,0 mg) forneceu **SH13** e **SH14**.

A fração SHAB 22 (111,7 mg) foi submetida à CC eluída com misturas de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: AcOEt 95:5 (45 mL), 9:1 (20 mL), 8:2 (10 mL) e 1:1 (10 mL), seguido de AcOEt puro (10 mL) e finalmente MeOH puro (15 mL). Então foram recolhidas 22 subfrações de 30 mL que foram reunidas em 9 subfrações (TABELA 8; p. 48).

TABELA 8 - REUNIÃO DAS SUBFRAÇÕES DA COLUNA DE SHAB 22.

Subfração	Código	Eluente	Massa (mg)	Substâncias isoladas/identificadas
1-2	SHAB 22-1	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> : AcOEt 95:5	2,2	-
3-4	SHAB 22-3	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> : AcOEt 95:5	21,6	SH5 e SH1
5-6	SHAB 22-5	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> : AcOEt 95:5	8,0	-
7-9	SHAB 22-7	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> : AcOEt 95:5	18,4	-
10	SHAB 22-10	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> : AcOEt 9:1	2,7	-
11-12	SHAB 22-11	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> : AcOEt 8:1	7,3	-
13-15	SHAB 22-13	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> : AcOEt 8:1	11,3	-
16	SHAB 22-16	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> : AcOEt 1:1	9,9	-
17-22	SHAB 22-17	AcOEt/MeOH	17,0	-

A subfração SHAB 22-3 (21,6 mg) foi submetida à CCDP em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> puro, resultando em SHAB 22-4C (**SH5**, 1,9 mg) e SHAB 22-4D (**SH1**; 4,8 mg).

A fração SHAB 24 (28,4 mg) foi submetida a CCDP em hexano: AcOEt 3:2 resultando em uma mistura de **SH3** e **SH4** (SHAB 24B, 4,0 mg), a qual foi separada por CLAE. O método de separação utilizado foi o método 1 (TABELA 4; p. 41), resultando no isolamento de SHAB 24BI (**SH3**; 0,4 mg) e SHAB 24BII (**SH4**; 1,3 mg).

A fração SHAB 26 (124,5 mg) foi submetido à CC eluída com hexano (30 mL), hexano: AcOEt 1:1 (45 mL), AcOEt (15 mL) e MeOH (20 mL). Foram recolhidas 37 subfrações que foram reunidas em oito (TABELA 9).

TABELA 9 - SUBFRAÇÕES DA COLUNA DE SHAB 26.

Subfração	Código	Eluente	Massa (mg)	Substâncias isoladas/identificadas
1-4	SHAB 26-1	Hexano	6,7	-
5-7	SHAB 26-5	Hexano	16,6	SH6 e SH7
8-10	SHAB 26-8	Hexano	29,0	SH6 e SH7
11-16	SHAB 26-11	Hexano: AcOEt 1:1	19,9	-
17-18	SHAB 26-17	Hexano: AcOEt 1:1	5,2	-
19-24	SHAB 26-19	Hexano: AcOEt 1:1	8,9	-
25-27	SHAB 26-25	AcOEt	1,7	-
28-37	SHAB 26-28	AcOEt/MeOH	13,8	-

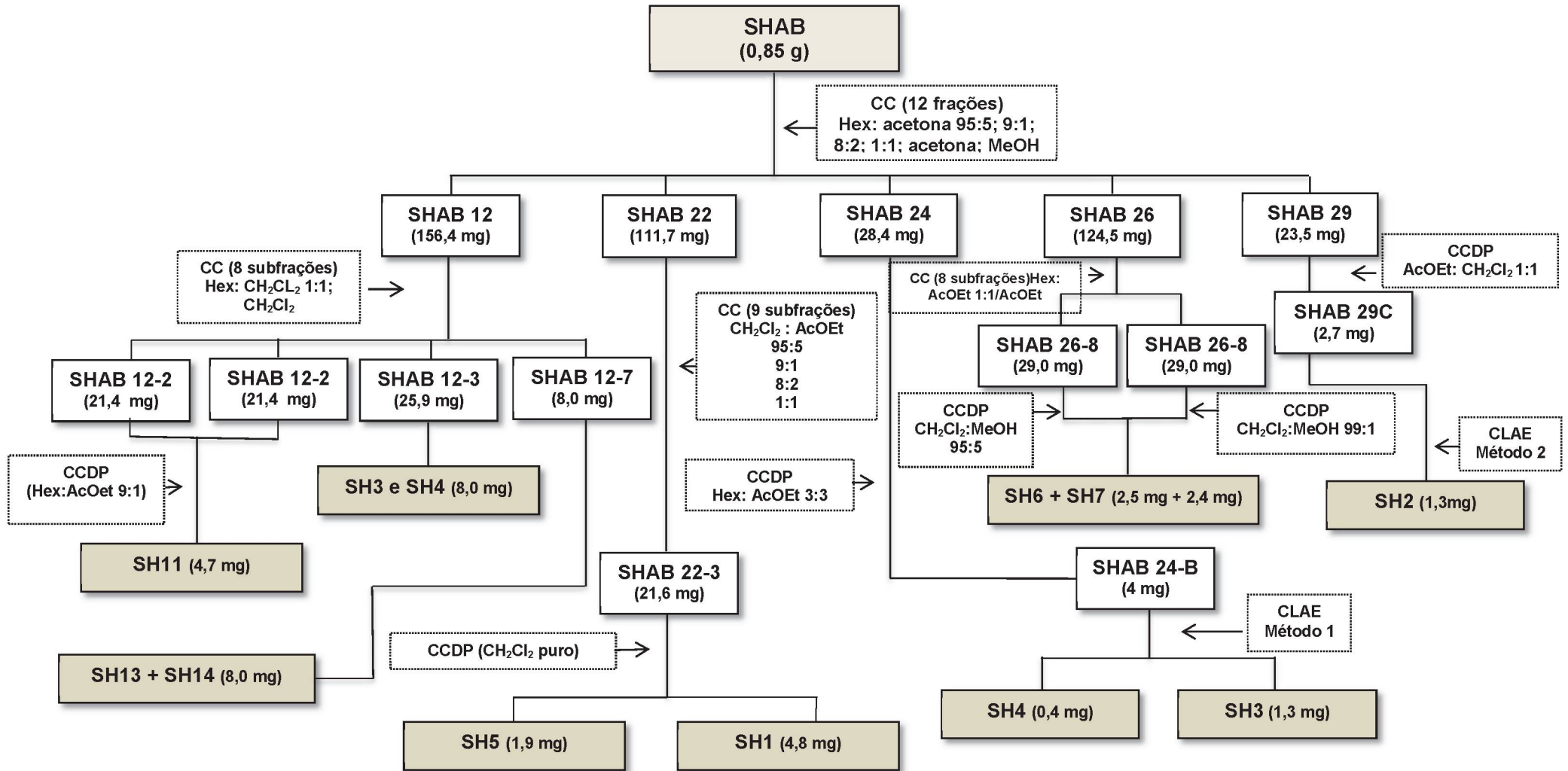
A subfração SHAB 26 - 5 (16,6 mg) foi submetida à CCDP em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: metanol 99:1 resultando SHAB 26 - 5B (**SH6** + **SH7**, 2,4 mg).

A subfração SHAB 26-8 (29,0 mg) foi submetida à CCDP em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: metanol 95:5 resultando em mistura de SHAB 26-8B1 + SHAB 26-8B2 (**SH6** + **SH7**; 2,5mg).



A fração SHAB 29 (23,5 mg) foi submetida à CCDP em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ : MeOH 95:5 resultando SHAB 29C (2,7 mg), a qual forneceu **SH2** (1,3 mg) após purificação por CLAE usando o método **2** (TABELA 4; p. 43).

ESQUEMA 3 – FLUXOGRAMA DO FRACIONAMENTO DO EXTRATO EM Hex + CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (SHAB) DE *S. hatschbachii*



### 3.4.1.2 FRACIONAMENTO CROMATOGRÁFICO DE SHC

Parte do extrato em AcOEt (0,020 g) foi retirado para ensaios biológicos. O restante (**SHC**, 2,77 g) foi submetido à CC eluída com AcOEt: MeOH 85:15 (300 mL), depois com AcOEt: MeOH: H<sub>2</sub>O 8:1,25:0,25 (100 mL) e por fim MeOH (150 mL). Foram recolhidas 47 frações de 30 mL cada, que foram reunidas em dez grupos (TABELA 10).

**TABELA 10 - REUNIÃO DAS FRAÇÕES DA COLUNA DE SHC.**

Fração	Código	Eluente	Massa (g)
1-3	<b>SHC 1</b>	AcOEt: MeOH 85:15	0,082
4-5	<b>SHC 4</b>	AcOEt: MeOH 85:15	0,115
6-17	<b>SHC 6</b>	AcOEt: MeOH 85:15	1,78
18-21	<b>SHC 18</b>	AcOEt: MeOH 85:15	0,95
22-24	<b>SHC 22</b>	AcOEt: MeOH: H <sub>2</sub> O 8:1,25:0,25	0,038
25-34	<b>SHC 25</b>	AcOEt: MeOH: H <sub>2</sub> O 8:1,25:0,25	0,056
35-36	<b>SHC 36</b>	AcOEt: MeOH: H <sub>2</sub> O 8:1,25:0,25	0,154
37-38	<b>SHC 39</b>	MeOH	0,142
39-41	<b>SHC 42</b>	MeOH	0,103
42-47	<b>SHC 45</b>	MeOH	0,025

A fração SHC 1 (82,0 mg) foi submetida à CC eluída primeiramente em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> puro (50 mL), depois em misturas de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: AcOEt 9:1 (50 mL); 7:3 (30 mL); 1:2 (30 mL); AcOEt puro (20 mL) e finalizou-se com MeOH puro (15 mL). Foram recolhidas 14 subfrações de 30 mL cada, que foram reunidas em 10 subfrações (TABELA 11).

**TABELA 11 - REUNIÃO DAS FRAÇÕES DA COLUNA DE SHC 1.**

Subfração	Código	Eluente	Massa (mg)	Substâncias isoladas/ identificada (mg)
1	<b>SHC 1-1</b>	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	16,4	<b>SH10</b>
2	<b>SHC 1-2</b>	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	8,8	<b>SH5</b>
3	<b>SHC 1-3</b>	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	9,5	-
4-6	<b>SHC 1-4</b>	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> : AcOEt 9:1	14,5	-
7	<b>SHC 1-7</b>	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> : AcOEt 9:1	6,0	<b>SH2</b>
8	<b>SHC 1-8</b>	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> : AcOEt 9:1	5,6	<b>SH2 + SH6</b>
9	<b>SHC 1-9</b>	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> : AcOEt 9:1	9,8	<b>SH2 + SH6</b>
10	<b>SHC 1-10</b>	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> : AcOEt 7:3	6,8	-
11	<b>SHC 1-11</b>	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> : AcOEt 1:2	3,2	-
12-14	<b>SHC 1-12</b>	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> : AcOEt 1:2	20,4	-

A subfração SHC 1-1 (16,4 mg) foi submetida à CCDP em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: AcOEt 8:2, resultando SHC1-1B (15,1 mg), que foi submetida à outra CCDP em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: éter de petróleo 8:2, resultando em SHC 1-1BA (**SH10**; 2,4 mg);

A subfração SHC 1-2 (8,8 mg) foi submetida à CCDP em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> resultando em SHC 1-2A (**SH5**, 2,0 mg).

A subfração SHC 1-7 (6,0 mg) foi submetida à CCDP em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: AcOet 9:1, resultando em SHC 1-7B (**SH2**; 2,8 mg).

A subfração SHC 1-8 (5,6 mg) foi submetida à CCDP em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: AcOet 9:1, resultando em SHC 1-8B (**SH2 + SH6**; 3,2 mg).

A subfração SHC 1-9 (9,8 mg) também foi submetida à CCDP em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: AcOet 7:3, resultando em SHC 1-9C (**SH2 + SH6**; 4,8 mg).

A subfração SHC 4 (115 mg) foi submetida à CC eluída em misturas de AcOEt: MeOH 97:3 (100 mL); 9:1 (50 mL); 8:2 (25 mL); 7:3 (25 mL) e MeOH puro (10 mL). Foram recolhidas 16 subfrações de 30 mL cada, que foram reunidas em cinco subfrações (TABELA 12).

**TABELA 12 - SUBFRAÇÕES DA COLUNA DE SHC 4.**

Subfrações	Código	Eluente	Massa (mg)	Substâncias isoladas/ identificada (mg)
1	<b>SHC 4-1</b>	AcOEt: MeOH 97:3	54,6	-
2	<b>SHC 4-2</b>	AcOEt: MeOH 97:3	11,2	-
3	<b>SHC 4-3</b>	AcOEt: MeOH 97:3	13,2	<b>SH8 + SH9</b>
4	<b>SHC 4-4</b>	AcOEt: MeOH 97:3	6,9	-
5-16	<b>SHC 4-5</b>	AcOEt: MeOH 97:3; 9:1; 8:2; 7:3; MeOH	66,2	-

A subfração SHC 4-3 (13,2 mg) foi submetida à CCDP eluída em AcOEt: MeOH 9:1, resultando em **SH8 + SH9** (5,5 mg).

A fração SHC 6 (1,78 g) foi submetida à CC eluída em misturas de AcOEt: MeOH 9:1 (200 mL); 8:2 (100 mL); 7:3 (100 mL); 1:1 (100 mL) e meOH puro (100 mL). Foram recolhidas 28 subfrações de 30 mL cada, que foram reunidas em sete subfrações (TABELA 13; p. 53).

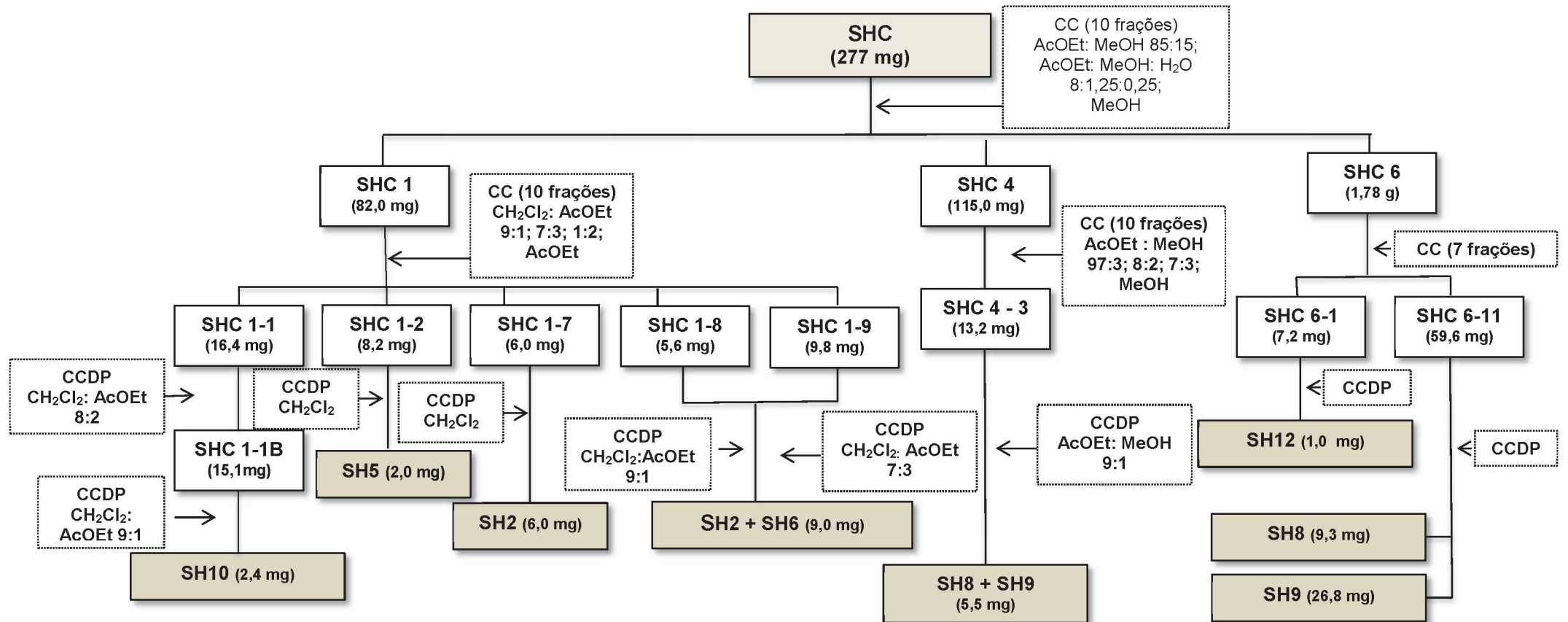
**TABELA 13 - REUNIÃO DAS FRAÇÕES DA COLUNA DE SHC 6.**

Subfrações	Código	Eluente	Massa (mg)	Substâncias isoladas/ identificada (mg)
1	<b>SHb 6-1</b>	AcOEt: MeOH 9:1	7,2	<b>SH12</b>
2	<b>SHb 6-2</b>	AcOEt: MeOH 9:1	8,4	-
3-4	<b>SHb 6-3</b>	AcOEt: MeOH 9:1	273,9	-
5	<b>SHb 6-5</b>	AcOEt: MeOH 9:1	676,6	-
9-13	<b>SHb 6-9</b>	AcOEt: MeOH 8:2	374,9	<b>SH8 e SH9</b>
14-21	<b>SHb 6-14</b>	AcOEt: MeOH 7:3	313,6	-
22-28	<b>SHb 6-22</b>	MeOH	173,6	-

A subfração SHC 6-1 (7,2 mg) foi submetida à CCDP em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: MeOH 97:3, resultando em SHC 6-1A (**SH12**; 1,0 mg).

Uma parte da subfração SHC 6-9 (59,6 mg) foi submetida à CCDP em AcOEt: MeOH: H<sub>2</sub>O 8: 1,5: 0,5, resultando em SHC 6-9A (**SH8**; 9,3 mg) e SHC 6-9B (**SH9**; 26,8 mg).

ESQUEMA 4 - FLUXOGRAMA GERAL DE FRACIONAMENTO DO EXTRATO EM AcOEt (SHC) DE *S. hatschbachii*



### 3.4.2. *Sinningia gerdtiana* (SG)

#### 3.4.2.1. FRACIONAMENTO CROMATOGRÁFICO DE SGB, SGC E SGBut

O extrato em hexano (**SGA**; 1,22 g) foi descartado devido à quantidade de compostos de não interesse, como graxa e clorofila.

O extrato em diclorometano (**SGB**; 0,89 g) foi submetido à CC eluída em Hex:AcOEt 9:1 (150 mL); 8:2 (150 mL), 7:3 (150 mL); 1:1 (200 mL) e MeOH (50 mL). Foram recolhidas 22 frações de 30 mL cada, que foram agrupadas em sete após análise por CCDA. As frações 1 (52,1 mg), 2 (342,6 mg), 3 (63,9 mg), 4 (54,6 mg) e 5 (44,0 mg) continham substâncias alifáticas de cadeia longa. A fração 6 (117,6 mg) continha **SG3** quase pura. A fração 7 (242,3 mg) continha **SG3** acompanhada de grande quantidade de substâncias alifáticas de cadeia longa.

O extrato em AcOEt (**SGC**; 0,34 g) foi submetido à CC eluída com hex: acetona 9:1(50 mL); 8:2 (100 mL); 7:3 (20 mL); 1:1 (20 mL) e por fim acetona pura (50 mL). Foram recolhidas 22 frações de 30 mL cada, que forneceram sete frações após análise por CCDA (TABELA 14).

TABELA 14 - FRAÇÕES DA COLUNA DE **SGC**.

Grupo	Código	Eluente	Massa (mg)	Substâncias isoladas/ identificada
1-3	<b>SGC-1</b>	hexano: acetona 9:1	36,8	<b>SH13 e SH14</b>
4-8	<b>SGC-4</b>	hexano: acetona 8:2	11,6	-
9-12	<b>SGC-9</b>	hexano: acetona 8:2	21,8	-
13-15	<b>SGC-13</b>	hexano: acetona 8:2	9,6	-
16-17	<b>SGC-16</b>	hexano: acetona 7:3	20,1	<b>SG2</b>
18-20	<b>SGC-18</b>	hexano: acetona 1:1	34,5	<b>SG2 + SG3 + SG4</b>
21-22	<b>SGC-21</b>	acetona	31,7	-

A fração SGC-1 (36,8 mg) forneceu **SH13** e **SH14**.

A fração SGC-16 (20,1 mg) foi submetida à CCDP eluída com hexano: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 4:6, resultando em SGC-16C (**SG2**, 3,4 mg).

A fração SGC-18 (34,5 mg) foi submetida à CCDP eluída com éter de petróleo: acetona 1:1, resultando em SGC-18B (**SG2 + SG3 + SG4**, 11,7 mg).

O extrato etanólico (2,19 g), foi submetido à partição com 1-butanol, resultando em 1,09 g de fração butanólica (**SGDBut**). Esta foi submetida à CC eluída com misturas de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> : MeOH 99:1(100 mL), 9:1(200 mL), 1:1 (300 mL) e por fim MeOH puro (200 mL). Foram recolhidas 13 frações de 30 mL cada, que foram reunidas em seis frações após CCDA (TABELA 15).

**TABELA 15 - FRAÇÕES DA COLUNA DE SGDBut.**

Fração	Código	Eluente	Massa (g)	Substâncias isoladas/ identificada
1-4	<b>SGDBut 1</b>	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> : MeOH 99:1	0,246	-
5	<b>SGDBut 5</b>	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> : MeOH 9:1	0,039	-
6	<b>SGDBut 6</b>	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> : MeOH 1:1	0,056	-
7-8	<b>SGDBut 7</b>	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> : MeOH 1:1	0,471	<b>SH9 e SG1</b>
9	<b>SGDBut 9</b>	MeOH	0,044	-
10-13	<b>SGDBut 10</b>	MeOH	0,101	-

A subfração SGDBut 7 (0,471 g) foi submetida à CC eluída com CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> : acetona 1:1(200 mL), acetona pura (250 mL) e por fim MeOH puro (150 mL). Foram recolhidas 11 subfrações de 30 mL cada, que renderam seis subfrações (TABELA 16).

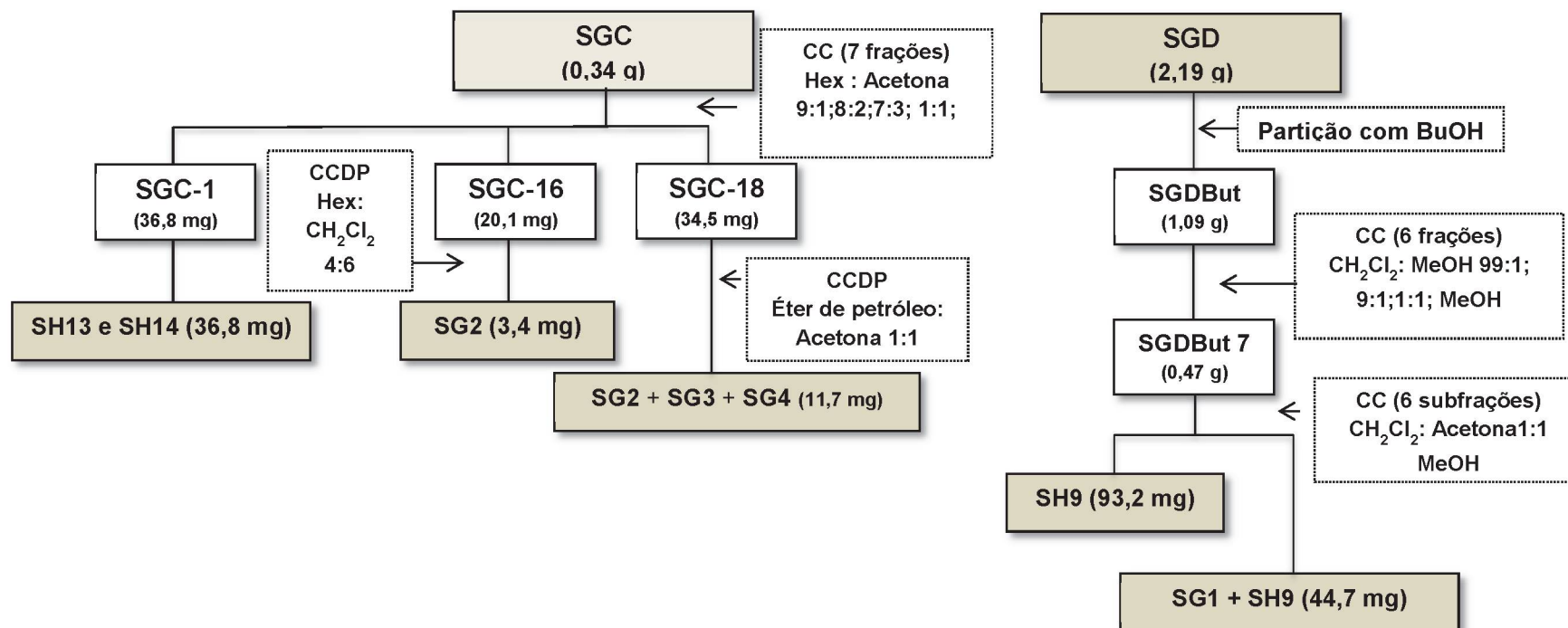
**TABELA 16 - REUNIÃO DAS FRAÇÕES DA COLUNA DE SGDBut 7.**

Subfração	Código	Eluente	Massa (mg)	Substâncias isoladas/ identificada (mg)
1	<b>SGDBut 7- 1</b>	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> : acetona1:1	4,3	-
2-3	<b>SGDBut 7- 2</b>	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> : acetona1:1	23,9	-
4	<b>SGDBut 7- 4</b>	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> : acetona1:1	44,7	<b>SH9 + SG1</b>
5	<b>SGDBut 7- 5</b>	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> : acetona1:1	93,2	<b>SH9</b>
6-8	<b>SGDBut 7- 6</b>	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> : acetona1:1	72,1	-
9-11	<b>SGDBut 7- 9</b>	MeOH	143,2	-

A subfração SGDBut 7-4 (44,7 mg) continha **SH9 + SG1**. E a subfração SGDBut 7-5 (93,2 mg) continha **SH9**.



ESQUEMA 5 - FLUXOGRAMA GERAL DE FRACIONAMENTO DOS EXTRATOS DE *S.gardtiana*



#### 4. ATIVIDADES ANTIOXIDANTE, ANTIMICROBIANA E CITOTÓXICA

As atividades descritas a seguir foram realizadas no Instituto de Biologia, UNICAMP, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Marcos José Salvador.

##### 4.1 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

A atividade antioxidante foi investigada frente ao método ORAC-FL (Capacidade de absorção dos radicais oxigenados com fluoresceína como a sonda fluorescente), usando AAPH [2,2'-azobis (2-amidiopropano) diidrocloreto] (FIGURA 123; p. 141) como fonte de radicais (PRIOR et al., 2003). Os experimentos foram realizados em placas de 96 poços (SALVADOR et al., 2006). Várias diluições das amostras foram preparadas ( $5-500 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) em tampão de fosfato, sendo utilizado como padrão o Trolox (Ácido 2-carboxílico-6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano) (FIGURA 123; p. 152), nas concentrações de 12,5, 25, 50, 100 e 200  $\mu\text{M}$ . Para a leitura foi usando um filtro fluorescente (excitação  $\lambda = 485 \text{ nm}$  e emissão  $\lambda = 528 \text{ nm}$ ) em um leitor de microplacas, monitorando a reação a 37 °C a cada 2 min por um período de 70 min. Foram utilizados o ácido caféico, o ácido clorogênico, quercetina e isoquercetina como controles positivos e como controle negativo utilizou-se o etanol. Os resultados foram expressos em  $\mu\text{mol}$  de Trolox equivalente (TE) por grama de extrato ( $\mu\text{mol TE g}^{-1}$ ). Todos os experimentos foram feitos em triplicatas.

##### 4.2 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

A atividade antimicrobiana foi realizada através da técnica de microdiluição, conforme metodologia descrita anteriormente (SALVADOR et al., 2002). As cepas bacterianas e de leveduras foram inoculadas em caldo Mueller Hinton (Difco) - Placas de agar MHb (*Escherichia*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus* e *Candida*, contendo inóculos de  $10^6 \text{ cfu mL}^{-1}$  (0,5 escala McFarland). Foram utilizadas para este experimento as seguintes cepas: *Staphylococcus aureus* ATCC 14458, *S. epidermidis*, *Escherichia coli* ATCC 35218, *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 14458), *Candida albicans* ATCC 10231, *Candida parapsilopsis* ATCC 22019, *C. dubliniensis* ATCC 778157 e *C. glabrata* ATCC 30070. Os extratos foram testados em concentrações variando

entre 12,5-1000  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , e a concentração mínima para inibir o crescimento (concentração inibitória mínima – CIM) foi determinada (SALVADOR et al., 2003). Nestes testes foram utilizados como controles positivos: cloranfenicol para bacterias e cetoconazol para fungos, e como controle negativo foi utilizado DMSO/água estéril (5:95). Os bioensaios foram realizados em duplicatas.

### 4.3 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA

Para a realização da atividade citotóxica foram utilizadas as linhagens de células tumorais PC-3 (próstata humano metastático andrógeno-independente) e SKMEL 103 (melanoma humano metastático), e a linhagem controle, de célula não tumoral 3T3 (linhagem de fibroblastos). O ensaio foi realizado de acordo com o procedimento descrito por SKEHAN et al., 1990. As linhagens de células tipo ATCC (American Type Culture Collection) foram distribuídas em placa de 96 poços (100  $\mu\text{L}$  célula / poço) e tratadas com quatro níveis diferentes de concentração 0,25; 2,5; 25,0 e 250,0  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  dos extratos. Foi adicionado DMSO (0,1%) a 37°C, com 5% de  $\text{CO}_2$  por 48 horas. A concentração final de DMSO não afeta a viabilidade da célula. Uma solução de ácido tricloroacético 50% foi adicionada e depois da incubação por 30 minutos a 4°C, as células foram lavadas e secadas. A proliferação das células foi determinada pela quantificação espectrofotométrica (540 nm) do teor de proteína celular usando sulforodamina B. Os experimentos foram feitos em triplicata, e os dados analisados usando ANOVA, e o teste F foi usado para determinar qualquer diferença entre os grupos. Doxorrubicina foi usada como controle positivo, e o solvente DMSO como controle negativo. Os resultados foram expressos em  $\text{IC}_{50}$  ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) que é a concentração necessária para inibir o crescimento de 50% das células.

#### 4.4 DADOS FÍSICOS E ESPECTROMÉTRICOS DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS

- **SH1**

**6-hidroxi-7-metoxi-2-O-metildunniol** sólido amarelo; EM/AR:  $m/z = 303,1256$   $[M+1]^+$  calculado para  $C_{17}H_{19}O_5$  303,1232 (FIGURA 12; p. 65); UV-Vis  $\lambda_{max}$  (MeOH) (log  $\epsilon$ ): 277 (2,41); 301 (2,04); 351 (1,60) FIGURA 13 (p. 67); RMN de  $^1H$ , HSQC, HMBC: FIGURAS 14-17 (p. 68-70), TABELA 17 (p. 66);

- **SH2**

**7-hidroxi- $\alpha$ -dunniona**: sólido amorfo alaranjado; massa molecular calculada para  $C_{15}H_{14}O_4 = 259,0970$ ;  $[\alpha]_D^{25} = -29,09$  ( $c = 0,01$  g 100 mL $^{-1}$ , MeOH;), lit. -133 (CAI et al., 2005); CLAE:  $t_R = 6,8$  minutos (Método 2; p. 43 ); RMN de  $^1H$ , HSQC, HMBC: FIGURAS 19-23 (p. 72-74); TABELA 18 (p.71); (CAI et al., 2005).

- **SH3**

**7-hidroxi-6-metoxi- $\alpha$ -dunniona**: sólido amorfo alaranjado; massa molecular calculada para  $C_{16}H_{17}O_5 = 289,1076$ ;  $[\alpha]_D^{25} = -34,88$  ( $c = 0,01$  g 100 mL $^{-1}$ , MeOH), lit. -86,9 (VERDAN et al., 2014); CLAE:  $t_R = 9,8$  minutos (FIGURA 24 p. 74; Método 1; p.43); RMN de  $^1H$ , HSQC, HMBC: FIGURAS 26-28 (p. 77-78); TABELA 19 (p.76); (VERDAN et al., 2014).

- **SH4**

**6-hidroxi-7-metoxi- $\alpha$ -dunniona**: sólido amorfo alaranjado; massa molecular calculada para  $C_{16}H_{17}O_5 = 289,1076$ ;  $[\alpha]_D^{25} = -83,07$  ( $c = 0,001$  g 100 mL $^{-1}$ , MeOH), lit. -98 (SHERIDAN et al., 2011); CLAE:  $t_R = 9,6$  minutos (Método 1; p.43); RMN de  $^1H$ , HSQC, HMBC: FIGURAS 30-32 (p. 80-83); TABELA 20 (p.80); (SHERIDAN et al., 2011).

- **SH5**

**2,4,4',6-tetrametoxidiidrochalcona**: sólido amorfo levemente amarelado; massa molecular calculada para  $C_{19}H_{22}O_5 = 330,171$ ; UV-Vis  $\lambda_{max}$  (MeOH) (log  $\epsilon$ ): 264 (3,19) (FIGURA 37; p. 86); CLAE:  $t_R = 8,2$  minutos (Método 2; p. 43); RMN de  $^1H$ ,

HSQC, HMBC: FIGURAS 38-43 (p. 86-89); TABELA 21 (p. 85); (SHERIDAN et al., 2011).

- **SH6**

**4'-hidroxi-2,4,6-trimetoxidiidrochalcona:** sólido amorfo levemente amarelado; massa molecular calculada para  $C_{18}H_{20}O_5 = 316,155$ ; RMN de  $^1H$ , HSQC, HMBC: FIGURAS 45-49 (p. 91-93); TABELA 22 (p. 90); (MEKSURIYEN et al., 1988).

- **SH7**

**2,4'-hidroxi-4,6-trimetoxidiidrochalcona:** sólido amorfo levemente amarelado; massa molecular calculada para  $C_{17}H_{18}O_5 = 302,139$ ; RMN de  $^1H$ , HSQC, HMBC: FIGURAS 51-54 (p. 95-96); TABELA 23 (p. 94); (ICHIKAWA et al., 1997).

- **SH8**

**Calceariosídeo B:** sólido avermelhado; massa molecular calculada para  $C_{23}H_{26}O_{11} = 478,4518$ ; RMN de  $^1H$ , de  $^{13}C$ , HSQC, HMBC: FIGURAS 59-62 (p. 101-102); TABELA 24 (p.100) (DAMTOFT;JENSEN, 1994).

- **SH9**

**Conandrosídeo:** sólido avermelhado; massa molecular calculada para  $C_{28}H_{34}O_{15} = 609,5597$ ; RMN de  $^1H$ , de  $^{13}C$ , HSQC, HMBC: FIGURA 65-69 (p. 106-108); TABELA 25 (p. 105) (JENSEN, 1996).

- **SH10**

**1,4-dimetoxi-2-naftoato de metila:** sólido amorfo alaranjado; UV-Vis  $\lambda_{max}$  (MeOH) (log  $\epsilon$ ): 257 (2,46), 265 (2,51), 359 (1,90), 377 (1,82); EM/AR:  $m/z = 247,10019$   $[M+1]^+$  calculado para  $C_{14}H_{15}O_4 = 247,09705$ ; RMN de  $^1H$ , HSQC, HMBC: FIGURAS 71-74 (p. 111-112); TABELA 26 (p. 110); (FLADER;LIU;BORCH et al., 2000).

- **SH11**

**1-hidroxi-4-dimetoxi-2-naftoato de metila:** sólido amorfo alaranjado; massa molecular calculada para  $C_{13}H_{12}O_4 = 232,246$ ; RMN de  $^1H$ , HSQC, HMBC: FIGURAS 76-79 (p. 115-116); TABELA 27 (p. 114); (XIN;AISA;WANG et al., 2008).

- **SH12**

**p-hidroxi-benzoato de etila:** sólido amorfo amarelo; RMN de  $^1\text{H}$ , HSQC, HMBC: FIGURAS 81-84 (p. 118-120); TABELA 28 (p.118) (KANNATHASAN et al., 2011).

- **SH13**

**$\beta$ -Sitosterol:** sólido cristalino branco; massa molecular para  $\text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{O}$  = 414,7130; RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$   $\{^1\text{H}\}$ : FIGURAS 86-93 (p. 124-127); TABELA 29 (p. 123).

- **SH14**

**Estigmasterol:** sólido cristalino branco; massa molecular calculada para  $\text{C}_{29}\text{H}_{48}\text{O}$  = 412,6972; RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$   $\{^1\text{H}\}$ : FIGURAS 86-93 (p. 124-127); TABELA 29 (p. 123).

- **SG1**

**Sanangosídeo:** sólido amarelado; massa molecular calculada para  $\text{C}_{23}\text{H}_{26}\text{O}_{11}$  = 478,4518; RMN de  $^1\text{H}$ , de  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ , HSQC, HMBC: FIGURAS 96-101 (p. 131-133); TABELA 30 (p.130) (JENSEN, 1996).

- **SG2**

**Halleridona:** óleo alaranjado; Massa molecular calculada para  $\text{C}_8\text{H}_{10}\text{O}_3$  = 154; EM (70 eV):  $m/z$  (int.rel.) = 154 (1,63)  $[\text{M}]^+$  e picos em  $m/z$  (int.rel.) 110 (55), 82 (100), 68 (58) e 54 (25);  $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = 0$  ( $c = 0,001 \text{ g } 100 \text{ mL}^{-1}$ , MeOH); CG: tempo de retenção ( $T_{\text{R}}$ ) = 21,5 min; índice de retenção ( $I_{\text{R}}$ ) = 1310; RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ , HSQC, HMBC: FIGURAS 103-109 (p. 136-138); TABELA 31 (p.136) (MESSANA et al., 1984).

- **SG3**

**Acetilcleroindicina B:** óleo amarelo; Massa molecular calculada para  $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}_4$  = 200,22; EM (70 eV):  $m/z$  (int.rel.) = 200 (0,15)  $[\text{M}]^+$  e picos em  $m/z$  (int.rel.) 140 (34), 122 (30), 83 (64), 70 (56), 55 (43) e 43 (100); CG:  $T_{\text{R}} = 30,8$  minutos;  $I_{\text{R}} = 1318$ ; RMN de  $^1\text{H}$ , de  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ , HSQC, HMBC: FIGURAS 112-118 (p. 143-145); TABELA 32 (p. 142) (ABDULLAHI et al., 1986).

- **SG4**

**Cleroindicina-C:** óleo amarelo;; Massa molecular calculada para para  $C_8H_{12}O_3 = 156,01$ ; EM (70 eV):  $m/z$  (int.rel.) = 156 (6,17)  $[M]^+$  e picos em  $m/z$  (int.rel.) 138 (6,6), 128 (27), 111 (34), 97 (84), 86 (60), 83 (69), 71 (72), 55 (100) e 43 (90); CG:  $T_R = 21,8$  minutos;  $I_R = 1536$ ; RMN de  $^1H$ , de  $^{13}C\{^1H\}$ , HSQC, HMBC: FIGURAS 112-118 (p. 143-146); TABELA 32 (p. 142) (TIAN et al., 1997).

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O estudo fitoquímico dos tubérculos de *S. hatschbachii* e das partes aéreas de *S. gerdiana* forneceram no total dezoito substâncias. Estas foram identificadas por técnicas espectrométricas, como UV-Vis, RMN e EM, além de comparação com dados da literatura. A identificação dessas substâncias será apresentada a seguir, bem como a avaliação das atividades antimicrobiana, citotóxica e antioxidante dos extratos de *S. hatschbachii*, e a atividade antioxidante dos extratos em AcOEt e EtOH de *S. gerdiana*.

### 5.1 SUBSTÂNCIAS ISOLADAS DE *S. hatschbachii*.

Dos tubérculos de *S. hatschbachii* foram preparados quatro extratos (hexano, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, AcOEt e EtOH). Os dois primeiros (**SHA** e **SHB**) eram similares por CCDA e foram reunidos para o fracionamento cromatográfico. O extrato reunido forneceu uma substância inédita (**SH1**) e sete substâncias conhecidas (**SH2-SH7** e **SH11**). As substâncias **SH2**, **SH5** e **SH6** foram encontradas também no extrato em AcOEt, que ainda forneceu mais quatro substâncias conhecidas: **SH8-SH10** e **SH12**. A determinação estrutural será apresentada por classes, iniciando pelas naftoquinonas (**SH1-SH4**), em seguida as diidrochalconas (**SH5-SH7**), glicosídeos fenólicos (**SH8-SH9**), outras substâncias aromáticas (**SH10-SH12**) e esteroides (**SH13-SH14**).

#### 5.1.1 NAFTOQUINONAS PRENILADAS

##### 5.1.1.1 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE SH1

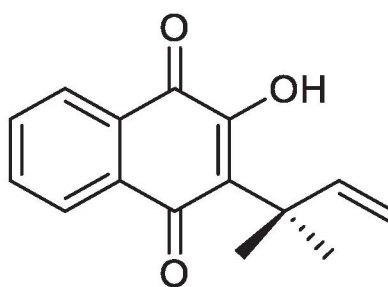
A substância **SH1** foi isolada como um sólido amarelo. O seu espectro de massas de alta resolução no modo positivo apresentou um pico em  $m/z$  303,1256, referente ao íon  $[M+H]^+$ , indicando a fórmula molecular C<sub>17</sub>H<sub>18</sub>O<sub>5</sub> (FIGURA 12; p. 67).

O espectro de absorção na região do ultravioleta e visível (UV-Vis) mostrou uma banda intensa em 277 nm, característica de cromóforos insaturados ou aromáticos (FIGURA 13; p. 67).



O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (FIGURA 14-15; p. 68) apresentou sinais de dois hidrogênios ligados a um anel aromático ( $\delta_{\text{H}}$  7,47 e 7,44) como simpletos, indicando uma relação *para*. Um grupo 3,3–dimetilalila foi definido pela presença de três sinais de hidrogênios olefínicos em  $\delta_{\text{H}}$  6,23 (*dd*, 17,1 e 10,6 Hz, H-12), 4,93 (*dd*,  $J = 17,1$  e 0,8 Hz; H-13a) e 4,91 (*dd*,  $J = 10,6$  e 0,8 Hz; H-13b), além de um simpleto em  $\delta_{\text{H}}$  1,51 referente a dois grupos metila equivalentes. Também foram observados três simpletos adicionais, sendo dois deles atribuídos aos hidrogênios de dois grupos metoxila ( $\delta_{\text{H}}$  4,02 e 3,91), e o terceiro atribuído a uma hidroxila ( $\delta_{\text{H}}$  6,11). Pelo mapa de correlação direta  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  (HSQC) (FIGURA 16; p; 69) os hidrogênios foram associados aos seus respectivos carbonos (TABELA 17; p. 66). O mapa de correlação  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  a longa distância (HMBC) (FIGURA 17; p; 69) mostrou que os hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  7,47 (H-5) e 7,44 (H-8) apresentavam correlações com os carbonos carbonílicos em 185,4 (C-4) e 181,2 (C-1), indicando uma 1,4-naftoquinona. Considerando esses dados pode-se afirmar que **SH1** é uma 1,4-naftoquinona contendo dois grupos metoxila, um grupo hidroxila e um grupo 3,3-dimetilalila. Revisando a literatura foi encontrada uma substância similar, conhecida como dunniool (FIGURA 10) (KHAMBAY et al., 1999), da qual **SH1** é um derivado.

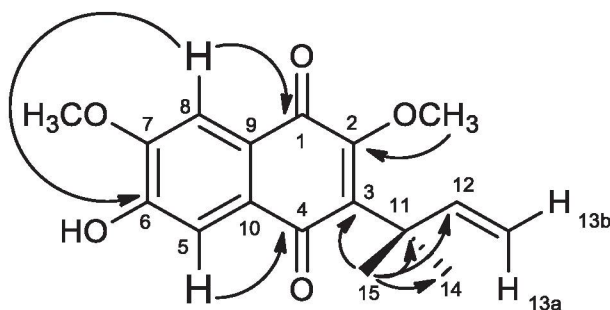
FIGURA 10 - ESTRUTURA DO DUNNIOL



A posição dos substituintes em **SH1** foi determinada pelas correlações observadas no HMBC (TABELA 17; p. 66), e por comparação com os dados de RMN do dunniool (KHAMBAY et al., 1999). Os grupos metila mostraram correlações entre si e com os carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  41,5 (C-11); 148,9 (C-12) e 141,2 (C-3). Os grupos metoxila em  $\delta_{\text{H}}$  3,91 e 4,02 mostraram no HMBC correlações com os carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  158,3 e 150,0, respectivamente. Por outro lado, os hidrogênios aromáticos apresentaram correlação com o carbono em  $\delta_{\text{C}}$  150,7, mas não com aquele carbono em  $\delta_{\text{C}}$  158,3, indicando que apenas um dos grupos metoxila estava ligado ao anel aromático. O outro grupo deve estar em C-2. O grupo hidroxila apresentou apenas

uma correlação com um carbono em  $\delta_c$  112,1, que pela análise dos mapas de correlação HSQC e HMBC corresponde a C-5. Então o grupo hidroxila deve estar em C-6, e um grupo metoxila em C-7. Desse modo **SH1** foi identificada como 6-hidroxi-2-O-metil-7-metoxidunnio (FIGURA 11). Esse é o primeiro relato de isolamento dessa substância.

**FIGURA 11** - ESTRUTURA E PRINCIPAIS CORRELAÇÕES NO HMBC DA SUBSTÂNCIA **SH1**.



**TABELA 17** - DADOS DE RMN DE **SH1** (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz).

Posição	$\delta_H$ , mult. (J em Hz)	$\delta_C$	<sup>LD</sup> J <sub>H,C</sub>
1	-	181,2	-
2	-	158,3	-
3	-	141,2	-
4	-	185,4	-
5	7,47, s	112,1	4, 7, 9
6	-	150,7	-
7	-	150,0	-
8	7,44, s	106,9	1, 6, 10
9	-	124,9	-
10	-	129,1	-
11	-	41,5	-
12	6,23, dd (17,1; 10,6)	148,9	-
13 <sup>a</sup>	4,93, dd (17,1; 0,8)	108,2	-
13 <sup>b</sup>	4,91, dd (10,6; 0,8)	-	-
14	1,51, s	28,2	3, 11, 12, 15
15	1,51, s	28,2	3, 11, 12, 14
6-OH	6,11, s	-	5
2 - OCH <sub>3</sub>	3,91, s	61,0	2
7 - OCH <sub>3</sub>	4,02, s	56,4	7

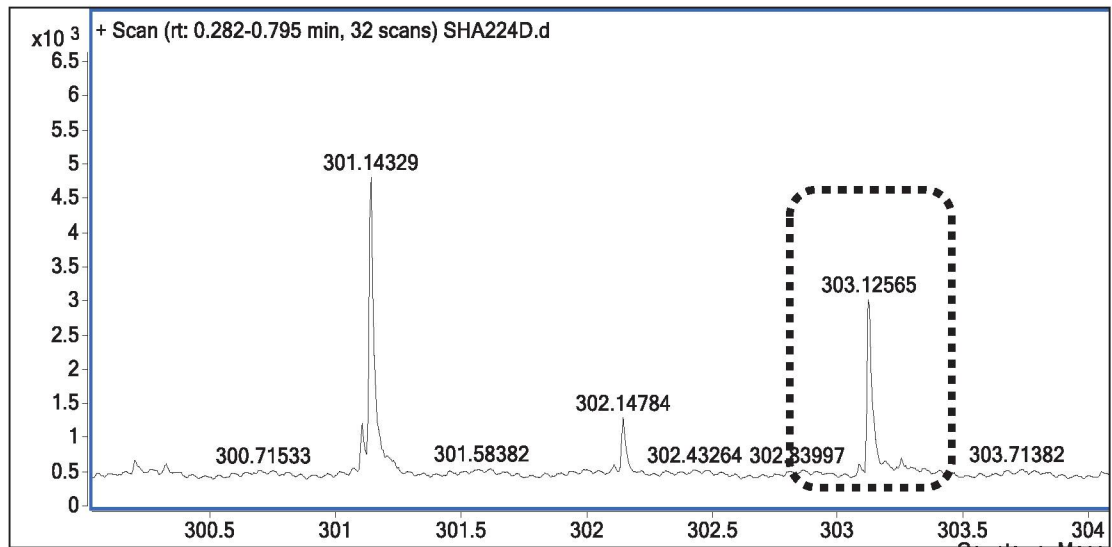
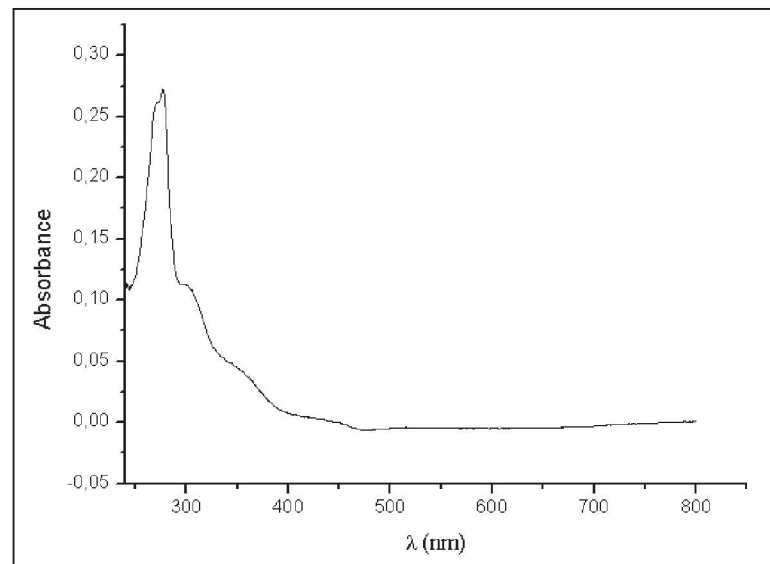
**FIGURA 12 - ESPECTRO DE MASSAS DE SH1****FIGURA 13 - ESPECTRO NO UV-VIS DE SH1.**

FIGURA 14 - ESPECTRO DE RMN DE  $^1\text{H}$  DE SH1 (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

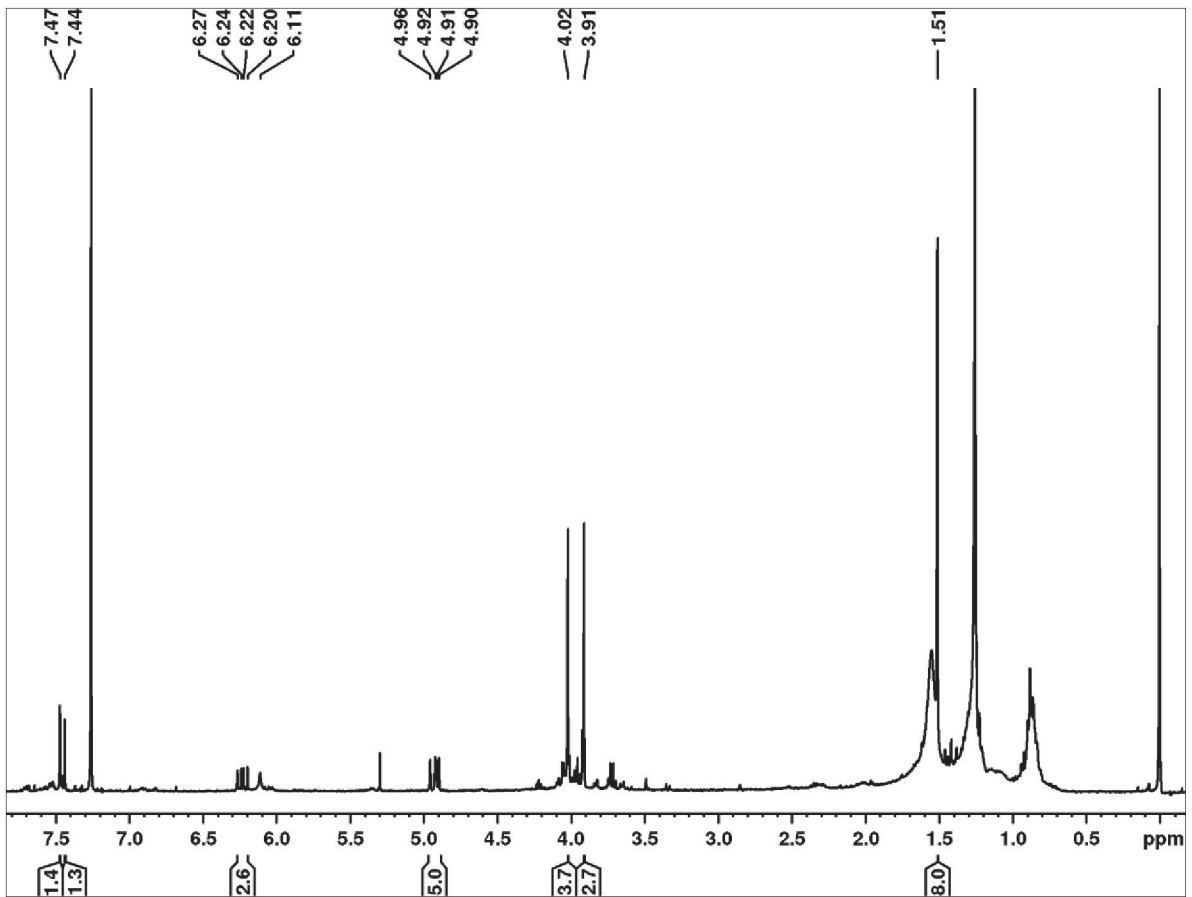
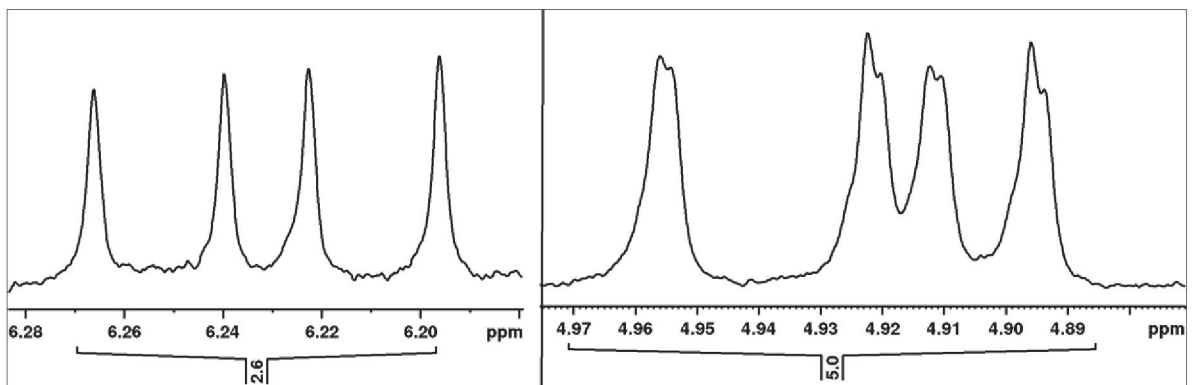
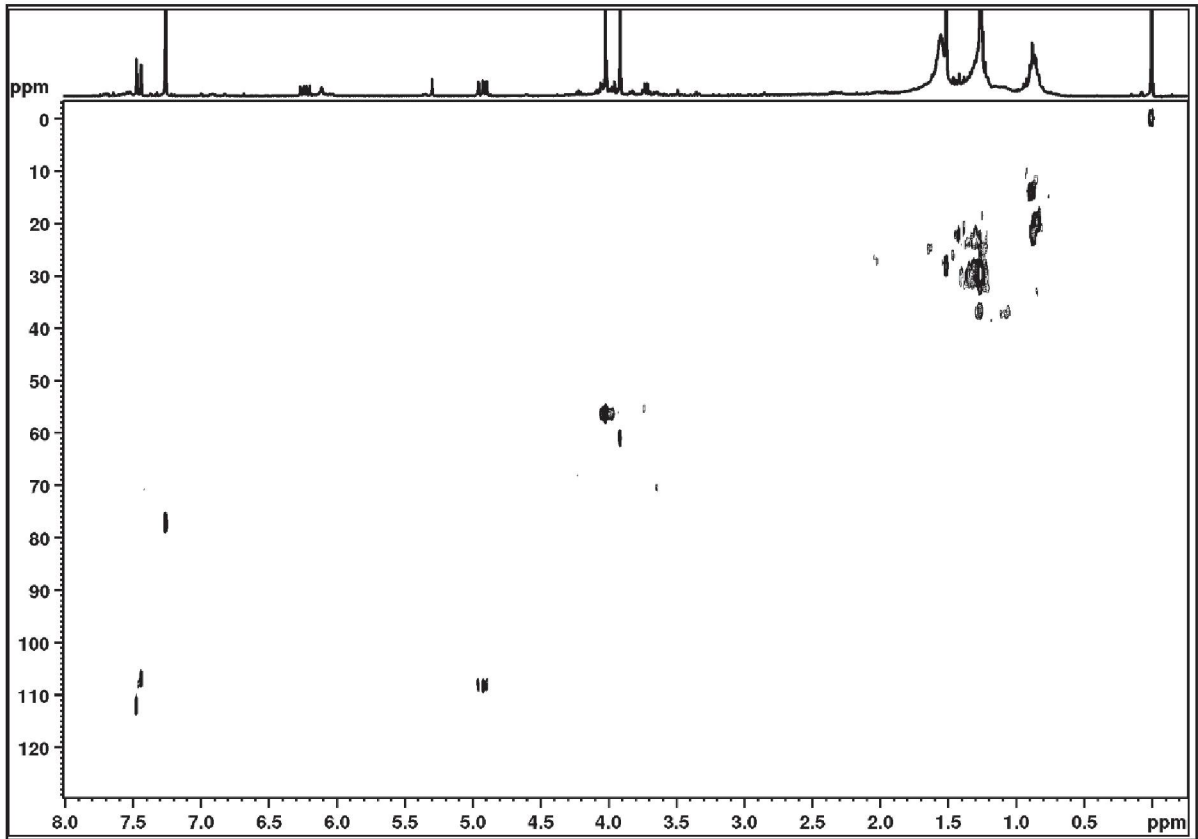
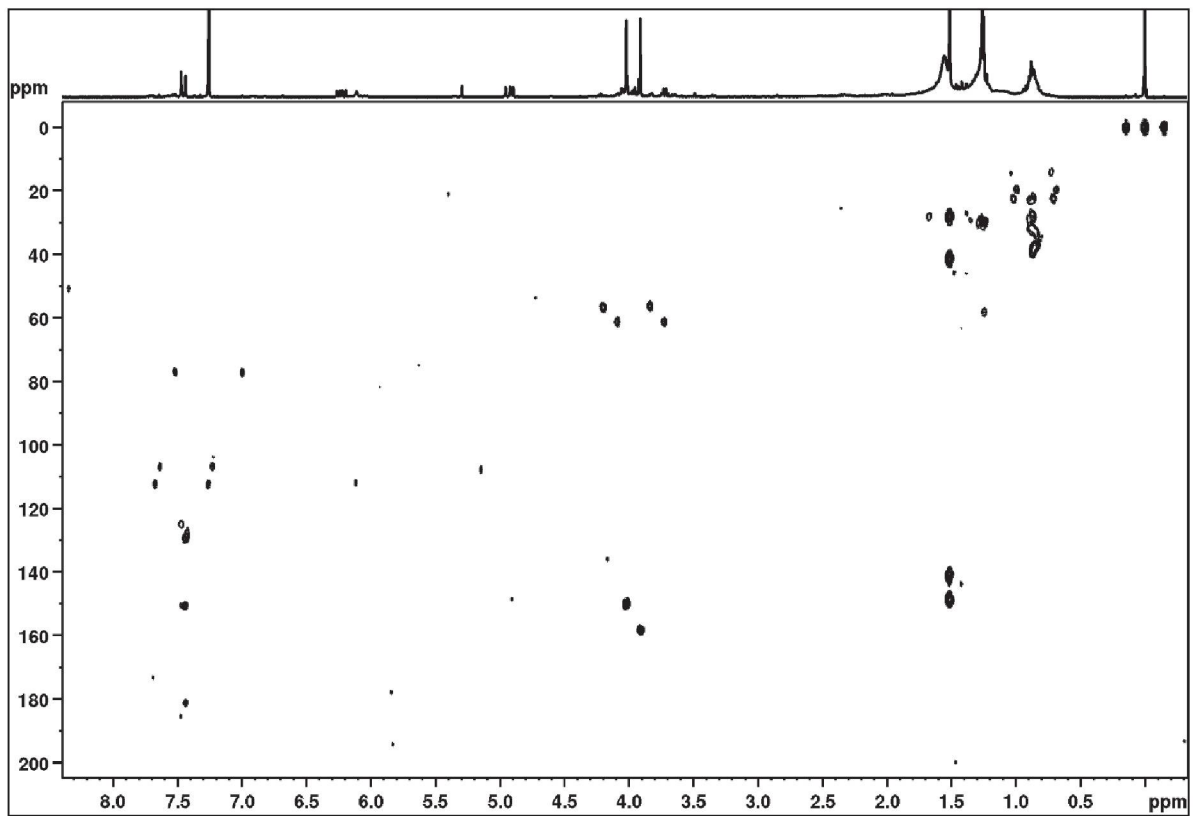


FIGURA 15 - EXPANSÃO DO ESPECTRO DE RMN DE  $^1\text{H}$  DE SH1 DOS SINAIS EM  $\delta_{\text{H}}$  6,23; 4,93 E 4,91 (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )



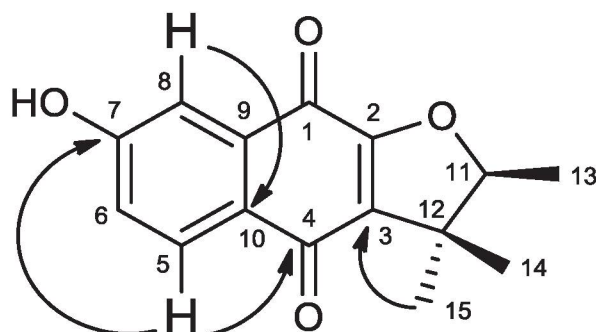
**FIGURA 16** - MAPA DE CORRELAÇÃO  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  A UMA LIGAÇÃO DE SH1 (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).**FIGURA 17** - MAPA DE CORRELAÇÃO  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  A LONGA DISTÂNCIA DE SH1 (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

### 5.1.1.2 IDENTIFICAÇÃO DE SH2

No seu espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (FIGURA 19-21; p. 70-71) foram observados sinais para três hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  7,95 (*d*,  $J = 8,2$  Hz; H-5); 7,46 (*d*,  $J = 2,9$  Hz; H-8) e 7,10 (*dd*,  $J = 8,2$  e  $2,9$  Hz; H-6). Estes sinais indicam um anel aromático 1,3,4-trissubstituído. Também foram observados os sinais típicos de um grupo 2,3,3-trimetil-2,3-diidrofurano: um quarteto em  $\delta_{\text{H}}$  4,56 ( $J = 6,7$  Hz), um duplete em  $\delta_{\text{H}}$  1,43 ( $J = 6,7$  Hz) e dois simpletos em  $\delta_{\text{H}}$  1,48 e 1,28. (TABELA 18; p. 69).

O mapa de correlação direta  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  mostrou os carbonos ao quais os hidrogênios estão ligados (TABELA 18, p. 69). E o mapa de correlação a longa distância  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  mostrou que o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  7,46 apresentava correlação com um carbono carbonílico em  $\delta_{\text{C}}$  178,4, enquanto que o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  7,95 mostrava correlação com outro grupo carbonila em  $\delta_{\text{C}}$  181,5, além de um carbono oxigenado ( $\delta_{\text{C}}$  159,7), e um carbono quaternário ( $\delta_{\text{C}}$  133,5). Essas correlações indicaram uma 1,4-naftoquinona, com um grupo hidroxila no anel aromático. Neste tipo de naftoquinona o grupo carbonila mais protegido está em C-1 (INOUE et al., 1982). Então, o sinal em  $\delta_{\text{H}}$  7,46 pode ser atribuído ao hidrogênio em C-8. Como H-8 é um duplete com acoplamento em *meta*, o grupo hidroxila deve estar em C-7. Essa conclusão está de acordo com as correlações observadas no HMBC para H-5 ( $\delta_{\text{H}}$  7,95, *d*,  $J = 8,2$  Hz). Com essas e as demais correlações **SH2** foi identificada como 7-hidroxi- $\alpha$ -dunniona, já isolada de outras espécies como *Chirita eburnea* (CAI et al., 2005), além de já ter sido isolada de *Sinningia leucotricha* e *S. canescens* (VERDAN et al., 2017). Essa substância apresenta um estereocentro (C-11), de modo que poderia ser isolado o isômero levógiro ou dextrógiro. Estudos de cristalografia de Raios-X com esse tipo de substância mostraram que o levógiro tem a configuração absoluta *S*, enquanto que o dextrógiro é *R* (COOKE et al., 2006). A atividade ótica de **SH2** foi determinada com o valor de  $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -29,09$ , a FIGURA 18 (p. 69) mostra a estrutura de **SH2** com a configuração absoluta 11*S*.

FIGURA 18 - ESTRUTURA DE SH2 COM AS PRINCIPAIS CORRELAÇÕES NO HMBC

TABELA 18 - DADOS DE RMN DE SH2 (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz), EM COMPARAÇÃO COM OS DADOS DA LITERATURA DA 7-HIDROXI- $\alpha$ -DUNNIONA (ACETONA-*d*<sub>6</sub>, 500 MHz) (CAI et al., 2005)

Posição	SH2			7-hidroxi- $\alpha$ -dunniona	
	$\delta_H$ , mult. (J em Hz)	$\delta_C$	<sup>LD</sup> J <sub>H,C</sub>	$\delta_H$ , mult. (J em Hz)	$\delta_C$
1	-	N.O.	-	-	178,9
2	-	N.O.	-	-	159,1
3	-	131,0	-	-	130,3
4	-	181,5	-	-	182,2
5	7,95, <i>d</i> (8,2)	128,8	4, 7, 9	7,86, <i>d</i> (8,2)	128,9
6	7,10, <i>dd</i> (8,2; 2,9)	120,9	10	7,17, <i>dd</i> (8,2;2,5)	121,0
7	-	159,7	-	-	162,6
8	7,46, <i>d</i> (2,9)	112,9	10	7,37, <i>d</i> (2,5)	112,7
9	-	133,5	-	-	134,6
10	-	126,9	-	-	126,7
11	4,56, <i>q</i> (6,7)	91,2	-	4,57, <i>q</i> (6,4)	91,6
12	-	45,0	14, 15	-	45,8
13	1,43, <i>d</i> (6,7)	14,1	11, 12	1,38, <i>d</i> (6,4)	14,4
14	1,28, <i>s</i>	20,7	3, 11, 12, 15	1,26, <i>s</i>	20,7
15	1,48, <i>s</i>	26,2	3, 11, 12, 14	1,44, <i>s</i>	26,1

N.O. = não observado

FIGURA 19 - ESPECTRO DE RMN DE  $^1\text{H}$  DE SH2 (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

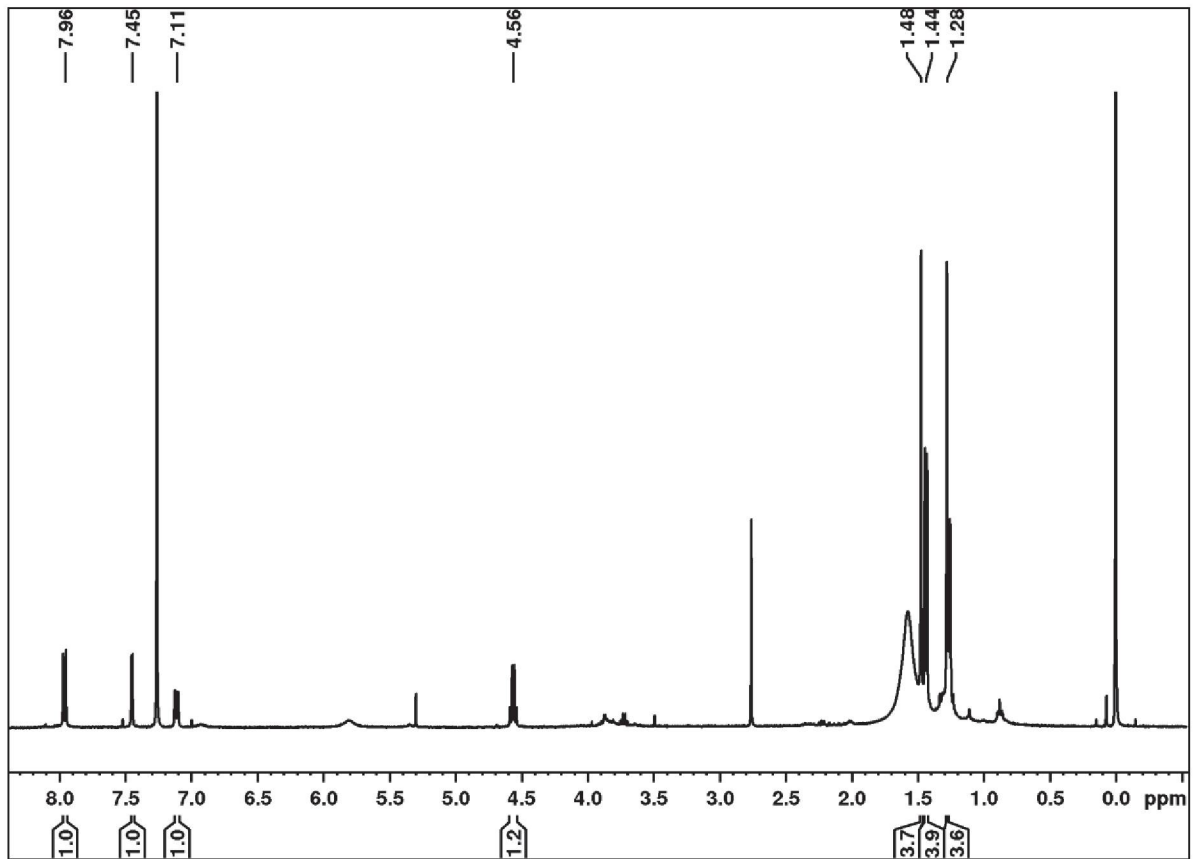
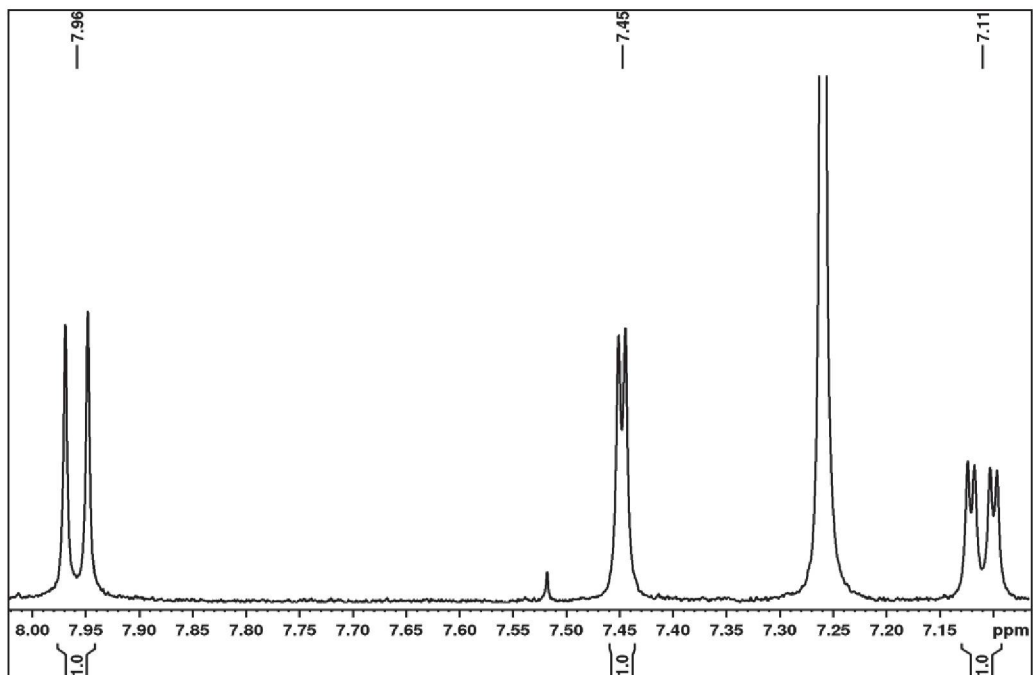
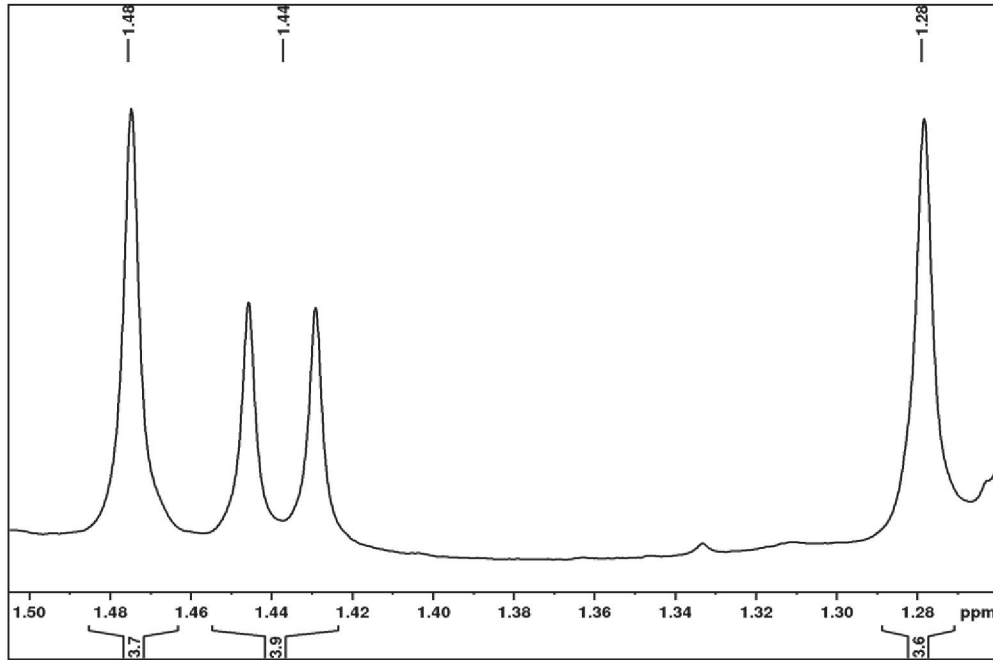


FIGURA 20 - EXPANSÃO DO ESPECTRO DE RMN DE  $^1\text{H}$  DE SH2 DA REGIÃO ENTRE  $\delta_{\text{H}}$  8,0 A 7,0 (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

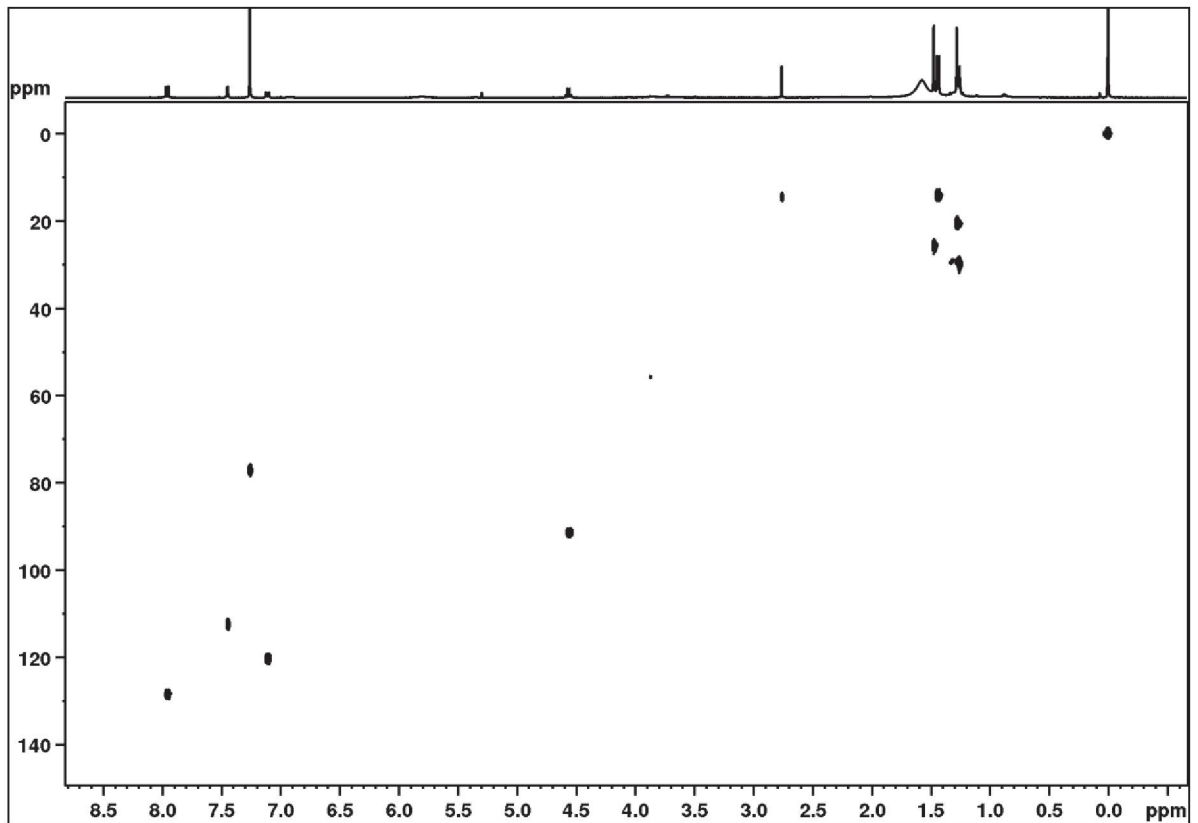




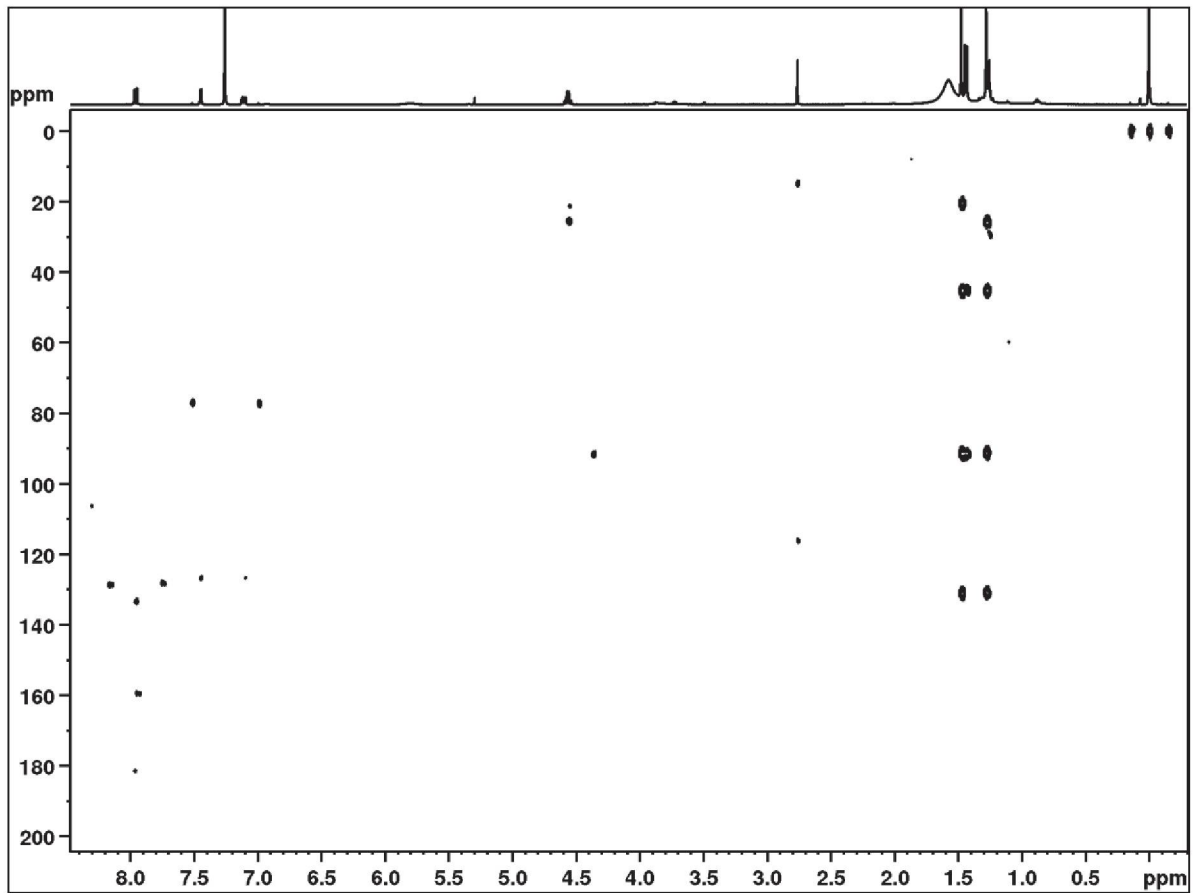
**FIGURA 21** - EXPANSÃO DO ESPECTRO DE RMN DE  $^1\text{H}$  DE SH2 DA REGIÃO ENTRE  $\delta_{\text{H}}$  1,52 A 1,20 (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



**FIGURA 22** - MAPA DE CORRELAÇÃO  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  A UMA LIGAÇÃO DE SH2 (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )



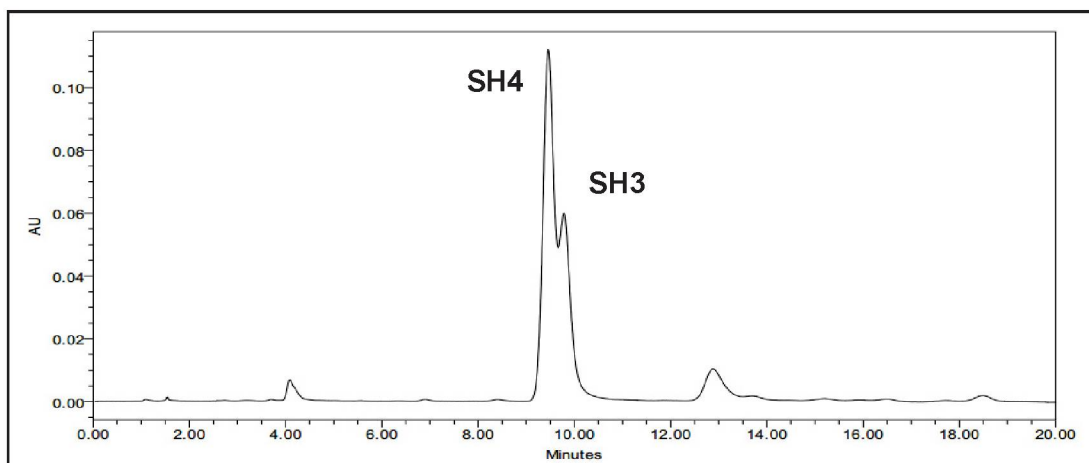
**FIGURA 23 - MAPA DE CORRELAÇÃO  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  A LONGA DISTÂNCIA DE SH2 (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**



### 5.1.1.3 IDENTIFICAÇÃO DE SH3 E DE SH4

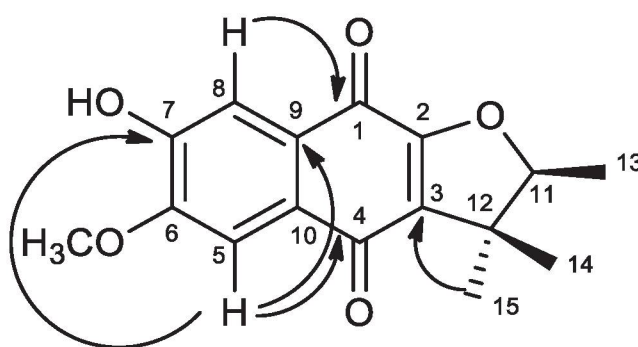
As substâncias **SH3** e **SH4** estavam presentes na fração SHAB 24B e o seu cromatograma no CLAE apresentou dois picos, que foram coletados em 9,6 e 9,8 min (FIGURA 24).

**FIGURA 24 - CROMATOGRAMA DA PURIFICAÇÃO DE SHAB 24-B**



A substância **SH3** foi isolada como um sólido amorfo amarelo. O seu espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (FIGURA 26-28; p. 74-75) apresentou dois simpletos em  $\delta_{\text{H}}$  7,52 e 7,55, que podem ser atribuídos a dois hidrogênios aromáticos em uma relação *para*. Também mostrou um simpleto típico de um grupo metoxila ( $\delta_{\text{H}}$  4,03), além dos sinais de um grupo 2,3,3-trimetil-diidrofurano ( $\delta_{\text{H}}$  4,56, *q*,  $J = 6,6$  Hz;  $\delta_{\text{H}}$  1,43, *d*,  $J = 6,6$  Hz;  $\delta_{\text{H}}$  1,47 e 1,27, *s*) (TABELA 19, p. 74). Esses dados indicaram uma naftoquinona semelhante à **SH2**, com uma substituição a mais no anel aromático em C-6. Como no espectro de RMN não mostrou outro sinal de hidrogênio, deduziu-se ter um grupo hidroxila nesta posição. Porém, a pequena quantidade obtida não permitiu a obtenção dos espectros de RMN bidimensionais para comprovação, então a identificação foi feita a partir de comparação dos dados de RMN de  $^1\text{H}$ , como mostra na FIGURA 26 (p. 74), com aqueles de naftoquinonas previamente isoladas de espécies de *Sinningia*. Desse modo, **SH3** foi identificada como 7-hidroxi-6-metoxi- $\alpha$ -dunniona (VERDAN et al., 2014). A atividade ótica de **SH3** foi determinada com o valor de  $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -83,03$ , a FIGURA 25 mostra a sua configuração absoluta S.

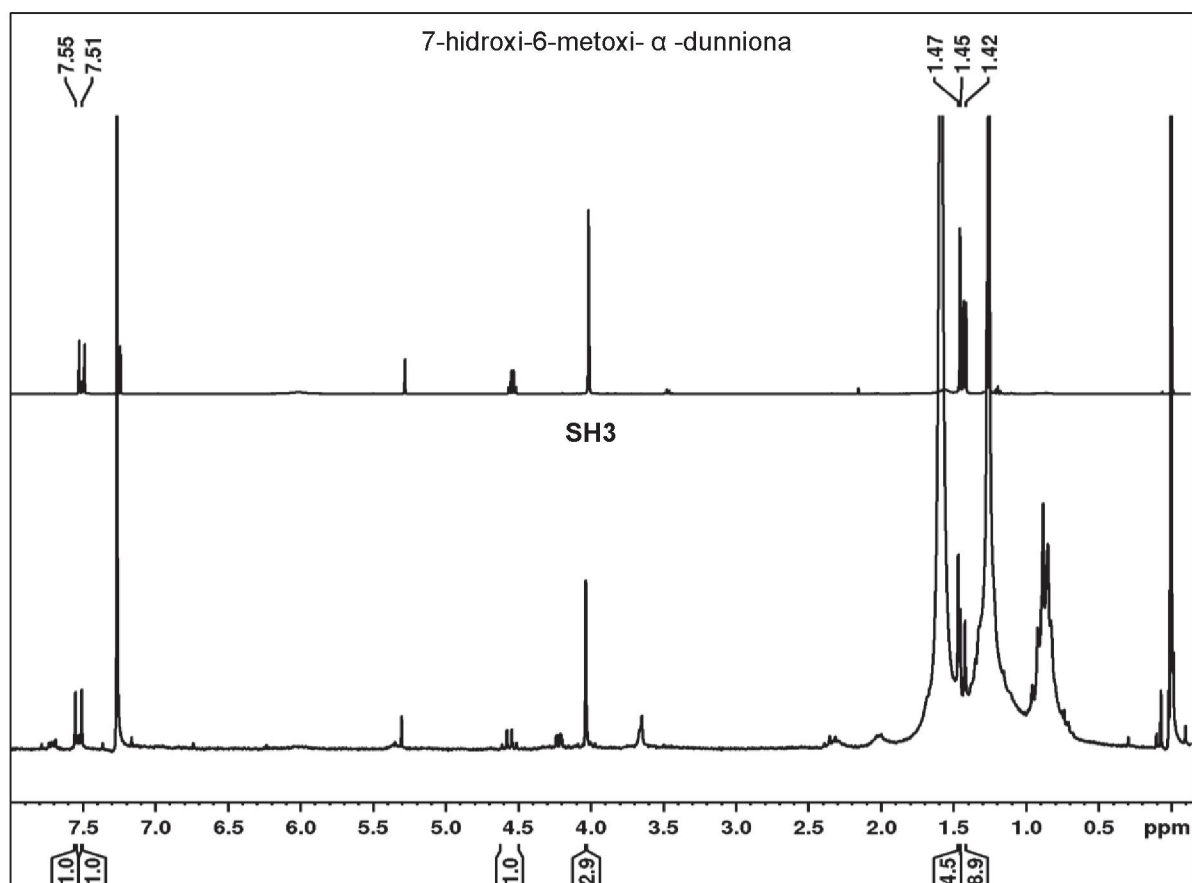
FIGURA 25 - ESTRUTURA DE SH3



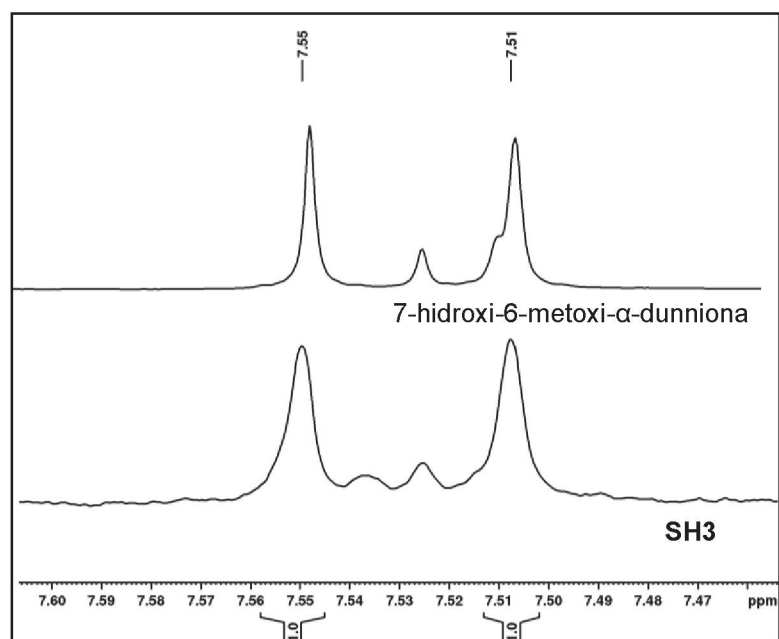
**TABELA 19** - DADOS DE RMN DE **SH3** ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz), EM COMPARAÇÃO COM OS DADOS DA LITERATURA DA 7-HIDROXI-6-METOXI- $\alpha$ -DUNNIONA ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) (VERDAN et al., 2014).

Posição	SH3	7-hidroxi-6-metoxi- $\alpha$ -dunniona
	$\delta_{\text{H}}$ , mult. (J em Hz)	$\delta_{\text{H}}$ , mult. (J em Hz)
1	-	-
2	-	-
3	-	-
4	-	-
5	7,51, s	7,52, s
6	-	-
7	-	-
8	7,55, s	7,55, s
9	-	-
10	-	-
11	4,56, q (6,6)	4,56, q (6,6)
12	-	-
13	1,43, d (6,6)	1,42, d (6,6)
14	1,27, s	1,27, s
15	1,47, s	1,47, s
6-OCH <sub>3</sub>	4,03, s	4,03, s
7-OH	-	6,02, s

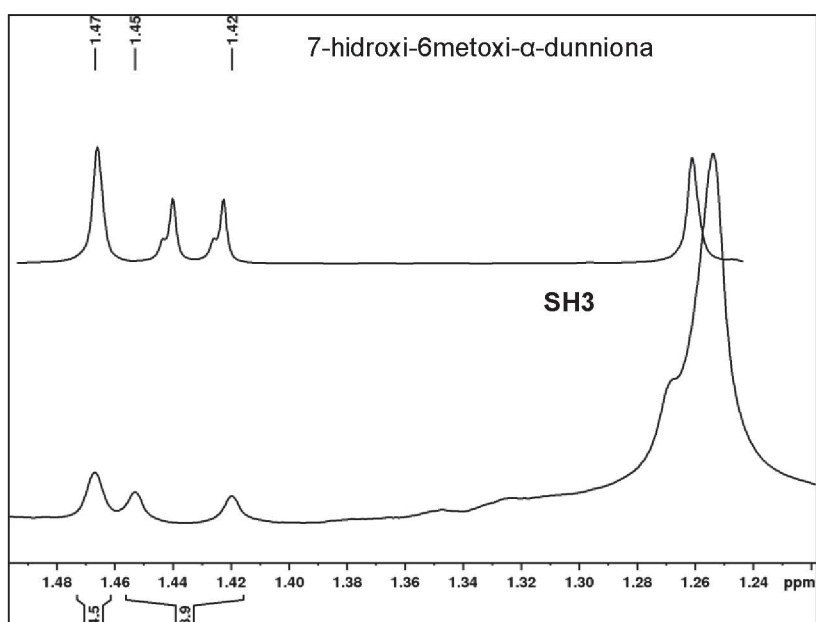
**FIGURA 26** - ESPECTRO DE RMN DE  $^1\text{H}$  DE **SH3** EM COMPARAÇÃO COM O ESPECTRO DE 7-HIDROXI-6-METOXI- $\alpha$ -DUNNIONA (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



**FIGURA 27** - EXPANSÃO DO ESPECTRO DE RMN DE  $^1\text{H}$  DE **SH3** E DE 7-HIDROXI-6-METOXI- $\alpha$ -DUNNIONA DA REGIÃO ENTRE  $\delta_{\text{H}}$  7,7 A 7,4 (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



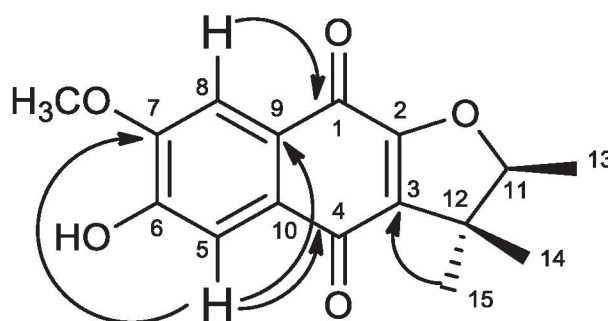
**FIGURA 28** - EXPANSÃO DO ESPECTRO DE RMN DE  $^1\text{H}$  DE **SH3** E DE 7-HIDROXI-6-METOXI- $\alpha$ -DUNNIONA NA REGIÃO ENTRE  $\delta_{\text{H}}$  1,5 A 1,25 (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



A substância **SH4** foi isolada como um sólido amorfo amarelo. O seu espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (FIGURA 30-32; p. 80-81) foi muito semelhante ao da substância **SH3**, apresentando sinais para os mesmos grupos, mas com pequenas mudanças nos deslocamentos químicos. Assim foram observados sinais de dois

hidrogênios aromáticos em uma relação *para* ( $\delta_H$  7,51 e 7,53), bem como os sinais característicos de um grupo 2,3-diidro-2,3,3-trimetilfurano, e de uma metoxila ligada ao anel aromático ( $\delta_H$  4,02) (TABELA 20, p. 79). O espectro de  $^{13}\text{C} \{^1\text{H}\}$  (FIGURA 33; p. 82) apresentou, além de outros, dois sinais pouco intenso em  $\delta_C$  181,0 (C-4) e 178,0 (C-1) característicos de carbonila de acetona, além de um sinal em  $\delta_C$  158,6 (C-2), típico de carbono  $\text{sp}^2$  oxigenado. No mapa de correlação  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  a longa distância foram observadas correlações entre os hidrogênios aromáticos e grupos carbonila ( $\delta_C$  177,9 e 181,9) indicando que **SH4** é uma 1,4-naftoquinona. Sabendo que nesse tipo de substância o grupo carbonila em C-1 é mais protegido, o sinal em  $\delta_H$  7,51 foi atribuído à H-8, que apresentou correlação com o grupo carbonila em  $\delta_C$  177,9 (C-1). Em consequência, o sinal em  $\delta_H$  7,53 foi atribuído à H-5, o qual mostrou correlações com C-4 ( $\delta_C$  181,9), C-7 ( $\delta_C$  149,7) e C-9 ( $\delta_C$  129,2). O grupo metoxila foi localizado em C-7 devido a sua correlação com o carbono em  $\delta_C$  149,7 (TABELA 20, p. 79). Portanto, **SH4** foi identificada como 6-hidroxi-7-metoxi- $\alpha$ -dunniona, uma substância conhecida (SHERIDAN et al., 2011). A atividade ótica de **SH4** foi determinada com o valor de  $[\alpha]_D^{25} = -34,88$ , a FIGURA 29 mostra a estrutura a sua configuração absoluta 11S.

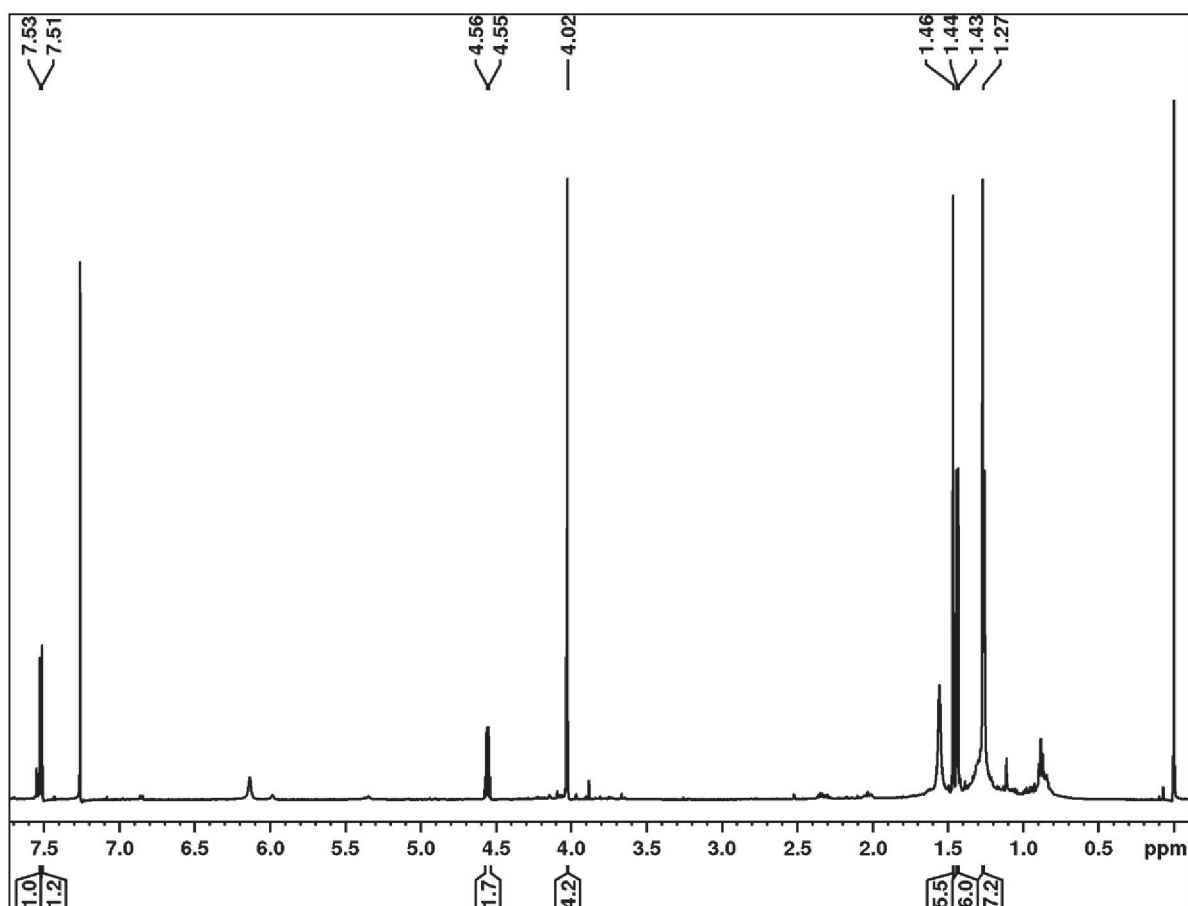
**FIGURA 29** - ESTRUTURA DE **SH4** COM AS PRINCIPAIS CORRELAÇÕES  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  A LONGA DISTÂNCIA



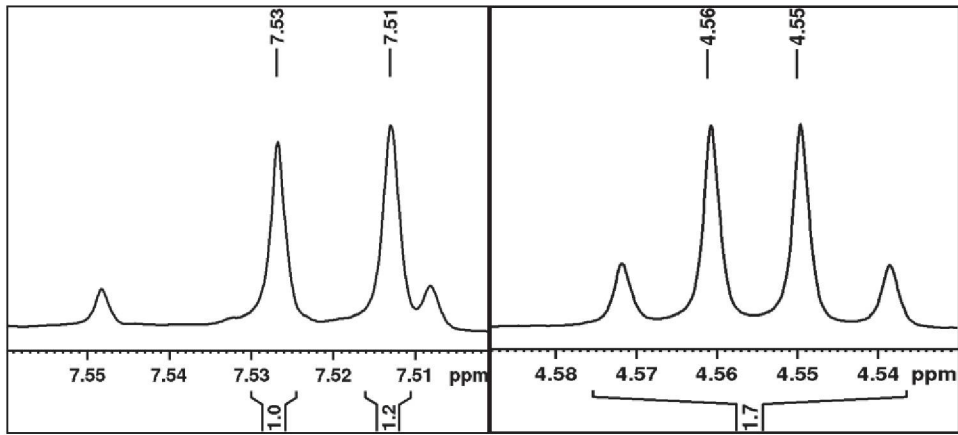
**TABELA 20** - DADOS DE RMN DE **SH4** ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz), E COMPARAÇÃO COM OS DADOS DA 6-HIDROXI-7-METOXI- $\alpha$ -DUNNIONA ( $\text{MeOD}$ , 400 MHz) (SHERIDAN et al., 2011).

Posição	SH4			6-hidroxi-7-metoxi- $\alpha$ -dunniona	
	$\delta_{\text{H}}$ , mult. (J em Hz)	$\delta_{\text{C}}$	$^{\text{LD}}J_{\text{H,C}}$	$\delta_{\text{H}}$ , mult. (J em Hz)	$\delta_{\text{C}}$
1	-	178,0	-	-	179,3
2	-	158,7	-	-	-
3	-	130,0	-	-	129,2
4	-	181,9	-	-	182,6
5	7,53, s	112,3	4, 7, 9	7,30	106,6
6	-	150,8	-	-	154,9
7	-	149,7	-	-	157,9
8	7,51, s	107,9	1, 6, 10	7,10	114,0
9	-	125,6	-	-	126,6
10	-	129,5	-	-	130,4
11	4,56, q (6,6)	91,6	14, 15	4,51	90,3
12	-	45,2	-	-	44,5
13	1,44, d (6,6)	14,2	11, 12	1,41	12,6
14	1,27, s	20,6	3, 11, 12, 15	1,25	19,1
15	1,46, s	25,9	3, 11, 12, 14	1,44	24,5
7-OCH <sub>3</sub>	4,02, s	56,6	7	3,89, s	54,1

**FIGURA 30** - ESPECTRO DE RMN DE  $^1\text{H}$  DE **SH4** (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



**FIGURA 31** - EXPANSÃO DO ESPECTRO DE RMN DE  $^1\text{H}$  DE SH4 DOS SINAIS EM  $\delta_{\text{H}}$  7,53; 7,51 E 4,56 (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



**FIGURA 32** - EXPANSÃO DO ESPECTRO DE RMN DE  $^1\text{H}$  DE SH4 DA REGIÃO ENTRE  $\delta_{\text{H}}$  1,6 A 1,15 (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

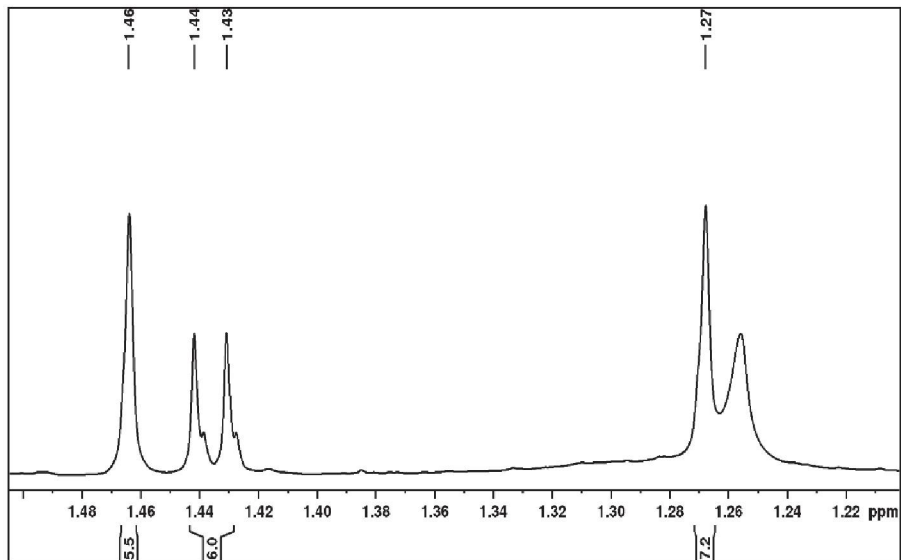
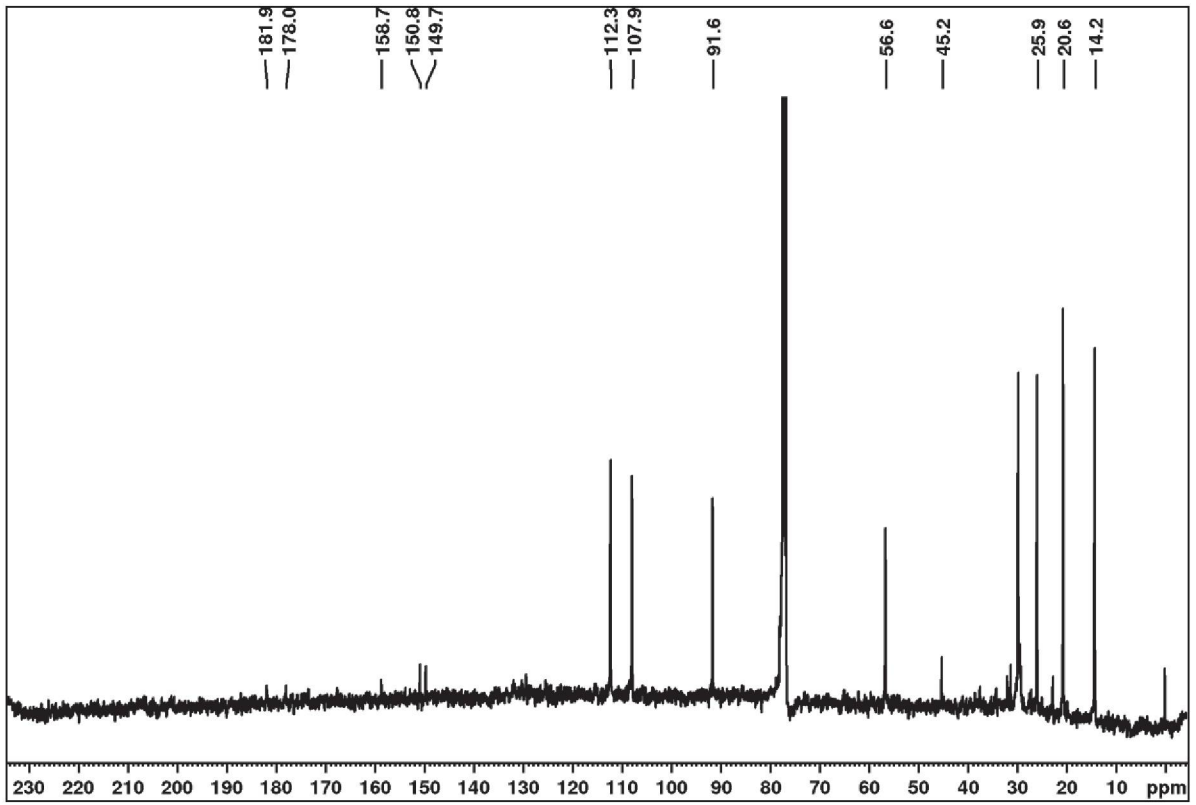
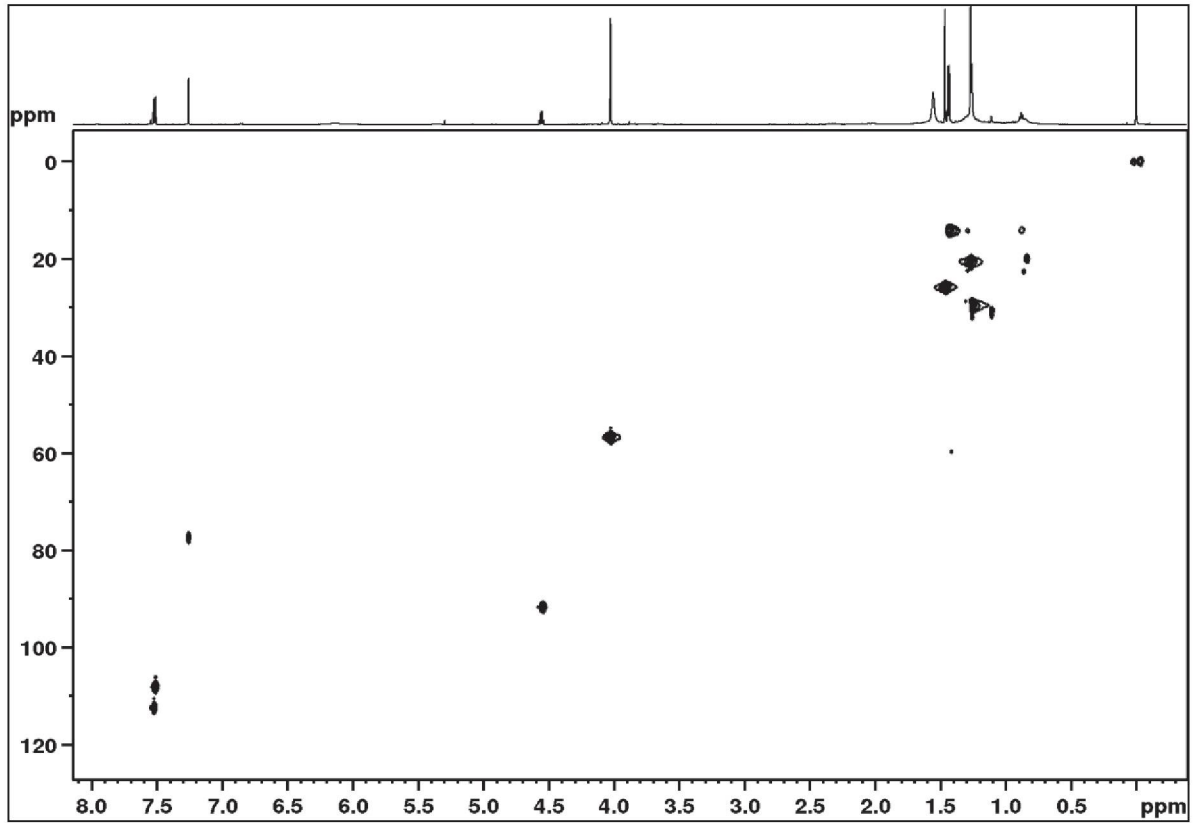
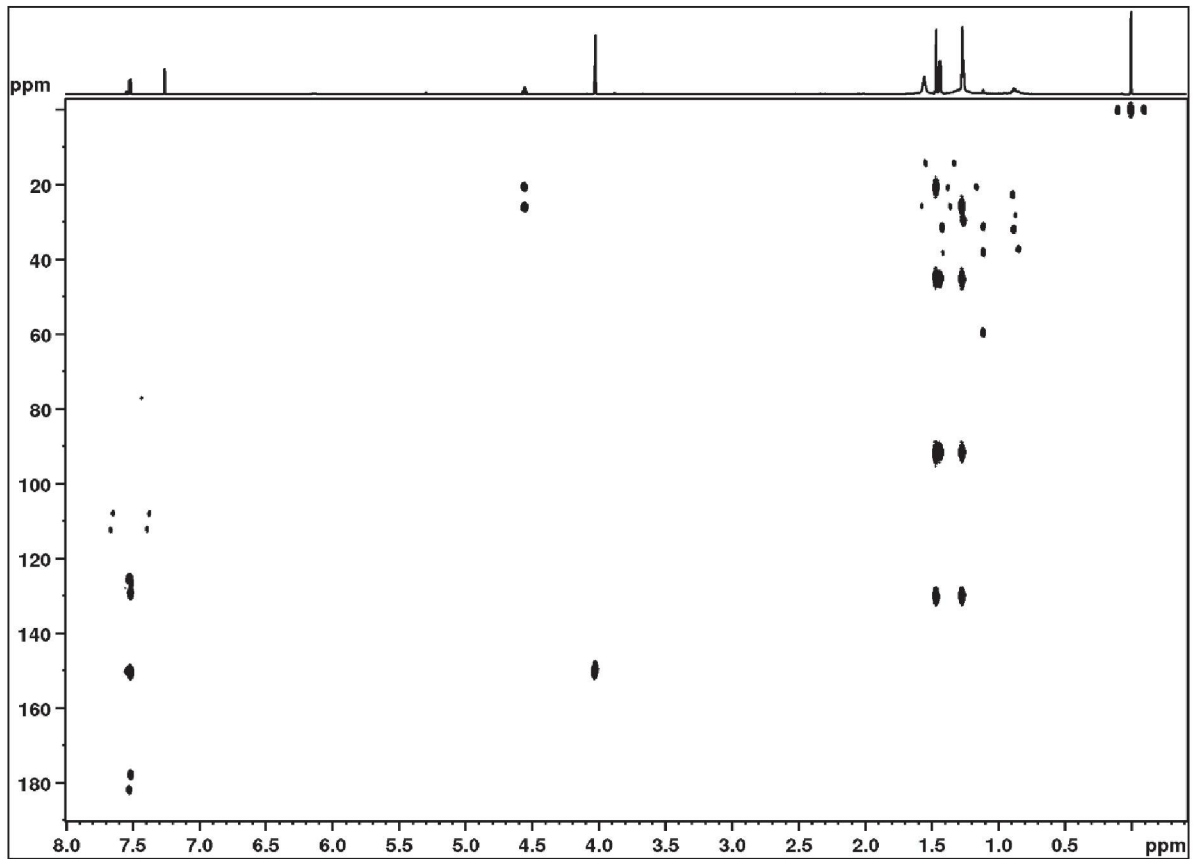




FIGURA 33 - ESPECTRO DE RMN DE  $^{13}\text{C}$   $\{^1\text{H}\}$  DE SH4 (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

**FIGURA 34 - MAPA DE CORRELAÇÃO  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  A UMA LIGAÇÃO DE SH4 (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).****FIGURA 35 - MAPA DE CORRELAÇÃO  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  A LONGA DISTÂNCIA DE SH4 (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).**

## 5.1.2 DIIDROCHALCONAS

### 5.1.2.1 IDENTIFICAÇÃO DE SH5

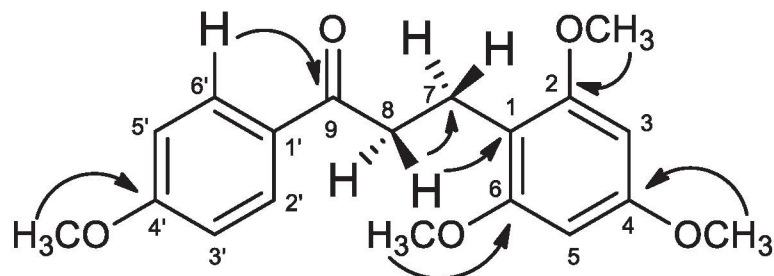
O espectro de absorção na região do ultravioleta e visível (UV-Vis) mostrou uma banda intensa em 264 nm, característica de cromóforos insaturados ou aromáticos (FIGURA 37; p. 85).

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (FIGURAS 38-40; p. 85-86) de **SH5** apresentou dois sinais como dupletos em  $\delta_{\text{H}}$  7,97 ( $J = 9,0$  Hz; H-2'/H-6') e 6,91 ( $J = 9,0$  Hz; H-3'/H-5'), integrando para dois hidrogênios cada, típicos de substituição *para* no anel aromático, além de um simpleto, integrando para dois hidrogênios, em 6,13 (H-3'/H-5'), indicativo de um segundo anel aromático. Foi observado na região de hidrogênios alifáticos dois duplo dupletos em  $\delta_{\text{H}}$  2,98 ( $J = 10,5$  e 1,2 Hz; H-7) e 3,03 ( $J = 10,5$  e 1,2 Hz; H-8), integrando para dois hidrogênios cada, indicando dois grupos metileno. Ainda no espectro de RMN de  $^1\text{H}$ , observou-se três simpletos em  $\delta_{\text{H}}$  3,86; 3,81 e 3,78 integrando respectivamente para três, três e seis hidrogênios, que foram atribuídos a quatro grupos metoxilas.

No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (FIGURA 41; p. 87) foram observados sete sinais em  $\delta_{\text{C}}$  130,5; 113,6; 90,6; 55,7; 55,4; 38,5 e 18,6 que corroboraram com os dados obtidos através do HSQC e HMBC (TABELA 21, p. 84). O HMBC mostrou que os hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  7,97 (H-2'/H-6') tinham correlação com os carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  130,5, 163,2 e 199,3, sendo o deslocamento químico deste último típico de um grupo carbonila de cetona. Como o grupo metoxila em  $\delta_{\text{H}}$  3,86 está ligado ao carbono em  $\delta_{\text{C}}$  163,2, pode-se afirmar que o anel aromático ligado ao grupo carbonila tem uma metoxila na posição *para*. As outras três metoxilas devem estar no outro anel aromático, que deve ser simetricamente substituído, pois apresenta um único sinal integrando para dois hidrogênios. Duas situações são possíveis: as metoxilas podem estar nas posições 3, 4 e 5, ou nas posições 2, 4 e 6. O HMBC mostra que as duas metoxilas equivalentes estão ligadas ao carbono em  $\delta_{\text{C}}$  158,8, que por sua vez tem correlação com o grupo metileno em  $\delta_{\text{H}}$  2,98. Portanto o segundo anel aromático deve ser 1,2,4,6-tetra-substituído. Considerando as demais correlações observadas, **SH5** foi identificada como sendo 2,4,4',6-tetrametoxidiidrochalcona. Esta substância foi obtida por síntese há muito tempo atrás (CHATTERJEA; PRASAD, 1973), mas

seus dados de RMN não foram publicados. Este é o primeiro relato do seu isolamento a partir de fontes naturais.

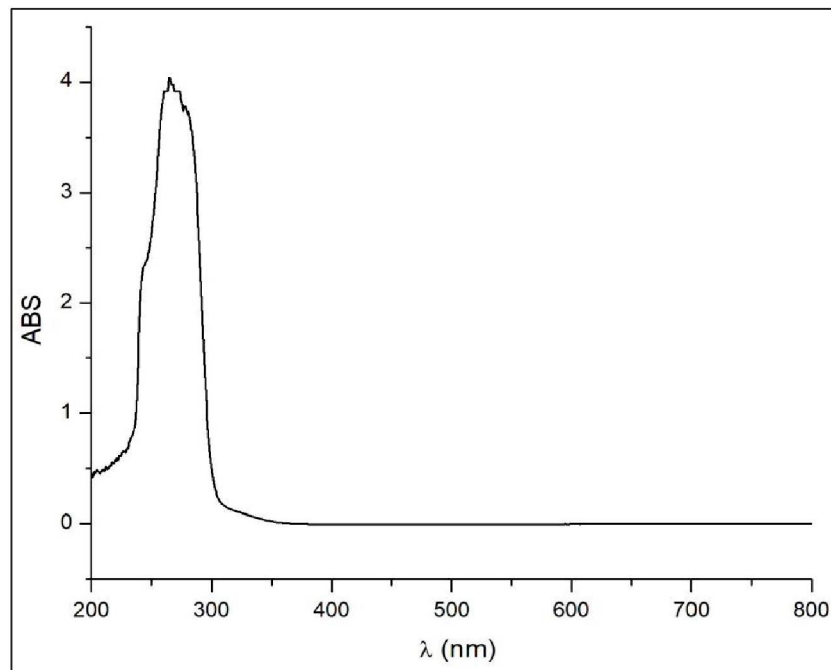
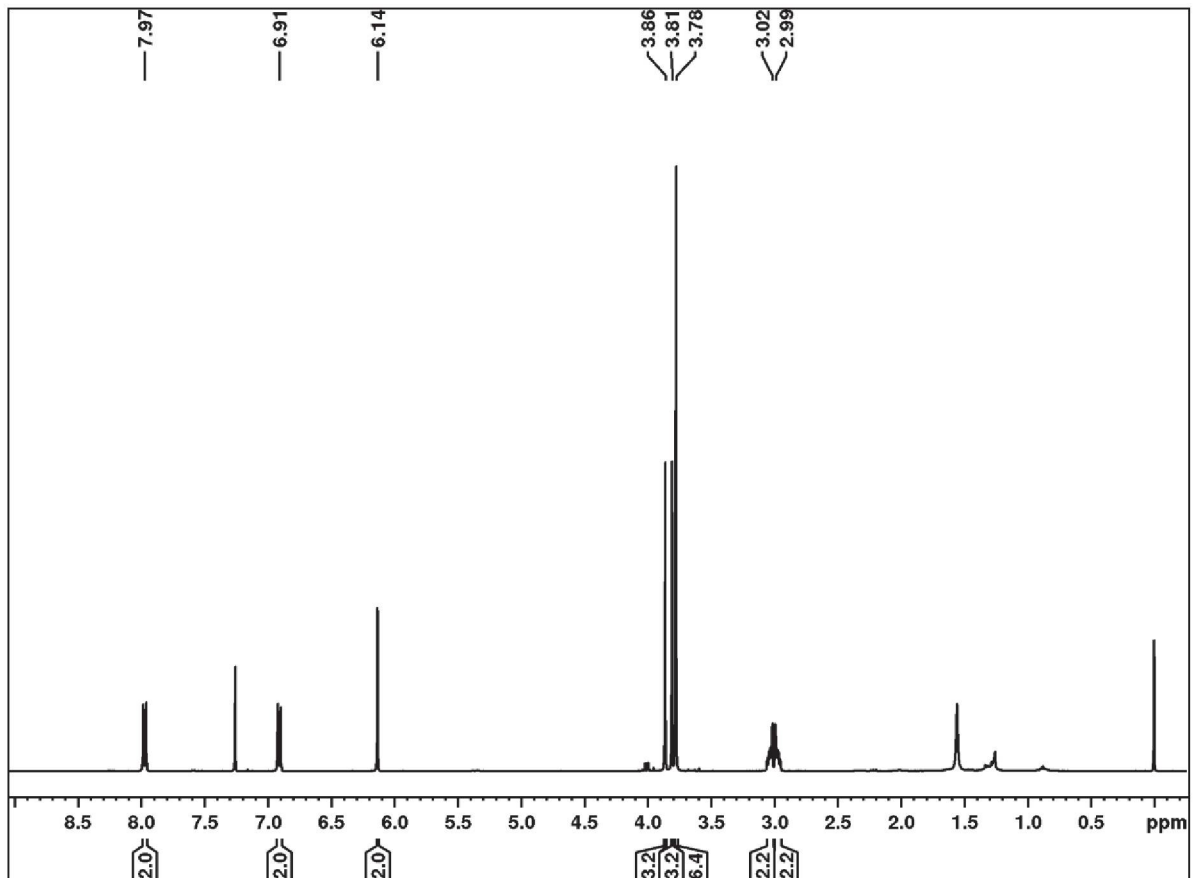
**FIGURA 36** - ESTRUTURA E PRINCIPAIS CORRELAÇÕES NO HMBC DA SUBSTÂNCIA **SH5**.



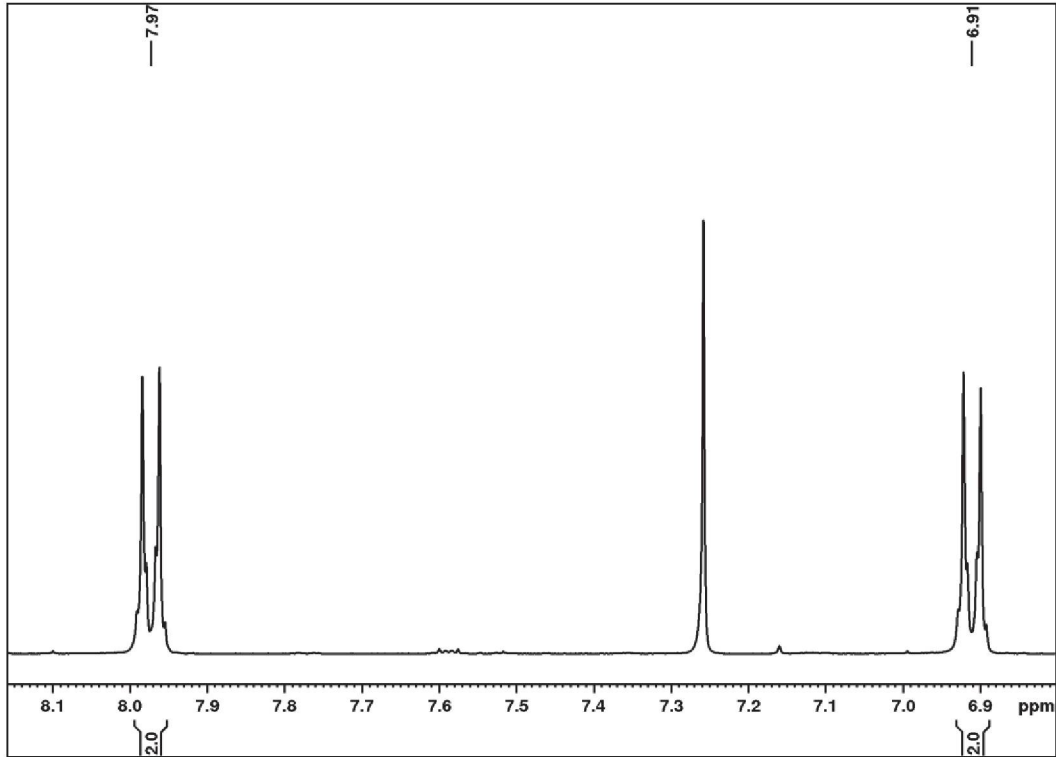
**TABELA 21** - DADOS DE RMN DE **SH5** (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)

Posição	SH5		
	$\delta_H$ , mult. (J em Hz)	$\delta_C$	$^L D J_{H,C}$
1	-	110,1	-
2	-	158,8	-
3	6,13, s	90,6	1, 3, 4
4	-	159,6	-
5	6,13, s	90,6	1, 3, 4
6	-	158,8	-
7	2,99, m	18,5	1, 2, 6, 8
8	3,02, m	38,5	1, 7, 9
9	-	199,4	-
1'	-	130,4	-
2' e 6'	7,97, d (9,0)	130,4	2'/6', 4', 9
3' e 5'	6,91, d (9,0)	113,5	3'/5', 2'/6', 4'
4'	-	163,2	-
4' - OCH <sub>3</sub>	3,86, s	55,4	4'
2 e 6 - OCH <sub>3</sub>	3,78, s	55,6	2 e 6
4 - OCH <sub>3</sub>	3,81 s	55,3	4

FIGURA 37 - ESPECTRO NO UV-VIS DE SH5

FIGURA 38 - ESPECTROS DE RMN DE  $^1\text{H}$  DE SH5 (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

**FIGURA 39** - EXPANSÃO DO ESPECTRO DE RMN DE  $^1\text{H}$  DE **SH5** ENTRE  $\delta_{\text{H}}$  8,2 A 6,8 (400 MHZ,  $\text{CDCl}_3$ ).



**FIGURA 40** - EXPANSÃO DO ESPECTRO DE RMN DE  $^1\text{H}$  DE **SH5** DE  $\delta_{\text{H}}$  3,01 E 2,99 (400 MHZ,  $\text{CDCl}_3$ ).

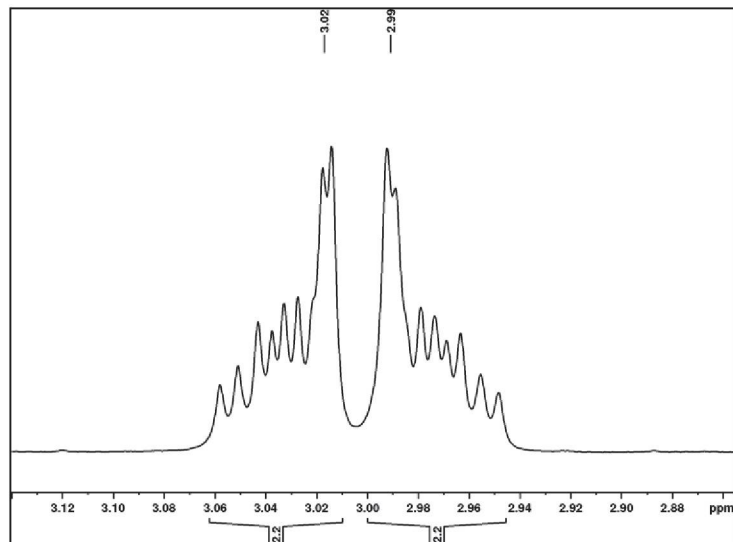


FIGURA 41 - ESPECTRO DE RMN DE  $^{13}\text{C}$   $\{^1\text{H}\}$  DE SH5 (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

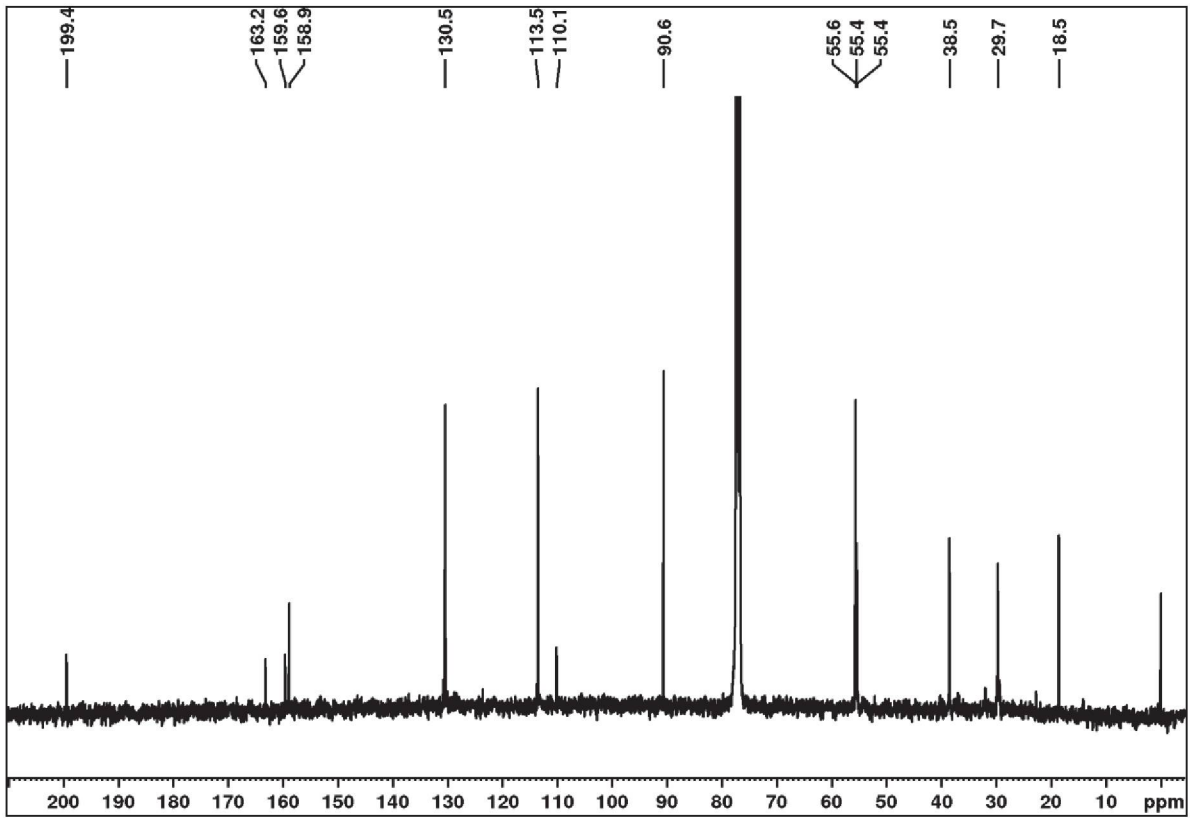


FIGURA 42 - MAPA DE CORRELAÇÃO DIRETA  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  DA SUBSTÂNCIA SH5

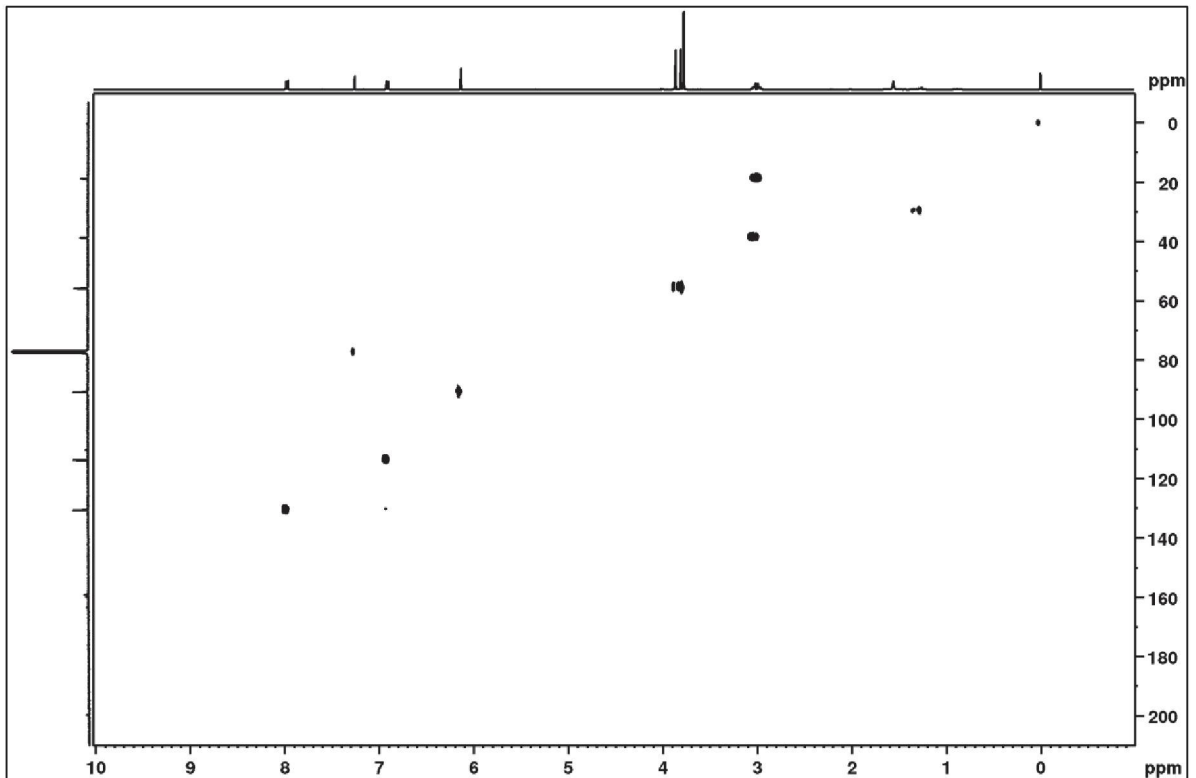
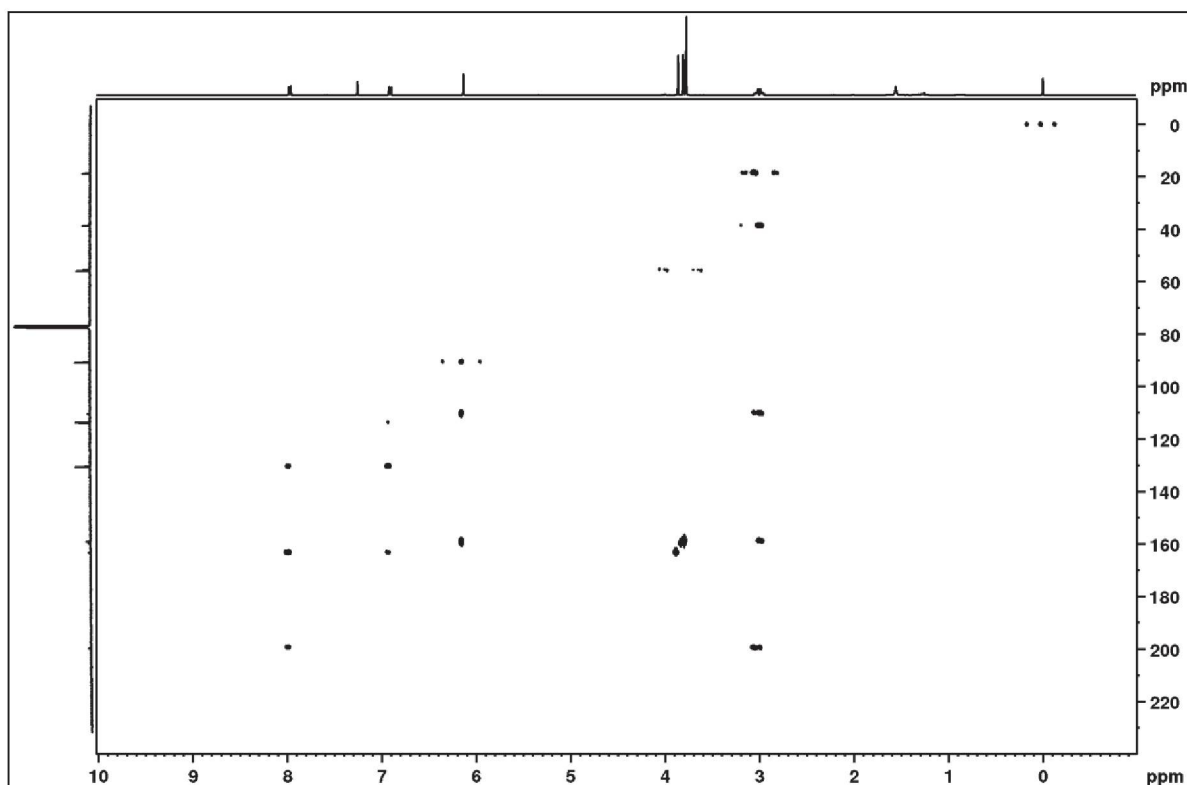


FIGURA 43 - MAPA DE CORRELAÇÃO A LONGA DISTÂNCIA  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  DA SUBSTÂNCIA SH5



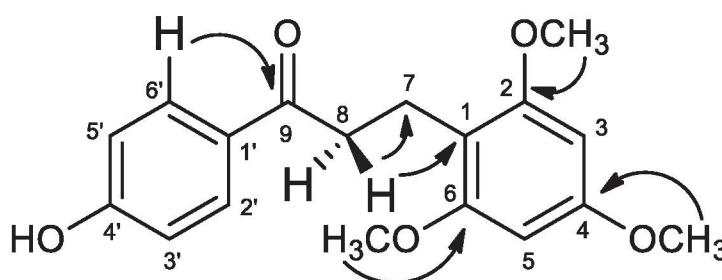
### 5.1.2.2 IDENTIFICAÇÃO DE SH6

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (FIGURA 45-47; p. 90- 91) foram observados dois dupletos em  $\delta_{\text{H}}$  7,93 ( $J = 8,3$ ; H-2'/H-6') e 6,84 ( $J = 8,3$ ; H-3'/H-5'), integrando para dois hidrogênios cada, típicos de substituição *para* no anel aromático, além de um simpleto, integrando para dois hidrogênios, em 6,13 (H-3'/H-5'), indicativo de um segundo anel aromático. Foi observado na região de hidrogênios alifáticos dois multipletos em  $\delta_{\text{H}}$  2,97 e 3,02, integrando para dois hidrogênios cada, indicando dois grupos metileno. Ainda no espectro de RMN de  $^1\text{H}$ , observou-se dois simpletos em  $\delta_{\text{H}}$  3,81 e 3,77 com integração para três hidrogênio cada, atribuído para dois grupos metoxilas. Com os experimentos HSQC e HMBC (FIGURAS 48-49; p. 91-92; TABELA 22; p. 89) foi possível observar que o grupo metoxila em  $\delta_{\text{H}}$  3,80 estava ligado ao carbono em  $\delta_{\text{C}}$  159,7, o qual mostrava correlação com o simpleto em  $\delta_{\text{H}}$  6,13. Por outro lado, as duas metoxilas equivalentes em  $\delta_{\text{C}}$  3,77 estavam ligadas ao carbono em  $\delta_{\text{C}}$  158,9, que tinha correlação com o grupo metileno em  $\delta_{\text{C}}$  3,0. Portanto, **SH6**, possui o grupo 2,4,6-trimetoxifenila como **SH5**. O segundo anel



aromático foi definido pelos dupletos em  $\delta_H$  7,93 e 6,85, sendo que o primeiro mostrou correlações com os carbonos em  $\delta_C$  199,4 e 159,6. Este último deve ser um carbono ligado a um grupo hidroxila. Portanto, **SH6** difere de **SH5** pela presença de um grupo hidroxila em C-4' ao invés de um grupo metoxila. Essa substância, 4'-hidroxi-2,4,6-trimetoxidiidrochalcona (FIGURA 44), é conhecida como loureirin B (MEKSURIYEN; CORDELL, 1988).

**FIGURA 44** - ESTRUTURA E PRINCIPAIS CORRELAÇÕES NO HMBC DA SUBSTÂNCIA **SH6**



**TABELA 22** - DADOS DE RMN DE **SH6** (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz), EM COMPARAÇÃO COM OS DADOS DA LITERATURA DE LOUREIRIN B (CDCl<sub>3</sub>, 360 e 80,8 MHz) (MEKSURIYEN; CORDELL, 1988).

Posição	SH6			LOUREIRIN B	
	$\delta_H$ , mult. (J em Hz)	$\delta_C$	<sup>LD</sup> J <sub>H,C</sub>	$\delta_H$ , mult. (J em Hz)	$\delta_C$
1	-	110,1	-	-	109,5
2	-	158,7	-	-	159,5
3	6,13, s	90,6	3, 4, 6	6,11, s	90,4
4	-	159,7	-	-	158,6
5	6,13, s	90,6	3, 4, 6	6,11, s	90,4
6	-	158,9	-	-	159,5
7	2,97, m	18,6	1, 8, 9, 6	2,99, m	18,9
8	3,02, m	38,6	1, 7, 9	3,07, m	38,5
9	-	199,4	-	-	201,5
1'	-	130,5	-	-	129,1
2' e 6'	7,93, d (8,3)	130,8	4', 5', 9	7,93, d (8,7)	130,0
3' e 5'	6,84, d (8,3)	115,2	2', 3', 6'	6,93, d (8,7)	115,4
4'	-	159,6	-	-	161,3
2 e 6 - OCH <sub>3</sub>	3,77, s	55,6	2 e 6	3,77, s	55,5
4 - OCH <sub>3</sub>	3,81, s	55,4	4	3,78, s	55,3

FIGURA 45 - ESPECTRO DE RMN DE  $^1\text{H}$  DE SH6 (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

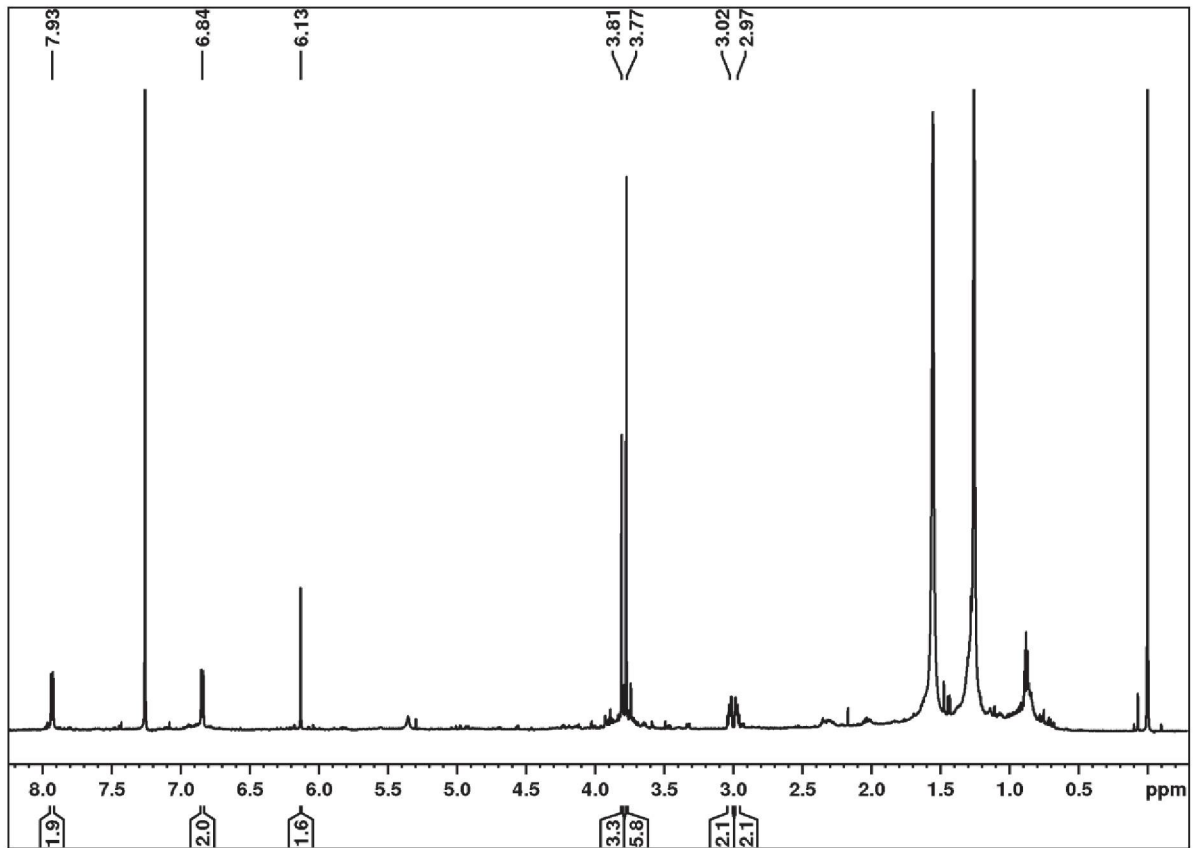


FIGURA 46 - EXPANSÃO DO ESPECTRO DE RMN DE  $^1\text{H}$  DE SH6 DE  $\delta_{\text{H}}$  8,2 E 6,0 (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

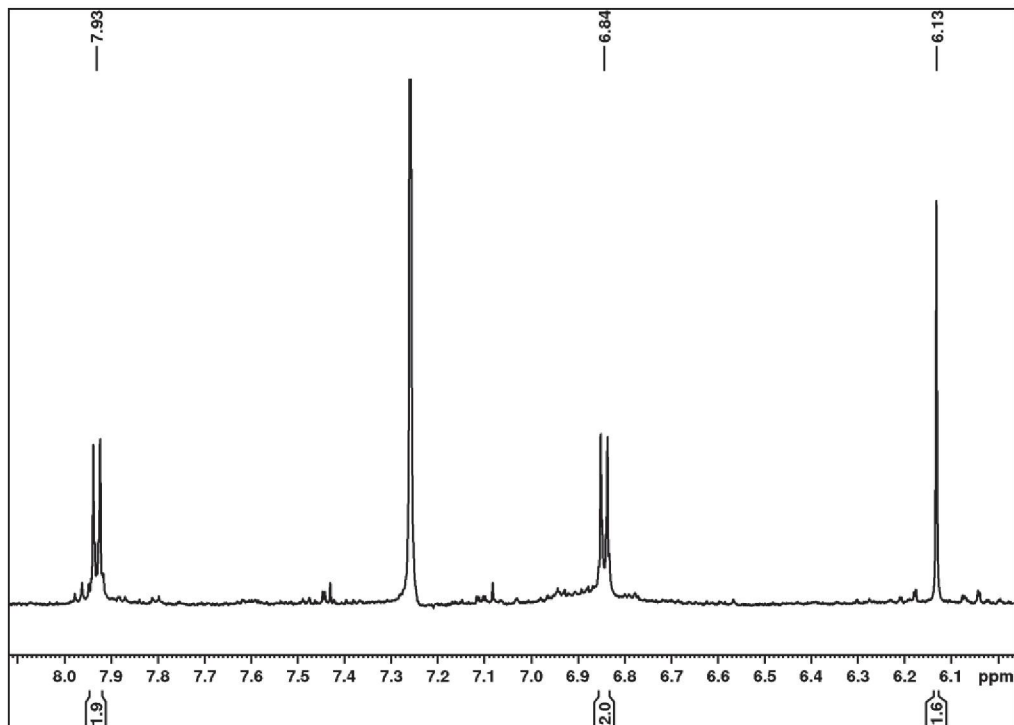


FIGURA 47 - EXPANSÃO DO ESPECTRO DE RMN DE  $^1\text{H}$  DE SH6 DE  $\delta_{\text{H}}$  3,1 E 2,90 (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

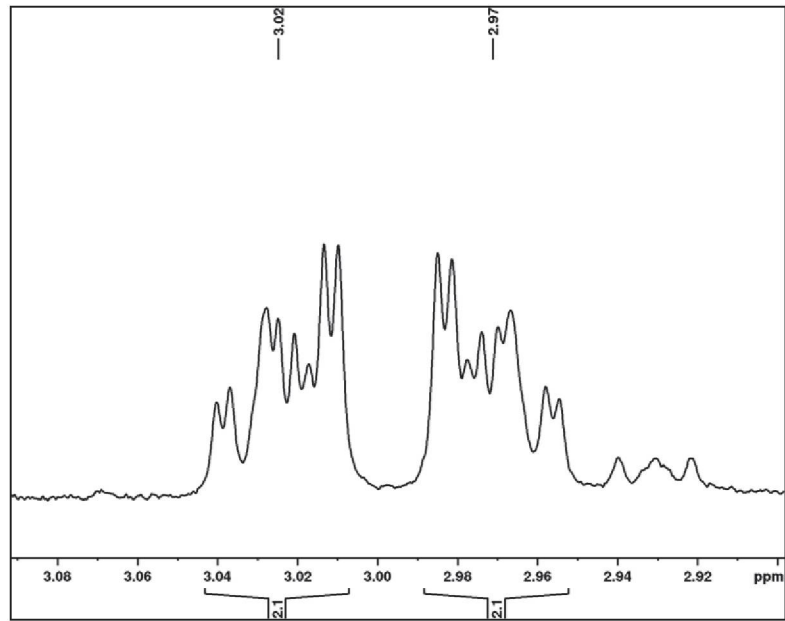


FIGURA 48 - MAPA DE CORRELAÇÃO DIRETA  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  DA SUBSTÂNCIA SH6

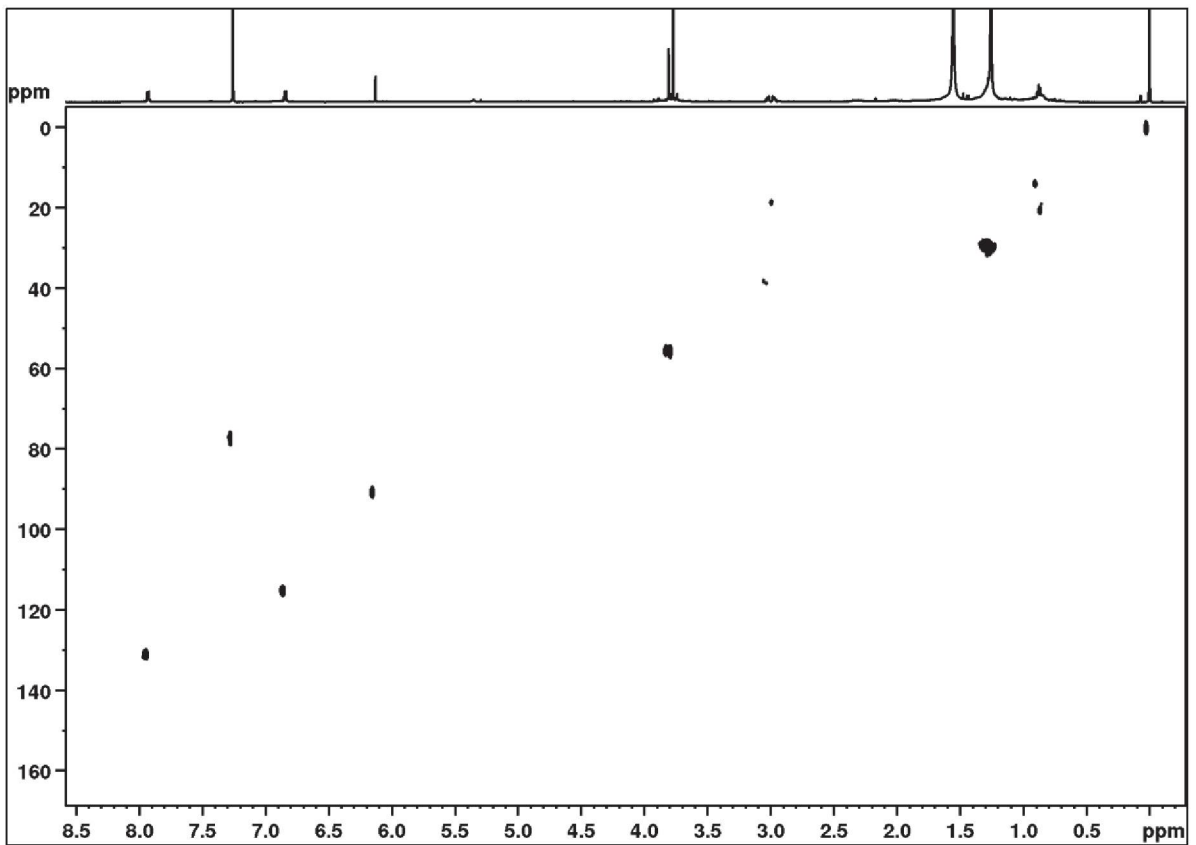
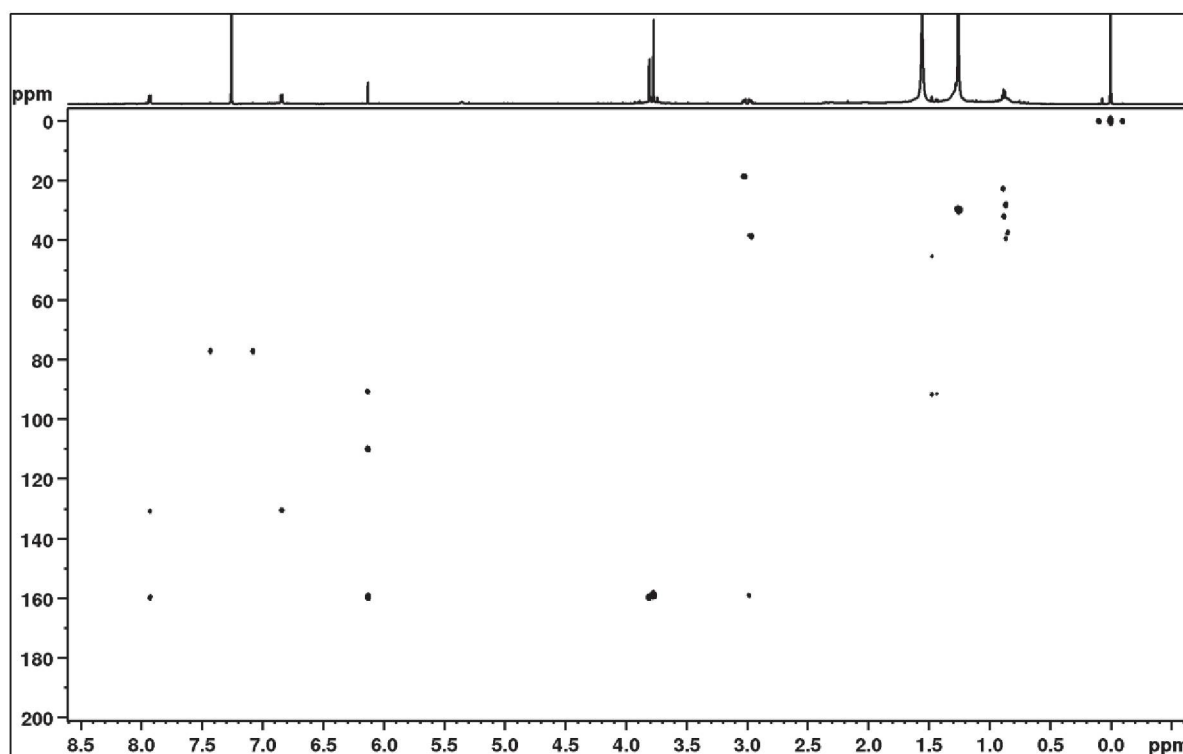


FIGURA 49 - MAPA DE CORRELAÇÃO A LONGA DISTÂNCIA  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  DA SUBSTÂNCIA SH6



### 5.1.2.3 IDENTIFICAÇÃO DE SH7

A substância **SH7** foi identificada em mistura. A presença de uma mistura foi evidenciada no espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (FIGURA 51-52; p. 94), que mostrou quatro simpletos entre  $\delta_{\text{H}}$  3,74 e 3,80, com intensidades relativas aproximadas de 1:6:1:3. Considerando os sinais mais intensos, o simpleto em  $\delta_{\text{H}}$  6,13 (H-3 / H-5) foi associado à substância majoritária (**SH6**).

Para a substância **SH7** foram considerados os sinais minoritários no espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da mistura (FIGURA 51-52; p. 94). Observam-se dois dupletos em  $\delta_{\text{H}}$  7,93 ( $J = 8,3$ ; H-2' / H-6') e 6,85 ( $J = 8,3$ ; H-3' / H-5'), integrando para dois hidrogênios cada, típicos de substituição *para* no anel aromático como em **SH5** e **SH6**. A substância **SH7** difere das demais diidrochalconas pela presença de dois dupletos em  $\delta_{\text{H}}$  6,17 ( $J = 2,3$  Hz; H-3) e 6,04 ( $J = 2,3$  Hz; H-5), que podem ser atribuídos a dois hidrogênios aromáticos em orientação meta. A ausência de equivalência entre esses hidrogênios mostra que o anel não é simetricamente substituído. Também foi observado um simpleto de um grupo hidroxila em  $\delta_{\text{H}}$  8,86. As correlações desses sinais menos intensos nos mapas de correlação HSQC e HMBC (FIGURAS 53-54;

p. 95; TABELA 23; p. 93) indicam que o constituinte minoritário (**SH7**) difere de **SH5** por ter uma hidroxila em C-2 ou C-6, em lugar de uma metoxila. Portanto **SH7** foi identificado como 4',2-dihidroxi-4,6-dimetoxidiidrochalcona (FIGURA 50; p. 94), isolada pela primeira vez do caule de *Dracaena loureiri* (ICHIKAWA, et al, 1997).

FIGURA 50 - ESTRUTURA DA SUBSTÂNCIA **SH7** COM AS PRINCIPAIS CORRELAÇÕES HMBC

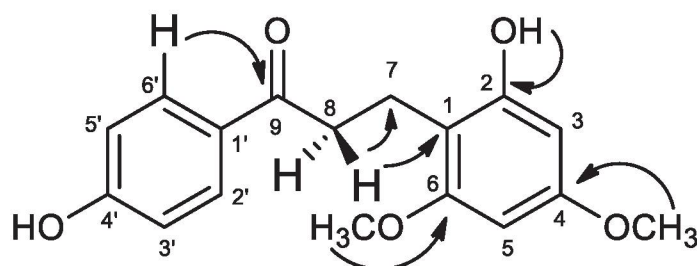
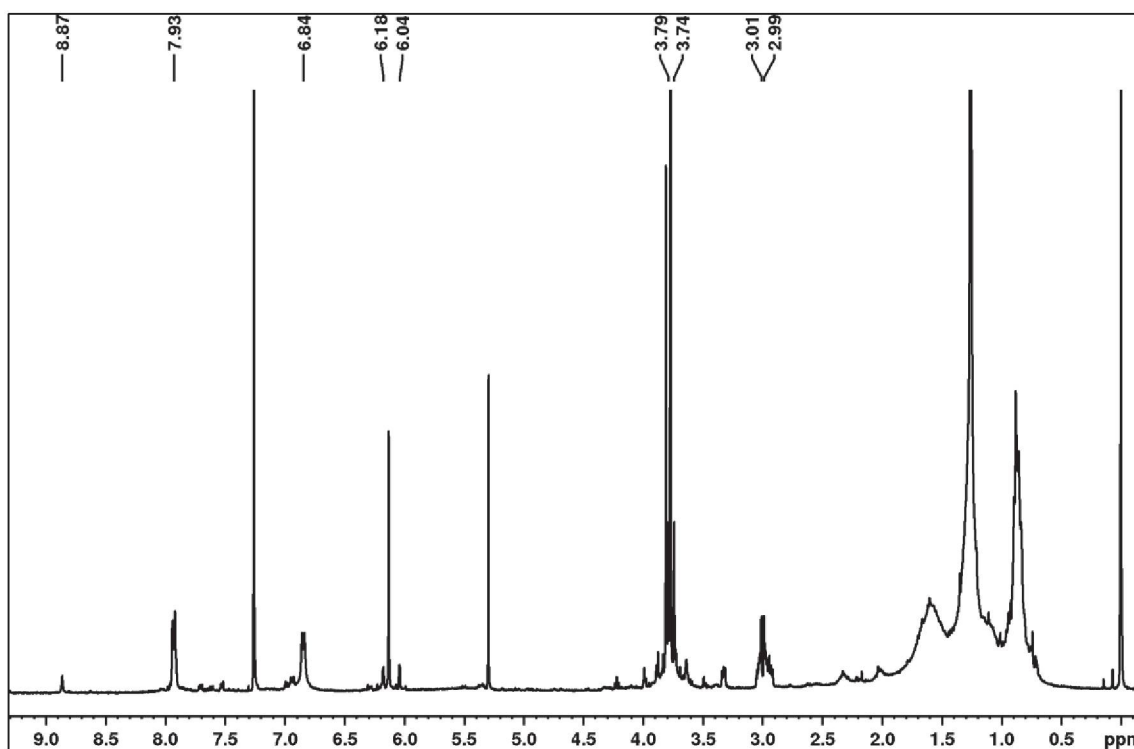
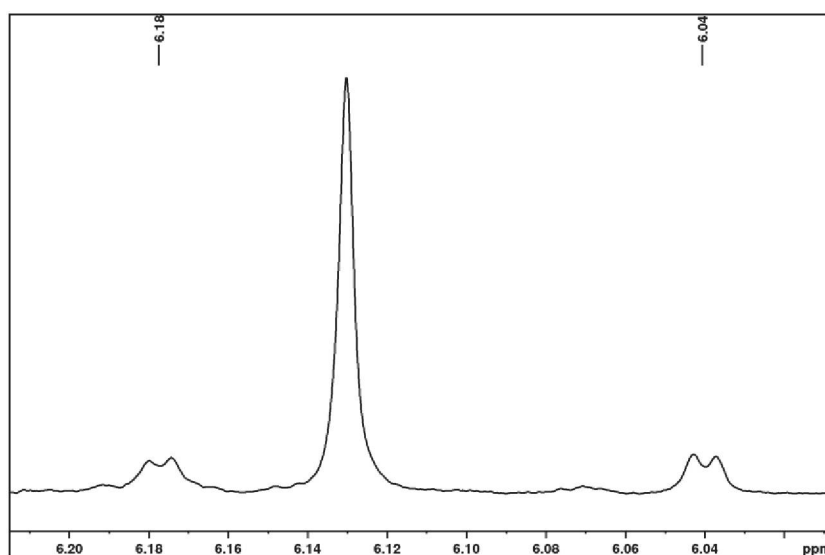
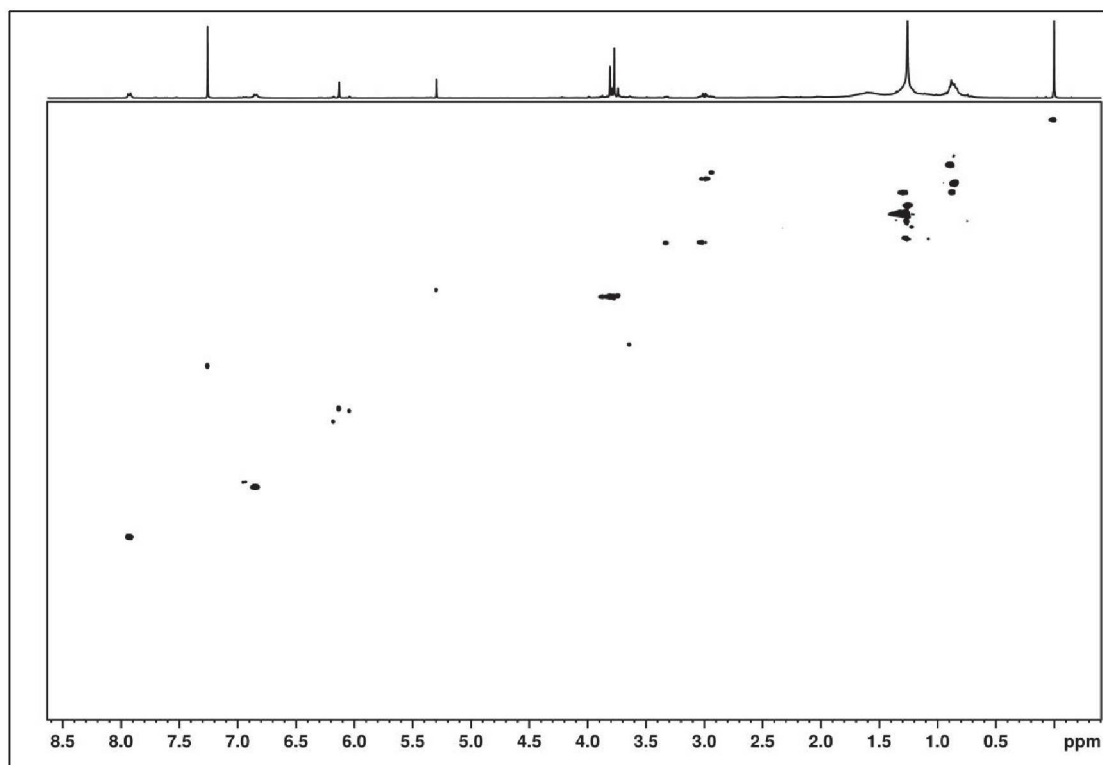


TABELA 23 - DADOS DE RMN DE **SH7** (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz), EM COMPARAÇÃO COM OS DADOS DA LITERATURA DA 4',2-DIHIIDROXI-4,6-DIMETOXIDIIDROCHALCONA (Acetona-*d*<sub>6</sub>, 270 e 67,8 MHz) (ICHIKAWA et al., 1997).

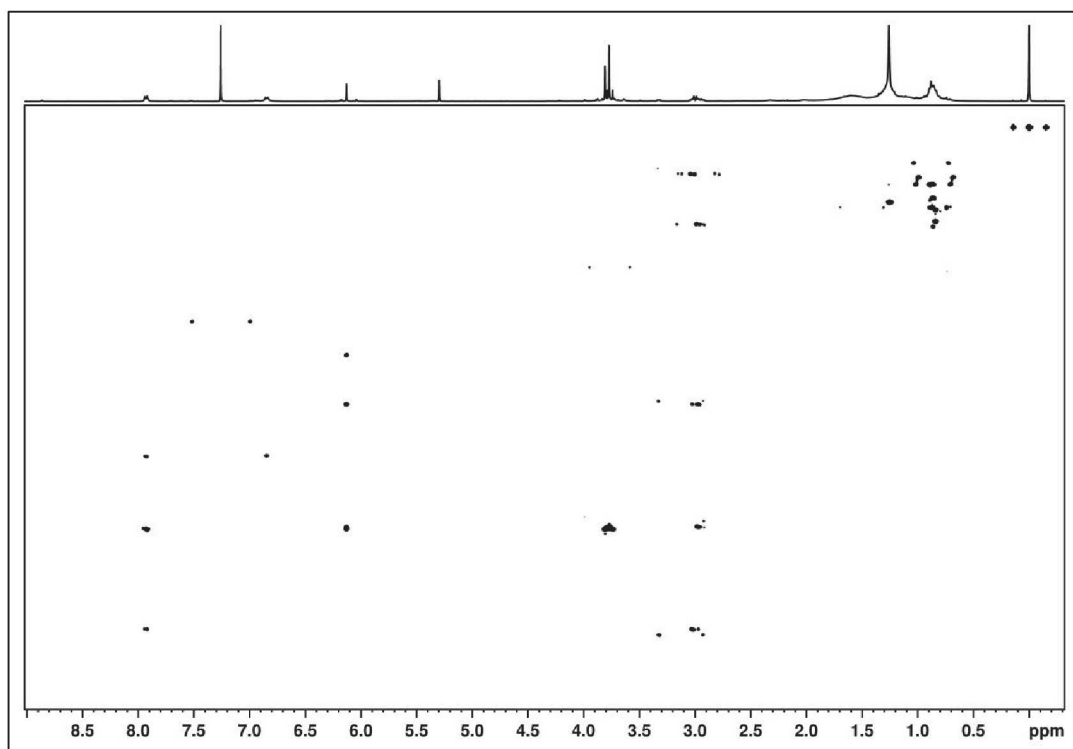
Posição	SH7			4',2-dihidroxi-4,6-dimetoxidiidrochalcona	
	$\delta_H$ , mult. (J em Hz)	$\delta_C$	$^L D J_{H,C}$	$\delta_H$ , mult. (J em Hz)	$\delta_C$
1	-	108,7	-	-	109,2
2	-	156,5	-	-	157,3
3	6,17, <i>d</i> (1,9)	94,8	3, 4, 6	6,10, <i>s</i>	95,1
4	-	159,8	-	-	157,3
5	6,04, <i>d</i> (1,9)	91,3	3, 4, 6	6,10, <i>s</i>	91,3
6	-	159,1	-	-	157,3
7	2,90, <i>m</i>	16,5	1, 8, 9, 6	2,90, <i>t</i> (7,0)	18,5
8	3,32, <i>m</i>	38,7	1, 7, 9	3,15, <i>t</i> (7,0)	39,0
9	-	201,8	-	-	200,4
1'	-	130,6	-	-	129,9
2 e 6	7,93, <i>d</i> (8,3)	130,9	4', 5', 9	7,95, <i>d</i> (9,0)	95,1
3' e 5'	6,85, <i>d</i> (8,3)	115,2	2', 3', 6'	6,92, <i>d</i> (9,0)	116,0
4'	-	159,6	-	-	162,9
2 - OH	8,86, <i>s</i>	-	2, 3	8,75, <i>s</i>	-
6 - OCH <sub>3</sub>	3,74, <i>s</i>	55,3	4	3,72, <i>s</i>	55,4
4 - OCH <sub>3</sub>	3,79, <i>s</i>	55,5	6	3,79, <i>s</i>	55,9

**FIGURA 51** - ESPECTRO DE RMN DE  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) DA SUBSTÂNCIA **SH7 + SH6****FIGURA 52** - EXPANSÃO DO ESPECTRO DE RMN DE  $^1\text{H}$  DE **SH7 + SH6** entre  $\delta_{\text{H}}$  6,3 E 6,0 (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

**FIGURA 53** - MAPA DE CORRELAÇÃO DIRETA  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  DA SUBSTÂNCIA SH7 + SH6 (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



**FIGURA 54** - MAPA DE CORRELAÇÃO A LONGA DISTÂNCIA  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  DA SUBSTÂNCIA SH7 + SH6 (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



### 5.1.3 GLICOSÍDEOS FENÓLICOS

As substâncias **SH8** e **SH9** foram isoladas como sólidos avermelhados. Ambas são conhecidas, e já foram encontradas em outras espécies de *Sinningia*.

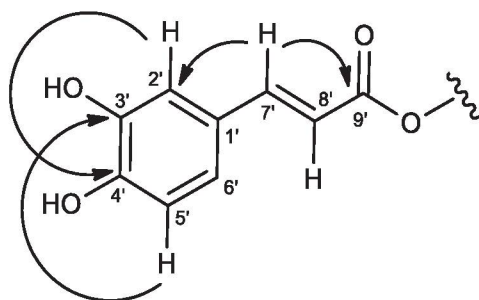
#### 5.1.3.1 IDENTIFICAÇÃO DE SH8

A substância **SH8** apresentou no seu espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (FIGURA 59-60; p. 100) sinais de seis hidrogênios aromáticos, sendo quatro dupletos em  $\delta_{\text{H}}$  7,04 e 6,69 ( $J = 2,0$  Hz), 6,78 ( $J = 8,0$  Hz), e 6,65 ( $J = 7,9$  Hz), e dois duplos dupletos em  $\delta_{\text{H}}$  6,88 ( $J = 8,0$  e  $2,0$  Hz) e 6,54 ( $dd$ ,  $J = 7,9$  e  $2,0$ ) (FIGURA 60; p.100). Portanto há dois anéis aromáticos 1,3,4-trissubstituídos. Os sinais de dois hidrogênios olefínicos em  $\delta_{\text{H}}$  7,56 e 6,28 ( $d$ ,  $J = 15,8$  Hz) (FIGURA 60; p.100), indicaram uma ligação dupla com a configuração *E*. Também foi observado um multipletto em  $\delta_{\text{H}}$  2,80, e diversos multipletos entre  $\delta_{\text{H}}$  3,23 - 4,51, característicos de hidrogênios oximetínicos e oximetilênicos, sugerindo um glicosídeo. A estrutura de **SH8** foi proposta após análise dos espectros de RMN bidimensionais (HSQC e HMBC) (FIGURA 61-62; p. 101). As correlações mais importantes serão apresentadas a seguir, enquanto as demais estão na TABELA 24 (p. 99).

O mapa de correlação a longa distância  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  (HMBC) (FIGURA 62; p. 101) mostrou que um dos hidrogênios da ligação dupla ( $\delta_{\text{H}}$  7,56, H-7') tinha correlações com um grupo carbonila em  $\delta_{\text{C}}$  169,0 (C-9), e um dos carbonos do anel aromático ( $\delta_{\text{C}}$  115,1, C-2'). Por sua vez, H-2' ( $\delta_{\text{H}}$  7,04) tinha correlação com um carbono oxigenado em  $\delta_{\text{C}}$  149,5 (C-4'), enquanto que H-5' ( $\delta_{\text{H}}$  6,77) correlacionava com outro carbono oxigenado em  $\delta_{\text{C}}$  146,8 (C-3'). Desse modo ficou evidente a presença de um grupo cafeoila (FIGURA 55; p.97).

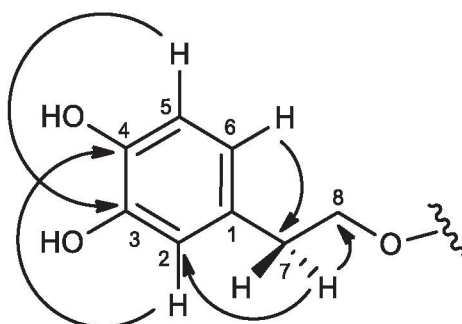


**FIGURA 55** - ESTRUTURA E PRINCIPAIS CORRELAÇÕES NO HMBC DO GRUPO CAFEOLA

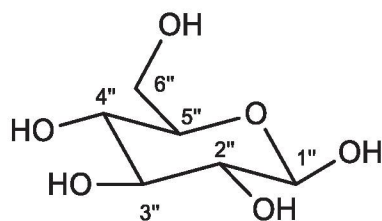


Também no HMBC (FIGURA 62; p. 100) foi observado que o multipeto em  $\delta_H$  2,80 (H-7) tinha correlações com um carbono oxigenado em  $\delta_C$  72,2 (C-8) e um carbono aromático em  $\delta_C$  116,7 (C-2). Além disso, H-5 ( $\delta_H$  6,65) correlacionava com um carbono oxigenado em  $\delta_C$  145,7 (C-3) e o H-2 correlacionava com outro carbono oxigenado em  $\delta_C$  144,5 (C-4). Já o H-6 correlacionava com o carbono em  $\delta_C$  36,6 (C-7). Analisando-se as demais correlações (TABELA 24; p. 97) foi deduzida a presença de um grupo 3,4-diidroxifeniletóxila (FIGURA 56).

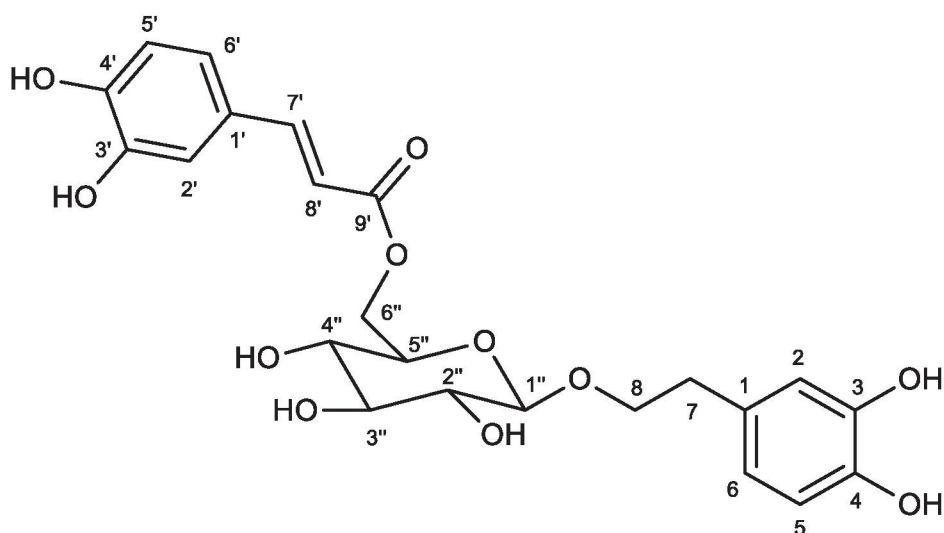
**FIGURA 56** - ESTRUTURA E PRINCIPAIS CORRELAÇÕES NO HMBC DO GRUPO 3,4-DIIDROXIFENILETOXILA



O mapa de correlação de ligação direta  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  (HSQC) (FIGURA 61; p. 94) mostrou que o hidrogênio em  $\delta_H$  4,33 (*d*,  $J = 7,8$  Hz, H-1'') estava ligado ao carbono em  $\delta_C$  104,5, que é característico do carbono anomérico da  $\beta$ -glucose (FIGURA 57; p. 96). Nenhum outro carbono anomérico foi observado, indicando uma única unidade açúcar.

**FIGURA 57 - ESTRUTURA DO AÇÚCAR  $\beta$ -GLUCOSE**

A posição do grupo 3,4-diidroxifeniletila na unidade de  $\beta$ -glucose foi determinada pela correlação no HMBC (FIGURA 62; p. 94) entre H-8 ( $\delta_H$  3,99 e 3,73, m) e o carbono anomérico (C-1'',  $\delta_C$  104,5). Por outro lado, a posição do grupo cafeoíla foi deduzida pelo deslocamento químico de H-6'' ( $\delta_H$  4,51 e 4,35), o qual está mais desprotegido do que o usual ( $\delta_H$  3,7 e 3,9), indicando esterificação da hidroxila em C-6''. Os dados obtidos coincidem com aqueles de calceolariosídeo B (FIGURA 58) (DAMTOFT; JENSEN, 1994).

**FIGURA 58 - ESTRUTURA DA SUBSTÂNCIA SH8**

**TABELA 24** - DADOS DE RMN DE **SH8** (MeOD, 400 MHz), EM COMPARAÇÃO COM OS DADOS DA LITERATURA DO CALCEOLARIOSÍDEO B (MeOD, 250 MHz) (DAMTOFT; JENSEN, 1994).

Posição	SH8			Calceolariosídeo B	
	$\delta_H$ , mult. (J em Hz)	$\delta_C$	${}^{LD}J_{H,C}$	$\delta_H$ , mult. (J em Hz)	$\delta_C$
1	-	131,3	-	-	131,3
2	6,69, <i>d</i> (2,0)	116,7	1,6	6,67, <i>d</i> (2,0)	117,1
3	-	145,7	-	-	146,0
4	-	144,5	-	-	144,5
5	6,65, <i>d</i> (7,9)	116,1	1,3	6,63, <i>d</i> (8,0)	116,4
6	6,54, <i>dd</i> (7,9; 2,0)	121,3	2,4,7	6,56, <i>dd</i> (8,0; 2,0)	121,2
7	2,80, <i>m</i>	36,3	1,2,6,8	2,79, <i>t</i> (7,5)	36,7
8	3,99 e 3,73, <i>m</i>	72,2	1''	3,96 e 3,70 <i>m</i>	72,2
1'	-	127,7	-	-	127,6
2'	7,04, <i>d</i> (2,0)	115,1	4',6'	7,04, <i>d</i> (2,0)	115,1
3'	-	146,8	-	-	147,2
4'	-	149,5	-	-	149,5
5'	6,78, <i>d</i> (8,0)	116,2	1',3'	6,77, <i>d</i> (8,5)	116,5
6'	6,88, <i>dd</i> (8,0; 2,0)	122,9	2',4'	6,89, <i>dd</i> (8,5; 2,0)	123,2
7'	7,56, <i>d</i> (15,8)	147,3	2', 6',9'	7,56, <i>d</i> (16,0)	146,6
8'	6,28, <i>d</i> (15,8)	114,7	N.O.	6,29, <i>d</i> (16,0)	114,8
9'	-	169,0	-	-	169,2
1''	4,33, <i>d</i> (7,8)	104,5	8	4,33, <i>d</i> (7,5)	104,4
2''	3,23, <i>m</i>	74,6	1''	3,22, <i>t</i> (8,5)	75,0
3''	3,40, <i>m</i>	77,5	4''	3,38	77,8
4''	3,38, <i>m</i>	71,8	N.O.	3,38	71,6
5''	3,52, <i>m</i>	75,1	N.O.	3,52, <i>m</i>	75,3
6''	4,51, <i>dd</i> (12,0; 2,1) e 4,33, <i>dd</i> (12,0; 5,8)	64,5	N.O.	4,50, <i>dd</i> (12,0; 2,0) e 4,33, <i>dd</i> (12,0; 5,5)	64,6

N.O. = não observado.

FIGURA 59- ESPECTRO DE RMN DE  $^1\text{H}$  DA SUBSTÂNCIA SH8 (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

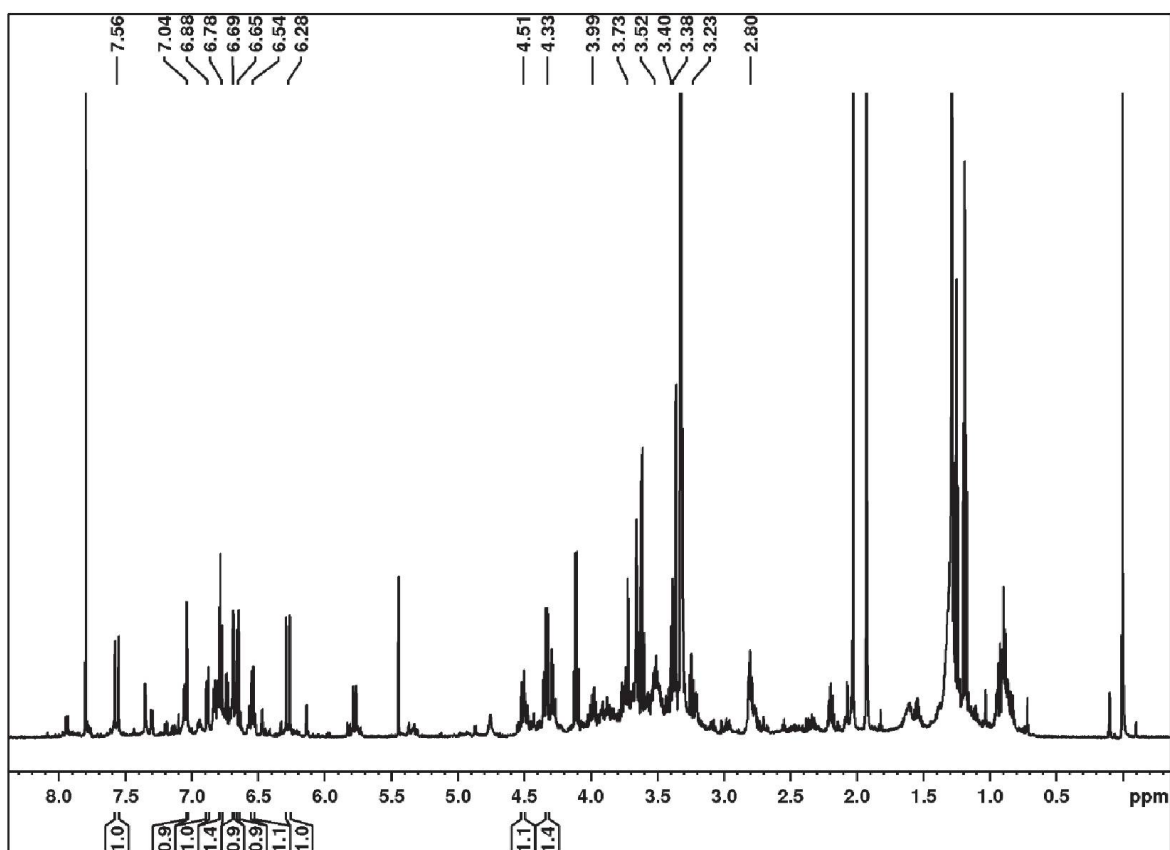
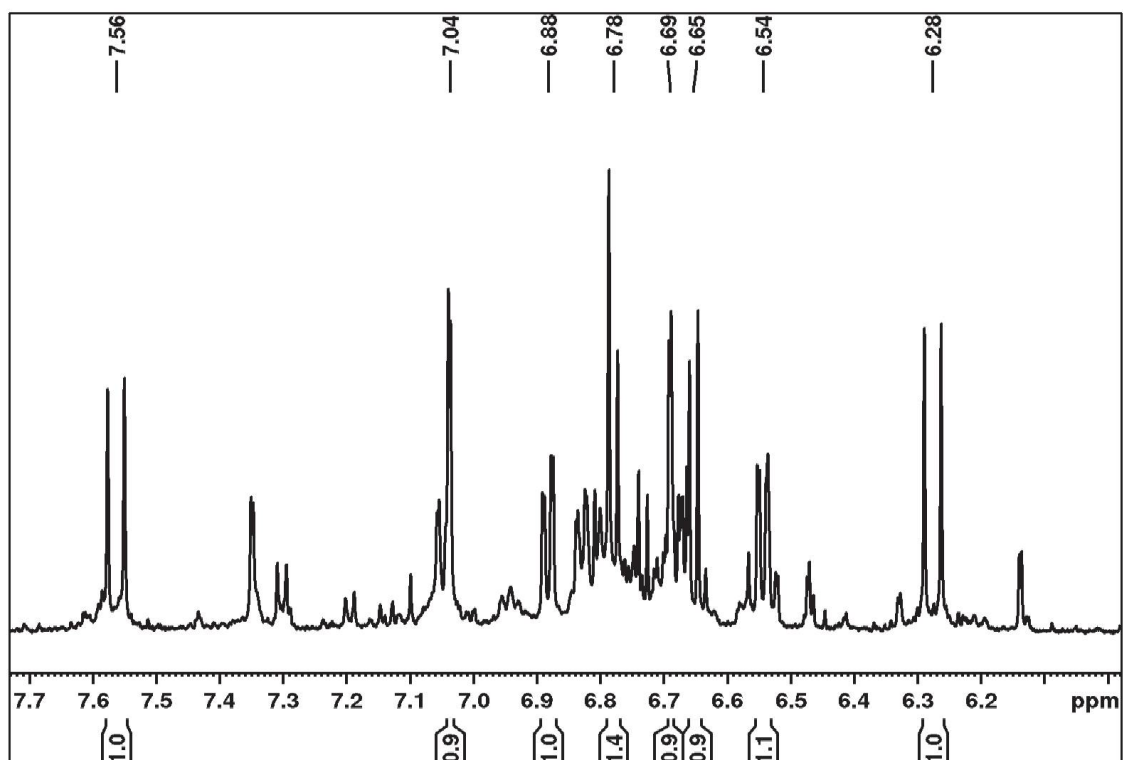
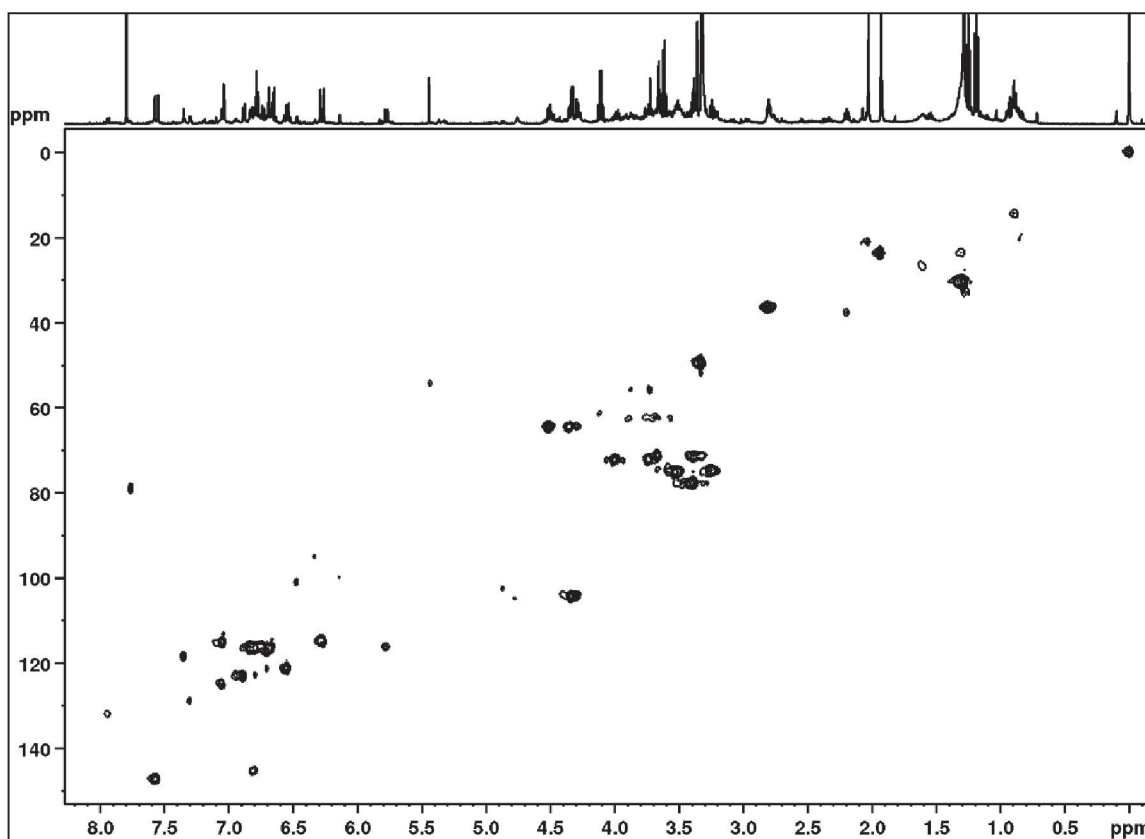
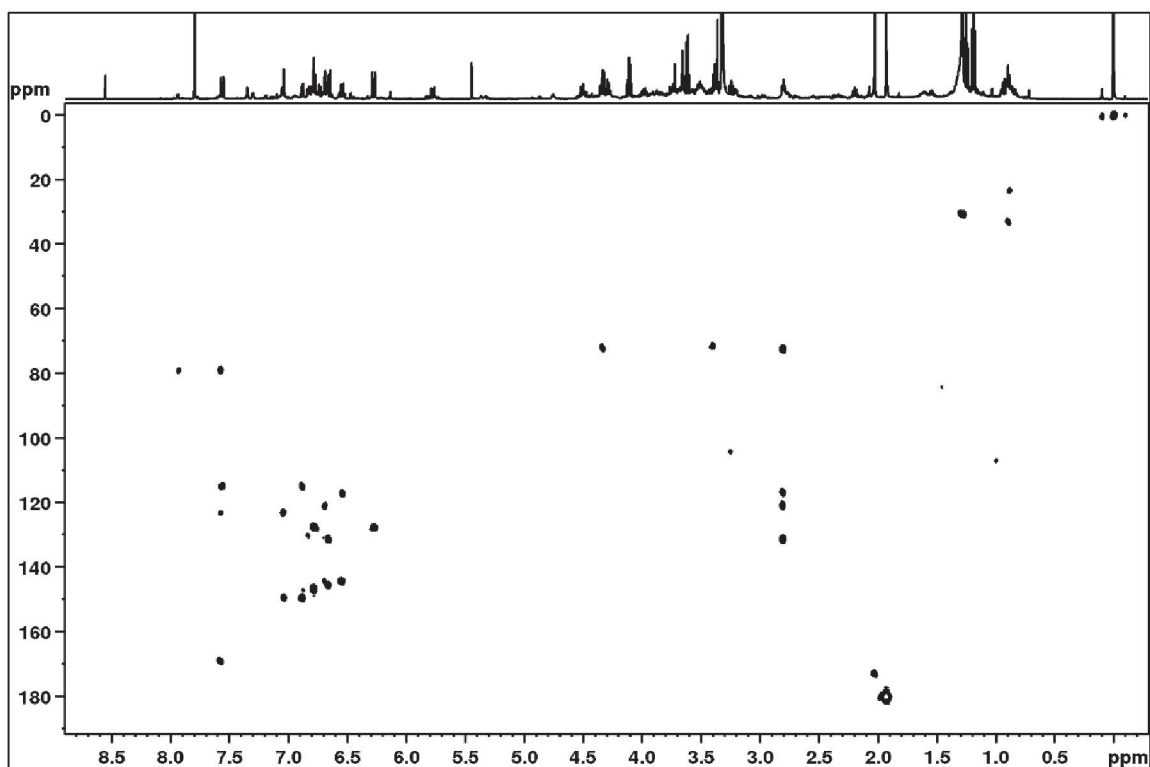


FIGURA 60 - EXPANSÃO ENTRE  $\delta_{\text{H}}$  6,0 E 7,7 DO ESPECTRO DE RMN DE  $^1\text{H}$  DE SH8 (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

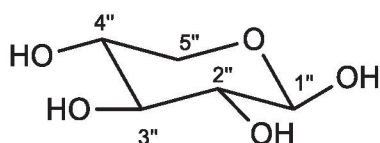


**FIGURA 61** - MAPA DE CORRELAÇÃO  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  A UMA LIGAÇÃO DE SH8 (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**FIGURA 62** - MAPA DE CORRELAÇÃO  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  A LONGA DISTÂNCIA DE SH8 (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

### 5.1.3.2 IDENTIFICAÇÃO DE SH9

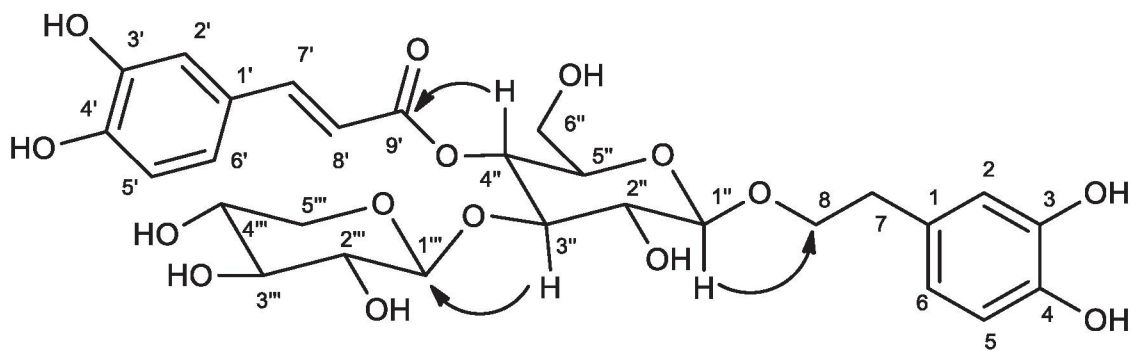
A substância **SH9** também apresentou em seu espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (FIGURA 65-67; p. 105-106) sinais característicos dos mesmos grupos da substância **SH8**, ou seja, um grupo cafeoila, um grupo 3,4-diidroxifeniletóxila e sinais de hidrogênios oximetínicos e oximetilênicos de glicosídeos. Com o experimento de correlação direta  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  (HSQC) (FIGURAS 68; p. 106; TABELA 25; p. 104) pode-se observar sinais de dois hidrogênios anoméricos, um deles em  $\delta_{\text{H}}$  4,42 ( $\delta_{\text{C}}$  104,1) e outro em  $\delta_{\text{H}}$  4,44 ( $\delta_{\text{C}}$  107,1). O primeiro é característico da  $\beta$ -glucose, como já mencionado. O segundo sinal pode ser associado à presença de uma unidade de xilose (FIGURA 63) (JENSEN, 1996).

FIGURA 63 - ESTRUTURA DA XILOSE



A posição do grupo 3,4-diidroxifeniletóxila foi determinada pela correlação entre H-8 ( $\delta_{\text{H}}$  4,04 e 3,73) e o carbono anomérico da glucose (C-1'',  $\delta_{\text{C}}$  103,9). O grupo cafeoila foi colocado em C-4'' e o grupo xilosila em C-3'' devido as correlações entre H-4'' ( $\delta_{\text{H}}$  4,92, t,  $J = 9,1$  Hz) e os carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  62,2 (C-6''), 76,4 (C-5''), 85,4 (C-3'') e 168,4 (C-9'). A ligação entre a  $\beta$ -glucose e a xilose (1''' $\rightarrow$ 3'') foi dada pela correlação entre o hidrogênio anomérico da xilose ( $\delta_{\text{H}}$  4,44) e C-3''. As demais correlações (TABELA 25, p. 104) confirmaram a estrutura de **SH9** como sendo do conandrosídeo (KAWADA et al., 2000).

FIGURA 64- ESTRUTURA E AS PRINCIPAIS CORRELAÇÕES NO HMBC DA SUBSTÂNCIA SH9

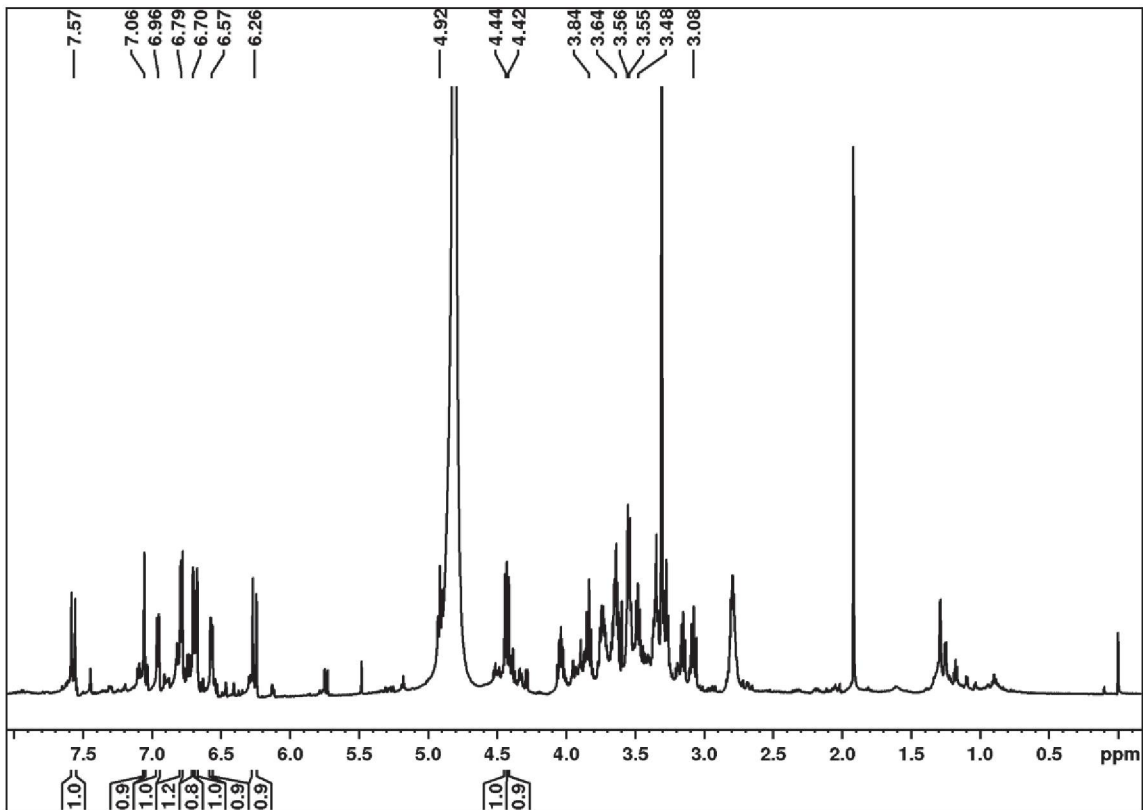


**TABELA 25** - DADOS DE RMN DE **SH9** (MeOD, 400 MHz), EM COMPARAÇÃO COM OS DADOS DA LITERATURA DO CONANDROSÍDEO (MeOD, 500 MHz) (KAWADA et al., 2000).

Posição	SH9			Conandrosídeo	
	$\delta_{\text{H}}$ , mult. (J em Hz)	$\delta_{\text{C}}$	$^{\text{LD}}J_{\text{H,C}}$	$\delta_{\text{H}}$ , mult. (J em Hz)	$\delta_{\text{C}}$
1	-	131,8	-	-	131,4
2	6,72, <i>d</i> (1,9)	117,4	4,6,7	6,66, <i>d</i> (2,0)	116,3
3	-	146,1	-	-	144,6
4	-	144,8	-	-	146,8
5	6,70, <i>d</i> (7,9)	116,0	1,3	6,64, <i>d</i> (8,0)	117,1
6	6,57, <i>dd</i> (7,9; 1,9)	121,5	4,7	6,53, <i>dd</i> (8,0; 2,0)	121,3
7	2,80, <i>m</i>	36,6	1,2,6,8	2,71-2,77, <i>m</i>	36,5
8	4,04 e 3,73, <i>m</i>	72,4	1,1'',7	4,01 e 3,69, <i>m</i>	72,2
1'	-	121,5	-	-	127,8
2'	7,06, <i>d</i> (1,8)	115,5	3',7'	7,02, <i>d</i> (1,8)	115,1
3'	-	146,9	-	-	146,1
4'	-	149,5	-	-	149,6
5'	6,79, <i>d</i> (8,1)	116,7	1',3'	6,75, <i>d</i> (8,0)	116,6
6'	6,96, <i>dd</i> (8,1; 1,8)	123,5	2',4',7'	6,92, <i>dd</i> (8,0; 2,0)	123,0
7'	7,57, <i>d</i> (15,9)	147,3	2',9'	7,53, <i>d</i> (16,0)	147,2
8'	6,26, <i>d</i> (15,9)	115,3	1',9'	6,23, <i>d</i> (16,0)	115,2
9'	-	168,4	-	-	167,2
1''	4,42, <i>d</i> (7,9)	103,9	8	4,38, <i>d</i> (8,0)	103,9
2''	3,48, <i>m</i>	75,3	1'',3''	3,44, <i>dd</i> (9,0; 8,0)	74,9
3''	3,83, <i>t</i> (9,1)	85,4	1'''	3,80, <i>t</i> (9,0)	85,2
4''	4,92, <i>t</i> (9,1)	71,1	9',3'',6''	4,88, <i>t</i> (9,0)	70,9
5''	3,54, <i>d</i> (9,12)	76,4	4''	3,48 - 3,53, <i>m</i>	75,9
6''	3,64 e 3,56, <i>m</i>	62,2	3''	3,48 - 3,63, <i>m</i>	62,3
1'''	4,44, <i>d</i> (7,5)	107,1	3''	4,40, <i>d</i> (7,5)	106,8
2'''	3,15, <i>m</i>	75,9	4'''	3,11, <i>m</i>	75,7
3'''	3,27, <i>m</i>	77,9	4'''	3,24, <i>t</i> (8,5)	77,6
4'''	3,35, <i>m</i>	71,1	N.O.	3,29 - 3,34, <i>m</i>	71,0
5'''	3,07, <i>m</i> e 3,64, <i>m</i>	67,2	1''',3'''	3,04, <i>t</i> (10,5) e 3,57 - 3,63, <i>m</i>	67,3



**FIGURA 65 - ESPECTRO DE RMN DE  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) DA SUBSTÂNCIA SH9**



**FIGURA 66 - EXPANSÃO ENTRE  $\delta_{\text{H}}$  7,7 – 6,1 DO ESPECTRO DE RMN DE  $^1\text{H}$  DA SUBSTÂNCIA SH9 (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).**

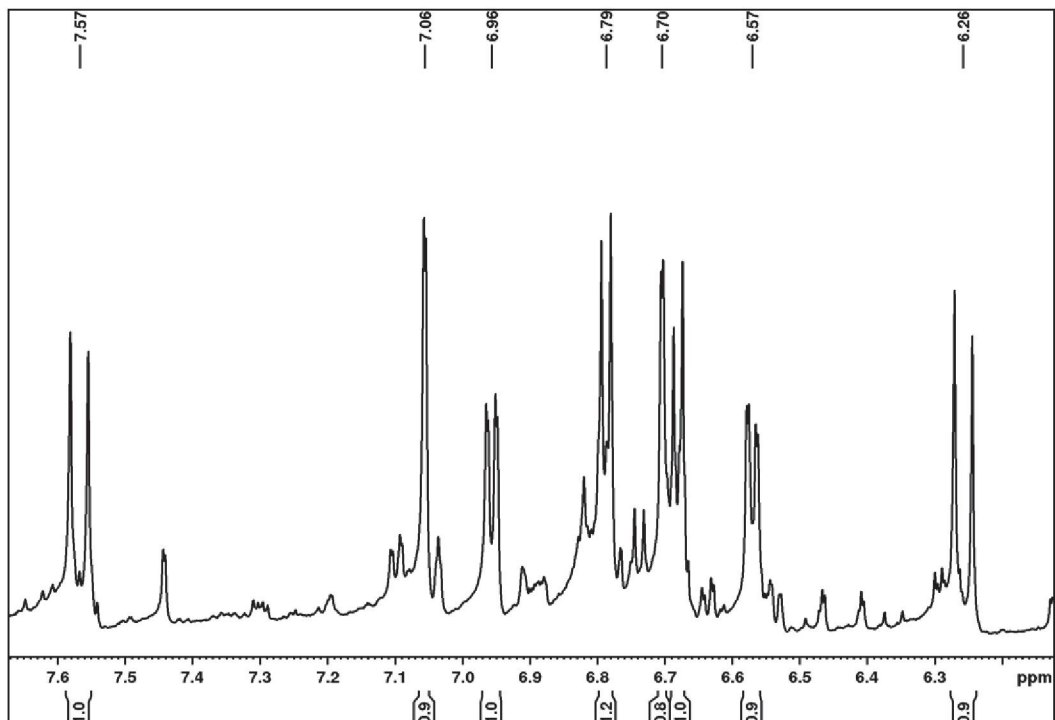


FIGURA 67 - EXPANSÃO DA REGIÃO ENTRE  $\delta_H$  4,30-5,0 DO ESPECTRO DE RMN DE  $^1H$  DE SH9 (400 MHz,  $CDCl_3$ )

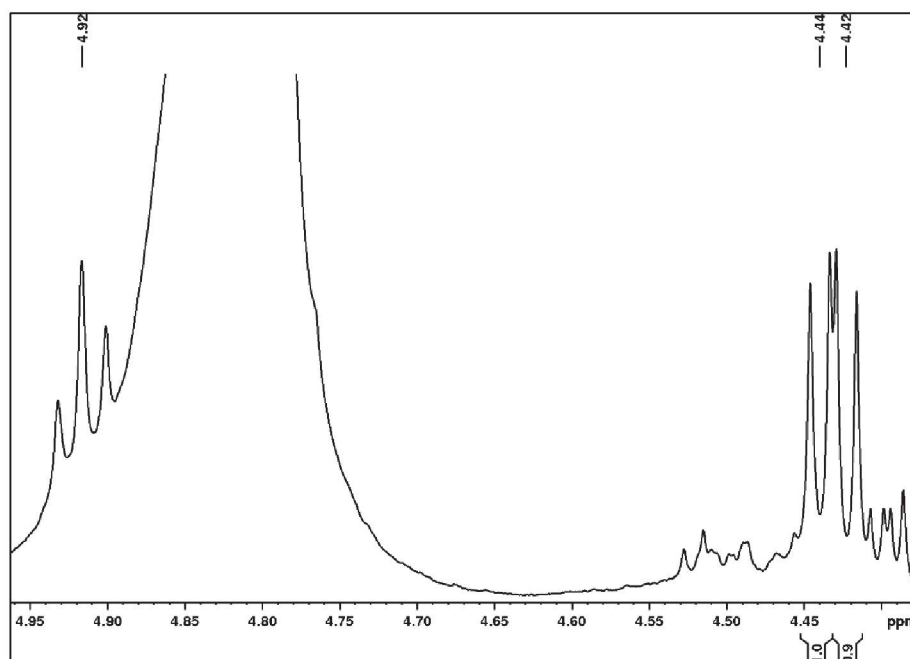
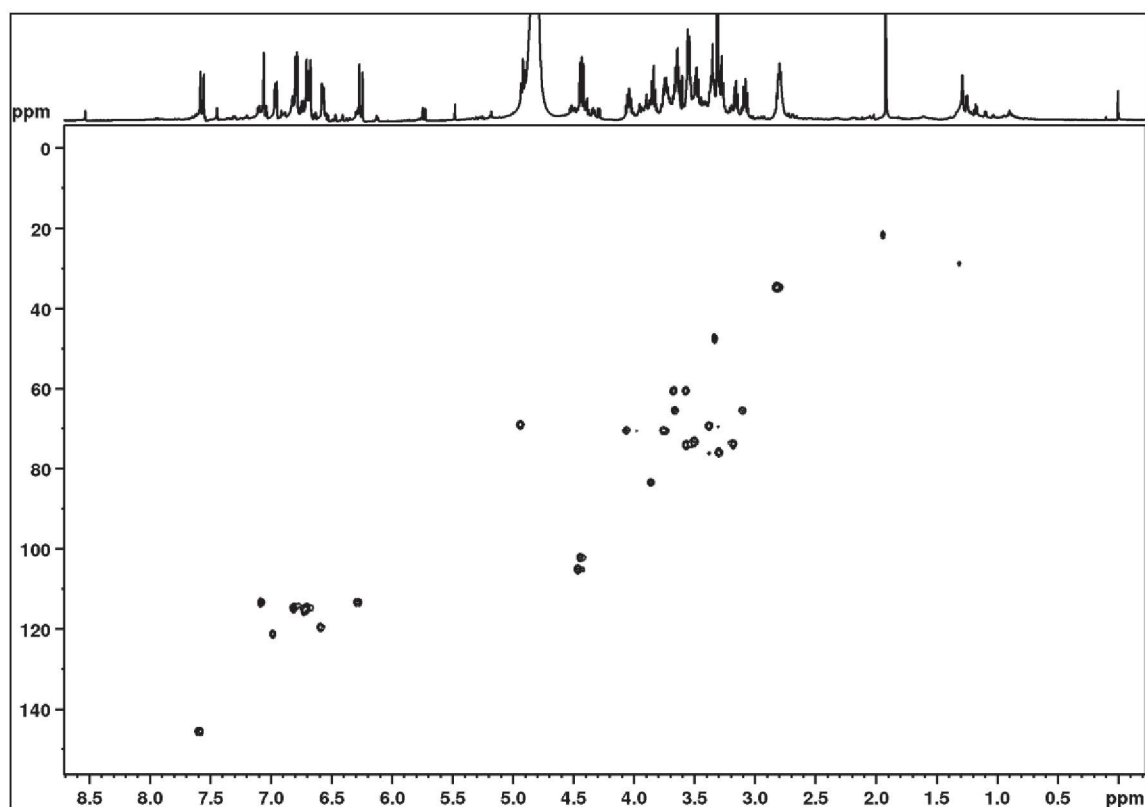
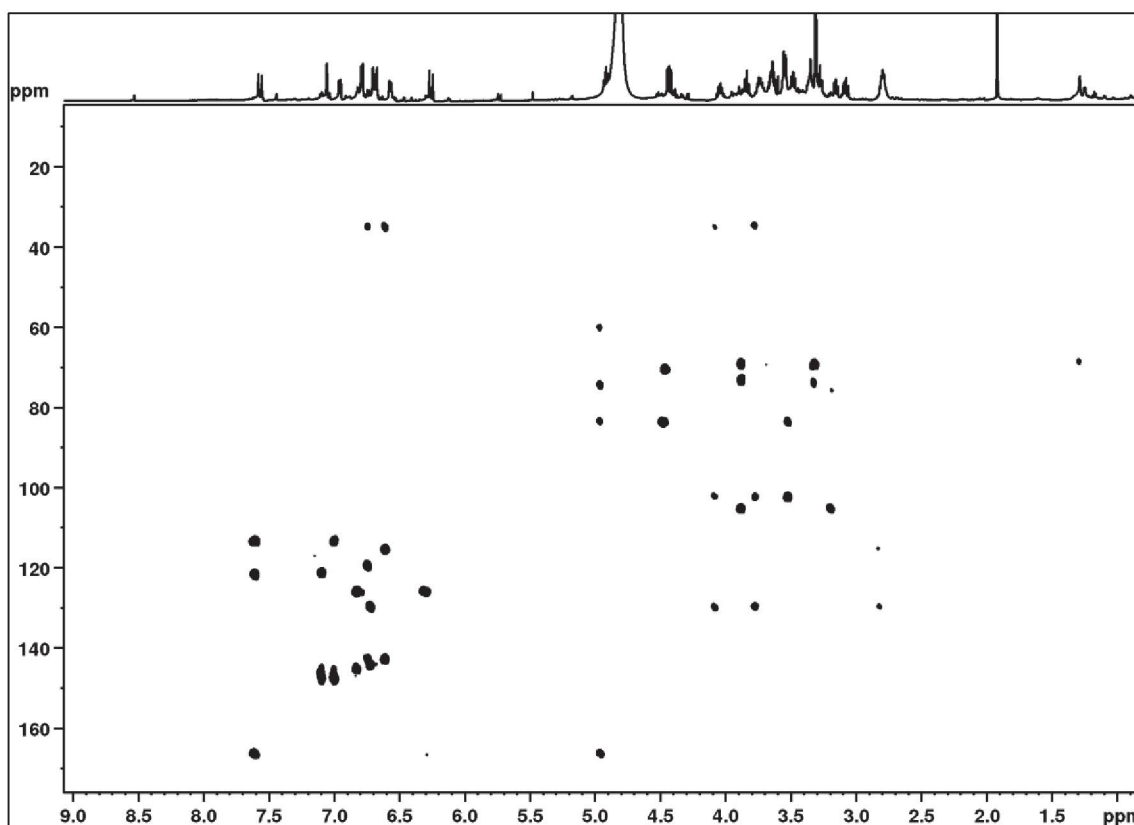


FIGURA 68 - MAPA DE CORRELAÇÃO  $^1H$ - $^{13}C$  A UMA LIGAÇÃO DE SH9 (400 MHz,  $CDCl_3$ ).



**FIGURA 69** - MAPA DE CORRELAÇÃO  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  A LONGA DISTÂNCIA DE **SH9** (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



#### 5.1.4 OUTRAS SUBSTÂNCIAS AROMÁTICAS

As substâncias **SH10**, **SH11** e **SH12** são substâncias aromáticas descritas na literatura. **SH10** e **SH11** derivam do ácido 2-naftóico, enquanto **SH12** é um derivado do ácido benzóico.

##### 5.1.4.1 IDENTIFICAÇÃO DE SH10

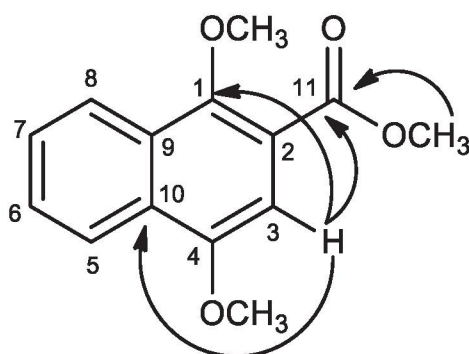
O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **SH10** (FIGURA 71-72; p. 109-111) mostrou sinais para cinco hidrogênios aromáticos, distribuídos em dois sistemas de spin. Um dos sistemas contém um hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  7,16 como simpleto, indicando um anel aromático pentassubstituído, enquanto o outro sistema mostrou sinais de quatro hidrogênios com multiplicidades e constantes de acoplamento característicos de um anel aromático 1,2-dissubstituído, com sinais em  $\delta_{\text{H}}$  8,25 (*m*; H-5); 8,22 (*m*; H-8), 7,59 (*m*; H-6) e 7,58 (*m*; H-7)

(FIGURA 72; p. 110). Além destes, o espectro apresentou ainda três simpletos em  $\delta_H$  3,99, 4,00 e 4,02 característicos de grupos metoxila.

No mapa de correlação direta  $^1H$ - $^{13}C$  (HSQC) (FIGURA 73; p. 111) foram observados em quais carbonos cada hidrogênio estava ligado, conforme mostrado na TABELA 26 (p. 108).

Já o mapa de correlação a longa distância  $^1H$ - $^{13}C$  (HMBC) (FIGURA 74; p. 109) permitiu localizar os diferentes grupos substituintes. Assim, os hidrogênios do grupo metoxila em  $\delta_H$  3,99 tinham correlação com um carbono em  $\delta_C$  166,8, que é típico da carbonila de um éster, indicando um éster metílico. Por outro lado, os hidrogênios dos grupos metoxila em  $\delta_H$  4,00 e 4,02, mostraram correlação com os carbonos em  $\delta_C$  152,4 e 151,4 respectivamente. O hidrogênio aromático isolado ( $\delta_H$  7,16) deve estar em C-3, pois mostrou correlações com o carbono carbonílico ( $\delta_C$  166,8, C-11), com o carbono oxigenado em  $\delta_C$  152,4 (C-1), e com o carbono quaternário em  $\delta_C$  129,0 (C-10). Assim o grupo metoxila em  $\delta_H$  4,00 está em C-1, enquanto o terceiro grupo metoxila deve estar em C-4. Com estas e as demais correlações (TABELA 26; p. 107) **SH10** foi identificada como 1,4-dimetoxi-2-naftoato de metila (FIGURA 70). Esta substância foi obtida anteriormente apenas por síntese, e seus dados de RMN de  $^{13}C$  não foram publicados (FLADER; LIU; BORCH, 2000). Portanto, o isolamento de **SH10** de fontes naturais está sendo reportado pela primeira vez neste trabalho, assim como os seus dados de RMN de  $^{13}C$ .

**FIGURA 70** - ESTRUTURA E PRINCIPAIS CORRELAÇÕES NO HMBC DA SUBSTÂNCIA **SH10**



**TABELA 26** - DADOS DE RMN DE **SH10** (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz), EM COMPARAÇÃO COM OS DADOS DA LITERATURA DO 1,4-DIMETOXI-2-NAFTOATO DE METILA (CDCl<sub>3</sub>, 250 MHz) (FLADER; LIU; BORCH, 2000)

Posição	SH10			1,4-dimetoxi-2-naftoato de metila
	$\delta_H$ , mult. (J em Hz)	$\delta_C$	LD <sub>J<sub>H,C</sub></sub>	$\delta_H$ , mult. (J em Hz)
1	-	152,4	-	-
2	-	118,8	-	-
3	7,16, s	103,4	1, 2, 10, 11	7,16, s
4	-	151,4	-	-
5	8,25, m	122,1	7	8,24, m
6	7,58, m	127,2	8, 10	7,59, m
7	7,59, m	127,2	5, 9	7,59, m
8	8,22, m	123,3	6, 1	8,24, m
9	-	129,0	-	-
10	-	129,0	-	-
11	-	166,8	-	-
11 - OCH <sub>3</sub>	4,00, s	63,1	1	4,01, s
4 - OCH <sub>3</sub>	4,02, s	55,6	4	4,02, s
1-OCH <sub>3</sub>	3,99, s	52,0	11	4,00, s

**FIGURA 71** - ESPECTRO DE RMN DE <sup>1</sup>H (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) DA SUBSTÂNCIA **SH10**

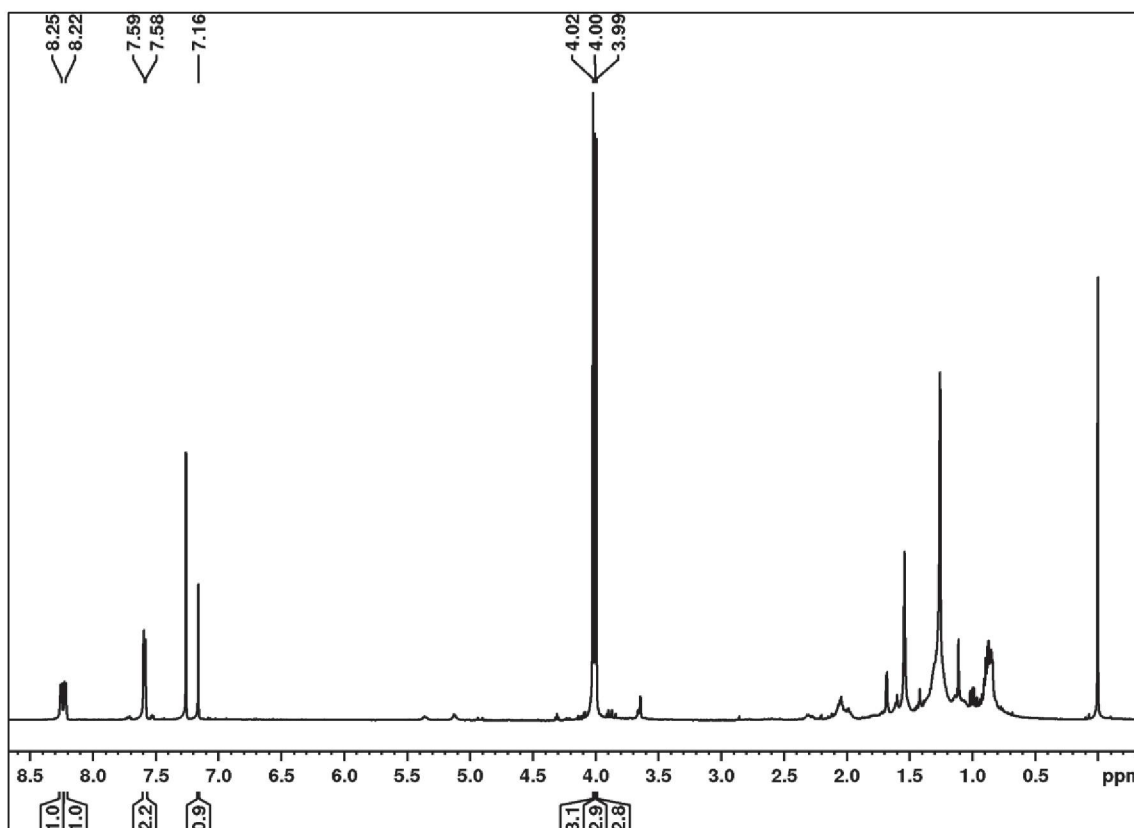
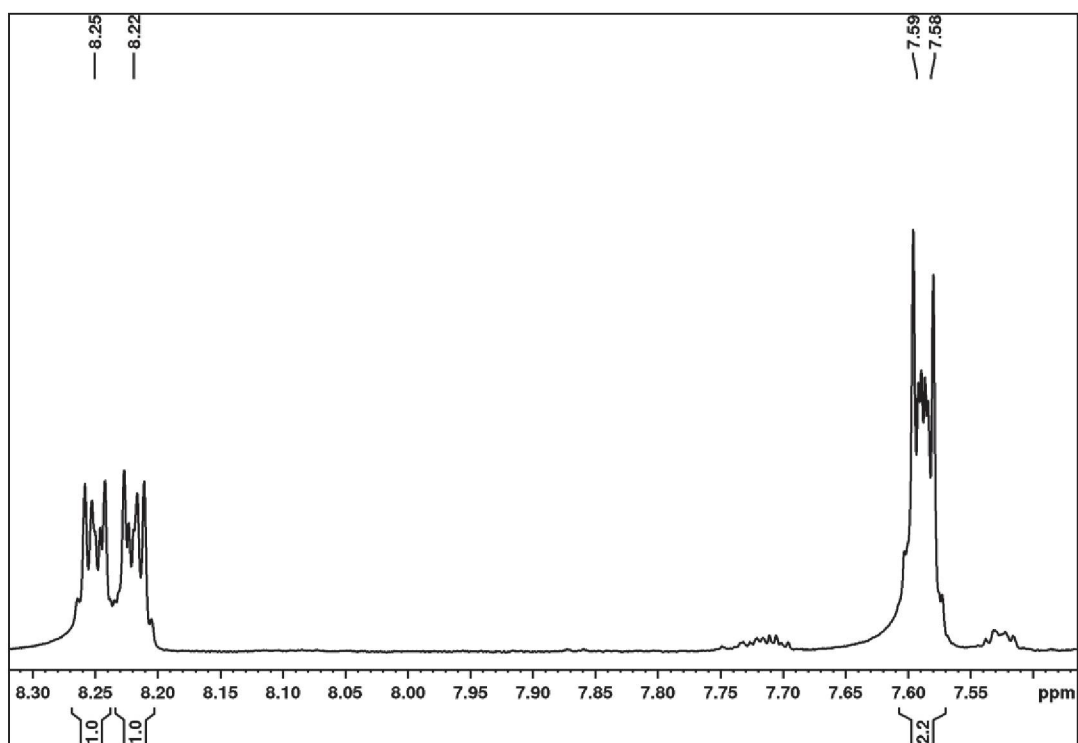
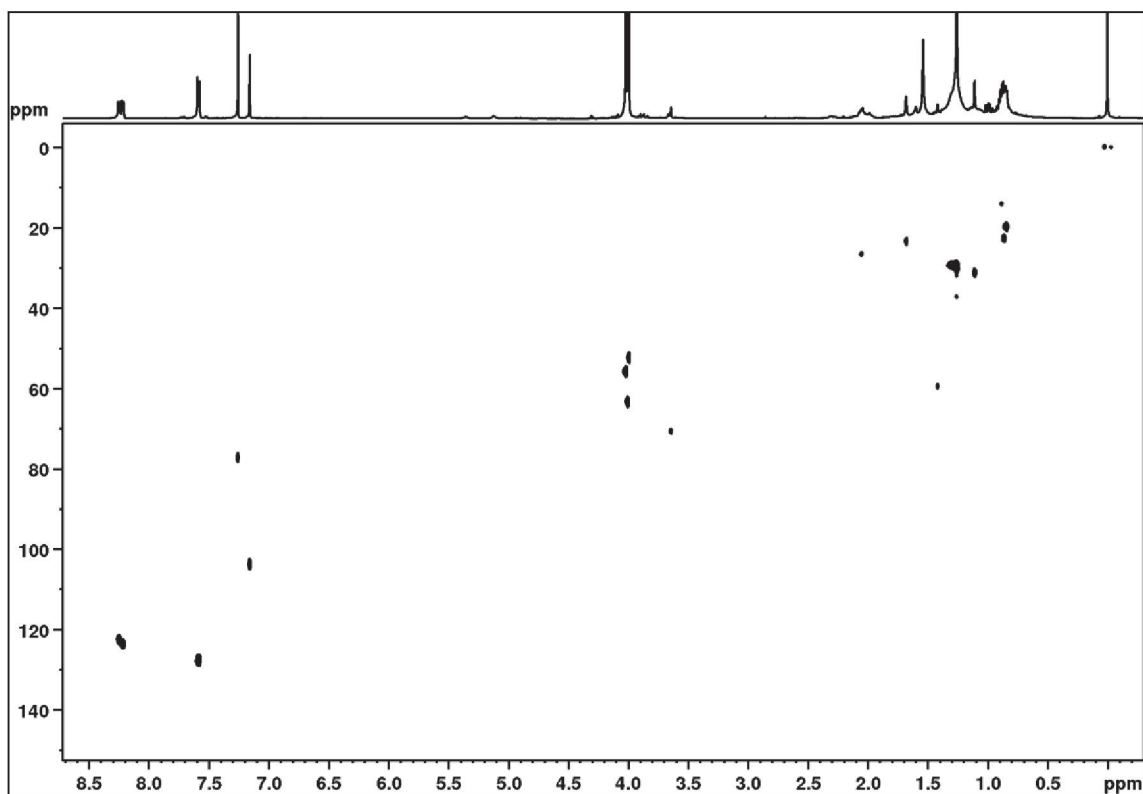
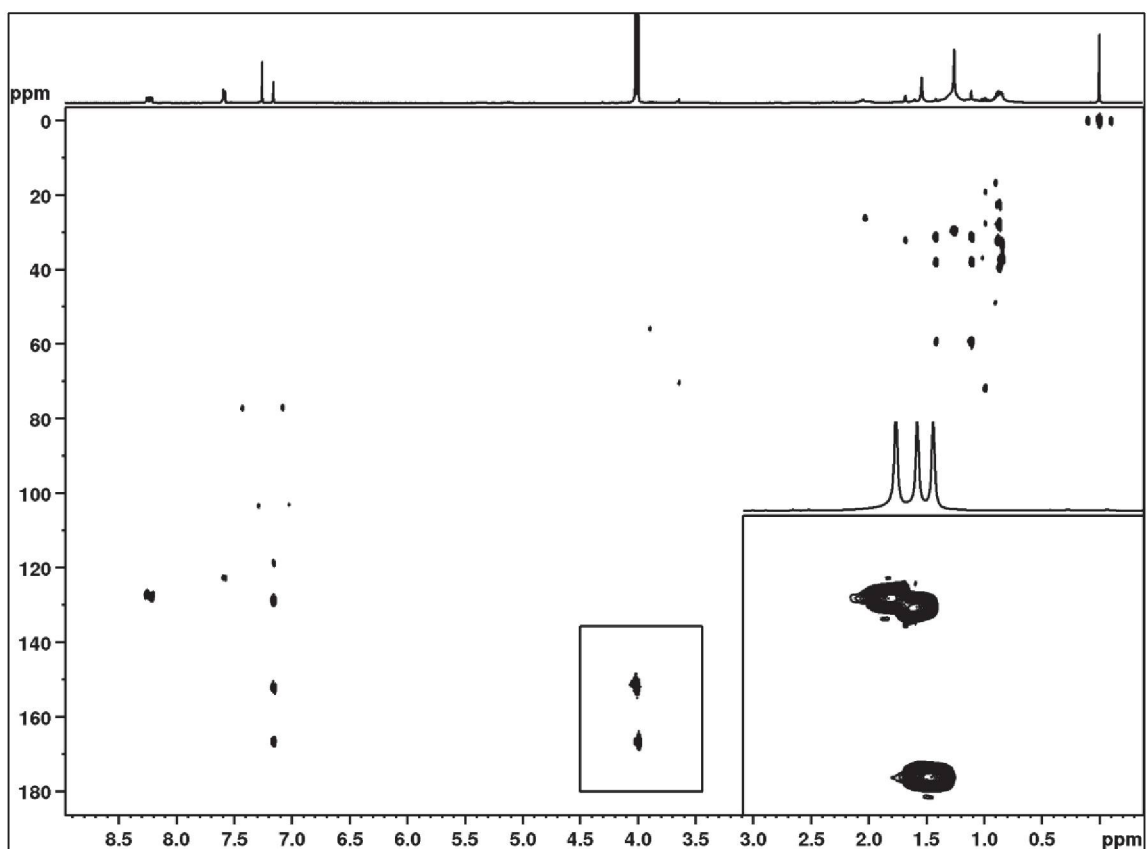


FIGURA 72 - EXPANSÃO ENTRE  $\delta_H$  7,50 E 8,30 DO ESPECTRO DE RMN DE  $^1H$  DE SH10 (600 MHz,  $CDCl_3$ )



**FIGURA 73** - MAPA DE CORRELAÇÃO  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  A UMA LIGAÇÃO DE **SH10** (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**FIGURA 74** - MAPA DE CORRELAÇÃO  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  A LONGA DISTÂNCIA DE **SH10** (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

#### 5.1.4.2 IDENTIFICAÇÃO DE SH11

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **SH11** (FIGURA 76-77; p. 114) foi semelhante ao da substância **SH10**, mostrando também sinais de cinco hidrogênios aromáticos, distribuídos em dois sistemas de spin, sendo um hidrogênio isolado ( $\delta_{\text{H}}$  7,03), e quatro hidrogênios com multiplicidades e constantes de acoplamento típicos de um anel aromático 1,2-dissubstituído ( $\delta_{\text{H}}$  8,19, *dd*,  $J = 8,4$  e  $1,4$  Hz; 8,39, *dd*,  $J = 8,4$  e  $1,4$  Hz; 7,63, *ddd*,  $J = 8,4$ ;  $7,1$  e  $1,4$  Hz; e 7,56, *ddd*,  $J = 8,4$ ;  $7,1$  e  $1,4$  Hz). Foram ainda observados dois doublets em  $\delta_{\text{H}}$  3,97 e  $\delta_{\text{H}}$  4,00, indicando a presença de dois grupos metoxila, e outro simpleto em  $\delta_{\text{H}}$  11,6, típico de hidroxila em ligação de hidrogênio intramolecular, indicando um grupo carbonila próximo (TABELA 27, p. 113).

Através do mapa de correlação direta  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  (HSQC) (FIGURA 78; p. 115) cada hidrogênio foi associado ao respectivo carbono (TABELA 27, p. 113).

O mapa de correlação a longa distância  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  (HMBC) (FIGURA 79; p. 115) mostrou que o grupo metoxila em  $\delta_{\text{H}}$  4,00 tinha correlação com um carbono em  $\delta_{\text{C}}$  171,4 (C-11), que é típico da carbonila de um éster. O segundo grupo metoxila foi alocado em C-4 devido às correlações observadas entre os hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  3,97 (grupo metoxila), 7,03 (H-3) e 8,19 (H-5) com o carbono em  $\delta_{\text{C}}$  147,7 (C-4). Por outro lado, tanto a hidroxila em ligação de hidrogênio como o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  8,39 (H-8) mostraram correlação com um carbono oxigenado em  $\delta_{\text{C}}$  155,6, o que é compatível com a presença da hidroxila em C-1. Com estas e as demais correlações observadas no HSQC e no HMBC (TABELA 27, p. 111), **SH11** foi identificada como 1-hidroxi-4-metoxi-2-naftoato de metila (FIGURA 75). Esta substância foi sintetizada por JUNG e colaboradores (2007), sendo posteriormente isolada de *Plocama pendula* (Rubiaceae), recebendo o nome comum de plocanaphthin (FRAGA; DIAZ; QUINTANA; 2010). Este é o primeiro relato de sua ocorrência na família Gesneriaceae.



FIGURA 75 - ESTRUTURA E PRINCIPAIS CORRELAÇÕES NO HMBC DA SUBSTÂNCIA SH11

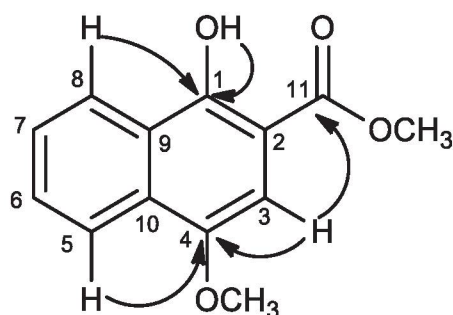
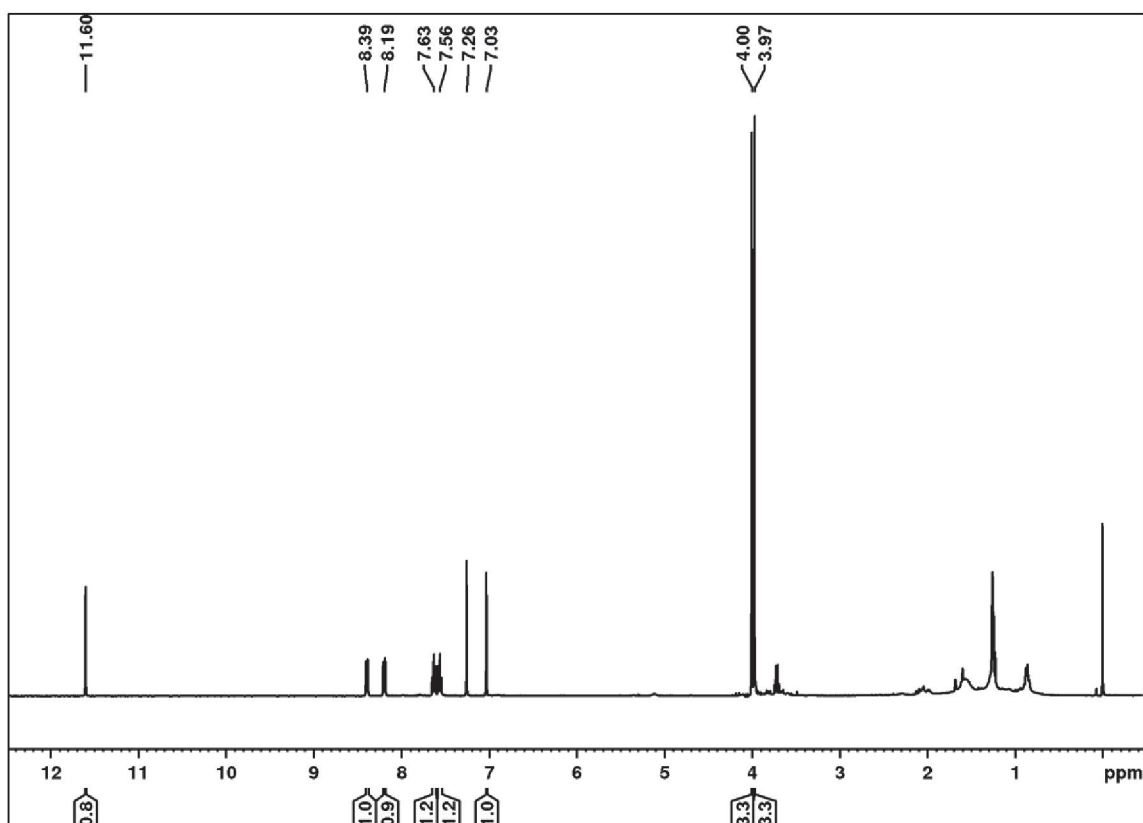
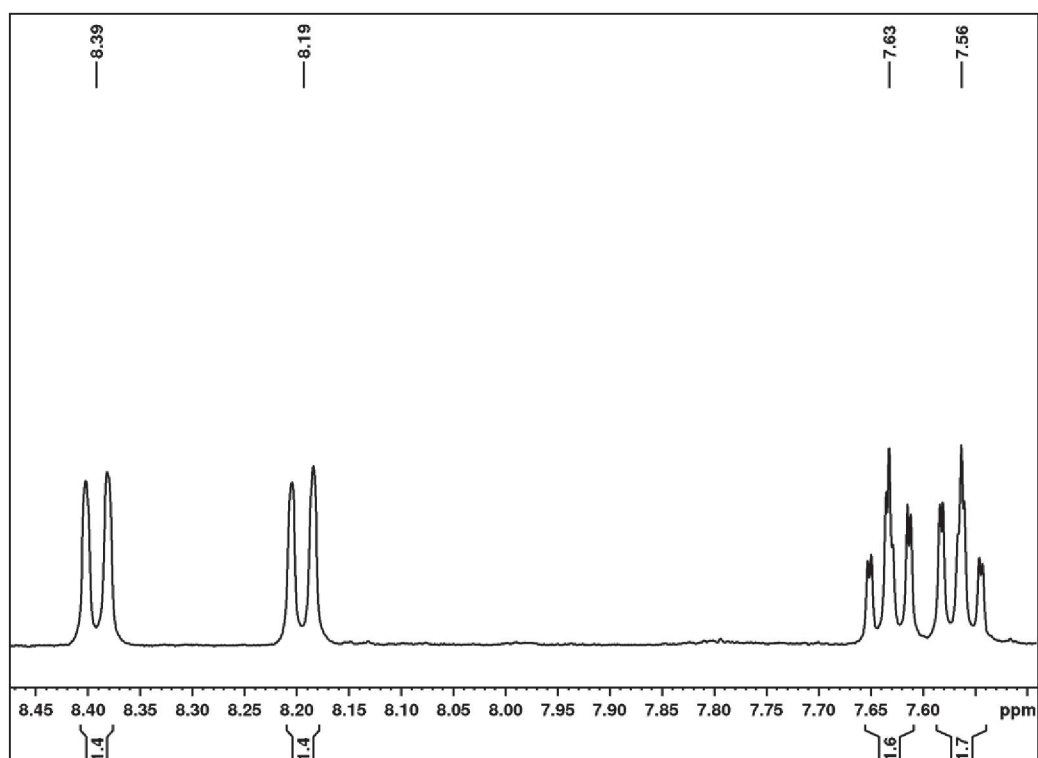
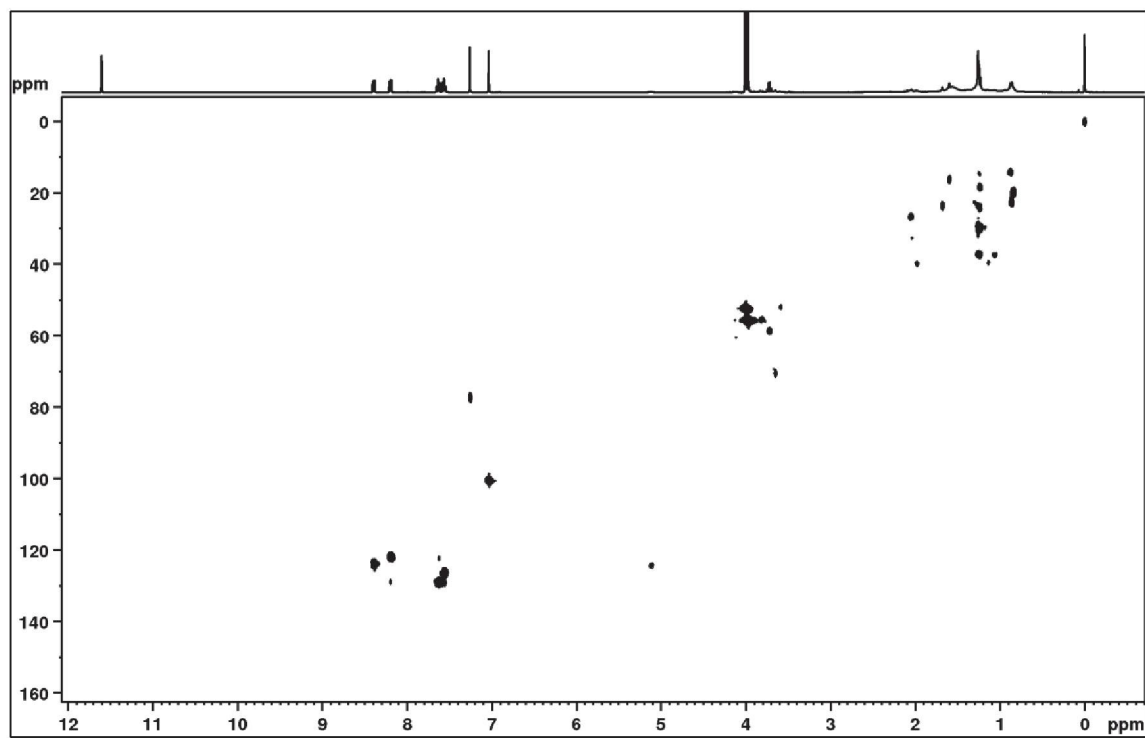


TABELA 27 - DADOS DE RMN DE SH11 (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz), EM COMPARAÇÃO COM OS DADOS DA LITERATURA DE 1-HIDROXI-4-METOXI-2-NAFTOATO DE METILA (CDCl<sub>3</sub>, 250 MHz) (JUNG et al., 2007).

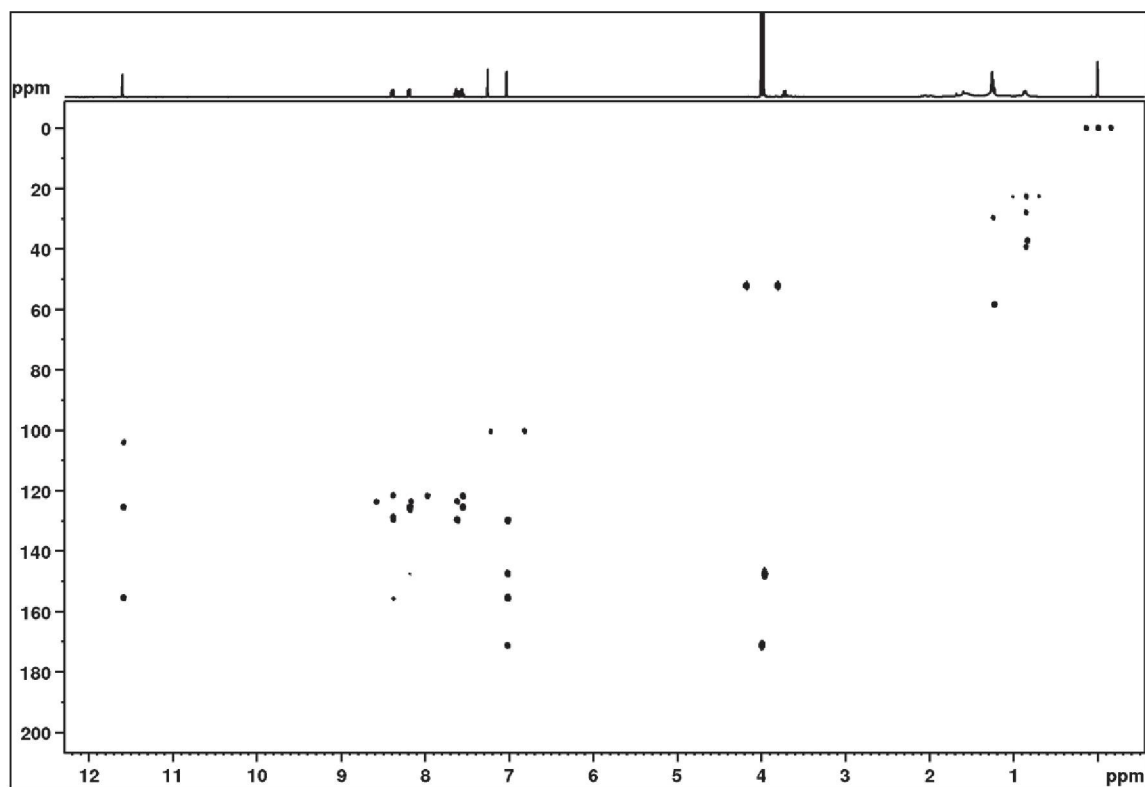
Posição	SH10			1-hidroxi-4-metoxi-2-naftoato de metila	
	$\delta_H$ , mult. (J em Hz)	$\delta_C$	<sup>LD</sup> J <sub>H,C</sub>	$\delta_H$ , mult. (J em Hz)	$\delta_C$
1	-	155,6	1, 2, 9	-	155,4
2	-	125,7	-	-	125,3
3	7,03 s	100,5	1, 4, 9, 10, 11	6,95, s	100,2
4	-	147,7	-	-	147,5
5	8,19 dd (8,4; 1,4)	121,9	4, 7	8,16, d (8,1)	121,8
6	7,63 ddd (8,4; 7,1; 1,4)	129,1	8, 10	7,60, td (8,1; 0,8)	128,9
7	7,56 ddd (8,4; 7,1; 1,4)	126,5	5	7,53, td (8,1; 0,8)	126,3
8	8,39 dd (8,4; 1,4)	123,8	1, 6	8,36, d (8,1)	123,6
9	-	104,2	-	-	104,1
10	-	130,0	-	-	129,7
11	-	171,4	-	-	171,2
11 - OCH <sub>3</sub>	4,00, s	52,2	11	3,95, s	52,2
4 - OCH <sub>3</sub>	3,97, s	55,8	4	3,92, s	55,5
1 - OH	11,60, s	-	1, 2, 9	11,59, s	-

**FIGURA 76** - ESPECTRO DE RMN DE  $^1\text{H}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) DA SUBSTÂNCIA SH11**FIGURA 77** - EXPANSÃO ENTRE  $\delta_{\text{H}}$  7,40 E 8,40 DO ESPECTRO DE RMN DE  $^1\text{H}$  DE SH11 (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

**FIGURA 78** - MAPA DE CORRELAÇÃO  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  A UMA LIGAÇÃO DE SH11 (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



**FIGURA 79** - MAPA DE CORRELAÇÃO  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  A LONGA DISTÂNCIA DE SH11 (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )



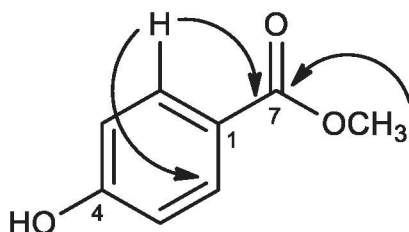
### 5.1.4.3 IDENTIFICAÇÃO DE SH12

A substância **SH12** foi isolada como um sólido amarelo, em mistura com outras substâncias não identificadas. O seu espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (FIGURA 81: p. 117) apresentou apenas dois sinais na região de aromáticos como dupletos ( $J = 8,9$  Hz) em  $\delta_{\text{H}}$  7,85 e 6,81 (FIGURA 82; p. 118), integrando para dois hidrogênios cada, indicando um anel aromático com substituintes em *para*. Além disso, o espectro de hidrogênio mostrou um simpleto em  $\delta_{\text{H}}$  3,84, característico de um grupo metoxila.

Pelo mapa de correlação direta  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  (FIGURA 83; p. 118) os hidrogênios foram associados aos seus respectivos carbonos (TABELA 28, p. 117).

O mapa de correlação a longa distância  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  (FIGURA 84; p. 118) mostrou que o hidrogênio  $\delta_{\text{H}}$  7,85 (H-2 e H-6) apresentava correlação com os carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  133,0 (C-2 e C-6) e 168,1 (C-7), mostrando que um dos substituintes do anel é um grupo éster ou ácido. E a metoxila em  $\delta_{\text{H}}$  3,84 apresenta correlação com o carbono  $\delta_{\text{C}}$  168,1. Portanto, o grupo metoxila está ligado ao grupo carbonila, caracterizando um éster metílico. Os demais dados (TABELA 28, p. 117) levaram à identificação de **SH12** como *p*-hidroxibenzoato de metila (FIGURA 80), também conhecido como metilparabeno (LI et al, 2003; KANNATHASAN et al., 2011). Esta substância é muito comum na natureza, tendo já sido isolada no gênero *Sinningia*, a partir de *S. canescens* (VERDAN et al., 2017).

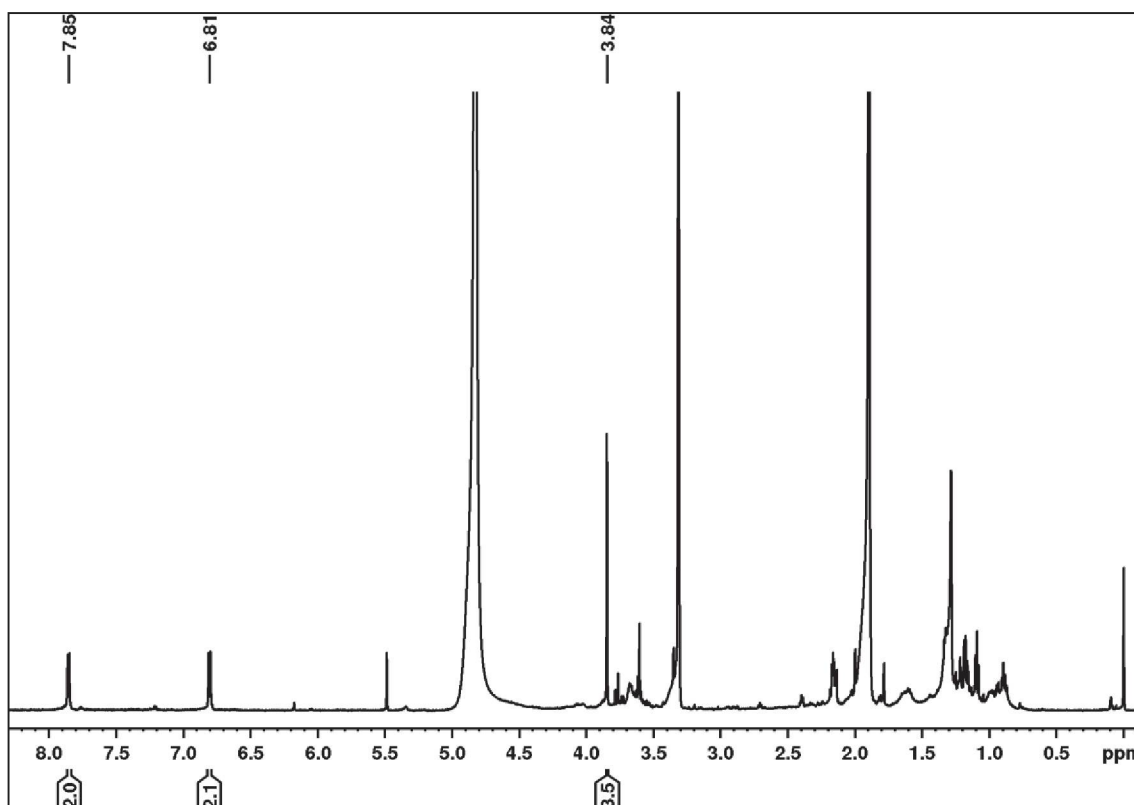
**FIGURA 80** - ESTRUTURA E PRINCIPAIS CORRELAÇÕES NO HMBC DA SUBSTÂNCIA SH12



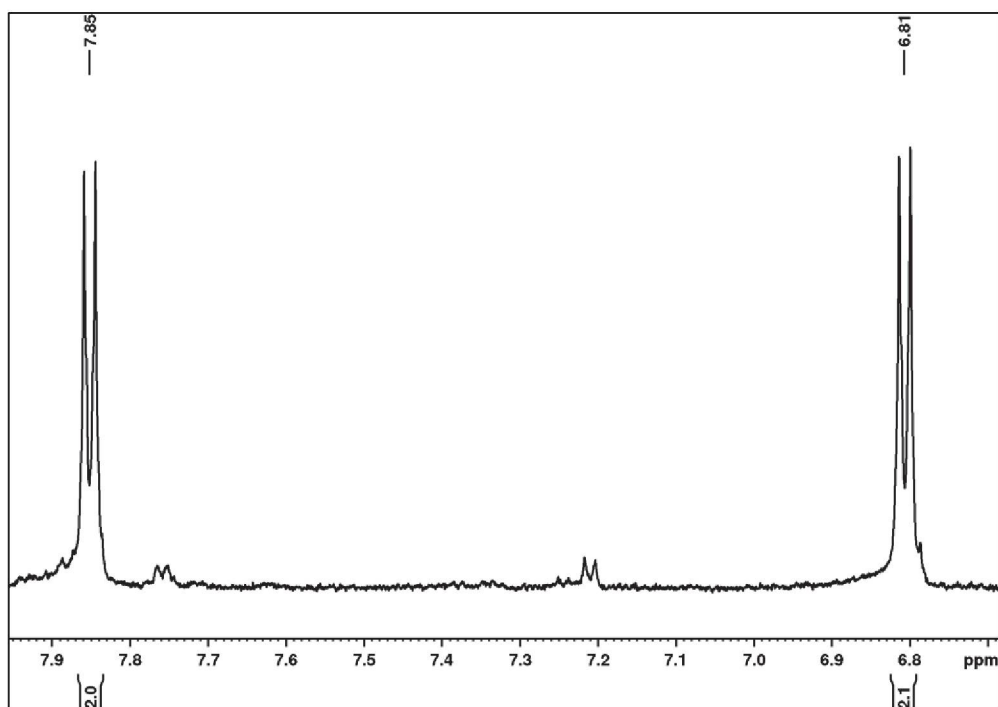
**TABELA 28** - DADOS DE RMN DE **SH12** (MeOH-D<sub>4</sub>, 400 MHz), EM COMPARAÇÃO COM OS DADOS DA LITERATURA PARA O *p*-HIDROXIBENZOATO DE METILA (CDCl<sub>3</sub>, 250 MHz) (KANNATHASAN et al., 2011).

Posição	SH12			<i>p</i> -hidroxibenzoato de metila	
	$\delta_H$ , mult. (J em Hz)	$\delta_C$	$^L D J_{H,C}$	$\delta_H$ , mult. (J em Hz)	$\delta_C$
1	-	121,0	-	-	122,4
2 e 6	7,85, <i>d</i> (8,9)	133,0	1, 3, 5	7,96	131,9
3 e 5	6,81, <i>d</i> (8,9)	116,7	2, 4, 6, 7	6,89	115,3
4	-	164,2	-	-	160,2
7	-	168,1	-	-	167,3
7-OCH <sub>3</sub>	3,84, <i>s</i>	52,4	7	3,90, <i>s</i>	52,0
4-OH	-	-	-	6,40, <i>s</i>	-

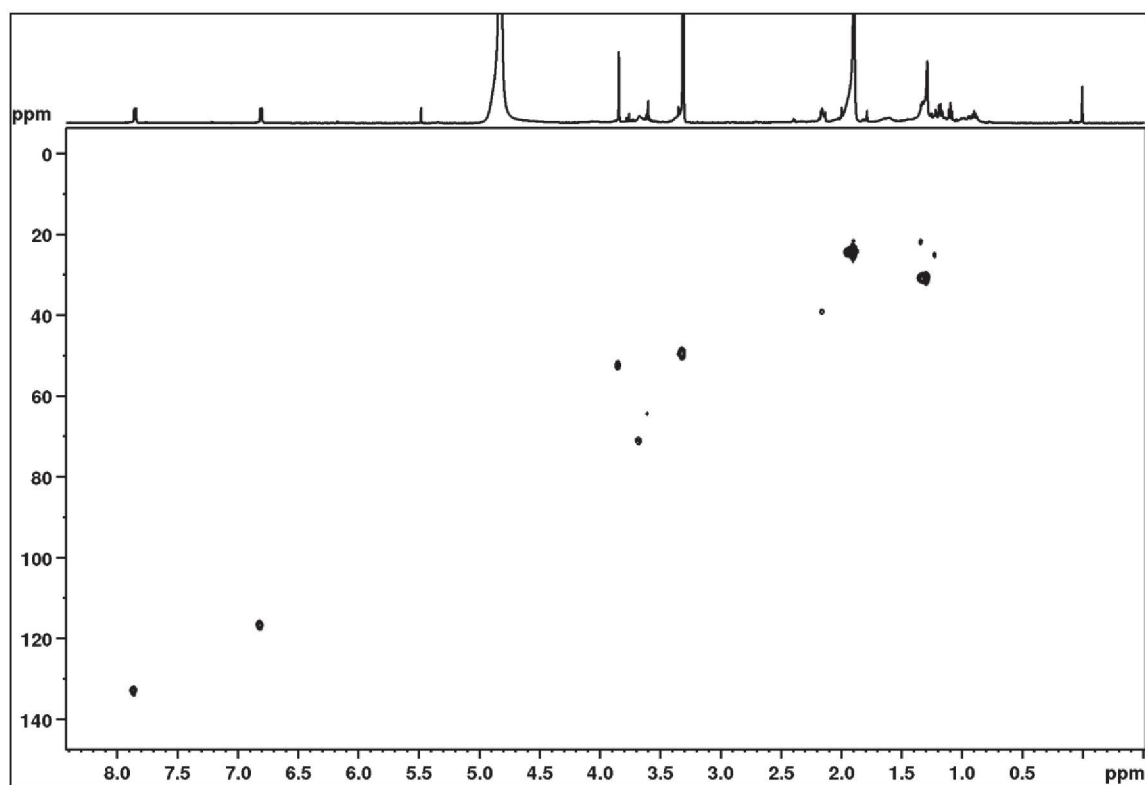
**FIGURA 81** - ESPECTRO DE RMN DE <sup>1</sup>H (400 MHz, MeOH-D<sub>4</sub>) DA SUBSTÂNCIA SH12



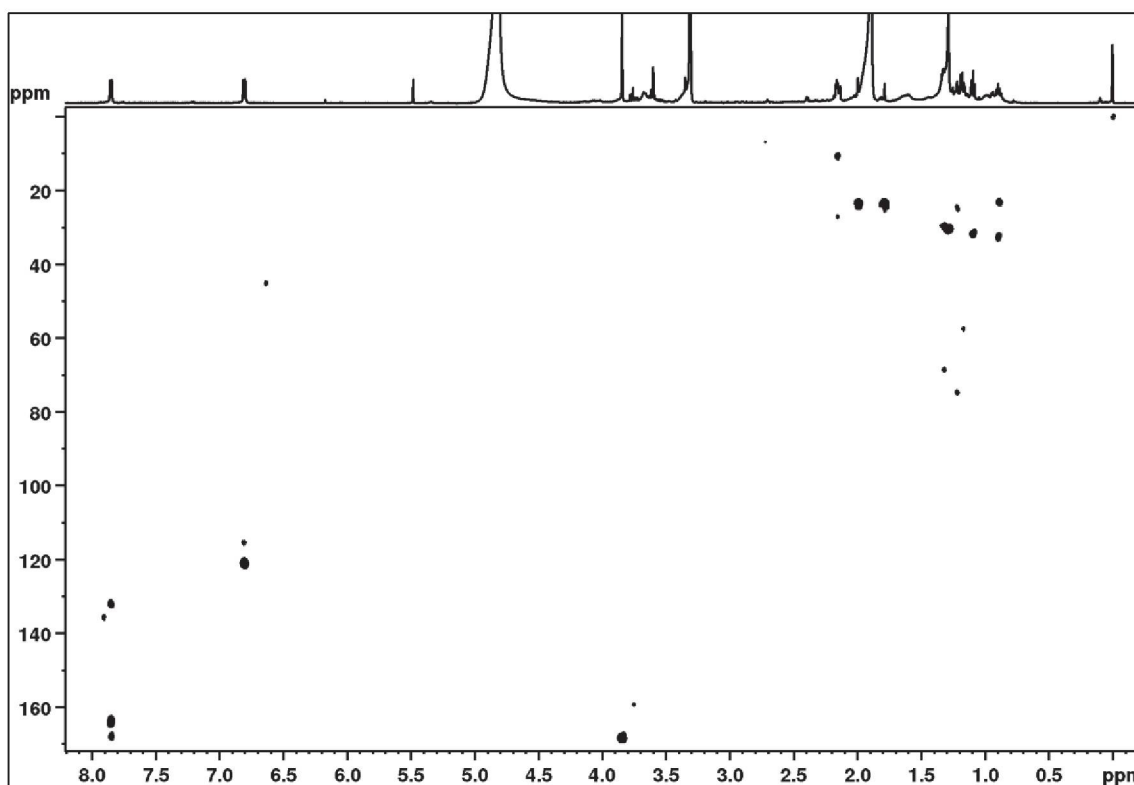
**FIGURA 82** - EXPANSÃO ENTRE  $\delta_H$  8,0 E 7,6 DO ESPECTRO DE RMN DE  $^1H$  DE SH12 (400 MHz, MeOH-D<sub>4</sub>).



**FIGURA 83** - MAPA DE CORRELAÇÃO  $^1H$ - $^{13}C$  A UMA LIGAÇÃO DE SH12 (400 MHz, MeOH-D<sub>4</sub>).



**FIGURA 84** - MAPA DE CORRELAÇÃO  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  A LONGA DISTÂNCIA DE **SH12** (400 MHz, MeOH- $\text{D}_4$ )



### 5.1.5. ESTERÓIDES

As substâncias **SH13** e **SH14** foram encontradas em várias frações, como um sólido branco, formando uma mistura inseparável pela técnica de cromatografia em camada delgada. São esteroides muito conhecidos, encontrados nos extratos menos polares de quase todas as espécies vegetais, incluindo espécies do gênero *Sinningia* (VERDAN et al., 2014).

#### 5.1.5.1 IDENTIFICAÇÃO DE SH13 E SH14

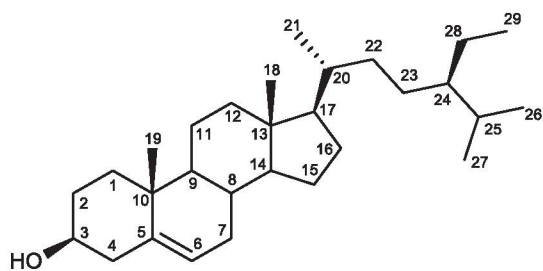
O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (FIGURA 86-89; p. 123-125) de **SH13** + **SH14** apresentou vários sinais de hidrogênios metílicos, metilênicos e metínicos na região de  $\delta_{\text{H}}$  0,68 - 2,50, característicos de triterpenos ou esteroides. Os triterpenos e esteroides mais comuns têm uma função álcool em

C-3, e uma insaturação. Os triterpenos apresentam um esqueleto básico de 30 carbonos, enquanto que nos esteroides o esqueleto básico é de 27 carbonos. A diferença se dá pela ausência de três grupos metila nos esteroides, sendo dois destes grupos metila em C-4 e outro em C-8. A ausência dos grupos metila em C-4 afeta o deslocamento químico e a multiplicidade do hidrogênio oximetínico H-3, que nos triterpenos é observado no espectro de RMN de  $^1\text{H}$  como um duplo duplete em torno de  $\delta_{\text{H}}$  3,20, enquanto que nos esteroides esse sinal é observado como um triplo duplo duplete em torno de  $\delta_{\text{H}}$  3,50. O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da amostra isolada mostrou um triplo duplo duplete em  $\delta_{\text{H}}$  3,52 ( $J = 4,7; 4,5; 4,0$ ) (FIGURA 88; p. 124), e sinais de três hidrogênios olefínicos, em  $\delta_{\text{H}}$  5,02 ( $dd; J = 15,3$  e  $8,8$  Hz), 5,16 ( $dd; J = 15,3$  e  $8,8$  Hz), e 5,34-5,35 ( $m$ ) (FIGURA 89; p. 124), com integração relativa de 1:0,25:0,25. Portanto, o espectro é de uma mistura de esteroides, sendo que o constituinte majoritário recebeu o código **SH13**.

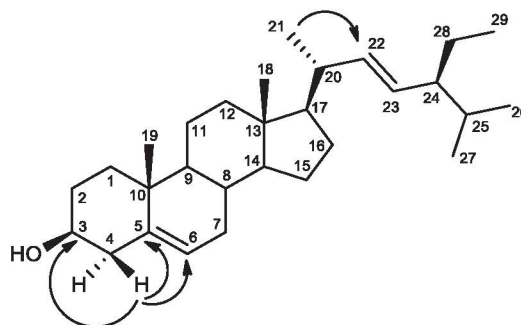
No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$   $\{^1\text{H}\}$  (FIGURA 90; p. 125) foi possível observar 42 sinais, confirmando uma mistura. Merecem destaque os sinais em  $\delta_{\text{C}}$  71,8 (característico de C-3 nos esteroides que têm uma função álcool), e os sinais dos hidrogênios olefínicos em  $\delta_{\text{C}}$  121,7, 129,3, 138,3 e 140,7. De acordo com a literatura (KOJIMA et al., 1990) o par em  $\delta_{\text{C}}$  121,7 e 140,7 indica uma insaturação em C-5/C-6 no esqueleto dos esteróides, enquanto que o par em  $\delta_{\text{C}}$  129,3 e 138,3 corresponde á uma insaturação em C-22/C-23. Com esses dados os esteroides puderam ser identificados como sitosterol (**SH13**) e estigmasterol (**SH14**) (KOJIMA et al., 1990). A proporção aproximada entre eles, dada pelo espectro de RMN de  $^1\text{H}$  é 75 % e 25%, respectivamente. As estruturas foram confirmadas pelos mapas de correlação a uma ligação e a longa distância. As correlações mais importantes foram observadas entre H-4 ( $\delta_{\text{H}}$  2,29) e C-3 ( $\delta_{\text{C}}$  71,4), C-5 ( $\delta_{\text{C}}$  140,7) e C-6 ( $\delta_{\text{C}}$  121,7), e entre H-21 ( $\delta_{\text{H}}$  0,92) e C-22 ( $\delta_{\text{C}}$  138,3) (FIGURA 92-93; p. 127; TABELA 29, p. 122).



FIGURA 85 - ESTRUTURA E AS PRINCIPAIS CORRELAÇÕES DAS SUBSTÂNCIAS SH13 E SH14



SH13



SH14

**TABELA 29** - DADOS DE RMN DE SH13 E SH14 (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz), EM COMPARAÇÃO COM OS DADOS DA LITERATURA DE SITOSTEROL E ESTIGMASTEROL (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz, KOJIMA et al., 1990).

Pos.	SH13			Sitosterol		SH14			Estigmasterol	
	$\delta_H$ ; mult. (J em Hz)	$\delta_C$	<sup>LD</sup> J <sub>H,C</sub>	$\delta_H$ ; mult. (J em Hz)	$\delta_C$	$\delta_H$ ; mult. (J em Hz)	$\delta_C$	<sup>LD</sup> J <sub>H,C</sub>	$\delta_H$ ; mult. (J em Hz)	$\delta_C$
1	1,12, m	37,3	3, 9	-	37,2	1,12, m	37,3	3, 9	-	37,2
2	1,52, m	31,7	4, 10	-	31,6	1,52, m	31,7	4, 10	-	31,6
3	3,52, m	71,8	-	3,52, m	71,8	3,52, m	71,8	-	3,52, m	71,8
4	2,29, m	42,2	2,3,5,6	-	42,3	2,29, m	42,2	2,3,5,6	-	42,3
5	-	140,7	-	-	140,7	-	140,7	-	-	140,7
6	5,35, m	121,7	4, 8, 10	5,35, m	121,7	5,35, m	121,7	4, 8, 10	5,35, m	121,7
7	2,02, m	31,9	9	-	31,9	2,02, m	31,9	9	-	31,9
8	-	31,9	-	-	31,9	-	31,9	-	-	31,9
9	1,02, m	50,1	-	-	50,1	1,02, m	50,1	-	-	50,1
10	-	36,5	-	-	36,5	-	36,5	-	-	36,5
11	1,47, m	21,2	7	-	21,1	1,47, m	21,2	7	-	21,1
12	1,20, m	39,8	13, 29	-	39,8	1,20, m	39,7	13, 29	-	39,7
13	-	42,3	-	-	42,3	-	42,3	-	-	42,2
14	1,10, m	56,8	9, 12	-	56,8	1,10, m	56,8	9, 12	-	56,8
15	1,59, m	24,3	-	-	24,3	1,59, m	24,3	-	-	24,4
16	1,68, m	28,2	-	-	28,2	1,68, m	28,9	-	-	28,9
17	1,02, m	56,1	14,20,22	-	56,0	1,02, m	56,0	14,20,22	-	55,9
18	0,68, s	11,8	1,9,10	0,68, s	11,9	0,70, s	12,0	1,9,10	0,69, s	12,0
19	1,02, s	19,4	12,14	1,01, s	19,4	1,02, s	19,4	12,14	1,01, s	19,4
20	1,18, m	36,1	-	-	36,1	2,26, m	40,5	-	-	40,5
21	0,92, d (6,1)	18,9	-	0,92, d (6,5)	18,8	1,02, d (6,1)	21,2	-	1,02, d (6,5)	21,2
22	1,35, m	33,9	24, 23	-	33,9	5,16, dd (15,3; 8,8)	138,3	21, 23	5,15, dd (15,0; 9,0)	138,3
23	1,18, m	26,1	22	-	26,0	5,02, dd (15,3; 8,8)	129,3	17, 20, 22	5,02, dd (15,0; 9,0)	129,2
24	0,92, m	45,8	22	-	45,8	0,92, m	51,2	22	-	51,2
25	1,28, m	29,2	-	-	29,1	1,28, m	31,9	-	-	31,9
26	0,84, d (6,4)	19,8	25, 27	0,83, d (6,5)	19,8	0,84, d (6,4)	21,1	25, 27	0,84, d (6,5)	21,1
27	0,83, d (6,4)	19,0	24, 25, 26	0,81, d (6,5)	19,0	0,83, d (6,4)	19,0	24, 25, 26	0,79, d (6,5)	19,0
28	1,01, m	23,1	-	-	23,0	1,01, m	25,4	-	-	25,4
29	0,85, t (6,9)	12,0	-	0,84, t (7,5)	12,0	0,82, t (6,9)	12,2	-	0,80, t (7,5)	12,3

FIGURA 86 - ESPECTRO DE RMN DE  $^1\text{H}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) DAS SUBSTÂNCIAS SH13 + SH14.

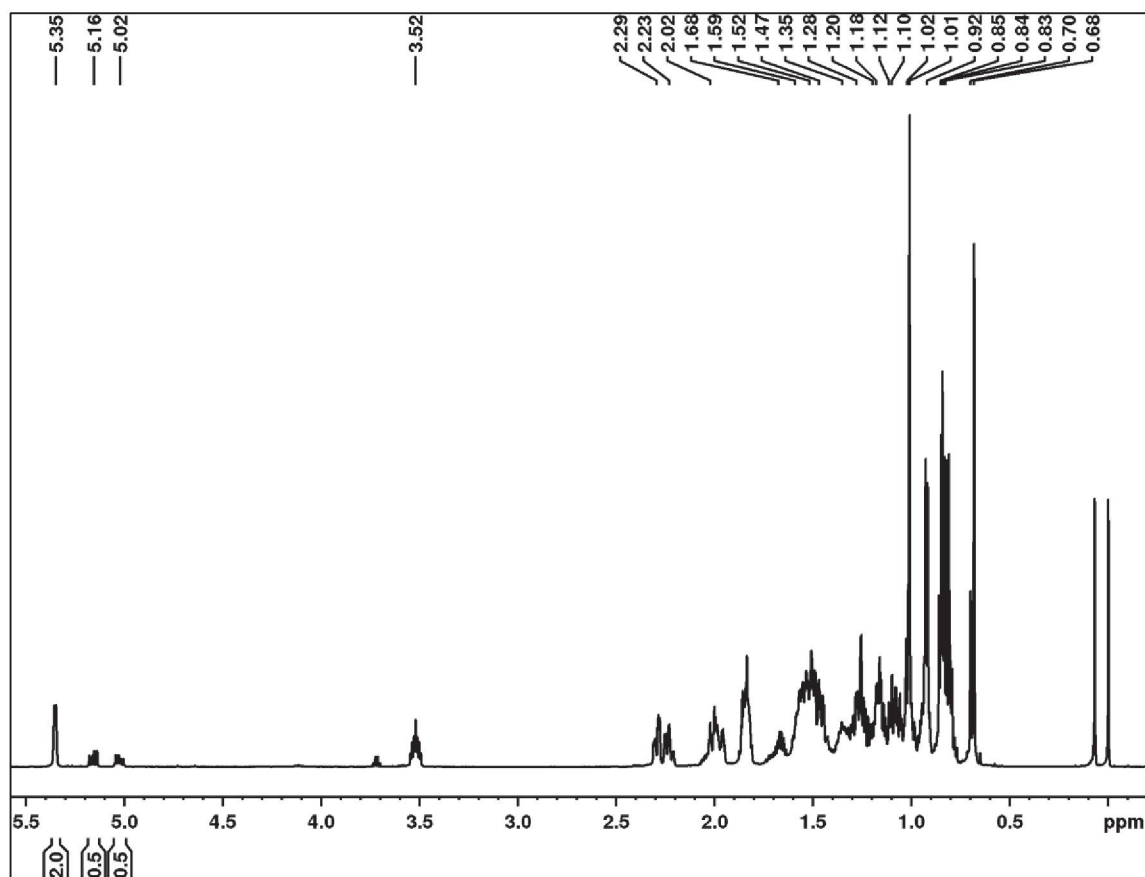
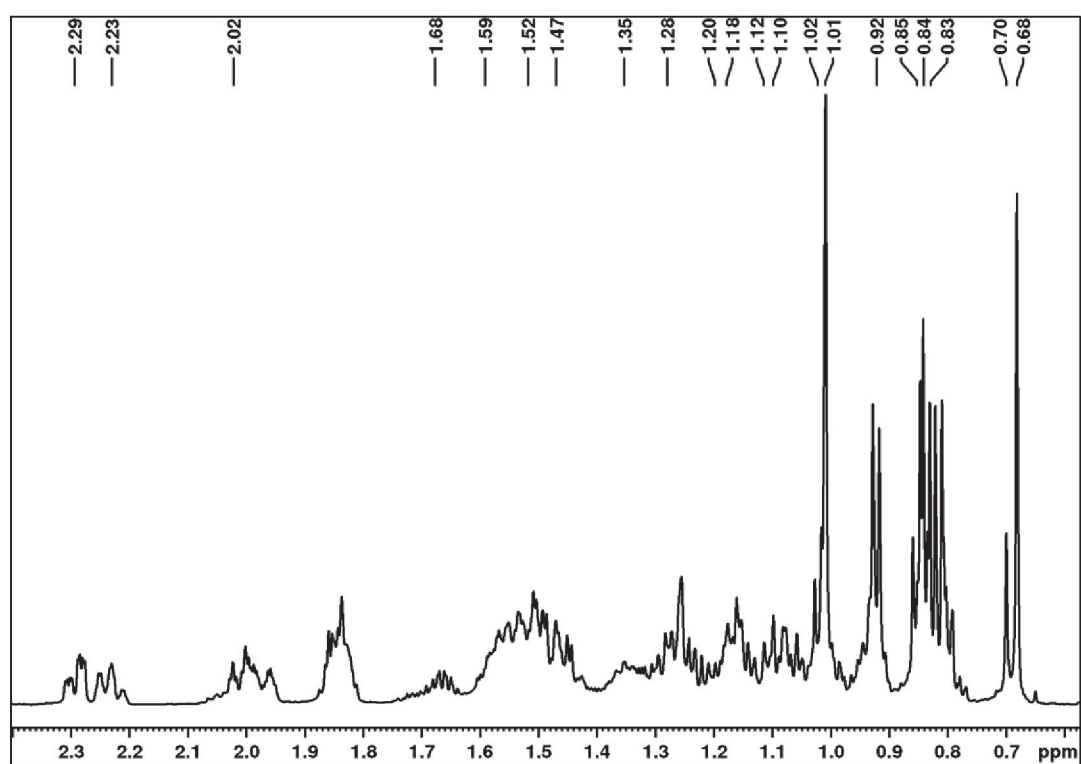
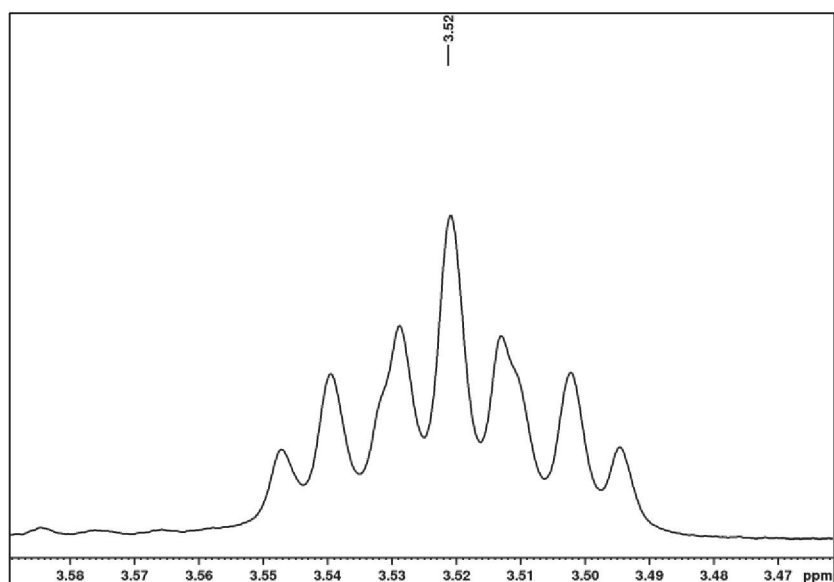


FIGURA 87 - EXPANSÃO ENTRE  $\delta_{\text{H}}$  2,40 E 0,50 DO ESPECTRO DE RMN DE  $^1\text{H}$  DAS SUBSTÂNCIAS SH13 + SH14 (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



**FIGURA 88** - EXPANSÃO ENTRE  $\delta_H$  3,50 E 3,60 DO ESPECTRO DE RMN DE  $^1H$  DAS SUBSTÂNCIAS **SH13** + **SH14** (600 MHz,  $CDCl_3$ ).



**FIGURA 89** - EXPANSÃO ENTRE  $\delta_H$  5,00 E 5,40 DO ESPECTRO DE RMN DE  $^1H$  DAS SUBSTÂNCIAS **SH13** + **SH14** (600 MHz,  $CDCl_3$ ).

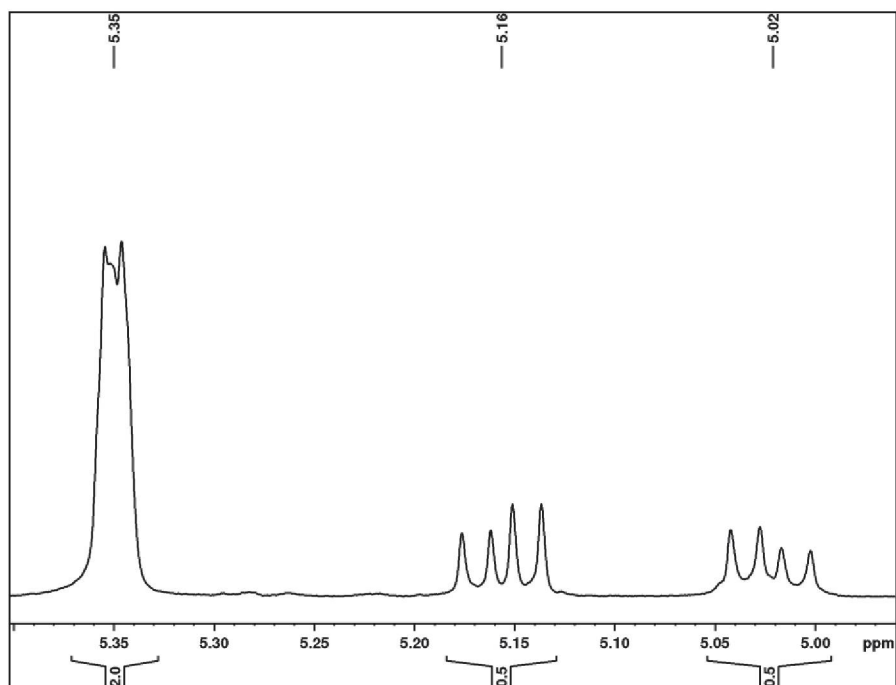


FIGURA 90 - ESPECTRO DE  $^{13}\text{C} \{^1\text{H}\}$  DAS SUBSTÂNCIAS SH13 + SH14 (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

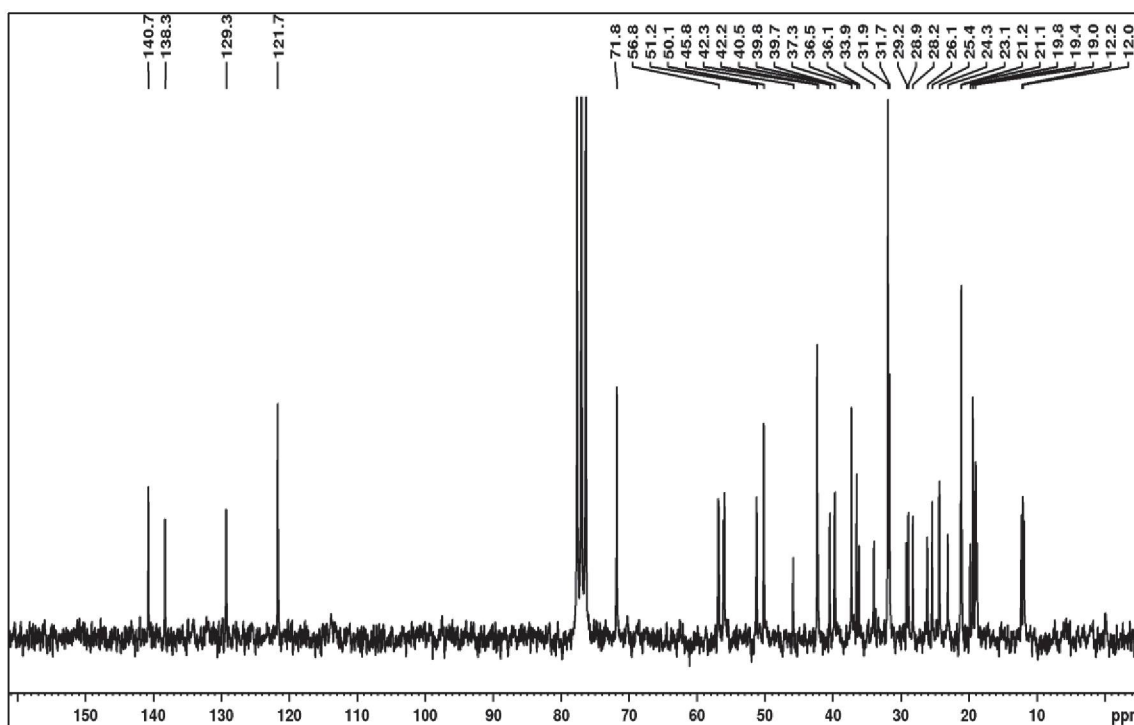
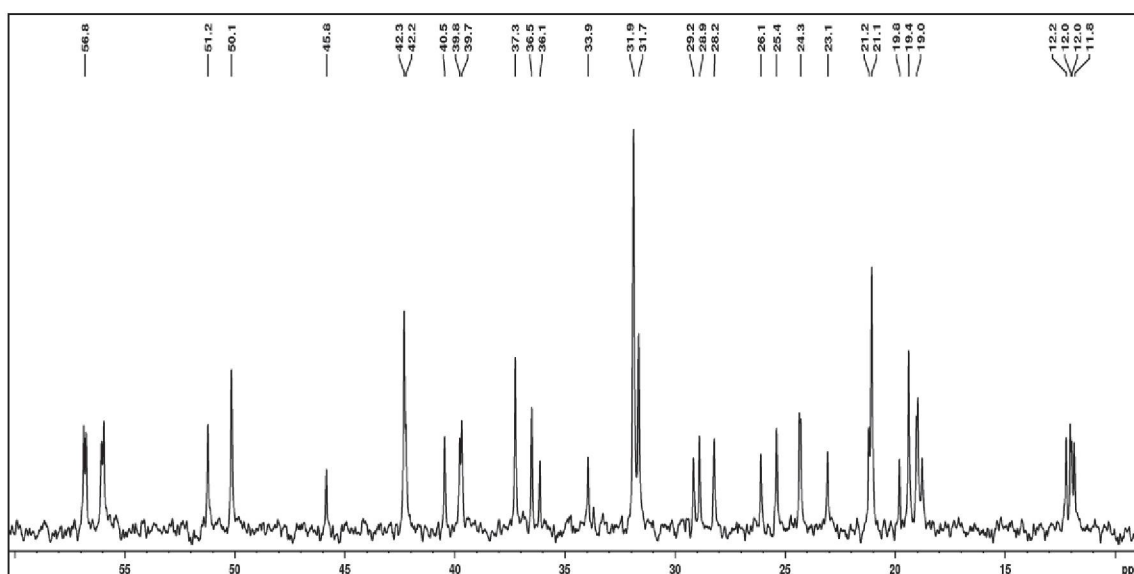
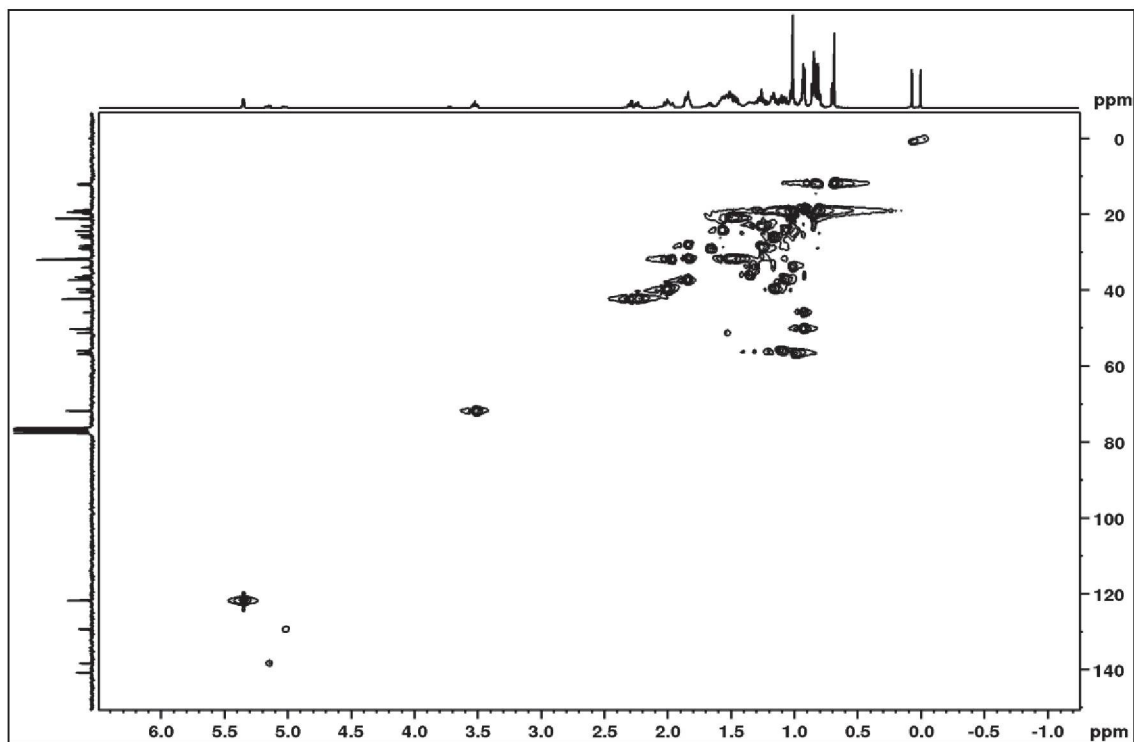


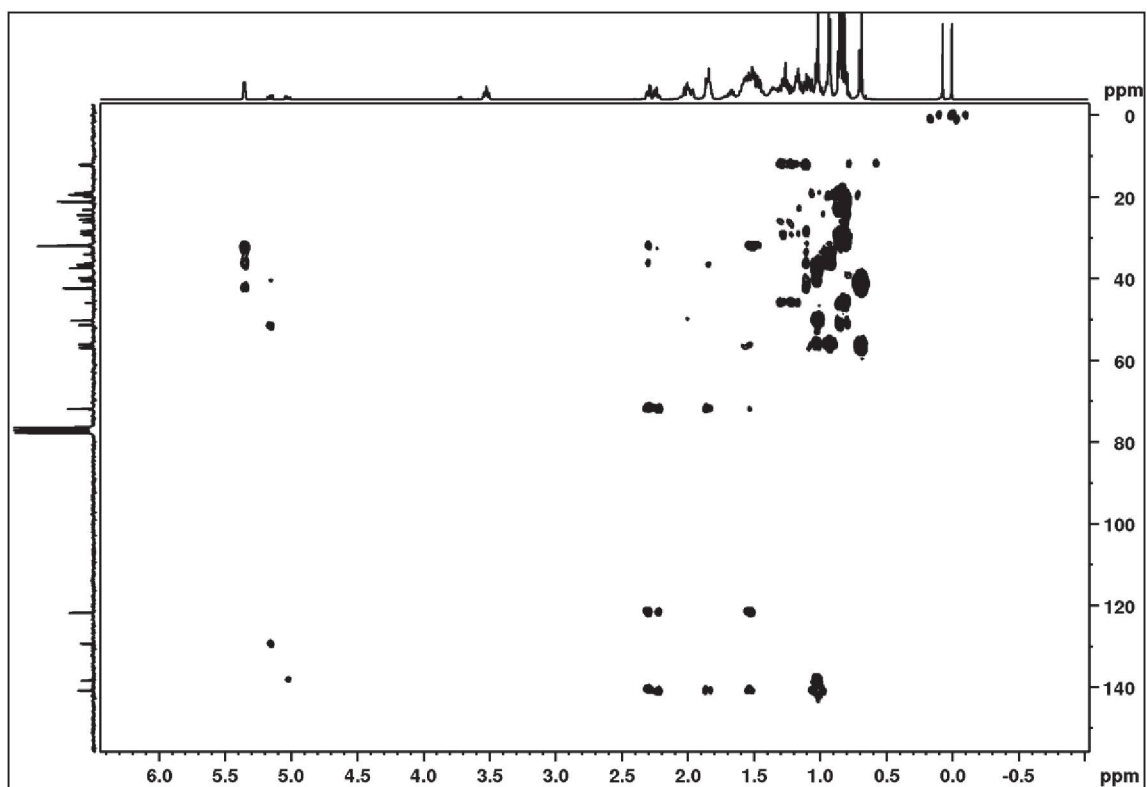
FIGURA 91 - EXPANSÃO ENTRE  $\delta_{\text{C}}$  60 E 10 DO ESPECTRO DE RMN DE  $^{13}\text{C}$  DAS SUBSTÂNCIAS SH13 + SH14 (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



**FIGURA 92** - MAPA DE CORRELAÇÃO  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  A UMA LIGAÇÃO DAS SUBSTÂNCIAS SH13 + SH14 (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



**FIGURA 93** - MAPA DE CORRELAÇÃO  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  A LONGA DISTÂNCIA DAS SUBSTÂNCIAS SH13 + SH14 (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



## 5.2 SUBSTÂNCIAS ISOLADAS DE *S. gerdiana*.

As partes aéreas de *S. gerdiana* forneceram sete substâncias após o fracionamento cromatográfico de vários extratos. Destas substâncias, três foram também isoladas de *S. hatschbachii*: o glicosídeo fenólico conandrosídeo (**SH9**), e os esteroides sitosterol (**SH13**) e estigmasterol (**SH14**). Aqui serão apresentadas as demais substâncias, que são um glicosídeo fenólico (**SG1**), e três etilcicloexanóides (**SG2-SG4**).

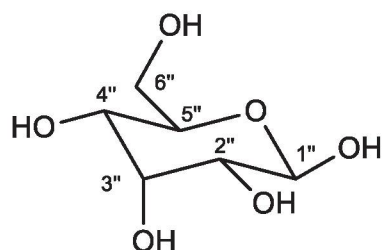
### 5.2.1 GLICOSÍDEO FENÓLICO

#### 5.2.1.1 IDENTIFICAÇÃO DE SG1

A substância **SG1** foi isolada como um sólido amarelado, e seu espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (FIGURAS 96-99; p. 130-131) mostrou vários sinais de hidrogênios oximetínicos e oximetilênicos em um padrão típico de açúcares. Também foram observados sinais de hidrogênios aromáticos e olefínicos, compatíveis com a presença dos grupos cafeoila e 3,4-diidroxifeniletóxila. Alguns sinais estavam duplicados, indicando uma mistura. A comparação dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  de **SG1** e **SH9** mostrou que esta última substância estava presente como o constituinte minoritário da mistura. Desconsiderando-se os sinais de **SH9**, foram confirmados no espectro de RMN de  $^1\text{H}$  e nos mapas de correlação HSQC e HMBC os sinais dos grupos cafeoila e 3,4-diidroxifeniletóxila, que já foram discutidos detalhadamente no tópico **5.1.3.1** (p. 95), além de uma unidade de uma glucopiranosose ( $\delta_{\text{H}}$  4,72, *d*,  $J = 7,9$  Hz;  $\delta_{\text{C}}$  102,4). No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  foi observado um tripleto em  $\delta_{\text{H}}$  5,63 ( $J = 2,6$  Hz), que correlacionava no HSQC (FIGURA 100; p. 132) com o carbono em  $\delta_{\text{C}}$  74,9, e no HMBC (FIGURA 101; p. 132) mostrava correlações com os carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  169,1 (C-9'), 102,3 (C-1''), 71,0 (C-2'') e 68,0 (C-4''). Portanto, esse sinal deve ser de H-3'', estando o grupo cafeoila ligado a C-3''. As constantes de acoplamento de H-3 indicam uma relação equatorial-axial com H-2'' e H-4'', ao invés de axial-axial como ocorre na  $\beta$ -glucose. Pode-se

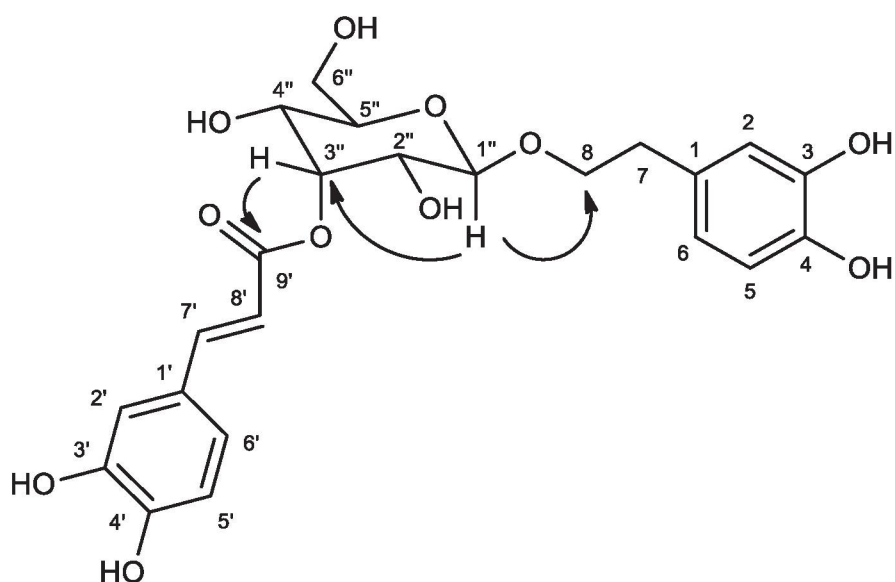
concluir que a unidade açúcar é uma  $\beta$ -alopiranoose (FIGURA 94) (JENSEN, 1996).

**FIGURA 94** - ESTRUTURA DO AÇÚCAR  $\beta$ -ALLOPIRANOSE



A posição do grupo 3,4-diidroxifeniletila foi determinada pela correlação entre H-8 ( $\delta_H$  4,04 e 3,72) e o carbono em  $\delta_C$  102,3 (C-1'') no mapa de correlação HMBC. Também foi observado neste mapa de correlação que H-1'' ( $\delta_H$  4,72) correlacionava-se com os carbonos  $\delta_C$  72,3 (C-8) e 74,9 (C-3''). Essas e as demais correlações (TABELA 30; p. 129) estavam de acordo com os dados de RMN da substância conhecida como sanangosídeo (FIGURA 95) (JENSEN, 1996). Essa substância foi isolada pela primeira vez das folhas de *Sanango racemosum* (Gesneriaceae) (JENSEN, 1996).

**FIGURA 95** - ESTRUTURA E AS PRINCIPAIS CORRELAÇÕES NO HMBC DA SUBSTÂNCIA SG1

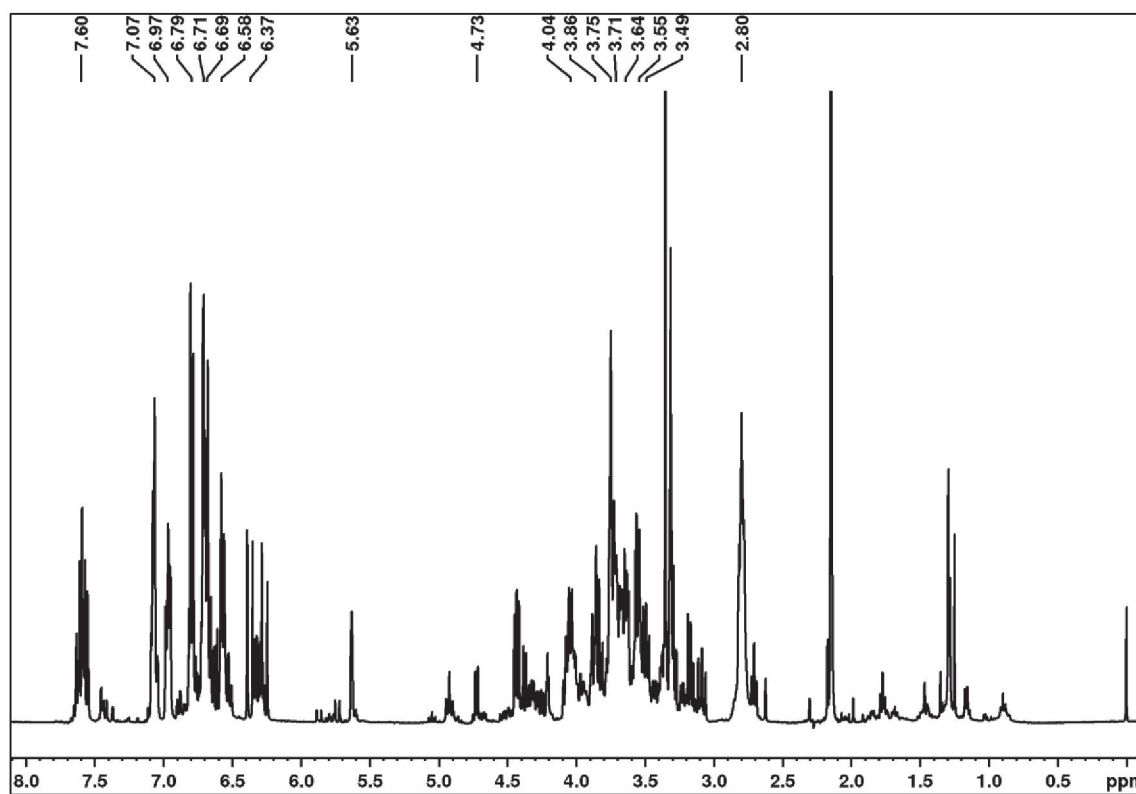
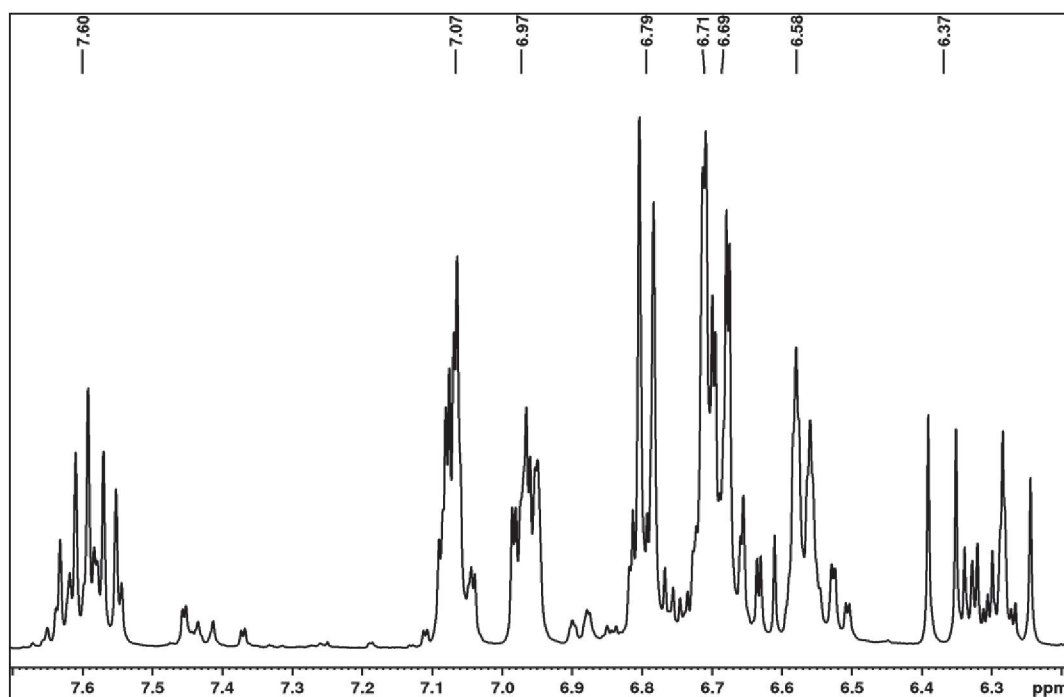




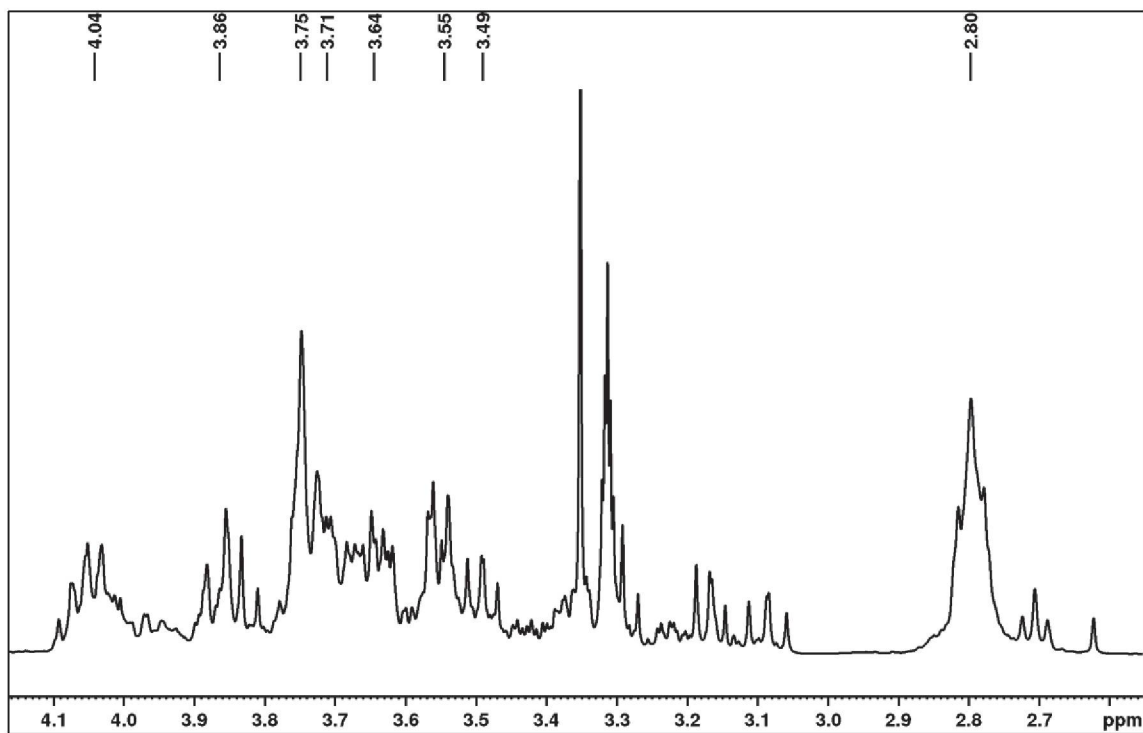
**TABELA 30** - DADOS DE RMN DE **SG1** (MeOD, 400 MHz), EM COMPARAÇÃO COM OS DADOS DA LITERATURA DE SANANGOSÍDEO (MeOD, 500 MHz) (JENSEN, 1996).

Posição	SG1			Sanangosídeo	
	$\delta_{\text{H}}$ , mult. (J em Hz)	$\delta_{\text{C}}$	$^{\text{LD}}J_{\text{H,C}}$	$\delta_{\text{H}}$ , mult. (J em Hz)	$\delta_{\text{C}}$
1	-	131,7	-	-	131,7
2	6,71, <i>d</i> (1,8)	117,0	4, 6, 7	6,71, <i>d</i> (2,0)	117,1
3	-	146,0	-	-	146,1
4	-	144,6	-	-	144,6
5	6,68, <i>d</i> (8,0)	116,6	1, 3	6,68, <i>d</i> (8,0)	116,3
6	6,57, <i>dd</i> (8,0; 1,8)	121,4	2, 4	6,57, <i>dd</i> (8,0; 2,0)	121,3
7	2,80, <i>tl</i> (7,5)	36,6	1, 2, 6, 8	2,79, <i>tl</i> (7,5)	36,6
8	4,04 e 3,71, <i>m</i>	72,3	1, 1'', 7	4,06 e 3,67-3,77, <i>m</i>	71,9
1'	-	127,7	-	-	128,0
2'	7,07, <i>d</i> (2,0)	115,2	3', 6', 7'	7,07, <i>d</i> (2,0)	115,3
3'	-	146,9	-	-	146,7
4'	-	149,5	-	-	149,4
5'	6,78, <i>d</i> (8,2)	116,6	1', 3'	6,79, <i>d</i> (8,0)	116,6
6'	6,96, <i>dd</i> (8,2; 2,0)	123,0	2', 3'	6,97, <i>dd</i> (8,0; 2,0)	122,9
7'	7,59, <i>d</i> (15,9)	147,1	2', 6', 9'	7,58, <i>d</i> (16,0)	146,9
8'	6,37 <i>d</i> (15,9)	115,7	1', 9'	6,36, <i>d</i> (16,0)	115,7
9'	-	169,1	-	-	169,2
1''	4,73, <i>d</i> (7,9)	102,3	3'', 8	4,70, <i>d</i> (8,0)	102,2
2''	3,49, <i>m</i>	71,0	N.O.	3,54, <i>dd</i> (8,0; 3,0)	71,1
3''	5,63, <i>tl</i> (2,6)	74,9	9', 1'', 4'', 5''	5,62, <i>tl</i> (3,0)	74,9
4''	3,55, <i>m</i>	68,0	N.O.	3,67-3,77	67,8
5''	3,75, <i>m</i>	76,1	N.O.	3,67-3,77	76,2
6''	3,64-3,86, <i>m</i>	62,5	4'' e 5''	3,67-3,77	62,8

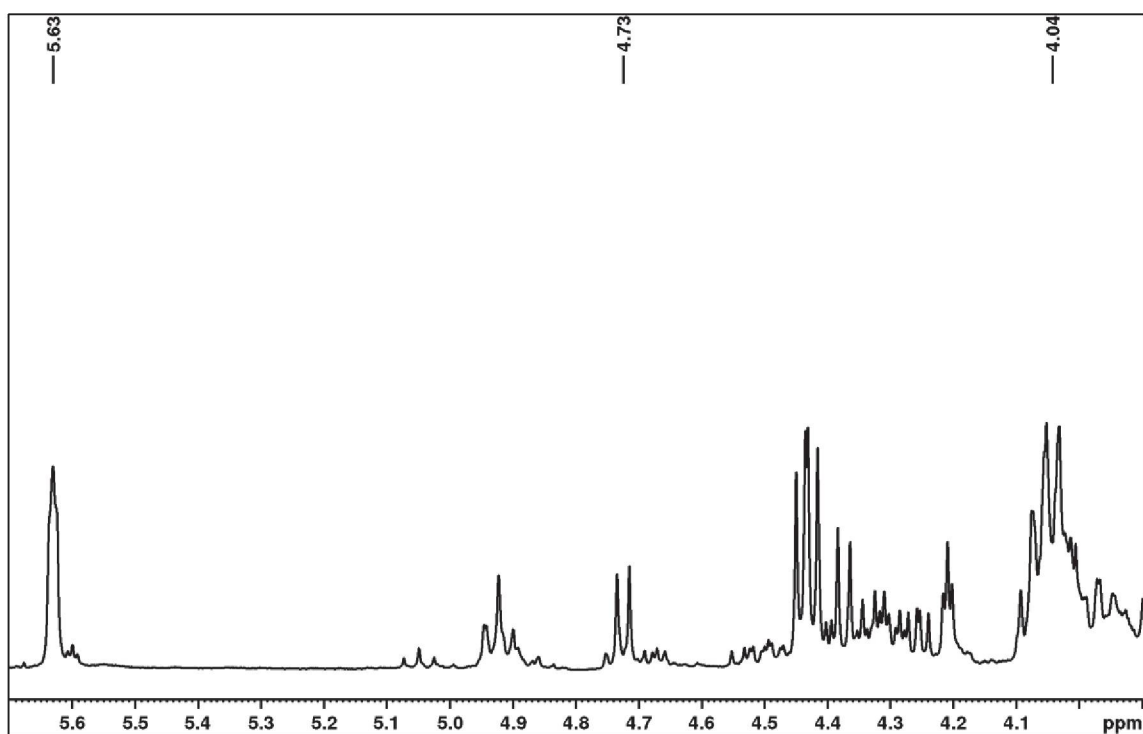
N.O.= Não observado

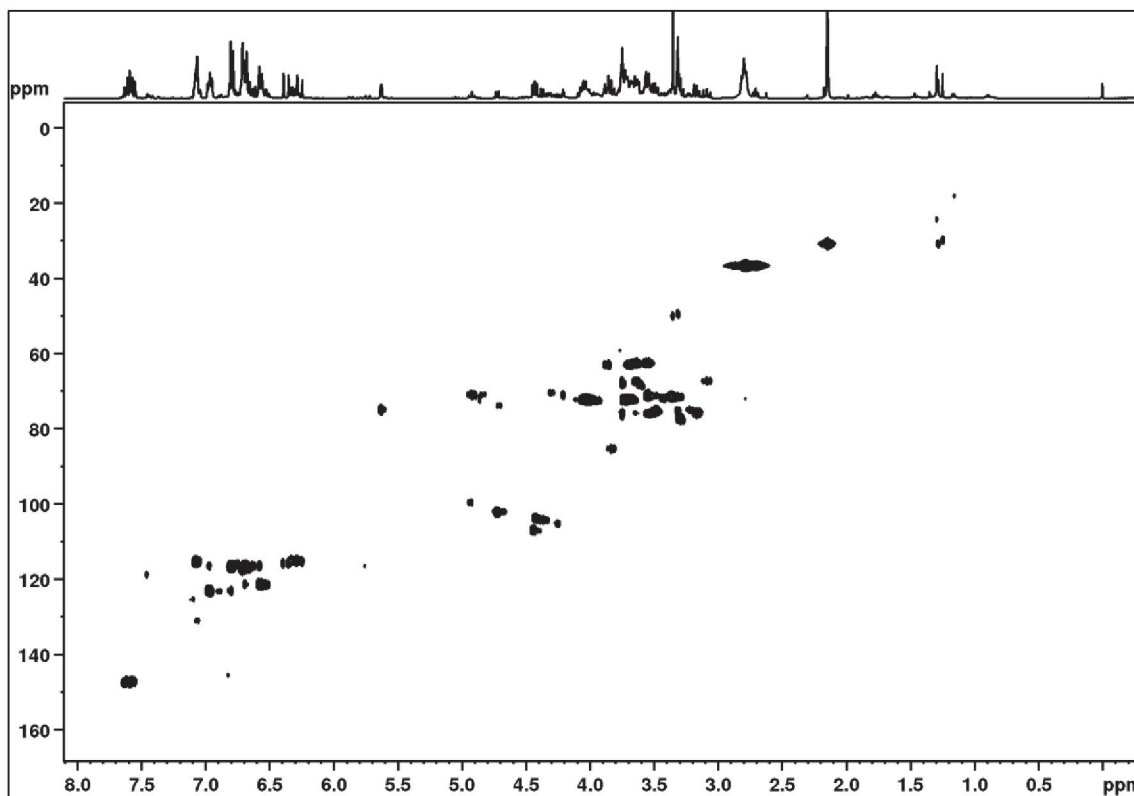
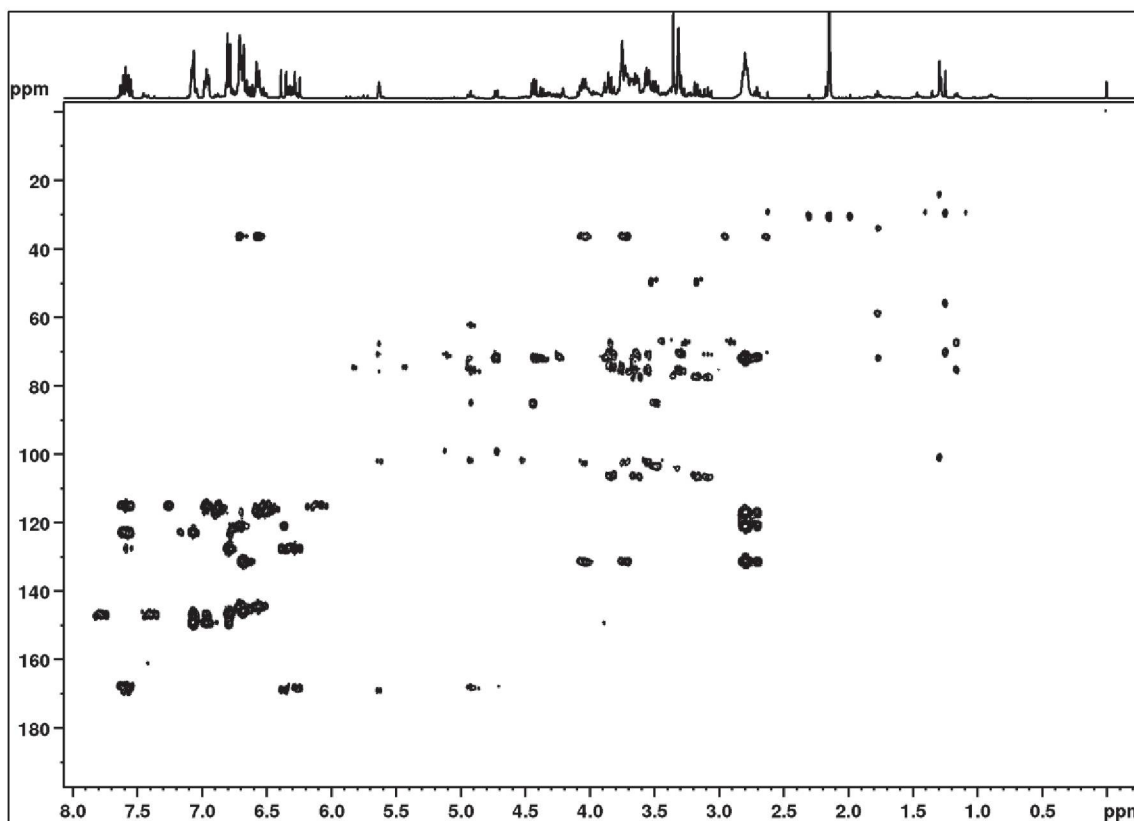
**FIGURA 96 - ESPECTRO DE RMN DE  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) DA SUBSTÂNCIA SG1****FIGURA 97 - EXPANSÃO ENTRE  $\delta_{\text{H}}$  6,20-7,7 DO ESPECTRO DE RMN DE  $^1\text{H}$  DE SG1 (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).**

**FIGURA 98** - EXPANSÃO ENTRE  $\delta_H$  2,5-4,2 DO ESPECTRO DE RMN DE  $^1H$  DE **SG1** (400 MHz,  $CDCl_3$ ).



**Figura 99** - EXPANSÃO ENTRE  $\delta_H$  4,1 – 5,8 DO ESPECTRO DE RMN DE  $^1H$  DE **SG1** (400 MHz,  $CDCl_3$ )



**FIGURA 100** - MAPA DE CORRELAÇÃO  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  A UMA LIGAÇÃO DE **SG1** (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).**FIGURA 101** - MAPA DE CORRELAÇÃO  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  A LONGA DISTÂNCIA DE **SG1** (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

## 5.2.2 ETILCICLOEXANÓIDES

As substâncias **SG2**, **SG3** e **SG4** apresentaram dados espectrais distintos das demais, estando ausentes sinais de hidrogênios aromáticos ou grupos metila. A substância **SG2** foi encontrada em várias frações e também em mistura com a **SG3** e **SG4**. As três substâncias são conhecidas, e pertencem à classe dos etilcicloexanóides.

### 5.2.2.1 IDENTIFICAÇÃO DE SG2

A substância **SG2** foi isolada como um óleo amarelado. O seu espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (FIGURA 103-106; p. 135-136) apresentou sinais de dois hidrogênios olefínicos em  $\delta_{\text{H}}$  6,02 (*d*,  $J = 10,2$  Hz) e  $\delta_{\text{H}}$  6,75 (*dd*,  $J = 10,2$  e 1,5 Hz). Também foram observados sinais característicos de quatro grupos metilênicos em  $\delta_{\text{H}}$  2,22-275, dois hidrogênios oximetilênicos em  $\delta_{\text{H}}$  3,97- 4,07, e um hidrogênio oximetínico em  $\delta_{\text{H}}$  4,24 (TABELA 31; p. 135).

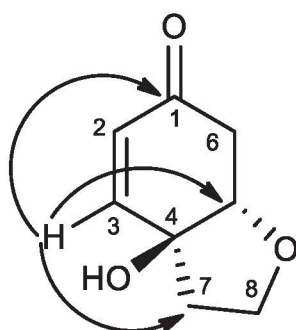
O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$   $\{^1\text{H}\}$  (FIGURA 107; p. 137) apresentou oito sinais, sendo um referente a uma carbonila de cetona  $\alpha,\beta$ -insaturada em  $\delta_{\text{C}}$  198,0 (C-1), dois carbonos olefinicos em  $\delta_{\text{C}}$  128,0 (C-2) e 149,2 (C-3), dois carbonos metilênicos em  $\delta_{\text{C}}$  39,2 (C-7) e 39,2 (C-6), e três carbonos oxigenados, sendo um oximetilênico em 66,2 (C-8), um oximetínico em  $\delta_{\text{C}}$  81,0 (C-5) e, um carbono quaternário em  $\delta_{\text{C}}$  74,6 (C-4) (TABELA 31; p. 135).

Nos mapas de correlação HSQC e HMBC (FIGURA 108-109; p. 137-138) foi observado que o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  6,75 (H-3) está ligado ao carbono em  $\delta_{\text{C}}$  149,2 (C-3) e, correlaciona-se com os carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  39,2 (C-7); 81,0(C-5) e 198,0 (C-1). Além disso, o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  6,02 está ligado ao carbono em  $\delta_{\text{C}}$  128,6 e está correlacionando-se no HMBC com os carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  39,2 (C-7) e 75,6 (C-4). De acordo com esses dados, e os que estão apresentados na TABELA 31 (p. 135), a substância **SG2** foi identificada como a cicloexenona halleridona ou rengiolona (FIGURA 102). Essa substância foi isolada pela primeira vez das folhas de *Halleria lucida* (Scrophulariaceae) (MESSANA et al., 1984) e também das partes aéreas de *Teucrium decipiens* (Lamiaceae) (BELLAKHDAR et al., 1988). Também foi isolada no gênero *Sinningia*, a partir de *S. aggregata* (VERDAN et al., 2015a), *S. allagophylla*

(SCHARF et al., 2016), *S. canescens* (VERDAN et al., 2014), *S. leucotricha* (VERDAN et al., 2017), e *S. warmingii* (WINIEWSKI et al., 2016).

A rotação específica desta molécula resultou em zero, portanto, podemos informar que a substância **SG2** encontra-se como um racemato. A configuração *cis*, na junção dos anéis, foi deduzida pelas constantes de acoplamento de H-3 e H-5. É conhecido (MESSANA et al., 1984) que quando a junção entre os dois anéis é *cis* ocorre um acoplamento em "W" entre os hidrogênios H-3 ( $\delta_H$  6,75) e H-5 ( $\delta_H$  4,24), resultando no desdobramento destes sinais. Esse efeito é muito claro no sinal de H-3, que surge como um duplo duplete, em contraste com o duplete de H-2 ( $\delta_H$  6,02). No isômero *trans* esse acoplamento a longa distância está ausente, e como consequência os sinais de H-2 e H-3 aparecem como dupletos (TIAN et al, 1997).

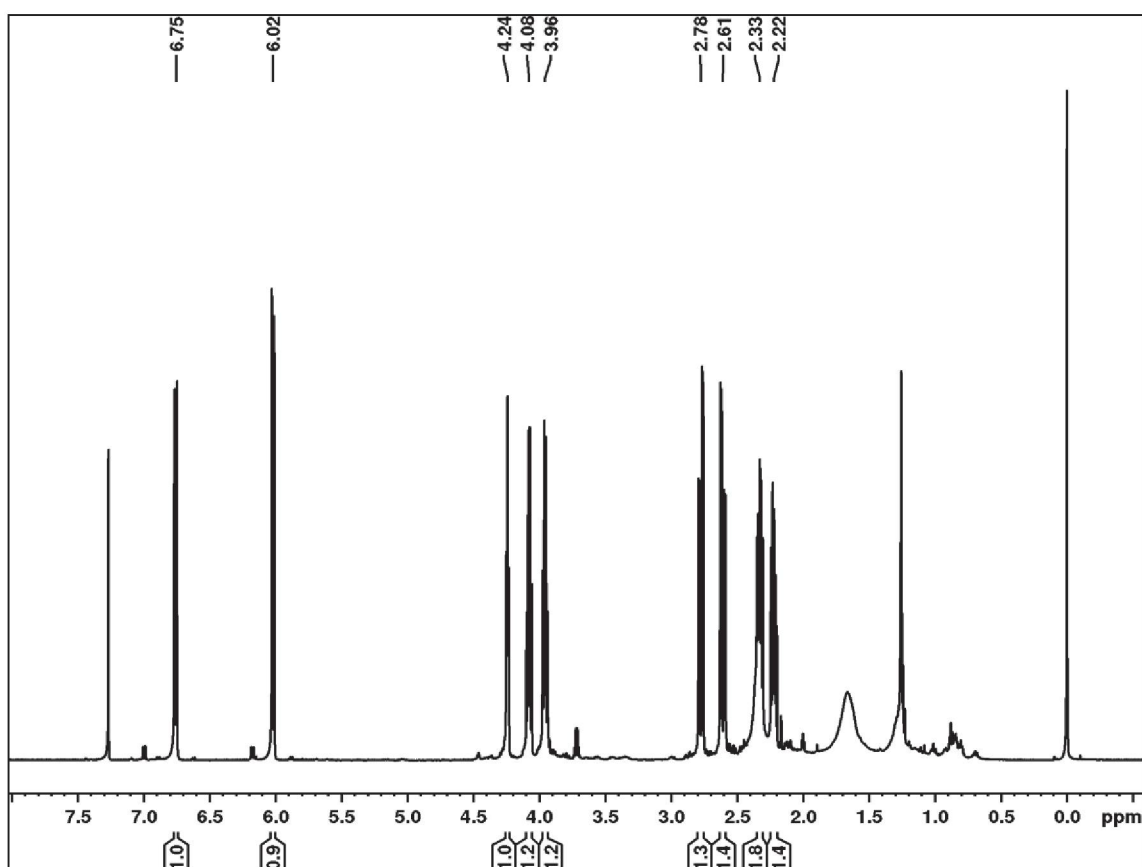
**FIGURA 102** - ESTRUTURA E PRINCIPAIS CORRELAÇÕES NO HMBC DA SUBSTÂNCIA **SG2**



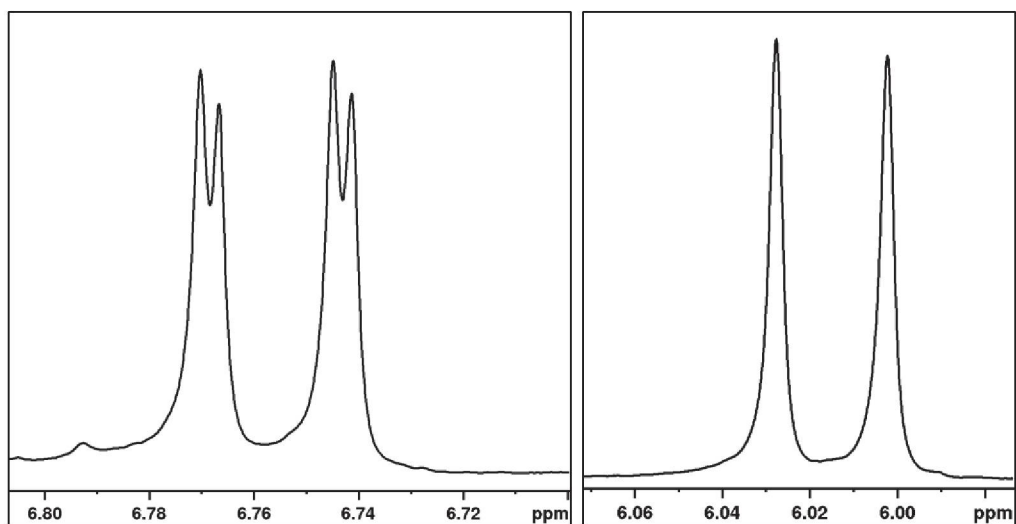
**TABELA 31** - DADOS DE RMN DE **SG2** ( $\text{CDCl}_3$ , 600 MHz), EM COMPARAÇÃO COM OS DADOS DA LITERATURA HALLERIDONA ( $\text{CDCl}_3$ , 250 MHz, MESSANA et al., 1984).

Posição	SG2			Halleridona	
	$\delta_{\text{H}}$ , mult. (J em Hz)	$\delta_{\text{C}}$	$^{\text{LD}}J_{\text{H,C}}$	$\delta_{\text{H}}$ , mult. (J em Hz)	$\delta_{\text{C}}$
1	-	198,0	-	-	197,7
2	6,02, <i>d</i> (10,2)	128,0	4, 6	6,02, <i>d</i> (10,0)	127,6
3	6,75, <i>dd</i> (10,2; 1,5)	149,2	1, 5, 7	6,86, <i>dd</i> (10,0; 2,0)	149,2
4	-	74,6	-	-	74,7
5	4,24, <i>t</i> (5,3)	81,0	1, 3, 4	4,28, <i>d</i> (1,5)	80,8
6ax	2,78, <i>dd</i> (16,9; 4,7)	39,2	1, 2, 4, 5	2,70, <i>m</i>	39,7
6eq	2,61, <i>dd</i> (16,9; 5,3)	39,2		2,70, <i>m</i>	39,7
7ax	2,33, <i>m</i>	39,8	1, 3, 4	2,39, <i>t</i> (7,0)	39,2
7eq	2,22, <i>m</i>	39,8		2,39, <i>t</i> (7,0)	39,2
8ax	4,08, <i>dd</i> (8,6; 6,4)	66,2	4, 5, 7	3,96, <i>t</i> (7,0)	65,9
8eq	3,96, <i>dd</i> (8,6; 6,4)	66,2		3,96, <i>t</i> (7,0)	65,9

**FIGURA 103** - ESPECTRO DE RMN DE  $^1\text{H}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) DA SUBSTÂNCIA **SG2**



**FIGURA 104** - EXPANSÃO ENTRE  $\delta_H$  6,7 - 6,8 E  $\delta_H$  6,02 - 5,9 DO ESPECTRO DE RMN DE  $^1H$  DA SUBSTÂNCIA **SG2** (600 MHz,  $CDCl_3$ ).



**FIGURA 105** - EXPANSÃO ENTRE  $\delta_H$  3,90 E 4,30 DO ESPECTRO DE RMN DE  $^1H$  DA SUBSTÂNCIA **SG2** (600 MHz,  $CDCl_3$ ).

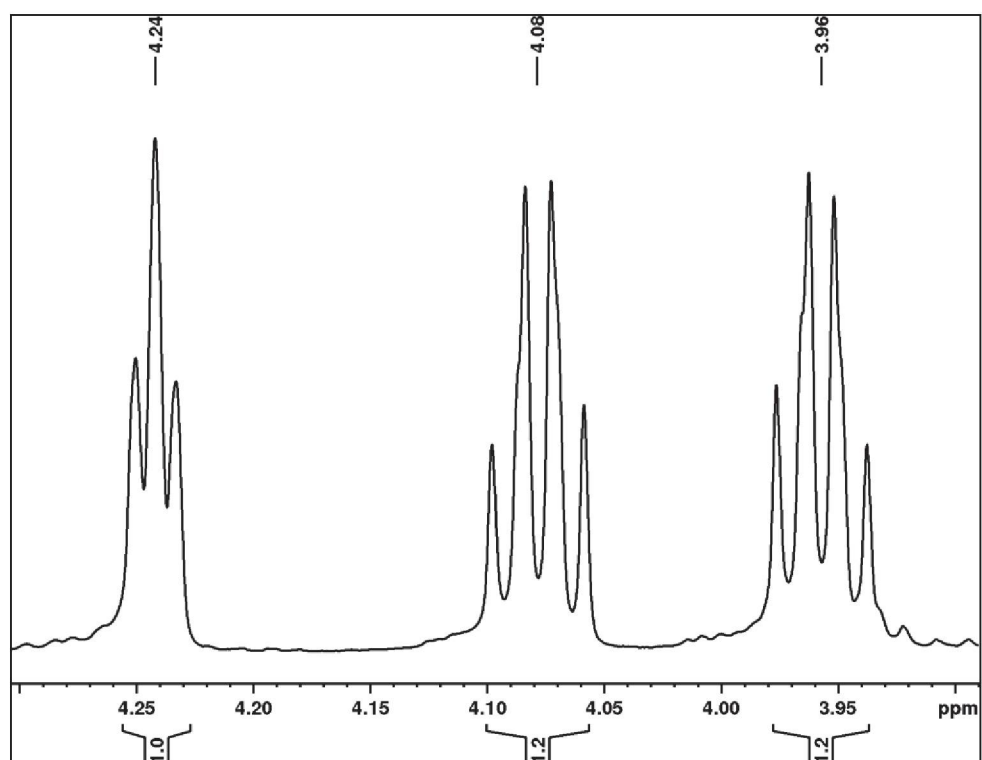




FIGURA 106 - EXPANSÃO ENTRE  $\delta_H$  2,20 E 2,90 DO ESPECTRO DE RMN DE  $^1H$  DA SUBSTÂNCIA SG2 (600 MHz,  $CDCl_3$ )

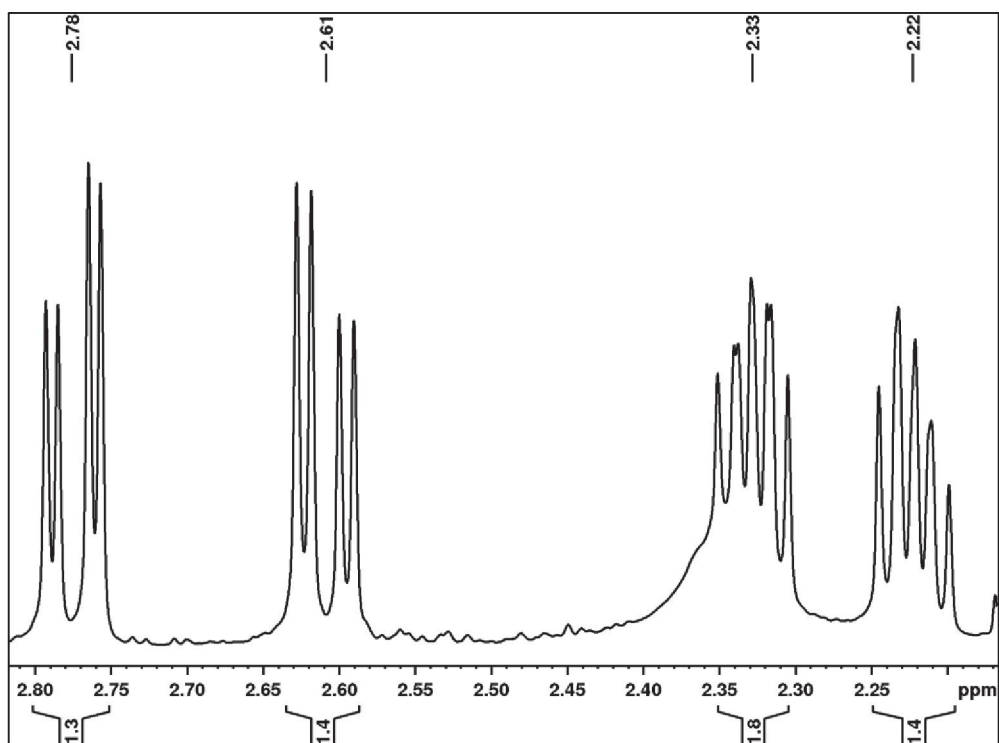
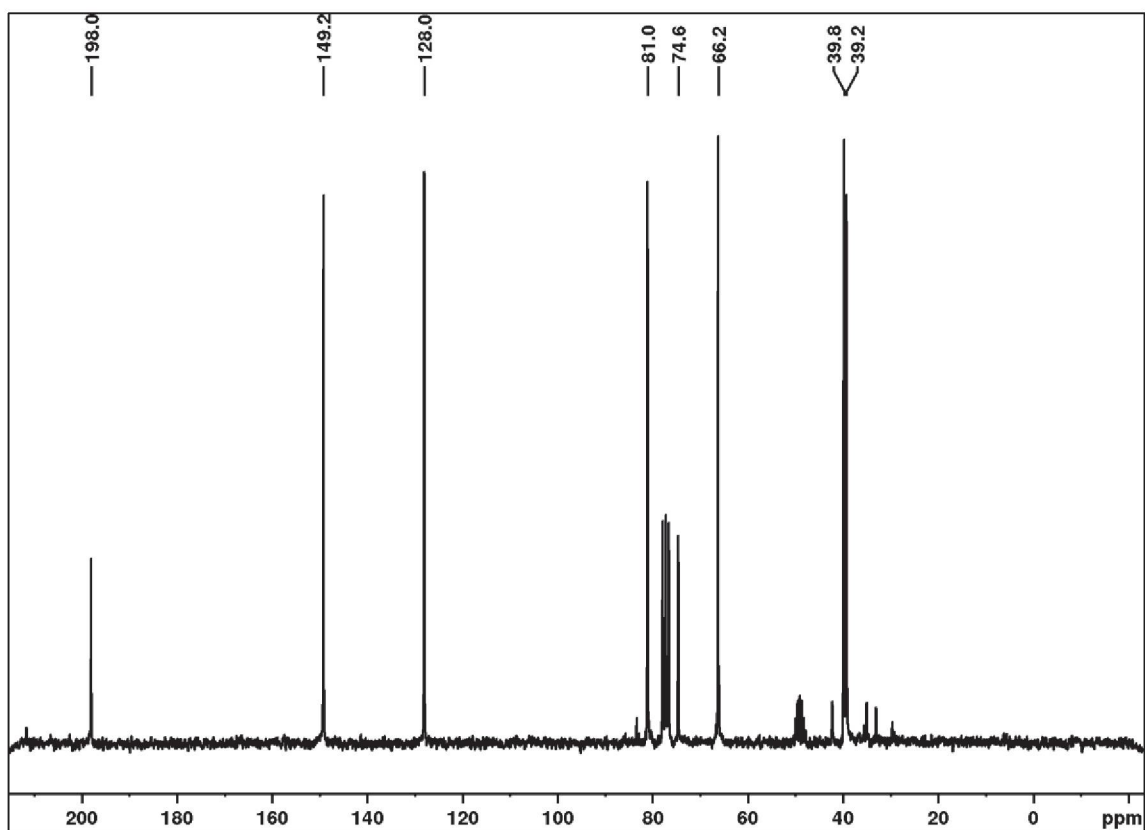
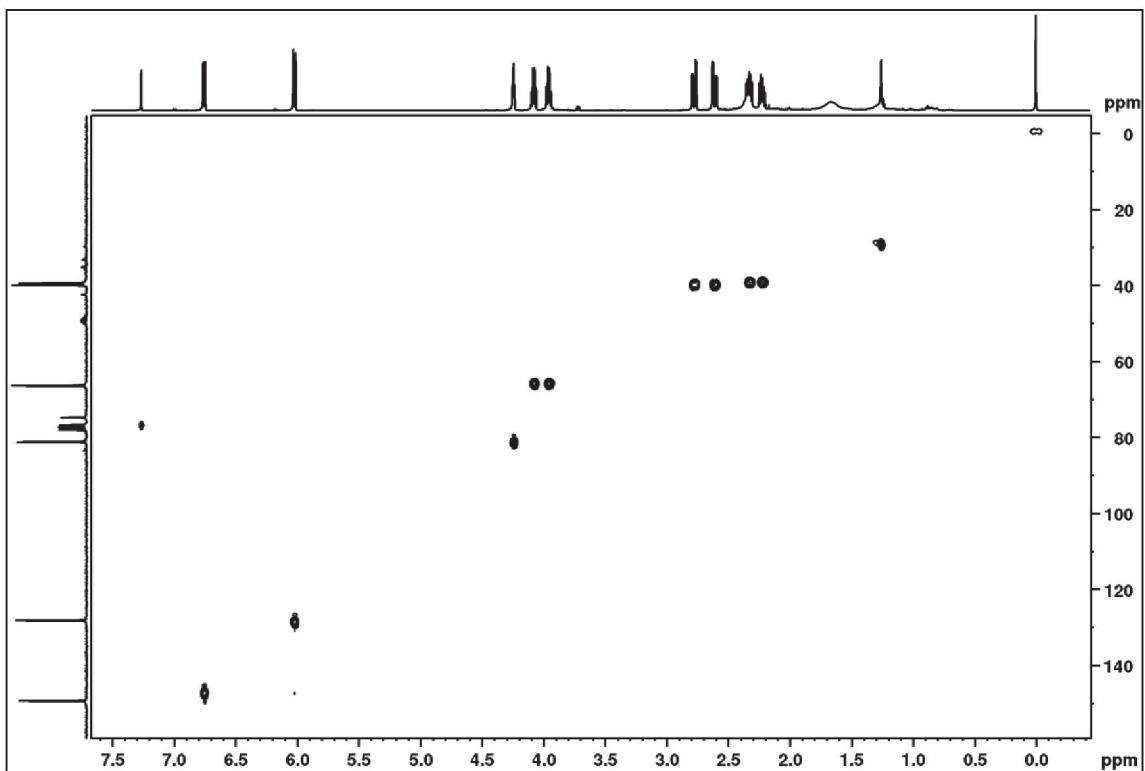


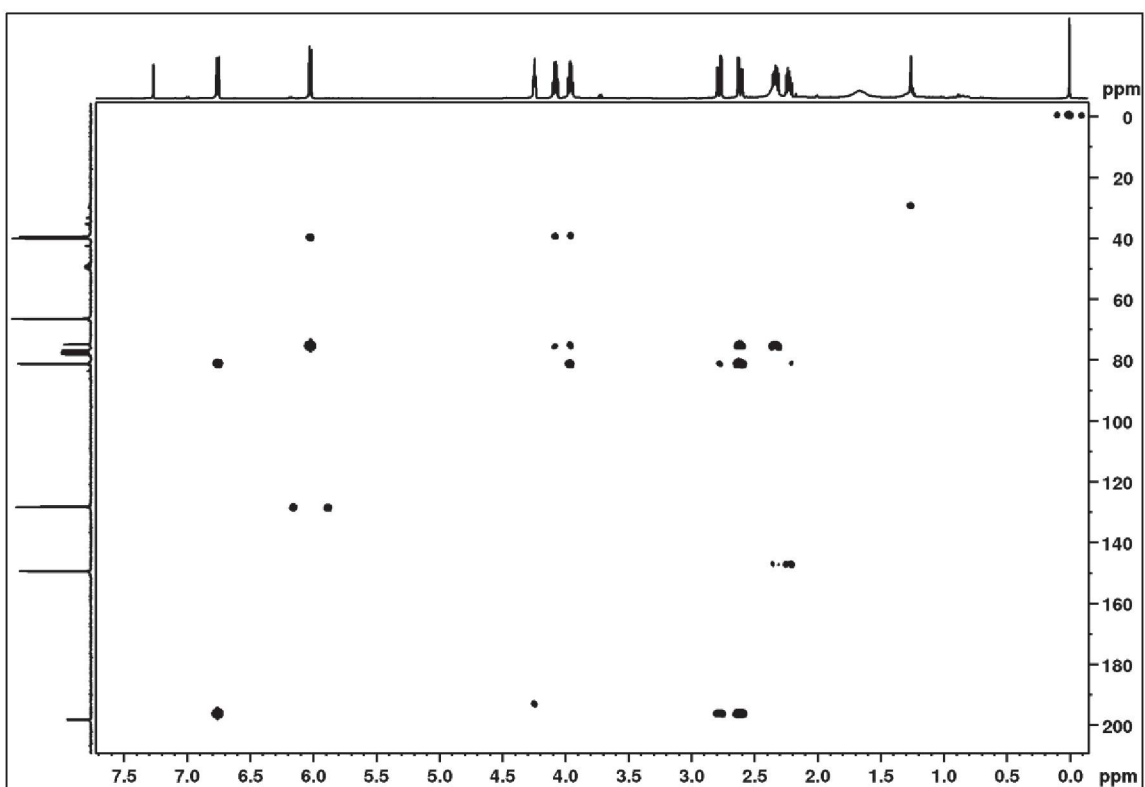
FIGURA 107 - ESPECTRO DE RMN DE  $^{13}C$  (600 MHz,  $CDCl_3$ ) DA SUBSTÂNCIA SG2



**FIGURA 108** - MAPA DE CORRELAÇÃO  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  A UMA LIGAÇÃO DA SUBSTÂNCIA **SG2** (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



**FIGURA 109** - MAPA DE CORRELAÇÃO  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  A LONGA DISTÂNCIA DA SUBSTÂNCIA **SG2** (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



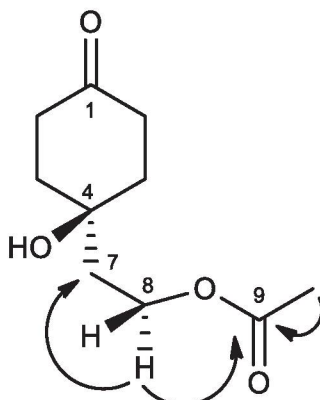
### 5.2.2.2 - IDENTIFICAÇÃO DE SG3 E SG4

As substâncias **SG3** e **SG4** foram isoladas em uma mistura que continha a substância **SG2** como majoritária. Em comparação com **SG2**, o espectro de RMN de  $^1\text{H}$  dessa mistura mostrou sinais adicionais na região de hidrogênios alifáticos (FIGURA 112-114; p. 140-141). Do mesmo modo, o espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (FIGURA 115-116; p. 141-142), mostrou vários picos minoritários ao lado dos picos de **SG2** (FIGURA 102, p. 132).

Entre os sinais menos intensos no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (FIGURA 115-116; p. 141-142) foi observado um sinal em  $\delta_{\text{C}}$  211,8 (C-1), que é típico de uma cetona saturada, sugerindo uma cicloexanona. Como nenhuma outra carbonila foi observada nesse espectro, é possível supor que este sinal pertença à segunda substância mais abundante na mistura, que foi codificada como **SG3**.

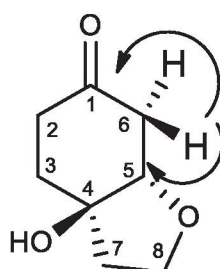
No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (FIGURAS 112-114; p.142-143) há uma grande sobreposição de sinais na região entre  $\delta_{\text{H}}$  2,3-4,20, mas destaca-se um tripleto em  $\delta_{\text{H}}$  4,31 (H-8) que, de acordo com o HSQC (FIGURA 117; p. 144), está ligado ao carbono em  $\delta_{\text{C}}$  60,8, e mostra no HMBC (FIGURA 118; p. 143) correlações com os carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  40,3 (C-7); 69,5 (C-4) e 171,0 (C-9), o qual deve ser uma carbonila de éster. Voltando ao espectro de RMN de  $^1\text{H}$ , observa-se um simpleto em  $\delta_{\text{H}}$  2,07 (H-10), que no HMBC correlaciona com o grupo carbonila de éster, confirmando um grupo acetato. Analisando-se as outras correlações (TABELA 32, p. 144), **SG3** foi identificada como Acetilcleroindicina B (FIGURA 110) (ABDULLAHI et al., 1986). Essa substância foi sintetizada a partir de cleroindicina B, uma etilcicloexanona conhecida (TIAN et al., 1997) e já identificada pelo nosso grupo em *Sinningia speciosa* (VERDAN et al., 2009), *S. leucotricha* (VERDAN et al., 2017), e *S. warmingii* (WINIEWSKI et al. 2017).

**FIGURA 110** - ESTRUTURA E PRINCIPAIS CORRELAÇÕES NO HMBC DA SUBSTÂNCIA **SG3**.



Além de **SG2** e **SG3**, o espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (FIGURAS 115-116; p. 143-144) mostrava a presença de uma terceira substância (**SG4**), responsável pelos picos em  $\delta_{\text{C}}$  33,5, 35,1, 40,6, 42,4, 66,0 e 83,5. Os deslocamentos químicos são compatíveis com quatro grupos metileno não equivalentes e dois carbonos oxigenados. Analisando-se os mapas de correlação direta e a longa distância  $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$  (FIGURA 118; p. 145) pode-se observar que os hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  2,54 e 2,70 (H-6) estão ligados ao carbono em  $\delta_{\text{C}}$  42,4 e, correlacionam-se a longa distância com os carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  82,5 (C-5) e 209,9 (C-1). Este último corresponde a uma carbonila de cetona saturada (TABELA 32; p. 140). Todos esses dados apontaram para uma substância com o mesmo esqueleto da halleridona, mas sem a ligação dupla. Essa substância é conhecida como cleroindicina C (FIGURA 111) (TIAN et al., 1997). E já foi identificado pelo nosso grupo em *Sinningia leucotrica* (VERDAN et al., 2017).

**FIGURA 111** - ESTRUTURA E PRINCIPAIS CORRELAÇÕES NO HMBC DA SUBSTÂNCIA **SG4**.

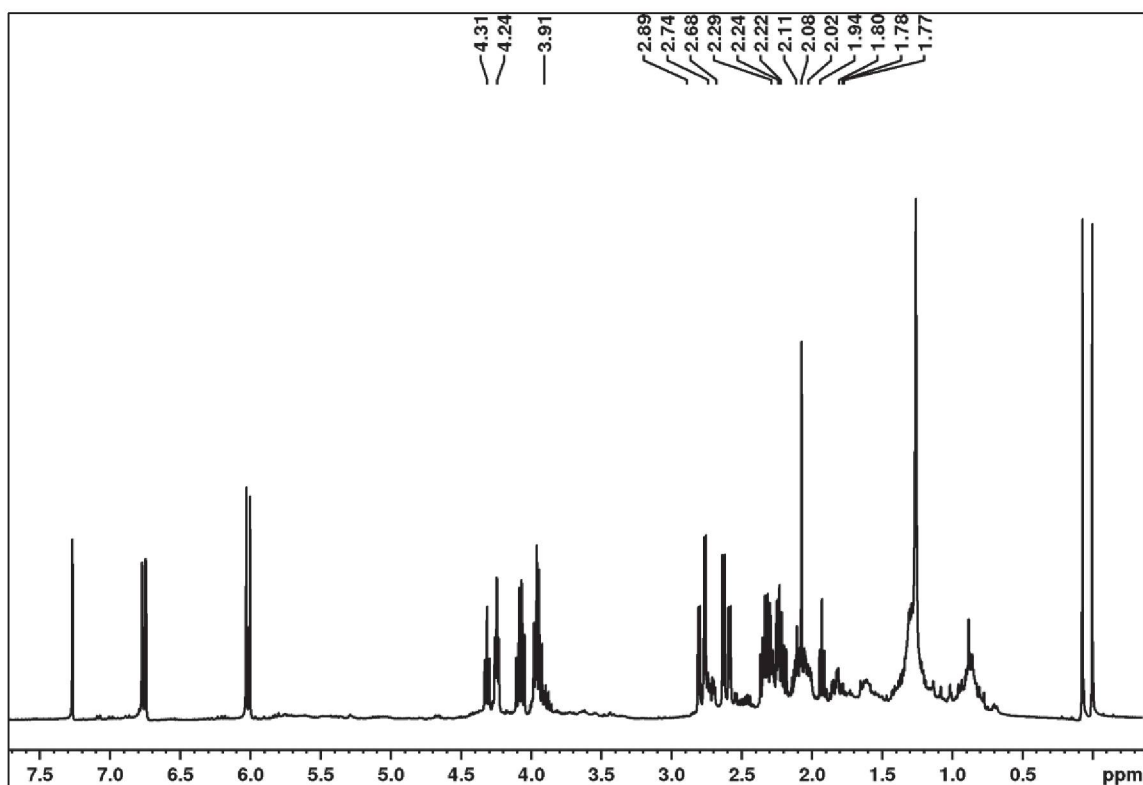


**TABELA 32** - DADOS DE RMN DE **SG3** E **SG4** (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz), EM COMPARAÇÃO COM OS DADOS DA LITERATURA PARA ACETILCLEROINDICINA B (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz, ABDULLAHI et al., 1986) E CLEROINDICINA C (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz, **SG4**, TIAN et al., 1997).

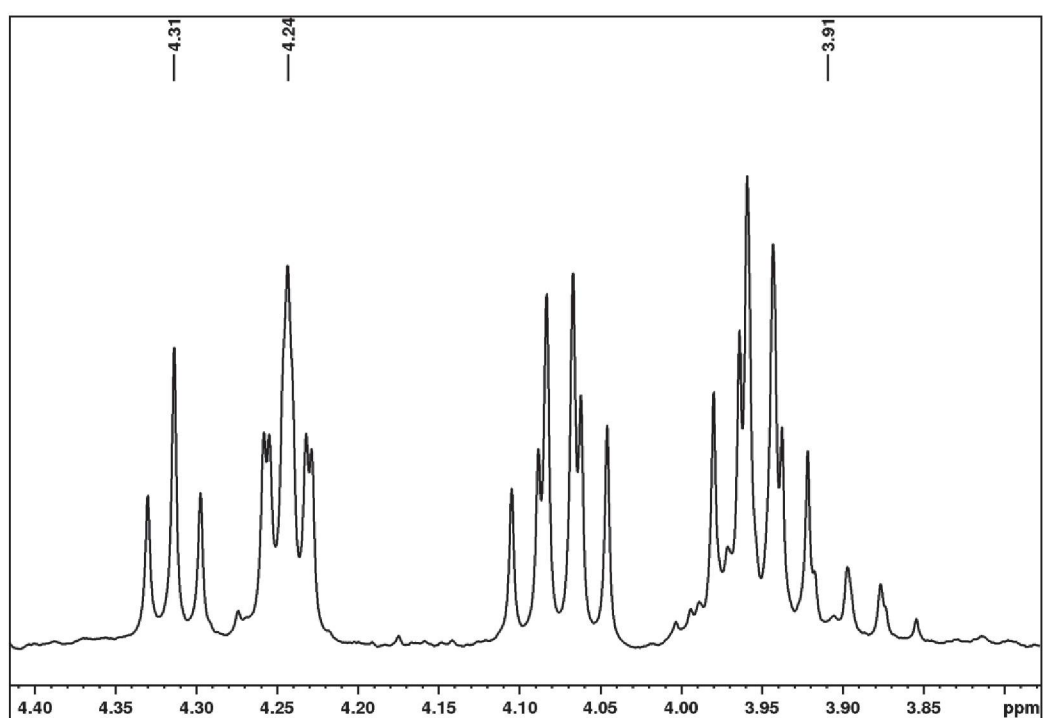
Pos.	SG3			Acetilcleroindicina B		SG4			Cleroindicina C	
	$\delta_H$ , mult. (J em Hz)	$\delta_C$	<sup>LD</sup> J <sub>H,C</sub>	$\delta_H$ , mult. (J em Hz)	$\delta_C$	$\delta_H$ , mult. (J em Hz)	$\delta_C$	<sup>LD</sup> J <sub>H,C</sub>	$\delta_H$ , mult. (J em Hz)	$\delta_C$
1	-	211,8	-	-	211,5	-	209,5	-	-	209,9
2	2,68 e 2,22, <i>m</i>	36,8	6	2,61 e 2,16, <i>ddd</i> (14,5)	36,7	2,29 e 1,77, <i>m</i> *	35,0	N.O.	2,32, <i>ddd</i> (15,8; 10,8; 3,6) e 1,63, <i>ddd</i> (11,6;6,2;3,4)	35,8
3	1,93 e 1,78, <i>m</i>	36,8	3,1	1,92 e 1,66, <i>ddd</i> (16,0; 14,5 e 5,0)	37,0	2,24 e 2,11, <i>m</i>	33,4	1	2,22 e 2,13, <i>m</i>	34,3
4	-	69,6	-	-	69,2	-	N.O.	-	-	76,9
5	1,93 e 1,78, <i>m</i>	36,8	3,1	1,92 e 1,66, <i>ddd</i> (16,0; 14,5 e 5,0)	37,0	4,24, <i>m</i> *	83,5	N.O.	4,25, <i>t</i> (4,2)	84,6
6	2,68 e 2,22, <i>m</i>	36,8	2	2,61 e 2,16, <i>ddd</i> (14,5)	36,7	2,89 e 2,74, <i>m</i> *	42,9	1,5	2,97 e 2,76, <i>dd</i> (15,7; 4,2)	43,1
7	1,80, <i>m</i>	40,3	8	1,78, <i>t</i> (8,0)	40,3	2,09 e 2,02, <i>m</i> *	40,4	4	2,07 e 2,02, <i>m</i>	40,9
8	4,31, <i>t</i> (6,6)	60,8	4,7,9	4,20, <i>t</i> (8,0)	60,6	3,91, <i>m</i>	66,0	4,5,7	3,91, <i>m</i>	66,3
9	-	171,1	-	-	170,7	-	-	-	-	-
10	2,07, <i>s</i>	21,1	9	1,92, <i>s</i>	20,9	-	-	-	-	-

N.O. não observado; \* sobreposição de sinais.

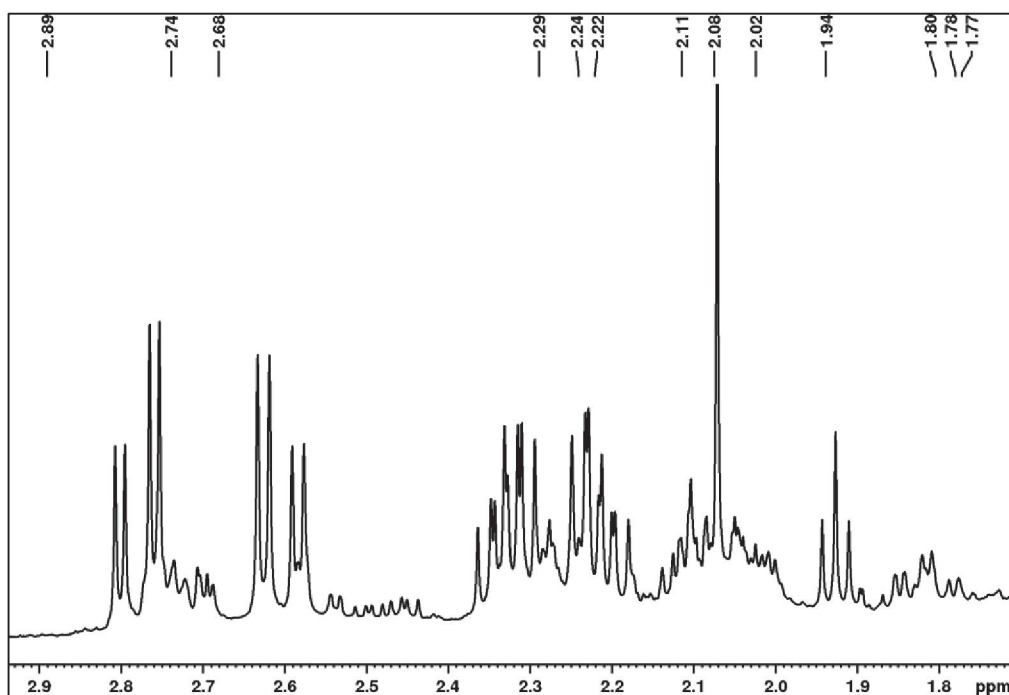
**FIGURA 112** - ESPECTRO DE RMN DE  $^1\text{H}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) DAS SUBSTÂNCIAS **SG2** + **SG3** + **SG4**.



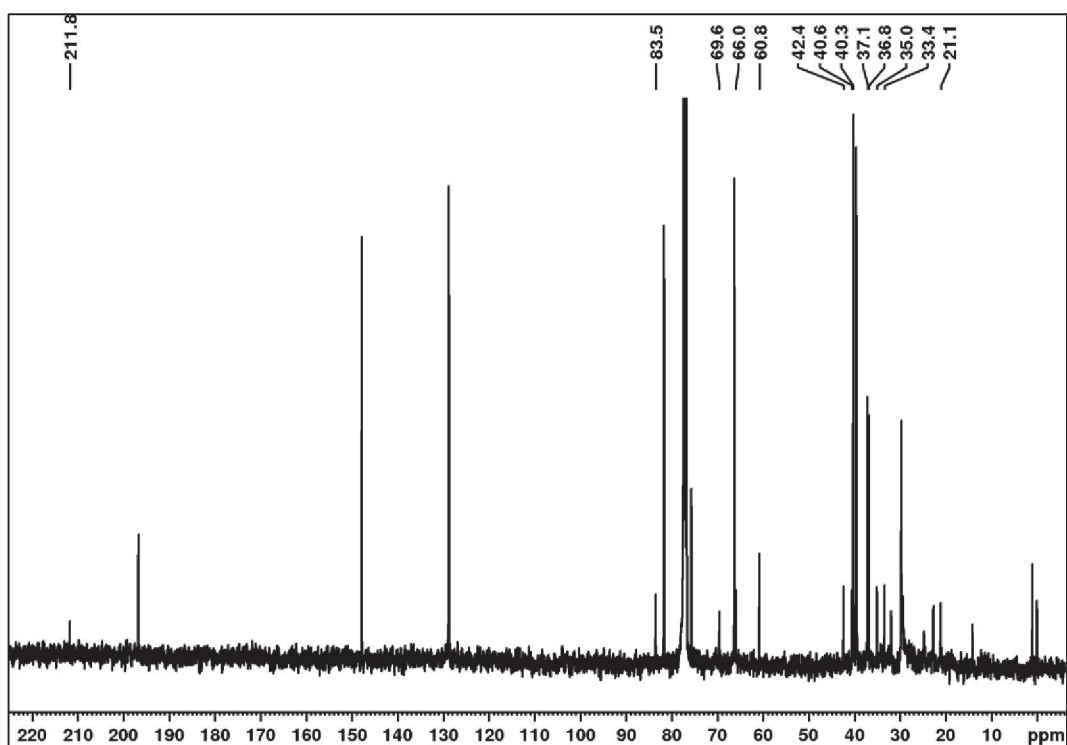
**FIGURA 113** - EXPANSÃO ENTRE  $\delta_{\text{H}}$  3,90 E 4,30 DO ESPECTRO DE RMN DE  $^1\text{H}$  DAS SUBSTÂNCIAS **SG2** + **SG3** + **SG4** (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ). OS PICOS ASSINALADOS SÃO DE **SG3** ( $\delta_{\text{H}}$  4,31); **SG4** ( $\delta_{\text{H}}$  4,24 E 3,91).



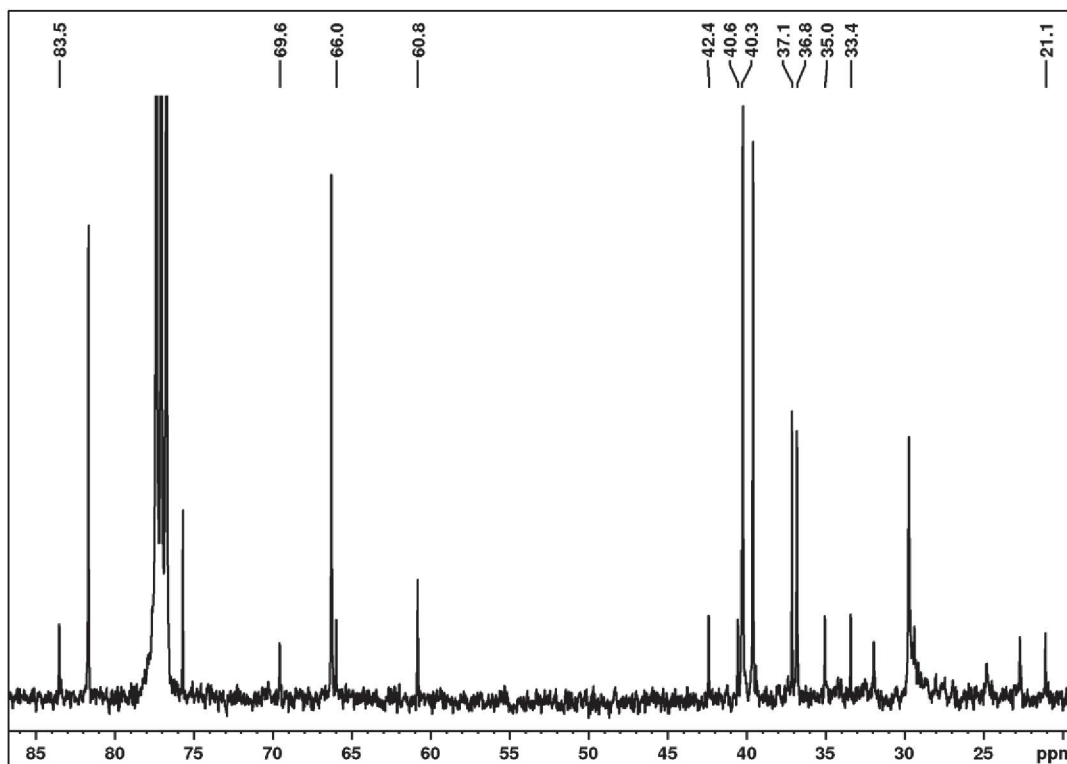
**FIGURA 114** - EXPANSÃO ENTRE  $\delta_H$  1,00 E 2,90 DO ESPECTRO DE RMN DE  $^1H$  DAS SUBSTÂNCIAS **SG2** + **SG3** + **SG4** (600 MHz,  $CDCl_3$ ). ALÉM DOS SINAIS DO **SG2**, MOSTRADOS ANTERIORMENTE, FORAM ASSINALADOS OS SINAIS DE **SG3** ( $\delta_H$  2,68; 2,22; 2,07; 1,93; 1,80 E 178), E DE **SG4** ( $\delta_H$  2,89; 2,74; 2,29; 2,24; 2,11; 2,02 E 1,77).



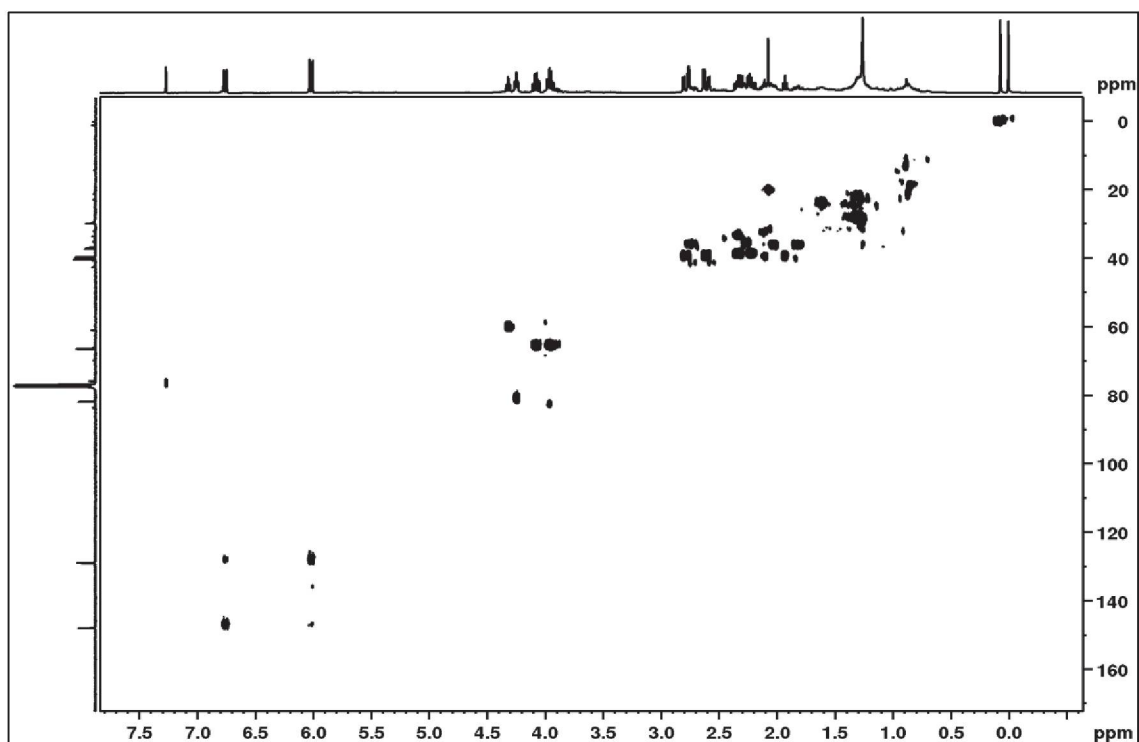
**FIGURA 115** - ESPECTRO DE RMN DE  $^{13}C$   $\{^1H\}$  (150 MHz,  $CDCl_3$ ) DAS SUBSTÂNCIAS **SG2** + **SG3** + **SG4**. OS SINAIS ASSINALADOS SÃO DE **SG3** ( $\delta_C$  211,8; 171,1; 69,6; 60,8; 40,3; 36,8; E 21,1) E **SG4** ( $\delta_C$  209,5; 83,5; 66,0; 42,4; 40,6; 35,0 E 33,4).



**FIGURA 116** - EXPANSÃO ENTRE  $\delta_C$  20 E 90 DO ESPECTRO DE RMN DE  $^{13}C \{^1H\}$  (150 MHz,  $CDCl_3$ ) DAS SUBSTÂNCIAS **SG2** + **SG3** + **SG4**. FORAM ASSINALADOS OS SINAIS DE **SG3** ( $\delta_C$  69,6; 60,8; 40,3; 36,8; E 21,1) E **SG4** ( $\delta_C$  83,5; 66,0; 42,4; 40,6; 35,0 E 33,4).

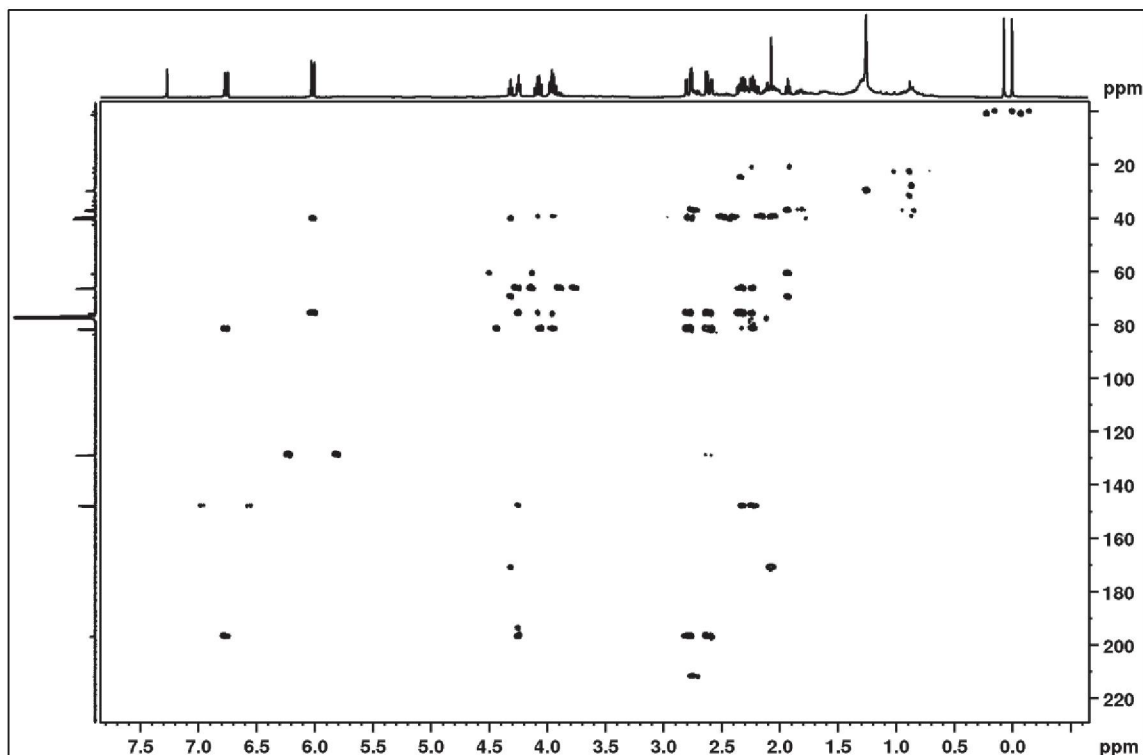


**Figura 117** - MAPA DE CORRELAÇÃO  $^1H$ - $^{13}C$  A UMA LIGAÇÃO DAS SUBSTÂNCIAS **SG2** + **SG3** + **SG4** (600 MHz,  $CDCl_3$ ).



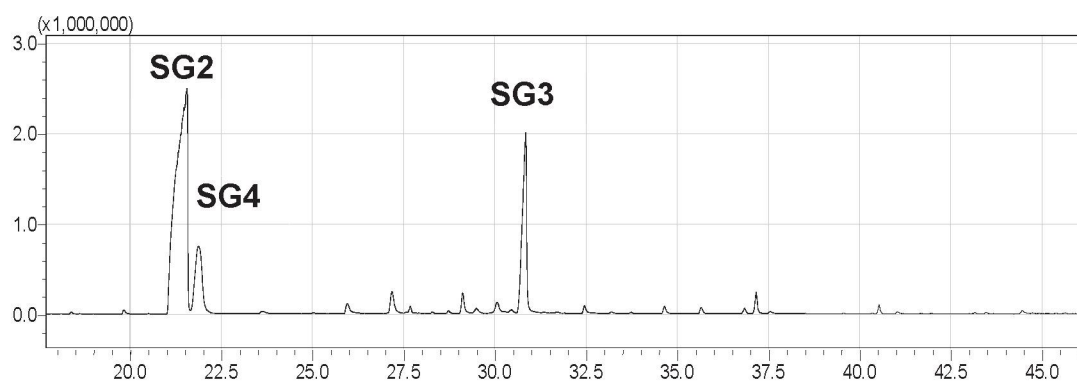


**FIGURA 118** - MAPA DE CORRELAÇÃO  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  A LONGA DISTÂNCIA DAS SUBSTÂNCIAS **SG2 + SG3 + SG4** (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



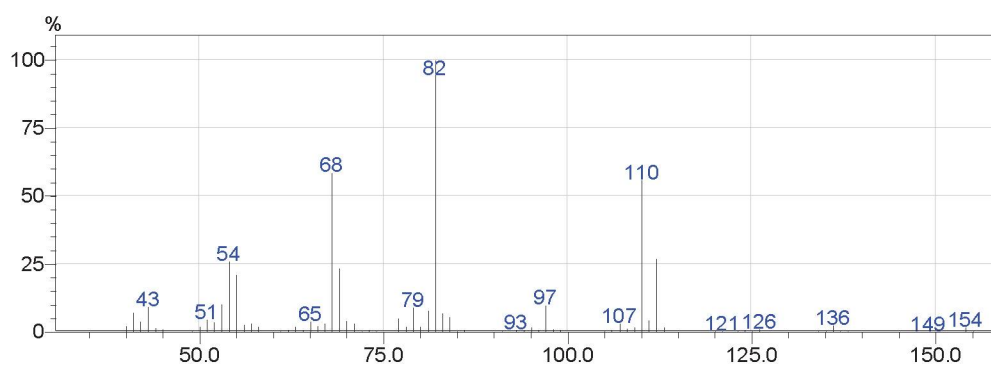
Com o objetivo de confirmar a presença das três substâncias, esta mistura foi analisada por CG-EM. De acordo com o esperado, o cromatograma (FIGURA 119) mostrou uma substância majoritária (Tempo de retenção = 21,5 min; 68,3 % do total – **SG2**), e mais dois picos menores correspondentes às duas substâncias minoritárias da mistura ( $T_R$  = 21,8 min; 11,7% - **SG4**;  $T_R$  = 30,8 min; 19,9% - **SG3**).

**FIGURA 119** - CROMATOGRAMA DA MISTURA **SG2 + SG3 + SG4**



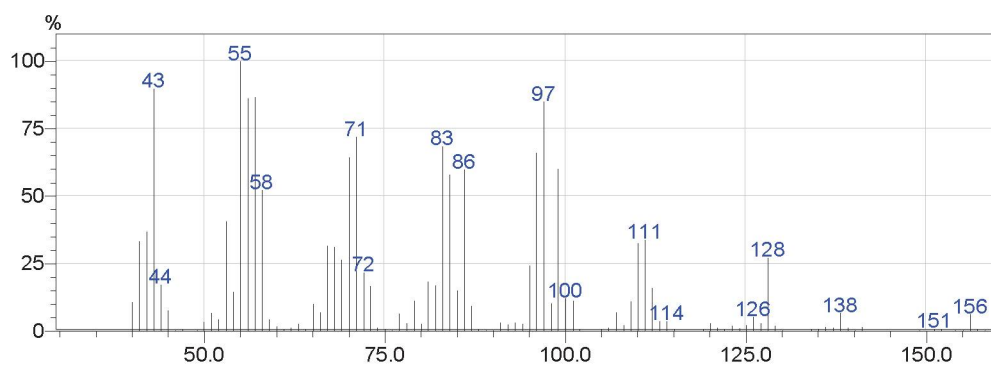
O índice de retenção ( $I_R$ ) da substância majoritária foi 1310, enquanto que o  $I_R$  dos outros picos minoritários foram 1318 e 1536, de acordo com os padrões de alcanos. Os espectros de massas confirmaram a identificação. Observou-se que o espectro de massas do pico em 21,5 min (FIGURA 120) apresentou o pico do íon molecular em  $m/z$  154 ( $C_8H_{10}O_3$ ), além de fragmentações características da substância **SG2** em  $m/z$  136 ( $[M-H_2O]^+$  2,5%), 110 ( $[M-C_2H_4O]^+$ ; 55%), 82 ( $[M-C_3H_6O_2]^+$  ou  $C_4H_8O]^+$ ; 100%), 68 ( $[M-C_5H_{10}O]^+$ ; 58%), e 54 ( $[M-C_5H_8O_2]^+$  ou  $[M-C_6H_{14}O]^+$ ; 25%) (FIGURA 102; p. 134) (MESSANA et al., 1984).

FIGURA 120 - ESPECTRO DE MASSA DA SUBSTÂNCIA SG2



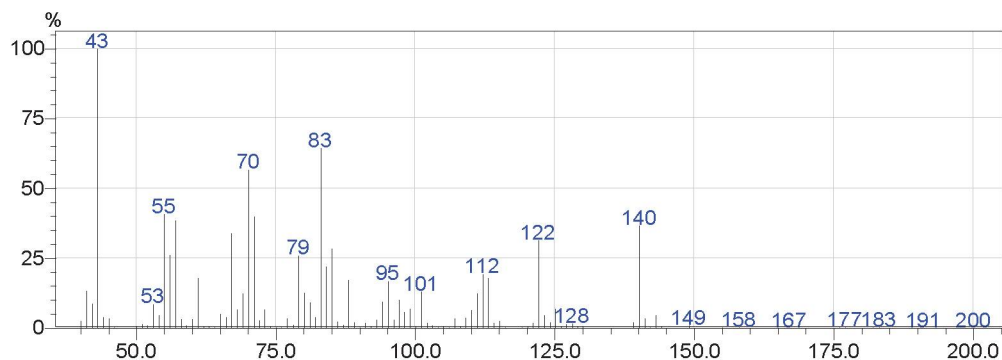
O espectro de massas do segundo pico (21,8 min) (FIGURA 121) apresentou o pico do íon molecular em  $m/z$  156 ( $C_8H_{12}O_3$ ), e fragmentos em  $m/z$  138 ( $[M-H_2O]^+$ ; 6,6%); 128 ( $[M-CO]^+$ ; 27%); 111 ( $[M-C_2H_5O]^+$ ; 34%); 97 ( $[M-C_6H_9O]^+$ ; 84%); 86 ( $[M-C_4H_6O_2]^+$ ; 60%); 83 ( $[M-C_3H_5O_2]^+$  ou  $[M-C_4H_9O]^+$ ; 69%); 71 ( $[M-C_4H_5O_2]$  ou  $[M-C_5H_9O]^+$ ; 72%); 55 ( $[M-C_5H_9O_2]^+$  ou  $[M-C_6H_{13}O]^+$ ; 100%) e 43 ( $[M-C_5H_5O_3]^+$ ; 90%), que segundo a literatura confirma que é a substância **SG4** (FIGURA 111; p. 147) (TIAN et al., 1997).

FIGURA 121 - ESPECTRO DE MASSA DA SUBSTÂNCIA SG4



Já o espectro de massas do pico em 30,8 min (FIGURA 122) apresentou o pico do íon molecular em  $m/z$  200 ( $C_{10}H_{16}O_4$ ), e picos em  $m/z$  140 ( $[M-CH_3COOH]^+$ ; 34%); 122 ( $[M-CH_3COOH-H_2O]^+$ ; 30%); 83 ( $[M-C_5H_9O_3]^+$  ou  $[M-C_6H_{13}O_2]^+$ ; 64%), 70 ( $[M-C_6H_{10}O_3]$  ou  $[M-C_7H_{14}O_2]^+$ ; 56%), 55 ( $[M-C_7H_{13}O_3]^+$ ; 43%) e 43 ( $[CH_3CO]^+$ ; 100%), confirmando a sua identificação como **SG3** (FIGURA 110; p. 140) (ABDULLAHI et al., 1986).

FIGURA 122 - ESPECTRO DE MASSA DA SUBSTÂNCIA SG3



## 6. ATIVIDADES BIOLÓGICAS

Até o momento, foram avaliados os extratos das duas espécies, *S. hatschbachii* (**SH**) e *S. gerdiana* (**SG**). Sendo que os extratos dos tubérculos de *S. hatschbachii* em hexano (**SHA**),  $CH_2Cl_2$  (**SHB**), AcOEt (**SHC**) e EtOH (**SHD**) foram avaliados para atividades antimicrobiana, antioxidante e citotóxica. E os extratos das partes aéreas de *S. gerdiana* em AcOEt (**SGC**) e EtOH (**SGD**) foram testados para atividade antioxidante.

## 6.1 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS EXTRATOS DE *S. hatschbachii*

O número de microrganismos resistentes aos antibióticos disponíveis tem crescido bastante nos últimos anos. Por isso a busca por alternativas de fontes naturais tem aumentado. Diversos métodos são utilizados nesses ensaios, como difusão em agar, macrodiluição e microdiluição. O método escolhido neste trabalho foi microdiluição, porque além de ter baixo custo, é rápido e eficiente, permitindo determinar a concentração inibitória mínima (CIM). Neste método são utilizadas placas de plástico estéreis, com 96 poços de fundo redondo ou cônico, e nelas são adicionados pequenos volumes de caldo contendo o meio de cultura e os microrganismos (OSTROSKY et al., 2008).

Os extratos **SHA**, **SHB**, **SHC** e **SHD** foram testados, e os resultados estão apresentados na TABELA 33. Observa-se que a concentração mínima para inibir o crescimento de *Staphylococcus aureus* e *S. epidermidis* foi de 250 mg  $\mu\text{L}^{-1}$ , enquanto que os demais microrganismos não foram afetados. Considerando que um extrato é ativo quando a concentração inibitória mínima é de até 100  $\mu\text{g mL}^{-1}$  (RIOS; RECIO; 2005), pode-se afirmar que nenhum desses extratos apresentou atividade. É possível que contenham substâncias ativas, mas estas podem estar em baixas concentrações e/ou terem uma atividade pequena, de modo que o extrato total se torna inativo.

**TABELA 33 - ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS EXTRATOS DE *S. hatschbachii***

Microrganismo	Concentração inibitória mínima ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )				
	SHA	SHB	SHC	SHD	Controle positivo <sup>a</sup>
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC	250	250	250	250	25
<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	250	250	250	250	50
<i>Escherichia coli</i> ATCC 35218	-	-	-	-	50
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853*	-	-	-	-	<500
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	-	-	-	-	12,5
<i>C. parapsilosis</i> ATCC 22019	-	-	-	-	12,5
<i>C. dubliniensis</i> ATCC 778157	-	-	-	-	12,5
<i>C. glabrata</i> ATCC 30070	-	-	-	-	12,5

<sup>a</sup>Controles positivos: cloranfenicol para bactérias e cetoconazol para fungos; -: sem inibição de desenvolvimento; \* cepa de campo, as demais são cepa padrão.

## 6.2 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DOS EXTRATOS DE *S. hatschbachii* e *S. gerdtiana*

O método utilizado neste trabalho é conhecido pela sigla ORAC (*Oxygen radical absorbance capacity*). O radical AAPH (dicloreto de 2,2'-azobis (2-amidinopropano) é a fonte de radicais livres, enquanto a fluoresceína (FIGURA 34, p. 150), é a substância que reage com os radicais livres. Neste ensaio o radical peroxila, gerado pela reação do AAPH com o oxigênio atmosférico, reage com a fluoresceína para formar um produto não fluorescente, que pode ser medido por espectrofotometria, com máxima emissão de fluorescência em 528 nm. Há transferência de hidrogênio no mecanismo de inibição do processo oxidativo, de modo que é medida a capacidade do antioxidante presente na amostra em sequestrar radicais peroxila gerados pelo radical AAPH, em um estudo de cinética química. Portanto, amostras com hidrogênios ácidos, como os fenóis, reagem rapidamente, levando a uma maior atividade antioxidante. O trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico) (FIGURA 123; p. 151) é a substância utilizada como referência, sendo o resultado dado como micromols de trolox equivalente por grama de extrato ( $\mu\text{mol TE/g}$  de extrato) (ROGINSKY; LISSI, 2005).

Os resultados obtidos da atividade antioxidante dos extratos de *S. hatschbachii* (**SHA**, **SHB**, **SHC** e **SHD**) e *S. gerdtiana* (**SGC** e **SGD**), neste método, estão apresentados na TABELA 34. O extrato pode ser considerado ativo quando é obtido um valor de atividade  $> 800,0 \mu\text{mol TE/g}$  de extrato. Portanto, com exceção do extrato em hexano de *S. hatschbachii* (**SHA**), todos foram ativos. Entre os extratos ativos, os extratos etanólicos de ambas as plantas (**SHD** e **SGD**) foram os que apresentaram a maior capacidade antioxidante (FIGURA 123; p. 151). Este resultado já era esperado uma vez que substâncias fenólicas são reconhecidas como antioxidantes devido à acidez de suas hidroxilas fenólicas (ALVES et al. 2010). Como exemplo de substâncias com capacidade antioxidante tem-se os glicosídeos fenólicos que

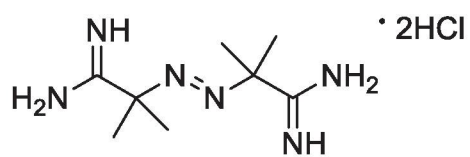
podem estar sendo responsável por essa alta atividade dos extratos **SHD** e **SGD**. Já foi identificado nos extratos **SHC**, **SHD** e **SGD**, o conandrosídeo (**SH9**). Nos extratos **SHC** e **SHD**, o calceolariosídeo B (**SH8**), e o sanangosídeo (**SG1**) no extrato **SGD**. O calceolariosídeo B (**SH8**) já foi relatado na literatura como um ótimo antioxidante, na área de alimentos ( $IC_{50} = 3,7 \mu\text{g mL}^{-1}$ , método DPPH, ZHAO et al., 2015).

**TABELA 34** - CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DOS EXTRATOS DE *S. hatschbachii* (**SHA**, **SHB**, **SHC**, **SHD**) e *S. gerdiana* (**SGC**, **SGD**)

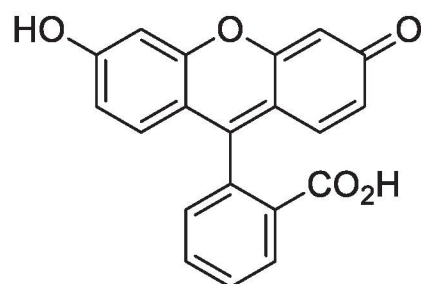
Amostras	$\mu\text{mol de TEg}^{-1}$ de extrato (% variação)
<b>SHA</b> ( <i>S. hatschbachii</i> – hexano)	600,4 (5,34)
<b>SHB</b> ( <i>S. hatschbachii</i> – DCM)	1.095,6 (3,19)
<b>SHC</b> ( <i>S. hatschbachii</i> – AcOEt)	2.843,3 (2,36)
<b>SHD</b> ( <i>S. hatschbachii</i> – EtOH)	5.981,2 (0,76)
<b>SGC</b> ( <i>S. gerdiana</i> – AcOEt)	1.185,0 (3,3)
<b>SGD</b> ( <i>S. gerdiana</i> – EtOH)	4.888,6 (3,4)
quercetina <sup>b</sup>	5,60 (1,50)*
isoquercetina <sup>b</sup>	5,15 (1,70)*
Acido cafeico <sup>b</sup>	2,85 (0,95)*
Acido clorogênico <sup>b</sup>	2,65 (1,00)*

Dados apresentados como média (coeficiente de variação) do ensaio em triplicata. Os resultados estão expressos como micromols de Trolox equivalente por grama de extrato em base seca.\* expresso em termos de trolox equivalente relativo por se tratar de substância pura; <sup>b</sup> controles experimentais.

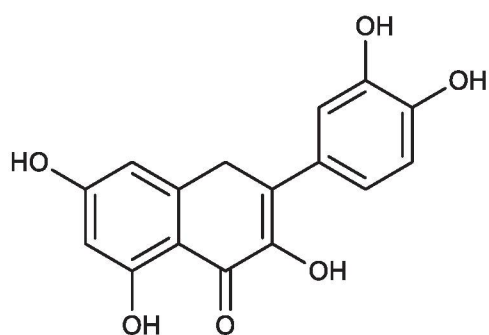
**FIGURA 123** - ESTRUTURAS DE AAPH, FLUORESCÉINA, QUERCETINA, ISOQUERCETINA, ÁCIDO CAFEÍCO, ÁCIDO CLOROGÊNICO E TROLOX.



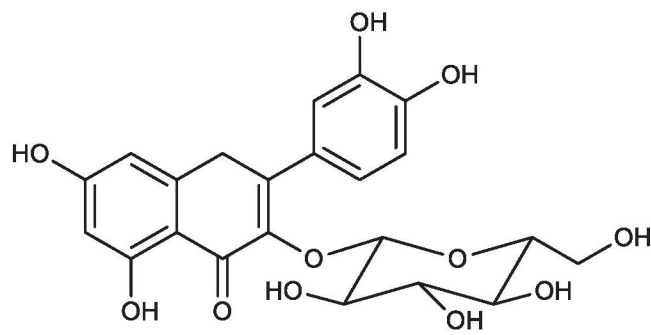
AAPH



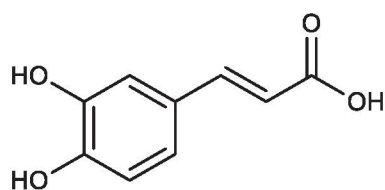
Fluoresceína



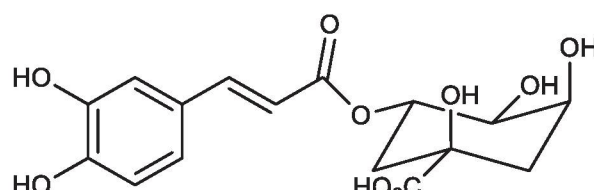
Quercetina



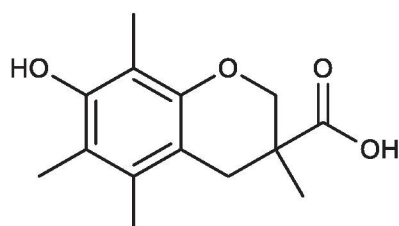
Isoquercetina



Ácido cafeíco



Ácido clorogênico



Trolox

### 6.3 ATIVIDADE CITOTÓXICA DOS EXTRATOS DE *S. hatschbachii*

A atividade citotóxica realizada neste trabalho foi avaliada contra duas linhagens de células tumorais (PC-3 e SKMEL), e uma linhagem controle de célula normal (3T3). Os resultados foram expressos em valores de IC<sub>50</sub>, que significa a concentração necessária (em  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) para inibir em 50% o crescimento celular.

Os resultados da atividade citotóxica dos extratos de *S. hatschbachii* mostraram que **SHA**, **SHB** e **SHC** são ativos frente à linhagem PC-3 (próstata), enquanto o extrato etanólico (**SHD**) não mostrou ter atividade (TABELA 35; p. 153). Os extratos **SHA** e **SHB** mostraram ser relativamente mais ativos que o **SHC**. Já para a linhagem SKMEL 103 (melanoma), foi observado que apenas os extratos **SHA** e **SHC** foram relativamente ativos, sendo que o extrato **SHA** demonstrou ser mais ativo que o **SHC**, enquanto os extratos **SHB** e **SHD** foram inativos. Em comparação com o controle positivo (doxorrubicina) (FIGURA 124; p. 153), os extratos ativos **SHA**, **SHB** e **SHC** foram mais tóxicos para as células normais, sendo **SHA** o menos tóxico. Por outro lado, a atividade de **SHA** frente à linhagem de melanoma foi cerca de quatro vezes maior do que a doxorrubicina. Portanto, **SHA** é um extrato promissor para o isolamento de substâncias com atividade citotóxica, principalmente contra a linhagem de melanoma SKMEL 103. O extrato **SHA** foi reunido com o **SHB**, como dito em tópicos anteriores, e as substâncias isoladas desse extrato conhecidas que tiveram atividade citotóxica frente a alguma linhagem tumoral foi a **SH2** que inibiu o crescimento das células de glioma e ovário resistente a múltiplos fármacos com valores de TGI (Concentração para inibição total de crescimento) entre 4,58 e 31  $\mu\text{g mL}^{-1}$  (VERDAN, 2015c). Isso mostra que substâncias com este esqueleto, como as substâncias **SH3** e **SH4**, presentes no extrato reunido **SHAB**, podem ser responsáveis pela atividade citotóxica observada (TABELA 35; p. 153).

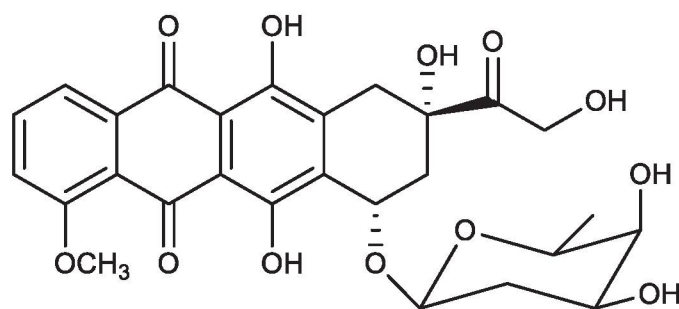


**TABELA 35** - ATIVIDADE CITOTÓXICA *IN VITRO* DOS EXTRATOS DE *S. hatschbachii* CONTRA LINHAGENS DE CÉLULAS TUMORAIS HUMANAS

Amostras	IC <sub>50</sub> (ug/mL)		
	3T3	PC-3	SKMEL 103
<b>SHA</b> ( <i>S. hatschbachii</i> – hexano)	10,73	< 0,25	6,82
<b>SHB</b> ( <i>S. hatschbachii</i> – DCM)	0,94	< 0,25	112,46
<b>SHC</b> ( <i>S. hatschbachii</i> – AcOEt)	0,76	2,73	38,02
<b>SHD</b> ( <i>S. hatschbachii</i> – EtOH)	24,66	64,56	> 250
<b>Doxorrubicina</b> (controle positivo)	15,18	0,022	30,19

**3T3** (linhagem de fibroblastos , linhagem controle, célula não tumoral); **PC-3** (linhagem de células de câncer de próstata humano metastático andrógeno-independente); **SKMEL 103** (linhagem de células de melanoma humano metastático).

**FIGURA 124** - ESTRUTURA DA DOXORRUBICINA



## 7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

No estudo fitoquímico de *Sinningia hatschbachii* e *S. gerdiana* foram identificadas 14 substâncias de *S. hatschbachii* e sete substâncias de *S. gerdiana*, sendo que as substâncias **SH9**, **SH13** e **SH14** foram encontradas em ambas as plantas. A espécie *S. hatschbachii* mostrou classes de substâncias ainda não identificadas no gênero *Sinningia*, como as chalconas (**SH5**, **SH6** e **SH7**) e os naftoatos (**SH10** e **SH11**), além de ter apresentado substâncias típicas da família Gesneriaceae. Dessas substâncias, a **SH1** foi inédita e, os dados de RMN de **SH5** foram publicados pela primeira vez. Portanto, essas duas espécies mostraram a diversidade química do gênero e o quanto é importante o isolamento e identificação de novas substâncias em plantas.

Para os ensaios biológicos realizados foi observado que os extratos de *S. hatschbachii* não foram ativos frente aos microrganismos testados, mas os extratos em hexano, diclorometano e acetato de etila mostraram atividade citotóxica. Os extratos etanólicos de ambas as espécies (**SHD** e **SGD**) apresentaram elevada atividade antioxidante, que pode ser associada com a presença de glicosídeos fenólicos.

## REFERÊNCIAS

- ABDULLAHI, H.; NYANDAT, E.; GALEFFI, C.; MESSANA, I.; NICOLETTI, M.; BETTOLO, G.B.M.; Cyclohexanols of *Halleria lucida*, **Phytochemistry**, v. 25. N. 12, p. 2821-2823, 1986.
- ALVES, C. Q.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P.; BAHIA, M. V.; AGUIAR, R. M. Métodos para determinação de atividade antioxidante *in vitro* em substratos orgânicos. **Química Nova**, v. 33, p. 2202-2210, 2010.
- ARAÚJO, A. O.; CHAUTEMS, A.; FERREIRA, G. E. 2015. *Gesneriaceae*. In: **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB119>. Acessado em 12/11/2018.
- ARAÚJO, A.O.; CHAUTEMS, A. *Sinningia*. In: **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB7879>. Acesso em: Março de 2018.
- CAI, X.H.; LUO, X.D.; ZHOU, J.; HAO, X.J. Quinones from *Chirita eburnea*. **Journal of Natural Products**, v. 68, p. 797-799, 2005.
- CASANA, C. F.D.; DE LA CRUZ, P. L. B.; DE LA CRUZ, K. L. B.; TEIXEIRA, B. J.; MEDINA, M. D. P.; EFFIO, P. J. C. Análise fitoquímico preliminar de la papa madre (*Sinningia warmingii*). **Pueblo Continente**, v. 23, p. 345-350, 2012.
- CHATTERJEA, J.N., E PRASAD, R., Condensation of Mannich base salts with phenols. Orientation of adducts, **Indian Journal of Chemistry**, v. 11, p. 214-218, 1973.
- CHAUTEMS, A. BARACHO, G.S.; SIQUEIRA FILHO, J.A. A new espécie of *Sinningia* (Gesneriaceae) from northeastern Brasil. **Brittonia**, v. 52, p. 49-53, 2000.
- CHAUTEMS, A. *Gesneriaceae*. In: WANDERLEY, M. G. L.; SHEPHERD, G. J.; GIULIETTI, A. M.; MELHEM, T. S. (Ed.). **Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo**. São Paulo: Instituto de Botânica, 2003, p. 75-104.
- CHAUTEMS, A.; LOPES, T. C. C.; PEIXOTO, M.; ROSSINI, J., Taxonomic revision of *Sinningia* Nees (Gesneriaceae) IV: six new species from Brazil and a long overlooked taxon. **Candollea**, v. 65, p. 241-246, 2010.

- COOKE, R. G.; GHISALBERTI, E. L.; JOHNSON, B. L.; RASTON, C. L.; SKELTON, B. W.; WHITE, A. H. Absolute configurations of naturally occurring quinones: ventilagone and dunnione. **Australian Journal of Chemistry**, v. 59, n. 12, p.925-930, 2006.
- COSTA-LUTUFO, L. V.; MONTENEGRO, R. C.; ALVES, A. P. N. N.; MADEIRA, S. V. F.; PESSOA, C.; MORAES, M. E. A.; MORAES, M. O. A contribuição dos produtos naturais como fonte de novos fármacos anticâncer no Laboratório Nacional de Oncologia Experimental da Universidade Federal do Ceará. **Revista virtual de Química**, v. 2, n. 1, p. 47-58, 2010.
- DAMTOFT, S.; JENSEN, S.R.; Three phenylethanoid glucosides of unusual structure from *Chirita sinensis* (gesneriaceae), **Phytochemistry**, v. 37, p. 441-443, 1994.
- FERREIRA, G. E.; WAECHTER, J. L.; CHAUTEMS, A. *Sinningia ramboi* (Gesneriaceae) a new species from South Brazil. **Systematic Botany**, v. 39, p. 975-979, 2014.
- FLADER, C.; LIU J.; BORCH R.F. Development of novel quinone phosphorodiamidat prodrugs targeted to DT-diaphorase. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 43, p. 3157-3167, 2000.
- FRAGA, M.B.; DÍAZ, E. C.;QUINTANA, N. Naphthohydroquinones and lignans from the roots of *Plocama pendula*, a Canary Island paleoendemism, **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 38, n. 4, p. 784-788, 2010.
- FUMAGALI. E.; GONÇALVES, R.A.C.; MACHADO, M.F.P.S.; VIDOTI, G.J.; OLIVEIRA, A.J.B. Produção de metabólitos secundários em cultura de células e tecidos de plantas: o exemplo dos gêneros *Tabernaemontana* e *Aspidoperma*, **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n.4, p. 627-641, 2008.
- GASPARINO, E. C., **Palinotaxonomia de espécies brasileiras de Gesneriaceae, com ênfase nas ocorrentes no Estado de São Paulo**, Doutorado, Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente, 2008.
- GOMES, M. A. N.; SHEPHERD, S. L. K. Estudo da nutrição mineral *in vitro* relacionado à adaptação de *Sinningia allagophylla* (Martius) Wiehler (Gesneriaceae) às condições do cerrado. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 23, p. 153-159, 2000.
- HINOSHITA, L. K. R. **GESNERIACEAE Rich & Juss. ex DC. NO ESTADO DO PARANÁ**, Dissertação, UFPR, 2017.
- ICHIKAWA, K.; KITAOKA, M.; TAKI, M.; TAKAISHI, S.; IIJIMA, Y.; BORIBOON, M.; AKIYAMA, T., Retrodihydrochalcones and homoisoflavones isolated from Thai

- medicinal plant *Dracaena loureiri* and their estrogen agonist activity, **Planta medica**, v. 63, p. 540-543, 1997.
- JENSEN, S.R. Caffeoyl phenylethanoide glycosides in *Sanango racemosum* and in the Gesneriaceae. **Phytochemistry**, v. 43, n. 4, p. 777-783, 1996.
- JUNG, H.W.; OH, J.S.; LEE, S.H.; LIANG, J.L.; KIM, D.H.; RAHMAN, A.F.M.M.; JAHNG, Y. A facile synthesis of Mollugin. **Bull Korean Chemistry Society**, v.28, n.10, p.1863-1865, 2007.
- KANNATHASAN, K.; SENTHILKUMAR, A.; VENKATESALU, V. Mosquito larvicidal activity of methyl-*p*-hydroxybenzoate isolated from the leaves of *Vitex trifolia* Linn. **Acta Tropica**, v. 120, n. 1, p. 115-118, 2011.
- KHAMBAY, B. P.; BATTY, D.; CAHILL, M.; DENHOLM, I.; MEAD-BRIGGS, M.; VINALL, S.; NIEMEYER, H. M.; SIMMONDS, M. S. Isolation, characterization, and biological activity of naphthoquinones from *Calceolaria andina* L. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, n. 2, p. 770-775, 1999.
- KAWADA, T.; ASANO, R.; MAKINO, K.; SAKUNO, T. Synthesis of conandroside: a dihydroxyphenylethyl glycoside from *Conandron ramaidioides*, **European Journal of Organic Chemistry**, p. 2723 – 2727, 2000.
- KOJIMA, H.; SATO, N.; HATANO, A.; OGURA, H.; Sterol glucosides from *Prunella vulgaris*. **Phytochemistry**, v. 29, p. 2351-2355, 1990.
- LI, W.; SUN, Y.; JOSEPH, J.; FITZLOFF, J. F.; FONG, H. H. S.; VAN BREEMEN, R. B. *p*-Hydroxybenzoic acid alkyl esters in *Andrographis paniculata* herbs, commercial extracts, and formulated products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 2, p. 524-529, 2003.
- MEKSURIYEN, D.; CORDELLI, G. A., Retrodihydrochalcones from *Dracaena loureiri*, **Journal of Natural Products**, v. 51, n. 6, p. 1129-35, 1988.
- MESSANA, I; SPERANDEI, M.; MULTARI, G.; GALEFFI, C.; MARINI BETTOLO, G. B. A. Cyclohexadienone and a Cyclohexenone from *Halleria lucida*. **Phytochemistry**, v. 23, p. 2617-2619, 1984.
- MORS, W.B.; RIZZINI, C.T.; PEREIRA, N.A. **Medicinal Plants of Brazil**. Reference Publications, Inc. Algonac, Michigan, p. 501, 2000.
- NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M.; KINGSTON, D. G. I., Natural Products as Pharmaceuticals and Sources for Lead Structures. **Wermuth's- The Practice of Medicinal Chemistry**, v. 8, p. 159-186, 2008.
- OSTROSKY, E. A.; MIZUMOTO, M. K.; LIMA, M. E. L.; KANEKO, T. M.; NISHIKAWA, S.

- O.; FREITAS, B. R.; Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 2, p. 301-307, 2008.
- PERRET, M.; CHAITEMS, A.; SPICHIGER, R.; KITE, G.; SAVOLAINEN, V. Systematics and evolution of tribe Sinningieae (Gesneriaceae): evidence from phylogenetic analyses of six plastid DNA regions and nuclear ncpGS. **American Journal of Botany**, v. 90, n. 3, p. 445-460, 2003.
- PRIOR, R.L.; HOANG, H.; GU, L.; WU, X.; BACCHIOCCA, M.; HOWARD, L.; HAMPSCH-WOODILL, M.; HUANG, D.; OU, B.; JACOB, R. Assays for hydrophilic and lipophilic antioxidante capacity (oxygen radical absorbance capacity (ORACFL)) of plasma and other biological and food samples. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 51, p. 3273-3279, 2003.
- REFULIO-RODRIGUEZ, N. F.; OLMSTEAD, R. G. Phylogeny of Lamiidae. **American Journal of Botany**, v. 101, n. 2, p. 287-299, 2014.
- RIOS, J. L.; RECIO, M. C. Medicinal plants and antimicrobial activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 100, p. 80-84, 2005.
- RIVA, D.; BARISON, A.; STEFANELLO, M. E. A.; POLIQUESI, C. B.; RUIZ, A. L. T. G.; CARVALHO, J. E.; SALVADOR, M. J., Estudo químico de *Sinningia allagophylla* guiado por testes de atividade antiproliferativa. **Quimica Nova**, v. 35, p. 974-977, 2012.
- ROGINSKY, V.; LISSI, E. A. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food, **Food Chemistry**, v. 92, p. 235-254, 2005.
- SALVADOR, M.J.; FERREIRA, E.O.; PRAL, E.M.F.; ALFIERI, S.C.; ALBUQUERQUE, S.; ITO, I.Y.; DIAS, D.A. Bioactivity of crude extracts and some constituents of *Blutaparon portulacoides* (Amaranthaceae). **Phytomedicine**, v. 9, p. 566, 2002.
- SALVADOR, M.J.; PEREIRA, P.S.; FRANÇA, S.C.; CANDIDO, R.C.; ITO, I.Y.; DIAS, D.A. Comparative study of antibacterial and antifungal activity of callus culture and adults plants from *Alternanthera maritima* (Amaranthaceae). **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 34, p.131-136, 2003.
- SALVADOR, M.J.; FERREIRA, E.O.; MERTENS-TALCOTT, S.U.; CASTRO, W.V.; BUTTERWECK, V.; DERENDORF, H.; DIAS, D.A. Isolation and HPLC quantitative analysis of antioxidant flavonoids from *Alternanthera tenella* Colla. **Zeitschrift für Naturforschung**, v. 61, p. 19-25, 2006.

- SCHARF, D. R.; VERDAN, M. H.; RIBEIRO, M. A.; SIMIONATTO, E. L.; SÁ, E. L.; SALVADOR, M. J.; BARISON, A.; STEFANELLO, M. E. A. Naphthocromenes and related constituents from the tubers of *Sinningia allagophylla*. **Journal of Natural Products**, v. 79, p. 792-798, 2016.
- SHERIDAN, H.; NESTOR, C.; O'DRISCOLL, L.; HOOK, I. Isolation, structure elucidation, and cytotoxic evaluation of furanonaphthoquinones from *in Vitro* Plantlets and Cultures of *streptocarpus dunnii*, **Journal of Natural Products**, v. 74, p. 82-85, 2011.
- SILVA, J. A. T.; ZENG, S.; WICAKSONO, A.; KHER, M. M.; KIM, H.; HOSOKAWA, M.; DEWIR, Y. H. *In vitro* propagation of African Violet: A review, **South African Journal of Botany**, v. 112, p. 501-507, 2017.
- SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: Da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Universidade Federal do Rio Grande do Sul/ Universidade Federal de Santa Catarina, p. 75-83, 2007.
- SOARES, A.S.; BARBOSA, F.L.; RÜDIGER, A.L.; HUGHES, D.L.; SALVADOR, M.J.; ZAMPRONIO, A.R.; STEFANELLO, M.E.A. Naphtoquinones of *Sinningia reitzii* and anti-inflammatory/antinociceptive activities of 8-hydroxydehydrodunnione. **Journal of Natural Products**, v. 80, p. 1837-1843, 2017.
- SOUZA, G. V.; SIMAS, A. S.; BASTOS-PEREIRA, A. L.; FROIS, G. R. A.; RIBAS, J. L.C.; VERDAN, M. H.; KASSUYA, C. A. L.; STEFANELLO, M. E.; ZAMPRONIO, A. R., Antinociceptive activity of the ethanolic extract, fractions, and aggregatin D isolated from *Sinningia aggregata tubers*. **Plos One**, v. 10, n. 2, 2015.
- STROHL, W. R., The role of natural products in a modern drug discovery program. **Drug Discovery Today**, v. 5, n. 2, p. 39-41, 2000.
- SWINNY, E.E.; BLOOR, S.J.; WONG, H., <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR assignments for the 3-deoxyanthocyanins, luteolinidin-5-glucoside and apigeninidin-5-glucoside. **Magnetic Resonance Chemistry**, v. 38, p. 1031-1033, 2000.
- TIAN, J.; ZHAO, Q. S.; ZHANG, H. J.; LIN, Z.W.; SUN, H.D., New cleroidicins from *Clerodendrum indicum*, **Journal Natural Product**, v. 60, p. 766-769, 1997.
- VAISHNAV, P.; DEMAINE, A. L., Unexpected applications of secondary metabolites. **Biotechnology Advances**, v. 29, p. 223-229, 2010.

- VERDAN, M. H.; CERVI, A.; CAMPOS, F. R.; BARISON, A.; STEFANELLO, M. E. A., Anthraquinones and ethylcyclohexane derivatives from *Sinningia speciosa* "Fyfiana". **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 37, p. 40-42, 2009.
- VERDAN, M. H.; BARISON, A.; SÁ, E. L.; SALVADOR, M. J.; POLIQUESI, C. B.; EBERLIN, M. N.; STEFANELLO, M. E. A., Lactones and quinones from the tubers of *Sinningia aggregata*. **Journal of Natural Products**, v. 73, n. 8, p. 1434-1437, 2010.
- VERDAN, M. H.; STEFANELLO, M. E. A., Secondary metabolites and biological properties of Gesneriaceae species, **Chemistry and Biodiversity**, v. 9, p. 2701-2731, 2012.
- VERDAN, M. H.; UNEMOTO, L. K.; FARIA, R. T.; SALVADOR, M. J.; SÁ, E. L.; BARISON, A.; STEFANELLO, M. E. A. Leucotrichoic acid, a novel sesquiterpene from *Sinningia leucotricha* (Gesneriaceae). **Tetrahedron Letters**, v. 54, p. 4735-4737, 2013.
- VERDAN, M. H.; EHRENFRIED, C. A.; SCHARF, D.R.; CERVI, A.C.; SALVADOR, M. J.; BARISON, A.; STEFANELLO, M. E. A. Chemical constituents from *Sinningia canescens* and *S. warmingii*, **Natural Product Communications**, v. 9, n. 10, p. 1535-1537, 2014.
- VERDAN, M. H., SOUZA, L. M., CARVALHO, J. E., COSTA, D. B. V., SALVADOR, M. J., BARISON, A., STEFANELLO, M. E. A., Two new hydronaphthoquinones from *Sinningia aggregata* (Gesneriaceae) and cytotoxic activity of aggregatin D, **Chemistry and Biodiversity**, v.12, p.148-153, 2015a.
- VERDAN, M. H.; HECTOR, H. F.; KOOLEN, M. J. S., BARISON, A. S. M. L. A. A new naphthoquinone from *Sinningia leucotricha* (Gesneriaceae), **Natural Product Communications**, v. 10, p. 625-626, 2015b.
- VERDAN, M. H. **Estudo fitoquímico e avaliação da atividade citotóxica das rainhas-do-abismo: *Sinningia leucotricha* e *S. canescens* (Gesneriaceae)**, Doutorado, UFPR, 2015c.
- VERDAN, M.H.; SCHARF, D.R.; BARISON, A.; SALVADOR, M.J.; STEFANELLO, M.E.A. Further chemical constituents from *Sinningia canescens* and *S. leucotricha* (Gesneriaceae). **Phytochemistry Letters**, v. 22, p. 205-209, 2017.
- WIEHLER, H. Medicinal Gesneriads: 122 species of the rain forest plant family Gesneriaceae used medicinally in the neotropics. **Gesneriana**, v. 1, n.1, p. 98-120, 1995.



- WINEFIELD, C.S.; LEWIS, D.H.; SWINNY, E.E.; ZHANG, H.; ARATHOON, H.S.; FISCHER, T.C.; HALBWIRTH, H.; STICH, K.; GOSCH, C.; FORKMANN, G.; DAVIES, K.M. Investigation of the biosynthesis of 3-deoxyanthocianins on *Sinningia cardinalis*. **Physiologia Plantarum**, v.124, p. 419-430, 2005.
- WINIEWSKI, V.; VERDAN, M. H.; RIBEIRO, M. A.; SALVADOR, M. J.; TASCO, A. J. H.; STEFANELLO, M. E. A. Warmingiins A and B, Two New Dimeric Naphthoquinone Derivatives from *Sinningia warmingii* (Gesneriaceae). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 28, p. 598-602, 2017.
- XIN, X.L.; AISA H.A.; WANG, H.Q. Flavonoids and phenolic compounds from seeds of the Chinese plant *Nigella glandulifera*. **Chemistry of Natural Compounds**, v. 44, p. 368-369, 2008.
- YUNES, R. A.; FILHO, V. C. **Química dos Produtos Naturais: novos fármacos e a moderna farmacognosia**. UNIVALE, 5<sup>o</sup> edição, p. 57-117, 2016.
- ZHAO, J.; GUO, J.; ZHANG, Y.; MENG, D.; SHA, Z. Chemical constituents from the roots and stems of *Stauntonia brachyanthera* Hand-Mazz and their bioactivity, **Journal of Functional Foods**, v. 14, p. 374-383, 2015.