



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
CENTRO DE CIÊNCIAS DA NATUREZA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**



ELCILENE ALVES DE SOUSA

**ESTUDO QUÍMICO E POTENCIAL ANTILEISHMANIA E
ANTICOLINESTERÁSICO DE *Tocoyena hispidula* STANDL.**

Tese de Doutorado

Teresina-PI

2019

Elcilene Alves de Sousa

**ESTUDO QUÍMICO E POTENCIAL ANTILEISHMANIA E
ANTICOLINESTERÁSICO DE *Tocoyena hispidula* STANDL.**

Tese submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Piauí, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutora em Química, área de concentração: Química Orgânica.

Orientadora: Profa. Dra. Mariana Helena Chaves

TERESINA-PI

2019

FICHA CATALOGRÁFICA
Serviço de Processamento Técnico da Universidade Federal do Piauí
Biblioteca Setorial do CCN

S725e Sousa, Elcilene Alves de.
Estudo químico e potencial antileishmania e
anticolinesterásico de *Tocoyena hispidula* Standl /
Elcilene Alves de Sousa – Teresina, 2019.
263 f.: il. color

Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Piauí,
Centro de Ciências da Natureza, Programa de Pós-
Graduação em Química, 2019.

Orientadora: Profa. Dra. Mariana Helena Chaves.

1. Química Orgânica. 2. *Tocoyena hispidula*. 3.
Constituintes Químicos. 4. Antileishmania. 5.
Anticolinesterase. I. Título.

CDD 547

Bibliotecária: Caryne Maria da Silva Gomes – CRB / 1461

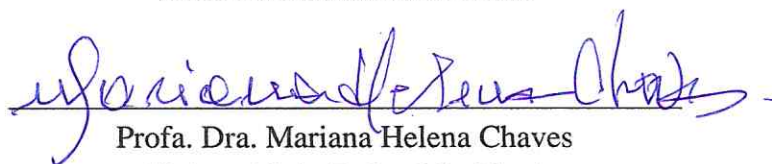
Elcilene Alves de Sousa

**ESTUDO QUÍMICO E POTENCIAL ANTILEISHMANIA E
ANTICOLINESTERÁSICO DE *Tocoyena hispidula* STANDL.**

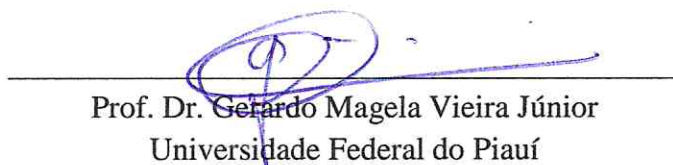
Tese de Doutorado submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Piauí, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Doutora em Química na área de concentração de Química Orgânica.

Data da aprovação: 10/05/2019

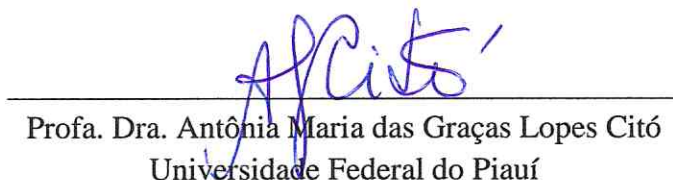
BANCA EXAMINADORA



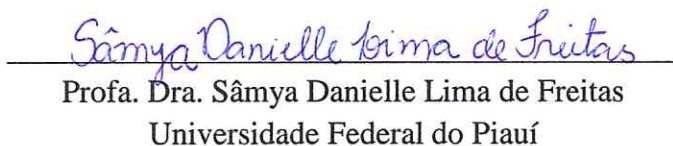
Profa. Dra. Mariana Helena Chaves
Universidade Federal do Piauí
(Orientadora e Presidente)



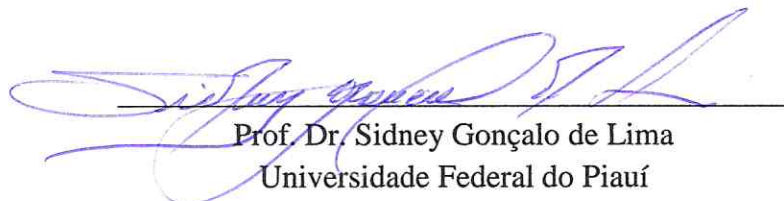
Prof. Dr. Gerardo Magela Vieira Júnior
Universidade Federal do Piauí



Profa. Dra. Antônia Maria das Graças Lopes Citó
Universidade Federal do Piauí



Profa. Dra. Sâmya Danielle Lima de Freitas
Universidade Federal do Piauí



Prof. Dr. Sidney Gonçalo de Lima
Universidade Federal do Piauí

**TERESINA-PI
2019**

DADOS CURRICULARES

Dados pessoais

Nome: Elcilene Alves de Sousa

E-mail: elcileneufpi@gmail.com

Formação acadêmica

2015-2019

Doutorado em Química

Universidade Federal do Piauí – UFPI

Título: Estudo químico e potencial antileishmania e anticolinesterásico de *Tocoyena hispidula* Standl.

Orientadora: Profa. Dra. Mariana Helena Chaves

Bolsista: Capes

2009-2012

Mestrado em Química

Universidade Federal do Piauí – UFPI

Título: Estudo químico e farmacológico das folhas de *Oxandra sessiliflora* R. E. Fries (Annonaceae)

Orientadora: Profa. Dra. Mariana Helena Chaves

Bolsista: Capes

2008-2008

Graduação em Química – Bacharelado com atribuições tecnológicas

Universidade Federal do Piauí - UFPI

2003-2007

Graduação em Química – Licenciatura Plena

Universidade Federal do Piauí – UFPI

Título: Contribuição da Arqueoquímica ao estudo e preservação de sítios arqueológicos

Orientadora: Profa. Dra. Maria Conceição Soares Meneses Lage

Bolsista: CNPq

Publicações

- **SILVA, L. F. F.; SANTOS, L. R.; SOUSA, R. P.; SOUSA, E. A.; ALMEIDA, B. C.; VIEIRA-JR., G. M.; GOMES, J. P. S.; CHAVES, M. H.** Prospecção científica e tecnológica da espécie *Senna occidentalis* (L.). *Revista Geintec: Gestão, Inovação e Tecnologias*, v. 9, p. 4786-4797, 2019.

- **SOUSA, E. A.; ROSA, A. P. A.; SANTOS, R. R. L.; SANTOS, I. L.; SOUSA, V. C.; CARVALHO, F. A. A.; VIERA-JUNIOR, G. M.; CHAVES, M. H.** Composição química e atividade antileishmania de *Tocoyena hispidula*. *Química Nova*, v. 42, p. 192-192, 2019.

- **SOUSA, E. A.; CHAVES, M. H.; SILVA, L. F. F.; VIERA-JUNIOR, G. M.; ALMEIDA, B. C.; FARIAS, R. R. S.** Iridoides e cumarinas do caule de *Tocoyena hispidula*. In: Natiéli Piovesan; Vanessa Bordin Viera. (Org.). *Produção e controle de produtos naturais*. 1ed. Ponta Grossa - Paraná: Atena, 2018, v. 1, p. 106-119.

- **SOUSA, E. A.; SILVA, A. A. C. A.; CHAVES, M. H.** Revisão de Flavonoides de Annonaceae. In: Almeida, Jackson Roberto Guedes da Silva; Oliveira Júnior, Raimundo Gonçalves de; Oliveira, Ana Paula de. (Org.). *Annonaceae: Tópicos selecionados*. 1ed. Curitiba: CRV, 2015, v. 1, p. 203-226.

- **SOUSA, E. A.; SILVA, A. A. C. A.; ROQUE, N. F.; VIEIRA-JR., G. M.; LAGO, J. H. G.; CHAVES, M. H.** Terpenes and steroids from leaves of *Oxandra sessiliflora* R. E. Fries. *Phytochemistry Letters*, v. 8, p. 193-195, 2014.

- **SOUSA, E. A.; SILVA, A. A. C. A.; CAVALHEIRO, A. J.; LAGO, J. H. G.; CHAVES, M. H.** A new flavonoid derivative from leaves of *Oxandra sessiliflora* R. E. Fries. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 25, p. 704-708, 2014.

- **NUNES, P. H. M.; MARTINS, M. C. C.; OLIVEIRA, R. C. M.; CHAVES, M. H.; SOUSA, E. A.; LEITE, J. R. S. A.; VÉRAS, L. M.; ALMEIDA, F. R. C.** Gastric antiulcerogenic and hypokinetic activities of *Terminalia fagifolia* Mart. & Zucc. (Combretaceae). *BioMed Research International*, v. 2014, p. 1-14, 2014.

- SILVA, A. A. C. A.; **SOUSA, E. A.**; MATSUO, A. L.; LAGO, J. H. G.; CHAVES, M. H. Intraspecific variation and cytotoxic evaluation of the essential oils from *Oxandra sessiliflora* R. E. Fries. Journal of Medicinal Plant Research, v. 7, p. 504-508, 2013.

- MENDES-JR., J. Q.; **SOUSA, E. A.**; CAVALCANTE, L. C. D.; LAGE, M. C. S. M. Conservação de Arte Rupestre no Sítio Pedra do Lagarto, Parque Nacional de Sete Cidades, Piauí, Brasil. Mneme (Caicó. Online), v. 10, p. 1-21, 2009.

Dedico este trabalho ao meu filho João Vítor, meu marido João Santos, meus pais Francisco e Rosa e aos meus irmãos Nira, Helton, Elcenira, Dênis e Délys pelo amor, carinho, compreensão, motivação e apoio.

AGRADECIMENTOS

- À Deus, pois sem Ele nada seria possível.
- Ao meu filho João Vítor, que mesmo sem compreender, aceitou os momentos de ausência.
- Ao meu marido João Santos pelo amor, compreensão e apoio.
- Aos meus pais Francisco e Rosa, meus irmãos Nira, Helton, Elcenira, Dênis e Délys pelo amor e incentivo. Em especial a minha irmã Nira, pela dedicação ao meu filho João Vítor nos meus muitos momentos de ausência, lhe serei eternamente grata.
- A minha amiga Sandra Regina pela amizade, acolhida e companherismo.
- Aos meus compadres Aurineide e Jefferson pela amizade.
- À Profa. Dra. Mariana Helena Chaves pela orientação, amizade, paciência e conhecimentos transmitidos.
- Aos professores do departamento de Química, pelos conhecimentos transmitidos.
- À turma de Doutorado 2015.1 pela amizade e companherismo
- Ao aluno de iniciação científica Amauri Porto A. Rosa pela amizade e contribuições na realização deste trabalho
- Aos amigos do Laboratório de Produtos Naturais (LPN): Luanda, Jéssica, Evaldo, Rodrigo Santiago, Márcia, Lildes, Renato, Ingredy, Jaelson, Lucivania, João Paulo, Amauri, Amanda, Leonardo, Adonias, Jurema, Rodrigo Araújo, Mariane, Joshua, Andréia e Yara pela amizade, convivência, aprendizado diário e pelos nossos momentos de descontração.
- À Luanda, Evaldo e Jéssica pela amizade, momentos de descontração e conhecimentos compartilhados
- À Dona Domingas, Josélia e Márcia da secretária, pela convivência e amizade.
- Ao Prof. Dr. Alexandre Araújo de Souza, Profa. Dra. Mônica Regina Silva Araújo, Prof. Dr. Sidney Gonçalo de Lima, Bernardo, Steffane Quaresma, Moisés, Edymilais, Evaldo, Renato e Bruno Quirino pela realização das análises de RMN, IV, EM e CG-EM.
- À Isabella Cristhina, Buana Carvalho e Prof. Dr. Gerardo Magela pela contribuição na realização das análises de RMN
- À Profa. Dra. Ruth Raquel Soares de Farias pela coleta e identificação do material vegetal.
- À CAPES pela bolsa concedida e ao CNPq e INCT-BioNat pelo apoio financeiro.
- Ao Prof. Dr. Fernando Aécio de A. Carvalho, Rodolfo, Ingredy e Valéria do Núcleo de Pesquisa em Plantas Mediciniais (NPPM-UFPI) pelas análises de atividade antileishmania.

- Ao Laboratório de Produtos Naturais e Neuroquímica Experimental (LAPNNEX-UFPI) pela análise de inibição da enzima acetilcolinesterase.
- Ao Prof. Dr. Gerardo Magela Vieira Júnior e a Profa. Dra. Antônia Maria das Graças Lopes Citó pelas contribuições no Exame de Qualificação.
- À Profa. Dra. Vanderlan da Silva Bolzani, Prof. Dr. João Henrique Ghilardi Lago, Prof. Dr. Gerardo Magela Vieira Júnior, Profa. Dra. Antônia Maria das Graças L. Citó, Profa. Dra. Sâmya Danielle Lima de Freitas e ao Prof. Dr. Sidney Gonçalo de Lima por terem aceito o convite para fazer parte da banca de defesa de Tese.
- A todos que de alguma maneira contribuíram para a realização deste trabalho. Muito obrigada!

RESUMO

SOUSA, E. A. (2019) **Estudo químico e potencial antileishmania e anticolinesterásico de *Tocoyena hispidula* Standl.** Teresina. 263p. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-graduação em Química. Universidade Federal do Piauí.

A espécie *Tocoyena hispidula* (Rubiaceae-Ixoroideae) é conhecida popularmente por flor-do-cerrado/angelca e jenipapinho. Suas raízes são tradicionalmente utilizadas no combate à dor de barriga e inflamação do útero. Este trabalho relata o isolamento e/ou identificação dos constituintes químicos dos extratos EtOH do caule e folhas de *T. hispidula*, bem como avalia seu potencial antileishmania e anticolinesterásico. O fracionamento cromatográfico dos extratos EtOH do caule e folhas de *T. hispidula* resultou em 62 compostos, identificados por RMN de ^1H e ^{13}C (1D e 2D), CG-EM, UV, IV e espectrometria de massas por inserção direta. O extrato EtOH do caule forneceu, após cromatografia em coluna filtrante de gel de sílica, as frações hexânica, CHCl_3 , AcOEt e MeOH. O estudo da fração CHCl_3 conduziu ao isolamento de oito compostos puros [morindolídeo (**1**), lupenona (**11**), ácido acetiloleanólico (**12**), escopoletina (**33**), isofraxidina (**34**), lapachol (**35**), chelidonato de metila (**36**) e D-(+)-manitol (**39**)] e quatro misturas (*M1-M4*): *M1* [lupeol (**16**), β -amirina (**17**), taraxerol (**18**), germanicol (**19**) e *E*-fitol (**20**)], *M2* [palmitato, margarato, linoleato, oleato e estearato de lupeíla (**16a-6e**), multiflorenila (**21a-21e**), sitosterila (**22a-22e**) e estigmasterila (**23a-23e**)], *M3* (sitosterol (**22**), estigmasterol (**23**), campesterol (**24**), campestanol (**25**), sitostanol (**26**) e Δ^{22} -estigmastenol (**27**)] e *M4* [7-cetositosterol (**29**) e 7-cetoestigmasterol (**30**)]. O estudo da fração AcOEt resultou no isolamento e identificação do ácido oleanólico (**15**), ácido benzoico (**38**), sitosterol-3-O- β -D-glicopiranosídeo (**28**) e de três misturas estereoisoméricas de iridoides: α -gardiol (**2a**) e β -gardiol (**2b**), 10-hidroxi-1-oxo-7-irideno-11 α -ato de metila (**3a**) e 10-hidroxi-1-oxo-7-irideno-11 β -ato de metila (**3b**), α -genipina (**4a**) e genipina (**4b**). A partir da fração MeOH foram obtidos os iridoides glicosilados 6 α -hidroxigeniposídeo (**5**), 6 β -hidroxigeniposídeo (**6**), gardenosídeo (**7**), éster metílico shanzhisídeo (**8**) e geniposídeo (**9**) e, as saponinas triterpênicas 3-O- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 2)- β -D-glicopiranosil-oleanoato de 28-O- β -D-glicopiranosil-(1 \rightarrow 6)- β -D-glicopiranosila (**31**) e eritrosaponina A (**32**). A partição do extrato EtOH das folhas, forneceu as frações hexânica, AcOEt e aquosa. O fracionamento cromatográfico da fração hexânica resultou no isolamento do esqualeno (**10**), ácido rotungênico (**13**), *E*-fitol (**20**), α -tocoferol (**37**), palmitato de multiflorenila (**21a**), mistura dos esteroides sitosterol (**22**) e estigmasterol (**23**) e mistura dos ácidos ursólico (**14**) e oleanólico (**15**). A partir da fração aquosa foi obtida uma mistura dos iridoides **5** e **6**. O extrato EtOH, frações e os compostos **1** e **36** do caule de *T. hispidula*, inibiram o crescimento de promastigotas de *Leishmania major*, sendo as frações CHCl_3 ($\text{CI}_{50}=26,25 \mu\text{g mL}^{-1}$) e AcOEt ($\text{CI}_{50}=29,77 \mu\text{g mL}^{-1}$) as mais ativas. O extrato EtOH e as frações hexânica, AcOEt e aquosa das folhas e a fração CHCl_3 do caule de *T. hispidula* apresentaram indicativo de inibição da enzima acetilcolinesterase. Os resultados obtidos contribuem para o conhecimento da composição química e potencial antileishmania e anticolinesterásico da espécie *T. hispidula*, e corroboram com a classificação taxonômica desta espécie.

Palavras-chave: *Tocoyena hispidula*, Rubiaceae, constituintes químicos, antileishmania, anticolinesterase

ABSTRACT

SOUSA, E. A. (2019). Chemical study and antileishmanial and anticholinesterase potential from *Tocoyena hispidula* Standl. Teresina. 263p. Thesis (Doctoral) - Post-Graduate Programme in Chemistry. Federal University of Piauí

The species *Tocoyena hispidula* (Rubiaceae-Ixoroideae) is popularly known as “flor-do-cerrado”/”angelca” and “jenipapinho”. Its roots are traditionally used to intestinal pain and uterine inflammation combat. This work reports the isolation and/or identification of the chemical constituents of EtOH extracts from the stem and leaves of *T. hispidula*, as well as evaluates its antileishmanial and anticholinesterase potential. Chromatographic fractionation of the EtOH extract from the stem and leaves of *T. hispidula* resulted in 62 compounds identified by ¹H and ¹³C NMR (1D and 2D), GC-MS, UV, IR and insertion mass spectrometry direct. EtOH extract from the stem provided, after silica gel filter column chromatography, the hexane, CHCl₃, EtOAc and MeOH fractions. The study of the CHCl₃ fraction led to the isolation of eight pure compounds [morindolide (**1**), lupenone (**11**), acetyloleanolic acid (**12**), scopoletin (**33**), isofraxidin (**34**), lapachol (**35**), dimethyl chelidonate (**36**) and D-(+)-mannitol (**39**)] and four mixtures (*M1-M4*): *M1* [lupeol (**16**), β-amyrin (**17**), taraxerol (**18**), germanicol (**19**) and *E*-phytol (**20**)], *M2* (campesterol, campestanol, stigmasterol, Δ²²-stigmastenol, sitosterol and sitostanol), *M3* [palmitate, margarate, linoleate, oleate and stearate of the lupeyl (**16a-16e**), multiflorenyl (**21a-21e**), sitosteryl (**22a-22e**) and stigmasteryl (**23a-23e**)], *M4* (7-ketositosterol (**29**) and 7-ketoestigmasterol (**30**)). The study of EtOAc fraction resulted in the isolation and identification of oleanolic acid (**15**), benzoic acid (**38**), sitosterol-3-*O*-β-D-glucopyranoside (**28**) and three stereoisomeric mixtures of iridoids: α-gardiol (**2a**) and β-gardiol (**2b**), 10-hydroxy-1-oxo-7-iriden-11α-oic acid methyl ester (**3a**) and 10-hydroxy-1-oxo-7-iriden-11β-oic acid methyl ester (**3b**), α-genipin (**4a**) and genipin (**4b**). From the MeOH fraction the glycosylated iridoids 6α-hydroxyigeniposide (**5**), 6β-hydroxyigeniposide (**6**), gardenoside (**7**), shanzhiside methyl ester (**8**) and geniposide (**9**) were obtained and triterpene saponins 3-*O*-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranosyl oleanolic acid 28-*O*-β-D-glucopyranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranosyl ester (**31**) and erythrosaponin A (**32**). The partition of EtOH extract from the leaves gave the hexane, EtOAc and aqueous fractions. Chromatographic fractionation of the hexane fraction resulted in the isolation of squalene (**10**), rotungenic acid (**13**), *E*-phytol (**20**), α-tocopherol (**37**), multiflorenyl palmitate (**21a**), an sitosterol (**22**) and stigmasterol (**23**) steroid mixture and ursolic (**14**) and oleanolic acid (**15**) mixture. From the aqueous fraction the **5** and **6** iridoids mixture, was obtained. EtOH extract, fractions and compounds of **1** and **36** from *T. hispidula* stem inhibited the growth of *Leishmania major* promastigotes, being the CHCl₃ (IC₅₀=26.25 μg mL⁻¹) and EtOAc (IC₅₀=29.77 μg mL⁻¹) fractions the most actives. EtOH extract and hexane, EtOAc and aqueous fractions of the leaves and the CHCl₃ fraction of the *T. hispidula* stem were indicative of inhibition of the enzyme acetylcholinesterase. The results obtained contribute to the knowledge of the chemical composition and antileishmanial and anticholinesterase potential of the species *T. hispidula*, and corroborate with the taxonomic classification of this species.

Keywords: *Tocoyena hispidula*, Rubiaceae, chemical constituents, antileishmanial, anticholinesterase

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Número de artigos publicados com espécies da família Rubiaceae em periódicos das áreas de Química e Farmacologia no período de 1980-2018 (Fonte: Web of Science).....	4
Figura 2. Número de artigos publicados com espécies da família Rubiaceae em periódicos das áreas de Química e Farmacologia distribuídos por país (Fonte: Web of Science).....	5
Figura 3. Biossíntese de iridoides (Adaptado de Dewick, 2009).....	7
Figura 4. Estruturas químicas dos iridoides 103-115 e dos noriridoides 116-118	15
Figura 5. Constituintes químicos de espécies do gênero <i>Tocoyena</i>	28
Figura 6. <i>Tocoyena hispidula</i> Standl (Fonte: Ruth Raquel Soares de Farias).....	29
Figura 7. Cromatogramas obtidos em HPLC-DAD analítico (a) e em HPLC semipreparativo (b) da subfração A7, $\lambda=240$ nm.....	42
Figura 8. Cromatograma obtido em HPLC-DAD analítico da fração D8-15. Fase móvel: MeOH/ACN (1:1)-H ₂ O/AcOH (0,2%), gradiente exploratório: 5-100% de MeOH/ACN (1:1) em 40 min, fluxo de 1,0 mL min ⁻¹ , $\lambda=240$ nm.....	46
Figura 9. Cromatograma da fração D8-15 obtido em HPLC semipreparativo. Fase móvel: 15% de MeOH/ACN (1:1) e 85% de H ₂ O/AcOH (0,1%), fluxo de 4,0 mL min ⁻¹ , $\lambda=240$ nm.....	47
Figura 10. Cromatoplasmas dos extratos EtOH de <i>T. hispidula</i> , C : caule e F : folhas.....	59
Figura 11. Cromatoplasmas das frações da coluna filtrante do extrato EtOH do caule de <i>T. hispidula</i> , FH : Fração hexânica, FC : Fração CHCl ₃ , FA : Fração AcOEt, FM : Fração MeOH.....	60
Figura 12. Cromatoplasmas das frações de partição do extrato EtOH das folhas de <i>T. hispidula</i> , FH : Fração hexânica, FA : Fração AcOEt, FAq : Fração aquosa.....	61
Figura 13. (a) Cromatograma obtido em HPLC-DAD analítico e (b-o) espectros UV do extrato EtOH do caule de <i>T. hispidula</i> . Fase Móvel: MeOH/ACN 1:1 e H ₂ O/AcOH (0,2%), fluxo: 1,0 mL min ⁻¹ , gradiente exploratório (5 a 100% de MeOH/ACN 1:1 em 50 min), $\lambda=240$ nm.....	62
Figura 14. Cromatogramas obtidos em HPLC-DAD analítico do extrato EtOH e das frações AcOEt e MeOH do caule de <i>T. hispidula</i> . Fase Móvel: MeOH/ACN 1:1 e	

H ₂ O/AcOH (0,2%), fluxo: 1,0 mL min ⁻¹ , gradiente exploratório (5 a 100% de MeOH/ACN 1:1 em 50 min), λ=240 nm.....	64
Figura 15. (a) Cromatogramas obtidos em HPLC-DAD analítico da fração AcOEt e subfrações A e B ; (b-g) espectros UV das subfrações A e B . Fase móvel: MeOH/ACN (1:1)-H ₂ O/AcOH (0,2%), gradiente exploratório (5-100% de MeOH/ACN (1:1) em 50 min, fluxo: 1,0 mL min ⁻¹ , λ=240 nm.....	65
Figura 16. Cromatogramas obtidos em HPLC-DAD analítico da fração MeOH e subfrações D e E do extrato EtOH do caule de <i>T. hispidula</i> . Fase móvel: MeOH/ACN (1:1)-H ₂ O/AcOH (0,2%), gradiente exploratório (5-100% de MeOH/ACN 1:1 em 50 min), fluxo: 1,0 mL min ⁻¹ , λ=240 nm.....	66
Figura 17. (a) Cromatogramas obtidos em HPLC-DAD analítico bhdo extrato EtOH e frações AcOEt e MeOH das folhas; (b-g) espectros UV do extrato EtOH das folhas de <i>T. hispidula</i> . Fase Móvel: MeOH/ACN 1:1 e H ₂ O/AcOH (0,2%), fluxo: 1,0 mL min ⁻¹ , gradiente exploratório (5 a 100% de MeOH/ACN 1:1 em 50 min), λ=240 nm.....	67
Figura 18. Cromatogramas obtidos em HPLC-DAD analítico da fração aquosa e subfrações MH e M do extrato EtOH das folhas de <i>T. hispidula</i> . Fase móvel: MeOH/ACN (1:1)-H ₂ O/AcOH (0,2%), gradiente exploratório (5-100% de MeOH/ACN 1:1 em 50 min), fluxo: 1,0 mL min ⁻¹ , λ=240 nm.....	69
Figura 19. (a) Cromatogramas e (b-d) espectros UV obtidos em HPLC-DAD analítico das misturas 2a+2b , 3a+3b e 4a+4b . Fase móvel: MeOH/ACN (1:1)-H ₂ O/AcOH (0,2%), gradiente exploratório (5-100% de MeOH/ACN 1:1 em 35 min), fluxo: 1,0 mL min ⁻¹ , λ=240 nm.....	74
Figura 20. Principais correlações gCOSY e gHMBC dos compostos 1-4b	76
Figura 21. Espectro de RMN de ¹ H de 1 (CDCl ₃ , 600 MHz).....	79
Figura 22. Expansão (δ 1,5-4,5) do espectro de RMN de ¹ H de 1 (CDCl ₃ , 600 MHz).....	80
Figura 23. Espectro de RMN de ¹³ C de 1 (CDCl ₃ , 150 MHz).....	80
Figura 24. Espectro de RMN de ¹³ C-DEPT 90° de 1 (CDCl ₃ , 150 MHz).....	81
Figura 25. Espectro de RMN de ¹³ C-DEPT 135° de 1 (CDCl ₃ , 150 MHz).....	81
Figura 26. Mapa de contornos gCOSY de 1 (CDCl ₃ , 600 MHz).....	82
Figura 27. Mapa de contornos gHSQC de 1 (CDCl ₃ , 600 e 150 MHz).....	82
Figura 28. Mapa de contornos gHMBC de 1 (CDCl ₃ , 600 e 150 MHz).....	83
Figura 29. Espectro de RMN de ¹ H de 2a+2b (CD ₃ OD, 400 MHz).....	83

Figura 30. Expansão (δ 2,6-6,0) do espectro de RMN de ^1H de 2a+2b (CD_3OD , 400 MHz).....	84
Figura 31. Espectro de RMN de ^{13}C de 2a+2b (CD_3OD , 100 MHz).....	84
Figura 32. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 90° de 2a+2b (CD_3OD , 100 MHz).....	85
Figura 33. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° de 2a+2b (CD_3OD , 100 MHz).....	85
Figura 34. Mapa de contornos gCOSY de 2a+2b (CD_3OD , 400 MHz).....	86
Figura 35. Mapa de contornos gHSQC de 2a+2b (CD_3OD , 400 e 100 MHz).....	86
Figura 36. Mapa de contornos gHMBC de 2a+2b (CD_3OD , 400 e 100 MHz).....	87
Figura 37. Espectro de RMN de ^1H de 3a+3b (CDCl_3 , 400 MHz).....	87
Figura 38. Expansão (δ 2,2-4,6) do espectro de RMN de ^1H de 3a+3b (CDCl_3 , 400 MHz).....	88
Figura 39. Espectro de RMN de ^{13}C de 3a+3b (CDCl_3 , 100 MHz).....	88
Figura 40. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 90° de 3a+3b (CDCl_3 , 100 MHz).....	89
Figura 41. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° de 3a+3b (CDCl_3 , 100 MHz).....	89
Figura 42. Mapa de contornos gCOSY de 3a+3b (CDCl_3 , 400 MHz).....	90
Figura 43. Mapa de contornos gHSQC de 3a+3b (CDCl_3 , 400 e 100 MHz).....	90
Figura 44. Mapa de contornos gHMBC de 3a+3b (CDCl_3 , 400 e 100 MHz).....	91
Figura 45. Espectro de RMN de ^1H de 4a+4b (CDCl_3 , 600 MHz).....	91
Figura 46. Expansão (δ 1,9-5,0) do espectro de RMN de ^1H de 4a+4b (CDCl_3 , 600 MHz).....	92
Figura 47. Espectro de RMN de ^{13}C de 4a+4b (CDCl_3 , 150 MHz).....	92
Figura 48. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° de 4a+4b (CDCl_3 , 150 MHz).....	93
Figura 49. Mapa de contornos gCOSY de 4a+4b (CDCl_3 , 600 MHz).....	93
Figura 50. Mapa de contornos gHSQC de 4a+4b (CDCl_3 , 600 e 150 MHz).....	94
Figura 51. Mapa de contornos gHMBC de 4a+4b (CDCl_3 , 600 e 150 MHz).....	94
Figura 52. Principais correlações gCOSY e gHMBC dos compostos 6-9	97
Figura 53. Espectro de RMN de ^1H de 5 ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 MHz).....	101
Figura 54. Espectro de RMN de ^{13}C de 5 ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 100 MHz).....	101
Figura 55. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 90° de 5 ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 100 MHz).....	102
Figura 56. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° de 5 ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 100 MHz).....	102
Figura 57. Espectro de RMN de ^1H de 6 (CD_3OD , 600 MHz).....	103
Figura 58. Expansão (δ 2,9-4,7) do espectro de RMN de ^1H de 6 (CD_3OD , 600 MHz)....	103

Figura 59. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTQ 135 de 6 (CD_3OD , 150 MHz).....	104
Figura 60. Mapa de contornos gCOSY de 6 (CD_3OD , 600 MHz).....	104
Figura 61. Mapa de contornos gHSQC de 6 (CD_3OD , 600 e 150 MHz).....	105
Figura 62. Mapa de contornos gHMBC de 6 (CD_3OD , 600 e 150 MHz).....	105
Figura 63. Espectro de RMN de ^1H de 7 ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 600 MHz).....	106
Figura 64. Expansão (δ 3,1-6,7) do espectro de RMN de ^1H de 7 ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 600 MHz).....	106
Figura 65. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTQ 135 de 7 ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 100 MHz).....	107
Figura 66. Mapa de contornos gHSQC de 7 ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 600 e 150 MHz).....	107
Figura 67. Mapa de contornos gCOSY de 7 ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 600 MHz)	108
Figura 68. Mapa de contornos gHMBC de 7 ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 600 e 150 MHz)	108
Figura 69. Espectro de RMN de ^1H de 8 ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 600 MHz)	109
Figura 70. Expansão (δ 2,1-5,5) do espectro de RMN de ^1H de 8 ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 600 MHz).....	109
Figura 71. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTQ 135 de 8 ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 100 MHz).....	110
Figura 72. Mapa de contornos gHSQC de 8 ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 600 e 150 MHz)	110
Figura 73. Mapa de contornos gCOSY de 8 ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 600 MHz)	111
Figura 74. Mapa de contornos gHMBC de 8 ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 600 e 150 MHz)	111
Figura 75. Espectro de RMN de ^1H de 9 ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 600 MHz)	112
Figura 76. Expansão (δ 2,1-5,8) do espectro de RMN de ^1H de 9 ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 600 MHz).....	112
Figura 77. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTQ 135 de 9 ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 100 MHz).....	113
Figura 78. Mapa de contornos gHSQC de 9 ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 600 e 150 MHz)	113
Figura 79. Mapa de contornos gCOSY de 9 ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 600 MHz)	114
Figura 80. Mapa de contornos gHMBC de 9 ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 600 e 150 MHz)	114
Figura 81. Espectro de RMN de ^1H de 10 (CDCl_3 , 400 MHz)	120
Figura 82. Espectro de RMN de ^{13}C de 10 (CDCl_3 , 100 MHz)	120
Figura 83. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 90° de 10 (CDCl_3 , 100 MHz)	121
Figura 84. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° de 10 (CDCl_3 , 100 MHz)	121
Figura 85. Espectro de RMN de ^1H de 11 (CDCl_3 , 400 MHz)	122
Figura 86. Espectro de RMN de ^{13}C de 11 (CDCl_3 , 100 MHz)	122
Figura 87. Expansão (δ 12-59) do espectro de RMN de ^{13}C de 11 (CDCl_3 , 100 MHz)....	123
Figura 88. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 90° de 11 (CDCl_3 , 100 MHz)	123
Figura 89. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° de 11 (CDCl_3 , 100 MHz).....	124
Figura 90. Espectro de RMN de ^1H de 12 (CDCl_3 , 400 MHz)	124

Figura 91. Espectro de RMN de ^{13}C de 12 (CDCl_3 , 100 MHz)	125
Figura 92. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 90° de 12 (CDCl_3 , 100 MHz)	125
Figura 93. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° de 12 (CDCl_3 , 100 MHz)	126
Figura 94. Espectro de RMN de ^1H de 13 ($\text{CDCl}_3+\text{CD}_3\text{OD}$, 400 MHz)	126
Figura 95. Espectro de RMN de ^{13}C de 13 ($\text{CDCl}_3+\text{CD}_3\text{OD}$, 100 MHz)	127
Figura 96. Espectro de RMN de ^{13}C - 90° de 13 ($\text{CDCl}_3+\text{CD}_3\text{OD}$, 100 MHz)	127
Figura 97. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° de 13 ($\text{CDCl}_3+\text{CD}_3\text{OD}$, 100 MHz).....	128
Figura 98. Espectro de RMN de ^1H de 14+15 ($\text{CDCl}_3+\text{CD}_3\text{OD}$, 400 MHz).....	131
Figura 99. Espectro de RMN de ^{13}C de 14+15 ($\text{CDCl}_3+\text{CD}_3\text{OD}$, 100 MHz).....	131
Figura 100. Expansão (δ 14-56) do espectro de RMN de ^{13}C de 14+15 ($\text{CDCl}_3+\text{CD}_3\text{OD}$, 100 MHz)	132
Figura 101. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 90° de 14+15 ($\text{CDCl}_3+\text{CD}_3\text{OD}$, 100 MHz)	132
Figura 102. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° de 14+15 ($\text{CDCl}_3+\text{CD}_3\text{OD}$, 100 MHz).....	133
Figura 103. Espectro de RMN de ^1H de <i>MI</i> (16-20) (CDCl_3 , 400 MHz)	138
Figura 104. Expansão (δ 2,8-5,7) do espectro de RMN de ^1H de <i>MI</i> (16-20) (CDCl_3 , 400 MHz)	138
Figura 105. Espectro de RMN de ^{13}C de <i>MI</i> (16-20) (CDCl_3 , 100 MHz).....	139
Figura 106. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 90° de <i>MI</i> (16-20) (CDCl_3 , 100 MHz).....	139
Figura 107. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° de <i>MI</i> (16-20) (CDCl_3 , 100 MHz).....	140
Figura 108. (a) Espectro de massas APCI(+)-FTICR MS da fração FH13-21 e (b) proposta de formação do fragmento m/z 409 do composto 21a	143
Figura 109. Espectro de RMN de ^1H de <i>M2</i> (triterpenos e esteroides esterificados com ácidos graxos; 16a-16e , 21a-21e , 22a-22e e 23a-23e) (CDCl_3 , 400 MHz).....	145
Figura 110. Espectro de RMN de ^{13}C de <i>M2</i> (triterpenos e esteroides esterificados com ácidos graxos; 16a-16e , 21a-21e , 22a-22e e 23a-23e) (CDCl_3 , 100 MHz).....	145
Figura 111. Espectro de RMN de ^1H de 16+21 (CDCl_3 , 600 MHz).....	146
Figura 112. Espectro de RMN de ^{13}C de 16+21 (CDCl_3 , 150 MHz).....	146
Figura 113. Expansão (δ 12-58) do espectro de RMN de ^{13}C de 16+21 (CDCl_3 , 150 MHz)	147
Figura 114. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° de 16+21 (CDCl_3 , 150 MHz).....	147
Figura 115. Espectro de RMN de ^1H de 22+23 (CDCl_3 , 400 MHz).....	148

Figura 116. Espectro de RMN de ^{13}C de 22+23 (CDCl_3 , 100 MHz).....	148
Figura 117. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 90° de 22+23 (CDCl_3 , 100 MHz).....	149
Figura 118. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° de 22+23 (CDCl_3 , 100 MHz).....	149
Figura 119. Cromatograma de íons monitorados (MIC) dos ésteres metílicos de ácidos graxos (a-e).....	150
Figura 120. Espectro de massas do palmitato de metila (a)	150
Figura 121. Espectro de massas do margarato de metila (b)	150
Figura 122. Espectro de massas do linoleato de metila (c)	150
Figura 123. Espectro de massas do oleato de metila (d)	151
Figura 124. Espectro de massas do estearato de metila (e).....	151
Figura 125. Espectro de RMN de ^1H de FH13-21 (CDCl_3 , 400 MHz).....	151
Figura 126. Espectro de RMN de ^{13}C de FH13-21 (CDCl_3 , 100 MHz).....	152
Figura 127. Cromatograma de íons totais de <i>M3</i> (22-27)	154
Figura 128. Espectro de massas do campesterol (24) - $\text{M}^{+\bullet}$ 400.....	154
Figura 129. Espectro de massas do campestanol (25) - $\text{M}^{+\bullet}$ 402.....	154
Figura 130. Espectro de massas do estigmasterol (23) - $\text{M}^{+\bullet}$ 412.....	155
Figura 131. Espectro de massas do Δ^{22} -estigmasterol- (27) - $\text{M}^{+\bullet}$ 414.....	155
Figura 132. Espectro de massas do sitosterol (22) - $\text{M}^{+\bullet}$ 414.....	155
Figura 133. Espectro de massas do sitostanol (26) - $\text{M}^{+\bullet}$ 416.....	155
Figura 134. Espectro de RMN de ^1H de 28a (CDCl_3 , 600 MHz)	158
Figura 135. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTQ 135 de 28a (CDCl_3 , 150 MHz)	159
Figura 136. Expansão (δ 10-75) do espectro de RMN de ^{13}C -DEPTQ 135 de 28a (CDCl_3 , 150 MHz)	159
Figura 137. Mapa de contornos gHSQC de 28a (CDCl_3 , 600 e 150 MHz)	160
Figura 138. Expansão (δ 0,5-2,4 e 10-65) do mapa de contornos gHSQC de 28a (CDCl_3 , 600 e 150 MHz)	160
Figura 139. Mapa de contornos gHMBC de 28a (CDCl_3 , 600 e 150 MHz)	161
Figura 140. Expansão (δ 0,5-2,4 e 10-65) do mapa de contornos gHMBC de 28a (CDCl_3 , 600 e 150 MHz)	161
Figura 141. Mapa de contornos gCOSY de 28a (CDCl_3 , 600 MHz)	162
Figura 142. Espectro de RMN de ^1H de <i>M4</i> (29+30) (CDCl_3 , 400 MHz)	165
Figura 143. Espectro de RMN de ^{13}C de <i>M4</i> (29+30) (CDCl_3 , 100 MHz)	165

Figura 144. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 90° de <i>M4</i> (29+30) (CDCl_3 , 100 MHz).....	166
Figura 145. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° de <i>M4</i> (29+30) (CDCl_3 , 100 MHz)....	166
Figura 146. Correlações observadas no mapa de contornos gHMBC (^1H - ^{13}C) entre as unidades de açúcar e, entre os açúcares e a aglicona para o composto 31	168
Figura 147. (a-c) Espectros de massas por ESI-IT-MS no modo negativo e (d) proposta de fragmentação do composto 31	171
Figura 148. Espectro de RMN de ^1H de 31 (CD_3OD , 400 MHz).....	172
Figura 149. Expansão (δ 2,8-5,5) do espectro de RMN de ^1H de 31 (CD_3OD , 400 MHz)	172
Figura 150. Espectro de RMN de ^{13}C de 31 (CD_3OD , 100 MHz).....	173
Figura 151. Expansão (δ 16-82) do espectro de RMN de ^{13}C de 31 (CD_3OD , 100 MHz)	173
Figura 152. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 90° de 31 (CD_3OD , 100 MHz).....	174
Figura 153. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° de 31 (CD_3OD , 100 MHz).....	174
Figura 154. Mapa de contornos gHSQC de 31 (CD_3OD , 400 e 100 MHz)	175
Figura 155. Expansão (δ 0,6-2,0) do mapa de contornos gHSQC de 31 (CD_3OD , 400 e 100 MHz)	175
Figura 156. Expansão (δ 2,8-4,5) do mapa de contornos gHSQC de 31 (CD_3OD , 400 e 100 MHz).....	176
Figura 157. Mapa de contornos gCOSY de 31 (CD_3OD , 400 MHz)	176
Figura 158. Mapa de contornos gHMBC de 31 (CD_3OD , 400 e 100 MHz).....	177
Figura 159. Expansão (δ 0,75-1,40) do mapa de contornos gHMBC de 31 (CD_3OD , 400 e 100 MHz).....	177
Figura 160. Expansão (δ 3,1-4,5) do mapa de contornos gHMBC de 31 (CD_3OD , 400 e 100 MHz).....	178
Figura 161. Espectro de RMN de ^1H de 31 ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 MHz).....	178
Figura 162. Espectro de RMN de ^{13}C de 31 ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 100 MHz).....	179
Figura 163. Expansão (δ 15-86) do espectro de RMN de ^{13}C de 31 ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 100 MHz).....	179
Figura 164. Principais correlações gCOSY (^1H - ^1H) e gHMBC (^1H - ^{13}C) para o composto 32	181
Figura 165. Espectro de RMN de ^1H de 32 ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 600 MHz).....	183
Figura 166. Expansão (δ 0,7-5,1) do espectro de RMN de ^1H de 32 ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 600 MHz).	184
Figura 167. Espectro de RMN de ^{13}C de 32 ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 150 MHz)	184

Figura 168. Expansão (δ 15-82) do espectro de RMN de ^{13}C de 32 ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 150 MHz)..	185
Figura 169. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 90° de 32 ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 150 MHz)	185
Figura 170. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° de 32 ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 150 MHz).....	186
Figura 171. Mapa de contornos gHSQC de 32 ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 600 e 150 MHz)	186
Figura 172. Expansão (δ 0,5-3,0 e 10-60) do mapa de contornos gHSQC de 32 ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 600 e 150 MHz)	187
Figura 173. Expansão (δ 3,3-5,8 e 40-130) do mapa de contornos gHSQC de 32 ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 600 e 150 MHz)	187
Figura 174. Mapa de contornos gHMBC de 32 ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 600 e 150 MHz)	188
Figura 175. Expansão (δ 0,7-1,9 e 10-95) do mapa de contornos gHMBC de 32 ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 600 e 150 MHz)	188
Figura 176. Expansão (δ 4,1-6,8 e 10-110) do mapa de contornos gHMBC de 32 ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 600 e 150 MHz)	189
Figura 177. Mapa de contornos gCOSY de 32 ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 600 MHz)	189
Figura 178. Expansão (δ 0,5-3,6) do mapa de contornos gCOSY de 32 ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 600 MHz)	190
Figura 179. Expansão (δ 3,2-6,2) do mapa de contornos gCOSY de 32 ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 600 MHz)	190
Figura 180. Espectro de RMN ^1H -TOCSY 1D (irradiação de δ 4,58) de 32 ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 600 MHz).....	191
Figura 181. Espectro de RMN ^1H -TOCSY 1D (irradiação de δ 4,97) de 32 ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 600 MHz).....	191
Figura 182. Espectro de RMN ^1H -TOCSY 1D (irradiação de δ 4,90) de 32 ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 600 MHz)	192
Figura 183. Espectro de RMN de ^1H de 32 (CD_3OD , 400 MHz)	192
Figura 184. Expansão (δ 0,7-4,2) do espectro de RMN de ^1H de 32 (CD_3OD , 400 MHz)	193
Figura 185. Espectro de RMN de ^{13}C de 32 (CD_3OD , 100 MHz).....	193
Figura 186. Espectro de RMN de ^1H de 33 (CD_3OD , 400 MHz)	196
Figura 187. Espectro de RMN de ^{13}C de 33 (CD_3OD , 100 MHz)	196
Figura 188. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 90° de 33 (CD_3OD , 100 MHz).....	197
Figura 189. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° de 33 (CD_3OD , 100 MHz).....	197
Figura 190. Mapa de contornos gHSQC de 33 (CD_3OD , 400 e 100 MHz)	198

Figura 191. Mapa de contornos gHMBC de 33 (CD ₃ OD, 400 e 100 MHz)	198
Figura 192. Espectro de RMN de ¹ H de 34 (CDCl ₃ , 600 MHz)	199
Figura 193. Espectro de RMN de ¹³ C de 34 (CDCl ₃ , 150 MHz)	199
Figura 194. Espectro de RMN de ¹³ C-DEPT 135° de 34 (CDCl ₃ , 150 MHz)	200
Figura 195. Mapa de contornos gHSQC de 34 (CDCl ₃ , 600 e 150 MHz)	200
Figura 196. Mapa de contornos gHMBC de 34 (CDCl ₃ , 600 e 150 MHz)	201
Figura 197. Espectro de RMN ¹ H de 35 (CDCl ₃ , 400 MHz)	204
Figura 198. Espectro de RMN ¹³ C de 35 (CDCl ₃ , 100 MHz)	204
Figura 199. Espectro (a) DEPT 135° e (b) DEPT 90° de 35 (CDCl ₃ , 100 MHz)	205
Figura 200. Espectro de RMN de ¹ H de 36 (CDCl ₃ , 400 MHz)	207
Figura 201. Espectro de RMN de ¹³ C de 36 (CDCl ₃ , 100 MHz)	207
Figura 202. Espectro de RMN de ¹³ C-DEPT 90 de 36 (CDCl ₃ , 100 MHz)	208
Figura 203. Mapa de contornos gHMBC de 36 (CDCl ₃ , 400 e 100 MHz)	208
Figura 204. Espectro de RMN de ¹ H de 37 (CDCl ₃ , 400 MHz)	211
Figura 205. Espectro de RMN de ¹³ C de 37 (CDCl ₃ , 100 MHz)	211
Figura 206. Expansão (δ 10-42) do espectro de RMN de ¹³ C de 37 (CDCl ₃ , 100 MHz)..	212
Figura 207. Espectro de RMN de ¹³ C-DEPT 90° de 37 (CDCl ₃ , 100 MHz).....	212
Figura 208. Espectro de RMN de ¹³ C-DEPT 135° de 37 (CDCl ₃ , 100 MHz).....	213
Figura 209. Espectro de RMN de ¹ H de 38 (CDCl ₃ , 600 MHz)	215
Figura 210. Espectro de RMN de ¹³ C de 38 (CDCl ₃ , 150 MHz)	215
Figura 211. Mapa de contornos gHSQC de 38 (CDCl ₃ , 600 e 150 MHz)	216
Figura 212. Mapa de contornos gHMBC de 38 (CDCl ₃ , 600 e 150 MHz)	216
Figura 213. Espectro no infravermelho (KBr) de 39	218
Figura 214. Espectro de RMN de ¹ H de 39 (DMSO- <i>d</i> ₆ , 400 MHz)	219
Figura 215. Espectro de RMN de ¹³ C de 39 (DMSO- <i>d</i> ₆ , 100 MHz)	219
Figura 216. Espectro de RMN (a) DEPT 135° e (b) DEPT 90° do composto 39 (DMSO- <i>d</i> ₆ , 100 MHz)	220
Figura 217. Mapa de contornos gHSQC do composto 39 (DMSO- <i>d</i> ₆ , 400 e 100 MHz)...	220
Figura 218. Cromatoplaça do ensaio de inibição da enzima acetilcolinesterase do caule e folhas de <i>T. hispidula</i> . Legenda: padrão cafeína (P), EEC (1), FCHCl ₃ (2), FAcOEt- caule (3), FMeOH (4), EEf (5), FHex (6), FAcOEt-folhas (7) e FA (8).....	223

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Iridoides de espécies da tribo Gardenieae.....	8
Tabela 2. Estruturas dos iridoides de espécies da tribo Gardenieae (1-102)	11
Tabela 3. Atividades biológicas de espécies da tribo Gardenieae.....	16
Tabela 4. Grupos obtidos do fracionamento cromatográfico da fração CHCl ₃ do extrato EtOH do caule de <i>T. hispidula</i>	34
Tabela 5: Grupos obtidos do fracionamento cromatográfico da fração hexânica das folhas de <i>T. hispidula</i>	52
Tabela 6. Dados de RMN de ¹ H dos compostos 1-4b (<i>J</i> em Hz)	77
Tabela 7. Dados de RMN ¹³ C dos compostos 1-3b	78
Tabela 8. Dados de RMN de ¹³ C dos compostos 4a+4b (δ em ppm)	79
Tabela 9. Dados de RMN de ¹ H dos compostos 5-9 (δ em ppm; <i>J</i> em Hz)	98
Tabela 10. Dados de RMN de ¹³ C dos compostos 5 e 6 (δ em ppm)	99
Tabela 11. Dados de RMN de ¹³ C dos compostos 7-9 (C ₅ D ₅ N, 150 MHz; δ em ppm).....	100
Tabela 12. Dados de RMN de ¹³ C dos compostos 10-12 (CDCl ₃ , 100 MHz) e 13 (CDCl ₃ +CD ₃ OD, 100 MHz)	118
Tabela 13. Dados de RMN ¹³ C dos compostos 14+15 (CDCl ₃ +CD ₃ OD, 100 MHz).....	130
Tabela 14. Dados de RMN de ¹³ C para os compostos 16-19 (CDCl ₃ , 100 MHz).....	136
Tabela 15. Dados de RMN de ¹³ C para o composto 20 (CDCl ₃ , 400 MHz; δ em ppm)....	137
Tabela 16. Dados de RMN de ¹ H e ¹³ C de 21 (CDCl ₃ , 600 e 150 MHz) e 22+23 (CDCl ₃ , 400 e 100 MHz)	144
Tabela 17. Esteroides (22-27) identificados por CG-EM do caule de <i>T. hispidula</i>	153
Tabela 18. Dados de RMN de ¹ H e ¹³ C do composto 28a (CDCl ₃ , 600 e 150 MHz; δ em ppm)	157
Tabela 19. Dados de RMN de ¹ H e ¹³ C da glicose acetilada do composto 28a (CDCl ₃ , 600 e 150 MHz; δ em ppm)	158
Tabela 20: Dados de RMN de ¹³ C dos compostos 29+30 (CDCl ₃ , 100 MHz).....	164
Tabela 21: Dados de RMN de ¹ H e ¹³ C para o composto 31 (400 e 100 MHz)	169
Tabela 22: Dados de RMN de ¹ H e ¹³ C para os açúcares do composto 31 (400 e 100 MHz; δ em ppm)	170
Tabela 23. Dados de RMN de ¹ H e ¹³ C do composto 32 (δ em ppm)	182

Tabela 24. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C do dissacarídeo do composto 32 (δ em ppm).....	183
Tabela 25. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C dos compostos 33 (CD_3OD , 400 e 100 MHz) e 34 (CDCl_3 , 600 e 150 MHz)	195
Tabela 26. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C do composto 35 (CDCl_3 , 400 e 100 MHz).....	203
Tabela 27. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C do composto 36 (CDCl_3 , 400 e 100 MHz).....	206
Tabela 28. Dados de RMN de ^{13}C do composto 37 (CDCl_3 , 100 MHz).....	210
Tabela 29. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C do composto 38 (CDCl_3 , 600 e 150 MHz; δ em ppm)	214
Tabela 30. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C do composto 39 (400 e 100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$; δ em ppm).....	218
Tabela 31. Atividade antileishmania das amostras do caule <i>T. hispidula</i> frente a <i>L. major</i>	222

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Constituintes químicos de espécies do gênero <i>Tocoyena</i>	25
Quadro 2. Atividades biológicas de compostos obtidos de <i>T. hispidula</i>	227

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1. Obtenção do extrato EtOH e das frações resultantes da cromatografia em coluna filtrante de gel de sílica do extrato EtOH do caule de <i>T. hispidula</i>	33
Esquema 2. Reação de hidrólise alcalina da subfração CC9-7-2 (M2).....	36
Esquema 3. Obtenção e fracionamento cromatográfico dos grupos CC9, CC13, CC15 e CC24 provenientes da fração CHCl ₃ do extrato EtOH do caule de <i>T. hispidula</i>	39
Esquema 4. Obtenção e fracionamento cromatográfico dos grupos CC50, CC65, CC72 e CC82 provenientes da fração CHCl ₃ do caule de <i>T. hispidula</i>	40
Esquema 5. Fracionamento cromatográfico da fração AcOEt do extrato EtOH do caule de <i>T. hispidula</i>	41
Esquema 6. Fracionamento cromatográfico da subfração MeOH/H ₂ O 1:1 (A) da fração AcOEt do caule de <i>T. hispidula</i>	43
Esquema 7. Fracionamento cromatográfico da subfração MeOH (B).....	44
Esquema 8. Fracionamento cromatográfico da fração MeOH do extrato EtOH do caule de <i>T. hispidula</i>	45
Esquema 9. Fracionamento cromatográfico da subfração MeOH/H ₂ O 1:1 (D) da fração MeOH do extrato EtOH do caule de <i>T. hispidula</i>	48
Esquema 10. Fracionamento cromatográfico da subfração MeOH (E) da fração MeOH do extrato EtOH do caule de <i>T. hispidula</i>	49
Esquema 11. Obtenção e partição do extrato EtOH das folhas de <i>T. hispidula</i>	50
Esquema 12. Fracionamento cromatográfico da fração hexânica do extrato EtOH das folhas de <i>T. hispidula</i>	55
Esquema 13. Fracionamento cromatográfico da fração aquosa do extrato EtOH do caule de <i>T. hispidula</i>	57

LISTAS DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

- AChE: enzima acetilcolinesterase
- AcOEt: acetato de etila
- ACN: acetonitrila
- AcOH: ácido acético
- APCI: *atmospheric pressure chemical ionization*
- CC: cromatografia em coluna
- CCD: cromatografia em camada delgada
- CCDA: cromatografia em camada delgada analítica
- CCDC: cromatografia em camada delgada comparativa
- CD₃OD: metanol deuterado
- CDCl₃: clorofórmico deuterado
- C₅D₅N: piridina deuterada
- Ce(SO₄)₂: sulfato cérico
- CI₅₀: concentração inibitória média
- CG-EM: cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas
- DEPT: *distortionless enhancement by polarization transfer*
- DMAP: dimetilaminopiridina
- DMAPP: difosfato de dimetilalila
- DMSO: dimetilsulfóxido
- DTNB: ácido 5,5'-ditiobis-(2-nitrobenzóico) - reagente de Ellman
- EEtOH: extrato etanólico
- ESI-IT-MS: *Electrospray ionization ion trap mass spectrometry*
- FTICR MS: *Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometer*
- FAcOEt: fração acetato de etila
- FCHCl₃: fração clorofórmica
- FMeOH: fração metanólica
- gCOSY: *correlated spectroscopy*
- gHMBC: *Heteronuclear Multiple-Bond Correlation*
- HPLC: *High Performance Liquid Chromatography*
- gHSQC: *Heteronuclear Single-Quantum Correlation*

- IV: infravermelho
- J : constante de acoplamento
- m/z : razão massa carga
- M^+ : pico do íon molecular
- MeOH: metanol
- MIC: cromatograma de íons monitorados
- min: minuto
- RMN de ^{13}C : Ressonância Magnética Nuclear de carbono-13
- RMN de ^1H : Ressonância Magnética Nuclear de hidrogênio
- IS%: Índice de similaridade
- SAM: *S-adenosil metionina*
- SisGen: Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado
- TMS: tetrametilsilano
- TOCSY: *Total Correlation Spectroscopy*
- T_R : tempo de retenção
- UV: ultravioleta
- δ_C : deslocamento químico do carbono-13
- δ_H : deslocamento químico do hidrogênio
- λ : comprimento de onda

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS.....	2
2.1. Objetivo Geral.....	2
2.2. Objetivos Específicos.....	2
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
3.1. O táxon Rubiaceae.....	3
3.2. Tribo Gardenieae - Subfamília Ixoroideae.....	5
3.3. Iridoides.....	6
3.3.1. Iridoides de espécies da tribo Gardenieae.....	8
3.3.2. Atividades biológicas de espécies da tribo Gardenieae.....	16
3.4. Gênero <i>Tocoyena</i> Standl.....	25
3.5. <i>Tocoyena hispidula</i> Standl.....	29
4. PARTE EXPERIMENTAL.....	30
4.1. Materiais e equipamentos.....	30
4.2. Coleta e identificação do material vegetal.....	31
4.3. Obtenção e fracionamento do extrato EtOH do caule.....	32
4.3.1. Fracionamento cromatográfico da fração CHCl ₃ do extrato EtOH do caule.....	33
4.3.1.1. Fracionamento cromatográfico do grupo CC9.....	34
4.3.1.1.1. Hidrólise e fracionamento de CC9-7-2 (<i>M2</i>).....	35
4.3.1.2. Fracionamento dos grupos CC13 e CC15.....	37
4.3.1.3. Fracionamento do grupo CC24.....	37
4.3.1.4. Fracionamento do grupo CC50.....	37
4.3.1.5. Fracionamento dos grupos CC65, CC72 e CC82.....	38
4.3.2. Fracionamento cromatográfico da fração AcOEt do extrato EtOH do caule.....	41
4.3.2.1. Fracionamento da subfração MeOH/H ₂ O 1:1 (A).....	41
4.3.2.2. Fracionamento da subfração MeOH (B).....	43
4.3.3. Fracionamento cromatográfico da fração MeOH do extrato EtOH do caule de <i>T. hispidula</i>	45
4.3.3.1 Fracionamento da subfração MeOH/H ₂ O 1:1 (D).....	45
4.3.3.2 Fracionamento da subfração MeOH (E).....	48

4.4. Obtenção e partição do extrato EtOH das folhas.....	50
4.4.1. Fracionamento cromatográfico da fração hexânica do extrato EtOH das folhas de <i>T. hispidula</i>	51
4.4.1.1 Fracionamento cromatográfico dos grupos FH1 e FH13.....	52
4.4.1.2 Fracionamento cromatográfico dos grupos FH15 e FH22.....	53
4.4.1.3. Fracionamento cromatográfico dos grupos FH32 e FH98.....	53
4.4.2. Fracionamento cromatográfico da fração aquosa do extrato EtOH das folhas de <i>T. hispidula</i>	56
4.5. Perfis cromatográficos dos extratos e frações de <i>T. hispidula</i> em HPLC-DAD analítico.....	57
4.6. Avaliação das atividades antileishmania e anticolinesterásica de <i>T. hispidula</i>	58
4.6.1. Atividade antileishmania.....	58
4.6.2. Atividade anticolinesterásica.....	58
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	59
5.1. Perfil químico dos extratos e frações de <i>T. hispidula</i>	59
5.1.1. Cromatografia em camada delgada analítica (CCDA).....	59
5.1.2. Cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).....	61
5.1.2.1. Extrato EtOH e frações do caule de <i>T. hispidula</i>	61
5.1.2.2. Extrato EtOH e frações das folhas de <i>T. hispidula</i>	66
5.2. Estruturas das substâncias obtidas de <i>T. hispidula</i>	70
5.3. Identificação estrutural das substâncias obtidas de <i>T. hispidula</i>	72
5.3.1. Identificação estrutural dos iridoides.....	73
Iridoides simples.....	73
Iridoides glicosilados.....	95
5.3.2. Identificação estrutural dos triterpenoides, diterpenoide e esteroides.....	115
Triterpenoides.....	115
Mistura dos triterpenoides.....	129
Mistura dos triterpenoides e diterpenoide (<i>M1</i>).....	134
Mistura dos triterpenoides e esteroides (<i>M2</i>).....	141
Mistura dos esteroides 3 β -OH (<i>M3</i>).....	153
Esteróide glicosilado.....	156
Mistura dos cetosteroides (<i>M4</i>).....	163

5.3.3. Identificação estrutural das saponinas triterpênicas.....	167
Saponina 31.....	167
Saponina 32.....	180
5.3.4. Identificação estrutural das cumarinas.....	194
5.3.5. Identificação estrutural de compostos de outras classes.....	202
Naftoquinona.....	202
γ -pirona.....	206
Tocoferol.....	209
AriC1.....	214
Poliol.....	217
5.4. Atividades biológicas de <i>T. hispidula</i>	221
5.4.1. Atividade antileishmania.....	221
5.4.2. Atividade inibidora de acetilcolinesterase.....	222
5.5. Considerações gerais e atividades biológicas dos constituintes químicos de <i>T. hispidula</i>	223
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	232
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	234

1. INTRODUÇÃO

As plantas são consideradas a mais antiga fonte de medicina alternativa, representando uma prática comum, passada de geração para geração e que contribue diretamente para o desenvolvimento de novas drogas, mesmo com os avanços em síntese orgânica e química combinatória (NASAB e KHOSRAVI, 2014; BOLZANI et al., 2012).

As plantas produzem uma variada e complexa quantidade de metabólitos secundários, resultantes de milhões de anos de evolução. A produção destes metabólitos está associada ao sistema de defesa das plantas, incluindo proteção contra herbívoros e resistência às intempéries do clima e poluição (VIEGAS-JR, BOLZANI e BARREIRO, 2006). Estes metabólitos são responsáveis pelo valor medicinal das plantas, bem como por várias drogas atualmente vendidas, que são obtidas através destes, por simples modificações sintéticas (JAMWAL, BHATTACHARYA E PURI, 2018).

O Brasil possui uma das mais ricas floras do planeta, compreendendo cerca de 20% da biodiversidade vegetal mundial (GARCEZ et al., 2016). Destaca-se pelo número significativo de espécies com potencial terapêutico e como fonte de novos agentes bioativos, uma vez que a maioria das espécies ainda não foi estudada (SANTOS et al., 2018; BOLZANI et al., 2012).

A busca por novos agentes terapêuticos têm impulsionado a pesquisa na área de produtos naturais, visando o isolamento e identificação de compostos bioativos. Um dos maiores obstáculos desta área são as limitações de metodologias para separação e elucidação estrutural de novas moléculas, uma vez que os extratos de plantas apresentam uma alta complexidade (BOLZANI et al., 2012). Os avanços em cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), espectrometria de massas e ressonância magnética nuclear (RMN) têm facilitado o isolamento e identificação de novas moléculas (BOLZANI et al., 2012).

A biodiversidade brasileira ainda pouco explorada, a tradição da população no uso de plantas medicinais e a busca por novos agentes terapêuticos, têm estimulado a pesquisa com plantas medicinais. Neste contexto, a espécie *Tocoyena hispidula* (Rubiaceae), utilizada tradicionalmente no combate a dor de barriga e inflamação do útero, despertou interesse pelo seu estudo químico e biológico (SILVA, 2010; OLIVEIRA et al., 2007).

O presente trabalho relata o estudo fitoquímico e avaliação das atividades antileishmania e anticolinesterásica de *T. hispidula*.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Investigar a composição química e as atividades antileishmania e anticolinesterásica da espécie *T. hispidula* Standl. (Rubiaceae)

2.2. Objetivos Específicos

- Preparar os extratos etanólicos do caule e folhas de *T. hispidula*
- Fracionar o extrato EtOH do caule por cromatografia em coluna filtrante de gel de sílica
- Fracionar por extração líquido-líquido o extrato EtOH das folhas
- Obter o perfil químico dos extratos e frações por cromatografia em camada delgada analítica e cromatografia líquida de alta eficiência
- Isolar e/ou identificar os constituintes químicos das frações provenientes dos extratos EtOH do caule e folhas de *T. hispidula*
- Avaliar o potencial de inibição da enzima acetilcolinesterase dos extratos e frações de *T. hispidula*
- Investigar a atividade antileishmania do extrato EtOH do caule de *T. hispidula*, frações e compostos isolados
- Contribuir para o conhecimento da composição química da espécie *T. hispidula* e taxonomia da família Rubiaceae

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. O táxon Rubiaceae

Rubiaceae é considerada, entre as Angiospermas, a quarta maior família em número de espécies, ficando atrás de Orchidaceae, Asteraceae e Leguminosae (DELPRETE e JARDIM, 2012). É constituída por cerca de 650 gêneros e 13.000 espécies, distribuídas principalmente nas regiões tropicais e subtropicais, sendo representada por árvores, arbustos, ervas e cipós (DELPRETE e JARDIM, 2012; DAVIS et al., 2009). No Brasil são encontrados aproximadamente 126 gêneros e 1.412 espécies, com distribuição na Bacia Amazônica, cerrado, caatinga, restingas e Floresta Atlântica (BARBOSA et al., 2015; DELPRETE e JARDIM, 2012). É considerada uma das famílias mais importantes da flora brasileira, tanto economicamente, ornamentalmente e para fins terapêuticos (VALLI, YOUNG e BOLZANI, 2016; SOUZA e LORENZI, 2008).

A família Rubiaceae tem sofrido várias reorganizações na sua classificação, principalmente por influência de estudos filogenéticos moleculares, sendo atualmente dividida em três subfamílias (Rubioideae, Ixoroideae e Cinchonoideae) e 43 tribos (BREMER, 2009; MARTINS e NUNEZ, 2015).

Quimicamente, plantas da família Rubiaceae possuem uma grande diversidade de metabólitos secundários. As antraquinonas, iridoides e alcaloides indólicos são considerados marcadores quimiotaxonômicos das subfamílias Rubioideae, Ixoroideae e Cinchonoideae, respectivamente. Plantas desta família são conhecidas também, por metabolizarem triterpenoides, saponinas, diterpenoides, esteroides, cumarinas, flavonoides, lignanas, derivados fenólicos e taninos, sendo os triterpenoides amplamente distribuídos em todas as subfamílias (MARTINS e NUNEZ, 2015; DELPRETE e JARDIM, 2012).

Espécies de Rubiaceae se destacam pelo uso na medicina tradicional e pelas diversas atividades biológicas tais como, anti-inflamatória, analgésica, antiviral, antibacteriana, antioxidante, antifúngica, anticâncer, anti-helmíntica, antidiabética, antimalárica, hepatoprotetora e antileishmania (HAUDECOEUR et al., 2018; TAIKA et al., 2018; ASSI et al., 2017; ROCHA et al., 2015; MOREIRA, VIEIRA e BRAZ-FILHO 2015).

A importância química e farmacológica da família Rubiaceae pode ser vista pela quantidade de artigos publicados em periódicos das áreas de Química e Farmacologia na base de dados Web of Science. Nesta base, ao pesquisar pela palavra-chave “Rubiaceae”, com filtro para documentos do tipo “artigo” e periódicos das áreas de “Química” e

“Farmacologia”, constatou-se a existência de cerca de 1.800 artigos publicados. A Figura 1 mostra a distribuição por ano dos artigos publicados no período de 1980 a 2018, onde se observa um crescimento acentuado a partir da década de 1990, com leve declínio a partir de 2012.

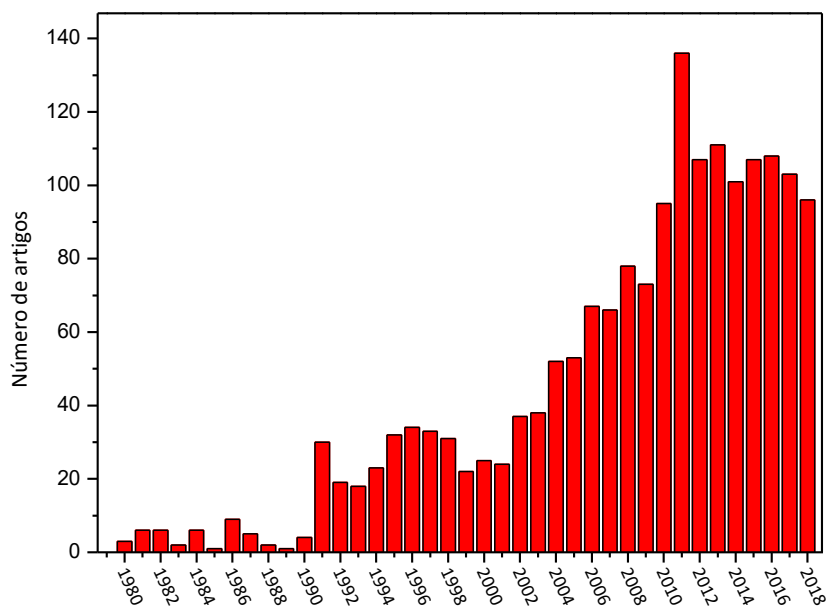


Figura 1. Número de artigos publicados com espécies da família Rubiaceae em periódicos das áreas de Química e Farmacologia no período de 1980-2018 (Fonte: Web of Science)

A Figura 2 apresenta a distribuição dos 30 países que mais têm publicado artigos referentes a plantas da família Rubiaceae, em periódicos das áreas de Química e Farmacologia. O Brasil apresentou um lugar de destaque, sendo o país com o maior número de artigos publicados, seguido da China e Estados Unidos. Estes resultados reforçam o potencial químico e farmacológico da família Rubiaceae, uma vez que se tem um número crescente de publicações envolvendo espécies desta família.

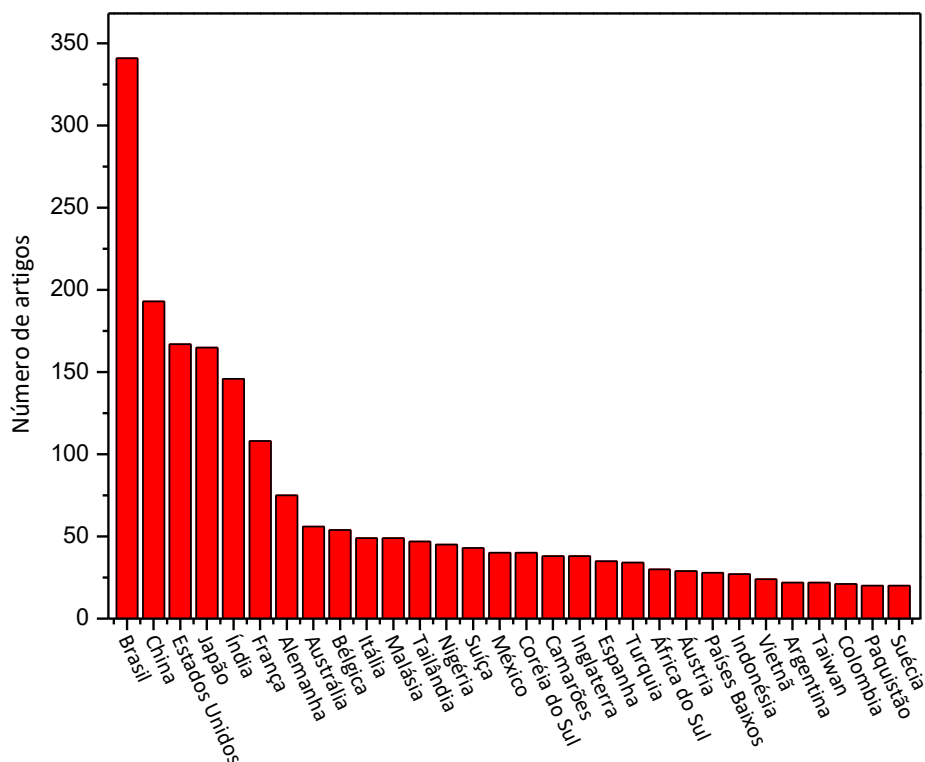


Figura 2. Número de artigos publicados com espécies da família Rubiaceae em periódicos das áreas de Química e Farmacologia distribuídos por país (Fonte: Web of Science)

3.2. Tribo Gardenieae - Subfamília Ixoroideae

Embora existam numerosos estudos taxonômicos, a subfamília Ixoroideae, apresenta uma taxonomia e filogenia insatisfatoriamente resolvida (MOULY et al., 2014). É uma das principais subfamílias, compreendendo 15 tribos e 4.000 espécies, com distribuição pantropical e subtropical (MARTINS e NUNEZ, 2015, KAINULAINEN et al., 2013). Esta subfamília é constituída por espécies de importância econômica, medicinal e como fonte de compostos bioativos como *Coffea arabica*, *Genipa americana* e *Gardenia jasminoides*. A partir das sementes de *C. arabica* se obtém o popular café, uma das bebidas mais famosas e apreciadas no Brasil, que além de sua importância econômica mundial, possui como principal composto químico a cafeína, uma substância com várias atividades biológicas, tais como, estimulante do sistema nervoso central, vasoconstritora, bronquodilatadora e diurética (MARTINS e NUNEZ, 2015; KAINULAINEN et al., 2013). Do fruto da *G. americana*, o jenipapo brasileiro, é extraído a genipina, iridoide incolor, que produz cor preta após reagir com proteínas da pele, sendo utilizada pelos indígenas para fazer tatuagens. Seu fruto é

também utilizado no preparo de vinhos, licores, compotas, refrescos entre outros (PINTO, 1995; COSTA et al., 2018). *G. jasminoides* é uma planta ornamental, conhecida por sua fragrância e, também pelo uso na medicina tradicional chinesa para tratar inflamação, dor de cabeça, edema, febre, distúrbios hepáticos e hipertensão. Possui várias atividades biológicas comprovadas como antidiabética, anti-inflamatória, antidepressiva e antioxidante (XIAO et al., 2017; PHATAK 2015).

A tribo Gardenieae pertencente à subfamília Ixoroideae, é um grupo extenso, complexo e diversificado morfológicamente (MOULY et al., 2014). É a maior tribo da família com cerca de 100 gêneros e, a maioria são espécies de hábito arbóreo ou arbustivo com distribuição pantropical (PERSSON, 1996; MOULY et al., 2014; CHIQUIERI et al., 2004). Esta tribo possui circunscrição controversa, de modo que vários estudos têm sido realizados, levando em consideração as características morfológicas e, mais recentemente, os caracteres filogenéticos moleculares (MOULY et al., 2014; BREMER, 2009; PERSSON 2000). Mouly et al (2014) propõem em seu estudo filogenético, uma nova circunscrição para Gardenieae, reconhecendo gêneros antes pertencentes a esta tribo, como *Alibertia*, *Amoioia*, *Duroia*, *Glossostipula*, *Kutchubaea*, *Melanopsidium* e *Stachyarrehena* como parte da tribo Cordiereae e criando a tribo Sherbournieae para abrigar os gêneros *Oxyanthus*, *Sherbournia* e *Mitriostigma*.

3.3. Iridoides

Os iridoides, marcadores quimiotaxonômicos da subfamília Ixoroideae, possuem várias atividades biológicas, tais como, neuroprotetora, anti-inflamatória, imunomoduladora, hepatoprotetora, antitrombótica, hipolipidêmica, colerética, antiespasmolítica, purgativa, antitumoral e antioxidante (CARRILLO-OCAMPO, 2013; DINDA, DEBNATH e BANIK, 2011).

Os iridoides são monoterpênicos com esqueleto iridano contendo o sistema de anéis ciclopenta[C]pirano, formado pela ciclização alternativa do pirofosfato de geranila (GPP), como mostra a Figura 3. O GPP depois de desfosforilado é oxidado e ciclizado por ataque nucleofílico de hidreto com formação do anel ciclopentano, seguido de adição nucleofílica do enol ao aldeído, conduzindo ao anel pirano. A rota para formação do iridoide loganina, por exemplo, envolve ainda reações de oxidação, glicosilação e metilação. A clivagem oxidativa da ligação C-7/C-8 do anel ciclopentano da loganina, forma a secologanina, um secoiridoide. Existem ainda os noriridoides, os quais são originados pela descarboxilação oxidativa dos carbonos C-10 ou C-11 dos iridoides (DEWICK 2009). Também é possível observar na

Figura 3 a formação de um iridoide tricíclico, a partir de uma série de reações, que incluem oxidação, isomerização, hidrólise e ciclização (Zhang et al., 2017a).

Os iridoides possuem uma grande variedade estrutural, decorrente dos processos de glicosilação, epoxidação, hidroxilação e esterificação com introdução de grupos metila ou derivados do ácido chiquímico (AMARAL et al., 2013; SAMPAIO-SANTOS e KAPLAN, 2001).

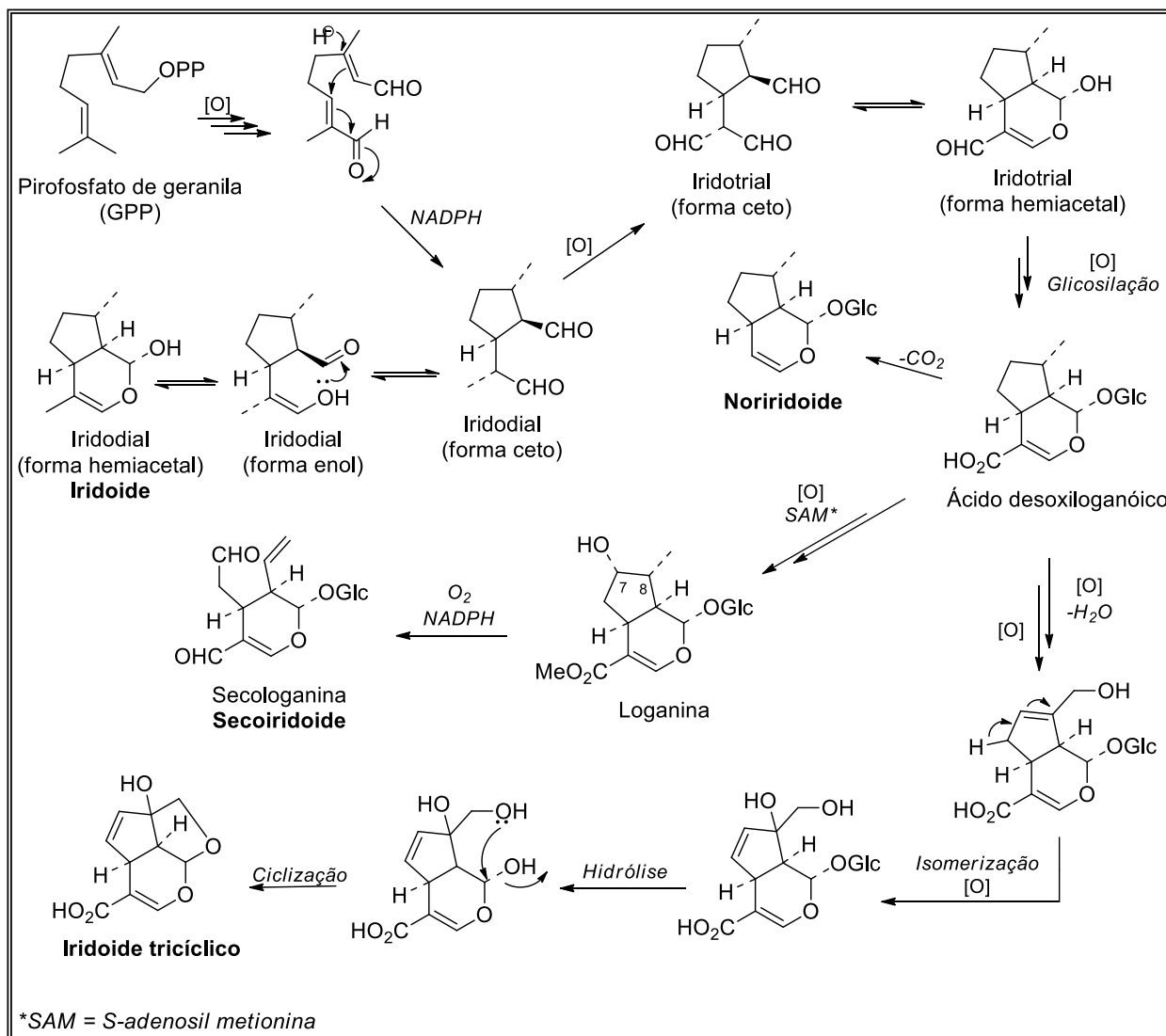


Figura 3. Biossíntese de iridoide (Adaptado de Dewick, 2009)

Uma revisão bibliográfica dos iridoide presentes em espécies da tribo Gardenieae, bem como das atividades biológicas destas espécies foi realizada. Para isso foram utilizadas as bases de dados www.sciencedirect.com, <https://scifinder.cas.org> e www.periodicos.capes.gov.br, empregando como palavras-chave, o nome dos gêneros que compõem a tribo Gardenieae, sem restrição de período de publicação. Durante a pesquisa

bibliográfica foram observados os nomes das espécies, a presença de iridoides, a parte da planta utilizada, as atividades biológicas de extratos, frações ou de compostos isolados.

3.3.1. Iridoides de espécies da tribo Gardenieae

A Tabela 1 apresenta os iridoides relatados em espécies da tribo Gardenieae, sendo observada a ocorrência destes compostos em 22 espécies pertencentes a 10 gêneros. O iridoide de maior ocorrência foi o gardenosídeo (**4**), seguido da mistura epimérica de α e β -gardiol (**1-2**) e 6 β -hidroxigeniposídeo (**5**), presentes em 10, 8 e 7 espécies, respectivamente.

A espécie *Gardenia jasminoides* (sinonímia *Gardenia fructus*) foi a que apresentou o maior número de iridoides, com 67 compostos isolados. Esta espécie é cultivada em várias regiões da China, é comumente usada como corante amarelo natural, sendo bastante empregada na medicina tradicional chinesa e, devido a estas propriedades, tem sido muito estudada, tanto química como biologicamente (XIAO et al., 2017; PHATAK, 2015).

Os gêneros que apresentaram maior número de espécies com ocorrência de iridoides foram *Randia* (4 espécies), *Rothmania* (4 espécies), *Tocoyena* (4 espécies) e *Gardenia* (3 espécies), conforme mostra a Tabela 1.

Tabela 1. Iridoides de espécies da tribo Gardenieae

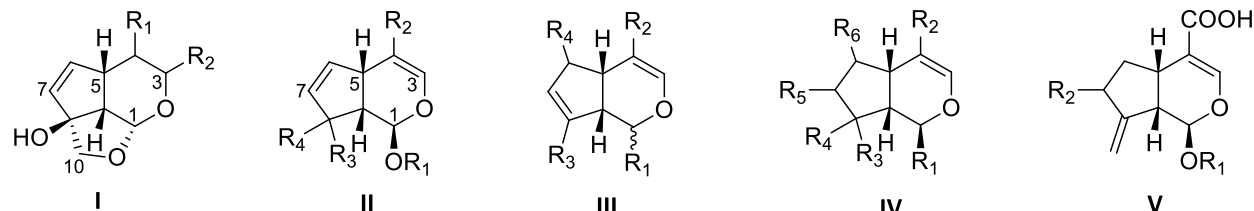
Espécie	Parte da planta	Compostos	Referência
<i>Burchellia bubalina</i>	Folhas	<i>Iridoides tricíclicos</i> : 1, 2	DREWES et al., 1999
<i>Catunaregam spinosa</i>	Casca do caule	<i>Iridoide tricíclico</i> : 3 <i>Noriridoide</i> : 116	GAO et al., 2008
<i>Catunaregam tomentosa</i>	Folhas e galhos	<i>Iridoides glicosilados</i> : 4-7	KANCHANAPOOM et al., 2002
<i>Dioecrescis erythroclada</i>	Folhas e galhos	<i>Iridoides glicosilados</i> : 4, 8, 9	KAEWKRUD et al., 2007
<i>Duroia hirsuta</i>	Raízes	<i>Iridoide lactona tetracíclico</i> : 103	AQUINO et al., 1999
<i>Gardenia jasminoides</i>	Frutos	<i>Iridoides</i> : 10-14 <i>Iridoides glicosilados</i> : 4-6, 15-54, 55 <i>Iridoide alcaloide</i> : 104	MACHIDA et al., 1998; CHANG et al., 2005; ZHOU et al., 2007a, ZHOU et al., 2007b; FU, CHOU e WANG, 2008; CHEN et al., 2009 YU et al., 2009; AKIHISA et al., 2012;

			PENG et al., 2013; YANG et al., 2013; Li et al., 2013; RAO, CHARY e MERUGU, 2013; WANG et al., 2015b;
	Folhas	<i>Iridoïdes glicosilados: 4, 5, 15, 18, 23, 29, 44, 49, 56, 57, 105, Iridoïde pseudoazuleno: 106</i>	OHASHI et al., 1986; MIURA et al., 1996; MACHIDA et al., 2003
	Flores	<i>Iridoïdes: 58-59 Iridoïdes tricíclicos: 1-2, 60-61 Iridoïdes glicosilados: 4, 5, 6, 15, 17, 19, 23, 27, 28, 33, 42, 62-71, 105</i>	SONG et al., 2014 ZHANG et al., 2017a
<i>Gardenia sootepensis</i>	frutos	<i>Iridoïdes glicosilados: 5, 15, 23, 55</i>	WANG et al., 1999
<i>Gardenia volkensii</i>	sementes	<i>Iridoïde: 10, 107 Iridoïde glicosilado: 17 Iridoïde alcaloïde: 108</i>	KINUTHIA et al., 2012 JUMA e MAJINDA, 2007
<i>Genipa americana</i>	frutos	<i>Iridoïdes: 10, 109 Iridoïdes glicosilados: 4, 15, 17, 19, 23, 42, 43, 55, 72-73</i>	ONO et al., 2005 ONO et al., 2007
	folhas	<i>Iridoïdes: 74, 75</i>	ALVES et al., 2017
<i>Randia canthioides</i>	Galhos e folhas	<i>Iridoïdes: 76 Iridoïdes glicosilados: 4, 5, 23, 77-79</i>	UESATO et al., 1982
<i>Randia dumetorum</i>	folhas	<i>Iridoïde glicosilado: 80</i>	SATI et al., 1986
	casca	<i>Iridoïde glicosilado: 81</i>	JANGWAN et al., 2013
<i>Randia ruiziana</i>	Casca do caule	<i>Iridoïdes glicosilados: 4, 23, 71</i>	DAVIOUD e BAILLEUL, 1988
<i>Randia spinosa</i>	caule	<i>Iridoïdes glicosilados: 4, 5, 15, 23, 56, 82</i>	HAMERSKI et al., 2003
<i>Rothmanina globosa</i>	frutos	<i>Iridoïde: 10 Iridoïdes tricíclicos: 1, 2 Iridoïdes glicosilados: 4, 5, 9, 15</i>	JENSEN, 1983
<i>Rothmannia macrophylla</i>	folhas	<i>Iridoïdes: 110 Iridoïdes tricíclicos: 1, 2 Iridoïdes glicosilados: 4, 5, 9, 15, 111</i>	LING, TANAKA e KOUNO, 2001
<i>Rothmannia urcelliformis</i>	frutos	<i>Iridoïde alcaloïde: 104</i>	BRINGMANN et al.,

			2001
<i>Rothmannia wittii</i>	Casca e frutos	<i>Iridoides</i> : 10, 11, 83, 112 <i>Iridoide pseudoazuleno</i> : 106 <i>Iridoides tricíclicos</i> : 1, 2, 61	CHAIPUKDEE et al., 2016
<i>Scyphiphora hydrophyllacea</i>	-	<i>Iridoides</i> : 84-89	ZENG et al., 2011; ZENG et al., 2007
	Partes aéreas	<i>Iridoide</i> : 113 <i>Iridoide glicosilado</i> : 7, 55, 90 <i>Noriridoide</i> : 117, 118	FENG et al., 2010 ZENG et al., 2010 ZENG et al., 2008
	casca do caule	<i>Iridoides glicosilados</i> : 9, 55, 91-98	TAO et al., 2009 TAO et al., 2007
<i>Tocoyena bullata</i>	folhas	<i>Iridoide glicosilado</i> : 4	POSER e SEIBT, 1998
<i>Tocoyena formosa</i>	caule	<i>Iridoide</i> : 99, 100 <i>Iridoides glicosilados</i> : 8, 57	BOLZANI et al., 1996
	folhas	<i>Iridoides tricíclicos</i> : 1, 2 <i>Iridoides glicosilados</i> : 101, 115	BOLZANI et al., 1997
<i>Tocoyena hispidula</i>	caule	<i>Iridoides</i> : 10, 102, 107, 114 <i>Iridoides tricíclicos</i> : 1, 2 <i>Noriridoide</i> : 116	SOUSA et al., 2018 SOUSA et al., 2019
<i>Tocoyena sellowiana</i>	Frutos e casca do caule	<i>Iridoides tricíclicos</i> : 1, 2	JANE et al., 1997

Os iridoides glicosilados foram os majoritários nas espécies da tribo Gardenieae, totalizando 78 (66,1%) dos 118 descritos. Para melhor compreensão os iridoides foram organizados por tipos (I-V) de acordo com a localização das ligações duplas ou presença de dois ou mais ciclos (Tabela 2). Analisando a variedade estrutural, verifica-se que os iridoides do tipo **III**, que apresentam duas ligações duplas, uma em C-3 e a outra em C-7, foram os mais abundantes, com um total de 58 (49,1%), seguido dos tipos **IV** (20 iridoides, 16,9%), **II** (13 iridoides, 11,0%), **V** (6 iridoides, 5,1%) e **I** (5 iridoides, 4,2%).

Tabela 2. Estruturas dos iridoides de espécies da tribo Gardenieae (1-102)

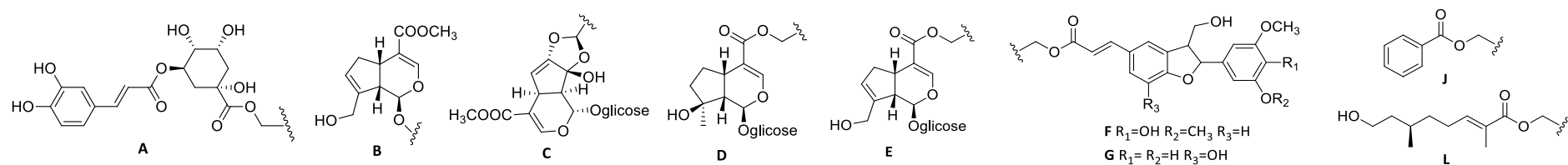


Nº	Tipo	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	Nome dos iridoides
1	I	αCOOCH ₃	OH	-	-	-	-	α-gardiol
2	I	βCOOCH ₃	OH	-	-	-	-	β-gardiol
3	I	H	H	-	-	-	-	3-deoxiartselaenina C
4	II	β-D-glicopiranosil	COOCH ₃	CH ₂ OH	βOH	-	-	Gardenosídeo
5	III	O-β-D-glicopiranosil	COOCH ₃	CH ₂ OH	βOH	-	-	Éster metílico escandosídeo/6β-hidroxi- geniposídeo
6	III	O-β-D-glicopiranosil	COOCH ₃	CH ₂ OH	αOH	-	-	6α-hidroxi- geniposídeo
7	IV	O-β-D-glicopiranosil	COOCH ₃	αCH ₃	βOH	H	βOH	Éster metílico shanzhisídeo
8	II	β-D-glicopiranosil	COOCH ₃	H	COOH	-	-	Apodantosídeo
9	IV	O-β-D-glicopiranosil	COOCH ₃	αCH ₃	βOH	H	H	mussaenosídeo
10	III	βOH	COOCH ₃	CH ₂ OH	H	-	-	Genipina
11	III	βOH	COOCH ₃	CH ₂ OH	βOH	-	-	6β-hidroxi- genipina
12	III	βOCH ₃	CHO	CH ₂ OH	H	-	-	Gardenal I
13	IV	βOCH ₃	CHO	αCH ₃	βOH	H	H	Gardenal II
14	V	CH ₃	βOH	-	-	-	-	Gardenal III
15	III	O-β-D-glicopiranosil	COOCH ₃	CH ₂ OH	H	-	-	Geniposídeo
16	III	6''-O-cis-p-cumaroil-O-β-gentiobiosídeo	COOCH ₃	CH ₂ OH	H	-	-	6''-O-cis-p-cumaroilgenipina gentiobiosídeo
17	III	O-β-gentiobiosil	COOCH ₃	CH ₂ OH	H	-	-	Genipina 1-O-β-D-gentiobiosídeo
18	IV	O-β-D-glicopiranosil	CHO	αCH ₃	βOH	H	H	Ixorosídeo
19	IV	O-β-D-glicopiranosil	COOH	αCH ₃	βOH	H	βOH	Shanzhisídeo
20	IV	O-β-D-glicopiranosil	COOCH ₃	CH ₂ OH	OH	H	OH	7β-hidroxi- esplendosídeo
21	IV	O-β-D-glicopiranosil	COOH	αCH ₃	βOH	H	H	Ácido mussaenosídeo
22	III	6'-O-sinapoil-O-β-glicopiranosídeo	COOCH ₃	CH ₂ OH	H	-	-	6'-O-sinapoilgeniposídeo
23	III	O-β-D-glicopiranosil	COOCH ₃	CH ₂ OH	αOH	-	-	éster metílico do ácido desacetilasperulosídico
24	III	4''-O-[(E)-p-coumaroil]-O-	COOCH ₃	CH ₂ OH	H	-	-	4''-O-[(E)-p-coumaroil]-gentiobiosilgenipina

25	III	β - gentiobiosídeo 6'- <i>O</i> -[(<i>E</i>)-cafeoil]- <i>O</i> - β - glicopiranosídeo	COOCH ₃	CH ₂ OH	α OH	H	H	éster metílico do ácido 6'- <i>O</i> -[(<i>E</i>)-cafeoil]- desacetilasperulosídico
26	III	<i>O</i> - β -D-glicopiranosil	H	CH ₂ OH	H	-	-	Bartsiosídeo
27	III	<i>O</i> - β -D-isomaltosil	COOCH ₃	CH ₂ OH	H	-	-	genipina 1- <i>O</i> - β -D-isomaltoside
28	III	<i>O</i> - β -D-glicopiranosil	COOCH ₃	CH ₂ OGlc	H	-	-	genipina 1,10-di- <i>O</i> - β -D-glucopiranosídeo
29	III	<i>O</i> - β -D-glicopiranosil	COOCH ₃	CH ₂ OH	α OCH ₃	-	-	Éster metílico do ácido 6- <i>O</i> - metildesacetilasperulosídico
30	III	6''- <i>O</i> - <i>trans</i> -sinapoil- <i>O</i> - β - gentiobiosídeo	COOCH ₃	CH ₂ OH	H	-	-	6''- <i>O</i> - <i>trans</i> -sinapoilgenipina gentiobiosídeo
31	III	6''- <i>O</i> - <i>trans</i> - <i>p</i> -coumaroil- <i>O</i> - β - gentiobiosídeo	COOCH ₃	CH ₂ OH	H	-	-	6''- <i>O</i> - <i>trans</i> - <i>p</i> -coumaroilgenipina gentiobiosídeo
32	III	6''- <i>O</i> - <i>trans</i> -cinnamoil- <i>O</i> - β - gentiobiosídeo	COOCH ₃	CH ₂ OH	H	-	-	6''- <i>O</i> - <i>trans</i> -cinnamoilgenipina gentiobiosídeo
33	III	6'- <i>O</i> - <i>trans</i> - <i>p</i> -cumaroil- <i>O</i> - β - glicopiranosídeo	COOCH ₃	CH ₂ OH	H	-	-	6'- <i>O</i> - <i>trans</i> - <i>p</i> -coumaroilgeniposídeo
34	III	6'- <i>O</i> - <i>trans</i> - <i>p</i> -cumaroil- <i>O</i> - β - glicopiranosídeo	COOH	CH ₂ OH	H	-	-	ácido 6'- <i>O</i> - <i>trans</i> - <i>p</i> -coumaroilgeniposídico
35	III	<i>O</i> - β -D-glicopiranosil	COOCH ₃	CH ₂ O- succinoil	H	-	-	10- <i>O</i> -succinoilgeniposídeo
36	III	6'- <i>O</i> -acetil- <i>O</i> - β - glicopiranosídeo	COOCH ₃	CH ₂ OH	H	-	-	6'- <i>O</i> -acetilgeniposídeo
37	III	<i>O</i> - β -D-glicopiranosil	COOCH ₃	CH ₂ OCOCH ₃	H	-	-	10- <i>O</i> -acetilgeniposídeo
38	III	6''- <i>O</i> - <i>trans</i> -cafeoil- <i>O</i> - β - gentiobiosil	COOCH ₃	CH ₂ OH	H	-	-	6''- <i>O</i> - <i>trans</i> -cafeoilgenipina gentiobiosídeo
39	III	β -D-apiofuranosil (1→6)- <i>O</i> - β -D-glucopiranosídeo	COOCH ₃	CH ₂ OH	H	-	-	genipina 1- <i>O</i> - β -D-apiofuranosil (1→6)- β -D- glucopiranosídeo
40	III	α -D-xilopiranosil (1→6)- β - D-glucopiranosídeo	COOCH ₃	CH ₂ OH	H	-	-	genipina 1- <i>O</i> - α -D-xilopiranosil (1→6)- β -D- glucopiranosídeo
41	III	α -L-rhamnopiranosil (1→6)- <i>O</i> - β -D-glucopiranosídeo	COOCH ₃	CH ₂ OH	H	-	-	genipina 1- <i>O</i> - α -L-rhamnopiranosil (1→6)- β -D- glucopiranosídeo
42	III	β -D-glicopiranosil (1→6)- <i>O</i> - β -D-glicopiranosídeo	COOCH ₃	CH ₂ OH	H	-	-	genamesídeo C
43	III	<i>O</i> - β -D-glicopiranosil	COOCH ₃	CH ₂ O-Glc	H	-	-	genamesídeo D
44	II	β -D-glicopiranosil	COOCH ₃	α OCH ₃	β CH ₂ OH	-	-	
45	III	<i>O</i> - β -D-glicopiranosil	COOCH ₃	CH ₂ O-sinapoil	H	-	-	10- <i>O</i> - <i>trans</i> -sinapoilgeniposídeo
46	III	6''- <i>O</i> - <i>trans</i> -cafeoil- <i>O</i> - β -	COOCH ₃	CH ₂ OH	H	-	-	6''- <i>O</i> - <i>trans</i> -cafeoilgenipina gentiobiosídeo

gentiobiosil								
47	III	<i>O</i> -β-D-glicopiranosil	COOCH ₃	A	H	-	-	Jasmigeniposídeo A
48	III	<i>O</i> -β-D-glicopiranosil	COOCH ₃	CH ₂ OH	αOCH ₃	-	-	6α-metoxigeniposídeo
49	III	<i>O</i> -β-D-glicopiranosil	COOCH ₃	CH ₂ OH	βOCH ₃	-	-	feretosídeo
50	IV	<i>O</i> -β-D-glicopiranosil	COOH	H	βOH	βOH	βOH	Ácido lamalbídico
51	V	β-D-glicopiranosil	β-OH	-	-	-	-	Gardosídeo
52	V	6'- <i>O</i> -[(<i>E</i>)-sinapoil]-glicosil	β-OH	-	-	-	-	6'- <i>O</i> -[(<i>E</i>)-sinapoil]-gardosídeo
53	V	2'- <i>O</i> - <i>trans</i> -cafeoil-glicosil	β-OH	-	-	-	-	2'- <i>O</i> - <i>trans</i> -cafeoilgardosídeo
54	III	<i>O</i> -β-D-glicopiranosil	COOCH ₃	B	H	-	-	Jasmigeniposídeo B
55	III	<i>O</i> -β-D-glicopiranosil	COOH	CH ₂ OH	H	-	-	Ácido geniposídico
56	II	β-D-glicopiranosil	COOCH ₃	αCH ₂ OH	βH	-	-	8-epiapodantosídeo
57	II	β-D-glicopiranosil	COOCH ₃	αOH	βCH ₂ OH	-	-	Galiosídeo
58	III	βOH	COOCH ₃	CH ₂ OH	αOCH ₃	-	-	6α-metoxigenipina
59	III	βOH	COOCH ₃	CH ₂ OH	αOH	-	-	6α-hidroxigenipina
60	I	αCOOCH ₃	H	-	-	-	-	Dunnisina
61	I	COOCH ₃	H, Δ ³	-	-	-	-	Garjasmine
62	III	<i>O</i> -β-D-glicopiranosil	COOCH ₃	CH ₂ OH	βOCH ₂ CH ₃	-	-	Diffusosídeo A
63	III	<i>O</i> -β-D-glicopiranosil	COOCH ₃	CH ₂ OH	αOCH ₂ CH ₃	-	-	Diffusosídeo B
64	IV	2'- <i>O</i> -(<i>E</i>)- <i>p</i> -hidroxicumaroil-(1→2)-glicosil	COOH	β-OH	αCH ₃	-	-	2'- <i>O</i> -(<i>E</i>)-coumaroilshanzhisídeo
65	IV	2'- <i>O</i> -(<i>E</i>)- <i>p</i> -hidroxicumaroil-(1→6)-glicosil	COOH	β-OH	αCH ₃	-	-	6'- <i>O</i> -(<i>E</i>)-coumaroilshanzhisídeo
66	II	β-D-glicopiranosil	COOCH ₃	αbutoxil	βOH	-	-	8α-butilgardenosídeo
67	II	β-D-glicopiranosil	COOCH ₃	αOH	βCH ₂ OH	-	-	Gardenosídeo B
68	III	<i>O</i> -β-D-glicopiranosil	COOCH ₃	CH ₂ OH	αbutoxil	-	-	6α-butoxigeniposídeo
69	III	<i>O</i> -β-D-glicopiranosil	COOCH ₃	CH ₂ OH	βetoxil	-	-	6β-etoxigeniposídeo
71	V	2'- <i>O</i> -(<i>E</i>)-coumaroil-glicosil	β-OH	-	-	-	-	2'- <i>O</i> -(<i>E</i>)-coumaroilgardosídeo
70	III	<i>O</i> -β-D-glicopiranosil	COOH	CH ₂ OH	OH	-	-	Ácido desacetilasperulosídico
72	IV	<i>O</i> -β-D-glicopiranosil	COOCH ₃	αCH ₂ OH	βOH	αOH	H	Genamesídeo A
73	IV	<i>O</i> -β-D-glicopiranosil	COOCH ₃	αOH	βCH ₂ OH	βOH	H	Genamesídeo B
74	III	βOH	CHO	CH ₂ OH	H	-	-	1-hidroxi-7-(hidroximetil)-1,4aH,5H,7aH-ciclopenta[c]piran-4-carbaldeído
75	III	βOCH ₃	CHO	CH ₂ OH	H	-	-	7-(hidroximetil)-1-metoxi-1H,4aH,5H,7aH-ciclopenta[c]piran-4-carbaldeído
76	III	βOH	COOCH ₃	CH ₂ OH	H	-	-	Aglicona do ester metílico do ácido desacetilasperulosídico
77	II	β-D-glicopiranosil	COOCH ₃	αCHO	βOH	-	-	10-diidrogardenosídeo

78	II	β -D-glicopiranosil	COOCH ₃	O	O	-	-	Randiosídeo
79	II	β -D-glicopiranosil	COOCH ₃	C	β OH	-	-	Dímero do 10-diidrogardenosídeo
80	III	<i>O</i> - β -D-glicopiranosil	COOH	COOCH ₃	H	-	-	10-metilixosídeo
81	III	<i>O</i> - β -D-glicopiranosil	COOCH ₃	COOH	H	-	-	11-metilixosídeo
82	II	β -D-glicopiranosil	COOCH ₃	β OH	D	-	-	Randinosídeo
83	III	β OH	COOCH ₃	CH ₂ OCOCH ₃	β OH	-	-	6 β -hidroxi-10- <i>O</i> -acetilgenipina
84	IV	β OH	COOCH ₃	α CH ₃	β OH	H	β OH	Éster metílico shanzhigenina
85	IV	α OH	COOCH ₃	α CH ₃	β OH	H	β OH	Éster metílico 1-epishanzhigenina
86	IV	α OH	CHO	α CH ₃	β OH	H	H	scyphiphina A ₁
87	IV	β OH	CHO	α CH ₃	β OH	H	H	scyphiphina A ₂
88	IV	α OH	COOCH ₃	α CH ₃	β OH	H	H	scyphiphina B ₁
89	IV	β OH	COOCH ₃	α CH ₃	β OH	H	H	scyphiphina B ₂
90	III	<i>O</i> - β -D-glicopiranosil	COOH	E	H	-	-	Scyphiphina D
91	III	<i>O</i> - β -D-glicopiranosil	COOH	F	H	-	-	Scyphiphorina C
92	III	<i>O</i> - β -D-glicopiranosil	COOH	G	H	-	-	Scyphiphorina D
93	III	<i>O</i> - β -D-glicopiranosil	COOH	CH ₂ OCOCH ₃	H	-	-	Ácido 10- <i>O</i> -acetilgeniposídico
94	IV	<i>O</i> - β -D-glicopiranosil	COOH	α CH ₃	β H	H	H	Ácido 7-deoxi-8-epi-loganico
95	V	β -D-glicopiranosil	H	-	-	-	-	7-deoxi-gardosídeo
96	III	<i>O</i> - β -D-glicopiranosil	COOH	CH ₃	H	-	-	Ácido 10-deoxi-geniposídico
97	III	<i>O</i> - β -D-glicopiranosil	COOH	J	H	-	-	Scyphiphorina A
98	III	<i>O</i> - β -D-glicopiranosil	COOH	L	H	-	-	Scyphiphorina B
99	II	H	COOCH ₃	α OH	β CH ₂ OH	-	-	Aglicona do galiosídeo
100	IV	β OH	11- <i>O</i> - <i>trans</i> -feruloil	α H	β CH ₃	-	-	11- <i>O</i> - <i>trans</i> -feruoilteureina
101	II	β -D-glicopiranosil	COOCH ₃	α OH	β CO ₂ CH ₃	-	-	Éster metílico mollugosídeo
102	III	α OH	COOCH ₃	CH ₂ OH	H	-	-	α -genipina



Os iridoides que não se enquadraram nos grupos **I-V** são os menos representativos e totalizam 16 (11,0%), sendo classificados como lactona (**103**), alcaloide (**104** e **108**), epóxi (**105**, **110-112**), pseudoazuleno (**106**) e outros (**107**, **109**, **113-115**) (Figura 4).

Os iridoides podem ser encontrados também como noriridoides ou secoiridoides. Na tribo Gardenieae foram observados a presença de apenas 3 noriridoides (**116-118**), conforme mostrado na Figura 4, sendo o morindolídeo (**116**), do tipo 11-noriridoide-1,3-olídeo, raramente encontrado de fonte natural (BAN et al., 2013). Entretanto, não foi observada a ocorrência de secoiridoides em espécies da tribo Gardenieae.

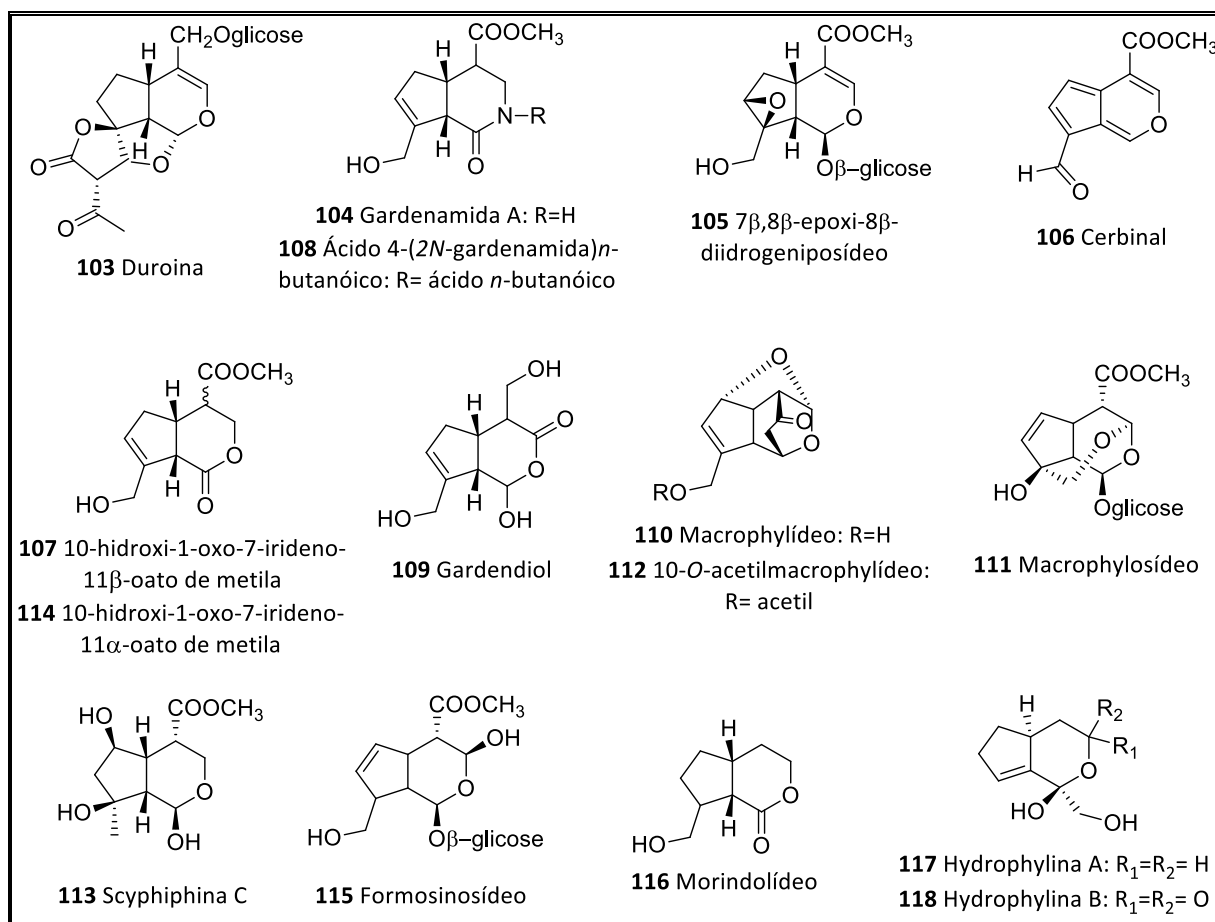


Figura 4. Estruturas químicas dos iridoides **103-115** e dos noriridoides **116-118**

O levantamento mostrou que foram relatados iridoides em somente 10 gêneros da tribo Gardenieae, os quais apresentaram uma grande diversidade estrutural. Muitos estudos usam a correlação entre metabólitos secundários e dados morfológicos como ferramenta para determinar a classificação, filogenia e evolução de plantas (MARTINS e NUNEZ, 2015). Os iridoides como marcadores quimiotaxonômicos, podem contribuir para a classificação taxonômica das espécies em gêneros, tribos, subfamílias e famílias.

3.3.2. Atividades biológicas de espécies da tribo Gardenieae

Os resultados da revisão das atividades biológicas relatadas para as espécies da tribo Gardenieae são apresentados na Tabela 3. Um total de 46 espécies pertencentes a 18 gêneros possuem estudo biológico, destas, 12 espécies possuem saponinas triterpênicas ativas (44 compostos), 11 possuem triterpenoides ativos (35 compostos) e em apenas 5 espécies foram relatados iridoides ativos, totalizando 28, dos quais 16 são relatados para a espécie *Gardenia jasminoides*. Os iridoides ativos representam 24,1% do total destes compostos relatados para a tribo Gardenieae, mostrando a carência de investigações biológicas para esta classe de metabólitos. A maioria das atividades está restrita a extratos ou frações, porém, somente 26 espécies apresentaram constituintes químicos ativos, incluindo iridoides.

Observando a tribo Gardenieae (Tabela 3), os gêneros que apresentaram o maior número de espécies com atividades biológicas foram *Gardenia* (15 espécies), *Randia* (9 espécies) e *Catunaregam* (4 espécies). As atividades que se destacaram foram citotóxica, antioxidante e antibacteriana com 16, 12 e 7 espécies ativas, respectivamente.

Tabela 3. Atividades biológicas de espécies da tribo Gardenieae

Espécie/Bioatividade	Extrato/fração/composto	Referência
<i>Benkara alabarica</i>		
Anticonvulsivante	<i>Cumarina</i> : Escopoletina Extrato MeOH das raízes	MISHRA et al., 2010
Antifúngica e antibacteriana	Extratos hexânico, CH ₂ Cl ₂ e MeOH das cascas, extrato MeOH das folhas	JAYASINGHE et al., 2002
<i>Borojoa patinoi</i>		
Antioxidante e antimicrobiana	Extratos MeOH, EtOH:Acetona e H ₂ O dos frutos	CHAVES-LÓPEZ et al., 2015
Antibacteriana e antiproliferativa	Extrato aquoso dos frutos	CHAVES-LÓPEZ et al., 2018
<i>Brenania brieyi</i>		
Estrogênica	Extrato MeOH dos frutos	NDÉ et al., 2007
<i>Burchellia bubalina</i>		
Antibacteriana, antifúngica e anti-inflamatória	Extratos CH ₂ Cl ₂ , éter de petróleo e EtOH do caule, folhas, raízes e cascas	AMOO et al., 2009
Antioxidante	Extratos MeOH das folhas, casca e sementes	MARIOD et al., 2012
<i>Catunaregam nilótica</i>		
Moluscicida	Extrato EtOH e aquoso dos frutos, <i>Saponinas triterpênicas</i> : ácido 3-O-{O-α-L-	LEMMICH et al., 1995

	ramnopiranosil-(1→3)- <i>O</i> -[<i>O</i> -β-D-glucopiranosil-(1→3)]-β-D-glucopiranosil}oleanólico, ácido 3- <i>O</i> -[2',3'-di- <i>O</i> -(β-D-glucopiranosil)-β-D-glucopiranosil]oleanólico, ácido 3- <i>O</i> -[<i>O</i> -β-D-glucopiranosil(1→3)-β-D-glucopiranosil]oleanólico	
<i>Catunaregam spinosa</i>		
Citotóxica	<i>Norneolignanas</i> : Catunaregina, epicatunaregina	GAO et al., 2010
Antifedante	<i>Saponinas triterpênicas</i> : Catunarosideos A–D, swartziatrioside, araliasaponina IV-V	GAO et al., 2011
Anti-helmíntico	Extrato MeOH dos frutos	ARSUL et al., 2011
Antifedante e tóxica	Extrato MeOH e fração <i>n</i> -butanol dos frutos	YANG et al., 2011
Antibacteriana	Extratos acetona, MeOH e aquoso das folhas	NDHLOVU e MASIKA, 2017
<i>Catunaregam tomentosa</i>		
Hipoglicêmica	Extrato aquoso das cascas	MANOSROI et al., 2011
Citotóxica	<i>Saponinas triterpênicas</i> : Araliasaponina V	KAENNAKAM et al., 2018
Antibacteriana	Extratos MeOH dos frutos, folhas e casca do caule	THIMABUT et al., 2018
<i>Catunaregam ulginosa</i>		
Nefroprotetora	Extrato EtOH das raízes	ADIKAY e U, 2016
<i>Ceriscoides turgida</i>		
Antioxidante, analgésica, antibacteriana e citotóxica	Extratos MeOH das folhas e raízes	ZILANI et al., 2018
<i>Coptosapelta flavescens</i>		
Antiparasitária e anti-giardial	<i>Antraquinona</i> : 1-hidroxi-2-hidroximetilantraquinona	HOUNKONG et al., 2014, HOUNKONG et al., 2015
<i>Dioecrescis erythroclada</i>		
Hipoglicêmica	Extrato aquoso das folhas	MANOSROI et al., 2011
<i>Duroia macrophylla</i>		
Antimicobacteriana	Extratos CH ₂ Cl ₂ e MeOH das folhas e galhos	MARTINS et al., 2013
<i>Gardenia aqualla</i>		
Antifúngica e antibacteriana	Extrato MeOH e éter de petróleo da casca do caule	NJINGA et al., 2014

<i>Gardenia carinata</i>		
Citotóxica e anti-HIV-1	<i>Flavonoides</i> : 5,2'-diidroxí-7,3',4',5'-tetrametoxiflavona, 5,2',5'-triidroxí-7,3',4'-trimetoxiflavona, 5,7,2',5'-tetraidroxí-6,3',4'-trimetoxiflavona, 5,3'-diidroxí-6,7,4',5'-tetrametoxiflavona, 5,7,3',5'-tetraidroxí-6,4'-dimetoxiflavona <i>Triterpenoides</i> : carinatinas A-G, secaubryolideo, dikamaliartano D	KONGKUM et al., 2012; KONGKUM et al., 2013
<i>Gardenia collinsae</i>		
Citotóxica	<i>Triterpenoide</i> : (20R,24R)-ocotillona	NUANYAI et al., 2011a
<i>Gardenia erythroclada</i>		
Citotóxica e anti-inflamatória	<i>Saponinas triterpênicas</i> : Eritrosaponinas D, F, G, I, J	KAENNAKAM et al., 2018
<i>Gardenia jasminoides</i>		
Antifúngica	<i>Iridoide</i> : Cerbinal	OHASHI et al., 1986
Inibidor da 5-lipoxigenase	<i>Iridoide</i> : 6"- <i>p</i> -cumaroil genipina gentiobiosídeo <i>Fenilpropanoides</i> : ácido clorogênico, ácido 3,4-di- <i>O</i> -cafeoilquínico, ácido 3- <i>O</i> -cafeoil-4- <i>O</i> -sinapoilquínico, ácido 3,5-di- <i>O</i> -cafeoil-4- <i>O</i> -(3-hidroxi-3-metil)glutaroilquínico	NISHIZAWA et al 1988
Hepatotóxica e genotóxica	<i>Carotenoide</i> : crocetina	TSENG et al., 1995
Hipoglicêmica	<i>Iridoide</i> : Éster metílico do desacetilasperulosídeo	MIURA et al., 1996
Inibidor da P450	<i>Iridoide</i> : Geniposídeo	KANG et al., 1997
Imunossupressora	<i>Iridooides</i> : Geniposídeo, 6 α -hidroxigeniposídeo, ixorosídeo, shanzhisídeo	CHANG et al., 2005
Anti-inflamatória	Extrato EtOH dos frutos, iridoides glicosídicos totais e crocina total dos frutos	KOO et al., 2006 HU et al., 2019
Antioxidante	Extratos aquoso e EtOH dos frutos, <i>Carotenoides</i> : Gardecina, crocina-1, <i>cis</i> -crocina-1, crocina-2, crocina-3, crocina-4	CHEN et al., 2008a DEBNATH et al., 2011
Inibidor da tirosina	<i>Monoterpenoide</i> : Jasminodiol	CHEN et al., 2008b
Tratamento de tornozelo torcido	<i>Iridoide</i> : Geniposídeo	CHEN et al., 2009
Antigástrica	Extrato EtOH 70% dos frutos <i>Iridoide</i> : Genipina <i>Triterpenoide</i> : ácido ursólico	LEE, LEE e JEONG, 2009
Anti-Alzheimer	<i>Iridooides</i> : 6'- <i>O</i> - <i>trans</i> - <i>p</i> -coumaroilgeniposídeo, 10- <i>O</i> -succinoilgeniposídeo, 6'- <i>O</i> -	YU et al., 2009

	acetilgeniposídeo, 6'- <i>O-trans</i> -sinapoilgeniposídeo, geniposídeo, 10- <i>O</i> -acetilgeniposídeo, 11-(6- <i>O-trans</i> -sinapoilglucopiranosil)gardendiol, 10-(6- <i>O-trans</i> -sinapoilglucopiranosil)gardendiol	
Citotóxica	<i>Saponinas triterpênicas</i> : Gardenisideo A, ácido oleanólico 3- <i>O</i> -β-D-glucuronopiranosídeo-6'- <i>O</i> -éster metílico, ácido oleanólico 3- <i>O</i> -β-D-glucuropiranosídeo, hederagenina 3- <i>O</i> -β-D-glucuronopiranosídeo-6'- <i>O</i> -éster metílico, éster metílico chikusetsusaponina IVa, éster butílico chikusetsusaponina IVa, (1 <i>S</i> , 17 <i>R</i> , 20 <i>R</i> , 24 <i>Z</i>)-1,21,26-trihidroxicicloart-24(25)-en-3-olídeo, dikamaliartano D <i>Triterpenoide</i> : ácido ursólico	WANG et al., 2012 ZHANG et al., 2018
Inibidor da melanogenesis	<i>Irioides</i> : 10- <i>O</i> -(4''- <i>O</i> -metilsuccinóil)geniposídeo, 6'- <i>O</i> -sinapoiljasminosídeo, 6'- <i>O-p</i> -coumaroilgeniposídeo	AKIHISA et al., 2012
Inibidor da produção de NO e Anti H1N1	<i>Iridoide</i> : Genipina	PENG et al., 2013; LI et al., 2013
Anti-alérgico	<i>Carotenoide</i> : crocetina Extrato EtOH e fração AcOEt dos frutos	SUNG, LEE e KIM, 2014
Anticâncer	<i>Triterpenoide</i> : 3α,16β,23,24-tetrahidroxi-28-nor-ursano-12,17,19,21-tetraeno	QIN et al., 2015
Neuroprotetora	Extratos aquoso e EtOH dos frutos <i>Carotenoides</i> : Neocrocina B, neocrocinas F-J, crocetina mono-β-D-gentiobiosídeo	ZHANG et al., 2017b; NI et al., 2017
<i>Gardenia lucida</i>		
Antioxidante e antiproliferativa	Extrato MeOH e fração CHCl ₃ da resina, <i>Flavonoides</i> : Gardenina A e B, 5-Desmetilnobiletina, Xantomicro, Gardenina D e E, Acerosina	MAURYA et al., 2017
<i>Gardenia obtusifolia</i>		
Citotóxica e anti-HIV	<i>Triterpenoides</i> : 5α-cicloart-24-eno-3,23-diona, 5α-cicloart-24-eno-3,16,23-triona, metil 3,4-seco-cicloart-4(28),24-dieno-29-hidroxi-23-oxo-3-oato <i>Flavonoides</i> : 5,7,4'-triidroxi-3,8-dimetoxiflavona, 5,7,4'-triidroxi-3,8,3'-trimetoxiflavona, 5,7,4'-triidroxi-3,6,8-	TUCHINDA et al., 2002

	trimetoxiflavona, 5,4'-diidroxi-3,6,7,8-tetrametoxiflavona, 5,3'-diidroxi-3,6,7,8,4'-pentametoxiflavona	
Citotóxica	<i>Triterpenoide</i> : Gardenoina E	NUANYAI et al., 2011b
<i>Gardenia oudiepe</i>		
Antilheishmania e antiplasmódica	<i>Flavonoides</i> : 5,7-diidroxi-3,3',4',6-tetrametoxiflavona, 3',5,7-triidroxi-3,4',5',6-tetrametoxiflavona	MAI et al., 2015
Inibidor da xantina oxidase	3-Metoxikaempferol, 5,6,7,4'-tetrahidroxiflavona, 5,7,5'-triidroxi-3',4'-dimetoxiflavona, 5,7-diidroxi-6,4'-dimetoxiflavona	SANTI et al., 2018
<i>Gardenia saxatilis</i>		
Antiplasmódica	<i>Triterpenoides</i> : Ácido messagenico A e B, ésteres 27- <i>O-p-(Z)</i> - e 27- <i>O-p-(E)</i> -cumarato do ácido betulínico, ácido uncarínico E, ácido 27- <i>O-p-(E)</i> -cumaroiloxiursólico	SUKSAMRARN, TANACHATTAIR ATANA e KANOKMEDHAKU L, 2003
<i>Gardenia sootepensis</i>		
Citotóxica	<i>Triterpenoides</i> : Éster metílico coronalólídeo, coronalólídeo	SILVA et al., 1997
Anti-inflamatória	<i>Triterpenoides</i> : Sootepina D, coronalólídeo, éster metílico coronalólídeo	YOUN et al., 2016
Antiproliferativa	<i>Triterpenoides</i> : Sootepina B	PUDHOM et al., 2012
<i>Gardenia ternifolia</i>		
Citotóxica	<i>Neolignanas</i> : Gardenifolinas A-H	TSHITENGE et al., 2017
<i>Gardenia thailandica</i>		
Anti-HIV	Extrato MeOH, frações CHCl ₃ , <i>n</i> -BuOH e H ₂ O das folhas e galhos	TUCHINDA et al., 2004
	<i>Triterpenoides</i> : Thailandiol, ácido gardenolico, ácido quadrangulárico E, ácido 3β-hidroxi-5α-cicloart-24(31)-en-28-oico	
Citotóxica	<i>Triterpenoides</i> : Sootepina E	NUANYAI et al., 2011c
<i>Gardenia tubifera</i>		
Citotoxicidade e anti-HIV	<i>Triterpenoides</i> : Éster metílico tubiferolídeo, tubiferaoctanolídeo, coronalólídeo, éster metílico coronalólídeo	REUTRAKUL et al., 2004

	<p><i>Flavonoides</i>: 5,3',5'-triidroxi-7,4'-dimetoxiflavona, 5,3',5'-triidroxi-3,6,7,4'-tetrametoxiflavona, 5,7,4'-triidroxi-6-metoxiflavona, 5,7,3'-triidroxi-6,4',5'-trimetoxiflavona, 5,3'-diidroxi-7,4',5'-trimetoxiflavona, 5,3'-diidroxi-6,7,4',5'-tetrametoxiflavona</p> <p><i>Éster fenólico</i>: hexacosil 4'-hidroxi-<i>trans</i>-cinnamato</p>	
<i>Gardenia urvillei</i>		
Antiparasitária	<p><i>Triterpenoides</i>: Ácido gardenólico B, sootepina C, secaubriolídeo, 23,25-dien-3,4-secocicloartano, 3,4;9,10-secocicloartano</p>	MAI et al., 2016
<i>Gardenia volkensii</i>		
Citotóxica, antilheishmania e antiplasmodica	<p><i>Flavonoides</i>: 4',5,7-triidroxi-3,6,8-trimetoxiflavona, 5,7-diidroxi-3,3',4',5',6-pentametoxiflavona, 4',5,7-triidroxi-3,6-dimetoxiflavona, santina, 3-metoxi-kaempferol</p>	MAI et al., 2015
<i>Genipa americana</i>		
Tripanomicida	Extrato polissacarídico	SOUZA et al., 2018
Antioxidante e anticolinesterásica	Extrato EtOH da polpa do fruto	OMENA et al., 2012
Antimalárica	Extrato das folhas	DEHARO et al., 2001
Anti-helmintíco	Extrato aquoso das folhas	NOGUEIRA et al., 2014
<i>Massularia acuminata</i>		
Androgênica	Extrato aquoso do caule	YAKUBU et al., 2008
Antileishmania	Extrato aquoso da casca do caule	MUGANZA et al., 2012
Antioxidante	<p>Extratos MeOH, acetona e EtOH da casca da raíz</p> <p><i>Glicosídeo tiofenólico</i>: 4-(3',3'-diidroxi-1-mercaptopropil)fenil glicosilpiranosídeo</p>	<p>UKEKPE, EKANEM e ADAMU, 2016;</p> <p>MALOUEKI et al., 2015; ORIOLA et al., 2014</p>
Antimicrobiana	<p>Extratos AcOEt, acetona, EtOH e MeOH da casca da raíz</p> <p><i>Saponina triterpênica</i>: ácido 3-O-β-D-glucopiranosil-(1→4)-β-D-glucopiranosil-(1→4)-</p>	<p>ADAMU, UKEKPE e EKANEM, 2016;</p> <p>UKEKPE et al., 2015; MALOUEKI et</p>

	β -D-glucopiranosil-28-O- β -D-glucopiranosil-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopiranosil-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopiranosil oleanólico, 4-(3',3'-diidroxil-1-mercaptopropil)fenil glicosilpiranosídeo	al., 2015
Antiplasmodica	Extrato aquoso dos frutos e extrato EtOH 80% da casca	MALOUEKI et al., 2015
Afrodisíaca	Extrato aquoso das raízes	YAKUBU et al., 2011
<i>Oxyanthus pallidus</i>		
Analgésica	<i>Saponina triterpênica</i> : Pallidiosídeos A-C	PIEGANG et al., 2016
<i>Randia dumetorum</i>		
Hemolítica	Fração de saponinas <i>Saponina triterpênica</i> : randianina	SOTHEESWARA, BOKEL e KRAUS, 1989; DUBOIS, BENZE e WAGNER, 1990;
Moluscicida e imunoestimuladora	Fração de saponinas	DUBOIS, BENZE e WAGNER, 1990;
Proliferativa de linfócitos	<i>Saponina triterpênica</i> : Ácido 3-O-[O- β -D-glucopiranosil-(1 \rightarrow 4)-O- β -D-glucopiranosil-(1 \rightarrow 3)-(β -D-glucuronopiranosil) oleanólico, ácido 3-O-[O- β -D-glucopiranosil-(1 \rightarrow 2)-(β -D-glucopiranosil) oleanólico, ácido 3-O-[O- β -D-glucopiranosil-(1 \rightarrow 3)-(β -D-glucopiranosil) oleanólico, ácido 3-O-[O- β -D-glucopiranosil-(1 \rightarrow 3)-(β -D-glucopiranosil) oleanólico	DUBOIS, BENZE e WAGNER, 1990
Citotóxica	Extrato EtOH da casca, extrato MeOH da casca dos frutos, <i>Iridoide</i> : 11-metilixosídeo <i>Saponina triterpênica</i> : α -L-arabinosil-(1 \rightarrow 3)- β -galactopiranosil-(1 \rightarrow 3)-3- β -hidroxiolean-12-en-28-metiloato	JANGWAN et al., 2013, JANGWAN e SINGH, 2014 JANGWAN et al., 2012, PARMAR, PRAJAPATI e JANI, 2010
Hepatoprotetora	Extrato MeOH folhas e casca	KANDIMALLA et al., 2016
Antioxidante	Extrato MeOH dos frutos, folhas e cascas	DHARMISHTHA, MISHRA e FALGUNI, 2009,

		KANDIMALLA et al., 2016
Antibacteriana e antiviral	Extrato MeOH da casca dos frutos	PARMAR, PRAJAPATI e JANI, 2010
Antimicrobiana	Extrato CH ₂ Cl ₂ :MeOH (1:1) dos frutos	KUMAR et al., 2006
<i>Randia echinocarpa</i>		
Antimutagênica	Extrato MeOH dos frutos	CANO-CAMPOS et al., 2011
Antioxidante e antimutagênico	Extrato aquoso e MeOH dos frutos	SANTOS-CERVANTES et al., 2007
Diurética e urolítica	Extrato aquoso dos frutos	SOLIS e GUTIERREZ, 2002
<i>Randia hebecarpa</i>		
Antioxidante	Extrato MeOH, frações AcOEt e Hidrometanólica das folhas	NAZARI et al., 2006
<i>Randia hispida</i>		
Anti-inflamatória	Extrato diclorometânico das folhas	DUMARO, ETIM e AHMADU, 2017
<i>Randia monantha</i>		
Antioxidante	Extratos aquosos dos frutos e sementes	JUÁREZ-TRUJILLO et al., 2018
<i>Randia nilotica</i>		
Anticonvulsivante	Fração butanol da casca do caule	DANJUMA et al., 2014
<i>Randia nitida</i>		
Antifúngica	Frações hexânica, diclorometânica e AcOEt das folhas	CRUZ-SILVA et al., 2016
<i>Randia siamensis</i>		
Antinociceptiva	Extrato EtOH dos frutos	REANMONGKOL et al., 1994
Contrabilidade uterina	<i>Saponina triterpênica</i> : pseudoginsenoside-RP 1 <i>Triterpenoide</i> : Ácido ursólico <i>Saponina triterpênica</i> : pseudoginsenosideo-RT 1	JANSAKUL et al., 1999
Ictiotóxica	Extrato EtOH dos frutos	JANSAKUL et al., 1999
Hipertensiva	<i>Alcaloide</i> : Tiramina	KHWANCHUEA et al., 2007a
Hipotensiva	<i>Saponinas triterpênicas</i> : Pseudoginsenosideos-RT1 e -RP1	KHWANCHUEA et al., 2007b

Cardiovascular	Extrato <i>n</i> -butanol dos frutos	KHWANCHUEA et al., 2007a
<i>Randia uliginosa</i>		
Antimicrobiana, antidiarréia, anti-helmintico	Extrato MeOH das folhas	HOSSAIN et al., 2016
<i>Rothmannia longiflora</i>		
Analgésica e anti-inflamatória	Extrato MeOH das folhas	MALLAM et al., 2016
<i>Rothmannia wittii</i>		
Antimicobacteriana	<i>Iridoide</i> : 6 β -hidroxi-10- <i>O</i> -acetilgenipina	CHAIPUKDEE et al., 2016
Citotóxica	<i>Iridoide</i> s: 10- <i>O</i> -acetilmacrophyllídeo, genipina, garjasmine	CHAIPUKDEE et al., 2016
<i>Scyphiphora hydrophyllacea</i>		
Citotóxica	<i>Triterpenoide</i> : Ácido ursólico, ácido eichlerianico <i>Iridoide</i> s: Scyphiphina B ₁ -B ₂	SAMARAKOON et al., 2018, ZENG et al., 2007
Antiproliferativa	<i>Triterpenoide</i> : hopenona-I	SAMARAKOON et al., 2016
<i>Schumannia problematicum</i>		
Neuropsicofarmacológico	Extrato EtOH das raízes	AMADI, OFFIAH e AKAH, 1991
<i>Tocoyena formosa</i>		
Antifúngica	<i>Iridoide</i> s: Galiosídeo, aglicona do galiosídeo, apodantosídeo, 11- <i>O</i> -trans-feruloilteucréina, α -gardiol, β -gardiol	BOLZANI et al., 1996; BOLZANI et al., 1997
Anti-inflamatória, antioxidante e gastroprotetora	Extrato hidroalcoólico das folhas	CESÁRIO et al., 2018a; CESÁRIO et al., 2018b
<i>Tocoyena hispidula</i>		
Antileishmania	Extrato EtOH, Frações CHCl ₃ , AcOEt e MeOH do caule <i>Pirone</i> : Chelidonato de metila <i>Noriridoide</i> : Morindolídeo	SOUSA et al., 2019
<i>Tocoyena sellowiana</i>		
Antiperiodontica	Extrato EtOH das raízes	RIBEIRO et al., 2018

Os resultados da pesquisa bibliográfica demonstraram um importante potencial biológico para a tribo Gardenieae, com 45 espécies investigadas, porém a maioria das atividades é descrita em extratos e frações, sugerindo a necessidade de estudos para verificar os princípios ativos destas e de outras espécies.

Os dados obtidos podem contribuir para a classificação taxonômica dos gêneros ou espécies na família, subfamília ou tribo, uma vez que a correlação entre os metabólitos secundários e dados morfológicos é uma importante ferramenta na classificação, filogenia e evolução de plantas.

3.4. Gênero *Tocoyena* Standl.

O gênero *Tocoyena* (Rubiaceae) é típico do Cerrado, ocorre nas regiões pan e neotropical, sendo constituído por 30 espécies de hábito arbustivo ou árvores de pequeno porte. No Brasil há registro de 12 espécies, sendo cinco endêmicas, distribuídas em todas as regiões brasileiras (DELPRETE e JARDIM, 2012). Este gênero pertence à subfamília Ixoroideae, tribo Gardenieae-Gardenineae (BARBOSA et al., 2015; POSER e SEIBT, 1998). Somente cinco espécies de *Tocoyena* possuem estudo químico (*T. hispidula*, *T. formosa*, *T. bullata*, *T. brasiliensis* e *T. sellowiana*, sinônimo *T. selloana*), para as quais são relatadas a presença de saponinas triterpênicas (1-5), triterpenoides (6-14), flavonoides (15-16), iridoides (17-32), esteroides (33-40), derivados fenólicos (41-43), cumarinas (44-46) e outros (47-51) (HAMERSKI et al., 2005; POSER e SEIBT, 1998; BOLZANI et al., 1997; BOLZANI et al., 1996). O Quadro 1 e Figura 5 mostram os constituintes químicos relatados em espécies do gênero *Tocoyena*, onde verifica-se maior ocorrência de compostos da classe dos iridoides (16 compostos) presentes em 4 das 5 espécies estudadas.

Para espécies deste gênero são descritas atividades biológicas, tais como, anti-inflamatória, antinociceptiva, antifúngica, estimulante em útero de ratas, antioxidante e gastroprotetora para *T. formosa* e capacidade de diminuição da perda óssea em ratos com periodontite para *T. sellowiana* (Tabela 3) (BOLZANI et al., 1997; CESÁRIO et al., 2018a; CESÁRIO et al., 2018b; RIBEIRO et al., 2018; BARROS et al., 1970).

Quadro 1. Constituintes químicos de espécies do gênero *Tocoyena*

Espécie	parte da planta	Substância	Referência
<i>T. brasiliensis</i>	folhas	Saponinas triterpênicas: ácido 3-O-β-D-quinovopiranosídeo-quinóvico (1), ácido 3-O-β-D-	HAMERSKI et al., 2005

		quinovopiranosídeo-cinchólico (2), ácido 3- <i>O</i> -β-D-glucopiranosídeo-quinóvico (3), ácido 28- <i>O</i> -β-D-glucopiranosídeo-quinóvico (4) <i>Flavonoide</i> : ramanzina-3- <i>O</i> -rutinosídeo (15)	
<i>T. bullata</i>	folhas	<i>Iridoide</i> : Gardenosídeo (17)	POSER e SEIBT, 1998
<i>T. formosa</i>	caule	<i>Saponinas triterpênicas</i> : ácido 3- <i>O</i> -β-D-glicopiranosil-28- <i>O</i> -β-D-glicopiranosil-quinóvico (5) <i>Triterpeno</i> : β-amirina (6) <i>Flavonoide</i> : 3- <i>O</i> -β-D-ramnosil-3- <i>O</i> -metilquercetina (16) <i>Iridoide</i> s: galiosídeo (18), aglicona de galiosídeo (19), apodantosídeo (20), 11- <i>O</i> - <i>trans</i> -teucréina (21) <i>Esteroides</i> : sitosterol (33)	BOLZANI et al., 1996
	folhas	<i>Iridoide</i> s: éster metílico de mollugosídeo (22), formosinosídeo (23), hexacetato de formosinosídeo (24), α-gardiol (25), β-gardiol (26) <i>Derivados fenólicos</i> : ácido caféico (41), ácido ferúlico (42)	BOLZANI et al., 1997
	*	<i>Iridoide</i> : Genipina (27) <i>Esteroides</i> : estigmasterol (34) <i>Derivado fenólico</i> : éster etílico do ácido ferúlico (43)	RIBEIRO e CUNHA, 2004
<i>T. hispidula</i>	caule	<i>Iridoide</i> s: genipina (27), α-genipina (28), α-gardiol (25), β-gardiol (26), 10-hidroxi-1-oxo-7-irideno-11α-ato de metila (29), 10-hidroxi-1-oxo-7-irideno-11β-ato de metila (30), morindolídeo (31) <i>Cumarinas</i> : escopoletina (44), isofraxidina (45)	SOUSA et al., 2018
		<i>Triterpenos</i> : β-amirina (6), ácido acetil oleanólico (7), lupenona (8), lupeol (9), taraxerol (10), germanicol (11), multiflorenil (12) <i>Naftoquinona</i> : lapachol (47) <i>Pirona</i> : chelidonato de metila (48) <i>Iridoide</i> : morindolídeo (31) <i>Triterpenoides esterificados com ácidos graxos</i> : palmitato, margarato, linoleato, oleato e estearato de multiflorenila (12a-12e) e lupeíla (9a-9e) <i>Esteroides</i> : campesterol (35), campestanol (36), estigmasterol (34), Δ ²² -estigmasterol (37), sitosterol (33), sitostanol (38), 7-cetositosterol (39), 7-cetoestigmasterol (40)	SOUSA et al., 2019

		<p><i>Esteroides esterificados com ácidos graxos:</i> palmitato, margarato, linoleato, oleato e estearato de sitosterila (33a-33e) e estigmasterila (34a-34e)</p> <p><i>Diterpeno:</i> E-fitol (49)</p> <p><i>Polialcool:</i> D-(+)-manitol (50)</p>	
<i>T. sellowiana</i> / <i>T. seloana</i>	casca	<p><i>Iridoide:</i> ácido 10-O-feruigeniposídico (32)</p> <p><i>Cumarina:</i> 7-hidroxi-6-metoxicumarina (46)</p> <p><i>Outro:</i> 1-etoxiglicosilpiranosídeo (51)</p> <p><i>Saponina triterpênica:</i> ácido 3-β-O-D-glicopiranosilquinóvico (3)</p>	RIBEIRO et al., 2018
	raízes	<p><i>Triterpeno:</i> ácido quinóvico (13)</p> <p><i>Polialcool:</i> manitol (50)</p> <p><i>Saponina triterpênica:</i> ácido 3-β-O-D-glicopiranosilquinóvico (3)</p>	SANTOS et al., 2011; RIBEIRO et al., 2018
	*	<p><i>Cumarina:</i> Escopoletina (44)</p> <p><i>Iridoides:</i> α-gardiol (25) e β-gardiol (26)</p>	ROCHA, 2009
	folhas	<p><i>Polialcool:</i> D-manitol (50)</p> <p><i>Triterpeno:</i> Ácidos ursólico (14)</p> <p><i>Saponina triterpênica:</i> ácido 3-O-β-D-glicopiranosilquinóvico (3)</p>	

*Parte da planta não descrita

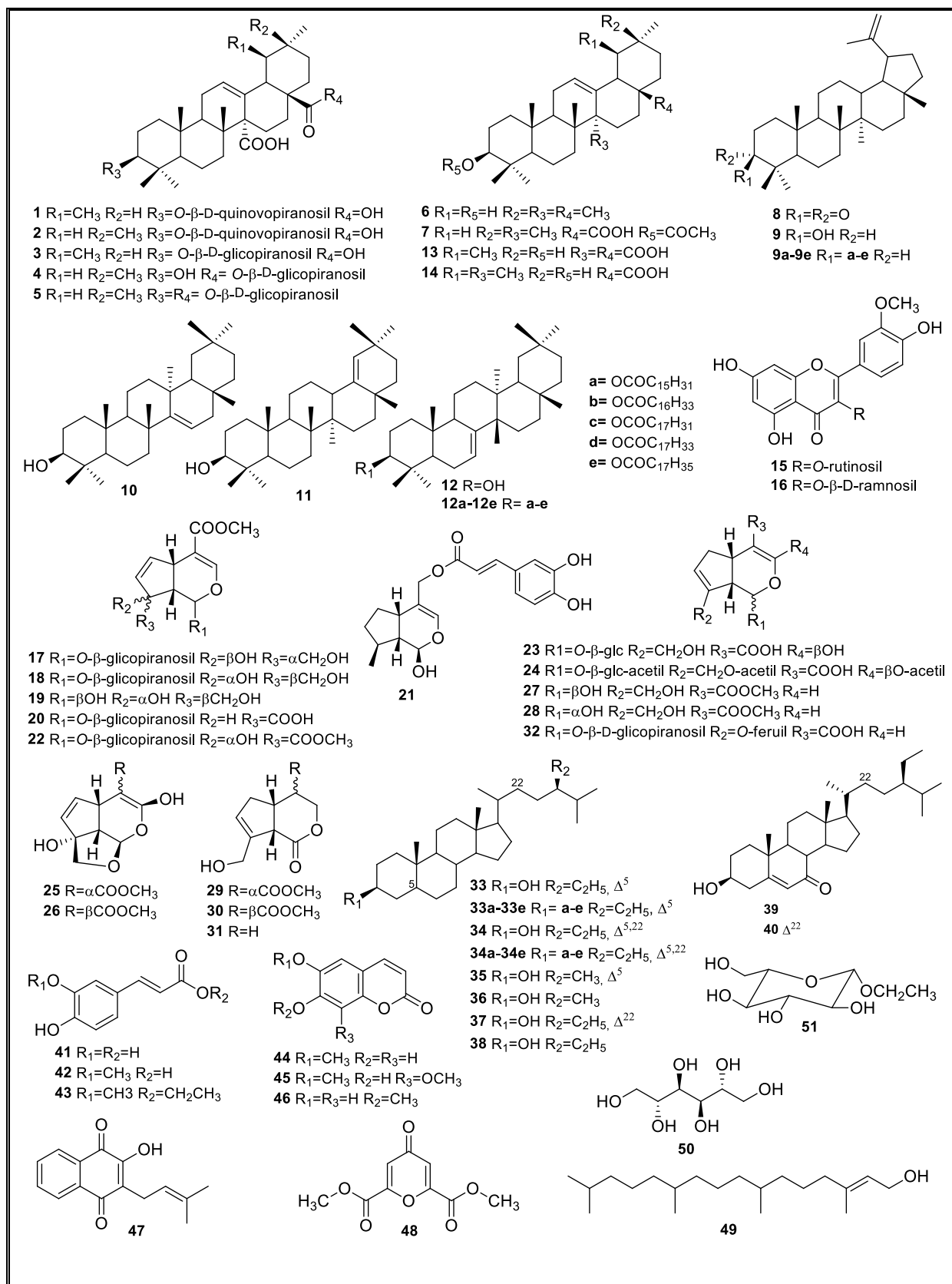


Figura 5. Constituintes químicos de espécies do gênero *Tocoyena*

3.5. *Tocoyena hispidula* Standl.

A espécie *Tocoyena hispidula* Standl é conhecida popularmente por flor-do-cerrado/angelca e jenipapinho (OLIVEIRA, 2015; SILVA, 2010). É encontrada no Brasil em áreas de campestre da região Norte (Pará) e de cerrado da região Nordeste (Maranhão e Piauí), na forma de arbustos ou subarbustos (OLIVEIRA, 2015). Tradicionalmente suas raízes são utilizadas no combate a dor de barriga e inflamação do útero (SILVA, 2010; OLIVEIRA et al., 2007).

Antes de iniciarmos o presente trabalho, não havia na literatura relato de investigação química e biológica sobre *T. hispidula*, o que aliado a sua utilização na medicina popular, despertou o interesse pelo estudo desta espécie. Como resultado do estudo fitoquímico desenvolvido com a espécie *T. hispidula*, publicamos até o momento, o artigo intitulado: Iridoides e cumarinas do caule de *Tocoyena hispidula* (SOUSA et al., 2018), como capítulo do livro eletrônico “Produção e Controle de Produtos Naturais” da editora Atena e, um artigo publicado na revista Química Nova, intitulado: Composição química e atividade antileishmania de *Tocoyena hispidula* (SOUSA et al., 2019). A Figura 6 mostra uma foto do espécime *T. hispidula*.



Figura 6. *Tocoyena hispidula* Standl. (Fonte: Ruth Raquel Soares de Farias)

4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1. Materiais e equipamentos

Os solventes utilizados para obtenção dos extratos, partição, cromatografia em coluna (CC) e cromatografia em camada delgada (CCD) foram de pureza analítica (P.A.) obtidos da Synth. Para análises em HPLC utilizaram-se solventes grau HPLC da J. T. Backer, Merck e Tedia, bem como água ultrapura (18 Ω) obtida em ultrapurificador Master All da Gehaka.

Os extratos e frações foram concentrados em evaporador rotativo Laborota 4000 da Heildolph, sob pressão reduzida com auxílio de bomba de vácuo da Primar-modelo 34. A secagem completa dos extratos foi realizada em liofilizador Modulyod Freeze Dryer da Thermo Electron Corporation. A dissolução dos extratos e frações foi realizada com auxílio de um banho ultrassom modelo Cleanner Thournton da Marconi e, para conservação e armazenamento do material obtido utilizou-se refrigerador modelo Zyrium Frostfree 430 da Brastemp. As massas foram obtidas em balanças da Shimadzu (modelo AUY220), Bel engineering (modelo M214Ai) e Digimed (modelo KN 4000).

As placas de cromatografia em camada delgada (CCD) foram preparadas utilizando-se gel de sílica da Macharey-Nagel (2-25 μm e 60 \AA), aplicando-se manualmente uma suspensão de gel de sílica em água sobre lâminas de vidro. As placas foram deixadas em repouso a temperatura ambiente e depois ativadas a 110 $^{\circ}\text{C}$ em estufa EL-1.3 da Odontobrás. Como reveladores para CCD foram utilizados: i) irradiação na região do ultravioleta em 254 e 366 nm em câmara UV da Camag e ii) nebulização com solução de sulfato cérico, preparada a partir de 2,1 g de $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dissolvido em 15 mL de H_2SO_4 concentrado e adicionado a 800 mL de água. Depois de borrifada a cromatoplaça foi aquecida em placa aquecedora da Fisaton (509T, 0-350 $^{\circ}\text{C}$) à aproximadamente 100 $^{\circ}\text{C}$ por 5 minutos.

As colunas cromatográficas realizadas a pressão atmosférica foram preparadas com gel de sílica 0,060-0,200 mm da Macherey-Nagel e Sephadex LH-20 da Aldrich. A reutilização do Sephadex foi condicionado a um prévio tratamento com metanol, aquecendo-se entre 50-60 $^{\circ}\text{C}$ por 10 min em banho de água, seguido de filtração a vácuo, sendo este procedimento realizado três vezes e, depois permanecendo 12 horas em estufa entre 55-60 $^{\circ}\text{C}$ (CARDELINA II, 1983). Para cromatografia em coluna de fase reversa utilizou-se cartucho Strata C18-E da Phenomenex (10 g).

O “*clean-up*” das amostras para injeção em HPLC foi realizado em cartucho de extração em fase sólida (SPE) Strata da Phenomenex (C18, 1 g), seguido de filtração em disco filtrante de 0,45 μm da Phenomenex. Foram utilizados: i) HPLC analítico da Shimadzu

equipado com bomba LC-20AT, injetor automático SIL-20AHT, detector de arranjo de fotodiodo SPD-M20A, forno para coluna CTO-20A, pré-coluna C18 Shim-pack 6-SIL, coluna C18 Shim-pack VP-ODS (C18, 5,0 μm , 250x4.6 mm) e ii) HPLC semipreparativo da Shimadzu equipado com bomba LC-6AD, injetor manual, detector UV SPD-20A, coletor automático FRC-10A, utilizando coluna Phenomenex Luna (C18, 5 μm , 250x10 mm).

O espectro de absorção na região do infravermelho (IV) foi obtido em espectrômetro PerkinElmer, modelo Spectrum 100FT-IR, com faixa de número de onda de 4000 a 400 cm^{-1} , usando brometo de potássio (KBr) como agente dispersante.

O ponto de fusão foi obtido em equipamento da Microquímica Ind. e Com. Ltda, modelo MQAPF-301, com taxa de aquecimento de 1 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$. A rotação específica foi obtida em polarímetro Automático Digital da Jasco-Modelo P2000 (Fonte: Hg, $\lambda=546 \text{ nm}$).

As análises de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM) foram realizadas em cromatógrafo GCMS-QP2010 da Shimadzu, equipado com coluna Rtx-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,250 μm), fase estacionária difenildimetilpolissiloxano (5% de difenil e 95% de dimetilpolissiloxano), usando modo split (100:1) e espectrômetro de massas operando com ionização por elétrons (EI 70 eV) com faixa de massas m/z 45 a 700 Da, utilizando hélio como gás de arraste, com fluxo de 1 mL min^{-1} .

Os espectros de massas foram obtidos por inserção direta em espectrômetro de massas com analisador íon trap (IT-MS, Amazon X, Bruker Daltonics), equipado com fonte de ionização por eletrospray (ESI). O tratamento dos dados foi realizado em software Compass 1.3 Data Analysis (versão 4.0, Bruker Daltonics). O espectro de massas de alta resolução foi obtido em espectrômetro de massas da Bruker, modelo Solarix 9,4 T, com analisador de massas por ressonância ciclotrônica de íons com transformada de Fourier, fonte de ionização química a pressão atmosférica (APCI-FTICR MS) e faixa de massas m/z 150 a 1500 Da.

Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C foram obtidos em espectrômetros Varian-Modelo 400 (LAUREMN-UFPI) operando a 400 MHz (^1H) e 100 MHz (^{13}C), Bruker-modelo Avance III (UFSCar) operando a 400 MHz (^1H) e 100 MHz (^{13}C) e Bruker Ascend-modelo 600 (UNESP-Araraquara) operando a 600 MHz (^1H) e 150 MHz (^{13}C) equipado com criosonda. Foram utilizados como solventes CDCl_3 , CD_3OD , $\text{DMSO-}d_6$ e piridina- d_5 da CIL (Cambridge Isotope Laboratories Inc.) e TMS como referência interna.

4.2. Coleta e identificação do material vegetal

As folhas e caule da espécie *Tocoyena hispidula* foram coletados na Fazenda Lourdes (S 04° 51' 32,4" e W 42° 03' 42,9", altitude: 154 m) no município de Jatobá do Piauí-PI, em

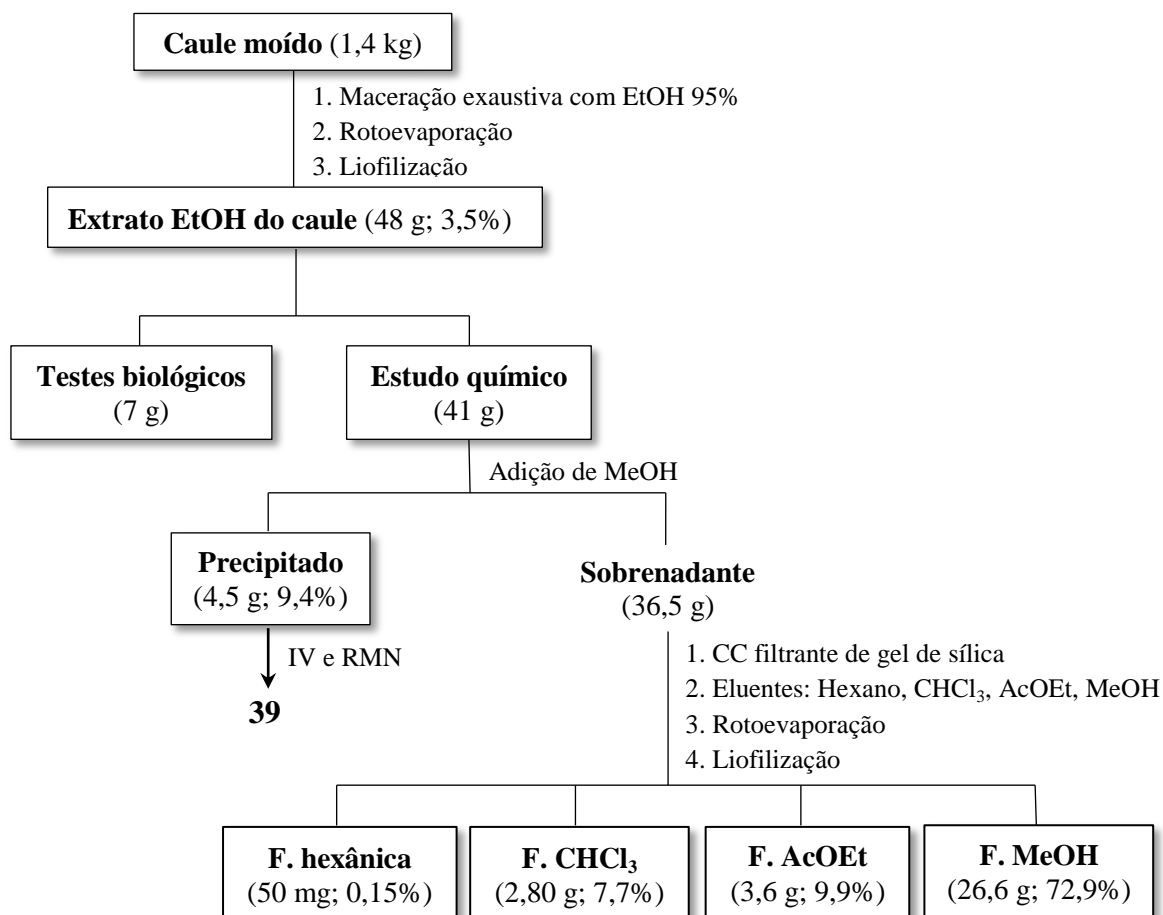
31 de maio de 2015. O material vegetal foi coletado e identificado pela botânica Ruth Raquel Soares de Farias e uma exsicata encontra-se depositada no Herbário Graziela Barroso da UFPI, com o número TEPB 30.572 e cadastro no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen) com o número AAB530D.

4.3. Obtenção e fracionamento do extrato EtOH do caule

O caule de *T. hispidula* foi seco à temperatura ambiente e triturado em moinho de facas. O material vegetal moído (1,4 kg) foi submetido à maceração exaustiva com etanol (95%) à temperatura ambiente. A cada extração, os extratos foram concentrados em evaporador rotatório e, ao final reunidos e liofilizados, obtendo-se o extrato EtOH do caule (48 g; 3,5%).

Uma alíquota de 41 g do extrato EtOH do caule foi solubilizada em MeOH, ocorrendo a formação de um precipitado, que foi separado e analisado por infravermelho e RMN de ^1H e ^{13}C , resultando na identificação do composto **39** (4,5 g; 9,4%). A parte solúvel em MeOH do extrato (36,5 g) foi submetida à cromatografia em coluna filtrante de gel de sílica (33x5,5 cm; 164 g), utilizando como eluentes hexano (1,7 L), CHCl_3 (1,9 L), AcOEt (1,6 L) e MeOH (1,1 L) sucessivamente, fornecendo as frações correspondentes a cada solvente. O esquema 1 mostra a obtenção do extrato e das frações resultantes da coluna filtrante com suas massas e rendimentos.

Esquema 1. Obtenção do extrato EtOH e das frações resultantes da cromatografia em coluna filtrante de gel de sílica do extrato EtOH do caule de *T. hispidula*



O extrato e as frações obtidas da cromatografia em coluna filtrante de gel de sílica do extrato EtOH do caule foram analisadas por cromatografia em camada delgada de gel de sílica (CCD), utilizando hexano/AcOEt (8:2), CHCl₃/MeOH (9:1) e CHCl₃/MeOH/H₂O (65:30:5) como eluentes e como reveladores irradiação na região do ultravioleta ($\lambda = 254$ e 366 nm) e solução de sulfato cérico. Com exceção da fração hexânica, todas as demais frações mostraram-se promissoras, após análise em CCD, para fracionamento visando o isolamento e identificação dos constituintes químicos.

4.3.1. Fracionamento cromatográfico da fração CHCl₃ do extrato EtOH do caule

A fração CHCl₃ (2,8 g), proveniente da coluna filtrante em gel de sílica do extrato EtOH do caule de *T. hispidula*, foi submetida a cromatografia em coluna de gel de sílica (40 x 2,8 cm; 84 g), utilizando como eluentes hexano, AcOEt e metanol em gradiente crescente de polaridade. Foram coletadas 82 frações de 100 mL as quais, depois de concentradas e

analisadas por CCD de gel de sílica, foram reunidas de acordo com a cor e fator de retenção (R_f), originando 14 grupos (Tabela 4). Os grupos CC9, CC13, CC15, CC24, CC50, CC65, CC72 e CC82 mostraram-se promissores para purificação e isolamento dos constituintes químicos.

Tabela 4. Grupos obtidos do fracionamento cromatográfico da fração CHCl_3 do extrato EtOH do caule de *T. hispidula*

Grupo	Frações recolhidas	Eluentes	Massa (mg)
CC1	1-8	Hexano	56,5
CC9	9-10	Hexano/AcOEt (98:2)	340,7
CC11	11-12	Hexano/AcOEt (98:2)	39,6
CC13	13-14	Hexano/AcOEt (95:5)	143,9
CC15	15-16	Hexano/AcOEt (95:5)	167,5
CC17	17-23	Hexano/AcOEt (95:5)	428,6
CC24	24-27	Hexano/AcOEt (9:1)	321,0
CC28	28-49	Hexano/AcOEt (9:1)	538,3
CC50	50-55	Hexano/AcOEt (8:2)	98,0
CC56	56-64	Hexano/AcOEt (7:3)	75,3
CC65	65-71	Hexano/AcOEt (6:4)	125,5
CC72	72-77	Hexano/AcOEt (1:1)	100,7
CC78	78-81	AcOEt	107,5
CC82	82	AcOEt/MeOH (1:1)	202,4
			Total= 2,75 g

4.3.1.1. Fracionamento cromatográfico do grupo CC9

O grupo CC9 (frações 9-10; 340,7 mg) foi submetido a cromatografia em coluna de Sephadex LH-20 utilizando hexano/ CH_2Cl_2 (1:4) e cromatografia em coluna de gel de sílica eluída com hexano/AcOEt (98:2), fornecendo as subfrações CC9-7-2 (161,2 mg) e CC9-7-9 (14,3 mg), que em análise por CCD, usando como eluente hexano/AcOEt (95:5) e solução de sulfato cérico como revelador, apresentaram uma mancha roxa em cada cromatoplaça. As subfrações CC9-7-2 e CC9-7-9 foram analisadas por RMN de ^1H e ^{13}C e identificadas como uma mistura de triterpenos e esteroides esterificados com ácidos graxos (*M2*) e o composto **11**, respectivamente.

4.3.1.1.1. Hidrólise e fracionamento de CC9-7-2 (M2)

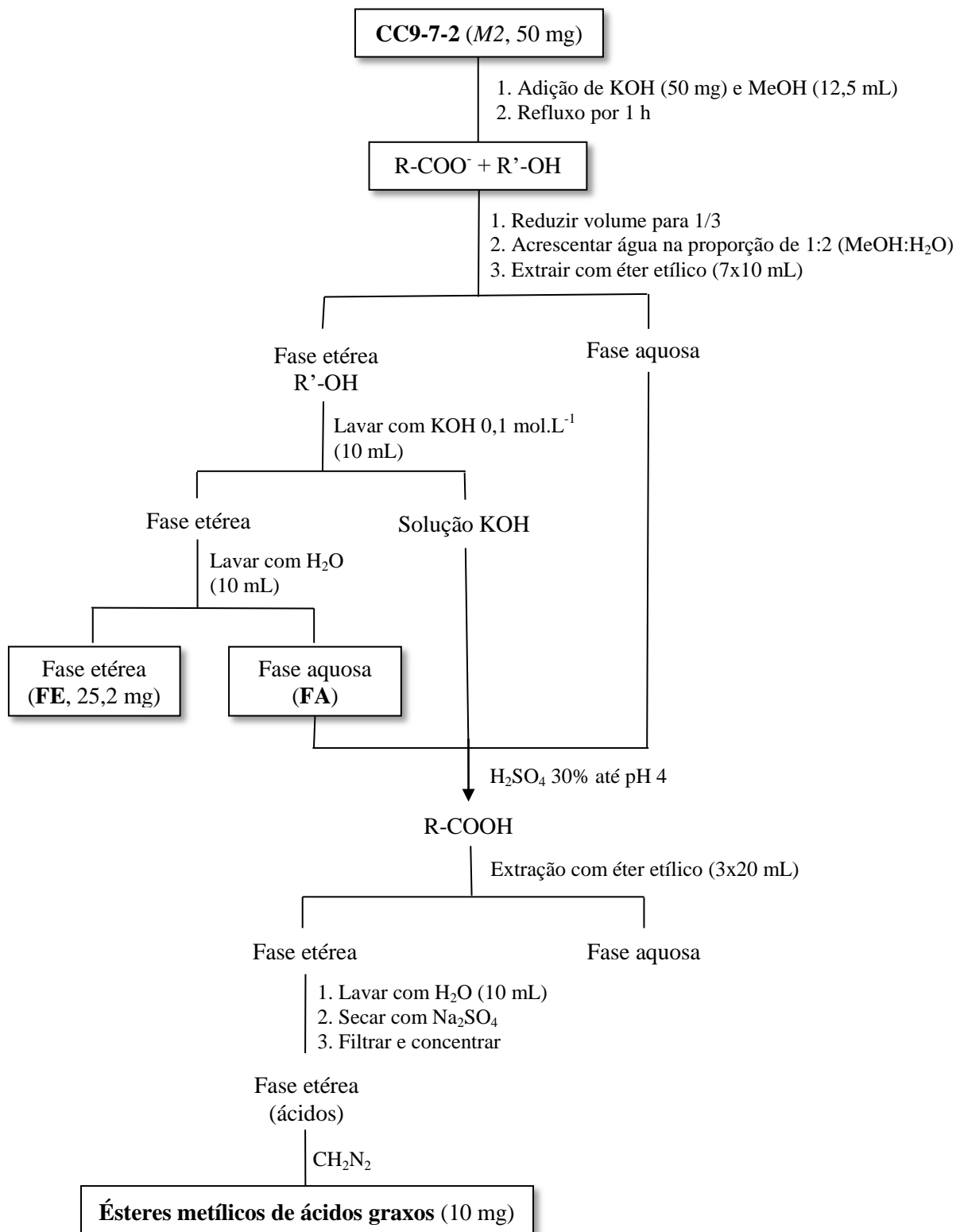
Uma alíquota de 50 mg da subfração CC9-7-2 (M2) foi submetida à reação de hidrólise alcalina (Esquema 2) com KOH (50 mg) em metanol (12,5 mL), sob refluxo por uma hora. Decorrido este período, a solução da amostra foi reduzida a 1/3 do volume inicial e adicionado água na proporção de 1:2 (MeOH/H₂O). Em seguida a mistura reacional foi extraída com éter etílico (7x10 mL), resultando nas fases etérea e aquosa. A fase etérea foi lavada com 10 mL de KOH 0,1 mol L⁻¹ e 10 mL de água fornecendo as fases etérea (FE, 25,2 mg) e aquosa (FA). A fase etérea (FE) foi aplicada em coluna cromatográfica de gel de sílica utilizando hexano/AcOEt (95:5), resultando nas frações FE-21 (2,7 mg) e FE-35 (10,4 mg), identificadas como as misturas de **16+21** e **22+23**, respectivamente. A fase aquosa (FA) foi acidificada com H₂SO₄ 30% até pH 4, extraída com éter etílico e metilada com diazometano.

O diazometano foi preparado em um balão de destilação de 500 mL equipado com banho de gelo e condensador de tubo reto, adicionando-se uma solução de KOH (5 g) em água (gotas) e etanol (25 mL) a uma solução de N-metil-N-nitroso-p-tolueno-sulfonamida (Diazald) (21,5 g) em éter etílico (240 mL). A seguir, esta mistura foi aquecida entre 70-75 °C e a solução destilada, contendo cerca de 3 g de diazometano, foi coletada em frasco sob banho de gelo. O diazometano foi preparado em capela, visto ser muito tóxico e explosivo (VOGEL, 1988).

Depois de metilada, obteve-se 10 mg da amostra, que foi analisada em CG-EM nas seguintes condições: temperatura inicial do forno de 70 °C por 2 minutos, com taxa de aquecimento de 6 °C min⁻¹ até 310 °C, permanecendo por 10 minutos. A temperatura do injetor foi de 300 °C, da interface 310 °C e da fonte 260 °C. Os compostos foram identificados por comparação dos espectros de massas obtidos com os da biblioteca Wiley229, como uma mistura de ésteres metílicos de ácidos graxos (**a-e**).

A comparação dos deslocamentos químicos dos espectros de RMN de ¹H e ¹³C das subfrações FE-21 e FE-35 com dados da literatura, juntamente com a análise por CG-EM dos ésteres metílicos dos ácidos graxos, permitiram identificar que *MI* é constituída pela mistura dos compostos **16a-16e**, **21a-21e**, **22a-22e** e **23a-23e**. A derivatização e o fracionamento do grupo CC9 é mostrado no Esquema 2.

Esquema 2. Reação de hidrólise alcalina da subfração CC9-7-2 (M2)



4.3.1.2. Fracionamento dos grupos CC13 e CC15

Os grupos CC13 (frações 13-14; 143,9 mg) e CC15 (15-16; 167,5 mg) foram submetidos a cromatografia em coluna de Sephadex LH-20 utilizando hexano/CH₂Cl₂ (1:4) como eluente, fornecendo as subfrações CC13-14 (44,2 mg) e CC15-7 (17,7 mg), respectivamente. Estas subfrações apresentaram manchas laranja que mudam para roxo com o aquecimento, na análise por CCD usando hexano/AcOEt (9:1) como eluente e sulfato cérico como revelador.

A análise por RMN de ¹H e ¹³C das subfrações CC13-14 e CC15-7 (*MI*), comparados com dados da literatura resultaram na identificação do composto **35** (44,2 mg) e na mistura *MI* (**16-20**; 17,7 mg), respectivamente, como mostra o Esquema 3.

4.3.1.3. Fracionamento do grupo CC24

O grupo CC24 (frações 24-27; 321,0 mg) foi submetido a cromatografia em coluna de Sephadex LH-20 utilizando hexano/CH₂Cl₂ (1:4) como eluente, fornecendo as subfrações CC24-7 (120,1 mg) e CC24-14 (25,4 mg), que foram analisadas por CCD eluída com hexano/AcOEt (8:2) e reveladas com solução de sulfato cérico, mostrando uma mancha azul que fica rosa com o aquecimento e uma mancha roxa, respectivamente. A subfração CC24-14 foi analisada por RMN de ¹H e ¹³C e comparada com dados da literatura, resultando na identificação do composto **12** (25,4 mg).

A subfração CC24-7 foi reaplicada em cromatografia em coluna de Sephadex LH-20 utilizando como eluente hexano/CH₂Cl₂ (1:4), obtendo-se CC24-7-8 (115,6 mg), a qual foi analisada por CG-EM nas seguintes condições: temperatura inicial do forno de 100 °C por 2 minutos, com taxa de aquecimento de 10 °C min⁻¹ até 300 °C permanecendo por 10 minutos. A temperatura do injetor foi de 280 °C, da interface 290 °C e da fonte 270 °C. A análise desta subfração por RMN de ¹H e ¹³C e por CG-EM, resultou na identificação da mistura *M3* (**22-27**; 115,6 mg) (Esquema 3).

4.3.1.4. Fracionamento do grupo CC50

O grupo CC50 (frações 50-55; 97,6 mg) foi submetido a cromatografia em coluna de Sephadex LH-20 utilizando hexano/CH₂Cl₂ (1:4) como eluente, fornecendo as subfrações CC50-6 (5,7 mg) e CC50-7 (5,4 mg), as quais foram analisadas por CCD, eluídas com hexano/AcOEt (6:4) e reveladas com solução de sulfato cérico, apresentando manchas amarelas. A análise das subfrações CC50-6 e CC50-7 por RMN de ¹H e ¹³C e, comparação

com dados da literatura, resultaram na identificação dos compostos **36** (5,7 mg) e na mistura *M4* (**29+30**, 5,4 mg), respectivamente (Esquema 4).

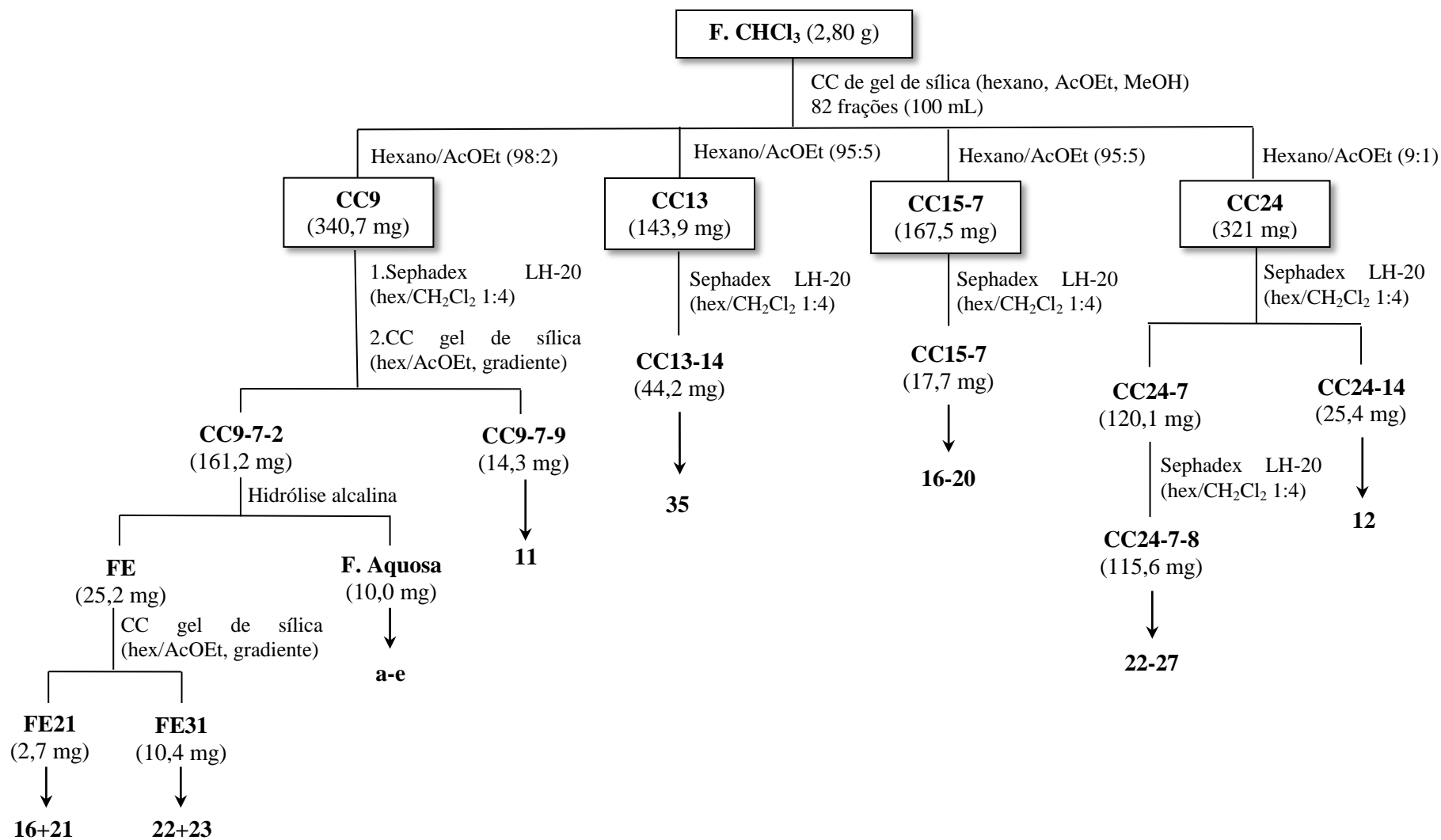
4.3.1.5. Fracionamento dos grupos **CC65**, **CC72** e **CC82**

O grupo **CC65** (frações 65-71; 125,5 mg) foi submetido à cromatografia em coluna de Sephadex LH-20 utilizando como eluentes hexano/CH₂Cl₂ (1:4) e CH₂Cl₂/Acetona (3:2), obtendo-se a subfração **CC65-21** (25,5 mg) como cristais incolores na forma de agulha. A análise desta subfração por CCD utilizando CHCl₃/MeOH (9:1) como eluente e solução de sulfato cérico como revelador, mostrou uma única mancha amarela que absorve azul no UV ($\lambda=254$ nm). Após análise desta subfração por RMN de ¹H e ¹³C e comparação com dados da literatura, identificou-se o composto **33** (25,5 mg).

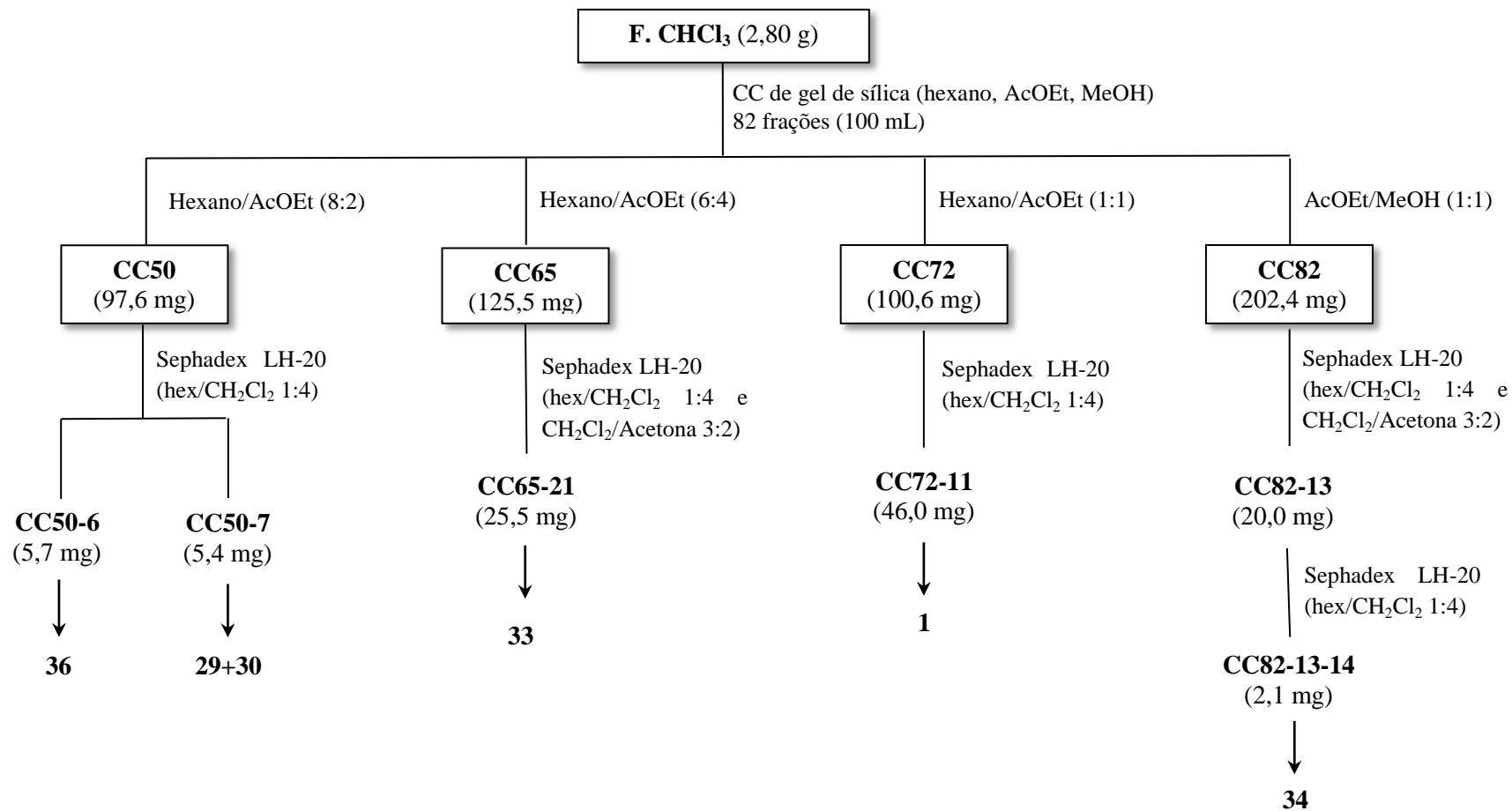
O grupo **CC72** (frações 72-77, 100,6 mg) foi submetido à cromatografia em coluna de Sephadex LH-20 utilizando hexano/CH₂Cl₂ (1:4), resultando na subfração **CC72-11** (46,0 mg), que após análise por CCD usando CHCl₃/MeOH (9:1) como eluente e solução de sulfato cérico como revelador, mostrou uma única mancha laranja e, após análise por RMN de ¹H e ¹³C e comparação com dados da literatura, resultou na identificação do composto **1** (46,0 mg).

O grupo **CC82** (202,4 mg) foi submetido à cromatografia em coluna de Sephadex LH-20 utilizando como eluentes hexano/CH₂Cl₂ (1:4) e CH₂Cl₂/Acetona (3:2) obtendo-se a subfração **CC82-13** (20 mg), que foi submetida a purificação em coluna cromatográfica de Sephadex LH-20 utilizando hexano/CH₂Cl₂ (1:4), resultando na subfração **CC82-13-14** (2,1 mg). Sua análise por CCD utilizando CHCl₃/MeOH (9:1) como eluente e solução de sulfato de cérico como revelador, apresentou uma única mancha amarela. A análise desta subfração por RMN de ¹H e ¹³C e comparação com dados da literatura, resultou na identificação do composto **34** (2,1 mg). O esquema 4 mostra o fracionamento dos grupos **CC50**, **CC65**, **CC72** e **CC82**.

Esquema 3. Obtenção e fracionamento cromatográfico dos grupos CC9, CC13, CC15 e CC24 provenientes da fração CHCl₃ do extrato EtOH do caule de *T. hispidula*



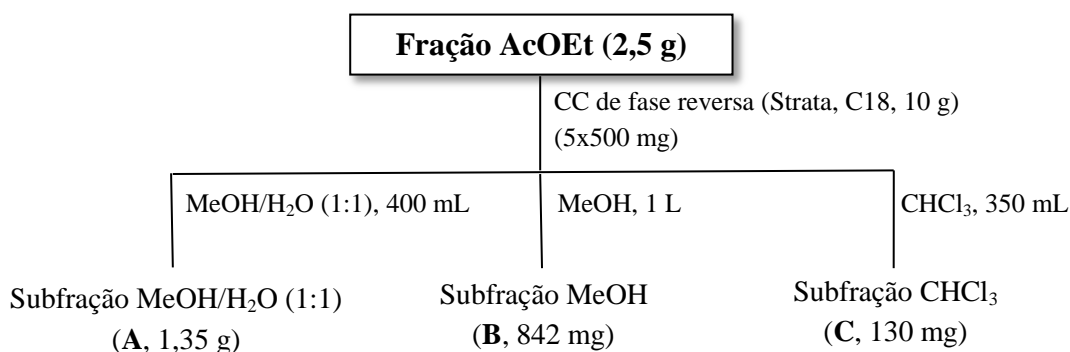
Esquema 4. Obtenção e fracionamento cromatográfico dos grupos CC50, CC65, CC72 e CC82 provenientes da fração CHCl_3 do caule de *T. hispidula*



4.3.2. Fracionamento cromatográfico da fração AcOEt do extrato EtOH do caule

A fração AcOEt (2,5 g) foi dividida em alíquotas de 500 mg e aplicada em cartucho Strata (C18, 10 g), previamente equilibrado com MeOH/H₂O 1:1 e eluído sucessivamente com MeOH/H₂O 1:1 (400 mL), MeOH (1 L) e CHCl₃ (350 mL), fornecendo as subfrações MeOH/H₂O 1:1 (A; 1,35 g), MeOH (B; 842 mg) e CHCl₃ (C; 130 mg), conforme Esquema 5.

Esquema 5. Fracionamento cromatográfico da fração AcOEt do extrato EtOH do caule de *T. hispidula*



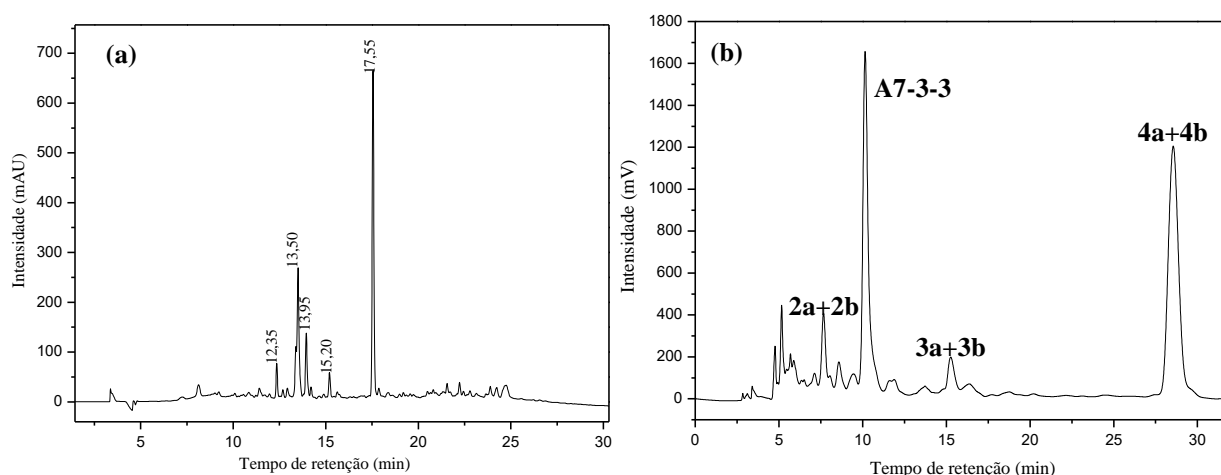
4.3.2.1. Fracionamento da subfração MeOH/H₂O 1:1 (A)

A subfração MeOH/H₂O 1:1 (A; 1,35 g) foi submetida a sucessivas colunas cromatográficas de Sephadex LH-20, utilizando MeOH como eluente. As frações obtidas foram analisadas por CCD utilizando CHCl₃/MeOH (95:5) e solução de sulfato cérico como revelador e, reunidas de acordo com a cor e fator de retenção (R_f), resultando nos grupos A7 (683 mg) e A10 (285,5 mg), os quais foram submetidos a novos procedimentos cromatográficos, conforme Esquema 6.

O grupo A7 (683 mg) foi analisado em HPLC-DAD analítico utilizando gradiente exploratório de 5 a 100% de MeOH/ACN 1:1 com H₂O/AcOH (0,2%) em 40 min, com fluxo de 1 mL min⁻¹ e comprimento de onda de 240 nm (Figura 7a). Em seguida este grupo foi condicionado a um modo de eluição isocrático em HPLC semipreparativo, onde a melhor separação foi obtida utilizando 20% de MeOH/ACN 1:1 e 80% de H₂O, no comprimento de onda de 240 nm e fluxo de 4 mL min⁻¹ (Figura 7b). Para separação em HPLC semipreparativo a amostra foi dissolvida em MeOH/H₂O 1:1 na concentração de 20 mg mL⁻¹ e o volume de injeção foi de 200 µL, resultando na coleta das frações nomeadas de A7-1-4 (9,2 mg), A7-3-3 (2,9 mg), A7-4-4 (19,7 mg) e A7-5-5 (3,6 mg), os quais apresentaram na análise por CCD, utilizando CHCl₃/MeOH (95:5) como eluente e solução de sulfato cérico como revelador, manchas de coloração roxo-escuro, roxo, amarelado e roxo, respectivamente. A análise por

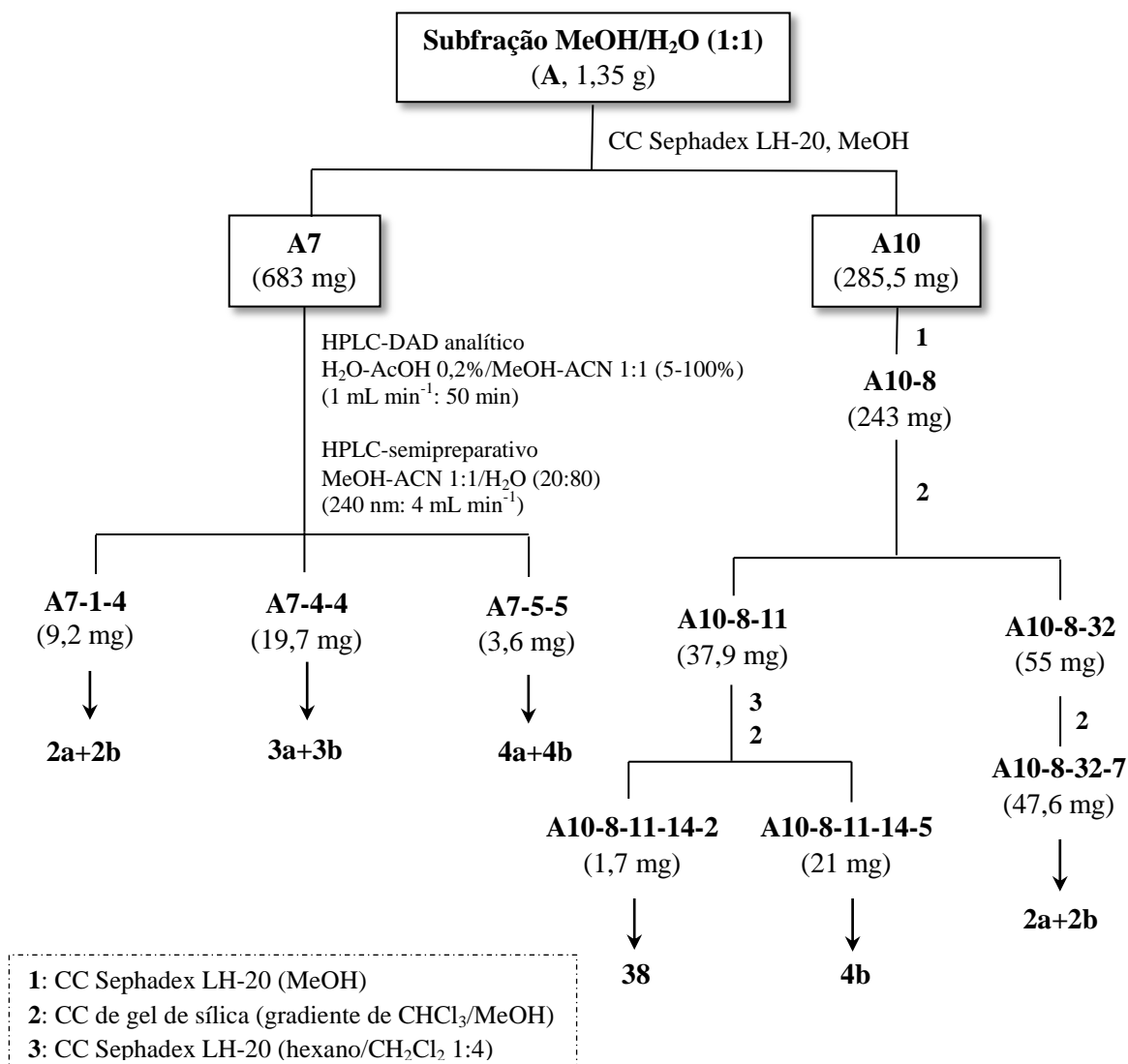
RMN de ^1H e ^{13}C das subfrações A7-1-4, A7-4-4 e A7-5-5 resultaram na identificação das misturas dos compostos **2a+2b** (9,2 mg), **3a+3b** (19,7 mg) e **4a+4b** (3,6 mg), respectivamente. A amostra A7-3-3 (2,9 mg) também foi analisada por RMN de ^1H e ^{13}C , porém apresentou características de uma mistura de iridoides em proporção 1:1, impossibilitando a identificação dos constituintes.

Figura 7. Cromatogramas obtidos em HPLC-DAD analítico (a) e em HPLC semipreparativo (b) da subfração A7, $\lambda=240$ nm.



O grupo A10 (285,5 mg) foi submetido a cromatografia em coluna de Sephadex LH-20 usando MeOH como eluente e cromatografia em coluna de gel de sílica utilizando como eluente gradiente de $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$, fornecendo as frações A10-8-11 (243 mg) e A10-8-32 (55 mg). A fração A10-8-11 foi submetida sucessivamente a colunas cromatográficas de Sephadex LH-20 (eluente: hexano/ CH_2Cl_2 1:4) e gel de sílica (eluente: gradiente $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$), fornecendo A10-8-11-14-2 (1,7 mg), na forma de um sólido branco que não revela com solução de sulfato cérico, e A10-8-11-14-5 (21 mg) que apresentou uma mancha roxa na análise por CCD utilizando $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (95:5) como eluente e sulfato cérico como revelador. A fração A10-8-32 foi submetida à cromatografia em coluna de gel de sílica utilizando gradiente de $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$, resultando na subfração A10-8-32-7 (47,6 mg), a qual apresentou uma mancha roxo-escuro na análise por CCD utilizando $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (95:5) como eluente e sulfato cérico como revelador. A análise das subfrações A10-8-11-14-2 (1,7 mg), A10-8-11-14-5 (21 mg) e A10-8-32-7 (47,6 mg) por RMN de ^1H e ^{13}C e comparação com dados da literatura resultou na identificação do composto **38** (1,7 mg), **4b** (21 mg) e na mistura de **2a+2b** (47,6 mg), respectivamente.

Esquema 6. Fracionamento cromatográfico da subfração MeOH/H₂O 1:1 (A) da fração AcOEt do caule de *T. hispidula*



4.3.2.2. Fracionamento da subfração MeOH (B)

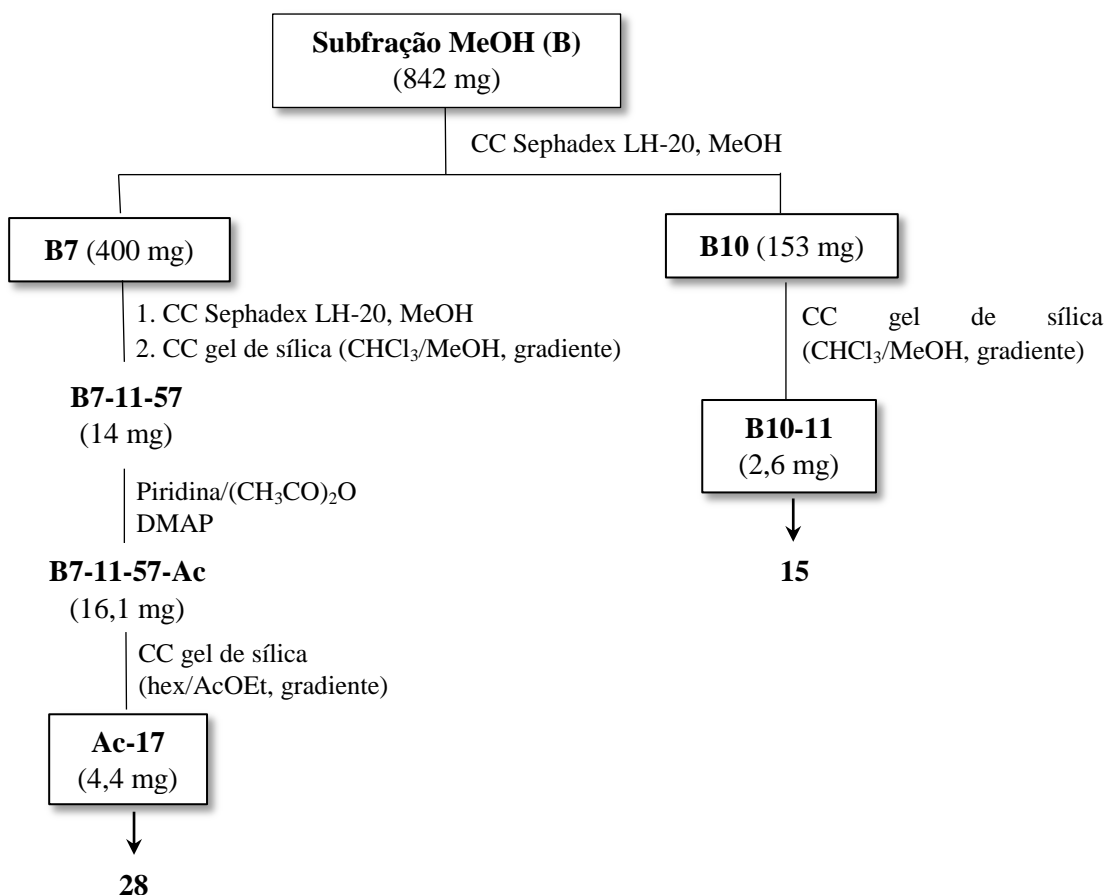
A subfração MeOH (B, 842 mg) foi submetida a cromatografia em coluna de Sephadex LH-20, utilizando MeOH como eluente, fornecendo os grupos B7 (400 mg) e B10 (153 mg), após análise por CCD e reunião das subfrações semelhantes com base na cor e fator de retenção.

O grupo B7 (400 mg) foi submetido à cromatografia em coluna de Sephadex LH-20 eluído com MeOH e à cromatografia em coluna de gel de sílica, eluída com gradiente de CHCl₃/MeOH, fornecendo a fração B7-11-57 (14 mg). Esta fração foi submetida à reação de acetilação, dissolvendo em 1 mL de piridina, adicionado 1 mL de anidrido acético e o catalisador DMAP. A mistura reacional foi mantida em repouso, à temperatura ambiente, por

uma noite. Posteriormente, adicionou-se em um funil de separação, 10 mL de água destilada gelada e a mistura reacional. Extraiu-se com CHCl_3 (5x10 mL), lavou-se a fase CHCl_3 com solução de CuSO_4 0,5 mol L^{-1} (5x10 mL) para eliminar o excesso de piridina e em seguida com água destilada (4x10 mL). Secou-se a fase CHCl_3 com Na_2SO_4 anidro, filtrou-se em algodão e evaporou-se o solvente em evaporador rotativo. A fração acetilada foi submetida a cromatografia em coluna de gel de sílica, usando gradiente de hexano/ AcOEt , resultando na fração Ac-17 (4,4 mg), a qual apresentou uma mancha roxa na análise por CCD utilizando hexano/ AcOEt (7:3) como eluente e sulfato cérico como revelador. A análise desta fração por RMN de ^1H e ^{13}C resultou na identificação do composto **28**.

O grupo B10 (153 mg) foi submetido a cromatografia em coluna de gel de sílica utilizando gradiente de $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$, resultando na fração B10-11 (2,6 mg), a qual apresentou uma mancha de cor roxa na análise por CCD utilizando $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (95:5) como eluente e sulfato cérico como revelador. A análise dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C desta fração e comparação com dados da literatura resultou na identificação do composto **15**. O esquema 7 mostra o fracionamento cromatográfico da subfração MeOH (**B**).

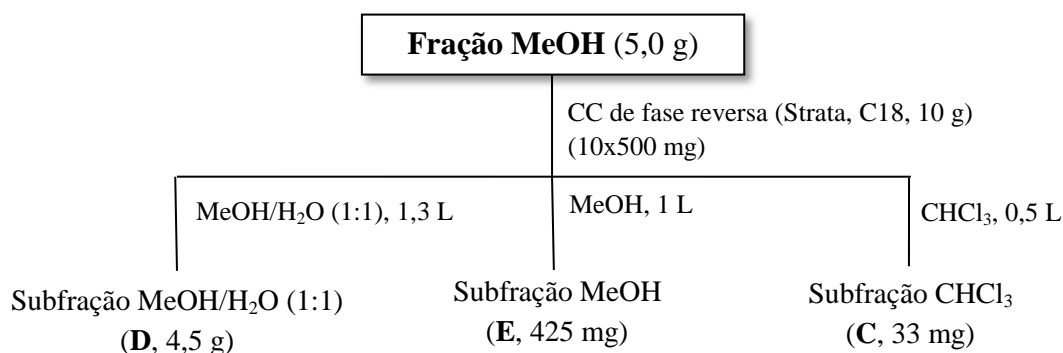
Esquema 7. Fracionamento cromatográfico da subfração MeOH (**B**)



4.3.3. Fracionamento cromatográfico da fração MeOH do extrato EtOH do caule de *T. hispidula*

A fração MeOH (5,0 g), proveniente da coluna filtrante de gel de sílica do extrato EtOH do caule de *T. hispidula*, foi dividida em alíquotas de 500 mg e aplicada em cartucho Strata (C18, 10 g), previamente equilibrado com MeOH/H₂O 1:1 e eluído sucessivamente com MeOH/H₂O 1:1 (1,3 L), MeOH (1 L) e CHCl₃ (0,5 L), fornecendo as subfrações MeOH/H₂O 1:1 (**D**; 4,3 g), MeOH (**E**; 425 mg) e CHCl₃ (**F**; 33 mg), conforme Esquema 8

Esquema 8. Fracionamento cromatográfico da fração MeOH do extrato EtOH do caule de *T. hispidula*



4.3.3.1. Fracionamento da subfração MeOH/H₂O 1:1 (**D**)

A subfração MeOH/H₂O 1:1 (**D**; 2,4 g) foi submetida a cromatografia em coluna de Sephadex LH-20, utilizando MeOH como eluente. As subfrações resultantes foram analisadas por CCD utilizando CHCl₃/MeOH 95:5 como eluente e sulfato cérico como revelador, fornecendo os grupos D8 (195 mg) e D9 (1,8 g), após reunião das subfrações semelhantes com base na cor e fator de retenção.

Os grupos D8 e D9 foram submetidos à cromatografia em coluna de Sephadex LH-20 utilizando CHCl₃/MeOH (4:6) como eluente, resultando nas frações D8-13 (30 mg), D8-15 (35 mg) e D9-16 (1,23 g). As frações D8-13 e D9-16 foram reunidas e, a fração resultante foi submetida sucessivamente à cromatografia em coluna de Sephadex LH-20 utilizando CHCl₃/MeOH (4:6), CHCl₃/MeOH (1:1) e MeOH como eluentes, fornecendo D8-13-12-8-9 (380 mg). A subfração D8-13-12-8-9 foi reunida a D8-15, obtendo-se 415 mg.

A fração D8-15 (415 mg) foi analisada por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC-DAD), usando gradiente exploratório de MeOH/ACN 1:1 e H₂O com 0,2% de AcOH (5→100% em 40 min.), com fluxo de 1 mL min⁻¹, na faixa de comprimento de onda de 200-800 nm, obtendo-se o cromatograma mostrado na Figura 8. Depois de analisada em HPLC

analítico, esta fração foi condicionada a um modo de eluição isocrático em HPLC semipreparativo, sendo a melhor resolução obtida utilizando como eluente 15% de MeOH/ACN (1:1) e 85% de H₂O/AcOH (0,1%), com fluxo de 4 mL min⁻¹, comprimento de onda de 240 nm. A amostra foi dissolvida em MeOH/H₂O 1:1 na concentração de 20 mg mL⁻¹ e o volume de injeção foi de 200 µL. Foram coletas sete frações (D8-15-0 a D8-15-6), conforme cromatograma mostrado na Figura 9. As frações D8-15-1 (8,6 mg), D8-15-2 (9,0 mg), D8-15-3 (3,8 mg), D8-15-4 (4,3 mg) e D8-15-6 (12,7 mg) foram analisadas por RMN de ¹H e ¹³C e comparadas com dados da literatura, resultando na identificação dos compostos **5**, **6**, **7**, **8** e **9** respectivamente. O Esquema 9 mostra o fracionamento da subfração **D**, bem como dos grupos D8 e D9.

Figura 8. Cromatograma obtido em HPLC-DAD analítico da fração D8-15. Fase móvel: MeOH/ACN (1:1)-H₂O/AcOH (0,2%), gradiente exploratório: 5-100% de MeOH/ACN (1:1) em 40 min, fluxo de 1,0 mL min⁻¹, λ=240 nm.

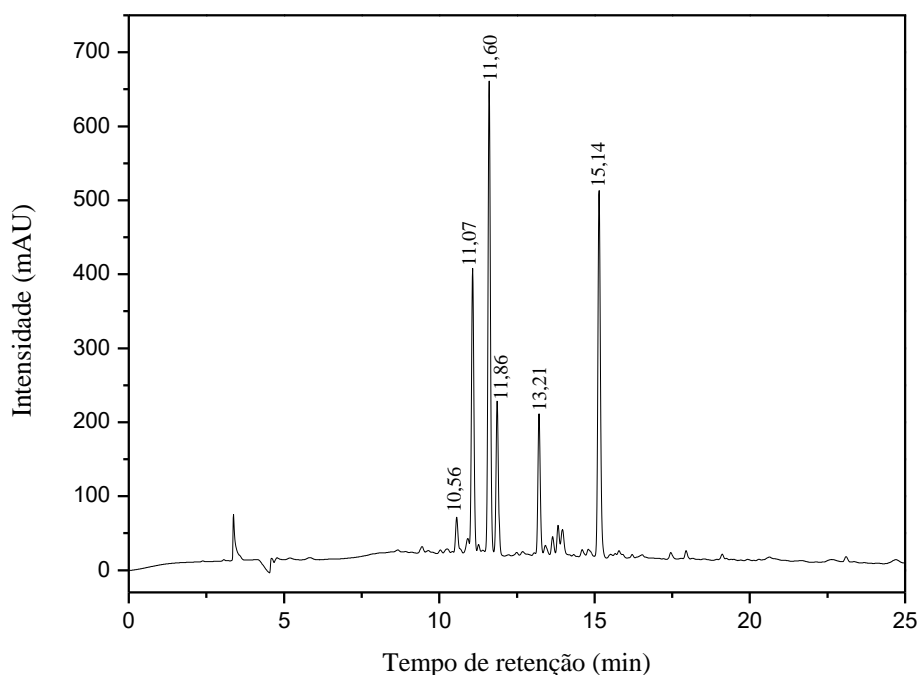
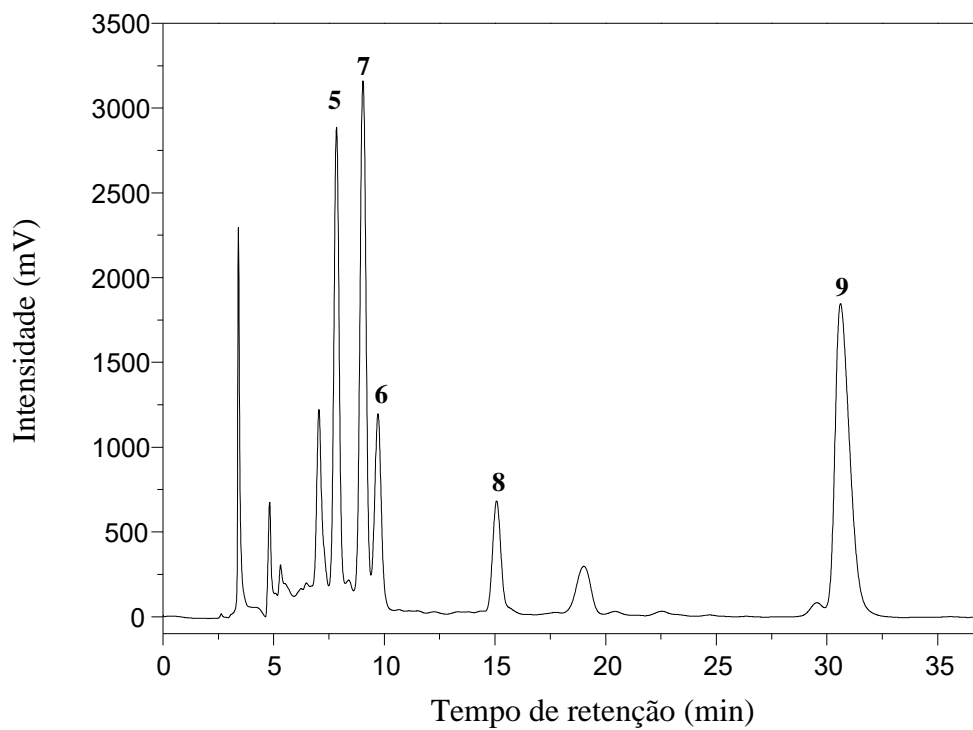
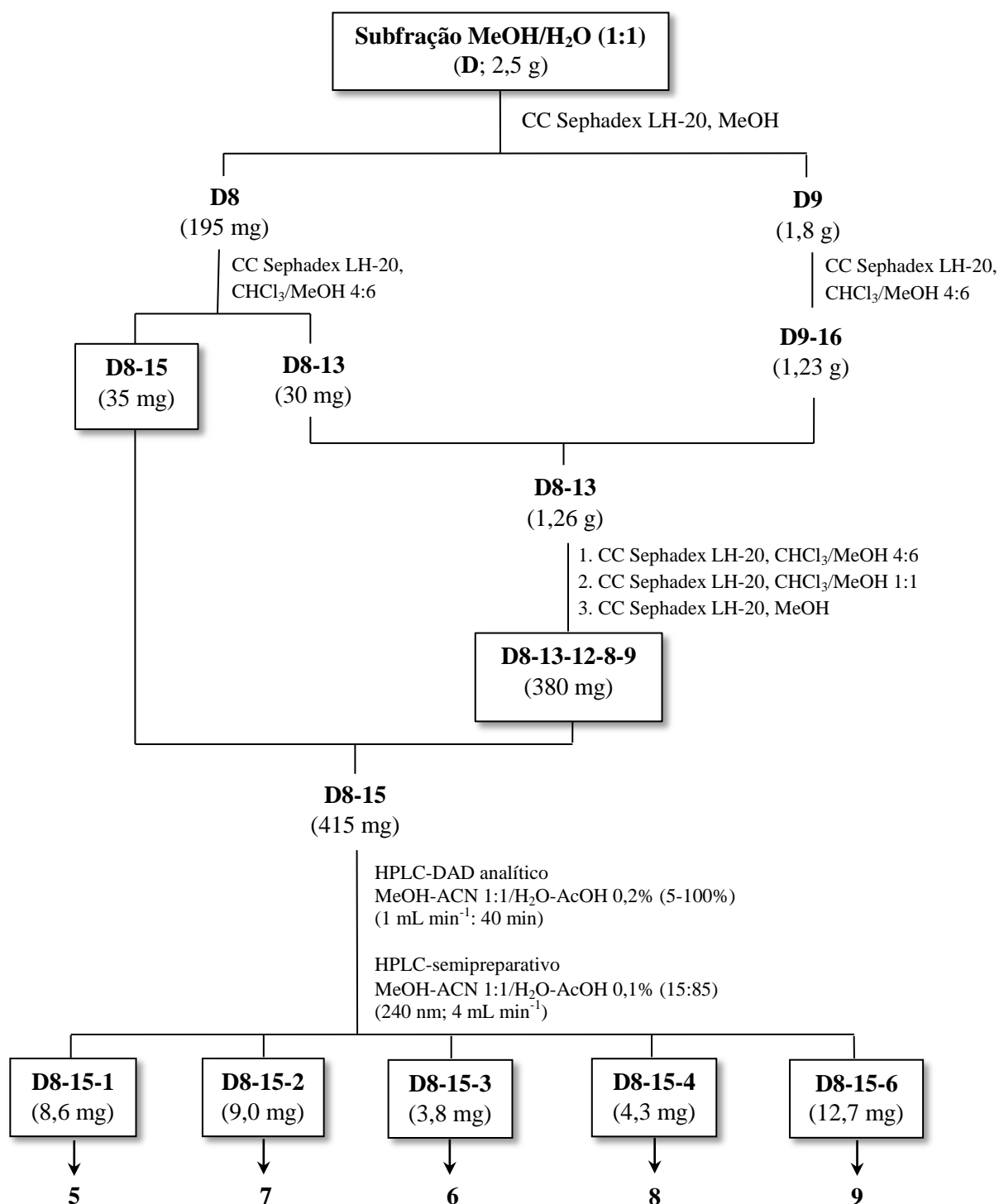


Figura 9. Cromatograma da fração D8-15 obtido em HPLC semipreparativo. Fase móvel: 15% de MeOH/ACN (1:1) e 85% de H₂O/AcOH (0,1%), fluxo de 4,0 mL min⁻¹, $\lambda=240$ nm.



Esquema 9. Fracionamento cromatográfico da subfração MeOH/H₂O 1:1 (**D**) da fração MeOH do extrato EtOH do caule de *T. hispidula*



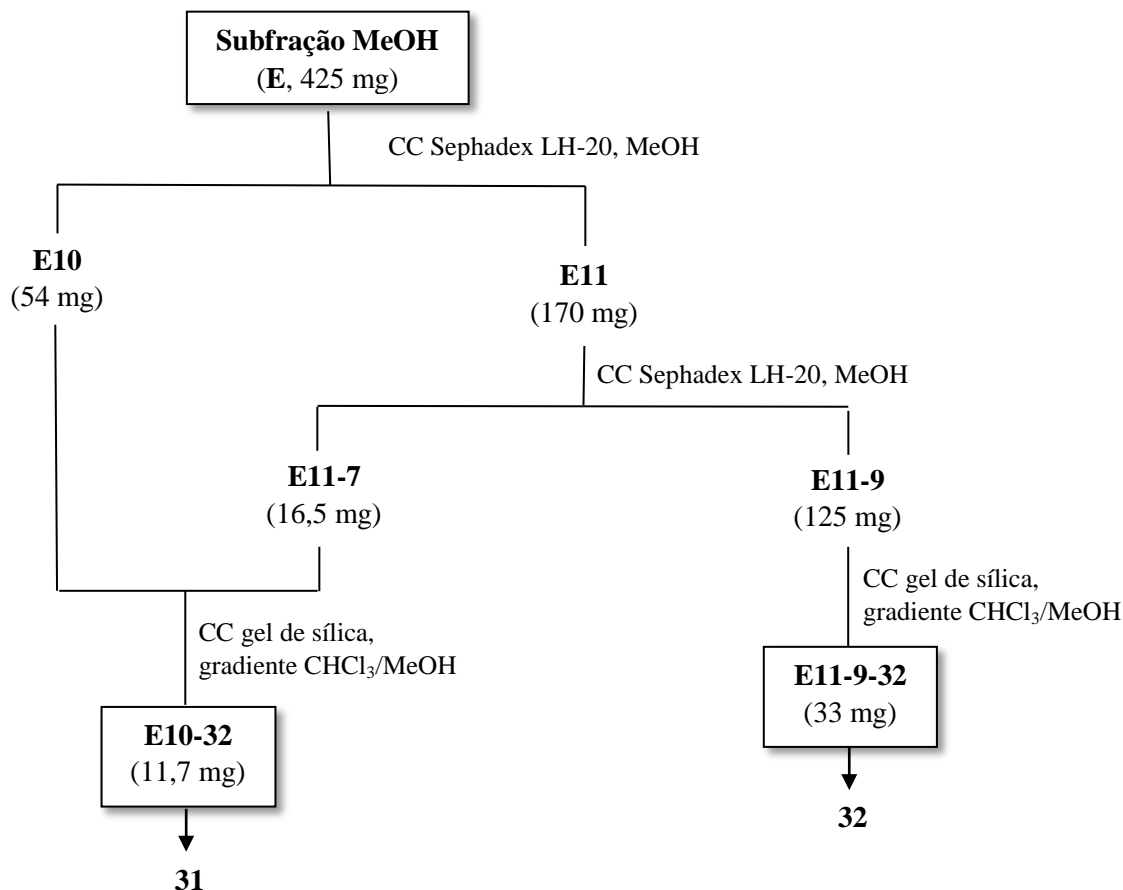
4.3.3.2. Fracionamento da subfração MeOH (E)

A subfração MeOH (**E**; 425 mg) foi submetida à cromatografia em coluna de Sephadex LH-20 utilizando MeOH como eluente, resultando nos grupos E10 (54 mg) e E11

(170 mg), após análise por CCD e reunião das frações semelhantes com base na cor e fator de retenção. O grupo E11 foi aplicado em coluna cromatográfica de Sephadex LH-20 usando MeOH como eluente, fornecendo E11-7 (16,5 mg) e E11-9 (125 mg). E11-9 foi aplicado em coluna cromatográfica de gel de sílica eluído com gradiente de CHCl₃/MeOH, fornecendo a subfração E11-9-32 (33 mg), a qual apresentou uma mancha roxa na análise por CCD utilizando CHCl₃/MeOH 75:25 como eluente e sulfato cérico como revelador. Após análise da subfração E11-9-32 por RMN de ¹H e ¹³C e comparação com dados da literatura, foi possível a identificação do composto **32**.

O grupo E10 foi reunido com a subfração E11-7 e, a fração resultante foi submetida à cromatografia em coluna de gel de sílica utilizando gradiente de CHCl₃/MeOH, resultando em E10-32 (11,7 mg), que foi analisada por RMN de ¹H e ¹³C e por espectrometria de massas por inserção direta, bem como comparada com dados da literatura, resultando na identificação do composto **31**. O fracionamento cromatográfico da subfração E e dos grupos E10 e E11 são mostrados no Esquema 10.

Esquema 10. Fracionamento cromatográfico da subfração MeOH (E) da fração MeOH do extrato EtOH do caule de *T. hispidula*

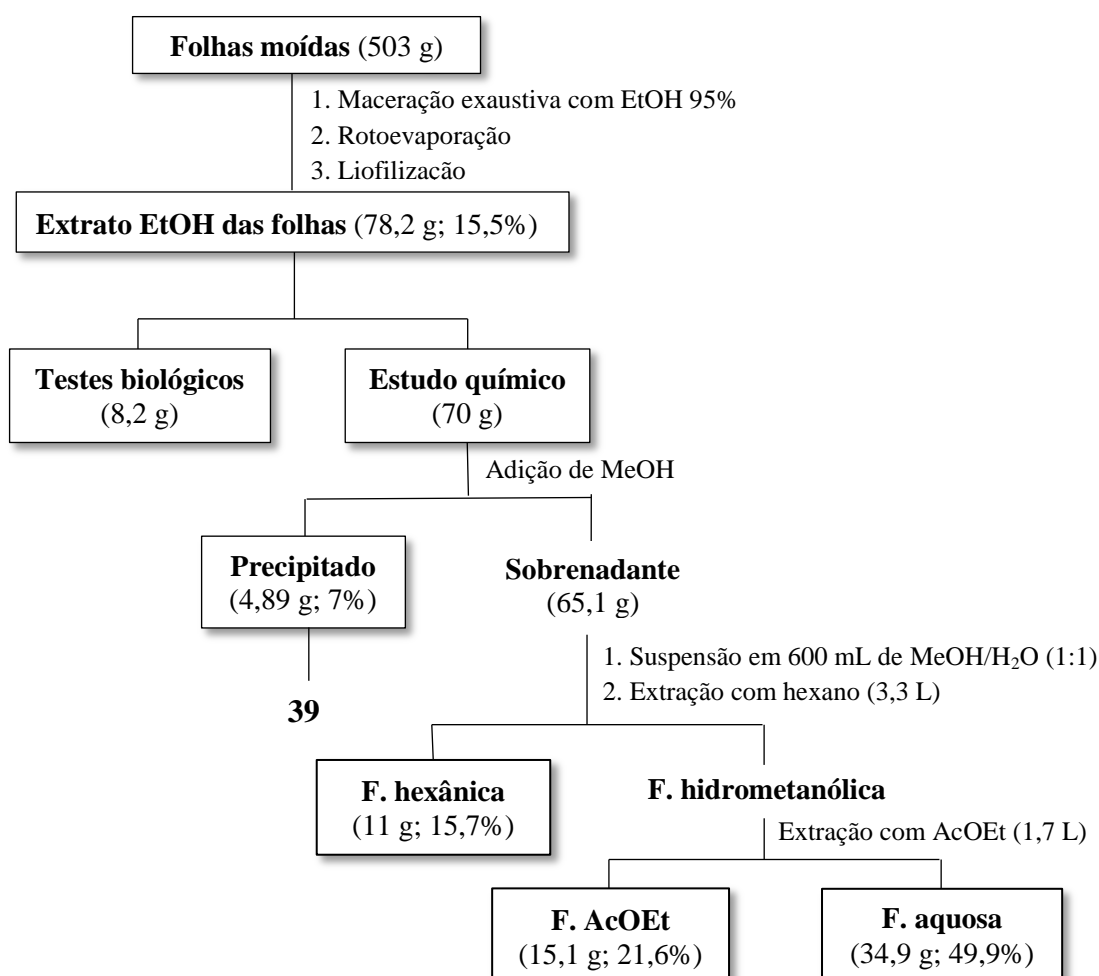


4.4. Obtenção e partição do extrato EtOH das folhas

As folhas de *T. hispidula* foram secas à temperatura ambiente e trituradas em moinho de facas. O material vegetal moído (503 g) foi submetido à maceração exaustiva com etanol (95%). A cada extração, os extratos foram concentrados em evaporador rotativo e, ao final reunidos e liofilizados, obtendo-se o extrato EtOH das folhas (78 g; 15,5%).

A uma alíquota de 70,0 g do extrato EtOH foi adicionado 600 mL de MeOH, observando-se a formação de um precipitado (4,89 g; 7%), que foi separado por filtração e analisado por RMN de ^1H e ^{13}C , resultando na identificação do composto **39**. O sobrenadante foi reduzido a 300 mL em rotoevaporador, adicionados 300 mL de água para se obter uma suspensão em MeOH/H₂O (1:1), e submetida a partição utilizando hexano (3,3 L) e AcOEt (1,7 L) sucessivamente, resultando, após remoção dos solventes por rotoevaporação e liofilização, nas frações hexânica (11,0 g; 15,7%), AcOEt (15,1 g; 21,6%) e aquosa (34,9 g; 49,9%). O esquema 11 mostra a obtenção do extrato e das frações resultantes da partição, com suas massas e rendimentos.

Esquema 11. Obtenção e partição do extrato EtOH das folhas de *T. hispidula*



As frações obtidas da extração líquido-líquido do extrato EtOH das folhas foram analisadas por cromatografia em camada delgada de gel de sílica (CCD), utilizando hexano/AcOEt (8:2), CHCl₃/MeOH (9:1) e CHCl₃/MeOH/H₂O (65:30:5) como eluentes e como reveladores irradiação na região do ultravioleta ($\lambda = 254$ e 366 nm) e solução de sulfato cérico. Dentre as frações analisadas, a hexânica e a aquosa, mostraram-se promissoras para iniciar o fracionamento visando o isolamento e identificação dos constituintes químicos.

4.4.1. Fracionamento cromatográfico da fração hexânica do extrato EtOH das folhas de *T. hispidula*

A fração hexânica (10 g) proveniente da partição do extrato EtOH das folhas de *T. hispidula* foi submetida a fracionamento cromatográfico em coluna de gel de sílica (300 g), eluída com hexano/AcOEt em gradiente crescente de polaridade, seguido de AcOEt/MeOH (1:1), sendo coletadas 121 frações de 250 mL cada. As frações obtidas foram analisadas por CCD de gel de sílica e reunidas por semelhança da cor e fator de retenção, resultando em 19 grupos (Tabela 5). Os grupos FH1, FH13, FH15, FH22, FH32 e FH98 foram submetidos a fracionamentos cromatográficos, conforme esquema 12.

Tabela 5: Grupos obtidos do fracionamento cromatográfico da fração hexânica das folhas de *T. hispidula*

Grupo	Frações reunidas	Eluente	Massa (mg)
FH1	1-2	Hexano	81,0
FH3	3-12	Hexano	32,2
FH13	13	hexano/AcOEt, 98:2	1806,3
FH14	14	hexano/AcOEt, 98:2	76,8
FH15	15-18	hexano/AcOEt, 98:2	104,0
FH19	19-21	hexano/AcOEt, 95:5	299,7
FH22	22-24	hexano/AcOEt, 95:5	412,2
FH25	25-26	hexano/AcOEt, 95:5	127,4
FH27	27-31	hexano/AcOEt, 95:5	189,3
FH32	32-39	hexano/AcOEt, 95:5	570,0
FH40	40	hexano/AcOEt, 95:5	50,9
FH41	41-59	hexano/AcOEt, 9:1	922,9
FH60	60-81	hexano/AcOEt, 8:2	1.412,4
FH82	82-85	hexano/AcOEt, 7:3	128,4
FH86	86-97	hexano/AcOEt, 6:4	197,4
FH98	98-112	hexano/AcOEt, 6:4 e 1:1	419,6
FH113	113	AcOEt 100%	25,0
FH114	116	AcOEt/MeOH 1:1	2.392,3
FH117	117-120	MeOH 100%	362,7
			Total = 9,6 g

4.4.1.1. Fracionamento cromatográfico dos grupos FH1 e FH13

O grupo FH1 foi obtido como um líquido amarelado, apresentando uma mancha laranja na análise por CCD, utilizando hexano/AcOEt 98:2 como eluente. Este foi analisado por RMN de ^1H e ^{13}C e os resultados comparados com dados da literatura, permitiram identificar o composto **10**.

O grupo FH13 (517 mg) foi submetido a cromatografia em coluna de gel de sílica utilizando gradiente de hexano/AcOEt, fornecendo FH13-21 (32,8 mg), o qual apresentou uma mancha de cor laranja na análise por CCD, utilizando hexano/AcOEt (95:5) como eluente e solução de sulfato cérico como revelador. A análise dos espectros de RMN de ^1H e

^{13}C foi insuficiente para identificação do composto. Desta forma a amostra foi submetida à análise por espectrometria de massas de alta resolução no modo positivo, nas seguintes condições: fluxo de gás de secagem a $4,0 \mu\text{L min}^{-1}$, temperatura do gás de secagem de 180°C , pressão do gás de nebulização de $1,0 \text{ bar}$ e temperatura da fonte de 350°C . Assim, após análise dos resultados e comparação com dados da literatura foi possível identificar o composto **21a**.

4.4.1.2. Fracionamento cromatográfico dos grupos FH15 e FH22

Os grupos FH15 e FH22 foram aplicados em coluna cromatográfica de Sephadex LH-20, utilizando hexano/ CH_2Cl_2 (1:4) como eluente, resultando nas frações FH15-11 (17 mg) e FH22-17-11 (75,5 mg), respectivamente.

A fração FH15-11 foi filtrada em gel de sílica utilizando CH_2Cl_2 , fornecendo FH15-11-4 (12,5 mg), o qual foi analisada por CCD (eluente: hexano/AcOEt 9:1) apresentando uma mancha amarela, que após análise por RMN de ^1H e ^{13}C e comparação com dados da literatura foi identificado como o composto **37**.

A fração FH22-17-11 foi aplicada em coluna cromatográfica de gel de sílica, usando gradiente de hexano/AcOEt, fornecendo FH-22-17-11-21 (19,6 mg), que apresentou uma mancha de cor laranja na análise por CCD, utilizando hexano/AcOEt (85:15) como eluente e solução de sulfato cérico como revelador. Após análise dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C e comparação com dados da literatura foi identificado o composto **20**.

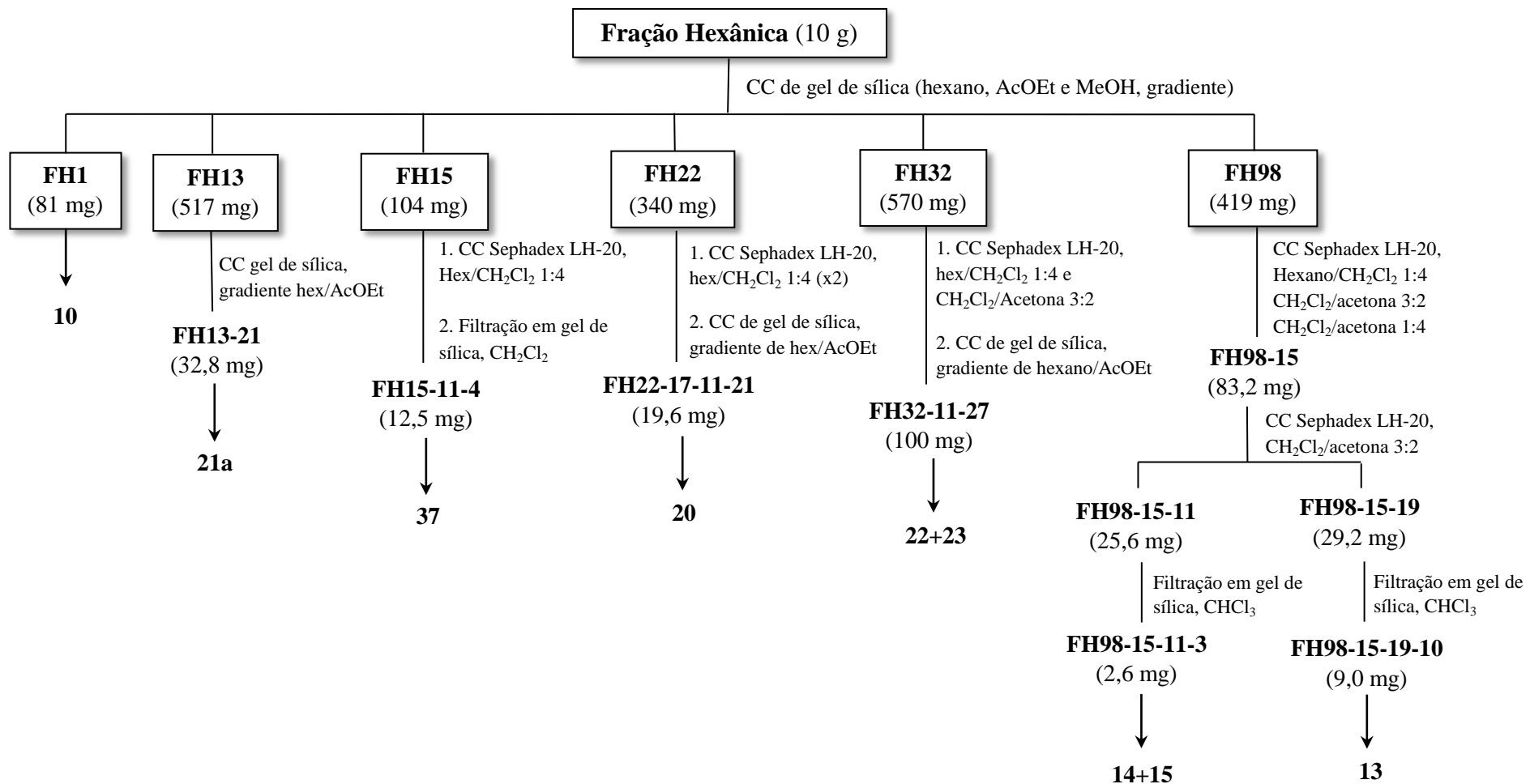
4.4.1.3. Fracionamento cromatográfico dos grupos FH32 e FH98

O grupo FH32, após ser submetido à cromatografia em coluna de Sephadex LH-20, eluída com hexano/ CH_2Cl_2 (1:4) e CH_2Cl_2 /Acetona (3:2) e à cromatografia em coluna de gel de sílica eluído com gradiente de hexano/AcOEt, forneceu FH32-11-27 (100 mg). Esta amostra apresentou coloração roxa na análise por CCD utilizando hexano/AcOEt (8:2) como eluente e solução de sulfato cérico como revelador. A análise por RMN de ^1H e ^{13}C e comparação com dados da literatura, resultou na identificação da mistura dos compostos **22+23**.

O grupo FH98 (419,6 mg) foi submetido a cromatografia em coluna de Sephadex LH-20, eluído com hexano/ CH_2Cl_2 (1:4), CH_2Cl_2 /Acetona (3:2) e CH_2Cl_2 /Acetona (1:4), resultando na fração FH98-15 (83,2 mg). Esta fração aplicada em coluna cromatográfica de Sephadex LH-20, eluída com CH_2Cl_2 /Acetona (3:2), forneceu FH98-15-11 (25,6 mg) e FH98-15-19 (29,2), as quais foram filtradas em gel de sílica com CHCl_3 , resultando em FH98-15-

11-3 (2,6 mg) e FH98-15-19-10 (9,0 mg). Estas frações apresentaram manchas roxas com tempos de retenção diferentes, na análise por CCD utilizando $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 9:1 como eluente e solução de sulfato cérico como revelador. A análise dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C das frações FH98-15-11-3 (2,6 mg) e FH98-15-19 (9,0 mg) comparados com dados da literatura, resultaram na identificação da mistura dos compostos **14+15** e no composto **13**, respectivamente.

Esquema 12. Fracionamento cromatográfico da fração hexânica do extrato EtOH das folhas de *T. hispidula*



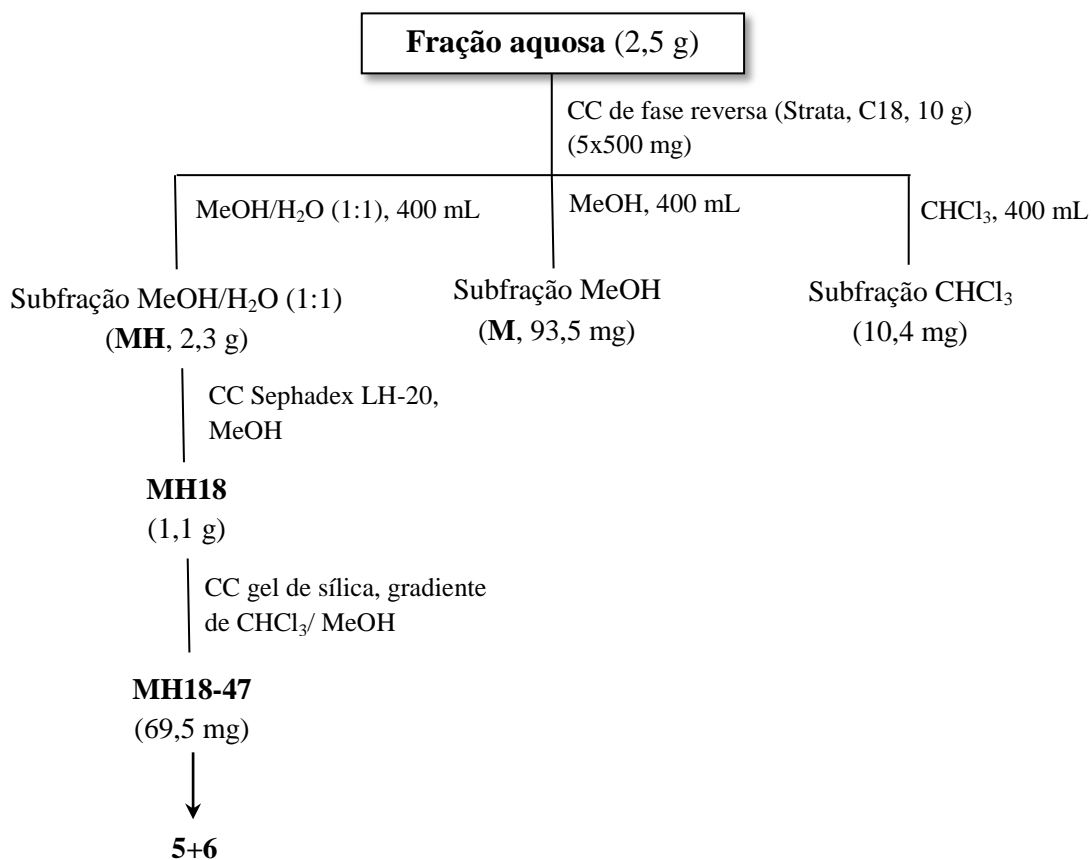
4.4.1. Fracionamento cromatográfico da fração aquosa do extrato EtOH das folhas de *T. hispidula*

A fração aquosa (2,5 g), proveniente da extração líquido-líquido do extrato EtOH das folhas, foi dividida em alíquotas de 500 mg e aplicada em cartucho Strata (C18, 10 g), previamente equilibrado com MeOH/H₂O 1:1 e eluído sucessivamente com MeOH/H₂O 1:1 (400 mL), MeOH (400 mL) e CHCl₃ (400 mL), fornecendo as subfrações MeOH/H₂O 1:1 (**MH**; 2,3 g), MeOH (**M**; 93,5 mg) e CHCl₃ (10,4 mg), conforme Esquema 13.

A subfração MeOH/H₂O 1:1 (**MH**; 2,3 g) foi submetida a cromatografia em coluna de Sephadex LH-20, utilizando MeOH como eluente. As subfrações resultantes foram analisadas por CCD utilizando CHCl₃/MeOH/H₂O 65:30:5 como eluente e sulfato cérico como revelador, fornecendo os grupos MH12 (234 mg), MH18 (1,1 g), MH25 (99 mg) e MH27 (92 mg), após reunião das subfrações semelhantes com base na cor e fator de retenção.

O grupo MH18 foi submetido à cromatografia em coluna de gel de sílica utilizando gradiente de CHCl₃/MeOH, resultando na fração MH18-47 (69,5 mg), a qual apresentou uma mancha azul na análise por CCD utilizando CHCl₃/MeOH/H₂O 65:30:5 como eluente e sulfato cérico como revelador. Esta fração foi analisada por RMN de ¹H e ¹³C e os espectros comparados com dados da literatura resultaram na identificação da mistura dos compostos **5+6**. O Esquema 13 mostra o fracionamento da fração aquosa e subfração MH.

Esquema 13. Fracionamento cromatográfico da fração aquosa do extrato EtOH do caule de *T. hispidula*



4.5. Perfis cromatográficos dos extratos e frações de *T. hispidula* em HPLC-DAD analítico

Os extratos EtOH, frações e subfrações (**A**, **B**, **D**, **E**, **MH** e **M**) de *T. hispidula* foram analisados em HPLC-DAD para obtenção dos perfis cromatográficos. As amostras foram submetidas a um pré-tratamento (*Clean up*), com uma alíquota de 10 mg dos extratos e frações solubilizadas em 1,0 mL de MeOH, aplicadas em cartucho C18 (1 g) e eluídas com 2,0 mL de MeOH. Após evaporar o solvente, as amostras foram solubilizadas em 2 mL de MeOH/H₂O (1:1) e filtradas em membrana com porosidade de 0,45 µm. Para os extratos foram injetados 20 µL e para as frações 10 µL de amostra. Para as subfrações, foram pesados 5 mg de amostra, dissolvidos em 2 mL de MeOH/H₂O 1:1 e, em seguida, filtradas em membrana de 0,45 µm, sendo o volume de injeção de 10 µL.

Os perfis dos extratos, frações e subfrações foram obtidos em gradiente exploratório de MeOH/ACN 1:1 e H₂O/AcOH com 0,2% (5 → 100% em 50 min.), fluxo de 1 mL min⁻¹ e comprimento de onda de 240 nm.

4.6. Avaliação das atividades antileishmania e anticolinesterásica de *T. hispidula*

4.6.1. Atividade antileishmania

As formas promastigotas de *Leishmania major* em fase logarítmica de crescimento foram semeadas em placas de cultivo com 96 poços (1 x 10⁶ leishmania por poço), contendo meio Schneider's suplementado. O extrato EtOH, frações CHCl₃, AcOEt e MeOH e os compostos **1** e **36** do extrato EtOH do caule de *T. hispidula* foram adicionados aos poços em diluições seriadas de 800 a 6,25 µg mL⁻¹. As placas foram incubadas em estufa de demanda biológica de oxigênio (BOD), à temperatura de 26 °C e, após 48 horas, os parasitas foram corados com resazurina para acompanhamento do crescimento e da viabilidade das leishmanias (LUSTOSA, 2012). O experimento foi realizado no Laboratório de atividade antileishmania do Núcleo de Pesquisas em Plantas Medicinais (NPPM-UFPI).

4.6.2. Atividade anticolinesterásica

O teste qualitativo de inibição da enzima acetilcolinesterase (AChE) pelos extratos e frações de *T. hispidula* foi realizado de acordo com o método de Ellman et al. (1961), modificado por Rhee (2001). As amostras foram preparadas na concentração de 10 mg mL⁻¹ e alíquotas de 1,5-2,5 µL de cada amostra foram aplicadas em placa cromatográfica de gel de sílica, eluída em clorofórmio-metanol 9:1. Após o desenvolvimento da placa a atividade inibitória foi detectada utilizando revelador baseado no método de Ellman et al. (1961).

A placa foi pulverizada com DTNB (ácido 5,5'-ditiobis-(2-nitrobenzóico)/ATCI (Iodeto de acetiltiocolina) (1 mM DTNB e 1 mM ATCI em tampão 50mM Tris-HCl, pH8,0), depois de seca por 3-5 minutos foi então pulverizada com 5 units mL⁻¹ da enzima. O teste positivo para esse ensaio pode ser observado pela presença de manchas brancas na cromatoplaca, que se apresenta amarela, depois de 5 minutos. O padrão de comparação utilizado foi a cafeína (ELLMAN, et al., 1961; INGKANINAN et al., 2000, 2003; RHEE et al.; 2001). O ensaio foi realizado no Laboratório de Pesquisa em Neuroquímica Experimental (LAPNEX-UFPI).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Perfil químico dos extratos e frações de *T. hispidula*

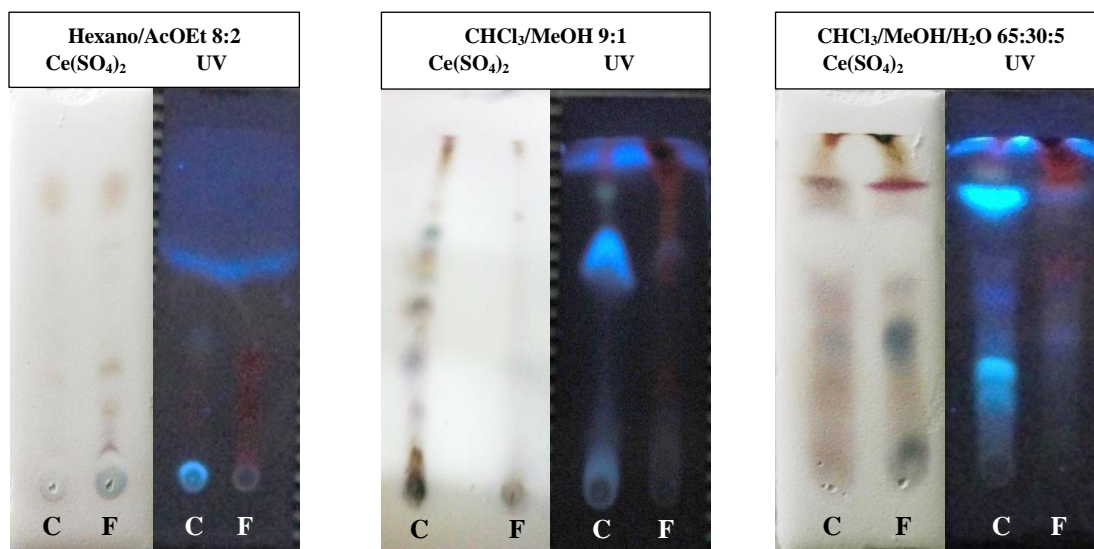
5.1.1. Cromatografia em camada delgada analítica (CCDA)

As placas cromatográficas do extrato EtOH e frações hexânica, CHCl₃, AcOEt e MeOH do caule, bem como do extrato EtOH e frações hexânica, AcOEt e aquosa das folhas, foram eluídas com hexano/AcOEt (8:2), CHCl₃/MeOH (9:1) e CHCl₃/MeOH/H₂O (65:30:5) e reveladas em câmara UV ($\lambda=254$ e 366 nm) e com solução de sulfato cérico. As cromatoplas obtidas são mostradas nas Figuras 10-12.

Analisando as cromatoplas dos extratos EtOH do caule e folhas (Figura 10) nos três sistemas de solventes, foi possível verificar a presença de manchas roxas, azuis e amareladas, principalmente para o extrato EtOH do caule eluído em CHCl₃/MeOH (9:1) e revelado com solução de sulfato cérico. Estas manchas são características de substâncias de natureza isoprênica, tais como triterpenoides, esteroides e iridoides. Utilizando o sistema de solventes CHCl₃/MeOH/H₂O (65:30:5) e Ce(SO₄)₂ como revelador, foi possível observar manchas de coloração azul para os dois extratos, porém mais intensas para o extrato EtOH das folhas, o que sugere a presença de iridoides glicosilados devido a polaridade. Ainda para este último eluente, a cromatopla do extrato EtOH do caule revelada no UV ($\lambda=254$ nm) apresentou absorções azuis, indicando a presença de substâncias com grupos cromóforos conjugados.

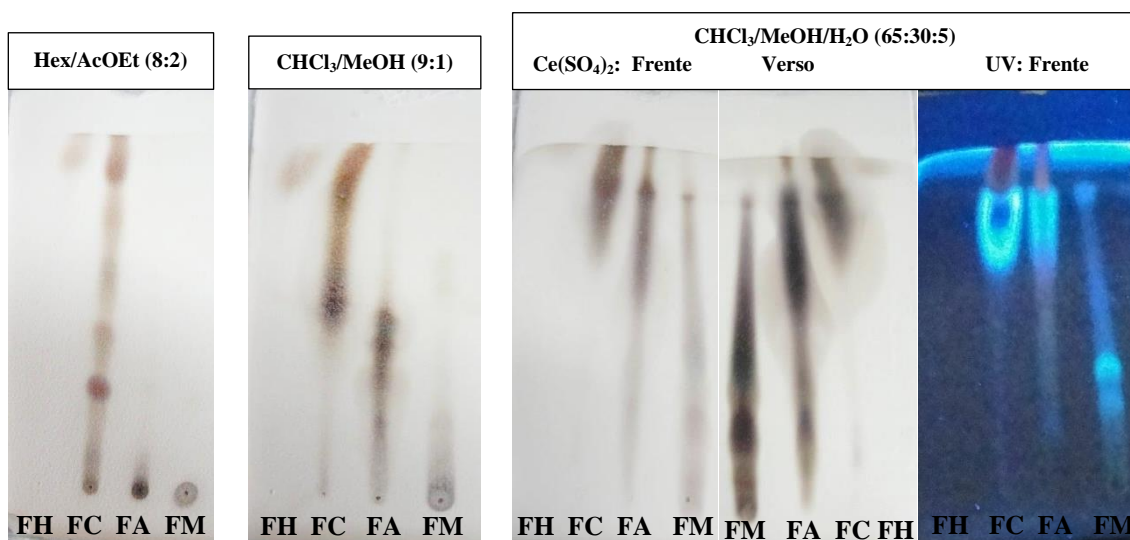
Após avaliação dos perfis cromatográficos, foi possível observar que os extratos EtOH do caule e folhas, mostraram-se promissores para fracionamento, sendo, portanto submetidos a cromatografia em coluna filtrante de gel de sílica e partição respectivamente.

Figura 10. Cromatoplas dos extratos EtOH de *T. hispidula*, C: caule e F: folhas.



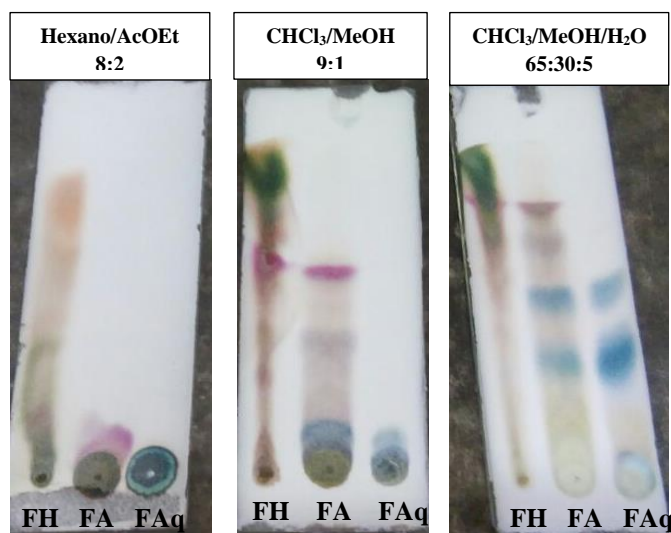
As cromatoplasmas das frações provenientes da coluna filtrante de gel de sílica do extrato EtOH do caule são mostradas na Figura 11. Utilizando hexano/AcOEt (8:2) como eluente, foi possível observar manchas de cor roxa, rosa, azul e laranja para a fração CHCl₃, evidenciando que os isoprenoides menos polares, tais como triterpenoides e esteroides, ficaram retidos nesta fração. As frações AcOEt e MeOH mostraram melhor eluição nos sistemas de solventes mais polares, apresentando manchas roxo-escuro e azuis sobrepostas, indicativos da presença de iridoides, compostos estes considerados marcadores quimiotaxonômicos da subfamília Ixoroideae.

Figura 11. Cromatoplasmas das frações da coluna filtrante do extrato EtOH do caule de *T. hispidula*, **FH:** Fração hexânica, **FC:** Fração CHCl₃, **FA:** Fração AcOEt, **FM:** Fração MeOH.



As cromatoplasmas das frações provenientes da extração líquido-líquido do extrato EtOH das folhas são mostradas na Figura 12. A fração hexânica concentrou as substâncias menos polares, mostrando uma boa eluição em hexano/AcOEt (8:2), apresentando manchas de coloração roxa e alaranjada, característico de isoprenoides. A fração AcOEt mostrou melhor eluição em CHCl₃/MeOH (9:1) resultando em manchas roxas e azuis, que aparentemente também estão presentes na frações hexânica e aquosa. A fração aquosa mostrou melhor eluição em CHCl₃/MeOH/H₂O (65:30:5), apresentando manchas de cor azul, que sugerem a presença de iridoides glicosilados.

Figura 12. Cromatoplas das frações da partição do extrato EtOH das folhas de *T. hispidula*, **FH:** Fração hexânica, **FA:** Fração AcOEt, **FAq:** Fração aquosa.



Após análise das cromatoplas das frações dos extratos EtOH do caule e folhas, as frações CHCl_3 , AcOEt e MeOH do caule e as frações hexânica e aquosa das folhas de *T. hispidula* foram escolhidas para prosseguir com o fracionamento, visando o isolamento e identificação dos constituintes químicos.

5.1.2. Cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)

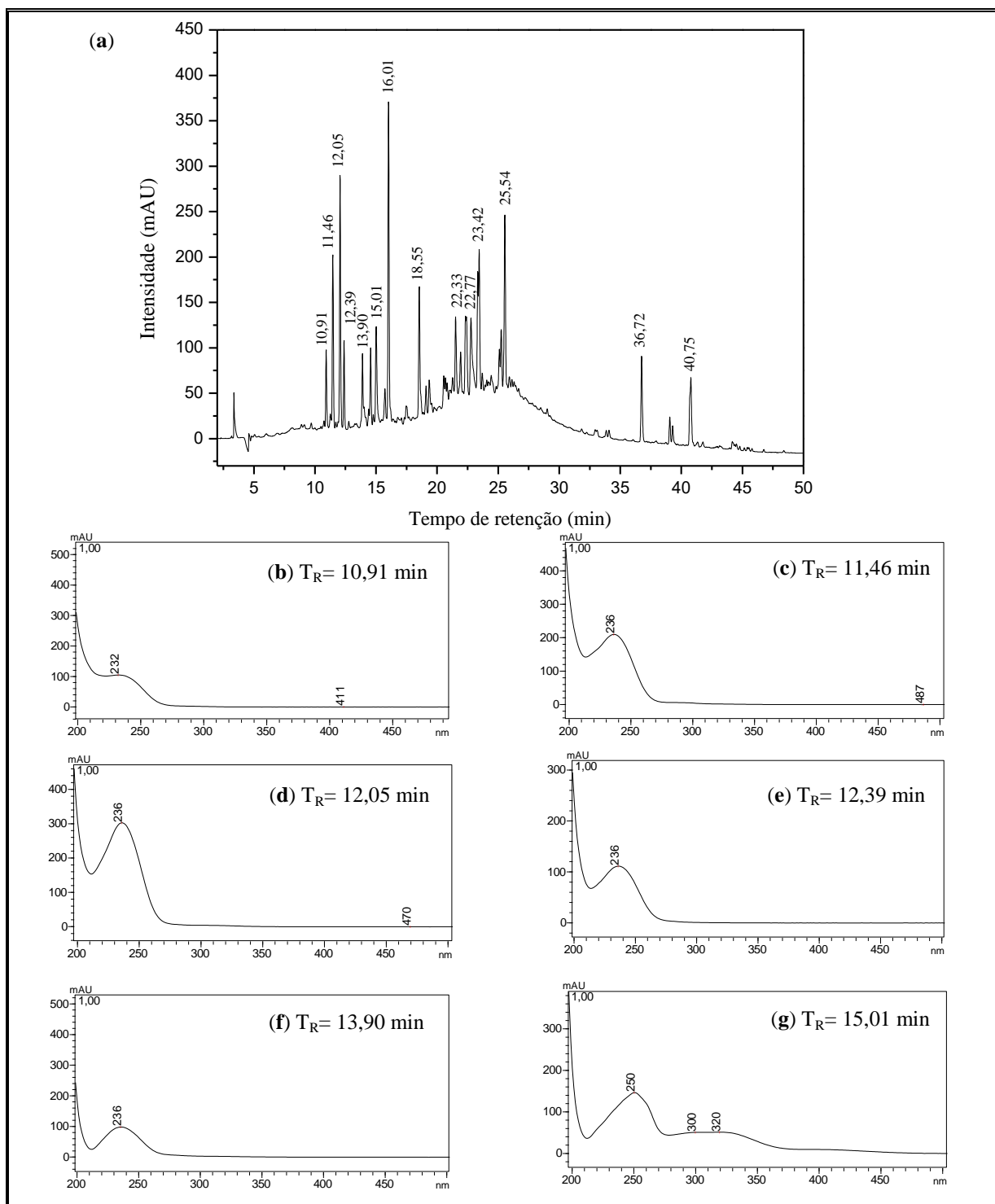
5.1.2.1. Extrato EtOH e frações do caule de *T. hispidula*

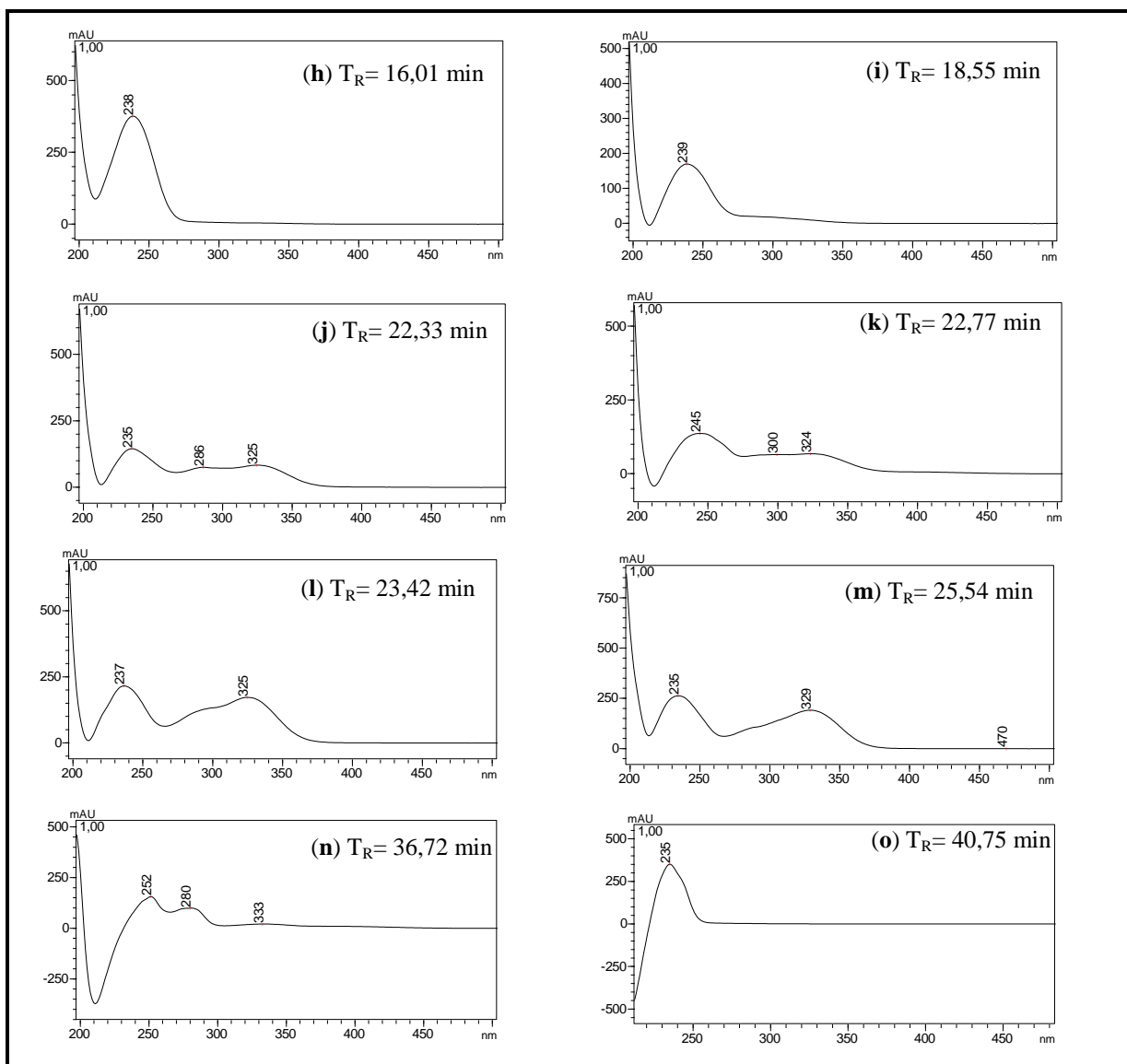
O perfil cromatográfico do extrato EtOH e das frações AcOEt e MeOH do caule de *T. hispidula* foram obtidos em HPLC-DAD no comprimento de onda de 240 nm (Figuras 13 e 14). Este comprimento de onda foi escolhido porque nele o cromatograma apresentou o maior número de bandas.

Na análise do perfil cromatográfico do extrato EtOH do caule (Figura 13a) e dos espectros de UV (Figura 13b-p) de cada banda do cromatograma, foi possível observar quatro tipos distintos de espectros UV. Os compostos com tempo de retenção entre 10-14 min, 16-18 min e 40,75 min, apresentaram espectros UV com máximo de absorção entre 232-239 nm (Figura 13b-f, 13h-i, 13o), característicos de compostos da classe dos iridoides (LI et al., 2008). As bandas com tempo de retenção de 15,01, 22,33 e 22,77 minutos apresentaram espectros UV semelhantes, com máximos de absorção em 235-251, 286-300 e 324-325 nm (Figura 13g, 13j-l), sugerindo compostos da mesma classe. Contudo, os compostos com tempo de retenção entre 23-26 minutos, apresentaram bandas com dois máximos de absorção no espectro UV, entre 235-237 e 325-329 nm (Figura 13m-n), sugerindo a presença de iridoides glicosilados, devido à polaridade e, também que estes estejam ligados a derivados de

ácidos cinâmicos pela banda entre 325-329 nm. A banda com tempo de retenção de 36,75 minutos apresentou máximos de absorção no espectro UV em 252 e 276-280 nm (Figura 13o-p), porém não foi possível sugerir uma classe para este composto.

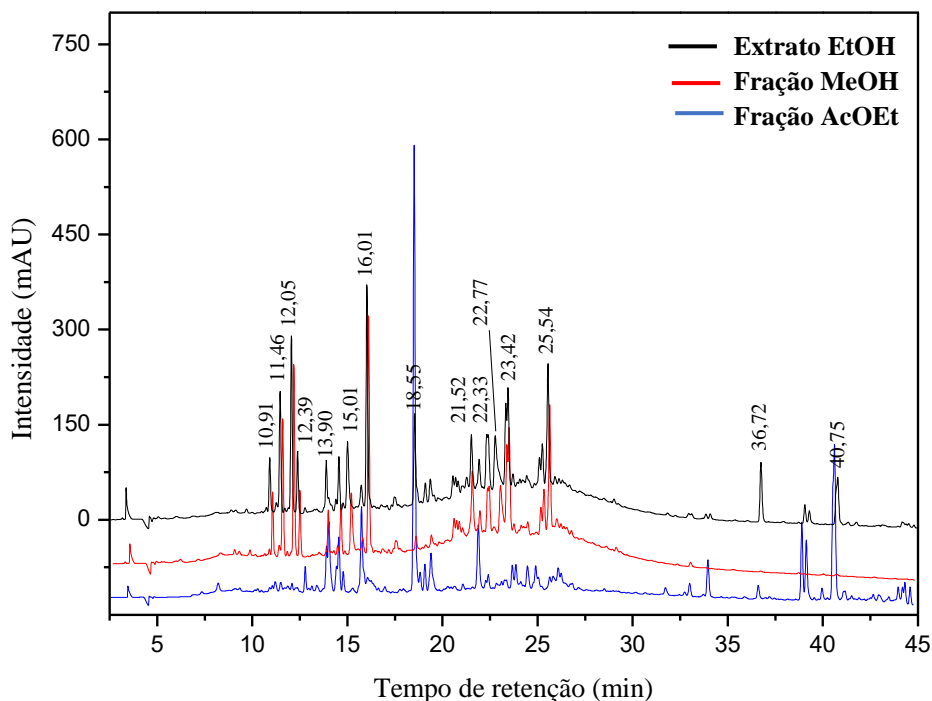
Figura 13. (a) Cromatograma e (b-p) espectros UV do extrato EtOH do caule de *T. hispidula*. Fase Móvel: MeOH/ACN 1:1 e H₂O/AcOH (0,2%), fluxo: 1,0 mL min⁻¹, gradiente exploratório (5 a 100% de MeOH/ACN 1:1 em 50 min), $\lambda=240$ nm.





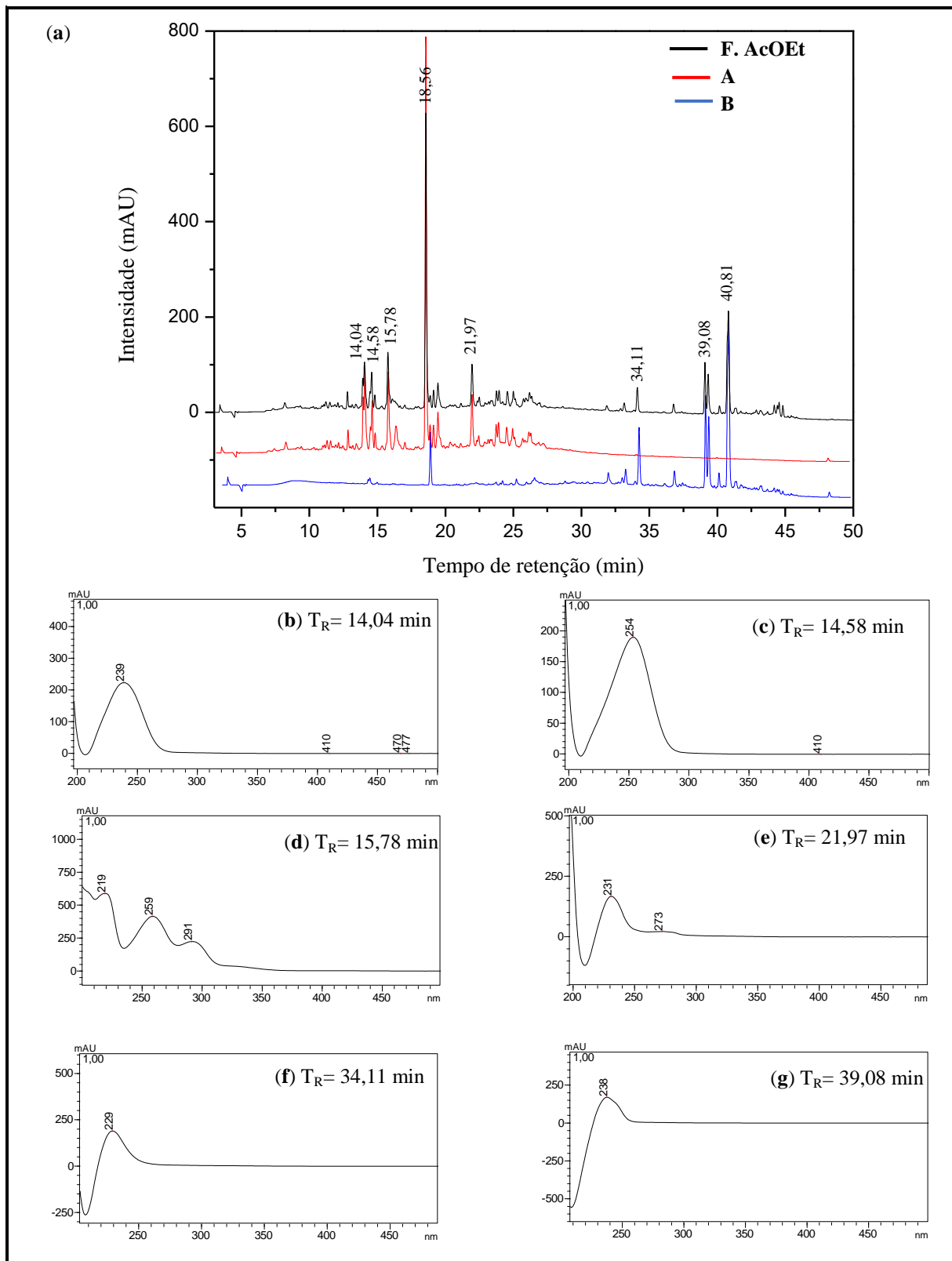
As frações hexânica, CHCl_3 , AcOEt e MeOH foram obtidas por meio de cromatografia em coluna filtrante de gel de sílica (Esquema 1, pag. 33), sendo que as frações AcOEt e MeOH, por serem as mais polares, foram analisadas por HPLC-DAD, resultando nos cromatogramas mostrados na Figura 14. Comparando o cromatograma do extrato EtOH e das frações, foi possível observar que a fração MeOH concentrou a maior parte das substâncias presentes no extrato, enquanto a fração AcOEt concentrou as substâncias que eluíram no tempo de retenção entre 13-18 e 38-41 minutos (Figura 14). Os espectros UV (Figura 13b-o) apresentados para o extrato EtOH do caule, são os mesmos para as frações AcOEt e MeOH com tempo de retenção correspondentes.

Figura 14. Cromatograma do extrato EtOH e das frações AcOEt e MeOH do caule de *T. hispidula*. Fase Móvel: MeOH/ACN 1:1 e H₂O/AcOH (0,2%), fluxo: 1,0 mL min⁻¹, gradiente exploratório (5 a 100% de MeOH/ACN 1:1 em 50 min), $\lambda=240$ nm.



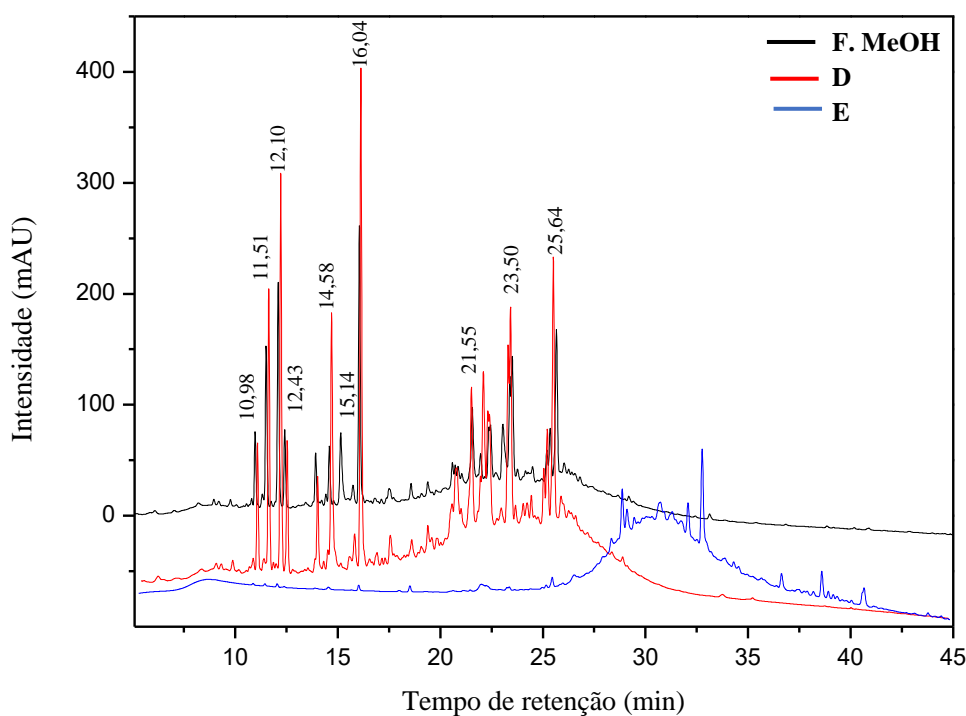
A fração AcOEt depois de submetida a cromatografia em coluna Strata C18, forneceu as subfrações **A** e **B** (Esquema 5, pag. 41), as quais foram analisadas em HPLC-DAD apresentando os perfis cromatográficos mostrados na Figura 15. O processo cromatográfico mostrou uma boa separação, concentrando na subfração **A**, as substâncias com tempo de retenção entre 14-22 min e na subfração **B**, as substâncias com tempo de retenção entre 34-41 min (Figura 15). O composto majoritário da fração AcOEt, bem como da subfração **A** apresentou um tempo de retenção de 18,56 minutos e um espectro de UV (Figura 13i) característico de iridoide. Devido ao processo de purificação, as bandas com $T_R=14-16$ min e 21-39 min apresentaram melhor resolução nas subfrações **A** e **B**, com isso, seus espectros UV são apresentados na Figura 15b-g.

Figura 15. (a) Cromatogramas obtidos em HPLC-DAD da fração AcOEt e subfrações **A** e **B**; (b-g) espectros UV das subfrações **A** e **B**. Fase móvel: MeOH/ACN (1:1)-H₂O/AcOH (0,2%), gradiente exploratório (5-100% de MeOH/ACN (1:1) em 50 min, fluxo: 1,0 mL min⁻¹, comprimento de onda de $\lambda=240$ nm.



A fração MeOH depois de submetida a cromatografia em coluna Strata C18, forneceu as subfrações **D** e **E** (Esquema 8, pag. 45), as quais foram analisadas em HPLC-DAD apresentando os perfis cromatográficos mostrados na Figura 16. Como resultado do processo cromatográfico, se observa que os compostos que absorvem no UV ficaram concentrados na subfração **D**, enquanto que na subfração **E** não foram observadas absorções significativas (Figura 16). Os compostos majoritários na fração MeOH e subfração **D** ($T_R= 12,10$ e $16,04$ minutos), também apresentaram espectros UV (Figuras 13d e 13h) característicos de iridoides, os quais devido a polaridade da fração sugere-se que sejam glicosilados.

Figura 16. Cromatogramas obtidos em HPLC-DAD da fração MeOH e subfrações **D** e **E** do extrato EtOH do caule de *T. hispidula*. Fase móvel: MeOH/ACN (1:1)-H₂O/AcOH (0,2%), gradiente exploratório (5-100% de MeOH/ACN 1:1 em 50 min), fluxo: 1,0 mL min⁻¹, comprimento de onda $\lambda=240$ nm.



5.1.2.2. Extrato EtOH e frações das folhas de *T. hispidula*

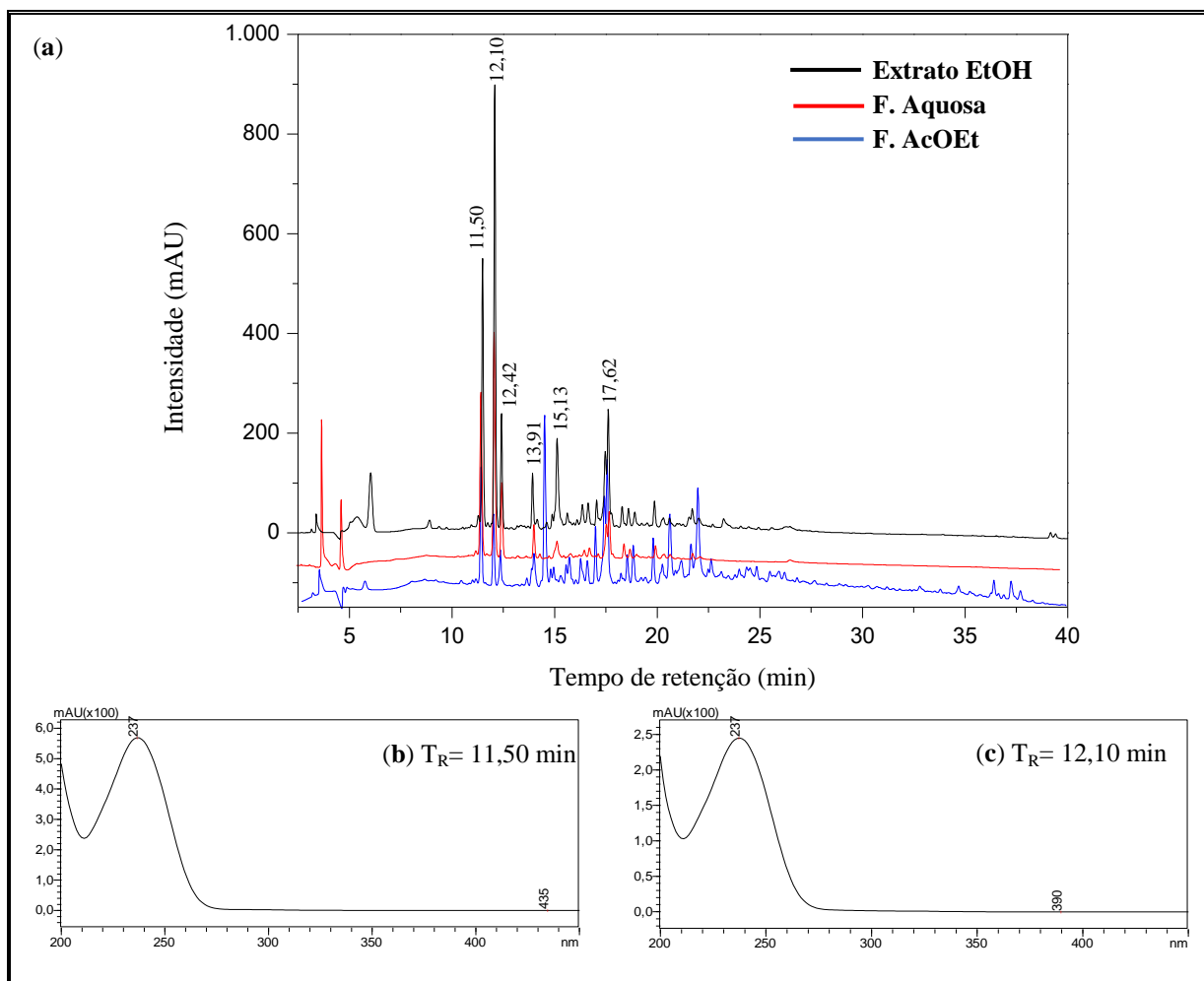
O perfil cromatográfico do extrato EtOH e das frações de partição AcOEt e aquosa das folhas de *T. hispidula* foram obtidos em HPLC-DAD no comprimento de onda de 240 nm (Figuras 17).

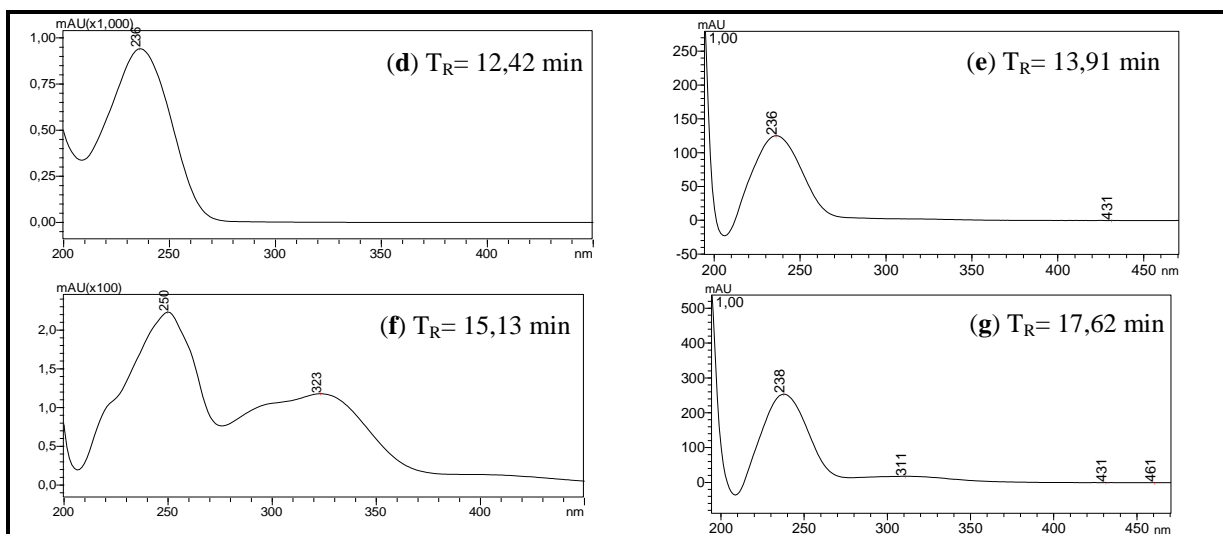
O cromatograma do extrato EtOH das folhas (Figura 17a) apresentou menos bandas que o do extrato EtOH do caule (Figura 10a), porém apresentaram espectros UV semelhantes,

o que sugere que os dois extratos possuem compostos da mesma classe. Com exceção da banda com $T_R=15,13$ minutos que apresentou um espectro UV com máximos de absorção em 250 e 323 nm (Figura 17f), característico de flavonoides (LI e SCHMITZ, 2015), os demais picos ($T_R=11-14$ min e 17,62 min) apresentaram espectros UV semelhantes, com máximo de absorção entre 236-238 nm (Figura 17b-e, 17g), característico de compostos da classe dos iridoides (LI et al., 2008).

As frações AcOEt e aquosa resultantes da partição do extrato EtOH (Esquema 11, pag. 50) foram analisadas em HPLC-DAD para obtenção dos perfis cromatográficos (Figura 17a). Os compostos majoritários do extrato EtOH ($T_R=11,50$ a 12,42 min) ficaram retidos na fração aquosa, porém também foi possível observar estes picos com menor intensidade na fração AcOEt (Figura 17a).

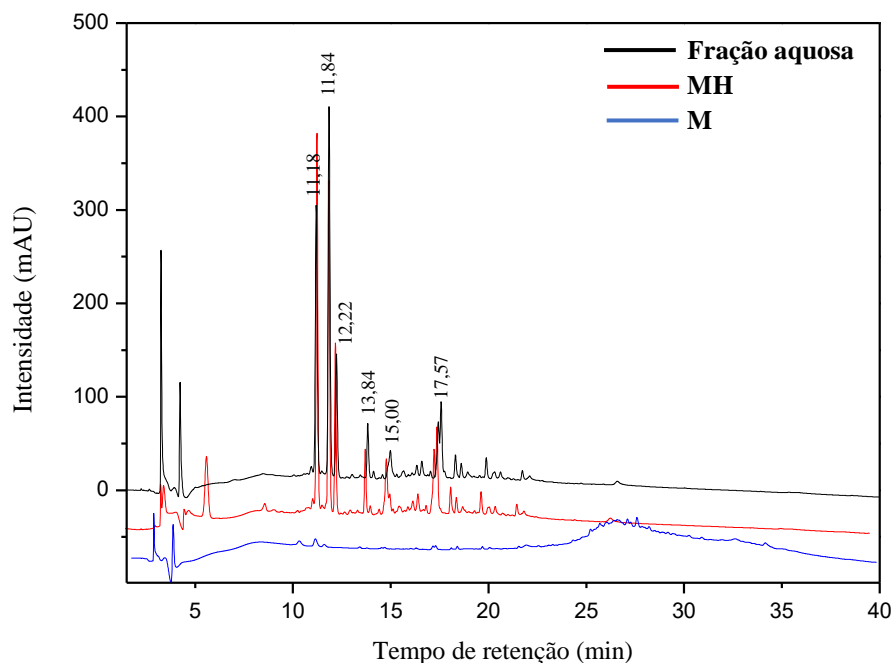
Figura 17. (a) Cromatogramas do extrato EtOH e frações AcOEt e MeOH das folhas; (b-g) espectros UV do extrato EtOH das folhas de *T. hispidula*. Fase Móvel: MeOH/ACN 1:1 e H₂O/AcOH (0,2%), fluxo: 1,0 mL min⁻¹, gradiente exploratório (5 a 100% de MeOH/ACN 1:1 em 50 min), $\lambda=240$ nm.





A fração aquosa depois de submetida a cromatografia em cartucho Strata C18, forneceu as subfrações **MH** (MeOH/H₂O 1:1) e **M** (MeOH) (Esquema 13, pag. 57), as quais foram analisadas em HPLC-DAD apresentando os perfis cromatográficos mostrados na Figura 18. Após o processo cromatográfico, foi possível observar que os compostos que absorvem no UV ficaram concentrados na subfração **MH**, enquanto que na subfração **M** não foram observadas absorções (Figura 18). Os compostos majoritários da fração aquosa e subfração **MH** ($T_R = 11,18$ a $12,22$ minutos), também apresentaram espectros UV (Figuras 17b-d) característicos de iridoides, os quais devido à polaridade da fração sugere-se que sejam glicosilados.

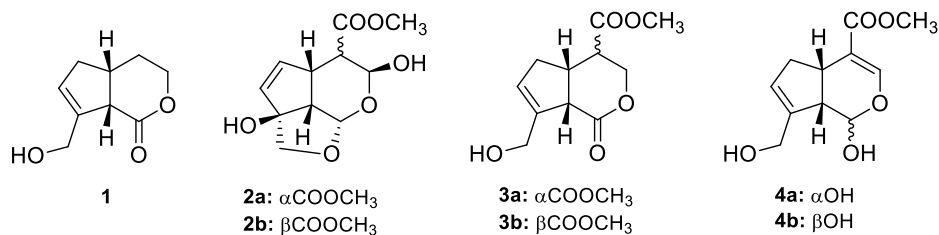
Figura 18. Cromatogramas obtidos em HPLC-DAD da fração aquosa e subfrações **MH** e **M** do extrato EtOH das folhas de *T. hispidula*. Fase móvel: MeOH/ACN (1:1)-H₂O/AcOH (0,2%), gradiente exploratório (5-100% de MeOH/ACN 1:1 em 50 min), fluxo: 1,0 mL min⁻¹, comprimento de onda $\lambda=240$ nm.



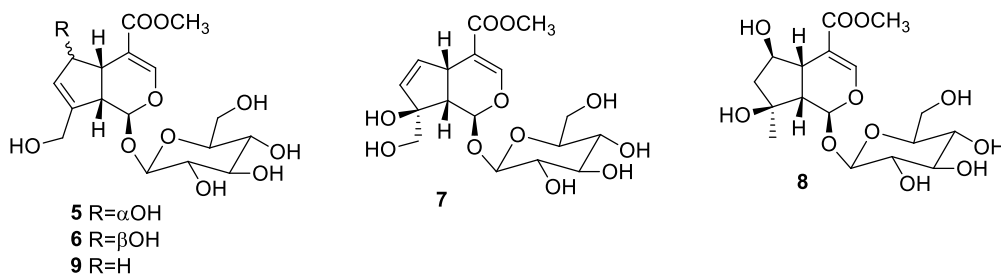
A análise dos perfis dos extratos e frações de *T. hispidula* em HPLC-DAD mostrou a ocorrência de compostos que absorvem na região do ultravioleta, sendo que a maioria é no comprimento de onda de 240 nm, o que é característico de compostos da classe dos iridoides (LI et al., 2008).

5.2. Estruturas das substâncias obtidas de *T. hispidula*

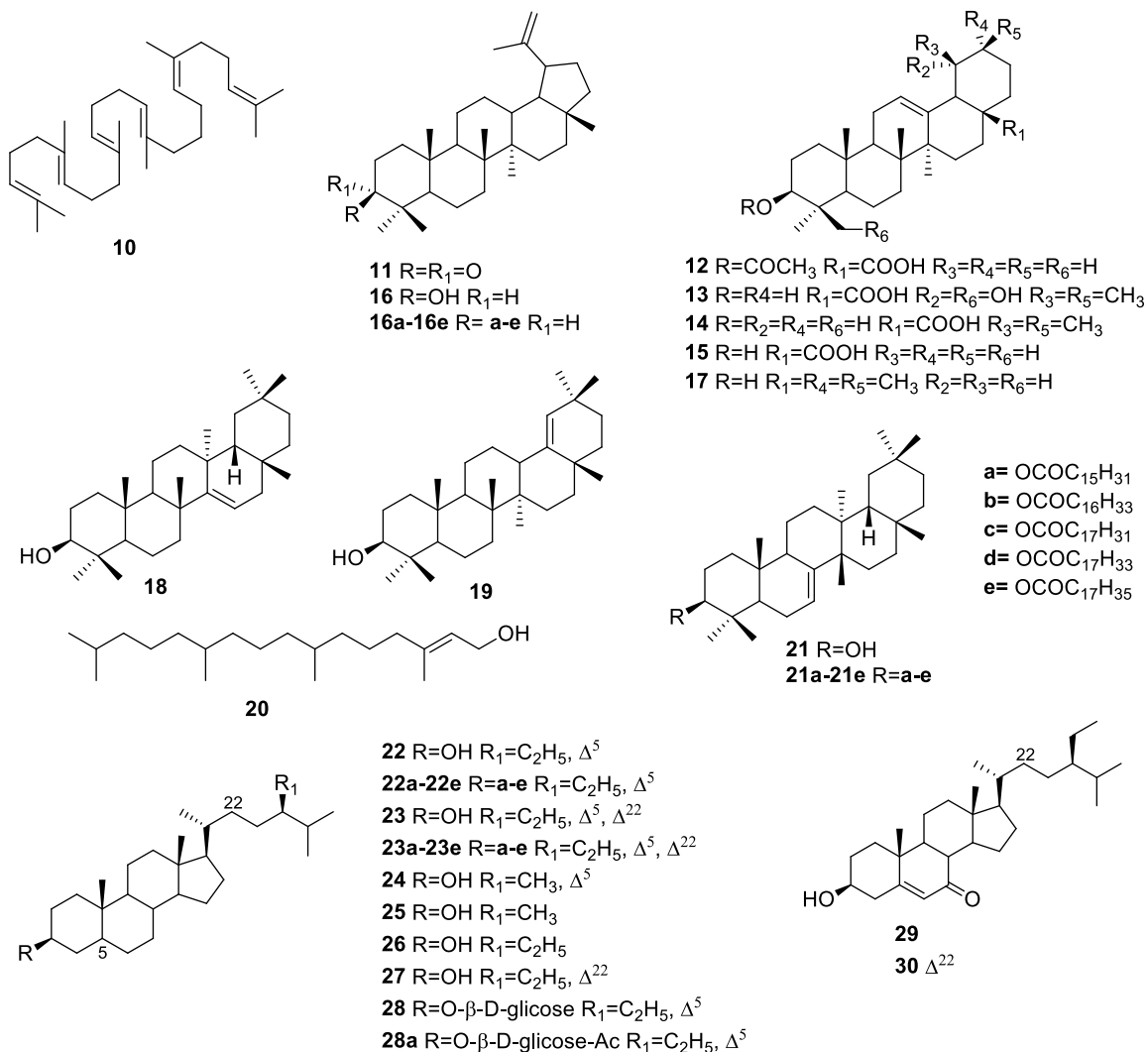
Iridoides simples



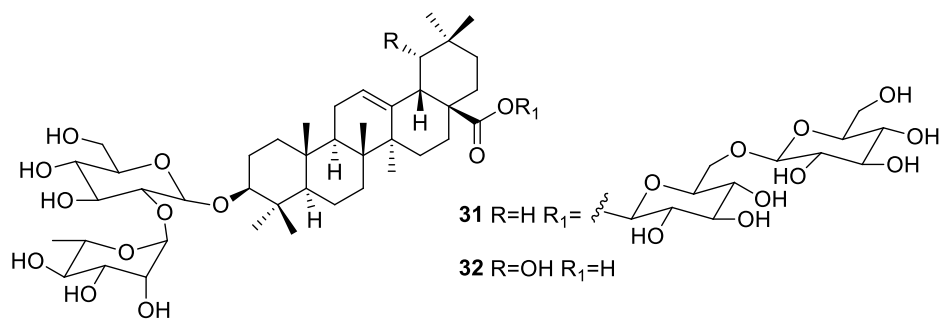
Iridoides glicosilados



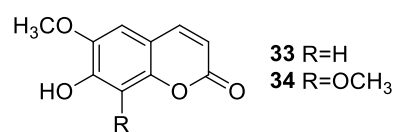
Triterpenoides, diterpenoide e esteroides



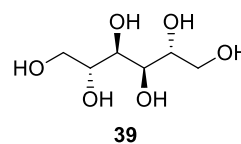
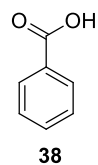
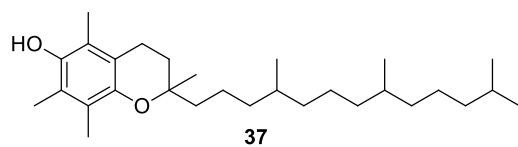
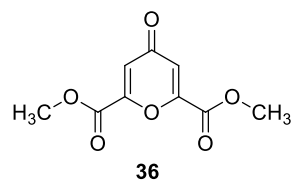
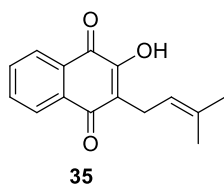
Saponinas triterpênicas



Cumarinas



Compostos de outras classes



5.3. Identificação estrutural das substâncias obtidas de *T. hispidula*

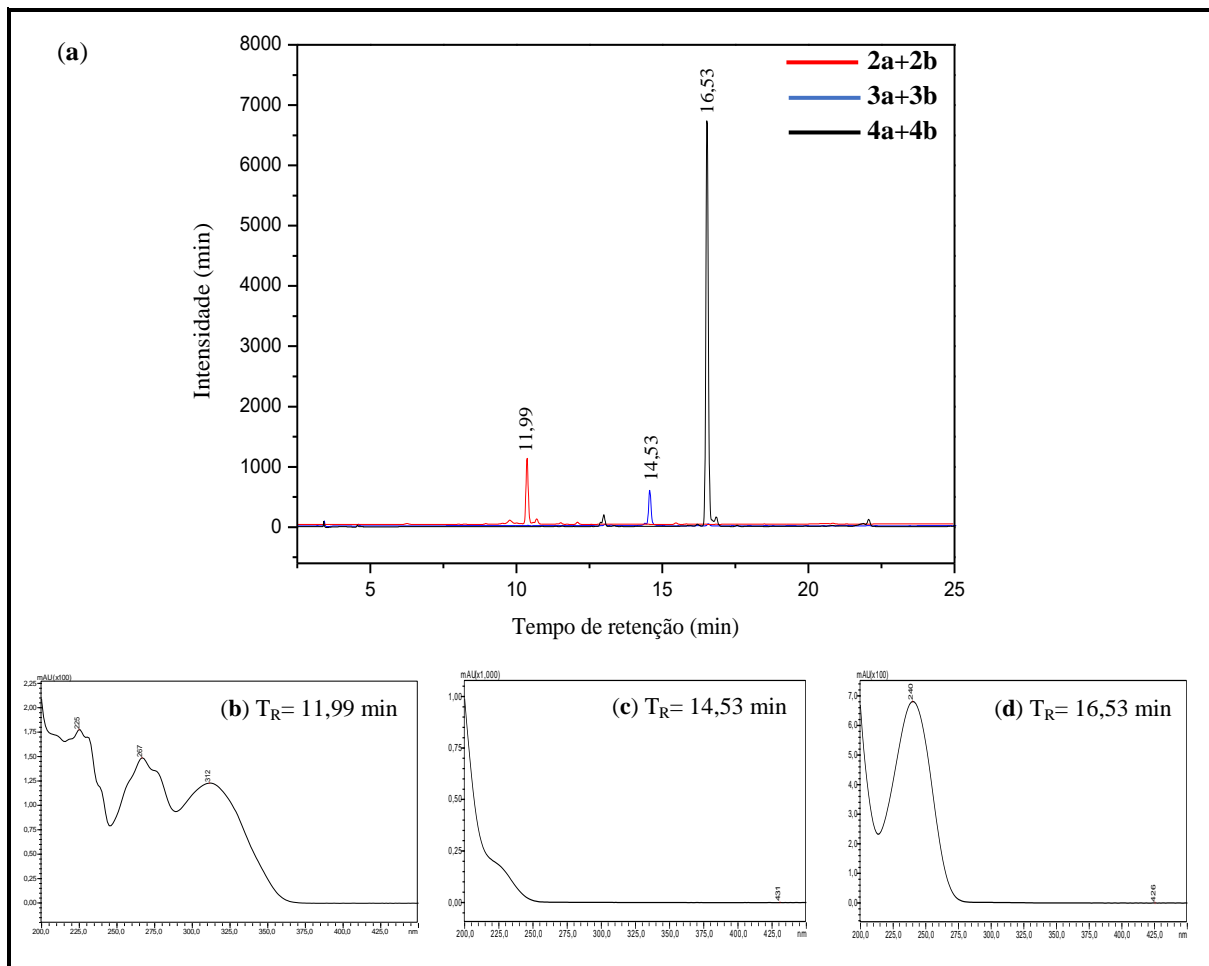
O extrato EtOH do caule forneceu, após cromatografia em coluna filtrante de gel de sílica, as frações hexânica, CHCl₃, AcOEt e MeOH. A fração CHCl₃, depois de submetida a cromatografia em coluna de gel de sílica e purificação das subfrações por cromatografia clássica, conduziu ao isolamento de oito compostos puros: morindolídeo (**1**), lupenona (**11**), ácido acetiloleanólico (**12**), lapachol (**35**), escopoletina (**33**), isofraxidina (**34**), chelidonato de metila (**36**), D-(+)-manitol (**39**) e quatro misturas (*M1-M4*): *M1* [lupeol (**16**), β-amirina (**17**), taraxerol (**18**), germanicol (**19**) e *E*-fitol (**20**)], *M2* [palmitato, margarato, linoleato, oleato e estearato de lupeila (**16a-16e**), multiflorenila (**21a-21e**), sitosterila (**22a-22e**) e estigmasterila (**23a-23e**)], *M3* [sitosterol (**22**), estigmasterol (**23**), campesterol (**24**), campestanol (**25**), sitostanol (**26**), Δ²²-estigmasterol (**27**)] e *M4* [7-cetositosterol (**29**) e 7-cetoestigmasterol (**30**)].

O fracionamento cromatográfico da fração AcOEt por cromatografia clássica e HPLC semipreparativo, resultou no isolamento e identificação do ácido oleanólico (**15**), ácido benzoico (**38**), sitosterol-3-O-β-D-glicopiranosídeo (**28**) e de três misturas estereoisoméricas de iridoídes: α-gardiol (**2a**) e β-gardiol (**2b**), 10-hidroxi-1-oxo-7-irideno-11α-ato de metila (**3a**) e 10-hidroxi-1-oxo-7-irideno-11β-ato de metila (**3b**), α-genipina (**4a**) e genipina (**4b**).

A fração MeOH, depois de submetida a cromatografia clássica e HPLC semipreparativo, forneceu os iridoídes glicosilados 6α-hidroxigeniposídeo (**5**), 6β-hidroxigeniposídeo (**6**), gardenosídeo (**7**), éster metílico shanzhisídeo (**8**) e geniposídeo (**9**) e, as saponinas triterpênicas 3-O-α-L-ramnopiranosil-(1→2)-β-D-glicopiranosil-oleanoato de 28-O-β-D-glicopiranosil-(1→6)-β-D-glicopiranosila (**31**) e eritrosaponina A (**32**).

O extrato EtOH das folhas depois de submetido a extração líquido-líquido forneceu as frações hexânica, AcOEt e aquosa. A fração hexânica, após cromatografia em coluna de gel de sílica e purificação das subfrações por cromatografia clássica, forneceu os compostos esqualeno (**10**), ácido rotungênico (**13**), *E*-fitol (**20**), margarato de multiflorenila (**21b**), α-tocoferol (**37**), mistura dos esteroides sitosterol (**22**) e estigmasterol (**23**) e mistura dos ácidos ursólico (**14**) e oleanólico (**15**). A fração aquosa depois de submetida a cromatografia em coluna Strata C18 e cromatografia clássica, forneceu a mistura dos compostos 6α-hidroxigeniposídeo (**5**) e 6β-hidroxigeniposídeo (**6**). Os compostos obtidos foram identificados por RMN de ¹H e ¹³C (1D e 2D), infravermelho, CG-EM e espectrometria de massas.

Figura 19. (a) Cromatogramas e (b-d) espectros UV obtidos em HPLC-DAD das misturas **2a+2b**, **3a+3b** e **4a+4b**. Fase móvel: MeOH/ACN (1:1)-H₂O/AcOH (0,2%), gradiente exploratório (5-100% de MeOH/ACN 1:1 em 35 min), fluxo: 1,0 mL min⁻¹, comprimento de onda $\lambda=240$ nm



Os espectros de RMN de ¹H e ¹³C (Figuras 20-50) dos compostos **1-4b** apresentaram características de substâncias da classe dos iridoides (Tabelas 6-8). Os sinais entre δ_H 2,63-3,90, geralmente multipletos, são característicos dos hidrogênios H-5 β /H-9 β do sistema de anéis ciclopentanopirano em conformação *cis*. Os compostos **1**, **3a+3b** e **4a+4b** apresentaram simplesetos entre δ_H 5,77-5,89 (H-7) e dupletos entre δ_H 4,26-4,41 (H-10), com integração para um e dois hidrogênios respectivamente, característicos de iridoides com ligação dupla em C-7 e hidroxilação em C-10 (Figuras 20-21, 36-37, 44-45), enquanto **2a+2b** apresentaram duplos dupletos entre δ_H 5,57-5,95 ($J\sim 5,5$ e 2,0 Hz; H-6 e H-7) indicativo de ligação dupla em C-6, bem como dupletos entre δ_H 3,57-3,95 ($J\sim 9,5$ Hz) com integração para dois hidrogênios, atribuídos a H-10a/H-10b para os dois epímeros (Figuras 28-29).

A variação nos deslocamentos químicos dos sinais de H-3 do anel pirano, tais como: multipletos entre δ_H 4,26-4,52 com integração para dois hidrogênios, indica a ausência de substituição na posição C-3 nos compostos **1** e **3a+3b**; simpletos entre δ_H 7,48-7,52 característicos de hidrogênios em carbonos olefínicos (C-3) nas estruturas de **4a+4b** e dupletos entre δ_H 5,22-5,41 indicativos de hidroxilação em C-3 nos compostos **2a+2b**. As misturas **2a+2b** e **4a+4b** apresentaram sinais adicionais entre δ_H 4,80-5,58 (d; $J=8,6/5,8$ Hz) e 5,30 (sl) respectivamente, referentes aos hidrogênios oximetínicos H-1 do esqueleto iridano, enquanto **1** e **3a+3b** não apresentaram sinais característicos de H-1, sugerindo que houve uma substituição nessa posição. Foram observados ainda, simpletos com integração para três hidrogênios entre δ_H 3,71-3,78, característicos da presença de grupos metoxila.

A análise dos espectros de RMN de ^{13}C , DEPT 90° e 135° dos iridoides (Figuras 22-24, 30-32, 38-40, 46-47; Tabelas 7 e 8) mostraram sinais em comum na região de δ_C 34,8-40,6 e 48,3-52,5 característicos dos carbonos metínicos C-5 e C-9 do esqueleto iridano. Na região de carbonos olefínicos observou-se os pares de sinais de olefinas trissubstituídas entre δ_C 129,3-132,9 (CH) e 140,0-142,1 (C) atribuídos a C-7 e C-8 respectivamente, dos compostos **1**, **3a+3b** e **4a+4b**. Os compostos **4a+4b** apresentaram adicionalmente, um par de sinais na região olefínica, entre δ_C 152,6-153,4 (CH) e 110,9 (C), confirmando a ligação dupla em C-3 e C-4 (Figura 46). Para a mistura **2a+2b**, o par de sinais encontra-se entre δ_C 136,6-138,0 (CH) e 135,2-135,6 (CH), atribuídos à ligação dupla em C-6 e C-7 (Figura 30).

A análise dos DEPTs 135° e mapas de contornos gHSQC dos compostos **1-4b** (Figuras 24, 26, 32, 34, 40, 42, 47, 49), possibilitou observar a presença de sinais entre δ 60,2-76,8 de carbonos oximetílicos, atribuídos a C-10. Todos os compostos apresentaram pelo menos um sinal na região de δ_C 168,1-173,3, referentes à carbonila de lactona ou de éster, nas posições C-1 ou C-11, ou ambos. Com exceção do composto **1**, todos os demais, apresentaram sinais entre δ_C 51,4-52,7, confirmando a presença de metoxila em C-12.

O composto **1**, diferentemente dos demais iridoides, apresentou somente 9 sinais no espectro de RMN de ^{13}C (Figura 20), caracterizando-se como um noriridoide, pela perda de C-11. Os derivados de 11-noriridoide-1,3-olídeo são raramente encontrados de fontes naturais (BAN et al., 2013). Após análise dos espectros de RMN de 1H e ^{13}C , incluindo gCOSY, gHSQC e gHMBC (Figuras 20-27) e, comparação com dados da literatura, o composto **1** foi identificado como o noriridoide morindolídeo (YOSHIKAWA, 1995).

Os espectros de RMN de 1H e ^{13}C dos compostos **2a-4b** apresentaram réplicas de menor intensidade de praticamente todos os sinais do espectro, caracterizando a presença de

isômeros configuracionais. A análise dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C , incluindo gCOSY, gHSQC e gHMBC (Figuras 28-50), em comparação com dados da literatura permitiram identificar as misturas estereoisoméricas dos iridoídeos: α - e β -gardiol (**2a+2b**), uma mistura epimérica de difícil separação, sendo o β -gardiol o constituinte majoritário (DREWES et al., 1999); 10-hidroxi-1-oxo-7-irideno-11 α -ato de metila e 10-hidroxi-1-oxo-7-irideno-11 β -ato de metila (**3a+3b**), tendo **3a** como constituinte majoritário (RAGASA, PIMENTA e RIDEOUT 2007); α -genipina e genipina (**4a+4b**), com o isômero **4a** como constituinte minoritário na mistura (DREWES et al., 1996). Velásquez et al. (2014) e Tommaso et al. (2013) sugeriram que o composto **4a** pode ser formado por uma reação de mutarrotação parcial do **4b**, durante o processo de dissolução em CDCl_3 , catalisada por traços de HCl neste solvente. O composto **4b** foi isolado da fração AcOEt por meio de cromatografia clássica e seus dados de RMN de ^{13}C registrados em CD_3OD são descritos na Tabela 8.

Tabela 6. Dados de RMN de ^1H dos compostos **1-4b** (J em Hz; δ em ppm).

H	1[†]	2a[§]	2b[§]	3a[‡]	3b[‡]	4a[†]	4b[†]
1		5,58 d (5,6)	5,53 d (5,8)	-	-	5,30 sl	4,80 d (8,65)
3	4,26 e 4,37 m	5,22 d (8,7)	5,41 d (2,5)	4,49 m (3 α -H) 4,52 m (3 β -H)	4,52 m (3 β -H) 4,49 m (3 α -H)	7,48 s	7,52 s
4	1,68 e 2,08 m	2,73 (sobreposto)	2,73 dd (6,8 e 2,5)	2,73 dt (8,5 e 3,4)	3,16 m	-	-
5	2,89 m	3,54 m	3,57 m	3,16 m	3,30 m	3,34 td (8,2 e 3,6)	3,20 q (8,6 e 17,3)
6	2,15 dl (17,0 6 α -H) 2,75 dd (17,0 e 8,8 6 β -H)	5,81 dd (6,4 e 2,0)	5,95 dd (5,5 e 2,1)	2,80 m (6 α -H) 2,26 m (6 β -H)	2,66 m (6 α -H) 2,30 m (6 β -H)	2,73 m 2,29 m	2,88 ddd (16,5, 8,6 e 1,3) 2,06 dd (16,7 e 9,5)
7	5,77 sl	5,83 sl	5,77 dd (5,5 e 1,9)	5,79 s	5,79 s	5,80 s	5,87 s
9	-	2,63 dd (9,3 e 8,0)	2,69 (sobreposto)	3,81	3,90 m	3,24 m	2,53 t (8,1)
10	3,74 m	3,69 d (9,5) 3,93 d (9,5)	3,57 d (9,4) 3,82 d (9,4)	4,30	4,26 sl	4,41 d (13) 4,20 d (12,7)	4,34 d (13) 4,28 d (13)
12	4,26 m	3,78 s	3,76 s	3,76 sl	3,73 sl	3,71 s	3,72 s

[†]CDCl₃ (600 MHz); [‡]CDCl₃ (400 MHz); [§]CD₃OD (400 MHz)

Tabela 7. Dados de RMN de ^{13}C dos compostos **1-3b** (δ em ppm).

C	1[†]	Morindolideo*	2a[§]	α-gardiol**	2b[§]	β-gardiol**	3a[‡]	10-hidroxi-1-oxo-7-irideno-11α-ato de metila***	3b[‡]	10-hidroxi-1-oxo-7-irideno-11β-ato de metila***
1	173,3	173,1	102,5	101,6	101,3	101,6	172,4	172,2	171,0	170,9
3	67,8	67,6	91,0	90,9	90,5	90,8	67,6	67,4	65,0	64,8
4	29,3	29,2	48,9	48,7	48,9	49,2	45,4	45,2	42,3	42,1
5	34,8	34,7	40,6	40,6	40,6	40,8	37,7	37,5	35,7	35,5
6	38,9	38,8	136,6	137,1	138,0	138,3	38,4	38,2	34,5	34,3
7	129,3	129,2	135,2	135,2	135,6	135,9	129,3	129,0	129,2	129,1
8	140,0	140,0	93,5	93,6	94,0	93,8	140,2	140,0	140,2	140,0
9	50,6	50,5	52,5	52,5	49,5	49,8	49,4	49,2	50,7	50,0
10	60,7	60,6	76,8	76,6	74,8	75,1	60,7	60,5	60,2	60,0
11	-	-	173,0	173,9	173,0	173,3	171,5	171,3	170,6	170,4
12	-	-	52,2	52,3	52,5	52,7	52,7	52,7	52,3	-

[†]CDCl₃ (150 MHz); [‡]CDCl₃ (100 MHz); [§]CD₃OD (100 MHz)

*Dados obtidos em CDCl₃ relatados por YOSHIKAWA et al., 1995.

**Dados obtidos em CD₃OD, relatados por DREWES et al., 1999.

***Dados obtidos em CDCl₃, relatados por REGASA et al., 2007.

Tabela 8. Dados de RMN de ^{13}C dos compostos **4a+4b** (δ em ppm)

C	4a (CDCl_3) [†]	4b (CDCl_3) [†]	Genipina (CDCl_3) [*]	4b (CD_3OD) [‡]	Genipina (CD_3OD) ^{**}
1	95,3	96,5	96,5	97,7	96,4
3	153,4	152,6	152,5	154,3	152,5
4	110,9	110,9	110,7	111,7	110,7
5	35,7	36,8	36,7	37,6	36,7
6	38,5	39,1	39,0	39,9	39,1
7	132,9	131,1	131,0	128,2	130,9
8	142,1	142,1	141,9	145,6	141,9
9	49,9	48,3	48,1	48,4	48,4
10	61,6	61,5	61,3	61,7	61,6
11	168,1	168,1	168,0	169,8	167,7
12	51,4	51,5	51,4	51,7	51,3

[†]150 MHz; [‡] 100 MHz

^{*}Dados relatados por DREWES e KAYONGA, 1996.

^{**}Dados relatados por LELONO et al., 2009

Figura 20. Espectro de RMN de ^1H de **1** (CDCl_3 , 600 MHz)

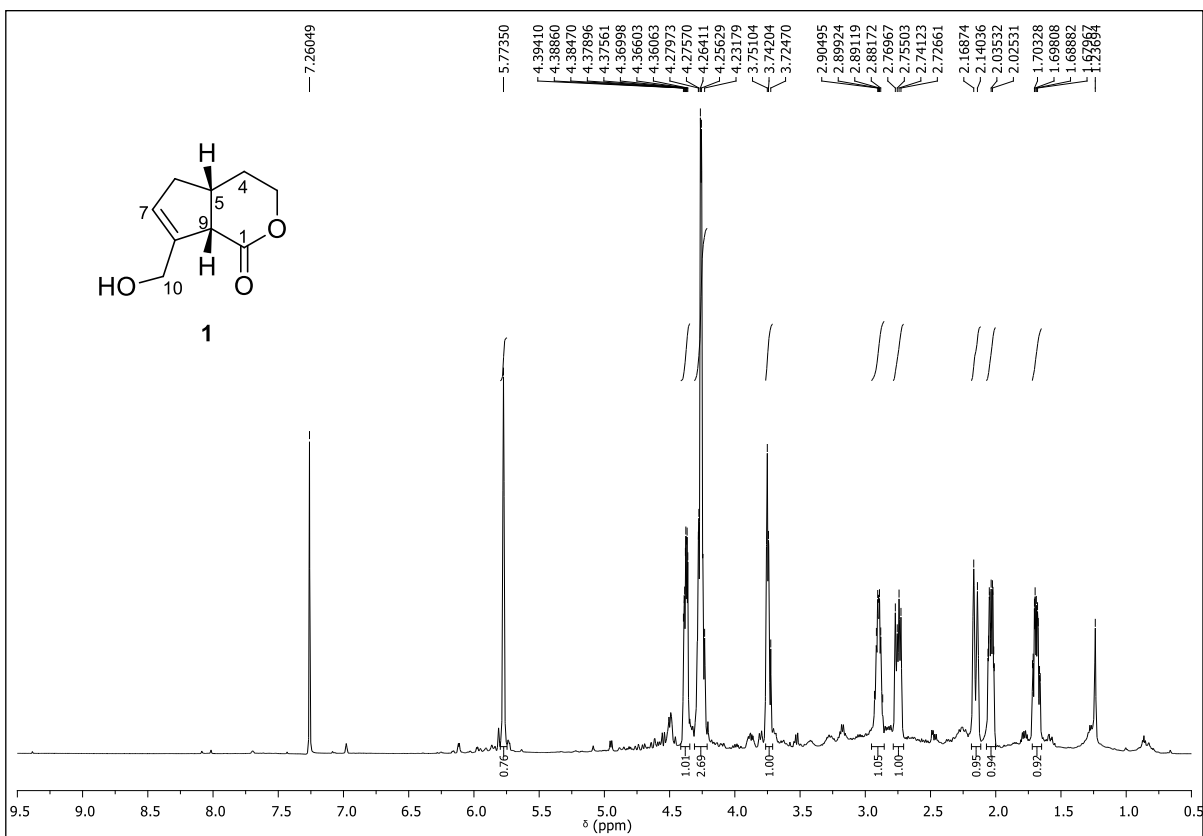


Figura 21. Expansão (δ 1,5-4,5) do espectro de RMN de ^1H de **1** (CDCl_3 , 600 MHz)

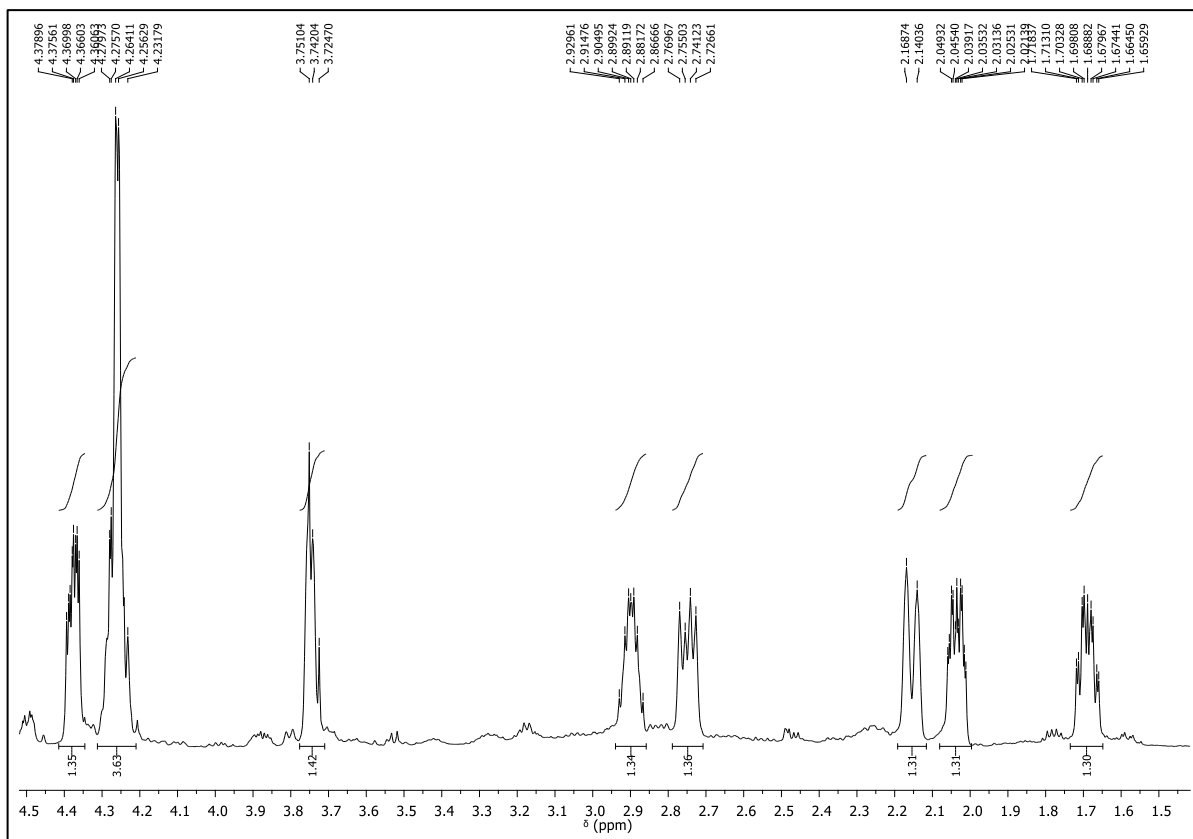


Figura 22. Espectro de RMN de ^{13}C de **1** (CDCl_3 , 150 MHz)

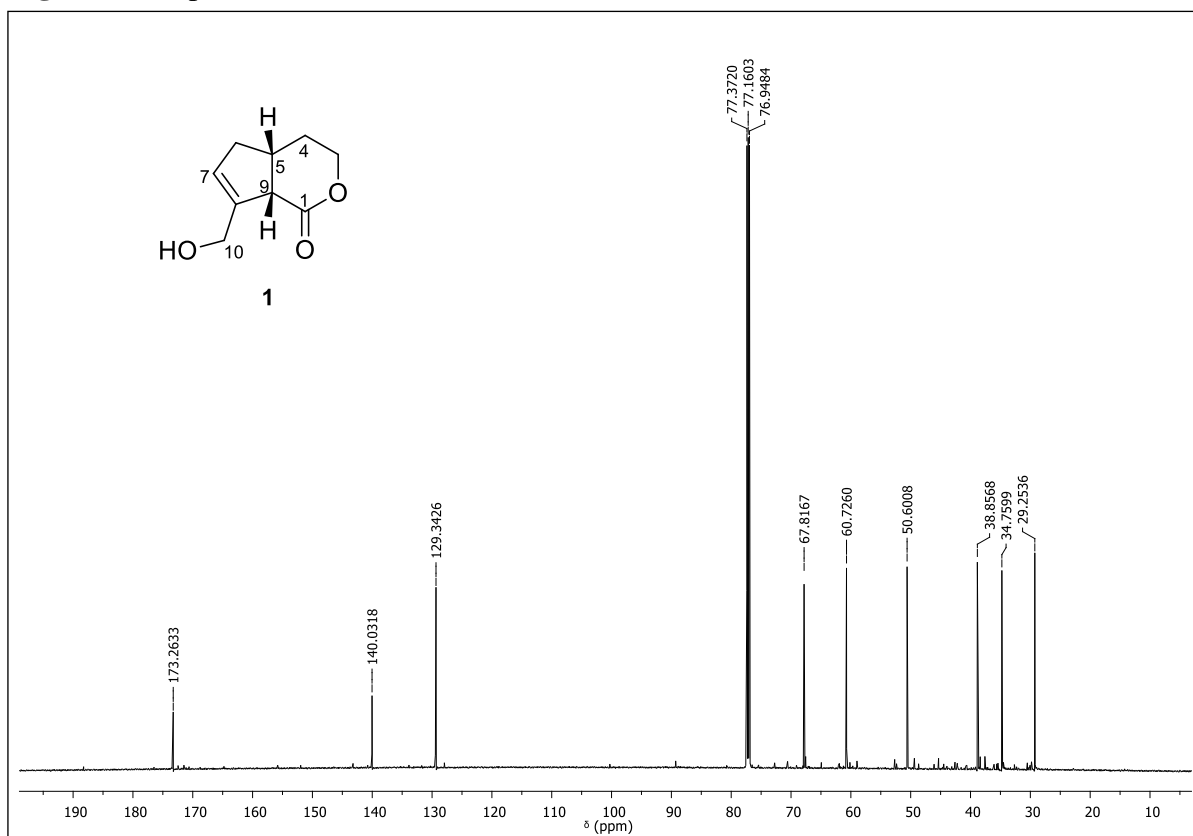


Figura 23. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 90° de **1** (CDCl_3 , 150 MHz)

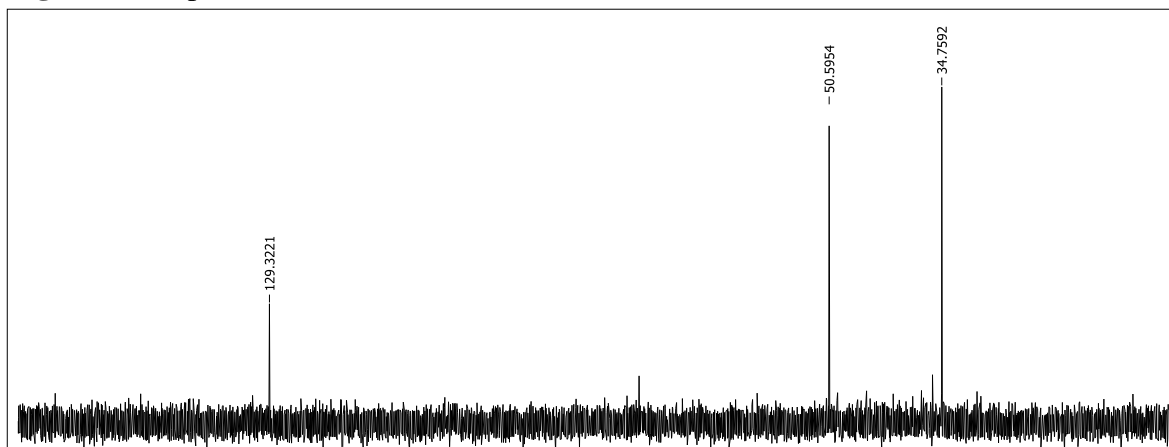


Figura 24. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° de **1** (CDCl_3 , 150 MHz)

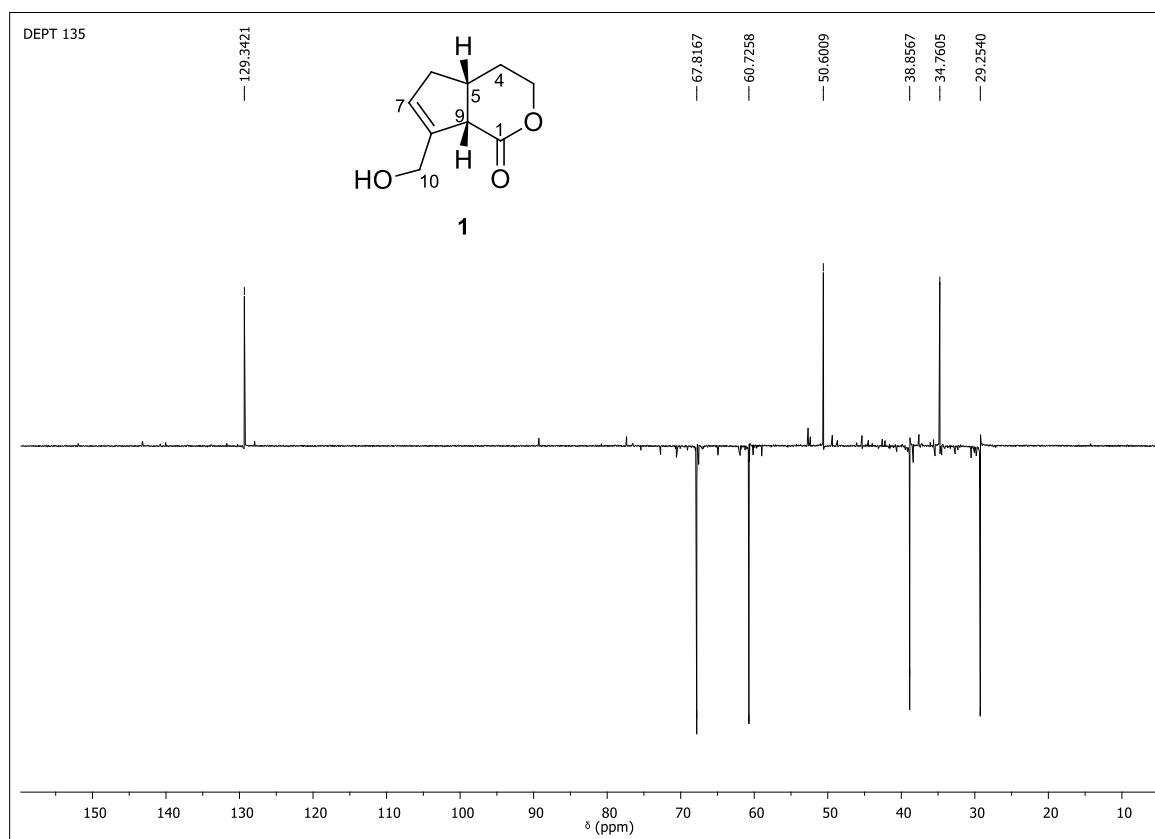


Figura 25. Mapa de contornos gCOSY de **1** (CDCl₃, 600 MHz)

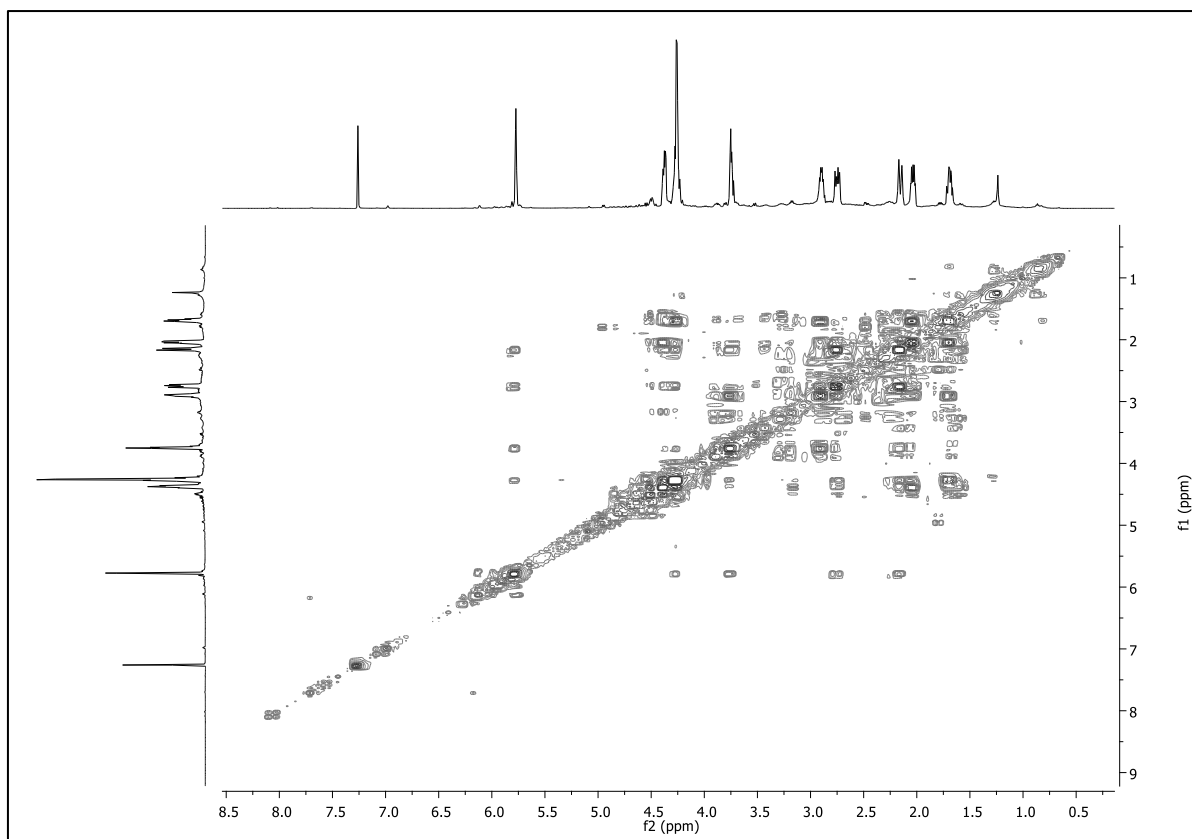


Figura 26. Mapa de contornos gHSQC de **1** (CDCl₃, 600 e 150 MHz)

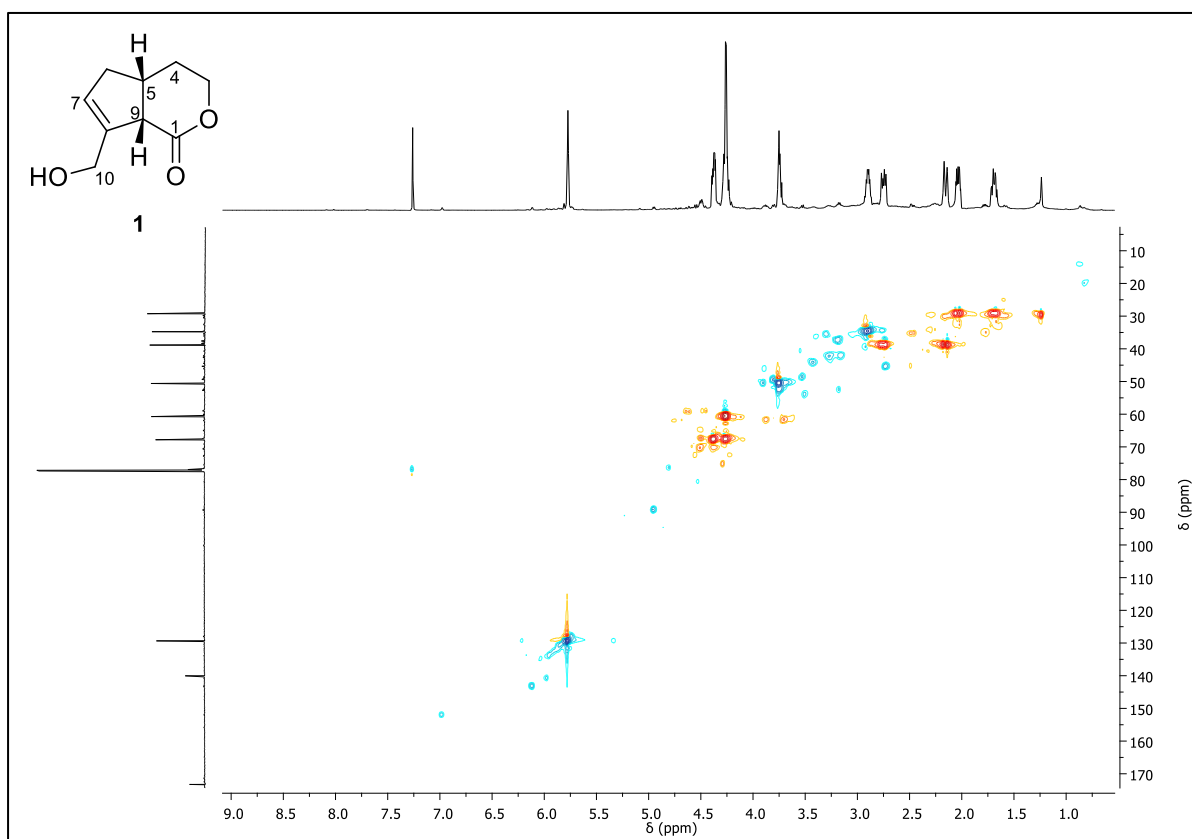


Figura 27. Mapa de contornos gHMBC de **1** (CDCl₃, 600 e 150 MHz)

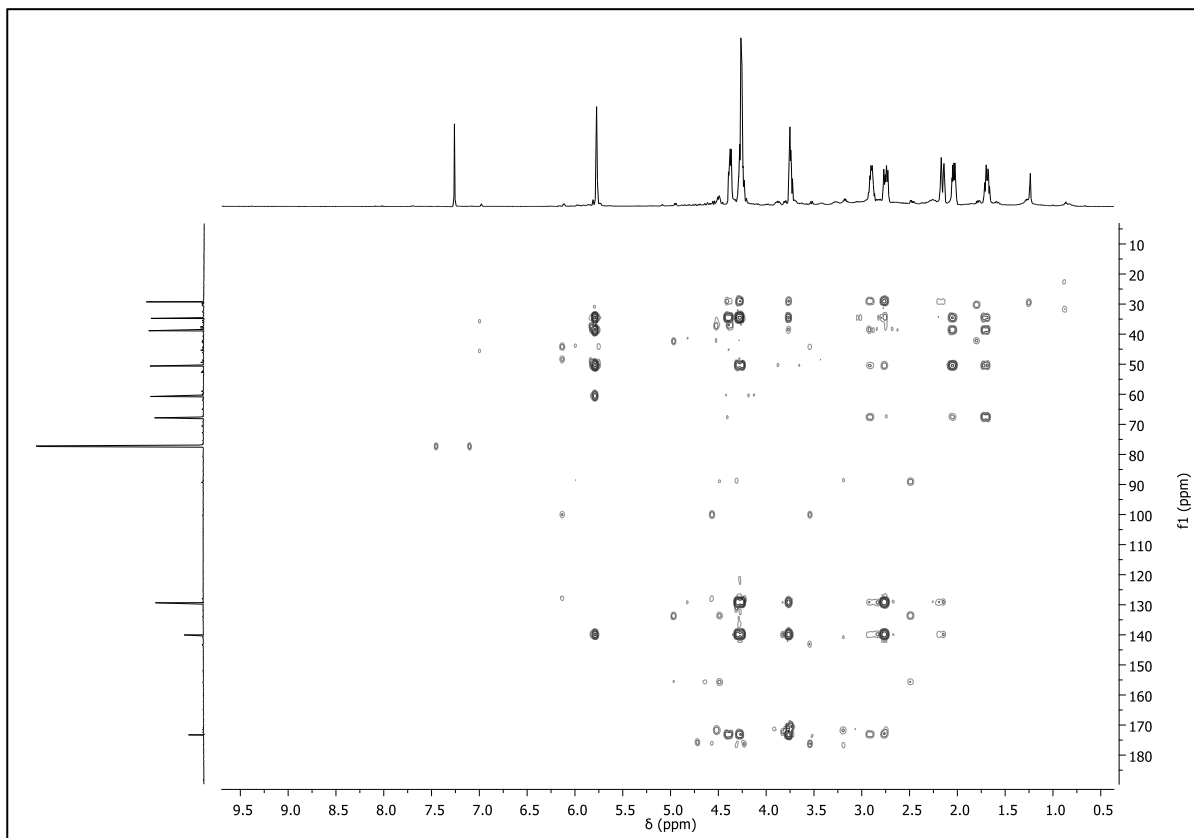


Figura 28. Espectro de RMN de ¹H de **2a+2b** (CD₃OD, 400 MHz)

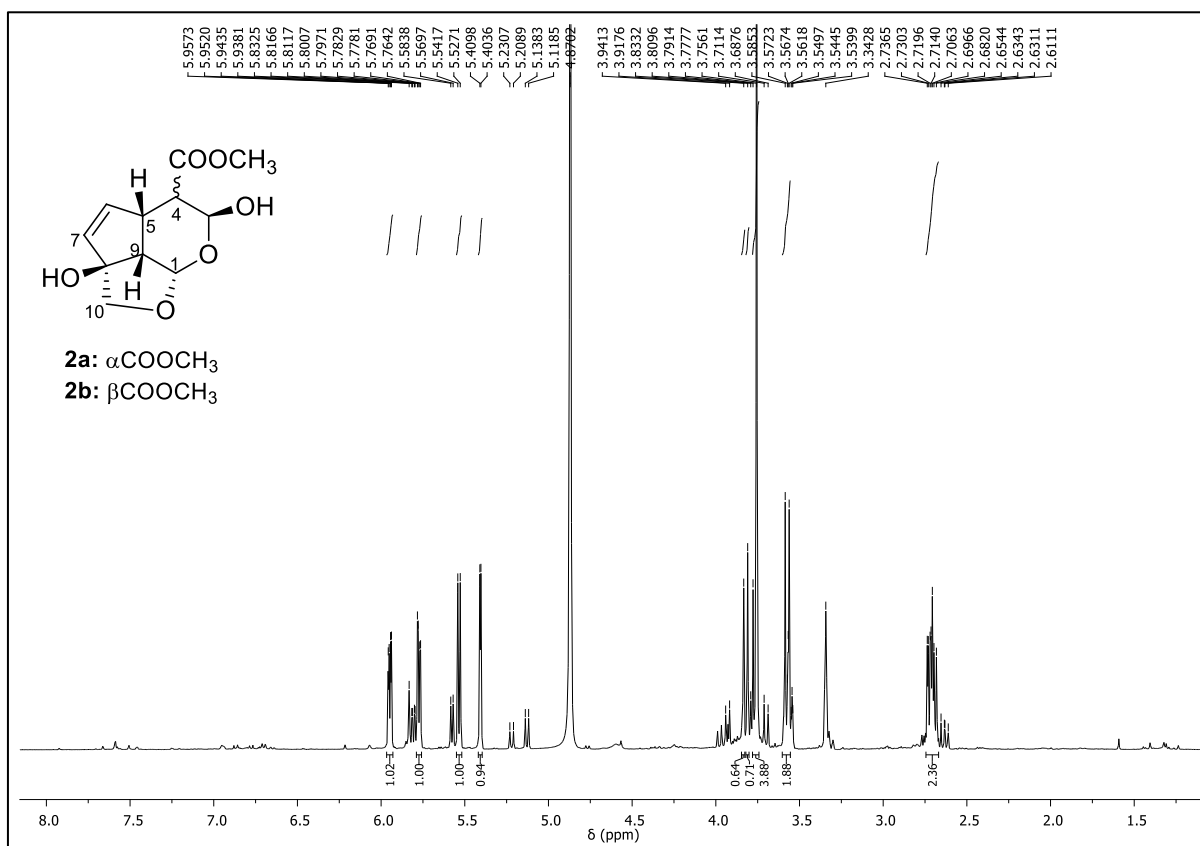


Figura 29. Espansão (δ 2,6-6,0) do espectro de RMN de ^1H de **2a+2b** (CD_3OD , 400 MHz)

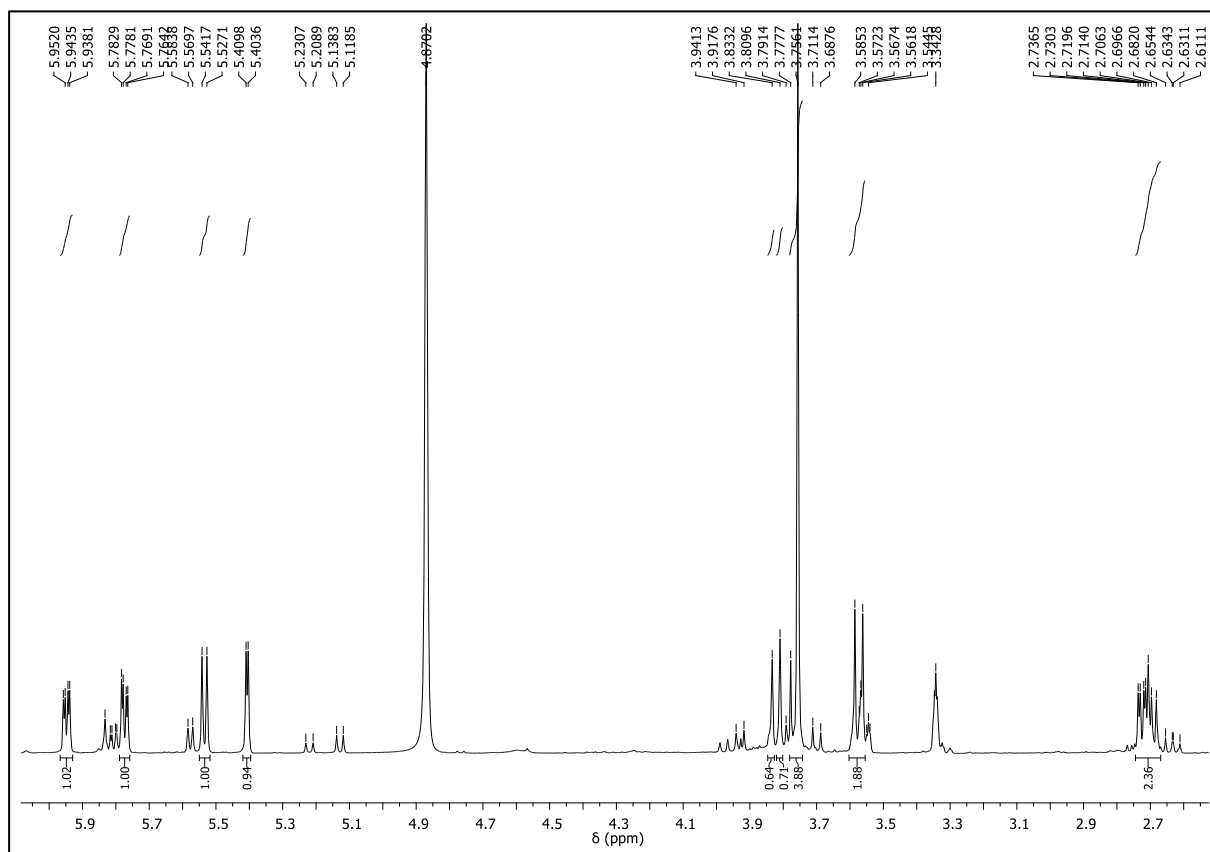


Figura 30. Espectro de RMN de ^{13}C de **2a+2b** (CD_3OD , 100 MHz)

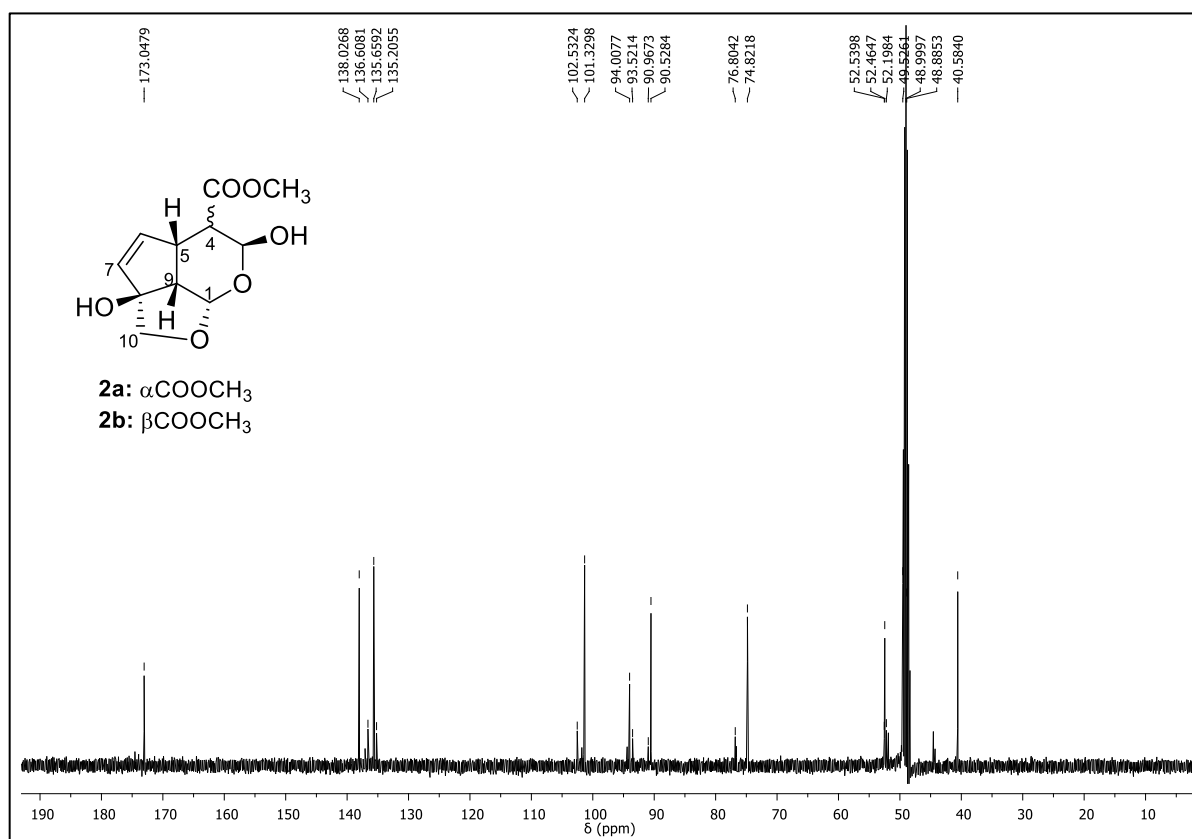


Figura 31. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 90° de **2a+2b** (CD_3OD , 100 MHz)

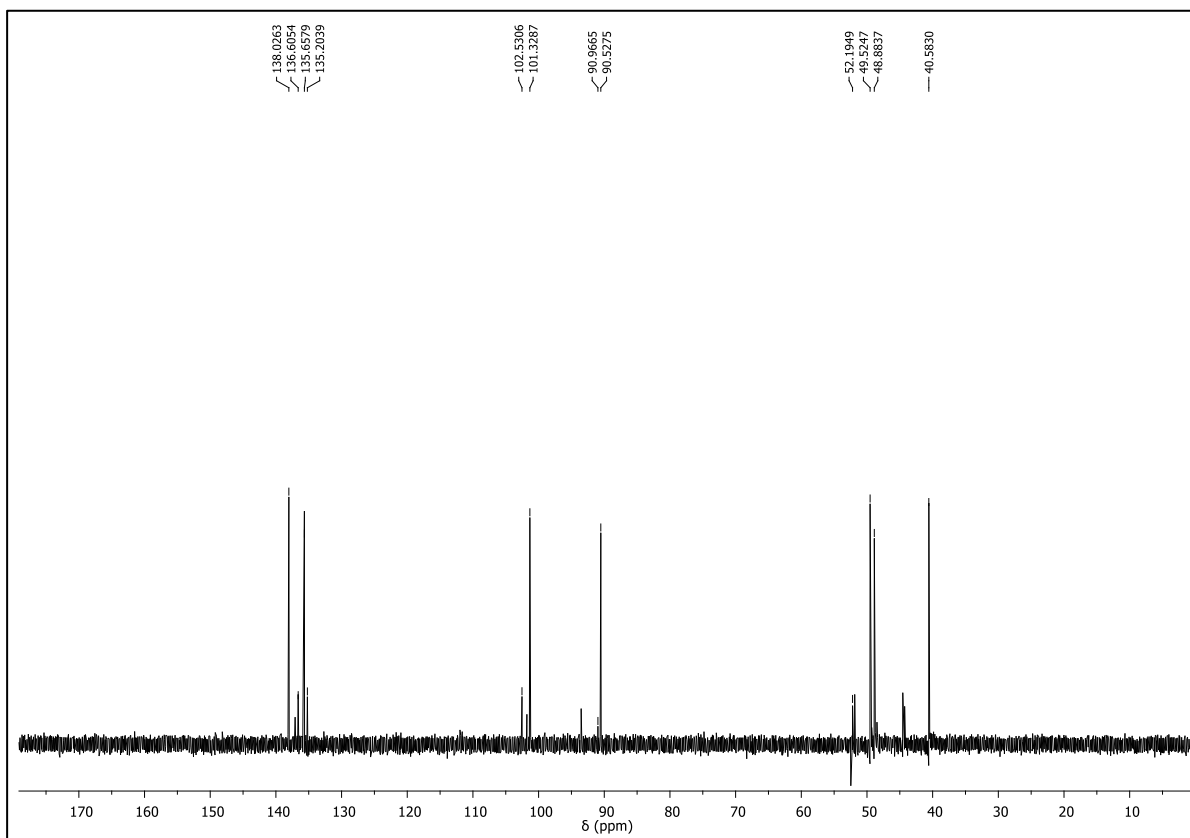


Figura 32. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° de **2a+2b** (CD_3OD , 100 MHz)

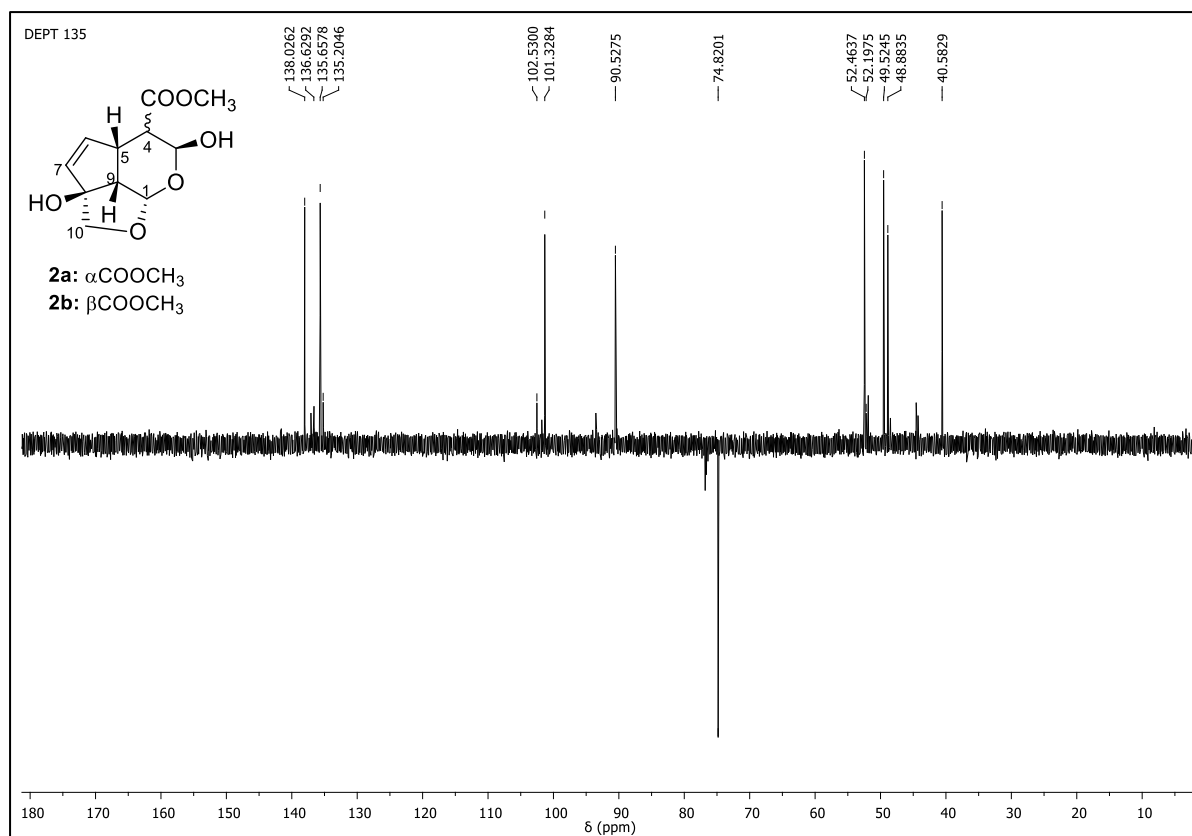


Figura 33. Mapa de contornos gCOSY de **2a+2b** (CD₃OD, 400 MHz)

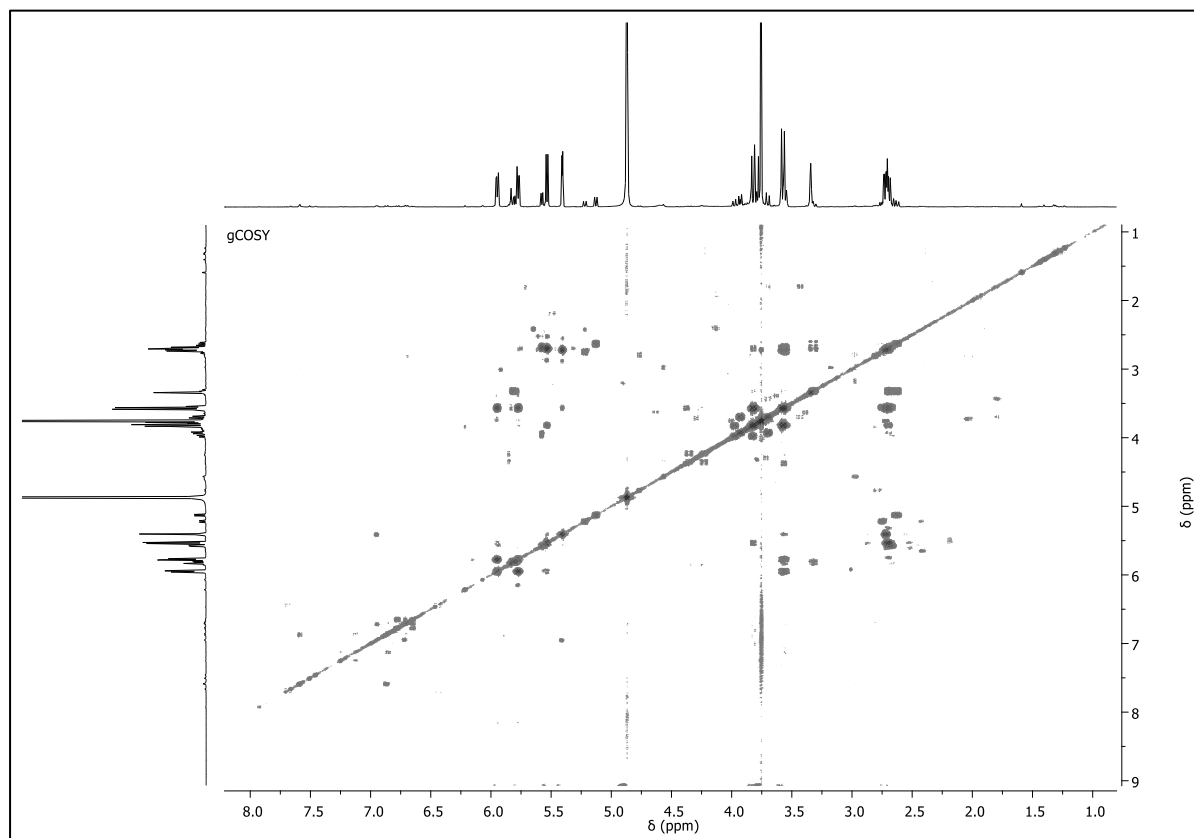


Figura 34. Mapa de contornos gHSQC de **2a+2b** (CD₃OD, 400 e 100 MHz)

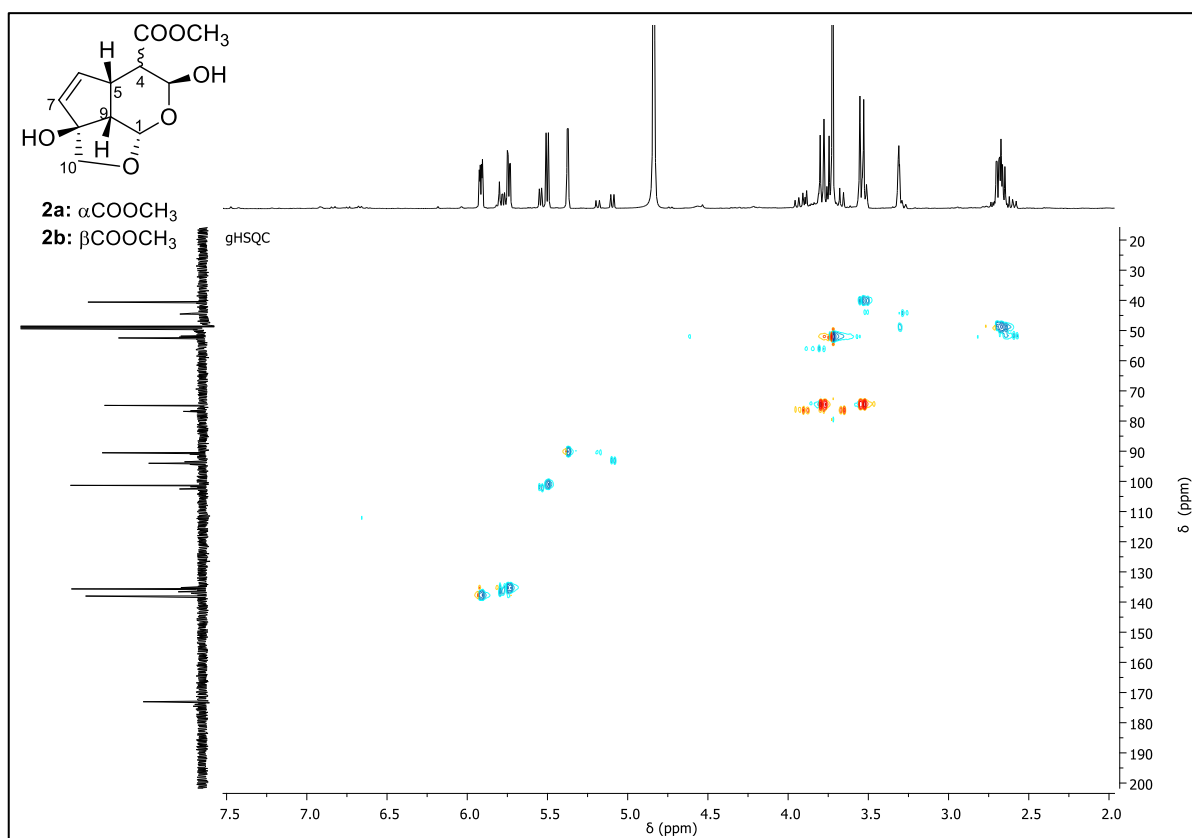


Figura 35. Mapa de contornos gHMBC de **2a+2b** (CD₃OD, 400 e 100 MHz)

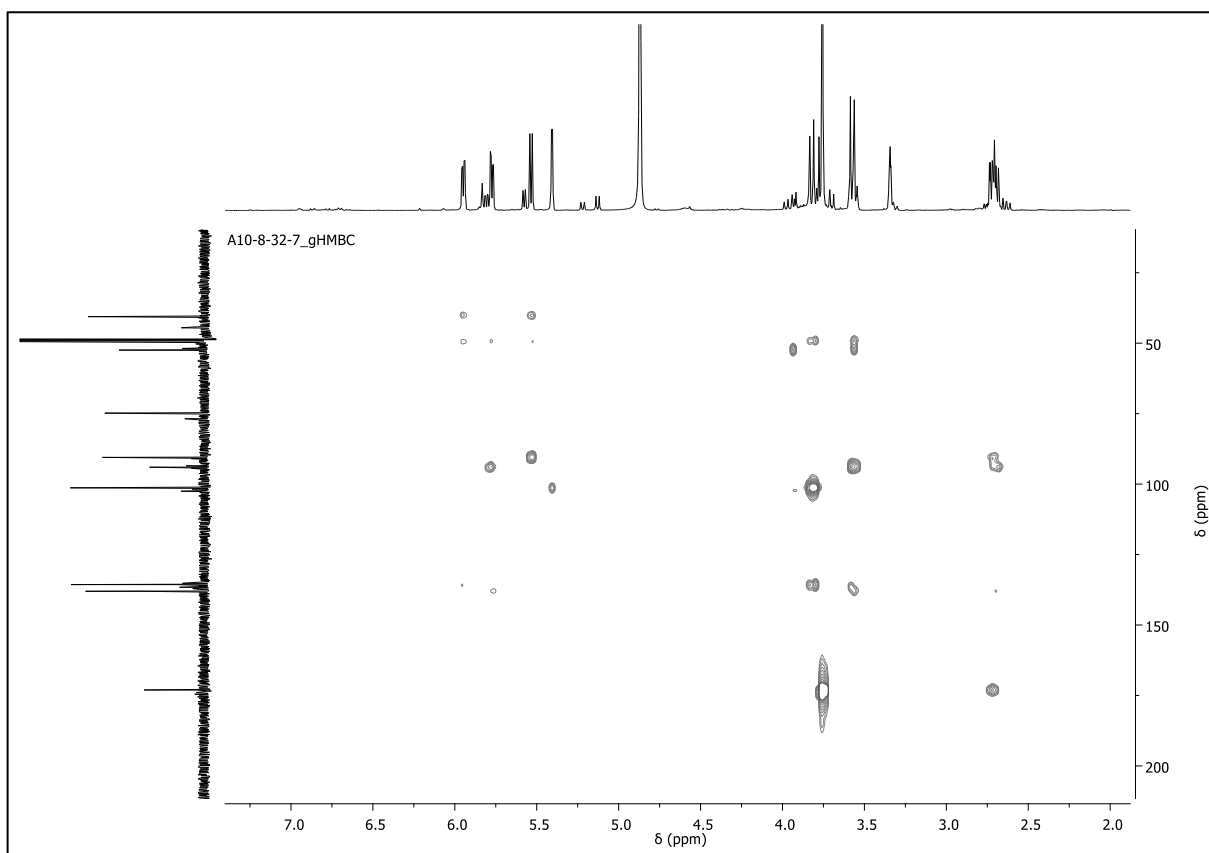


Figura 36. Espectro de RMN de ¹H de **3a+3b** (CDCl₃, 400 MHz)

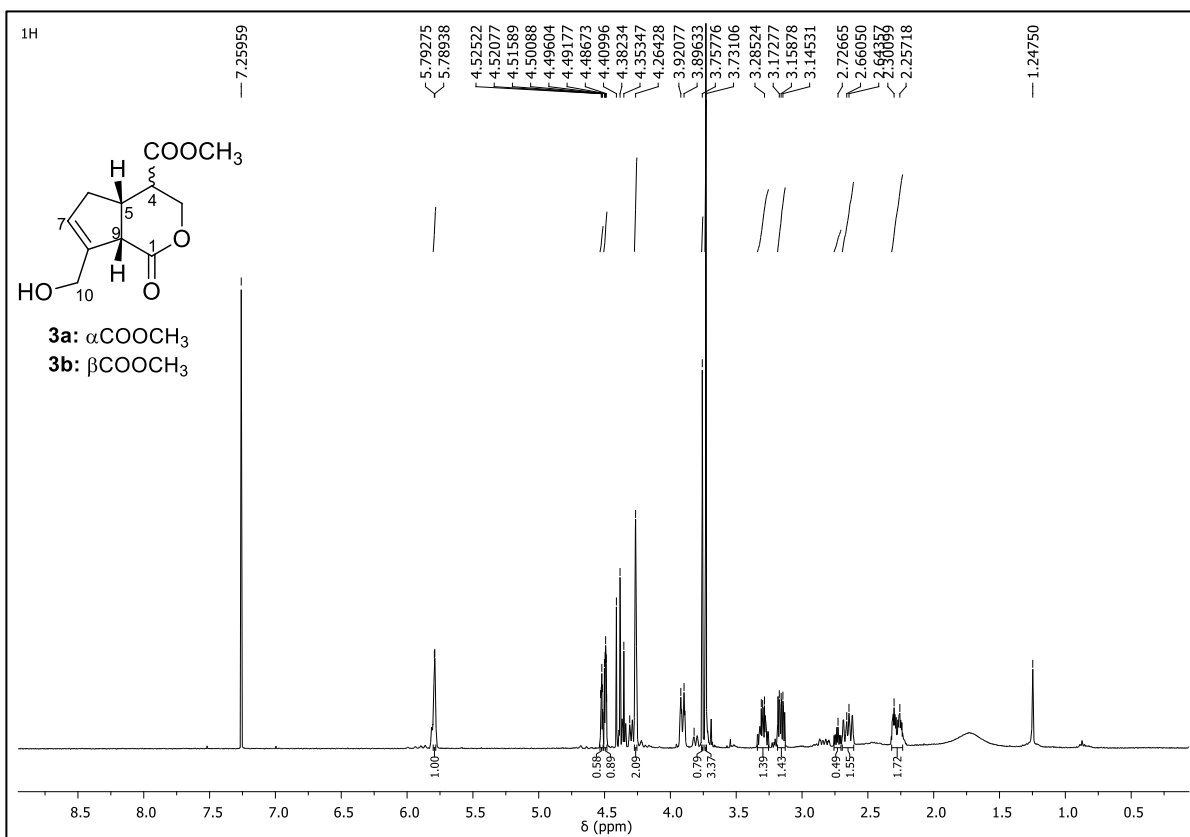


Figura 37. Expansão (δ 2,2-4,6) do espectro de RMN de ^1H de **3a+3b** (CDCl_3 , 400 MHz)

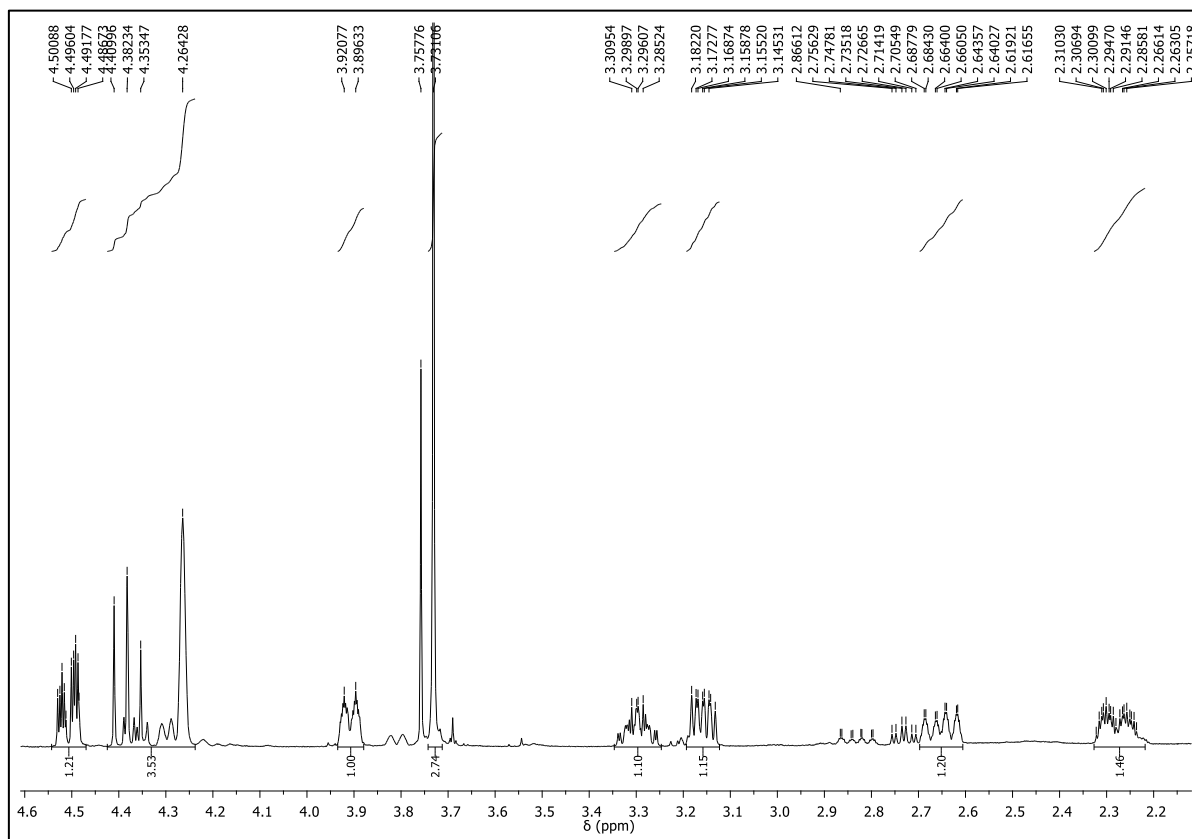


Figura 38. Espectro de RMN de ^{13}C de **3a+3b** (CDCl_3 , 100 MHz)

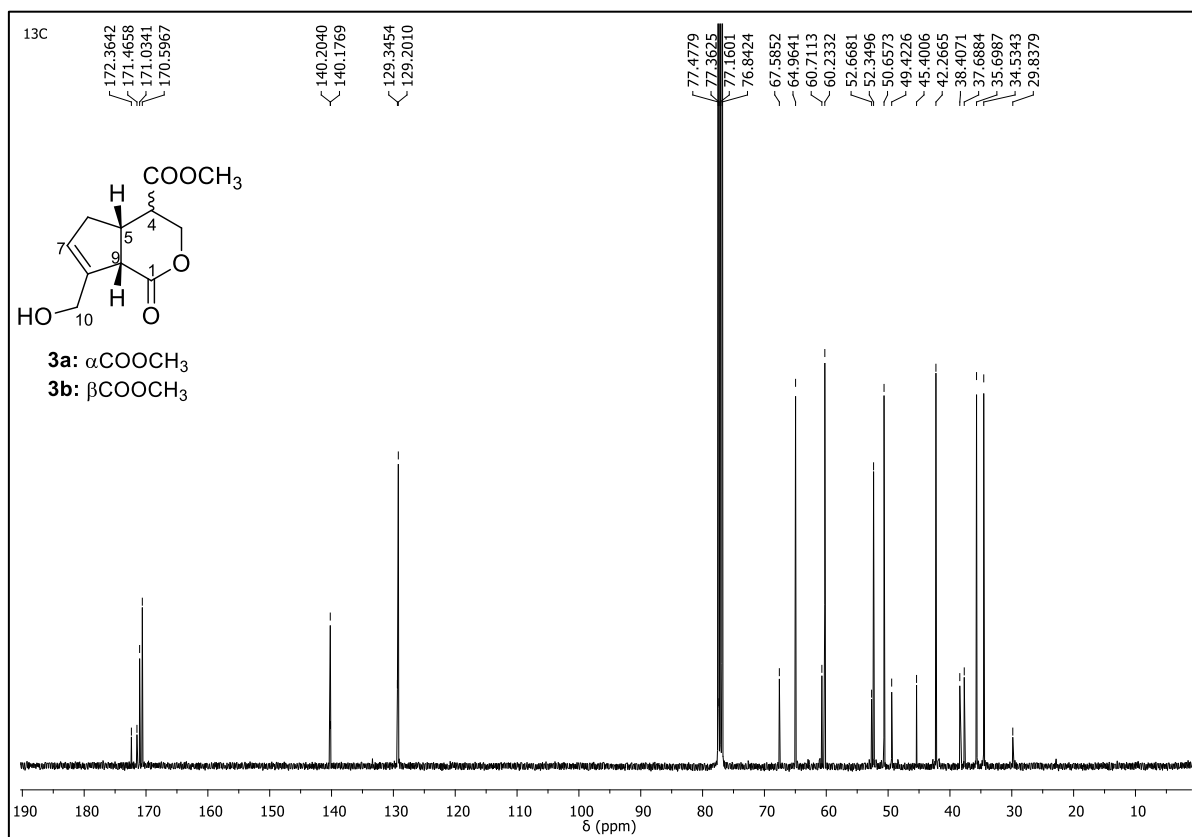


Figura 39. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 90° de **3a+3b** (CDCl_3 , 100 MHz)

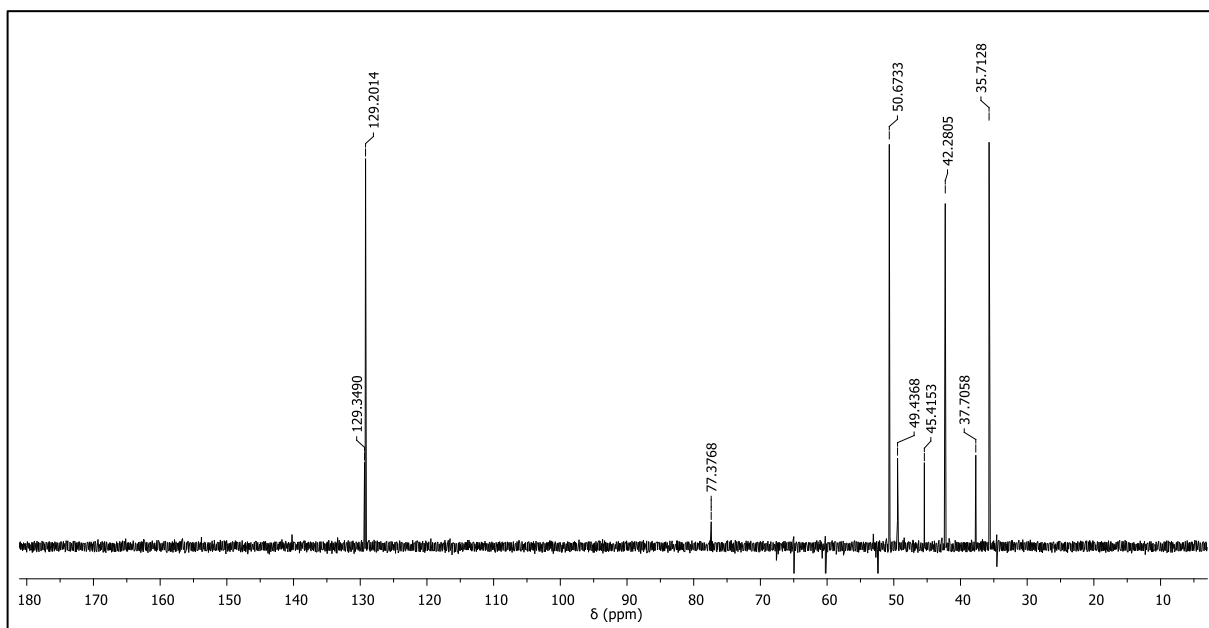


Figura 40. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° de **3a+3b** (CDCl_3 , 100 MHz)

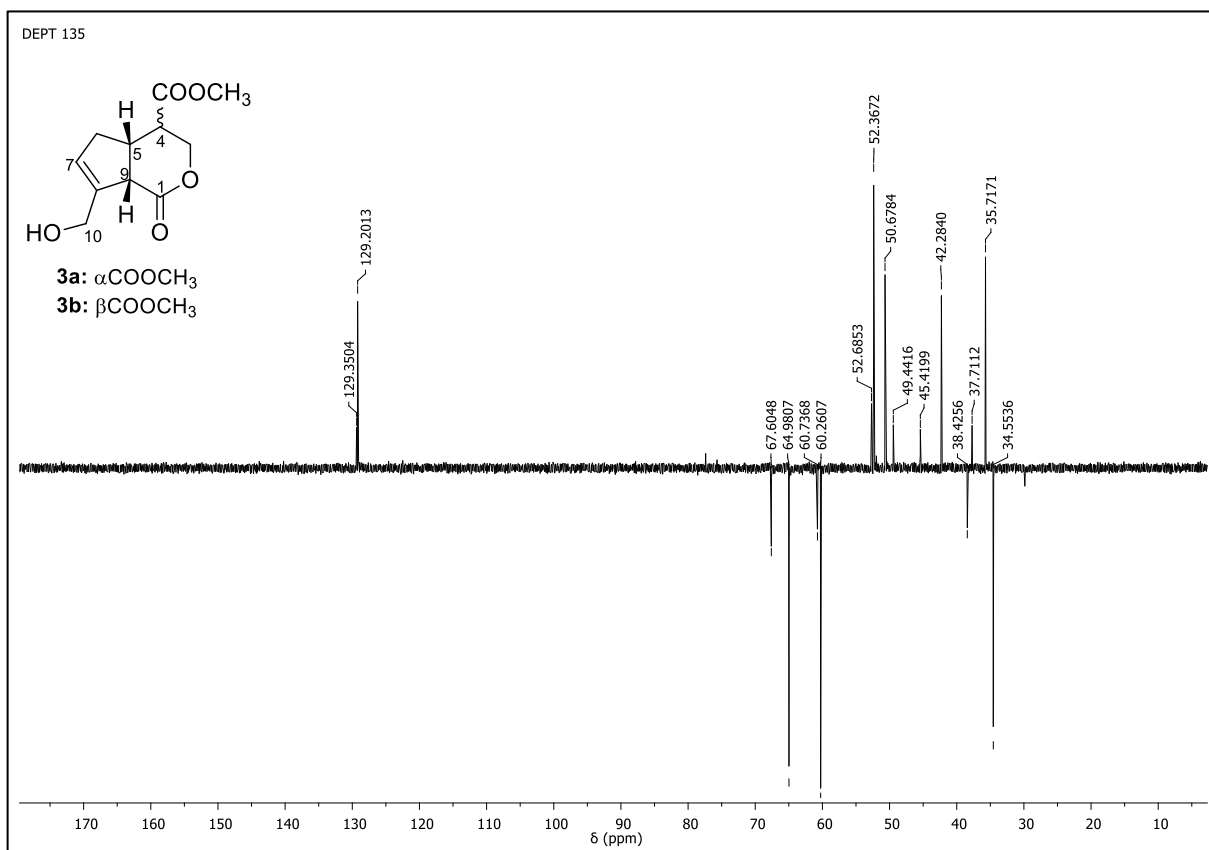


Figura 41. Mapa de contornos gCOSY de **3a+3b** (CDCl₃, 400 MHz)

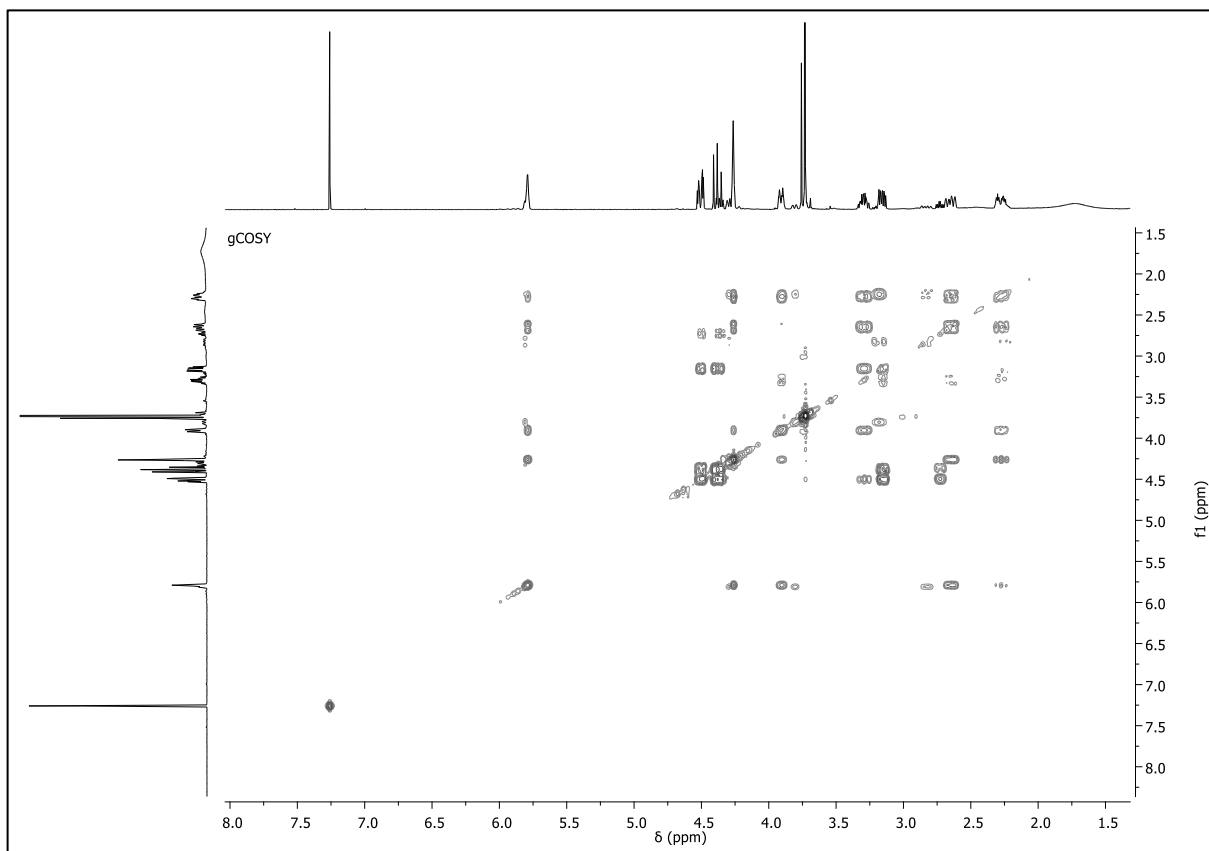


Figura 42. Mapa de contornos gHSQC de **3a+3b** (CDCl₃, 400 e 100 MHz)

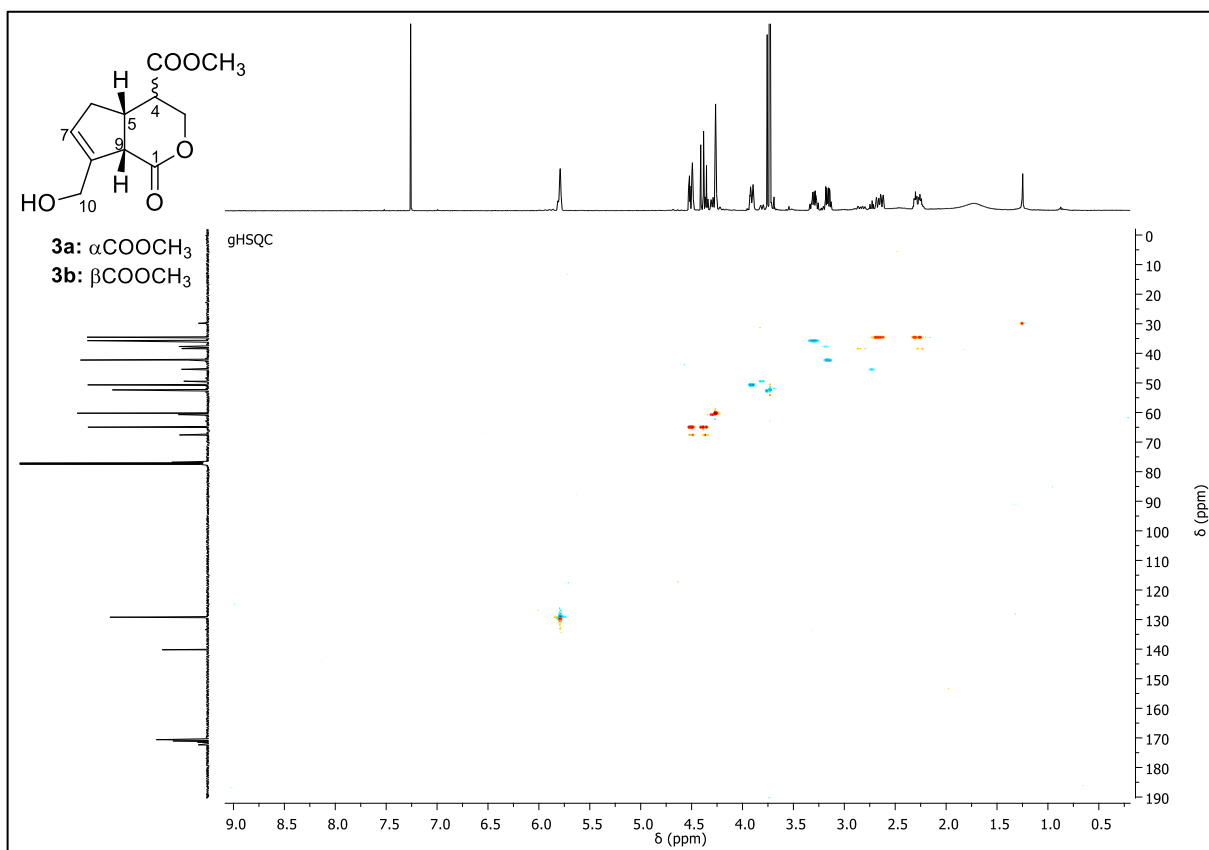


Figura 43. Mapa de contornos gHMBC de **3a+3b** (CDCl₃, 400 e 100 MHz)

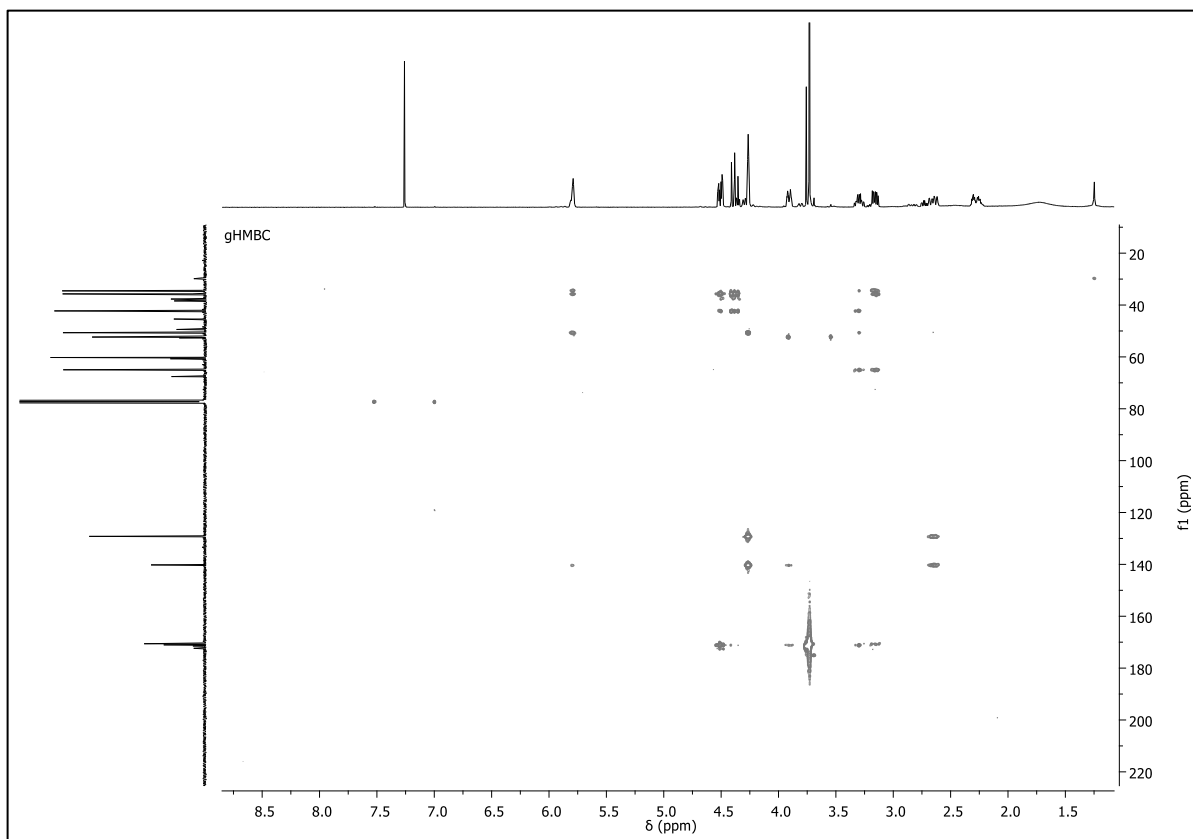


Figura 44. Espectro de RMN de ¹H de **4a+4b** (CDCl₃, 600 MHz)

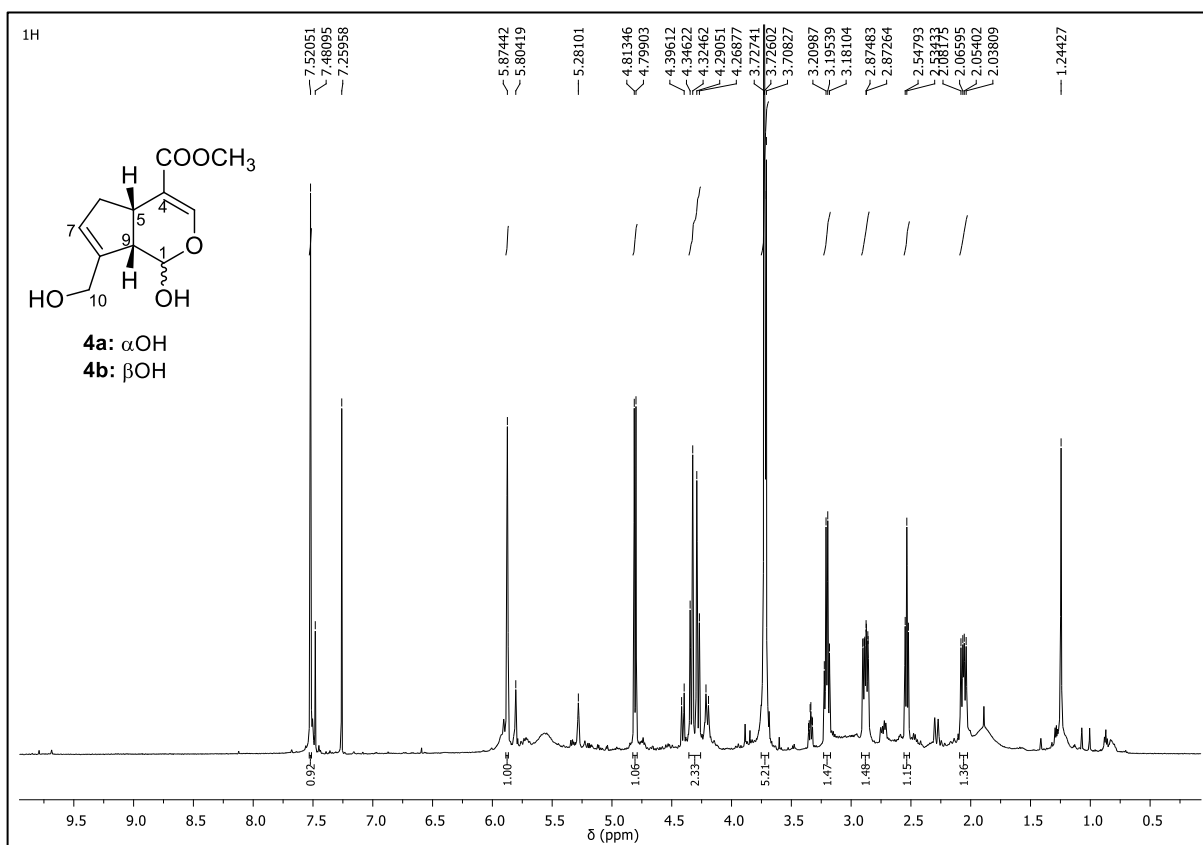


Figura 47. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° de **4a+4b** (CDCl_3 , 150 MHz)

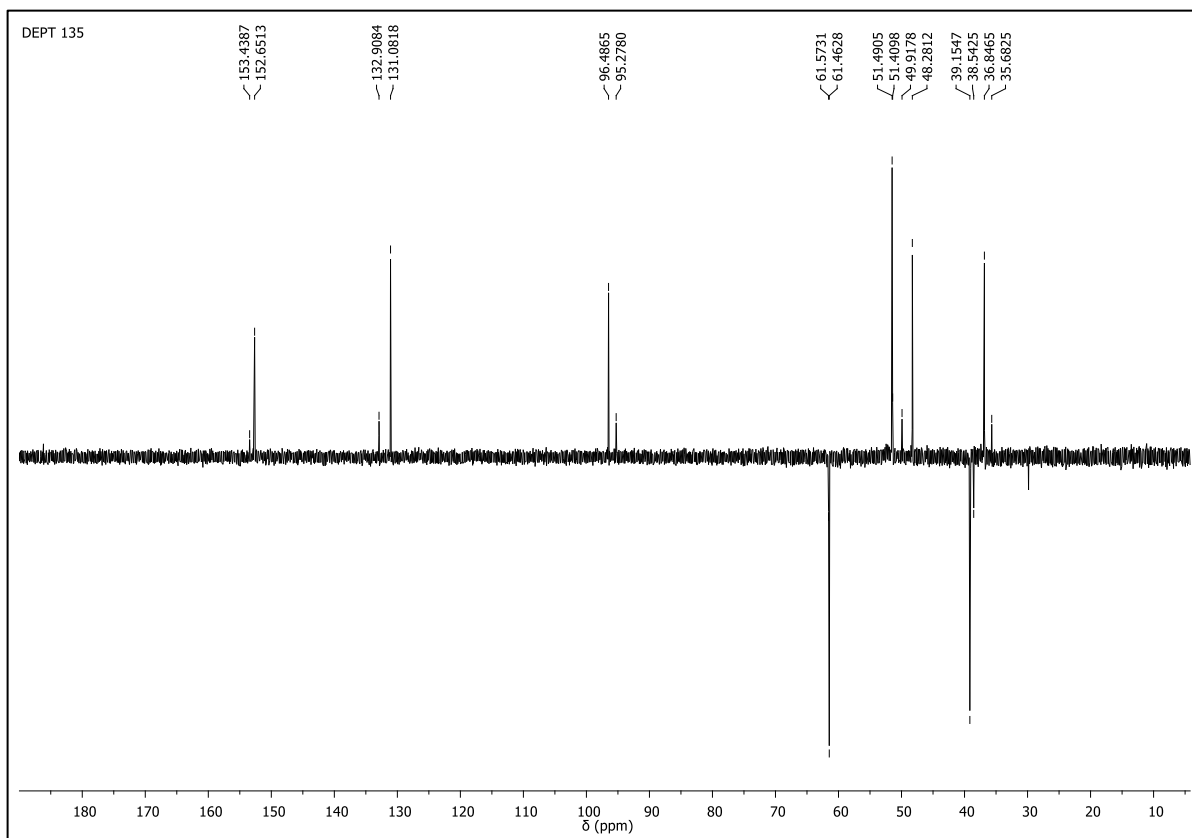


Figura 48. Mapa de contornos gCOSY de **4a+4b** (CDCl_3 , 600 MHz)

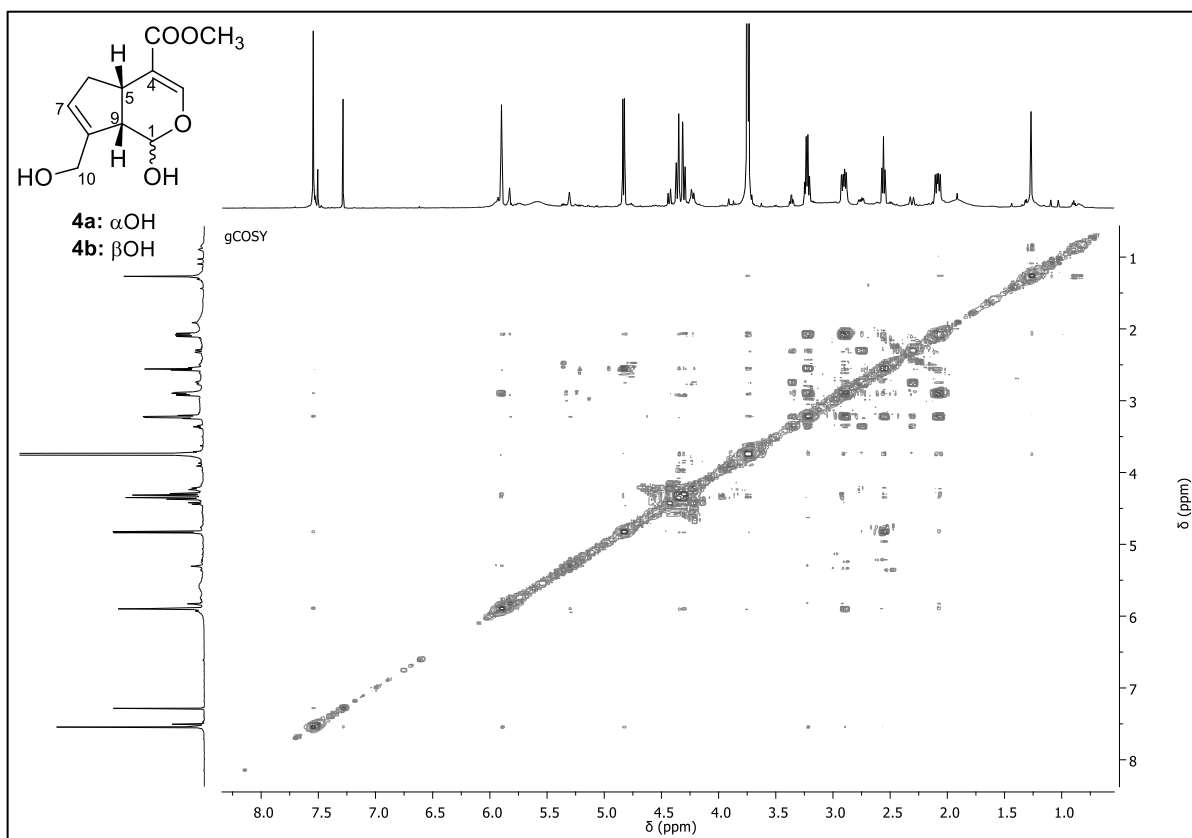


Figura 49. Mapa de contornos gHSQC de **4a+4b** (CDCl₃, 600 e 150 MHz)

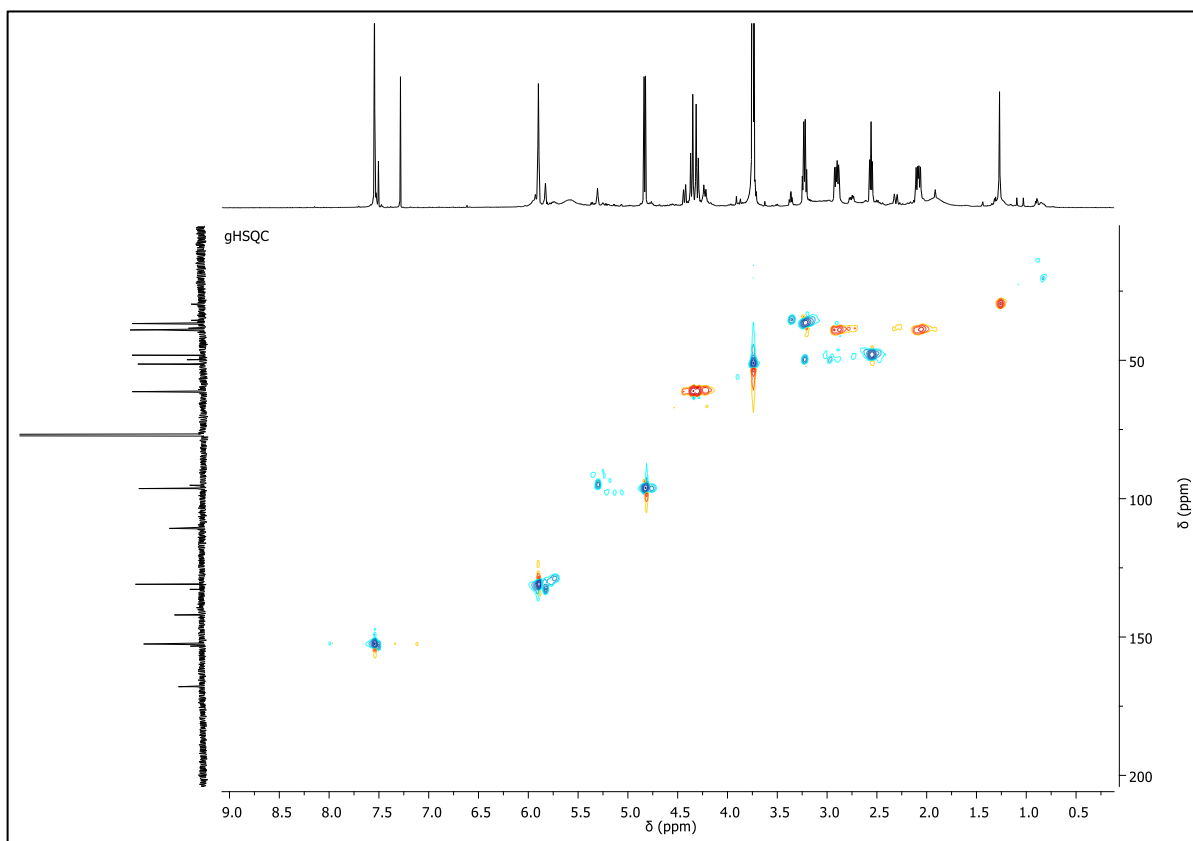
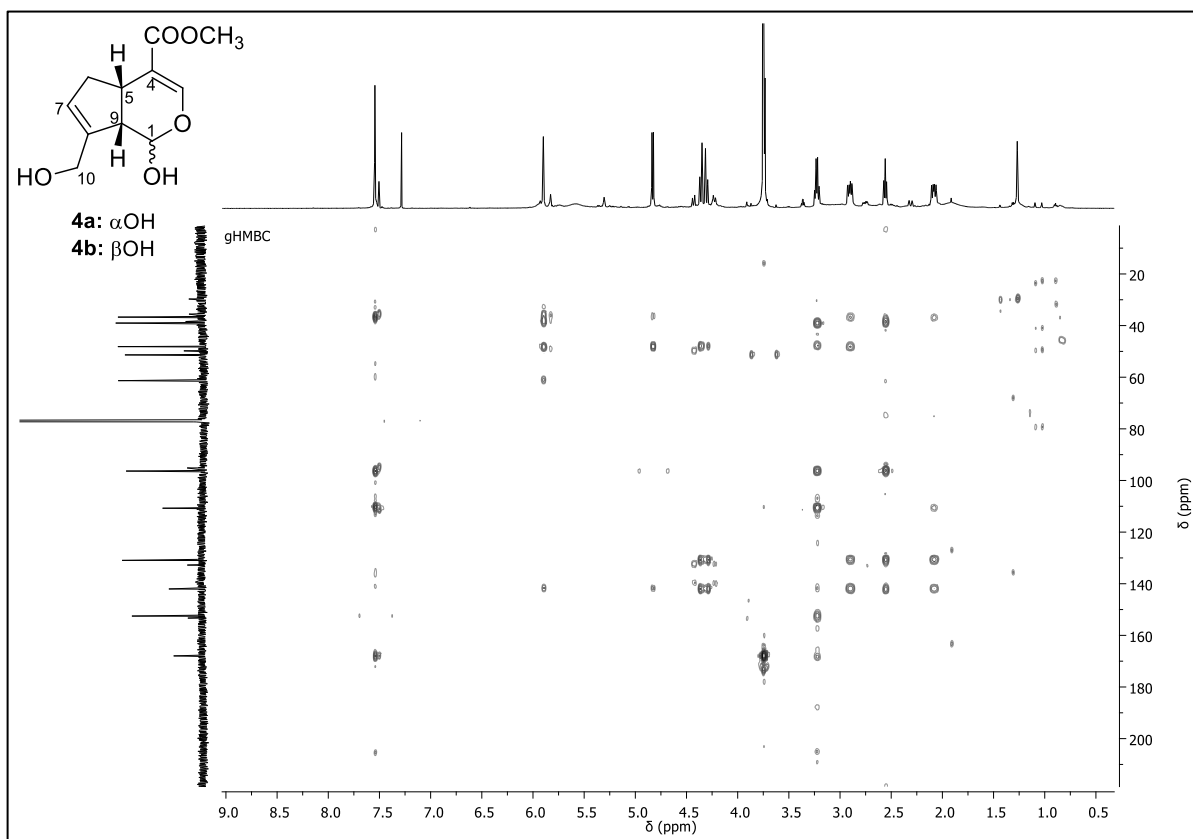
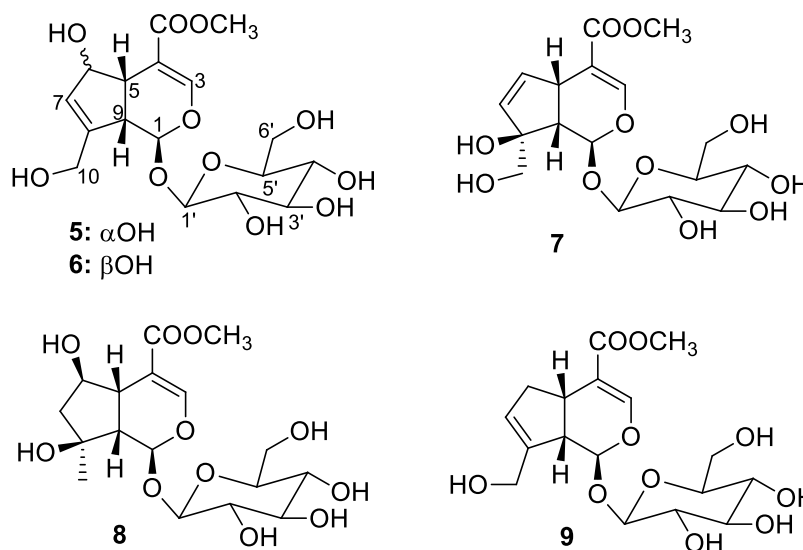


Figura 50. Mapa de contornos gHMBC de **4a+4b** (CDCl₃, 600 e 150 MHz)



Iridoides glicosilados



Os compostos **5** (8,6 mg, sólido branco), **6** (3,8 mg, sólido branco), **7** (9,0 mg, óleo amarelado), **8** (4,3 mg, sólido branco amorfo) e **9** (12,7 mg, sólido branco) foram obtidos a partir da purificação em HPLC semipreparativo dos grupos D8-D9, provenientes do fracionamento em coluna Strata C18 e Sephadex LH-20 da fração MeOH do extrato EtOH do caule (Esquema 9, pág. 48). Os compostos **5+6** (69,5 mg) foram também obtidos, na forma de mistura, a partir da subfração MH18, proveniente da cromatografia em coluna Strata C18 da fração aquosa do extrato EtOH das folhas (Esquema 13, pág. 57).

Os espectros de RMN de ^1H (Figuras 51, 55-56, 61-62, 67-68, 74-75; Tabela 9) dos compostos **5-9** apresentaram sinais características de hidrogênios em esqueleto iridano, evidenciado pelos sinais entre δ 2,85-4,0, geralmente multipletos, característicos dos hidrogênios H-5 β /H-9 β em conformação *cis*. A presença de simpletos ou dupletos entre δ_{H} 5,19-6,61 (H-3), característicos de hidrogênios olefínicos, sugere uma ligação dupla entre C-3 e C-4 do anel pirano. Adicionalmente, os compostos **5**, **6** e **9** apresentaram simpletos entre δ_{H} 5,79-6,57 (H-7) e dupletos entre δ_{H} 4,17-4,80 (H-10), caracterizando iridoides com ligação dupla em C-7 e hidroxilação em C-10. O composto **7** apresentou dupletos em δ_{H} 6,42 ($J=5,6$ Hz, H-6) e δ 6,22 ($J=5,6$ Hz, H-7), sugerindo uma ligação dupla adicional entre C-6 e C-7, enquanto o composto **8** não apresentou sinais adicionais de hidrogênios olefínicos. Foram observados ainda, simpletos com integração para três hidrogênios na região de δ_{H} 3,50, característico de metoxila. A presença de uma unidade de β -glicose em cada composto foi evidenciada pelos dupletos em δ 5,34 ($J=7,8$ Hz), 4,66 ($J=7,9$ Hz), 5,40 ($J=6,5$ Hz), 5,38

($J=7,9$ Hz) e $5,42$ ($J=7,8$ Hz) atribuídos aos hidrogênios (H-1') em carbono anomérico dos compostos **6-9**, respectivamente.

Para o composto **5** foram realizadas análises de RMN de ^{13}C , DEPT 90° e 135° (Figuras 52-54; Tabela 10), enquanto para os compostos **6-9** foram realizadas análises de RMN de ^{13}C -DEPTQ 135° (Figuras 57, 63, 69, 75; Tabela 10-11), no qual os sinais positivos indicam a presença de CH e CH_3 e os sinais negativos indicam CH_2 e C. A análise dos espectros de RMN de ^{13}C , mostraram sinais em comum na região de δ_{C} 36,0-45,6 e 47,2-52,8 característicos dos carbonos metínicos C-5 e C-9 do esqueleto iridano. Na região de carbonos olefínicos observou-se os pares de sinais de olefinas trissubstituídas entre δ_{C} 151,8-155,4 (CH) e 108,2-112,3 (C) atribuídos a C-3 e C-4 respectivamente. Para os compostos **5**, **6** e **9** foram observados um par de sinais adicional na região olefínica entre δ_{C} 127,0-130,6 (CH) e 145,8-151,7 (C) atribuídos a C-7 e C-8 respectivamente. Para o composto **7** o par de sinais adicional foi observado em δ_{C} 134,3 e 137,6 sugerindo uma ligação dupla entre C-6 e C-7, enquanto para o composto **8** não foram observados pares de sinais adicionais de carbonos olefínicos, evidenciando que este composto possui apenas uma ligação dupla. Entretanto, foram observados para o composto **8**, sinais de carbonos oximetínico e carbinólico em δ 77,1 (CH) e 78,9 (C) indicativos da presença de hidroxila, as quais foram posicionadas nos carbonos C-6 e C-7, após análise dos mapas de contornos gHSQC e gHMBC (Figuras 70 e 72). Todos os compostos apresentaram sinais entre δ_{C} 167,7-170,3 e δ_{C} 51,4-52,0 atribuídos à carbonila em C-11 e a metoxila em C-12, respectivamente.

Foi possível observar ainda nos espectros de RMN de ^{13}C , a presença de sinais de carbonos anoméricos entre δ 100,2-102,1 (C-1'), bem como sinais de carbonos oximetilênicos em cerca de δ 62 (C-6'), confirmando a presença da β -glicose. Nos mapas de contornos gHMBC (Figuras 60, 66, 72, 78) foram observadas correlações do sinais dos hidrogênios anoméricos (δ 4,66-5,40; H-1') com sinais dos carbonos oximetínicos C-1 (δ 94,8-102,8,) de cada um dos compostos, evidenciando que a glicose esta ligada na posição C-1 dos iridoides.

Os compostos **5** e **6** são epímeros em C-6, evidenciado pela mudança de deslocamento químico de C-6 de δ_{C} $\sim 75,0$ ($6\alpha\text{-OH}$; **5**) para δ_{C} 82,2 ($6\beta\text{-OH}$; **6**). A epimerização de $6\alpha\text{-OH}$ para $6\beta\text{-OH}$ causa também um efeito de blindagem em C-1, passando de δ 101,5 ou 102,8 (C-1; **5**), dependendo do solvente, para δ 98,2 (C-1; **6**) (DAMTOFT, JENSEN e NIELSEN, 1981). Os compostos **5** e **6**, foram obtidos isoladamente, bem como em mistura, de forma que os dados de RMN de ^{13}C do composto **5** foram registrados em piridina- d_5 e em CD_3OD , como mostra a Tabela 10.

Os dados de RMN de ^1H para os compostos **5-9** (Tabela 9) foram estabelecidos pela análise dos mapas de contornos gHSQC. A análise conjunta dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C , gCOSY, gHSQC e gHMBC e, comparação com dados da literatura, permitiram identificar os compostos 6α -hidroxigeniposídeo (**5**) (OTSUKA et al., 1991), 6β -hidroxigeniposídeo (**6**) (OTSUKA et al., 1991), gardenosídeo (**7**) (FARID et al., 2002), éster metílico shanzhisídeo (**8**) (GHULE et al., 2012) e geniposídeo (**9**) (LELONO, TACHIBANA e ITOH, 2009). O geniposídeo (**9**) é o glicosídeo da genipina (**4b**) identificado na fração AcOEt do extrato EtOH do caule.

Tabela 9. Dados de RMN de ^1H dos compostos **5-9** (*J* em Hz, δ em ppm)

H	5 [†]	6 [§]	7 [‡]	8 [‡]	9 [‡]
1	5,90 d (8,7)	5,19 d (6,4)	6,61 s	6,21 d (1,9)	5,70 d (6,9)
3	7,97 sl	7,50 s	7,73 s	7,73 s	7,72 s
5	3,31 m	3,0 m	4,0 m	3,50 dd (10,1 e 1,8)	3,36 dd (15,4 e 7,8)
6	sobreposto	4,54 m	6,42 d (5,6)	4,54 m	2,19 dd (16,1 e 6,4) 2,90 dd (16,1 e 6,4)
7	6,57 sl	5,79 s	6,22 d (5,6)	2,18 dd (13,0 e 5,5) 2,28 dd (13,0 e 4,6)	5,97 s
9	2,85 t (8,1/7,8)	3,02 m	3,34 d (8,7)	3,34 dd (9,8 e 1,4)	3,04 t (7,3)
10	4,65 d (15,6) 4,20 sobreposto	4,33 d (15,3) 4,17 d (15,3)	4,13 d (11,5) 4,27 m	1,54 s	4,54 d (14,5) 4,80 d (14,6)
12	3,56 s	3,74 s	3,57 s	3,55 s	3,62 s
1'	5,34 d (7,8)	4,66 d (7,9)	5,40 d (6,5)	5,38 d (7,9)	5,42 d (7,8)
2'	4,11 t (8,0)	3,20 t (8,6)	4,06 t (7,9)	4,04 t (8,4)	4,29 m
3'	4,20-4,35	3,35 t (8,6)	4,27 m	4,0 m	4,10 t (8,3)
4'	4,20-4,35	3,26 d (6,8)	4,33 d (9,4)	4,35 t (9,2)	4,26 m
5'	4,20-4,35	3,26 d (6,8)	3,92 d (9,2)	4,29 t (8,9)	3,99 m
6'	4,20-4,35	3,62 dd (5,0/11,9) 3,86 d (11,8)	4,38 m 4,43 d (11,7)	4,42 dd (11,7/4,7) 4,52 m	4,32 m 4,49 d (11,1)

[†] $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ (400 MHz); [§] CD_3OD (600 MHz), [‡] $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ (600 MHz)

Tabela 10. Dados de RMN de ^{13}C dos compostos **5** e **6** (δ em ppm)

C	5[§]	5[†]	6α-hidroxigeniposideo[*]	6[‡]	6β-hidroxigeniposideo*
1	102,8	101,5	101,6	98,2	98,7
3	154,8	155,4	155,4	153,9	153,9
4	108,7	108,2	108,3	110,8	110,9
5	43,2	42,6	42,7	45,6	45,8
6	75,5	75,4	75,4	82,2	82,5
7	130,6	129,8	129,9	130,0	130,4
8	151,7	151,5	151,5	147,5	147,5
9	47,2	45,8	45,9	47,1	47,3
10	61,8	61,7	61,7	61,0	61,1
11	168,3	169,4	169,5	170,3	170,3
12	51,4	51,9	51,9	52,0	52,1
1'	102,1	100,4	100,5	100,3	100,5
2'	74,9	74,9	75,0	74,8	74,9
3'	78,8	78,5	78,5	77,7	78,4
4'	71,8	71,6	71,6	71,5	71,6
5'	78,8	77,8	77,8	78,4	78,0
6'	62,8	62,8	62,8	62,7	62,9

[§]C₅D₅N (600 MHz); [†]CD₃OD (400 MHz); [‡]CD₃OD (600 MHz)

* Dados obtidos em CD₃OD, relatados por OTSUKA et al., 1991.

Tabela 11. Dados de RMN de ^{13}C dos compostos **7-9** ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 150 MHz; δ em ppm)

C	7	Gardenosídeo [†]	8	Éster metílico shanzhisideo [‡]	9	Geniposídeo [*]
1	94,8	93,9	95,5	95,1	98,2	99,0
3	151,8	151,6	152,9	153,2	152,9	154,2
4	111,2	111,1	111,2	111,8	112,3	113,4
5	38,7	38,4	42,2	41,8	36,0	37,4
6	134,3	135,8	77,1	77,9	39,4	40,5
7	137,6	135,7	49,4	48,6	127,0	129,1
8	86,2	85,8	78,9	79,4	145,8	145,6
9	52,8	51,9	52,7	52,2	47,4	47,8
10	67,6	66,6	25,3	25,1	61,2	63,5
11	167,7	168,5	168,5	170,1	168,1	170,3
12	51,4	52,3	51,5	50,3	51,4	52,5
1'	101,2	99,9	100,2	100,2	101,6	101,1
2'	75,2	74,2	75,1	75,0	78,9	78,7
3'	78,9	77,5	79,4	78,4	75,3	75,7
4'	71,6	71,1	71,7	72,0	71,9	72,4
5'	79,3	77,9	79,0	78,8	79,3	79,2
6'	62,7	62,3	62,8	63,3	62,9	62,2

[†]Dados obtidos em CD_3OD , relatados por FARID et al., 2002.

[‡]Dados obtidos em CD_3OD , relatados por GHULE et al., 2012.

^{*}Dados obtidos em CD_3OD , relatados por LELONO, TACHIBANA e ITOH, 2009.

Figura 51. Espectro de RMN de ^1H de **5** ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 MHz)

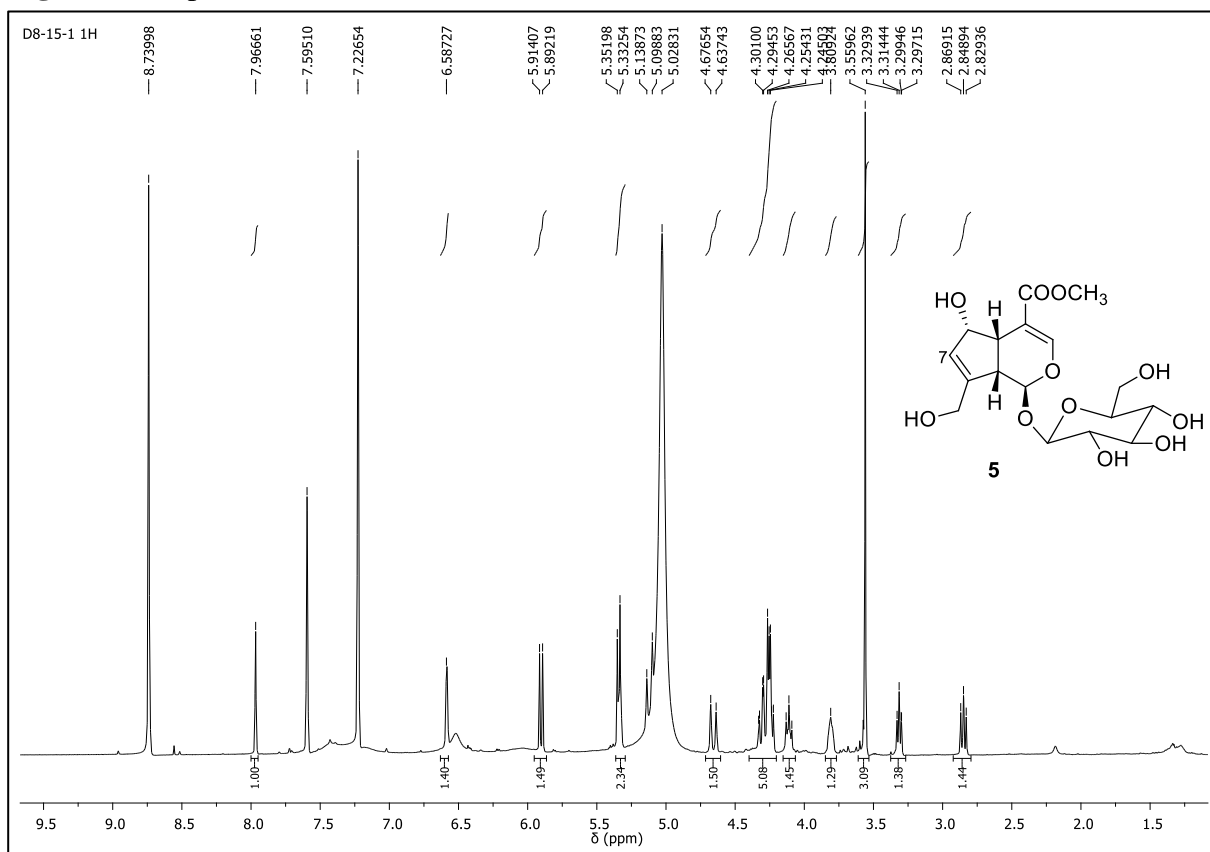


Figura 52. Espectro de RMN de ^{13}C de **5** ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 100 MHz)

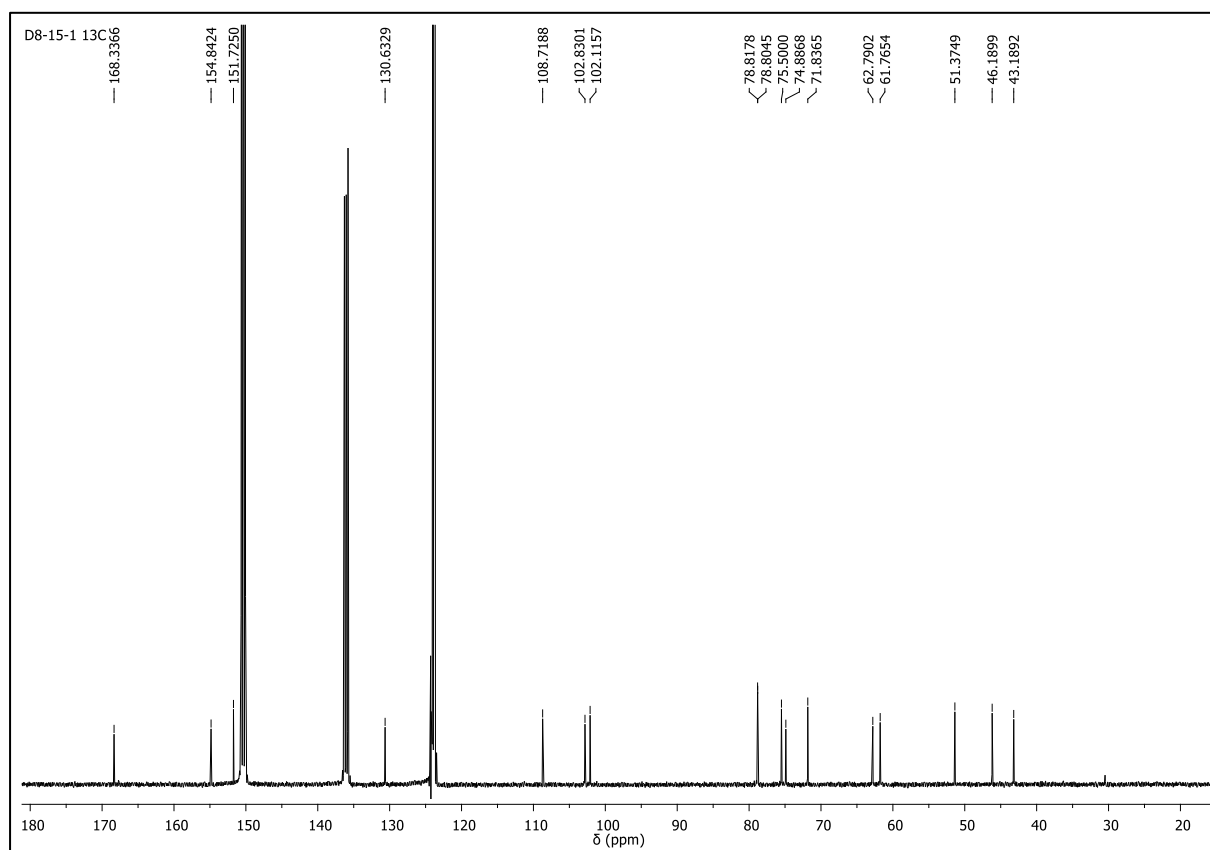


Figura 53. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 90° de **5** ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 100 MHz)

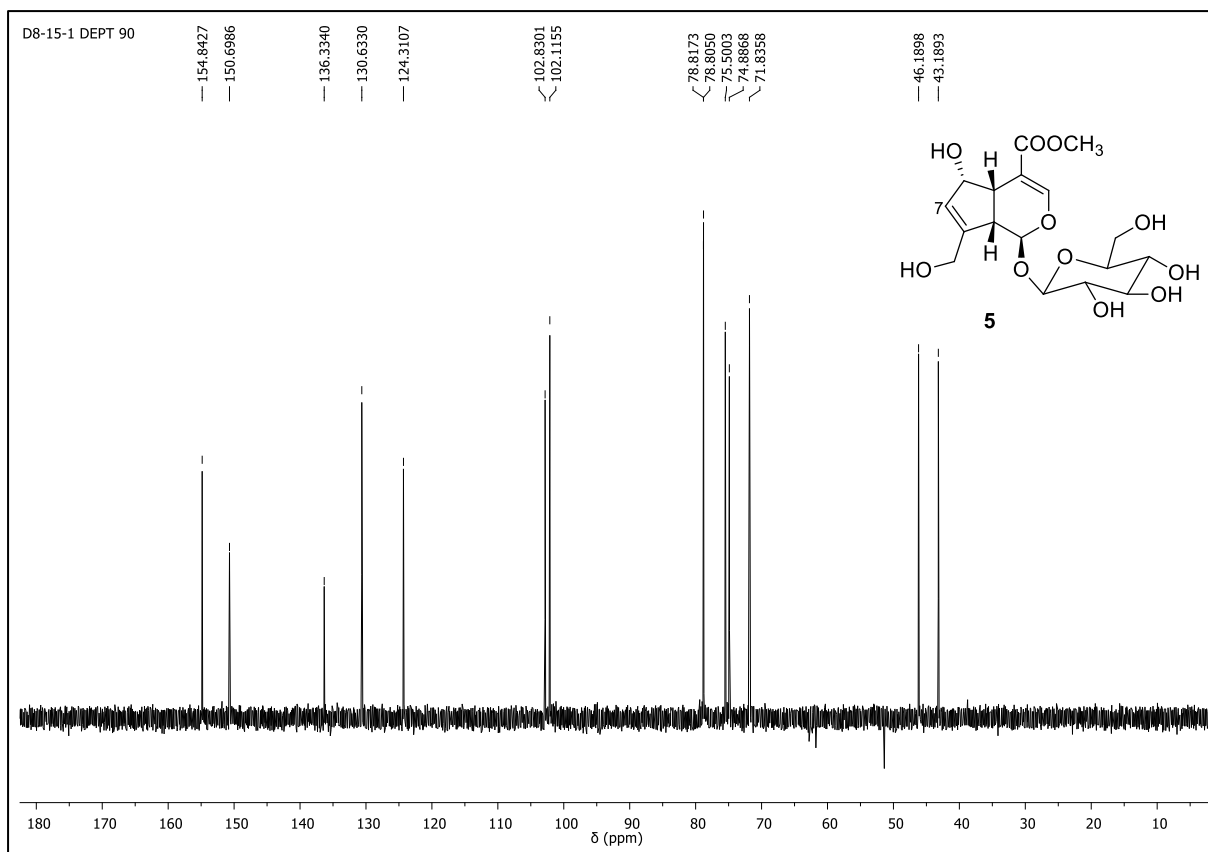


Figura 54. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° de **5** ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 100 MHz)

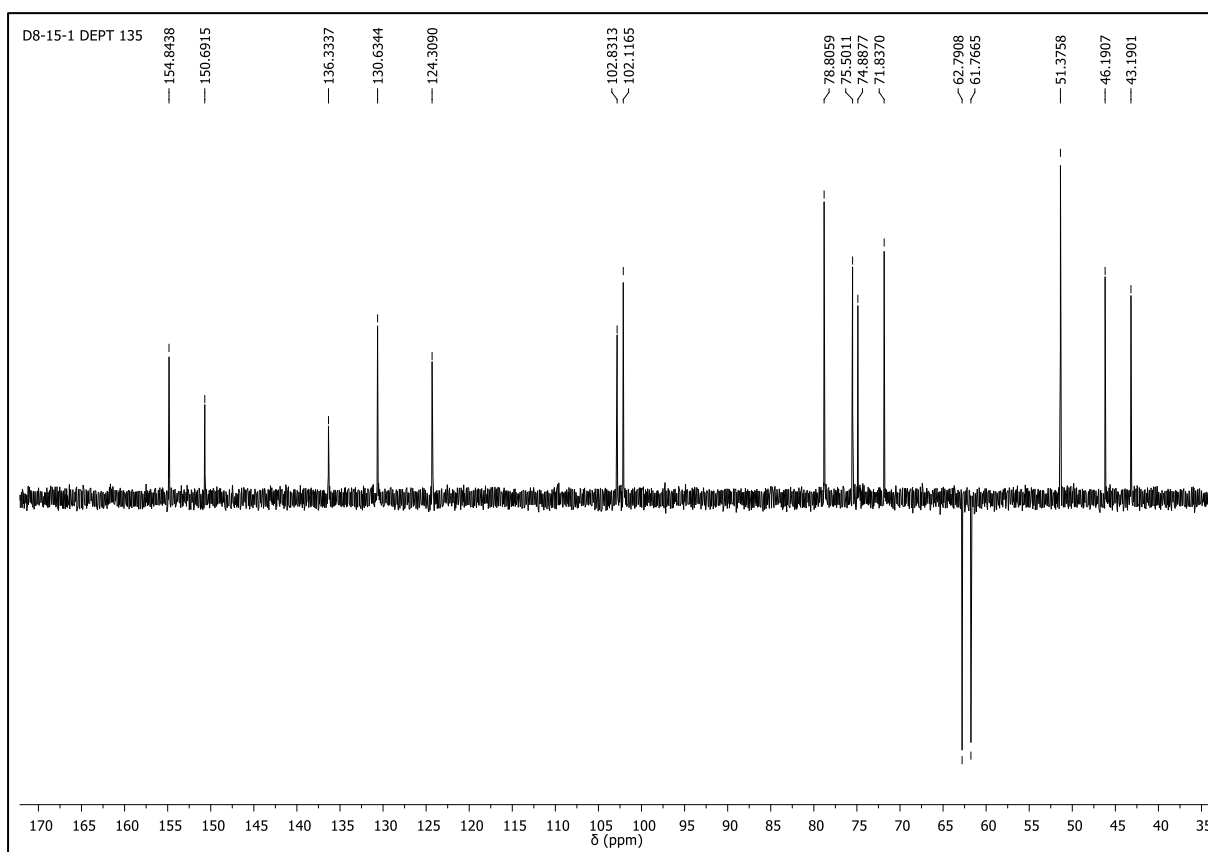


Figura 55. Espectro de RMN de ^1H de **6** (CD_3OD , 600 MHz)

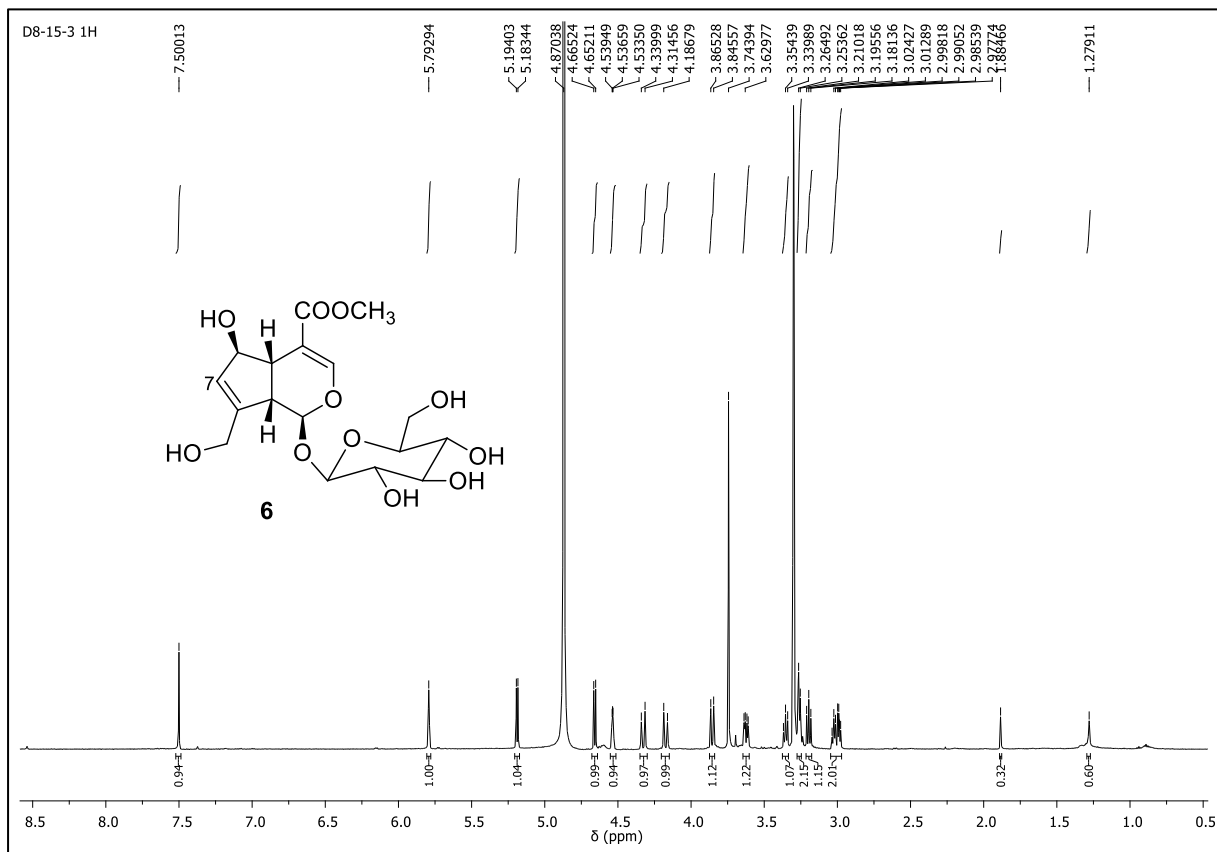


Figura 56. Expansão (δ 2,9-4,7) do espectro de RMN de ^1H de **6** (CD_3OD , 600 MHz)

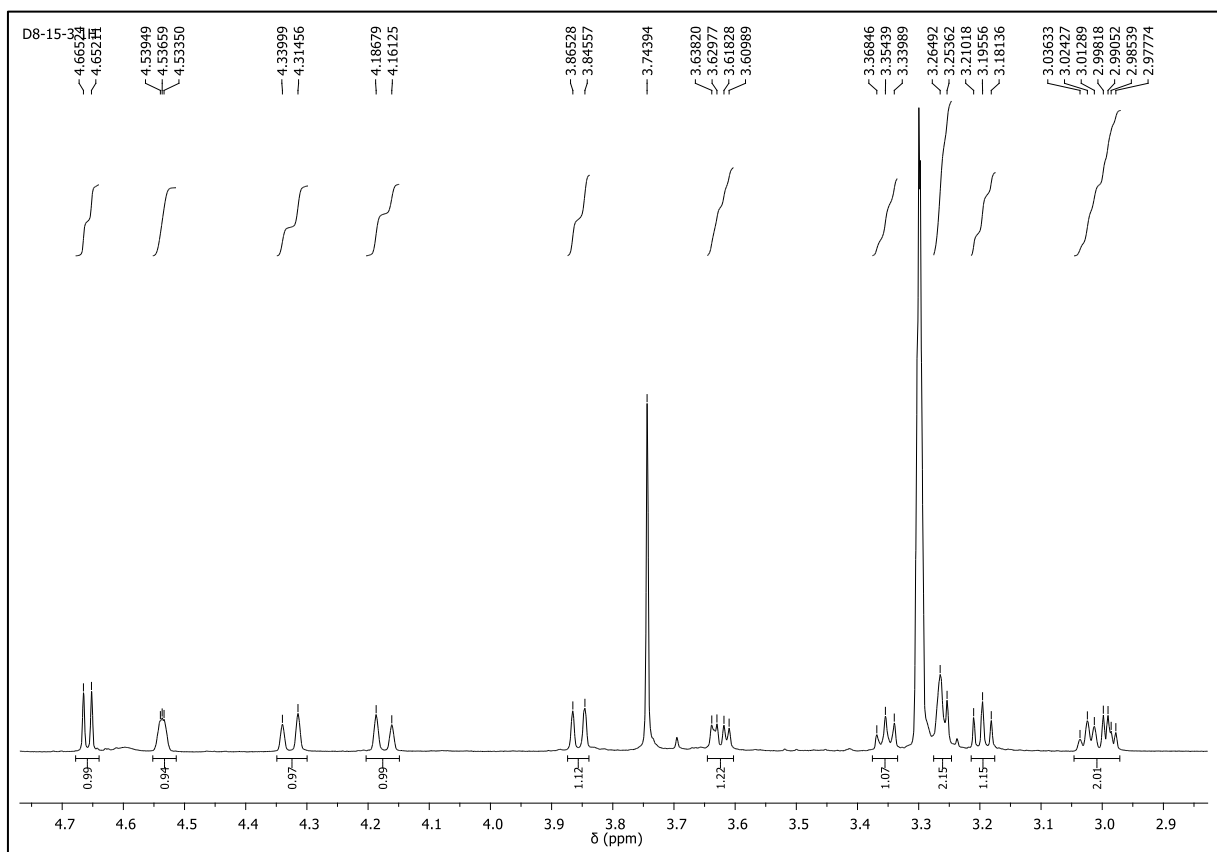


Figura 57. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTQ 135 de **6** (CD_3OD , 150 MHz)

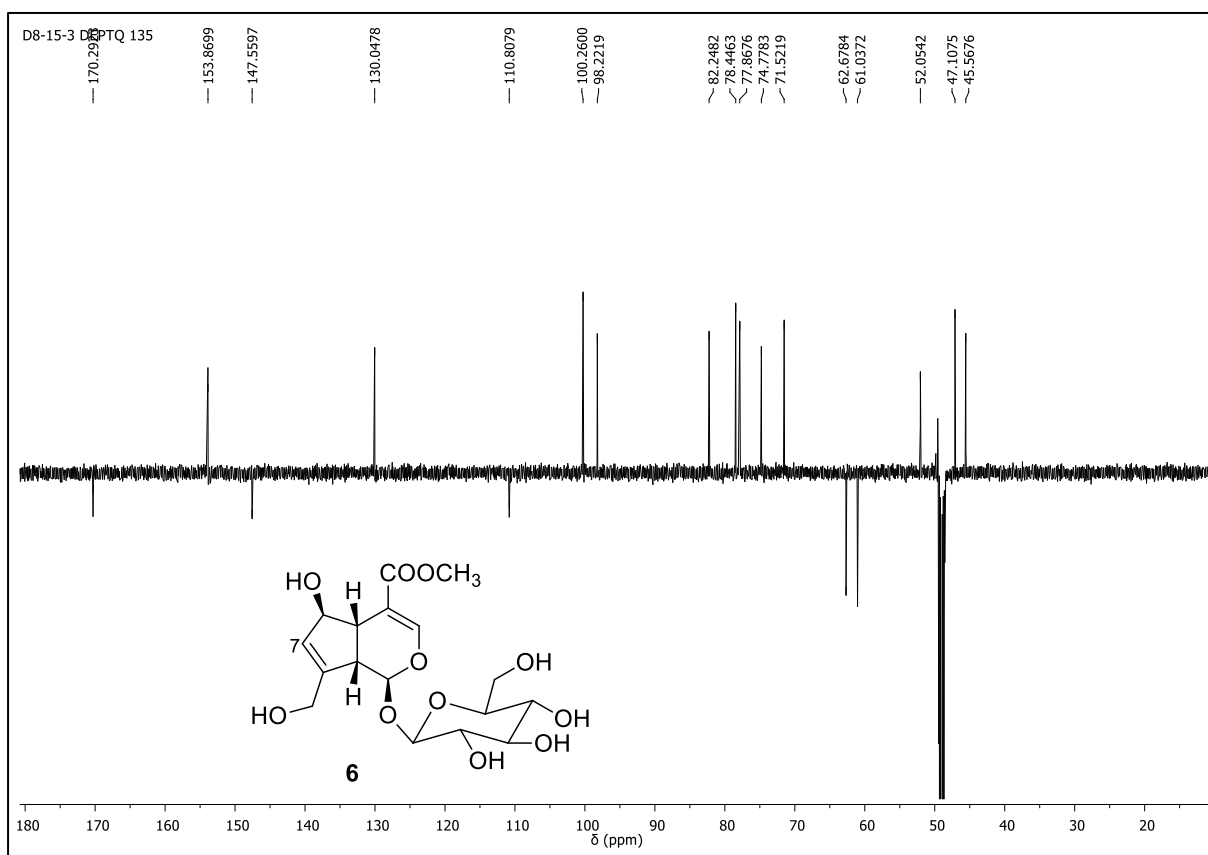


Figura 58. Mapa de contornos gCOSY de **6** (CD_3OD , 600 MHz)

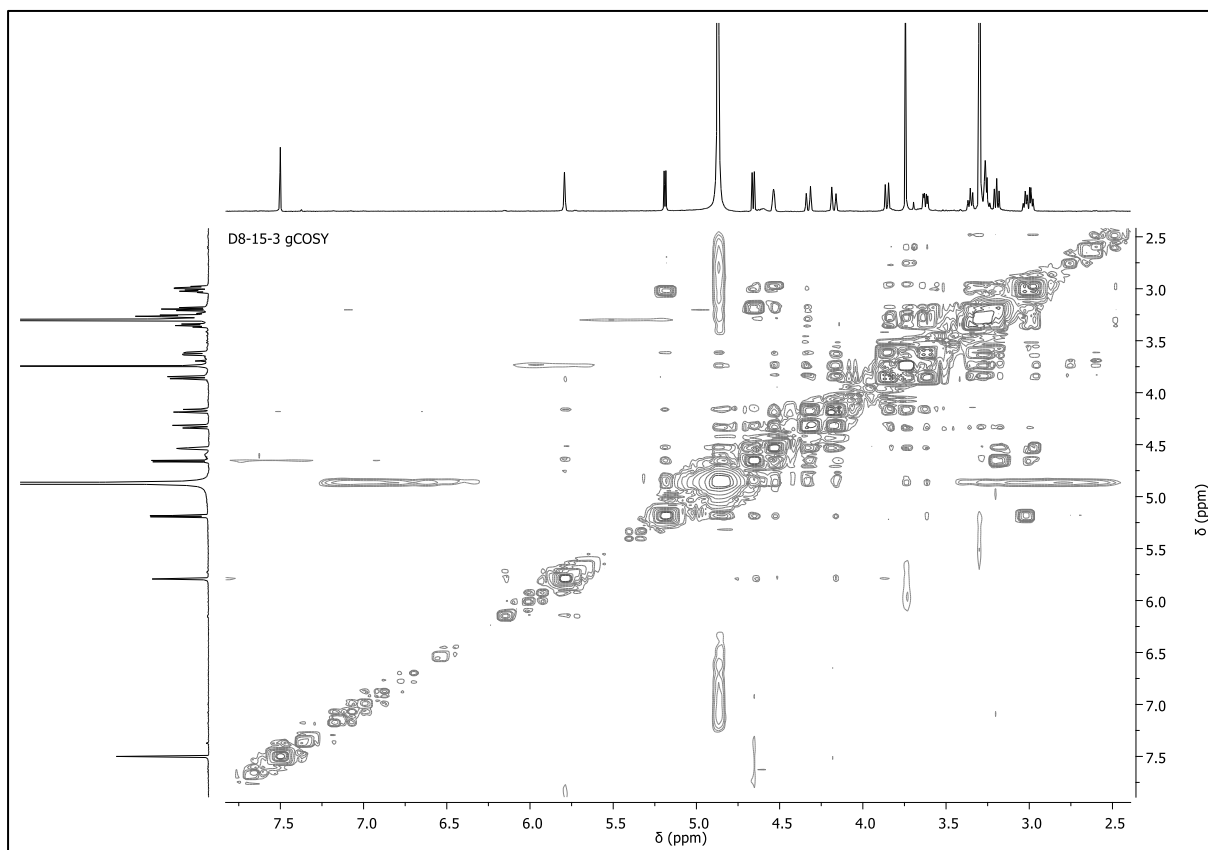


Figura 59. Mapa de contornos gHSQC de **6** (CD₃OD, 600 e 150 MHz)

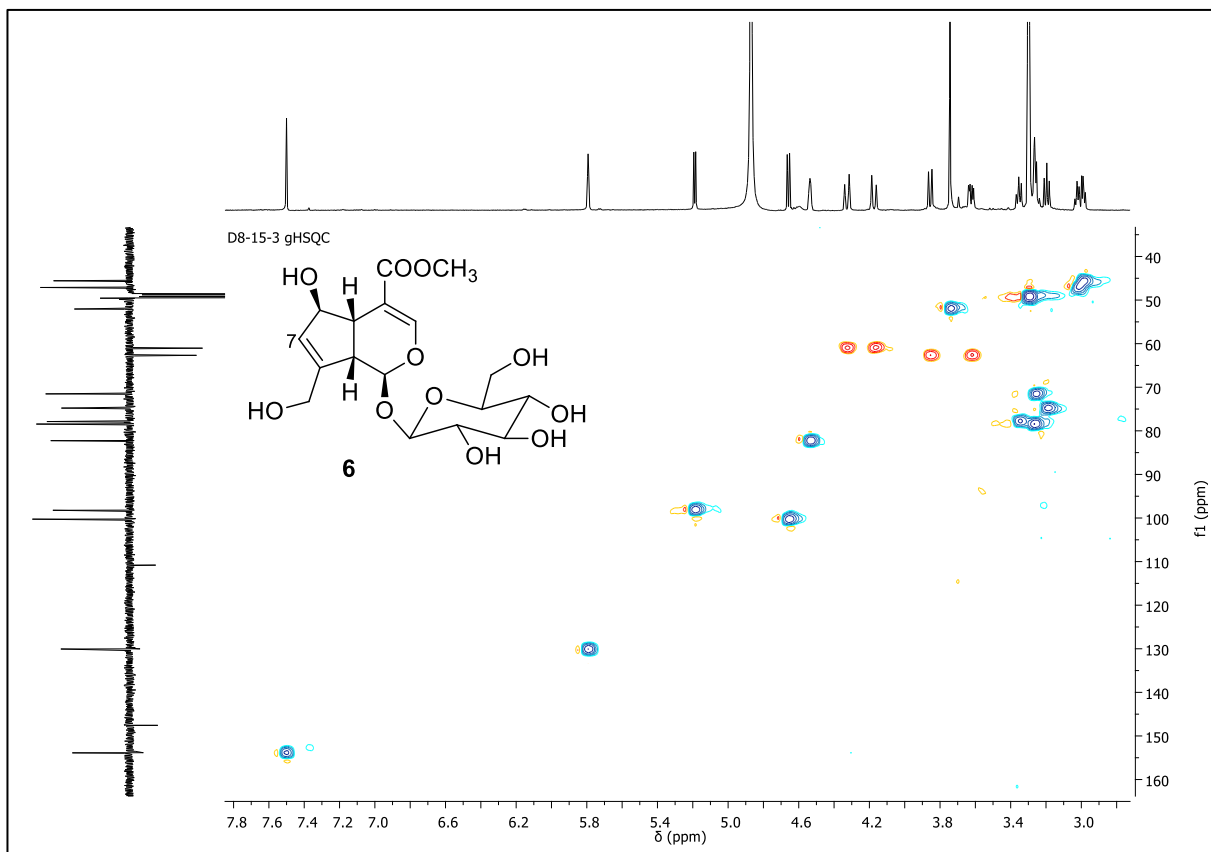


Figura 60. Mapa de contornos gHMBC de **6** (CD₃OD, 600 e 150 MHz)

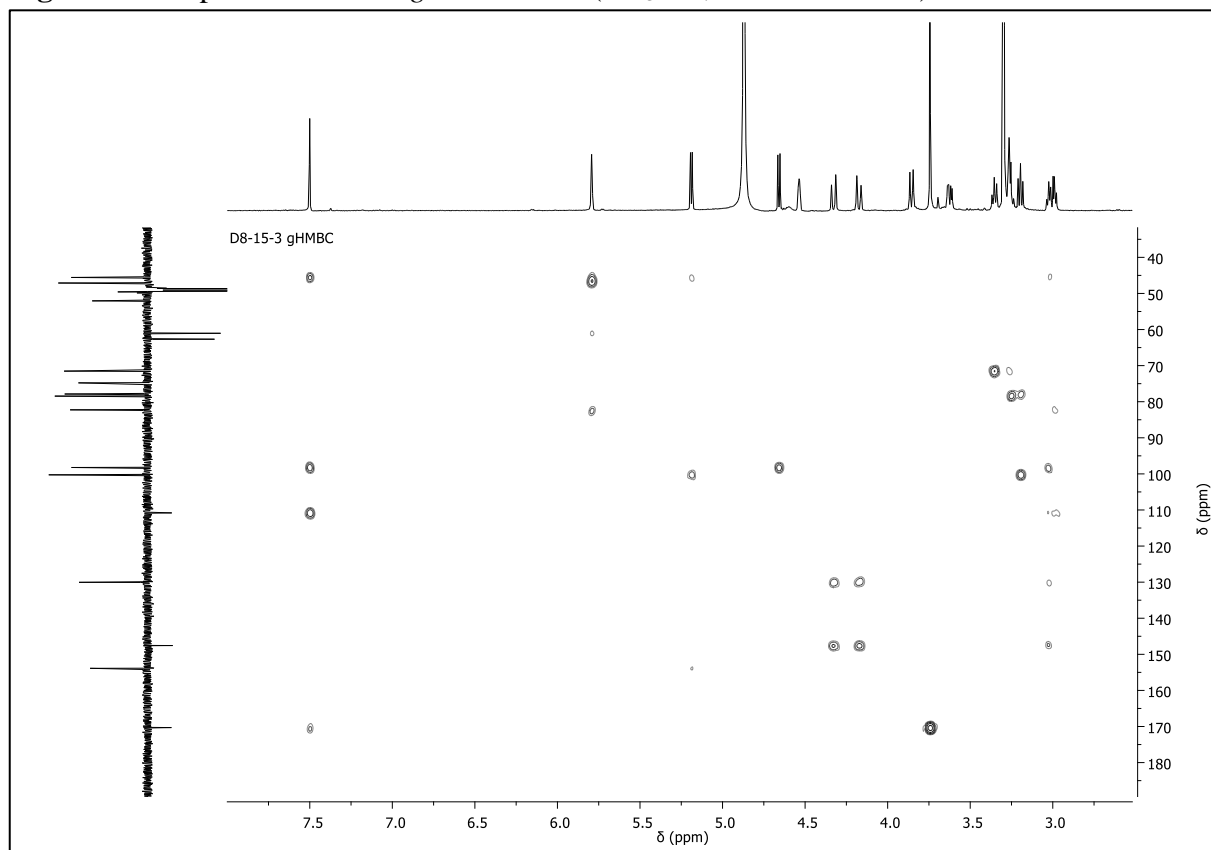


Figura 61. Espectro de RMN de ^1H de **7** ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 600 MHz)

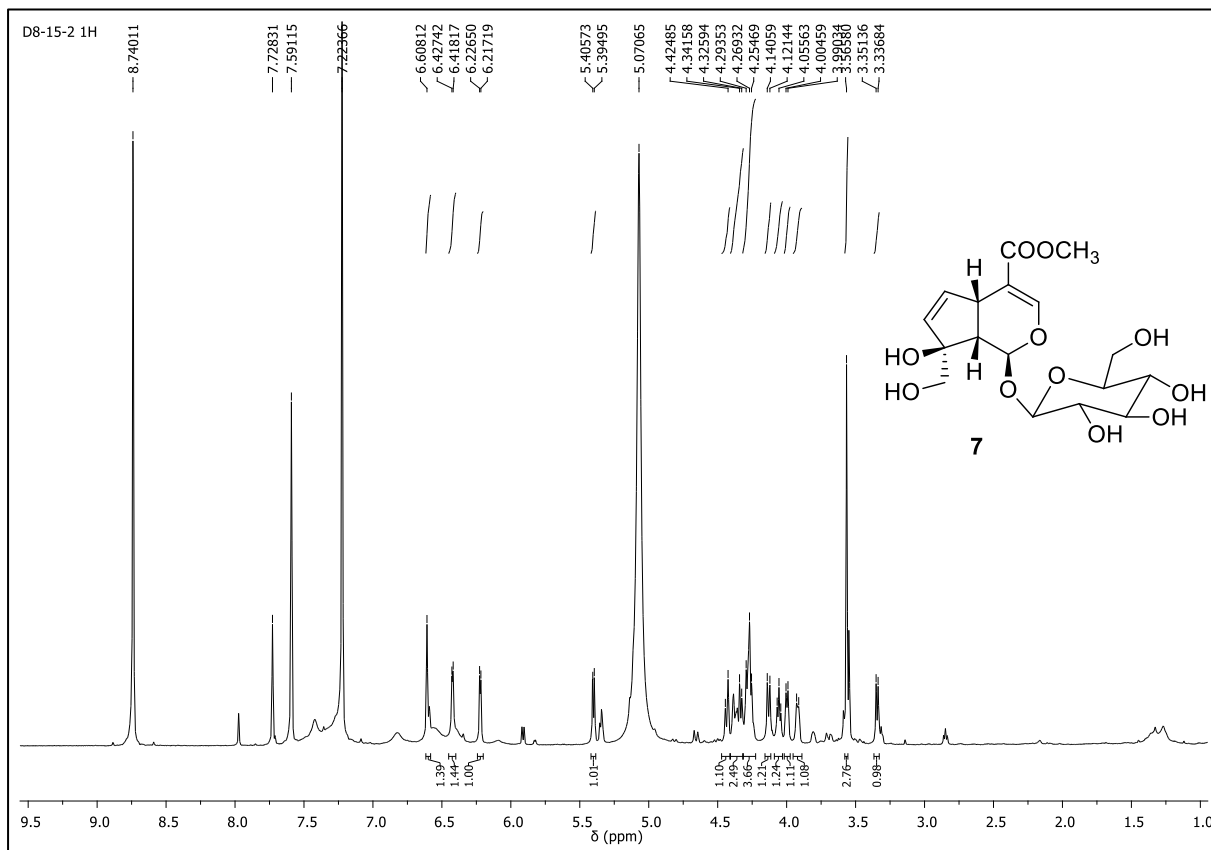


Figura 62. Expansão (δ 3,1-6,7) do espectro de RMN de ^1H de **7** ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 600 MHz)

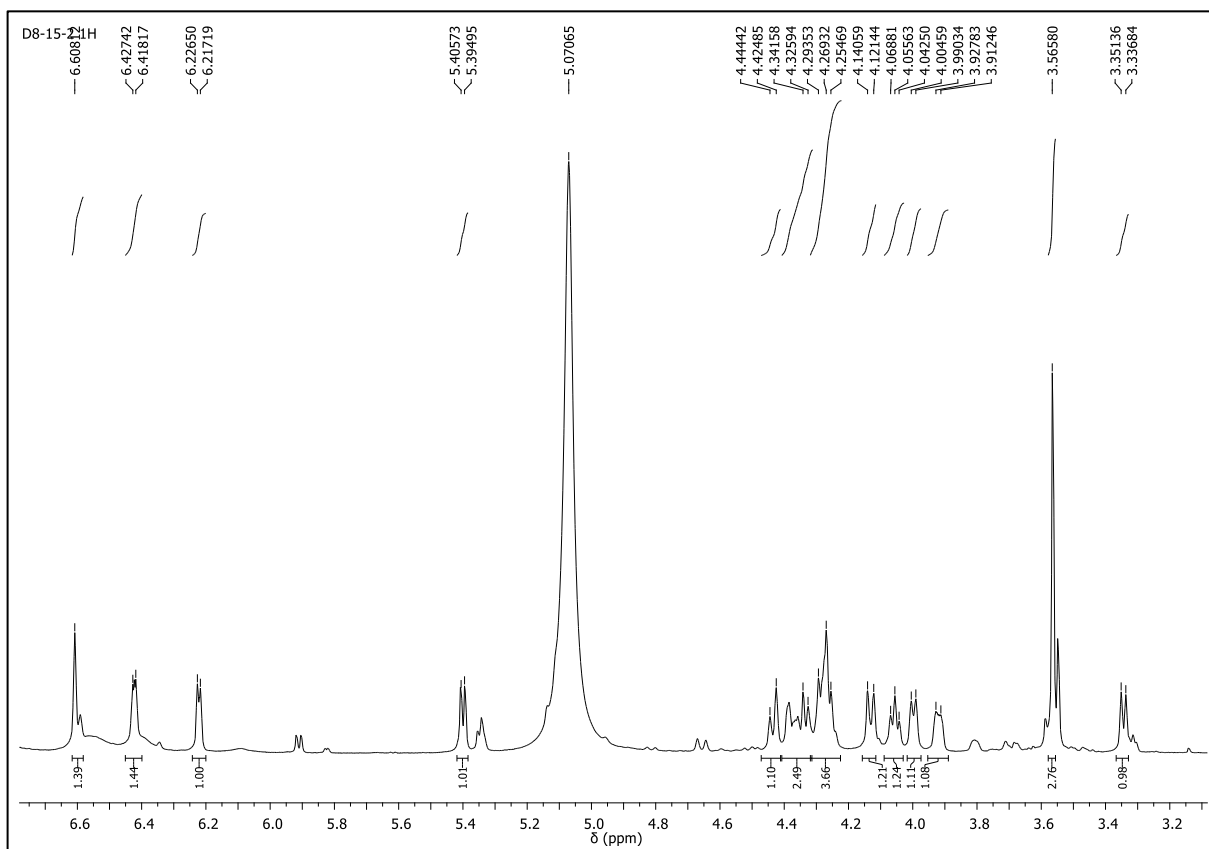


Figura 63. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTQ 135 de **7** ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 100 MHz)

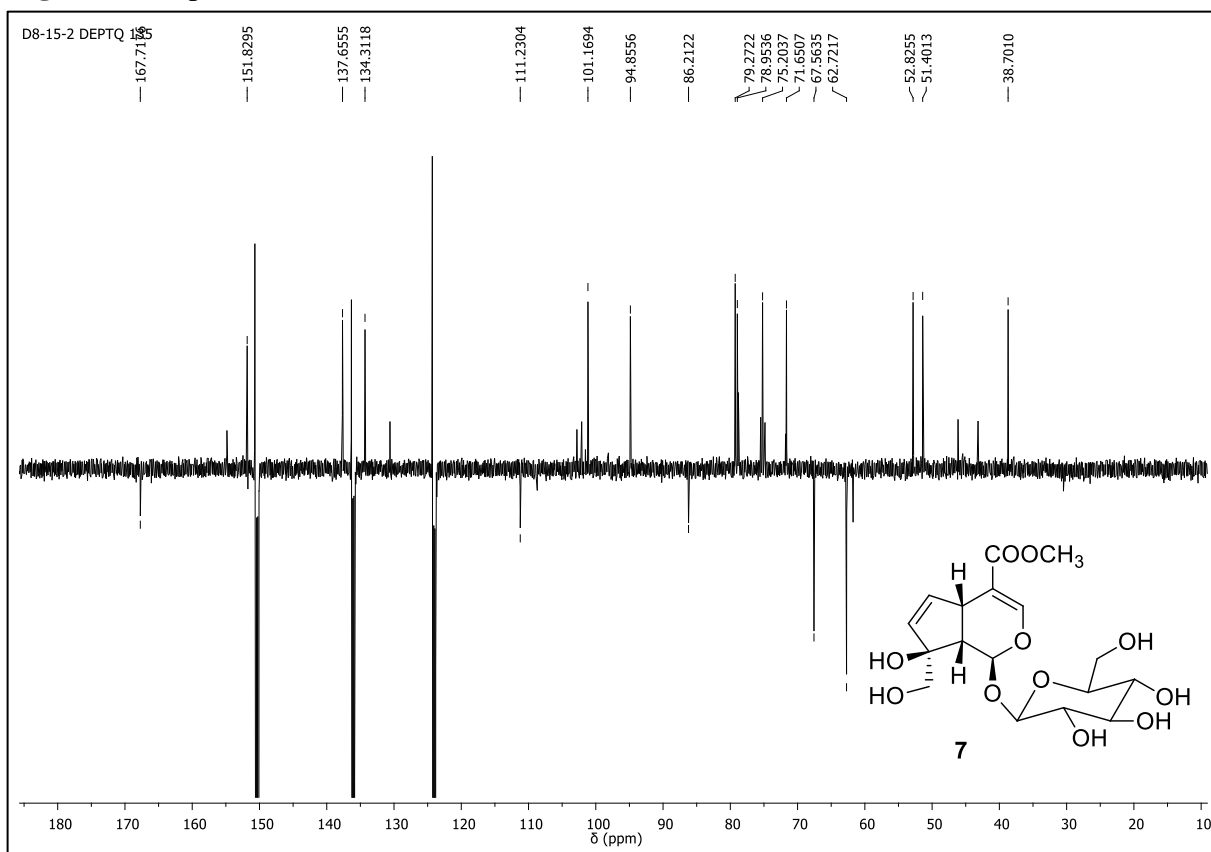


Figura 64. Mapa de contornos gHSQC de **7** ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 600 e 150 MHz)

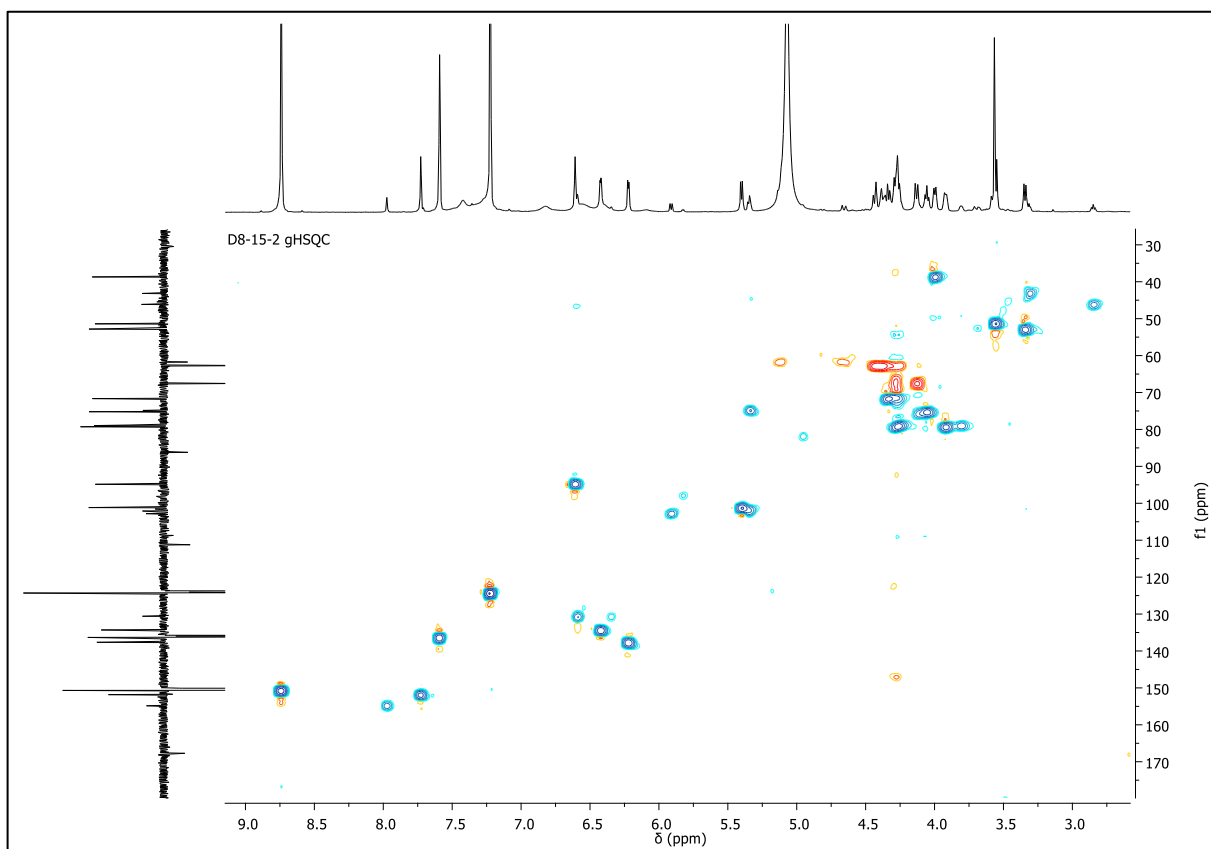


Figura 65. Mapa de contornos gCOSY de **7** (C_5D_5N , 600 MHz)

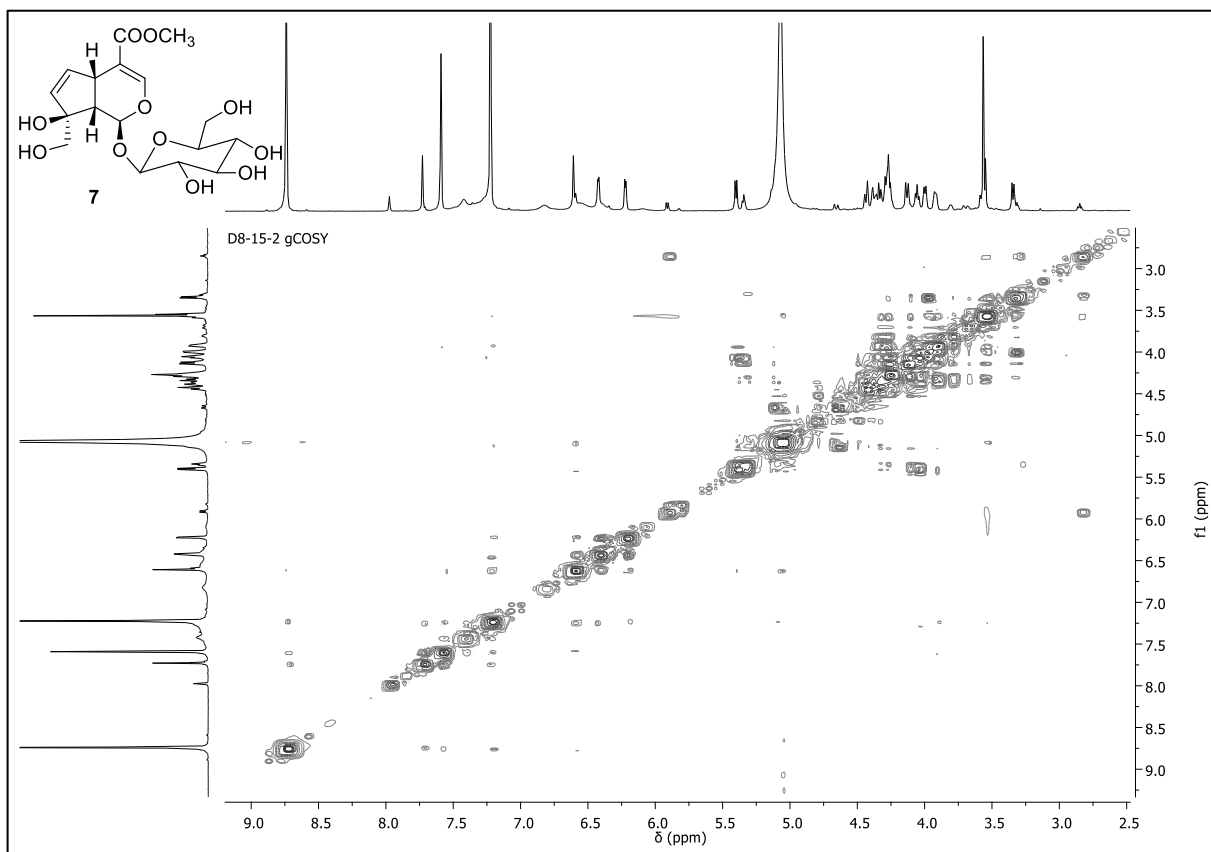


Figura 66. Mapa de contornos gHMBC de **7** (C_5D_5N , 600 e 150 MHz)

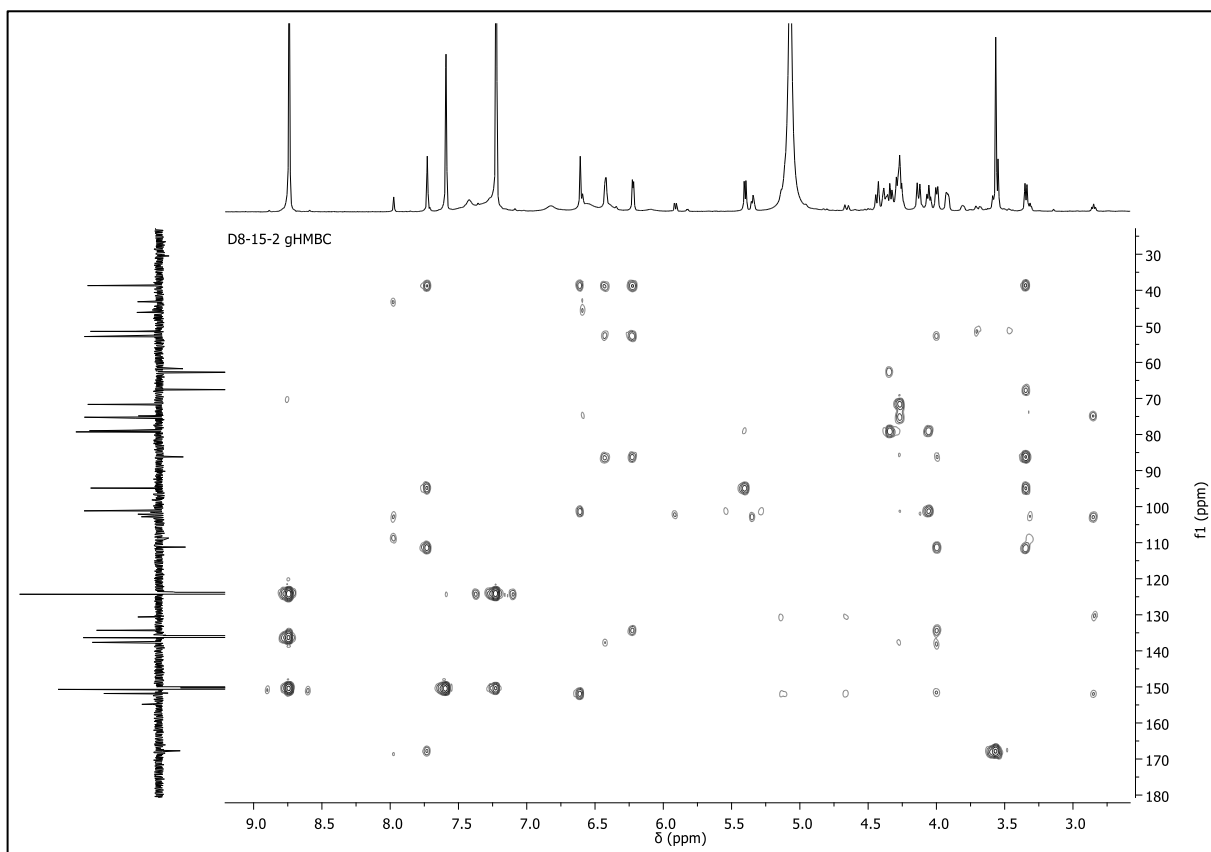


Figura 67. Espectro de RMN de ^1H de **8** ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 600 MHz)

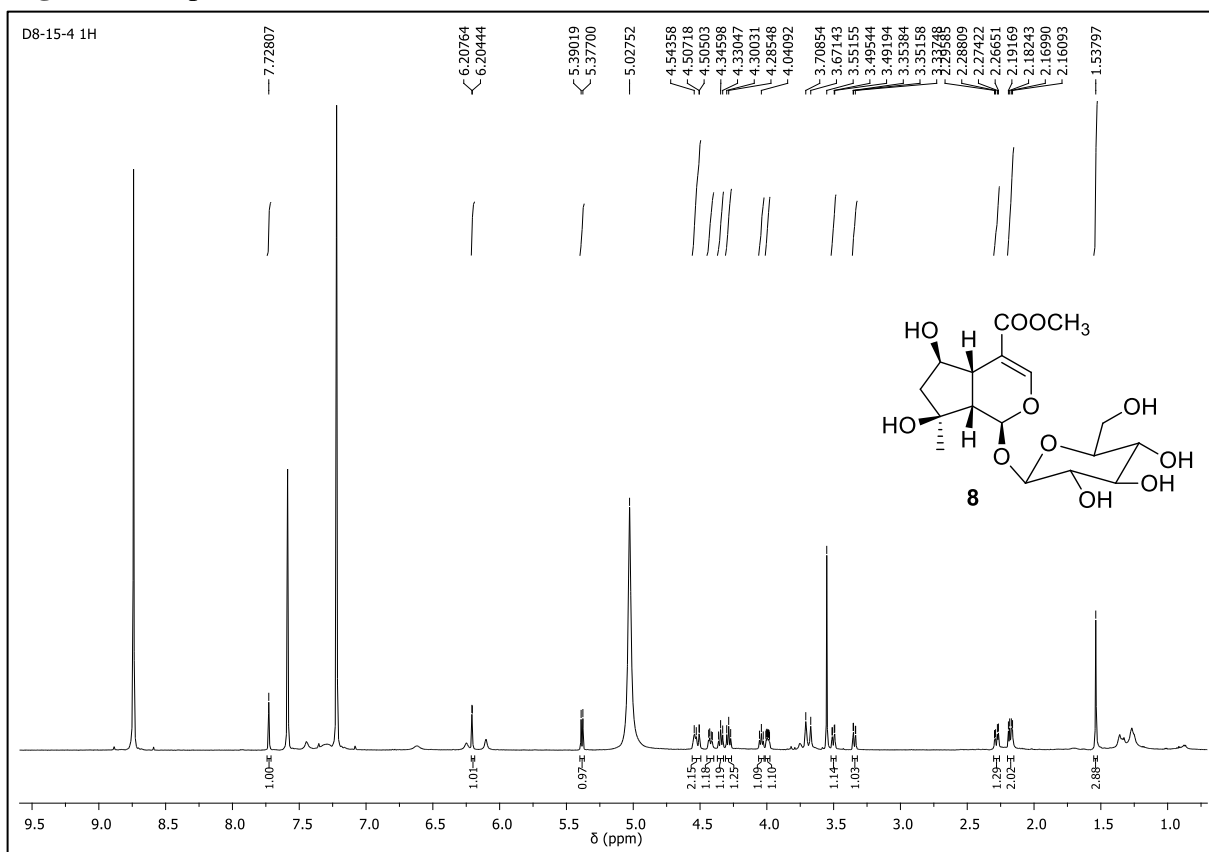


Figura 68. Expansão (δ 2,1-5,5) do espectro de RMN de ^1H de **8** ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 600 MHz)

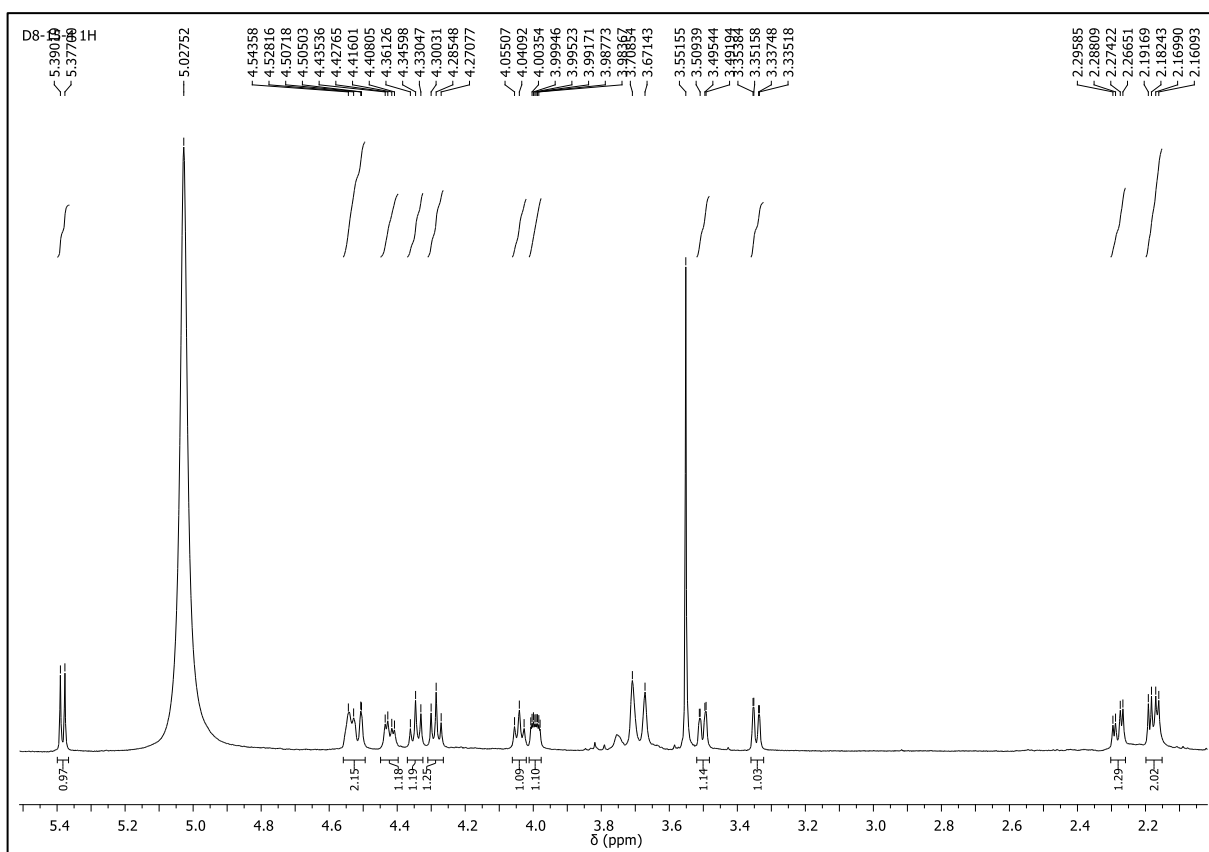


Figura 69. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTQ 135 de **8** ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 100 MHz)

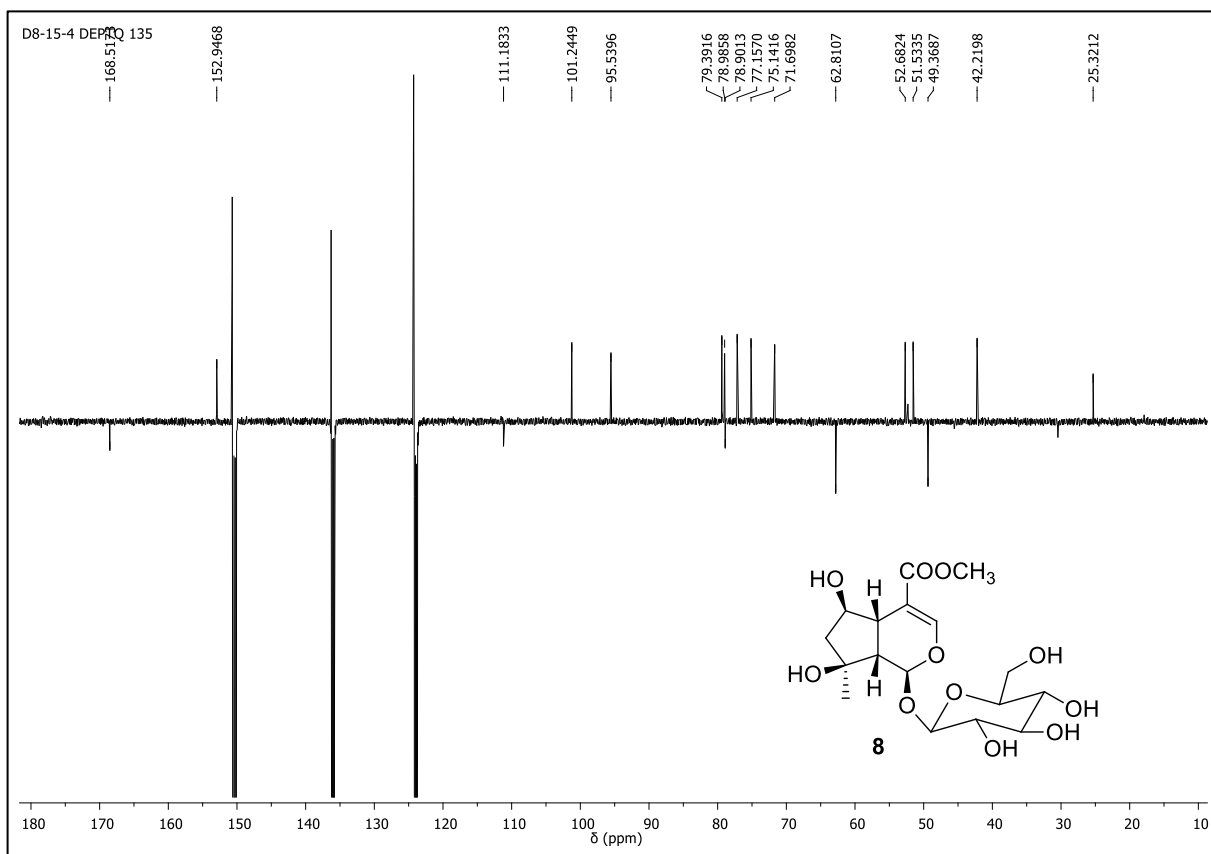


Figura 70. Mapa de contornos gHSQC de **8** ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 600 e 150 MHz)

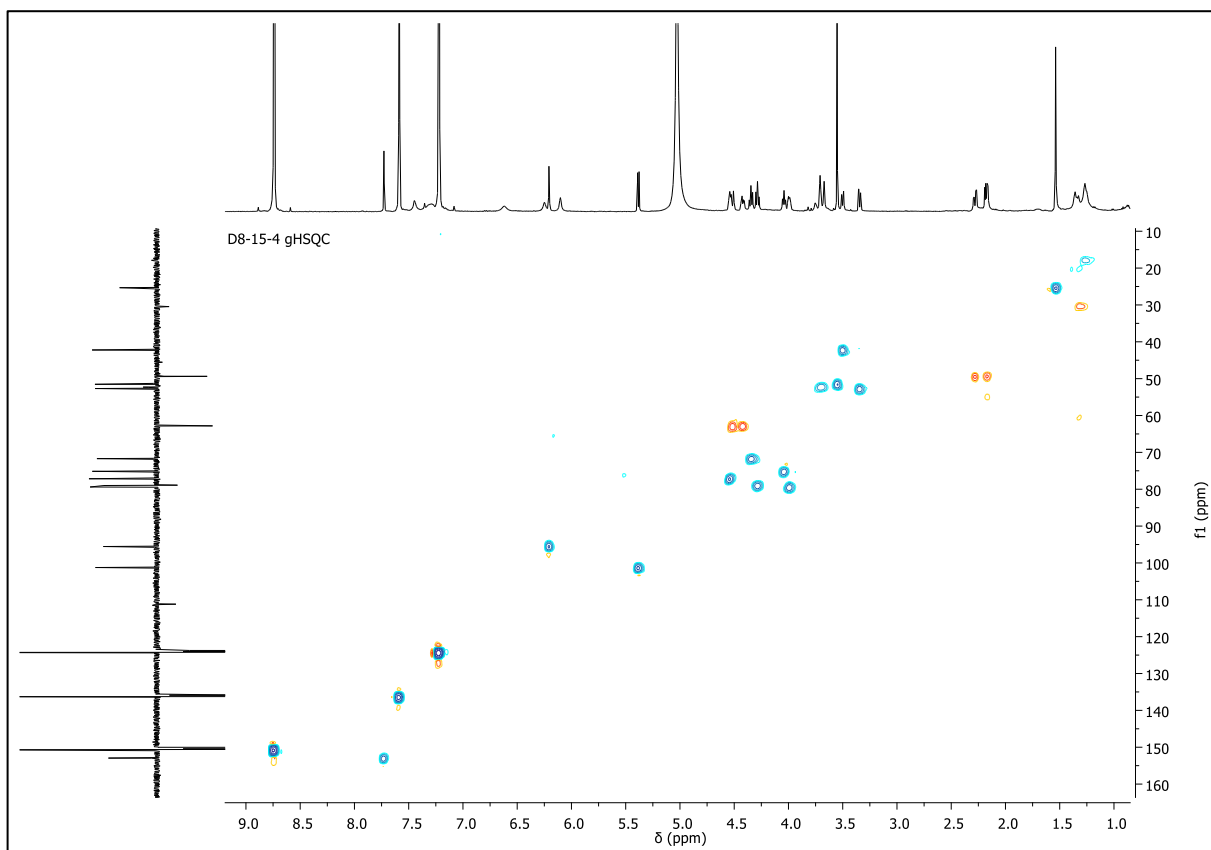


Figura 71. Mapa de contornos gCOSY de **8** (C_5D_5N , 600 MHz)

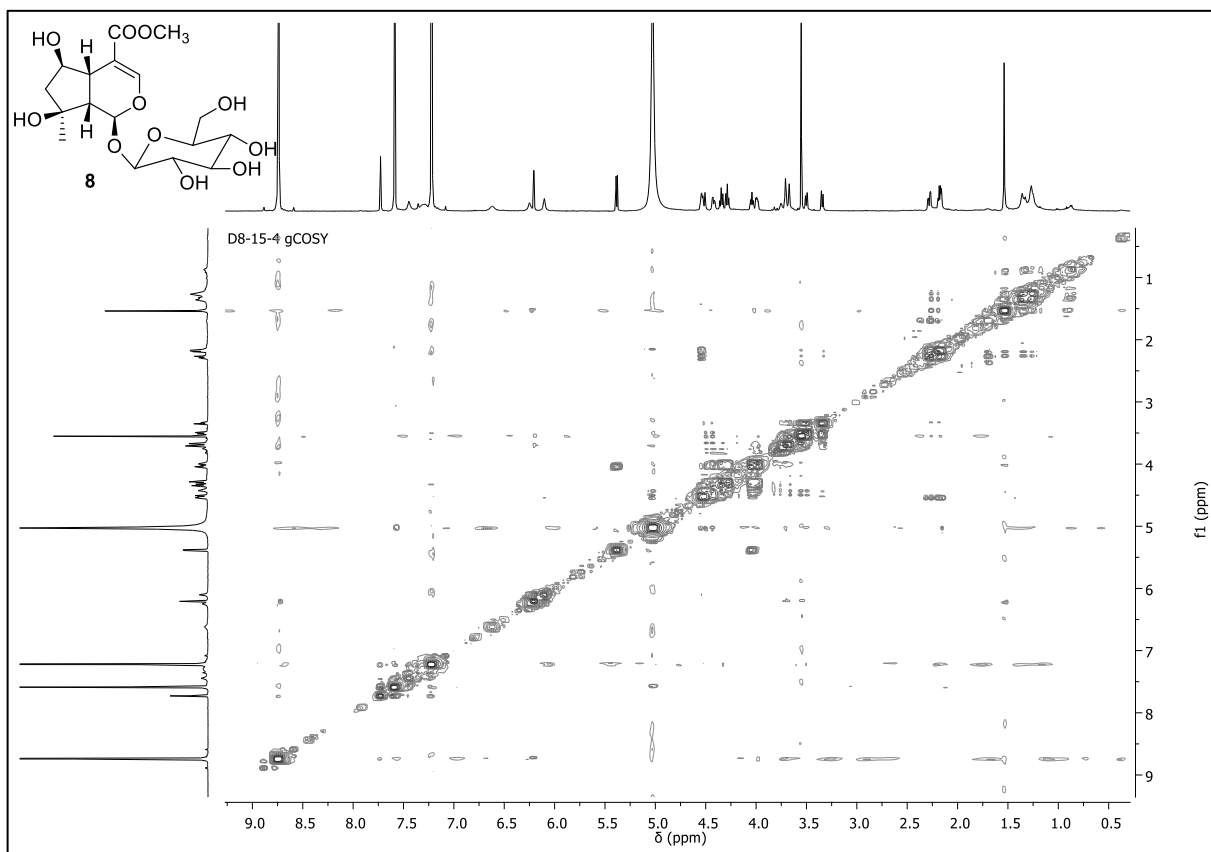


Figura 72. Mapa de contornos gHMBC de **8** (C_5D_5N , 600 e 150 MHz)

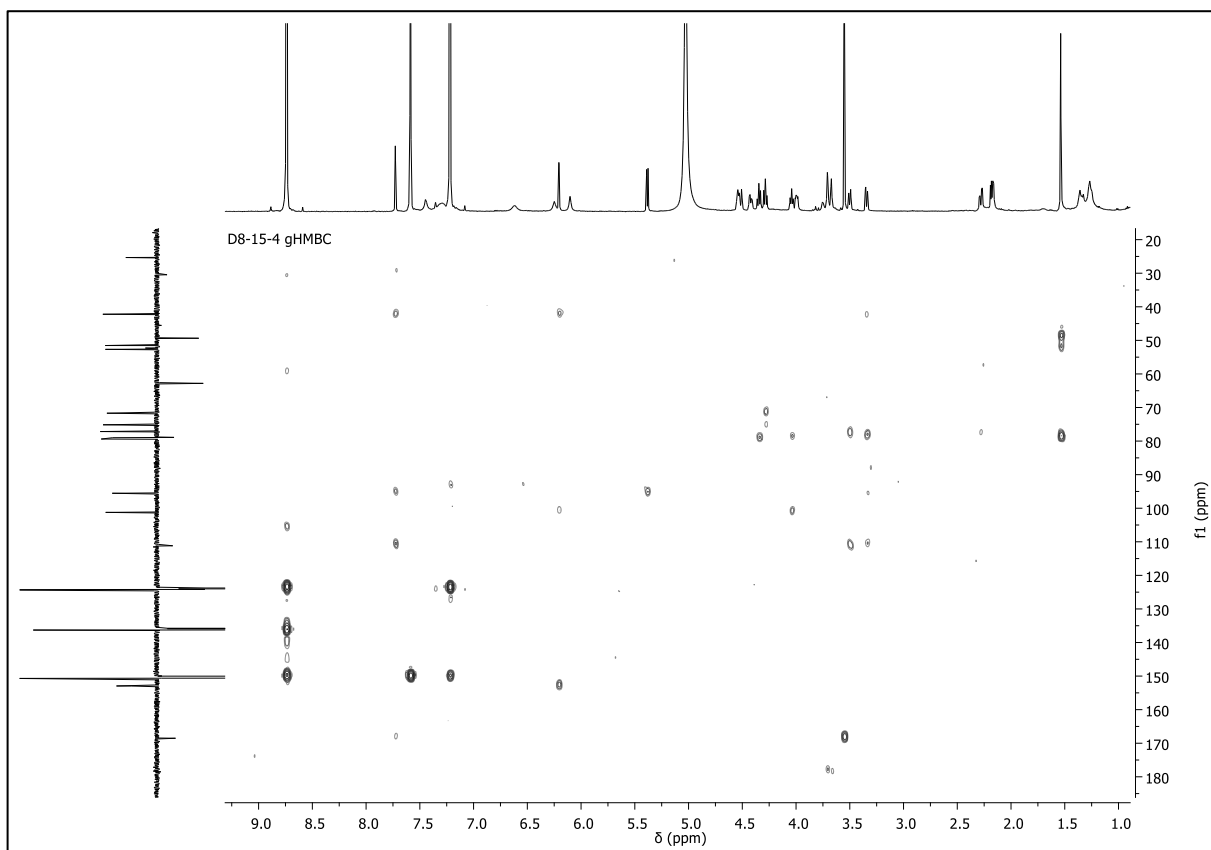


Figura 73. Espectro de RMN de ^1H de **9** ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 600 MHz)

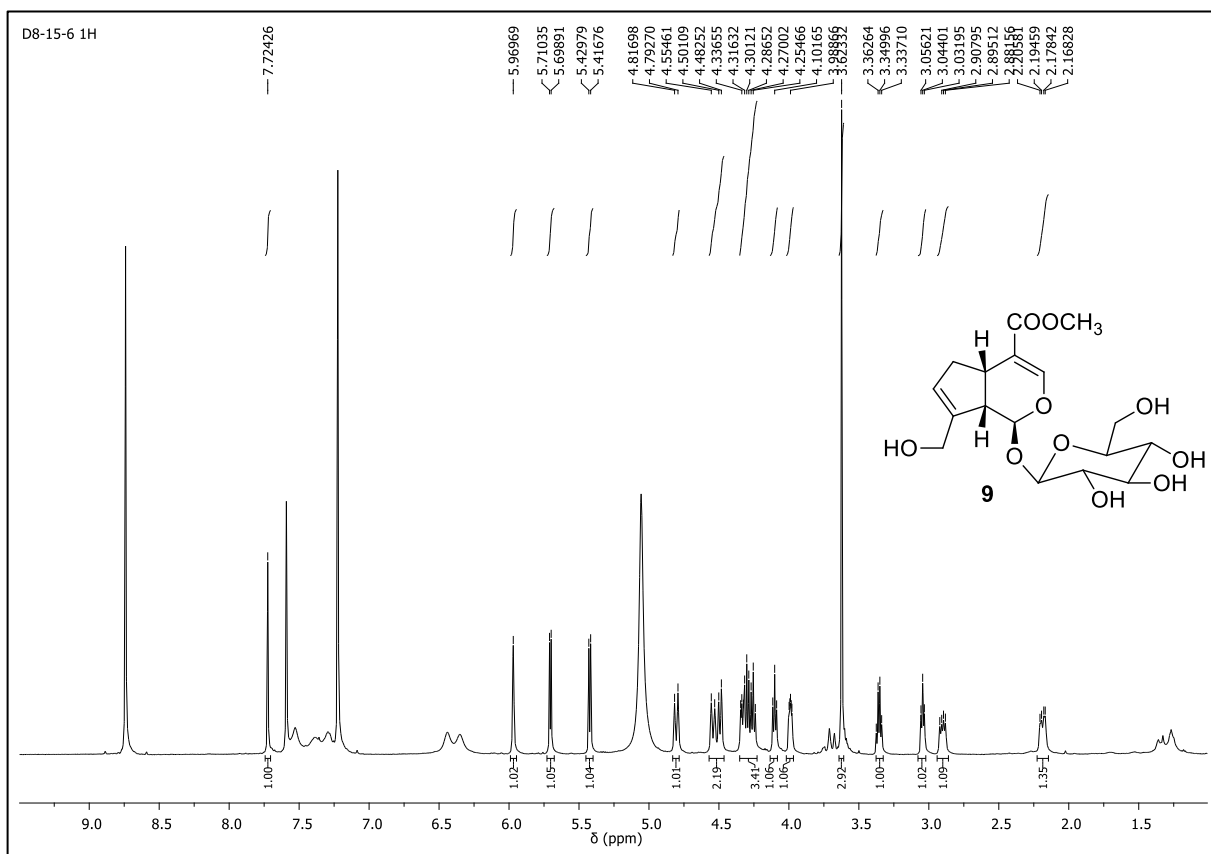


Figura 74. Expansão (δ 2,1-5,8) do espectro de RMN de ^1H de **9** ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 600 MHz)

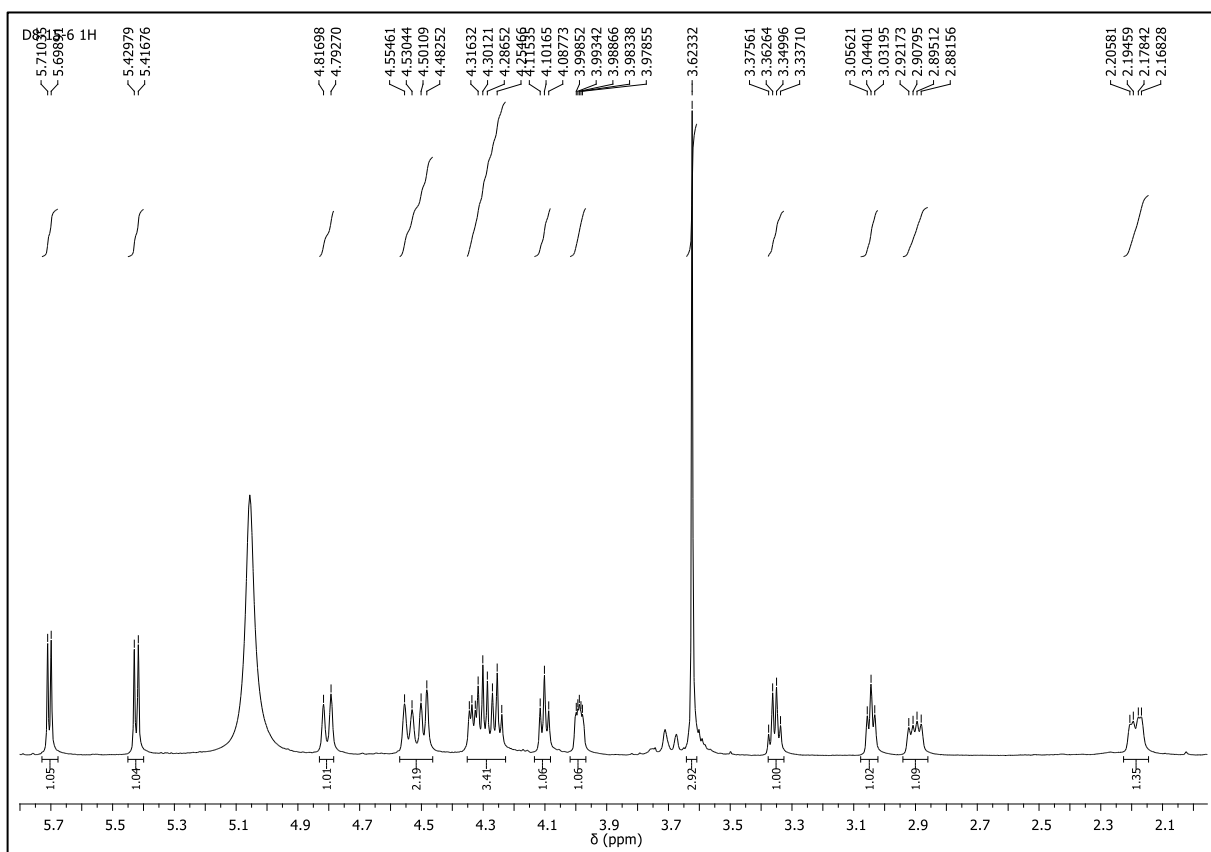


Figura 75. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTQ 135 de **9** ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 100 MHz)

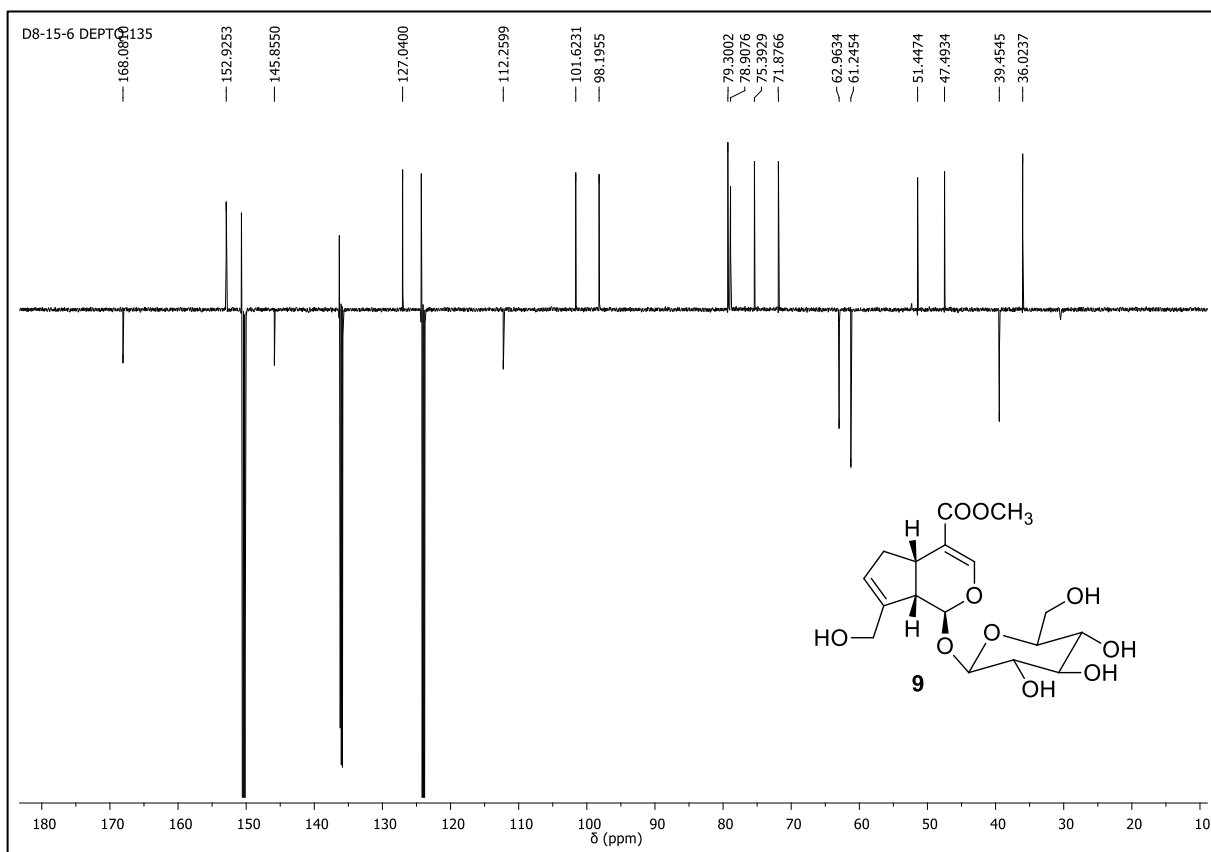


Figura 76. Mapa de contornos gHSQC de **9** ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 600 e 150 MHz)

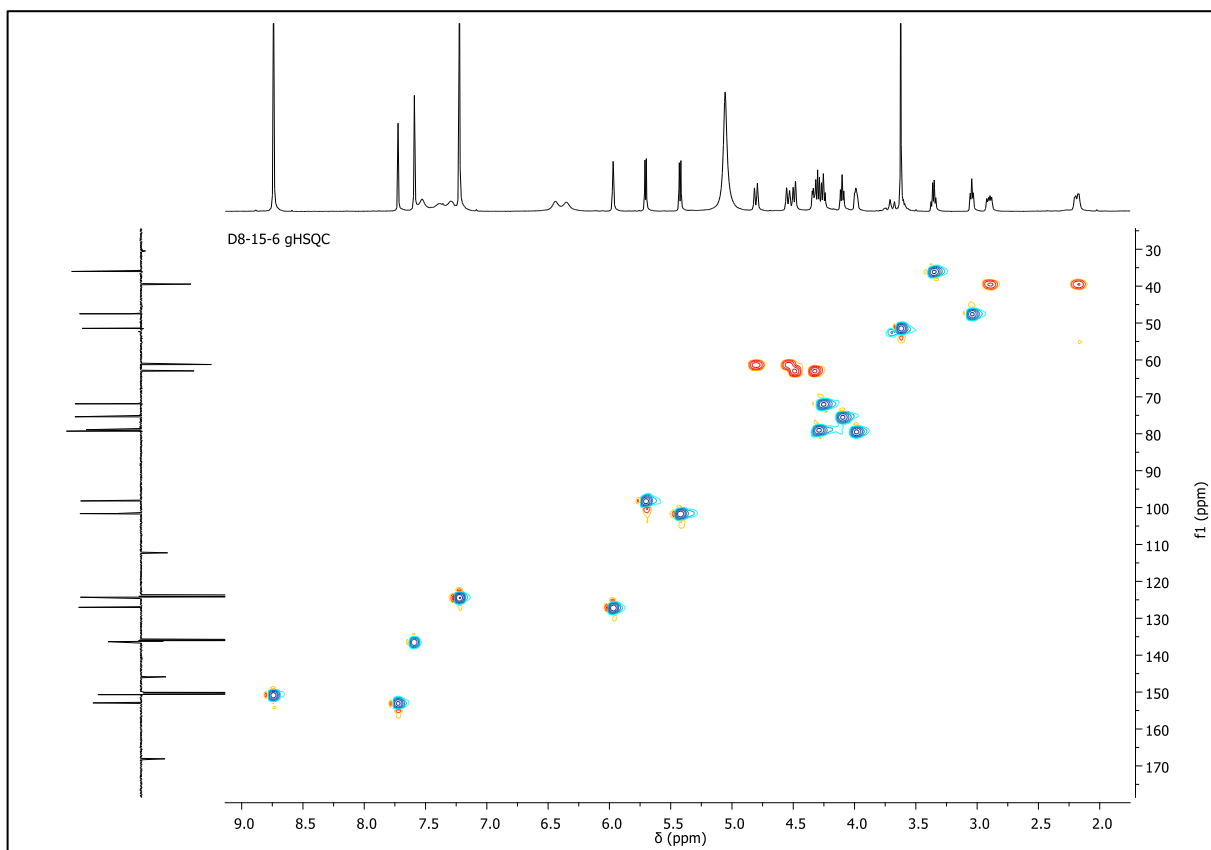


Figura 77. Mapa de contornos gCOSY de **9** (C_5D_5N , 600 MHz)

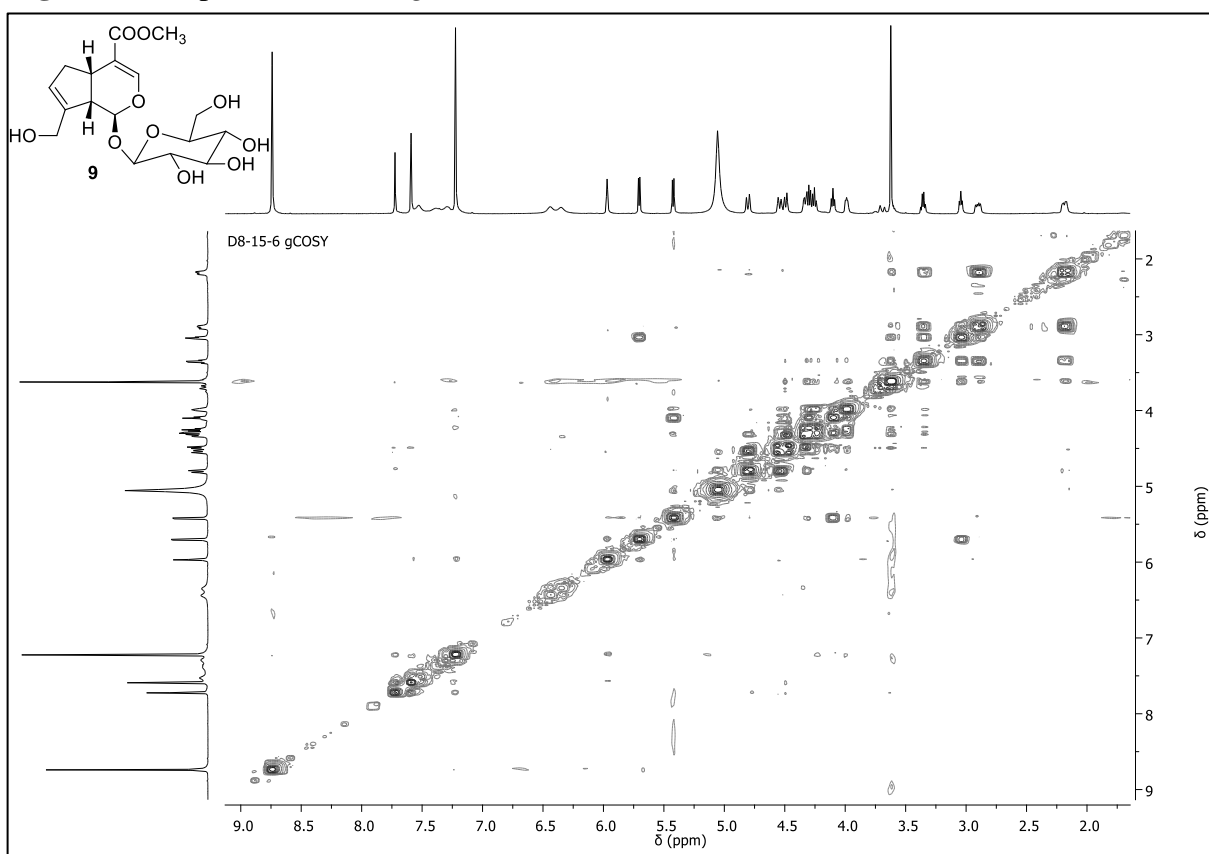
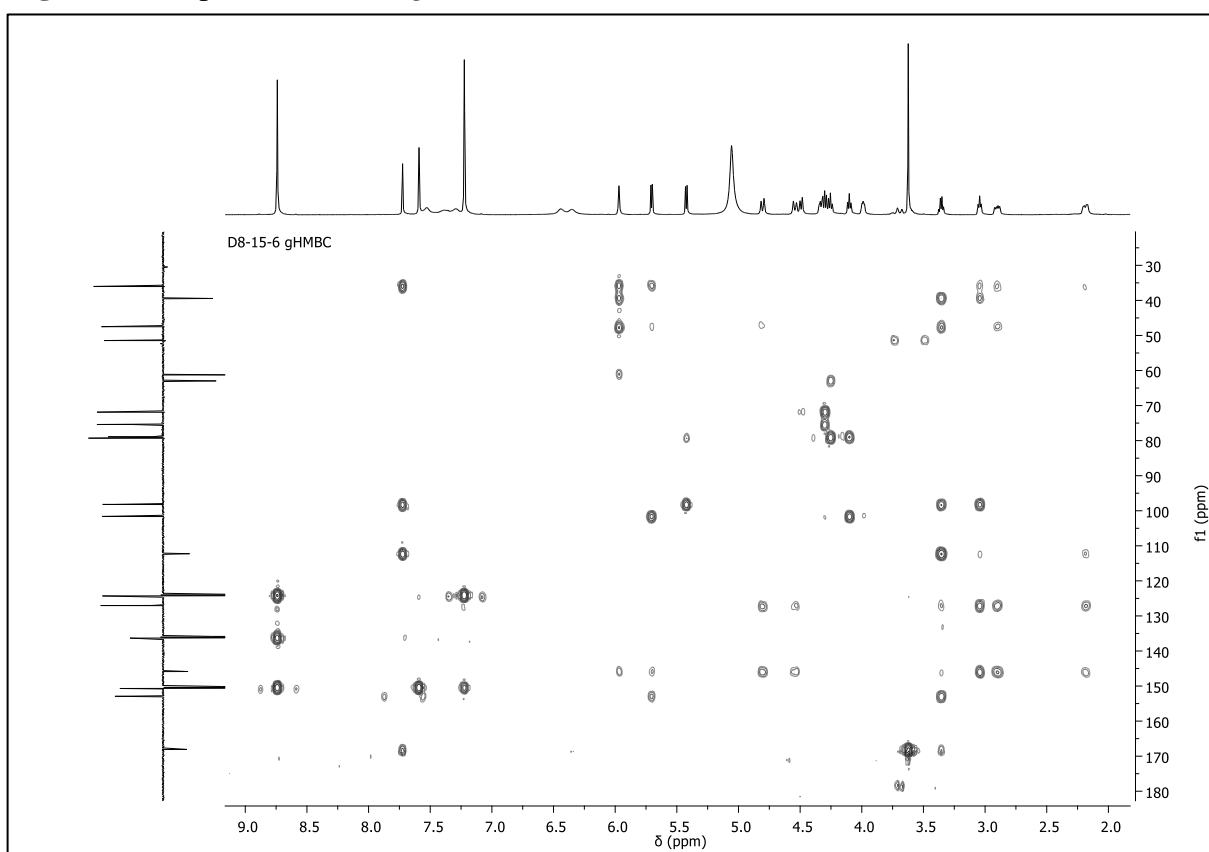
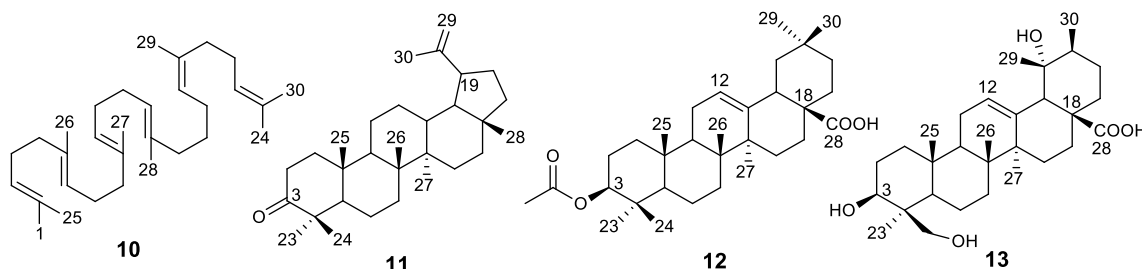


Figura 78. Mapa de contornos gHMBC de **9** (C_5D_5N , 600 e 150 MHz)



5.3.2. Identificação estrutural dos triterpenoides, diterpenoide e esteroides

Triterpenoides



Os compostos **10** (81 mg) e **13** (9,0 mg) foram obtidos do fracionamento cromatográfico em coluna de gel de sílica da fração hexânica do extrato EtOH das folhas (Esquema 12, pag. 55), na forma de um óleo incolor e um sólido branco amorfo, respectivamente.

Os compostos **11** (14,3 mg) e **13** (25,9 mg) foram obtidos do fracionamento cromatográfico em coluna de gel de sílica da fração CHCl₃ do extrato EtOH do caule (Esquema 3, pag. 57), como sólidos amorfos branco.

Os espectros de RMN de ¹H e ¹³C dos compostos **10-13** (Figuras 79-95, Tabela 12) apresentaram um perfil característico de substâncias de natureza isoprênica, evidenciados pela presença nos espectros de RMN de ¹H de simpletos na região de δ 0,51-1,68, característicos de hidrogênios metílicos e, sinais de hidrogênios olefínicos entre δ 4,69-5,25, bem como sinais nos espectros de RMN de ¹³C, de carbonos metílicos entre δ 16,0-33,0 e olefínicos entre δ 109,5-151,0.

O espectro de RMN de ¹H do composto **10** (Figura 79) apresentou simpletos em δ 1,60 (18 H) e 1,68 (6 H) característicos de grupos metílicos em carbonos *sp*², um multipletto em δ 5,12 (6 H) atribuído a hidrogênios olefínicos e dois multiplettos entre δ 1,99 e 2,10 (20H) referentes a hidrogênios de grupos metilênicos alílicos. O espectro de RMN de ¹³C (Figura 80, Tabela 12) apresentou 15 sinais, dos quais os sinais na região de δ 124,3-135,1 são de carbonos olefínicos. A análise do espectro de RMN de ¹³C, juntamente com DEPT 90° e 135° (Figuras 81-82), possibilitou verificar a presença de quatro sinais de carbonos metílicos, cinco metilênicos, três carbonos metínicos olefínicos e três carbonos olefínicos não hidrogenados. Os dados dos espectros de RMN de ¹H e ¹³C comparados com dados da literatura permitiram identificar o composto **10** como o triterpeno esqualeno (FERREIRA et al., 2014), o qual é precursor dos triterpenoides e esteroides (DEWICK, 2009).

Os espectros de RMN de ^1H dos compostos **11-13** (Figuras 83, 88 e 92) apresentaram um perfil característico de triterpenoides, evidenciados pela presença de simpletos entre δ 0,51-1,68, referentes aos hidrogênios dos grupos metílicos. Adicionalmente o composto **11** apresentou dois dupletos em δ 4,69 ($J=2,3$ Hz) e 4,56 ($J=2,4$ Hz), característicos de hidrogênios geminais em esqueleto lupano, atribuídos aos hidrogênios olefínicos H-29a e H-29b, que juntamente com o simpleto em δ 1,68, correspondente aos hidrogênios metílicos H-30, indicam a presença do grupo isoprenila.

Os espectros de RMN de ^1H dos compostos **12** e **13** (Figuras 88 e 92) apresentaram um tripleto em δ 5,25 ($J=3,4$ Hz) e um simpleto largo em δ 5,10 (sl) atribuídos a H-12 de triterpenos com esqueleto olean-12-eno e urs-12-eno respectivamente. Também se observa um multipletto em δ 3,11 para o composto **13** e um tripleto em δ 4,48 ($J=8,4$ Hz) para o composto **12**, típico dos hidrogênios oximetínicos H-3, porém este último encontra-se desblindado, sugerindo que o composto encontra-se esterificado com um grupo acetila na posição C-3, devido a presença do simpleto em δ 2,03 com integração para três hidrogênios, característico de metila de grupo acetila. Para o composto **13** se observa ainda um dupletto em δ_{H} 3,95 ($J=11,0$ Hz) atribuído a um dos hidrogênios (H-24a) do grupo oximetilênico. Não foi observado no espectro de RMN de ^1H o dupletto referente ao hidrogênio H-24b, provavelmente porque está encoberto pelo sinal da água presente no solvente ($\delta\sim 4,2$).

A análise dos espectros de RMN de ^{13}C , incluindo DEPT 90° e 135° (Figuras 86-87, 90-91 e 94-95) permitiu verificar a presença de 30, 32 e 30 sinais de carbonos para os compostos **11**, **12** e **13** respectivamente (OLEA e ROQUE, 1990). Os pares sinais de carbonos olefínicos em δ 109,5 (C-29)/151,0 (C-20), δ 122,5 (C-12)/143,6 (C-13) e δ 128,3 (C-12)/138,0 (C-13) evidenciam triterpenóides com esqueletos lup-20(29)-eno, olean-12-eno e urs-12-eno em **11**, **12** e **13** respectivamente. Para estes compostos foram observados também sinais de carbonila de cetona em δ 218,4 (C-3; **11**), carbonilas de ácido em δ 184,0 (C-28; **12**) e 180,7 (C-28; **13**). Para o composto **12**, o sinal desblindado em δ_{C} 80,9 (C-3), juntamente com o sinal da carbonila em δ_{C} 171,0 e do grupo metila em δ_{C} 21,3 confirmam a presença do grupo acetila na posição C-3. Para o composto **13**, foram observados os sinais em δ 80,1, 72,7 e 64,1 atribuídos aos carbonos oximetínico (C-3), carbinólico (C-19) e oximetilênico (C-24), respectivamente.

Os dados de RMN de ^1H e ^{13}C obtidos para os compostos **11-13**, comparados com os relatados na literatura (OLEA e ROQUE, 1990; JO et al., 2005; AMIMOTO, YOSHIKAWA

e ARIHARA, 1993) permitiram identificar os triterpenoides lupenona (**11**), ácido acetiloleanólico (**12**) e ácido rotungênico (**13**).

Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C do composto **13** foram obtidos em $\text{CDCl}_3+\text{CD}_3\text{OD}$, entretanto, nas bases de dados pesquisadas, só foram encontrados dados de RMN para este composto em piridina- d_5 . Dessa forma, é possível observar na Tabela 12, diferença nos valores de deslocamentos químicos dos sinais de carbono do composto **13** e do ácido rotungênico relatado na literatura (AMIMOTO, YOSHIKAWA e ARIHARA, 1993), porém a diferença em sua maioria não ultrapassa 1,0 ppm, de forma que não compromete a inequívoca identificação.

Tabela 12. Dados de RMN de ^{13}C dos compostos **10-12** (CDCl_3 , 100 MHz) e **13** ($\text{CDCl}_3+\text{CD}_3\text{OD}$, 100 MHz)

Deslocamento químico δ (ppm)								
C	6	Esqualeno [†]	7	Lupenona [‡]	8	Ácido acetil oleanólico [§]	9	Ácido rotungênico [§]
1	25,7	25,8	39,8	39,7	38,0	38,1	38,0	38,8
2	131,2	131,4	34,3	34,0	23,5	23,5	28,0	28,4
3	124,4	124,5	218,4	217,0	80,9	81,0	80,1	80,2
4	26,8	26,9	47,5	47,3	37,7	37,7	42,0	43,2
5	39,8	39,9	55,1	55,0	55,3	55,3	55,5	56,4
6	135,1	135,3	19,8	19,8	18,1	18,2	18,3	19,2
7	124,3	124,5	33,8	33,6	32,5	32,6	32,8	33,9
8	26,7	26,8	41,0	40,9	39,2	39,3	39,6	40,4
9	39,9	39,9	49,9	49,8	47,5	47,6	47,1	47,8
10	134,9	135,1	37,1	37,0	36,9	37,0	36,4	37,1
11	124,3	124,5	21,6	21,4	23,4	22,9	23,6	24,3
12	28,3	28,4	25,3	25,1	122,5	122,6	128,3	127,9
13	28,3	28,4	38,3	38,3	143,6	143,6	138,0	139,9
14	124,3	124,5	43,1	43,0	41,5	41,6	41,0	42,4
15	134,9	135,1	27,6	27,4	27,7	27,7	26,9	29,3
16	39,8	39,9	35,7	35,6	22,8	23,4	25,2	26,4
17	26,7	26,8	43,2	43,0	46,5	46,6	47,4	48,3
18	124,3	124,5	48,4	48,2	40,9	41,0	53,1	54,6

Tabela 12. Continuação

19	135,1	135,3	48,1	47,9	45,8	45,9	72,7	72,7
20	39,8	39,9	151,0	150,5	30,6	30,7	41,1	42,1
21	26,8	26,9	29,9	29,9	33,7	33,8	25,8	26,9
22	124,4	124,6	40,1	40,0	32,4	32,5	37,3	37,5
23	131,2	131,4	26,8	26,7	28,0	28,1	23,9	23,6
24	25,7	25,8	21,2	21,1	16,6	15,4	64,1	64,6
25	17,7	17,8	15,9	15,8	15,4	16,7	15,5	16,0
26	16,0	16,1	16,2	16,0	17,1	17,2	15,6	17,1
27	16,0	16,1	14,6	14,6	25,9	25,9	22,1	24,6
28	16,0	16,1	18,2	18,1	184,0	183,3	180,7	180,6
29	16,0	16,1	109,5	109,6	33,0	33,1	26,5	27,1
30	17,7	17,8	19,5	19,4	23,5	23,6	16,1	16,8
1'	-	-	-	-	171,0	171,0	-	-
2'	-	-	-	-	21,3	21,3	-	-

[†]Dados obtidos em CDCl₃ de FERREIRA et al., 2014

[‡]Dados obtidos em CDCl₃ de OLEA e ROQUE, 1990

[§]Dados obtidos em CDCl₃ de JO et al., 2005

[§]Dados obtidos em C₅D₅N de AMIMOTO, YOSHIKAWA e ARIHARA, 1993

Figura 79. Espectro de RMN de ^1H de **10** (CDCl_3 , 400 MHz)

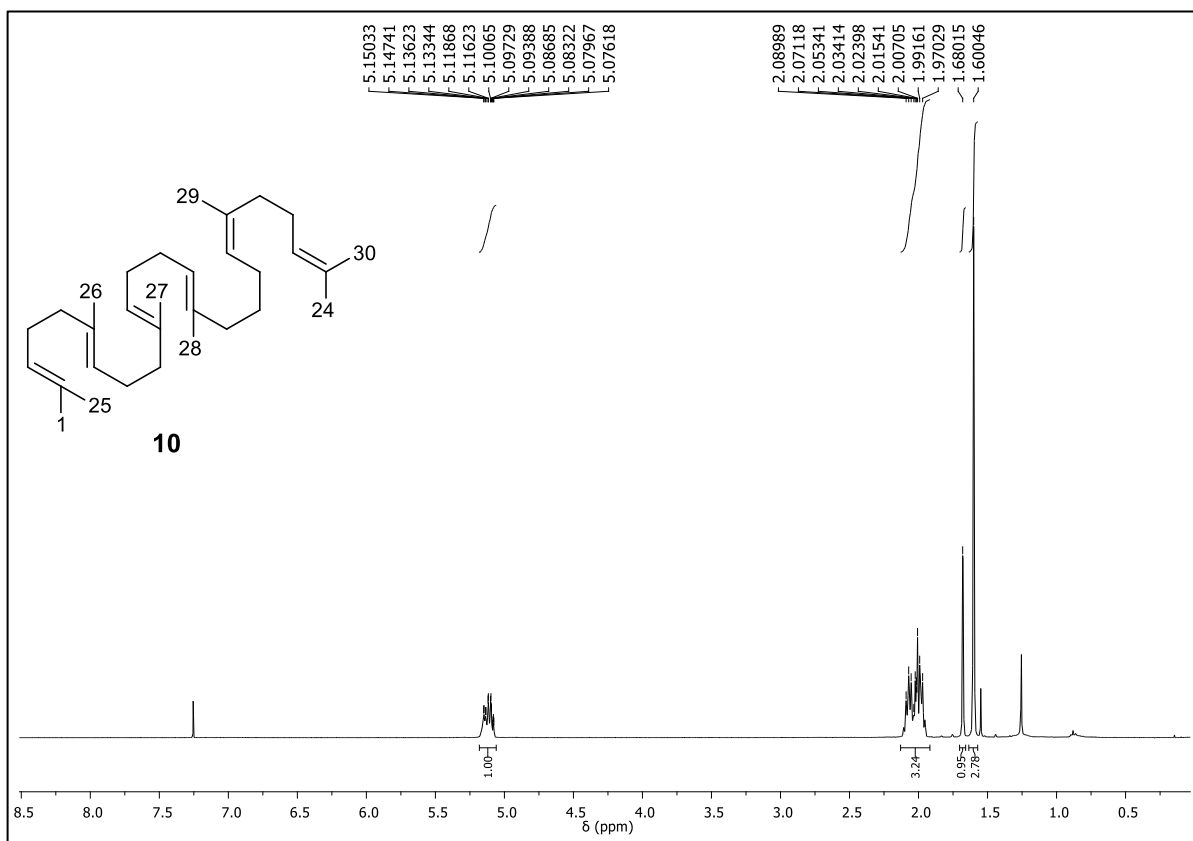


Figura 80. Espectro de RMN de ^{13}C de **10** (CDCl_3 , 100 MHz)

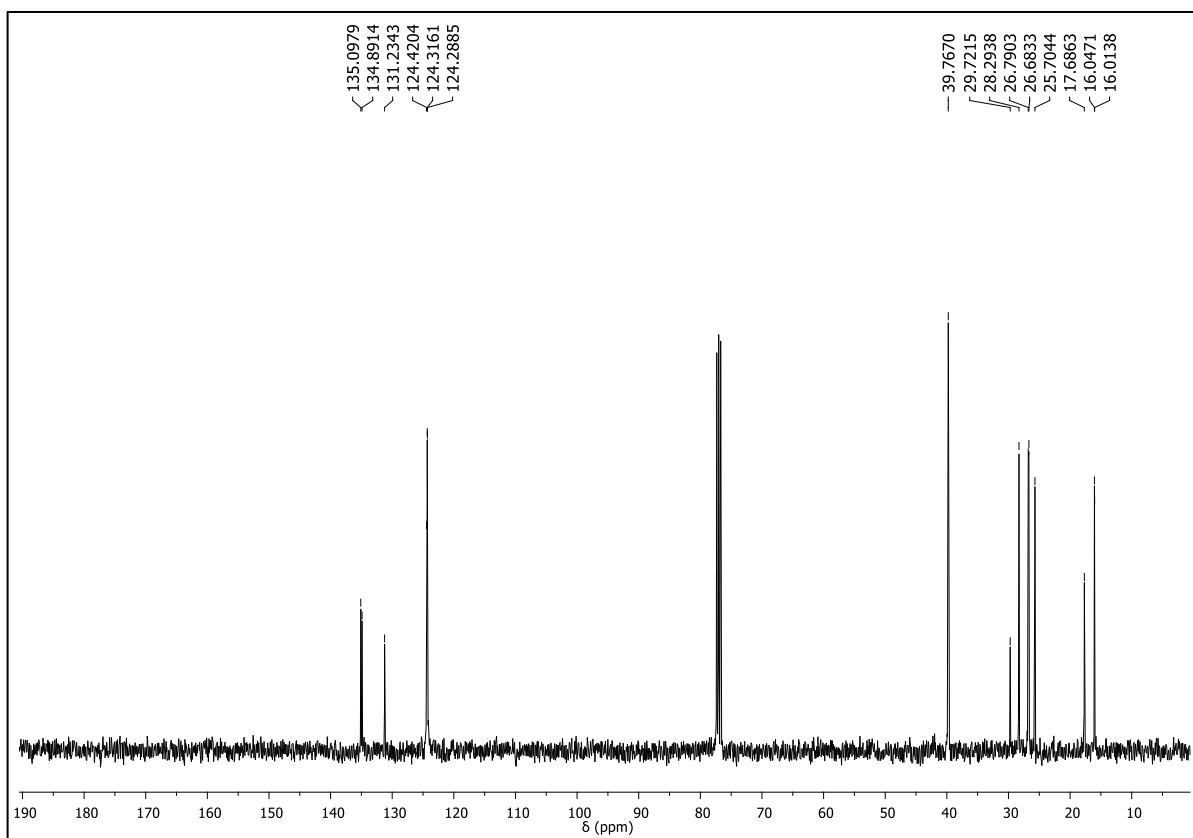


Figura 81. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 90° de **10** (CDCl_3 , 100 MHz)

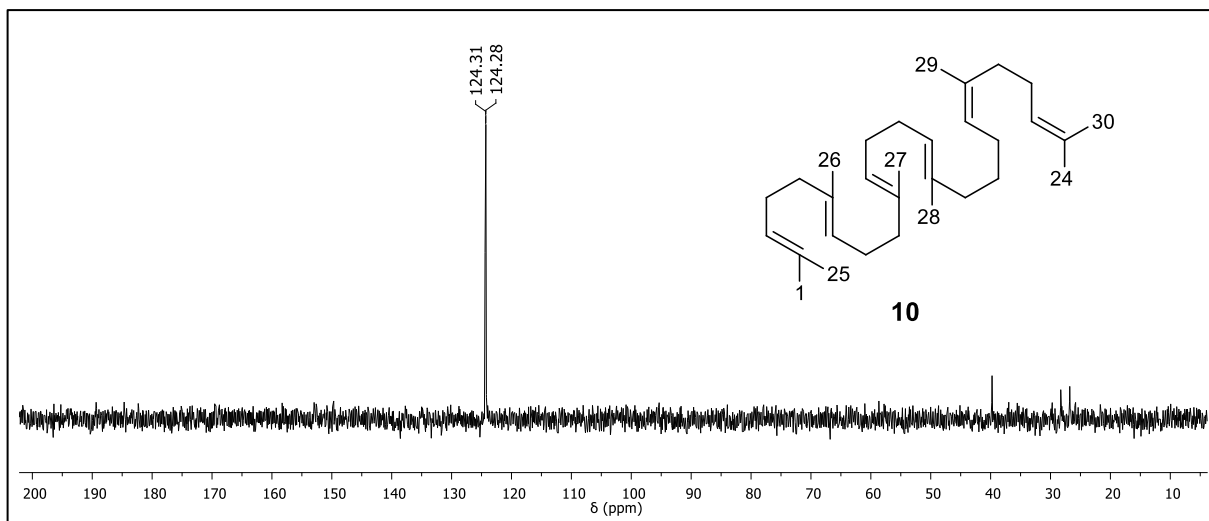


Figura 82. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° de **10** (CDCl_3 , 100 MHz)

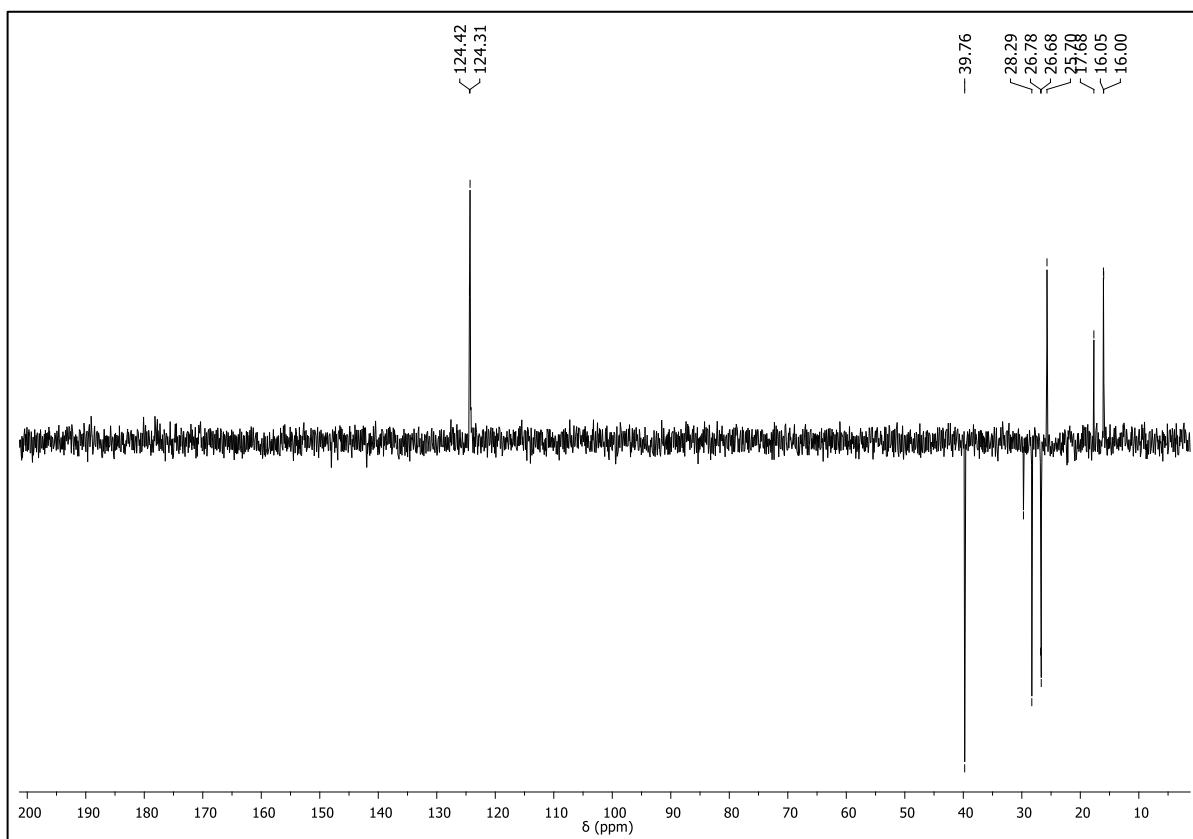


Figura 83. Espectro de RMN de ^1H de **11** (CDCl_3 , 400 MHz)

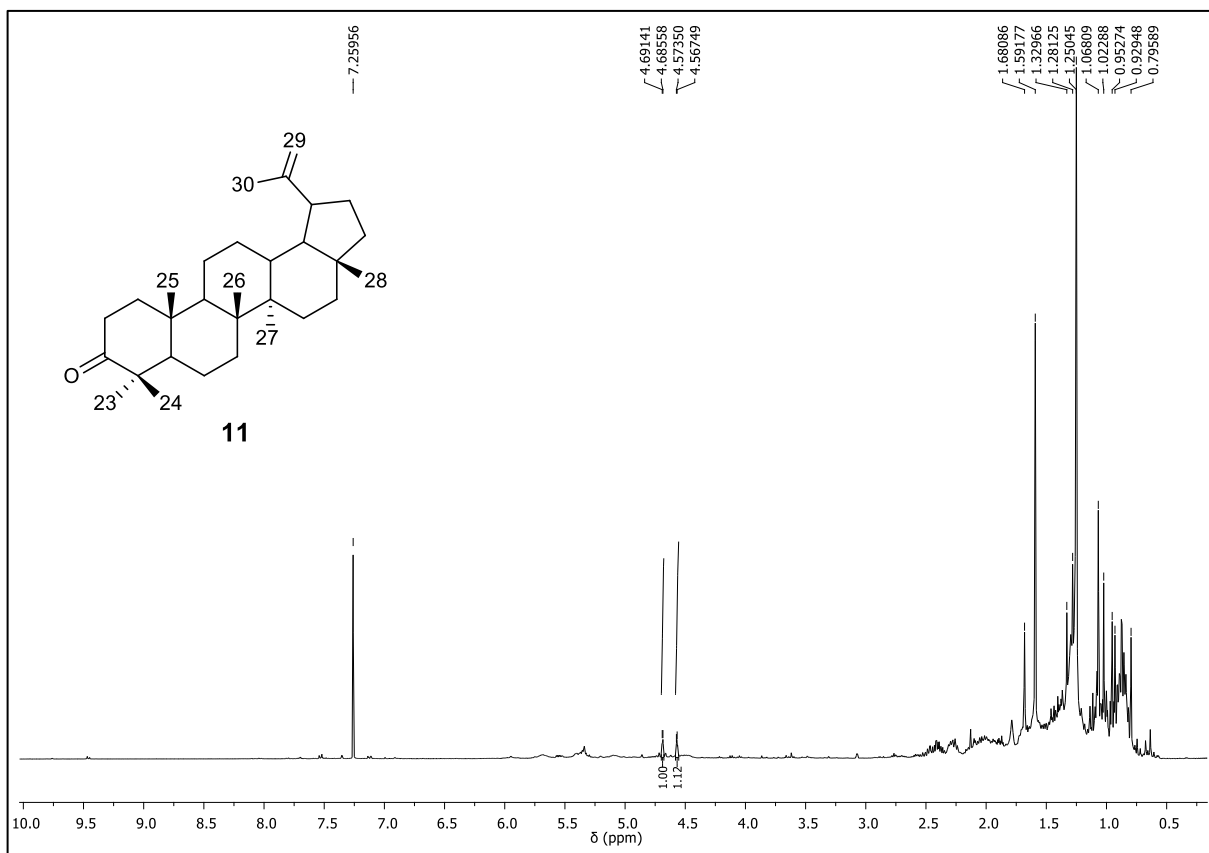


Figura 84. Espectro de RMN de ^{13}C de **11** (CDCl_3 , 100 MHz)

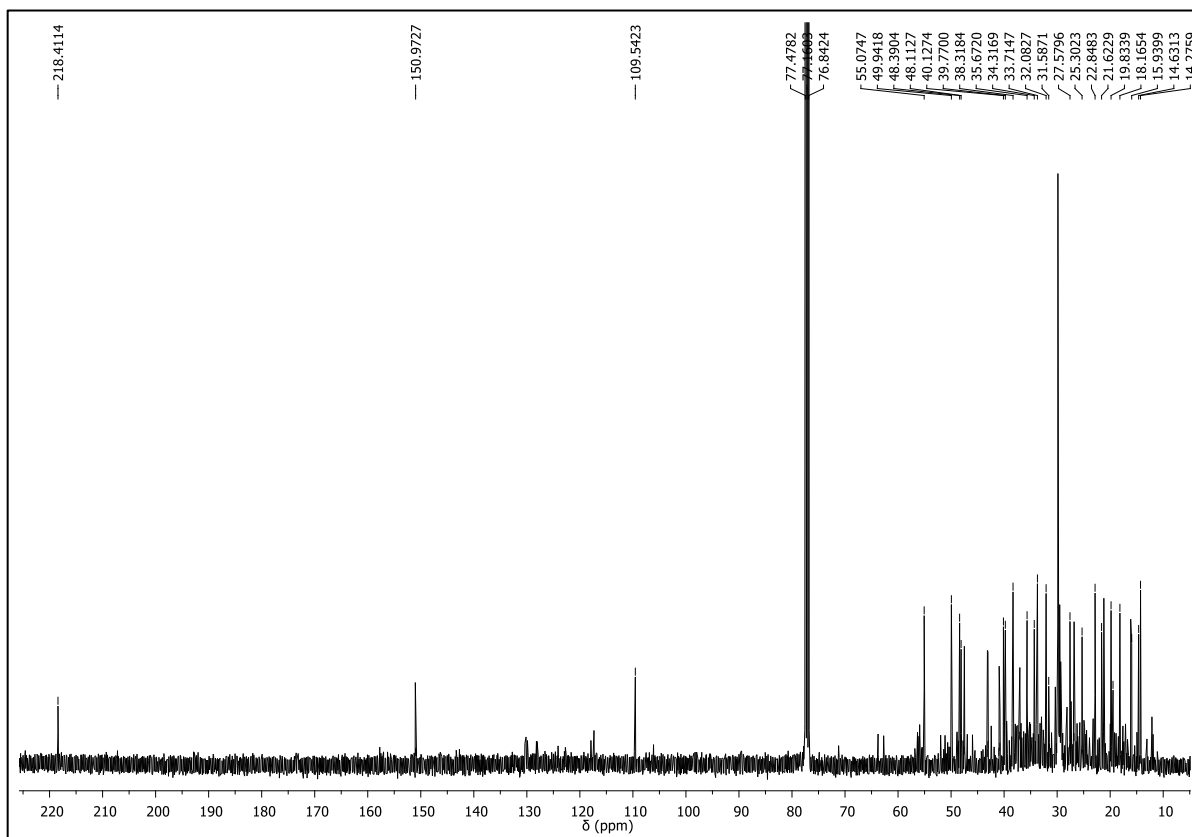


Figura 85. Expansão (δ 12-59) do espectro de RMN de ^{13}C de **11** (CDCl_3 , 100 MHz)

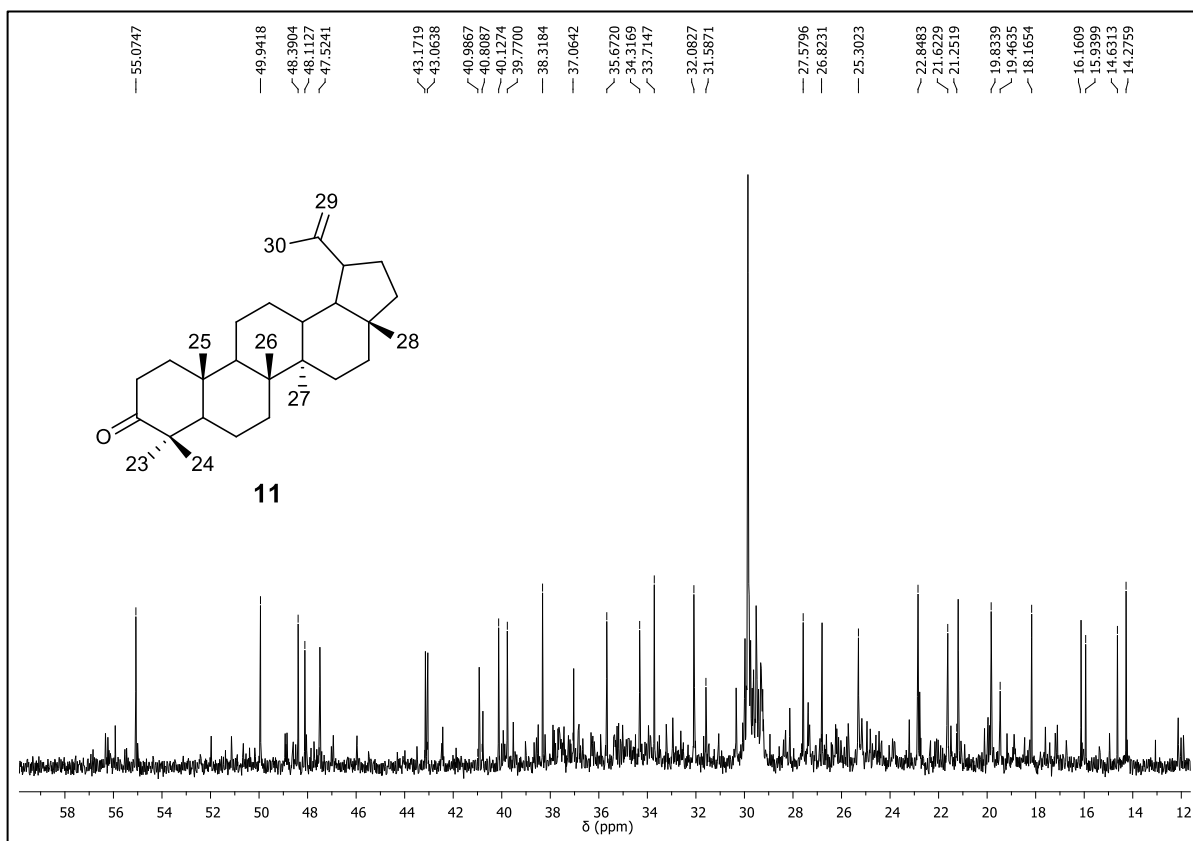


Figura 86. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 90° de **11** (CDCl_3 , 100 MHz)

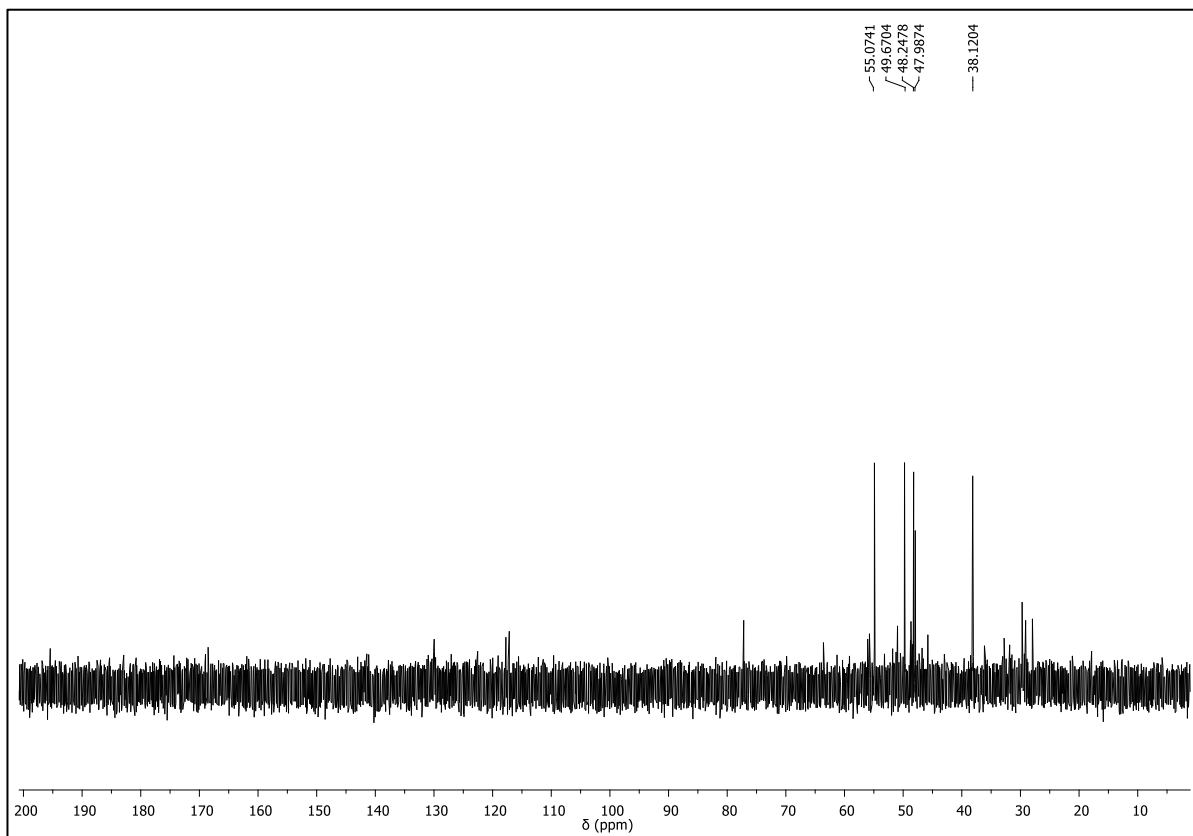


Figura 87. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° de **11** (CDCl_3 , 100 MHz)

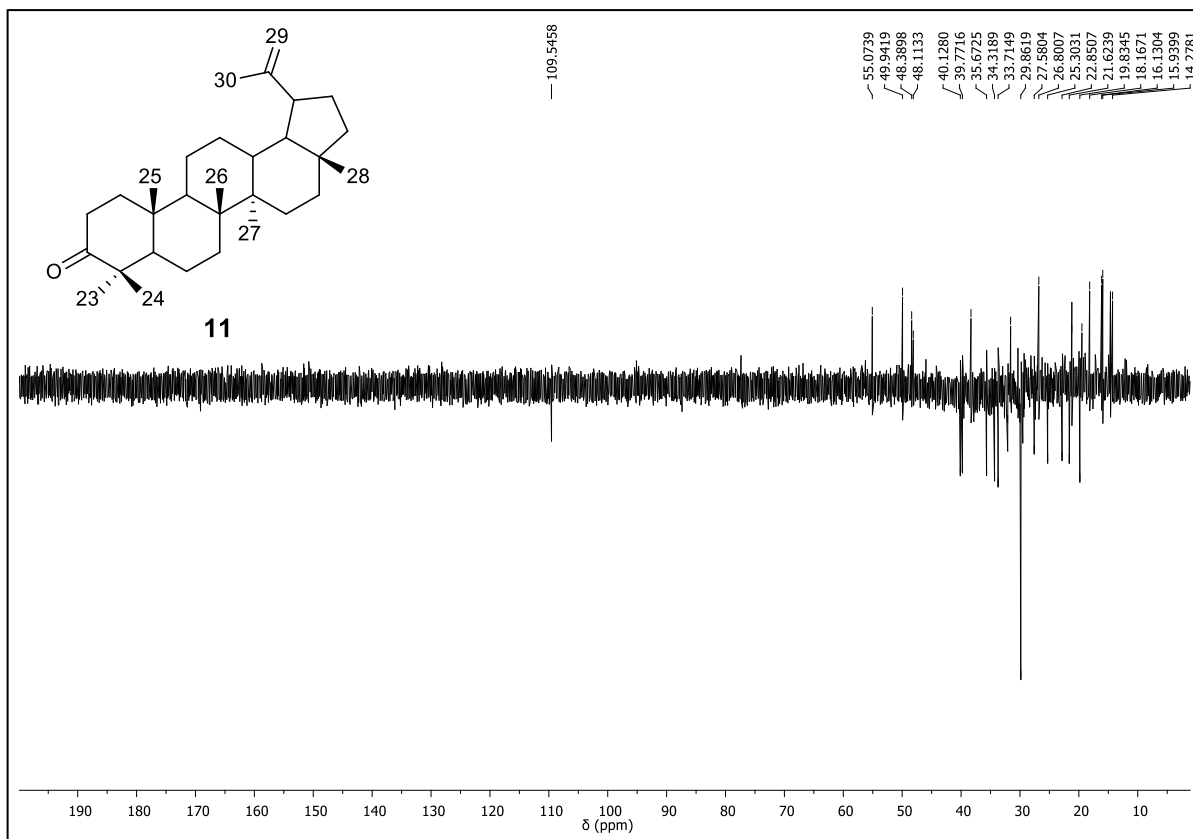


Figura 88. Espectro de RMN de ^1H de **12** (CDCl_3 , 400 MHz)

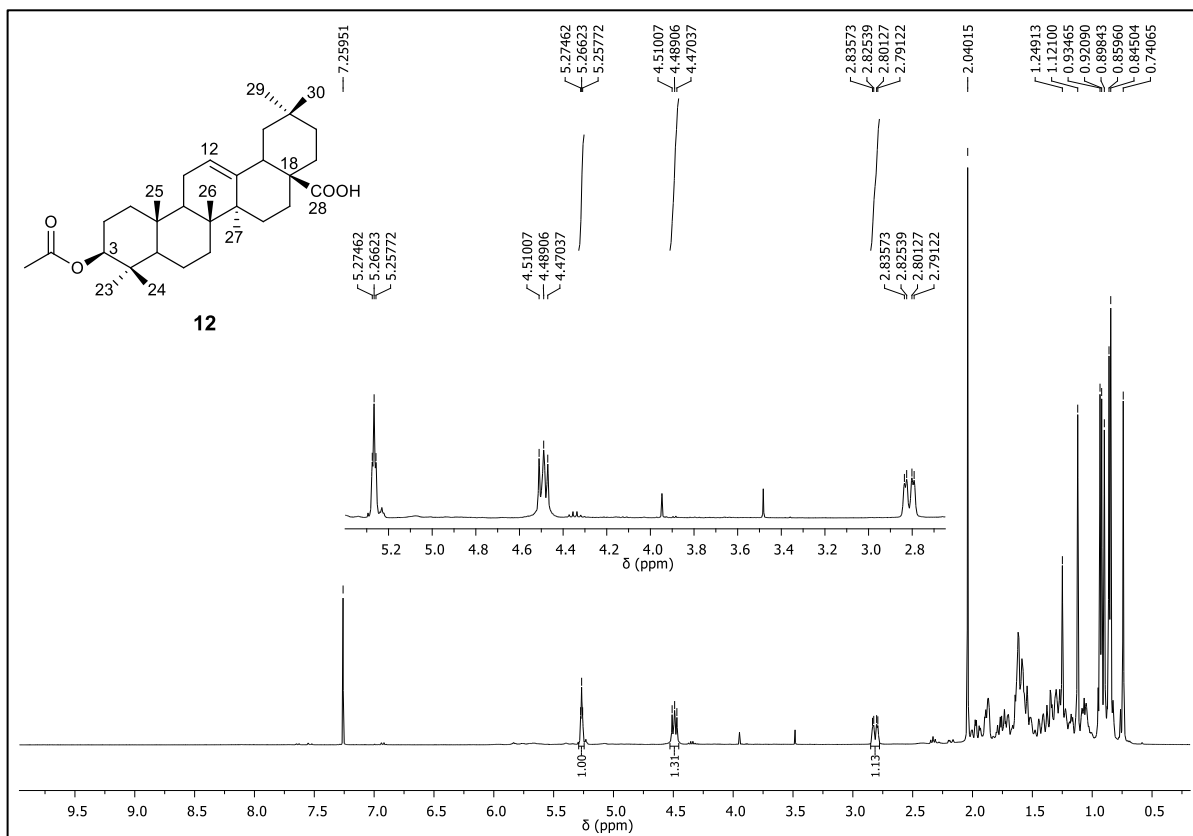


Figura 89. Espectro de RMN de ^{13}C de **12** (CDCl_3 , 100 MHz)

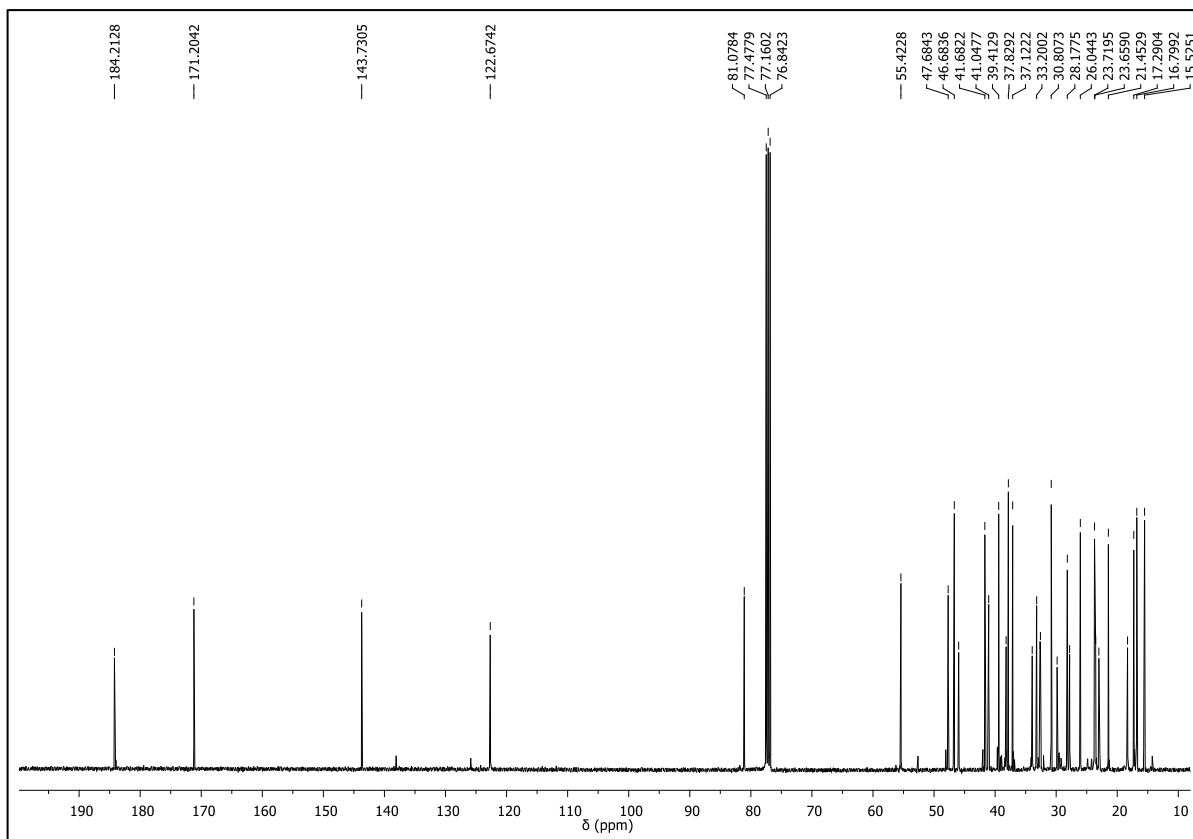


Figura 90. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 90° de **12** (CDCl_3 , 100 MHz)

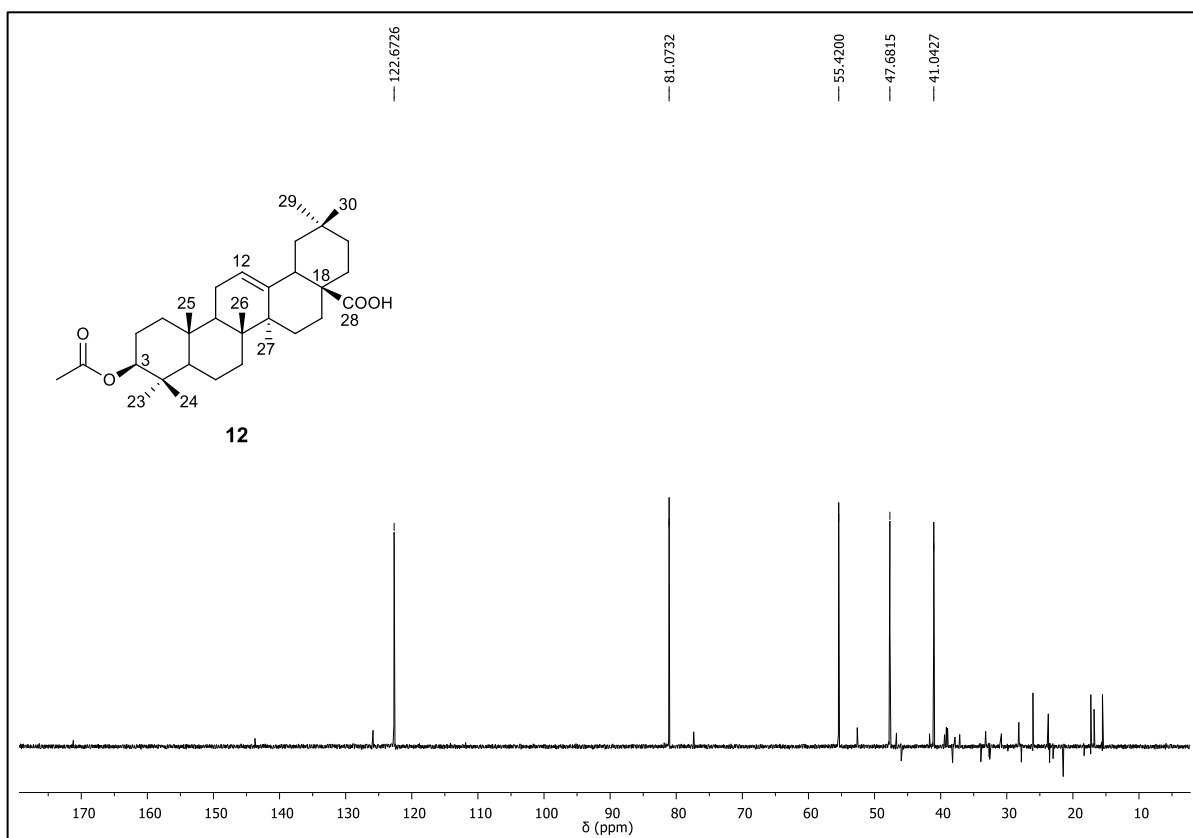


Figura 91. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° de **12** (CDCl_3 , 100 MHz)

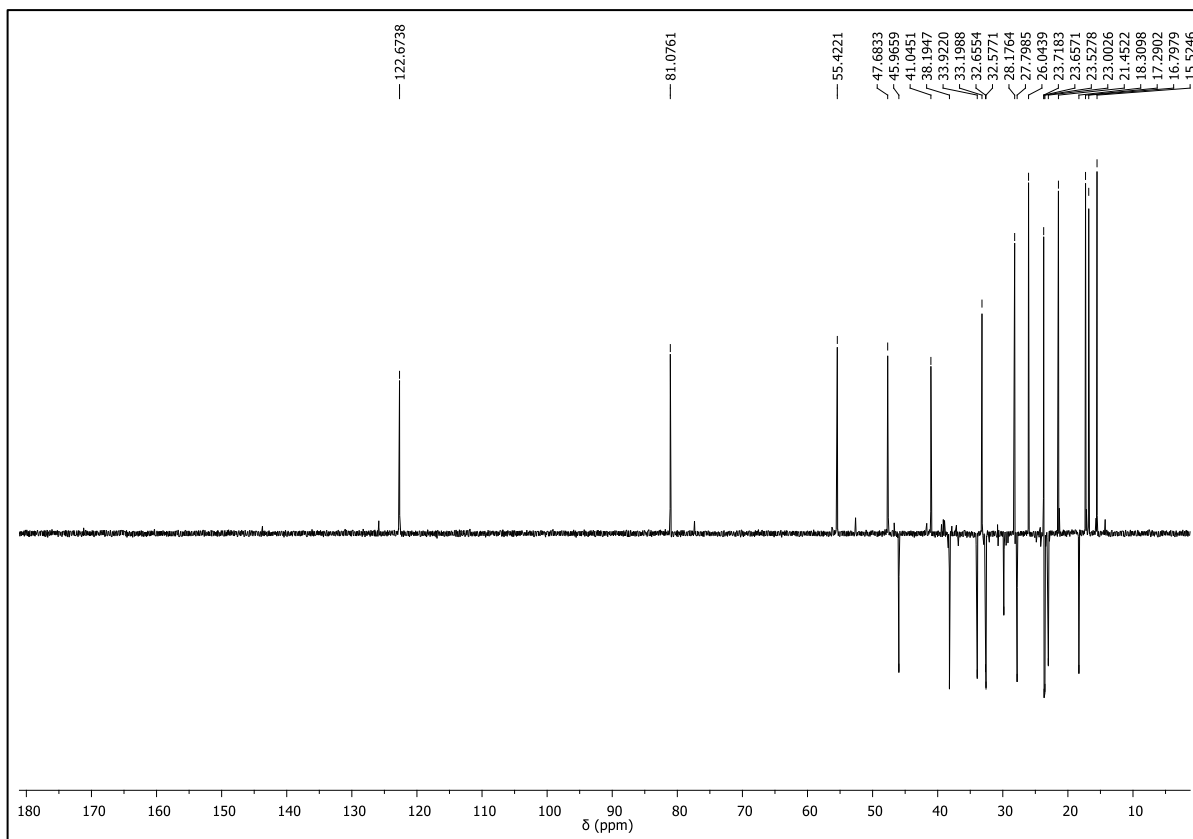


Figura 92. Espectro de RMN de ^1H de **13** ($\text{CDCl}_3 + \text{CD}_3\text{OD}$, 400 MHz)

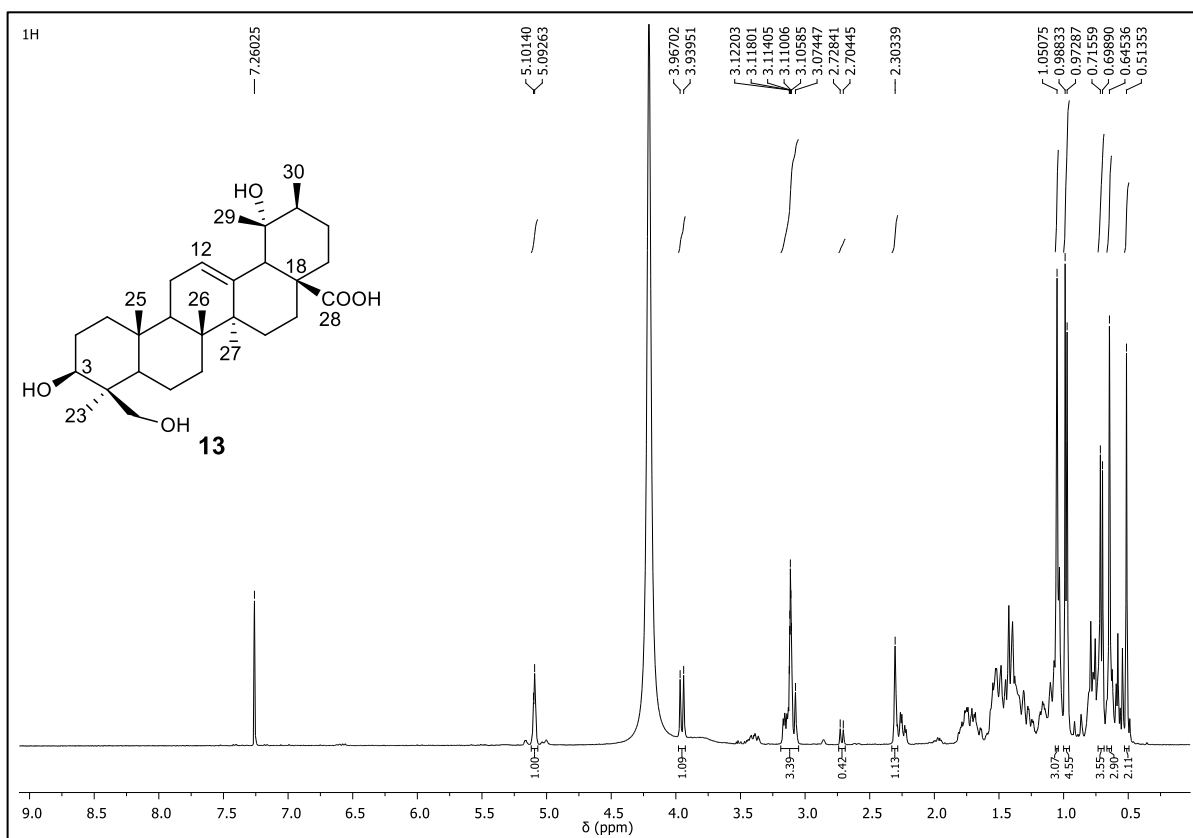


Figura 93. Espectro de RMN de ^{13}C de **13** ($\text{CDCl}_3+\text{CD}_3\text{OD}$, 100 MHz)

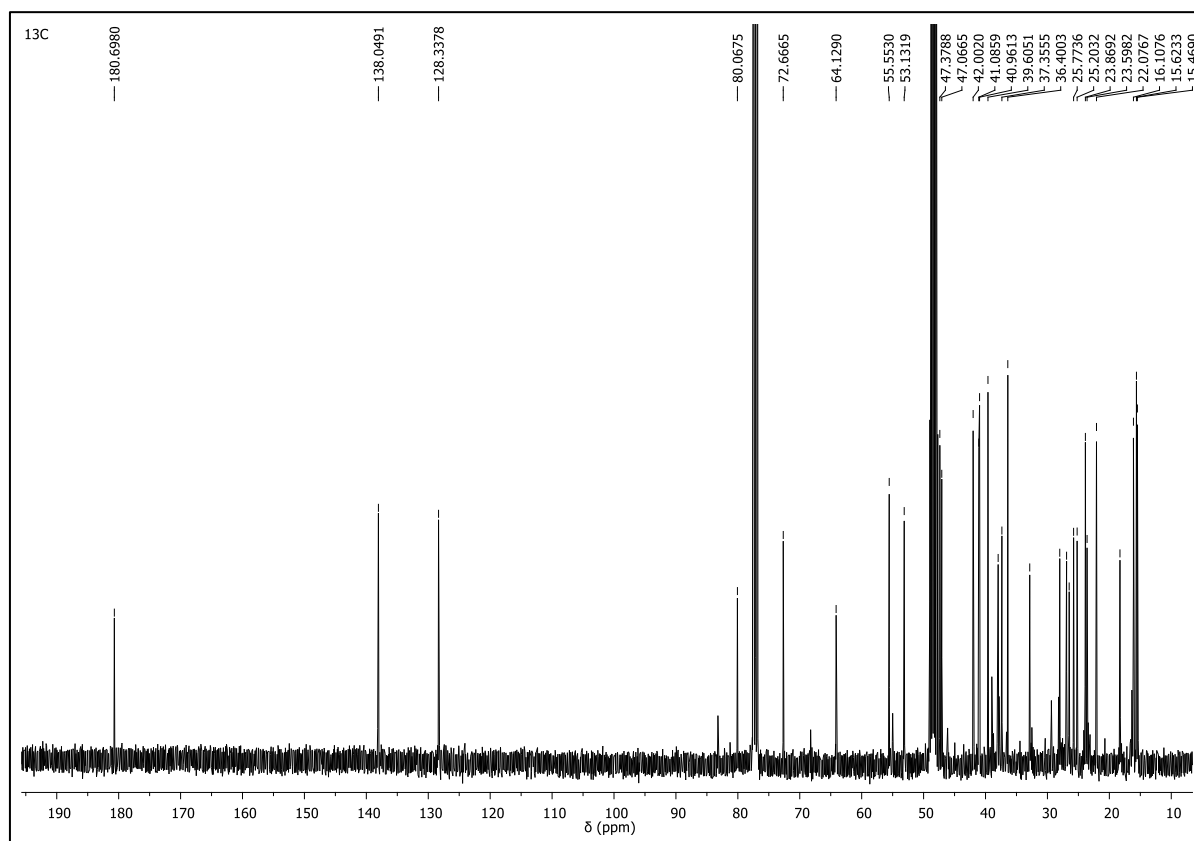


Figura 94. Espectro de RMN de ^{13}C -90° de **13** ($\text{CDCl}_3+\text{CD}_3\text{OD}$, 100 MHz)

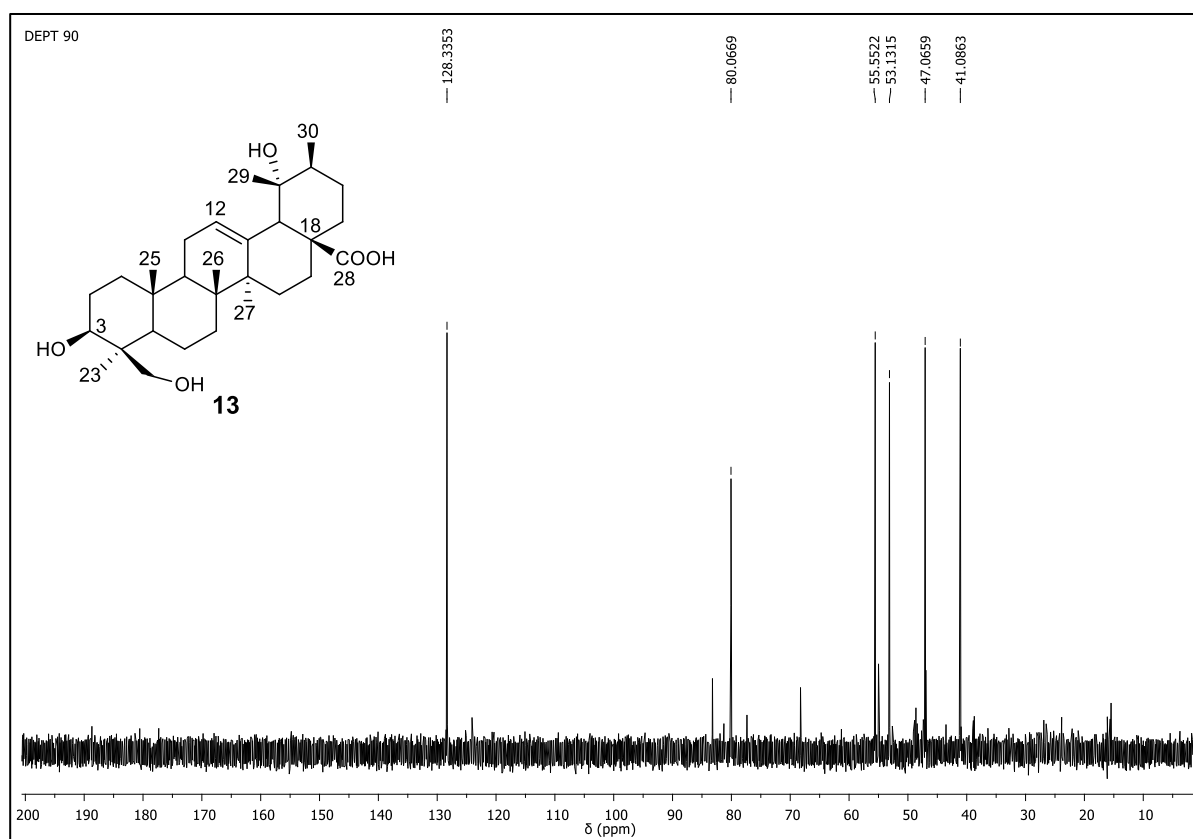
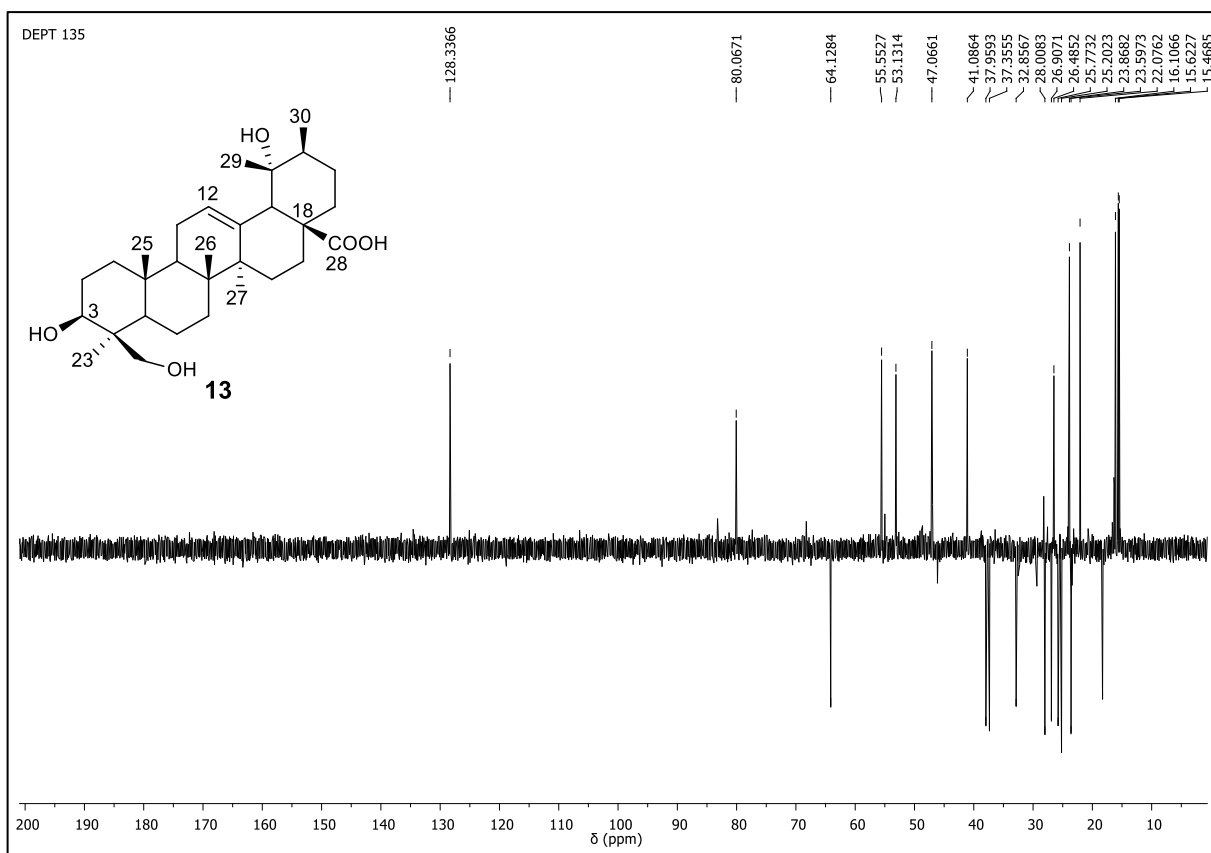
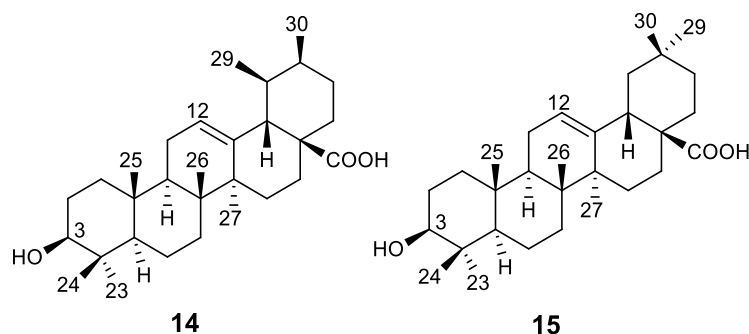


Figura 95. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° de **13** ($\text{CDCl}_3+\text{CD}_3\text{OD}$, 100 MHz)



Mistura dos triterpenoides



A mistura dos compostos **14+15** (2,6 mg) foi obtida na forma de um sólido branco amorfo, a partir do fracionamento em coluna de gel de sílica da fração hexânica do extrato EtOH das folhas (Esquema 12, pag. 55). O composto **15** foi obtido também da subfração B, proveniente do fracionamento cromatográfico em coluna Strata C18 da fração AcOEt do extrato EtOH do caule (Esquema 7, pag. 44).

O espectro de RMN de ^1H da mistura de **14+15** (Figura 96) apresentou um perfil característico de compostos da classe dos triterpenoides β -OH, evidenciado pelo tripleto em δ 3,12 ($J=8,2$ Hz) típico do hidrogênio oximetínico H-3, simpletos entre δ 0,70-1,18 correspondentes a hidrogênios metílicos ligados a carbonos não hidrogenados e tripletos em δ 5,16 ($J=3,6$ Hz, H-12) e 5,27 (H-12) referentes aos hidrogênios da ligação dupla trissubstituída dos compostos **14** e **15** respectivamente.

A análise dos espectros de RMN de ^{13}C , DEPT 90° e 135° (Figuras 97-100) mostrou um sinal em δ 78,9 referente ao carbono oximetínico C-3 e um sinal em δ 180,6 atribuído ao carbono da carboxila (C-28). Os esqueletos hidrocarbônicos dos componentes da mistura foram definidos pelos pares de sinais de carbonos olefínicos em δ 125,5/138,2 e δ 122,3/143,9 característicos de triterpenoides do tipo urs-12-eno e olean-12-eno respectivamente (OLEA e ROQUE, 1990). Os dados de RMN de ^1H e ^{13}C obtidos (Tabela 13) comparados com os da literatura (ANNAN et al., 2011; MAHATO e KUNDU, 1994) permitiram identificar a mistura dos ácidos ursólico e oleanólico (**14+15**), sendo o composto **14** o majoritário.

Tabela 13. Dados de RMN de ^{13}C dos compostos **14+15** ($\text{CDCl}_3+\text{CD}_3\text{OD}$, 100 MHz)

C	Deslocamento químico δ (ppm)			
	14	Ácido ursólico*	15	Ácido oleanólico**
1	38,7	38,6	38,5	38,5
2	26,9	26,7	26,9	27,4
3	78,9	78,7	78,9	78,7
4	39,5	39,1	38,7	38,7
5	55,3	55,1	55,2	55,2
6	18,3	18,2	18,4	18,3
7	33,1	32,9	32,7	32,6
8	39,3	31,9	39,3	39,3
9	47,6	47,4	47,6	47,6
10	36,9	36,8	37,0	37,0
11	23,3	23,1	23,1	23,1
12	125,5	125,4	122,3	122,1
13	138,2	138,1	143,9	143,4
14	42,1	41,9	41,3	41,6
15	29,7	29,5	46,4	27,7
16	24,2	24,1	41,3	23,4
17	47,8	47,7	46,0	46,6
18	52,8	52,7	30,7	41,3
19	39,1	39,0	33,9	45,8
20	38,9	38,8	30,7	30,6
21	38,7	30,6	33,9	33,8
22	36,8	36,7	32,6	32,3
23	28,0	27,9	28,0	28,1
24	15,4	15,2	15,5	15,6
25	15,6	15,4	15,3	15,3
26	16,9	16,7	16,8	16,8
27	23,5	23,4	25,8	26,0
28	180,6	180,6	180,6	181,0
29	17,0	16,9	33,1	33,1
30	21,1	21,0	23,5	23,6

*Dados em $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$ relatados por ANNAN et al., 2011**Dados em CDCl_3 relatados por MAHATO e KUNDU, 1994

Figura 96. Espectro de RMN de ^1H de **14+15** ($\text{CDCl}_3+\text{CD}_3\text{OD}$, 400 MHz)

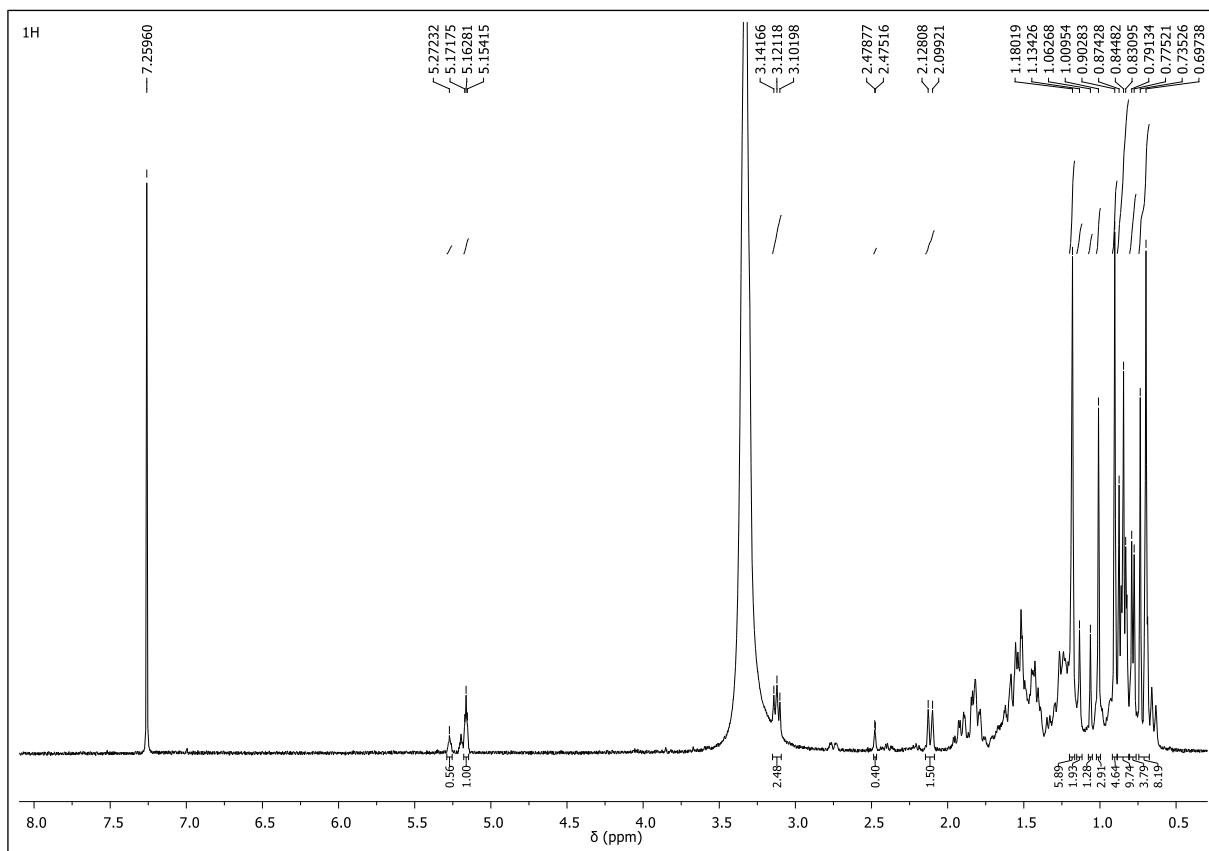


Figura 97. Espectro de RMN de ^{13}C de **14+15** ($\text{CDCl}_3+\text{CD}_3\text{OD}$, 100 MHz)

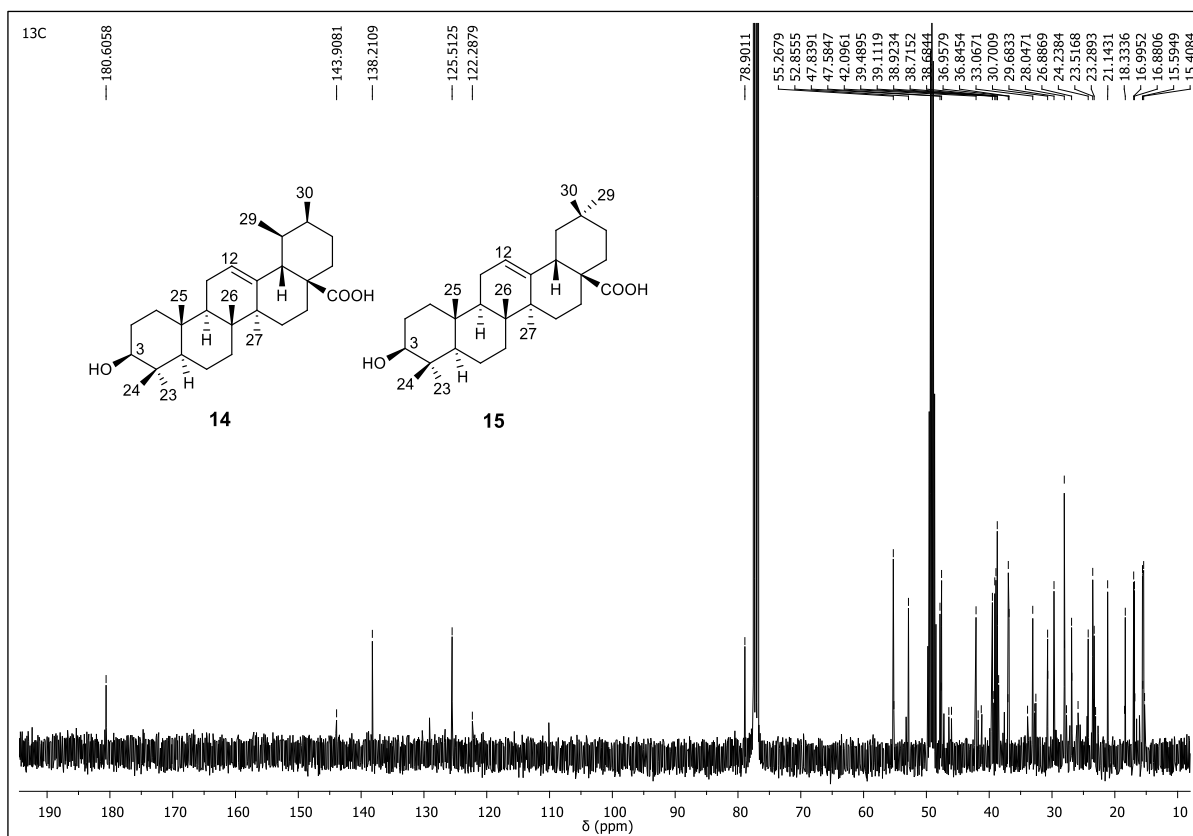


Figura 98. Expansão (δ 14-56) do espectro de RMN de ^{13}C de **14+15** ($\text{CDCl}_3+\text{CD}_3\text{OD}$, 100 MHz)

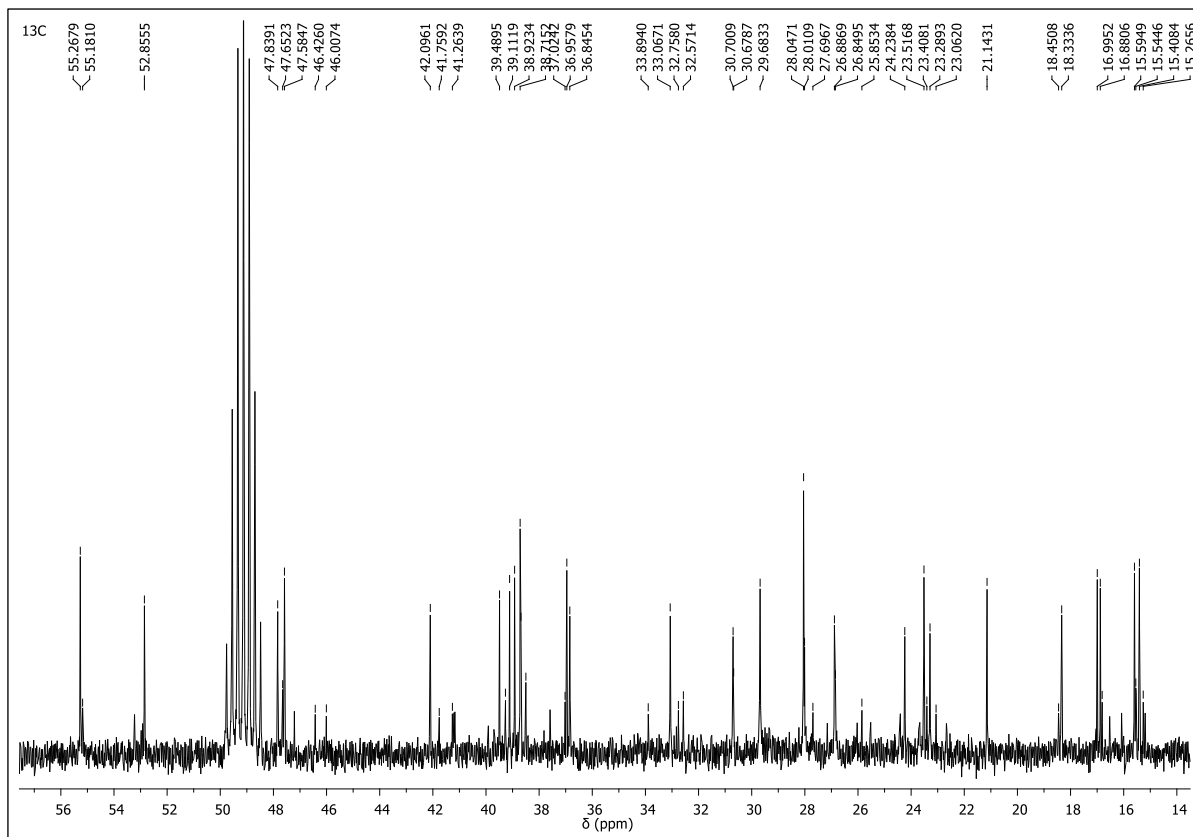


Figura 99. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 90° de **14+15** ($\text{CDCl}_3+\text{CD}_3\text{OD}$, 100 MHz)

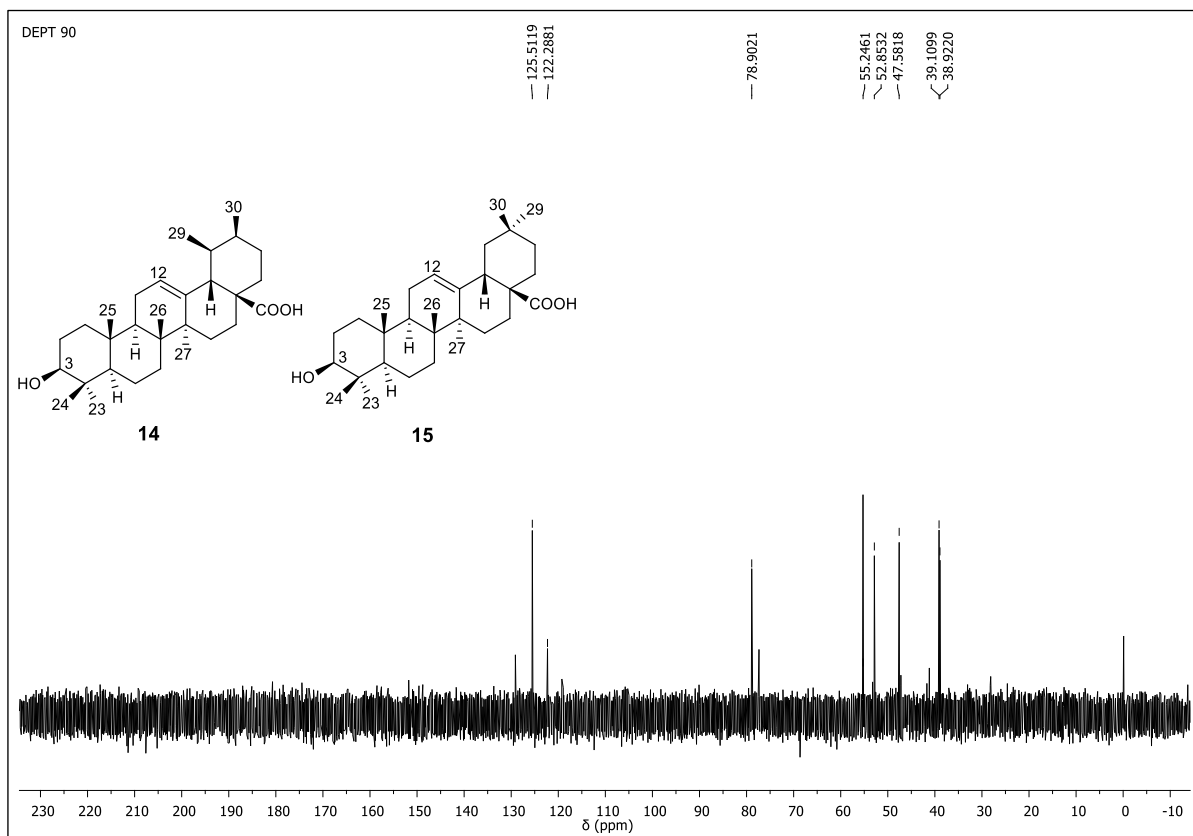
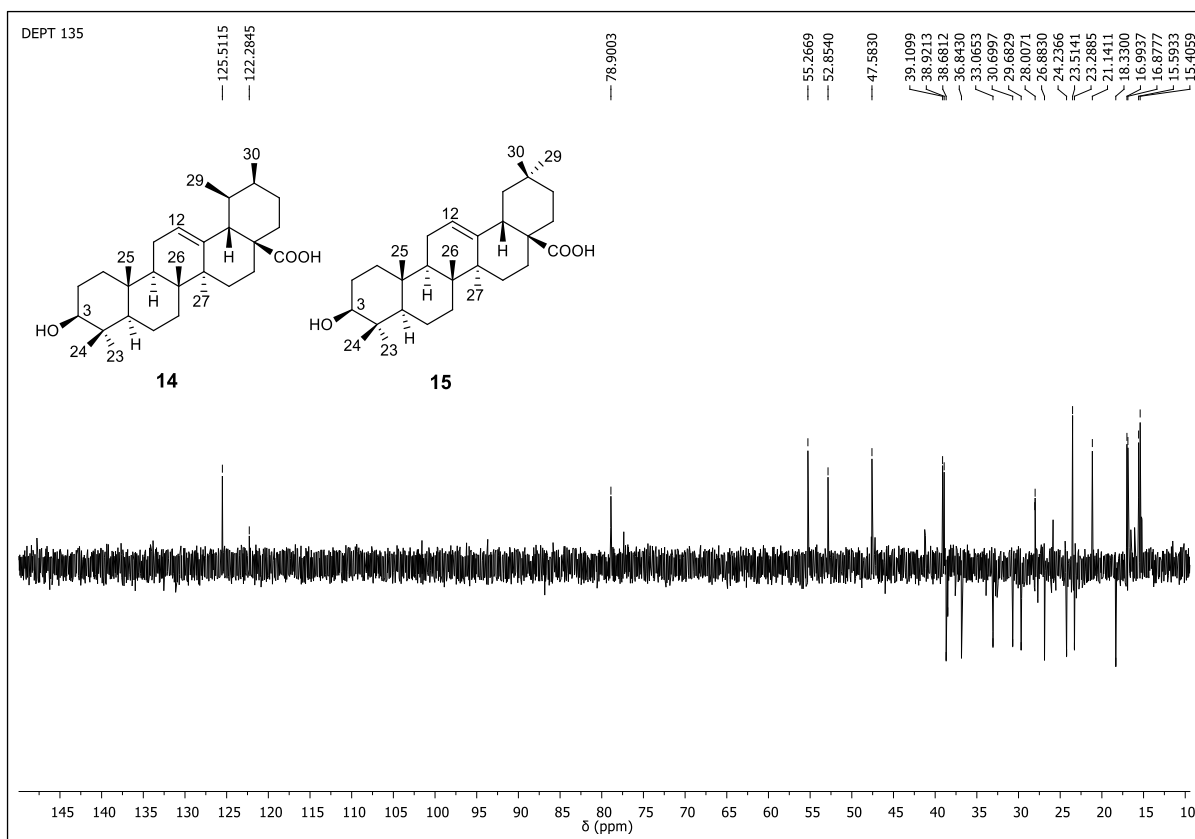
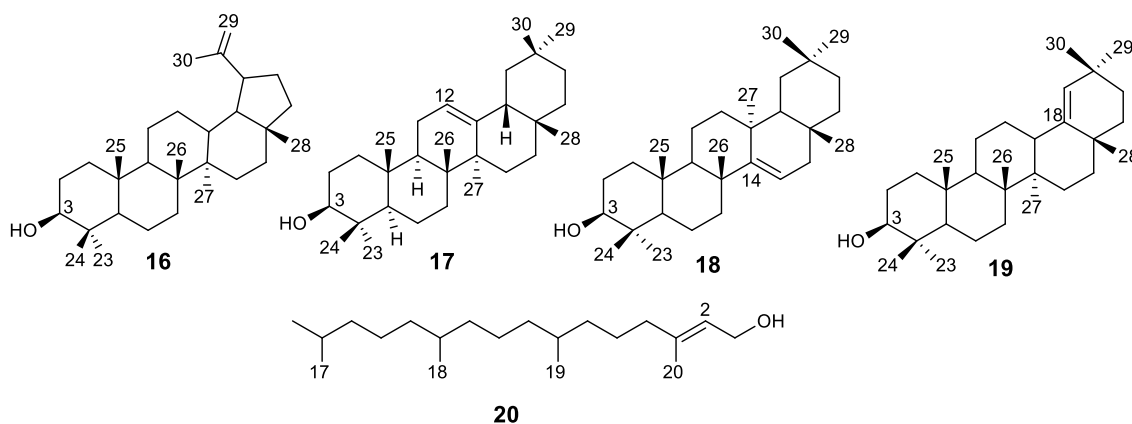


Figura 100. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 90° de **14+15** ($\text{CDCl}_3+\text{CD}_3\text{OD}$, 100 MHz)



Mistura dos triterpenoides e diterpenoide (MI)



A mistura *MI* (**16-20**; 17,7 mg) foi obtida como um sólido amorfo a partir do grupo CC15, proveniente do fracionamento cromatográfico da fração CHCl_3 do extrato EtOH do caule (Esquema 3, p. 39). Devido a pouca quantidade de material, não foi possível a separação, mas o fato das substâncias serem conhecidas possibilitou a identificação.

Para a mistura *MI* foi observado no espectro de RMN de ^1H (Figuras 101-102), um perfil característico de triterpenoides, pela presença de um duplo duplete em δ 3,18 ($J=11,2$ e 5,0 Hz) referente ao hidrogênio oximetínico em C-3 típico de hidrogênio 3α -axial em triterpenoides 3β -OH e um conjunto de simplesetos entre δ 0,73-1,68 correspondentes a hidrogênios metílicos ligados a átomos de carbono não hydrogenados (ARAÚJO; CHAVES, 2005). Os sinais na região de hidrogênios olefínicos caracterizam a ocorrência de uma mistura, sendo que δ 4,56 e 4,68 ($J=2,5$ Hz) foram os sinais mais intensos, atribuídos aos hidrogênios em ligação dupla *gem*-dissubstituída H-29a e H-29b do composto **16**. O tripleto em δ 5,18 ($J=3,6$ Hz), o duplo duplete em δ 5,53 ($J=3,2$ e 8,2 Hz) e o simpleseto em δ 4,85 foram atribuídos respectivamente, aos hidrogênios H-12, H-15 e H-19 das ligações duplas trissubstituídas dos compostos **17**, **18** e **19**. Adicionalmente, observou-se um duplete em δ 4,15 ($J=7,0$ Hz) atribuído aos hidrogênios oximetilênicos e alílicos (CH_2 -1) e um tripleto em δ 5,41 ($J=7,0$ Hz) referente ao hidrogênio olefínico (CH -2) do composto **20**.

Os espectros de RMN de ^{13}C , DEPT 90° e 135° (Figuras 103-105) apresentaram sinais entre δ 79,2-79,4 atribuídos aos carbonos oximetínicos C-3 dos triterpenoides. Os pares de sinais em δ 151,1 (C-20) e 109,5 (CH_2 -29) são característicos do esqueleto lup-20(29)-eno do composto **16** (OLEA e ROQUE, 1990), sendo este o constituinte majoritário na mistura. Os esqueletos dos demais compostos foram definidos pelos pares de sinais de carbonos olefínicos em δ 158,2/117,0, 142,9/129,8 e 121,9/143,3 característicos de triterpenoides do tipo olean-14-eno, olean-18-eno e olean-12-eno, respectivamente (OLEA; ROQUE, 1990). O sinal em δ

59,6 (CH₂-1), juntamente com os pares de sinais em δ 123,2 (CH-2) e 140,4 (C-3) foram atribuídos ao composto **20**.

Os dados de RMN de ¹³C obtidos para a mistura em comparação com dados da literatura (MAHATO e KUNDU, 1994; RAHMAN, 1992), permitiram identificar os triterpenoides lupeol (**16**), β -amirina (**17**), taraxerol (**18**), germanicol (**19**) e o diterpenoide *E*-fitol (**20**). Os dados de RMN de ¹³C para os compostos **16-19** são mostrados na Tabela 14 e para o *E*-fitol (**20**) na Tabela 15.

Tabela 14. Dados de RMN de ^{13}C para os compostos **16-19** (CDCl_3 , 400 MHz; δ em ppm)

C	16	Lupeol*	17	β-amirina*	18	Taraxerol*	19	Germanicol*
1	38,7	38,7	38,7	38,7	37,8	38,1	37,9	38,5
2	27,4	27,4	27,3	27,3	27,3	27,3	27,4	27,4
3	78,9	78,9	79,0	79,0	79,2	79,2	79,1	79,0
4	38,8	38,8	38,9	38,8	39,2	39,1	39,0	39,0
5	55,3	55,3	55,3	55,3	55,7	55,7	55,6	55,7
6	18,3	18,3	18,5	18,5	18,9	18,2	18,4	18,3
7	34,2	34,2	32,8	32,8	35,3	35,3	34,7	34,7
8	40,8	40,7	38,9	38,8	38,9	38,9	41,0	40,8
9	50,4	50,4	47,8	47,7	48,9	48,9	51,4	51,3
10	37,1	37,1	37,7	37,6	38,1	37,9	37,4	37,3
11	20,9	20,9	23,7	23,6	17,6	17,7	21,2	21,2
12	25,1	25,1	121,9	121,8	35,3	35,4	26,4	26,2
13	38,0	38,0	145,3	145,1	38,1	37,9	39,1	39,0
14	42,8	42,8	41,9	41,8	158,2	158,1	45,5	43,4
15	27,4	27,4	26,3	26,2	117,0	117,0	27,7	27,6
16	35,5	35,5	27,2	27,0	36,8	36,9	37,6	37,7
17	43,0	43,0	32,6	32,5	38,1	38,1	34,5	34,4
18	48,2	48,2	47,4	47,4	49,4	49,4	142,9	142,8
19	47,9	47,9	47,0	46,9	41,0	41,4	129,8	129,8
20	150,9	150,9	31,2	31,1	28,9	29,0	32,5	32,3
21	29,8	29,8	34,8	34,8	33,8	33,9	33,2	33,4
22	40,0	40,0	37,3	37,2	33,2	33,2	37,4	37,4
23	28,0	28,0	28,5	28,2	28,1	28,1	28,2	28,0
24	15,4	15,4	15,6	15,5	15,6	15,6	15,5	15,4
25	16,1	16,1	15,7	15,6	15,6	15,6	16,2	16,1
26	15,9	15,9	16,9	16,9	30,1	30,1	16,8	16,7
27	14,5	14,5	26,1	26,0	26,0	26,0	14,7	14,6
28	18,0	18,0	28,5	28,4	30,0	30,0	25,4	25,3
29	109,3	109,3	32,9	33,3	33,5	33,5	31,5	31,3
30	19,3	19,3	23,8	23,7	21,4	21,5	29,3	29,2

*Dados obtidos em CDCl_3 , relatados por MAHATO e KUNDU, 1994

Tabela 15. Dados de RMN de ^{13}C para o composto **20** (CDCl_3 , 400 MHz; δ em ppm)

C	20	<i>E</i>-fitol*
1	59,6	59,4
2	123,2	123,1
3	149,4	140,3
4	40,0	39,9
5	24,9	25,1
6	36,7	36,7
7	32,8	32,8
8	37,5	37,3
9	24,3	24,5
10	37,4	37,4
11	32,8	32,7
12	37,3	37,4
13	24,6	24,8
14	39,5	39,4
15	28,1	28,0
16	22,9	22,7
17	22,8	22,6
18	19,9	19,7
19	19,9	19,7
20	16,2	16,2

*Dados obtidos em CDCl_3 , relatados por RAHMAN, 1992

Figura 101. Espectro de RMN de ^1H de *MI* (**16-20**) (CDCl_3 , 400 MHz)

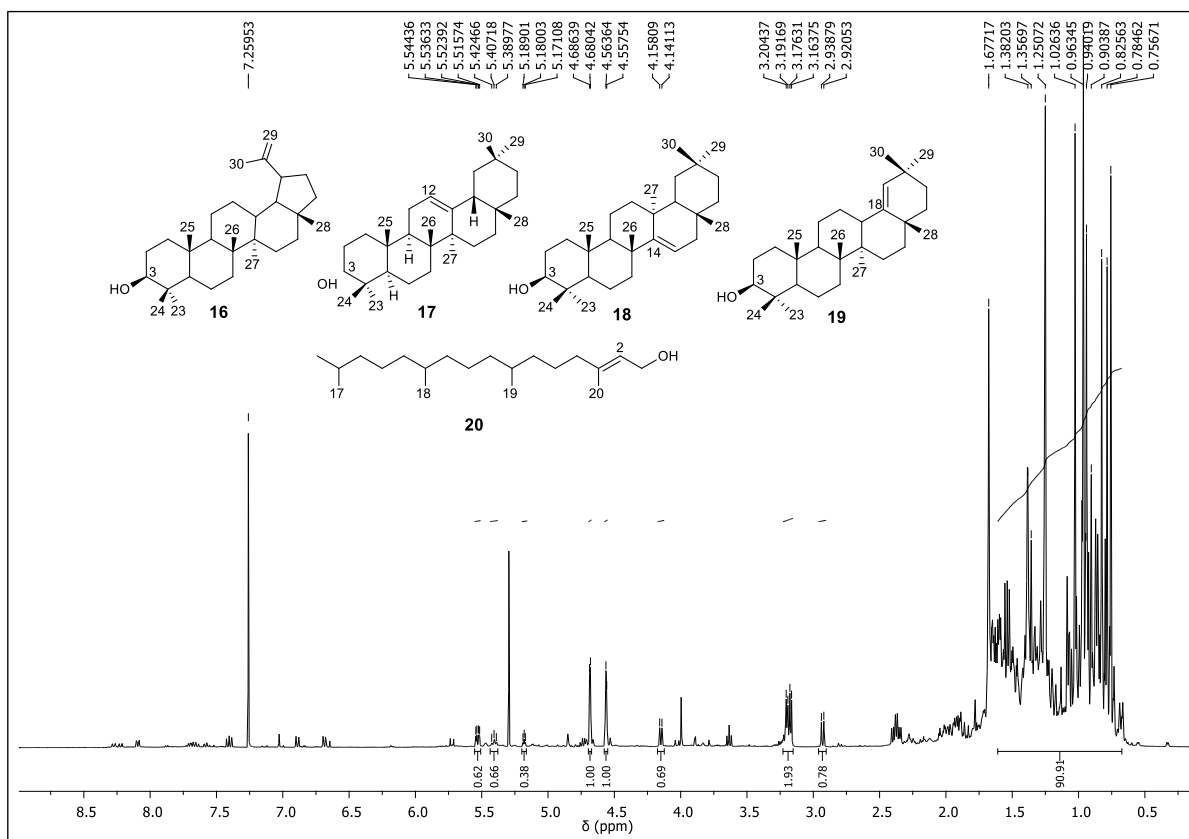


Figura 102. Expansão (δ 2,8-5,7) do espectro de RMN de ^1H de *MI* (**16-20**) (CDCl_3 , 400 MHz)

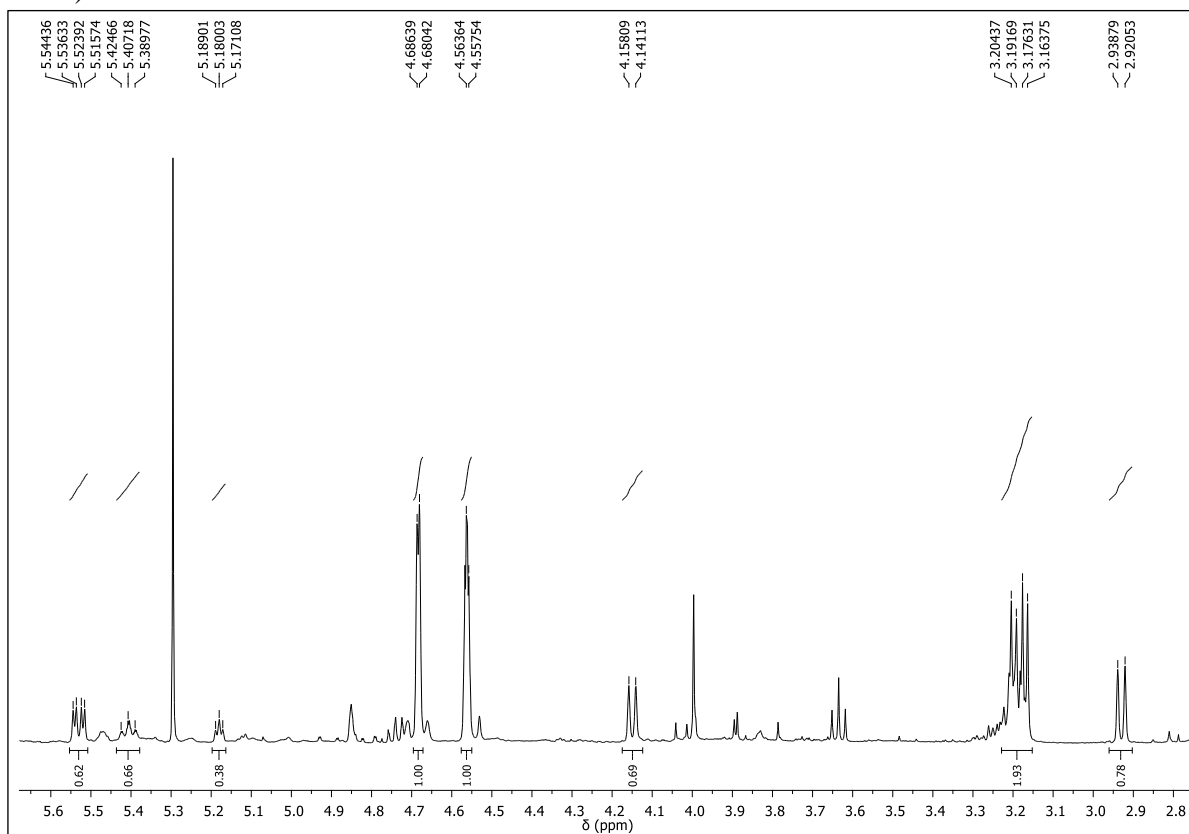


Figura 103. Espectro de RMN de ^{13}C de *MI* (16-20) (CDCl_3 , 400 MHz)

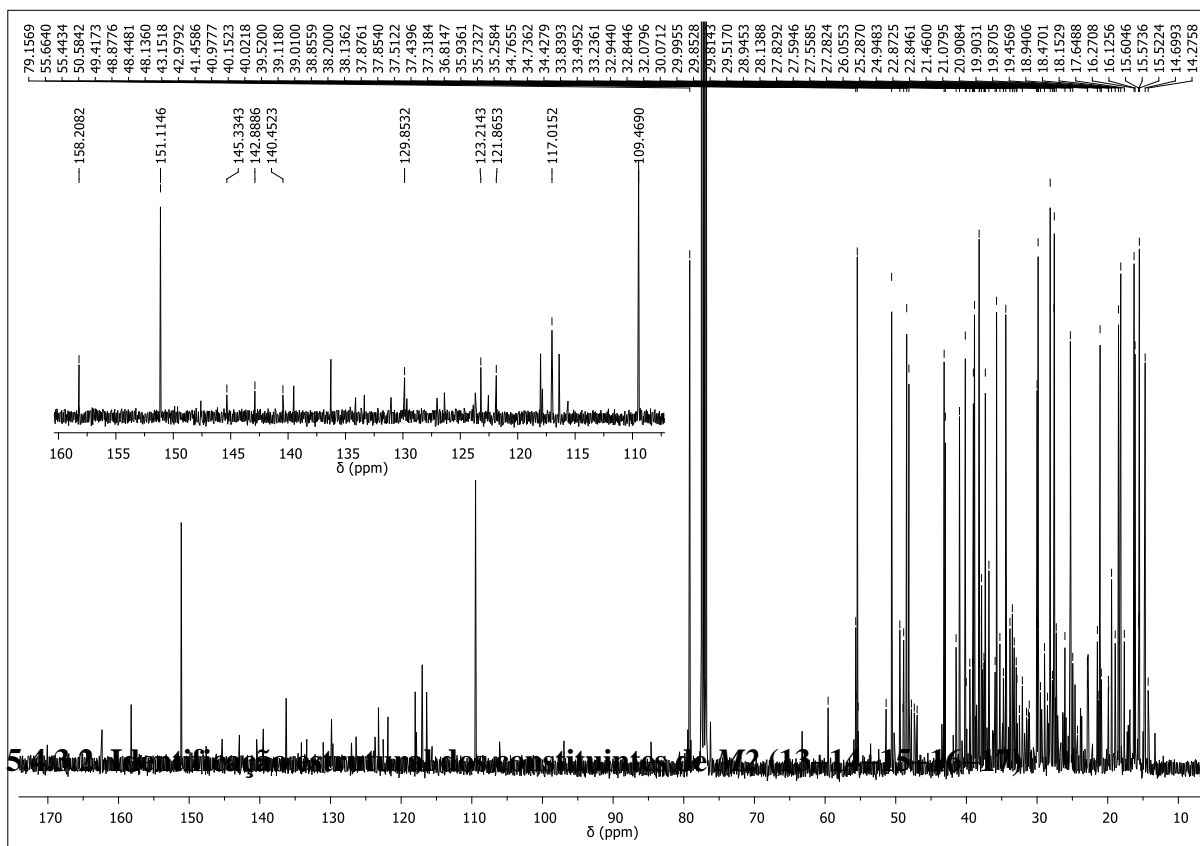


Figura 104. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 90° de *MI* (16-20) (CDCl_3 , 400 MHz)

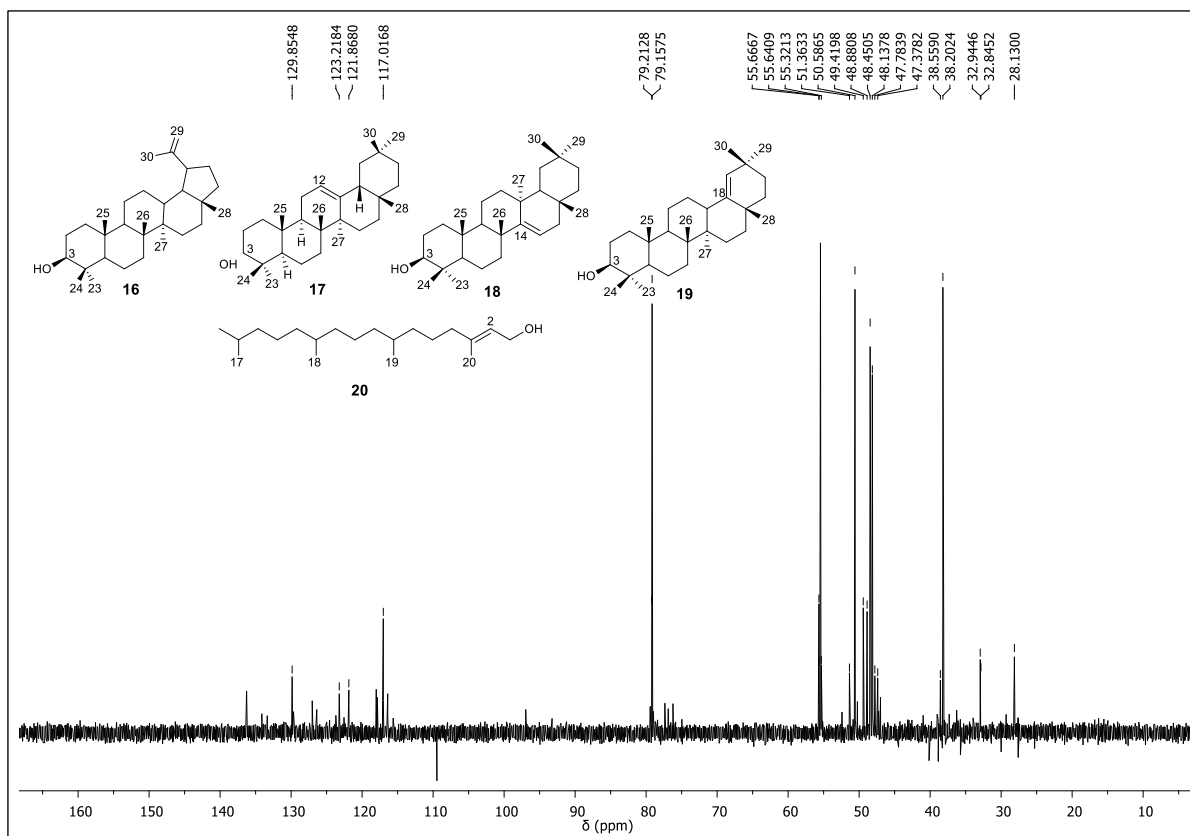
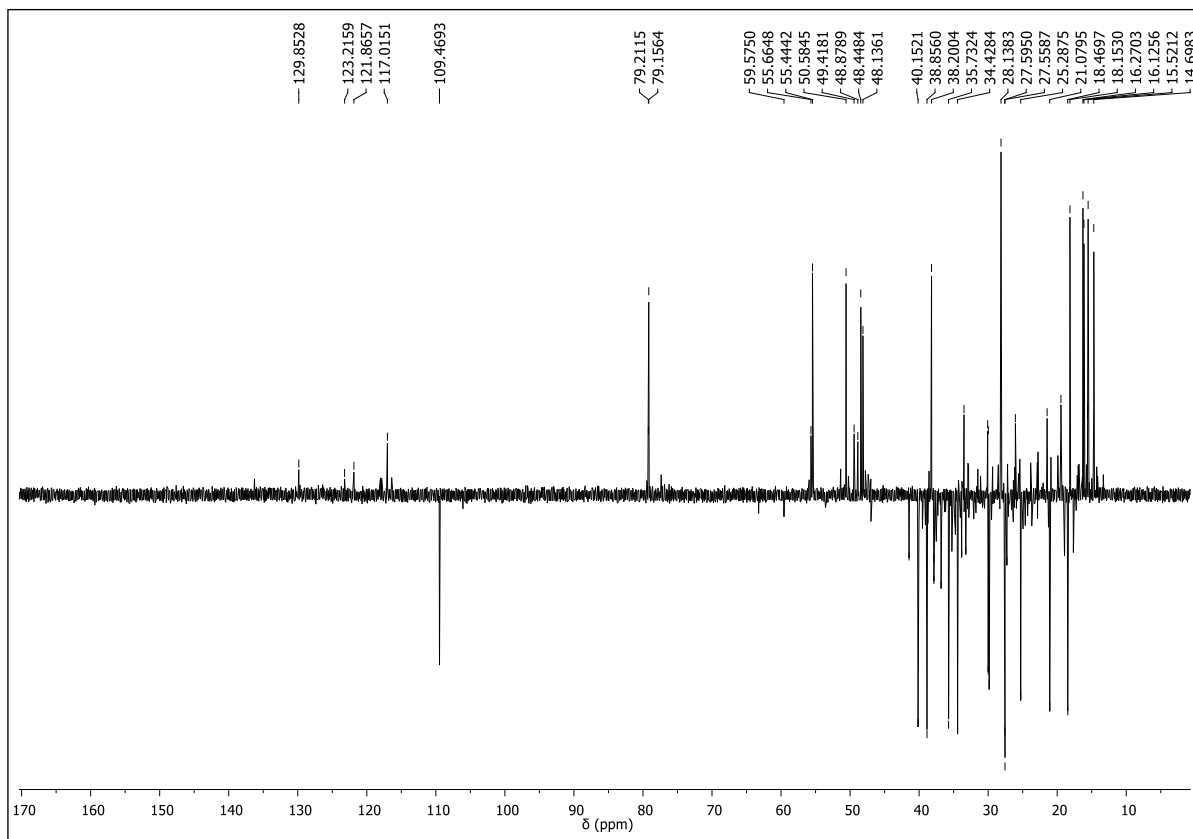
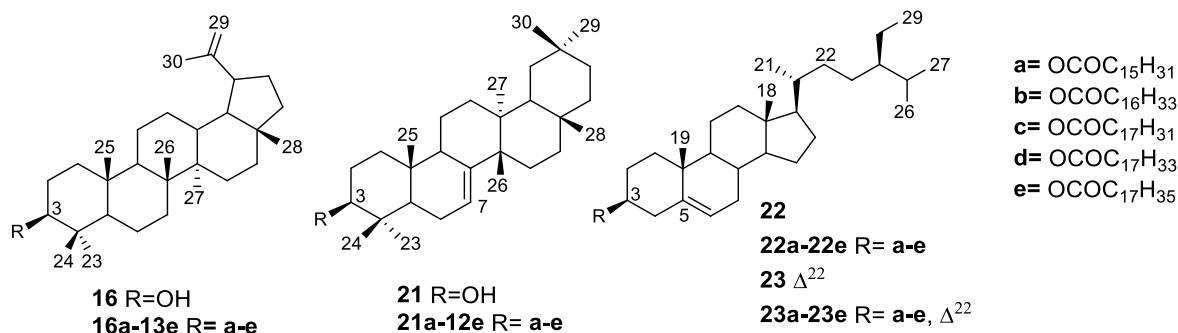


Figura 105. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° de *MI* (**16-20**) (CDCl_3 , 400 MHz)



Mistura dos triterpenoides e esteroides (*M2*)



Os constituintes da mistura *M2* (161,3 mg; **16** e **21-23**) foram obtidos partir do grupo CC9, proveniente da cromatografia em coluna de gel de sílica da fração CHCl₃ do extrato EtOH do caule e, a identificação dos compostos foi realizada após reação de hidrólise alcalina de *M2* e separação dos constituintes por cromatografia em coluna de gel de sílica (Esquema 3, pag. 39). O composto **21b** foi identificado também no grupo FH13, proveniente do fracionamento em coluna de gel de sílica da fração hexânica do extrato EtOH das folhas (Esquema 12, pag. 55).

Os espectros de RMN de ¹H e ¹³C (Figuras 107-108) de *M2* apresentaram sinais que evidenciaram uma mistura de triterpenos e esteroides esterificados com ácidos graxos. Dentre estes sinais, podem ser destacados no espectro de RMN de ¹H (Figura 107), simpletos entre δ 0,67-1,59 característicos de grupos metílicos e uma sobreposição de sinais em δ 5,34 e 4,12 indicativos da presença de hidrogênios em ligação dupla em triterpenos e esteroides. Além disso, no espectro de RMN de ¹³C (Figura 108) se observa sinais característicos de carbonos olefínicos entre δ 117,9-151,4 e de carbonilas de éster entre δ 173,7-174,4.

A mistura *M2*, após ser submetida a uma reação de hidrólise alcalina (Esquema 2, pag. 36), resultou na fase etérea (**FE**, 25,2 mg) contendo triterpenos e esteroides e na fase aquosa contendo os ácidos graxos (**a-e**) (Esquema 2, pag 36). A separação dos triterpenos e esteroides (**FE**) foi realizada por cromatografia em coluna de gel de sílica, obtendo-se as misturas dos triterpenoides (**16+21**) e dos esteroides (**22+23**).

O espectro de RMN de ¹H (Figura 109) de **16+21** (2,7 mg) apresentou sinais de grupos metílicos entre δ 1,68-0,74, sinais de hidrogênios em carbonos oximetínicos em δ 3,24 (dd; $J=11,5$ e 4,2 Hz) atribuído a H-3 de **21** e δ 3,18 (dd; $J=11,5$ e 4,5 Hz) atribuído a H-3 de **16**. Além disso, observou-se um multipletto em δ 5,47 atribuído a H-7 de **21** e dois dupletos em δ 4,68 e 4,56 ($J=2,4$ Hz) característicos de hidrogênios em ligação dupla *gem*-dissubstituída, atribuídos a H-29a e H-29b de **16**.

Nos espectros de RMN de ^{13}C , DEPT 90° e 135° (Figuras 110-112), se observa na região de carbonos olefínicos os pares de sinais em δ 117,8/147,6, característicos do esqueleto D:C-friedoleanan-7-eno do composto **21** e, δ 109,5/151,2 característico do esqueleto lup-20(29)-eno do composto **16** (OLEA e ROQUE, 1990). Adicionalmente, se verifica também a presença dos sinais de carbonos oximetínicos em δ 79,3 (C-3 de **21**) e 79,2 (C-3 de **16**). Estes dados comparados com os relatados na literatura (Tabela 14 e 16) permitiram identificar os triterpenoides multiflorenol (**21**) e lupeol (**16**) (MAHATO e KUNDU, 1994).

O espectro de RMN de ^1H (Figura 113) da mistura de **22+23** mostrou simpletos entre δ 0,68-1,00 correspondentes a grupos metílicos ligados a carbonos não hidrogenados. Um multiplete em δ 3,52 atribuído ao hidrogênio em carbono oximetínico (C-3) e um duplete em δ 5,35 ($J=5,2$ Hz) atribuído ao hidrogênio olefínico (H-6) em esteróides Δ^5 . Observou-se ainda dois duplos dupletos de baixa intensidade em δ 5,02 e 5,15 ($J=15,2$ e 8,5 Hz) atribuídos aos hidrogênios olefínicos H-22 e H-23 da cadeia lateral do composto **23**.

Os espectros de RMN de ^{13}C , DEPT 90° e 135° (Figuras 114-116), apresentaram um sinal em δ 71,9 atribuído ao carbono oximetínico C-3 e dois sinais em δ 140,9 e 121,9 referentes aos carbonos olefínicos C-5 e C-6 dos esteroides. Dois sinais de menor intensidade em δ 138,5 e 129,4 foram atribuídos aos carbonos olefínicos C-22 e C-23, confirmando a presença da substância **23** na mistura. A comparação destes dados com os descritos na literatura (Tabela 16) permitiram identificar os esteróides sitosterol (**22**) e estigmasterol (**23**) (DE-EKNAMKUL e POTDUANG, 2003).

Os ácidos graxos provenientes da reação de hidrólise alcalina foram metilados com diazometano e analisados por CG-EM. Os espectros de massas obtidos comparados com os da biblioteca Wiley 229, permitiram a identificação dos ésteres metílicos dos ácidos palmítico (**a**; C16:0; 35,94%), margárico (**b**; C17:0; 2,45%), linoleico (**c**; C18:2; $\Delta^{9,12}$; 22,96%), oleico (**d**; C18:1; Δ^9 ; 29,61%) e esteárico (**e**; C18:0; 9,04%). A Figura 117 mostra o cromatograma de íons monitorados (MIC) e, as Figuras 118-122 os espectros de massas dos ésteres metílicos dos ácidos graxos.

Assim, foi possível verificar que *M2* é constituída pelo palmitato, margarato, linoleato, oleato e estereato de lupeíla (**16a-16e**), multiflorenila (**21a-21e**), sitosterila (**22a-22e**) e estigmasterila (**23a-23e**).

O composto **21b** foi também identificado na subfração FH13-21, proveniente da fração hexânica do extrato EtOH das folhas. Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (Figuras 123-124) mostraram-se consistentes com a presença do multiflorenol. O sinal de carbonila de éster

em δ_C 173,8, juntamente com os sinais de carbonos metilênicos entre δ_C 29,3-29,8 sugerem que o multiflorenol está esterificado com ácidos graxos saturados. A análise por espectrometria de massas (APCI(+)-FTICR MS) (Figura 106) mostrou um íon em m/z 665,62432 $[M+H]^+$ (calculado para $C_{40}H_{80}O_2$, massa teórica: 665,623108; Erro=1.8 ppm) consistente com a presença do margarato de multiflorenila (**21b**).

Figura 106. Espectro de massas APCI(+)-FTICR MS da fração FH13-21.

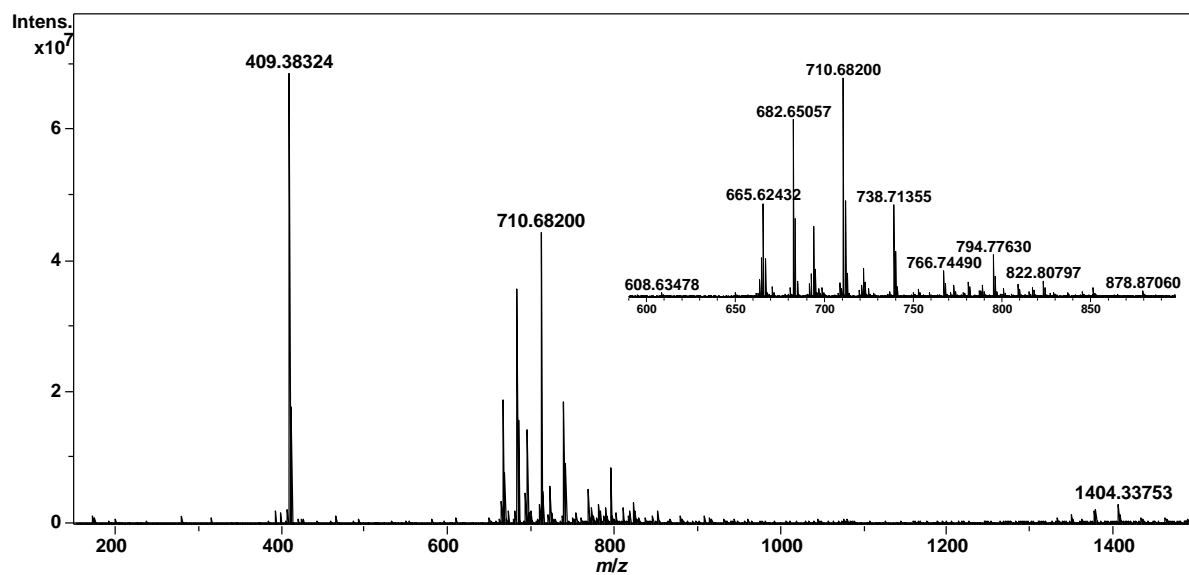


Tabela 16. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C de **21** (CDCl_3 , 600 e 150 MHz) e **22+23** (CDCl_3 , 400 e 100 MHz)

Deslocamentos químicos δ_c (ppm)						
C	21	Acetato de multiflorenol*	22	Sitosterol [‡]	23	Estigmasterol [‡]
1	36,2	36,6	37,4	37,2	37,4	37,2
2	27,8	24,4	31,8	31,6	31,8	31,6
3	79,4	81,9	71,9	71,8	71,9	71,8
4	38,9	37,7	42,4	42,2	42,4	42,2
5	50,2	50,2	140,9	140,7	140,9	140,7
6	24,3	24,0	121,8	121,7	121,8	121,7
7	117,9	117,5	32,1	31,9	32,1	31,9
8	147,6	147,6	32,1	31,9	32,0	31,9
9	48,9	48,7	50,3	50,1	50,3	50,1
10	35,3	35,1	36,7	36,5	36,7	36,5
11	17,2	17,1	21,2	21,1	21,2	21,1
12	34,7	34,6	39,9	39,7	39,8	39,7
13	37,1	37,0	42,5	42,3	42,4	42,3
14	41,7	41,6	56,9	56,7	57,0	56,8
15	31,8	31,7	24,5	24,3	24,5	24,3
16	36,7	36,1	28,4	28,2	29,1	28,9
17	31,1	30,9	56,2	56,0	56,1	55,9
18	47,0	46,9	12,0	11,8	12,2	12,0
19	36,3	36,1	19,5	19,4	19,1	19,4
20	28,4	28,2	36,3	36,1	40,6	40,5
21	34,0	33,9	18,9	18,8	21,4	21,1
22	37,3	36,8	34,1	33,9	138,4	138,3
23	27,8	27,6	26,2	26,0	129,4	129,2
24	15,0	16,0	46,0	45,8	51,4	51,2
25	13,3	13,2	29,3	29,1	32,0	31,9
26	27,2	27,1	20,0	19,8	21,4	21,2
27	26,3	26,1	19,2	19,0	18,8	18,9
28	31,1	31,7	23,2	23,0	25,5	25,4
29	34,3	34,1	12,1	11,9	12,4	12,2
30	33,8	33,7	-	-	-	-

*Dados em CDCl_3 , relatados por MAHATO e KUNDU, 1994

[‡]Dados em CDCl_3 , relatados por DE-EKNAMKUL e POTDUANG, 2003.

Figura 107. Espectro de RMN de ^1H de M2 (triterpenos e esteroides esterificados com ácidos graxos; **16a-16e**, **21a-21e**, **22a-22e** e **23a-23e**) (CDCl_3 , 400 MHz)

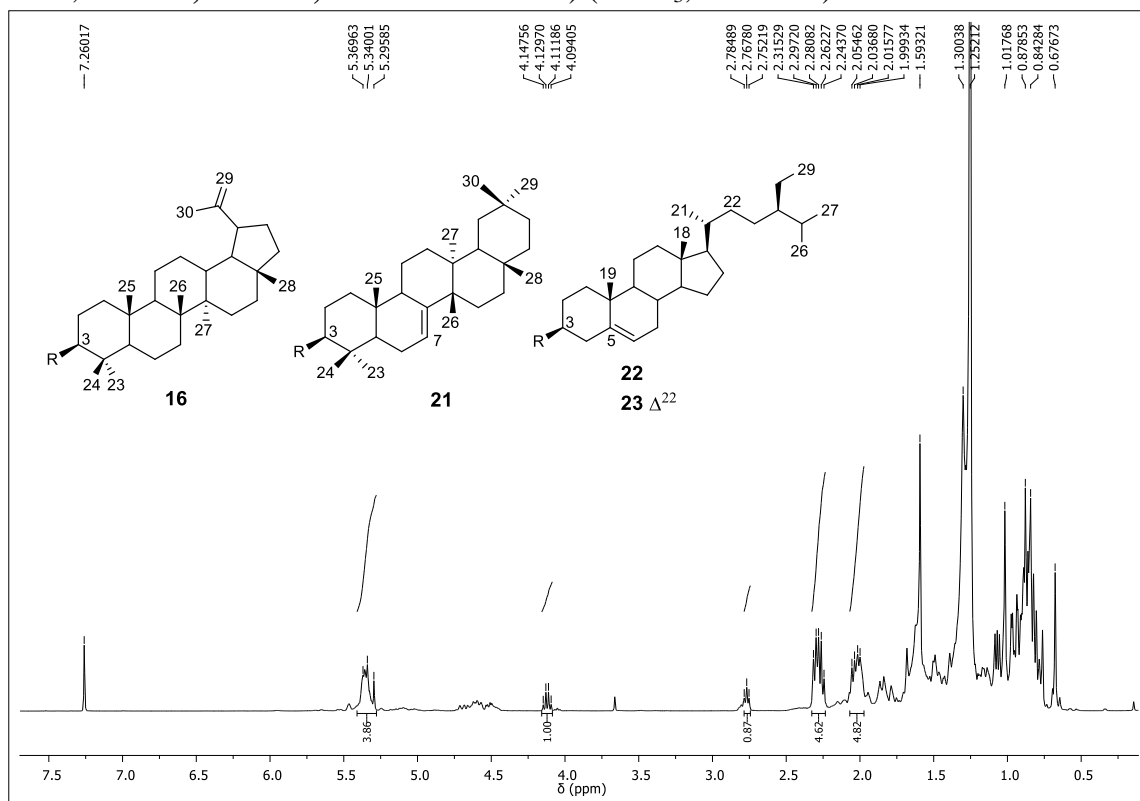


Figura 108. Espectro de RMN de ^{13}C de M2 (triterpenos e esteroides esterificados com ácidos graxos; **16a-16e**, **21a-21e**, **22a-22e** e **23a-23e**) (CDCl_3 , 100 MHz)

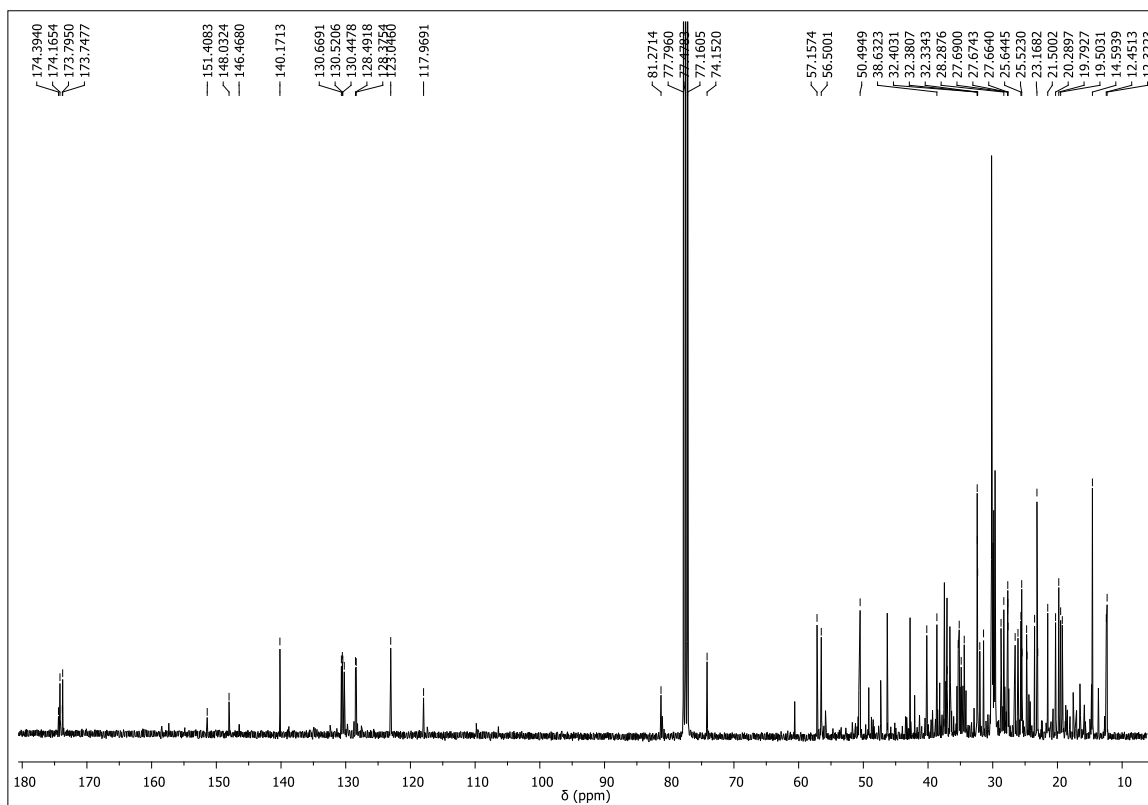


Figura 109. Espectro de RMN de ^1H de **16+21** (CDCl_3 , 600 MHz)

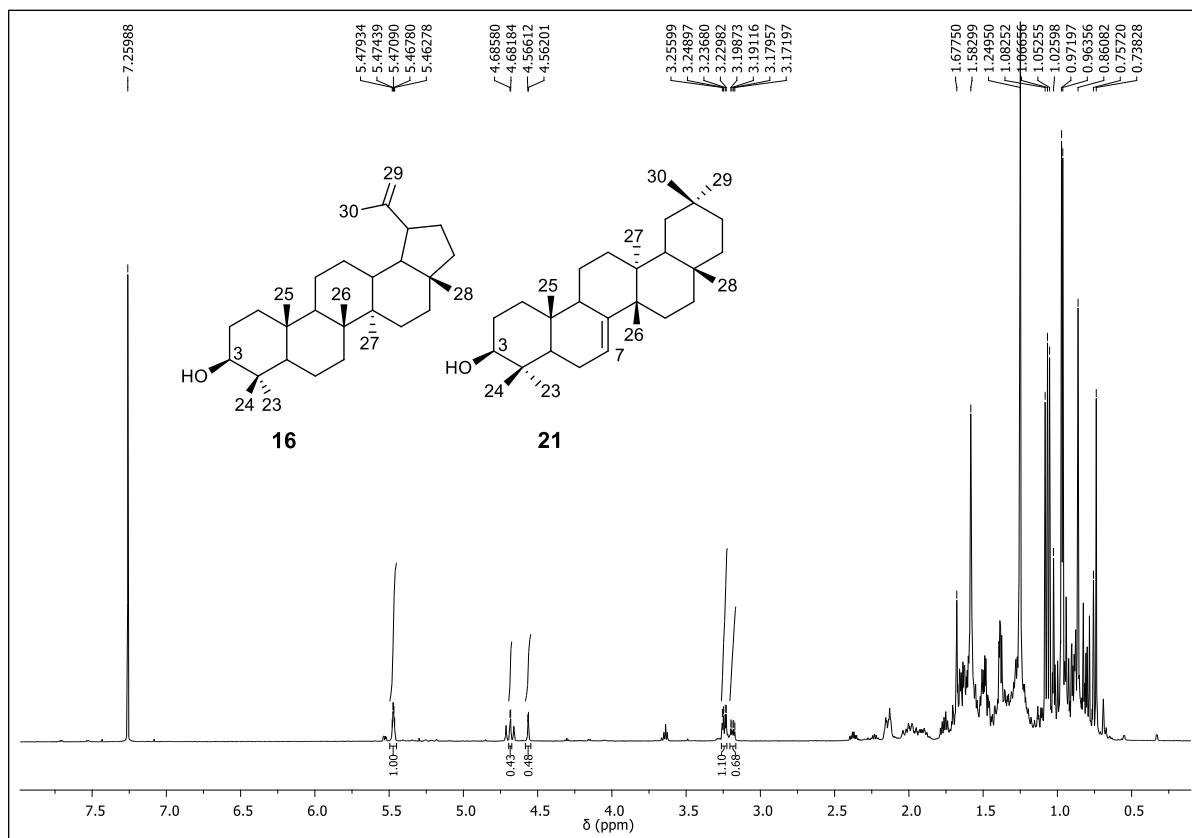


Figura 110. Espectro de RMN de ^{13}C de **16+21** (CDCl_3 , 600 MHz)

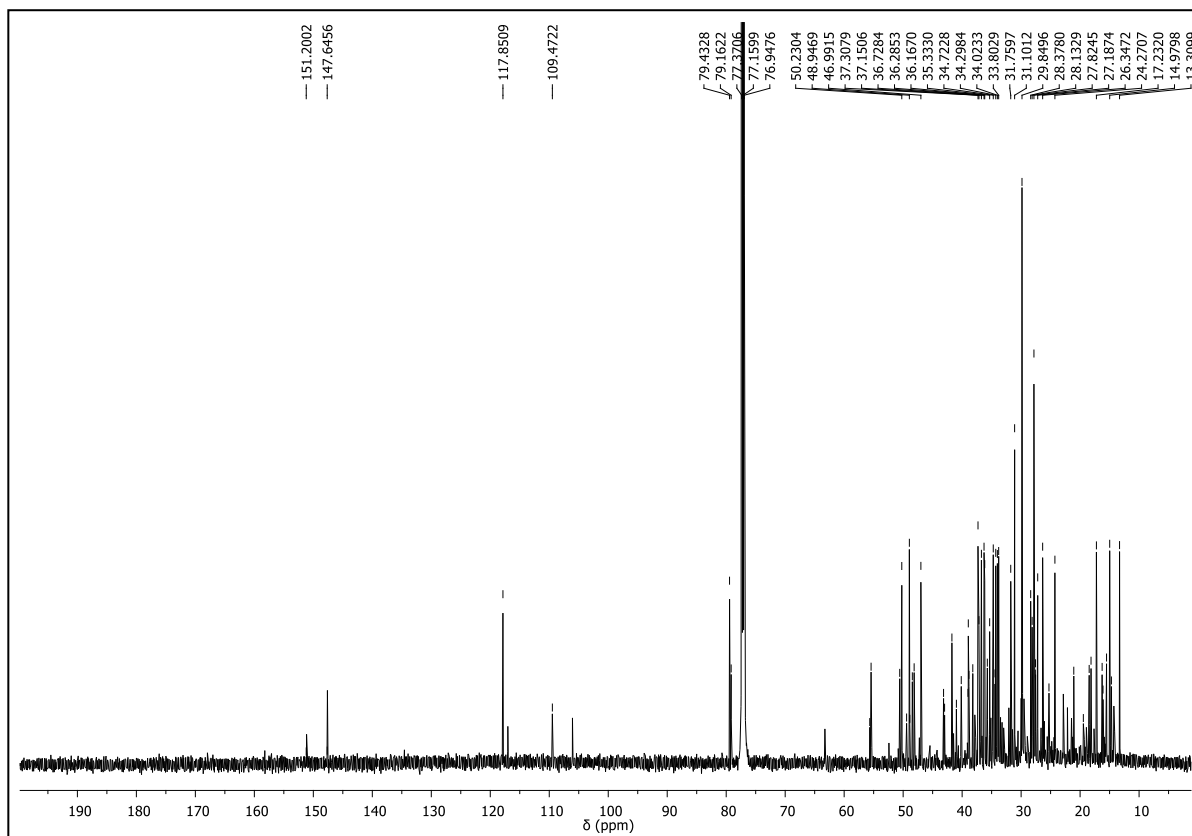


Figura 111. Expansão (δ 12-58) do espectro de RMN de ^{13}C de **16+21** (CDCl_3 , 600 MHz)

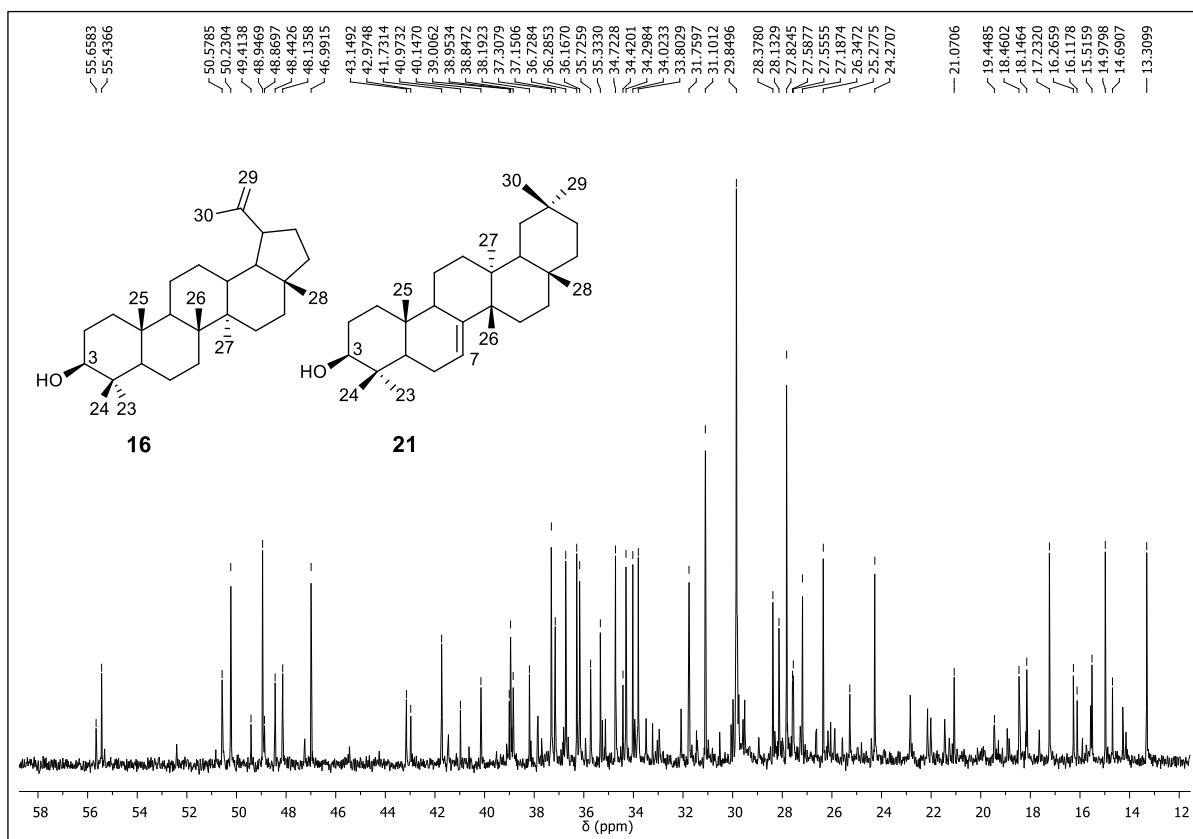


Figura 112. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° de **16+21** (CDCl_3 , 400 MHz)

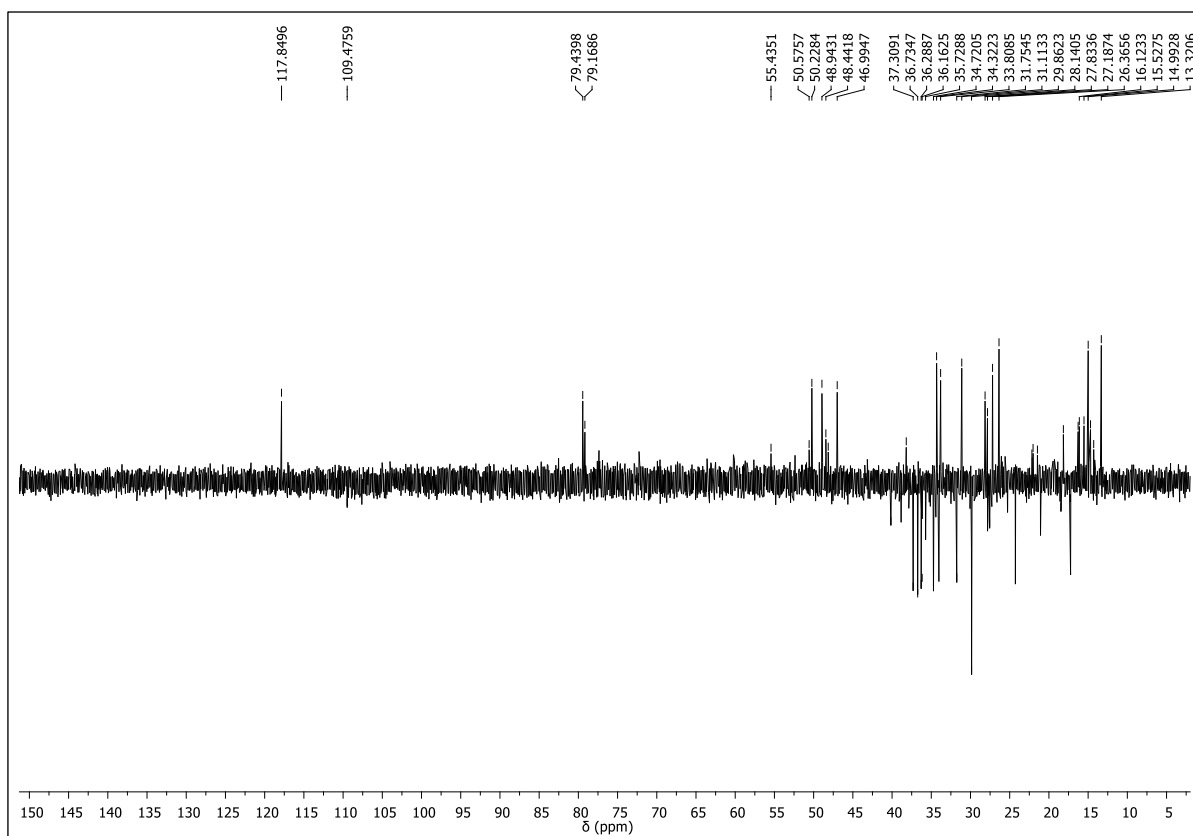


Figura 113. Espectro de RMN de ^1H de **22+23** (CDCl_3 , 400 MHz)

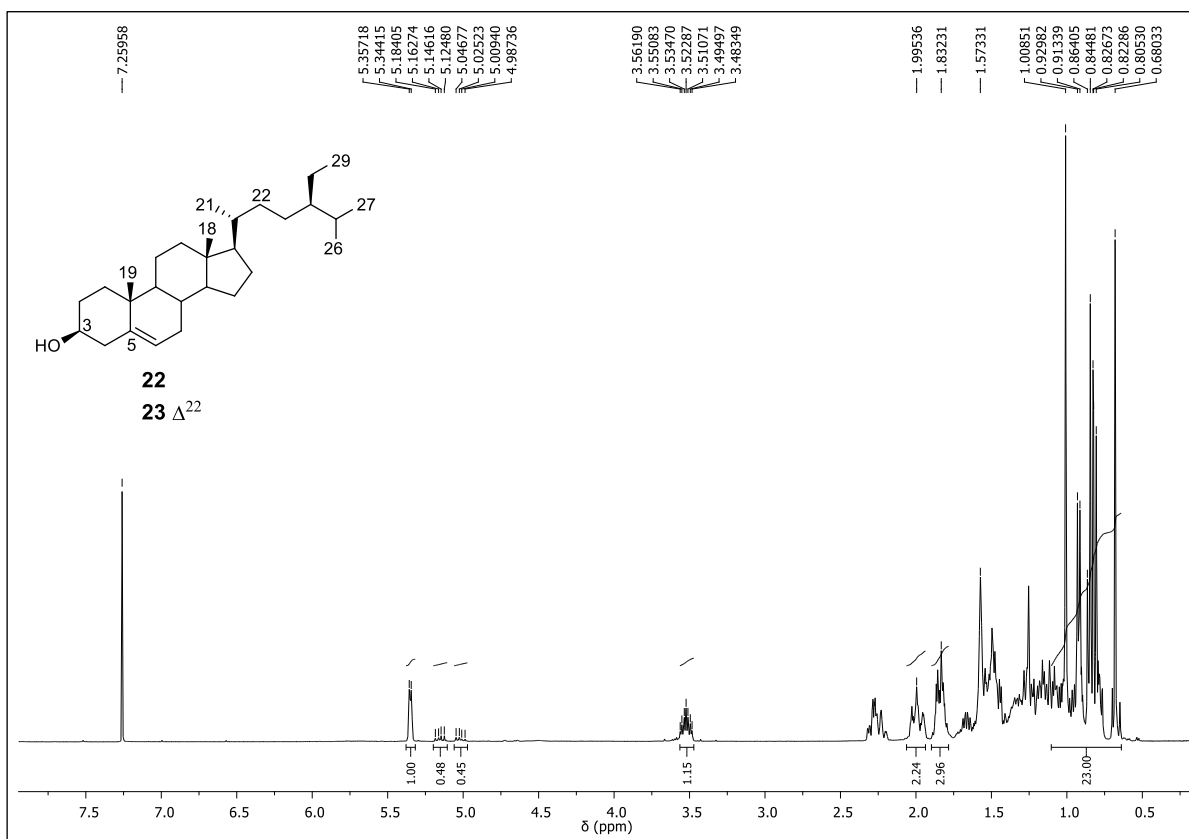


Figura 114. Espectro de RMN de ^{13}C de **22+23** (CDCl_3 , 400 MHz)

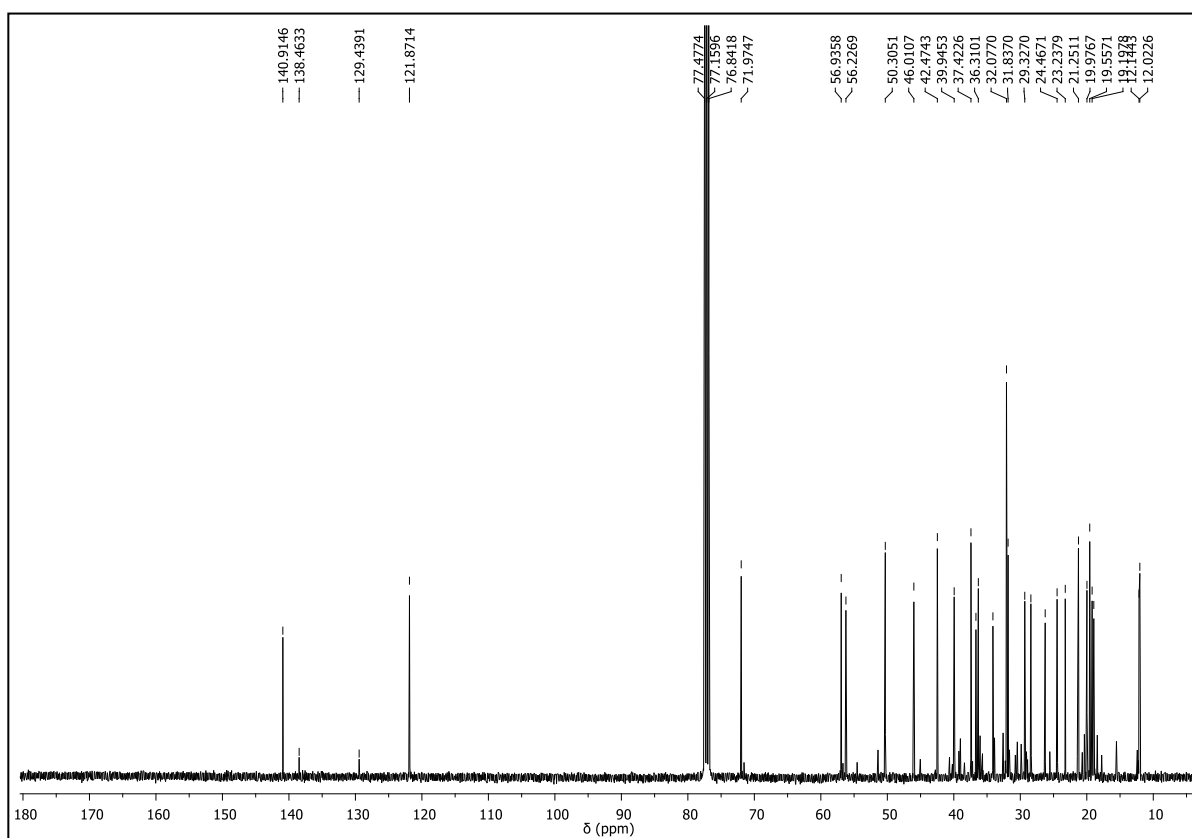


Figura 115. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 90° de **22+23** (CDCl_3 , 400 MHz)

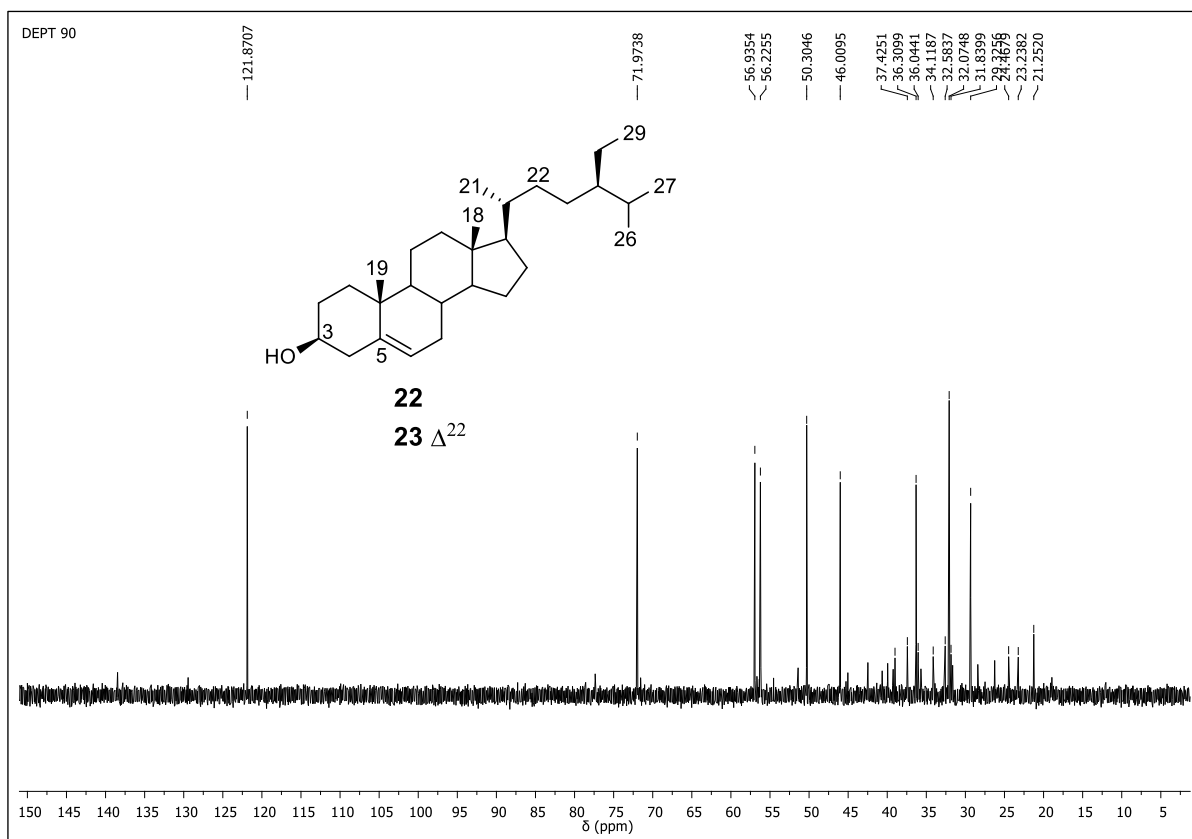


Figura 116. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° de **22+23** (CDCl_3 , 400 MHz)

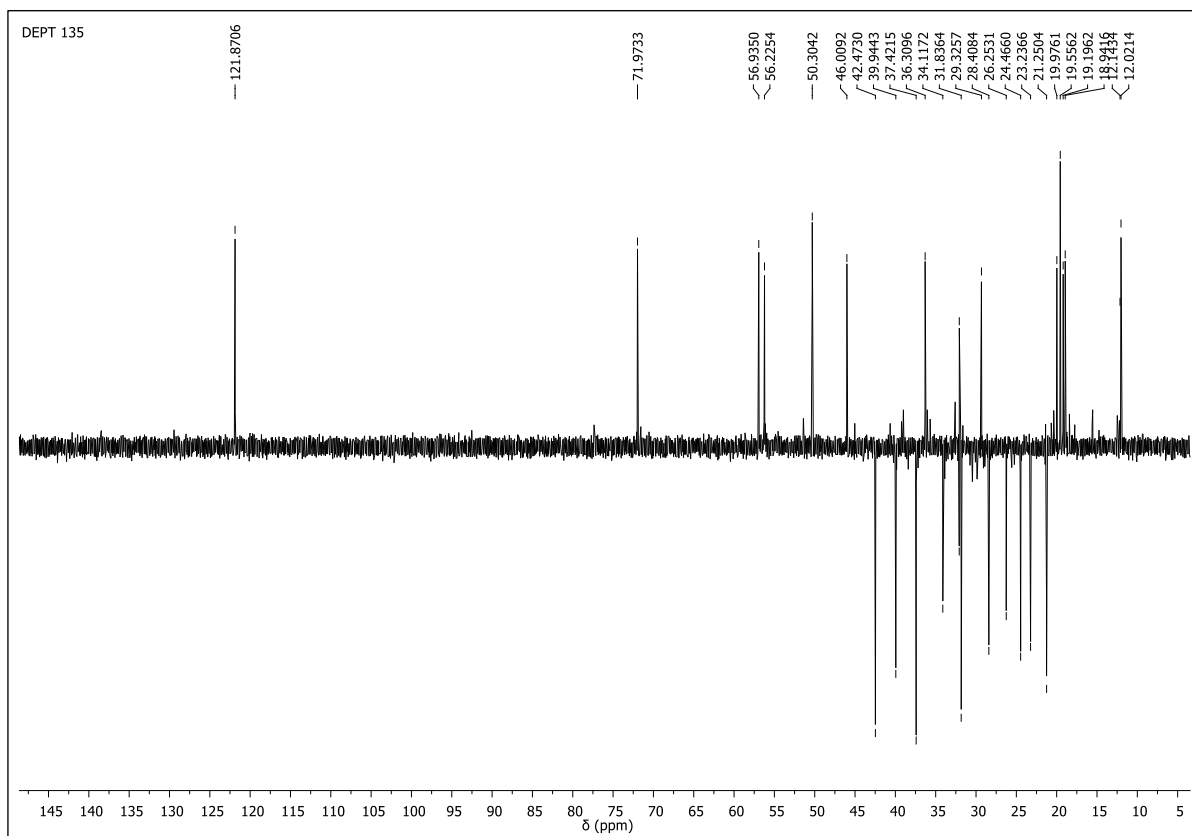


Figura 117. Cromatograma de íons monitorados (MIC) dos ésteres metílicos de ácidos graxos (a-e)

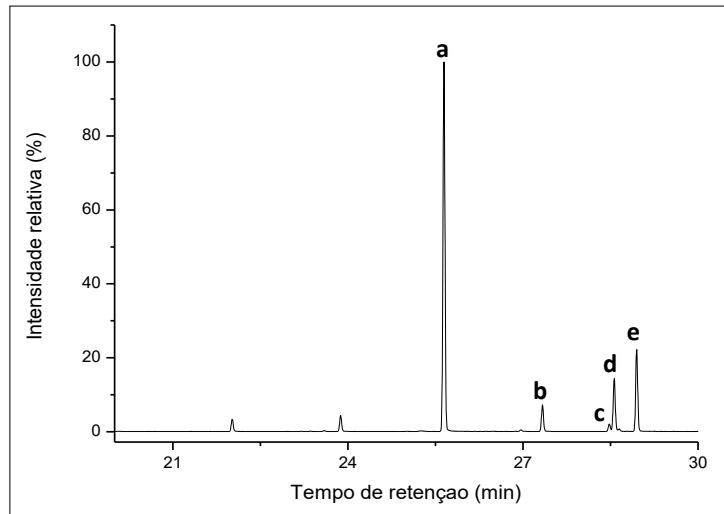


Figura 118. Espectro de massas do palmitato de metila (a)

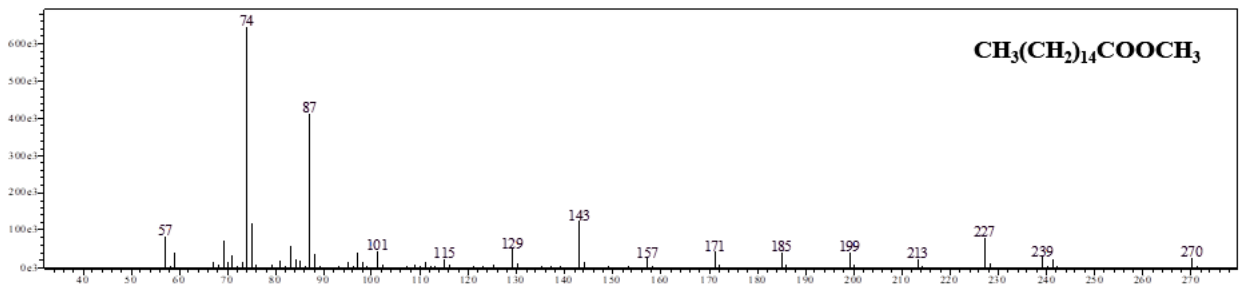


Figura 119. Espectro de massas do margarato de metila (b)

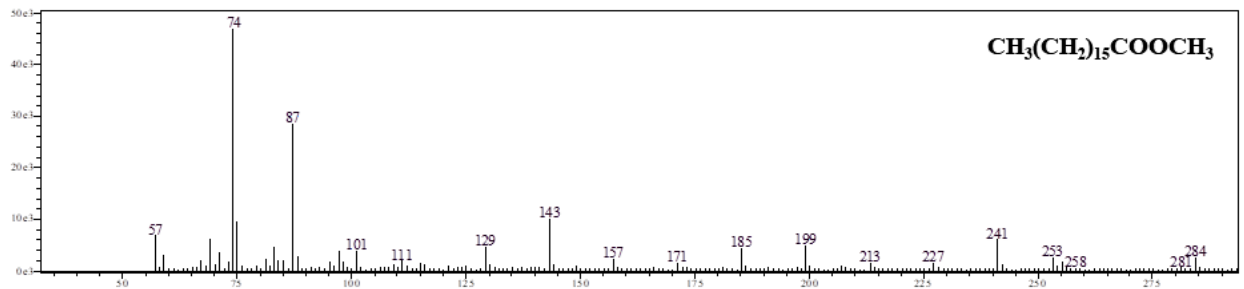


Figura 120. Espectro de massas do linoleato de metila (c)

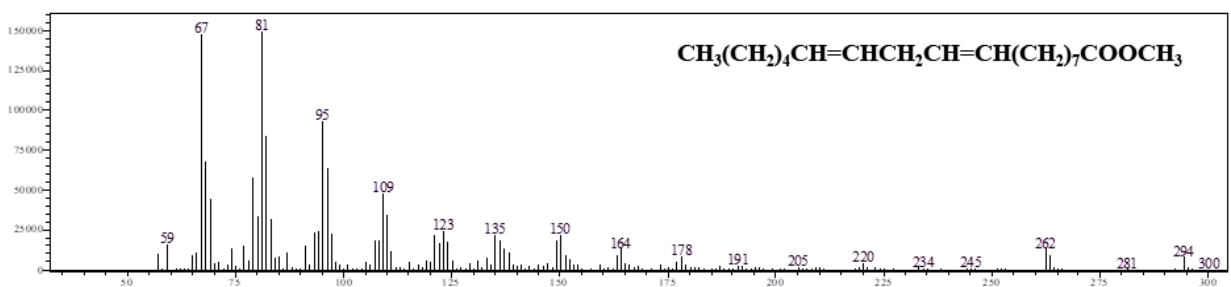


Figura 121. Espectro de massas do oleato de metila (d)

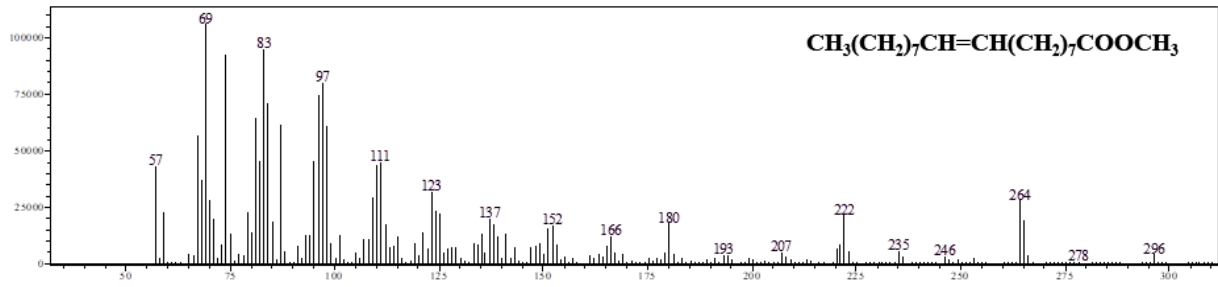


Figura 122. Espectro de massas do estearato de metila (e)

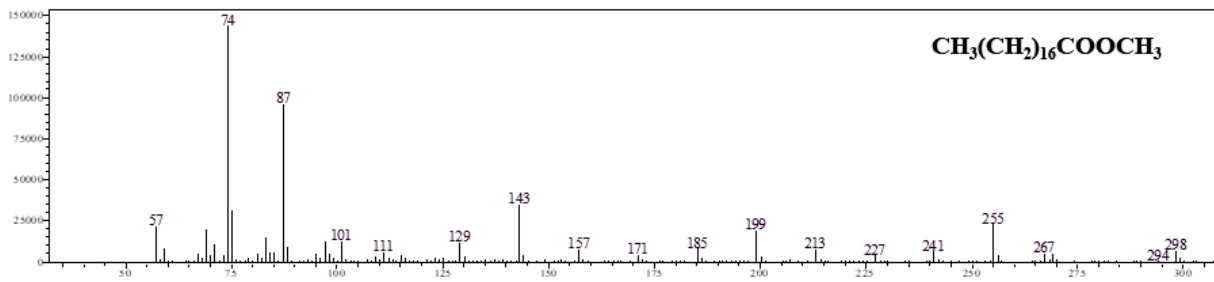


Figura 123. Espectro de RMN de ^1H de FH13-21 (CDCl_3 , 400 MHz)

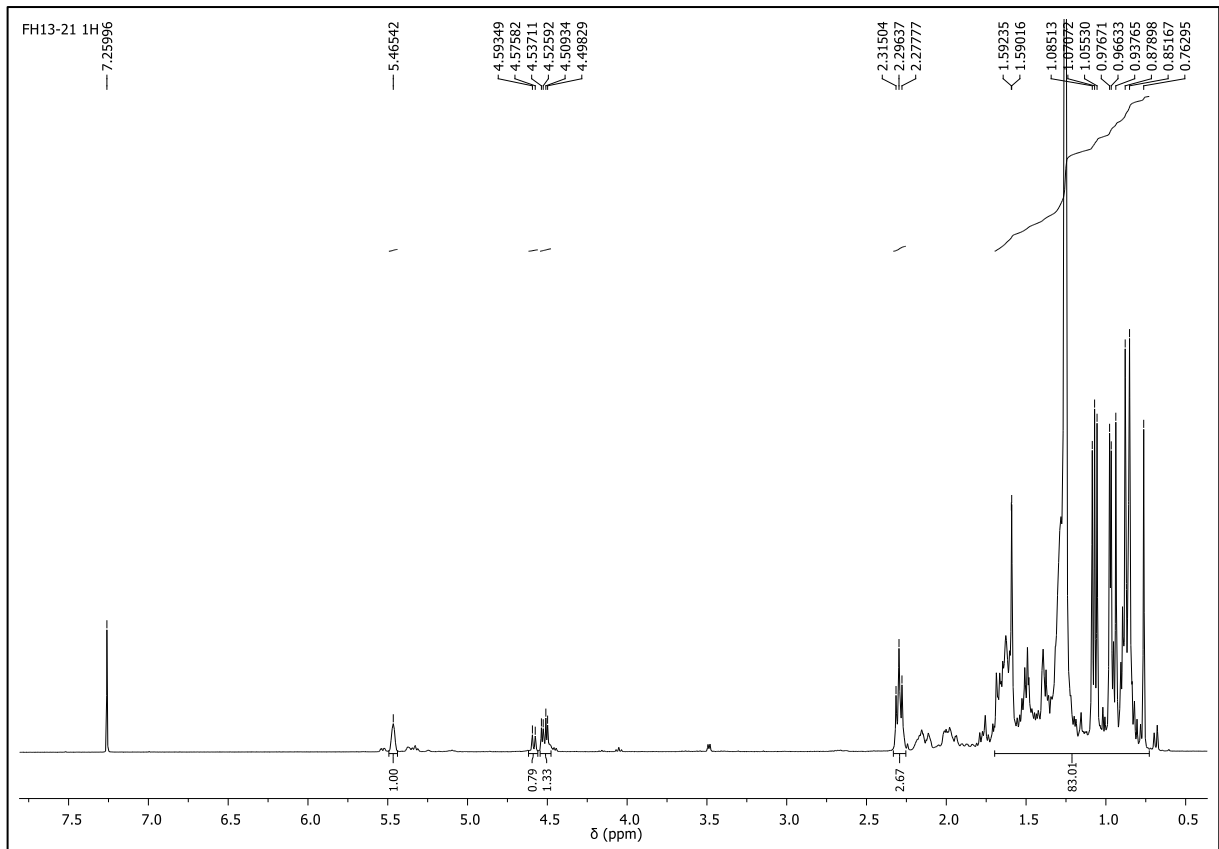
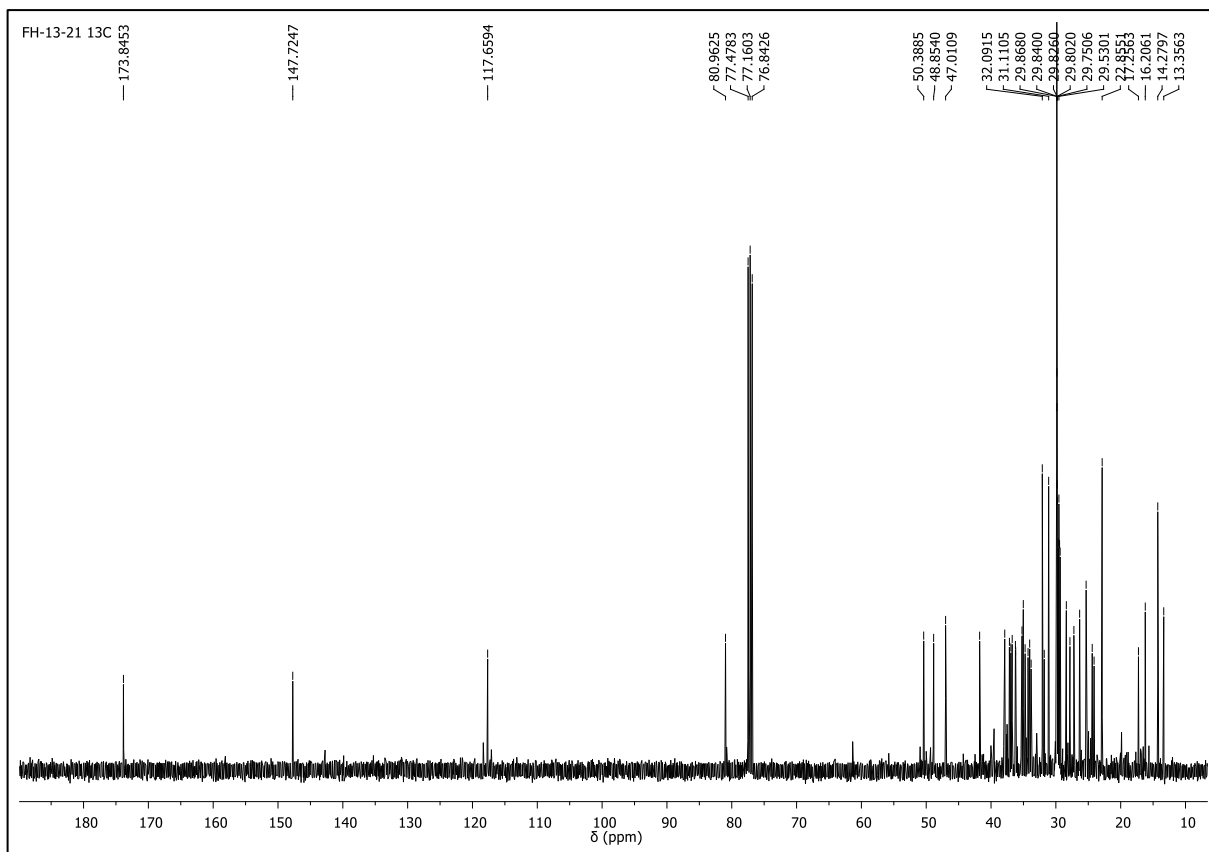
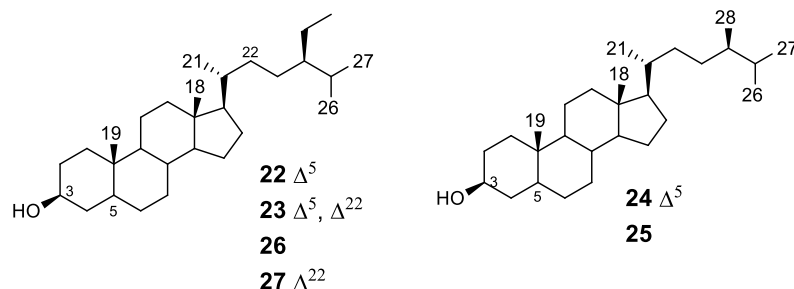


Figura 124. Espectro de RMN de ^1H de FH13-21 (CDCl_3 , 400 MHz)



Mistura dos esteroides 3 β -OH (*M3*)



A mistura *M3* (115,6 mg) foi obtida como um sólido branco amorfo, a partir do grupo CC24, proveniente da cromatografia em coluna de gel de sílica da fração CHCl₃ do extrato EtOH do caule (Esquema 3, pag. 39). A mistura dos compostos **22+23** foi também obtida do grupo FH32, proveniente da cromatografia em coluna de gel de sílica da fração hexânica do extrato EtOH das folhas (Esquema 12, pag. 55).

Os espectros de RMN de ¹H e ¹³C obtidos para a mistura *M3* foram comparados com os descritos anteriormente para a mistura de **22+23** (Figuras 113-116), permitindo confirmar a presença do sitosterol (**22**) e estigmasterol (**23**) na mistura.

A mistura *M3* foi analisada por CG-EM fornecendo o cromatograma de íons totais mostrado na Figura 125. O cromatograma apresentou seis bandas, sendo o sitosterol (**22**) e estigmasterol (**23**) e campesterol (**24**), os constituintes majoritários e, o campestanol (**25**), sitostanol (**26**) e Δ^{22} -estigmasterol (**27**) os constituintes minoritários. A Tabela 17 mostra o tempo de retenção (*T_R*), área integrada, índice de similaridade (IS) e o pico do íon molecular para os compostos identificados. Os compostos foram identificados por comparação dos espectros de massas obtidos com os da biblioteca Willey 229 e por comparação com dados da literatura. Os espectros de massas dos compostos identificados são mostrados nas Figuras 126-131.

Tabela 17. Esteroides (**22-27**) identificados por CG-EM

Compostos	<i>T_R</i> (min)	IS (%)	Área (%)	<i>M</i> ⁺
Campesterol (24)	27,567	81	17,96	400
Campestanol (25)	27,736	79	1,17	402
Estigmasterol (23)	28,032	86	25,15	412
Δ^{22} -Estigmasterol (27)	28,207	78	2,44	414
Sitosterol (22)	28,989	86	47,31	414
Sitostanol (26)	29,173	78	3,76	416

Figura 125. Cromatograma de íons totais de *M3* (22-27)

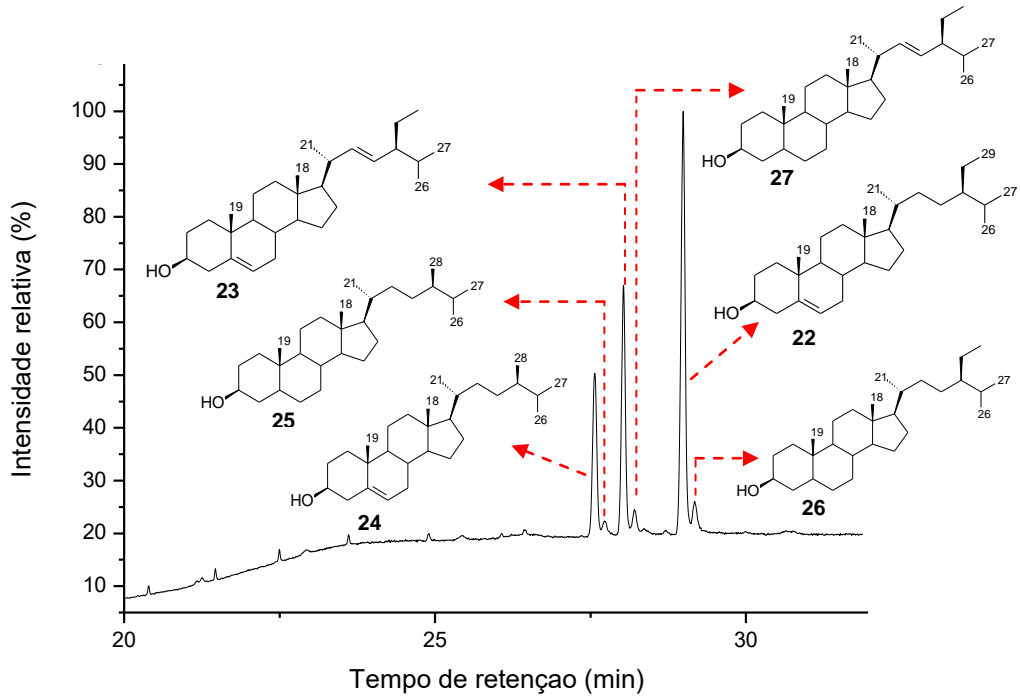


Figura 126. Espectro de massas do campesterol (24) - M^{+} 400

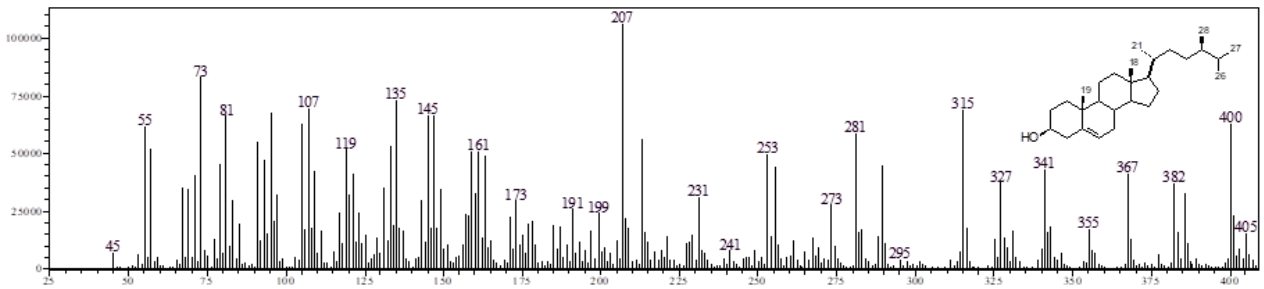


Figura 127. Espectro de massas do campestanol (25) - M^{+} 402

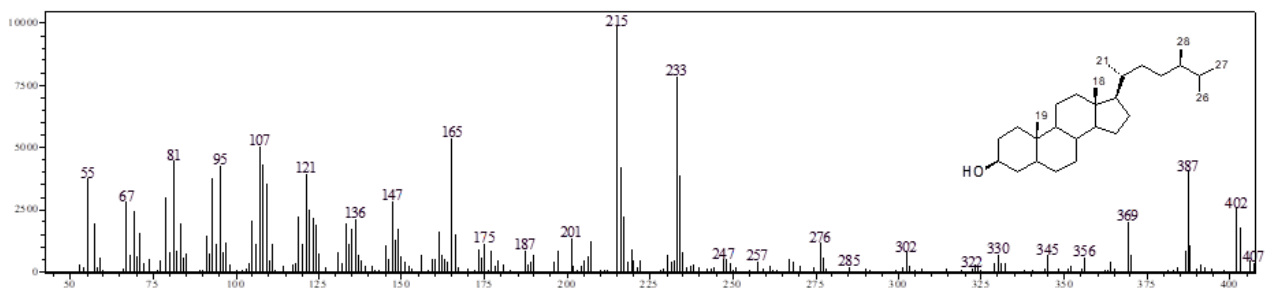


Figura 128. Espectro de massas do estigmasterol (**23**) - $M^{+\bullet}$ 412

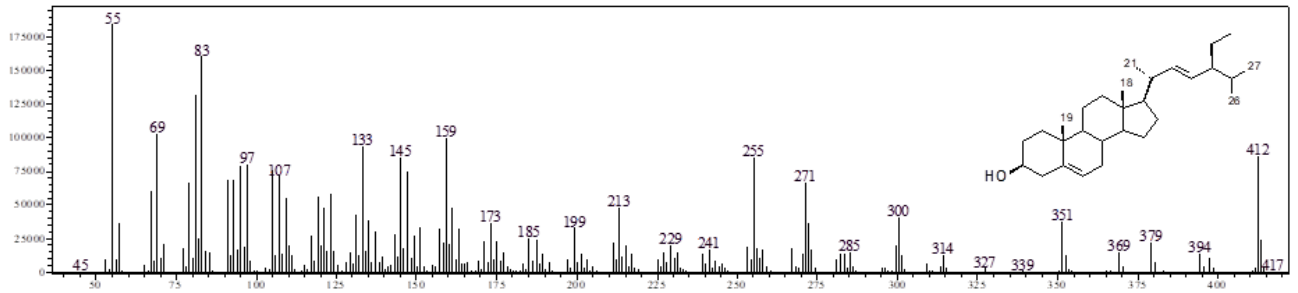


Figura 129. Espectro de massas do Δ^{22} -estigmasterol (**27**) - $M^{+\bullet}$ 414

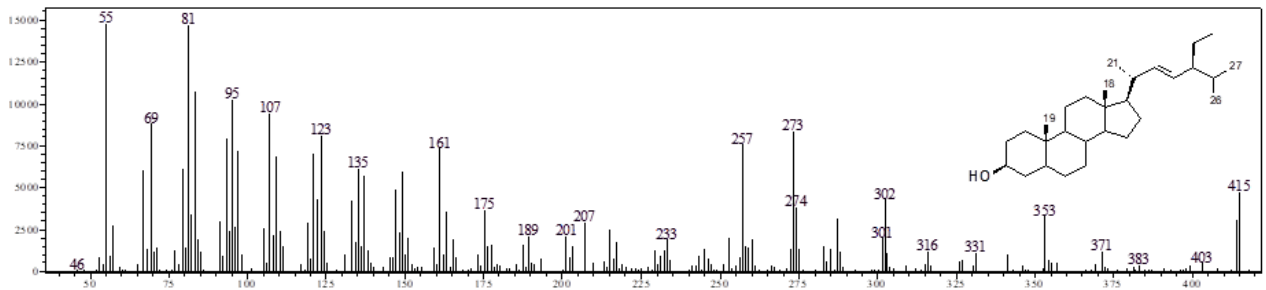


Figura 130. Espectro de massas do sitosterol (**22**) - $M^{+\bullet}$ 414

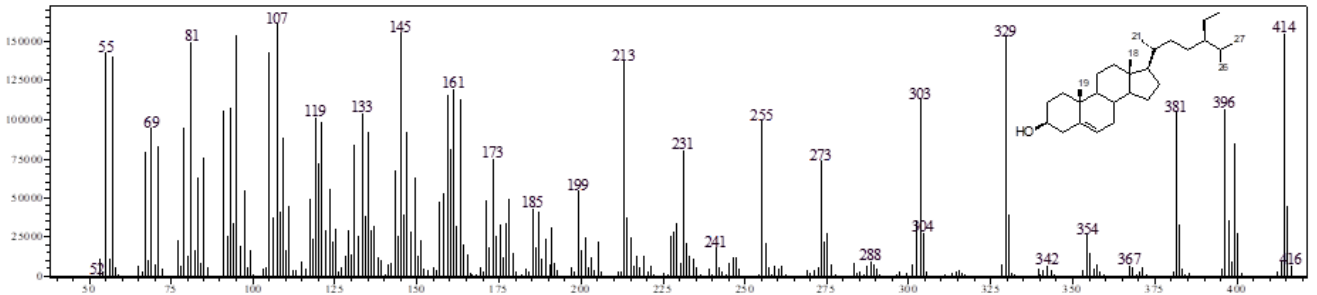
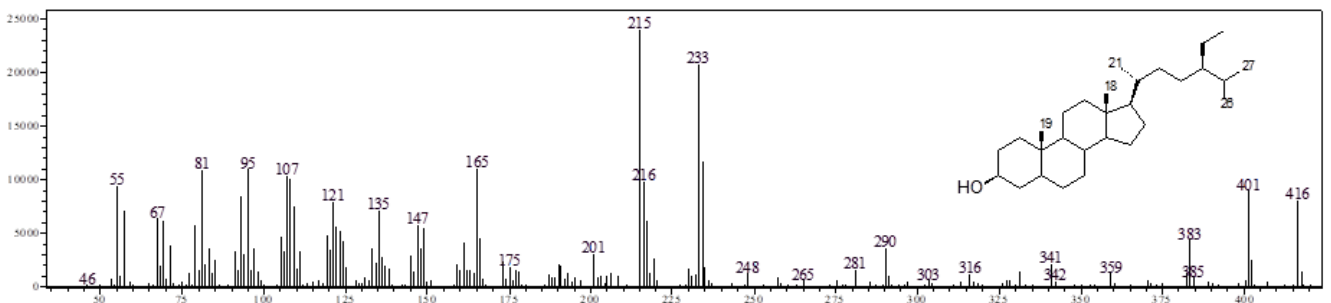
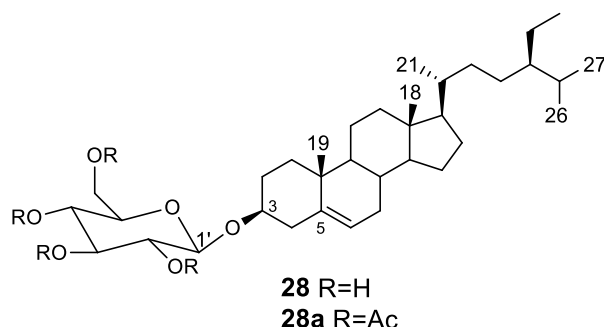


Figura 131. Espectro de massas do sitostanol (**26**) - $M^{+\bullet}$ 416



Esteróide glicosilado



O composto **28** (4,4 mg) foi obtido como um sólido branco amorfo, a partir do grupo B7, proveniente da cromatografia em coluna Strata C18 da fração AcOEt do extrato EtOH do caule (Esquema 7, pag. 44).

O composto **28** foi identificado a partir de seu derivado acetilado (**28a**), obtido após tratamento com anidrido acético e piridina. O espectro de RMN de ^1H de **28a** (Figura 132) apresentou sinais semelhantes aos observados para a mistura de **22+23** e, sinais adicionais entre δ 3,67-5,20 típicos de açúcar, bem como simpletos entre δ 1,98-2,05 característicos de hidrogênios metílicos em grupos acetato (ALVES et al., 2001).

A análise do espectro de RMN de ^{13}C -DEPTQ 135 (Figuras 133-134, Tabela 18) mostrou sinais característicos do sitosterol (**22**), assim como um sinal de carbono anomérico em δ 99,8 (C-1') correlacionando no mapa de contornos gHSQC (Figura 135-136) com o duplete em δ_{H} 4,59 ($J=8,0$ Hz), evidenciando a presença da β -glicose. O sinal do carbono carbinólico em δ_{C} 80,2 é compatível com o deslocamento químico do C-3 de esteroide glicosilado (ALVES et al., 2001). A correlação no mapa de contornos gHMBC (Figura 137-138) do sinal do hidrogênio anomérico (δ 4,59) com o sinal de C-3 (δ 80,2) confirma a glicosilação nesta posição. Os grupos acetoxílicos foram confirmados pelos sinais em δ 20,8-20,9 (CH_3) e δ 169,5-170,9 observados no espectro de RMN de ^{13}C -DEPTQ 135 (Figuras 133-134). Os deslocamentos químicos dos hidrogênios da glicose foram atribuídos pela análise dos mapas de contornos, incluindo gCOSY (Figura 139) e são apresentados na Tabela 19.

Os dados do produto acetilado em comparação com os relatados na literatura (ALVES et al., 2001; MACARI, EMERECIANO e FERREIRA, 1990) permitiram identificar o composto **28** como o sitosterol-3-O- β -D-glicopiranosídeo (daucosterol).

Tabela 18. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C do composto **28a** (CDCl_3 , 600 e 150 MHz; δ em ppm)

C/H	28a		Tetracetato de 3-O- β -D-glicopiranosilsterol*
	^{13}C	^1H	^{13}C
1	37,3		37,2
2	29,8		29,5
3	80,2	3,49 m	80,0
4	39,0		38,9
5	140,5		140,3
6	122,3	5,36 d ($J=5,1$ Hz)	122,0
7	32,1		31,8
8	32,0		31,8
9	50,3		50,2
10	36,8		36,5
11	21,2		20,9
12	39,9		39,7
13	42,4		42,3
14	56,9		56,7
15	24,4		24,2
16	28,4		28,1
17	56,2		56,1
18	12,0	0,67 s	11,9
19	19,5	0,98 s	19,2
20	36,3		36,0
21	19,2		18,7
22	34,1		34,0
23	26,1		26,1
24	45,9		45,8
25	29,3		29,1
26	18,9		19,7
27	20,0		18,9
28	23,2		23,0
29	12,1		11,0

*Dados em CDCl_3 relatados por MACARI, EMERECIANO e FERREIRA, 1990

Tabela 19. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C da glicose acetilada do composto **28a** (CDCl_3 , 600 e 150 MHz; δ em ppm)

C/H	28a		Tetracetato de 3-O- β -D-glicopiranosilsterol*
	^{13}C	^1H	^{13}C
1'	99,8	4,59 d ($J=8,0$ Hz)	99,6
2'	71,6	4,95 dd ($J=9,7$ e $8,0$ Hz)	71,7
3'	73,0	5,20 t ($J=9,5$ Hz)	73,0
4'	68,5	5,07 t ($J=9,7$ Hz)	68,7
5'	71,8	3,67 m	71,5
6'	62,2	4,25 dd ($J=12,2$ e $4,9$ Hz) 4,10 dd ($J=12,2$ e $2,4$ Hz)	61,9
OCH_3	20,8-20,9	1,98-2,05 s	
C=O	169,5-170,5		

*Dados em CDCl_3 relatados por MACARI, EMERECIANO E FERREIRA, 1990

Figura 132. Espectro de RMN de ^1H de **28a** (CDCl_3 , 600 MHz)

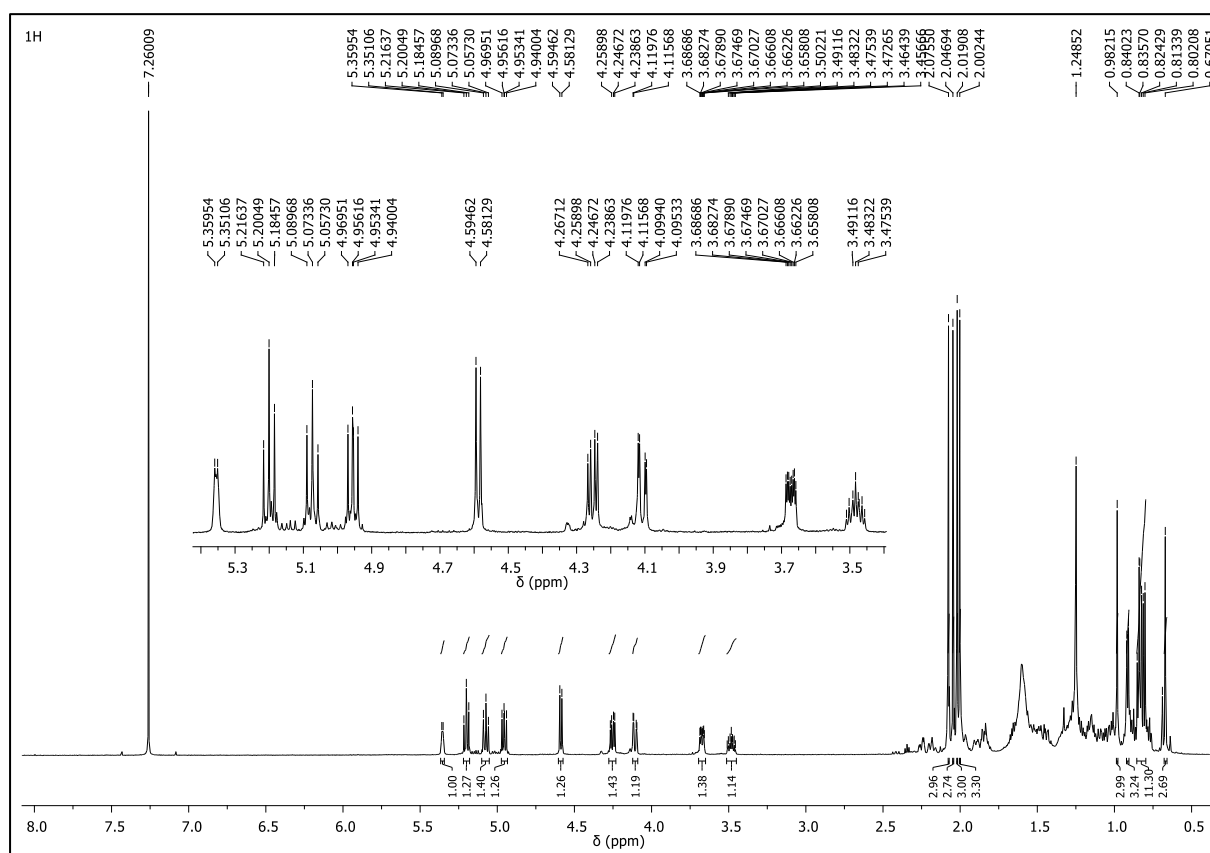


Figura 133. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTQ 135 de **28a** (CDCl_3 , 150 MHz)

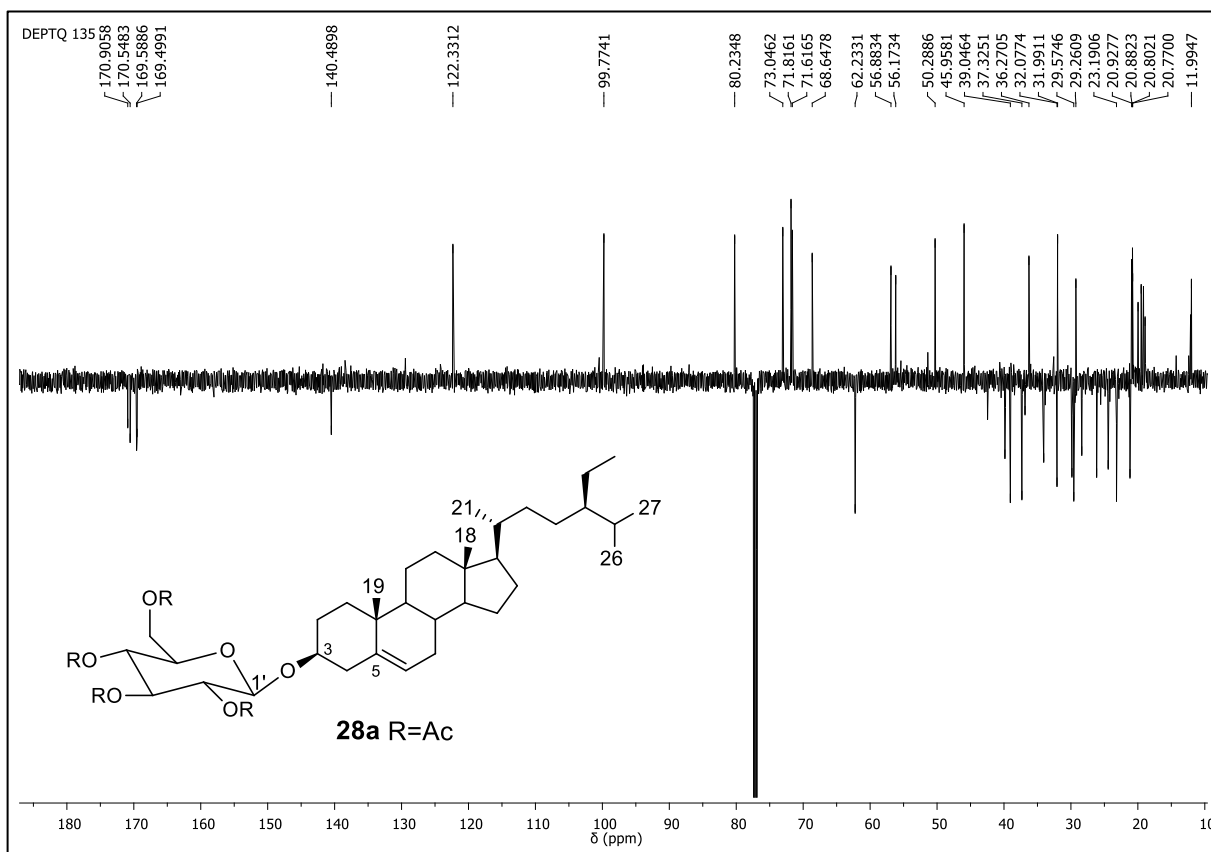


Figura 134. Expansão (δ 10-75) do espectro de RMN de ^{13}C -DEPTQ 135 de **28a** (CDCl_3 , 150 MHz)

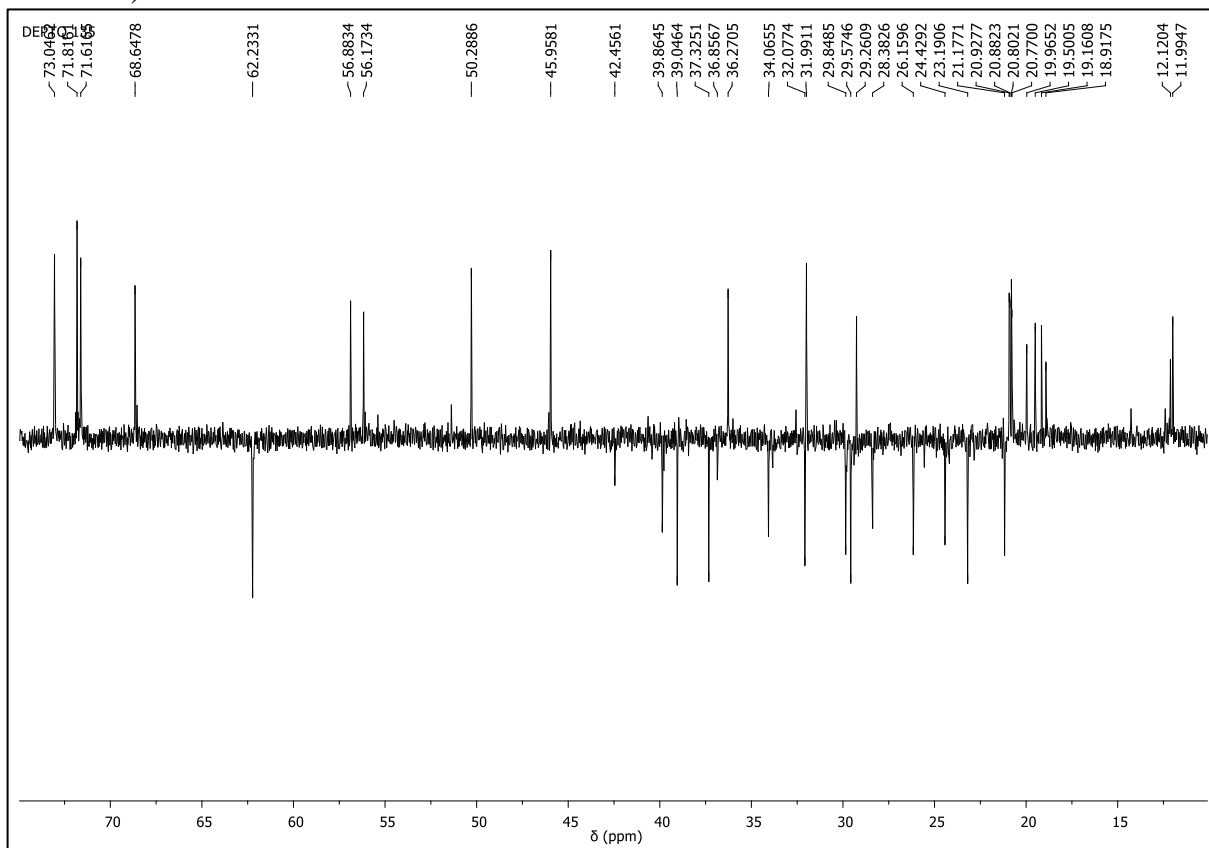


Figura 135. Mapa de contornos gHSQC de **28a** (CDCl₃, 600 e 150 MHz)

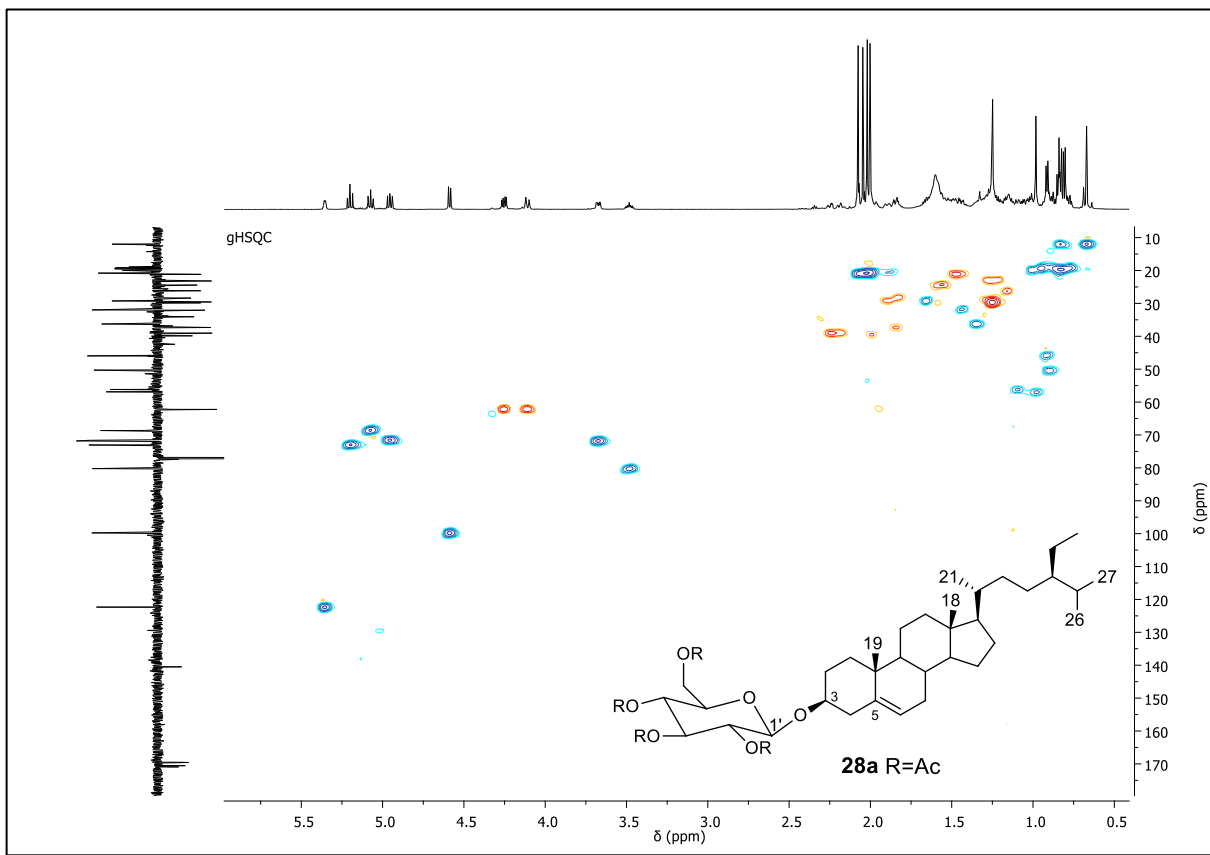


Figura 136. Expansão (δ 0,5-2,4 e 10-65) do mapa de contornos gHSQC de **28a** (CDCl₃, 600 e 150 MHz)

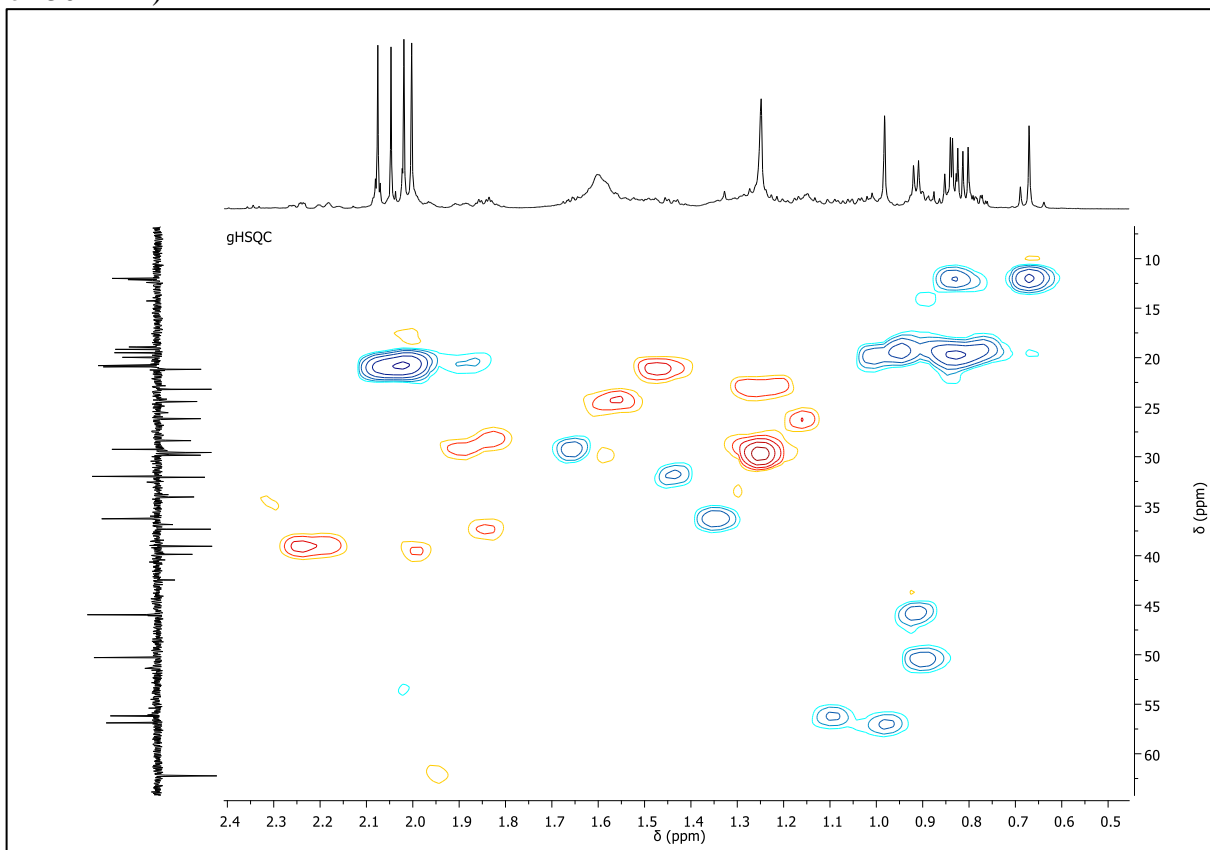


Figura 137. Mapa de contornos gHMBC de **28a** (CDCl₃, 600 e 150 MHz)

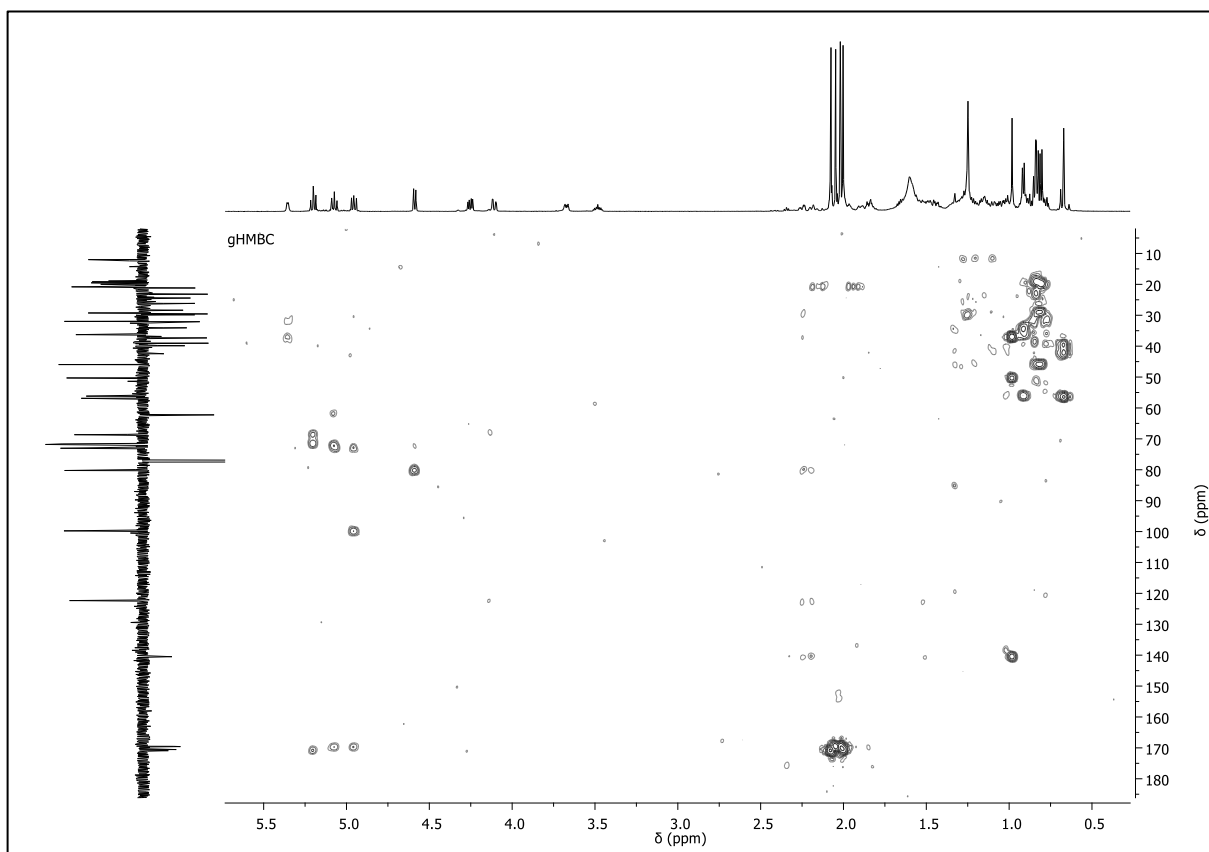


Figura 138. Expansão (δ 0,5-2,4 e 10-65) do mapa de contornos gHMBC de **28a** (CDCl₃, 600 e 150 MHz)

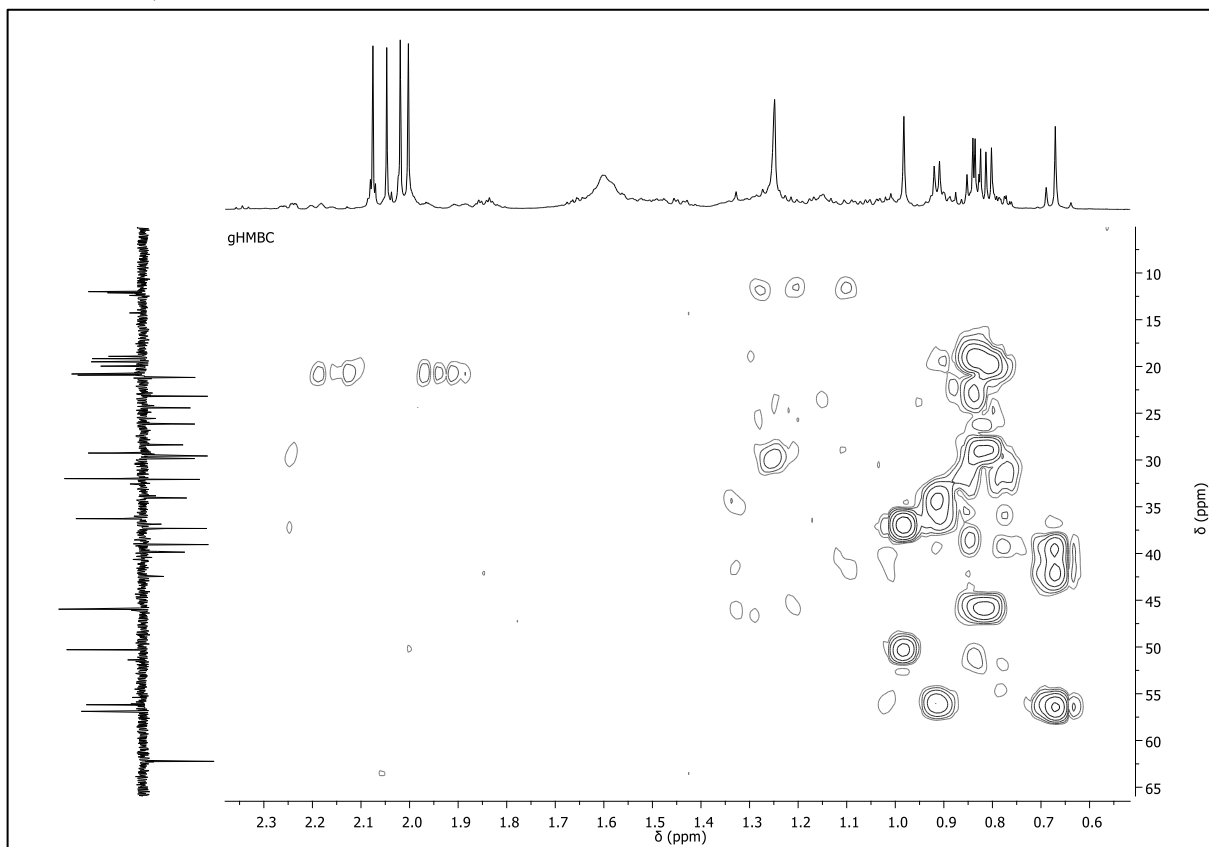
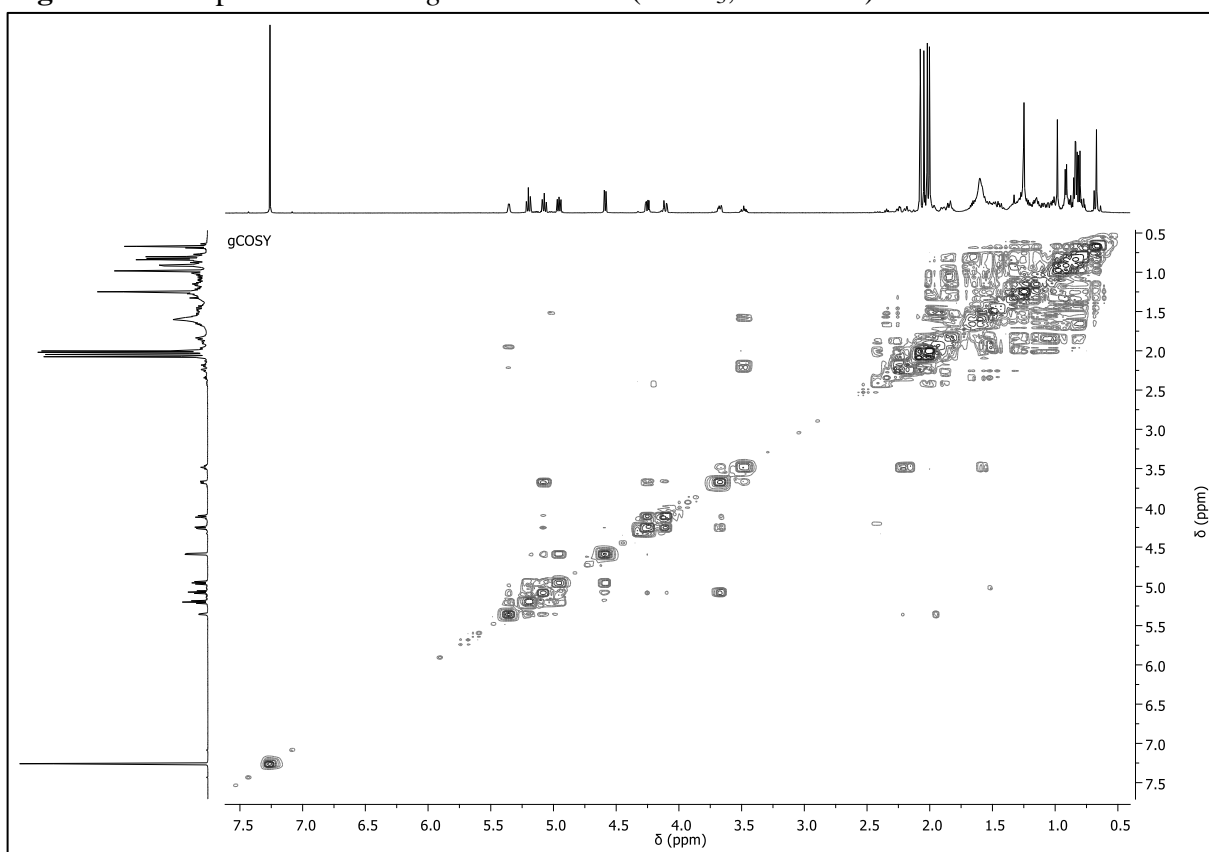
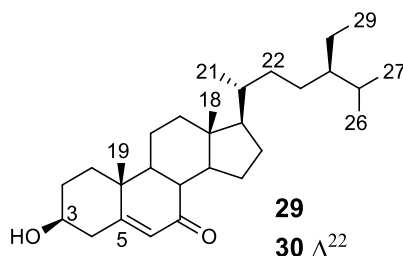


Figura 139. Mapa de contornos gCOSY de **28a** (CDCl₃, 600 MHz)



Mistura dos cetoesteroides (M4)



A mistura dos compostos **29+30** (5,4 mg) foi obtida como um sólido branco amorfo, a partir do grupo CC50, proveniente do fracionamento cromatográfico em coluna de gel de sílica da fração CHCl_3 do extrato EtOH do caule (Esquema 4, pag. 40).

O espectro de RMN de ^1H (Figura 140) da mistura apresentou sinais característicos de esteroides, sendo um multiplete em δ 3,66, típico do hidrogênio oximetínico H-3 e, sinais de hidrogênios metílicos entre δ 0,69-1,20. Adicionalmente, foram observados sinais de hidrogênios olefínicos em δ 5,69 (sl) atribuído a H-6 e dois duplos dupletos de menor intensidade em δ 5,17 e 5,03 ($J=15,2$ e $8,6$ Hz), típicos dos hidrogênios H-22 e H-23 da cadeia lateral de esteroides.

A análise dos espectros de RMN de ^{13}C , DEPT 90° e 135° (Figuras 141-143, Tabela 20), mostrou um sinal de carbono carbinólico em δ 70,7, típico de C-3 com $3\beta\text{-OH}$. Na região de carbonos olefínicos foram observados sinais entre δ 165,1/165,2 e 126,2/126,3 atribuídos a C-5 e C-6 e, sinais de menor intensidade em δ 138,1 e 129,5 confirmando a presença da ligação dupla em C-22 e C-23 do composto **30**. Foi observado uma desblindagem de C-5 (δ_{C} 165,1/165,2) quando comparado a $3\beta\text{-OH}$ que ocorre aproximadamente em δ_{C} 140,0 devido ao efeito de ressonância da carbonila α,β -insaturada (DE-EKNAMKUL e POTDUANG, 2003). Este fato, aliado a presença do sinal de carbonila de cetona em δ_{C} 202,4, confirma que a ligação dupla está conjugada à carbonila. A comparação dos dados de RMN obtidos, com os relatados na literatura (WANG et al., 2015; LI, GUO e LOU, 2013) confirmaram a posição da carbonila em C-7 e permitiram identificar os compostos **29** e **30** como os esteroides 7-cetositosterol e 7-cetoestigmasterol respectivamente.

Tabela 20: Dados de RMN de ^{13}C dos compostos **29+30** (CDCl_3 , 100 MHz)

C	Deslocamento químico δ (ppm)			
	29	7-cetositosterol*	30	7-cetoestigmasterol**
1	36,5	36,3	36,5	36,4
2	31,4	31,1	31,4	31,9
3	70,7	70,5	70,7	70,6
4	42,0	41,8	42,0	41,8
5	165,2	165,2	165,2	165,1
6	126,3	126,0	126,3	126,1
7	202,4	202,4	202,4	202,3
8	45,6	45,4	45,6	45,4
9	50,1	49,9	50,2	50,0
10	38,4	38,2	38,4	38,3
11	21,4	21,2	21,4	21,2
12	38,9	38,6	38,8	38,6
13	43,3	43,0	43,2	43,0
14	50,1	49,9	50,2	50,0
15	26,3	26,0	26,3	26,4
16	28,7	28,5	29,2	29,1
17	54,9	54,6	54,9	54,7
18	12,1	11,9	12,1	12,2
19	17,5	17,3	17,5	17,3
20	36,2	36,0	40,4	40,3
21	19,1	18,9	21,6	21,4
22	34,1	33,8	138,2	138,1
23	26,6	26,3	129,7	129,5
24	46,0	45,8	51,4	51,2
25	29,3	29,1	32,0	31,2
26	19,9	19,8	21,2	21,1
27	19,2	19,0	19,2	19,0
28	23,2	23,0	25,5	25,4
29	12,1	11,9	12,4	12,3

*Dados em CDCl_3 relatados por WANG et al., 2015; **Dados em CDCl_3 relatados por LI, GUO e LOU, 2013

Figura 140. Espectro de RMN de ^1H de $M4$ (**29+30**) (CDCl_3 , 400 MHz)

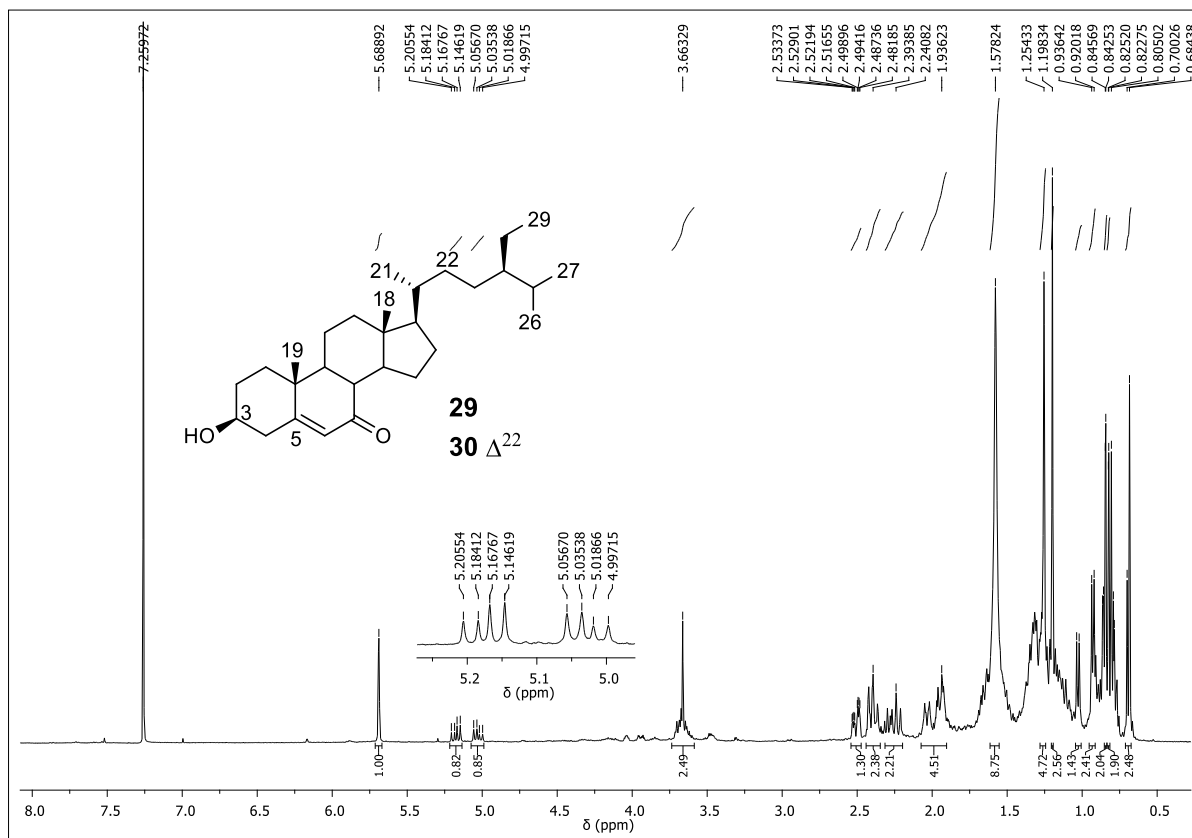


Figura 141. Espectro de RMN de ^{13}C de $M4$ (**29+30**) (CDCl_3 , 100 MHz)

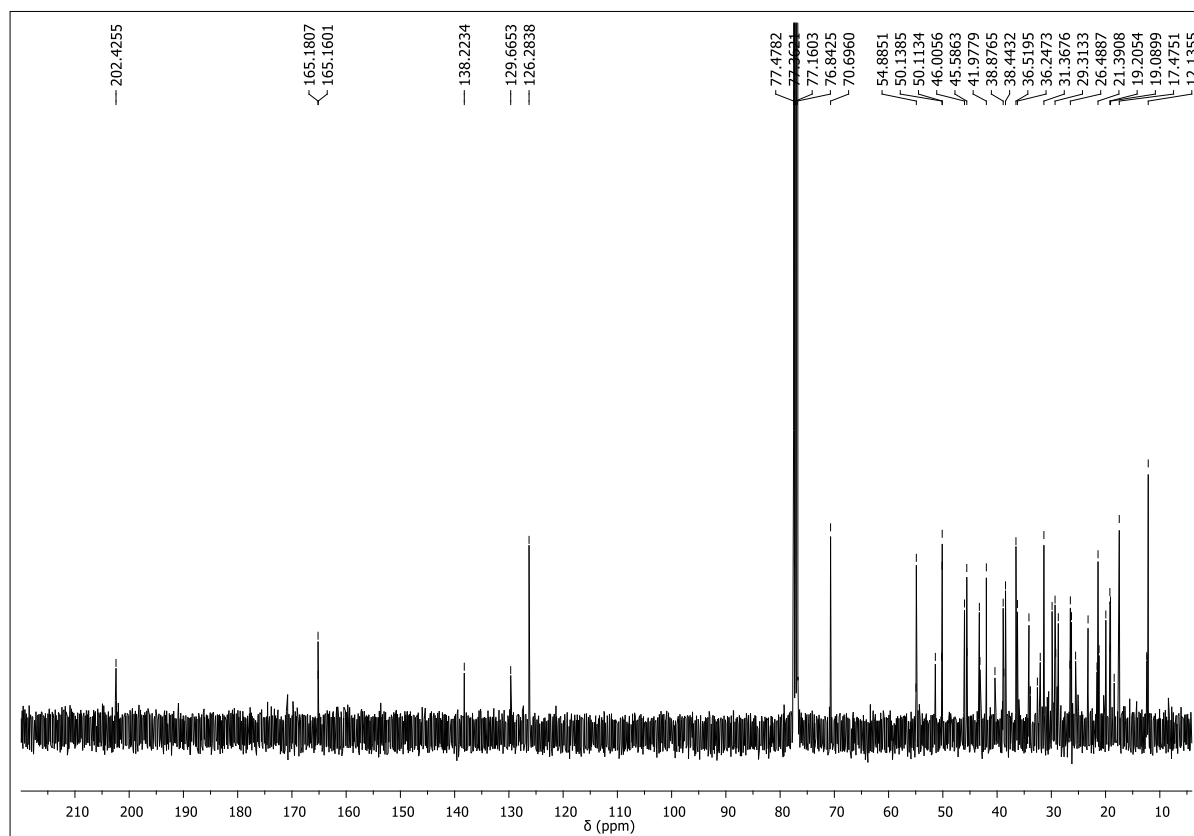


Figura 142. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 90° de *M4* (**29+30**) (CDCl_3 , 100 MHz)

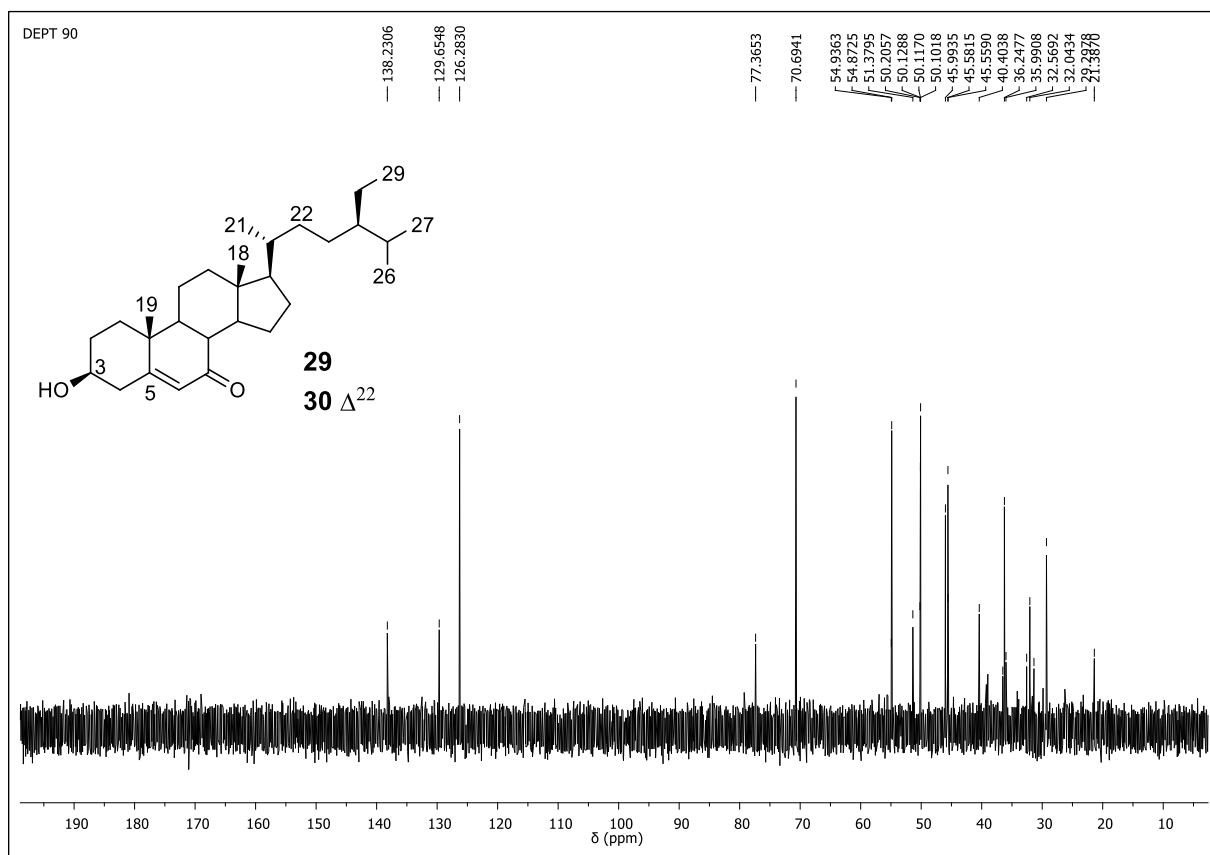
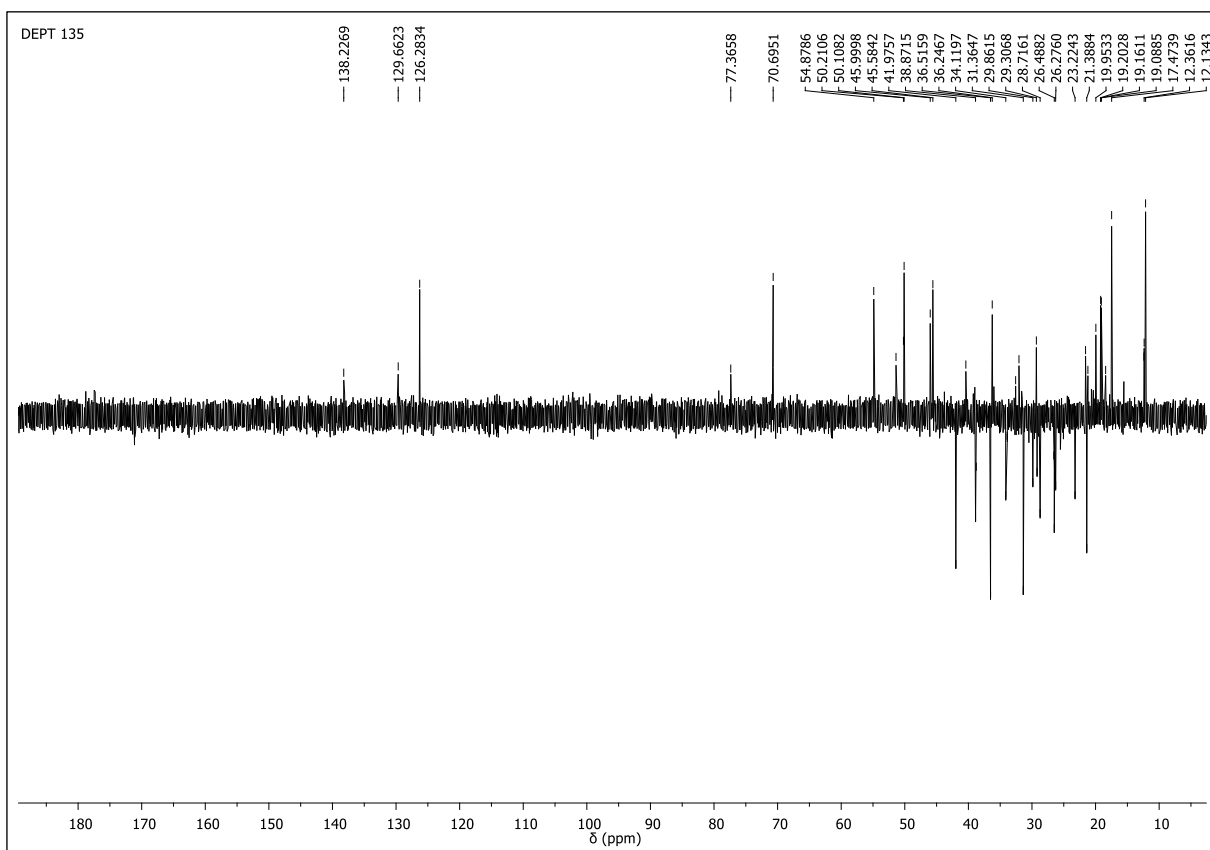
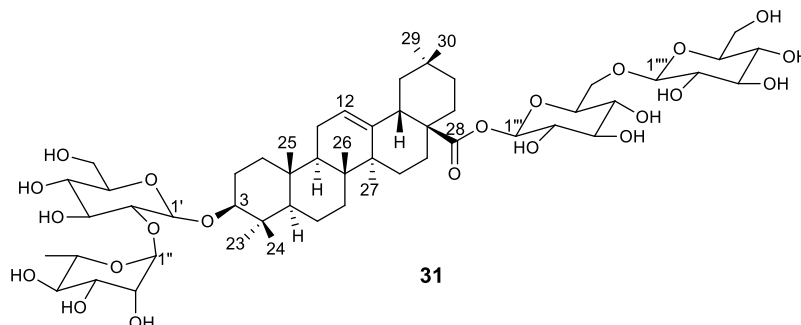


Figura 143. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° de *M4* (**29+30**) (CDCl_3 , 100 MHz)



5.3.3. Identificação estrutural das saponinas triterpênicas

Saponina 31



O composto **31** (11,7 mg) foi obtido como um sólido branco amorfo, a partir da subfração **E** (MeOH), proveniente da cromatografia em coluna Strata C18 da fração MeOH do extrato EtOH do caule (Esquema 10, pag. 49).

O espectro de RMN de ^1H (Figuras 145-146) mostrou um sinal de hidrogênio olefínico em δ 5,26 (t; $J=3,0$ Hz) e sete simpletos entre δ 0,81-1,17 característicos de hidrogênios de grupos metílicos, evidenciando a presença de um triterpeno pentacíclico como aglicona. Adicionalmente mostrou quatro sinais de hidrogênios anoméricos em δ 4,42 (d, $J=7,4$ Hz), 5,38 (sl), 5,36 (s) e 4,36 (d, $J=7,8$ Hz), os quais mostraram correlações no espectro gHSQC (Figuras 151-153) com os sinais de carbonos anoméricos em δ 105,6 (C-1'), 101,8 (C-1''), 95,7 (C-1''') e 104,5 (C-1'''), respectivamente. O duplete em δ 1,22 ($J=6,0$ Hz) correlacionando com o sinal de carbono em δ 18,0 no espectro gHSQC, indica a presença de uma unidade de rarnose, enquanto as três unidades de glicose foram identificadas pelos sinais de carbonos oximetilênicos em δ_{C} 62,7 (C-6'), 69,5 (C-6''') e 62,8 (C-6''').

Os espectros de RMN de ^{13}C , incluindo DEPT 90° e 135° (Figuras 147-150; Tabela 21) mostraram um sinal de carbono oximetínico em 90,3 (C-3) e de carbonila em δ 178,1 (C-28), além de sinais de carbonos olefínicos em δ 123,8 (C-12) e 144,9 (C-13) típicos de triterpenoides com esqueleto olean-12-eno (OLEA e ROQUE, 1990). A sequencia das unidades de açúcar, incluindo as posições de ligação na aglicona foram determinadas pela análise dos espectros gCOSY (Figura 154) e gHMBC (Figuras 155-157). As correlações 3J observadas do sinal em δ_{H} 5,38 (H-1'') com δ_{C} 78,9 (C-2') e de δ_{H} 4,42 (H-1') com δ_{C} 90,3 (C-3) indicaram que α -L-rarnnopiranosil-(1 \rightarrow 2)- β -D-glicopiranosil está ligada na posição C-3 da aglicona. Pela mesma razão, o dissacarídeo em C-28 foi identificado como β -D-glicopiranosil-(1 \rightarrow 6)- β -D-glicopiranosil pelas correlações observadas no mapa de contornos

gHMBC dos hidrogênios anoméricos em δ 4,36 (H-1'') com δ 69,5 (C-6'') e de δ 5,36 (H-1'') com o sinal da carbonila em δ 178,1 (C-28), indicando que o composto é uma saponina do ácido oleanólico. A esterificação em C-28 (δ 178,1) foi também evidenciada pela blindagem observada para este carbono com relação ao ácido oleanólico (**15**, δ 181,0). Os dados de RMN de ^{13}C e os deslocamentos químicos dos principais sinais de hidrogênio para o composto **31** são apresentados nas Tabelas 21 e 22.

A análise por espectrometria de massas IT-MS com ionização por *electrospray* no modo negativo do composto **31** (Figura 144A), mostrou um íon em m/z 1087,8 $[\text{M-H}]^-$ consistente com a fórmula molecular $\text{C}_{54}\text{H}_{88}\text{O}_{22}$ deduzida pelos dados de RMN. A fragmentação MS/MS (Figura 144B) do íon precursor m/z 1087,8 $[\text{M-H}]^-$ gerou o íon fragmento m/z 765,3 $[\text{M-H-2Glc}]^-$ resultante da perda de duas unidades de glicose (2×162 Da) e o íon m/z 455,7 $[\text{M-H-Ram-Glc}]^-$, condizente com a perda de uma unidade de ramnose (146 Da) e uma unidade de glicose (162 Da). O espectro MS^3 do íon m/z 765,3 (Figura 144C) gerou o fragmento com m/z 455,7 $[\text{M-H-Ram-Glc}]^-$ correspondente à aglicona. Os dados obtidos por espectrometria de massas são consistentes com a estrutura proposta por RMN.

Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C do composto **31** foram primeiramente obtidos em CD_3OD e a estrutura foi proposta com base nas correlações observadas nos mapas de contornos *g*HSQC, *g*COSY e *g*HMBC, porém não foram encontrados dados de RMN em CD_3OD para a estrutura proposta. Dessa forma, a análise de RMN de ^1H e ^{13}C unidimensionais (Figuras 158-160; Tabelas 20 e 21), foi realizada em piridina-*d*₅ e os resultados comparados com dados da literatura (SANTOS et al., 2007) permitiram confirmar o composto **31** como sendo a saponina triterpênica 3-*O*- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 2)- β -D-glicopiranosil-oleanato de 28-*O*- β -D-glicopiranosil-(1 \rightarrow 6)- β -D-glicopiranosila.

Tabela 21: Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para o composto **31** (400 e 100 MHz; δ em ppm)

C	Literatura [§]	31 (Piridina- d_5)		31 (CD_3OD)	
		^{13}C	^1H	^{13}C	^1H
1	39,3	39,5		40,1	
2	27,1	27,3		27,2	
3	89,2	89,4	3,37 (dd; $J=11,7$ e $4,0$ Hz)	90,3	3,17
4	40,2	40,4		40,7	
5	56,4	56,6		57,3	
6	18,8	19,1		19,3	
7	32,8	33,1		33,2	
8	39,8	40,0		40,2	
9	48,3	48,6		49,1	
10	37,3	37,5		37,9	
11	24,1	24,3		24,6	
12	123,2	123,5	5,43 (sl)	123,8	5,26 (t; $J=3,0$)
13	144,5	144,7		144,9	
14	42,5	42,7		42,9	
15	28,6	28,8		28,9	
16	23,7	23,9		24,0	
17	42,4	47,5		48,1	
18	42,0	42,2	3,21 (dd; $J=13,5$ e $4,0$ Hz)	42,5	2,87 (dd; $J=14,0$ e $4,0$ Hz)
19	46,6	46,8		47,2	
20	31,1	31,3		31,5	
21	34,4	34,5		34,9	
22	33,4	34,5		34,0	
23	28,4	28,6	1,27* (s)	28,5	1,07(s)
24	17,5	17,7	1,20 (s)	17,2	0,88 (s)
25	16,0	16,2	0,87 (s)	16,2	0,97 (s)
26	17,8	18,0	1,10 (s)	17,8	0,81 (s)
27	26,4	26,6	1,25* (s)	26,3	1,17 (s)
28	176,9	177,0		178,1	
29	33,4	33,6	0,90 (s)	33,5	0,87 (s)
30	24,0	24,2	0,90 (s)	24,1	0,87 (s)

*Dados podem está trocados; [§]Dados em Piridina- d_5 para 3-*O*- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 2)- β -D-glicopiranosil-oleanato de 28-*O*- β -D-glicopiranosil-(1 \rightarrow 6)- β -D-glicopiranosila, relatados por SANTOS et al., 2007

Tabela 22: Dados de RMN de ^1H e ^{13}C para o dissacarídeo do composto **31** (400 e 100 MHz; δ em ppm)

C/H	literatura [§]	31 (Piridina- d_5)		31 (CD ₃ OD)	
		^{13}C	^1H	^{13}C	^1H
1'	105,7	105,9	4,95 (d; $J=6,98$ Hz)	105,6	4,42 (d; $J=7,4$ Hz)
2'	80,2	80,4		78,9	
3'	78,8	78,9		78,0	
4'	72,5	72,7		72,0	
5'	78,5	78,6		78,0	
6'	63,2	63,4	4,56/4,50 (d; $J=12,0$ Hz)	62,7	3,87/3,68
1''	102,0	102,3	6,58 (sl)	101,8	5,38 (sl)
2''	72,7	72,9		72,0	
3''	72,8	73,0		72,1	
4''	74,4	74,6		74,0	
5''	70,0	70,2		70,0	
6''	19,0	19,2	1,73 (d; $J=6,1$ Hz)	18,0	1,22 (d; $J=6,0$ Hz)
1'''	96,0	96,2	6,27 (d; $J=8,0$ Hz)	95,7	5,36 (s)
2'''	74,2	74,4		73,8	
3'''	78,2	78,3		78,2	
4'''	71,2	71,4		70,9	
5'''	78,3	78,5		77,8	
6'''	69,7	69,9		69,5	4,13/3,78 (d; $J=11,4$ Hz)
1''''	105,6	105,7	encoberto	104,5	4,36 (d; $J=7,8$ Hz)
2''''	75,5	75,7		75,1	
3''''	79,0	79,2		79,5	
4''''	71,8	72,0		71,5	
5''''	78,7	79,0		77,6	
6''''	62,9	63,1	4,74/4,35 (d; $J=10,78$ Hz)	62,8	3,85/3,66

[†]Piridina- d_5 ; [‡]MeOD; [§]Dados em Piridina- d_5 para 3-*O*- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 2)- β -D-glicopiranosil-oleanato de 28-*O*- β -D-glicopiranosil-(1 \rightarrow 6)- β -D-glicopiranosila, relatados por SANTOS et al., 2007

Figura 144. Espectros de massas por ESI-ITMS no modo negativo do composto **31**. (A) Full scan (B) MS/MS e (C) MS³ do íon m/z 1087,8

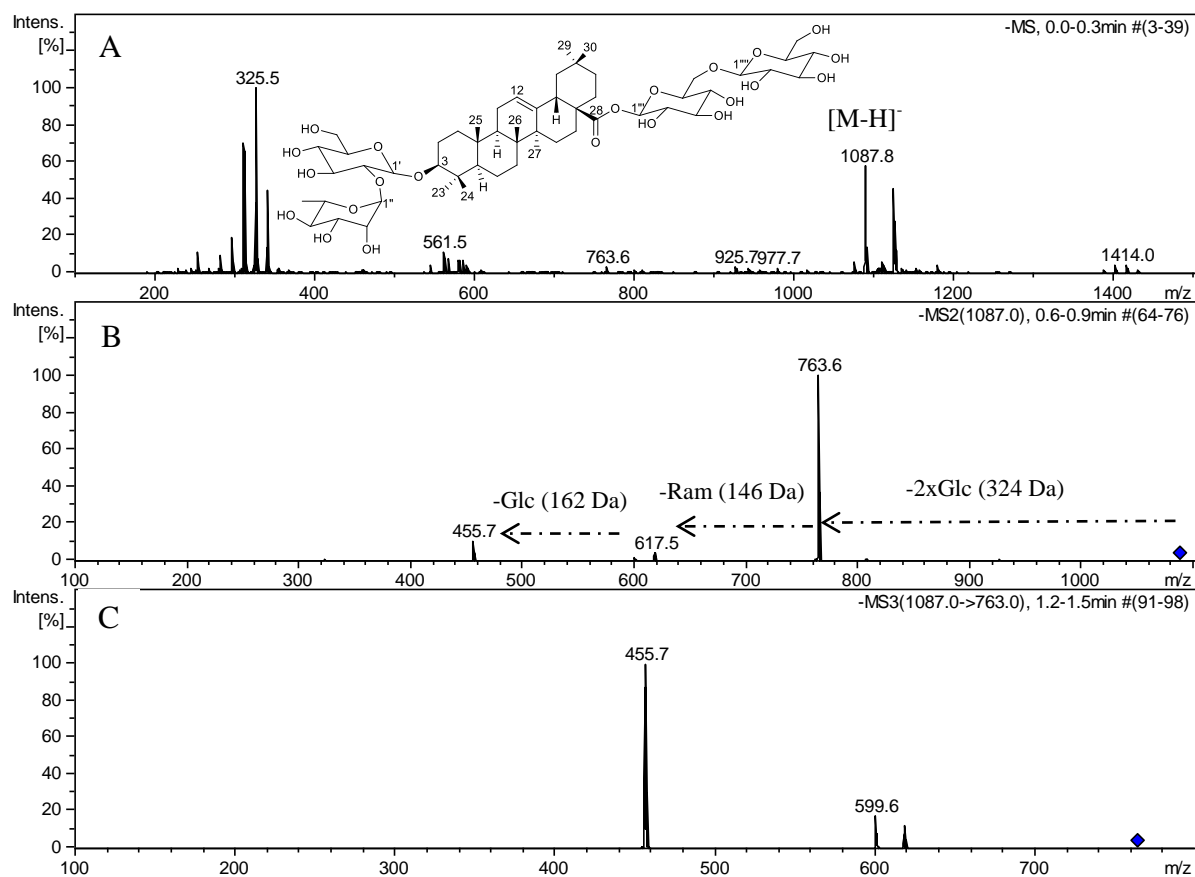


Figura 145. Espectro de RMN de ^1H de **31** (CD_3OD , 400 MHz)

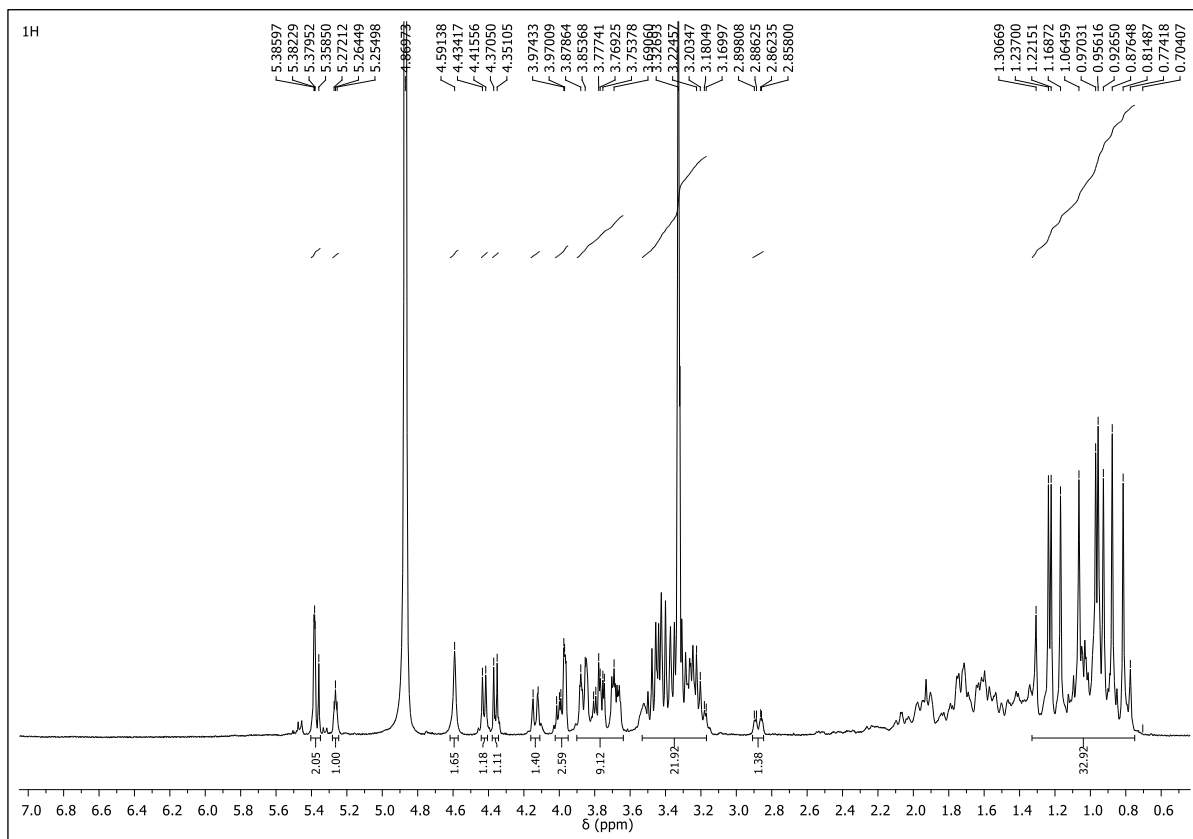


Figura 146. Expansão (δ 2,8-5,5) do espectro de RMN de ^1H de **31** (CD_3OD , 400 MHz)

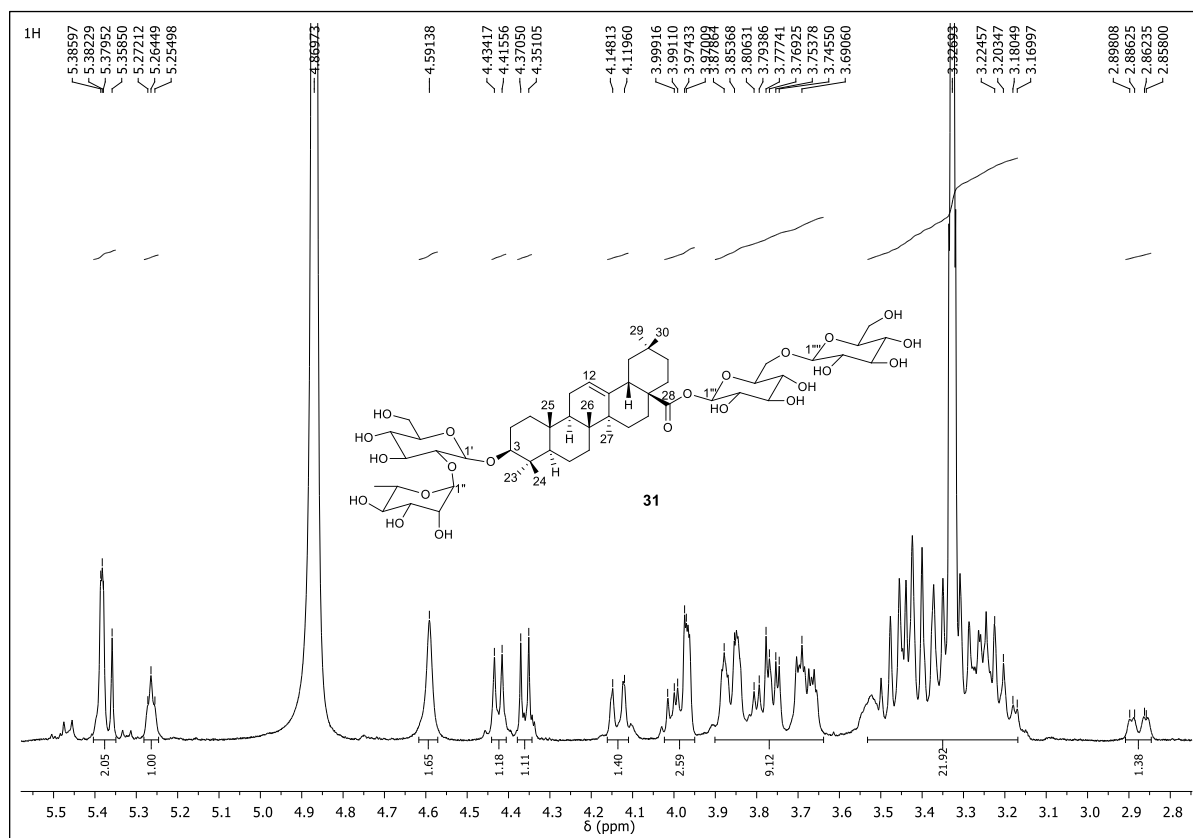


Figura 147. Espectro de RMN de ^{13}C de **31** (CD_3OD , 100 MHz)

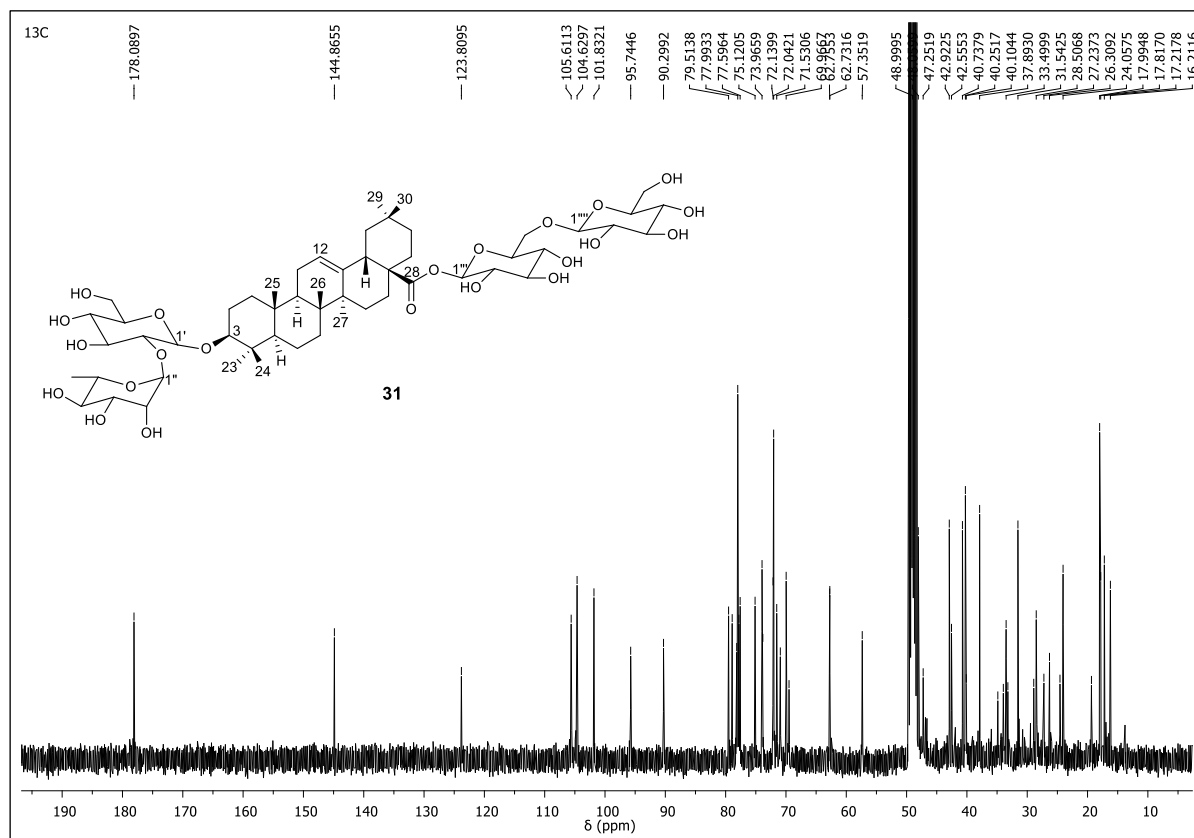


Figura 148. Expansão (δ 16-82) do espectro de RMN de ^{13}C de **31** (CD_3OD , 100 MHz)

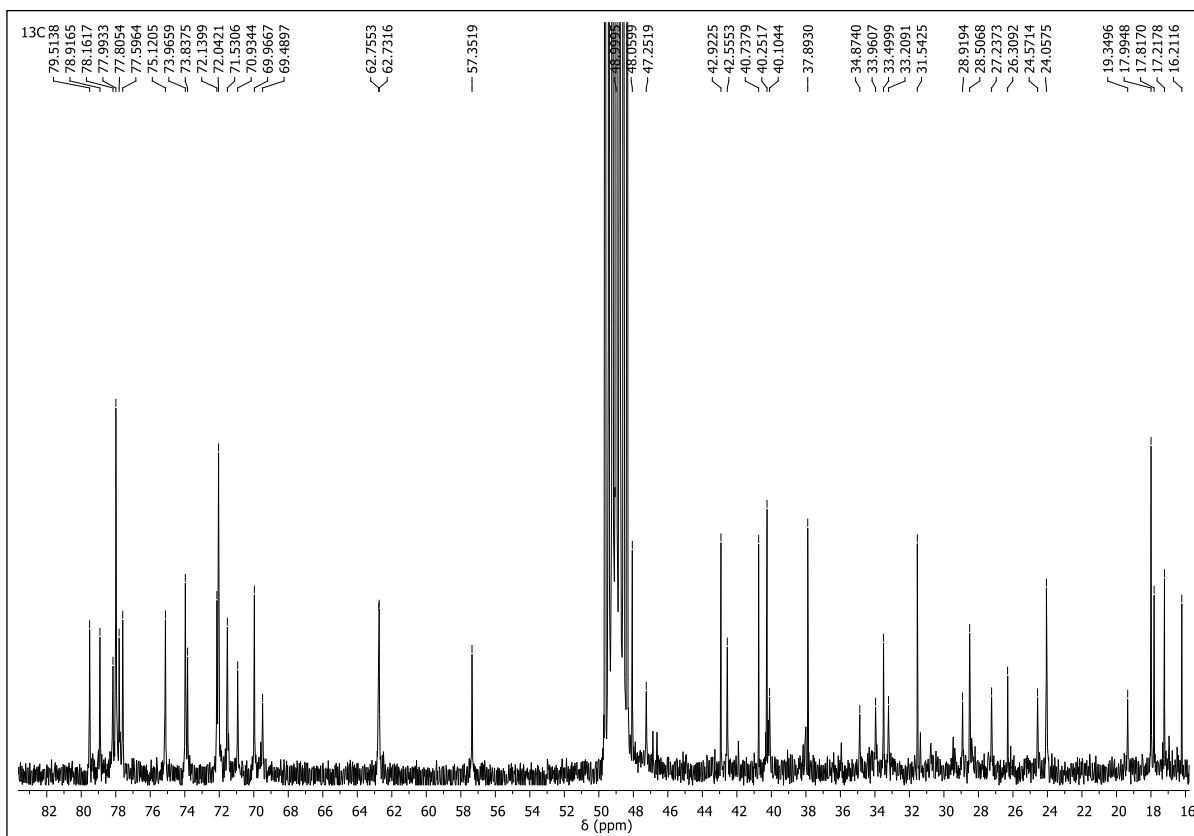


Figura 149. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 90 de **31** (CD_3OD , 100 MHz)

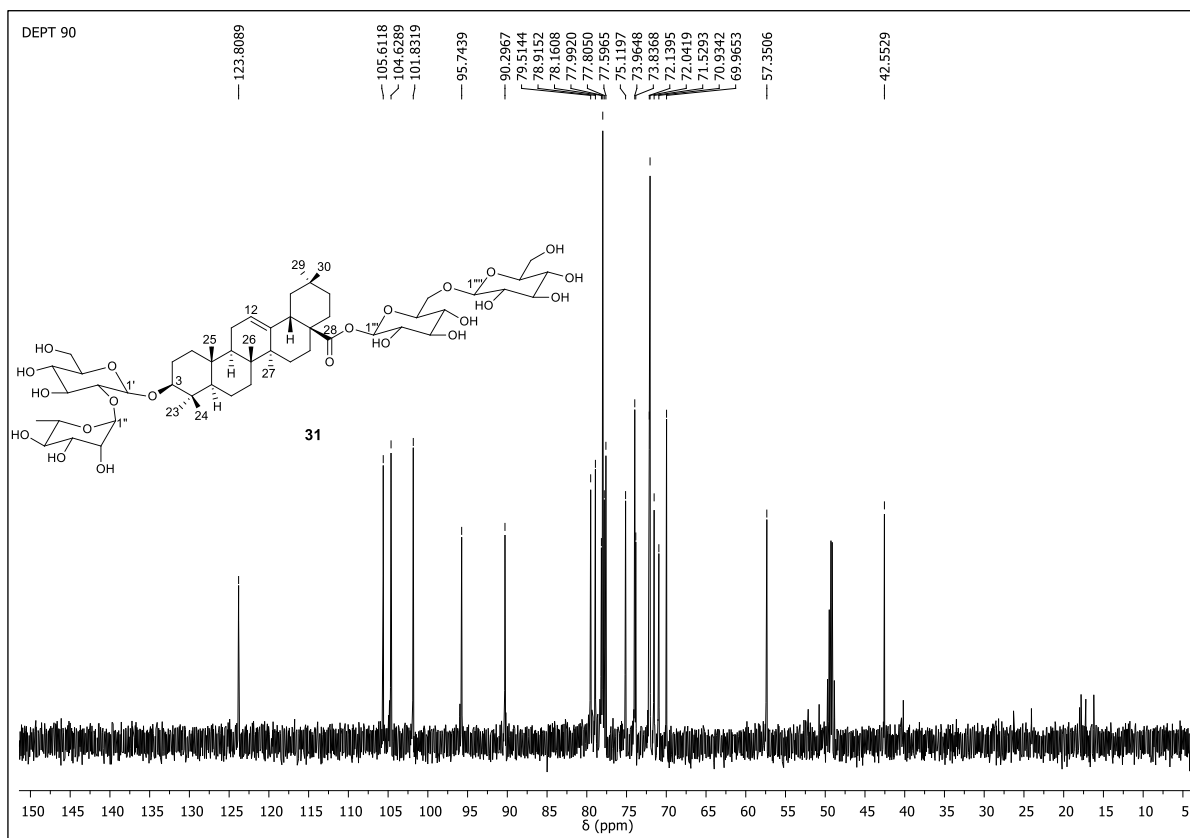


Figura 150. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° de **31** (CD_3OD , 100 MHz)

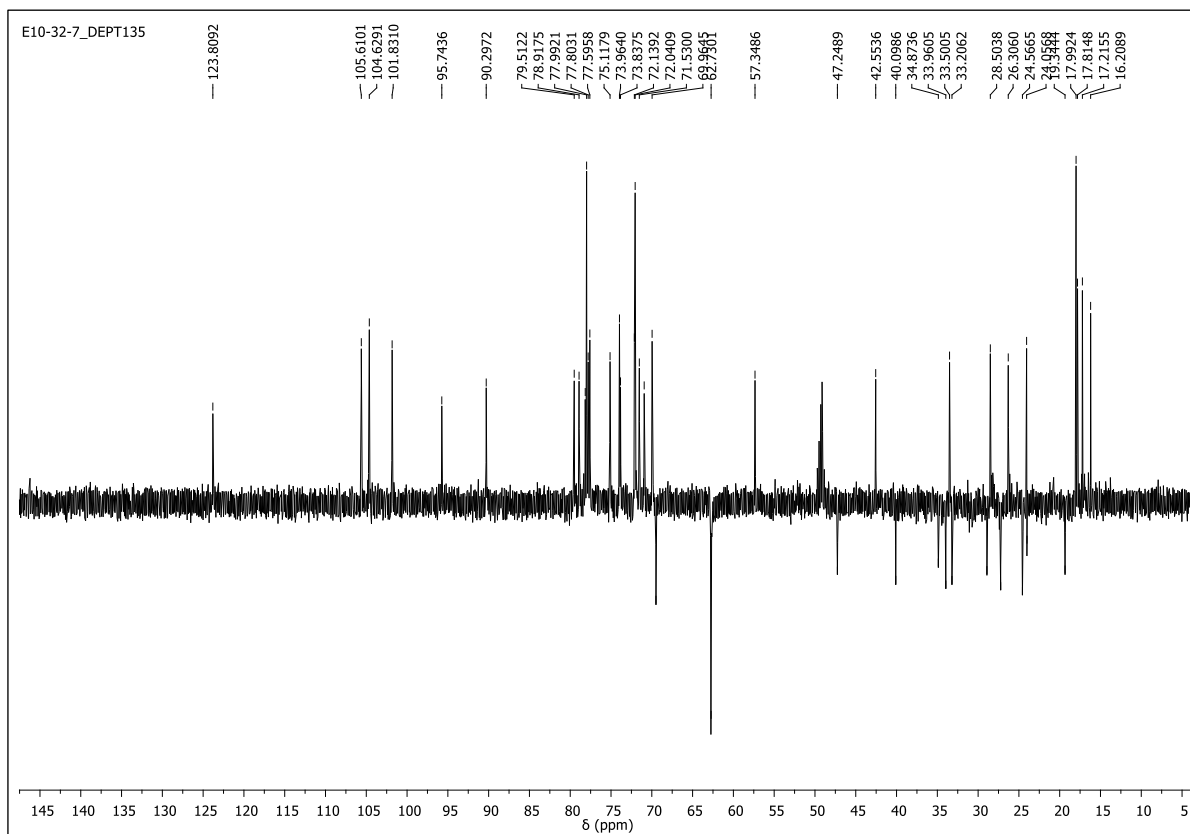


Figura 151. Mapa de contornos gHSQC de **31** (CD₃OD, 400 e 100 MHz)

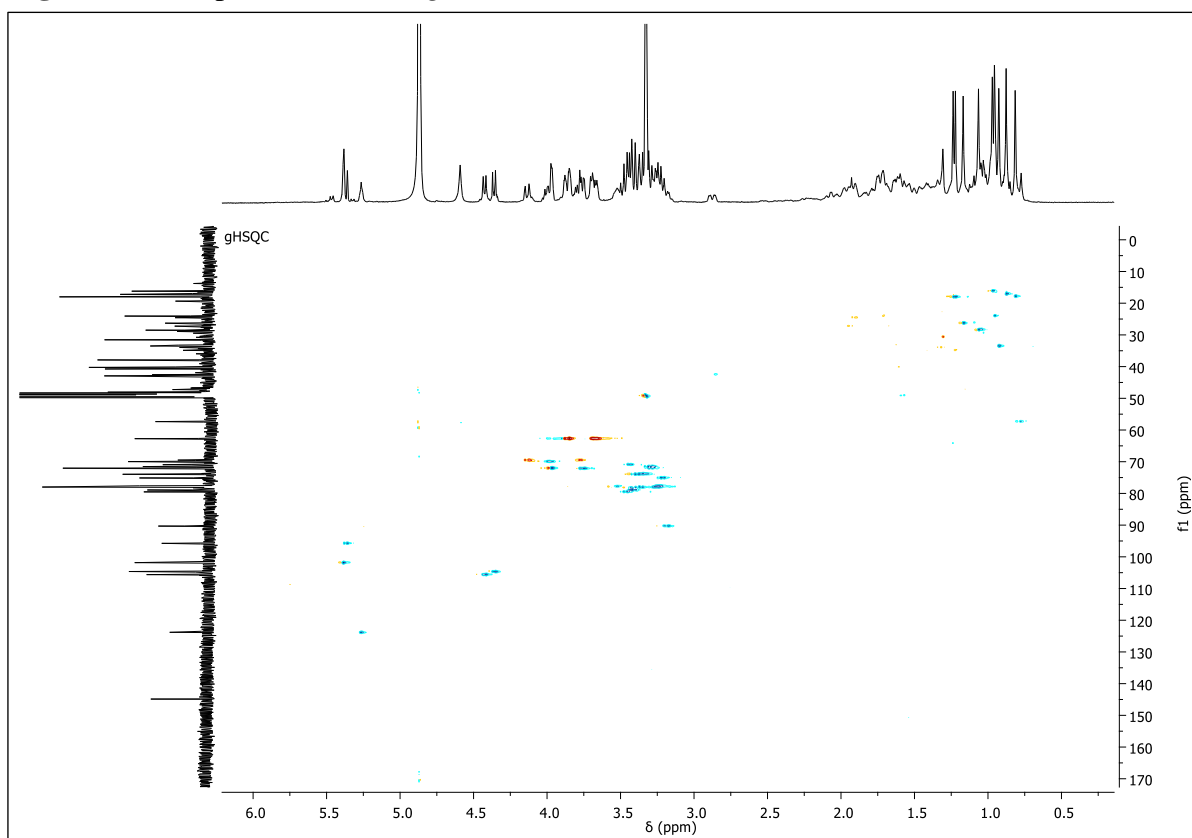


Figura 152. Expansão (δ 0,6-2,0) do mapa de contornos gHSQC de **31** (CD₃OD, 400 e 100 MHz)

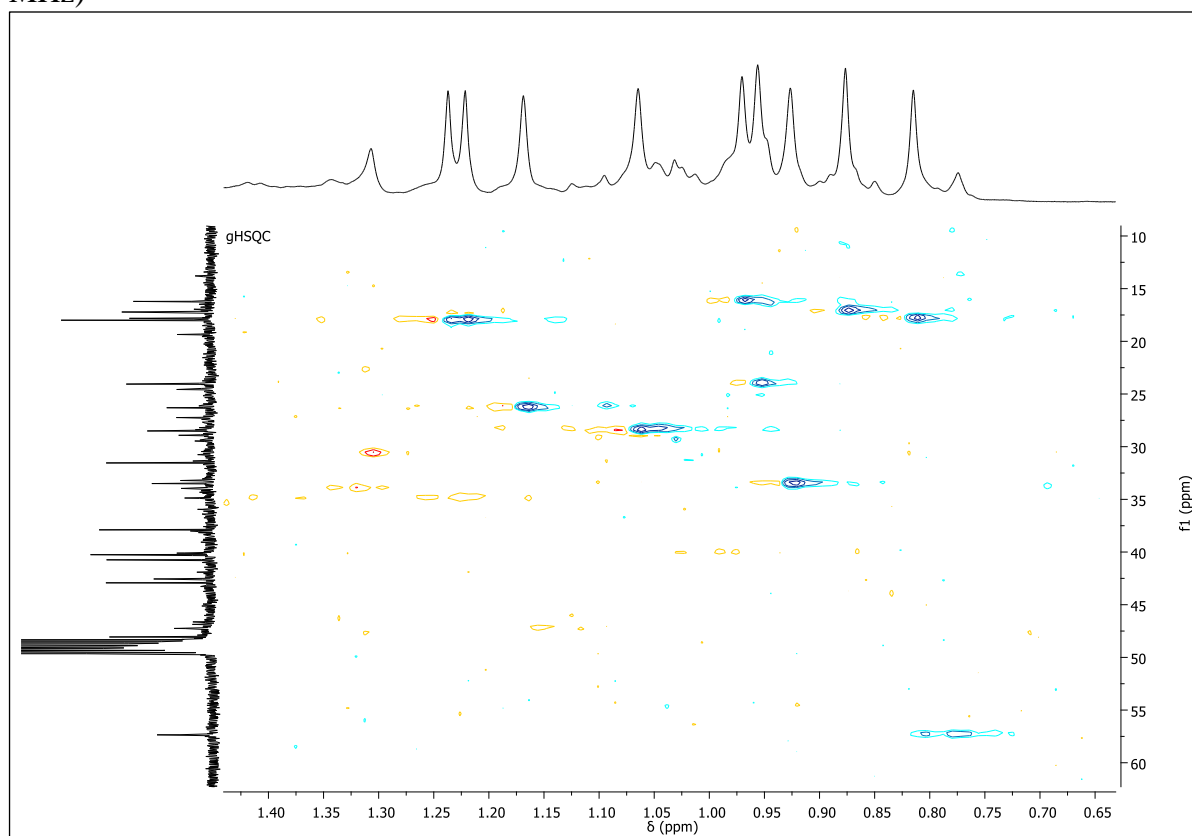


Figura 153. Expansão (δ 2,8-4,5) do mapa de contornos gHSQC de **31** (CD₃OD, 400 e 100 MHz)

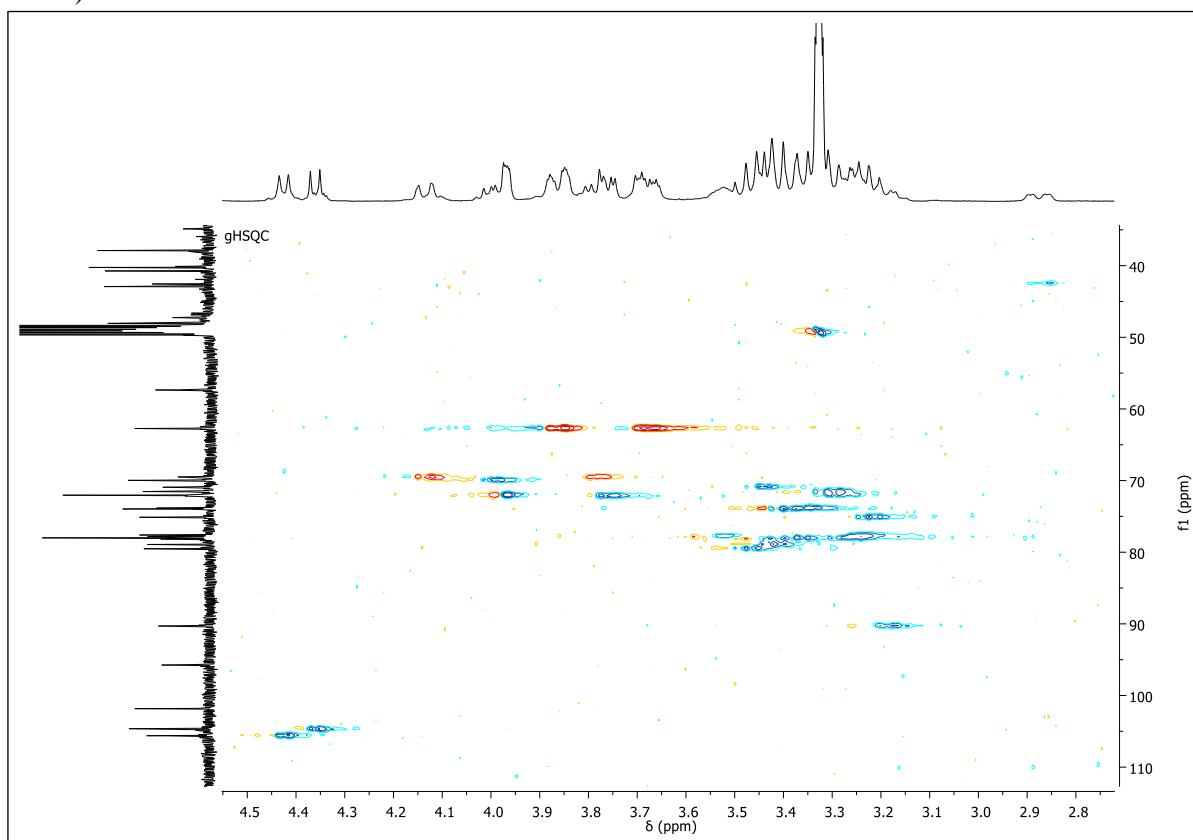


Figura 154. Mapa de contornos gCOSY de **31** (CD₃OD, 400 MHz)

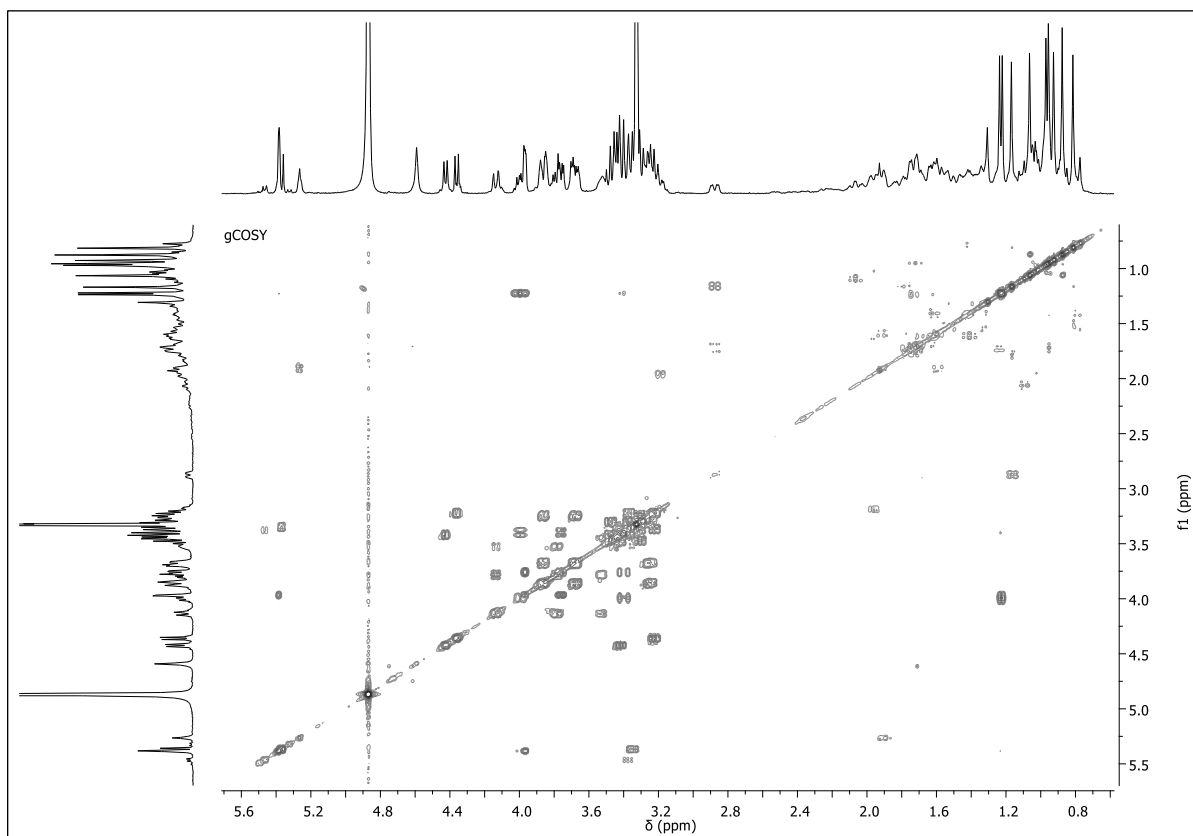


Figura 155. Mapa de contornos gHMBC de **31** (CD₃OD, 400 e 100 MHz)

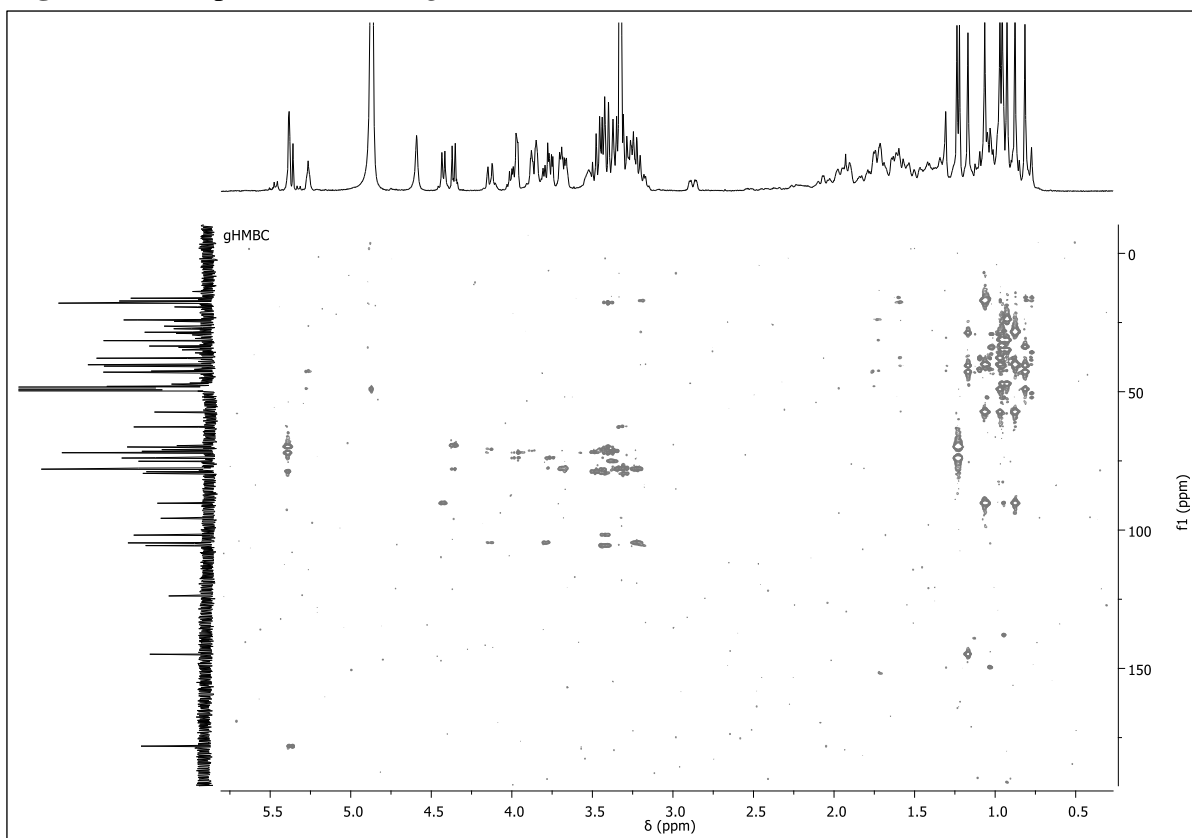


Figura 156. Expansão (δ 0,75-1,40) do mapa de contornos gHMBC de **31** (CD₃OD, 400 e 100 MHz)

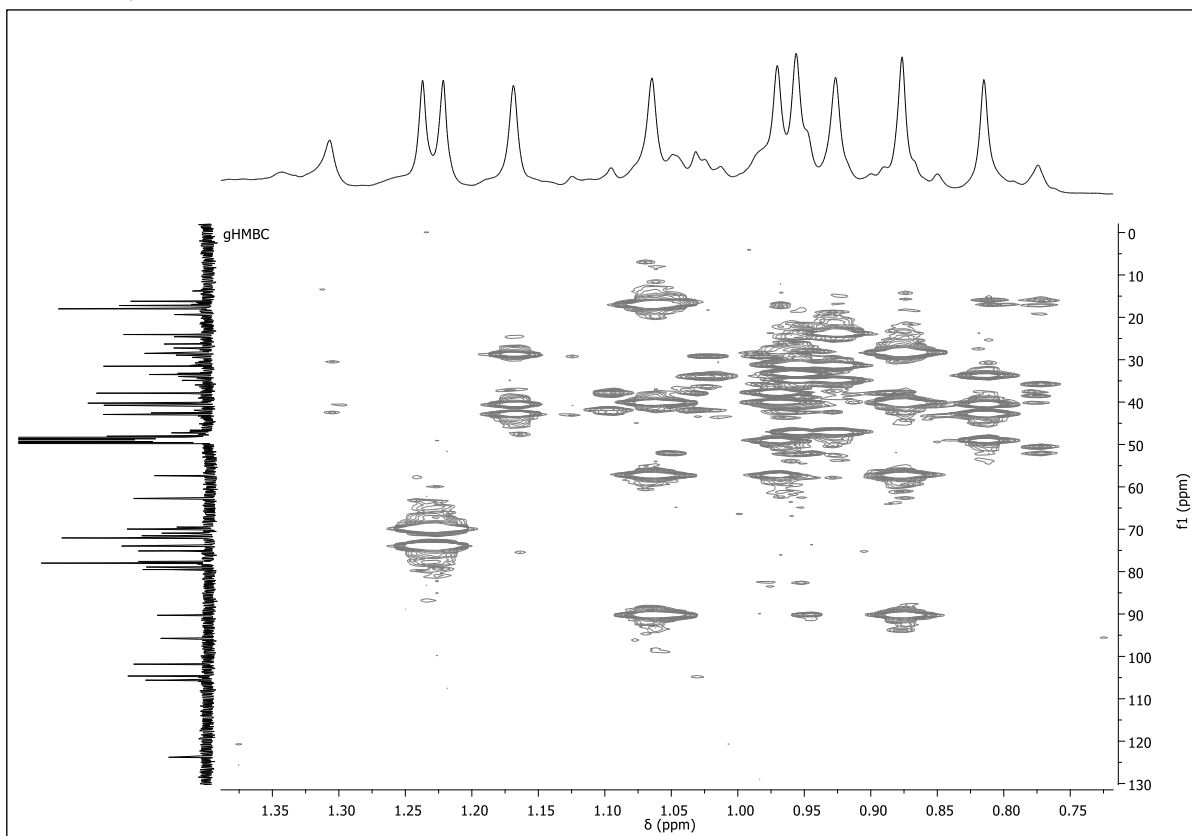


Figura 157. Expansão (δ 3,1-4,5) do mapa de contornos gHMBC de **31** (CD_3OD , 400 e 100 MHz)

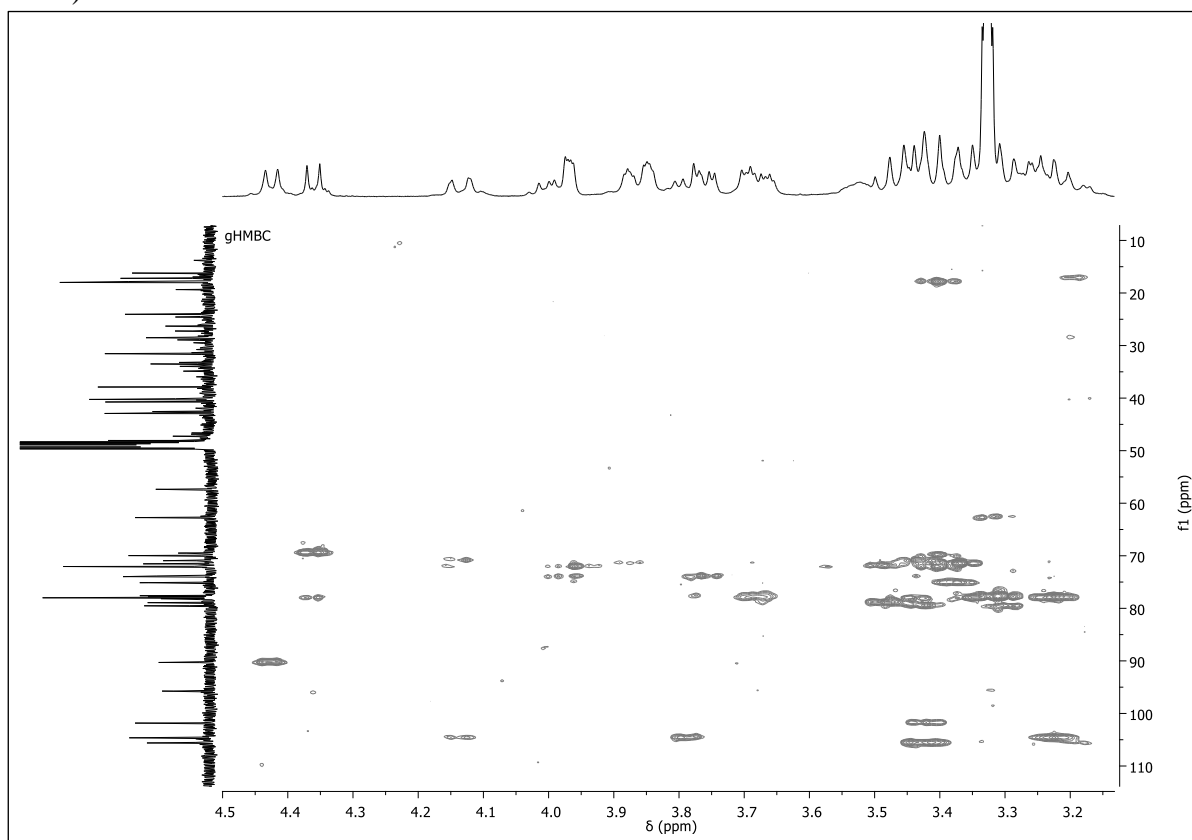


Figura 158. Espectro de RMN de ^1H de **31** ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 e 100 MHz)

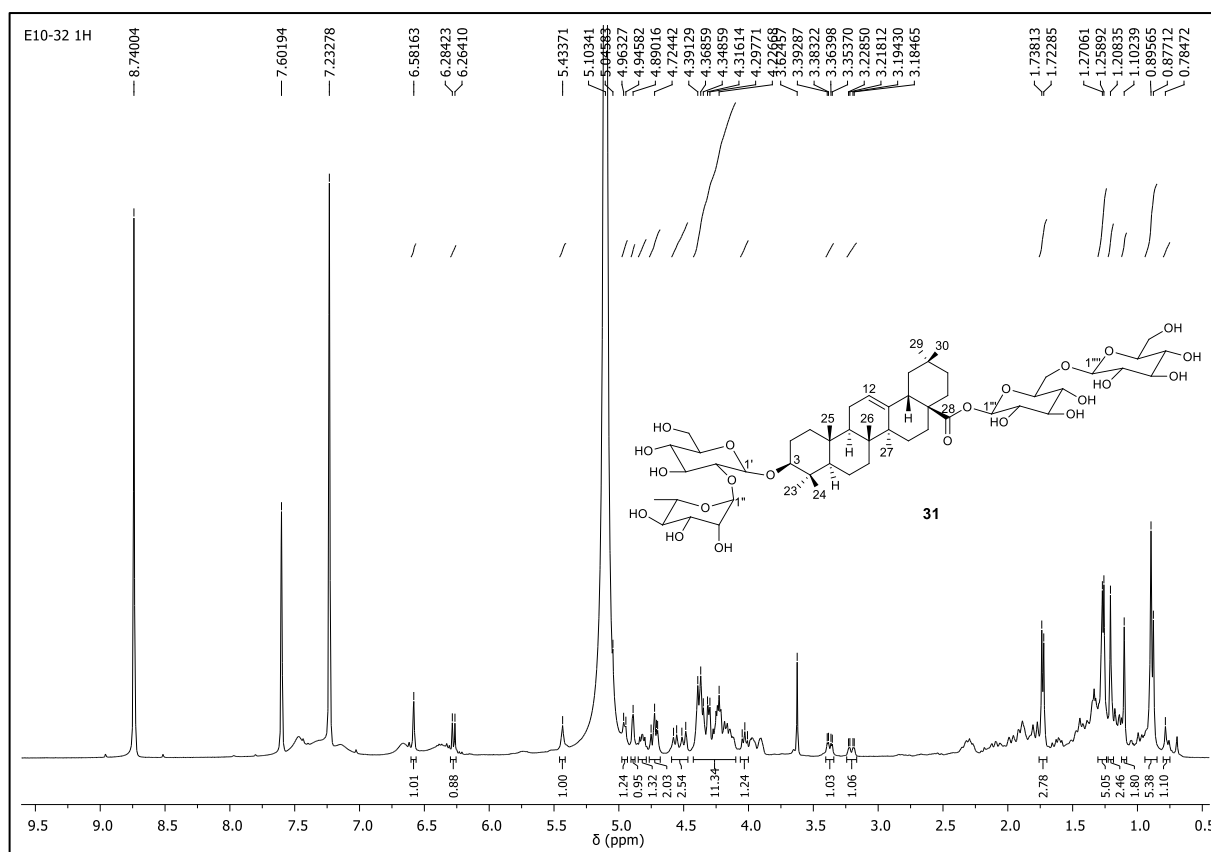


Figura 159. Espectro de RMN de ^{13}C de **31** ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 e 100 MHz)

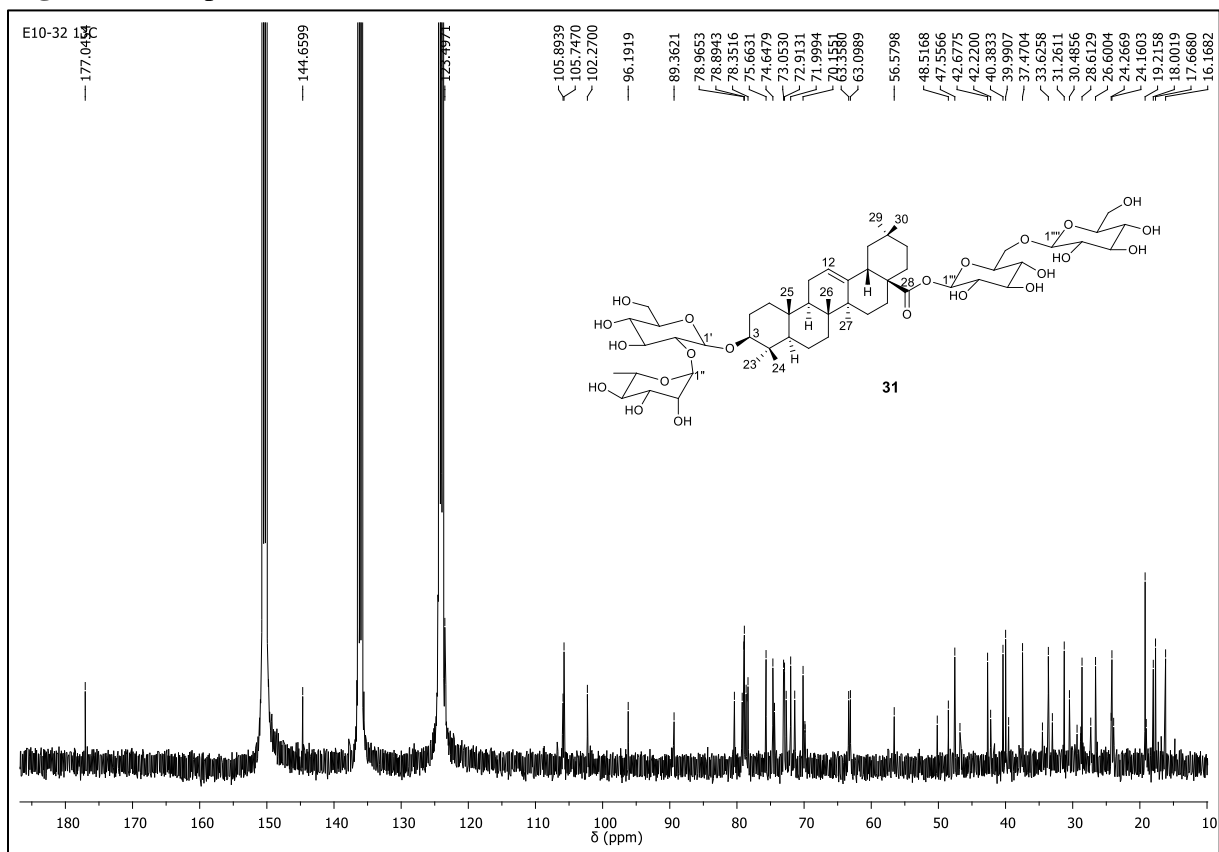
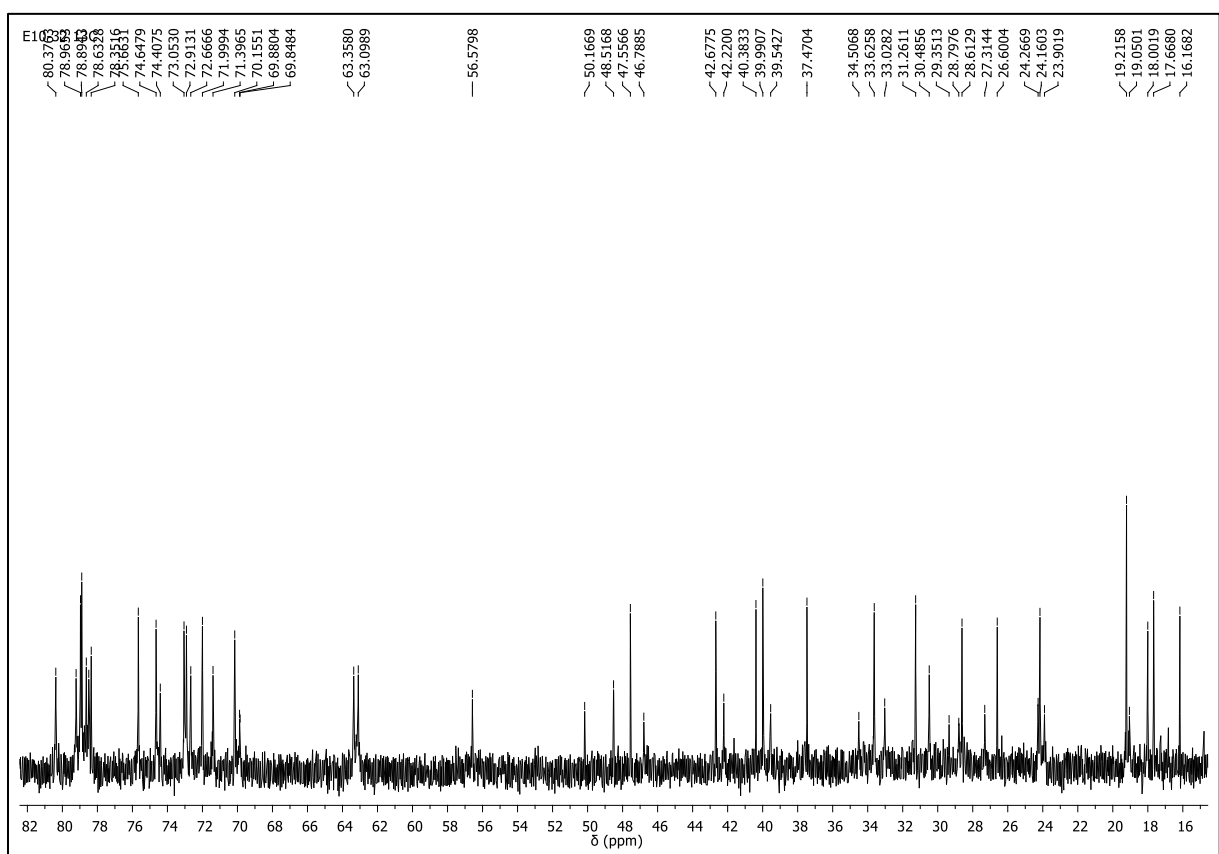
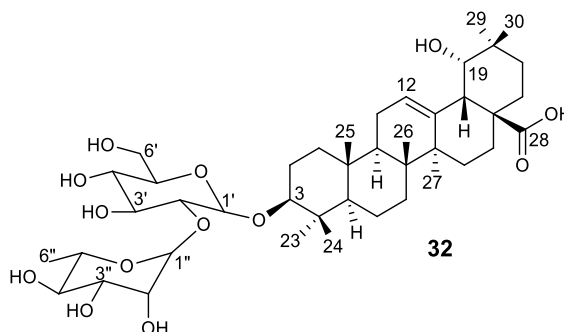


Figura 160. Expansão (δ 15-86) do espectro de RMN de ^{13}C de **31** ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 e 100 MHz)



Saponina 32



O composto **32** (33 mg) foi obtido como um sólido branco amorfo, a partir da subfração **E** (MeOH), proveniente da cromatografia em coluna Strata C18 da fração MeOH do extrato EtOH do caule (Esquema 10, pag. 49).

O espectro de RMN de ^1H de **32** (Figuras 161-162; Tabela 23-24) exibiu sinais para sete grupos metílicos entre δ 0,86-1,26 (s) e um hidrogênio olefínico em δ 5,56 (sl, H-12), os quais aliados aos sinais de carbonos olefínicos em δ_{C} 123,5 (C-12) e 145,4 (C-13), apresentados no espectro de RMN de ^{13}C (Figura 163), sugerem que o composto apresenta esqueleto olean-12-eno (OLEA e ROQUE, 1990). Adicionalmente, foram observados um duplo duplete em δ_{H} 3,36 ($J=5,2$ e $11,2$ Hz; H-3) e um simpleto largo em δ_{H} 3,64 (H-19), os quais apresentaram correlação no mapa de contornos gHSQC (Figuras 167-169) com os sinais de carbonos oximetínicos em δ 89,5 (C-3) e δ 81,8 (C-19), bem como um sinal de carbonila de ácido em δ_{C} 181,8 (C-28). A correlação no mapa de contornos gHMBC (Figuras 170-172) entre as metilas em δ 1,21 (s, H-29) e δ 1,14 (s, H-30) com o carbono oximetínico em δ 81,8 (C-19) são consistentes com a aglicona ácido siaresinólico (MAHATO e KUNDU, 1994), em que o sinal correspondente a C-3 é registrado em δ 78,2, porém, o sinal de C-3 observado para **32** foi em δ 89,5, sugerindo uma glicosilação nessa posição.

A presença de duas unidades de açúcar foi identificada a partir da observação de dois sinais de hidrogênios anoméricos em δ_{H} 4,97 (d, $J=6,1$ Hz, H-1') e 6,62 (sl, H-1''), os quais correlacionaram no mapa de contornos gHSQC (Figura 169) com os carbonos anoméricos em δ_{C} 106,0 (C-1') e 102,1 (C-1''), respectivamente. O duplete em δ_{H} 1,76 ($J=5,9$ Hz; H-6'') correlacionando no mapa de contornos gHSQC (Figura 168) com o sinal de carbono metílico em δ 19,2 (C-6'') indica que uma das unidades de açúcar é a ramnose. O sinal de carbono oximetilênico observado em δ_{C} 63,4 (C-6'') no espectro de RMN de ^{13}C (Figura 164) indica que a outra unidade de açúcar é a glicose. As correlações no mapa de contornos gHMBC (Figura 172) entre o hidrogênio anomérico em δ_{H} 4,97 (H-1') e o carbono em δ_{C} 89,5 (C-3) e,

entre o hidrogênio anomérico em δ_{H} 6,62 (H-1'') e o carbono em δ_{C} 78,6 (C-2') indicam que a glicose está ligada na posição C-3 da aglicona e a ramnose na posição C-2' da glicose. Para atribuição dos deslocamentos químicos dos hidrogênios de cada unidade de açúcar, foram observadas também, as correlações no mapa de contornos *g*COSY (Figuras 174-175) e nos espectros TOCSY 1D (Figuras 176-178).

Os espectros TOCSY 1D (Figuras 176-177) obtidos pela irradiação dos hidrogênios em δ_{H} 4,97 (d; $J=6$ Hz; H-1') e δ_{H} 4,58 (d; $J=7,6$ Hz; H-6') revelaram os sinais dos hidrogênios da glicose, enquanto a irradiação do hidrogênio em δ 4,72 (dd; $J=1,7$ e $5,9$ Hz; H-3'') mostrou os sinais dos hidrogênios da ramnose (Figura 178).

A multiplicidade dos carbonos foi definida pela análise dos espectros de RMN de ^{13}C , DEPT 90° e 135° (Figuras 161-166) e mapa de contornos *g*HSQC. A análise exaustiva dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais obtidos em piridina-*d*₅, permitiram identificar a estrutura do composto **32** como sendo a saponina ácido 3-*O*- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 2)- β -D-glicopiranosil-3 β ,19 α -diidroxiolean-12-en-28-oico (Eritrosaponina A). Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (Figuras 179-181, Tabelas 23-24) para este composto também foram obtidos em CD₃OD e se mostraram consistentes com os relatados na literatura (KAENNAKAM et al., 2018).

Tabela 23. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C do composto **32** (δ em ppm)

C/H	E11-9-32 ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$)		E11-9-32 (CD_3OD)		Eritrosaponina A* (CD_3OD)	
	^{13}C	^1H	^{13}C	^1H	^{13}C	^1H
1	39,3	0,93 m; 1,38 m	39,9	1,58 m; 1,60 m	40,1	1,0 m; 1,56 m
2	27,3	1,85 m; 2,28 m	27,2	1,95 m	27,4	1,69 m; 1,93 m
3	89,5	3,36 dd (5,2, 11,2)	90,3	3,19 dd (4,2, 11,7)	90,6	3,16 dd (3,9, 11,6)
4	40,0	-	40,2	-	40,4	-
5	56,7	0,77 d (8,1)	57,4	0,82 m	57,6	0,79 m
6	19,2	1,38 m; 1,48 m	19,5	1,59 m	19,7	1,42 m; 1,55 m
7	33,8	1,31 m; 1,48 m	34,1	1,30 m; 1,52 m	34,2	1,27 m; 1,50 m
8	40,5	-	40,7	-	40,9	-
9	48,7	1,80 m	49,2	1,74 m	49,2	1,72 m
10	37,6	-	38,0	-	38,2	-
11	24,6	1,97 m	24,8	1,95 m	25,0	1,92 m
12	123,5	5,56 sl	124,9	5,32 sl	125,2	5,29 sl
13	145,4	-	144,6	-	144,8	-
14	42,7	-	42,6	-	42,8	-
15	28,9	2,86 m	29,5	1,0 m; 1,77 m	29,7	1,0 m; 1,72 m
16	29,7	2,16 m	28,6	2,28 m	28,7	2,27 m
17	46,6	-	46,7	-	46,9	-
18	45,3	3,64 sl	45,2	3,1 sl	45,4	3,03 sl
19	81,8	3,64 sl	82,5	3,26 d (2,9)	82,7	3,23 d (3,2)
20	36,2	-	36,0	-	36,2	-
21	29,7	2,16 m	29,5	1,63 m	29,7	1,60 m
22	34,2	1,48 m; 2,22 m	34,0	1,62 m; 1,77 m	34,2	1,60 m; 1,76 m
23	28,6	1,26 s	28,7	1,07 s	28,9	1,04 s
24	17,6	1,21 s	17,1	0,88 s	17,3	0,85 s
25	16,0	0,86 s	15,9	0,95 s	16,1	0,92 s
26	18,0	1,04 s	17,8	0,78 s	18,0	0,74 s
27	25,4	1,67 s	25,0	1,30 s	25,3	1,28 s
28	181,8	-	-	-	182,5	-
29	29,4	1,21 s	28,5	0,95 s	28,9	0,92 s
30	25,4	1,14 s	25,2	0,97 s	25,4	0,94 s

*KAENNAKAM et al., 2018.

Tabela 24. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C do dissacarídeo do composto **32** (δ em ppm)

C/H	E11-9-32 ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$)		E11-9-32 (CD_3OD)		Eritrosaponina A* (CD_3OD)	
	^{13}C	^1H	^{13}C	^1H	^{13}C	^1H
1'	106,0	4,97 d (6,1)	105,6	4,43 d (7,4)	105,8	4,39 d (7,3)
2'	78,6	3,99 m	78,9	3,44 m	79,2	3,41 m
3'	78,2	4,41 m	77,6	3,25 m	77,8	3,21 m
4'	73,0	4,19 m	72,1	3,30 m	72,3	3,27 m
5'	80,4	4,33 m	79,5	3,44 m	79,7	3,43 m
6'	63,4	4,58 d (7,6)	62,8	3,67 dd (5,3, 11,8)	63,0	3,64 dd (5,1, 11,8)
		4,40 m		3,86 dd (1,6, 11,7)		3,83 dd (1,3, 11,8)
1''	102,1	6,62 sl	101,8	5,38 d (1,25)	102,0	5,35 sl
2''	72,7	4,90 sl	72,0	3,97 m	72,2	3,93 m
3''	73,0	4,72 dd (1,7, 5,9)	72,1	3,76 dd (3,4, 9,6)	72,4	3,73 dd (3,1, 9,5)
4''	74,6	4,38 m	73,9	3,40 m	74,2	3,37 m
5''	70,1	4,83 m	69,9	3,99 m	70,2	3,97 m
6''	19,2	1,76 d (5,9)	18,0	1,22 d (6,2)	18,2	1,20 d (6,1)

*KAENNAKAM et al., 2018.

Figura 161. Espectro de RMN de ^1H de **32** ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 600 MHz)

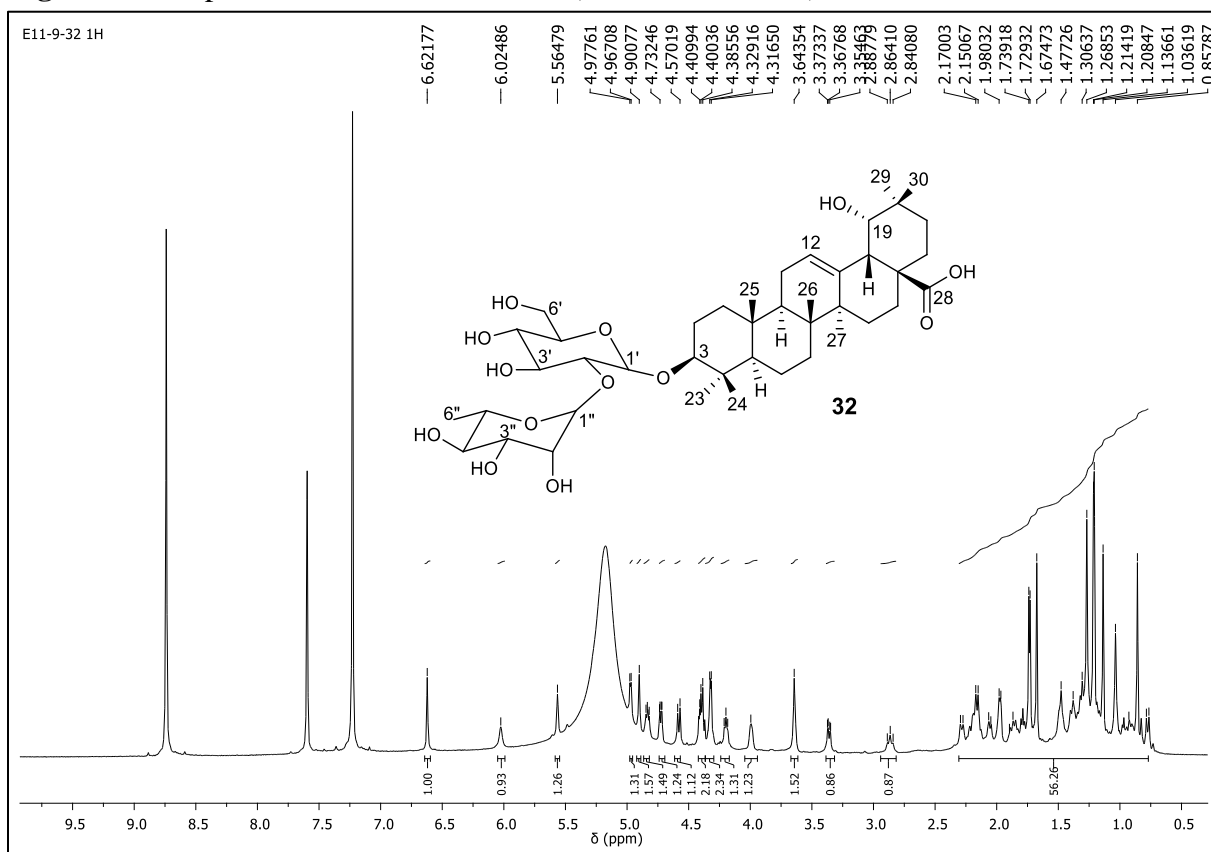


Figura 162. Expansão (δ 0,7-5,1) do espectro de RMN de ^1H de **32** ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 600 MHz)

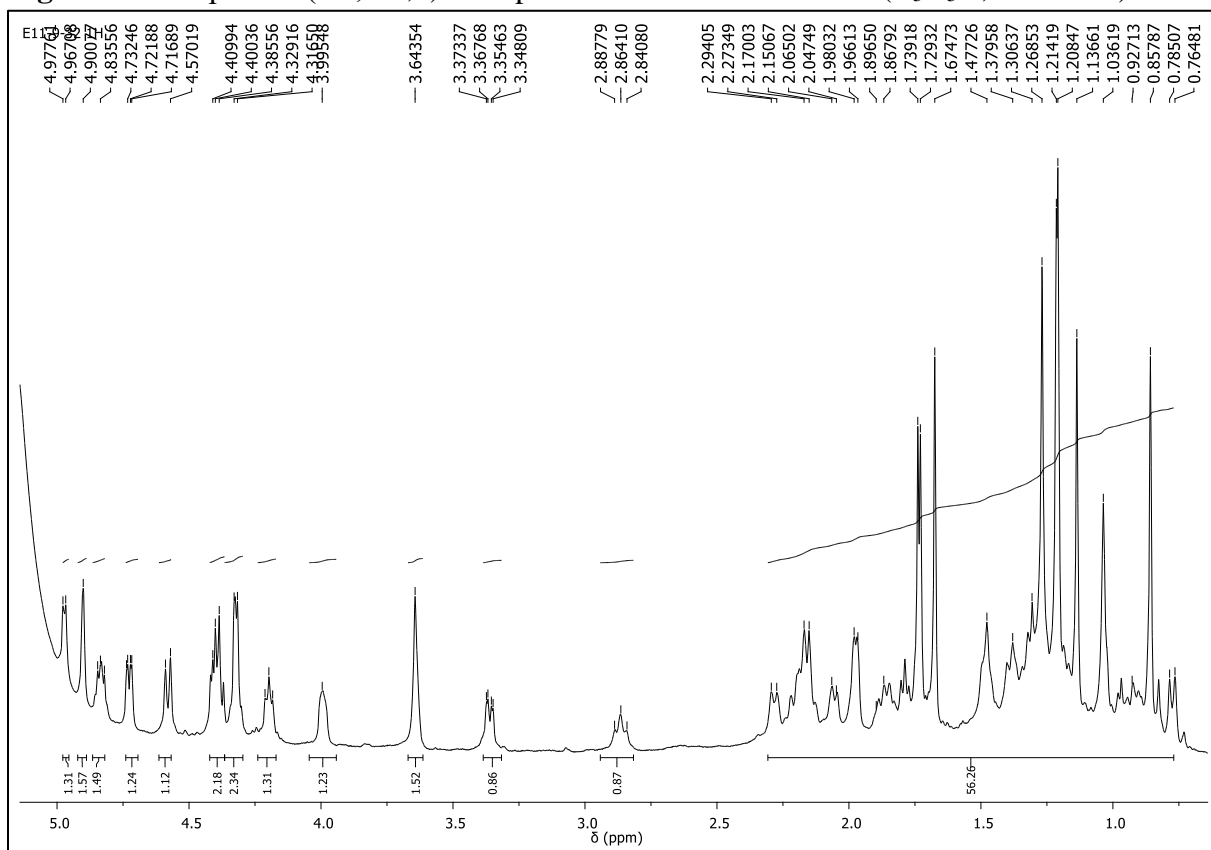


Figura 163. Espectro de RMN de ^{13}C de **32** ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 100 MHz)

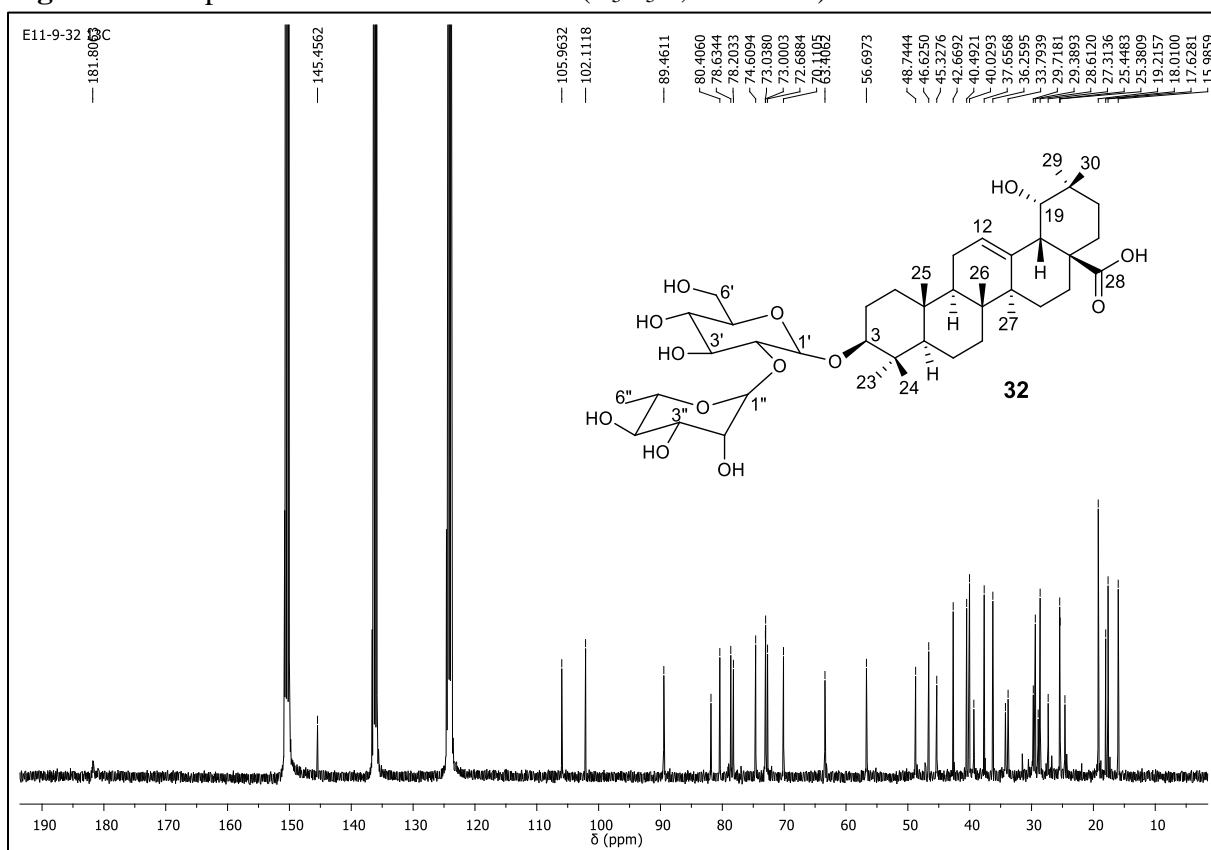


Figura 164. Expansão (δ 15-82) do espectro de RMN de ^{13}C de **32** ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 100 MHz)

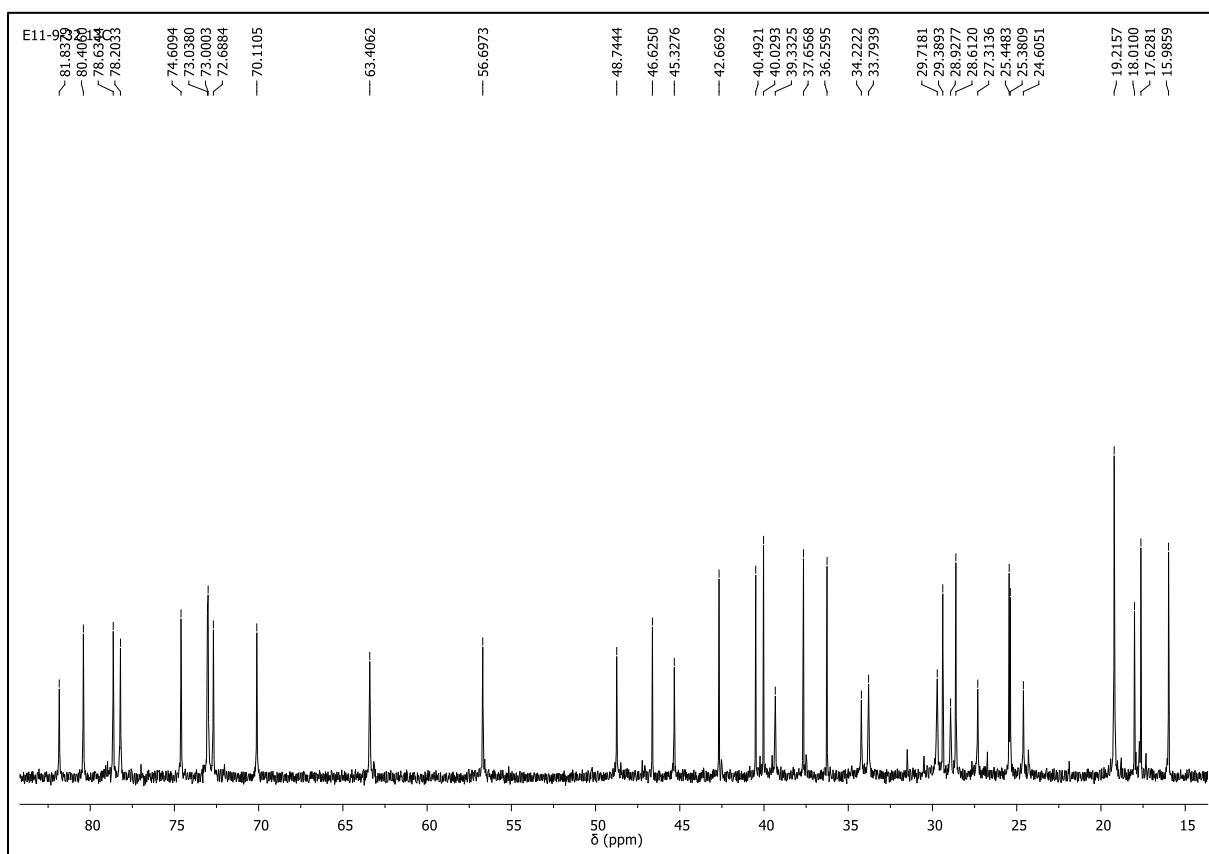


Figura 165. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 90° de **32** ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 100 MHz)

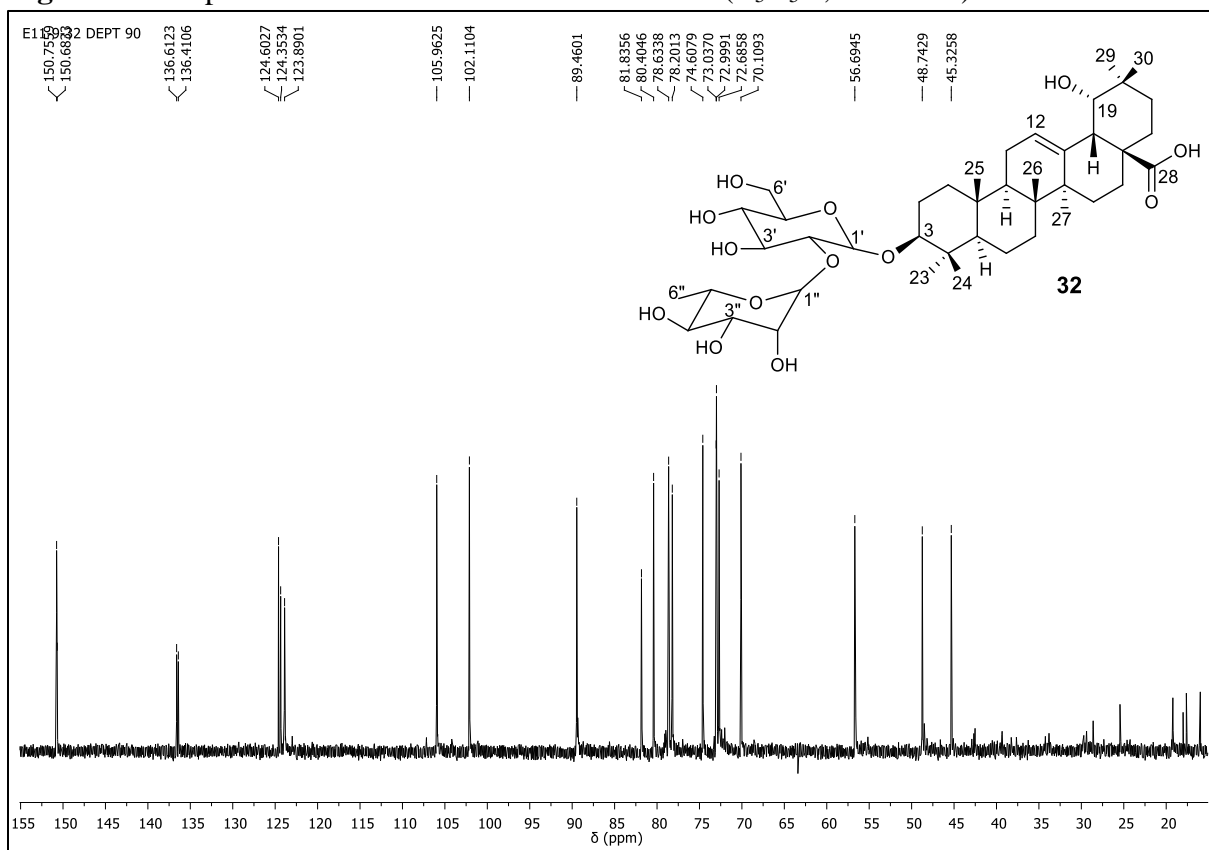


Figura 166. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° de **32** ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 100 MHz)

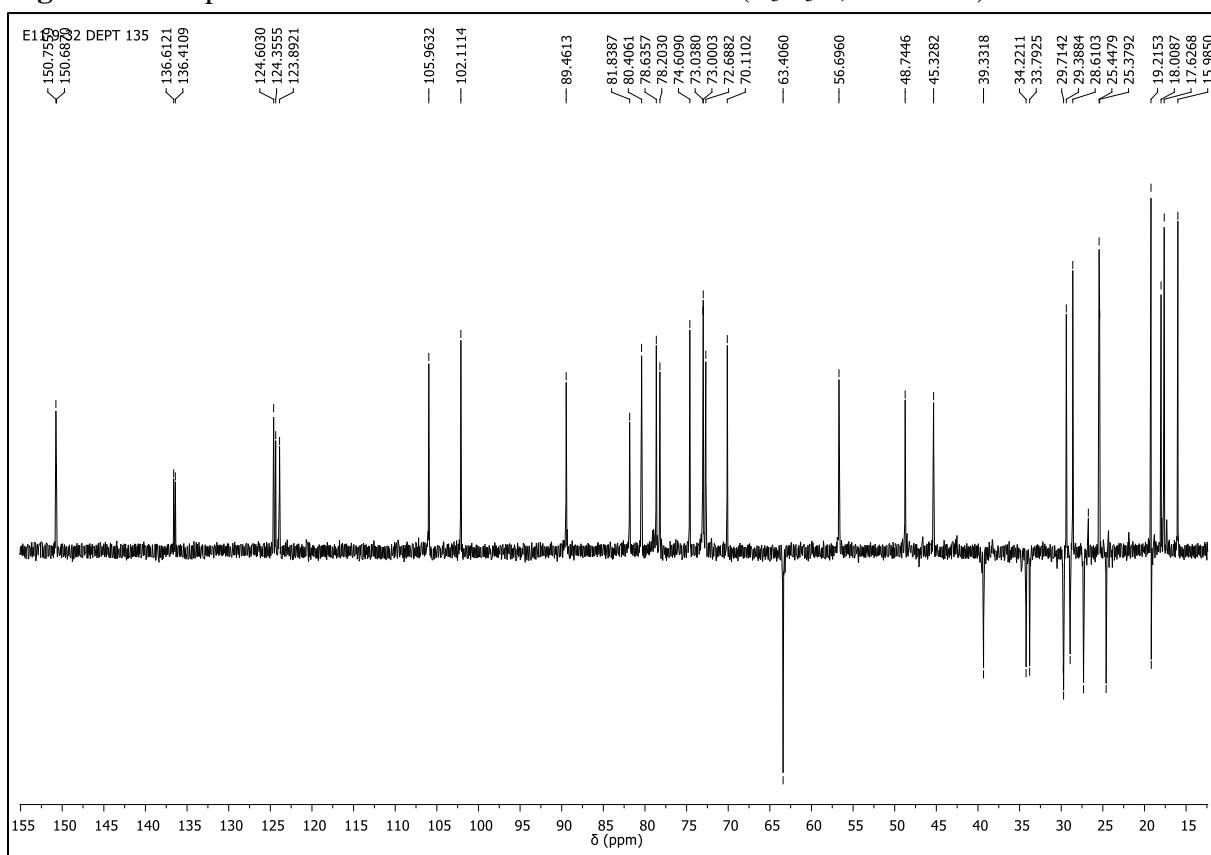


Figura 167. Mapa de contornos gHSQC de **32** ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 600 e 100 MHz)

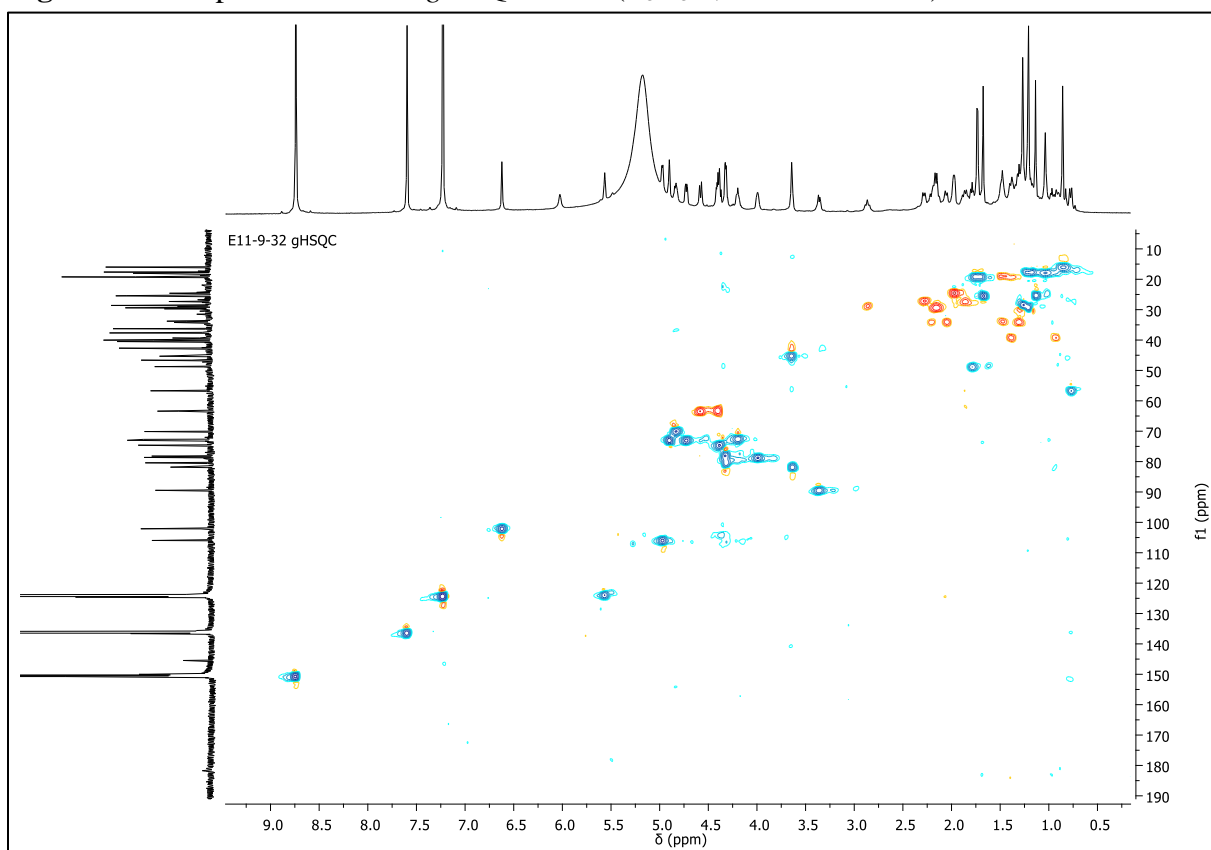


Figura 168. Expansão (δ 0,5-3,0 e 10-60) do mapa de contornos gHSQC de **32** (C_5D_5N , 600 e 100 MHz)

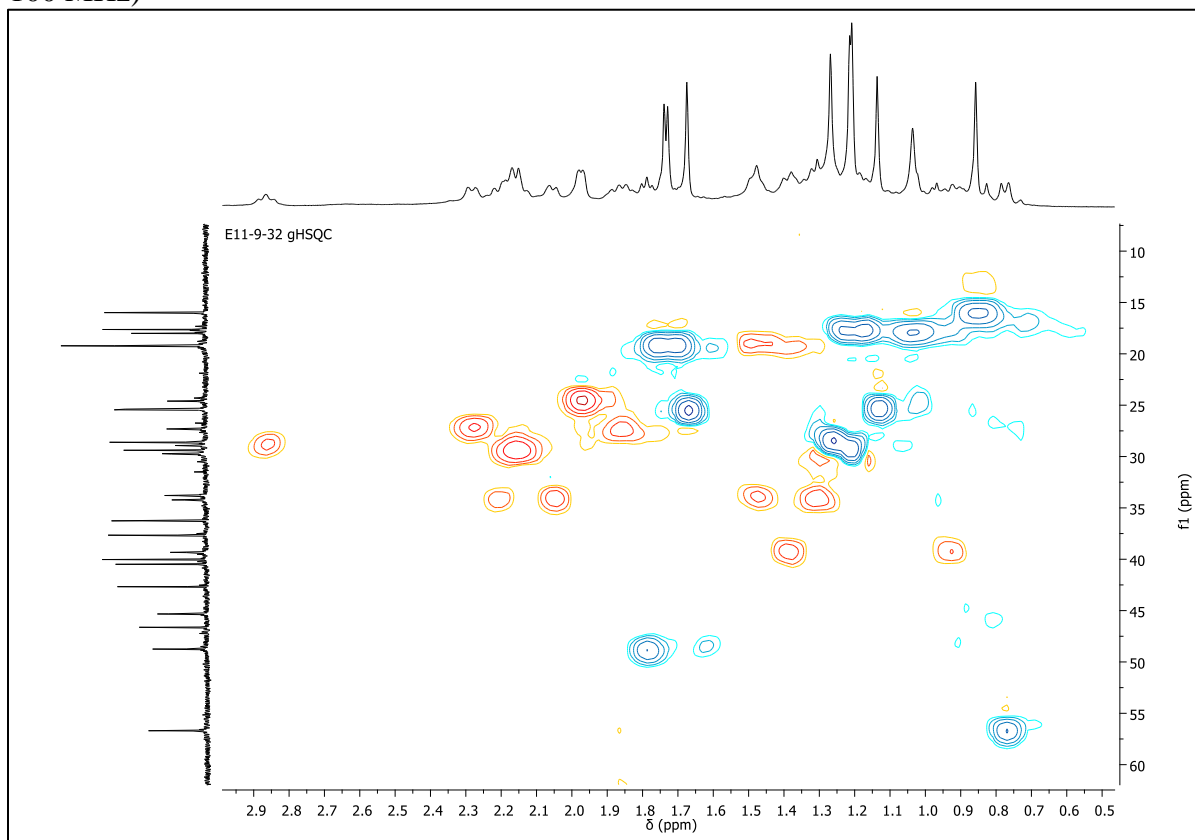


Figura 169. Expansão (δ 3,3-5,8 e 40-130) do mapa de contornos gHSQC de **32** (C_5D_5N , 600 e 100 MHz)

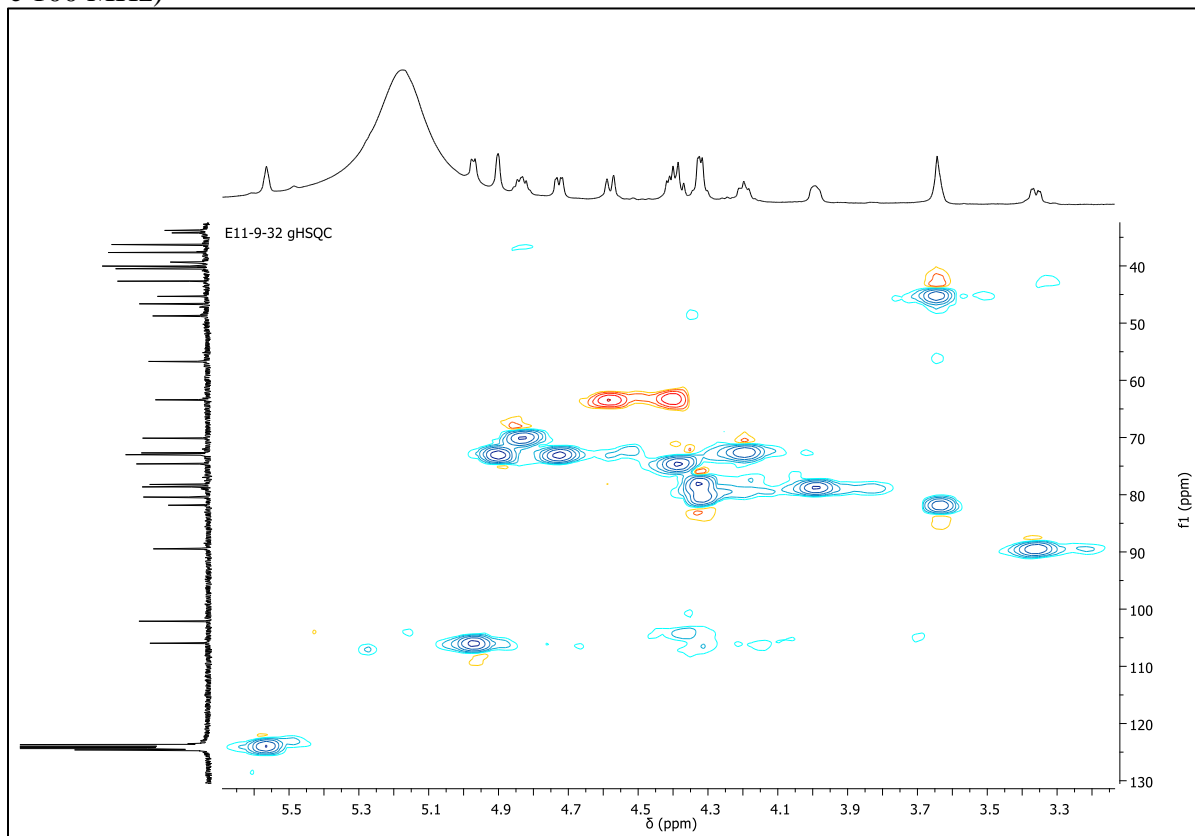


Figura 170. Mapa de contornos gHMBC de **32** (C_5D_5N , 600 e 100 MHz)

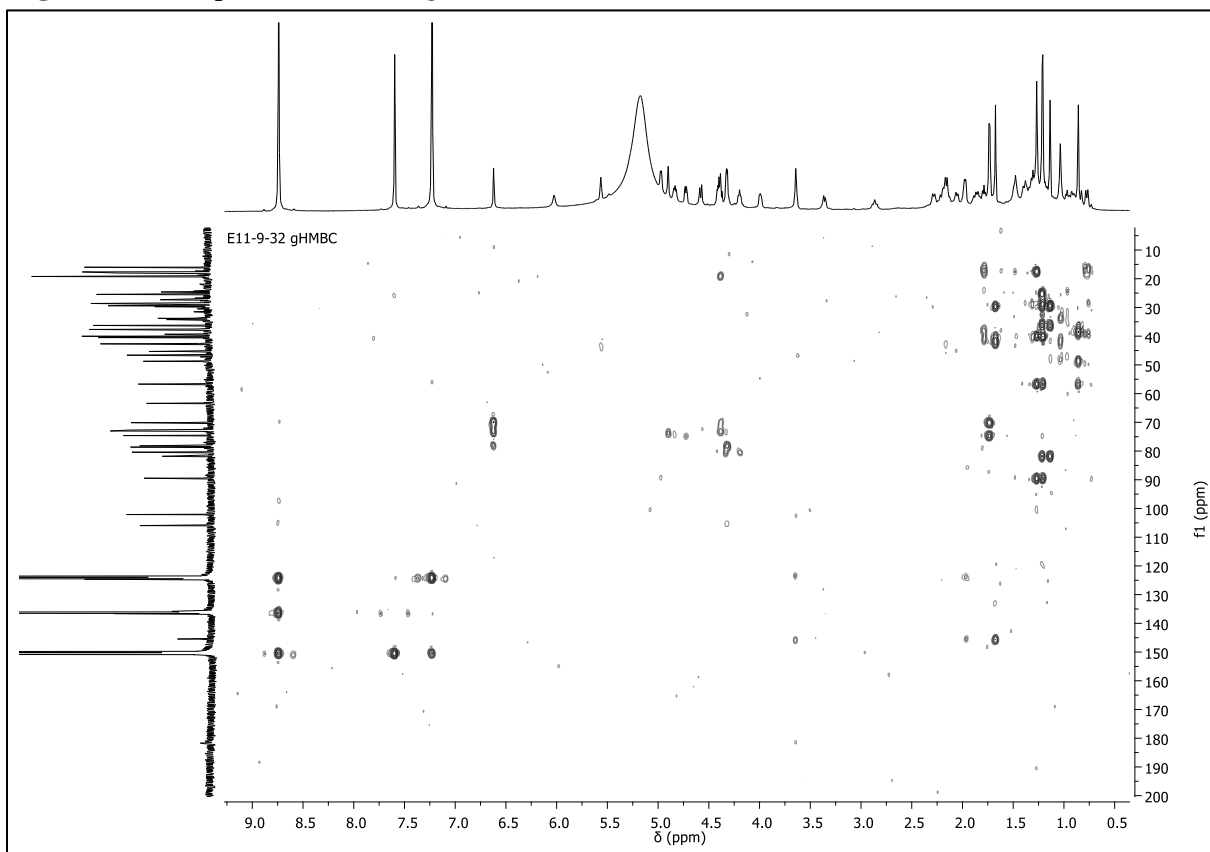


Figura 171. Expansão (δ 0,7-1,9 e 10-95) do mapa de contornos gHMBC de **32** (C_5D_5N , 600 e 100 MHz)

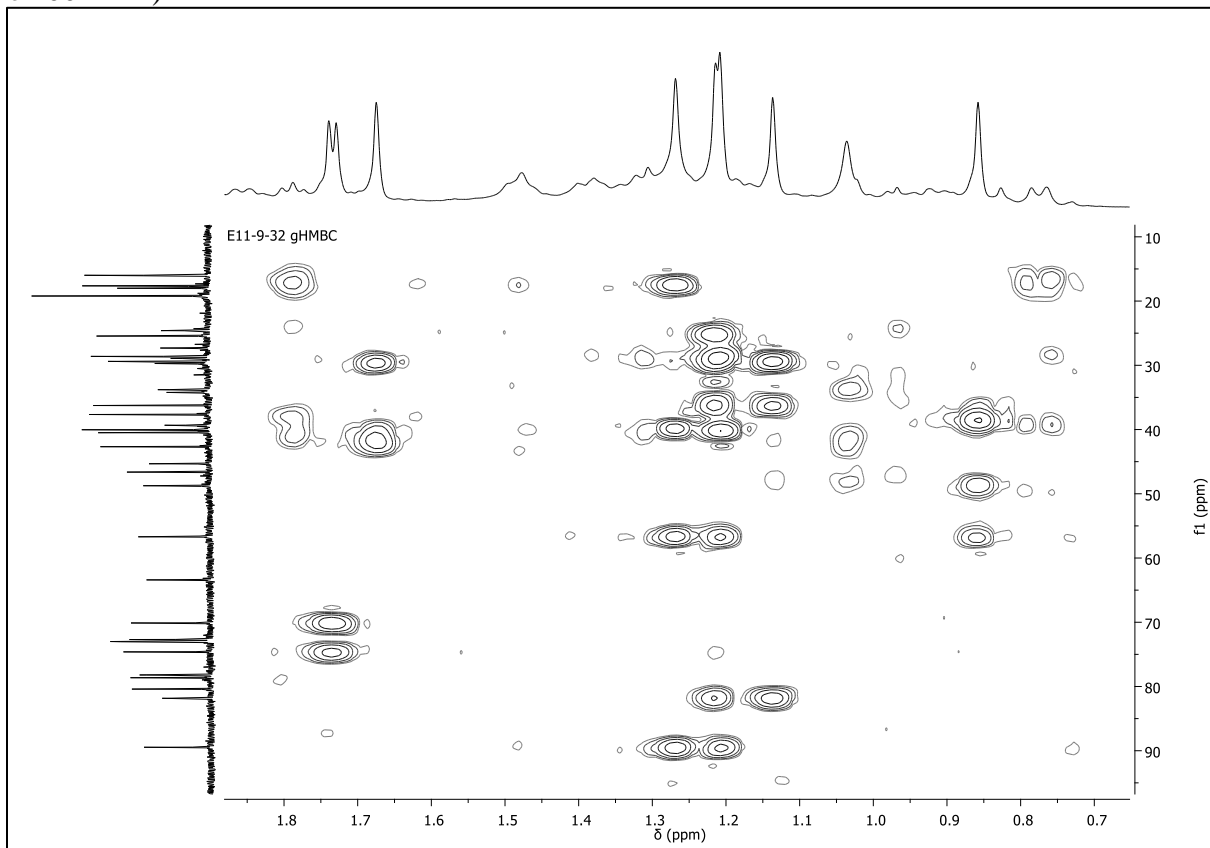


Figura 172. Expansão (δ 4,1-6,8 e 10-110) do mapa de contornos gHMBC de **32** (C_5D_5N , 600 e 100 MHz)

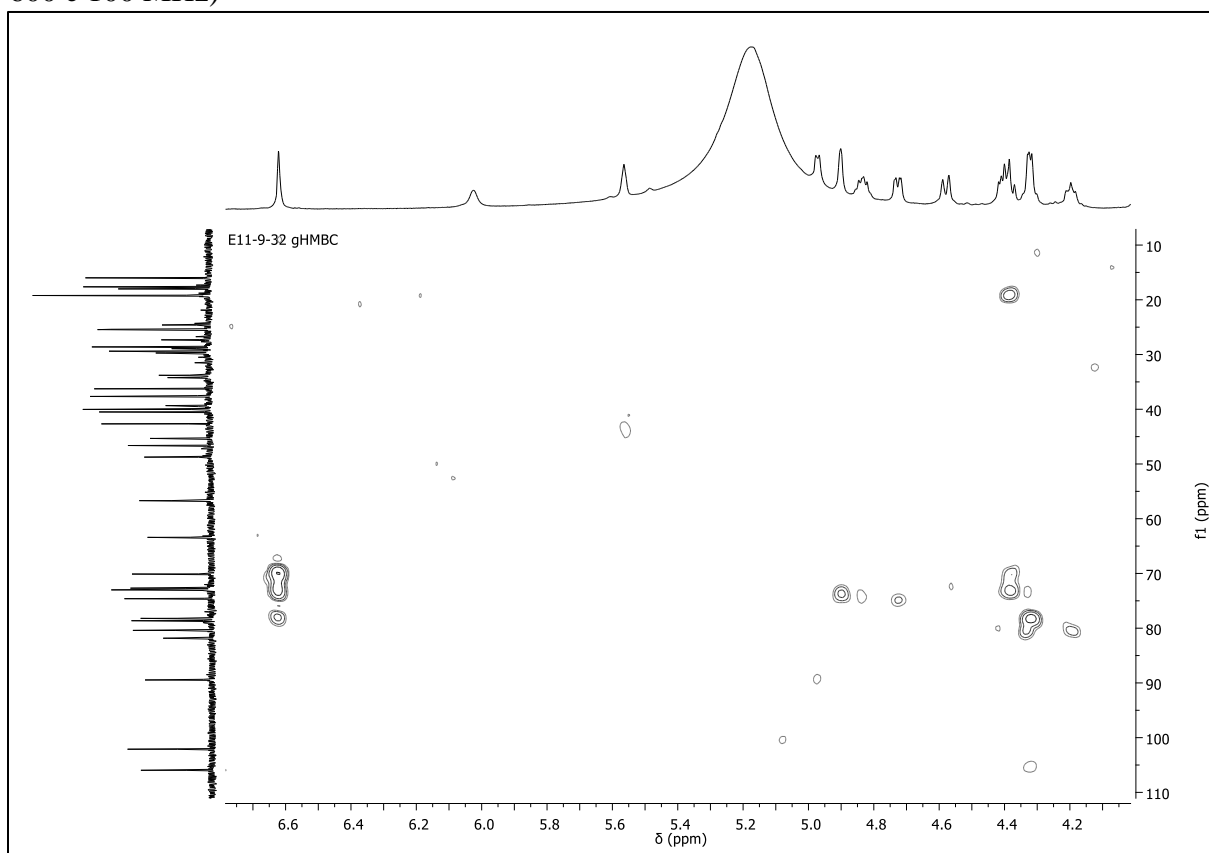


Figura 173. Mapa de contornos gCOSY de **32** (C_5D_5N , 600 MHz)

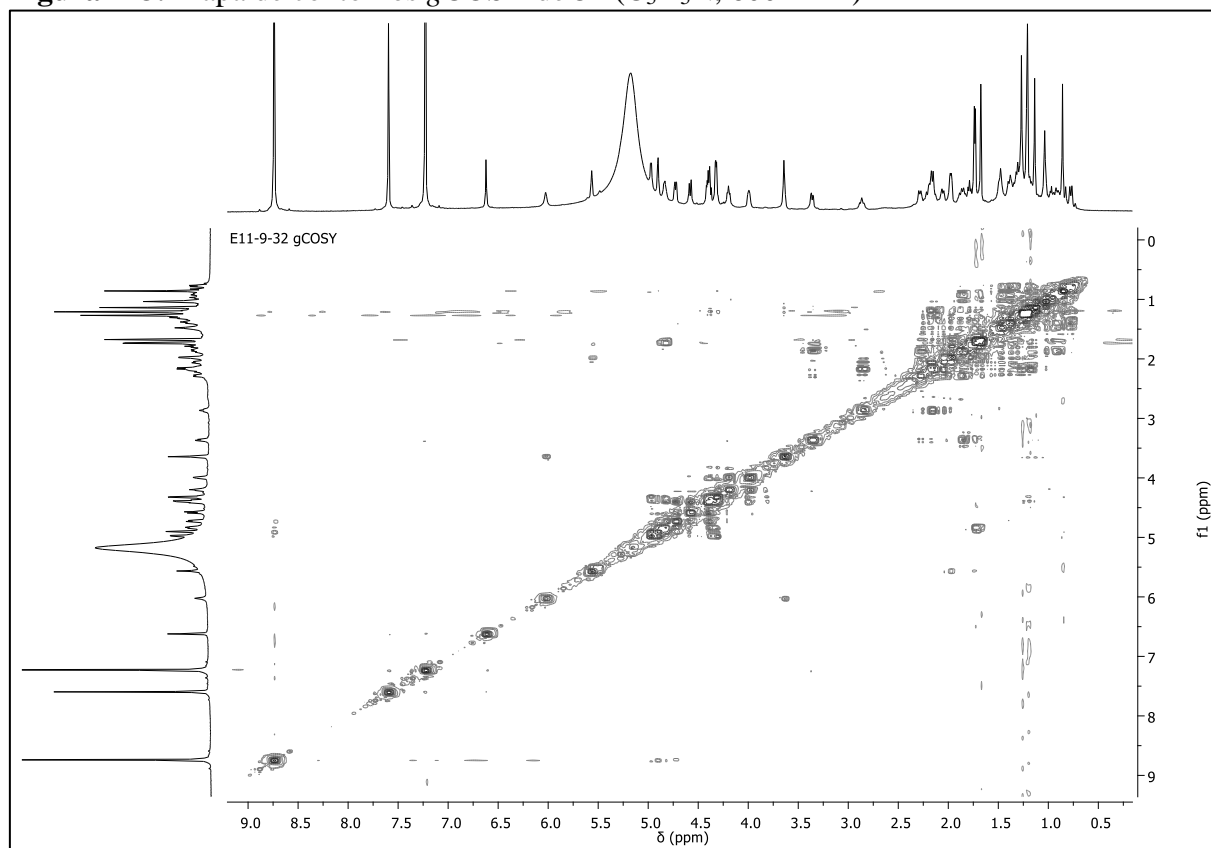


Figura 174. Expansão (δ 0,5-3,6) do mapa de contornos gCOSY de **32** (C_5D_5N , 600 MHz)

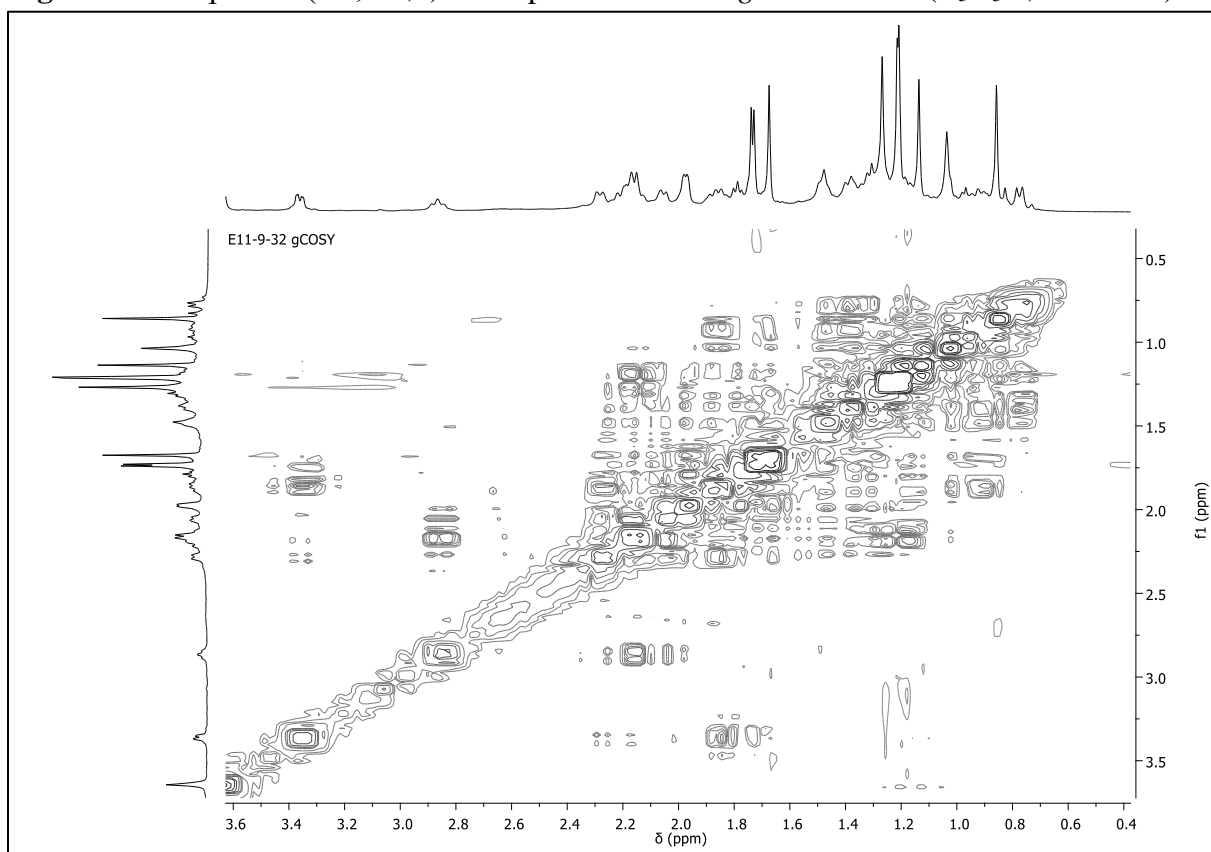


Figura 175. Expansão (δ 3,2-6,2) do mapa de contornos gCOSY de **32** (C_5D_5N , 600 MHz)

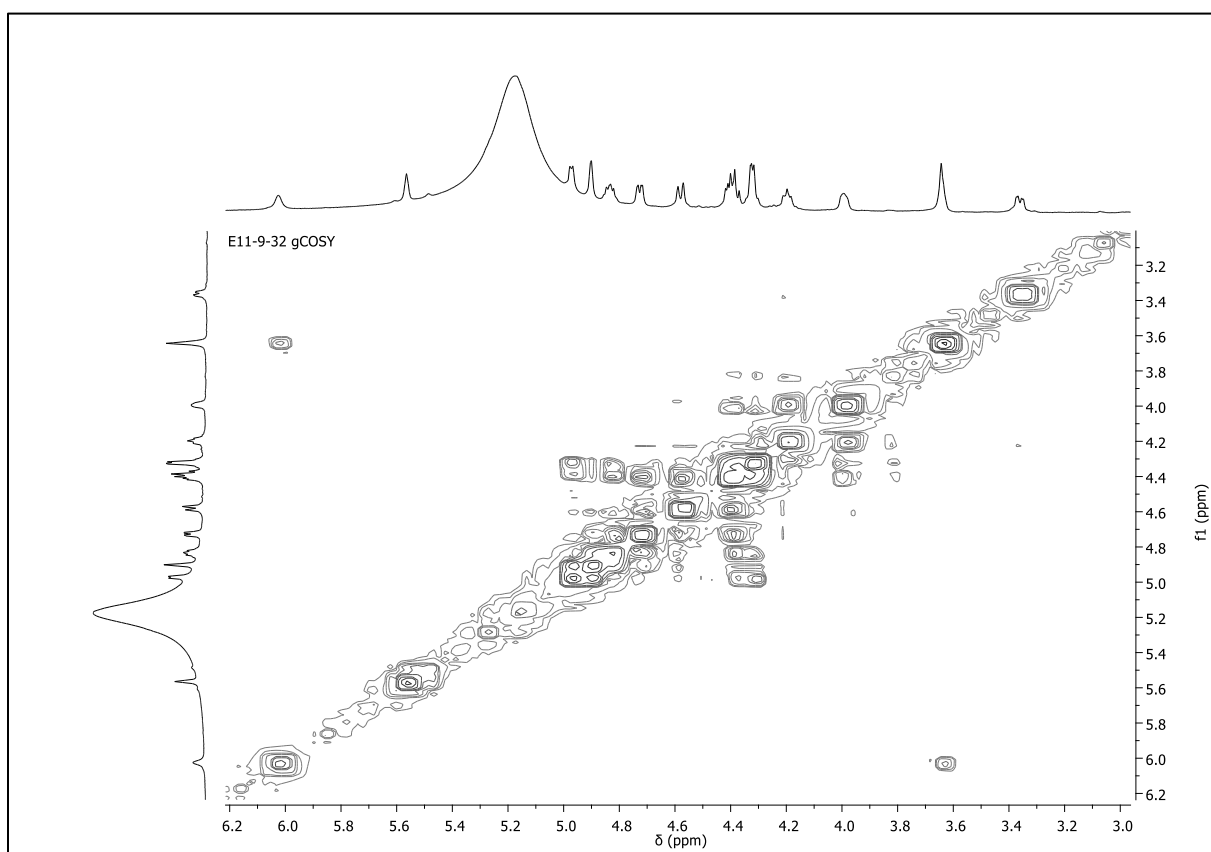


Figura 176. Espectro de RMN ^1H -TOCSY 1D de **32** ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 600 MHz)

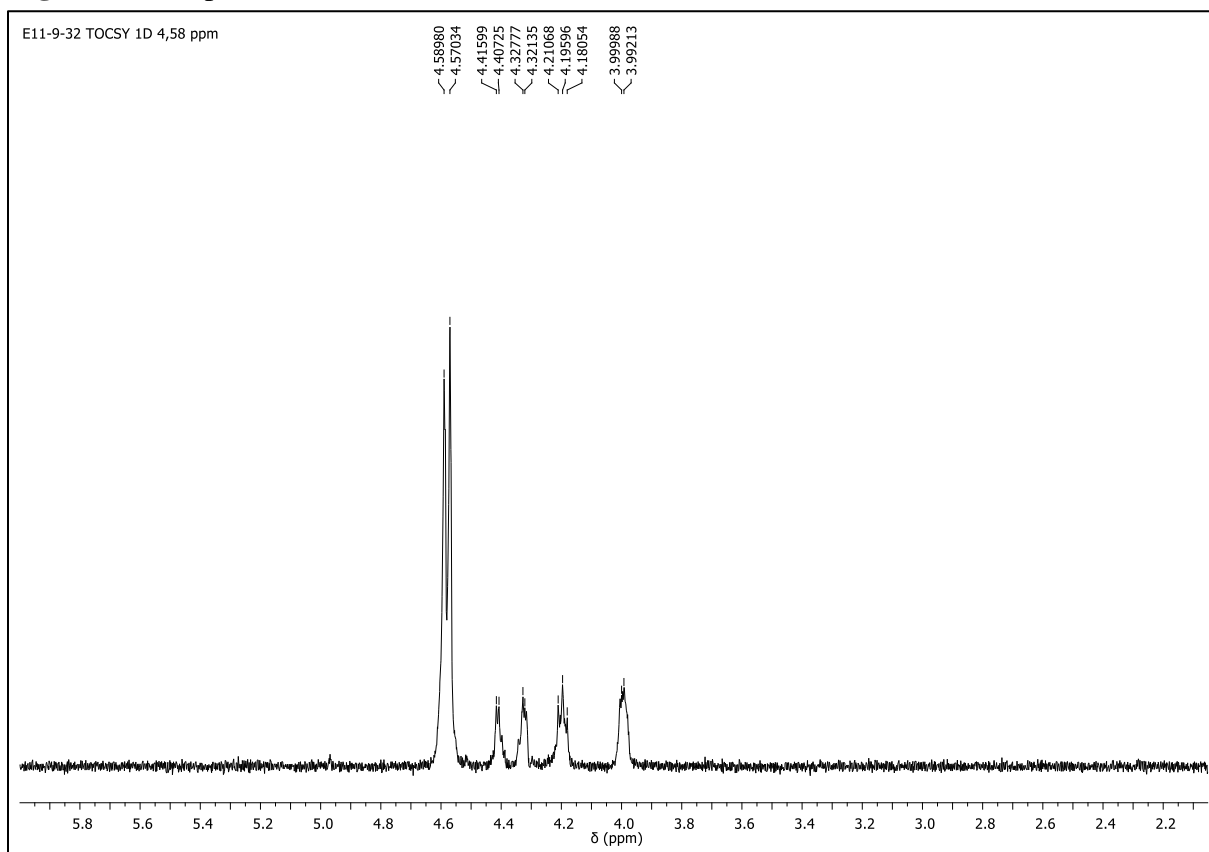


Figura 177. Espectro de RMN ^1H -TOCSY 1D de **32** ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 600 MHz)

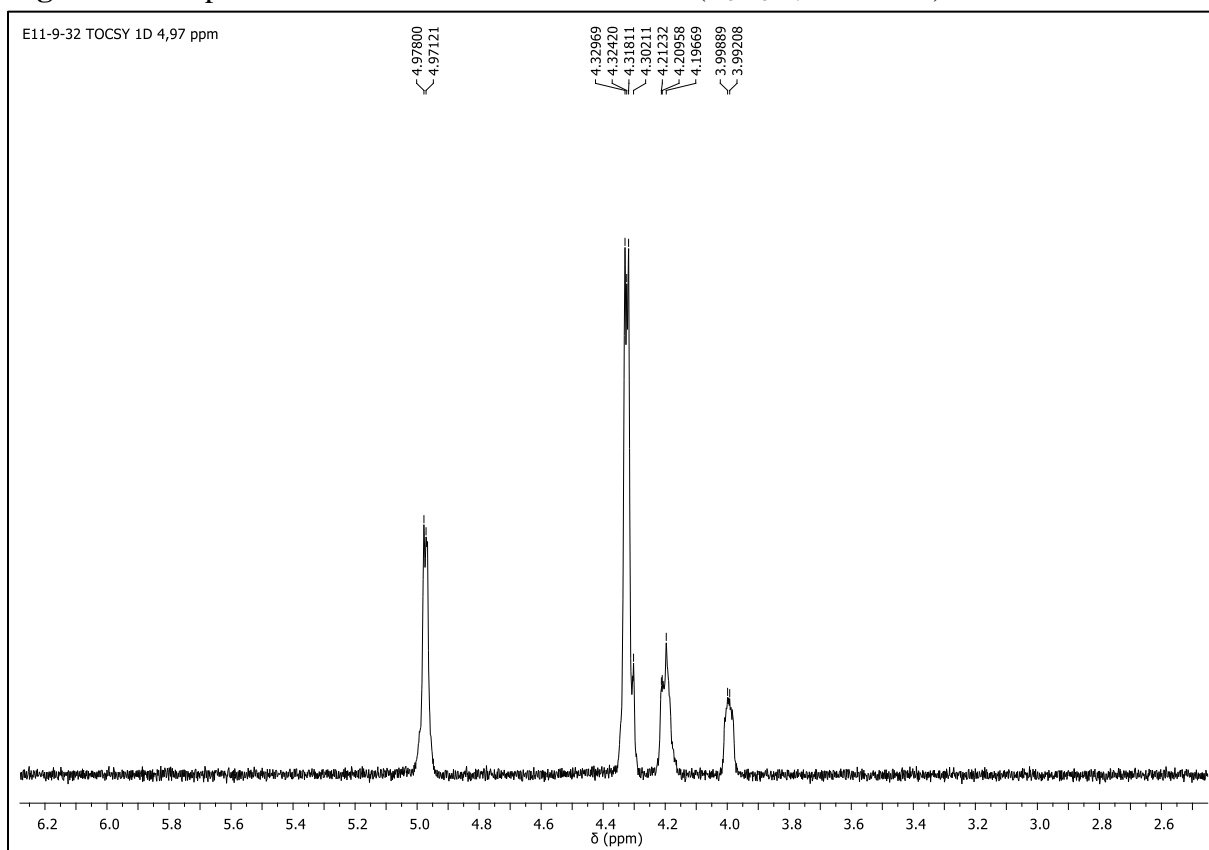


Figura 178. Espectro de RMN ^1H -TOCSY 1D de **32** ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 600 MHz)

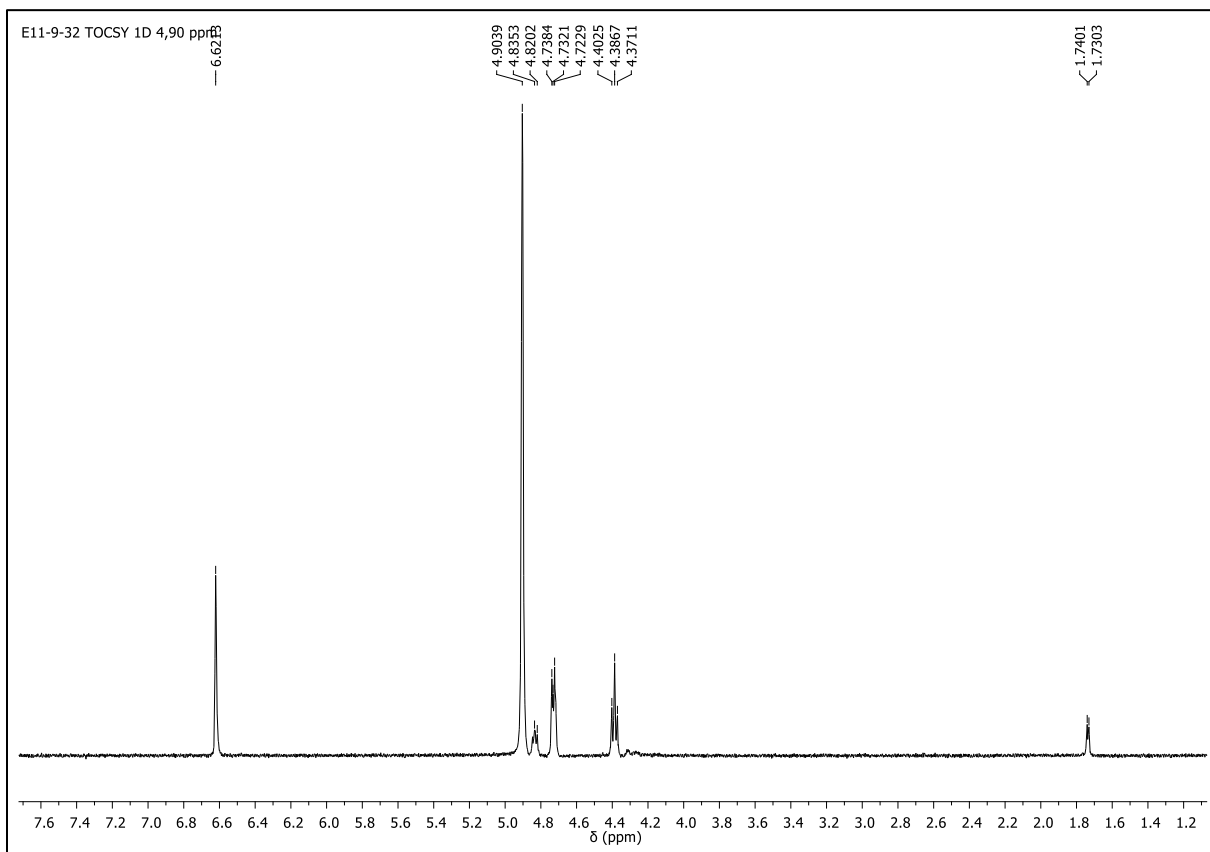


Figura 179. Espectro de RMN de ^1H de **32** (CD_3OD , 400 MHz)

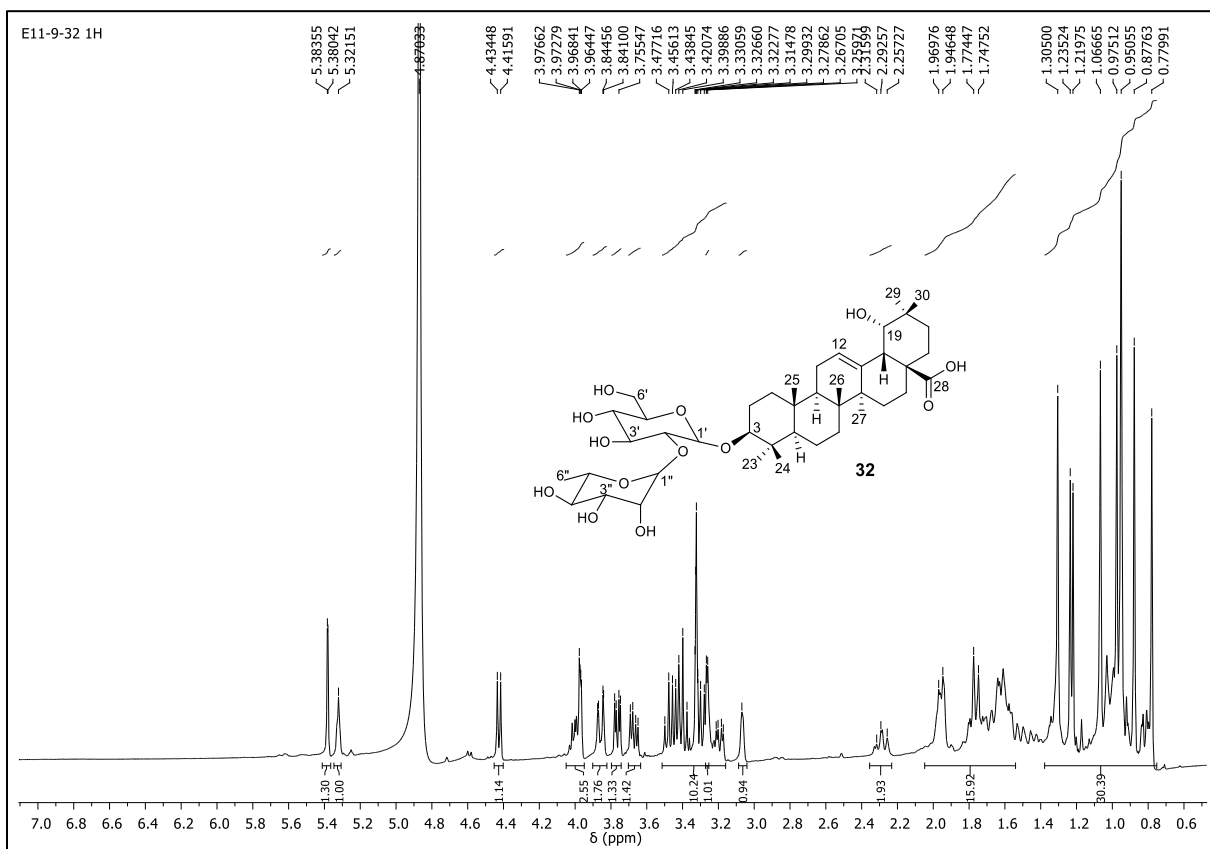


Figura 180. Expansão (δ 0,7-4,2) do espectro de RMN de ^1H de **32** (CD_3OD , 400 MHz)

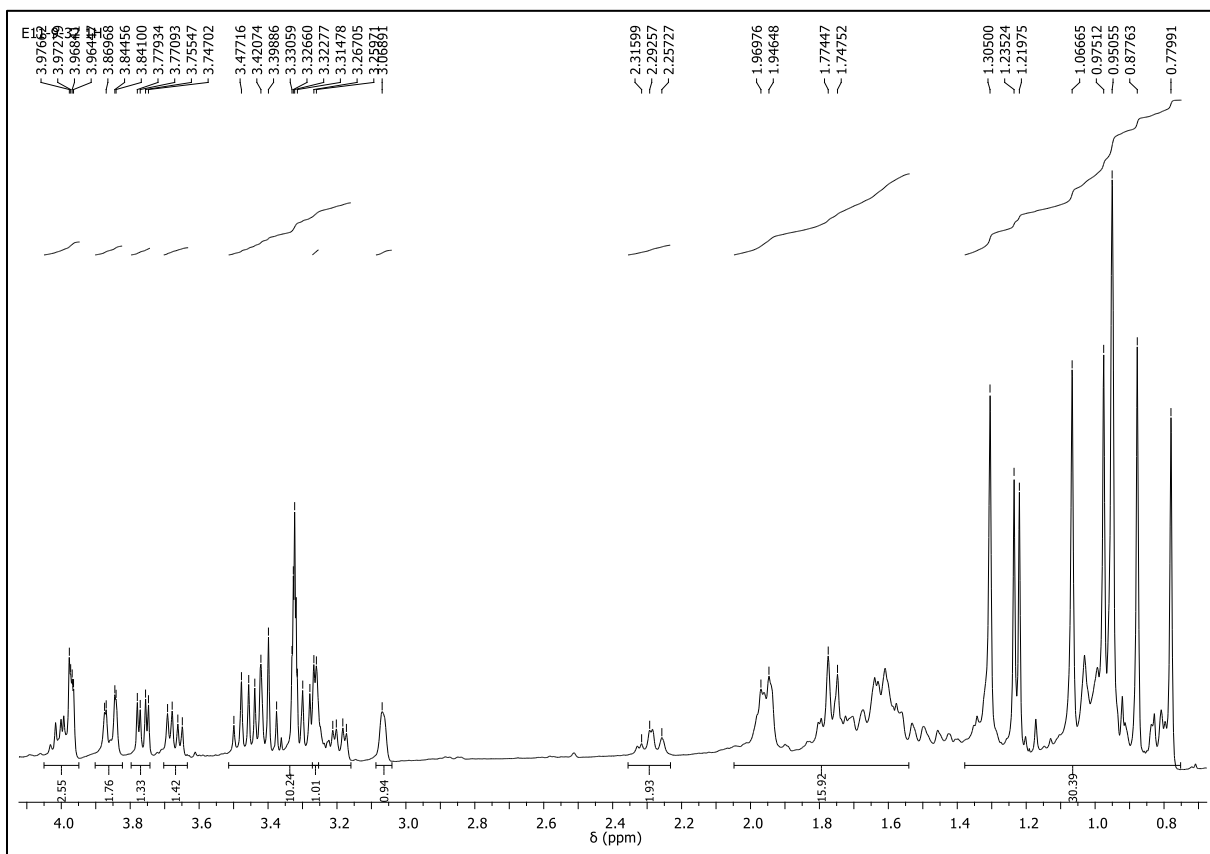
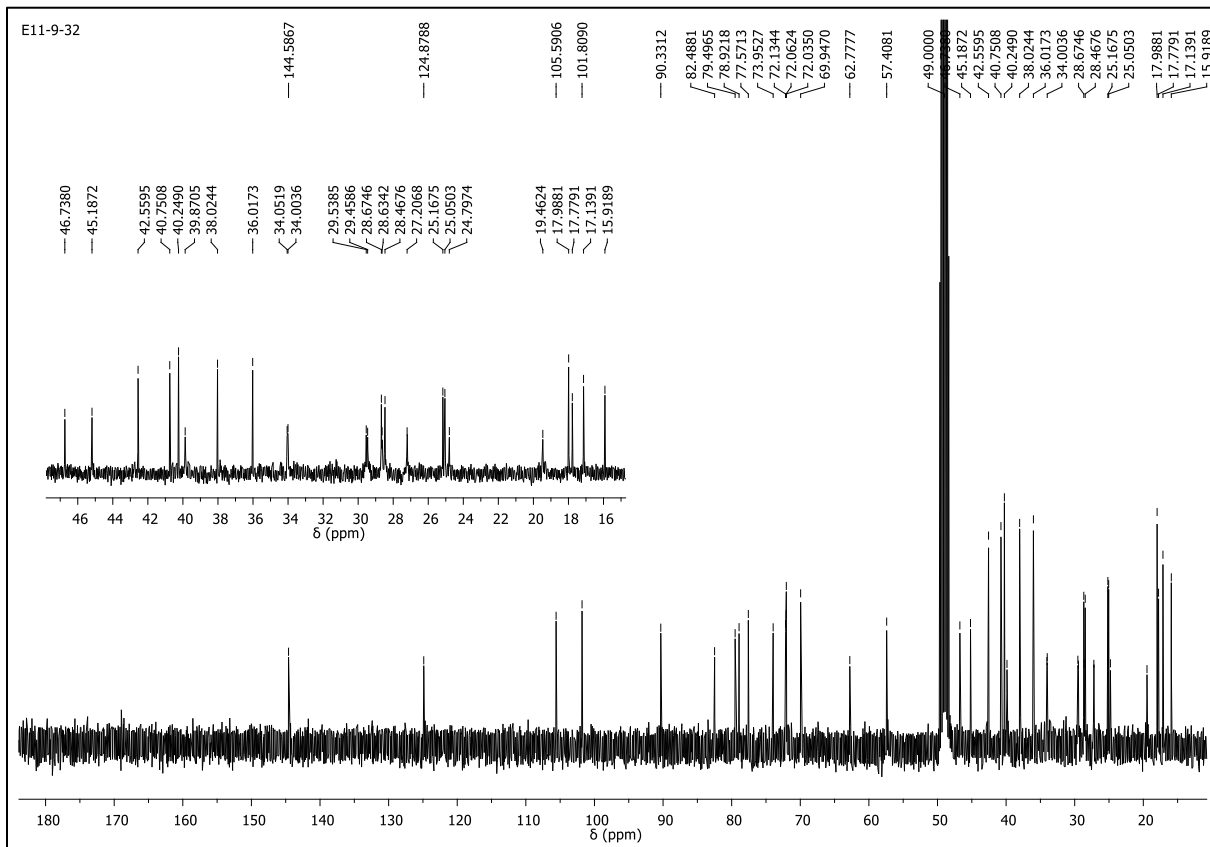
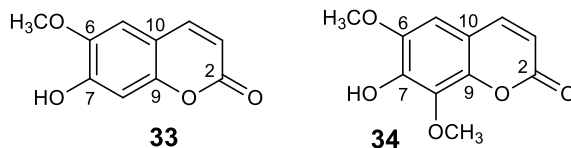


Figura 181. Espectro de RMN de ^1H de **32** (CD_3OD , 400 MHz)



5.3.4. Identificação estrutural das cumarinas



O composto **33** (25,5 mg) foi obtido como cristais incolores na forma de agulhas e o composto **34** (2,1 mg) como um sólido amorfo amarelado. Estes compostos foram obtidos dos grupos CC65 e CC82, provenientes do fracionamento cromatográfico em coluna de gel de sílica da fração CHCl_3 do extrato EtOH do caule (Esquema 4, pag. 40).

Os espectros de RMN de ^1H dos compostos **33** e **34** (Figuras 182e 189; Tabela 25) apresentaram o mesmo padrão de sinais na região de hidrogênios em carbonos sp^2 , sendo dois dupletos em δ 6,22/6,28 ($J=9,4/9,5$ Hz, H-3) e δ 7,87/7,59 ($J=9,4/9,5$ Hz, H-4). Adicionalmente, mostraram simpletos em δ 6,65/7,12 e 3,92/4,08, com integração para um e três hidrogênios, respectivamente, indicativos de hidrogênios em anel aromático e de metoxilas. Os espectros de RMN de ^{13}C (Figuras 184 e 190; Tabela 25) apresentaram sinais na região de δ 103-164, característicos do esqueleto cumarínico e sinais de metoxilas entre δ 56-61.

A análise conjunta dos espectros de RMN de ^{13}C , DEPT 90° e 135° (Figuras 184-186 e 190-191) e mapa de contornos gHSQC (Figuras 187 e 192) permitiram fazer a atribuição dos sinais referentes aos carbonos hidrogenados (Tabela 25). A análise do mapa de contornos gHMBC (Figuras 188 e 193) permitiu determinar a posição da metoxila em C-6 para o composto **33**, pela correlação do sinal em δ 3,92 com δ 147,1 (C-6) e, das metilas em C-6 e C-8 para o composto **34**, pelas correlações dos sinais em δ 3,93 com δ 144,7 (C-6) e de δ 4,08 com δ 134,6 (C-8). A comparação dos dados obtidos com os relatados na literatura permitiu identificar as cumarinas escopoletina (**33**) e isofraxidina (**34**) (LIN, YANG e CHOU, 2002; PANICHAYUPAKARANANT et al., 1995).

Tabela 25. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C dos compostos **33** (CD_3OD , 400 e 100 MHz) e **34** (CDCl_3 , 600 e 150 MHz)

Deslocamento químico δ (ppm)								
C/H	33		Escopoletina*		34		Isofraxidina**	
	^{13}C	^1H	^{13}C	^1H	^{13}C	^1H	^{13}C	^1H
1	164,1	-	164,0	-	160,8	-	160,6	-
3	112,5	6,22 (d; $J=9,4$ Hz)	112,6	6,18 (d; $J=9,5$ Hz)	113,7	6,28 (d, $J=9,5$ Hz)	113,5	6,28 (d, $J=10$ Hz)
4	146,1	7,87 (d; $J=9,4$ Hz)	146,1	7,83 (d; $J=9,4$ Hz)	144,0	7,59 (d, $J=9,5$ Hz)	143,8	7,60 (d, $J=10$ Hz)
5	109,9	7,12 (s)	110,0	7,09 (s)	103,3	6,65 (s)	103,2	6,66 (s)
6	147,1	-	147,1	-	144,7	-	144,6	-
7	153,0	-	152,9	-	143,2	-	143,0	-
8	104,0	6,78 (s)	104,0	6,75 (s)	134,6	-	134,5	-
9	151,5	-	151,4	-	142,6	-	142,5	-
10	112,6	-	112,6	-	111,4	-	111,2	-
6-OCH ₃	56,8	3,92 (s)	56,8	3,90 (s)	56,4	3,93 (s)	56,5	3,94 (s)
8-OCH ₃	-	-	-	-	61,9	4,08 (s)	61,6	4,09 (s)

*Dados em CD_3OD relatados por LIN, YANG e CHOU, 2002

**Dados em CDCl_3 relatados por PANICHAYUPAKARANANT et al., 1995

Figura 182. Espectro de RMN de ^1H de **33** (CD_3OD , 400 MHz)

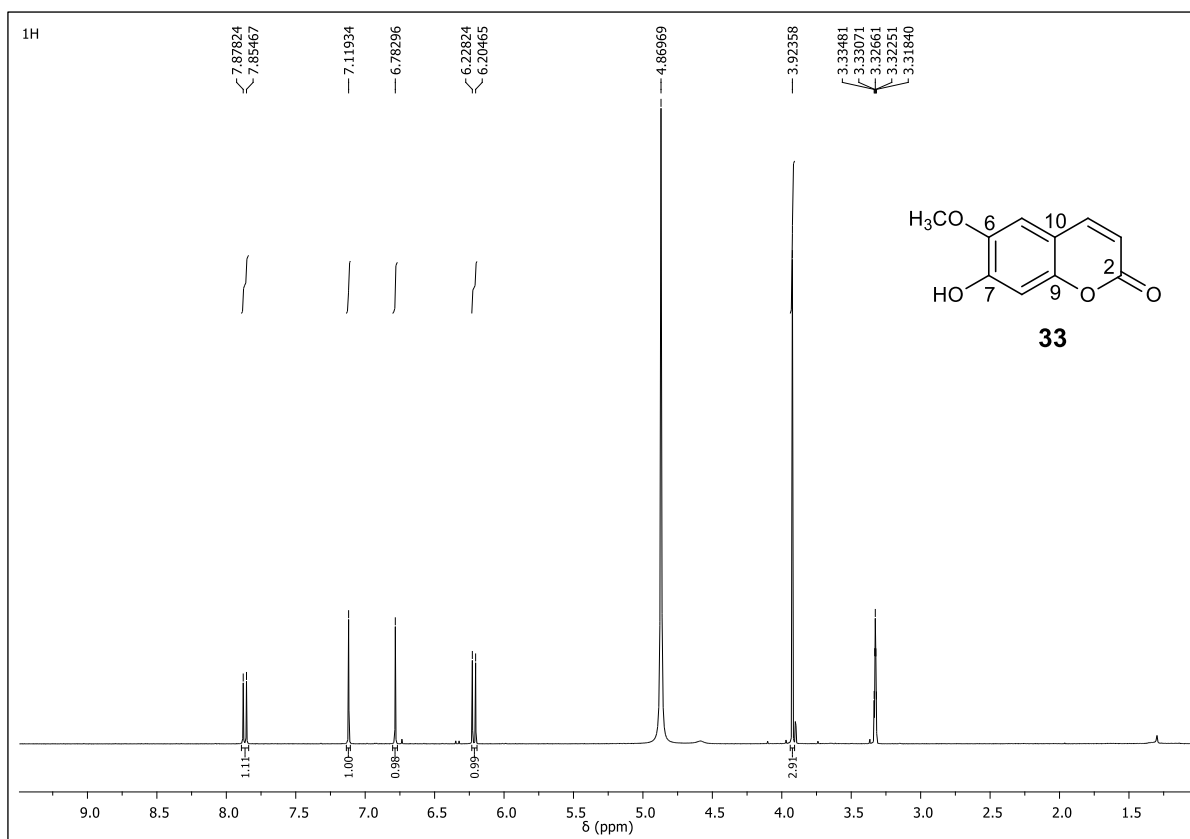


Figura 184. Espectro de RMN de ^{13}C de **33** (CD_3OD , 100 MHz)

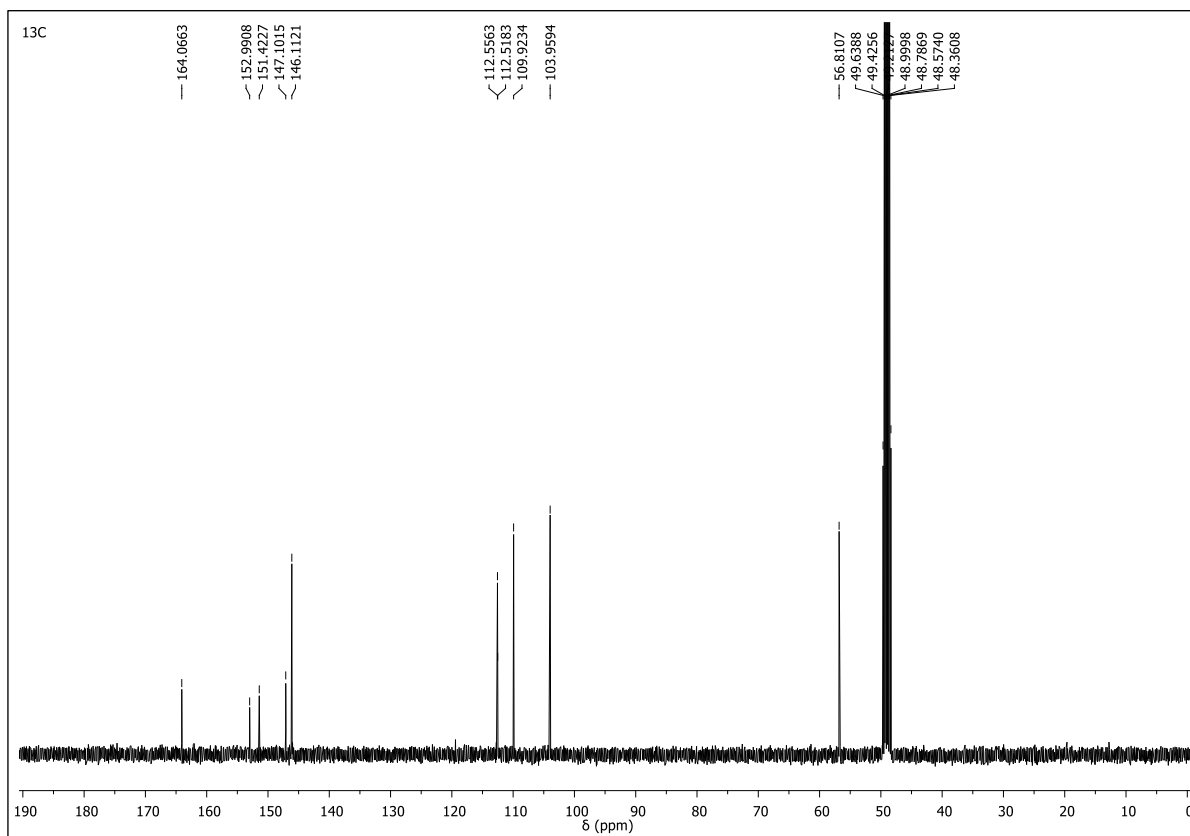


Figura 185. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 90° de **33** (CD_3OD , 100 MHz)

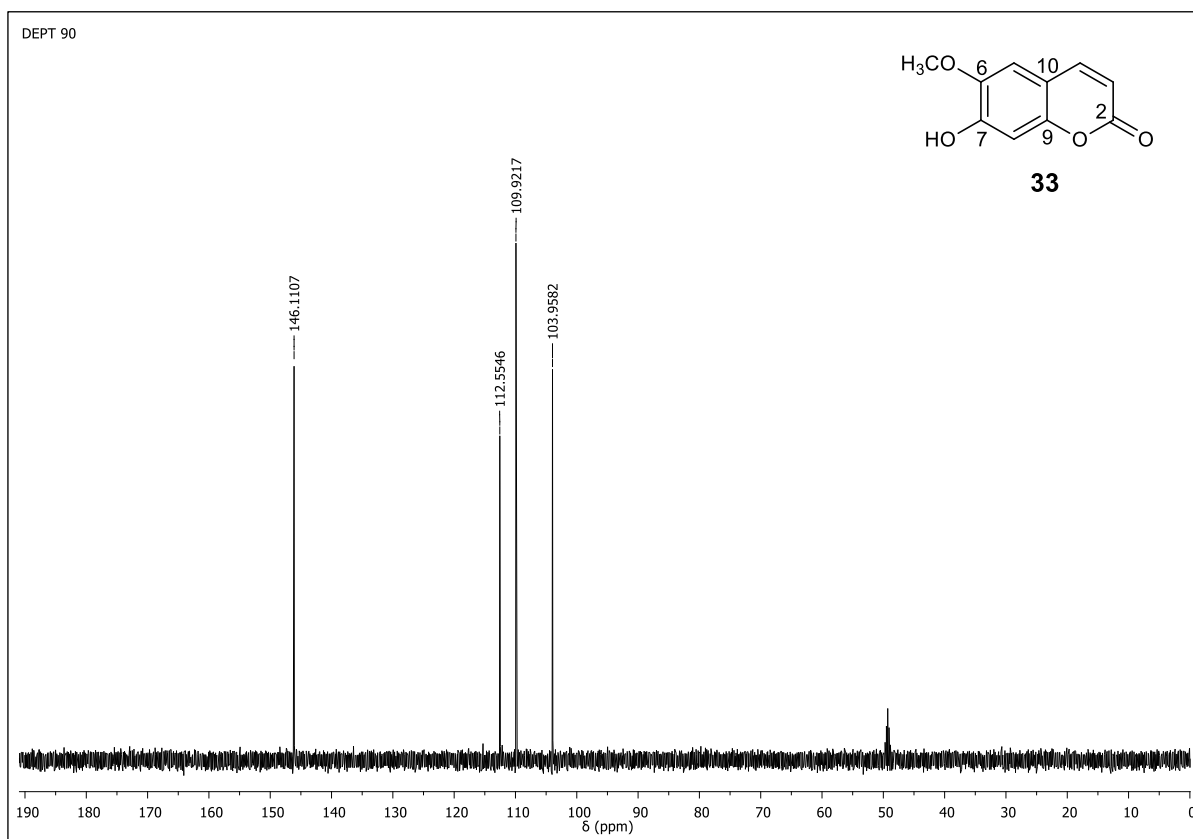


Figura 186. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° de **33** (CD_3OD , 100 MHz)

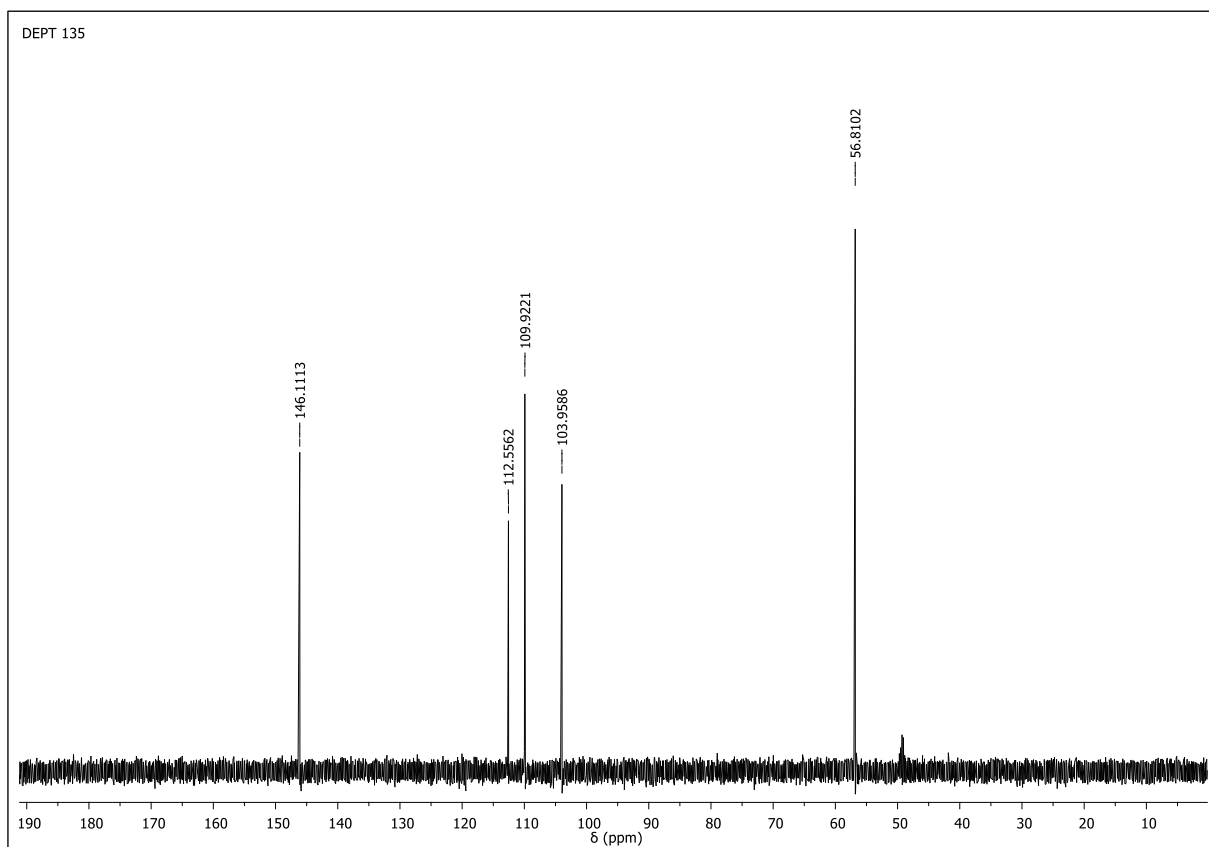


Figura 187. Mapa de contornos gHSQC de **33** (CD₃OD, 400 e 100 MHz)

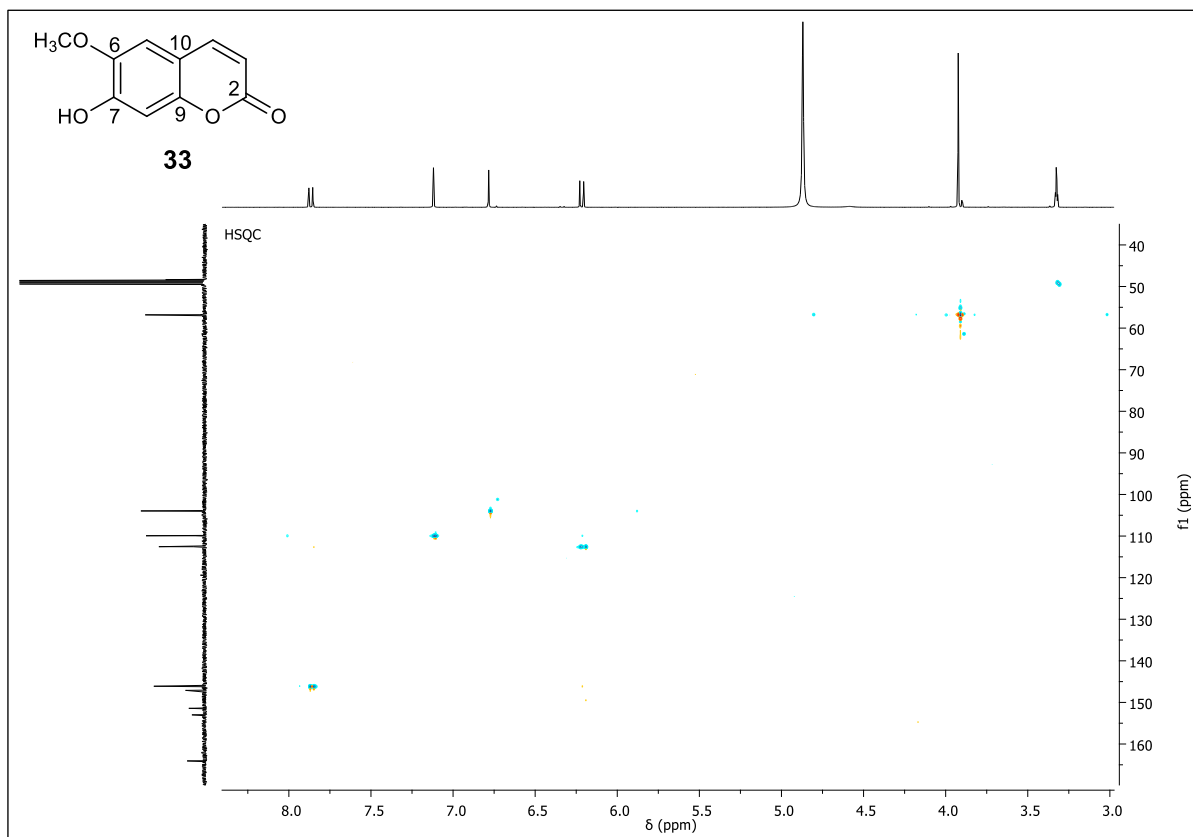


Figura 188. Mapa de contornos gHMBC de **33** (CD₃OD, 400 e 100 MHz)

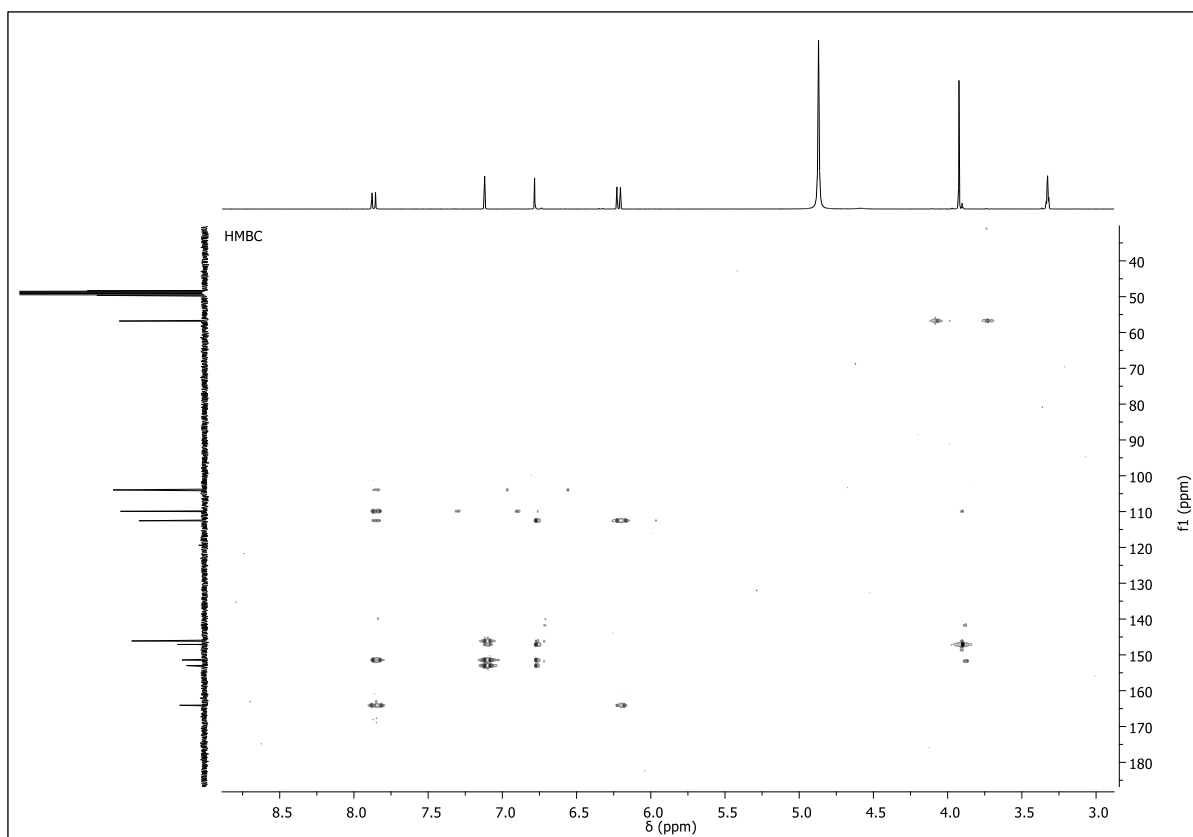


Figura 189. Espectro de RMN de ^1H de **34** (CDCl_3 , 600 MHz)

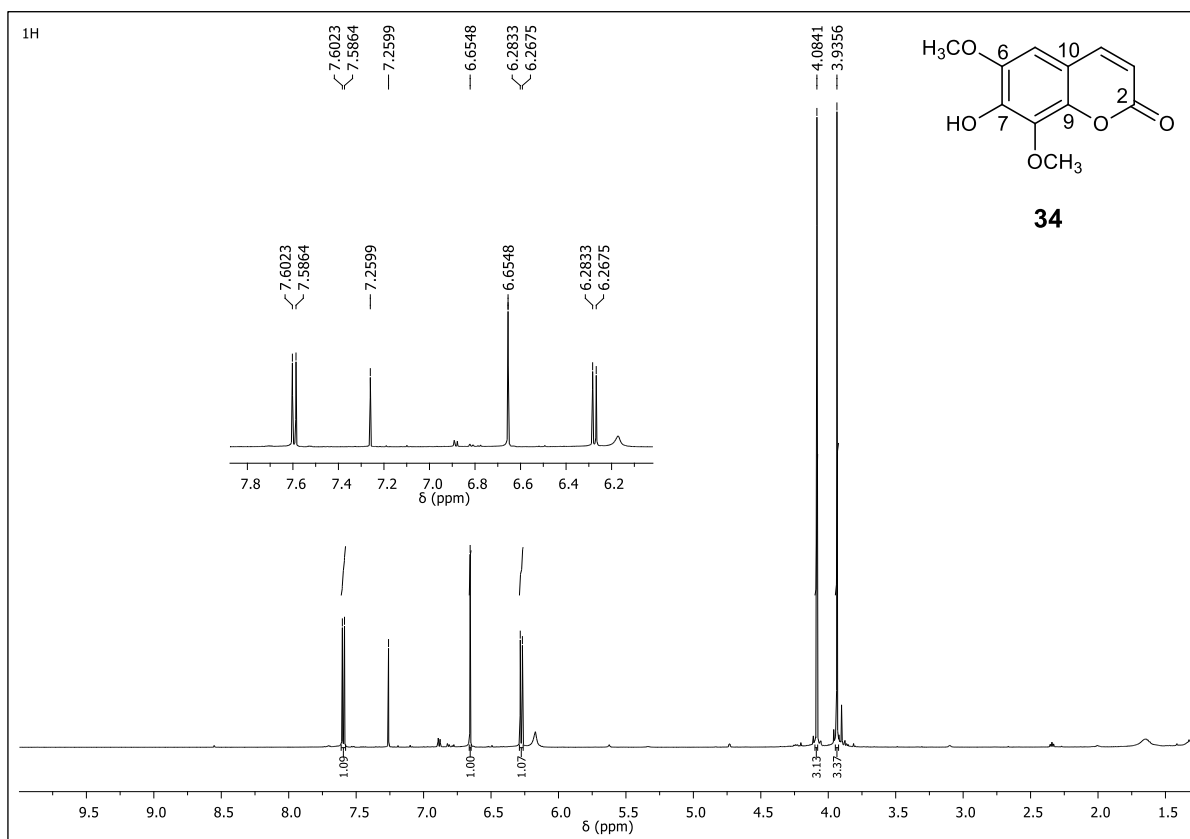


Figura 190. Espectro de RMN de ^{13}C de **34** (CDCl_3 , 150 MHz)

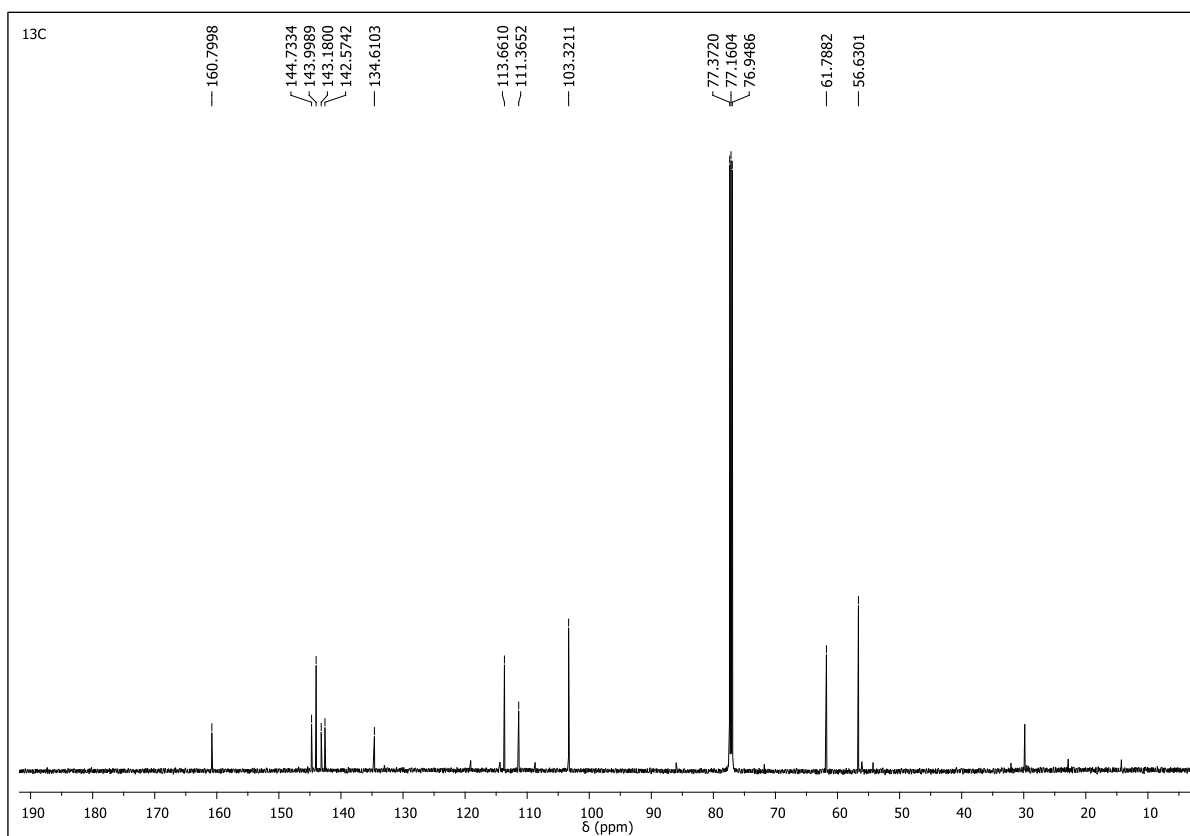


Figura 191. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° de **34** (CDCl_3 , 150 MHz)

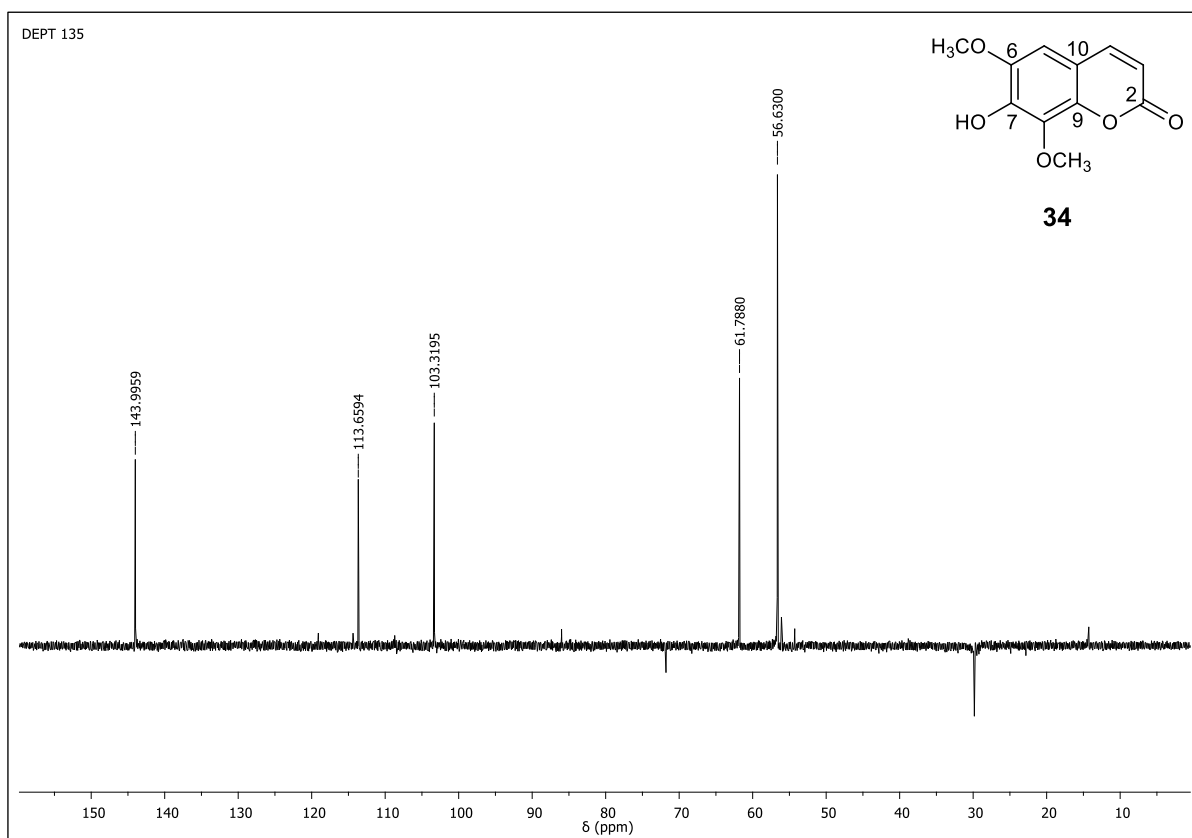


Figura 192. Mapa de contornos gHSQC de **34** (CDCl_3 , 600 e 150 MHz)

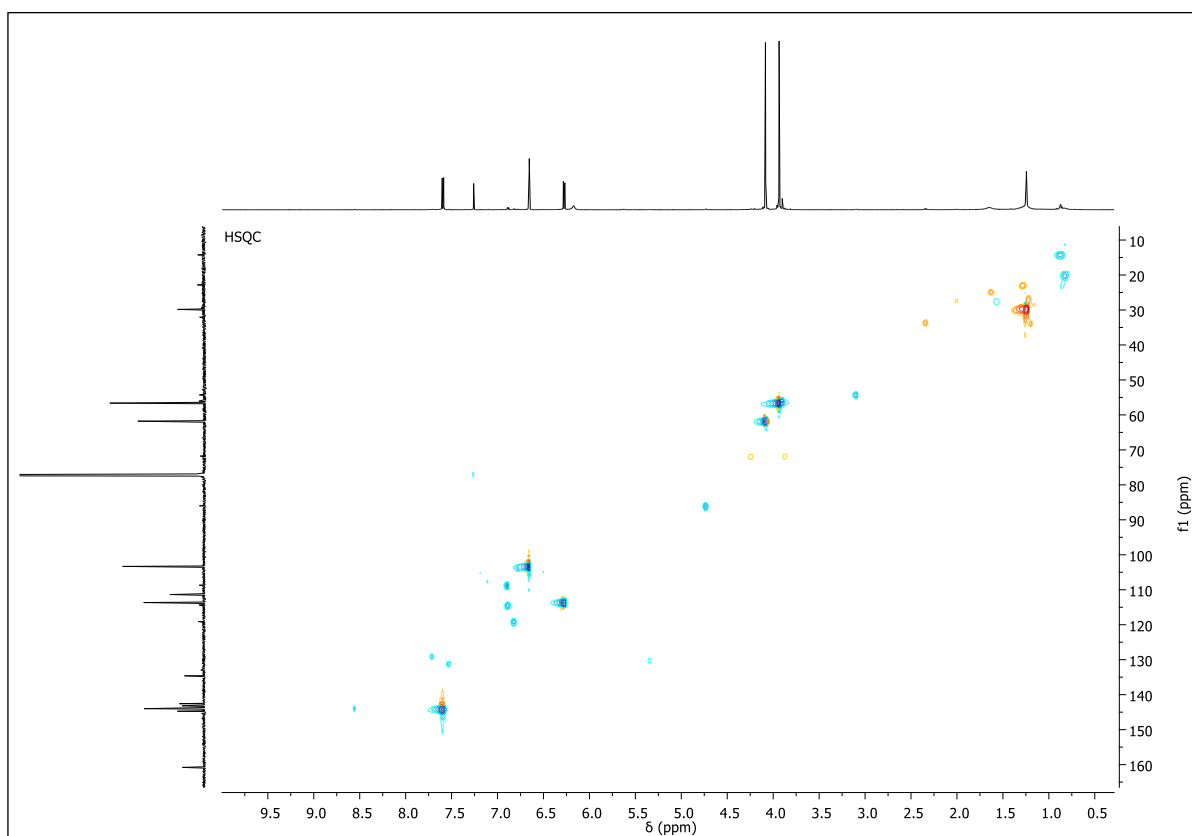
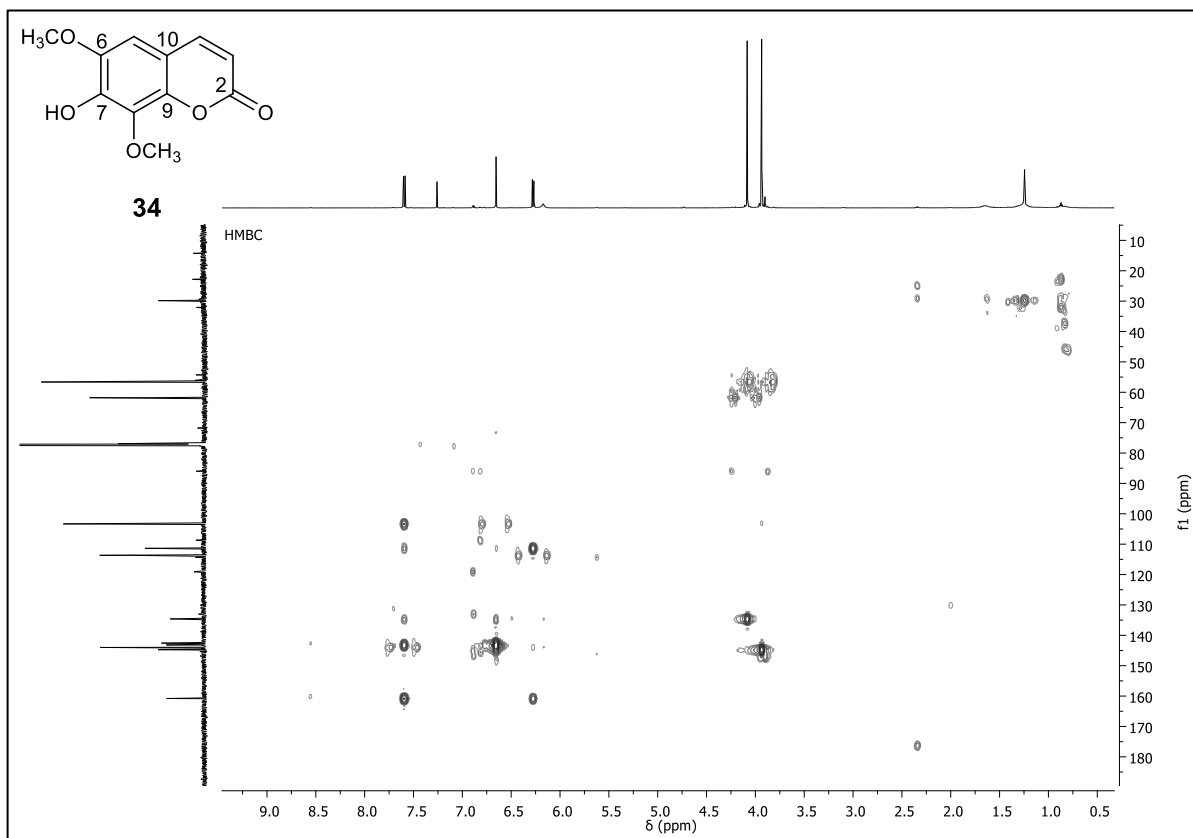
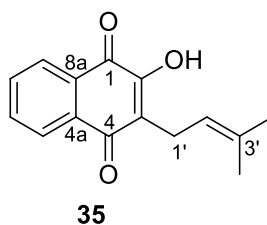


Figura 193. Mapa de contornos gHMBC de **34** (CDCl₃, 600 e 150 MHz)



5.3.5. Identificação estrutural de compostos de outras classes

Naftoquinona



O composto **35** (44,2 mg) foi obtido como um sólido laranja cristalino, a partir do grupo CC13, proveniente do fracionamento cromatográfico em coluna de gel de sílica da fração CHCl_3 do extrato EtOH do caule (Esquemas 3, pag. 39).

O espectro de RMN de ^1H (Figura 194) de **35** apresentou um duplete em δ 3,30 ($J=7,4$ Hz; H-2'), um multiplete em δ 5,17 (H-1') e dois simpletos em δ 1,68 (H-4') e 1,75 (H-5') com integração para três hidrogênios cada, característicos de grupo prenila. Além destes, mostrou também sinais de hidrogênios aromáticos, sendo dois duplos dupletos em δ 8,11 ($J=7,5$ e 1,0; H-5) e 8,06 ($J=7,4$ e 1,2; H-8) e dois tripletos de dupletos em δ 7,74 ($J=7,6$ e 1,4; H-6) e 7,67 ($J=7,5$ e 1,3; H-7), bem como um simpleto em 7,33 referente à hidroxila ligada a carbono sp^2 (Tabela 26).

Os espectros de RMN de ^{13}C (Figura 195) apresentou 15 sinais, sendo dois de carbonos metílicos, um metilênico, cinco metínicos e sete carbonos não hidrogenados, definidos pelos espectros DEPT 90° e 135° (Figura 196). Os sinais em δ 22,8, 119,8, 134,0, 18,0 e 25,9 confirmam a presença do grupo prenila. Os sinais em δ 184,7 e 181,8 foram atribuídos as carbonilas C-1 e C-4 respectivamente. Também se observou sinais na região de carbonos aromáticos entre δ 123,6-152,8 (Tabela 26). Estes dados comparados com os relatados na literatura permitiram identificar o composto **35** como sendo a naftoquinona lapachol (MOREIRA et al, 2006).

Tabela 26. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C do composto **35** (CDCl_3 , 400 e 100 MHz; J em Hz).

C/H	Deslocamento químico δ (ppm)			
	30		Lapachol*	
	^{13}C	^1H	^{13}C	^1H
1	184,7	-	184,5	-
2	152,8	-	152,7	-
3	123,6	-	123,5	-
4	181,8	-	181,7	-
4^a	133,0	-	132,9	-
5	126,2	8,11 dd (7,5 e 1,0)	126,0	8,1 dd (6,4 e 1,3)
6	135,0	7,74 td (7,6 e 1,4)	134,8	7,7 td (6,4 e 1,3)
7	133,0	7,67 td (7,5 e 1,3)	132,8	7,7 td (6,4 e 1,3)
8	126,9	8,06 dd (7,4 e 1,2)	126,7	8,1 dd (6,4 e 1,3)
8^a	129,6	-	129,4	-
1'	22,8	3,30 d (7,4)	22,6	3,30 d (6,7)
2'	119,8	5,17 m	119,6	5,20 t (6,7)
3'	134,0	-	133,8	-
4'	18,0	1,68 s	17,8	1,65 s
5'	25,9	1,79 s	25,7	1,75 s
OH-2	-	7,33 s	-	7,20 s

*Dados em CDCl_3 , relatados por MOREIRA et al, 2006.

Figura 194. Espectro de RMN ^1H de **35** (CDCl_3 , 400 MHz)

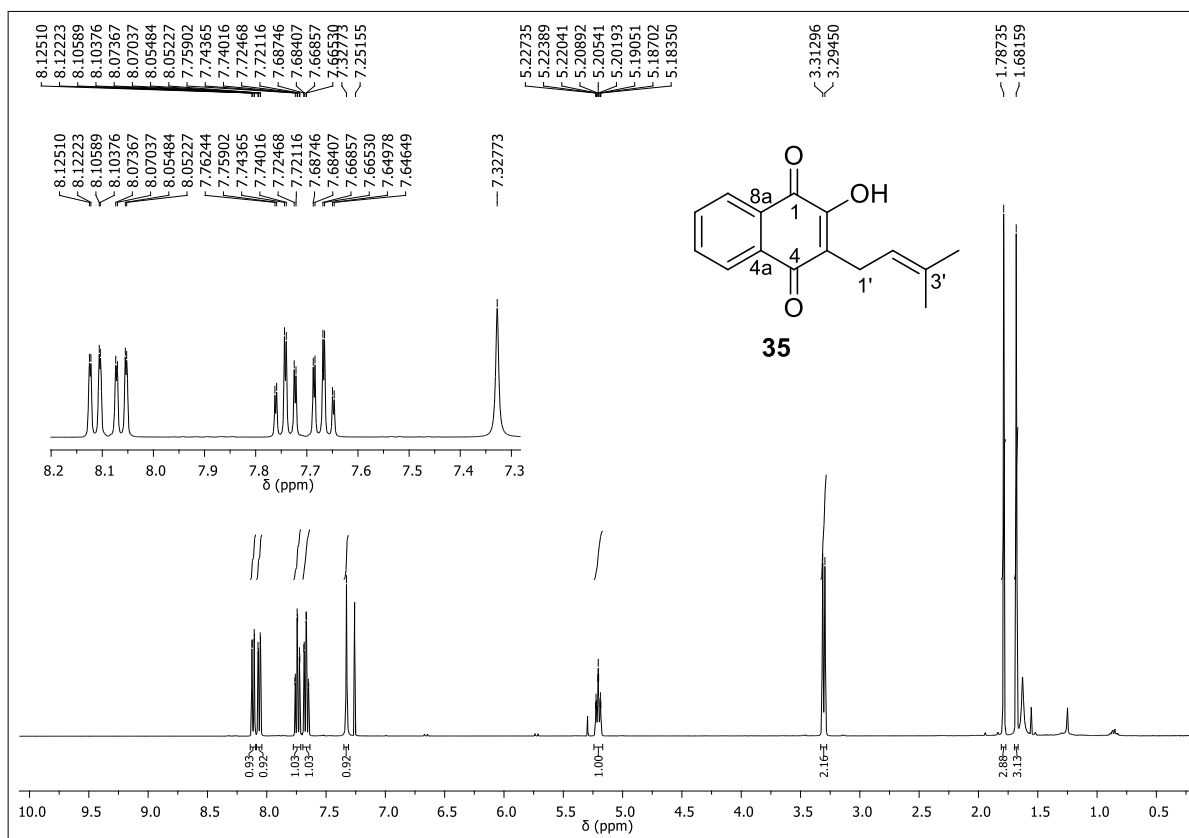


Figura 195. Espectro de RMN ^{13}C de **35** (CDCl_3 , 100 MHz)

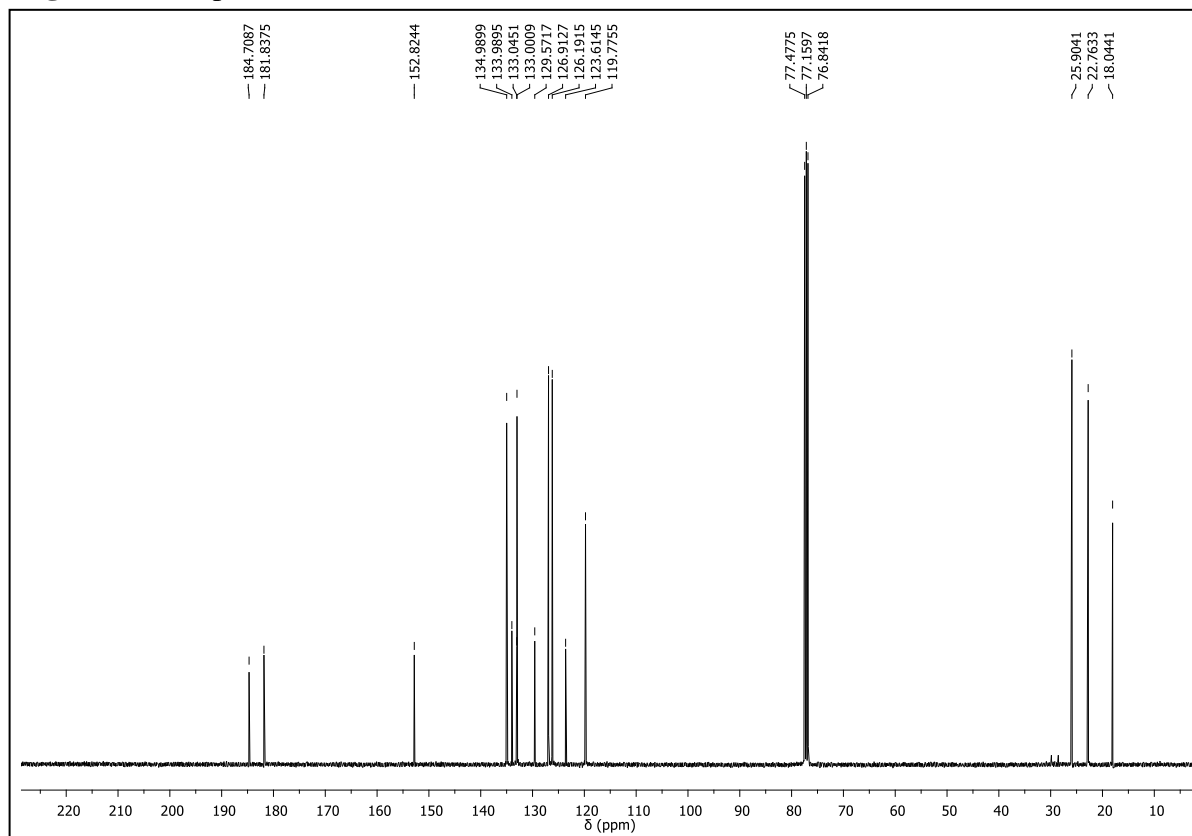
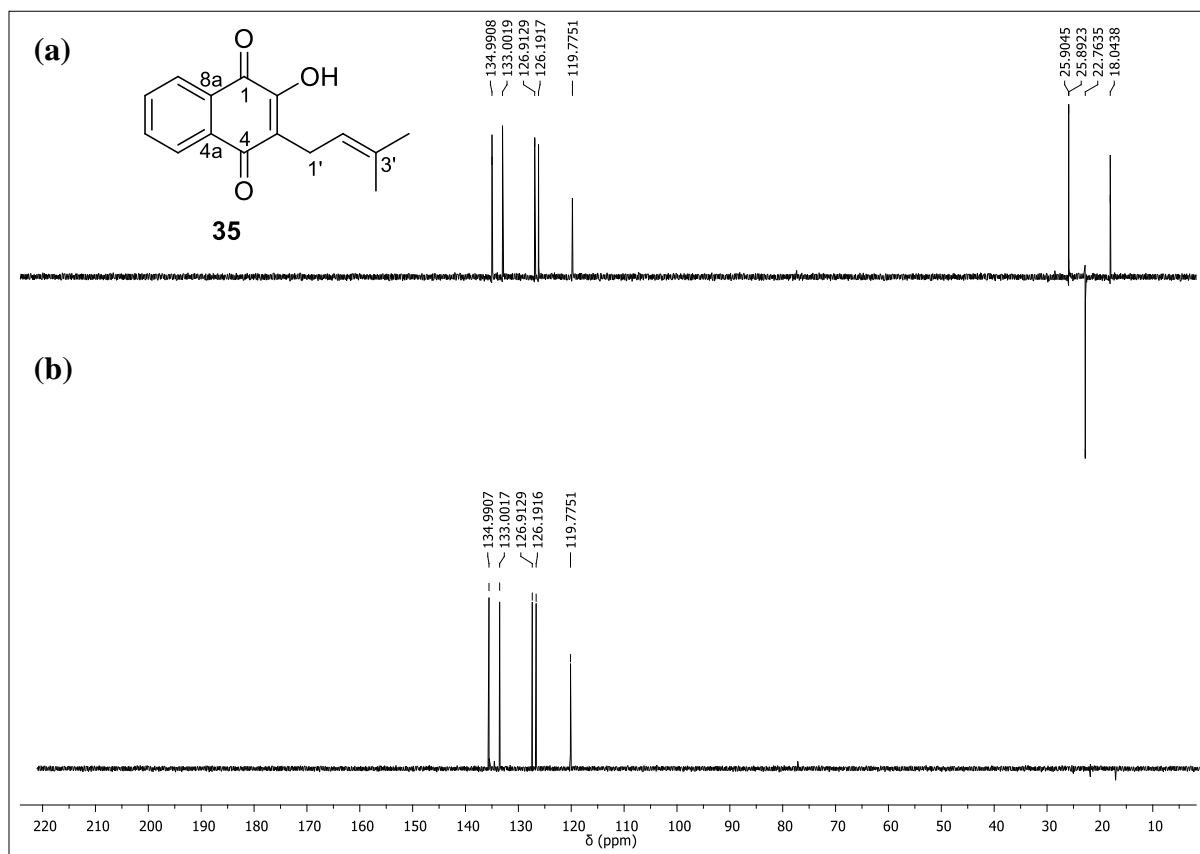
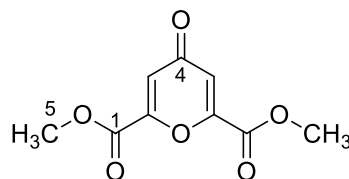


Figura 196. Espectro (a) DEPT 135° e (b) DEPT 90° de **35** (CDCl₃, 100 MHz)



γ -pirona



36

O composto **36** (5,7 mg) foi obtido como um sólido laranja, a partir do grupo CC50, proveniente do fracionamento cromatográfico em coluna de gel de sílica da fração CHCl_3 do extrato EtOH do caule (Esquemas 4, pag. 40).

Não foram encontrados na literatura os dados de RMN para o composto **36**. Seu espectro de RMN de ^1H (Figura 197) apresentou somente dois simpletos em δ 5,85 (H-3/3') e 3,82 (H-5/5') com integração para um e três hidrogênios, respectivamente, sendo este último característico de grupo metoxila. O espectro de RMN de ^{13}C (Figura 198) mostrou cinco sinais, sugerindo uma estrutura simétrica. Dois sinais em δ 187,0 (C-4) e 176,8 (C-1/1') são de carbonilas, um em δ 157,5 (C-2/2') é de carbono sp^2 não hidrogenado ligado a oxigênio, um em δ 107,6 (C-3/3') de carbono metínico sp^2 (Figura 199) e um em δ 56,2 (C-5/5') referente a metoxila.

A análise do mapa de contornos gHMBC (Figura 200, Tabela 27) mostrou correlações de H-3/3' (δ 5,85) com C-4 (δ 187,0), C-2/2' (δ 157,5) e C-1/1' (δ 176,8) e de H-5/5' (δ 3,82) com C-1/1' (δ 176,8) e C-2/2' (δ 157,5). A análise dos dados de RMN permitiu identificar o chelidonato de metila (**36**). Este composto é o éster metílico do ácido chelidônico, uma γ -pirona já relatada na família Rubiaceae (MARTINS e NUNEZ, 2015; SHEN et al., 2001).

Tabela 27. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C do composto **36** (CDCl_3 , 400 e 100 MHz)

Deslocamentos químicos (ppm)			
C/H	^{13}C	^1H	gHMBC
1/1'	176,8	-	H-3 (3J), H-5 (3J)
2/2'	157,5	-	H-3 (2J), H-5 (4J)
3/3'	107,6	5,85 s	-
4	187,0	-	H-3 (2J)
5/5'	56,6	3,82 s	-

Figura 197. Espectro de RMN de ^1H de **36** (CDCl_3 , 400 MHz)

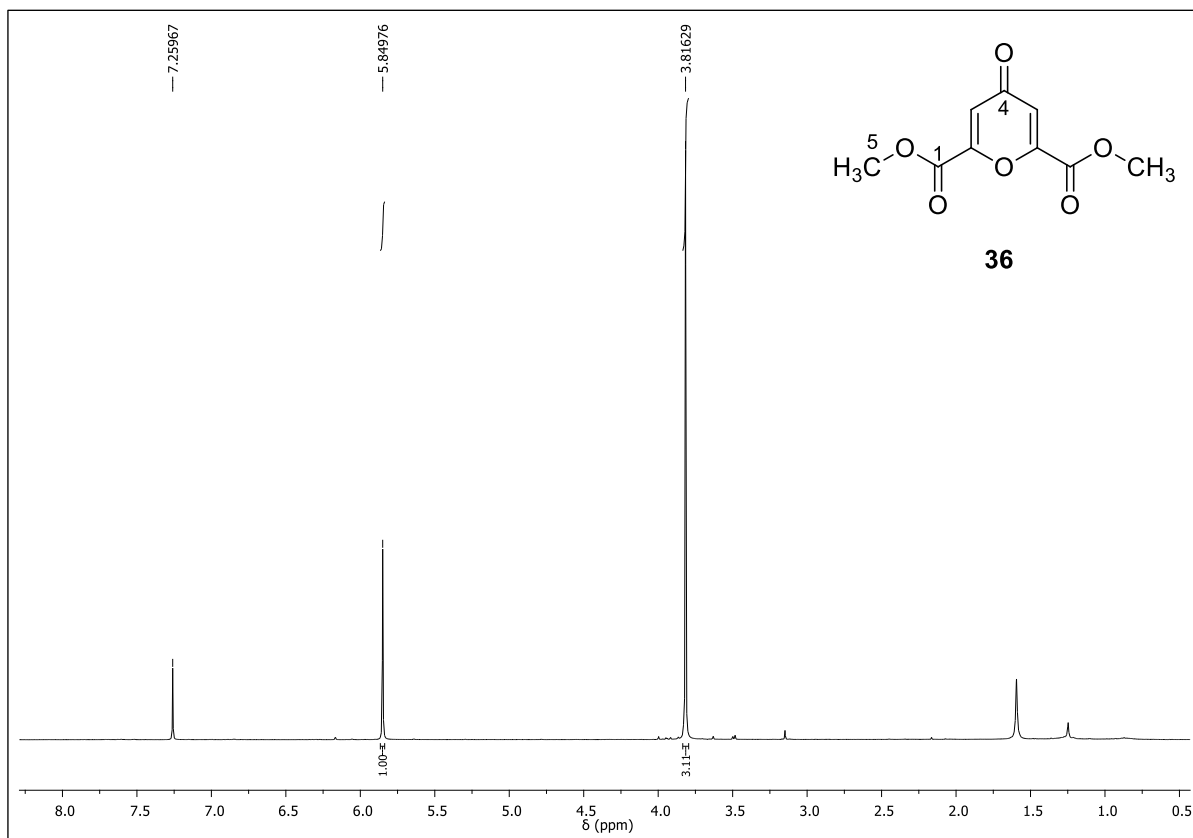


Figura 198. Espectro de RMN de ^{13}C de **36** (CDCl_3 , 400 MHz)

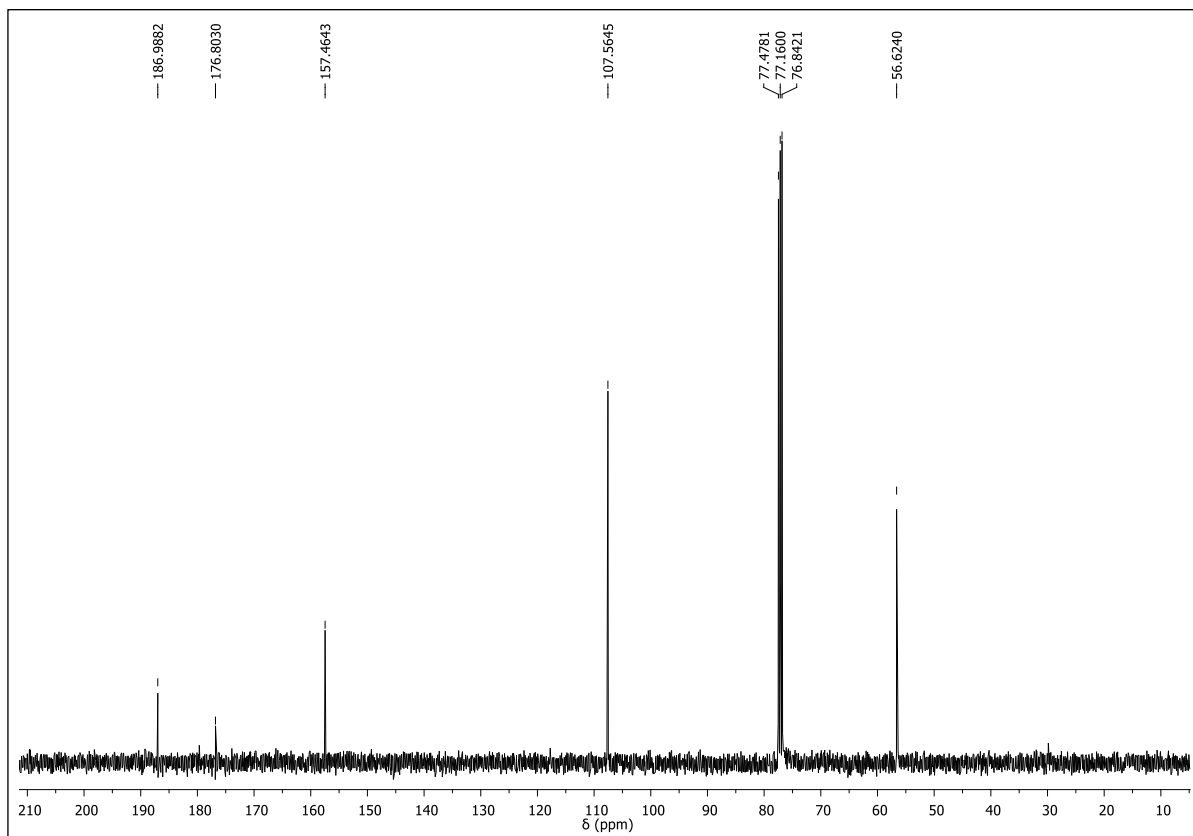


Figura 199. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 90 de **36** (CDCl_3 , 400 MHz)

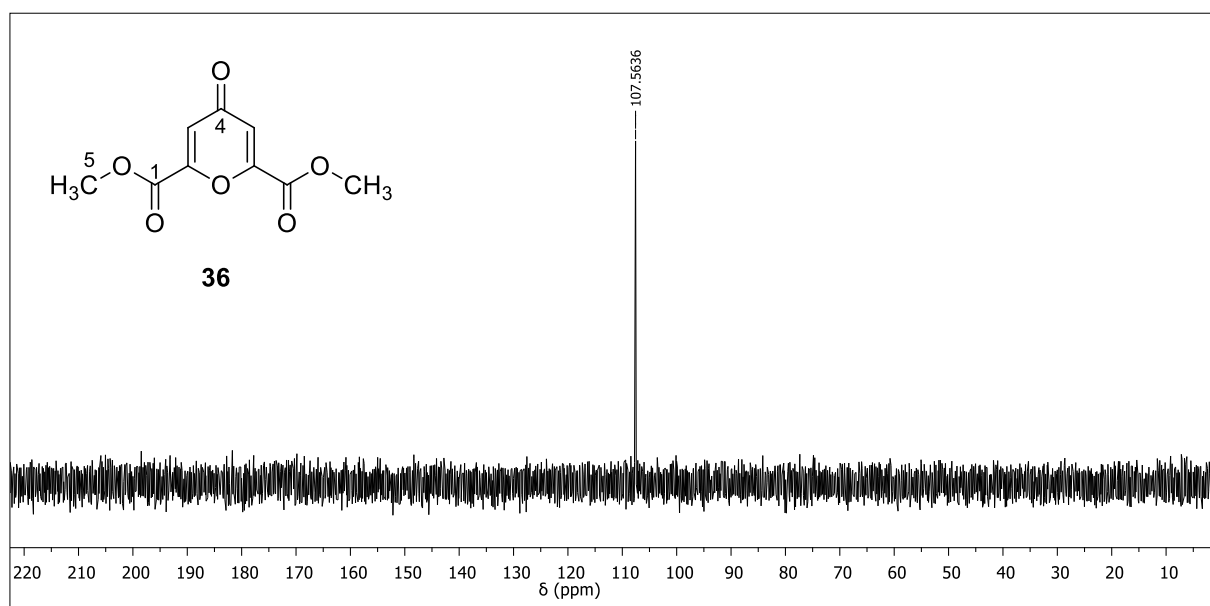
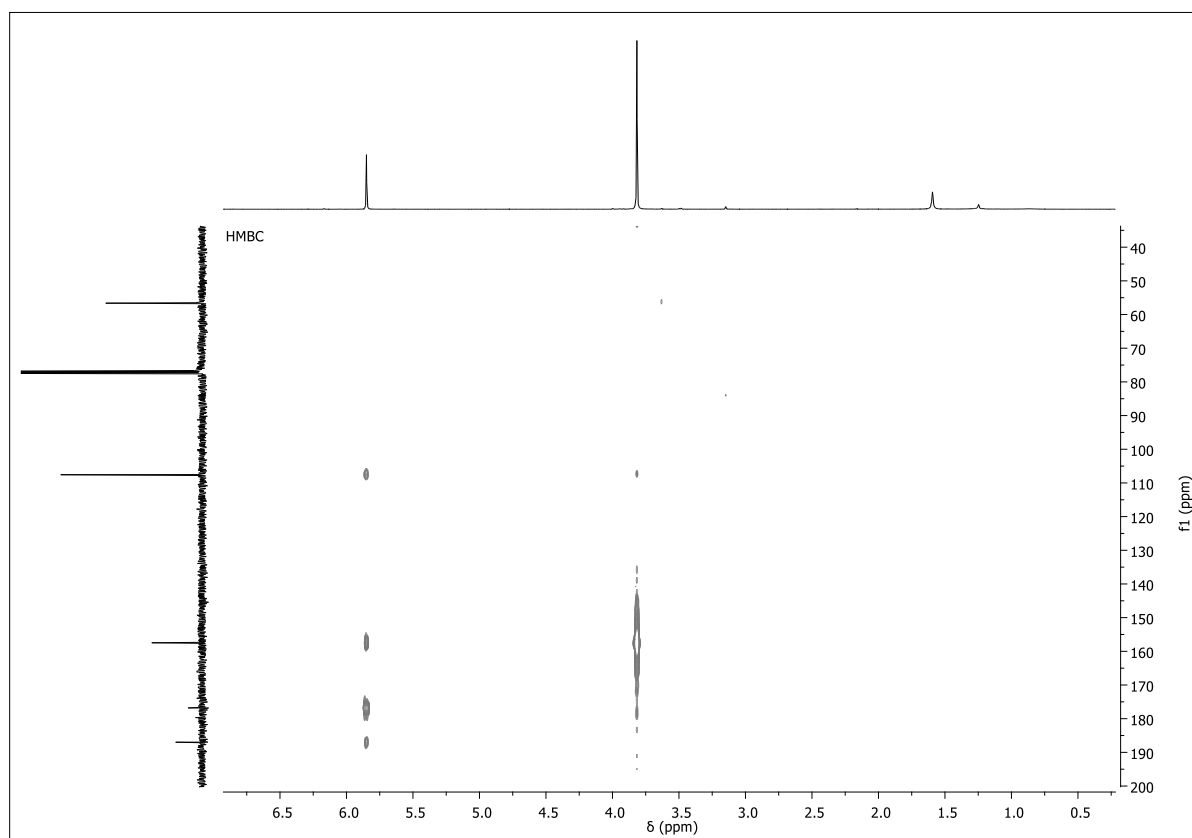
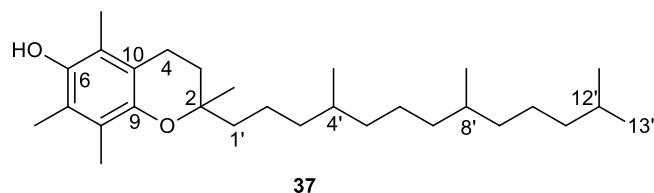


Figura 200. Mapa de contornos gHMBC de **36** (CDCl_3 , 400 MHz)



Tocoferol



O composto **37** (12,5 mg) foi obtido como um óleo laranja, a partir do grupo FH15, proveniente do fracionamento cromatográfico em coluna de gel de sílica da fração hexânica do extrato EtOH das folhas (Esquema 12, pag. 55).

O espectro de RMN de ^1H (Figura 201) do composto **37** apresentou perfil característico de composto da classe dos tocoferóis, evidenciado pela presença dos sinais entre δ 0,84-2,62. O simpleto em δ 1,82 foi atribuído aos hidrogênios do grupo metílico ligado ao carbono carbinólico (C-2), dois simpletos em δ 2,11 (6H) e 2,16 (3H) são referentes as três metilas no anel aromático, um tripleto em δ 2,60 (2H) referente aos hidrogênios metilênicos α -arila (H-4), dupletos entre δ 0,83-0,88 (12H) correspondentes a quatro metilas ligadas a carbono metínico e um simpleto em δ 4,18 atribuído a hidrogênio de hidroxila em anel aromático.

A análise dos espectros de RMN de ^{13}C , incluindo DEPT 135 ° e 90° (Figuras 202-205) permitiram verificar a presença de sinais de carbonos metílicos entre δ 11,3-23,8, um sinal em δ 74,5 referente ao carbono carbinólico C-2 e seis sinais de carbonos em anel aromático entre δ 117,5-145,7. A comparação dos dados obtidos (Tabela 28) com os disponíveis na literatura (BAKER e MYERS, 1991) permitiram identificar o composto **37** como sendo o α -tocoferol.

Tabela 28. Dados de RMN de ^{13}C do composto **37** (CDCl_3 , 100 MHz)

C	Deslocamento químico δ_{C} (ppm)	
	37	α-Tocoferol*
2	74,5	74,5
3	31,6	31,5
4	20,7	20,8
5	118,5	118,5
6	144,5	144,5
7	121,0	121,0
8	122,6	122,6
9	145,5	145,6
10	117,4	117,3
1'	39,8	39,8
2'	21,0	21,1
3'	37,5 ^a	37,6 ^a
4'	32,7	32,7
5'	37,4 ^a	37,4 ^a
6'	24,5	24,5
7'	37,3	37,3
8'	32,8	32,8
9'	37,5 ^a	37,5 ^a
10'	24,8	24,8
11'	39,4	39,4
12'	28,0	28,0
13'	22,6 ^b	22,6 ^b
2-CH ₃	23,8	23,8
5-CH ₃	11,3	11,3
7-CH ₃	12,2	12,2
8-CH ₃	11,8	11,8
4'-CH ₃	19,8	~19,7
8'-CH ₃	19,7	~19,7
12'-CH ₃	22,7 ^b	22,7 ^b

^{a,b} Atribuições de deslocamentos intercambiáveis; *Dados em CDCl_3 relatados por BAKER e MYERS, 1991.

Figura 201. Espectro de RMN de ^1H de **37** (CDCl_3 , 400 MHz)

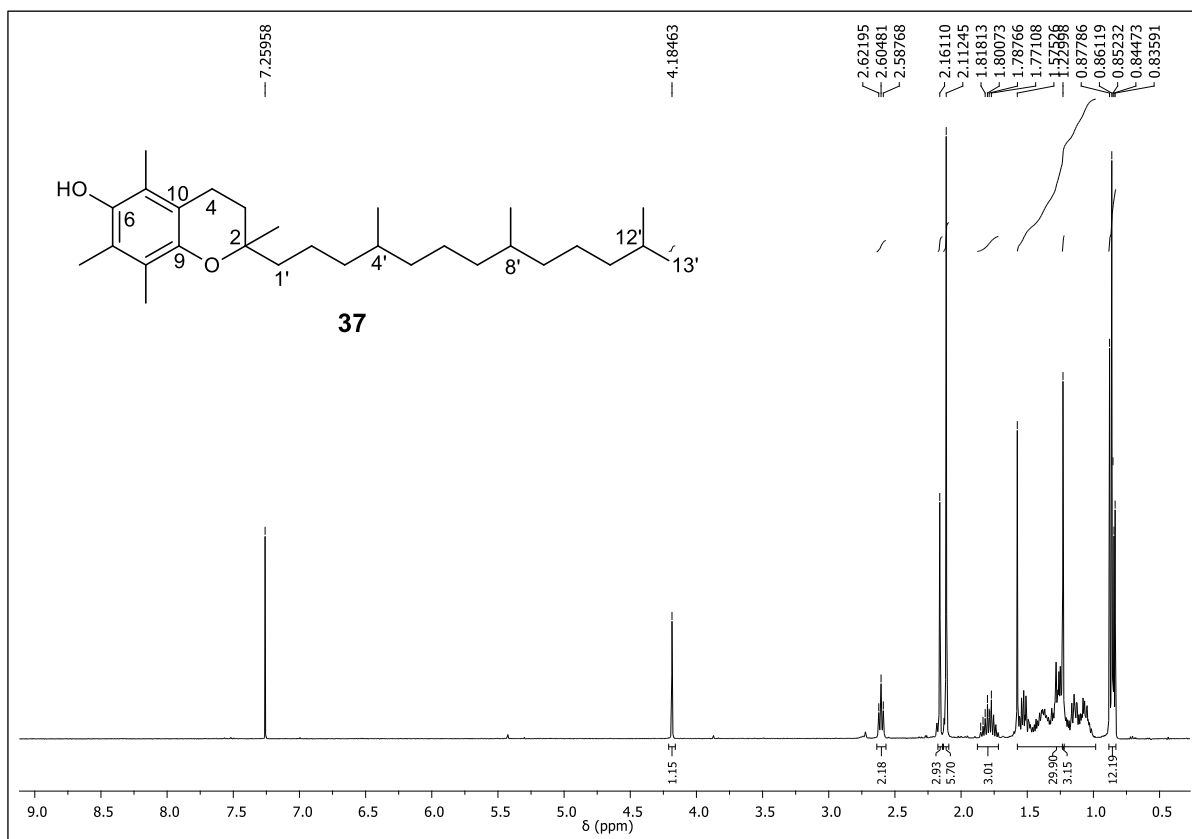


Figura 202. Espectro de RMN de ^{13}C de **37** (CDCl_3 , 100 MHz)

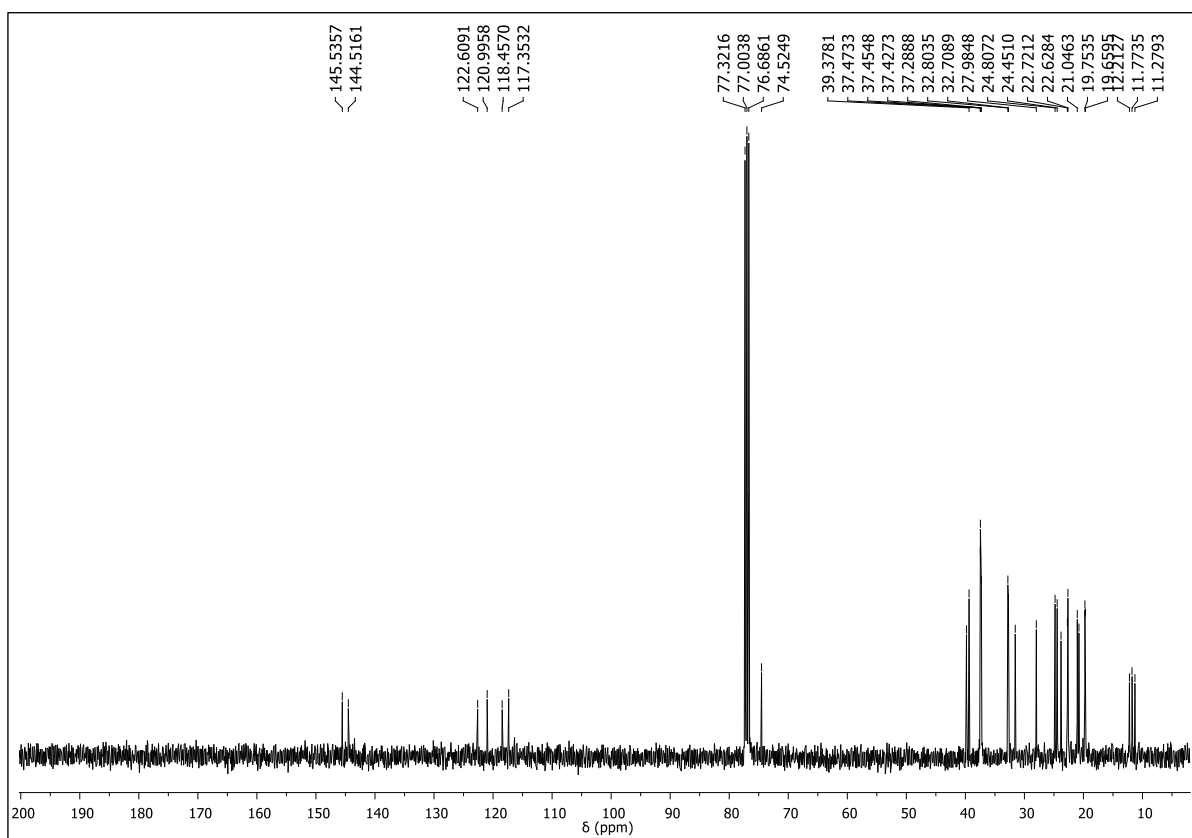


Figura 203. Expansão (δ 10-42) do espectro de RMN de ^{13}C de **37** (CDCl_3 , 100 MHz)

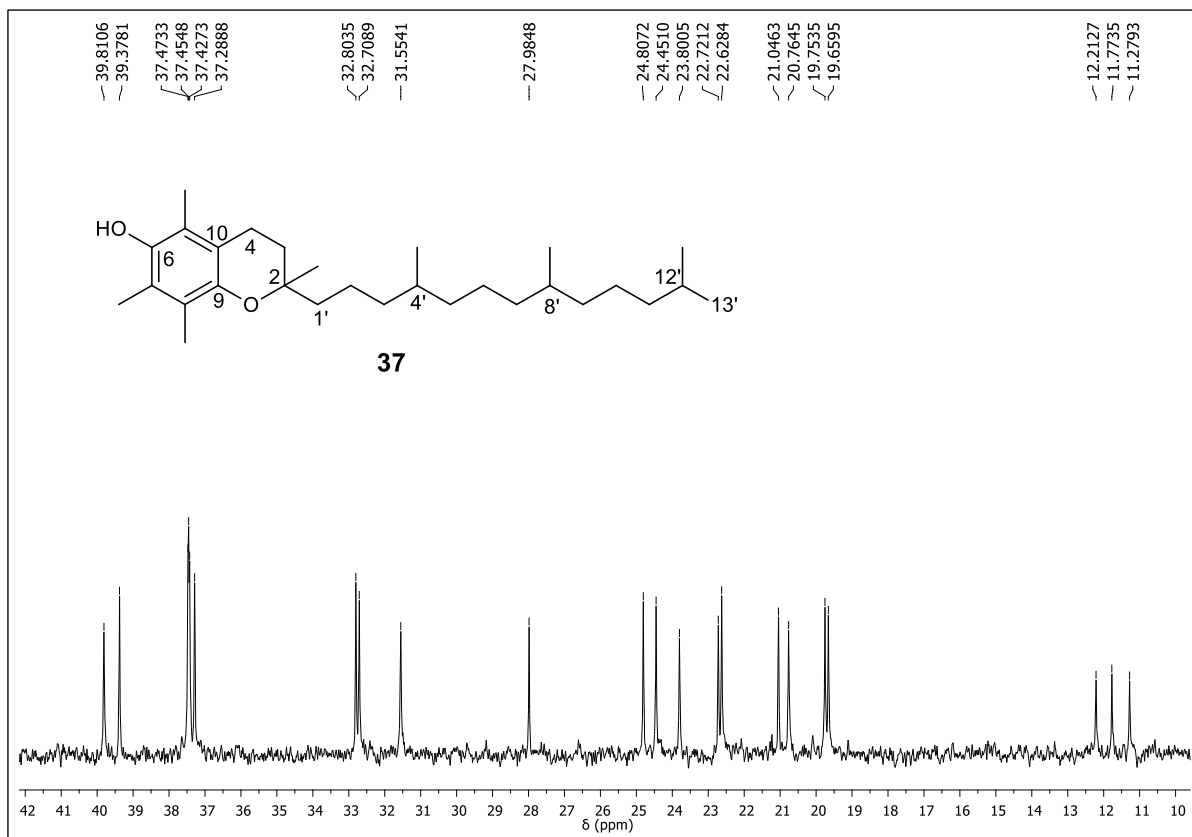


Figura 204. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 90° de **37** (CDCl_3 , 100 MHz)

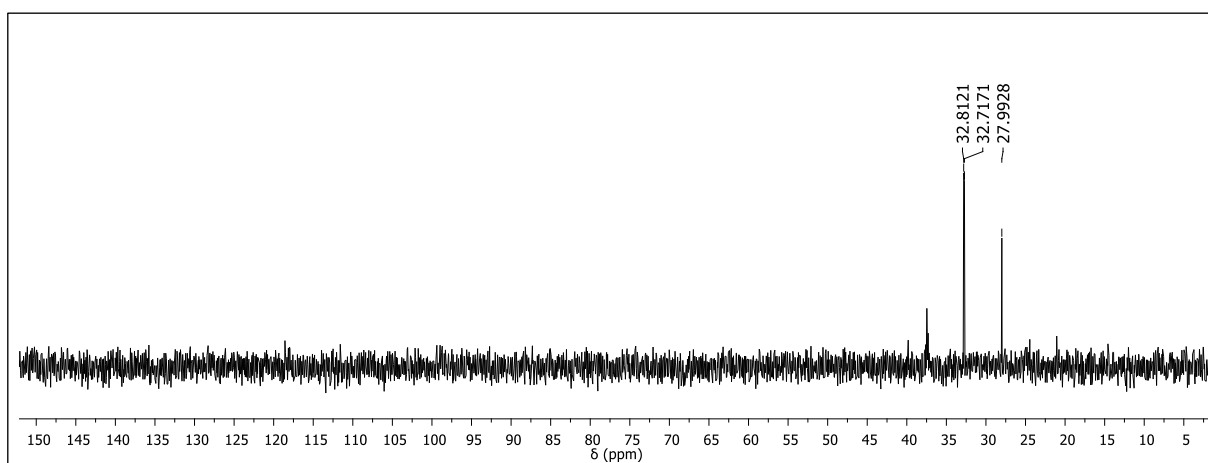
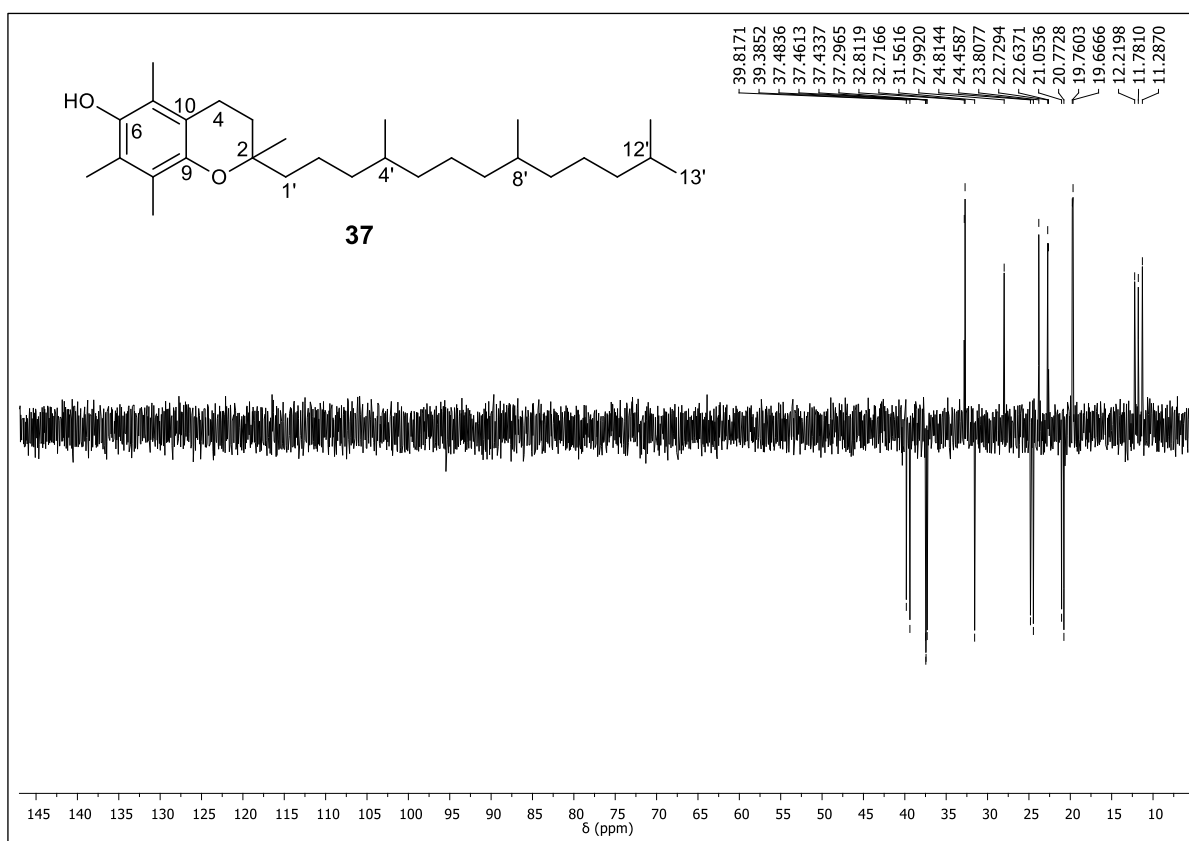
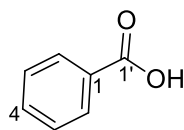


Figura 205. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135° de **37** (CDCl_3 , 100 MHz)



ArilC1



38

O composto **38** (1,7 mg) foi obtido como um sólido branco a partir da subfração A, proveniente do fracionamento cromatográfico em coluna Strata C18 da fração AcOEt do extrato EtOH do caule (Esquema 6, pag. 43).

O espectro de RMN de ^1H (Figura 206) do composto **38** apresentou apenas sinais na região de hidrogênios aromáticos, sendo dois tripletos em δ 7,48 ($J=7,8$ Hz) e δ 7,62 ($J=7,4$ Hz) atribuídos respectivamente aos hidrogênios H-3/H-5 e H-4 em acoplamento *orto* e, um duplo duplete em δ 8,12 ($J=8,2$ e 1,3 Hz) atribuído a H-2/H-6. A análise do espectro de RMN de ^{13}C e mapa de contornos gHSQC (Figura 208, Tabela 29) permitiu verificar a presença de dois sinais de carbonos não hidrogenados em δ 129,4 atribuído a C-1 e em δ 171,7 referente à carbonila em C-1'. No mapa de contornos gHMBC (Figura 209) foi possível observar correlações de H-2/H-6 (δ 8,12) com C-1 (δ 129,4) e C-1' (δ 171,4), H-3/H-5 (δ 7,48) com C-1 (δ 129,4) e C-4 (δ 133,9) e de H-4 (δ 7,62) com C-2/C-6 (δ 130,9) e C-3/C-5 (δ 128,6). Os dados de RMN obtidos comparados com os relatados na literatura permitiram identificar o composto **38** como o ácido benzóico (CORDEIRO et al., 2015).

Tabela 29. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C do composto **38** (CDCl_3 , 600 e 150 MHz; δ em ppm)

C	38		Ácido benzoico*	
	^{13}C	^1H	^{13}C	^1H
1	129,4	-	129,0	-
2/6	130,3	8,12 dd ($J=8,2$ e 1,3 Hz)	129,3	8,13
3/5	128,6	7,48 t ($J=7,8$ Hz)	128,5	7,5
4	133,9	7,62 t ($J=7,4$ Hz)	133,8	7,62
1'	171,7	-	171,3	-

*Dados obtidos em CDCl_3 , relatados por CORDEIRO et al., 2015

Figura 206. Espectro de RMN de ^1H de **38** (CDCl_3 , 600 MHz)

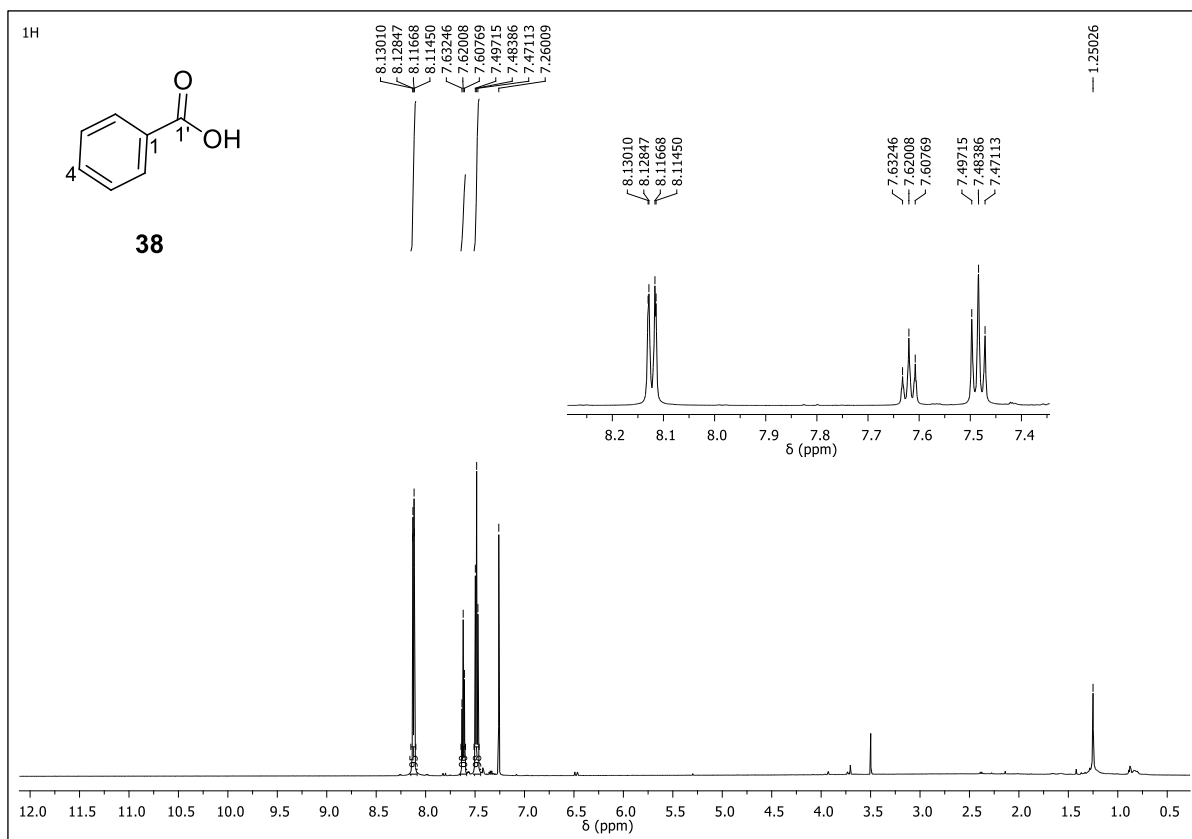


Figura 207. Espectro de RMN de ^{13}C de **38** (CDCl_3 , 150 MHz)

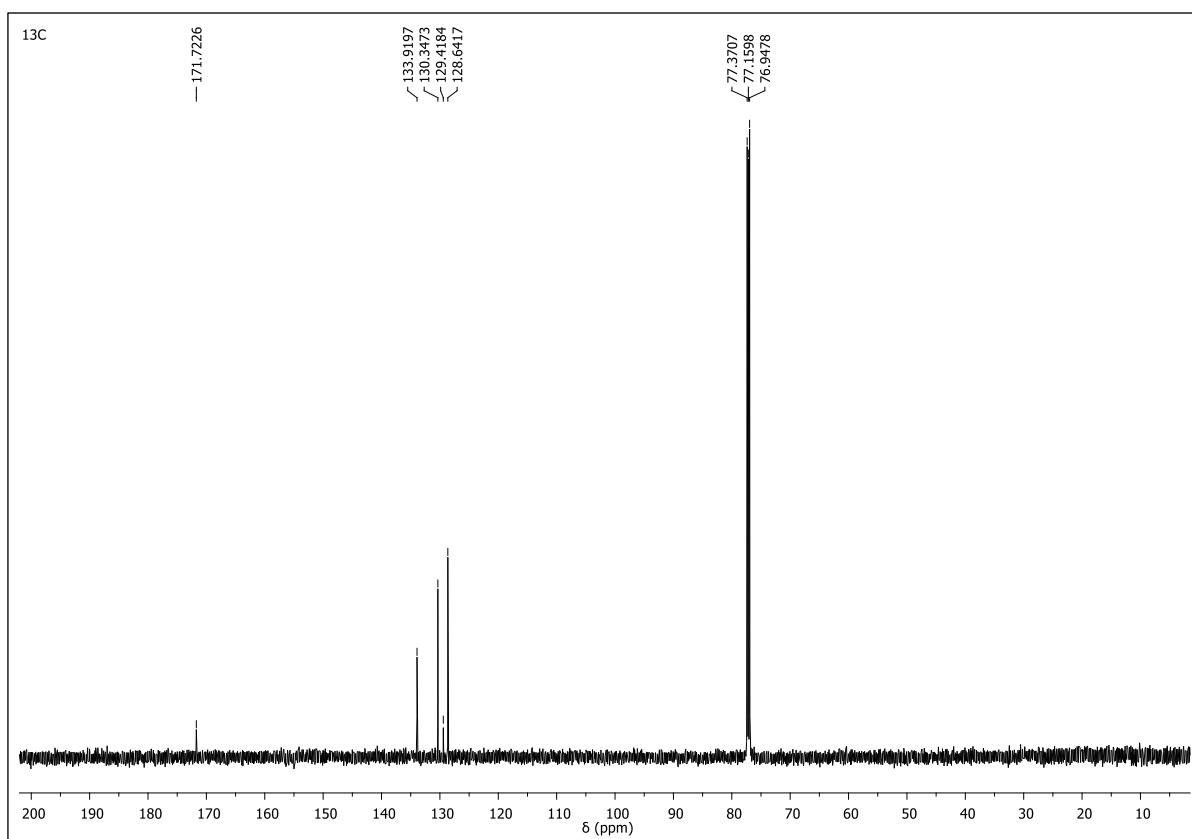


Figura 208. Mapa de contornos gHSQC de **38** (CDCl₃, 150 MHz)

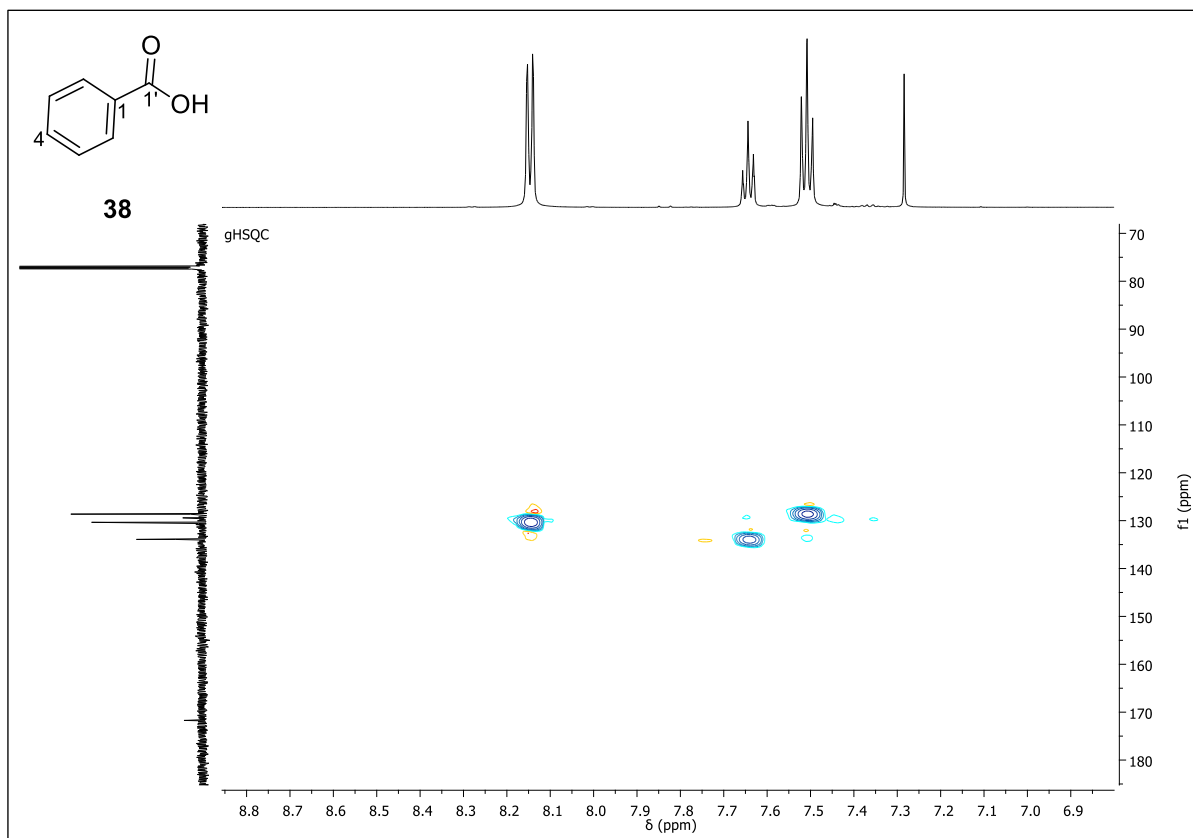
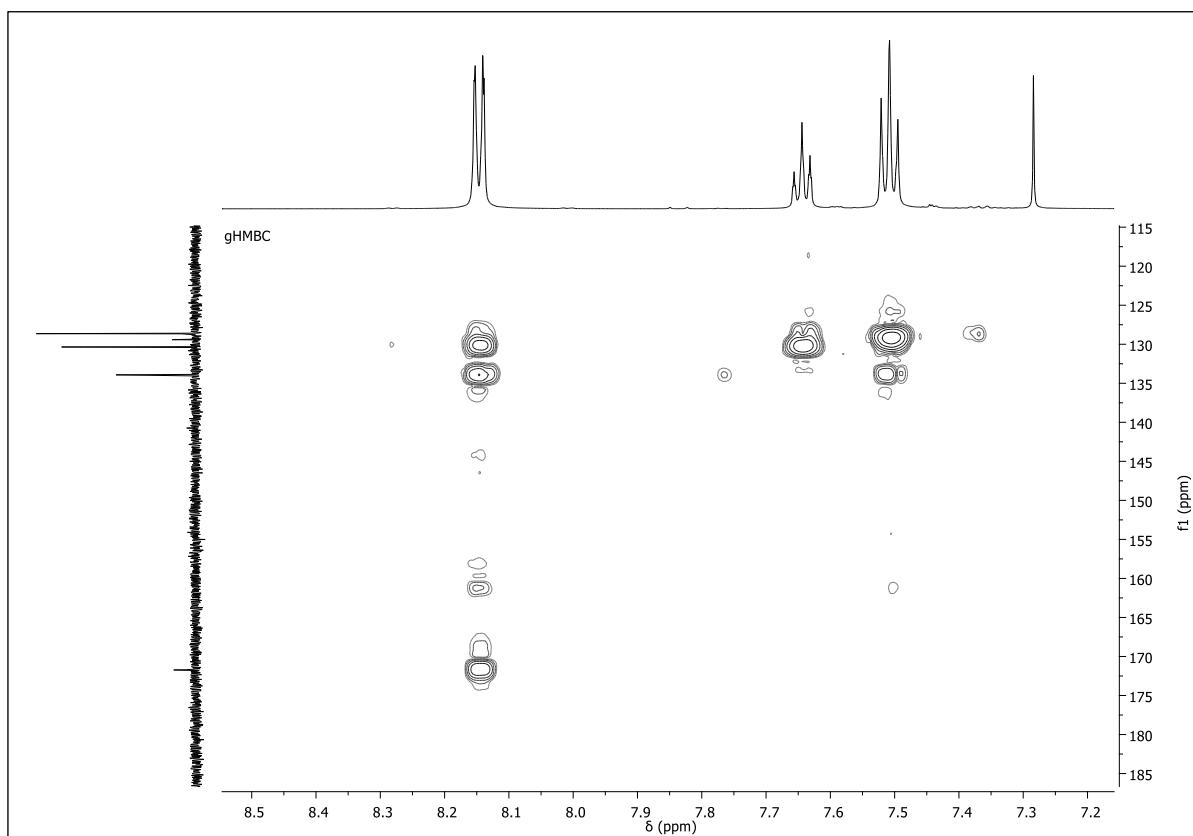
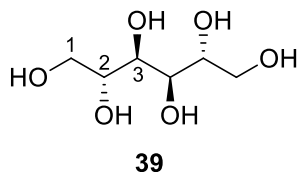


Figura 209. Mapa de contornos gHMBC de **38** (CDCl₃, 150 MHz)



Poliol



O composto **39** (9,39 g) é um sólido branco amorfo, obtido como precipitado a partir da adição de MeOH aos extratos EtOH do caule e folhas (Esquemas 1 e 11, pag. 33 e 50).

O espectro no IV (Figura 210) do composto **39** apresentou absorções intensas em 3312 cm^{-1} , 2942 cm^{-1} e 1082-1019 cm^{-1} , referentes a estiramentos O-H, C-H e C-O respectivamente, indicativos de um composto poli-hidroxiado. O espectro de RMN de ^1H (Figura 211; Tabela 30) mostrou sinais em δ 4,47 (d, $J=5,5$ Hz), 4,43 (t, $J=5,5$ Hz) e 4,20 (d, $J=7,0$ Hz), os quais não apresentaram correlação com sinais de carbono no espectro gHSQC (Figura 214), permitindo atribuí-los as hidroxilas OH-2/6, OH-1/5 e OH-3/4, respectivamente.

O espectro de RMN de ^{13}C (Figura 212; Tabela 30) apresentou apenas três sinais sugerindo uma estrutura simétrica e, a análise dos espectros DEPT 135° e 90° (Figura 213) permitiram atribuir o sinal em δ 64,0 a um carbono oximetilênico e os sinais em δ 71,5 e 69,9 a dois carbonos oximetínicos. Pelo mapa de contornos gHSQC (Figura 214) os sinais dos hidrogênios associados ao carbono em δ 64,0 aparecem em δ 3,37 (m; H-1/6) e δ 3,61 (H-1/6) e os hidrogênios H-2/5 e H-3/4 em δ 3,44 (m) e 3,53 (t, $J=7,4$ Hz), respectivamente. Para o composto **39** foi realizada a análise de rotação específica, utilizando fonte de Hg ($\lambda=546$ nm), obtendo-se $[\alpha]_D^{20} +8,7^\circ$ (c 0,001, DMSO). Estes dados comparados com os da literatura (Tabela 30) permitiram a identificação da substância **39** como o D-(+)-manitol (PAULA, 1998).

Tabela 30. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C do composto **39** (400 e 100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$; δ em ppm).

C/H	34		D-manitol*	
	^1H	^{13}C	^1H	^{13}C
1 e 6	3,37 m 3,61 (encoberto)	64,0	3,37 (m) 3,61 (ddd, $J=10,7, 5,7$ e $3,4$ Hz)	63,7
2 e 5	3,44 m	69,9	3,45 (m)	69,6
3 e 4	3,53 t ($J=7,8$ Hz)	71,5	3,54 (ddd)	71,2
OH-1/6	4,43 t ($J=5,5$ Hz; 2H)		4,32 (t, $J=5,7$ Hz)	
OH-2/5	4,47 d ($J=5,5$ Hz; 2H)		4,39 (d, $J=5,4$ Hz)	
OH-3/4	4,20 d ($J=7,0$ Hz; 2H)		4,12 (d, $J=7,0$ Hz)	

*Dados em $\text{DMSO}-d_6$ relatados por PAULA (1998).

Figura 210. Espectro no infravermelho (KBr) de **39**

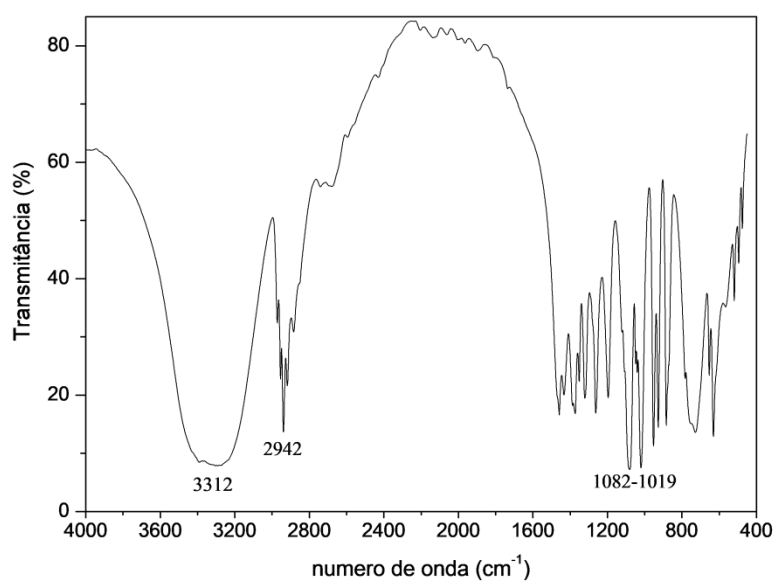


Figura 211. Espectro de RMN de ^1H de **39** ($\text{DMSO-}d_6$, 400 MHz)

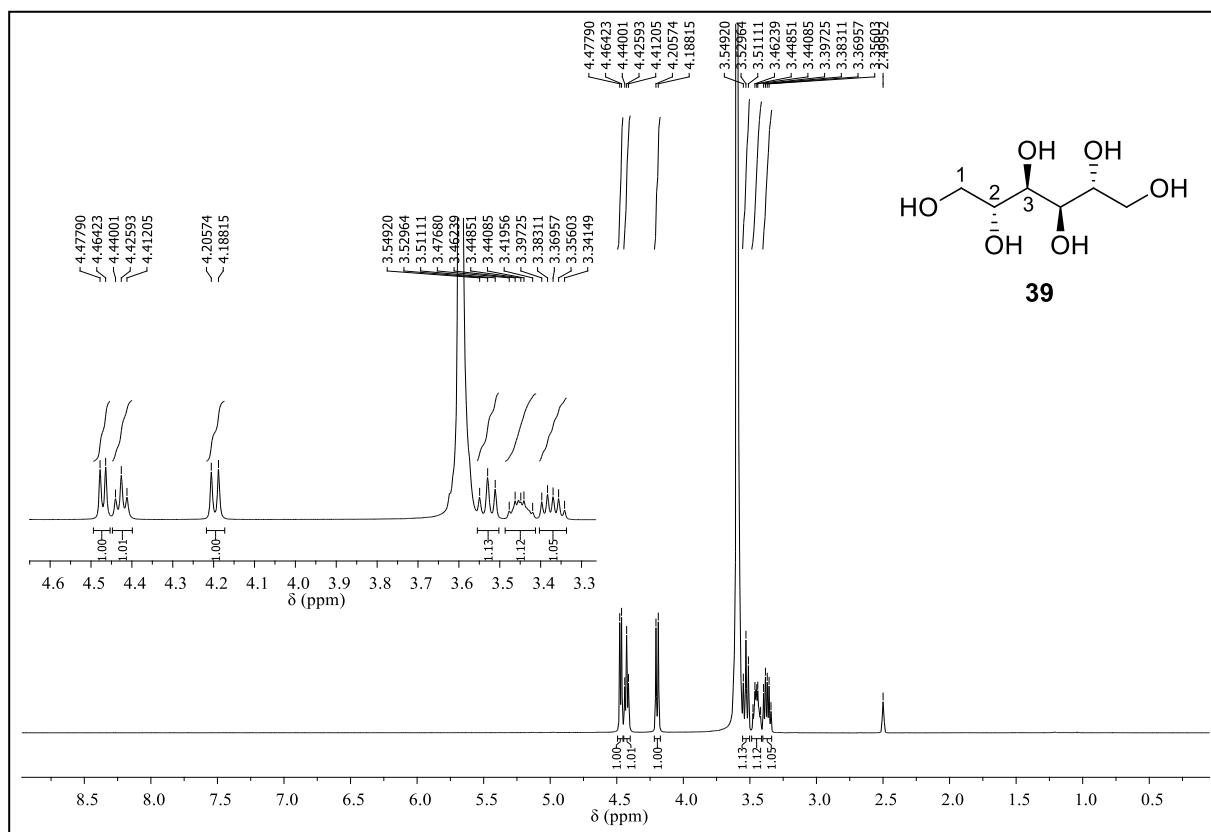


Figura 212. Espectro de RMN de ^{13}C de **39** ($\text{DMSO-}d_6$, 100 MHz)

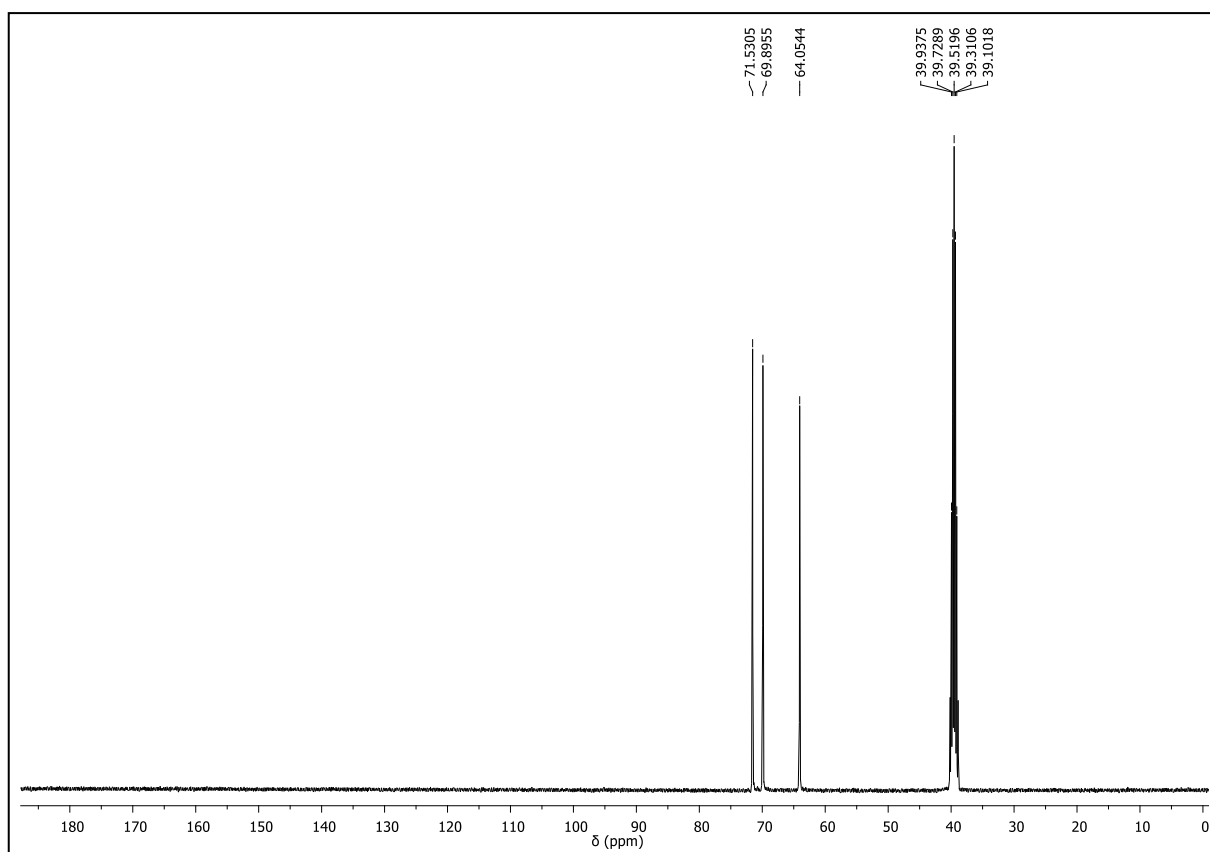


Figura 213. Espectro de RMN (a) DEPT 135° e (b) DEPT 90° do composto **39** (DMSO-*d*₆, 100 MHz)

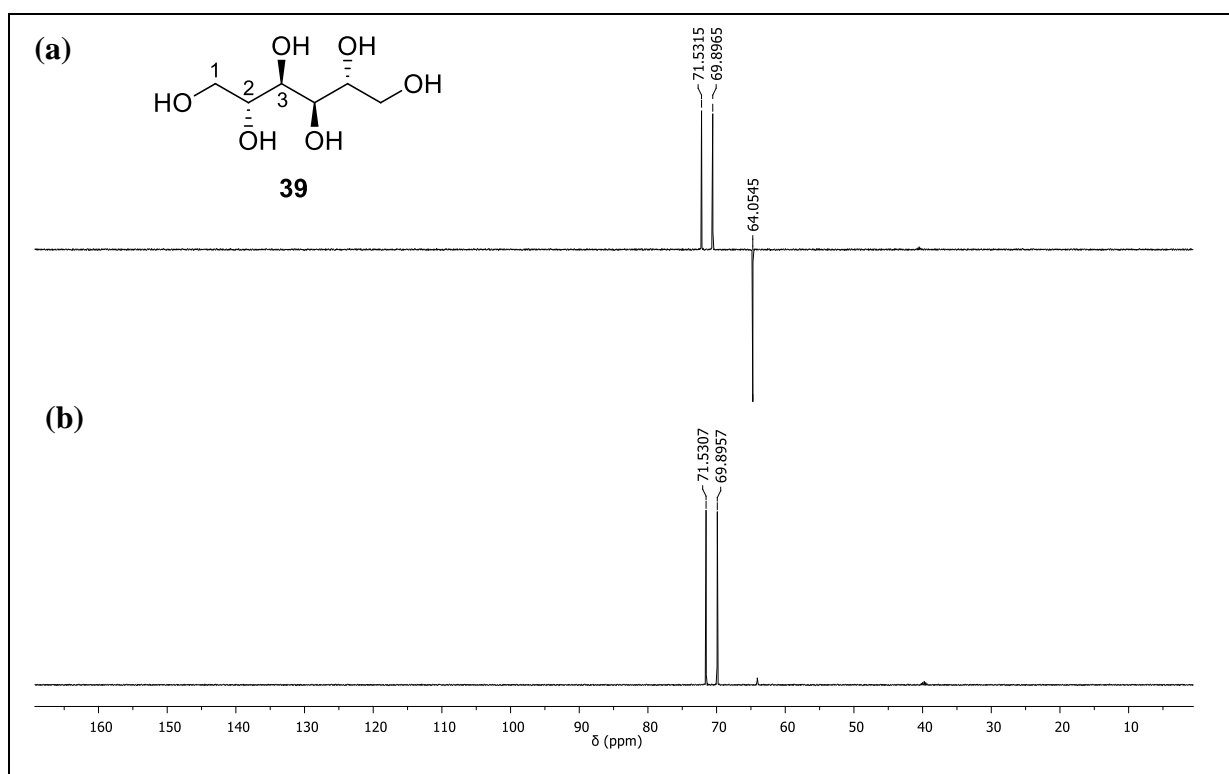
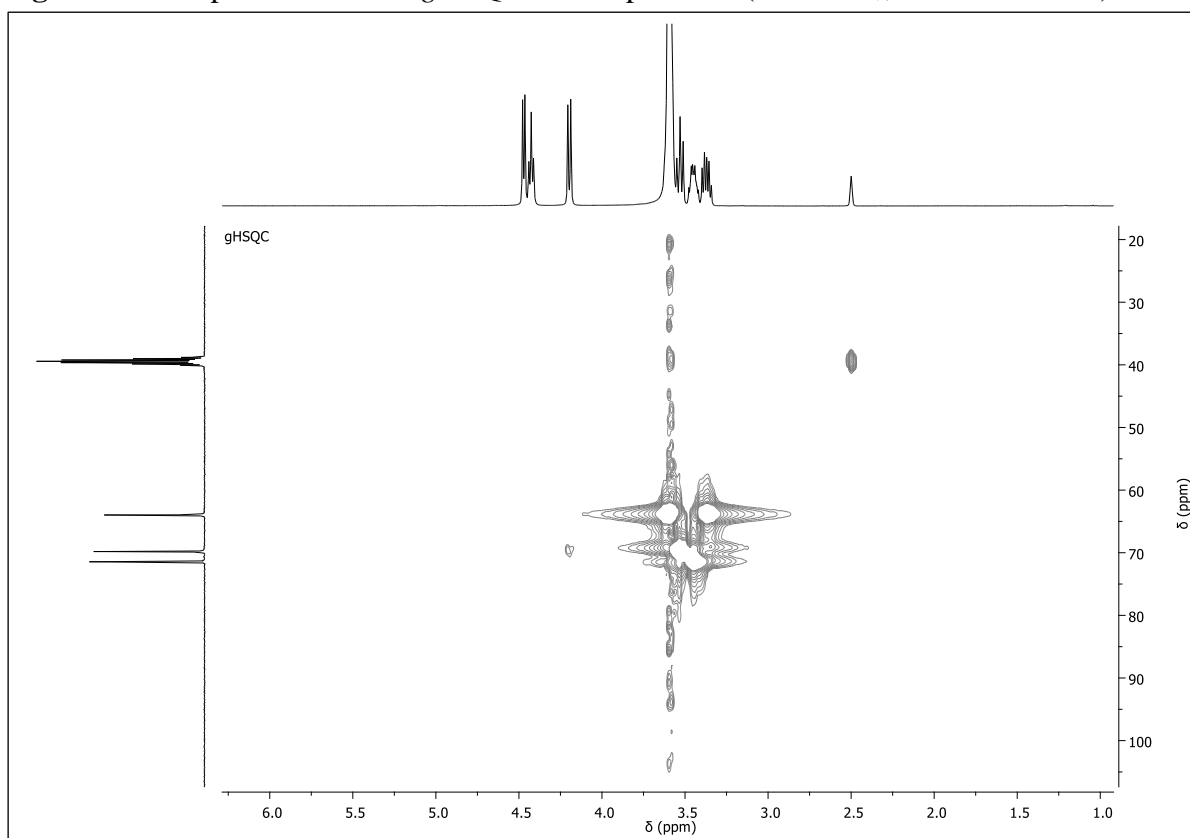


Figura 214. Mapa de contornos gHSQC do composto **39** (DMSO-*d*₆, 400 e 100 MHz)



5.4. Atividades biológicas de *T. hispidula*

5.4.1. Atividade antileishmania

A leishmaniose é uma doença tropical negligenciada, causada por protozoários do gênero *Leishmania*, os quais se apresentam nas formas promastigota (extracelular) e amastigota (intracelular). Clinicamente, existem a forma cutânea e mucocutânea da leishmaniose que resultam em lesões superficiais e, a forma visceral que ataca os órgãos internos podendo levar a óbito (COCK et al., 2018).

A ausência de vacinas e a toxicidade dos medicamentos atualmente usados para tratar a leishmaniose, impulsiona a busca por novas substâncias ativas provenientes de plantas (COCK et al., 2018). Dessa forma, considerando a ocorrência de atividade antileishmania em plantas da família Rubiaceae (ROCHA et al., 2015; MOREIRA, VIEIRA E BRAZ-FILHO, 2015; KATO et al., 2012, BALDÉ et al., 2010; AHUA, et al., 2007), o extrato, frações e os compostos morindolídeo (**1**) e chelidonato de metila (**36**) do caule de *T. hispidula* foram investigados frente a formas prosmatigostas de *Leishmania major*. A Tabela 31 mostra os resultados obtidos, os quais indicam que o extrato EtOH, as frações CHCl₃, AcOEt e MeOH e os compostos **1** e **36** do caule, inibiram o crescimento de *L. major*. As frações CHCl₃ (CI₅₀=26,25 µg mL⁻¹) e AcOEt (CI₅₀=29,77 µg mL⁻¹) mostraram-se mais ativas que a fração MeOH (CI₅₀=247,34 µg mL⁻¹) e o extrato EtOH (CI₅₀=105,19 µg mL⁻¹), evidenciando que o fracionamento em coluna cromatográfica filtrante concentrou a atividade antileishmania nas frações CHCl₃ e AcOEt e que a espécie possui compostos ativos com polaridades diferentes.

A atividade antileishmania da fração CHCl₃ pode ser atribuída em parte ao chelidonato de metila (**36**) mas, sobretudo, a outros compostos isolados desta fração que já possuem atividade antileishmania descrita na literatura, como o lapachol (CI₅₀=5,2±0,7 µg mL⁻¹), ácido acetiloleanólico (CI₅₀=5,0±0,1 µM), lupeol (CI₅₀=39,06 µg mL⁻¹) e mistura de sitosterol e estigmasterol (CI₅₀=70±0 µg mL⁻¹), os quais foram testados frente a *L. amazonensis* (SOUZA et al., 2017; SILVA et al., 2014; GNOATTO et al., 2008; LIMA et al., 2004).

Tabela 31. Atividade antileishmania das amostras do caule *T. hispidula* frente a *L. major*

Amostras	CI ₅₀ em µg mL ⁻¹
Extrato EtOH	105,19
Fração CHCl ₃	26,25
Fração AcOEt	29,77
Fração MeOH	247,34
Morindolídeo (1)	424,20
Chelidonato de metila (36)	163,39
Anfotericina B (controle positivo)	1,74

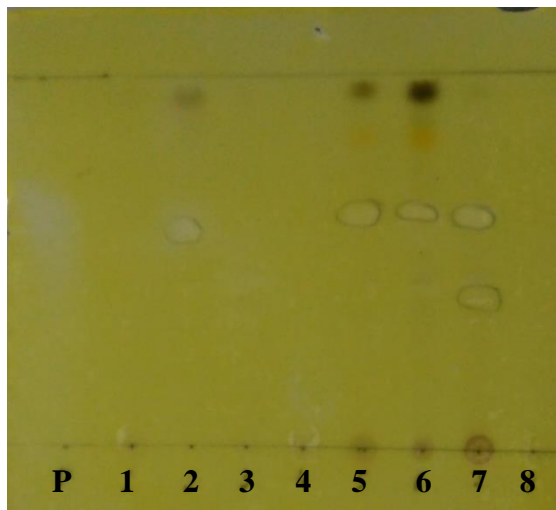
5.4.2. Atividade inibidora de acetilcolinesterase

A doença de Alzheimer é um dos distúrbios neurodegenerativos mais comuns e, consiste na degeneração progressiva do tecido cerebral, influenciada pelo déficit de acetilcolina (AJAYI et al., 2019). Uma estratégia terapêutica importante no tratamento da doença são os inibidores de acetilcolinesterase (AChE), que atuam na restauração da função do receptor colinérgico (AJAYI et al., 2019; MURRAY et al., 2013).

Os compostos naturais derivados de plantas são considerados uma fonte potencial de novos inibidores. A maioria dos inibidores potentes disponíveis são alcaloides, porém, compostos como esteroides, terpenóides, flavonoides e compostos fenólicos também são conhecidos por inibir a acetilcolinesterase (MURRAY et al., 2013). O fato de muitos inibidores da AChE causarem sérios efeitos colaterais demonstra a necessidade de se procurar por substâncias mais eficazes e seguras para o tratamento deste distúrbio.

Na busca por novos inibidores da enzima acetilcolinesterase, foi realizada uma avaliação qualitativa dos extratos e frações de *T. hispidula*. O extrato EtOH do caule (EEC) e as frações clorofórmica (FCHCl₃), acetato de etila (FACoEt-caule) e metanólica (FMeOH) do caule, bem como o extrato EtOH das folhas (EEF) e as frações hexânica (FHex), acetato de etila (FACoEt-folhas) e aquosa (FA) das folhas de *T. hispidula* foram avaliados. Na cromatoplaça apareceram manchas brancas sob fundo amarelo para o EEF, FHex e FACoEt das folhas e para a FCHCl₃ do caule, indicando inibição da enzima acetilcolinesterase.

Figura 218. Cromatoplaça do ensaio de inibição da enzima acetilcolinesterase do caule e folhas de *T. hispidula*. Legenda: padrão cafeína (**P**), EEC (**1**), FCHCl₃ (**2**), FAcOEt-caule (**3**), FMeOH (**4**), EEf (**5**), FHex (**6**), FAcOEt-folhas (**7**) e FA (**8**)



5.4.3. Considerações gerais e atividades biológicas dos constituintes químicos de *T. hispidula*

Antes da realização deste estudo não havia na literatura relato de constituintes químicos de *T. hispidula*, de forma que os compostos relatados para esta espécie estão sendo descritos pela primeira vez neste trabalho ou foram publicados a partir deste estudo (SOUSA et al., 2019; SOUSA et al., 2018).

Com exceção da genipina (**4b**), α -gardiol (**2a**) e β -gardiol (**2b**), gardenosídeo (**7**), ácido ursólico (**14**), β -amirina (**17**), sitosterol (**22**), estigmasterol (**23**), escopoletina (**33**) e D-manitol (**39**), todos os demais compostos estão sendo descritos pela primeira vez no gênero *Tocoyena*. O palmitato e estearato de multiflorenila (**21a** e **21e**), margarato, linoleato, oleato e estearato de lupeíla (**16b-16e**), margarato, oleato e estearato de sitosterila (**22b**, **22c** e **22e**), oleato e estearato de estigmasterila (**23d** e **23e**), chelidonato de metila (**36**) e 3-*O*- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 2)- β -D-glicopiranosil-oleanato de 28-*O*- β -D-glicopiranosil-(1 \rightarrow 6)- β -D-glicopiranosila (**31**) estão sendo descritos pela primeira vez na família Rubiaceae, como resultado desta pesquisa (SOUSA et al., 2019; SOUSA et al., 2018).

O estudo químico da espécie *T. hispidula* possibilitou o isolamento e/ou identificação de constituintes químicos da classe dos iridoides, triterpenoides, esteroides, saponinas

triterpênicas, cumarinas e outros (diterpenoide, naftoquinona, γ -pirona, tocoferol, arilC-1 e poliol).

A partir de *T. hispidula* foram obtidos iridoídeos simples (**1-4b**) e iridoídeos glicosilados (**5-9**), destes compostos, a genipina (**4b**) e o geniposídeo (**9**) se destacam pelas várias atividades biológicas descritas na literatura (Quadro 2). A genipina (**4b**) é utilizada como corante para alimentos e cosméticos e como agente de reticulação para aplicações biológicas (NERI-NUMA et al., 2017; Yang et al., 2011). O geniposídeo (**9**) é o glicosídeo da genipina, isolado e identificado em cerca de 40 espécies vegetais, a maioria das quais são fitoterápicos tradicionais e/ou vêm da família Rubiaceae (SHAN et al., 2017). Para a mistura estereoisomérica de 10-hidroxi-1-oxo-7-irideno-11 α -ato de metila (**3a**) e 10-hidroxi-1-oxo-7-irideno-11 β -ato de metila (**3b**), só foi encontrado um registro de isolamento e identificação a partir da espécie *Gardenia jasminoides* (RAGASA, PIMENTA e RIDEOUT, 2007). Entretanto, Kinuthia et al. (2012) relata a ocorrência de **3b** no extrato diclorometano das sementes de *Gardenia volkensii*. Não foram encontrados nas bases de dados pesquisadas, relatos de atividades biológicas para **3a+3b**. O morindolídeo (**1**) é um 11-noriridoídeo, resultante da perda de C-11. Os derivados de 11-noriridoídeo-1,3-olídeo são raramente encontrados de fontes naturais (BAN et al., 2013). A ocorrência de iridoídeos na espécie *T. hispidula* está em concordância com a sua classificação na subfamília Ixoroideae, uma vez que os iridoídeos são marcadores quimiotaxonômicos desta subfamília.

Os triterpenoides são um grupo de compostos com grande diversidade estrutural, compreendendo cerca de 100 esqueletos distintos e mais de 30.000 compostos identificados (MUFFLER et al., 2011; XU, FAZIO e MATSUDA, 2004). Os triterpenoides pentacíclicos são uma das principais categorias de triterpenos, para os quais são descritos importantes atividades biológicas, tais como, anti-inflamatória, antitumoral, regulação imune e proteção do fígado (XU et al., 2018). O estudo fitoquímico de *T. hispidula* possibilitou o isolamento e/ou identificação do esqualeno (**10**), precursor de triterpenos e esteroides, bem como de triterpenoides com esqueleto lupano (**11** e **16**), olean-12-eno (**12**, **15** e **17**), urs-12-eno (**13** e **14**), olean-14-eno (**18**), olean-18-eno (**19**) e D:C-friedooleanano (**21**) (MAHATO e KUNDU, 1994). O esqualeno (**10**) é sintetizado por plantas, bactérias, fungos e animais e foi obtido pela primeira vez do óleo de fígado de tubarão (*Squalus* sp.) (DEWICK, 2009; LOZANO-GRANDE et al., 2018). Vários estudos têm confirmado os benefícios nutricionais, medicinais e farmacêuticos do esqualeno (LOZANO-GRANDE et al., 2018). Todos os triterpenoides obtidos de *T. hispidula* apresentam atividades biológicas descritas na literatura (Quadro 2),

sendo que a maioria apresenta atividade anti-inflamatória. Os triterpenoides são amplamente distribuídos em todas as subfamílias de Rubiaceae (MARTINS e NUNEZ, 2015).

Os triterpenoides são também obtidos na forma de glicosídeos, sendo denominados de saponinas triterpênicas. A partir da fração MeOH do extrato caule de *T. hispidula* foram obtidas duas saponinas triterpênicas, denominadas de 3-*O*- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 2)- β -D-glicopiranosil-oleanato de 28-*O*- β -D-glicopiranosil-(1 \rightarrow 6)- β -D-glicopiranosila (**31**) e eritrosaponina A (**32**). Kaennakam et al. (2018) e Huang et al. (2014) avaliaram o potencial anti-inflamatório dos compostos **31** e **32**, demonstrando que estes não inibiram a produção de NO em células RAW264.7. A eritrosaponina A (**32**) foi também avaliada *in vitro* quanto a sua citotoxicidade frente às linhagens de células KB (carcinoma epidermóide humano) e HeLa S3 (adenocarcinoma de colo de útero humano), porém não apresentou citotoxicidade frente a estas linhagens (Kaennakam et al., 2018). Para o composto **31** foram encontrados apenas dois registros de isolamento e identificação a partir das espécies *Cordia piauhiensis* (Boraginaceae) e *Anemone flaccida* (Ranunculaceae), porém este é o primeiro relato na família Rubiaceae (SANTOS et al., 2007; HUANG et al., 2014). O composto **32** foi obtido anteriormente somente a partir da espécie *Gardenia erythroclada* (Rubiaceae), sendo este seu segundo relato de isolamento e identificação (KAENNAKAM et al., 2018). Não foram encontrados nas bases de dados pesquisadas, relatos de atividade biológica para as saponinas **31** e **32**.

Os esteroides são metabólitos derivados de triterpenos tetracíclicos e possuem de 27 a 29 átomos de carbonos. São encontrados em plantas, animais, fungos e algas, na forma livre, glicosilada ou esterificada com ácidos graxos (DEWICK, 2009; OGBE et al., 2015). Os esteroides produzidos por plantas são denominados de fitoesteróis e são constituintes das membranas celulares. Mais de 250 tipos diferentes de fitoesteróis têm sido relatados em plantas, sendo conhecidos por inibirem a absorção do colesterol e o crescimento de células cancerígenas, além de possuírem efeitos anti-artereoscleróticos e anti-inflamatórios, tornando-se importantes como suplementos em alimentos funcionais (GAO et al., 2015; SAEIDNIA et al., 2014). A partir de *T. hispidula* foram obtidos uma mistura dos esteroides sitosterol (**22**), estigmasterol (**23**), campesterol (**24**), campestanol (**25**), sitostanol (**26**) e Δ^{22} -estigmasterol (**27**), sendo os compostos **22-23** os fitoesteróis mais abundantes no reino vegetal (ROCHA et al., 2011); uma mistura de 7-cetositosterol (**29**) e 7-cetoestigmasterol (**30**), compostos resultantes de processos de oxidação do sitosterol e estigmasterol (GAO et al., 2015); o esteroide glicosilado sitosterol-3-*O*- β -D-glicopiranosídeo (**28**) e esteroides esterificados com

ácidos graxos (**22a-22e** e **23a-23e**). O Quadro 2 apresenta as atividades biológicas descritas na literatura para os esteroides **22-24** e **28-30**. Não foram encontradas atividades biológicas descritas para os compostos **25-27**, provavelmente porque estes são geralmente obtidos em mistura.

Outro grupo de compostos biologicamente ativos obtidos de *T. hispidula* foram as cumarinas (DETSI et al., 2017). Estas são amplamente distribuídas em plantas, na forma livre ou glicosilada e comumente encontradas nas famílias Umbellifereae e Rutaceae (LI, YAO e LI, 2017; DEWICK, 2009). As cumarinas escopoletina (**33**) e isofraxidina (**34**) apresentam várias atividades biológicas descritas na literatura, as quais são relatadas no Quadro 2.

Também foram obtidos de *T. hispidula* os compostos *E*-fitol (**20**), lapachol (**35**), chelidonato de metila (**36**), α -tocoferol (**37**), ácido benzoico (**38**) e D-(+)-manitol (**39**). O *E*-fitol é um diterpenoide encontrado em abundância na natureza e produzido por plantas, algas e bactérias. É obtido como um óleo e possui potencial para aplicações na indústria farmacêutica e biotecnológica (ISLAM et al., 2018). O *E*-fitol possui várias atividades biológicas, como mostra o Quadro 2. O lapachol (**35**) é uma naftoquinona isolada de várias espécies de plantas da família Bignoniaceae, especialmente do Ipê roxo (*Tabebuia avellaneda*), uma das mais belas árvores da flora brasileira. É um composto que apresenta um vasto espectro de indicação terapêutica, demonstrado por suas várias atividades biológicas (Quadro 2) (ARAÚJO, ALENCAR e NETO, 2002; EPIFANO et al., 2014).

O chelidonato de metila (**36**) é uma γ -pirona que possui atividade anti-alérgica e foi relatada pela primeira vez de fonte natural em *Senna spectabilis* (Leguminosae). Este é o primeiro relato deste composto na família Rubiaceae, o qual apresentou atividade antileishmania frente à promastigotas de *L. major* (Quadro 2) (SOUSA et al., 2019).

O α -tocoferol (**37**) é um antioxidante lipossolúvel que previne a oxidação lipídica em membranas biológicas e a forma mais comum e biologicamente ativa da vitamina E, termo usado para descrever todos os tocoferóis e tocotrienóis que qualitativamente exibem a mesma atividade biológica do α -tocoferol. A principal reserva de vitamina E são os óleos vegetais (UCHIHARA et al., 2018; ENGIN, 2009; WANG e QUINN, 1999). Além da atividade antioxidante, o α -tocoferol possui outras atividades biológicas, como mostra o Quadro 2.

O ácido benzoico (**38**) é estruturalmente simples, ocorre naturalmente em plantas e tecidos de animais e pode também ser produzido por microorganismos (OLMO, CALZADA e NUNEZ, 2015). Nas plantas é precursor de um amplo conjunto de metabólitos primários e secundários (QUALLEY et al., 2012). É sintetizado industrialmente e usado como

conservante e agente aromatizante em produtos alimentícios, cosméticos e farmacêuticos (OLMO, CALZADA e NUNEZ, 2015).

O D-(+)-manitol (**39**) é um poliálcool de doçura relativa a sacarose igual a 0,7, encontrado em vegetais, exsudatos de árvores e algas marinhas (SIZER e WHITNEY, 2003). É utilizado na indústria farmacêutica como excipiente em comprimidos, na medicina como diurético osmótico, na indústria alimentícia em produtos dietéticos, pastilhas e chicletes, e na síntese orgânica de produtos naturais (OLIVEIRA et al., 2009). O D-manitol é comumente obtido de espécies da família Rubiaceae e já foi descrito no gênero *Tocoyena*, na espécie *T. selloana* (Rocha, 2009).

As atividades biológicas descritas para as substâncias obtidas de *T. hispidula* sugerem que esta espécie possui um grande potencial biológico. O isolamento e identificação de compostos pouco relatados na literatura e/ou sem atividade descrita, demonstram a necessidade de mais estudos para verificação do potencial destes compostos.

Quadro 2. Atividades biológicas de compostos obtidos de *T. hispidula*

Substâncias	Atividades	Referência
Morindolídeo (1)	anti-inflamatória, antimicrobiana, antimalárica, citotóxica, antileishmania	SOUSA et al., 2019; BAPELA, 2016; TAN et al., 2014
α -gardiol (2a)+ β -gardiol (2b)	citotóxica, antifúngica	CHAIPIKDEE et al., 2016 DREWES et al., 1999
Genipina (4b)	anti-inflamatória, anticancerígena, antiproliferativa, hepatoprotetora, antioxidativa, antidiabética, antiviral, antibacteriana, antitrombótica, neuroprotetora, antidepressiva, antifúngica	SHANMUGAM et al., 2018; RAMOS-DE-LA-PENA et al., 2016; SON et al., 2015; KIM, JEONG e MOON, 2012; LELONO et al., 2009
6 α -hidroxigeniposídeo (5)	Neuritogênica; imunossupressora, antinociceptiva, proliferativa de células, hipoglicêmica	DING et al., 2015; CHEN et al., 2012; CHIBA et al., 2006; MIURA et al., 1996
6 β -hidroxigeniposídeo (6)	Neuritogênica, antimelanogênica	AKIHISA et al., 2010; CHIBA et al., 2006
Gardenosídeo (7)	Inibidora de esteatose e α -glicosidase	HUA et al., 2018; LIANG, et al., 2015
Éster metílico shanzhisídeo (8)	Antifúngica	SILVA et al., 2008

Quadro 2. Continuação

<p>Geniposídeo (9)</p>	<p>Anti-inflamatória, antidiabética, antioxidante, neuroprotetora, hepatoprotetora, coletérica, imunomoduladora, antitumoral, cardiocerebrovascular, anti-alérgica, antidepressiva, anti-enterovírus, anti-hipopigmentação, anti-hiperuricêmica, anti-osteoporose, antitrombótica, antifibrótica, antifúngica, coletérica</p>	<p>PAN et al., 2018; SHAN et al., 2017; SHAN et al., 2017; LELONO et al., 2009</p>
<p>Esqualeno (10)</p>	<p>Antitumoral, antioxidante, radioprotetora, cardioprotetora, estimulante do sistema imune, anti-inflamatória, anti-arterosclerose, anticâncer</p>	<p>LOZANO-GRANDE et al., 2018; XU, MA e WANG, 2016; NEWMARK, 1999</p>
<p>Lupenona (11)</p>	<p>Antidiabética, anti-inflamatória, antiviral, anticâncer, inibidora do BACE1</p>	<p>XU et al., 2018; KOIRALA et al., 2017</p>
<p>Ácido acetil oleanólico (12)</p>	<p>Indutora da apoptose em células HCT-116, anti-angiogênica, inibidor da linfangiogênese, citotóxica, inibidora de COX-1 e COX-2, anti-hiperglicêmica</p>	<p>HWANG-BO et al., 2018; CUI et al., 2013; YOO et al., 2012; WANG et al., 2012; RIOS e AGUILAR-GUADARRAMA, 2006; NARVÁEZ-MASTACHE et al., 2006</p>
<p>Ácido rotungênico (13)</p>	<p>Antibacteriana, inibidora da enzima tirosina fosfatase 1B,</p>	<p>NGUYEN et al., 2017; THUONG et al., 2008;</p>
<p>Ácidos ursólico (14)</p>	<p>Anti-inflamatória, antiprotozoária, antimutagênica, citotóxica, antitumoral, antimicrobiana, antidiabética, anti-hiperlipidêmica, cardioprotetora, hepatoprotetora, nefroprotetora, neuroprotetora, gastroprotetora, anti-asmática, anti-hormônio, anti-artrite, osteoprotetora,</p>	<p>KASHYAP, TULI e SHARMA 2016; FAN et al., 2011</p>
<p>Ácido oleanólico (15)</p>	<p>Anti-inflamatória, cardioprotetora, hepatoprotetora, gastroprotetora, antitumoral, antiviral, antidiabética, antiparasitária, analgésica, inibidora da apoptose em células cancerígenas, antiprotozoária, antimutagênica, citotóxica, anti-ulcerogênica, anti-HIV</p>	<p>SHANMUGAM et al., 2014; FAN et al., 2011</p>

Quadro 2. Continuação

Lupeol (16)	inibidora do BACE1, anti-inflamatória, anti-artrite, antidiabética, antimicrobiana, antiprotozoário, anticâncer, cardioprotetora, hepatoprotetora, nefroprotetora, anti-angionênica, antioxidante, antituberculose, anti-HIV, hepatotóxica, imunomoduladora	KOIRALA et al., 2017; DAS et al., 2017; SOARES et al., 2017; RAO et al., 2017; SIDDIQUE e SALEEM 2011
β -amirina (17)	Inibidora da agregação plaquetária, anti-irritante, anti-inflamatória, antifibrótica, antimicrobiana, antinociceptiva, anti-apoptótica, neuroprotetora, inibidora de AChE, gastroprotetora, antidepressiva	ASKARI et al., 2018; MOSTAFA 2018; TRIRUPATHI et al., 2016; ABDEL-RAOUF et al., 2015
Taraxerol (18)	Antitumoral, anti-inflamatória, inibidora de COX, inibidora da AChE, antimicrobiana, antidiabética, anticâncer, citoprotetora	BERTÉ et al., 2018; YAO e BAI, 2017; SHARMA e ZAFAR, 2015
Germanicol (19)	Citotóxica, antibacteriana, antifúngica	RAGASA, ESPINELI e SHEN, 2014; RAGASA, ESPINELI e SHEN, 2011
Multiflorenol (21)	Inibidora de EBV-EA	AKIHISA et al., 2001
<i>E</i> -fitol (20)	Ansiolítica, moduladora do metabolismo, citotóxica, antioxidante, indução de autofagia e apoptose, antinociceptiva, anti-inflamatória, imunomoduladora, antimicrobiana, antitumoral, antiproliferativa	ISLAM et al., 2018; SAKTHIVEL, MALAR e DEVI, 2018
Sitosterol (22)	anticâncer, anti-inflamatória, antibacteriana, antioxidante, antidiabética; antifúngica, antitérmica, antimutagênica, antimicrobiana, antiangiogênica, citotóxica, inibidora de acetilcolinesterase, inibidora da α -glicosidase	BAHADORI et al., 2016; LOMENICK et al., 2015; PIERRE e MOSES, 2015; SAEIDNIA et al., 2014; TABUSSUM et al., 2013; RATHEE et al., 2012; SEN et al., 2012; GUPTA et al., 1980; CHOI et al., 2002; BELTRAME et al., 2002; KIPRONO et al., 2000

Quadro 2. Continuação

Estigmasterol (23)	antiangiogênica, anticâncer, antioxidante, antiosteoartrite, citotóxica, antitumoral, antimutagênica, anti-inflamatória, antidiabética, analgésica, antifúngica, anticolinesterásica	KANGSAMAKSIN et al., 2017; GADE et al., 2017; WANG et al., 2017; PIERRE e MOSES, 2015; GITHINJI et al., 2012; MBAMBO et al., 2012; KAUR et al., 2011
Campesterol (24)	antiangiogênica	SAEIDNIA et al., 2014
Sitosterol-3-O-β-D-glicopiranosídeo/Daucosterol (28)	Anticâncer, proliferativa de células-tronco neurais, anti-inflamatória, imunomoduladora, inibidora da proliferação de células cancerígenas, inibidora de acetilcolinesterase, neuroprotetora, antitubercular, inibidora da α-glicosidase, antiprotozoária	EVINA et al., 2017; RAJAVEL et al., 2017; BAHADORI et al., 2016; CHUNG et al., 2016; ZHAO et al., 2015; JIANG et al., 2014; TABUSSUM et al., 2013; CALZADA, CERVANTES-MARTINEZ e YÉPEZ-MULIA, 2005
7-cetositosterol (29)	Citotóxica, pró-inflamatória	GAO et al., 2015; ALEMANY et al., 2013
7-cetoestigmasterol (30)	citotóxica, antiviral	MARINHO et al., 2016; ALEMANY et al., 2012;
Escopoletina (33)	Citotóxica, anti-hipertensiva analgésica, antileishmania, antibacteriana, antifúngica, anticancerígena, anti-hiperglicêmica, anti-hiperlipidêmica, espasmolítica, anti-inflamatória, antioxidante, antiproliferativa, anticolinesterásica, anti-hipouricêmica, antitumoral, antiangiogênica, antiviral; inseticida, alelopática, hepatoprotetora	LUO et al., 2018; HE et al., 2017; SHIN et al., 2017; KHUNNAWUTMANOTHAM et al., 2016; VERMA et al., 2013; GNONLONFIN, SANNI E BRIMER 2012; TANG et al., 2012; IVERSON et al., 2010; SIATKA e KASPAROVÁ, 2008; TSUKAMOTO, HISADA E NISHIBE, 1985
Isofraxidina (34)	antibacteriana, antioxidante, anti-inflamatória, antitumoral, antialérgica, anticancerígena, anti-estresse, colagógica, antifadiga	NIU et al., 2012; XIAO et al., 2009

Quadro 2. Continuação

Lapachol (35)	Antitumoral, antimetástase, antifúngica, antiviral, anti-inflamatória, antiparasitária, antileishmania, moluscicida, larvicida, analgésica, antibiótica, antiulcerogênica, espasmolítica	ARAÚJO et al., 2019; SOUSA et al., 2019; MATA-SANTOS et al., 2015; HUSSAIN et al., 2007; ARAÚJO et al., 2002
Chelidonato de metila (36)	Anti-alérgica, antileishmania	MALLAIAH et al., 1984
α -tocoferol (37)	Antitumoral, antioxidante, anti-inflamatória, antidiabética, neuroprotetora, hipocolesterolêmica	NOGUCHI et al., 2018; UCHIHARA et al., 2018; PILAR et al., 2017; SINGH e JIALAL, 2004

6. COSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo fitoquímico dos extratos EtOH do caule e folhas de *Tocoyena hispidula* resultou no isolamento e/ou identificação de 62 compostos, sendo os iridoides, triterpenoides e esteroides, os constituintes predominantes.

O estudo da fração CHCl_3 do extrato EtOH do caule de *T. hispidula* conduziu ao isolamento de oito compostos puros (D-(+)-manitol, lupenona, ácido acetiloleanólico, lapachol, chelidonato de metila, escopoletina, isofraxidina e morindolídeo) e quatro misturas (*M1-M4*): *M1* (lupeol, taraxerol, germanicol, β -amirina e *E*-fitol), *M2* (palmitato, margarato, linoleato, oleato e estearato de multiflorenila, lupeila, sitosterila e estigmasterila), *M3* (campesterol, campestanol, estigmasterol, Δ^{22} -estigmastenol, sitosterol e sitostanol) e *M4* (7-cetositosterol e 7-cetoestigmasterol).

O estudo da fração AcOEt do extrato EtOH resultou no isolamento e identificação do ácido benzoico, ácido oleanólico, sitosterol-3-O- β -D-glicopiranosídeo e de três misturas estereoisoméricas de iridoides: α - e β -gardiol, 10-hidroxi-1-oxo-7-irideno-11 α -ato de metila e 10-hidroxi-1-oxo-7-irideno-11 β -ato de metila, α -genipina e genipina.

A partir da fração MeOH do extrato EtOH do caule foram obtidos os iridoides glicosilados 6 α -hidroxigeniposídeo, 6 β -hidroxigeniposídeo, gardenosídeo, éster metílico shanzhisídeo e geniposídeo e, as saponinas triterpênicas 3-O- α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 2)- β -D-glicopiranosil-oleanoato de 28-O- β -D-glicopiranosil-(1 \rightarrow 6)- β -D-glicopiranosila e eritrosaponina A.

A fração hexânica do extrato EtOH das folhas de *T. hispidula*, forneceu os compostos *E*-fitol, palmitato de multiflorenila, ácido oleanólico e a mistura de sitosterol e estigmasterol já identificados no caule e, os compostos esqualeno, α -tocoferol, ácido ursólico e ácido rotungênico não identificados no caule de *T. hispidula*. A partir da fração aquosa do extrato EtOH das folhas identificou-se a mistura dos iridoides glicosilados 6 α -hidroxigeniposídeo e 6 β -hidroxigeniposídeo, já obtidos do caule.

O extrato EtOH e as frações hexânica, AcOEt e aquosa das folhas e a fração CHCl_3 do caule de *T. hispidula* apresentaram indicativo de inibição da enzima acetilcolinesterase.

O extrato EtOH do caule de *T. hispidula*, frações e os compostos chelidonato de metila e morindolídeo, inibiram o crescimento de promastigotas de *Leishmania major*, sendo as frações CHCl_3 ($\text{CI}_{50}=26,25 \mu\text{g mL}^{-1}$) e AcOEt ($\text{CI}_{50}=29,77 \mu\text{g mL}^{-1}$) as mais ativas.

Os resultados obtidos contribuem para o conhecimento da composição química e potencial antileishmania e anticolinesterásico da espécie *T. hispidula* e, corroboram com a classificação taxonômica desta espécie.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDEL-RAOUF, N.; AL-ENAZI, N. M.; AL-HOMAIDAN, A. A.; IBRAHEEM, I. B. M.; AL-OTHMAN, M. R.; HATAMLEH, A. A. Antibacterial β -amyrin isolated from *Laurencia microcladia*. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 8, p. 32-37, 2015.
- ADAMU, H. M.; UKEKPE, U. S.; EKANEM, E. O. A triterpenoid saponin from the root bark extract of *Massularia acuminata* spp. **International Journal of Advanced Research**, v. 4, p. 1400-1406, 2016.
- ADIKAY, S.; U, S. Alleviation of cisplatin-induced nephrotoxicity in albino rats by roots of *Catunaregam uliginosa*. **Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research**, v. 9, p. 147-151, 2016.
- AHUA, K. M.; IOSET, J.-R.; IOSET, K. N.; DIALLO, D.; MAUEL, J. HOSTETTMANN, K. Antileishmanial activities associated with plants used in the Malian traditional medicine. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 110, p. 99-104, 2007.
- AJAYI, O. S.; ADEROGBA, M. A.; OBUOTOR, E. M.; MAJINDA, R. R. T. Acetylcholinesterase inhibitor from *Anthocleista vogelii* leaf extracts. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 231, p. 503-506, 2019.
- AKIHISA, T.; SEINO, K. I.; KANEKO, E.; WATANABE, K.; TOCHIZAWA, S.; FUKATSU, M.; BANNO, N.; METORI, K.; KIMURA, Y. Melanogenesis inhibitory activities of iridoid-, hemiterpene-, and fatty acid-glycosides from the fruits of *Morinda citrifolia* (Noni). **Journal of Oleo Science**, v. 59, p. 49-57, 2010.
- AKIHISA, T.; TOKUDA, H.; ICHIISHI, E.; MUKAINAKA, T.; TORIUMI, M.; UKIYA, M.; YASUKAWA, K.; NISHINO, H. Anti-tumor promoting effects of multiflorane-type triterpenoids and cytotoxic activity of karounidiol against human cancer cell lines. **Cancer Letters**, v. 173, p. 9-14, 2001.
- AKIHISA, T.; WATANABE, K.; YAMAMOTO, A.; ZHANG, J.; MATSUMOTO, M.; FUKATSU, M. Melanogenesis inhibitory activity of monoterpene glycosides from *Gardenia fructus*. **Chemistry & Biodiversity**, v. 9, p. 1490-1499, 2012.
- ALEMANY, L.; LAPARRA, J. M.; BARBERÁ, R.; ALEGRÍA, A. Evaluation of the cytotoxic effect of 7keto-stigmasterol and 7keto-cholesterol in human intestinal (Caco-2) cells L. **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, p. 3106-3113, 2012.
- ALEMANY, L.; LAPARRA, J. M.; BARBERA, R.; ALEGRÍA, A. Relative expression of cholesterol transport-related proteins and inflammation markers through the induction of 7-ketosterol-mediated stress in Caco-2 cells. **Food and Chemical Toxicology**, v. 56, p. 247-253, 2013.
- ALVES, C. C. F.; CRANCHI, D. C.; CARVALHO, M. G.; SILVA, S. J. Triterpenos, esteroide glicosilado e alcaloide isolados de *Simira glaziovii*. **Floresta e Ambiente**, v. 8, p. 174-179, 2001.

- ALVES, J. S. F.; MEDEIROS, L. A.; FERNANDES-PEDROSA, M. F.; ARAÚJO, R. M.; ZUCOLOTTI, S. M. Iridoids from leaf extract of *Genipa americana*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 27, p. 641-644, 2017.
- AMADI, E. V.; OFFIAH, N. V.; AKAH, P. A. Neuropsychopharmacologic properties of a *Schumanniphyton problematicum* root extract. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 33, p. 73-77, 1991.
- AMARAL, A. C. F.; RAMOS, A. S.; FERREIRA, J. L. P.; SANTOS, A. R.; FALCÃO, D. Q.; SILVA, B. O.; OHANA, D. T.; SILVA, J. R. A. A general description of Apocynaceae iridoids chromatography. In: Martin, D. F.; Martin, B. B. (eds). **Column Chromatography**. InTech: Rijeka, p. 149-182, 2013.
- AMIMOTO, K.; YOSHIKAWA, K.; ARIHARA, S. Triterpenes and triterpene glycosides from the leaves of *Ilex rotunda*. **Phytochemistry**, v. 33, p. 1475-1480, 1993.
- AMOO, S. O.; NDHLALA, A.R.; FINNIE, J.F.; STADEN, J. V. Antibacterial, antifungal and anti-inflammatory properties of *Burchellia bubalina*. **South African Journal of Botany**, v. 75, p. 60-63, 2009.
- ANNAN, K.; JACKSON, N.; DICKSON, R. A.; SAM, G. H.; KOMLAGA, G. Acaricidal effect of an isolate from *Hoslundia opposita* vahl against *Amblyomma variegatum* (Acari: Ixodidae). **Pharmacognosy Research**, v. 3, p. 185-188, 2011.
- AQUINO, R.; DE TOMMASI, N.; TAPIA, M.; LAURO, M.R.; RASTRELLI, L. New 3-methoxyflavones, an iridoid lactone and a flavonol from *Duroia hirsuta*. **Journal of Natural Products**, v. 62, p. 560-562, 1999.
- ARAÚJO, E. L.; ALENCAR, J. R. B.; NETO, P. J. R. Lapachol: segurança e eficácia na terapêutica. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 12, p. 57-59, 2002.
- ARAÚJO, D. S.; CHAVES, M. H. Triterpenóides pentacíclicos das folhas de *Terminalia brasiliensis*. **Química Nova**, v. 28, n. 6, p. 996-999, 2005.
- ARAÚJO, I. A. C.; PAULA, R. C.; ALVES, C. L.; FARIA, K. F.; OLIVEIRA, M. M.; MENDES, G. G.; DIAS, E. M. F. A.; RIBEIRO, R. R.; OLIVEIRA, A. B.; SILVA, S. M. Efficacy of lapachol on treatment of cutaneous and visceral leishmaniasis. **Experimental Parasitology**, v. 199, p. 67-73, 2019.
- ARSUL, V.; MUNDHE, V. S.; BHALE, S.; WAGH, S. R. In vitro anthelmintic activity of *Catunaregam spinosa* (Thumb) Tirveng. **International Journal of Institutional Pharmacy and Life Sciences**, v. 1, p. 135-139, 2011.
- ASKARI, V. R.; FERREYDOUNI, N.; RAHIMI, V. B.; ASKARI, N.; SAHEBKAR, A. H.; RAHMANIAN-DEVIN, P.; SAMZADEH-KERMANI, A. β -Amyrin, the cannabinoid receptors agonist, abrogates mice brain microglial cells inflammation induced by lipopolysaccharide/interferon and regulates M ϕ 1/M ϕ 2 balances. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 101, p. 438-446, 2018.

- ASSI, R. A.; DARWIS, Y.; ABDULBAQI, I. M.; KHAN, L. V.; VUANGHAO, L.; LAGHARI, M. H. *Morinda citrifolia* (Noni): A comprehensive review on its industrial uses, pharmacological activities, and clinical trials. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 10, p. 691-707, 2017.
- BAHADORI, M. B.; DINPARAST, L.; VALIZADEH, H.; FARIMANI, M. M.; EBRAHIMI, S. N. Bioactive constituents from roots of *Salvia syriaca* L.: Acetylcholinesterase inhibitory activity and molecular docking studies. **South African Journal of Botany**, v. 106, p. 1-4, 2016.
- BAKER, J. K.; MYERS, C. W. One-dimensional and two-dimensional ^1H - and ^{13}C -nuclear magnetic resonance (NMR) analysis of vitamin E raw materials or analytical reference standards. **Pharmaceutical Research**, v. 8, p. 763-770, 1991.
- BALDÉ, E. S.; MEGALIZZI, V.; TRAORÉ, M. S.; COS, P.; MAES, L.; DECAESTECKER, C.; PIETERS, L.; BALDÉ, A. M. In vitro antiprotozoal, antimicrobial and antitumor activity of *Pavetta crassipes* K. Schum leaf extracts. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 130, p. 529-535, 2010.
- BAN, N. K.; GIANG, V. H.; LINH, T. M.; LIEN, L. Q.; NGOC, N. T.; THAO, D. T.; NAM, N. H.; CUONG, N. X.; KIEM, P. V.; MINH, C. V. Two new 11-norirridoids from the aerial parts of *Morinda umbellata*. **Phytochemistry Letters**, v. 6, p. 267-269, 2013.
- BAPELA, M. J. **NMR-based metabolomic study of medicinal plants used malaria and the isolation of bioactive alkaloids**. Faculty of Natural & Agricultural Sciences, University of Pretoria, Tese-2016.
- BARBOSA, M. R.; TAYLOR, C.; CABRAL, E.; JARDIM, J. G.; PEREIRA, M. S.; CALIÓ, M. F.; PESSOA, M. C. R.; SALAS, R.; SOUZA, E. B.; DI MAIO, F. R.; MACIAS, L.; ANUNCIACÃO, E. A.; GERMANO FILHO, P.; OLIVEIRA, J. A.; BRUNIERA, C. P. M.; GOMES, DE TONI, K.; FIRENS, M.; ZAPPI, D. 2015. Rubiaceae. *In: Lista de espécies da Flora do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB210>. Acesso em: 03 jan. 2019.
- BARROS, G. S. G.; MATOS, F. J. A.; VIEIRA, J. E. V.; SOUSA, M. P.; MEDEIROS, M. C. Pharmacological screening of some Brazilian plants. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 22, p. 116-122, 1970.
- BELTRAME, F. L.; PESSINE, G. L.; DORO, D. L.; DIAS-FILHO, B. P.; BAZOTTE, R. B.; CORTEZ, D. A. G. Evaluation of the antidiabetic and antibacterial activity of *Cissus sicyoides*. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 45, p. 21-25, 2002.
- BERTÉ, T. E.; DALMAGRO, A. P.; ZIMATH, P. L.; GONÇALVES, A. E.; MEYRE-SILVA, C.; BURGER, C.; WEBER, C. J.; SANTOS, D. A.; CECHINEL-FILHO, V.; SOUZA, M. M. Taraxerol as a possible therapeutic agent on memory impairments and Alzheimer's disease: Effects against scopolamine and streptozotocin-induced cognitive dysfunctions. **Steroids**, v. 132, p. 5-11, 2018.

BOLZANI, V. S.; IZUMISAWA, C. M.; YOUNG, M. C. M.; TREVISAN, L. M. V.; KINGSTON, D. G. I.; GUNATILAKA, A. L. Iridoids from *Tocoyena formosa*. **Phytochemistry**, v. 46, p. 305-308, 1997.

BOLZANI, V. S.; TREVISAN, L. M. V.; IZUMISAWA, C. M.; YOUNG, M. C. M. Antifungal iridoids from the stems of *Tocoyena formosa*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 7, p. 157-160, 1996.

BOLZANI, V. S.; VALLI, M.; PIVATTO, M.; VIEGAS-JR, C. Natural products from Brazilian biodiversity as a source of new models for medicinal chemistry. **Pure and Applied Chemistry**, v. 84, p. 1837-1846, 2012.

BREMER, B. A review of molecular phylogenetic studies of Rubiaceae. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 96, p. 4-27, 2009.

BRINGMANN, G.; HAMM, A.; KRAUS, J.; OCHSE, M.; NOURELDEEN, A.; JUMBAM, D. N. Gardenamide A from *Rothmannia urcelliformis* (Rubiaceae)-Isolation, absolute stereostructure and biomimetic synthesis from Genipine. **European Journal of Organic Chemistry**, v. 2001, p. 1983-1987, 2001.

CALZADA, F.; CERVANTES-MARTINEZ, J. A.; YÉPEZ-MULIA, L. In vitro antiprotozoal activity from the roots of *Geranium mexicanum* and its constituents on *Entamoeba histolytica* and *Giardia lamblia*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 98, p. 191-193, 2005.

CANO-CAMPOS, M. C.; DÍAZ-CAMACHO, S. P.; URIBE-BELTRÁN, M. J.; LÓPEZ-ÂNGULO, G.; MONTES-AVILA, J.; PAREDES-LÓPEZ, O.; DELGADO-VARGAS, F. Bio-guided fractionation of the antimutagenic activity of methanolic extract from the fruit of *Randia echinocarpa* (Sessé et Mociño) against 1-nitropyrene. **Food Research International**, v. 44, p. 3087-3093, 2011.

CARDELINA II, J. H. Step gradiente elution in gel permeation chromatography. A new approach to natural products separations. **Journal of Natural Products**, v. 46, p. 196-199, 1983.

CARRILLO-OCAMPO, D.; BAZALDÚA-GOMEZ, S.; BONILLA-BARBOSA J. R.; ABURTO-AMAR R.; RODRIGUEZ-LOPEZ, V. Anti-inflammatory activity of iridoids and verbascoside isolated from *Castilleja tenuiflora*. **Molecules**, v. 18, p. 12109-12118, 2013.

CESÁRIO, F. R. A. S.; ALBUQUERQUE, T. R.; LACERDA, G. M.; OLIVEIRA, M. R. C.; SILVA, B. A. F.; RODRIGUES, L. B.; MARTINS, A. O. B. P. B.; ALMEIDA, J. R. G. S.; VALE, M. L.; COUTINHO, H. D. M.; MENEZES, I. R.; A. Chemical fingerprint, acute oral toxicity and anti-inflammatory activity of the hydroalcoholic extract of leaves from *Tocoyena formosa* (Cham. & Schlecht.) K. Schum. **Saudi Journal of Biological Sciences** (2018a), doi: 10.1016/j.sjbs.2018.01.008.

CESÁRIO, F. R. A. S.; ALBUQUERQUE, T. R.; SILVA, B. A. F.; LACERDA, G. M.; RODRIGUES, L. B.; MARTINS, A. O. B. P. B.; QUINTANS-JÚNIOR, L. J.; ALMEIDA, J. R. G. S.; VALE, M. L.; COUTINHO, H. D. M.; MENEZES, I. R. A. Evaluation of the antioxidant and gastroprotective activity and HPLC analysis of the hydroalcoholic extract of

Tocoyena formosa leaves (Cham. & Schlecht) K. Schum. **Food and Chemical Toxicology**, v. 112, p. 355-362, 2018b.

CHAIPUKDEE, N.; KANOKMEDHAKUL, K.; KANOKMEDHAKUL, S.; LEKPHROM, R.; PYNE, S. G. Two new bioactive iridoids from *Rothmannia wittii*. **Fitoterapia**, v. 113, p. 97-101, 2016.

CHANG, W.L.; WANG, H.Y.; SHI, L.S.; LAI, J.H.; LIN, H. C. Immunosuppressive iridoids from the fruits of *Gardenia jasminoides*. **Journal of Natural Products**, v. 68, p. 1683-1685, 2005.

CHAVES-LÓPEZ, C. C.; MAZZARRINO, G.; RODRÍGUEZ, A.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J.; PÉREZ-ÁLVAREZ, J. A.; VIUDA-MARTOS, M. Assessment of antioxidant and antibacterial potential of borojo fruit (*Borojoa patinoi* Cuatrecasas) from the rainforests of South America. **Industrial Crops and Products**, v. 63, p. 79-86, 2015.

CHAVES-LÓPEZ, C.; USAI, D.; DONADU, M. G.; SERIO, A.; GONZÁLEZ-MINA, R. T.; SIMEONI, M. C.; MOLICOTTI, P.; ZANETTI, S.; PINNA, A.; PAPARELLA, A. Potential of *Borojoa patinoi* Cuatrecasas water extract to inhibit nosocomial antibiotic resistant bacteria and cancer cell proliferation in vitro. **Food & Function**, v. 9, p. 2725-2734, 2018.

CHEN, Q. C.; YOUN, U.; MIN, B.-S.; BAE, K. Pyronane monoterpenoids from the fruit of *Gardenia jasminoides*. **Journal of Natural Products**, v. 71, p. 995-999, 2008b.

CHEN, Q. C.; ZHANG, W. Y.; YOUN, U. J.; KIM, H. J.; LEE, I. S.; JUNG, H. J.; NA, M. K.; MIN, B. S.; BAE, K. H., Iridoid glycosides from *Gardeniae fructus* for treatment of ankle sprain. **Phytochemistry**, v. 70, p. 779-784, 2009.

CHEN, Y. F.; ZHANG, J. Y.; ZHAO, M. H.; YAN, M.; ZHAO, Q. C.; WU, Q.; JIN, H. SHI, G. B. The analgesic activity and possible mechanisms of deacetyl asperulosidic acid methyl ester from Ji shi teng in mice. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v. 102, p. 585-592, 2012.

CHEN, Y.; CAI, L.; ZHAO, C.; XU, H.-C.; CAO, C.-Y.; LIU, Y.; JIA, L.; YIN, H.-X.; CHEN, C.; ZHANG, H. Spectroscopic, stability and radical-scavenging properties of a novel pigment from gardênia. **Food Chemistry**, v. 109, p. 269-277, 2008a.

CHIBA, K.; YAMAZAKI, M.; KIKUCHI, M.; MACHIDA, K.; KIKUCHI, M. Neuritogenesis of herbal geniposide-related compounds in PC12h cells. **Journal of Health Science**, v. 52, p. 743-747, 2006.

CHIQUIERI, A.; DI MAIO, F. R.; PEIXOTO, A. L. A distribuição geográfica da família Rubiaceae Juss, na Flora Brasiliensis de Martius. **Rodriguésia**, v. 55, p. 47-57, 2004.

CHOI, S.; KIM, K. W.; CHOI, J. S.; HAN, S. T.; PARK, Y. I.; LEE, S. K.; KIM, J. S.; CHUNG, M. H. Angiogenic activity of β -sitosterol in the ischemia/reperfusion-damaged brain of mongolian gerbil. **Planta Med**, v. 68, p. 330-335, 2002.

CHUNG, M. J.; LEE, S.; PARK, Y. I.; LEE, J.; KWON, K. H. Neuroprotective effects of phytosterols and flavonoids from *Cirsium setidens* and *Aster scaber* in human brain neuroblastoma SK-N-SH cells. **Life Sciences**, v. 148, p. 173-182, 2016.

COCK, I. E.; SELESHO, M. I.; VUUREN, S. F. V.; A review of the traditional use of southern African medicinal plants for the treatment of selected parasite infections affecting humans. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 220, p. 250-264, 2018.

CORDEIRO, A. R.; SIMIONI, R. E.; WISNIEWSKI JR, A.; NUNES, D. S.; Composição química de duas variedades de própolis dos Campos Gerais do Paraná. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável (RBAS)**, v. 5, p.21-27, 2015.

COSTA, R. B.; CAMPANA, P. T.; CHAMBERGO, F. S.; NAPOLEÃO, T. H.; PAIVA, P. M. G.; PEREIRA, H. J. V.; OLIVA, M. L. V.; GOMES, F. S. Purification and characterization of a lectin with refolding ability from *Genipa americana* bark. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 119, p. 517-523, 2018.

CRUZ-SILVA, S. C. B.; MATIAS, R.; BONO, J. A. M.; SANTOS, K. S.; LUDWIG, J. Antifungal potential of extracts and fractions of *Randia nitida* leaves on soybean pathogens and their phytochemistry. **Revista Caatinga**, v. 29, p. 594-602, 2016.

CUI, E.-J.; HWANG-BO, J.; PARK, J.-H.; BAEK, N.-I.; KIM, J.; HONG, S. G.; CHUNG, I. S. 3-O-Acetyloleanolic acid exhibits anti-angiogenic effects and induces apoptosis in human umbilical vein endothelial cells. **Biotechnology Letters**, v. 35, p. 1807-1815, 2013.

DAMTOFT, S.; JENSEN, S. R.; NIELSEN, B. J. ¹³C and ¹H NMR spectroscopy as a tool in the configurational analysis of iridoid glucosides. **Phytochemistry**, v. 20, p. 2717-2732, 1981.

DANJUMA, N. M.; CHINDO, B. A.; ABDU-AGUYE, I.; ANUKA, J. A.; HUSSAINI, I. M. Psychopharmacological properties of saponins from *Randia nilotica* stem bark. **Pharmaceutical Biology**, v. 52, p. 1-7, 2014.

DAS, A.; JAWED, J. J.; DAS, M. C.; SANDHU, P.; DE, U. C.; DINDA, B.; AKHTER, Y.; BHATTACHARJEE, S. Antileishmanial and immunomodulatory activities of lupeol, a triterpene compound isolated from *Sterculia villosa*. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 50, p. 512-522, 2017.

DAVIOUD, E.; BAILLEUL, F. Iridoids of *Randia ruiziana*. **Planta Medica**, v. 54, p. 87, 1988.

DAVIS, A. P.; GOVAERTS, R.; BRIDSON, D. M.; RUHSAM, M.; MOAT, J.; BRUMMITT, N. A. A global assessment of distribution, diversity, endemism, and taxonomic effort in the Rubiaceae. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 96, p. 68-79, 2009.

DEBNATH, T.; PARK, P.-J.; NATH, N. C. D.; SAMAD, N. B.; PARK, H. W.; LIM, B. O. Antioxidant activity of *Gardenia jasminoides* Ellis fruit extracts. **Food Chemistry**, v. 128, p. 697-703, 2011.

- DE-EKNAMKUL, W.; POTDUANG, B. Biosynthesis of β -sitosterol and stigmasterol in *Croton sublyratus* proceeds via a mixed origin of isoprene units. **Phytochemistry**, v. 62, p. 389-398, 2003.
- DEHARO, E.; BOURDY, G.; QUENEVO, C.; MUÑOZ, V.; RUIZ, G.; SAUVAIN, M. A search for natural bioactive compounds in Bolivia through a multidisciplinary approach. Part V. Evaluation of the antimalarial activity of plants used by the Tacana Indians. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 77, p. 91-98, 2001.
- DELPRETE, P. G.; JARDIM, J. G. Systematics, taxonomy and floristics of Brazilian Rubiaceae: an overview about the current status and future challenges. **Rodriguésia**, v. 63, p. 101-128, 2012.
- DETSI, A.; KONTOGIORGIS, C.; HADJIPAVLOU-LITINA, D. Coumarin derivatives: an updated patent review (2015-2016). **Expert Opinion on Therapeutic Patents**, v. 27, p. 1201-1226, 2017.
- DEWICK, P. M. **Medicinal Natural Products: A biosynthetic approach**. 3 ed., John Wiley & Sons: New York, p. 539, 2009.
- DHARMISHTHA, A. M.; MISHRA, S. H.; FALGUNI, P. G. Antioxidant studies of methanolic extract of *Randia Dumetorum* LAM. **Pharmacology**, v. 1, p. 22-34, 2009.
- DINDA, B.; DEBNATH, S.; BANIK, R. Naturally occurring iridoids and secoiridoids. An Updated Review, Part 4. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 59, p. 803-833, 2011.
- DING, Y. X.; LI, Q.; ZHANG, H.; KIM, Y. H.; DOU, D. Q. Iridoid constituents from the male flower of *Eucommia ulmoides* and their promotion proliferation on ESF-1. **Journal of Asian Natural Products Research**, v. 17, p. 867-875, 2015.
- DREWES, S. E.; HORN, M. M.; MUNRO, O. Q.; RAMESAR, N.; OCHSE, M.; BRINGMANN, G.; PETERS, K.; PETERS, E.-M. Stereostructure, conformation and reactivity of β - and α -gardiol from *Burchellia bubalina*. **Phytochemistry**, v. 50, p. 387-394, 1999.
- DREWES, S. E.; KAYONGA L. Iridoid molluscicidal compounds from *Apodytes dimidiata*. **Journal of Natural Products**, v. 59, p. 1169-1170, 1996.
- DUBOIS, M. A.; BENZE, S.; WAGNER, H. New biologically active triterpene-saponins from *Randia dumetorum*. **Planta Medica**, v. 56, p. 451-455, 1990.
- DUMARO, C. A.; ETIM, E.; AHMADU, A. A. Anti-inflammatory constituents of *Randia hispida* K. Schum (Rubiaceae). **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v. 9, p. 160-164, 2017.
- ELLMAN, G. L.; COURTNEY, D. K.; ANDRES, V. JR.; FEATHERSTONE, R. M. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochemical Pharmacology**, v. 7, p. 88-95, 1961.

ENGIN, K. N. Alpha-tocopherol: looking beyond an antioxidant. **Molecular Vision**, v. 15, p. 855-860, 2009.

EPIFANO, F.; GENOVESE, S.; FIORITO, S.; MATHIEU, V.; KISS, R. Lapachol and its congeners as anticancer agents: a review. **Phytochemistry Reviews**, v. 13, p. 37-49, 2014.

EVINA, J. N.; BIKOBO, D. S. N.; ZINTCHEM, A. A. A.; NYEMECK, N. M.; NDEDI, E. D. F. M.; DIBOUÉ, P. H. B.; NYEGUE, M. A.; ATCHADÉ, A. T.; PEGNYEMB, D. E.; KOERT, U.; BOCHET, C. G. In vitro antitubercular activity of extract and constituents from the stem bark of *Disthemonanthus benthamianus*. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 27, p. 739-743, 2017.

FAN, J. P.; ZHANG, R. F.; ZHANG, X. H.; ZHU, J. H.; HUANG, J. Z. Separation of three triterpene acids in leaves of *Diospyros kaki* by high performance liquid chromatography using hydroxypropyl- β -cyclodextrin as mobile phase modifier. **Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies**, v. 34, p. 1340-1355, 2011.

FARID, H. A. R.; KUNERT, O.; HASLINGER, E.; SEGER, C. Isolation and structure elucidation of iridoide and coumarin derivatives from *Xeromphis nilotica* (Rubiaceae). **Monatshefte fur Chemie**, v. 133, p. 1453-1458, 2002.

FENG, C.; GONG, M.; ZENG, Y.; DAI, H.; MEI, W. Scyphiphin C, a new iridoid from *Scyphiphora hydrophyllacea*. **Molecules**, v. 15, p. 2473-2477, 2010.

FERREIRA, E. L. F.; MASCARENHAS, T. S.; OLIVEIRA, J. P. C.; CHAVES, M. H.; ARAUJO, B. Q.; CAVALHEIRO, A. B. Phytochemical investigation and antioxidant activity of extracts of *Lecythis pisonis* Camb. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 8, p. 353-360, 2014.

FU, X. M.; CHOU, G. X.; WANG, Z. T. Iridoid glycosides from *Gardenia jasminoides* Ellis. **Helvetica Chimica Acta**, v. 91, p. 646-653, 2008.

GADE, S.; RAJAMANIKYAM, M.; VADLAPUDI, V.; NUKALA, K. M.; ALUVALA, R.; GIDDIGARI, C.; KARANAM, N. J.; BARUA, N. C.; PANDEY, R.; UPADHYAYULA, V. S. V.; SRIPADI, P.; AMANCHY, R.; UPADHYAYULA, S. M. Acetylcholinesterase inhibitory activity of stigmaterol & hexacosanol is responsible for larvicidal and repellent properties of *Chromolaena odorata*. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1861, p. 541-550, 2017.

GAO, G.; LU, Z.; TAO, S.; ZHANG, S.; WANG, F. Triterpenoid saponins with antifeedant activities from stem bark of *Catunaregam spinosa* (Rubiaceae) against *Plutella xylostella* (Plutellidae). **Carbohydrate Research**, v. 346, p. 2200-2205, 2011.

GAO, G.; QI, S.; ZHANG, S.; YIN, H.; XIAO, Z.; LI, M.; LI, Q. Minor compounds from the stem bark of Chinese mangrove associate *Catunaregam spinosa*. **Pharmazie**, v. 63, p. 542-544, 2008.

GAO, G.-C.; LUO, X.-M.; WEI, X.-Y.; QI, S.-H.; YIN, H.; XIAO, Z.-H.; ZHANG, S. Catunaregin and epicatunaregin, two norneolignans possessing an unprecedented skeleton from *Catunaregam spinosa*. **Helvetica Chimica Acta**, v. 93, p. 339-344, 2010.

GAO, J.; CHEN, S.; ZHANG, L.; CHENG, B.; XU, A.; WU, L.; ZHANG, X. Evaluation of cytotoxic and apoptotic effects of individual and mixed 7-ketophytosterol oxides on human intestinal carcinoma cells. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, p. 1035-1041, 2015.

GARCEZ, F. R.; GARCEZ, W. S.; YOSHIDA, N. C.; FIQUEIREDO, P. O. A diversidade dos constituintes químicos da flora de Mato Grosso do Sul e sua relevância como fonte de substâncias bioativas. **Revista Virtual de Química**, v. 8, p. 97-129, 2016.

GHULE, B. V.; PALVE, S. P.; RATHI, L. G.; YEOLE, P. G. Validated HPTLC method for simultaneous determination of shanzhiside methyl ester and barlerin in *Barleria prionitis*. **Journal of Planar Chromatography**, v. 25, p. 426-432, 2012.

GITHINJI, C. G.; MBUGUA, P. M.; KANUI, T. I.; KARIUKI, D. K. Analgesic and anti-inflammatory activities of 9-hexacosene and stigmasterol isolated from *Mondia whytei*. **Phytopharmacology**, v. 2, p. 212-223, 2012.

GNOATTO, S. C. B.; VECHIA, L. D.; LENCINA, C. L.; DASSONVILLE-KLIMPT, A.; NASCIMENTO, S.; MOSSALAYI, D.; GUILLON, J.; GOSMANN, G.; SONNET, P. Synthesis and preliminary evaluation of new ursolic and oleanolic acids derivatives as antileishmanial agents. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, v. 23, p. 604-610, 2008.

GNONLONFIN, G. J. B.; SANNA, A.; BRIMER, L. Review scopoletin-A coumarin phytoalexin with medicinal properties. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 31, p. 47-56, 2012.

GUPTA, M. B.; NATH, R.; SRIVASTAVA, N.; SHANKER, K.; KISHOR, K.; BHARGAVA, K. P. Anti-inflammatory and antipyretic activities of β -sitosterol. **Journal Medicinal Plant Research**, v. 39, p. 157-163, 1980.

HAMERSKI, L.; CARBONEZI, C. A.; CAVALHEIRO, A. J.; BOLZANI, V. S.; YOUNG, M. C. M.; Saponinas triterpênicas de *Tocoyena brasiliensis* Mart. (Rubiaceae). **Química Nova**, v. 28, p. 601-604, 2005.

HAMERSKI, L.; FURLAN, M.; SILVA, D. H. S.; CAVALHEIRO, A. J.; EBERLIN, M. N.; TOMAZELA, D. M.; BOLZANI, V. S. Iridoid glucosides from *Randia spinosa* (Rubiaceae). **Phytochemistry**, v. 63, p. 397-400, 2003.

HAUDECOEUR, R.; PEUCHMAURA, M.; PÉRÈSA, B.; ROME, M.; TAÏWE, G. S.; BOUMENDJELA, A.; BOUCHERLE, B. Traditional uses, phytochemistry and pharmacological properties of African *Nauclea* species: A review. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 212, p. 106-136, 2018.

HE, R.; ZHANG, Y.; WU, L.; NIE, H.; HUANG, Y.; LIU, B.; DENG, S.; YANG, R.; HUANG, S.; NONG, Z.; LI, J.; CHEN, H. Benzofuran glycosides and coumarins from the bark of *Streblus indicus* (Bur.) Corner. **Phytochemistry**, v. 138, p. 170-177, 2017.

HOSSAIN, S. M. D.; AL-AMIN, M. D.; HOSSAIN A. M. D.; RANA S. M. D. Phytochemical, antimicrobial, anthelmintic and antidiarrhoeal activity of traditional plant *Randia uliginosa* Retz. **Natural Products Chemistry & Research**, v. 4, p. 1-4, 2016.

HOUNKONG, K.; SAWANGJAROEN, N.; KONGYEN, W.; RUKACHAISIRIKUL, V.; VORAVUTHIKUNCHAI, S. P.; PHONGPAICHIT, S. Anti-intestinal protozoan activities of 1-hydroxy-2-hydroxymethylanthraquinone from *Coptosapelta flavescens*. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, v.4, p. 457-462, 2014.

HOUNKONG, K.; SAWANGJAROENA, N.; KONGYEN, W.; RUKACHAISIRIKUL, V.; WOOTIPOOM, N. Mechanisms of 1-hydroxy-2-hydroxymethylanthraquinone from *Coptosapelta flavescens* as an anti-giardial activity. **Acta Tropica**, v. 146, p. 11-16, 2015.

HU, Y.; LIU, X.; XIA, Q.; YIN, T.; BAI, C.; WANG, Z.; DU, L.; LI, X.; WANG, W.; SUN, L.; LIU, Y.; ZHANG, H.; DENG, L.; CHEN, Y. Comparative anti-arthritis investigation of iridoid glycosides and crocetin derivatives from *Gardenia jasminoides* Ellis in Freund's complete adjuvant-induced arthritis in rats. **Phytomedicine**, v. 53, p. 223-233, 2019.

HUA, D.; LUO, W.; DUAN, J.; JIN, D.; ZHOU, X.; SUN, C.; WANG, Q.; SHI, C.; JIANG, Z.; WANG, R.; RAO, C.; YU, S.; LI, TANG, S. Screening and identification of potent α -glycosidase inhibitors from *Gardenia jasminoides* Ellis. **South African Journal of Botany**, v. 119, p. 377-382, 2018.

HUANG, X. J.; TANG, J. Q.; LI, M. M.; LIU, Q.; LI, Y. L.; FAN, C. L.; PEI, H.; ZHAO, H. N.; WANG, Y.; YE, W. C. Triterpenoid saponins from the rhizomes of *Anemone flaccida* and their inhibitory activities on LPS-induced NO production in macrophage RAW264.7 cells. **Journal of Asian Natural Products Research**, v. 16, p. 910-921, 2014.

HUSSAIN, H.; KROHN, K.; AHMAD, V. U.; MIANA, G. A.; GREEN, I. R. Lapachol: an overview. **ARKIVOC**, p. 145-171, 2007.

HWANG-BO, J.; BAE, M. G.; PARK, J.-H.; CHUNG, I. S. 3-O-Acetyloleanolic acid inhibits VEGF-A induced lymphangiogenesis and lymph node metastasis in an oral cancer sentinel lymph node animal model. **BMC Cancer**, v. 18, p. 1-14, 2018.

INGKANINAN, K. **Novel procedures for lead finding in plant extracts**. PhD thesis, Leiden, 2000.

INGKANINAN, K. TEMKITTHAMWON, P. CHUENCHOM, K. YUYAEM, T. THONGNOI, W. Screening for acetylcholinesterase inhibitory activity in plants used in Thai traditional rejuvenating and neurotonic remedies. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 89, p. 261-264, 2003.

ISLAM, M. T.; ALI, E. S.; UDDIN, S. J.; SHAW, S.; ISLAM, M. A.; AHMED, M. I.; SHILL, M. C.; KARMAKAR, U. K.; YARLA, N. S.; KHAN, I. N.; BILLAH, M. M.; PIECZYNSKA, M. D.; ZENGIN, G.; MALAINER, C.; NICOLETTI, F.; GULEI, D.;

BEERINDAN-NEAGOE, I.; APOSTOLOV, A.; BANACH, M.; YEUNG, A. W. K.; EL-DERMERDASH, A.; XIAO, J.; DEY, P.; YELE, S.; JOZWIK, A.; STRZALKWSKA, N.; MARCHEWKA, J.; RENGASAMY, K. R. R.; HORBANCZUK, J.; KAMAL, M. A.; MUBARAK, M. S.; MISHRA, S. K.; SHILPI, J. A.; ATANASOV, A. G. Phytol: A review of biomedical activities. **Food and Chemical Toxicology**, v. 121, p. 82-94, 2018.

IVERSON, C. D.; ZAHID, S.; LI, Y.; SHOQAFI, A. H.; ATA, A.; SAMARASEKERA, R. Glutathione S-transferase inhibitory, free radical scavenging, and anti-leishmanial activities of chemical constituents of *Artocarpus nobilis* and *Matricaria chamomilla*. **Phytochemistry Letters**, v. 3, p. 207-211, 2010.

JAMWAL, K.; BHATTACHARYA, S.; PURI, S. Plant growth regulator mediated consequences of secondary metabolites in medicinal plants. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, v. 9, p. 26-38, 2018.

JANE, M. R.; SELENE, M. M.; MACHADO, M. I. L.; FRANCISCO, J. A. M.; BRAZ FILHO, R. Chemical study of medicinal plants used in popular medicine-*Tocoyena sellowiana* Schum. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 78, p. 90-92, 1997.

JANGWAN, J. S.; AQUINO, R. P.; MENCHERINI, T.; SINGH, R. Chemical investigation and in vitro cytotoxic activity of *Randia dumetorum* Lamk. bark. **International Journal of Chemical Sciences**, v. 10, p. 1374-1382, 2012.

JANGWAN, J.S.; AQUINO, R.P.; MENCHERINI, T.; SINGH, R. Isolation and *in vitro* cytotoxic activity of 11-methylxoside isolated from bark of *Randia dumetorum* Lamk. **Herba Polonica**, v. 59, p. 44-51, 2013.

JANGWAN, J.S.; SINGH, R. *In vitro* cytotoxic activity of triterpene isolated from bark of *Randia Dumetorum* Lamk. **Journal of Current Chemical and Pharmaceutical Sciences**, v. 4, p. 1-9, 2014.

JANSAKUL, C.; INTARIT, K.; ITHARAT, A.; PHADUNGCHAROEN, T.; RUANGRUNGSI, N.; MERICA, A.; LANGE, G. L. Biological activity of crude extract and saponin pseudoginsenoside-RT1 derived from the fruit of *Randia siamensis*. **Pharmaceutical Biology**, v. 37, p. 42-45, 1999.

JAYASINGHE, U. L. B.; JAYASOORIYA, C. P.; BANDARA, B. M. R.; EKANAYAKE, S. P.; MERLINI, L.; ASSANTE, G. Antimicrobial activity of some Sri Lankan Rubiaceae and Meliaceae. **Fitoterapia**, v. 73, p. 424-427, 2002.

JENSEN, S. R. Iridoids in *Rothmannia globosa*. **Phytochemistry**, v. 22, p. 1761-1765, 1983.

JIANG, L. H.; YANG, N. Y.; YUAN, X. L.; ZOU, Y. J.; ZHAO, F. M.; CHEN, J. P.; WANG, M. Y.; LU, D. X. Daucosterol promotes the proliferation of neural stem cells. **Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 140, p. 90-99, 2014.

JO, Y.; SUH, J.; SHIN, M. H.; JUNG, J. H.; IM, K. S. Jacaranona and related compounds from the fresh fruits of *Ternstroemia japonica* and their antioxidative activity. **Archives of Pharmacal Research**, v. 28, p. 885-888, 2005.

JUÁREZ-TRUJILLO, N.; MONRIBOT-VILLANUEVA, J. L.; ALVARADO-OLIVAREZ, M.; LUNA-SOLANO, G.; GUERRERO-ANALCO, J. A.; JIMÉNEZ-FERNÁNDEZ, M. Phenolic profile and antioxidative properties of pulp and seeds of *Randia monantha* Benth. **Industrial Crops & Products**, v. 124, p. 53-58, 2018.

JUMA, B. F.; MAJINDA, R. R. T. Constituents of *Gardenia volkensii*: their brine shrimp lethality and DPPH radical scavenging properties. **Natural Product Research**, v. 21, p. 121-125, 2007.

KAENNAKAM, S.; AREE, T.; YAHUAFAI, J.; SIRIPONG, P.; SANTI TIP-PYANG, S. Erythrosaponins A-J, triterpene saponins from the roots and stem bark of *Gardenia erythroclada*. **Phytochemistry**, v. 152, p. 36-44, 2018.

KAEWKRUD, W.; MATSUNAMI, K.; OTSUKA, H.; RUCHIRAWAT, S.; KANCHANAPOOM, T. Chemical constituents of the Thai medicinal plant, *Dioecrescis erythroclada* (Kurz) Tirveng. **Journal of Natural Medicines**, v. 61, p. 476-477, 2007.

KAINULAINEN, K.; RAZAFIMANDIMBISON, S. G.; BREMER, B. Phylogenetic relationships and new tribal delimitations in subfamily Ixoroideae (Rubiaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 173, p. 387-406, 2013.

KANCHANAPOOM, T.; TAKANOSU, M.; KASAI, R.; YAMASAKI, K. Iridoid glucosides from *Catunaregam tomentosa* Tirveng. **Natural Medicines**, v. 56, p. 20, 2002.

KANDIMALLA, R.; KALITA, S.; SAIKIA, B.; CHOUDHURY, B.; SINGH, Y. P.; KALITA, K.; DASH, S.; KOTOKY, J. Antioxidant and hepatoprotective potentiality of *Randia dumetorum* Lam. leaf and bark via inhibition of oxidative stress and inflammatory cytokines. **Frontiers in Pharmacology**, v. 7, p. 1-8, 2016.

KANG, J.-J.; WANG, H.-W.; LIU, T.-Y.; CHEN, Y.-C.; UENG, T.-H.. Modulation of Cytochrome P-450-dependent monooxygenases, glutathione and glutathione S-transferase in rat liver by geniposide from *Gardenia jasminoides*. **Food and Chemical Toxicology**, v. 35, p. 957-961, 1997.

KANGSAMAKSIN, T.; CHAITHONGYOT, S.; WOOTHICHAIRANGSAN, C.; HANCHAINA, R.; TANGSHEWINSIRIKUL, C.; SVASTI, J. Lupeol and stigmasterol suppress tumor angiogenesis and inhibit cholangiocarcinoma growth in mice via downregulation of tumor necrosis factor- α . **PLOS ONE**, v. 12, p. 1-16, 2017.

KASHYAP, D.; TULI, H. S.; SHARMA, A. K. Ursolic acid (UA): A metabolite with promising therapeutic potential. **Life Sciences**, v. 146, p. 201-213, 2016.

KATO, L.; OLIVEIRA, C. M. A.; FARIA, E. O.; RIBEIRO, L. C.; CARVALHO, B. G.; SILVA, C. C.; SCHUQUEL, I. T. A.; SANTIN, S. M. O.; NAKAMURA, C. V.; BRITTA, E. A.; MIRANDA, N.; IGLESIAS, A. H.; DELPRETE, P. G. Antiprotozoal alkaloids from *Psychotria prunifolia* (Kunth) Steyer. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 23, p. 355-360, 2012.

KAUR, N.; CHAUDHARY, J.; JAIN, A.; KISHORE, L. Stigmasterol: a comprehensive review. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 2, p. 2259-2265, 2011.

KHUNNAWUTMANOTHAM, N.; CHIMNOI, N.; SAPARPAKOM, P.; TECHASAKUL, S. Synthesis and anti-acetylcholinesterase activity of scopoletin derivatives. **Bioorganic Chemistry**, v. 65, p. 137-145, 2016.

KHWANCHUEA, R.; JANSAKUL, C.; MULVANY, M. J.; QUEIROZ, E. F.; HOSTETTMANN, K. Cardiovascular effects of an *n*-butanol extract from fresh fruits of *Randia siamensis*. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 30, p. 96-104, 2007a.

KHWANCHUEA, R.; QUEIROZ, E. F.; MARSTON, A.; JANSAKUL, C.; HOSTETTMANN, K. Saponins from fresh fruits of *Randia siamensis* (Lour) Roem. & Schult. (Rubiaceae). **Natural Product Communications**, v. 3, p. 163-170, 2007b.

KIM, E.; JEONG, C.; MOON, A. Genipin, a constituent of *Gardenia jasminoides* Ellis, induces apoptosis and inhibits invasion in MDA-MB-231 breast cancer cells. **Oncology Reports**, v. 27, p. 567-572, 2012.

KINUTHIA, E. W.; LANGAT, M. K.; MWANGI, E. M.; CHEPLOGOI, P. K. Constituents of Kenyan *Gardenia volkensii*. **Natural Product Communications**, v. 7, p. 13-14, 2012.

KIPRONO, P. C.; KABERIA, F.; KERIKO, J. M.; KARANJA, J. N. The *in vitro* anti-fungal and anti-bacterial activities of β -sitosterol from *Senecio lyratus* (Asteraceae). **Zeitschrift Für Naturforschung C**, v. 55, p. 485-488, 2000.

KOIRALA, P.; SECONG, S. H.; JUNG, H. A.; CHOI, J. S. Comparative molecular docking studies of lupeol and lupenone isolated from *Pueraria lobata* that inhibits BACE1: Probable remedies for Alzheimer's disease. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 10, p. 1117-1122, 2017.

KONGKUM, N.; TUCHINDA, P.; POHMAKOTR, M.; REUTRAKUL, V.; PIYACHATURAWAT, P.; JARIYAWAT, S.; SUKSEN, K.; YOOSOOK, C.; KASISIT, J.; NAPASWAD, C. DNA topoisomerase II α inhibitory and anti-HIV-1 flavones from leaves and twigs of *Gardenia carinata*. **Fitoterapia**, v. 83, p. 368-372, 2012.

KONGKUM, N.; TUCHINDA, P.; POHMAKOTR, M.; REUTRAKUL, V.; PIYACHATURAWAT, P.; JARIYAWAT, S.; SUKSEN, K.; AKKARAWONGSAPAT, R.; KASISIT, J.; NAPASWAD, C. Cytotoxic, Antitopoisomerase II α , and Anti-HIV-1 activities of triterpenoids isolated from leaves and twigs of *Gardenia carinata*. **Journal of Natural Products**, v. 76, p. 530-537, 2013.

KOO, H.-J.; LIM, K.-H.; JUNG, H.-J.; PARK, E.-H. Anti-inflammatory evaluation of gardenia extract, geniposide and genipin. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 103, p. 496-500, 2006.

KUMAR, V. P.; CHAUHAN, N. S.; PADH, H.; RAJANI, M. Search for antibacterial and antifungal agents from selected Indian medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 107, p. 182-188, 2006.

LEE, J. H.; LEE, D. U.; JEONG, C. S. *Gardenia jasminoides* Ellis ethanol extract and its constituents reduce the risks of gastritis and reverse gastric lesions in rats. **Food and Chemical Toxicology**, v. 47, p. 1127-1131, 2009.

LELONO, R. A. A.; TACHIBANA, S.; ITOH, K.; TARUMI, M. E. Isolation of antifungal compounds from *Gardenia jasminoides*. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v. 12, p. 949-956, 2009.

LEMMICH, E.; CORNETT, C.; FURU, P.; JORSTIAN, C. L.; KNUDSEN, A. D.; OLSEN, C. E.; SALIH, A.; THILBORG, S. T. Molluscicidal saponins from *Catunaregam nilotica*. **Phytochemistry**, v. 39, p. 63-68, 1995.

LI, C.; XUE, X.; ZHOU, D.; ZHANG, F.; XU, Q.; REN, L.; LIANG, X. Analysis of iridoid glucosides in *Hedyotis diffusa* by high-performance liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 48, p. 205-211, 2008.

LI, D.; SCHMITZ, O. J. Comprehensive two-dimensional liquid chromatography tandem diode array detector (DAD) and accurate mass QTOF-MS for the analysis of flavonoids and iridoid glycosides in *Hedyotis diffusa*. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 407, p. 231-240, 2015.

LI, H.; YAO, Y.; LI, L. Coumarins as potential antidiabetic agents. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 69, p. 1253-1264, 2017.

LI, H. B.; YU, Y.; WANG, Z. Z.; DAI, Y.; GAO, H.; XIAO, W.; YAO, X. S. Iridoid and bis-iridoid glucosides from the fruit of *Gardenia jasminoides*. **Fitoterapia**, v. 88, p. 7-11, 2013.

LI, R. J.; GUO, D. X.; LOU, H. X. A new guaiane-type sesquiterpene lactone from the Chinese liverwort *Porella acutifolia* subsp. *tosana*. **Chinese Journal of Natural Medicines**, v. 11, p. 74-76, 2013.

LIANG, H.; ZHANG, L.; WANG, H.; TANG, J.; YANG, J.; WU, C.; CHEN, S. Inhibitory effect of gardenoside on free fatty acid-induced steatosis in HepG2 hepatocytes. **Molecular Sciences**, v. 16, p. 27749-27756, 2015.

LIMA, N. M. F.; CORREIA, C. S.; LEON, L. L.; MACHADO, G. M. C.; MADEIRA, M. F.; SANTANA, A. E. G.; GOULART, M. O. F. Antileishmanial activity of lapachol analogues. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 99, p. 757-761, 2004.

LIN, L. C.; YANG, L. L.; CHOU, C. J. Constituents from the stems of *Ecdysanthera rosea*. **The Journal of Chinese Medicine**, v. 13, p. 191-195, 2002.

LING, S.K.; TANAKA, T.; KOUNO, I. Iridoids from *Rothmannia macrophylla*. **Journal of Natural Products**, v. 64, p. 796-798, 2001.

LOMENICK, B.; SHI, H.; HUANG, J.; CHEN, C. Identification and characterization of β -sitosterol target proteins. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 25, p. 4976-4979, 2015.

LOZANO-GRANDE, M. A.; GORINSTEIN, S.; ESPITIA-RANGEL, E.; DÁVILA-ORTIZ, G.; MARTÍNEZ-AYALA, A. L. Plant sources, extraction methods, and uses of squalene. **International Journal of Agronomy**, v. 2018, p. 1-13, 2018.

LUO, J.; TANG, L.; ZHANG, Y.; DING, W.; LAI, T. Photodegradation of scopoletin in organic solvents and aqueous solutions: kinetics and degradation pathways. **Water Air Soil Pollution**, v. 229, p. 50, 2018.

LUSTOSA, A. K. M. F. **Avaliação do potencial farmacológico da manteiga de bacuri (*Platonia insignis* Mart.) e de forma farmacêutica de uso tópico com ela desenvolvida.** Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Piauí, Brasil, 2012.

MACARI, P. A. T.; EMERENCIANO, V. P.; FERREIRA, Z. M. G. S. Identificação dos triterpenos de *Miconia albicans* Triana através de análise por microcomputador. **Química Nova**, v. 13, p. 260- 262, 1990.

MACHIDA, K.; ONODERA, R.; FURUTA, K.; KIKUCHI, M. Studies of the constituents of *Gardenia* species. I. Monoterpenoids from *Gardenia fructus*. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 46, p. 1295-1300, 1998.

MACHIDA, K.; TAKEHARA, E.; KOBAYASHI, H.; KIKUCHI, M. Studies on the constituents of *Gardenia* species. III. New iridoid glycosides from the leaves of *Gardenia jasminoides* cv. *fortuneana* Hara. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v. 51, p. 1417-1419, 2003.

MAHATO, S. B.; KUNDU, A. P. ¹³C NMR spectra of pentacyclic triterpenoids-A compilation and some salient features. **Phytochemistry**, v. 37, p. 1517-1575, 1994.

MAI, H. L.; GRELLIER, P.; PROST, E.; LEMOINE, P.; POULLAIN, C.; DUMONTET, V.; DEGUIN, B.; VO, T. B. H.; MICHEL, S.; GROUGNET, R. Triterpenes from the exudate of *Gardenia urvillei*. **Phytochemistry**, v. 122, p. 193-202, 2016.

MAI, L. H. CHABOT, G. G.; GRELLIER, P.; QUENTIN, L.; DUMONTET, V.; POULLAIN, C.; ESPINDOLA, L. S.; MICHEL, S.; VO, H. T. B.; DEGUIN, B.; GROUGNET, R. Antivascular and anti-parasite activities of natural and hemisynthetic flavonoids from New Caledonian *Gardenia* species (Rubiaceae). **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 93, p. 93-100, 2015.

MALLAIAH, B. V.; KUMAR, A.; SARMA, P. N.; SRIMANNARAYANA, G. Isolation and antiallergic activity of γ -pirones from the flowers of *Cassia spectabilis*. **Current Science**, v. 53, p. 33-34, 1984.

MALLAM, D.; ANUKA, J. A.; ZEZI, A. U.; MAGAJI, M. G.; CHINDO, B. A.; SANI, M. B. Analgesic and anti-inflammatory activities of *Rothmannia Longiflora* Salisb in mice and rats. **Journal of Pharmacy**, v. 6, p. 1-7, 2016.

MALOUEKI, U.; KUNYIMA, K. P.; MBOMBA, I. D.; DANI, N. A.; LUKUKA, K. A.; LAMI, N. J.; MPIANA, P. T.; NGBOLUA, K. N.; NDIMBO, K. S. P.; MBOMBA, N. B.;

- MUGANZA, C. D. M. Antioxidant and antiplasmodial activities of extracts of *Massularia acuminata* (Rubiaceae). **Phytothérapie**, v. 13, p. 389-397, 2015.
- MANOSROI, J.; MOSES, Z. Z.; MANOSROI, W.; MANOSROI, A. Hypoglycemic activity of Thai medicinal plants selected from the Thai/Lanna Medicinal Recipe Database MANOSROI II. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 138, p. 92-98, 2011.
- MARINHO, R. S. S.; RAMOS, C. J. B.; LEITE, J. P. G.; TEIXEIRA, V. L.; PAIXÃO, I. C. N. P.; BELO, C. A. D.; PEREIRA, A. B.; PINTO, A. M. V. Antiviral activity of 7-keto-stigmasterol obtained from green Antarctic algae *Prasiola crispa* against equine herpesvirus 1. **Journal of Applied Phycology**, v. 29, p. 555-562, 2016.
- MARIOD, A. A.; ABDELWAHAB, S. I.; ELKHEIR, S.; AHMED, Y. M.; FAUZI, P. N. M.; CHUEN, C. S. Antioxidant activity of different parts from *Annona squamosa*, and *Catunaregam nilotica* methanolic extract. **Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria**, v. 11, p. 249-257, 2012.
- MARTINS, D.; CARRION, L. L.; RAMOS, D. F.; SALOMÉ, K. S.; SILVA, P. E. A.; BARISON, A.; NUNEZ, C. V. Triterpenes and the antimycobacterial activity of *Duroia macrophylla* Huber (Rubiaceae). **BioMed Research International**, v. 2013, p. 1-7, 2013.
- MARTINS, D.; NUNEZ, C. V. Secondary metabolites from Rubiaceae species. **Molecules**, v. 20, p. 13422-13495, 2015.
- MATA-SANTOS, T.; PINTO, N. F.; MATA-SANTOS, H. A.; MOURA, K. G. CARNEIRO, P. F.; CARVALHO, T. S.; DEL RIO, K. P.; PINTO, M. C. F. R.; MARTINS, L. R. FENALTI, J. M.; DA SILVA, P. E. A.; SCAINI, C. J. Anthelmintic activity of lapachol, β -lapachone and its derivatives against *Toxocara canis* larvae. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 57, p. 197-204, 2015.
- MAURYA, P.; SINGH, S.; GUPTA, M. M.; LUQMAN, S. Characterization of bioactive constituents from the gum resin of *Gardenia lucida* and its pharmacological potential. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 85, p. 444-456, 2017.
- MBAMBO, B.; ODHAV, B.; MOHANLALL, V. Antifungal activity of stigmasterol, sitosterol and ergosterol from *Bulbine natalensis* Baker (Asphodelaceae). **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 6, p. 5135-5141, 2012.
- MISHRA, N.; ORAON, A.; DEV, A.; JAYAPRAKASH, V.; BASU, A.; PATTNAIK, A. K.; TRIPAPTHI, S. N.; AKHTAR, M.; AHMAD, S.; SWAROOP, S.; BASU, M. Anticonvulsant activity of *Benkara malabarica* (Linn.) root extract: in vitro and in vivo investigation. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 128, p. 533-536, 2010.
- MIURA, T.; NISHIYAMA, Y.; ICHIMARU, M.; MORIYASU, M.; KATO, A. Hypoglycemic activity and structure-activity relationship of iridoidal glycosides. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 19, p. 160-161, 1996.
- MOREIRA, R. Y. O.; ARRUDA, M. S. P.; ARRUDA, A. C.; SANTOS, L. S.; MULLER, A. H.; GUILHOM G. M. S. P.; SANTOS, A. S.; TEREZO, E. Antraquinonas e naftoquinonas do

caule de um espécime de refl orestamento de *Tectona grandis* (Verbenaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, p. 392-396, 2006.

MOREIRA, V. F.; VIEIRA, I. J. C.; BRAZ-FILHO, R. Chemistry and biological activity of Condamineae tribe: A chemotaxonomic contribution of Rubiaceae family. **American Journal of Plant Sciences**, v. 6, p. 2612-2631, 2015.

MOSTAFA, N. M. β -Amyrin rich *Bombax ceiba* leaf extract with potential neuroprotective activity against scopolamine-induced memory impairment in rats. **Records of Natural Products**, v. 12, p. 480-492, 2018.

MOULY, A.; KAINULAINEN, K.; PERSSON, C.; DAVIS, A. P.; WONG, K. M.; RAZAFIMANDIMBISON, S. G.; BREMER, B. Phylogenetic structure and clade circumscriptions in the Gardenieae complex (Rubiaceae). **Taxon**, v. 63, p. 801-818, 2014.

MUFFLER, K.; LEOPOLD, D.; SCHELLER, M. C.; HAAS, C.; STEINGROEWER, J.; BLEY, T.; NEUHAUS, H. E.; MIRATA, M. A.; SCHRADER, J.; ULBER, R. Biotransformation of triterpenes. **Process Biochemistry**, v. 46, p. 1-15, 2011.

MUGANZA, D. M.; FRUTH, B. I.; LAMI, J. N.; MESIA, G. K.; KAMBU, O. K.; TONA, G. L.; KANYANGA, R. C.; COS, P.; MAES, L.; APERS, S.; PIETERS, L. In vitro antiprotozoal and cytotoxic activity of 33 ethonopharmacologically selected medicinal plants from Democratic Republic of Congo. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 141, p. 301-308, 2012.

MURRAY, A. P.; FARAONIA, M. B.; CASTRO, M. J.; ALZA, N. P.; CAVALLARO, V. Natural AChE inhibitors from plants and their contribution to Alzheimer's disease therapy. **Current Neuropharmacology**, v. 11, p. 388-413, 2013.

NARVÁEZ-MASTACHE, J. M.; GARDUÑO-RAMÍREZ, M. L.; ALVAREZ, L.; DELGADO, G. Antihyperglycemic activity and chemical constituents of *Eysenhardtia platycarpa*. **Journal of Natural Products**, v. 69, p. 1687-1691, 2006.

NASAB, F. K.; KHOSRAVI, A. R. Etnobotanical study of medicinal plants of Sirjan in Kerman Province, Iran. **Journal of Etnopharmacology**, v. 154, p. 190-197, 2014.

NAZARI, A. S.; DIAS, S. A.; COSTA, W. F.; BERSANI-AMADO, C. A.; VIDOTTI, G. J.; SOUZA, M. C.; SARRAGIOTTO, M. H. Anti-inflammatory and antioxidant activities of *Randia hebecarpa* and major constituents. **Pharmaceutical Biology**, v. 44, p. 7-9, 2006.

NDÉ, C. M.; NJAMEN, D.; MBANYA, J. C.; ZIERAU, O.; VOLLMER, G.; FOMUM, Z. T. Estrogenic effects of a methanol extract of the fruit of *Brenania brieyi* de Wild (Rubiaceae). **Journal of Natural Medicines**, v. 61, p. 86, 2007.

NDHLOVU, D. N.; MASIKA, P. J. In vitro efficacy of extracts from plants used by small-holder farmers in the treatment of dermatophilosis in cattle. **African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines**, v. 14, p. 263-272, 2017.

NERI-NUMA, I.A., PESSOA, M.G., PAULINO, B.N., PASTORE, G.M., Genipin: A natural blue pigment for food and health purposes. **Trends in Food Science & Technology**, v. 67, p. 271-279, 2017.

NEWMARK, H. L. Squalene, olive oil, and cancer risk: Review and Hypothesis. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 889, p. 193-203, 1999.

NGUYEN, H. T.; HO, D. V.; VO, H. Q.; LE, A. T.; NGUYEN, H. M.; KODAMA, T.; ITO, T.; MORITA, H.; RAAL, A. Antibacterial activities of chemical constituents from the aerial parts of *Hedyotis pilulifera*. **Pharmaceutical Biology**, v. 55, p. 787-791, 2017.

NI, Y.; LI, L.; ZHANG, W.; LU, D.; ZANG, C.; ZHANG, D.; YU, Y.; YAO, X. Discovery and LC-MS characterization of new crocins in *Gardeniae fructus* and their neuroprotective potential. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 65, p. 2936-2946, 2017.

NISHIZAWA, M.; IZUHARA, R.; KANEKO, K.; KOSHIHARA, Y.; FUJIMOTO, Y. 5-Lipoxygenase inhibitors isolated from *Gardenia fructus*. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v. 36, p. 87-95, 1988.

NIU, X.; XING, W.; LI, W.; FAN, T.; HU, H.; LI, Y. Isofraxidin exhibited anti-inflammatory effects *in vivo* and inhibited TNF- α production in LPS-induced mouse peritoneal macrophages *in vitro* via the MAPK pathway. **International Immunopharmacology**, v. 14, p. 164-171, 2012.

NJINGA, N. S.; SULE, M. I.; PATEH, U. U.; HASSAN, H. S.; USMAN, M. A.; BILKISU, A.; DANJA, B. A.; ACHE, R. N.; Phytochemical and antimicrobial activity of the stem-bark of *Gardenia aqualla* Stapf & Hutch (Rubiaceae). **Journal of Medicinal Plant Research**, v. 8, p. 942-946, 2014.

NOGUCHI, M.; YAMAWAKI, I.; TAKAHASHI, S.; TAGUCHI, Y.; UMEDA, M. Effects of α -tocopherol on bone marrow mesenchymal cells derived from type II diabetes mellitus rats. **Journal of Oral Science**, v. 60, p. 579-587, 2018.

NOGUEIRA, F.A.; NERY, P.S.; MORAIS-COSTA, F.; OLIVEIRA, N. J. F.; MARTINS, E. R.; DUARTE, E. R. Efficacy of aqueous extracts of *Genipa americana* L. (Rubiaceae) in inhibiting larval development and eclosion of gastrointestinal nematodes of sheep. **Journal of Applied Animal Research**, v. 42, p. 356-360, 2014.

NUANYAI, T.; SAPPAPAN, R.; VILAIVAN, T.; PUDHOM, K. Dammarane triterpenes from the apical buds of *Gardenia collinsae*. **Phytochemistry Letters**, v. 4, p. 183-186, 2011a.

NUANYAI, T.; SAPPAPAN, R.; VILAIVAN, T.; PUDHOM, K. Gardenoins E-H, cycloartane triterpenes from the apical buds of *Gardenia obtusifolia*. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v. 59, p. 385-387, 2011b.

NUANYAI, T.; SAPPAPAN, R.; VILAIVAN, T.; PUDHOM, K. Cycloartane triterpenes from the exudate of *Gardenia thailandica*. **Phytochemistry Letters**, v. 4, p. 26-29, 2011c.

OGBE, R. J.; OCHALEFU, D. O.; MAFULUL, S. G.; OLANIRU, O. B. A review on dietary phytosterols: Their occurrence, metabolism and health benefits. **Asian Journal of Plant Science and Research**, v. 5, p. 10-21, 2015.

OHASHI, H.; TSURUSHIMA, T.; VENO, T.; FUKAMI, H. Cerbinal, a pseudoazulene iridoid, as a potent antifungal compound isolated from *Gardenia jasminoides* Ellis. **Agricultural and Biological Chemistry**, v. 50, p. 2655-2657, 1986.

OLEA, R. S. G.; ROQUE, N. F. Análise de misturas de triterpenos por RMN de ¹³C. **Química Nova**, v. 13, p. 278-281, 1990.

OLIVEIRA, J. A. 2015. *Tocoyena* in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB14335>. Acesso em: 03 jan. 2019.

OLIVEIRA, L. S. D.; SOARES, S. M. N. A.; SOARES, F. A. R.; BARROS, R. F. M. Levantamento florístico do Parque Ambiental Paquetá, Batalha, Piauí. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, supl. 2, p. 372-374, 2007.

OLIVEIRA, P. S. M.; FERREIRA, V. F. Utilização do D-manitol em síntese orgânica. **Química Nova**, v. 3, p. 441-452, 2009.

OLMO, A. D.; CALZADA, J.; NUÑEZ, M. Benzoic acid and its derivatives as naturally occurring compounds in foods and as additives: Uses, exposure, and controversy. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 57, p. 3084-3103, 2015.

OMENA, C. M. B.; VALENTIM, I. B.; GUEDES, G. S.; RABELO, L. A.; MANO, C. M.; BECHARA, E. J. H.; SAWAYA, A. C. H. F.; TREVISAN, M. T. S.; COSTA, J. G.; FERREIRA, R. C. S.; SANT'ANA, A. E. G.; GOULART, M. O. F. Antioxidant, anti-acetylcholinesterase and cytotoxic activities of ethanol extracts of peel, pulp and seeds of exotic Brazilian fruits. Antioxidant, anti-acetylcholinesterase and cytotoxic activities in fruits. **Food Research International**, v. 49, p. 334-344, 2012.

ONO, M.; ISHIMATSU, N.; MASUOKA, C.; YOSHIMITSU, H.; TSUCHIHASHI, R.; OKAWA, M.; KINJO, J.; IKEDA, T.; NOHARA, T. Three new monoterpenoids from the fruit of *Genipa americana*. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v. 55, p. 632-634, 2007.

ONO, M.; UENO, M.; MASUOKA, C.; IKEDA, T.; NOHARA, T. Iridoid glucosides from the fruit of *Genipa americana*. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v. 53, p. 1342-1344, 2005.

ORIOLA, A. O. L.; ALADESANMI, A. J.; IDOWU, T. O.; AKINKUNMI, E. O.; OBUOTOR, E. M.; OGUNSINA, M. O. A new bioactive thiophenolic glycoside from the leaf of *Massularia acuminata* (G. Don Bullock) Ex Hoyle (Rubiaceae). **African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines**, v. 11, p. 319-323, 2014.

OTSUKA, H.; YOSHIMURA, K.; YAMASAKI, K.; CANTORIA, M. C. Isolation of 10-O-acyl iridoid glucosides from a philippine medicinal plant, *Oldenlandia corymbosa* L. (Rubiaceae). **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 39, p. 2049-2052, 1991.

PAN, H.; LI, Y.; QIAN, H.; QI, X.; WU, G.; ZHANG, H.; XU, M.; RAO, Z.; LI, J. L.; WANG, L.; YING, H. Effects of geniposide from *Gardenia* fruit pomace on skeletal-muscle fibrosis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 66, p. 5802-5811, 2018.

PANICHAYUPAKARANANT, P.; NOGUCHI, H.; DE-EKNAMKUL, W.; SANKAW, U. Naphthoquinones and coumarins from *Impatiens balsamina* root cultures. **Phytochemistry**, v. 40, p. 1141-1143, 1995.

PARMAR, K. A.; PRAJAPATI, S. N.; JANI, A. P. Phytochemical screening of *Randia dumetorum* plant extracts for the antioxidant activity by dpph method and their antibacterial and antiviral activities. **International Journal of Chemical Sciences**, v. 8, p. 1101-1109, 2010.

PAULA, V. F.; BARBOSA, L. C. A.; PILÓ-VELOSO, D.; DEMUNER, A. J.; HOWARTH, O. Constituintes químicos da casca de *Ochroma lagopus* swartz (Bombacaceae). **Eclética Química**, v. 23, p. 45-57, 1998.

PENG, K.; YANG, L.; ZHAO, S.; CHEN, L.; ZHAO, F.; QIU, F. Chemical constituents from the fruit of *Gardenia jasminoides* and their inhibitory effects on nitric oxide production. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 23, p. 1127-1131, 2013.

PERSSON, C. Phylogeny of Gardenieae (Rubiaceae) based on chloroplast DNA sequences from the *rps16* intron and trnL(UAA)-F(GAA) intergenic spacer. **Nordic Journal of Botany**, v. 20, p. 257-270, 2000.

PERSSON, C. Phylogeny of the Gardenieae (Rubiaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 121, p. 91-109, 1996.

PHATAK, R. S. Phytochemistry, pharmacological activities and intellectual property landscape of *Gardenia jasminoides* Ellis: a review. **Pharmacognosy Journal**, v. 7, p. 254-265, 2015.

PIEGANG, B. N.; TIGOUFACK, I. B. N.; NGNOKAM, D.; ACHOUNNA, A. S.; WATCHO, P.; GREFFRATH, W.; TREEDE, R.-D.; NGUELEFACK, T. B. Cycloartanes from *Oxyanthus pallidus* and derivatives with analgesic activities. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 16, p. 1-12, 2016.

PIERRE, L. L.; MOSES, M. N. Isolation and characterisation of stigmaterol and β -sitosterol from *Odontonema strictum* (Acanthaceae). **Journal of Innovations in Pharmaceuticals and Biological Sciences**, v. 2, p. 88-95, 2015.

PILAR, J.; SLOUF, M.; MICHÁLKOVÁ, D.; SLOUFAVÁ, I.; VACKOVÁ, T.; DYBAL, J. Pro-oxidant activity of α -tocopherol during photooxidative degradation of polyolefins. ESRI and IR microspectroscopy studies. **Polymer Degradation and Stability**, v. 138, p. 55-71, 2017.

PINTO, A. C. O Brasil dos viajantes e dos exploradores e a química de produtos naturais brasileira. **Química Nova**, v. 18, p. 608-615, 1995.

POSER, G.L.V; SEIBT, L.T. Gardenoside from *Tocoyena bullata*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 26, p. 669-670, 1998.

PUDHOM, K.; THANESUAN NUANYAI, T.; MATSUBARA, K.; VILAIVAN, T. Antiangiogenic activity of 3,4-seco-cycloartane triterpenes from Thai *Gardenia* spp. and their

semi-synthetic analogs. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 22, p. 512-517, 2012.

QIN, F.-M.; LIU, B.-L.; ZHANG, Y.; ZHOU, G.-X. A new triterpenoid from the fruits of *Gardenia jasminoides* var. *radicans* Makino. **Natural Product Research**, v. 29, p. 633-637, 2015.

QUALLEY, A. V.; WIDHALM, J. R.; ADEBESIN, F.; KISH, C. M.; DUDAREVA, N. Completion of the core β -oxidative pathway of benzoic acid biosynthesis in plants. **PNAS**, v. 109, p. 16383-16388, 2012.

RAGASA, C. Y.; ESPINELI, D. L.; SHEN, C. C. Cytotoxic triterpene from *Barringtonia asiatica*. **Pharmaceutical Chemistry Journal**, v. 48, p. 531-535, 2014.

RAGASA, C. Y.; ESPINELI, D. L.; SHEN, C. C. New Triterpenes from *Barringtonia asiatica*. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 59, p. 778-782, 2011.

RAGASA, C. Y.; PIMENTA, L. E.; RIDEOUT, J. A. Iridoids from *Gardenia jasminoides*. **Natural Product Research**, v. 21, p. 1078-1084, 2007.

RAHMAN, A.; AHMAD, V.U. ¹³C-NMR of Natural Products: Diterpenes. Plenum Press New York .v. 2, p. 328-362, 1992.

RAJAVEL, T.; MOHANKUMAR, R.; ARCHUNAN, G.; RUCKMANI, K.; DEVI, K. P. Beta sitosterol and Daucosterol (phytosterols identified in *Grewia tiliaefolia*) perturbs cell cycle and induces apoptotic cell death in A549 cells. **Scientific Reports**, v. 7, p. 1-15, 2017.

RAMOS-DE-LA-PENA, A. M.; MONTANEZ, J. C.; RENARD, C. M. G. C.; REYES-VEJA, M. L. A review through recovery, purification and identification of genipin. **Phytochemistry Reviews**, v. 21, p. 37-49, 2016.

RAO, A. S.; CHARY, J. S.; MERUGU, R. Iridoids from *Gardenia jasminoides* Ellis. **International Journal of ChemTech Research**, v. 5, p. 418-421, 2013.

RAO, S. D.; RAO, B. N.; DEVI, P. U.; RAO, A. K. Isolation of lupeol, design and synthesis of lupeol derivatives and their biological activity. **Oriental Journal of Chemistry**, v. 33, p. 173-180, 2017.

RATHEE, P.; RATHEE, D.; RATHEE, D.; RATHEE, S. In-vitro cytotoxic activity of β -sitosterol triacontenate isolated from *Capparis decidua* (Forsk.) Edgew. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 5, p. 225-230, 2012.

REANMONGKOL, W.; MATSUMOTO, K.; ITHARAT, A.; WATANABE, H. Antinociceptive effects of *Randia siamensis* extract and its constituent, pseudoginsenoside-RP1 in experimental animals. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 17, p. 1206-1209, 1994.

REUTRAKUL, V.; KRACHANGCHAENG, C.; TUCHINDA, P.; POHMAKOTR, M.; JAIPETCH, T.; YOOSOOK, C.; KASISIT, J.; SOPHASAN, S.; SUJARITD, K.;

SANTISUKE, T. Cytotoxic and anti-HIV-1 constituents from leaves and twigs of *Gardenia tubifera*. **Tetrahedron**, v. 60, p. 1517-1523, 2004.

RHEE, I. K.; MEENT, M. V.; INGKANINAN, K.; VERPOORTE, R. Screening for acetylcholinesterase inhibitors from Amaryllidaceae using silica gel thin-layer chromatography in combination with bioactivity staining. **Journal of Chromatography A**, v. 915, p. 217-223, 2001.

RIBEIRO, D. S. F.; FREIRE, J. M. O.; TEIXEIRA, A. H.; VAL, D. R.; FREITAS, A. R.; GOMES, F. I. F.; SILVA, A. A. R.; BANDEIRAD, P. N.; SANTOS, H. S.; SANTOS, W. P.; ÁVILA, F. N.; PEREIRA, K. M. A.; GOESG, P.; PINTO, V. P. T.; CRISTINO-FILHO, G.; ALBUQUERQUE, M. R. J. R.; CHAVES, H. V.; BEZERRA, M. M. *Tocoyena sellowiana* extract decreases bone loss in an experimental model of periodontitis in rats: Putative role for cyclooxygenase-2 and IL-1 β inhibition. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 98, p. 863-872, 2018.

RIBEIRO, S. G.; CUNHA, E. V. L. **Estudo químico de *Tocoyena formosa***. XII Encontro de Iniciação Científica da Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa, Brasil, 2004.

RIOS, M. Y.; AGUILAR-GUADARRAMA, A. B. Nitrogen-containing phorbol esters from *Croton ciliatoglandulifer* and their effects on cyclooxygenases-1 and -2. **Journal of Natural Products**, v. 69, p. 887-890, 2006.

ROCHA, L. G.; ALMEIDA, J. R. G. S.; MACÊDO, R. O.; BARBOSA-FILHO, J. M. A review of natural products with antileishmanial activity. **Phytomedicine**, v. 12, p. 514-535, 2015.

ROCHA, M. O. **Estudo fitoquímico e avaliação das atividades moluscicida e larvicida de *Tocoyena selloana* K. Schum. (Rubiaceae)**. Dissertação (Mestrado em Química e Biotecnologia) -Universidade Federal de Alagoas, Maceio, 2009.

ROCHA, M.; BANULS, C.; BELLOD, L.; JOVER, A.; VICTOR, V. M.; HERNANDEZ-MIJARES, A. A Review on the role of phytosterols: New insights into cardiovascular risk. **Current Pharmaceutical Design**, v. 17, p. 4061-4075, 2011.

SAEIDNIA, S.; MANAYI, A.; GOHARI, A. R.; ABDOLLAHI, M. The story of beta-sitosterol-A review. **European Journal of Medicinal Plants**, v. 4, p. 590-609, 2014.

SAKTHIVEL, R.; MALAR, D. S.; DEVI, K. P. Phytol shows anti-angiogenic activity and induces apoptosis in A549 cells by depolarizing the mitochondrial membrane potential. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 105, p. 742-752, 2018.

SAMARAKOON, S. R.; EDIRIWEERA, M. K.; WIJAYABANDARA, L.; FERNANDO, N.; THARMARAJAH, L.; TENNEKOON, K. H.; PIYATHILAKA, P.; ADHIKARI, A. Isolation of cytotoxic triterpenes from the mangrove plant, *Scyphiphora hydrophyllacea* C.F.Gaertn (Rubiaceae). **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v. 17, p. 475-481, 2018.

SAMARAKOON, S. R.; FERNANDO, N.; EDIRIWEERA, M. K.; ADHIKARI, A.; WIJAYABANDARA, L.; SILVA, E. D.; TENNEKOON, K. H. Isolation of hopenone-I from

the leaves of mangrove plant *Scyphiphora hydrophyllacea* and its cytotoxic properties. **British Journal of Pharmaceutical Research**, v. 10, p. 1-6, 2016.

SAMPAIO-SANTOS, M. I.; KAPLAN, A. C. Biosynthesis significance of iridoids in chemosystematics. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 12, p. 144-153, 2001.

SANTI, M. D.; ZUNINI, M. P.; VERA, B.; BOUZIDI, C.; DUMONTET, V.; ABIN-CARRIQUIRY, A.; GROUGNET, R.; ORTEGA, M. G. Xanthine oxidase inhibitory activity of natural and hemisynthetic flavonoids from *Gardenia oudiepe* (Rubiaceae) in vitro and molecular docking studies. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 143, p. 577-582, 2018.

SANTOS, M. O.; RIBEIRO, D. A.; MACÊDO, D. G.; MACÊDO, M. J. F.; MACEDO, J. G. F.; LACERDA, M. N. S.; MACÊDO, M. S.; SOUZA, M. M. A. Medicinal Plants: versatility and concordance of use in the caatinga area, Northeastern Brazil. **Annals of the Brazilian Academy of Sciences**, v. 90, p. 2767-2779, 2018.

SANTOS, R. P.; SILVEIRA, E. R.; UCHÔA, D. E. A.; PESSOA, O. D. L.; VIANA, F. A.; BRAZ-FILHO, R. ^1H and ^{13}C NMR spectral data of new saponins from *Cordia piauhiensis*. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 45, p. 692-694, 2007.

SANTOS, W. P.; SANTOS, H. S.; BANDEIRA, P. N.; PESSOA, O. D. L.; SILVEIRA, E. R.; BRAZ-FILHO, R.; ALBUQUERQUE, M. R. J. R. **Constituintes químicos de *Tocoyena sellowiana* Schum (Rubiaceae)**. In: 34º REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, Florianópolis. **Anais [...]**. Florianópolis-SC, Brasil, 2011.

SANTOS-CERVANTES, M. E.; IBARRA-ZAZUETA, M. E.; LOARCA-PIÑA, G.; PAREDES-LÓPEZ, O.; DELGADO-VARGAS, F. Antioxidant and antimutagenic activities of *Randia echinocarpa* fruit. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 62, p. 71-77, 2007.

SATI, O. P.; CHAUKIYAL, D. C.; NISHI, M.; MLYAHARA, K.; KAWASAKI, T. An iridoid from *Randia dumetorum*. **Phytochemistry**, v. 25, p. 2658-2660, 1986.

SHAN, M.; YU, S.; YAN, H.; GUO, S.; XIAO, W.; WANG, Z.; ZHANG, L.; DING, A.; WU, Q.; LI, S. F. Y. A review on the phytochemistry, pharmacology, pharmacokinetics and toxicology of geniposide, a natural product. **Molecules**, v. 22, p. 1-29, 2017.

SHANMUGAM, M. K.; DAI, X.; KUMAR, A. P.; TAN, B. K. H.; SETHI, G.; BISHAYEE, A. Oleanolic acid and its synthetic derivatives for the prevention and therapy of cancer: Preclinical and clinical evidence. **Cancer Letters**, v. 346, p. 206-216, 2014.

SHANMUGAM, M. K.; SHEN, H.; TANG, F. R.; ARFUSO, F.; RAJESH, M.; WANG, L.; KUMAR, A. P.; BIAN, J.; GOH, B. C.; BISHAYEE, A.; SETHI, G. Potential role of genipin in câncer therapy. **Pharmacological Research**, v. 133, p. 195-200, 2018.

SHARMA, K.; ZAFAR, R. Occurrence of taraxerol and taraxasterol in medicinal plants. **Pharmacognosy Reviews**, v. 19, p. 19-23, 2015.

SHEN, Z. W.; FISINGER, U.; POULEV, A.; EISENREICH, W.; WERNER, I.; PLEINER, E.; BACHER, A.; ZENK, M. H. Tracer studies with ^{13}C -labeled carbohydrates in cultured

plant cells. Retrobiosynthetic analysis of chelidonic acid biosynthesis. **Phytochemistry**, v. 57, p. 33-42, 2001.

SHIN, W.; HU, J.; BAO, N.; LI, D.; CHEN, L.; SUN, J. Design, synthesis and cytotoxic activities of scopoletin-isoxazole and scopoletin-pyrazole hybrids. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 27, p. 147-151, 2017.

SIATKA T.; KASPAROVÁ, M. Effects of auxins on growth and scopoletin accumulation in cell suspension cultures of *Angelica archangelica* L. **Ceska a Slovenska Farmacie**, v. 57, p. 17-20, 2008.

SIDDIQUE, H. R.; SALLEM, M. Beneficial health effects of lupeol triterpene: A review of preclinical studies. **Life Sciences**, v. 88, p. 285-293, 2011.

SILVA, A. A. S.; MORAIS, S. M.; FALCAO, M. J. C.; VIEIRA, I. G. P.; RIBEIRO, L. M.; VIANA, S. M.; TEIXEIRA, M. J.; BARRETO, F. S.; CARVALHO, C. A.; CARDOSO, R. P. A.; Andrade-Junior, H. F. Activity of cycloartane-type triterpenes and sterols isolated from *Musa paradisiaca* fruit peel against *Leishmania infantum chagasi*. **Phytochemistry**, v. 21, p. 1419-1423, 2014.

SILVA, G. L.; GIL, BAR. R.; CUI, O.; CHAI, H.; SANTISUK, T.; SRISOOK, E.; REUTRAKUL, V.; TUCHINDA, P.; SOPHASAN, S.; SUJARIT, S.; UPATHARQ, S.; LYNN, S. M.; FARTHING, J. E.; YANG, S.-L.; LEWIS, J. A.; O'NEILL, M. J.; FARNSWORTH, N. R.; CORDELL, G. A.; PEZZUTO, J. M.; KINGHOM, A. D. Novel cytotoxic ring-a seco-cycloartane triterpenes from *Gardenia coronaria* and *G. sootepensis*. **Tetrahedron**, v. 53, p. 529-532, 1997.

SILVA, M. P. **Etnobotânica de comunidades rurais da serra de Campo Maior – Piauí, Brasil**. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento e Meio Ambiente) – Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2010.

SILVA, V. C.; GIANNINI, M. J. S. M.; CARBONE, V.; PIACENTE, S.; PIZZA, C.; BOLZANI, V. S.; LOPES, M. N. New Antifungal terpenoid glycosides from *Alibertia edulis* (Rubiaceae). **Helvetica Chimica Acta**, v. 91, p. 1355-1362, 2008.

SINGH, U.; JIALAL, I. Anti-inflammatory effects of α -tocopherol. **Annals New York Academy of Sciences**, p. 195-203, 2004.

SIZER, F. S.; WHITNEY, E. **Nutrição: conceitos e controvérsias**. 8 ed. São Paulo: Manole, 2003.

SOARES, D. C. F.; OLIVEIRA, D. C. P.; BARCELOS, L. S.; BARBOSA, A. S.; VIEIRA, L. C.; TOWNSEND, D. M.; RUBELLO, D.; BARROS, A. L. B.; DUARTE, L. P.; SILVA-CUNHA, A. Antiangiogenic activity of PLGA-Lupeol implants for potential intravitreal applications. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 92, p. 394-402, 2017.

SOLIS, R. V.; GUTIERREZ, R. M. P. Diuretic and urolithiatic activities of the aqueous extract of the fruit of *Randia echinocarpa* on rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 83, p. 145-147, 2002.

SON, M.; LEE, M.; RYU, E.; MOON, A.; JEONG, C. S.; JUNG, Y. W.; PARK, G. H.; SUNG, G. H.; CHO, H.; KANG, H. Genipin as a novel chemical activator of EBV lytic cycle. **Journal of Microbiology**, v. 53, p. 155-165, 2015.

SONG, J. L.; WANG, R.; SHI, Y. P.; QI, H. Y. Iridoids from the flowers of *Gardenia jasminoides* Ellis and their chemotaxonomic significance. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 56, p. 267-270, 2014.

SOTHEESWARAN, S.; BOKEL, M.; KRAUS, W. A Hemolytic saponin, randianin, from *Randia dumetorum*. **Phytochemistry**, v. 28, p. 1544-1546, 1989.

SOUSA, E. A.; CHAVES, M. H.; SILVA, L. F. F.; VIEIRA-JÚNIOR, G. M.; ALMEIDA, B. C.; FARIAS, R. R. S. Iridoides e cumarinas do caule de *Tocoyena hispidula*. In: PIOVESAN, N.; VIERA, V. B. (org.). **Produção e controle de produtos naturais**. Ponta Grossa: Atena Editora, p. 106-119, 2018.

SOUSA, E. A.; ROSA, A. P. A.; SANTOS, R. R. L.; SANTOS, I. L.; SOUSA, V. C.; CARVALHO, F. A. A.; VIEIRA-JÚNIOR, G. M.; CHAVES, M. H. Composição química e atividade biológica de *Tocoyena hispidula*. **Química Nova**, v. 42, p. 192-196, 2019.

SOUZA, A. C.; ALVES, M. M. M.; BRITO, L. M.; OLIVEIRA, L. G. C.; SOBRINHO-JUNIOR, E. P. C.; COSTA, I. C. G.; FREITAS, S. D. L.; RODRIGUES, K. A. F.; CHAVES, M. H.; ARCANJO, D. D. R.; CARVALHO, F. A. A. *Platonia insignis* Mart., a brazilian amazonian plant: the stem barks extract and its main constituent lupeol exert antileishmanial effects involving macrophages activation. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2017, p. 1-13, 2017.

SOUZA, R. O. S.; SOUSA, P. L.; MENEZES, R. R. P. P. B.; SAMPAIO, T. L.; TESSAROLO, L. D.; SILVA, F. C. O.; PEREIRA, M. G.; MARTINS, A. M. C. Trypanocidal activity of polysaccharide extract from *Genipa americana* leaves. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 210, p. 311-317, 2018.

SOUZA, V.C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática: Guia ilustrado para identificação de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG II**. Nova Odessa-SP: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2008.

SUKSAMRARN, A.; TANACHATCHAIRATANA, T.; KANOKMEDHAKUL, S. Antiplasmodial triterpenes from twigs of *Gardenia saxatilis*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 88, p. 275-277, 2003.

SUNG, Y.-Y.; LEE, A. Y.; KIM, H. K. The *Gardenia jasminoides* extract and its constituent, geniposide, elicit anti-allergic effects on atopic dermatitis by inhibiting histamine in vitro and in vivo. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 156, p. 33-40, 2014.

TABUSSUM, A.; RIAZ, N.; SALEEM, M.; ASHRAF, M.; AHMAD, M.; ALAM, U.; JABEEN, B.; MALIK, A.; JABBAR, A. α -Glucosidase inhibitory constituents from *Chrozophora plicata*. **Phytochemistry Letters**, v. 6, p. 614-619, 2013.

- TAIKA, B. B.; BOUCKANDOU, M.; SOUZA, A.; BOUROBOUB, H. P. B.; MACKENZIE, L. S.; LIONE, L. An overview of anti-diabetic plants used in Gabon: Pharmacology and toxicology. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 216, p. 203-228, 2018.
- TAN, M. A.; CALLANTA, R. B. P.; APURILLO, C. C. S.; CRUZ, T. E. E. D.; ALEJANDRO, G. J. D.; YSRAEL, M. C. Anti-inflammatory and antimicrobial constituents from the leaves of *Villaria odorata*. **Acta Manilana**, v. 62, p. 47-52, 2014.
- TANG, W.-M.; CHAN, E.; KWOK, C. Y.; LEE, Y. K.; WU, J. H.; WAN, C. W.; CHAN, R. Y.; YU, P. H.; CHAN, S. W. A review of the anticancer and immunomodulatory effects of *Lycium barbarum* fruit. **Inflammopharmacology**, v. 20, p. 307–314, 2012.
- TAO, S.; QI, S.; ZHANG, S.; XIAO, Z.; LI, Q. Scyphiphorins C and D, two new iridoid glycosides from the chinese mangrove *Scyphiphora hydrophyllacea*. **Heterocycles**, v. 78, p. 1557-1562, 2009.
- TAO, S.H.; WU, J.; QI, S.H.; ZHANG, S.; LI, M.Y.; LI, Q.X. Scyphiphorins A and B, two new iridoid glycosides from the stem bark of a Chinese mangrove *Scyphiphora hydrophyllacea*. **Helvetica Chimical Acta**, v. 90, p. 1718-1722, 2007.
- THIMABUT, K.; AMORNAT KEAWKUMPAI, A.; PERMPOONPATTANA, P.; KLAIKLAY, S.; CHUMKAEW, P.; KONGRIT, D.; PECHWANG, J.; SRISAWAT, T. Antibacterial potential of extracts of various parts of *Catunaregam tomentosa* (Blume ex DC) Tirveng and their effects on bacterial granularity and membrane integrity. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v. 17, p. 875-882, 2018.
- THUONG, P. T.; LEE, C. H. L.; DAO, T. T.; NGUYEN, P. H.; KIM, W. G.; LEE, S. J.; OH, W. K. Triterpenoids from the leaves of *Diospyros kaki* (Persimmon) and their inhibitory effects on protein tyrosine phosphatase 1B. **Journal of Natural Products**, v. 71, p. 1775-1778, 2008.
- TOMMASO, S. D.; DAVID, P.; PICOLET, K.; GABANT, M.; DAVID, H.; MORANÇAIS, J. L.; GOMAR, J.; LEROY, F.; ADAMO, C. Structure of genipin in solution: a combined experimental and theoretical study. **RSC Advances**, v. 3, p. 13764-13771, 2013.
- TRIRUPATHI, A.; SILVEIRA, P. C.; NESI, R. T.; PINHO, R. A. β -Amyrin, a pentacyclic triterpene, exhibits anti-fibrotic, anti-inflammatory, and anti-apoptotic effects on dimethyl nitrosamine–induced hepatic fibrosis in male rats. **Human and Experimental Toxicology**, v. 36, p. 113-122, 2016
- TSENG, T.-H.; CHU, C.-Y.; HUANG, J.-M.; SHIOW, S.-J.; WANG, C.-J. Crocetin protects oxidative damage in rat primary hepatocytes. **Cancer Letters**, v. 97, p. 61-67, 1995.
- TSHITENGE, D. T.; FEINEIS, D.; AWALE, S.; BRINGMANN, G. Gardenifolins A–H, scalemic neolignans from *Gardenia ternifolia*: chiral resolution, configurational assignment, and cytotoxic activities against the HeLa cancer cell line. **Journal of Natural Products**, v. 80, p. 1604-1614, 2017.

TSUKAMOTO, H.; HISADA, S.; NISHIBE, S.; Coumarins from bark of *Fraxinus japonica* and *F. mandshurica* var. *japonica*. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v. 33, p. 4069-4073, 1985.

TUCHINDA, P.; POMPIMON, W.; REUTRAKUL, V.; POHMAKOTR, M.; YOOSOOK, C.; KONGYAI, N.; SOPHASAN, S.; SUJARIT, K.; UPATHUM, S. E.; SANTISUK, T. Cytotoxic and anti-HIV-1 constituents of *Gardenia obtusifolia* and their modified compounds. **Tetrahedron**, v. 58, p. 8073-8086, 2002.

TUCHINDA, P.; SAI, A.; POHMAKOTR, M.; YOOSOOK, C.; KASISIT, J.; NAPASWAT, C.; SANTISUK, T.; REUTRAKUL, V. Anti-HIV-1 cycloartanes from leaves and twigs of *Gardenia thailandica*. **Planta Medica**, v. 70, p. 366-370, 2004.

UCHIHARA, Y.; KIDOKORO, T.; TAGO, K.; MASHINO, T.; TAMURA, H.; FUNAKOSHI-TAGO, M. A major component of vitamin E, α -tocopherol inhibits the anti-tumor activity of crizotinib against cells transformed by EML4-ALK. **European Journal of Pharmacology**, v. 825, p. 1-9, 2018.

UESATO, S.; ALI, E.; NISHIMURA, H.; KAWAMURA, I.; INOUE, H. Four iridoids from *Randia canthioides*. **Phytochemistry**, v. 21, p. 353-357, 1982.

UKEKPE, U. S.; ADAMU, H. M.; EKANEM, E. O.; SALEH, A. A. Phytochemical constituents and antimicrobial activities of the root bark extracts of *Massularia acuminata* spp. **International Journal of Advanced Research**, v. 3, p. 557-565, 2015.

UKEKPE, U. S.; EKANEM, E. O.; ADAMU, H. M. In vitro evaluation of free radical scavenging ability of root bark extracts of *Massularia acuminata* spp. **International Journal of Advanced Research**, v. 4, p. 1428-1432, 2016.

VALLI, M.; YOUNG, M. C. M.; BOLZANI, V. S. A beleza invisível da biodiversidade: o táxon Rubiaceae. **Revista Virtual de Química**, v. 8, p. 296-310, 2016.

VELÁSQUEZ, C. L.; RIVAS, A.; OCANTO, I. S. Obtención de genipina a partir de frutos de caruto (*Genipa americana* L.) del llano venezolano. **Avances em Química**, v. 9, p. 75-86, 2014.

VERMA, A.; KESHARWANI, D.; DEWANGAN, P.; KELA, S. P. Hypoglycemic and hypolipidemic activity of scopoletin (coumarin derivative) in streptozotocin induced diabetic rats. **International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research**, v. 22, p. 79-83, 2013.

VIEGAS-JR, C.; BOLZANI, V. S.; BARREIRO, E. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Química Nova**, v. 29, p. 326-337, 2006.

VOGEL, A. I. **Química Orgânica-Análise Orgânica Qualitativa**. 3 ed., Rio de Janeiro, Ao Livro Técnico S. A. 1988, p. 995.

WANG, G.; ZHAO, S.; CHEN, D.; LU, Y.; ZHENG, Q. Chemical constituents of fruits of *Gardenia sootepensis* Hutch. **Zhongguo Zhongyao Zazhi**, v. 24, p. 38-40, 1999.

WANG, J.; HUANG, M.; YANG, J.; MA, X.; ZHENG, S.; DENG, S.; HUANG, Y.; YANG, X.; ZHAO, P. Anti-diabetic activity of stigmasterol from soybean oil by targeting the GLUT4 glucose transporter. **Food & Nutrition Research**, v. 61, p. 1-14, 2017.

WANG, J.; LU, J.; LV, C.; XU, T.; JIA, L. Three new triterpenoid saponins from root of *Gardenia jasminoides* Ellis. **Fitoterapia**, v. 83, p. 1396-1401, 2012.

WANG, Q. Y.; CUI, G. X.; WU, J. C.; CHEN, Y. G. Steroids from *Trigonostemon heterophyllus*. **Chemical of Natural Compounds**, v. 51, p. 1196-1198, 2015a.

WANG, X.; QUINN, P. J. Vitamin E and its function in membranes. **Progress in Lipid Research**, v. 38, p. 309-336, 1999.

WANG, Y.; CHEN, Y.; DENG, L.; CAI, S.; LIU, J.; LI, W.; DU, L.; CUI, G.; XU, X.; LU, T.; CHEN, P.; ZHANG, H. Systematic separation and purification of iridoid glycosides and crocetin derivatives from *Gardenia jasminoides* Ellis by high-speed counter-current chromatography. **Phytochemical Analysis**, v. 26, p. 202-208, 2015b.

XIAO, W.; LI, S.; WANG, S.; HO, C.-T. Chemistry and bioactivity of *Gardenia jasminoides*. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 25, p. 43-61, 2017.

XIAO, X.; GUO, J.; LI, G. Separation and purification of isofraxidin from *Sarcandra glabra* by microwave-assisted extraction coupled with high-speed counter-current chromatography. **Separation and Purification Technology**, v. 68, p. 250-254, 2009.

XU, F.; HUANG, X.; WU, H.; WANG, X. Beneficial health effects of lupenone triterpene: A review. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 103, p. 198-203, 2018.

XU, R.; FAZIO, G. C.; MATSUDA, S. P. T. On the origins of triterpenoid skeletal diversity. **Phytochemistry**, v. 65, p. 261-291, 2004.

XU, W.; MA, X.; WANG, Y. Production of squalene by microbes: an update. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 32, p. 195-202, 2016.

YAKUBU, M. T.; AKANJI, M. A.; OLADIJI, A. T.; ADESOKAN, A. A. Androgenic potentials of aqueous extract of *Massularia acuminata* (G. Don) Bullock ex Hoyle stem in male Wistar rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 118, p. 508-513, 2008.

YAKUBU, M. T.; AWOTUNDE, O. S.; AJIBOYE, T. O.; OLADIJI, A. T.; AKANJI, M. A. Pro-sexual effects of aqueous extracts of *Massularia acuminata* root in male Wistar rats. **Andrologia**, v. 43, p. 334-340, 2011.

YANG, K.; LI, Y.; GE, L.; QIN, Z. Isolation of triterpenoids from *Catunaregam Spinosa*. **Advanced Materials Research**, v. 236, p. 1731-1737, 2011.

YANG, L.; PENG, K.; ZHAO, S.; CHEN, L.; QIU, F. Monoterpenoids from the fruit of *Gardenia jasminoides* Ellis (Rubiaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 50, p. 435-437, 2013.

YANG, Y. S.; ZHANG, T.; YU, S. C.; DING, Y.; ZHANG, L. Y.; QIU, C.; JIN, D. Transformation of geniposide into genipin by immobilized β -glucosidase in a two-phase aqueous-organic system. **Molecules**, v. 16, p. 4295-4304, 2011.

YAO, X. X.; BAI, Q. Taraxerol protects the human hepatic L02 cells from hydrogen peroxide-induced apoptosis. **A Journal of the Bangladesh Pharmacological Society**, v. 12, p. 133-139, 2017.

YOO, K. H.; PARK J.-H.; CUI, E. J.; KIM, K. I.; KIM, J. Y.; KIM, J.; HONG, S. G.; BACK, N. I.; CHUNG, I. S. 3-O-acetyloleanolic acid induces apoptosis in human colon carcinoma HCT-116 cells. **Phytotherapy Research**, v. 26, p. 1541-1546, 2012.

YOSHIKAWA, M.; YAMAGUCHI, S.; NISHISAKA, H.; YAMAHARA, J.; MURAKAMI, N. Chemical constituents of Chinese natural medicine, *Morindae Radix*, the dried roots of *Morinda officinalis* How.: structures of morindolide and morofficinaloside. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 43, p. 1462-1465, 1995.

YOUN, U. J.; PARK, E.-J.; KONDRATYUK, T. P.; SRIPISUT, T.; LAPHOOKHIEO, S.; PEZZUTO, J. M.; CHANG, L. C. Anti-inflammatory triterpenes from the apical bud of *Gardenia sootepensis*. **Fitoterapia**, v. 114, p. 92-97, 2016.

YU, Y.; XIE, Z.L.; GAO, H.; MA, W.W.; DAI, Y.; WANG, Y.; ZHONG, Y.; YAO, X.S. Bioactive iridoid glucosides from the fruit of *Gardenia jasminoides*. **Journal of Natural Products**, v. 72, p. 1459-1464, 2009.

ZENG, Y.-B.; MEI, W.-L.; LIU, S.-B.; YANG, T.; LI, X.-N.; DAI, H.-F. Cytotoxic components from Mangrove Plant *Scyphiphora hydrophyllaceae* (II). **Journal of Tropical and Subtropical Botany**, v. 19, p. 561-564, 2011.

ZENG, Y.-B.; MEI, W.-L.; WANG, H.; LI, X.; DAI, H.-F. Scyphiphin D, a new iridoid glucoside dimer from *Scyphiphora hydrophyllaceae*. **Journal of Asian Natural Products Research**, v. 12, p. 1010-1014, 2010.

ZENG, Y.-B.; MEI, W.-L.; ZHAO, Y.-X.; DAI, H.-F. Two new noriridoids from *Scyphiphora hydrophyllaceae*. **Zeitschrift für Naturforschung B**, v. 63, p. 108-110, 2008.

ZENG, Y.-B.; MEI, W.-L.; ZHAO, Y.-X.; ZHUANG, L.; HONG, K.; DAI, H.-F. Two new epimeric pairs of iridoid from mangrove plant *Scyphiphora hydrophyllaceae*. **Chinese Chemical Letters**, v. 18, p. 1509-1511, 2007.

ZHANG, H.; FENG, N.; XU, Y.-T.; LI, T.-X.; GAO, X.-M.; ZHU, Y.; SONG, Y. S.; WANG, Y.-N.; WU, H.-H. Chemical constituents from the flowers of Wild *Gardenia jasminoides* ELLIS. **Chemistry & Biodiversity**, v. 14, p. 1-14, 2017a.

ZHANG, H.; LAI, Q.; LI, Y.; LIU, Y.; YANG, M. Learning and memory improvement and neuroprotection of *Gardenia jasminoides* (*Fructus gardenia*) extract on ischemic brain injury rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 196, p. 225-235, 2017b.

ZHANG, L.-S.; WANG, Y.-L.; LIU, Q.; ZHOU, C.-X.; MO, J.-X.; LIN, L.-G.; GAN, L.-S. Three new 3,4-seco-cycloartane triterpenoids from the flower of *Gardenia jasminoides*. **Phytochemistry Letters**, v. 23, p. 172-175, 2018.

ZHAO, C.; SHE, T.; WANG, L.; SU, Y.; QU, L.; GAO, Y.; XU, S.; CAI, S.; SHOU, C. Daucosterol inhibits cancer cell proliferation by inducing autophagy through reactive oxygen species-dependent manner. **Life Sciences**, v. 137, p. 37-43, 2015.

ZHOU, T.; ZHAO, W.; FAN, G.; CHAI, Y.; WU, Y. Isolation and purification of iridoid glycosides from *Gardenia jasminoides* Ellis by isocratic reversed-phase two-dimensional preparative high-performance liquid chromatography with column switch technology. **Journal of Chromatography B**, v. 858, p. 296-301, 2007a.

ZHOU, X.Q.; BI, Z.M.; LI, P.; TANG, D.; CAI, H.X. A new iridoid glycoside from *Gardenia jasminoides*. **Chinese Chemical Letters**, v. 18, p. 1221-1223, 2007b.

ZILANI, M. N. H.; SULTANA, N. A.; BAKSHI, M. K.; SHAMPA, I. J.; SUMI, S. J.; ISLAM, O. Bioactivities of leaf and root extract of *Ceriscoids turgida* (Roxb.). **Oriental Pharmacy and Experimental Medicine**, v. 18, p. 159-165, 2018.