

UFG

IQ

G
E
R
A
L
D
A

D
E

F
Á
T
I
M
A

L
E
M
E
S

2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE QUÍMICA

**Contribuição ao estudo químico de espécies da
família CUCURBITACEAE JUSS. E RUBIACEAE
JUSS. Gêneros: *CAYAPONIA* SILVA MANSO E
PSYCHOTRIA L.**

GERALDA DE FÁTIMA LEMES

ORIENTADORA: PROFA. DRA. LUCÍLIA KATO

CO-ORIENTADORA: PROFA. DRA. VERA LÚCIA GOMES KLEIN

TESE DE DOUTORADO

GOIÂNIA- 2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE QUÍMICA

**Contribuição ao estudo químico de espécies da família
CUCURBITACEAE JUSS. E RUBIACEAE JUSS. Gêneros:
CAYAPONIA SILVA MANSO E *PSYCHOTRIA* L.**

GERALDA DE FÁTIMA LEMES

Orientadora: Profa. Dra. Lucília Kato

Co-orientadora: Profa. Dra. Vera Lúcia Gomes Klein

Goiânia-GO
2015

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR AS TESES E DISSERTAÇÕES ELETRÔNICAS (TEDE) NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do material bibliográfico: ☐ Dissertação ☒ Tese

2. Identificação da Tese ou Dissertação

Autor (a):	Geralda de Fátima Lemes		
E-mail:	geralda@ufg.br		
Seu e-mail pode ser disponibilizado na página?	☒ Sim	☐ Não	
Vínculo empregatício do autor	Servidora pública (UFG)		
Agência de fomento:	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás	Sigla:	FAPEG
País:	Brasil	UF:	GO CNPJ: 08.156.102/0001-02
Título:	Contribuição ao estudo químico de espécies da família CUCURBITACEAE JUSS. E RUBIACEAE JUSS. Gêneros: CAYAPONIA SILVA MANSO E PSYCHOTRIA L.		
Palavras-chave:	Cayaponia, Psychotria, flavonoides.		
Título em outra língua:	Contribution to the study of chemical species of the Cucurbitaceae Juss. and Rubiaceae Juss. family, genres: Cayaponia Silva Manso and Psychotria L.		
Palavras-chave em outra língua:	Cayaponia, Psychotria, flavonoids.		
Área de concentração:	Química		
Data defesa: (dd/mm/aaaa)	12/06/2015		
Programa de Pós-Graduação:	Programa de Pós-Graduação em Química		
Orientador (a):	Lucília Kato		
E-mail:	luciliakato@gmail.com.		
Co-orientador (a):*	Vera Lúcia Gomes Klein		
E-mail:	vlgomes@hotmail.com		

*Necessita do CPF quando não constar no SisPG

3. Informações de acesso ao documento:

Concorda com a liberação total do documento ☒ SIM ☐ NÃO¹

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF ou DOC da tese ou dissertação.

O sistema da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações garante aos autores, que os arquivos contendo eletronicamente as teses e ou dissertações, antes de sua disponibilização, receberão procedimentos de segurança, criptografia (para não permitir cópia e extração de conteúdo, permitindo apenas impressão fraca) usando o padrão do Acrobat.

Geralda de Fátima Lemes
Assinatura do (a) autor (a)

Data: 22 / 09 / 2015

¹ Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Os dados do documento não serão disponibilizados durante o período de embargo.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE QUÍMICA

**Contribuição ao estudo químico de espécies da família
CUCURBITACEAE JUSS. E RUBIACEAE JUSS. Gêneros:
CAYAPONIA SILVA MANSO E *PSYCHOTRIA* L.**

GERALDA DE FÁTIMA LEMES

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Química da Universidade Federal de Goiás, como
exigência parcial para a obtenção do título de Doutora
em Química.

Orientadora: Profa. Dra. Lucília Kato

Co-orientadora: Profa. Dra. Vera Lúcia Gomes Klein

Goiânia-GO
2015

Ficha catalográfica elaborada automaticamente
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a), sob orientação do Sibi/UFG.

Lemes, Geralda de Fátima

Contribuição ao estudo químico de espécies da família
CUCURBITACEAE JUSS. E RUBIACEAE JUSS. Gêneros:
CAYAPONIA SILVA MANSO E PSYCHOTRIA L. [manuscrito] /
Geralda de Fátima Lemes. - 2-15.
CCXVII, 218 f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Lucília Kato; co-orientador Dr. Vera Lúcia
Gomes Klein.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Goiás, Instituto de
Química (IQ) , Programa de Pós-Graduação em Química, Goiânia, 2-15.
Bibliografia. Apêndice.

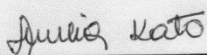
Inclui abreviaturas, símbolos, lista de figuras, lista de tabelas.

1. Cayaponia. 2. Psychotria. 3. flavonoides. I. Kato, Lucília, orient. II.
Klein, Vera Lúcia Gomes, co-orient. III. Título.

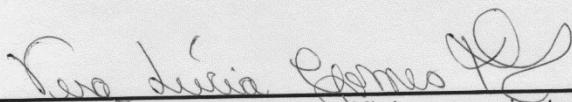
FOLHA DE APROVAÇÃO

Membros da Comissão Julgadora de Tese de Doutorado em Química, apresentada pela discente Geralda de Fátima Lemes ao Instituto de Química da Universidade Federal de Goiás, em 12/006/2015.

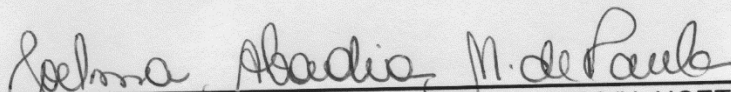
Comissão Julgadora:



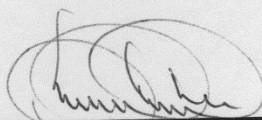
Profa. Dra. Lucília Kato - orientadora- IQ/UFG



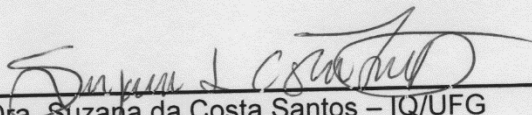
Profa. Dra. Vera Lúcia Gomes Klein - co-orientadora- ICB/UFG



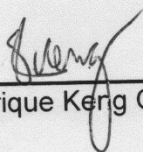
Profa. Dra. Joelma Abadia Marciano de Paula- UEG/UnUCET



Prof. Dr. Pedro Henrique Ferri- IQ/UFG



Profa. Dra. Suzana da Costa Santos - IQ/UFG



Prof. Dr. Luiz Henrique Kerg Queiroz Júnior - IQ/UFG

DEDICO ESTE TRABALHO

Aos meus pais Ivani e Delcides (in memoriam).

AGRADECIMENTOS

- À Profa Dra. Lucília Kato pela orientação e liberdade proporcionada durante o desenvolvimento deste trabalho.
- À Profa Dra. Vera Lúcia Gomes Klein pela coleta e identificação das espécies de *Cayaponia* e também pela co-orientação.
- Ao Prof. Dr. Luiz Henrique Keng Queiroz Júnior e ao doutorando Mábio João Santana pela realização dos experimentos de TOSCY.
- Ao Prof. Dr. Piero Giuseppe Delprete pela identificação da espécie de *Psychotria* estudada neste trabalho.
- À Profa. Dra. Elisângela de Paula Silveira Lacerda e a mestrande Raquel S. Faria pela realização dos ensaios citotóxicos.
- Á Profa Moemy Moraes pelo uso e auxílio no Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência.
- À Profa Dra. Cecília Maria Alves de Oliveira pela disposição em contribuir com este trabalho.
- Ao Prof. Dr. Jonas Alves Vieira da UEG/UnuCEt pelo auxílio nos testes antibacterianos.
- Ao Deomar, amigo e ex-colega do IQ/UFG, pela realização da ANOVA.
- Aos colegas de trabalho do IQ/UFG e UnUCET/UEG pela amizade, companheirismo e apoio.
- Aos colegas do laboratório 105-IQ 1, pela amizade, apoio e convivência.

- À Universidade Federal de Goiás, ao Instituto de Química e a Pós-Graduação em Química por possibilitar a realização deste trabalho.
- À todas as pessoas que não foram citadas, mas que de maneira direta ou indireta contribuíram para realização deste trabalho.
- À FAPEG pela concessão da bolsa.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	i
LISTA DE TABELAS	ix
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS	xi
RESUMO	xiii
ABSTRACT	xiv
1 INTRODUÇÃO	1
1.1. Família Cucurbitaceae Juss.	3
1.1.2. Gênero <i>Cayaponia</i> Silva Manso	8
1.2. Família Rubiaceae Juss.	10
1.2.1. Gênero <i>Psychotria</i> L.	11
1.3. Flavonoides	16
1.3.1. Flavonoides em Rubiaceae	19
1.4. Espécies medicinais estudadas	23
1.4.1. <i>Cayaponia espelina</i> (Silva Manso) Cogn.	23
1.4.2. <i>Cayaponia citrullifolia</i> (Griseb.) Cogn.	24
1.4.3. <i>Cayaponia weddellii</i> (Naudin) Gomes-Klein	25
1.4.4. <i>Psychotria trichophora</i> Müll. Arg.	26

2 OBJETIVOS	28
3 MATERIAIS E MÉTODOS	29
3.1. Instrumentação e procedimentos gerais	30
3.2. Material botânico	32
3.2.1. Espécie <i>C. espelina</i>	32
3.2.2. Espécie <i>C. citrullifolia</i>	32
3.2.3. Espécie <i>C. weddellii</i>	33
3.2.4. Espécie <i>P. trichophora</i>	33
3.3. Isolamento dos metabólitos secundários de <i>C. espelina</i>	33
3.3.1. Preparação do extrato e obtenção das frações	33
3.3.2. Estudo químico da fração AcOEt	34
3.4. Isolamento dos metabólitos secundários das folhas de <i>C. weddellii</i>	35
3.4.1. Preparação do extrato e obtenção das frações	35
3.4.2. Estudo químico das folhas de <i>C. weddellii</i>	36
3.5. Isolamento dos metabólitos secundários das folhas de <i>C. citrullifolia</i>	39
3.5.1. Preparação do extrato e obtenção das frações	39
3.5.2. Estudo da fração AcOEt	39
3.5.3. Estudo da fração hidrometanólica	40
3.6. Isolamento dos metabólitos secundários das folhas <i>P. trichophora</i>	42
3.6.1. Preparação do extrato e obtenção das frações	42
3.6.2. Estudo da fração AcOEt	43
3.6.3. Estudo da fração <i>n</i> -BuOH	45
3.7. Estudo químico dos ramos e raízes de <i>P. trichophora</i>	45
3.7.1. Estudo da fração CHCl ₃	46
3.8. Fracionamento ácido-base	46

3.9. Atividade biológica	47
3.9.1. Atividade antioxidante	48
3.9.2. Teste de susceptibilidade antimicrobiana	46
3.9.3. Ensaio citotóxico	53
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	54
4.1. Rendimento dos extratos e frações	55
4.2. Fracionamento ácido-base do extrato etanólico das folhas de <i>P. trichophora</i>	56
4.3. Compostos isolados	58
4.3.1. Compostos isolados de <i>C. espelina</i> , <i>C. citrullifolia</i> e <i>C. weddellii</i>	58
4.3.2. Compostos isolados de <i>P. trichophora</i>	60
4.4. Elucidação estrutural dos compostos isolados	64
4.4.1. Composto CE-1	64
4.4.2. Compostos CE-2 e CE-3	66
4.4.3. Composto CC-1	73
4.4.4. Composto CC-2	77
4.4.5. Composto CC-3	81
4.4.6. Composto CC-4	84
4.4.7. Composto PT-2	88
4.4.8. Composto PT-3	92
4.4.9. Compostos PT-4 e PT-5	97
4.4.10. Composto PT-6	103
4.4.11. Composto PT-1	106
4.5. Ensaios biológicos	108

4.5.1. Atividade antioxidante	108
4.5.2. Teste citotóxico <i>in vitro</i> frente ao Sarcoma 180	110
4.5.3. Teste de susceptibilidade antimicrobiana	112
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	114
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	115
APÊNDICE	130

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Classificação dos flavonoides baseado em sua estrutura química.	17
Figura 2	Rota biossintética geral para as principais classes de flavonoides.	18
Figura 3	Fotografia de um exemplar de <i>C. espelina</i> e classificação botânica da espécie.	23
Figura 4	Fotografia de um exemplar de <i>C. citrullifolia</i> e a classificação botânica da espécie.	24
Figura 5	Fotografia de um exemplar de <i>C. weddellii</i> e a classificação botânica da espécie.	25
Figura 6	Fotografia de um exemplar de <i>P. trichophora</i> e a classificação botânica da espécie.	26
Figura 7	Esquema de fracionamento da Fr. AcOEt.	35
Figura 8	Comparação dos cromatogramas das frações CHCl ₃ (a), AcOEt (b) e <i>n</i> -BuOH (c). Condições utilizadas: coluna Dionex Acclain 120, 5 µm, 4,6 x 100 mm gradiente linear [MeOH:H ₂ O, 10→100% MeOH em 30 min] e MeOH por 20 min, fluxo: 1 mL/min, λ= 254 nm, volume de injeção 10 µL.	37
Figura 9	Esquema de fracionamento da Fr. AcOEt das folhas de <i>C. citrullifolia</i> .	40
Figura 10	Esquema de purificação das subfrações 2 e 4.	41

Figura 11	Cromatograma da purificação da SF-4 por CLAE preparativa. Condições utilizadas: coluna C18 ODS, 5 µm, 250 x 20 mm, fase móvel: ACN/solução acidificada à 0,1% com ATFA (15:85), eluição isocrática, fluxo 8 mL/min, λ = 210 nm, volume injetado: 2 mL	41
Figura 12	Comparação dos cromatogramas obtidos para as frações AcOEt e <i>n</i> -BuOH das folhas de <i>P. trichophora</i> . Condições utilizadas: coluna Dionex Acclaim 120, 5 µm, 4,6 x 100 mm, fase móvel: gradiente linear [MeOH:H ₂ O, 10→100% MeOH] em 30 min e MeOH por 10 min, fluxo de 1 mL/min, λ = 254 nm, volume injetado: 10 µL.	42
Figura 13	Cromatograma isocrático da Fr. AcOEt das folhas de <i>P. trichophora</i> via CLAE preparativa, C18 ODS, 5 µm, 250 x 20 mm, fase móvel: ACN:solução acidificada à 0,1 % com ATFA (16:84), λ = 268 nm, injeção de 2 mL, fluxo 10 mL/min.	44
Figura 14	Esquema de purificação da SF-1.	45
Figura 15	Esquema de isolamento de PT-1.	46
Figura 16	Diagrama do sistema FIA/espectrofotômetro usado no monitoramento da turbidez das suspensões bacterianas nos testes de toxicidade. St, solução transportadora; Am, amostra; In, injetor comutador manual; Bm, bomba peristáltica; Cd, câmara de difusão; Dt, detector (espectrofotômetro); De, descarte.	51
Figura 17	Sistema FIA utilizando nos testes de toxicidade rápida frente a <i>E. coli</i> , (a) tubo de ensaio contendo a suspensão bacteriana; (b) solução transportadora (água); (c) bomba peristáltica; (d) câmara de difusão gasosa; (e) espectrofotômetro.	52
Figura 18	Foto do Injetor/comutador manual e da alça de amostragem (a), tubos usados nos testes (b).	52
Figura 19	Estruturas dos compostos isolados e identificados nas folhas de <i>C. espelina</i> , <i>C. weddellii</i> e <i>C. citrullifolia</i> .	59
Figura 20	Estruturas dos compostos isolados e/ou identificados em <i>P. trichophora</i> .	61
Figura 21	Expansão na região entre 7,47 a 6,15 ppm do espectro de RMN de ¹ H (DMSO- <i>d</i> ₆ , 500 MHz) do composto CE-1.	65
Figura 22	Expansões na região aromática dos mapas de correlação HMBC dos compostos CE-2 e CE-3.	68
Figura 23	Expansões na região aromática dos mapas de correlação HMBC dos compostos CE-2 e CE-3 .	69
Figura 24	Principais correlações observadas no mapa de HMBC dos compostos CE-2 e CE-3.	70

Figura 25	Expansão na região de hidrogênios anoméricos no mapa de HMBC (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto CC-1.	74
Figura 26	Principais correlações observadas no mapa de HMBC do composto CC-1.	75
Figura 27	Expansão na região de hidrogênios anoméricos do mapa de HMBC (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto CC-2.	78
Figura 28	Principais correlações observadas no mapa de HMBC do composto CC-2.	79
Figura 29	Expansão na região aromática do mapa de HMBC (500 MHz, CD ₃ OD) do composto CC-3.	82
Figura 30	Principais correlações observadas nos mapas de HMBC (a) e COSY (b) do composto CC-3.	82
Figura 31	Expansão do mapa de HMBC (500 MHz, CD ₃ OD) do composto CC-4.	84
Figura 32	Parte do mapa de correlação de HMBC (500 MHz, CD ₃ OD) do composto CC-4.	86
Figura 33	Principais correlações observadas no mapa de HMBC do composto CC-4.	86
Figura 34	Expansão na região de aromáticos do espectro de RMN de ¹ H (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto PT-2.	88
Figura 35	Expansões do mapa de correlação HMBC do composto PT-2.	90
Figura 36	Principais correlações observadas no mapa de HMBC do composto PT-2.	90
Figura 37	Expansão do mapa de correlação HMBC do composto PT-3.	94
Figura 38	As principais correlações observadas no mapa de correlação HMBC do composto PT-3.	95
Figura 39	Mapa de correlação HMBC (expansão) da mistura de PT-4 e PT-5.	99
Figura 40	Expansões do mapa de correlação HMBC (região de hidrogênios anoméricos) da mistura dos compostos PT-4 e PT-5.	99
Figura 41	As principais correlações observadas nos mapas de HMBC () e COSY () de PT-4 e PT-5.	100
Figura 42	Correlações observadas nos mapas de HMBC () e COSY () para o composto PT-6.	105
Figura 43	Principais correlações observadas no mapa de HMBC do composto PT-1.	107
Figura A1	Espectro de IV do composto CE-1 (Pastilha de KBr).	131

Figura A2	Espectro de RMN de ^1H do composto CE-1 (500 MHz, DMSO- d_6).	132
Figura A3	Expansão do espectro de RMN de ^1H do composto CE-1 (500 MHz, DMSO- d_6).	133
Figura A4	Espectro de IV do composto CE-2 (Pastilha de KBr).	134
Figura A5	Espectro de RMN de ^1H do composto CE-2 (500 MHz, DMSO- d_6).	135
Figura A6	Expansão do espectro de RMN de ^1H do composto CE-2 (500 MHz, DMSO- d_6).	136
Figura A7	Espectro de RMN de ^{13}C do composto CE-2 (125 MHz, DMSO- d_6).	137
Figura A8	Mapa de correlação HSQC do composto CE-2 (500 MHz, DMSO- d_6).	138
Figura A9	Expansões (a) e (b) do mapa de correlação HSQC do composto CE-2 (500 MHz, DMSO- d_6).	139
Figura A10	Mapa de correlação HMBC do composto CE-2 (500 MHz, DMSO- d_6).	140
Figura A11	Expansões (a) e (b) do mapa de correlação HMBC do composto CE-2 (500 MHz, DMSO- d_6).	141
Figura A12	Espectro de IV do composto CE-3 (Pastilha de KBr).	142
Figura A13	Espectro de RMN de ^1H do composto CE-3 (500 MHz, DMSO- d_6).	143
Figura A14	Expansões (a) e (b) do espectro de RMN de ^1H do composto CE-3 (500 MHz, DMSO- d_6).	144
Figura A15	Mapa de correlação HSQC do composto CE-3 (500 MHz, DMSO- d_6).	145
Figura A16	Mapa de correlação HMBC do composto CE-3 (500 MHz, DMSO- d_6).	146
Figura A17	Espectro de IV do composto CC-1 (Pastilha de KBr).	147
Figura A18	Espectro de RMN de ^1H do composto CC-1 (500 MHz, CD_3OD).	148
Figura A19	Expansões (a) e (b) do espectro de RMN de ^1H do composto CC-1 (500 MHz, DMSO- d_6).	149
Figura A20	Espectro de RMN de ^{13}C do composto CC-1 (125 MHz, CD_3OD).	150
Figura A21	Mapa de correlação HSQC do composto CC-1 (500 MHz, DMSO- d_6).	151
Figura A22	Mapa de correlação HMBC do composto CC-1 (500 MHz, DMSO- d_6).	152

Figura A23	Expansão do mapa de correlação HMBC do composto CC-1 (500 MHz, DMSO- d_6).	153
Figura A24	Espectro de RMN de ^1H do composto CC-2 (500 MHz, DMSO- d_6).	154
Figura A25	Espectro de RMN de ^{13}C do composto CC-2 (500 MHz, DMSO- d_6).	155
Figura A26	Mapa de correlação HSQC do composto CC-2 (500 MHz, DMSO- d_6).	156
Figura A27	Mapa de correlação HMBC do composto CC-2 (500 MHz, DMSO- d_6).	157
Figura A28	Expansão do mapa de correlação HMBC do composto CC-2 (500 MHz, DMSO- d_6).	158
Figura A29	Espectro de RMN de ^1H do composto CC-3 (500 MHz, CD_3OD).	159
Figura A30	Expansões (a) e (b) do espectro de RMN de ^1H do composto CC-3 (500 MHz, CD_3OD).	160
Figura A31	Espectro de RMN de ^{13}C do composto CC-3 (125 MHz, CD_3OD).	161
Figura A32	Mapa de correlação HSQC do composto CC-3 (500 MHz, CD_3OD).	162
Figura A33	Mapa de correlação HMBC do composto CC-3 (500 MHz, CD_3OD).	163
Figura A34	Expansão do mapa de correlação HMBC do composto CC-3 (500 MHz, CD_3OD).	164
Figura A35	Mapa de correlação COSY do composto CC-3 (500 MHz, CD_3OD).	165
Figura A36	Espectro de RMN de ^1H do composto CC-4 (500 MHz, CD_3OD).	166
Figura A37	Expansão do espectro de RMN de ^1H do composto CC-4 (500 MHz, CD_3OD).	167
Figura A38	Espectro de RMN de ^{13}C de CC-4 (125 MHz, CD_3OD).	168
Figura A39	Espectro DEPT-135 do composto CC-4 (125 MHz, CD_3OD).	169
Figura A40	Mapa de correlação HSQC de CC-4 (500 MHz, CD_3OD).	170
Figura A41	Mapa de correlação HMBC composto CC-4 (500 MHz, CD_3OD).	171
Figura A42	Expansão do mapa de correlação HMBC composto CC-4 (500 MHz, CD_3OD).	172
Figura A43	Espectro de RMN de ^1H do composto PT-2 (500 MHz, DMSO- d_6).	173

Figura A44	Espectro de RMN de ^1H (expansão) do composto PT-2 (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).	174
Figura A45	Espectro de RMN de ^{13}C do composto PT-2 (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).	175
Figura A46	Expansão do espectro de RMN de ^{13}C do composto PT-2 (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).	176
Figura A47	Mapa de correlação HSQC do composto PT-2 (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).	177
Figura A48	Mapa de correlação HSQC (expansões) do composto PT-2 (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).	178
Figura A49	Mapa de correlação HMBC do composto PT-2 (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).	179
Figura A50	Expansão do mapa de correlação HMBC do composto PT-2 (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).	180
Figura A51	Espectro de RMN de ^1H do composto PT-3 (500 MHz, CD_3OD).	181
Figura A52	Expansões do espectro de RMN de ^1H do composto PT-3 (500 MHz, CD_3OD).	182
Figura A53	Espectro de RMN de ^{13}C do composto PT-3 (125 MHz, CD_3OD).	183
Figura A54	Espectro de RMN de ^{13}C (expansão) do composto PT-3 (125 MHz, CD_3OD).	184
Figura A55	Mapa de correlação HSQC do composto PT-3 (500 MHz, CD_3OD).	185
Figura A56	Mapa de correlação HSQC (expansão) do composto PT-3 (500 MHz, CD_3OD).	186
Figura A57	Mapa de correlação HMBC do composto PT-3 (500 MHz, CD_3OD).	187
Figura A58	Expansão do mapa de correlação HMBC do composto PT-3 (500 MHz, CD_3OD).	188
Figura A59	Mapa de correlação COSY do composto PT-3 (500 MHz, CD_3OD).	189
Figura A60	Espectros TOSCY 1D do composto PT-3 (500 MHz, CD_3OD), irradiado em: 5,42 ppm (a) e 4,78 ppm (b).	190
Figura A61	Espectro de RMN de ^1H da mistura de compostos PT-4 e PT-5 (500 MHz, CD_3OD).	191
Figura A62	Expansão do espectro de RMN de ^1H da mistura dos compostos PT-4 e PT-5 (500 MHz, CD_3OD).	192
Figura A63	Expansão do espectro de RMN de ^1H da mistura dos compostos PT-4 e PT-5 (500 MHz, CD_3OD).	193

Figura A64	Expansão do espectro de RMN de ^1H da mistura dos compostos PT-4 e PT-5 (500 MHz, CD_3OD).	194
Figura A65	Espectro de RMN de ^{13}C da mistura dos compostos PT-4 e PT-5 (125 MHz, CD_3OD).	195
Figura A66	Expansão do espectro de RMN de ^{13}C da mistura dos compostos PT-4 e PT-5 (125 MHz, CD_3OD).	196
Figura A67	Expansão do espectro de RMN de ^{13}C da mistura dos compostos PT-4 e PT-5 (125 MHz, CD_3OD).	197
Figura A68	Expansão do espectro de RMN de ^{13}C da mistura dos compostos PT-4 e PT-5 (125 MHz, CD_3OD).	198
Figura A69	Mapa de correlação HSQC da mistura dos compostos PT-4 e PT-5 (500 MHz, CD_3OD).	199
Figura A70	Expansões do mapa de correlação HSQC da mistura dos compostos PT-4 e PT-5 (500 MHz, CD_3OD).	200
Figura A71	Expansões do mapa de correlação HSQC da mistura dos compostos PT-4 e PT-5 (500 MHz, CD_3OD).	201
Figura A72	Mapa de correlação HMBC da mistura dos compostos PT-4 e PT-5 (500 MHz, CD_3OD).	202
Figura A73	Expansão do mapa de correlação HMBC da mistura dos compostos e PT-5 (500 MHz, CD_3OD).	203
Figura A74	Expansão do mapa de correlação HMBC da mistura dos compostos PT-4 e PT-5 (500 MHz, CD_3OD).	204
Figura A75	Expansão do mapa de correlação HMBC da mistura dos compostos PT-4 e PT-5 (500 MHz, CD_3OD).	205
Figura A76	Mapa de correlação COSY da mistura de PT-4 e PT-5 (500 MHz, CD_3OD).	206
Figura A77	Expansão do mapa de correlação COSY da mistura de PT-4 e PT-5 (500 MHz, CD_3OD).	207
Figura A78	Espectro de RMN de ^1H do composto PT-6 (500 MHz, CD_3OD).	208
Figura A79	Expansões do espectro de RMN de ^1H do composto PT-6 (500 MHz, CD_3OD).	209
Figura A80	Espectro de RMN de ^{13}C de PT-6 (125 MHz, CD_3OD).	210
Figura A81	Mapa de correlação HSQC do composto PT-6 (500 MHz, CD_3OD).	211
Figura A82	Mapa de correlação HMBC de PT-6 (500 MHz, CD_3OD).	212
Figura A83	Expansão do mapa de correlação HMBC de PT-6 (500 MHz, CD_3OD).	213
Figura A84	Mapa de correlação COSY de PT-6 (500 MHz, CD_3OD).	214

Figura A85	Espectro de RMN de ^1H do composto PT-1 (500 MHz, CDCl_3).	215
Figura A86	Espectro de RMN de ^{13}C do composto PT-1 (125 MHz, CDCl_3).	216
Figura A87	Mapa de correlação HSQC de PT-1 (500 MHz, CDCl_3).	217
Figura A88	Mapa de correlação HMBC do composto PT-1 (500 MHz, CDCl_3).	213

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Fórmulas estruturais dos flavonoides isolados de <i>Psychotria</i> .	15
Tabela 2	As subfrações coletadas na purificação da fração AcOEt por CLAE preparativa.	43
Tabela 3	As amostras e as concentrações usadas nos testes de toxicidade rápida frente a bactéria <i>E. coli</i> .	50
Tabela 4	Rendimento dos extratos brutos etanólicos.	55
Tabela 5	Rendimentos das frações obtidas por partição líquido-líquido dos extratos brutos	56
Tabela 6	Dados espectrais de RMN ^1H do composto CE-1 (500 MHz, DMSO- d_6) e referência consultada para a luteolina.	65
Tabela 7	Dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C dos compostos CE-2 e CE-3 (500, 125 MHz, DMSO- d_6).	71
Tabela 8	Dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C de CC-1 (500, 125 MHz, DMSO- d_6) e da referência consultada para comparação.	76
Tabela 9	Dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C de CC-2 (500, 125 MHz, CD_3OD) e da referência consultada.	80
Tabela 10	Dados espectrais de RMN de ^1H , ^{13}C , HMBC e COSY do composto CC-3 (500 e 125 MHz, CD_3OD).	83
Tabela 11	Dados espectrais de RMN de ^1H (500 MHz), ^{13}C (125 MHz) e HMBC do composto CC-4 (CD_3OD).	87
Tabela 12	Dados espectrais de RMN de ^1H (500 MHz), ^{13}C (125 MHz) e HMBC do composto PT-2 (DMSO- d_6) e da referência consultada.	91
Tabela 13	Dados espectrais de RMN de ^1H , ^{13}C e HMBC do composto PT-3 (500, 125 MHz, DMSO- d_6) e da referência consultada.	96

Tabela 14	Dados de RMN de ^1H e ^{13}C do composto PT-4 (500, 125 MHz, DMSO- d_6) e da referência consultada.	101
Tabela 15	Dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C do composto PT-5 (500, 125 MHz, DMSO- d_6) e da referência consultada.	102
Tabela 16	Dados espectrais de RMN de ^1H , ^{13}C , HMBC e COSY do composto PT-6 (500, 125 MHz, CD_3OD).	105
Tabela 17	Dados espectrais de RMN de ^1H (500 MHz), ^{13}C (125 MHz) e HMBC do composto PT-1 (CDCl_3) e da referência consultada.	108
Tabela 18	Atividade antioxidante (IC_{50} em $\mu\text{g/mL}$) dos extratos etanólicos e frações das folhas de <i>C. espelina</i> , <i>C. citrullifolia</i> , <i>C. weddelli</i> e <i>P. trichophora</i> usando o radical livre DPPH*.	110
Tabela 19	Inibição da viabilidade celular do sarcoma 180 para os extratos e frações das folhas de <i>C. espelina</i> , <i>C. weddelli</i> e <i>P. trichophora</i> .	112

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AcOEt	Acetato de etila
ACN	Acetonitrila
HAc	Ácido acético
ATFA	Ácido trifluoracético
All	Alose
ATCC	<i>American Type Culture Colletion</i>
FIA	Análise por Injeção em Fluxo
Api	Apiose
COSY	<i>¹H-¹H Correlation Spectroscopy</i>
CHCl ₃	Clorofórmio
CDCl ₃	Clorofórmio deuterado
MIC	Concentração inibitória mínima
<i>J</i>	Constante de Acoplamento
CCD	Cromatografia em camada delgada
CC	Cromatografia em coluna
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
CLV	Cromatografia líquida sob vácuo
δ _C	Deslocamento químico de carbono
δ _H	Deslocamento químico de hidrogênio
DMSO- <i>d</i> ₆	Dimetil sulfóxido hexadeuterado
DPPH	2,2-difenil-1-picrilidrazila
DAD	<i>Diodo array detector</i>

DEPT	<i>Distortionless Enhancement by Polarization Transfer</i>
<i>d</i>	Dupleto
<i>dd</i>	Duplo dupleto
EEJBB	Estação Ecológica Jardim Botânico de Brasília
Fr.	Fração
glc	Glicose
CAY	<i>Herbier de Guyane</i>
HMBC	<i>Heteronuclear Multiple Bond Correlation</i>
HSQC	<i>Heteronuclear Single Quantum Coherence</i>
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ICB	Instituto de Ciências Biológicas
Lit.	Literatura
MHz	Megahertz
CD_3OD	Metanol tetradeuterado
μm	micrômetro
MOBOT	<i>Missouri Botanical Garden</i>
<i>m</i>	Multipleto
<i>n</i> -BuOH	<i>n</i> -butanol
ppm	Parte por milhão
PTFE	Politetrafluoretileno
Pf.	Ponto de fusão
PRPG	Pró-Reitoria de Pós-Graduação
Rha	Ramnose
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
sl	Simpleto alargado
Sf.	Subfração
tr.	Tempo de retenção
TMS	Tetrametilsilano
TOSCY	Total Correlation Spectroscopy
UV	Ultravioleta
UFG	Universidade Federal de Goiás

RESUMO

O presente trabalho descreve o estudo químico e, paralelamente, a investigação das atividades antioxidante e antimicrobiana de quatro espécies medicinais do Cerrado goiano, *Cayaponia espelina* (Silva Manso) Cogn., *C. citrullifolia* (Griseb.) Cogn., *C. weddellii* (Naudin) Gomes-Klein (Cucurbitaceae) e *Psychotria trichophora* Müll. Arg. (Rubiaceae). O estudo dos extratos etanólicos das espécies citadas conduziu ao isolamento de metabólitos secundários de diversas classes, sendo vários bioativos. O estudo da fração acetato de etila das folhas de *C. espelina* e das frações *n*-butanólica e hidrometanólica de *C. citrullifolia* viabilizou o isolamento e elucidação estrutural de sete compostos: luteolina (**CE-1**), luteolina 4'-O- β -D-glicopiranosídeo (**CE-2**), luteolina 7-O- β -D-glicopiranosídeo (**CE-3**), canferol 3,7-di-O- α -L-ramnopiranosídeo (**CC-1**), benzil-O- β -D-xilopiranosil-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glicopiranosídeo (**CC-4**), ácido β -O-glucosilsalicílico (**CC-3**) e vicienina-2 (**CC-2**). Com exceção da vicienina-2, todos os outros compostos estão sendo relatados pela primeira vez no gênero *Cayaponia*. O estudo da fração acetato de etila das folhas de *C. weddellii* levou aos mesmos glicosídeos (**CE-2** e **CE-3**) relatados em *C. espelina*. A quarta espécie investigada neste trabalho foi *P. trichophora*. O estudo químico da fração acetato de etila das folhas propiciou o isolamento e elucidação estrutural de seis compostos: cameliásídeo B (**PT-3**), canferol-3-O- $\{\beta$ -D-xilopiranosil-(1 $\rightarrow$ 2)- $[\alpha$ -L-raminopiranosil-(1 $\rightarrow$ 6)] $\}$ - β -D-galactopiranosídeo (**PT-4**), canferol-3-O- $[\beta$ -D-xilopiranosil-(1 $\rightarrow$ 3)- α -L-raminopiranosil-(1 $\rightarrow$ 6)]- β -D-galactopiranosídeo (**PT-5**), canferol-3-O- β -D-robinosídeo (**PT-2**) e ácido 5-*p*-coumaroilquínico (**PT-6**). Nas raízes foi identificada a cumarina escopoletina (**PT-1**). A elucidação estrutural dos compostos foi realizada através de análise espectroscópica, tais como IV e RMN de ^1H e ^{13}C , experimentos uni e bidimensionais. Os flavonoides **PT-4** e **PT-5** estão sendo descritos pela primeira vez em Rubiaceae, isolados anteriormente apenas nas famílias Fabaceae e Leguminosae. Análises em CCDA das frações oriundas da extração ácido/base das folhas de *P. trichophora* não apresentaram reação positiva para alcaloides com o reagente Dragendorff. Testes preliminares com a *Escherichia coli* revelaram o potencial farmacológico da fração acetato de etila das folhas de *C. espelina*, com 74 % de inibição de crescimento bacteriano, na concentração de 82 $\mu\text{g/mL}$. Esta fração também exibiu forte atividade antioxidante, com IC_{50} de $5,40 \pm 0,16 \mu\text{g/mL}$, comparável ao antioxidante comercial ácido ascórbico. Os extratos brutos etanólicos de *C. espelina* e *C. weddellii* foram os mais promissores como antioxidantes, com IC_{50} de $13,21 \pm 0,31$ e $13,14 \pm 0,57 \mu\text{g/mL}$, respectivamente. Em bioensaios preliminares com a linhagem tumoral Sarcoma 180, todas as amostras testadas exibiram baixa atividade, apesar da descrição na literatura de atividade antitumoral para os flavonoides isolados.

Palavras chave: *Cayaponia*, *Psychotria*, flavonoides.

ABSTRACT

This work describes the chemical evaluation and, in parallel, the investigation of antioxidant and antimicrobial activity of four medicinal species of Brazilian Cerrado, *Cayaponia espelina* (Silva Manso) Cogn., *C. citrullifolia* (Griseb.) Cogn., *C. weddellii* (Naudin) Gomes-Klein (Cucurbitaceae) and *Psychotria trichophora* Müll. Arg. (Rubiaceae). The study of ethanol extracts of the species mentioned above led to the isolation of several classes of secondary metabolites, many of them presenting biological activity. Evaluation of ethyl acetate fractions of the leaves of *C. espelina* and *n*-butanol and hydromethanol fractions of *C. citrullifolia* led to the isolation and structural elucidation of seven compounds: luteolin (**CE-1**), luteolin 4'-*O*-glucoside (**CE-2**), luteolin 7-*O*-glucoside (**CE-3**), kaempferol 3,7-*O*- α -L-dirhamnoside (**CC-1**), benzyl-*O*- β -D-xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranoside (**CC-4**), salicylic acid 2-*O*- β -glucopyranoside (**CC-3**) and vicenin-2 (**CC-2**). The glucosides **CE-2** and **CE-3** found in *C. espelina* were also found in ethyl acetate fraction from *C. weddellii* leaves, indicating that there might be a chemical similarity between these species. The fourth species investigated in this study was *P. trichophora* and the chemical study of ethyl acetate fraction of its leaves led to the isolation and structural elucidation of six compounds: camelliaside B (**PT-3**), kaempferol-3-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)-[β -D-xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)]- β -D-galactopyranoside (**PT-4**), kaempferol-3-*O*-[β -D-xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)]- β -D-galactopyranoside (**PT-5**), kaempferol-3-*O*-robinoside (**PT-2**) and 3-*O*-*p*-coumaroylquinic acid (**PT-6**). Coumarin scopoletin (**PT-1**) were identified from its roots. Structural identification of compounds was performed by spectroscopic analysis including IR and ^1H and ^{13}C NMR, in one-and two-dimensions. Flavonoids **PT-4** and **PT-5**, previously isolated in the Fabaceae and Leguminosae families, were described for the first time in Rubiaceae. Furthermore, CCDA analysis of acid-base fractions obtained from *P. trichophora* leaves did not result positive for alkaloids against the Dragendorff reagent. Preliminary tests in *Escherichia coli* showed that the ethyl acetate fraction from *C. espelina* presents pharmacological potential, inhibiting 74 % of bacterial growth at a 82 $\mu\text{g/mL}$ concentration. This fraction also exhibited strong antioxidant activity, with IC_{50} value of $5.40 \pm 0.16 \mu\text{g/mL}$, being comparable to that of the commercial antioxidant, ascorbic acid. Extracts from *C. espelina* and *C. weddellii* were the most promising antioxidants with IC_{50} values of 131 ± 0.31 and $13.14 \pm 0.57 \mu\text{g/mL}$, respectively. In preliminary bioassays against Sarcoma 180 tumor cell line, all tested samples presented low activity despite the literature data for antitumor activity of the isolated flavonoids.

1 Introdução

1 INTRODUÇÃO

As plantas são fonte primordial de medicamentos convencionais altamente eficazes no tratamento de muitas doenças. Entretanto os compostos naturais oriundos de plantas nem sempre são utilizados diretamente como fármacos, mas são moléculas que podem servir como protótipos para o desenvolvimento de novos medicamentos. Com as novas tecnologias de liberação de fármacos, mesmo as moléculas altamente citotóxicas podem agir em locais específicos, evitando seus efeitos colaterais tóxicos sobre tecidos normais. Além disso a identificação de novas proteínas com efeitos importantes sobre a regulação do ciclo celular e progressão dos tumores, as moléculas isoladas de plantas e de outras fontes naturais estão provando ser uma importante fonte de novos inibidores da ação dessas proteínas (CRAGG *et al.*, 2005).

Segundo Newman e Cragg (2012), que analisaram os agentes terapêuticos aprovados, em todo o mundo, nos últimos 30 anos (1981 a 2010), das novas entidades químicas aprovadas, 29% foram obtidas de origem natural. Citam ainda que, dos medicamentos anticancerígenos, 48,6% foram obtidos a partir de produtos naturais ou diretamente derivados destes, e dos medicamentos aprovados para tratamento de infecções provocadas por bactérias, fungos, parasitas e vírus, 33,7% são obtidos a partir de fontes naturais. Esta constatação mostra como os produtos naturais são fonte expressiva para a obtenção de medicamentos e que foram e ainda são valorizados como fonte de protótipos para a descoberta de novos fármacos.

A investigação química e biológica de plantas medicinais se constitui em uma estratégia de desenvolvimento e proteção da diversidade vegetal brasileira, principalmente, o estudo de espécies pertencentes ao Cerrado e à Mata Atlântica, pois estas áreas foram reconhecidas como aquelas de maior risco de extinção, o que reforça a importância de pesquisadores no sentido de estudarem esses ecossistemas (MYERS *et al.*, 2000). O Cerrado é a segunda maior zona de vegetação do país, cobrindo aproximadamente 23% da superfície total do território e situa-se em regiões de maior desenvolvimento do Brasil central, sendo natural que as espécies que compõem este bioma exerçam forte influência na medicina popular. Além do mais, para a maior parte das espécies brasileiras, não há estudos químicos e/ou biológicos e constitui, portanto, um potencial a ser investigado com vistas à identificação de novos fármacos.

O grupo de Produtos Naturais do Instituto de Química (IQ-UFG), em colaboração com pesquisadores do ICB/UFG, IPTSP/UFG, FF/UFG e DQ/UEM, buscam consolidar linhas de pesquisa voltadas para o estudo das Plantas Medicinais do Cerrado. O intuito é ampliar o estudo químico-biológico de um número significativo de espécies, qualificando a utilização das mesmas. Desta forma, o estudo da flora goiana, em especial, de espécies das famílias Cucurbitaceae e Rubiaceae, conhecidas como fonte de compostos bioativos, torna-se importante e estratégico na busca de modelos estruturais para o avanço da química medicinal.

Entre os gêneros selecionados para estudo, *Psychotria* e o *Cayaponia* demonstraram especial interesse biológico por acumularem metabólitos especiais com forte atividade antioxidante, antitumoral, antibacteriana, anti-inflamatória, sedativa, entre outras (KONOSHIMA *et al.*, 1995; TRUITI *et al.*, 2006; ESCANDELL *et al.*, 2006). Portanto, a análise química e, paralelamente, a investigação de atividade biológica de espécies dessas famílias podem conduzir a metabólitos secundários e/ou frações com atividade biológica ou mesmo a compostos estruturalmente relacionados e que apresentam maior atividade e/ou menor toxicidade.

1.1. Família Cucurbitaceae Juss.

A família foi incluída no clado *Cucurbitales* juntamente com Begoniaceae C. Agardh, Coriariaceae DC., Corynocarpaceae Engler, Datisceae Dumortier, Anisophylleaceae Ridley e Tetramelaceae Airy Shaw (ZHANG *et al.* 2006), porém

segundo Schaefer e Renner (2011), a família Apodanthaceae Tiegh & Takht também foi incluída em tal táxon e, de acordo com informações apresentadas no site do Missouri Botanical Garden - MOBOT (2013), também, estão incluídas as seguintes, famílias: Bryoniaceae G. May, Cyclantheraceae Lilja, Nhandirobaceae T. Lestib., Polygonanthaceae Croizat e Zanoniaceae Dumort; sendo que esse último táxon é considerado inválido por Schaefer e Renner (2011).

A família Cucurbitaceae apresenta entre 950 e 980 espécies, distribuídas em 95 gêneros, com maior diversidade nas regiões tropicais e subtropicais, em especial, no sul da Ásia, oeste da África, Madagascar e México (SCHAEFER; RENNER, 2011). No Brasil, há registros de 30 gêneros e cerca de 150 espécies distribuídas em todas as regiões e em diferentes domínios (GOMES-KLEIN *et al.*, 2015).

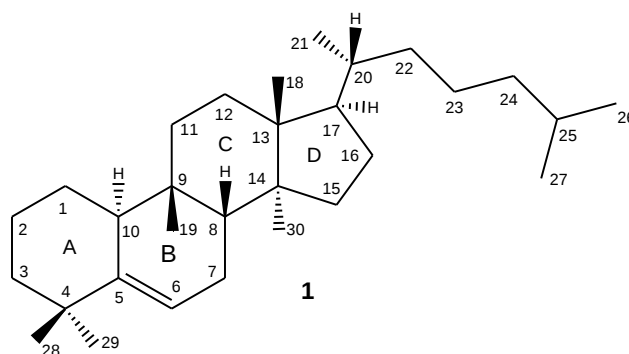
As plantas são comumente escandentes, com folhas de venação palmada e lâmina foliar frequentemente simples-lobada a composta, em geral, com gavinhas ao lado da base do pecíolo. Flores unissexuais, geralmente, actinomórficas, pentâmeras, hipanto presente, sépalas unidas pela base, pétalas soldadas ou livres; flores estaminadas com 1 a 5 estames, com anteras variáveis na forma e quantidade de tecas (uma ou duas); as pistiladas com ovário ínfero, unilocular à plurilocular, 1 a 3 estiletes, e óvulos 1-numerosos. Frutos em geral bagas (NEE, 2007; GOMES-KLEIN *et al.* 2010).

Esta família tem grande importância na economia mundial, visto que muitas de suas espécies são plantas alimentícias de grande relevância na agricultura, como no caso das abóboras (*Cucurbita maxima* Duch. e *C. foetidissima* Kunth), da moranga (*C. pepo* L.), do pepino (*Cucumis sativus* L.), da melancia (*Citrullus lanatus* (Theinb.) Matsum & Nakai), do melão (*C. melo* L.), do chuchu (*Sechium edule* Duch) (KOCYAN *et al.*, 2007), entre outras. Além disso, diversas espécies são utilizadas na medicina popular, destacando-se as espécies dos gêneros *Trichosanthes* L., *Lagenaria* Ser., *Luffa* Mill., *Benincasa* Savi, *Momordica* L., *Cucumis* L., *Citrullus* Schrad. ex Eckl. & Zeyh, *Cucurbita* L., *Bryonopsis* Arn., *Corallocarpus* Welw. ex Hook.f. (DHIMAN *et al.*, 2012). Como exemplo de espécies com potencial medicinal, têm-se *Wilbrandia ebracteata* Cogn. e *Cayaponia tayuya* (Vell.) Cogn., comercializadas como droga vegetal “taiuiá”, usadas na medicina popular como anti-inflamatório e antirreumático (AQUILA *et al.*, 2009).

Estudos fitoquímicos de Cucurbitaceae revelaram a presença de metabólitos secundários tais como, ácidos graxos (SHI *et al.*, 2002; JIN; LEE, 2012), esteroides

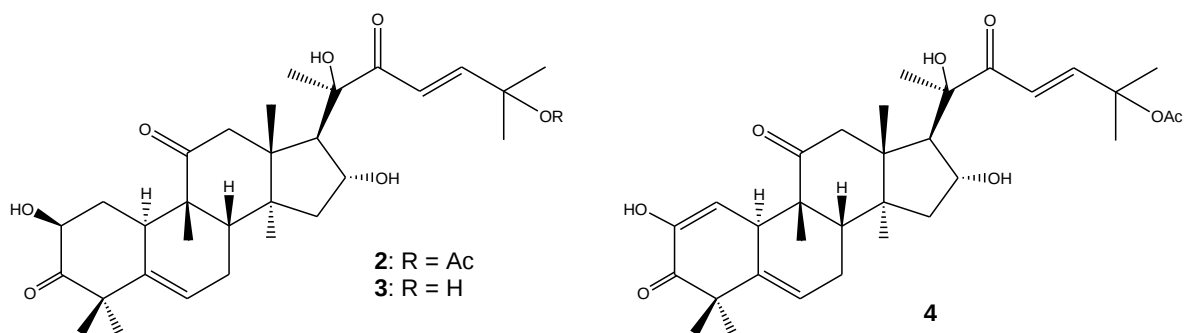
(LIU *et al.*, 2009; XU *et al.*, 2012), saponinas, flavonoides (JIN; LEE, 2012; XU *et al.*, 2012) e cucurbitacinas (LIU *et al.*, 2009; JIN; LEE, 2012; MALLIKADEVI *et al.*, 2012).

De modo geral, os componentes majoritários de espécies da família Cucurbitaceae são as cucurbitacinas, triterpenos tetracíclicos altamente oxigenados de esqueleto incomum 19-(10→9β)-abeo-10α-lanost-5-eno (**1**), que podem ser encontrados livres (agliconas) ou glicosilados. Esses compostos apresentam alta diversidade estrutural devido a modificações na cadeia lateral, às funcionalidades do anel A e a fatores estereoquímicos (CHEN *et al.*, 2005). Nas plantas, as cucurbitacinas são geralmente encontradas em maior quantidade nas raízes, seguidas pelos frutos, cotilédones, folhas e sementes (MACEDO *et al.*, 2007).

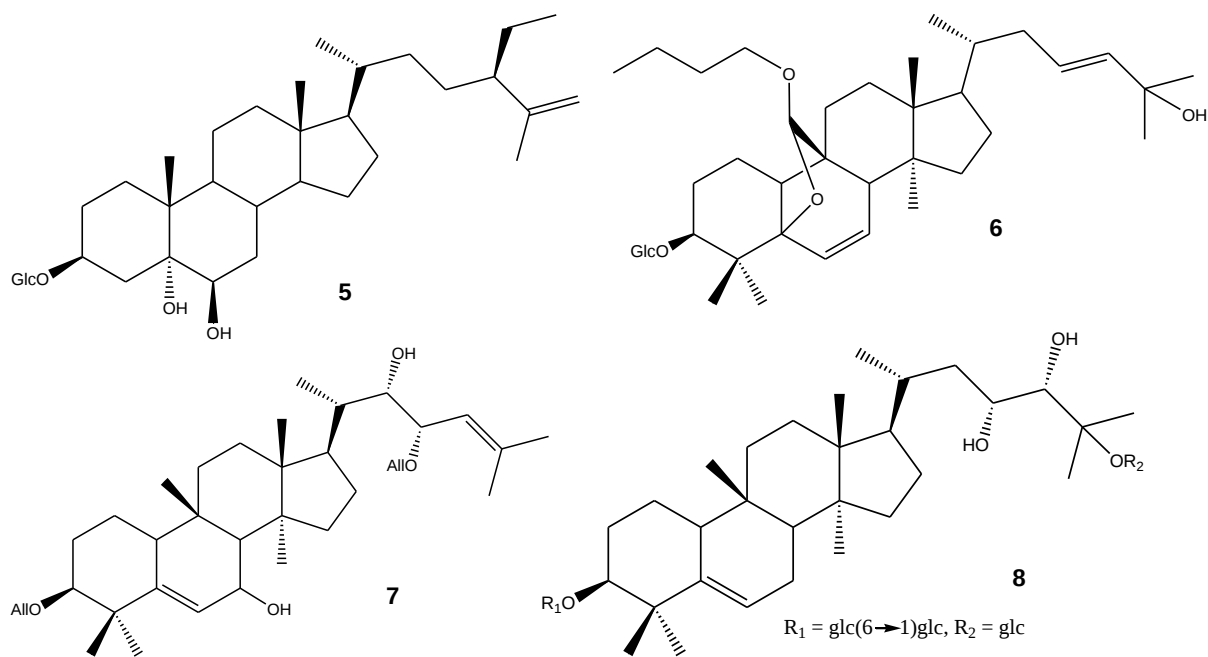


O grande interesse farmacológico pelas cucurbitacinas e seus derivados glicosilados está relacionado principalmente à sua toxicidade e às diversas atividades biológicas apresentadas, tais como citotóxicas, antitumorais, anti-inflamatórias, antifertilidade, fagorrepelentes, antimicrobianas, apresentarem ação cardiovascular, hepatoprotetora e curativa, como as mais significativas (JAYAPRAKASAM *et al.*, 2002; VALENTE, 2004; CHAVES *et al.*, 2005; CHEN *et al.*, 2005).

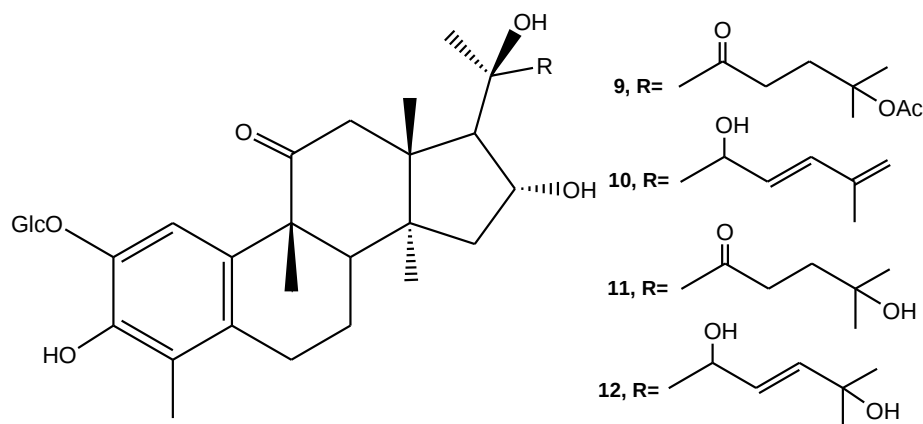
As cucurbitacinas B (**2**), D (**3**) e E (**4**) isoladas dos frutos de *Cucurbita andreana* L. mostraram significativa citotoxicidade a células tumorais de cólon humano (HCT-116), com 81,5; 80,4 e 77% de inibição, respectivamente, na concentração de 0,4 μM. Cita-se ainda citotoxicidade a células tumorais de mama (MCF-7), pulmão (NCI-H460) e sistema nervoso central (SF-268) para o composto (**1**) (JAYAPRAKASAM *et al.*, 2002).



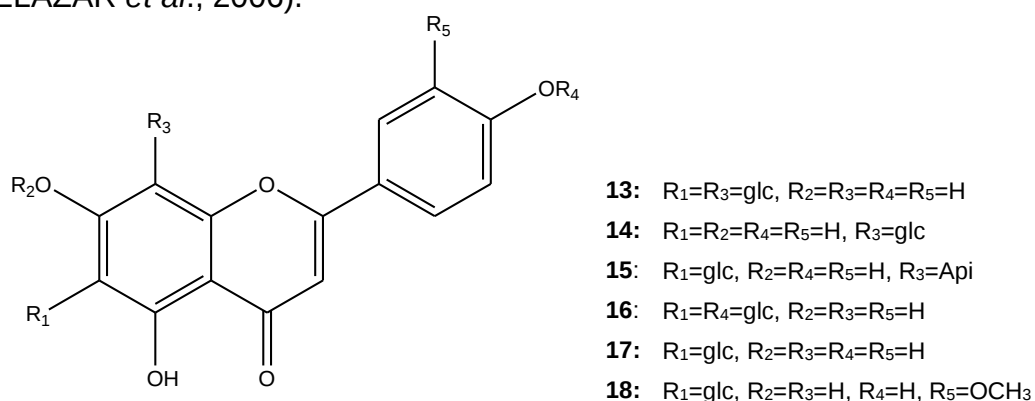
Dos compostos isolados dos frutos de *Momordica charantia* L., destaca-se um novo esteroide, 24(R)-estigmastan-3 β ,5 α ,6 β -triol-25-eno 3-O- β -glicopiranosídeo (**5**) e três cucurbitacinas inéditas, 19 (R)-n-butanoxi-5 β ,19-epoxicucurbita-6,23-dieno-3 β ,25-diol 3-O- β -glicopiranosídeo (**6**), 23-O- β -alopiranosil-cucurbita-5,24-dien-7 α ,3 β ,22(R),23(S)-tetraol-3-O- β -alopiranosídeo (**7**) e 3-O-[[β -glicopiranosil-(1 $\rightarrow$ 6)]-O- β -glicopiranosil]-25-O- β -glicopiranosídeo (**8**) (LIU *et al.*, 2009).



Até o momento várias cucurbitacinas foram isoladas, incluindo algumas com modificações estruturais como as nor-cucurbitacinas glicosiladas, cayaponosídeos A (**9**), B (**10**), C (**11**) e D (**12**), presentes nas raízes de *C. tayuya* (HIMENO *et al.* 1992).

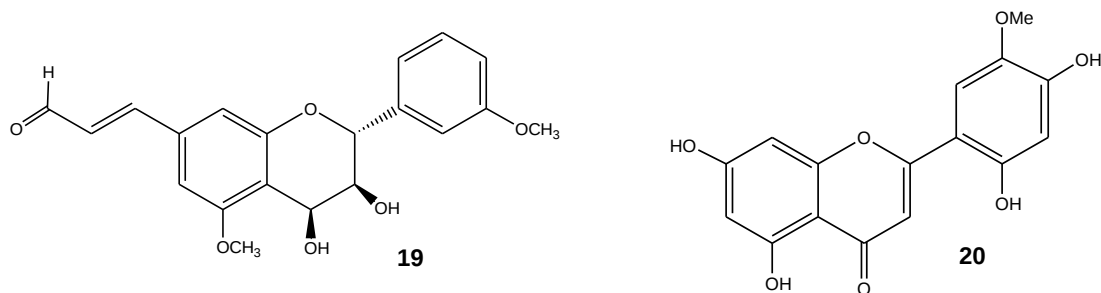


Os flavonoides, em especial, os C-glicosilados são relatados em algumas Cucurbitaceas, a exemplo de *Bryonia dioica* Jacq., *B. alba* L., *Cucumis melo* L., *Lagenaria siceraria* (Molina) Standl. e *W. ebracteata* (BARANOWSKA *et al.*, 2001). Destacam-se as flavonas C-glicosiladas: vicianina-2 (**13**), vitexina (**14**) apigenina 6-C- β -D-apiofuranosídeo (**15**), isoladas das partes aéreas de *S. edule* (chuchu) (SICILIANO *et al.*, 2004). De *Citrullus colocynthis* (L.) Schrad, planta medicinal usada no tratamento de constipação, edema, infecções bacterianas, câncer, diabetes e como abortiva, foi isolado as flavonas isosaponarina (**16**), isovitexina (**17**) e isoorientina-3'-O-Me éter (**18**), as quais exibiram alto potencial antioxidante (DELAZAR *et al.*, 2006).



Dos frutos da planta medicinal chinesa *Siraitia grosvenorii* Swingle (SG), foram isolados os flavonóis derivados do canferol: 7-O-L-raminopiranosídeo e 3,7-di-O-L-raminopiranosídeo, além do novo flavandioli, siraitiflavandioli (**19**) (JIN; LEE,

2012). A 5,7,2',4'-tetraidroxi-5'-metoxiflavona (**20**), isolada das sementes de *Trichosanthes kirilowi* Maxim, revelou atividade frente à linhagem tumoral de câncer de pulmão (A549) e para dois tipos de melanomas (SK-Mel-2 e B16F1), com IC₅₀ de 0,92, 8,00 e 7,23 µg/mL, respectivamente (RAHMAN *et al.*, 2007).



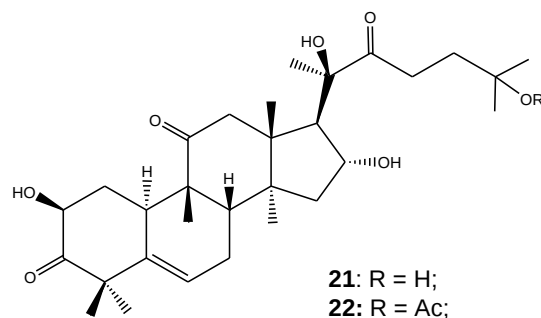
1.1.2. Gênero *Cayaponia* Silva Manso

O gênero *Cayaponia* constitui um dos mais vastos dentro da família Cucurbitaceae, com aproximadamente 60 espécies, distribuídas principalmente nos países da América do Sul e com apenas uma espécie na África e Madagascar (BARTH *et al.*, 2005). No Brasil são encontradas aproximadamente 47 espécies, sendo 20 restritas ao território nacional. As espécies estão presentes, em grande parte, na região Amazônica e Mata Atlântica. Alguns táxons apresentam um padrão de distribuição geográfica bastante amplo, como *C. cruegeri* (Naudin) Cogn., *C. espelina*, *C. podantha* Cogn., *C. tayuya*, ocorrendo em diversos estados brasileiros, enquanto outros exibem distribuição restrita, como *C. amazonica* (Poep. & Endl.) Cogn., *C. cogniauxiana* Gomes-Klein, *C. caulobotrys* C. Jeffrey, *C. coriacea* Cogn., *C. duckei* Harms, *C. granatensis* Cogn. e *C. triangularis* (Cogn.) Cogn. (GOMES-KLEIN; PIRANI, 2000).

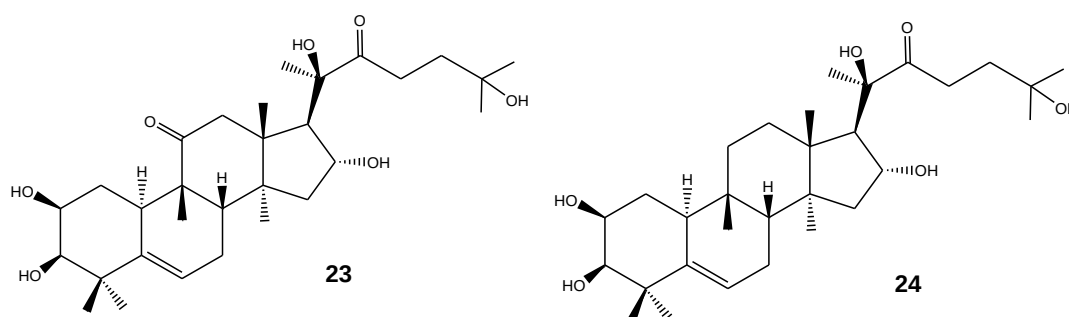
Do ponto de vista fitoquímico, apenas oito espécies de *Cayaponia* foram investigadas até o momento, sendo elas, *C. racemosa* (Mill.) Cogn., *C. angustiloba* (Cogn.) Cogn., *C. hirsuta* Cogn., *C. grandifolia* (Torr. et A. Gray) Small., *C. africana* (Hook. F.) Exell., *C. podantha*, *C. cabocla* (Vell.) Mart. e *C. tayuya*. Para este gênero são relatados os metabólitos secundários: ácidos graxos, flavonoides e cucurbitacinas. As cucurbitacinas estão presentes em seis espécies, menos em *C. grandifolia* e *C. africana*. Nessas espécies, relata-se a presença do ácido 9Z, 11E, 13Z-octadecatrienoico, conhecido como ácido punicício (HOPKINS *et al.*, 1969).

A espécie *C. tayuya* registrada, na Farmacopeia Brasileira (1926), como a droga vegetal “taiuiá”, é a planta mais estudada do gênero sob o ponto de vista químico e/ou farmacológico. Sua raiz é muito usada na medicina popular no Brasil,

Peru e Colômbia no tratamento de diversas patologias, incluindo doenças de pele, artrite, reumatismo, antitumoral, antiviral e anti-inflamatória (ESCANDELL *et al.*, 2006, KONOSHIMA *et al.*, 1995). Das raízes desta planta já foram isoladas e identificadas mais de 30 cucurbitacinas, sendo várias bioativas, como a cucurbitacina R (**21**) e 23,24-diidroccucurbitacina B (**22**), para as quais relatam atividade anti-inflamatória em experimentos que incluem inflamações aguda, sistêmica, tópica, dermatológica e artrítica (ESCANDELL *et al.*, 2007), além de atividade antialérgica (ESCANDELL *et al.*, 2008).

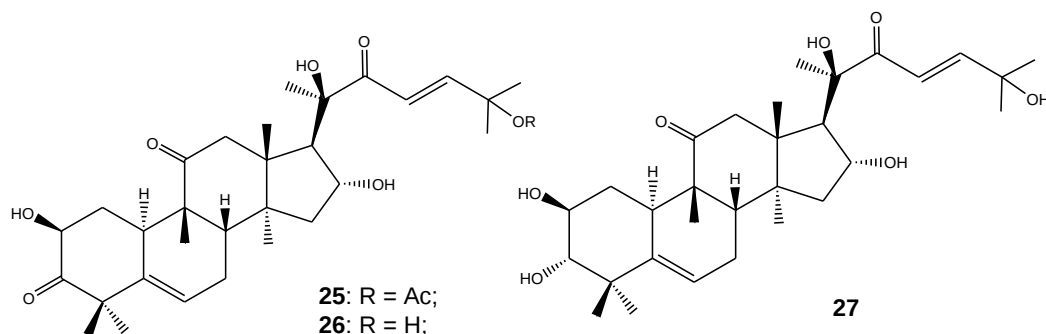


A investigação química dos frutos de *C. racemosa*, espécie medicinal usada no tratamento de câncer, resultou no isolamento das cucurbitacinas P (**23**) e 2,3,16,20(R)-25-pentaidroxi-22-oxocucurbita-5-eno (**24**), ambas revelaram significativa citotoxicidade *in vitro*, em células tumorais de cólon humano, de mama, melanoma e leucêmica. O composto **24** apresentou também moderada atividade anticancerígena *in vivo*, em modelo de Sarcoma 180 (DANTAS *et al.*, 2007, MILITÃO *et al.*, 2012).

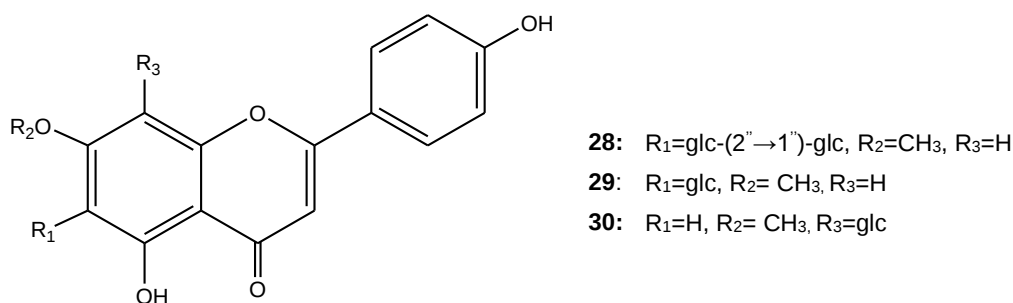


Da raiz de *C. angustiloba* e dos frutos de *C. racemosa*, foram isoladas as cucurbitacinas B (**25**), D (**26**), F (**27**) e as diidroccucurbitacinas D e F (JACOBS; SINGH, 1990). Os compostos (**25**) e (**26**) apresentaram inibição da proliferação celular de câncer de pulmão (H-460) em 96% e 43% (0,1 μ M), de cólon humano em 80,4% e 80,4% (0,4 μ M), de mama (MCF-7), 87% e 78% (0,4 μ M) e do sistema

nervoso central (SF-268) em 92% e 25% (0,05 μ M), respectivamente, e também para o carcinoma epidermoide de cavidade bucal (CHEN *et al.*, 2005; JAYAPRAKASAM *et al.*, 2003).



No gênero *Cayaponia*, os únicos flavonoides encontrados, até o momento, foram as flavonas C-glicosiladas: vicienina-2 (**13**), isovitexina (**16**), spinosina (**28**), swertisina (**29**) e isoswertisina (**30**), isolados da raiz de *C. tayuya*. O estudo da atividade biológica da fração butanólica, contendo os compostos supracitados, detectou pronunciada ação anti-inflamatória *in vivo* com inibição da expressão de ambos, COX-2 e iNOS (óxido nítrico-sintase induzida), evidenciando que ação anti-inflamatória de *C. tayuya* pode estar associada também com a presença de flavonoides, e não apenas com as cucurbitacinas (AQUILA *et al.*, 2009).



1.2. Família Rubiaceae Juss.

A família Rubiaceae é a quarta maior família em número de espécies das angiospermas, ficando atrás apenas de Orchidaceae, Asteraceae e Leguminosae (PIETROBOM *et al.*, 2011). Esta família possui cerca de 650 gêneros e aproximadamente 13 mil espécies, com distribuição cosmopolita, predominantemente, pantropical, com poucas espécies extratropicais (DELPRETE;

JARDIM, 2012). A maioria dos representantes desta família são árvores, arvoretas, arbustos ou ervas, raramente lianas ou epífitas (TAYLOR *et al.*, 2007). No Brasil, esta família compreende aproximadamente 115 gêneros e mais de 1.600 espécies distribuídas em diferentes formações vegetais, com uma grande ocorrência na Amazônia, Floresta Atlântica e Cerrado (DELPRETE; JARDIM, 2012). Nesse último são encontrados principalmente espécies dos gêneros *Alibertia* Rich. Ex DC., *Psychotria* L., *Palicourea* Aubl. e *Tocoyena* Aubl. (CASTRO, 1999).

Estudos químicos de Rubiaceas demonstram uma diversidade de metabólitos secundários, entre os quais, incluem-se alcaloides (CARDOSO *et al.*, 2008); flavonoides, triterpenos (BARROS *et al.*, 2008) cumarinas (CHOZE *et al.*, 2010); saponinas, quinonas, lignoides, diterpenos, iridoides, antraquinonas, derivados fenólicos, entre outros. Vários metabólitos exibem importantes atividades biológicas, a exemplo da cafeína encontrada em *Coffea arabica* L., da quinina em *Cinchona pubescens* Vahl. e da emetina em *Psychotria ipecuanha* (Brot.) Stokes. Esses três compostos estão entre as 30 substâncias isoladas de plantas mais importantes para uso medicinal (GERLACH *et al.*, 2010). No Brasil, as plantas desta família são usadas popularmente e na fabricação de fitoterápicos, a exemplo da unha-de-gato, um fitoterápico formulado à base da entrecasca de *Uncaria tomentosa* (Wild.) DC, indicado como antiinflamatório (uso oral e tópico), nos casos de artrite reumatóide, osteoartrite e como imunoestimulante. Este medicamento está incluído na Relação Nacional de Medicamentos (RENAME), cuja última atualização foi estabelecida pela Portaria MS/GM nº. 533/2012 (RIECK, 2015).

1.2.1. Gênero *Psychotria* L.

O gênero *Psychotria* compreende cerca de 1800 espécies com ampla distribuição em regiões tropicais do mundo e raramente em regiões subtropicais. Estima-se que na América tropical estejam presentes aproximadamente 550 espécies (DELPRETE, 2010), sendo a maioria das espécies de hábito arbustivo, embora árvores, ervas, lianas e epífitas, também, são conhecidas (NEPOKROEFF *et al.*, 1999).

Este gênero é amplamente reconhecido por sua complexidade taxonômica, que pode ser atribuída não apenas ao grande número de espécies presentes no gênero e tribo, mas também pela falta de caracteres morfológicos disponíveis para delimitar os grupos, sendo que muitas características diagnósticas de *Psychotria* são

compartilhadas com espécies de outros gêneros, como, por exemplo, com *Palicourea* e *Cephaelis* Sw. (DELPRETE, 2010).

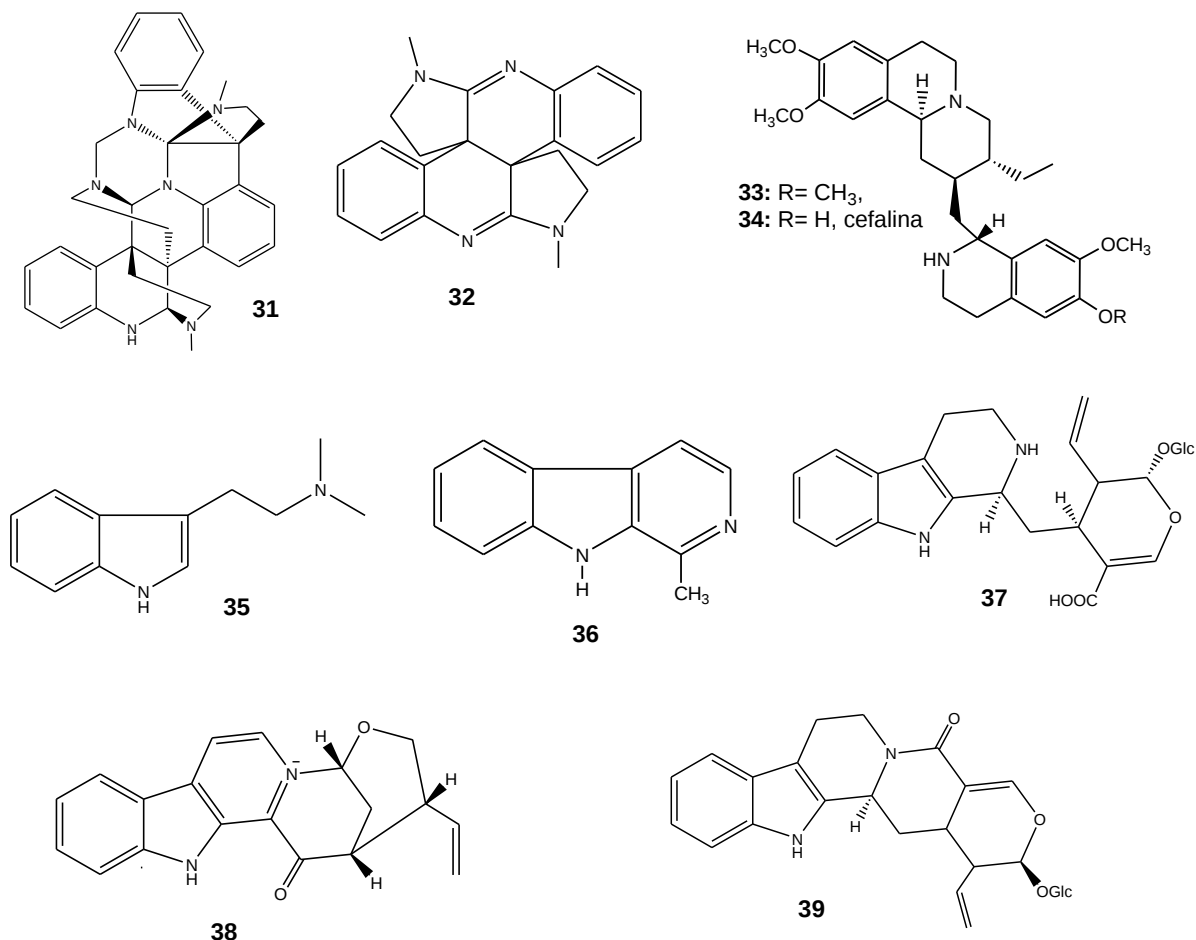
Com base em características morfológicas e distribuição geográfica das espécies, este gênero foi dividido em três subgêneros: *Psychotria* subg. *Tetramerae* (Hiern) R. Petit (espécies da África e Madagascar), *P.* subg. *Psychotria* L. (espécies pantropicais) e *P.* subg. *Heteropsychotria* Steyererm (espécies que ocorrem nas Américas, similares ao gênero neotropical, *Palicourea*) (LOPES *et al.*, 2004).

Na medicina popular, várias espécies de *Psychotria* são usadas, a exemplo de *P. colorata* (Willd. ex Roem. Schult.) Müll. Arg., utilizada pela população amazonense no tratamento de dores abdominais (raiz) e de ouvido (flores) (VEROTTA *et al.*, 1998); *P. carthaginensis* Jacq. e *P. viridis* Ruíz & Pavón, usadas como antiparasitária, emético e alucinógeno; *P. insularum* A. Gray utilizada no tratamento de cataratas, desordem abdominal e infecções (GERLACH *et al.*, 2010). Citam-se ainda outros usos terapêuticos para espécies de *Psychotria*, como no tratamento de infecções do sistema reprodutor feminino, bronquite, distúrbios gastrointestinais, irritações da pele, tumores, úlceras e distúrbios oculares (OLIVEIRA *et al.*, 2013).

De acordo com Klein-Junior *et al.* (2013), os principais metabólitos secundários isolados e identificados em *Psychotria* são alcaloides (60%), seguido por triterpenos (9%), ciclotídeos (5%), flavonoides (4%), esteroides (3%), quinonas (3%), norisoprenoides (3%), cumarinas (3%) e outras classes (10%).

Dentre os alcaloides, destacam-se os do tipo pirrolidinoindólico (**31**) (VEROTTA *et al.*, 1998; LI *et al.*, 2011), quinolínicos (**27**) (SOLIS *et al.*, 1997), isoquinolínicos (**32** e **33**) (TEIXEIRA, *et al.*, 2012), triptamina (**35**) (GERLACH *et al.*, 2010), indol β -carbolínico simples (**36**) ou indol β -carbolínico monoterpênico, a exemplo da psicolatina (**37**), principal alcaloide presente nas folhas de *P. umbelata* Tonn. Este alcaloide revelou ação analgésica suave, ansiolítica, antidepressiva, além de efeitos amnésicos em ratos (PASSOS *et al.*, 2013). Já o alcaloide N,N-dimetiltriptamina (**35**), encontrado em *P. viridis*, mostrou ação alucinógena. Enquanto que das raízes de *P. ipecacuanha* (Brot.) Stoves, planta conhecida como ipeca ou ipecacuanha, foram isolados dois valiosos alcaloides, a emetina (**33**) e a cefalina (**34**), usados no tratamento de diarreias, como amebicida, expectorante e anti-inflamatório (TEIXEIRA *et al.*, 2012). Os alcaloides β -carbolínicos, 14-oxoprunifoleína (**38**) e strictosamida (**39**), isolados de *P. prunifolia* (Kunth) Steyererm, uma planta endêmica do Cerrado goiano, inibiram as formas promastigotas de

Leishmania amazonenses, com IC₅₀ de 16,0 e 40,7 µg/mL, respectivamente (KATO *et al.*, 2012).

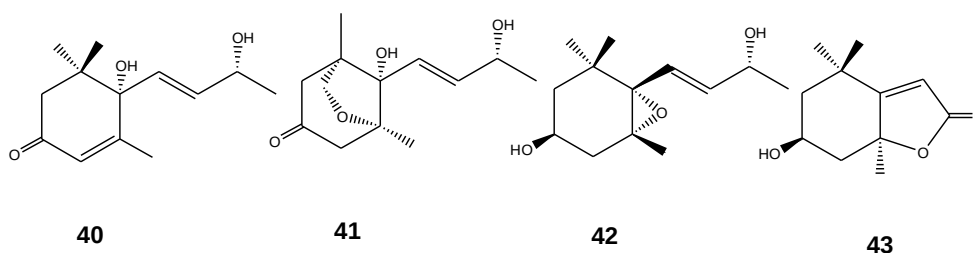


Estudos químicos com espécimes de *Psychotria* coletados no Brasil têm mostrado quase que exclusivamente a presença de alcaloides do tipo indol β -carbolínico monoterpênico, em especial, aqueles do subgênero *Heteropsychotria*, enquanto os alcaloides polindólicos foram encontrados, em sua maioria, em espécies do subgênero *Psychotria* (espécies pantropicais) (OLIVEIRA *et al.*, 2013).

Por outro lado, o estudo fitoquímico de algumas *Psychotrias* chinesas mostraram que as espécies que acumulam compostos fenólicos, como no caso de *P. hainanensis* H. L. Li e *P. serpens* L. (NISHIBE, 2002), não produzem alcaloides, ao contrário das espécies *P. correae* (Dwyer M.V.Hayden) C. M. Taylor, *P. colorata* e *P. henryi* Levl (LU *et al.*, 2014). Assim, os compostos fenólicos podem servir como um marcador químico de espécies de *Psychotria* desprovidas de alcaloides, corroborando a preposição de Tan e colaboradores (2012), que além dos alcaloides, outros metabólitos secundários devem ser usados como marcadores

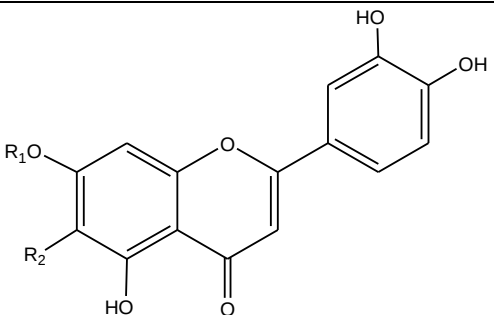
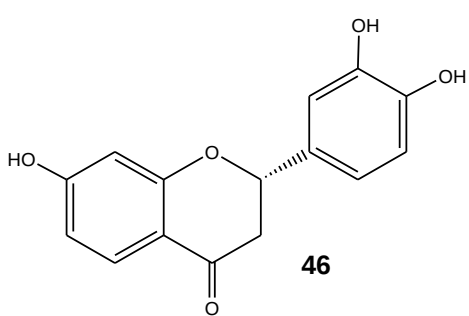
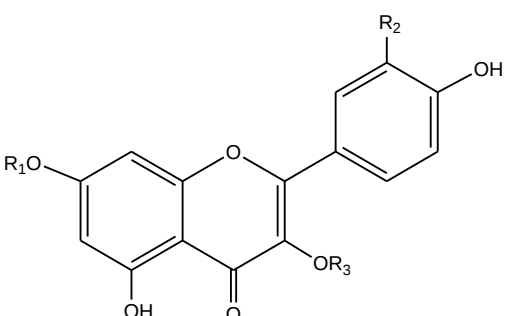
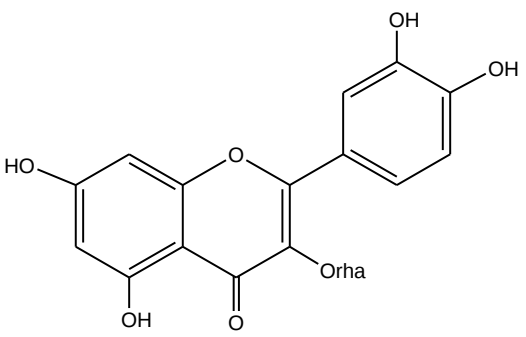
quimiotaxonômicos no gênero, especialmente para as espécies localizadas na região da Ásia-Pacífico.

Já os norisoprenoides (**40-43**) isolados da planta chinesa *P. yunnanensis* (LU *et al.*, 2014), em especial (**35**) e alguns análogos estruturais têm sido usados para identificar relações infragenéricas dentro do gênero, particularmente na atribuição de suas seções taxonômicas. Isso é bastante significativo, uma vez que a filogenia molecular de todo o gênero ainda não é conhecida (TAN *et al.*, 2012).



Um levantamento bibliográfico mostrou, até o momento, a ocorrência de apenas 8 flavonoides em *Psychotria*, distribuídos em 5 espécies, sendo 4 chinesas: *P. hainanensis*, *P. yunnanensis*, *P. serpens* (NISHIBE, 2002), *P. rubra* e uma brasileira, *P. spectabilis*. Foram encontradas 2 flavonas glicosiladas (**44** e **45**), 1 flavanona (**46**) e 5 flavonóis (**47-51**). Os resíduos de açúcar presentes são D-glicose e L-raminose. As fórmulas estruturais dos flavonoides (**44-51**) isolados de *Psychotria* estão elencadas na Tabela 1.

Tabela 1 - Fórmulas estruturais dos flavonoides isolados de *Psychotria*.

Flavonoide	Espécie/parte da planta	Referência bibliográfica
 44: R₁=rutenosídeo, R₂=OH 45: R₁=rutenosídeo, R₂=H	<i>P. rubra</i> /raiz	LU et al., 2014b.
 46	<i>P. yunnanensis</i> /parte aérea	LU et al., 2014a.
 47: R₁=R₃=H, R₂=OH: 48: R₁=H, R₂=OH, R₃=rutenosídeo, 49: R₁=glc, R₂=R₃=H, 50: R₁=R₂=H, R₃=rutenosídeo.	<i>P. hainanensis</i> /folhas	LI et al., 2011.
 51	<i>P. spectabilis</i> /folhas	BENEVIDES et al., 2004.

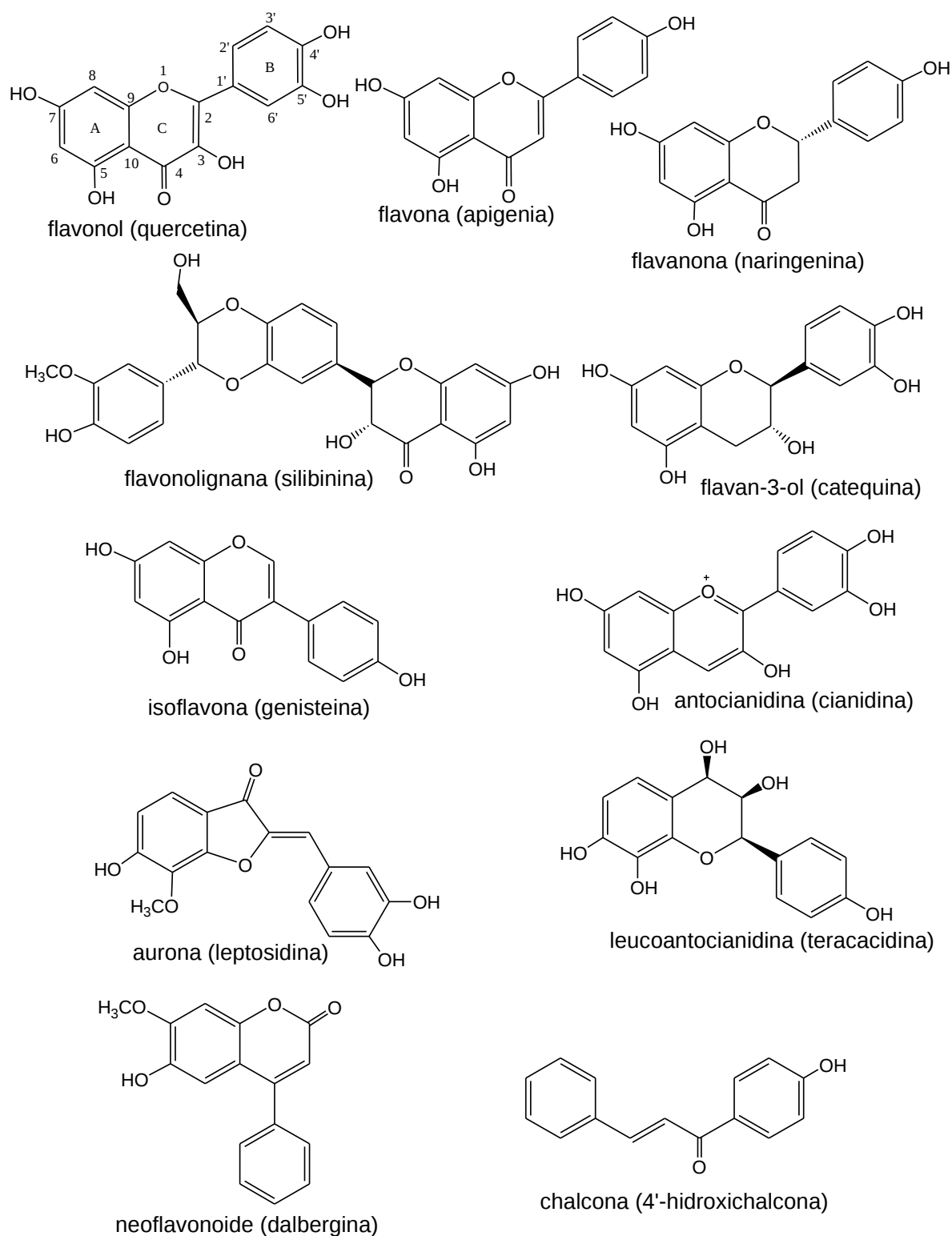
1.3. Flavonoides

Os flavonoides constituem a classe mais representativa e estruturalmente diversificada de compostos fenólicos, encontrados em plantas superiores. Atualmente, estão descritos mais de oito mil compostos (WENZEL, 2013). Naturalmente, os flavonoides são encontrados numa grande variedade de alimentos, como frutas, vegetais, sementes, flores e folhas e fazem parte integral da dieta humana. Os flavonoides têm se destacado por apresentar diversas atividades biológicas, tais como antioxidantes, anti-inflamatórios, antialérgicos, antivirais, antibacterianos, antifúngicos, antitumorais e antiemorrágicos (REYNERTSON *et al.*, 2005).

Esta classe engloba um grupo de compostos polifenólicos complexos e a grande maioria apresenta uma estrutura básica com 15 átomos de carbonos arranjados em dois anéis aromáticos (A e B) e um heterocíclico oxigenado (anel C) (Figura 2). Os flavonoides são classificados com base em suas estruturas químicas em flavonóis, flavonas, flavanonas, flavonolignanas, flavana, isoflavonas, antocianidinas, auronas, leucocianidinas, neoflavonoides e chalconas (SINGH *et al.*, 2014), como se ilustra na Figura 1. As diferenças individuais dentro de cada grupo resultam de uma variação no número e posição dos grupamentos hidroxilas, por modificações nos núcleos (especialmente, a saturação no anel C), e pelo grau de metilação e de glicosilação, os quais afetam várias propriedades dos flavonoides, especialmente a polaridade das moléculas.

Entre as flavonas e flavonóis, os compostos mais encontrados são aqueles com hidroxilas nas posições 3' e 4' do anel B e, em menor extensão, aqueles com apenas uma hidroxila na posição 4'. O sítio de glicosilação preferido dos flavonoides é a posição 3 e, menos frequente, a posição 7. Nos glicosídeos, a D-glicose é o carboidrato mais comum, mas outros açúcares também podem ser encontrados, como a D-xilose, D-galactose e L-raminose.

Figura 1 - Classificação dos flavonoides baseado em sua estrutura química.

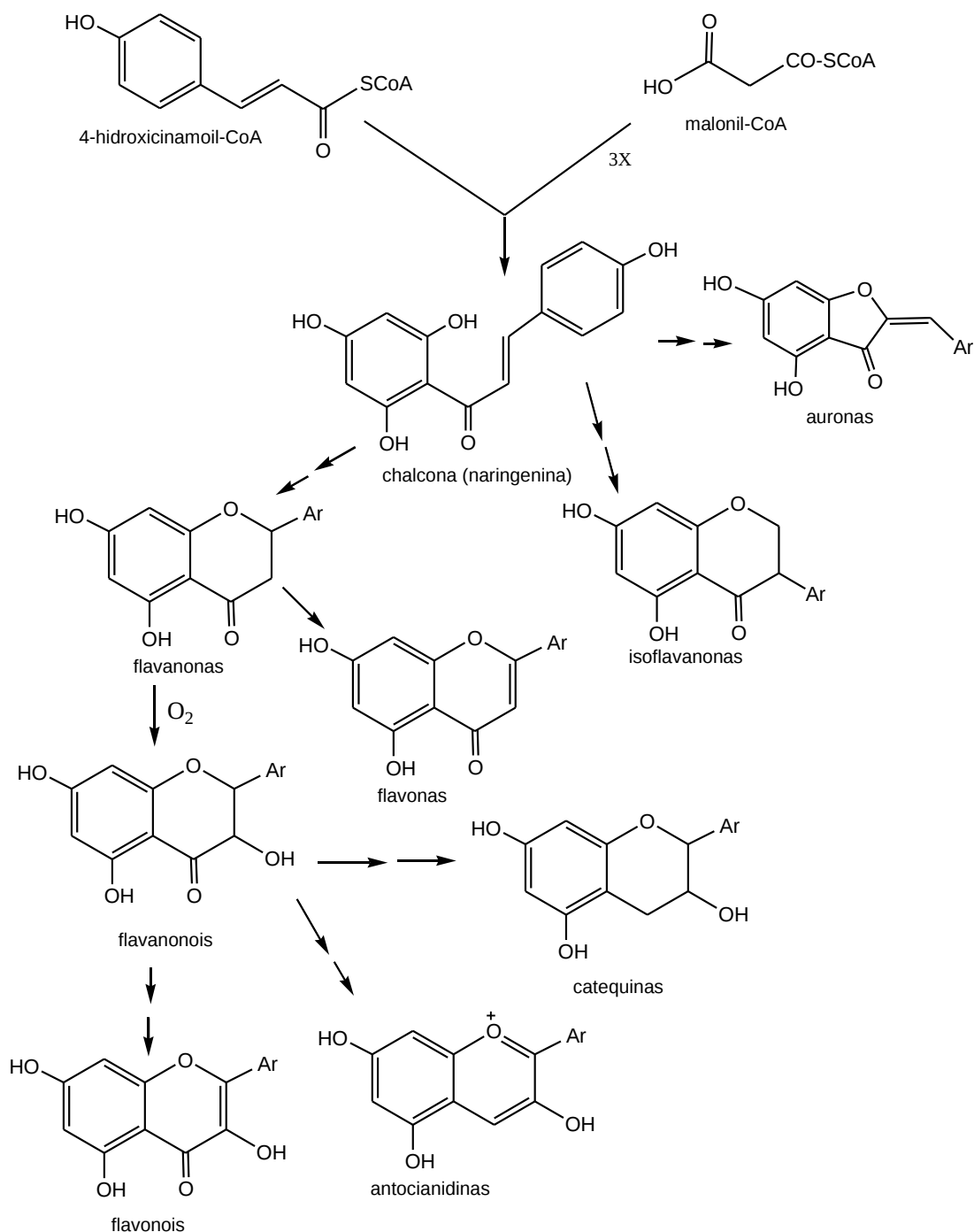


Fonte: DEWICK, 2002.

Os flavonoides são compostos de biossíntese mista envolvendo blocos provenientes da via poliaceto da via do chiquimato. A maioria dos compostos desse grupo compartilha um precursor chalcônico comum e, por isso, são biogénica e

estruturalmente relacionados. A primeira etapa na biossíntese dos flavonoides é a reação de condensação do 4-hidroxicinamoil-CoA com três unidades de malonil-CoA, catalisada pela enzima chalcona sintase (CHS), resultando na formação da chalcona naringenina (C₆-C₃-C₆), intermediário-chave, na biossíntese de flavonoides (DEWICK, 2002). Biossinteticamente, os esqueletos dos vários tipos de flavonoides formam-se sequencialmente segundo o esquema apresentado na Figura 2.

Figura 2 - Rota biossintética geral para as principais classes de flavonoides.



Fonte: DEWICK, 2002.

1.3.1. Flavonoides em Rubiaceae

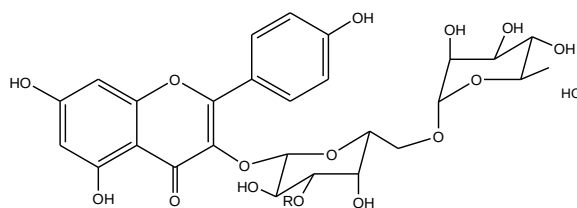
Os flavonoides são uma importante classe de metabólitos secundários cuja distribuição em espécies do gênero *Psychotria* é extremamente restrita. Assim, visando uma melhor compreensão sobre a distribuição desses compostos na família Rubiaceae, um levantamento sobre a ocorrência das principais classes de flavonoides nesta família será apresentado.

Uma busca utilizando-se como base de dados o Scopus, Web of Science e Scifinder, sem restrição de data, até julho/2014, e usando as palavras-chave “Flavonoids in Rubiaceae” e “Flavonoids and Rubiaceae”, mostrou que a distribuição de flavonoides nesta família é bem ampla, sendo encontrados em mais de 45 gêneros. Os artigos consultados relatam a presença de mais de cem flavonoides diferentes, sendo representados, principalmente, por flavonas, flavanonas, catequinas, neoflavonas e flavonóis.

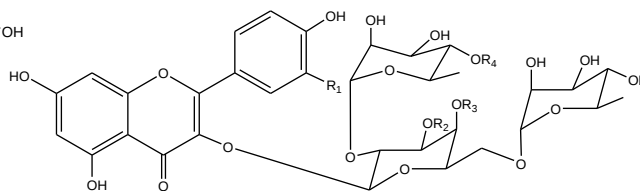
Os flavonóis (3-hidroxiavonas) possuem uma ampla distribuição na família Rubiaceae, estando presentes em mais de 34 gêneros. Geralmente, ocorrem como glicosídeos e é comum a presença de hidroxilas nos carbonos C-5 e C-7 do anel A, em C-3' e C-4' do anel B, o grupo metoxila aparece com maior frequência em C-6, C-7 e C-4'. A quercetina e o canferol e seus glicosídeos são os principais representantes desta classe e estão presentes em muitas espécies de Rubiaceae. Atualmente, são descritos mais de 8 mil flavonoides naturais e, desses, aproximadamente 350 foram encontrados no reino vegetal, como glicosídeos derivados do canferol (IWASHINA; MURAI, 2013). Na família Rubiaceae, foram encontrados, até o momento, aproximadamente 27 espécies, distribuídas em 21 gêneros. No gênero *Psychotria*, foram relatados, até o presente momento, apenas 2 flavonóis derivados do canferol (49 e 50, Tabela 1), ambos isolados da planta medicinal chinesa *P. hainanensis* (LI et al., 2011).

O estudo químico das folhas, flores e galhos de *Adina racemosa* Mig. levou ao isolamento de 5 flavonóis glicosilados novos (52-56) e de 8 conhecidos. Os novos compostos foram capazes de inibir a síntese de proteínas em eucarióticos, mas não em procarióticos (ITOH et al., 2004). Já de *Hedyotis diffusa* Willd foram isolados 5 flavonóis (57-61), os quais mostraram significativa atividade neuroprotetora em experimentos realizados com culturas primárias de células do córtex de rato danificadas por L-glutamato, sendo que os compostos (58) e (59) foram os mais ativos. O estudo da relação estrutura-atividade desses compostos indicou que a

presença de duas hidroxilas no anel B (sistema catecol) e um substituinte acila na porção glicosídica são cruciais para a resposta biológica, já a substituição da D-galactose pela D-glicose não alterou a atividade biológica (KIM *et al.*, 2001).



52: R=*trans-p*-cumaroil

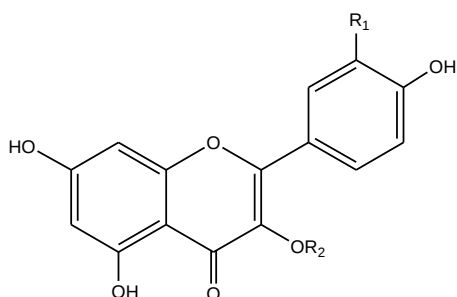


53: R¹=OH, R²=H, R³=R⁴=H

54: R¹=R²=R³=R⁴= *trans-p*-cumaroil

55: R¹=OH, R²= R⁴= *trans-p*-cumaroil, R³=H

56: R¹=OH, R²=*trans-p*-cumaroil, R³=H, R⁴=*trans*-cafeoil



57: R¹=H, R²=glc $\xrightarrow{2}$ glc $\xrightarrow{6}$ feruol

58: R¹=OH, R²=glc $\xrightarrow{2}$ glc $\xrightarrow{6}$ feruol

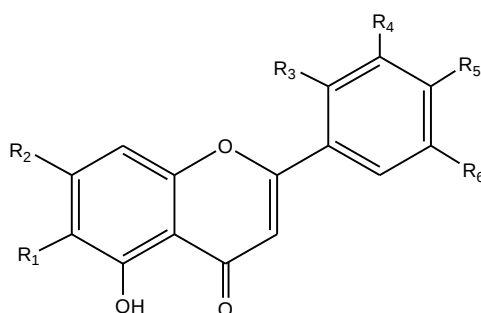
59: R¹=OH, R²=glc $\xrightarrow{2}$ glc $\xrightarrow{6}$ feruol

60: R¹=H, R²=gal $\xrightarrow{2}$ glc

61: R¹=OH, R²= gal $\xrightarrow{2}$ glc

Em relação à distribuição de flavonóis triglicosilados em Rubiaceae, até o momento, foram descritos apenas 18 compostos diferentes, sendo 8 derivados da quercetina, 8 do canferol, 1 da diosmentina e 1 da isomentina. Os carboidratos presentes são D-glicose, L-raminose, D-xilose, D-galactose e arabinose. As O-glicosilações ocorrem com maior frequência nos carbonos: C-3 (10 compostos), C-7 (3 compostos) e C-3 e C-7 (5 compostos). Esses compostos estão distribuídos nas espécies de *Morinda morindoides* (Baker) Milne-Redh. (CIMANGA *et al.*, 1997), *Putoria calabrica* (L.) DC. (CALIS *et al.*, 2001), *Chimarrhis turbinata* DC. (CARDOSO *et al.*, 2005), *Randia hebecarpa* Benth (NAZARI *et al.*, 2006), *Leptostigma arnothianum* (NUNES *et al.*, 1987), *Coprosma sp* (RAYMOND, 1979), *Galium sinaicum* Boiss. (GAMAL *et al.*, 1999) e *Andina racemosa* (**53-56**) (ITOH *et al.*, 2004).

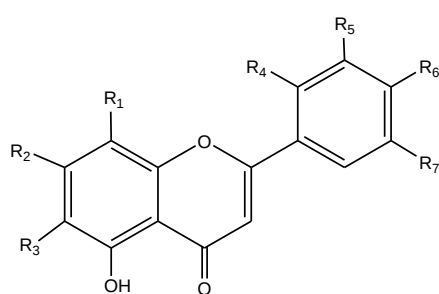
Os artigos consultados relataram a presença de flavonas em 12 espécies de Rubiaceae, distribuídas em sete gêneros. Recentemente, Kongkum *et al.* (2012) isolaram quatro flavonas novas de *Gardenia carinata* Wall., a 5,2'-diidrox-7,3',4',5'-tetrametoxiflavona (**62**), 5,2',5'-triidrox-7,3',4'-trimetoxiflavona (**63**), 5,7,2',5'-tetraidrox-6,3',4'-trimetoxiflavona (**64**) e 5,2',5'-triidrox-6,7,3',4'-tetrametoxiflavona (**65**), juntamente com as conhecidas 5,3'-diidrox-6,7,4',5'-tetrametoxiflavona (**66**), 5,7,3',5'-tetraidrox-6,4'-dimetoxiflavone (**67**). Todos os compostos exibiram atividade citotóxica frente às células MCF-7, mas apenas as flavonas (**64**), (**66**) e (**67**) foram ativas frente à linhagem de células P-388. Os compostos (**62-65**), (**60**) e (**67**) mostraram também atividade anti-HIV-1, sendo (**63**) o mais ativo.



- 62:** R¹=H, R²=R⁴=R⁵=R⁶=OMe, R³=OH
63: R¹=H, R²=R⁴=R⁵=OMe, R³=R⁶=OH
64: R¹=R⁴=R⁵=OMe, R²=R³=R⁶=OH
65: R¹=R²=R⁴=R⁵=OMe, R³=R⁶=OH
66: R¹=R²=R⁵=R⁶=OMe, R³=H, R⁴=OH

A flavona 5,5'-diidrox-6,7,2',3'-tetrametoxiflavona (**67**), isolada de *G. cramerii* (Ait) e *G. fosbergii* Tirveng, destaca-se por possuir um padrão de oxidação não usual no anel B (C-5') (GUNATILAKA *et al.*, 1982). Já as flavonas C-glicosiladas: vitexina (**14**), isovitexina (**16**), vitexina-o-glc foram encontradas em *Canephora madagascariensis* J.F. Gmel. (PARIS; DEBRAY, 1973). Das espécies *Galium verum* L. e *M. morindoides*, foi isolada a flavona luteolina 7-glicosídeo (**68**), que apresenta importantes atividades citotóxicas frente a diferentes linhagens tumorais, como: câncer de cólon (COLO 320 DM e HCT-116), gástrico (AGS), mama (MCF-7), pulmão (A549), fígado (HEP-G2) (BASKAR *et al.*, 2011, FAWZY *et al.*, 2012). Citam-se, ainda, as glicoflavonas derivadas da diosmetina, 7-O-β-D-glucopiranosídeo (**69**), 7-O-β-D-xilopiranosil-(1-6)-β-D-glucopiranosídeo (**70**) e a inédita, 7-O-α-L-rhamnopiranosil-(1-2)-[β-D-xilopiranosil-(1-6)]-β-D-glucopiranosídeo (**71**), isoladas

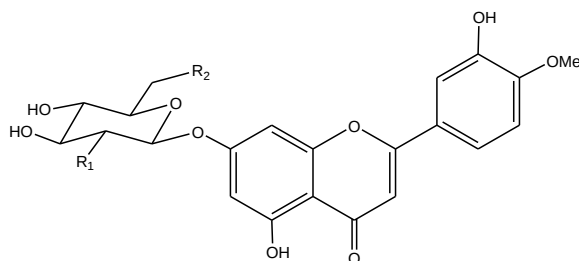
de *G. verum* (ZHAO *et al.*, 2008). A 5,3',5'-triidroxi-7,4'-dimetoxiflavona (**72**) de *G. tubífera* Wall. mostrou atividade anti-HIV em ensaio com o vírus D Tat/RevMC99 e sistema de células 1A2 (REUTRAKUL *et al.*, 2004).



67: R¹=R⁶=H, R²=R³=R⁴=R⁵=R⁷=OMe

69: R²=Oglc, R¹=R³=R⁴=R⁷=H, R⁵=OH, R⁶=OCH₃

71: R¹=R³=R⁴=H, R²=R⁶=OCH₃, R⁵=R⁷=OH

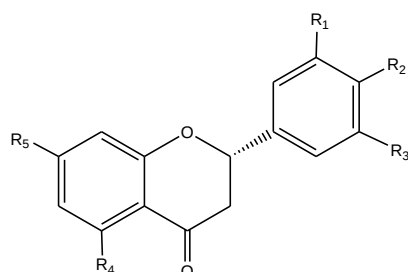


68: R¹=R²=H,

70: R¹=H, R²=xilose,

72: R¹=raminose, R²=xilose

As flavanonas estão presentes em espécies dos gêneros *Galium* L. (KOHLMUENZER, 1964), *Augustia* L. (CHOZE *et al.*, 2010), *Hydnophytum* Jack, *Fareamea* Aubl. (NASCIMENTO *et al.*, 2013) e *Hamelia* Jacq. Um exemplo importante é a hesperidina (**73**), presente em *G. mollugo* L., que mostrou atividade anti-inflamatória, analgésica, antimicrobiana, antiviral, antifertilidade, anticâncer, entre outras (GARG *et al.*, 2001). Para os compostos butina (3',4',7-triidroxiflavanona) (**74**) e 7,3',5'-triidroxi-7,4'-dimetoxiflavanona (**75**), isolados de *Hydnophytum formicarum* Jack, demonstraram, respectivamente, atividades antioxidante e citotóxica para células de câncer de mama (MCF-7) (ABDULLA *et al.*, 2010). Recentemente, Nascimento *et al.* (2013) descreveram uma nova glicoflavanona, a 5-hidroxi-4'-metoxiflavanona-7-O-β-D-apiofuranosil-(1-6)-β-D-glucopiranosídeo (**76**), isolada das folhas de *Fareamea marambaiae* M. Gomes.



73: R₁=R₄=R₅=OH, R₂=OMe, R₃=H

74: R₁=R₂=R₅=OH, R₃=R₄=H

75: R₁=R₃=R₅=OH, R₂=R₄=H

76: R₁=R₃=H, R₂=OMe, R₄=OH R₅=Oglc(6→1)api

Esses resultados demonstram a importância das espécies dos gêneros *Cayaponia* e *Psychotria*, amplamente distribuídas na região do Cerrado/GO, e

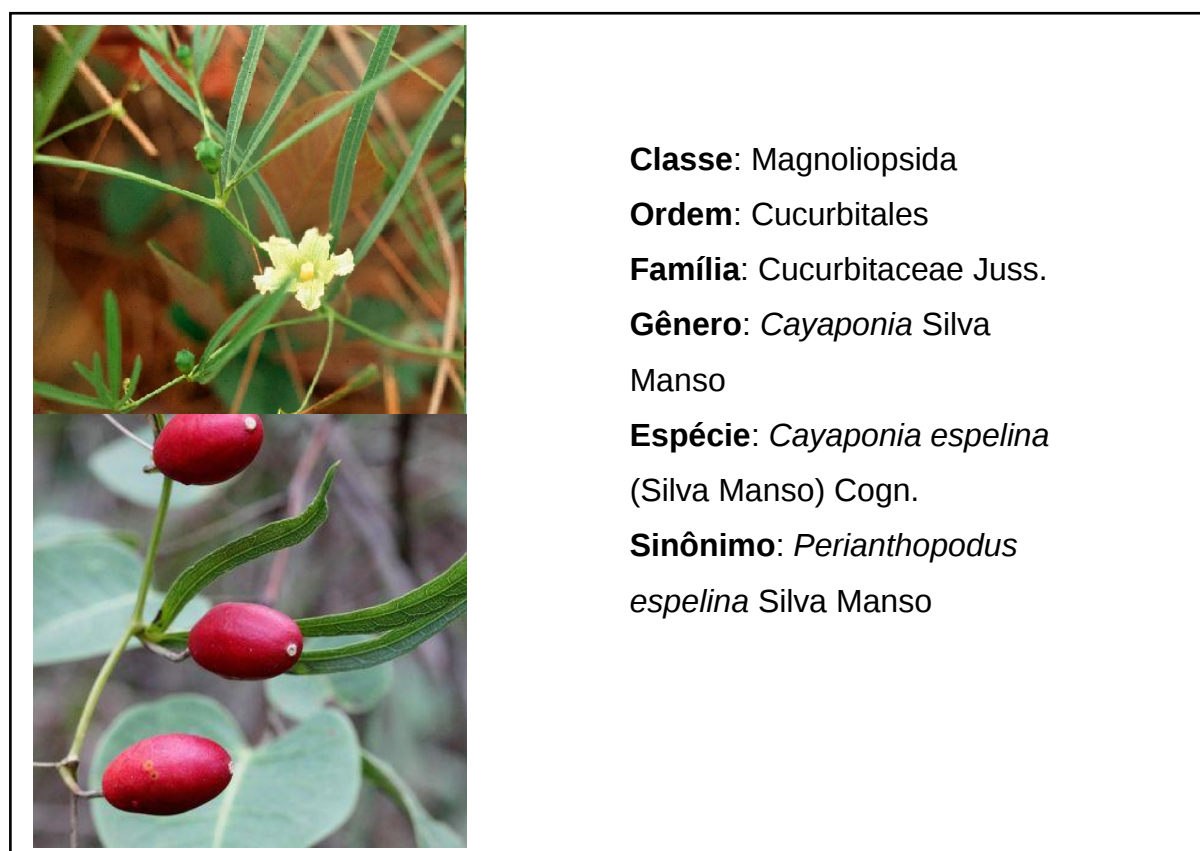
evidenciam a relevância de estudos químicos e farmacológicos de espécies desses gêneros tão pouco exploradas.

1.4. Espécies medicinais estudadas

1.4.1. *Cayaponia espelina* (Silva Manso) Cogn.

A espécie *C. espelina* é conhecida popularmente pelos nomes de taiuiá, tomba, disciplina, fel-de-gentio, fruta-de-gentio, purga-de-carijó, carijó e espelina-verdadeira (FARIAS, 1986; PEREIRA *et al.*, 2002). Apresenta-se como trepadeira, com período de frutificação de setembro a dezembro. No Brasil, essa espécie é encontrada nos estados do Ceará, Bahia, Mato Grosso, Goiás, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Espírito Santo, São Paulo, Paraná e no Distrito Federal. Suas folhas são usadas na medicina popular como tônico, diurético, purgativo, contra picada de cobra, artrite e sífilis. A raiz é utilizada no tratamento de epilepsia e reumatismo (LORENZI, 2002; TRUITI *et al.*, 2005). A fotografia e a classificação taxonômica da espécie (GBIF, 2014) estão apresentadas na Figura 3.

Figura 3- Fotografia de um exemplar de *C. espelina* e classificação botânica da espécie.



Fonte: <https://www.flickr.com/groups/plantasdocerrado/pool/with/8178741465/lightbox/>, acesso em 19/08/2015.

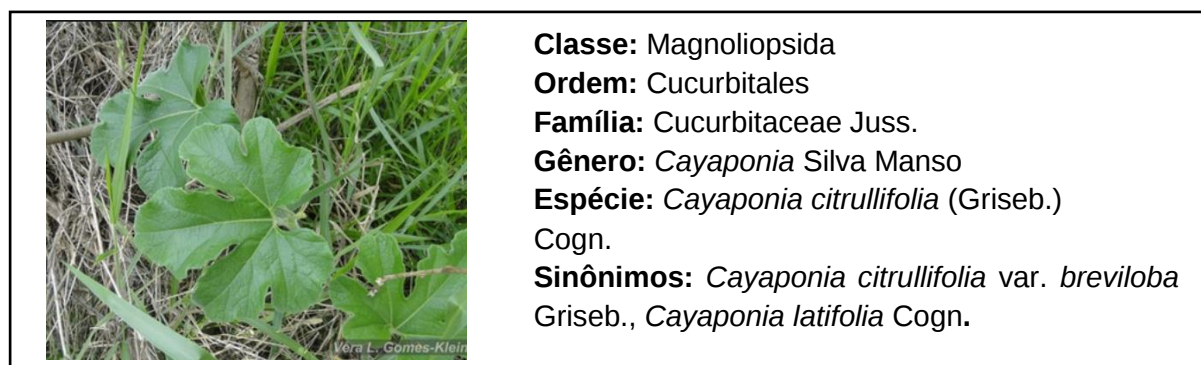
O estudo químico das raízes de *C. diversifolia* (Cogn), *C. martiana* (Cogn) Cogn., *C. hirsuta*, *C. cf. coreaceae* (Cogn), *C. cf. tibiricae* (Naud.) Cogn., *C. cf. ulei* Cogn e *C. espelina*, como previamente descrito por Farias *et al.* (1986), resultou na identificação de várias cucurbitacinas. A cucurbitacina R (**16**) foi encontrada em todas as espécies estudadas. Este é o único estudo químico relatado, até o momento, para *C. espelina*.

1.4.2. *Cayaponia citrullifolia* (Griseb.) Cogn.

A espécie *C. citrullifolia* é uma planta trepadeira, conhecida popularmente, na Argentina, como tayuyá. Sua raiz é muito usada pela população no tratamento de regulação da fertilidade e diurética (BARBOSA *et al.*, 2009). Esta espécie é encontrada em diferentes formações vegetais como no cerrado (*lato sensu*), floresta ciliar ou de galeria, Floresta estacional semidecidual, floresta ombrófila (floresta pluvial), nos estados de Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Amazonas, Amapá e Pará (GOMES-KLEIN *et al.*, 2015).

A revisão bibliográfica indicou, até o momento, ausência de qualquer estudo químico ou farmacológico de *C. citrullifolia*. A fotografia e a classificação taxonômica da espécie (GBIF, 2015) estão apresentadas na Figura 5.

Figura 4 - Fotografia de um exemplar de *C. citrullifolia* e a classificação botânica da espécie.



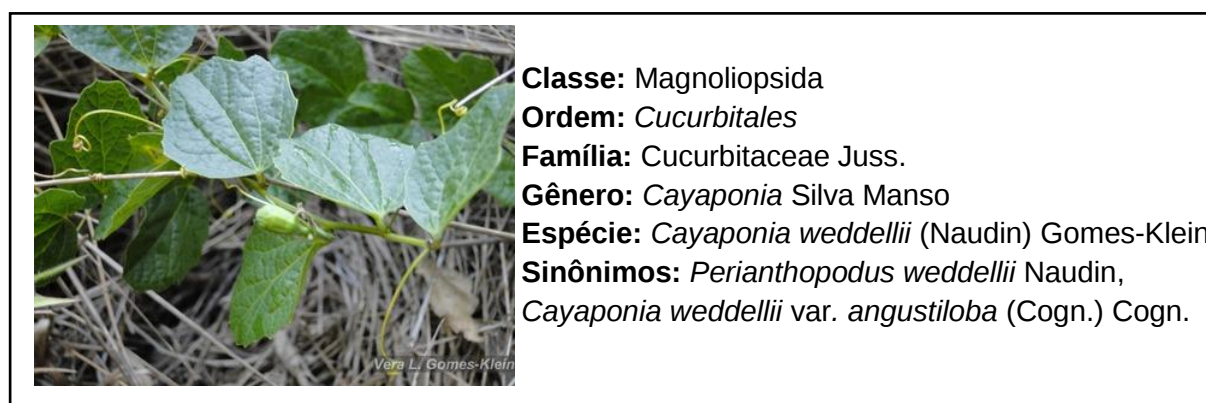
Fonte: Arquivo pessoal da Profa Vera L. Gomes-Klein

1.4.3. *Cayaponia weddellii* (Naudin) Gomes-Klein

A planta medicinal *C. weddellii* é conhecida popularmente como purga-de-carijó, sendo uma espécie herbácea prostrada, com caules finos e longos que crescem rentes ao solo nos campos secos e cerrados abertos, podendo ser considerada intermediária entre as ervas típicas e as trepadeiras (RIBEIRO, 2011). A raiz é usada no tratamento de sífilis, picada de cobra e edema.

A revisão bibliográfica indicou, até o momento, ausência de qualquer estudo químico ou farmacológico de *C. weddellii*. A fotografia e a classificação taxonômica da espécie (GBIF, 2014) estão apresentadas na Figura 5.

Figura 5 - Fotografia de um exemplar de *C. weddellii* e a classificação botânica da espécie.



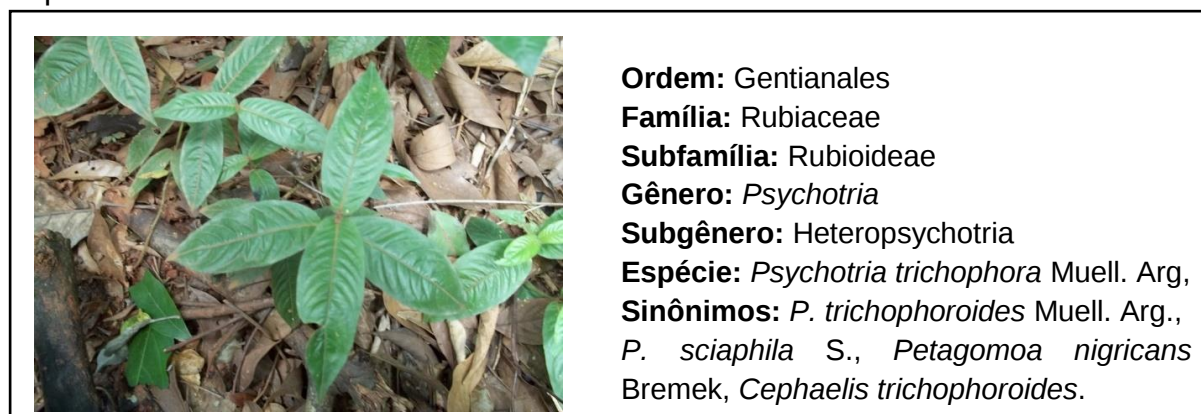
Fonte: Arquivo pessoal da Profa Vera L. Gomes-Klein.

1.4.4. *Psychotria trichophora* Müll. Arg.

A espécie *P. trichophora* pertencente à família *Rubiaceae* e é encontrada como erva ou subarbusto de 0,5-1,5 m de altura. Caracteriza-se pelas folhas simples, opostas, dorsiventrais e hipoestomáticas. Esta espécie encontra-se na Venezuela, Bolívia e Brasil. No Brasil, é encontrada na Mata Atlântica, no Cerrado, em matas de encosta e pluviais (PIETROBOM, 2008), nos estados do Pará, Amazonas, Acre, Mato Grosso, Tocantins, Goiás, Maranhão, Bahia, Minas Gerais, São Paulo e no Distrito Federal (DELPRETE, 2010).

A revisão bibliográfica indicou, até o momento, ausência de qualquer estudo químico ou farmacológico de *P. trichophora*, a fotografia e a classificação taxonômica da espécie (GBIF, 2014) estão apresentadas na Figura 6.

Figura 6 - Fotografia de um exemplar de *P. trichophora* e a classificação botânica da espécie.



Fonte: Arquivo pessoal.

2 Objetivos

2 OBJETIVOS

O estudo de *C. espelina*, *C. citrullifolia*, *C. weddellii* e *P. trichophora* visa contribuir para o conhecimento químico e biológico dessas espécies presentes no Cerrado goiano e, em especial, na busca de metabólitos secundários bioativos. Os objetivos específicos deste trabalho são:

- Realizar o estudo fitoquímico das folhas e raízes de *P. trichophora*.
- Realizar o estudo fitoquímico das folhas das espécies *C. espelina*, *C. citrullifolia* e *C. weddellii*.
- Elucidar as estruturas das substâncias isoladas usando métodos espectroscópicos (UV, IV e RMN 1D e 2D).
- Avaliar a atividade antioxidante de extratos e frações das folhas de *C. espelina*, *C. citrullifolia*, *C. weddellii* e *P. trichophora*.
- Avaliar o potencial antibacteriano de extratos e frações obtidos das folhas de *C. espelina*, *C. citrullifolia*, *C. weddellii* e *P. trichophora*.

3 Materiais e métodos

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Instrumentação e procedimentos gerais

- Os solventes utilizados foram da marca Synth e Vetec de qualidade P.A. e grau HPLC.
- Para concentrar as soluções utilizou-se rotaevaporador, modelo MA 120 da marca MARCONI®.
- Os pontos de fusão (PF) foram determinados em aparelho Karl Kolb, da Scientific-Technical-Supplies.
- Nos testes de atividade antioxidante foi usado espectrofotômetro UV-Vis Perkin Elmer Lambda 45, cubeta quartzo de 1 cm de caminho óptico.
- Cromatógrafo líquido de alta eficiência (CLAE) da Marca Shimadzu®, modelo LC-8A, equipado com um detector de UV (SPD-M20A). Foi usado uma coluna analítica Shim-pack PRESP-ODS (H) de (h x d_c= 250 x 4,6 mm, 5 µm) e uma semipreparativa C-18 Shim-pack PRESP-ODS (H) de (h x d_c= 250 x 20 mm, 5 µm). Ambas colunas com diâmetro de poro de 100 Å. As amostras foram injetadas manualmente em um *loop* de 20 µL (analítico) e 2 mL (preparativo).
- Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência (CLAE) analítico da Marca Dionex ICS-5000, equipado com detector Ultimate 3000 Diode Array, injetor manual e com bomba quaternária ICS-5000, coluna Dionex Acclaim 120 (5 µm, 4,6 x 100 mm, 120 °A).
- As amostras injetadas no CLAE foram filtradas em uma seringa adaptada com uma membrana de politetrafluoretileno (PTFE), diâmetro de poro de 0,45 µm, da Macherey-Nagel.

- Para a elucidação estrutural dos compostos isolados foram empregadas as técnicas unidimensionais de RMN ^1H e ^{13}C e bidimensionais COSY, HSQC (correlação direta, $^1J_{\text{CH}}$) e HMBC (correlação à longa distância). Todos os espectros e mapas de correlação foram obtidos em espectrômetro Bruker Avance III 500, 11,75 T, operando em frequência de 500 MHz para ^1H e 125 MHz para ^{13}C . Os deslocamentos químicos foram dados em ppm, tendo como referência interna o sinal do solvente e/ou tetrametilsilano (TMS, $\delta = 0,0$ ppm). Os solventes usados para diluição das amostras foram metanol tetradeuterado (CD_3OD) e dimetilsulfóxido hexadeuterado ($\text{DMSO}-d_6$), ambos da Sigma Aldrich®.
- Os espectros na região do infravermelho foram obtidos em espectrofômetro PerkinElmer, modelo Spectrum 400, na região de 4000 a 400 cm^{-1} em pastilhas de KBr.
- Nas separações cromatográficas em coluna foram usadas as fases estacionárias: sílica gel 60 (0,063-0,200 mm, 70-230 mesh ASTM), sílica gel 60 (0,040-0,063 mm, 230-400 mesh ASTM), ambas da Merck, sílica gel 100 C18 (0,040-0,063 mm, 230-400 mesh ASTM), Sephadex LH-20 (Pharmacia) e Diaion HP-20 (Fluka). Foram utilizadas colunas de vidro cujo diâmetro e altura variaram conforme as massas das amostras.
- Nas análises cromatográficas em camada delgada analítica (CCDA) empregou-se sílica gel 60 G e GF₂₅₄ da Merck e para a visualização das substâncias nas mesmas, utilizou-se radiação na região do ultravioleta (254 e 365 nm), reagente de Dragendorff (específico para detecção de compostos nitrogenados), anisaldeído e/ou solução de ácido sulfúrico ($\text{MeOH}/\text{H}_2\text{SO}_4$ 1:1 v/v), seguido de aquecimento por 5 min em placa aquecedora.
- O sistema de análise por injeção em fluxo (FIA) utilizado é constituído de um injetor comutador manual construído em acrílico; tubos de poliestireno de 0,8 mm de diâmetro interno; bomba peristáltica (Milan, modelo 204); câmara de difusão gasosa construída em acrílico, composta por uma membrana de Teflon®. Espectrofotômetro Micronal, modelo B 382, equipado com uma cela de fluxo de 180 μL e caminho óptico de 10 mm.
- Nos testes de toxicidade aguda frente a *Escherichia coli* usou-se como controle positivo o antibiótico Ciprobiot 500 mg, do laboratório Sandoz. Os reagentes

usados no preparo do meio de cultura mínimo foram da marca Synth e o autoclave (Phoenix).

- Nos ensaios de atividade antioxidante utilizou-se o radical livre 2,2-difenil-1-picrilhidrazil, DPPH, (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO). As leituras de absorbâncias foram obtidas em espectrofotômetro UV-Vis Lambda 45 da PerkinElmer no comprimento de onda de 515 nm. O ácido ascórbico, antioxidante comercial, foi utilizado como controle positivo.

3.2. Material botânico

3.2.1. *C. espelina*

As folhas e ramos de *C. espelina* foram coletados em 13 de setembro de 2010, em área de formação de Cerrado bastante devastado e com passagem de fogo, próxima ao loteamento Mansões do Campus, no município de Goiânia, Goiás. O material botânico foi coletado e identificado pela Profa. Dra. Vera Lúcia Gomes-Klein, ICB/UFG. A exsicata está depositada no Herbário da Universidade Federal de Goiás, Unidade de Conservação PRPG, Campus II, Goiânia, GO, sob o número de registro 47401.

A planta apresentava-se com botões estaminados, com cálice e corola verdes, flores adultas apresentando cálice verde e corola verde com margem amarelada.

3.2.2. *C. citrullifolia*

As folhas, frutos e ramos de *C. citrullifolia* foram coletados em 13 de setembro de 2010, na Escola de Veterinária/UFG, Campus Samambaia, Goiânia, Goiás. A identificação da espécie foi realizada pela Profa. Dra. Vera Lúcia Gomes-Klein, ICB/UFG. A exsicata está depositada no Herbário da Universidade Federal de Goiás, Unidade de Conservação PRPG, Campus II, Goiânia, GO, sob o número de registro 47402.

3.2.3. *C. weddellii*

As folhas e ramos de *C. weddellii* foram coletadas em 6 de dezembro de 2012, a margem da trilha próximo a cerca que limita com o jardim botânico de Brasília, na Reserva Ecológica do IBGE, área do Cristo-EEJBB, Distrito Federal, Brasil. A coleta e identificação botânica foi realizada pela Profa. Dra. Vera Lúcia Gomes-Klein, ICB/UFG. A exsicata está depositada no Herbário da Universidade Federal de Goiás, Unidade de Conservação PRPG, Campus II, Goiânia, GO, sob número de registro 47403.

3.2.4. *P. trichophora*

As folhas, ramos e raiz de *P. trichophora* foram coletados em novembro de 2011, no bosque *St. Hilaire* do Campus Samambaia da UFG, Goiânia-GO. A identificação botânica foi realizada pelo Prof. Dr. Piero Giuseppe Delprete, Herbário da Guiana Francesa (*Herbier de Guyane, Institut de Recherche pour le Développement, Herbier de Guyane, Institut de Recherche pour le Développement*).

A planta encontrava-se em área sombreada, com folhas adultas de coloração verde escura. A exsicata da planta está depositada no Herbário da Universidade Federal de Goiás, Unidade de Conservação PRPG, Campus II, Goiânia, GO

3.3. Isolamento dos metabólitos secundários de *C. espelina*

3.3.1. Preparação do extrato e obtenção das frações

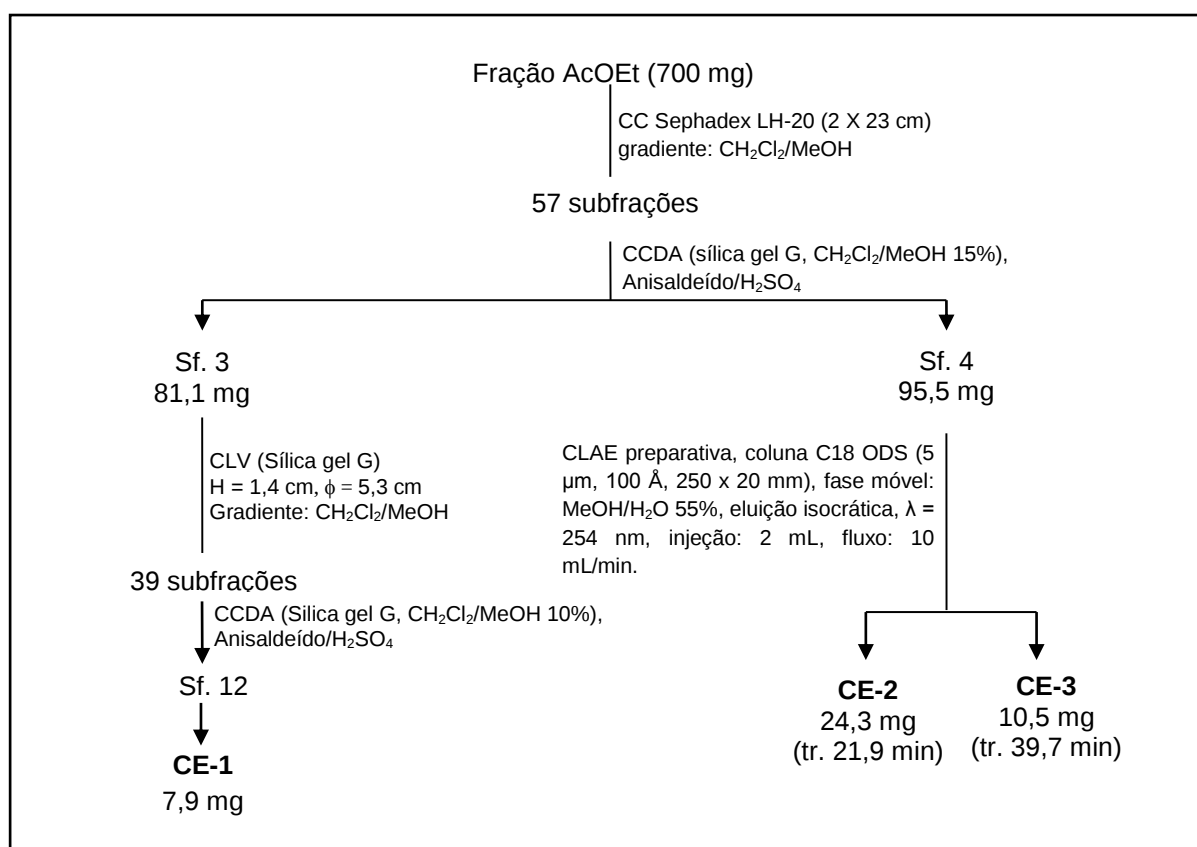
As folhas de *C. espelina* foram dessecadas em estufa com ventilação forçada à 40 °C e pulverizadas em moinho de facas com granulação definida. O pó obtido (90 g) foi submetido à maceração exaustiva com etanol 96%. Após a extração, a solução extrativa foi concentrada em rotaevaporador sob pressão reduzida, obtendo, assim, o extrato bruto etanólico (8,5 g). Parte do extrato (8 g) foi dissolvido em 200 mL de MeOH:H₂O (7:3) e, em seguida, submetido a partições líquido-líquido com hexano, diclorometano (CH₂Cl₂), acetato de etila (AcOEt) e *n*-butanol (*n*-BuOH) em um funil de separação de 500 mL e 200 mL de cada solvente. As fases orgânicas foram dessecadas com Na₂SO₄ anidro, filtradas e concentradas em rotaevaporador,

obtendo frações de diferentes polaridades. O rendimento das frações foi calculado pela expressão: rendimento (%)= (massa da fração/massa do extrato) x 100.

3.3.2. Estudo químico da fração AcOEt

Uma alíquota da fase AcOEt (700 mg) foi submetida à cromatografia em coluna, utilizando Sephadex LH-20 como fase estacionária e diclorometano e metanol em gradiente de 20% de diclorometano a 100 % de metanol, obtendo 57 subfrações de aproximadamente 20 mL cada. As subfrações após serem analisadas por CCDA, usando como fase móvel a mistura de CH₂Cl₂:MeOH 10 %, foram reunidas em 7 novas subfrações de acordo com os perfis cromatográficos apresentados. A Sf. 3 foi submetida à cromatografia líquida sob vácuo (CLV), utilizando sílica gel 60 G como adsorvente e eluída com CH₂Cl₂:MeOH em gradiente crescente de polaridade, obtendo um total de 39 subfrações. Após a eliminação do solvente da Sf. 12, obteve-se 7,9 mg de um sólido amarelo que foi identificado como **CE-1**. A Sf. 4 foi submetida a separação em CLAE preparativa, utilizando como fase estacionária C18 ODS e como fase móvel uma mistura de MeOH:H₂O 55%, resultando no isolamento de **CE-2** e **CE-3**. O esquema apresentado na Figura 7 mostra o procedimento experimental para a obtenção dos compostos **CE-1**, **CE-2** e **CE-3**.

Figura 7- Esquema de fracionamento da Fr. AcOEt.



CC: cromatografia em coluna, CLV: cromatografia líquido sob vácuo, CCDA: cromatografia em camada delgada analítica, tr. tempo de retenção. Sf.: subfração.

3.4- Isolamento dos metabólitos secundários das folhas de *C. weddellii*

3.4.1- Preparação do extrato e obtenção das frações

As folhas foram dessecadas em estufa com ventilação forçada a 40 °C, moídas em moinho de facas com granulação definida. O material moído (28 g) foi submetido à extração por maceração com etanol 96 %. O extrato etanólico obtido foi filtrado, concentrado em rotaevaporador à pressão reduzida, obtendo 5,3 g de extrato bruto. Parte do extrato (4,5 g) foi solubilizado em 200 mL de MeOH:H₂O (8:2), filtrado e a solução resultante foi transferida para um funil de separação e, em seguida, submetida a partições líquido/líquido com solventes de polaridades crescentes, hexano (4 x 50 mL), CHCl₃ (4 x 50 mL), AcOEt (4 x 50 mL) e *n*-BuOH (4 x 50 mL). As fases orgânicas obtidas foram dessecadas com Na₂SO₄ anidro, filtradas

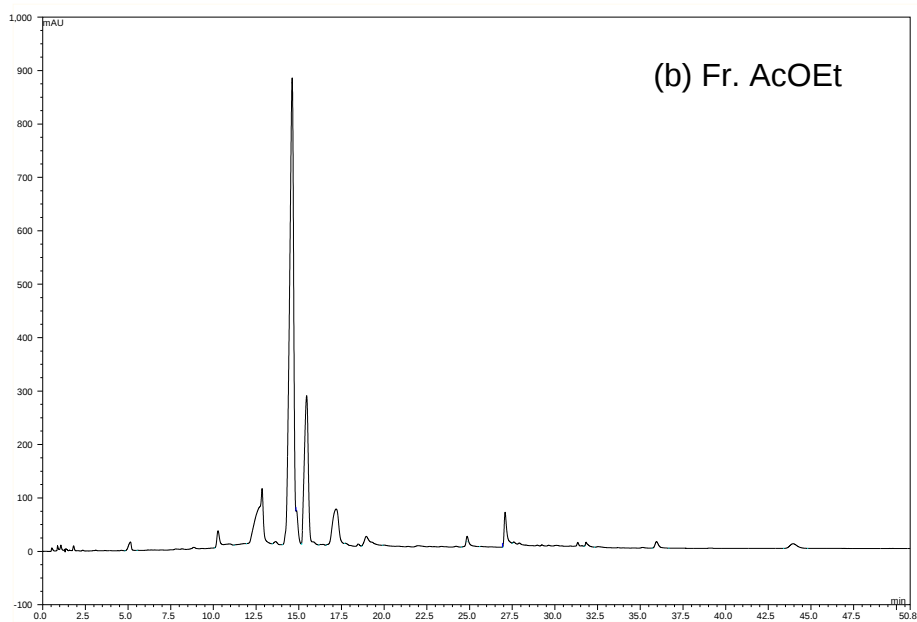
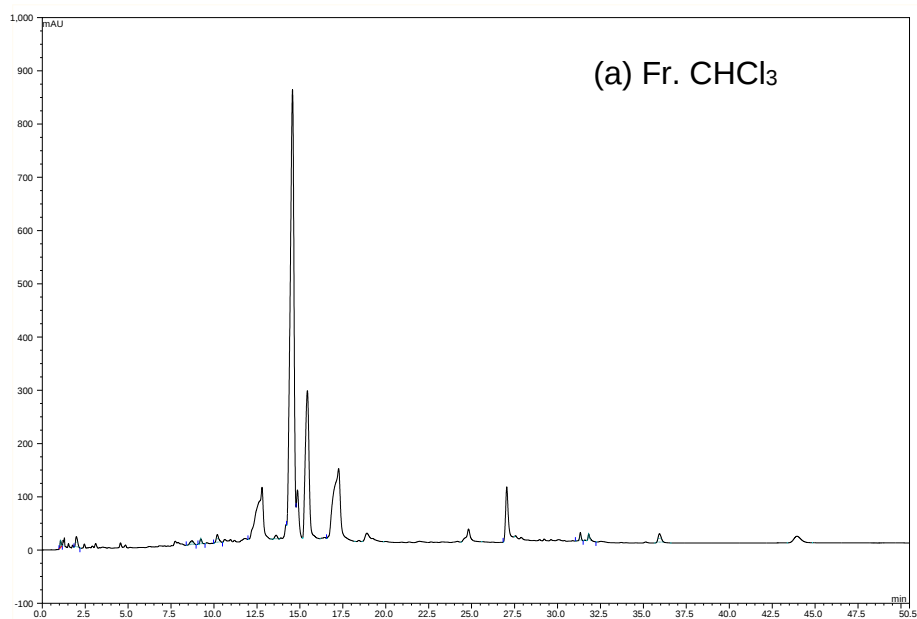
e concentradas em rotaevaporador. O rendimento das frações foi calculado pela expressão: Rendimento (%)= (massa da fração/massa do extrato) x 100.

3.4.2- Estudo químico das folhas de *C. weddelli*

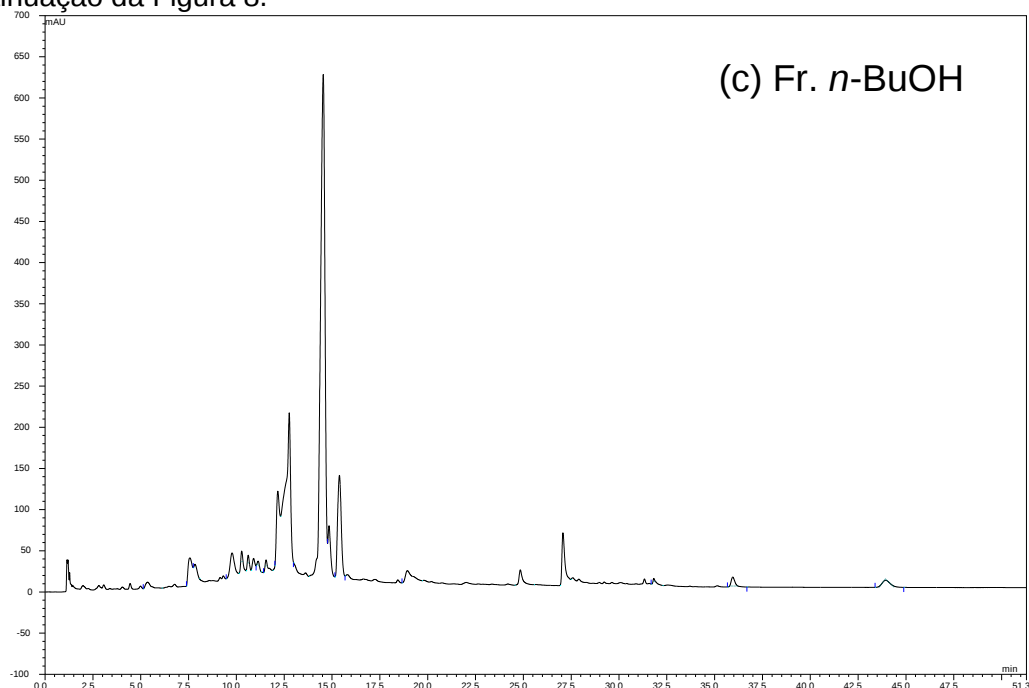
Uma parte de cada fração (CHCl₃, AcOEt e *n*-BuOH) foi submetida a pre-purificada em CLV, usando como fase estacionária sílica gel 100 C18 e eluída com MeOH:H₂O 50% e MeOH 100%. Após a eliminação dos solventes, os resíduos obtidos foram solubilizados na fase móvel utilizada na separação no CLAE, filtrado em membrana PTFE com poro de 0,45 µm. Alíquotas de 20 µL (concentração de 1 à 3 mg/mL) dessas soluções foram analisadas em CLAE-DAD analítico, usando uma coluna, C18 Dionex Acclaim (120, 5 µm, 4,6 x 100 mm), fase móvel o gradiente linear de MeOH:H₂O (10→100%) em 30 min e MeOH puro por 10 min, fluxo de 1 mL/min, monitoramento nos comprimentos de onda 220, 254, 318 e 360 nm.

Os perfis cromatográficos das frações CHCl₃, AcOEt e *n*-BuOH (Figura 8) apresentaram-se muito semelhantes, sendo que os 2 picos mais intensos apresentavam os mesmos tempos de retenção. O espectro de absorção no UV indicou que podiam ser os mesmos compostos nas 3 frações. Assim, optou-se em trabalhar apenas com a fração AcOEt.

Figura 8- Comparação dos cromatogramas das frações, (a) CHCl_3 , (b) AcOEt e (c) $n\text{-BuOH}$. Condições utilizadas: coluna Dionex Acclaim 120, 5 μm , 4,6 x 100 mm gradiente linear $[\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}, 10 \rightarrow 100\% \text{ em } 30 \text{ min}]$ e MeOH por 20 min, fluxo: 1 mL/min, $\lambda = 254 \text{ nm}$, volume de injeção 10 μL .



Continuação da Figura 8.



Logo em seguida, foram analisadas em CLAE-DAD os compostos isolados das folhas de *C. espelina* (compostos **CE-1**, **CE-2** e **CE-3**) nas mesmas condições em que foram obtidos os cromatogramas acima para que se pudesse comparar os espectros de absorção no UV dos picos com o mesmo tempo de retenção das frações e dos padrões para analisar a composição das mesmas.

Os padrões injetados, **CE-2** e **CE-3**, apresentaram tempo de retenção igual aos dos picos mais intensos, **1** e **2**, respectivamente. Além disso, comparou-se os espectros de absorção no UV dos padrões com os dos picos mais intensos dos cromatogramas das frações CHCl₃, AcOEt e *n*-BuOH e foi observado que as mesmas possuíam os compostos **CE-2** e **CE-3** como seus principais constituintes.

Assim, visando a realização de ensaios biológicos, os compostos **CE-2** (25 mg) e **CE-3** (15 mg) foram re-isolados da fração AcOEt de *C. weddellii*. A fração foi purificada por CLAE preparativa no modo reverso, fase móvel MeOH:H₂O 55%, λ = 254 nm, injeção: 2 mL, fluxo: 10 mL/min.

3.5- Isolamento dos metabólitos secundários das folhas de *C. citrullifolia*

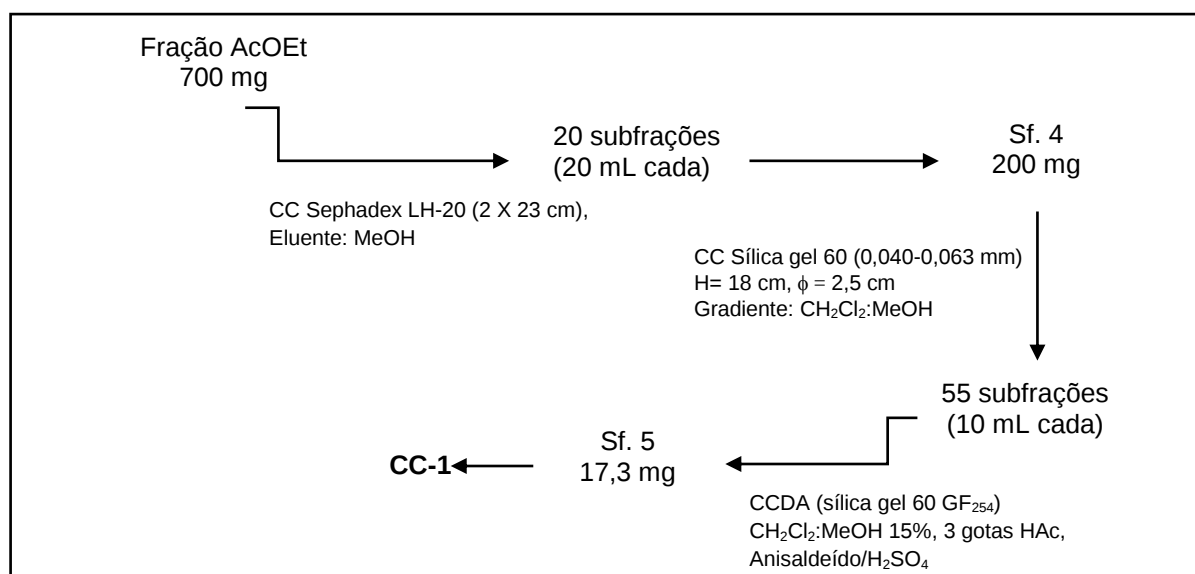
3.5.1- Preparação do extrato e obtenção das frações

As folhas de *C. citrullifolia* foram dessecadas em estufa com ventilação forçada à 40 °C, pulverizadas em moinho de facas com granulação definida. O pó obtido (120 g) foi submetido à maceração com etanol 96%. Após a extração, a solução extrativa foi concentrada em rotaevaporador sob pressão reduzida, obtendo, assim, o extrato bruto etanólico (15 g). Parte do extrato (14 g) foi dissolvido em 200 mL de MeOH:H₂O (7:3) e, em seguida, submetido à partições líquido/líquido com hexano, CH₂Cl₂, AcOEt e *n*-BuOH em um funil de separação de 500 mL e 250 mL de cada solvente, obtendo frações de diferentes polaridades. O rendimento das frações foi calculado pela expressão: Rendimento (%)= (massa da fração/massa do extrato) x 100.

3.5.2- Estudo da fração AcOEt

Uma parte da fração AcOEt (700 mg) foi submetida à cromatografia em coluna, utilizando Sephadex LH-20 como fase estacionária e metanol como fase móvel, obtendo-se um total de 20 subfrações, de aproximadamente 20 mL cada. As subfrações após serem analisadas por CCDA foram reunidas em 5 novas subfrações de acordo com os perfis cromatográficos apresentados. A Sf. 4 (200 mg) foi submetida à cromatografia em sílica gel 60, eluída em gradiente de CH₂Cl₂:MeOH, obtendo-se 55 subfrações, de aproximadamente 10 mL cada. As subfrações após serem analisadas por CCDA foram reunidas em 7 novas subfrações. A Sf. 5, após eliminação do solvente, forneceu 17,3 mg de um sólido solúvel em metanol que foi identificado como **CC-1**. O esquema apresentado na Figura 9 mostra o procedimento experimental desenvolvido para a obtenção de **CC-1**.

Figura 9- Esquema de fracionamento da Fr. AcOEt das folhas de *C. citrullifolia*.



3.5.3- Estudo da fração hidrometanólica

Uma parte da fração hidrometanólica (2,5 g) foi solubilizada em metanol e, então, submetida a fracionamento em Sephadex LH-20 (H = 32 cm, ϕ = 3,8 cm), usando metanol como eluente. Foram coletadas 20 subfrações, de aproximadamente 30 mL cada. As subfrações após serem analisadas por CCDA foram reunidas em 8 novas subfrações (Sf 1 a Sf 8) de acordo com os perfis cromatográficos apresentados. A Sf. 4 (300 mg) foi purificada em CLAE preparativa no modo reverso, fase móvel ACN: solução acidificada à 0,1 % com ATFA (15:85), corrida isocrática, resultando no isolamento de compostos denominados de **CC-2**, **CC-3** e **CC-4**. Os compostos **CC-3** e **CC-4** também foram re-isolados da Sf. 2. O esquema de isolamento está descrito na Figura 10 e o cromatograma da purificação em CLAE preparativa na Figura 11.

Figura 10- Esquema de purificação das subfrações 2 e 4.

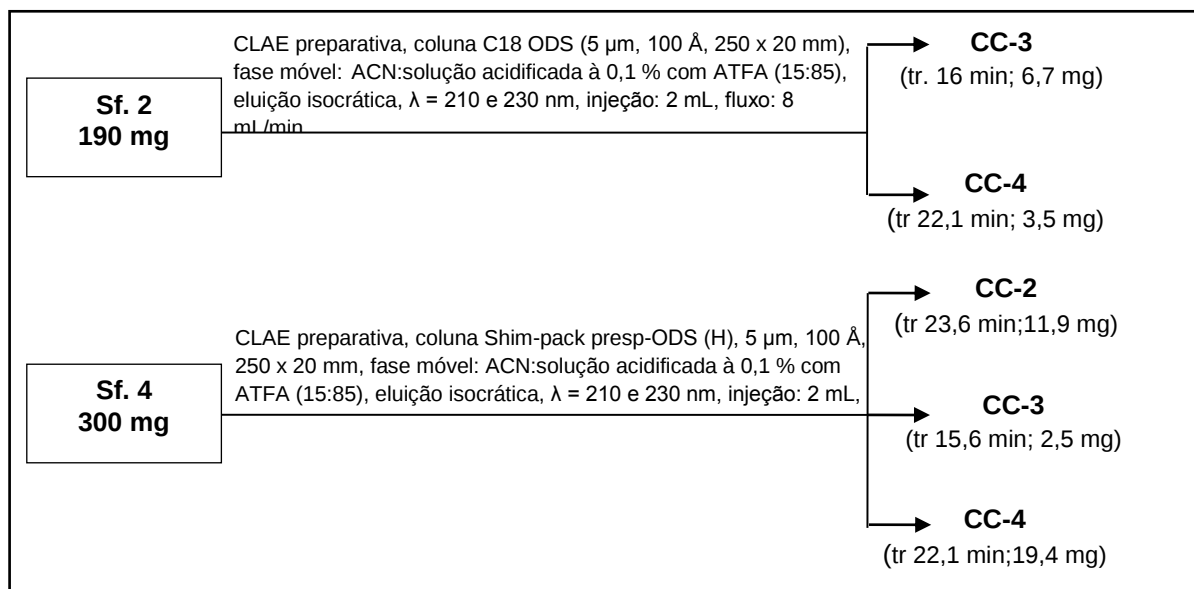
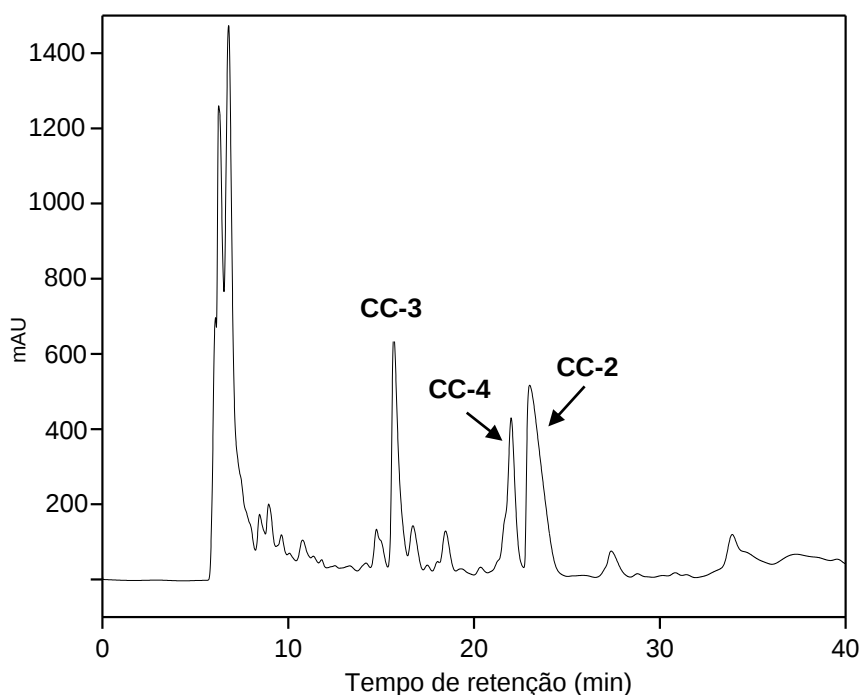


Figura 11- Cromatograma da purificação da SF-4 por CLAE preparativa. Condições utilizadas: coluna C18 ODS, 5 μ m, 250 x 20 mm, fase móvel: ACN/solução acidificada à 0,1% com ATFA (15:85), eluição isocrática, fluxo 8 mL/min, λ = 210 nm, volume injetado: 2 mL.



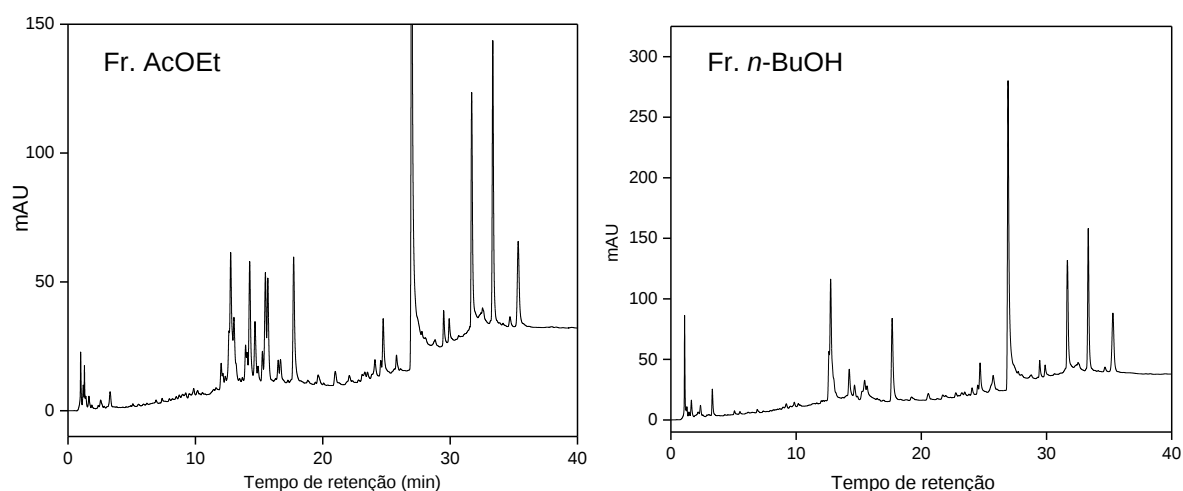
3.6. Isolamento dos metabólitos secundários das folhas *P. trichophora*

3.6.1. Preparação do extrato e obtenção das frações

As folhas de *P. trichophora* foram dessecadas em estufa com ventilação forçada a 40 °C e pulverizadas em moinho de facas com granulação definida. O material moído (378 g) foi submetido à extração por maceração com etanol 96%. O extrato etanólico foi filtrado e concentrado em rotaevaporador à pressão reduzida, fornecendo 67 g de extrato bruto. Parte do extrato (55 g) foi solubilizado em MeOH:H₂O (7:3) e, submetido a partições líquido/líquido em solventes de polaridades crescentes: hexano, CH₂Cl₂, AcOEt e *n*-BuOH.

As frações CH₂Cl₂, AcOEt e *n*-BuOH foram, inicialmente, submetidas a uma análise exploratória no CLAE-DAD, para verificação da complexidade e composição das mesmas. Observou-se que os perfis cromatográficos das frações AcOEt e *n*-BuOH (Figura 12) eram muito parecidos e que apresentavam os picos mais intensos com os mesmos tempos de retenção (10 a 20 min). Assim, optou-se em trabalhar apenas com a fração AcOEt diretamente no CLAE preparativo, de modo, a minimizar perdas e obter uma melhor separação.

Figura 12- Comparação dos cromatogramas obtidos para as frações AcOEt e *n*-BuOH das folhas de *P. trichophora*. Condições utilizadas: coluna Dionex Acclaim 120, 5 µm, 4,6 x 100 mm, fase móvel: gradiente linear [MeOH:H₂O, 10→100% MeOH] em 30 min e MeOH por 10 min, fluxo de 1 mL/min, λ = 254 nm, volume injetado: 10 µL.



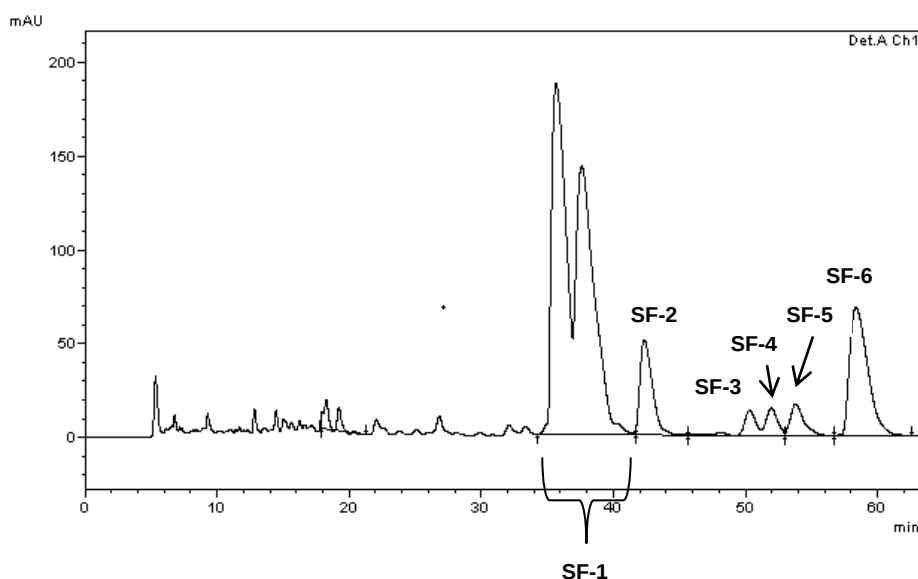
3.6.2. Estudo da fração AcOEt

Uma parte da fração AcOEt (1 g) foi solubilizada em MeOH e submetida a uma CLV usando como fase estacionária C18 e metanol como eluente. Após a eliminação do metanol uma parte do resíduo foi solubilizado na fase móvel utilizada na separação no CLAE, filtrado em membrana PTFE com poro de 20 μm . Alíquotas de 20 μL (concentração 2 mg/mL) da solução foi analisada em CLAE analítico, usando uma coluna C18 ODS (5 μm , 250 x 4,6 mm), fluxo de 1 mL/min, $\lambda = 268$ e 318 nm. Nessa etapa, diversas fases móveis foram testadas e a que apresentou melhor resolução dos picos foi a mistura de ACN:solução acidificada à 0,1% com ATFC (16:84), sendo assim, transportada para a purificação em CLAE preparativa. As subfrações foram coletadas manualmente por pico, e não por tempo de retenção, devido à proximidade dos mesmos. As massas e as estimativas dos tempos de retenção das subfrações coletadas estão descritas na Tabela 2 e o cromatograma na Figura 13.

Tabela 2- As subfrações coletadas na purificação da fração AcOEt por CLAE preparativa.

Subfração	Tempo de retenção médio (min)	Massa (mg)
SF-1	31,9-34,9	55,5
SF-2	39,3	2,0
SF-3	46,3	5,6
SF-4	47,9	7,8
SF-5	49,5	9,1
SF-6	53,8	11,7

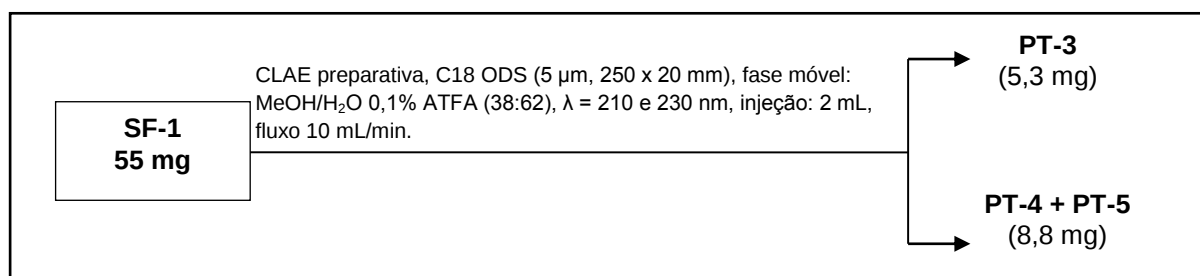
Figura 13- Cromatograma isocrático da Fr. AcOEt das folhas de *P. trichophora* via CLAE preparativa, C18 ODS, 5 μ m, 250 x 20 mm, fase móvel: ACN:solução acidificada à 0,1 % com ATFA (16:84), λ = 268 nm, injeção de 2 mL, fluxo 10 mL/min.



As subfrações SF-3 a SF-6 foram analisadas por RMN de ^1H , constatando-se que as subfrações SF-3, SF-4 e SF-5 eram constituídas de misturas de flavonoides glicosilados, porém devido à pequena quantidade de massa não foi possível realizar a elucidação estrutural dos compostos. A SF-6, após a eliminação do solvente, forneceu 11,7 mg de um sólido que foi identificado como **PT-2**.

A análise do espectro de RMN de ^1H da SF-1, mostrou que se tratava de uma mistura de três flavonoides glicosilados. Assim, visando a separação dos compostos, a SF-1 (55 mg), foi submetida a um novo fracionamento por CLAE preparativa, utilizando-se as seguintes condições: como fase móvel foi usada a mistura de MeOH:solução acidificada à 0,1 % com ATFA (38:62), eluição isocrática, λ = 210 e 230 nm, injeção: 2 mL e fluxo de 10 mL/min. Para garantir a melhor separação dos picos, injetou-se cerca de 25 mg (concentração de 12,5 mg/mL) de amostra por corrida. Foram coletadas as subfrações SF-1A ($t_{\text{r médio}}$ 29,7 min) e SF-1B ($t_{\text{r médio}}$ 31,5 min), que após eliminação da fase móvel, forneceram o **PT-3** e a mistura de **PT-4** e **PT-5**, respectivamente. O esquema de purificação da SF-1 está apresentado na Figura 14.

Figura 14- Esquema de purificação da SF-1.



3.6.3. Estudo da fração *n*-BuOH

Parte da fração *n*-BuOH (5,8 g) foi submetida a CC em Diaion HP-20 (H = 30 cm, ϕ = 4,6 cm), eluída com água (2L), MeOH:H₂O 75 % (1 L), MeOH:H₂O 50 % (0,5 L) e MeOH (0,5 L). A subfração 2 (250 mg), eluída com MeOH:H₂O 75 %, foi submetida a fracionamento em Sephadex LH-20 (H = 32 cm, ϕ = 3,8 cm), usando metanol como eluente. Foram coletadas 31 subfrações de 10 mL cada, e após serem analisadas por CCDA, foram agrupadas em 6 novas subfrações. A subfração 4 (105,9 mg) foi submetida à separação em CLAE usando uma coluna C18 ODS, como fase móvel a mistura de ACN:solução acidificada à 1 % com ácido acético (15:85), fluxo 10 mL/min, monitorado em 254 nm, resultando no isolamento de **PT-6** (6,6 mg).

Além do composto **PT-6**, todos os flavonoides identificados na Fr. AcOEt também estão presentes na fração *n*-BuOH.

3.7. Estudo químico dos ramos e raízes de *P. trichophora*

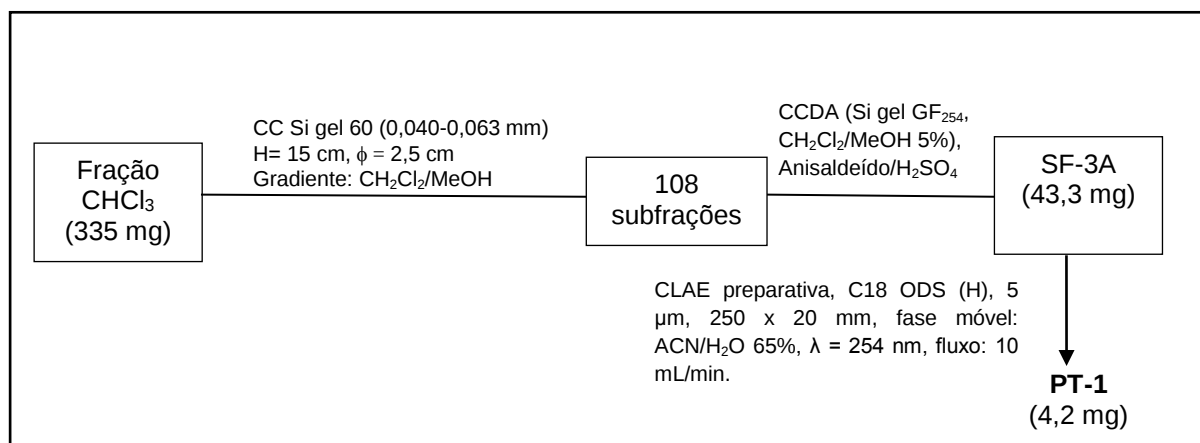
Os ramos e raízes de *P. trichophora* foram dessecados em estufa com ventilação forçada a 40 °C, moídos em moinho de facas com granulação definida. O material pulverizado (700 g) foi submetido à extração por maceração com etanol 96 %. O extrato etanólico foi filtrado, concentrado em rotaevaporador à pressão reduzida, fornecendo 28 g de extrato bruto. Parte do extrato (7,5 g) foi solubilizado em MeOH/H₂O (7:3) e, submetido a partições líquido/líquido com solventes em ordem crescente de polaridades, obtendo as frações em hexano, CHCl₃ e AcOEt.

3.7.1. Estudo da fração CHCl_3

O resíduo da fase CHCl_3 (335 mg) foi submetido à cromatografia em coluna em sílica gel 60, usando gradiente de CHCl_3 :MeOH, como eluente, obtendo-se um total de 108 subfrações, de aproximadamente 10 mL cada. As subfrações após serem analisadas por CCDA foram reunidas em 10 novas subfrações de acordo com os perfis cromatográficos apresentados.

A SF-3 foi purificada por CLAE no modo reverso, usando como fase móvel ACN/ H_2O 65%, corrida isocrática. A SF-3A coletada no tr. 5,7 min, teve a fase móvel eliminada e forneceu 4,2 mg de um sólido amarelado que foi identificado como **PT-1**. O esquema de isolamento de **PT-1** está apresentado na Figura 15.

Figura 15- Esquema de isolamento de **PT-1**.



3.8. Fracionamento ácido-base

Dando continuidade ao estudo químico das folhas de *P. trichophora*, só que visando a detecção da presença de alcaloides, uma parte do extrato bruto etanólico (10 g) foi solubilizado em 200 mL de solução aquosa de ácido acético 10 % (v/v) e mantido sob agitação por 24 h. A solução foi filtrada em funil de Büchner para a separação dos resíduos, fornecendo a solução aquosa ácida 1.

A solução aquosa ácida I, 200 mL, foi extraída com clorofórmio, 3 x 100 mL, a qual foi dessecada com Na_2SO_4 anidro. O solvente orgânico foi eliminado em rotaevaporador, obtendo-se a fração ácida clorofórmica (335 mg) e a fase aquosa ácida 2.

À fase aquosa ácida II foi adicionada hidróxido de amônio concentrado até um pH entre 8 e 9, e em seguida, foi submetida extração com clorofórmio, 3 x 100 mL, acetato de etila, 3 x 100 mL e *n*-butanol, 3 x 100 mL. As fases orgânicas foram dessecadas com Na₂SO₄ anidro, filtradas e os solventes orgânicos eliminados em rotaevaporador, obtendo-se as frações básicas: clorofórmica (24 mg), acetato de etila (57 mg) e *n*-butanólica (85 mg), respectivamente.

As frações foram analisadas por CCDA e reveladas com o reagente de Dragendorff, no entanto, em nenhuma fração observou-se mancha alaranja que pudesse sugerir a presença de alcaloides nas mesmas, por isso, as frações não foram submetidas a fracionamentos cromatográficos.

3.9. Atividade biológica

3.9.1. Atividade antioxidante

O método utilizado para a avaliação da atividade antioxidante dos extratos brutos e das frações diclorometano, clorofórmica, acetato de etila e *n*-butanólica foi à reação desses com um radical estável, 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), em uma solução de metanol.

Para a realização dos testes foram preparadas soluções com diferentes concentrações de amostras (extratos e frações) e do controle (ácido ascórbico) em metanol. Das soluções foram retirados volumes de 100 a 300 µL, colocados em tubos de ensaio contendo 2700 µL de solução metanólica de DPPH a 40 µg/mL, quando necessário, acrescentou-se metanol até o volume de 3000 µL. Os tubos foram deixados por 30 minutos no escuro a temperatura ambiente. A redução do radical livre DPPH foi medida pela leitura da absorbância a 515 nm, contra um branco específico (solução da amostra em suas respectivas diluições, sem adição de DPPH). Como controle foi usado 2700 µL da solução de DPPH (40 µg/mL) acrescido de 300 µL de metanol. Todas as concentrações foram testadas em triplicata.

A capacidade de sequestrar o radical livre foi expressa como percentual de inibição de oxidação do radical e calculado conforme fórmula abaixo:

$$\%AA = \{[Abs_{controle} - (Abs_{amostra} - Abs_{branco})] \times 100\} / Abs_{controle},$$

%AA: porcentagem de atividade antioxidante.

Abs_{controle}: absorbância da solução de DPPH 40 µg/mL.

Abs_{amostra}: absorbância da mistura reacional (DPPH+amostra).

O valor de concentração inibitória, IC₅₀ (concentração necessária para inibir 50% do DPPH), foi obtido através da análise de regressão linear pelo programa Origin Pro 2015, por meio de um gráfico com a porcentagem de inibição na abscissa *versus* a concentração das amostras em diferentes concentrações na ordenada, obtendo assim uma reta.

Tratamento Estatístico

Todas as análises foram realizadas em triplicata. Foram considerados estatisticamente diferentes os resultados de atividade antioxidante que apresentaram probabilidade de ocorrência da hipótese de nulidade menor que 5% ($p < 0,05$), aplicando-se ANOVA. A homoscedasticidade das variâncias foi obtida pelo teste de Cochran, após a transformação dos dados por rank, seguida de comparações múltiplas pelo teste de Tukey. As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o software ASSISTAT.

3.9.2. Teste de susceptibilidade antimicrobiana

O teste de toxicidade rápido realizado, foi baseado no trabalho descrito por Jardim e colaboradores (1990), utilizando-se a bactéria *Escherichia coli* ATCC 8739, como organismo-teste. A inibição do crescimento bacteriano foi avaliada por um sistema de análise por injeção em fluxo (FIA) com detecção espectrofotométrica da turbidez da suspensão bacteriana.

Os testes foram realizados no laboratório de Química Analítica, Unidade Universitária de Ciências Exatas e Tecnológicas, Universidade Estadual de Goiás, sob a supervisão do Prof. Dr. Jonas Vieira. A bactéria *E. coli* foi cedida pela Fundação Oswaldo Cruz/RJ.

Preparo do meio de cultura

O meio de cultura para a bactéria *E. coli* foi preparado pela adição de 1,6 g de K_2HPO_4 ; 1,6 g de KH_2PO_4 ; 1 g de NaCl; 4 g $(NH_4)_2SO_4$; 0,1 g de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$; 0,3 g de ácido cítrico em 1L de água destilada. O pH final foi ajustado em 7,2 usando uma solução de NaOH 4 mol/L. O meio de cultura foi autoclavado a 121 °C, por 15 minutos. Após o resfriamento até aproximadamente 70 °C, 2,5 g de glicose foram adicionados na solução e o meio de cultura foi deixado em repouso até atingir a temperatura ambiente.

Procedimento do teste de toxicidade

O meio de cultura líquido (1L) foi contaminado com *E. coli* (mantida em ágar) e deixado à temperatura ambiente até que a suspensão bacteriana começasse a turvar. Em seguida, colocou-se em banho-maria a 37 °C e fez-se o monitoramento da turbidez à 420 nm, até atingir 0,049 de absorbância, que corresponde a uma população microbiana de aproximadamente 8×10^8 células/mL (GIMENEZ, 1994). Neste momento, cuidadosamente, alíquotas de 20 mL da suspensão foram transferidas para tubos de ensaio contendo as amostras-testes (Tabela 3), solubilizadas em 400 µL de DMSO. Os tubos de ensaio foram devidamente lacrados com uma rolha e um capilar interno, por onde a suspensão bacteriana é aspirada e injetada diretamente no percurso analítico do sistema FIA. O monitoramento da turbidez foi realizado a cada 30 minutos, por 3 horas, de acordo com a ordem seguinte: primeiramente o controle; em seguida, as culturas contaminadas e finalmente o branco. Como controle positivo usou-se o antibiótico cloridrato de ciprofloxacino na concentração de 10 µg/mL, como controle negativo (branco), utilizou-se a suspensão bacteriana acrescida de 2 % de DMSO. O meio de cultura sem adição da bactéria atuou como prova em branco. Todas os experimentos foram realizados em triplicata.

Os resultados foram expressos como porcentagem de inibição de crescimento (PIC) do microrganismo, obtido pela expressão: $PIC = [(1 - Abs_{amostra}/Abs_{branco})] \times 100$, em tempo predeterminado do experimento. As amostras e as concentrações utilizadas nos ensaios estão na Tabela 3.

Tabela 3- As amostras e as concentrações usadas nos testes de toxicidade rápida frente a bactéria *E. coli*.

Planta	Amostra	Concentração da amostra (µg/mL)
<i>C. espelina</i>	Extrato bruto	23,4; 62,4; 82,0
	Fr. <i>n</i> -BuOH	24,5; 65,0; 85,0
	Fr. AcOEt	23,0; 60,0; 82,0
	Fr. CH ₂ Cl ₂	23,0; 62,0; 83,5
<i>C. citrullifolia</i>	Extrato bruto	38,0; 60,0; 83,0
	Fr. hidrometanólica	25,0; 60,0; 80,0
	Fr. AcOEt	10,0; 20,0; 40,0
	Fr. CH ₂ Cl ₂	14,5; 25,0; 40,0
<i>C. weddellii</i>	Extrato bruto	25,0; 65,0; 85,0
	Fr. <i>n</i> -BuOH	25,0; 65,0; 85,0
	Fr. AcOEt	25,0; 65,0; 85,0
	Fr. CH ₂ Cl ₂	14,5; 25,0; 40,0
<i>P. trichophora</i>	Extrato bruto	23,5; 62,4; 82,0

Sistema de análise por injeção em fluxo

Um volume determinado da suspensão bacteriana (180 µL) é injetado num carregador (água destilada (St)), o qual flui até a câmara de difusão gasosa (Cd), por onde o CO₂ produzido pela bactéria é difundido através de uma membrana hidrofóbica de Teflon® e descartado pelos orifícios da mesma. A zona de amostra isenta de CO₂ flui passando pela unidade de detecção (Dt), sendo em seguida descartada. A turbidez gera um sinal em função da absorção da radiação eletromagnética em 420 nm. Após atingir o máximo sinal analítico, o injetor é comutado novamente e novo ciclo é iniciado. Quanto mais tóxica a amostra, mais

límpido o meio de cultura permanece. O diagrama esquemático do sistema FIA está apresentado na Figura 16 e foto nas Figuras 17 e 18.

Figura 16- Diagrama do sistema FIA/espectrofotômetro usado no monitoramento da turbidez das suspensões bacterianas nos testes de toxicidade. **St**, solução transportadora; **Am**, amostra; **In**, injetor comutador manual; **Bm**, bomba peristáltica; **Cd**, câmara de difusão; **Dt**, detector (espectrofotômetro); **De**, descarte.

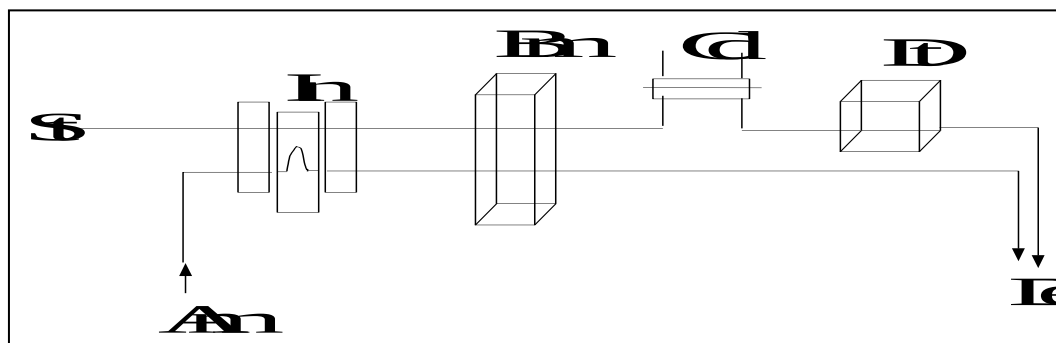


Figura 17- Sistema FIA utilizando nos testes de toxicidade rápida frente a *E. coli*, **(a)** tubo de ensaio contendo a suspensão bacteriana; **(b)** solução transportadora (água); **(c)** bomba peristáltica; **(d)** câmara de difusão gasosa; **(e)** espectrofotômetro.

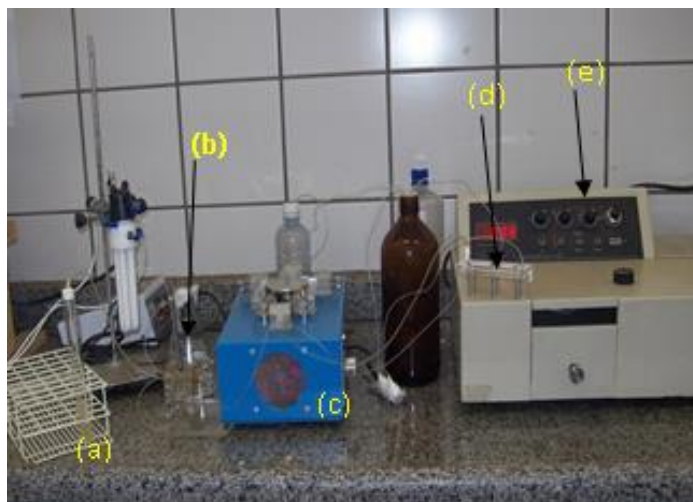


Figura 18- Foto do Injetor/comutador manual e da alça de amostragem **(a)**, tubos usados nos testes **(b)**.



3.9.3. Ensaio citotóxico

Os ensaios biológicos para avaliar a atividade citotóxica *in vitro* frente a células tumorais da linhagem Sarcoma 180 foram realizados segundo o modelo baseado no método do MTT (brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio), no qual consiste na medida do dano induzido pela droga no metabolismo celular de glicídeos, principalmente, na atividade de desidrogenases (MOSMANN, 1983).

Os ensaios citotóxicos foram realizados no laboratório de Genética do Instituto de Ciências Biológicas I da Universidade Federal de Goiás, sob a coordenação da Profa. Dra. Elisângela de Paula Silveira Lacerda.

Os extratos foram diluídos em 200 µL DMSO a 0,1% e 800 µL de meio RPMI, iniciando a triagem na concentração de 1 mg.mL⁻¹. Para a realização dos ensaios biológicos, as células foram mantidas com meio RMPI 1640, L-glutamina, suplementado com 10% de soro fetal bovino e 1% de gentamicina.

O processo de quantificação celular foi feito colocando-se em um *eppendorf* 10 µL de células e 90 µL de azul de trypan. Desse *eppendorf* retirou-se, então, uma alíquota de 10 µL e colocou-a na Câmara de Neubauer para a quantificação.

As células de Sarcoma 180 foram quantificadas e plaqueadas em placa com microplacas de 96 poços, com 1x10⁵ de célula em cada poço. Em seguida as células foram tratadas com amostras-teste com diferentes concentrações por 48 horas. Posteriormente foi adicionado o sal tetrazólio MTT, e após 3 horas o SDS foi adicionado. A quantificação da densidade óptica foi medida em um espectrofotômetro com filtro de 550 nm, após 24h do tratamento com SDS.

4 Resultados e discussão

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Rendimento dos extratos e frações

Os rendimentos dos extratos brutos etanólicos de *C. espelina*, *C. weddellii*, *C. citrullifolia*, *P. trichophora*, e respectivas frações obtidas por partições líquido-líquido com solventes de polaridades crescentes encontram-se nas Tabelas 4 e 5.

Tabela 4- Rendimento dos extratos brutos etanólicos.

Espécie	Parte da planta	Massa do material botânico seco e moído (g)	Massa do extrato bruto obtida (g)	Rendimento (% m/m)*
<i>C. espelina</i>	Folhas	90	8,5	9,4
<i>C. weddellii</i>	Folhas	28	5,3	18,9
<i>C. citrullifolia</i>	Folhas	120	15,0	12,5
<i>P. trichophora</i>	Folhas	378	67,0	17,7
	Ramos e Raízes	700	28,0	4,7

*Cálculo do rendimento (%)= (massa do extrato/massa da planta seca) x 100.

Tabela 5- Rendimentos das frações obtidas por partições líquido-líquido dos extratos brutos.

Espécie	Massa do extrato usada (g)	Massa (g) e rendimento (% m/m) das frações ^a				
		Fr. hexânica	Fr. CHCl ₃ ou CH ₂ Cl ₂	Fr. AcOEt	Fr. <i>n</i> -BuOH	Fr. hidrometanólica
<i>C. espelina</i>	8,00	0,13 (1,6)	0,38 (4,7) ^e	0,86 (10,7)	1,30 (16,2)	4,65 (58,2)
<i>C. weddellii</i>	4,50	0,87 (19,3)	1,00 (22,2) ^d	0,74 (16,4)	1,10 (24,4)	0,50 (11,1)
<i>C. citrullifolia</i>	14,00	1,14 (8,1)	0,49 (3,5) ^e	0,79 (5,6)	1,34 (9,6)	9,50 (67,8)
<i>P. trichophora</i>	55,00 ^b	1,05 (1,9)	2,50 (4,5) ^e	5,20 (9,4)	12,00 (21,8)	nd
	7,50 ^c	0,19 (2,5)	0,34 (4,5) ^d	0,17 (2,2)	-	~ 6,5 g

^aCálculo do rendimento (%) = (massa da fração/massa do extrato bruto) x 100. ^bExtrato das folhas. ^cExtrato dos ramos e raiz. ^dFração CHCl₃. ^eFração CH₂Cl₂. nd (não determinada).

4.2. Fracionamento ácido-base do extrato etanólico das folhas de *P. trichophora*

Uma parte do extrato bruto etanólico das folhas de *P. trichophora* foi submetida à partição líquido/líquido, resultando em 5 frações com diferentes níveis de polaridades, Fr. hexânica, Fr. CH₂Cl₂, Fr. AcOEt, *n*-BuOH e hidrometanólica. As frações foram analisadas por CCDA, utilizando-se como fase estacionária sílica gel 60 com indicador de fluorescência (UV254) e diversas fases móveis. A revelação das cromatoplasas com o reagente de Dragendorff mostraram manchas amareladas, pouco intensas nas frações AcOEt e *n*-BuOH, sugerindo a presença de compostos nitrogenados. No entanto, estudos químicos dessas frações levaram ao isolamento exclusivamente de flavonoides (**PT-2**, **PT-3**, **PT-4** e **PT-5**) e nenhum alcaloide foi encontrado.

Assim, dando continuidade ao estudo químico das folhas de *P. trichophora*, só que agora visando à detecção de alcaloides, uma vez que esses compostos são considerados os marcadores químicos do gênero, parte do extrato bruto etanólico (10 g) foi submetido à fracionamento ácido-base padrão para alcaloides. Foram obtidas as frações: ácida clorofórmica (335 mg) e as básicas: clorofórmica

(24 mg), acetato de etila (57 mg) e *n*-butanólica (85 mg). As frações obtidas foram analisadas por CCDA em sílica gel com várias fases móveis e reveladas com o reagente Dragendorff. Nas cromatoplaças não se observou manchas alaranjadas que pudessem sugerir a presença de alcaloides nas folhas de *P. trichophora*.

Os espectros de RMN de ^1H das frações: ácida CHCl_3 e básica CHCl_3 , mostraram apenas sinais na região mais blindada, os quais podem sugerir a presença de terpenos. Já o espectro da fração básica *n*-BuOH mostrou apenas sinais de açúcares, enquanto, o espectro da fração básica AcOEt apresentou sinais pouco intensos na região de hidrogênios aromáticos, mas não foi possível inferir a presença de alcaloides na fração com base nesses sinais.

Um levantamento bibliográfico realizado sobre as espécies de *Psychotria*, investigadas sob o ponto de vista químico, mostrou a ausência de alcaloides em apenas 6 espécies, *P. carthagenensis* (LEAL; ELISABETSKY, 1996; LOPES *et al.*, 2004), *P. gitingensis*, *P. corea* (TAN *et al.*, 2012), *P. yunnanensis* (LU *et al.*, 2014a), *P. rubra* (LU *et al.*, 2014b) e *P. vellosiana* (MORENO *et al.*, 2014). Nestas espécies foram encontrados flavonoides, cumarinas, diterpenos, esteroides, norisoprenoides, monoterpenos, compostos fenólicos, iridoides e naftoquinonas.

A ausência de alcalóides em diferentes espécies de *Psychotria* ilustra a importância da análise química do gênero, tal como proposto por Tan *et al.* (2012), que além dos alcaloides, outros metabólitos secundários devem ser utilizados como marcadores quimiotaxonômicos no gênero.

Assim, este estudo acrescenta uma nova espécie a uma série de trabalhos que mostram a ausência de alcaloide em *Psychotria*.

4.3. Compostos isolados

Os extratos etanólicos de folhas das plantas medicinais *C. espelina*, *C. citrullifolia*, *C. weddellii* e *P. trichophora* foram purificados através de vários procedimentos cromatográficos em sílica gel, Sephadex LH-20 e CLAE preparativa no modo reverso, obtendo-se treze compostos de diferentes classes, sendo vários bioativos.

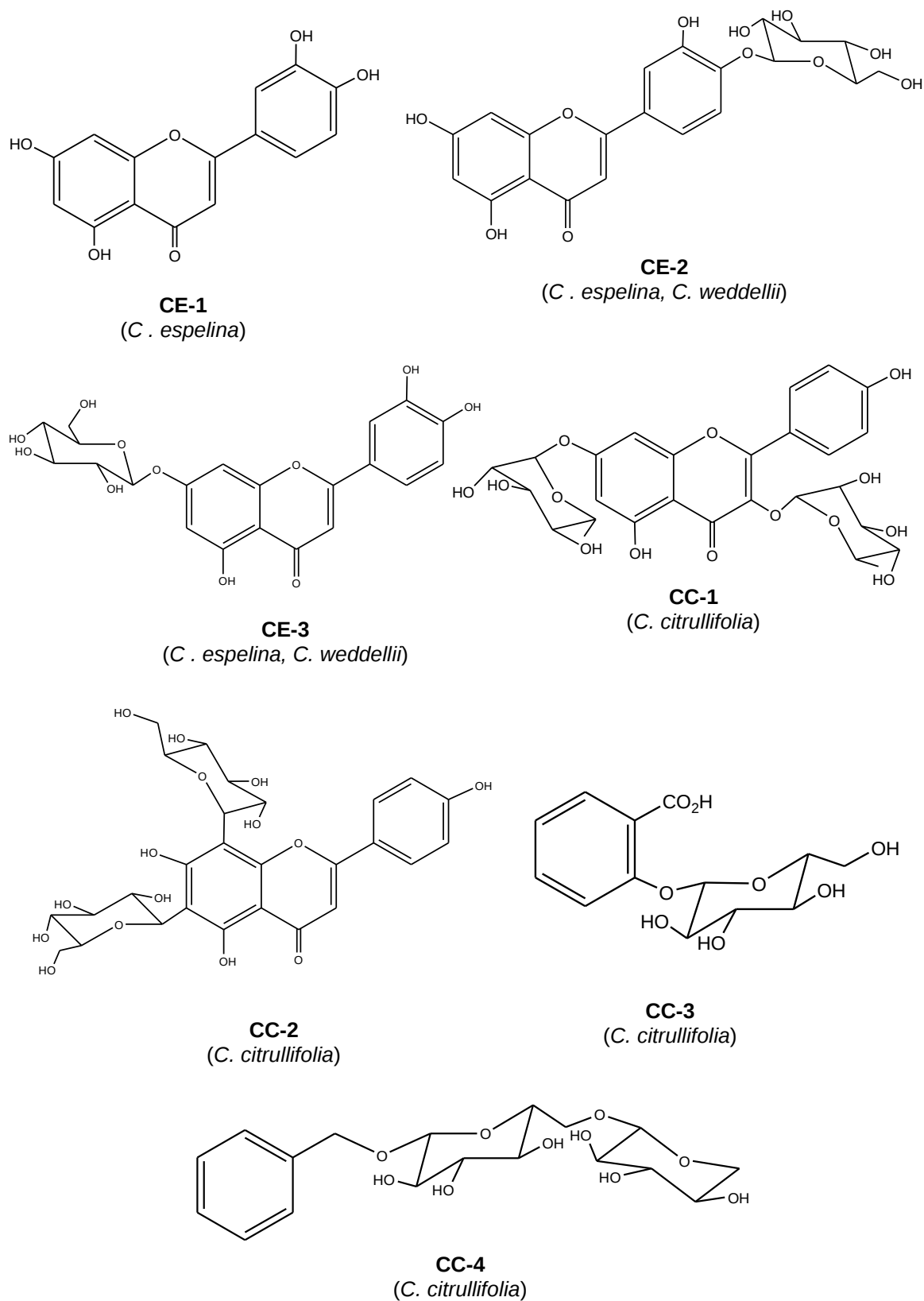
A elucidação estrutural dos compostos isolados foi realizada com base na análise dos espectros de absorção na região do infravermelho (IV), de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C , experimentos uni e bidimensionais (HSQC, HMBC, COSY e TOCSY).

4.3.1. Compostos isolados de *C. espelina*, *C. citrullifolia* e *C. weddellii*

O estudo fitoquímico da fração acetato de etila de *C. espelina* resultou no isolamento dos compostos **CE-1**, **CE-2** e **CE-3**, identificados como sendo as flavonas luteolina, luteolina 4'-O- β -D-glicopiranosídeo e luteolina 7-O- β -D-glicopiranosídeo, respectivamente (Figura 20). Já o estudo das frações *n*-BuOH e hidrometanólica das folhas de *C. citrullifolia*, levaram ao isolamento e elucidação estrutural de quatro compostos, um flavonol glicosilado (**CC-1**), uma flavona C-glicosilada (**CC-2**), um derivado do álcool benzílico (**CC-3**) e um salicilato (**CC-4**) (Figura 20). Os compostos foram identificados como canferol 3,7-di-O- α -L-ramnopiranosídeo, vicenina-2, ácido β -O-glucosilsalicílico e benzil-O- β -D-xilopiranosil-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glicopiranosídeo, respectivamente. Nas folhas de *C. weddellii* foram identificados os flavonoides **CE-2** e **CE-3**, previamente isolados das folhas de *C. espelina*. Dos compostos relacionados acima, com exceção da vicenina-2 (**CC-2**), previamente relatada na raiz de *C. tayuya*, os demais compostos estão sendo descritos pela primeira vez no gênero *Cayaponia*.

As formulas estruturais dos compostos isolados e identificados nas folhas de *C. espelina*, *C. weddellii* e *C. citrullifolia* estão representadas na Figura 19.

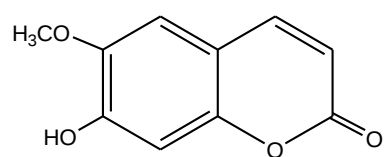
Figura 19- Estruturas dos compostos isolados e identificados nas folhas de *C. espelina*, *C. weddellii* e *C. citrullifolia*.



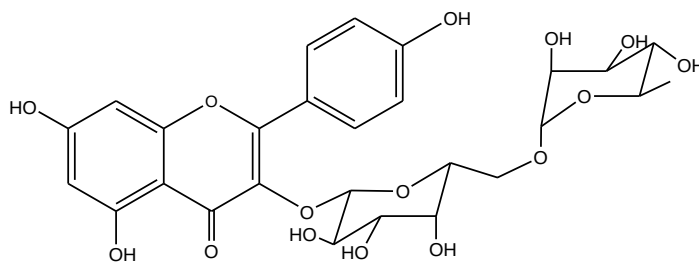
4.3.2. Compostos isolados de *P. trichophora*

A quarta espécie investigada neste trabalho foi *P. trichophora*, cujo estudo químico da fração acetato de etila das folhas levou ao isolamento e elucidação estrutural dos compostos, canferol-3-*O*- β -D-robinosídeo (**PT-2**), cameliasídeo B (**PT-3**), do canferol-3-*O*-{ β -D-xilopiranosil-(1 $\rightarrow$ 2)-[α -L-raminopiranosil-(1 $\rightarrow$ 6)]}- β -D-galactopiranosídeo (**PT-4**) e do canferol-3-*O*-[β -D-xilopiranosil-(1 $\rightarrow$ 3)- α -L-raminopiranosil-(1 $\rightarrow$ 6)]- β -D-galactopiranosídeo (**PT-5**). A investigação química da fração *n*-butanólica levou ao isolamento de **PT-6**, identificado com sendo ácido 5-*p*-coumaroilquínico. Já o estudo químico do extrato bruto etanólico da raiz e ramos levou ao isolamento da cumarina, escopoletina (**PT-1**). Os flavonoides **PT-2** a **PT-5** foram identificados também na fração *n*-butanólica (Figura 20).

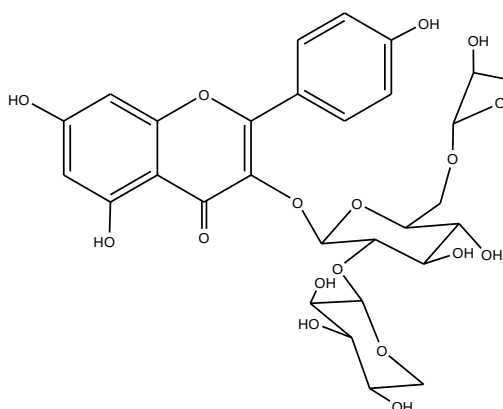
Figura 20- Estruturas dos compostos isolados e/ou identificados em *P. trichophora*.



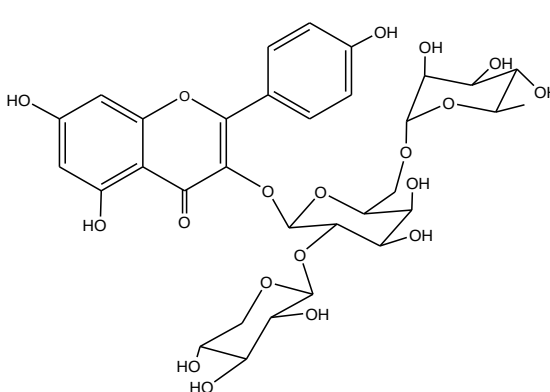
PT-1



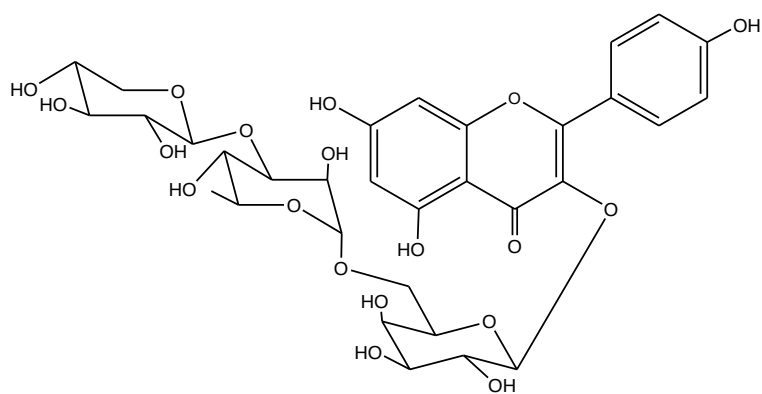
PT-2



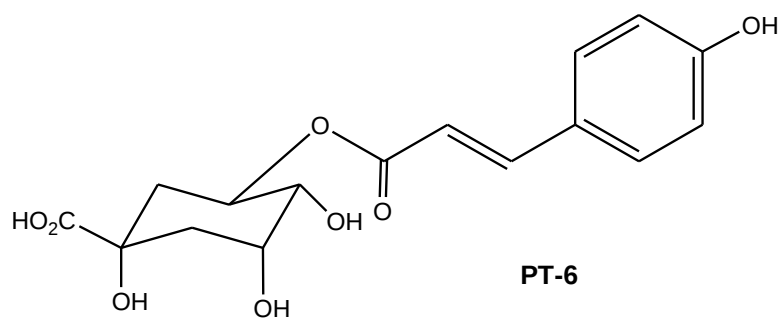
PT-3



PT-4



PT-5



PT-6

O levantamento bibliográfico apresentado na introdução deste trabalho, mostrou a ocorrência de apenas 8 flavonoides, isolados de cinco espécies de *Psychotria*. Na família Rubiaceae, os flavonoides constituem um dos grupos de substâncias mais frequentes em espécies dos gêneros: *Uncaria*, seguida de *Gardenia* e *Ixora*. Dentre os flavonoides relatados em Rubiaceae, os flavonóis e seus 3-O-heterosídeos são os mais frequentes. A glicose e a ramnose são os açúcares mais comuns, seguida da galactose.

Neste trabalho o estudo químico do extrato etanólico das folhas de *P. trichophora* resultou no isolamento de quatro flavonóis, todos 3-O-heterosídeos, com agliconas do canferol. Detectou-se também a presença de mais 4 flavonóis 3-O-diglicosídeos no extrato, mas devido à pouca massa nas frações, estes compostos não tiveram suas estruturas elucidadas.

O composto canferol-3-O- β -D-robinosídeo (**PT-2**), é inédito no gênero *Psychotria*. Na família Rubiaceae já foi isolado de 3 espécies: *Ixora undulata* (SUGIMOTO *et al.*, 2014), *Uncaria rhynchophylla* (Miq.) Jacks. (MA *et al.*, 2009) e *Chimarrhis turbinata* Duck Prodr. (CARDOSO *et al.*, 2005).

Já o composto cameliasídeo B (**PT-3**) também está sendo descrito pela primeira vez no gênero *Psychotria*. Em Rubiaceae esse composto foi isolado da espécie, *Galium sinaicum* (GAMAL *et al.*, 1999). Previamente isolado das sementes da planta chinesa *Camellia oleifera* Abel (Theaceae) (DU *et al.*, 2008), do feijão verde (*Phaseolus vulgaris*, Fabaceae) (PLUMB *et al.*, 1999), de *Camellia sinensis* (Theaceae) (SEKINE *et al.*, 1991) e recentemente de *Zizyphus jujuba* var. *spinosa* (YOUNG *et al.*, 2012).

Recentemente, Wei e colaboradores (2014) demonstraram que o cameliasídeo B possui excelente atividade antioxidante *in vivo*, em ensaio de estresse oxidativo induzido por juglona, com IC₅₀ de 0,21 μ g/mL. O composto apresentou também pronunciada atividade citotóxica a células de carcinoma hepatocelular BEL-7402. Em ensaios anti-HIV-RT o composto mostrou-se inativo, com IC₅₀ > 200 μ g/mL (DU *et al.*, 2008).

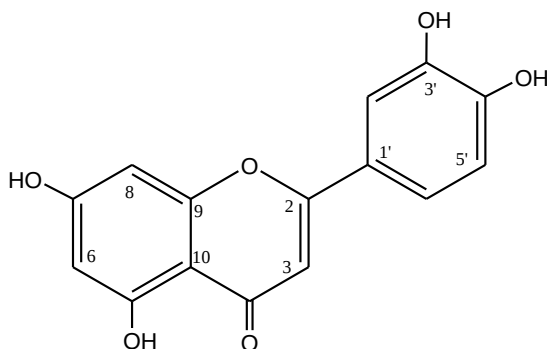
O canferol-3-O- $\{\beta$ -D-xilopiranosil(1 $\rightarrow$ 2)- $[\alpha$ -L-raminopiranosil-(1 $\rightarrow$ 6)] $\}$ - β -D-galactopiranosídeo (**PT-4**), isolado das folhas de *Trifolium repens* L. (Fabaceae) (KICEL; WOLBIS, 2012) e das raízes de *Andira humilis* (Leguminosae) (GARCEZ *et al.*, 2010), mostrou atividade antimalárica *in vitro* frente ao *Plasmodium*

falciparum, com 68,7% de inibição, na concentração de 0,5 ng/mL (MURAKAMI *et al.*, 2001).

O composto canferol-3-O- $\{\beta$ -D-xilopiranosil(1 $\rightarrow$ 3)- $[\alpha$ -L-raminopiranosil(1 $\rightarrow$ 6)] $\}$ - β -D-galactopiranosídeo (**PT-5**) já foi isolado de *Astragalus caprinus* (Fabaceae) (SEMMAR *et al.*, 2005) e *Oxytropis falcata* (Leguminosea) (WANG *et al.*, 2012). Para este composto não existe trabalho referente a atividade biológica descrito na literatura.

4.4. Elucidação estrutural dos compostos isolados

4.4.1. Composto CE-1



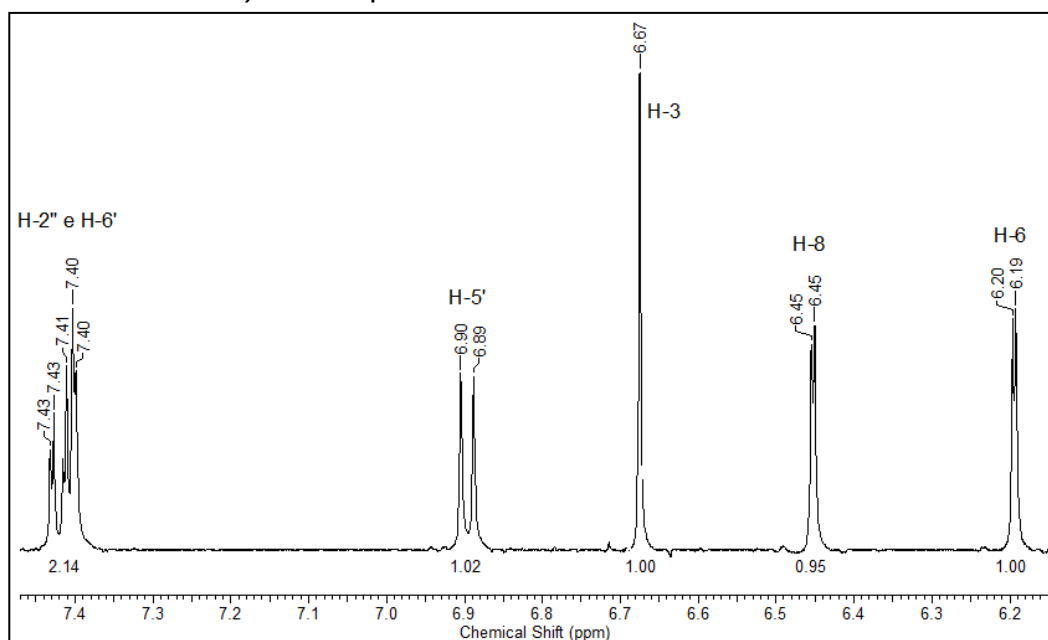
O composto **CE-1** foi isolado da fração AcOEt das folhas de *C. espelina* como um sólido amarelo, solúvel em DMSO, apresentando fluorescência sob luz ultravioleta ($\lambda=254$ nm) e coloração amarela quando revelado com anisaldeído.

O espectro do composto **CE-1** na região do IV (Apêndice, Figura A1) apresentou uma banda intensa e larga em 3422 cm^{-1} , típica de deformação axial do grupo OH, uma banda em 1659 cm^{-1} , referente a deformação axial da ligação C=O, indicando a presença de carbonila α,β -insaturada ou envolvida em ligação de hidrogênio e banda em 1610 e 1503 cm^{-1} , atribuídos a deformação axial de C=C de aromáticos.

O espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 500 MHz) (Apêndice, Figuras A2 e A3) do composto **CE-1** apresentou um par de dupletos em δ_{H} 6,19 e δ_{H} 6,45, com constantes de acoplamento de 2,2 Hz, típicos de hidrogênios aromáticos acoplados *meta* entre si (H-6 e H-8), respectivamente. Vemos também, sinais mais desblindados em δ_{H} 7,40 (1H, *d*, $J = 2,3$ Hz), 6,90 (1H, *d*, $J = 8,3$ Hz) e 7,42 (1H, *dd*, $J = 8,3$ e $2,3$ Hz), característicos de um sistema de spins do tipo ABM, referentes aos hidrogênios H-2', H-5' e H-6' do anel B de um flavonoide, respectivamente (Figura 21).

Além destes sinais, o espectro de RMN de ^1H mostrou um simpleto em δ_{H} 6,67, característico do hidrogênio H-3 de uma flavona (HARBONE, 1994), um simpleto alargado em δ_{H} 12,98 (OH-5), que condiz com um hidrogênio em ligação de hidrogênio com carbonila em (C-4).

Figura 21- Expansão na região entre 7,47 a 6,15 ppm do espectro de RMN de ^1H (DMSO- d_6 , 500 MHz) do composto **CE-1**.



Assim, através da análise dos dados de RMN de ^1H de **CE-1** e comparação com a literatura (LI *et al.*, 2008), o composto **CE-1** foi identificado como a flavona luteolina.

Os dados de RMN de ^1H obtidos para o composto **CE-1** e os dados utilizados para comparação, estão apresentados na Tabela 6.

Tabela 6- Dados espectrais de RMN ^1H do composto **CE-1** (500 MHz, DMSO- d_6) e referência consultada para a luteolina.

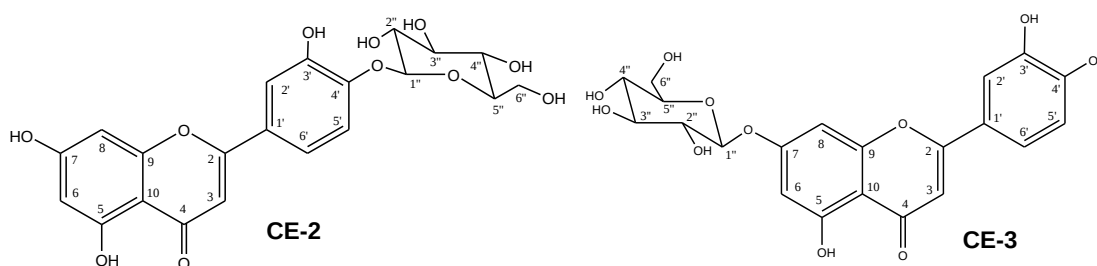
Posição	CE-1	Luteolina* (LI <i>et al.</i> , 2008)
	δ_{H} ; multiplicidade; J (Hz)	δ_{H} ; multiplicidade; J (Hz)
3	6,67; s	6,74; s
6	6,19; d; 2,2	6,44; d; 1,9
8	6,45; d; 2,2	6,79; d; 1,9
2'	7,40; d; 2,3	7,42; d; 2,2
5'	6,90; d; 8,3	6,90; d; 8,2
6'	7,42; dd; 8,3; 2,3	7,45; dd; 8,2; 2,2
Hidroxila quelatogênica	12,98; s/	

*RMN de ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz).

A luteolina está sendo relatada pela primeira vez no gênero *Cayaponia*. Na família *Cucurbitaceae* foi encontrada em algumas espécies, como em *Curcuma longa* L (SHABANA; AFIFI, 2014) e *Luffa echinata* Roxb. (SESHADRI; VYDEESWARAN, 1971).

As propriedades antitumorais da luteolina são amplamente discutidas na literatura, e seus efeitos citotóxicos já foram descritos para várias linhagens de células tumorais, estando relacionados ao bloqueio do ciclo celular em G2M seguido de apoptose, além de modular a atividade de várias proteínas celulares. Além disso, a luteolina mostrou-se capaz de inibir a angiogênese, prevenir a carcinogênese e sensibilizar as células tumorais a agentes quimioterápicos (KANADASWAMI *et al.*, 2005; SHI *et al.*, 2007). Recentemente, Yang e colaboradores (2014), demonstraram que o uso combinado de luteolina com paclitaxel pode ser uma nova estratégia para o tratamento de câncer de mama. Zhao e colaboradores (2011) relataram que a luteolina é um eficaz agente quimioterapêutico para o tratamento de câncer de pulmão, atuando através de múltiplas vias, incluindo a parada do ciclo celular e apoptose. A luteolina mostrou também atividade antiinflamatória (SUNG *et al.*, 2015), antioxidante, antibacteriana (SINGH *et al.*, 2014), entre outras.

4.4.2. Compostos CE-2 e CE-3



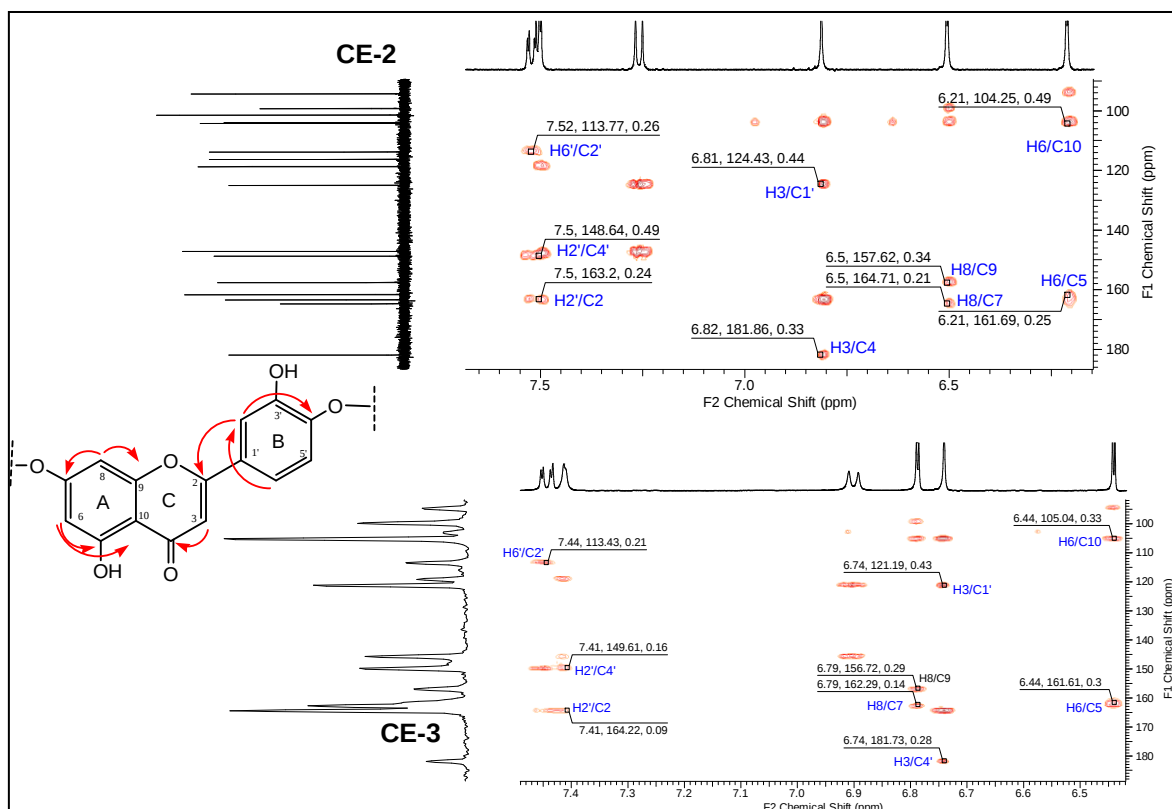
Os compostos **CE-2** e **CE-3** foram isolados da fração AcOEt das folhas de *C. espelina*, como sólidos amarelos, pontos de fusão 184-185 °C [Lit. p.f. 257-259 °C] (LI *et al.*, 2008) e 255-256 °C, respectivamente. Apresentaram fluorescência sob luz ultravioleta ($\lambda=254$ nm) e coloração amarela quando revelados com anisaldeído.

Os espectros dos compostos **CE-2** (Apêndice, Figura A4) e **CE-3** (Apêndice, Figura A12) na região do IV apresentaram, respectivamente, bandas intensas em 3413 cm^{-1} e 3451 cm^{-1} típicas de deformação axial do grupo OH, além das bandas em 1666 cm^{-1} e 1661 cm^{-1} referentes a deformação axial da ligação C=O, indicando a presença de carbonila α,β -insaturada ou envolvida em ligação de hidrogênio e os pares de bandas em $[1612\text{ e }1507\text{ cm}^{-1}]$ e $[1607\text{ e }1501\text{ cm}^{-1}]$, atribuídos a deformação axial de C=C de aromáticos.

Os espectros de RMN de ^1H de **CE-2** (DMSO- d_6 , 500 MHz) (Apêndice, Figuras A5 e A6) e **CE-3** (DMSO- d_6 , 500 MHz) (Apêndice, Figuras A13 e A14) mostraram-se bastante semelhantes, principalmente, pelos sinais observados para **CE-2**, em δ_{H} 6,21 (*d*, $J = 2,1\text{ Hz}$) e 6,51 (*d*, $J = 2,1\text{ Hz}$), atribuídos aos hidrogênios H-6 e H-8, do anel A tetrassubstituído. Para o composto **CE-3** foi observado o mesmo padrão de substituição para o anel A, no entanto para H-6 e H-8, atribuiu-se o par de dupletos em δ_{H} 6,45 ($J = 2,1\text{ Hz}$) e 6,80 ($J = 2,1\text{ Hz}$). Por outro lado, os sinais referentes ao sistema de spins do tipo ABX em δ_{H} 7,50 (1H, *d*, $J = 2,2\text{ Hz}$), 7,25 (1H, *d*, $J = 8,4\text{ Hz}$), 7,52 (1H, *dd*, $J = 8,4\text{ e }2,2\text{ Hz}$) observados no espectro de **CE-2**, e em δ_{H} 7,42 (1H, *s*), 6,91 (1H, *d*, $J = 8,4\text{ Hz}$), 7,45 (*dd*, $J = 8,4\text{ e }2,2\text{ Hz}$) no espectro de **CE-3**, foram atribuídos aos hidrogênios H-2', H-5' e H-6' do anel B, respectivamente. Os simpletos em δ_{H} 6,81 e 6,75 correlacionados, nos respectivos mapas de HSQC (Apêndice, Figuras A9 e A15), com os sinais de carbono em δ_{C} 103,8 e δ_{C} 103,4, respectivamente, foram atribuídos ao carbono C-3, de cada composto enquanto os pares de sinais de carbonos em δ_{C} 163,9/164,4 e 181,8/181,7 são referentes aos carbonos C-2 e C-4 do anel C, de **CE-2** e **CE-3**, respectivamente.

Nas análises dos mapas de correlação HMBC (Figura 22) foram observadas importantes correlações que auxiliaram na atribuição dos deslocamentos químicos dos carbonos das agliconas dos compostos **CE-2** e **CE-3**, respectivamente.

Figura 22- Expansões na região aromática dos mapas de correlação HMBC dos compostos **CE-2** e **CE-3**.

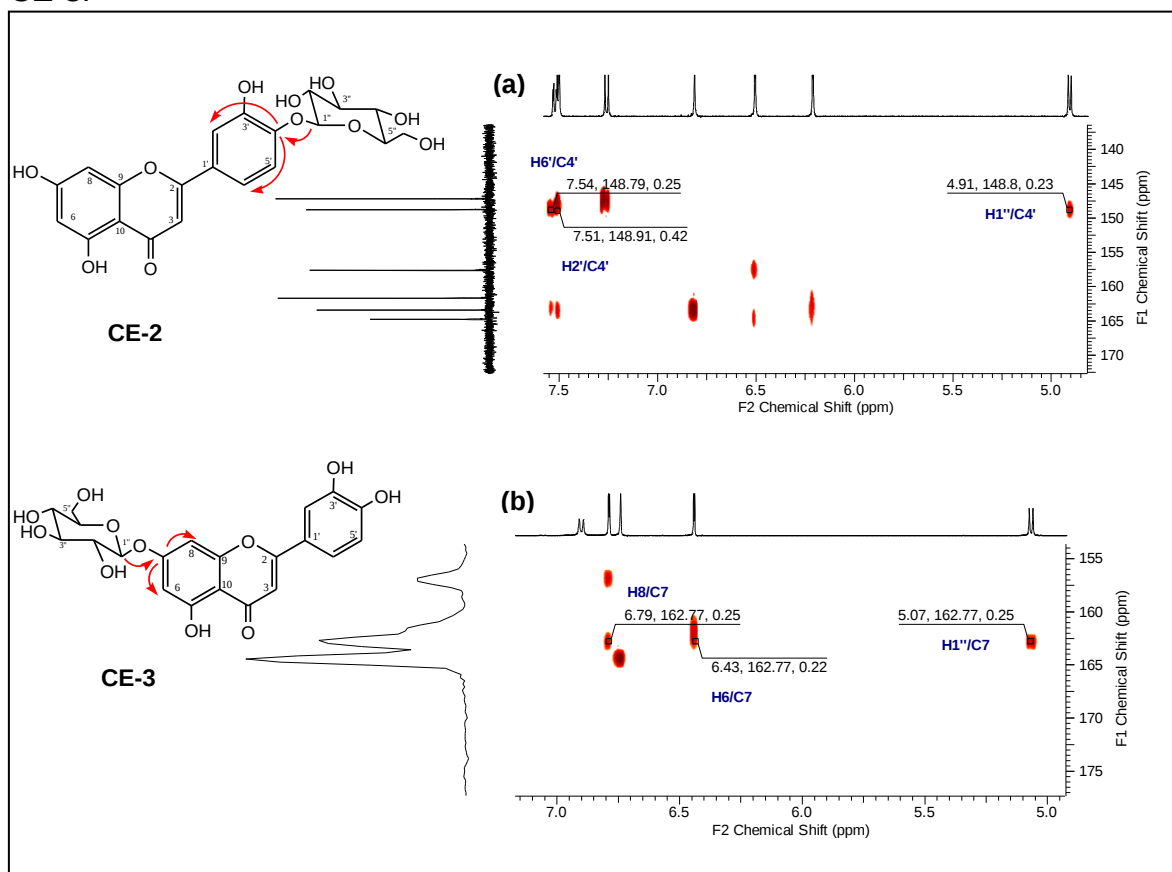


Os espectros de RMN de ^1H exibiram, ainda, sinais de hidrogênios anoméricos em δ_{H} 4,90 (1H, *d*, H-1'') e 5,08 (1H, H-1'') com constantes de acoplamento de 7,3 Hz e 7,5 Hz, respectivamente, revelando uma configuração β para os monossacarídeos. Os sinais citados acima correlacionaram no mapa de HSQC com os sinais de carbonos em δ_{C} 101,2 e 100,2. Foram observados, também, sinais de carbonos oximetínicos em δ_{C} 73,3 (C-2'', 2x), 75,9/76,6 (C-3''), 77,1/77,3 (C-4'') e carbonos oximetilênicos em δ_{C} 60,8/60,9 (C-6''), estes que mostram correlação, a longa distância, no mapa de HMBC (Apêndice, Figuras A10, A11 e A16), com os hidrogênios H-4'' em δ_{H} 3,36-3,45/3,43-3,51 (*m*) e com H-5'' em δ_{H} 3,21 (*t*, $J = 8,9$ Hz)/3,20 ($J = 9,0$ Hz), dos compostos **CE-2** e **CE-3**, respectivamente.

A localização da unidade de glicose no composto **CE-2** foi estabelecida através da análise do mapa de correlação HMBC (Figura 23a), onde mostrou claramente uma interação à longa distância entre o hidrogênio anomérico H-1'' (δ_{H} 4,90) do açúcar e o carbono C-4' (δ_{C} 148,6) e, este com os hidrogênios

aromáticos H-2' (δ_H 7,50) e H-6' (δ_H 7,52). Já no mapa de HMBC (Figura 23b) do composto **CE-3** foi observada a correlação entre o hidrogênio anomérico H-1'' (δ_H 5,08) com o carbono C-7 (δ_C 162,8) e, este com os hidrogênios H-6 (δ_H 6,45) e H-8 (δ_H 6,80).

Figura 23 - Expansões dos mapas de correlação HMBC dos compostos **CE-2** e **CE-3**.



Assim, através da análise dos dados de RMN uni e bidimensionais (Tabela 7) dos compostos **CE-2** e **CE-3** e comparação com dados da literatura, permitiram identifica-los como sendo a luteolina 4'-O- β -D-glicopiranosídeo (nephrocizin) (JIANG et al., 2010) e a luteolina 7-O- β -D-glicopiranosídeo (cinarosídeo) (LI et al., 2008), respectivamente. Esses compostos são inéditos em espécies do gênero *Cayaponia*. Na família Cucurbitaceae foram relatados em algumas espécies, como em *S. edule* (SICILIANO et al., 2014).

Os dados de RMN de 1H e ^{13}C dos compostos **CE-2** e **CE-3** estão apresentados na Tabela 7. As principais correlações observadas nos mapas de HMBC para os compostos **CE-2** e **CE-3** estão representadas na Figura 24.

Figura 24- Principais correlações observadas no mapa de HMBC dos compostos **CE-2** e **CE-3**.

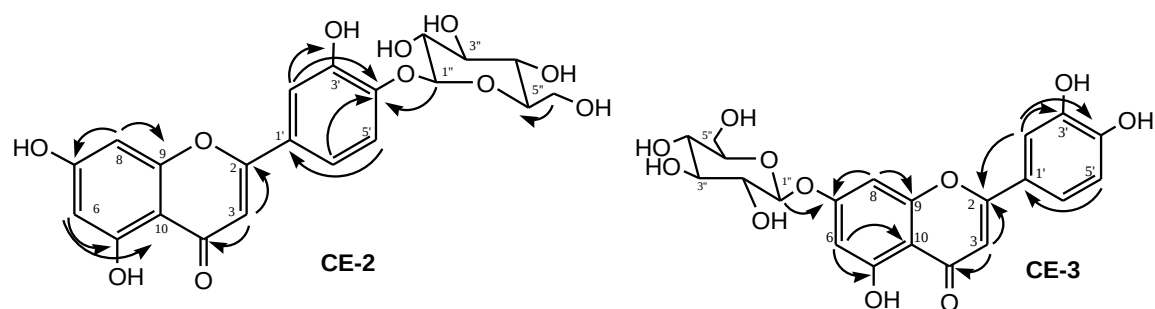


Tabela 7- Dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C dos compostos **CE-2** e **CE-3** (500, 125 MHz, DMSO- d_6).

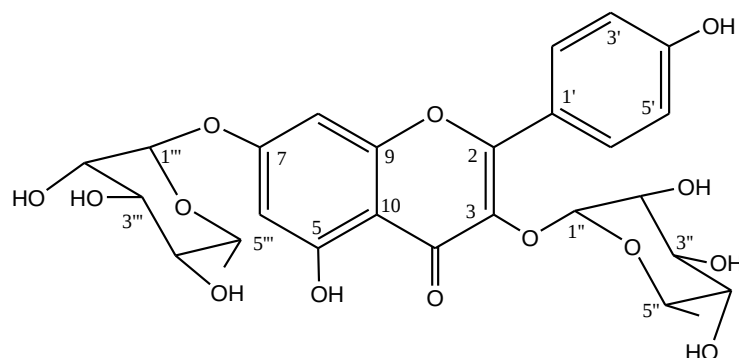
Posição	CE-2			CE-3		
	δ_c	δ_H ; multiplicidade; J (Hz)	HMBC	δ_c	δ_H ; multiplicidade; J (Hz)	HMBC
2	163,9			164,4		
3	103,8	6,81; s	C-2, C-4, C-10, C-1'	103,4	6,75; s	C-2, C-4, C-10
4	181,8			181,7		
5	161,4			161,9		
6	99,0	6,21; d; 2,1	C-5, C-8, C-10	100,0	6,45; d; 2,1	C-5, C-8, C-10
7	164,6			162,8		
8	94,3	6,51; d; 2,1	C-6, C-7, C-9, C-10	95,0	6,80; d; 2,1	C-6, C-7, C-9, C-10
9	157,4			156,9		
10	104,0			105,3		
1'	124,8			121,2		
2'	113,6	7,50; d; 2,2	C-2, C-4', C-6'	113,8	7,42; sl	C-2, C-3', C-4', C-6'
3'	147,0			145,8		
4'	148,6			149,9		
5'	116,1	7,25; d; 8,4	C-1', C-3'	116,2	6,91; d; 8,4	C-1', C-3'
6'	118,5	7,52; dd; 8,4; 2,2	C-2, C-2', C-4'	119,6	7,45; dd; 8,4; 2,2	C-2, C-2', C-4'
1''	101,2	4,90; d; 7,3	C-4'	100,2	5,08; d; 7,5	C-7
2''	73,3	3,27-3,35; m		73,3	3,25-3,37, m	C-1''
3''	75,9	3,27-3,35; m		76,6	3,25-3,37, m	C-1''
4''	77,1	3,36-3,43; m		77,3	3,43-3,51, m	
5''	69,8	3,21; t; 8,9		69,9	3,20; t; 9,0	C-3''
6''	60,8	3,74; d; 10,0		60,9	3,73; d; 10,1	

A literatura relata importantes atividades biológicas para a luteolina 7-O- β -D-glicopiranosídeo, como efeito cardioprotetor frente à toxicidade induzida pela doxorrubicina em células H9c2, com redução dos níveis de LDH (lactose desidrogenase) e CK (creatina quinase), além de diminuir a concentração intracelular de ROS (espécies reativas de oxigênio) e $[\text{Ca}^{2+}]$ (SINGH *et al.*, 2014), atividade cicatrizante de feridas, atuando no processo inflamatório através

da inibição das enzimas hialuronidase e collagenase (SÜNTAR *et al.*, 2012), efeito protetor sobre a neurotoxicidade induzida pela neurotoxina, 6-hidroxiopamina, em células PC12 (usada para gerar um modelo experimental da doença de Parkinson) (LIN *et al.*, 2012), citotoxicidade a linhagens tumorais humana HEP-G2, HCT-116 e MCF-7 (mama), com valores de IC₅₀ de 10,7; 9,3 e 9,9 µg/mL, respectivamente (FAWZY *et al.*, 2012) e para câncer cervical (HeLa) com 65,33% de inibição da proliferação celular, na concentração de 100 µg/mL (VO *et al.*, 2012).

Para a luteolina-4'-O-glicosídeo, Kumarasamy e colaboradores (2005), descreveram leve atividade antibacteriana frente a *E. coli* (NCTC 8110) e *Staphylococcus aureus* (NCTC 10788) com MIC de $1,0 \times 10^{-1}$ mg/mL. Este composto mostrou também ação antitumoral com inibição da atividade de TNF- α (fator de necrose tumoral- α), associado a processos inflamatórios e doenças imunes (LEE *et al.*, 2010).

4.4.3. Composto CC-1



O composto **CC-1** foi isolado da fração AcOEt das folhas de *C. citrullifolia* como cristais amarelo, p.f. 195-198 °C (Lit. 201-205 °C, MARZOUK *et al.*, 2009).

O espectro de **CC-1** na região do IV (Apêndice, Figura A17) apresentou banda intensa em 3390 cm^{-1} , típico da deformação axial do grupo OH, além de uma banda em 1658 referente a deformação axial da ligação C=O, indicando uma carbonila α,β -insaturada ou envolvida em ligação de hidrogênio e banda em 1600 cm^{-1} , atribuída a deformação axial de C=C de aromático.

A análise do espectro de RMN de ^1H (DMSO- d_6 , 500 MHz) (Apêndice, Figura A18 e 19) mostrou os sinais típicos de um sistema de spins do tipo AA'BB' em δ_{H} 7,79 (2H, *dd*, $J = 8,9$ e $2,1$ Hz) e 6,94 (2H, *dd*, $J = 8,9$ e $2,1$ Hz), os quais permitiram inferir a presença de um anel aromático 1,4-dissubstituído. Enquanto os pares de dupletos em δ_{H} 6,44 e 6,71, com constantes de acoplamento de 2,2 Hz, indicaram a presença do anel A tetrassubstituído. Adicionalmente, a ausência no espectro de RMN de ^1H de um simpleto com absorção na região entre δ_{H} 6,39 a 6,94, típico do H-3 de uma flavona sugeriram a presença de um flavonol. Além disso, a análise conjunta do espectro de RMN de ^{13}C (Apêndice, Figura A20) com o mapa de correlação HSQC (Apêndice, Figura A21), mostrou sinais de carbonos não hydrogenados em δ_{C} 157,6, 134,4 e um carbono carbonílico típico em δ_{C} 177,9, os quais condizem com os carbonos C-2, C-3 e C-4 do anel C, de um flavonol.

A análise do mapa de correlação HMBC (Apêndice, Figura A22) confirmou os deslocamentos químicos de carbonos e hidrogênios referentes à aglicona ao mostrar as seguintes correlações: H-2'/H-6' (δ_{H} 7,79) com C-2 (δ_{C} 157,6) e C-4' (δ_{C}

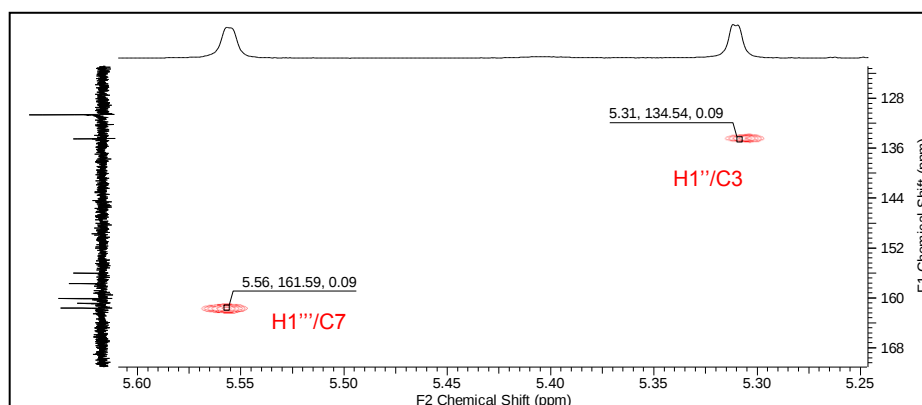
160,1); H-3'/H-5' (δ_H 6,94) com C-1' (δ_C 120,3) e C-4'; H-6 (δ_H 6,44) com C-5 (δ_C 160,8), C-7 (δ_C 161,7), C-8 (δ_C 94,6) e C-10 (δ_C 105,8); H-8 (δ_H 6,71) com C-6 (δ_C 99,4), C-7 (δ_C 161,7) e C-9 (δ_C 156,1).

O espectro de RMN de 1H mostrou ainda dois dupletos em δ_H 5,40 (1H, $J = 2,1$ Hz) e 5,56 (1H, $J = 1,7$ Hz), correspondentes aos hidrogênios anoméricos de duas unidades de açúcar com configuração α . Dois dupletos adicionais em δ_H 0,92 (3H, $J = 5,8$ Hz) e 1,25 (3H, $J = 6,2$ Hz), referentes a hidrogênios metílicos, típicos do açúcar ramnose.

A presença das unidades de ramnose foi confirmada pelos sinais observados no espectro de RMN de ^{13}C de carbonos metílicos em δ_C 17,5 (C-6'') e 17,9 (C-6'''), além dos sinais dos carbonos anoméricos em δ_C 98,4 (C-1'') e 101,8 (C-1''') e 7 sinais de carbonos carbinólicos entre δ_C 69,8 e 71,5.

A análise do espectro de RMN de ^{13}C aliada ao mapa correlação HMBC confirmou a localização das unidades de ramnose pelas correlações observadas a longa distância entre o sinal de hidrogênio anomérico em δ_H 5,31 (H-1') com C-3 (δ_C 134,5) do anel C e, entre o segundo hidrogênio anomérico em δ_H 5,56 (H-1'') com o carbono aromático C-7 (δ_C 161,6) do anel A, do flavonol (Figura 25).

Figura 25- Expansão na região de hidrogênios anoméricos no mapa de correlação HMBC (500 MHz, DMSO- d_6) do composto **CC-1**.



Com base na análise dos dados de RMN uni e bidimensionais e comparação com a literatura (MARZOUK *et al.*, 2009), o composto **CC-1** foi identificado como sendo o canferol 3,7-di-O- α -L-ramnopiranosídeo, conhecido

como kaempferitrina.

O canferol 3,7-di-O- α -L-ramnopiranosídeo já foi isolado de outras espécies da família Cucurbitaceae, como de *Trichosanthes cucumeroides* (Ser.) Maxim (YOSHIZAKI *et al.*, 1987) e *S. grosvenorii* (DIANPENG *et al.*, 2006). No gênero *Cayaponia* este é o primeiro relatado.

Os dados de RMN de ^1H e ^{13}C e da referência consultada estão apresentados na Tabela 8. As principais correlações observadas no mapa de HMBC do composto **CC-1** estão representadas na Figura 26.

Figura 26- Principais correlações observadas no mapa de HMBC do composto **CC-1**.

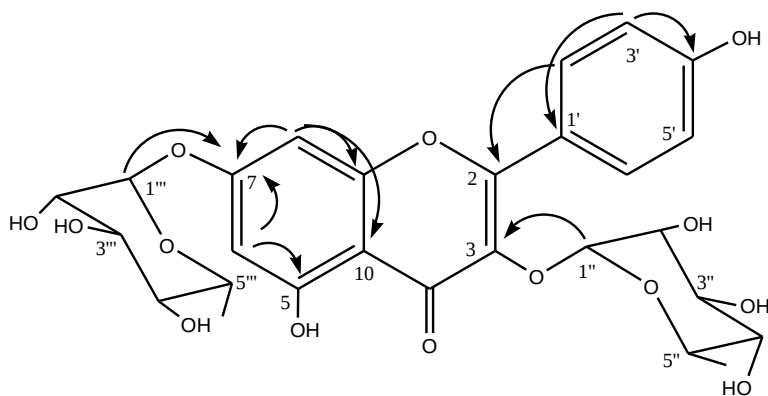
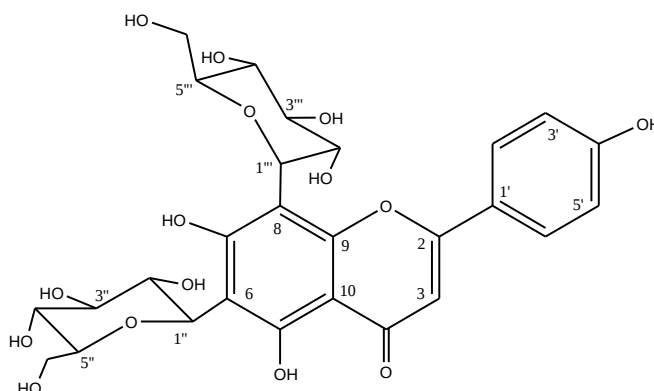


Tabela 8- Dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C de **CC-1** (500, 125 MHz, DMSO- d_6) e da referência consultada.

Posição	CC-1		Canferol 3,7-di-O- α -L-ramnopiranosídeo* (MARZOUK <i>et al.</i> , 2009)
	δ_{C}	δ_{H} ; multiplicidade; J (Hz)	δ_{C}
2	157,6		158,3
3	134,4		135,0
4	177,9		178,0
5	160,8		161,5
6	99,4	6,44; <i>d</i> ; 2,2	100,0
7	161,6		162,3
8	94,6	6,71; <i>d</i> ; 2,2	95,0
9	156,1		156,6
10	105,8		106,3
1'	120,3		121,0
2'/6'	130,7	7,79; <i>dd</i> ; 2,1; 8,9	131,2
3'/5'	115,4	6,94; <i>dd</i> ; 2,1; 8,9	116,0
4'	160,1		160,7
Ramnose			
1''	101,8	5,31; <i>d</i> ; 2,1	102,4
2''	70,1	4,22; <i>dd</i> ; 1,7; 3,4	70,9
3''	70,3	3,71; <i>dd</i> ; 3,4; 9,2	70,6
4''	71,5	3,48; <i>t</i> ; 9,5	72,2
5''	71,1	3,32-3,35; <i>m</i>	71,7
6''	17,5	0,92; <i>d</i> ; 5,8	18,0
Ramnose			
1'''	98,4	5,56; <i>d</i> ; 1,7	99,0
2'''	70,1	4,02; <i>dd</i> ; 1,7; 3,4	70,8
3'''	70,2	3,84; <i>dd</i> ; 3,5; 9,4	70,6
4'''	69,8	3,57-3,60; <i>m</i>	71,2
5'''	71,6	3,32-3,35; <i>m</i>	70,3
6'''	17,9	1,25; <i>d</i> ; 6,2	18,5

*Dados de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 125 MHz).

4.4.4. Composto CC-2



O composto **CC-2** foi isolado da fração hidrometanólica das folhas de *C. citrullifolia*, como sólido amorfo, cujos sinais observados nos espectros de RMN de ^1H (CD_3OD , 500 MHz) (Apêndice, Figura A24), ^{13}C (CD_3OD , 125 MHz) (Apêndice, Figura A25) e nos mapas de correlação HSQC (Apêndice, Figura A26) e HMBC (Apêndice, Figuras A27 e A28), permitiram inferir a estrutura de um flavonoide glicosilado para **CC-2**.

Pela análise do espectro de RMN de ^1H do composto **CC-2** foi constatada a presença de dois dupletos em δ_{H} 6,90 ($J = 8,7$ Hz) em 8,03 ($J = 8,7$ Hz), integrando para dois hidrogênios cada, típicos de um sistema de spins do tipo AA'BB', indicando a presença de um anel B *para* substituído. Além disso, a confirmação de que tínhamos, neste caso, um anel C típico de uma flavona, vem da correlação o simpleto em δ_{H} 6,82 com o carbono em δ_{C} 102,5 no mapa de correlação HSQC. No mapa de correlação HMBC este simpleto correlacionou-se com os sinais de carbonos em δ_{C} 164,1 e 182,3, os quais foram atribuídos aos carbonos C-2 e C-4 do anel C, da flavona.

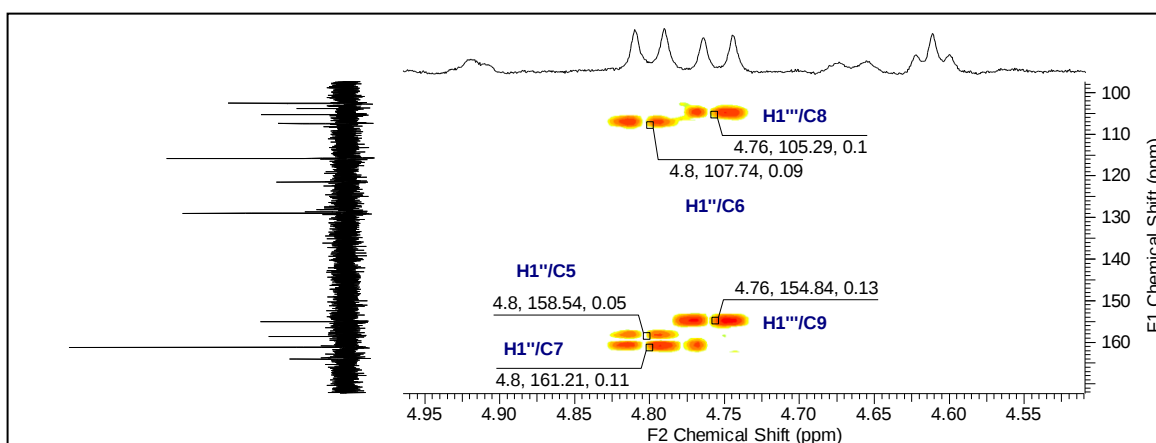
Ainda no espectro de RMN de ^1H foram observados dois dupletos em δ_{H} 4,76 e 4,80, compatíveis com os deslocamentos químicos de hidrogênios anoméricos de um C-glicosídeo, uma vez que nos O-glicosídeos eles aparecem, tipicamente, na região entre 5,0 a 5,6 ppm (HARBORNE, 1994). Além disso, as constantes de acoplamento 10,1 e 9,7 Hz, observadas neste caso são bem maiores que as descritas para os O-glicosídeos, que estão em torno de 1,5 a 7,5 Hz. Ademais, a ausência de sinal característico de carbono anomérico na região

de 100 ppm, nos possibilitou inferir a estrutura de uma flavona C-glicosilada para **CC-2**.

A análise conjunta do espectro de RMN de ^{13}C e do mapa de correlação HSQC revelou para a porção glicosídica de **CC-2**, através dos sinais referentes a 12 carbonos, indicando a presença de duas unidades de β -D-glicose na estrutura de **CC-2**.

O posicionamento das unidades de glicose nos carbonos C-6 e C-8 da aglicona de **CC-2**, foi inferida com base na análise do mapa de correlação HMBC (Figura 27) que mostrou correlação do hidrogênio anomérico em δ_{H} 4,80 (H-1'') com o carbono C-6 em δ_{C} 107,7 e, também com os dois carbonos hidroxilados C-5 em δ_{C} 158,5 e C-7 em 161,2, do anel A, indicando que uma unidade de glicose se encontrava ligada no carbono, C-6. O mapa de correlação HMBC mostrou também correlações do hidrogênio anomérico em δ_{H} 4,76 (H-1''') com o carbono hidroxilado em δ_{C} 161,2 (C-7), com o carbono ligado a oxigênio em δ_{C} 155,1 (C-9) e também com o carbono em δ_{C} 105,2 (C-8), sugerindo que a segunda unidade de glicose estava ligada no carbono C-8, do anel A, da aglicona.

Figura 27- Expansão na região de hidrogênios anoméricos do mapa de correlação HMBC (500 MHz, DMSO- d_6) do composto **CC-2**.



Assim, através de análise dos dados de RMN uni e bidimensionais e comparação com a literatura (LU *et al.*, 2000), o composto **CC-2** foi identificado como 6,8-di-C- β -D-glucosilapigenina, mais conhecida como vicenina-2, previamente isolada da raiz de *C. tayuya* (BAUER *et al.*, 1985).

A vicenina-2 já foi isolada de outras espécies da família Cucurbitaceae, tais como *C. sativus* (pepino) (REIDAH *et al.*, 2012), *S. edule* (chuchu) (SICILIANO *et al.*, 2004), *W. ebracteata* (SANTOS *et al.*, 1996) e *B. dioica* (PROLIAC *et al.*, 1989).

Ensaio biológicos anteriores realizados com a vicenina-2 mostraram que essa flavona, em ensaios pré-clínicos, foi ativa contra o câncer de próstata (NAGAPRASHANTHA *et al.*, 2011).

Os dados de RMN de ^1H e ^{13}C do composto **CC-2** e da referência consultada estão apresentados na Tabela 9. As principais correlações observadas no mapa de correlação HMBC para o composto estão representadas na Figura 28.

Figura 28- Principais correlações observadas no mapa de HMBC do composto **CC-2**.

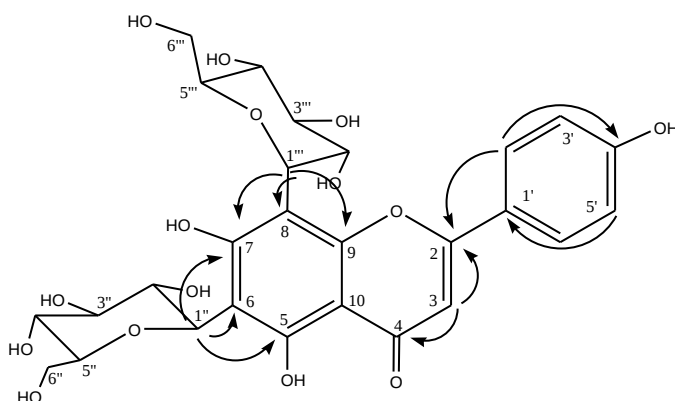
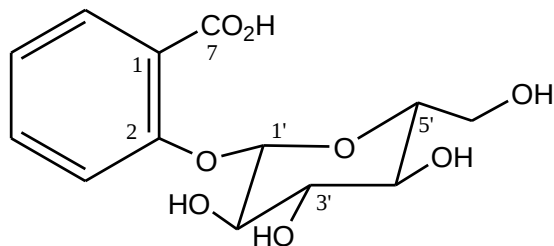


Tabela 9- Dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C de **CC-2** (500, 125 MHz, CD_3OD) e da referência consultada.

Posição	CC-2		Vicenina-2* (LU et al., 2000)
	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
	Multiplicidade; J (Hz)		
2	164,1		164,1
3	102,5	6,82; s	102,8
4	182,3		182,3
5	158,5		159,8
6	107,7		108,5
7	161,2		162,7
8	105,3		104,7
9	154,8		155,2
10	103,8		103,6
1'	121,5		122,1
2'/6'	128,9	8,03; d; 8,7	128,9
3'/5'	115,8	6,90; d; 8,7	116,3
4'	161,2		161,4
1''	74,1	4,80; d; 9,7	74,3
1'''	73,3	4,76; d; 10,1	74,5
2''/2'''	71,9/70,9	3,88; t; 9/3,46-3,53; m	71,8/71,8
3''/3'''	78,8/77,8	3,24-3,33; m	78,7/79,1
4''/4'''	69,1/70,5	3,31-3,42; m/3,46-3,53; m	70,3/70,8
5''/5'''	80,8/81,9	3,16-3,35; m	81,4/81,9
6''/6'''	61,3/59,8	3,41-3,54; m/3,59-3,66; m	61,1/61,5

*RMN ^{13}C , DMSO- d_6 , 125 MHz.

4.4.5. Composto CC-3



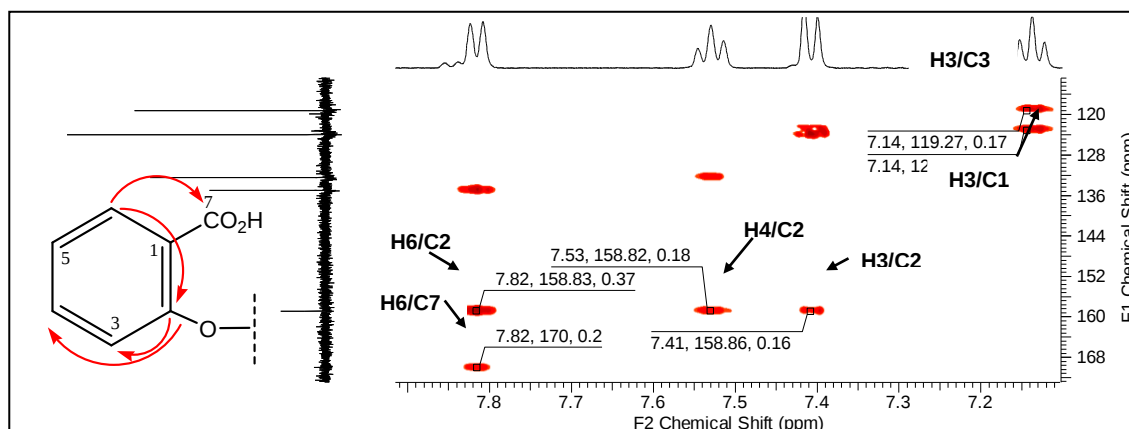
O composto **CC-3** foi isolado da fração hidrometanólica das folhas de *C. citrullifolia*, como um sólido branco amorfo, solúvel em metanol.

A análise do espectro de RMN de ¹H (CD₃OD, 500 MHz) (Apêndice, Figuras A29 e A30) mostrou sinais em δ_H 7,14 (1H, *t*, *J* = 7,6 Hz), 7,41 (1H, *dd*, *J* = 7,8; 0,9 Hz), 7,53 (1H, *ddd*, *J* = 8,4; 7,8; 1,8 Hz) e 7,82 (1H, *dd*, *J* = 7,7; 1,8 Hz), compatíveis com a presença de um anel aromático 1,2-dissubstituído. No mapa de correlação HSQC (Apêndice, Figura A32) foram observadas correlações dos hidrogênios citados acima com os sinais de carbonos em δ_C 123,9, 119,2, 134,9 e 132,5, respectivamente. Observou-se também um sinal de carbono anomérico em δ_C 104,4, correlacionado com o duplete em δ_H 4,89, que apresentou constante de acoplamento de 7,5 Hz, típico de um monossacarídeo com configuração β .

Uma análise conjunta do espectro de RMN de ¹³C (CD₃OD, 125 MHz) (Apêndice, Figura A31) e do mapa de correlação HSQC revelou, ainda, a presença de um sinal de carbono aromático ligado a heteroátomo em δ_C 158,8, um sinal de carbono carbonílico de ácido carboxílico em δ_C 170,0, sinais de quatro carbonos oximetínicos em δ_C 71,5, 75,1, 77,5 e 78,6 e, um oximetilênico em δ_C 62,3.

Além disso, a observação, no experimento de COSY (Apêndice, Figura A35) do sistema de spins entre H-3/H-4/H-5/H-6, e das correlações observadas no HMBC (Figura 29) entre os sinais de H-3 (δ_H 7,41) e H-4 (δ_H 7,53) com o carbono C-2 (δ_C 158,8) e H-6 (δ_H 7,82) com C-7 (δ_C 170,0) e, dos sinais característicos da glicose, tivemos a confirmação da presença do anel aromático 1,2-dissubstituído.

Figura 29- Expansão na região aromática do mapa de correlação HMBC (500 MHz, CD₃OD) do composto **CC-3**.



Observou-se, também, a correlação à longa distância, no mapa de HMBC (Apêndice, Figuras A33 e A34), do hidrogênio anomérico em δ_H 4,89 (H-1') com o carbono aromático em δ_C 158,8 (C-2), confirmando a ligação entre a unidade de glicose e a porção aromática.

Assim, através de análise dos dados de RMN uni e bidimensionais, o composto **CC-3** foi identificado como ácido β -O-glucosilsalicílico, isolado pela primeira vez no gênero *Cayaponia*, sendo que em Cucurbitaceae já havia sido descrito em *C. sativus* (ABU *et al.*, 2012).

As principais correlações observadas nos mapas de correlação HMBC e COSY para o composto **CC-3** estão representadas na Figura 30. Os dados de RMN (uni e bidimensionais) do composto **CC-3** estão apresentados na Tabela 10.

Figura 30- Principais correlações observadas nos mapas de correlação HMBC (a) e COSY (b) do composto **CC-3**.

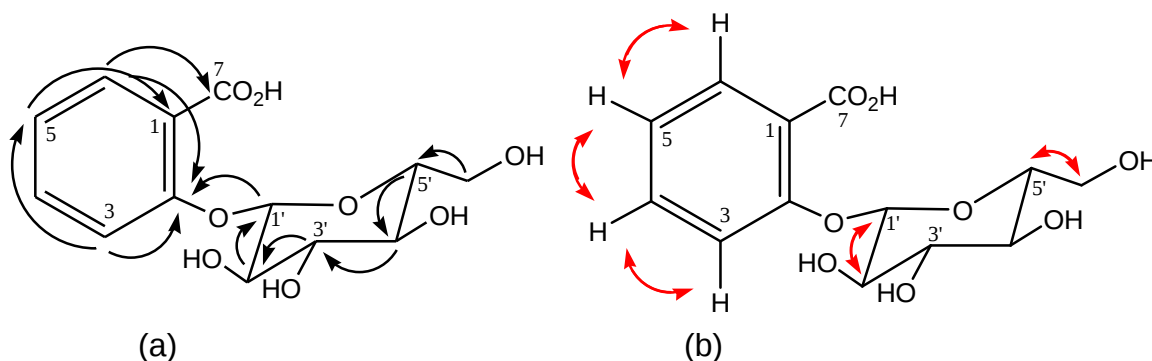
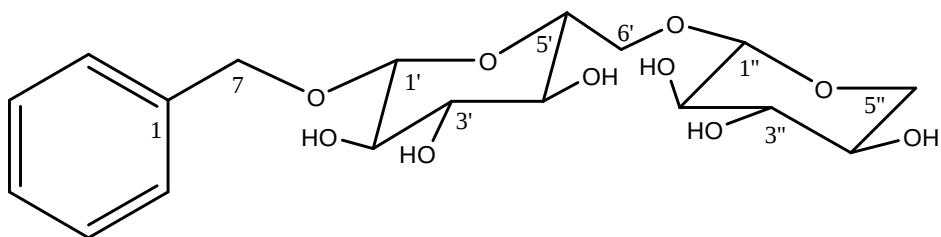


Tabela 10- Dados espectrais de RMN de ^1H , ^{13}C , HMBC e COSY do composto **CC-3** (500 e 125 MHz, CD_3OD).

Posição	δ_{C}	δ_{H} ; Multiplicidade; J (Hz)	HMBC	COSY
1	123,1			
2	158,8			
3	119,2	7,41; <i>dd</i> ; 7,8; 0,9	C-1, C-5	H-4
4	134,9	7,53; <i>ddd</i> ; 8,4; 7,8; 1,8	C-2, C-6	H-3, H-5
5	123,9	7,14; <i>ddd</i> ; 8,4; 7,7; 0,9	C-1, C-3	H-4, H-6
6	132,5	7,82; <i>dd</i> ; 7,7; 1,8	C-2, C-4, C-7	H-5
7	170,0			
1'	104,4	4,89; <i>d</i> ; 7,5	C-2	H-2'
2'	75,1	3,52; <i>dd</i> ; 9,1; 7,5	C-1, C-3	H-1'
3'	77,5	3,45-3,50, <i>m</i>	C-2, C-4	
4'	71,5	3,41; <i>dl</i> ; 8,9	C-5	
5'	78,6	3,45-3,50, <i>m</i>	C-4	H-6a'
6'	62,3	3,72; <i>dd</i> ; 10,6; 5,7 (Ha')	C-5	H-5'; H-6b'
		3,92; <i>dd</i> ; 10,6; 7,7 (Hb')	C-4	H-6a'

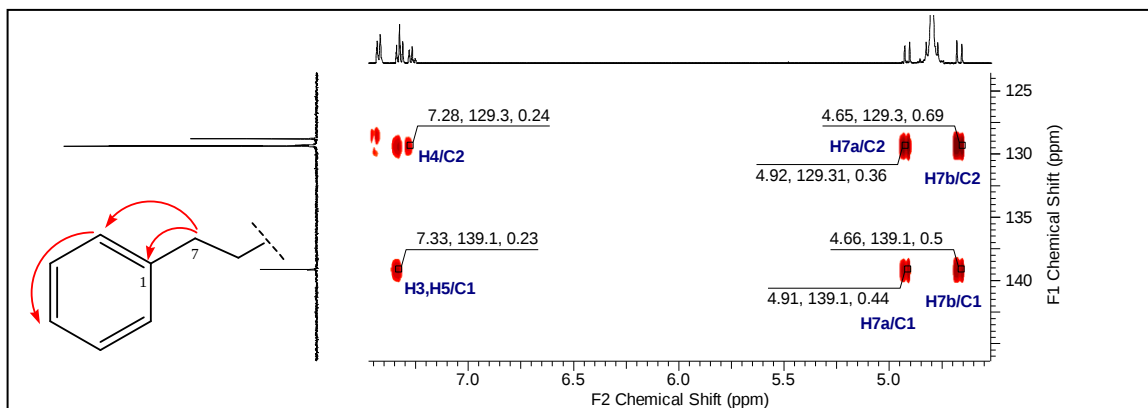
4.4.6. Composto CC-4



O composto **CC-4** foi isolado da fração hidrometanólica das folhas de *C. citrullifolia*, como um sólido amorfo incolor, ponto de fusão de 189-190 °C (Lit. 193-195 °C, OTSUKA *et. al.*, 1990).

A análise do espectro de RMN de ^1H (CD_3OD , 500 MHz) (Apêndice, Figuras A36 e A37), mostrou sinais em δ_{H} 7,27 (1H, *dt*, $J = 7,2$ e $1,9$ Hz), 7,35 (2H, *tl*, $J = 7,2$ Hz) e 7,42 (2H, *dl*, $J = 7,2$ Hz), compatíveis com a presença de um anel aromático monossustituído. No mapa de correlação HSQC (Apêndice, Figura A40) os sinais citados acima correlacionaram com os carbonos em δ_{C} 128,8 (C-4), 129,2 (C-3 e C-5) e 129,1 (C-2 e C-6), respectivamente. Observou-se, também, um sinal de carbono aromático substituído em δ_{C} 139,1 e um de carbono oximetilênico em δ_{C} 71,8 (C-7), que correlaciona com os dupletos centrados em δ_{H} 4,66 (1H, $J = 12$ Hz; H-7a) e 4,91 (1H, $J = 12$ Hz, H-7b), os quais se correlacionaram à longa distância, no HMBC (Apêndice, Figuras A41 e A42) com os carbonos aromáticos C-1 (δ_{C} 139,1) e C-2/C-6 (δ_{C} 129,1) e, este último com o hidrogênio H-4 (δ_{H} 7,27), evidenciando a unidade benzílica na estrutura de **CC-4** (Figura 31).

Figura 31- Expansão do mapa de correlação HMBC (500 MHz, CD_3OD) do composto **CC-4**.



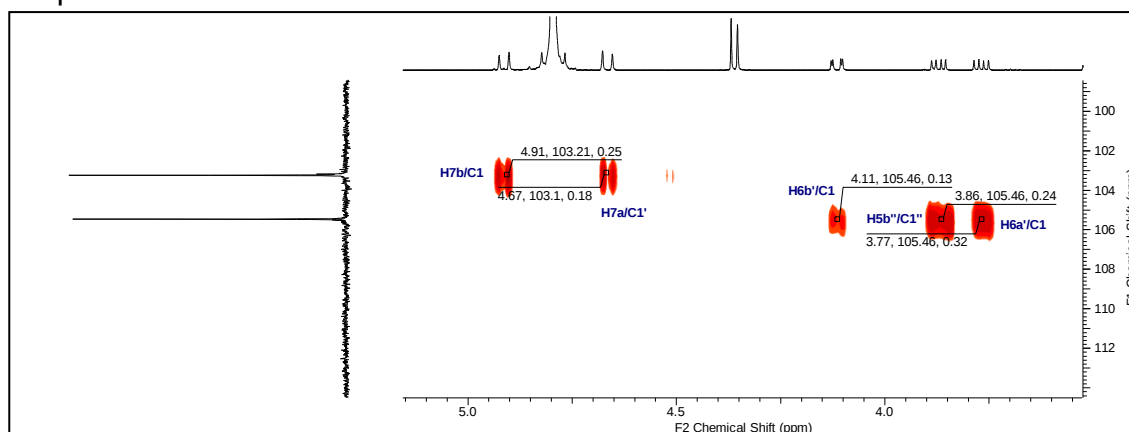
O espectro de RMN de ^1H mostrou, ainda, um sinal de hidrogênio anomérico em δ_{H} 4,35 (*d*, $J = 7,7$ Hz), com integração para dois hidrogênios. No mapa de HSQC este sinal correlacionou-se aos sinais de carbonos em δ_{C} 103,1 (C-1') e em δ_{C} 105,5 (C-1'').

A análise combinada do espectro de RMN de ^{13}C e do mapa de HSQC revelou a presença da glicose onde o carbono anomérico em δ_{C} 103,1 correlacionou-se com os hidrogênios oximetilênicos H-7a (δ_{H} 4,66) e H-7b (δ_{H} 4,91), confirmando a ligação deste açúcar a porção benzílica de **CC-3**.

A análise conjunta dos espectros de RMN de ^{13}C , DEPT-135 (Apêndice, Figura A39) e do mapa de correlação HSQC sugeriu também a presença de uma unidade de pentose, devido a um conjunto de cinco sinais, sendo um carbono oximetilênico em δ_{C} 66,7 (C-5''), três oximetínicos em δ_{C} 71,0 (C-4''), 74,9 (C-2'') e 77,5 (C-3'') e um carbono anomérico em δ_{C} 105,5 (H-1''). No mapa de HMBC observou-se a correlação existente dos hidrogênios diastereotópicos ligados no carbono C-5'' [(δ_{H} 3,20 (*dd*, $J = 10,5$ e $9,9$ Hz, H-5a'') e $3,87$ (*dd*, $J = 10,5$ e $5,3$ Hz, H-5b'')] com os carbonos em δ_{C} 71,8 (C-4''), 77,5 (C-3'') e também com o carbono anomérico em δ_{C} 105,5. Já a estereoquímica para a hidroxila posicionada em C-4'' foi inferida com base na constante de acoplamento de $9,9$ Hz observada para o hidrogênio H-4'' (δ_{H} 3,50), que condiz com uma interação axial-axial deste hidrogênio com H-5'' (δ_{H} 3,20), indicando que H-4'' está na posição axial e o grupo hidroxila na equatorial, sendo compatível com configuração β para C-4''. Os dados descritos acima permitiram inferir a presença de uma unidade de β -D-xilose como parte da estrutura de **CC-4**.

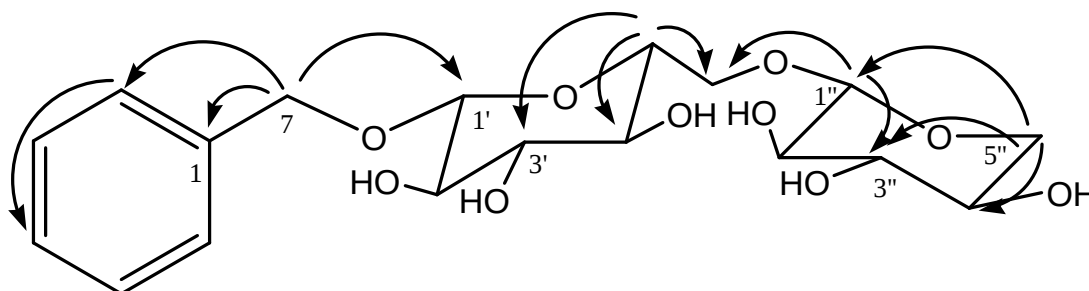
A ligação entre os açúcares foi estabelecida como sendo xilopiranosil-(1 $\rightarrow$ 6)-glicopiranosídeo, devido a desblindagem de aproximadamente $7,7$ ppm no deslocamento químico do carbono C-6' (δ_{C} 69,7) da glicose, comparado ao da glicose livre, que é em torno de 60 a 62 ppm (HARBONE, 1994). Além disso, o mapa de correlação HMBC mostrou claramente a correlação entre o carbono anomérico C-1'' (δ_{C} 105,5) da xilose com o grupo metileno H-6' da glicose (Figura 32).

Figura 32- Parte do mapa de correlação de HMBC (500 MHz, CD_3OD) do composto **CC-4**.



As principais correlações observadas no mapa de HMBC para o composto **CC-4** estão representadas na Figura 33.

Figura 33- Principais correlações observadas no mapa de HMBC do composto **CC-4**.



Desta forma, o composto **CC-4** foi identificada através da análise dos dados espectroscópicos e comparação com dados da literatura (OTSUKA *et al.*, 1990) como sendo o benzil-*O*- β -D-xilopiranosil-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glicopiranosídeo.

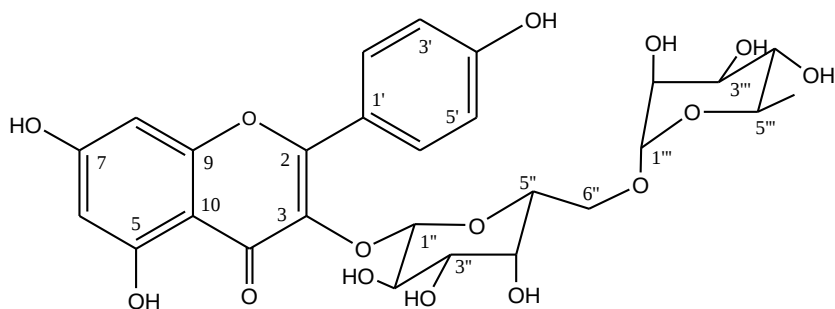
Os dados obtidos nas análises de RMN, uni e bidimensionais, estão apresentados na Tabela 11.

Tabela 11- Dados espectrais de RMN de ^1H (500 MHz), ^{13}C (125 MHz) e HMBC do composto **CC-4** (CD_3OD).

Posição	δ_{C}	δ_{H} ; Multiplicidade; J (Hz)	HMBC
Aglicona			
1	139,1		
2/6	129,1	7,42; <i>dl</i> ; 7,2	
3/5	129,2	7,35; <i>tl</i> ; 7,2	C-1; C-2
4	128,8	7,27; <i>dt</i> ; 7,2, 1,9	C-2; C-3
7	71,8	4,66; <i>d</i> ; 12,0; (H-7a)	C-1; C-1'; C-2
		4,91; <i>d</i> ; 12,0; (H-7b)	C-1; C-1'; C-2
Glicose			
1'	103,1	4,35; <i>d</i> ; 7,7	C-7
2'	74,7	3,23-3,27; <i>m</i>	C-1'; C-3'
3'	77,8	3,33-3,38; <i>m</i>	C-4'
4'	71,4	3,33-3,38; <i>m</i>	C-6'
5'	76,9	3,45; <i>ddd</i> ; 11,9; 5,7; 2,1	C-4'; C-3'
6'	69,7	3,76; <i>dd</i> ; 11,6; 6,0; (H-6a')	C-1''; C-5'
		4,11; <i>dd</i> ; 11,6; 2,1; (H-6b')	C-1''; C-4'
Xilose			
1''	105,5	4,35, <i>d</i> ; 7,7	C-3''; C-5''; C-6'
2''	74,9	3,23-3,27; <i>m</i>	C-3''
3''	77,5	3,33-3,38; <i>m</i>	C-4''
4''	71,0	3,50; <i>ddd</i> ; 9,9; 8,7; 5,3	C-3''; C-5''
5''	66,7	3,20; <i>dd</i> , 10,5; 9,9; (H-5a'')	C-1''; C-3''
		3,87, <i>dd</i> , 10,5; 5,3; (H-5b'')	C-1''; C-4''; C-3''

O benzil- O - β -D-xilopiranosil-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glicopiranosídeo, também conhecido como (benzil- β -primeverosídeo), está sendo descrito pela primeira vez no gênero *Cayaponia*. Na família Cucurbitaceae já foi isolado da planta medicinal *Gynostemma laxum* (Wall.) Cogn. (PHAM *et al.*, 2011). A atividade citotóxica *in vitro* do benzil- β -primeverosídeo foi testada por Lee *et al.* (2012) contra linhagens de células tumorais humana de pulmão (A549), ovário (SK-OV-3), melanoma (SK-MEL-2) e colon humano (HCT15) e apresentou baixa atividade, com valores de $\text{IC}_{50} > 100 \mu\text{M}$.

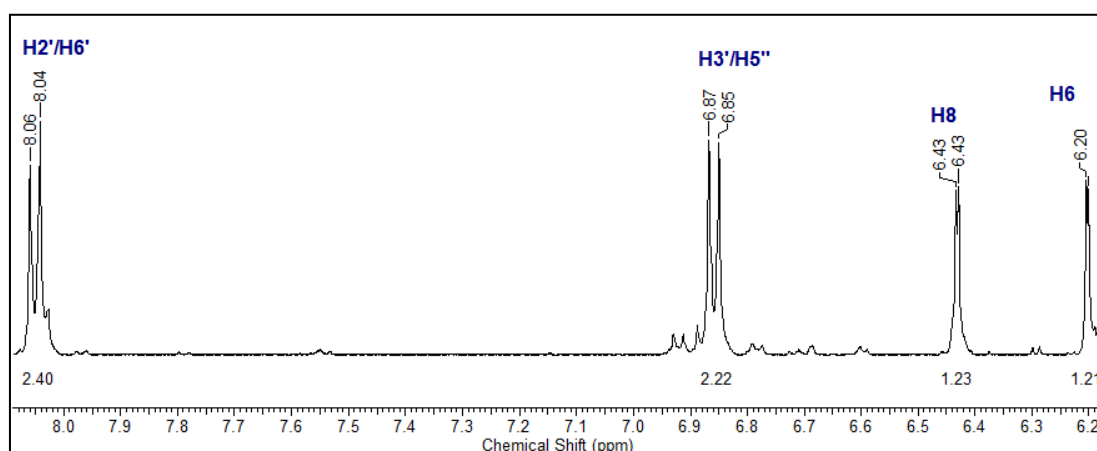
4.4.7. Composto PT-2



O composto **PT-2** foi obtido da fração AcOEt oriunda da partição do extrato etanólico de folhas de *P. trichophora*. Este composto apresentou-se como sólido amorfo, amarelo, solúvel em metanol e p.f. de 219-221 °C.

Pela análise do espectro de RMN de ^1H (DMSO- d_6 , 500 MHz) (Figura 34) foi possível observar dois duplos dupletos em δ_{H} 8,06 (H-2' e H-6') e em 6,87 (H-3' e H-5') com constantes de acoplamento de 9,0 e 1,9 Hz e, com integração para dois hidrogênios cada, evidenciando um sistema de spin AA'BB' de um anel aromático *para* substituído. Observou-se, também, os dupletos em δ_{H} 6,21 (H-6) e 6,44 (H-8) com constantes de acoplamento de 1,8 Hz, indicando um acoplamento *meta* em anel aromático tetrassubstituído. Os dados acima em adição aos de RMN de ^{13}C (DMSO- d_6 , 125 MHz) (Apêndice, Figuras A45 e A46) permitiram inferir a aglicona de **PT-2** como sendo derivada do canferol.

Figura 34- Expansão na região de aromáticos do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, DMSO- d_6) do composto **PT-2**.



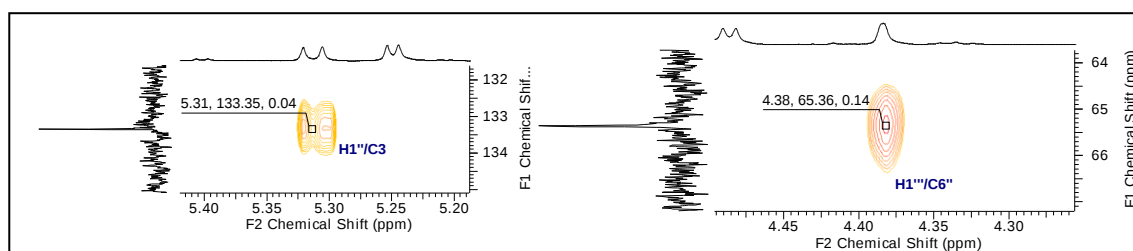
No espectro de RMN de ^{13}C foram observados sinais em δ_{C} 156,7, 133,3 e 177,5, atribuídos, respectivamente, aos carbonos C-2, C-3 e C-4, do anel C. Observou-se, também, a presença de onze carbonos entre δ_{C} 65,3 e 102,1, sendo dez metínicos e um metilênico. Esses dados sugeriram a presença de duas unidades de açúcar na estrutura de **PT-2**.

A análise do espectro de RMN de ^1H (Apêndice, Figuras A43 e A44) evidenciou a presença de uma unidade de ramnose ao mostrar um simpleto alargado em δ_{H} 4,38 e um duplete em δ_{H} 1,06 (3H, $J = 6,2$ Hz), os quais correlacionaram no mapa de HSQC (Apêndice, Figuras A47e A48) com os carbonos em δ_{C} 100,1 (C-1'') e δ_{C} 18,0 (C-6'') e, este por sua vez, correlacionou-se à longa distância, no mapa de HMBC (Apêndice, Figuras 49 e 50), com os sinais de carbonos δ_{C} 68,3 (C-5'') e 71,9 (C-4''). Já para a unidade de galactose o espectro de RMN de ^1H exibiu um duplete centrado em δ_{H} 5,31 ($J = 8,0$ Hz, H-1'), correlacionado no mapa de HSQC ao sinal de carbono em δ_{C} 102,1 (C-1'), o qual apresentou acoplamentos à longa distância com os multipletos em δ_{H} 3,53-3,62 (H-2') e em 3,39-3,41 (H-3', *m*). Por sua vez, os hidrogênios diastereotópicos H-6a'' (δ_{H} 3,24, *dd*, $J = 9,3$ e $5,4$ Hz) e H-6b'' (δ_{H} 3,53-3,62, *m*), apresentaram interação a longa distância com os carbonos em δ_{C} 68,0 (C-4'') e 73,5 (C-5'').

O deslocamento químico observado para o carbono C-6'' (δ_{C} 65,3) da galactose evidenciou que o mesmo está envolvido em ligação interglicosídica do tipo 6'' $\rightarrow$ 1'', uma vez que o deslocamento químico para este carbono quando livre é em torno de 60 a 62 ppm. Além disso, o mapa de correlação HMBC mostrou, claramente, a correlação à longa distância entre o carbono C-6'' (δ_{C} 65,3) da galactose com o hidrogênio anomérico H-1''' (δ_{H} 4,38) da ramnose.

Finalmente, a ligação entre a unidade "osídica" e a aglicona de **PT-2** foi estabelecida através da análise do mapa de correlação HMBC, (Figura 35) onde mostrou a correlação entre o hidrogênio anomérico H-1'' (δ_{H} 5,31) com o carbono C-3 (δ_{C} 133,3) do anel C, do flavonol.

Figura 35- Expansões do mapa de correlação HMBC do composto **PT-2**.



Dessa forma, a estrutura do composto **PT-2** foi elucidada através de análise de RMN (Tabela 10) e corroborado pelos dados da literatura (ABRAHAM *et al.*, 2008; BRASSEUR, ANGENOT, 1986), com sendo o canferol 3-O- α -L-raminopiranosil-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-galactopiranosídeo, conhecido como canferol-3-O- β -D-robinosídeo.

Os dados obtidos nas análises de RMN, uni e bidimensionais estão apresentados na Tabela 12. As principais correlações observadas no mapa de correlação HMBC para o composto **PT-2** estão representadas na Figura 36.

Figura 36- Principais correlações observadas no mapa de HMBC do composto **PT-2**.

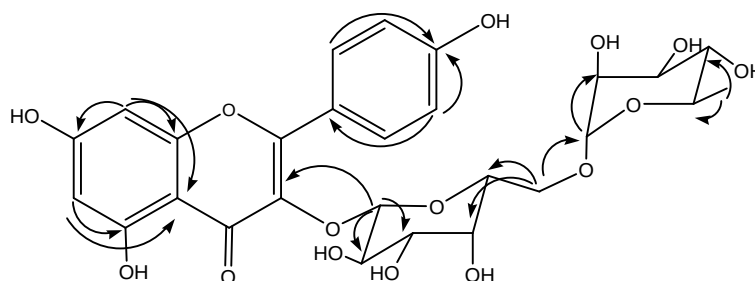


Tabela 12- Dados espectrais de RMN de ^1H (500 MHz), ^{13}C (125 MHz) e HMBC do composto **PT-2** (DMSO- d_6) e da referência consultada.

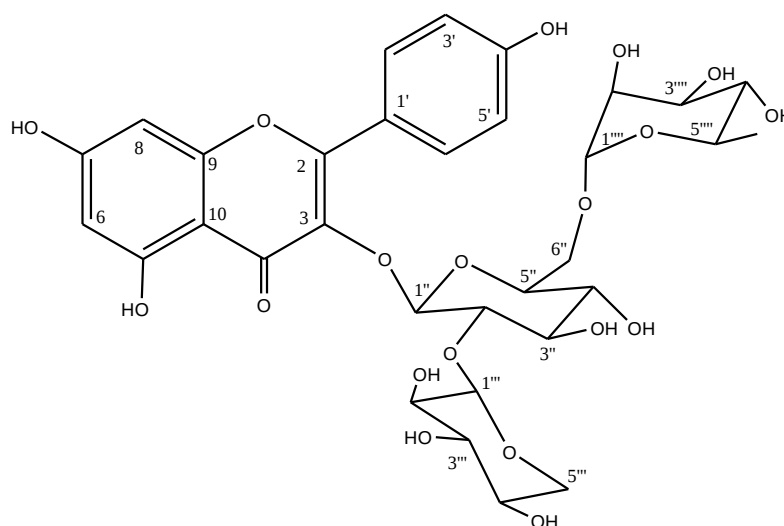
Posição	Composto PT-2			Canferol 3-O- α -L- raminopiranosil-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-galactopiranosídeo (ABRAHAM <i>et al.</i> , 2008)*
	δ_{C}	δ_{H} ; Multiplicidade; J (Hz)	HMBC	δ_{C}
Aglicona				
2	156,7			156,4
3	133,3			133,2
4	177,5			177,2
5	161,2			161,0
6	98,7	6,21; <i>d</i> ; 1,8	C-5; C-7; C-8; C-10	98,7
7	164,1			164,0
8	93,8	6,44; <i>d</i> ; 1,8	C-6; C-7; C-9; C-10	93,7
9	156,4			156,4
10	103,9			103,6
1'	120,8			120,7
2'/6'	131,8	8,06; <i>dd</i> ; 9,0; 1,9	C-2'; C-4'	130,8
3'/5'	115,0	6,87; <i>dd</i> ; 9,0; 1,9	C-1'; C-4'	114,9
4'	160,1			159,8
Galactose				
1''	102,1	5,31; <i>d</i> ; 8,0	C-3; C-2''; C-3''	101,9
2''	71,0	3,53-3,62; <i>m</i>	C-1''	71,0
3''	72,9	3,39-3,41; <i>m</i>	C-1''; C-5''	72,8
4''	68,0	3,53-3,62; <i>m</i>	C-5''; C-6''	67,9
5''	73,5	3,53-3,62; <i>m</i>	C-3''; C-4''; C-6''	73,4
6''	65,3	3,24; <i>dd</i> ; 9,3; 5,4 e 3,53-3,62; <i>m</i>	C-1'''; C-4''; C-5'	65,1
Ramnose				
1'''	100,1	4,38; <i>s</i> /	C-2'''; C-6''	99,9
2'''	70,4	3,39-3,41; <i>m</i>	C-1'''	70,5
3'''	70,6	3,31-3,37; <i>m</i>		70,3
4'''	71,9	3,08-3,30; <i>m</i>	C-6'''	71,8
5'''	68,3	3,58-3,62; <i>m</i>	C-6'''	68,2
6'''	18,0	1,06; <i>d</i> ; 6,2	C-4'''; C-5'''	17,8
OH-5		12,57; <i>s</i>	C-5; C-6; C-10	

Continuação da tabela 12

OH-4'	10,26; s	C-3'; C-4'
OH-2''	5,26; <i>d</i> ; 4,5	C-1''; C-2''; C-3''
OH-3''	4,99; <i>d</i> ; 5,5	C-2''; C-3''
OH-4''	4,63; <i>d</i> ; 4,2	C-4''; C-5''
OH-2'''	4,49; <i>d</i> ; 4,7	C-1'''; C-2'''
OH-3'''	4,52; <i>d</i> ; 5,9	C-3'''
OH-4'''	4,66; <i>d</i> ; 5,5	C-4'''; C-5'''

*Dados de RMN ^{13}C obtidos em $\text{DMSO}-d_6$ (125,65 MHz).

4.4.8. Composto PT-3



O composto **PT-3** foi isolado a partir da fração acetato de etila das folhas de *P. trichophora* como sólido amarelo, solúvel em metanol, p.f. 198-200 °C [Lit. 194-196 °C] (SEKINE *et al.*, 1991).

O espectro de RMN de ^{13}C ($\text{DMSO}-d_6$, 500 MH) (Apêndice, Figuras A53 e A54) de **PT-3** apresentou sinais em δ_c 158,6, 135,0 e 179,6, característicos dos carbonos C-2, C-3 e C-4 do anel C, de um flavonol. Além disso, a comparação dos dados de RMN de ^{13}C dos compostos **PT-2** e **PT-3** mostraram-se bem semelhantes. No entanto, observou-se um maior número de sinais de carbonos carbinólicos, sugerindo que o mesmo apresentava uma unidade de açúcar adicional na estrutura.

A análise do espectro de RMN de ^1H (Apêndice, Figuras A51 e A52) revelou sinais de hidrogênios anoméricos em δ_{H} 4,52 (s), 4,78 (d, $J = 6,5$ Hz) e 5,45 (d; $J = 7,6$ Hz), os quais evidenciaram a presença de três monossacarídeos, sendo um com configuração α e dois com configuração β . Através da análise do mapa de correlação HSQC (Apêndice, Figuras A55 e A56) observou-se um sinal de carbono em δ_{C} 17,9, correlacionado ao sinal de hidrogênio em δ_{H} 1,09 (3H, d, $J = 6,3$ Hz), o que confirmou a presença de uma unidade de ramnose na estrutura de **PT-3**.

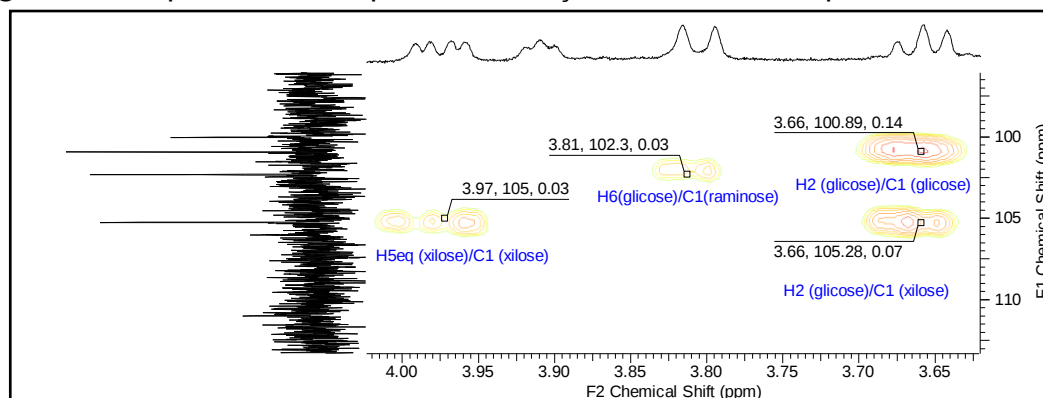
A análise dos sinais adicionais no espectro de RMN de ^{13}C e dos mapas de correlação HSQC e HMBC (Apêndice, Figuras A57 e A58) de **PT-3**, confirmaram a presença de mais duas unidades de açúcar, sendo uma hexose e uma pentose. Para unidade de pentose foram observados sinais de um carbono oximetilênico em 66,6 (C-5'''), três carbonos oximetínicos em δ_{C} 71,7 (C-4'''), 74,7 (C-2''') e 76,9 (C-3''') e um carbono anomérico em δ_{C} 105,0 (C-1'''). Os carbonos C-3''' e C-4''' correlacionaram a longa distância com os hidrogênios metilênicos diastereotópicos: H-5_{ax}''' (δ_{H} 3,27, dd; 10,6 e 8,8 Hz) e H-5_{eq}''' (δ_{H} 3,99, dd, $J = 10,6$ e 4,5 Hz), os quais correlacionaram entre si no COSY (Apêndice, Figura A59) e no HMBC com o carbono anomérico C-1''' (δ_{C} 105,0). A posição do grupo hidroxila em C-4''' foi estabelecida como sendo β , devido à magnitude das constantes de acoplamento de 10,6 e 4,5 Hz observadas para o hidrogênio H-5_{eq}''' (δ_{H} 3,99). Estes valores condizem com acoplamentos: geminal entre H-5_{ax}''' e H-5_{eq}''' e axial-equatorial entre H-4''' e H-5''', respectivamente, fixando assim o grupo hidroxila ligado em C-4''' na posição equatorial e o hidrogênio na axial. Estes dados permitiram inferir a presença de uma unidade de xilose na estrutura de **PT-3**.

Para a unidade de glicose, análises do espectro de RMN de ^{13}C e o mapa de correlação HSQC exibiram sinais de carbonos oximetínicos δ_{C} 71,2 (C-4''), 77,9 (C-5'') e 78,4 (C-3'') e 82,0 (C-2''), um oximetilênico em δ_{C} 68,3 (C-6'') e um anomérico em δ_{C} 100,9 (C-1''), correlacionado ao hidrogênio anomérico δ_{C} 5,45 (H-1''), o qual apresentou acoplamento no mapa de correlação COSY com o sinal em δ_{H} 3,66 (H-2'').

A atribuição inequívoca dos sinais correspondentes aos hidrogênios dos açúcares foi realizada através do experimento de TOSCY 1D aliado aos dados obtidos nos mapas de correlação HSQC e HMBC. O espectro de TOSCY 1D (Apêndice, Figura A60(a)) obtido pela irradiação na frequência de H-1'' (δ_H 5,42; d ; $J = 7,6$ Hz) da glicose, exibiu correlações com os sinais em δ_H 3,66 (dd , $J = 8,9$ e $7,4$ Hz, H-2''), 3,60 (t , $8,9$, H-3''), 3,28-3,40 (m , H-4'', H-5'' e H-6'') e 3,81 (d , $J = 10,6$ Hz, H-6''). De modo semelhante, a excitação na frequência do H-1''' (δ_H 4,78; d ; $J = 6,5$ Hz) da xilose, revelou correlações com os sinais em δ_H 3,53-3,58 (m , H-2'''), 3,38-3,41 (m , H-3''' e H-4'''), 3,27 (dd , $J = 10,6$ e $8,8$ Hz, H-5_{ax}'''), 3,99 (dd , $J = 10,6$ e $4,5$ Hz, H-5_{eq}''') (Apêndice, Figura A60(b)).

Pelo mapa de HMBC (Figura 37) verificou-se a correlação existente entre o hidrogênio H-6'' em δ_H 3,81 da glicose com o carbono anomérico da ramnose em δ_C 102,3, evidenciando a conectividade entre os açúcares, glicose e ramnose. Já a conexão entre as unidades de xilose e glicose foi inferida também através da análise do mapa de correlação HMBC, que exibiu, claramente, a correlação entre o sinal do hidrogênio H-2'' em δ_H 3,66 da glicose com o sinal do carbono anomérico C-1''' (δ_C 105,0) da xilose. Além disso, o alto valor de deslocamento químico apresentado para o carbono C-2'' (δ_C 82,0) da glicose, comparado ao do flavonoide **PT-2**, indicou que o mesmo se encontrava envolvido em ligação interglicosídica.

Figura 37- Expansão do mapa de correlação HMBC do composto **PT-3**.



Finalmente, a conexão entre a porção "osídica" e a aglicona foi confirmada através do mapa de correlação HMBC, ao mostrar a correlação do hidrogênio

anomérico em δ_H 5,45 (H-1'') da glicose com o carbono C-3 (δ_C 135,0) do anel C, do flavonol.

As principais correlações observadas no mapa de HMBC para o composto **PT-3** estão representadas na Figura 38.

Os dados obtidos nas análises de RMN, uni e bidimensionais estão apresentados na Tabela 13.

Desse modo, através da análise dos dados espectrais e comparações com dados descritos na literatura foi possível identificar **PT-3** como canferol-3-O-[α -L-raminopiranosil-(1 $\rightarrow$ 6)]-[β -D-xilopiranosil-(1 $\rightarrow$ 2)]- β -D-glicopiranosídeo, conhecido como cameliassídeo B (DU *et al.*, 2008; SEKINE *et al.*, 1991).

Figura 38- As principais correlações observadas no mapa de correlação HMBC do composto **PT-3**.

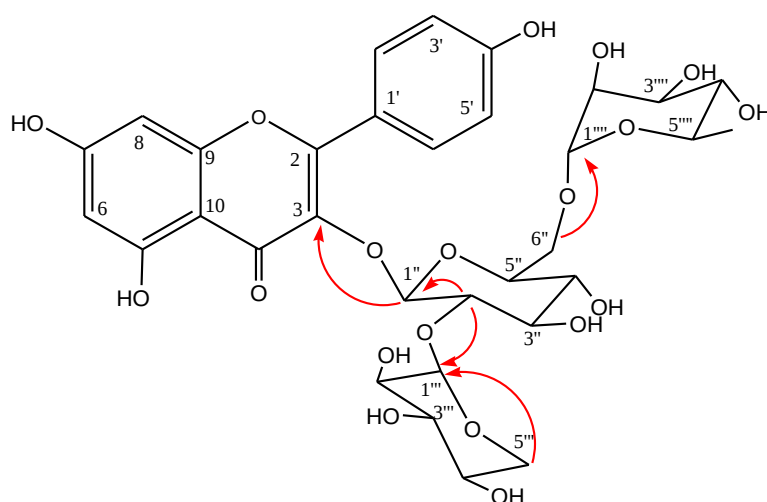


Tabela 13- Dados espectrais de RMN de ^1H , ^{13}C e HMBC do composto **PT-3** (500, 125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) e da referência consultada.

Composto PT-3				Cameliasídeo B (DU <i>et al.</i> , 2008)*
Posição	δ_{C}	δ_{H} ; Multiplicidade; <i>J</i> (Hz)	HMBC	δ_{C}
Aglicona				
2	158,6			157,8
3	135,0			134,5
4	179,6			178,9
5	163,2			162,1
6	100,0	6,23; <i>s</i> /	C-7; C-8	99,7
7	165,8			164,9
8	95,0	6,40; <i>s</i> /	C-6; C-7; C-10	94,8
9	156,4			158,6
10	105,2			105,5
1'	123,2			122,7
2'/6'	132,4	8,04; <i>d</i> ; 8,7	C-2; C-3'; C-4'	132,0
3'/5'	116,3	6,91; <i>d</i> ; 8,7	C-1'; C-4'	116,0
4'	161,4			160,6
glicose				
1''	100,9	5,45; <i>d</i> ; 7,6	C-3; C-5''	100,6
2''	82,0	3,66; <i>dd</i> ; 8,9 e 7,4	C-1''; C-1''''; C-3''	81,1
3''	78,4	3,60, <i>t</i> , 8,9	C-2''; C-4''	77,6
4''	71,2	3,40-3,28, <i>m</i>	-	71,0
5''	77,9	3,40-3,28, <i>m</i>	C-4''	76,6
6''	68,3	3,40-3,28, <i>m</i>	C-1''''; C-4''	67,8
		3,81; <i>d</i> ; 10,6		
xilose				
1'''	105,0	4,78; <i>d</i> ; 6,5	C-2''; C-3'''	104,5
2'''	74,7	3,53-3,58, <i>m</i>	C-3'''	74,2
3'''	76,9	3,38-3,41, <i>m</i>	C-2'''	76,2
4'''	71,7	3,38-3,41; <i>m</i>	C-3'''	70,6
5'''	66,6	3,27; <i>dd</i> ; 10,6; 8,8, H5 _{ax}	C-1''''; C-3''''; C-4''''	66,2
		3,99; <i>dd</i> ; 10,6; 4,5; 5eq	C-1''''; C-3''''; C-4''''	

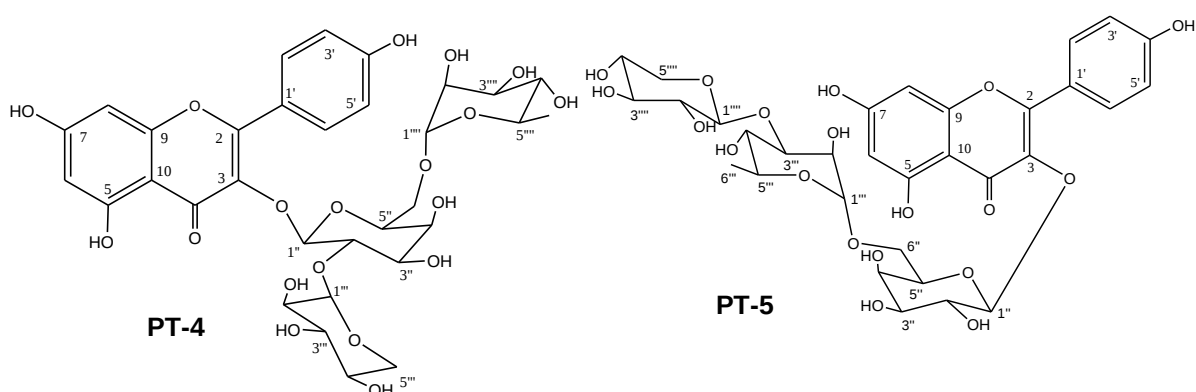
Continuação da tabela 13.

ramnose

1'''	102,3	4,52; <i>sl</i>	C-2''''; C-3''''; C-5''''; C-6''	101,7
2'''	72,2	3,56-3,61; <i>m</i>	C-3''''	72,0
3'''	71,7	3,24-3,28; <i>m</i>	C-2''''	71,6
4'''	74,0	3,24-3,28; <i>m</i>	C-2''	73,9
5'''	69,8	3,41-3,45; <i>m</i>	C-4''''	69,4
6'''	17,9	1,09; <i>d</i> ; 6,3	C-4''''; C-5''''	17,7

*RMN de ^{13}C (125 MHz, CD_3OD).

4.4.9. Compostos PT-4 e PT-5



Os compostos **PT-4** e **PT-5** foram isolados em mistura a partir da fração acetato de etila das folhas de *P. trichophora* como um sólido amarelo solúvel em metanol.

Os espectros de RMN (uni e bidimensionais) (Apêndice, Figuras A61-A77) apresentaram uma duplicidade de sinais, sendo possível identificar pequenas diferenças nos valores de deslocamentos químicos, evidenciando a presença de dois compostos estruturalmente semelhantes.

O espectro de RMN de ^{13}C (CD_3OD , 75 MHz) (Apêndice, Figuras A65 a A68) apresentou os pares de sinais em δ_{C} 158,6/158,7, 135,1/135,9 e 179,8/179,9 característicos dos carbonos C-2, C-3 e C-4 do anel C de um flavonol. Além disso,

a comparação dos dados de RMN de ^{13}C como os do composto **PT-3** mostraram-se bem semelhantes. No entanto, observou-se um maior número de sinais de carbonos carbinólicos e anoméricos, sugerindo uma mistura de flavonoides triglicosilados, sendo ambos derivados do canferol.

A análise do espectro de RMN de ^1H (CD_3OD , 500 MHz) (Apêndice, Figuras A61 a A64) revelou sinais de hidrogênios anoméricos em δ_{H} 4,52 (*d*, $J = 1,1$ Hz), 4,75 (*d*, $J = 7,2$ Hz), 5,05 (*d*, $J = 7,7$ Hz) e 5,28 (*d*, $J = 7,7$ Hz) que permitiram atribuir a presença das unidades glicosídicas. A magnitude das constantes de acoplamento dos hidrogênios anoméricos são condizentes com monossacarídeo com configuração α e três β .

O mapa de correlação HSQC (Apêndice, Figuras A69 a A71) da mistura de **PT-4** e **PT-5** corroborou com a sugestão das unidades “osídicas” ao revelar sinais para carbonos anoméricos em δ_{C} 101,6, 102,0, 105,6 e 105,7 e ainda sinais para dois carbonos metilênicos em δ_{C} 66,7 e 67,2. Observou-se, também, um sinal para carbono metílico em δ_{C} 18,1, correlacionado com os dupletos centrados em δ_{H} 1,18 ($J = 6,3$ Hz) e 1,19 ($J = 6,3$ Hz), referentes as duas unidades de ramnose.

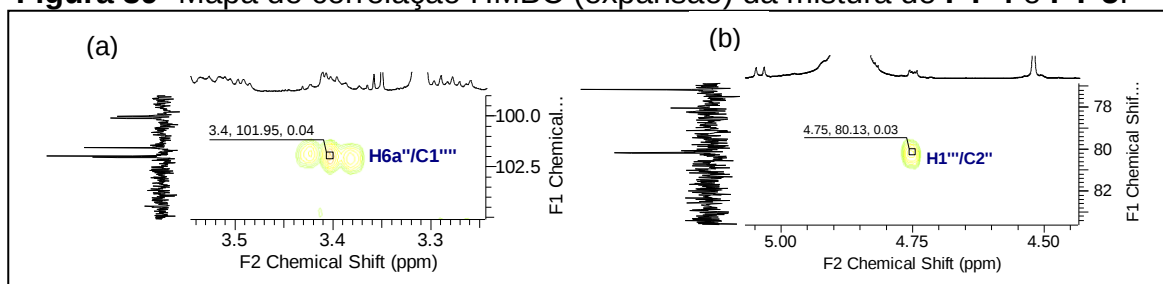
A análise dos sinais adicionais no espectro de RMN de ^{13}C e dos mapas de correlação HSQC e HMBC (Apêndice, Figuras A72 a A75) da mistura de **PT-4** e **PT-5** confirmaram a presença das unidades xilose ao mostrar sinais para 5 carbonos oximetínicos em δ_{C} 70,1, 71,1, 75,1, 75,2 e 77,2 e para um carbono oximetilênico em δ_{C} 66,7, que correlacionou-se através do mapa de HSQC com os hidrogênios diastereotópicos em δ_{H} 3,24-3,38 (*m*, H-5a'') e δ_{H} 3,95-3,98 (*m*, H-5b''), os quais mostraram estar acoplados entre si no mapa de correlação COSY (Apêndice, Figuras A76 a A77) e a longa distância com o carbono anomérico em δ_{C} 105,7 (C-1''). O sinal para o hidrogênio anomérico foi observado em 4,75, típico de um resíduo de xilose terminal.

Para as unidades de galactose, a análise conjunta do espectro de RMN de ^{13}C e do mapa de correlação HSQC mostraram sinais de carbonos oximetínicos entre δ_{C} 70,0 e 80,2, sinais de dois carbonos anoméricos em δ_{C} 101,6 e 105,6 e um sinal de carbono metilênico em δ_{C} 67,2.

A conexão entre os resíduos de açúcares presentes nas estruturas dos compostos **PT-4** e **PT-5** foram estabelecidas com base nas correlações

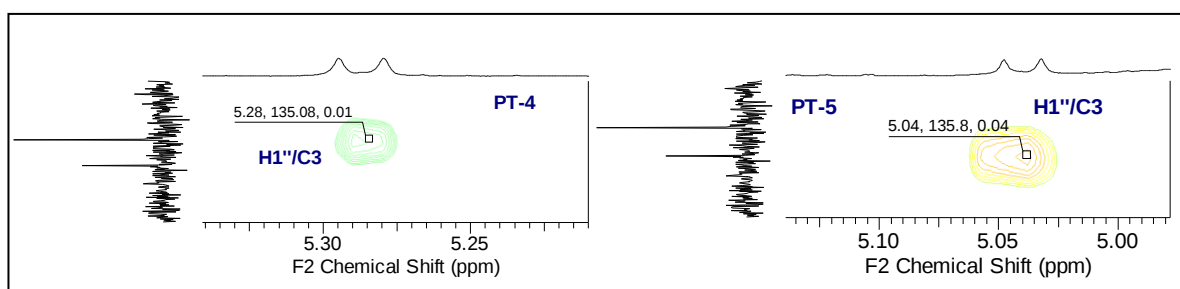
observadas nos mapas de correlação HMBC e COSY. Para o composto **PT-4**, o mapa de correlação HMBC mostrou, claramente, a correlação entre o H-6'' (δ_H 3,38-3,42, *m*) da galactose com o carbono anomérico da ramnose em δ_C 102,0 (C-1''') (Figura 39a), bem como, entre o hidrogênio anomérico da xilose em δ_H 4,75 (H-1''') com o carbono em δ_C 80,0 (C-2'') da galactose (Figura 39b) do composto **PT-4**, e também ao carbono C-3''' (δ_C 72,7) da ramnose do composto **PT-5**.

Figura 39- Mapa de correlação HMBC (expansão) da mistura de **PT-4** e **PT-5**.



Finalmente, a ligação entre as porções “osídicas” e as agliconas de **PT-4** e **PT-5** foi estabelecida com base na correlação observada, a longa distância, no mapa de HMBC (Figura 40), entre os hidrogênios anoméricos das unidades de galactose em δ_H 5,05 (H-1'') e 5,28 (H-1'') como sinais em δ_C 135,9 e 135,1, referentes aos carbonos C-3 de **PT-4** e **PT-5**, respectivamente.

Figura 40- Expansões do mapa de correlação HMBC (região de hidrogênios anoméricos) da mistura dos compostos **PT-4** e **PT-5**.

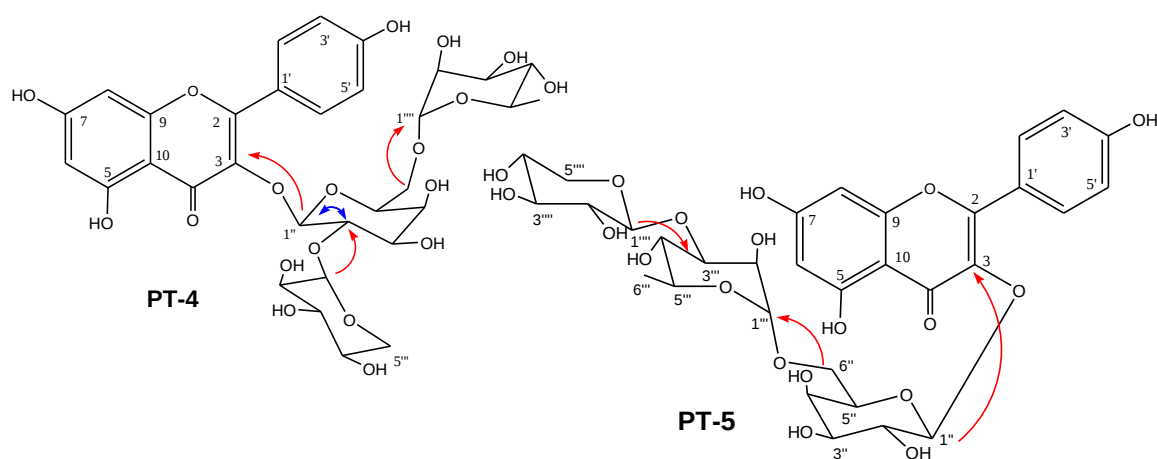


Desta forma, após análise minuciosa dos dados espectrais e comparação com dados publicados na literatura foi possível identificar os compostos **PT-4** e **PT-5** como canferol-3-O- $\{\beta$ -D-xilopiranosil-(1 $\rightarrow$ 2)- $[\alpha$ -L-raminopiranosil-(1 $\rightarrow$ 6)] $\}$ - β -D-galactopiranosídeo (MURAKAMI *et al.*, 2001) e canferol-3-O- $[\beta$ -D-

xilopiranosil(1→3)- α -L-raminopiranosil(1→6)]- β -D-galactopiranosídeo (SEMMAR *et al.*, 2002), respectivamente.

As principais correlações observadas no mapa de HMBC para os compostos **PT-4** e **PT-5** estão representadas na Figura 41.

Figura 41- Principais correlações observadas nos mapas de HMBC (↗) e COSY (↘) da mistura dos compostos **PT-4** e **PT-5**.



Os dados de RMN, uni e bidimensionais dos compostos **PT-4** e **PT-5** e das referências consultadas estão apresentados nas Tabelas 14 e 15.

Tabela 14- Dados de RMN de ^1H e ^{13}C do composto **PT-4** (500, 125 MHz, DMSO- d_6) e da referência consultada.

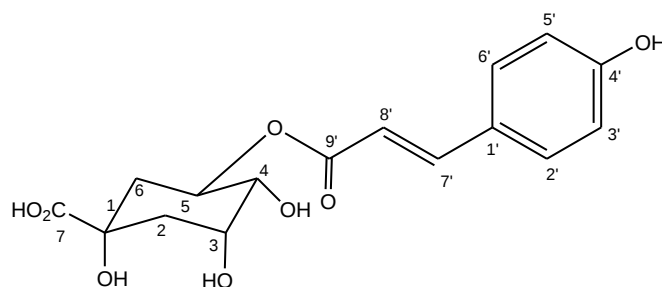
Composto isolado PT-4			Canferol-3-O-{ β -D-xilopiranosil-(1 $\rightarrow$ 2)-[α -L-raminopiranosil-(1 $\rightarrow$ 6)]}- β -D-galactopiranosideo* (MURAKAMI <i>et al.</i> , 2001)	
Posição	δ_{C}	δ_{H} ; Multiplicidade; <i>J</i> (Hz)	δ_{C}	δ_{H} ; multiplicidade; <i>J</i> (Hz)
2	158,6		157,0	
3	135,1		135,1	
4	179,8		178,8	
5	163,1		163,0	
6	100,0	6,22; d; 1,8	99,7	6,68, s
7	166,2		165,7	
8	94,9	6,42; d; 1,9	94,5	6,67, s
9	159,2		157,6	
10	105,8		105,4	
1'	122,7		122,3	
2'/6'	132,6	8,09; d; 8,5	132,0	8,54, d, 8,5
3'/5'	116,4	6,89, dd; 8,6; 1,9	116,1	7,21, d, 8,5
4'	161,6		161,1	
Galactose				
1''	101,6	5,28; d; 7,7	100,7	6,45
2''	80,2	3,95-3,98; m	81,0	4,80, dd, 9,0 e 7,3
3''	75,6	3,69-3,74; m	75,5	4,28, dd, 9,0 e 4,0
4''	70,2	3,75-3,80; m	69,4	4,38, m
5''	75,0	3,38-3,42; m	75,1	4,08, dd, 7,6 e 5,8
6''	67,2	H _a (3,38-3,42; m) H _b (3,69-3,74; m)	66,5	H _a (3,90, dd, 10,1; 5,8) H _b (4,28, m)
Xilose				
1'''	105,7	4,75; d; 7,2	106,1	5,44, d, 6,7
2'''	75,1	3,59-3,64; m	73,1	4,21, dd, 7 e 6,7
3'''	77,2	3,40-3,42; m	77,5	4,14, m
4'''	70,1	3,75-3,80; m	70,8	4,14, m
5'''	66,7	H _a (3,24-3,28; m) H _b (3,95-3,98; m)	66,9	H _a (3,58, dd; 9 e 9) H _b (4,38, m)
Ramnose				
1''''	102,0	4,52; d; 1,1	101,9	5,15, s/
2''''	72,2	3,47-3,60; m	72,1	4,38, m
3''''	72,4	3,47-3,60; m	72,7	4,30, dd, 9 e 4
4''''	74,0	3,24-3,28; m	73,9	4,14, m
5''''	69,8	3,47-3,60; m	69,7	4,18, m
6''''	18,1	1,18; d; 6,1	18,5	1,45, d, 5,5

*RMN de ^1H e ^{13}C (500 MHz, 125 MHz, piridina- d_5).

Tabela 15- Dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C do composto **PT-5** (500, 125 MHz, DMSO- d_6) e da referência consultada.

Posição	Composto PT-5		canferol-3-O-[β -D-xilopiranosil(1 $\rightarrow$ 3)- α -L-raminopiranosil(1 $\rightarrow$ 6)]- β -D-galactopiranosídeo* (SEMMAR <i>et al.</i> , 2002)	
	δ_{C}	δ_{H} ; Multiplicidade; J (Hz)	δ_{C}	δ_{H} ; multiplicidade; J (Hz)
Aglicona				
2	158,7		159,4	
3	135,9		136,8	
4	179,9		179,6	
5	163,2		162,9	
6	100,0	6,20; <i>d</i> ; 1,8	100,0	6,20; <i>d</i> ; 1,9
7	165,9		166,0	
8	95,1	6,40; <i>d</i> ; 1,8	95,0	6,39; 1,9
9	158,6		158,5	
10	105,9		105,6	
1'	122,7		122,6	
2'/6'	132,6	8,11; <i>d</i> ; 8,8	132,6	8,10; <i>d</i> ; 8,8
3'/5'	116,4	6,89; <i>dd</i> ; 8,6; 1,9	116,1	6,88; <i>d</i> ; 8,8
4'	161,7		161,6	
galactose				
1''	105,6	5,05; <i>d</i> ; 7,7	105,6	5,02; <i>d</i> ; 7,9
2''	73,1	3,75-3,81; <i>m</i>	73,0	3,80; <i>dd</i> ; 9,5, 7,9
3''	75,0	3,40-3,42; <i>m</i>	74,9	3,56; <i>d</i> ; 9,5, 3,5
4''	70,3	3,75-3,81; <i>m</i>	70,0	3,76
5''	75,4	3,59-3,64; <i>m</i>	75,5	3,66
6''	67,2	3,40-3,42; <i>m</i>	68,0	3,48 e 3,70
ramnose				
1'''	102,0	4,52; <i>d</i> ; 1,1	101,9	4,52; <i>d</i> ; 1,9
2'''	71,2	3,56-3,61; <i>m</i>	71,7	3,77; <i>dd</i> ; 3,2, 1,9
3'''	80,2	3,96-3,98; <i>m</i>	82,4	3,55; <i>dd</i> ; 9,5, 3,2
4'''	72,4	3,47-3,60; <i>m</i>	72,7	3,44; <i>t</i> ; 9,5
5'''	69,8	3,47-3,60; <i>m</i>	69,5	3,54
6'''	18,1	1,19; <i>d</i> ; 6,1	18,1	1,16; <i>d</i> ; 6,0
Xilose				
1'''	105,7	4,75; <i>d</i> ; 7,2	106,5	4,32; <i>d</i> ; 7,2
2'''	75,2	3,69-3,74; <i>m</i>	74,9	3,23; <i>dd</i> ; 9,1, 7,2
3'''	77,2	3,40-3,42; <i>m</i>	77,3	3,31
4'''	71,1		71,1	3,46; <i>m</i>
5'''	66,7	H _a (3,24-3,28; <i>m</i>) H _b (3,95-3,98; <i>m</i>)	66,9	3,09; <i>dd</i> ; 11,4, 10,4 e 3,76

4.4.10. Composto PT-6



O composto **PT-6** foi isolado da fração *n*-butanólica das folhas de *P. trichophora*, como um sólido amorfo, solúvel em metanol.

O espectro de RMN de ^1H (CD_3OD , 500 MHz) (Apêndice, Figuras A78 e A79) mostrou sinais correspondentes a um sistema de spin do tipo AA'BB' em δ_{H} 6,81 (2H, *d*; 8,6 Hz, H-3' e H-5') e 7,46 (2H, *t*_{AB}; 8,6 Hz, H-2' e H-6'), característicos de um anel aromático *para* substituído, dois dupletos em δ_{H} 6,32 (H-7') e 7,62 (H-8'), referentes aos hidrogênios olefínicos em relação de acoplamento *trans* ($J = 16,2$ Hz). Pelo mapa de correlação HSQC (Apêndice, Figura A81) foram observadas as correlações entre os hidrogênios citados acima com os carbonos em δ_{C} 116,9, 131,3, 115,4 e 146,8, respectivamente. Esses dados evidenciaram a presença de um grupo cumaroila como parte da estrutura do composto **PT-6**.

Além dos sinais citados acima, foram observados no espectro de RMN de ^1H sinais adicionais em δ_{H} 3,73 (*dd*, $J = 8,6$ e $3,1$ Hz), 4,16 (*m*) e 5,33 (*ddd*, $J = 9,6$; $8,6$ e $4,4$ Hz), referentes aos hidrogênios oximetínicos H-4, H-3 e H-5, respectivamente, um multipeto em δ_{H} 2,02-2,25, atribuídos aos hidrogênios metilênicos (H-2 e H-6), os quais permitiram inferir a presença de uma unidade de quinato.

O espectro de RMN de ^{13}C (CD_3OD , 125 MHz) (Apêndice, Figura A80) associado ao mapa de correlação HSQC, confirmou a presença de uma unidade do ácido quínico pelos sinais de três carbonos oximetínicos em δ_{C} 71,3 (C-3), 72,1 (C-5) e 73,6 (C-4), sinais de dois de carbonos metilênicos em δ_{C} 38,2 (C-2) e 38,8

(C-6), um sinal de carbono carbonílico de carboxila em δ_c 177,1 e um sinal para carbono não hidrogenado em δ_c 76,2 (C-1).

O posicionamento do grupo coumaroila em C-5 do esqueleto ácido quínico foi inferida com base no efeito de desproteção observado para H-5 (δ_H 5,33, *ddd*, $J = 9,6; 8,9$ e $4,4$ Hz) quando comparado ao H-3 (δ_H 4,16, *m*), aliado às constantes de acoplamento características dos mesmos. Além disso, o mapa de correlação HMBC (Apêndice, Figuras A82 e A83) mostrou, claramente, a correlação entre o hidrogênio H-5 com carbono carbonílico em δ_c 168,9 (C-9') e, este com os hidrogênios olefínicos H-7' (δ_H 6,32) e H-8' (δ_H 7,62), confirmando a conectividade dos grupos coumaroila e quinato.

A estereoquímica relativa do composto **PT-6** foi feita com base nas constantes de acoplamento observadas para os hidrogênios H-4 (*dd*, $J = 8,6$ e $3,1$ Hz) e H-5 (*ddd*, $J = 9,6; 8,6$ e $4,4$ Hz). As constantes de $8,6$ e $3,1$ Hz condizem com acoplamentos axial-axial (H-4/H-5) e equatorial-axial (H-3/H-4), respectivamente, posicionando, assim, os hidrogênios H-4 e H-5 nas posições axiais e os grupos hidroxila e coumaroila nas posições equatoriais.

Assim, a análise dos dados espectrais e comparações com os descritos na literatura foi possível identificar **PT-6** como sendo o ácido 5-*p*-coumaroilquínico, (LU *et al.*, 2000).

Os dados espectrais de RMN de 1H , ^{13}C , HMBC e COSY (Apêndice, Figura A84) do composto **PT-6** estão apresentados na Tabela 16. As principais correlações observadas nos mapas de HMBC e COSY do composto **PT-6** estão representadas na Figura 42.

Figura 42- Correlações observadas nos mapas de HMBC () e COSY () para o composto **PT-6**.

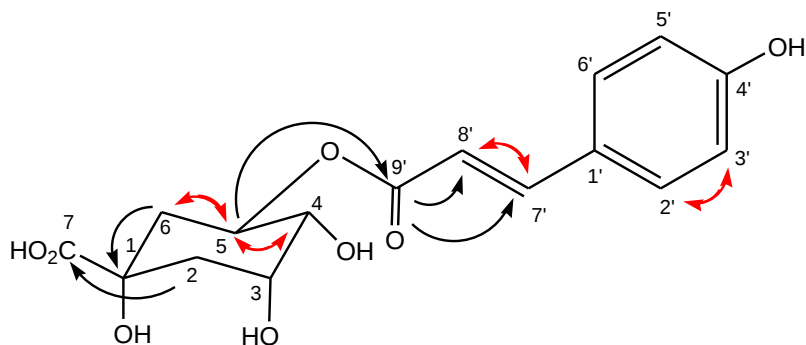
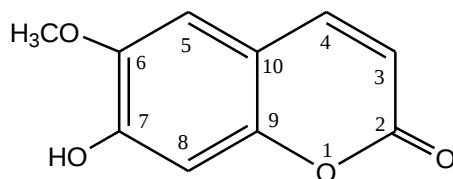


Tabela 16- Dados espectrais de RMN de ^1H , ^{13}C , HMBC e COSY do composto **PT-6** (500, 125 MHz, CD_3OD).

Posição	δ_{C}	δ_{H} ; Multiplicidade; J (Hz)	HMBC	COSY
1	76,2			
2	38,3	2,02-2,25; <i>m</i>	C-1; C-3; C-4; C-7	
3	71,3	4,16; <i>m</i>	C-1; C-2; C-4; C-5	H-4
4	73,6	3,73; <i>dd</i> ; 8,6; 3,1	C-5; C-6	H-3; H-5
5	72,1	5,33, <i>ddd</i> ; 9,6; 8,6; 4,4	C-1; C-3; C-4; C-9'	H-4
6	38,8	2,02-2,25; <i>m</i>	C-1; C-2; C-4; C-5; C-7	
7	177,1			
1'	127,3			
2'/6'	131,3	7,46; <i>d</i> ; 8,6	C-2'; C-4'; C-8'	H-3'/H-5'
3'/5'	116,9	6,81; <i>d</i> ; 8,6	C-1'; C-4'	H-2'/H-6'
4'	161,3			
7'	115,4	6,32; <i>d</i> ; 16,2	C-1'; C-9'	H-8'
8'	146,8	7,62; <i>d</i> ; 16,2	C-2'; C-7'; C-9'	H-7'
9'	168,9			

4.4.11. Composto PT-1



O composto **PT-1** foi isolado da fração clorofórmica das raízes *P. trichophora*, na forma de cristais incolores (em clorofórmio). Este composto apresentou coloração azul intensa sob luz UV (λ 366 nm) e p.f. 198-200 °C (Lit. 199-202 °C, PAULA *et al.*, 1996).

No espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) (Apêndice, Figura A85) foram observados sinais característicos de cumarina, como a presença de dois dupletos em δ_{H} 6,28 ($J = 9,6$ Hz) e 7,61 ($J = 9,6$ Hz), atribuídos aos hidrogênios olefínicos H-3 e H-4, respectivamente. O sinal do hidrogênio de H-4 encontra-se mais desblindado, devido à conjugação da ligação dupla com a carbonila de lactona. Notou-se, também, um simpleto em δ_{H} 3,49, com integração para três hidrogênios, correspondente à um grupo metoxila aromático. Além disso, um simpleto alargado em δ_{H} 6,18 foi atribuído a um grupo hidroxila, enquanto os dois simpletos, um em δ_{H} 6,85 e outro em 6,92, evidenciaram uma cumarina substituída nas posições 6 e 7.

A análise conjunta do espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 125 MHz) (Apêndice, Figura A86) e do mapa de correlação HSQC (Apêndice, Figura A87), revelaram a presença de 10 carbonos, sendo 5 substituídos, incluindo um carbono de carbonila de lactona em δ_{C} 161,5. Além disso, os sinais em δ_{C} 113,3 e 143,2, foram atribuídos aos carbonos olefínicos C-3 e C-4, respectivamente, os sinais em δ_{C} 107,4 (C-5) e 103,2 (C-8), aos carbonos aromáticos e o sinal em δ_{C} 56,4 ao carbono oximetínico.

Através da análise do mapa de correlação HMBC (Apêndice, Figura A88) observou-se a existência de correlação entre sinal do hidrogênio olefínico H-3 (δ_{H} 6,28) com os carbonos C-2 (δ_{C} 161,5) e C-9 (δ_{C} 111,5) e H-4 (δ_{H} 7,61) com os carbonos aromáticos C-5 (δ_{C} 107,4) e C-10 (δ_{C} 150,5), e também entre o

hidrogênio aromático H-8 (δ_H 6,85) com os carbonos em δ_C 144,0 (C-6) e 149,6 (C-7).

Por fim, o sinal do grupo metoxila em δ_H 3,49 mostrou correlação a longa distância, no HMBC, com o sinal de carbono oxigenado em δ_C 144,0 (C-6) e, este com o hidrogênio aromático H-5 (δ_H 6,85), que por sua vez correlacionou-se com o carbono C-4 (δ_C 143,2), que faz parte do sistema lactônico.

Os dados de RMN de 1H e ^{13}C e o ponto de fusão do composto **PT-1** concordam com os descritos na literatura (CARVALHO *et al.*, 2006) para 7-hidroxi-6-metoxi-2H-1-benzopirano-2-ona, uma cumarina conhecida como escopoletina, previamente isolada de *P. vellosiana* (MORENO *et al.*, 2014), *P. stachyoides* (PIMENTA *et al.*, 2011).

As principais correlações observadas no mapa de HMBC para o composto **PT-1** estão representadas na Figura 43. Os dados espectrais do composto **PT-1** e da referência consultada estão apresentados na Tabela 17.

Figura 43- Principais correlações observadas no mapa de HMBC do composto **PT-1**.

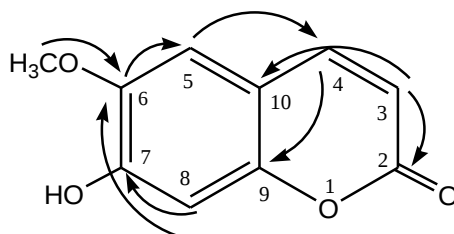


Tabela 17- Dados espectrais de RMN de ^1H (500 MHz), ^{13}C (125 MHz) e HMBC do composto **PT-1** (CDCl_3) e da referência consultada.

Posição	Composto PT-1			Escopoletina* (CARVALHO <i>et al.</i> , 2006)	
	δ_{C}	δ_{H} ; multiplicidade; J (Hz)	HMBC	δ_{C}	δ_{H} ; multiplicidade; J (Hz)
2	161,5			161,5	
3	113,3	6,28; <i>d</i> ; 9,6		113,3	6,20; <i>d</i> ; 9,3
4	143,2	7,61; <i>d</i> ; 9,6	C-2; C-5; C-10	144,0	7,80; <i>d</i> ; 9,3
5	107,4	6,85; <i>s</i>	C-4; C-6; C-7; C-10	107,4	6,75; <i>s</i>
6	144,0			149,7	
7	149,6			150,0	
8	103,2	6,92; <i>s</i>	C-6; C-7; C-9; C-10	103,2	7,09; <i>s</i>
9	150,2			143,8	
10	111,5			111,0	
OCH ₃	56,4	3,49; <i>s</i>	C-4; C-6	56,4	3,89; <i>s</i>

*RMN ^1H e ^{13}C , CD_3OD (200 MHz).

4.5. Ensaios biológicos

4.5.1. Atividade antioxidante

A capacidade antioxidante dos extratos brutos e das frações das folhas de *C. citrullifolia*, *C. espelina*, *C. weddelli* e *P. trichophora* foram avaliados através da percentagem de redução inicial do radical livre estável 2,2-difenil-1-picril-hidrazina (DPPH) pelas amostras em diferentes concentrações. Os valores de IC_{50} das amostras analisadas foram obtidos a partir da análise de regressão linear e apresentaram bons valores de correlação ($r > 0,99$).

Estudos publicados por Reynertson e colaboradores (2005) têm adotado como critério para a atividade antioxidante *in vitro*, que amostra que com $\text{IC}_{50} < 50$

$\mu\text{g/mL}$ é considerada muito ativa; IC_{50} de 50-100 $\mu\text{g/mL}$ é moderadamente ativa; IC_{50} de 100 – 200 $\mu\text{g/mL}$ apresenta baixa atividade e $\text{IC}_{50} > 200 \mu\text{g/mL}$ é inativa. Deste modo, os resultados na Tabela 18 mostram que os EBE de *C. espelina*, *C. weddelli* e *P. trichophora* são muito ativos, com valores de IC_{50} de $13,21 \pm 0,31$; $13,14 \pm 0,57$ e $33,49 \pm 1,19 \mu\text{g/mL}$, respectivamente.

Os extratos de *C. espelina*, *C. weddellii* e do padrão ácido ascórbico apresentaram atividade antioxidante semelhantes, não sendo significativa a diferença nos valores de IC_{50} . A forte atividade antioxidante dos extratos pode, em parte, ser atribuída a presença majoritária de flavonoides, cuja atividade sequestradora de radicais livres é reportada em diversos trabalhos. Já o extrato bruto das folhas de *C. citrullifolia* mostrou baixa atividade, com $\text{IC}_{50} > 100 \mu\text{g/mL}$.

Comparando-se os valores de IC_{50} das frações provenientes da partição do extrato bioativo de *C. espelina*, percebe-se que o efeito antioxidante é mais pronunciado na fração AcOEt ($\text{IC}_{50} 5,40 \pm 0,16 \mu\text{g/mL}$), comparável ao padrão ácido ascórbico ($\text{IC}_{50} 5,54 \pm 0,16 \mu\text{g/mL}$), provavelmente devido à presença nessa fração dos flavonoides: luteolina, luteolina-4'-O- β -D-glicopiranosídeo e luteolina-7-O- β -D-glicopiranosídeo, todos descritos na literatura como fortes agentes antioxidantes, com valores de IC_{50} de $4,3 \times 10^{-4} \text{ mg/mL}$ (LEE *et al.*, 2002), 9,58 e 13,65 μM (JIANG *et al.*, 2010), respectivamente. As frações CH_2Cl_2 e *n*-BuOH também mostraram forte atividade antioxidante, com valor de $\text{IC}_{50} < 50 \mu\text{g/mL}$.

As frações CH_2Cl_2 e *n*-BuOH das folhas de *C. weddellii* mostraram alto potencial antioxidante, com IC_{50} de $13,21 \pm 0,57$ e $23,07 \pm 0,85 \mu\text{g/mL}$, respectivamente. Tais resultados podem estar relacionados, principalmente, a presença dos flavonoides: luteolina-4'-O- β -D-glicopiranosídeo e luteolina-7-O- β -D-glicopiranosídeo.

Para a espécie *P. trichophora* a fração hidrometanólica mostrou fraca atividade, enquanto que as frações AcOEt e *n*-BuOH demonstraram alta atividade antioxidante. Nessas frações foram identificados os flavonoides, cameliásídeo, que mostrou excelente atividade antioxidante *in vivo*, segundo WEI *et al.* (2014), o canferol, canferol-3-O- $\{\beta$ -D-xilopiranosil-(1 $\rightarrow$ 2)- $[\alpha$ -L-raminopiranosil-(1 $\rightarrow$ 6)] $\}$ - β -D-galactopiranosídeo e canferol-3-O- α -L-raminopiranosil-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-galactopiranosídeo.

Tabela 18- Atividade antioxidante (IC₅₀ em µg/mL) dos extratos etanólicos e frações das folhas de *C. espelina*, *C. citrullifolia*, *C. weddellii* e *P. trichophora* usando o radical livre DPPH*.

Planta	Amostra	IC ₅₀ (µg/mL) ± DP**
<i>C. espelina</i>	EBE	13,21 ± 0,31gh
	Fr. <i>n</i> -BuOH	23,07 ± 0,85defg
	Fr. AcOEt	5,40 ± 0,16h
	Fr. CH ₂ Cl ₂	18,07 ± 3,83cde
<i>C. weddellii</i>	EBE	13,14 ± 0,57fgh
	Fr. <i>n</i> -BuOH	15,28 ± 0,32cdef
	Fr. AcOEt	13,21 ± 0,57gh
<i>C. citrullifolia</i>	EBE	157,87 ± 0,75a
	Fr. <i>n</i> -BuOH	74,93 ± 2,01abc
	Fr. AcOEt	124,26 ± 0,99ab
<i>P. trichophora</i>	EBE	33,49 ± 1,19bcd
	Fr. <i>n</i> -BuOH	15,18 ± 0,79defg
	Fr. AcOEt	14,47 ± 0,20efg
	Fr. hidrometanólica	115,05 ± 1,19ab
-	Ácido ascórbico***	5,54 ± 0,16h

*Baseado em dados originais. **Valores são média (n=3) ± desvio padrão (DP). ***Controle positivo. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente ao nível de 5 % pelo teste de Tukey.

4.5.2. Teste citotóxico *in vitro* frente ao Sarcoma 180

Paralelamente ao estudo fitoquímico, investigou-se o potencial citotóxico dos extratos etanólicos e das frações das folhas *C. espelina*, *C. weddellii*, *P. trichophora* e dos compostos isolados luteolina-4'-O-β-D-glicopiranosídeo e luteolina-7-O-β-D-glicopiranosídeo.

O extrato bruto etanólico e as frações hexano, CHCl₃, AcOEt, *n*-BuOH e hidrometanólica das folhas de *C. weddellii* foram submetidos a testes citotóxicos *in vitro* frente a linhagem de células tumorais Sarcoma 180. Os resultados mostraram, que na concentração de 1 mg/mL a fração CHCl₃ exibiu leve atividade

citotóxica, com 66,2 % de inibição de crescimento celular. As demais amostras analisadas, mostraram-se inativas.

Os flavonoides isolados da fração CHCl_3 , luteolina-4'-O- β -D-glicopiranosídeo e luteolina-7-O- β -D-glicopiranosídeo aumentaram a proliferação celular, quando comparado ao controle. Esses resultados sugerem que o potencial citotóxico observado para a fração CHCl_3 possa ser atribuída aos compostos minoritários, que ainda não foram identificados ou, até mesmo, a efeitos sinérgicos.

Resultados semelhantes foram descritos por Chang e colaboradores (2008) para os flavonoides gossipina, morina e naringenina, que aumentaram a viabilidade celular de duas linhagens tumorais de câncer de pulmão a MDA-MB-23 e a MCF-7. A morina também promoveu a proliferação celular do carcinoma colorretal (LoVo).

Para a luteolina-7-O- β -D-glicopiranosídeo, a literatura relatou, recentemente, importantes atividades citotóxicas em diferentes linhagens de células tumorais, como câncer de cólon (COLO 320 DM e HCT-116), gástrico (AGS), mama (MCF-7), pulmão (A549) e fígado (HEP-G2) (BASKAR *et al.*, 2011, FAWZY *et al.*, 2012).

O extrato bruto e frações hexano, CH_2Cl_2 , AcOEt e *n*-BuOH das folhas de *P. trichophora* inibiram a viabilidade celular em 32,8; 38,0; 27,2; 38,3 e 27,2 %, respectivamente, na concentração de 1 $\mu\text{g/mL}$, sugerindo que os mesmos não são citotóxicos para Sarcoma 180.

O extrato bruto etanólico das folhas de *C. espelina* mostrou-se inativo frente aos ensaios citotóxicos *in vitro* com linhagens tumorais de Sarcoma 180 e K562 (leucemia), com IC_{50} de 138,3 $\mu\text{g/mL}$.

Tabela 19- Inibição da viabilidade celular do Sarcoma 180 para os extratos e frações das folhas de *C. espelina*, *C. weddelli* e *P. trichophora*.

Planta	Amostra ^a	% inibição da viabilidade celular ^c
<i>P. trichophora</i>	Extrato bruto	32,8±2,40
	Fr. hexânica	38,0±1,44
	Fr. CH ₂ Cl ₂	27,2±3,35
	Fr. AcOEt	38,0±3,01
<i>C. weddelli</i>	Extrato bruto	18,0±2,28
	Fr. hexânica	43,3±1,18
	Fr. CHCl ₃	66,2±2,30
	Fr. AcOEt	36,9±4,92
	Fr. <i>n</i> -BuOH	5,4±2,53
<i>C. espelina</i>	Extrato bruto	35,5±1,85
luteolina-4'-O-β-D-glicopiranosídeo ^b	-	nd
	-	nd
luteolina-7-O-β-D-glicopiranosídeo ^b	-	nd
	-	nd

^aExtratos e frações foram testados na concentração de 1 mg.mL⁻¹. ^bOs compostos puros foram testados nas concentrações de 6,25; 12, 25, 50, 100 e 200 μM. ^cOs valores representam a média de 3 experimentos±DP. ndaumentou a viabilidade celular.

4.5.3. Teste de susceptibilidade antimicrobiana

Dentre os 4 extratos etanólicos e as 9 frações investigadas neste trabalho quanto à atividade antibacteriana, somente a fração acetato de etila das folhas de *C. espelina* foi capaz de inibir o crescimento da bactéria *E. coli* a uma concentração de 82 μg/mL, com 74% de inibição. Este resultado é bastante promissor uma vez que as bactérias gram-negativas são normalmente mais resistentes a antibióticos por possuírem uma membrana externa que impede a entrada de inúmeros antibióticos, além disso, o espaço periplasmático possui

enzimas que são capazes de degradar moléculas estranhas oriundas do exterior da célula (HOLETZ *et al.*, 2002).

O efeito antimicrobiano exibido pela fração acetato de etila de *C. espelina*, provavelmente se deve, em parte, à presença dos compostos luteolina, luteolina 7-glicosídeo e luteolina 4'-glicosídeo.

Estudos científicos têm demonstrado que a luteolina, seus glicosídeos ou plantas contendo luteolina, apresentam propriedade antibacteriana, antiviral e antifúngica (LOPES-LÁZARO, 2009). Para a luteolina são citadas atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*, *E. coli*, *Bacillus cereus* e *Citrobacter freundii*, com MIC entre $5,0 \times 10^{-2}$ e $1,0 \times 10^{-1}$ mg/mL (KUMARASAMY *et al.*, 2005).

Recentemente, Wu e colaboradores (2013) relataram que a atividade antibacteriana da luteolina frente a *E. coli* está associada a inibição da enzima DNA girase, impedindo que esta faça a construção normal do DNA bacteriano. Neste trabalho, os pesquisadores realizaram, também, o estudo de estrutura-atividade de seis flavonas e quatro flavonóis. Eles observaram que a presença de grupos hidroxilas nas posições C-5 do anel A e C-4' do anel B, e metoxilas em C-3 e C-8, são essenciais para uma boa atividade frente a *E. coli*. Contudo, os flavonoides com grupos hidroxilas em C-3, C-3', C-5' e C-6 e metoxilas em C-3', mostraram baixa atividade.

Algumas espécies da família Cucurbitaceae têm apresentado atividade antibacteriana, a exemplo dos extratos clorofórmicos da polpa e do fruto de *S. edule*, que foram ativos frente a *E. coli* ATCC 8739 (SIBI *et al.*, 2013). Já os extratos etanólicos das folhas e dos caules de *S. grosvenorii* mostraram ação bacteriostáticas para a *Pseudomonas aeruginosa*, *S. aureus*, *Micrococcus luteus* e *Candida albicans* (LI *et al.*, 2014). Cita-se ainda, atividade antibacteriana do extrato bruto de sementes *M. charantia* frente a *E. coli*, *Salmonella typhi* e *S. aureus* (JABEEN *et al.* 2014).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A investigação química das folhas de *C. espelina* e de *C. weddellii* resultou, até o momento, no isolamento da luteolina, luteolina 4'-O- β -D-glicopiranosídeo e da luteolina 7-O- β -D-glicopiranosídeo. Das folhas de *C. citrullifolia* foram isolados os metabólitos secundários, vicenina-2, canferol 3,7-di-O- α -L-ramnopiranosídeo, ácido β -O-glucosilsalicílico e benzil-O- β -D-xilopiranosil-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glicopiranosídeo. Com exceção da vicenina-2, todos os outros compostos são relatados pela primeira no gênero *Cayaponia*, constituindo-se interessante contribuição para o conhecimento químico do mesmo.

O estudo químico das folhas de *P. trichophora* propiciou o isolamento de quatro flavonoides, um derivado do ácido quínico e uma cumarina. Dentre os flavonoides, destacam-se o canferol-3-O-[[β -D-xilopiranosil-(1 $\rightarrow$ 3)- α -L-raminopiranosil-(1 $\rightarrow$ 6)]- β -D-galactopiranosídeo e o canferol-3-O-{ β -D-xilopiranosil-(1 $\rightarrow$ 2)-[α -L-raminopiranosil-(1 $\rightarrow$ 6)]- β -D-galactopiranosídeo, por serem inéditos em Rubiaceae, isolados, anteriormente, apenas de espécies das famílias Fabaceae e Leguminosae. No entanto, os flavonoides canferol-3-O- β -D-robinosídeo e cameliasídeo B, estão sendo descritos pela primeira vez no gênero.

Além disso, a ausência de alcalóides em *P. trichophora* ilustra a importância da análise química do gênero, tal como proposto por Tan e colaboradores (2012), que mostra que além dos alcaloides, outros metabólitos secundários devem ser utilizados como marcadores quimiotaxonômicos no gênero *Psychotria*.

A avaliação do potencial antibacteriano sugere que a espécie *C. espelina* seja uma importante fonte de antimicrobianos em potenciais. Enquanto os extratos brutos de *C. espelina* e *C. weddellii* e a fração AcOEt de *C. espelina* foram os mais promissores como antioxidantes.

Os resultados encontrados, até o momento, contribuem para o conhecimento químico e biológico de espécies dos gêneros de *Cayaponia* e *Psychotria*, ainda pouco explorados.

6 Referências bibliográficas

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDULLA, H.; PIHIE, A. H. L.; HOHMANN, J.; MOLNAR, J. A natural compound from *Hydnophytum formicarum* induces apoptosis of MCF-7 cells via up-regulation of Bax. **Cancer Cell International**, v. 10, 2010.
- ABRAHAM, L. C. N., MASAKUNI, T., ISAO, H.; HAJIME, T. Antioxidant flavonoid glycosides from the leaves of *Ficus pumila* L. **Food Chemistry**, v. 109, n. 2, p. 415–420, 2008.
- ABU, I. M. R.; ROMAN, D. A.; PINE, R. Q.; ARROYO, S. F.; CARRETERO, A. S.; GUTIERREZ, A. F.; HPLC-ESI-Q-TOF-MS for a comprehensive characterization of bioactive phenolic compounds in cucumber whole fruit extract. **Food Research International**, v. 46, n. 1, p. 108-117, 2012.
- AQUILA, A.; GINER, R. M.; RECIO, M. C.; SPEGAZZINI, E. D.; RIOS, J. L. Anti-inflammatory activity of flavonoids from *Cayaponia tayuya* roots. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 121, n. 2, p. 333-337, 2009.
- BARANOWSKA, M. K., CISOWSKI, W. Flavonoids from some species of the genus *Cucumis*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 29, n. 3, p. 321-324, 2001.
- BARBOZA, G. E., CANTERO, J. J., NÚÑEZ, C., PACCIARONI, A., ESPINAR, L. E. Medicinal plants: A general review and a phytochemical and ethnopharmacological screening of the native Argentine Flora. **KURTZIANA**, v. 34, n.1-2, p. 7-365, 2009.
- BARROS, M. P.; SANTIN, S. M. O.; COSTA, W. F.; VIDOTTI, G. J.; SARRAGIOTTO, M. H. Constituintes químicos e avaliação do potencial antiinflamatório e antioxidante de extratos das folhas de *Chomelia obtusa* Cham. & Schltdl. (Rubiaceae). **Química Nova**, v. 31, n. 8, p. 1987-1989, 2008.
- BARTH, O. M.; LUZ, C. F. P.; GOMES-KLEIN, V. L. Pollen morphology of Brazilian species of *Cayaponia* Silva Manso (Cucurbitaceae, Cucurbiteae). **Grana**, v. 44, n. 3, p. 129-136, 2005.
- BASKAR, A. A.; IGNACIMUTHU, S.; MICHAEL, G. P.; AL NUMAIR, K. S. Cancer chemopreventive potential of luteolin-7-O-glucoside isolated from *Ophiorrhiza mungos* Linn. **Nutrition and câncer**, v. 63, n. 1, p. 130-8, 2011.
- BAUER, R.; BERGANZA, L. H.; SELIGMANN, O.; WAGNER, H. Cucurbitacins and flavone C-glycosides from *Cayaponia tayuya*. **Phytochemistry**, v. 24, n. 7, p. 1587-91, 1985.
- BENEVIDES, P. J. C.; YOUNG, M. C. M.; BOLZANI, V. S. Biological activities of constituents from *Psychotria spectabilis*. **Pharmaceutical Biology**, v. 42, n. 8, p. 565-569, 2004.

BRASSEUR, T.; ANGENOT, L. Flavonol glycosides from leaves of *Strychnos variabilis*. **Phytochemistry**, v. 25, n. 2, p. 563-564, 1986.

CALIS I.; HEILMANN, J.; TASDEMIR, D.; LINDEN, A.; IRELAND, C. M.; STICHER, O. Flavonoid, iridoid, and lignan glycosides from *Putoria calabrica*. **Journal of Natural Products**, v. 64, n. 7, p. 961-964, 2001.

CARDOSO, C. L., SILVA, D. H. S., YOUNG, M. C. M., GAMBOA, I.C., BOLZANI, V. S. Indole monoterpene alkaloids from *Chimarrhis turbinata* DC Prodr.: a contribution to the chemotaxonomic studies of the Rubiaceae family. **Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 18, n. 1, p. 26-29, 2008.

CARDOSO, C. L.; SILVA, D. H. S.; CASTRO, G. I.; BOLZANI, V. S. New biflavonoid and other flavonoids from the leaves of *Chimarrhis turbinata* and their antioxidant activities. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 16, n. 6B, p. 1353-1359, 2005.

CARVALHO, M. G.; ALVES, C. F.; WERLE, A. A.; BRAZ-FILHO, R. Metabólitos especiais isolados de *Laseguea erecta* (Apocynaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n. 4, p. 497-500, 2006.

CASTRO, A. A. J. F.; MARTINS, F. R.; TAMASHIRO, J. Y.; SHEPHERD, G. J. Howrich is the flora of Brazilian cerrados. **Ann. Missouri Botanical Garden**, v. 86, n. 1, p. 192-224, 1999.

CHAVES, D. C.; MONTE, F. J. Q.; LEMOS, T. L. G. et al. Cucurbitacinas: isolamento, estrutura e atividade biológica. **Anais da 57^a Reunião Anual da SBPC**. Fortaleza, jul. 2005.

CHANG, H.; MI, M.; LING, W.; ZHU, J.; ZHANG, Q.; WEI, N.; YUAN, J. Structurally related cytotoxic effects of flavonoids on human cancer cells in vitro. **Archives of pharmacal research**, v. 31, n. 9, p. 1137-1144, 2008.

CHEN, C. J.; CHIU, M. H.; NIE, R. L.; CORDELL, G. A.; QIU, S. X. Cucurbitacins and cucurbitane glycosides: structures and biological activities. **Natural product reports**, v. 22, n. 3, p. 386-399, 2005.

CHOZE, R., RETE, P. G., LIAO, L. M. Chemotaxonomic significance of flavonoids, coumarins and triterpenes of *Augusta longifolia* (Spreng.) Rehder, Rubiaceae-Ixoroideae, with new insights about its systematic position within the Family. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 3, p. 295-299, 2010.

CIMANGA, K.; BRUYNE, T.; VAN, B. P.; MA, Y.; CLAEYS, M.; PIETERS, L.; KAMBU, K.; TONA, L.; BAKANA, P.; VANDEN, D. B. Complement-modulating properties of a kaempferol 7-O-rhamnosylsophoroside from the leaves of *Morinda morindoides*. **Planta medica**, v. 63, n. 3, p. 220-223, 1997.

CRAGG, G. M., NEWMAN, D. J. Plants as a source of anti-cancer agents. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 100, n. 72, p. 72-79, 2005.

DANTAS, I. N.F.; FERREIRA, P. M.; ALVES, A. P. N. N.; CHAVES, D. C.; MONTE, F. J. Q.; MORAES, M. O.; CLÁUDIA PESSOA, C.; LOTUFO, L. V. C. *In vivo* anticancer potential of a cucurbitane triterpene from *Cayponia racemosa* (Cucurbitaceae). In: **1º BCNP Brazilian Conference on Natural Products**, BPS-77, 2007.

DELAZAR, A.; GIBBONS, S.; KOSARI, A. R.; NAZEMIYEH, H.; MODARRESI, M.; NAHAR, L.; SARKER, S. D. **Journal of Faculty of Pharmacy**, v. 14, n. 3, p. 109-114, 2006.

DELPETRE, P.G. Flora dos Estados de Goiás e Tocantins. Goiânia: Ed. UFG, 2010. v. 40, coleção Rizzo. Rubiaceae, parte: Gêneros I-R, Coordenador- José Ângelo Rizzo.

DELPRETE, P. G.; JARDIM J. G. Systematics, taxonomy and floristics of Brazilian Rubiaceae: an overview about the current status and future challenges. *Sistemática, taxonomia e florística das Rubiaceae brasileiras: um panorama sobre o estado atual e futuros desafios. Rodriguésia*, v. 63, n. 1, p. 101-128, 2012.

DEWICK, P. M. Medicinal natural products: a biosynthetic approach. 2ª ed. Reino Unido, John Wiley & Sons, 506p, 2002.

DHIMAN, K.; GUPTA, A.; SHARMA, D. K.; GILL, N. S.; GOYAL, A. A review on the medicinally important plants of the family Cucurbitaceae. **Asian Journal of Clinical Nutrition**, v. 4, n. 1, p. 16-26, 2012.

DIANPENG, L.; TSUYOSHI, I.; NANAE, M.; TOSHIHIRO, N.; HOURUI, Z.; TATSUNORI, S.; GEN, I. N. Cucurbitane Glycosides from Unripe Fruits of Lo Han Kuo (*Siraitia grosvenori*). **Chemical & pharmaceutical bulletin**, v. 54 n. 10, p. 1425 -1428, 2006.

DU, Q.; CUI, H. A new flavone glycoside from the fruits of *Luffa cylindrica*. **Fitoterapia**, v. 78, n. 7-8, p. 609-610, 2007.

DU, L. C.; WU, B. L.; CHEN, J. M. Flavonoid triglycosides from the seeds of *Camellia oleifera* Abel. **Chinese Chemical Letters**, v. 19, n. 11, p. 1315-1318, 2008.

ELISABETSKY, E.; AMADOR, T. A.; ALBUQUERQUE, R. R.; NUNES, D. S.; CARVALHO, A. Analgesic activity of *Psychotria colorata* (Willd. Ex R. & S.) Muell.Arg. Alkaloids. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 48, n. 2, p. 77-83, 1995.

ESCANDELL, J. M.; RECIO, M. C.; MÁÑEZ, S.; GINER, R. M.; CERDÁ-NICOLÁS, M.; RÍOS, J. L. Dihydrocucurbitacin B, isolated from *Cayaponia tayuya*, reduces damage in adjuvant-induced arthritis. **European Journal of Pharmacology**, v. 532, n. 1 p. 145-154, 2006.

ESCANDELL, J. M.; KALER, P.; RECIO, M. C.; SASAZUKI, T.; SHIRASAWA, S.; AUGENLICHT, L.; RIOS, J. L.; KLAMPFER, L. Actigovated kRas protects colon cancer cells from cucurbitacin-induced apoptosis: The role of p53 and p21. **Biochemical Pharmacology**, v. 76, n. 2, p. 198-207, 2008.

ESCANDELL, J. M.; RECIO, M. C.; MANEZ, S.; GINER, R. M.; CERDA, M. N.; RIOS, J. L. Cucurbitacin R reduces the inflammation and bone damage associated with adjuvant arthritis in Lewis rats by suppression of tumor necrosis factor- α in T lymphocytes and macrophages. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 320, n. 2, p. 581-590, 2007.

FARIAS, M. R., Análise de cucurbitacinas em espécies de *Cucurbitaceae* conhecidas popularmente como Taiuiá. **Caderno de Farmácia da UFRGS**, v. 2, n. 2, p. 175, Porto Alegre, 1986.

FAWZY, G. A.; AL-TAWEEL, A. M.; ABDEL, B., N. A.; MARZOUK, M. S. Cytotoxic and renoprotective flavonoid glycosides from *Horwoodia dicksoniae*. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 6, n. 15, p. 1166-1175, 2012.

GAMAL, A. A.; HALIM, A. F.; AMER, M. M.; SAAD, H. E. A.; TAKEYA, K.; ITOKAWA, Flavonol glycosides from *Galium sinaicum*. **Alexandria Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 13, n. 1, p. 41-47, 1999.

GARCEZ, W. S.; GARCEZ, F. R.; TIEPPO, C.; FREITAS, O. N.; HAMERSKI, L. Isoflavones and flavonols from *Andira humilis*, **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 38, n. 6, p. 1242–1245, 2010.

GARG, S.; ZANEVELD, L. J. D.; SINGLA, A. K. Chemistry and pharmacology of the citrus bioflavonoid hesperidin. **Phytotherapy Research**, v. 15, n. 8, p. 655–669, 2001.

GBIF, disponível em <http://www.gbif.org/species/3623834/classification>. Acesso em 10.4.2014.

GERLACH, S. L.; BURMAN, R.; BOHLIN, L.; MONDAL, D.; RANSSON, U. G. Isolation, Characterization, and Bioactivity of Cyclotides from the Micronesian Plant *Psychotria leptothyrsa*. **Journal of Natural Products**, v. 73, n. 7, p. 1207–1213, 2010.

GIMENEZ, S.M.N. Ensaios de toxicidade aguda usando *E. coli* como organismo teste.1994. Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1994.

GOMES-KLEIN, V. L., PIRANI J. P. Estudo taxonômico de *Cayaponia* Silva Manso (Cucurbitaceae) no Brasil. São Paulo: USP, 2000, 289p.Tese (Doutorado em Botânica), Universidade Estadual de São Paulo, 2000.

GOMES-KLEIN, V. L., RAMOS, C. M., ARAUJO, D. S. D., FONTELLA-PEREIRA, J. **Flórmula do Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba, Rio de**

Janeiro, Brasil: Cucurbitaceae. Arq. Mus. Mac., Rio de Janeiro, v. 68, n. 3-4, p. 223-226, 2010.

GOMES-KLEIN, V.L.; LIMA, L. F. P.; GOMES-COSTA, G. A.; MEDEIROS, E.S. Cucurbitaceae in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://reflora.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB28459>>. Acesso em: 08 Fev. 2015.

GUNATILAKA, A. A.; LESLIE, S.; SARATH R.; SOTHEESWARAN, S.; SRIYANI, H. T. B. Flavonoids of *Gardenia cramerii* and *G. fosbergii* bud exudates. **Phytochemistry**, v. 21, n. 3, p. 805-6, 1982.

HARBORNE, J. B. The flavonoids – advances in research since 1986. London: Chapman & Hall. 1994.

HIMENO, E.; NAGAO, T.; HONDA, J.; OKABE, H.; IRINO, N.; NAKASUMI, T. Structures of cayaponosides A, B, C and D, glucosides of new *nor*-cucurbitacins in the roots of *Cayaponia tayuya*. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 40, n. 10, p. 2885-2887, 1992.

HOLETZ, F. B.; PESSINI, G. L.; SANCHES, N. R.; CORTEZ, D. A. G.; NAKAMURA, C. V.; DIAS FILHO, B. P. Screening of Some Plants Used in the Brazilian Folk Medicine for the Treatment of Infectious Diseases. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, n. 7, p. 1027-1031, 2002.

HOPKINS, C. Y.; CHISHOLM, M. J.; OGRODNIK, J. A. Identity and configuration of conjugated fatty acids in certain seed oils. **From Lipids**, v. 4, n. 2, p. 89-92, 1969.

ITOH, A.; TANAHASHI, T.; NAGAKURA, N.; TAKENAKA, Y.; CHEN, C. C.; PELLETIER, J. Flavonoid Glycosides from *Adina racemosa* and Their Inhibitory Activities on Eukaryotic Protein Synthesis. **Journal of Natural Products**, v. 67, n. 3, p. 427-431, 2004.

IWASHINA, T.; MURAI, Y. Distribution of kaempferol glycosides and their function in plants. **Chemical Physics Research Journal**, v. 6, n. 3-4, p. 271-303, 2013.

JABEEN, U.; KHANUM, A. Isolation and characterization of potential food preservative peptide from *Momordica charantia* L. **Arabian Journal of Chemistry**, 2014.

JACOBS, H.; SINGH, T. Isolation and C-NMR assignments of cucurbitacins from *Cayaponia angustiloba*, *Cayaponia racemosa* and *Gurania subumbellata*. **Journal of Natural Products**, v. 53, n. 6, p. 1600-1605, 1990.

JARDIM, W. F.; PASQUINI, C.; GUIMARÃES, J. R.; FARIA, L. C. Short-term toxicity test using *Escherichia coli*: monitoring CO₂ production by Flow Injection Analysis. **Water Research**, v. 24, n. 3, p. 351-354, 1990.

JAYAPRAKASAM, B.; SEERAM, N. P.; NAIR, M. G. Anticancer and antiinflammatory activities of cucurbitacins from *Cucurbita andreana*. **Cancer Letters**, v.189, n.1, p. 11-16, 2003.

JAYAPRAKASAM, B.; SEERAM, N. P.; NAIR, M. G. Bioactive Natural Products and Phytoceuticals. **Cancer Letters**, v. 189, n. 11, 2002.

JIANG, X.; SHI, S.; ZHANG, Y.; CHEN, X. Excellent combination of HPLC-RSD-DAD-ESI/MS and HSCCC experiments to screen and identify radical scavengers from Neo-*Taraxacum siphonanthu*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 21, n. 8, p. 1524-1529, 2010.

JIN, J. S.; LEE, J. H. Phytochemical and pharmacological aspects of *Siraitia grosvenorii*, luohankuo. **Oriental Pharmacy and Experimental Medicine**, v. 12, n. 4, p. 233–239, 2012.

KANADASWAMI, C., LEE, L. T., LEE, P. P. H., JIUAN-JIUAN HWANG, J. J., KE, F. C. HUANG, Y. T., LEE, M. T. The Antitumor Activities of Flavonoids. **In vivo**, v. 19, n. 5, p. 895-910, 2005.

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) Steyererm. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 23, n. 2, p. 355-360, 2012.

KICEL, A.; WOLBIS, M. Study on the phenolic constituents of the flowers and leaves of *Trifolium repens* L. **Natural Product Research**, v. 26, n. 21, p. 2050–2054, 2012.

KIM, Y.; PARK, E. J.; KIM, J.; KIM, Y. B.; KIM, S. R.; KIM, Y. C. Neuroprotective Constituents from *Hedyotis diffusa*. **Journal of Natural Products**, v. 64, n. 1, p. 75-78, 2001.

KLEIN-JÚNIOR, L. C.; PASSOS, C. S.; MORAES, A. P.; WAKUI, V. G.; KONRATH, E. L.; NURISSO, A.; CARRUPT, P. A.; OLIVEIRA, C. M. A.; KATO, L.; HENRIQUES, A. T. Indole Alkaloids and Semisynthetic Indole Derivatives as Multifunctional Scaffolds Aiming the Inhibition of Enzymes Related to Neurodegenerative Diseases – A Focus on *Psychotria* L. Genus. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 14, n. 8, p. 1056-1075, 2014.

KOCYAN, A.; ZHANG, L. B.; SCHAEFER, H.; RENNER, S. S. A multi-locus chloroplast phylogeny for the Cucurbitaceae and its implications for character evolution and classification. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 44, n. 2, p. 553-577, 2007.

KOHLMUENZER, S. Botanical and chemical inquiries into the collective species *Galium mollugo* with special reference for the karyotypes growing in Poland. III. Chromatographic investigations of biotypes. **Dissertationes Pharmaceuticae**, v. 16, n. 3, p. 393-407, 1964.

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, n. 2, p. 368-372, 2012.

KONOSHIMA, T.; TAKASAKI, M.; KOZUKA, M.; NAGAO, T.; OKABE, H.; IRINO, N.; NAKASUMI, T.; TOKUDA, H.; NISHINO, H. Inhibitory effects of cucurbitane triterpenoids on Epstein-Barr virus activation and two-stage carcinogenesis of skin tumor. II. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 18, n. 2, p. 284-287, 1995.

KUMARASAMY, Y, NAHAR, L.; BYRES, M.; DELAZAR, A.; SARKER, S. D. The assessment of biological activities associated with the major constituents of the methanol extract of 'wild carrot' (*Daucus carota* L) seeds. **Journal of herbal pharmacotherapy**, v. 5, n. 1, p. 61-72, 2005.

LI, C.; LIN, L. M.; SUI, F.; WANG, Z. M.; HUO, H. R.; DAI, L.; JIANG, T. L. Chemistry and pharmacology of *Siraitia grosvenorii*: A review. **Chinese Journal of Natural Medicines**, v. 12, n. 2, p. 89-102, 2014.

LOPEZ-LAZARO, M. Distribution and biological activities of the flavonoid luteolin. **Mini reviews in medicinal chemistry**, v. 9, n. 1, p. 31-59, 2009.

LEAL, M. B.; ELISABETSKY, E. Absence of alkaloids in *Psychotria carthagenensis* Jacq. (Rubiaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 54, n. 1, p. 37-40, 1996.

LEE, J. Y., CHANG, E. J., KIM, H. J., PARK, J. H., CHOI, S. W. Antioxidative flavonoids from leaves of *Carthamus tinctorius*. **Archives of pharmacal research**, v. 25, n. 3, p. 313-319, 2002.

LEE, S. Y.; KIM, K. H.; LEE, K., LEE, K. H.; CHOI, S. U.; LEE, K. R. A New Flavonol Glycoside from *Hylomecon vernalis*. **Archives of pharmacal research**, v. 35, n. 3, p. 415-421, 2012.

LEE, Y. H.; LIM, Y. H.; LEE, S. H.; YONG, Y. J.; WOO, Y. G.; SHIN, S. Y. Application of luteolin 4'-O-glucoside as antitumor agent, Patente, KR2010134966A20101224, **Repub. Korean Kongkae Taeho Kongbo**, 2010.

LI, X. N., ZHANG, Y., CAI, X. H., FENG, T., LIU, Y. P., LI, Y., REN, J., ZHU, H. J., LUO, X. D. Psychotripine: A New Trimeric Pyrroloindoline Derivative from *Psychotria pilifera*. **Organic letters**, v. 13, n. 21, p. 5896-5899, 2011.

LI, Y. L.; LI, J.; WANG, N. L.; YAO, X. S. Flavonoids and a New Polyacetylene from *Bidens parviflora* Willd. **Molecules**, v. 13, n. 8, p. 1931-1941, 2008.

LI, H. F.; HUANG, J.; LIU, M. S.; ZHANG, X. P. Studies on Chemical Constituents from Leaves of *Psychotria hainanensis*. **Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae**, v. 19, n. 17, p. 125-127, 2011.

LIN, Y. P.; CHEN, T. Y.; TSENG, H. W.; LEE, M.H.; CHEN, S.T.; Chemical and biological evaluation of nephrocizin in protecting nerve growth factor-differentiated PC12 cells by 6-hydroxydopamine-induced neurotoxicity. **Phytochemistry**, v. 84, p. 102-115, 2012.

LIU, J. Q.; CHEN, J. C.; WANG, C. F.; QIU, M. H. New Cucurbitane Triterpenoids and Steroidal Glycoside from *Momordica charantia*. **Molecules**, v.14, n. 12, p. 4804-4813, 2009.

LOPES, S.; POSER, G. L. V.; KERBER, V. A.; F. M.; KONRATH, E. L.; MORENO, P.; SOBRAL, M. E.; ZUANAZZI, J. A. S.; HENRIQUES, A. T. Taxonomic significance of alkaloids and iridoid glucosides in the tribe Psychotrieae (Rubiaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 32, n. 12, p. 1187-1195, 2004.

LORENZI, H.; MATTOS, F. J. A. **Plantas Medicinais do Brasil: Nativas e Exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 512p.

LU, P.; WANG, J.; KONG, L. Chemical constituents from *Psychotria yunnanensis* and its chemotaxonomic study. **Biochemical Systematics And Ecology**, v. 52, p. 20-22, 2014a.

LU, Q.; WANG, J.; LUO, J.; WANG, X.; SHAN, S.; KONG, L.. A new acorane sesquiterpene from the aerial parts of *Psychotria yunnanensis*. **Natural Product Research**, v. 28, n. 20, p. 1659-1663, 2014b.

LU, Y.; SUN, Y.; FOO, L. Y.; MCNABB, W. C.; MOLAN, A. L. Phenolic glycosides of forage legume *Onobrychis viciifolia*. **Phytochemistry**, v. 55, p. 67-75, 2000.

MA, B.; LIU, S.; XIE, Y.; KANO, Y.; YUAN, D. Flavonol glycosides and triterpenes from the leaves of *Uncaria rhynchophylla* (Miq.) Jacks. **Asian Journal of Traditional Medicines**, v. 4, n. 3, p. 85-91, 2009.

MACEDO, L. P. M.; GUEDES, J. V. C.; GARCIA, J. F. Cucurbitacinas como fator de resistência a insetos-praga. **Revista Caatinga**, v. 20, n. 2, p. 127-132, 2007.

MALLIKADEVI, T.; PAULSAMY, S.; JAMUNA, S.; KARTHIKA, K. Analysis for phytoceuticals and bioinformtics approach for the evaluation of therapeutic properties of whole plant methanolic extract of *Mukia maderaspatana* (L.) M. Roem. (Cucurbitaceae)-A traditionsl medicinal plant in western districts of Tamil

Nadu, India. **Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research**, v. 5, p.163-168, 2012.

MARZOUK, M. M.; KAWASHTY, S. A.; SALEH, N. A. M.; AL-NOWAIHI, A. S. M. A new kaempferol trioside from *Farsetia aegyptia*. **Chemistry of Natural Compounds**, v. 45, n. 4, p. 483-8, 2009.

MILITAO, G. C. G.; DANTAS, I. N. F.; FERREIRA, P. M. P.; ALVES, A. P. N. N.; CHAVES, D. C.; MONTE, F. J. Q.; PESSOA, C.; MORAES, M. O. ; COSTA-LOTUFO, L. V. *In vitro* and *in vivo* anticancer properties of cucurbitacin isolated from *Cayaponia racemosa*. **Pharmaceutical Biology**, v. 50, n. 12, p. 1479-1487, 2012.

MISSOURI BOTANICAL GARDEN-MOBOT (2013), <http://www.missouribotanicalgarden.org/>

MORENO, B. P.; RICARDO FIORUCCI, L. L.; CARMO, M. R. B.; SARRAGIOTTO, M. H.; BALDOQUI, D. C. Terpenoids and a coumarin from aerial parts of *Psychotria vellosiana* Benth. (Rubiaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 56, p.80-82, 2014.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of immunological methods**, v. 65. n. 1, p. 55-63, 1983.

MURAKAMI, N.; MOSTAQUL, H. M.; TAMURA, S.; ITAGAKI, S.; HORII, T.; KOBAYASHI, M. New anti-malarial flavonol glycoside from *Hydrangeae dulcis* folium. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 11, n. 18, p. 2445-2447, 2001.

MYERS, N., MITTERMEIER, R. A., MITTERMEIER, C. G., DA FONSECA, G. A. B., KENT. J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, v. 403, n. 6772, p. 853-858, 2000.

NAGAPRASHANTHA, L. D.; VATSYAYAN, R.; SINGHAL, J.; FAST, S.; ROBY, R.; AWASTHI, S.; SINGHAL, S. Anti-cancer effects of novel flavonoid vicenin-2 as a single agent and in synergistic combination with docetaxel in prostate cancer. **Biochemical Pharmacology**, v. 82, n. 9, p. 1100-1109, 2011.

NASCIMENTO, A. C.; VALENTE, L.; M. GARDEN, N, C., PEREIRA, M. D.; CASTRO, F. A.; GOMES, M. New flavanone glycoside from the leaves of *Faramea marambaiae* (Rubiaceae). **Planta Medica**, v. 79, n. 13, p. 1208-1208, 2013.

NAZARI, A. S.; DIAS, S. A.; COSTA, W. F.; BERSANI, A., CIOMAR, 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, n. 1, p. 7-9, 2006.

NEE, M. Flora da Reserva Ducke, Amazonas, Brasil: Cucurbitaceae. **Rodriguésia**, v. 58, n. 3, p. 703-707, 2007.

NEPOKROEFF, M., BREMER, B., SYTSMA, KENNETH. Reorganization of the Genus *Psychotria* and Tribo Psychotrieae (Rubiaceae) Inferred from ITS and *rbcl* Sequene Data. **Systematic Botany**, v. 24, n. 1, p. 5-27, 1999.

NEWMAN, D. J., CRAGG, G. M. Natural Products As Sources of New Drugs over the 30 Years from 1981 to 2010. **Journal of natural products**, v. 75, n. 3, p. 311-335, 2012.

NISHIBE, S. The plant origins of medicines and their quality evaluation. **Journal-Pharmaceutical Society of Japan**, v. 122, n. 6, p. 363-380, 2002.

NUNES, A. J.; QUINONES, M.; MARTINEZ, R. A flavonoid triglycoside from *Leptostigma arnothianum* (Rubiaceae). **Revista Latinoamericana de Química**, v. 18, n. 1, p. 9-11, 1987.

OLIVEIRA, A. M., LEMOS, R. P. L., CONSERVA, L. M. β -Carboline alkaloids from *Psychotria barbiflora* DC. (Rubiaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 50, p. 339–341, 2013.

OTSUKA, H.; TAKEDA, Y.; YAMASAKI, K. Xyloglucosides of benzyl and phenethyl alcohols and Z-hex-3-en-1-ol from leaves of *Alangium platanifolium* var. *trilobum*. **Phytochemistry**, v. 29, p. 3681–3683, 1990.

PARIS, R. R.; DEBRAY, M. A. Madagascan Rubiaceae, *Canephora madagascariensis*. Presence of C-flavonoids in the leaves. **Plantes Medicinales et Phytotherapie**, v. 7, n. 2, p. 135-9, 1973.

PASSOS, C. S., PIRES, C.A. S.; NURISSO, A.; SOLDI, T. C.; KATO, L.; OLIVEIRA, C. M.A.; FARIA, E. O.; MARCOURT, L.; GOTTFRIED, C.; CARRUPT, P. A.; HENRIQUES, A. T. Indole alkaloids of *Psychotria* as multifunctional cholinesterases and monoamine oxidases inhibitors. **Phytochemistry**, v. 86, p. 8-20, 2013.

PAULA, V. F.; BARBOSA, L.; C., A.; DEMUNER, A. J. Constituintes químicos de *Ochroma lagopus* Swartz. **Química Nova**, v. 19, n. 3, p. 225-229, 1996.

PEREIRA, B. A. S., DA SILVA, M. A., Lista de nomes populares de plantas nativas da região geoeconômica de Brasília, DF. Reserva Ecológica do IBGE, 2002.

PIETROBOM, R. C. V. Morfoanatomia do pericarpo, semente, folha de *Psychotria hoffmannseggiana* (Willd. ex Roem. & Schult.) Müll. Arg. e *Psychotria trichophora* Müll. Arg., e desenvolvimento morfológico da plântula de *Psychotria hoffmannseggiana* (Willd. ex Roem. & Schult.) Müll. Arg. (Rubiaceae, Rubioideae, Psychotrieae). Rio Claro Maio - 2008, Unesp.

PIMENTA, A.T. A.; UCHOA, D. E. A.; BRAZ-FILHO, R.; SILVEIRA, E. R.; LIMA, M. A. S. Alkaloid and other Chemical Constituents from *Psychotria stachyoides* Benth. **Journal Of The Brazilian Chemical Society**, v. 22, n. 11, p. 2216-2219, 2011.

PLUMB, G. W.; PRICE, K. R.; WILLIAMSON, G.. Antioxidant properties of flavonol glycosides from green beans. **Redox Report**, v. 4, n. 3, p. 123-127, 1999.

PROLIAC, A.; CHABOUD, A.; RAYNAUD, J. Isolation and identification of 7-O-glucosyl-6-C-glucosylapigenin and 6,8-di-C-glucosylapigenin in leaves of *Bryonia dioica* (Cucurbitaceae). **Pharmaceutica Acta Helvetiae**, v. 64, n. 7, p. 207-208, 1989.

RAHMAN, M. A. A.; MOON, S. S. Isoetin 5'-methyl ether, a cytotoxic flavone from *Trichosanthes kirilowii*. **Bulletin of the Korean Chemical Society**, v. 28, n. 8, p. 1261-1264, 2007.

RAYMOND, D. W. Chemotaxonomic studies in the Rubiaceae 1. Methods for the identification of hybridisation in the genus *Coprosma* J.R. et G. Forst. using flavonoids. **New Zealand Journal of Botany**, v. 17, n. 2, p. 113-116, 1979.

REIDAH, I. M. A.; ROMAN, D., A.; PINE, R. Q.; ARROYO, S. F.; CARRETERO, A. S.; GUTIERREZ, A., F. HPLC-ESI-Q-TOF-MS for a comprehensive characterization of bioactive phenolic compounds in cucumber whole fruit extract. **Food Research International**, v. 46, n. 1, p. 108-117, 2012.

REUTRAKUL, V.; KRACHANGCHAENG, C.; TUCHINDA, P.; POHMAKOTR, M.; JAIPETCH, T.; YOOSOOK, C.; KASISIT, J.; SOPHASAN, S.; SUJARIT, K.; SANTISUK, T. Cytotoxic and anti-HIV-1 constituents from leaves and twigs of *Gardenia tubifera*. **Tetrahedron**, v. 60, n. 7, p. 1517-1523, 2004.

REYNERTSON, K. A.; BASILE, M. J.; KENNELLY, E. J. Antioxidant Potential of Seven Myrtaceous Fruits. **Ethnobotany Research & Applications**, v. 3, p. 25-36, 2005.

RIECK, E. B. Informe Técnico nº. 005–MED/NVP/DVS/CEVS/SES/RS-Versão 001, acesso em 20/07/2015, http://www.saude.rs.gov.br/upload/1361994472_Informe%20Tecnico%20MED%20N.o%20%20005_Drogas%20vegetais%20e%20fitoterapicos%20-%20Versao%20001.pdf

RIBEIRO, M. L. (Organizador). **Reserva Ecológica do IBGE**, v 1, Tombo 2, p. 270, 2011.

SANTOS, R. I.; SANTOS, M. A.; SCHENKEL, E. P. Analysis of the plant drug *Wilbrandia ebracteata* (Cogn.) Cogn. **International Journal of Pharmacognosy**, v. 34, n. 4, p. 300-302, 1996.

SCHAEFER, H.; RENNER, S. S. Phylogenetic relationships in the order Cucurbitales and a new classification of the gourd family (Cucurbitaceae). **TAXON**, v. 60, n. 1, p. 122-138, 2011.

SEKINE, T.; ARITA, J.; YAMAGUCHI, A.; SAITO, K.; OKONOGI, S.; MORISAKI, N.; IWASAKI, S.; MURAKOSHI, I. Two flavonol glycosides from seeds of *Camellia sinensis*. **Phytochemistry**, v. 30, n. 3, p. 991-995, 1991.

SEMMAR, N.; JAY, M.; FARMAN, M.; CHEMLI, R. Chemotaxonomic analysis of *Astragalus caprinus* (Fabaceae) based on the flavonic patterns. **Biochemical systematics and ecology**, v. 33, n. 2, p. 187-200, 2005.

SEMMAR, N.; FENET, B.; FIASSE, K. G.; HASAN, A.; JAY, M. Four new flavonol glycosides from the leaves of *Astragalus caprinus*, **Journal of natural products**, v. 65, p. 576-579, 2002.

SESHADRI, T. R.; VYDEESWARAN, S. Chemical examination of *Luffa echinata*. **Phytochemistry**, v. 10, n. 3, p. 667-9, 1971.

SHI, Y. P., YAO, Q. Q., LIU, Y. J., WEI, X. G., WANG, B. G., & LUAN, Y. Studies on chemical constituents of *Trichosanthes kirilowii* and assay of its α -spinasterol. **Chinese Traditional and Herbal Drugs**, v. 1, p. 006, 2002.

SHI, R., HUANG, Q., ZHU, X., ONG, Y. B., ZHAO, B., LU, J., ONG, C. N., SHEN, H. M. Luteolin sensitizes the anticancer effect of cisplatin via c-Jun NH2-terminal kinase-mediated p53 phosphorylation and stabilization. **Molecular cancer therapeutics**, v. 6, n. 4, p. 1338-47, 2007.

SIBI, G.; KAUSHIK, K.; DHANANJAYA, K.; RAVIKUMAR, K. R.; MALLESHA, H. Antibacterial activity of *Sechium edule* (Jacq.) Swartz against Gram negative food borne bacteria. **Advances in Applied Science Research**, v. 4, n. 2, p. 259-261, 2013.

SICILIANO, T.; TOMMASI, N.; MORELLI, I.; BRACA, A. Study of Flavonoids of *Sechium edule* (Jacq) Swartz (Cucurbitaceae) Different Edible Organs by Liquid Chromatography Photodiode Array Mass Spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 21, p. 6510-6515, 2004.

SINGH, M.; KAUR, M.; SILAKARI, O. Flavones: An important scaffold for medicinal chemistry. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 84, p. 206-239, 2014.

SOLIS, P. N.; ANGEL G.; RAVELO, A. G.; PALENZUELA, J. A.; GUPTA, M. P.; LEZ, A. G.; PHILLIPSON, J. D. Quinoline alkaloids from *Psychotria glomerulata*. **Phytochemistry**, v. 44, n. 5, p. 963-969, 1997.

SUGIMOTO, S.; WANAS, A. S.; MIZUTA, T.; MATSUNAMI, K.; KAMEL, M. S.; OTSUKA, H. Structure elucidation of secondary metabolites isolated from the leaves of *Ixora undulate* and their inhibitory activity toward advanced glycation end-products formation. **Phytochemistry**, v. 108, p. 189-195, 2014.

SUNG, J.; LEE, J. Anti-Inflammatory Activity of Butein and Luteolin Through Suppression of NF κ B Activation and Induction of Heme Oxygenase-1. **Journal of Medicinal Food**, v.18, n. 5, p. 557-564, 2015.

SÜNTAR, K. A. E.; KELES, H.; YESILADA, E.; SARKER, S. D.; ARROO, R.; BAYKAL, T. Efficacy of *Daphne oleoides* subsp. *kurdica* used for wound healing: identification of active compounds through bioassay guided isolation technique. **Journal of ethnopharmacology**, v. 141, n. 3, p. 1058-1070, 2012.

TAN, M. A.; EUSEBIO, J. A.; ALEJANDRO, G. J. Chemotaxonomic implications of the absence of alkaloids in *Psychotria gitingensis*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 45, p. 20-22, 2012.

TAYLOR, C. M., CAMPOS, M. T. V. A., ZAPPI, D. Flora da reserva Ducke, Amazonas, Brasil: Rubiaceae. **Rodriguésia**, v. 58, n. 3, p. 549-616, 2007.

TEIXEIRA, V. A., COELHO, M.F.B., MING, L. C. Poaia [*Psychotria ipecacuanha* (Brot.) Stoves]: aspectos da memória cultural dos poaieiros de Cáceres - Mato Grosso, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, n. 2, p. 335-343, 2012.

TRUITI, M. D. T.; BERSANI-AMADO, C. A.; DIAS, B. P.; SARRAGIOTTO, M. H.; SOUZA, M. C. Screening of five Brazilian plants for anti-inflammatory and antimicrobial activities. **Pharmaceutical Biology**, v. 44, n. 7, p. 516-521, 2006.

VALENTE, L. M. M. Cucurbitacinas e suas principais características estruturais. **Química Nova**, v. 27, n. 6, p. 944-948, 2004.

VEROTTA, L., PILATI, T., TATO, M., ELISABETSKY, E., AMADOR, T. A., NUNES, D. S. Pyrrolidinoindoline Alkaloids from *Psychotria colorata*. **Journal of natural products**, v. 61, n. 3, p. 392-396, 1998.

VO, T. N.; NGUYEN, P. L.; TUONG, L. T.; VO, P. N.; NGUYEN, K. P. P.; NGUYEN, N. S. Constituents of the leaves of *Pseuderanthemum carruthersii* (Seem.) Guill. var. *atropurpureum* (Bull.) Fosb. **Phytochemistry Letters**, v. 5, n. 3, p. 673-676, 2012.

WANG, S. S.; ZHANG, X. J.; QUE, S.; TU, G. Z.; WAN, D.; CHENG, W.; ZHANG, Q. Y. 3-Hydroxy-3-methylglutaryl flavonol glycosides from *Oxytropis falcata*. **Journal of natural products**, v. 75, n. 7, p. 1359-1364, 2012.

WEI, C. C.; YU, C. W.; YEN, P. L.; LIN, H. Y.; CHANG, S. T.; HSU, F. L.; LIAO, V. H. C. Antioxidant activity, delayed aging, and reduced amyloid- β toxicity of methanol extracts of tea seed pomace from *Camellia tenuifolia*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 44, p. 10701-10707, 2014.

WENZEL, U. Flavonoids as drugs at the small intestinal level. **Current Opinion in Pharmacology**, v. 13, n. 6, p. 864-868, 2013.

WU, T.; ZANG, X.; HE, M.; PAN, S.; XU, X. Structure-activity relationship of flavonoids on their anti-*Escherichia coli* activity and inhibition of DNA gyrase. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 61, n. 34, p. 8185-8190, 2013.

XU, Y.; CHEN, G.; LU, X.; LI, Z. Q.; SU, S. S.; ZHOU, C.; PEI, Y. H. Chemical constituents from *Trichosanthes kirilowii* Maxim. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 43, p. 114-116, 2012.

YANG, M. Y.; WANG, C. J.; CHEN, N. F.; HO, W. H.; LU, F. J.; TSENG, T. H. Luteolin enhances paclitaxel-induced apoptosis in human breast cancer MDA-MB-231 cells by blocking STAT3. **Chemico-Biological Interactions**, v. 213, p. 60-68, 2014.

YOSHIZAKI, M.; FUJINO, H.; MASUYAMA, M.; ARISAWA, M.; MORITA, N. A. chemotaxonomic study of flavonoids in the leaves of six *Trichosanthes* species. **Phytochemistry**, v. 26, n. 9, p. 2557-2558, 1987.

YOUNG, L. S.; YOUNG, L., J.; SUN, K. J.; JE-HYUN, L.; SAM, K. S. Flavonoids from the seeds of *Zizyphus jujuba* var. *spinosa*. **Saengyak Hakhoechi**, v. 43, n. 2, p.127-136, 2012.

ZHANG, L. B.; SIMMONS, M. P.; KOCYAN, A.; RENNER, S. S. Phylogeny of the Cucurbitales based DNA sequences of nine loci from three genomes: implications for morphological and sexual system evolution. **Molecular phylogenetics and evolution**, v. 39, n. 2, p. 305-322, 2006.

ZHAO, C. C.; SHAO, JIAN, L. H., XIAN, K., XING, Z. D.; YU, M. W.; DA, L. N. L. Flavonoids from *Galium verum* L. **Journal of Asian Natural Products Research**, v. 10, n. 7, p. 611-615, 2008.

ZHAO, Y., YANG, G., REN, D., ZHANG, X., YIN, Q., SUN, X. Luteolin suppresses growth and migration of human lung cancer cells. **Molecular biology reports**, v. 38, n. 2, p. 1115-1119, 2011.

Pham, T. K.; Pham, T. A.; Phan, V. K.; Chau, V. M.; Nguyen, X. N.; Bui, H. Tai; Nguyen, T. T. N.; Tran, H. Q.; Nguyen, P. T.; Kim, Y. H. Benzyl glycosides from the aerial parts of *Gynostemma laxum* and their NF- κ B inhibitory activity in HepG2 cells. **Bulletin of the Korean Chemical Society**, v. 32, n. 10, p. 3763-3766. 2011.

6 Referências bibliográficas

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDULLA, H.; PIHIE, A. H. L.; HOHMANN, J.; MOLNAR, J. A natural compound from *Hydnophytum formicarum* induces apoptosis of MCF-7 cells via up-regulation of Bax. **Cancer Cell International**, v. 10, 2010.
- ABRAHAM, L. C. N., MASAKUNI, T., ISAO, H.; HAJIME, T. Antioxidant flavonoid glycosides from the leaves of *Ficus pumila* L. **Food Chemistry**, v. 109, n. 2, p. 415–420, 2008.
- ABU, I. M. R.; ROMAN, D. A.; PINE, R. Q.; ARROYO, S. F.; CARRETERO, A. S.; GUTIERREZ, A. F.; HPLC-ESI-Q-TOF-MS for a comprehensive characterization of bioactive phenolic compounds in cucumber whole fruit extract. **Food Research International**, v. 46, n. 1, p. 108-117, 2012.
- AQUILA, A.; GINER, R. M.; RECIO, M. C.; SPEGAZZINI, E. D.; RIOS, J. L. Anti-inflammatory activity of flavonoids from *Cayaponia tayuya* roots. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 121, n. 2, p. 333-337, 2009.
- BARANOWSKA, M. K., CISOWSKI, W. Flavonoids from some species of the genus *Cucumis*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 29, n. 3, p. 321-324, 2001.
- BARBOZA, G. E., CANTERO, J. J., NÚÑEZ, C., PACCIARONI, A., ESPINAR, L. E. Medicinal plants: A general review and a phytochemical and ethnopharmacological screening of the native Argentine Flora. **KURTZIANA**, v. 34, n.1-2, p. 7-365, 2009.
- BARROS, M. P.; SANTIN, S. M. O.; COSTA, W. F.; VIDOTTI, G. J.; SARRAGIOTTO, M. H. Constituintes químicos e avaliação do potencial antiinflamatório e antioxidante de extratos das folhas de *Chomelia obtusa* Cham. & Schltdl. (Rubiaceae). **Química Nova**, v. 31, n. 8, p. 1987-1989, 2008.
- BARTH, O. M.; LUZ, C. F. P.; GOMES-KLEIN, V. L. Pollen morphology of Brazilian species of *Cayaponia* Silva Manso (Cucurbitaceae, Cucurbiteae). **Grana**, v. 44, n. 3, p. 129-136, 2005.
- BASKAR, A. A.; IGNACIMUTHU, S.; MICHAEL, G. P.; AL NUMAIR, K. S. Cancer chemopreventive potential of luteolin-7-O-glucoside isolated from *Ophiorrhiza mungos* Linn. **Nutrition and câncer**, v. 63, n. 1, p. 130-8, 2011.
- BAUER, R.; BERGANZA, L. H.; SELIGMANN, O.; WAGNER, H. Cucurbitacins and flavone C-glycosides from *Cayaponia tayuya*. **Phytochemistry**, v. 24, n. 7, p. 1587-91, 1985.
- BENEVIDES, P. J. C.; YOUNG, M. C. M.; BOLZANI, V. S. Biological activities of constituents from *Psychotria spectabilis*. **Pharmaceutical Biology**, v. 42, n. 8, p. 565-569, 2004.

BRASSEUR, T.; ANGENOT, L. Flavonol glycosides from leaves of *Strychnos variabilis*. **Phytochemistry**, v. 25, n. 2, p. 563-564, 1986.

CALIS I.; HEILMANN, J.; TASDEMIR, D.; LINDEN, A.; IRELAND, C. M.; STICHER, O. Flavonoid, iridoid, and lignan glycosides from *Putoria calabrica*. **Journal of Natural Products**, v. 64, n. 7, p. 961-964, 2001.

CARDOSO, C. L., SILVA, D. H. S., YOUNG, M. C. M., GAMBOA, I.C., BOLZANI, V. S. Indole monoterpene alkaloids from *Chimarrhis turbinata* DC Prodr.: a contribution to the chemotaxonomic studies of the Rubiaceae family. **Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 18, n. 1, p. 26-29, 2008.

CARDOSO, C. L.; SILVA, D. H. S.; CASTRO, G. I.; BOLZANI, V. S. New biflavonoid and other flavonoids from the leaves of *Chimarrhis turbinata* and their antioxidant activities. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 16, n. 6B, p. 1353-1359, 2005.

CARVALHO, M. G.; ALVES, C. F.; WERLE, A. A.; BRAZ-FILHO, R. Metabólitos especiais isolados de *Laseguea erecta* (Apocynaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n. 4, p. 497-500, 2006.

CASTRO, A. A. J. F.; MARTINS, F. R.; TAMASHIRO, J. Y.; SHEPHERD, G. J. Howrich is the flora of Brazilian cerrados. **Ann. Missouri Botanical Garden**, v. 86, n. 1, p. 192-224, 1999.

CHAVES, D. C.; MONTE, F. J. Q.; LEMOS, T. L. G. et al. Cucurbitacinas: isolamento, estrutura e atividade biológica. **Anais da 57^a Reunião Anual da SBPC**. Fortaleza, jul. 2005.

CHANG, H.; MI, M.; LING, W.; ZHU, J.; ZHANG, Q.; WEI, N.; YUAN, J. Structurally related cytotoxic effects of flavonoids on human cancer cells in vitro. **Archives of pharmacal research**, v. 31, n. 9, p. 1137-1144, 2008.

CHEN, C. J.; CHIU, M. H.; NIE, R. L.; CORDELL, G. A.; QIU, S. X. Cucurbitacins and cucurbitane glycosides: structures and biological activities. **Natural product reports**, v. 22, n. 3, p. 386-399, 2005.

CHOZE, R., RETE, P. G., LIAO, L. M. Chemotaxonomic significance of flavonoids, coumarins and triterpenes of *Augusta longifolia* (Spreng.) Rehder, Rubiaceae-Ixoroideae, with new insights about its systematic position within the Family. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 3, p. 295-299, 2010.

CIMANGA, K.; BRUYNE, T.; VAN, B. P.; MA, Y.; CLAEYS, M.; PIETERS, L.; KAMBU, K.; TONA, L.; BAKANA, P.; VANDEN, D. B. Complement-modulating properties of a kaempferol 7-O-rhamnosylsophoroside from the leaves of *Morinda morindoides*. **Planta medica**, v. 63, n. 3, p. 220-223, 1997.

CRAGG, G. M., NEWMAN, D. J. Plants as a source of anti-cancer agents. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 100, n. 72, p. 72-79, 2005.

DANTAS, I. N.F.; FERREIRA, P. M.; ALVES, A. P. N. N.; CHAVES, D. C.; MONTE, F. J. Q.; MORAES, M. O.; CLÁUDIA PESSOA, C.; LOTUFO, L. V. C. *In vivo* anticancer potential of a cucurbitane triterpene from *Cayponia racemosa* (Cucurbitaceae). In: **1º BCNP Brazilian Conference on Natural Products**, BPS-77, 2007.

DELAZAR, A.; GIBBONS, S.; KOSARI, A. R.; NAZEMIYEH, H.; MODARRESI, M.; NAHAR, L.; SARKER, S. D. **Journal of Faculty of Pharmacy**, v. 14, n. 3, p. 109-114, 2006.

DELPETRE, P.G. Flora dos Estados de Goiás e Tocantins. Goiânia: Ed. UFG, 2010. v. 40, coleção Rizzo. Rubiaceae, parte: Gêneros I-R, Coordenador- José Ângelo Rizzo.

DELPRETE, P. G.; JARDIM J. G. Systematics, taxonomy and floristics of Brazilian Rubiaceae: an overview about the current status and future challenges. *Sistemática, taxonomia e florística das Rubiaceae brasileiras: um panorama sobre o estado atual e futuros desafios. Rodriguésia*, v. 63, n. 1, p. 101-128, 2012.

DEWICK, P. M. Medicinal natural products: a biosynthetic approach. 2ª ed. Reino Unido, John Wiley & Sons, 506p, 2002.

DHIMAN, K.; GUPTA, A.; SHARMA, D. K.; GILL, N. S.; GOYAL, A. A review on the medicinally important plants of the family Cucurbitaceae. **Asian Journal of Clinical Nutrition**, v. 4, n. 1, p. 16-26, 2012.

DIANPENG, L.; TSUYOSHI, I.; NANAE, M.; TOSHIHIRO, N.; HOURUI, Z.; TATSUNORI, S.; GEN, I. N. Cucurbitane Glycosides from Unripe Fruits of Lo Han Kuo (*Siraitia grosvenori*). **Chemical & pharmaceutical bulletin**, v. 54 n. 10, p. 1425 -1428, 2006.

DU, Q.; CUI, H. A new flavone glycoside from the fruits of *Luffa cylindrica*. **Fitoterapia**, v. 78, n. 7-8, p. 609-610, 2007.

DU, L. C.; WU, B. L.; CHEN, J. M. Flavonoid triglycosides from the seeds of *Camellia oleifera* Abel. **Chinese Chemical Letters**, v. 19, n. 11, p. 1315-1318, 2008.

ELISABETSKY, E.; AMADOR, T. A.; ALBUQUERQUE, R. R.; NUNES, D. S.; CARVALHO, A. Analgesic activity of *Psychotria colorata* (Willd. Ex R. & S.) Muell.Arg. Alkaloids. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 48, n. 2, p. 77-83, 1995.

ESCANDELL, J. M.; RECIO, M. C.; MÁÑEZ, S.; GINER, R. M.; CERDÁ-NICOLÁS, M.; RÍOS, J. L. Dihydrocucurbitacin B, isolated from *Cayaponia tayuya*, reduces damage in adjuvant-induced arthritis. **European Journal of Pharmacology**, v. 532, n. 1 p. 145-154, 2006.

ESCANDELL, J. M.; KALER, P.; RECIO, M. C.; SASAZUKI, T.; SHIRASAWA, S.; AUGENLICHT, L.; RIOS, J. L.; KLAMPFER, L. Actigovated kRas protects colon cancer cells from cucurbitacin-induced apoptosis: The role of p53 and p21. **Biochemical Pharmacology**, v. 76, n. 2, p. 198-207, 2008.

ESCANDELL, J. M.; RECIO, M. C.; MANEZ, S.; GINER, R. M.; CERDA, M. N.; RIOS, J. L. Cucurbitacin R reduces the inflammation and bone damage associated with adjuvant arthritis in Lewis rats by suppression of tumor necrosis factor- α in T lymphocytes and macrophages. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 320, n. 2, p. 581-590, 2007.

FARIAS, M. R., Análise de cucurbitacinas em espécies de *Cucurbitaceae* conhecidas popularmente como Taiuiá. **Caderno de Farmácia da UFRGS**, v. 2, n. 2, p. 175, Porto Alegre, 1986.

FAWZY, G. A.; AL-TAWEEL, A. M.; ABDEL, B., N. A.; MARZOUK, M. S. Cytotoxic and renoprotective flavonoid glycosides from *Horwoodia dicksoniae*. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 6, n. 15, p. 1166-1175, 2012.

GAMAL, A. A.; HALIM, A. F.; AMER, M. M.; SAAD, H. E. A.; TAKEYA, K.; ITOKAWA, Flavonol glycosides from *Galium sinaicum*. **Alexandria Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 13, n. 1, p. 41-47, 1999.

GARCEZ, W. S.; GARCEZ, F. R.; TIEPPO, C.; FREITAS, O. N.; HAMERSKI, L. Isoflavones and flavonols from *Andira humilis*, **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 38, n. 6, p. 1242–1245, 2010.

GARG, S.; ZANEVELD, L. J. D.; SINGLA, A. K. Chemistry and pharmacology of the citrus bioflavonoid hesperidin. **Phytotherapy Research**, v. 15, n. 8, p. 655–669, 2001.

GBIF, disponível em <http://www.gbif.org/species/3623834/classification>. Acesso em 10.4.2014.

GERLACH, S. L.; BURMAN, R.; BOHLIN, L.; MONDAL, D.; RANSSON, U. G. Isolation, Characterization, and Bioactivity of Cyclotides from the Micronesian Plant *Psychotria leptothyrsa*. **Journal of Natural Products**, v. 73, n. 7, p. 1207–1213, 2010.

GIMENEZ, S.M.N. Ensaios de toxicidade aguda usando *E. coli* como organismo teste.1994. Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1994.

GOMES-KLEIN, V. L., PIRANI J. P. Estudo taxonômico de *Cayaponia* Silva Manso (Cucurbitaceae) no Brasil. São Paulo: USP, 2000, 289p.Tese (Doutorado em Botânica), Universidade Estadual de São Paulo, 2000.

GOMES-KLEIN, V. L., RAMOS, C. M., ARAUJO, D. S. D., FONTELLA-PEREIRA, J. **Flórula do Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba, Rio de**

Janeiro, Brasil: Cucurbitaceae. Arq. Mus. Mac., Rio de Janeiro, v. 68, n. 3-4, p. 223-226, 2010.

GOMES-KLEIN, V.L.; LIMA, L. F. P.; GOMES-COSTA, G. A.; MEDEIROS, E.S. Cucurbitaceae in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://reflora.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB28459>>. Acesso em: 08 Fev. 2015.

GUNATILAKA, A. A.; LESLIE, S.; SARATH R.; SOTHEESWARAN, S.; SRIYANI, H. T. B. Flavonoids of *Gardenia cramerii* and *G. fosbergii* bud exudates. **Phytochemistry**, v. 21, n. 3, p. 805-6, 1982.

HARBORNE, J. B. The flavonoids – advances in research since 1986. London: Chapman & Hall. 1994.

HIMENO, E.; NAGAO, T.; HONDA, J.; OKABE, H.; IRINO, N.; NAKASUMI, T. Structures of cayaponosides A, B, C and D, glucosides of new *nor*-cucurbitacins in the roots of *Cayaponia tayuya*. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 40, n. 10, p. 2885-2887, 1992.

HOLETZ, F. B.; PESSINI, G. L.; SANCHES, N. R.; CORTEZ, D. A. G.; NAKAMURA, C. V.; DIAS FILHO, B. P. Screening of Some Plants Used in the Brazilian Folk Medicine for the Treatment of Infectious Diseases. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, n. 7, p. 1027-1031, 2002.

HOPKINS, C. Y.; CHISHOLM, M. J.; OGRODNIK, J. A. Identity and configuration of conjugated fatty acids in certain seed oils. **From Lipids**, v. 4, n. 2, p. 89-92, 1969.

ITOH, A.; TANAHASHI, T.; NAGAKURA, N.; TAKENAKA, Y.; CHEN, C. C.; PELLETIER, J. Flavonoid Glycosides from *Adina racemosa* and Their Inhibitory Activities on Eukaryotic Protein Synthesis. **Journal of Natural Products**, v. 67, n. 3, p. 427-431, 2004.

IWASHINA, T.; MURAI, Y. Distribution of kaempferol glycosides and their function in plants. **Chemical Physics Research Journal**, v. 6, n. 3-4, p. 271-303, 2013.

JABEEN, U.; KHANUM, A. Isolation and characterization of potential food preservative peptide from *Momordica charantia* L. **Arabian Journal of Chemistry**, 2014.

JACOBS, H.; SINGH, T. Isolation and C-NMR assignments of cucurbitacins from *Cayaponia angustiloba*, *Cayaponia racemosa* and *Gurania subumbellata*. **Journal of Natural Products**, v. 53, n. 6, p. 1600-1605, 1990.

JARDIM, W. F.; PASQUINI, C.; GUIMARÃES, J. R.; FARIA, L. C. Short-term toxicity test using *Escherichia coli*: monitoring CO₂ production by Flow Injection Analysis. **Water Research**, v. 24, n. 3, p. 351-354, 1990.

JAYAPRAKASAM, B.; SEERAM, N. P.; NAIR, M. G. Anticancer and antiinflammatory activities of cucurbitacins from *Cucurbita andreana*. **Cancer Letters**, v.189, n.1, p. 11-16, 2003.

JAYAPRAKASAM, B.; SEERAM, N. P.; NAIR, M. G. Bioactive Natural Products and Phytoceuticals. **Cancer Letters**, v. 189, n. 11, 2002.

JIANG, X.; SHI, S.; ZHANG, Y.; CHEN, X. Excellent combination of HPLC-RSD-DAD-ESI/MS and HSCCC experiments to screen and identify radical scavengers from Neo-*Taraxacum siphonanthu*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 21, n. 8, p. 1524-1529, 2010.

JIN, J. S.; LEE, J. H. Phytochemical and pharmacological aspects of *Siraitia grosvenorii*, luohankuo. **Oriental Pharmacy and Experimental Medicine**, v. 12, n. 4, p. 233–239, 2012.

KANADASWAMI, C., LEE, L. T., LEE, P. P. H., JIUAN-JIUAN HWANG, J. J., KE, F. C. HUANG, Y. T., LEE, M. T. The Antitumor Activities of Flavonoids. **In vivo**, v. 19, n. 5, p. 895-910, 2005.

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) Steyererm. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 23, n. 2, p. 355-360, 2012.

KICEL, A.; WOLBIS, M. Study on the phenolic constituents of the flowers and leaves of *Trifolium repens* L. **Natural Product Research**, v. 26, n. 21, p. 2050–2054, 2012.

KIM, Y.; PARK, E. J.; KIM, J.; KIM, Y. B.; KIM, S. R.; KIM, Y. C. Neuroprotective Constituents from *Hedyotis diffusa*. **Journal of Natural Products**, v. 64, n. 1, p. 75-78, 2001.

KLEIN-JÚNIOR, L. C.; PASSOS, C. S.; MORAES, A. P.; WAKUI, V. G.; KONRATH, E. L.; NURISSO, A.; CARRUPT, P. A.; OLIVEIRA, C. M. A.; KATO, L.; HENRIQUES, A. T. Indole Alkaloids and Semisynthetic Indole Derivatives as Multifunctional Scaffolds Aiming the Inhibition of Enzymes Related to Neurodegenerative Diseases – A Focus on *Psychotria* L. Genus. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 14, n. 8, p. 1056-1075, 2014.

KOCYAN, A.; ZHANG, L. B.; SCHAEFER, H.; RENNER, S. S. A multi-locus chloroplast phylogeny for the Cucurbitaceae and its implications for character evolution and classification. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 44, n. 2, p. 553-577, 2007.

KOHLMUENZER, S. Botanical and chemical inquiries into the collective species *Galium mollugo* with special reference for the karyotypes growing in Poland. III. Chromatographic investigations of biotypes. **Dissertationes Pharmaceuticae**, v. 16, n. 3, p. 393-407, 1964.

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, n. 2, p. 368-372, 2012.

KONOSHIMA, T.; TAKASAKI, M.; KOZUKA, M.; NAGAO, T.; OKABE, H.; IRINO, N.; NAKASUMI, T.; TOKUDA, H.; NISHINO, H. Inhibitory effects of cucurbitane triterpenoids on Epstein-Barr virus activation and two-stage carcinogenesis of skin tumor. II. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 18, n. 2, p. 284-287, 1995.

KUMARASAMY, Y, NAHAR, L.; BYRES, M.; DELAZAR, A.; SARKER, S. D. The assessment of biological activities associated with the major constituents of the methanol extract of 'wild carrot' (*Daucus carota* L) seeds. **Journal of herbal pharmacotherapy**, v. 5, n. 1, p. 61-72, 2005.

LI, C.; LIN, L. M.; SUI, F.; WANG, Z. M.; HUO, H. R.; DAI, L.; JIANG, T. L. Chemistry and pharmacology of *Siraitia grosvenorii*: A review. **Chinese Journal of Natural Medicines**, v. 12, n. 2, p. 89-102, 2014.

LOPEZ-LAZARO, M. Distribution and biological activities of the flavonoid luteolin. **Mini reviews in medicinal chemistry**, v. 9, n. 1, p. 31-59, 2009.

LEAL, M. B.; ELISABETSKY, E. Absence of alkaloids in *Psychotria carthagenensis* Jacq. (Rubiaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 54, n. 1, p. 37-40, 1996.

LEE, J. Y., CHANG, E. J., KIM, H. J., PARK, J. H., CHOI, S. W. Antioxidative flavonoids from leaves of *Carthamus tinctorius*. **Archives of pharmacal research**, v. 25, n. 3, p. 313-319, 2002.

LEE, S. Y.; KIM, K. H.; LEE, K., LEE, K. H.; CHOI, S. U.; LEE, K. R. A New Flavonol Glycoside from *Hylomecon vernalis*. **Archives of pharmacal research**, v. 35, n. 3, p. 415-421, 2012.

LEE, Y. H.; LIM, Y. H.; LEE, S. H.; YONG, Y. J.; WOO, Y. G.; SHIN, S. Y. Application of luteolin 4'-O-glucoside as antitumor agent, Patente, KR2010134966A20101224, **Repub. Korean Kongkae Taeho Kongbo**, 2010.

LI, X. N., ZHANG, Y., CAI, X. H., FENG, T., LIU, Y. P., LI, Y., REN, J., ZHU, H. J., LUO, X. D. Psychotripine: A New Trimeric Pyrroloindoline Derivative from *Psychotria pilifera*. **Organic letters**, v. 13, n. 21, p. 5896-5899, 2011.

LI, Y. L.; LI, J.; WANG, N. L.; YAO, X. S. Flavonoids and a New Polyacetylene from *Bidens parviflora* Willd. **Molecules**, v. 13, n. 8, p. 1931-1941, 2008.

LI, H. F.; HUANG, J.; LIU, M. S.; ZHANG, X. P. Studies on Chemical Constituents from Leaves of *Psychotria hainanensis*. **Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae**, v. 19, n. 17, p. 125-127, 2011.

LIN, Y. P.; CHEN, T. Y.; TSENG, H. W.; LEE, M.H.; CHEN, S.T.; Chemical and biological evaluation of nephrocizin in protecting nerve growth factor-differentiated PC12 cells by 6-hydroxydopamine-induced neurotoxicity. **Phytochemistry**, v. 84, p. 102-115, 2012.

LIU, J. Q.; CHEN, J. C.; WANG, C. F.; QIU, M. H. New Cucurbitane Triterpenoids and Steroidal Glycoside from *Momordica charantia*. **Molecules**, v.14, n. 12, p. 4804-4813, 2009.

LOPES, S.; POSER, G. L. V.; KERBER, V. A.; F. M.; KONRATH, E. L.; MORENO, P.; SOBRAL, M. E.; ZUANAZZI, J. A. S.; HENRIQUES, A. T. Taxonomic significance of alkaloids and iridoid glucosides in the tribe Psychotrieae (Rubiaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 32, n. 12, p. 1187-1195, 2004.

LORENZI, H.; MATTOS, F. J. A. **Plantas Medicinais do Brasil: Nativas e Exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 512p.

LU, P.; WANG, J.; KONG, L. Chemical constituents from *Psychotria yunnanensis* and its chemotaxonomic study. **Biochemical Systematics And Ecology**, v. 52, p. 20-22, 2014a.

LU, Q.; WANG, J.; LUO, J.; WANG, X.; SHAN, S.; KONG, L.. A new acorane sesquiterpene from the aerial parts of *Psychotria yunnanensis*. **Natural Product Research**, v. 28, n. 20, p. 1659-1663, 2014b.

LU, Y.; SUN, Y.; FOO, L. Y.; MCNABB, W. C.; MOLAN, A. L. Phenolic glycosides of forage legume *Onobrychis viciifolia*. **Phytochemistry**, v. 55, p. 67-75, 2000.

MA, B.; LIU, S.; XIE, Y.; KANO, Y.; YUAN, D. Flavonol glycosides and triterpenes from the leaves of *Uncaria rhynchophylla* (Miq.) Jacks. **Asian Journal of Traditional Medicines**, v. 4, n. 3, p. 85-91, 2009.

MACEDO, L. P. M.; GUEDES, J. V. C.; GARCIA, J. F. Cucurbitacinas como fator de resistência a insetos-praga. **Revista Caatinga**, v. 20, n. 2, p. 127-132, 2007.

MALLIKADEVI, T.; PAULSAMY, S.; JAMUNA, S.; KARTHIKA, K. Analysis for phytoceuticals and bioinformtics approach for the evaluation of therapeutic properties of whole plant methanolic extract of *Mukia maderaspatana* (L.) M. Roem. (Cucurbitaceae)-A traditionsl medicinal plant in western districts of Tamil

Nadu, India. **Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research**, v. 5, p.163-168, 2012.

MARZOUK, M. M., KAWASHTY, S. A., SALEH, N. A. M., AL-NOWAIHI, A. S. M. A new kaempferol trioside from *Farsetia aegyptia*. **Chemistry of Natural Compounds**, v. 45, n. 4, p. 483-8, 2009.

MILITAO, G. C. G.; DANTAS, I. N. F.; FERREIRA, P. M. P.; ALVES, A. P. N. N.; CHAVES, D. C.; MONTE, F. J. Q.; PESSOA, C.; MORAES, M. O. ; COSTA-LOTUFO, L. V. *In vitro* and *in vivo* anticancer properties of cucurbitacin isolated from *Cayaponia racemosa*. **Pharmaceutical Biology**, v. 50, n. 12, p. 1479-1487, 2012.

MISSOURI BOTANICAL GARDEN-MOBOT (2013), <http://www.missouribotanicalgarden.org/>

MORENO, B. P.; RICARDO FIORUCCI, L. L.; CARMO, M. R. B.; SARRAGIOTTO, M. H.; BALDOQUI, D. C. Terpenoids and a coumarin from aerial parts of *Psychotria vellosiana* Benth. (Rubiaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 56, p.80-82, 2014.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of immunological methods**, v. 65. n. 1, p. 55-63, 1983.

MURAKAMI, N.; MOSTAQUL, H. M.; TAMURA, S.; ITAGAKI, S.; HORII, T.; KOBAYASHI, M. New anti-malarial flavonol glycoside from *Hydrangeae dulcis* folium. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 11, n. 18, p. 2445-2447, 2001.

MYERS, N., MITTERMEIER, R. A., MITTERMEIER, C. G., DA FONSECA, G. A. B., KENT. J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, v. 403, n. 6772, p. 853-858, 2000.

NAGAPRASHANTHA, L. D.; VATSYAYAN, R.; SINGHAL, J.; FAST, S.; ROBY, R.; AWASTHI, S.; SINGHAL, S. Anti-cancer effects of novel flavonoid vicenin-2 as a single agent and in synergistic combination with docetaxel in prostate cancer. **Biochemical Pharmacology**, v. 82, n. 9, p. 1100-1109, 2011.

NASCIMENTO, A. C.; VALENTE, L.; M. GARDEN, N, C., PEREIRA, M. D.; CASTRO, F. A.; GOMES, M. New flavanone glycoside from the leaves of *Faramea marambaiae* (Rubiaceae). **Planta Medica**, v. 79, n. 13, p. 1208-1208, 2013.

NAZARI, A. S.; DIAS, S. A.; COSTA, W. F.; BERSANI, A., CIOMAR, 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, n. 1, p. 7-9, 2006.

NEE, M. Flora da Reserva Ducke, Amazonas, Brasil: Cucurbitaceae. **Rodriguésia**, v. 58, n. 3, p. 703-707, 2007.

NEPOKROEFF, M., BREMER, B., SYTSMA, KENNETH. Reorganization of the Genus *Psychotria* and Tribo Psychotrieae (Rubiaceae) Inferred from ITS and *rbcl* Sequene Data. **Systematic Botany**, v. 24, n. 1, p. 5-27, 1999.

NEWMAN, D. J., CRAGG, G. M. Natural Products As Sources of New Drugs over the 30 Years from 1981 to 2010. **Journal of natural products**, v. 75, n. 3, p. 311-335, 2012.

NISHIBE, S. The plant origins of medicines and their quality evaluation. **Journal-Pharmaceutical Society of Japan**, v. 122, n. 6, p. 363-380, 2002.

NUNES, A. J.; QUINONES, M.; MARTINEZ, R. A flavonoid triglycoside from *Leptostigma arnothianum* (Rubiaceae). **Revista Latinoamericana de Química**, v. 18, n. 1, p. 9-11, 1987.

OLIVEIRA, A. M., LEMOS, R. P. L., CONSERVA, L. M. β -Carboline alkaloids from *Psychotria barbiflora* DC. (Rubiaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 50, p. 339–341, 2013.

OTSUKA, H.; TAKEDA, Y.; YAMASAKI, K. Xyloglucosides of benzyl and phenethyl alcohols and Z-hex-3-en-1-ol from leaves of *Alangium platanifolium* var. *trilobum*. **Phytochemistry**, v. 29, p. 3681–3683, 1990.

PARIS, R. R.; DEBRAY, M. A. Madagascan Rubiaceae, *Canephora madagascariensis*. Presence of C-flavonoids in the leaves. **Plantes Medicinales et Phytotherapie**, v. 7, n. 2, p. 135-9, 1973.

PASSOS, C. S., PIRES, C.A. S.; NURISSO, A.; SOLDI, T. C.; KATO, L.; OLIVEIRA, C. M.A.; FARIA, E. O.; MARCOURT, L.; GOTTFRIED, C.; CARRUPT, P. A.; HENRIQUES, A. T. Indole alkaloids of *Psychotria* as multifunctional cholinesterases and monoamine oxidases inhibitors. **Phytochemistry**, v. 86, p. 8-20, 2013.

PAULA, V. F.; BARBOSA, L.; C., A.; DEMUNER, A. J. Constituintes químicos de *Ochroma lagopus* Swartz. **Química Nova**, v. 19, n. 3, p. 225-229, 1996.

PEREIRA, B. A. S., DA SILVA, M. A., Lista de nomes populares de plantas nativas da região geoeconômica de Brasília, DF. Reserva Ecológica do IBGE, 2002.

PIETROBOM, R. C. V. Morfoanatomia do pericarpo, semente, folha de *Psychotria hoffmannseggiana* (Willd. ex Roem. & Schult.) Müll. Arg. e *Psychotria trichophora* Müll. Arg., e desenvolvimento morfológico da plântula de *Psychotria hoffmannseggiana* (Willd. ex Roem. & Schult.) Müll. Arg. (Rubiaceae, Rubioideae, Psychotrieae). Rio Claro Maio - 2008, Unesp.

PIMENTA, A.T. A.; UCHOA, D. E. A.; BRAZ-FILHO, R.; SILVEIRA, E. R.; LIMA, M. A. S. Alkaloid and other Chemical Constituents from *Psychotria stachyoides* Benth. **Journal Of The Brazilian Chemical Society**, v. 22, n. 11, p. 2216-2219, 2011.

PLUMB, G. W.; PRICE, K. R.; WILLIAMSON, G.. Antioxidant properties of flavonol glycosides from green beans. **Redox Report**, v. 4, n. 3, p. 123-127, 1999.

PROLIAC, A.; CHABOUD, A.; RAYNAUD, J. Isolation and identification of 7-O-glucosyl-6-C-glucosylapigenin and 6,8-di-C-glucosylapigenin in leaves of *Bryonia dioica* (Cucurbitaceae). **Pharmaceutica Acta Helvetiae**, v. 64, n. 7, p. 207-208, 1989.

RAHMAN, M. A. A.; MOON, S. S. Isoetin 5'-methyl ether, a cytotoxic flavone from *Trichosanthes kirilowii*. **Bulletin of the Korean Chemical Society**, v. 28, n. 8, p. 1261-1264, 2007.

RAYMOND, D. W. Chemotaxonomic studies in the Rubiaceae 1. Methods for the identification of hybridisation in the genus *Coprosma* J.R. et G. Forst. using flavonoids. **New Zealand Journal of Botany**, v. 17, n. 2, p. 113-116, 1979.

REIDAH, I. M. A.; ROMAN, D., A.; PINE, R. Q.; ARROYO, S. F.; CARRETERO, A. S.; GUTIERREZ, A., F. HPLC-ESI-Q-TOF-MS for a comprehensive characterization of bioactive phenolic compounds in cucumber whole fruit extract. **Food Research International**, v. 46, n. 1, p. 108-117, 2012.

REUTRAKUL, V.; KRACHANGCHAENG, C.; TUCHINDA, P.; POHMAKOTR, M.; JAIPETCH, T.; YOOSOOK, C.; KASISIT, J.; SOPHASAN, S.; SUJARIT, K.; SANTISUK, T. Cytotoxic and anti-HIV-1 constituents from leaves and twigs of *Gardenia tubifera*. **Tetrahedron**, v. 60, n. 7, p. 1517-1523, 2004.

REYNERTSON, K. A.; BASILE, M. J.; KENNELLY, E. J. Antioxidant Potential of Seven Myrtaceous Fruits. **Ethnobotany Research & Applications**, v. 3, p. 25-36, 2005.

RIECK, E. B. Informe Técnico nº. 005–MED/NVP/DVS/CEVS/SES/RS-Versão 001, acesso em 20/07/2015, http://www.saude.rs.gov.br/upload/1361994472_Informe%20Tecnico%20MED%20N.o%20%20005_Drogas%20vegetais%20e%20fitoterapicos%20-%20Versao%20001.pdf

RIBEIRO, M. L. (Organizador). **Reserva Ecológica do IBGE**, v 1, Tombo 2, p. 270, 2011.

SANTOS, R. I.; SANTOS, M. A.; SCHENKEL, E. P. Analysis of the plant drug *Wilbrandia ebracteata* (Cogn.) Cogn. **International Journal of Pharmacognosy**, v. 34, n. 4, p. 300-302, 1996.

SCHAEFER, H.; RENNER, S. S. Phylogenetic relationships in the order Cucurbitales and a new classification of the gourd family (Cucurbitaceae). **TAXON**, v. 60, n. 1, p. 122-138, 2011.

SEKINE, T.; ARITA, J.; YAMAGUCHI, A.; SAITO, K.; OKONOGI, S.; MORISAKI, N.; IWASAKI, S.; MURAKOSHI, I. Two flavonol glycosides from seeds of *Camellia sinensis*. **Phytochemistry**, v. 30, n. 3, p. 991-995, 1991.

SEMMAR, N.; JAY, M.; FARMAN, M.; CHEMLI, R. Chemotaxonomic analysis of *Astragalus caprinus* (Fabaceae) based on the flavonic patterns. **Biochemical systematics and ecology**, v. 33, n. 2, p. 187-200, 2005.

SEMMAR, N.; FENET, B.; FIASSEON, K. G.; HASAN, A.; JAY, M. Four new flavonol glycosides from the leaves of *astragalus caprinus*, **Journal of natural products**, v. 65, p. 576-579, 2002.

SESHADRI, T. R.; VYDEESWARAN, S. Chemical examination of *Luffa echinata*. **Phytochemistry**, v. 10, n. 3, p. 667-9, 1971.

SHI, Y. P., YAO, Q. Q., LIU, Y. J., WEI, X. G., WANG, B. G., & LUAN, Y. Studies on chemical constituents of *Trichosanthes kirilowii* and assay of its α -spinasterol. **Chinese Traditional and Herbal Drugs**, v. 1, p. 006, 2002.

SHI, R., HUANG, Q., ZHU, X., ONG, Y. B., ZHAO, B., LU, J., ONG, C. N., SHEN, H. M. Luteolin sensitizes the anticancer effect of cisplatin via c-Jun NH2-terminal kinase-mediated p53 phosphorylation and stabilization. **Molecular cancer therapeutics**, v. 6, n. 4, p. 1338-47, 2007.

SIBI, G.; KAUSHIK, K.; DHANANJAYA, K.; RAVIKUMAR, K. R.; MALLESHA, H. Antibacterial activity of *Sechium edule* (Jacq.) Swartz against Gram negative food borne bacteria. **Advances in Applied Science Research**, v. 4, n. 2, p. 259-261, 2013.

SICILIANO, T.; TOMMASI, N.; MORELLI, I.; BRACA, A. Study of Flavonoids of *Sechium edule* (Jacq) Swartz (Cucurbitaceae) Different Edible Organs by Liquid Chromatography Photodiode Array Mass Spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 21, p. 6510-6515, 2004.

SINGH, M.; KAUR, M.; SILAKARI, O. Flavones: An important scaffold for medicinal chemistry. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 84, p. 206-239, 2014.

SOLIS, P. N.; ANGEL G.; RAVELO, A. G.; PALENZUELA, J. A.; GUPTA, M. P.; LEZ, A. G.; PHILLIPSON, J. D. Quinoline alkaloids from *Psychotria glomerulata*. **Phytochemistry**, v. 44, n. 5, p. 963-969, 1997.

SUGIMOTO, S.; WANAS, A. S.; MIZUTA, T.; MATSUNAMI, K.; KAMEL, M. S.; OTSUKA, H. Structure elucidation of secondary metabolites isolated from the leaves of *Ixora undulate* and their inhibitory activity toward advanced glycation end-products formation. **Phytochemistry**, v. 108, p. 189-195, 2014.

SUNG, J.; LEE, J. Anti-Inflammatory Activity of Butein and Luteolin Through Suppression of NF κ B Activation and Induction of Heme Oxygenase-1. **Journal of Medicinal Food**, v.18, n. 5, p. 557-564, 2015.

SÜNTAR, K. A. E.; KELES, H.; YESILADA, E.; SARKER, S. D.; ARROO, R.; BAYKAL, T. Efficacy of *Daphne oleoides* subsp. *kurdica* used for wound healing: identification of active compounds through bioassay guided isolation technique. **Journal of ethnopharmacology**, v. 141, n. 3, p. 1058-1070, 2012.

TAN, M. A.; EUSEBIO, J. A.; ALEJANDRO, G. J. Chemotaxonomic implications of the absence of alkaloids in *Psychotria gitingensis*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 45, p. 20-22, 2012.

TAYLOR, C. M., CAMPOS, M. T. V. A., ZAPPI, D. Flora da reserva Ducke, amazonas, brasil: Rubiaceae. **Rodriguésia**, v. 58, n. 3, p. 549-616, 2007.

TEIXEIRA, V. A., COELHO, M.F.B., MING, L. C. Poaia [*Psychotria ipecacuanha* (Brot.) Stoves]: aspectos da memória cultural dos poaieiros de Cáceres - Mato Grosso, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, v. 14, n. 2, p. 335-343, 2012.

TRUITI, M. D. T.; BERSANI-AMADO, C. A.; DIAS, B. P.; SARRAGIOTTO, M. H.; SOUZA, M. C. Screening of five brazilian plants for anti-inflammatory and antimicrobial activities. **Pharmaceutical Biology**, v. 44, n. 7, p. 516-521, 2006.

VALENTE, L. M. M. Cucurbitacinas e suas principais características estruturais. **Química Nova**, v. 27, n. 6, p. 944-948, 2004.

VEROTTA, L., PILATI, T., TATO, M., ELISABETSKY, E., AMADOR, T. A., NUNES, D. S. Pyrrolidinoindoline Alkaloids from *Psychotria colorata*. **Journal of natural products**, v. 61, n. 3, p. 392-396, 1998.

VO, T. N.; NGUYEN, P. L.; TUONG, L. T.; VO, P. N.; NGUYEN, K. P. P.; NGUYEN, N. S. Constituents of the leaves of *Pseuderanthemum carruthersii* (Seem.) Guill. var. *atropurpureum* (Bull.) Fosb. **Phytochemistry Letters**, v. 5, n. 3, p. 673-676, 2012.

WANG, S. S.; ZHANG, X. J.; QUE, S.; TU, G. Z.; WAN, D.; CHENG, W.; ZHANG, Q. Y. 3-Hydroxy-3-methylglutaryl flavonol glycosides from *Oxytropis falcata*. **Journal of natural products**, v. 75, n. 7, p. 1359-1364, 2012.

WEI, C. C.; YU, C. W.; YEN, P. L.; LIN, H. Y.; CHANG, S. T.; HSU, F. L.; LIAO, V. H. C. Antioxidant activity, delayed aging, and reduced amyloid- β toxicity of methanol extracts of tea seed pomace from *Camellia tenuifolia*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 44, p. 10701-10707, 2014.

WENZEL, U. Flavonoids as drugs at the small intestinal level. **Current Opinion in Pharmacology**. v. 13, n. 6, p. 864-868, 2013.

WU, T.; ZANG, X.; HE, M.; PAN, S.; XU, X. Structure-activity relationship of flavonoids on their anti-*Escherichia coli* activity and inhibition of DNA gyrase. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 61, n. 34, p. 8185-8190, 2013.

XU, Y.; CHEN, G.; LU, X.; LI, Z. Q.; SU, S. S.; ZHOU, C.; PEI, Y. H. Chemical constituents from *Trichosanthes kirilowii* Maxim. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 43, p. 114-116, 2012.

YANG, M. Y.; WANG, C. J.; CHEN, N. F.; HO, W. H.; LU, F. J.; TSENG, T. H. Luteolin enhances paclitaxel-induced apoptosis in human breast cancer MDA-MB-231 cells by blocking STAT3. **Chemico-Biological Interactions**, v. 213, p. 60-68, 2014.

YOSHIZAKI, M.; FUJINO, H.; MASUYAMA, M.; ARISAWA, M.; MORITA, N. A. chemotaxonomic study of flavonoids in the leaves of six *Trichosanthes* species. **Phytochemistry**, v. 26, n. 9, p. 2557-2558, 1987.

YOUNG, L. S.; YOUNG, L., J.; SUN, K. J.; JE-HYUN, L.; SAM, K. S. Flavonoids from the seeds of *Zizyphus jujuba* var. *spinosa*. **Saengyak Hakhoechi**, v. 43, n. 2, p.127-136, 2012.

ZHANG, L. B.; SIMMONS, M. P.; KOCYAN, A.; RENNER, S. S. Phylogeny of the Cucurbitales based DNA sequences of nine loci from three genomes: implications for morphological and sexual system evolution. **Molecular phylogenetics and evolution**, v. 39, n. 2, p. 305-322, 2006.

ZHAO, C. C.; SHAO, JIAN, L. H., XIAN, K., XING, Z. D.; YU, M. W.; DA, L. N. L. Flavonoids from *Galium verum* L. **Journal of Asian Natural Products Research**, v. 10, n. 7, p. 611-615, 2008.

ZHAO, Y., YANG, G., REN, D., ZHANG, X., YIN, Q., SUN, X. Luteolin suppresses growth and migration of human lung cancer cells. **Molecular biology reports**, v. 38, n. 2, p. 1115-1119, 2011.

Pham, T. K.; Pham, T. A.; Phan, V. K.; Chau, V. M.; Nguyen, X. N.; Bui, H. Tai; Nguyen, T. T. N.; Tran, H. Q.; Nguyen, P. T.; Kim, Y. H. Benzyl glycosides from the aerial parts of *Gynostemma laxum* and their NF- κ B inhibitory activity in HepG2 cells. **Bulletin of the Korean Chemical Society**, v. 32, n. 10, p. 3763-3766. 2011.

Appendice

Figura A1- Espectro de IV do composto **CE-1** (Pastilha de KBr).

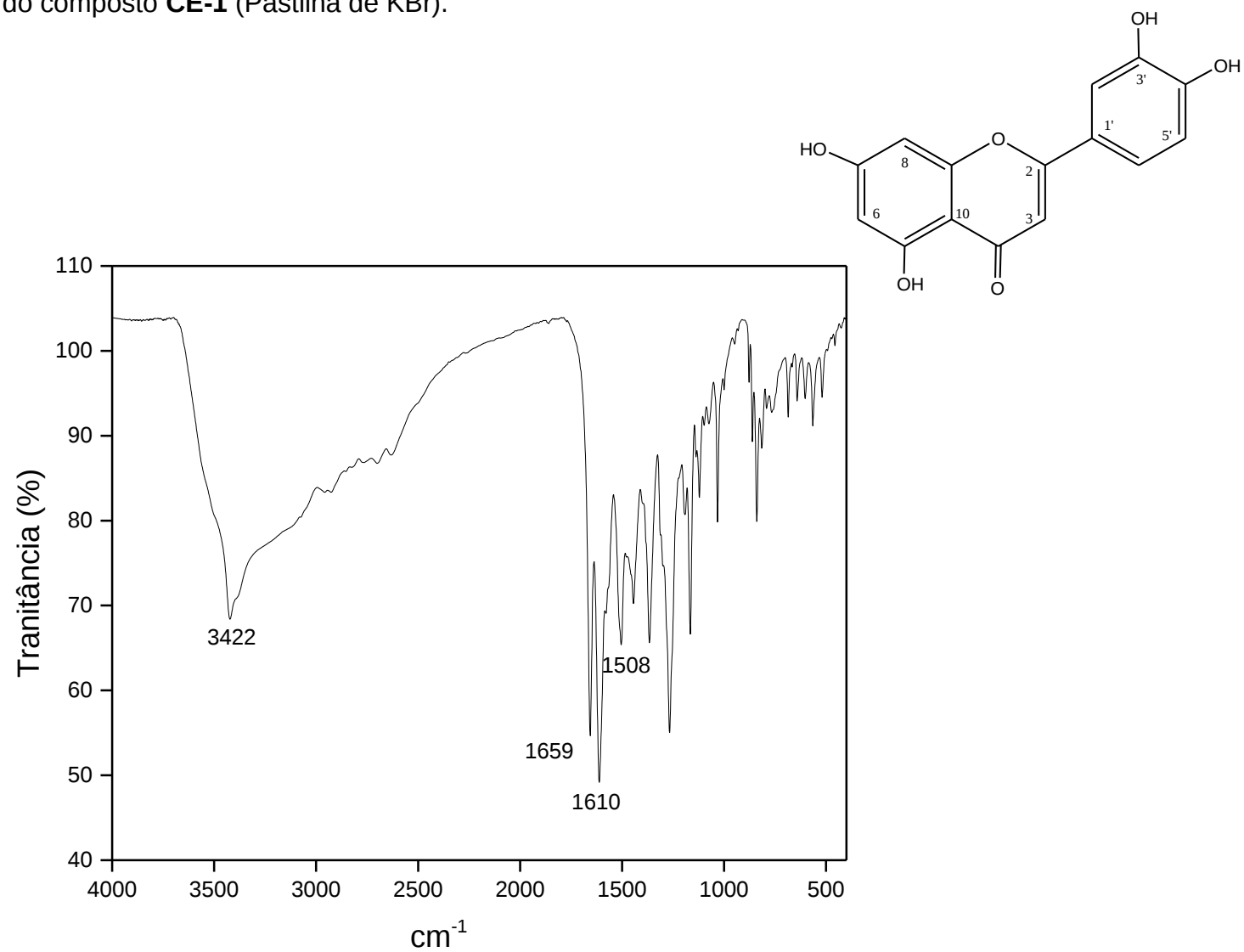


Figura A2- Espectro de RMN de ^1H do composto **CE-1** (500 MHz, DMSO- d_6).

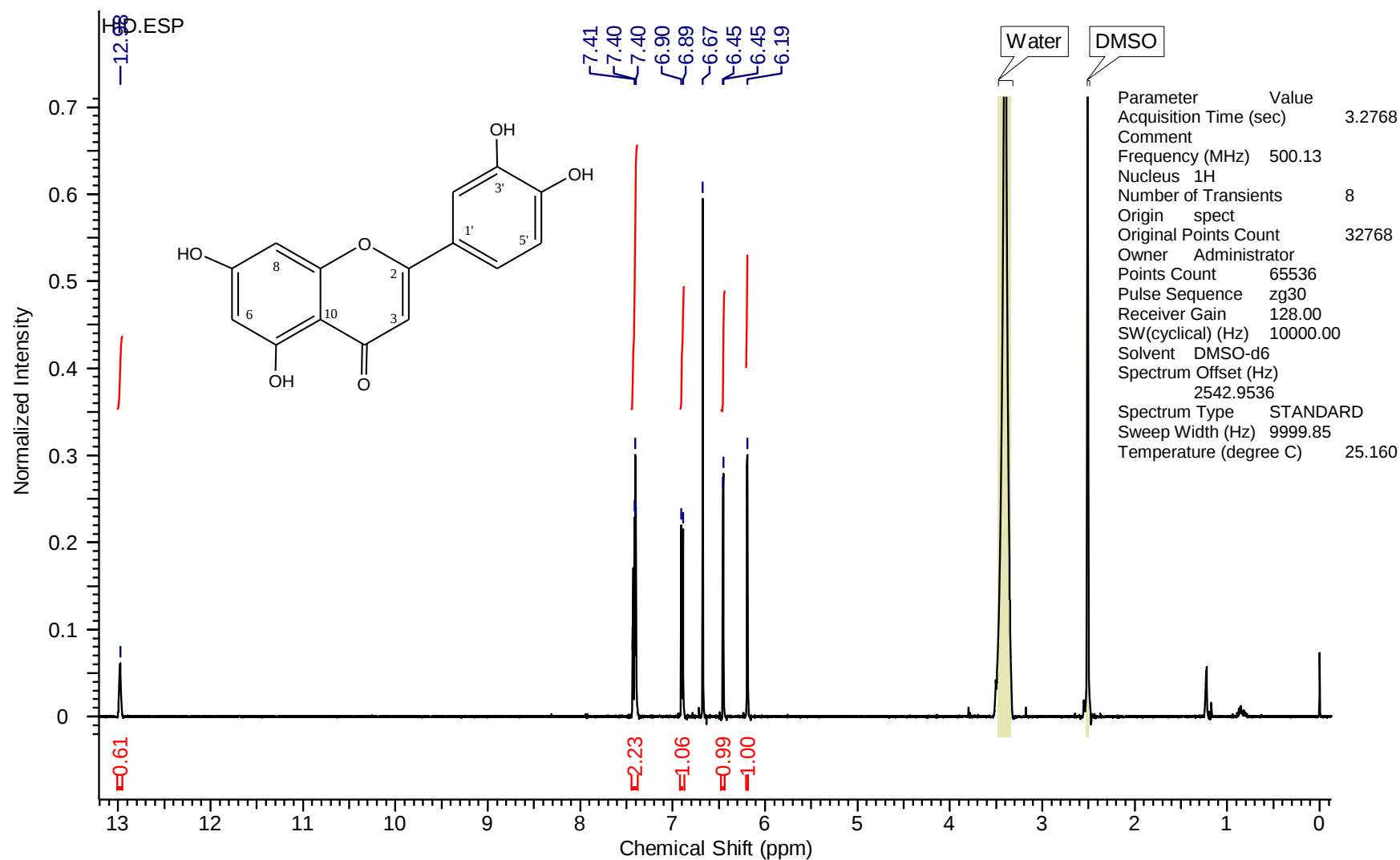


Figura A3- Expansão do espectro de RMN de ^1H do composto **CE-1** (500 MHz, DMSO- d_6).

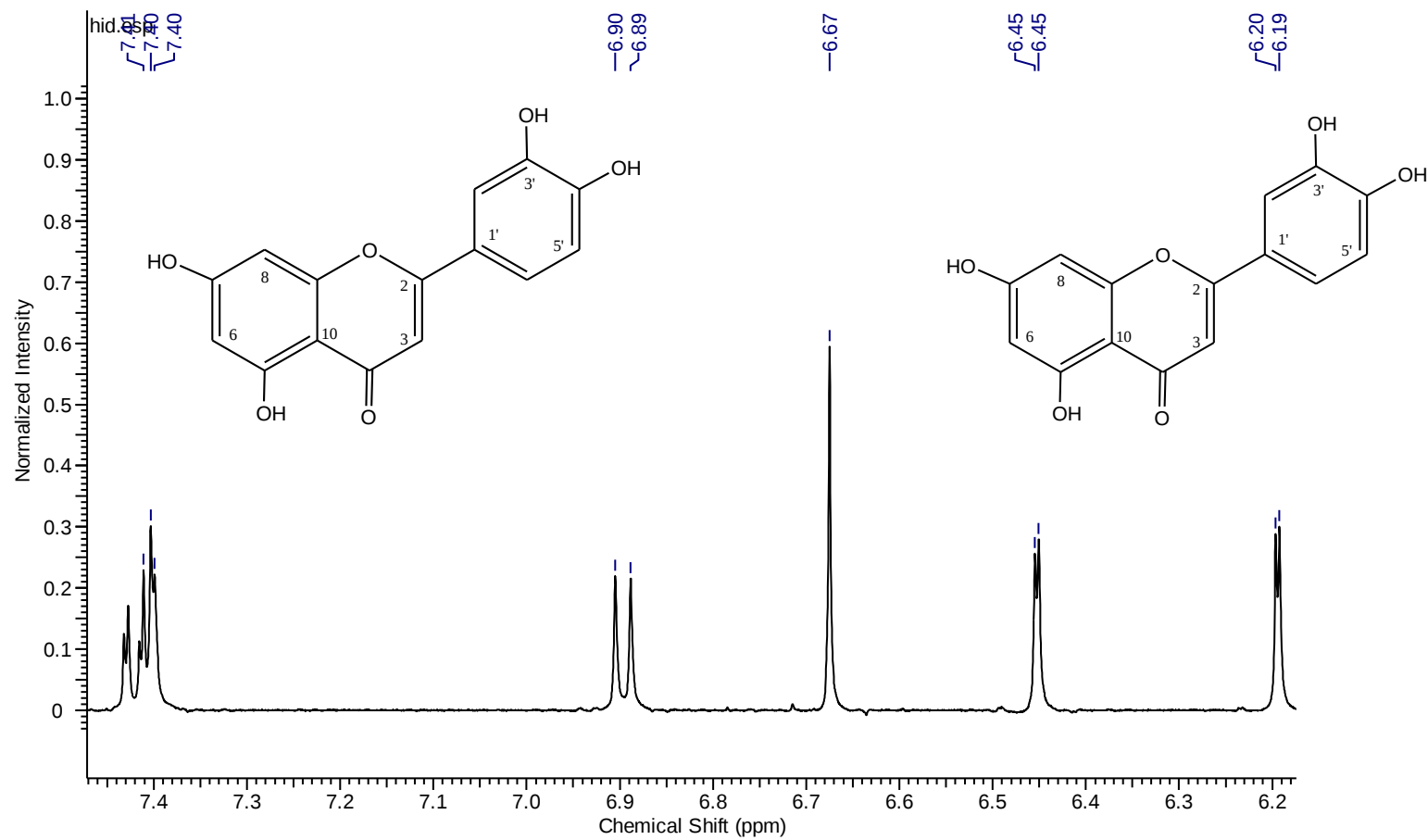


Figura A4- Espectro de IV do composto **CE-2** (Pastilha de KBr).

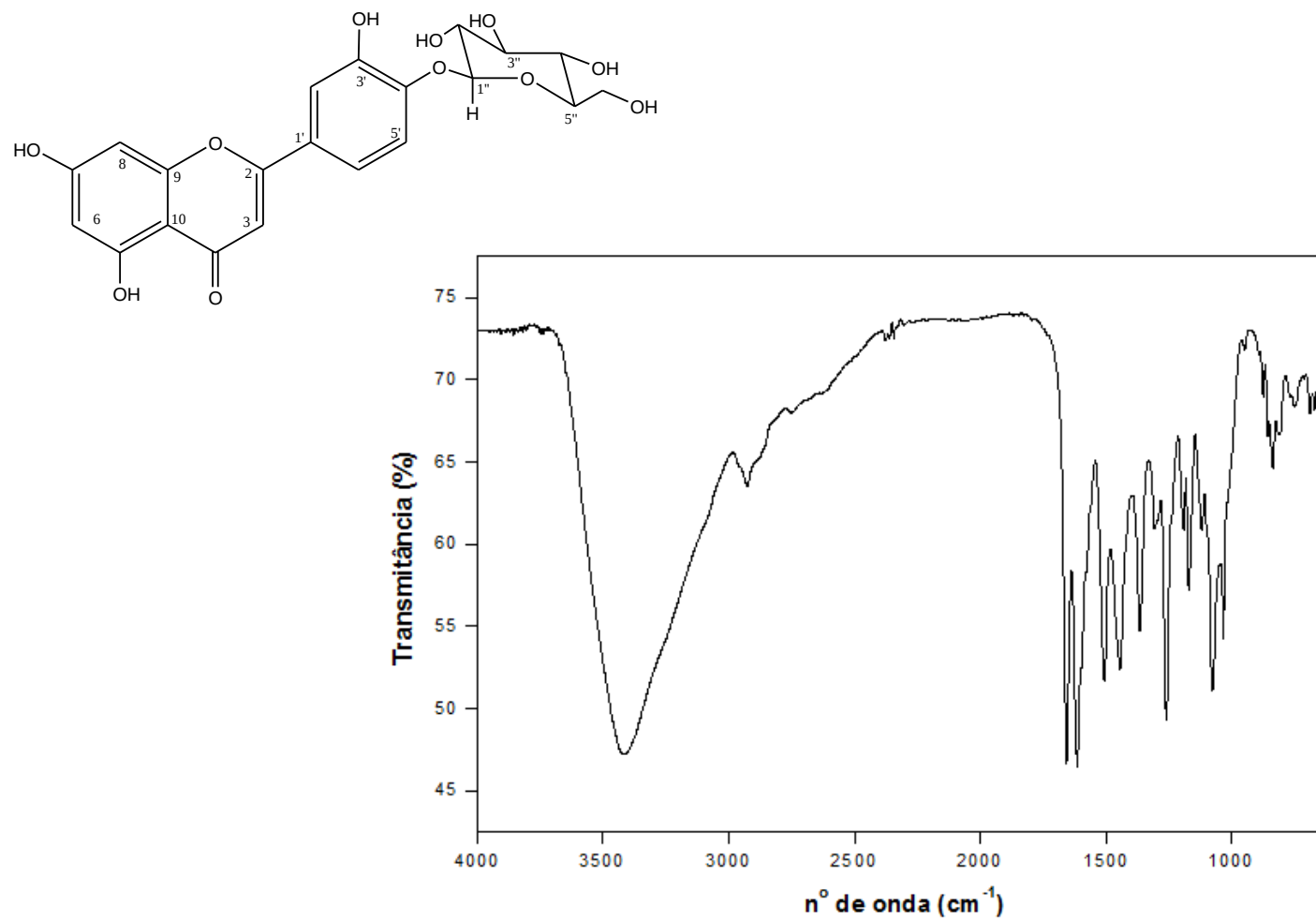


Figura A5- Espectro de RMN de ^1H do composto **CE-2** (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$).

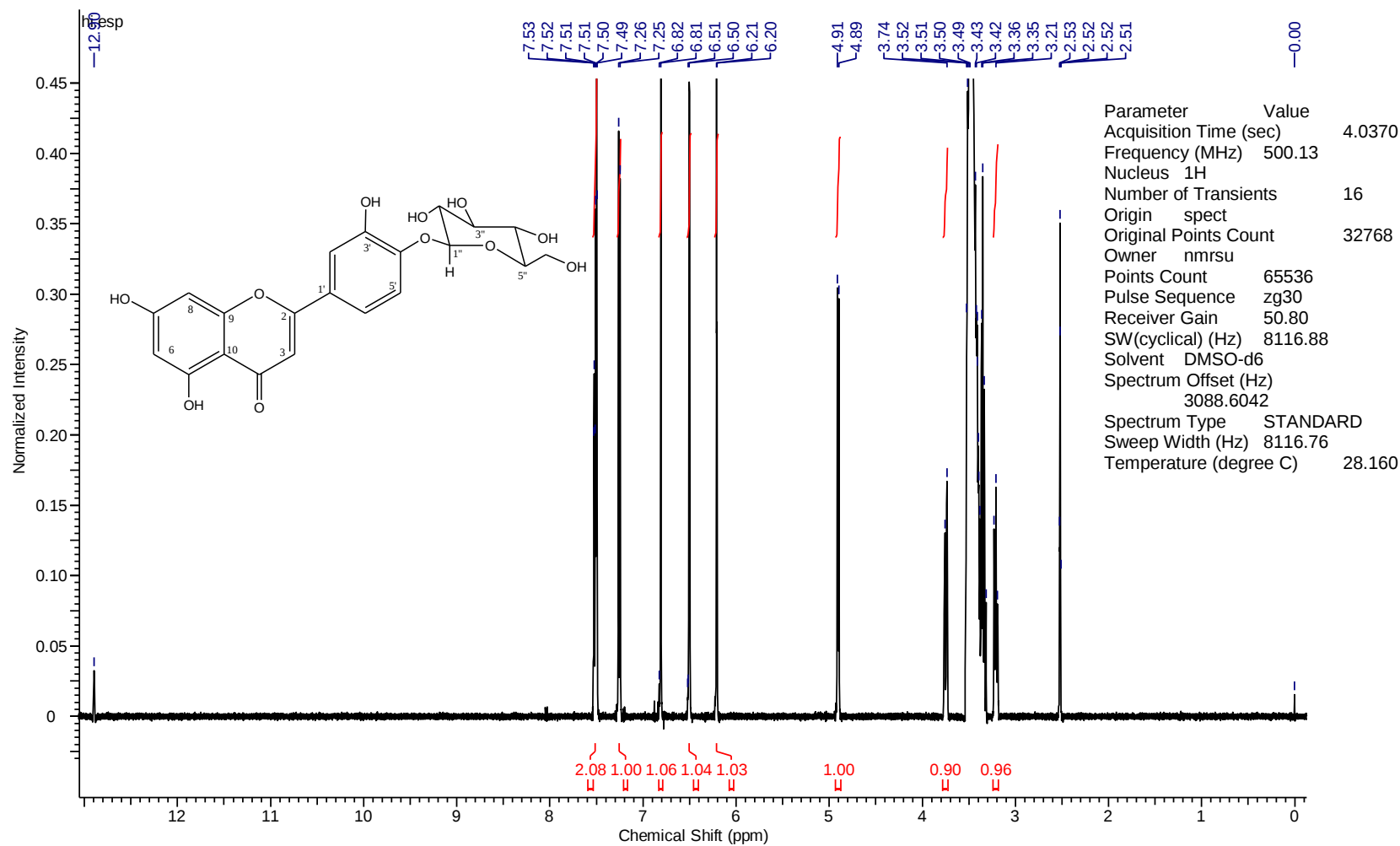


Figura A6- Expansão do espectro de RMN de ^1H do composto **CE-2** (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).

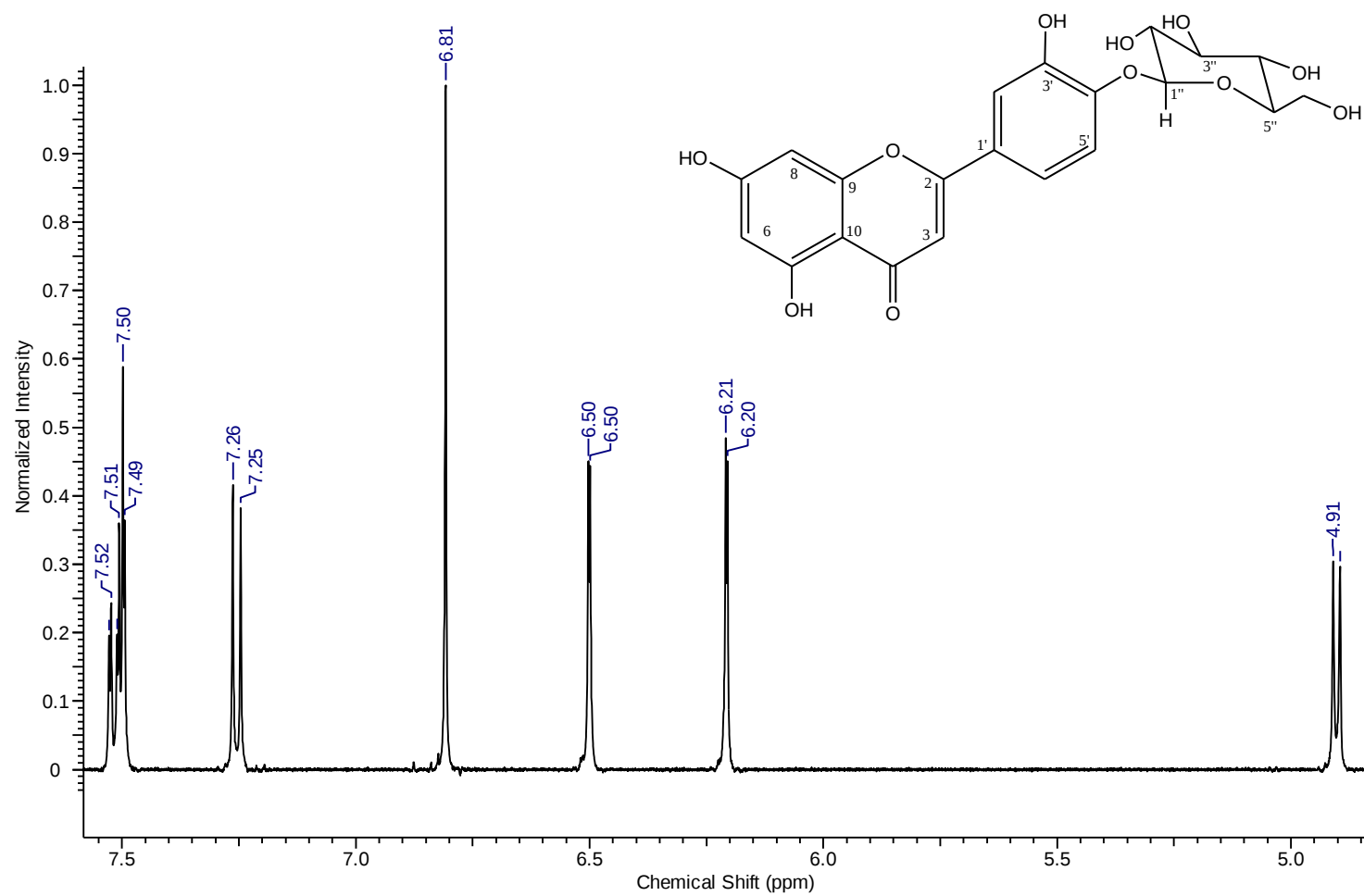
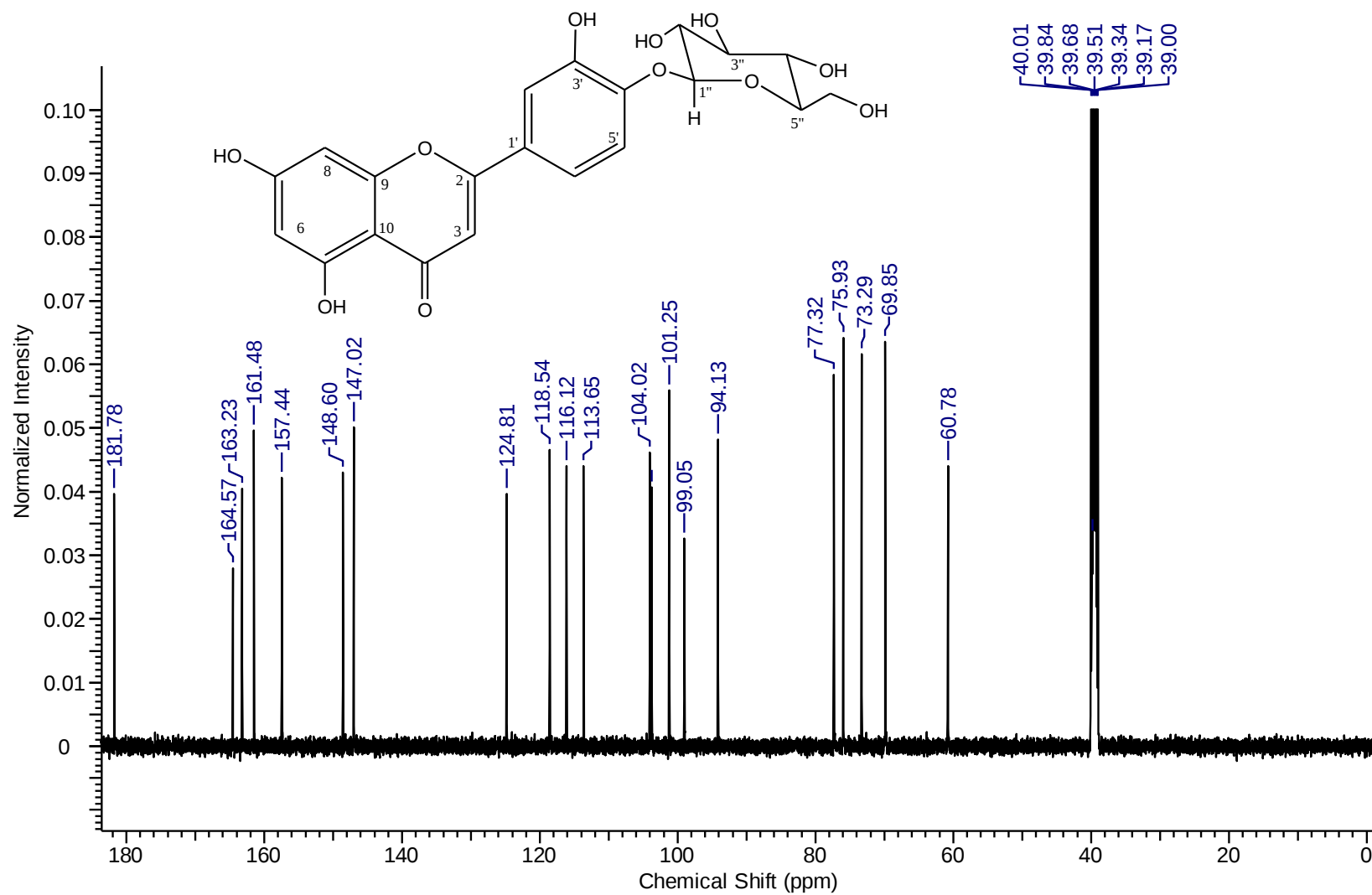


Figura A7- Espectro de RMN de ^{13}C do composto **CE-2** (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).



The figure displays a 2D NMR spectrum of compound 10a. The horizontal axis represents the ¹H chemical shift (F2) in ppm, ranging from 2.5 to 7.5. The vertical axis represents the ¹³C chemical shift (F1) in ppm, ranging from 40 to 160. The 1D ¹H NMR spectrum is shown as a projection along the top, and the 1D ¹³C NMR spectrum is shown as a projection along the left. The 2D spectrum contains several cross-peaks, with the most prominent ones labeled in red: C-10 (at ~7.4 ppm ¹H, ~115 ppm ¹³C), C-9 (at ~7.2 ppm ¹H, ~115 ppm ¹³C), C-6 (at ~6.5 ppm ¹H, ~105 ppm ¹³C), C-8 (at ~6.2 ppm ¹H, ~105 ppm ¹³C), C-3' (at ~5.0 ppm ¹H, ~100 ppm ¹³C), and C-2' (at ~3.5 ppm ¹H, ~55 ppm ¹³C). Other unlabeled cross-peaks are visible in the aromatic region (6.0-7.5 ppm ¹H, 100-120 ppm ¹³C) and the sugar region (3.0-4.5 ppm ¹H, 40-60 ppm ¹³C). The chemical structure of compound 10a is shown at the top, featuring a coumarin core with a 3'-O-β-D-glucopyranosyl substituent. The atoms are numbered: 1-10 for the coumarin system and 1'-5' for the sugar moiety.

Figura A9- Expansões (a) e (b) do mapa de correlação HSQC do composto **CE-2** (500 MHz, DMSO-*d*₆).

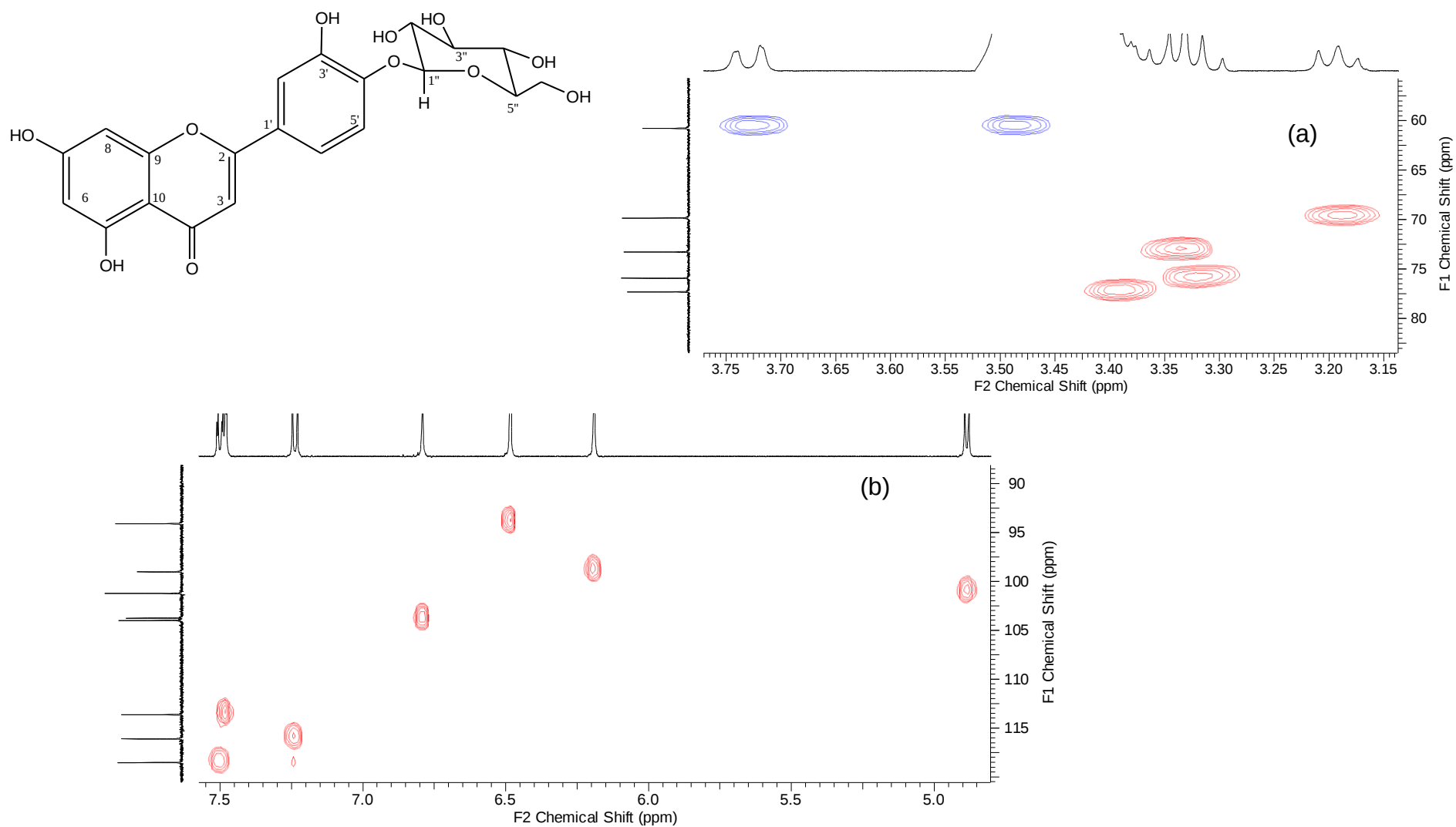


Figura A10- Mapa de correlação HMBC do composto **CE-2** (500 MHz, DMSO- d_6).

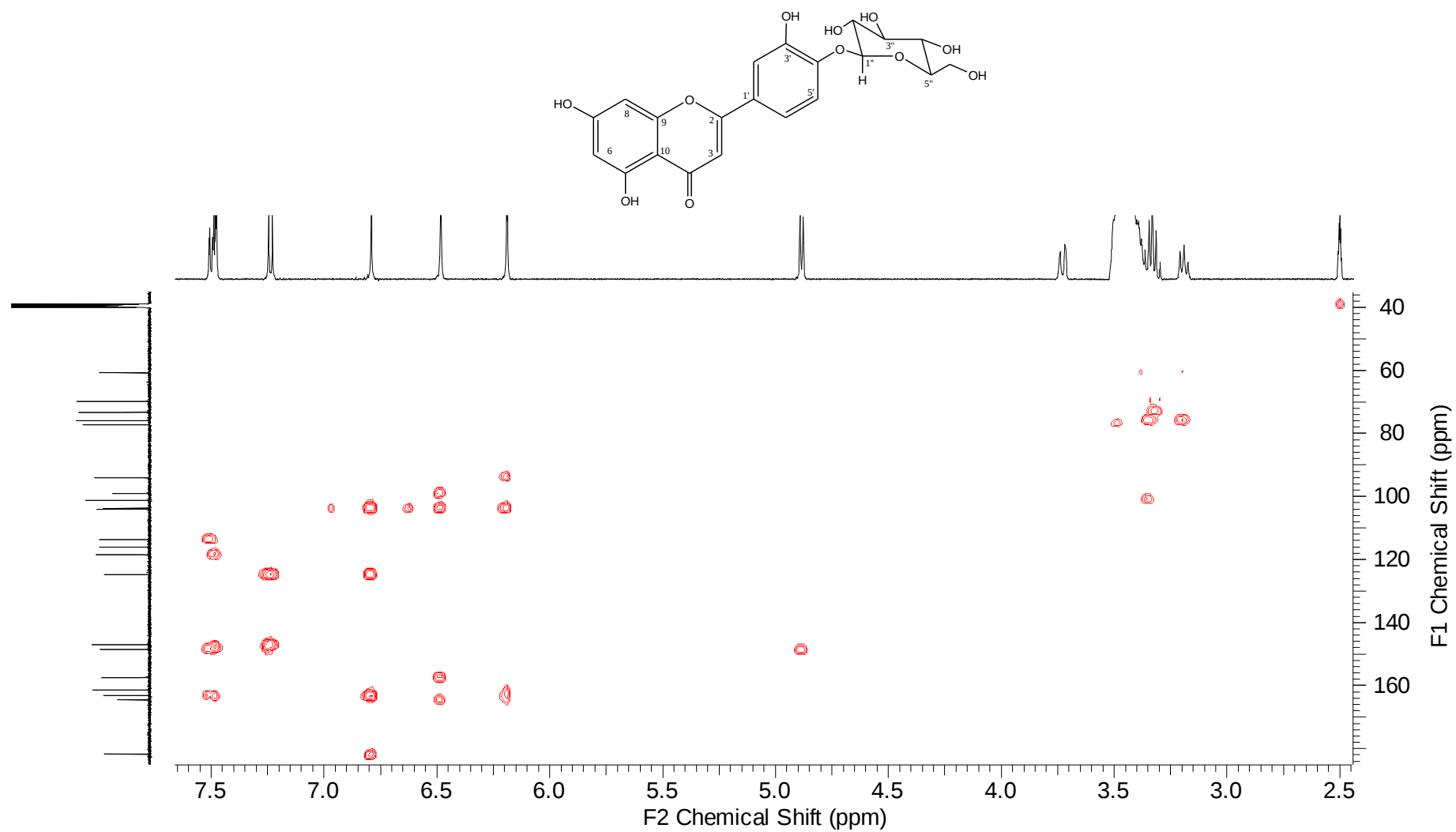


Figura A11- Expansões (a) e (b) do mapa de correlação HMBC do composto **CE-2** (500 MHz, DMSO- d_6).

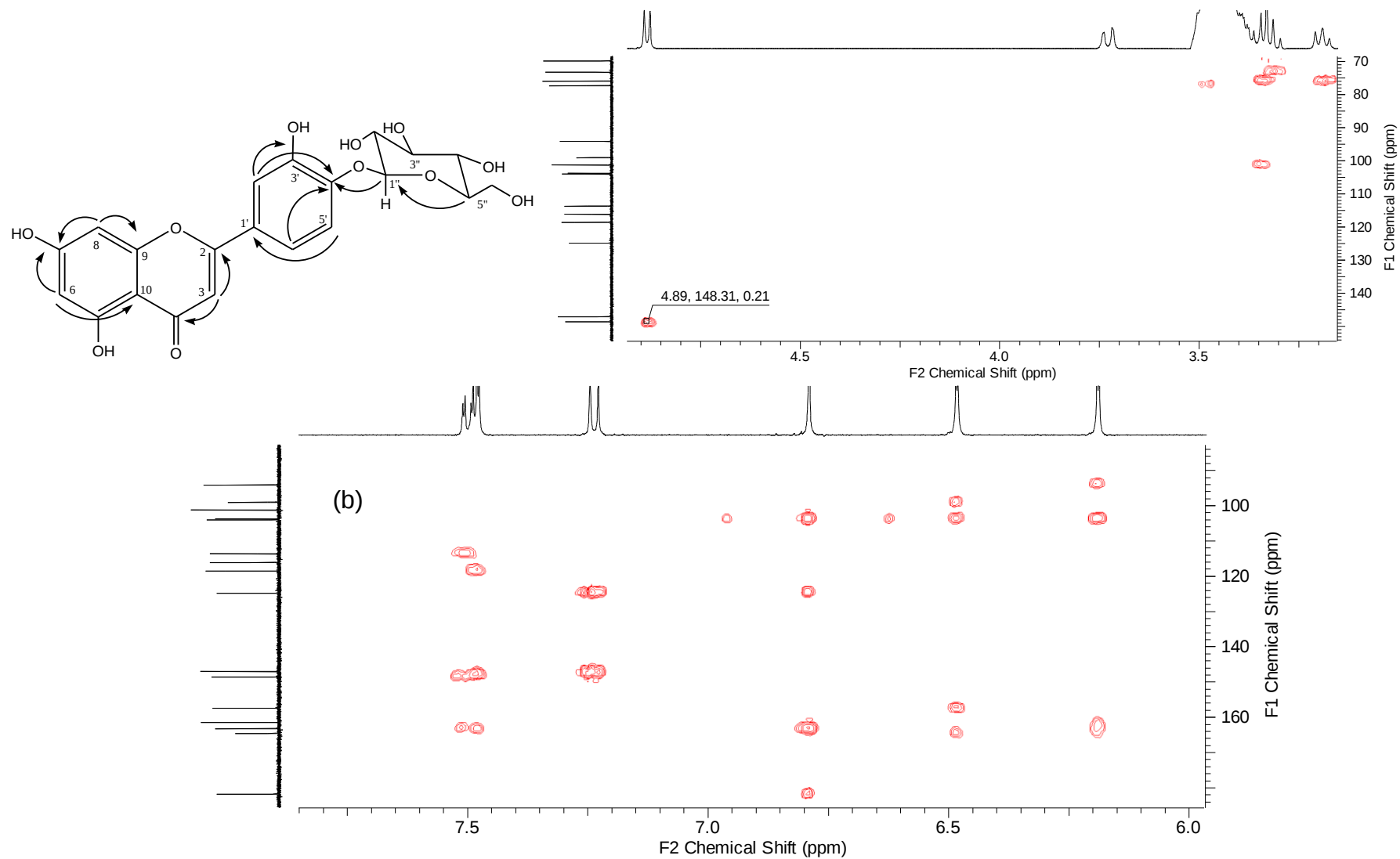


Figura A12- Espectro de IV do composto **CE-3** (Pastilha de KBr).

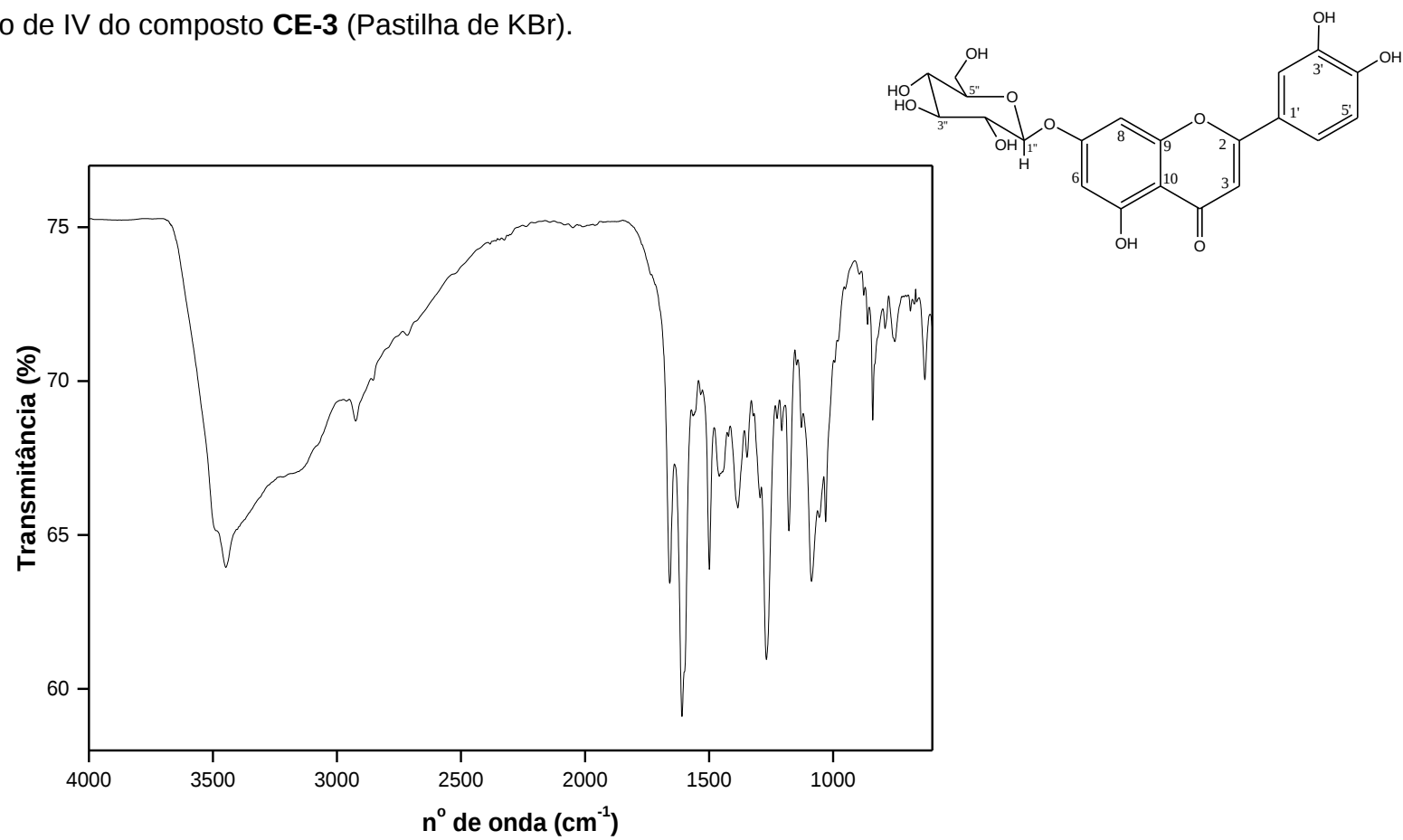


Figura A13- Espectro de RMN de ^1H do composto **CE-3** (500 MHz, DMSO-d_6).

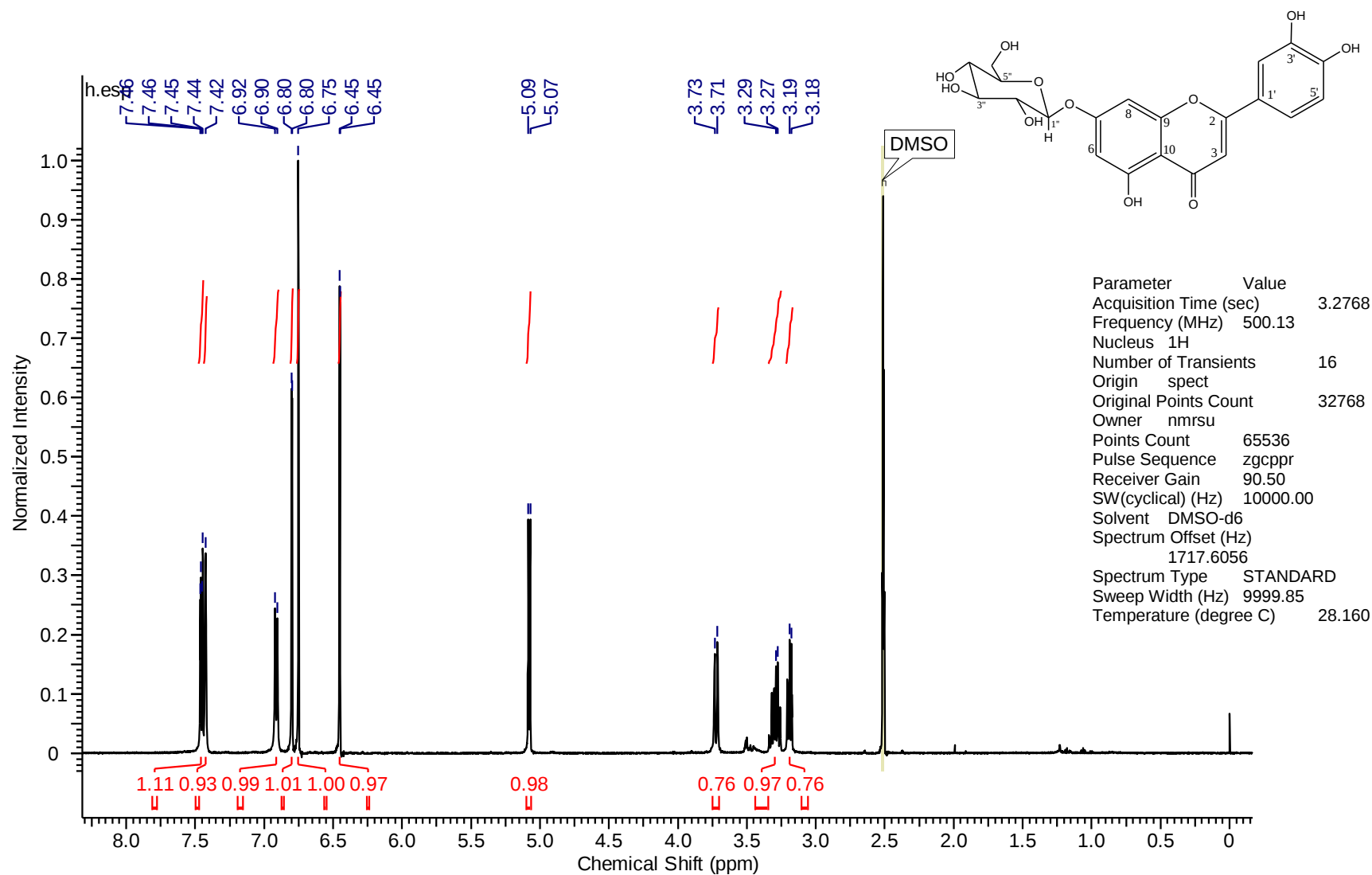


Figura A14- Expansões (a) e (b) do espectro de RMN de ^1H do composto **CE-3** (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).

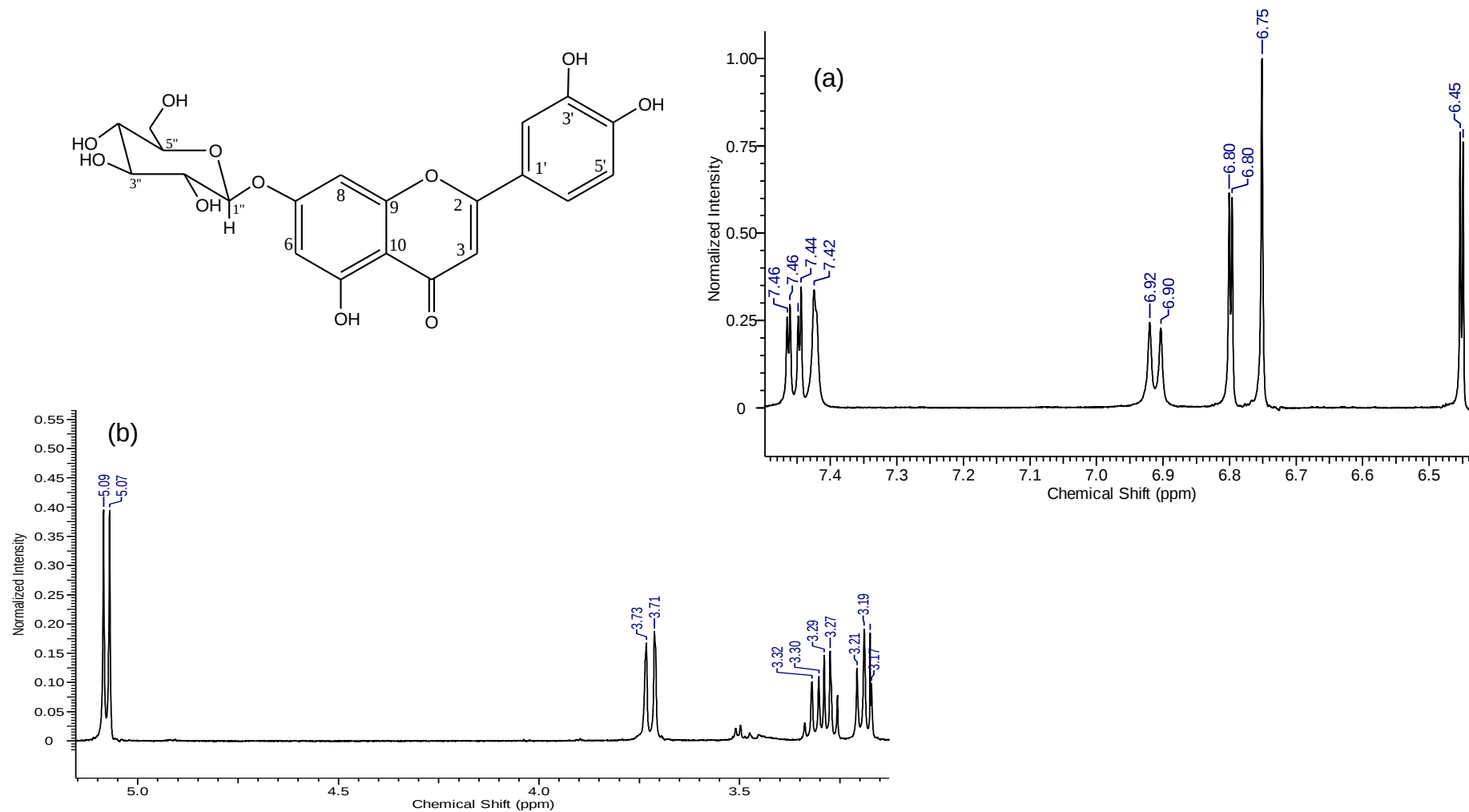


Figura A15- Mapa de correlação HSQC do composto **CE-3** (500 MHz, DMSO-*d*₆).

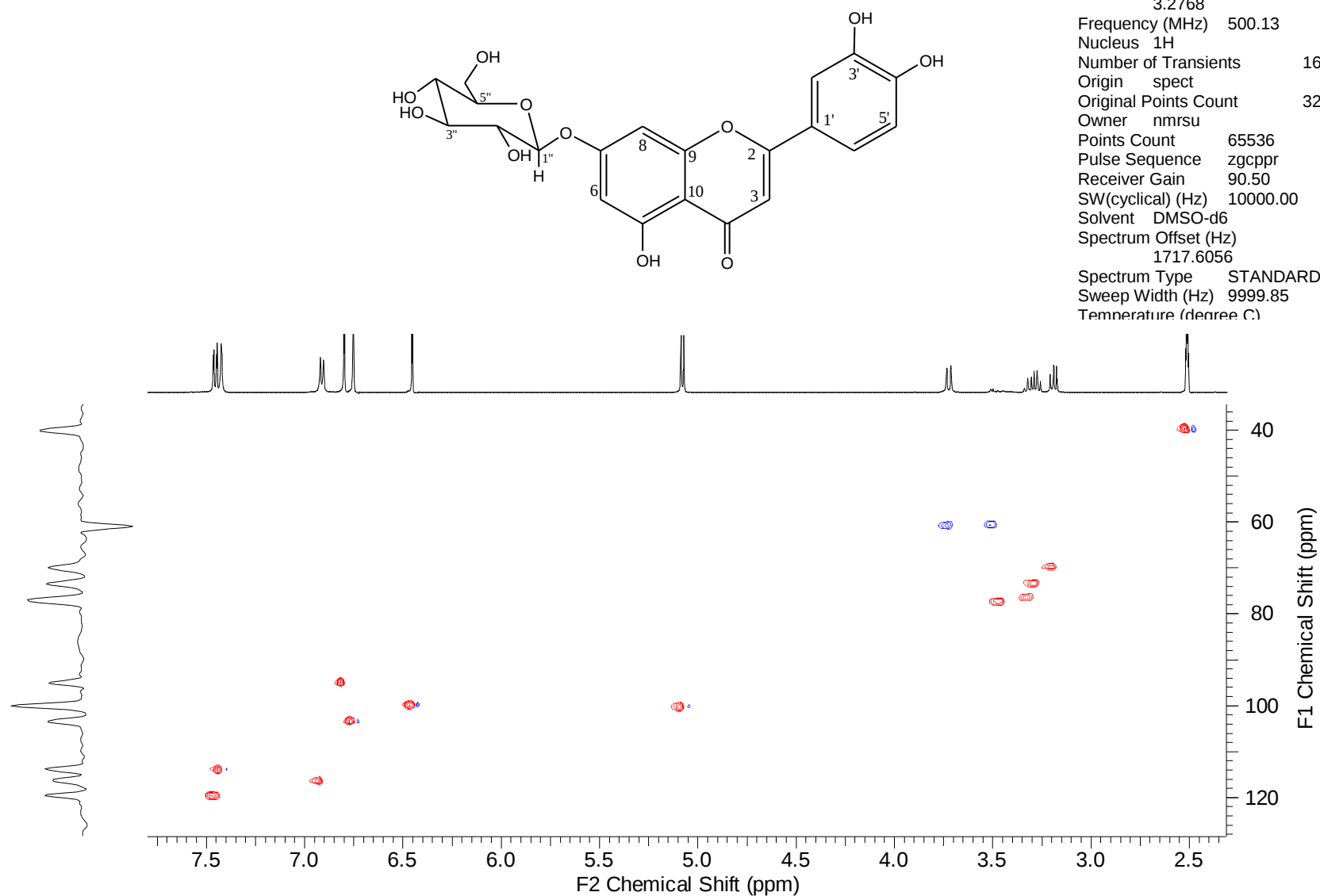


Figura A16- Mapa de correlação HMBC do composto **CE-3** (500 MHz, DMSO- d_6).

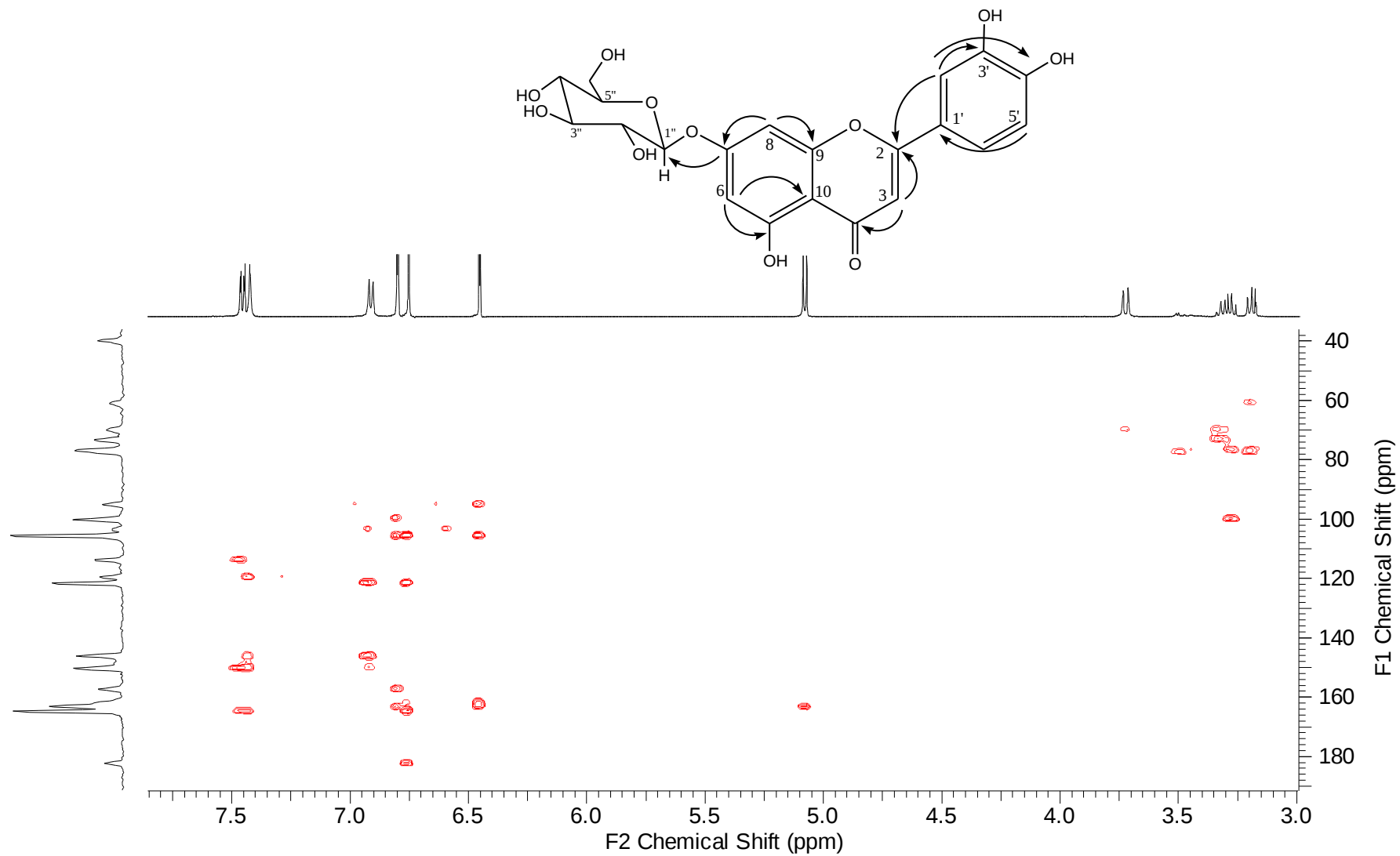


Figura A17- Espectro de IV do composto **CC-1** (Pastilha de KBr).

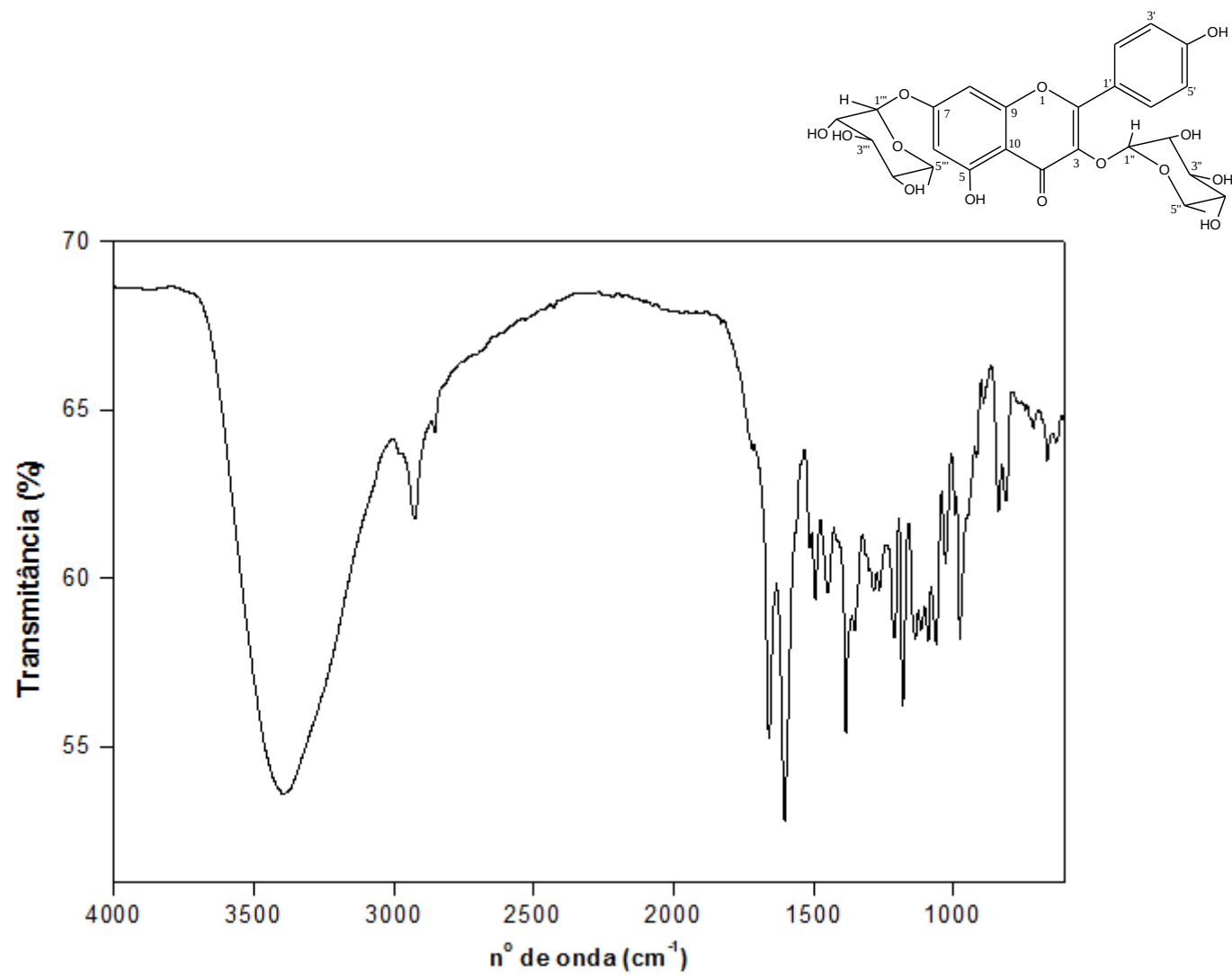


Figura A18- Espectro de RMN de ^1H do composto **CC-1** (500 MHz, CD_3OD).

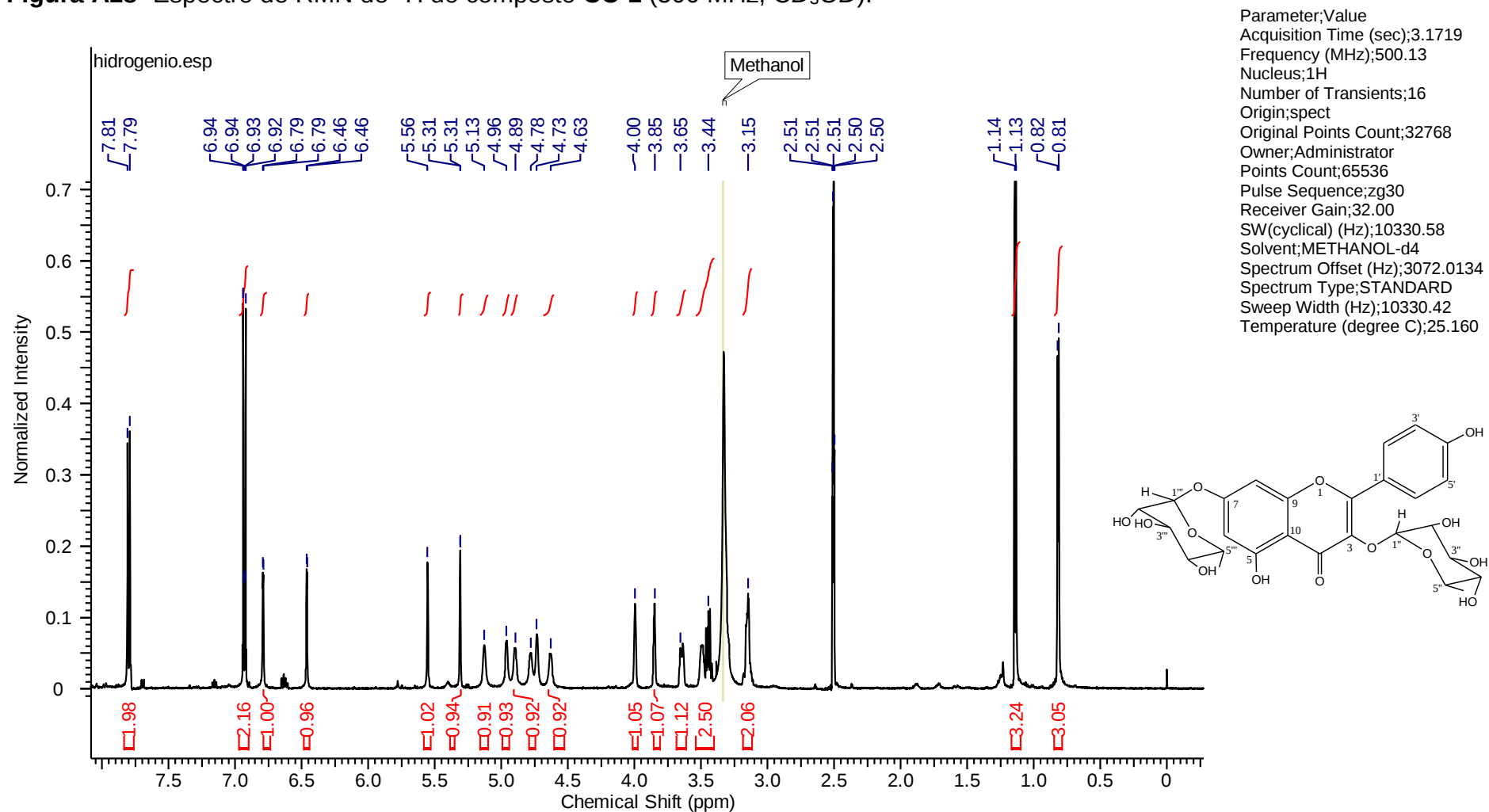


Figura 19- Expansões (a) e (b) do espectro de RMN de ^1H do composto **CC-1** (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).

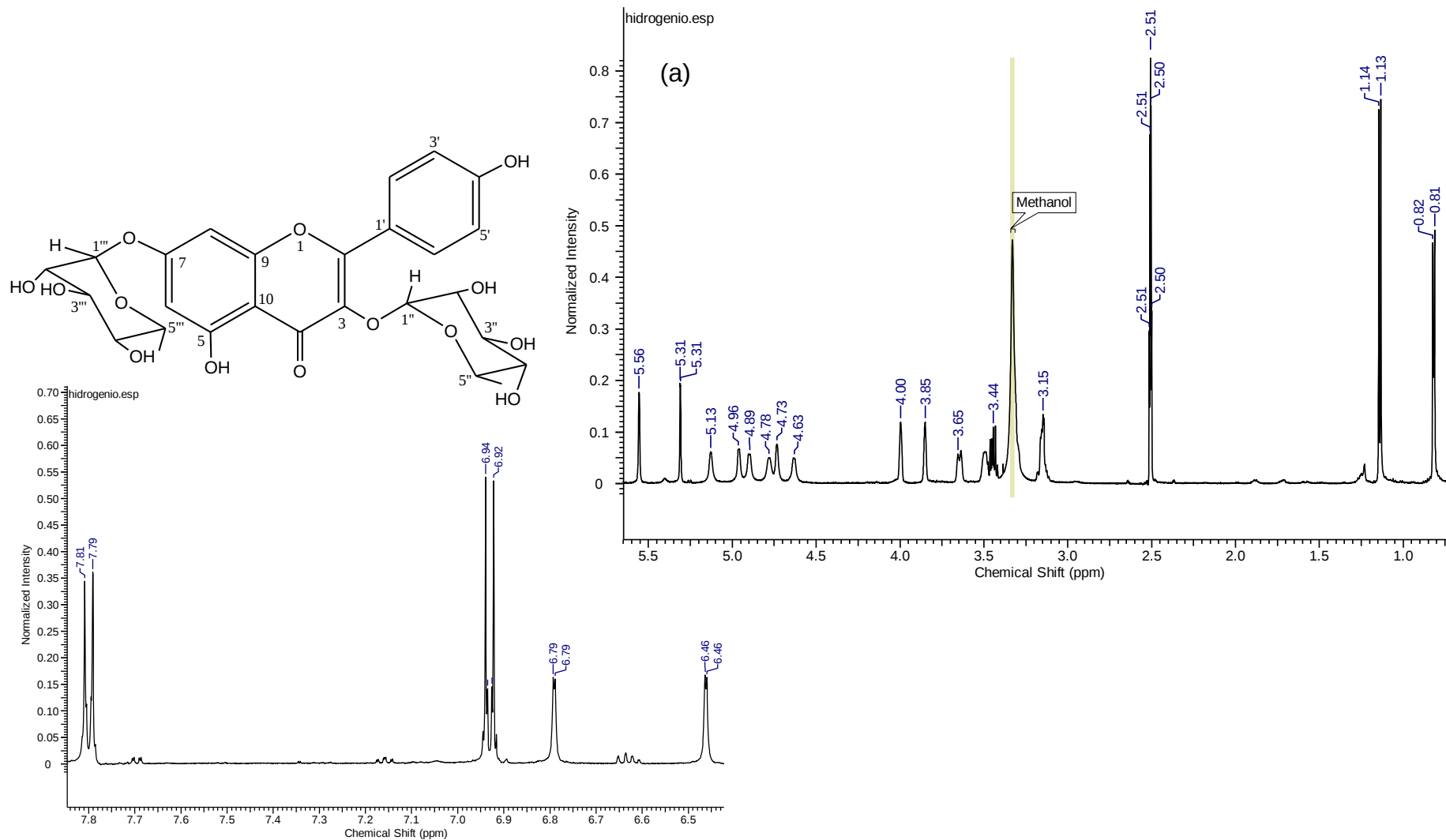
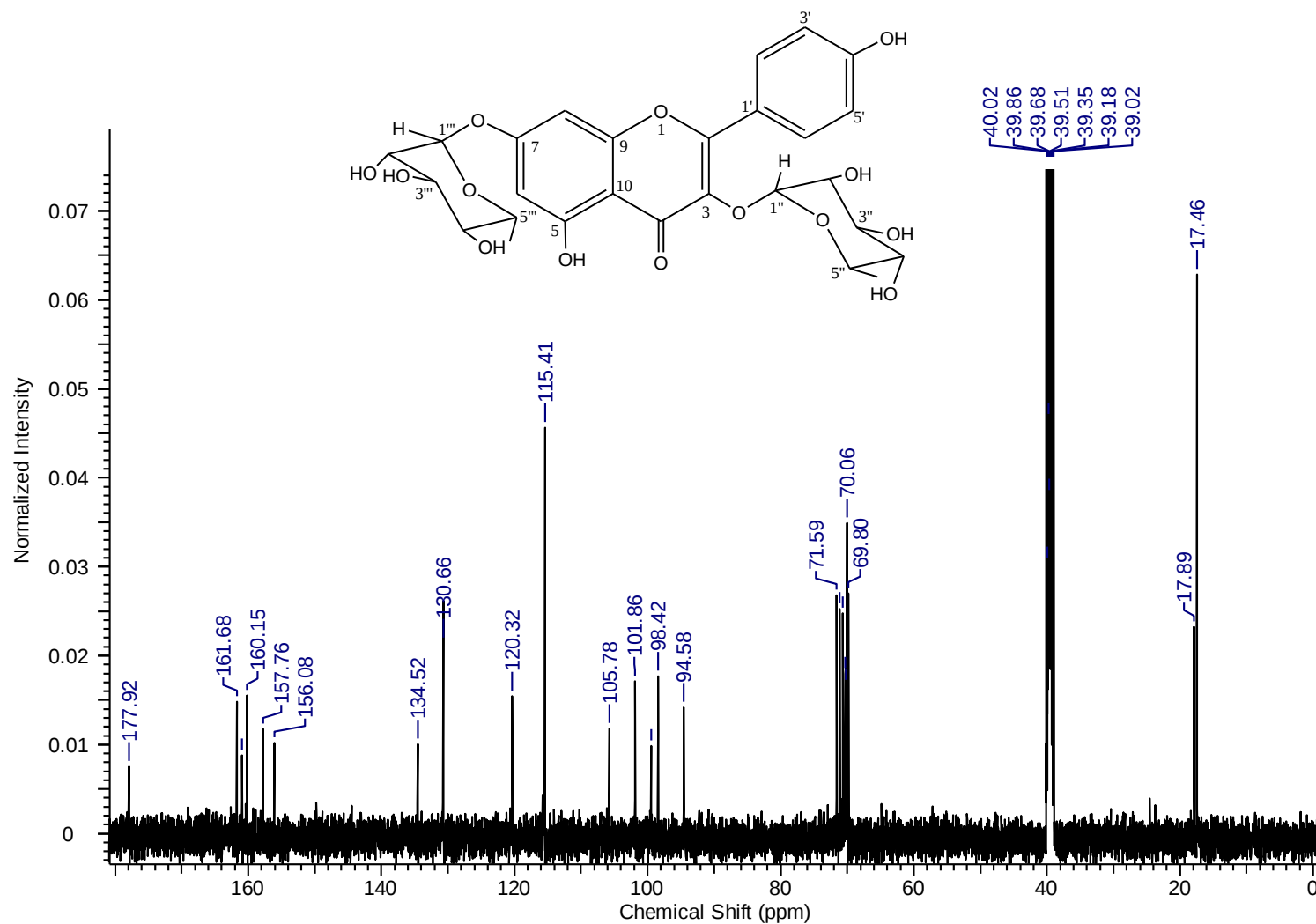


Figura A20- Espectro de RMN de ^{13}C do composto **CC-1** (125 MHz, CD_3OD).



Parameter;Value
 Acquisition Time (sec);0.5505
 Frequency (MHz);125.77
 Nucleus; ^{13}C
 Number of Transients;2028
 Origin;spect
 Original Points Count;16384
 Owner;Administrator
 Points Count;16384
 Pulse Sequence;zpgg30
 Receiver Gain;912.00
 SW(cyclical) (Hz);29761.90
 Solvent;METHANOL-d4
 Spectrum Offset (Hz);12410.5713
 Spectrum Type;STANDARD
 Sweep Width (Hz);29760.09
 Temperature (degree C);25.260

Figura A21- Mapa de correlação HSQC do composto **CC-1** (500 MHz, DMSO- d_6).

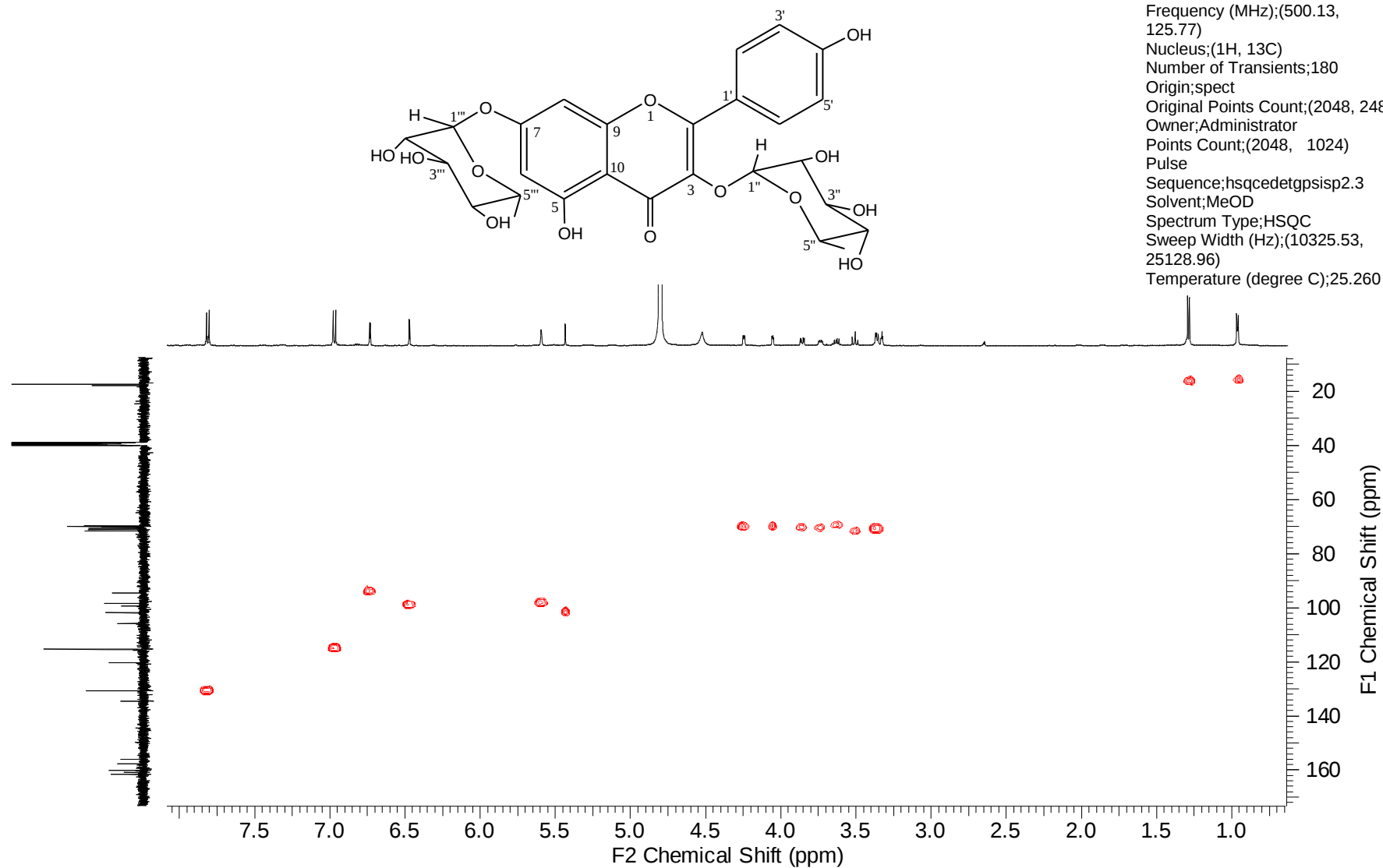


Figura A22- Mapa de correlação HMBC do composto **CC-1** (500 MHz, DMSO-*d*₆).

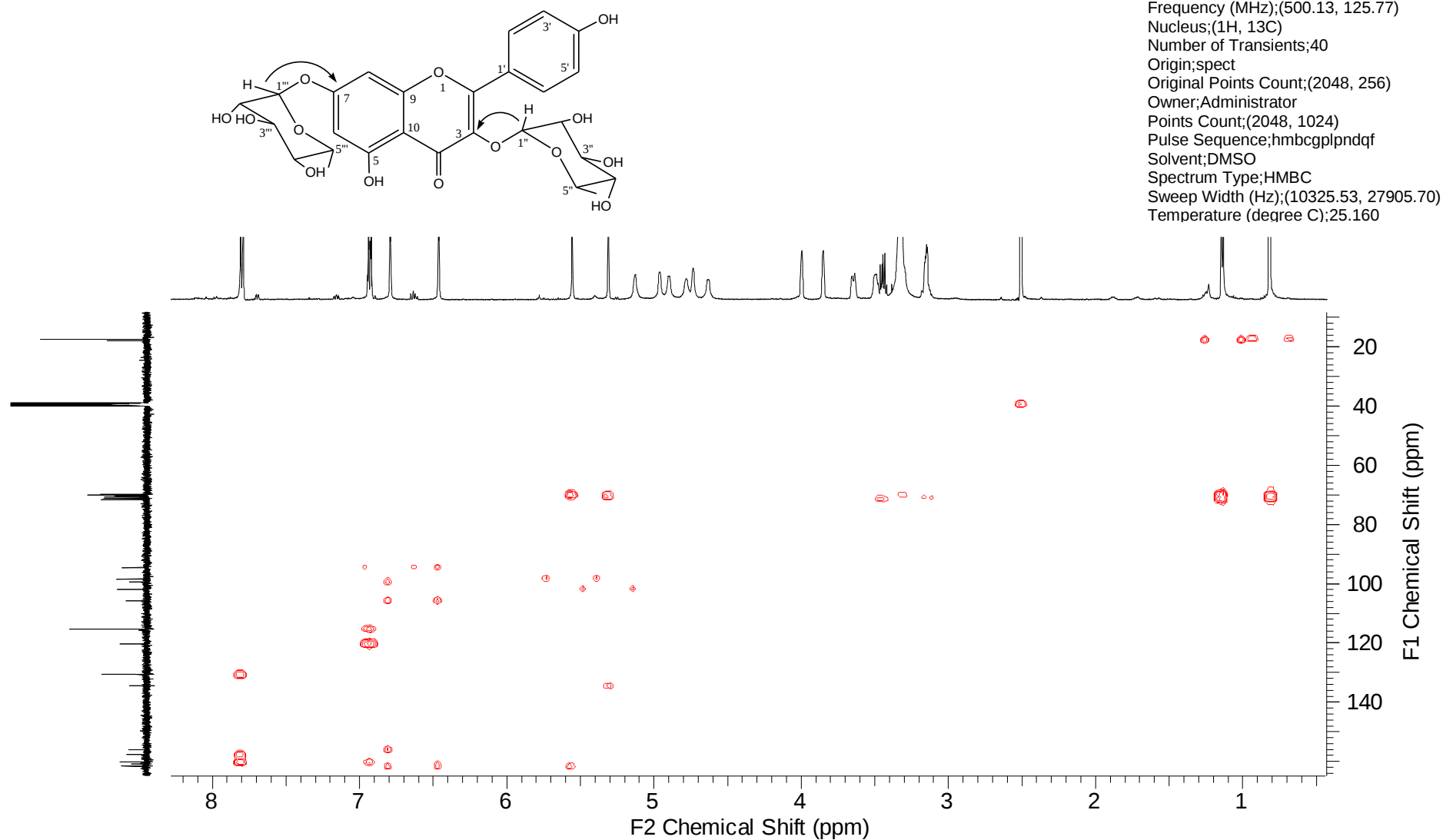


Figura A23- Expansão do mapa de correlação HMBC do composto **CC-1** (500 MHz, DMSO-*d*₆).

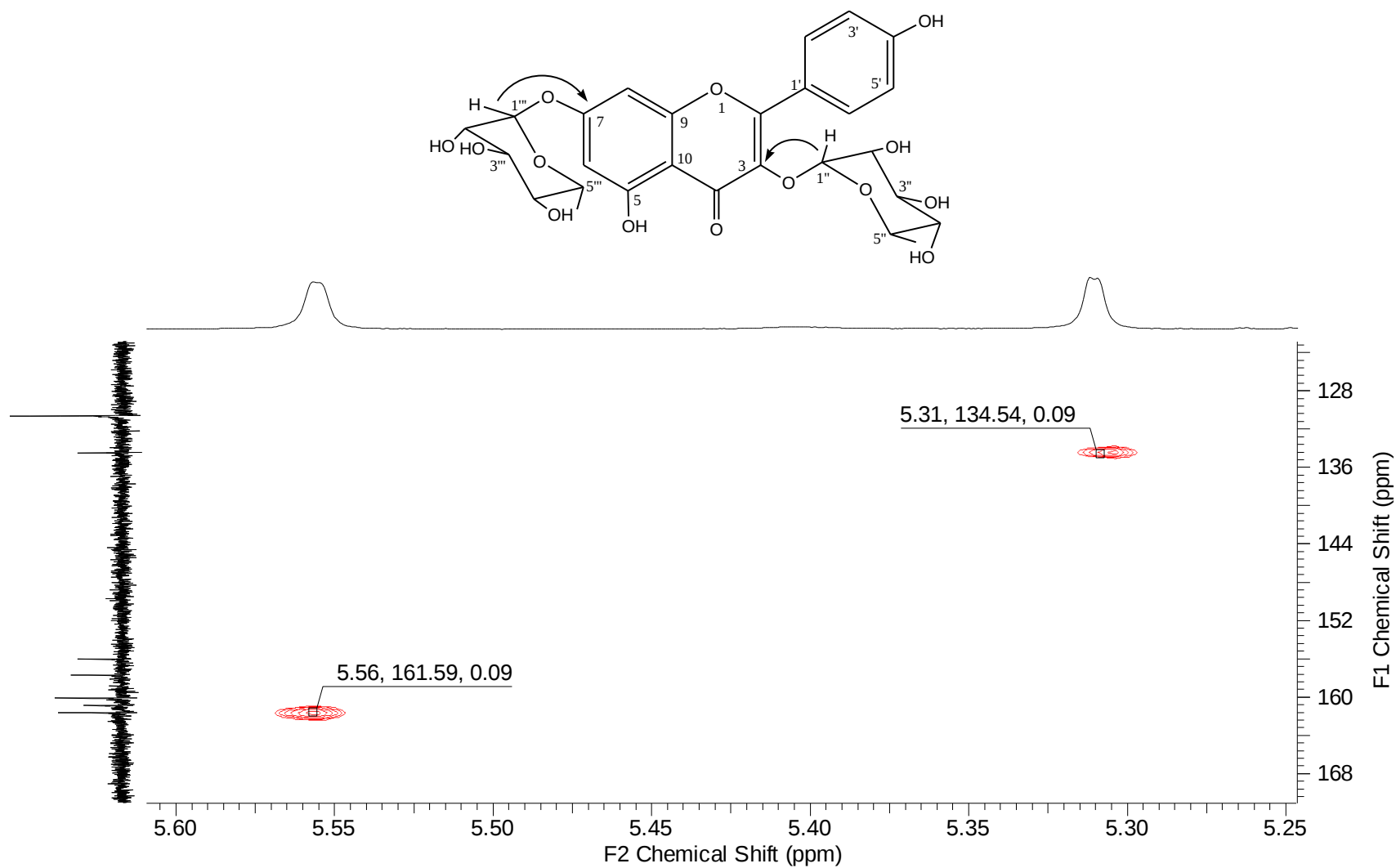


Figura A24- Espectro de RMN de ^1H do composto **CC-2** (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$).

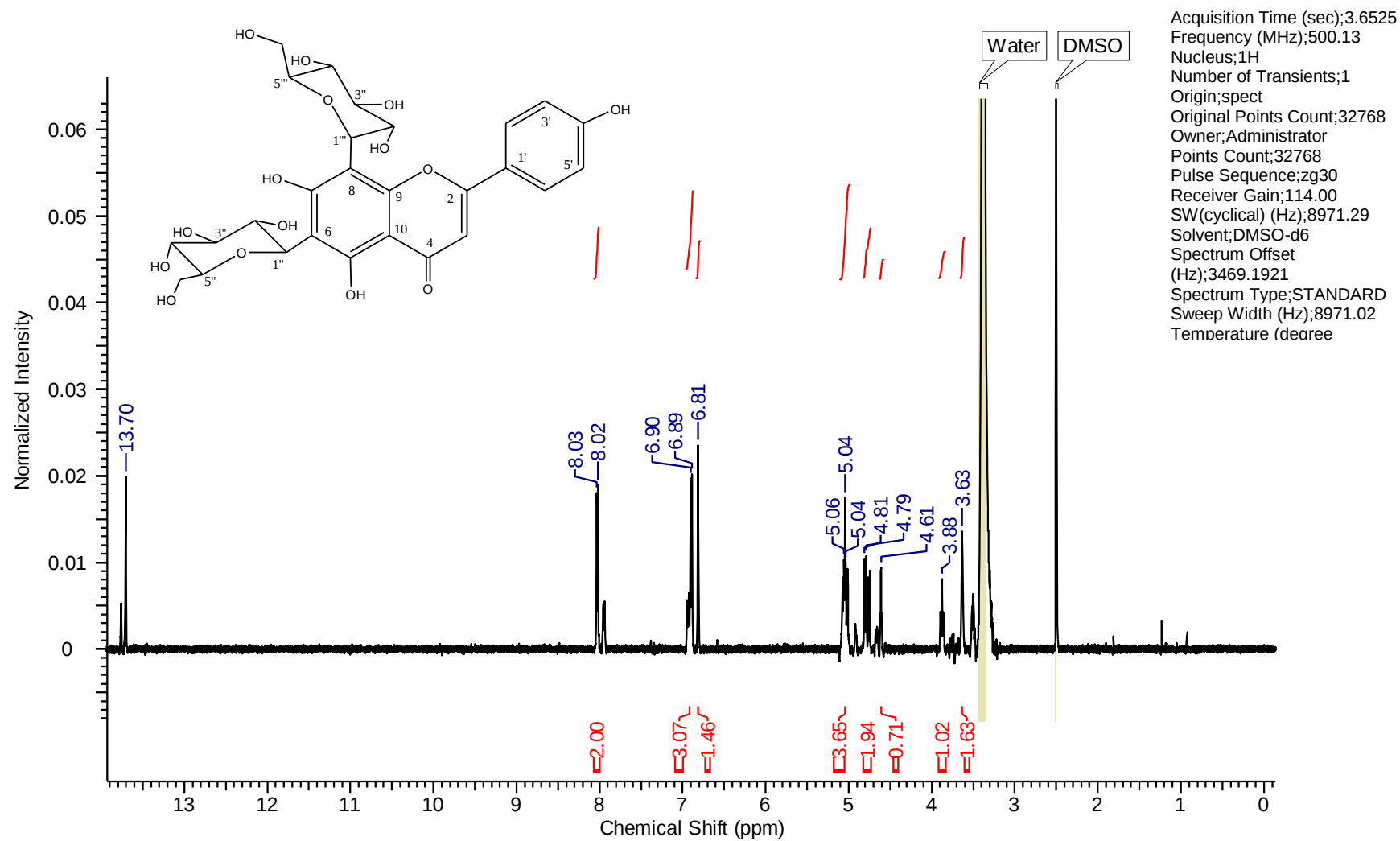


Figura A25- Espectro de RMN de ^{13}C do composto **CC-2** (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).

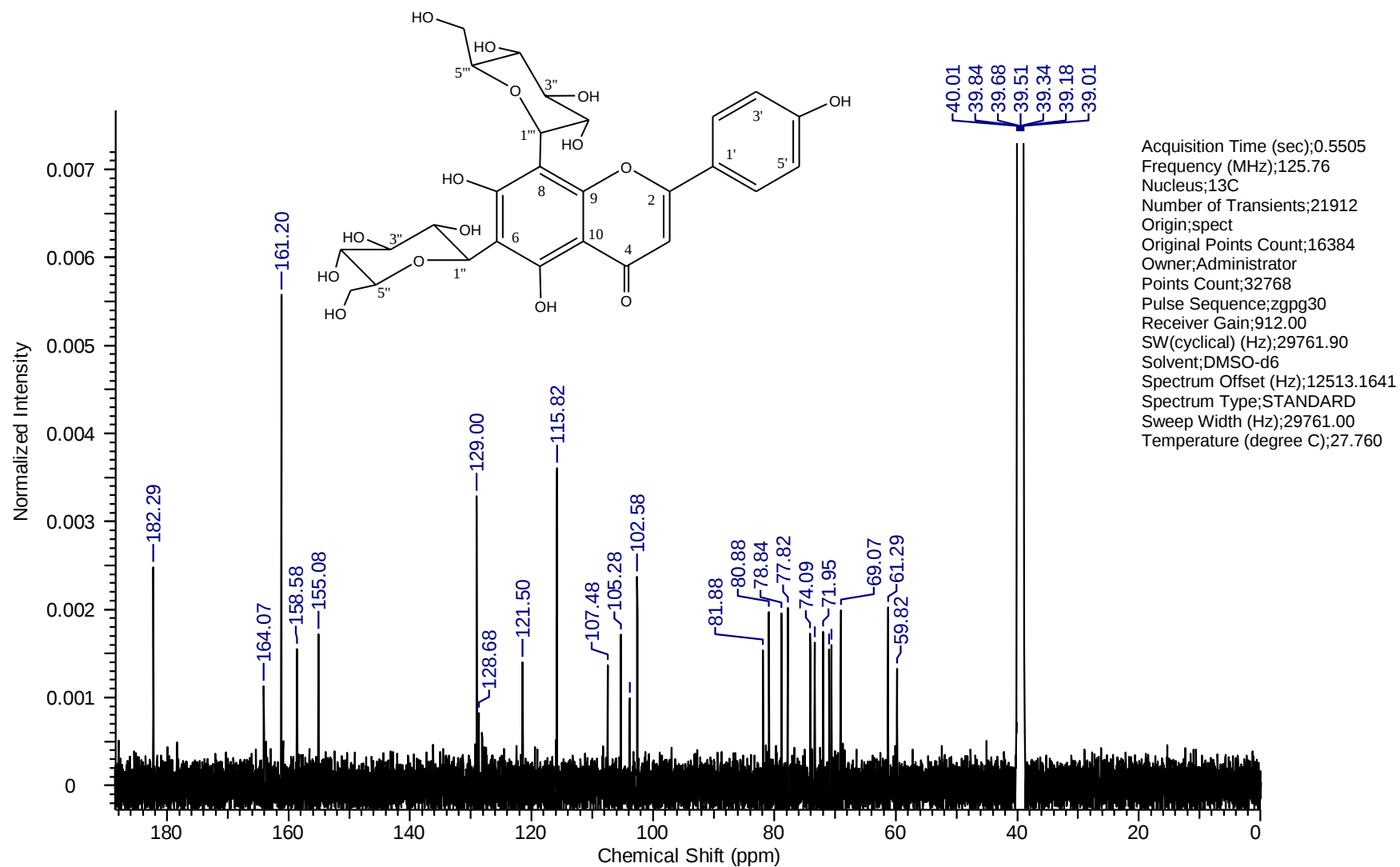


Figura A26- Mapa de correlação HSQC do composto **CC-2** (500 MHz, DMSO- d_6).

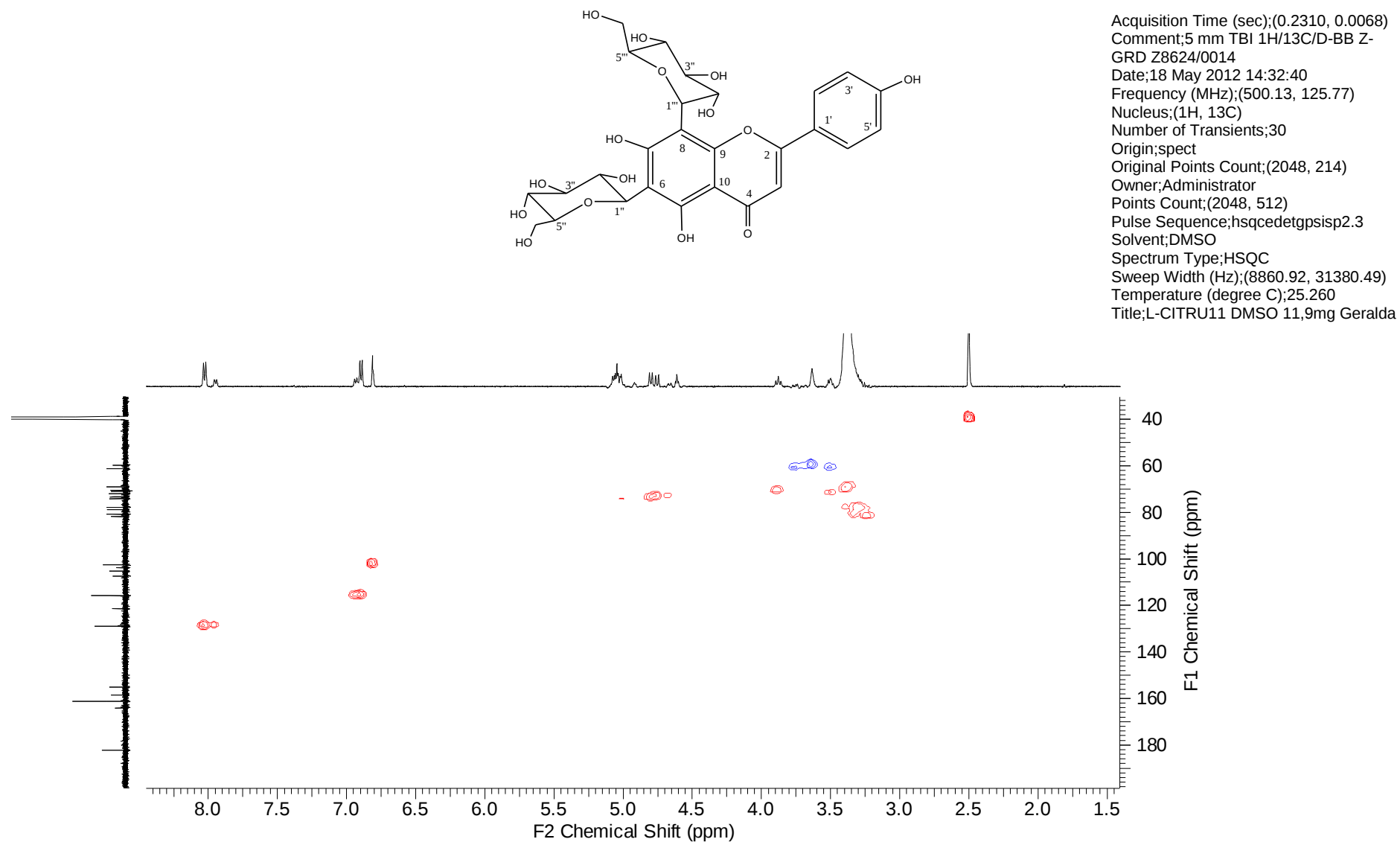


Figura A27- Mapa de correlação HMBC do composto **CC-2** (500 MHz, DMSO- d_6).

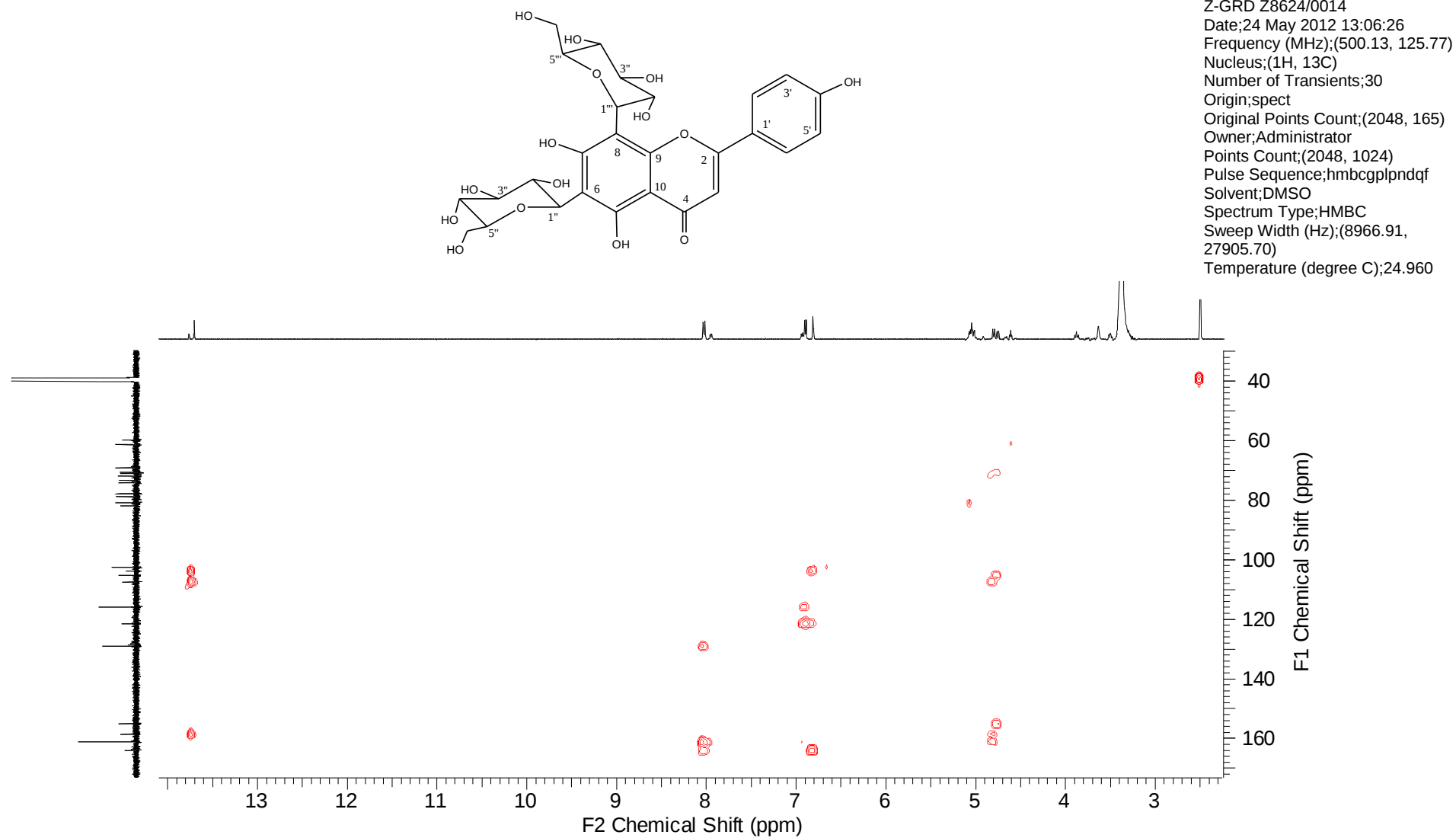


Figura A28- Expansão do mapa de correlação HMBC do composto **CC-2** (500 MHz, DMSO-*d*₆).

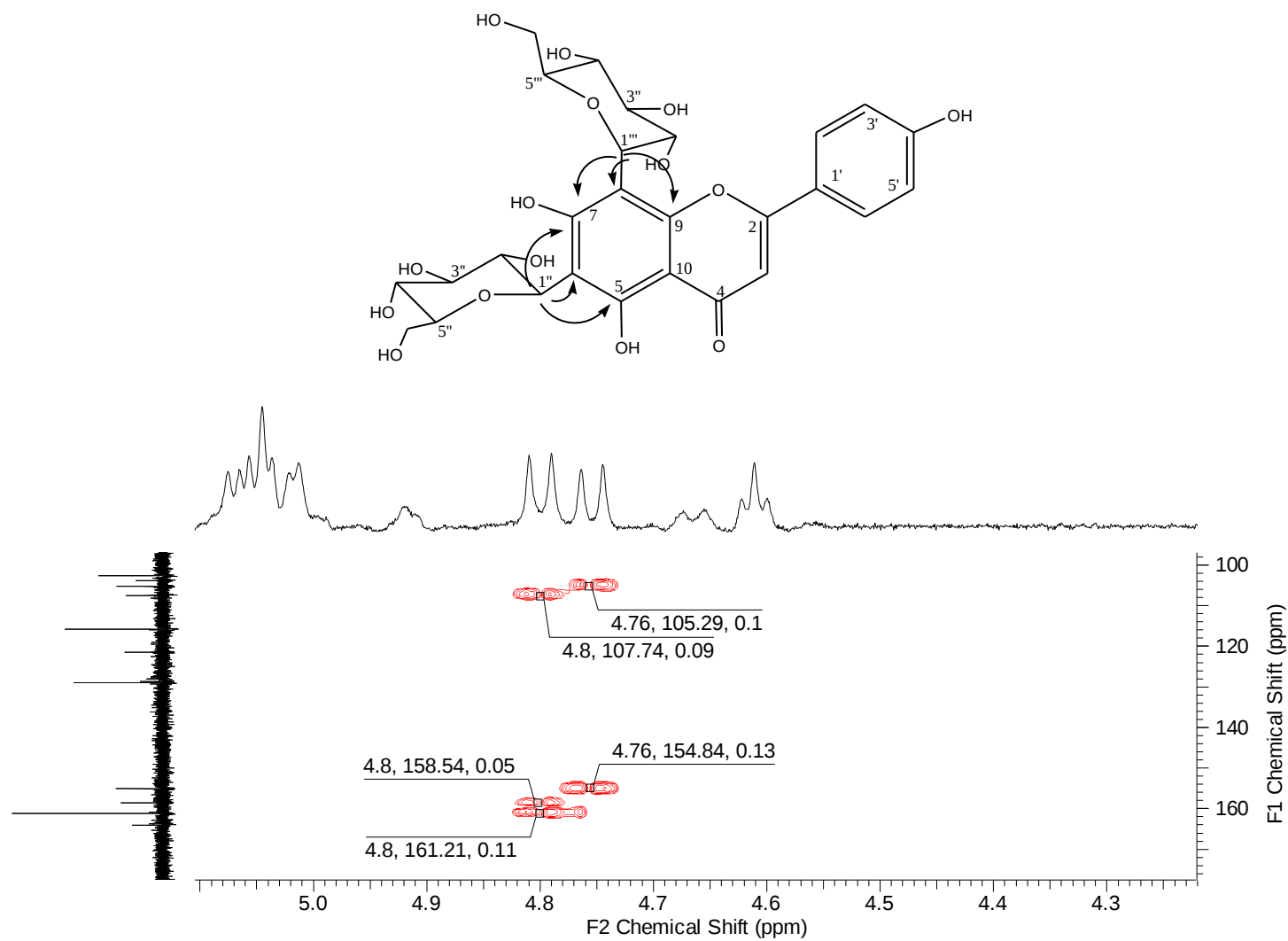


Figura A29- Espectro de RMN de ^1H do composto **CC-3** (500 MHz, CD_3OD).

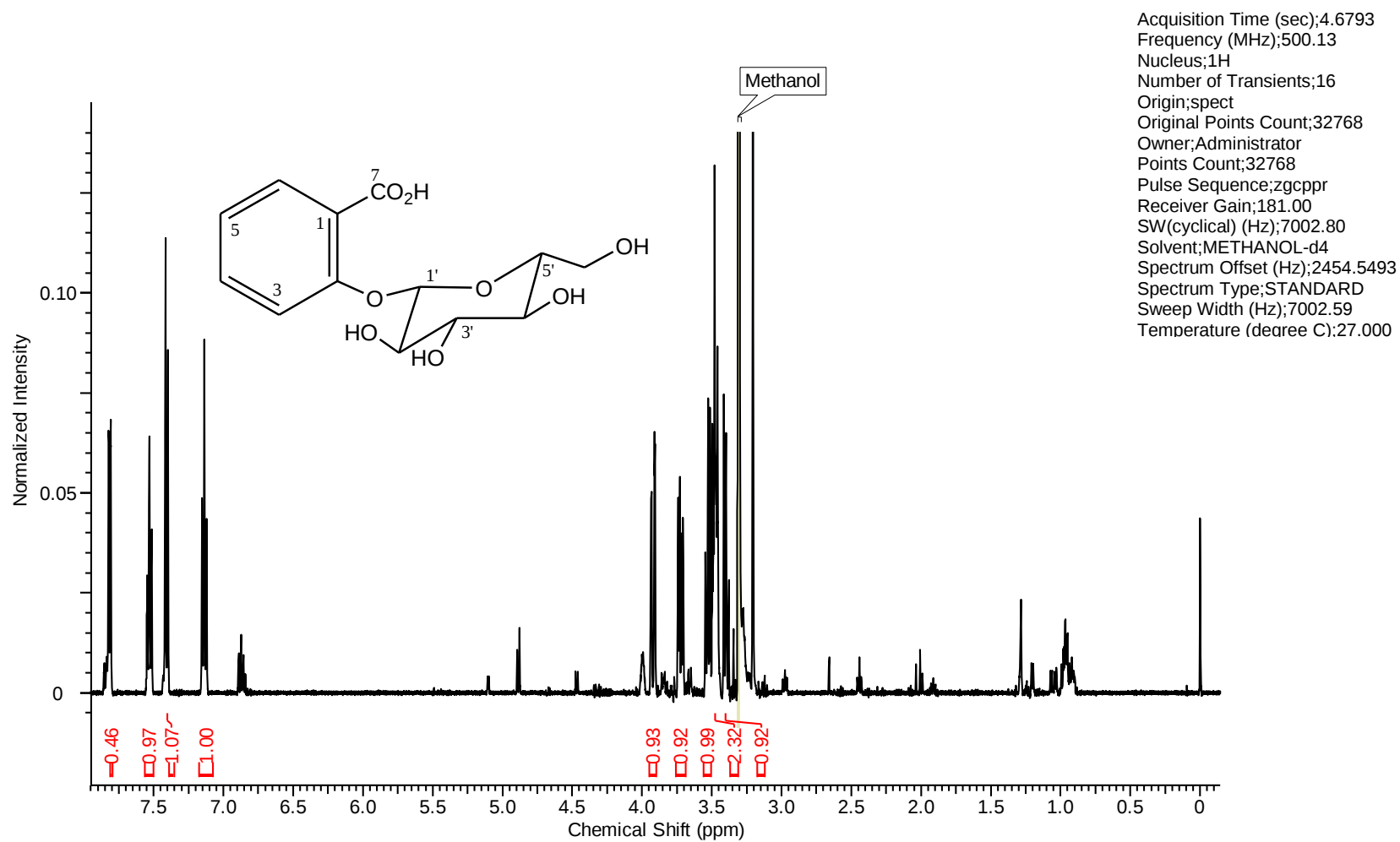


Figura A30- Expansões (a) e (b) do espectro de RMN de ^1H do composto **CC-3** (500 MHz, CD_3OD).

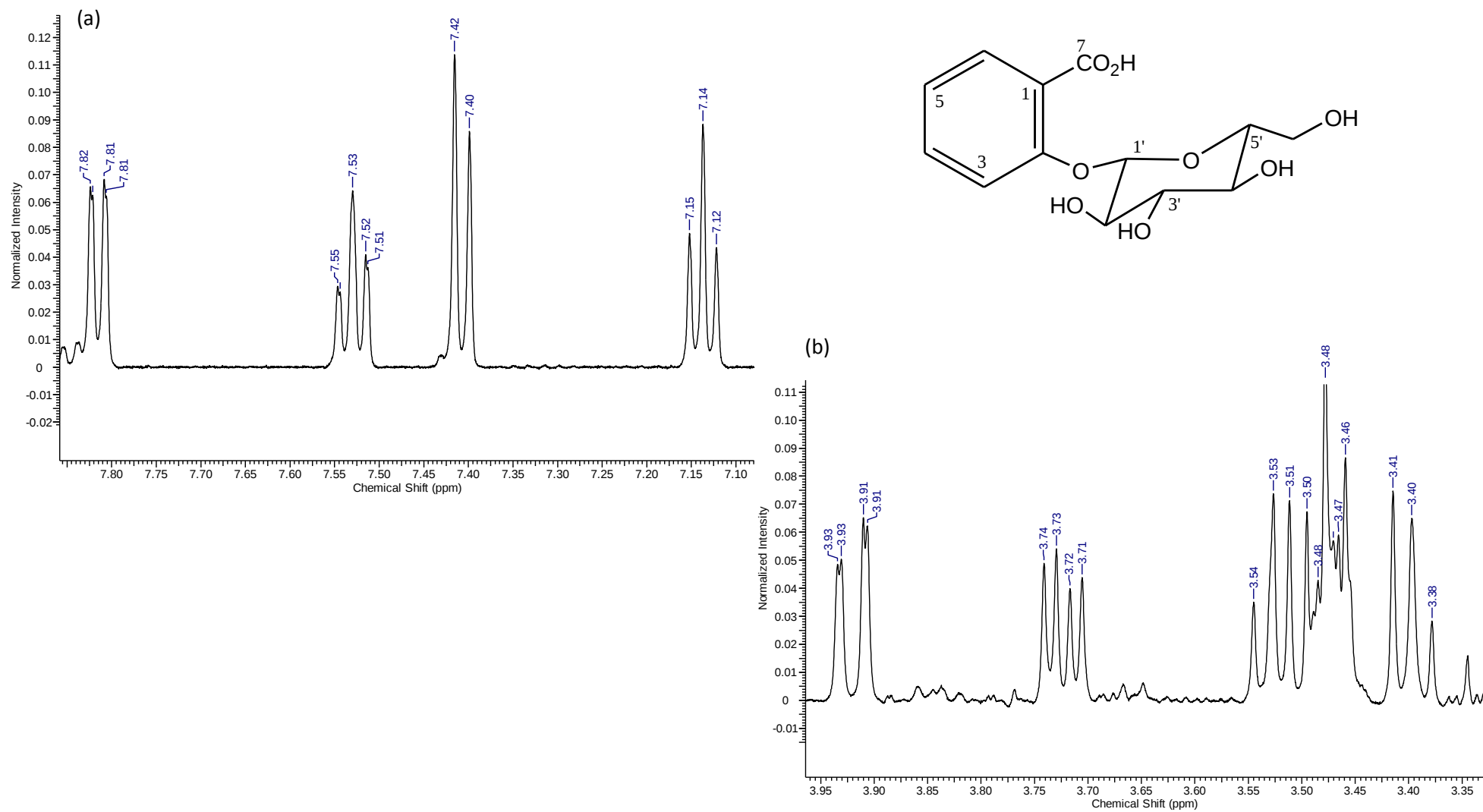


Figura A31- Espectro de RMN de ^{13}C do composto **CC-3** (125 MHz, CD_3OD).

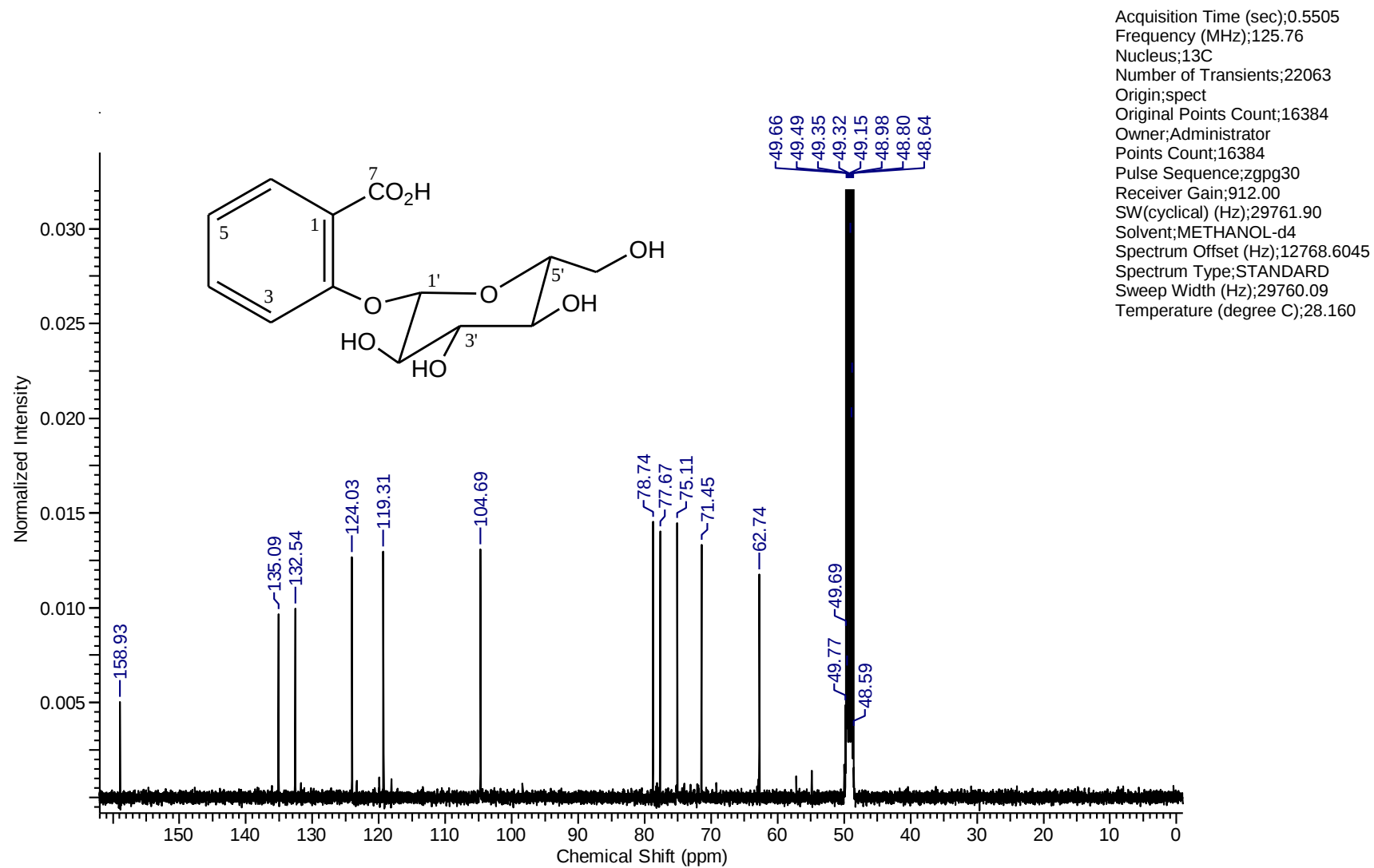
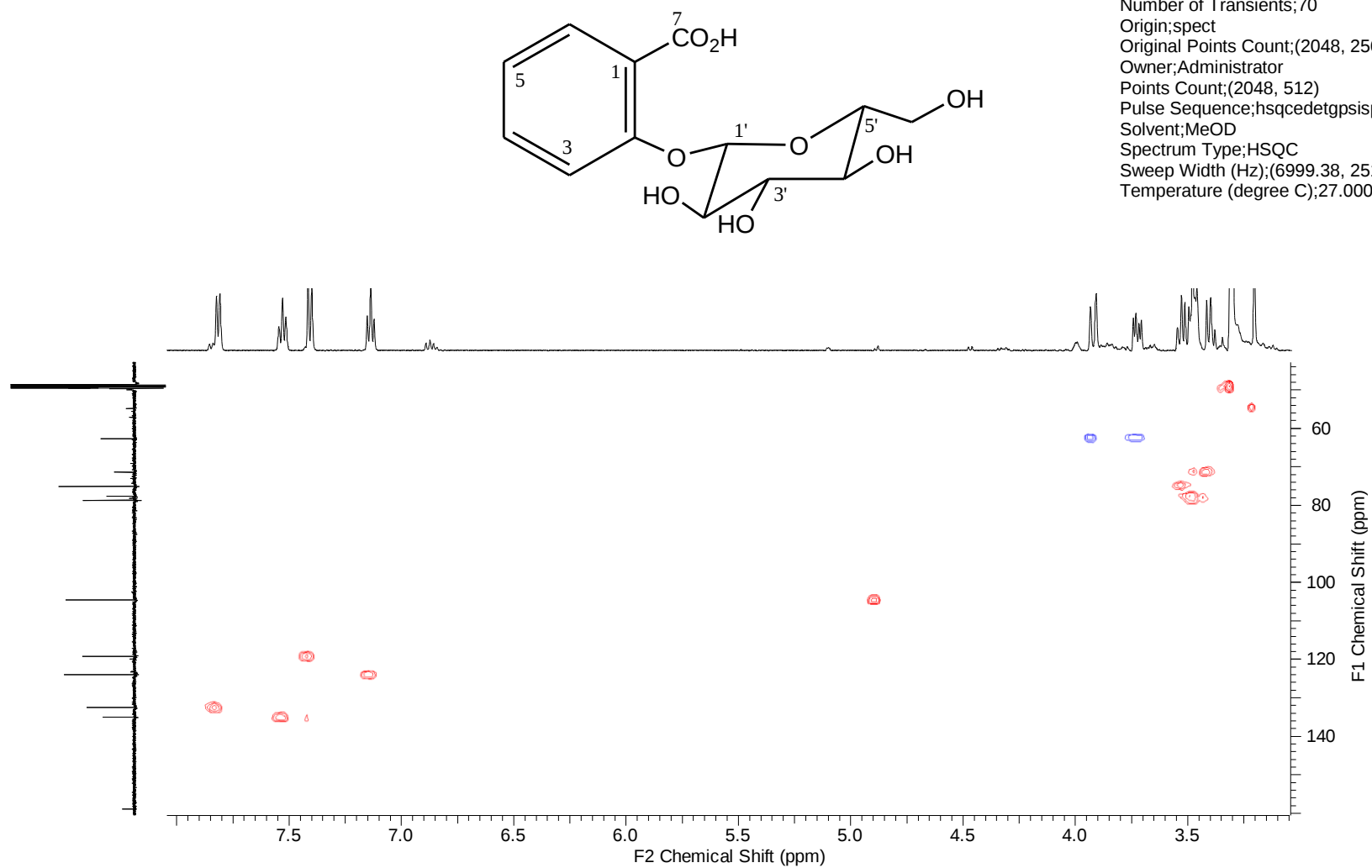


Figura A32- Mapa de correlação HSQC do composto **CC-3** (500 MHz, CD₃OD).



Acquisition Time (sec);(0.2925, 0.0102)
 Comment;5 mm TBI 1H/13C/D-BB Z-GRD
 Z8624/0014
 Frequency (MHz);(500.13, 125.77)
 Nucleus;(1H, 13C)
 Number of Transients;70
 Origin;spect
 Original Points Count;(2048, 256)
 Owner;Administrator
 Points Count;(2048, 512)
 Pulse Sequence;hsqcedetgpsisp2.3
 Solvent;MeOD
 Spectrum Type;HSQC
 Sweep Width (Hz);(6999.38, 25104.39)
 Temperature (degree C);27.000

Figura A33- Mapa de correlação HMBC do composto **CC-3** (500 MHz, CD₃OD).

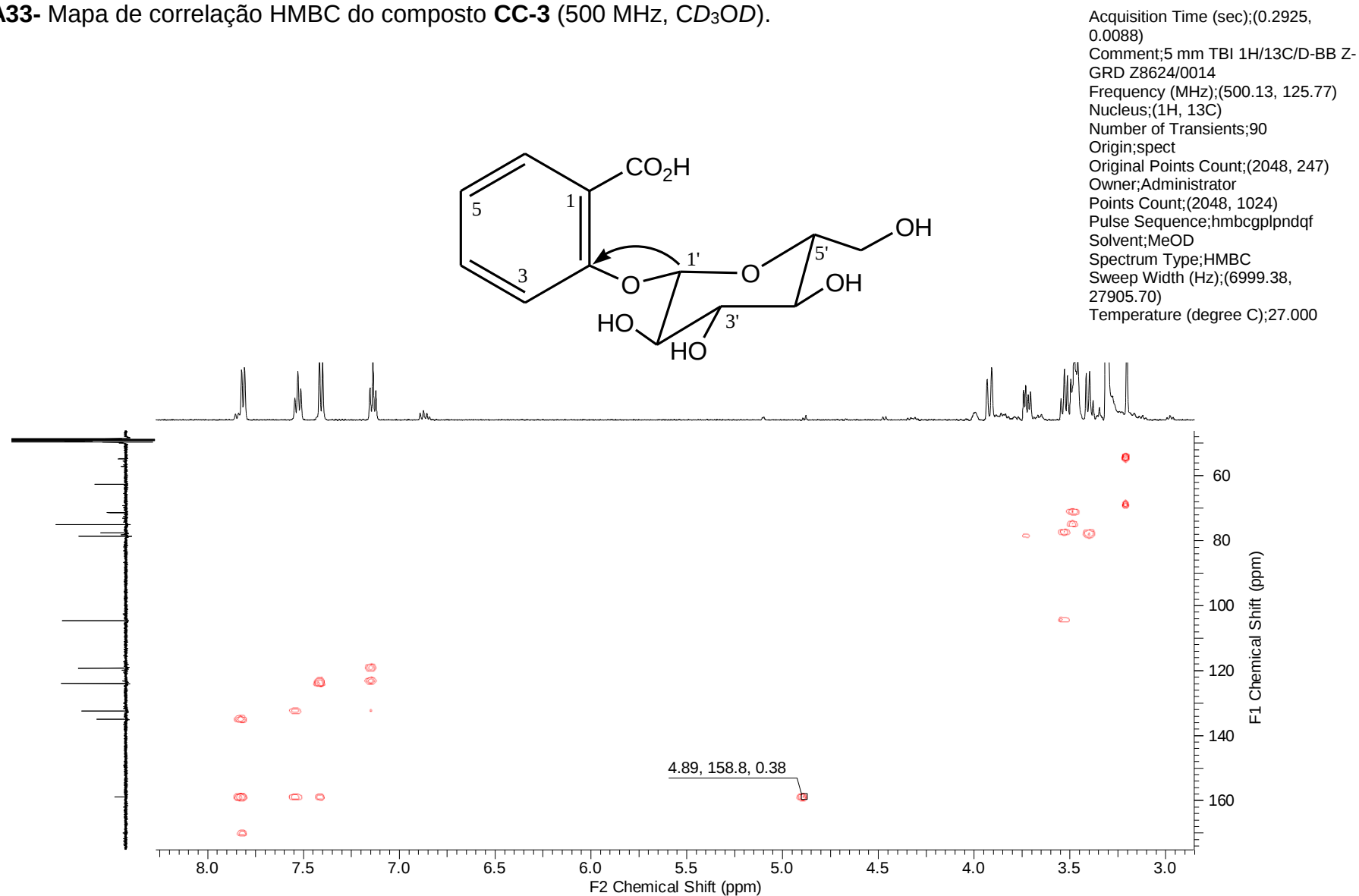


Figura A34- Expansão do mapa de correlação HMBC do composto **CC-3** (500 MHz, CD_3OD).

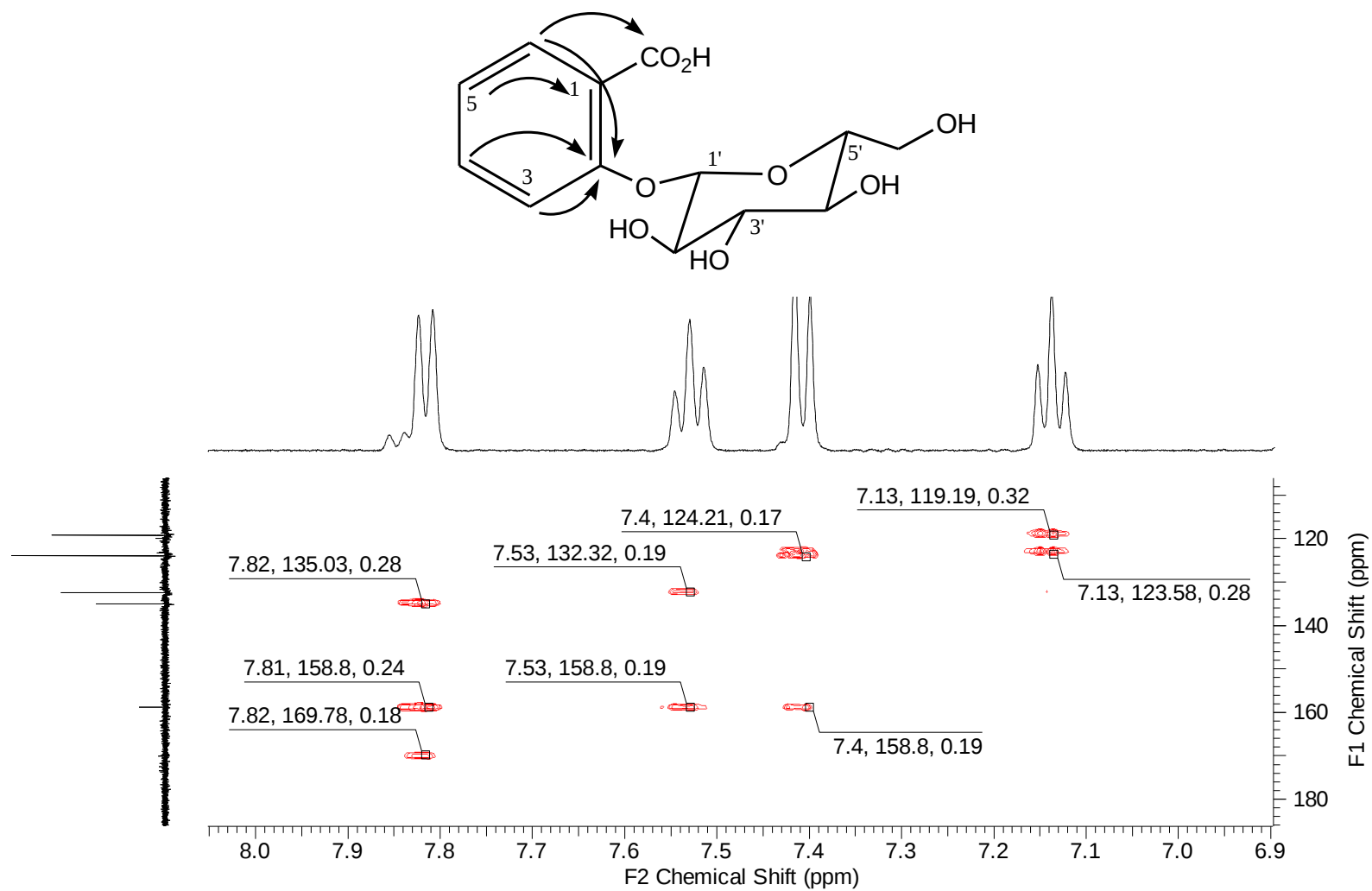


Figura A35- Mapa de correlação COSY do composto **CC-3** (500 MHz, CD_3OD).

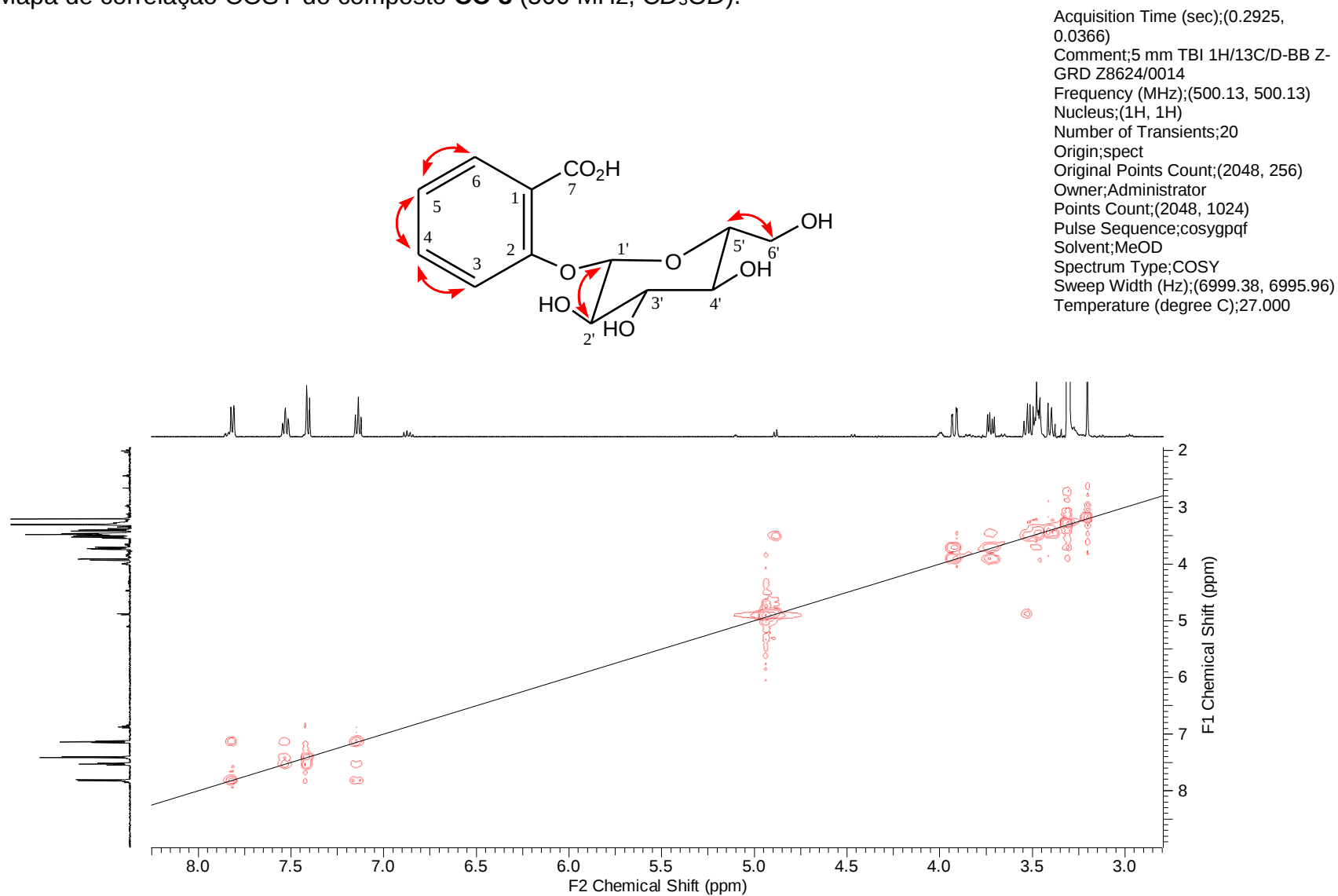


Figura A36- Espectro de RMN de ^1H do composto **CC-4** (500 MHz, CD_3OD).

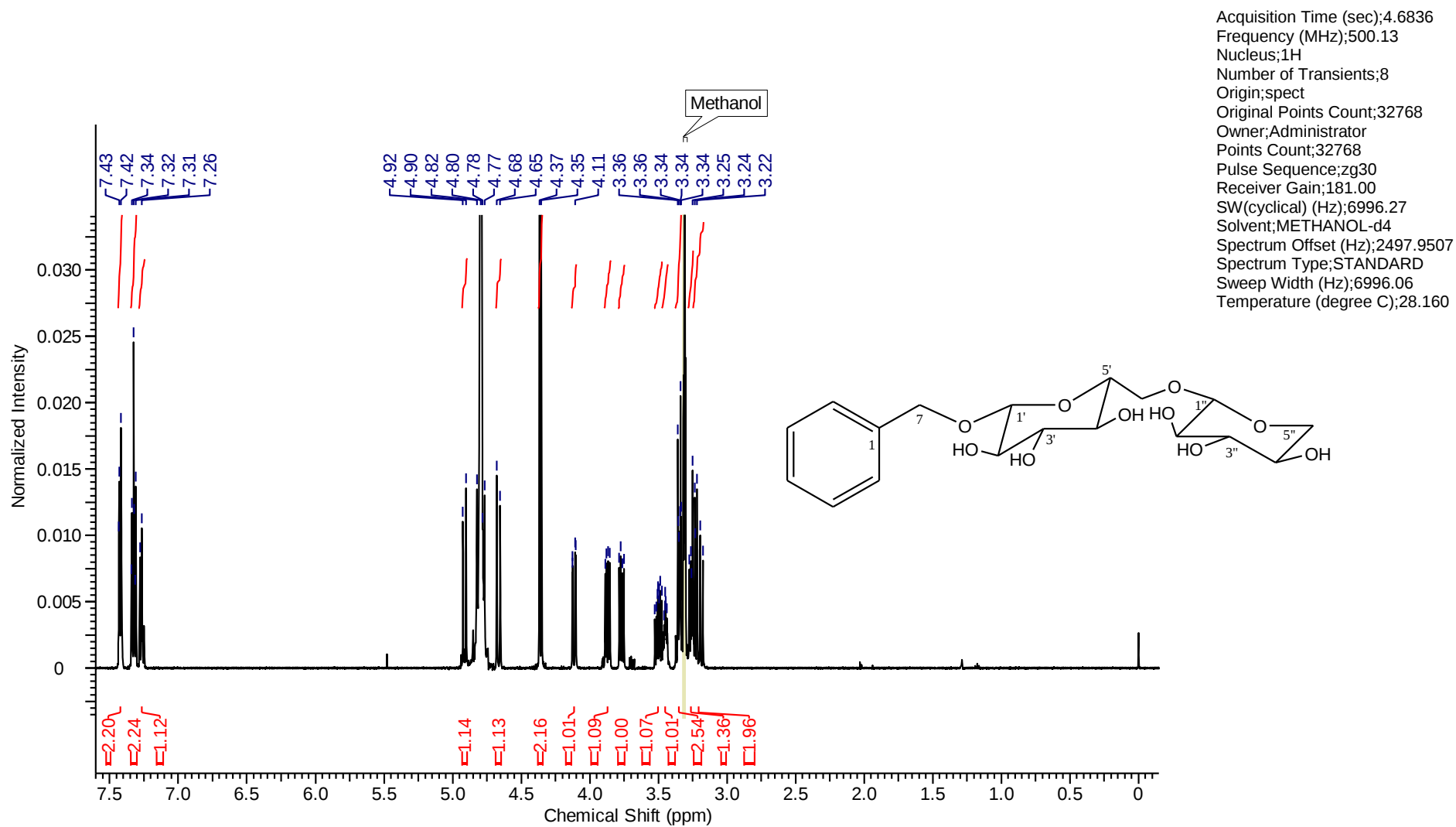


Figura A37- Expansão do espectro de RMN de ^1H do composto **CC-4** (500 MHz, CD_3OD).

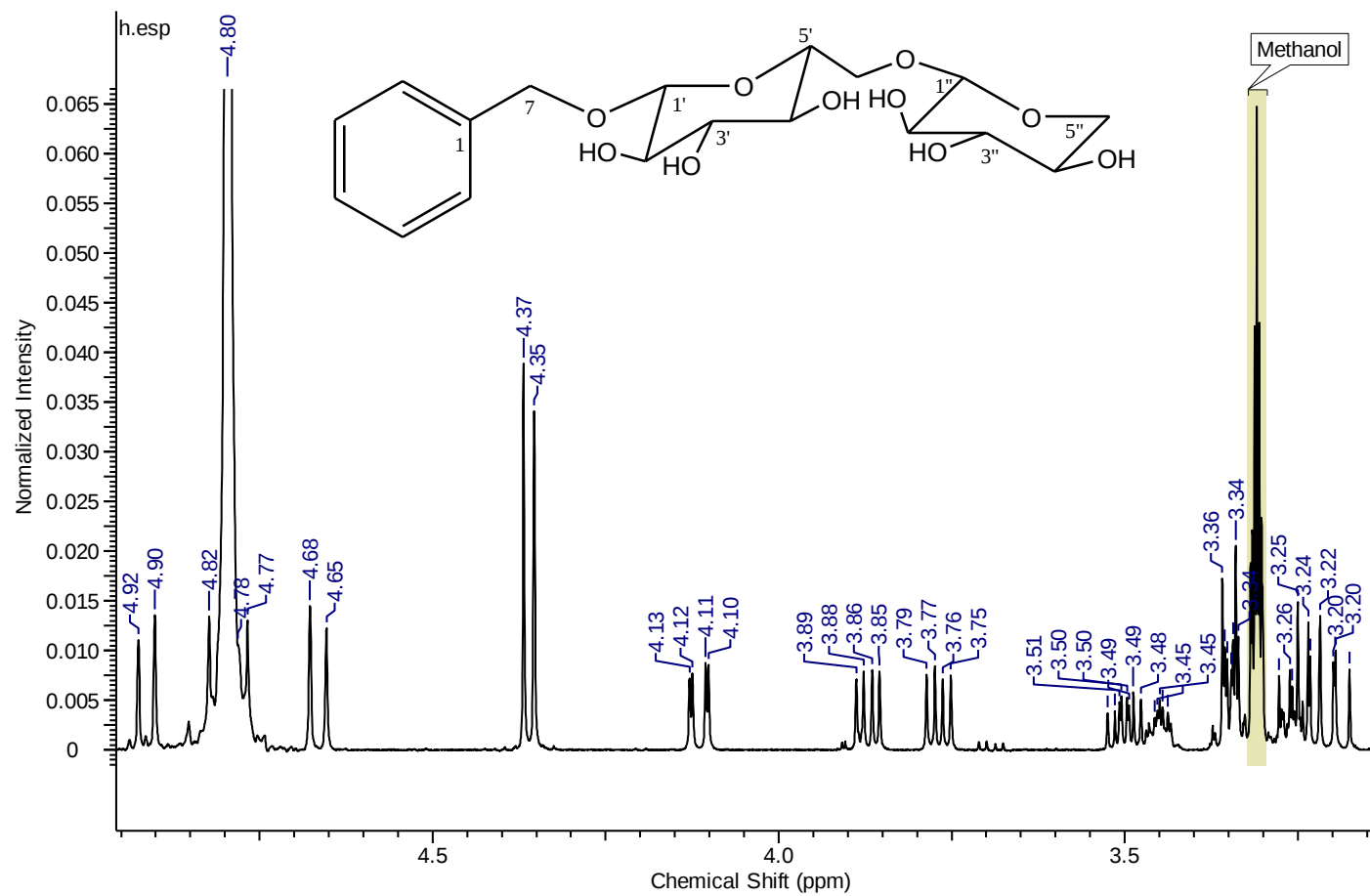


Figura A38- Espectro de RMN de ^{13}C de **CC-4** (125 MHz, CD_3OD).

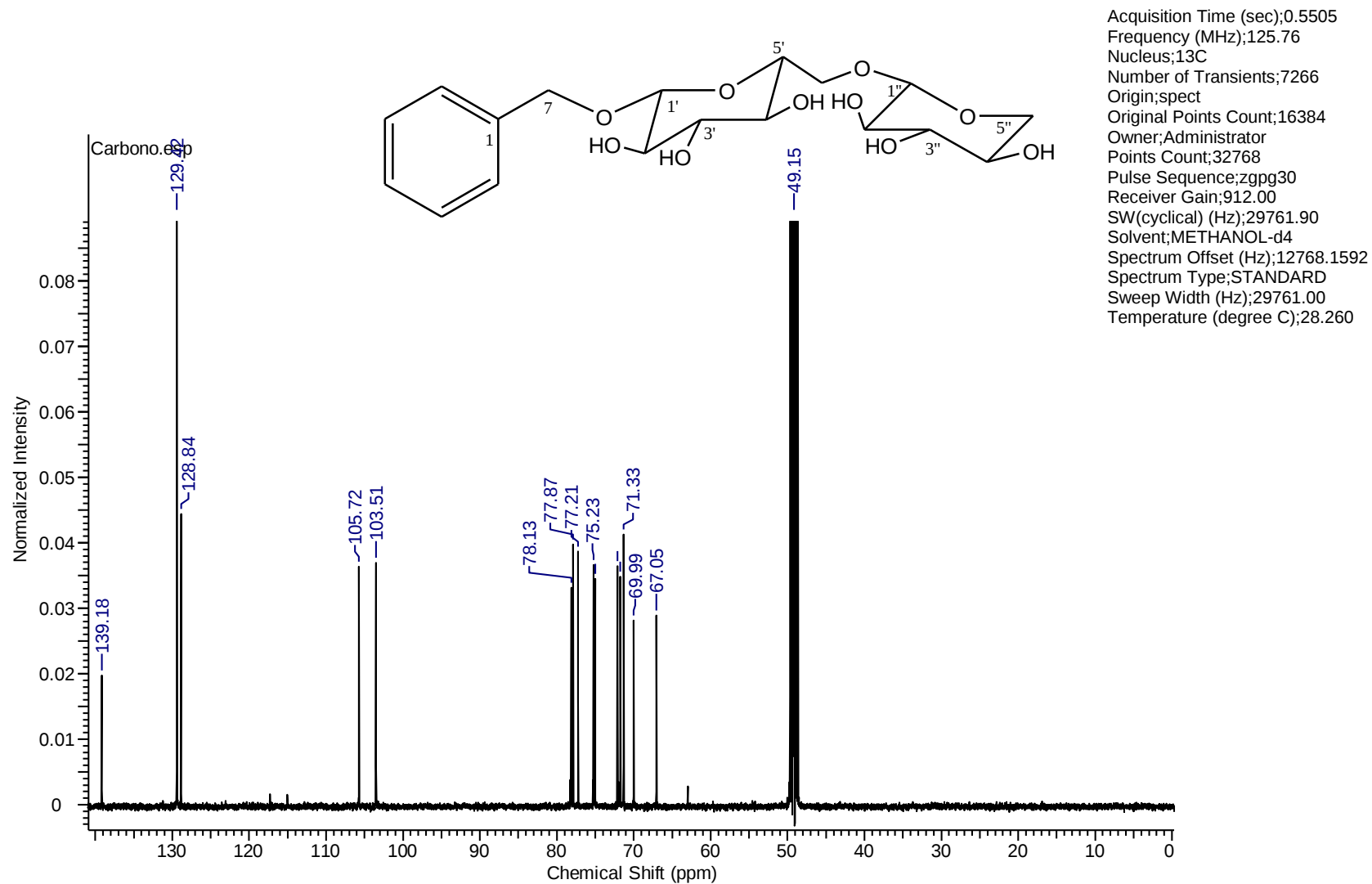
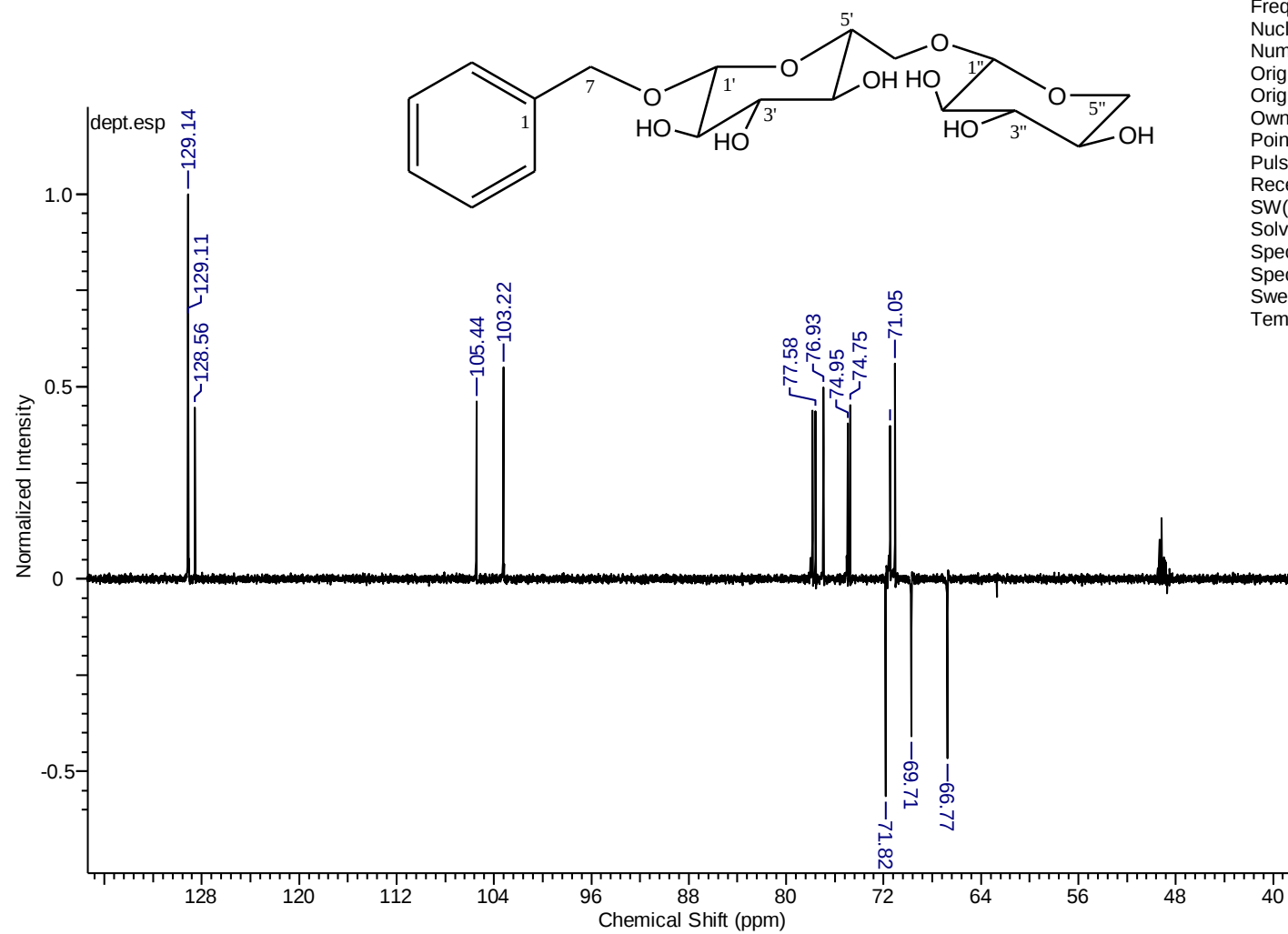


Figura A39- Espectro DEPT - 135 do composto **CC-4** (125 MHz, CD₃OD).



Acquisition Time (sec);1.1010
 Comment;L-FR5-7CITRU10 MeOD
 19,4mg GERALDA
 Frequency (MHz);125.76
 Nucleus;13C
 Number of Transients;912
 Origin;spect
 Original Points Count;32768
 Owner;Administrator
 Points Count;32768
 Pulse Sequence;dept135
 Receiver Gain;912.00
 SW(cyclical) (Hz);29761.90
 Solvent;METHANOL-d4
 Spectrum Offset (Hz);12732.7383
 Spectrum Type;DEPT135
 Sweep Width (Hz);29761.00
 Temperature (degree C);28.060

Figura A40- Mapa de correlação HSQC de **CC-4** (500 MHz, CD_3OD).

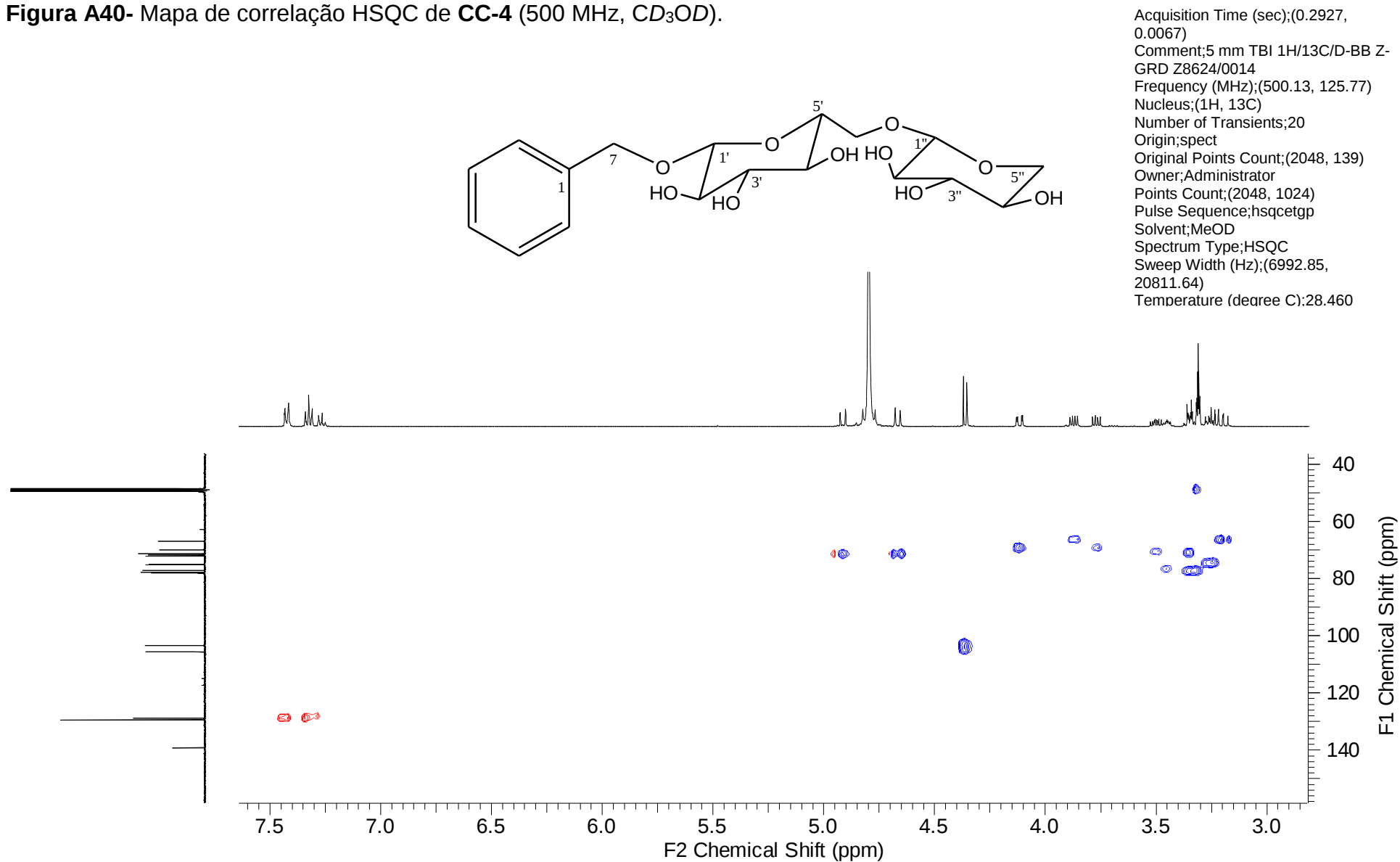


Figura A41- Mapa de correlação HMBC do composto **CC-4** (500 MHz, CD₃OD).

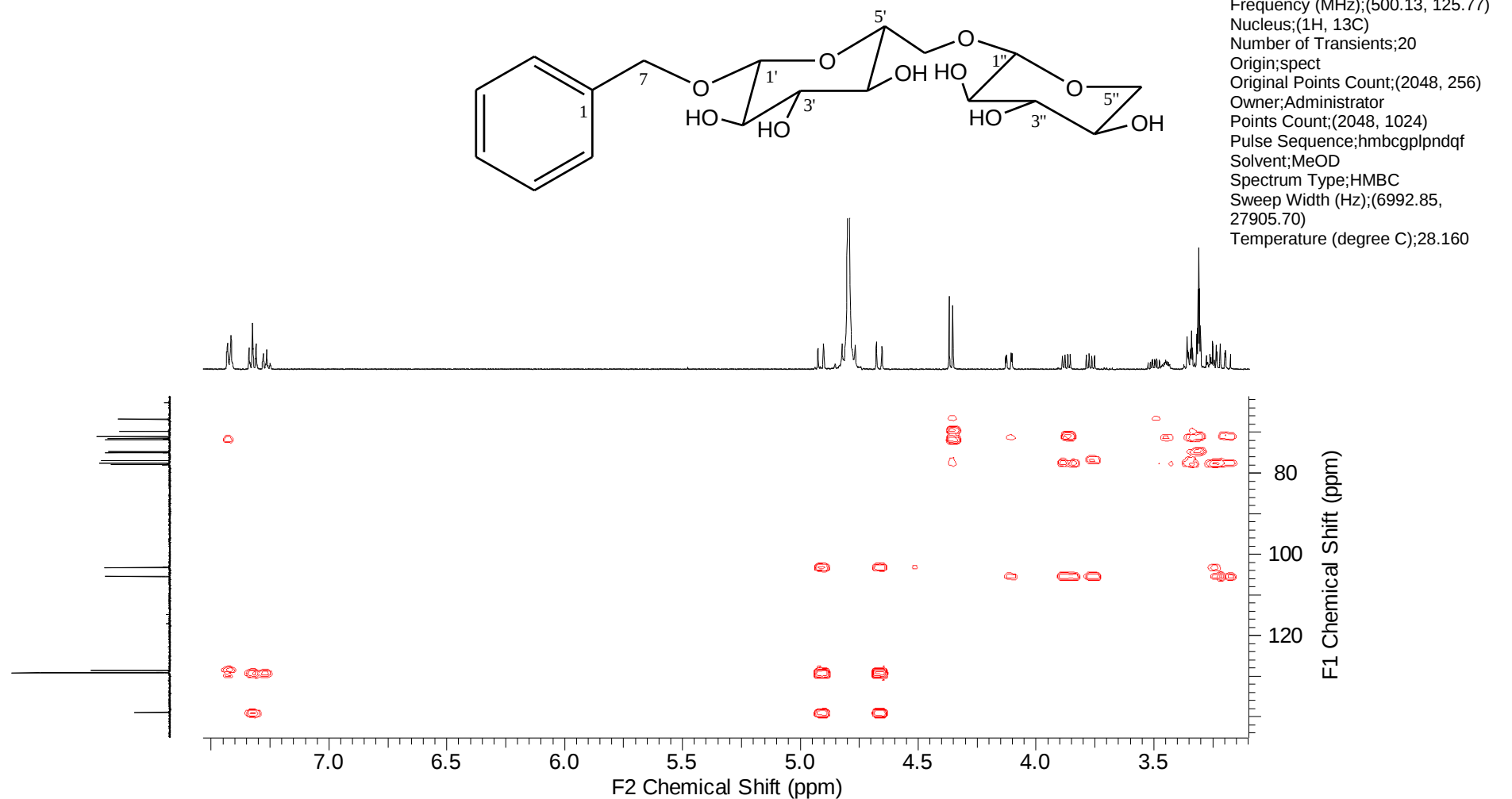


Figura A42- Expansão do mapa de correlação HMBC do composto **CC-4** (500 MHz, CD_3OD).

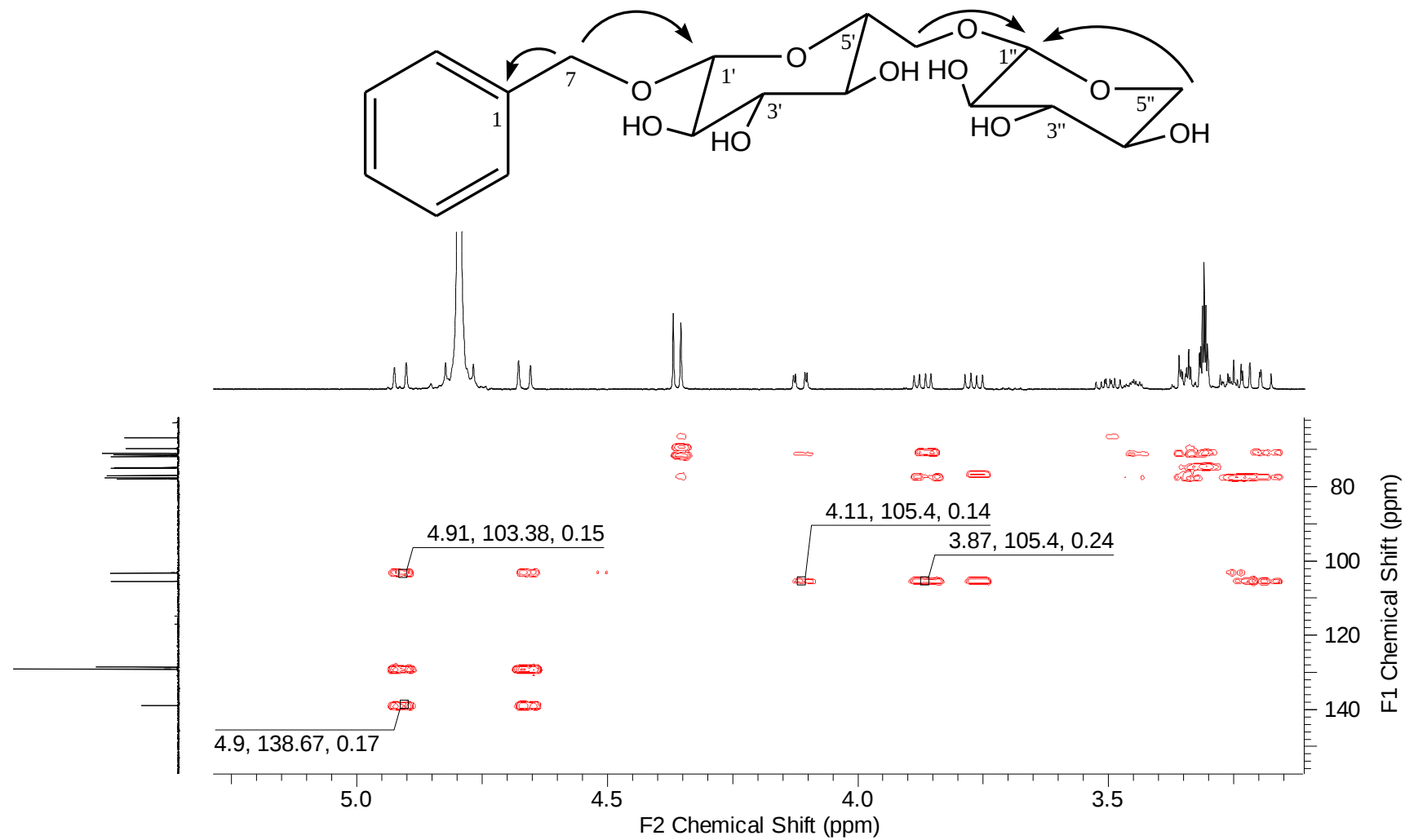
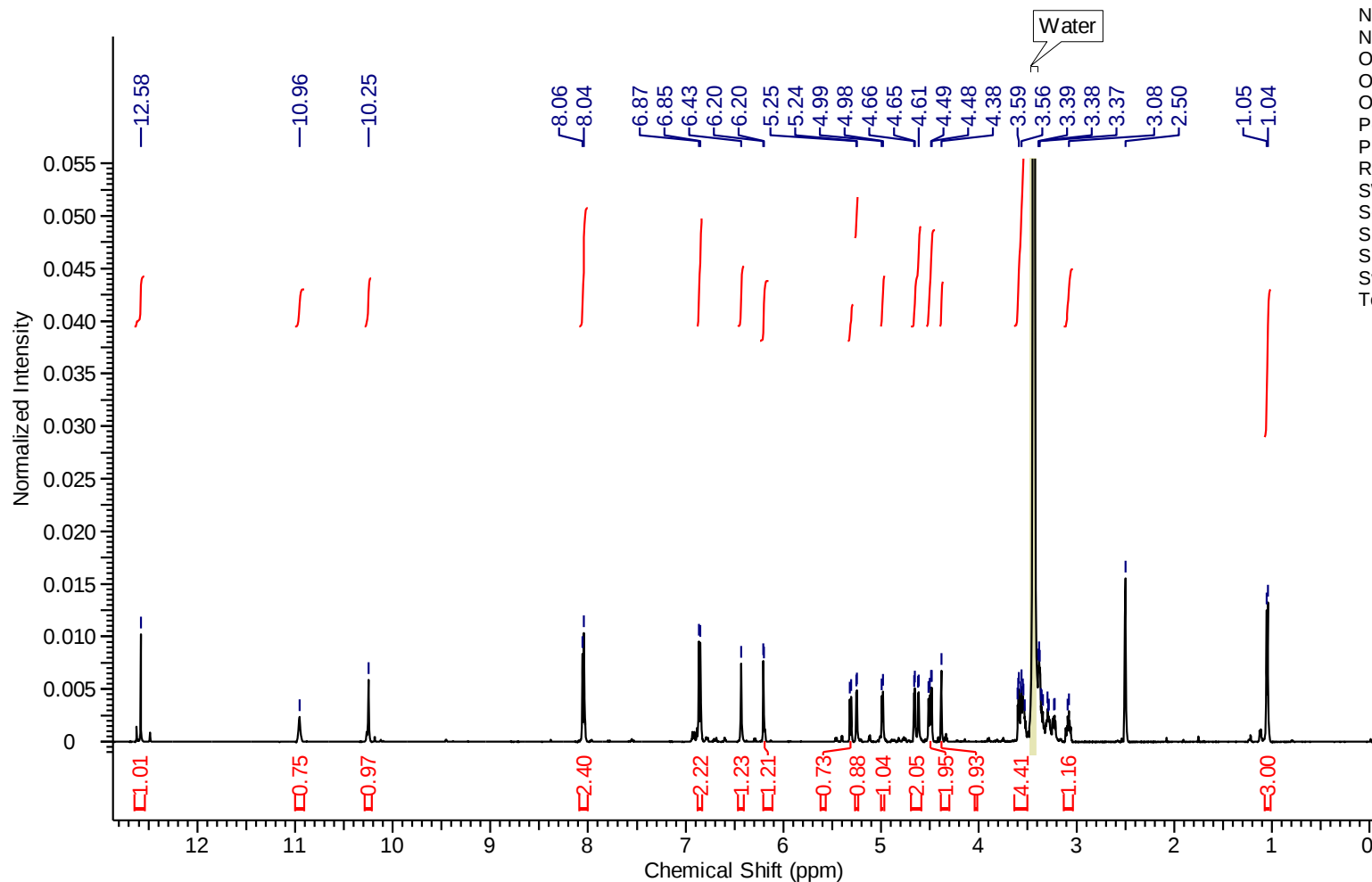


Figura A43- Espectro de RMN de ^1H do composto **PT-2** (500 MHz, DMSO-d_6).



Acquisition Time (sec);4.2598
 Comment;L-FRACOETF12 DMSO
 11,7mg Geralda Sem giro, sem
 controle de temperatura
 Frequency (MHz);500.13
 Nucleus; ^1H
 Number of Transients;16
 Origin;spect
 Original Points Count;32768
 Owner;Administrator
 Points Count;65536
 Pulse Sequence;zgcppr
 Receiver Gain;80.60
 SW(cyclical) (Hz);7692.31
 Solvent;DMSO- d_6
 Spectrum Offset (Hz);2794.9253
 Spectrum Type;STANDARD
 Sweep Width (Hz);7692.19
 Temperature (degree C);19.160

Figura A44- Espectro de RMN de ^1H (expansão) do composto **PT-2** (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).

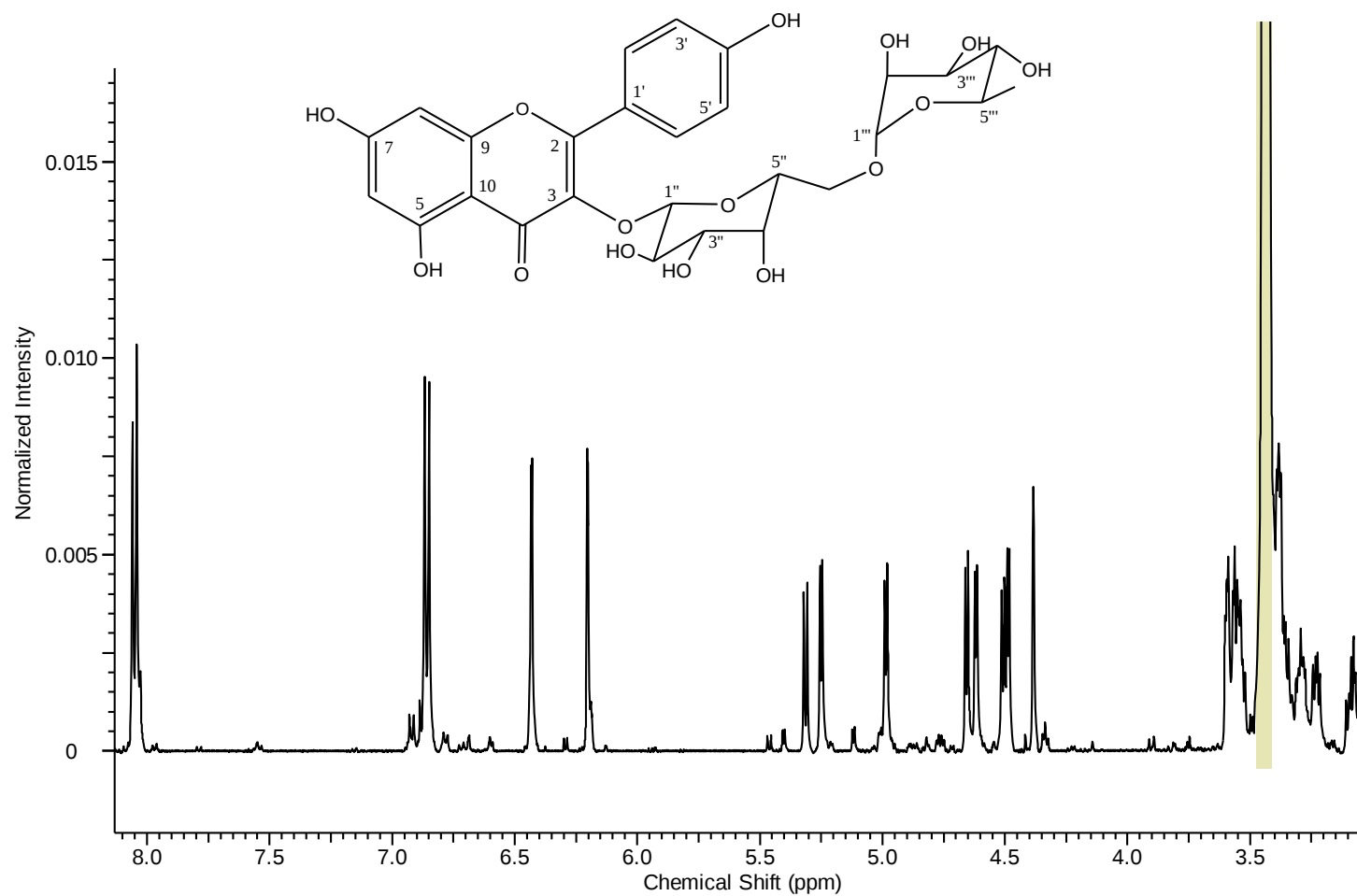


Figura A45- Espectro de RMN de ^{13}C do composto **PT-2** (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).

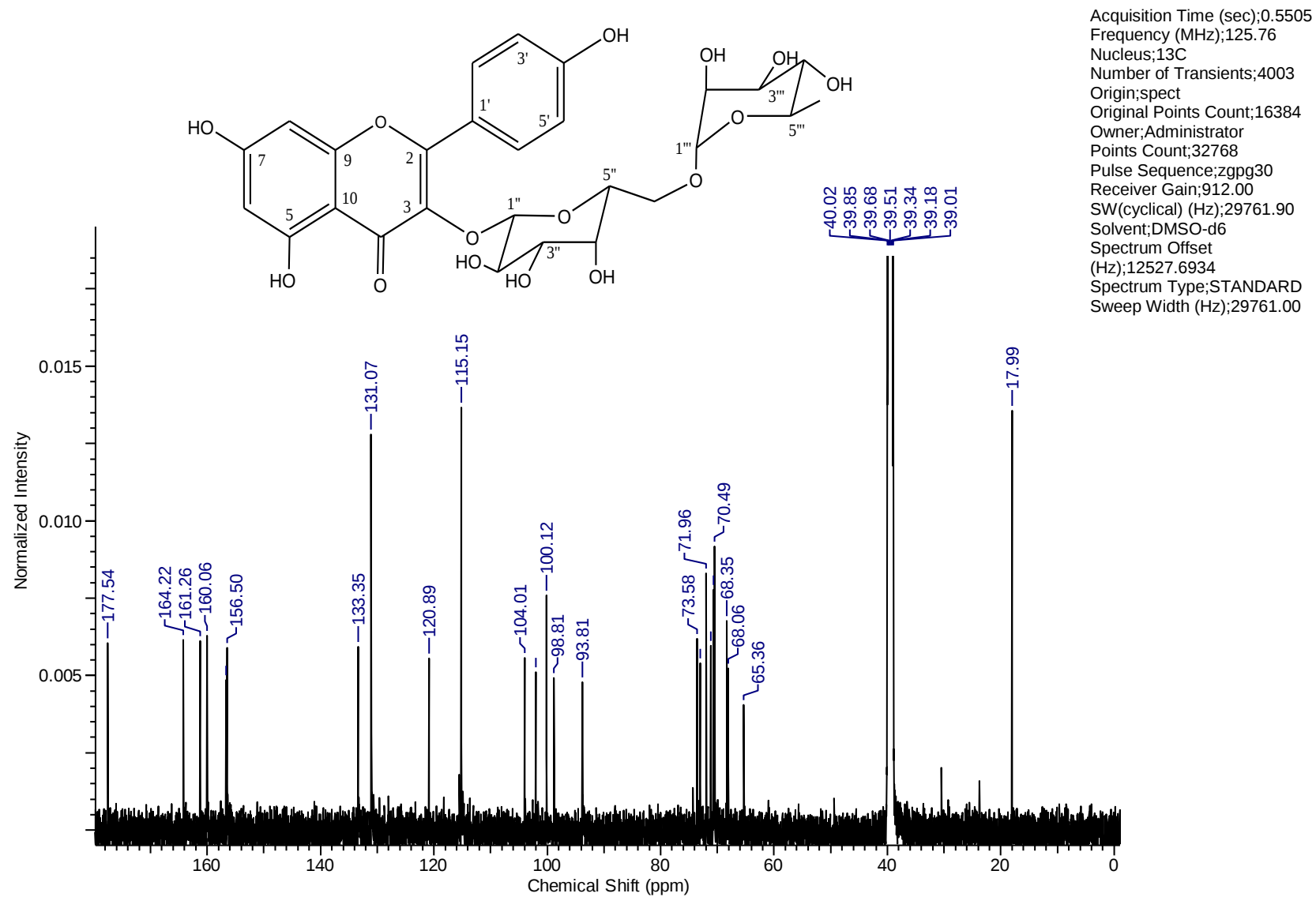


Figura A46- Expansão do espectro de RMN de ^{13}C do composto **PT-2** (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).

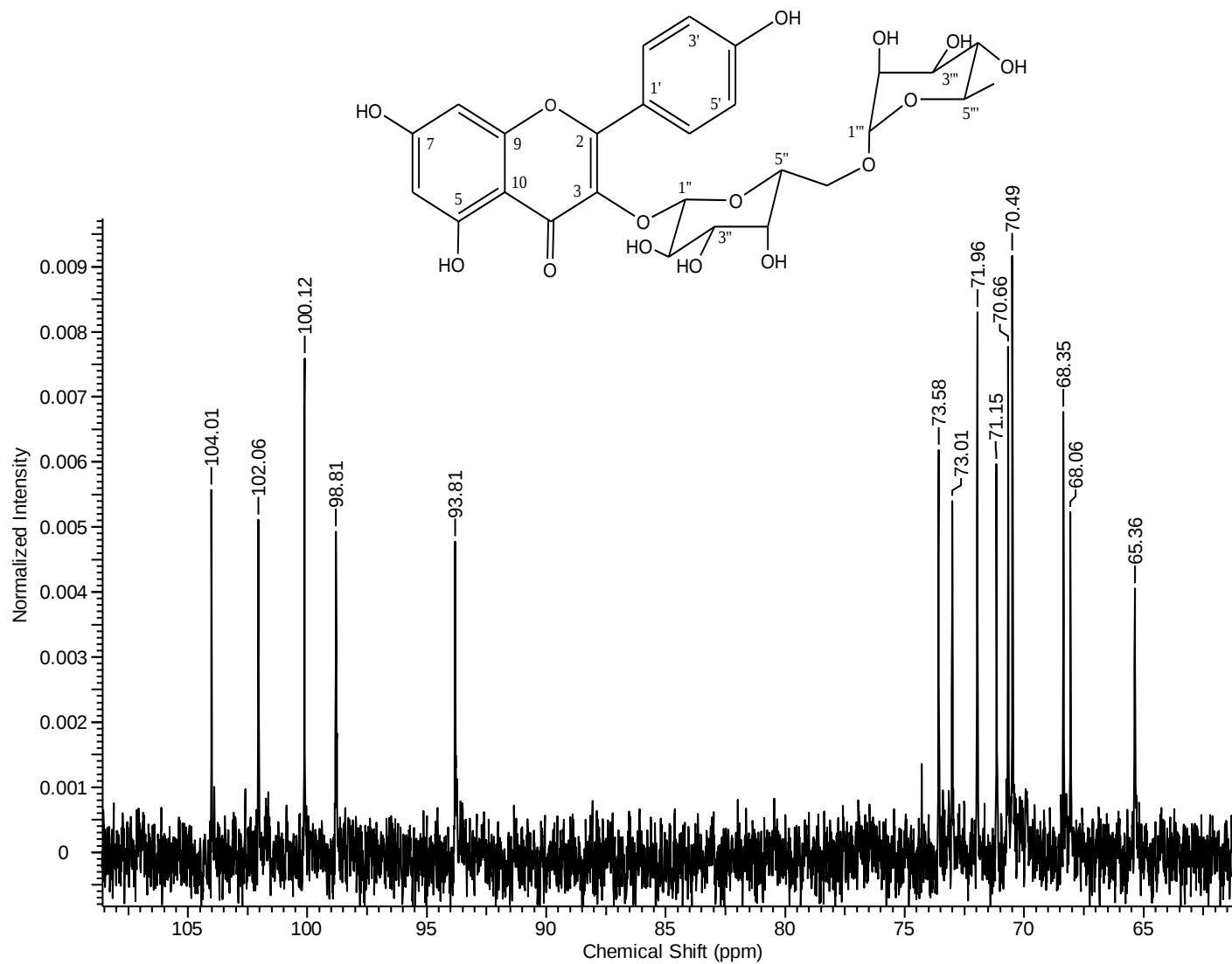


Figura A47- Mapa de correlação HSQC do composto **PT-2** (500 MHz, DMSO-*d*₆).

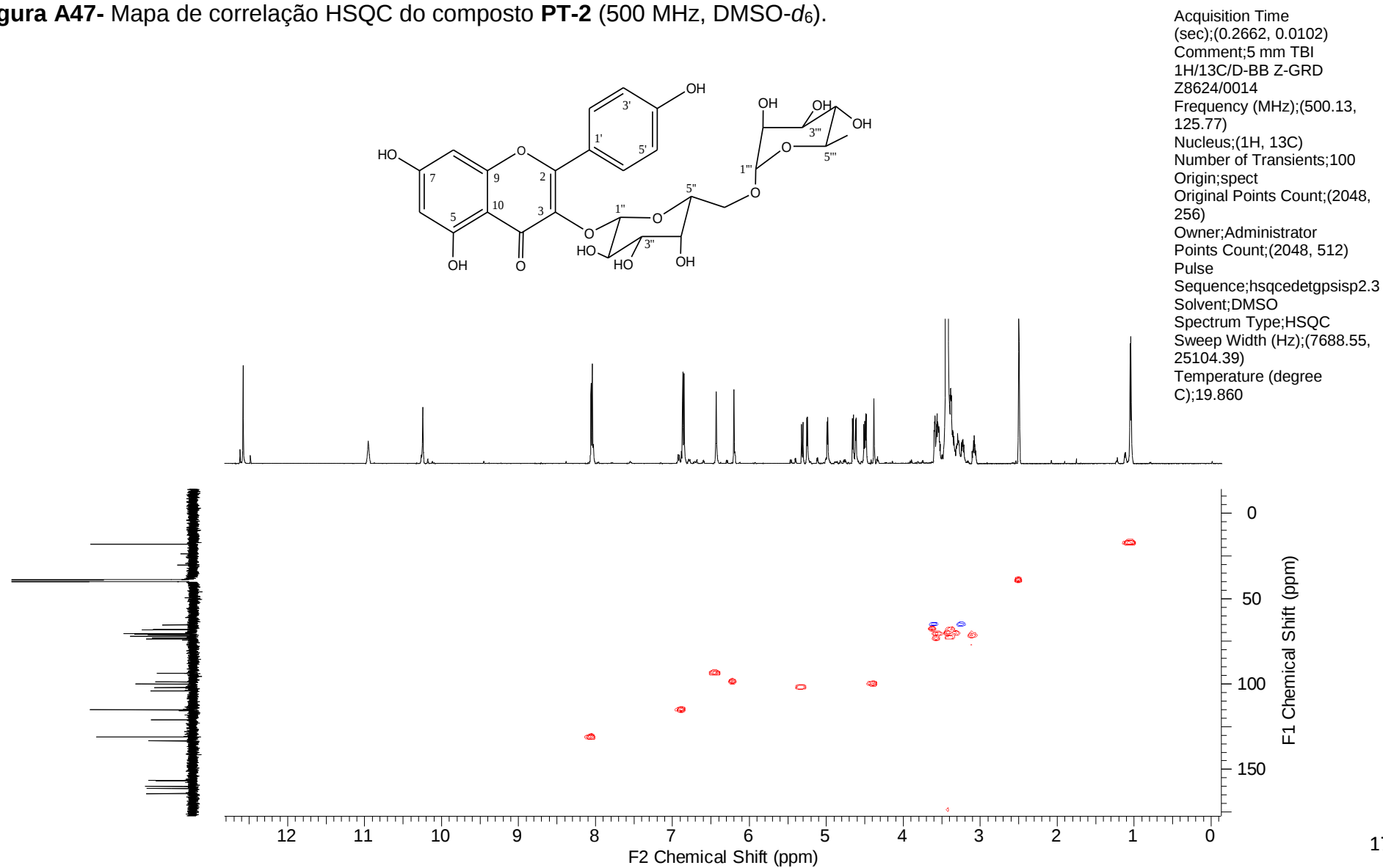


Figura A48- Mapa de correlação HSQC (expansões) do composto **PT-2** (500 MHz, DMSO- d_6).

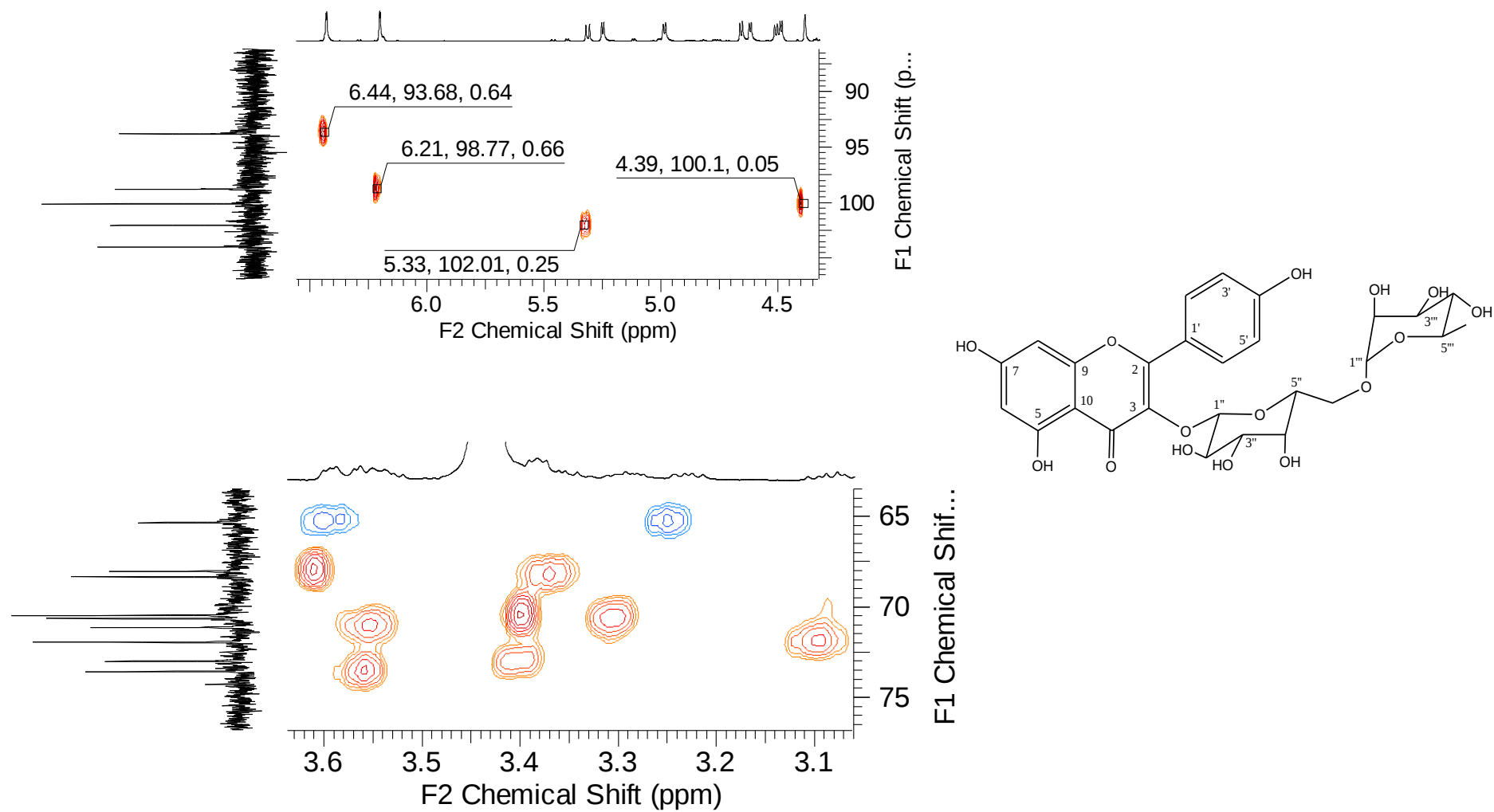


Figura A49- Mapa de correlação HMBC do composto **PT-2** (500 MHz, DMSO-*d*₆).

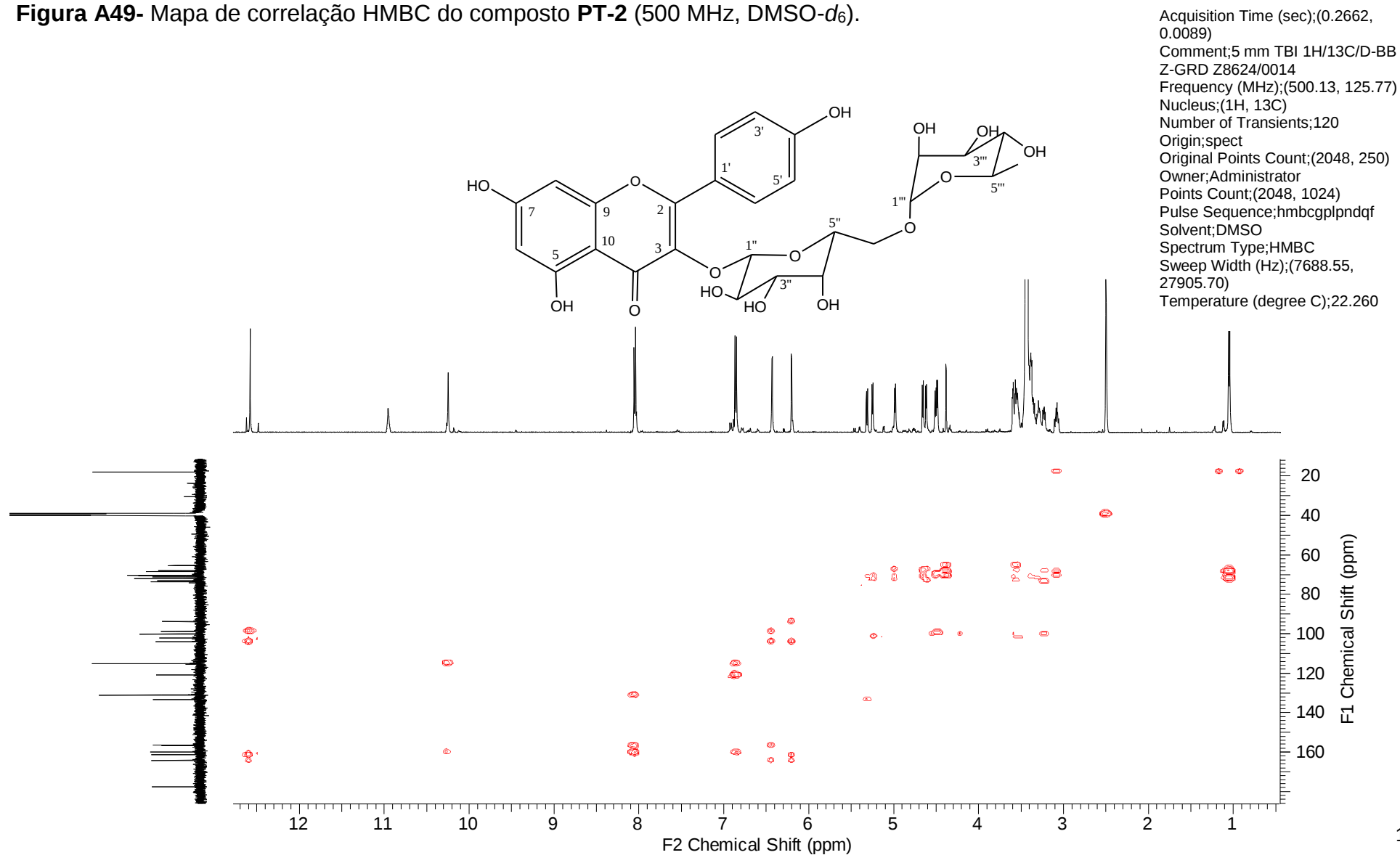


Figura A50- Expansão do mapa de correlação HMBC do composto **PT-2** (500 MHz, DMSO- d_6).

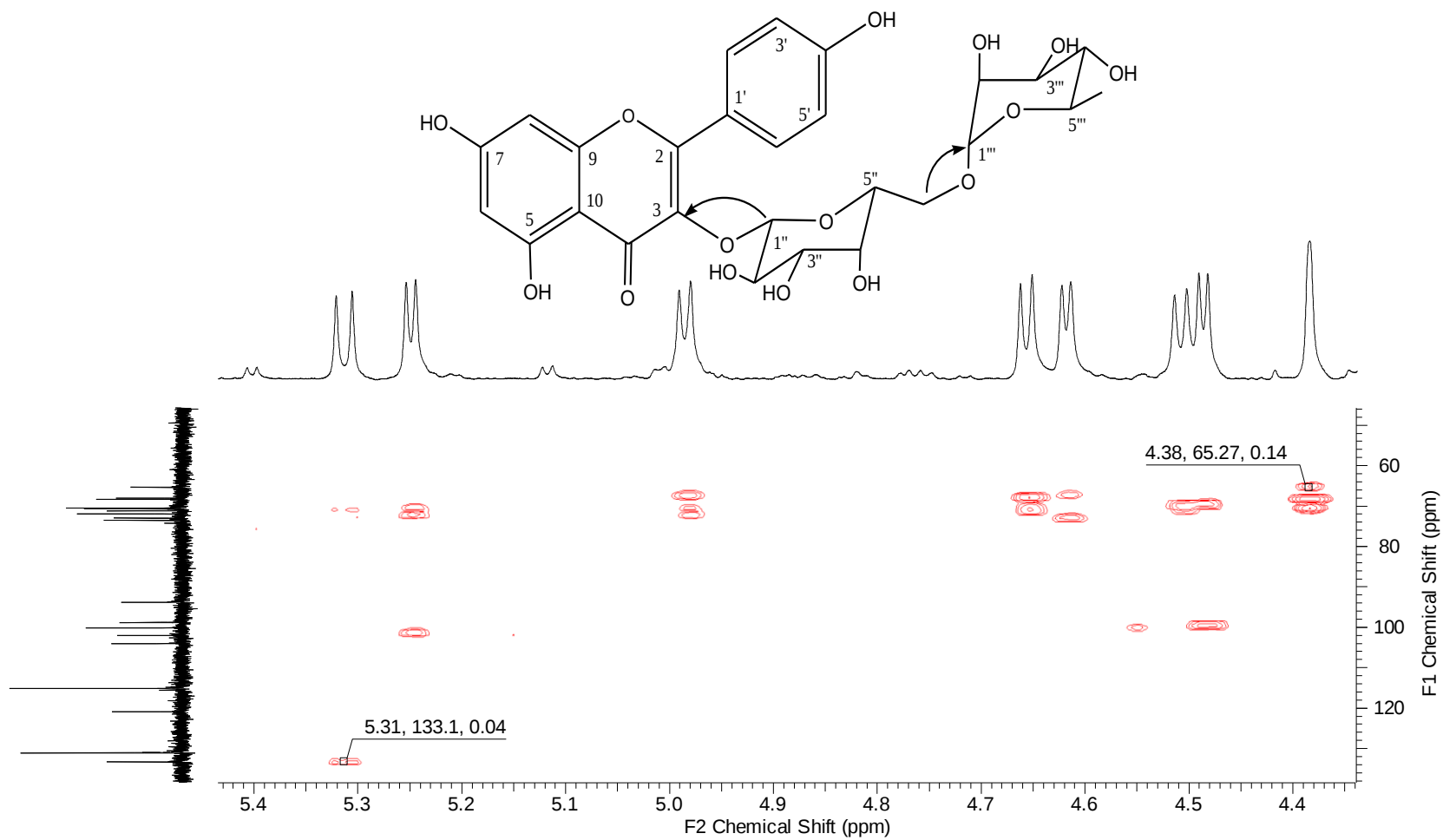
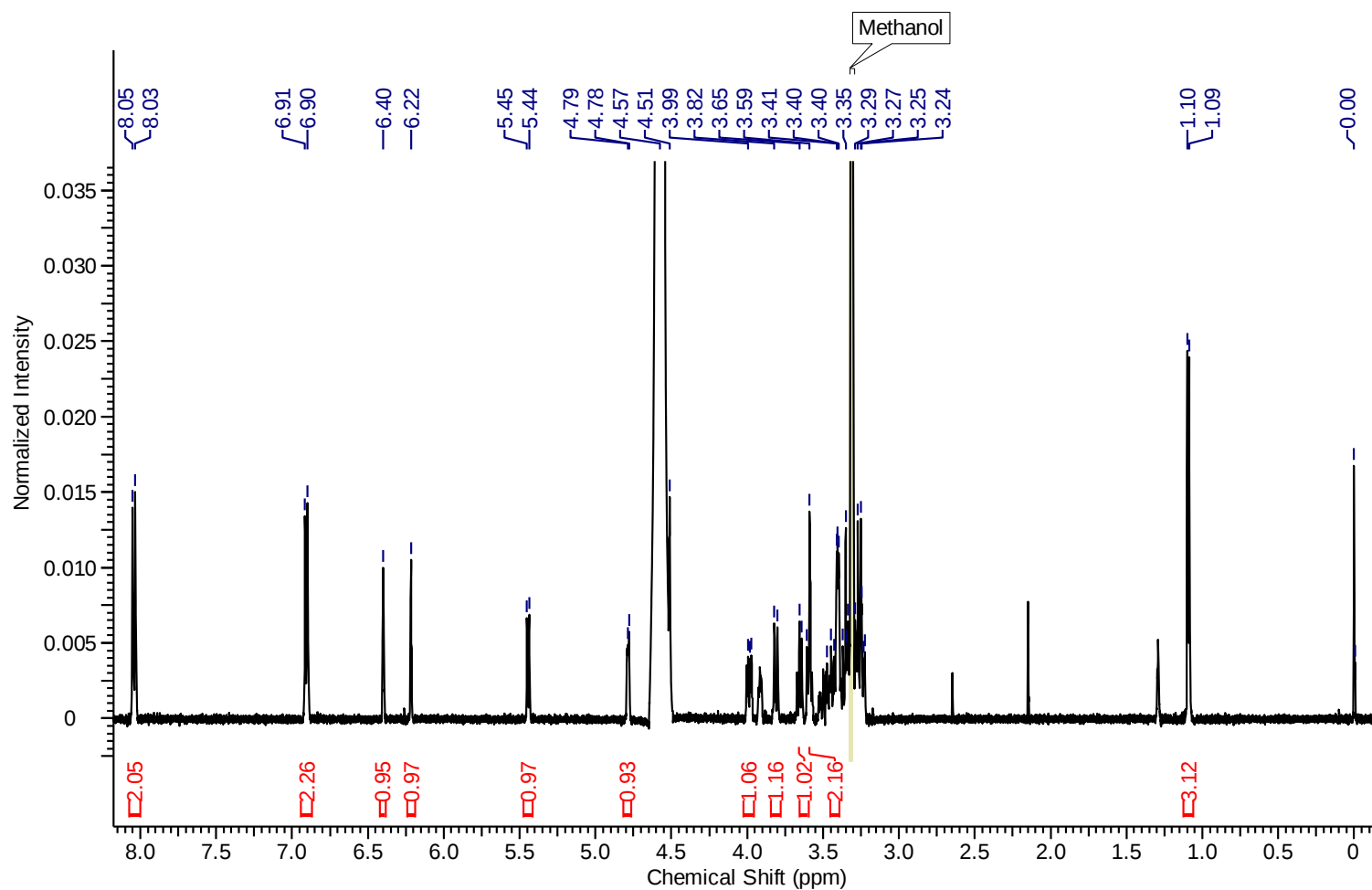


Figura A51- Espectro de RMN de ^1H do composto **PT-3** (500 MHz, CD_3OD).



Acquisition Time (sec);3.1719
 Frequency (MHz);500.13
 Nucleus; ^1H
 Number of Transients;16
 Origin;spect
 Original Points Count;32768
 Owner;Administrator
 Points Count;65536
 Pulse Sequence;zg30
 Receiver Gain;228.00
 SW(cyclical) (Hz);10330.58
 Solvent;METHANOL-d4
 Spectrum Offset (Hz);3 075.4814
 Spectrum Type;STANDARD
 Sweep Width (Hz);10330.42
 Temperature (degree C);27.460

Figura A52- Expansões do espectro de RMN de ^1H do composto **PT-3** (500 MHz, CD_3OD).

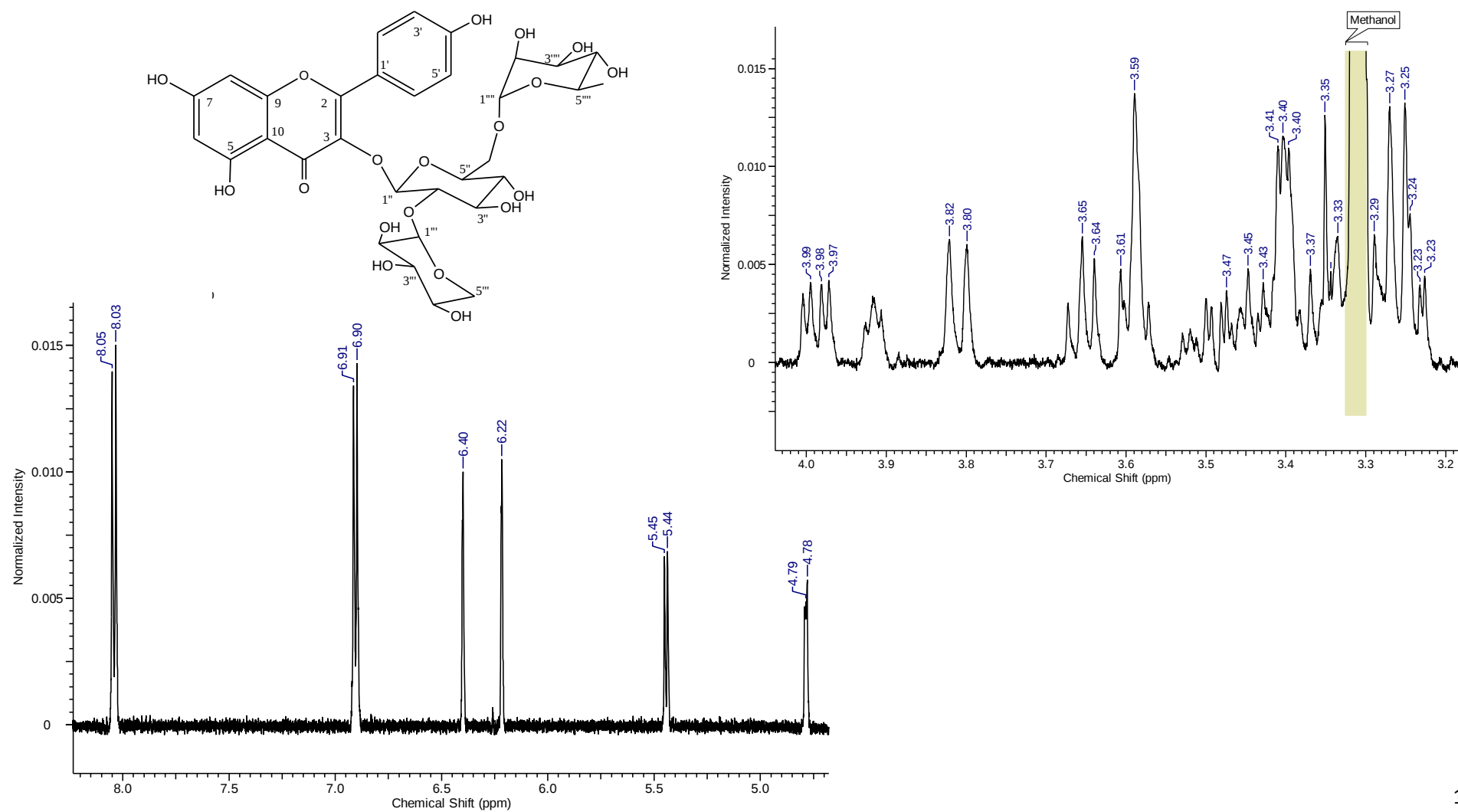


Figura A53- Espectro de RMN de ^{13}C do composto **PT-3** (125 MHz, CD_3OD).

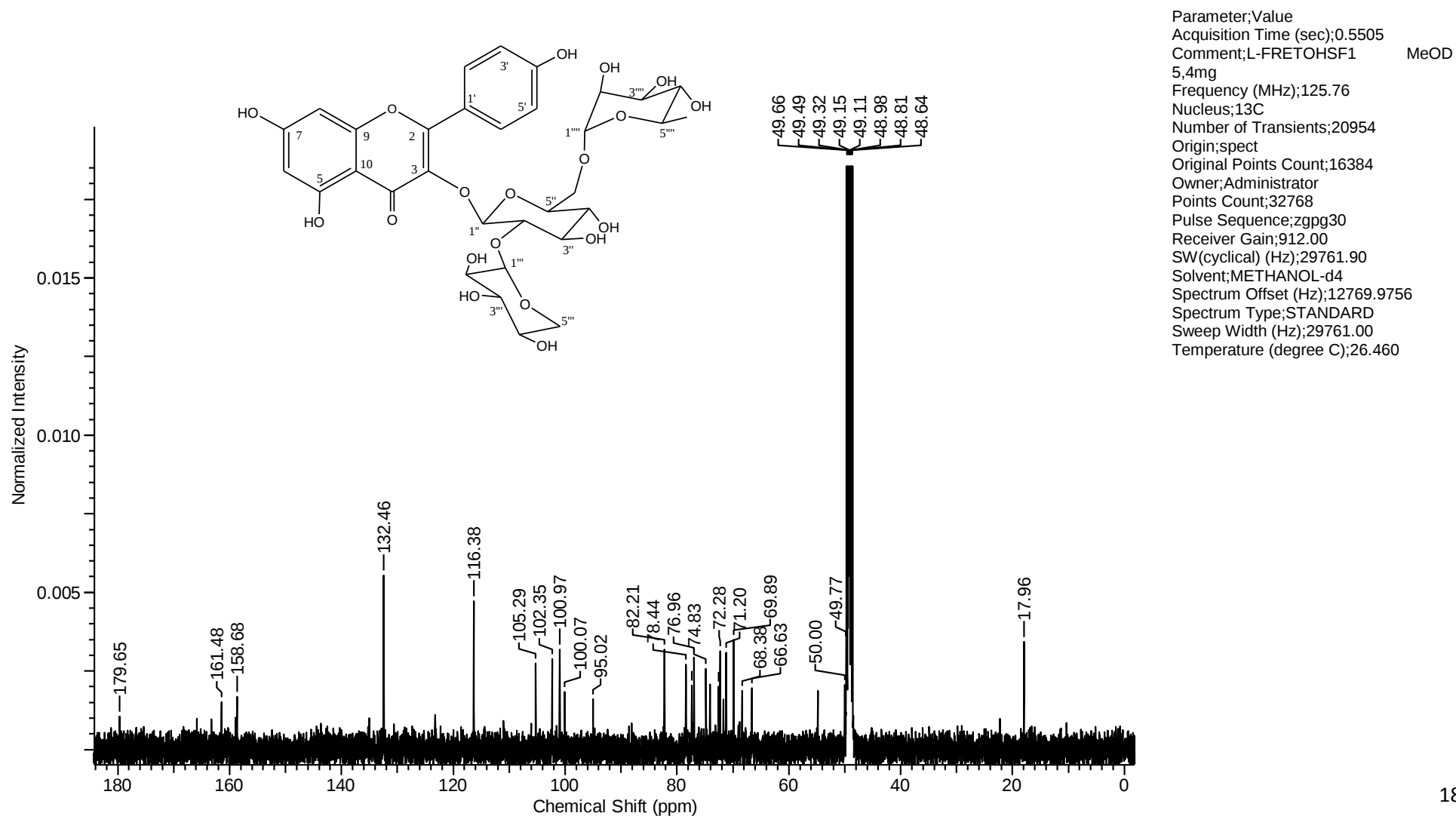


Figura A54- Espectro de RMN de ^{13}C (expansão) do composto **PT-3** (125 MHz, CD_3OD).

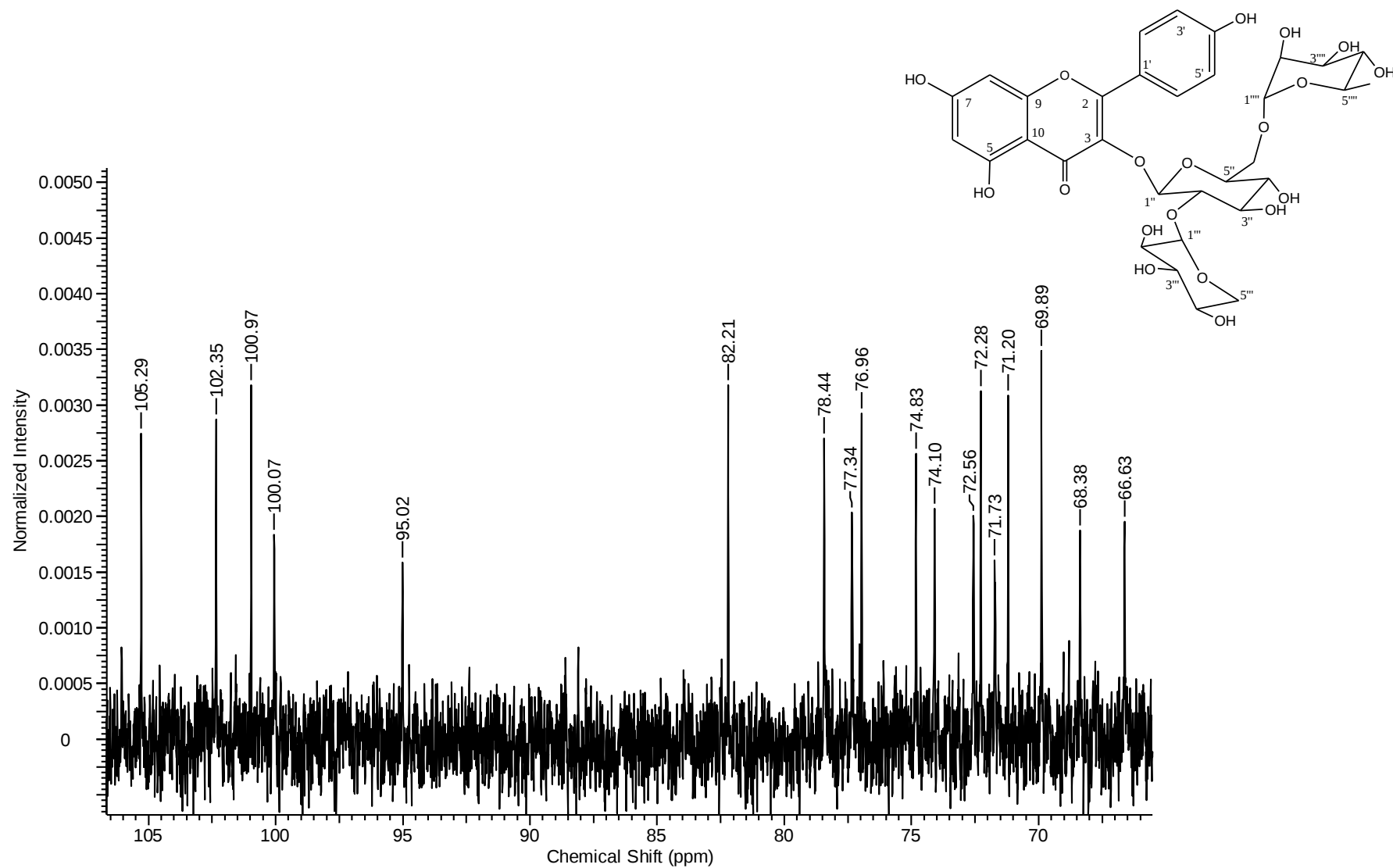


Figura A55- Mapa de correlação HSQC do composto **PT-3** (500 MHz, CD_3OD).

Acquisition Time (sec);(0.1982,
0.0102)
Comment;5 mm TBI 1H/13C/D-BB
Z-GRD Z8624/0014
Frequency (MHz);(500.13, 125.77)
Nucleus;(1H, 13C)
Number of Transients;40
Origin;spect
Original Points Count;(2048, 256)
Owner;Administrator
Points Count;(2048, 512)
Pulse
Sequence;hsqcedetgpsi2.3
Solvent;MeOD
Spectrum Type;HSQC
Sweep Width (Hz);(10325.53,
25104.39)
Temperature (degree C);42.860

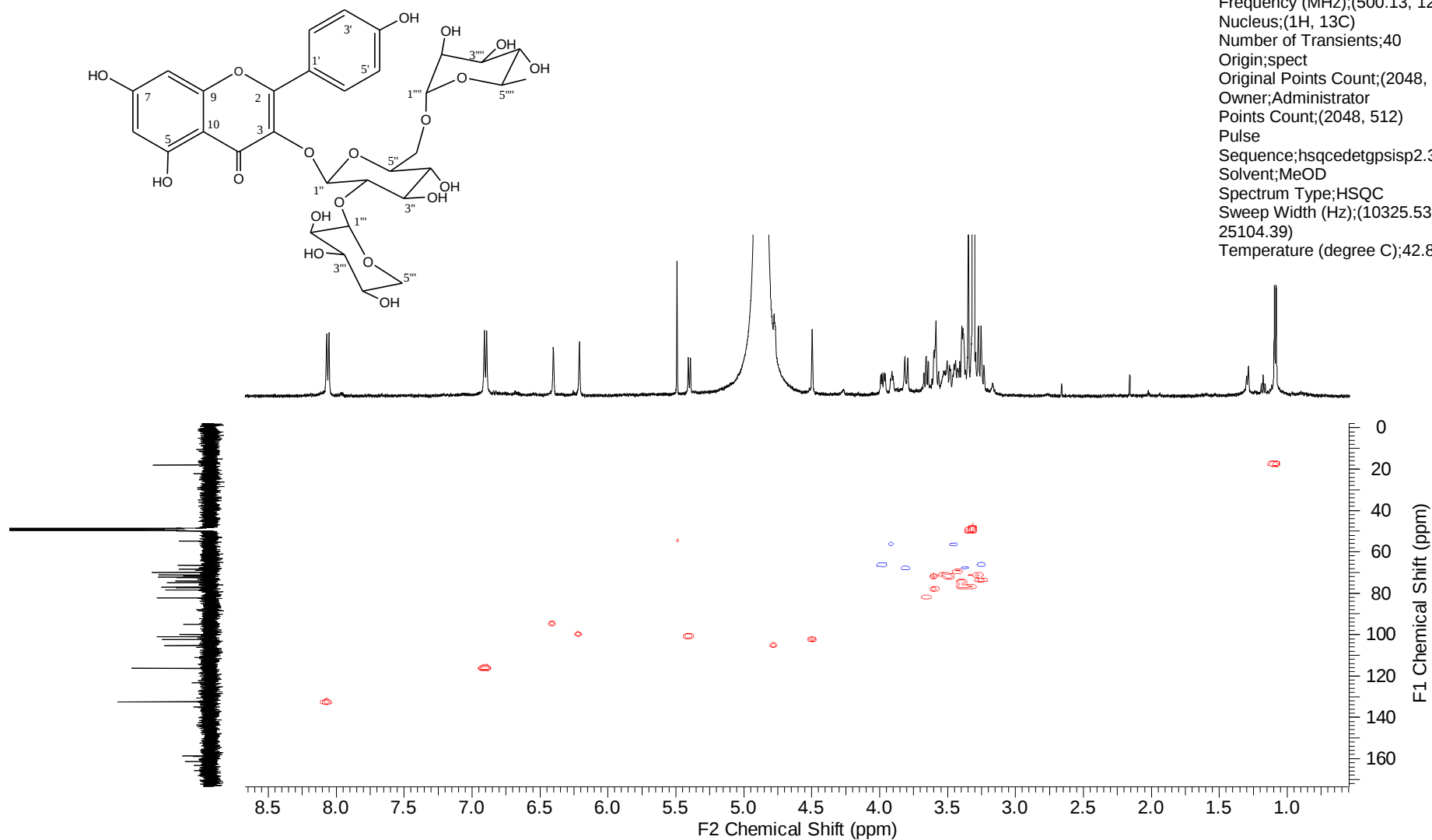


Figura A56- Mapa de correlação HSQC (expansão) do composto **PT-3** (500 MHz, CD₃OD).

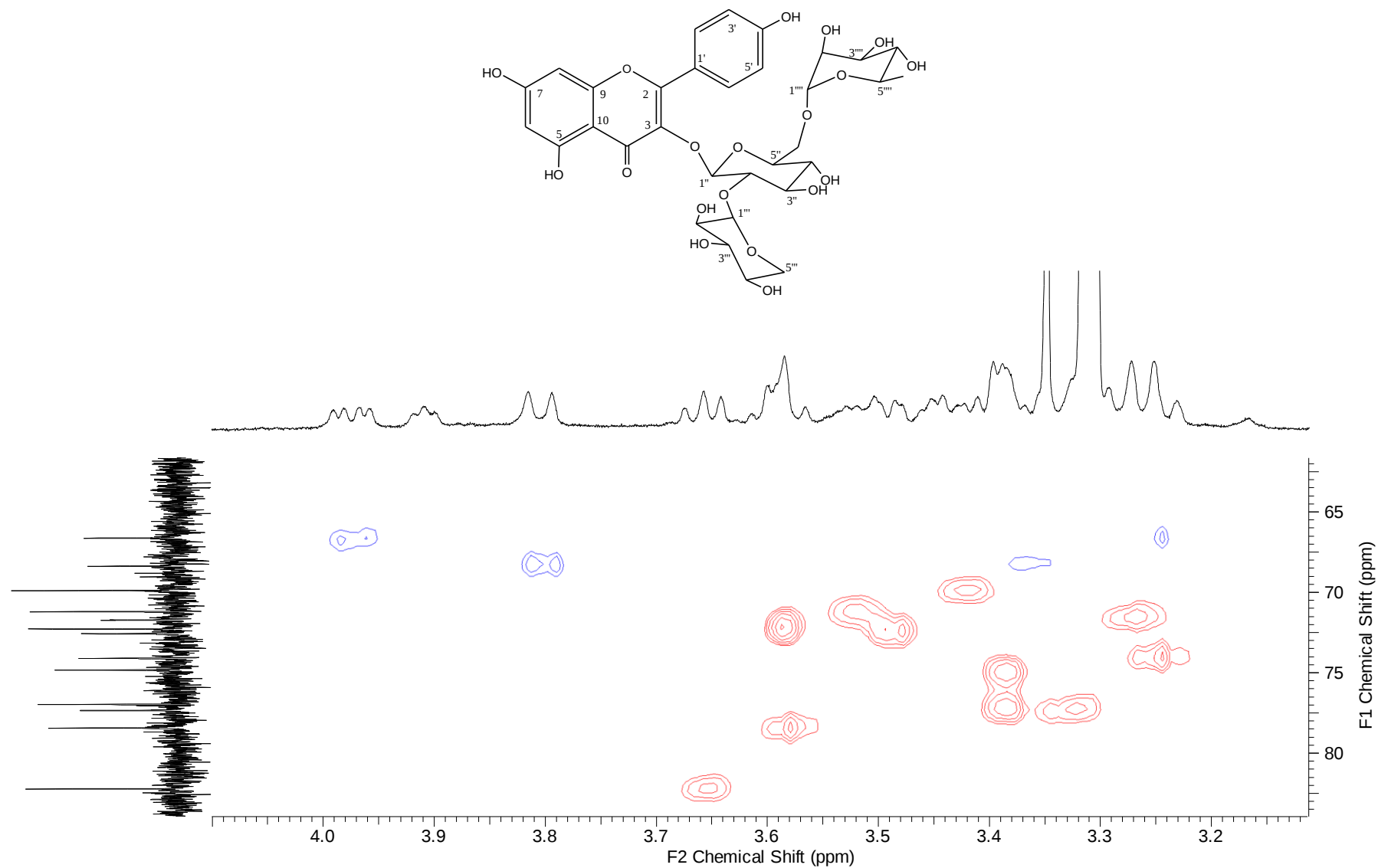


Figura A57- Mapa de correlação HMBC do composto **PT-3** (500 MHz, CD_3OD).

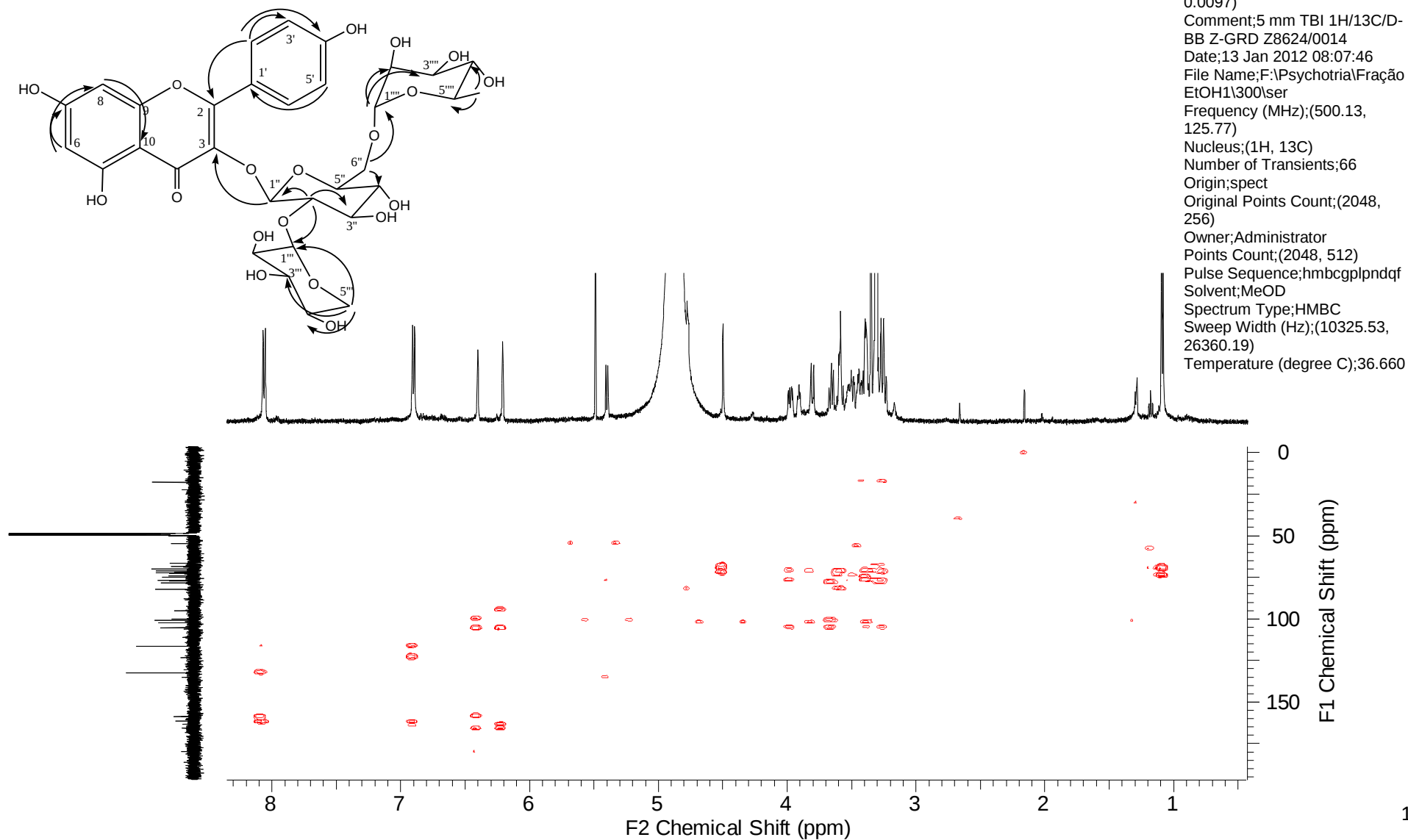


Figura A58- Expansão do mapa de correlação HMBC do composto **PT-3** (500 MHz, CD_3OD).

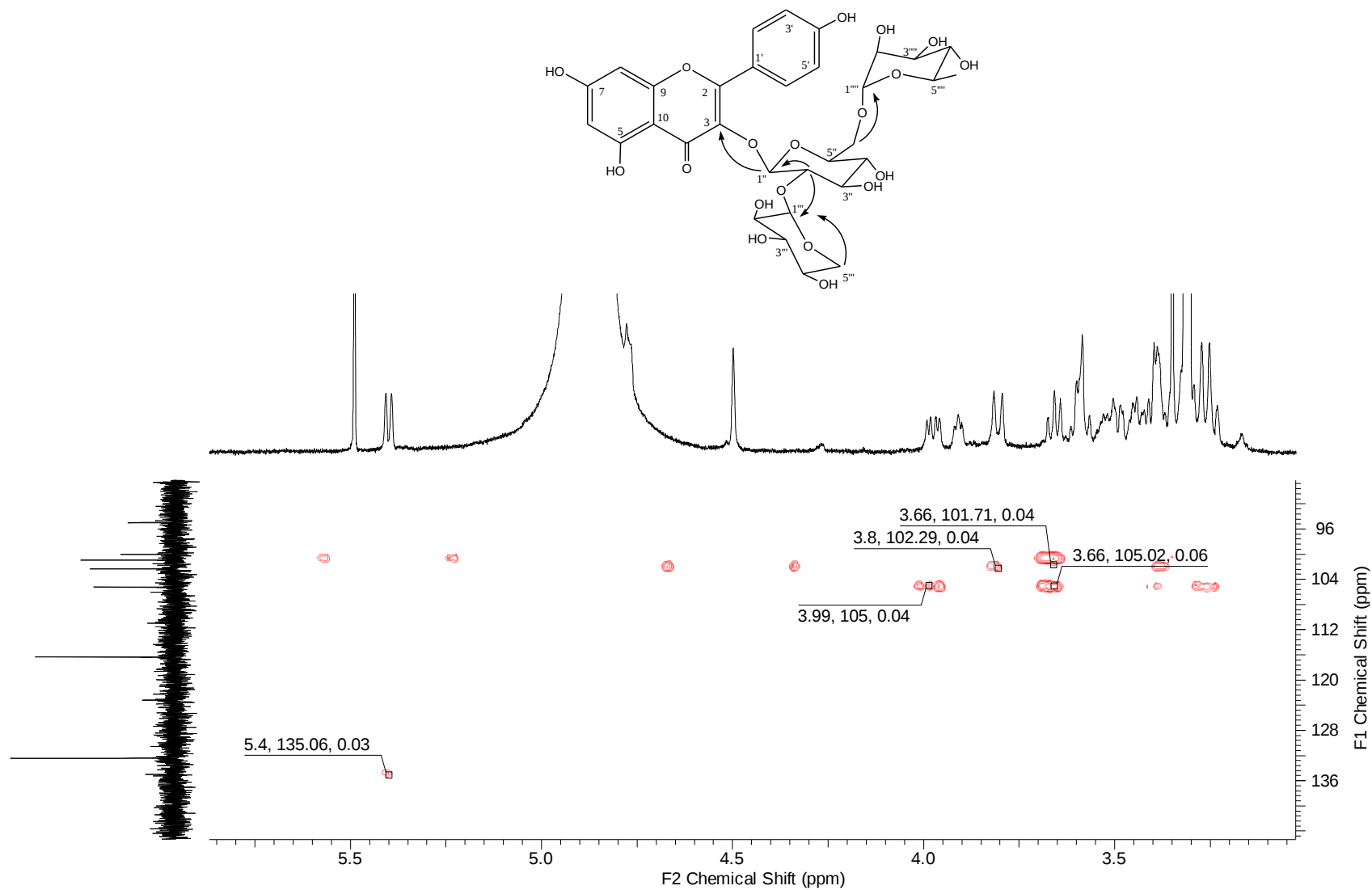
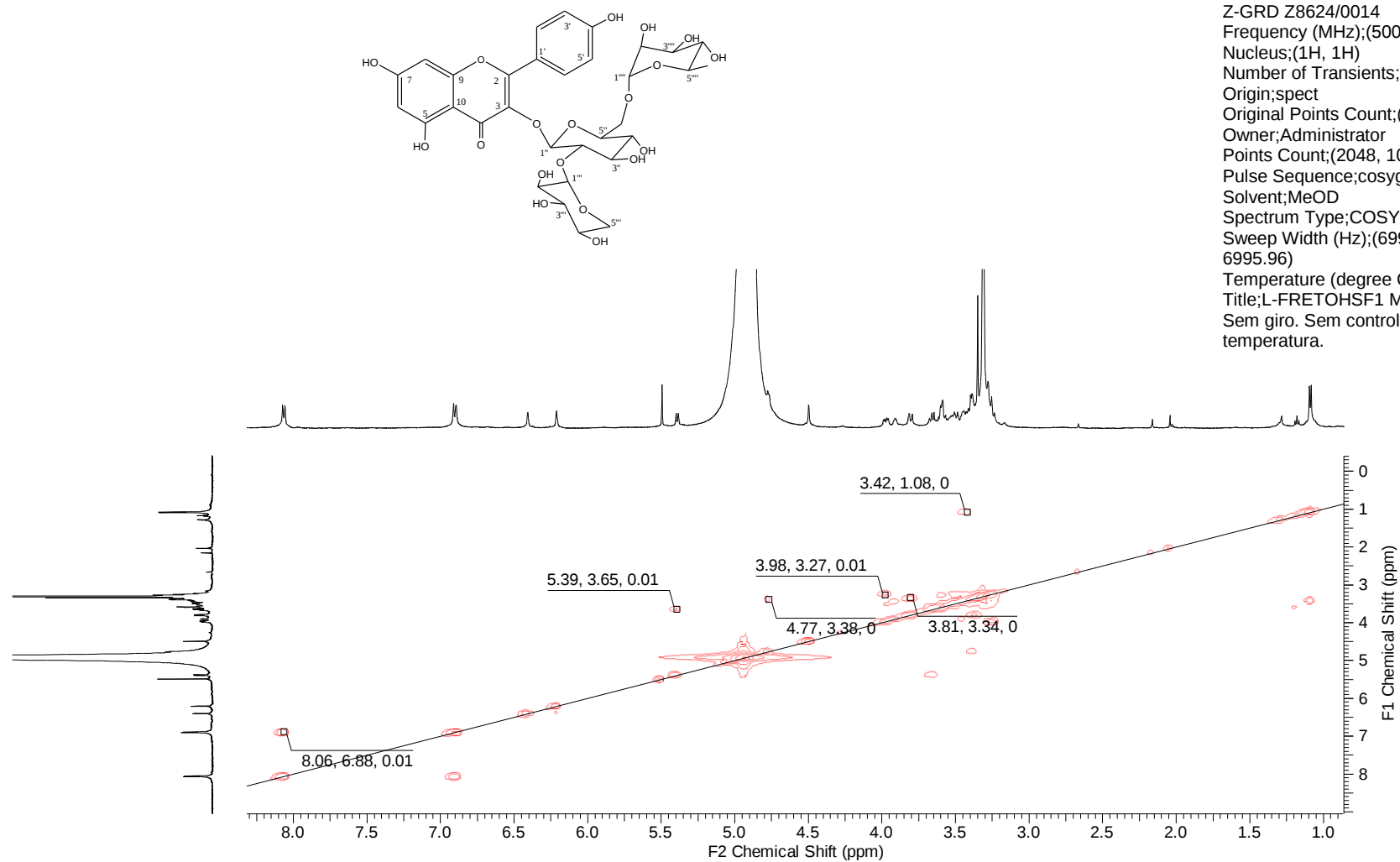
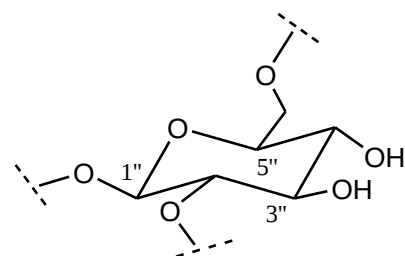


Figura A59- Mapa de correlação COSY do composto **PT-3** (500 MHz, CD_3OD).

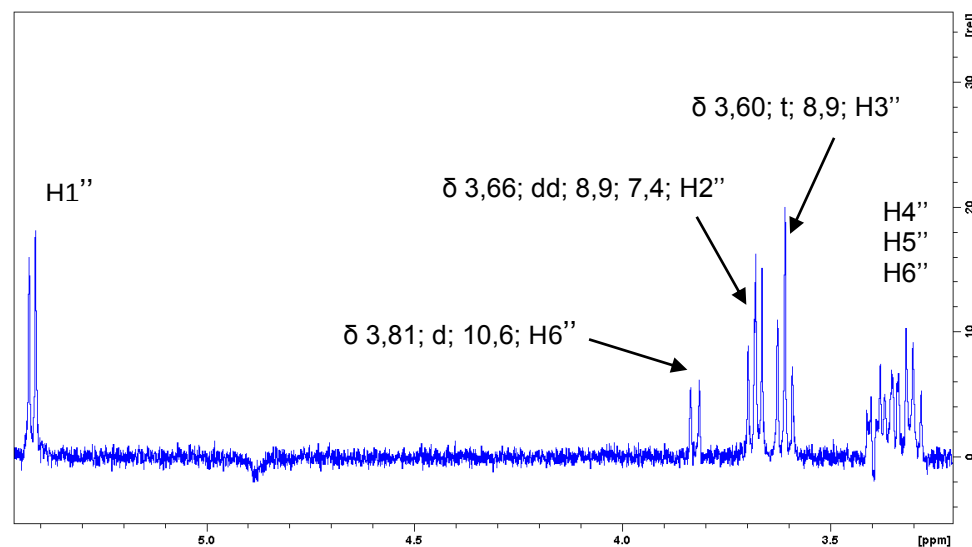


Acquisition Time (sec);(0.2927, 0.0366)
 Comment;5 mm TBI 1H/13C/D-BB
 Z-GRD Z8624/0014
 Frequency (MHz);(500.13, 500.13)
 Nucleus;(1H, 1H)
 Number of Transients;20
 Origin;spect
 Original Points Count;(2048, 256)
 Owner;Administrator
 Points Count;(2048, 1024)
 Pulse Sequence;cosygpgf
 Solvent;MeOD
 Spectrum Type;COSY
 Sweep Width (Hz);(6992.85, 6995.96)
 Temperature (degree C);19.260
 Title;L-FRETOHSF1 MeOD 5,4mg
 Sem giro. Sem controle de temperatura.

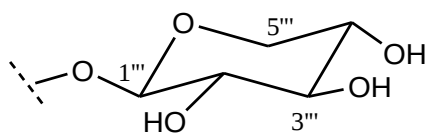
Figura A60- Espectros TOSCY 1D do composto **PT-3** (500 MHz, CD_3OD), irradiado em: 5,42 ppm (a) e 4,78 ppm (b).



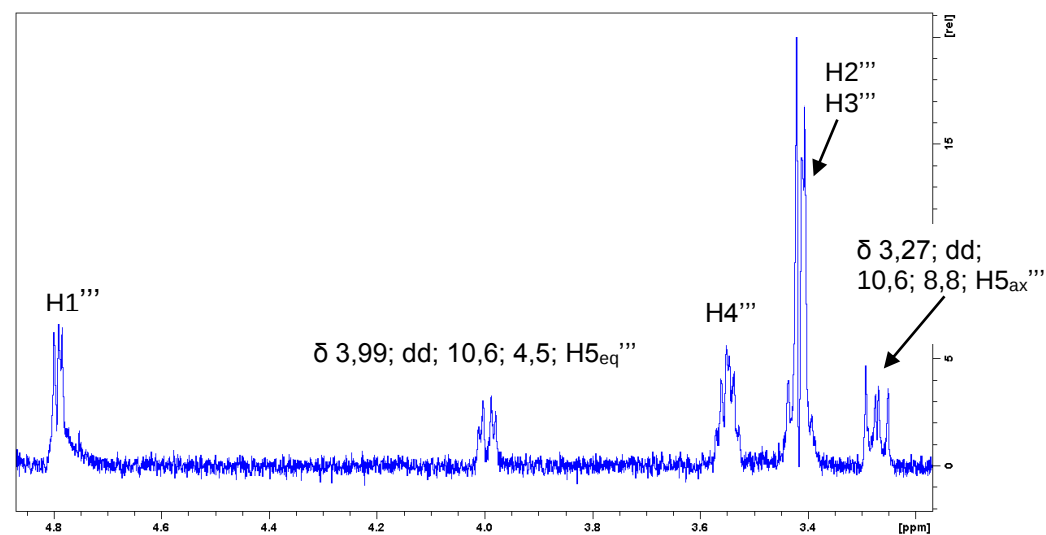
β -D-glicopiranosil



Acquisition Time (sec);3.2768
Comment;SELMGPG
Frequency (MHz);500.13
Nucleus;1H
Number of Transients;8
Origin;spect
Original Points Count;32768
Owner;nmsu
Points Count;32768
Pulse Sequence;selmlgp
Receiver Gain;1820.00
SW(cyclical) (Hz);10000.00
Solvent;METHANOL-d4
Spectrum Offset (Hz);2709.3992
Sweep Width (Hz);9999.70
Temperature (degree C);25.160



β -D-xilopiranosil



Acquisition Time (sec);3.2768
Comment;TOCSY 1D 4.78
D9=120ms
Frequency (MHz);500.13
Nucleus;1H
Number of Transients;64
Origin;spect
Original Points Count;32768
Owner;nmsu
Points Count;32768
Pulse Sequence;selmlgp
Receiver Gain;1820.00
SW(cyclical) (Hz);10000.00
Solvent;METHANOL-d4
Spectrum Offset (Hz);2386.2102
Sweep Width (Hz);9999.70
Temperature (degree C);25.160

Figura A61- Espectro de RMN de ^1H da mistura de compostos **PT-4** e **PT-5** (500 MHz, CD_3OD).

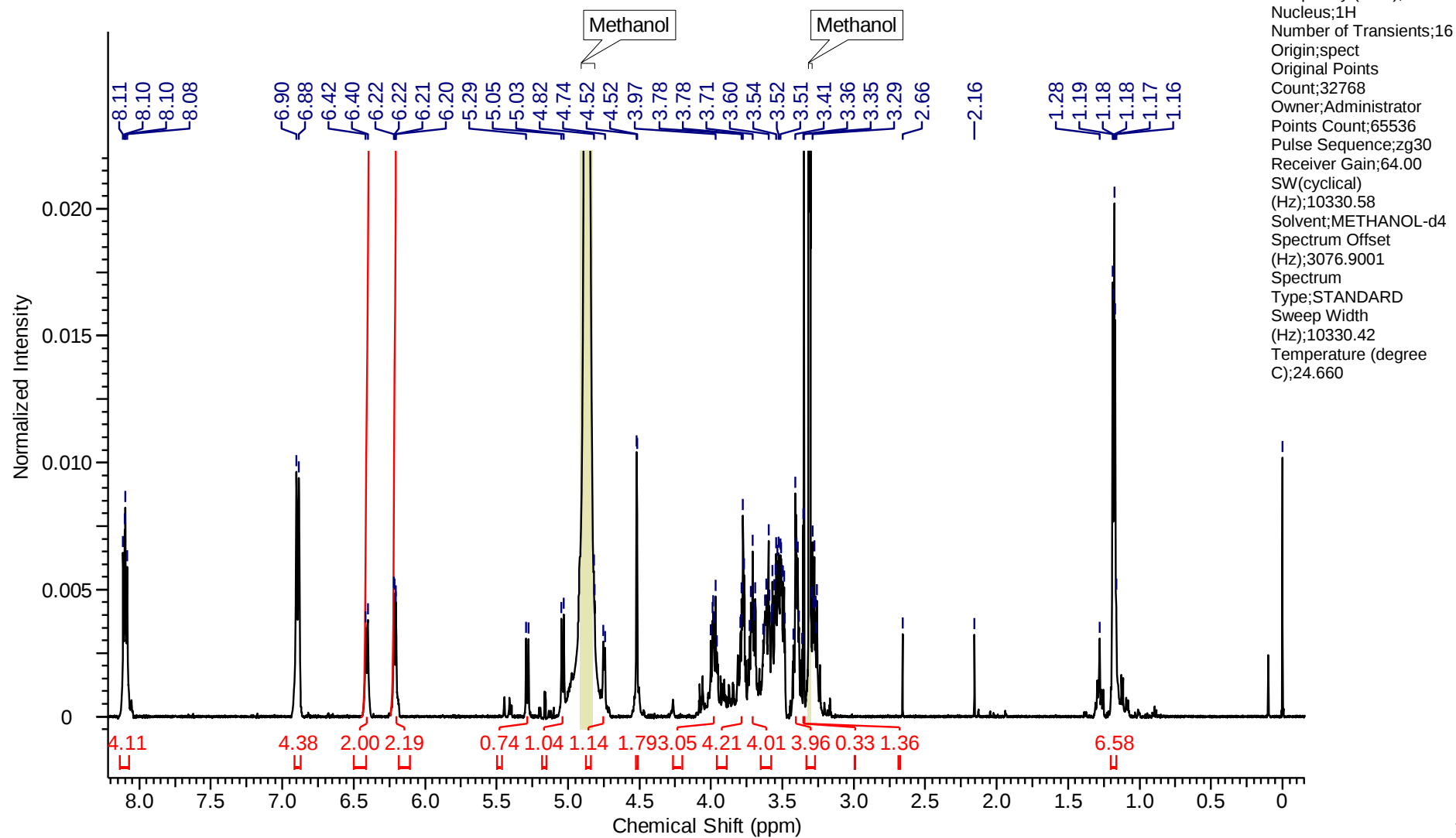


Figura A62- Expansão do espectro de RMN de ^1H da mistura dos compostos **PT-4** e **PT-5** (500 MHz, CD_3OD).

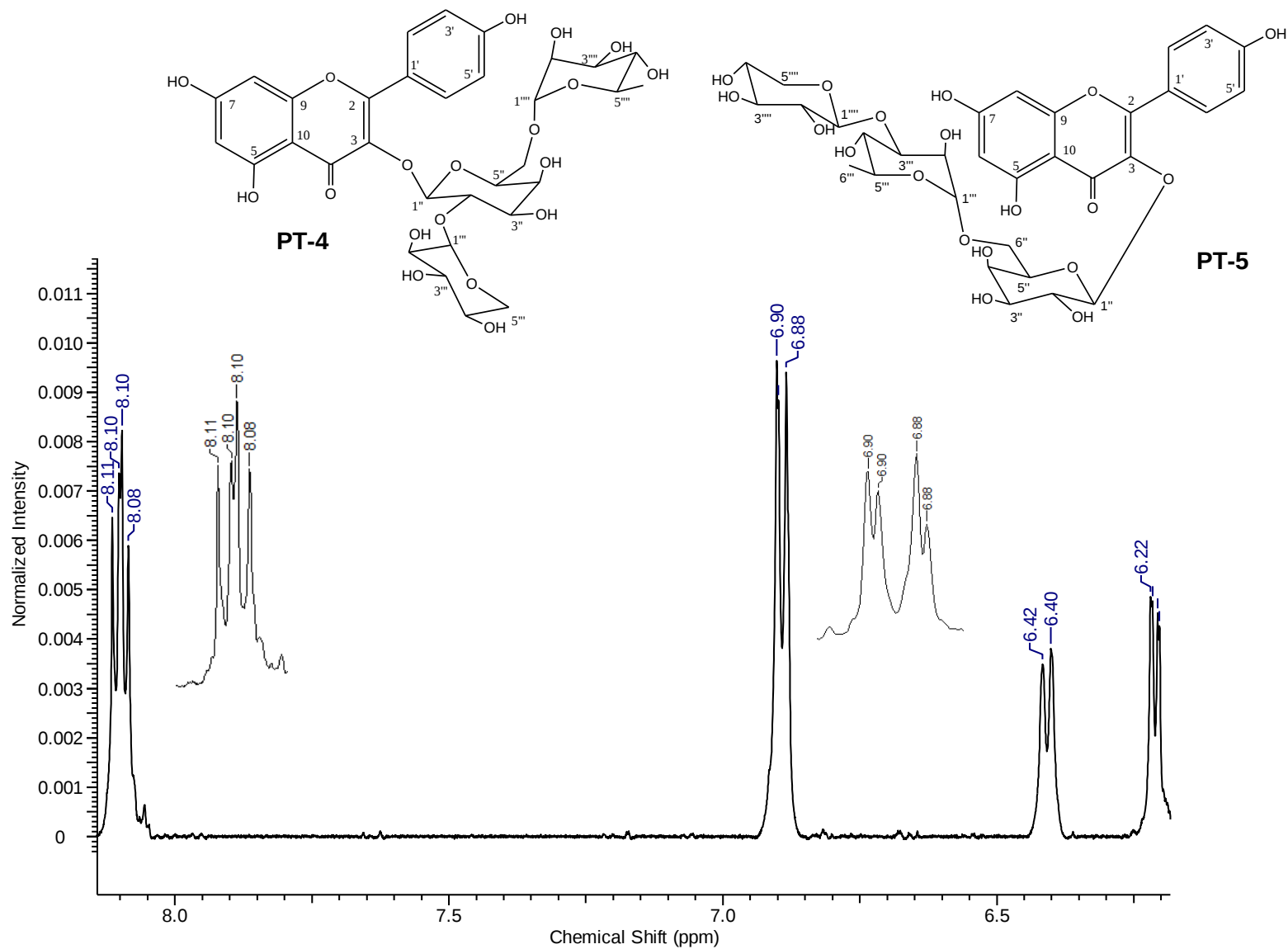


Figura A63- Expansão do espectro de RMN de ^1H da mistura dos compostos **PT-4** e **PT-5** (500 MHz, CD_3OD).

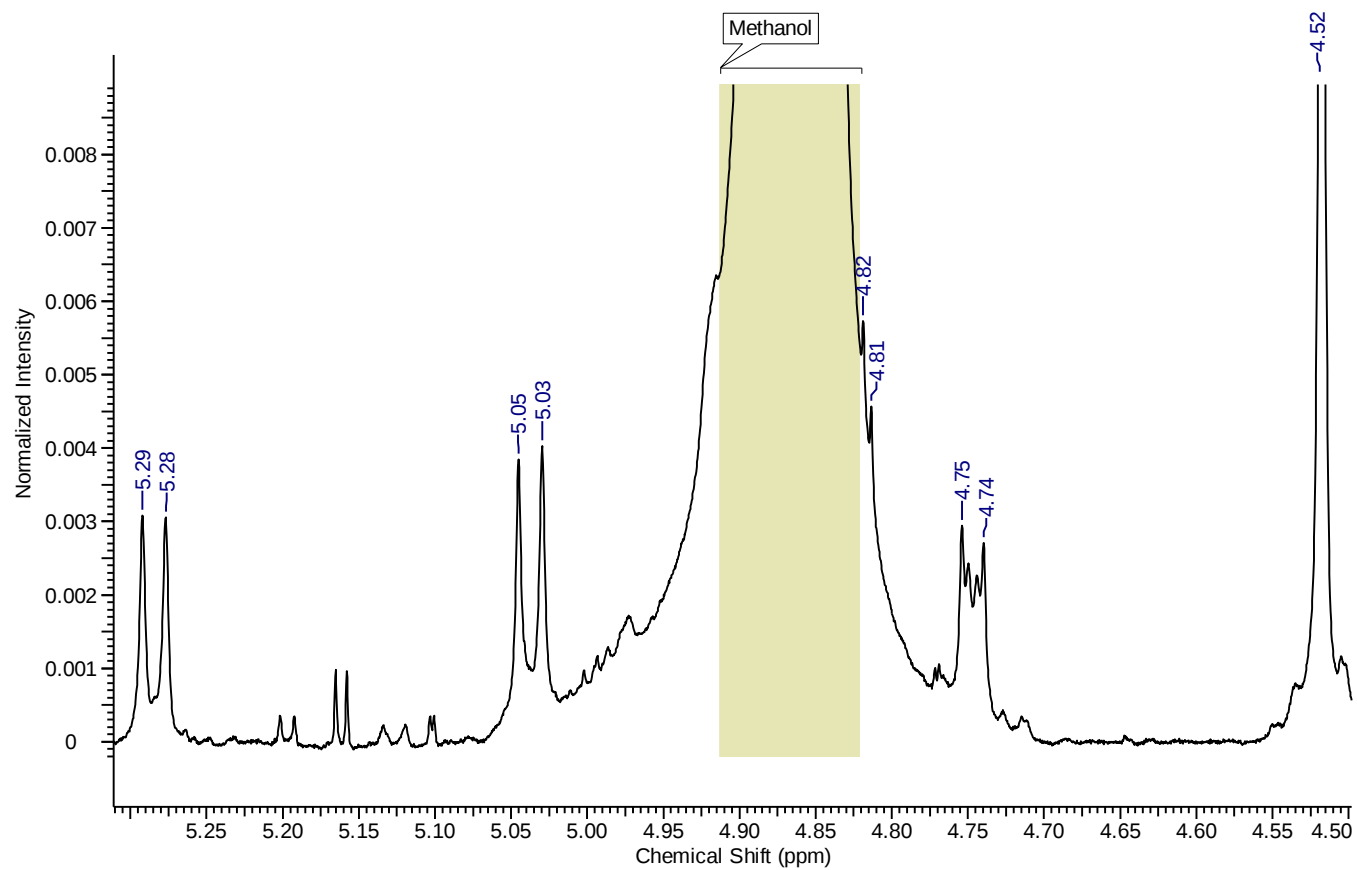


Figura A64- Expansão do espectro de RMN de ^1H da mistura dos compostos **PT-4** e **PT-5** (500 MHz, CD_3OD).

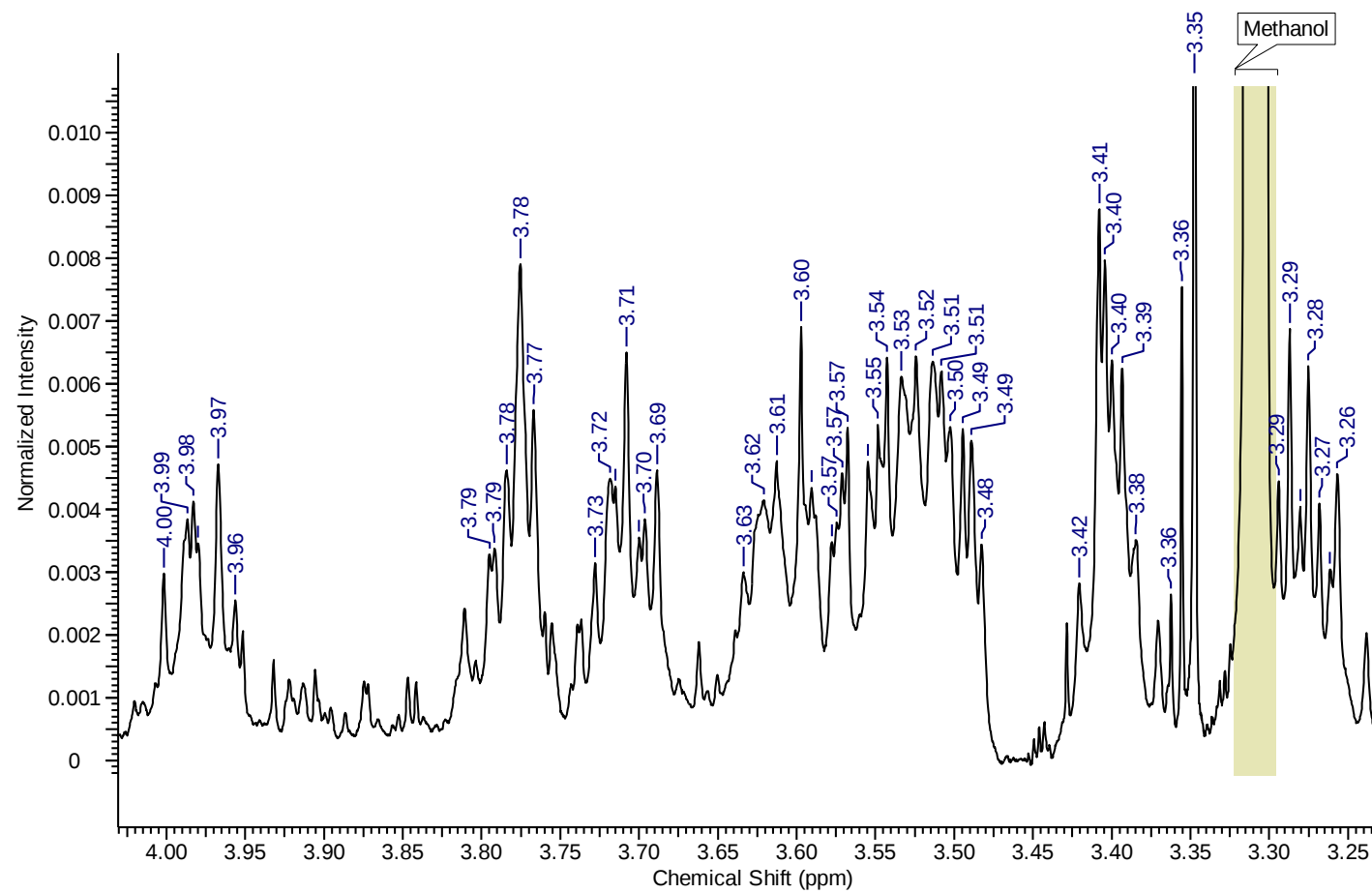


Figura A65- Espectro de RMN de ^{13}C da mistura dos compostos **PT-4** e **PT-5** (125 MHz, CD_3OD).

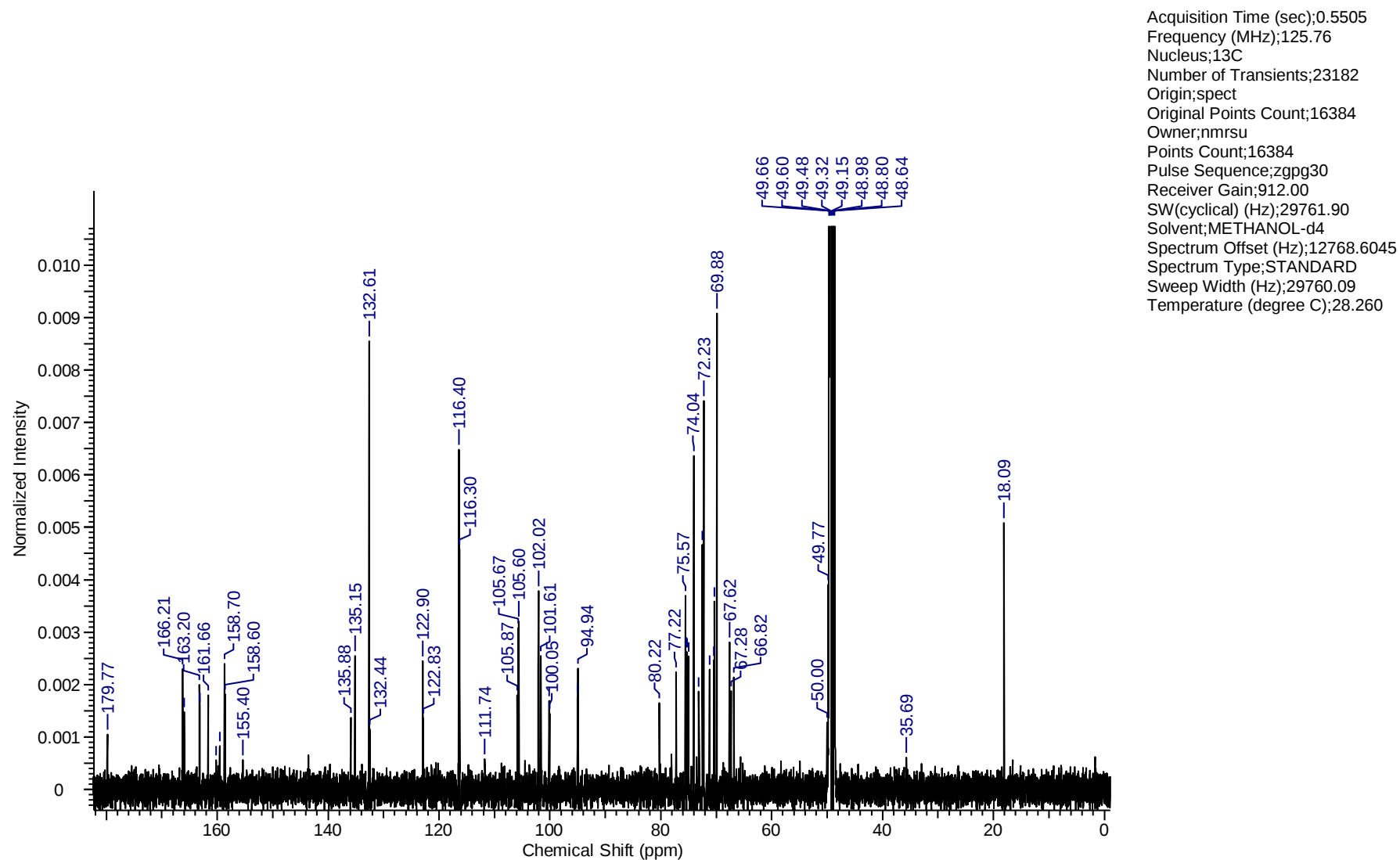


Figura A66- Expansão do espectro de RMN de ^{13}C da mistura dos compostos **PT-4** e **PT-5** (125 MHz, CD_3OD).

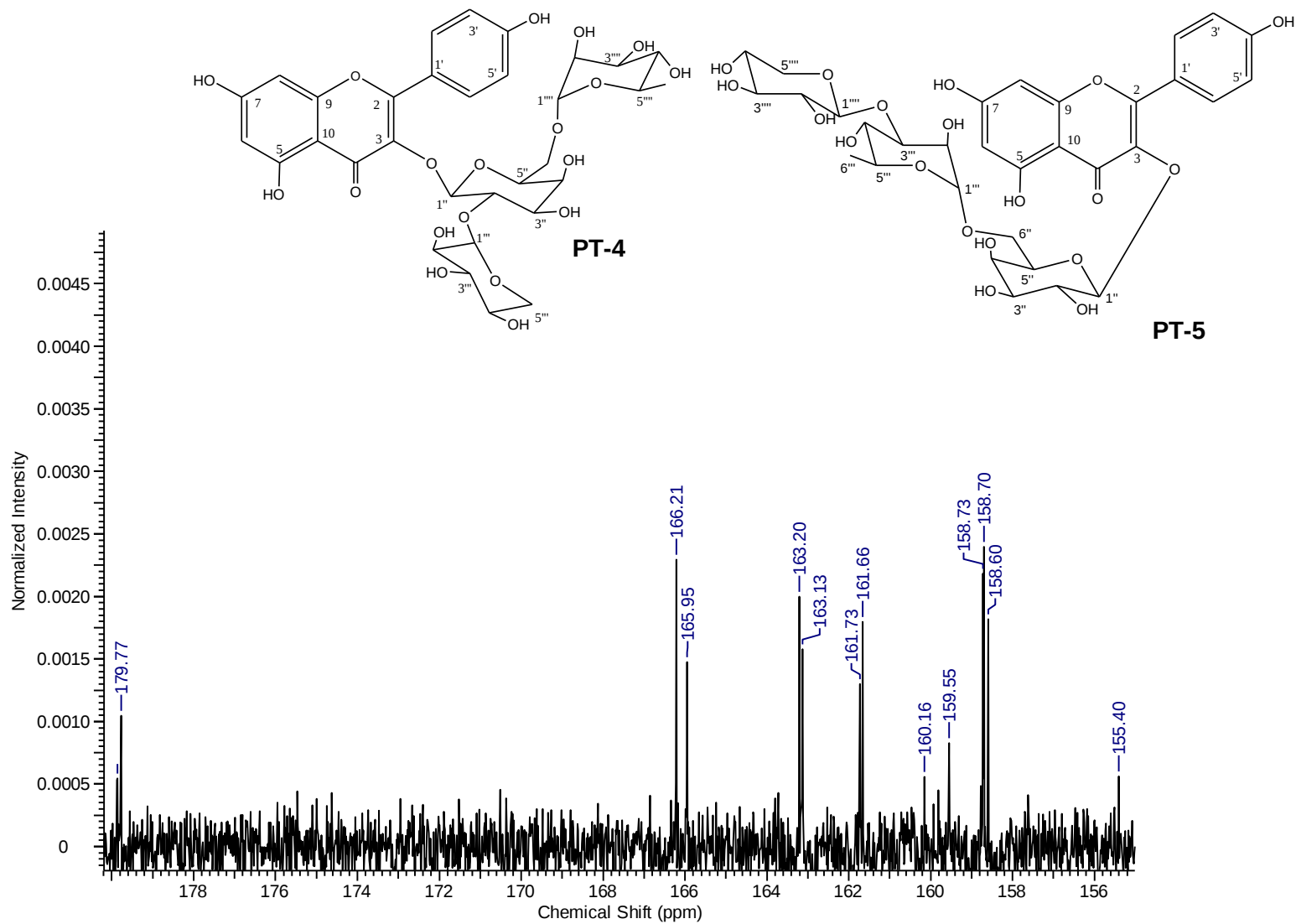


Figura A67- Expansão do espectro de RMN de ^{13}C da mistura dos compostos **PT-4** e **PT-5** (125 MHz, CD_3OD).

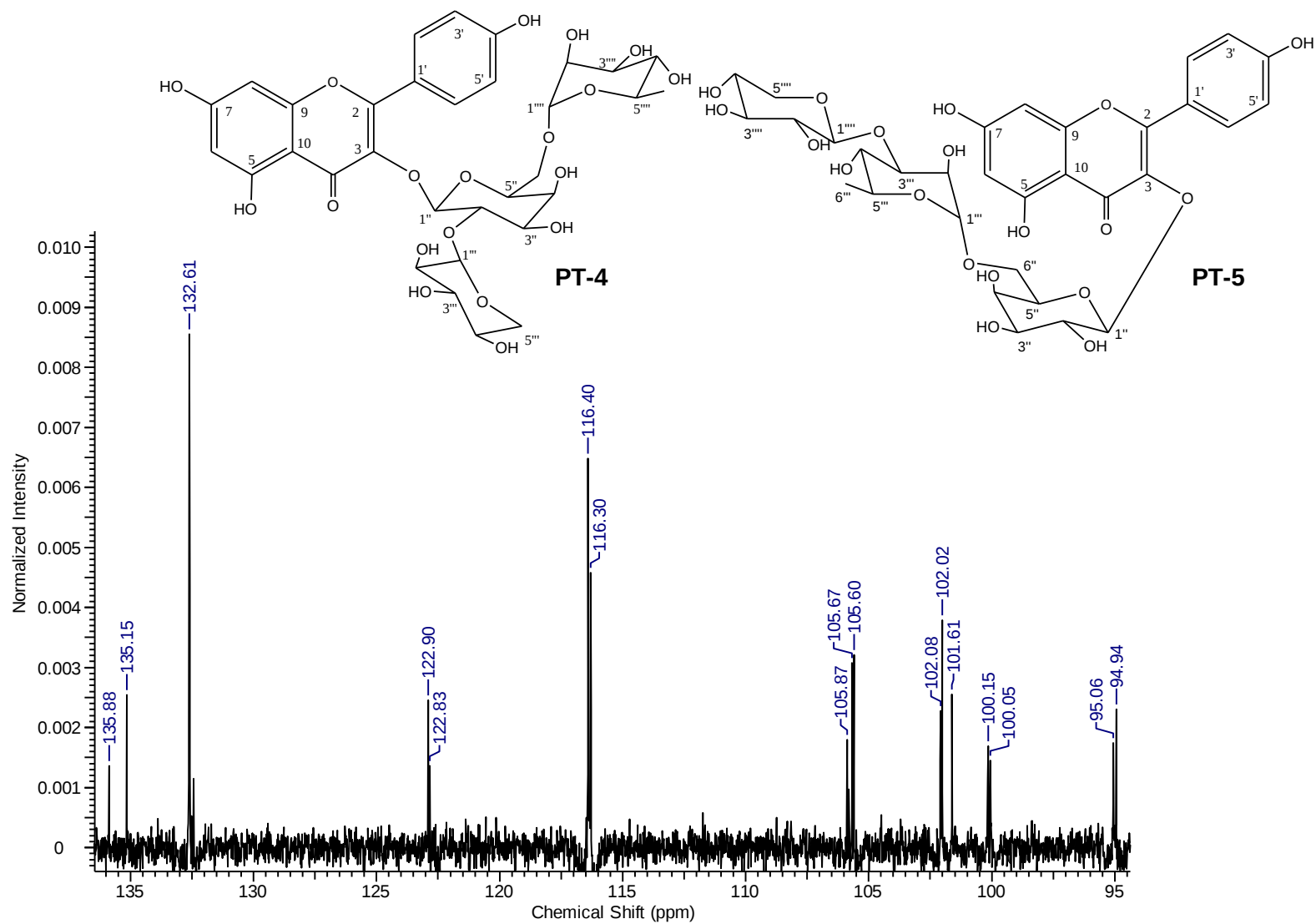


Figura A68- Expansão do espectro de RMN de ^{13}C da mistura dos compostos **PT-4** e **PT-5** (125 MHz, CD_3OD).

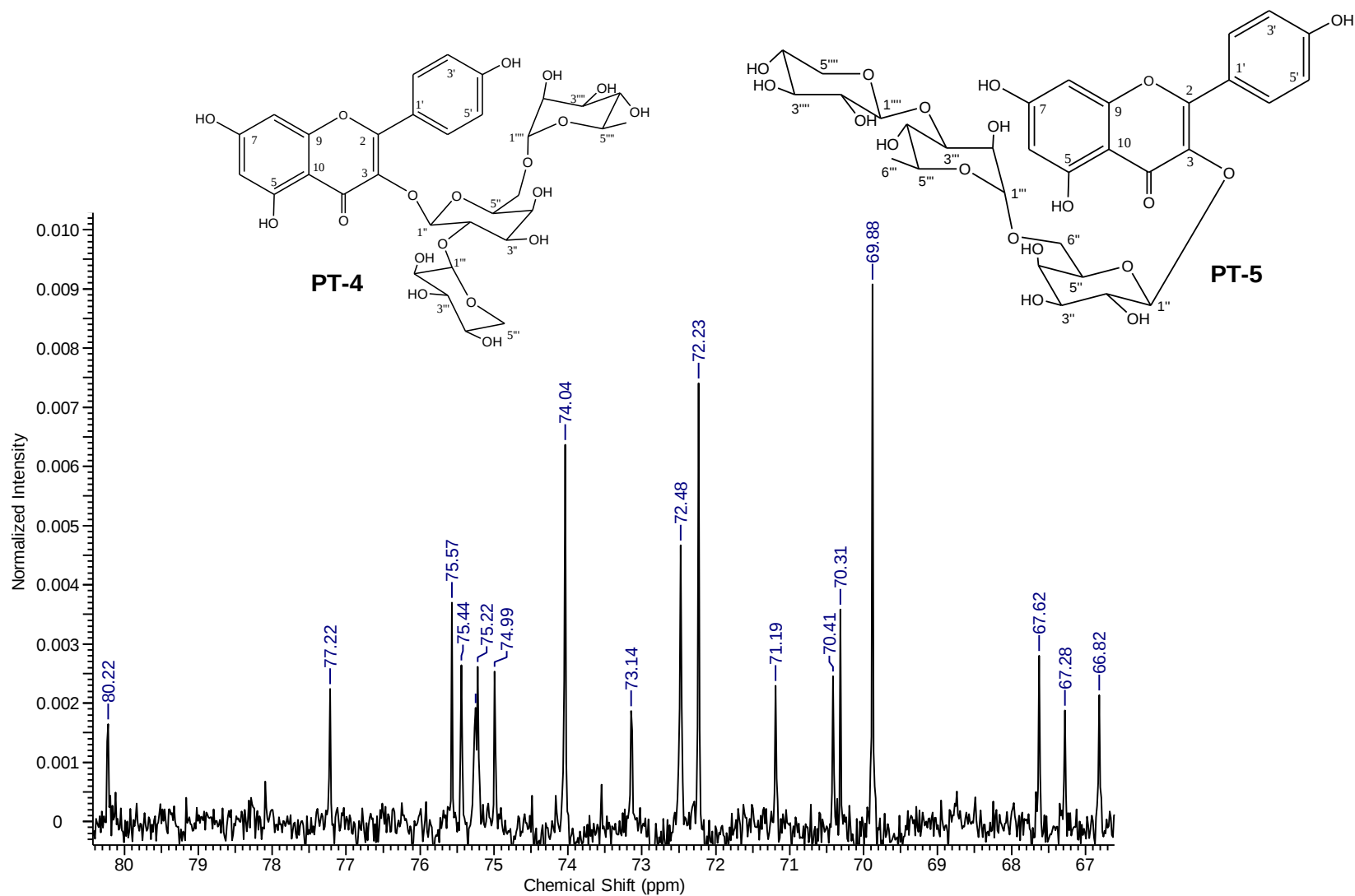


Figura A69- Mapa de correlação HSQC da mistura dos compostos **PT-4** e **PT-5** (500 MHz, CD₃OD).

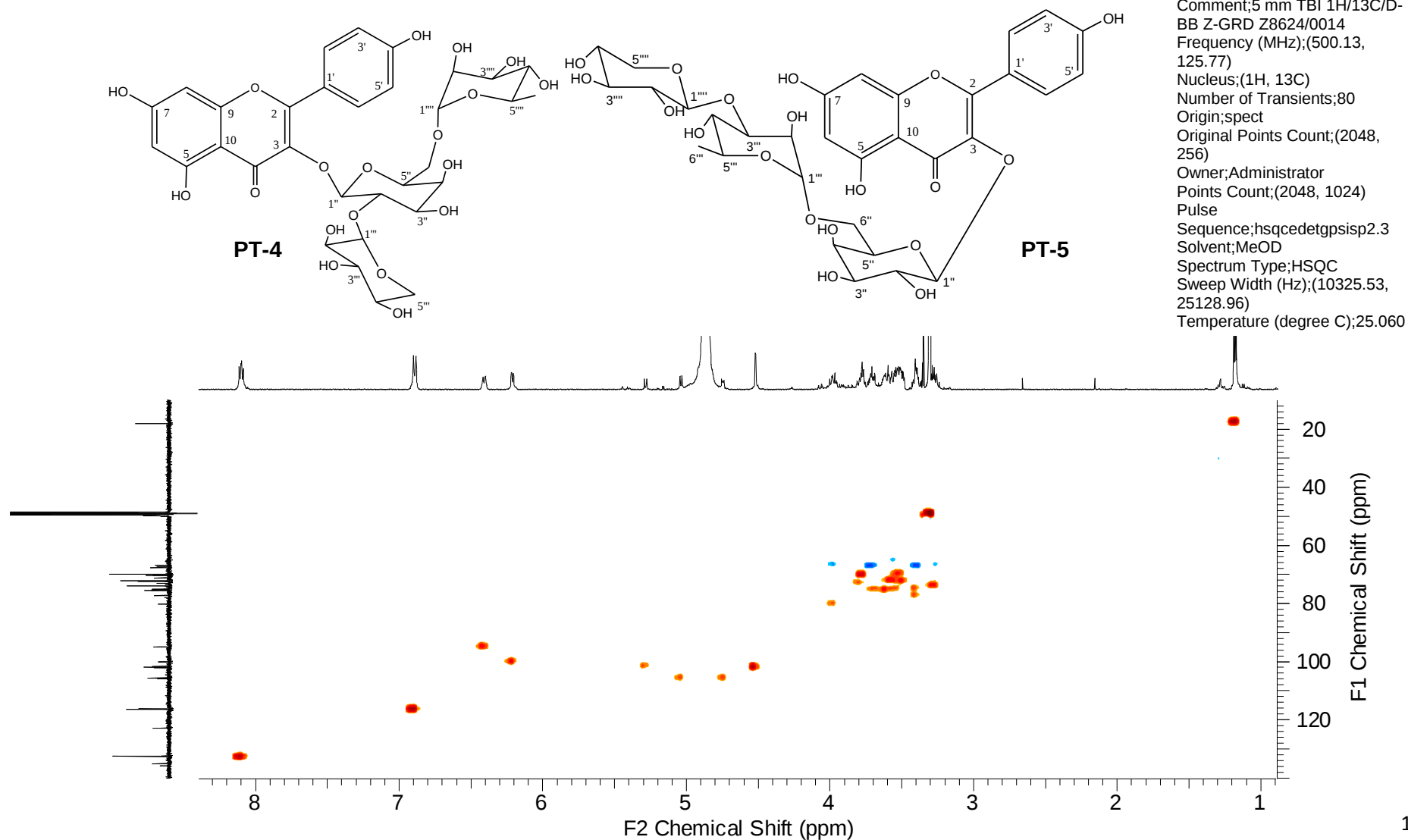


Figura A70- Expansões do mapa de correlação HSQC da mistura dos compostos **PT-4** e **PT-5** (500 MHz, CD_3OD).

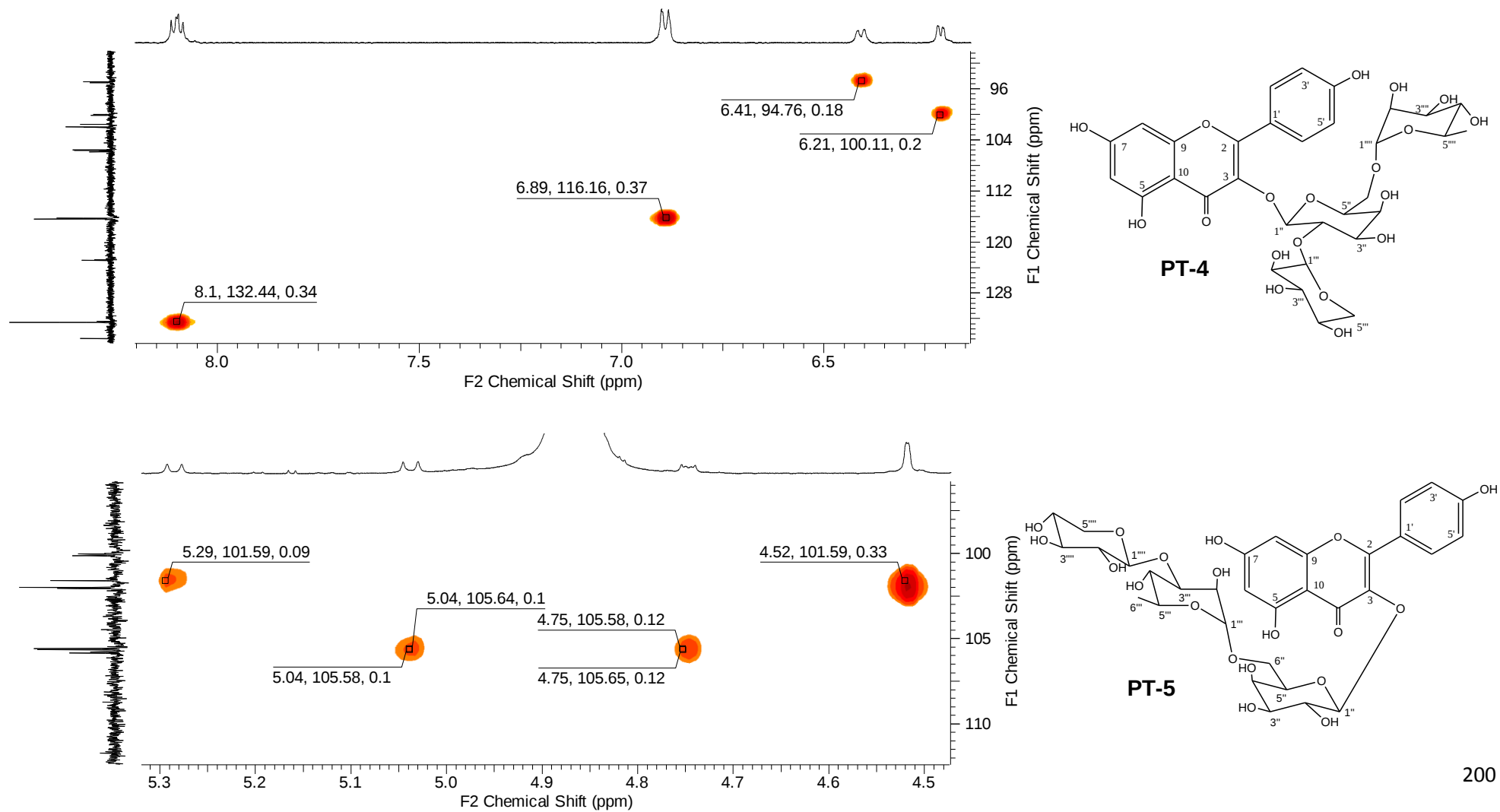


Figura A71- Expansões do mapa de correlação HSQC da mistura dos compostos **PT-4** e **PT-5** (500 MHz, CD_3OD).

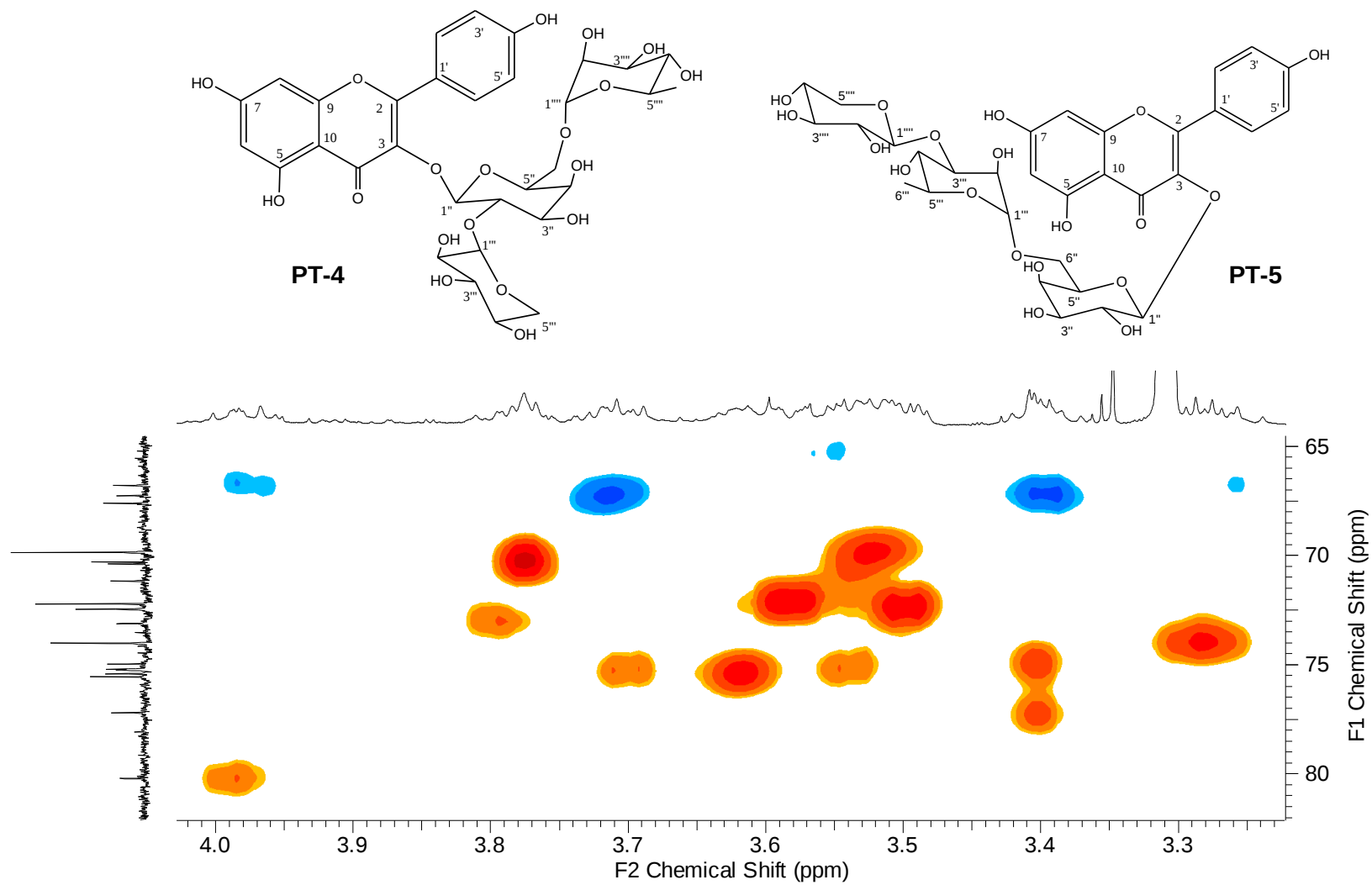
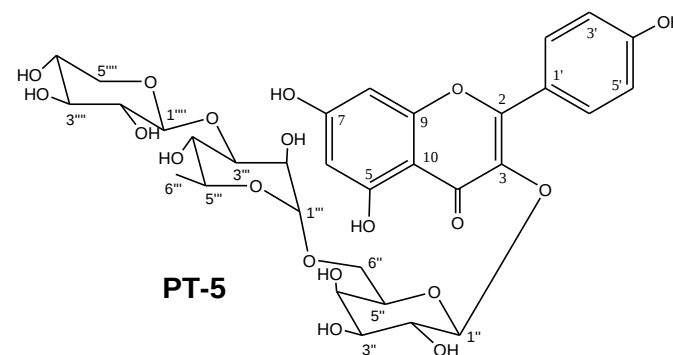
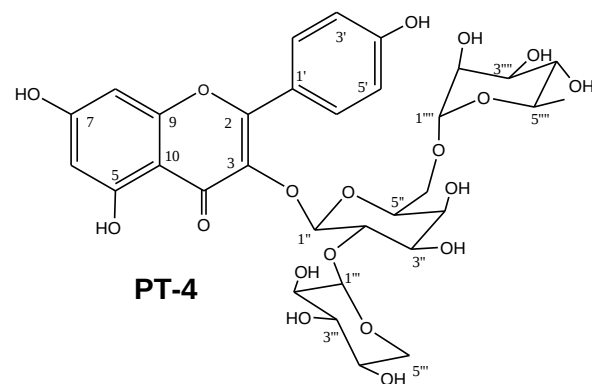


Figura A72- Mapa de correlação HMBC da mistura dos compostos **PT-4** e **PT-5** (500 MHz, CD₃OD).



Acquisition Time
(sec);(0.1982, 0.0092)
Comment;5 mm TBI
1H/13C/D-BB Z-GRD
Z8624/0014
Frequency (MHz);(500.13,
125.77)
Nucleus;(1H, 13C)
Number of Transients;100
Origin;spect
Original Points Count;(2048,
256)
Owner;Administrator
Points Count;(2048, 1024)
Pulse
Sequence;hmbcgpdpndqf
Solvent;MeOD
Spectrum Type;HMBC
Sweep Width (Hz);(10325.53,
27905.70)
Temperature (degree
C);25.560

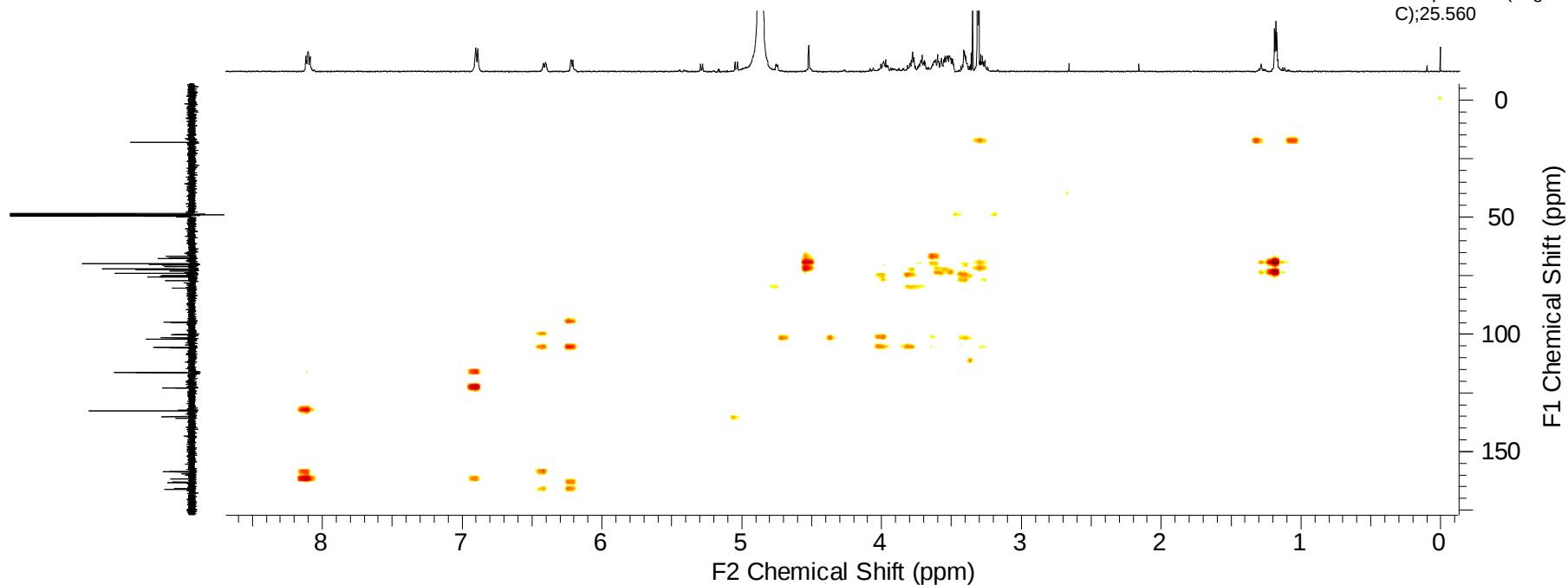


Figura A73- Expansão do mapa de correlação HMBC da mistura dos compostos e **PT-5** (500 MHz, CD_3OD).

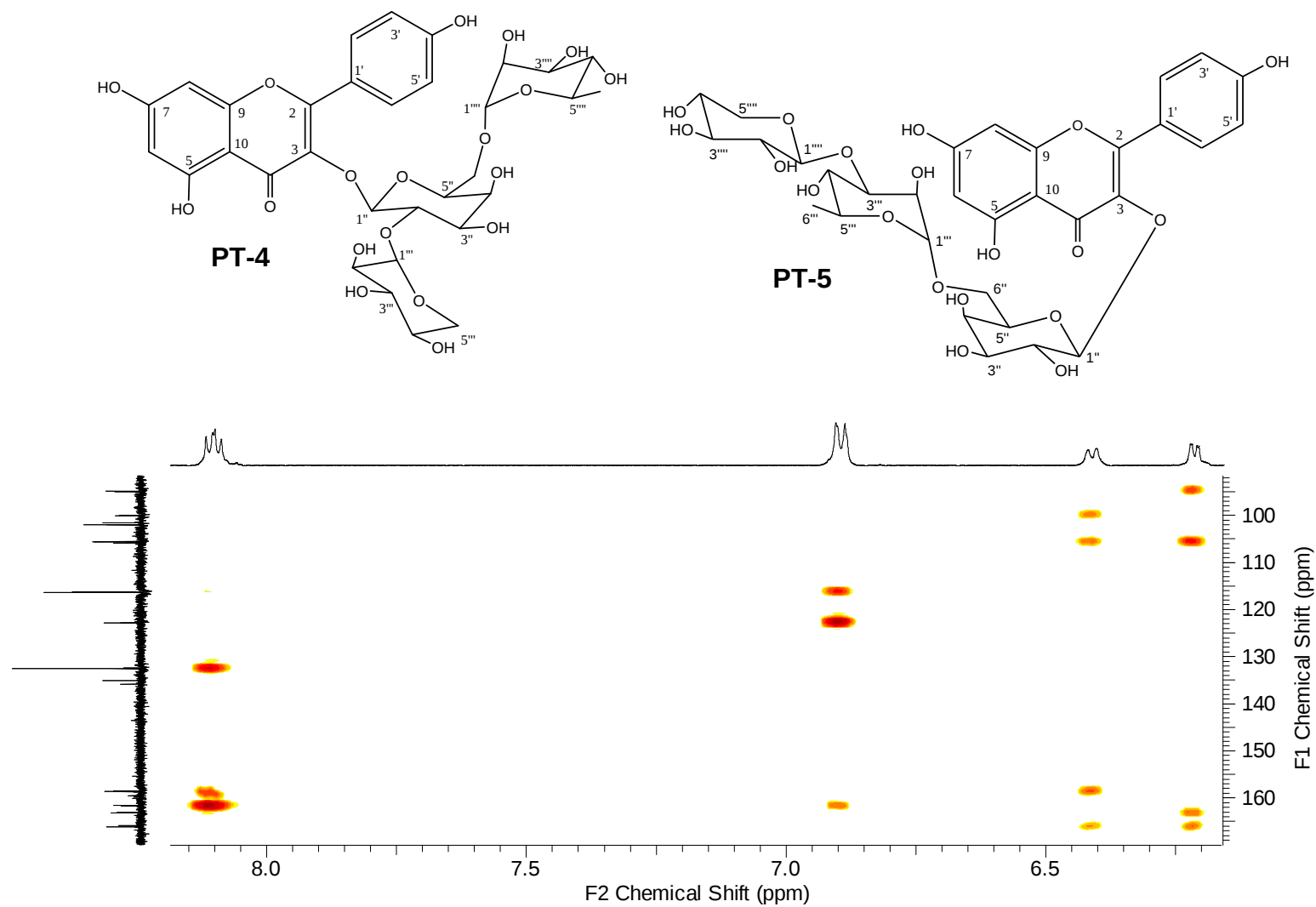


Figura A74- Expansão do mapa de correlação HMBC da mistura dos compostos **PT-4** e **PT-5** (500 MHz, CD_3OD).

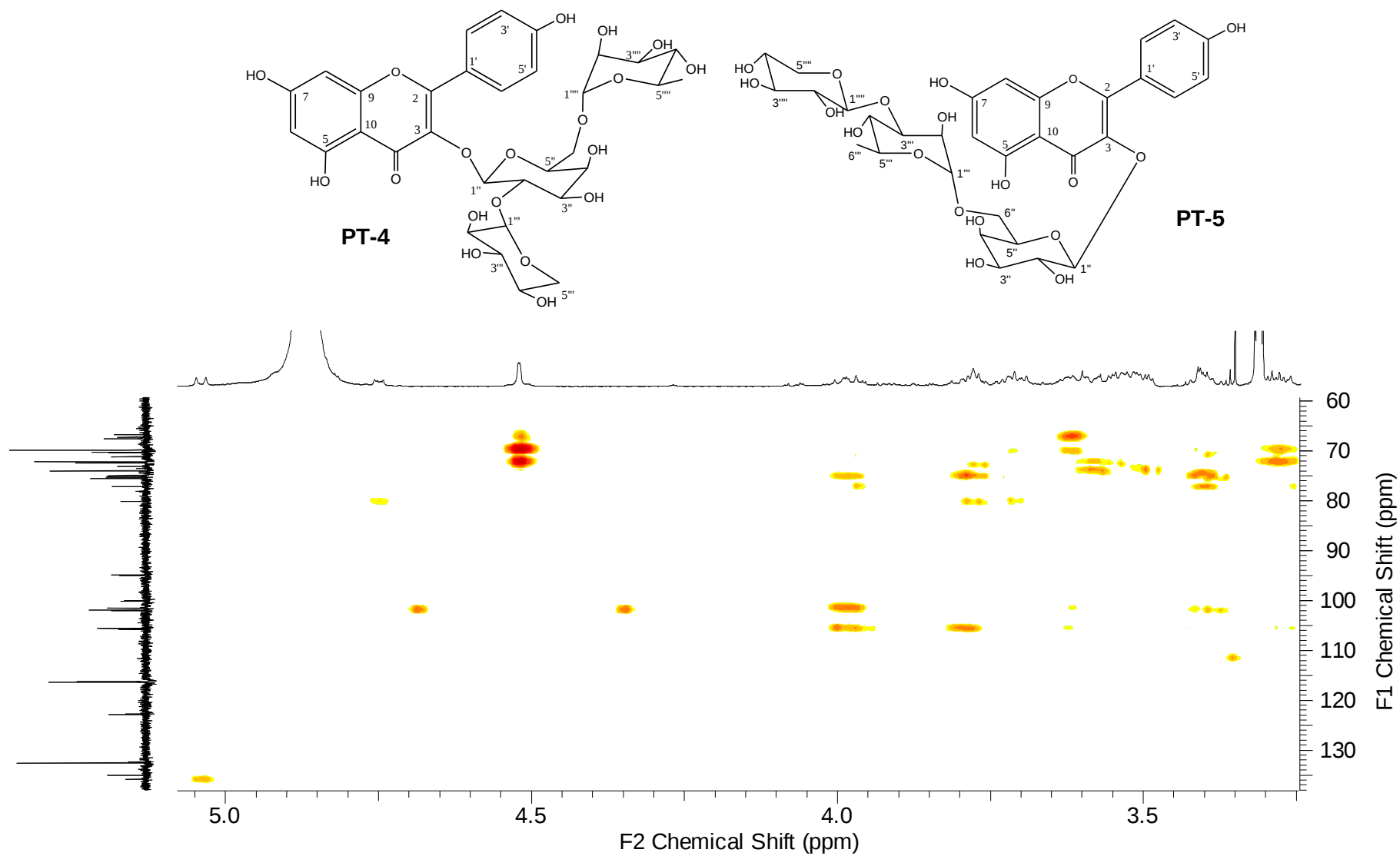


Figura A75- Expansão do mapa de correlação HMBC da mistura dos compostos **PT-4** e **PT-5** (500 MHz, CD_3OD).

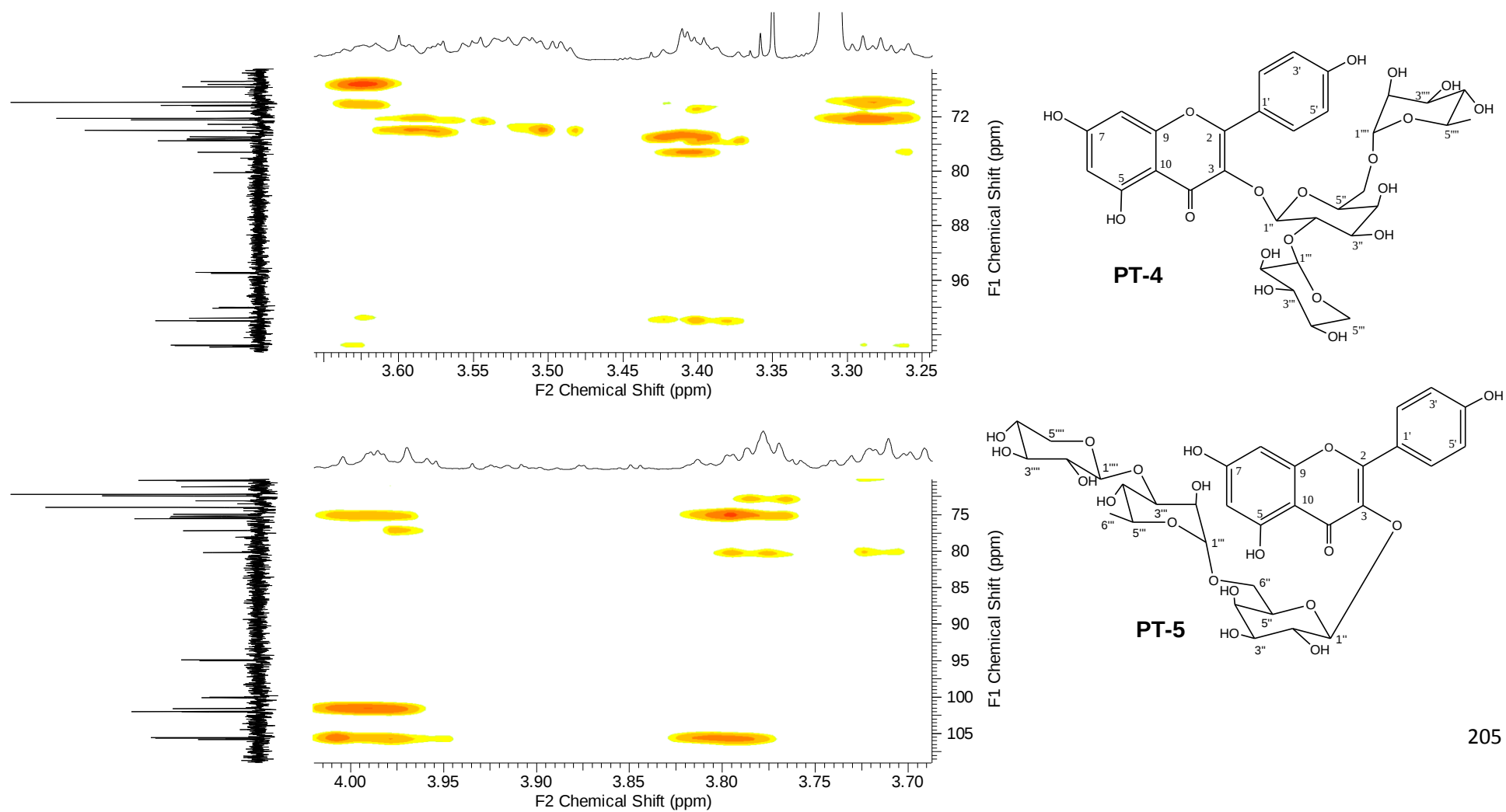
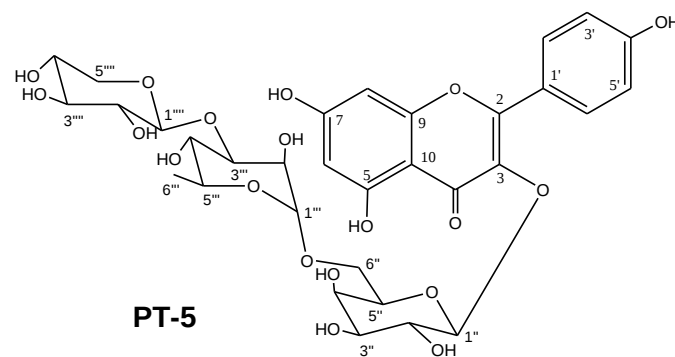
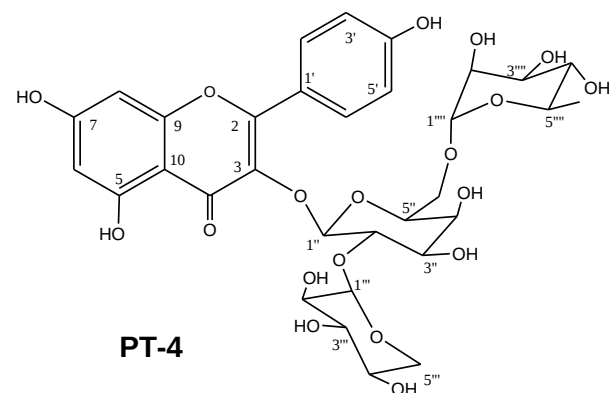


Figura A76- Mapa de correlação COSY da mistura de **PT-4** e **PT-5** (500 MHz, CD_3OD).



Parameter;Value
 Acquisition Time (sec);(0.2540,
 0.0317)
 Comment;5 mm TBI 1H/13C/D-BB
 Z-GRD Z8624/0014
 Frequency (MHz);(500.13, 500.13)
 Nucleus;(1H, 1H)
 Number of Transients;42
 Origin;spect
 Original Points Count;(2048, 256)
 Owner;nmrsl
 Points Count;(2048, 1024)
 Pulse Sequence;cosygpppqf
 Solvent;CDCl3
 Spectrum Type;COSY
 Sweep Width (Hz);(8060.58,
 8056.64)
 Temperature (degree C);25.160

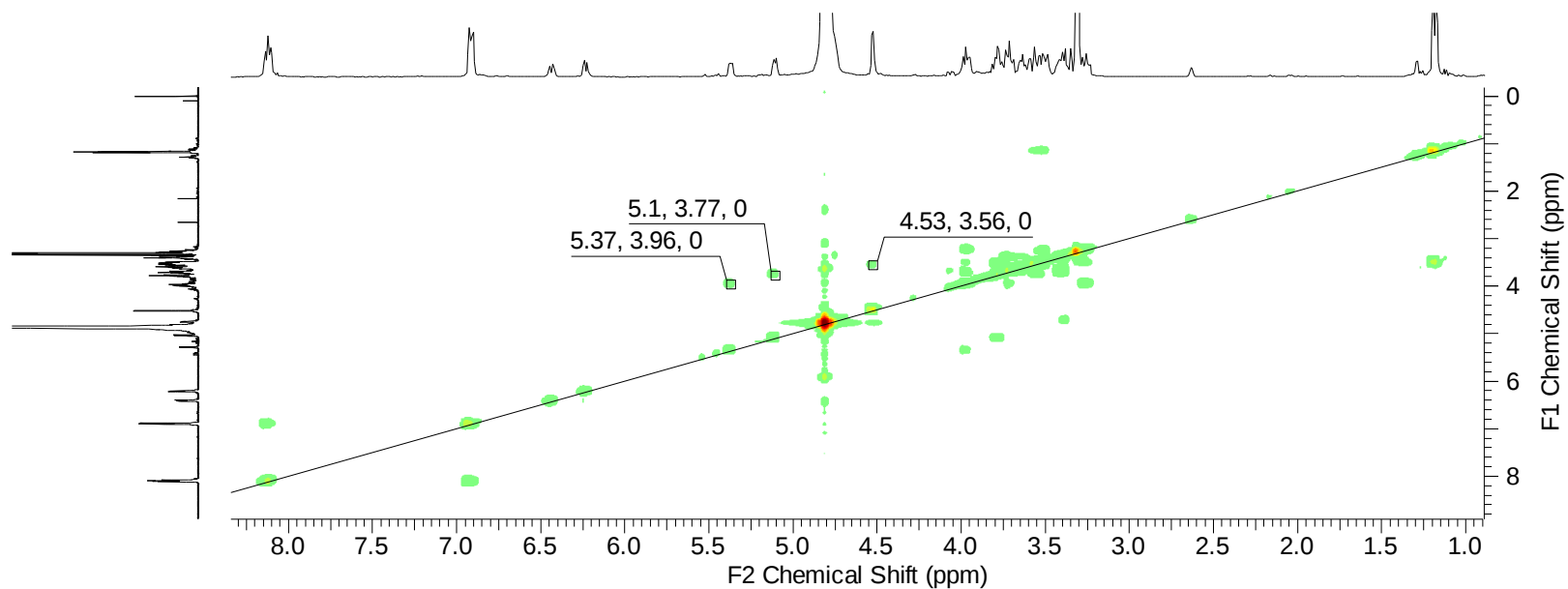


Figura A77- Expansão do mapa de correlação COSY da mistura de **PT-4** e **PT-5** (500 MHz, CD_3OD).

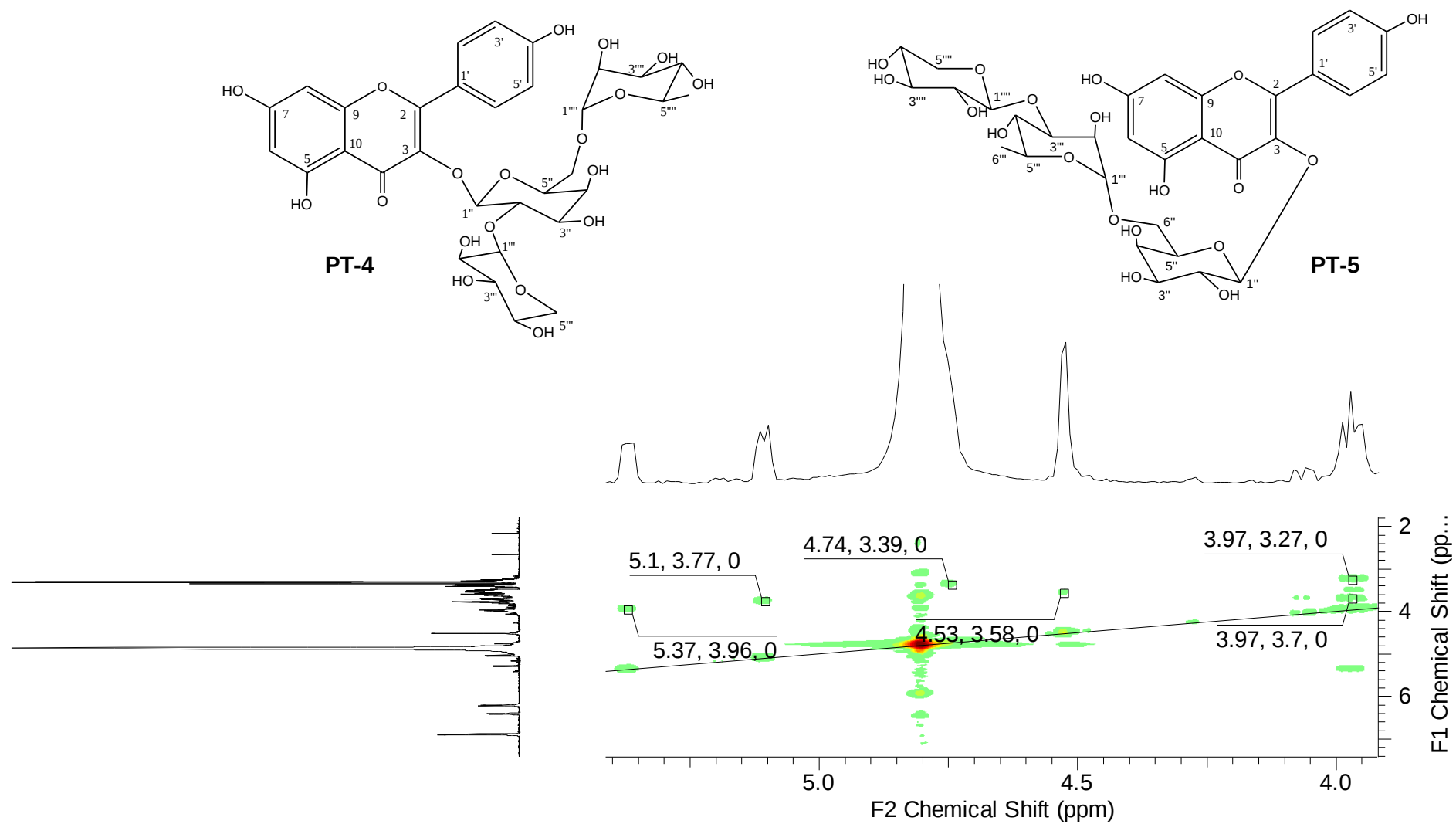
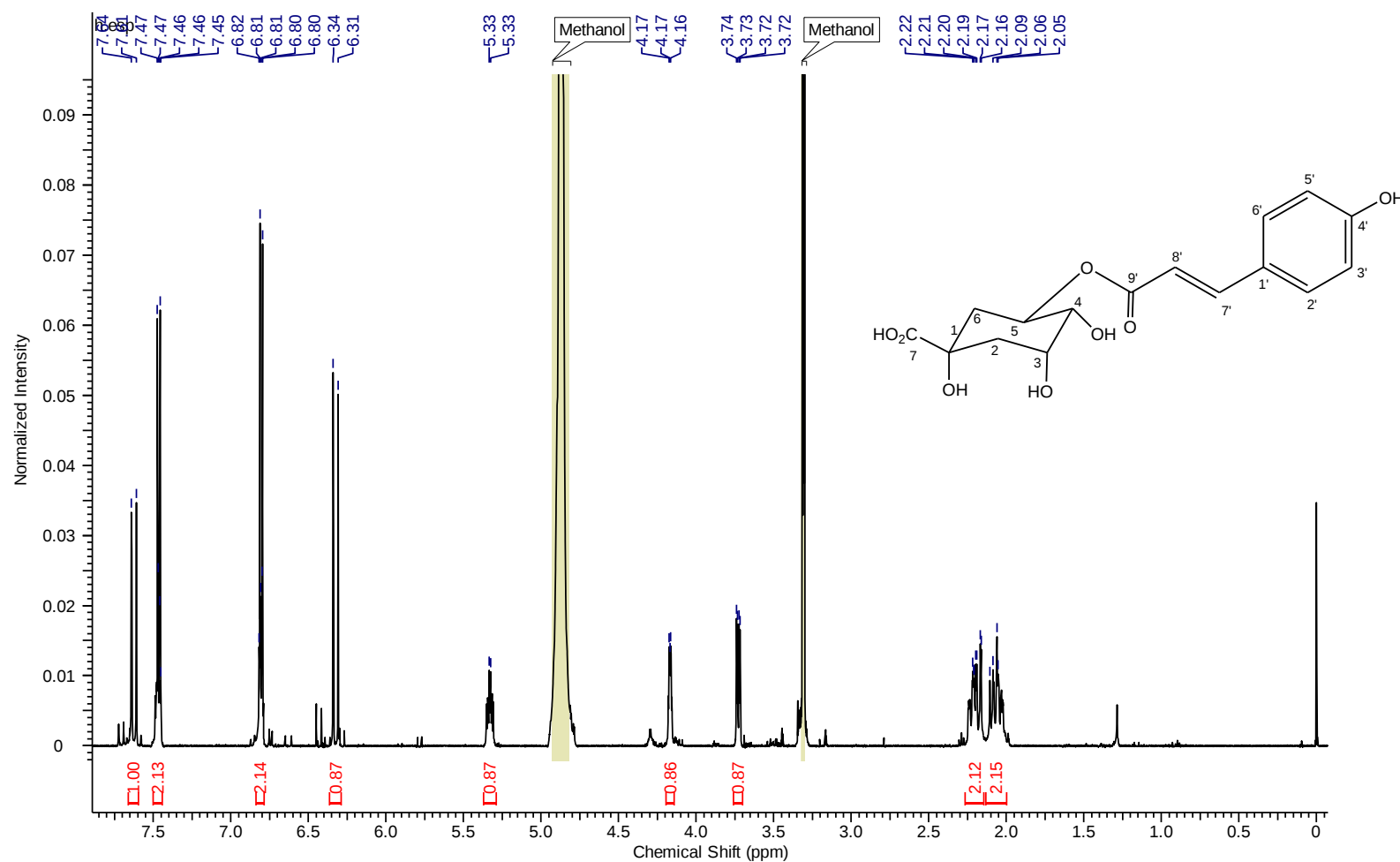


Figura A78- Espectro de RMN de ^1H do composto **PT-6** (500 MHz, CD_3OD).



Acquisition Time (sec);5.5050
 Comment;l-14-28pico9 6,6mg
 meod Geralda
 Frequency (MHz);500.13
 Nucleus; ^1H
 Number of Transients;16
 Origin;spect
 Original Points Count;32768
 Owner;nmsu
 Points Count;32768
 Pulse Sequence;zg30
 Receiver Gain;101.00
 SW(cyclical) (Hz);5952.38
 Solvent;METHANOL-d4
 Spectrum Offset
 (Hz);2525.9653
 Spectrum Type;STANDARD
 Sweep Width (Hz);5952.20
 Temperature (degree
 C);25.160

Figura A79- Expansões do espectro de RMN de ^1H do composto **PT-6** (500 MHz, CD_3OD).

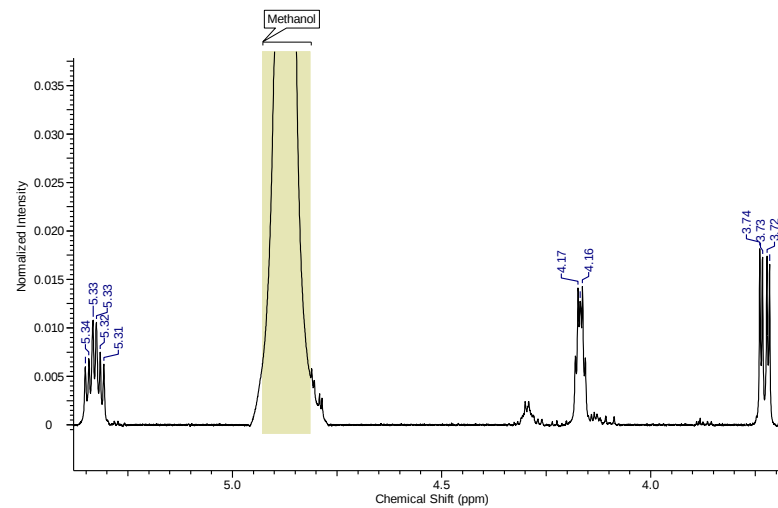
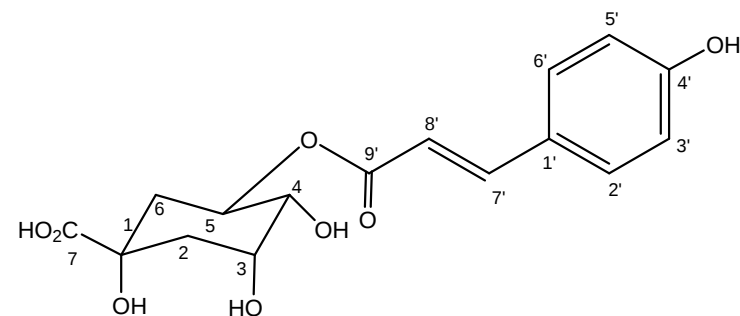
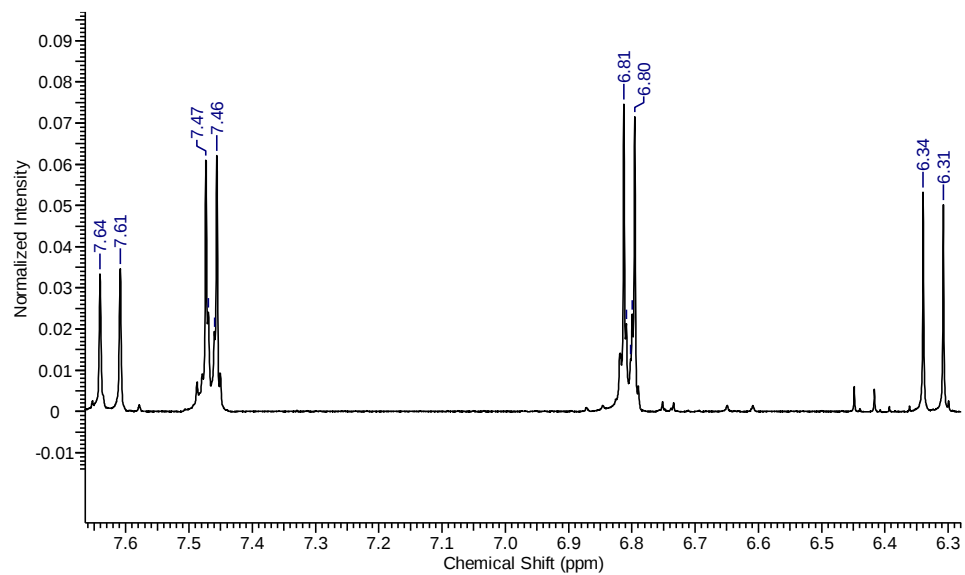
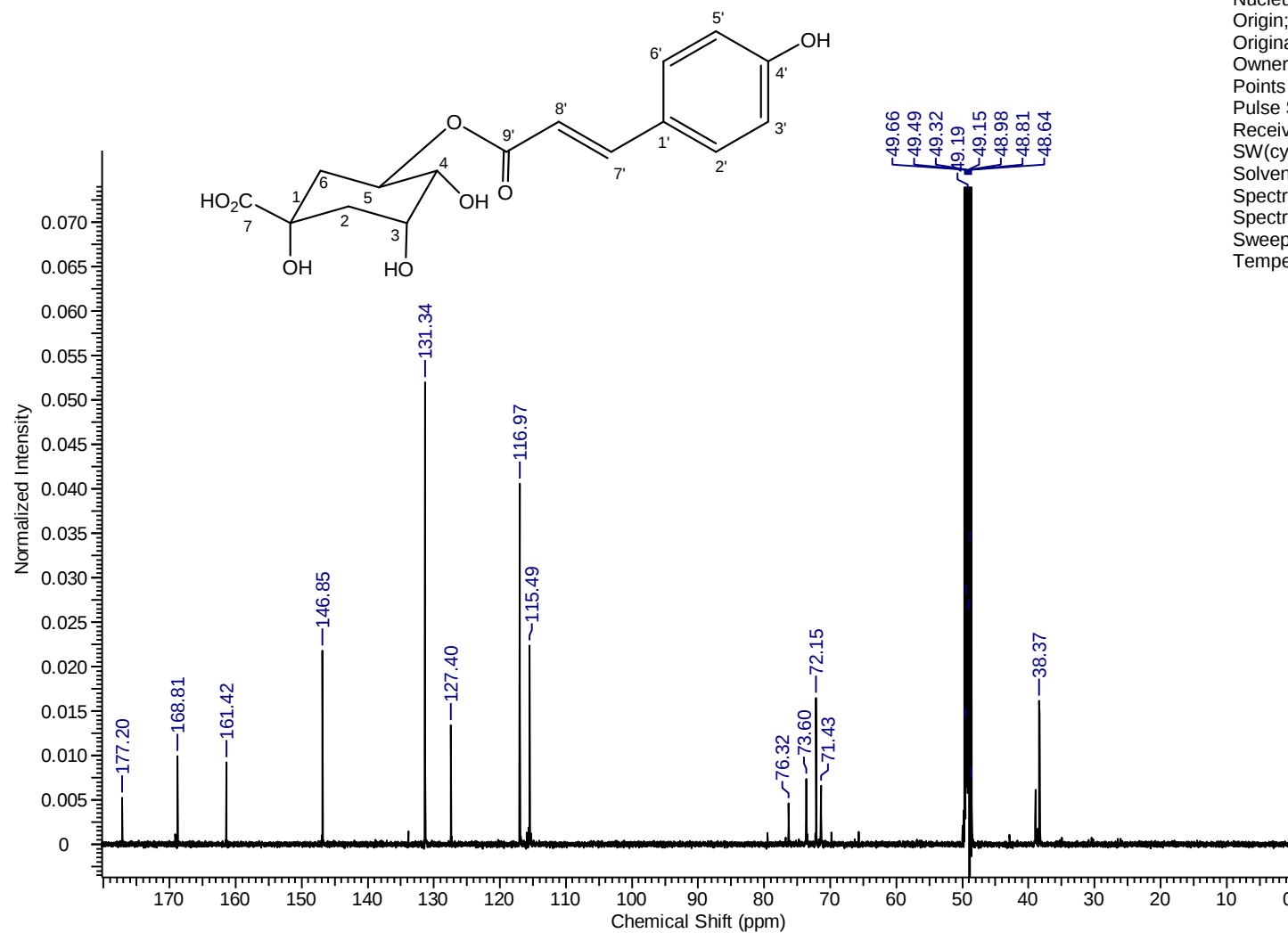


Figura A80- Espectro de RMN de ^{13}C de **PT-6** (125 MHz, CD_3OD).



Acquisition Time (sec);0.5505
 Frequency (MHz);125.76
 Nucleus; ^{13}C
 Origin;spect
 Original Points Count;16384
 Owner;nmsu
 Points Count;32768
 Pulse Sequence;zpgpg30
 Receiver Gain;912.00
 SW(cyclical) (Hz);29761.90
 Solvent;METHANOL-d4
 Spectrum Offset (Hz);12770.8838
 Spectrum Type;STANDARD
 Sweep Width (Hz);29761.00
 Temperature (degree C);25.360

Figura A81- Mapa de correlação HSQC do composto **PT-6** (500 MHz, CD₃OD).

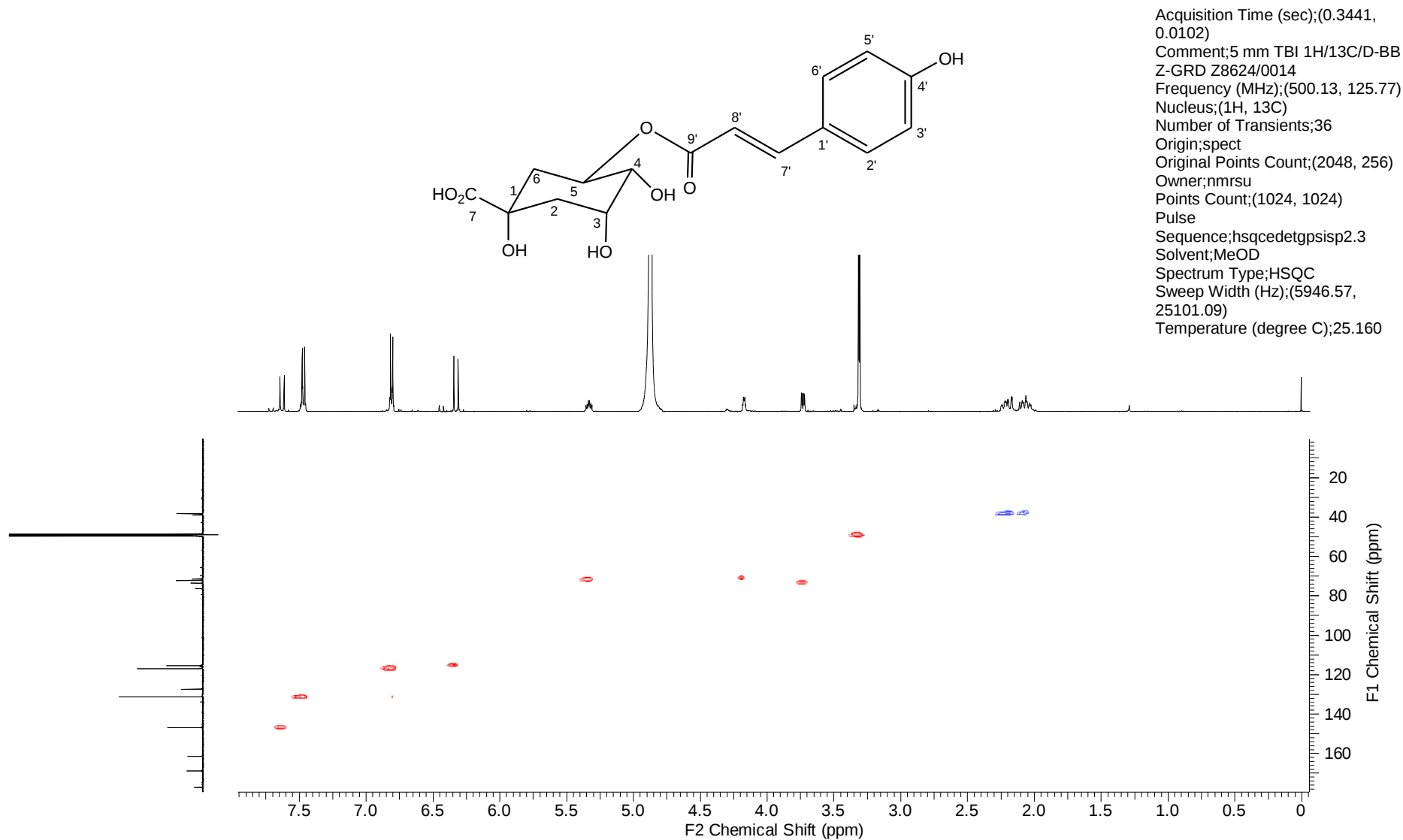


Figura A82- Mapa de correlação HMBC de **PT-6** (500 MHz, CD_3OD).

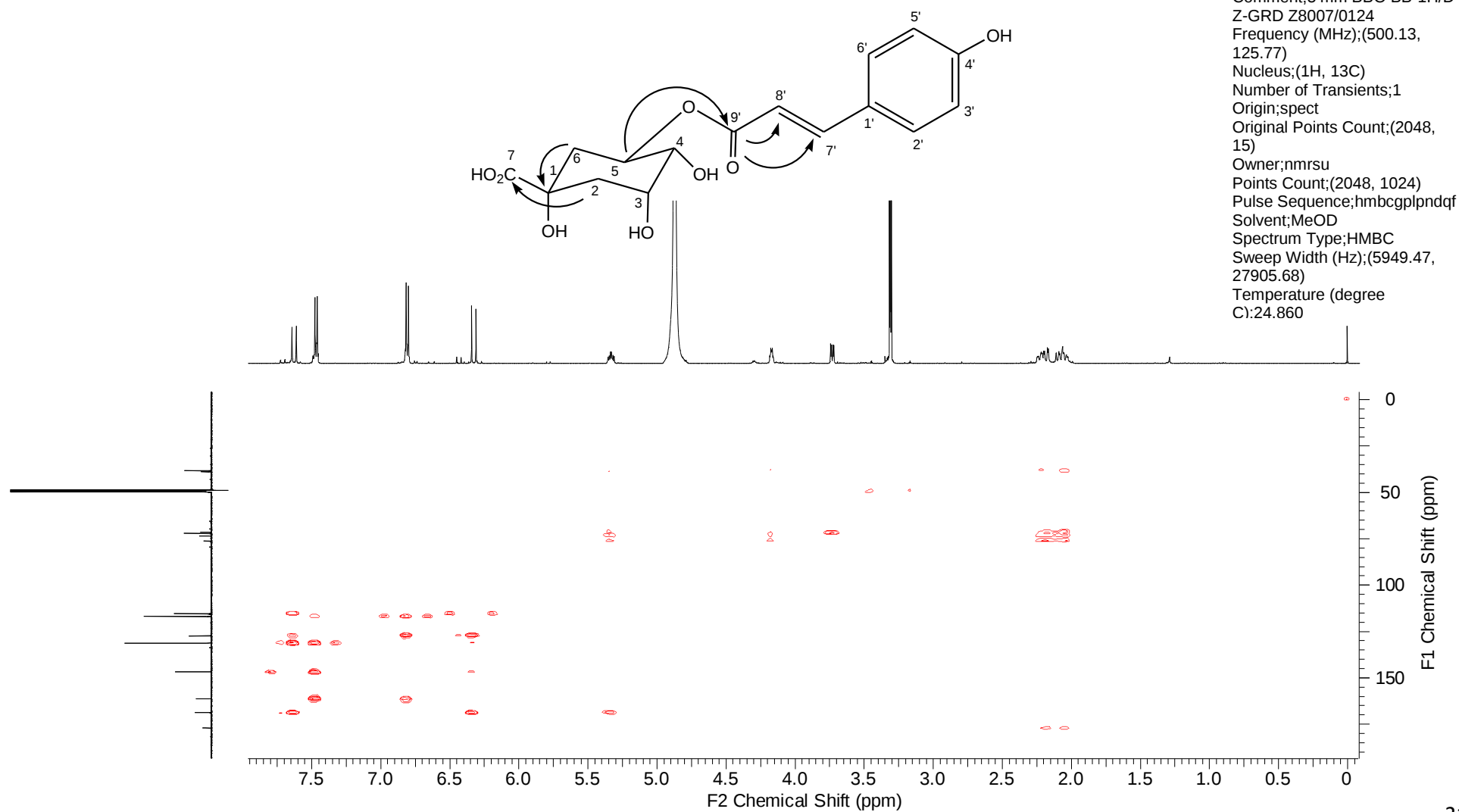


Figura A83- Expansão do mapa de correlação HMBC de **PT-6** (500 MHz, CD_3OD).

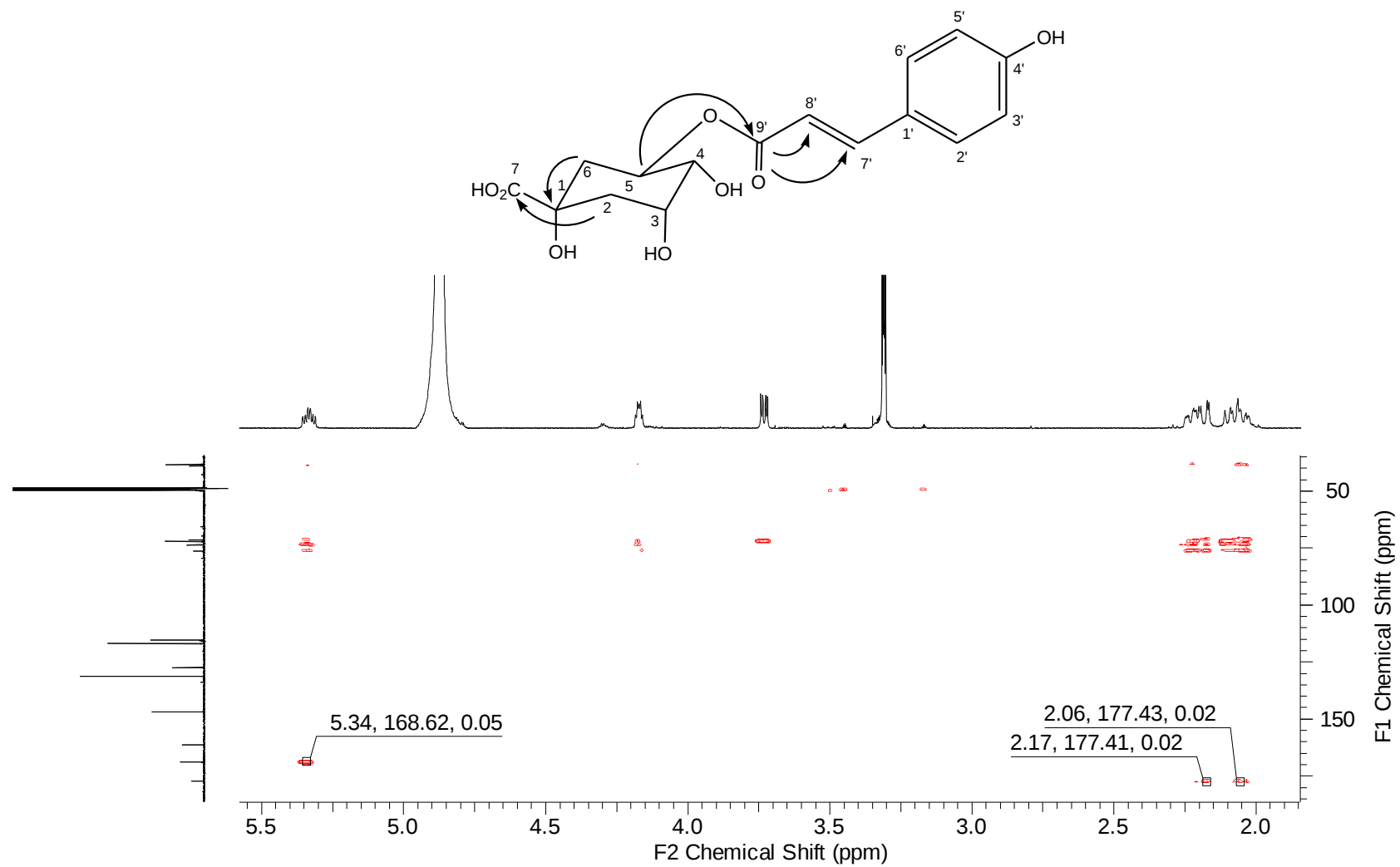


Figura A84- Mapa de correlação COSY de **PT-6** (500 MHz, CD_3OD).

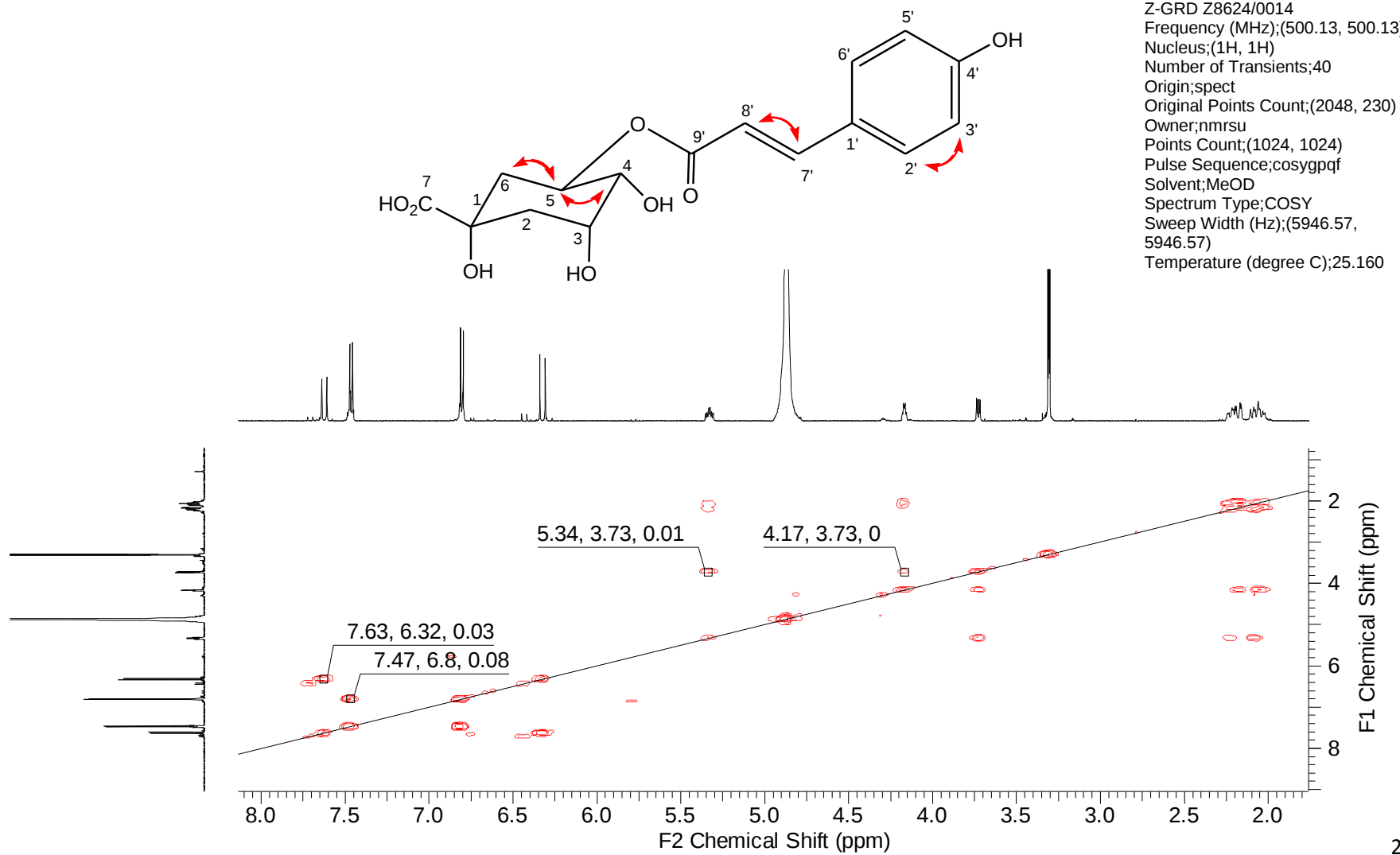


Figura A85- Espectro de RMN de ^1H do composto **PT-1** (500 MHz, CDCl_3).

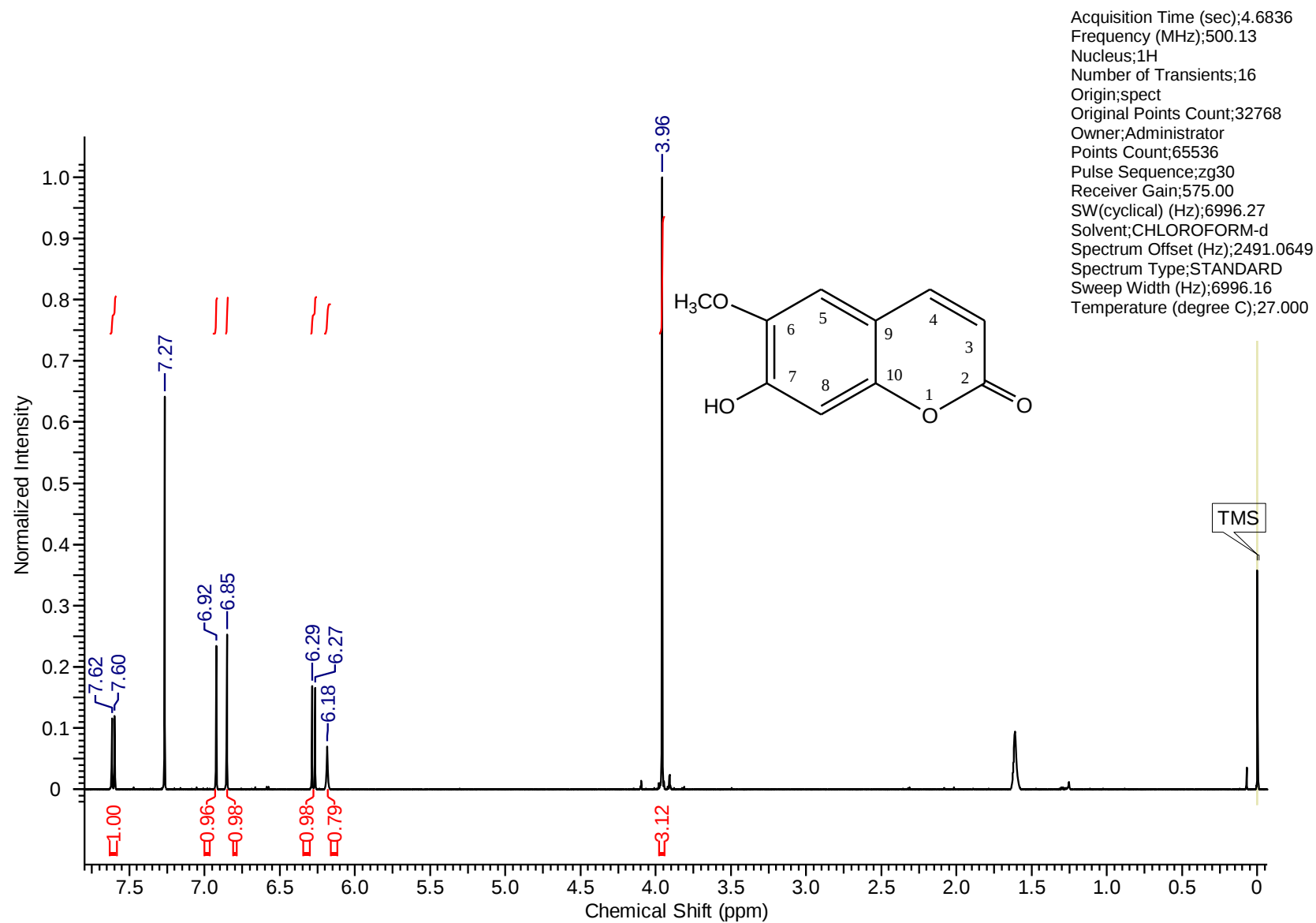


Figura A86- Espectro de RMN de ^{13}C do composto **PT-1** (125 MHz, CDCl_3).

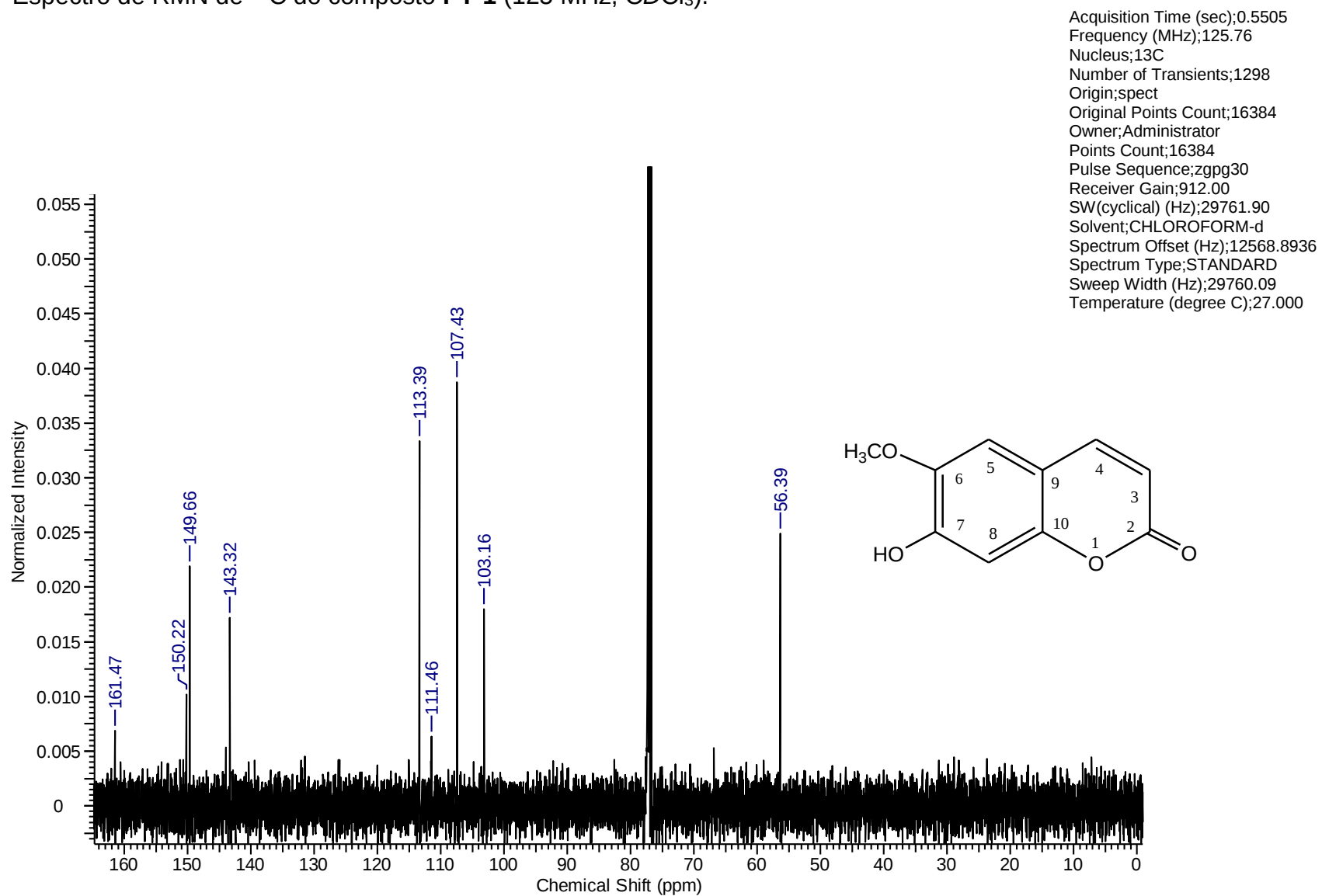


Figura A87- Mapa de correlação HSQC de **PT-1** (500 MHz, CDCl₃).

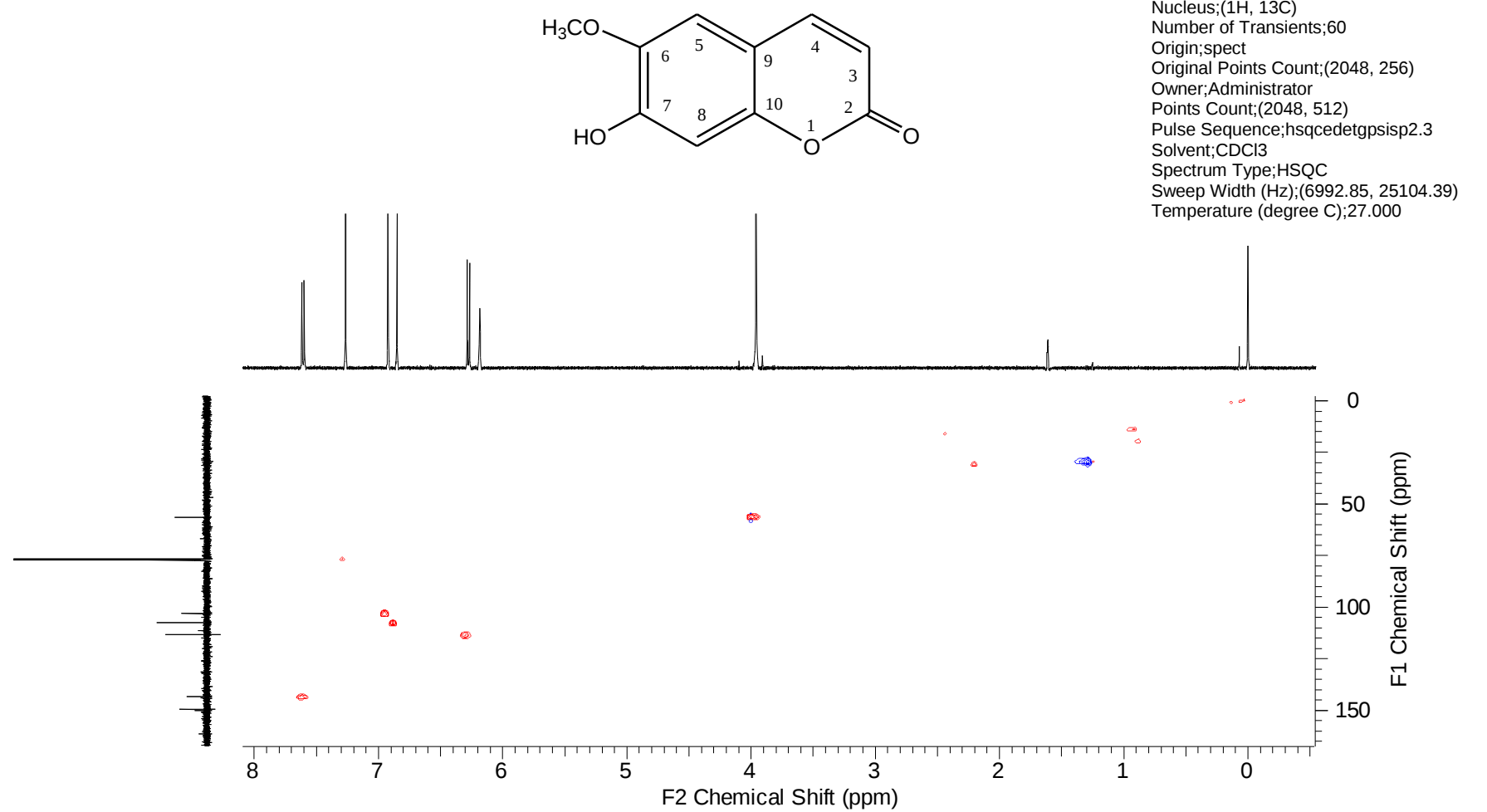


Figura A88- Mapa de correlação HMBC do composto **PT-1** (500 MHz, CDCl₃).

