



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
GRADUAÇÃO EM QUÍMICA INDUSTRIAL

FELIPE CAVALCANTI VIEIRA

ESTUDO FITOQUÍMICO DO EXTRATO DAS FOLHAS DE *Endlicheria paniculata*

UBERLÂNDIA

2022

FELIPE CAVALCANTI VIEIRA

ESTUDO FITOQUÍMICO DO EXTRATO DAS FOLHAS DE *Endlicheria paniculata*

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito do curso de Química Industrial da Universidade Federal de Uberlândia para a obtenção do grau de Bacharelado em Química.

Área de Concentração: Química Orgânica

Orientador: Prof. Dr. Alberto de Oliveira

Coorientador: Dr. Rafael Aparecido Carvalho Souza

UBERLÂNDIA

2022

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

V658 2022	<p>Vieira, Felipe Cavalcanti, 1997- ESTUDO FITOQUÍMICO DO EXTRATO DAS FOLHAS DE Endlicheria paniculata [recurso eletrônico] / Felipe Cavalcanti Vieira. - 2022.</p> <p>Orientador: Alberto de Oliveira. Coorientador: Rafael Aparecido Carvalho Souza. Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Uberlândia, Graduação em Química Industrial. Modo de acesso: Internet. Inclui bibliografia. Inclui ilustrações.</p> <p>1. Tecnologia química. I. Oliveira, Alberto de, 1979- (Orient.). II. Souza, Rafael Aparecido Carvalho, 1990- (Coorient.). III. Universidade Federal de Uberlândia. Graduação em Química Industrial. IV. Título.</p> <p style="text-align: right;">CDU: 660.2</p>
--------------	---

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:
Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091
Nelson Marcos Ferreira - CRB6/3074



ATA DE DEFESA - GRADUAÇÃO

Curso de Graduação em:	Química Industrial				
Defesa de:	Trabalho de Conclusão de Curso - GQB056				
Data:	05/07/2022	Hora de início:	08:00	Hora de encerramento:	10:20
Matrícula do Discente:	11511QID004				
Nome do Discente:	Felipe Cavalcanti Vieira				
Título do Trabalho:	Estudo fitoquímico do extrato das folhas de <i>Endlicheria paniculata</i>				
A carga horária curricular foi cumprida integralmente?	<input checked="" type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não				

Reuniu-se na sala virtual criada pela Coordenação do Curso de Química Industrial, no aplicativo Microsoft Teams, a Banca Examinadora, designada pelo Coordenador do Curso de Graduação em Química Industrial, assim composta: Prof. Dr. Alberto de Oliveira - **Orientador(a)**; Prof. Dr. Wellington de Oliveira Cruz - Titular; Doutorando Diego Godina Prado - Titular e Prof. Dr. Bruno Henrique Sacoman Torquato da Silva - Suplente.

Iniciando os trabalhos, o(a) presidente da mesa, Dr(a). Alberto de Oliveira, apresentou a Comissão Examinadora e o(a) candidato(a), agradeceu a presença do público, e concedeu ao(à) discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação do(da) discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do curso.

A seguir o(a) senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos(às) examinadores(as), que passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

Aprovado(a) Nota [89] (Somente números inteiros)
 Reprovado(a)

Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos. Foi lavrada a presente ata que após lida e achada conforme foi assinada pela Banca Examinadora.



Documento assinado eletronicamente por **Alberto de Oliveira, Professor(a) do Magistério Superior**, em 05/07/2022, às 10:23, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).

Documento assinado eletronicamente por **Wellington de Oliveira Cruz, Professor(a) do Magistério Superior**, em 05/07/2022, às 10:24, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º,



§ 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Diego Godina Prado, Usuário Externo**, em 05/07/2022, às 11:02, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **3714709** e o código CRC **1D8FC137**.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por nunca ter me desamparado, se mostrando sempre ao meu lado, me dando força a cada dia para continuar esta caminhada.

Aos meus familiares, por todo o apoio, que sempre me incentivaram a ser uma pessoa melhor e lutar pelos meus sonhos e objetivos. Além disso, foram de extrema importância para que chegasse até este ponto, nunca medindo esforços para a concretização desse sonho.

Ao meu orientador Prof.º Dr.º Alberto de Oliveira pela orientação e paciência durante todo o projeto, sempre me auxiliando durante as etapas da atividade de pesquisa. Assim, também agradeço ao Dr. Rafael Souza, pela coorientação, e auxílio durante todo desenvolvimento da pesquisa, me ensinando sobre as técnicas utilizadas durante cada etapa.

Aos docentes que ministraram as disciplinas que cursei e compartilharam seu conhecimento comigo, e por isso sou extremamente grato.

Aos professores e colegas do NuPPEM (Núcleo de Pesquisa em Produtos Naturais) pelo suporte técnico e apoio durante a pesquisa.

Agradeço ao Instituto de Química e a Universidade Federal de Uberlândia como um todo, por ter acreditado em mim e que ter me dado auxílio durante todo o percurso, e sem isso eu certamente não chegaria até onde cheguei.

À CAPES, CNPq e a FAPEMIG pelas bolsas de pesquisas e à FAPEMIG pelo auxílio financeiro (APQ-01612-18).

“A persistência é o caminho do êxito.”

(Charles Chaplin)

RESUMO

No âmbito da química de produtos naturais, a busca por compostos com atividades biológicas é de suma importância, uma vez que podem apresentar propriedades que propiciam o combate a patologias. Desta forma, este trabalho teve como objetivos realizar o estudo fitoquímico para a identificação e isolamento de metabólitos secundários presentes nos extratos hexânico e metanólico das folhas (EH-F e EM-F, respectivamente) de *Endlicheria paniculata* (Lauraceae), com vista na seleção de moléculas bioativas. A prospecção fitoquímica apresentou resultados positivos para os reveladores NP/PEG, $AlCl_3$, Liebermann Burchard e sulfato cérico, apontando a presença de terpenos, flavonoides, fenilpropanoides e esteróis nos extratos hexânicos (EHF) e metanólicos (EMF). Com base nos cromatogramas obtidos por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) foi possível verificar através dos perfis cromatográficos, que o EHF era o mais promissor para o procedimento subsequente e desta forma foi submetido a uma separação cromatográfica em coluna empacotada com sílica gel e eluído com uma mistura de solventes em gradiente de polaridade crescente (hexano/acetato de etila (AcOEt)/metanol (MeOH)). Foram agrupadas três frações que apresentavam o mesmo perfil cromatográfico e a partir destas frações foram isolados três compostos. Com base nas análises de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN de 1H) e carbono (RMN de ^{13}C) e pela análise por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) destes compostos, foram identificadas duas neolignanas (*O*-metildesidrodieugenol B (**1**) e o desidrodieugenol B (**2**)) e o β -sitosterol (**3**).

PALAVRAS-CHAVE: *Endlicheria paniculata*, neolignanas, espectrometria de massas, fitoquímica.

ABSTRACT

In the context of natural products chemistry, the searching for compounds with biological activities is of utmost importance, since they may present properties that help fighting pathologies. Thus, this work aimed to carry out a phytochemical study to identify and isolate of secondary metabolites present in hexanic and methanolic extracts of the leaves (EH-F and EM-F, respectively) of *Endlicheria paniculata* (Lauraceae), aiming at the selection of bioactive molecules. The phytochemical prospection showed positive results for NP/PEG, AlCl₃, Liebermann Burchard and ceric sulfate reagents, pointing out the presence of terpenes, flavonoids, phenylpropanoids, and sterols in the hexanic (EHF) and methanolic (EMF) extracts. Based on the chromatograms obtained by high-performance liquid chromatography (HPLC) it was possible to verify through the chromatographic profiles, that the EHF was the most promising for the subsequent procedure and thus was submitted to chromatographic separation on a packed column with silica gel and eluted with a mixture of solvents in a gradient of increasing polarity (hexane/ethyl acetate (AcOEt)/methanol (MeOH)). Three fractions with the same chromatographic profile were pooled, and three compounds were isolated from these fractions. Based on hydrogen (¹H NMR) and carbon (¹³C NMR) nuclear magnetic resonance analyses and gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS) analysis of these compounds, two neolignans (*O*-methyldehydrodieugenol B (**1**) and dehydrodieugenol B (**2**)) and β-sitosterol (**3**) were identified.

KEYWORDS: *Endlicheria paniculata*, neolignans, mass spectrometry, phytochemistry.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Fármacos lançados em 38 anos (1981-2019).....	15
Figura 2 -	Fontes de fármacos lançados no período de 1981-2019.....	16
Figura 3 -	Formação das lignanas.....	19
Figura 4 -	Exemplos de neolignanas.....	20
Figura 5 -	Neolignanas com atividade antibiótica.....	21
Figura 6 -	Neolignanas com atividade antibiótica contra <i>Staphylococcus aureus</i>	21
Figura 7 -	Estrutura do mirislignano E e licarina B.....	22
Figura 8 -	Neolignanas com atividades antivirais.....	22
Figura 9 -	Estruturas do (a) Egonol e (b) Homoegonol.....	23
Figura 10 -	Estruturas do (a) β -sitosterol, (b) campesterol e (c) estigmasterol.....	24
Figura 11 -	Estrutura geral de um fitoesterol.....	24
Figura 12 -	Estruturas das quatro neolignanas isoladas.....	27
Figura 13 -	Folhas e frutos da <i>E. paniculata</i>	29
Figura 14 -	Fluxograma do fracionamento cromatográfico do extrato hexânico das folhas de <i>E. paniculata</i>	36
Figura 15 -	Estrutura do composto 1.....	36
Figura 16 -	Estrutura do composto 2.....	37
Figura 17 -	Estrutura do composto 3.....	37
Figura 18 -	Estrutura química do composto 1.....	38
Figura 19 -	Espectro de ^1H -RMN (400 MHz, CDCl_3) do composto 1.....	39
Figura 20 -	Espectro de ^{13}C -RMN (100 MHz, CDCl_3) do composto 1.....	40
Figura 21 -	Mapa de contorno COSY do composto 1 (400 MHz, CDCl_3).....	41
Figura 22 -	Mapa de contorno HSQC do composto 1 (400 MHz, CDCl_3).....	42
Figura 23 -	Cromatograma da fração EH-F-3-P30 (composto 1) obtido por CG-EM.....	44
Figura 24 -	EM-IE do O-metildesidrodieugenol B (1) obtido por CG-EM.....	44
Figura 25 -	Estrutura química do desidrodieugenol B (2).....	45
Figura 26 -	Espectro de ^1H -RMN (400 MHz, CDCl_3) do composto 2.....	46
Figura 27 -	Espectro de ^{13}C -RMN (100 MHz, CDCl_3) do composto 2.....	47
Figura 28 -	Mapa de contorno COSY do composto 2 (400 MHz, CDCl_3).....	48
Figura 29 -	Mapa de contorno HSQC do composto 2 (400 MHz, CDCl_3).....	49
Figura 30 -	Mapa de contorno HMBC do composto 2 (400 MHz, CDCl_3).....	50
Figura 31 -	Cromatograma da fração EH-F-7-P26 obtido por CG-EM.....	52
Figura 32 -	EM-IE do desidrodieugenol B (2) obtido por CG-EM.....	52

Figura 33 - Estrutura química do composto 3.....	53
Figura 34 - Espectro de ¹ H-RMN (400 MHz, CDCl ₃) do composto 3.....	54
Figura 35 - Espectro de ¹³ C-RMN (100 MHz, CDCl ₃) do composto 3.....	55
Figura 36 - Mapa de contorno COSY do composto 3 (400 MHz, CDCl ₃).....	56
Figura 37 - Mapa de contorno HSQC do composto 3 (400 MHz, CDCl ₃).....	56
Figura 38 - Cromatograma da fração EH-F-7-P34 obtido por CG-EM.....	58
Figura 39 - EM-IE do β-sitosterol (3) obtido por CG-EM.....	58
Figura 40 - Cromatograma do extrato EH-F de <i>E. paniculata</i> obtido por CLAE-DAD (UV 254nm).....	59
Figura 41 - Cromatograma do extrato EH-F de <i>E. paniculata</i> obtido por CLAE-ELSD.....	60
Figura 42 - Cromatograma do extrato EM-F de <i>E. paniculata</i> obtido por CLAE-DAD (UV 254nm).....	60
Figura 43 - Cromatograma do extrato EM-F de <i>E. paniculata</i> obtido por CLAE-ELSD.....	61

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características dos metabolismos primário e secundário.....	18
Tabela 2 - Rendimento da extração por maceração das folhas de <i>E. paniculata</i>	34
Tabela 3 - Prospecção fitoquímica do EH-F e EM-F.	35
Tabela 4 - Deslocamentos químicos observados nos espectros de RMN do composto 1	43
Tabela 5 - Deslocamentos químicos observados nos espectros de RMN do composto 2	51
Tabela 6 - Deslocamentos químicos observados nos espectros de RMN do composto 3	57

LISTA DE ABREVIATURAS

AcOET	Acetato de etila
CCD	Cromatografia em camada delgada
CG-EM	Cromatografia Gasosa acoplada a espectrômetro de massas
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
COSY	Espectroscopia de relação homonuclear
DAD	Detector de arranjo de iodios
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DPPH	2,2-difenil-1-picril-hidrazila
DTH	Hipersensibilidade tardia
EFTA	Autoridade Europeia para Segurança dos Alimentos
EHF	Extrato hexânico das folhas
EMF	Extrato metanólico das folhas
ELSD	Detector de dispersão de luz por evaporação
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
HMBC	Conectividade de ligação heteronuclear múltiplo
HSQC	Correlação quântica única heteronuclear
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência
ICPt	Iodocloroplatinato
MeOH	Metanol
NP/PEG	Difenilboriloxietilamina/polietilenoglicol
OMS	Organização Mundial da Saúde
RMN/NMR	Ressonância magnética nuclear
RNA	Ácido ribonucleico
SARM	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente a meticilina
UV	Ultravioleta

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA.....	14
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	17
2.1	METABOLISMO VEGETAL.....	17
2.1.1	Neolignanas.....	19
2.2	FITOESTERÓIS.....	23
2.3	FAMÍLIA LAURACEAE.....	25
2.4	O GÊNERO <i>Endlicheria</i>	26
2.5	A espécie <i>Endlicheria paniculata</i>	28
3	OBJETIVOS.....	30
3.1	OBJETIVO GERAL.....	30
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	30
4	PARTE EXPERIMENTAL.....	30
4.1	INSTRUMENTAÇÃO.....	30
4.2	SOLVENTES E REAGENTES.....	31
4.3	PROCEDIMENTO.....	31
4.3.1	Obtenção do material vegetal e extratos.....	31
4.3.1.1	Prospecção fitoquímica.....	32
4.3.1.2	Fracionamento cromatográfico.....	32
4.3.1.3	Análise por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).....	32
4.3.1.4	Análise por RMN e CG-EM.....	33
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	33
5.1	RESULTADOS DA EXTRAÇÃO.....	33
5.2	PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA DA <i>E. paniculata</i>	34
5.3	FRACIONAMENTO CROMATOGRÁFICO.....	35
5.4	CARACTERIZAÇÃO DE COMPOSTOS PRESENTES NOS EXTRATOS DE <i>E. paniculata</i>	38
5.4.1	Composto 1.....	38
5.4.2	Composto 2.....	45
5.4.3	Composto 3.....	52
5.5	ANÁLISE DO PERFIL CROMATOGRÁFICO POR CLAE-DAD DOS EXTRATOS DE <i>E. paniculata</i>	59
6	CONCLUSÃO.....	62
	REFERÊNCIAS	63

1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

O emprego de plantas para fins medicinais é uma prática consideravelmente antiga, sendo encontradas evidências sobre tal prática nos primórdios da civilização. Na China, por exemplo, existem registros de cultivo de plantas medicinais no período de 3000 a.C. Ainda se encontraram evidências de cultivos realizados pelos egípcios, assírios e hebreus em 2.300 a.C., onde esses cultivos eram utilizados para produção de vermífugos, purgantes, cosméticos, diuréticos, produtos líquidos e gomas. Essas plantas foram detalhadamente descritas, assim como suas finalidades em livros encontrados em templos egípcios (COAN e MATIAS, 2013).

No período da colonização do Brasil, o tratamento das patologias por meio de plantas medicinais era restrito aos índios e seus pajés. A população em geral, no entanto, utilizava medicamentos provindos de importações, principalmente da Europa. Foi necessário muito tempo para que as plantas nativas do território brasileiro utilizadas por sua população no tratamento de diversas patologias, fossem de conhecimento mundial. Inúmeros extratos eram utilizados em território nacional, desde os primeiros séculos da colonização, como forma de tratar doenças locais, sendo em sua maioria, medicamentos fitoterápicos (BRUNING, MONSEGUI e VIANNA, 2012). De acordo com GRAMS (1999), ao longo dos anos a crença popular de que uma simples planta funcionava para tratar doenças aos poucos foi substituída pelo forte apelo dos remédios, que por sua vez, causavam certa atração nos pacientes devido à promessa de cura rápida e total.

A evolução dos medicamentos vem ocorrendo desde o século XIX, no entanto, em populações carentes, condições adversas impediam o acesso a hospitais, e conseqüentemente a tratamentos. Assim, o tratamento por meio da utilização de plantas medicinais era mais viável, conforme dados da Organização Mundial da Saúde (OMS) no início da década de 1990, cerca de 65–80 % da população dependia das plantas medicinais (VEIGA et al., 2005). O termo planta medicinal é definido pela OMS como todo e qualquer vegetal que possui, em um ou mais órgãos, substâncias que podem ser utilizadas com fins terapêuticos ou que sejam precursores de fármacos semissintéticos (ZHANG, 1998).

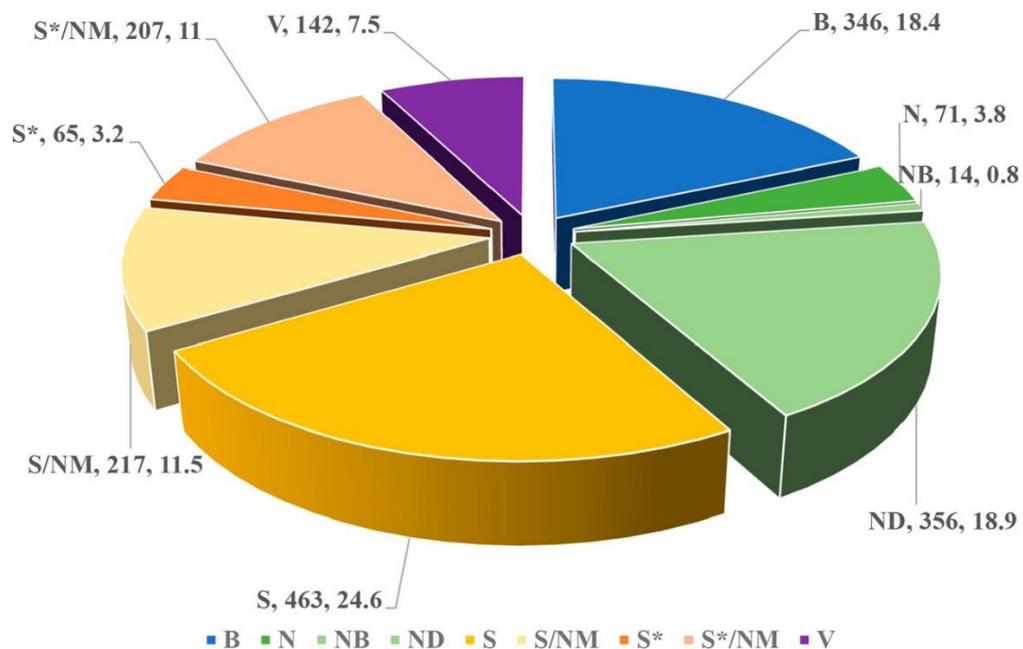
As evidências sobre as propriedades medicinais de determinadas espécies de plantas contribuem de forma significativa para a realização de estudos científicos com o propósito de avaliar as propriedades terapêuticas (MACIEL, 2002). As plantas são comumente utilizadas em pesquisas por possuírem princípios ativos (metabólitos secundários) com aplicações

farmacológicas significativas, tais como antitumoral, anti-inflamatória, antibiótica e antiparasitária (YUNES e CECHINEL FILHO, 2001; AHMAD, AQIL, OWAIS, 2006).

Atualmente, existem diversas classes de medicamentos disponíveis que são derivados de produtos naturais, como por exemplo, a morfina e codeína de *Papaver somnifera* (Papaveraceae), taxol de *Taxus brevifolia* (Taxaceae), teofilina de *Camellia sinensis* (Theaceae), atropina de *Atropa beladonna* (Solanaceae) e quinino de *Cinchona officinallis* (Rubiaceae) (QI e KELLEY, 2014).

Um estudo realizado sobre os novos medicamentos lançados entre 1981 e 2019, mostra que cerca de 65% deles são inspirados em produtos naturais (Figura 1), sendo que o medicamento final não é necessariamente o composto químico isolado a partir de uma planta, mas pode ser um derivado semissintético ou totalmente sintético, baseado em um produto natural ou no estudo do comportamento de algum composto de origem natural (NEWMAN e CRAGG, 2020).

Figura 1 - Fármacos lançados em 38 anos (1981-2019).



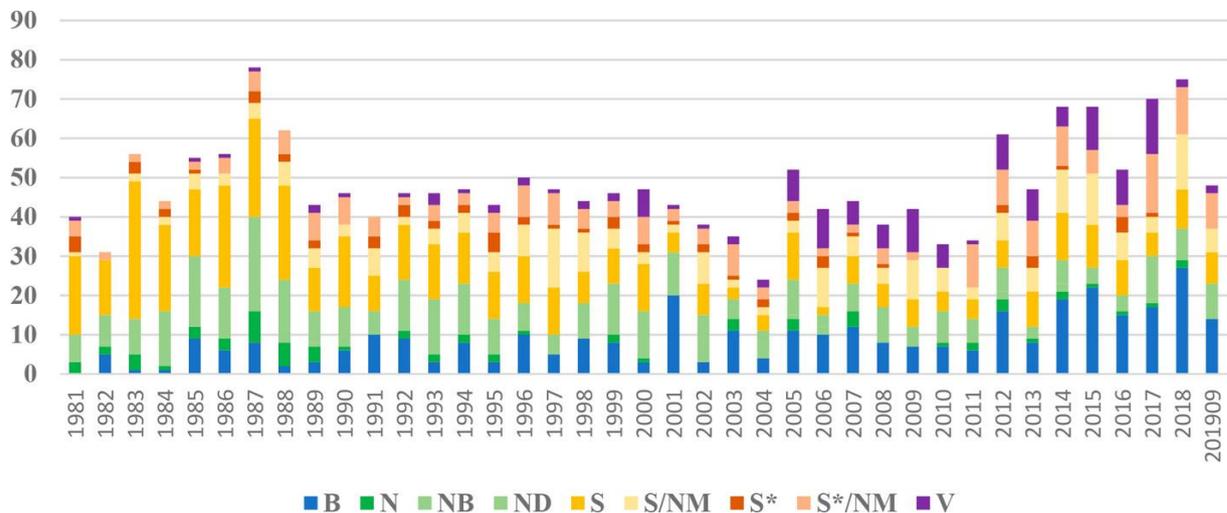
Nota: B-produto biológico; V- vacina; S-totalmente sintético; S*-totalmente sintético, mas seu farmacóforo é baseado em produto natural; N- produto natural; ND-produto natural semi-sintético; NM- compostos concebidos a partir do conhecimento adquirido do estudo de determinado produto natural; NB – produto botânico natural.

Fonte: NEWMAN e CRAGG, 2020.

A partir da análise do gráfico apresentado na Figura 2, tem-se as fontes utilizadas na confecção de medicamentos lançados no período de 1981 a 2019, onde pode ser visto

claramente que em 1981 o uso de fontes biológicas era nulo, enquanto que no cenário mais atual, em 2019, a maior fonte utilizada é, justamente, a biológica.

Figura 2 - Fontes de fármacos lançados no período de 1981-2019.



Nota: B-produto biológico; V- vacina; S-totalmente sintético; S*-totalmente sintético, mas seu farmacóforo é baseado em produto natural; N- produto natural; ND-produto natural semi-sintético; NM- compostos concebidos a partir do conhecimento adquirido do estudo de determinado produto natural; NB – produto botânico natural.

Fonte: NEWMAN e CRAGG, 2020.

Analisando os dados referentes ao ano de 2014, apresentado na Figura 2, pode-se verificar que a maior fonte para a elaboração de medicamentos foi de origem biológica, como foi citado anteriormente, sendo estes compostos constituídos por peptídeos ou proteínas biológicas, macromoléculas, que pode ter sido isolado de um organismo ou produzida sinteticamente. Seguido então por produtos naturais, produtos estes nomeados como “droga botânica”, que podem ser derivados de fontes naturais, produtos sintéticos, produtos sintéticos que tiveram seu grupo farmacofórico baseados em um de origem natural, e por último, tem-se as vacinas (NEWMAN e CRAGG, 2020).

Desta maneira, o Brasil possui grande importância na pesquisa de novos produtos naturais devido a sua ampla região litorânea e de sua flora. O território brasileiro possui uma parcela em torno de 15 % a 20 % da biodiversidade do planeta e é dividido em seis biomas: Mata Atlântica, Amazônia, Caatinga, Pampa, Pantanal e Cerrado (BRASIL, 2014; PINTO, 2002).

Como exemplo de uma espécie presente no Brasil e com pouco estudo, temos a *Endlicheria paniculata*, pertencente à família Lauraceae (Angiospermas). Estudos anteriores

realizados com o extrato etanólico dos galhos desta espécie apresentou atividade antifúngica contra *Cladosporium sphaerospermum* (CARDOSO-LOPES et al., 2008).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 METABOLISMO VEGETAL

Como decorrência da imobilidade das plantas, uma série de adaptações tiveram que ser realizadas para que elas pudessem se desenvolver sem que suas células e processos fisiológicos primários sofressem alterações, uma vez que são afetadas por processos bióticos e abióticos com o passar do tempo (PERES, 2004).

O metabolismo primário (central) é a conjugação de reações químicas relacionadas na transformação de moléculas de nutrientes nas unidades que constituem essencialmente as células, tendo importância na manutenção fundamental da sobrevivência e desenvolvimento celular (WATSON, 1965; DIXON, 2001). Tem-se dentre eles, açúcares, aminoácidos, ácidos graxos, lipídios e nucleotídeos, além de moléculas maiores, que são sintetizados a partir destes, como polissacarídeos, proteínas e membranas do ácido ribonucleico (RNA) e ácido desoxirribonucleico (DNA). Tais compostos encontrados nas plantas apresentam constituintes químicos diversos, os quais variam conforme a família, gênero e espécie, onde geralmente, apresenta-se uma determinada característica química ou uma mistura dela (BELL e CHARLWOOD, 1980; BORGES e AMORIM., 2020).

Em contrapartida, os metabólitos secundários (especializado) agregam vantagens para sua sobrevivência. Por não apresentarem aplicações essenciais na manutenção das células, eles são encontrados em pequenas quantidades, sendo seu metabolismo e bioquímica específicos, apresentando desta forma características únicas, atuando como elementos de diferenciação e especialização (SIMÕES et al., 2010). Compostos estes que apresentam função contra a herbívora, ataque de patógenos, competição entre plantas, e atração de organismos benéficos, como polinizadores, dispersores de sementes e microrganismos simbiotes. Esses metabólitos secundários também possuem ação preventiva em relação a estresses abióticos, como mudança de temperatura, composição da água, exposição a luz e raios ultravioleta (UV) e faltas de nutrientes (PERES, 2004).

Desta forma, os metabólitos secundários despertam grande interesse devido a sua vasta possibilidade de apresentarem atividades farmacológicas, sendo importante não só para a área

farmacêutica, mas também para as áreas alimentícia, agrônômica, perfumaria, dentre outras (PEREIRA e CARDOSO, 2012). A Tabela 1 expressa algumas das características pertencentes a cada tipo de metabolismo.

Tabela 1 - Características dos metabólitos primário e secundário.

<i>Características</i>	<i>Metabolismo primário</i>	<i>Metabolismo secundário</i>
<i>Etapas metabólicas</i>	Envolvem etapas de fixação de carbono e nitrogênio, catabolismo e anabolismo de metabólitos primários (macromoléculas)	Envolvem as etapas de anabolismo metabólico a partir de precursores oriundos do metabolismo primário
<i>Papéis metabólicos</i>	Processos essenciais à vida e a manutenção dos seres vivos	Processos não necessariamente essenciais a vida, mas que garantem vantagens para a sobrevivência, perpetuação e diferenciação das espécies
<i>Funções fisiológicas</i>	Degradação de macromoléculas, fornecimento de energia livre, fornecimento de precursores biossintéticos e anabolismo de metabólitos primários	Defesa contra herbívoros e microrganismos, proteção contra raios UV, atração de animais polinizadores, ação alelopática (inibe a respiração e germinação de outras plantas) e resposta ao estresse devido ao ataque microbiano
<i>Distribuição</i>	Distribuição difusa entre as espécies	Distribuição restrita entre as espécies
<i>Exemplos</i>	Carboidratos, lipídeos, proteínas	Flavonoides, taninos, cumarinas, alcaloides, óleos essenciais

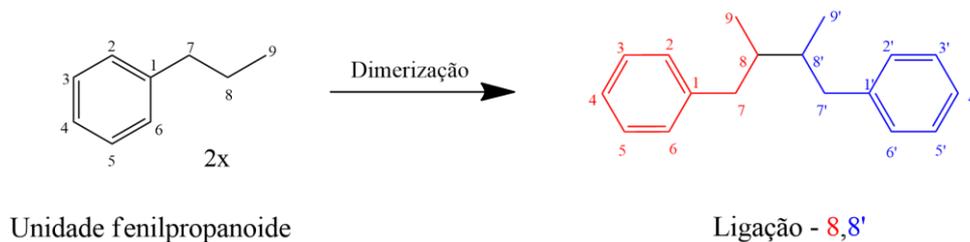
Fonte: adaptado de LEITE, 2009.

Geralmente encontra-se três vias biossintéticas para a formação de metabolitos secundários, sendo pertencentes a grupos como de compostos fenólicos, alcaloides e terpenos, que possuem aplicação na defesa de estresses bióticos e abióticos (TAIZ e ZEIGER, 2009; PERES, 2004). Como destaque, podemos citar as neolignanas e os esteróis, que foram os metabólitos secundários isolados nos extratos da espécie estudada.

2.1.1 Neolignanas

As lignanas pertencem a classe dos compostos fenólicos e são dímeros de fenilpropanoides. São estruturas diméricas que ocorrem por meio de uma ligação β e β' (8 e 8'), entre duas unidades de fenilpropanoides (Figura 3). As unidades de fenilpropanoides podem diferir na substituição do anel aromático (C1-C6) e no grau de oxidação de suas cadeias laterais (C7-C9). A nomenclatura destes monômeros ocorre partindo da numeração do anel aromático, C1-C6, seguido pela cadeia do grupo propil, C7-C9, sendo que a ligação entre estes grupos ocorre por meio dos átomos C1 e C7 (TEPONNO et al., 2016, ZÁLEŠAK et al., 2019).

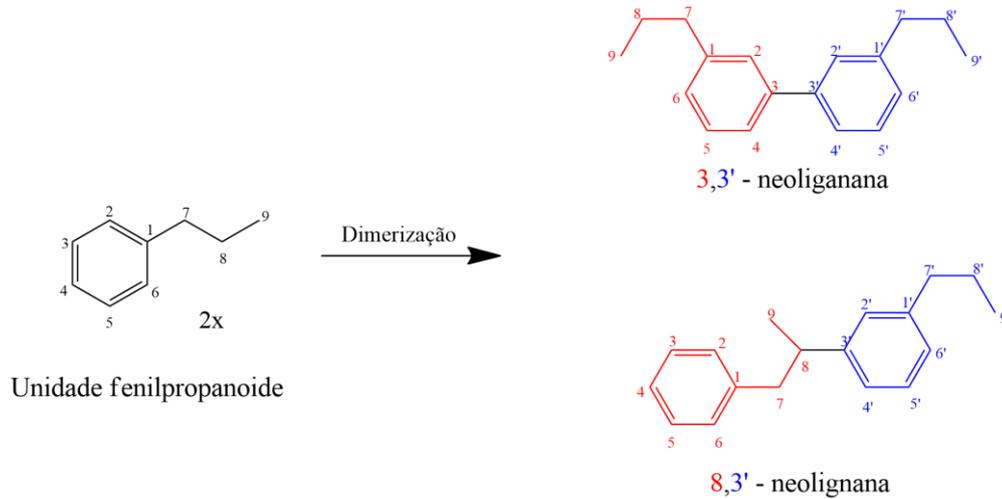
Figura 3 - Formação das lignanas.



Fonte: Adaptado de ZÁLEŠAK et al., 2019.

Já as neolignanas são compostos que possuem dois monômeros fenilpropanoides conectados por posições diferentes dos carbonos C8-C8', podendo ser até mesmo uma ligação tipo éster (ZÁLEŠAK et al., 2019) (Figura 4).

Figura 4 - Exemplos de neolignananas.

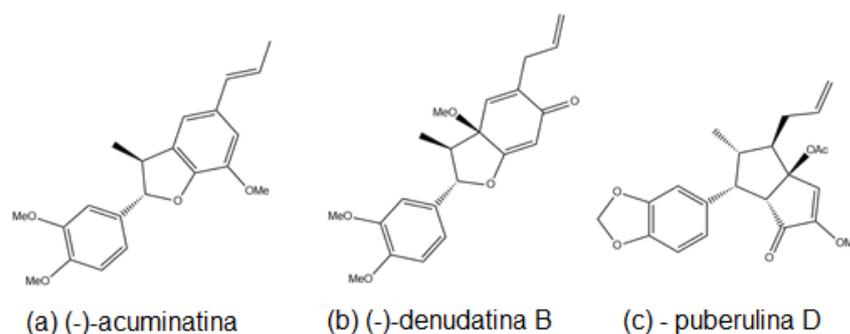


Fonte: Adaptado de ZÁLEŠAK et al., 2019.

As neolignananas são utilizadas desde os primórdios da humanidade, seja presente nos extratos vegetais ou como remédios. Devido aos avanços na determinação estrutural e atividade biológica, a esta classe de compostos é atribuída diversas atividades biológicas, onde dentre as atividades podemos destacar a bactericida, antiviral, anticancerígena, anti-inflamatória, antialérgica e no tratamento de diversas doenças como osteoporose, obesidade, diabetes, cardiovascular, Parkinson e Alzheimer (ZÁLEŠAK et al., 2019).

Três neolignananas, a acuminatina (Figura 5a), denudatina B (Figura 5b) e puberulina D (Figura 5c), originadas da *Piper betle*, mostraram inibição da bomba de efluxo de antibióticos multidrogas Nora. Ao se estudar os mecanismos de ação utilizando a *Escherichia coli*, verificou-se que estas moléculas agem causando danos à membrana microbiana (ZÁLEŠAK et al., 2019).

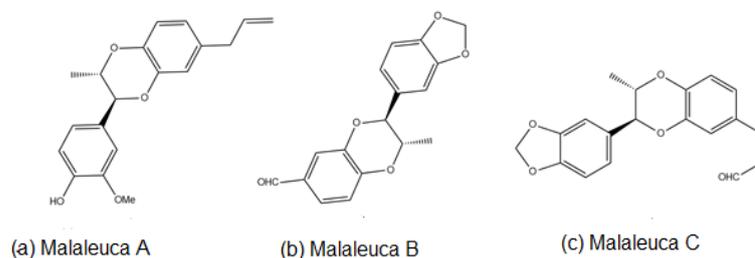
Figura 5 – Neolignananas com atividade antibiótica.



Fonte: Adaptado de ZÁLEŠAK et al., 2019.

No caso da melaleuca A, B e C (Figura 6), constatou-se atividade contra a *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus aureus* resistente a metilina (SARM), sem apresentar diferenças na atividade entre as cepas resistentes à metilina e não resistentes (ZÁLEŠAK et al., 2019). A metilina é usada no tratamento de infecções causadas por bactérias Gram-positivas susceptíveis, como os organismos produtores de beta-lactamase, como o *Staphylococcus aureus*. E essas moléculas surgem como alternativa para o tratamento dessas cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes à metilina.

Figura 6 – Neolignananas com atividade antibiótica contra *Staphylococcus aureus*.

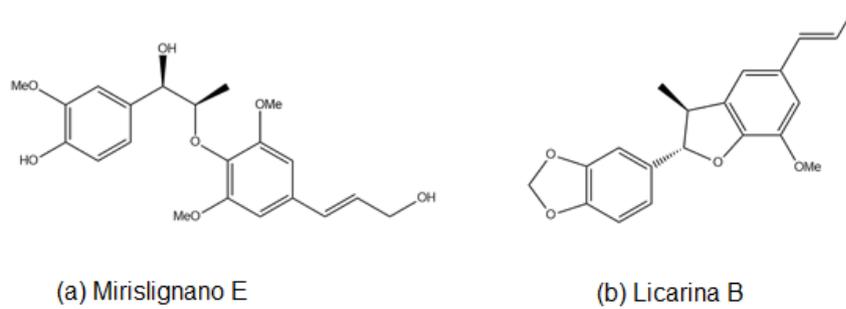


Fonte: Adaptado de ZÁLEŠAK et al., 2019.

Algumas neolignananas como o mirislignano (Figura 7 – a), mirislignanometina E, maceneolignano H, licarina A, licarina B (Figura 7 – b) e 5'-metoxicarina B se mostraram ativas

contra *Streptococcus pneumoniae*, um importante causador da meningite e pneumonia (ZÁLEŠAK et al., 2019).

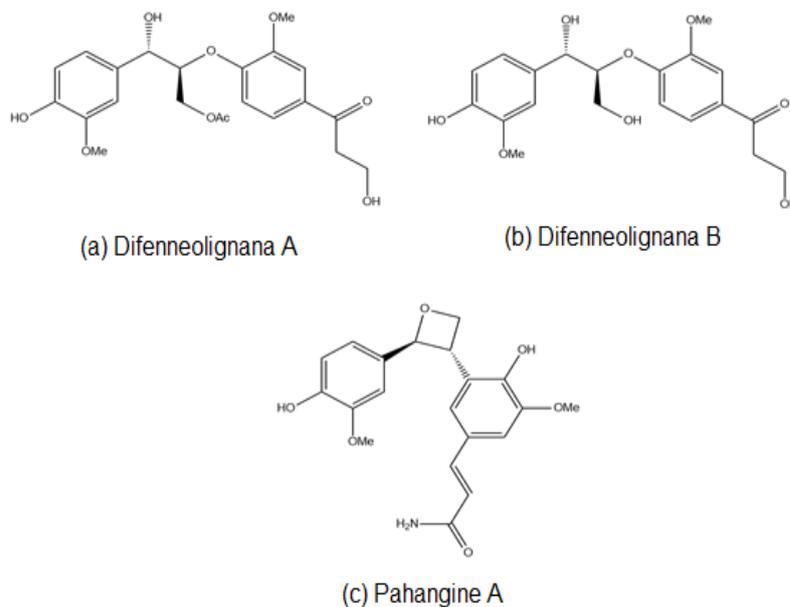
Figura 7 - Estrutura do mirislignano E e licarina B.



Fonte: Adaptado de ZÁLEŠAK et al., 2019.

As difenneolignana A e B (Figura 8 – a e b, respectivamente) que foram isoladas da *Illicium difengpi* mostraram atividades anti-HIV-1 promissoras em um ensaio de efeitos citopáticos. Enquanto que a neolignana Pahangine A (Figura 8 – c) apresentou atividade antiviral contra o vírus da dengue (SULAIMAN et al., 2018).

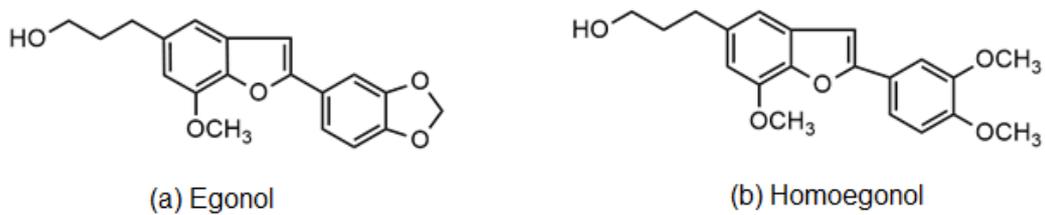
Figura 8 - Neolignanas com atividades antivirais.



Fonte: Adaptado de ZÁLEŠAK et al., 2019.

Quando se aborda o tratamento de cânceres, duas neolignananas podem ser citadas, como o egonol e homoegonol (Figura 9), que foram isolados a partir do extrato de *Styrax camporumformam*, e foram testadas frente a diversos tipos de câncer, como melanoma, câncer de mama (MCF-7), câncer de fígado (Hep-G2), HeLa e MO59 J (DE OLIVEIRA et al., 2016).

Figura 9 - Estruturas do (a) Egonol e (b) Homoegonol.

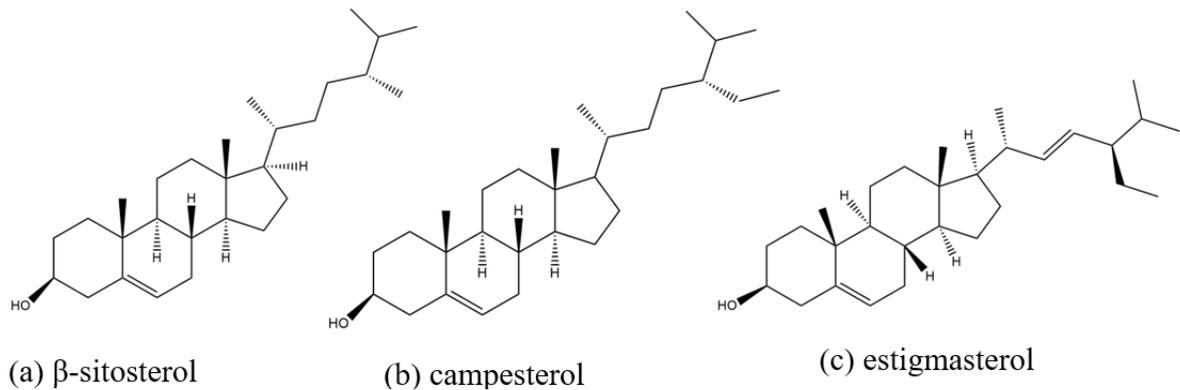


Fonte: Adaptado de DE OLIVEIRA et al., 2016.

2.2 FITOESTERÓIS

Os esteróis são lipídios que possuem um núcleo esteroide composto por quatro anéis chamados cicloperidrofenantreno, sendo diferenciados pela mudança da cadeia lateral. Os esteróis de origem vegetal são conhecidos como fitosteróis, e desta forma podem ser ingeridos por meio de alimentos naturais. A Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (EFSA) recomenda o consumo cerca de 1,5 – 2,4 gramas por dia para promover a redução de colesterol do sangue. São fontes ricas em lipídios os alimentos tais como nozes, sementes de gergelim, amendoins, incluindo também legumes, frutas e grãos em geral. No entanto a maior fonte atualmente são os componentes insaponificáveis de óleos vegetais, como o de soja, canola e girassol, onde obtêm-se 100-500 mg de fitoesteróis/100 g de óleo, encontrados em sua forma livre ou esterificada. Os principais fitoesteróis encontrados comumente na dieta da população são o β -sitosterol, campesterol e estigmasterol (Figura 10) em quantidades de 65%, 30% e 3%, respectivamente. Os fitosteróis foram ao longo da evolução humana sendo utilizados como alimentos ou produtos com finalidades farmacêuticas e são tidos como seguros (SAEIDNIA, et al. 2014).

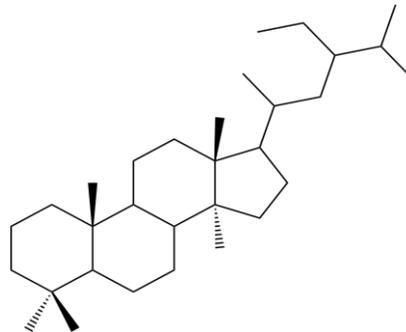
Figura 10 - Estruturas do (a) β -sitosterol, (b) campesterol e (c) estigmasterol.



Fonte: Adaptado de ITO, HAKAMATA E KUSU, 2010.

Os fitoesteróis são esteróis compostos basicamente por 27 a 29 átomos de carbono, e possuem uma estrutura muito semelhante ao colesterol, e as diferenças encontradas podem ocorrer no núcleo ou na cadeia lateral, podendo ser também referentes aos seus grupos polares (YANKAH ET AL., 2006). A Figura 11 mostra a estrutura geral dos fitoesteróis.

Figura 11 – Estrutura geral de um fitoesterol.



Fonte: O Autor.

Esses fitosteróis vem demonstrando versatilidade quanto as suas propriedades farmacológicas, tais como a atividade anti-inflamatória, onde foi relatado o efeito do β -sitosterol em um modelo de hipersensibilidade tardia (DTH) *in vivo*. Constatou-se, no entanto, que apesar deste composto modular um edema mediado por células, ele não foi eficaz ao reduzir ou bloquear a ação do araquidonato 5-lipoxigenase, responsável pela superprodução de leucotrienos, que são causadores das inflamações em pacientes com asma ou rinite alérgica (SAEIDNIA et al., 2014).

Existem estudos que propõe que os fitoesteróis podem ser relacionados com a diminuição de casos de cânceres comuns como o câncer de mama, pulmão, cólon, estomago e próstata. Estima-se que a dieta enriquecida com fitoesteróis podem reduzir a chance de desenvolver câncer em 20% (RUDKOWSKA et al., 2010).

No entanto, o mecanismo de ação dos fitoesteróis ainda é incerto, e foram levantadas propostas que levam a acreditar que tais compostos atuam no sistema hospedeiro, assim afetando a sobrevivência do tumor, ou ainda, no ciclo biológico, podendo ser de forma direta ou indireta (RUDKOWSKA et al., 2010).

Um exemplo de ação direta foi proposto por RUDKOWSKA (2010), onde adotou-se que tais metabólitos interfeririam diretamente por meio da desaceleração da progressão do ciclo celular, da indução da apoptose e da inibição da metástase do tumor.

Estudos realizados utilizando culturas de células MDA-MB-231, responsáveis pelo carcinoma de mama humano, constataram que a utilização do β -sitosterol influencia na cinética do ciclo celular pelo fato de interromper a transcrição da fase G2 para a fase M (AWAD et al., 2001).

Estudos evidenciam a ocorrência de terpenos presentes na família Lauraceae, além de outros grupos de compostos como, alcaloides, fenilpropanóides, nitroderivados, dentre outros (GOTTLIEB, 1972; BATISTA et al., 2015). Tornando essa família promissora para estudos para possíveis fitoterápicos.

2.3 FAMÍLIA LAURACEAE

A família das Lauraceae é amplamente distribuída em regiões temperadas e tropicais, sendo composta por cerca de 2.500 a 3.500 espécies, onde são conhecidos aproximadamente 50 gêneros, sendo possível encontrar 20 destes presentes em territórios brasileiros, podendo 13 serem encontrados no estado de São Paulo (WANDERLEY et al., 2003).

Estudos realizados com as plantas da família Lauraceae destacam a ocorrência de alcaloides, fenilpropanóides, nitroderivados, ésteres benzoicos, 2-pironas, flavonóides e benzofenonas, ácidos graxos e pares terminais alceno-alcino, além de mono e sesquiterpenos (GOTTLIEB, 1972; BATISTA et al., 2015).

SUAREZ et al. (1983) e YAMAGUCHI et al. (2013) relatam em seus estudos a ocorrência de diterpenos, esteróides, lignanas, neolignanas e alcaloides, além de diversos derivados fenólicos em plantas do gênero *Endlicheria*. RODRIGUEZ et al. (2008) verificou

que extratos de plantas do gênero *Endlicheria* apresentaram atividades antidiabética e antioxidante.

Estudos envolvendo o gênero *Beilschmiedia* Nees da família Lauraceae mostrou que este gênero produz alcaloides, derivados do ácido endiandríco, óleos essenciais, ácidos graxos, lignanas, epoxifuranoides, flavonoides e terpenoides, onde muitos destes compostos apresentam atividades antioxidantes, antibacterianas, antimaláricas e antituberculose (CHEN et al., 2007; CHOUNA et al., 2010). Comumente, algumas espécies deste gênero são utilizadas em medicamentos tradicionais para o tratamento de doenças, como por exemplo a *Beilschmiedia anacardioides*, que é usada no continente africano, mais especificamente em Camarões, no tratamento de tumores uterinos, rubéola, reumatismos e infecções de origem bacteriana e fúngica (TCHOUALA, 2001).

No caso da *Beilschmiedia madang*, encontrada na Malásia e Indonésia, foi isolado um alcaloide o qual apresentou atividade antimalárica (KITAGAWA et al., 1993). Estudos recentes mostraram as composições químicas e atividades biológicas provindas dos óleos de folhas e cascas da *B. madang*. O óleo obtido das cascas apresentou atividades antioxidante usando os sistemas ácido β -caroteno/ácido linoleico e o radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH) e forte propriedade antifúngica contra *Aspergillus niger* e *A. fumigatus*. O óleo obtido a partir das folhas também apresentou inibição significativa das atividades de acetilcolinesterase, butirilcolinesterase e antitirosinase (SALLEH et al., 2015).

2.4 O GÊNERO *Endlicheria*

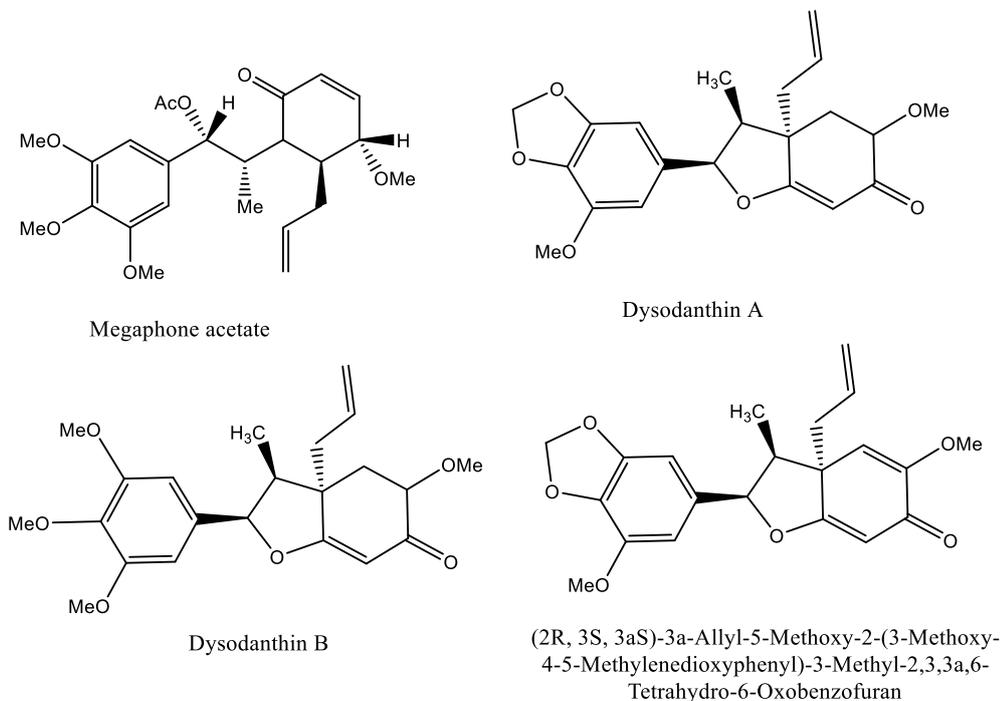
O gênero *Endlicheria*, o qual a espécie em estudo pertence, é denominado como um gênero neotropical que se encontra centrado na América do Sul, estendendo-se a Costa Rica na América Central, Guadalupe nas ilhas do Caribe e ao extremo sul nas florestas costeiras do Atlântico sudeste do Brasil. Sendo comumente encontrada em regiões que possuem florestas com alta umidade com elevações próximas ao nível do mar até 2500 m nas terras altas dos Andes e das Guianas (CHANDERBALI, 2004).

A *Endlicheria* é um gênero de planta composto por aproximadamente 60 espécies. A maioria das espécies são árvores de tamanho médio, podendo atingir até 40 metros de altura, sendo que algumas espécies são arbustos (CHANDERBALI, 2004).

Na literatura encontra-se relatos atribuindo ao gênero *Endlicheria* atividades como anti-inflamatórias, antioxidante, antimelanogênicas. Como exemplo tem-se a *E. anômala*, onde o extrato metanólico apresentou as três primeiras atividades citadas anteriormente (JIN et al., 2013; RODRÍGUEZ et al., 2008).

Em um outro estudo, foi isolado e identificado quatro neolignanais (Figura 12), partindo do extrato etanólico da *E. dysodantha*. Todas as quatro moléculas isoladas apresentaram atividades no teste de letalidade de artêmia, sendo que três destas também foram capazes de inibir o crescimento de tumores de galha em discos de batatas e apresentaram citotoxicidade frente a células tumorais humanas em cultura (MA, KOZLOWSKI e MCLAUGHLIN, 1991).

Figura 12 - Estruturas das quatro neolignanais isoladas.



Fonte: Adaptado de MA, KOZLOWSKI e MCLAUGHLIN, 1991.

Quando se aborda o aspecto fitoquímico do gênero *Endlicheria*, encontra-se trabalhos que relatam a ocorrência de diterpenos, esteroides, lignanas, neolignanais, alcaloides e derivados fenólicos (SUAREZ et al., 1983; MA, KOZLOWSKI e MCLAUGHLIN, 1991; YAMAGUCHI et al., 2013).

2.5 A espécie *Endlicheria paniculata*

A espécie *E. paniculata* (Figura 13) pertence à família Lauraceae, sendo conhecida popularmente como canela garuva e/ou canela frade. No Brasil, pode ser facilmente encontrada em diversas regiões, como por exemplo, no Rio Grande do Sul e Santa Catarina, onde o clima predominante é o tropical úmido, com invernos intensos, com possibilidade de geadas (BAITELLO. et al., 2003).

Quanto as suas características, trata-se de uma árvore com um tronco robusto e altura aproximada de 5-7 metros. As folhas são laminares com 5-22 x 1,5-8,5 cm, estreitas e largamente ovadas, sendo raramente elípticas ou obovadas. O fruto tem dimensões de 1,8-2,5x1-1,5 cm, elíptico, cúpula 10-17 x 12-16 mm, subemisférica, rasa, com ou sem rudimentos das pétalas, possuindo coloração roxa (CHANDERBALI, 2004; ELTINK e TORRES e RAMOS, 2008; BROTTTO, SANTOS e BAITELLO, 2009; GIEHL, 2020).

A *E. paniculata* é uma das espécies mais polimorfas dentre as pertencentes a família Lauraceae, quando se analisa parâmetros como tamanho, espessura e pubescência das folhas e dos ramos. Como exemplo tem-se que em geral as lâminas das árvores encontradas no Parque Estadual da Serra do Mar, são maiores em relação as coletadas no Cerradão. No Brasil, pode ser encontrada nas regiões Norte, Nordeste, Centro-oeste, Sudeste e Sul. Sendo comum em regiões como a restinga, manguezal, mata ciliar, cerradão, floresta ombrófila densa e em floresta estacional semidecídua. Pode ser coletada com flores no período de junho a novembro e de janeiro a fevereiro, e com frutos de abril a novembro (BAITELLO et al., 2003).

Figura 13 - Folhas e frutos da *E. paniculata*.



Fonte: VERDI, 2010; MOLZ, 2009; SANTOS, 2010; GRINGS, 2017.

Lopes (2008) realizou um dos poucos trabalhos a cerca dessa espécie, onde foi desenvolvido um estudo a fim de averiguar a atividade antifúngica frente aos fungos *Cladosporium sphaerospermum* e *C. cladosporioides*, assim como a inibição da atividade da acetilcolinesterase e ensaio de danos ao DNA do extrato etanólico das folhas e galhos. Os resultados encontrados para os testes realizados a fim de avaliar a atividade antifúngica foram todos negativos ou considerada fracas. Quanto aos resultados da *E. paniculata* foi evidenciado apenas uma fraca atividade contra *C. sphaerospermum*, encontrada apenas no extrato dos galhos. Enquanto para a atividade da acetilcolinesterase foi constatado um efeito inibitório de 37% para o extrato produzido das folhas e 41% do extrato produzido dos galhos. Devido aos poucos estudos encontrados na literatura para *E. paniculata*, mais pesquisas com a finalidade de averiguar as possíveis aplicações se fazem necessário, com ênfase na quimiossitemática da espécie.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Este trabalho teve como objetivo principal realizar o estudo fitoquímico dos extratos hexânico (EHF) e metanólico (EMF) das folhas da espécie *E. paniculata* (Lauraceae) visando a identificação e isolamento dos principais metabólicos secundários.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar o estudo fitoquímico dos extratos hexânicos e metanólicos;
- Realizar a análise do perfil cromatográfico por CLAE-DAD dos extratos da *E. paniculata*;
- Realizar o fracionamento cromatográfico;
- Analisar os compostos isolados por cromatografia gasosa acoplada espectrometria de massas (CG-EM);
- Determinar a estrutura dos compostos isolados por RMN de ^1H e de ^{13}C .

4 PARTE EXPERIMENTAL

4.1 INSTRUMENTAÇÃO

- Balança analítica SHIMADZU modelo AUW220D;
- Banho de ultra-som da marca Unique (modelo USC 750);
- Cromatógrafo a gás Shimadzu 210 plus acoplado a espectrômetro de massas (GC-EM) Shimadzu QP 210 SE;
- Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência Shimadzu[®], modelo LC-6AD, composto por: bombas LC-6AD, degaseificador DGU-20A5R, forno CTO-20A, coletor de frações FRC-10A, autoinjeter SIL-10AF e detectores de arranjo de diodo (DAD) SPD-M20A e evaporativo por espalhamento de luz (ELSD- *evaporative light scattering detector*) LT II;
- Espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) Bruker modelo Ascend[™] 400 Avance III HD (9,4 Tesla);

- Rotaevaporador IKA modelo RV 10.

4.2 SOLVENTES E REAGENTES

Os solventes químicos utilizados foram de grau analítico (PA). Solventes utilizados para a extração, prospecção fitoquímica e cromatografia: hexano, acetato de etila, diclorometano, metanol, ácidos acético e fórmico foram de marcas diversas: Synth, Vetec, Merck, Neon. O hexano e acetato de etila foram destilados para maior grau de pureza. O reagente CDCl_3 deuterado foi adquirido da Sigma Aldrich Chemical Co. Sílica gel 60 e sílica gel 60 *flash* foram adquiridos da Fluka Analytica.

4.3 PROCEDIMENTO

4.3.1 *Obtenção do material vegetal e extratos*

A primeira parte do trabalho consistiu em coletar as folhas de *E. paniculata*. A coleta foi realizada no parque ecológico do Perequê na cidade de Cubatão em SP. As exsiccatas, EM 335 e EM 355, foram depositadas no herbário do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. Esta planta foi registrada no Sistema Nacional de Gestão de Recursos Genéticos e Conhecimentos Tradicionais Associados para Pesquisa (SisGen) do Brasil sob o código AD99BA0.

As folhas foram secas em estufa e reduzidas a pó através de moinho de facas, sendo obtidos 226 g de material vegetal. Em seguida, os extratos brutos foram preparados, submetendo o pó previamente obtido à extração por maceração em hexano. O material vegetal foi deixado em maceração durante a noite com 800 mL de hexano. Após este período, a solução com os extrativos foi filtrada e o solvente removido em um evaporador rotativo sob pressão reduzida a 40° C. O processo de maceração com o material vegetal filtrado foi repetido 8 vezes. Em seguida, o solvente foi rotaevaporado e o sólido restante foi submetido à extração exaustiva por maceração durante a noite em MeOH (800 mL) e o procedimento foi realizado 8 vezes, e ao final deste procedimento o solvente do extrato foi evaporado seguindo a metodologia para o processo com hexano. Os extratos obtidos foram congelados e liofilizados para a remoção de água. Sendo, finalmente, armazenados em frascos de vidro a -18 ± 5 °C. Ao final do

procedimento descrito acima, foi obtido 4,7 g de extrato hexânico (EH-F) e 26,4 g de extrato metanólico (EM-F).

4.3.1.1 *Estudo fitoquímico*

Foram preparadas soluções em diclorometano com concentração de $1,0 \text{ mg mL}^{-1}$ dos extratos. Em seguida, o material foi submetido a prospecção fitoquímica utilizando placas de cromatografia de camada delgada (CCD) contendo indicador de fluorescência e reveladores para detecção das classes de compostos presentes nos extratos: NP/PEG (detecção de flavonoides), Liebermann-Burchard (para terpenos e esteroides), anisaldeído (para terpenos, esteroides, fenol e açúcar), sulfato cérico (para compostos em geral) e iodocloroplatinato (ICPt) e Dragendorff (para alcaloides) (SOUSA, 2015).

Os extratos foram aplicados nas placas de CCD utilizando um tubo capilar e a eluição ocorreu em hexano/acetato (9:1). Em seguida as placas foram visualizadas sob radiação ultravioleta (254 e 365 nm) e reveladas com os reveladores.

4.3.1.2 *Fracionamento cromatográfico*

O extrato hexânico das folhas (EH-F; 3,6g) foi submetido a uma separação cromatográfica em coluna empacotada com sílica gel 60 (350g de sílica, 45 x 4,5 cm), eluído com mistura de solventes em gradiente de polaridade crescente de hexano/AcOEt, iniciando na proporção 9:1, seguindo para 8:2, 7:3, 6:4, 1:1, 4:6, 3:7, 2:8 e por fim 1:9. Analogamente foi realizado para a mistura de reagentes AcOEt/MeOH, neste caso chegou à proporção 0:1, ou seja, utilizou-se o MeOH puro.

A partir do fracionamento cromatográfico da fração EH-F foram obtidas 24 frações e em seguida foram submetidas ao monitoramento por CCD e reveladas com sulfato cérico.

4.3.1.3 *Análise por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)*

Os extratos EH-F e EM-F foram submetidos a análises por CLAE para obtenção do perfil cromatográfico e futuras comparações com as frações obtidas do fracionamento cromatográfico. Os extratos foram dissolvidos em MeOH em uma concentração de 2 mg mL^{-1} . Estas soluções foram eluídas em um cartucho Sep-Pak C18 para que compostos muito apolares

fossem separados e evitar que ficassem retidos na coluna, e em seguida filtradas com filtros para seringa de teflon (3 mm, 20 m). Foram injetados 50 μL das amostras.

Para as análises por CLAE foi utilizada uma coluna analítica de fase reversa RP 80 (Phenomenex®, 250 x 4,6 mm, 5 μm). A fase móvel utilizada foi MeOH e água milli-Q com um fluxo de 1 mL min^{-1} . O gradiente de fase móvel utilizado foi: 30-100% MeOH por 0-40 min, 100% MeOH em 40-45 min.

4.3.1.4 *Análise por RMN e CG-EM*

Os compostos **1**, **2** e **3** foram submetidas à análise por RMN de ^1H e ^{13}C em um espectrômetro Bruker Ascend™ 400 Avance III HD (9,4 Tesla), operando a 400 MHz (^1H) e 100 MHz (^{13}C). As amostras foram solubilizadas em clorofórmio deuterado.

As frações EH-F-2-P22, EH-F-3-P22 e EH-F-1-P26 foram dissolvidas em diclorometano, 5 mg mL^{-1} . De cada solução foi retirado 1 μL , o qual foi injetado no CG-EM. As análises foram realizadas em equipamento CG-EM equipado com coluna capilar OV-5 *serial* 121345, d.i. 0,25 mm THICKNESS: 0,25 μm , 30 m. Foi usado gás hélio como carreador a fluxo constante de 1,2 mL min^{-1} , a temperatura do injetor de 280 $^{\circ}\text{C}$ (modo *Split* 1:20), temperatura inicial em 60 $^{\circ}\text{C}$ crescente a cada minuto em 13 $^{\circ}\text{C}$ até 280 $^{\circ}\text{C}$, mantendo-se nessa temperatura por 25 minutos. O tempo total de análise foi de 100 minutos.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 RESULTADOS DA EXTRAÇÃO

A Tabela 2 mostra o resultado da extração por maceração de 226 g das folhas de *E. paniculata* utilizando hexano e metanol. Para a extração dos compostos com menor polaridade, como por exemplo os óleos, graxas, esteroides e terpenos, foi utilizado o hexano. Assim a investigação da atividade em compostos menos polares torna-se possível. Como o material vegetal disponível para extração era pouca, optou-se pelo uso de um solvente mais polar, neste caso, o MeOH. Sendo capaz de extrair a maior quantidade de compostos polares mesmo com a baixa massa amostral. A escolha do solvente foi feita baseada em trabalhos que foram realizados previamente (LÍBERO et al., 2016).

Tabela 2 - Rendimento da extração por maceração das folhas de *E. paniculata*.

Extrato	Material Vegetal após secagem (g)	Umidade após secagem (%)	Massa de extrato (g)
Hexânico	226	8,3	4,6197
Metanólico			26,3634

Fonte: o autor

Os dados apresentados na Tabela 2 mostram que o extrato metanólico apresentou rendimento da extração maior que o extrato hexânico.

5.2 PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA DA *E. paniculata*

A prospecção fitoquímica apresenta grande importância durante o processo de estudo de uma determinada espécie de planta, especialmente quando ainda não são dispostos todos os estudos químicos com a espécie de interesse, e por isso tem como objetivo conhecer o perfil do metabolismo secundário das espécies e avaliar sua presença nos mesmos, distinguindo grupos de metabólitos secundários relevantes (SIMÕES et al., 2010).

Na prospecção fitoquímica mostrada na Tabela 3 se verifica que os extratos não apresentaram alcaloides em sua composição. Além disso, através da análise foi sugerido que os extratos hexânico e metanólico demonstraram resultados positivos para flavonoides, terpenos, esteroides, fenol, açúcares e fenilpropanoides em sua composição. Assim, o revelador escolhido para monitorar o fracionamento dos extratos em hexano, foi o sulfato cérico por revelarem bem os extratos e frações. O mesmo foi utilizado para o monitoramento do extrato e frações em metanol.

Tabela 3 - Prospecção fitoquímica do EH-F e EM-F.

Extrato	Flavonoides		Alcaloides		Terpenos, esteroides, fenol, açúcares, fenilpropanoides	
	NP/PEG	AlCl ₃	Iodocloro Platinado	Dragendorff	Lieberman- buchard	Sulfato cérico
EH-F	+	+	-	-	+	+
EM-F	+	+	-	-	+	+

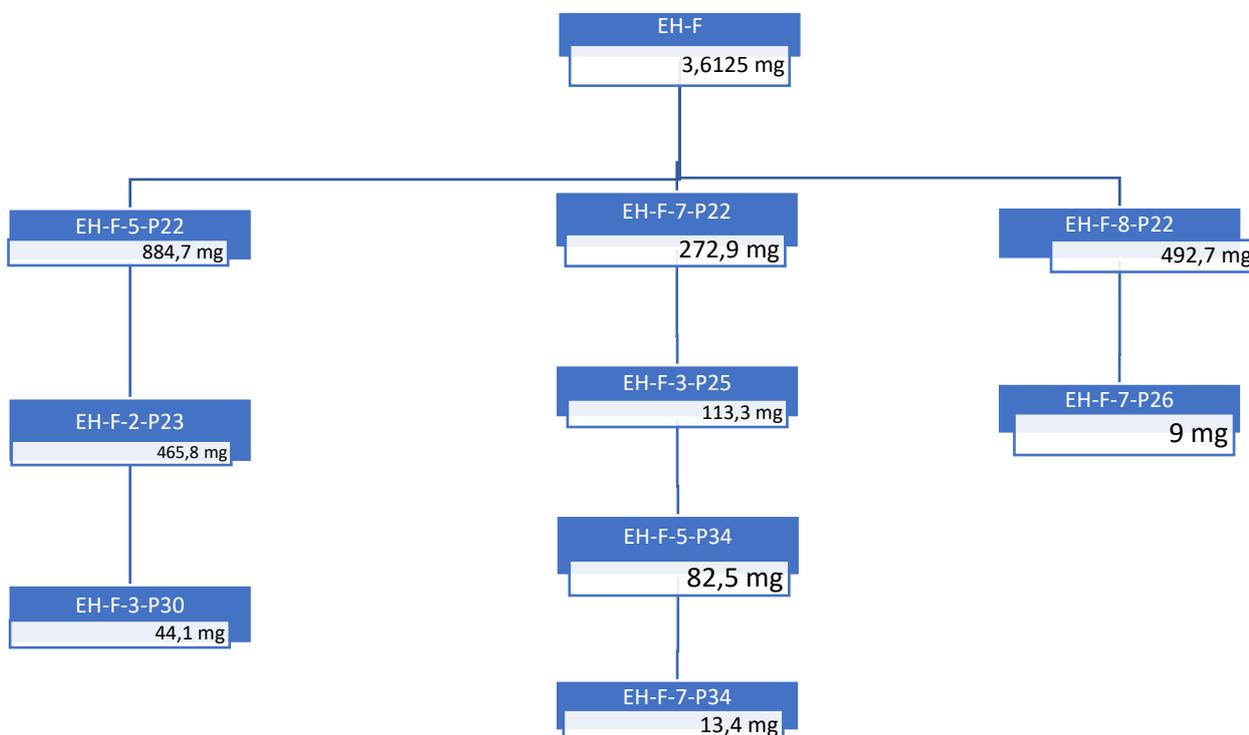
Nota: (+) presente, (-) ausente. Fonte: o autor

5.3 FRACIONAMENTO CROMATOGRÁFICO

A partir do fracionamento cromatográfico da fração EH-F foram obtidas 24 frações e em seguida foram submetidas ao monitoramento por CCD e reveladas com sulfato cérico.

Assim, as frações que se mostraram promissoras, ou seja, em que pôde-se verificar a presença de compostos e massa suficiente, foram selecionadas para prosseguir com as etapas subsequentes, sendo essas, EH-F-5-P22, EH-F-7-P22 e EH-F-8-P22, apresentadas por meio de um fluxograma (Figura 14).

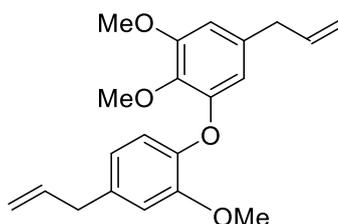
Figura 14 - Fluxograma do fracionamento cromatográfico do extrato hexânico das folhas de *E. paniculata*.



Fonte: o autor

Partindo da fração EH-F-5-P22 foi realizada uma nova coluna cromatográfica, eluída com mistura de solventes em gradiente de polaridade crescente (hexano/AcOEt/MeOH), iniciando na proporção de 100% hexano, obtendo-se desta forma a fração EH-F-2-P23, que dentre as 8 frações obtidas, demonstrou-se mais promissora, de forma que a partir desta foi realizada uma nova coluna cromatográfica, eluída com mistura de solventes em gradiente de polaridade crescente (hexano/diclorometano/AcOEt/MeOH), iniciando na proporção 6:1:0,5 hexano/diclorometano/AcOEt, obtendo-se desta forma 6 frações, sendo a fração EH-F-3-P30 que apresentou uma única mancha em CCD, onde identificou-se a presença da neolignana *O*-metil-desidrodieugenol B (composto **1**, Figura 15).

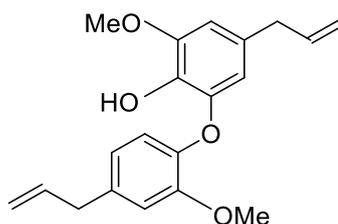
Figura 15 - Estrutura do composto **1**.



Fonte: o autor

A fração EH-F-8-P22 foi utilizada como a fração de partida, onde foi realizado a separação cromatográfica da mesma, eluída com mistura de solventes em gradiente de polaridade crescente (hexano/AcOEt), iniciando na proporção 10:1 hexano/AcOEt, onde obteve-se 10 frações, mas a única que apresentou uma mancha única foi a EH-F-7-P26, na qual foi obtido e identificado uma neolignana, a desidrodieugenol B (composto **2**, Figura 16).

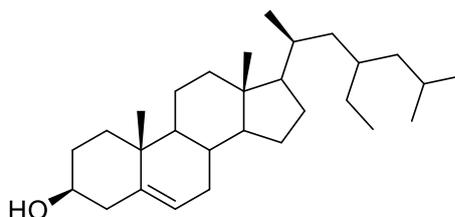
Figura 16 - Estrutura do composto **2**.



Fonte: o autor

Partindo da fração EH-F-7-P22 foi realizada uma nova coluna cromatográfica eluída com mistura de solventes em gradiente de polaridade crescente (hexano/AcOEt), iniciando na proporção 10:1 hexano/AcOEt, sendo obtida desta forma a fração EH-F-3-P25, que dentre as 7 frações obtidas, demonstrou-se mais promissora, de forma que a partir desta foi realizada uma nova coluna cromatográfica, eluída com mistura de solventes em gradiente de polaridade crescente (hexano/AcOEt), iniciando na proporção 4:1 hexano/AcOEt, obtendo-se desta forma a fração EH-F-5-P34, juntamente com outras quatro frações, no entanto, a fração em questão apresentou um perfil favorável, essa mesma fração foi submetida a separação cromatográfica, eluída solventes em gradiente de polaridade crescente (hexano/AcOEt), iniciando na proporção 4:1 hexano/AcOEt, obtendo a fração EH-F-7-P34, na qual foi obtido e identificado o β -sitosterol (composto **3**, Figura 17).

Figura 17 - Estrutura do composto **3**.



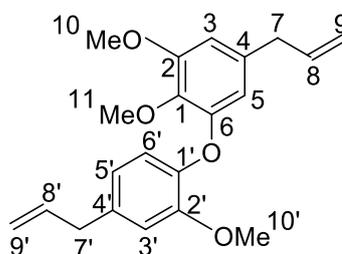
Fonte: o autor

5.4 CARACTERIZAÇÃO DE COMPOSTOS PRESENTES NOS EXTRATOS DE *E. paniculata*

5.4.1 *Composto 1*

A fração EH-F-3-P30, que contém o composto **1** isolado, foi submetida a análises de RMN para determinação de sua estrutura molecular do composto presente nesta fração. A Figura 20 apresenta o espectro de RMN de ^1H e a Figura 21 apresenta o espectro de RMN de ^{13}C do composto **1** (Figura 18), isolado da fração EH-F-5-P22.

Figura 18 - Estrutura química do composto **1**.

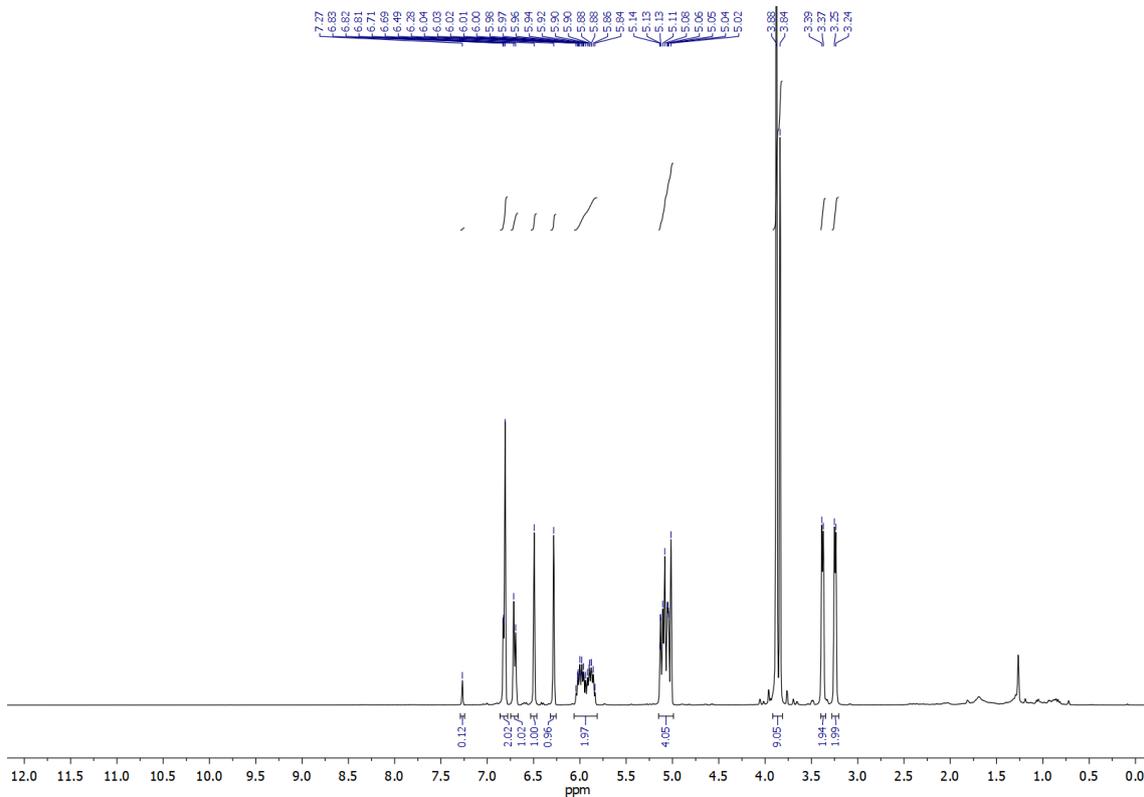


Fonte: o autor.

No espectro de RMN de ^1H (Figura 19) são observados sinais em δ (deslocamentos químicos) 6,45 e 6,29 referentes aos hidrogênios H3 e H5, respectivamente e um multipletto em 6,6 a 6,8 referentes aos hidrogênios ligados aos anéis aromáticos (H3', H5' e H6'). Também foi observado um sinal em δ 5,9 referentes aos hidrogênios vinílicos não terminal (H8' e H8), δ 5,06 é referente aos hidrogênios vinílicos terminais (H9' e H9), os simpletos em δ 3,84; 3,88 e 3,88 são referentes aos hidrogênios de três metoxilas e o δ 3,37 e 3,24 são referentes a dois CH_2 (H7' e H7).

Assumindo como base as constantes de acoplamento em orto do H5' para com o H6' (J tem valor aproximado de 7 a 8), além das obtidas pelas interações em meta pelo H3 com o H5 e H3' com H5' (J com valor próximo de 2), podemos certificar o acoplamento em orto no aromático.

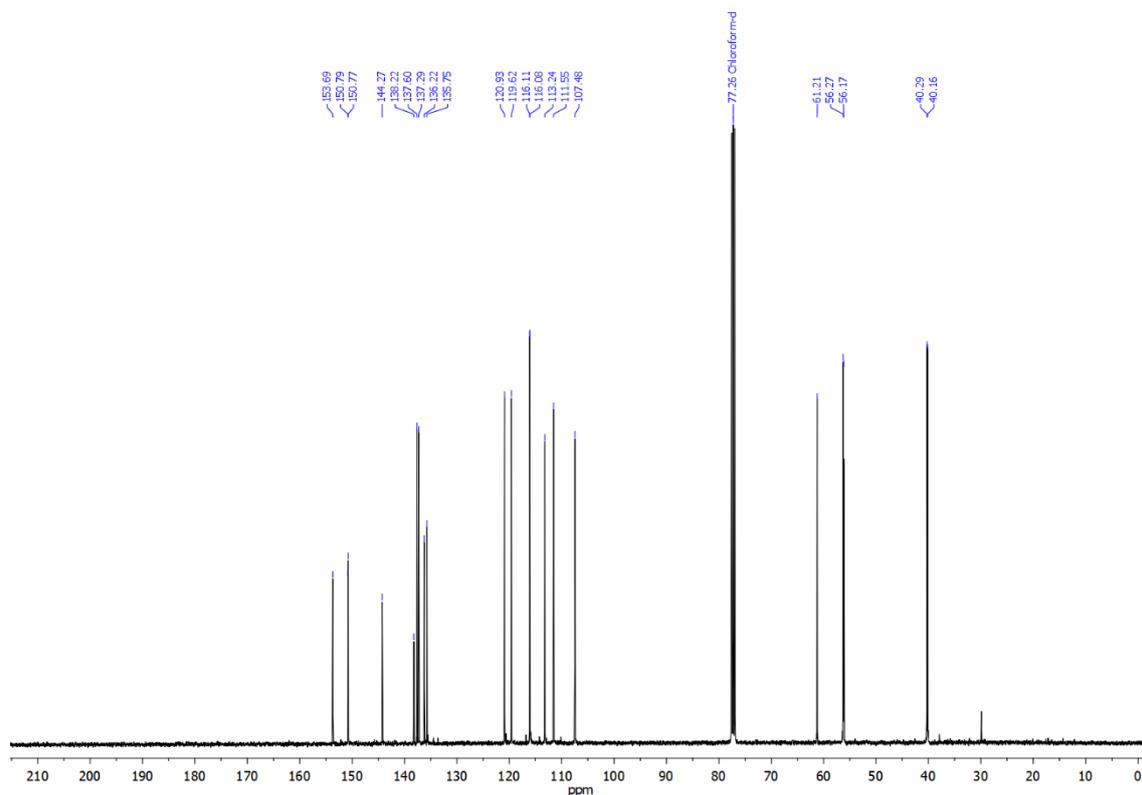
Figura 19 - Espectro de ^1H -RMN (400 MHz, CDCl_3) do composto 1.



Fonte: o autor.

Na análise do espectro de RMN de ^{13}C (Figura 20), são observados os sinais em δ 153,69, δ 138,22 e δ 150,77 de carbonos aromáticos ligados a três metoxilas ($\text{C}2'$, $\text{C}1$, $\text{C}2$), os sinais em δ 150,79 e δ 144,27 são referentes a carbonos ligados ao oxigênio ($\text{C}1'$ e $\text{C}6$), os δ 137,29 e δ 137,60 de carbonos adjacentes não terminais ($\text{C}8'$ e $\text{C}8$), em δ 136,22 e δ 135,75 de dois carbonos aromáticos ($\text{C}4'$ e $\text{C}4$), enquanto que os sinais em δ 116,08 e δ 116,11 são correspondentes aos carbonos adjacentes terminais ($\text{C}9'$ e $\text{C}9$), temos também sinais em δ 56,17 a δ 61,21 de carbonos de metoxilas ($\text{C}10$, $\text{C}10'$ e $\text{C}11$), por fim, δ 40,16 e δ 40,29 de dois agrupamentos CH_2 ($\text{C}7'$ e $\text{C}7$).

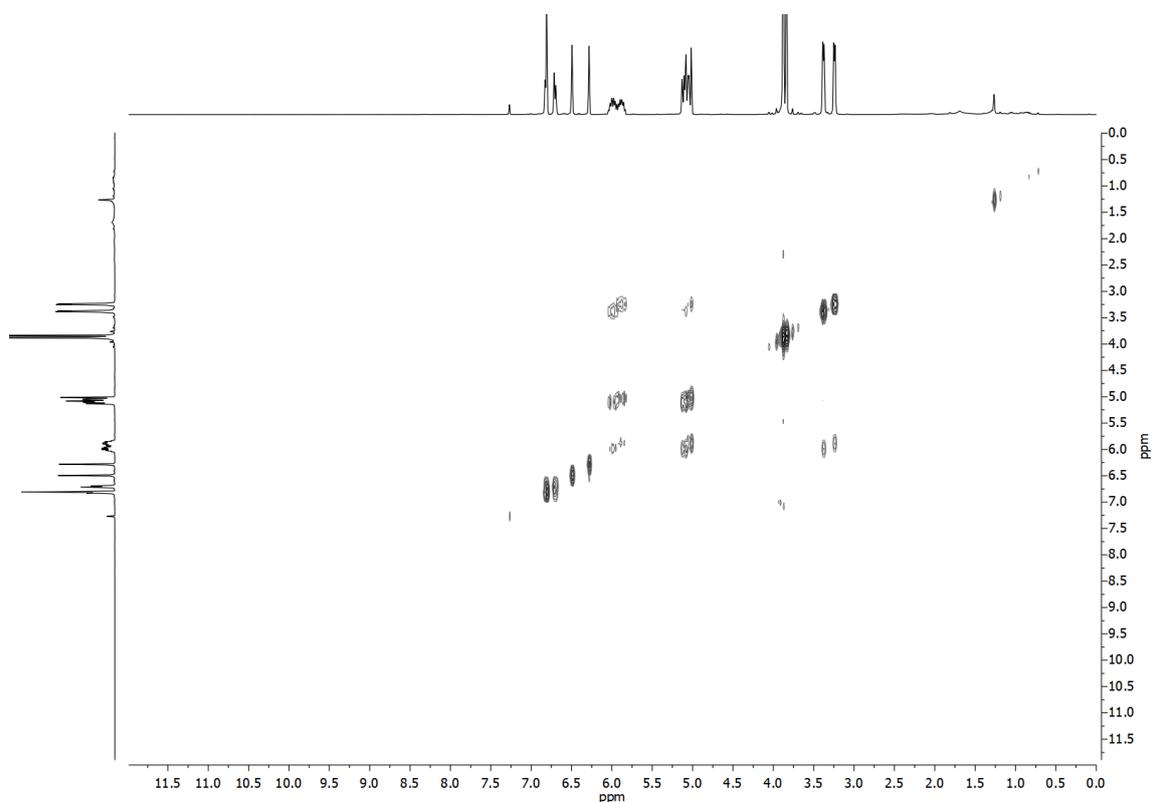
Figura 20 - Espectro de ^{13}C -RMN (100 MHz, CDCl_3) do composto **1**.



Fonte: o autor

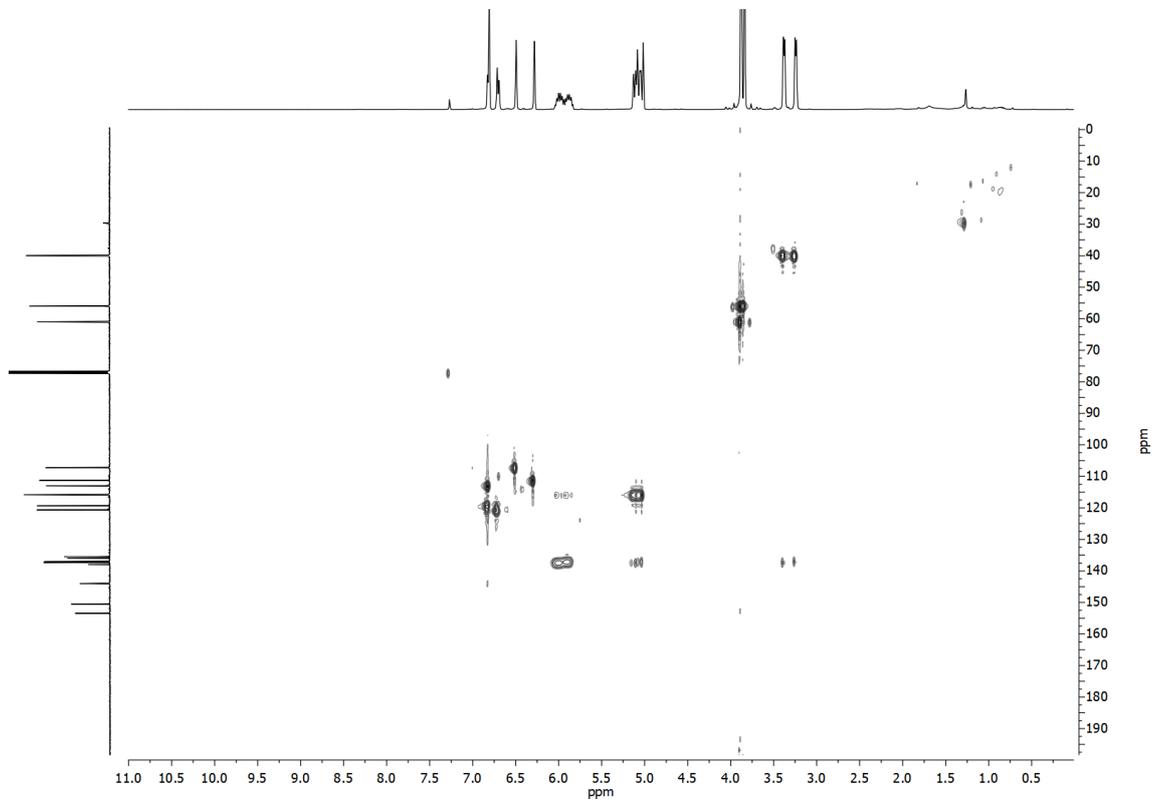
Analisando o mapa de contorno COSY (Figura 21), foi possível verificar que o δ 3,37 (H7) está correlacionado com o δ 5,90 (H8). O δ 5,90 (H8) se correlaciona não só com o δ 3,37(H7), mas com o δ 5,06 (H9) também, e, neste caso, também pode-se constatar que a correlação inversa foi observada. Assim como o δ 6,83 (H6') se correlaciona com o δ 6,70 (H5'), a correlação inversa também foi comprovada. E por fim, o δ 3,24 (H7') está correlacionado com o δ 5,90 (H8'), que por sua vez, se correlaciona no sentido inverso e com o δ 5,06 (H9').

Figura 21 - Mapa de contorno COSY do composto **1** (400 MHz, CDCl₃).



Fonte: o autor

O mapa de correlação HSQC (Figura 22) confirmou que os δ 6,28 (H5), δ 6,49 (H3), δ 3,37 (H7), δ 5,90 (H8), δ 5,06 (H9), δ 3,84 (H10), δ 3,88 (H11), δ 6,82 (H3'), δ 6,70 (H5'), δ 3,24 (H7'), δ 5,90 (H8'), δ 5,06 (H9'), δ 3,84 (H10') e δ 3,88 (H11') estão correlacionados com os sinais em δ 107,48 (C5), δ 111,55 (C3), δ 40,16 (C7), δ 137,60 (C8), δ 116,11 (C9), δ 56,27 (C10), δ 61,21 (C11), δ 113,24 (C3'), δ 119,62 (C6'), δ 120,93 (C5'), δ 40,29 (C7'), δ 137,29 (C8'), δ 116,08 (C9') e δ 56,17 (C10'), respectivamente.

Figura 22 - Mapa de contorno HSQC do composto **1** (400 MHz, CDCl₃).

Fonte: o autor

Os dados obtidos pela análise de RMN de ¹H e ¹³C, COSY e HSQC estão dispostos na Tabela 4.

Tabela 4 - Deslocamentos químicos observados nos espectros de RMN do composto **1**.

Posição	Composto 1			
	$^1\text{H } \delta_{\text{H}}^{\text{a}}$ (mult ^a , <i>J</i> em Hz)	$^{13}\text{C } \delta_{\text{C}}^{\text{a}}$	COSY	HSQC
1	-	138,22	-	-
2	-	150,77	-	-
3	6,45 (s, 2,0 Hz, 1H)	111,55	-	C3
4	-	135,75	-	-
5	6,29 (s, 2,0 Hz, 1H)	107,48	-	C5
6	-	144,27	-	-
7	3,37 (d, 6,4 Hz, 2H)	40,16	H8	C7
8	5,90 (m, 1H)	137,60	H7, H9	C8
9	5,06 (m, 2H)	116,11	H7, H8	C9
10	3,84 (s, 3H)	56,27	-	C10
11	3,88 (s, 3H)	61,21	-	C11
1'	-	150,79	-	-
2'	-	153,69	-	-
3'	6,82 (d, 2,1 Hz, 1H)	113,24	-	-
4'	-	136,22	-	-
5'	6,70 (dd, 7,8 e 2,0 Hz, 1H)	120,93	-	C5'
6'	6,83 (d, 7,1 Hz, 1H)	119,62	-	C6'
7'	3,24 (d, 6,1 Hz, 2H)	40,29	H8'	C7'
8'	5,90 (m, 1H)	137,29	H7', H9'	C8'
9'	5,06 (m, 2H)	116,08	H7', H8'	C9'
10'	3,88 (s, 3H)	56,17	-	C10'

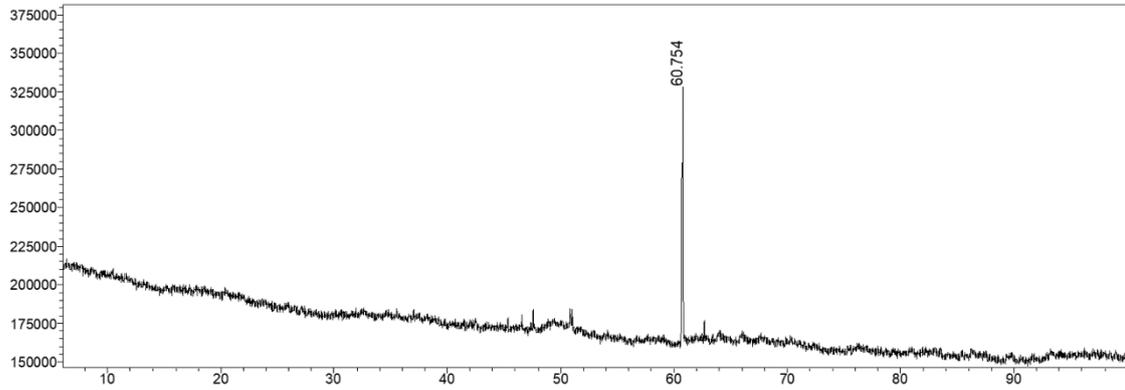
Fonte: o autor.

Embasado nos dados obtidos pelos mapas de contorno COSY e HSQC, foi possível verificar por meio das correlações indicadas por ambos, a presença de dois anéis aromáticos unidos por um heteroátomo (oxigênio), contendo em sua composição grupos propenicos e metoxilas. Assim, em conjunto com a análise por RMN, identificou-se que o composto isolado é o *O*-metildesidroieugenol B (**1**).

A fração EH-F-3-P30 foi analisada por CG-EM, onde foi possível observar a presença de um único pico intenso, com o tempo de retenção de 63,2 min. (Figura 23). O EM-IE

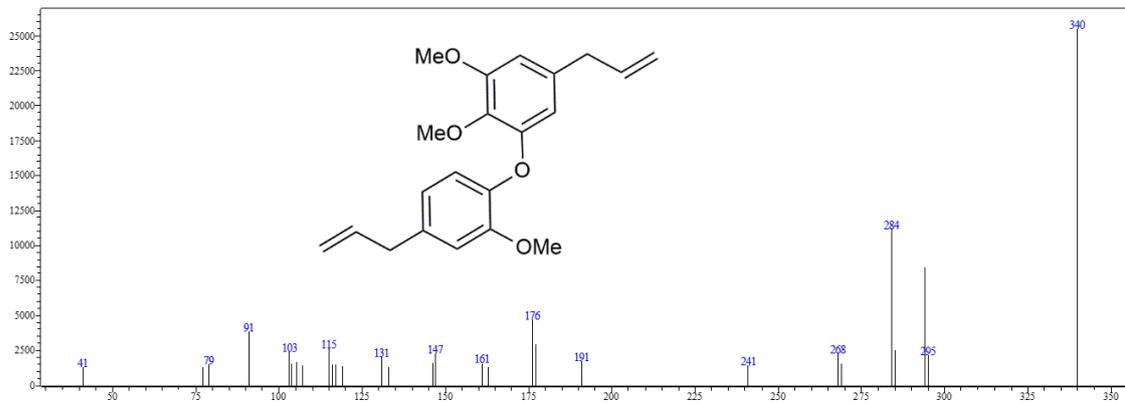
apresentou um sinal com razão m/z 340 (100%), que foi designado como o íon molecular do *O*-metil-desidroieugenol B (**1**) (Figura 24).

Figura 23 - Cromatograma da fração EH-F-3-P30 (composto **1**) obtido por CG-EM.



Fonte: o autor

Figura 24 - EM-IE do *O*-metil-desidroieugenol B (**1**) obtido por CG-EM.

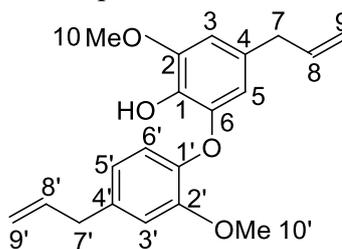


Fonte: o autor

5.4.2 Composto 2

A fração EH-F-7-P26 foi submetida a análises de RMN para determinação de sua estrutura molecular do composto presente nesta fração. A Figura 26 apresenta o espectro de RMN de ^1H e a Figura 28 apresenta o espectro de RMN de ^{13}C do composto **2** (Figura 25), isolado da fração EH-F-8-P22 e identificado como o desidrodieugenol B (**2**).

Figura 25 - Estrutura química do desidrodieugenol B (**2**).

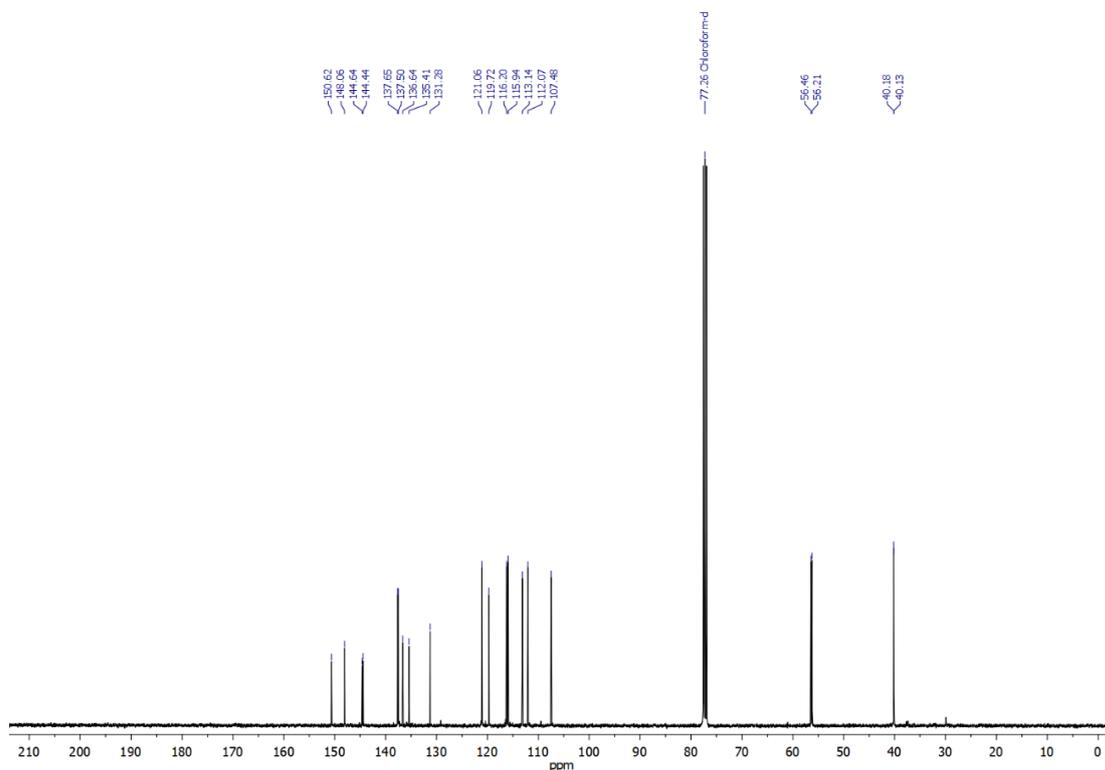


Fonte: o autor.

No espectro de RMN de ^1H (Figura 26) são observados simpletos em δ (deslocamentos químicos) 6,50 e 6,40 referentes aos hidrogênios H3 e H5, respectivamente e um multiplete em 6,6 a 6,9 referentes aos hidrogênios ligados aos anéis aromáticos (H3', H5' e H6'). Também foi observado um sinal em δ 5,98 referentes aos hidrogênios vinílicos não terminal (H8' e H8), δ 5,06 é referente aos hidrogênios vinílicos terminais (H9' e H9), os simpletos em δ 3,86 e 3,87 são referentes aos hidrogênios de duas metoxilas e os sinais em δ 3,37 e 3,24 são referentes a dois CH_2 (H7' e H7).

Assumindo como base as constantes de acoplamento em orto do H5' para com o H6' (J tem valor aproximado de 7 a 8), além das obtidas pelas interações em meta pelo H3 com o H5 e H3' com H5' (J com valor próximo de 2), podemos certificar o acoplamento em orto no aromático.

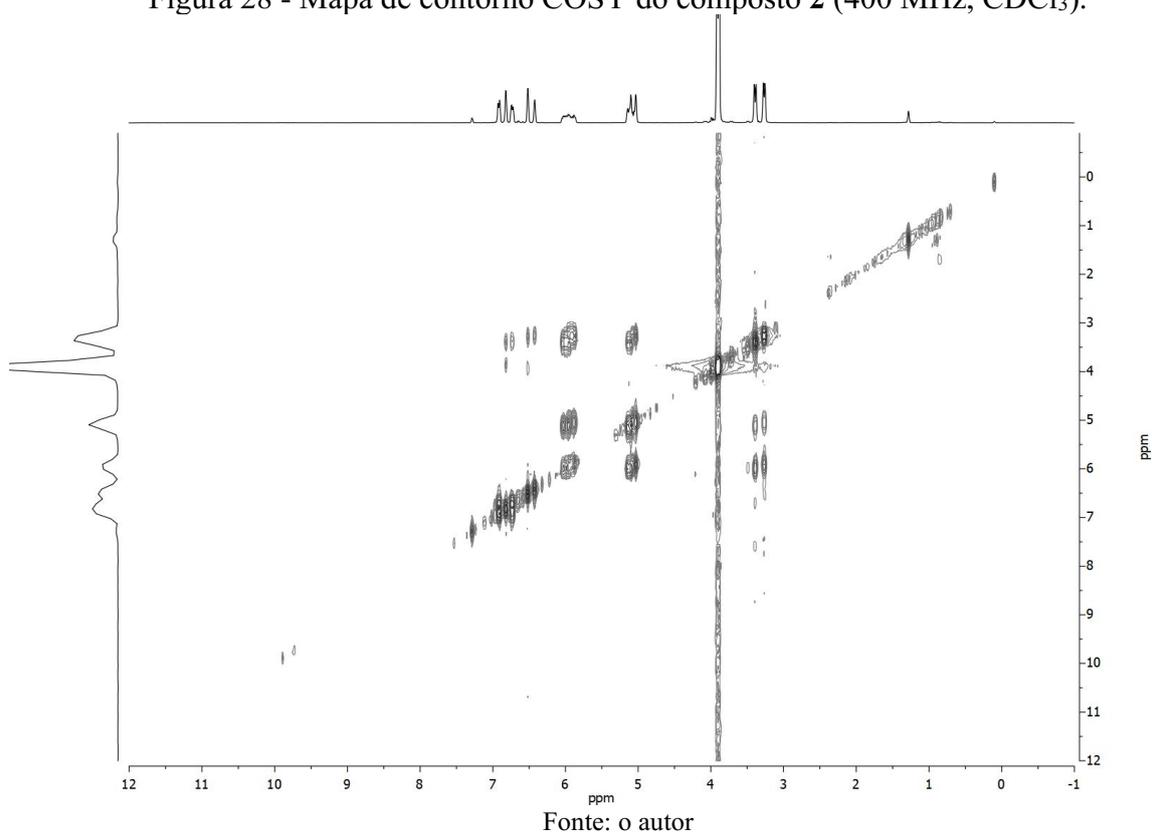
Figura 27 - Espectro de ^{13}C -RMN (100 MHz, CDCl_3) do composto **2**.



Fonte: o autor.

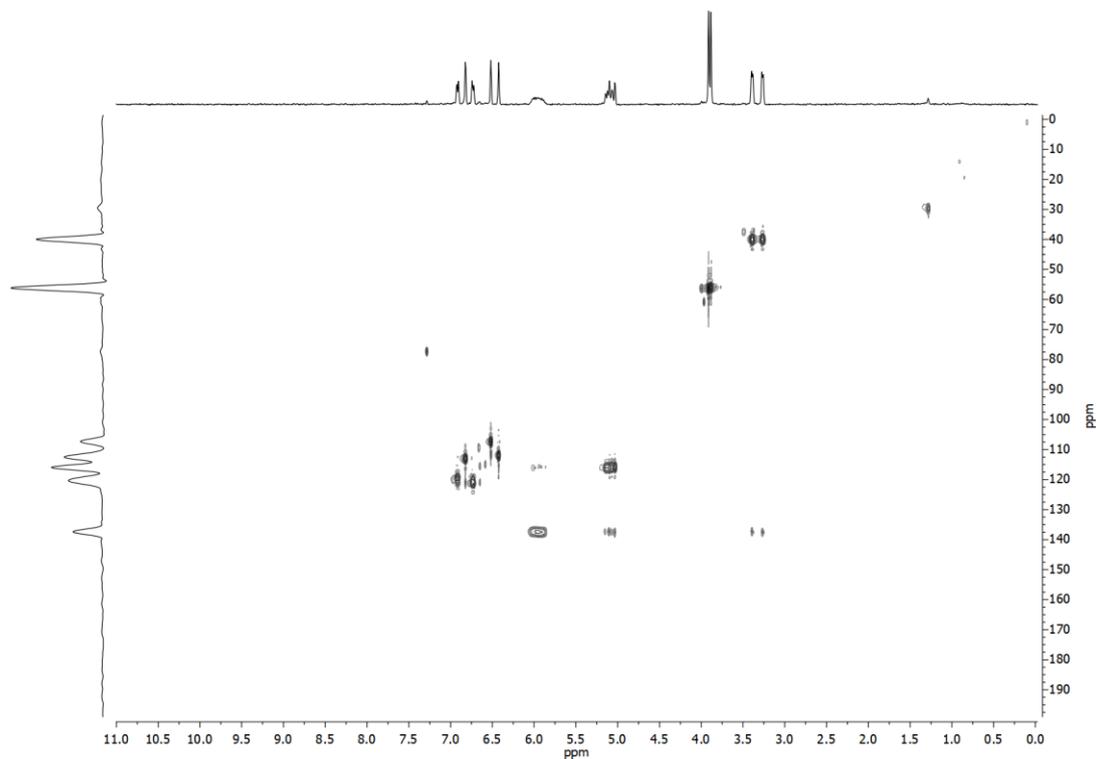
Analisando o mapa de contorno COSY (Figura 28), foi possível verificar que o δ 3,24 (H7) está correlacionado com o δ 5,98 (H8). O δ 5,98 (H8) se correlaciona não só com o δ 3,24(H7), mas com o δ 5,06 (H9) também, e, neste caso, também pode-se constatar que a correlação inversa foi observada. Assim como o δ 6,89 (H6') se correlaciona com o δ 6,71 (H5'), a correlação inversa também foi comprovada. E por fim, o δ 3,36 (H7') está correlacionado com o δ 5,98 (H8'), que por sua vez, se correlaciona no sentido inverso e com o δ 5,06 (H9').

Figura 28 - Mapa de contorno COSY do composto **2** (400 MHz, CDCl₃).



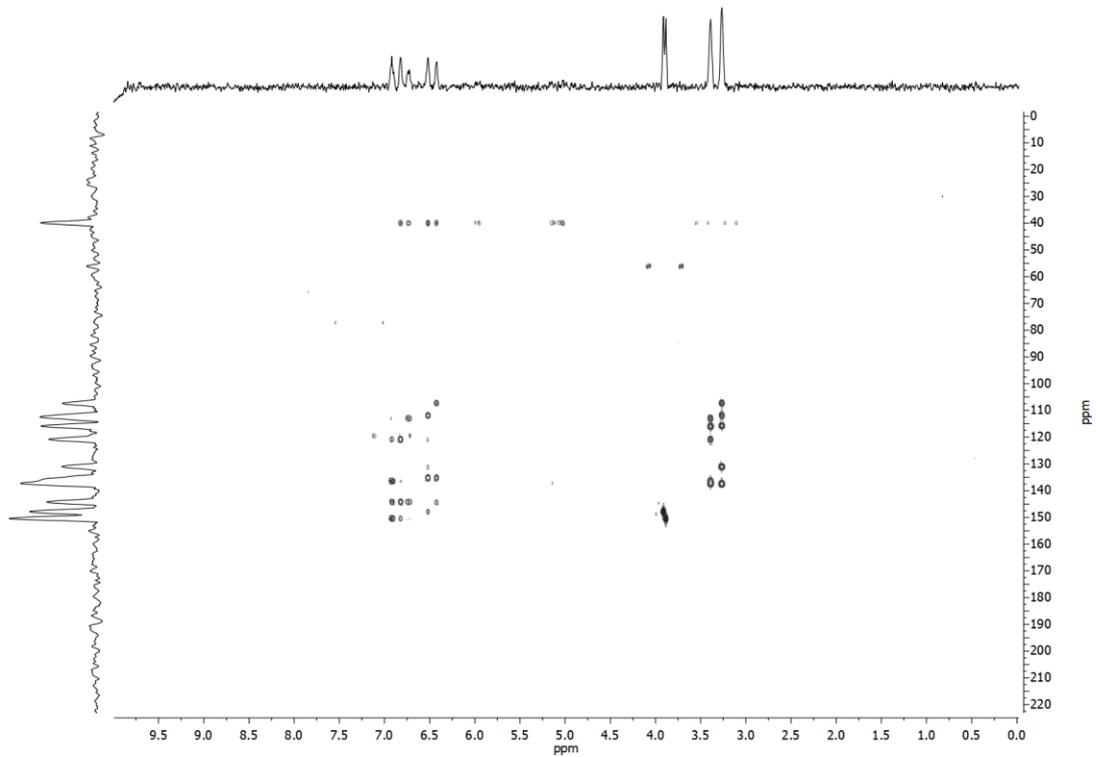
O mapa de correlação HSQC (Figura 29) confirmou que os δ 6,50 (H5), δ 6,40 (H3), δ 3,24 (H7), δ 5,98 (H8), δ 5,06 (H9), δ 3,87 (H10), δ 6,80 (H3'), δ 6,89 (H6'), δ 6,71 (H5'), δ 3,36 (H7'), δ 5,98 (H8'), δ 5,06 (H9') e δ 3,86 (H10') estão correlacionados com os δ 107,48 (C2), δ 112,07 (C6), δ 40,13 (C7), δ 137,50 (C8), δ 115,94 (C9), δ 56,46 (C10), δ 113,14 (C2'), δ 119,72 (C5'), δ 121,06 (C6'), δ 40,18 (C7'), δ 137,65 (C8'), δ 116,20 (C9'), δ 56,21 (C10'), respectivamente.

Figura 29 - Mapa de contorno HSQC do composto **2** (400 MHz, CDCl₃).



Fonte: o autor

Enquanto o mapa de correlação HMBC (Figura 30) evidenciou que o δ 6,40 (H5) se correlaciona com os δ 144,64 (C6), δ 135,41 (C1) e δ 112,07 (C7), e o δ 6,50 (H3) se correlaciona com δ 107,48 (C5), δ 135,1 (C1), δ 148,06 (C2) e δ 40,13 (C7). O sinal em δ 6,71 (H5') tem correlação com δ 113,14 (C3'), δ 144,44 (C1'), δ 121,06 (C5') e δ 40,18 (C7'). Enquanto que o δ 6,80 (H3') correlaciona-se com 150,62 (C2'), δ 144,44 (C1'), δ 121,06 (C5') e δ 40,18 (C7'), e por fim, o δ 6,89 (H6') se correlaciona com 136,64 (C4'), δ 144,44 (C1'), δ 121,06 (C5') e δ 40,18 (C7').

Figura 30 - Mapa de contorno HMBC do composto **2** (400 MHz, CDCl_3).

Fonte: o autor.

Os dados obtidos pela análise de RMN de ^1H e ^{13}C , COSY, HSQC e HMBC estão dispostos na Tabela 5.

Tabela 5 - Deslocamentos químicos observados nos espectros de RMN do composto **2**.

Composto 2					
	¹ H (mult)	¹³ C	COSY	HSQC	HMBC
1	-	135,41	-	-	
2	-	148,06	-	-	
3	6,50 (s, 1H)	112,07	-	C3	C1, C2, C5, C7
4	-	131,28	-	-	
5	6,40 (s, 1,9 Hz, 1H)	107,48	-	C5	C1, C2, C3, C6
6	-	144,64	-	-	
7	3,24 (d, 6,4 Hz, 2H)	40,13	H8	C7	
8	5,98 (m, 1H)	137,50	H7, H9	C8	
9	5,06 (m, 2H)	115,94	H8	C9	
10	3,87 (s, 3H)	56,46	-	C10	
1'	-	144,44	-	-	
2'	-	150,62	-	-	
3'	6,80 (d, 1,9 Hz, 1H)	113,14	-	C3'	C1', C2', C5', C7'
4'		136,64	-	-	
5'	6,71 (dd, 8,1 e 2,1 Hz, 1H)	121,06	H6'	C6'	C1', C3', C5', C7'
6'	6,89 (d, 8,0 Hz, 1H)	119,72	H5'	C5'	C1', C4', C5', C7'
7'	3,36 (d, 6,4 Hz, 2H)	40,18	H8'	C7'	
8'	5,98 (m, 1H)	137,65	H7', H9'	C8'	
9'	5,06 (m, 2H)	116,20	H8'	C9'	
10'	3,86 (s, 3H)	56,21	-	C10'	

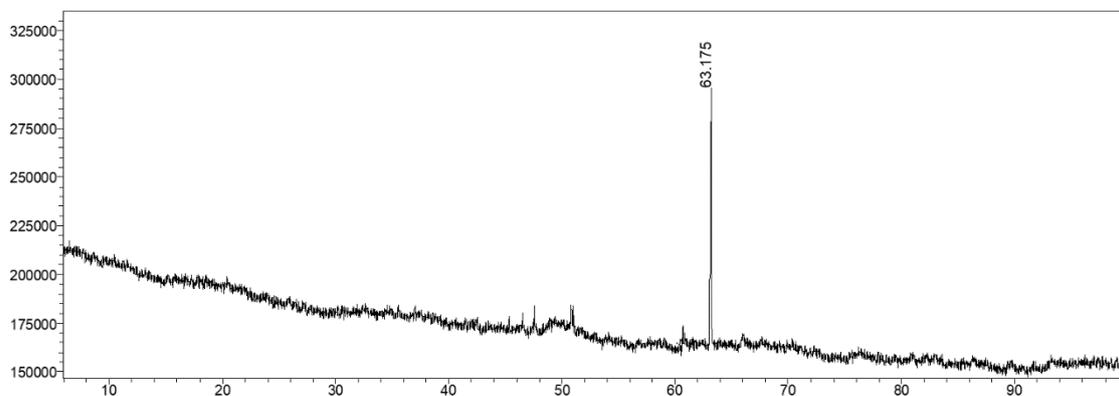
Fonte: o autor

Com base nos dados acima, confirma-se a presença dos dois anéis aromáticos unidos por um heteroátomo (oxigênio), substituídos com grupos propenos, metoxilas e uma hidroxila, que foram suportados pelas principais correlações nos mapas de contorno COSY, HSQC e HMBC. E em conjunto com a análise por RMN foi possível identificar que o composto isolado na fração EH-F-7-P26 é o desidrodieugenol B (**2**).

A fração EH-F-7-P26 foi submetida à análise por CG-EM, onde foi possível observar a presença de apenas um pico majoritário com tempo de retenção em 63,17 min (Figura 31). O EM-IE (Figura 32) apresentou um sinal de m/z 326 (100%) que foi atribuído ao íon molecular

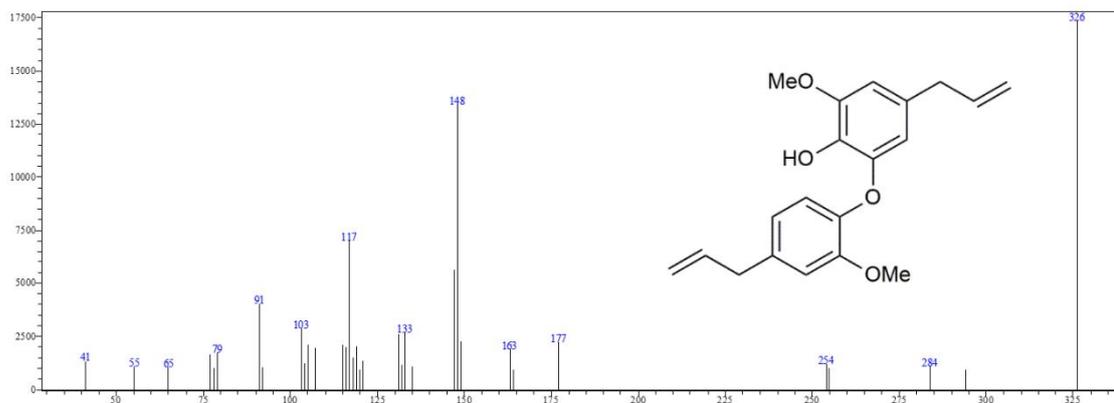
do desidrodieugenol B (**2**), além de três íons fragmentos intensos de m/z 148 (75%), 117 (37%) e 91 (23%).

Figura 31 - Cromatograma da fração EH-F-7-P26 obtido por CG-EM.



Fonte: o autor.

Figura 32 - EM-IE do desidrodieugenol B (**2**) obtido por CG-EM.

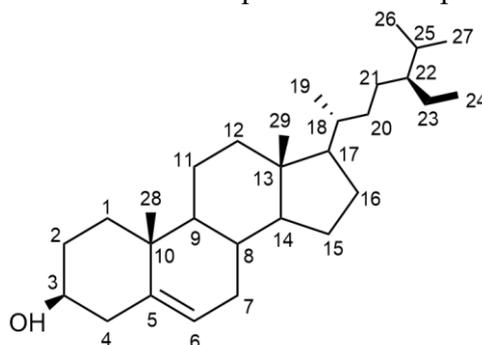


Fonte: o autor.

5.4.3 Composto 3

A fração EH-F-7-P34 foi submetida a análises de RMN para determinação de sua estrutura molecular do composto presente nesta fração. A Figura 34 apresenta o espectro de RMN de ^1H e a Figura 35 apresenta o espectro de RMN de ^{13}C do composto **3** (Figura 33), isolado da fração EH-F-7-P22.

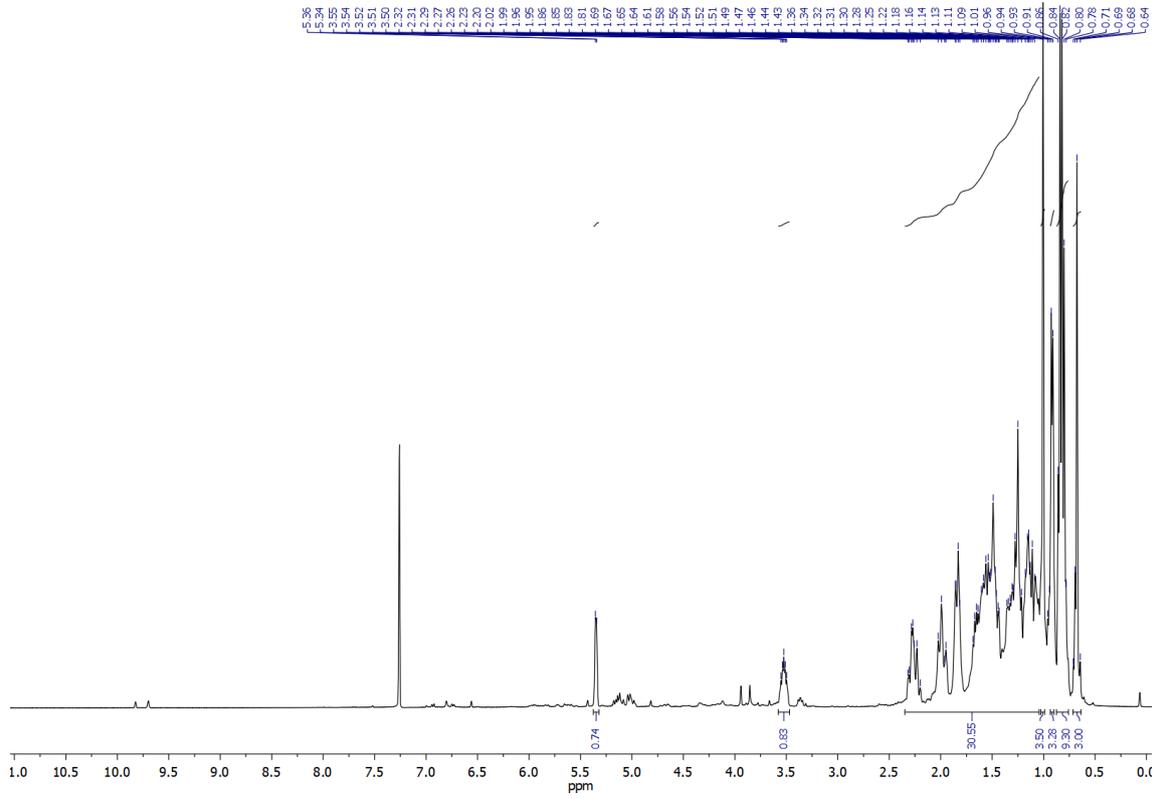
Figura 33 - Estrutura química do composto 3.



Fonte: o autor.

No espectro de RMN de ^1H (Figura 34) são observados sinais em δ 0,67 a δ 1,0 referentes a seis metilas, em δ 1,1 e δ 2,3 que se originam dos 30 hidrogênios metilênicos, dois simpletos de metila em δ 0,71 e δ 1,03, além de dois dupletos e um tripleto de metilas em δ 0,81, δ 0,83 e δ 0,84, respectivamente. Outro duplete referente a uma metila em δ 0,92, pode-se verificar um duplete largo em δ 5,35 (H6) com uma constante de acoplamento de 5,1 Hz. Em δ 3,5 pode ser visto um multiplete que corresponde ao hidrogênio carbinólico (H3) e hidrogênio olefínico (H5). Por fim, os demais sinais foram atribuídos a outros compostos presentes na amostra em menor quantidade.

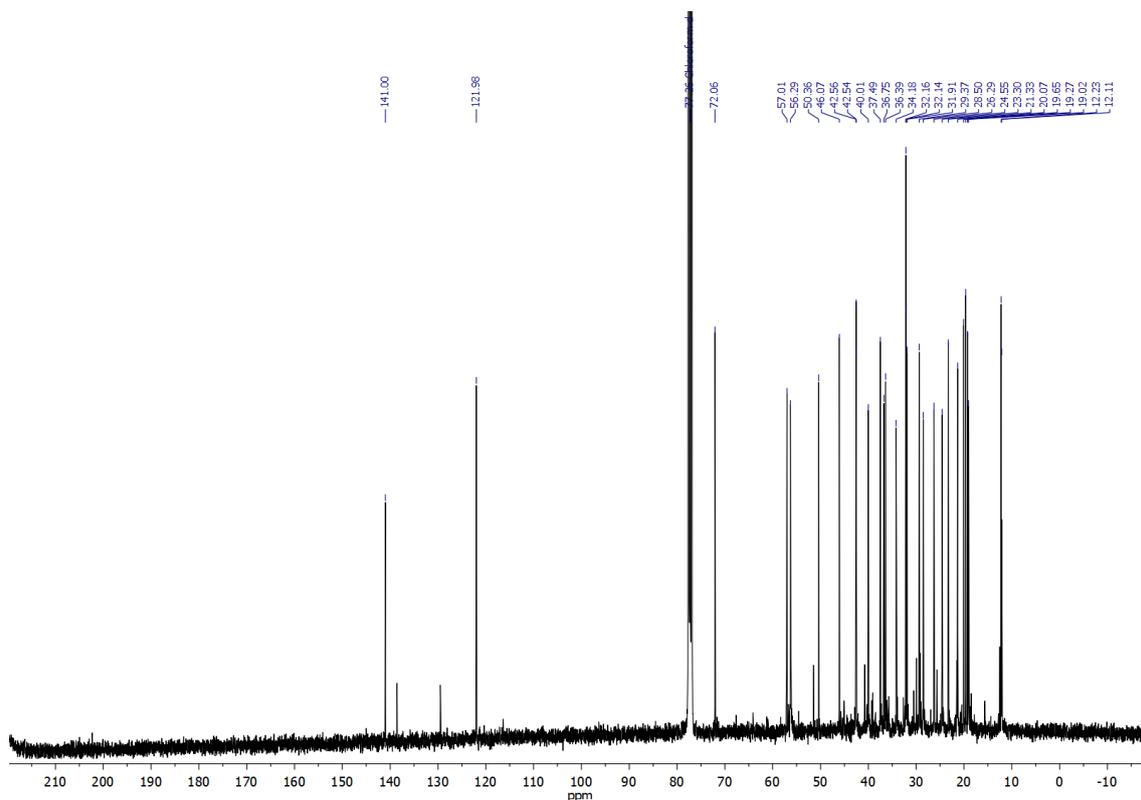
Figura 34 - Espectro de ^1H -RMN (400 MHz, CDCl_3) do composto **3**.



Fonte: o autor.

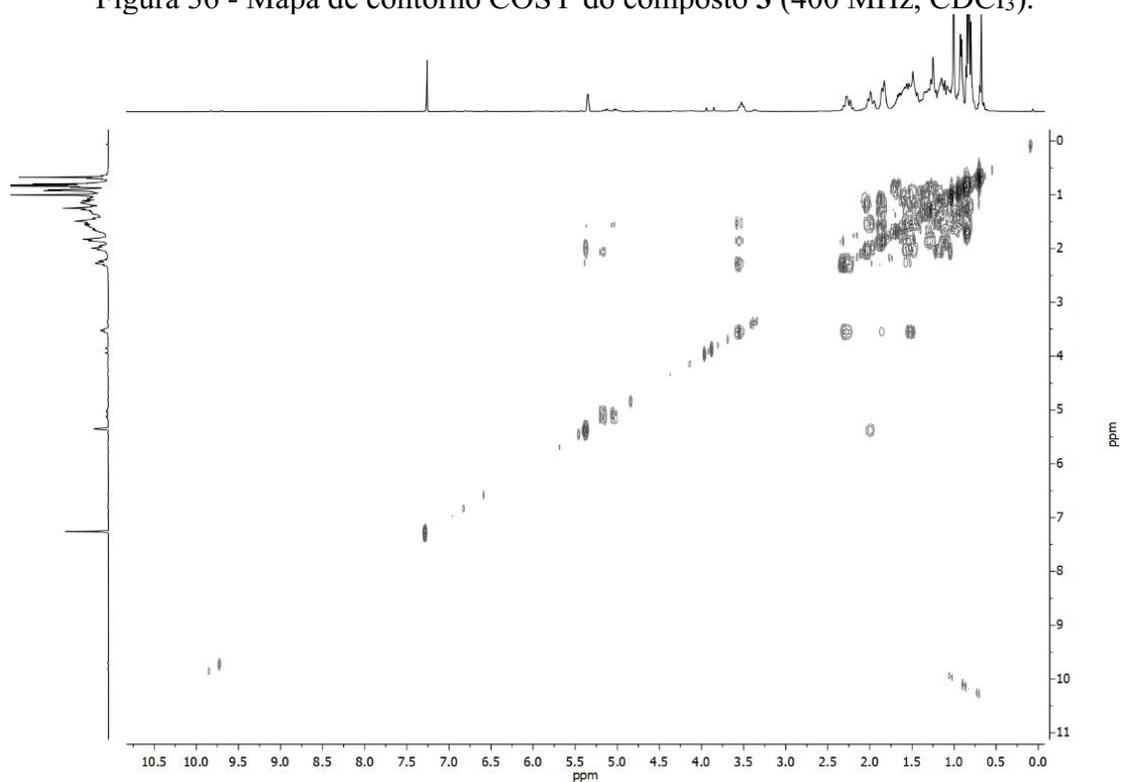
Na análise do espectro de RMN de ^{13}C (Figura 35), são observados sinais em δ 12 originado dos carbonos C19 e C29 de metilas, em δ 72,1 do carbono carbinólico e sinais em δ 141,1 e δ 121,8 referentes a insaturação em C5/C6.

Figura 35 - Espectro de ^{13}C -RMN (100 MHz, CDCl_3) do composto **3**.



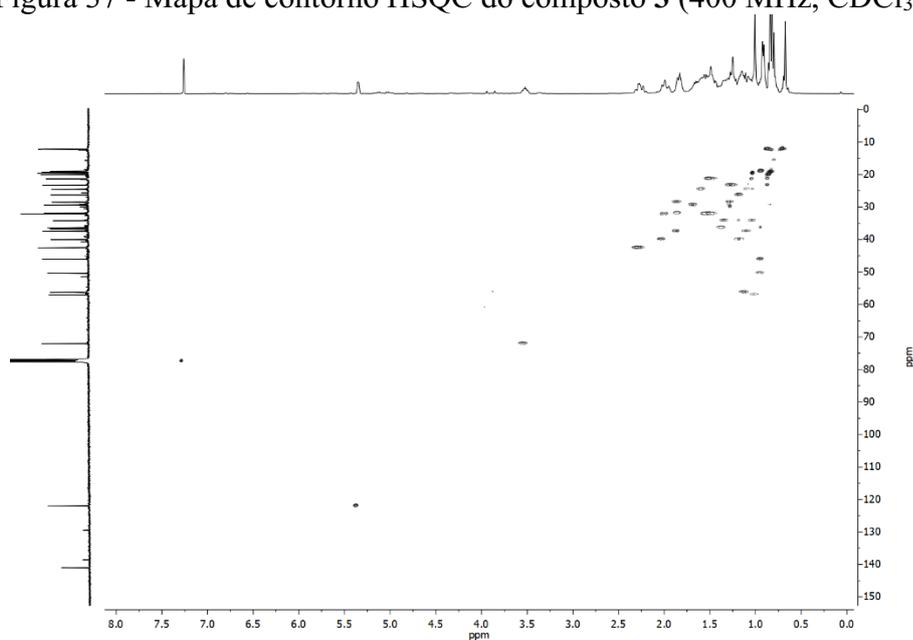
Fonte: o autor.

Analisando o mapa de contorno COSY (Figura 36), foi possível constatar que o H3 está correlacionado com hidrogênios com deslocamentos em δ 1,43 a δ 2,44, possivelmente os hidrogênios H2 e H3. Enquanto o H6 se correlaciona aos hidrogênios que correspondem aos sinais em δ 1,45 a δ 2,31, provavelmente os H7a e H7b. Os hidrogênios na posição 19 (Hs19), se correlacionam com os hidrogênios com sinais em δ 1,25 a δ 1,92, provavelmente do H18. Assim como os Hs24 se correlacionam com δ 1,40, que podem ser os H23a e H23b. Por fim, os Hs26 e Hs27 estão correlacionados com δ 1,40, sendo possivelmente o H25.

Figura 36 - Mapa de contorno COSY do composto **3** (400 MHz, CDCl₃).

Fonte: o autor.

O mapa de correlação HSQC (Figura 37) confirmou que os H3, H6, H19, H23, H26 e H28 estão ligados aos carbonos C3, C6, C19, C23, C26 e C28, respectivamente. Os dados obtidos pela análise de RMN de ¹H e ¹³C estão dispostos na Tabela 6.

Figura 37 - Mapa de contorno HSQC do composto **3** (400 MHz, CDCl₃).

Fonte: o autor.

Tabela 6 - Deslocamentos químicos observados nos espectros de RMN do composto 3.

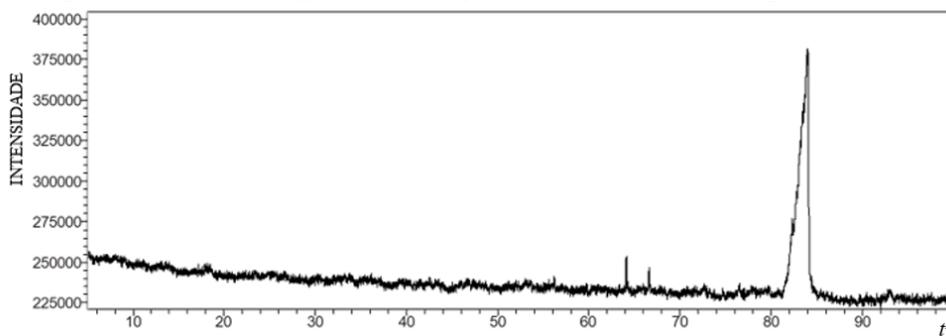
Posição	Composto 3			
	$^1\text{H } \delta_{\text{H}}^{\text{a}}$ (mult ^a , J em Hz)	$^{13}\text{C } \delta_{\text{C}}^{\text{a}}$	COSY	HSQC
1	-	37,49	-	-
2	-	31,91	-	-
3	3,53 (td, 1H, $J = 5,1; 4,9, 4,7$ Hz)	72,06	H-2, H-3	C-3
4	-	42,54	-	-
5	-	141,00	-	-
6	5,35 (t, 1H, $J = 5,1$ Hz)	121,98	H-7	C-6
7	-	32,14	-	-
8	-	32,16	-	-
9	-	50,36	-	-
10	-	36,75	-	-
11	-	21,33	-	-
12	-	40,01	-	-
13	-	42,56	-	-
14	-	57,01	-	-
15	-	24,55	-	-
16	-	28,50	-	-
17	-	56,29	-	-
18	-	36,39	-	-
19	0,92 (d, 3H, $J = 6,0$ Hz)	19,27	H-18	C-19
20	-	34,18	-	-
21	-	26,29	-	-
22	-	46,07	-	-
23	-	23,30	-	-
24	0,84 (m, 3H)	12,23	H-23	C-24
25	-	29,37	-	-
26	0,83 (d, 3H, $J = 7,8$ Hz)	20,07	H-25	C-26
27	0,81 (m, 3H)	19,65	H-25	C-27
28	0,70 (s, 3H)	19,02	-	C-28
29	1,01 (s, 3H)	12,11	-	-

Fonte: o autor

Desta forma, os dados acima confirmam a presença do esqueleto de esteroide com um grupo hidroxila na posição C-3 com uma ligação dupla em C5/C6, com seis grupos metilas, que foram suportados pelas principais correlações nos mapas de contorno COSY e HSQC. Assim, através da análise por RMN foi possível identificar que o composto isolado na fração EH-F-7-P34 é o β -sitosterol (**3**).

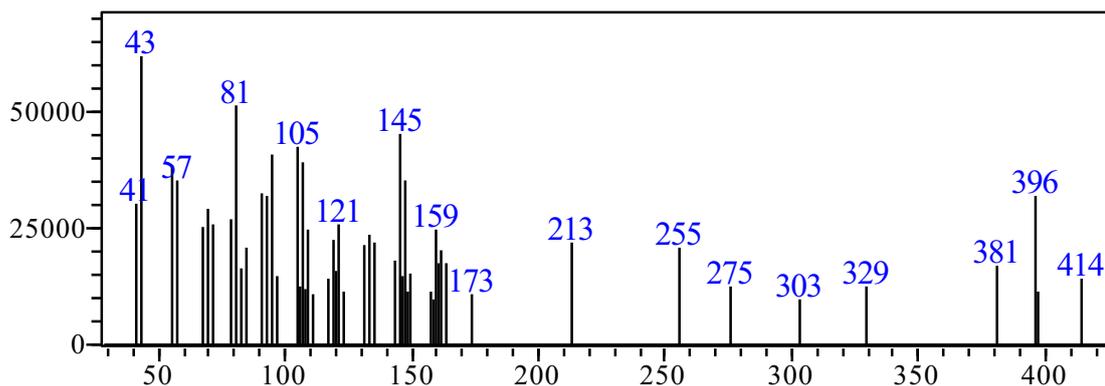
A fração EH-F-7-P34 foi submetida à análise por CG-EM, onde foi possível observar a presença de apenas um pico majoritário com tempo de retenção em 82,5 min. (Figura 38). O espectro de massas do β -sitosterol (**3**) mostrado na Figura 39 apresenta um sinal em m/z 414 (25%) que foi atribuído ao íon molecular, além de três íons fragmentos intensos de m/z 43 (100%), 81 (82%) e 145 (74%).

Figura 38 - Cromatograma da fração EH-F-7-P34 obtido por CG-EM.



Fonte: o autor.

Figura 39 - EM-IE do β -sitosterol (**3**) obtido por CG-EM.



Fonte: o autor.

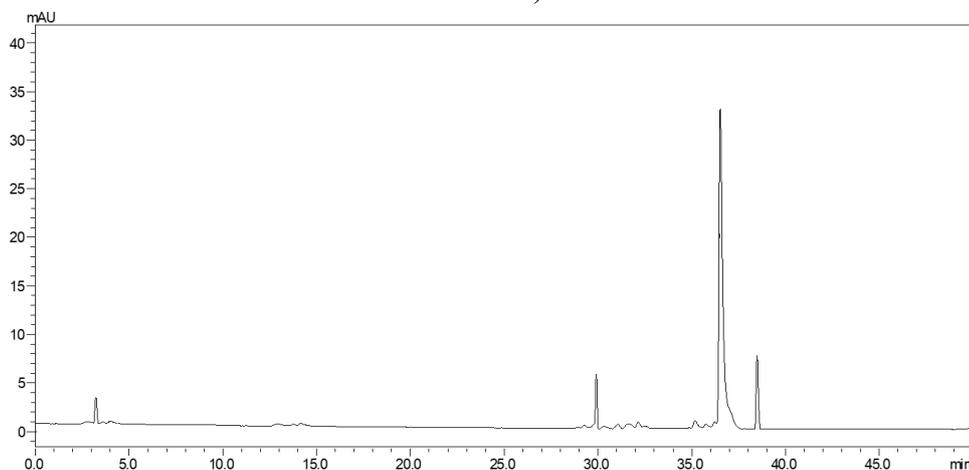
5.5 ANÁLISE DO PERFIL CROMATOGRÁFICO POR CLAE-DAD DOS EXTRATOS DE *E. paniculata*

A técnica analítica de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE-DAD-ELSD) é a mais usual para a análise de extratos de plantas e de outras fontes naturais. Sendo uma técnica automatizada, ou seja, fácil de usar, além de ser uma técnica que possui alta resolução, seletividade e sensibilidade. As principais vantagens da CLAE é a possibilidade de integra-la a técnicas de detecção, sendo as mais comuns a CLAE combinada como detector de UV, e com o arranjo de diodos (Diode Array Detector – DAD), para compostos absorventes de UV (BIJAULIYA, 2017; MASONDO e MAKUNGA, 2019; MAZINA et al., 2015).

A análise por meio da cromatografia líquida de alta resolução (CLAE-DAD-ELSD) foi utilizada para a obtenção do perfil cromatográfico dos EH-F e EM-F. Inicialmente, foi feita uma varredura do cromatograma CLAE-DAD do espectro UV variando de 190 a 800 nm. Essa mesma varredura foi realizada por CLAE-ELSD. Pode-se verificar que o comprimento de onda que fornecia maiores informações a respeito do perfil cromatográfico foi em 254nm.

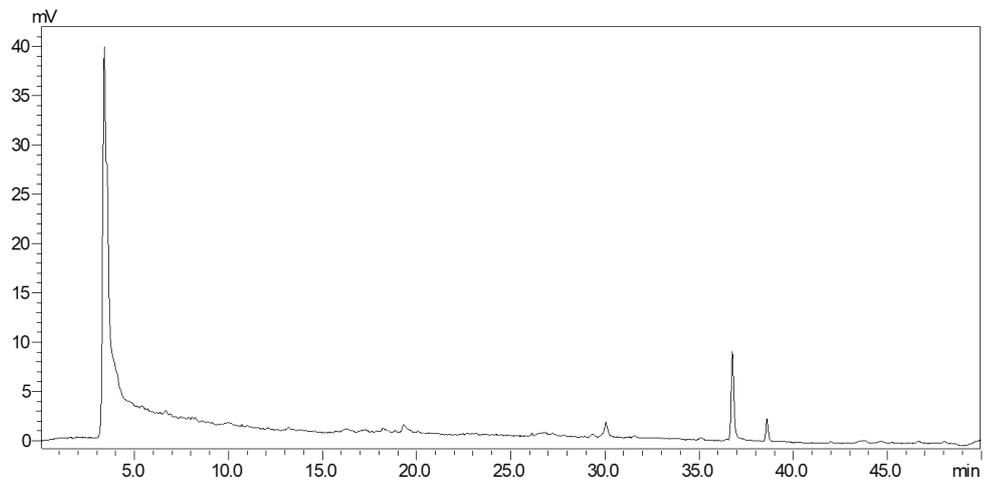
Analisando o EH-F por meio da CLAE-DAD (Figura 40) pode-se verificar um pico intenso em 36,6 min e outros de menor intensidade em 30,0 e 38,5 min. No entanto, no cromatograma obtido pela utilização do ELSD (Figura 41), identifica-se a presença dos mesmos picos mostrados através da DAD, porém, este apresenta um pico de maior intensidade em 3,5 min.

Figura 40 - Cromatograma do extrato EH-F de *E. paniculata* obtido por CLAE-DAD (UV 254nm).



Fonte: o autor.

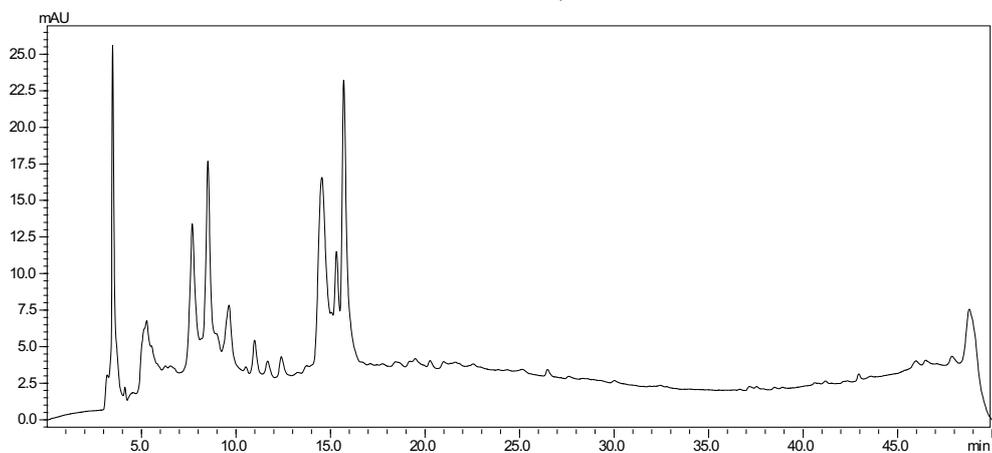
Figura 41 - Cromatograma do extrato EH-F de *E. paniculata* obtido por CLAE-ELSD.



Fonte: o autor.

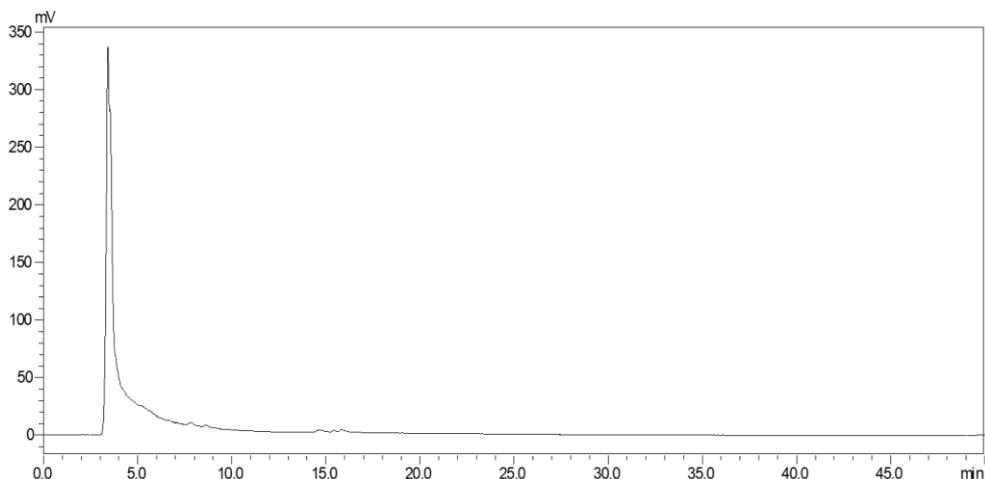
Baseando-se no cromatograma obtido por meio da CLAE-DAD do EM-F (Figura 42), pode verificar um padrão totalmente diferente do obtido no EH-F. Visto que apresenta uma grande quantidade de picos no intervalo de 3,5-17,5 min, que não aparecem no EH-F, assim como os picos em 30,0, 36,6 e 38,5 que apareciam no cromatograma de EH-F, não estão presente neste. Quanto a análise da EM-F por meio da ELSD (Figura 43), revelou apenas um pico em 4,0 min, que pode ser de açúcares e compostos com elevada polaridade presentes no extrato.

Figura 42- Cromatograma do extrato EM-F de *E. paniculata* obtido por CLAE-DAD (UV 254nm)



Fonte: o autor.

Figura 43 - Cromatograma do extrato EM-F de *E. paniculata* obtido por CLAE-ELSD.



Fonte: o autor.

Este trabalho foi de grande importância, visto que o desidrodieugenol B (**2**) foi submetido ao ensaio da atividade anti-inflamatória *in vivo* (inflamação crônica induzida por implantes de esponja em camundongos pretos - C57Bl/6). A neolignana **2** apresentou efeitos anti-inflamatórios, antifibrótico e antiangiogênicos em todas as doses avaliadas (SOUZA et al., 2020).

6 CONCLUSÃO

Com base nos estudos realizados na *E. paniculata*, pode-se constatar que o extrato metanólico (EM-F) apresentou maior massa que o extrato hexânico (EH-F). Através da prospecção fitoquímica verificou-se a presença de três compostos distintos, que foram analisados em diversas frações e conforme seu padrão, foram agrupados.

A fim de contribuir com a quimiosistemática do gênero *Endlicheria*, EH-F foi submetido ao fracionamento por cromatografia em coluna utilizando sílica gel 60 como fase estacionária, sendo isolado o β -sitosterol (**3**) e duas neolignanas, a *O*-metildesidrodieugenol B (**1**) e o desidrodieugenol B (**2**), e, com o emprego da técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE-DAD) verificou-se que o perfil cromatográfico de EH-F apresentava mais promissoras, quando confrontada com o perfil de EM-F. As estruturas dos compostos isolados foram confirmadas por espectrometria de massas e RMN de ^1H e ^{13}C .

Desta forma, foi alcançado parte do objetivo adotado, uma vez que a partir do estudo fitoquímico da *E. paniculata*, foi possível isolar três compostos, sendo duas neolignanas e um

fitosterol. Além disso, através deste trabalho foi possível submeter o desidrodieugenol B (2) ao ensaio da atividade anti-inflamatória *in vivo*, apresentando resultados promissores.

REFERÊNCIAS

AHMAD, I.; AQIL, F.; OWAIS, M. **Modern Phytochemistry – Turning medicinal plants into drugs**. ed. Weinheim: Wiley-VCH, 2006.

BAITELLO, B., WANDERLEY, M.G.L., SHEPHERD, G.J., MELHEM, T.S., GIULIETTI, A.M., KIRIZAWA, M. Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo. Instituto de Botânica, São Paulo, vol. 3, pp: 149-224. 2003.

BATISTA, A. L.; YOSHIDA, N. C.; GARCEZ, F. R.; GARCEZ, W. S. Chemical constituents from *Nectandra cuspidata* Nees – Lauraceae. *Biochemical Systematics and Ecology*, Oxford, v. 61, n., p. 229-231, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bse.2015.06.007>.

BELL, E. A.; CHARLWOOD, B. V. Secondary plant products, in **Encyclopedia Plant Physiology**. New York, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, v. 8, 1980.

BIJAULIYA, R.K. A comprehensive review on standardization of herbal drugs. **Int. J. Pharm. Sci. Res.** 8, 3663–3677. 2017.

BORGES, L. P.; AMORIM, V. A.; Metabólitos secundários de plantas, **Revista Agrotecnologia**, Ipameri, v. 11, n. 1, p. 54-67, 2020.

BROTTO, M., E. SANTOS e J. BAITELLO. Lauraceae no Morro dos Perdidos (Floresta Atlântica), Paraná, Brasil. **Rodriguesia** 60: 445-459, 2009.

BRUNING, M. C. R.; MONSEGUI, G. B. G.; VIANNA, C. M. M. A utilização da fitoterapia e de plantas em unidades básicas de saúde nos municípios de Cascavel e Foz do Iguaçu – Paraná: a visão dos profissionais da saúde. **Ciência & saúde coletiva**, 2012.

CABRAL, M. M. O.; BARBOSA-FILHO, J. M.; MAIA, G. L. A.; CHAVES, M. C. O.; BRAGA, M. V.; SOUZA, W.; SOARES, R. O. A. Neolignans from plants in northeastern Brazil (Lauraceae) with activity against *Trypanosoma cruzi*. **Experimental Parasitology**, v. 124, n. 3, p. 319-324, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2009.11.007>.

CARDOSO-LOPES, E. M.; CARREIRA, R. C.; AGRIPINO, D. G.; TORRES, L. M. B.; CORDEIRO, I.; BOLZANI, V. D. S.; DIETRICH, S. M. D. C.; YOUNG, M. C. M. Screening for antifungal, DNA-damaging and anticholinesterasic activities of Brazilian plants from the Atlantic Rainforest – Ilha do Cardoso State Park. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, São Paulo, v. 18, n., p. 655-660, 2008.

CHANDERBALI, A. S. *Endlicheria* (Lauraceae). **Flora Neotropica** 91: 1-141, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1080/10635150500234708>.

CHEN, J. J.; CHOU, E. T.; PENG, C. F.; CHEN, I. S.; YANG, S. Z.; HUANG, H. Y. Novel epoxyfuranoid lignans and antitubercular constituents from the leaves of *Beilschmiedia tsangii*. **Planta Medicinal**. 73, 567-571. 2007. DOI: <https://doi.org/10.1055/s-2007-967195>.

CHOUNA, J. R.; NKENG-EFOUET, P. A.; LENTA, B. N.; WANSI, J. D.; KIMBU, S. F.; SEWALD, N. Endiandric acid derivatives from the stem bark of *Beilschmiedia anacardioides*. **Phytochemistry Letter**. 3, 13-16. 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2009.10.005>.

COAN, C. M.; MATIAS, T. A utilização das plantas medicinais pela comunidade indígena de Vanterra Alta – RS. REI: revista de educação do IDEAU, v. 8, Nº 18. 2013.

COLLINS, C. H., BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. Fundamentos de Cromatografia. Campinas: **Editora da UNICAMP**, 2006.

COSTA-SILVA, T. A. D.; GRECCO, S. S.; DE SOUZA, F. S.; LAGO, J. H. G.; MARTINS, E. G. A.; TERRAZAS, C. A.; VARIKUTI, S.; OWENS, K. L.; BEVERLEY, S. M.; SATOSKAR, A. R.; TEMPONE, A. G. Immunomodulatory and antileishmania activity of phenylpropanoid dimers isolated from *Nectandra leucantha*. **Journal of Natural Products**. v. 78, n. 4, p. 653-657, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1021/np500809a>.

DE OLIVEIRA, P. F., J. L. DAMASCENO, C. S. BERTANHA, A. R. B. ARAÚJO, P. M. PAULETTI e D. C. TAVARES. Study of the cytotoxic activity of *Styrax camporum* extract and its chemical markers, egonol and homoegonol. **Cytotechnology** 68(4): 1597-1602, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10616-015-9864-y>.

DIXON, R. A. Natural products and plant disease resistance. **Nature**. v. 411, p. 843-847, 2001. DOI: <https://doi.org/10.1038/35081178>.

ELTINK, M., TORRES, R. B e RAMOS, E. *Endlicheria paniculata* (Spreng.) J.F. Macbr. **Guia de Árvores da Mata Atlântica**. (2008).

FACCHINI, P. J.; LUCA, V. Opium poppy and Madagascar periwinkle: model non-model systems to investigate alkaloid biosynthesis in plants. **The Plant Journal**, v. 54, n. 4, p. 763-784, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2008.03438.x>.

FILHO, A. A. D. S.; COSTA, E. S.; CUNHA, W. R.; SILVA, M. L. A. E.; NANAYAKKARA, N. P. D.; BASTOS, J. K. *In vitro* antileishmanial and antimalarial activities of tetrahydrofuran lignans isolated from *Nectandra megapotamica* (Lauraceae). **Phytotherapy Research**, v. 22, n. 10, p. 1307-1310, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1002/ptr.2486>.

GARCEZ, F. R.; GARCEZ, W. S.; HAMERSKI, L.; MIGUITA, C. H. Fenilpropanóides e outros constituintes bioativos de *Nectandra megapotamica*. **Química Nova**, v. 32, p. 407-411, 2009. DOI: <http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20170834>.

GIEHL, E. L. H. Flora digital do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina. (2020).
GOTTLIEB, O. R. Chemosystematics of the Lauraceae. **Phytochemistry**, v. 11, n. 5, p. 1537-1570, 1972. DOI: [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(72\)85001-5](https://doi.org/10.1016/0031-9422(72)85001-5).

GRAMS, W. F. M. P. Plantas medicinais de uso popular em cinco distritos da Ilha de Santa Catarina – Florianópolis, SC [dissertação]. Curitiba: Universidade Federal do Paraná; 1999. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-33062010000200010>.

GRINGS, M. *Endlicheria paniculata*. 2017. Disponível em: http://www.ufrgs.br/fitoecologia/florars/open_sp.php?img=947.

ITO, N., HAKAMATA, H., KUSU, F. Simultaneous determination of β -sitosterol, campesterol, stigmasterol, and brassicasterol in serum by high performance liquid chromatography with electrochemical detection. **Analytical methods**, 2, p. 174-179. 2010. DOI: <https://doi.org/10.1039/B9AY00195F>.

KITAGAWA, I.; MINAGAWA, K.; ZHANH, R. S.; HORI, K.; DOI, M.; INOUE, M.; ISHIDA, T.; KIMURA, M.; UJI, T.; SHIBUYA, H. Dehatrine na antimalarial bisbenzylisoquinoline alkaloid from the Indonesian medicinal plant *Beilschmiedia madang*, isolated as a mixture of two rotational isomers. DOI: <https://doi.org/10.1248/cpb.41.997>.

JIN, K.-S., J. LEE, H. KWON e B. KIM. Anti-oxidative, anti-inflammatory, and anti-melanogenic activities of *Endlicheria Anomala* extract. **Korean J. Microbiol.** 41: 433-441, 2013. DOI: <https://doi.org/10.4014/kjmb.1309.09005>.

LEITE, J. P. V. **Fitoterapia: bases científicas e tecnológicas**. 1ª ed. São Paulo: Atheneu, p. 344, 2008.

LÍBERO, I. C., M. M. D. OLIVEIRA e M. D. C. T. TRUITI. Investigação preliminar da capacidade antioxidante de *Endlicheria paniculata* (Spreng) J.F. Macbr. XXV EAIC e V EAICJr: 1-4, 2016.

LOPES, E. M. C., R. C. CARREIRA, D. G. AGRIPINO, L. M. B. TORRES, I. CORDEIRO, V. D. S. BOLZANI, S. M. D. C. DIETRICH e outros. Screening for antifungal, DNA-damaging and anticholinesterasic activities of Brazilian plants from the Atlantic Rainforest: Ilha do Cardoso State Park. **Rev. bras. farmacogn.** 18: 655-660, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2008000500002>.

MA, W. W., J. F. KOZLOWSKI e J. L. MCLAUGHLIN. Bioactive neolignans from *Endlicheria dysodantha*. **Journal of Natural Products**. 54(4): 1153-1158, 1991. DOI: <https://doi.org/10.1021/np50076a045>.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; VEIGAR JR., V. F.; GRYNBERG, N. F.; ECHEVARRIA, A. Medicinal plants: the need for multidisciplinary scientific studies. **Química Nova**, v. 25, n. 3, p. 429-438, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422002000300016>.

MASONDO, N. A.; MAKUNGA, N. P. Advancement of analytical techniques in some South African commercialized medicinal plants: current and future perspectives. **South Afr. J. Bot.** XX, YYY–ZZZ. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.06.037Get>.

MAZINA, J. Fluorescence, electrophoretic and chromatographic fingerprints of herbal medicines and their comparative chemometric analysis. **Talanta** 139, 233–246. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.02.050>.

MOLZ, M. *Endlicheria paniculata*. 2009. Disponível em: http://www.ufrgs.br/fitoecologia/florars/open_sp.php?img=947.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural Products as Sources of New Drugs from 1981 to 2019. **Journal of Natural Products**, v. 83, n. 3, p. 770-803, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.9b01285>.

PEREIRA, R. J.; CARDOSO, M. G. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**. Vol. 3, N. 4, 2012.

PERES, Lázaro E. P. In: Metabolismo secundário. São Paulo: **Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**, 2004.

PINTO, C. A.; SILVA, D. H. S.; BOLZANI, V. S.; LOPES, N. P.; EPIFANIO, R. A. Produtos Naturais: Atualidade, desafios e perspectivas. **Química Nova**, v. 25, supl. 1, 45- 61, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422002000800009>.

QI, Z. e E. KELLEY. The WHO traditional medicine strategy 2014-2023: A perspective. **Science** 346: S5-S6, 2014. DOI.

RODRÍGUEZ, M.; HASEGAWA, M.; GONZÁLEZ-MÚJICA, F.; MOTTA, N.; CASTILLO, A.; CASTILLO, J.; ZEA, E.; MORA, K.; SOUSA, L.; GONZÁLEZ, A.; CAMEJO, D. Antidiabetic and antiradical activities of plants from Venezuelan Amazon Atividades antidiabética e anti-radicalar de plantas da Amazônia venezuelana. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v. 18, n. 3, p. 331-338, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2008000300004>.

RUDKOWSKA, I. Plant sterols and stanols for healthy ageing. **Maturitas**, Amsterdam, v. 66, n. 2, p. 158-162. 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2009.12.015>.

SAEIDNIA, S.; MANAYI, A.; GOHARI, A. R.; ABDOLLAHI, M. The story of Beta-sistoterol – A Review. **European Journal of Medicinal Plants**. Vol. 4. p. 590-609. 2014. DOI: <https://doi.org/10.9734/EJMP/2014/7764>.

SANTOS, A. S. *Endlicheria paniculata*. 2010. Disponível em: http://www.ufrgs.br/fitoecologia/florars/open_sp.php?img=947.

SALLEH, W.M.N.H.W., AHMAD, F., KHONG, H.Y. Chemical compositions and biological activities of the essential oils of *Beilschmiedia madang* Blume (Lauraceae). **Archives of Pharmacal Research**. 38, 485–493. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1177/1934578X1501000740>.

SALLEH, W. M. N. H.W.; AHMAD, F.; KHONG, H.Y.; ZULKIFLI, R. M.; SARKER, A. D. Madangones A and B: two new neolignans from the stem bark of *Beilschmiedia madang* and their biocativities. **Phytochemistry Letters**, 168-173. 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2016.01.004>.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: Da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto

Alegre/Florianópolis: Universidade/ Universidade Federal do Rio Grande do Sul/ Da Universidade Federal de Santa Catarina, 2010, 1102 p.

SOUSA, R. M. F. **Estudo Químico de *Eugenia calcyna* Cambess e Avaliação das Atividades antimicrobiana, antioxidante e inibidora de alfa-amilase**. 20 de fevereiro de 2015. 223 folhas. Tese - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2015.

SOUZA, R. A. C., FERREIRA, B. A., MOURA, F. B. R., SILVA, T. C., CAVALCANTI, F., FRANCA, E. F., SOUSA, R. M. F., FEBRONIO, J. L., LAGO, J. H. G., ARAÚJO, F. A., OLIVEIRA, A. Dehydrodieugenol B and hexane extract from *Endlicheria paniculata* regulate inflammation, angiogenesis, and collagen deposition induced by a murine sponge model. *Fitoterapia*. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2020.104767>.

SUAREZ, M.; BONILLA, J.; DE DIAZ, A. M. P.; ACHENBACH, H. Dehydrodieugenols from *Nectandra polita*. **Phytochemistry**, London v. 22, n. 2, p. 609-610, 1983/01/01 1983. DOI: [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(83\)83066-0](https://doi.org/10.1016/0031-9422(83)83066-0).

SULAIMAN, S. N., A. ZAHARI, S. Y. LIEW, M. LITAUDON, A. M. ISSAM, H. A. WAHAB e K. AWANG. Pahangine A and B, two new oxetane containing neolignans from the barks of *Beilschmiedia glabra* Kosterm (Lauraceae). **Phytochem Lett** 25: 22-26, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2018.03.008>.

SHUKLA, S.; BAJPAI, V. K.; KIM, M. Plants as potential sources of natural immunomodulators. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, v. 13, n. 1, p. 17-33, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11157-012-9303-x>.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Fisiologia vegetal*. 4.ed. Porto Alegre: **Artmed**. 2009.

TEPONNO, R. B., S. KUSARI e M. SPITELLER. Recent advances in research on lignans and neolignans. **Nat Prod Rep** 33(9): 1044-1092, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1039/c6np00021e>.

TCHOUALA, J. M. Inventaire ethnobotanique des plantes medicinales du Noun (Ouest-ameroun) utilisées pour soigner les infections fongiques et bactériennes. **Mémoire de Maîtrise de Biologie Végétale**. Université de Dschang, p. 33. 2001.

VEIGA JR, V. F.; MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C. Medicinal plants: safe cure?. **Química Nova**, v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422005000300026>.

VERDI, M. *Endlicheria paniculata*. 2010. Disponível em: http://www.ufrgs.br/fitoecologia/florars/open_sp.php?img=947.

WATSON, J. D. *Molecular biology of the gene*. New York: **W. A. Benjamin**, 1965.

WAKSMUNDZKA-HAJNOS, M.; SHERMA, J.; KOWALSKA, T. Thin layer chromatography in phitochemistry. **Chromatographic Science Series**. v. 99; 2008.

YAMAGUCHI, K. K. L.; VEIGA-JUNIOR, V. F.; PEDROSA, T. D. N.; VASCONCELLOS, M. C. D.; LIMA, E. S. Atividades biológicas dos óleos essenciais de *Endlicheria citriodora*, uma lauraceae rica em geranato de metila. **Química Nova**, São Paulo, v. 36, n., p. 826-830, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422013000600015>.

YANKAH, V. V. Lipids phytosterols and human health. Handbook of functional lipids. New York: CRC, cap. 18, p. 403-418. 2006.

YUNES, R. A.; CECHINEL FILHO, R. Breve análise histórica da química de plantas medicinais: sua importância na atual concepção de fármaco segundo os paradigmas ocidental e oriental. In: UNIVERSITÁRIA, E. **Plantas Medicinais sob a Ótica da Química Medicinal Moderna**, Chapecó: p. 17-44. 2001.

ZÁLEŠÁK, F., BON, D. J. D., POSPISIL, JIRI. Lignans and Neolignans: Plant secondary metabolites as a reservoir of biologically active substances. **Pharmacological Research**. 146. 2019. 104284. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2019.104284>.

ZHANG, X.; Bulletin of the World Health Organization. Regulatory situation of herbal medicines. **A worldwide review**, Geneva, 1998.