



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

JENNIFER BLANDÓN PARDO

**RE-ESTUDO QUÍMICO E ATIVIDADE BIOLÓGICA DOS
EXTRATOS POLARES E APOLARES DOS FRUTOS DE *Schinus
terebinthifolius* (Anacardiaceae)**

Salvador-BA
2023

JENNIFER BLANDÓN PARDO

**RE-ESTUDO QUÍMICO E ATIVIDADE BIOLÓGICA DOS
EXTRATOS POLARES E APOLARES DOS FRUTOS DE *Schinus
terebinthifolius* (Anacardiaceae)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química, Área de concentração Química Orgânica, Instituto de Química, Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Química - Área: Química Orgânica.

Orientador: Prof. Dr^o Jorge Mauricio David

Salvador-BA
2023

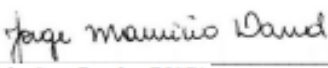


TERMO DE APROVAÇÃO

JENNIFER BLANDÓN PARDO

“RE-ESTUDO QUÍMICO E ATIVIDADE BIOLÓGICA DOS EXTRATOS POLARES E APOLARES DOS FRUTOS DE *Schinus terebinthifolius* (Anacardiaceae)”

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Química, Universidade Federal da Bahia, pela seguinte banca examinadora:

Prof. Dr. Jorge Maurício David 
Doutorado em Química, Universidade de São Paulo (USP)
Universidade Federal da Bahia

Profa. Dra. Eliane de Oliveira Silva 
Doutorado em Ciências, Universidade de São Paulo (USP)
Universidade Federal da Bahia

Prof. Dr. Clayton Queiroz Alves 
Doutorado em Química, Universidade Federal da Bahia (UFBA)
Universidade Estadual e Feira de Santana

Salvador, 14 de fevereiro de 2023.

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Universitária de Ciências e
Tecnologias Prof. Omar Catunda, SIBI - UFBA.

B642 Blandón Pardo, Jennifer

Re-estudo químico e atividade biológica dos extratos polares e apolares dos frutos de *Schinus terebinthifolius* (Anacardiaceae) / Jennifer Blandón Pardo. – Salvador, 2023.

90 f.

Orientador: Prof. Dr. Jorge Mauricio David

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal da Bahia. Instituto de Química, 2023.

1. Anacardiaceae. 2. Enzimas. 3. Ácidos. I. David, Jorge Mauricio. II. Universidade Federal da Bahia. III. Título.

CDU 547.9

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Universidade Federal da Bahia, especificamente ao Programa de Pós-graduação em Química, pelos espaços fornecidos que permitiram o desenvolvimento da pesquisa.

Ao meu Orientador Dr. Jorge Mauricio David, pela oportunidade de me aceitar no seu grupo de pesquisa, toda a confiança, paciência, contribuições, conhecimento e dedicação para a conclusão deste trabalho.

À minha família e meus amigos que desde a distância sempre me apoiaram.

Aos meus colegas do laboratório pelo apoio, paciência, longas jornadas em que compartilhamos conhecimentos, senso crítico e grandes ideias.

A todos os que participaram direta e/ou indiretamente na realização deste trabalho.

À agência de fomento CNPq, pela bolsa de estudos concedida via Programa de Pós-graduação em Química.

RESUMO

A família Anacardiaceae apresenta uma ampla distribuição geográfica em todo o mundo, o gênero *Schinus* L se destaca pela quantidade de espécies a ele associadas e emprego na medicina tradicional. Dentre as espécies, *S. terebinthifolius* é conhecida amplamente no Brasil e América Latina pelo seu uso na culinária, ornamentação e medicina tradicional. Com a finalidade de re-estudar a composição química dos frutos de *S. terebinthifolius*, avaliar a bioatividade contra agentes patogênicos (*E. coli*, *S. aureus* e *P. aeruginosa*) e a inibição das enzimas acetil (AChE) e butilcolinesterase (BChE) dos extratos, fases orgânicas e substâncias puras, os extratos hexânico e metanólico foram preparados pelo método de maceração, em seguida o extrato metanólico foi submetido à partição com clorofórmio e, sequencialmente com acetato de etila. Os extratos e fases resultantes das partições foram purificadas empregando-se cromatografia em sílica gel e permeação em gel de Sephadex. Após da separação e purificação dos constituintes, foram registrados espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C uni e bi-dimensionais (HSQC, HMBC) para a identificação dos constituintes, assim como, cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa de alta resolução (LC-HRMS). A análise dos dados permitiu a identificação dos derivados tirucalanos: ácido (Z)-masticadienólico (ST1) e ácido masticadienólico (ST2), já amplamente reportados para a espécie; um biflavonoide: tetra-hidroamentoflavona (ST3) reportado irregularmente, e um derivado do ácido gálico: ácido 4-O-metilgálico (ST4), identificado pela primeira vez. Além disso, foi preparado o derivado semissintético ST1B a partir da reação de oxidação alílica do triterpenoide ST1. Nos testes contra agentes patogênicos, entre extratos e fases orgânicas encontrou-se a melhor inibição de crescimento para a fase de clorofórmio contra os três micro-organismos avaliados com CIM entre 50-75 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ e das substâncias puras resultou como a mais promissória o biflavonoide ST3 com CIM entre 25-50 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ contra os três micro-organismos. Em relação à atividade inibidora das enzimas AChE e BChE, tanto para extratos como para fases orgânicas e substâncias puras, foi identificado um percentual de inibição moderado. Portanto, ressaltou-se o potencial bioativo da espécie em estudo, principalmente da fase de clorofórmio para a busca de substâncias de interesse farmacológico e o isolamento e identificação da tetra-hidroamentoflavona.

Palavras-chave: *Schinus terebinthifolius*, ácido (Z)-masticadienólico, ácido masticadienólico, tetra-hidroamentoflavona, atividade antimicrobiana, atividade inibidora acetil e butilcolinesterase.

ABSTRACT

The Anacardiaceae presents a worldwide distribution, and the genus *Schinus* L distinctive due the number of species associated and various of its species are employed in folk medicine. Among the species, *S. terebinthifolius* is widely known in Brazil and Latin America for its use in cooking, ornamentation and traditional medicine. In order to re-study the chemical composition of *S. terebinthifolius* fruits, evaluate the bioactivity against pathogens (*E. coli*, *S. aureus* and *P. aeruginosa*) and the inhibition of acetyl (AChE) and butylcholinesterase (BuChE) by the extracts, organic phases and pure substances. Thus, the hexane and methanolic extracts were prepared by maceration method, the MeOH extract was subjected to partition with CHCl_3 and sequentially with EtOAc. The extracts and soluble fractions resulting from the partitions were purified using silica gel chromatography and Sephadex gel permeation. After separation and purification of the constituents, one-dimensional ^1H and ^{13}C and two-dimensional NMR spectra (HSQC, HMBC) as well as liquid chromatography coupled to high resolution mass spectrometry (LC-HRMS) were recorded to identify the constituents. The analysis of the data allowed the identification of the tirucalane derivatives: (*Z*)-masticadienoic acid (**ST1**) and masticadienolic acid (**ST2**), both already reported for the species. Tetrahydroamentoflavone (**ST3**) were also isolated from the MeOH extract, in addition to 4-*O*-methylgallic acid (**ST4**), identified for the first time in the species. The new semisynthetic derivative **ST1B** was prepared by the allylic oxidation reaction from **ST1**. In the tests against pathogens, between extracts and organic phases the best growth inhibition was found for the chloroform soluble fraction against the three microorganisms evaluated, presenting MIC ranging from 50-75 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ and of the pure compounds **ST3** resulted as the most promising isolated (MIC 25-50 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) against the three microorganisms. Regarding the inhibitory activity of AChE and BuChE, both for extracts and for organic phases and pure compounds, showed a moderate inhibition percentage. Therefore, the bioactive potential of the species under study was highlighted, especially the chloroform phase for the search of substances of pharmacological interest and the isolation and identification of tetrahydroamentoflavone.

Keywords: *Schinus terebinthifolius*, (*Z*)-masticadienoic acid, masticadienolic acid, tetrahydroamentoflavone, antimicrobial activity, acetyl and butylcholinesterase inhibitory activity.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Substâncias isoladas e identificadas de espécies vegetais da família Anacardiaceae.....	8
Tabela 2 - Substâncias isoladas e identificadas de espécies vegetais do gênero <i>Schinus</i>	16
Tabela 3 - Classificação taxonômica da espécie <i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi.....	19
Tabela 4 -Substâncias isoladas e identificadas da espécie <i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi.....	23
Tabela 5 - Massas e códigos dos extratos e fases orgânicas obtidas dos frutos de <i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi.....	33
Tabela 6 - Frações obtidas da CC de E.HEXST dos frutos de <i>Schinus terebinthifolius</i>	35
Tabela 7 - Subfrações obtidas da CC de F1HEXST.....	36
Tabela 8 - Subfrações obtidas da CC de F5HEXST.....	37
Tabela 9 - Frações obtidas da CC de E.CHCl ₃ ST dos frutos de <i>Schinus terebinthifolius</i>	38
Tabela 10 - Subfrações obtidas da CC de F4CST dos frutos de <i>Schinus terebinthifolius</i>	38
Tabela 11 – Subfrações obtidas da CC de F7CST dos frutos de <i>Schinus terebinthifolius</i>	40
Tabela 12 - Frações obtidas da CC de E.AcOEtST dos frutos de <i>Schinus terebinthifolius</i>	41
Tabela 13 - Subfrações obtidas da CC de F5AST dos frutos de <i>Schinus terebinthifolius</i>	42
Tabela 14 - Subfrações obtidas da CC de F6AST dos frutos de <i>Schinus terebinthifolius</i>	42
Tabela 15 - Substâncias identificadas (% área relativa) no extrato hexânico dos frutos de <i>Schinus terebinthifolius</i>	46
Tabela 16 - Substâncias identificadas (% área relativa) de F1HEXST.....	47
Tabela 17 - Teor de fenóis e flavonoides totais de E.MeOHST, E.CHCl ₃ ST e E.AcOEtST, em equivalentes µg de ácido gálico (µgEAG/mg) e quercetina (µgQE/mg) sobre mg de extrato.....	49
Tabela 18 – Dados de RMN de ¹ H e ¹³ C da substância ST1 e do ácido (Z)-masticadienóico.....	51
Tabela 19 - Dados de RMN de ¹ H e ¹³ C da substância ST2 e do ácido masticadienóico.....	56
Tabela 20 - Dados de RMN de ¹ H e ¹³ C da substância semissintética ST1B	61
Tabela 21 - Dados de RMN de ¹ H e ¹³ C da substância ST3 e tetra-hidroamentoflavona.....	65

Tabela 22 - Dados de RMN de ^1H e ^{13}C da substância ST4 e o ácido 4- <i>O</i> -metilgálico.	69
Tabela 23 – Resultado do teste de antimicrobianos em CIM ($\mu\text{g.mL}^{-1}$) frente a <i>E. Coli</i> , <i>S. aureus</i> e <i>P. aeruginosa</i> para extratos, fases orgânicas e substâncias puras. Controle positivo: cloranfenicol ($40 \mu\text{g.mL}^{-1}$); controle negativo: metanol e água.	73
Tabela 24 - Percentual de inibição da AChE (%I) e BChE (%I) obtido para os extratos, as fases orgânicas, substâncias puras e eserina (padrão) no tempo 30 min e 60 min.	75

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - <i>Mangifera indica</i> (manga) A. Folhas. B. Inflorescências. C. Flores. D. Fruto	5
Figura 2 - Distribuição geográfica da família Anacardiaceae	6
Figura 3 - <i>Schinus molle</i> . A. Árvore. B. Folhas C. Flores. D. Fruto.....	13
Figura 4 - Distribuição geográfica do gênero <i>Schinus</i>	14
Figura 5 - <i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi. A. Frutos; B. Folhas; C. Flores; D. Tronco com casca.....	19
Figura 6 - Distribuição geográfica da espécie <i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi.....	20
Figura 7 - Distribuição geográfica da espécie <i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi no Brasil.....	21
Figura 8 - Reações do teste de Ellman.	29
Figura 9 - Procedimento experimental empregado na extração e partição dos frutos de <i>Schinus terbinthifolius</i>	32
Figura 10 - Esquema geral da semissíntese do derivado ST1B	36
Figura 11 - Reação de sililação.....	45
Figura 12 - Cromatograma de íons totais do extrato hexânico dos frutos de <i>Schinus terebinthifolius</i>	46
Figura 13 - Cromatograma de íons totais de F1HEXST.	47
Figura 14 – Curva padrão para quantificação de teor de fenóis e flavonoides totais: A. Ácido gálico; B. Quercetina.	49
Figura 15 - Estrutura para a substância ST1	50
Figura 16 – Espectro de RMN de ¹ H da substância ST1 (500 MHz, CDCl ₃ , δ/ppm).	52
Figura 17 - Espectro de RMN de ¹³ C da substância ST1 (125 MHz, CDCl ₃ , δ/ppm).....	53
Figura 18 - Espectro bidimensional de HSQC da substância ST1 (125 e 500 MHz, CDCl ₃ , δ/ppm).	53
Figura 19 - Espectro bidimensional de HMBC da substância ST1 (125 e 500 MHz, CDCl ₃ , δ/ppm).	54
Figura 20 – Espectro de HPLC-ESI-HRMS em modo negativo de ST1	55
Figura 21 - Estrutura para a substância ST2	55
Figura 22 - Espectro de RMN de ¹ H da substância ST2 (500 MHz, CDCl ₃ , δ/ppm).....	58
Figura 23 - Espectro de RMN de ¹³ C da substância ST2 (125 MHz, CDCl ₃ , δ/ppm).....	58
Figura 24 - Espectro bidimensional de HSQC da substância ST2 (125 e 500 MHz, CDCl ₃ , δ/ppm).	59
Figura 25 - Espectro bidimensional de HMBC da substância ST2 (125 e 500 MHz, CDCl ₃ , δ/ppm).	59
Figura 26 - Espectro de HPLC-ESI-HRMS em modo positivo de ST2	60
Figura 27 – Estrutura para o derivado ST1B	60
Figura 28 - Espectro de RMN de ¹ H da substância ST1B (500 MHz, CDCl ₃ , δ/ppm).	63

Figura 29 - Espectro de RMN de ^{13}C da substância ST1B (125 MHz, CDCl_3 , δ/ppm).	63
.....	
Figura 30 - - Estrutura para a substância ST3 .	64
Figura 31 - Espectro de RMN de ^1H da substância ST3 (500 MHz, CD_3OD , δ/ppm).	66
.....	
Figura 32 - Espectro de RMN de ^{13}C da substância ST3 (125 MHz, CD_3OD , δ/ppm).	67
.....	
Figura 33 - Espectro bidimensional de HSQC da substância ST3 (125 e 500 MHz, CD_3OD , δ/ppm).	67
Figura 34 - Espectro bidimensional de HMBC da substância ST3 (125 e 300 MHz, CD_3OD , δ/ppm).	68
Figura 35 - Espectro de HPLC-ESI-HRMS em modo negativo de ST3 .	68
Figura 36 - Estrutura para a substância ST4 .	69
Figura 37 - Espectro de RMN de ^1H da substância ST4 (500 MHz, CD_3OD , δ/ppm).	70
.....	
Figura 38 - Espectro de RMN de ^{13}C da substância ST4 (125 MHz, CDCl_3 , δ/ppm).	71
Figura 39 - Espectro de HPLC-ESI-HRMS em modo negativo de ST4 .	71
Figura 40 - Modelo de placa do bioensaio contra <i>S. aureus</i> dos extratos e fases orgânicas: E.HEXST; E.MeOHST; E.CHCl ₃ ST e E.AcOETST em concentrações entre 25 – 1000 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$; rosa: presença do micro-organismo; azul: ausência do micro-organismo.	72
Figura 41 - Comparação dos valores de %I inibição da AChE e da BChE dos extratos, fases orgânicas, substâncias puras e do padrão em 30 e 60 min.	76

LISTA DE ABREVIATURAS

- δ – Deslocamento químico em partes por milhão (ppm)
- ACh** – Acetilcolina
- AChE** – Acetilcolinesterase
- AcOEt** – Acetato de etila
- BChE** – Butilcolinesterase
- BSTFA** – N,O-bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida
- CC** – Cromatografia em coluna
- CCC** – Cromatografia em Contracorrente
- CCD** – Cromatografia em camada delgada
- CCDP** – Cromatografia em camada delgada preparativa
- ChEs** – Colinesterases
- CI₅₀** – Concentração inibitória a 50%
- CIM** – Concentração inibitória mínima
- CG-EM** – Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas
- CGL** – Cromatografia Gás-Líquido
- CMH** – Caldo Muller Hinton
- DA** – Doença de Alzheimer
- DCM** – Diclorometano
- DMSO** – Dimetilsulfóxido
- DTNB** – Ácido 5-5'- ditiobis-[2-nitrobenzóico]
- ESI** – Ionização por electrospray
- HMBC** – Correlação de ligações múltiplas heteronucleares de ¹H e ¹³C
- HSQC** – Coherencia quântica única heteronuclear de ¹H e ¹³C
- LC-HRMS** – Cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa de alta resolução
- MeOH** – Metanol
- m/z** – Relação massa carga
- OE** – Óleo essencial
- RMN** – Ressonância Magnética Nuclear

TMCS – Trimetilclorosilano

TMS – Tetrametilsilano

UFC – Unidades Formadoras de Colônia

SUMÁRIO

RESUMO	vi
ABSTRACT	vii
LISTA DE TABELAS	viii
LISTA DE FIGURAS	x
LISTA DE ABREVIATURAS	xii
1. Introdução	1
2. Objetivos	3
2.1. Objetivo Geral.....	3
2.2. Objetivos Específicos	3
3. Fundamentação Teórica	4
1.1. Família Anacardiaceae.....	4
1.1.1. Descrição morfológica da família Anacardiaceae	4
1.1.2. Distribuição geográfica.....	5
1.1.3. Usos tradicionais de espécies da família	6
1.1.4. Composição química e atividade biológica	6
1.2. Gênero <i>Schinus</i>	12
1.2.1. Descrição morfológica do gênero <i>Schinus</i>	12
1.2.2. Distribuição geográfica.....	13
1.2.3. Uso tradicional.....	14
1.2.4. Composição química e atividade biológica	15
1.3. <i>Schinus terebinthifolius</i>	18
1.3.1. Descrição morfológica da espécie <i>Schinus terebinthifolius</i>	18
1.3.2. Distribuição geográfica.....	20
1.3.3. Uso tradicional.....	21
1.3.4. Composição química e atividade biológica	22
1.4. Micro-organismos patogênicos.....	27
1.5. Atividade inibidora da acetilcolinesterase	28
2. PARTE EXPERIMENTAL	30

2.1.	Materiais, equipamentos e reagente	30
2.2.	Coleta e adaptação de material vegetal	31
2.3.	Preparo dos extratos e das fases orgânicas	32
2.4.	Quantificação de fenóis e flavonoides totais	33
2.4.1.	Quantificação de fenóis totais.....	33
2.4.2.	Quantificação de flavonoides totais.....	33
2.5.	Identificação das substâncias presentes em frações de <i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi por CG-EM	34
2.6.	Separação e purificação dos constituintes químicos dos frutos de <i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi	34
2.6.1.	Fracionamento do extrato hexânico.....	34
2.6.2.	Fracionamento da fase clorofórmica.....	37
2.6.3.	Fracionamento da fase de acetato de etila	41
2.7.	Testes de Atividade Biológica	43
2.7.1.	Atividade antimicrobiana.....	43
2.7.2.	Atividade inibidora da acetilcolinesterase	44
3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
3.1.	Análise das fases orgânicas por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM)	45
3.2.	Quantificação de fenóis e flavonoides totais	48
3.3.	Substâncias isoladas de <i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi	50
3.3.1.	Identificação de ST1, ST2 e ST1B.....	50
3.3.2.	Identificação de ST3.....	64
3.4.	Testes de atividade biológica.....	72
3.4.1.	Atividade antimicrobiana.....	72
3.4.2.	Avaliação da atividade inibidora da acetil e butilcolinesterase.....	74
	CONCLUSÕES	77
	REFERÊNCIAS	79

1. Introdução

A necessidade de encontrar novas substâncias com atividade biológica surge na relação entre o ser humano e os micro-organismos, que convivem há muito tempo; existem aqueles que são benéficos ou totalmente inofensivos para o nosso corpo. No entanto, ao longo do tempo foram descobertos patógenos que podem colocar em risco o bom funcionamento do nosso corpo ou, sem dúvida, a nossa existência. Os micro-organismos existem há milhões de anos, conseguiram evoluir, adaptar-se a condições que podem representar a sua aniquilação e desenvolveram resistência a vários medicamentos. A pesquisa de substâncias para o tratamento de doenças infecciosas costuma ser direcionada para as doenças emergentes, ou seja, aquelas cuja incidência aumentou nos últimos 20 anos (CHAPMAN; DELAHANTY, 2018). No entanto, muitas dessas doenças permanecem na classificação emergente devido à evolução ou adaptação que os micro-organismos desenvolveram conforme já mencionado; portanto, a busca por substâncias bioativas para combater patógenos ou outras doenças é um desafio que não para de crescer, levando em conta os mecanismos de resistência que eles demonstram às drogas e que atualmente está crescendo, comprometendo a capacidade global de tratamento dessas doenças (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2018). O uso de produtos naturais em países como o Brasil foi descoberto principalmente pela etnobotânica e farmacopéia dos povos indígenas; atualmente, o uso destes evoluiu para ser uma das principais fontes no desenvolvimento de medicamentos e, conseqüentemente, na preservação da saúde do ser humano. Por isso, a realização desta pesquisa representa uma contribuição para o avanço do conhecimento das propriedades e da composição química da flora nativa do Brasil. O estudo da família Anacardiaceae tem chamado a atenção do Grupo de Pesquisa de Produtos Naturais (GPPN) da Universidade Federal da Bahia (UFBA), por ser nativa do Brasil e ter relatos que mencionam a presença de metabólitos secundários potencialmente ativos; especificamente, a espécie vegetal *Schinus terebinthifolius* é de grande interesse devido à presença de biflavonoides, entre os mais relatados estão: agatisflavona, amentoflavona, di-hidroamentoflavona e tetra-hidroamentoflavona; no entanto, as investigações de atividades biológicas potenciais para

este tipo de compostos permanecem irregulares (LINDEN et al., 2020). Por conseguinte, é importante desenvolver investigações que levem ao isolamento bioguiado de compostos potencialmente ativos de espécies nativas da região e que através da medicina tradicional tenham identificado propriedades para diversas enfermidades, gerando assim uma contribuição para a composição química da flora brasileira e a possibilidade de encontrar substâncias úteis para mitigar doenças emergentes.

2. Objetivos

2.1. Objetivo Geral

Re-estudar a composição química dos extratos orgânicos dos frutos de *Schinus terebinthifolius* através do isolamento de seus constituintes por métodos cromatográficos, identificação dos constituintes por técnicas espectrométricas e determinação da atividade biológica dos extratos e compostos isolados.

2.2. Objetivos Específicos

- Preparar extratos orgânicos com os frutos de *S. terebinthifolius* coletados em Salvador-BA.
- Submeter os extratos à purificação de seus constituintes através de métodos cromatográficos usuais e modernos.
- Identificar os constituintes mediante cromatografia gasosa acoplada a massas, ensaios uni e bidimensionais de ressonância magnética nuclear.
- Analisar por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas as frações enriquecidas de fenólicos.
- Avaliar a atividade antimicrobiana e inibição da acetil e butilcolinesterase dos extratos, fases orgânicas e compostos isolados.

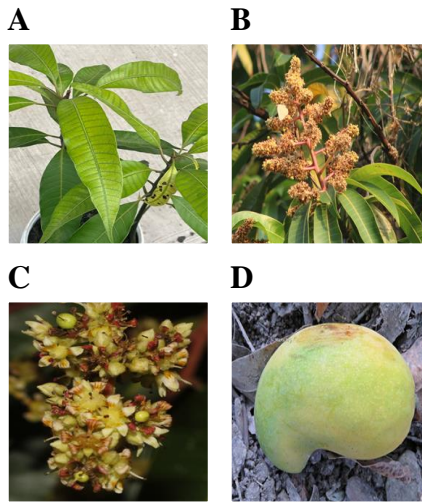
3. Fundamentação Teórica

1.1. Família Anacardiaceae

1.1.1. Descrição morfológica da família Anacardiaceae

A família Anacardiaceae compreende cerca de 73 gêneros e 850 espécies, ocorrendo principalmente em ambientes secos a úmidos das regiões tropicais e subtropicais; no Brasil possui aproximadamente 14 gêneros e 57 espécies (LUZ, 2011; SEQUEDA-CASTAÑEDA; CELIS-ZAMBRANO; TORRENEGRA-GUERRERO, 2021). Está constituída principalmente por árvores, arbustos e alguns subarbustos, as folhas são decíduas ou perenes, estipuladas e geralmente alternadas, em habitats secos podem apresentar caules suculentos e alguns gêneros adaptados ao frio têm espinhos; os frutos ocorrem como drupas ou sâmaras, carnosos ou secos ocasionalmente subtendidos por um hipocarpo carnosos ou um cálice ou corola crescente. Suas flores estão dispostas em inflorescências tirsoides, racemosas, paniculadas ou em espigas e a estrutura das inflorescências é diversa, frequentemente são pseudoterminais (HALL; GIL, 2017; PELL, S K et al., 2011). Os gêneros mais destacados pelo número de investigações, potencial químico e bioativo são: *Mangifera*, *Rhus*, *Anacardium*, *Spondias*, *Lannea*, *Semecarpus*, *Schinus*, *Pistacia*, *Lithraea*, *Tapirira*, *Melanorrhoea* (CORREIA; DAVID; DAVID, 2006). Na **Figura 1** são mostradas algumas partes da morfologia descrita da espécie conhecida comumente como manga da família Anacardiaceae.

Figura 1 - *Mangifera indica* (manga) **A.** Folhas. **B.** Inflorescências. **C.** Flores. **D.** Fruto

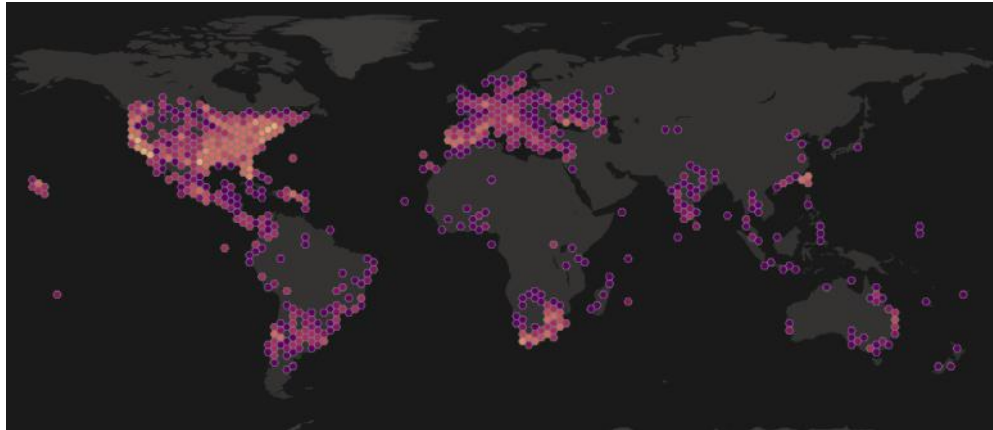


Fonte: (ALMA et al., 2022).

1.1.2. Distribuição geográfica

A família Anacardiaceae apresenta uma ampla distribuição geográfica (**Figura 2**), principalmente em zonas tropicais e subtropicais, algumas delas em zonas temperadas. Espécies desta família são conhecidas por serem cultivadas em todo o mundo devido à sua importância na produção de frutas comestíveis, gomas, resinas, compostos medicinais e madeira; alguns dos produtos distribuídos mundialmente são manga (*Mangifera indica* L.), pistache (*Pistacia vera* L.), castanha de caju (*Anacardium occidentale* L.) e pimenta rosa (*Schinus terebinthifolius* L.) (PELL, Susan Katherine, 2004; SCHULZE-KAYSERS; FEUEREISEN; SCHIEBER, 2015; SEQUEDA-CASTAÑEDA; CELIS-ZAMBRANO; TORRENEGRA-GUERRERO, 2021).

Figura 2- Distribuição geográfica da família Anacardiaceae



Fonte: (GLOBAL BIODIVERSITY INFORMATION FACILITY, 2021).

1.1.3. Usos tradicionais de espécies da família

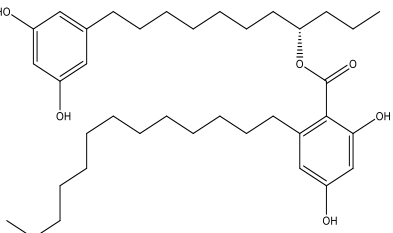
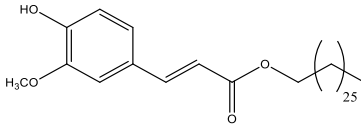
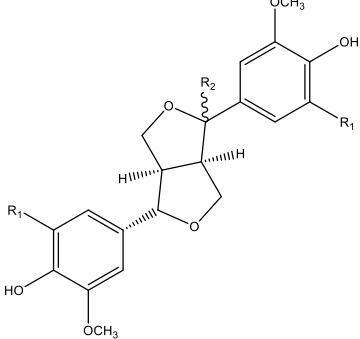
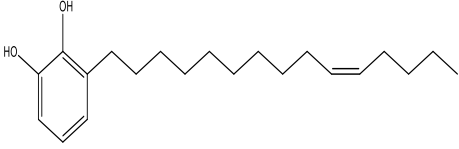
Entre os usos tradicionais da família Anacardiaceae, várias espécies de *Ozoroa* e *Searsia* foram relatadas na África do Sul para o tratamento de doenças intestinais (AHMED, Aroke S. et al., 2014; MASHIMBYE; OSKOLSKII; MOTEETEE, 2018), e um grupo diversificado de espécies vegetais foi relatado em diferentes estudos por seu uso popular na África do Sul contra epilepsia, convulsões e distúrbios psiquiátricos, espécies como: *Searsia pentheri*, *Rhus chirindensis*, *Rhus rehmanniana*, *Rhus tridentata*, *Spondias mombin* e *Sclerocarya birrea* (AHMED, Aroke S. et al., 2014; AYOKA et al., 2006; OJEWOLE, 2007; RISA et al., 2004; SVENNINGSEN et al., 2006). Além de seu uso como tratamento para transtornos psiquiátricos, *Spondias mombin* L, com presença no sul do México, Peru, Brasil e muitos países africanos tropicais como a Guiné Equatorial, tem sido importante na medicina tradicional como diurético, febrífugo, emético, antidiarréico e disentérico (AYOKA et al., 2006).

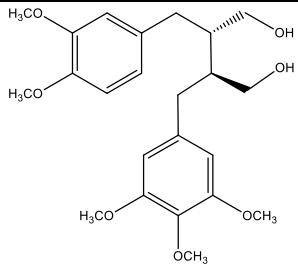
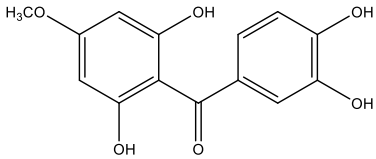
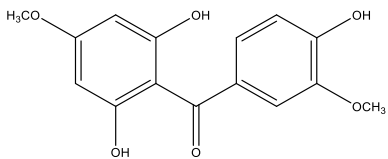
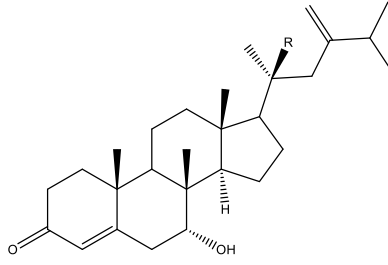
1.1.4. Composição química e atividade biológica

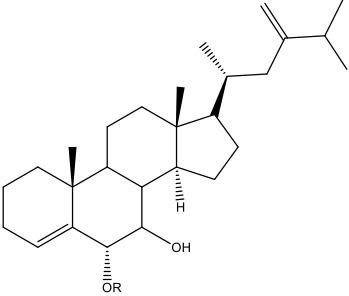
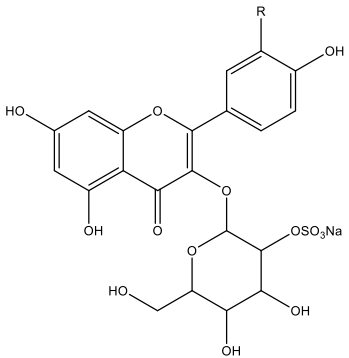
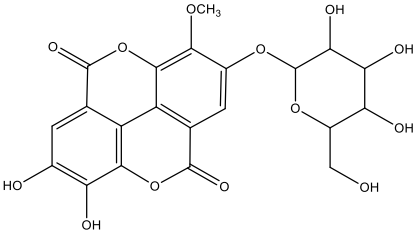
A diversidade de metabólitos especiais identificados em espécies desta família, tem chamado a atenção de pesquisas com diferentes atividades biológicas. Um estudo realizado por Zuharah et al. (2021), reportaram a capacidade larvicida para as partes do caule maduro

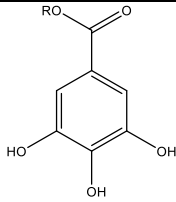
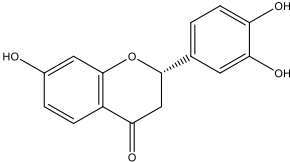
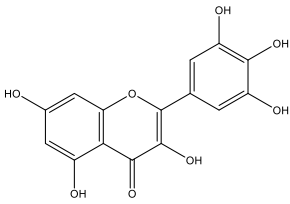
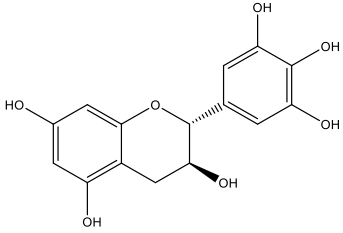
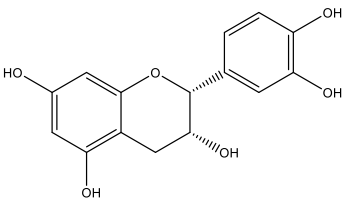
das espécies *Gluta renghas*, *Anacardium occidentale* e *Mangifera indica*; destacou-se para *G. renghas* a capacidade larvicida contra *Aedes albopictus* e *A. aegypti* com CL_{50} de 607 mg.L^{-1} e 976 mg.L^{-1} , respectivamente. Há estudos descritos na literatura da atividade antimalárica de *Dobinea delavayi* atribuída à presença de duas benzofenonas isoladas e identificadas como 2,6,3',4'-tetrahidroxi-4-metoxibenzofenona (**8**) e 2,6,4'-trihidroxi-4,3'-dimetoxibenzofenona (**9**) (SHEN et al., 2021); além disso, a mesma biotividade tem sido reportada para as folhas de *Rhus retinorrhoea* e o extrato aquoso de *Anacardium occidentale* (Adebayo & Krettli, 2011; M. S. Ahmed et al., 2001; Chinsembu, 2015). Em relação à atividade antioxidante, reportou-se a espécie *Toxicodendron vernicifluum* e atribuindo ao composto identificado como vernicidina B a referida atividade (ZHONG et al., 2022). A partir de *Pistacia terebinthus* avaliou-se o poder redutor e atividade quelante de metais utilizando-se o teste de DPPH e ABTS, encontrando-se uma importante atividade antioxidante do extrato metanólico (UYSAL et al., 2022); os extratos de caule das espécies *Sclerocarya birrea* e *Harpephyllum caffrum* exibiram uma alta atividade devido a seu conteúdo de compostos fenólicos (MOYO et al., 2010). No caso da atividade antimicrobiana, o extrato de acetato de etila da espécie *Searsia chirindensis* mostrou uma CIM entre $30\text{-}250 \text{ }\mu\text{g.mL}^{-1}$ contra *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Shigella flexneri* e *Staphylococcus aureus* (MADIKIZELA; ADEROGBA; VAN STADEN, 2013); a espécie *Lannea alata* foi reportada por sua atividade antibacteriana contra algumas cepas Gram-positivas, atribuindo-se ao composto isolado e identificado como miricetina-3-O- α -arabinofuranosídeo conhecido pelo nome de betmidin (**25**) (OKOTH; CHENIA; KOORBANALLY, 2013). Na **Tabela 1** são mostradas algumas substâncias identificadas para diferentes espécies da família Anacardiaceae.

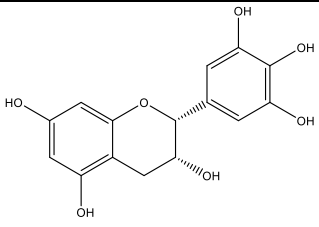
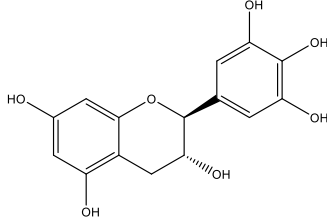
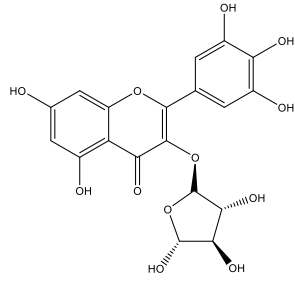
Tabela 1- Substâncias isoladas e identificadas de espécies vegetais da família Anacardiaceae.

Espécie	Parte da planta	Substância	Referência												
<p><i>Swintonia floribunda</i></p>	<p>Cascas de caule</p>	 <p>Integracin <i>E</i> (1)</p>	<p>(DANG et al., 2019)</p>												
		 <p><i>n</i>-hetacosyl <i>trans</i>-ferulate (2)</p>													
															
		<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="text-align: center;">R¹</th> <th style="text-align: center;">R²</th> <th style="text-align: center;">NOME</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="text-align: center;">H</td> <td style="text-align: center;">H- β</td> <td style="text-align: center;">Pinoresinol (3)</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">H</td> <td style="text-align: center;">H- α</td> <td style="text-align: center;"><i>Epi</i>-pinoresino (4)</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">OCH₃</td> <td style="text-align: center;">H- β</td> <td style="text-align: center;">Syringaresino (5)</td> </tr> </tbody> </table>		R ¹	R ²	NOME	H	H- β	Pinoresinol (3)	H	H- α	<i>Epi</i> -pinoresino (4)	OCH ₃	H- β	Syringaresino (5)
		R ¹		R ²	NOME										
H	H- β	Pinoresinol (3)													
H	H- α	<i>Epi</i> -pinoresino (4)													
OCH ₃	H- β	Syringaresino (5)													
OCH ₃	H- β	Syringaresino (5)													
<p><i>Lithrea caustica</i></p>	<p>Folhas</p>	 <p>Litreol (6)</p>	<p>(MUÑOZ-RAMÍREZ et al., 2020)</p>												

<p><i>Buchanania lucida</i></p>	<p>Caule</p>	 <p>(+)-(8<i>S</i>,8'<i>S</i>)-5'-metoxi-4,4'-di-<i>O</i>-metilsecoisolariciresinol (7)</p>	<p>(NGUYEN et al., 2022)</p>						
<p><i>Dobinea delavay</i></p>	<p>Raíces</p>	 <p>2,6,3',4'-tetrahidroxi-4-metoxibenzofenona (8)</p>  <p>2,6,4'-trihidroxi-4,3'-dimetoxibenzofenona (9)</p>	<p>(SHEN et al., 2021)</p>						
<p><i>Antrocaryon klaineanu</i></p>	<p>Casca de caule</p>	 <table border="1" data-bbox="727 1459 1177 1638"> <tr> <td>R</td> <td>NOME</td> </tr> <tr> <td>H</td> <td>Antrocarina E (10)</td> </tr> <tr> <td>OH</td> <td>7α,20(<i>S</i>)-dihidroxi-4,24(28)-ergostadien-3-ona (11)</td> </tr> </table>	R	NOME	H	Antrocarina E (10)	OH	7 α ,20(<i>S</i>)-dihidroxi-4,24(28)-ergostadien-3-ona (11)	<p>(FOUOKENG et al., 2017)</p>
R	NOME								
H	Antrocarina E (10)								
OH	7 α ,20(<i>S</i>)-dihidroxi-4,24(28)-ergostadien-3-ona (11)								

		 <hr/> <p>R NOME</p> <hr/> <p>H Antrocarina C (12)</p> <hr/> <p>CH₃ Antrocarina F (13)</p>	
<p><i>Harpephyllum caffrum</i></p>	<p>Folhas</p>	 <hr/> <p>R NOME</p> <hr/> <p>H Kaempferol 3-<i>O</i>-β-(2''-sulfatogalactopiranosídeo) (14)</p> <hr/> <p>OH Quercetina 3-<i>O</i>-β-(2''-sulfatogalactopiranosídeo) (15)</p> <hr/>  <p>Ácido 3-metoxielágico 4-<i>O</i>-β-galactopiranosídeo (16)</p>	<p>(NAWWAR et al., 2011)</p>

<p><i>Cotinus coggygria</i></p>	<p>Caulos e galhos</p>	<div style="text-align: center;">  </div> <hr/> <p>R NOME</p> <hr/> <p>H Ácido gálico (17)</p> <hr/> <p>CH₃ Galato de metila (18)</p> <hr/> <div style="text-align: center;">  </div> <p>3',4',7-Trihidroxiflavanona (19)</p> <div style="text-align: center;">  </div> <p>Miricetina (20)</p>	<p>(ANTAL et al., 2010; MATIĆ et al., 2013)</p>
<p><i>Cashew apples</i></p>	<p>Frutos</p>	<div style="text-align: center;">  </div> <p>(+)-Catequina (21)</p> <div style="text-align: center;">  </div> <p>(-)-Epicatequina (22)</p>	<p>(MICHODJEHOU N-MESTRES et al., 2009)</p>

		 <p>(-)-Epigallocatequina (23)</p>  <p>(+)-Galocatequina (24)</p>	
<i>Lannea alata</i>	Caule e raízes	 <p>Betmidin (25)</p>	(OKOTH; CHENIA; KOORBANALLY , 2013)

Fonte: Produção do próprio autor.

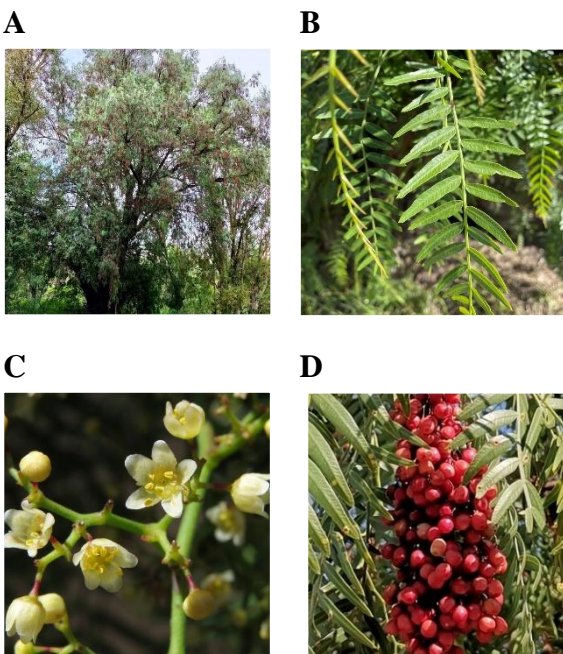
1.2. Gênero *Schinus*

1.2.1. Descrição morfológica do gênero *Schinus*

O gênero *Schinus*, nativo da América do Sul, compreende aproximadamente 29 espécies, é um dos gêneros mais estudados da família Anacardiaceae, sendo composto por árvores ou arbustos que podem ter até 9 metros de altura (El-Nashar et al., 2022; *Missouri Botanical Garden*, 2022.; Silva-Luz et al., 2019). Quanto à sua morfologia, as espécies deste gênero caracterizam-se pela semelhança nas folhas, que podem ser pinadas com raque alado e inflorescências panículas, também podem apresentar folhas simples e inflorescências pseudoracemosas com ramos que terminam em ápice espinhoso; têm perianto pentâmero ou tetrâmero, as espécies são dióicas, as flores estaminadas apresentando um pistilo pequeno e as pistiladas com um estaminódio reduzido e os frutos podem apresentar-se como drupas

globosas com exocarpo fino e brilhante (SILVA-LUZ et al., 2019). Na **Figura 3** são mostradas algumas partes de uma espécie do gênero, da morfologia descrita.

Figura 3 - *Schinus molle*. **A.** Árvore. **B.** Folhas. **C.** Flores. **D.** Fruto.

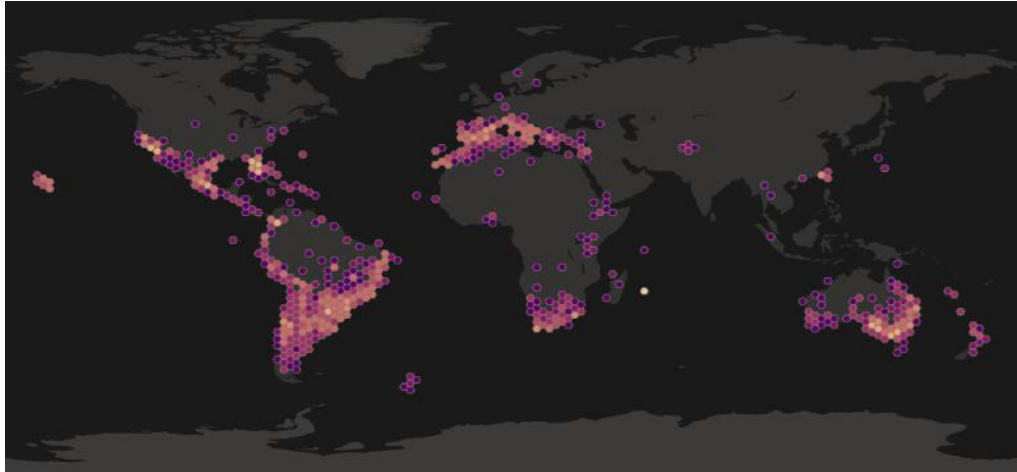


Fonte: (SILVANO, 2022).

1.2.2. Distribuição geográfica

Como mencionado anteriormente, o gênero *Schinus* é nativo da América do Sul, suas espécies estão distribuídas no Peru, Chile, Argentina, Brasil e Paraguai; assim como, introduzidas no Equador, Colômbia, Cuba, República Dominicana, Guatemala, México, Califórnia, Egito e África do Sul (**Figura 4**) (EL-NASHAR; MOSTAFA; ABD EL-GHFFAR; et al., 2022; “Royal Botanic Gardens”, 2022; SILVA-LUZ et al., 2019). No Brasil, espécies do gênero estão distribuídas no *Norte*: Amapá, Pará e Tocantins; *Nordeste*: Alagoas, Bahia, Ceará, Maranhão, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do Norte, Sergipe; *Centro-Oeste*: Goiás e Mato Grosso; *Sudeste*: Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo e no *Sul*: Paraná, Rio Grande do Sul, Santa Catarina (LUZ SILVA et al., 2022).

Figura 4- Distribuição geográfica do gênero *Schinus*.



Fonte: (“Global Biodiversity Information Facility,” 2022).

1.2.3. Uso tradicional

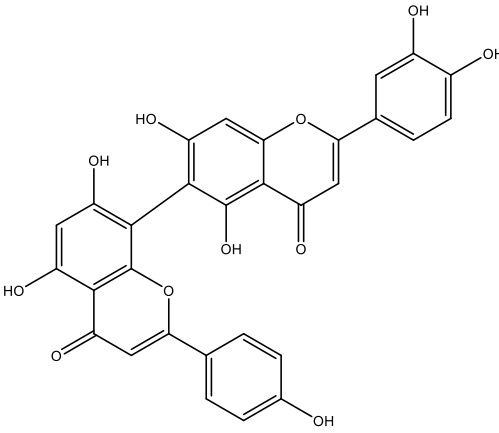
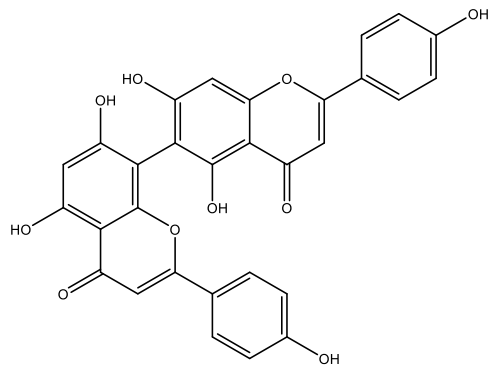
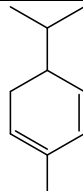
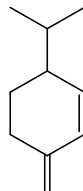
Na etnobotânica das espécies do gênero *Schinus*, a medicina tradicional tem sido muito importante para diferentes culturas sendo utilizadas contra diferentes doenças, abrangendo tratamentos para úlceras, distúrbios menstruais, bronquite, reumatismo, hipertensão, entre outros (EL-NASHAR; MOSTAFA; ABD EL-GHFFAR; et al., 2022). Especificamente, a espécie *S. molle* tem sido relatada como analgésico, antisséptico, antidepressivo, antibacteriano, para infecções respiratórias e urinárias, digestivo e purgativo, para dor de dente, contra reumatismo e distúrbios menstruais, como agente diurético. (MORALES-RABANALES et al., 2022; TLILI et al., 2018). A espécie *S. aroeira*, tem sido descrita como desinfetante, laxante e diurético, para a produção de bebidas tradicionais no Peru, as infusões das folhas como tratamento contra bronquite e asma, contra reumatismo, anti-inflamatório, afecções do fígado e do estômago (BENZI; STEFANAZZI; FERRERO, 2009; REBOLLEDO et al., 2021). *Schinus polygamus*, tem sido utilizada como antibacteriano na limpeza de feridas, anti-inflamatório, como tratamento para artrites, analgésico, para tratamento contra a bronquite crônica, irritações da pele, dores nos músculos e tendões, e os galhos são empregados como lenha (ABDELGHFFAR et al., 2022; ERAZO

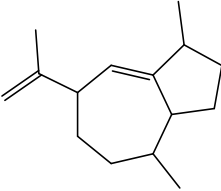
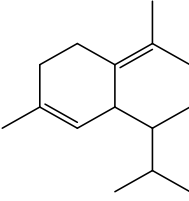
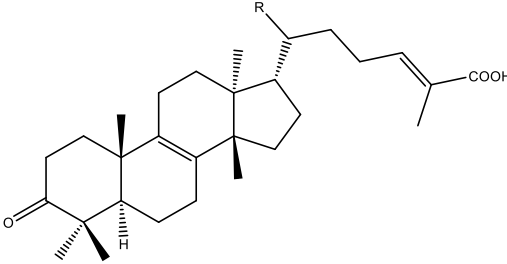
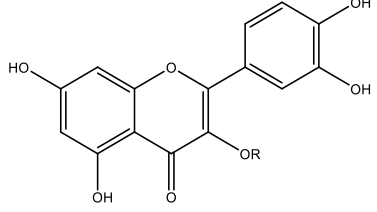
et al., 2006). Alguns relatos da medicina tradicional da América do Sul têm descrito que *S. lentiscifolius* possui propriedades contra distúrbios gastrointestinais e centrais (VANEGAS ANDRADE et al., 2022).

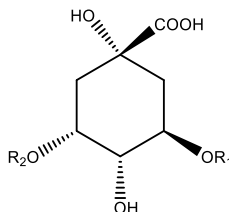
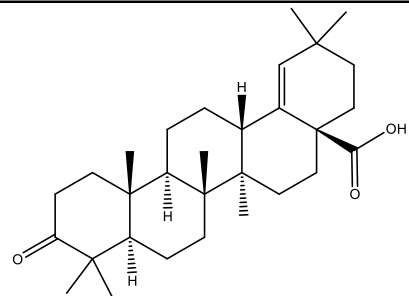
1.2.4. Composição química e atividade biológica

Espécies do gênero *Schinus* revelaram a presença de uma diversidade de compostos bioativos, dentre dos grupos de metabólitos especiais relatados incluem flavonoides, biflavonoides, terpenoides, catequinas, taninos e ácidos fenólicos; além disso, o óleo essencial (OE) de algumas espécies tem sido estudado, mostrando potenciais bioatividades (EL-NASHAR; MOSTAFA; ABD EL-GHFFAR; et al., 2022). *Schinus poligama* foi estudada *in vitro* em atividade antidiabética e anti-inflamatória, os resultados mostraram o composto isolado e identificado como luteolina-(6 →8"-apigenina (**26**) apresentando uma CI_{50} de 64,70 mg.mL⁻¹ e 47,60 mg.mL⁻¹, respectivamente (EL-NASHAR; MOSTAFA; ELDAHSHAN; et al., 2022). Além disso, foi estudada a composição química do OE de *S. molle* e testado em atividade anticancerígena, foram identificados principalmente mono e sesquiterpenoides e uma promissora atividade anticâncer com CI_{50} de 16,33µg.mL⁻¹ (ABDEL-HAMEED; BAZAID, 2017). Murray et al. (2005) estudaram o OE de *S. longifolia*, *S. fasciculata* e *S. aroeira*, na composição química foi determinado um alto conteúdo de monoterpenoides, sendo 93,35% e 79,16% do total das substâncias identificadas, para as espécies *S. longifolia* e *S. aroeira*, respectivamente; no mesmo estudo foi realizado o ensaio de *Artemia persimilis* e foi determinado taxas de mortalidade entre 63-100% para concentrações em uma faixa de 1000 e 100 µg.mL⁻¹ (MURRAY et al., 2005). Em relação à atividade antibacteriana, um estudo do extrato aquoso das folhas de *S. lentiscifolius* permitiu o isolamento do ácido morônico (**38**), que nos ensaios contra diferentes bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, mostrou uma CIM de 1,52-3,12 µg mL⁻¹ (GEHRKE et al., 2013).

Tabela 2 - Substâncias isoladas e identificadas de espécies vegetais do gênero *Schinus*.

Espécie	Parte da planta	Substância	Referência
<i>Schinus polygama</i>	Folhas	 <p style="text-align: center;">Luteolina-(6 →8'')-apigenina (26)</p>	(EL-NASHAR; MOSTAFA; ELDAHSHAN; et al., 2022)
	Folhas	 <p style="text-align: center;">Agathisflavona (27)</p>	(DUMITRU et al., 2019)
<i>Schinus molle</i>	Folhas	 <p style="text-align: center;">α-Felandreno (28)</p> 	(ABDEL-HAMEED; BAZAID, 2017)

	Frutos	<p style="text-align: center;">β-Felandreno (29)</p>  <p style="text-align: center;">α-Gurjuneno (30)</p>  <p style="text-align: center;">α-Cadinol (31)</p>  <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="text-align: center;">R</th> <th style="text-align: center;">NOME</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="text-align: center;">CH₃</td> <td style="text-align: center;">Isomasticadienonico (32)</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">CHO</td> <td style="text-align: center;">Isomasticadienonálico (33)</td> </tr> </tbody> </table>	R	NOME	CH₃	Isomasticadienonico (32)	CHO	Isomasticadienonálico (33)	(POZZO-BALBI et al., 1978)
R	NOME								
CH₃	Isomasticadienonico (32)								
CHO	Isomasticadienonálico (33)								
<i>Schinus aroeira</i>	Folhas	 <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="text-align: center;">R</th> <th style="text-align: center;">NOME</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="text-align: center;"><i>α-L-rhamnopyranosil</i></td> <td style="text-align: center;">Quercetina-3-<i>O</i>-ramnosídeo (34)</td> </tr> </tbody> </table>	R	NOME	<i>α-L-rhamnopyranosil</i>	Quercetina-3- <i>O</i> -ramnosídeo (34)	(GRAZIANO, M. N., SEGUI, M., & COUSSIO, 1967)		
R	NOME								
<i>α-L-rhamnopyranosil</i>	Quercetina-3- <i>O</i> -ramnosídeo (34)								

		<p>β-D-glucopiranosil Quercetina-3-O-glicosídeo (35)</p> <hr/>  <hr/> <table border="1"> <thead> <tr> <th>R1</th> <th>R2</th> <th>NOME</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>caffeoyl</td> <td>H</td> <td>Ácido 3-O-caffeoilquinico (36)</td> </tr> <tr> <td>H</td> <td>caffeoyl</td> <td>Ácido 3-O-caffeoilquinico (37)</td> </tr> </tbody> </table>	R1	R2	NOME	caffeoyl	H	Ácido 3-O-caffeoilquinico (36)	H	caffeoyl	Ácido 3-O-caffeoilquinico (37)	(CELAYA et al., 2016)
R1	R2	NOME										
caffeoyl	H	Ácido 3-O-caffeoilquinico (36)										
H	caffeoyl	Ácido 3-O-caffeoilquinico (37)										
<i>Schinus lentiscifolius</i>	Folhas	 <p>Ácido morônico (38)</p>	(GEHRKE et al., 2013)									

Fonte: Produção do próprio autor.

1.3. *Schinus terebinthifolius*

1.3.1. Descrição morfológica da espécie *Schinus terebinthifolius*

A espécie *S. terebinthifolius* Raddi conhecida com os nomes comuns aroeira, aroeira-vermelha, aroeira-pimenteira, pimenta-rosa; é um arbusto ou árvore mediana de 5-10 m de altura, apresenta tronco de casca grossa, as folhas são compostas com 3-10 pares de folíolos imparipinados e apresentam aromaticidade, têm de 3-5 cm de comprimento por 2-3 cm de largura; os frutos se encontram em forma de drupa, vermelhos, com diâmetro de 4-5 cm e aromaticidade característica da espécie; tem flores pequenas, pentâmeras, actinomorfas, dialissépalas e dialipétalas, dispostas em inflorescências compostas do tipo panícula

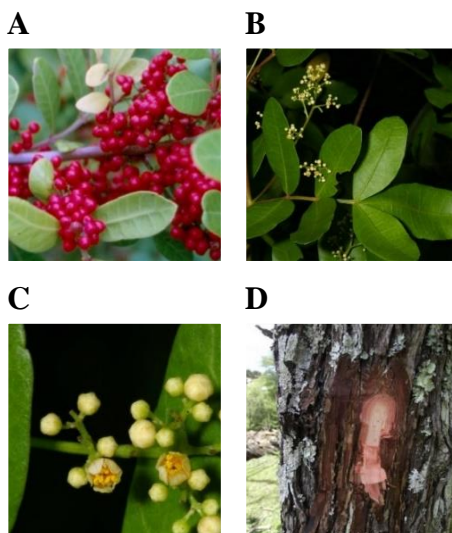
racemosa e piramidal (CESÁRIO; GAGLIANONE, 2008; LORENZI, 1992; ROSAS; CORREA; DAS GRAÇAS HENRIQUES, 2019). A classificação taxonômica e algumas partes da espécie são mostradas na **Tabela 3** e **Figura 5**, respectivamente.

Tabela 3 - Classificação taxonômica da espécie *Schinus terebinthifolius* Raddi.

REINO	Plantae
SUPERDIVISÃO	Embriófitos
DIVISÃO	Traqueófitas
SUBDIVISÃO	Espermatofitina
CLASSE	Magnoliopsida
SUPERORDEM	Rosanae
ORDEM	Sapindales
FAMÍLIA	Anacardiaceae
GÊNERO	<i>Schinus</i> L.
ESPÉCIE	<i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi

Fonte: (“Integrated Taxonomic Information System - Report”, 2022).

Figura 5- *Schinus terebinthifolius* Raddi. **A.** Frutos; **B.** Folhas; **C.** Flores; **D.** Tronco com casca.

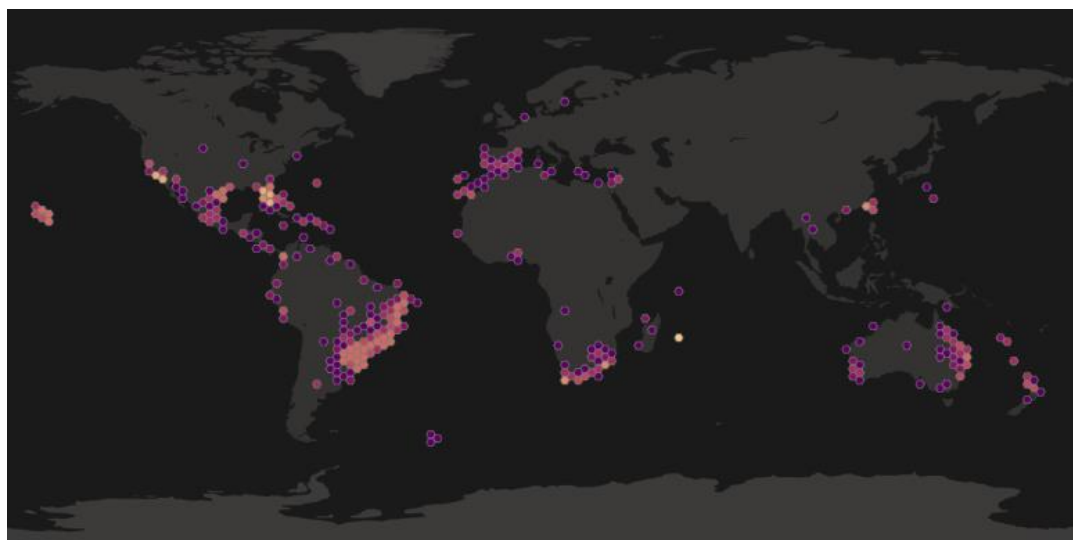


Fonte: A, B e C (PIRANI, 2020); D: (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2021).

1.3.2. Distribuição geográfica

É uma espécie nativa da América do Sul, tem uma distribuição tropical e subtropical, ocorrendo principalmente no Brasil, Peru, Argentina, Paraguai e Uruguai; sendo que no Brasil é amplamente distribuída desde Pernambuco ao Rio Grande do Sul (CARVALHO et al., 2013; LINDEN et al., 2020; MIGUES; DAVID; DAVID, 2020; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2021; ROSAS; CORREA; DAS GRAÇAS HENRIQUES, 2019; SANDRA ZORAT CORDEIRO, 2021). Pode-se encontrar em outros lugares do mundo, tem sido introduzida na Europa, América Central e em algumas partes dos Estados Unidos, cultivada como espécie ornamental ou com comportamento invasor (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2021).

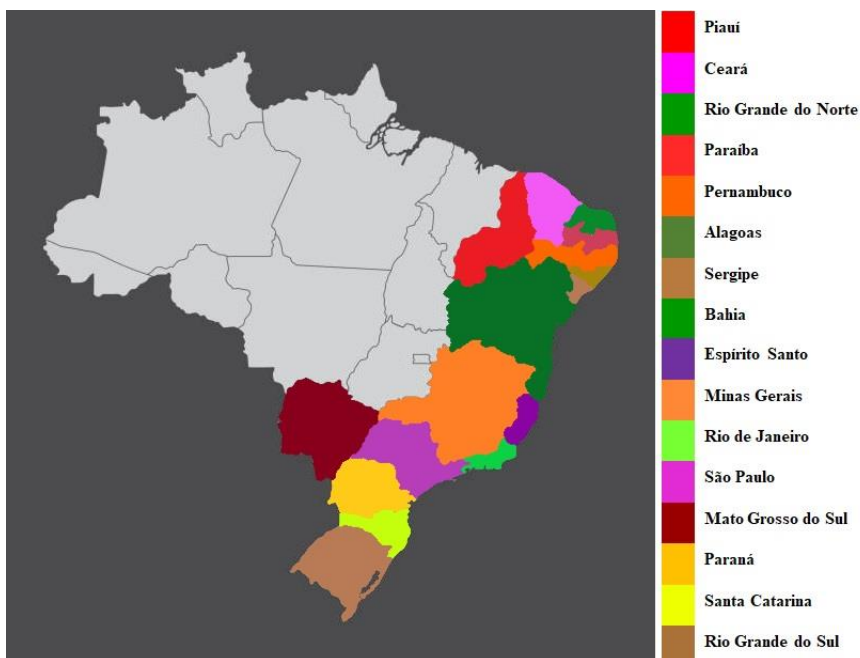
Figura 6- Distribuição geográfica da espécie *Schinus terebinthifolius* Raddi.



Fonte: (“Global Biodiversity Information Facility,” 2022).

Os estados do Brasil que apresentam maior concorrência são: Piauí, Pernambuco, Paraíba, Rio Grande do Norte, Bahia, Alagoas e Sergipe (Nordeste); Mato Grosso do Sul (Centro-Oeste); Rio de Janeiro, Minas Gerais, Espírito Santo e São Paulo (Sudeste); e Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul (Sul) (**Figura 7**) (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2021).

Figura 7- Distribuição geográfica da espécie *Schinus terebinthifolius* Raddi no Brasil.



Fonte: Produção do próprio autor.

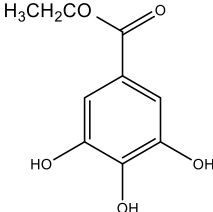
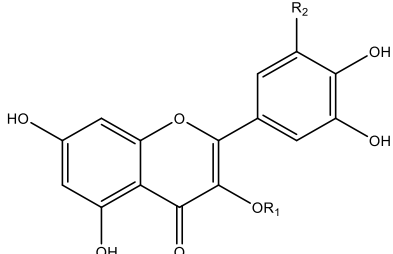
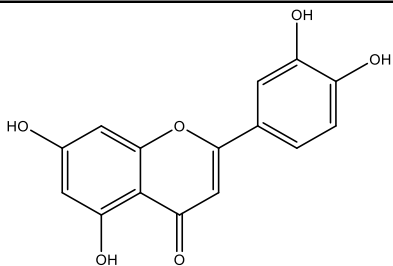
1.3.3. Uso tradicional

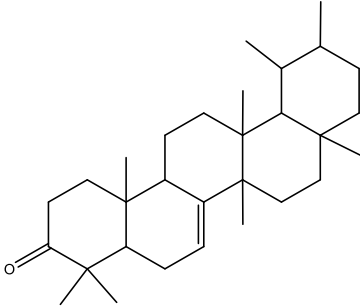
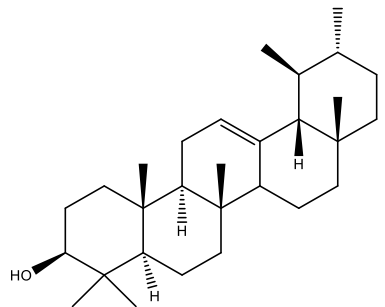
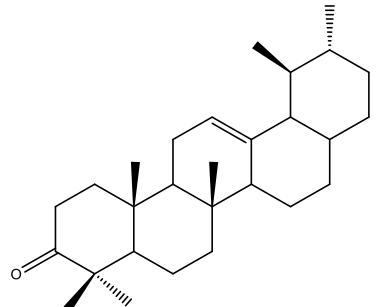
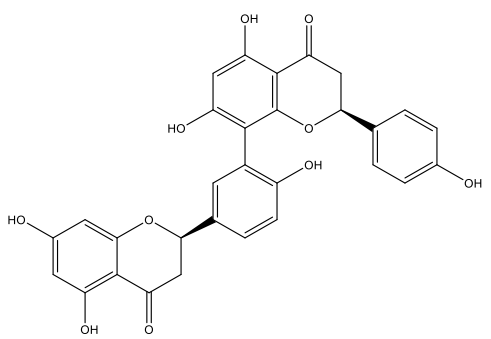
Os usos etnobotânicos de *S. terebinthifolius* abrangem culinária, ornamentação e medicina tradicional. Seu nome comum é pimenta rosa e vem do uso dos frutos como tempero, substituindo ou complementando a pimenta do reino. Na medicina popular tem sido empregada como tratamento para o reumatismo, infecções urinárias, anti-inflamatório para feridas (DE OLIVEIRA et al., 2020; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2021). A decocção da casca do caule tem sido empregada para tratar diferentes inflamações, principalmente a cervicites e como cicatrizante (AMORIM; SANTOS, 2003; AZEVEDO; QUIRINO; BRUNO, 2015). A seiva é utilizada no Peru como laxante e diurético; no caso da óleo-resina é utilizada como cicatrizante, contra sangramentos, para tratamento de reumatismo e como purgante; as folhas para distúrbios menstruais, respiratórios, urinários e problemas cardíacos; as raízes no tratamento de tumores ganglionares (AMORIM; SANTOS, 2003; MANRIQUE et al., 2008).

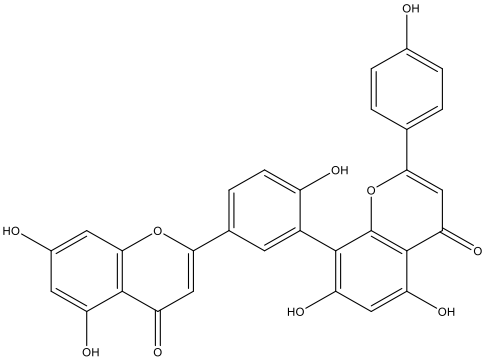
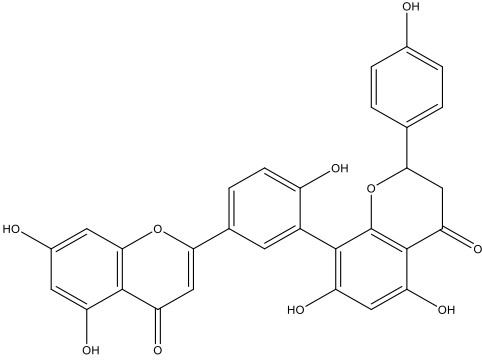
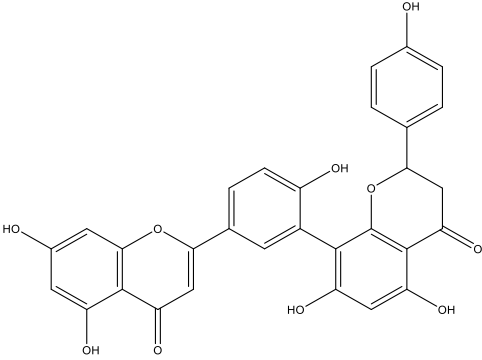
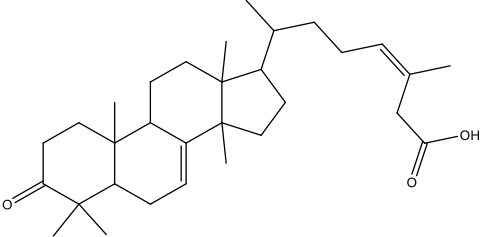
1.3.4. Composição química e atividade biológica

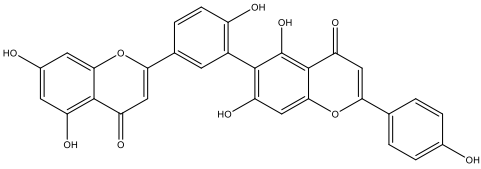
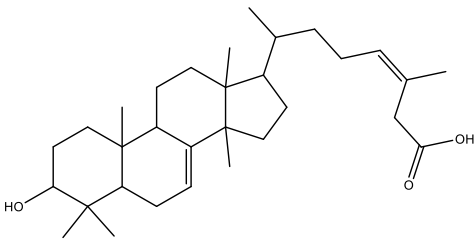
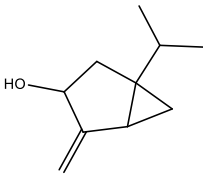
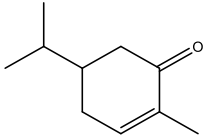
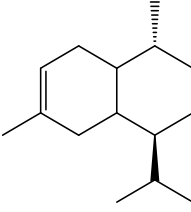
A espécie em estudo, apresenta uma diversidade na sua composição química e atividades biológicas reportadas, por exemplo, do extrato em etanol das folhas foi avaliada a atividade anti-radicalar em DPPH, identificou-se uma potencial atividade atribuída aos compostos: galato de metila (**18**), miricetina (**20**), galato de etila (**39**), miricetina-3-*O*- α -ramnosídeo (**40**) e quercetina-3-*O*- α -ramnosídeo (**41**) (CERUKS et al., 2007). Especificamente, os frutos do *S. terebinthifolius* têm despertado grande interesse no estudo da fitoquímica da espécie e dos possíveis compostos bioativos; entre as substâncias associadas com suas capacidades antimicrobianas estão: álcoois, ácidos, monoterpenoides, cetonas, triterpenoides, e sesquiterpenoides (MAIA et al., 2021). O OE tem sido amplamente estudado, permitindo identificar a presença de α -felandreno, α -careno, α -pineno e limoneno; sendo os monoterpenoides α -careno e α -pineno predominantes nos frutos da espécie (BARBOSA et al., 2007). Outros metabólitos especiais relatados são o triterpenoide schinol e compostos fenólicos simples como o cardanol (MORTON, 1978; STAHL; KELLER; BLINN, 1983). Quanto à presença de flavonoides, um estudo realizado por Skopp & Schwenker (1986), identificou três biflavonoides: tetra-hidroamentoflavona (**46**), amentoflavona (**47**) e di-hidroamentoflavona (**48**) em frutos de *S. terebinthifolius* (SKOPP; SCHWENKER, 1986). Como mencionado anteriormente, devido à diversidade de metabólitos especiais relatados na espécie, atividades biológicas têm sido referidas em diferentes estudos, confirmando o seu potencial farmacológico; em relação à atividade anti-inflamatória e anti-alérgica, foi reportada a inibição de 79,6% do edema induzido em ratos, possivelmente pela presença do ácido gálico e galato de metila; em relação à atividade antibacteriana, a inibição foi determinada em microrganismos patogênicos como *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*; e antifúngico contra *Candida albicans*, *C. krusei*, *C. tropicalis*, *C. parapsenciosis*, *C. glabrata*, *S. porothruxi* e *Cryptococcus neoformans* (CAVALHER-MACHADO et al., 2008; EL-MASSRY et al., 2009; JOHANN et al., 2007).

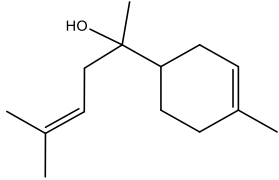
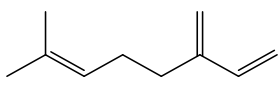
Tabela 4 -Substâncias isoladas e identificadas da espécie *Schinus terebinthifolius* Raddi.

Parte da planta	Substância	Atividade biológica	Referência									
Folhas	 <p>Galato de etila (39)</p>  <table border="1" data-bbox="462 1060 917 1375"> <thead> <tr> <th>R¹</th> <th>R²</th> <th>NOME</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Ramnose</td> <td>OH</td> <td>miricetina-3- O-α- ramnosídeo (40)</td> </tr> <tr> <td>Ramnose</td> <td>H</td> <td>quercetina-3- O-α- ramnosídeo (41)</td> </tr> </tbody> </table>	R ¹	R ²	NOME	Ramnose	OH	miricetina-3- O- α - ramnosídeo (40)	Ramnose	H	quercetina-3- O- α - ramnosídeo (41)	Potencial antirradicalar no teste DPPH.	(CERUKS et al., 2007)
	R ¹	R ²	NOME									
Ramnose	OH	miricetina-3- O- α - ramnosídeo (40)										
Ramnose	H	quercetina-3- O- α - ramnosídeo (41)										
 <p>Luteolina (42)</p>	Câncer do ovário	(DA SILVA, Marciane M. et al., 2017)										

<p>Casca</p>	 <p>Bauerenona (43)</p>  <p>α-amirina (44)</p>  <p>α-amirenona (45)</p>	<p>Sem reporte</p>	<p>(DE PAIVA CAMPELLO; MARSAIOLI, 1975)</p>
<p>Frutos</p>		<p>Antibacteriana</p>	<p>(LINDEN et al., 2020)</p>

	<p>Tetra-hidroamentoflavona (46)</p>  <p>Amentoflavona (47)</p> 		
	<p>Di-hidroamentoflavona (48)</p> 	<p>Antiparasitário e antimicrobiano</p>	<p>(MORAIS et al., 2014)</p>
	<p>Ácido masticadienóico (49)</p> 	<p>Sem reporte</p>	<p>(KASSEM; EL-DESOKY; SHARAF, 2004)</p>

	<p>Tetra-hidrorobustaflavona (50)</p>  <p>Robustaflavona (51)</p>		
	 <p>Schinol (52)</p>	<p>Antibacteriana</p>	<p>(DA SILVA, Jessica H.S. et al., 2018)</p>
<p>Óleo essencial</p>	 <p>Cis-sabino (53)</p>  <p>Carvotanacetona (54)</p>  <p>α-cubebene (55)</p>		<p>(LLOYD et al., 1977)</p> <p>(EL-MASSRRY et al., 2009)</p>

	 <p style="text-align: center;">α-bisabolol (56)</p>  <p style="text-align: center;">Mirceno (57)</p>		
--	---	--	--

Fonte: Produção do próprio autor.

1.4. Micro-organismos patogênicos

A capacidade de um micro-organismo causar doença é chamada de patogenicidade e um microrganismo que tem a capacidade de causar doença é chamado de patógeno. Existe uma grande variedade de micro-organismos que podem causar sérios danos ao organismo e se tornarem letais (KAPER; NATARO; MOBLEY, 2004; PINKY SARMAH et al., 2018). Eles existem há milhões de anos, conseguiram evoluir, adaptar-se a condições que podem representar a sua aniquilação e desenvolveram resistência a vários medicamentos; a pesquisa de substâncias para o tratamento de doenças infecciosas geralmente é direcionada para enfermidades emergentes, ou seja, aquelas cuja incidência aumentou nos últimos 20 anos (CHAPMAN; DELAHANTY, 2018; UPMANYU; MALVIYA, 2020). No entanto, muitas dessas doenças permanecem na classificação emergente devido à evolução ou adaptação que os microrganismos desenvolveram, conforme já mencionado, particularmente nos países em desenvolvimento. A *Escherichia coli* é uma bactéria Gram-negativa, encontrada no trato gastrointestinal de humanos e animais, pertence à família Enterobacteriaceae e é um dos patógenos mais comuns, sendo responsável por uma grande variedade de doenças graças à sua capacidade de crescimento em diferentes condições, tanto aeróbicas quanto anaeróbicas; dependendo do tipo de patógeno de *E. coli*, pode causar diarreia em crianças, colite hemorrágica, diarreia aguda e infecções do trato urinário (ALLOCATI et al., 2013). No caso de *Staphylococcus aureus*, é uma bactéria Gram-positiva, das mais comuns na população

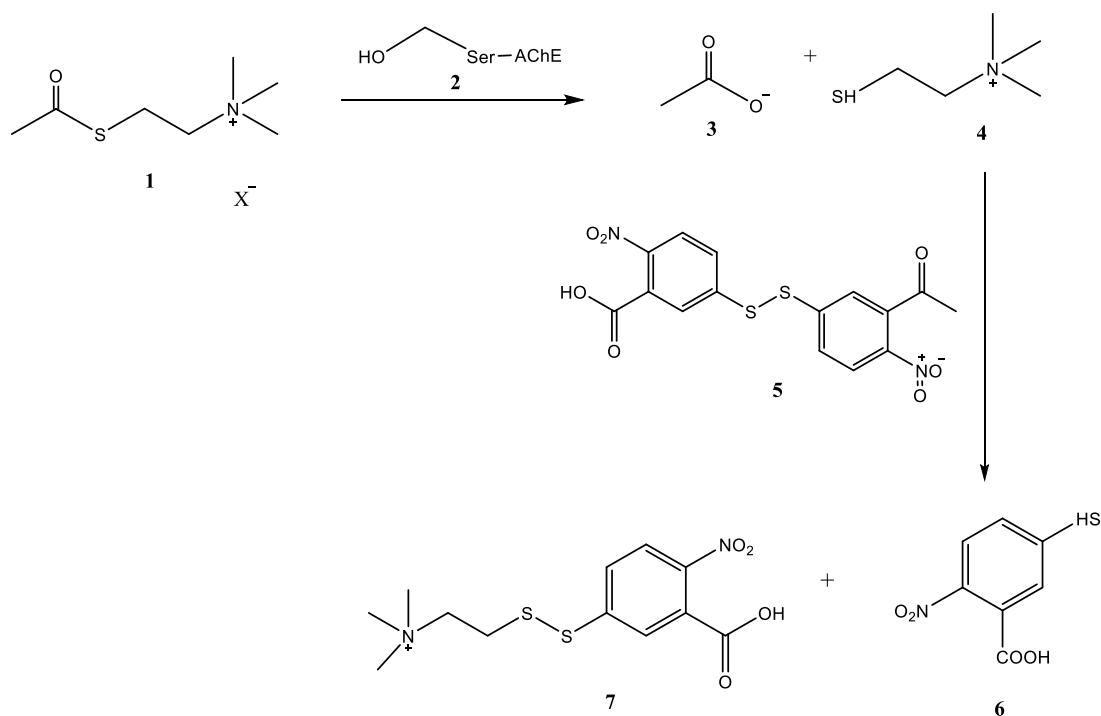
humana e causa uma variedade de enfermidades infecciosas, pode encontrar-se principalmente na pele, no nariz e garganta, também pode-se gerar colonização intestinal; comumente *S. aureus* é adquirida em hospitais, penetrando-se em feridas e causando doenças tais como: pneumonia, meningite, endocardite e sepse (CASTRO; SILVA; TEIXEIRA, 2018; TAYLOR. TRACEY A; UNAKAL, 2020). *Pseudomonas aeruginosa* é uma bactéria Gram-negativa bastante comum na população que tem a capacidade de sobreviver em diferentes condições ambientais; é responsável por diferentes doenças em humanos, tais como, sepse, infecções do trato respiratório, infecções urinárias, da córnea e ceratite (STRATEVA; YORDANOV, 2009; WU et al., 2015). Sendo um dos principais agentes nosocomiais, as infecções que gera são difíceis de tratar, como muitos patógenos, tem desenvolvido resistência a muitos agentes antimicrobianos graças aos seus diversos mecanismos de patogenicidade, isso fez da *P. aeruginosa* um importante micro-organismo responsável por aproximadamente 10 a 15% das infecções hospitalares globais (PAZZARZA et al., 2019; STRATEVA; YORDANOV, 2009; WU et al., 2015).

1.5. Atividade inibidora da acetilcolinesterase

A acetilcolinesterase (AChE) juntamente com a butilcolinesterase (BChE) fazem parte do grupo de enzimas conhecidas como colinesterases (ChEs), expressas por células de mamíferos (SÁNCHEZ-CHÁVEZ, GUSTAVO, 2008). Essas enzimas são responsáveis pela cessação da sinalização colinérgica do neurotransmissor acetilcolina (ACh), por meio da hidrólise da ACh em colina; este neurotransmissor originalmente caracterizado como um mensageiro químico vital no sistema nervoso central e periférico desempenha um papel importante em vários processos celulares; atualmente, existem muitos tratamentos e estudos focados na inibição de AChE para melhorar a neurotransmissão colinérgica aumentando a disponibilidade de ACh, já que no final dos anos 1970 identificou-se baixos níveis de ACh em pacientes com doença de Alzheimer (DA) que é o tipo de demência mais comum, consequentemente, tem sido associado os déficits cerebrais ligados a DA à incapacidade de transmitir impulsos neurológicos em toda sinapse colinérgica (ALCOLEA-PALAFIX et al., 2014; H. FERREIRA-VIEIRA et al., 2016; KANDIMALLA; REDDY, 2017; RICHBART et al., 2021).

Em relação aos inibidores de ChEs, estes podem gerar o aumento dos níveis de ACh e melhorar de forma parcial os sintomas cognitivos e a qualidade de vida do paciente. Esses medicamentos têm efeitos positivos apenas por um curto período de tempo, entre 1-3 anos, e não podem alterar a progressão da doença; no entanto, uma inibição excessiva pode causar uma elevada atividade dos receptores colinérgicos, causando possíveis efeitos tóxicos como hiperatividade, asfixia e até morte (H. FERREIRA-VIEIRA et al., 2016; WALKER, 2001). Para determinar a inibição de AChE existem adaptações do método de Ellman, o procedimento consiste basicamente em usar o haleto de acetiltiocolina (1, X- ou cloreto ou iodeto), na presença de uma colinesterase não inibida (2), é hidrolisado em acetato (3) e tiocolina (4). Em seguida, este último reage com o ácido 5,5'-ditiobis(2-nitrobenzóico) (DTNB, 5, reagente de Ellman), proporcionando a forma aniônica do ácido 5-mercaptop-2-nitrobenzóico (6). A reação é monitorada entre 405-412 nm; maior absorbância significa alta atividade enzimática (**Figura 8**) (DE A CAVALCANTE et al., 2018).

Figura 8- Reações do teste de Ellman.



Fonte: Adaptado de (DE A CAVALCANTE et al., 2018).

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1. Materiais, equipamentos e reagente

Os solventes empregados no preparo dos extratos, na partição, na solubilização das amostras, nas eluições em CCD, CCDP e CC (hexano, acetato de etila, clorofórmio, diclorometano e metanol) foram de grau analítico de procedência Anidrol.

Para cromatografia em coluna foram utilizados os adsorventes gel de sílica 60 da Akros® e Aldrich com diâmetro de partícula entre 0,063-0,200 nm, sílica Flash (diâmetro de partícula entre 0,040-0,063 mm) de procedência da Acros Co e Sephadex LH-20 da Sigma para procedimentos de permeação em gel. No caso de cromatografia em camada delgada foram utilizadas placas pré-preparadas de gel de sílica 60 F254 de procedência Merck®, Fluka ou RdH Laborchemikalien GmbH & Co. Nas cromatografias em camada delgada preparativa, foram utilizadas placas de gel de sílica 60 F254 de 1mm de espessura da Merck® e Analtech, placas cromatograficas de alta resolução de 500 e 1000 µm de espessura. Os métodos de revelação utilizados nas cromatografias em camada delgada consistiram na exposição das placas à radiação, empregando-se lâmpada ultravioleta nos comprimentos de onda de 254 e 366 nm (Spectroline - Model CM-10, Fluorescence Analysis Cabinet), vapores de iodo, solução de cloreto férrico (5% em etanol) e/ou reagente de Liebermann-Burchard.

Os evaporadores rotatórios utilizados para evaporação de solventes sob pressão reduzida foram das marcas BUCHI 461 e IKA LABORTECHNIK HB4 basic.

Na quantificação de fenóis e flavonoides totais, utilizou-se Na₂NO₃ 5% (m/v); AlCl₃ 10% (m/v); NaOH 10% (m/v); padrões de ácido gálico e quercetina; reagente de fenol de Folin & Ciocalteu da Sigma-Aldrich.

As análises por CG-EM foram realizadas no equipamento QP2010SE (GC2010 Plus) da marca Shimadzu usando coluna capilar de sílica fundida Rtx-5MS (30 m; 0,25 mm de diâmetro interno; filme de 0,25 mm) e hélio como gás de arraste. Foram utilizados os reagentes da Sigma-Aldrich® N,O-bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida (BSTFA), trimetilclorosilano (TMCS) para reações de sililação.

Os espectros de RMN de ^1H , ^{13}C , HMBC e HSQC foram registrados em espectrômetro de RMN Bunker Avance III 500 (11,75 Tesla), operando a 500 MHz (^1H) e 125 MHz (^{13}C), registrados no LabRMN – Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear da UFG, utilizando-se CDCl_3 e CD_3OD , (Isotech®) como solventes. O sinal de ^1H e de ^{13}C dos solventes foi utilizado como referência interna em relação ao TMS.

Na análise por CLAE-EM foi utilizado o equipamento Shimadzu (Kyoto, Japão) acoplado a um MicroTOF II (Bruker Daltonics, Billerica, MA, EUA) com uma fonte de íons de eletrospray (ESI), foi usado para obter espectros de massa de alta resolução. Os parâmetros foram os seguintes: capilar 4,5 kV, ESI em modo negativo e positivo, offset final da placa 500 V, nebulizador 40 psi, gás seco (N_2) com vazão de $8 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ e temperatura de $200 \text{ }^\circ\text{C}$. Os espectros de massa (m/z 50–1000) foram registrados a cada 2s.

Para a atividade antimicrobiana foram utilizadas placas de 96 poços, caldo Muller-Hinton da Merck®, revelador resazurina da Sigma-Aldrich®, capela de fluxo laminar e estufa para cultura bacteriológica ajustada a 37°C .

No teste de inibição da enzima acetilcolinesterase, as leituras das absorvâncias foram feitas em leitor de ELISA (Biotek®), modelo EL800 e os reagentes utilizados foram iodeto de acetiltiocolina (ACTI) ($\geq 97\%$), tampão fosfato 0,1 M, albumina sérica bovina ($\geq 96\%$), 5,5'-ditiobis-[2-nitrobenzóico] (DTNB), enzima acetilcolinesterase tipo VI-S obtida de *Electroparaous electricous* e eserina ($\geq 99\%$) foram todos da Sigma-Aldrich®.

2.2. Coleta e adaptação de material vegetal

A coleta dos frutos de *S. terebinthifolius* foi realizada em Salvador-Bahia, no campus Ondina da Universidade Federal da Bahia (coordenadas geográficas: -12.9987742, -385090847) e no bairro Jardim Armação – Salvador-BA (coordenadas geográficas: -12.9854637, -38.4399394), Cadastro SisGen # A1E7156. Realizou-se na presença de um botânico familiarizado com a espécie e o órgão coletado, neste caso os frutos. A coleta de exsiccatas foi realizada com os métodos e técnicas padrão na matéria e teve como objetivo a obtenção de amostras "Voucher" que foram depositadas no Herbário Alexandre Leal Costa. O material vegetal foi selecionado de forma a remover insetos, vestígios de solo e outras

plantas em mau estado, depois foi seco a 40°C em estufa com circulação forçada de ar até atingir uma perda por secagem inferior ao 10%. Em seguida, o material vegetal foi triturado em moinho de lâminas para obtenção de um pó com granulometria moderadamente fina. O pó foi armazenado em um recipiente escuro protegido da umidade.

2.3.Preparo dos extratos e das fases orgânicas

A partir de 831,13 g de material vegetal, realizou-se o preparo do extrato em hexano e em metanol, separadamente. A extração foi realizada mediante maceração (24h, 3x) e os extratos obtidos foram filtrados e concentrados sob pressão reduzida em evaporador rotatório. Em seguida, o extrato metanólico foi dissolvido em MeOH/H₂O (1:1), e particionado entre clorofórmio e acetato de etila, separadamente. As fases obtidas foram concentradas em rotaevaporador, a descrição do processo encontrasse na **Figura 9** e as massas dos extratos e fases na **Tabela 5**.

Figura 9- Procedimento experimental empregado na extração e partição dos frutos de *Schinus terbinthifolius*.

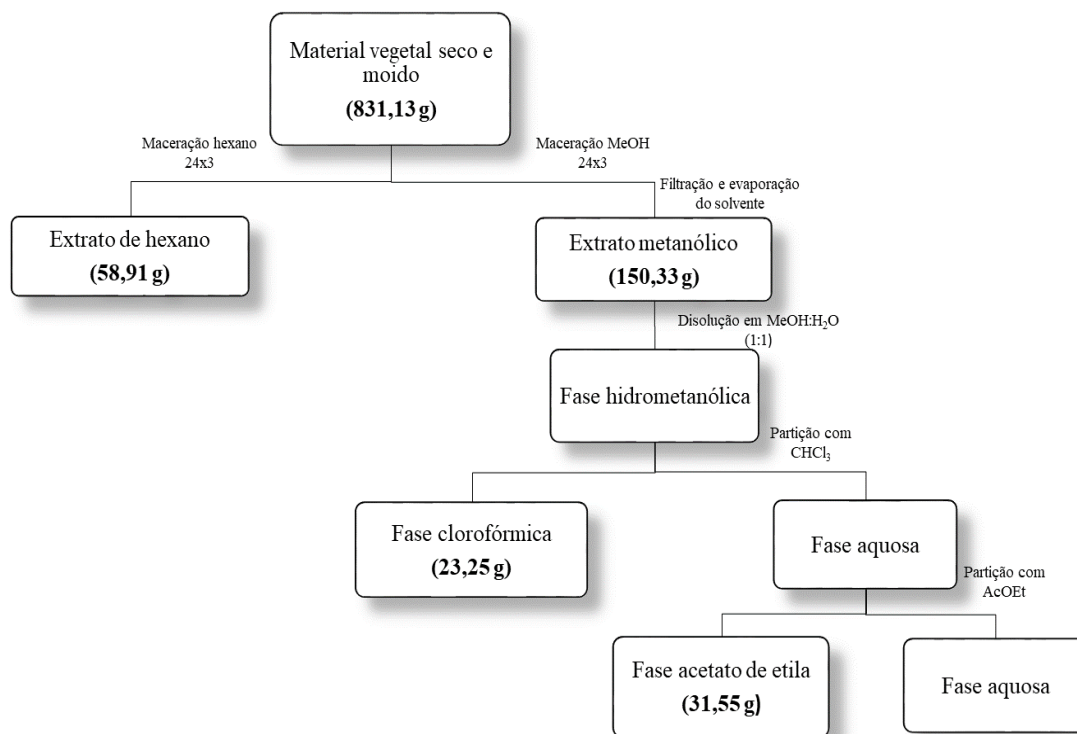


Tabela 5 - Massas e códigos dos extratos e fases orgânicas obtidas dos frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi.

EXTRATO/FASE	SOLVENTE	CÓDIGO	MASSA (g)
<i>Extrato</i>	Hexano	E.HEXST	58,91
	Metanol	E.MeOHST	150,33
<i>Fase</i>	Clorofórmio	E.CHCl ₃ ST	23,35
	Acetato de etila	E.AcOEtST	31,55

2.4. Quantificação de fenóis e flavonoides totais

Foi realizada a quantificação de fenóis e flavonoides totais do extrato hexânico, metanólico e das fases orgânicas de clorofórmio e acetato de etila; estes procedimentos foram realizados em triplicata.

2.4.1. Quantificação de fenóis totais

Os compostos fenólicos totais foram determinados pelo método de Folin-Ciocalteu (Singleton e Rossi, 1965). Em tubos de ensaio, foram adicionados 100 μL da amostra, 500 μL de reagente Folin-Ciocalteu, 5 mL de H_2O e agitou-se por 1 minuto. Depois, foram adicionados 2 mL de Na_2NO_3 15% (m/v) e agitou-se por 30 segundos. A mistura foi acrescentada com 2,4 mL de H_2O e deixou-se reagir por 2 horas, mantendo em sala escura. A leitura foi feita em espectrofotômetro UV a 725 nm. Soluções de ácido gálico (Sigma-Aldrich) entre 50-750 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ foram usadas para construir a curva de calibração; os resultados foram expressos em μg equivalentes de ácido gálico por mg de extrato ($\mu\text{gEAG}/\text{mg}$).

2.4.2. Quantificação de flavonoides totais

Ao tubo de ensaio foram adicionados 100 μL da amostra, 2 mL de H_2O e 100 μL de solução aquosa de Na_2NO_3 5% (m/v), em seguida, agitou-se e manteve-se em repouso por 6 minutos. Posteriormente, foram adicionados 100 μL de solução metanólica de AlCl_3 10% (m/v) e deixados em repouso por 5 minutos. Em seguida, adicionou-se 1 mL de solução aquosa de NaOH 10% e completou-se o volume para 5 mL com MeOH . Para garantir a formação do complexo, os tubos de ensaio foram levados para uma sala escura e deixados reagir por 30 minutos. A leitura foi realizada em espectrofotômetro UV a 425 nm. Soluções

de quercetina (Sigma-Aldrich) entre 50-750 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ foram usadas para construir a curva de calibração. O conteúdo total de flavonoides foi calculado em μg equivalentes de quercetina por mg de extrato ($\mu\text{gQE}/\text{mg}$).

2.5. Identificação das substâncias presentes em frações de *Schinus terebinthifolius* Raddi por CG-EM

O extrato hexânico dos frutos de *S. terebinthifolius* foi analisado por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM), antes de realizar a análise, as amostras foram submetidas à derivatização através da reação de sililação, desse modo, foi pesado 1 mg de amostra e colocado em vial, foram adicionados 100 μL do reagente cloreto de trimetilsililo (TMCS), em seguida, 50 μL de piridina. As amostras foram aquecidas em banho-maria a 60 °C por 5 minutos, e aguardou-se o resfriamento da mesma, em temperatura ambiente. Foi injetada 1 μL de amostra no cromatógrafo a gás, a temperatura do injetor foi 290 °C com temperatura inicial de 80 °C por 5 min, aumentando de 80 °C a 285 °C na razão de 4 °C/min. A temperatura final permaneceu em 285 °C por 40 minutos. A temperatura do detector foi de 290 °C e a temperatura na interface do sistema CG-EM foi de 290 °C. O detector de massas operou com ionização por impacto de elétrons (70 eV) e varredura de massas entre o intervalo de 30 a 600 Da. A comparação dos espectros de massas foi realizada com o banco de dados da livraria NIST 08.

2.6. Separação e purificação dos constituintes químicos dos frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi

2.6.1. Fracionamento do extrato hexânico

O extrato hexânico dos frutos de *S. terebinthifolius* (40,08 g) foi submetido à purificação por CC, utilizando-se como fase estacionária sílica gel 60 e como fase móvel os solventes hexano e AcOEt, eluída em gradiente. Obteve-se 16 frações de aproximadamente 150 mL cada, após análise em CCD foram reunidas em 6 frações (**Tabela 6**), utilizando-se como reveladores radiação por luz UV (254 e 365 nm), vapores de iodo e o reagente de Lieberman-Burchard. A fração **F1HEXST** exibiu características semelhantes às de um óleo essencial, em relação à sua consistência e aroma intenso; por isso, decidiu-se realizar análise

por CG-EM, com o mesmo tratamento descrito para o extrato hexânico, exceto a derivatização (item 2.5.).

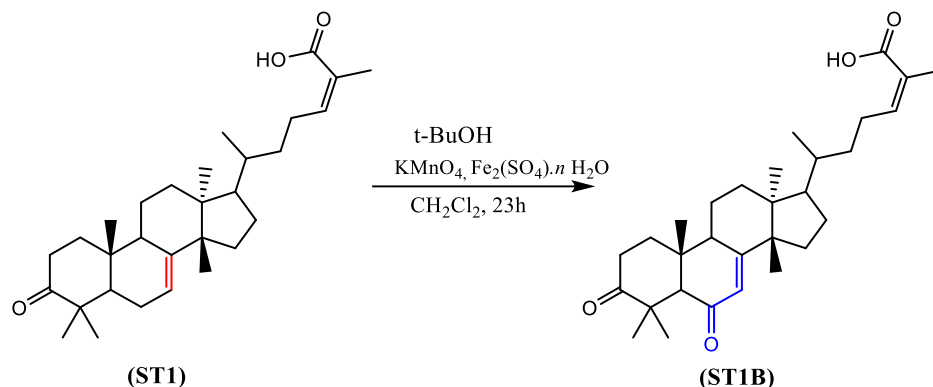
Tabela 6 - Frações obtidas da CC de E.HEXST dos frutos de *Schinus terebinthifolius*.

CÓDIGO	FRAÇÕES REUNIDAS	SISTEMA ELUENTE (Hex:AcOEt)	MASSA (g)
F1HEXST	1-3	95:5-9:1	9,57
F2HEXST	4	8:2	6,20
F3HEXST	5-9	8:2-7:3	2,4
F4HEXST	10-11	65:35-6:4	2,13
F5HEXST	12-14	1:1	2,55
F6HEXST	15-16	0:1-MeOH	1,84

A fração **F3HEXST** depois de secagem apresentou um sólido branco e foi submetida à recristalização, tendo em consideração o perfil cromatográfico, decidiu-se fazer análise de RMN (^1H , ^{13}C , HMBC e HSQC), com os dados obtidos e comparação com a literatura, mostrou que tratava-se de uma substância pura (**ST1**), correspondente do triterpenoide ácido (*Z*)-masticadienóico.

Considerando a massa obtida da substância **ST1**, foi realizada modificação química através da reação de oxidação alílica. Para isso, a uma solução de 50 mg de **ST1** em 1,5 mL de DCM submetida à agitação à temperatura ambiente, com uma mistura de 0,2 g de KMnO_4 ; 0,1 g de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$; 0,01 mL de H_2O e 0,046 mL de *t*-butanol. Após 23h, a mistura reacional foi diluída com 6 mL de éter dietílico e manteve-se em agitação por mais 30 min. A mistura foi filtrada através de uma placa de celite e lavada com 10 mL de éter dietílico. A fase orgânica foi lavada com NaHCO_3 e H_2O . Por fim, o produto foi seco sobre Na_2SO_4 , filtrado e evaporado, obtendo 34,86 mg (rendimento 69,72%). O derivado semissintético foi nomeado **ST1B**, o esquema geral da reação é apresentado na **Figura 10**.

Figura 10 - Esquema geral da semissíntese do derivado **ST1B**.



2.6.1.1. Purificação da fração F1HEXST e F5HEXST

As frações **F1HEXST** (1,00 g) e **F5HEXST** (1,30 g) foram submetidas separadamente à CC, empregando-se como fase estacionária sílica Flash e eluídas com misturas Hex:AcOEt, em gradiente. Foram coletadas 23 e 27 frações de 100mL, respectivamente. Depois de análise em CCD, reunidas em 6 e 13 subfrações. Utilizou-se como reveladores radiação por luz UV (254 e 365 nm), vapores de iodo e o reagente de Lieberman-Burchard (**Tabela 7 e 8**).

Tabela 7 - Subfrações obtidas da CC de F1HEXST.

CÓDIGO	FRAÇÕES REUNIDAS	SISTEMA ELUENTE (Hex:AcOEt)	MASSA (g)
F1HSF1	1-12	Hex	0,0265
F1HSF2	13	99:1	0,028
F1HSF3	14	99:1	0,083
F1HSF4	15-18	99:1-98:2	0,048
F1HSF5	19-21	95:5	0,462
F1HSF6	22-23	9:1	0,258

Tabela 8 - Subfrações obtidas da CC de F5HEXST.

CÓDIGO	FRAÇÕES REUNIDAS	SISTEMA ELUENTE (Hex:AcOEt)	MASSA (g)
F5HSF1	1-2	8:2	0,046
F5HSF2	3	8:2	0,013
F5HSF3	4-5	7:3	0,013
F5HSF4	6	7:3	0,154
F5HSF5	7-9	7:3	0,013
F5HSF6	10-11	7:3	0,005
F5HSF7	12	7:3	0,010
F5HSF8	13	7:3	0,623
F5HSF9	14-18	7:3	0,118
F5HSF10	19-22	6:4	0,200
F5HSF11	23	6:4	0,171
F5HSF12	24	1:1	0,039
F5HSF13	25-27	MeOH	0,134

O fracionamento de **F1HEXST** e **F5HEXST** não resultou em substância pura, foi constatada a presença de mistura de ácidos graxos para **F1HEXST** através de CG-EM.

2.6.2. Fracionamento da fase clorofórmica

A fase clorofórmica (16,04 g) foi submetida também, à purificação por CC, utilizando-se como fase estacionária sílica gel 60 e como fase móvel os solventes clorofórmio e metanol, eluída em gradiente. Obteve-se 28 frações e o tratamento feito para reuni-las foi similar com o extrato de hexano, obtendo 10 frações (**Tabela 9**).

Tabela 9 - Frações obtidas da CC de E.CHCl₃ST dos frutos de *Schinus terebinthifolius*.

CÓDIGO	FRAÇÕES REUNIDAS	SISTEMA ELUENTE (CHCl ₃ :MeOH)	MASSA (g)
F1CST	1	99:1	0,002
F2CST	2-3	99:1	0,084
F3CST	4	95:5	1,47
F4CST	5-9	9:1	5,75
F5CST	10-13	9:1	3,18
F6CST	14-17	8:2-75:35	0,873
F7CST	18-24	7:3-6:4	2,90
F8CST	25-26	6:4-1:1	1,167
F9CST	27	1:1	0,231
F10CST	28	MeOH	0,679

2.6.2.1. Purificação da fração F4CST

A fração **F4CST** (2,00 g) foi submetida à CC empregando-se como fase estacionária sílica Flash e eluída com sistema Hex:AcOEt, em diferentes proporções. Foram coletadas 37 frações e depois de análise em CCD, reunidas em 21 subfrações. Utilizou-se como reveladores radiação por luz UV (254 e 365 nm), vapores de iodo, reagente de Lieberman-Burchard e cloreto férrico (**Tabela 10**).

Tabela 10 - Subfrações obtidas da CC de F4CST dos frutos de *Schinus terebinthifolius*.

CÓDIGO	FRAÇÕES REUNIDAS	SISTEMA ELUENTE (Hex:AcOEt)	MASSA (g)
F4CSF1	1-3	85:15	0,070
F4CSF2	4	8:2	2,18
F4CSF3	5	8:2	3,10
F4CSF4	6	8:2	1,95
F4CSF5	7-9	8:2	0,584

F4CSF6	10-11	8:2	0,068
F4CSF7	12	8:2	0,192
F4CSF8	13	8:2	0,088
F4CSF9	14	75:25	0,055
F4CSF10	15-16	75:25	0,121
F4CSF11	17-18	75:25	0,003
F4CSF12	19-22	75:25	0,003
F4CSF13	23-27	75:25	0,010
F4CSF14	28	75:25	0,028
F4CSF15	29	7:3	0,017
F4CSF16	30	65:35	0,030
F4CSF17	31	65:35	0,016
F4CSF18	32	6:4	0,052
F4CSF19	33-34	6:4	0,048
F4CSF20	35-36	1:1	0,030
F4CSF21	37	MeOH	0,046

A análise de RMN de ^1H e de ^{13}C das subfrações **F4CSF4** e **F4CSF6**, permitiu identificar que **F4CSF4** correspondia à mesma substância identificada para a fração **F3HEXST** (ácido (*Z*)-masticadienólico). A subfração **F4CSF6** resultou em substância pura (**ST2**), os valores da análise e a comparação com a literatura permitiu atribuir para o composto conhecido como ácido masticadienólico ou schinol.

As subfrações **F4CSF7** e **F4CSF8** foram trabalhadas mediante fracionamento, porém, não resultaram em isolamento de substância pura.

2.6.2.2. Purificação da fração F7CST

A fração **F7CST** (1,30 g) foi submetida à CC empregando-se como fase estacionária sílica Flash e como fase móvel o sistema DCM:MeOH, eluída em gradiente. Foram coletadas 23 frações e depois de análise em CCD, reunidas em 14 subfrações. Utilizou-se como reveladores radiação por luz UV (254 e 365nm), vapores de iodo, reagente de Liebermann-Burchard e cloreto férrico (**Tabela 11**).

Tabela 11 – Subfrações obtidas da CC de F7CST dos frutos de *Schinus terebinthifolius*.

CÓDIGO	FRAÇÕES REUNIDAS	SISTEMA ELUENTE (DCM:MeOH)	MASSA (g)
F7CSF1	1	95:5	0,009
F7CSF2	2	95:5	0,005
F7CSF3	3	95:5	0,010
F7CSF4	4	9:1	0,029
F7CSF5	5-6	9:1	0,133
F7CSF6	7	9:1	0,165
F7CSF7	8	9:1	0,160
F7CSF8	9	9:1	0,144
F7CSF9	10	9:1	0,139
F7CSF10	11-12	9:1	0,015
F7CSF11	13-15	9:1	0,013
F7CSF12	16-18	9:1	0,027
F7CSF13	19-22	9:1	0,026
F7CSF14	23	9:1	0,022

A subfração **F7CSF5** foi analisada com RMN de ^1H e ^{13}C , e constatada a presença de uma substância pura (**ST3**), correspondente ao biflavonoide tetra-hidroamentoflavona, a identificação foi possível pelos dados obtidos e comparação com a literatura.

Já para a subfração **F7CSF8**, foi purificada utilizando CCDP e após de análise de RMN de ^1H e ^{13}C foi possível identificar que tratava-se da mesma substância identificada para **F7CSF5 (ST3)**, no entanto, por questões de pureza dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C decidiu-se manter os dados de **F7CSF8** como a substância nomeada **ST3**.

2.6.3. Fracionamento da fase de acetato de etila

Na purificação por CC da fase de AcOEt (41,8 g) foi utilizada fase estacionária sílica gel 60 e para a fase móvel os solventes DCM e MeOH, eluída em gradiente. Desse fracionamento, originou 30 frações, após da análise em CCDC e o uso dos reveladores descritos acima, foram reunidas em 8 frações (**Tabela 12**).

Tabela 12 - Frações obtidas da CC de E.AcOEtST dos frutos de *Schinus terebinthifolius*.

CÓDIGO	FRAÇÕES REUNIDAS	SISTEMA ELUENTE (DCM:MeOH)	MASSA (g)
F1AST	1-3	9:1	0,235
F2AST	4-8	9:1-8:2	5,757
F3AST	9	8:2	3,189
F4AST	10-18	8:2	0,873
F5AST	19-21	7:3	2,904
F6AST	22-27	6:4	3,290
F7AST	28-29	1:1	1,213
F8AST	30	MeOH	0,606

2.6.3.1. Purificação da fração F5AST e F6AST

A fração **F5AST** (75,30 mg) e **F6AST** (300 mg) foram submetidas separadamente à CC empregando-se como fase estacionária sílica gel 60 e como fase móvel o sistema DCM:MeOH e CHCl_3 :MeOH, respectivamente. Foram eluídas em gradiente, para **F5AST**

coletaram-se 40 subfrações e para **F6AST** 36 subfrações; após de análise de CCD foram reunidas em 11 subfrações como mostrado na **Tabela 13** e **Tabela 14**.

Tabela 13 - Subfrações obtidas da CC de F5AST dos frutos de *Schinus terebinthifolius*.

CÓDIGO	FRAÇÕES REUNIDAS	SISTEMA ELUENTE (DCM:MeOH)	MASSA (g)
F5ASF1	1-2	99:1	0,001
F5ASF2	3-5	95:5	0,001
F5ASF3	6-9	95:5	0,001
F5ASF4	10-20	95:5-9:1	0,015
F5ASF5	21	9:1	0,075
F5ASF6	22	9:1	0,001
F5ASF7	23	85:5	0,001
F5ASF8	24-26	8:2	0,004
F5ASF9	27-28	75:35	0,012
F5ASF10	29-30	7:3	0,015
F5ASF11	31-40	6:4	0,033

Tabela 14 - Subfrações obtidas da CC de F6AST dos frutos de *Schinus terebinthifolius*.

CÓDIGO	FRAÇÕES REUNIDAS	SISTEMA ELUENTE (CHCl ₃ :MeOH)	MASSA (g)
F6ASF1	1-2	99:1	0,003
F6ASF2	3-5	95:5	0,002
F6ASF3	6-9	95:5	0,005
F6ASF4	10-20	95:5-9:1	0,004
F6ASF5	21	9:1	0,004

F6ASF6	22	9:1	0,006
F6ASF7	23	85:5	0,007
F6ASF8	24-26	8:2	0,009
F6ASF9	27-28	75:35	0,022
F6ASF10	29-30	7:3	0,054
F6ASF11	31-40	6:4	0,105

A substância **F5ASF5** foi analisada com RMN de ^1H e ^{13}C , e corroborada a presença de uma substância pura (**ST4**), através dos dados obtidos e por comparação com a literatura foi possível estabelecer como ácido 4-*O*-metilgálico, isolado pela primeira vez dos frutos de *S. terebinthifolius*.

2.7. Testes de Atividade Biológica

2.7.1. Atividade antimicrobiana

Para a determinação da atividade antimicrobiana foi realizada a técnica de diluição do caldo em microplacas. Cada bactéria foi inoculada separadamente em tubos de vidro estéreis, adicionando 5 mL de caldo Muller Hinton (CMH) e incubados a 37 °C por 24 horas, em seguida, foi feito um teste em outro tubo com CMH com as mesmas condições de incubação por 6 horas para obtenção da fase exponencial; foi realizado o teste de turbidez, ajustando com solução salina cada caldo com bactérias para o padrão 0,5 Mc Farland, que equivale a 3×10^8 UFC.mL⁻¹ (MacFarland, 1907). Foram testadas concentrações entre 25-1000 µg.mL⁻¹ dos extratos, fases orgânicas e substâncias puras, em triplicata, solubilizadas em dimetilsulfóxido (DMSO) e acrescentadas com CMH. Depois de realizar as microdiluições em placas de 96 poços, foram incubadas a 37 °C durante 24h; como controle positivo para foi aplicado cloranfenicol (40 µg.mL⁻¹, 200 µL), como controle negativo metanol (200 µL) e água (200 µL). O crescimento do microrganismo foi avaliado com a adição do revelador resazurina (100 µg.mL⁻¹) do qual foram adicionados 30 µL em cada poço das microplacas; após 2 horas o aparecimento da cor azul representa ausência de crescimento

e a cor rosa, presença de crescimento bacteriano. Para este teste foram avaliadas 3 bactérias: *Escherichia coli* (ATCC 8739), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027).

2.7.2. Atividade inibidora da acetilcolinesterase

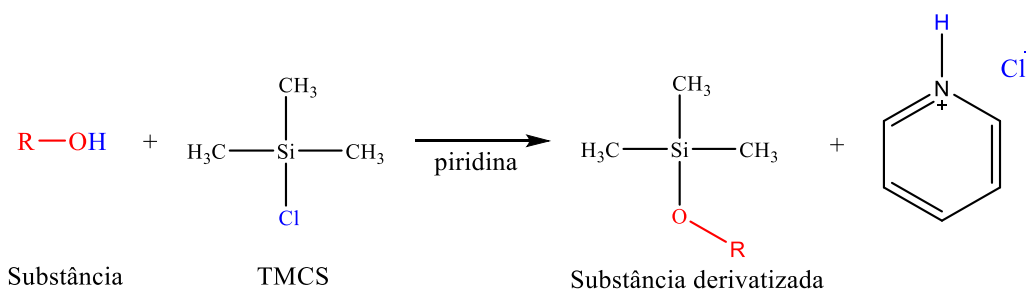
A atividade inibidora realizou-se baseado no método Ellman et al. (1961), em microplaca de 96 poços (como mencionado no item 1.5.). Foram preparadas soluções entre 1000-25 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ dos extratos, fases orgânicas e substâncias puras. Nos poços das microplacas foram adicionadas 140 μL de tampão fosfato (0,1M) pH 7,5 com albumina sérica bovina (0,1%), 20 μL da amostra e 20 μL da enzima acetilcolinesterase (AChE) 5,0 U.mL^{-1} . Depois, foram levadas à incubação em estufa a 37 °C durante 20 minutos, em seguida, adicionou-se 10 μL de iodeto de acetiltiocolina (ACTI) 75 mM e 10 μL de ácido 5-5'-ditiobis-[2-nitrobenzóico] (DTNB) 10 mM. Desse modo, a leitura foi realizada usando leitor de ELISA a 405 nm no tempo 30 e aos 60 minutos, a eserina foi utilizada como padrão para comparar a atividade inibidora. O mesmo processo foi realizado para o teste da enzima butilcolinesterase (BChE).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Análise das fases orgânicas por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM)

A cromatografia gasosa (CG) é um método rápido, simples, relativamente barato e reprodutível para analisar vários analitos em diferentes matrizes, sua excelente resolução permite a análise de muitas substâncias de uma mesma amostra. Este método requer compostos voláteis e termicamente estáveis; devido à polaridade, muitas substâncias de interesse são incapazes de serem determinadas por CG, sendo isto uma desvantagem no estudo de componentes fixos em espécies vegetais (FARAJZADEH; NOURI; KHORRAM, 2014). No entanto, a derivatização é utilizada para superar essa limitação. Para gerar um derivado com as características adequadas para a análise por CG, às substâncias que contêm grupos funcionais fortemente polares são transformadas através de diversos métodos, neste caso, foi implementada a reação de sililação (**Figura 11**).

Figura 11- Reação de sililação



Fonte: Adaptado de (ORATA, 2012).

As substâncias foram identificadas a partir do íon molecular e as fragmentações observadas dos espectros de massas e comparando com os dados da livreria NIST 08, foram consideradas aquelas que apresentaram 90% de similaridade e através do percentual relativo à área de cada amostra.

Estudos prévios do extrato hexânico dos frutos de *S. terebinthifolius* (SALEM et al., 2018), já reportaram o teor de ácidos graxos, nele identificou-se o ácido oleico como

substância maioritária. Neste caso, o total de substâncias identificadas para o extrato foi de 92,07% (10 substâncias) (**Tabela 15**) e os picos que mostraram predominância foram entre os tempos de retenção de 36-40 minutos. Para as substâncias identificadas encontraram-se ácidos graxos (81,12%) e terpenoides (6,99%), sendo o ácido linoleico o maior constituinte (41,04%); o cromatograma obtidos é mostrado na **Figura 12**.

Figura 12- Cromatograma de íons totais do extrato hexânico dos frutos de *Schinus terebinthifolius*.

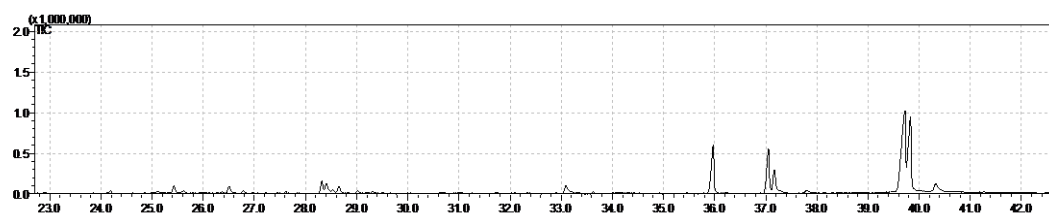


Tabela 15 - Substâncias identificadas (% área relativa) no extrato hexânico dos frutos de *Schinus terebinthifolius*.

tR (min)	Identificação	M ⁺	Fórmula	% área
22,197	cadineno	204	C ₁₅ H ₂₄	1,30
25,421	β-eudesmol	294	C ₁₈ H ₃₄ OSi	4,15
28,652	linalool	242	C ₁₃ H ₂₆ O ₂ Si	1,54
33,093	ácido hexadecanóico (ácido palmítico)	328	C ₁₉ H ₄₀ O ₂ Si	13,74
37,054	ácido (9Z,12Z)-octadeca-9,12-dienóico (ácido linoleico)	352	C ₂₁ H ₄₀ O ₂ Si	41,04
37,168	ácido 11-octadecenóico (ácido ascléptico)	354	C ₂₁ H ₄₂ O ₂ Si	5,06
39,830	ácido <i>trans</i> -9-octadecenóico (ácido elaídico)	354	C ₂₁ H ₄₂ O ₂ Si	21,28
40,326	Ácido octadecanóico (ácido esteárico)	356	C ₂₁ H ₄₄ O ₂ Si	1,90
60,482	β-sitosterol	486	C ₃₂ H ₅₈ OSi	1,08
61,919	5-α-lanosta-8,24-dien-3-ona (lanosterona)	498	C ₃₃ H ₅₈ OSi	0,98
Total identificados (% área relativa)				92,07
Não identificados (% área relativa)				7,93

O total de substâncias identificadas na fração **F1HEXST** foi de 22 estruturas (85,08%), os grupos maioritários constituíram ácidos graxos (58,32%) e terpenoides (25,49%), entre eles: 13,24% monoterpénoides, 12,32% sesquiterpénoides (**Tabela 16**). Na

Figura 13 é representado o cromatograma de íons totais demonstrando a complexidade da composição química da fração analisada.

Figura 13- Cromatograma de íons totais de F1HEXST.

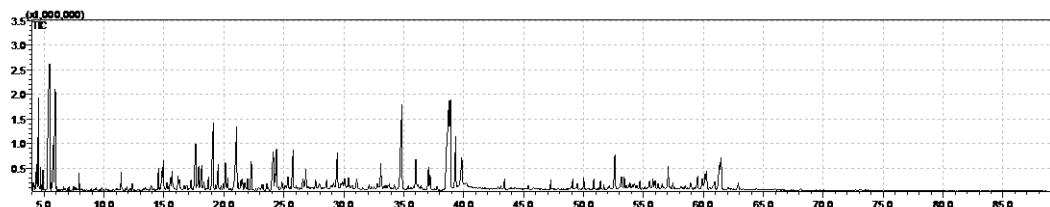


Tabela 16 - Substâncias identificadas (% área relativa) de F1HEXST.

tR (min)	Identificação	M ⁺	Fórmula	% área
4,350	3,7,7-Trimetil-1,3,5-cicloheptatrieno	134	C ₁₀ H ₁₄	5,03
4,530	β-Pinene	136	C ₁₀ H ₁₆	1,89
5,455	3-careno	136	C ₁₀ H ₁₆	0,45
5,745	p-cimeno	134	C ₁₀ H ₁₄	1,16
5,930	limoneno	136	C ₁₀ H ₁₆	2,37
15,535	verbenona	150	C ₁₀ H ₁₄ O	1,66
16,170	α-Felandreno	136	C ₁₀ H ₁₆	0,68
17,640	α-Copaeno	204	C ₁₅ H ₂₄	2,01
18,145	β-Elemeno	204	C ₁₅ H ₂₄	0,52
18,710	α-Gurjuneno	204	C ₁₅ H ₂₄	1,37
19,120	cariofileno	204	C ₁₅ H ₂₄	1,11
19,520	α-bergamoteno	204	C ₁₅ H ₂₄	1,27
20,125	α-humuleno	204	C ₁₅ H ₂₄	2,05
21,070	germacreno D	204	C ₁₅ H ₂₄	1,24
21,555	α-muuroleno	204	C ₁₅ H ₂₄	0,92
22,285	δ-cadineno	204	C ₁₅ H ₂₄	1,83
33,095	ácido hexadecanóico (ácido palmítico)	256	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	23,25
37,070	ácido 9,12- octadecadienóico (ácido linoleico)	280	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	16,05
39,360	ácido heptadecanoico	270	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	13,19

39,840	Ácido (Z)-9-octadecenóico (ácido oleico)	282	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	2,39
40,260	ácido octadecanóico (ácido esteárico)	284	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	3,44
60,275	β-amirona	424	C ₃₀ H ₄₈ O	1,20
Total identificados (% área relativa)				85,08
Não identificados (% área relativa)				14,92

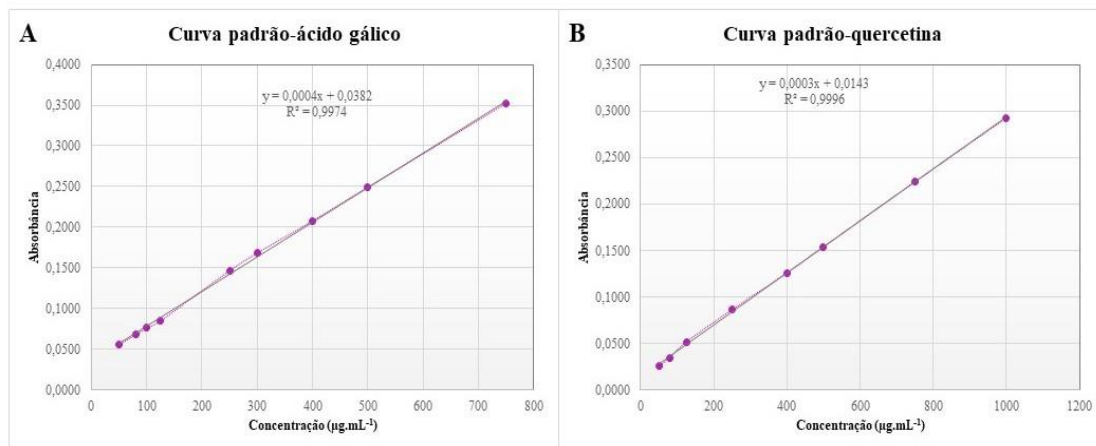
3.2. Quantificação de fenóis e flavonoides totais

O teor de fenólicos e flavonoides totais foi determinado por interpolação da absorbância das amostras comparada a uma curva de calibração feita com ácido gálico e quercetina, respectivamente (**Figura 14**). Nas concentrações de 50 a 1000 µg.mL⁻¹ e expressos como µg equivalentes de ácido gálico por mg de amostra (µgEAG/mg) e µg equivalentes de quercetina por mg de amostra (µgQE/mg).

O extrato metanólico (E.MeOHST) destacou-se com relação às demais por apresentar altos valores de fenóis totais (44,66±0,008 µgAG/mg) e E.CHCl₃ST no seu teor de flavonoides totais (79,46±0,002 µgQE/mg) (**Tabela 17**). Na literatura existem diversos estudos sobre o teor de fenóis e flavonoides em frutos da espécie. De lima glória et al. (2017) determinaram aproximadamente 650 mg EAG/g para uma fração obtida do extrato metanólico que foi preparada por maceração, avaliaram o teor de flavonoides 140 mg ER/g da mesma fração. Ennigrou et al. (2017) determinaram aproximadamente 270 mg EAG/g de extrato para o extrato metanólico obtido por extração assistida por ultrassom e maceração e no teor de flavonoides 3 mg QE/g.

Diferenças entre os valores obtidos neste estudo e anteriores relatos podem ser devidos aos muitos fatores que modificam a composição dos frutos, como origem, condições climáticas, época de colheita e maturação das amostras. Procedimentos de extração, bem como os solventes e as condições de armazenamento também podem influenciar.

Figura 14– Curva padrão para quantificação de teor de fenóis e flavonoides totais: **A.** Ácido gálico; **B.** Quercetina.



Fonte: Produção do próprio autor.

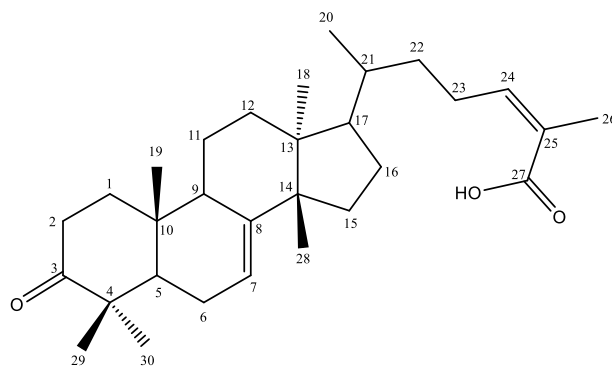
Tabela 17 - Teor de fenóis e flavonoides totais de E.MeOHST, E.CHCl₃ST e E.AcOEtST, em equivalentes µg de ácido gálico (µgEAG/mg) e quercetina (µgQE/mg) sobre mg de extrato.

Amostra	Teor	
	Fenóis (µgEAG/mg) ±DE	Flavonoides (µgQE/mg) ±DE
E.MeOHST	44,66±0,008	56,15±0,0001
E.CHCl ₃ ST	8,63±0,003	79,46±0,002
E.AcOEtST	32,93±0,005	20,45±0,004

3.3. Substâncias isoladas de *Schinus terebinthifolius* Raddi

3.3.1. Identificação de ST1, ST2 e ST1B

Figura 15- Estrutura para a substância ST1.



A substância **ST1** foi isolada do extrato hexânico (fração F3HEXST, conforme item 2.6.1.), apresentou-se como um sólido branco com PF 178,6 °C, solúvel em DCM; quando analisada por CCD e revelada com o reagente de Lieberman-Burchard apresentou uma coloração rósea indicativo de triterpenoide ou esteroide.

O espectro de RMN de ^1H (**Figura 16**) mostrou a presença de dois hidrogênios ligados a carbono sp^2 , o hidrogênio na posição 24 exibiu um tripleto com deslocamento químico de δ 6,08, indicativo de hidrogênio olefínico vizinho a grupo metilênico. O H-7, outro hidrogênio metilênico, apresentou-se como um singleto largo em δ 5,30. Além desses sinais, entre δ 0,81 e δ 1,92 foi possível identificar os grupos metílicos, característicos do esqueleto triterpênico. Em relação ao espectro de RMN de ^{13}C (**Figura 17**), o sinal em δ 217,0 corresponde ao grupo carbonila na posição 3 é indicativo da presença de uma cetona em anel ciclo-hexânico, o deslocamento químico em δ 172,8 referente ao carbono acila do grupo ácido carboxílico (C-27). Carbonos olefínicos mostraram sinais em δ 117,9 (C-7); δ 147,2 (C-24); δ 146,0 (C-8); δ 125,8 (C-25); esses dois últimos, não hidrogenados. Pelos dados obtidos e por comparação com a literatura (MORAIS et al., 2014), foi possível

identificar a substância **ST1** como ácido (*Z*)-masticadienóico (**Figura 15**), em prévios estudos já identificado nos frutos da espécie *S. terebinthifolius* através de métodos tais como Cromatografia Gás-Líquido (CLG) (LLOYD et al., 1977); Cristalografia de Raios X (JAIN et al., 1995) e isolado por Cromatografia em Contracorrente (CCC) (VIEIRA et al., 2015). Os dados obtidos nos espectros de RMN, assim como a comparação com os valores reportados na literatura, são apresentados na **Tabela 18** e estão de acordo com a estrutura estabelecida. Os espectros de RMN bidimensionais corroboram com os dados apresentados, pode-se destacar que o HSQC (**Figura 18**) permitiu correlacionar os carbonos com os hidrogênios diretamente ligados aos mesmos, como por exemplo a correlação do tripleto δ 6,08 com o carbono em δ 147,2 e o singlete largo δ 5,31 com o carbono δ 117,9. O espectro HMBC (**Figura 19**) revelou correlações de longo alcance do sinal de próton de metil (δ 1,05; H-19) com C-1, C-5 e C-10, e o sinal de carbono quaternário (δ 33,7; C-9) mostrou picos cruzados com H-6, H-11, H-12. Além disso, o sinal do próton em δ 5,31 (H-7) exibiu picos cruzados com o sinal de C-5.

Tabela 18 – Dados de RMN de ^1H e ^{13}C da substância **ST1** e do ácido (*Z*)-masticadienóico.

Posição	ST1		Ácido (<i>Z</i>)-masticadienóico*	
	$\delta^1\text{H}$ (multiplicidade; J/Hz)	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$ (multiplicidade; J/Hz)	$\delta^{13}\text{C}$
1	1,40 (m)	38,5	1,41 (m)	38,5
2	2,75 (td; 14,5 e 5,5)	35,0	2,77 (td; 15,1 e 6,0)	35,0
3	-	217,0	-	217,1
4	-	47,9	-	47,9
5	2,25 (m)	48,5	2,27 (m)	48,6
6	2,09 (dt; 7,3 e 3,3)	24,4	2,09 (m)	24,5
7	5,31 (sl)	117,9	5,30 (t; 3,0)	117,8
8	-	146,0	-	146,1
9	1,81 (m)	33,7	1,90 (m)	38,5
10	-	35,6	-	35,7
11	0,90 (m)	18,3	0,89 (m)	18,2
12	1,50 (m)	33,8	1,50 (m)	34,1
13	-	43,5	-	43,5
14	-	52,3	-	51,2

15	1,52 (m)	34,9	1,52 (m)	35,7
16	1,97 (m)	28,2	1,97 (m)	28,2
17	1,47 (m)	52,9	1,47 (m)	52,9
18	0,81 (s)	18,3	0,87 (s)	18,3
19	1,05 (s)	12,8	0,77 (s)	13,0
20	1,56 (m)	36,1	1,54 (m)	36,1
21	1,28 (m; 13,8; 7,2 e 3,7)	33,5	0,88 (d; 6,0)	18,0
22	1,57 (m)	33,8	1,57 (m)	33,8
23	2,52 (m)	26,9	2,56 (m)	26,9
24	6,08 (t; 6,0)	147,2	6,02 (t; 6,0)	146,1
25	-	125,8	-	126,5
26	1,92 (s)	20,6	1,90 (s)	20,6
27	-	172,8	-	173,4
28	1,12 (s)	19,64	1,12 (s)	27,4
29	1,01 (s)	24,63	1,00 (s)	27,3
30	1,01 (s)	25,60	1,05 (s)	25,4

*(MORAIS et al., 2014)

Figura 16– Espectro de RMN de ^1H da substância **ST1** (500 MHz, CDCl_3 , δ/ppm).

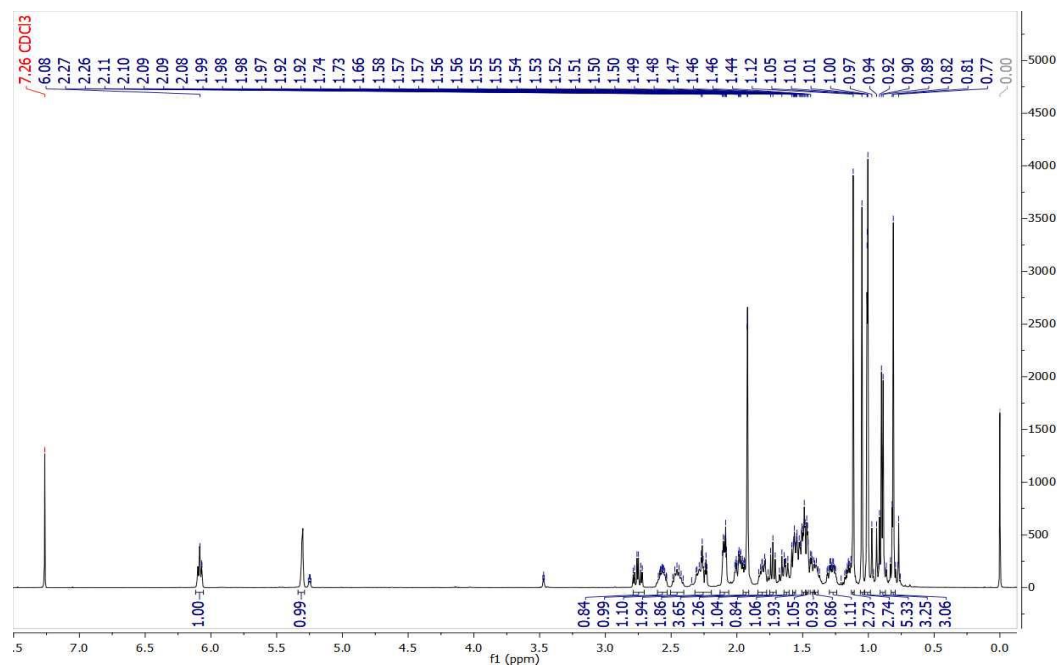


Figura 17- Espectro de RMN de ^{13}C da substância ST1 (125 MHz, CDCl_3 , δ/ppm).

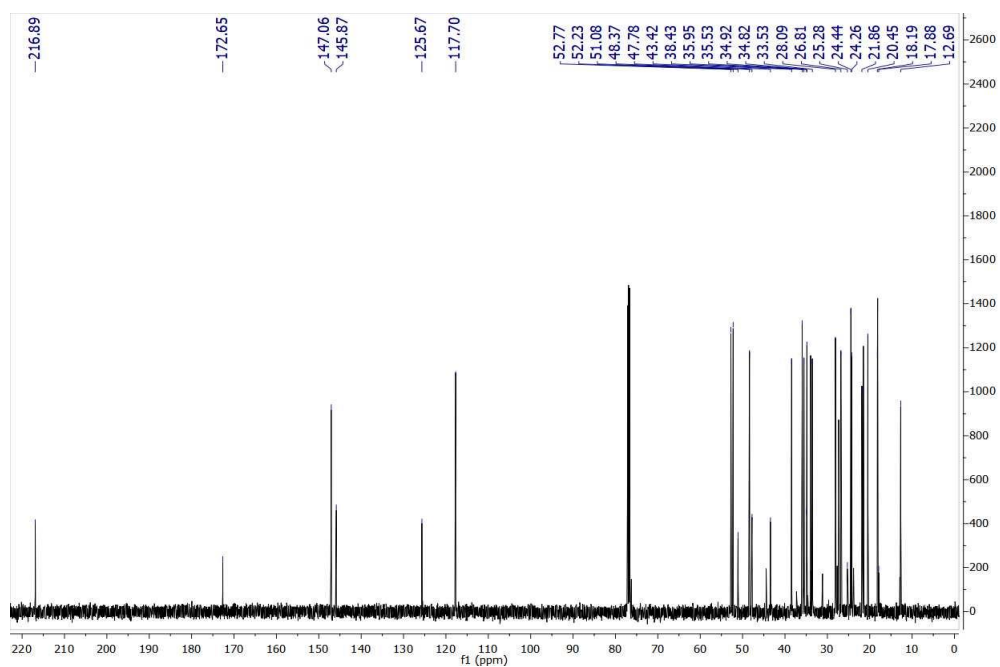


Figura 18- Espectro bidimensional de HSQC da substância ST1 (125 e 500 MHz, CDCl_3 , δ/ppm).

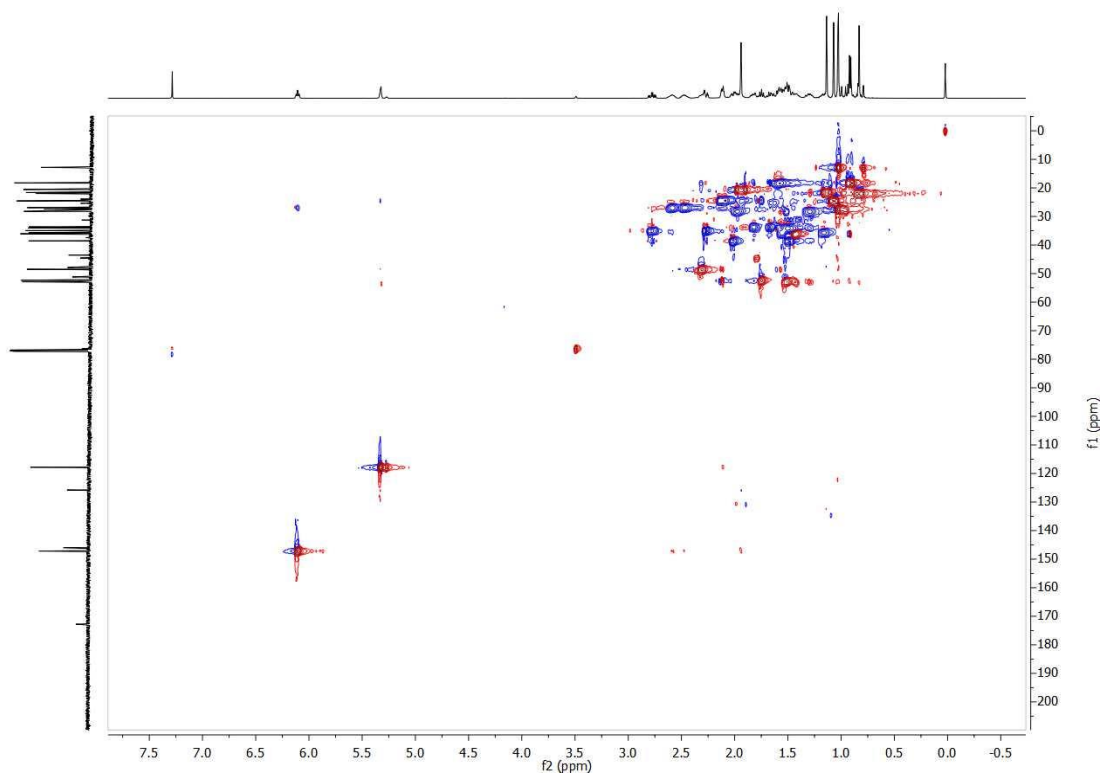
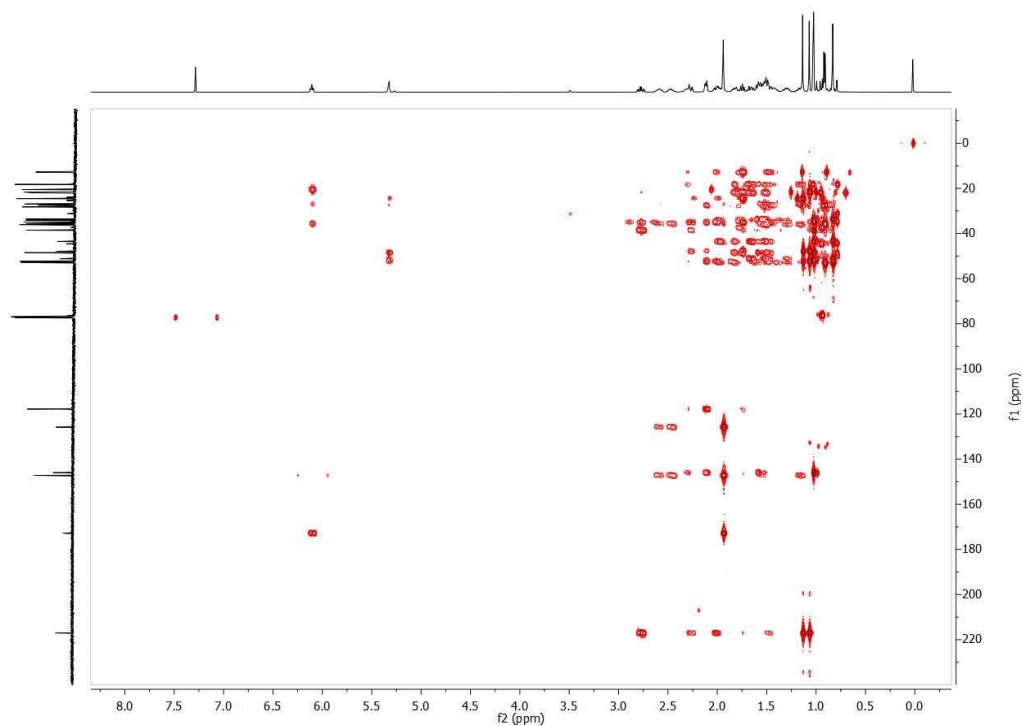


Figura 19- Espectro bidimensional de HMBC da substância **ST1** (125 e 500 MHz, CDCl₃, δ/ppm).



Na caracterização da substância **ST1** pela análise no modo negativo HPLC-ESI-HRMS, obteve-se o íon molecular m/z 453,3370 (calculado 453,3374; erro -0,8 ppm) e indicando a fórmula molecular C₃₀H₄₅O₃ [M-H], por conseguinte, corrobora que a substância referida corresponde ao ácido (Z)-masticadienónico. O espectro está representado na **Figura 20**.

Figura 20– Espectro de HPLC-ESI-HRMS em modo negativo de **ST1**.

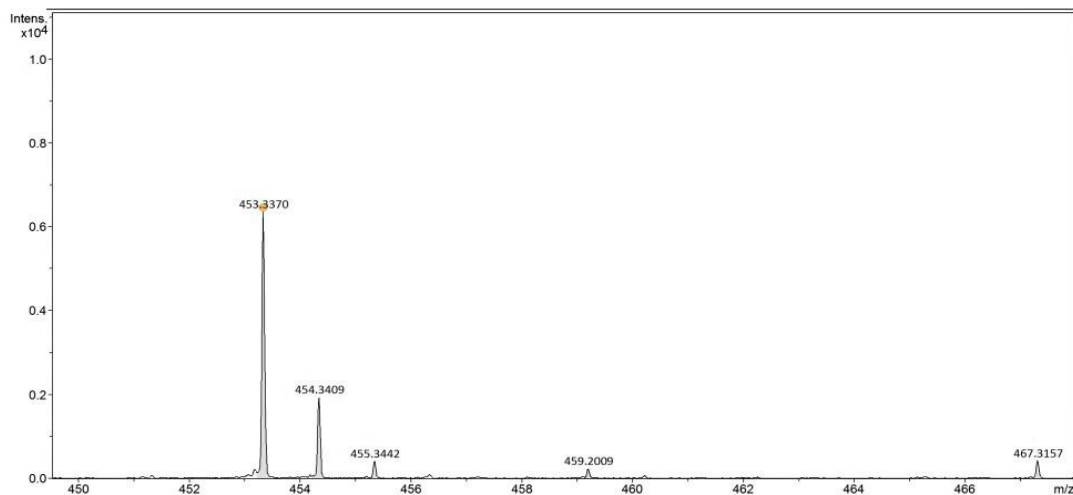
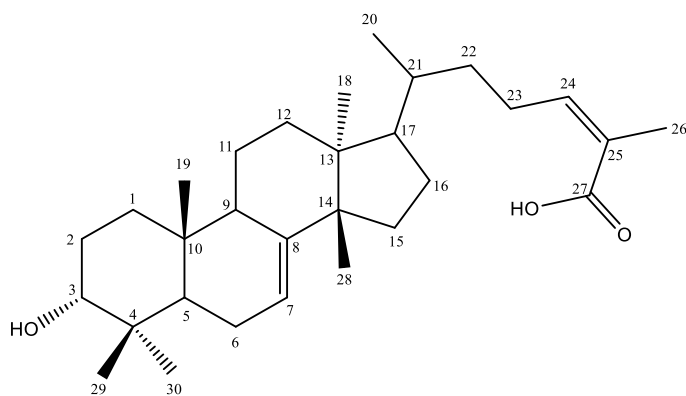


Figura 21- Estrutura para a substância **ST2**.



A substância **ST2** foi isolada da fração **F4CSF6**, a partir da fase de clorofórmio (conforme item 2.6.2.1.), apresentou-se como um sólido branco com PF de 143,4 °C, solúvel em DCM; na análise por CCD com o reagente de Lieberman-Burchard apresentou uma coloração rósea indicativo de triterpenoide ou esteroide, também.

O espectro de RMN de ^1H (**Figura 22**) mostrou vários sinais entre δ 0,77 e δ 2,05 correspondendo aos grupos metílicos, um tripleto em δ 6,08 e singlete largo em δ 5,25 sugerindo hidrogênios olefínicos nas posições H-24 e H-7, respectivamente. Comparando com os dados do espectro da substância **ST1**, percebeu-se a presença de um novo sinal em δ

3,45 no espectro de **ST2**, relativo ao H-3. Já para o espectro de RMN de ^{13}C (**Figura 23**) o sinal referente aos carbonos da ligação dupla exibiram em Δ^{24} δ 147,0 (C-24) e δ 125,8 (C-25), em Δ^7 δ 117,9 (C-7) e δ 146,0 (C-8); o deslocamento químico em δ 173,1 atribuiu-se à carboxila em C-27. Pelos valores do espectro HSQC (**Figura 24**) foi possível atribuir o pico em δ 76,3 referente ao C-3, além disso, esse sinal permitiu determinar a hidroxila na posição alfa, pois em RMN de ^{13}C os valores para hidroxilas nessa posição são registrados entre δ 74 - δ 76 e na posição beta entre δ 78 - δ 80 (MAHATO; KUNDU, 1994). Também, a partir dos dados do espectro HSQC foram correlacionados os carbonos com os hidrogênios diretamente ligados aos mesmos. Já para o espectro HMBC (**Figura 25**) os carbonos nas posições 29 e 30 apresentaram sinais cruzados com o H-3, confirmando a estrutura estabelecida.

Desse modo, e por comparação com os dados de RMN de ^1H e ^{13}C reportados na literatura (MAKINO; MOTEGI; FUJIMOTO, 2004), corroborou-se a estrutura proposta (**Figura 21**) conhecida como ácido masticadienólico ou schinol, justamente por ser uma substância já identificada para espécies do gênero *Schinus* e também isolada anteriormente dos frutos da espécie referente (VIEIRA et al., 2015).

Tabela 19 - Dados de RMN de ^1H e ^{13}C da substância **ST2** e do ácido masticadienólico.

Posição	ST2		Ácido masticadienólico*	
	$\delta^1\text{H}$ (multiplicidade; J/Hz)	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$ (multiplicidade; J/Hz)	$\delta^{13}\text{C}$
1	1,48 (m)	36,3	1,45 (m)	31,9
2	2,04 (m)	35,0	1,98 (m)	26,6
3	3,45 (sl)	76,3	3,69 (sl)	73,5
4	-	37,4	-	37,9
5	2,33 (m)	48,7	2,22 (dd; 12,5 e 5,5)	44,9
6	2,44 (m)	24,9	1,98 (m)	24,3
7	5,25 (sl)	117,9	5,36	118,5
8	-	146,0	-	146,5
9	2,57 (m)	48,7	2,50 (dl; 12,5)	49,1
10	-	35,3	-	35,1
11	1,56 (m)	18,3	1,50 (m)	18,3
12	1,55 (m)	35,8	1,57 (m)	34,0

13	-	44,5	-	43,7
14	-	52,3	-	51,5
15	1,47 (m)	34,9	1,47 (m)	34,4
16	1,40 (m)	31,3	1,32 (m)	28,5
17	1,41 (m)	52,8	1,57 (m)	53,2
18	0,81 (s)	22,2	0,80 (s)	22,1
19	0,77 (s)	13,3	0,87 (s)	13,4
20	0,90 (d; 6,3)	18,4	0,97 (d; 5,8)	18,5
21	1,43 (m)	36,3	1,47 (m)	36,5
22	1,39 (m)	31,2	1,30 (m)	36,2
23	2,75 (m)	35,0	2,78 (m)	27,1
24	6,08 (t; 7,5 e 1,6)	147,0	6,06 (d; 7,3)	142,6
25	-	125,8	-	128,6
26	2,05 (s)	20,6	2,14 (s)	21,5
27	-	172,8	-	170,7
28	1,03 (m)	24,6	1,05 (s)	27,5
29	0,97 (s)	27,5	1,17 (s)	28,7
30	0,94 (s)	27,8	0,98 (s)	22,2

*(MAKINO; MOTEGI; FUJIMOTO, 2004)

Figura 22- Espectro de RMN de ^1H da substância ST2 (500 MHz, CDCl_3 , δ/ppm).

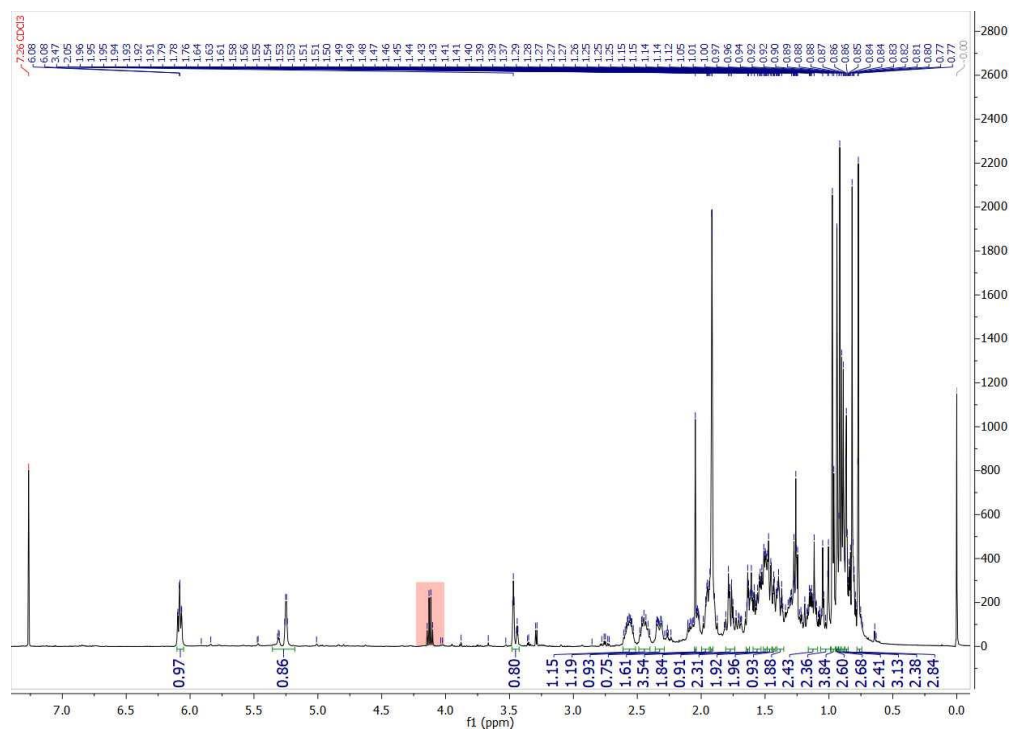


Figura 23- Espectro de RMN de ^{13}C da substância ST2 (125 MHz, CDCl_3 , δ/ppm).

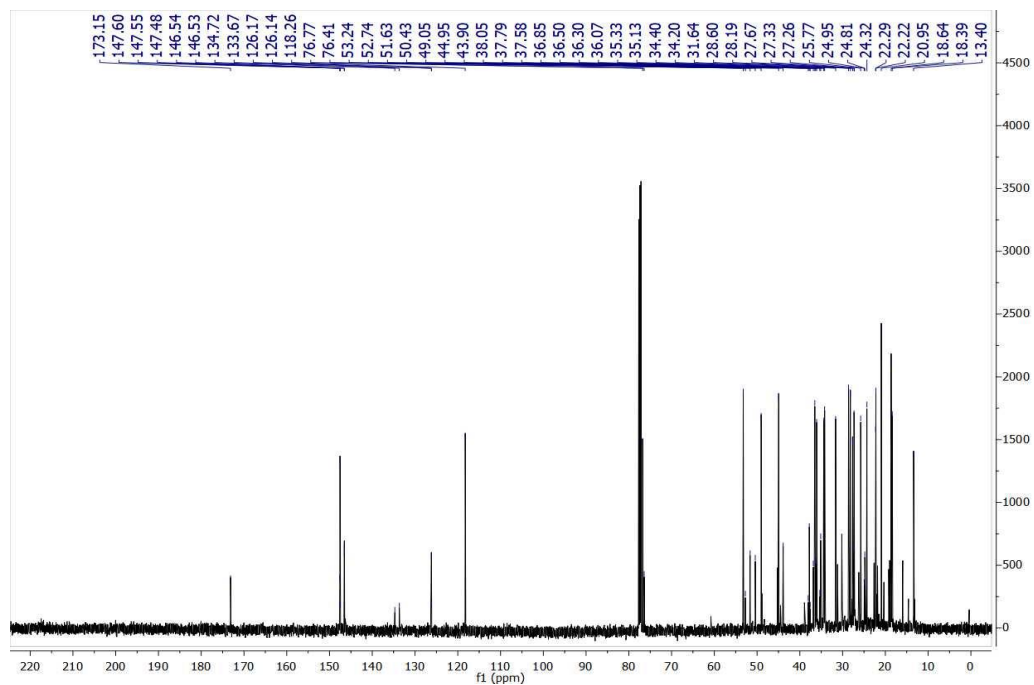


Figura 24- Espectro bidimensional de HSQC da substância **ST2** (125 e 500 MHz, CDCl_3 , δ/ppm).

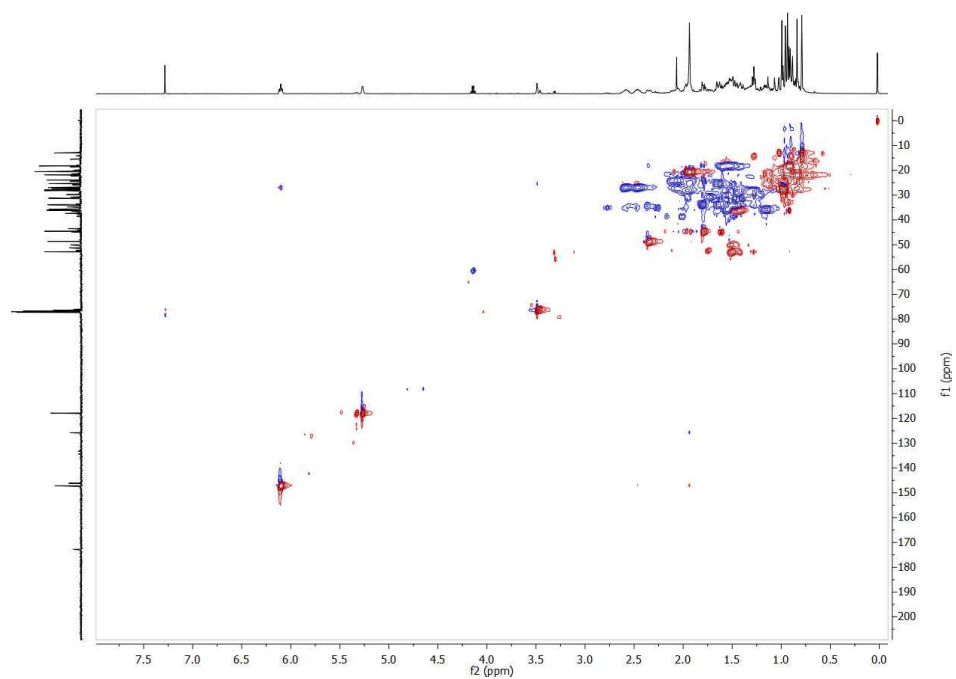
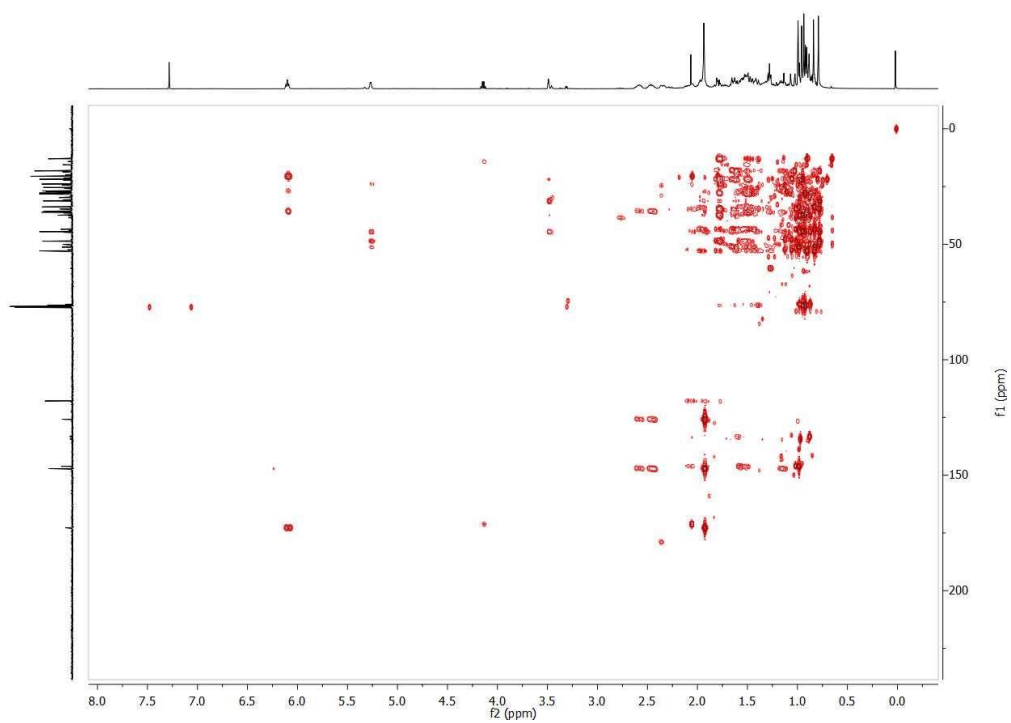
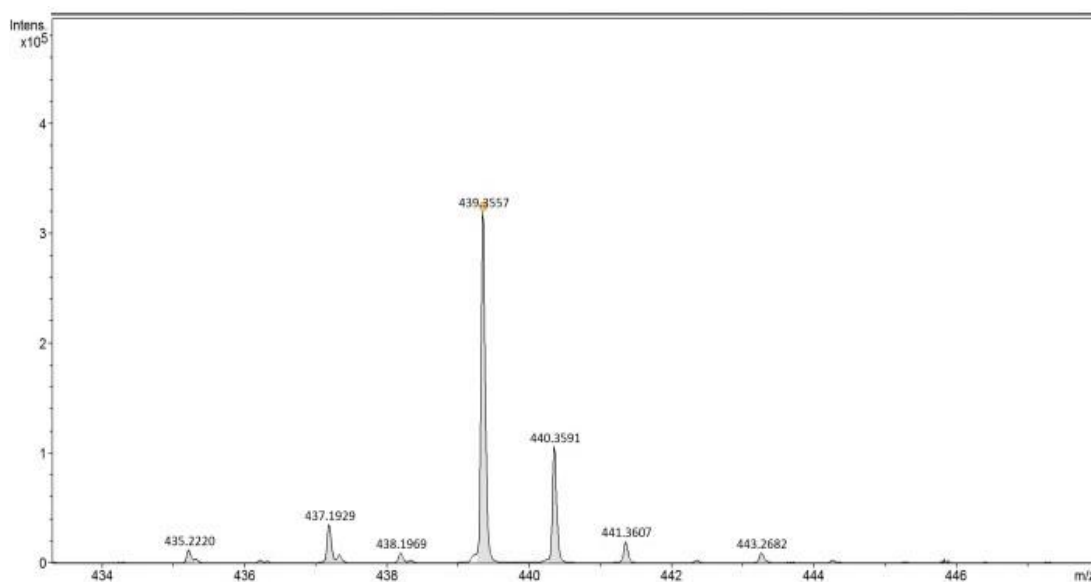


Figura 25- Espectro bidimensional de HMBC da substância **ST2** (125 e 500 MHz, CDCl_3 , δ/ppm).



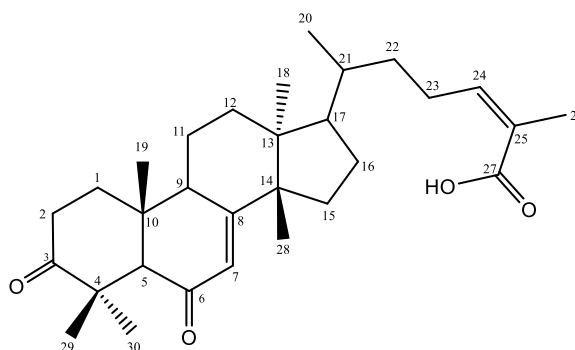
O espectro da substância **ST2** (**Figura 26**) foi registrado no modo positivo e apresentou íon molecular em m/z 439,3557 (calculado 439,3525; erro 7,2 ppm) e indicando a fórmula molecular $C_{30}H_{47}O_2$ [M-H₂O+H] correspondente com a estrutura do triterpenoide **ST2**.

Figura 26- Espectro de HPLC-ESI-HRMS em modo positivo de **ST2**.



3.3.1.1. Identificação do derivado **ST1B**

Figura 27 – Estrutura para o derivado **ST1B**



A substância semissintética **ST1B** obtida através da reação de oxidação alílica a partir do ácido (*Z*)-masticadienóico (**ST1**), apresentou-se como um pó branco amorfo com PF 241,3 °C, solúvel em CHCl₃. Foi caracterizada através da análise dos dados obtidos dos espectros de RMN de ¹H e ¹³C (**Figura 28 e 29**).

A comparação do espectro de RMN de ¹H do derivado **ST1B** (**Figura 28**) com os valores obtidos para a substância de partida (**ST1**), permitiu identificar os mesmos valores, no entanto, exibiu alguns sinais que foram registrados em uma região um pouco mais desprotegida devido à presença do grupo carbonílico em C-6. Por exemplo, o hidrogênio na posição 7 apresentou um singleto largo em δ 5,71, no caso do composto de partida esse sinal foi identificado em δ 5,31. Esse valor é característico de hidrogênios olefínicos em carbonilas alfa-beta insaturadas. Os hidrogênios H-29 e H-30 que foram registrados como singletos em δ 1,20 e δ 1,17, respectivamente, também foram registrados em descolamentos químicos maiores devido à proximidade da carbonila presente no C-6. Em relação ao espectro de RMN de ¹³C (**Figura 29**) foi identificado um novo sinal em δ 200,2 (C-6) referente ao grupo carbonila alfa-beta insaturado.

Tabela 20 - Dados de RMN de ¹H e ¹³C da substância semissintética **ST1B**.

Posição	ST1B	
	δ ¹ H (multiplicidade., J/Hz)	δ ¹³ C
1	1,40 (m)	38,5
2	2,75 (td, 14,5 e 5,5)	35,0
3	-	217,0
4	-	47,9
5	2,54 (m)	50,7
6	-	200,2
7	5,71 (sl)	126,5
8	-	146,0
9	1,81 (m)	33,7
10	-	35,6

11	0,90 (m)	18,3
12	1,50 (m)	33,8
13	-	43,5
14	-	52,3
15	1,52 (m)	34,9
16	1,97 (m)	28,2
17	1,47 (m)	52,9
18	0,81 (s)	18,3
19	1,05 (s)	12,8
20	1,56 (m)	36,1
21	1,28 (m, 13,8; 7,2 e 3,7)	33,5
22	1,57 (m)	33,8
23	2,52 (m)	26,9
24	6,08 (t; 6,0)	147,2
25	-	125,8
26	1,92 (s)	20,6
27	-	172,8
28	1,12 (s)	19,64
29	1,20 (s)	24,63
30	1,17 (s)	25,60

Figura 28 - Espectro de RMN de ^1H da substância **ST1B** (500 MHz, CDCl_3 , δ/ppm).

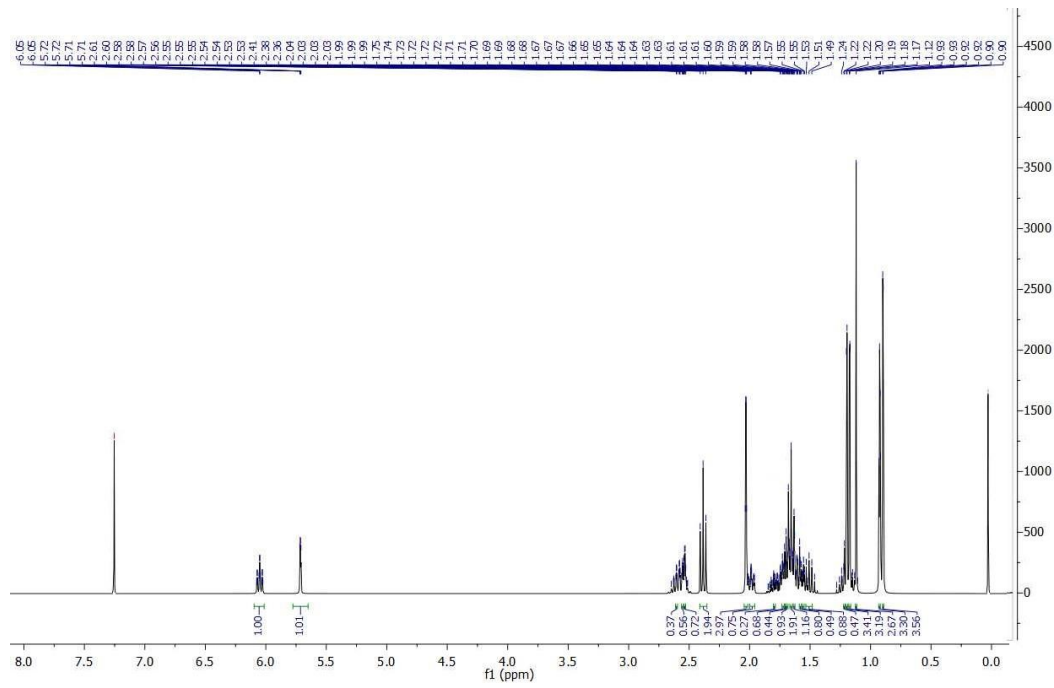
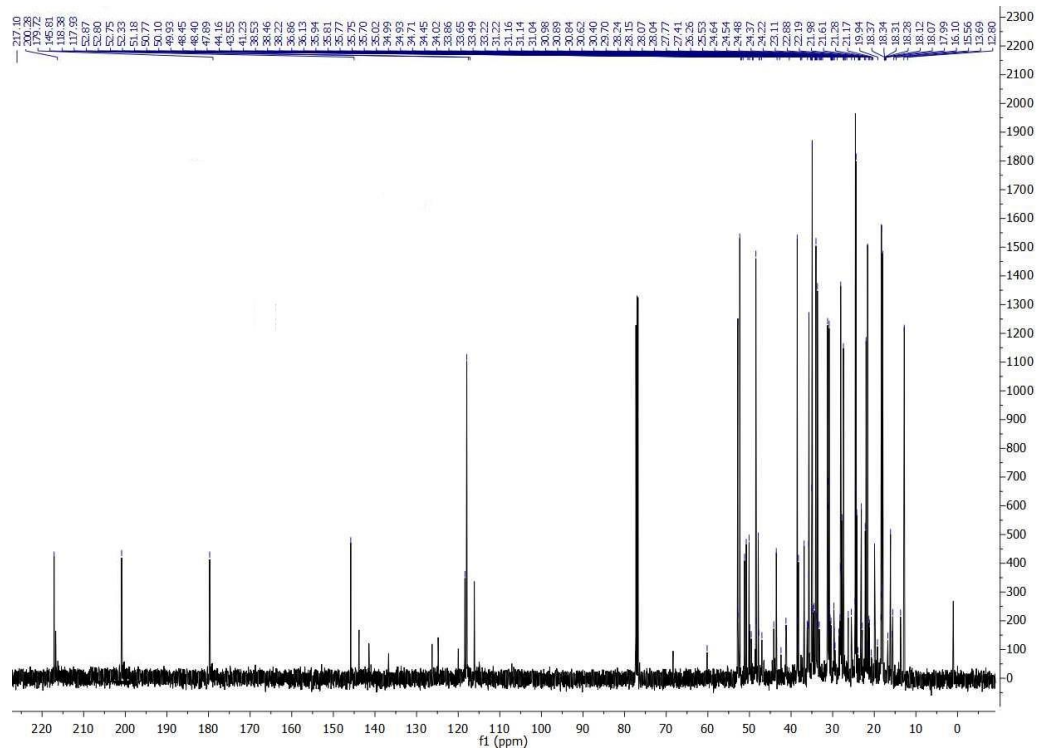
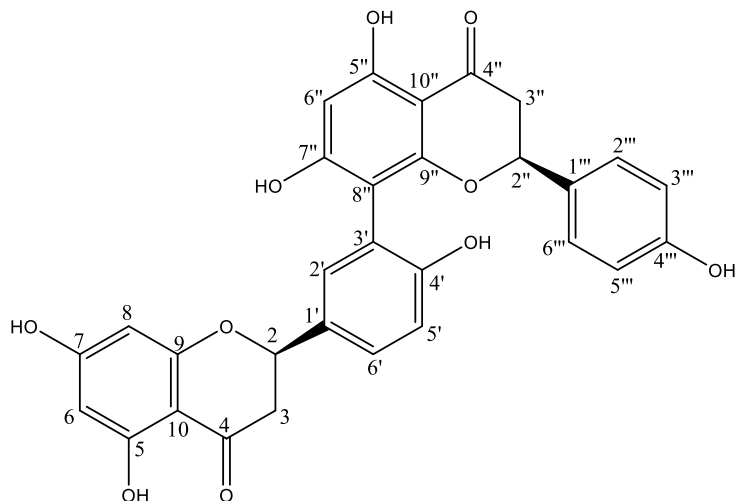


Figura 29 - Espectro de RMN de ^{13}C da substância **ST1B** (125 MHz, CDCl_3 , δ/ppm).



3.3.2. Identificação de ST3

Figura 30 - - Estrutura para a substância ST3.



A substância **ST3** foi isolada da subfração **F7CSF8**, proveniente da fase de clorofórmio (ítem 2.6.2.2.), apresentou-se como um pó amorfo amarelo, solúvel em metanol. No espectro de RMN de ^1H (**Figura 31**) mostrou um singlete em δ 7,54 correspondente ao hidrogênio aromático na posição 2' e dubleto em δ 7,14 para H-6'. No caso dos hidrogênios com ambientes químicos similares, apresentaram sinais de dubleto em δ 7,23 e δ 6,70 nas posições 2'''/6''' e 3'''/5''', respectivamente. Os multipletos em δ 3,01 e δ 2,67 e sugerem a presença de hidrogênios metilenos alifáticos (H-3 e H-3''); sinais de hidrogênios de oximetina em δ 5,30 e δ 5,22 (H-2 e H-2''). O espectro de RMN de ^{13}C (**Figura 32**) permitiu identificar um carbono aromático ressoando em uma posição de campo significativamente baixa em δ 95,6 devido ao efeito α -substituição, o espectro HSQC (**Figura 33**) correlacionou esse carbono com os hidrogênios nas posições 6/8/6''. Também, revelou ressonâncias típicas de anel heterocíclico em δ 78,9 e δ 79,2 (C-2/2''); oximetina); δ 42,5 e δ 43,0 (C-3/3''); metileno alifático) e δ 195,7 e δ 195,3 (C-4/4''); carbonila). As correlações observadas no espectro HMBC (**Figura 34**) permitiram atribuir os carbonos em δ 123,2 e δ 155,8 (C-3' e C-4'). Nhiem

et al. (2010), reportaram os dados de RMN de ^{13}C para o flavonoide naringenina, no caso o sinal do C-3' desse composto foi observado em δ 115,1; comparando os dados obtidos para **ST3**, indicam uma ligação C-C (C-3' e C-8''), pois neste estudo C-3' ressoou em uma região mais desprotegida mostrando uma mudança de aproximadamente δ 5 unidades, sugerindo a substituição nessa posição e que **ST3** trata-se de uma biflavanona que possui ligação interflavanona entre o anel A de uma unidade de flavanona e o anel B de outra unidade de flavanona (AGRAWAL, 1989). Na comparação dos deslocamentos químicos e das constantes de acoplamento com o único reporte encontrado na literatura da tetra-hidroamentoflavona feito por Selvam & Achak (2004) percebe-se que os valores são compatíveis entre si com os dados da substância **ST3**, no entanto, algumas diferenças são identificadas por causa do solvente utilizado no ensaio.

Tabela 21- Dados de RMN de ^1H e ^{13}C da substância **ST3** e tetra-hidroamentoflavona.

Posição	ST3		Tetra-hidroamentoflavona*	
	$\delta^1\text{H}$ (ppm) (multiplicidade., J/Hz)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	$\delta^1\text{H}$ (ppm) (multiplicidade., J/Hz)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
2	5,30 (m)	78,9	5,44 (m)	80,6
3	3,01 (m)	42,5	3,16 (m)	43,9
4	-	195,7	-	198,4
5	-	163,5	-	165,5
6	5,85 (d; 8,0)	95,6	5,88 (s)	97,0
7	-	164,0	-	168,3
8	5,85 (d; 8,0)	95,6	6,05 (s)	96,2
9	-	163,2	-	162,0
10	-	101,3	-	103,4
1'	-	129,0	-	132,5
2'	7,54 (s)	130,1	7,21 (m)	127,9
3'	-	123,2	-	121,4
4'	-	155,8	-	164,6
5'	6,88 (dd; 8,4 e 2,4)	117,5	6,85 (d; 8,19)	116,2
6'	7,14 (d; 8,5)	125,2	7,21 (m)	130,7

2''	5,22 (d; 13,0)	79,2	5,44 (m)	79,8
3''	2,67 (m)	43,0	2,77 (m)	43,4
4''	-	195,3	-	197,9
5''	-	163,5	-	164,9
6''	5,88 (s)	95,6	5,88 (s)	96,9
7''	-	169,5	-	165,9
8''	-	109,3	-	107,0
9''	-	160,4	-	158,6
10''	-	100,3	-	103,4
1'''	-	131,3	-	131,2
2'''	7,23 (d; 8,0)	127,3	7,21 (m)	128,7
3'''	6,70(d; 8,0)	114,9	6,71 (d; 8,04)	116,5
4'''	-	157,2	-	165,5
5'''	6,70(d; 8,0)	114,9	6,71 (d; 8,04)	116,2
6'''	7,23 (d; 8,0)	127,3	7,21 (m)	128,7

*(SELVAM; JACHAK, 2004).

Figura 31- Espectro de RMN de ^1H da substância **ST3** (500 MHz, CD_3OD , δ/ppm).

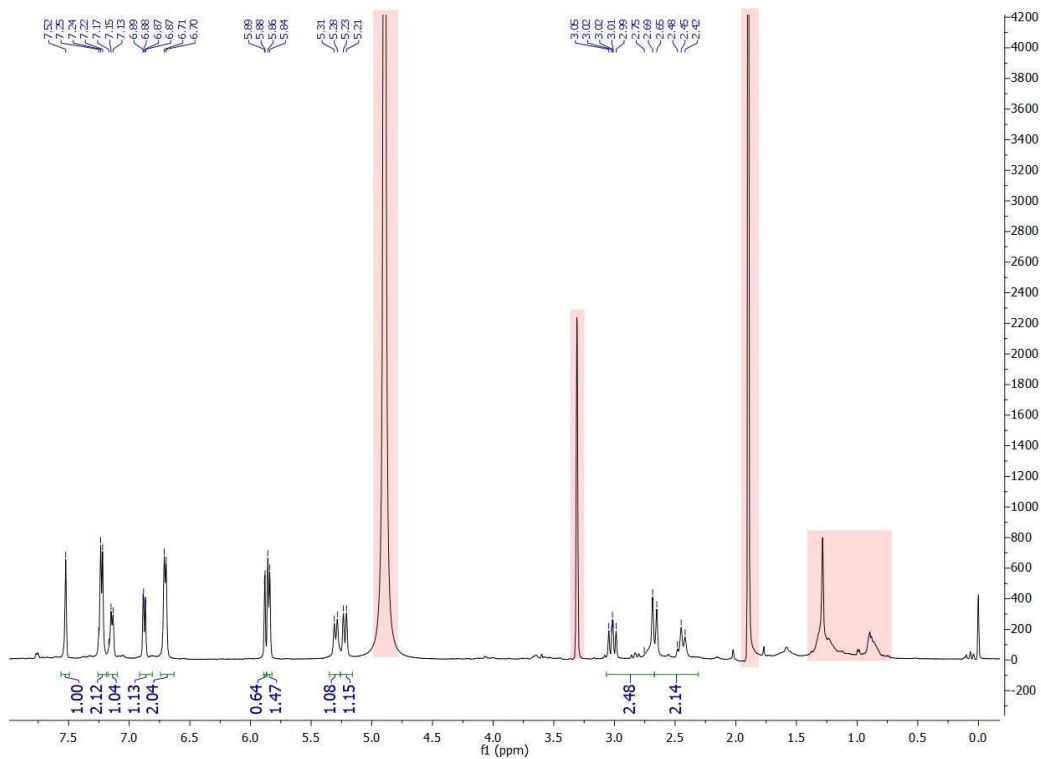


Figura 32- Espectro de RMN de ^{13}C da substância **ST3** (125 MHz, CD_3OD , δ/ppm).

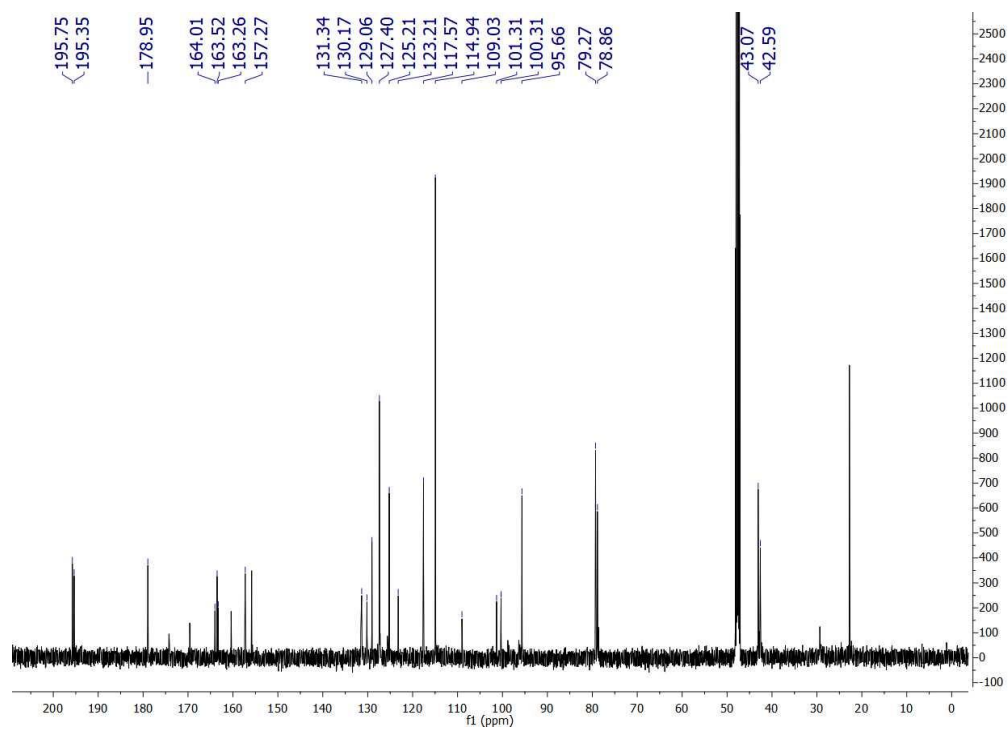


Figura 33- Espectro bidimensional de HSQC da substância **ST3** (125 e 500 MHz, CD_3OD , δ/ppm).

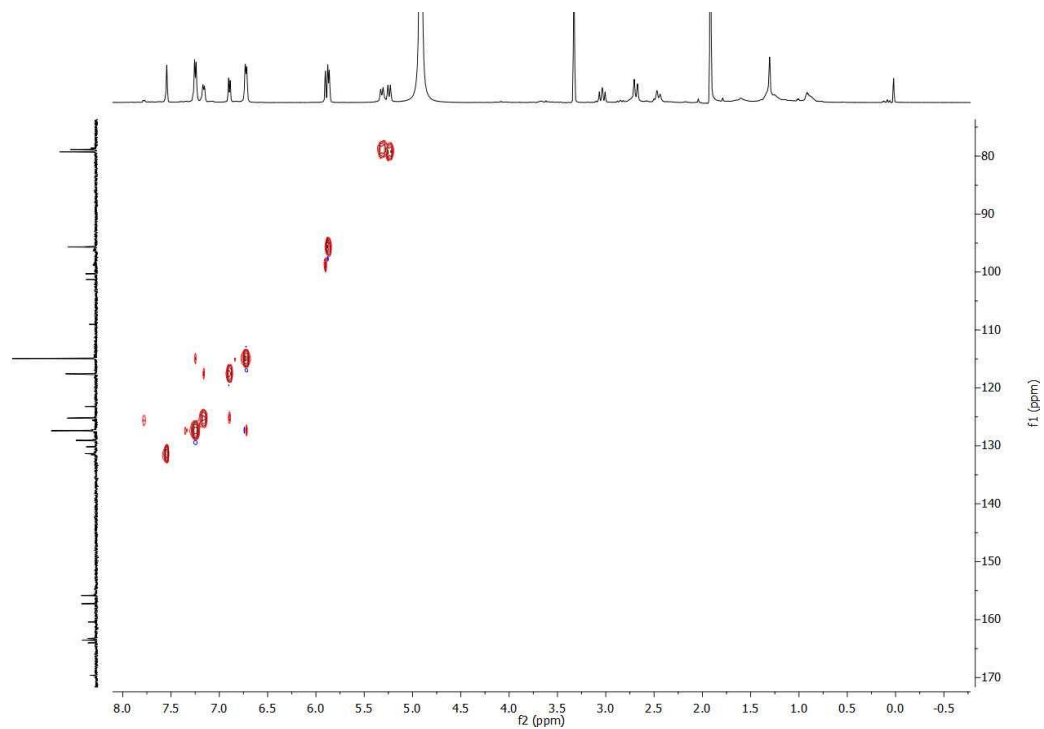
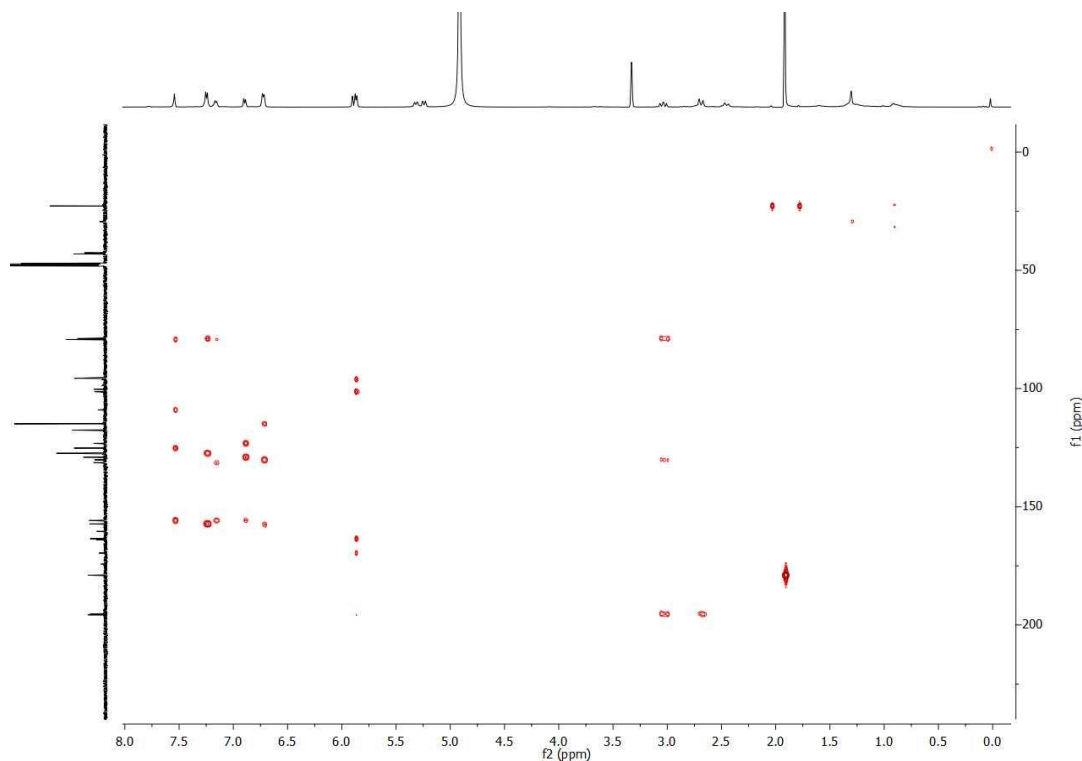
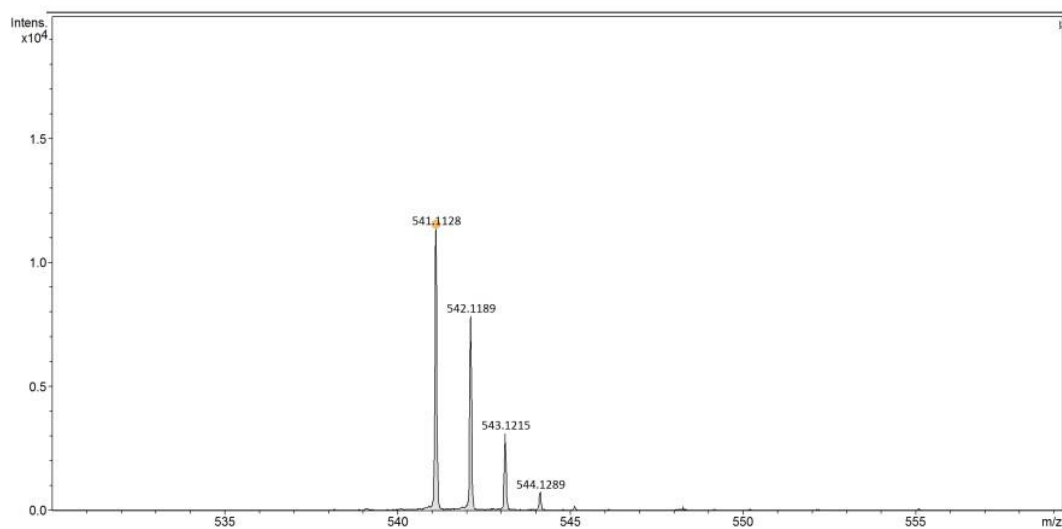


Figura 34- Espectro bidimensional de HMBC da substância **ST3** (125 e 300 MHz, CD₃OD, δ/ppm).



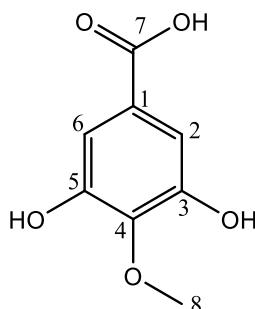
O espectro obtido pela análise no modo negativo HPLC-ESI-HRMS (**Figura 35**) da substância **ST3**, revelou o íon molecular m/z 541,1128 (calculado 541,1117; erro 2,0 ppm), sugerindo a fórmula molecular C₃₀H₂₁O₁₀ [M-H], correspondente para o biflavonoide tetra-hidroamentoflavona.

Figura 35 - Espectro de HPLC-ESI-HRMS em modo negativo de **ST3**.



3.3.3. Identificação da substância ST4

Figura 36- Estrutura para a substância ST4.



A substância **ST4** isolada da fase de acetato de etila (item 2.6.3.), apresentou-se como um pó amorfo marrom solúvel em MeOH.

O espectro de RMN de ^1H (**Figura 37**) exibiu um singlete na região aromática em δ 7,06 correspondentes para H-2 e H-6; já o deslocamento químico típico de hidrogênios de grupo metoxílico em δ 3,83 para H-8. No caso do espectro de RMN de ^{13}C (**Figura 38**), mostrou a presença de seis sinais, entre elas, δ 108,6 para os carbonos em C-2 e C-6; δ 145,1 para dois carbonos nas posições C-3 e C-5 que contêm as hidroxilas; carbonos não hidrogenados em δ 138,3 (C-4) e δ 120,0 (C-1) e δ 50,9 atribuiu-se para o carbono metoxílico (C-8). Comparando com dados reportados na literatura (JEON et al., 2005), a substância **ST4** corresponde à estrutura proposta (**Figura 36**), no caso ao ácido ácido 4-*O*-metilgálico. Os valores obtidos e a referente comparação são exibidos na **Tabela 22**.

Tabela 22 - Dados de RMN de ^1H e ^{13}C da substância **ST4** e o ácido 4-*O*-metilgálico.

Posição	ST5		Ácido 4- <i>O</i> -metilgálico*	
	$\delta^1\text{H}$ (ppm) (multiplicidade., <i>J</i> /Hz)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	$\delta^1\text{H}$ (ppm) (multiplicidade., <i>J</i> /Hz)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
1	-	120,0	-	119,3
2	7,06 (s)	108,6	6,94 (s)	108,5

3	-	145,1	-	145,6
4	-	138,3	-	138,4
5	-	145,1	-	145,6
6	7,06 (s)	108,6	6,94 (s)	108,5
7	-	167,6	-	166,3
8	3,83 (s)	50,9	3,74 (s)	51,6

*(JEON et al., 2005)

Figura 37- Espectro de RMN de ^1H da substância **ST4** (500 MHz, CD_3OD , δ/ppm).

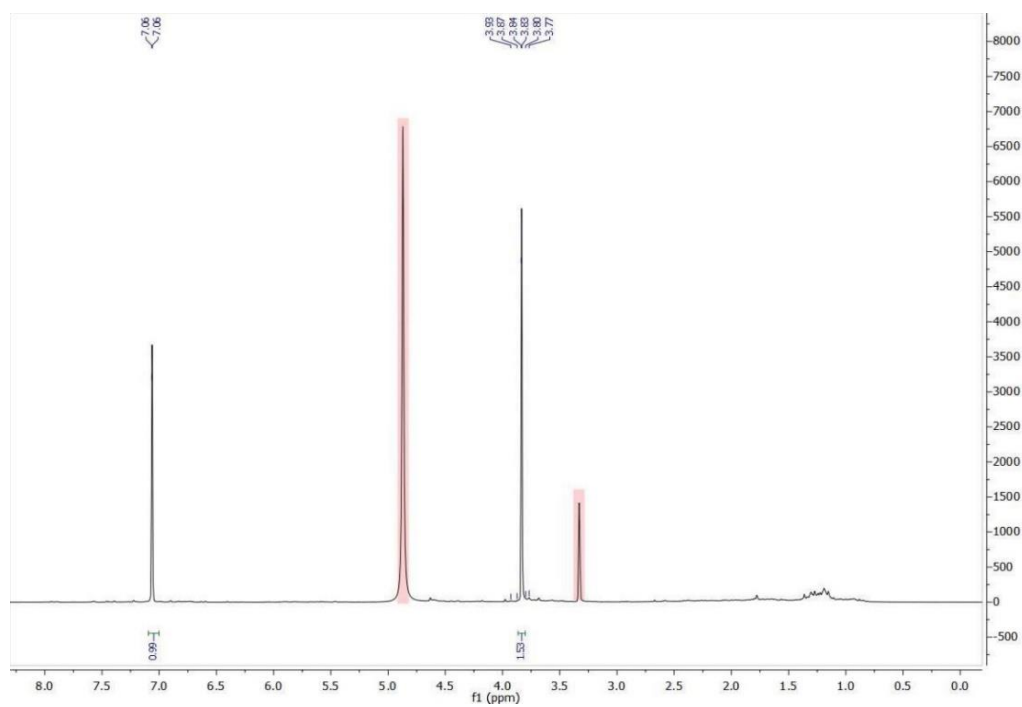
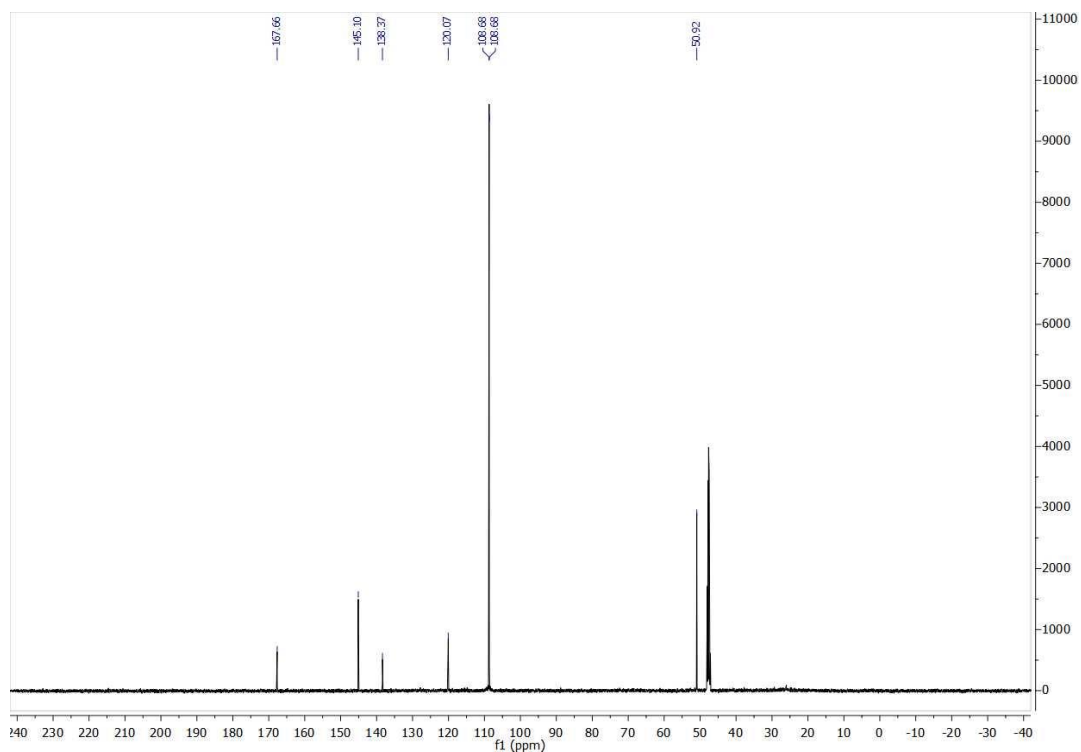
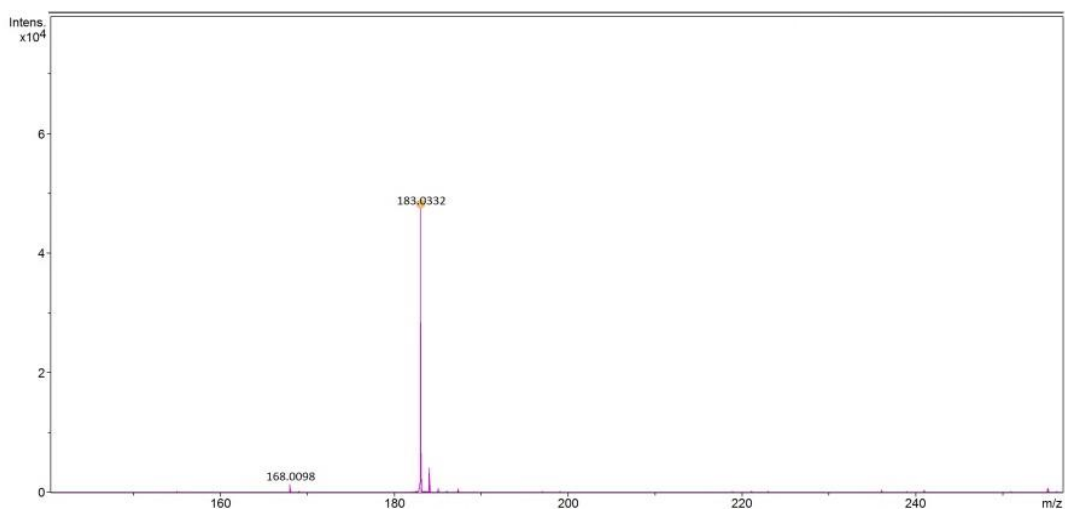


Figura 38- Espectro de RMN de ^{13}C da substância **ST4** (125 MHz, CDCl_3 , δ/ppm).



Na **Figura 39** apresenta-se o espectro obtido para a amostra **ST4**, nele foi detectado um íon molecular m/z 183,0332 (calculado 183,0323; erro 4,9 ppm) sugerindo uma substância com fórmula molecular $\text{C}_8\text{H}_7\text{O}_5$ [M-H], correspondente para o ácido 4-*O*-metilgálico.

Figura 39- Espectro de HPLC-ESI-HRMS em modo negativo de **ST4**.

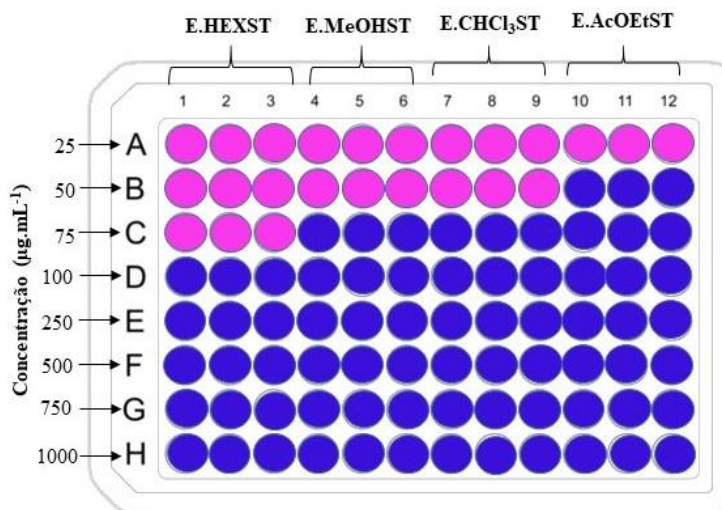


3.4. Testes de atividade biológica

3.4.1. Atividade antimicrobiana

A atividade antimicrobiana foi inicialmente avaliada para os extratos e fases orgânicas obtidas do extrato metanólico. A busca por substâncias ativas foi focada em aquelas que apresentavam a melhor concentração inibitória mínima (CIM). A quantificação da atividade *in vitro* foi determinada pela mudança de cor, após adição do revelador resazurina (como mencionado no item 2.7.1.) do crescimento ou não do micro-organismo, o poço contendo a menor concentração do agente inibidor de crescimento foi considerado como CIM. Na **Figura 40** é mostrado o modelo da placa do teste para os extratos e fases orgânicas.

Figura 40- Modelo de placa do bioensaio contra *S. aureus* dos extratos e fases orgânicas: E.HEXST; E.MeOHST; E.CHCl₃ST e E.AcOEtST em concentrações entre 25 – 1000 µg.mL⁻¹; rosa: presença do micro-organismo; azul: ausência do micro-organismo.



No bioensaio contra o micro-organismo *E. Coli*, revelou a melhor CIM para **E.CHCl₃ST** (50 µg.mL⁻¹) e das substâncias isoladas dessa fase orgânica, **ST3** mostrou inibição em 50 e 75 µg.mL⁻¹ CIM, respectivamente. Seguido do extrato metanólico (100 µg.mL⁻¹ CIM) e fase de AcOEt (125 µg.mL⁻¹ CIM).

Para *S. aureus* o melhor potencial antimicrobiano foi para **E.AcOEt** em 50 µg.mL⁻¹ CIM, das substâncias puras evidenciou-se para o triterpenoide **ST2** e o biflavonoide **ST3**

CIM em 25 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, além disso, foi possível identificar que o derivado **ST1B** teve um aprimoramento da biotividade contra o patógeno referido. Contra *P. aeruginosa*, **E.CHCl₃ST** (50 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) CIM teve o melhor efeito em relação aos extratos e fases orgânicas, e as substâncias **ST2** e **ST3** mostraram uma promissora atividade com 25 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ CIM.

Tabela 23 – Resultado do teste de antimicrobianos em CIM ($\mu\text{g.mL}^{-1}$) frente a *E. Coli*, *S. aureus* e *P. aeruginosa* para extratos, fases orgânicas e substâncias puras. Controle positivo: cloranfenicol (40 $\mu\text{g.mL}^{-1}$); controle negativo: metanol e água.

Amostra	CIM ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)		
	<i>E. Coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>
E.HEXST	500	100	125
E.MeOHST	100	75	100
E.CHCl ₃ ST	50	75	50
E.AcOEt	125	50	-
ST1	100	75	50
ST2	-	25	25
ST1B	-	50	50
ST3	50	25	25
ST4	750	100	-

Existem diversos estudos que já reportaram variedade de bioatividades para a espécie *S. terebinthifolius* (como mencionado no item 1.3.4.), principalmente para o óleo essencial. Salem et al., (2018) estudaram o OE, extrato de acetona e o extrato hexânico dos frutos da espécie, contra as bactérias reportadas neste estudo e encontraram uma promissora atividade do OE contra *S. aureus* e *P. aeruginosa* com valores de CIM 16 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ e 32 39 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, o extrato de acetona mostrou uma ampla atividade contra os agentes patógenos, com CIM entre 4-28 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, já o extrato hexânico mostrou pouca atividade contra as bactérias avaliadas, correspondente com este reporte, sendo o extrato com a menor bioatividade; também, o extrato metanólico dos frutos foi avaliado por Gomes et al. (2020) e ressaltaram a susceptibilidade de *S. aureus* em CIM entre 0,6-0,9 mg.mL^{-1} .

Para os derivados de tirucalano (**ST1** e **ST2**) não foram encontrados estudos na literatura da atividade antibacteriana, apenas estudos que reportaram a possível bioatividade da espécie *S. terebinthifolius* pela presença dessas substâncias identificadas em extratos (DA SILVA, Jessica H.S. et al., 2018); porém, neste estudo encontrou-se uma atividade promissora e que ainda pode ser explorada com diversidade de agentes patógenos. Já para o derivado semissintético **ST1B**, sem reportes na literatura, a presença do substituinte carbonila permitiu um moderado aprimoramento comparado com o composto de partida **ST1**, da atividade contra *S. aureus*, como mencionado acima.

Linden et al. (2020) estudaram o efeito estrutural de biflavonoides dos frutos de *S. terebinthifolius* na atividade antibacteriana, o extrato bruto preparado em mistura aquosa de metanol 70% e ácido fórmico em ultrassom, exibiu contra bactérias Gram-positivas 0,25 mg.mL⁻¹ CIM, também, foi avaliado o extrato enriquecido dos biflavonoides agatisflavona, amentoflavona, di-hidroamentoflavona e tetra-hidroamentoflavona, mostrando a susceptibilidade dos micro-organismos entre 0,5 e 1,0 mg.mL⁻¹ CIM; na relação estrutura-atividade analisaram a influência do anel C reduzido na posição I-2,3 e II-2,3 da tetra-hidroamentoflavona, pois apresentou alta atividade antibacteriana contra os agentes patogênicos Gram-positivos *B. subtilis* e *S. carnosus*, causando entre 0,063 e 0,125 mg.mL⁻¹ CIM. Na **Tabela 23** é mostrada a alta atividade da substância (**ST3**) identificada como tetra-hidroamentoflavona neste estudo, contra os três micro-organismos avaliados, correspondendo com os reportes na literatura.

Por outro lado, Abhishek et al. (2019) isolaram o ácido 4-*O*-metilgálico do extrato metanólico da espécie vegetal *Phyllanthus polyphyllus* L, e testaram contra diversidade de microbianos incluso os testados neste estudo, encontraram inibição em CIM > 0.125 mg.mL⁻¹; a substância **ST4**, atribuída ao composto referido, mostrou uma moderada bioatividade.

3.4.2. Avaliação da atividade inibidora da acetil e butilcolinesterase

Uma das estratégias mais aceitas no tratamento da DA é o uso de inibidores das ChEs, AChE encontrada nos neurônios e BChE na glia, exercem um papel na regulação da concentração de ACh no cérebro. A acetilcolinesterase está envolvida na degradação da ACh

e na elevação do nível de ACh pela inibição da AChE. Além disso, alguns reportes mostraram que não apenas a AChE, mas também a butirilcolinesterase está envolvida na hidrólise da acetilcolina, que pode substancialmente promover a DA (KUMAR et al., 2011; REIS et al., 2022; VINUTHA et al., 2007).

Espécies do género *Schinus* já têm sido reportadas com promissora atividade na inibição da AChE; Mattar et al. (2022) encontraram atividade anticolinesterásica do OE das folhas de *S. aroeira* e Murray et al., (2009) avaliaram o OE de *S. longifolia* encontrando uma inibição enzimática aproximadamente de 20,0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (CI_{50}). Para a espécie *S. terebinthifolius* não foram encontrados reportes sobre a avaliação inibidora da acetil e butirilcolinesterase.

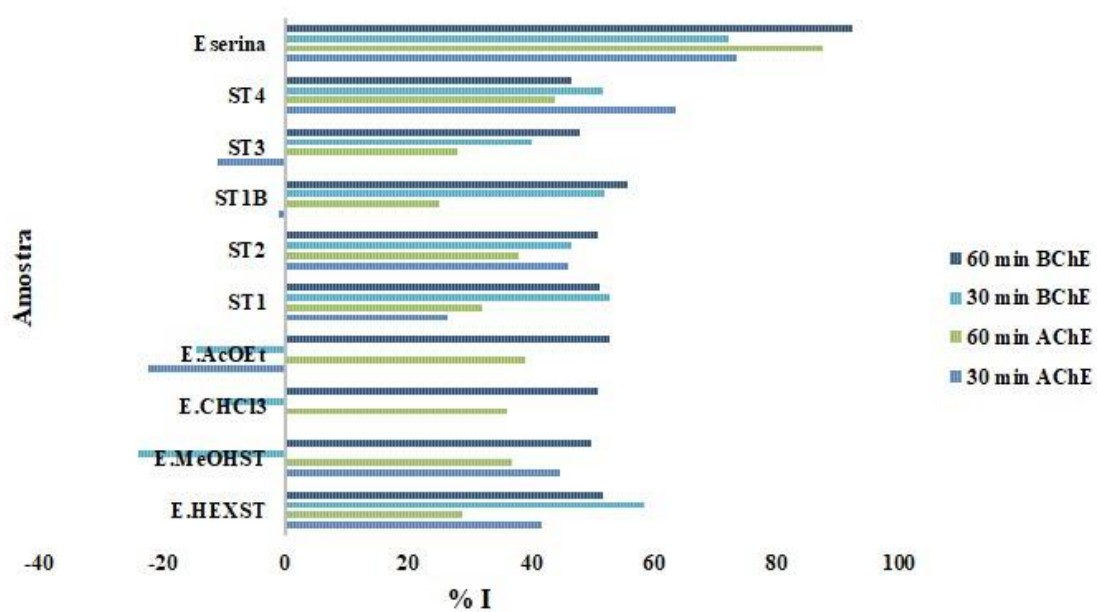
Na **Tabela 24** e **Figura 41** são apresentados os dados para a comparação do percentual de inibição (%I) encontrados nos extratos, fases orgânicas e substâncias puras. Percebe-se uma atividade moderada em comparação com o padrão. Porém, os valores sugeriram uma melhor atividade no tempo 60 min para o teste da enzima BChE.

Tabela 24 - Percentual de inibição da AChE (%I) e BChE (%I) obtido para os extratos, as fases orgânicas, substâncias puras e eserina (padrão) no tempo 30 min e 60 min.

Amostra	% I \pm DP*		% I \pm DP*	
	AChE		BChE	
	30 min	60 min	30 min	60 min
E.HEXST	41,72 \pm 0,02	28,76 \pm 0,007	58,57 \pm 0,01	51,89 \pm 0,002
E.MeOHST	44,64 \pm 0,01	36,82 \pm 0,03	-23,82 \pm 0,2	49,94 \pm 0,004
E.CHCl ₃	0,23 \pm 0,2	36,13 \pm 0,01	-10,12 \pm 0,06	50,97 \pm 0,01
E.AcOEt	-22,32 \pm 0,1	39,01 \pm 0,04	-14,38 \pm 0,1	52,81 \pm 0,01
ST1	26,58 \pm 0,08	32,10 \pm 0,02	52,93 \pm 0,02	51,32 \pm 0,007
ST2	46,14 \pm 0,04	37,97 \pm 0,02	46,60 \pm 0,02	50,97 \pm 0,004
ST1B	-1,02 \pm 0,1	25,04 \pm 0,08	51,98 \pm 0,18	55,70 \pm 0,22
ST3	-11,04 \pm 0,05	28,07 \pm 0,003	40,16 \pm 0,03	47,87 \pm 0,2
ST4	63,63 \pm 0,1	44,07 \pm 0,01	51,89 \pm 0,04	46,7 \pm 0,8
Eserina	73,56 \pm 0,7	87,67 \pm 0,02	72,07 \pm 0,1	92,26 \pm 0,4

*Os resultados são expressos como média \pm desvio padrão (n=3).

Figura 41 - Comparação dos valores de %I inibição da AChE e da BChE dos extratos, fases orgânicas, substâncias puras e do padrão em 30 e 60 min.



CONCLUSÕES

O presente trabalho descreve o estudo químico e bioativo dos extratos orgânicos, e das fases solúveis de clorofórmio e acetato de etila do extrato metanólico e substâncias puras dos frutos de *S. terebinthifolius*. Como resultado foi isolado e caracterizado dois triterpenoides de tipo tirucalano: ácido (*Z*)-masticadienólico (**ST1**) isolado do extrato de hexano, ácido masticadienólico (**ST2**) isolado de uma subfração obtida da fase de clorofórmio. Esses triterpenoides já haviam sido descritos na espécie. Porém, no presente estudo, **ST1** foi obtido com bom rendimento (aproximadamente 10% em relação ao extrato hexânico e 0,5% em relação à massa seca dos frutos). A partir de **ST1** foi preparado um derivado sem registro na literatura. Além disso, tetra-hidroamentoflavona (**ST3**) foi isolado também da subfração obtida da fase de clorofórmio. Esse foi o único biflavonoide detectado no presente estudo. Ainda relativo à composição química, o ácido 4-*O*-metilgálico (**ST4**) isolado da fração solúvel em AcOEt do extrato MeOH, é um composto conhecido, mas isolado pela primeira vez na espécie.

Apesar de que os biflavonoides sejam encontrados entre os grupos quimiotaxonômicos da espécie *S. terebinthifolius*, a tetra-hidroamentoflavona ocorre com menos frequência, sendo a amentoflavona o biflavonoide com maior concorrência. Além disso, dados de RMN de ^1H e ^{13}C têm permanecido irregulares, sendo este o primeiro reporte nos últimos 19 anos.

A avaliação da bioatividade contra agentes patogênicos, permitiu identificar entre os triterpenoides uma atividade mais promissora da substância **ST2** contra *S. aureus* e *P. aeruginosa* ($25 \mu\text{g.mL}^{-1}$ CIM), porém, não apresentou inibição para *E. coli*, contrário do triterpenoide **ST1** que mostrou uma atividade moderada ($100 \mu\text{g.mL}^{-1}$ CIM). É digno de nota que o derivado **ST1B** apresentou maior atividade contra *S. aureus* que o triterpenoide **ST1**. O biflavonoide **ST3** mostrou as melhores bioatividades contra os três agentes patogênicos avaliados com CIM entre $25\text{-}50 \mu\text{g.mL}^{-1}$. A substância **ST4** teve um efeito moderado contra *E. coli* e *S. aureus* (750 e $100 \mu\text{g.mL}^{-1}$ CIM), já para *P. aeruginosa* não exibiu atividade.

A fase de clorofórmio mostrou-se como a mais enriquecida de constituintes antimicrobianos, o que sugere o estudo desta com metodologias que permitam maiores rendimentos, e conseqüentemente, a obtenção de subfrações que levem ao isolamento das

substâncias de interesse farmacológico, já que as investigações de atividades biológicas potenciais para este tipo de compostos permanecem irregulares.

O teste de inibição das enzimas acetil e butilcolinesterase mostrou entre uma baixa a moderada atividade dos extratos, fases orgânicas e substâncias puras avaliadas, não houve uma inibição significativa quando comparado com o padrão eserina. Porém, no tempo 60 min no teste da butilcolinesterase, as amostras mostraram-se com uma tendência mais moderada do que baixa, o que pode ser interessante para estudar-se, pois essa enzima apresenta poucos estudos em relação à sua inibição e sabe-se que também promove de forma significativa a doença de Alzheimer.

Este trabalho contribui para o conhecimento químico e biológico de espécies nativas do Brasil, assim como, para a busca de substâncias que atendam as doenças que se mantêm classificadas como emergentes.

REFERÊNCIAS

ABDEL-HAMEED, El Sayed S.; BAZAID, Salih A. Chemical Composition of Essential Oil from Leaves of *Schinus molle* L. Growing in Taif, KSA. **Journal of Essential Oil-Bearing Plants**, v. 20, n. 1, 2017.

ABDELGHFFAR, Eman A.R. et al. Chilean pepper (*Schinus polygamus*) ameliorates the adverse effects of hyperglycaemia/dyslipidaemia in high fat diet/streptozotocin-induced type 2 diabetic rat model. **Industrial Crops and Products**, v. 183, n. December 2021, p. 114953, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.114953>>.

ABHISHEK, Rayasandra Umesh et al. Antimicrobial Activity of 4-*O*-methylgallic Acid Isolated from *Phyllanthus polyphyllus* L. against Foodborne Pathogenic Bacteria and Yeasts. **Journal of Biologically Active Products from Nature**, v. 9, n. 2, 2019.

ADEBAYO, J. O.; KRETTLI, A. U. **Potential antimalarials from Nigerian plants: A review.** **Journal of Ethnopharmacology**. [S.l: s.n.], 2011

AGRAWAL, Pawan K. **Carbon-13 NMR of flavonoids.** [S.l: s.n.], 1989. v. 39.

AHMED, Aroke S. et al. Cytotoxic, antimicrobial, antioxidant, antilipoxygenase activities and phenolic composition of *Ozoroa* and *Searsia* species (Anacardiaceae) used in South African traditional medicine for treating diarrhoea. **South African Journal of Botany**, v. 95, 2014.

AHMED, Mohamed S. et al. A weakly antimalarial biflavanone from *Rhus retinorrhoea*. **Phytochemistry**, v. 58, n. 4, 2001.

ALCOLEA-PALAFOX, Mauricio et al. Research strategies developed for the treatment of alzheimer's disease. Reversible and pseudo-irreversible inhibitors of acetylcholinesterase: Structure-activity relationships and drug design. **Drug Des. Discov. Alzheimer's Dis.** [S.l: s.n.], 2014. .

ALLOCATI, Nerino et al. **Escherichia coli in Europe: An overview.** **International Journal of Environmental Research and Public Health**. [S.l: s.n.], 2013

ALMA, Gonzalez et al. **Naturalista.** Disponível em: <https://www.naturalista.mx/observations?page=3&place_id=6793&taxon_id=48872>.

AMORIM, Melania Maria Ramos de; SANTOS, Luiz Carlos. Tratamento da vaginose bacteriana com gel vaginal de Aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi): ensaio clínico randomizado. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 25, n. 2, 2003.

ANTAL, Diana S. et al. Cotinus coggygria wood: Novel flavanone dimer and development of an HPLC/UV/MS method for the simultaneous determination of fourteen phenolic constituents. **Planta Medica**, v. 76, n. 15, 2010.

AYOKA, Abiodun O. et al. Sedative, antiepileptic and antipsychotic effects of *Spondias mombin* L. (Anacardiaceae) in mice and rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 103, n. 2, 2006.

AZEVEDO, C. F.; QUIRINO, Z. G.M.; BRUNO, R. L.A. Estudo farmacobotânico de partes aéreas vegetativas de aroeira-vermelha (*Schinus terebinthifolius* raddi, Anacardiaceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 1, 2015.

BARBOSA, Luiz Cláudio Almeida et al. Seasonal variation in the composition of volatile oils from *Schinus terebinthifolius* Raddi. **Quimica Nova**, 2007.

BENZI, Verónica; STEFANAZZI, Natalia; FERRERO, Adriana A. Biological Activity of Essential Oils from Leaves and Fruits of Pepper Tree (*Schinus molle* L.) to Control Rice Weevil (*Sitophilus oryzae* L.). **Chilean journal of agricultural research**, v. 69, n. 2, 2009.

CARVALHO, M.G. et al. *Schinus terebinthifolius* Raddi: chemical composition, biological properties and toxicity. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, 2013.

CASTRO, Ana; SILVA, Joana; TEIXEIRA, Paula. *Staphylococcus aureus*, a Food Pathogen: Virulence Factors and Antibiotic Resistance. **Foodborne Dis.** [S.l: s.n.], 2018. .

CAVALHER-MACHADO, Simone Campos et al. The anti-allergic activity of the acetate fraction of *Schinus terebinthifolius* leaves in IgE induced mice paw edema and pleurisy. **International Immunopharmacology**, 2008.

CELAYA, Liliana S. et al. Natural antioxidants isolated from *Schinus areira* leaves by ultrasound-assisted extraction. **International Journal of Food Studies**, v. 5, n. 2, 2016.

CERUKS, Melina et al. Constituintes fenólicos polares de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae). **Quimica Nova**, 2007.

CESÁRIO, Lorena Farizel; GAGLIANONE, Maria Cristina. Biologia floral e fenologia reprodutiva de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) em Restinga do Norte Fluminense. **Acta Botanica Brasilica**, v. 22, n. 3, 2008.

CHAPMAN, Christie; DELAHANTY, Kim. Convergencia mundial de las enfermedades infecciosas emergentes: a tan solo un viaje en avión de distancia. **Nursing (Ed. española)**, 2018.

CHINSEMBU, Kazhila C. **Plants as antimalarial agents in Sub-Saharan Africa. Acta Tropica**. [S.l: s.n.], 2015

CORREIA, Suzimone De J.; DAVID, Juceni P.; DAVID, Jorge M. **Metabólitos secundários de espécies de Anacardiaceae. Quimica Nova**. [S.l: s.n.], 2006

DA SILVA, Jessica H.S. et al. Anti-*Escherichia coli* activity of extracts from *Schinus terebinthifolius* fruits and leaves. **Natural Product Research**, v. 32, n. 11, 2018.

DA SILVA, Marciane M. et al. *Schinus terebinthifolius*: Phenolic constituents and in vitro antioxidant, antiproliferative and in vivo anti-inflammatory activities. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 27, n. 4, 2017.

DANG, Phu H. et al. A new dimeric alkylresorcinol from the stem barks of *Swintonia floribunda* (Anacardiaceae). **Natural Product Research**, v. 33, n. 20, 2019.

DE A CAVALCANTE, Samir F. et al. Straightforward, economical procedures for microscale ellman's test for cholinesterase inhibition and reactivation. **Quimica Nova**, v. 41, n. 10, 2018.

DE LIMA GLÓRIA, Lorena et al. Phenolic compounds present *Schinus terebinthifolius* Raddi influence the lowering of blood pressure in rats. **Molecules**, v. 22, n. 10, 2017.

DE OLIVEIRA, Vanessa Sales et al. Aroeira fruit (*Schinus terebinthifolius* Raddi) as a natural antioxidant: Chemical constituents, bioactive compounds and in vitro and in vivo antioxidant capacity. **Food Chemistry**, v. 315, 2020.

DE PAIVA CAMPELLO, Jayr; MARSAIOLI, Anita J. Terebenthifolic acid and baurenone: New triterpenoid ketones from *Schinus terebenthifolius*. **Phytochemistry**, v. 14, n. 10, 1975.

DUMITRU, Gabriela et al. Agathisflavone isolated from *Schinus polygamus* (Cav.) Cabrera

leaves prevents scopolamine-induced memory impairment and brain oxidative stress in zebrafish (*Danio rerio*). **Phytomedicine**, 2019.

EL-MASSRRY, Khaled F. et al. Chemical compositions and antioxidant/antimicrobial activities of various samples prepared from *Schinus terebinthifolius* leaves cultivated in Egypt. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2009.

EL-NASHAR, Heba A.S.; MOSTAFA, Nada M.; ELDAHSHAN, Omayma A.; et al. A new antidiabetic and anti-inflammatory biflavonoid from *Schinus polygama* (Cav.) Cabrera leaves. **Natural Product Research**, v. 36, n. 5, 2022.

EL-NASHAR, Heba A.S.; MOSTAFA, Nada M.; ABD EL-GHFFAR, Eman A.; et al. **The genus *Schinus* (Anacardiaceae): a review on phytochemicals and biological aspects.** **Natural Product Research**. [S.l: s.n.], , 2022

ELLMAN, George L. et al. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochemical Pharmacology**, v. 7, n. 2, 1961.

ENNIGROU, A. et al. Maturation-related changes in phytochemicals and biological activities of the Brazilian pepper tree (*Schinus terebinthifolius* Raddi) fruits. **South African Journal of Botany**, v. 108, 2017.

ERAZO, Silvia et al. Constituents and biological activities of *Schinus polygamus*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 107, n. 3, 2006.

FARAJZADEH, Mir Ali; NOURI, Nina; KHORRAM, Parisa. Derivatization and microextraction methods for determination of organic compounds by gas chromatography. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 55, p. 14–23, 1 mar. 2014.

FOUOKENG, Yannick et al. The structure of antrocarine *E*, an ergostane isolated from *Antrocaryon klaineianum* Pierre (Anacardiaceae). **Fitoterapia**, v. 117, 2017.

GEHRKE, Ilaine T.S. et al. Antimicrobial activity of *Schinus lentiscifolius* (Anacardiaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 148, n. 2, 2013.

Global Biodiversity Information Facility. **Choice Reviews Online**, 2013. **Anacardiaceae**. Disponível em: <GBIF.org>. Acesso em: 14 ago. 2022.

GOMES, Rodrigo Borges de Araujo et al. Residues from the Brazilian pepper tree (*Schinus*

terebinthifolius Raddi) processing industry: Chemical profile and antimicrobial activity of extracts against hospital bacteria. **Industrial Crops and Products**, v. 143, 2020.

GRAZIANO, M. N., SEGUI, M., & COUSSIO, J. D. Estudio de los flavonoides presentes en plantas argentinas. **ANALES DE LA ASOCIACION QUIMICA ARGENTINA**, v. 55, p. 235, 1967.

H. FERREIRA-VIEIRA, Talita et al. Alzheimer's disease: Targeting the Cholinergic System. **Current Neuropharmacology**, v. 14, n. 1, 2016.

HALL, Climbiê Ferreira; GIL, André Dos Santos Bragança. Flora das cangas da Serra dos Carajás, Pará, Brasil: Anacardiaceae. **Rodriguesia**, v. 68, n. 3, 2017.

Integrated Taxonomic Information System - Report. Disponível em: <https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=28812#null>. Acesso em: 15 nov. 2022.

JAIN, Mahendra K. et al. Specific competitive inhibitor of secreted phospholipase A2 from berries of *Schinus terebinthifolius*. **Phytochemistry**, v. 39, n. 3, 1995.

JEON, Ki Suk et al. Antiangiogenic activity of 4-*O*-methylgallic acid from *Canavalia gladiata*, a dietary legume. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 330, n. 4, 2005.

JOHANN, Susana et al. Antifungal properties of plants used in Brazilian traditional medicine against clinically relevant fungal pathogens. **Brazilian Journal of Microbiology**, 2007.

KANDIMALLA, Ramesh; REDDY, P. Hemachandra. **Therapeutics of Neurotransmitters in Alzheimer's Disease**. **Journal of Alzheimer's Disease**. [S.l: s.n.], , 2017

KAPER, James B.; NATARO, James P.; MOBLEY, Harry L.T. Pathogenic *Escherichia coli*. **Nature Reviews Microbiology**, v. 2, n. 2, p. 123–140, 2004.

KASSEM, M. E.S.; EL-DESOKY, S. K.; SHARAF, M. Biphenyl esters and biflavonoids from the fruits of *Schinus terebenthefolius*. **Chemistry of Natural Compounds**, v. 40, n. 5, 2004.

KUMAR, J Ashok et al. Acetylcholinesterase / butylcholinesterase Inhibitory Activities of Substituted Chromenone Derivatives. **International Journal of Drug Design and**

Discovery, v. 2, n. 2, 2011.

LINDEN, Maria et al. Effects of structural differences on the antibacterial activity of biflavonoids from fruits of the Brazilian peppertree (*Schinus terebinthifolius* Raddi). **Food Research International**, 2020.

LLOYD, H. A. et al. Terpenes of *Schinus terebinthifolius*. **Phytochemistry**, v. 16, n. 8, 1977.

LORENZI, Harri. Arvores brasileiras. **Editores Plantarum**, v. 1, 1992.

LUZ, Cíntia. Anacardiaceae R.Br. na Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo. **Mestrado**, p. 94, 2011.

LUZ SILVA, C.L. et al. **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB1199>>. Acesso em: 8 nov. 2022.

MADIKIZELA, Balungile; ADEROGBA, Mutalib A.; VAN STADEN, Johannes. Isolation and characterization of antimicrobial constituents of *Searsia chirindensis* L. (Anacardiaceae) leaf extracts. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 150, n. 2, 2013.

MAHATO, Shashi B.; KUNDU, Asish P. **¹³C NMR Spectra of pentacyclic triterpenoids-a compilation and some salient features**. **Phytochemistry**. [S.l: s.n.], 1994

MAIA, Maria do Carmo Rodrigues et al. Propriedades terapêuticas da espécie *Schinus terebinthifolius* Raddi (aroeira-vermelha). **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, 2021.

MAKINO, Mitsuko; MOTEGI, Tomohiro; FUJIMOTO, Yasuo. Tirucallane-type triterpenes from *Juliania adstringens*. **Phytochemistry**, v. 65, n. 7, 2004.

MANRIQUE, Veronica et al. Effect of host-plant genotypes on the performance of three candidate biological control agents of *Schinus terebinthifolius* in Florida. **Biological Control**, v. 47, n. 2, 2008.

MASHIMBYE, N.N.; OSKOLSKII, A.; MOTEETEE, A.N. Ethnobotanical uses, anatomical features and phytochemical properties of the Sotho medicinal plant *Searsia erosa* (Thunb) Moffett (Anacardiaceae). **South African Journal of Botany**, v. 115, 2018.

MATIĆ, Sanja et al. Methanol extract from the stem of *Cotinus coggygria* Scop., and its major bioactive phytochemical constituent myricetin modulate pyrogallol-induced DNA

damage and liver injury. **Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 755, n. 2, 2013.

MATTAR, Valeria Tapia et al. Insecticidal activity of the essential oil of *Schinus areira* against *Rhipibruchus picturatus* (F.) (Coleoptera: Bruchinae), and its inhibitory effects on acetylcholinesterase. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 185, p. 105134, 1 jul. 2022.

MICHODJEHOUN-MESTRES, Laetitia et al. Monomeric phenols of cashew apple (*Anacardium occidentale* L.). **Food Chemistry**, v. 112, n. 4, 2009.

MIGUES, Vitor Hugo; DAVID, Jorge Mauricio; DAVID, Juceni Pereira. Determination of polyphenols in: *Schinus terebinthifolius* Raddi bark extracts and chemometric analysis. **Analytical Methods**, v. 12, n. 11, 2020.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Informações Sistematizadas da Relação Nacional de Interesse ao SUS: Schinus terebinthifolius Raddi, Anacardiaceae (Aroeira-da-praia)**. [S.l: s.n.], 2021. Disponível em: <<http://editora.saude.gov.br>>.

Missouri Botanical Garden. Disponível em: <<http://www.tropicos.org/Name/40031409>>. Acesso em: 8 nov. 2022.

MORAIS, Thiago R. et al. Antiparasitic activity of natural and semi-synthetic tirucallane triterpenoids from *Schinus terebinthifolius* (Anacardiaceae): Structure/activity relationships. **Molecules**, v. 19, n. 5, 2014.

MORALES-RABANALES, Quetzali Nichte et al. Antifungal properties of hybrid films containing the essential oil of *Schinus molle*: Protective effect against postharvest rot of tomato. **Food Control**, v. 134, 2022.

MORTON, Julia F. Brazilian pepper-Its impact on people, animals and the environment. **Economic Botany**, v. 32, n. 4, p. 353–359, 1978.

MOYO, Mack et al. Phenolic composition, antioxidant and acetylcholinesterase inhibitory activities of *Sclerocarya birrea* and *Harpephyllum caffrum* (Anacardiaceae) extracts. **Food Chemistry**, v. 123, n. 1, 2010.

MUÑOZ-RAMÍREZ, Alejandra et al. Study of two isoforms of lipoxygenase by kinetic

assays, docking and molecular dynamics of a specialised metabolite isolated from the aerial portion of *Lithrea caustica* (Anacardiaceae) and its synthetic analogs. **Phytochemistry**, v. 174, 2020.

MURRAY, Ana P. et al. Acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of essential oils from *Schinus areira* L. and *Schinus longifolia* (Lindl.) Speg. **Natural Product Communications**, v. 4, n. 6, 2009.

MURRAY, Ana P. et al. Gas chromatography-mass spectrometry study of the essential oils of *Schinus longifolia* (Lindl.) Speg., *Schinus fasciculata* (Griseb.) I. M. Johnst., and *Schinus areira* L. **Zeitschrift fur Naturforschung - Section C Journal of Biosciences**, v. 60, n. 1–2, 2005.

NAWWAR, Mahmoud et al. Constitutive phenolics of *Harpephyllum caffrum* (Anacardiaceae) and their biological effects on human keratinocytes. **Fitoterapia**, v. 82, n. 8, 2011.

NGUYEN, Nhan Trung et al. A new lignan from the stems of *Buchanania lucida* Blume (Anacardiaceae). **Natural Product Research**, v. 36, n. 14, p. 3737–3740, 5 fev. 2022.

NHIEM, Nguyen Xuan et al. A potential inhibitor of rat aortic vascular smooth muscle cell proliferation from the pollen of *Typha angustata*. **Archives of Pharmacal Research**, v. 33, n. 12, 2010.

OJEWOLE, John A.O. Anticonvulsant effect of *Sclerocarya birrea* (A. Rich.) Hochst. subsp. *caffra* (Sond.) Kokwaro (Anacardiaceae) stem-bark aqueous extract in mice. **Journal of Natural Medicines**, v. 61, n. 1, 2007.

OKOTH, Dorothy A.; CHENIA, Hafizah Y.; KOORBANALLY, Neil A. Antibacterial and antioxidant activities of flavonoids from *Lannea alata* (Engl.) Engl. (Anacardiaceae). **Phytochemistry Letters**, v. 6, n. 3, 2013.

ORATA, Francis. Derivatization Reactions and Reagents for Gas Chromatography Analysis. **Adv. Gas Chromatogr. - Prog. Agric. Biomed. Ind. Appl.** [S.l: s.n.], 2012. .

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. **Datos recientes revelan los altos niveles de resistencia a los antibióticos en todo el mundo.**

PAZ-ZARZA, Victor Manuel et al. *Pseudomonas aeruginosa*: patogenicidad y resistencia antimicrobiana en la infección urinaria. **Revista chilena de infectología**, v. 36, n. 2, 2019.

PELL, S K et al. Anacardiaceae. In: KUBITZKI, Klaus (Org.). . **Flower. Plants. Eudicots Sapindales, Cucurbitales, Myrtaceae**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2011. p. 7–50. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/978-3-642-14397-7_3>.

PELL, Susan Katherine. MOLECULAR SYSTEMATICS OF THE CASHEW FAMILY (Anacardiaceae). n. May, p. 1–193, 2004.

PINKY SARMAH et al. A Review on Common Pathogenic Microorganisms and Their Impact on Human Health. **Electronic Journal of Biology**, v. 14, n. 1, 2018.

PIRANI, José Rubens. **Reflora**. Disponível em: <<http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/listaBrasil/ConsultaPublicaUC/BemVindoConsultaPublicaConsultar.do?invalidatePageControlCounter=1&idsFilhosAlgas=&idsFilhosFungos=&lingua=&grupo=5&genero=Schinus&especie=terebinthifolia&infraEspecie=raddiana&autor=&nomeVe>>. Acesso em: 15 nov. 2022.

POZZO-BALBI, Teodoro et al. The triterpenoid acids of *Schinus molle*. **Phytochemistry**, v. 17, n. 12, 1978.

REBOLLEDO, Vania et al. Phytochemical profile and antioxidant activity of extracts of the peruvian peppertree *Schinus areira* L. from Chile. **Saudi Journal of Biological Sciences**, 2021.

REIS, Isabella M.A. et al. Acetylcholinesterase inhibitory activity of *Ocotea pomaderroides* extracts: HPLC-MS/MS characterization and molecular modeling studies. **Natural Product Research**, v. 36, n. 4, 2022.

RICHBART, Stephen D. et al. Acetylcholinesterase and human cancers. **Adv. Cancer Res.** [S.l: s.n.], 2021. v. 152. .

RISA, Jofrid et al. Screening of plants used in southern Africa for epilepsy and convulsions in the GABAA-benzodiazepine receptor assay. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 93, n. 2–3, 2004.

ROSAS, Elaine Cruz; CORREA, Luana Barbosa; DAS GRAÇAS HENRIQUES, Maria.

Antiinflammatory Properties of *Schinus terebinthifolius* and Its Use in Arthritic Conditions. **Bioact. Food as Diet. Interv. Arthritis Relat. Inflamm. Dis.** [S.l: s.n.], 2019. p. 489–505.

Royal Botanic Gardens. Disponível em: <<https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:1905-1>>. Acesso em: 8 nov. 2022.

SALEM, M. Z.M. et al. Antibacterial activity of extracted bioactive molecules of *Schinus terebinthifolius* ripened fruits against some pathogenic bacteria. **Microbial Pathogenesis**, v. 120, 2018.

SÁNCHEZ-CHÁVEZ, GUSTAVO, and Rocío Salceda. Enzimas Polifuncionales: El caso de la acetilcolinesterasa. **REB**, v. 27, n. 2, 2008.

SANDRA ZORAT CORDEIRO. **Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro.** Disponível em: <<http://www.unirio.br/ccbs/ibio/herbariohuni/schinus-terebinthifolia-raddi>>. Acesso em: 15 jul. 2021.

SCHULZE-KAYSERS, N.; FEUEREISEN, M. M.; SCHIEBER, A. Phenolic compounds in edible species of the Anacardiaceae family - a review. **RSC Advances**, v. 5, n. 89, 2015.

SELVAM, C.; JACHAK, Sanjay M. A cyclooxygenase (COX) inhibitory biflavonoid from the seeds of *Semecarpus anacardium*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 95, n. 2–3, 2004.

SEQUEDA-CASTAÑEDA, Luis G.; CELIS-ZAMBRANO, Crispín A.; TORRENEGRA-GUERRERO, Rubén D. Bioassay-guided fractionation in *Anacardium excelsum* (bert. & balb. ex kunth) skeels (anacardiaceae). **Pharmacologyonline**, 2021.

SHEN, Yi et al. Two new benzophenones from *Dobinea delavayi*. **Phytochemistry Letters**, v. 46, 2021.

SILVA-LUZ, Cíntia Luíza da et al. Phylogeny of *Schinus* L. (Anacardiaceae) with a new infrageneric classification and insights into evolution of spinescence and floral traits. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 2019.

SILVANO, LG. **Naturalista**. Disponível em: <<https://www.naturalista.mx/>>. Acesso em: 8 nov. 2022.

SKOPP, Gisela; SCHWENKER, Gerhard. Biflavonoide aus *Schinus terebinthifolius* Raddi

(Anacardiaceae). **Zeitschrift fur Naturforschung - Section B Journal of Chemical Sciences**, 1986.

STAHL, E.; KELLER, K.; BLINN, C. Cardanol, a skin irritant in pink pepper. **Planta Medica**, v. 48, n. 1, p. 5–9, 1983.

STRATEVA, Tanya; YORDANOV, Daniel. *Pseudomonas aeruginosa* - A phenomenon of bacterial resistance. **Journal of Medical Microbiology**. [S.l: s.n.]. , 2009

SVENNINGSSEN, Ann Bygvraa et al. Biflavones from Rhus species with affinity for the GABAA/ benzodiazepine receptor. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 103, n. 2, 2006.

TAYLOR. TRACEY A; UNAKAL, Chandrashekhar G. *Staphylococcus Aureus* - **StatPearls - NCBI Bookshelf. StatPerals**. [S.l: s.n.]. , 2020

TLILI, Nizar et al. *Schinus terebinthifolius* vs *Schinus molle*: A comparative study of the effect of species and location on the phytochemical content of fruits. **Industrial Crops and Products**, v. 122, 2018.

UPMANYU, Neha; MALVIYA, Viveka Nand. Multidrug resistance in pathogenic microorganisms. **Microorg. Sustain. Environ. Heal**. [S.l: s.n.], 2020. .

UYSAL, Sengul et al. Chemical characterization, comprehensive antioxidant capacity, and enzyme inhibitory potential of leaves from *Pistacia terebinthus* L. (Anacardiaceae). **Food Bioscience**, v. 48, 2022.

VANEGAS ANDRADE, Catalina et al. Antispasmodic, antidepressant and anxiolytic effects of extracts from *Schinus lentiscifolius* Marchand leaves. **Journal of Traditional and Complementary Medicine**, v. 12, n. 2, 2022.

VIEIRA, Mariana Neves et al. *Schinus terebinthifolius* scale-up countercurrent chromatography (Part I): HIGH performance countercurrent chromatography fractionation of triterpene acids with off-line detection using atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1389, 2015.

VINUTHA, B. et al. Screening of selected Indian medicinal plants for acetylcholinesterase inhibitory activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 109, n. 2, 2007.

WALKER, C. H. **Organophosphorous and carbamate insectides. Organic Pollutants:**

An ecotoxicological Perspective. New York: [s.n.], 2001.

WU, Weihui et al. Chapter 41 – *Pseudomonas aeruginosa*. **Mol. Med. Microbiol.** [S.l: s.n.], 2015. .

ZHONG, Ting et al. Novel Flavan-3,4-diol vernicidin B from *Toxicodendron Vernicifluum* (Anacardiaceae) as potent antioxidant via IL-6/Nrf2 cross-talks pathways. **Phytomedicine**, v. 100, 2022.

ZUHARAH, Wan Fatma et al. Larvicidal activities of family Anacardiaceae on *Aedes* mosquitoes (Diptera: Culicidae) and identification of phenolic compounds. **Journal of King Saud University - Science**, v. 33, n. 5, 2021.