



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

ELICLEIDE MOREIRA DE SOUZA

**ISOLAMENTO E ELUCIDAÇÃO ESTRUTURAL DE
DITERPENOS A PARTIR DE EXTRATO DE FOLHAS DA
Tapirira guianensis (Anacardiaceae)**

Salvador

2024

ELICLEIDE MOREIRA DE SOUZA

**ISOLAMENTO E ELUCIDAÇÃO ESTRUTURAL DE DITERPENOS A
PARTIR DE EXTRATO DE FOLHAS DE *Tapirira guianensis*
(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. Ronan Batista(IQ/UFBA)

Co-orientador: Prof. Dr. Jorge M. David(IQ/UFBA)

Salvador

2024



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



TERMO DE APROVAÇÃO

ELICLEIDE MOREIRA DE SOUZA

ISOLAMENTO E ELUCIDAÇÃO ESTRUTURAL DE DITERPENOS A PARTIR DE EXTRATO DE FOLHAS DE *Tapirira guianensis* (Anacardiaceae)

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



RONAN BATISTA
Data: 28/06/2024 15:16:10-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Ronan Batista

Doutorado em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG)
Universidade Federal da Bahia



JORGE MAURICIO DAVID
Data: 28/06/2024 10:35:44-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Jorge Maurício David

Doutorado em Química Orgânica, Universidade de São Paulo (USP)
Universidade Federal da Bahia



ADEMIR EVANGELISTA DO VALE
Data: 27/06/2024 11:14:03-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Ademir Evangelista do Vale

Doutorado em Química, Universidade Federal da Bahia (UFBA)
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia



ERIKA MARIA DE OLIVEIRA RIBEIRO
Data: 27/06/2024 19:47:07-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Erika Maria de Oliveira Ribeiro

Doutorado em Química, Universidade Federal da Bahia (UFBA)
Universidade do Estado da Bahia

Salvador, 21 de junho de 2024.

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

S729 Souza, Elicleide Moreira de
Isolamento e elucidação estrutural de diterpenos a partir de extrato de folhas da *Tapirira guianensis* (Anacardiaceae)/ Elicleide Moreira de Souza. – Salvador, 2024.
73 f.

Orientador: Prof. Dr. Ronan Batista

Dissertação(Mestrado) – Universidade Federal da Bahia. Instituto de Química, 2024.

1. Fitoquímica. 2. Anacardiaceae. 3. Produtos Naturais. I. Batista, Ronan. II. Universidade Federal da Bahia. III. Título.

CDU 547.9

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus pela permissão de viver, aprender e evoluir.

À minha mãe, que é minha maior inspiração de força, perseverança e que não mede esforços para me ver alcançar meus objetivos. Essa vitória também lhe pertence.

À minha avó Arlinda, que mesmo sem entender o que eu faço, sempre me apoiou.

Aos meus familiares, tios e primos, por todo o apoio, incentivo e toda a preocupação nessa jornada, em meio a idas e vindas todo final de semana de volta para Feira de Santana.

À minha prima Maria José pela recepção e acolhimento em sua casa durante o período que fiquei em Salvador para cumprir essa missão.

Nessa vida nada se conquista sozinho, é aí que entram os amigos. Sou grata por cada amizade que fiz ao longo desse período. Aos amigos e colegas do IQ, não vou citar nomes para não correr o risco de esquecer alguém, mas saibam que todos vocês foram peça importante para essa etapa. Aos amigos do GPPN, Oscar, Jennifer, Clara e em especial, meu doutor favorito, Leonardo Aguiar, que me acolheu, recepcionou e me ensinou tudo o que eu precisava saber sobre a rotina do 506. Nunca vou esquecer os inúmeros cafés, com muita troca de informações.

Ao meu grande amigo e irmão que a Química me deu, meu parabatai, José Luiz. Obrigada por fazer parte da minha vida e também ser um grande incentivador para que eu entrasse na Pesquisa.

Agradeço a Hannah, Lidiane, Fernanda, Luane, Anna e Malu. A amizade e apoio de vocês foram de grande importância, tornando os dias difíceis, menos difíceis. Carrego vocês por toda a vida.

Aos professores pelo conhecimento compartilhado, e contribuindo para o crescimento e desenvolvimento acadêmico.

Ao meu orientador, Ronan Batista, por ter aceitado a missão de me orientar, mesmo sabendo que eu não tinha nenhuma experiência com a pesquisa. Sou grata por todo ensinamento e “puxão de orelha” quando necessário.

Ao meu co-orientador, Jorge David, por aceitar a parceria, pelos conhecimentos compartilhados e por abrir as portas do seu laboratório, para que eu pudesse desenvolver meu trabalho.

À universidade Federal da Bahia, pela oportunidade de frequentar um espaço que permite o conhecimento e a interação que possibilita sair de nossas bolhas e perceber o mundo com outros olhos.

Ao CNPq, pela concessão da bolsa.

RESUMO

A família Anacardiaceae possui cerca de 80 gêneros com 800 espécies. Dentre elas, o gênero *Tapirira* com aproximadamente 35 espécies e a *T. guianensis* sendo a mais conhecida, podendo ser encontrada em todo o território do país, conhecida popularmente por Peito-de-pombo e utilizada na medicina popular para combater a sífilis e doenças de pele. Estudos realizados apontam propriedades antibacterianas, antioxidantes, anticâncer e vasodilatadoras. O objetivo deste trabalho foi realizar um estudo fitoquímico sobre os constituintes das folhas da *T. guianensis*. Os extratos metanólico e diclorometânico foram obtidos pelo método de maceração e fracionados com hexano, acetato de etila e metanol. Os extratos e fases dos fracionamentos resultantes foram submetidos à purificação empregando cromatografia em coluna impermeabilizada em sílica gel. Após separação e purificação dos constituintes, foram obtidos espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C , bi-dimensionais (HSQC, HMBC) e DEPT-135. A análise dos dados permitiu a identificação do β -sitosterol, já reportado para a espécie, e dois diterpenos: (5*R*,8*R*,9*S*,10*R*)-*ent*-Clerod-3,14-dien-13 α -ol [(-)-kolavelool e 5(10), 14-Halimadien-13-ol, ambos sendo relatados pela primeira vez no gênero *Tapirira*.

Palavras-chave: *Tapirira guianensis*, Anacardiaceae, (-)-Kolavelool, 5(10), 14-Halimadien-13-ol, fitoquímica.

ABSTRACT

The botanical family Anacardiaceae encompasses approximately 80 genera housing some 800 species. Among these, the genus *Tapirira* stands out with around 35 species, notably *T. guianensis*, widely distributed throughout the nation and colloquially referred to as "Peito-de-pombo". It holds a significant place in folk medicine for its purported efficacy against syphilis and dermatological ailments. Scientific inquiry into its properties reveals a spectrum of pharmacological attributes, including antibacterial, antioxidant, anticancer, and vasodilatory effects. In pursuit of a comprehensive phytochemical investigation into the leaf constituents of *T. guianensis*, methanolic and dichloromethane extracts were meticulously procured through the maceration method, subsequently fractionated using hexane, ethyl acetate, and methanol. These extracts, along with the resultant fractionations phases, underwent meticulous purification employing silica gel-based column chromatography. Following the meticulous isolation and purification of its components, the elucidation process encompassed the acquisition of ^1H and ^{13}C NMR spectra, as well as bi-dimensional analyses (HSQC, HMBC) and DEPT-135 experiments. This rigorous analytical regimen facilitated the definitive identification of β -sitosterol (TG6ING and TG7A1), previously documented within the species, alongside the discovery of two novel diterpenes: (5R,8R,9S,10R)-ent-Clerod-3,14-dien-13 α -ol [(-)-kolavelool (Col TB3) and 5(10),14-Halimadien-13-ol (Col TB 3)], thus marking their inaugural documentation within the *Tapirira* genus.

Keywords: : *Tapirira guianensis*, Anacardiaceae, (-)-Kolavelool, 5(10), 14-Halimadien-13-ol, phytochemistry.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1— Substâncias isoladas e identificadas da espécie <i>T. guianensis</i> e/ou suas atividades biológicas.....	9
Tabela 2 — Frações obtidas da CC do extrato DCM.....	18
Tabela 3 — Subfrações obtidas da CC da TG3.....	19
Tabela 4 — Subfrações obtidas da CC da subfração TG3 col3.....	20
Tabela 5 — Subfrações obtidas da CC TG3 col4.....	20
Tabela 6 — Subfrações da CC da fração TG4.....	21
Tabela 7— Subfrações obtidas da CC da subfração TG4 col4.....	22
Tabela 8 — Subfrações obtidas da CC da TG7.....	23
Tabela 9 — Subfrações obtidas da CC da TG7 col3.....	23
Tabela 10 — Subfrações obtidas do fracionamento do extrato MeOH.....	24
Tabela 11— Subfrações reunidas da CC da subfração A1.....	25
Tabela 12 — Subfrações reunidas da CC da subfração A2.....	25
Tabela 13— Subfrações reunidas da CC da subfração A3.....	26
Tabela 14 — Comparação dos dados obtidos das substâncias TG6INF e TG7A1 com o β -sitosterol.....	32
Tabela 15 — Comparação dos dados obtidos da substância Col TB 3 e do (-)-Kolavelool(CDCl ₃).....	43
Tabela 16 — Comparação dos dados obtidos da substância TG 3.1 Col3 e do 5(10), 14-Halimadien- 13-ol.....	54

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Distribuição geográfica da família Anacardiaceae.....	3
Figura 2: <i>Tapirira guianensis</i>	5
Figura 3: Gráfico de publicações sobre a <i>Tapirira guianensis</i>	6
Figura 4- Esquema do procedimento experimental da obtenção dos extratos de DCM e de MeOH das folhas da <i>Tapirira guianensis</i>	18
Figura 5: Esquema de purificação das subfrações do extrato DCM das folhas da <i>Tapirira guianensis</i>	24
Figura 6- Esquema da purificação das subfrações do extrato MeOH das folhas da <i>Tapirira guianensis</i>	27
Figura 7: Estrutura para as substâncias TG6INF e TG7A1.....	27
Figura 8: Placa de CCD realizada com o β -Sitosterol padrão e as amostras TG6INF e TG7A1, eluição clorofórmio: AceOt 8:2.....	28
Figura 9: Espectro de RMN de ^1H da substância TG6INF e TG7A1 (500MHz, CDCl_3 , δ/ppm).....	30
Figura 10: Espectro de RMN de ^{13}C da substância TG6INF e TG7A1 (500MHz, CDCl_3 , δ/ppm).....	31
Figura 11: Estrutura para a substância Col TB3	33
Figura 12- substância isolada Col TB3.....	34
Figura 13: Proposta de rota biossintética de formação do (-)-Kolavelool.....	36
Figura 14- Teste DEPT 135 da substância Col TB 3 (500 MHz, CDCl_3 , δ/ppm).....	37
Figura 15- Espectro de RMN de ^{13}C da substância Col TB 3 (500 MHz, CDCl_3 , δ/ppm).....	38
Figura 16- Espectro de RMN de ^1H da substância Col TB (500MHz, CDCl_3 , δ/ppm).....	39

Figura 17- Espectro bidimensional de HSQC da substância Col TB 3 (500MHz, CDCl ₃ , δ /ppm).....	40
Figura 18- Espectro bidimensional COSY da substância Col TB 3 (500MHz, CDCl ₃ , δ /ppm).....	41
Figura 19- Espectro bidimensional de HMBC da substância Col TB 3 (500 MHz, CDCl ₃ , δ /ppm).....	42
Figura 20- Estrutura para a substância TG 3.1 Col3	44
Figura 21: substância TG 3.1 Col3	44
Figura 22: Proposta de mecanismo para o rearranjo de Wagner — Meerwein na formação do 5(10), 14-Halimadien-13-ol.....	46
Figura 23: Espectro de RMN de ¹³ C da substância TG 3.1 Col3 (500MHz, CDCl ₃ , δ /ppm).....	49
Figura 24: Espectro de RMN de ¹ H da substância TG 3.1 Col3 (500MHz, CDCl ₃ , δ /ppm).....	50
Figura 25: Teste DEPT 135 da substância TG 3.1 Col3 (500 MHz, CDCl ₃ , δ /ppm).....	51
Figura 26: Espectro bidimensional de HSQC da substância TG 3.1 Col3 (500MHz, CDCl ₃ , δ /ppm).....	52
Figura 27: Espectro bidimensional de HMBC da substância TG 3.1 Col3 (500MHz, CDCl ₃ , δ /ppm).....	53

LISTA DE ABREVIATURAS

δ - Deslocamento químico

AcOEt- Acetato de etila

CC- Coluna cromatográfica

CCD- Cromatografia em camada delgada

CCDP- Cromatografia em camada delgada preparativa

COSY- Espectroscopia de correlação homonuclear Y

DCM- Diclorometano

HMBC- Correlação de ligações múltiplas heteronucleares de ^1H e ^{13}C

HPLC- Cromatografia líquida de alta performance

HSQC- Coerência quântica única heteronucleares de ^1H e de ^{13}C

MeOH- Metanol

QPN- Química dos produtos naturais

RMN- Ressonância magnética nuclear

UV- Ultra violeta

SUMÁRIO

RESUMO	vi
ABSTRACT.....	vii
LISTA DE TABELAS	viii
LISTA DE FIGURAS	ix
LISTA DE ABREVIATURAS	xi
1. INTRODUÇÃO	1
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	2
2.1. Aspectos Gerais sobre a família Anacardiaceae.....	2
2.2. Gênero <i>Tapirira</i>	4
2.3. <i>Tapirira guianensis</i>	4
2.4 Diterpenos.....	16
3. OBJETIVOS	16
3.1. Objetivo geral.....	16
3.2. Objetivos específicos.....	16
4. PARTE EXPERIMENTAL	17
4.1. Materiais, equipamentos e reagentes.....	17
4.2. Coleta do material vegetal.....	17
4.3. Preparo dos extratos de metanol e de diclorometano.....	18
4.4 Fracionamento do extrato DCM.....	18
4.5. Purificação das frações do extrato DCM das folhas da <i>T. guianensis</i>	19
4.5.1. Purificação da fração TG3.....	19
4.5.2. Purificação da fração TG4.....	22

4.6. Fracionamento do extrato MeOH.....	24
4.7. Purificação das subfrações do extrato MeOH.....	25
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	27
5.1. Substâncias isoladas da <i>Tapirira guianensis</i>	27
5.1.1. Identificação de TG6ING e TG7A1.....	27
5.1.2. Identificação de Col TB3 eTG3.1 col 3.....	33
CONCLUSÃO.....	55
REFERÊNCIAS.....	56

1. INTRODUÇÃO

A química é uma Ciência extremamente ampla e que permite a pesquisa em inúmeras áreas, buscando obter conhecimento necessário para auxiliar na manutenção da sociedade. Vivemos num país que possui uma grande biodiversidade, possuindo recursos naturais que são cada vez mais explorados.

Desde os primórdios, os recursos naturais são explorados pelo homem, que em busca por cura de enfermidades, faziam uso dos produtos vegetais e também como condimentos e/ou infusões (PEREIRA e CARDOSO, 2012).

As plantas produzem diversas substâncias químicas, que podem ser classificadas por metabólitos primários e secundários. Os metabólitos primários são os compostos produzidos por organismos vivos, onde estão diretamente envolvidos no crescimento e desenvolvimento. Nesta classe, estão presentes os ácidos graxos, aminoácidos, açúcares e nucleotídeos, bem como moléculas que são sintetizadas a partir delas, como por exemplo, lipídeos, proteínas e polissacarídeos e ácidos nucléicos (GARCIA e CARRIL, 2009). Os metabólitos secundários, são os compostos que desempenham alguma função vital para o bem estar da planta, como por exemplo, materiais tóxicos fornecendo defesa contra predadores, ou como coloração para atrair ou alertar outras espécies. Os metabólitos secundários são responsáveis pela maior parte dos produtos naturais farmacologicamente ativos, e de modo geral pertencem a uma das três grandes classes de moléculas: terpenos, compostos fenólicos e nitrogenados (DEWICK, 2002).

Uma das maneiras de obter e conhecer substâncias que possuam ou não atividade farmacológica é através do estudo fitoquímico dos produtos naturais. A fitoquímica visa a investigação de substâncias naturais presentes em organismos vivos, que são produzidas por metabolismos secundários, podendo contribuir significativamente para a investigação da flora, divulgação e geração de recursos humanos (TORSSELL, 1997). O estudo de plantas medicinais vem sendo reconhecido como uma das melhores trajetórias para a descoberta de novas drogas, no direcionamento para determinada ação terapêutica e orientando para um caminho de redução significativa de investimento em tempo e dinheiro. De acordo com a RDC n. 14 com publicação em 05 de abril de 2010, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), conceitua planta medicinal como: “espécie vegetal, cultivada ou não, utilizada com propósitos terapêuticos” (ALMEIDA, 2011).

A *T. guianensis* do gênero *Tapirira*, pertencente à família Anacardiaceae, é uma espécie que vem sendo estudada há décadas e muito utilizada na medicina popular no

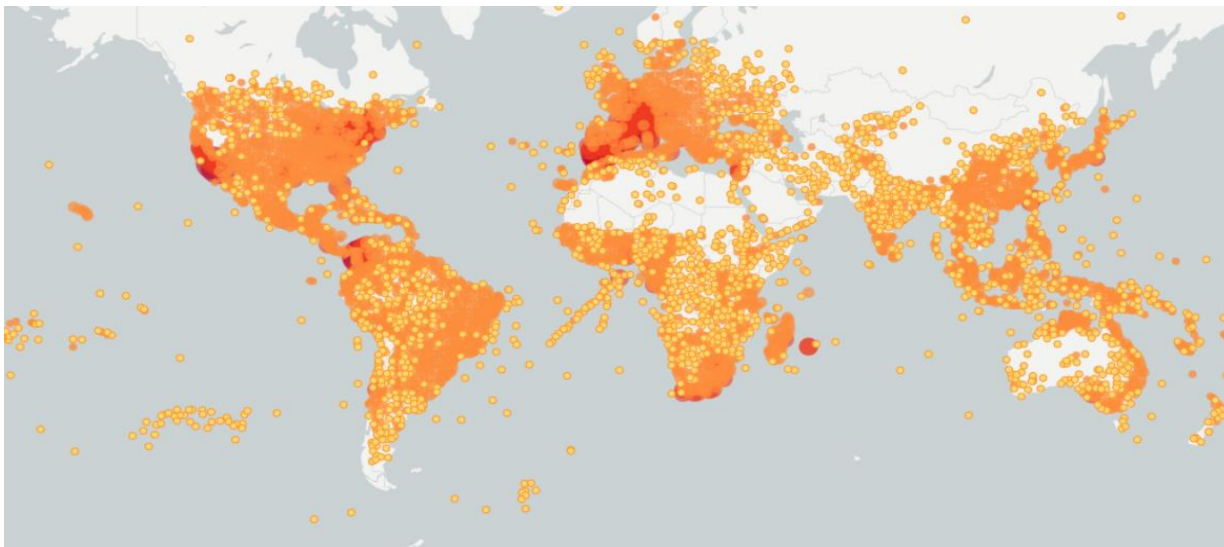
tratamento de sífilis, lepra e diarreia (DAVID et. al., 1998). Essa espécie vem despertando o interesse dos pesquisadores, possuindo alguns estudos voltados à atividades biológicas, bem como o conhecimento à respeito da sua composição química. Entretanto, não possui nenhum relato na literatura que consiga associar as substâncias isoladas às atividades biológicas já ensaiadas. Essa espécie já vem sendo estudada pelo Grupo de Pesquisa de Produtos Naturais (GPPN) da Universidade Federal da Bahia (UFBA), e o conhecimento a cerca da composição ainda não sendo tão explorado, contribuiu para que o grupo desse continuidade na realização do estudo fitoquímico através de técnicas clássicas da cromatografia, e obter isolamento de novos constituintes da planta para que possam submeter a novos ensaios biológicos.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. Aspectos gerais sobre a família Anacardiaceae

Anacardiaceae é uma família que possui cerca de 80 gêneros com 800 espécies, encontradas nos trópicos e subtropicais (SK et. al., 2011). A Malásia é a área tropical com maior riqueza para essa família com maior representação de gêneros que em qualquer outra área (HOU, 1974). No Brasil, ocorrem cerca de 55 espécies distribuídas em 14 gêneros, sendo que os gêneros com mais espécies são *Schinus L.* e *Anacardium L.*, possuindo 11 e 9 espécies respectivamente (BFG, 2015). Da totalidade de gêneros, em torno de 25% possuem espécies reconhecidas por serem tóxicas e causarem dermatite de contato severa, observando-se serem restritas às tribos Anacardiaceae, Rhoeeae e Semecarpeae (VOGL, 1996). Possuem relatos de ocorrência por todo o Brasil, obtendo domínios fitogeográficos em: Amazonas, caatinga, cerrado, mata atlântica, pampa e pantanal. A figura 1 mostra a sua distribuição geográfica global.

Figura 1 — Distribuição geográfica da família Anacardiaceae.



Fonte: (GLOBAL BIODIVERSITY INFORMATION FACILITY, 2024)

Conhecidas por apresentarem importância alimentícia e ornamental, por fornecerem frutas comestíveis, como por exemplo, manga (*Mangifera indica L.*), pistache (*Pistacia vera L.*) e caju (*Anacardium occidentale L.*), e por apresentarem boa madeira (HALL e GIL, 2017), a família Anacardiaceae demonstra sua relevância para o impulsionamento econômico a nível global.

Em artigo de revisão recém publicado, CUNHA e DAVID (2024), utilizaram cerca de 170 referências, onde descrevem uma compilação crítica e atualizada dos estudos referentes à família *Anacardiaceae*, apresentando a composição química, atividade biológica e usos de espécies da *Anacardiaceae*. Um dos destaques é o emprego do uso em cosméticos, que durante as duas últimas décadas, foram desenvolvidas três formulações cosméticas, baseadas em compostos presentes ou isolados de extratos da família: ácido elágico ou seus derivados, agentes espumantes em formulações com surfactantes, agentes espessantes e outros constituintes, sendo que todas as composições que foram avaliadas, apresentaram bom efeito anticaspa. Também foi desenvolvido uma composição para pentear cabelo, em forma de espuma, que incluem sucos de várias frutas frescas, dentre elas, espécies da *Anacardiaceae* (manga) e/ou surfactantes, e por último, uma formulação cosmética tópica, que permitem observar efeitos como: protetor para a pele, atividade antioxidante, propriedades antifúngicas e antirradicais, concluindo que as plantas desta família, possuem importante significado para a química dos produtos naturais (QPN), farmacologia e áreas correspondentes.

2.2. Gênero *Tapirira*

O gênero *Tapirira* pertence à família da Anacardiaceae, sendo composto por aproximadamente 35 espécies (MITCHELL, 1992). São constituídos por árvores ou arbustos, dióicos ou poligamodióicos, podendo ser encontrada no sul do México até a América do Sul (SILVA, et. al., 2020). No Brasil, em todas as regiões é possível encontrar o gênero *Tapirira*, contribuindo com quatro espécies deste gênero, sendo elas: *Tapirira obtusa*, *T. pilosa Sprague*, *T. retusa Duckee* *T. Guianensis*, onde a espécie *T. guianensis* é a espécie mais conhecida (SILVA-LUZ et. al., 2020).

Sua ocorrência de distribuição geográfica confirmada em todo o Brasil, exceto no Rio Grande do Sul.

Domínios Fitogeográficos

Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica, Pantanal

Tipo de Vegetação

Área Antrópica, Cerrado (lato sensu), Floresta Ciliar ou Galeria, Floresta de Terra Firme, Floresta Estacional Semidecidual, Floresta Ombrófila (Floresta Pluvial), Restinga (SAMBUICHI et. al., 2009).

2.3. *Tapirira guianensis*

A *T. guianensis* (figura 2) também conhecida como Pau-Pombo, peito de pombo, entre outros nomes, pertencente à família Anacardiaceae, é uma árvore não endêmica, encontrada em solos úmidos, como várzeas e beiras de rios, que possui altura entre 10 e 20 metros, folhas com folíolos em tamanhos variáveis e frutos maduros pequenos e escuros, que são disseminados por aves, sendo uma espécie ampla, encontrada em todo o Brasil (BARROS et. al., 1970).

Figura 2 –*Tapirira guianensis*



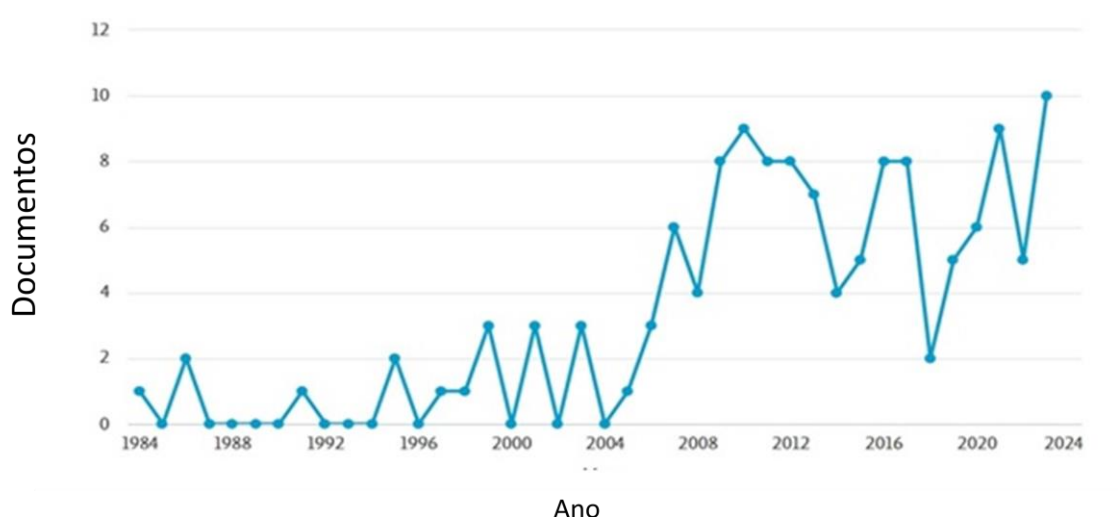
Fonte: Catálogo de Árvores do Brasil – IBAMA, Resolução SMA 47.

Por ter vasta distribuição geográfica na América do Sul e América Central, a TG tornou-se bastante utilizável na medicina popular para tratamento da dermatite, diarreia, sífilis, leishmaniose, leprose e malária (DEFILIPPES et. al., 2004; FRANÇA et. al., 1996; GRENARD et. al., 2004; COSTA, 2006; SILVA-OLIVEIRA et. al., 2006).

A *T. guianensis* tem sido objeto de estudo por pesquisadores de diversas áreas, principalmente por biólogos, farmacêuticos e químicos, devido a sua vasta aplicabilidade para o reflorestamento e com potenciais atividades biológicas. Tais observações foram notadas ao ser feito um levantamento bibliográfico sobre os trabalhos existentes da espécie, através do SCOPUS, obtendo uma lista com 134 publicações até o presente momento. Destas, possuindo maior relevância para a botânica e geografia. Das publicações encontradas, somente 13, apontam estudos químicos que envolvem isolamento de substâncias e/ou ensaios de atividade biológica, mostrando que existe uma carência e que deve ser mais explorada. O gráfico apresentado na figura 3 mostra que o primeiro artigo publicado sobre a espécie foi em 1984 e desde então, nota-se uma crescente nas publicações a partir do ano de 2009 com 9 publicações, chegando ao maior número em 2023, com total de 10 publicações. Entretanto, nenhum trabalho recente, tem explorado a respeito da composição da espécie, fazendo-se

necessário a busca para um maior conhecimento e contribuição a cerca de sua composição química.

Figura 3 — Gráfico de publicações sobre a *T. guianensis*



Fonte: Adaptado de SCOPUS Disponível em: <https://www.scopus.com/term/analyzer.uri?sort=plf-f&src=s&sid=0786f31f3764105d32f7f56ee9830791&sot=a&sdt=a&sl=34&s=TITLE-ABS-KEY%28tapirira+guianensis%29&origin=resultslist&count=10&analyzeResults=Analyze+results>

Dos trabalhos publicados, é possível encontrar estudos realizados com extratos da *T. guianensis* para avaliar diferentes atividades biológicas. OLIVEIRA et al. (2016) submeteram frações de extrato hidroalcoólico bruto, particionado com hexano, clorofórmio e AcOEt de folhas da *T. guianensis*, à ensaios de atividade citotóxica, para análise de efeito tumoral, relatando o potencial efeito antineoplásico que apresentou resultados de atividade citotóxica para linhagens de células de câncer bucal, e também a capacidade de inibir a migração e invasão tumoral, sugerindo a possibilidade de desenvolver um agente anticancerígeno isolado ou um aditivo com atividades sinérgicas, combinado com tratamentos clássicos da quimioterapia e/ou rádio terapia. LONGATTI et al. (2011) realizaram avaliação fitoquímica através de análises do extrato bruto e de frações hidroalcoólica, clorofórmio, hexano e AcOEt, para investigar a ação desses extratos sobre a atividade gelatinaes por meio de zimografia, descobrindo que as frações hidroalcoólica, clorofórmio e AcEOt e o extrato bruto, apresentaram uma significativa inibição da matriz metaloproteinase 2 (MMP-2). TAYLOR et al. (2006) selecionaram 17 espécies para conduzir uma pesquisa inicial de citotoxicidade para células tumorais (pulmão, mama, cólon e pâncreas) e atividade contra quatro proteases. Em seus resultados, constataram que o extrato das folhas e das cascas da *T.*

guianensis foram uma das espécies que apresentaram maiores atividades de inibição contra três linhagens celulares

de câncer de mama, bem como CACO-2, PANC-1 e CALU-6, e inibindo também, a atividade antiprotease. MAHAMOUD et al. (2011) em seus estudos, executaram um ensaio para avaliar a atividade citotóxica contra 3 cepas: HCT-8 (carcinoma de cólon humano), SF-295 (glioblastoma) e cepas de células tumorais MDA-MB-435 (melanome) em 8 espécies, a partir de extratos etanólicos que foram particionados em ordem crescente de polaridade. Dos resultados obtidos, a *T. guianensis* apresentou alta atividade citotóxica (acima de 75%) para as 3 cepas, exceto para a fração hexânica que apresentou atividade abaixo de 50%, com destaque para a fração AcOEt que apresentou 100% de atividade para as 3 cepas.

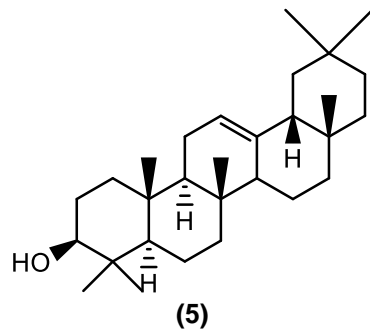
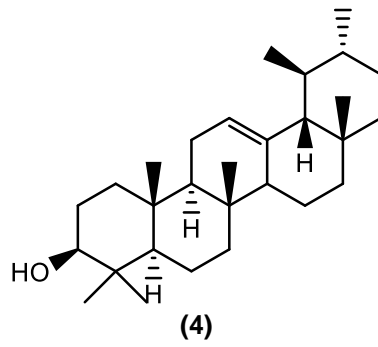
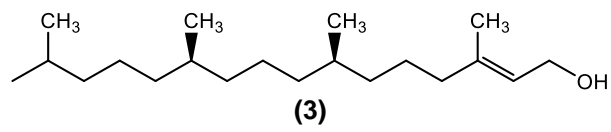
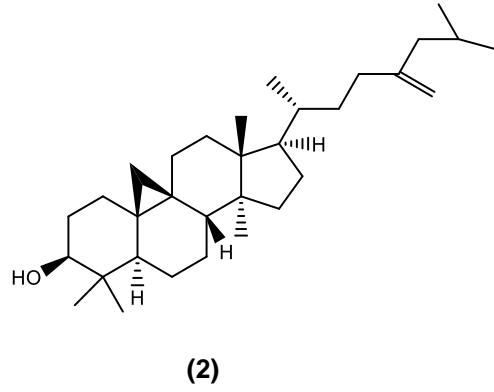
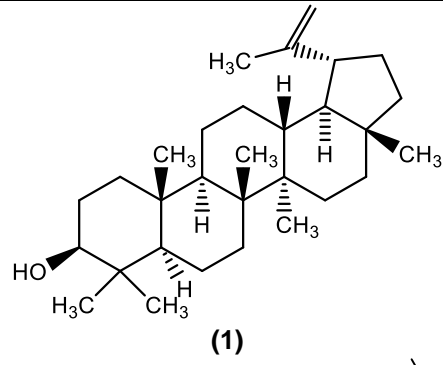
Além de trabalhos voltados para ensaios de diferentes atividades biológicas, estudos à cerca da composição da *T. guianensis* também são encontrados na literatura. CORREIA et al. (2008), identificaram a presença de flavonóides, terpenos e norisoprenóides nas folhas da *T. guianensis*, que a partir da fração hexânica do extrato metanólico da *T. guianensis*, obtiveram as seguintes substâncias: lupeol (**1**), 24-metilenocicloartan-3-ol (**2**), fitol (**3**), α -amarina (**4**), β -amirina (**5**), sitosterol (**6**), além de derivados de sitosterol glicosilado (**7**) e esterificado com ácidos graxos (**8-9**). Do extrato AcOEt obtiveram: Canferol 3- α -arabinofuranosídeo (**10**), Canferol 3- α -raminosídeo (**11**), Quercetina 3- α -raminosídeo (**12**), e os norisoprenóides (6S,7E,9S)-6,9-dihidroxi-megastigma-4,7-dien-3-ona, 9-O- β -glucopiranosídeo (**13**) e (6S,7E,9R)-6,9-dihidroxi-megastigma-4,7-dien-3-ona, 9-O- β -glucopiranosídeo (**14**). DAVID et al. (1998) em seus estudos relatam que o extrato clorofórmico da *T. guianensis*, apresentou atividade citotóxica contra o câncer de próstata humano, que quando fracionado e direcionado por bioatividade, levou ao isolamento do β -sitosterol (**15**) e de dois compostos citotóxicos: 2-[10(Z)-heptadecenil]-1,4-hidro-quinona (**16**) e (4R,6R)-di-hidroxi-4-[10(Z)-heptadecenil]-2-ciclohexenona (**17**). CORREIA et al. (2003) estudaram os constituintes da casca da *T. guianensis*, e a partir do extrato hexânico, isolaram e identificaram o β -sitosterol (**18a**), 3- β -O- β -D-glucopiranosil-sitosterol (**18b**), stigmast-4-em-3-ona (**19a**) e stigmast-4-em-6- β -ol-3-ona (**19b**). Obteve-se também, ferulato de dodecosila (**20a**), ferulato de tetracosila (**20b**), ferulato de hexacosila (**20c**), ferulato de octacosila (**20d**), ferulato de triacontila (**20e**) e *p*-cumarato de nonadecila (**20f**). CALASSARA et al. (2020) isolaram e caracterizaram flavonóides vasodilatadores a partir do extrato de AcOEt das folhas da *T. guianensis*, obtendo as seguintes substâncias: miricetina 3- α -a-L-ramnopiranosídeo (miricetrina) (**21**), quercitina 3-O-(6''-O-galoil)- β -D-galactopiranosídeo (**22**), quercitina 3- α -a-L-arabinofuranosídeo (avicularina) (**23**) e quercitina 3- α -L-ramnopiranosídeo (quercitina) (**24**).

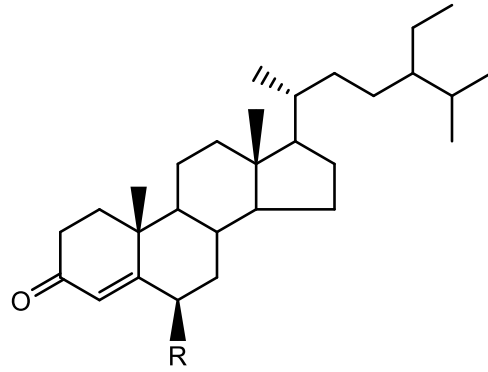
Os testes realizados indicaram que a miricetrina juntamente com a quercitina, contribuíram para a atividade vasodilatadora, além da contribuição do β -D-galactopiranosídeo para a inibição da mieloperoxidase, concluindo que esses flavanóides parecem ser os responsáveis pelo efeito cardiovascular da *T. guianensis*. SILVA, et al. (2020) em seu trabalho, descreve a composição química das sementes e flores da TG. Ao submeter a fração DCM das sementes a procedimentos cromatográficos, obtiveram uma mistura de novos alquenildi-hidrobenzofuranóides que foram identificados como: 2-[(10'Z)-dodec-10'-enil]-di-hidro-1-benzofuran-5-ol (**25**), 2-[(10'Z)-tridec-10'-enil]-di-hidro-1-benzofuran-5-ol (**26**) e 2-[(10'Z)-pentadec-10'-enil]-di-hidro-1-benzofuran-5-ol (**27**), além do β -sitosterol (**28**). Da fração AcOEt das flores, do extrato MeOH, por técnicas cromatográficas, obteve-se a quercitina, quercitrina e ácido gálico. RODRIGUES, et al. (2017) com o objetivo de realizar um estudo fitoquímico do extrato metanólico das folhas da TG, guiado por atividades vasodilatadoras e antioxidantes, utilizaram a fração AcOEt do extrato MeOH, determinando o fracionamento por HPLC-UV-MS guiado por cromatografia reversa, onde os efeitos vasorrelaxantes do perfil MeOH foram avaliados em aorta de rato pré-contraída com fenilefrina, e a atividade antioxidante foi avaliada usando um ensaio DPPH. A fração AcOEt apresentou maior efeito vasodilatador e potência antioxidante, submetendo a novo fracionamento que possibilitou o isolamento e caracterização das substâncias: 1,4,6-tri-O-galoil-D-glicose (**29**), quercitina 3-O-(6''-O-galoil)-D-galactopiranosídeo (**30**) e quercitina (**31**). Através do HPLC-UV-MS, identificaram miricetrina desoxihexosídeo (**32**) e galoil-HHDP-hexosídeo (**33**), sendo descritos pela primeira vez para a espécie. ROUMY et al. (2009) realizaram estudos com compostos antiprotozoários e antibacterianos da *T. guianensis*, que permitiu a sua purificação guiada por bioensaio da casca da *T. guianensis* do extrato DCM, que levou ao isolamento de quatro derivados de alquilpoliol cíclico: 4,6,20-trihidroxi-6-[100(Z)-heptadecenil]-1-ciclohexen-2-ona (**34a**), 1,4,6-trihidroxi-1,20-epoxi-6-[100(Z)-heptadecenil]-2-ciclohexano (**34b**), 1,4,5,20-tetrahidroxi-1-[100(Z)-heptadecenil]-2-ciclohexeno (**35**) e 1,3,4,6-tetrahidroxi-1,20-epoxi-6-[100 (Z)-heptadecenil]ciclohexano (**36**), sugerindo em seus resultados que uma aplicação externa do extrato ativo da planta ou dos compostos purificados, poderia representar uma alternativa terapêutica acessível à medicina clássica contra a leishmaniose. DEHARO e GINSBURG, (2011) publicaram um artigo de revisão sobre a análise de aditividade e sinergismo no efeito antiplasmodial de compostos purificados de extratos de plantas, concluindo que, geralmente, as atividades das moléculas isoladas não poderiam explicar por si só, a atividade do extrato bruto e atribui a um possível efeito sinérgico, pois os produtos que foram descartados ao longo do processo de fracionamento poderiam ser capazes de aumentar

a atividade de compostos isolados, evidenciando o quanto esse processo pode ser demorado e caro, deixando o questionamento para explorar mais, à cerca dos extratos brutos. PATIENT, et al. (2022) relatam que o extrato hidrometanólico das folhas, produziu maior teor de polifenóis, exibindo atividades antirradicais em ensaios químicos, semelhantes ou superior à planta antirradicalar chá verde, que é bastante conhecida. Na *T. guianensis*, evidenciaram duas classes de polifenóis: ácidos galoilquínicos que foram identificados pela primeira vez na espécie e flavanóis, concluindo que os flavanóis podem desempenhar papel importante na atividade antioxidante do DPPH. Em publicação mais recente sobre a espécie, MAR, et al., (2023) avaliaram o perfil químico e compostos bioativos na *T. guianensis*, utilizando amostras de suco proveniente da fruta, sob efeito de ultrassom de alta intensidade, que foram tratados e avaliados. O extrato hidroalcoólico apresentou duas categorias principais de polifenóis, em específico ácidos galoilquínicos e flavanóis, que tinha sido relatado anteriormente no trabalho de Patient 2022, como resultado, obtiveram que o ultrassom de alta intensidade foi responsável por induzir mudanças negativas, como degradação de carotenos, mas também mudanças positivas no perfil químico da bebida, sendo elas: aumento no teor fenólico, aumento no teor das antocianinas e melhora da capacidade antioxidante, possuindo mais efeitos positivos que negativos, criando oportunidades para uma maior exploração da bebida, para desenvolver novas funcionalidades. Diante os trabalhos publicados sobre a espécie, é notório o potencial existente na planta, podendo ser uma alternativa para ajudar no tratamento de diversas doenças. Entretanto, necessita de maiores investigações na busca por maior conhecimento, a respeito da sua composição química. A tabela 2 apresenta todas as substâncias isoladas e identificadas da espécie *T. guianensis* bem como as atividades biológicas ensaiadas até o presente momento.

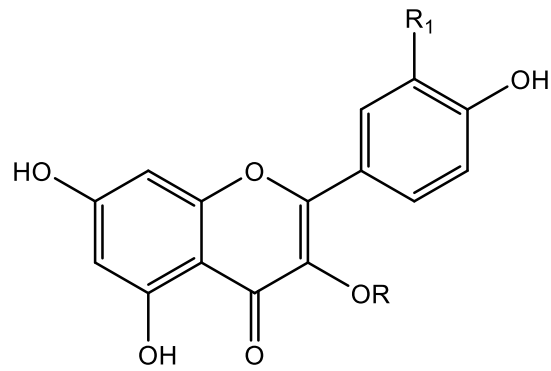
Tabela 1 —Substâncias isoladas e identificadas da espécie *T. guianensis* e/ou sua atividades biológicas.

Parte da planta	Substância/ extrato	Atividade biológica	Referência
Folhas	Extrato	Potencial efeito antineoplásico	OLIVEIRA et al, 2016
Folhas	Extrato	Gelatinaeses	LONGATTI et al, 2011
Folhas e Galhos	Extrato	Citotoxicidade para células tumorais	TAYLOR et al, 2006
Folhas e caule	Extrato	Citotoxicidade para células tumorais	MAHAMOU D et al, 2011
Folhas		Não ensaiado	CORREIA et al, 2008

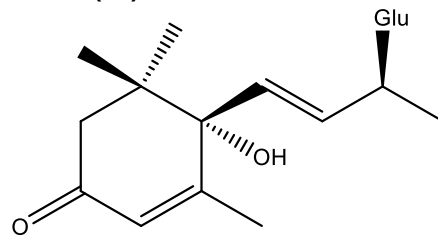




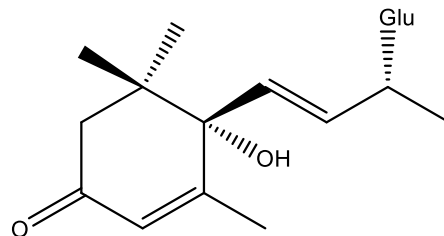
- (6)** R= H
(7) R= Glu
(8) R= CO(CH₂)₁₄CH₃
(9) CO(CH₂)₁₆CH₃



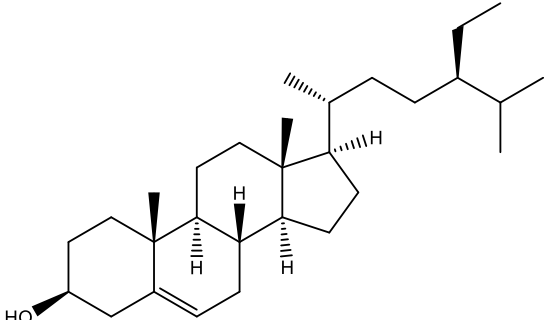
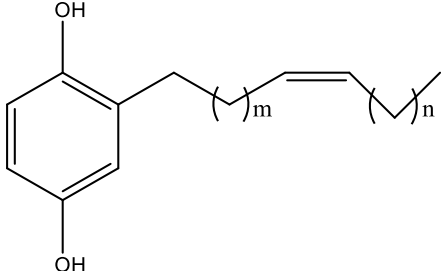
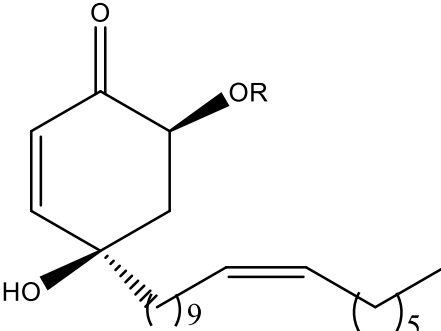
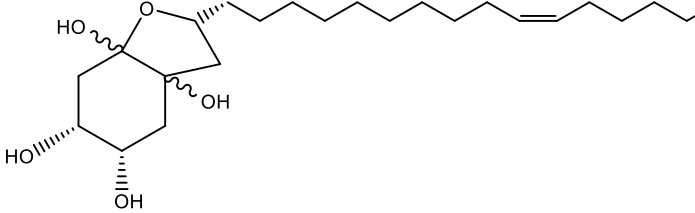
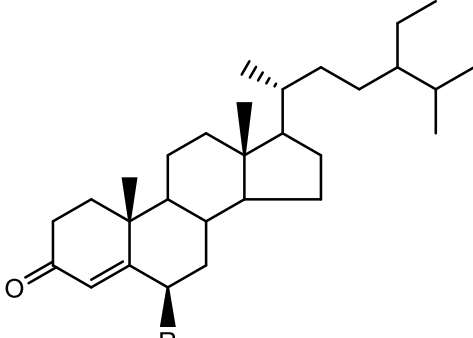
- (10)** R=α-Rha, R₁= H
(11) R=α-Ara, R₁= H
(12) R=α-Rha, R₁= OH

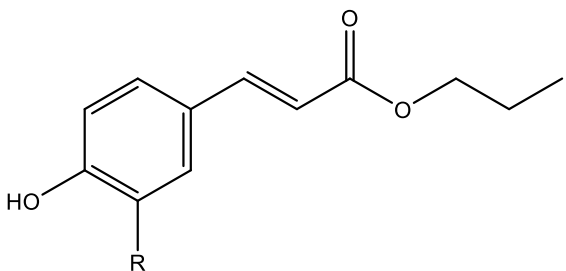
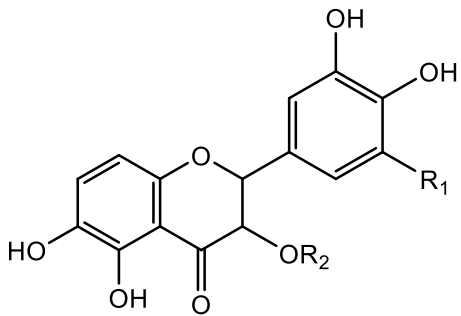
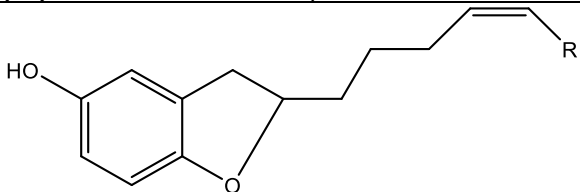
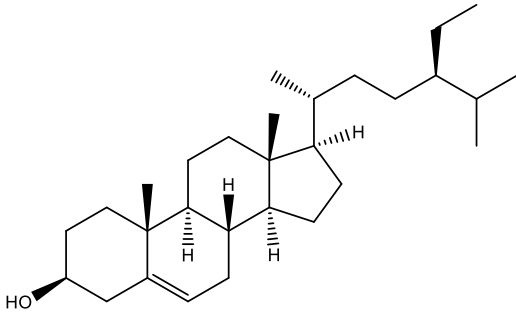


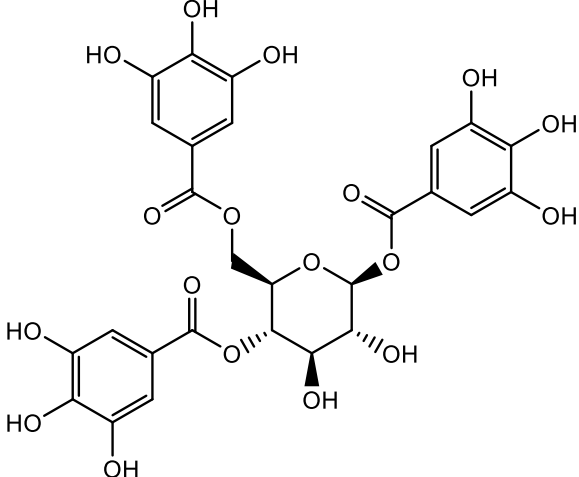
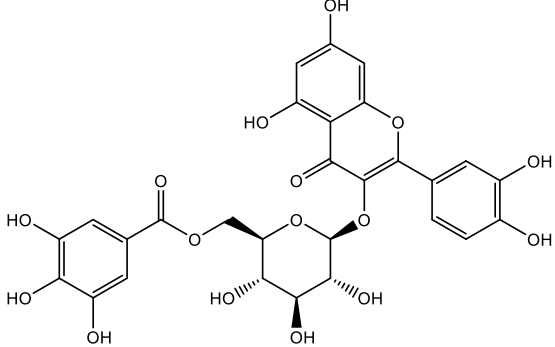
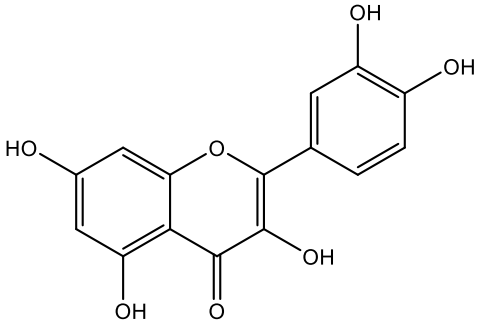
(13)

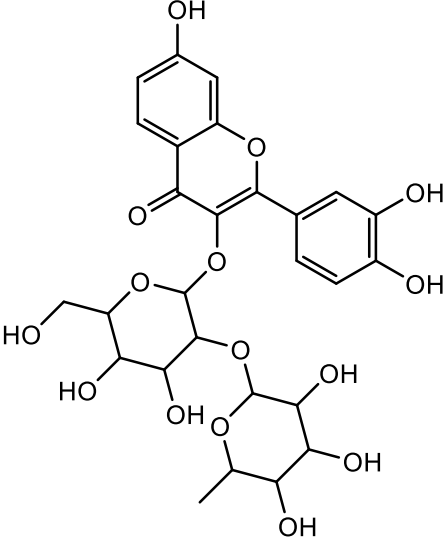
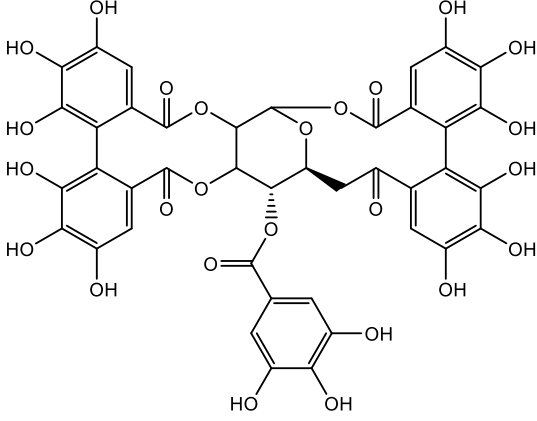
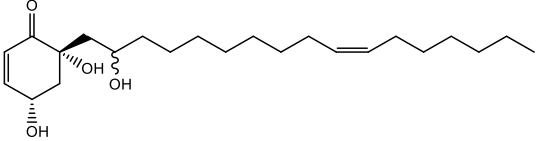
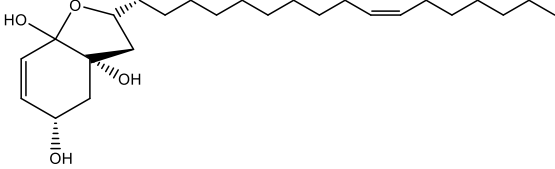
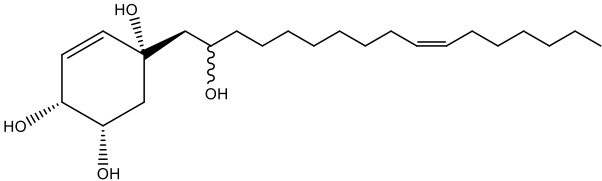


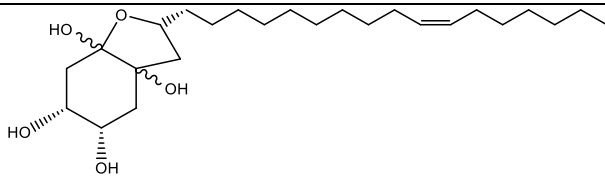
(14)

Folhas	 <p>(15)</p>  <p>(16)</p>  <p>(17)</p>	Câncer de próstata	de DAVID et al, 1998
Sementes	 <p>(18a) R= H (18b) R= Glu</p>  <p>(19a) R= H (19b) R= OH</p>	Não ensaiado	CORREIA et al, 2003

	 <p> (20a) R= OMe; n= 20 (20b) R= OMe; N=22 (20c) R= OMe; N=24 (20d) R= OMe; N=26 (20e) R= OMe; N=28 (20f) R= H; N=17 </p>		
Folhas	 <p> (21) R₁= OH; R₂=α-a-Lramnopiranosídeo (22) R₁= H; R₂= (6"-O-galoil)-β-D-galactopiranosídeo (23) R₁= H; R₂= α-a-L-arabinofuranosídeo (24) R₁= H; R₂= α-L-ramnopiranosídeo </p>	Vasodilatadoras	CALASSAR A et al, 2020
Sementes e flores	 <p> (25) R= CH₃ (26) R= CH₂CH₃ (27) R= CH₂CH₂CH₂CH₃ </p>  <p>(28)</p>	Não ensaiado	SILVA et al, 2020

Folhas	 <p style="text-align: center;">(29)</p>  <p style="text-align: center;">(30)</p>  <p style="text-align: center;">(31)</p>	Vasodilatador as antioxidante	RODRIGUE S et al, 2017
--------	---	-------------------------------------	------------------------------

	 <p style="text-align: center;">(32)</p>  <p style="text-align: center;">(33)</p>		
Casca	 <p style="text-align: center;">(34a)</p>  <p style="text-align: center;">(34b)</p>  <p style="text-align: center;">(35)</p>	Antiprotozoáři os antibacteriano s	ROUMY et al, 2009

	 <p style="text-align: center;">(36)</p>		
Folhas	—	Antirradicais	PATIENT et al, 2022

Fonte: Produção do próprio autor.

2.4. Diterpenos

Os diterpenos ou terpenóides são de metabólitos secundários pertencentes à classe dos terpenos. Os metabólitos secundários são aqueles cujos não exercem participação na vitalidade dos organismos vivos e geralmente a esses metabólitos é atribuído diversas propriedades biológicas, benefícios em fármacos, perfumes e bioprodutos industriais, trazendo benefícios para o ser humano e demonstrando relevância econômica (CANIARD, et al, 2012).

É constituído por 20 átomos de carbono que corresponde a duas unidades de isopreno. Comumente encontrados em plantas, sua rota biossintética ocorre pela via ou rota do metil eritritol fosfato (MEP), que tem como precursor direto o geranylgeranyl PP (GGPP), o que torna uma via diferente e independente da via do mevalonato, que é comum para a biossíntese de triterpenos, esteróides e sesquiterpenos (DEWICK, 2002).

Estudos têm mostrado que a classe de diterpenos está associada a propriedades cardiovasculares, vasorrelaxante, inotrópica, diurética e hipotensora (MONTEIRO, et al, 2020).

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

- Realizar o estudo fitoquímico do extrato diclorometânico e metanólico da *T. guianensis*.

3.2. Objetivos específicos

- Isolar constituintes da folha da *T. guianensis*.

-Elucidar as estruturas das substâncias obtidas, através de técnicas espectroscópicas usuais, como RMN de ^1H e RMN de ^{13}C , e outras técnicas como DEPT 135 e HSQC.

-Contribuir para o conhecimento químico da espécie *T. guianensis*.

4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1. Materiais, equipamentos e reagentes

Os solventes hexano, acetato de etila, metanol, clorofórmio e diclorometano, utilizados nas eluições das CC, CCD, CCDP e preparação dos extratos, foram de grau analítico de procedência Anidrol, Neon e Biograde.

Para evaporação dos solventes, utilizou-se o rotaevaporador sob pressão reduzida, das marcas IKA LABORTECHNIK HB4 basic e BUCHI 461.

Na cromatografia em coluna foram utilizados os adsorventes sílica gel 60 da marca Aldrich e Akros®, com diâmetro de partícula entre 0,063-0,200nm. Para a cromatografia em camada delgada, utilizou-se placas pré-preparadas de gel em sílica 60 F254 da marca Fluka, Merck® ou RdH Laborchemikalien Gmb H&Co. Para a cromatografia em camada delgada preparativa, utilizou-se placas de sílica gel 60 F254 de 1mm de espessura da marca Merk®, placas de cromatografia que possuem alta resolução possuindo de 500 a 1000µm de espessura.

Métodos de revelação empregados nas cromatografias em camada delgada compreenderam na utilização de exposição das placas à radiação através de uso de lâmpada ultravioleta nos comprimentos de onda 254 e 366nm, da marca Spectroline-Model CM-10, Fluorescence Analysis Cabinet, vapores de iodo, solução de cloreto férrico 5% em etanol, solução de sulfato cérico em ácido sulfúrico e água, e/ou reagente de Liebermann-Burchard.

Os espectros de RMN de ^1H , ^{13}C , HSQC, HMBC, COSY e DEPT-135 foram registrados em espectrômetro de RMN Varian Inova 500 de 11,7 Tesla, operando com frequência de 500MHz para ^1H e 125MHz para ^{13}C , registrados no Laboratório Baiano de Ressonância Magnética Nuclear-LABAREMN, utilizando os solventes CDCl_3 e CD_3OD de procedência Isotech®. O sinal de ^1H e de ^{13}C dos solventes, utilizou-se como referência interna em relação ao TMS.

4.2. Coleta do material vegetal

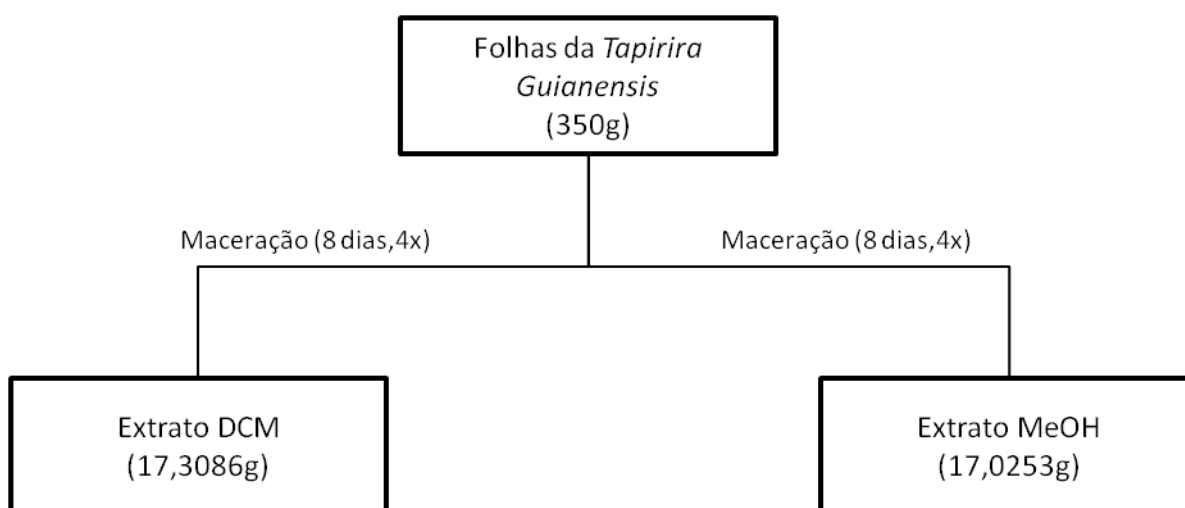
A coleta das folhas da *T. guianensis* foi realizada em Salvador-BA, no campus Ondina da Universidade Federal da Bahia, coordenadas geográficas: -12.9987742, -385090847).

Foram secas em estufa a 40°C, obtendo uma massa de 350g. Posteriormente, o material vegetal foi triturado e armazenado em local protegido da luz e da umidade.

4.3. Preparo dos extratos de metanol e de diclorometano

A partir de 350g do material vegetal seco e triturado, foram preparados os extratos em metanol (MeOH) e em diclorometano (DCM) separadamente. A extração foi realizada, através da maceração (8 dias, 4x). Foram filtrados e concentrados em rota evaporador sob pressão reduzida.

Figura 4 — Esquema do procedimento experimental da obtenção dos extratos de DCM e de MeOH das folhas da *T. guianensis*.



4.4. Fracionamento do extrato DCM

O extrato DCM (17,3086g) das folhas da *T. guianensis* foi submetido a fracionamento através de coluna cromatográfica (CC). Como fase estacionária, foi utilizado sílica gel 60 e como fase móvel, hexano e AcOEt, com eluição em gradiente, obtendo 10 frações. Cada fração foi coletada utilizando o volume de 150mL de solvente. As frações foram analisadas por CCD, vapores de iodo, vanilina e ácido sulfúrico, reagente de Lieberman-Burchard e radiação por luz UV (254 e 365 nm) (Tabela2).

Tabela 2 — Frações obtidas da CC do extrato DCM.

Código	Sistema eluente Hex:AcEOt	Massa (g)
TG1	100:0	0,4604

TG2	95:5	0,0902
TG3	95:5	1,3295
TG4	95:5	2,3181
TG5	9:1	0,8437
TG6	9:1	0,4573
TG7	8:2	3,5590
TG8	8:2	0,7829
TG9	6:4	4,2927
TG10	0:100	0,7415
		TOTAL: 14,8753

4.5. Purificação das frações do extrato DCM das folhas da *T. guianensis*

Após análise das frações através de CCD, vapores de iodo, vapores de vanilina e ácido sulfúrico, reagente Liberman-Burchard e radiação por UV (254 e 365 nm), observou-se a necessidade de que as frações fossem submetidas à CC para purificação.

4.5.1 Purificação da fração TG3

A fração **TG3** (1,3295g) foi submetida a CC. Como fase estacionária utilizou-se sílica gel 60 e como fase móvel, hexano e AcOEt com eluição em gradiente. Desta CC coletou-se 74 subfrações com 150mL cada, que após análise por CCD, vapores de iodo, reagente de Liberman-Burchard e radiação por UV, foram reunidas obtendo 8 frações (Tabela 3).

Tabela 3 — Subfrações obtidas da CC da TG3.

CÓDIGO	FRAÇÕES REUNIDAS	MASSA (g)
TG3 col1	13-14	0,0051
TG3 col2	15-37	0,0624
TG3 col3	39-44	0,2668
TG3 col4	45-52	0,4685
TG3 col5	53-66	0,1517
TG3 col6	67-72	0,0301
TG3 col7	73	0,0925
TG3 col8	74	0,1908
		TOTAL: 1,2679

As subfrações **TG3 col3** denominada **Tcol** e **TG3 col4** denominada **TG3.1 col**, foram submetidas a CC separadamente, utilizando-se 200mg de cada subfração. Para a fase estacionária usou-se sílica gel 60 e como fase estacionária hexano e AcOEt com eluição em

gradiente e 150mL coletados em cada fração, obtendo respectivamente 45 e 13 frações. Para reunir as frações, as análises ocorreram através de CCD, vapores de iodo, vapores de vanilina e Ácido sulfúrico e radiação UV (254 e 365 nm) obtendo 12 e 4 subfrações como descrito nas tabelas.(tabelas 4 e 5)

Tabela 4 — Subfrações obtidas da CC da subfraçãoTG3 col3.

CÓDIGO	FRAÇÕES REUNIDA	SISTEMA ELUENTE Hex:AcEOt	MASSA (g)
T col1	6-7	95:5	0,0724
T col2	8-9	95:5	0,0055
T col3	10-12	95:5	0,0041
T col4	14-15	9:1	0,0033
T col5	16-17	9:1	0,0044
T col6	18-19	9:1	0,0032
T col7	20	8:2	0,0006
T col8	21	8:2	0,0013
T col9	23-25	7:3	0,0042
T col10	26	7:3	0,0010
T col11	27	1:1	0,0012
T col12	38-39	0:100	0,0038
			TOTAL: 0,1050

Tabela 5 — Subfrações obtidas da CC TG3 col4.

CÓDIGO REUNIDAS	FRAÇÕES	SISTEMA ELUENTE Hex:cEOt	MASSA (g)
TG3.1 col1	2-5	95:5	0,0632
TG3.1 col2	6-8	95:5	0,0308
TG3.1 col3	9-11	95:5	0,0323
TG3.1 col4	12-13	9:1	0,0416
			TOTAL: 0,1679

A **col T** não levou a nenhuma substância isolada, no entanto, a subfração **TG3.1col3** proveniente da coluna TG3.1 col, apresentando-se com coloração amarelada e exibindo aspecto oleagenoso, passou por análises através de CC, revelados com vapor de iodo,vapor de

sulfato cérico, cloreto férrico e radiação UV(254 e 365 nm), mostrou-se estar possivelmente pura. Uma amostra foi enviada para obtenção dos espectros de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio¹(RMN de ¹H) e Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13 (RMN de ¹³C).

4.5.2. Purificação da fração TG4

A fração **TG4** (2,3181g) foi submetida a CC (TG4 col) utilizando-se 2g e 150mL para coletar cada fração. Para a fase estacionária, usou-se sílica gel 60 e como fase móvel hexano e AcOEt com eluição em gradiente obtendo 54 frações que após análise através de CCD, revelados com vapores de iodo, vapor de vanilina, reagente Liberman-Burchard e radiação UV (264 e 365 nm) foram reunidas em 11 subfrações.(tabela 6)

Tabela 6 — Subfrações da CC da fração TG4

CÓDIGO	FRAÇÕES REUNIDAS	MASSA (g)
TG4 col1	21-10	0,0679
TG4col2	24-26	0,2221
TG4 col3	27	0,0855
TG4 col4	28-32	1,0245
TG4 col5	33	0,0542
TG4 col6	34-36	0,1329
TG4 col7	37	0,0245
TG4 col8	34-42	0,1094
TG4 col9	43	0,0535
TG4 col10	49-50	0,0201
TG4 col11	51-54	0,0602
		TOTAL: 1,8548

A subfração **TG4 col4** após a secagem, apresentou-se como um sólido com a cor levemente amarelada e aroma agradável. Sua análise através de CCD, vapor de iodo, cloreto férrico, sulfato cérico e radiação por UV (264 e 365nm), apresentaram manchas na CCD, e mancha brilhosa na presença de radiação por UV, que indicaram a necessidade de um novo fracionamento desta subfração através de CC, que foi denominada de **col TB**. Utilizou-se 100mg da TG4 col4 para realização da CC. Para a fase estacionária, usou-se sílica gel 60 e

como fase móvel hexano e AcEOt com eluição em gradiente, utilizando 200mL para coleta de cada subfração, obtendo 40 subfrações que após análise por CCD, vapores de iodo, vapores de sulfato cérico, cloreto férrico e radiação UV (264 e 365 nm), foram reunidas em 13 subfrações. (Tabela 7).

Tabela 7 — Subfrações obtidas da CC da subfração TG4 col4.

CÓDIGO Hex:AcEOt	FRAÇÕES REUNIDAS	SISTEMA ELUENTE	MASSA (g)
ColTB1	1-19	95:5	0,0062
ColTB2	20	95:5	0,0024
ColTB3	21-22	9:1	0,0086
Col TB4	23-24	9:1	0,0140
Col TB5	26-27	85:15	0,0080
Col TB6	28-30	85:15	0,0145
Col TB7	31-32	8:2	0,0002
Col TB8	33	8:2	0,0041
Col TB9	34	8:2	0,0026
Col TB10	37	1:1	0,0027
Col TB11	38	1:1	0,0081
Col TB12	39	1:1	0,0071
ColTB13	40	0:100	0,0136
			TOTAL: 0,0921

Com as análises em CCD, a subfração **ColTB3** mostrou-se estar aparentemente pura, e foi enviada para testes RMN de ^1H e RMN de ^{13}C

4.5.3. Purificação das frações TG5, TG6 eTG7

Após análises por CCD, separadamente, as frações TG5(0,8437g) e TG6 (0,4573g) foram submetidas à cromatografia de camada delgada preparativa(CCDP), utilizando-se 50mg de cada amostra,e com o sistema eluente, os solventes hexano e AcEOt na proporção 8:2. Após análise por radiação UV (264 e 365 nm), foi possível observar na CCDP da TG6, o aparecimento de duas manchas distintas. As regiões das manchas reveladas pela radiação UV, foram separadas manualmente, filtradas e secadas. Duas frações foram obtidas, denominadas **TG6SUP e TG6INF**.

A **TG6SUP** não possuiu massa suficiente para ser submetida à realização de testes de RMN de ^1H . **ATG6INF** (4,2mg) apresentou-se com aparência de um sólido branco. Uma amostra foi enviada para obtenção dos espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C .

A fração TG7 (3,5590g) denominada **TG7 col**, foi submetida à CC, partindo de 500mg da amostra. Utilizou-se sílica gel como fase estacionária e hexano e AcEOt como fase móvel com eluição em gradiente, obtendo 40 subfrações. Cada subfração foi coletada utilizando 200mL de solvente, que após análise por CCD, vapores de iodo, reagente Lieberman-Burchard, foram reunidas em 4 subfrações. (Tabela 8)

Tabela 8 — Subfrações obtidas da CC da TG7

CÓDIGO	FRAÇÕES REUNIDAS	MASSA (g)
TG7 col1	2-17	0,0723
TG7 col2	18-23	0,0223
TG7 col3	27-36	0,1623
TG7 col4	37-40	0,1735
		TOTAL:0,4304

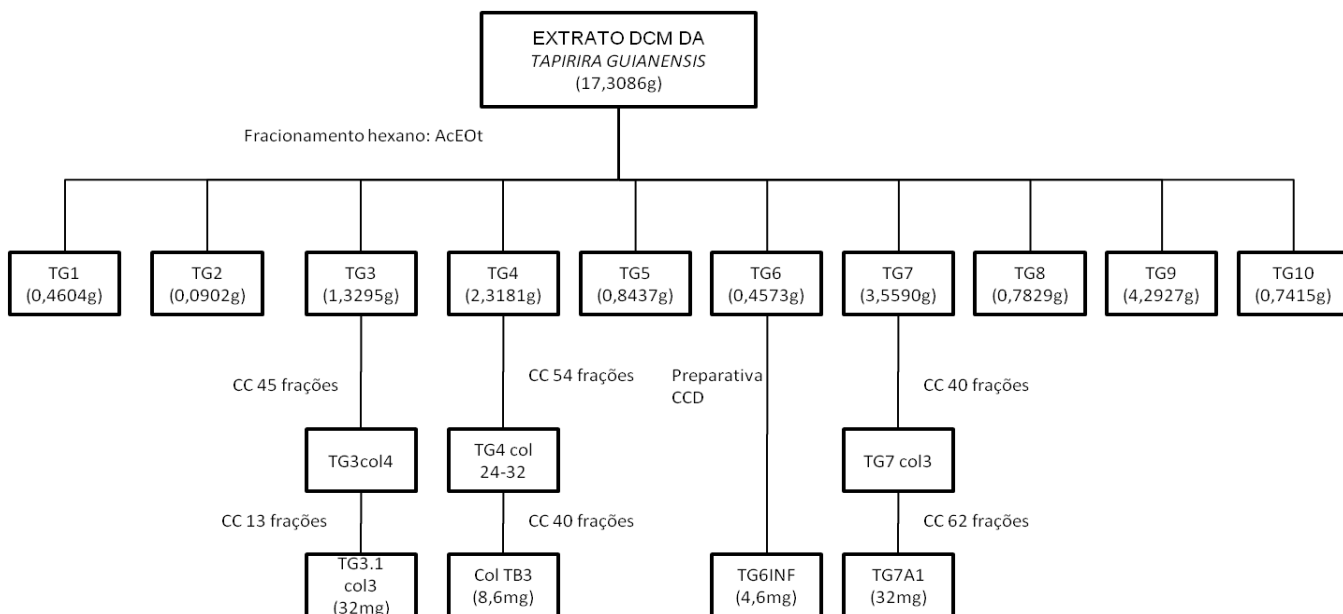
A subfração **TG7 col3** (0,1623g),foi submetida à CC denominada **TG7A**. Como fase estacionária utilizou-se sílica gel 60, e como fase móvel,hexano e AcEOt em eluição em gradiente, obtendo 62 subfrações, cada subfração foi coletada com 150mL, que após análises por CCD, vapores de iodo, sulfato cérico, cloreto férrico e radiação UV, foram reunidas em 5 subfrações(Tabela 9).

Tabela 9 — Subfrações obtidas da CC da TG7 col3

CÓDIGO	FRAÇÕES REUNIDAS	SISTEMA ELUENTE Hex:AcEOt	MASSA (g)
TG7A1	23-30	85:15	0,0324
TG7A2	44-47	7:3	0,0097
TG7A3	48-51	7:3	0,0075
TG7A4	56-60	1:1	0,0121
TG7A5	61-62	1:1	0,0279
			TOTAL:0,0896

A subfração **TG7A1** apresentou-se como um sólido branco, que após análise por CCD, aparentemente estava pura. Uma amostra foi enviada para a obtenção dos espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C .

Figura 5 — Esquema de purificação das subfrações do extrato DCM das folhas da *T. guianensis*



4.6 Fracionamento do extrato MeOH

O extrato MeOH (17,0253g) foi submetido a fracionamento através de CC, utilizando como fase estacionária sílica gel 60 e fase móvel, DCM, AcEOt e MeOH (500mL) em ordem crescente de polaridade e concentrados sob pressão reduzida em rotaevaporador, obtendo 3 subfrações (Tabela 10).

Tabela 10 — Subfrações obtidas do fracionamento do extrato MeOH.

CÓDIGO	SISTEMA ELUENTE	MASSA (g)
A1	DCM	0,0911
A2	AcEOt	0,7553
A3	MeOH	10,3231
		TOTAL:11,1695

4.7 Purificação das subfrações do extrato MeOH

As subfrações A1 (0,0911g), A2 (0,7553g) e A3 (0,5000g) foram submetidas a CC separadamente utilizando sílica gel 60 como fase estacionária e fase móvel hexano e AcOEt para as subfrações A1 e A2, e AcOEt e MeOH para A3, com eluição em gradiente.

Foram coletadas 52 frações da CC da A1, 53 frações da CC da A2 e 22 frações da CC A3, que foram reunidas em 9, 19 e 22 subfrações respectivamente, após análises através de CCD, revelados com vapor de iodo, sulfato cérico, cloreto férrico, vapor de vanilina e ácido sulfúrico e radiação por UV (264 e 365 nm). (tabelas 11, 12 e 13).

Tabela 11 — Subfrações reunidas da CC da subfração A1.

CÓDIGO REUNIDAS	FRAÇÕES	SISTEMA ELUENTE Hex:AcEOt	MASSA (g)
A1	1-11	98:2	0,0019
A2	12-14	95:5	0,0139
A3	15-18	95:5	0,0198
A4	19-26	85:15	0,0013
A5	27	85:15	0,0319
A6	28-32	8:2	0,0511
A7	33-37	8:2	0,0173
A8	38-41	1:1	0,0624
A9	42-47	4:6	0,0500
			TOTAL: 0,2046

Tabela 12 — Subfrações reunidas da CC da subfração A2.

CÓDIGO	FRAÇÕES REUNIDAS	SISTEMA ELUENTE Hex:AcEOt	MASSA (g)
B1	1-12	98:2	0,0019
B2	20	9:1	0,0007
B3	27	85:15	0,0071
B4	29	85:15	0,0113
B5	30	85:15	0,0193
B6	31	85:15	0,0152
B7	32	1:1	0,0131
B8	33	1:1	0,0101

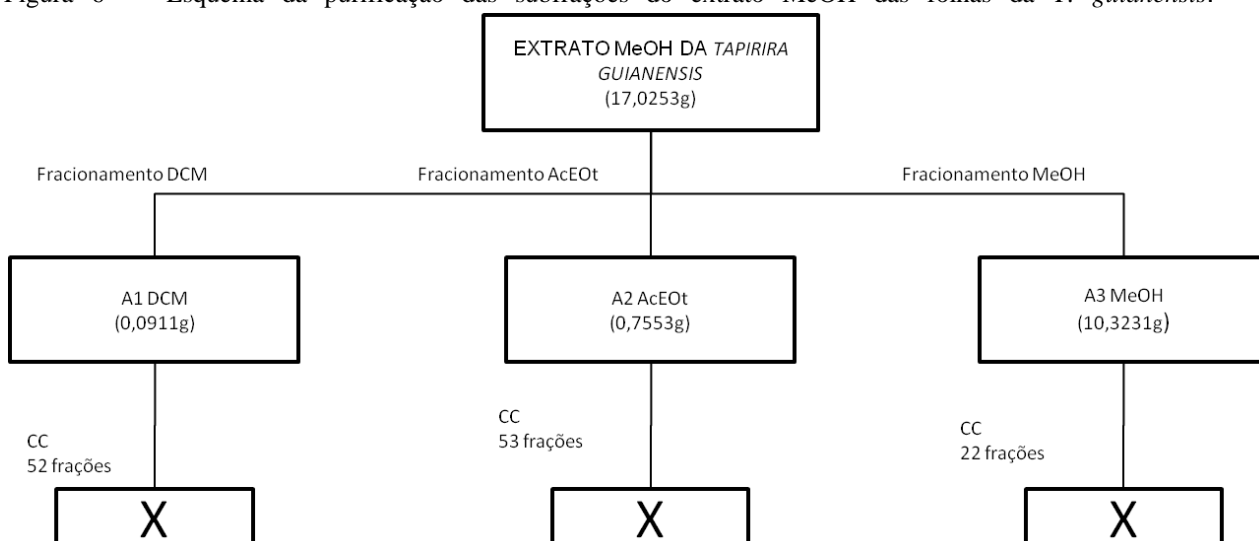
B9	34	1:1	0,0125
B10	35-37	1:1	0,0854
B11	38	4:6	0,0173
B12	39	4:6	0,0168
B13	40	4:6	0,0152
B14	41	4:6	0,0217
B15	43	3:7	0,0222
B16	44	3:7	0,0236
B17	45	3:7	0,0249
B18	46-49	2:8	0,0925
B19	50-53	0:100	0,0611
			TOTAL: 0,4719

Tabela 13 — Subfrações reunidas da CC da subfração A3.

CÓDIGO	FRAÇÕES REUNIDAS	SISTEMA ELUENTE AcEOT:MeOH	MASSA (g)
M1	1-11	9:1	0,0281
M2	12-13	8:2	0,0115
M3	14-15	8:2	0,0105
M4	16	8:2	0,0209
M5	17-20	1:1	0,2280
M6	22	0:100	0,0721
			TOTAL:0,3711

As subfrações do extrato MeOH provenientes das CC de A1, A2 e A3 foram trabalhadas em CC, entretanto, nenhuma das subfrações levaram a isolamento de substância pura, ou que fosse possível identificar em mistura.

Figura 6 — Esquema da purificação das subfrações do extrato MeOH das folhas da *T. guianensis*.

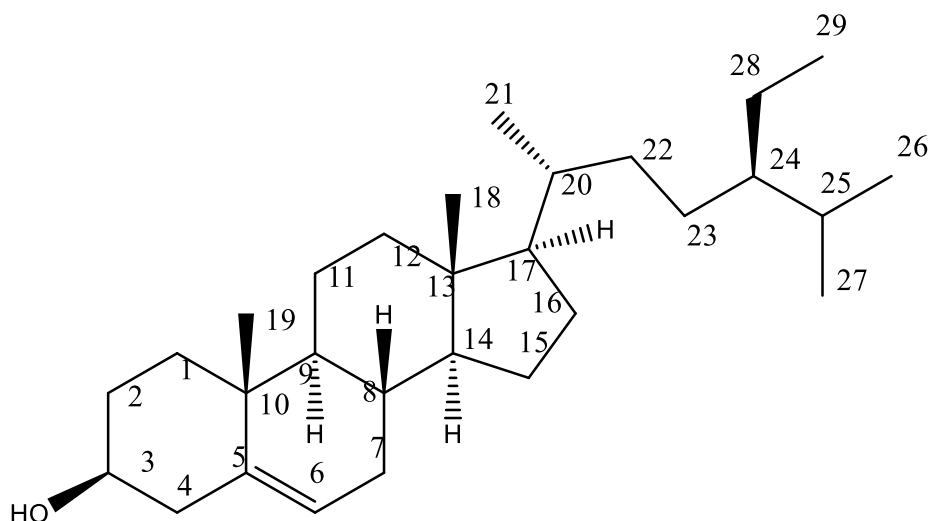


5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Substâncias isoladas da *T. guianensis*

5.1.1. Identificação de TG6INF e TG7A1

Figura 7: Estrutura para as substâncias TG6INF e TG7A1.



A amostra **TG6INF** (4,2mg) foi obtida através de uma CCD preparativa da fração TG6, com aparência de um sólido branco, e a **TG7A1** (32mg) foi obtida através de uma CC da subfração TG7col3, que veio da fração TG7, também com aparência de um sólido branco, conforme descritos na sessão 4.5.3. Ao analisar e comparar os espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C das duas amostras, foi possível notar que se tratavam da mesma substância. Pelo fato de

serem frações subsequentes, é compreensível que algum resquício permaneceu na fração TG6INF, o que explica a pouca quantidade isolada, comparada com a quantidade obtida de TG7A1.

. O RMN de ^1H (figura 9) permitiu a identificação de 49 hidrogênios, dentre eles, hidrogênios metílicos na região de deslocamento químico δ 0,68-1,01 ppm. Através do RMN de ^{13}C (figura 10) foi possível a identificação de 29 carbonos, com base em seus deslocamentos químicos. Dentre eles, carbono ligado a oxigênio com deslocamento químico em δ 71,8 ppm, e dois carbonos olefínicos na região com deslocamento químico em δ 140,8 ppm e δ 121,7 ppm. Os dados de RMN de ^1H e de ^{13}C foram analisados e comparados com a literatura, concluindo que se tratava do β -sitosterol, uma substância bastante conhecida, tendo seu isolamento na *T. Guianensis* descrito pela primeira vez por CORREIA et. al. (2003), obtido através das cascas da *T. guianensis*, por meio de CC.

Além dos dados comparados com a literatura, uma placa CCD (Figura 8) foi realizada com o β -sitosterol padrão e as amostras TG6INF e TG7A1, que apresentaram o RF igual ao β -sitosterol padrão, o que corroborou para a confirmação da substância em análise. A comparação dos dados reportados pela literatura, bem como os dados obtidos nos espectros de RMN, está de acordo com a estrutura estabelecida. Os dados obtidos pelos espectros de RMN de ^{13}C e RMN de ^1H , e os dados de comparação com a literatura (NES, et. al., 1992), são apresentados na tabela 15.

Figura 8 — Placa de CCD realizada com o β -Sitosterol padrão e as amostras TG6INF e TG7A1, eluição clorofórmio: AceOt 8:2.



Fonte: Produção do próprio autor.

O β -sitosterol tem sido estudado no auxílio de redução de hiperplasia prostática benigna, apresentando resultados promissores, onde as evidências sugerem que os β -sitosteróis não glicosídeos, melhoram os sintomas urinários e as medidas de fluxo e também na redução dos níveis de colesterol no sangue (KIM, et. al., 2012; RUDKOWSKA, et. al., 2008).

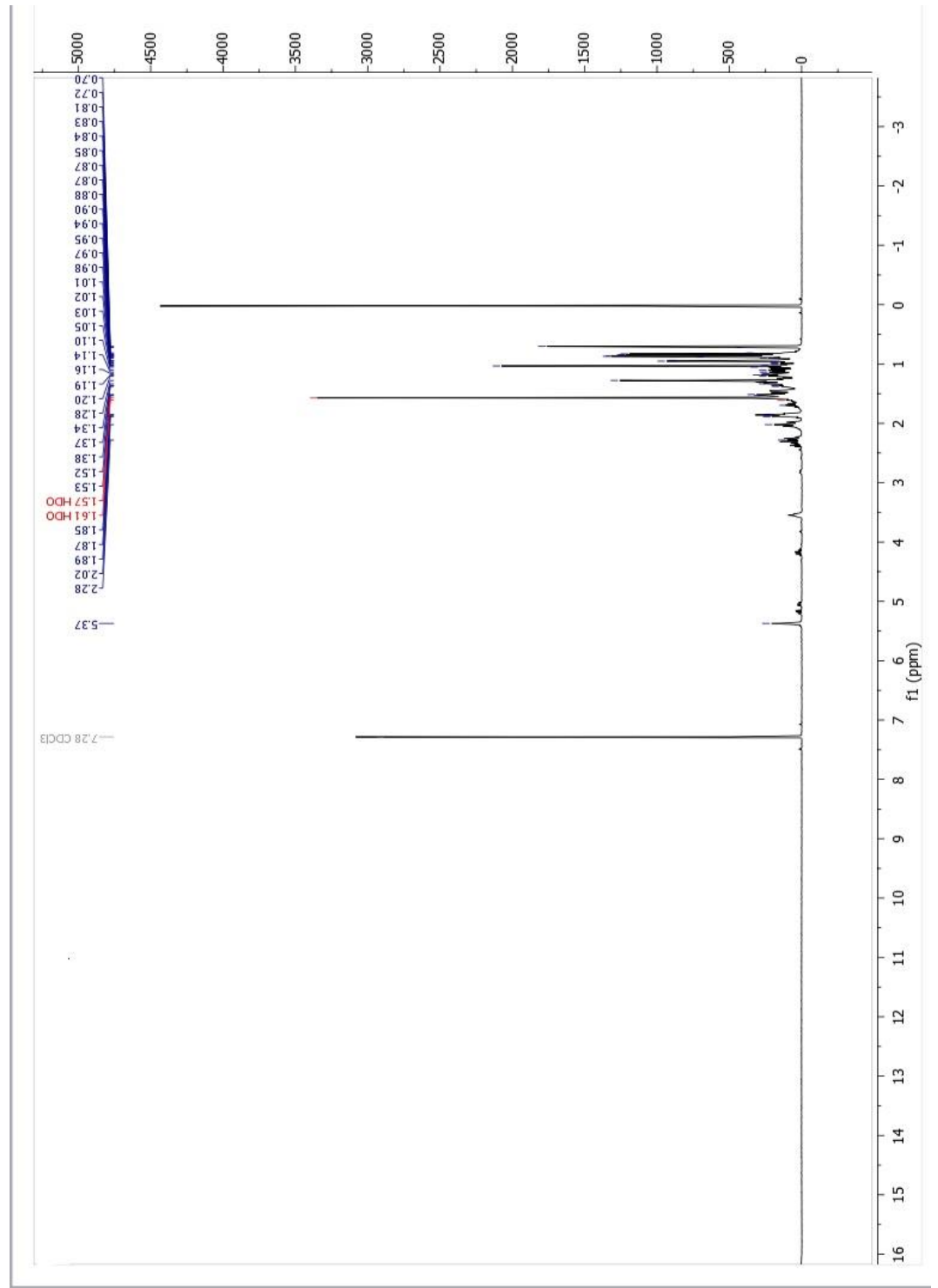
Figura 9 — Espectro de RMN de ^1H da substância **TG6INF e TG7A1**(500MHz, CDCl_3 , δ/ppm).

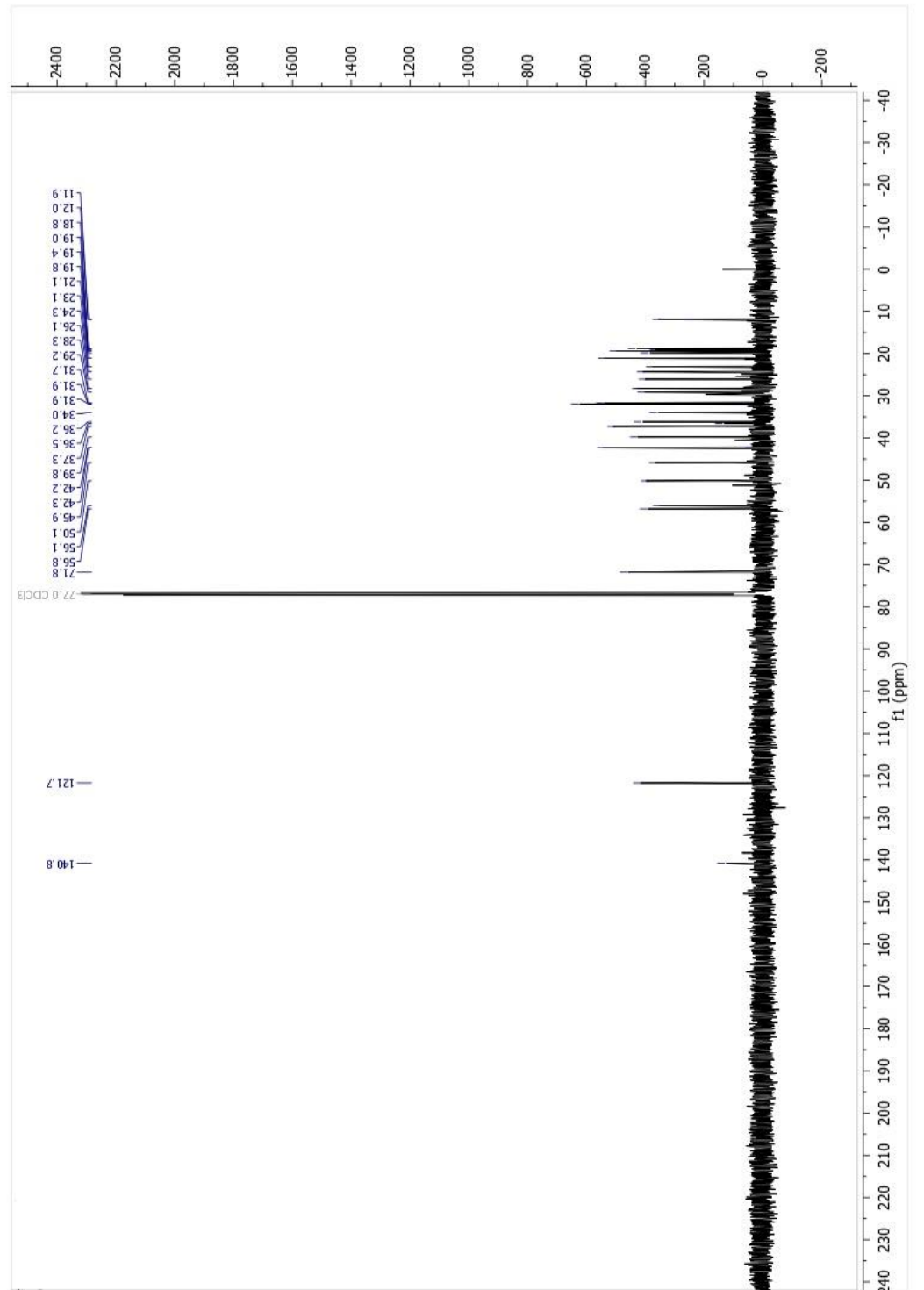
Figura 10 —Espectro de RMN de ^{13}C da substância **TG6INF e TG7A1**(500MHz, CDCl_3 , δ/ppm).

Tabela 14 — Comparação dos dados obtidos das substâncias TG6INF e TG7A1 com o β -sitosterol.

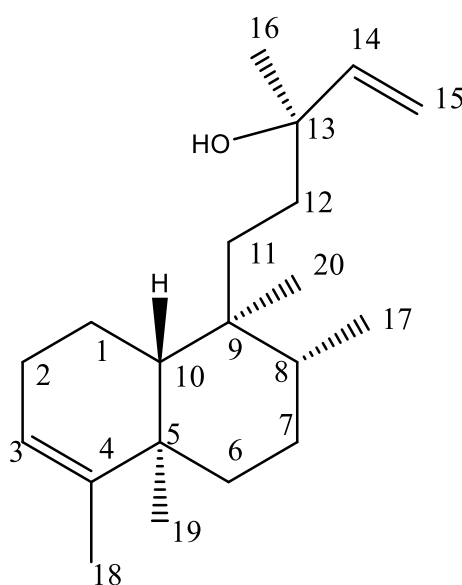
Posição	β -sitosterol		TG6INF e TG7A1	
	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$
1	37,2	1,15;1,89	37,3	1,16;1,89
2	31,6	1,85;1,56	31,7	1,85;1,57
3	71,8	3,53	71,8	3,54
4	42,3	2,28	42,3	2,28
5	140,8	—	140,8	—
6	121,7	5,36 d (J=5Hz)	121,7	5,37 d (J=5Hz)
7	31,8	1,53	31,7	1,53
8	31,9	1,93	31,9	1,93
9	50,1	0,98	50,1	0,98
10	36,5	—	36,5	—
11	21,1	1,51	21,1	1,52
12	39,7	1,19;2,03	39,8	1,19;2,02
13	42,3	—	42,2	—
14	56,7	1,00	56,8	1,02
15	24,3	1,13;1,61	24,3	1,14;1,61
16	28,2	1,35;1,86	28,3	1,34;1,87
17	56,0	1,10	56,1	1,10
18	11,9	0,68 s	12,0	0,70 s
19	19,4	1,00 s	19,4	1,03 s
20	36,1	1,37	36,2	1,38
21	18,8	0,92 d (J=7Hz)	18,8	0,94 d (J=7Hz)
22	33,9	1,04;1,35	34,0	1,05;1,37
23	26,0	1,20	26,1	1,20
24	45,8	0,97	45,9	0,97
25	29,1	1,70	29,2	1,70
26	19,8	0,83 d (J=7Hz)	19,8	0,83 d (J=7Hz)

27	19,1	0,81 (J=7Hz)	19,1	0,81(J=7Hz)
28	23,0	1,27	23,1	1,28
29	12,0	0,84 t (J=7Hz)	11,8	0,84 t (J=7Hz)

*NES(1992)

5.1.2. Identificação de Col TB3 eTG3.1 col 3

Figura 11 — Estrutura para a substância **Col TB3**



A substância **Col TB3** foi isolada do extrato DCM da fração TG4 col 24-32 conforme esquema apresentado na figura 5, apresentando-se com um sólido cristalizado (figura 12).

Figura 12 — Substância isolada Col TB3



Fonte: Produção do próprio autor

Através do teste Distortionless Enhanced Polarization Transfer (DEPT) 135, é possível obter informações à cerca da presença de grupamentos CH, CH₂ e CH₃. Ele inclui a informação sobre o número de átomos de hidrogênio ligado(s) ao(s) carbono(s). O DEPT 135 obtido (figura 14), possibilitou a identificação de 16 sinais dos quais, 5 grupos CH₃, 7 grupos CH₂ e 4 grupos CH, totalizando 33 hidrogênios. O RMN de ¹³C (figura 15) Apresentou sinais de deslocamento químico, permitindo a identificação de 20 carbonos. Dentre eles, carbonos olefínicos com sinais de deslocamento químico em: δ 120,4 (C3) e δ 144,6 (C4) ppm, e carbonos vinílicos em δ 145,1 (C14) e δ 111,8 (C15) ppm. O carbono com deslocamento químico δ 73,5 (C13) ppm, característico de região da presença de OH, justifica o não aparecimento de sinal no DEPT 135 para o deslocamento químico deste carbono e o não aparecimento do hidrogênio correspondente no RMN de ¹H (figura 16), pois, geralmente, hidrogênio de hidroxila não aparece por ser lábil e sofrer troca com o deutério, justificando o não aparecimento do sinal no espectro. Os carbonos com δ 38,3 (C9); 38,1 (C5) e 31,8 (C11) ppm, também não apresentaram sinais de grupamentos no teste DEPT 135, inferindo que sejam carbonos não hidrogenados. No espectro de RMN de ¹H foi possível a identificação de hidrogênios ligados a carbono *Sp*², com deslocamento químico de δ 5,88 ppm, indicativo de hidrogênio de olefina vizinho a grupo metil, e hidrogênios de grupos metilênicos na região de deslocamento químico entre δ 1,7-2,1ppm. Os testes bidimensionais Coerência quântica única heteronucleares (HSQC), Espectroscopia de correlação homonuclear Y (COSY) e

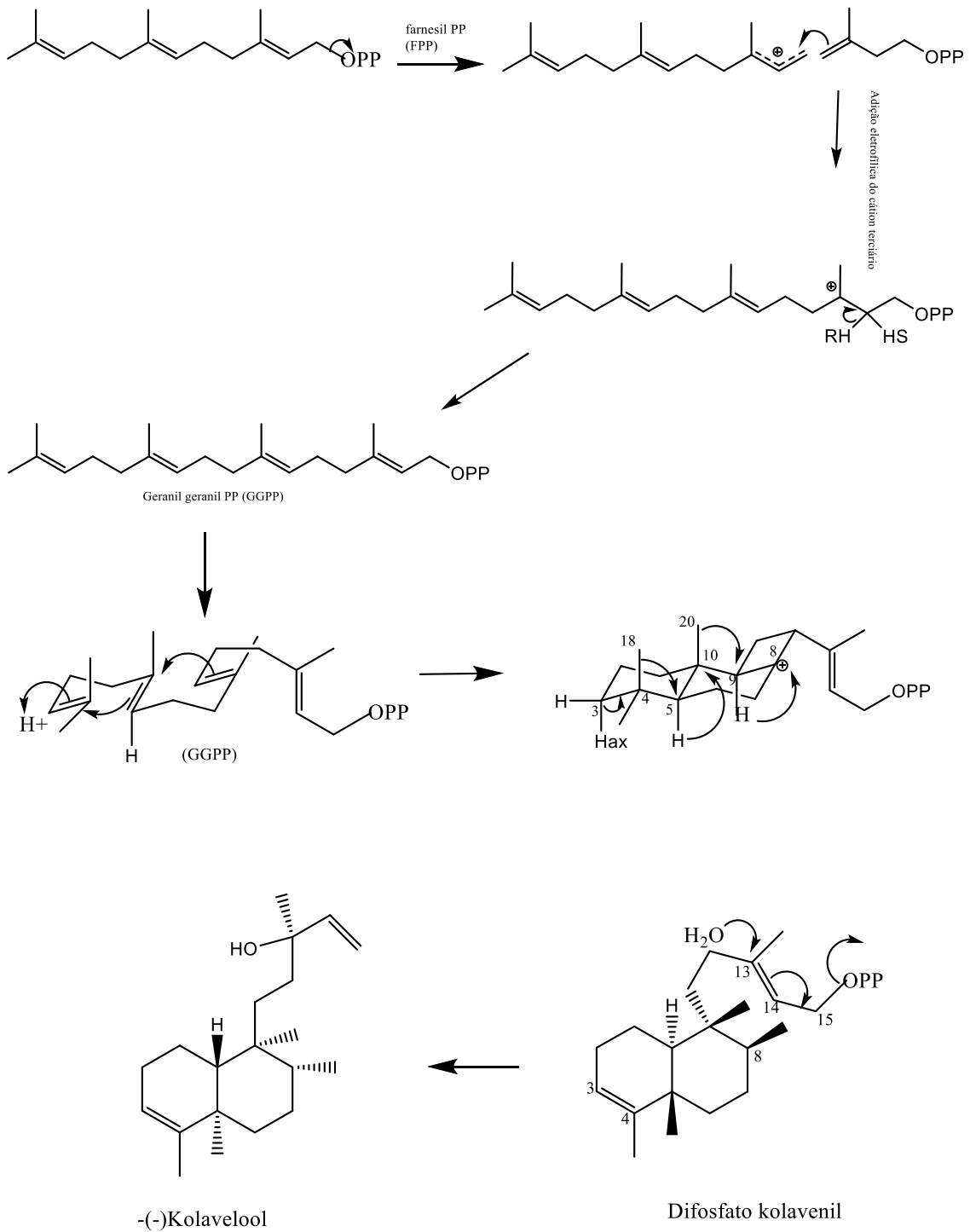
Correlação de ligações múltiplas heteronucleares de ^1H e ^{13}C (HMBC) (figura 17, 18 e 19), foram utilizados para auxiliar e corroborar para a elucidação estrutural proposta, em destaque para o HSQC que permitiu correlacionar os hidrogênios diretamente ligados ao carbono correspondente, em concordância com os dados obtidos através de DEPT-135, destacando por exemplo, a correlação do hidrogênio em δ 5,88 ppm com o carbono em δ 145,1 (C14) ppm, e o dubleto em δ 5,08 ppm com o carbono em δ 111,8 (C15) ppm. A través do COSY foi possível observar o acoplamento dos hidrogênios 5,19 (H3) ppm com 5,07 (H2) ppm, hidrogênios respectivos para os carbonos (C3) e (C2), e o acoplamento entre os hidrogênios 5,88 (H15) ppm e 5,08 (H14) ppm, correspondentes aos carbonos (C15) e (C14). A estereoquímica foi estabelecida por comparação dos valores de deslocamento químico dos dados obtidos com a literatura (BOOM, et. al., 1999) e por evidência através da rota biossintética para formação da substância, sendo possível identificar a substância **Col TB 3** como (5*R*,8*R*,9*S*,10*R*)-*ent*-Clerod-3,14-dien-13 α -ol [(-)-kolavelool, tendo como nome usual, (-)-Kolavelool, fórmula molecular $\text{C}_{20}\text{H}_{34}\text{O}$. Os dados obtidos pelos espectros de RMN de ^{13}C e RMN de ^1H , e os dados de comparação com a literatura, são apresentados na tabela 15.

O (-)- Kolavelool é um diterpeno, que em estudos prévios, foi identificado no gênero *Aristolochia*, nas espécies *A. chamissonis*, *A. cymbifera* e *A. balde* (BOOM, et. al., 1999; LOPES, et. al., 1988). Todavia, até o presente momento é um isolamento inédito no gênero *Tapirira*.

O esquema apresentado (figura 13) demonstra a proposta da rota biossintética para a formação do (-)-kolavelool, realizada por (NAKANO et. al, 2015) que é resultado da ciclização do geranilgeranil PP (GGPP) catalisada por uma molécula de água após ionização e migração da dupla alílica.

A comparação dos dados reportados pela literatura, bem como os dados obtidos nos espectros de RMN, estão de acordo com a estrutura estabelecida.

Figura 13 — Proposta de rota biossintética de formação do (-)-Kolavelool



*(NAKANO et. al;2015)

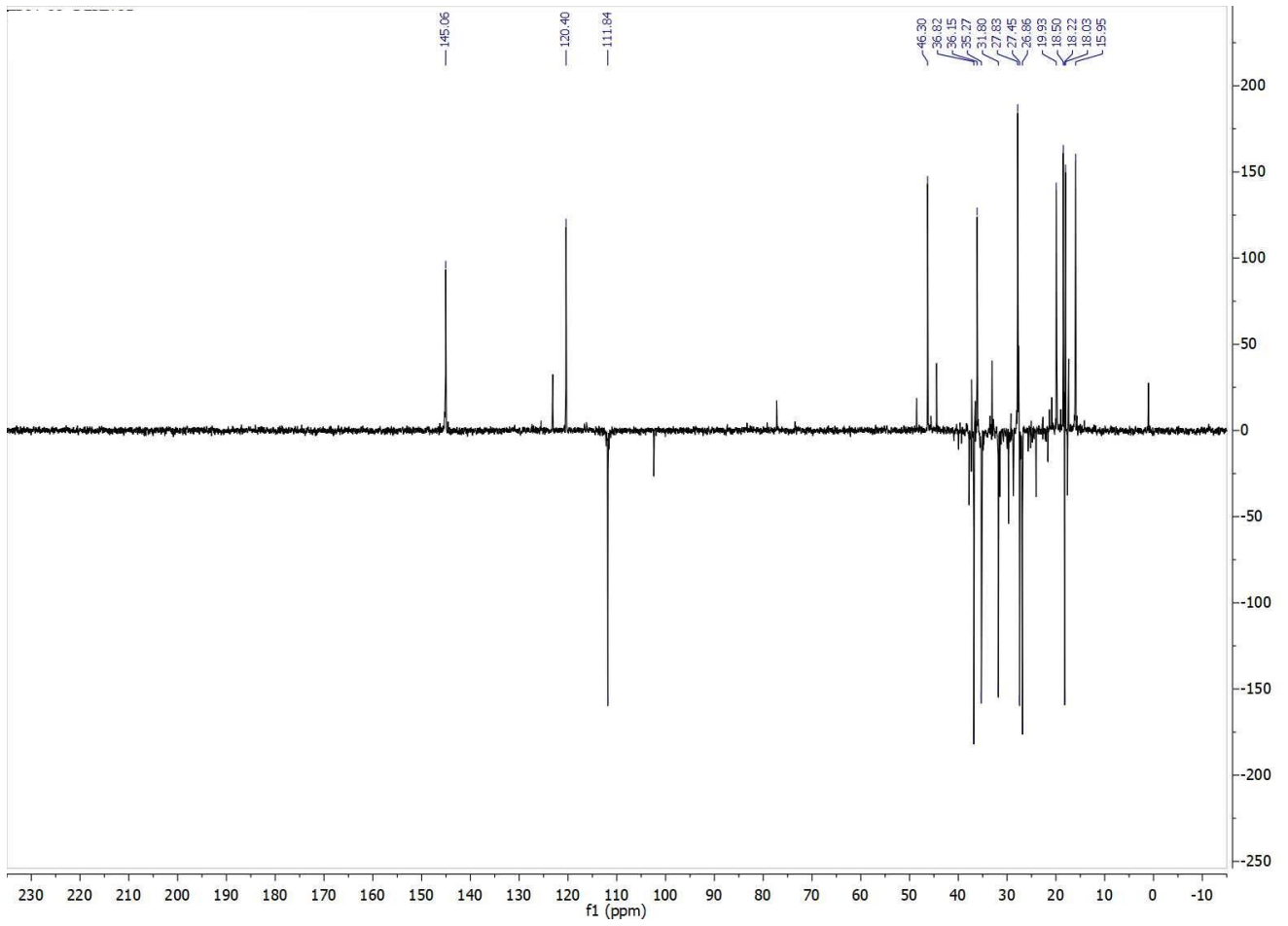
Figura 14 — Teste DEPT 135 da substância **Col TB 3** (500 MHz, CDCl_3 , δ/ppm).

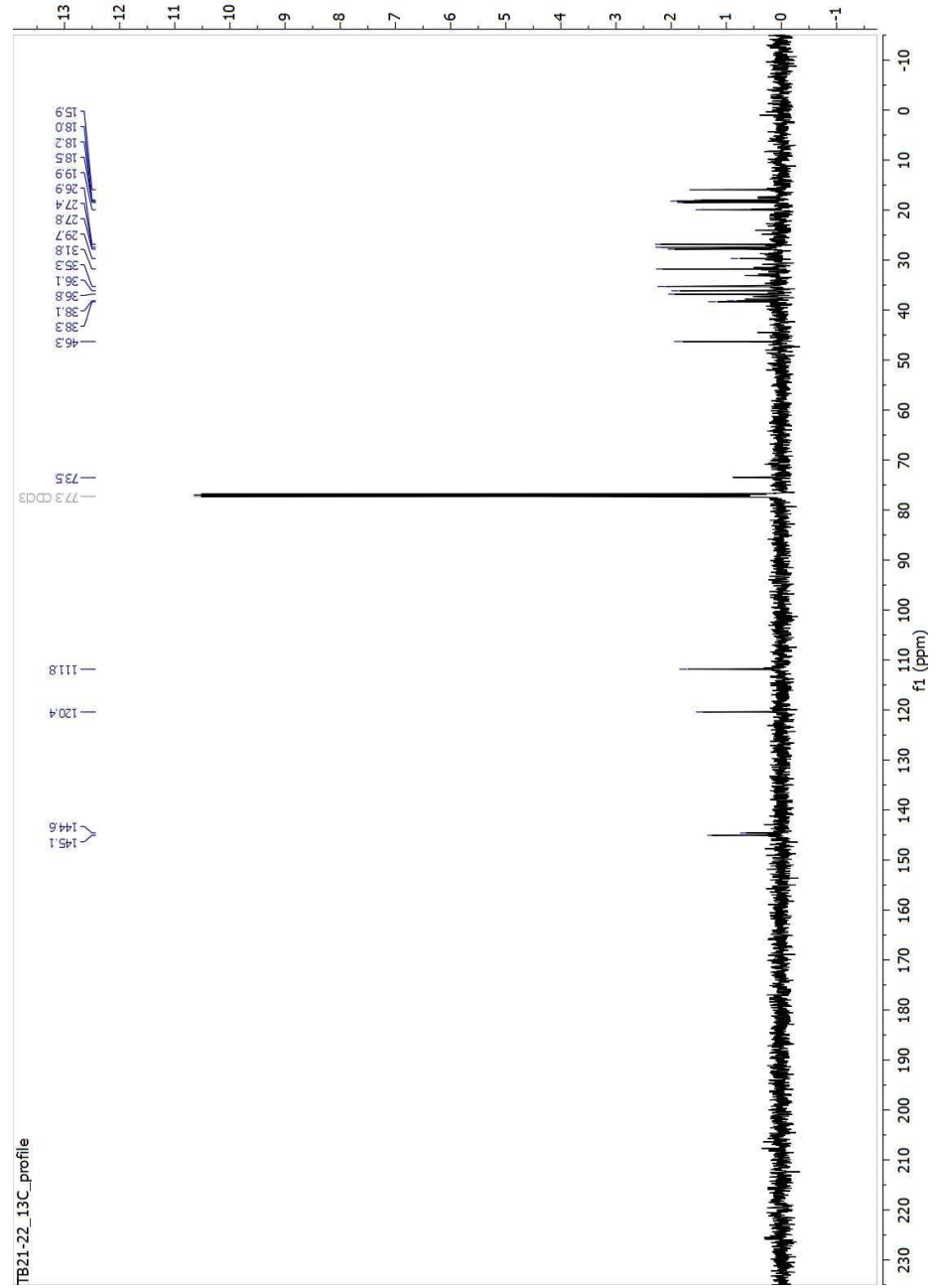
Figura 15 — Espectro de RMN de ^{13}C da substância Col TB 3(500 MHz, CDCl_3 , δ/ppm).

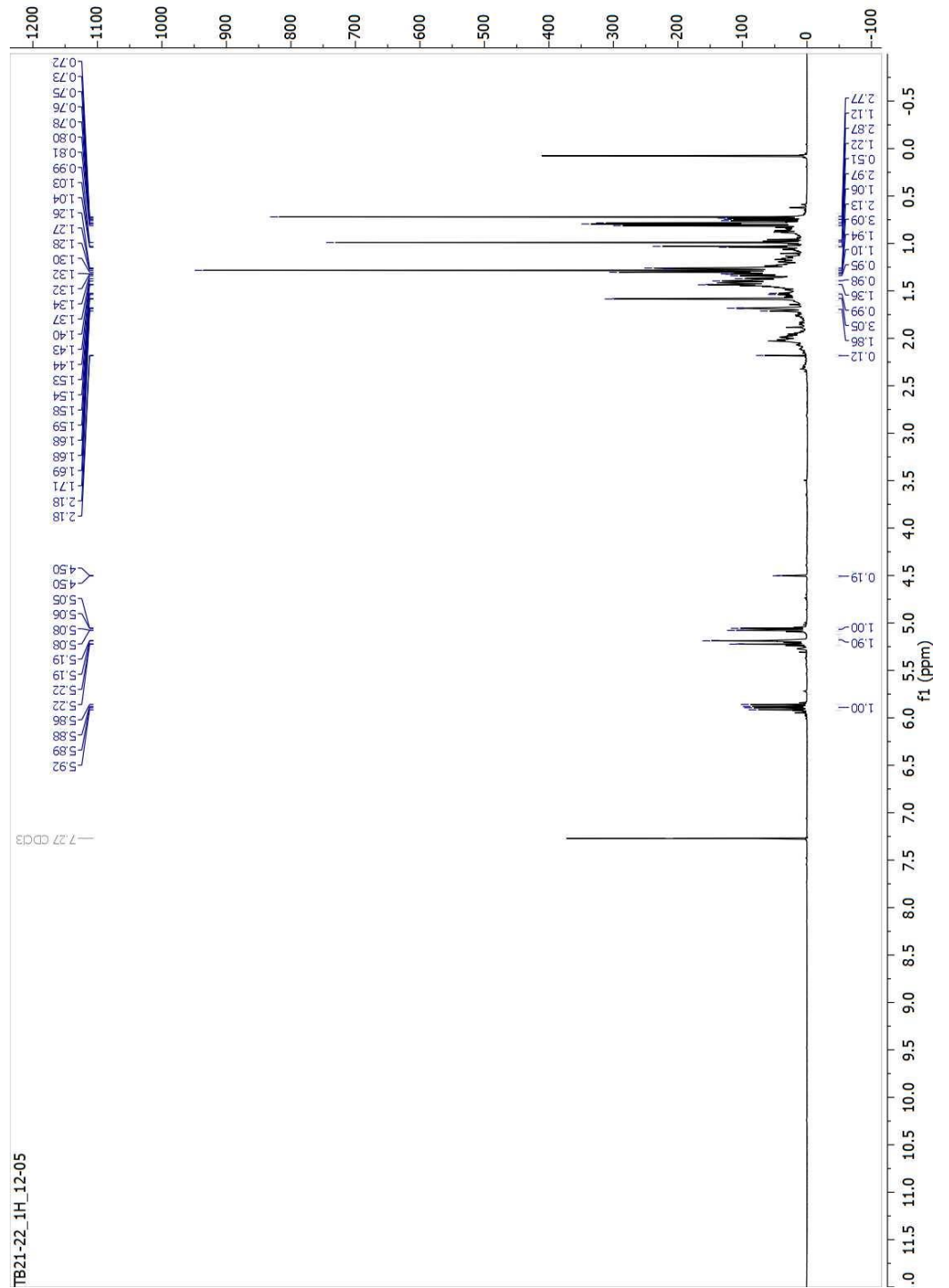
Figura 16 — Espectro de RMN de ^1H da substância **Col TB** (500MHz, CDCl_3 , δ/ppm).

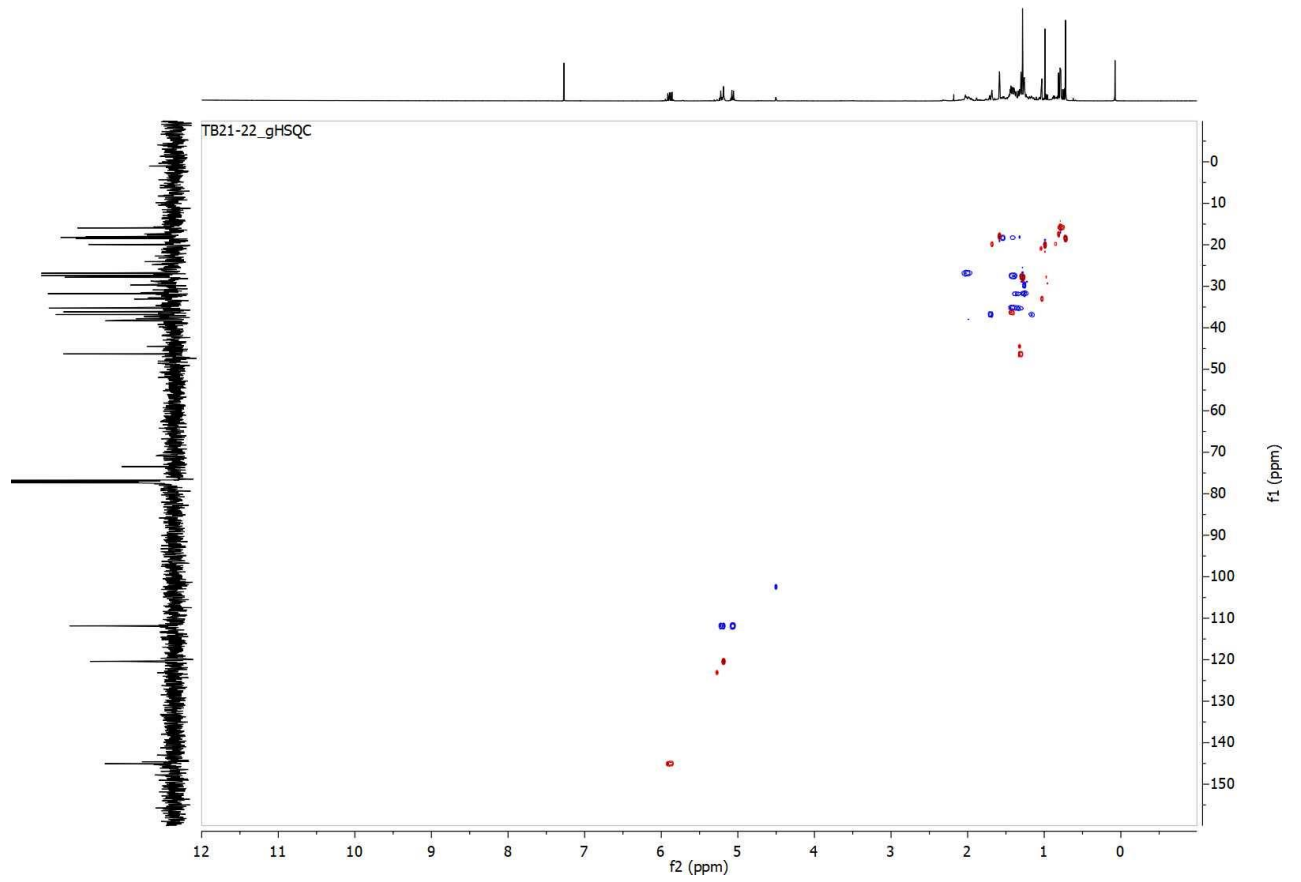
Figura 17 — Espectro bidimensional de HSQC da substância **Col TB 3** (500MHz, CDCl₃, δ /ppm).

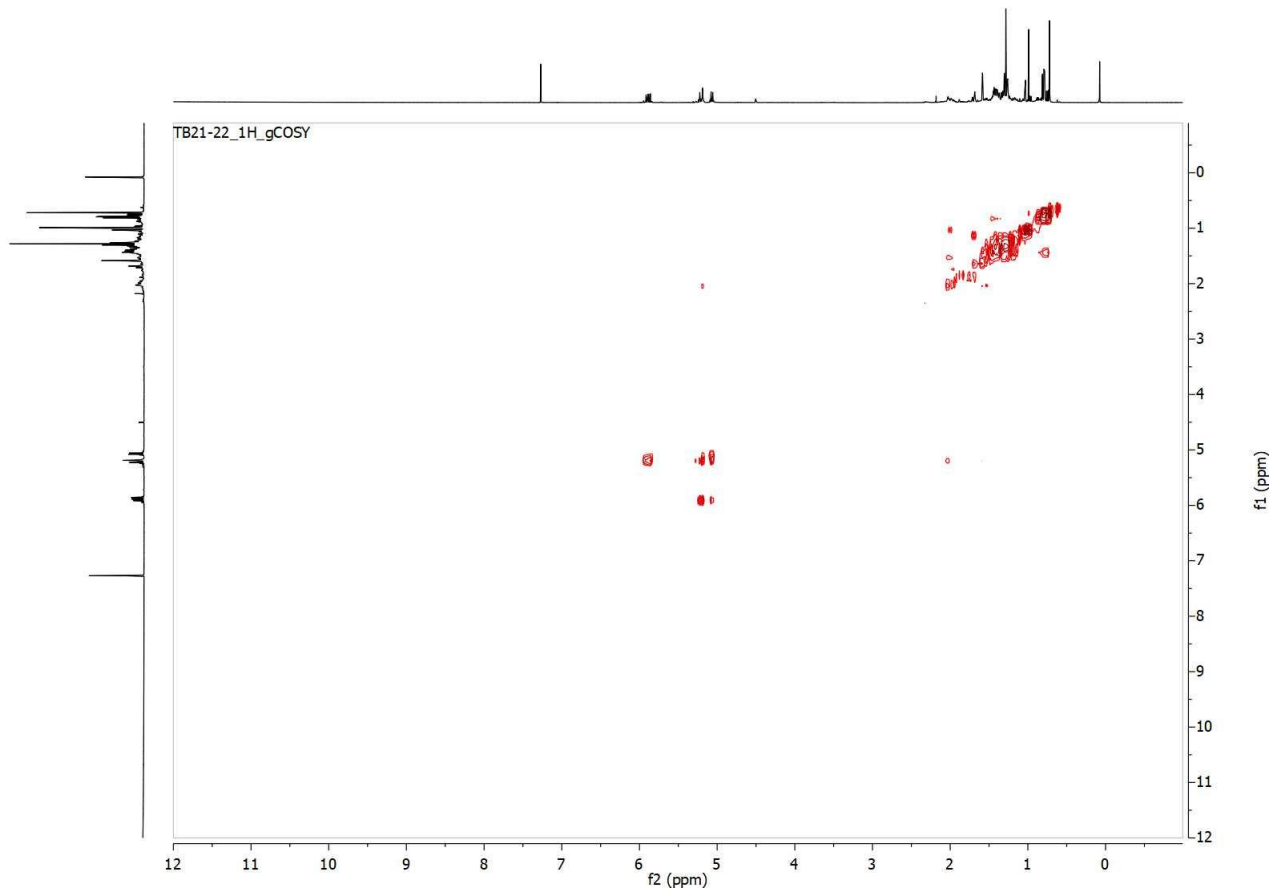
Figura 18 — Espectro bidimensional COSY da substância **Col TB 3** (500MHz, CDCl₃, δ/ppm).

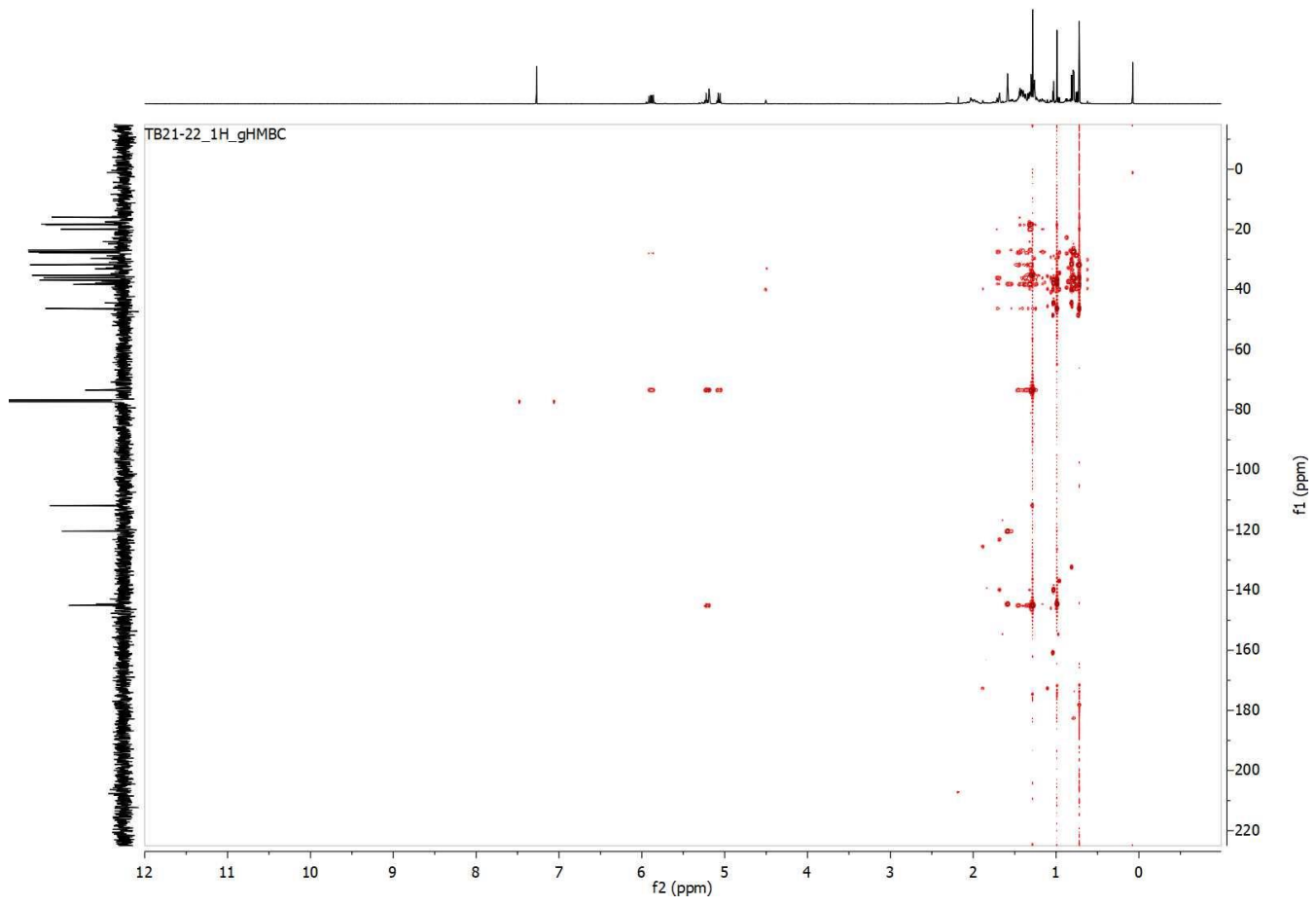
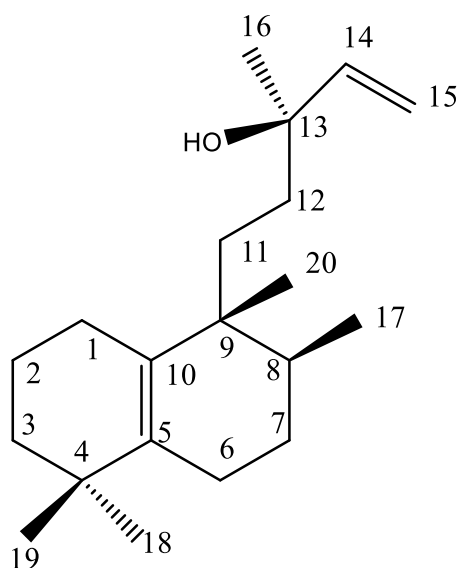
Figura 19 — Espectro bidimensional de HMBC da substância **Col TB 3** (500 MHz, CDCl₃, δ/ppm).

Tabela 15 — Comparação dos dados obtidos da substância **Col TB 3** e do (-)-Kolavelool(CDCl₃)

POSIÇÃO	Col TB 3		(-)-Kolavelool	
	$\delta^1\text{H}$ multiplicidade (J/Hz)	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$ multiplicidade (J/Hz)	$\delta^{13}\text{C}$
1		18,2		18,2
2		27,4		27,4
3	5,19 s	120,4	5,16 s	120,4
4	—	144,6	—	144,5
5	—	38,1	—	38,1
6		36,8		36,8
7		26,9		26,8
8		36,1		36,1
9	—	38,3	—	38,3
10		46,3		46,3
11		31,8		31,8
12		35,3		35,3
13	—	73,5	—	73,4
14	5,88 t	145,1		145,1
15	5,08 dd (17,4; 1,5)/ 5,05 dd (10,8; 1,5)	111,8	5,07 dd(17,2; 1,5)/4,99 dd (10,8;1,5)	111,8
16	1,28 s	27,8	1,24 s	27,7
17	0,80 d (5,9)	15,9	0,75 d (5,9)	15,9
18	1,59 d (1,5)	18,0	1,54 d (1,5)	18,0
19	0,99 s	19,9	0,95 s	19,8
20	0,72 s	18,5	0,68 s	18,4

*(BOMM et. al, 1999)

Figura 20 — Estrutura para a substância TG 3.1 Col3



A substância **TG 3.1 Col3** foi isolada da fração TG3 col4, da fase de hexano: acetato de etila, (conforme item 4.5.1), apresentando coloração amarela e aspecto oleaginoso (figura 21). Na análise por CCD e por radiação UV, apresentou uma única mancha brilhosa, indicando que possivelmente estaria pura. No entanto, ao obter os dados espectrais de RMN de ^1H e RMN de ^{13}C , foi possível identificar que se tratava de uma mistura com um composto majoritário. A aquisição dos testes complementares DEPT-135, HMBC e HSQC, possibilitaram a identificação da substância majoritária.

Figura 21 — Substância TG 3.1 Col3



Fonte: Produção do próprio autor.

Pelo espectro de RMN de ^{13}C (figura 23) foi possível identificar 20 sinais referente ao composto majoritário na mistura, sugerindo ser um diterpeno. O RMN de ^{13}C apresentou sinal de carbono referente a carbono ligado a oxigênio com deslocamento químico em 73,4 ppm,

justificando o não aparecimento de sinal referente no RMN de ^1H pelo motivo discutido na elucidação da substância Col TB 3.

Carbonos vinílicos com deslocamento químico em δ 111,5 e δ 145,3 ppm e carbonos olefínicos com deslocamento químico em δ 132,4 e δ 137,0 ppm.

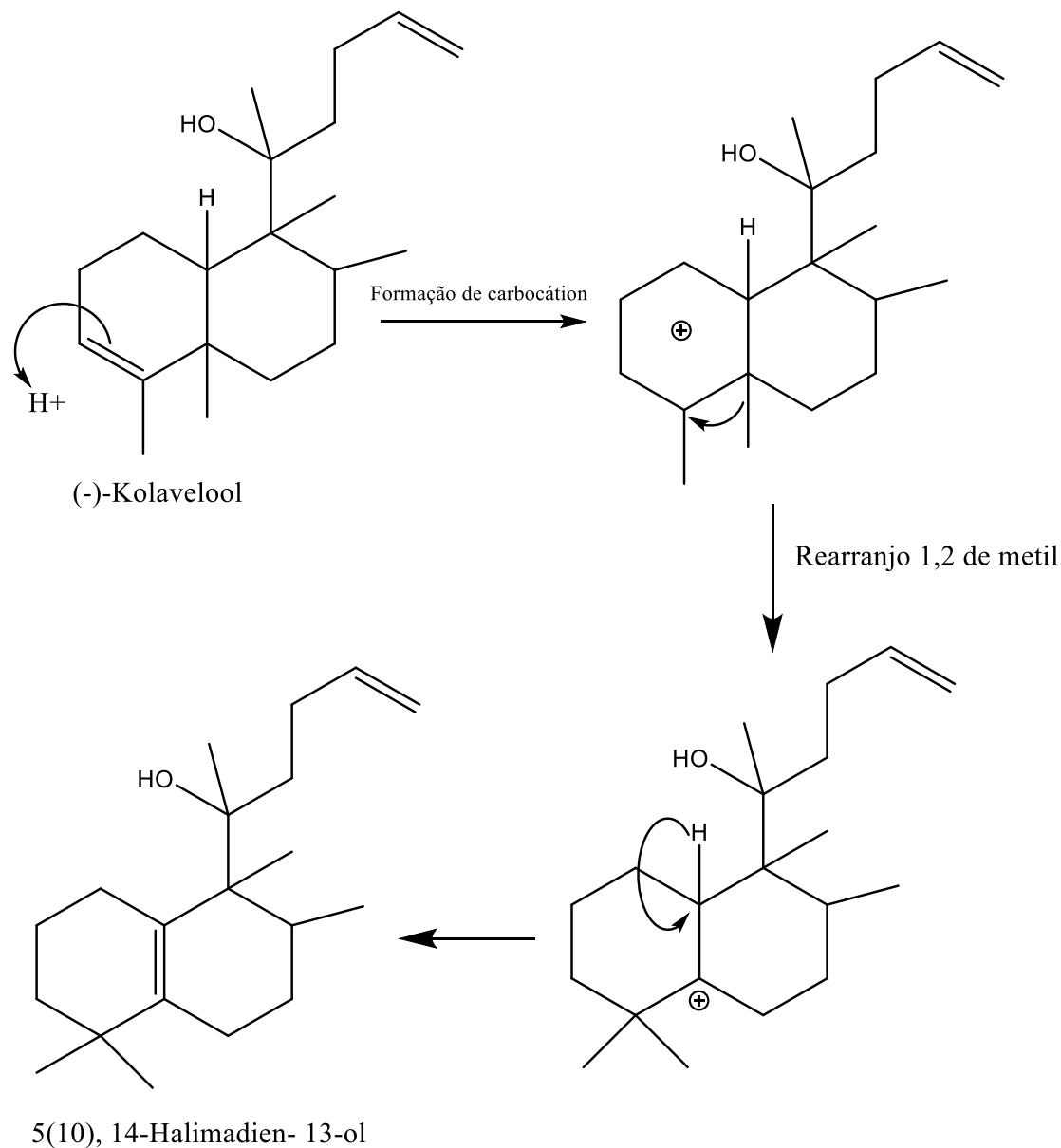
O RMN de ^1H (figura 24) apresentou sinais em deslocamento químico entre δ 0,80 e δ 1,28 ppm, onde foi possível identificar a presença de hidrogênios metílicos, dos quais, um metílico secundário em δ 0,83 ppm e quatro metílicos terciários em δ 0,81; 0,95; 0,97 e 1,28 ppm, e hidrogênios vinílicos em δ 5,06; 5,20 e 5,90 ppm.

O DEPT-135 (figura 25) identificou a presença de 5 grupos CH_3 , 8 grupos CH_2 e 2 grupos CH. Os deslocamentos químicos não sinalizados pelo DEPT-135, infere que se trata de carbonos não hidrogenados (δ 34,5; 40,2; 135,4; 137,0 ppm). Os testes bidimensionais HSQC (figura 26) e HMBC (figura 27) adquiridos, corroboraram para a elucidação estrutural, com destaque para o HSQC que permitiu a identificação da correlação direta, por exemplo, entre o hidrogênio duplo dubleto (dd) com deslocamento químico em δ 5,06 ppm com o carbono com deslocamento químico em δ 145,3 ppm, o hidrogênio dd em δ 5,20 ppm com o carbono δ 111,5 ppm e o singleto em δ 1,28 ppm com o carbono em δ 27,6 ppm. Pelos dados obtidos e por comparação com a literatura (NAGASHIMA et al., 2001) foi possível identificar a substância majoritária da fração **TG 3.1 Col 3** como 5(10), 14-Halimadien- 13-ol, fórmula molecular $\text{C}_{20}\text{H}_{34}\text{O}$. Os dados obtidos pelos espectros de RMN de ^{13}C e RMN de ^1H , e os dados de comparação com a literatura, são apresentados na tabela 16. A estereoquímica foi estabelecida de acordo com os dados obtidos e comparação com a literatura (NAGASHIMA et al., 2001).

Pela estrutura apresentada e comparada com a da substância **Col TB 3(-(-) Kolavelool)**, percebe-se que as duas substâncias possuem o mesmo plano estrutural, no entanto, seus dados espectrais não são idênticos. Trata-se de substâncias enantioméricas, na qual, a 5(10), 14-Halimadien- 13-ol ocorre rearranjo de Wagner—Meerwein, um rearranjo com deslocamento [1,2] de carbocátions, onde um grupo hidrogênio, alquil ou aril, migra para o carbono vizinho (WAGNER, 1899).

Partindo do **-(-)Kolavelool**, observa-se que ocorre migração da ligação dupla dos carbono 3 e 4 para os carbonos 5 e 10, e o grupo metil ligado ao carbono 5, migra para o carbono 4. A figura 22 apresenta uma proposta de mecanismo para o rearranjo de Wagner—Meerwein.

Figura 22 —Proposta de mecanismo para o rearranjo de Wagner —Meerwein na formação do 5(10), 14-Halimadien-13-ol.



Fonte: Produção do próprio autor.

Em prévios estudos, (NAGASHIMA et. al, 2001) isolaram o 5(10), 14-Halimadien-13-ol a partir do extrato da *J. Infusca* em CC e HPLC preparativa. ASAKAWA (2003) apresenta em seu trabalho uma abordagem quimiossistemática de 36 famílias da Jungermannidae e 7 famílias de Marchantiidae discutindo usando os componentes diterpenoides e aromáticos. Relata o isolamento de 5(10), 14-Halimadien-13-ol e também o (-)-kolavelool, bem como o seu enantiômero (+)-kolavelool, obtidos da subclasse Jungermannia e observou que essa classe ocasionalmente produzem terpenóides enantioméricos, e que às vezes, o fato de coletar

a espécie em lugares diferentes, elaboram enantiômeros opostos, sendo uma observação interessante em relação a biodiversidade em espécies de *Jumgermannia*.

É possível encontrar na literatura, a ocorrência de terpenos e terpenóides. Entretanto, até o presente momento deste trabalho, não foram encontradas publicações à respeito de diterpenos em Anacardiaceae, sendo esta, a primeira descrição de ocorrência no gênero *Tapirira*, conseqüentemente na espécie *T. guianensis*, contribuindo para maior conhecimento a respeito da composição desta espécie. A comparação dos dados reportados pela literatura, bem como os dados obtidos nos espectros de RMN, está de acordo com a estrutura estabelecida.

Diversos estudos demonstram que os diterpenos isolados em diferentes espécies de diferentes gêneros, possuem grandes potenciais em diversas atividades biológicas, como por exemplo, agentes anticâncer, anti-inflamatória, antiviral, atividade antituberculose e antimalarial (SOUZA-FERRARI, et. al., 2023, ZHANG, et. a., 2019, YUAN, et. al., 2020, SHI, et. al., 2008, CHE, et. al., 1999, WANG, et. al., 2017, KIM, et. al., 2020). Esses resultados colaboram para o conhecimento das espécies, bem como para o avanço de desenvolvimento de novos tratamentos para diversas doenças. O uso dos fitoterápicos no Sistema Único de Saúde (SUS), foi implementado para promover melhorias na qualidade de vida da população, através do Decreto Presidencial 5.813 de 22/06/2006, instituindo a Política Nacional das Plantas Medicinais e Fitoterápicas, tendo como objetivo da política, a melhoria no acesso da população aos medicamentos, melhoria no atendimento aos usuários do SUS e ampliando as opções terapêuticas, bem como garantir o acesso seguro e uso racional de plantas medicinais e fitoterápicas (BRASIL, Ministério da Saúde, 2006). Com essa implementação, é compreensível que a economia brasileira, tende a ganhar muito com isso, pois, o aumento no uso dos fitoterápicos pode gerar maior interesse dos micro-empresendedores fornecendo matéria-prima, e das indústrias farmacêuticas, o que gera mais empregos e crescimento da economia. Segundo dados do UNA-SUS, os brasileiros têm aumentado a busca por tratamento à base de plantas medicinais, onde entre 2013 e 2015, a procura por esses produtos no SUS mais que dobrou, crescendo em torno de 161%, e informam que atualmente no comércio farmacêutico são comercializados diversos medicamentos fitoterápicos, simples e associados, exemplificando que para o sistema nervoso central, as farmácias comercializam a *Passiflora sp.*, *Valeriana officinalis*, *Piper methysticum*, *Hypericum perforatum* e *Melissa officinalis*. Assim, demonstrando e fazendo-se necessário a continuidade dos estudos fitoquímicos, exercendo sua finalidade em estudar os metabólitos secundários, elucidando e caracterizando estruturas químicas, e avaliando suas propriedades

biológicas, de modo a continuar contribuindo significativamente para a geração de novos conhecimentos e manutenção sócio-econômica do país.

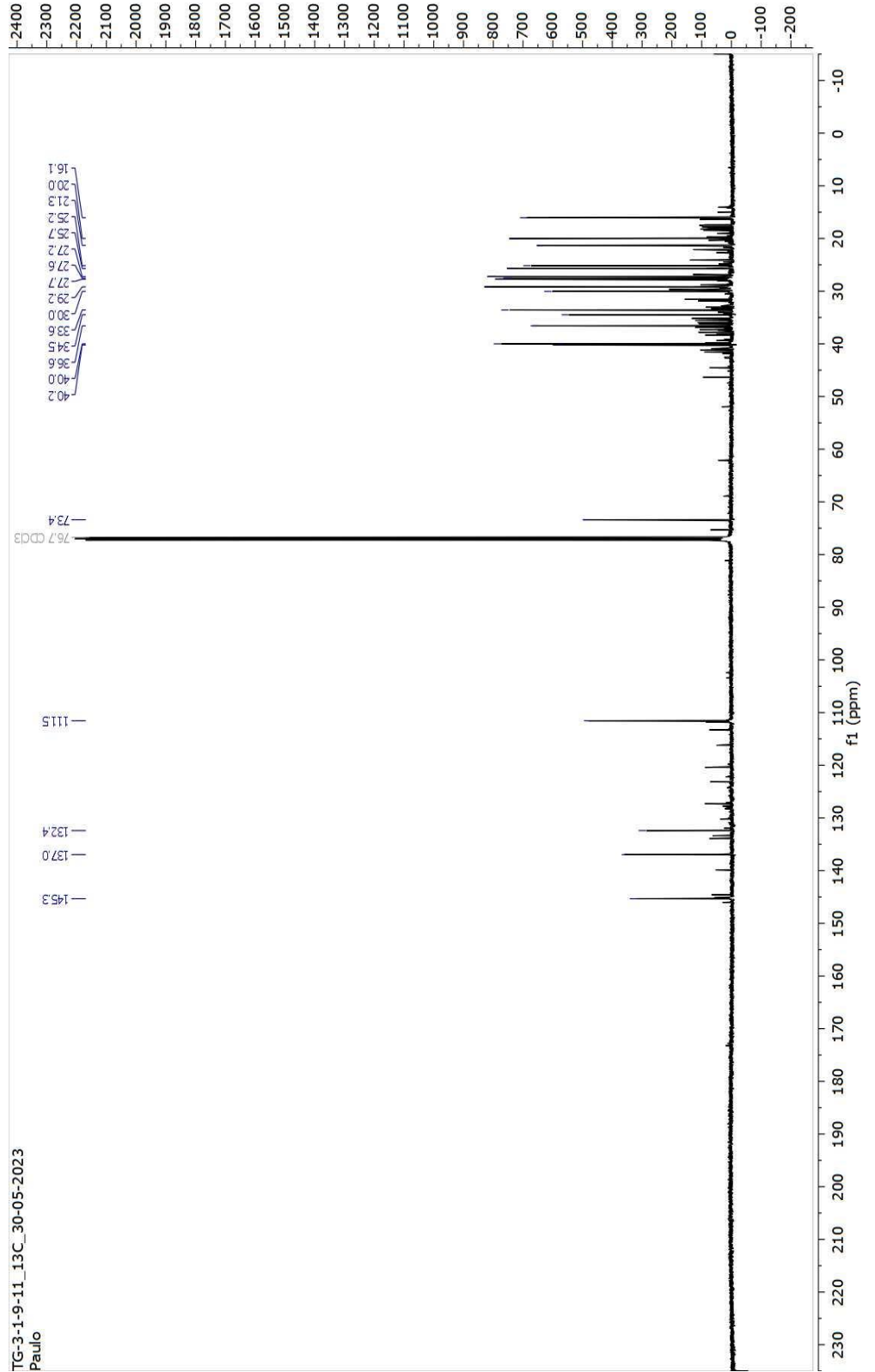
Figura 23— Espectro de RMN de ^{13}C da substância **TG 3.1 Col3**(500MHz, CDCl_3 , δ/ppm).

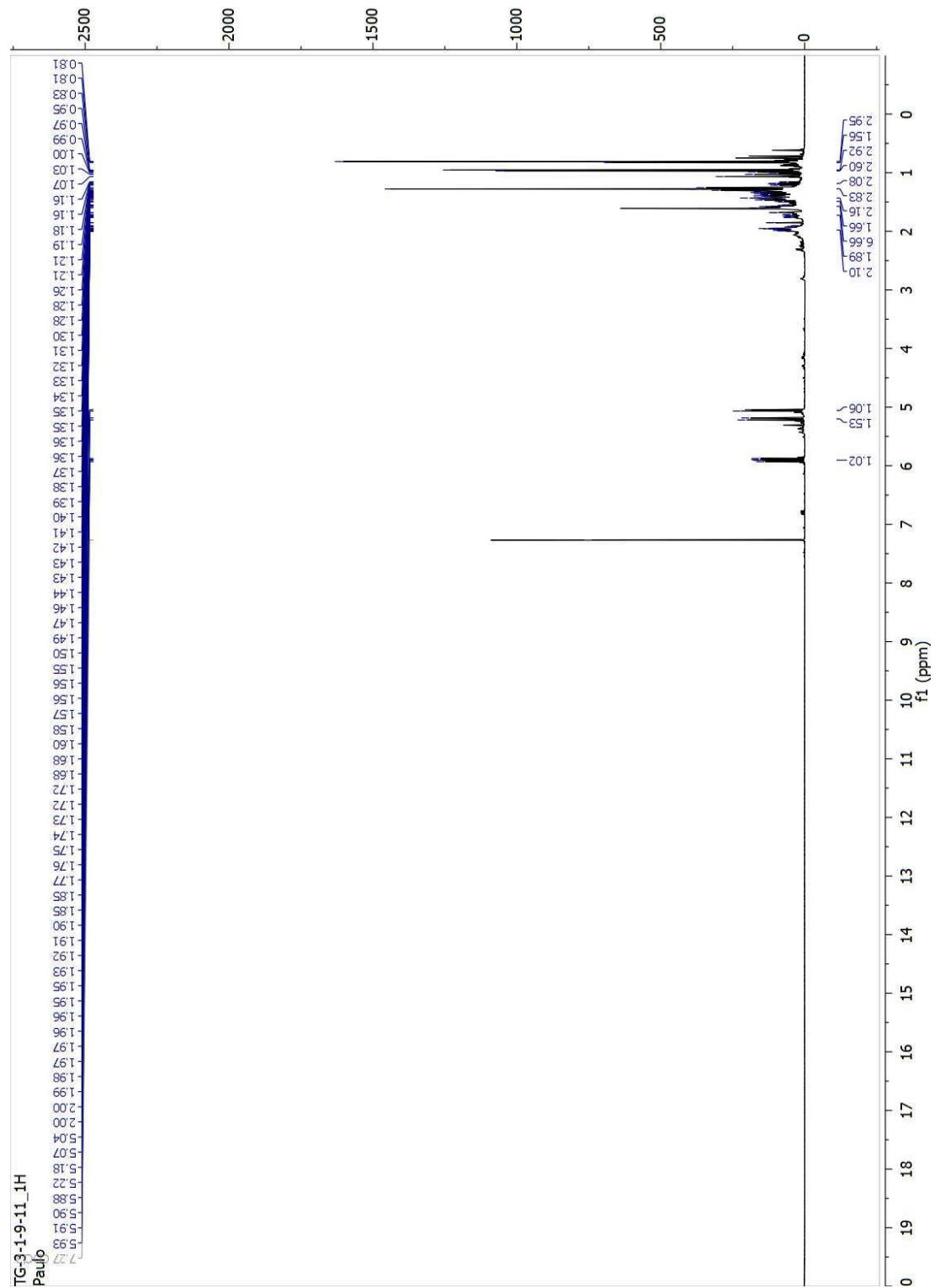
Figura 24 — Espectro de RMN de ^1H da substância **TG 3.1 Col3**(500MHz, CDCl_3 , δ/ppm).

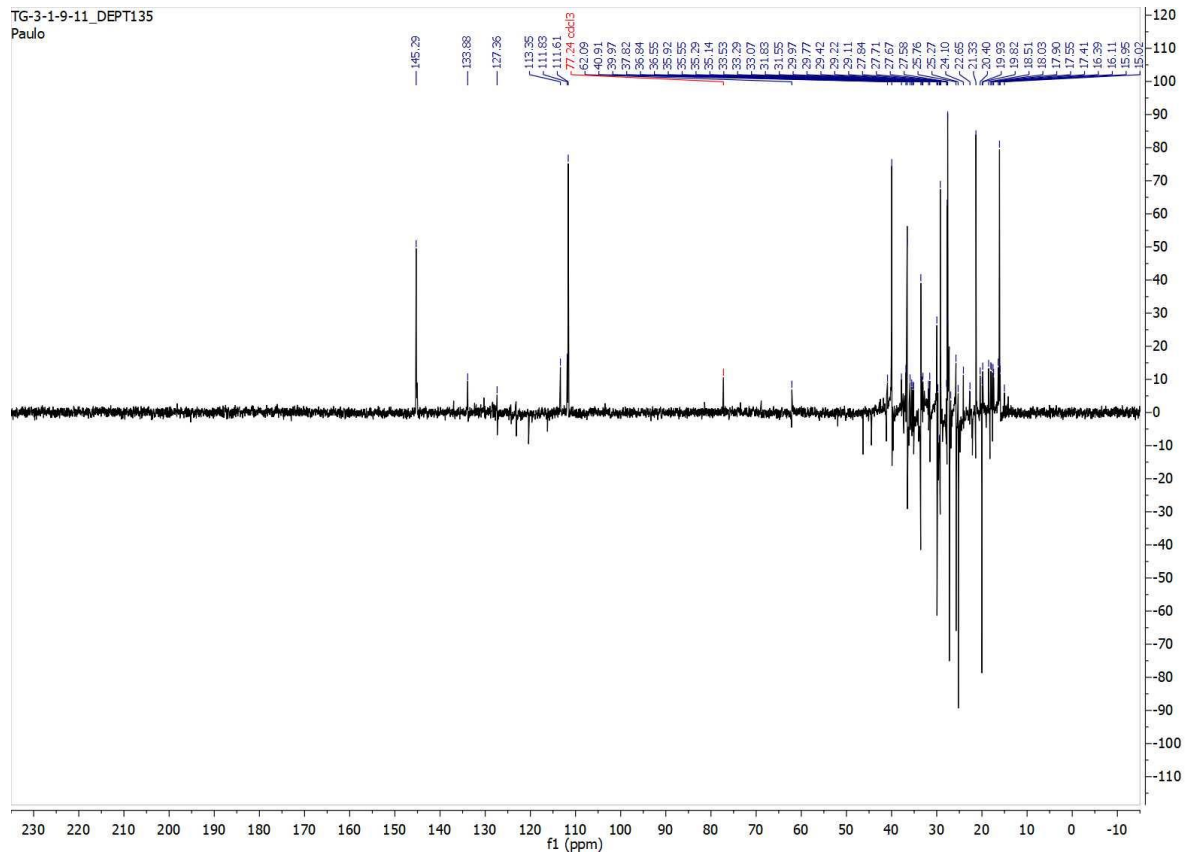
Figura 25 — Teste DEPT 135 da substância **TG 3.1 Col3**(500 MHz, CDCl₃, δ /ppm).

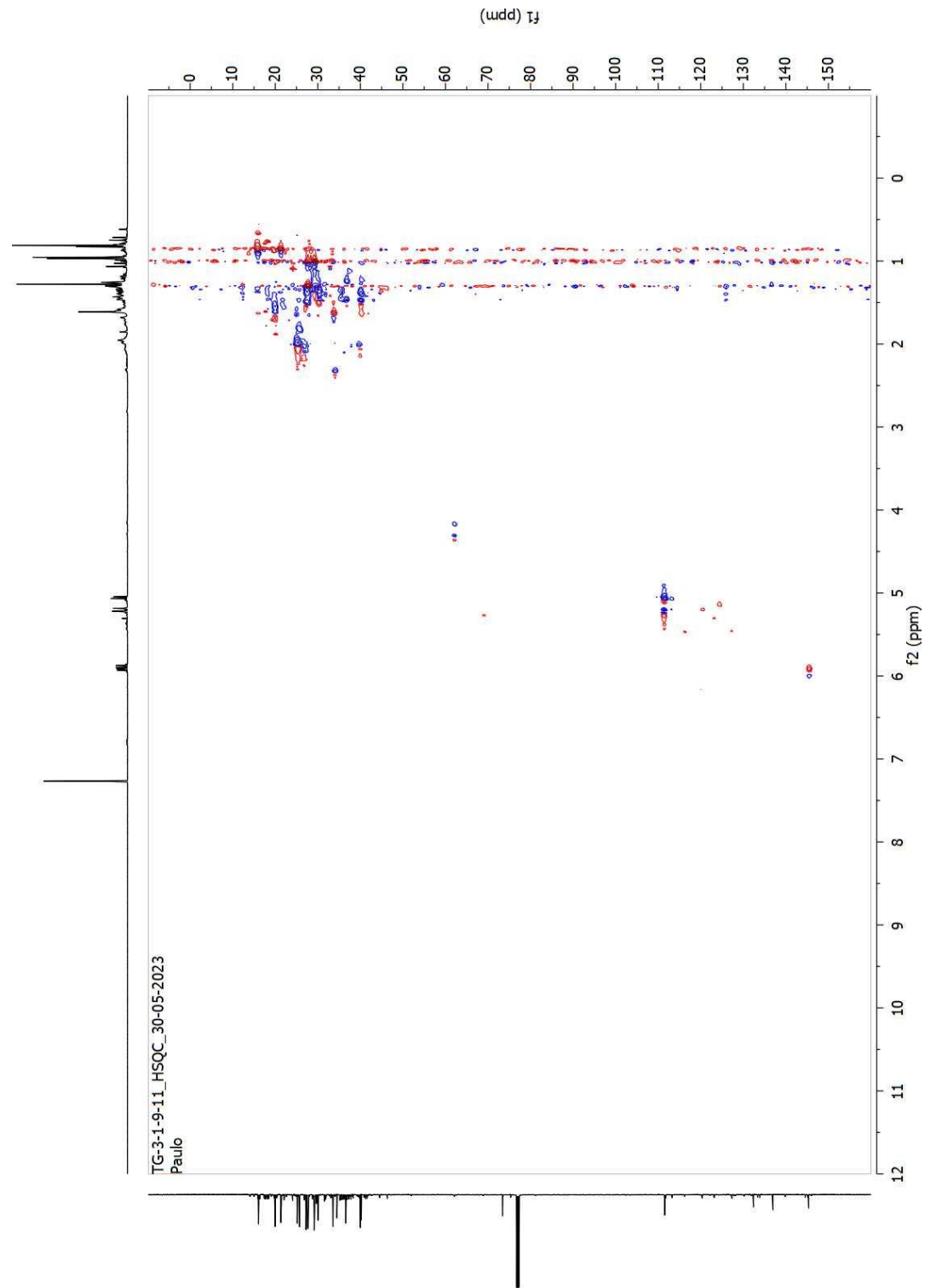
Figura 26 — Espectro bidimensional de HSQC da substância **TG 3.1 CoI3**(500MHz, CDCl₃, δ /ppm).

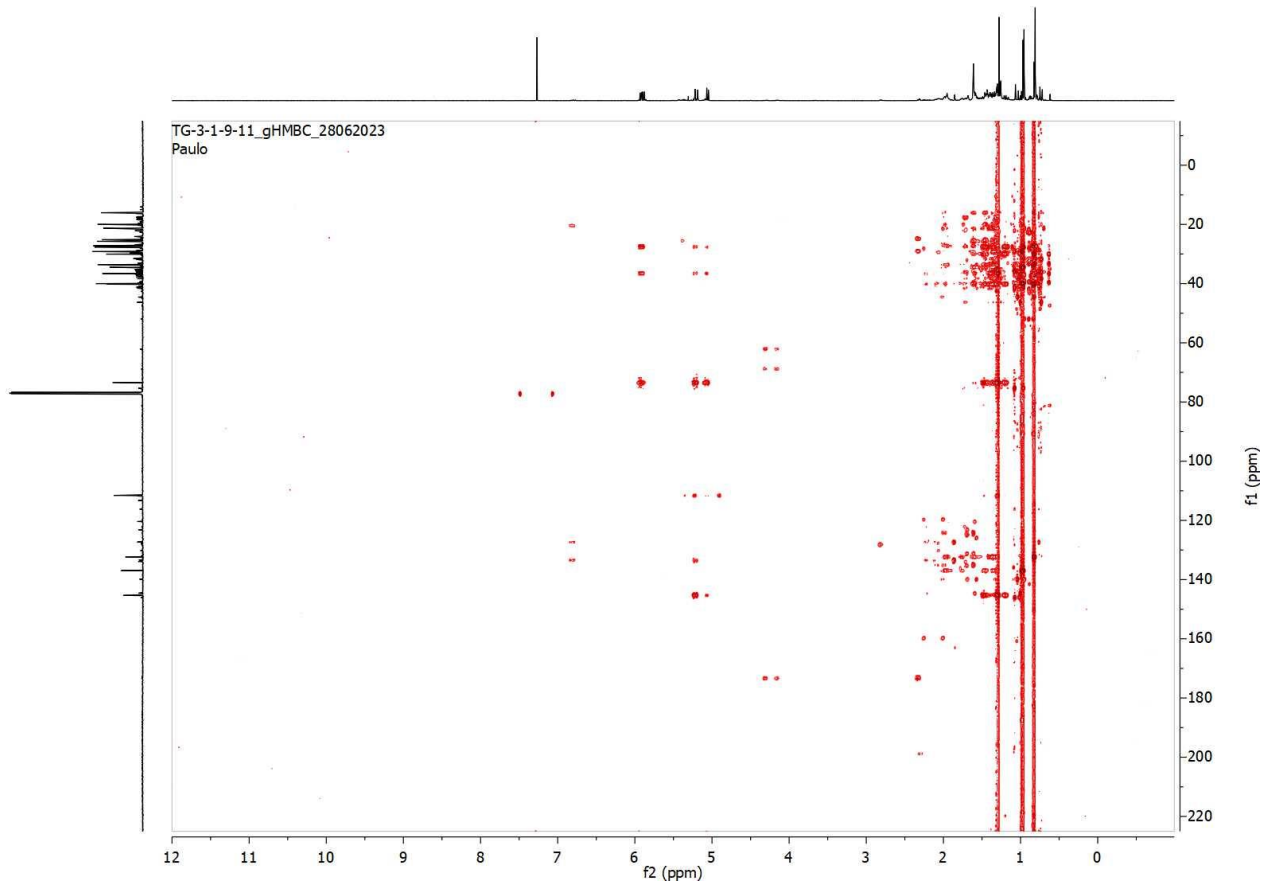
Figura 27 — Espectro bidimensional de HMBC da substância **TG 3.1 Col3**(500MHz, CDCl₃, δ /ppm).

Tabela 16 — Comparação dos dados obtidos da substância **TG 3.1 Col3** e do 5(10), 14-Halimadien- 13-ol.

POSIÇÃO	RMN 500MHZ CDCl ₃			
	TG3.1 Col 3		5(10),14-Halimadien-13-ol	
	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$ multiplicidade(J:Hz)	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$ multiplicidade(J:Hz)
1	25,7	1,75m	25,7	1,75m
2	20,0	1,92-2,00m	20,0	191-2,00m
3	40,0	1,50m	40,0	1,51m
4	34,5	—	34,5	—
5	137,0	—	136,9	—
6	25,2	1,41-1,47m	25,2	1,41-1,47m
7	27,2	1,90-2,00m	27,2	1,90-2,00m
8	33,6	1,28-1,40m	33,5	1,28-1,40m
9	40,2	—	40,2	—
10	132,4	—	132,3	—
11	30,0	1,18ddd(12.4,12.4,3.5)	30,0	1,19ddd(12.6,12.6,3.8)
12	36,6	1,42-1,47m	36,5	1,41-1,47m
13	73,4	—	73,4	—
14	145,3	5,06dd(10.8,1.3)	145,3	5,05dd(10.7,1.4)
15	111,5	5,20dd(17.4,1.3)	111,6	5,20dd(17.3,1.4)
16	27,6	1,28s	27,6	1,27s
17	16,1	0,83s	16,1	0,82s
18	29,2	0,95s	29,2	0,95s
19	27,7	0,97s	27,7	0,97s
20	21,3	0,81s	21,3	0,81s

*(NAGASHIMA et, al; 2001)

CONCLUSÃO

O presente trabalho descreveu um estudo fitoquímico realizado a partir dos extratos metanólico e diclorometânico das folhas da *T. guianensis* (Anacardiaceae), que após a utilização de técnicas clássicas de cromatografia, permitiu o isolamento e a identificação de três substâncias: β -sitosterol (**TG6ING e TG7A1**), que é bastante conhecido e possui descrito na literatura, o isolamento na espécie aqui trabalhada, e que vem sendo objeto de estudo para o combate ao câncer de próstata (DAVID, et. al., 1998), e dois diterpenos, o(5*R*,8*R*,9*S*,10*R*)-*ent*-Clerod-3,14-dien-13 α -ol [(-)-kolavelool (**Col TB3**) e o 5(10), 14-Halimadien- 13-ol (**TG3.1 Col 3**), ambos descritos pela primeira vez no gênero *Tapirira*. Esses resultados foram apresentados no 9th Brazilian Conference on Natural Products (9th BCNP) em 2023.

O primeiro trabalho publicado sobre a *T. guianensis* foi em 1984, e mesmo após 40 anos de estudos realizados com esta planta, o isolamento destes diterpenos são comprovação de que ainda é possível descobrir novos constituintes e contribuir para o conhecimento químico, para que, futuramente, sejam realizados novos estudos que envolvam, por exemplo, ensaios biológicos e que viabilize um possível medicamento e/ou fitoterápico, ofertando o retorno de um trabalho de pesquisa sendo de grande contribuição para a sociedade.

A proposta de continuidade desse trabalho desenvolvido até o momento, será seguir com a desreplicação dos extratos obtidos, a fim de seguir descrevendo novos constituintes fitoquímicos relevantes para o maior conhecimento desta espécie. Além disso, diante de muitos usos populares dessa planta para o tratamento de manchas na pele (SOUZA CD e FELFILI JM, 2006), e levando-se em conta que a literatura apenas registra atividades antibacterianas e antiprotozoárias (ROUMY, et. al., 2009) citotóxicas (TAYLOR et. al., 2006; MAHAMOUD et. al., 2011) e vasodilatadoras (CALASSARA, et. al., 2020), torna-se relevante também investigar o potencial antiviral dessa planta, o que ainda não foi encontrado na literatura dentro do levantamento bibliográfico que pudemos realizar.,

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, MZ. Plantas Mediciniais [online]. 3rd ed. Salvador, EDUFBA, p. 221,2011.
- ASAKAWA, Yoshinori, Chemosystematics of the Hepaticae, *Phytochemistry* (65), 623-669, 2004.
- BARROS, G.S.; MATOS, F.J.; Vieira, J.E.; SOUSA, M.P.; MEDEIROS, M.C.; Pharmacological Screening of Some Brazilian Plants. *J. Pharm., Pharmacol*, 22, 116–122, 1970.
- BFG - The Brazil Flora Group, Growing knowledge: an overview of seed plant diversity in Brazil. *Rodriguésia* 66 (4): 1085-1113, 2015. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rod/a/s8qy5ZLWZcyFxx9WGsh34PK/#>
- BOOM, Mauro D.; ZUKERMAN-SCHPECTOR, J.; LOPES, Lucia M. X.; Rearranged (4 2)-*abeo*-clerodane and clerodane diterpenes from *Aristolochia chamissonis*, *Phytochemistry* N° 50, p. 455-461, 1999.
- BRASIL, Ministério da Saúde; Portaria no. 971, de 03 de maio de 2006. Aprova a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no Sistema Único de Saúde, Diário Oficial da União, Brasília, DF, 4 de maio de 2006.
- CALASSARA, Laura L.; PINTO, A.; SHAFT, C.; CONDACK, Cecília P. M.; LEITE, Beatriz F.; NERY, Ludmilla C. do E. S.; TINOCO, Luzineide W.; AGUIAR, Fernando A.; LEAL, Ivana C. R.; MARTINS, Samantha M.; SILVA, Leandro L. da; RAIMUNDO, Juliana M.; MUZITANO, Michelle F.; Isolation and characterization of flavonoids from *Tapiriraguianensis* leaves with vasodilatory and myeloperoxidase-inhibitory activities, *Natural product research*, 2020. <https://doi.org/10.1080/14786419.2020.1784170>
- CANIARD, A; ZERBE, P; LEGRAND, S; COHADE, A; VALOT, N; MAGNARD, JL, et al. Discovery and functional characterization of two diterpene synthases for sclareol biosynthesis in *Salvia sclarea* (L.) and their relevance for perfume manufacture. *BMC Plant Biol*, n° 12, p. 119, 2012.
- CHE, C. T.; ZHOU, T. X.; MA, Q. G.; QIN, G. W.; WILLIAMS, I. D.; WU, H. M.; SHI, Z. S.; Diterpenes and aromatic compounds from *Euphorbia fischeriana*, *Phytochemistry*, 52, 117-121, 1999.
- CORREIA, J.S. de; DAVID, J.M.; SILVA, E.P. da; DAVID, J.P.; LOPES, L.M.X.; GUEDES, M.L.S.; Flavonóides, norisoprenóides e outros terpenos das folhas de *Tapiriraguianensis*. *Quím. Nova*, 31, p. 2056–2059, 2008.
- CORREIA, Suzimone J.; DAVID, Juceni P.; DAVID, Jorge M.; Constituintes das cascas de *Tapirira Guianensis* (Anacardiaceae), *Quim. Nova*, Vol. 26, N°1, 36-38, 2003.
- COSTA, Patrícia Marçal, AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTITUMORAL DOS HIDROBENZOFURANÓIDES ISOLADOS DAS FOLHAS DA *Tapirira guianensis*

(Anacardiaceae), 2006, 126 f. Dissertação (Mestrado em farmacologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2006.

CUNHA, André Barreto e DAVID, Jorge Mauricio; CHEMICAL COMPOSITION, BIOLOGICAL ACTIVITIES AND USES OF ANACARDIACEAE SPECIES AN UPDATED REVIEW, *Qui. Nova*, Vol. 47, N° 2, 1-21, 2024.

DAVID, Jorge M.; CHÁVEZ, Juceni P.; CHAI, Hee-Byung, PEZZUTO, John M.; CORDELL, Geoffrey A.; Two New Cytotoxic Compounds from *Tapiriraguianensis*. *J. Nat. Prod.*, 61, 287-289, 1998.

DEFILIPPS, R.A.; MAINA, S.L.; CREPIN, J.; Medicinal Plants of the Guianas (Guyana, Surinam, French Guiana); Department of Botany, National Museum of Natural History, Smithsonian Institution: Washington, DC, USA, 2004.

DEHARO, Eric; GINSBURG, Hagai, Analysis of additivity and synergism in the anti-plasmodial effect of purified compounds from plant extracts, *Malaria Journal*, 10 (suppl 1): S5, 2011.

DEWICK, P. M. Medicinal Natural Products. A biosynthetic Approach, 2nd ed., Chichester, John Wiley & Sons, 2002.

ETTRE, L. S. Chromatography: the separation technique of the 20th century. *Chromatographia*, v. 51, n. 1/2, p.7-17, 2000.

FRANÇA, F.; LAGO, E.L.; MARSDEN, P.D.; Plants Used in the Treatment of Leishmanial Ulcers Due to *Leishmania (Viannia) Braziliensis* in an Endemic Area of Bahia, Brazil. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, 29, 229-232, 1996.

GARCÍA, A. Á.; CARRIL, E. P-U. Metabolismo secundario de plantas. *Reduca (biología)*, v. 2, n. 3, p. 119-145, 2009.

GRECARD, P.; MORETTI, C.; JACQUEMIN, H.; PRÉVOST, M.-F.; (Eds.) *Pharmacopées Traditionnelles en Guyane: Créoles, Wayãpi, Palikur; Guides Illustrés*; IRD Éditions: Marseille, France, 2004; ISBN 978-2-7099-2344-6.

HALL, Climbiê Ferreira; GIL, André dos Santos Bragança; “Flora das cangas da Serra dos Carajás, Pará, Brasil: Anacardiaceae”; *Rodriguesia*, n. 3 (especial): 911-916, 2017.

HOU, D.; Anacardiaceae. *Flora Malesiana-Series 1, Spermatophyta*, 8(1), 395-548, 1974.

KIM, Tae-Hun; LIM, Hyn-Ja; KIM, Myung-Sunny; LEE, MyeongSoo; Dietary supplements for benign prostatic hyperplasia: An overview of systematic reviews, *Maturitas*, 73, 180-185, 2012.

LONGATTI, T.R.; CENZI, G.; LIMA, L.A.R.S.; OLIVEIRA, R.J.S.; OLIVEIRA, V.N.; SILVA, S.L.D.; RIBEIRO, R.I.M.A. Inhibition of Gelatinases by Vegetable Extracts of the Species *Tapirira Guianensis* (Stick Pigeon). *British journal of pharmaceutical Research*. *British Journal of Pharmaceutical Research*, 1, 133-140, 2011.

LOPES, Lucia M. X. e BOLZANI, Valeria da S.; LIGNANS AND DITERPENES OF THREE ARISTOLOCHIA SPECIES, *Phytochemistry*, Vol. 27, N° 7, 2265-2268, 1988.

MAHAMOUD, Talal Suleiman; MARQUES, Maria Rita; PESSOA, Cláudia do Ó; LOTUFO, Letícia V. C.; MAGALHÃES, Hemerson I. F.; MORAES, Manoel de O. de; LIMA, Dênis P. de; TININIS, Aristeu G.; OLIVEIRA, José Eduardo; In vitro cytotoxic activity of Brazilian Middle West plant extracts, *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, N° 21(3), 456-464, 2011.

MAR, J.M.; CORRÊA, R.F.; RAMOS, A.d.S.; KINUPP, V.F.; SANCHES, E.A.; CAMPELO, P.H.; BEZERRA, J.d.A.; Enhancing Bioactive Compound Bioaccessibility in Tapiriraguianensis Juices through Ultrasound-Assisted Applications, *Processes*, 11, 2718, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/pr11092718>.

MINISTÉRIO DA SAÚDE, UNA-SUS, 2016. Disponível em: <https://www.unasus.gov.br/noticia/uso-de-fitoterapicos-e-plantas-mediciniais-cresce-no-sus> (acesso em: 26 de fevereiro de 2024).

MITCHELL, J.D.; Additions to Anacardium (Anacardiaceae). *Anacardium amapaense*, a new species from French Guiana and eastern Amazonian Brazil, *Brittonia* 44: 331-338, 1992.

MONTEIRO, Ariadne Santana e Neves; CAMPOS, Debora Ribeiro; ALBUQUERQUE, Agnes Afrodite Sumarelli; EVORA, Paulo Roberto Barbosa; FERREIRA, Luciana Garros; CELOTTO, Andrea Carla; Efeito do diterpeno Manool sobre a pressão arterial e reatividade vascular em ratos normotensos e hipertensos, *Arq. Bras Cardiol*, 115 (4), p. 669-677, 2020.

NAGASHIMA, F.; SUZUKI, M.; ASAKAWA, Y., A new halimane-type diterpenoid from the liverwort *Jungermannia infusca*, *Fitoterapia* N° 72.83-85, 2001.

NAKANO, Chiaki; OSHIMA, Misaki; KURASHIMA, Nodoko; HOSHINO, Tsutomu^[a]; Identification of a New Diterpene Biosynthetic GeneCluster that Produces O-Methylkolavelool in *Herpetosiphonaurantiacus*, *ChemBioChem*, Vol 16, 772-781, 2015. doi.org/10.1002/cbic.201402652

NES, W. David; NORTON, Robert A.; BENSON, Mabry; CARBON-13 NMR STUDIES ON SITOSTEROL BIOSYNTHESED FROM [¹³C]MEVALONATES, *Phytochemistry*, Vol. 31, N° 3, 805-811, 1992.

PATIENT, A.; JEAN-MARIE, E.; ROBINSON, J.-C.; MARTIAL, K.; MEUDEEC, E.; LEVALOIS-GRÜTZMACHER, J.; CLOSS, B.; BEREAU, D.; Polyphenol Composition and Antioxidant Activity of Tapiriraguianensis Aubl. (Anacardiaceae) Leaves, *Plants*, 11, 326, 2022. <https://doi.org/10.3390/plants11030326>.

PEREIRA, R. J.; CARDOSO, M. G. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. *Journal of Biotechnology and Biodiversity*. Vol. 3, n° 4: p. 146-152. 2012. ISSN-2179-4804.

RODRIGUES, Amélia M. G.; GUIMARÃES, Denise O.; KONNO, Tatiana U. P.; TINOCO, Luzineide W.; BARTH, Thiago; AGUIAR, Fernando A.; LOPES, Norberto P.; LEAL, Ivana C. R.; RAIMUNDO, Juliana M.; MUZITANO, Michelle F.; Phytochemical Study of Tapiriraguianensis Leaves Guided by Vasodilatory and Antioxidant Activities, *Molecules*, N° 22, 324, 2017.

ROUMY, Vicent.;FABRE, Nicolas.; PORTET. Bénédicte.;BOURDY, Geneviève.; ACEBEY, Lucia.; VIGOR, Claire.; VALENTIN, Alexis.; MOULIS, Claude.; Four anti-protozoalandanti-bacterialcompoundsfrom*TapiriraGuianensis*,Phytochemistry, N° 70, 305-311, 2009.

RUDKOWSKA, Iwona; ABUMWEIS, Suhad S.; NICOLLE, Catherine; JONES, Peter J.H.; Cholesterol-Lowering Efficacy of Plant Sterols in Low-Fat Yogurt Consumed as a Snack or with a Meal, Journal of the American College of Nutrition, 27:5, 588-595, 2008. DOI: 10.1080/07315724.2008.10719742

SAMBUICHI, Regina Helena Rosa; MIELKE,MarceloSchramm; PEREIRA, Carlos Eduardo,NOSSAS ÁRVORES: Conservação, uso e manejo de árvores nativas no sul da Bahia, 236, 2009.

SHI, Q. W.; SU, X. H.; KIYOTA, H.; Chemical and Pharmacological Research of the Plants in Genus *Euphorbia* Chem. Rev., 108, 4295-4327,2008.

SILVA, Eliezer P. da; DAVID, Jorge M.; DAVID, Juceni P.; GARCIA, Geisse H. Trindade.;SILVA, Maisa T.; CHEMICAL COMPOSITION OF BIOLOGICAL ACTIVE EXTRACTS OF *Tapirira guianensis*(ANACARDIACEAE),Qui. Nova, Vol. 43, N° 9, 1216-1219, 2020.

SILVA-LUZ, C. L.; PIRANI, J.R.; MITCHELL, J.D.; Anacardiaceae in Flora e Funga do Brasil, Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2020. Disponível em:<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB4407>.

SILVA-OLIVEIRA, Renato José; LOPES, Gabriela Francine; CAMARGOS, Luiz Fernando; RIBEIRO, Ana Maciel; SANTOS, Fábio Vieira dos; SEVERINO, Richele Priscila; SEVERINO, Vanessa Gisele Pasqualotto; TEREZAN, Ana Paula; THOMÉ, Ralph Gruppi; SANTOS, Hélio Batista dos; REIS, Rui Manuel; RIBEIRO, Rosy Iara Maciel de Azambuja; *Tapirira guianensis*Aubl. Extracts Inhibit Proliferation and Migration of Oral Cancer Cells Lines, International Journal of Molecular Sciences 17, 1839, 2016.

SK, Pell; JD, Mitchell; AJ, Miller;TA, Lobova; Anacardiaceae. In: Kubitzki K (ed.) The families and genera of vascular plants. Flowering plants.Eudicots.Sapindales, Curcubitales, Myrtales. Vol. X. Springer, 7-50,2011.

SOLOMONS, T. W.; FRYHLE, Craing B.;Química Orgânica, vol. 1, 9ª edição, 2009.

SNYDER, L. R. et al. Introduction to modern liquid chromatography. 3. ed. Hoboken: John Wiley& Sons, 912, 2010.

SOUZA-FERRARI, J. de;OLIVEIRA, W. C. de; DANTAS , B. B.; Prospecção Tecnológica de Diterpenos do Tipo Labdano e seus Derivados como Agentes Anticâncer. *Cadernos De Prospecção*, 16(6), 1987–2002, 2023.<https://doi.org/10.9771/cp.v16i6.51754>

SOUZA CD e FELFILI JM, Uso de plantas medicinais na região de Alto Paraíso de Goiás, GO, Brasil. *Acta BotanicaBrasilica*, 20:135-142, 2006.

TAYLOR, P.G.; CESARI I.M.; ARSENAK, M.; BALLEEN, D.; ABAD, M.J.; Fernández, A.; MILANO, B.; RUIZ, M.-C.; WILLIAMS, B.; MICHELANGELI, F.;

Evaluation of Venezuelan Medicinal Plant Extracts for Antitumor and Antiprotease Activities. *Pharm. Biol.*, 44, 349–362, 2006.

TORSSELL, K. B. G.; *Natural Product Chemistry: A mechanistic, biosynthetic and ecological approach* (2nd ed.), Apotekarsocieteten-Swedish Pharmaceutical, Society: Stockholm, 1997.

VOGL, O.; MITCHELL, J. D.; *Pure Appl. Chem.*; 33, 1581, 1996..

WAGNER, G. J. *Russ. Phys. Chem. Soc.*, 31, 690, 1899.

WANG, C. J.; YAN, Q. L.; MA, Y. F.; SUN, C. P.; CHEN, C. M.; TIAN, X. G.; H. Y.; WANG, C.; DENG, S.; MA, X. C.; *ent*-Abietane and Tigliane Diterpenoids from the Roots of *Euphorbia fischeriana* and Their Inhibitory Effects against *Mycobacterium smegmatis*, *J. Nat. Prod.*, 80, 1248, 2017.

YUAN, W. J.; GAO, W. F.; ZHAO, J. Y.; ZHANG, Y.; CHEN, D. Z.; LI, S. L.; DI, Y. T.; HAO, X. J.; Diterpenes with potential treatment of vitiligo from the aerials parts of *Euphorbia antiquorum* L, *Fitoterapia*, Vol. 144, 104583, 2020.

ZHANG, J.; HE, J.; CHENG, Y.; ZHANG, P.; YAN, Y.; ZHANG, W.; XU, J.; Fishernolides A—D, Four Novel Diterpene-Based Meroterpenoid Scaffolds with Antitumor Activities from *Euphorbia fischeriana*, *Org. Chem. Front.*, 2019, DOI: 10.1039/C8QO01379A.