



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA - PPGQ

ESTUDO QUÍMICO E INVESTIGAÇÃO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA
DE QUINONAS ISOLADAS DO EXTRATO ACETATO DE ETILA DAS
RAÍZES DE *Pleonotoma jasminifolia* ((BIGNONIACEAE)

LEANDRO TAVARES ANSELMO

Manaus/AM

Julho, 2024

LEANDRO TAVARES ANSELMO

ESTUDO QUÍMICO E INVESTIGAÇÃO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA
DE QUINONAS ISOLADAS DO EXTRATO ACETATO DE ETILA DAS
RAÍZES DE *Pleonotoma jasminifolia* (BIGNONIACEAE)

Dissertação apresentado ao Programa de
Pós-Graduação em Química da
Universidade Federal do Amazonas,
exigido para o título de Mestre em
Química, com ênfase na Linha de Pesquisa:
Produtos Naturais e Biomolécula.

Profa. Dra. Waldireny Rocha Gomes

Orientadora

Prof. Dr. Hector Henrique Ferreira Koolen

Coorientador

Manaus/AM

Julho, 2024

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

A618e Anselmo, Leandro Tavares
Estudo químico e investigação da atividade citotóxica de quinonas isoladas do extrato acetato de etila das raízes de *Pleonotoma jasminifolia* (Bignoniaceae) / Leandro Tavares Anselmo . 2024
102 f.: il. color; 31 cm.

Orientador: Waldireny Rocha Gomes
Coorientador: Hector Henrique Ferreira Koolen
Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal do Amazonas.

1. Quinonas. 2. Fitoquímica. 3. Citotoxicidade. 4. Espectrometria.
I. Gomes, Waldireny Rocha. II. Universidade Federal do Amazonas
III. Título

ESTUDO QUÍMICO E INVESTIGAÇÃO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA DE
QUINONAS ISOLADAS DO EXTRATO ACETATO DE ETILA DAS RAÍZES
DE *Pleonotoma jasminifolia* (BIGNONIACEAE)

LEANDRO TAVARES ANSELMO

Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em
Química, do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal do Amazonas
como requisito parcial para a obtenção do Grau de Mestre (a) em Química.

Aprovada em, 29 de julho de 2024.

Documento assinado digitalmente
 **WALDIRENY ROCHA GOMES**
Data: 29/07/2024 19:57:28-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

WALDIRENY ROCHA GOMES (PPGQ/UFAM)

Presidente/Orientadora

Documento assinado digitalmente
 **EMMANOEL VILACA COSTA**
Data: 29/07/2024 18:03:50-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

EMMANOEL VILAÇA COSTA (PPGQ/UFAM)

Membro Interno

Documento assinado digitalmente
 **PAULO CEZAR VIEIRA**
Data: 29/07/2024 17:44:20-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

PAULO CEZAR VIEIRA (USP)

Membro Externo

Universidade Federal do Amazonas
Manaus, 29 de julho de 2024.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, por seu amor incondicional e apoio constante, e à minha namorada, cujo carinho e incentivo tornaram essa jornada mais leve e significativa. Vocês foram a base que me permitiu alcançar este objetivo.

AGRADECIMENTOS

Ao concluir esta dissertação, gostaria de expressar minha profunda gratidão a todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho.

À Professora Dra. Waldireny Rocha Gomes, minha gratidão eterna pelo suporte, dedicação e orientação ímpar. Seu compromisso com a excelência e sua disposição em compartilhar conhecimento foram essenciais para o desenvolvimento deste trabalho. Sua sabedoria e orientação me guiaram durante todo o percurso, e sem sua ajuda, este trabalho não seria possível.

Ao Prof. Dr. Hector Henrique Ferreira Koolen, agradeço pela coorientação e pelas valiosas discussões que foram fundamentais para a elucidação estrutural das moléculas e todas as demais contribuições para o aperfeiçoamento desta pesquisa.

À Professora Dra. Livia Soman, pela colaboração essencial na realização dos experimentos de espectrometria de massa de alta resolução (LC-MS); ao Dr. Felipe Moura, pela análise espectrométrica e apoio contínuo; e ao Prof. Dr. Daniel Pereira Bezerra, pela colaboração na investigação da atividade citotóxica.

Aos meus colegas e amigos de laboratório, especialmente ao Weider Henrique Pinheiro Paz, que sempre estiveram presentes, compartilhando conhecimentos, experiências e oferecendo suporte em momentos desafiadores.

Agradecer à minha companheira, Rayene Monteiro de Souza, pelo apoio e incentivo constante ao longo desta jornada. Sua compreensão e paciência foram fundamentais para que eu pudesse alcançar este objetivo.

À minha família, por todo o apoio incondicional. Agradeço especialmente à minha mãe, Orlanilda Tavares Castro, e à minha avó, Eliza Ozaki Anselmo, que sempre me incentivaram a seguir nos estudos e acreditaram no meu potencial.

Ao CNPQ pela bolsa concedida; à CAPES, pelo apoio financeiro. À UFAM e PPGQ pela oportunidade e suporte. À Universidade do Estado do Amazonas (UEA), onde passei a maior parte do mestrado e desenvolvi meu trabalho.

Finalmente, agradeço a todos os meus amigos e demais familiares que, direta ou indiretamente, contribuíram para a conclusão deste trabalho. A todos, o meu mais sincero muito obrigado.

*"Se você não pode voar, então corra; se
você não pode correr, então ande; se você
não pode andar, então rasteje, mas faça o
que for necessário para seguir em frente."*

Martin Luther King Jr.

RESUMO

A família Bignoniaceae é reconhecida por produzir substâncias com propriedades terapêuticas e bioativas, como atividades antimicrobiana, anti-inflamatória e antioxidante. As espécies dessa família se destacam principalmente como fontes de quinonas, que atuam como marcadores taxonômicos. A ampliação de pesquisas por novas substâncias bioativas a partir de plantas da flora amazônica tem se intensificado, especialmente na investigação de metabólitos com potencial citotóxico. Desta forma, a presente pesquisa tem como objetivo realizar o estudo fitoquímico das raízes de *Pleonotoma jasminifolia* (Kunth) Miers e avaliar a citotoxicidade *in vitro* das substâncias isoladas. A raiz, após ser seca, foi submetida à extração por maceração com hexano, acetato de etila e metanol. O extrato de acetato de etila das raízes de *P. jasminifolia* foi submetido a ensaios cromatográficos, utilizando a ferramenta de molecular networking para o tratamento dos dados obtidos por Cromatografia Líquida acoplada à Espectrometria de Massas (LC-MS/MS), com o objetivo de guiar o isolamento de substâncias inéditas. A elucidação estrutural das substâncias foi realizada por meio de técnicas espectroscópicas e espectrométricas. Neste trabalho com essa espécie botânica, foram isoladas duas substâncias inéditas que foram nomeadas de pleonotoquinona A (1) e pleonotoquinona B (2), além de duas antraquinonas conhecidas pertencentes à classe das quinonas: 7-hidroxi-8-metoxi-2-metil antraquinona (3) e 7,8-dimetoxi-2-metil antraquinona (4). Os compostos 1 e 2 demonstraram ser citotóxicos contra células de câncer de cólon humano HCT116, com CI_{50} de 2,6 e 4,3 μ M, respectivamente. Adicionalmente, ambos os compostos apresentaram citotoxicidade contra células de câncer de fígado humano HepG2, com CI_{50} de 1,9 e 6,4 μ M, respectivamente. Através dos resultados obtidos, foi possível comprovar que a espécie *P. jasminifolia* é uma fonte promissora de quinonas bioativas.

Palavras-chave: Quinonas; fitoquímica; citotoxicidade.

ABSTRACT

The Bignoniaceae family is recognized for producing substances with therapeutic and bioactive properties, such as antimicrobial, anti-inflammatory, and antioxidant activities. Species within this family are particularly notable as sources of quinones, which serve as taxonomic markers. Research into new bioactive substances derived from Amazonian flora has intensified, especially in the investigation of metabolites with cytotoxic potential. Therefore, the present research aims to conduct a phytochemical study of the roots of *P. jasminifolia* and evaluate the in vitro cytotoxicity of the isolated substances. The root, after being dried, was subjected to extraction by maceration with hexane, ethyl acetate, and methanol. The ethyl acetate extract from the roots of *P. jasminifolia* was subjected to chromatographic assays, using the molecular networking tool to process the data obtained by Liquid Chromatography coupled with Mass Spectrometry (LC-MS/MS), with the aim of guiding the isolation of novel substances. The structural elucidation of the substances was carried out using spectroscopic and spectrometric techniques. In this study of this botanical species, two novel substances were isolated and named pleonotoquinone A (1) and pleonotoquinone B (2), in addition to two known anthraquinones belonging to the quinone class: 7-hydroxy-8-methoxy-2-methyl anthraquinone (3) and 7,8-dimethoxy-2-methyl anthraquinone (4). Compounds 1 and 2 were found to be cytotoxic against human colon cancer cells HCT116, with IC₅₀ values of 2.6 and 4.3 μM, respectively. Additionally, both compounds exhibited cytotoxicity against human liver cancer cells HepG2, with IC₅₀ values of 1.9 and 6.4 μM, respectively. The results obtained confirmed that the species *P. jasminifolia* is a promising source of bioactive quinones.

Keywords: Quinones; phytochemistry; cytotoxicity

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. OBJETIVOS	17
2.1. Objetivo geral	17
2.2. Objetivos específicos	17
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
3.1. Câncer e plantas medicinais	18
3.1.1. O câncer	18
3.1.2. Quimioterápicos na terapia do câncer	20
3.2. A família Bignoniaceae	23
3.2.1. Quinonas da família Bignoniaceae	30
3.3 Gênero <i>Pleonotoma</i>	37
3.3.1 <i>Pleonotoma jasminifolia</i>	37
3.4. Redes moleculares e GNPS	38
4. METODOLOGIA	40
4.1. Coleta do material botânico	40
4.2. Obtenção dos extratos das raízes de <i>P. jasminifolia</i>	40
4.3. Cromatografia em camada delgada	41
4.4. Análise por Molecular Networking (MN)	42
4.4 Cromatografia em coluna	42
4.5. Fracionamento cromatográfico do extrato AcOEt	42
4.5.1. Grupo de frações G5	43
4.5.2. Grupo de frações G5.4	44
4.6 Fracionamento por Cromatografia líquida de média pressão (MPLC)	44
4.7. Isolamento e fracionamento por HPLC	45
4.8. Análise por Espectrometria de Massas	45

4.9. Espectroscopia por Ressonância Magnética Nuclear (RMN)	45
4.10. Espectroscopia na Região do Infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)..	45
4.11. Ensaio de citotoxicidade <i>in vitro</i>	46
4.11.1. Preparo das amostras e células	46
4.11.2. Ensaio de citotoxicidade.....	47
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
5.1. Análise da rede molecular do extrato de acetato de etila de <i>P. jasminifolia</i>	48
5.2 Elucidação estrutural da substância isoladas de <i>P. jasminifolia</i>	49
5.2.1 Elucidação estrutural da substância 1.	49
5.2.2. Elucidação estrutural da substância 2.....	62
5.2.3. Elucidação estrutural da substância 3	69
5.2.4 Elucidação estrutural da substância 4	78
5.2 Investigação da citotoxicidade <i>in vitro</i> das substâncias isoladas de <i>P. jasminifolia</i>	87
6. CONCLUSÃO.....	90
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	91
ANEXOS	101

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estimativas de novos casos de câncer, em mulheres e homens, para 2023-2025.....	19
Figura 2. Substâncias isoladas de plantas utilizadas como fármacos no tratamento do câncer.....	22
Figura 3. Drogas aprovadas no período de 1981 a 2019.....	23
Figura 4. Distribuição geográfica das Bignoniaceae pelo mundo.....	24
Figura 5. Algumas espécies de Bignoniaceae.....	25
Figura 6. Características gerais de Bignoniaceae. A: fruto; B: flor; C: ramos vegetais; D: sementes.....	26
Figura 7. Substâncias isoladas de Bignoniaceae.....	29
Figura 8. Estruturas básicas de quinonas.....	30
Figura 9. Quinonas isoladas de Bignoniaceae.....	34
Figura 10. Estruturas química do lapachol, α -lapachona e β -lapachona.....	36
Figura 11. Distribuição geográfica de <i>Pleonotoma jasminifolia</i>	37
Figura 12. <i>Pleonotma jasminifolia</i>	38
Figura 13. Esquema do procedimento para obtenção dos extratos das raízes de <i>P. jasminifolia</i>	41
Figura 14. Fluxograma do fracionamento cromatográfico de EARPJ.....	43
Figura 15. Fluxograma do fracionamento cromatográfico de G5.....	44
Figura 16. Cromatograma de íons totais do extrato bruto de acetato de etila.....	48
Figura 17. Rede molecular indicando a presença de 1-4 do extrato bruto e frações obtidas do MPLC.....	49
Figura 18. Espectro de absorção na região do Infravermelho da substância 1.....	50

Figura 19. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, em CDCl_3) da substância 1.....	50
Figura 20. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância 1 na região entre δ_{H} 5,7-7,0 ppm.....	51
Figura 21. Mapa de correlação COSY ^1H - ^1H e ampliação dos sinais (500 MHz em CDCl_3) da substância 1.....	52
Figura 22. Espectros de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) da substância 1.....	53
Figura 23. Espectros de RMN de DEPT 135 (125 MHz, CDCl_3) da substância 1.....	54
Figura 24. Ampliação do Mapa de correlação HSQC (^1H - 500 MHz; ^{13}C - 125 MHz, em CDCl_3) da substância 1.....	55
Figura 25. Estrutura parcial da substância 1 indicando as correlações de HMBC e COSY.....	56
Figura 26. Principais correlações observadas no mapa de correlações HMBC da substância 1.....	57
Figura 27. Segunda parte da estrutura parcial da substância 1 correlações de HMBC e COSY.....	58
Figura 28. Estrutura da substância 1 indicando a formação de outro anel.....	58
Figura 29. Pleonotoquinona A.....	59
Figura 30. Espectro de massas da substância 1.....	61
Figura 31. Perfil de fragmentação da substância 1.....	61
Figura 32. Proposta de fragmentação da substância 1.....	62
Figura 33. Espectro de absorção na região do Infravermelho da substância 2.....	63
Figura 34. Espectro de RMN de ^1H das substâncias 1 e 2 para fins comparativo.....	64
Figura 35. Espectro de RMN de ^{13}C das substâncias 1 e 2 para fins comparativos.....	65
Figura 36. Ampliação do Mapa de correlação HSQC (^1H - 500 MHz; ^{13}C - 125 MHz, em CDCl_3) da substância 2	66

Figura 37. Ampliação do Mapa de correlação HMBC (^1H - 500 MHz; ^{13}C - 125 MHz, em CDCl_3) da substância 2.	67
Figura 38. Espectro de massas da substância 2.....	69
Figura 39. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, EM CDCl_3) da substância 3.....	69
Figura 40. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância 3 na região entre δ_{H} 8,3-7,1 ppm.....	70
Figura 41. Mapa de correlação COSY ^1H - ^1H e ampliação dos sinais (500 MHz em CDCl_3) da substância 3.....	71
Figura 42. Espectros de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) da substância 3.....	72
Figura 43. Ampliação do Mapa de correlação HSQC (^1H - 500 MHz; ^{13}C - 125 MHz, em CDCl_3) da substância 3.....	73
Figura 44. Principais correlações observadas no mapa de correlações HMBC da substância 3.....	74
Figura 45. Principais correlações de HMBC da substância 3 (A); <i>composto enumerado</i> (B).....	76
Figura 46. Espectro de massas de alta resolução da substância 3.....	77
Figura 47. Perfil de fragmentação da substância 3.....	78
Figura 48. Proposta de fragmentação da substância 3.....	78
Figura 49. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância 4.....	79
Figura 50. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância 4 na região entre δ_{H} 8,2-7,2 ppm.....	79
Figura 51. 7,8-dimetoxi-2-metil antraquinona.....	80
Figura 52. Espectros de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) da substância 4.....	81
Figura 53. Mapa de correlação COSY ^1H - ^1H (500 MHz em CDCl_3) da substância 4.....	82
Figura 54. Ampliação do Mapa de correlação HSQC (^1H - 500 MHz; ^{13}C - 125 MHz, em CDCl_3) da substância 4.....	83
Figura 55. Mapa de correlação HMBC (^1H - 500 MHz; ^{13}C - 125 MHz, em CDCl_3) da substância 4 na região de aromáticos.....	84

Figura 56. Mapa de correlação HMBC (^1H - 500 MHz; ^{13}C - 125 MHz, em CDCl_3) da substância 4 na região de alifáticos.....	85
Figura 57. Principais correlações de HMBC da substância 4.....	86
Figura 58. Espectro de massas de alta resolução da substância 4.....	86

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Ações Biológicas de algumas espécies da família Bignoniaceae.....	27
--	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Reunião das frações obtidas do primeiro fracionamento.....	43
Tabela 2. Reunião das frações obtidas do segundo fracionamento.....	44
Tabela 3. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C da substância 1.....	60
Tabela 4. Dados espectroscópicos de RMN (^1H 500 MHz, ^{13}C 125 MHz) para as substâncias A e B, para fins comparativos.....	68
Tabela 5. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C da substância 3.....	76
Tabela 6. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C da substância 4.....	87
Tabela 7. Atividade citotóxica das substâncias 1-4.....	88

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

δ	Deslocamento químico
ϕ	Diâmetro
CC	Cromatografia em coluna
CCDA	Cromatografia em camada delgada analítica
CDCl_3	Clorofórmio deuterado
CH_2Cl_2	Diclorometano
CH_3OH	Metanol
CI_{50}	Concentração inibitória em 50% (do inglês “ <i>inhibition concentration</i> ”);
COSY	Espectroscopia de correlação (do inglês “ <i>homonuclear Correlated Spectroscopy</i> ”)
CPqGM	Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz
<i>D</i>	Dupleto
<i>Dd</i>	Duplo dupleto
<i>Ddd</i>	Duplo duplo dupleto
Da	Dalton
DEPT	<i>multiplicidade do carbono</i> (“do inglês “ <i>Distortionless Enhancement by Polarization Transfer</i> ”)
<i>Dd</i>	Duplo dupleto
Dox	Doxorrubicina
DMSO	Dimetilsulfóxido
EtOAc	Extrato Acetato de Etila
EARPJ	Extrato Acetato das raízes de <i>Pleonotoma jasminifolia</i>
ESI (+)	Eletrospray modo positivo (do inglês “ <i>Electrospray ionization</i> ”)
FE	Fase estacionária
FM	Fase móvel
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
HCT116	Carcinoma de cólon humano
HepG2	Linhagem celular de Carcinoma Hepatocelular Humano (do inglês “ <i>human hepatocellular carcinoma cell line</i> ”)
HMBC	Correlação múltiplas de ligações heteronucleares (do inglês “ <i>Heteronuclear Multiple Bond Correlation</i> ”)
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência (do inglês “ <i>High Performance Liquid Chromatography</i> ”)
HSQC	Correlação simples de ligações heteronucleares (do inglês “ <i>Heteronuclear Single Quantum Coherence</i> ”)
Hz	Hertz
IGM	Instituto Gonçalo Moniz;
<i>J</i>	Constante de acoplamento
LETI	Laboratório de Engenharia Tecidual e Imunofarmacologia
m	metro
<i>m</i>	Multiplete

MCR-5	Linhagem de células diplóides de pulmão de feto humano (do inglês “ <i>Cells Normal human lung fibroblastos</i> ”)
MeOH	Metanol
MHz	Megahertz
MRC-5	Linha diplóide de células humanas composta por fibroblastos de pulmão saudável (do inglês “ <i>Medical Research Council cell strain 5</i> ”)
MS	Espectrometria de massas (do inglês “ <i>mass spectrometry</i> ”);
MS/MS	Espectrometria de massa sequencial (do inglês “ <i>tandem mass spectrometry</i> ”);
m/z	Razão massa/carga
nm	Nanômetro
RMN ^1H	Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (do inglês “ <i>Nuclear magnetic resonance</i> ”)
RMN ^{13}C	Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de carbono (do inglês “ <i>Nuclear magnetic resonance of carbon</i> ”)
RMN 1D/2D	Ressonância magnética nuclear unidimensional e bidimensional
s	Simpleto
t	Tripleto
TMS	tetrametilsilano

1. INTRODUÇÃO

Desde tempos ancestrais, as plantas têm sido empregadas para o tratamento de doenças e no decorrer das eras, essa sabedoria foi transmitida de uma geração para outra. Neste sentido, as plantas são amplamente utilizadas na medicina popular com finalidade terapêutica, e têm servido como base na obtenção de novos fármacos (MACEDO, 2019; DA SILVA *et al.*, 2022).

As espécies vegetais são consideradas fontes produtoras de uma ampla variedade de classes de substâncias. Essas substâncias produzidas provenientes do metabolismo primário, que são responsáveis pela produção de macromoléculas essenciais para o crescimento e desenvolvimento da planta, e do metabolismo secundário, que é responsável pela produção de metabolitos não essenciais no organismo (VERMA e SHUKLA, 2015; ANDRADE *et al.*, 1999).

Os constituintes químicos provenientes do metabolismo secundário exercem uma variedade de funções na planta, tais como atrair polinizadores, proteção contra os raios ultravioletas, herbívoros e micro-organismos, bem como são responsáveis pelas propriedades farmacológicas e efeitos tóxicos da planta (LÓPEZ, 2006; KAUFMAN *et al.*, 1999).

De acordo com Newman e Cragg (2020), ao longo do século XX, ocorreu um significativo progresso nas investigações de compostos naturais, sendo a maioria proveniente de plantas. Esses estudos focaram especialmente em aplicações para pesquisas relacionadas ao tratamento de câncer. Esses esforços levaram à identificação de substâncias que são atualmente utilizadas na área médica, ampliando assim as alternativas disponíveis para diversos tipos de tratamentos.

O câncer é uma das principais causas de morte em todos os países do mundo, sendo causado por inúmeros fatores, resultando no crescimento de células anormais que podem se espalhar pelo corpo (BRAY, 2021). O tratamento para o câncer é muito complicado e envolve uma série de fatores como resistência às terapias e os efeitos colaterais no uso de medicamento, neste sentido é importante ressaltar a busca por novos medicamentos que sejam cada vez mais eficientes no tratamento do câncer (HOUSMAN *et al.*, 2014). Sendo assim, o interesse em pesquisar fontes de produtos naturais se baseiam na busca por terapias mais eficazes e menos prejudiciais, visando melhorar o bem-estar dos pacientes.

Neste sentido, a química de produtos naturais se dedica à análise de substâncias, principalmente aquelas provenientes do metabolismo secundário e explora seu potencial terapêutico. A busca continuada nesta área é necessária para descobrir novas substâncias que possam servir de aplicações terapêuticas, resultando na ampliação do conhecimento acerca da diversidade química (SILVEIRA, CARVALHO e MATOS, 2021; VIEGAS *et al.*, 2006). Nesse cenário, a Floresta Amazônica desempenha um papel extremamente importante, uma vez que é lar de uma das biodiversidades mais ricas do mundo, contendo uma grande quantidade de substâncias ainda inexploradas. Isso incentiva a exploração em busca de novos metabolitos secundários (MARCOVITCH e PINKY, 2020).

Dessa forma, considerando que cada vez mais há uma procura global por novos medicamentos oriundos de plantas. Este estudo encontra sua razão na contínua necessidade de descobrir novas moléculas bioativas originárias de plantas da região da Amazônia. Além disso, a pesquisa sobre plantas que são exclusivas dessa área pode também desempenhar um papel na preservação desse ecossistema, uma vez que a atenção mundial está voltada para a floresta.

Com a necessidade de ampliar o conhecimento fitoquímico da espécie *P. jasmínifolia*, este trabalho consiste em realizar o estudo químico da raiz, visando o isolamento e elucidação de metabolitos secundários presentes nessa espécie, bem como investigar o seu potencial citotóxico.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Investigar a composição química das raízes de *P. jasminifolia* por meio de técnicas cromatográficas clássicas e espectrométricas, e avaliar o seu potencial citotóxico *in vitro*.

2.2. Objetivos específicos

- ✓ Analisar o perfil químico das frações das raízes *P. jasminifolia*;
- ✓ Realizar o isolamento das substâncias presentes na raiz da *P. jasminifolia*;
- ✓ Elucidar as estruturas das substâncias isoladas pela interpretação dos dados espectroscópicos (RMN) e espectrométricos (MS);
- ✓ Avaliar a citotoxicidade *in vitro* das amostras das raízes de *P. jasminifolia*.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Câncer e plantas medicinais

3.1.1. O câncer

O câncer é definido como um conjunto de mais de 100 doenças descritas pela multiplicação desordenada de células que afetam e se espalham entre tecidos e órgãos que estão próximos da estrutura afetada no corpo humano (INCA, 2012). Essas células tornam-se muito agressivas, podendo gerar tumores benignos ou malignos (SILVA, 2012).

Um tumor benigno é aquele que se assemelha às células do tecido de onde se originou e cresce lentamente. Geralmente, esse tipo de tumor não representa um risco de morte para o indivíduo, pois pode ser completamente removido por meio de cirurgia. Por outro lado, um tumor maligno tende a ser mais agressivo e apresenta características distintas, como células anormais e a capacidade de se espalhar para outras partes do corpo, o que torna o quadro mais grave. Alterações como variação no tamanho e forma das células, aumento do tamanho do núcleo e coloração mais densa, além da perda da distribuição regular das células, são indícios desse tipo de tumor (DE MORAES, ALONSO e OLIVEIRA, 2011).

O câncer resulta de uma interação complexa entre fatores externos e internos, como mutações genéticas, exposição a carcinógenos ambientais e fatores hormonais e imunológicos. Cerca de 80% a 90% dos casos estão ligados a fatores ambientais, incluindo hábitos e comportamentos. Esses fatores podem alterar o DNA das células, levando ao desenvolvimento do câncer. Embora a genética desempenhe um papel importante, a maioria dos casos não é exclusivamente hereditária. O envelhecimento também aumenta a suscetibilidade, pois as células se tornam mais vulneráveis ao processo cancerígeno ao longo do tempo (INCA, 2023; GUERRA *et al.*, 2005).

O câncer é causado por diversos fatores e envolvem uma interação complexa entre fatores genéticos, ambientais e estilo vida. Fatores genéticos desempenham um papel importante no desenvolvimento do câncer, e certas mudanças genéticas aumentam a predisposição ao câncer. Além disso, fatores ambientais como agentes cancerígenos, poluição e exposição à radiação também estão associados a um risco maior de se adquirir câncer (ZHANG, 2020; GAROFOLO *et al.*, 2004).

Segundo a Organização mundial da saúde (OMS, 2024), os tipos de câncer mais comuns em todo o mundo foram o câncer de pulmão, câncer de mama, câncer colo retal,

câncer de próstata e câncer de estômago. O Instituto Nacional do Câncer estimou um total de 704 mil novos casos de câncer possam ocorrer entre os anos de 2023 a 2025 (Figura 1). As regiões que os cânceres estão mais predominantes são na região Sul e Sudeste, que engloba 70% dos casos no Brasil. Ao todo foram identificados 21 Tipos de câncer mais recorrentes no Brasil. Destes tipos de câncer os mais recorrentes foram o de pele não melanoma (31,3% do total de casos), seguido pelos de mama feminina (10,5%), próstata (10,2%), cólon e reto (6,5%), pulmão (4,6%) e estômago (3,1%) (INCA, 2023).

Nos homens foram estimados que os tipos de câncer mais comuns são o câncer de próstata (30,0%), o câncer de cólon e reto (9,2%), o câncer de pulmão (7,5%), o câncer de estômago (5,6%) e o câncer de cavidade oral (4,6%). Nas mulheres, o câncer de mama é o mais prevalente (30,1%), seguido pelo câncer de cólon e reto (9,7%), o câncer de colo do útero (7,0%), o câncer de pulmão (6,0%) e o câncer de tireoide (5,8%) (ONCONGUIA, 2022).



Figura 1. Estimativas de novos casos de câncer, em mulheres e homens, para 2023-2025 **Fonte:** (Adaptado de, ONCONGUIA, 2022).

Atualmente, o tratamento dos tipos de câncer pode ser realizado por três etapas que são as mais comuns, são elas: cirurgia, quimioterapia e radioterapia. De acordo com tipo de tumor, estágio, condição do paciente e possíveis efeitos colaterais, o tratamento pode combinar essas etapas. No entanto, existem outras formas de tratamento, utilizando diferentes técnicas medicinais (JEMAL, 2015). No entanto, cada vez mais os pacientes junto com os médicos buscam novas formas de tratar o câncer.

A medicina considera a melhor chance do tratamento do câncer, a radioterapia, a quimioterapia e a intervenção cirúrgica. No entanto, existem outras formas de tratamento, utilizando diferentes técnicas medicinais, uma delas é a chamada terapia alternativa, reconhecida pelo uso de metabólitos secundários provenientes de plantas medicinais (VEIGA, 2005; COSTA *et al.*, 2010). A OMS define plantas medicinais como plantas que

contêm substâncias que podem ser usadas para fins terapêuticos ou que são precursores de drogas semissintéticas

3.1.2. Quimioterápicos na terapia do câncer

As plantas desempenham um papel crucial na luta contra o câncer, já que mais de 70% dos medicamentos anticâncer atualmente disponíveis no mercado são derivados direta ou indiretamente delas. Além disso, as plantas oferecem uma grande variedade de metabólitos secundários, que são substâncias químicas com potencial terapêutico, contribuindo para a diversidade e eficácia dos tratamentos contra o câncer (İSAOĞLU, GÜLLÜCE e KARADAYI, 2020; BEZERRA, 2016).

A vimblastina (1) (velban®), vindesina (2) (eldisine®), vincristina (3) (oncovin®) e vinorelbina (4) (navelbine®), são alcaloides naturais isolados da espécie *Catharanthus roseus* (L.) G.Don (Apocynaceae), também conhecida como vinca-de-Madagascar. Esses alcaloides pertencem a uma classe de compostos chamados de alcaloides da vinca, sendo importantes agentes quimioterápicos amplamente utilizados no tratamento de diversos tipos de câncer. Esses compostos atuam inibindo a divisão celular, o que é particularmente importante no combate ao crescimento descontrolado das células cancerígenas. A vimblastina é utilizada no tratamento de diferentes tipos de câncer, como o linfoma de Hodgkin, leucemia linfoblástica aguda, câncer de mama, entre outros. Já a vincristina é amplamente empregada no tratamento de leucemias, linfomas, neuroblastoma sarcomas e tumores cerebrais (VIEIRA *et al.*, 2020; AL *et al.*, 2008; BRANDÃO *et al.*, 2010).

A podofilotoxina (5) é uma substância isolada da planta *Podophyllum peltatum* L. (Berberidaceae) e tem sido amplamente estudada por suas propriedades no combate ao câncer. Nos Estados Unidos, os índios americanos utilizam o extrato da raiz da planta *P. peltatum* para o tratamento de câncer de pele e para tratar verrugas (MANN, 2002). A podofilotoxina deu origem a dois derivados semissintéticos importantes no tratamento do câncer. Um deles é o etoposide (6), utilizado no combate ao câncer de testículo e certos tipos de câncer de pulmão e o teniposide (7), que é empregado no tratamento de condições como a leucemia linfoblástica aguda, linfoma não-Hodgkin e neuroblastoma (DE LIMA DAVID, 2013).

O taxol®, também conhecido como paclitaxel (8), isolado primeiramente da casca da árvore do teixo-do-pacífico, chamada *Taxus brevifolia* Nutt. (Taxaceae), é

amplamente utilizado no tratamento de câncer de mama, ovário e pulmão. O taxol é o agente antineoplásico mais vendido, tendo alcançado uma receita de mais de um bilhão e meio de dólares em 2000 (MANN, 2002). Em 1992, o taxol® foi aprovado como um dos medicamentos extensivamente empregados na quimioterapia devido à sua eficiência em diversos ensaios biológicos. Todavia, inicialmente, não havia quantidades suficientes do paclitaxel (11) e o medicamento tinha baixa solubilidade em água. Para contornar essas restrições, foi desenvolvido o docetaxel (9) (taxotere®) em 1996, esse novo agente é semissintético e demonstrou ser mais potente do que o taxol. Como resultado, o docetaxel tornou-se uma opção valiosa para o tratamento do câncer, oferecendo uma alternativa mais eficaz na luta contra o câncer (DURAK *et al.*, 2014).

A camptotecina (10) é um alcaloide que foi isolado pela primeira vez em 1966 extraída de uma árvore chinesa, *Camptotheca acuminata* Decne. (Cornaceae), curiosamente, foi identificada pelo mesmo grupo de pesquisa que isolou o taxol (OBERLIES, 2004). Duas moléculas importantes no tratamento do câncer são derivadas da camptotecina, a topotecan (11) e irinotecan (12), que são capazes de inibir a enzima topoisomerase (LI e COREY, 2013).

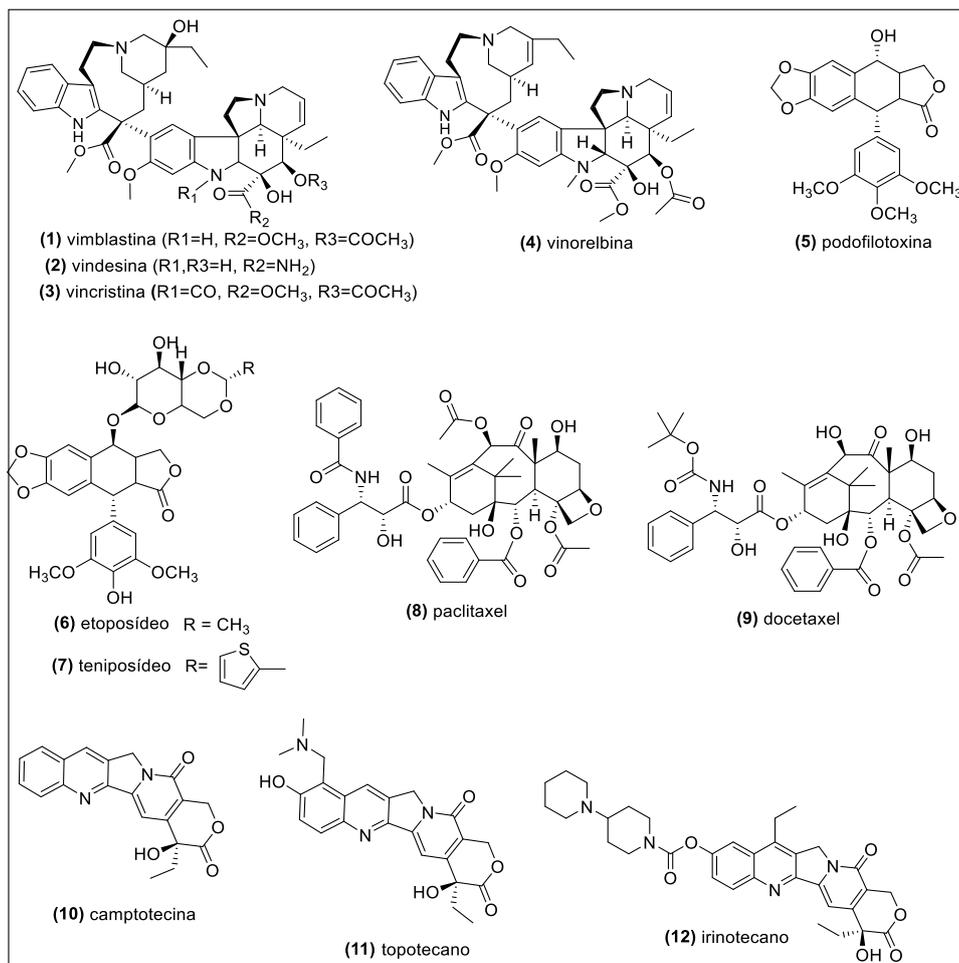


Figura 2. Substâncias isoladas de plantas utilizadas como fármacos no tratamento do câncer.

Os estudos com estas moléculas prosseguiram, até que em 1966, os cientistas descobriram uma molécula equivalente ao irinotecano, que deu excelentes resultados no combate aos cânceres de colon, pulmão e ovário, sendo autorizado pela Food and Drug Administration (FDA) a venda para sua comercialização. Devido à impressionante variedade de compostos químicos presentes na natureza, os produtos naturais são considerados um rico reservatório de bioativos, compostos com potencial terapêutico. Nas últimas décadas, tremendos esforços têm sido feitos para isolar novas moléculas oriundas de plantas para investigar suas propriedades contra o câncer e explorar o mecanismo de ação no organismo. Esses esforços levaram à descoberta de um painel de drogas anticancerígenas. Estima-se que entre 1981 e 2019, aproximadamente 25% de todos os novos medicamentos anticancerígenos vieram de produtos naturais (figura 3) (NEWMAN e CRAGG, 2020).

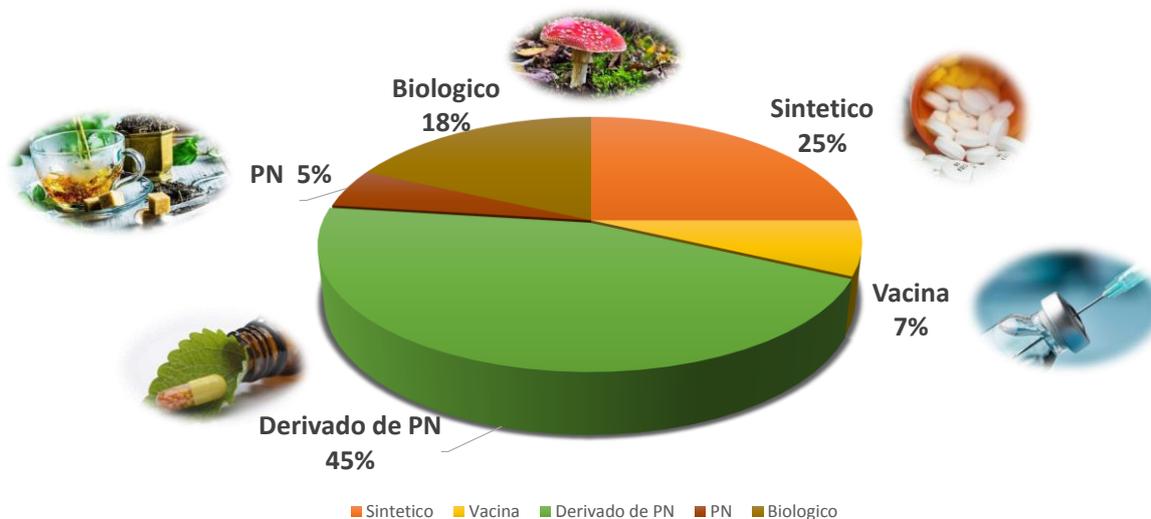


Figura 3. Drogas aprovadas no período de 1981 a 2019 (Adaptado de Newman e Cragg, 2020).

Mesmo com o crescimento das pesquisas fitoquímicas, tem-se a urgência na busca por novos medicamentos, uma vez que existem diversas enfermidades ainda sem o tratamento eficaz e seletivo. É importante buscar novas abordagens para deter o progresso do câncer, através da identificação de moléculas que possuam mecanismos específicos para cada tipo de neoplasia (GREENWELL e RAHMAN, 2015).

Contudo, as pesquisas na área de produtos naturais continuam revelando famílias promissoras como fontes de metabólitos citotóxicos, essenciais para o tratamento do câncer. Dentre essas famílias, a Bignoniaceae é reconhecida pela diversidade de metabólitos que apresentam atividades farmacológicas comprovadas. Essa família botânica tem despertado interesse devido a sua relevância como fonte de substâncias bioativas (CIPRIANI *et al.*, 2012).

3.2. A família Bignoniaceae

A família Bignoniaceae é subdividida em oito tribos, das quais três estão presentes no Brasil (Bignonieae, Crescentieae e Tecomeae), é um grupo de plantas bastante diversificado, conhecidas por suas propriedades medicinais e ornamentais, sendo compostas por cerca de 860 espécies e 82 gêneros. Essas plantas são encontradas principalmente em regiões tropicais e subtropicais ao redor do mundo, incluindo América do Sul, América Central, África e partes da Ásia (Figura 4) (GENTRY, 1980; LOHMANN e ULLOA 2023). O Brasil é um centro de diversidade para a família, abrigando 34 gêneros e 420 espécies,

com dois gêneros e 212 espécies endêmicos que estão presentes em todos os diferentes domínios fitogeográficos do país. (LOHMANN *et al.*, 2022).

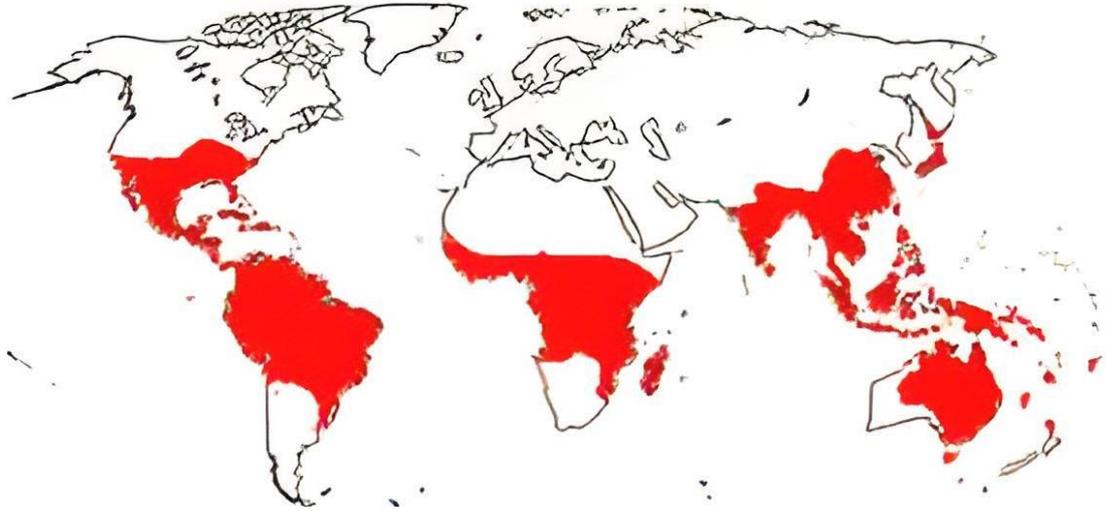


Figura 4. Distribuição geográfica das Bignoniaceae pelo mundo. **Fonte:** (MOBOT, 2023)

Economicamente, as Bignoniaceae costumam ser utilizadas na construção civil, carpintaria e na construção de instrumentos musicais, devido às suas características resistentes e durável. Na carpintaria, a madeira é valorizada por sua flexibilidade, permitindo a fabricação de peças excepcionais. No paisagismo, as plantas são apreciadas por suas flores coloridas e vistosas, agregando beleza aos locais como jardins e parques (PAULETTI *et al.*, 2003).

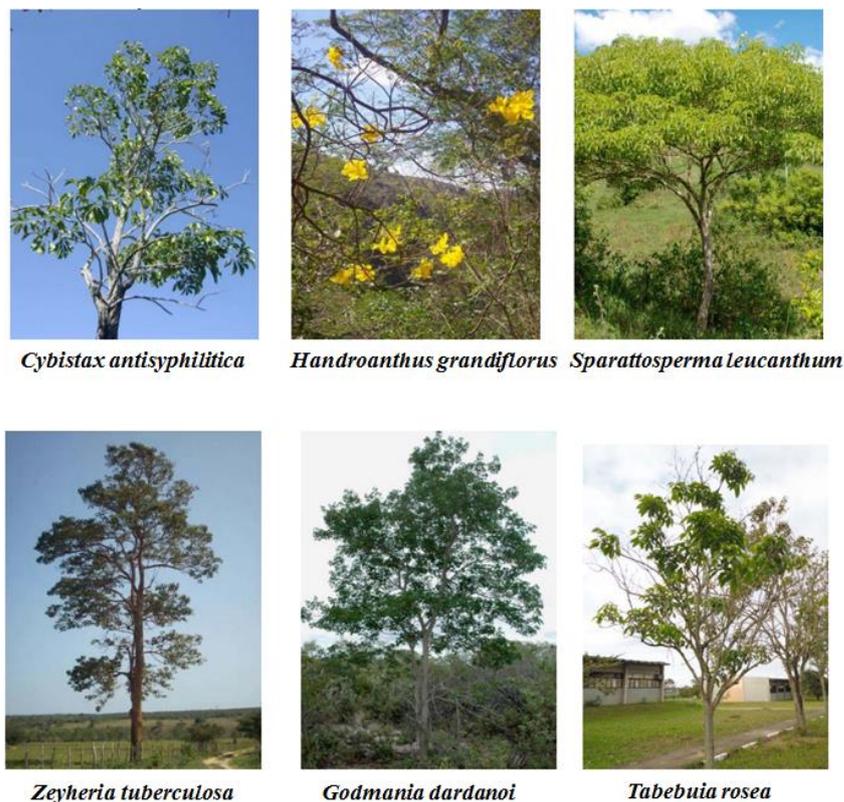


Figura 5. Algumas espécies de Bignoniaceae (**Fonte:** Adaptado de FIELDGUIDES, 2023)

Segundo Gentry (1980), esta família é caracterizada por apresentar plantas herbáceas, arbustos, árvores ou trepadeiras; folhas opostas e compostas; flores hermafroditas, zigomorfas (simetria bilateral), gamopétalas e oligostêmoneas (flores cujo número de estames é menor que o número de pétalas), estames didínamos, epipétalas e estaminódios geralmente presentes; gineceu bicarpelar, ovário superior, estilete bifurcado; fruto em forma de cápsula e as sementes geralmente possuem estruturas aladas (figura 6).

Várias espécies da família Bignoniaceae são utilizadas na medicina popular, apresentando os mais diversos usos, tais como: efeito estimulante, anti-helmíntico e afrodisíaco, relatados para *Tynnanthus fasciculatus* Miers (CARVALHO *et al.*, 2009); tratamento de cólicas intestinais, diarreias, anemias e enfermidades da pele para *Arrabidaea chica* (Bonpl.) L.G.Lohmann (ALVES *et al.*, 2010; TAFFARELO, 2008); combate a infecções contra sífilis e como depurativo sanguíneo para *Jacaranda puberula* Cham (MARTINS, CASTRO e CAVALHEIRO, 2008); tratamento de vitiligo, bronquite, icterícia, diarreia e resfriado para *Pyrostegia venusta* (Ker Gawl.) Miers (ALTOÉ, 2014); tratamento de febre, enfermidades dermatológicas, dores musculares, articulares e faciais, além de ser utilizada como cosmético para *Adenocalymma axillarum* (K.Schum.) L.G. Lohmann

(ANDRADE *et al.*, 2020); redução de inflamações, reumatismo, tratamento de infecções na pele, dor de cabeça, depurativo do sangue e calmante para *Pithecoctenium echinatum* (L.) L.G Lohmman (CASOTI *et al.*, 2012).

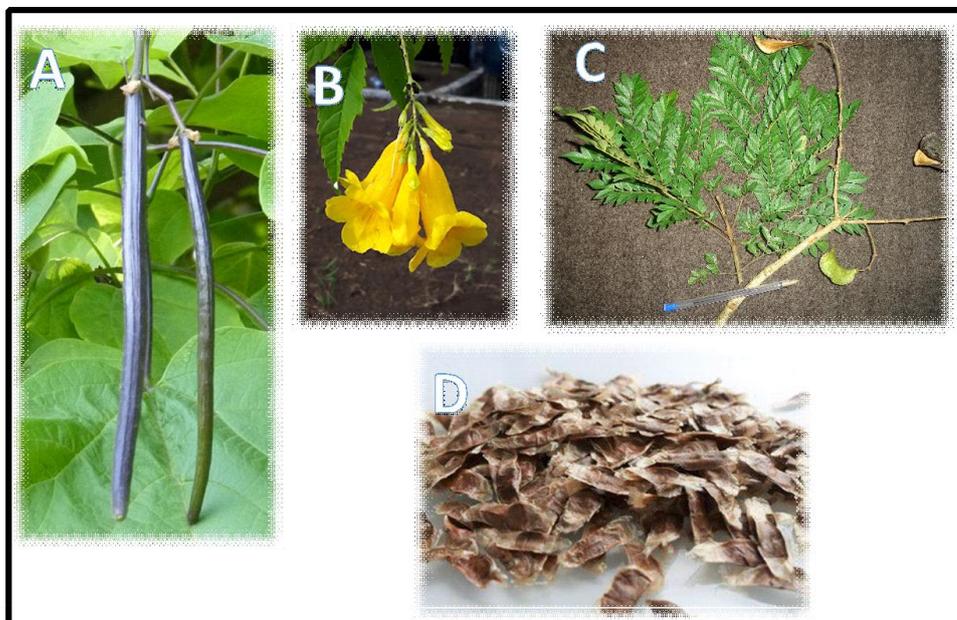


Figura 6. Características gerais de Bignoniaceae. A: fruto; B: flor; C: ramos vegetais; D: sementes

Fonte: (A) <https://identify.plantnet.org/pt/the-plant-list/observations/1015351775>.

(B) <http://floraufpbcampus1.blogspot.com/2017/05/bignoniaceae-tecoma-stans-1.html>.

(C) <https://br.pinterest.com/brasilbioma/guia-fotogr%C3%A1fico-de-identifica%C3%A7%C3%A3o-de-plantas/>.

(D) <https://www.clickmudas.com.br/sementes-nativas/ipe-roxo-handroanthus-heptaphyllus>.

A família desempenha diversas atividades biológicas e estão associadas aos metabólitos secundários encontrados em suas diferentes espécies, essas atividades incluem principalmente ações anti-inflamatórias, antidiuréticas, antimicrobianas, antioxidantes, antidiarreicas e antitumorais (CHOUDHURY *et al.*, 2011). Portanto, a família Bignoniaceae representa uma fonte rica e promissora de compostos bioativos com relevância significativa para a pesquisa farmacológica e toxicológica (Quadro 1).

Quadro 1. Ações biológicas de algumas espécies da família Bignoniaceae.

Espécie botânica	Atividade biológica	Referência
<i>Handroanthus impetiginosus</i> (Mart. ex DC.) Mattos	Anticancerígena	Chenna <i>et al.</i> , (2001).
<i>Catalpa bignonioides</i> Walter	Anti-inflamatória	Munoz-Mingarro <i>et al.</i> , (2003).
<i>Tecoma stans</i> (L.) Juss. ex Kunth	Antifúngica contra <i>Candida albicans</i>	Patriota <i>et al.</i> , (2016).
<i>Markhamia tomentosa</i> (Benth.) K.Schum.	Atividade antimalárica <i>in vitro</i> contra <i>Plasmodium falciparum</i>	Ali <i>et al.</i> , (2015).
<i>Pseudocalymma elegans</i> (Vell.) L.G.Lohmann	Paralisia muscular	Ali, (2000).
<i>Martinella obovata</i> (Kunth) Bureau & K.Schum.	Febrífuga e adstringente	Gentry e Cook, (1984).
<i>Anemopaegma arvense</i> (Vell.)	Antidepressiva, anti-infecciosa e vasodilatadora.	Vila Verde, (2003).
<i>Jacaranda obtusifolia</i> Bonpl.	Antisifilítica	Gachet e Schühly, (2009).
<i>Markhamia zanzibarica</i> (Bojer ex DC.) K.Schum.	Efeito antitumoral contra células Hela	El-kersh <i>et al.</i> , (2016).
<i>Markhamia lutea</i> (Benth.) K.Schum.	<i>In vitro</i> contra o vírus sincicial respiratório	Kernan <i>et al.</i> , (1998).
<i>Spathodea campanulata</i> P.Beauv.	Antimicrobiana	Ofori-Kwakye <i>et al.</i> , (2009).
<i>Stereospermum kunthianum</i> Cham.	Analgésica	Ching <i>et al.</i> , (2009).

Em relação aos aspectos fitoquímicos, a família Bignoniaceae possui um gama de metabólitos secundários descritos na literatura. Em destaque, as classes mais frequentes são os terpenos - iridoides (terpenos irregulares), quinonas, alcaloides, flavonoides, compostos fenólicos e seus derivados (HAMED *et al.*, 2020).

Os iridoides mais comuns na família Bignoniaceae é o catapol (**13**) e a aucubina (**14**) e seus derivados que estão presente em todas as espécies da tribo e em plantas situadas na América do Sul, respectivamente (RIOS, 2015). Estes iridoides se destacam pelas suas propriedades citotóxicas tais como a substância **13**, isolada da planta *Argylia radiata* (L.) D.Don (VON POSER *et al.*, 2000; MARTIN *et al.*, 2007), demonstrou atividade citotóxica contra MF-7 (células do câncer de mama) (LIU *et al.*, 2022); A aucubina (**14**), presente em

espécies de Bignoniaceae como *Crescentia cujete* L. (KANEKO *et al.*, 1997), mostrou atividade citotóxica contra células A549 de câncer de pulmão, com CI_{50} de 12,5 μ M. (HUNG *et al.*, 2008).

Os terpenos regulares isolados de algumas espécies da família também apresentaram potencial citotóxico. Dentre eles, os triterpenos ácido ursólico (**15**) e o ácido oleanônico (**16**), isolados de *Markhamia obtusifolia* (Baker) Sprague e *Mansoa difficilis* (Cham.) Bureau & K.Schum, respectivamente (ARRUDA, 2009; ARRUDA 2012; SILVA *et al.*, 2010; RESENDE *et al.*, 2006). A substância **15** mostrou citotoxicidade relevante nas células de leucemia P-388 (CI_{50} de 3,18 μ g/mL) e L-1210 (CI_{50} de 4,0 μ g/mL), assim como em células de carcinoma de pulmão humano A-549 (CI_{50} de 4,0 μ g/mL). (LEE *et al.*, 1988). A substância **16** mostrou fraca atividade citotóxica contra a linhagem de célula do câncer de colo do útero (HELA), com CI_{50} de 32 μ g/mL (HASHHEM *et al.*, 2012).

Vários compostos pertencentes as classes de flavonoides já foram isoladas de espécies de Bignoniaceae. Flavonoides como cirsimarina (**17**), rutina (**18**) e quercetina-3-O-galactosídeo (**19**) foram isolados das seguintes espécies vegetais *Tecomella undulata* (Sm.) Seem e de *Tabebuia caraíba* (Silva Manso) Benth. & Hook.f. ex S.Moore, respectivamente (AZAN e GHANIM, 2000; BLATT, SALATINO e SALATINO, 1996).

Os flavonoides têm sido estudados por serem substâncias com capacidade de impedir o crescimento de células cancerígenas devido suas propriedades antioxidantes, que podem ajudar a controlar a divisão celular e prevenir a formação de tumores, bem como atuam através da regulação de enzimas envolvidas no processo de formação de câncer (AMADO *et al.*, 2011; RODRIGUES *et al.*, 2015). Nesse contexto, os flavonoides têm sido objeto de estudos com o intuito de entender como podem ajudar a evitar o crescimento de células cancerígenas, especialmente analisando como eles interagem com os mecanismos que levam apoptose em tipos específicos de em linhagens de células carcinogênicas (DOS SANTOS e RODRIGUES, 2017).

Em um estudo conduzido, foi observado que diversos flavonoides, como a quercetina (**20**) isolada de *Crescentia cujete* L. (Bignoniaceae), apigenina (**21**) e luteolina (**22**) isolados de *Fridericia chica* (Bonpl.) L.G.Lohmann (Bignoniaceae), demonstraram a capacidade de induzir a apoptose de forma seletiva, ou seja, quando utilizados em concentrações equivalentes, esses compostos foram capazes de desencadear a morte programada de células cancerígenas, sem afetar células normais. Tanto a apigenina (**21**)

quanto a quercetina (**20**) inibiram a viabilidade das células HL60 (leucemia promielocítica humana), os compostos induziram apoptose nas células HL60 a uma concentração de 60 μM . A apigenina mostrou-se mais eficaz que a quercetina na indução da apoptose. Já a luteolina (**22**) exibiu atividade citotóxica frente a células de melanoma com CI_{50} de 10 $\mu\text{g/mL}$ (CRUZ *et al.*, 2022; GALVEZ *et al.*, 2003; YUAN *et al.*, 2012).

As lignanas naturais com propriedades bioativas estão sendo objeto de investigação devido às suas propriedades farmacológicas, principalmente na ação antitumoral. Além disso, esses compostos têm sido considerados como protótipos promissores para o desenvolvimento de novos agentes terapêuticos (DAR e ARUMUGAM, 2013). O estudo fitoquímico do gênero *Tecoma*, levou o isolamento de 5 lignanas conhecidas, são elas: paulownia (**23**), acetato de paulownia (**24**), sesamina (**25**), olivil (**26**) e cicloolivil (**27**). Esses compostos foram testados, avaliados e exibiram atividade citotóxica de CI_{50} variando de 13,01 a 100,0 $\mu\text{g/ml}$ (REIS *et al.*, 2023).

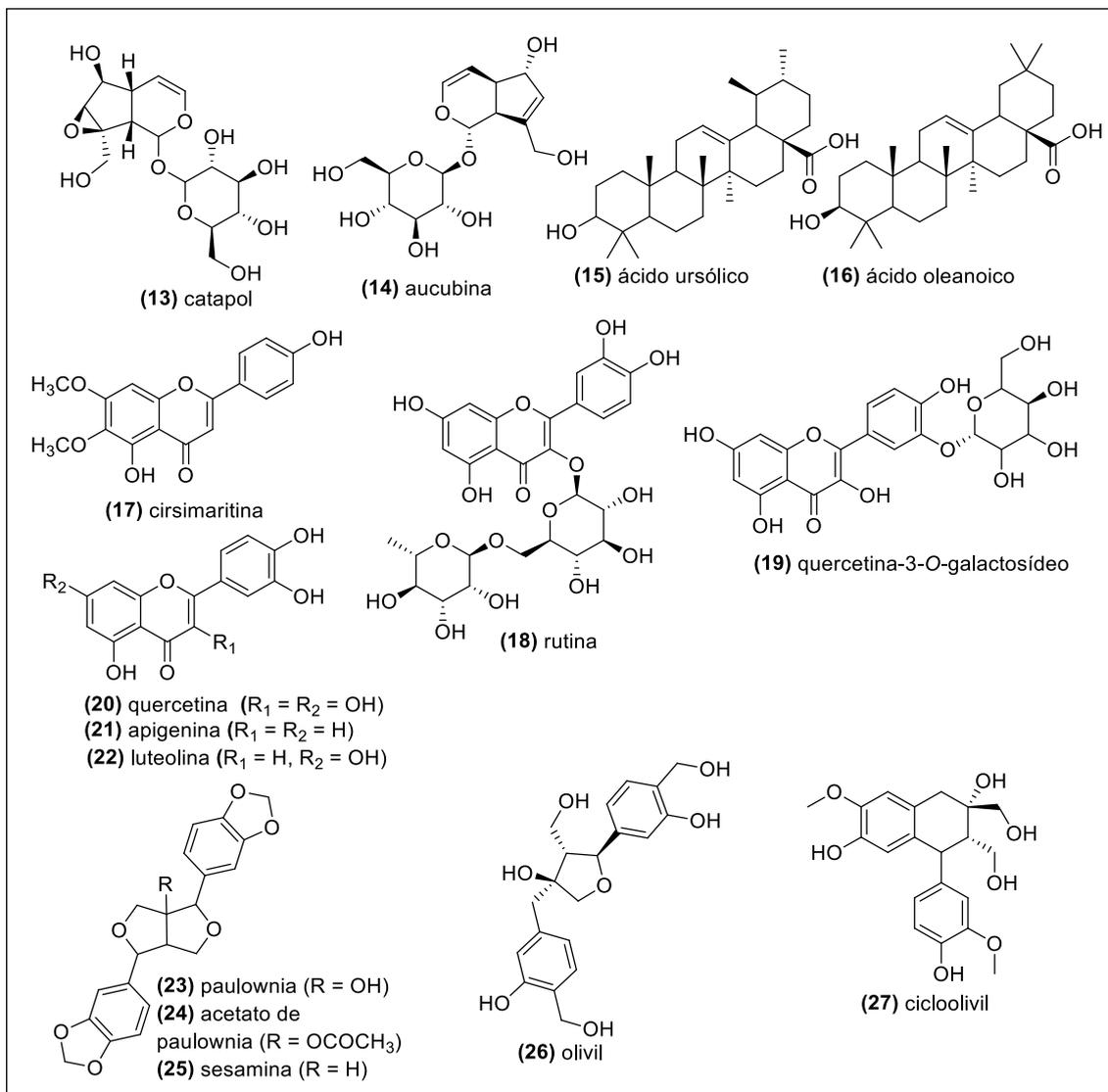


Figura 7. Substâncias isoladas de Bignoniaceae.

3.2.1. Quinonas da família Bignoniaceae

A família Bignoniaceae é uma das diversas famílias botânicas que abriga plantas que contêm quinonas em sua composição. Nos últimos anos, cada vez mais o interesse pelas quinonas vem crescendo, tanto devido a sua relevância nos processos bioquímicos quanto aos estudos farmacológicos que vem ganhando destaque (SILVA, FERREIRA e SOUZA, 2003).

A classe de substâncias com a estrutura da quinona apresenta um anel de seis carbono com duas carbonilas que podem ser divididos em diferentes grupos como, benzoquinona (28), naftoquinonas (29) e antraquinona (30) (figura 8), de acordo com o número de anéis de benzeno no esqueleto (LU *et al.*, 2013; AMININ *et al.*, 2020).

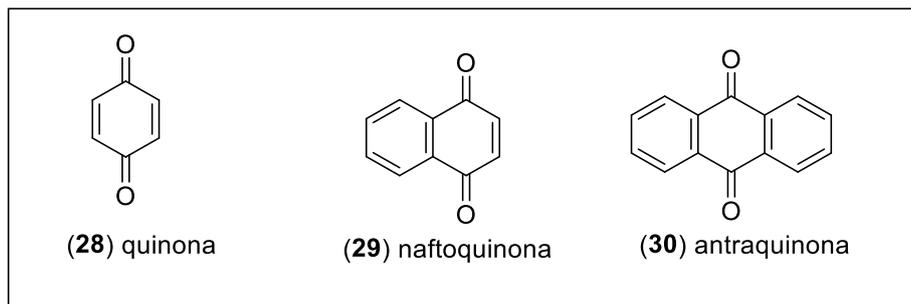


Figura 8. Estruturas básicas de quinonas.

As quinonas têm despertado grande interesse na comunidade científica devido às suas propriedades de oxidação e redução em sistemas biológicos. Elas são capazes de participar em transferências de elétrons e induzir estresse oxidativo nas células, o que resulta na formação de espécies reativas de oxigênio (ERO). Além disso, estes compostos quinônicos têm a capacidade de atuar como inibidores do complexo das topoisomerasas, intercalando-se no DNA celular, esse processo desencadeia a apoptose celular, evidenciando o potencial biológico significativo das quinonas (SILVA, FERREIRA e SOUZA, 2003; DUROUX *et al.*, 1998).

As células cancerosas, por sua natureza, sofrem de um estresse oxidativo elevado, com níveis de EROs significativamente maiores em comparação com as células saudáveis. Esses níveis estão próximos do limite crítico de equilíbrio redox, o qual, quando atingido, desencadeia o processo de apoptose celular. Devido a essa particularidade, pesquisas têm se concentrado no desenvolvimento de novos medicamentos capazes de aumentar seletivamente os níveis de EROs nas células cancerosas, induzindo assim a apoptose, sem afetar as células normais (GOUVEIA e LIMA, 2017). Nesse contexto, muitos estudos têm se dedicado à busca por compostos que atuem como geradores de EROs intracelulares, com o intuito de desencadear esse mecanismo específico de morte celular. Entre as substâncias investigadas, as quinonas surgem como uma classe promissora para o desenvolvimento de novos fármacos com atividade antitumoral. Sua capacidade de modular os níveis de EROs torna-as candidatas promissoras para terapias seletivas, visando exclusivamente as células cancerosas e poupando as células saudáveis do organismo (SILVA, FERREIRA e SOUZA, 2003).

As quinonas são compostos químicos que estão amplamente distribuídos no reino vegetal, e são predominantes na família Bignoniaceae. As naftoquinonas são os tipos de quinonas mais comuns encontradas nesta família (BRUNETON, 1995). A citotoxicidade

das naftoquinonas resulta principalmente da sua capacidade de gerar espécies reativas de oxigênio (EROs) e da natureza eletrofílica da porção quinona, que facilita a interação com alvos biológicos, como grupos tíois nucleofílicos, proteínas, DNA e RNA. (BHASIN, *et al.*, 2013; RAVICHANDIRAN *et al.*, 2019; GONG *et al.*, 2011).

As quinonas são conhecidas desde a antiguidade, devido às suas propriedades corantes e à sua aplicação na medicina tradicional para tratar a cicatrização de feridas. Recentemente, o interesse por esses compostos aumentou significativamente devido à sua diversidade de efeitos biológicos, especialmente sua capacidade de terem efeitos citotóxicos (DURAN, 2023; QIU *et al.*, 2018).

Os compostos 9- metoxi- α -lapachona (**31**) e 4-hidroxi-9-metoxi- α -lapachona (**32**) isolada de *Mansoa alliacea* (Lam.) A.H.Gentry, mostraram atividade citotóxica contra células V-79 com valores CI_{50} de 5,6 e 6,0 $\mu\text{g/ml}$, respectivamente (ITOKAWA, 1992). O estudo químico das raízes de *Newbouldia laevis* resultou no isolamento das substâncias 5-hidroxi-7-metoxidesidroiso- α -lapachona (**33**) e newbouldiaquinona A (**34**). O composto (**34**) mostrou atividade antimalárica contra *Plasmodium falciparum in vitro* (EYONG *et al.*, 2006). Dentre as antraquinonas zenkequinones A e B (**35,36**) isoladas de *Stereospermum zenker*, a zenkequinones B mostrou melhor a atividade antibacteriana (CI 9,50 $\mu\text{g/ml}$) contra *Pseudomonas aeruginosa* (LENTA *et al.*, 2007).

O gênero *Tabebuia* é o maior grupo dentro da família Bignoniaceae, é composto por aproximadamente 100 espécies, este gênero possui quinonas que estão associadas a diversas atividades biológicas presentes em várias espécies de *Tabebuia*, exibem uma ampla distribuição (EL-HOSSARY *et al.*, 2007; OLIVEIRA *et al.*, 1993).

Da espécie *Tabebuia rósea* Bertol foram isolados 5-hidroxi-2-(1-hidroxietyl) nafto[2,3-*b*]furano-4,9-diona (**37**), 5-hidroxi-2-(prop-1-en-2-il)nafto[2,3-*b*]furano-4,9-diona (**38**) e 5-hidroxi-2-(prop-1-en-2-il)-2,3-dihidronafto[2,3-*b*]furano-4,9-diona (**39**), estas substâncias mostraram citotoxicidade relevante contra linhagens de célula de KB e Hela com CI_{50} com valores de 1,35 e 1,15, 0,53 e 0,77, 1,79 e 0,73 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente (SICHAEM *et al.*, 2012). Da *Tabebuia avellanadae* (Mart. ex DC.) Mattos foram isoladas as seguintes substâncias: 2-acetilnafto[2,3-*b*]furano-4,9-diona (**40**), 5-hidroxi-2-(1-hidroxietyl)nafto[2,3-*b*]furano-4,9-diona (**41**), 2-(1,2-di-hidroxiopropan-2-il)-5-hidroxi-nafto[2,3-*b*]furano-4,9-diona (**42**) e 5-hidroxi-7-metoxi-2-(prop-1-en-2-il)-2,3-dihidronafto[2,3-*b*]furano-4,9-diona (**43**). No qual os compostos **40** e **41** apresentaram atividade citotóxica

contra as linhagens de célula A549, SiHa e MCF-7 em concentrações micromolares (ZHANG *et al.*, 2015). Da casca da *Tabebuia ochracea* (Cham.) Mattos foram isolados as seguintes substâncias: 5,8-dihidroxi-2-(1'-hidroxietil)nafto[2,3-*b*]-furano-4,9-diona (**44**) e 8-Hidroxi-7-metoxi-2-acetilnafto[2,3-*b*]furano-4,9-diona (**45**) (DIAZ, 1996).

A partir das cascas do caule da planta *Melloa quadrivalvis* (Jacq.) L.G.Lohmann, foram identificados vários compostos, incluindo 5-hidroxi-6-metoxi- α -lapachona (**46**), 5,6-di-hidroxi- α -lapachona (**47**) e 4,5-di-hidroxi-6-metoxi- α -lapachona (**48**). O composto **46** inibiu o crescimento celular na linhagem NCIH-292 (célula de carcinoma pulmonar), com inibição de 14,44% a 25 mg/mL e 42,04% a 50 mg/mL (DE ANDRADE LIMA *et al.*, 2005).

A partir dos estudos fitoquímico da planta *Catalpa ovata* G.Don foram isoladas as seguintes substâncias: deoxilapachol (**49**), α -lapachona (**50**), desidro-iso- α -lapachona (**51**) e menaquinona (**53**) (HIROYUKI, 1982). A substância **49** apresentou atividade citotóxica contra P-388 (células da Leucemia) (CI₅₀ 0,6 μ g/mL) (PERRY, BLUNT e MUNRO 1991); as substâncias **50** e **51**, demonstraram uma significativa atividade citotóxica, exibindo valores de CI₅₀ na faixa de 0,2 a 4,0 μ g/mL, quando testados em um painel composto por nove linhagens celulares humanos de câncer (PERAZA *et al.*, 2000).

O estudo químico da fração de acetato de etila da *Crescentia cujete* L., levou o isolamento de (2*S*,3*S*)-3-hidroxi-5,6-dimetoxideidroiso- α -lapachona (**52**), (2*R*)-5,6dimetoxidesidroiso- α -lapachona (**53**), (2*R*)-5,6-dimetoxidesidroiso- α -lapachona (**54**), 2-(1-hidroxietil)nafto[2,3-*b*]furano-4,9-diona (**55**), 5-hidroxi-2-(1-hidroxietil)nafto[2,3-*b*]furano-4,9-diona (**56**) e 5-hidroxi-2-(1-hidroxietil)nafto[2,3-*b*]furano-4,9-diona (**57**). Todas as substâncias citadas apresentaram atividade citotóxica contra linhagem de célula Vera, exibindo valores de CI₅₀ na faixa de 0,21 a 4,7 μ g/mL (HELTZEL *et al.*, 1993).

O estudo fitoquímico das raízes de *Ekmanianthe longiflora* (Griseb.) Urb. resultou no isolamento de 2-(1-hidroxietil)nafto[2,3-*b*]furano-4,9-quinona (**58**) e 2-acetilnafto[2,3-*b*]furano-4,9-quinona (**59**). Os compostos **58** e **59** mostraram atividade citotóxica relevante contra várias linhagens de células, sendo algumas, BC1 (câncer de mama), Lu1 (câncer de pulmão), Col2 (câncer de colon) (PERAZA *et al.*, 2000).

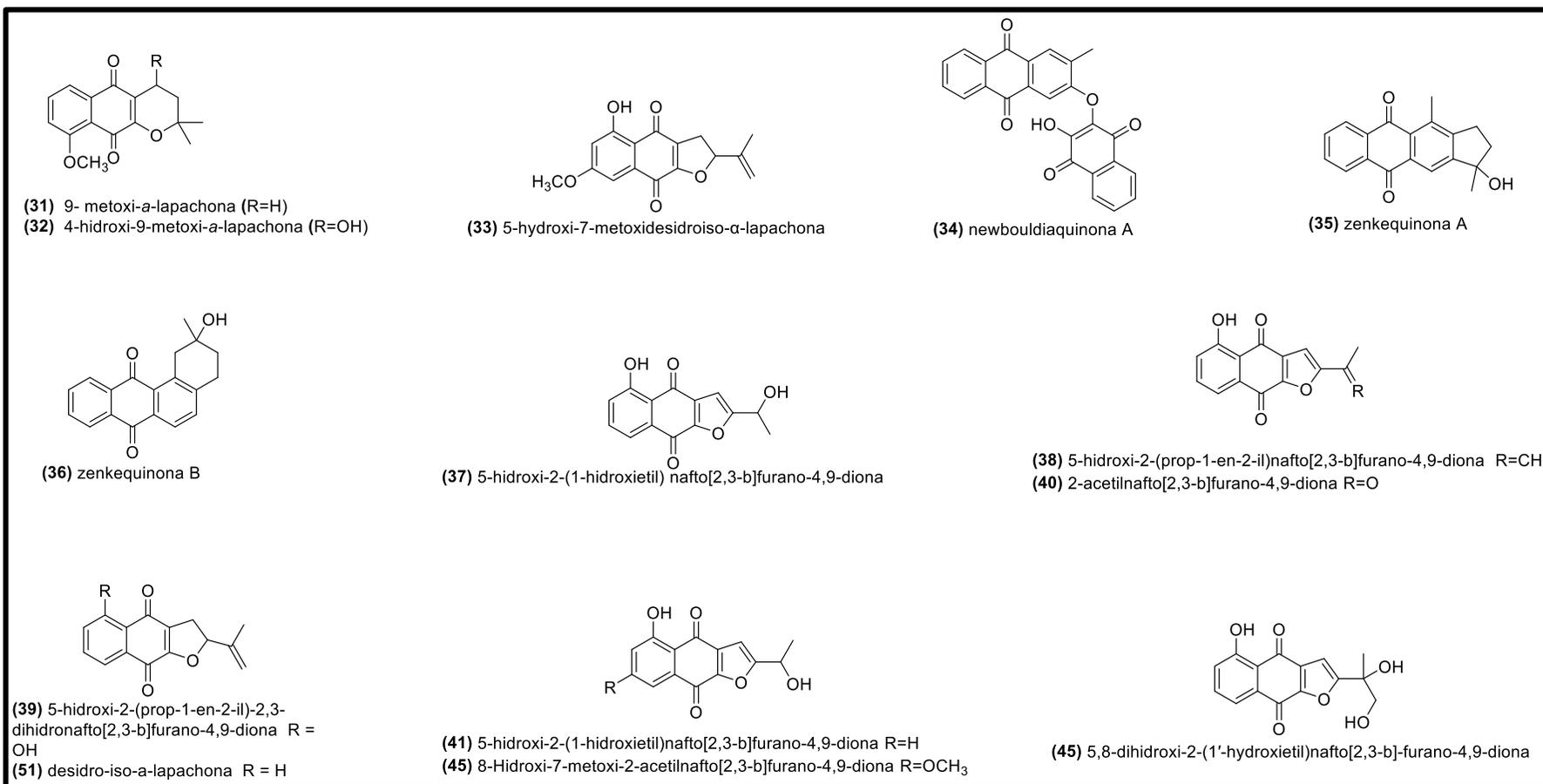
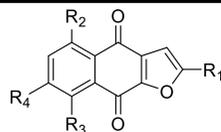
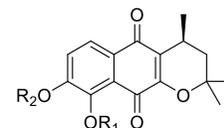


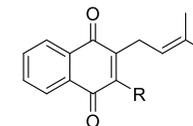
Figura 9. Quinonas isoladas de Bignoniaceae.



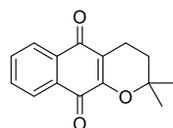
- (42) 2-(1,2-di-hidroxiopropan-2-il)-5-hidroxi-nafto [2,3-b]furano-4,9-diona $R_1 = \text{CH}(\text{OH})\text{-CH}_3$;
 $R_2 = R_3 = \text{OH}$; $R_4 = \text{H}$
 (43) 5-hidroxi-7-metoxi-2-(prop-1-en-2-il)-2,3-dihidronafto[2,3-b]furano-4,9-diona
 $R_1 = \text{COCH}_3$; $R_2 = \text{H}$; $R_3 = \text{OH}$; $R_4 = \text{OCH}_3$



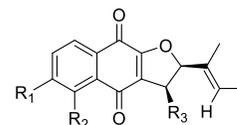
- (46) 5-hidroxi-6-metoxi- α -lapachona $R_1 = R_3 = \text{H}$; $R_2 = \text{CH}_3$
 (47) 5,6-di-hidroxi- α -lapachona $R_1, R_2, R_3 = \text{H}$
 (48) 4,5-di-hidroxi-6-metoxi- α -lapachona $R_1 = \text{H}$; $R_2 = \text{CH}_3$; $R_3 = \text{OH}$



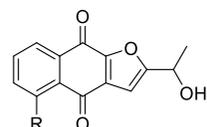
- (49) deoxilapachol $R = \text{H}$
 (50) menaquinona $R = \text{CH}_3$



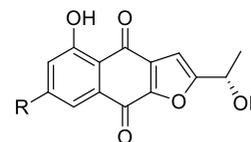
(50) α -lapachona



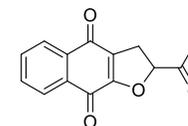
- (52) (2*s*,3*s*)-3-hidroxi-5,6-dimetoxidehidroiso- α -lapachona $R_1 = R_2 = \text{OCH}_3$, $R_3 = \text{OH}$
 (53) (2*R*)-5,6-dimetoxidesidroiso- α -lapachona $R_1 = R_2 = \text{OCH}_3$, $R_3 = \text{H}$
 (54) (2*R*)-5,6-dimetoxidesidroisoalapachona $R_1 = R_3 = \text{H}$, $R_2 = \text{OCH}_3$
 (55) 2-(1-hidroxi-etil)nafto[2,3-b]furano-4,9-diona $R_1 = R_2 = R_3 = \text{H}$



- (56) 5-hidroxi-2-(1-hidroxi-etil)nafto[2,3-b]furano-4,9-diona $R = \text{H}$
 (57) 5-hidroxi-desidroiso- α -lapachona $R = \text{OH}$



- (58) 2-(1-hidroxi-etil)nafto[2,3-b]furano-4,9-quinona



- (59) 2-acetilnafto[2,3-b]furano-4,9-quinona

Continuação **Figura 9**. Continuação das quinonas isoladas de Bignoniaceae

Entre as naftoquinonas naturais, lapachol (**60**) e seus isômeros constitucionais, α -lapachona (**61**) e β -lapachona (**62**) (figura 10), apresentaram atividades biológicas significativa, o que tem despertado interesse na comunidade científica e na indústria farmacêutica. Essas naftoquinonas possuem propriedades antitumorais, antimicrobianas e anti-inflamatórias (SILVA, FERREIRA e SOUZA, 2003).

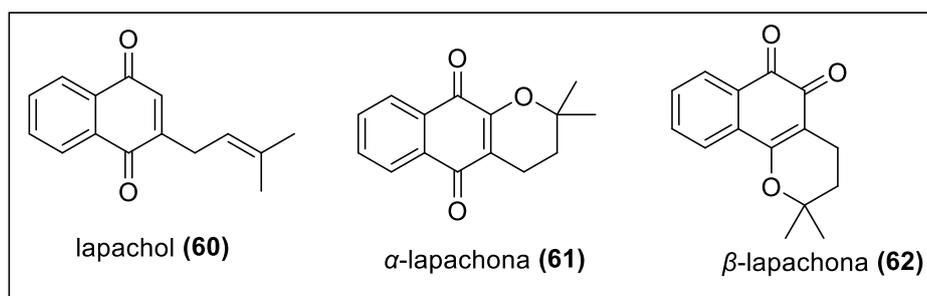


Figura 10. Estruturas química do lapachol, α -lapachona e β -lapachona

O lapachol é um composto químico natural que pertence à classe das naftoquinonas que foi isolado da casca da árvore *T. avellanedae* para estudo pela primeira vez em 1882 pelo pesquisador Italiano Emanuele Paternó, seu composto ativo é em forma de pó com característica amarelo-alaranjado sendo pouco solúvel em água, mas dissolve bem em solventes orgânicos (LOPES, 2020).

O lapachol apresenta diversas atividades farmacológicas, incluindo ações anti-leishmanial, antimicrobiana, antiparasitária e antiviral. Recentemente, foi descoberto que ele possui um efeito antitumoral significativo em vários tipos de câncer, atuando por diferentes mecanismos, como a inibição da glicólise em células de melanoma, a proliferação de gliomas em ratos e o crescimento de carcinoma esofágico ao inibir a quinase S6 da proteína ribossomal 2 (RSK2). (ZHANG *et al.*, 2023).

A β -lapachona é um composto natural da classe das naftoquinonas, obtido da planta *T. avellanedae*. Essa substância possui uma ampla gama de atividades farmacológicas, que incluem propriedades antifúngicas, antibacterianas, antitripanossômicas e anticancerígenas. A substância β -lapachona mostrou atividade contra diferentes tipos de células cancerígenas humanas, incluindo as encontradas na leucemia, melanoma, câncer colorretal, de mama e de próstata. Além disso, demonstrou ter um efeito sinérgico quando combinada com radioterapia, aumentando em 79% a eficácia da radiação

em células de melanoma humano (U-1-MEL) que eram resistentes à radiação (FERREIRA *et al.*, 2010).

As características químicas e estruturais das naftoquinonas tem uma influência direta na eficácia de suas atividades, seja como antimicrobiano, agentes antineoplásicos (contra o crescimento de tumores) ou mesmo em termos de toxicidade. A remoção do grupo metileno da cadeia isoprenóide pode inativar a substância (ARAÚJO, 2002).

3.3 Gênero *Pleonotoma*

Pleonotoma Miers é um gênero monofilético de distribuição neotropical pertencente à família Bignoniaceae, presente da Guatemala ao Brasil e Bolívia, com maior diversidade no norte do Brasil. Encontrado em florestas tropicais, transição entre florestas e Pantanal, cerrado e caatinga no nordeste brasileiro. Caracteriza-se por hábito escandente, ramos quadrangulares sem campos glandulares, folhas bi-ternadas, tri-ternadas ou pinadas, inflorescências em racemos e frutos lineares. São reconhecidas 12 espécies, duas delas novas na Amazônia brasileira (GOMES, 2006).

3.3.1 *Pleonotoma jasminifolia*

P. jasminifolia (Kunth) Miers possui uma ampla distribuição, sendo possível encontrar em várias regiões tropicais e subtropicais. Esta espécie se adapta em ambientes com climas úmidos e solos bem drenados. Seu habitat natural varia de florestas úmidas à região do Cerrado e é encontrado em países como Equador, Venezuela, Colômbia e Brasil (GOMES, 2006).

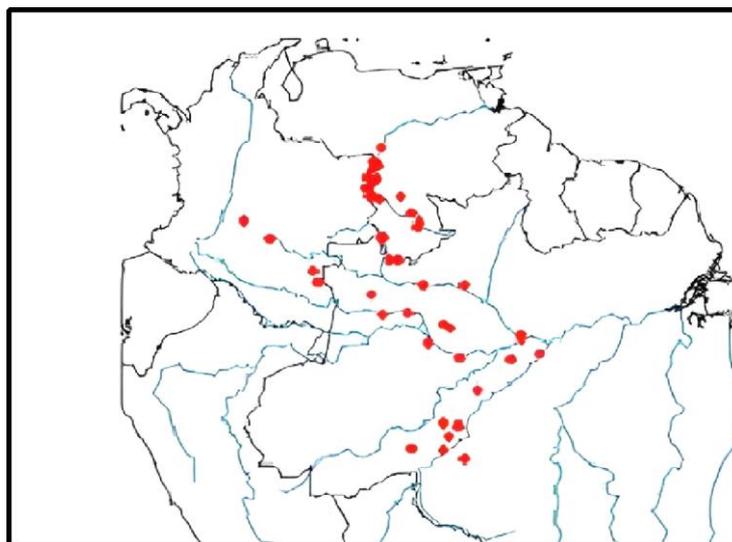


Figura 11. Distribuição geográfica de *Pleonotoma jasminifolia*. Fonte: SIBBr

A *P. jasminifolia* (figura 12) é uma planta que se destaca por seus ramos verdes, que possuem uma forma perfeitamente quadrada. Esses ramos possuem projeções laterais arroxeadas, que são especialmente visíveis nos ramos mais antigos ou em amostras herbáceas. Suas folhas são ternas-tripinadas, mas é mais frequente encontrar a folha com recortes mais profundos, com pequenos folíolos (aproximadamente 5 x 1,0 cm), o que a diferencia das outras espécies do mesmo gênero. A inflorescência é curta, com um cálice em forma de tubo-infundibuliforme, com glândulas na parte superior e tricomas semelhantes a cílios. As corolas variam do amarelo ao ligeiramente alaranjado. Essas características são facilmente observáveis no campo, tornando o reconhecimento dessa espécie rápido e direto (GOMES, 2006).

No Brasil, a raiz desta planta é utilizada na medicina popular no tratamento da tosse. Além disso, a tribo indígena MAKU utiliza o sumo das folhas dessa planta para tratar queimaduras. Seu cultivo também é valorizado como planta ornamental, oferece uma opção estética para jardins e estufas botânicas (GOMES, 2006).



Figura 12. *Pleonotma jasminifolia* Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

3.4. Redes moleculares e GNPS

A análise de amostras complexas, como em extratos oriundos de plantas, apresenta desafios significativos devido à diversidade e à complexidade dos compostos presentes. A identificação de moléculas individuais em misturas complexas é difícil, pois

muitas vezes os compostos estão presentes em quantidades muito pequenas e possuem estruturas químicas semelhantes. Para superar essas dificuldades, técnicas avançadas, como a LC-MS/MS, são empregadas para separar os componentes da mistura antes da identificação e análise detalhada (SCHMID *et al.*, 2021).

O compartilhamento de dados e as redes moleculares, que mostram a similaridade química entre moléculas com base em padrões de fragmentação obtidos por espectrometria de massas, têm auxiliado a análise de compostos químicos em amostras complexas. A inclusão de bibliotecas de compostos espectrais nas redes moleculares tem facilitado a anotação de compostos conhecidos através da comparação direta entre os dados adquiridos e as bibliotecas, além disso, essa prática tem fornecido suporte para a anotação de moléculas desconhecidas. A colaboração entre pesquisadores por meio de plataformas de compartilhamento de dados tem sido fundamental para o avanço dessa abordagem, permitindo que dados de espectrometria de massas sejam acessíveis e utilizados por diferentes grupos de pesquisa ao redor do mundo (RAMOS *et al.*, 2019).

O Global Natural Products Social Molecular Networking (GNPS) é uma plataforma colaborativa que permite o compartilhamento e a análise de dados de espectrometria de massas. Como uma base de dados pública, os pesquisadores podem depositar e comparar dados de espectrometria, identificando compostos com base em similaridades químicas. Utilizando algoritmos, o GNPS cria redes moleculares que agrupam compostos com padrões de fragmentação semelhantes chamados de clusters, facilitando a identificação de novos compostos e a descoberta de relações estruturais, sendo especialmente útil para identificar compostos desconhecidos e explorar grandes conjuntos de dados (ARON *et al.*, 2020).

Os algoritmos do GNPS organizam cada espectro adquirido, como em CLAE-EM e EMn, e os classificam com base em um valor de similaridade calculado pelo cosseno entre os espectros presentes nas amostras ou entre as amostras e os espectros de referência nos bancos de dados. Assim, são formados agrupamentos espectrais com base em um valor de cosseno pré-estabelecido, que varia de 0 a 1 (onde 1 indica 100% de similaridade e 0 indica que são totalmente diferentes). Se a similaridade de cosseno entre dois espectros for maior ou igual ao valor limite definido pelo usuário, é estabelecida uma conexão ou arco entre esses espectros (QUINN *et al.*, 2017; WANG *et al.*, 2016).

Desta forma, a plataforma GNPS é crucial na análise de extratos de plantas, facilitando a identificação de compostos através do compartilhamento de dados e criação de redes moleculares baseadas em padrões de fragmentação. Seus algoritmos organizam compostos por similaridade química, promovendo colaboração entre pesquisadores e auxiliando na descoberta de novos compostos e na compreensão de suas relações estruturais.

4. METODOLOGIA

4.1. Coleta do material botânico

As raízes de *P. jasmínifolia* foram coletadas em novembro de 2019 no município de Iranduba, no estado do Amazonas, Brasil (coordenadas: 3°16'04.0" S, 60°11'27.6" W). A identificação das amostras foi realizada por V. Kinupp, e um exemplar de referência (12338) foi devidamente catalogado e depositado no herbário da Universidade Federal do Amazonas (UFAM). O registro de acesso no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SISGEN) foi obtido sob o número A867BF8.

4.2. Obtenção dos extratos das raízes de *P. jasmínifolia*

Inicialmente o material vegetal foi submetido à secagem a sombra em temperatura ambiente por 5 dias, após a secagem, o material foi transferido para estufa incubadora modelo De Leo® com circulação e renovação de ar a 40°C. Em seguida, o material seco foi triturado em um moinho de facas modelo Marconi®, resultando em uma quantidade de 1,45 Kg de massa pulverizada, medida com uma balança analítica, que foi submetido à extração inicial com hexano (Figura 13).

Foram feitas três extrações sucessivas. Após a filtração, o material foi concentrado sob pressão reduzida a aproximadamente 40 °C, utilizando um evaporador rotativo modelo Fisotom®, obtendo-se 2,6 g (0,17%) de extrato hexânico.

À torta obtida depois da extração com hexano, foi adicionado acetato de etila (AcEOt) e repetiu-se o procedimento anteriormente descrito. O extrato obtido foi concentrado sob pressão reduzida a aproximadamente 40 °C, utilizando um evaporador rotativo modelo Fisotom®, obtendo-se 11,6 g (0,8%) de extrato AcEOt.

À torta obtida depois da extração com AcEOt, foi adicionado o metanol e repetiu-se o procedimento anteriormente descrito. O extrato obtido foi concentrado sob pressão reduzida a aproximadamente 40 °C, utilizando um evaporador rotativo modelo

Fisotom®, obtendo-se 20,5 g (1,4%) de extrato metanólico. A torta utilizada no final da extração foi descartada.

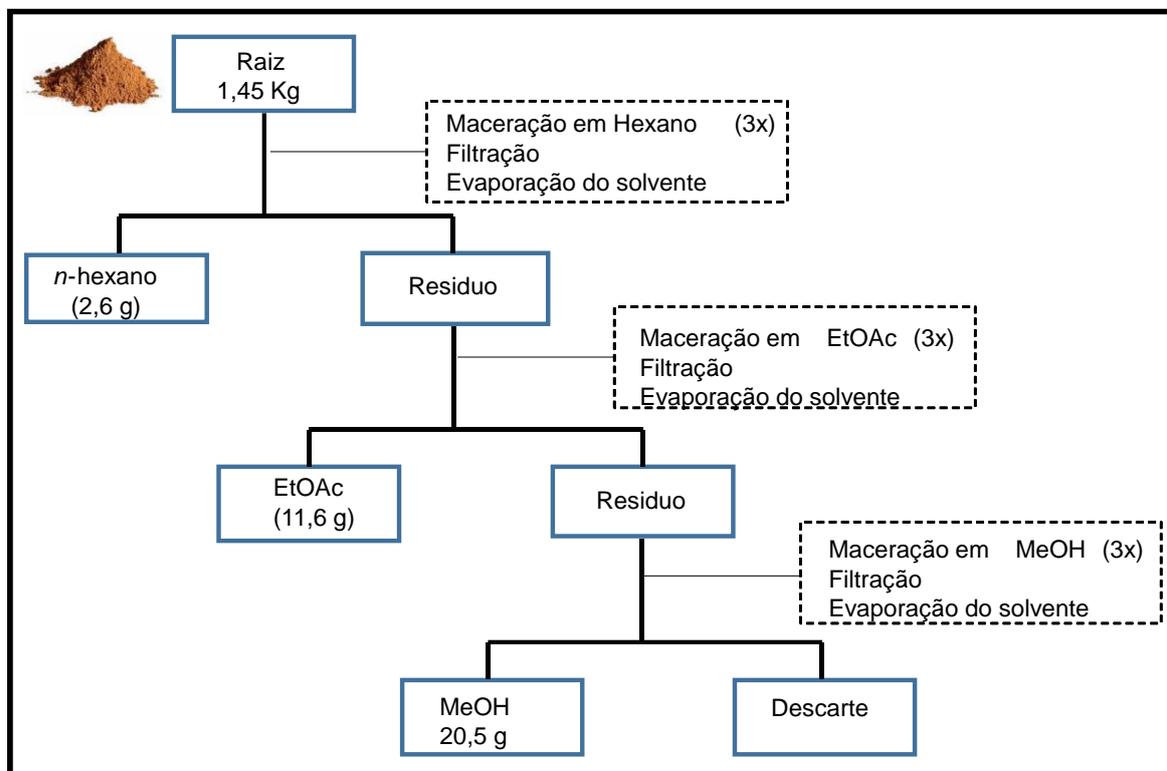


Figura 13. Esquema do procedimento para obtenção dos extratos das raízes de *P. jasminifolia*.

4.3. Cromatografia em camada delgada

As análises por cromatografia em camada delgada foram realizadas em cromatofolhas da marca Macherey-Nagel®, pré-fabricadas de sílica gel 60 TLC, com indicador de fluorescência UV 254, com suporte em alumínio 20 x 20 cm e 0,2 mm de espessura.

Os reveladores utilizados foram: luz ultravioleta nos comprimentos de ondas 254 e 365 nm e pelos reveladores químicos: solução de anisaldeído sulfúrico sob aquecimento, solução de hidróxido de potássio e vapor de iodo. O preparo das soluções de anisaldeído e solução de hidróxido de potássio é mostrada a seguir:

KOH: 10 g de hidróxido de potássio foram dissolvidos em 100 ml de etanol de grau PA. Essa solução funciona como um revelador especial para quinonas, indicando sua presença por meio das cores rosa e vermelho (REICH, 2007).

Solução de anisaldeído: Solução preparada pela adição de 5 mL de anisaldeído ($C_8H_8O_2$) em 90 mL de álcool etílico, 5 mL de ácido sulfúrico concentrado e 1 mL de ácido

acético glacial. As tonalidades roxa e azul aparecem na placa quando ela é borrifada com uma solução de anisaldeído sob aquecimento.

4.4. Análise por Molecular Networking (MN)

O extrato de EtOAc foi selecionado por apresentar sinais de quinonas e foi analisado por UHPLC-ESIMS/MS. Estas análises foram realizadas pela Professora Dra. Livia Soman de Medeiros do departamento de Química da Universidade Federal de São Paulo.

Os espectros de íons de produto obtidos foram organizados e analisados usando a rede molecular na plataforma GNPS (<http://gnps.ucsd.edu>). Os dados iniciais foram convertidos para o formato mzXML, usando o MS-Convert e então carregados na plataforma GNPS. Para gerar as redes moleculares, foram definidos alguns parâmetros: uma margem de tolerância de 0,05 Da para a massa do íon precursor, 0,1 Da para a tolerância do íon do produto e os íons fragmentados com menos de oito contagens foram removidos dos espectros. As redes moleculares foram criadas com base em pelo menos seis picos correspondentes e uma pontuação de similaridade de 0,60. Estas redes podem ser acessadas no site GNPS através do seguinte link:

<https://gnps.ucsd.edu/ProteoSAFe/status.jsp?task=5727cf67d8114aa79fadbbf4079cf169>

4.4 Cromatografia em coluna

A separação das substâncias foram realizadas em colunas cromatográficas de vidro, utilizando como fase estacionária, sílica gel 60 de 230-400 *mesh* da marca Silicaflash®. O comprimento e o diâmetro das colunas foram ajustados de acordo com as quantidades de amostra. Foi utilizado a combinação de eluentes para a separação cromatográfica de modo a se obter uma polaridade média em relação à polaridade dos componentes da amostra, seguindo ordem crescente de polaridade (hexano e acetato de etila).

4.5. Fracionamento cromatográfico do extrato AcOEt.

Uma alíquota de 0,676 g foi submetida ao fracionamento por cromatografia em coluna aberta (CC; Φ x h de 4,5 x 35,0 cm) com sílica, eluída com hexano e acetato de etila em misturas de polaridade crescente, obtendo-se 48 frações (figura 14). Após a secagem, as frações oriundas do fracionamento foram agrupadas conforme apresentado na TABELA 1. O eluente utilizado para as placas foi hexano: AcOEt na proporção 8:2 para as frações de 1

a 25 e na proporção 6:4 para a frações de 26 a 48. A revelação foi feita com a luz UV 254 e 365 nm e solução de anisaldeído sulfúrico.

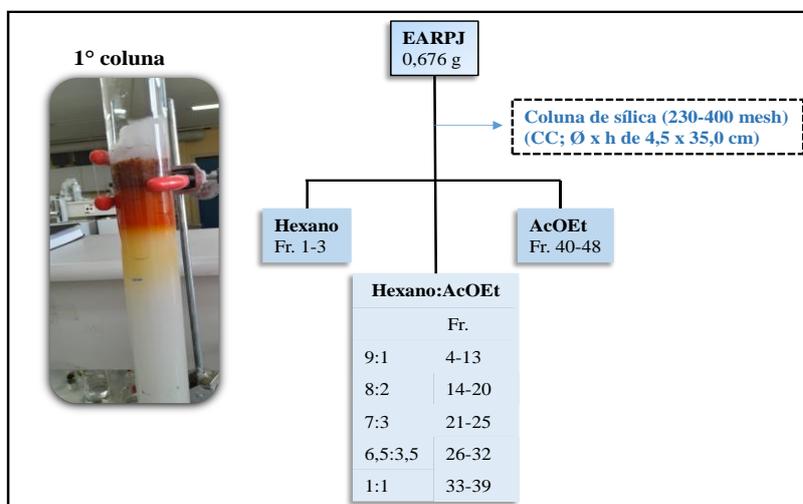


Figura 14. Fluxograma do fracionamento cromatográfico de EARPJ.

Tabela 1. Reunião das frações obtidas do primeiro fracionamento

Grupo de frações (G)	frações	Massa (mg)
1	1-6	40,6 mg
2	7-13	69,7 mg
3	14-16	57,2 mg
4	17-19	63,9 mg
5	20-27	148 mg
6	28-38	85,2 mg
7	40-41	40,8 mg
8	42-45	36,3 mg
9	46-48	25,2 mg

4.5.1. Grupo de frações G5

Visando a melhor separação dos componentes em mistura, o grupo de frações G5 (148 mg) foi submetido ao fracionamento por cromatografia em coluna aberta (CC; Φ x h de 3 x 25,0 cm) com sílica e gel, eluída com hexano e acetato de etila em misturas binárias de polaridade crescente, obtendo-se 41 frações (Figura 15).

Após a secagem, as frações oriundas do fracionamento foram agrupadas conforme as semelhanças evidenciadas por cromatografia em camada delgada analítica (CCDA) (TABELA 2). O eluente utilizado para as placas foi Hexano:AcOEt na proporção 8:2. A revelação foi feita com a luz UV 254 e 365 nm e solução de anisaldeído.

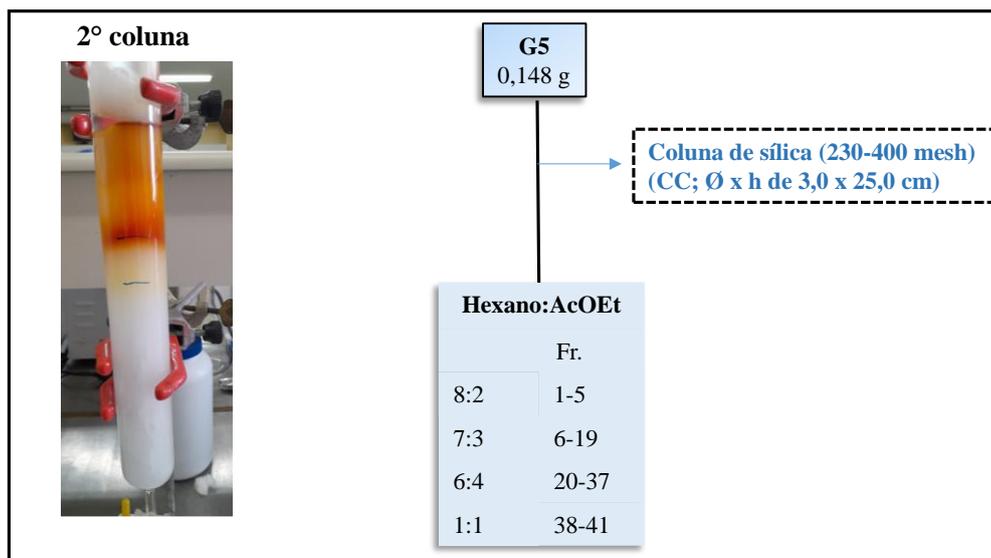


Figura 15. Fluxograma do fracionamento cromatográfico de G5.

Tabela 2. Reunião das frações obtidas do segundo fracionamento

Grupo de frações (G5)	Frações	Massa (mg)
1	1-3	8,7
2	4-8	29,3
3	9-13	8,5
4	14-27	32,3
5	28-33	23,6
6	34-36	3,6
7	37-41	4,2

4.5.2. Grupo de frações G5.4

O grupo de frações G5.4 (32,3 mg) foi submetido à CCDA utilizando como mistura de hexano e acetato de etila na proporção de 6:4 como eluente, observou-se na placa a presença de apenas um *spot* quando revelada com anisaldeído sulfúrico bem como quando submetido a irradiação de luz ultravioleta em 254 nm, indicando que a substância estava pura. Ao término da análise, a amostra foi denominada substância 1 e foi encaminhada para análise de EM e RMN.

4.6 Fracionamento por Cromatografia líquida de media pressão (MPLC)

Uma alíquota de 3 g de extrato foi analisado por MPLC com solventes *n*-hexano, DCM, EtOAc e MeOH, resultando em 11 frações. Entre elas, as frações 5 (DCM–EtOAc 8:2) e 6 (DCM–EtOAc 1:1) que exibiram os nós *m/z* 285 e 299 na rede molecular, sendo assim foram selecionadas para purificação por HPLC. Este fracionamento por MPLC foi

realizado utilizando um sistema de bomba de gradiente binário Büchi MPLC C-605 com sílica de fase normal (60-200 mesh, SiliCycle).

4.7. Isolamento e fracionamento por HPLC

A fração 5 e 6 obtidas foram submetidos a separações por HPLC utilizando o sistema LC-20AR da Shimadzu, equipado com um detector de matriz de diodos SPD-M40 e colunas Shim-pack GIST tanto analítica (4,6 mm × 10 mm, 5 µm) quanto semi preparativa (250 mm × 10 mm, 5 µm). A fração Fr.5 (85,4 mg) foi submetida à HPLC semipreparativa com um gradiente de eluição de 45% a 100% do solvente B em 60 minutos, resultando nas substâncias **2** (4,3 mg, tR 25,99 min) e **4** (11,0 mg, tR 51,56 min). Da mesma forma, a fração Fr.6 (320 mg) foi processada por HPLC semipreparativa usando um gradiente de eluição de 70% a 100% do solvente B em 20 minutos, obtendo as substâncias **1** (30,6 mg, tR 12,63 min) e **3** (6,5 mg, tR 14,04 min).

4.8. Análise por Espectrometria de Massas

As análises dos extratos, frações e substâncias isoladas foram realizadas no Laboratório de Cromatografia e Espectrometria de Massas (LABCEM) na Central Analítica-UFAM. Utilizou o espectrômetro de massas LQC Fleet (Thermo Scientific®), com a fonte de ionização ESI (Eletronspray Ionization), programada nos modos de ionização positivo e negativo. As amostras foram diluídas até a concentração de 10 ppm em metanol grau HPLC, e foram injetadas diretamente no *looping* do aparelho com uma seringa. Os espectros foram processados no programa Xcalibur 2.0.7 para observação dos perfis das frações e das fragmentações dos íons.

4.9. Espectroscopia por Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os espectros de ressonância magnética nuclear uni e bidimensionais (RMN 1D/2D) da substância isolada foi registrada pelo aparelho Bruker Avance III 500 operando a 11,75 Teslas (500 MHz para RMN de ¹H e 125 MHz para RMN de ¹³C). As amostras foram solubilizada em Clorofórmio deuterado (CDCl₃). Todos os espectros uni e bidimensionais foram processados pelo software Mestre Nova 14.2.

4.10. Espectroscopia na Região do Infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).

As substâncias 1 e 2 foram analisadas por espectroscopia FTIR com o objetivando de complementar as informações obtidas na espectroscopia de RMN. O

equipamento utilizado foi o espectrômetro THERMO SCIENTIFIC, modelo Nicolet iS10 por transmissão com pastilha de KBr, com intervalo de 4.000 a 400 cm^{-1} , utilizando 32 varreduras e resolução de 4 cm^{-1} .

As pastilhas de KBr foram preparadas misturando uma proporção de 1:100 (m/m) de amostra de KBr. Em seguida, uma pequena quantidade dessa mistura foi prensada para formar pastilhas em formato de disco, transparentes.

Estas análises foram realizadas no laboratório de Espectroscopia no infravermelho – LAQBIV da UFAM.

4.11. Ensaio de citotoxicidade *in vitro*

A análise citotóxica *in vitro* das substâncias isoladas da espécie de *P. jasminifolia* foram realizadas no Laboratório de Engenharia Tecidual e Imunofarmacologia (LETI) do Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz (CPqGM) da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Salvador-BA, sob a colaboração e supervisão do Prof. Dr. Daniel Pereira Bezerra.

4.11.1. Preparo das amostras e células

As amostras foram diluídas em DMSO puro estéril na concentração de 10mg/mL (para extratos) ou 5mg/mL (para compostos puros). Foram utilizadas células HCT116 (carcinoma de colón humano), HepG2 (carcinoma hepatocelular humano) e MRC-5 (fibroblasto de pulmão humano) obtidas da ATCC. As células foram cultivadas em garrafas para cultura de células (75 cm^3 , volume de 250 mL), os meios utilizados foram RPMI 1640 e suplementados com 10% de soro bovino fetal. As células foram mantidas em incubadoras com atmosfera de 5 % de CO_2 a 37 °C. Diariamente acompanhava-se o crescimento celular com a utilização de microscópio de inversão. O meio foi trocado sempre que o crescimento celular atingia confluência necessária para renovação de nutrientes. Para a manutenção de células aderidas utilizou-se tripsina (0,25%) para que as células se despregassem das paredes das garrafas. As culturas de células apresentavam negativas para micoplasma, conforme avaliado pela colocação com Hoechst (Mycoplasma Stain Kit, Cat. MYC1, Sigma-Aldrich®, St Louis, MO, USA).

4.11.2. Ensaio de citotoxicidade

Para avaliar a citotoxicidade das substâncias, o ensaio do alamar blue foi realizado após 72 horas de exposição com as substâncias teste. O alamar blue, identificado como resazurina (O'BRIEN *et al.*, 2000), é um indicador fluorescente/colorimétrico com propriedades redox. Como com os sais de tetrazólio, o alamar blue reduz-se em células em proliferação. A forma oxidada é azul (não fluorescente/célula não viável) e a forma reduzida é rósea (fluorescente/célula viável). A redução do alamar blue reflete a proliferação celular. Este foi inicialmente utilizado para indicar crescimento e/ou viabilidade celular no monitoramento de proliferação de linfócitos (AHMED *et al.*, 1994) e atualmente apresenta várias aplicações.

Inicialmente, as células foram plaqueadas em placas de 96 cavidades (100 µL/poço de uma solução de $0,3 \times 10^6$ células/mL para células em suspensão e $0,7 \times 10^5$ células/mL para células aderidas). Após 24 horas de incubação, as substâncias testes dissolvidas em DMSO foram adicionadas em cada poço e incubadas por 72 horas. A doxorubicina foi utilizada como controle positivo. O controle negativo recebeu a mesma quantidade de DMSO. Quatro horas (vinte e quatro horas para o PBMC) antes do final do período de incubação, 20 µL da solução estoque (0,312 mg/mL) de alamar blue (resazurina) foram adicionados a cada poço. As absorbâncias foram mensuradas nos comprimentos de onda de 570 nm (reduzido) e 595 nm (oxidado) utilizando uma leitora de placa (AHMED *et al.*, 1994). A porcentagem de inibição foi calculada e registrada a porcentagem de inibição x log da concentração e determinado suas IC₅₀ realizado a partir de regressão não-linear utilizando o programa Prisma versão 5.0 (GraphPad Software).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Análise da rede molecular do extrato de acetato de etila de *P. jasminifolia*

Com o objetivo de realizar a pesquisa sobre os metabólitos presentes nas raízes da espécie *P. jasminifolia*. O extrato bruto de acetato de etila foi analisada inicialmente por LC-MS/MS no modo positivo para obter seus respectivos espectros. Os espectros MS/MS foram agrupados e carregados na plataforma GNPS, sendo posteriormente visualizados através de uma rede molecular (figura 17), com a finalidade de priorizar o isolamento de novas substâncias.

No extrato de acetato de etila (EtOAc), foram identificados quatro compostos (1-4) com baixos valores de m/z (269,1 a 299,1). A análise da rede molecular revelou conexões diretas entre os nós em m/z 269,1 e 285,1, com uma pontuação de cosseno de 0,6, indicando similaridades estruturais significativas. Da mesma forma, os nós em m/z 283,1 e 299,1 mostraram uma pontuação de cosseno de 0,7, sugerindo uma relação estrutural próxima entre eles. A partir de UHPLC-HRESIMS/MS, foram atribuídas fórmulas químicas aos compostos 1-4. Enquanto os compostos 1 e 2 não correspondiam a quaisquer quinonas conhecidas, as substâncias 3 ($C_{16}H_{12}O_4$) e 4 ($C_{17}H_{14}O_4$) eram consistentes com várias possíveis antraquinonas. A evidência proporcionada pela rede molecular, com nós conectados baseados em análises de fragmentação de massa, fortalece a hipótese de que os compostos 1-4 são quinonas. A similaridade estrutural observada nos nós m/z 269,1, 285,1, 283,1 e 299,1 sugere que esses compostos compartilham características típicas de quinonas, o que é corroborado pela pontuação de cosseno nas redes moleculares. Portanto, os íons m/z 285,1 e m/z 299,1 foram escolhidos para as etapas de isolamento guiadas por MS.

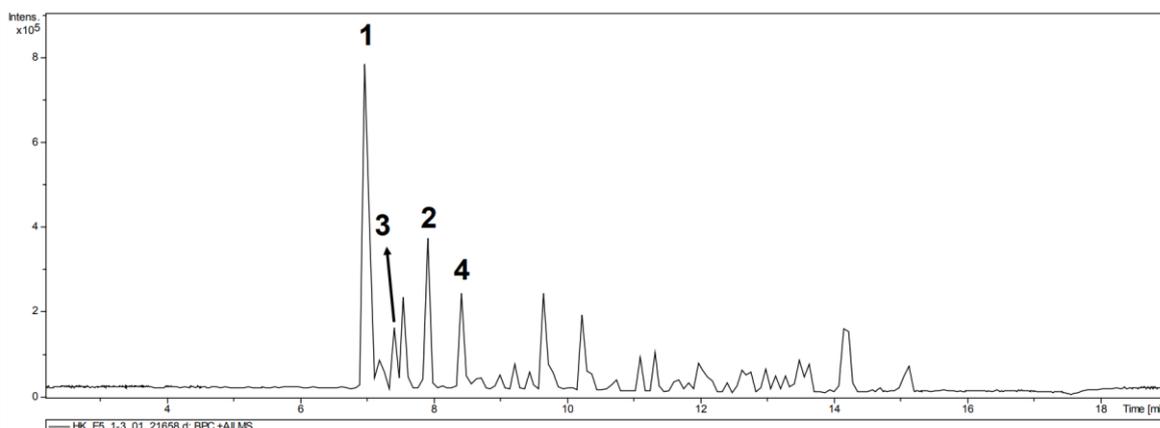


Figura 16. Cromatograma de íons totais do extrato bruto de acetato de etila.

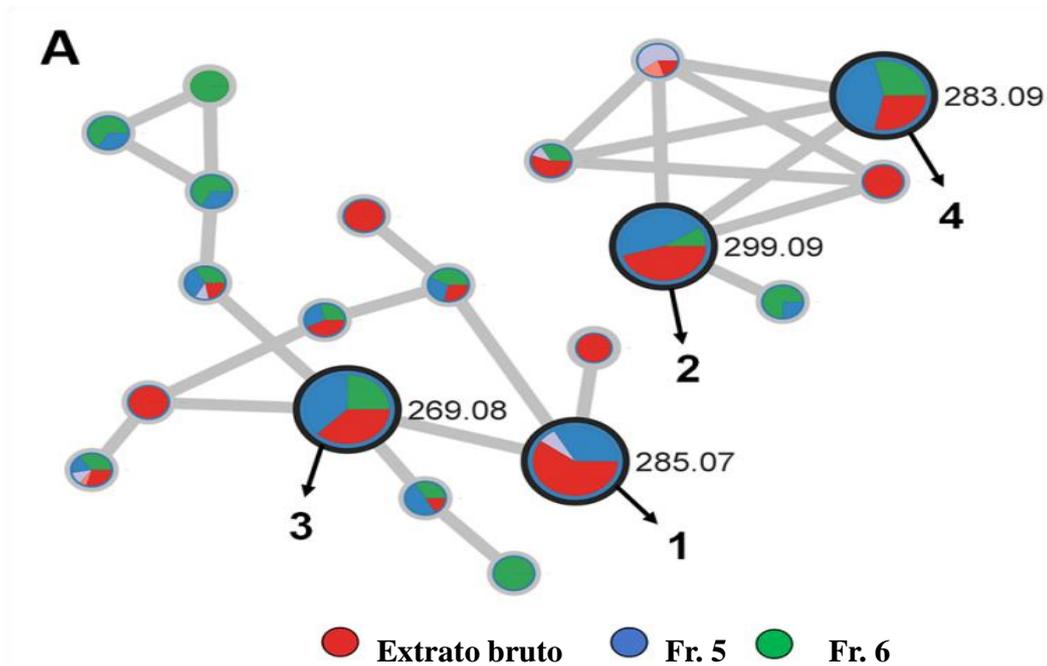


Figura 17. Rede molecular indicando a presença de 1-4 do extrato bruto e frações obtidas do MPLC.

5.2 Elucidação estrutural da substância isoladas de *P. jasminifolia*

5.2.1 Elucidação estrutural da substância 1.

A substância 1 foi isolada da fração G5.4, sendo obtida como sólido amorfo com coloração vermelho, tendo como massa total 32,2 mg. Após aplicação da solução hidróxido de potássio (revelador) na amostra, a substância apresentou resultado positivo para quinona (REICH, 2007).

Pela análise de absorção na região do espectro no infravermelho da substância 1 (Figura 18) foi possível observar as bandas de absorção intensa nas regiões de 1637 e 1616 cm^{-1} referentes às carbonilas de estiramento quinona. Também foram observadas bandas nas regiões de 1578 e 1568 cm^{-1} referentes a C=C de aromáticos, a banda de absorção em 617 cm^{-1} referente a deformação angular C-H fora do plano.

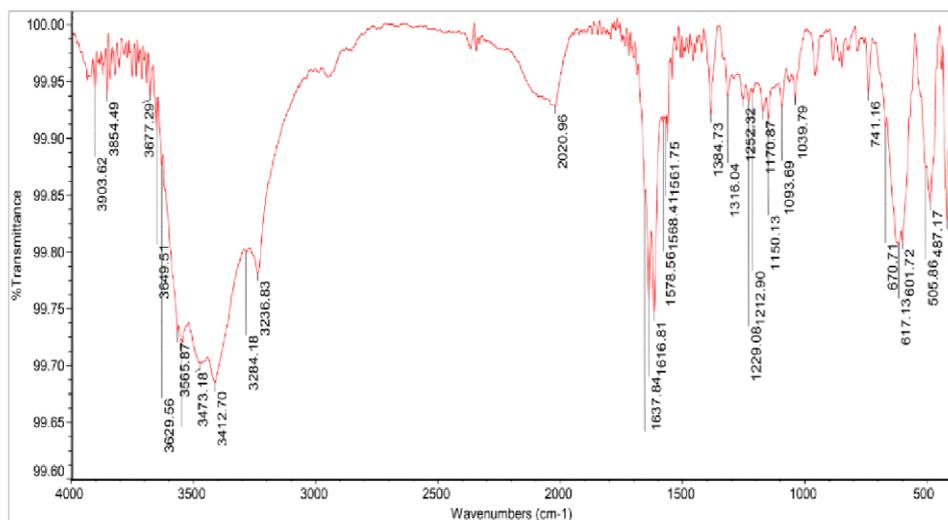


Figura 18. Espectro de absorção na região do Infravermelho da substância 1.

Pela análise preliminar do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) (Figura 19) constatou-se a presença de 7 sinais, sendo eles 4 sinais de hidrogênios na região de aromáticos entre δ_{H} 7.93 - 6.62, 1 sinal característico de hidrogênio olefínico (δ_{H} 5,76), 1 sinal metílico e 1 sinal metoxílico.

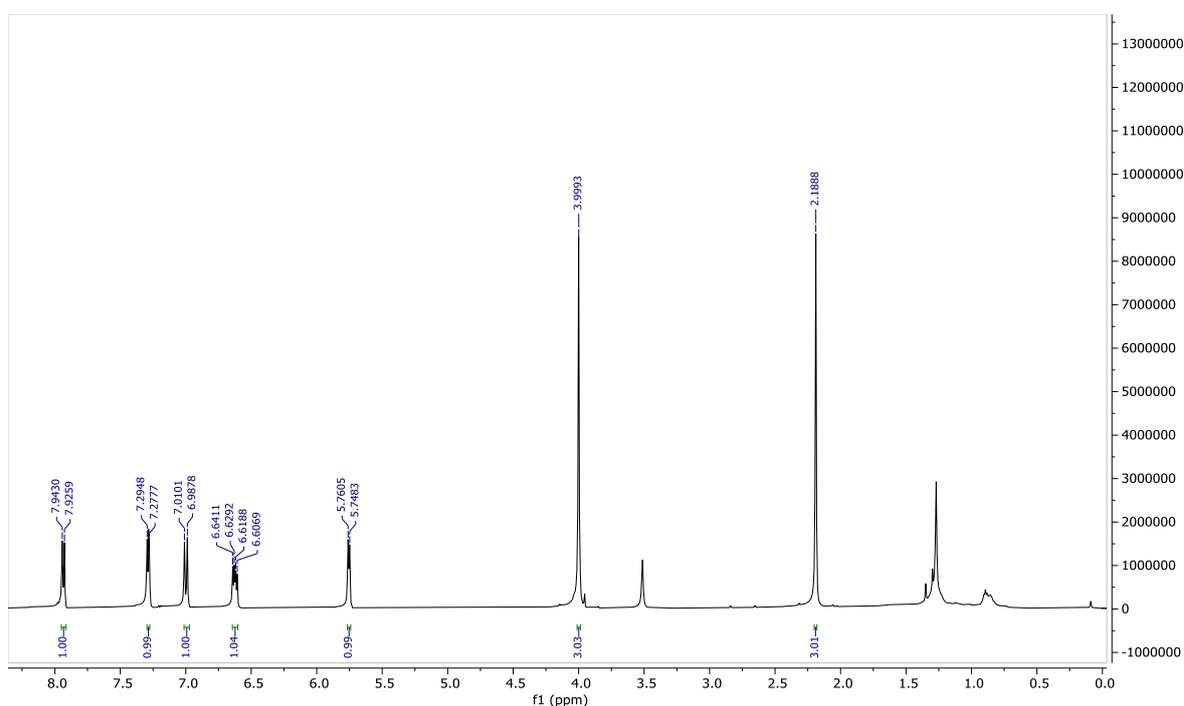


Figura 19. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, em CDCl_3) da substância 1. **Fonte:** Arquivo pessoal, 2023.

Dos quatro sinais de hidrogênios na região dos aromáticos dois foram observados sendo correspondente a dois dupletos vicinais em δ_{H} 7,93 (1H) e 7,28 (1H), ambos com o mesmo valor da constante de acoplamento ($J = 8,5$ Hz). A magnitude de J

sugeriu a presença de átomos de hidrogênio com acoplamento em *orto* indicativo de um sistema aromático tetrassubstituído. Todavia, por meio da ampliação do espectro de ^1H na região de δ_{H} 7,0 - 5,7 (Figura 20), os sinais em δ_{H} 6,99 (1H, *d*, $J = 11,1$ Hz); 6,62 (1H, *dd*, $J = 11,1$ e 6,0 Hz) e 5,76 (1H, *d*, $J = 6,0$) são característicos de hidrogênios insaturados que correlacionaram entre si de acordo com o valor de J . Esses hidrogênios aromáticos vicinais foram confirmados por meio do espectro do mapa de correlação COSY (Figura 21). O sinal em δ_{H} 2,10 (3H, *s*) é indicativo de hidrogênios do grupo metila ligado a um carbono insaturado e o simpleto em δ_{H} 3,99 (3H, *s*) é característico de hidrogênios metoxílicos.

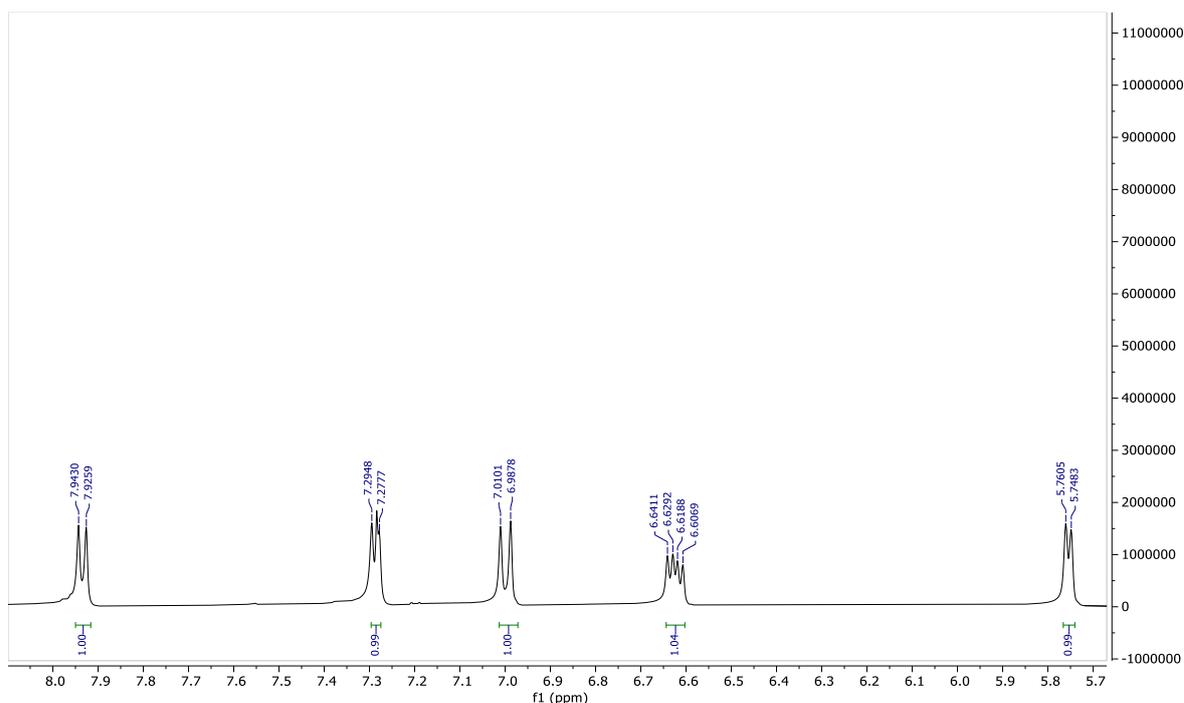


Figura 20. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância 1 na região entre δ_{H} 5,7-8,0 ppm. **Fonte:** Arquivo pessoal, 2023.

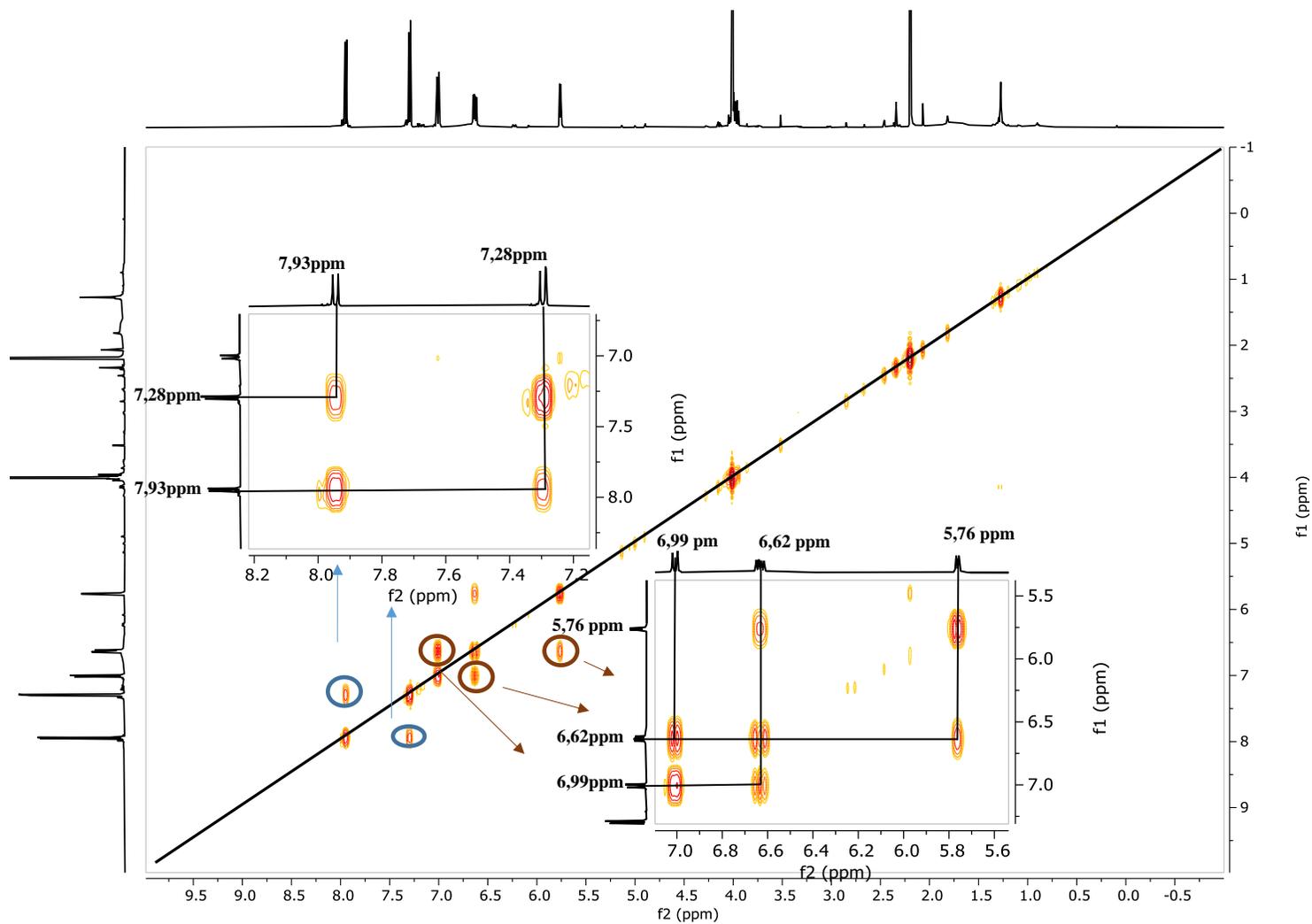


Figura 21. Mapa de correlação COSY ^1H - ^1H e ampliação dos sinais (500 MHz em CDCl_3) da substância 1. **Fonte:** Arquivo pessoal, 2023.

Através da análise do espectro de RMN de ^{13}C (Figura 22) foram observados 16 sinais. Por meio da comparação dos espectros de RMN ^{13}C e DEPT 135° (Figura 23, p.39), foi possível identificar o padrão de hidrogenação relativo a cada átomo de carbono. Desta forma, observou-se a ausência de sinais metilênicos e constatou-se presença de 9 carbonos quaternários (C); cinco carbonos metínicos (CH) e dois carbonos metílicos (CH_3). Os sinais mais desblindados em δ_{C} 179,6 e em δ_{C} 183,5 são indicativos de grupos carbonilas (RAKHMATULLIN, 2022). Os valores de deslocamentos químicos dos carbonos e seus respectivos padrões de hidrogenação podem ser conferidos na tabela 3.

O experimento de RMN de ^{13}C confirmaram a presença de dois grupos metílicos: um sinal em δ_{C} 62,3, característico de uma metoxila e outro em δ_{C} 20,4 correspondentes ao grupo metila. Os carbonos metínicos, bem como os quaternários foram encontrados em uma região espectral compreendida entre δ_{C} 113,7 a 155,8, característicos de carbonos aromáticos e olefínicos os sinais em δ_{C} 155,9; 155,5; 146,3 e 145,9 indicaram a presença de 4 carbonos oxigenados. Os sinais característicos de carbonilas em δ_{C} 179,6 e em δ_{C} 183,5 quando comparados estes valores de deslocamento químico na literatura sugerem a presença de um anel do tipo naftoquinona (CAI *et al.*, 2005).

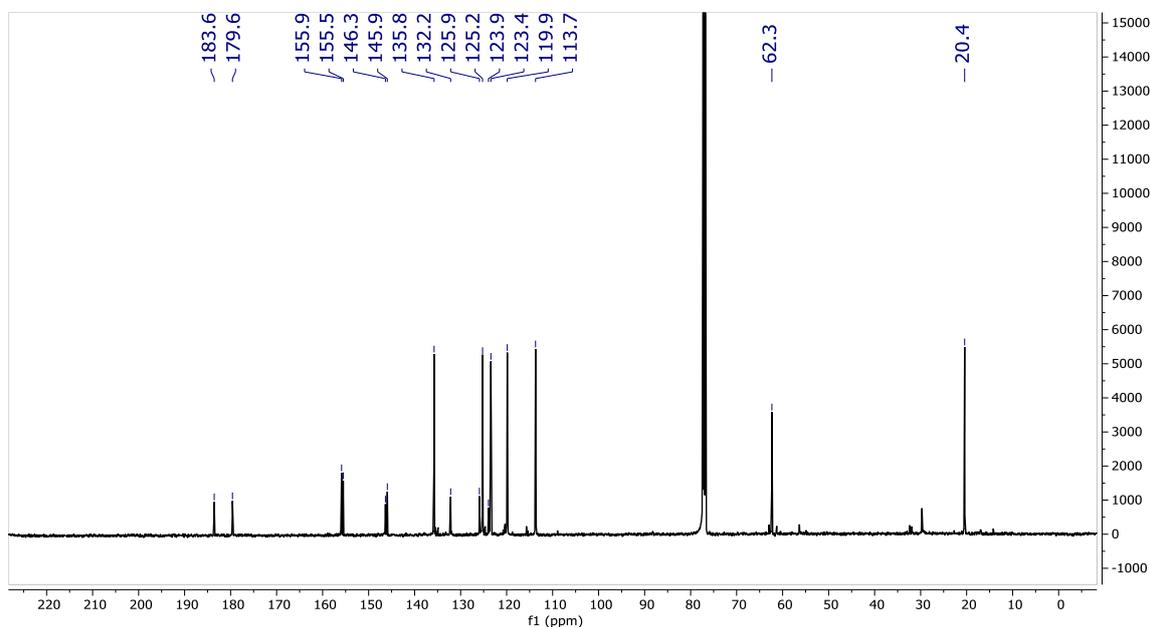


Figura 22. Espectros de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) da substância 1. **Fonte:** Arquivo pessoal 2023.

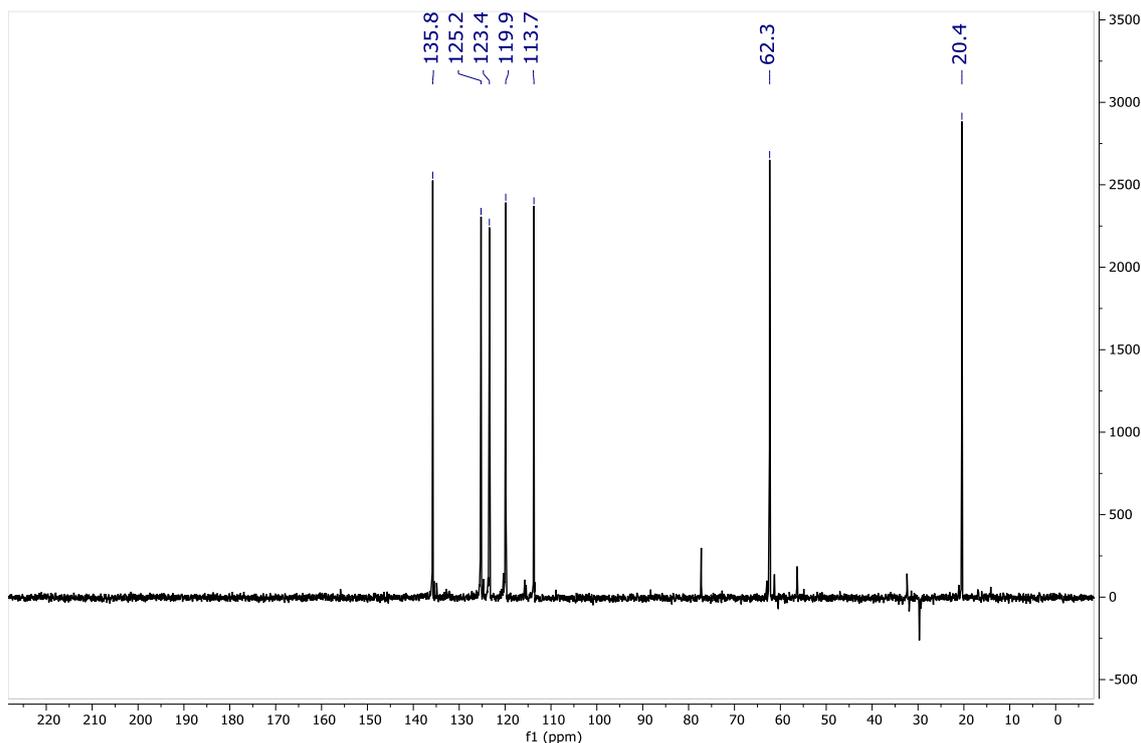


Figura 23. Espectros de RMN de DEPT 135 (125 MHz, CDCl_3) da substância 1. **Fonte:** Arquivo pessoal, 2023.

Os dados espectroscópicos de RMN de ^1H (500 MHz em CDCl_3) e RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) indicam a possibilidade da substância 1 possuir um esqueleto carbônico característico de uma naftoquinona através dos seus sinais característicos (PROCHAZKOVA *et al.*, 2020).

Por meio do mapa de HSQC (Figura 24), o hidrogênio mais desblindado δ_{H} 7,93 correlacionou-se com o carbono em δ_{C} 125,2 correspondendo ao hidrogênio aromático do anel A próximo a um grupo carbonila. No espectro de HMBC (Figura 26), este sinal correlacionou-se a com dois carbonos carboxílicos em 3J com o δ_{C} 183,5 e a 4J com o δ_{C} 179,6 possivelmente do anel quinona. Adicionalmente, esse hidrogênio correlacionou-se a 3J com o carbono oxigenado em δ_{C} 155,5 e com o carbono quaternário em δ_{C} 123,9 3J pertencente a junção do anel A e B.

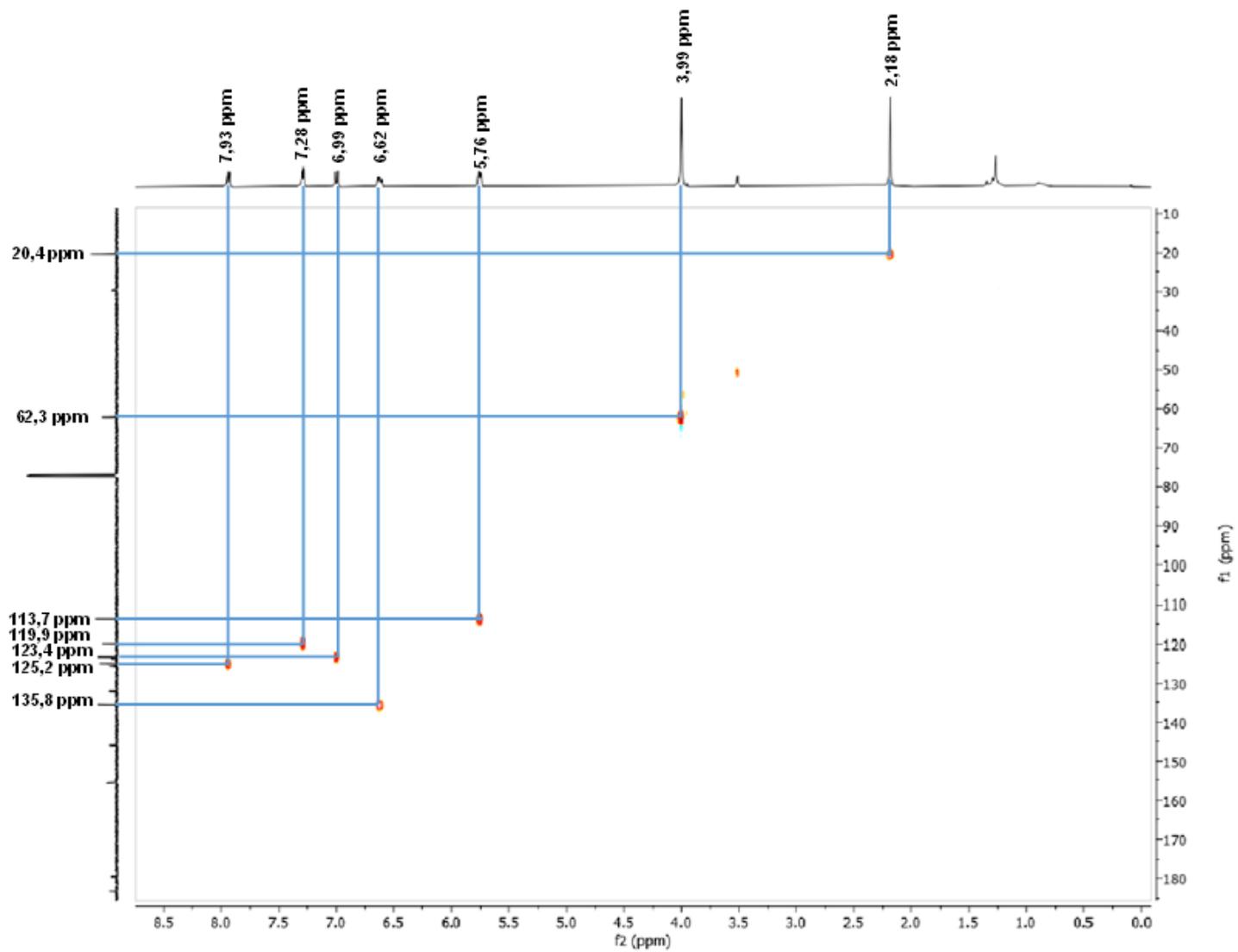


Figura 24. Ampliação do Mapa de correlação HSQC (^1H - 500 MHz; ^{13}C - 125 MHz, em CDCl_3) da substância 1.

O hidrogênio em δ_H 7,29 conectado em δ_C 119,9 (HSQC), correlacionou-se a 2J com um carbono oxigenado característico em δ_C 155,3 evidenciando a presença de um grupo (OH). Este sinal de 1H correlacionou-se a 3J com o carbono quaternário em δ_C 146,3 típico de carbono oxigenado e a 3J com outro carbono quaternário em δ_C 125,8 sendo um dos carbonos da junção do anel aromático com o anel quinona. A posição da metoxila δ_H 3,99 / δ_C 62,3 (HSQC) no anel aromático foi confirmado por meio da correlação a 3J com o carbono δ_C 146,3. Dessa forma, os sinais mais desblindados (carbonos aromáticos) em δ_C 146,3 e δ_C 155,5 apoiaram a presença desses dois substituintes oxigenados no anel aromático reforçando que o anel aromático é tetrassubstituído. A partir das análises pode-se atribuir a estrutura parcial abaixo.

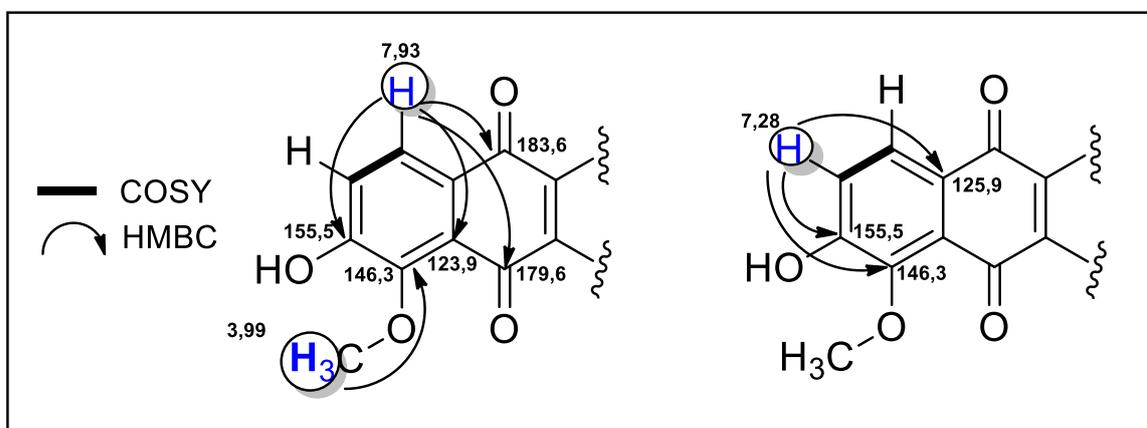


Figura 25. Estrutura parcial da substância 1 indicando as correlações de HMBC e COSY.

Os demais hidrogênios (hidrogênios metínicos) adjacentes (conforme apontado no espectro de COSY) e suas constantes de acoplamento de 1H , indicou a formação de um novo esqueleto na estrutura. As correlações de HMBC do hidrogênio em δ_H 6,99/ em δ_C 123,4 a 3J com o carbono carbonílico em δ_C 183,5 e o carbono quaternário insaturado em 145,9 ppm, reforçam a existência do esqueleto quinona.

O hidrogênio em δ_H 6,62 / δ_C 135,8 (HSQC) correlacionou a 3J com o carbono em δ_C 135,7, em 3J com carbono em δ_C 113,7 bem como correlacionou-se a 3J com δ_C 155,9, indicativo de um carbono oxigenado. O hidrogênio em δ_H 5,67 correlacionou com o carbono quaternário em 3J δ_C 155,9 reforçando um sistema insaturado, e em 3J com δ_C 123,4. A partir dos dados pode se propor a segunda estrutura parcial (figura 27).

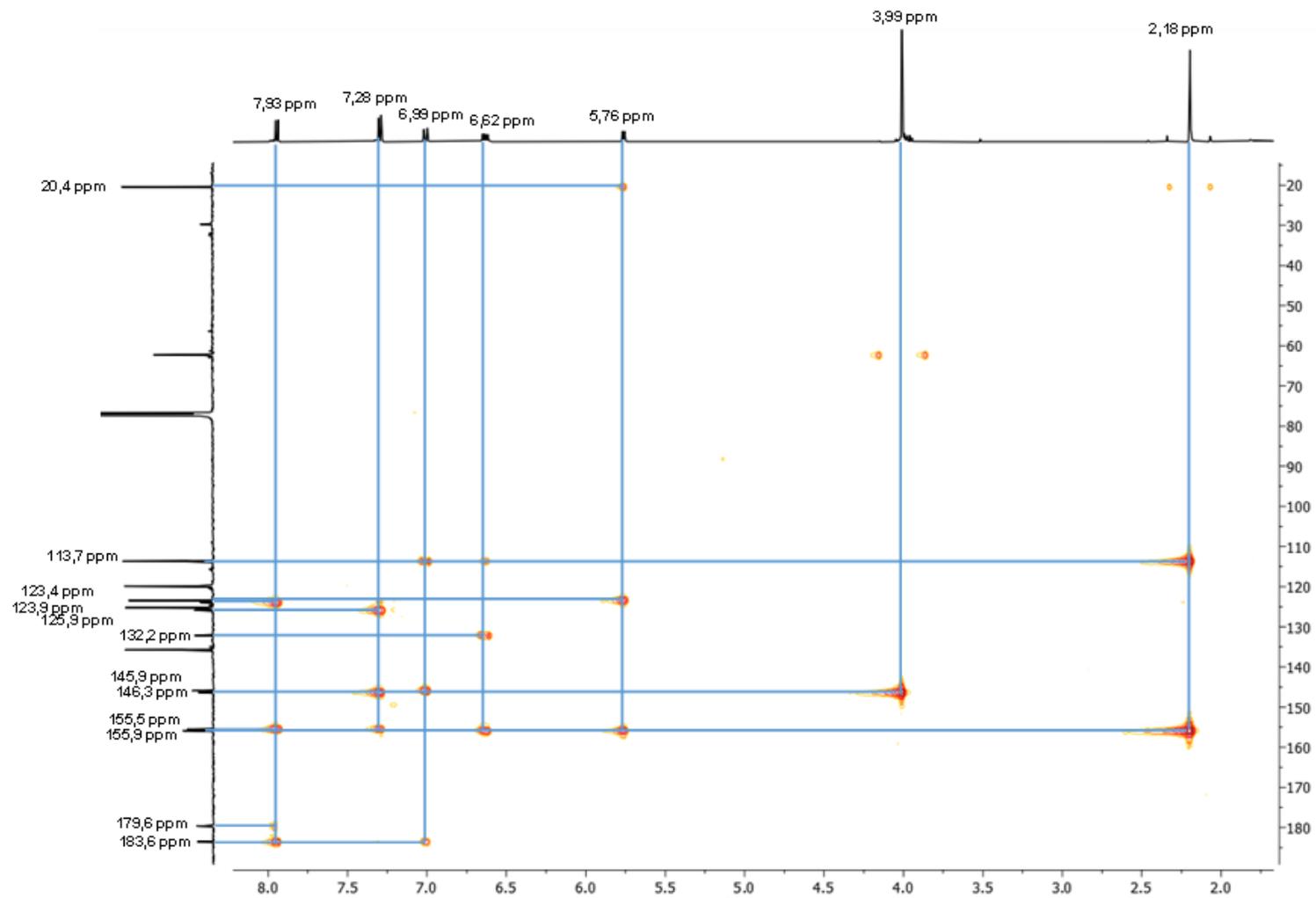


Figura 26. Principais correlações observadas no mapa de correlações HMBC da substância 1.

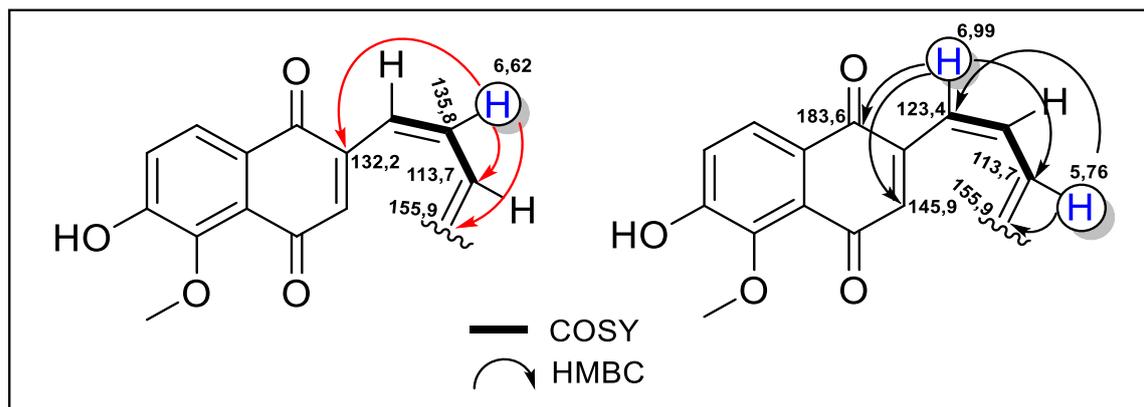


Figura 27. Segunda parte da estrutura parcial da substância 1 correlações de HMBC e COSY.

Foi possível identificar a posição da metila na estrutura, onde o hidrogênio em δ_H 5,76 correlacionou-se a 3J com o carbono metílico em δ_C 20,4. Observaram-se as correlações entre os hidrogênios da metila em δ_H 2,18 com os carbonos em δ_C 155,9 e 113,7 reforçando a posição da metila. A existência de um anel oxepínico foi confirmada através da correlação do hidrogênio em δ_H 6,99 a 3J com o carbono quaternário insaturado em δ_C 145,9, carbono responsável pela junção dos dois anéis: anel quinona e oxepínico. Dessa forma, foi possível concluir a elucidação da estrutura, bem como os dados da literatura dos sinais de carbono do anel quinona e oxepínico são corroborantes com os dados de RMN da substância 1 (KAKUSAWA *et al.*, 1996; JONES, PARLOW e SCHNUR, 1996).

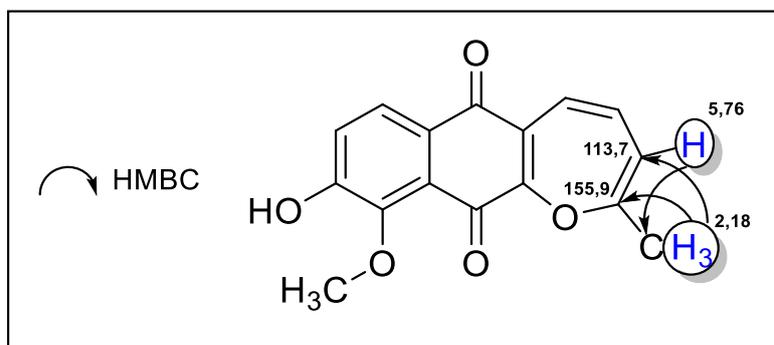


Figura 28. Estrutura da substância 1 indicando a formação de outro anel

As corretas atribuições dos sinais de hidrogênio e carbono foram determinadas pela análise do mapa de correlação de HSQC e HMBC. Após a análise dos dados por espectrometria de massas no modo positivo por inserção direta, a naftoquinona isolada apresentou m/z 285 Da $[M+H]^+$ (figura 30), sendo compatível com os dados de RMN de 1H e ^{13}C (1D/2D) que indicam a fórmula molecular de $C_{16}H_{12}O_5$. Desta forma, foi possível assinalar todos os deslocamentos químicos e determinar a substância 1 como sendo uma

naftoquinona, da qual a estrutura possui um novo esqueleto de oxepinenaftoquinona, cujo nome atribuído foi pleonotoquinona A, (Figura 29), sendo este o primeiro relato dessa substância na espécie em estudo na literatura. Esta substância foi reisolada pelo método de HPLC onde foi codificada de substância 1.

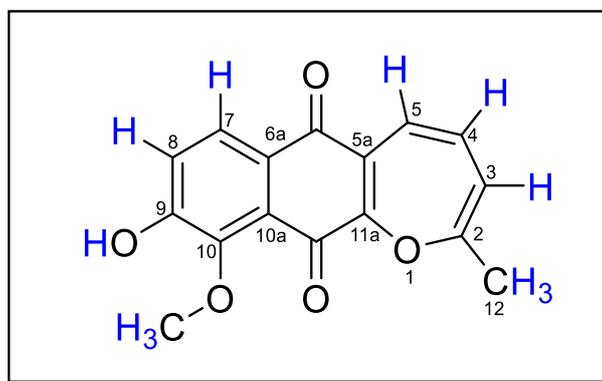


Figura 29. Pleonotoquinona A

Tabela 3. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C da substância 1.

Substância 1			
Posição	δ_{C} - DEPT	δ_{H} , mult. (<i>J</i> em HZ)	HMBC $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ (posição)
1	-	-	-
2	155,9 C	-	-
3	113,7 CH	5,76 <i>d</i> , (6,0 Hz)	155,9 (2), 123,4 (5) 20,4 (12)
4	135,7 CH	6,62, <i>dd</i> , (11,1 e 6,0 Hz)	155,9 (2), 132,2 (5a) e 113,7 (3)
5	123,4 CH	6,99, <i>d</i> , (11,1 Hz)	183,6 (6), 145,9 (11a) e 113,7 (3)
5a	132,2 C		
6	183,6 C		-
6a	125,9 C		-
7	125,2 CH	7,93, <i>d</i> , (8,5 Hz)	183,6 (6), 179,6 (11), 155,5 (9) e 123,9 (10a)
8	119,9 CH	7,28, <i>d</i> , (8,5 Hz)	155,5 (6), 146,3 (10) e 125,9 (6a)
9	155,5 C	-	-
10	146,3 C	-	-
10a	123,9 C	-	-
11	179,6 C	-	-
11a	145,9 C	-	-
12	20,4 CH ₃	2,18, <i>s</i>	155,9 (2) e 113,7 (3)
10 ² -OCH ₃	62,3 CH ₃	3,99, <i>s</i>	146,3 (10)

Através dos espectros de fragmentação da substância 1 (Figura 31) foi possível propor algumas perdas de massa. Possivelmente o íon m/z 285 sofreu uma desmetilação via radicalar resultando no fragmento em m/z 270. O íon molecular ainda apresentou duas perdas neutras sucessivas, a primeira delas resultou na perda CO (28 Da) gerando o íon com m/z 257, e a segunda fragmentação a partir do íon 257 resultou na perda de outro CO (28 Da) gerando o íon com m/z 229. O íon com m/z 257 sofreu uma perda de água H₂O (18 Da) resultando no íon com m/z 239, a partir do íon 239 sofreu uma perda CO (28 Da) gerando o íon com m/z 211. Os mecanismos de fragmentação principais para esses íons estão apresentados na (figura 32).

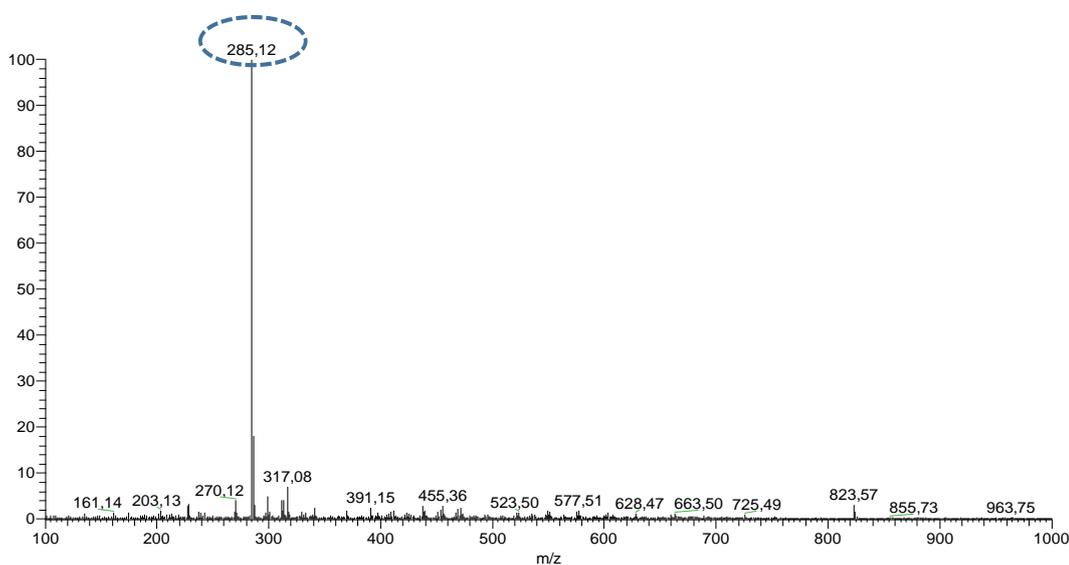


Figura 30. Espectro de massas da substância 1. **Fonte:** arquivo pessoal, 2023.

Leandro_PJM_23_05 (1) #169 RT: 2.18 AV: 1 NL: 1.05E4
T: ITMS + c APCI corona Full ms2 285.00@cid25.00 [75.00-

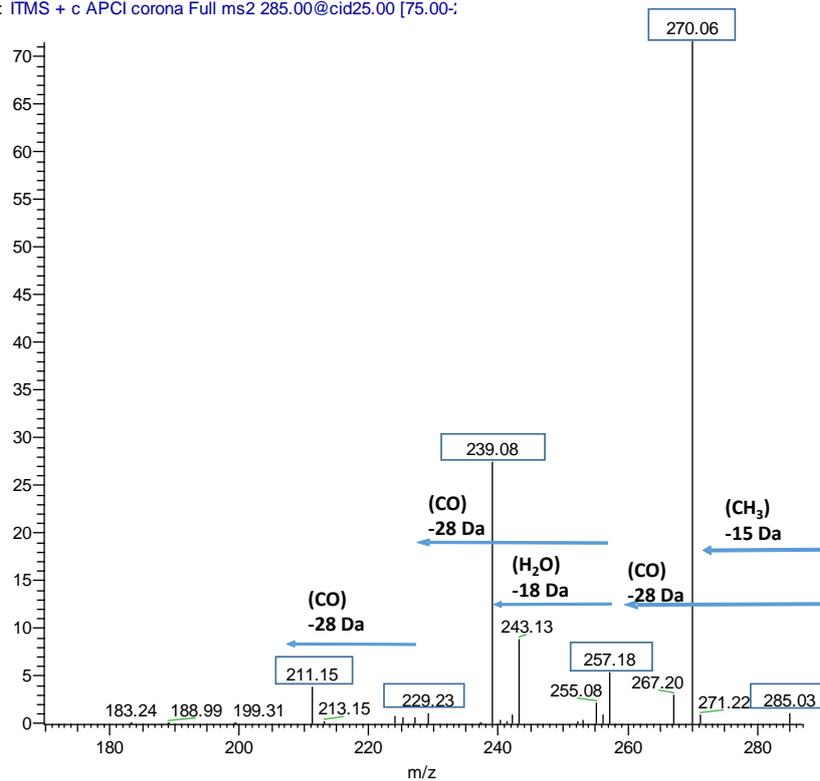


Figura 31. Perfil de fragmentação da substância 1.

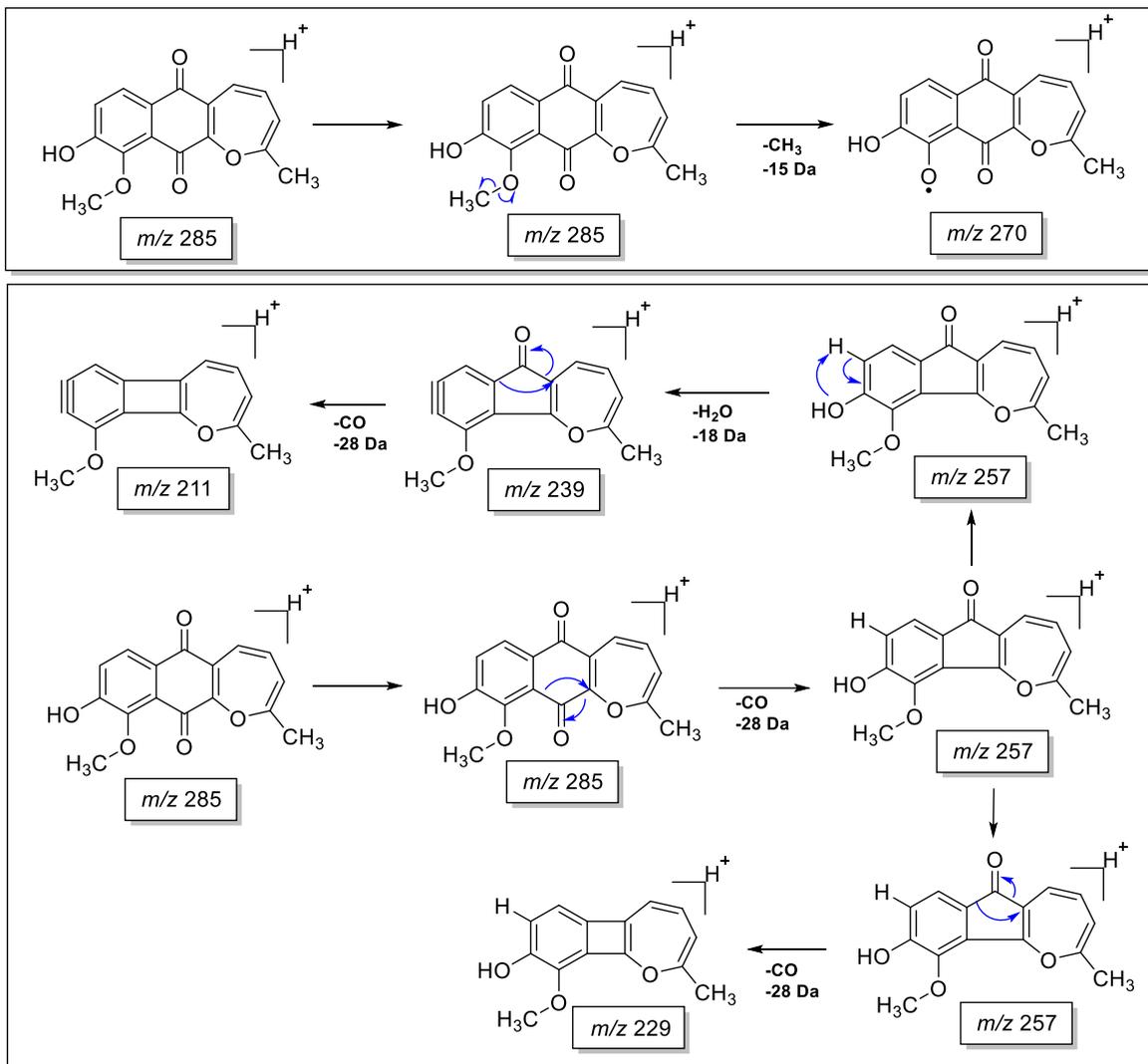


Figura 32. Proposta de fragmentação da substância 1.

5.2.2. Elucidação estrutural da substância 2

A substância 2 foi obtida como um pó amorfo de cor laranja. Sua fórmula molecular ($C_{17}H_{14}O_5$) foi estabelecida por HRESIMS $[M+H]^+$ m/z 299 (figura 38).

Na análise do espectro de absorção na região do infravermelho da 2 (Figura 33) foi possível observar as bandas de absorção intensa nas regiões de 1.638 cm^{-1} e 1617 cm^{-1} referentes às carbonilas da quinona. Também foram observadas bandas nas regiões de 1.509 e 1.543 cm^{-1} referentes do estiramento de $C=C$ de aromáticos, e uma banda de absorção em 622 cm^{-1} referente a deformação angular $C-H$ fora do plano.

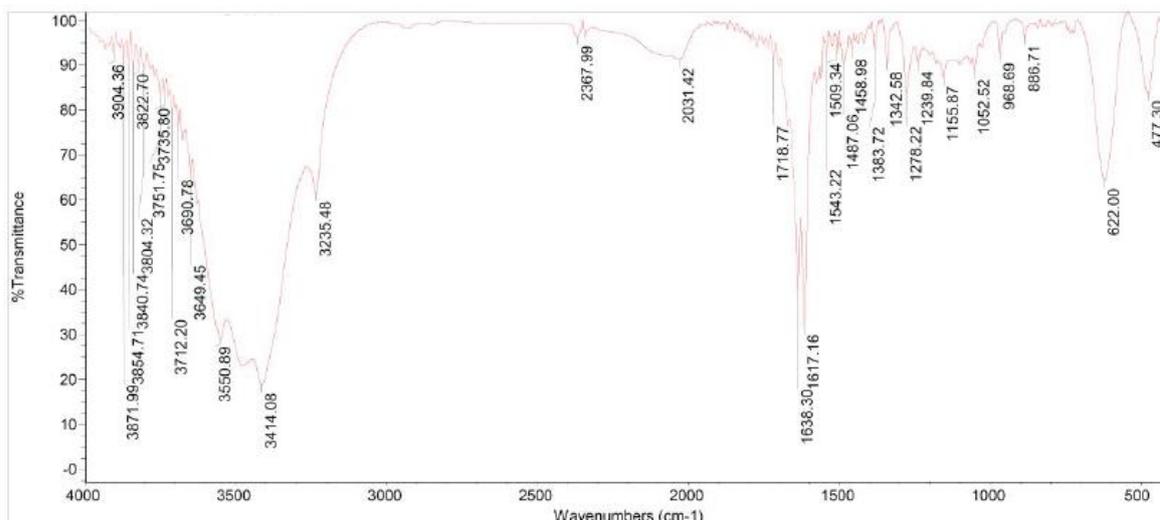


Figura 33. Espectro de absorção na região do Infravermelho da substância 2.

Ao analisar os dados de RMN de ^1H e ^{13}C da substância 2, notou-se uma notável semelhança com os dados obtidos para a substância 1. No entanto, uma diferença fundamental surgiu: a presença de um grupo metoxi adicional (δ_{H} 3,99, s) na posição C-9, substituindo o grupo hidroxil presente na substância 1 (conforme detalhado na Tabela 4). Essa alteração estrutural foi prontamente confirmada pelas correlações HMBC (Figura 37) observadas entre o grupo metoxi e o carbono na posição δ_{C} 159,1 (C-9). Adicionalmente apresentou as mesmas multiplicidades e constantes de acoplamento. Com base nessas análises, foi possível identificar com segurança a estrutura completa da substância 2. Este composto compartilha o mesmo esqueleto oxepinanftoquinona da substância 1, mas com a adição do grupo metoxi na posição C-9. Dessa forma, a substância 2 foi nomeada como pleonotoquinona B. Os espectros unidimensionais foram processados e comparados juntamente com os espectros da pleonotoquinona A (Figura 34). Todas as posições dos hidrogênios e dos grupos metoxilas da pleonotoquinona 2 foram confirmadas por meio do mapa de correlação HMBC bem como as correlações dos hidrogênios com os seus respectivos carbonos a 1J , confirmados pelo experimento HSQC (figura 36).

Essa descoberta ressalta não apenas a importância da espectroscopia de RMN e HRESIMS na elucidação estrutural de compostos orgânicos complexos, mas também destaca a relevância da química natural na busca por novos produtos bioativos e potencialmente farmacêuticos.

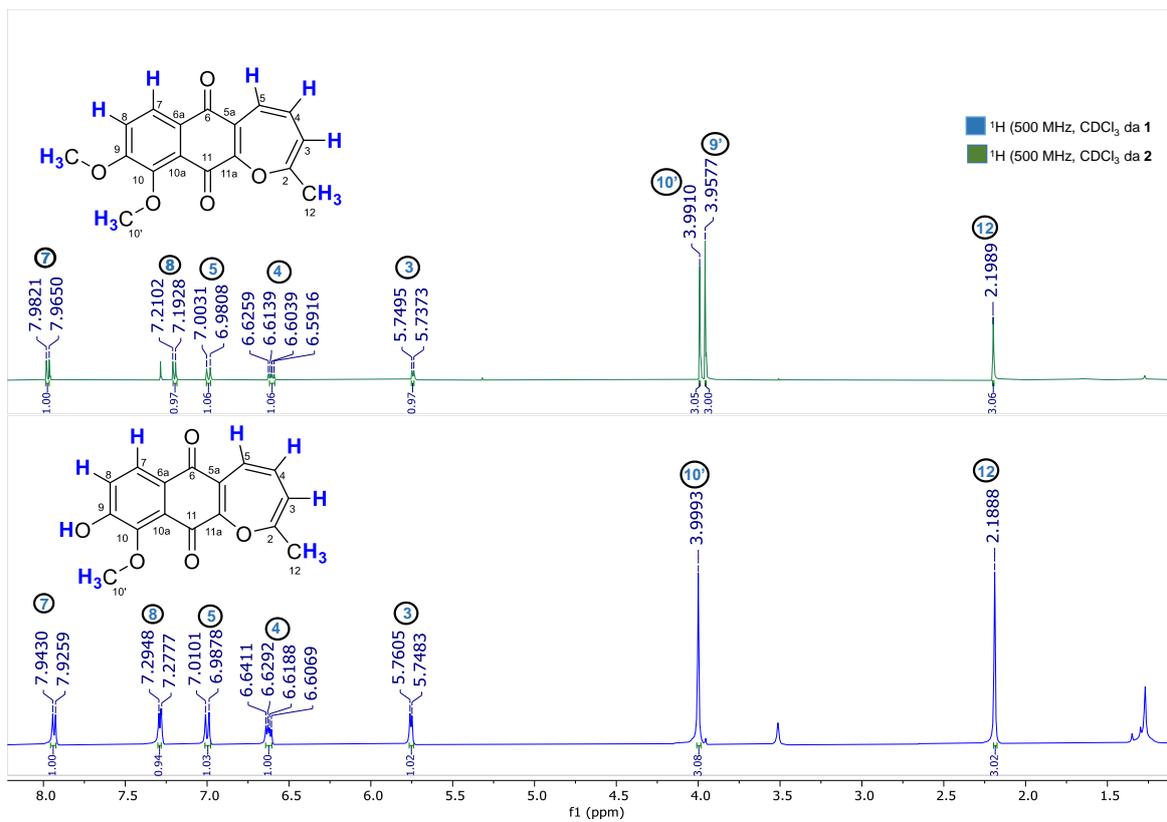


Figura 34. Espectro de RMN de ¹H das substâncias 1 e 2 para fins comparativo

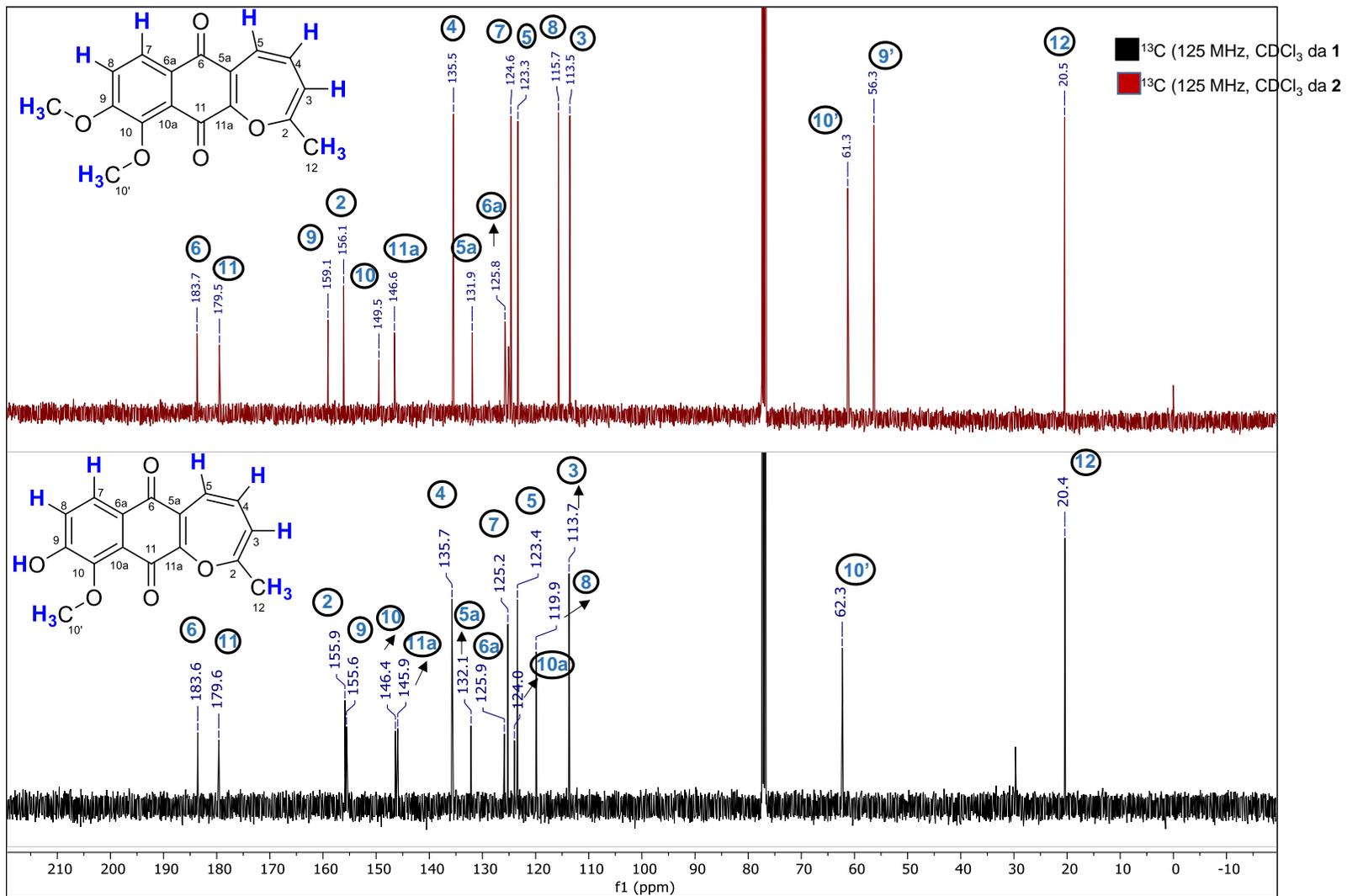


Figura 35. Espectro de RMN de ^{13}C das substâncias 1 e 2 para fins comparativos. Fonte: arquivo pessoal, 2023.

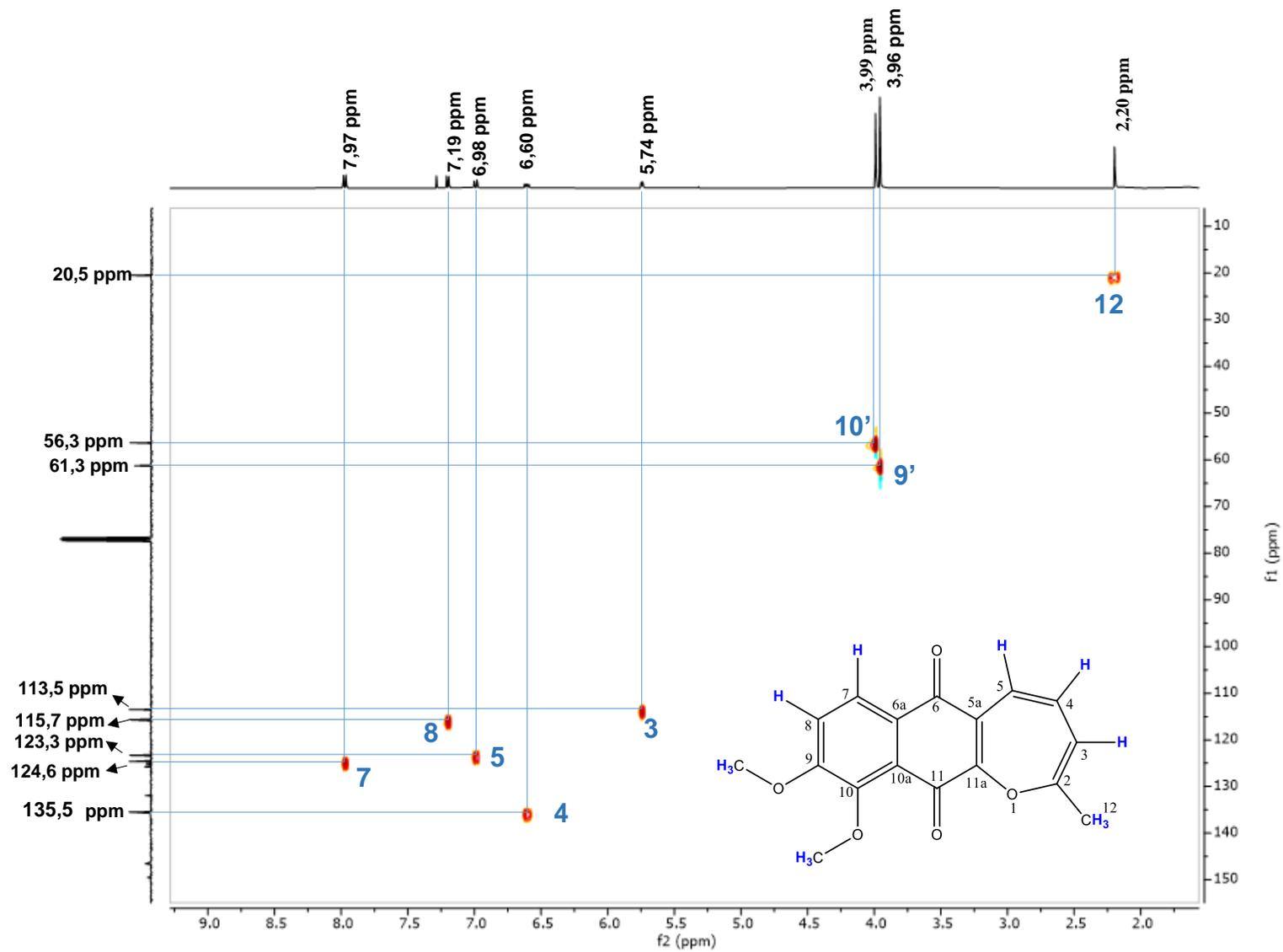


Figura 36. Ampliação do Mapa de correlação HSQC (^1H - 500 MHz; ^{13}C - 125 MHz, em CDCl_3) da substância 2.

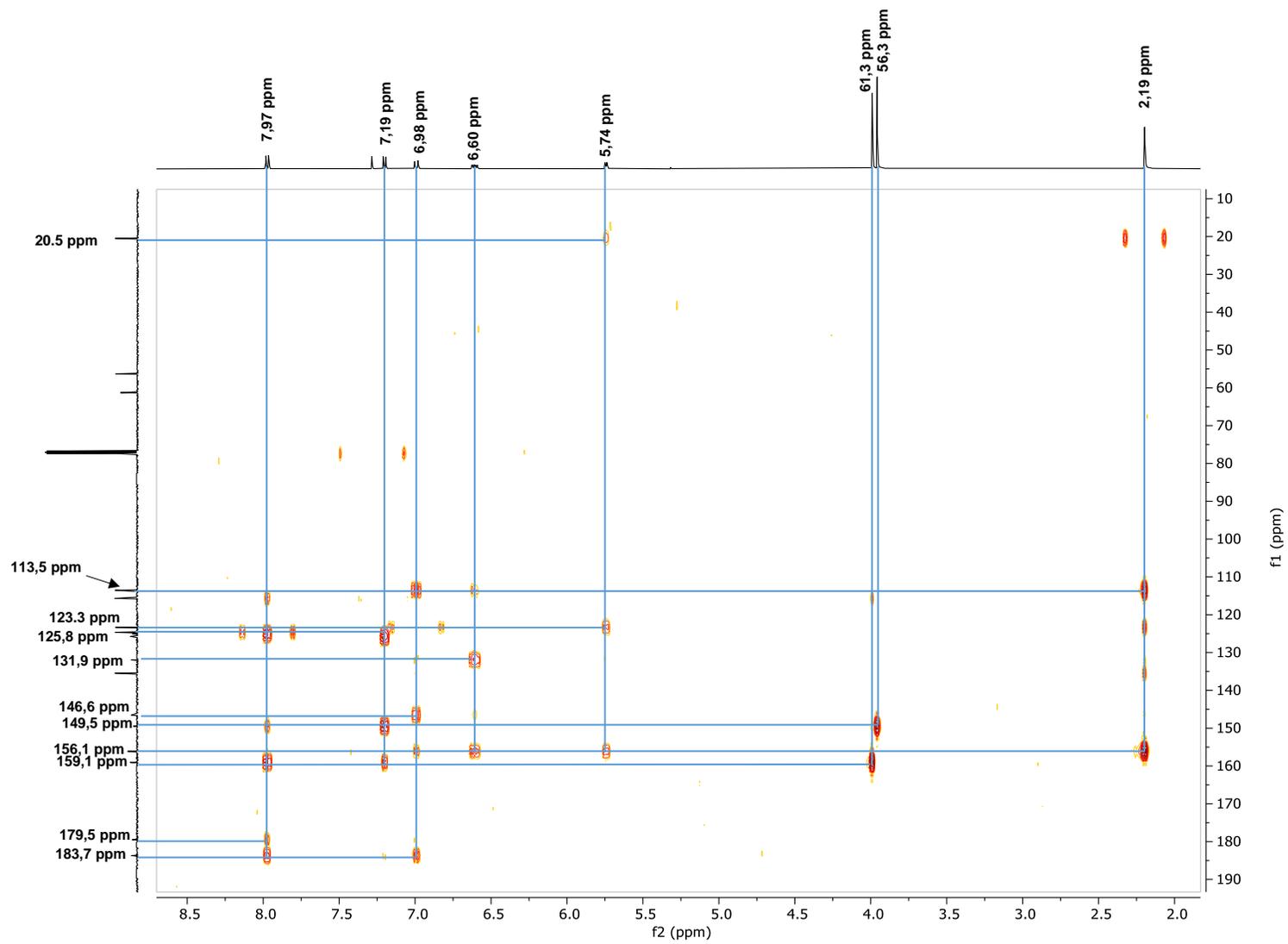


Figura 37. Ampliação do Mapa de correlação HMBC (^1H - 500 MHz; ^{13}C - 125 MHz, em CDCl_3) da substância 2.

Tabela 4. Dados espectroscópicos de RMN (¹H 500 MHz, ¹³C 125 MHz) para as substâncias 1 e 2, para fins comparativos.

Substância 1				Substância 2			
Posição	δ_c - Tipo	δ_H , mult. (J em HZ)	HMBC ¹ H x ¹³ C (posição)	Posição	δ_c - Tipo	δ_H , mult. (J em HZ)	HMBC ¹ H x ¹³ C (posição)
1	-	-	-	1	-	-	-
2	155,9 C	-	-	2	156,1	-	-
3	113,7 CH	5,76 <i>d</i> (6,1 Hz)	155,9 (2), 123,4 (5) e 20,4 (12)	3	113,5	5,74 <i>d</i> (6,1 Hz)	156,1 (2), 123,3 (5) e 20,5 (12)
4	135,7 CH	6,62, <i>dd</i> , (11,1 e 6,0 Hz)	155,9 (2), 132,2 (5a) e 113,7 (3)	4	135,5	6,60, <i>dd</i> , (11,0 e 6,0 Hz)	156,1 (2), 131,9 (5a) e 135,5 (3)
5	123,4 CH	6,99, <i>d</i> , (11,1 Hz)	183,6 (6), 145,9 (11a) e 113,7 (3)	5	123,3	6,98, <i>d</i> , (11,1 Hz)	183,7 (6), 146,6 (11a) e 113,5 (3)
5a	132,2 C	-	-	5a	131,9	-	-
6	183,6 C	-	-	6	183,7	-	-
6a	125,9 C	-	-	6a	125,8	-	-
7	125,2 CH	7,93, <i>d</i> , (8,5 Hz)	183,6 (6), 155,5 (9) e 123,9 (10a)	7	124,6	7,97, <i>d</i> , (8,5 Hz)	183,7 (6), 159,1 (9) e 123,9 (10a)
8	119,9 CH	7,28, <i>d</i> , (8,5 Hz)	155,5 (6), 146,3 (10) e 125,9 (6a)	8	115,7	7,19, <i>d</i> , (8,5 Hz)	159,1 (9), 149,5 (10) e 125,8 (6a)
9	155,5 C	-	-	9	159,1	-	-
10	146,3 C	-	-	10	149,5	-	-
10a	123,9 C	-	-	10a	125,1	-	-
11	179,6 C	-	-	11	179,5	-	-
11a	145,9 C	-	-	11a	146,6	-	-
12	20,4 CH ₃	2,18, <i>s</i>	155,9 (2) e 113,7 (3)	12	20,5	2,20, <i>s</i>	156,1 (2), 135,5 (4),
9'-OCH ₃				9'-OCH ₃	61,3	3,96, <i>s</i>	159,1 (9)
10'-OCH ₃	62,3 CH ₃	3,99, <i>s</i>	146,3 (10)	10'-OCH ₃	56,3	3,99, <i>s</i>	149,5 (10)

Dos 5 sinais de hidrogênios na região dos aromáticos dois foram observados sendo correspondente a 2 dupletos vicinais em δ_H 8,07 (1H) e 7,28 (1H), ambos com o mesmo valor da constante de acoplamento ($J = 8,5$ Hz). A magnitude de J sugeriu a presença de átomos de hidrogênio com acoplamento em *orto* sugere indicativo de um sistema aromático tetrassubstituído. Todavia, por meio da ampliação do espectro de 1H na região de δ_H 8,20 – 7,30 (Figura 40), os sinais em δ_H 8,18 e 7,61 mostraram ser hidrogênios aromáticos vicinais que foram confirmados por meio do espectro do mapa de correlação COSY (Figura 41). O sinal em δ_H 2,83 (3H, s) é indicativo de hidrogênios do grupo metila ligado a um carbono pertencente a anel aromático e o simpleto em δ_H 4,04 (3H, s) é característico de hidrogênios metoxílicos.

Através da análise do espectro bidimensional de correlação homonuclear 1H x 1H - COSY, notou-se correlação entre o hidrogênio em δ_H 8,07 com o hidrogênio em δ_H 7,32. Foram também observadas as correlações entre o hidrogênio em δ_H 8,16 com o hidrogênio em δ_H 7,61.

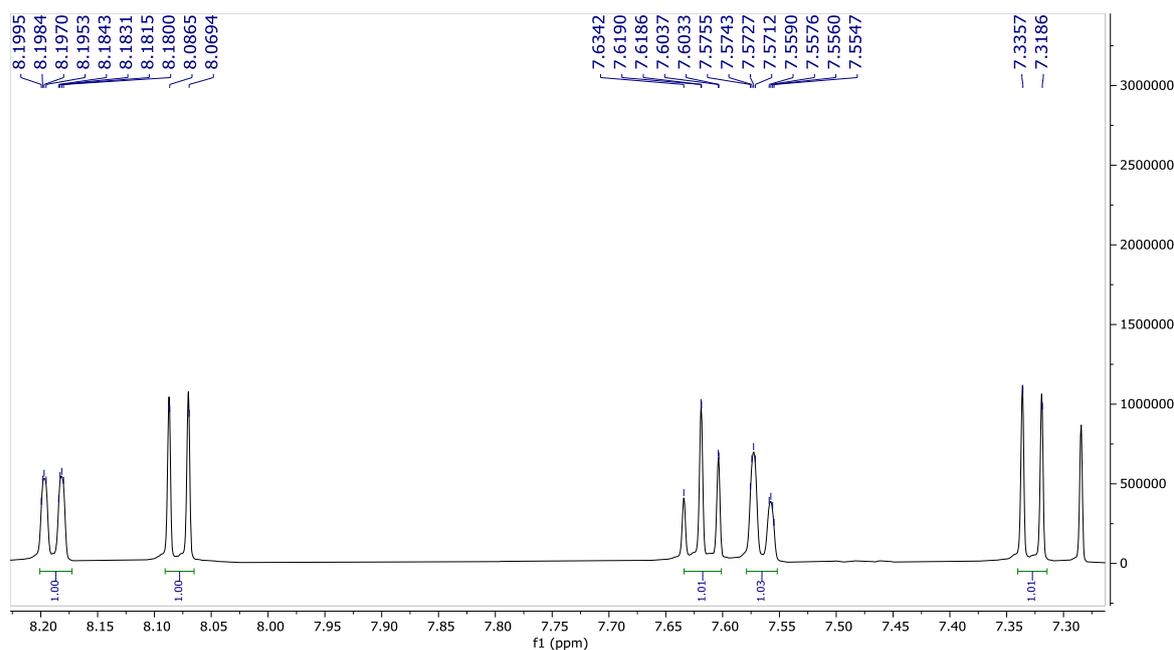


Figura 40. Expansão do espectro de RMN de 1H (500 MHz, $CDCl_3$) da substância 3 na região entre δ_H 8,3-7,1 ppm. **Fonte:** Arquivo pessoal, 2023.

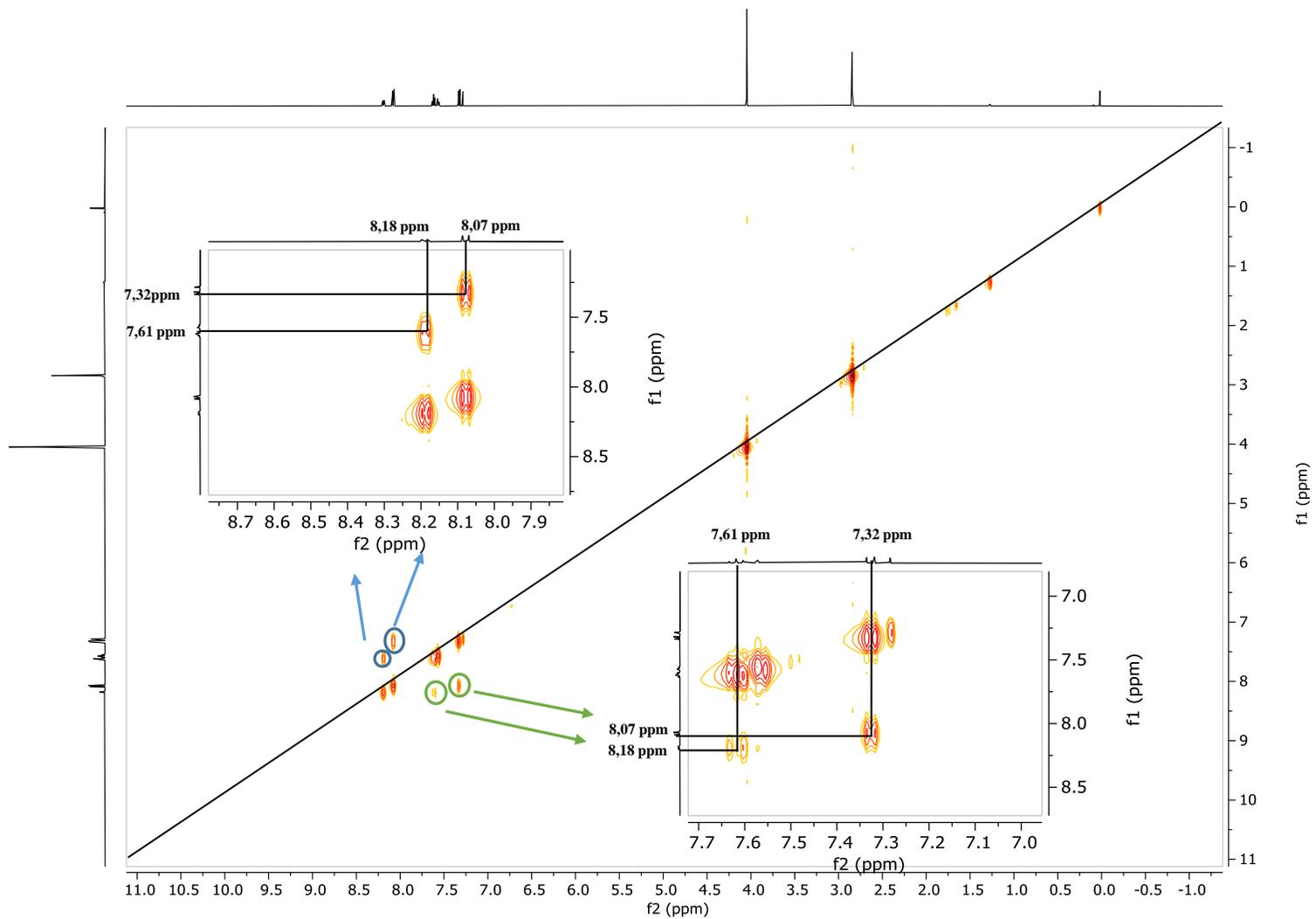


Figura 41. Mapa de correlação COSY ^1H - ^1H e ampliação dos sinais (500 MHz em CDCl_3) da substância 3. **Fonte:** Arquivo pessoal, 2023.

Na figura 42, correspondente ao espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) foram observadas 16 linhas espectrais, e através dos deslocamentos químicos dos carbonos os sinais em δ_{C} 155,4; 146,2; 141,1; 137,8; 134,4; 132,8; 132,8; 127,2; 126,9; 125,6; 125,0 e 119,8 são correspondentes a sinais de carbonos aromáticos e olefínicos. Os sinais em δ_{C} 62,3, característico de uma metoxila e outro em δ_{C} 23,0 correspondentes ao grupo metila. Os sinais em δ_{C} 185,4 e em δ_{C} 182,6 indicaram a presença de carbonos de grupos carbonila, caracterizando um núcleo antraquinônico (SILVA, 2017).

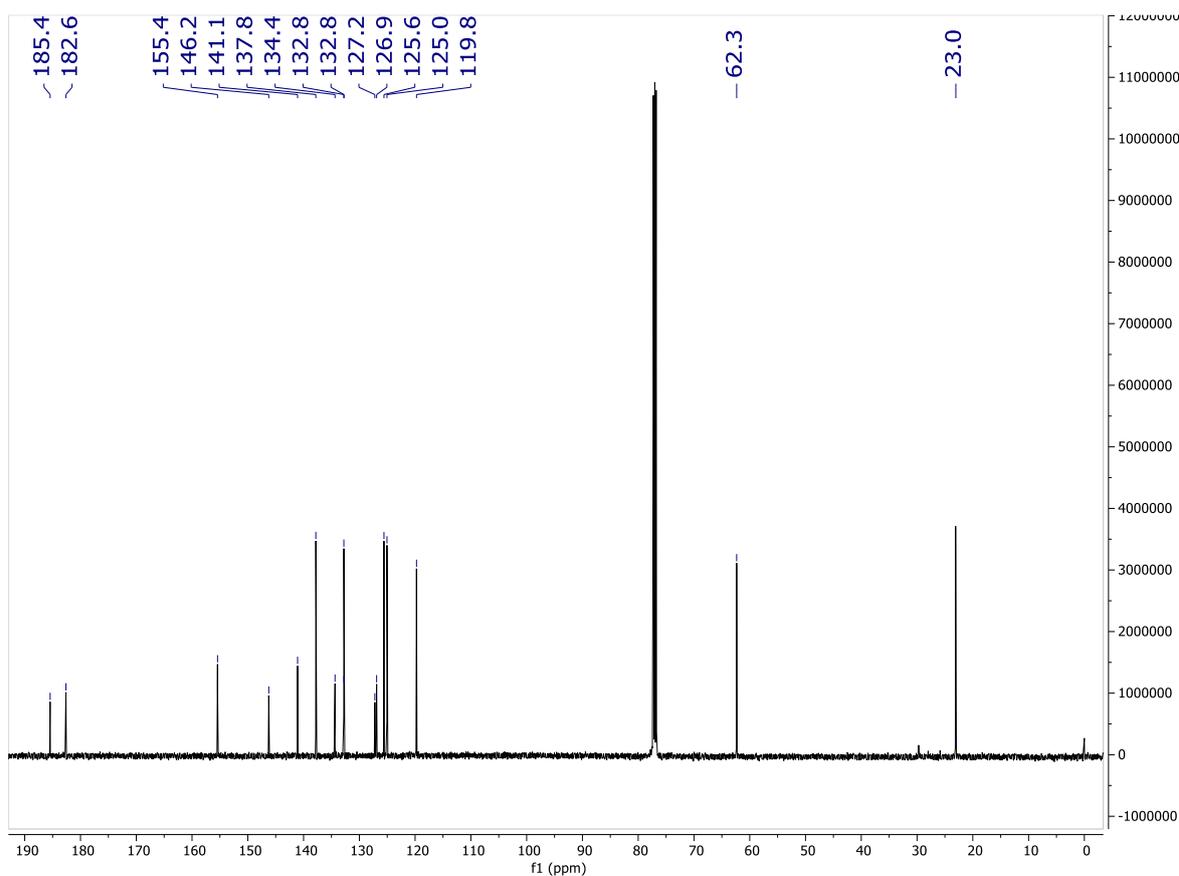


Figura 42. Espectros de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) da substância 3. **Fonte:** Arquivo pessoal 2024.

Por meio do mapa de HSQC (Figura 43), o hidrogênio em δ_{H} 8,07 correlacionou-se com o carbono em δ_{C} 125 correspondendo ao hidrogênio próximo a um grupo carbonila. No espectro de HMBC (Figura 44), este sinal correlacionou-se a 3J com um carbono carboxílico em δ_{C} 182,6 possivelmente do anel quinona. Adicionalmente, esse hidrogênio correlacionou-se a 3J com o carbono oxigenado em δ_{C} 155,4 e com o carbono em δ_{C} 127,2 3J pertencente a junção do anel A e B.

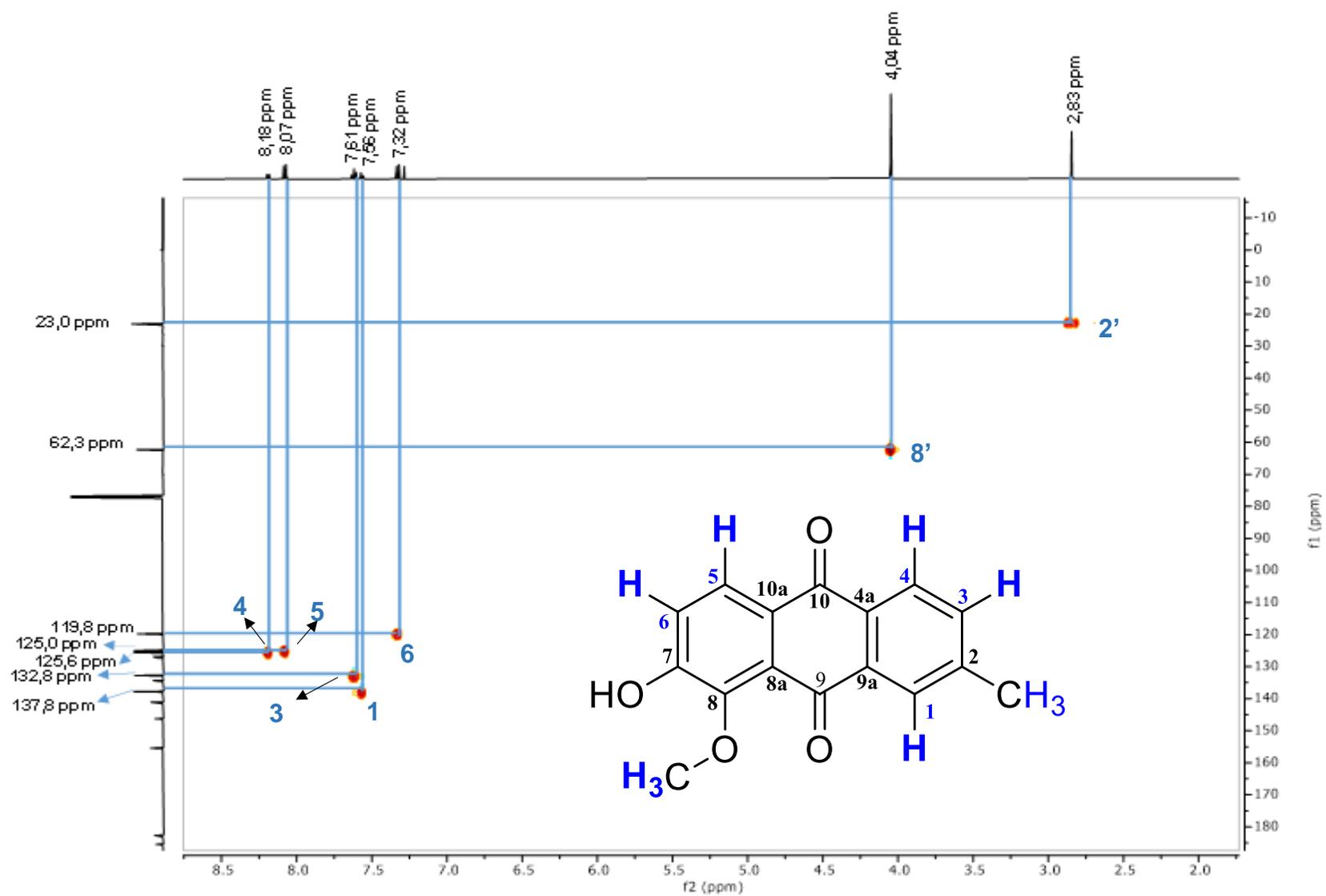


Figura 43. Ampliação do Mapa de correlação HSQC (^1H - 500 MHz; ^{13}C - 125 MHz, em CDCl_3) da substância 3.

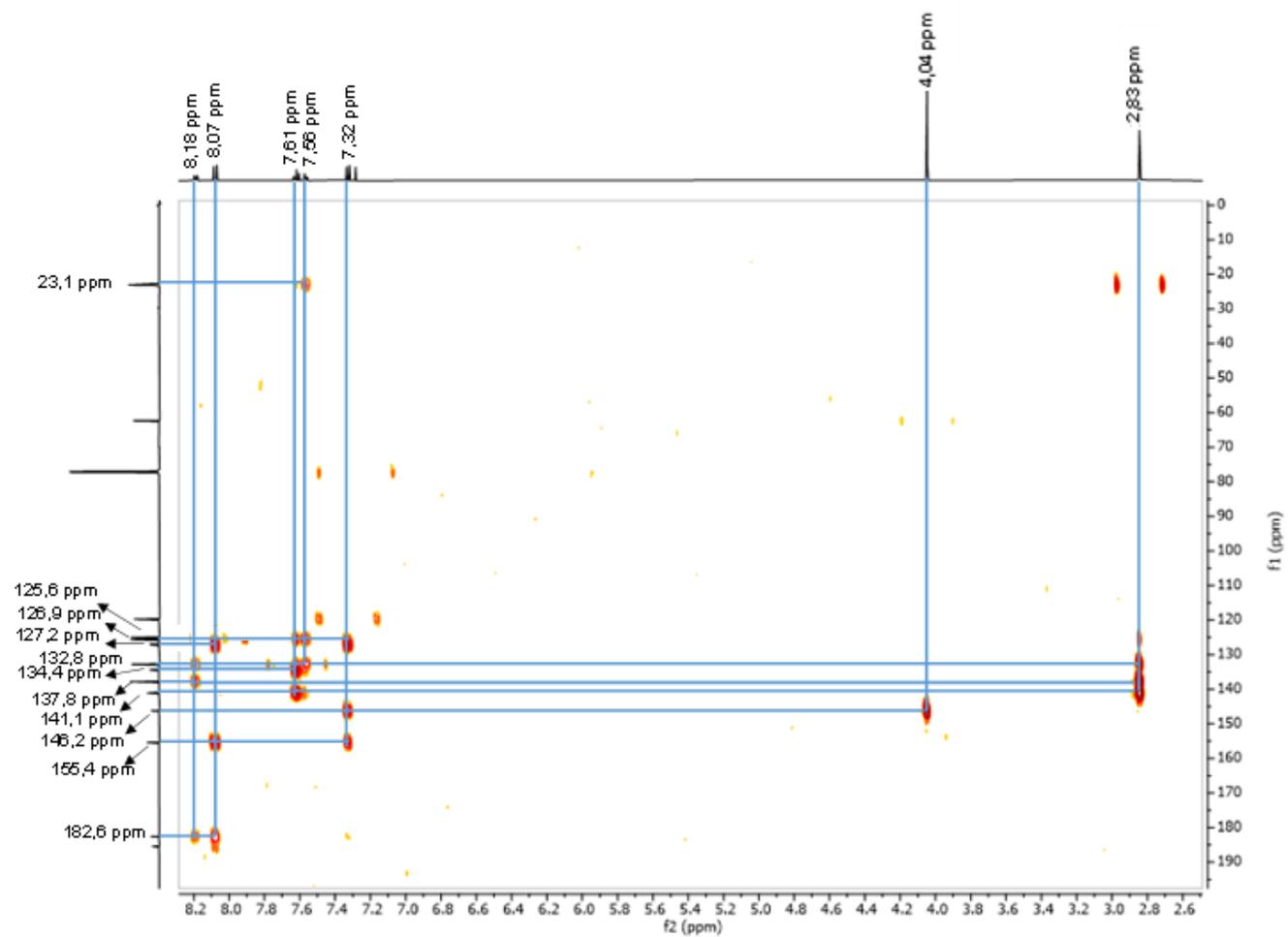


Figura 44. Principais correlações observadas no mapa de correlações HMBC da substância 3.

O hidrogênio em δ_{H} 7,32 (H-6) conectado em δ_{C} 119,8 (C-6) (HSQC), correlacionou-se a 2J com o carbono oxigenado característico em δ_{C} 155,4 (C-7) evidenciando a presença de um grupo (OH). Este sinal de ^1H correlacionou-se a 3J com o carbono em δ_{C} 146,2 (C-8) típico de carbono oxigenado e a 3J com o carbono em δ_{C} 126,9 (10a) sendo um dos carbonos da junção do anel aromático com o anel quinona. A posição da metoxila δ_{H} 4,04 / δ_{C} 62,3 (H-8'; C-8') (HSQC) no anel aromático foi confirmado por meio da correlação a 3J com o carbono δ_{C} 146,2 (C-8). Essas informações sugerem que os carbonos aromáticos com deslocamentos químicos em δ_{C} 146,2 (C-8) e δ_{C} 155,4 (C-7) indicaram a presença de substituintes oxigenados no anel aromático, confirmando que o anel aromático possui quatro substituintes. O espectro COSY (Figura 41) revelou as correlações dos hidrogênios em δ_{H} 8,18 (H-4) com os hidrogênios em δ_{H} 7,61 (H-3). O hidrogênio em δ_{H} 8,18 / δ_{C} 125,6 (H-4; C-4) (HSQC) correlacionou a 2J com o carbono em δ_{C} 132,8 (C-3), em 2J e com carbono da carbonila em δ_{C} 182,6 (C-10). O hidrogênio em δ_{H} 7,61(H-3) correlacionou com o carbono em 2J δ_{C} 125,6 (C-4) e em 3J com os δ_{C} 134,4(C-4a) e 141,1 (C-2). Foi possível identificar a posição da metila na estrutura, através das correlações dos hidrogênios em δ_{H} 2,83 (H-2') com o carbono em δ_{C} 141,1 (C-2), este deslocamento é característico de que o anel é do tipo 2-metil-antraquinona (SHARF, 2014). Dessa forma, foi possível concluir a elucidação da estrutura da substância 3 como 7- hidroxi-8-metoxi-2-metil antraquinona (Figura 45) uma substância já relatada na literatura (KHUBCHANDANI e SRIVASTAVA, 1989).

Após a análise dos dados por espectrometria de massas de alta resolução no modo positivo por inserção direta, a antraquinona isolada apresentou m/z 269 Da $[\text{M}+\text{H}]^+$ (Figura 46), sendo compatível com os dados de RMN de ^1H e ^{13}C (1D/2D) que indicam a fórmula molecular de $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_4$.

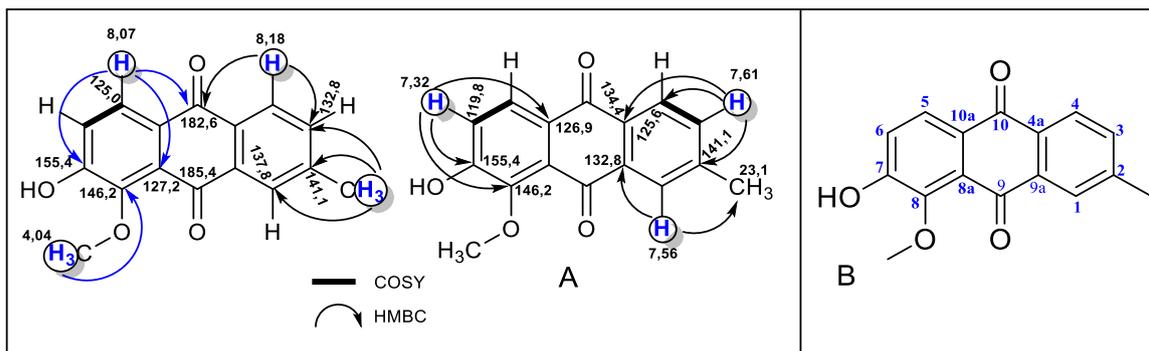


Figura 45. Principais correlações de HMBC da substância 3 (A); composto enumerado (B).

Tabela 5. Dados de RMN de ¹H e ¹³C da substância 3.

Substância 3			
Posição	δ _C - Tipo	δ _H , mult. (J em HZ)	HMBC ¹ H x ¹³ C (posição)
1	137,8 C	7,56, <i>m</i>	132,8 (9a), 23,1 (2'-CH ₃)
2	141,1 C	-	-
3	132,8 CH	7,61, <i>m</i>	125,6 (4), 134,4 (4a) e 141,1 (2)
4	125,6 CH	8,18, <i>m</i>	182,6 (10) e 132,8 (3)
4a	134,4 C	-	-
5	125,0 CH	8,07, <i>d</i> , (8,5 Hz)	182,6 (10), 127,2 (8a), e 155,4 (7)
6	119,8 C	7,32, <i>d</i> , (8,5 Hz)	126,9 (10a), 146,2 (8), e 155,4 (7)
7	155,4 C	-	-
8	146,2 C	-	-
8a	127,2 C	-	-
9	185,4 CH	-	-
9a	132,8 C	-	-
10	182,6 C	-	-
10a	126,9 C	-	-
2'-CH ₃	23,1 CH ₃	2,83, <i>s</i>	137,8 (1), 132,8 (3) e 141,1 (2)
8'-OCH ₃	62,3 CH ₃	4,04, <i>s</i>	146,2 (8)

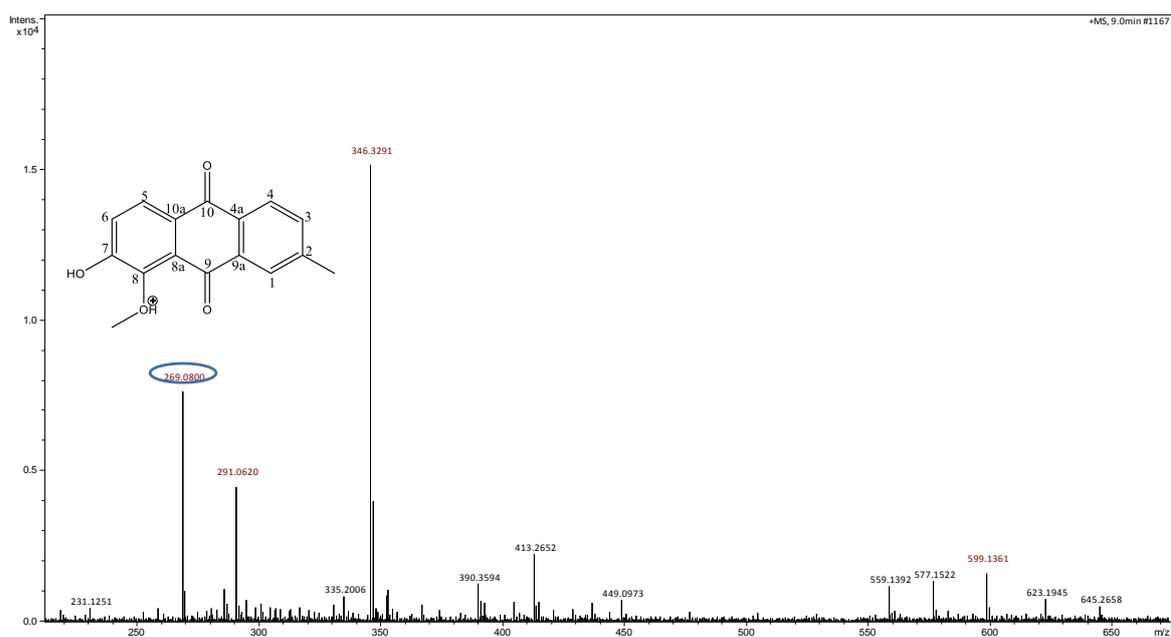


Figura 46. Espectro de massas da substância 3. **Fonte:** arquivo pessoal, 2024.

Através dos espectros de fragmentação da substância 3 (Figura 47) foi possível propor algumas perdas de massa. Possivelmente o íon m/z 269 sofreu uma desmetilação via radicalar resultando no fragmento em m/z 254. O íon m/z 254 ainda apresentou duas perdas neutras sucessivas, a primeira delas resultou na perda CO (28 Da) gerando o íon com m/z 226, e a segunda fragmentação a partir do íon 226 resultou na perda de outro CO (28 Da) gerando o íon com m/z 198. Os mecanismos de fragmentação principais para esses íons estão apresentados na (Figura 48).

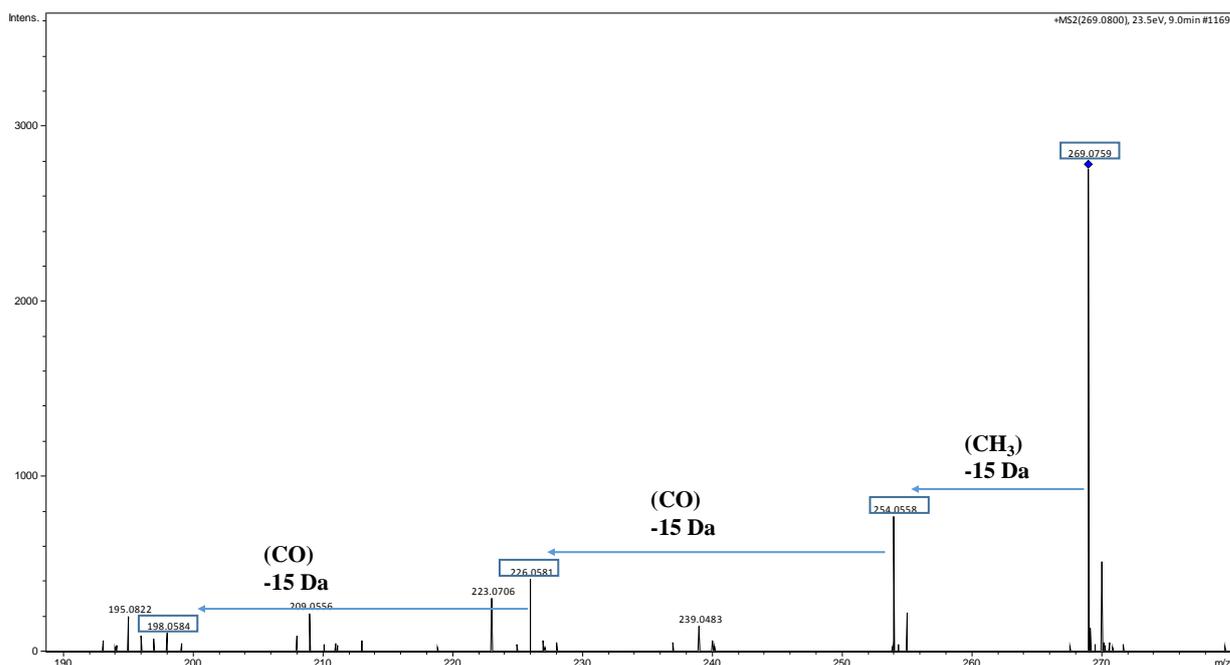


Figura 47. Perfil de fragmentação da substância 3.

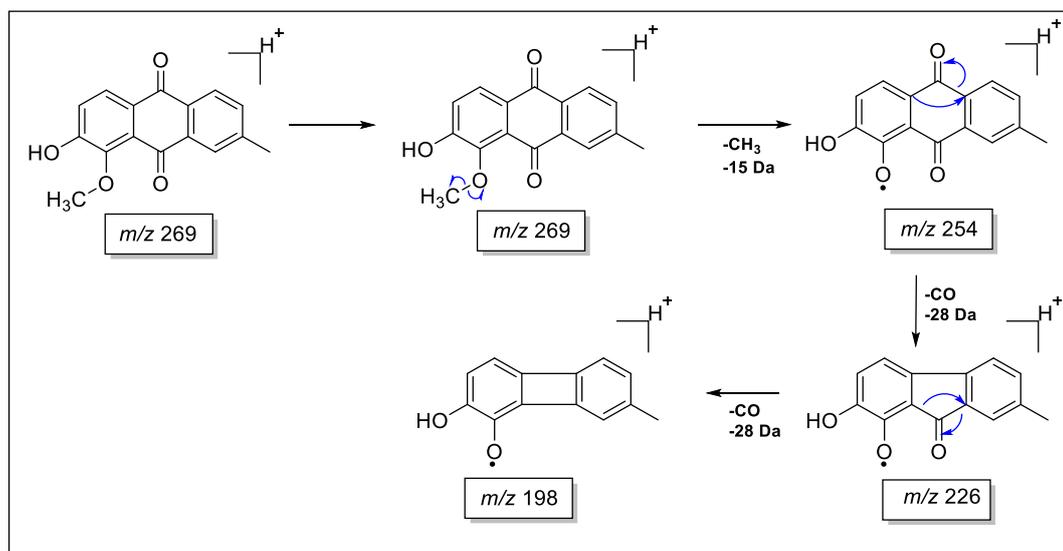


Figura 48. Proposta de fragmentação da substância 3.

5.2.4 Elucidação estrutural da substância 4

Esta substância foi isolado na forma de um pó amorfo de coloração vermelha, pesando 11,0 mg, através da análise preliminar do espectro de ^1H (500 MHz, CDCl_3) (Figura 49) constatou-se a presença de 8 sinais, sendo eles 5 sinais de hidrogênios na região de

sinais em δ_C 61,6 e 56,3, são característicos de metoxilas e outro em δ_C 22,8 correspondentes ao grupo metila. Os sinais em δ_C 185,5 e em δ_C 183,0 indicaram a presença de carbonos de grupos carbonila, caracterizando um núcleo antraquinônico.

Através da análise do espectro bidimensional de correlação homonuclear 1H x 1H - COSY (Figura 53) notou-se correlação entre o hidrogênio em δ_H 8,10 com o hidrogênio em δ_H 7,24. Foram também observadas as correlações entre o hidrogênio em δ_H 8,16 com o hidrogênio em δ_H 7,59.

O espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear 1H , ^{13}C a longa distância (HMBC) da substância 4 (figura 55 e 56), mostrou as correlações entre o hidrogênio em δ_H 8,16 (H-4) com carbonos em δ_C 137,7 (C-1) e 183,0 (C-10); δ_H 8,10 (H-5) com carbonos em δ_C 129,0 (8a), 159,0 (C-7), 183(C-10); o hidrogênio em δ_H 7,59 (H-3) com os carbonos em δ_C 125,3 (C-4), 134,4 (C-4a) e 140,8 (C-2); o hidrogênio em δ_H 7,55 (H-1) com os carbonos em δ_C 140,8 (C-2) e 133,4 (C-4a); o hidrogênio em δ_H 7,24 com os carbonos em δ_C 159,0 (C-7) e 126,8 (C-10a); os hidrogênios em δ_H 4,03 (H-8') com o carbono em δ_C 159,0 (C-7); os hidrogênios em δ_H 4,01 (H-7') com o carbono em δ_C 149,0 (C-8) e os hidrogênios em δ_H 2,83 (H-2') com os carbonos em δ_C 140,8 (C-2), 133,6 (C-9a) e 137,7 (C-1).

Após a análise dos dados por espectrometria de massas de alta resolução no modo positivo por inserção direta, a antraquinona isolada apresentou m/z 283 Da $[M+H]^+$ (figura 58), compatível com os dados de RMN de 1H e ^{13}C (1D/2D) que indicam a fórmula molecular de $C_{17}H_{14}O_4$. Com base nesses dados, foi possível concluir que a substância 4 é uma antraquinona denominada 7,8-dimetoxi-2-metil antraquinona (figura 51), uma substância já isolada anteriormente (Primus *et al.*, 2024).

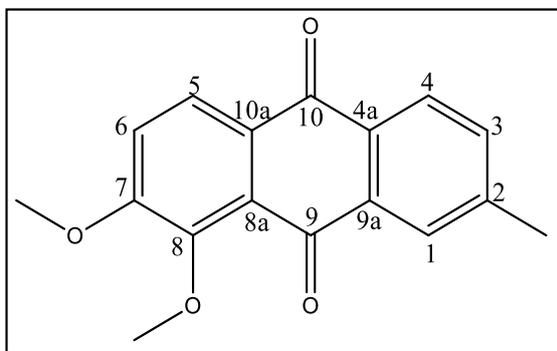


Figura 51. 7,8-dimetoxi-2-metil antraquinona

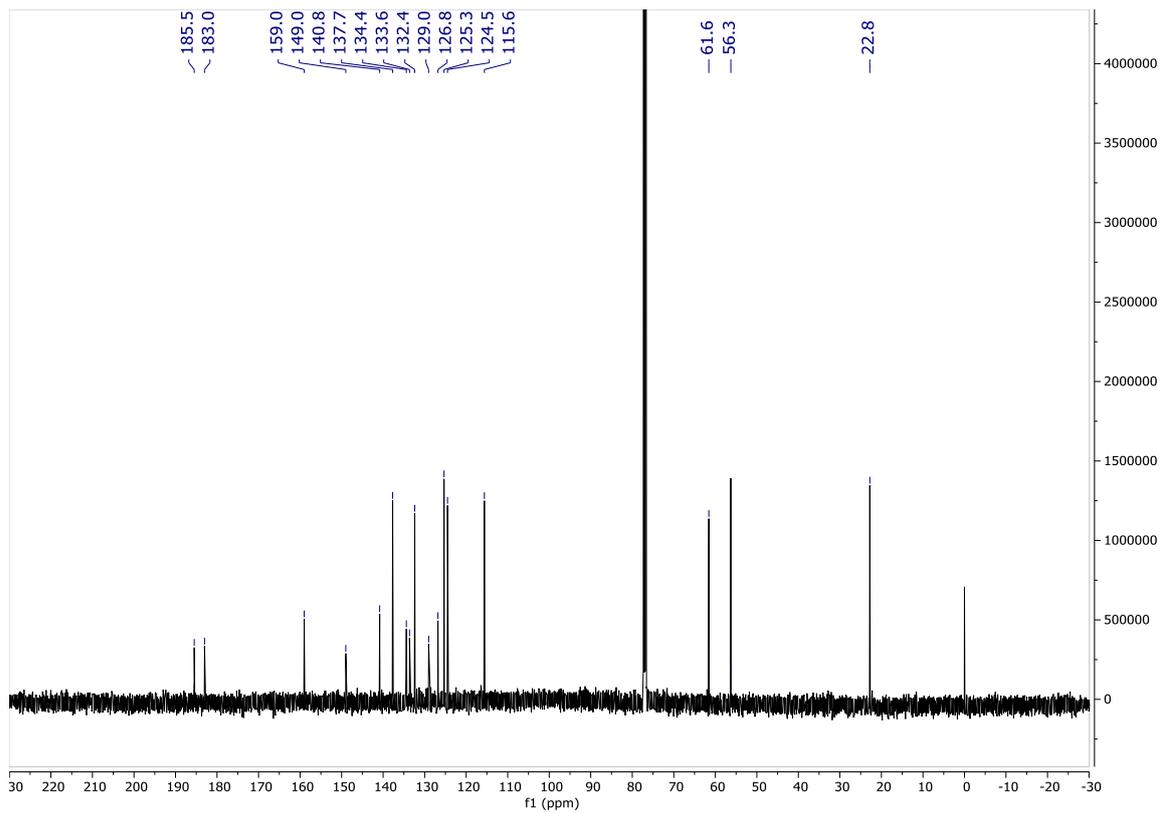


Figura 52. Espectros de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) da substância 4. **Fonte:** Arquivo pessoal 2024.

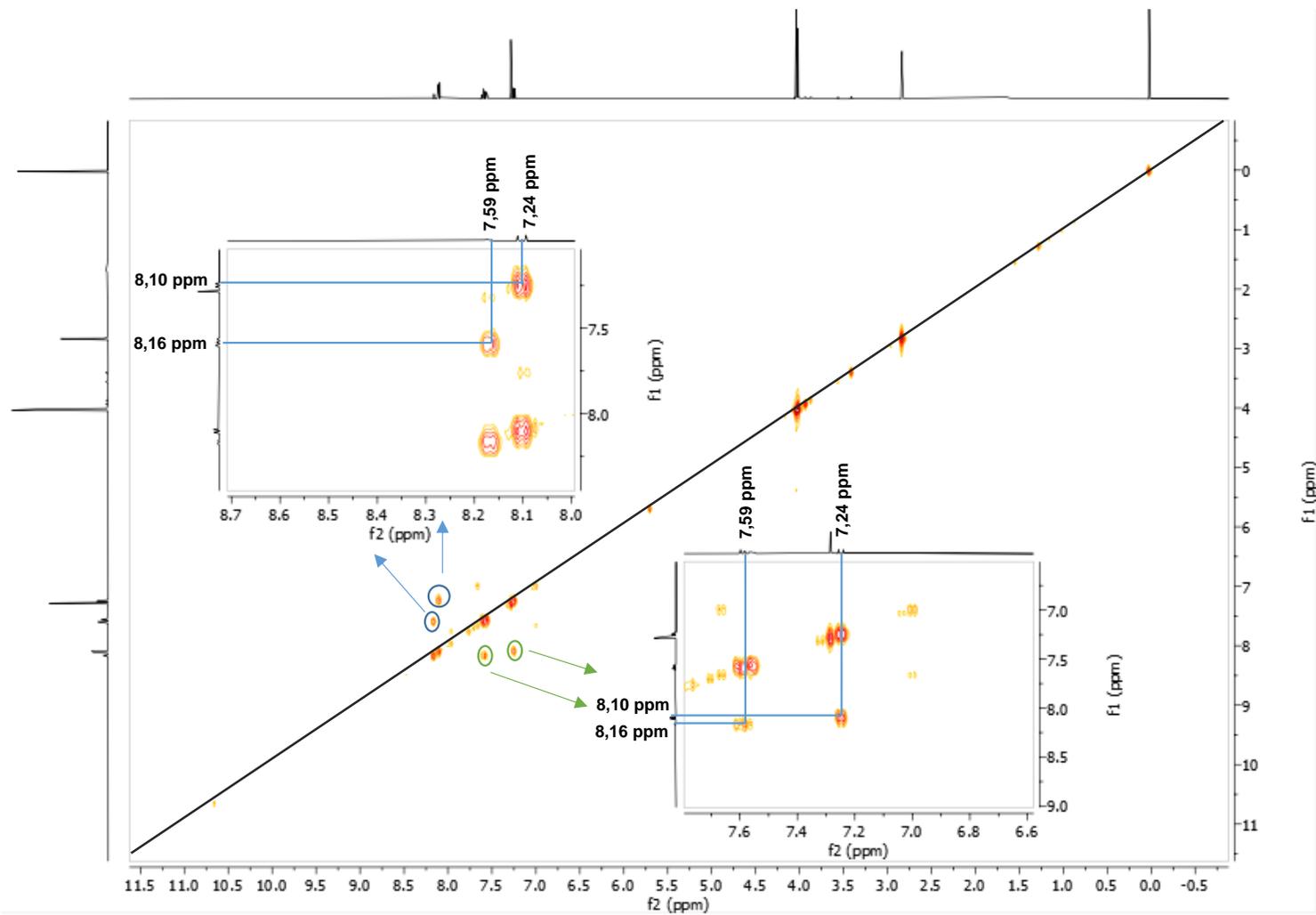


Figura 53. Mapa de correlação COSY ^1H - ^1H (500 MHz em CDCl_3) da substância 4. **Fonte:** Arquivo pessoal, 2024.

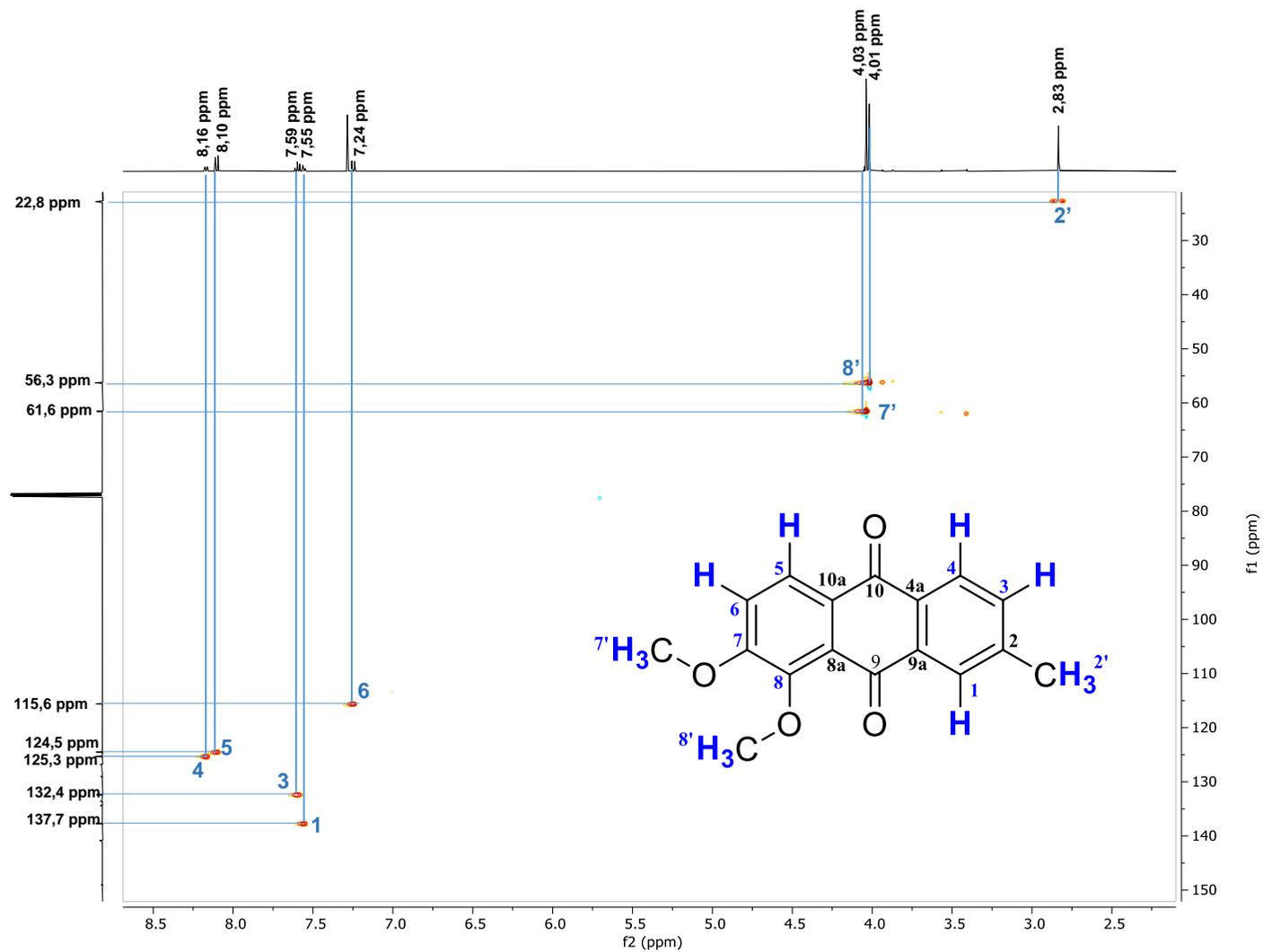


Figura 54. Ampliação do Mapa de correlação HSQC (^1H - 500 MHz; ^{13}C - 125 MHz, em CDCl_3) da substância 4. Fonte: Arquivo pessoal, 2024.

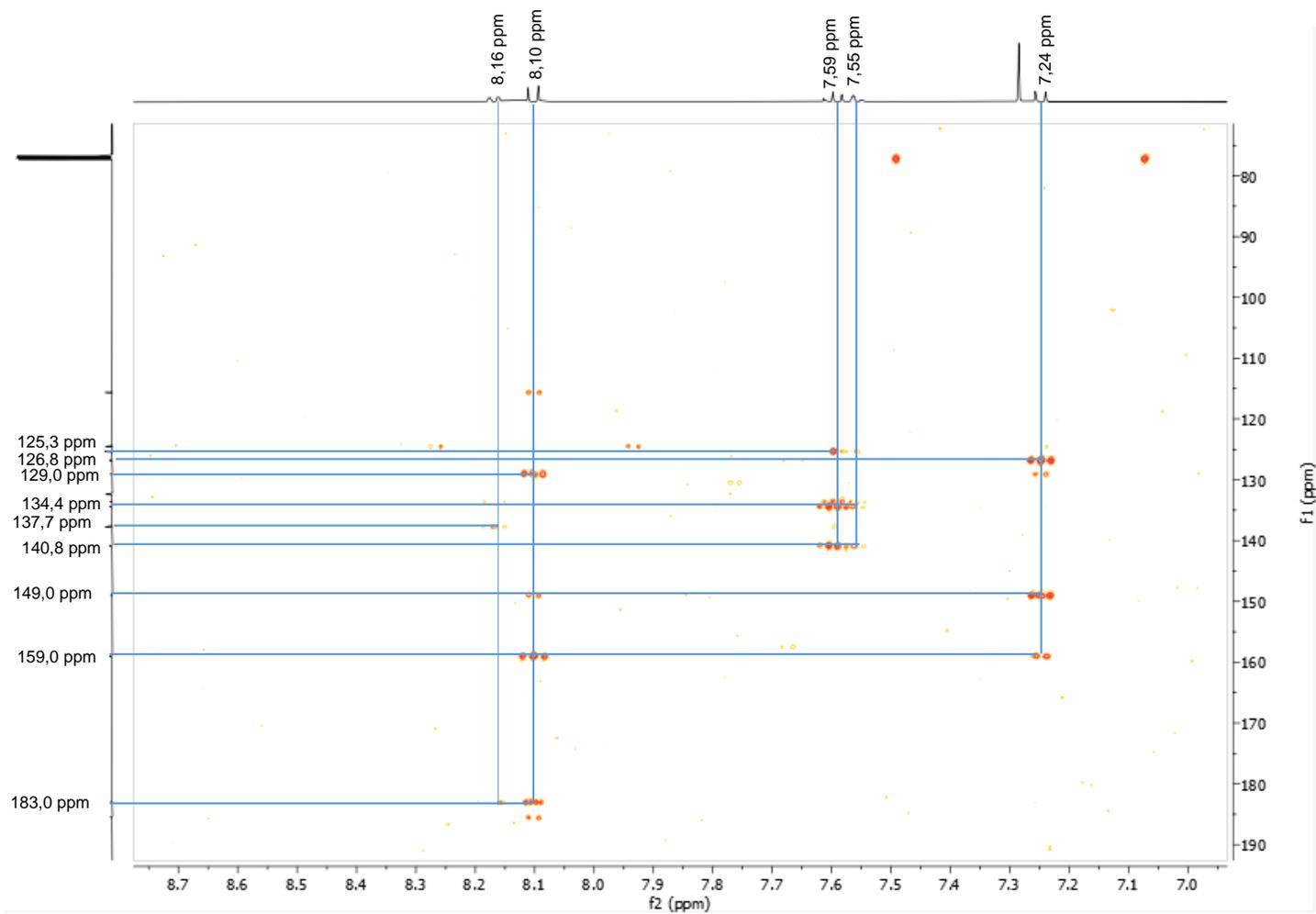


Figura 55. Mapa de correlação HMBC (^1H - 500 MHz; ^{13}C - 125 MHz, em CDCl_3) da substância 4 na região de aromáticos. **Fonte:** Arquivo pessoal, 2024.

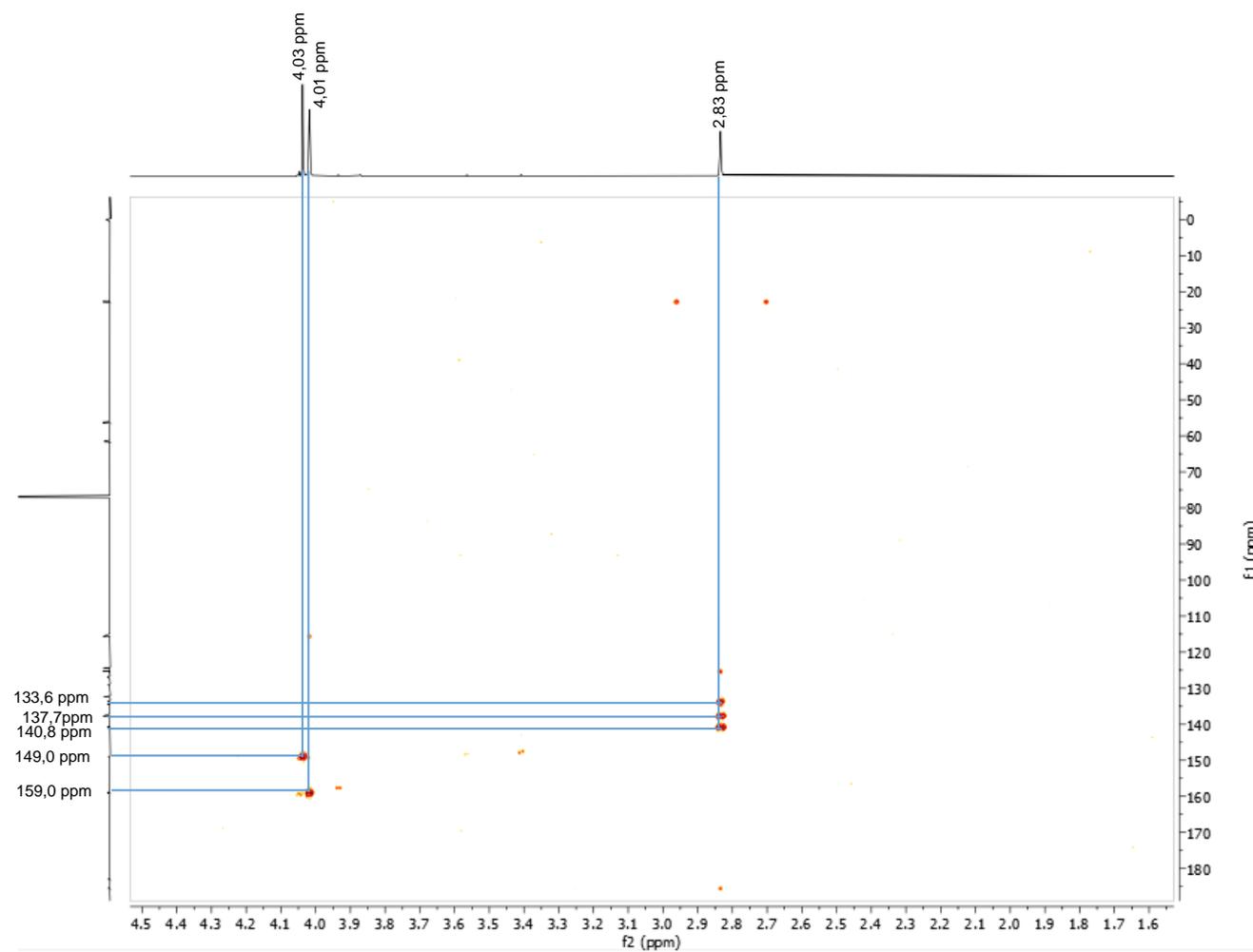


Figura 56. Mapa de correlação HMBC (^1H - 500 MHz; ^{13}C - 125 MHz, em CDCl_3) da substância 4 na região de alifáticos. **Fonte:** Arquivo pessoal, 2024.

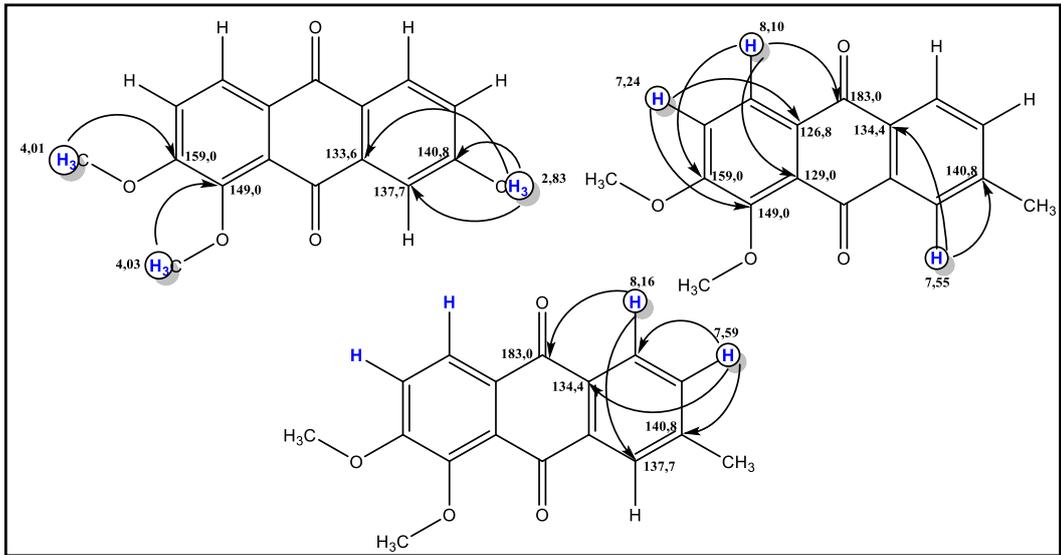


Figura 57. Principais correlações de HMBC da substância 4. **Fonte:** Arquivo pessoal, 2024.

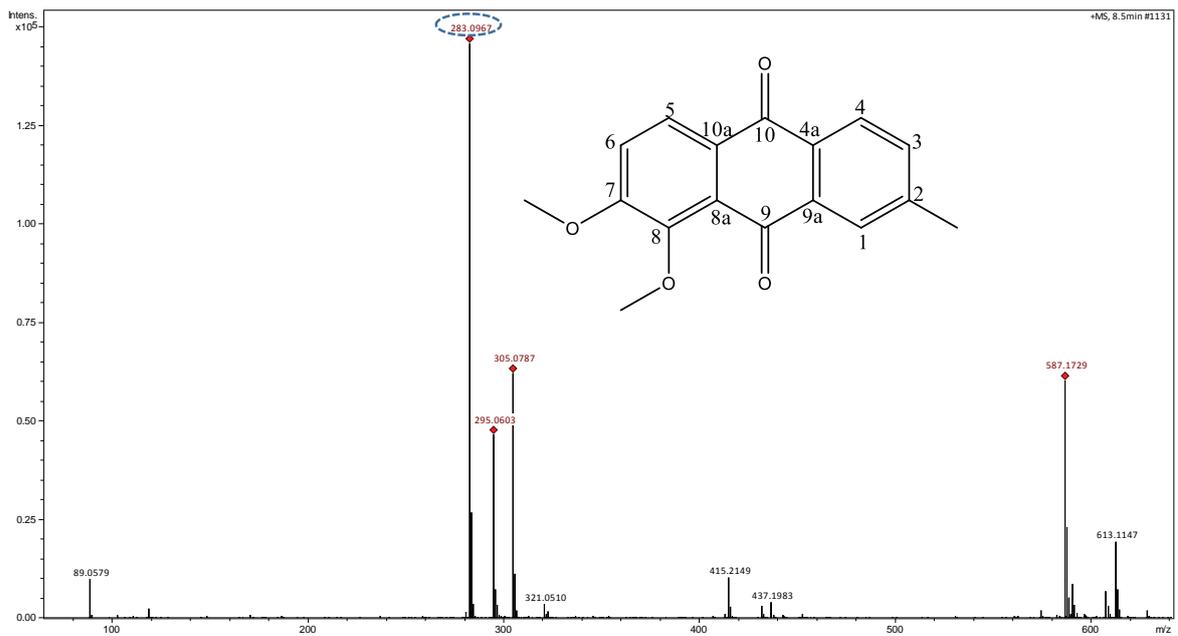


Figura 58. Espectro de massas da substância 4. **Fonte:** arquivo pessoal, 2024.

Tabela 6. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C da substância 4.

Substância 4			
Posição	δ_{C} - Tipo	δ_{H} , mult. (J em HZ)	HMBC ^1H x ^{13}C (posição)
1	137,7 C	7,55, <i>m</i>	134,4 (4a), 140,8 (2)
2	140,8 C	-	-
3	132,4 CH	7,59, <i>m</i>	125,3 (4), 140,8 (2) e 134,4 (4a)
4	125,3 CH	8,16, <i>m</i>	183,0 (10) e 137,7 (1)
4a	134,4 C	-	-
5	124,5 CH	8,10, <i>d</i> , (8,5 Hz)	183,0 (10), 129 (8a), e 159,0 (7)
6	115,6 C	7,24, <i>d</i> , (8,5 Hz)	126,8 (10a) e 159,0 (7)
7	159,0 C	-	-
8	149,0 C	-	-
8a	129,0 C	-	-
9	185,5 CH	-	-
9a	133,6 C	-	-
10	183,0 C	-	-
10a	126,8 C	-	-
2'-CH ₃	22,8 CH ₃	2,83, <i>s</i>	133,6 (9a), 137,7 (1) e 140,8 (2)
7'-OCH ₃	56,3 CH ₃	4,01, <i>s</i>	159,0 (7)
8'-OCH ₃	61,6 CH ₃	4,03, <i>s</i>	149,0 (8)

5.2 Investigação da citotoxicidade *in vitro* das substâncias isoladas de *P. jasminifolia*.

Tabela 7 apresenta os dados de CI_{50} obtidos em nosso programa de triagem de drogas citotóxicas. De acordo com os critérios estabelecidos por Suffness e Pezzuto (1990) e Boik (2001), consideramos promissores os extratos que apresentam valores de CI_{50} inferiores a 30 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Para os compostos puros, a marca de CI_{50} considerada promissora é ainda mais rigorosa, sendo inferior a 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Esses parâmetros são essenciais para identificar substâncias com potencial terapêutico significativo na luta contra o câncer e outras doenças.

As substâncias 1-4 foram examinados quanto à sua capacidade de inibir células cancerígenas *in vitro*, especificamente as linhagens tumorais de carcinoma do cólon humano (HCT116), carcinoma hepático humano (HepG2) e fibroblastos pulmonares humanos (MRC-5), sendo os resultados detalhados na Tabela 7.

Os resultados mostraram que as substâncias 1 e 2, que possuem um núcleo oxepínico no anel C, exibiram atividades citotóxicas significativas. Em particular, a substância 1 apresentou valores de CI_{50} de 2,60 μM contra a linhagem tumoral HCT116 e 1,86 μM contra a linhagem HepG2, enquanto a substância 2 apresentou CI_{50} de 4,29 μM e 6,43 μM , respectivamente. Esses valores são considerados promissores, sugerindo que o núcleo oxepínico desempenha um papel crucial na atividade antitumoral desses compostos.

Estudos de acoplamento molecular corroboraram esses achados, indicando que o núcleo oxepínico pode facilitar interações específicas com a enzima tirosina quinase do receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR-TK), o que potencializa a atividade citotóxica.

Por outro lado, as substâncias 3 e 4, que possuem uma 2-metil-antraquinona no anel C, não demonstraram atividade citotóxica significativa. Isso sugere que a substituição do anel oxepínico pela 2-metil-antraquinona compromete a capacidade do composto de inibir efetivamente as células cancerígenas testadas.

É importante notar que as substâncias 1 e 3 compartilham a mesma estrutura no anel A, assim como as substâncias 2 e 4. Portanto, a variação na atividade citotóxica não pode ser atribuída às diferenças na estrutura do anel A, mas sim à presença ou ausência do núcleo oxepínico no anel C.

Em conclusão, a análise da relação estrutura-atividade evidenciou que o núcleo oxepínico presente nos compostos 1 e 2 é determinante para a sua eficácia citotóxica contra as células cancerígenas HCT116 e HepG2. A ausência de atividade citotóxica nos compostos 3 e 4 reforça a importância do núcleo oxepínico, sugerindo que futuras investigações sobre compostos citotóxicos devem considerar a inclusão dessa estrutura para potencializar a atividade antitumoral.

Tabela 7. Atividade citotóxica das substâncias 1-4

Substâncias	CI ₅₀ (µM)		
	HCT116	HepG2	MRC-5
1	2,60	1,86	8.16
2	4,29	6,43	>10
3	>10	>10	>10
4	>10	>10	>10
doxorubicina	0.72	0.66	3.53

A tabela apresenta os valores de CI₅₀ (concentração inibitória média) e seus respectivos intervalos de confiança de 95%, obtidos a partir de três experimentos independentes realizados em duplicata. Esses experimentos utilizou-se o método do Alamar Blue após 72 horas de exposição às células HCT116 (carcinoma de cólon humano), HepG2 (carcinoma de fígado humano) e MRC-5 (fibroblasto de pulmão humano). Os valores foram determinados por regressão não-linear usando o programa GraphPad Prism versão 5.0. A doxorubicina (DOX) foi usada como controle positivo.

6. CONCLUSÃO

O estudo fitoquímico do extrato acetato de etila proveniente das raízes de *P. jasminifolia*, resultou no isolamento de quatro substâncias pertencente a classe das quinonas sendo duas substâncias inéditas: pleonotoquinona A e B e duas antraquinonas conhecidas denominadas como, 7- hidroxí-8-metoxi-2-metil antraquinona e 7,8- dimetoxi-2-metil antraquinona.

Através dos resultados obtidos na análise de citotoxicidade *in vitro*, a substâncias 1 e 2 apresentaram atividades pronunciada com valores de CI_{50} 2,6 μM , 4,3 μM para linhagens de células de carcinoma de cólon humano HCT116 e contra células de câncer de fígado humano HepG2, apresentaram CI_{50} de 6,4 μM , 1,9 μM , respectivamente. Os resultados obtidos indicam que a espécie *P. jasminifolia* é uma fonte promissora de substâncias bioativas com potencial atividade citotóxica.

Este estudo ressalta a importância de continuar a pesquisa e o isolamento de novas substâncias para possibilitar a produção de novos medicamentos com ação citotóxica. Além disso, o estudo amplia o conhecimento quimiotaxonômico da família Bignoniaceae, especialmente para o gênero *Pleonotoma*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHMED, S. A.; GOGAL, R.M.; WALSH, J.E. A new rapid and simple non-radioactive assay to monitor and determine the proliferation of lymphocytes an alternative to [3H] thymidine incorporation assay. **Journal of immunological methods**, v. 170, p. 211 - 224, 1994.

AL, HARVEY. Natural Products in drug discovery. **Drug Discov. Today**, v. 13, p. 894-901, 2008.

ALI, M. S.; UZAIR, S. S.; KREBS, H. C.; JAHANGIR, M.; HABERMEHL, G. G. Eleganoside-A, B and C from *Pseudocalymma elegans*, a native of Brazil. **Phytochemistry**, v. 55, n. 4, p. 359-362, 2000.

ALI, S.; EL-AHMADY, S.; AYOUB, N.; SINGAB, A. Phytochemicals of *Markhamia* species (Bignoniaceae) and their therapeutic value: a review. **European Journal of Medicinal Plants**, v. 6, n. 3, p. 124-142, 2015.

ALTOÉ, T. D. P. **Estudo químico-biológico de *Pyrostegia venusta* (Ker Gawl.) Miers (Bignoniaceae)**. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Exatas, Vitória, 2014, 119 p.

ALVES, M. S. M.; MENDES, P. C.; VIEIRA, J. G. D. P.; OZELA, E. F.; BARBOSA, W. L. R.; SILVA JÚNIOR, J. O. C. Análise farmacognóstica das folhas de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt., Bignoniaceae. **Revista brasileira de farmacognosia**, v. 20, p. 215-221, 2010.

AMADO, N. G.; F.; CERQUEIRA, D. M.; NETO, V. M.; ABREU, J. G. Flavonoids: potential wnt/beta-catenin signaling modulators in cancer. **Life Sci.** v. 89, n. 15-16, p. 545-554, 2011.

AMININ, D.; POLONIK, S. 1,4-Naphthoquinones: Some biological properties and application. **Chemical and Pharmaceutical bulletin**, v. 68, n. 1, p. 46-57, 2020.

ANDRADE, F. M. C.; CASALI, V. W. D. **Plantas medicinais e aromáticas: relação com o ambiente, colheita e metabolismo secundário**. 1999.

ANDRADE, J. P. C.; ALVES, O. J. A.; COSTA, M. C.; GIMENEZ, V. M. M.; SQUARISI, I. S.; NICOLELLA, H. D., PAULETTI, P. M. Chemical study of *Adenocalymma axillarum* crude leaf extract and isolated compounds. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 58, 2020.

ARAÚJO, E. L.; ALENCAR, J. R. B.; ROLIM NETO, P. J. Lapachol: segurança e eficácia na terapêutica. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 12, p. 57-59, 2002.

ARON, A. T.; GENTRY, E. C.; MCPHAIL, K. L.; NOTHIAS, L. F.; NOTHIAS-ESPOSITO, M.; BOUSLIMANI, A.; PETRAS, D.; GAUGLITZ, J. M.; SIKORA, N.; VARGAS, F.; VAN DER HOOFT, J. J. J.; ERNST, M.; KANG, K. B.; ACEVES, C. M.; CARABALLO-RODRÍGUEZ, A. M.; KOESTER, I.; WELDON, K. C.; BERTRAND, S.; ROULLIER, C.; SUN, K.; TEHAN, R. M.; BOYA, P. C. A.; CHRISTIAN, M. H.; GUTIÉRREZ, M.; ULLOA, A. M.; MORA, J. Á T.; MOJICA-FLORES, R.; LAKEY-BEITIA, J.; VÁSQUEZ-CHAVES, V.; ZHANG, Y.; CALDERÓN, A. I.; TAYLER, N.; KEYZERS, R. A.; TUGIZIMANA, F.; NDLOVU, N.; AKSENOV, A. A.; JARMUSCH, A. K.; SCHMID, R.; TRUMAN, A. W.; BANDEIRA, N.; WANG, M. Reproducible molecular networking of untargeted mass spectrometry data using GNPS. **Nature protocols**, v. 15, p. 1954-1991, 2020.

ARRUDA, A. L. A. Contribuição ao estudo de atividade biológica de *jacaranda cuspidifolia* mart. (Bignoniaceae). 2009. 105 f., il. Tese (Doutorado em Ciências da Saúde) -Universidade de Brasília, Brasília, 2009.

ARRUDA, A. L. A.; S, D. G.; VIEIRA, C. J. B.; OLIVEIRA, R. F.; PAVAN, F. R.; FUJIMURA, C. Q. L.; CASTILHO, R. O. Análise fitoquímica e atividade antimicobacteriana de extratos metanólicos de *Jacaranda cuspidifolia* Mart. (Bignoniaceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, p. 276-281, 2012.

AZAN, M. A.; GHANIM, A. Flavones from leaves of *Tecomella undulata* (Bignoniaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 28, n. 8, p. 803-804, 2000.

BEZERRA, G. B. Síntese, caracterização, e potencial antimicrobiano de complexo de vanádio e ferro, tendo como ligantes produtos naturais. 2016. 98 f. **Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Química)** - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

BHASIN, D.; CHETTIAR, S. N.; ETTER, J. P.; MOK, M.; LI, P. K. Anticancer activity and SAR studies of substituted 1, 4-naphthoquinones. **Bioorganic & medicinal chemistry**, v. 21, n. 15, p. 4662-4669, 2013.

BLATT, C. T.; SALATINO, A.; SALATINO, M. L. Flavonoids of *Tabebuia caraiba* (Bignoniaceae). **Biochemical systematics and ecology**, v. 1, n. 24, p. 89, 1996.

BOIK, J. Natural compounds in cancer therapy. Oregon Medical Press, Minnesota, USA, p. 25, 2001.

BRANDÃO, H. N.; DAVID, J. P.; COUTO, R. D.; NASCIMENTO, J. A.; DAVID, J. M. Química e farmacologia de quimioterápicos antineoplásicos derivados de plantas. **Química nova**, v. 33, p. 1359-1369, 2010.

BRAY, F.; LAVERSANNE, M.; WEIDERPASS, E.; SOERJOMATARAM, I. The ever-increasing importance of cancer as a leading cause of premature death worldwide. **Cancer**, v. 127, n. 16, p. 3029-3030, 2021.

BRUNETON, J. **Pharmacognosy, phytochemistry, medicinal plants**. Lavoisier publishing, 1995.

CAI, X. H.; LUO, X. D.; ZHOU, J.; HAO, X. J. Quinones from *Chirita eburnea*. **Journal of natural products**, v. 68, n. 5, p. 797-799, 2005.

CARVALHO, C.; MATTA, S.; MELO, F.; ANDRADE, D.; CARVALHO, L.; NASCIMENTO, P.; ROSA, M. Cipó-cravo (*Tynnanthus fasciculatus* Miers–Bignoniaceae): estudo fitoquímico e toxicológico envolvendo *Artemia salina*. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 6, n. 1, 2009.

CASOTI, R. **Estudo farmacognóstico de *Pithecoctenium echinatum* (Jacq.) Baill.** Dissertação (mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria-RS, 2012.

CHENNA, P. H.; DOCTOROVICH, V.; BAGGIO, R. F.; GARLAND, M. T.; BURTON, G. Preparation and Cytotoxicity toward Cancer Cells of Mono (arylimino) Derivatives of α -Lapachone. **Journal Medicinal Chemistry**, v. 44, n. 15, p. 2486-2489, 2001.

CHING, F. P.; OMOGBAI, E.; OTOKITI, I. Aqueous stem bark extract of *Stereospermum kunthianum* (Cham, Sandrine Petit) protects against generalized seizures in pentylenetetrazole and electro-convulsive models in rodents. **African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines**, v. 6, n. 4, 2009

CHOUDHURY, S.; DATTA, S.; TALUKDAR, A. D.; CHOUDHURY, M. D. Phytochemistry of the Family Bignoniaceae-A review. **Assam University Journal of Science and Technology**, v. 7, n. 1, p. 145-150, 2011.

CIPRIANI, F. A.; FIGUEIREDO, M. R.; SOARES, G. L. G.; KAPLAN, M. A. C. Implicações químicas na sistemática e filogenia de Bignoniaceae. **Química Nova**, v. 35, p. 2125-2131, 2012.

COSTA-LOTUFO, L. V.; MONTENEGRO, R. C.; ALVES, A. P. N.; MADEIRA, S. V. F.; PESSOA, C.; MORAES, M. E. A.; MORAES, M. O. A contribuição dos produtos naturais como fonte de novos fármacos

anticâncer: estudos no Laboratório Nacional de Oncologia Experimental da Universidade Federal do Ceará. **Revista Virtual de Química**, v. 2, n. 1, p. 47-58, 2010.

DA CRUZ, A. F. G.; REIS, A. C. C.; SOUSA, J. A. C.; VAZ, L. B. A.; DE MELLO SILVA, B.; DE BRITO MAGALHÃES, C. L.; BRANDÃO, G. C. High-Resolution Mass Spectrometry Identification and Characterization of Flavonoids from *Fridericia chica* Leaves Extract with Anti-Arbovirus Activity. *Molecules*, v. 27, n. 18, p. 6043, 2022.

DA SILVA, I. C. V.; DA SILVA, I. C. V.; COSTA, S. O uso de fitoterápicos aliados para o tratamento do alzheimer. **Revista da Faculdade de Medicina de Teresópolis**, v. 6, n. 1, 2022.

DAR, A. A.; ARUMUGAM, N. Lignans of sesame: purification methods, biological activities and biosynthesis—a review. **Bioorganic chemistry**, v. 50, p. 1-10, 2013.

DE ANDRADE LIMA, C. S.; AMORIM, E. L. C.; NASCIMENTO, S. C.; ARAÚJO, C. F.; AGRA, M. F.; BARBOSA-FILHO, J. M.; SILVA, M. S.; DA-CUNHA, E. V. L.; CURCINO VIEIRA, I. J.; BRAZ-FILHO, R.. Cytotoxic pyranonaphthoquinones from *Melloa quadrivalvis* (Bignoniaceae). **Natural Product Research**, v. 19, n. 3, p. 217-222, 2005.

DE LIMA DAVID, J. P.; NASCIMENTO, J. A. P.; DAVID, J. M. Produtos fitoterápicos: uma perspectiva de negócio para a indústria, um campo pouco explorado pelos farmacêuticos. **Infarma-Ciências Farmacêuticas**, v. 16, n. 9/10, p. 71-76, 2013.

DE MORAES, L. G.; ALONSO, A. M.; OLIVEIRA-FILHO, E. C. Plantas medicinais no tratamento do câncer: uma breve revisão de literatura. *Universitas: Ciências da Saúde*, v. 9, n. 1, p. 77-99, 2011.

DE OLIVEIRA, A. B.; RASLAN, D. S.; DE OLIVEIRA, G. G.; MAIA, J. G. S. Lignans and naphthoquinones from *Tabebuia incana*. **Phytochemistry**, v. 34, n. 5, p. 1409-1412, 1993.

DÍAZ, FREDYC; MEDINA, JOSÉ D. Furanonaphthoquinones from *Tabebuia ochracea* ssp. *neochrysantha*. **Journal of natural products**, v. 59, n. 4, p. 423-424, 1996.

DOS SANTOS, D. S.; RODRIGUES, M. M. F. Atividades farmacológicas dos flavonoides: um estudo de revisão. **Estação Científica (UNIFAP)**, v. 7, n. 3, p. 29-35, 2017.

DURAK, Z. E.; BÜBER, S.; DEVRIM, E.; KOCAOĞLU, H.; DURAK, I. Aqueous extract from *taxus baccata* inhibits adenosine deaminase activity significantly in cancerous and noncancerous human gastric and colon tissues. **Pharmacognosy Magazine**, v. 10, p. 214-216, 2014.

DURÁN, A. G.; CHINCHILLA, N.; SIMONET, A. M.; GUTIÉRREZ, M. T.; BOLÍVAR, J.; VALDIVIA, M. M.; MOLINILLO, J. M. G.; MACÍAS, F. A.. Biological Activity of Naphthoquinones Derivatives in the Search of Anticancer Lead Compounds. **Toxins**, v. 15, n. 5, p. 348, 2023.

DUROUX, L.; DELMOTTE, F. M.; LANCELIN, J. M.; KÉRAVIS, G.; JAY-ALLEMAND, C. Insight into naphthoquinone metabolism: β -glucosidase-catalysed hydrolysis of hydrojuglone β -D-glucopyranoside. **Biochemical Journal**, v. 333, n. 2, p. 275-283, 1998.

EL-HOSSARY, E. M.; CHENG, C.; HAMED, M. M.; EL-SAYED HAMED, A. N.; OHLSEN, K.; HENTSCHEL, U.; ABDELMOHSEN, U. R. Antifungal potential of marine natural products. **European journal of medicinal chemistry**, v. 126, p. 631-651, 2017.

EL-KERSH, D. M.; EL DINE, R. S.; ABOU-HUSSEIN, D. R.; EL-SAKHAWY, F. S.; ELMAZAR, M. M. Cytotoxicity and Chemical Investigation of the Aerial Parts of *Markhamia zanzibarica* (Bojer Ex Dc.) K. Schum.(Bignoniaceae). 2016.

EYONG, K. O.; FOLEFOC, G. N.; KUETE, V.; BENG, V. P.; KROHN, K.; HUSSAIN, H.; HOERAUF, A. Newbouldiaquinone A: A naphthoquinone–anthraquinone ether coupled pigment, as a potential antimicrobial and antimalarial agent from *Newbouldia laevis*. **Phytochemistry**, v. 67, n. 6, p. 605-609, 2006.

FERREIRA, J. F.; LUTHRIA, D. L.; SASAKI, T.; HEYERICK, A. Flavonoids from *Artemisia annua* L. as antioxidants and their potential synergism with artemisinin against malaria and cancer. **Molecules**, v. 15, n. 5, p. 3135-3170, 2010.

FERREIRA, S. B.; GONZAGA, D. T. G.; SANTOS, W. C.; ARAÚJO, K. G.; FERREIRA, V. F. beta-Lapachona: Sua importância em química medicinal e modificações estruturais. **Revista Virtual de Química**, v. 2, n. 2, p. 140-160, 2010.

FIELDGUIDES. Bahia - Aliança Tabebuia (Bignoniaceae). Disponível em: <<https://fieldguides.fieldmuseum.org/pt-br/guias/guia/694>> Acesso em: 27 de nov. de 2023.

GACHET, M. S.; SCHÜHLY, W. Jacaranda—an ethnopharmacological and phytochemical review. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 121, n. 1, p. 14-27, 2009.

GALVEZ, M.; MARTIN-CORDERO, C.; LOPEZ-LAZARO, M.; CORTES, F.; AYUSO, M. J. Cytotoxic effect of *Plantago* spp. on cancer cell lines. **Journal of ethnopharmacology**, v. 88, n. 2-3, p. 125-130, 2003.

GARÓFOLO, A.; AVESANI, C. M.; CAMARGO, K. G.; BARROS, M. E.; SILVA, S. R. J.; TADDEI, J. A. de A. C.; SIGULEM, D. M. Dieta e câncer: um enfoque epidemiológico. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 17, n. 4, p. 491-505, out./dez. 2004.

GENTRY, A. H. Bignoniaceae: part I, tribes crescentieae and tourrentieae. **Flora Neotropica**, v. 25, n. 1, p. 1-130, 1980.

GENTRY, A. H.; COOK, K. *Martinella* (Bignoniaceae): a widely used eye medicine of South America. **Journal of ethnopharmacology**, v. 11, n. 3, p. 337-343, 1984.

GOMES, B. M. **Revisão de *Pleonotoma Miers* (Bignoniaceae, Bignoniaceae)**. Dissertação (mestrado em botânica) - Universidade de Brasília, Brasília-DF. 2006, 96 p.

GONG K.; LI W. Shikonin, a Chinese plant-derived naphthoquinone, induces apoptosis in hepatocellular carcinoma cells through reactive oxygen species: A potential new treatment for hepatocellular carcinoma. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 51, n. 12, p. 2259-2271, 2011.

GOUVEIA, S. D. S.; LIMA, A. A. Relação entre espécies reativas de oxigênio e a promoção carcinogênica. **Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research**, v. 20, n. 3, p. 174-179, 2017.

GREENWELL, M.; RAHMAN, P. K. S. M. Medicinal plants: their use in anticancer treatment. **International journal of pharmaceutical sciences and research**, v. 6, n. 10, p. 4103, 2015.

GUERRA, M. R.; GALLO, C. V. de M.; MENDONÇA, G. A. S. Risco de câncer no Brasil: tendências e estudos epidemiológicos mais recentes. **Revista brasileira de cancerologia**, v. 51, n. 3, p. 227-234, 2005.

HAMED, A. N. E.; MAHMOUD, B. K.; SAMY, M. N.; KAMEL, M. S. An extensive review on genus “*Tabebuia*”, family bignoniaceae: Phytochemistry and biological activities (1967 to 2018). **Journal of Herbal Medicine**, v. 24, p. 100410, 2020.

HASHEM, F. A.; SENGAB, A. E.; SHABANA, M. H.; KHALED, S. Antioxidant activity of *Mayodendron igneum* Kurz and the cytotoxicity of the isolated terpenoids. **Journal of Medicinally Active Plants**, v. 1, n. 3, p. 88-97, 2012.

HELTZEL, C. E.; GUNATILAKA, A. L.; GLASS, T. E.; KINGSTON, D. G.; HOFFMANN, G.; JOHNSON, R. K. Bioactive furanonaphthoquinones from *Crescentia cujete*. **Journal of natural products**, v. 56, n. 9, p. 1500-1505, 1993.

HIROYUKI, I.; SHINICHI, U.; KENICHIRO, I.; YOSHINORI, S. (2*R*)-Catalponone, a biosynthetic intermediate for prenylnaphthoquinone congeners of the wood of *Catalpa ovata*. **Phytochemistry**, v. 20, n. 7, p. 1707-1710, 1981.

HOUSMAN, G.; BYLER, S.; HEERBOTH, S.; LAPINSKA, K.; LONGACRE, M.; SNYDER, N.; SARKAR, S. **Drug Resistance in Cancer: An Overview. Cancers**, v. 6, p. 1769-1792, 2014.

HUNG, J. Y., YANG, C. J., TSAI, Y. M., HUANG, H. W., & HUANG, M. S. Antiproliferative activity of aucubin is through cell cycle arrest and apoptosis in human non-small cell lung cancer A549 cells. **Clinical and Experimental Pharmacology & Physiology**, v. 35, n. 9, p. 995-1001, 2008.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER José Alencar Gomes da Silva (INCA). Estimativa 2023: INCA estima 704 mil casos de câncer por ano no Brasil até 2025. Disponível em: <<https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/noticias/2022/inca-estima-704-mil-casos-de-cancer-por-ano-no-brasil-ate-2025>>. Acesso em: julho 2023.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER José Alencar Gomes da Silva (INCA). Coordenação Geral de Ações Estratégicas. Coordenação de Educação ABC do câncer: **abordagens básicas para o controle do câncer**. 2ª ed. rev. e atual. Rio de Janeiro: INCA; 2012.

INSTITUTO ONCOGUIA. **Câncer em números**. Data de cadastro: 31 out. 2023. Disponível em: <https://www.oncoguia.org.br/conteudo/cancer-em-numeros/16792/1343/>. Acesso em: 15 mar. 2024.

İSAOĞLU, M.; GÜLLÜCE, M.; KARADAYI, M. Plant-Derived Natural Products as Multidrug Resistance Modulators in Cancer Therapy. **Anatolian Journal of Biology**, v. 2, p. 1-51, 2020.

ITOKAWA, H.; MATSUMOTO, K.; MORITA, H.; TAKEYA, K. Cytotoxic naphthoquinones from *Mansoa alliacea*. **Phytochemistry**, v. 31, n. 3, p. 1061-1062, 1992.

JEMAL, A. (Ed.). The cancer atlas. 2. ed. Atlanta, GA: American Cancer Society/Health Promotion, 2015.

JONES, C. R.; PARLOW, J. J.; SCHNUR, D. M. Proton, carbon-13 and fluorine-19 NMR studies of 9, 10, 11, 12-tetra-fluoro-5, 6-dihydrobenzo [b] naphth [2, 1-f] oxepin: 'Through-space' carbon-fluorine coupling was revealed. **Journal of heterocyclic chemistry**, v. 33, n. 6, p. 1835-1838, 1996.

KAKUSAWA, N.; INUI, K.; KURITA, J.; TSUCHIYA, T. Preparation of p-benzoquinonoboxepines and their aromatic ring annulated derivatives. **Heterocycles**, v. 43, n. 8, p. 1601-1604, 1996.

KANEKO, T.; OHTANI, K.; KASAI, R.; YAMASAKI, K.; DUC, N. M. Iridoids and iridoid glucosides from fruits of *Crescentia cujete*. **Phytochem**, v. 46, n. 5, p. 907-910, 1997.

KAUFMAN, P. B.; CSEKE, L. J.; WARBER, S.; DUKE, J. A.; BRIELMANN, H. L. Natural products from plants. Boca Raton: CRC Press, FL, 1999.

KERNAN, M. R.; AMARQUAVE, A.; CHEN, J. L.; CHAN, J.; SESIN, D. F.; PARKINSON, N.; YE, Z. J.; BARRETT, M.; BALES, C.; STODDART, C. A.; SLOAN, B.; BLANC, P.; LIMBACH, C.; MRISHO, S.; ROZHON, E. J. Antiviral phenylpropanoid glycosides from the medicinal plant *Markhamia lutea*. **J. Nat. Prod.**, v. 61, n. 5, p. 564-570, 1998.

KHUBCHANDANI, M. L.; SRIVASTAVA, S. K. A new anthraquinone glycoside from the seeds of *Peganum harmala* Linn. **Current Science**, v. 58, n. 3, p. 137-139, 1989.

LEE, K. H.; LIN, Y. M.; WU, T. S.; ZHANG, D. C.; YAMAGISHI, T.; HAYASHI, T.; YANG, T. H. The cytotoxic principles of *Prunella vulgaris*, *Psychotria serpens*, and *Hyptis capitata*: ursolic acid and related derivatives. **Planta Medica**, v. 54, n. 04, p. 308-311, 1988.

LENTA, B. N.; WENIGER, B.; ANTHEAUME, C.; NOUNGOUE, D. T.; NGOUELA, S.; ASSOUB, J. C.; SEWALD, N. Anthraquinones from the stem bark of *Stereospermum zenkeri* with antimicrobial activity. **Phytochemistry**, v. 68, n. 11, p. 1595-1599, 2007.

LI, J. J.; COREY, E. J. **Drug discovery: practices, processes, and perspectives**. John Wiley & Sons, 2013.

LIU, J.; DU, J.; LI, Y.; WANG, F.; SONG, D.; LIN, J.; LI, L. Catalpol induces apoptosis in breast cancer in vitro and *in vivo*: Involvement of mitochondria apoptosis pathway and post-translational modifications. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 454, p. 116215, 2022.

LOHMANN, L. G.; ULLOA, C. U. Bignoniaceae. In: iPlants prototype checklist. 2016. Disponível em: <<http://www.iplants.org>>. Acesso em: 20. Set. 2023.

LOHMANN, L.G. Bignoniaceae. In: FLORA E FUNGA DO BRASIL. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB112305>. Acesso em: 25 de outubro de 2022.

LOPES, K. P. S. **Solubilidade do estudo citotóxico do lapachol em soluções micelares de sistema binárias**. 2020. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2020

LÓPEZ, C.A.A. Considerações gerais sobre plantas medicinais. **Ambiente: Gestão e Desenvolvimento**, v.1, n.1, p.19-27,2006.

LU, J. J.; BAO, J. L.; WU, G. S.; XU, W. S.; HUANG, M. Q.; CHEN, X. P.; WANG, Y. T. Quinones derived from plant secondary metabolites as anti-cancer agents. **Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents)**, v. 13, n. 3, p. 456-463, 2013.

MACEDO, W. D. L. R. Uso da fitoterapia no tratamento de doenças crônicas não transmissíveis: revisão integrativa. **Revista Brasileira Interdisciplinar de Saúde**, 2019.

MANN, J. Natural products in cancer chemotherapy: past, present and future. **Nature Reviews Cancer**, v. 2, n. 2, p. 143-148, 2002.

MARCOVITCH, J.; PINSKY, V. Bioma Amazônia: atos e fatos. **Estudos avançados**, v. 34 n. 100, p. 83-106, 2020.

MARTIN, F.; HAY, A. E.; CORNO, L.; GUPTA, M. P.; HOSTETTSMANN, K. Iridoid glycosides from the stems of *Pithecoctenium crucigerum* (Bignoniaceae). **Phytochemistry**, v. 68, n. 9, p. 1307-1311, 2007.

MARTINS, M. B. G.; CASTRO, A. A.; CAVALHEIRO, A. J. Caracterização anatômica e química de folhas de *Jacaranda puberula* (Bignoniaceae) presente na Mata Atlântica. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, p. 600-607, 2008.

MOTOBOT. Embriopsida. Disponível em: <<http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>> Acesso em: 28 de nov. de 2023.

MUNOZ-MINGARRO, D.; ACERO, N.; LLINARES, F.; POZUELO, J. M.; DE MERA, A. G.; VICENTEN, J. A.; PÉREZ, C. Biological activity of extracts from *Catalpa bignonioides* Walt.(Bignoniaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 87, n. 2-3, p. 163-167, 2003.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, GORDON, M. Natural products as sources of new drugs over the nearly four decades from 01/1981 to 09/2019. **Journal of natural products**, v. 83, n. 3, p. 770-803, 2020.

OBERLIES, N. H.; KROLL, D. J. Camptothecin and taxol: historic achievements in natural products research. **Journal of natural products**, v. 67, n. 2, p. 129-135, 2004.

O'BRIEN, J.; WILSON, I.; ORTON, T.; POGNAN, F. Investigation of the Alamar Blue (resazurin) fluorescent dye for the assessment of mammalian cell cytotoxicity. **European journal of biochemistry**, v.267, p.5421 - 5426, 2000.

OFORI-KWAKYE, K.; KWAPONG, A. A.; ADU, F. Antimicrobial activity of extracts and topical products of the stem bark of *Spathodea campanulata* for wound healing. **African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines**, v. 6, n. 2, 2009.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). Global cancer burden growing, amidst mounting need for services. 1 fev. 2024. Disponível em: <https://www.who.int/news/item/01-02-2024-global-cancer-burden-growing--amidst-mounting-need-for-services>. Acesso em: 15 mar. 2024.

PATRIOTA, L. L.; PROCÓPIO, T. F.; DE SOUZA, M. F.; DE OLIVEIRA, A. P. S.; CARVALHO, L. V., PITTA, M. G.; NAPOLEÃO, T. H. A trypsin inhibitor from *Tecoma stans* leaves inhibits growth and promotes ATP depletion and lipid peroxidation in *Candida albicans* and *Candida krusei*. **Frontiers in microbiology**, v. 7, p. 611, 2016.

PAULETTI, P. M.; BOLZANI, V. D. S.; YOUNG, M. C. M. Constituintes químicos de *Arrabidaea samydoides* (Bignoniaceae). **Química Nova**, v. 26, p. 641-643, 2003.

PERAZA-SÁNCHEZ, S. R.; CHÁVEZ, D.; CHAI, H. B.; SHIN, Y. G.; GARCÍA, R.; MEJÍA, M.; FAIRCHILD, C. R.; LANE, K. E.; MENENDEZ, A. T.; FARNSWORTH, N. R.; CORDELL, G. A.; PEZZUTO, J. M.; KINGHORN, A. D. Cytotoxic constituents of the roots of *Ekmanianthe longiflora*. **Journal of natural products**, v. 63, n. 4, p. 492-495, 2000.

PERRY, N. B.; BLUNT, J. W.; MUNRO, M. H. A cytotoxic and antifungal 1, 4-naphthoquinone and related compounds from a New Zealand brown alga, *Landsburgia quercifolia*. **Journal of Natural Products**, v. 54, n. 4, p. 978-985, 1991.

PRIMUS, P. S.; WU, C. H. Y.; KAO, C. L.; CHOO, Y. M. Glabraquinone A and B, new bis anthraquinones from *Prismatomeris glabra* (Korth.) Valetton. **Natural Product Research**, v. 38, n. 8, p. 1406-1413, 2024.

PROCHAZKOVA, E.; KUCHERAK, O.; STODŮLKOVÁ, E.; TOŠNER, Z.; CISAROVA, I.; FLIEGER, M.; BASZCZYNSKI, O. NMR Structure Elucidation of Naphthoquinones from *Quambalaria cyanescens*. **Journal of Natural Products**, v. 84, n. 1, p. 46-55, 2020.

QIU, H. Y.; WANG, P. F.; LIN, H. Y.; TANG, C. Y.; ZHU, H. L.; YANG, Y. H. Naphthoquinones: A continuing source for discovery of therapeutic antineoplastic agents. **Chemical biology & drug design**, v. 91, n. 3, p. 681-690, 2018.

QUINN, R. A.; NOTHIAS, L. F.; VINING, O.; MEEHAN, M.; ESQUENAZI, E.;DORRESTEIN, P. C. Molecular Networking As a Drug Discovery, Drug Metabolism, and Precision Medicine Strategy. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 38, n. 2, p. 143– 154, 2017.

- RAKHMATULLIN, I. Z.; EFIMOV, S. V.; KLOCHKOV, A. V.; GNEZDILOV, O. I.; VARFOLOMEEV, M. A.; KLOCHKOV, V. V. NMR chemical shifts of carbon atoms and characteristic shift ranges in the oil sample. **Petroleum Research**, v. 7, n. 2, p. 269-274, 2022.
- RAMOS, A. E. F.; EVANNO, L.; POUPON, E.; CHAMPY, P.; BENIDDIR, M. A. Natural products targeting strategies involving molecular networking: different manners, one goal. **Natural product reports**, 36(7), 960-980, 2019.
- RAVICHANDIRAN, P.; SUBRAMANIYAN, S. A.; KIM, S. Y.; KIM, J. S.; PARK, B. H.; SHIM, K. S.; YOO, D. J. Synthesis and anticancer evaluation of 1,4-naphthoquinone derivatives containing a phenylaminosulfanyl moiety. **ChemMedChem**, v. 14, n. 5, p. 532-544, 2019.
- REICH, E.; SCHIBLI, A. High-performance thin-layer chromatography for the analysis of medicinal plants. (No Title), 2007.
- REIS, A. C. C.; SILVA, B. M.; SOUZA FILHO, J. D.; PEREIRA, G. R.; BRANDÃO, G. C. Cytotoxic activity of extracts from Tecoma species and isolated lignans. Brazilian **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 58, 2023.
- RESENDE, F. A.; BARLACA, C. A. M. A.; FARIA, M. C. S.; KATO, F. H.; CUNHA, W. R.; TAVARES, D. C. Antimutagenicity of ursolic acid and oleanolic acid against doxorubicin-induced clastogenesis in Balb/c mice. **Life Sciences**, v. 22, n. 13, p. 1268-1273, 2006.
- RIOS, M. Y. Química y Farmacología de iridoides. Temas Selectos de Química de Productos Naturales; Delgado, G., Romo de Vivar, A., Eds, p. 95-133, 2015.
- RODRIGUES DA SILVA, L.; MARTINS, L. D. V.; BANTIM FELICIO CALOU, I.; MEIRELES DE DEUS, M. D. S.; FERREIRA, P. M. P.; PERON, A. P. Flavonóides: constituição química, ações medicinais e potencial tóxico. **Acta toxicológica argentina**, v. 23, n. 1, p. 36-43, 2015.
- RODRIGUES, J. V. M.; Desenvolvimento de uma solução oral com atividade farmacológica a partir de extrato de *Aspidosperma pyrifolium* Mart.; dissertação de Mestrado, Universidade Estadual da Paraíba, 2015.
- SCHARF, D. R. Identificação de cromenos, naftoquinonas e outros constituintes de *Sinningia allagophylla* (Gesneriaceae) e avaliação de suas atividades citotóxica, anti-inflamatória, analgésica e larvicida. **Tese de doutorado**. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2014.
- SCHMID, R.; PETRAS, D.; NOTHIAS, L. F.; WANG, M.; ARON, A. T.; JAGELS, A.; DORRESTEIN, P. C. Ion identity molecular networking for mass spectrometry-based metabolomics in the GNPS environment. **Nature communications**, v. 12, n. 1, p. 3832, 2021.
- SIBBR. Catálogo Taxonômico da Fauna do Brasil e Lista da Flora do Brasil 2020. Disponível em: < <https://ala-bie.sibbr.gov.br/ala-bie/species/251174> > Acesso em: 25 de nov. de 2023.
- SICHAEM, J.; KAENNAKAM, S.; SIRIPONG, P.; TIP-PYANG, S. Tabebuialdehydes A–C, cyclopentene dialdehyde derivatives from the roots of *Tabebuia rosea*. **Fitoterapia**, v. 83, n. 8, p. 1456-1459, 2012.
- SILVA, CGP. Avaliação da citotoxicidade do extrato de *Spilanthes oleracea* e seu potencial uso no tratamento do câncer. 2012.
- SILVA, E. S.; PEIXOTO, R. D. N.; GUILHON, G.; SANTOS, L. D. S.; ARRUDA, M. S.; ZOGHBI, M. D. G. B. Other constituents of *Mansoa difficilis* (Bignoniaceae). 2010.

SILVA, M. N. D.; FERREIRA, V. F.; DE SOUZA, M. C. B. Um panorama atual da química e da farmacologia de naftoquinonas, com ênfase na beta-lapachona e derivados. **Química Nova**, v. 26, p. 407-416, 2003.

SILVA, T. S. Estudo químico, atividade antioxidante e fotoprotetora de *Chamaecrista* sp. e *Senna splendida*. 2017.

SILVEIRA, E. R.; CARVALHO, J. C. S.; MATOS, T. M. Da planta ao fármaco: uma abordagem fitoquímica. **Laboratório de Fisiologia Vegetal**, p. 166, 2021.

SUFFNESS, M.; PEZZUTO, J.M. Assays related to cancer drug discovery. In: Hostettmann K. Editor. **Methods in Plant Biochemistry: Assays for Bioactivity**. London: Academic Press; 1990: 71-133.

TAFFARELO, D. **Extratos de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) Verlot obtidos por processos biotecnológicos: otimização da extração e avaliação farmacológica**. 2008. 191 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Instituto de Ciências Biomédicas, Programa de Pós-Graduação Interunidades em Biotecnologia USP/Instituto Butantan/IPT, Universidade de São Paulo, São Paulo/SP.

VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura? **Química nova**, v. 28, p. 519-528, 2005.

VERMA, N.; SHUKLA, S. Impact of various factors responsible for fluctuation in plant secondary metabolites. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, v. 2, n. 4, p. 105-113, 2015.

VIEGAS JR, C.; BOLZANI, V. D. S.; BARREIRO, E. J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Química nova**, v. 29, p. 326-337, 2006.

VIEIRA, V.; CRUZ, V.; SOARES, N.; SILVA, J.; ARAÚJO, E. Quimioterápicos antineoplásicos derivados de plantas. **Enciclopedia Biosfera**, v. 17, n. 34, 2020.

VILA VERDE, G. M.; PAULA, J. R.; CANEIRO, D. M. Levantamento etnobotânico das plantas medicinais do cerrado utilizadas pela população de Mossamedes (GO). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 13, p. 64-66, 2003.

VON POSER, G. L.; SCHRIPSEMA, J.; HENRIQUES, A. T.; JENSEN, S. R. The distribution of iridoids in Bignoniaceae. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 28, n. 4, p. 351-366, 2000.

WANG, M.; CARVER, J. J.; PHELAN, V. V.; SANCHEZ, L. M.; GARG, N.; PENG, Y.; NGUYEN, D. D.; WATROUS, J.; KAPONO, C. A.; LUZZATTO-KNAAN, T.; PORTO, C.; BOUSLIMANI, A.; MELNIK, A. V.; MEEHAN, M. J.; LIU, W. T.; CRÜSEMANN, M.; BOUDREAU, P. D.; ESQUENAZI, E.; SANDOVAL-CALDERON, M.; KERSTEN, R. D.; PACE, L. A.; QUINN, R. A.; DUNCAN, K. R.; HSU, C.-C.; FLORES, D. J.; GAVILAN, R.G.; KLEIGREWE, K.; NORTHEN, T.; DUTTON, R. J.; PARROT, D.; CARLSON, E. E.; AIGLE, B.; MICHELSEN, C. F.; JELSBAK, L.; SOHLENKAMP, C.; PEVZNER, P.; EDLUND, A.; MCLEAN, J.; PIEL, J.; MURPHY, B. T.; GERWICK, L.; LIAW, C.-C.; YANG, Y.-L.; HUMPF, H.- U.; MAANSSON, M.; KEYZERS, R. A.; SIMS, A. C.; JOHNSON, A. R.; SIDEBOTTOM, A. M.; SÉDIO, B. E.; KLITGAARD, A.; LARSON, C. B.; BOYA, P. C. A.; TORRESEMENDOZA, D.; GONZALEZ, D. J.; SILVA, D. B.; MARQUES, L. M.; DEMARQUE, D. P.; POCIUTE, E.; O'NEILL, E. C.; BRIAND, E.; HELFRICH, E. J. N.; GRANATOSKY, E. A.; GLUKHOV, E.; RYFFEL, F.; HOUSON, H.; MOHIMANI, H.; KHARBUSH, J. J.; ZENG, Y.; VORHOLT, J. A.; KURITA, K. L.; CHARUSANTI, P.; MCPHAIL, K. L.; NIELSEN, K. F.; VUONG, L.; ELFEKI, M.; TRAXLER, M. F.; ENGINE, N.; KOYAMA, N.; VINING, O. B.; BARIC, R.; SILVA, R. R.; MASCUCH, S. J.; TOMASI, S.; JENKINS, S.; MACHERLA, V.; HOFFMAN, T.; AGARWAL, V.; WILLIAMS, P. G.; DAI, J.; NEUPANE, R.; GURR, J.; RODRÍGUEZ, A. M. C.; LAMSA, A.; ZHANG, C.; DORRESTEIN, K.; DUGGAN, B. M.; ALMALITI, J.; ALLARD, P.-M.; PHAPALE, P.; NOTHIAS, L.-F.; ALEXANDROV, T.; LITAUDON, M.; WOLFENDER, J.-L.; KYLE, J. E.; METZ, T. O.; PERYEA, T.; NGUYEN, D.-T.; VANLEER, D.; SHINN, P.; JADHAV, A.; MÜLLER, R.; WATERS, K. M.; SHI, W.; LIU, X.; ZHANG, L.; KNIGHT, R.; JENSEN, P. R.; PALSSON, B. Ø.; POGLIANO, K.; LININGTON, R. G.; GUTIERREZ, M.; LOPES, N. P.; GERWICK, W. H.; MOORE, B. S.;

DORRESTEIN, P. C.; BANDEIRA, N. Sharing and Community Curation of Mass Spectrometry Data With Global Natural Products Social Molecular Networking. **Nature Biotechnology**, v. 34, n. 8, p. 828–837, 2016.

YUAN, Z.; LONG, C.; JUNMING, T.; QIHUAN, L.; YOUSHUN, Z.; CHAN, Z. Quercetin-induced apoptosis of HL-60 cells by reducing PI3K/Akt. **Molecular biology reports**, v. 39, p. 7785-7793, 2012.

ZHANG, L.; TATSUNO, T.; HASEGAWA, I.; TADANO, T.; OHTA, T. Furanonaphthoquinones from *Tabebuia avellanae* induce cell cycle arrest and apoptosis in the human non-small cell lung cancer cell line A549. **Phytochemistry Letters**, v. 11, p. 9-17, 2015.

ZHANG, Y. B., PAN, X. F., CHEN, J., CAO, A., ZHANG, Y. G., XIA, L., PAN, A. Combined lifestyle factors, incident cancer, and cancer mortality: a systematic review and meta-analysis of prospective cohort studies. **British journal of cancer**, v. 122, n. 7, p. 1085-1093, 2020.

ZHANG, Z.; BAI, L.; LU, C.; LI, X.; WU, Y.; ZHANG, X.; SHEN, Y. Lapachol inhibits the growth of lung cancer by reversing M2-like macrophage polarization via activating NF- κ B signaling pathway. **Cellular Signalling**, v. 112, p. 110902, 2023.

ANEXOS

Anexo 1 – Artigo publicado no *Journal of Natural Products*. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jnatprod.3c01191>



pubs.acs.org/jnp

Note

Pleonotoquinones, Cytotoxic Oxepinenaphthoquinones from *Pleonotoma jasminifolia*

Leandro T. Anselmo, Thalisson A. de Souza, Thiago A. M. Brito, Eldrinei G. Peres, Felipe M. A. da Silva, Valdenizia R. Silva, Luciano de S. Santos, Milena B. P. Soares, Daniel P. Bezerra, Emmanoel V. Costa, Victor M. Sipoloni, Lívia S. de Medeiros, Marcelo S. da Silva, Josean F. Tavares, Waldireny R. Gomes,* and Hector H. F. Koolen*

Cite This: *J. Nat. Prod.* 2024, 87, 1217–1221

Read Online

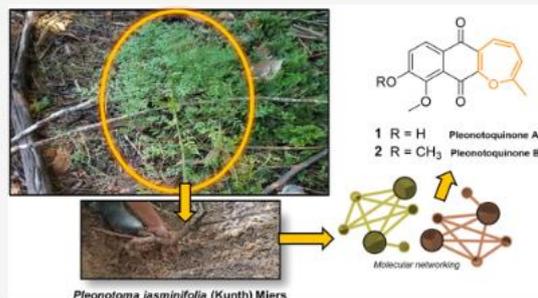
ACCESS |

Metrics & More

Article Recommendations

Supporting Information

ABSTRACT: Two unusual naphthoquinones, named here as pleonotoquinones A (1) and B (2), were isolated along with two known anthraquinones (3 and 4) via chromatographic separations of an ethyl acetate extract of the roots of *Pleonotoma jasminifolia*. Compounds 1 and 2 are the first examples of quinones bearing a 2-methyloxepine moiety. The compounds were isolated with the aid of mass spectrometry and molecular networking, and their structures were resolved using 1D and 2D NMR and HRESIMS data. The isolated compounds were evaluated for their anti-proliferative activity against human cancer cell lines, and compounds 1 and 2 displayed cytotoxicity against human colon cancer HCT116 cells ($IC_{50} = 2.6 \mu M$ for compound 1 and $IC_{50} = 4.3 \mu M$ for compound 2) and human liver cancer HepG2 cells ($IC_{50} = 1.9 \mu M$ for compound 1 and $IC_{50} = 6.4 \mu M$ for compound 2).



ANEXO 2 – Certificado de apresentação oral, apresentado na 47ª reunião da Sociedade Brasileira de Química na sessão coordenadas.



47ª reunião anual
da SBQ WWW.SBQ.ORG.BR
22 a 25 DE MAIO DE 2024 - ÁGUAS DE LINDÓIA

SBQ Sociedade Brasileira de Química
A CENTRALIDADE DA QUÍMICA NA
EDUCAÇÃO DO CIDADÃO E NA INOVAÇÃO
CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA

CERTIFICADO

A Divisão de Produtos Naturais da Sociedade Brasileira de Química (DPN/SBQ) confere o presente certificado a

Leandro Tavares Anselmo

em reconhecimento por sua valiosa contribuição como palestrante na sessão coordenada, com a apresentação intitulada "**Quinones isolated from the root extract of *Pleonotoma jasminifolia* (Bignoniaceae)**", realizada no dia **23 de maio de 2024**, das **14h40min às 14h55min**, durante a **47ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, em **Águas de Lindóia, São Paulo**.

Vanessa Gisele Pasqualotto Severino
Vanessa G. Pasqualotto Severino
Diretora da DPN/SBQ
Gestão 2022/2024