

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**ESTUDO QUÍMICO E ATIVIDADE ANTIFÚNGICA EM RESÍDUOS MADEIREIROS  
DE *Licaria aritu* Ducke**

JUNIOR ANDRADE CHAVES

MANAUS  
2020

JUNIOR ANDRADE CHAVES

**ESTUDO QUÍMICO E ATIVIDADE ANTIFÚNGICA EM RESÍDUOS MADEIREIROS  
DE *Licaria aritu* Ducke**

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

Orientadora: Dra. Maria da Paz Lima (INPA)

Co-orientadora: Dra. Claudete Catanhede do Nascimento (INPA)

MANAUS

2020

## Ficha Catalográfica

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

C512e Chaves, Junior Andrade  
Estudo químico e atividade antifúngica em resíduos madeireiros  
de Licaria aritu Ducke / Junior Andrade Chaves . 2020  
109 f.: il. color; 31 cm.

Orientadora: Maria da Paz Lima  
Coorientadora: Claudete Catanhede do Nascimento  
Dissertação (Química) - Universidade Federal do Amazonas.

1. Lauraceae. 2. Estudo fitoquímico. 3. Esteróide. 4.  
Sesquiterpenos. 5. Neolignanas e Atividade antifúngica. I. Lima,  
Maria da Paz. II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

# Estudo químico e atividade antifúngica em resíduos madeireiros de *Licaria aritu* Ducke.

**JUNIOR ANDRADE CHAVES**

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 em Química.

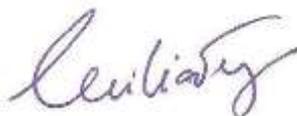
Aprovada em 10 de setembro de 2020.



---

Dra. Maria da Paz Lima (INPA)

Presidente/Orientadora



---

Dra. Cecília Verônica Nunez (INPA)

Membro Interno



---

Dra. Rita de Cássia Saraiva Nunomura (DQ/UFAM)

Membro Interno

Universidade Federal do Amazonas  
Manaus, 10 de setembro de 2020.

## DEDICATÓRIA

*Dedico esse trabalho em especial à **Deus**, à minha avó **Ana Andrade** (in memorian), pelo carinho e apoio durante toda sua vida, aos meus pais **Antônio Carlos** e **Eliete Andrade** pelo o incentivo e apoio, à minha tia **Elizabete** pela ajuda financeira, à minha filha **Eliandra** que foi minha motivação para superar todos os desafios nessa jornada.!*

## AGRADECIMENTOS

**À Deus**, por estar sempre ao meu lado, pois é em ti que encontro forças para lutar e vencer.

**Aos meus pais**, Eliete Andrade e Antônio Carlos, por todo apoio e incentivo.

**Aos meus irmãos**, Antônio Jhones, Antônia Simone, Joany, James, Paulo Roberto, Euclides, Jan Carlos.

**Aos meus Tios (a)**, Elizabete Andrade, José Francisco Ferreira, Raimundo Nonato Andrade, Alberto Andrade, José Campina.

**Aos Primos (a)**, José Ronivon Andrade, Anselmo Andrade, Nagilson Ferreira, Antônia Andrade, José Augusto Ferreira.

**À Dra. Maria da Paz Lima**, por ter me aceitado como aluno de mestrado, mesmo sem ter iniciação científica, pelo carinho, atenção e dedicação que senhora tem com cada um de seus alunos. Desde já peço desculpas se falhei como pesquisador, foi uma jornada de muita aprendizagem que levarei comigo tudo que aprendi com a senhora, Muito obrigado!

**Aos meus colegas de laboratório**, Paulo Alan, Henrique Cativo, Priscila Brasil, Jeniffer Santiago, Daniele Roque, Bruno, Jéssica, Ayrton Telles Lorena, pelas contribuições, companheirismo e pelos momentos de alegria. Vocês foram muito importantes nessa caminhada, em especial o Paulo Alan; Jennifer; Henrique; Priscila; Abraão Alexandre e Edizon, que sempre foram proativas em auxiliar nas técnicas de elucidações estruturais de compostos orgânicos.

**Aos professores da banca de qualificação**, Profa. Dra. Lyege e Profa. Dra. Maria Lucia Belém, pelas as colaborações.

**Aos professores da banca de defesa**, Profa. Dra. Cecília Verônica Nunes, Profa. Dra. Rita de Cássia Saraiva Nunomura, pela as colaborações que foram de suma importância para conclusão deste trabalho.

**À Dra. Claudete Nascimento**, por disponibilizar os resíduos madeireiros, e por sanar minhas dúvidas, obrigado pela a atenção que a senhora sempre teve com todos os pesquisadores.

**Aos Técnicos da Central Analítica do Laboratório Temático de Química de Produtos Naturais (CA-LTQPN) do INPA**, Magno Muniz, Sabrina Kelly e Zelina Toores pelo suporte na obtenção dos espectros de RMN.

**Ao** Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA) pelo uso de suas instalações.

**E por fim**, à CAPES pelo auxílio financeiro, através da bolsa de estudos foi possível custear minhas despesas pessoais, garantindo dessa forma a conclusão do curso de pós graduação.

## RESUMO

A família Lauraceae tem distribuição pantropical contendo cerca de 50 gêneros, com aproximadamente 3000 espécies. O gênero *Licaria* possui cerca de 38 espécies distribuídas desde o sul da Flórida, México até o sudoeste do Brasil e Bolívia. Nos estudos realizados com espécies de Lauraceae são relatados a presença de neolignanas, triterpenos, sesquiterpenos, lignanas e alcaloides. A espécie *Licaria aritu* apresenta apenas um único estudo de composição química com relato de neolignanas. Visando contribuir para o estudo químico desta família e do gênero *Licaria*, a madeira *Licaria aritu* foi submetida a análise fitoquímica, com o objetivo de isolar metabólitos secundários com potencial antifúngico. Dessa forma, os extratos de *L. aritu* foram fracionados em colunas cromatográficas, das quais foi isolado um esteroide  $\beta$ -sitosterol, três sesquiterpenos  $\alpha$ -cadinol e uma mistura epímeros de *ent*-T-muurolol e (-)-T-muurolol, as neolignanas eusiderina A e (7*S*,8*R*,1'*R*,4'*S*,5'*R*)-1'-alil-4'-hidroxi-3,3',5'-trimetoxi-4,5-metilenodioxifenil-8-metilbicyclo[3.2.1]oct-2'-en-6'-ona, identificados por meio de análise unidimensional RMN de <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, DEPT e bidimensional (HSQC e HMBC). Das substâncias isoladas foram testadas sobre os fungos: *Candida albicans* e *Cryptococcus gatti* os sesquiterpenos  $\alpha$ -cadinol a mistura de epímeros *ent*-T-muurolol e (-)-T-muurolol, e a neolignana eusiderina A, com exceção da eusiderina A, todas apresentaram atividade moderada pela técnica de microdiluição em caldo.

**Palavras-chave:** Lauraceae; Estudo fitoquímico; Esteroide, Sesquiterpenos, Neolignanas e Atividade antifúngica.

## ABSTRACT

The Lauraceae family has a pantropical distribution containing about 50 genera, with approximately 3000 species. The *Licaria* genus has about 38 species distributed from southern Florida, Mexico to southwestern Brazil and Bolivia. In studies with Lauraceae species, the presence of neolignans, triterpenes, sesquiterpenes, lignans and alkaloids is reported. The species *Licaria aritu* presents only a single chemical composition study with reports of neolignans. In order to contribute to the chemical study of this family and of the *Licaria* genus, *Licaria aritu* wood was submitted to phytochemical analysis, with the objective of isolating secondary metabolites with antifungal potential. Thus, the *L. aritu* extracts were fractionated in chromatographic columns, from which a  $\beta$ -sitosterol steroid, three  $\alpha$ -cadinol sesquiterpenes and a mixture of ent-T-muurolol and (-) - T-muurolol epimers were isolated. neolignans eusiderin A e (7*S*, 8*R*, 1'*R*, 4'*S*, 5'*R*) -1'-allyl-4'-hydroxy-3,3',5'-trimethoxy-4,5-methylenedioxyphenyl-7-methylbicycles [3.2.1]oct-2'-en-6'-one, identified by means of unidimensional <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, DEPT and bidimensional NMR analysis (HSQC and HMBC). Of the isolated substances were tested on the fungi: *Candida albicans* and *Cryptococcus gatti* the  $\alpha$ -cadinol sesquiterpenes the ent-T-muurolol and (-) - T-muurolol epimers mixture and the eusiderin A neolignan, with the exception of eusiderin A, all showed moderate activity by the broth microdilution technique.

**Keywords:** Lauraceae; Phytochemical study; Steroid, Sesquiterpenes, Neolignans and Antifungal Activity.

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	17
<b>2. REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	18
2.1. Resíduos madeireiros e estudos fitoquímicos .....	18
2.2. Aspectos botânicos e químicos da família <i>Lauraceae</i> .....	19
2.2.1. Gênero <i>Licaria</i> .....	22
2.2.2. Aspectos fitoquímicos das espécies do gênero <i>Licaria</i> .....	23
2.2.3. A espécie <i>Licaria aritu</i> Dukce .....	36
2.3. Atividade biológica .....	37
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	38
3.1. Objetivo Geral .....	38
3.2. Objetivo Específico .....	38
<b>4. METODOLOGIA</b> .....	39
4.1. Materiais utilizados .....	39
4.1.1. Solventes.....	39
4.1.2. Na cromatografia clássica .....	39
4.1.3. Reveladores empregados em CCD.....	39
4.1.4. Equipamentos e acessórios .....	40
4.2. Obtenção e Identificação do material vegetal.....	40
4.2.1. Determinação das propriedades anatômicas .....	41
4.3. Processamento dos resíduos, preparação dos extratos .....	42
4.4. Análise do extrato hexânico de <i>Licaria aritu</i> Ducke .....	43
4.4.1. Fracionamento cromatografico do extrato hexanico LAH.....	43
4.5. Ensaio antifúngico.....	54
4.5.1. Cepas testadas e preparação dos inóculos fúngicos .....	54
4.5.2. Realização do teste de microdiluição em caldo.....	55
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	56
5.1 Substâncias isoladas.....	56
5.2 Determinação estrutural das substâncias do extrato hexânico .....	56
5.2.1 Identificação da substância 1 .....	56
5.2.2 Identificação da substância 2 e 3 .....	63
5.2.3 Identificação da substância 4 .....	

5.2.4 Identificação da substância 5 .....	77
5.2.5 Identificação da substância 6 .....	86
5.3. Atividade antifungica sobre as cepas de <i>C. albicas</i> e <i>C. gatti</i> .....	96
<b>6. CONCLUSÃO</b> .....	<b>98</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>99</b>

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 01.</b> Mapa da distribuição geográfica da família Lauraceae. ....	19
<b>Figura 02.</b> Macrofotografia do plano transversal da madeira de <i>L. aritu</i> .....	41
<b>Figura 03.</b> (a) Resíduo de <i>Licaria aritu</i> Ducke; (b) Frasco utilizado na maceração (mariote); (c) Maceração.....	42
<b>Figura 04.</b> Substância 1 $\beta$ -sitosterol. ....	57
<b>Figura 05.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ da substância 1 com ampliações dos sinais (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....	59
<b>Figura 06.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ da substância 1 (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....	60
<b>Figura 07.</b> Mapa de contorno HSQC editado da substância 1 (300/75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ). .....	61
<b>Figura 08.</b> Mapa de contorno HMBC da substância 1 (300/75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....	62
<b>Figura 09.</b> Substância 2.....	64
<b>Figura 10.</b> Substância 3.....	64
<b>Figura 11.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ da substância 2 e 3 com ampliações dos sinais (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....	67
<b>Figura 12.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ da substância 2 e 3 (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) .....	68
<b>Figura 13.</b> Espectro de DEPT $135^\circ$ da substância 2 e 3 (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....	69
<b>Figura 14.</b> Mapa de contorno HSQC da substância 2 e 3 (300/75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....	70
<b>Figura 15.</b> Mapa de contorno HMBC da substância 2 e 3 (300/75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) .....	71
<b>Figura 16.</b> Estrutura da substância 4 ( $\alpha$ -cadinol) .....	72
<b>Figura 17.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ da substância 4 com ampliações dos sinais (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) .....	74
<b>Figura 18.</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ da substância 4 (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) .....	75
<b>Figura 19.</b> Mapa de contorno HSQC editado da substância 4 (300/75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ). .....	76
<b>Figura 20.</b> Mapa de contorno HMBC da substância 4 (300/75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....	77
<b>Figura 21.</b> Estrutura da eusiderina A .....	78
<b>Figura 22.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da substância 5 (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) .....	81
<b>Figura 23.</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ da substância 5 (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) .....	83

<b>Figura 24.</b> Mapa de contorno HSQC editado da substância 5 (300/75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) .....	84
<b>Figura 25.</b> Mapa de contorno HMBC da substância 5 (300/75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ).....	85
<b>Figura 26.</b> Substância 6.....	87
<b>Figura 27.</b> Espectro de RMN de <sup>1</sup> H da substância 6 (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ).....	90
<b>Figura 28.</b> Espectro de RMN de <sup>13</sup> C da substância 6 (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) .....	92
<b>Figura 29.</b> Espectro de DEPT 135° da substância 6 (300/75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) .....	93
<b>Figura 30.</b> Mapa de contorno HSQC da substância 6 (300/75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ).....	94
<b>Figura 31.</b> Mapa de contorno HMBC da substância 6 (300/75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ).....	95

## LISTA DE TABELA

<b>Tabela 01.</b> Gêneros da família Lauraceae, reconhecidos pelo APG .....	20
<b>Tabela 02.</b> Classe de substâncias relatadas no gênero Licaria .....	23
<b>Tabela 03.</b> Rendimentos dos extratos de <i>L. aritu</i> .....	42
<b>Tabela 04.</b> Reunião das frações de LAH .....	45
<b>Tabela 05.</b> Reunião das frações de LAH-29 .....	49
<b>Tabela 06</b> Reunião das frações obtidas de LAH-29.2.....	49
<b>Tabela 07.</b> Reunião das frações obtidas de LAH-29.2.1.....	49
<b>Tabela 08.</b> Reunião das frações obtidas de LAH-22.....	50
<b>Tabela 09.</b> Reunião das frações obtidas de LAH-28.....	52
<b>Tabela 10.</b> Reunião das frações obtidas de LAH-28.3.....	52
<b>Tabela 11.</b> Reunião das frações obtidas de LAH-31.....	53
<b>Tabela 12.</b> Reunião das frações obtidas de LAH-31.1.....	54
<b>Tabela 13.</b> Reunião das frações de LAH-31.1.4 .....	54
<b>Tabela 14.</b> Cepas de fungos utilizadas nos testes .....	55
<b>Tabela 15.</b> Dados de RMN de $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ e HMBC da substância 1 .....	58
<b>Tabela 16.</b> Dados de RMN de $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ de 2 e 3 em $\text{CDCl}_3$ .....	65
<b>Tabela 17.</b> Dados de HMBC (300/75 MHz) da substância 2 e 3 em $\text{CDCl}_3$ .....	66
<b>Tabela 18.</b> Dados de RMN de $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ e HMBC da substância 4.....	73
<b>Tabela 19.</b> Dados de RMN de $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ da substância 5 .....	79
<b>Tabela 20.</b> Dados de HMBC (300/75 MHz) da substância 5 .....	80
<b>Tabela 21.</b> Dados de RMN de $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ da substância 6 .....	88
<b>Tabela 22.</b> Dados de HMBC (300/75 MHz) da substância 6.....	89
<b>Tabela 23.</b> Resultados da CIM das substâncias sobre as cepas de fungos.....	98

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 01.</b> Neolignanas isoladas de espécies do gênero <i>Licaria</i> .....	30
<b>Quadro 02.</b> Neolignanas isoladas de espécies do gênero <i>Licaria</i> .....	31
<b>Quadro 03.</b> Neolignanas isoladas de espécies do gênero <i>Licaria</i> .....	32
<b>Quadro 04.</b> Lignana isolada de espécie do gênero <i>Licaria</i> .....	33
<b>Quadro 05.</b> Alcaloides isolados de espécie do gênero <i>Licaria</i> .....	34
<b>Quadro 06.</b> Cumarina isolada de espécie do gênero <i>Licaria</i> .....	35
<b>Quadro 07.</b> Esteróide isolado de espécie do gênero <i>Licaria</i> .....	35
<b>Quadro 08.</b> Lactonas isoladas de espécie do gênero <i>Licaria</i> .....	35
<b>Quadro 09.</b> Neolignanas isoladas da espécie <i>Licaria aritu</i> .....	36
<b>Quadro 10.</b> Ampliação dos sinais do espectro de RMN de <sup>1</sup> H da substância 5.....	82
<b>Quadro 11.</b> Ampliação dos sinais do espectro de RMN de <sup>1</sup> H da substância 6.....	91
<b>Quadro 12.</b> Substâncias usadas no ensaio antifúngico .....	96

## LISTA DE ESQUEMAS

<b>Esquema 01.</b> Obtenção dos extratos hexânico e metanólico .....	42
<b>Esquema 02.</b> Fracionamento cromatográfico do extrato hexânico .....	44
<b>Esquema 03.</b> Fracionamento cromatográfico da LAH-29; LAH-29.2; LAH-29.2.1 ....	48
<b>Esquema 04.</b> Fracionamento cromatográfico da LAH-22 .....	50
<b>Esquema 05.</b> Fracionamento cromatográfico da LAH-28 e LAH-28.3 .....	51
<b>Esquema 06.</b> Fracionamento cromatográfico da LAH-31; LAH-31.1; LAH-31.1.4 ....	53

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

**AcOEt** – Acetato de etila

**CC** – Cromatografia em Coluna

**CCD** – Cromatografia em Camada Delgada

**CDCl<sub>3</sub>** – Clorofórmio deuterado

**d** – dubleto

**dd** – duplo dubleto

**DCM** - Diclorometano

**DEPT – 135°** - Distortionless Enhancement by Polarization Transfer - ângulo 135°

**h** – Altura

**Hex** – Hexano

**HMBC** – Heteronuclear Multiple-Bond Correlation

**HSQC** – Heteronuclear Single-Quantum Correlation

**HSQC edit** – Heteronuclear Single-Quantum Correlation Editado

**Hz** – Hertz

**J** – Constante de acoplamento

**LAH**– Licaria aritu Hexânico

**LAM** – Licaria aritu Metanólico

**LQPN** – Laboratório de Química de Produtos Naturais

**LTM** – Laboratório de Tecnologia da Madeira

**MOBOT** – Missouri Botanical Garden

**m** – multiplete

**MeOH** – Metanol

**MeOD** – Metanol deuterado

**RMN de <sup>1</sup>H** – Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

**RMN de <sup>13</sup>C** – Ressonância Magnética Nuclear de Carbono

**s** – singleto

**s l** – singleto largo

**t** – tripleto

**δ** – Deslocamento químico em parte por milhão

**Φ** – Diâmetro

**1D** – unidimensional

**2D** – bidimensional

## 1. INTRODUÇÃO

O Brasil situa-se em posição privilegiada para a ciência de produtos naturais, em decorrência de ser um dos países com uma vasta biodiversidade. Diversos estudos apontam o Brasil em destaque na exploração de seus recursos naturais, dentre eles a madeira de origem nativa amazônica (ADEODATO *et al.*, 2011). Segundo o Sistema Nacional de Informação Florestal (SNIF), o Brasil é um país que possui uma floresta com aproximadamente 493,5 milhões de hectares (58% do seu território) cobertos por florestas naturais e plantadas o que representa a segunda maior área de florestas do mundo, atrás apenas da Rússia.

Dentre as famílias mais exploradas está a família das Lauraceae por possuir espécies aromáticas, muito cobiçado pelas indústrias de perfumaria. Segundo Souza (2005) do ponto de vista taxonômico, essa família é uma das mais complexas da flora brasileira, apresenta uma composição florística de grande parte dos ecossistemas florestais do país, sendo predominante na Mata Atlântica, florestas da Região Sul e Floresta Amazônica.

Econômicamente a família Lauraceae também se destaca, por apresentar espécies que produzem frutas comestíveis, como abacate (*Persea americana*) especiarias, como canela (*Cinnamomum verum*), folha de louro (*Laurus nobilis*) e cânfora (*Cinnamomum camphora*) bem como, madeira de alta qualidade (*Ocotea porosa*) (KUBITZKI & KURZ 1984). Dentre as várias espécies dessa família que já foram estudadas poucos estudos foram relatados na literatura sobre a espécie *Licaria aritu* Ducke. Nas espécies que já foram realizados estudos identificaram-se classes de substâncias quimicamente bioativas tais como: alcalóides, terpenóides, flavonóides, lignóides (GRECCO *et al.*, 2016).

Sabe-se que a busca por novas substâncias com potencial biológico se faz necessário devido o constante aumento de doenças infecciosas causadas por micro-organismos patogênicos como, bactérias, vírus, fungos e parasitas. Essas doenças representam graves problemas de saúde pública, que afetam uma fração relevante da população mundial. Esse é um dos principais desafios para o século XXI, a busca por fármacos com maior eficiência. Devido a potência dos antibióticos que encontra-se ameaçada (NEVES *et al.*, 2011; KIM *et al.*, 2017; ZANOL *et al.*, 2010; FIGUEIREDO

*et al.*, 2009; SANTOS-FILHO *et al.*, 2002 e PÉREZ-RODRÍGUEZ & TABAN 2019). Há um aumento de casos, não só de resistência a um fármaco, mas a muitos deles. É o caso do *Enterococos*, que ganhou atenção especial devido à dificuldade de tratamento condicionada pela multirresistência intrínseca e pela aquisição de novos genes de resistência (CERCENADO, 2011). Por esse motivo este trabalho está voltado para o estudo fitoquímico da espécie *Licaria aritu* Duck, com intuito de identificar em uma das suas partes vegetativas, madeira do tronco, substâncias com propriedades antifúngicas.

## **2. REVISÃO DA LITERATURA**

### **2.1 Resíduos madeireiros e estudos fitoquímicos**

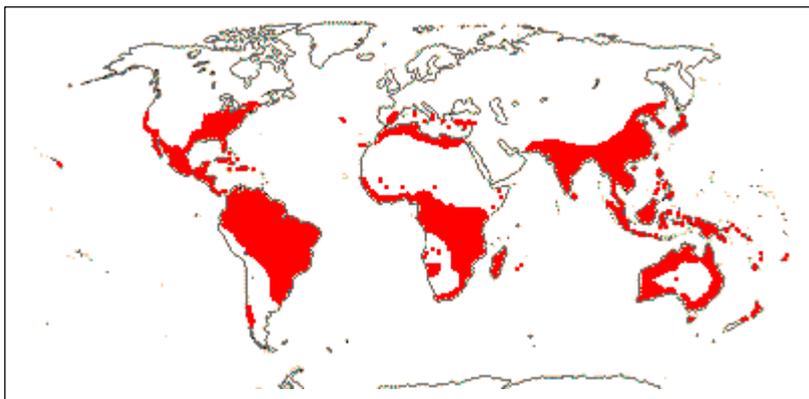
O grupo de pesquisa “Plantas da Amazônia: Química, Quimiosistemática e Atividade Biológica” coordenado pela Dra Maria da Paz Lima, em parceria com Laboratório de Tecnologia da Madeira (LTM) do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), realiza estudos fitoquímicos com algumas partes vegetativas de árvores que são usados no preparo de extratos, com foco principal em resíduos madeireiros gerados durante a fabricação de pequenos objetos, esses resíduos são reaproveitados no laboratório de química de produtos naturais (LQPN), realizando-se estudos fitoquímicos com o objetivo de identificar substâncias que apresente potencial, a fim de encontrar novos metabólitos com atividade biológica, para fornecer a comunidade científica conhecimentos químicos e biológicos sobre a madeira de diferentes espécies.

## 2.2. Aspectos botânicos e químicos da Família Lauraceae

A família Lauraceae pertence à Subclasse Magnoliidae, ordem Laurales, próximo às angiospermas basais segundo descrição filogenético do APG IV (2016). Segundo Van Der Werff (1991) essa família é de difícil identificação, pois as flores são inconspícuas e os caracteres diagnósticos se referem às estruturas florais, como o número de estames, de esporângios na antera, condição sexual das flores e tépalas iguais ou desiguais. É uma família de distribuição pantropical, contendo aproximadamente cerca de 50 gêneros, com 2500 à 3000 espécies, com exceção de espécies do gênero *Cassytha*, que são trepadeiras hemiparasitas, as demais são árvores e arbustos (CHANDERBALI *et al.*, 2001; ROHWER, 1993; MORAES, 2018).

No Brasil, ocorrem 24 gêneros e 441 espécies e 1 subespécie, que habitam os principais domínios fitogeográficos, que são: Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica e Pantanal, (QUINET *et al.*, 2015). Do ponto de vista taxonômico, essa família é uma das mais complexas da flora brasileira, apresenta uma composição florística de grande parte dos ecossistemas florestais do país, ocupando posição de destaque (SOUZA, 2005).

Numerosas espécies dessa família são ricas em substâncias aromáticas e a vasta maioria é de importância econômica (madeira, óleos essenciais e frutas comestíveis) e/ou fitossociológica, devido à grande representação e ampla distribuição geográfica (REGO *et al.*, 2011).



**Figura 01.** Mapa da distribuição geográfica da família Lauraceae

**Fonte:** <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb>

As plantas dessa família apresentam grandes diversidade de usos, como por exemplo, na culinária, marcenaria, construção civil, fabricação de papel, nas indústrias de perfumaria e química, e medicina popular, destacando-se as espécies correspondentes aos gêneros: *Ocotea*, *Aniba* e *Nectandra*, que possuem um número grande de espécies utilizadas (MARQUES, 2001).

A família da Lauraceae é quimicamente importante, por apresentar uma grande variedade de metabólitos secundários. São relatados na literatura estudos que apontam para a presença de sesquiterpeno (CAMARGO *et al.*, 2013), lignana (COY *et al.*, 2009), neolignana (CABRAL *et al.*, 2010), cumarina e diterpeno (COY *et al.*, 2008), alcalóide (BARBOSA, *et al.*, 2020; WAN OTHMAN, 2017) e flavonoide (MOITA, I. S. *et al.*, 2019).

Apesar de poucos relatos sobre a espécie *Licaria aritu*, a Lauraceae desperta interesse da indústria química por evidenciar substâncias com potencial farmacológico, destacando-se os pertencentes às seguintes classes: lignanas e neolignanas, alcaloides aporfínicos e benzilisoquinolínicos, flavonoides, sesquiterpenos e pironas (GARCEZ *et al.*, 2011). Dentre essas, 54 alcaloides aporfínicos já foram identificados em 17 espécies dessa família, segundo Zanin & Lordello (2007).

**Tabela 01.** Gêneros da família Lauraceae, reconhecidos pelo APG

<i>Actinodaphne</i> Nees	<i>Cinnamomum</i> Schaeff.
<i>Aiouea</i> Aublet	<i>Cryptocarya</i> R. Brown
<i>Alseodaphne</i> Nees	<i>Dahlgrenodendron</i> J. J. M. van der Merwe & A. E. van Wyk
<i>Anaueria</i> Kostermans	<i>Damburneya</i> Rafinesque
<i>Aniba</i> Aublet	<i>Dehaasia</i> Blume
<i>Apollonias</i> Nees	<i>Dicypellium</i> Nees & Martius
<i>Aspidostemon</i> Rohwer & H. G. Richt.	<i>Dodecadenia</i> Nees
<i>Beilschmiedia</i> Nees	<i>Endiandra</i> R. Brown

---

<i>Camphoromoea</i> Nees	<i>Endlicheria</i> Nees
<i>Caryodaphnopsis</i> Airy Shaw	<i>Eusideroxylon</i> Teijsmann & Binn.
<i>Cassytha</i> L.	<i>Evonymodaphne</i> Nees
<i>Chlorocardium</i> Rohwer et al	<i>Gamanthera</i> van der Werff
<i>Cinnadenia</i> Kostermans	<i>Gymnobalanus</i> Nees & Martius
<i>Hypodaphnis</i> Stapf	<i>Persea</i> Mill.
<i>Kubitzkia</i> van der Werff	<i>Petelanthera</i> Nees & Martius
<i>Laurus</i> L.	<i>Phyllostemonodaphne</i> Kostermans
<i>Leptodaphne</i> Nees & Martius	<i>Pleurothyrium</i> Nees
<i>Licaria</i> Aublet	<i>Phoebe</i> Nees
<i>Lindera</i> Thunberg	<i>Potameia</i> Thouars
<i>Litsea</i> Lam.	<i>Potoxylon</i> Kostermans
<i>Mespilodaphne</i> Nees & Martius	<i>Povedadaphne</i> W. C. Burger
<i>Mezilaurus</i> Taub.	<i>Rhodostemonodaphne</i> Rohwer & Kubitzki
<i>Micropora</i> J. D. Hooker	<i>Sassafras</i> Nees
<i>Nectandra</i> Rottb.	<i>Sinosassafras</i> H. W. Li
<i>Neocinnamomum</i> H. Liu	<i>Teleiandra</i> Nees & Martius
<i>Neolitsea</i> (Bentham) Merrill	<i>Temmodaphne</i> Kostermans
<i>Nothaphoebe</i> Blume	<i>Triadodaphne</i> Kostermans
<i>Ocotea</i> Aublet	<i>Umbellularia</i> (Nees) Nuttall
<i>Oreodaphne</i> Nees & Martius	<i>Urbanodendron</i> Mez
<i>Paraia</i> Rohwer et al.	<i>Williamodendron</i> Kubitzki & H. G. Richt.
<i>Parasassafras</i> D. G. Long	

---

**Fonte:** APG (2019).

### **2.2.1. O Gênero *Licaria***

*Licaria* é um gênero neotropical composto por 38 espécies distribuídas desde o sul da Flórida, México até o sudoeste do Brasil e Bolívia. No Brasil é registrada a ocorrência de 20 espécies e duas subespécies, na sua maioria na Região Amazônica (KURTZ, 2000). As árvores têm uma madeira resistente, útil como madeira para construção e fabricação de móveis. Suas Folhas são alternas ou opostas, Inflorescência em panícula com terminações cimosas. Flores monoclinas, hipanto urceolado, os frutos, são parcialmente envolvidos por cúpula, grande em relação ao fruto, de margem dupla, tépalas decíduas (QUINET, 2005).

### 2.2.2. Aspectos fitoquímicos das espécies do gênero *Licaria*

**Tabela 02.** Classe de substâncias relatadas no gênero *Licaria*

Neolignanas de espécies do Gênero <i>Licaria</i>				
Nº	Neolignanas	Espécie	PV	R
1	Eusiderina	<i>L. rígida</i>	MT	1a
2	eusiderina-B	<i>L. rígida</i>	MT	1a
3	canelina-A	<i>L. rígida</i> / <i>L. canela</i>	MT	1a,7a
4	canelina-C	<i>L. rígida</i> / <i>L. canela</i>	MT	1a, 7a
5	crisofilina-A	<i>L. chrysophylla</i>	MT	2a
6	crisofilina-B	<i>L. chrysophylla</i>	MT	2a
7	eusiderina -A	<i>L. aurea</i> / <i>L.chrysophylla</i>	MT, CM, F	3a, 2c
8	crisofilon I-A	<i>L. chrysophylla</i>	MT	2b
9	crisofilon I-B	<i>L. chrysophylla</i>	MT, CM	2b,2d
10	crisofilon II-A	<i>L. chrysophylla</i>	MT, CM	2b, 2d
11	crisofilon II-B	<i>L. chrysophylla</i>	MT, CM	2b, 2d

Continuação p. 24

<b>12</b>	crisofilon III-A	<i>L. chrysophylla</i>	MT	2b
<b>13</b>	crisofilon III-B	<i>L. chrysophylla</i>	MT, CM	2b, 2d
<b>14</b>	eusiderina I	<i>L. chrysophylla</i>	CM, F	2c
<b>15</b>	eusiderina J	<i>L. chrysophylla</i>	CM, F	2c
<b>16</b>	eusiderina K	<i>L. chrysophylla</i>	CM, F	2c
<b>17</b>	eusiderina L	<i>L. chrysophylla</i>	CM, F	2c
<b>18</b>	eusiderina M	<i>L. chrysophylla</i>	CM, F	2c
<b>19</b>	virolongina E	<i>L. chrysophylla</i>	CM, F	2c
<b>20</b>	virolongina F	<i>L. chrysophylla</i>	CM, F	2c
<b>21</b>	virolongina G	<i>L. chrysophylla</i>	CM, F	2c
<b>22</b>	crisofilon IV-B	<i>L. chrysophylla</i>	CM	2d
<b>23</b>	crisofilon VI-B	<i>L. chrysophylla</i>	CM	2d
<b>24</b>	aureina- A	<i>L. aurea</i>	MT	3a
<b>25</b>	aureina- B	<i>L. aurea</i>	MT	3a

Continuação p. 25

26	virolongina B	<i>L. aurea</i> / <i>L. chrysophylla</i>	MT, CM, F	3a, 4a, 2c
27	virolongina C	<i>L. aurea</i>	MT	3a
28	Grandisin	<i>L. aurea</i>	F	4a
29	<i>de-O</i> -methylgrandisin	<i>L. aurea</i>	F	4a
30	<i>dide-O</i> -methylgrandisin	<i>L. aurea</i>	F	4a
31	virolongina A	<i>L. aurea</i>	F	4a
32	(1 <i>S</i> ,5 <i>R</i> ,6 <i>S</i> ,7 <i>R</i> ,8 <i>R</i> )-8-acetoxi-1-alil-3,5-dimetoxi-7-metil-6-(3'-metoxi-4',5'-metilenodioxifenil)-4-oxobiciclo [3.2.1] oct-2-eno	<i>L. armeniaca</i>	F	5a
33	(1 <i>S</i> ,5 <i>R</i> ,6 <i>S</i> ,7 <i>R</i> )-1-alil-3-metoxi-7-metil-6-(3'-metoxi-4',5'-metilenodioxifenil)-4,8-dioxobiciclo [3.2.1] oct-2-eno	<i>L. armeniaca</i>	F	5a
34	(1 <i>S</i> ,5 <i>R</i> ,6 <i>S</i> ,7 <i>R</i> )-1-alil-3-metoxi-7-metil-6-(3',4',5'-trimetoxifenil)-4,8-dioxobiciclo [3.2.1] oct-2-eno	<i>L. armeniaca</i>	F	5a
35	(2 <i>S</i> ,3 <i>S</i> ,3 <i>aR</i> ,5 <i>R</i> )-3 $\alpha$ -alil-5-metoxi-2-(3',4'-metilenodioxifenil)-3-metil-2,3,3 <i>a</i> ,4,5,6-hexa-hidro-6-oxo-benzofurano	<i>L. armeniaca</i>	MT	6a
36	(2 <i>S</i> ,3 <i>S</i> ,3 <i>aR</i> ,5 <i>R</i> )-3 $\alpha$ -alil-5,7-dimetoxi-2-(3',4'-metilenodioxifenil)-3-metil-2,3,3 <i>a</i> ,4,5,6-hexa-hidro-6-oxo-benzofuranos	<i>L. armeniaca</i>	MT	6a

Continuação p. 26

<b>37</b>	armenina A	<i>L. armeniaca</i>	MT	6a
<b>38</b>	armenina B	<i>L. armeniaca</i> / <i>L. puchury-major</i>	MT, S	6a, 9a
<b>39</b>	(7 <i>S</i> ,8 <i>R</i> ,1' <i>S</i> ,2' <i>S</i> ,3' <i>S</i> )-2'-acetoxi-1'-alil-3',5'-dimetoxi-8-metil-7-piperonil-biciclo[3.2.1]-oct-5'-en-4'-ona	<i>L. armeniaca</i>	MT	6b
<b>40</b>	3a-alil-5-metoxi-3-metil-2,3,3a, 4,5,6-hexa-hidro-6-oxobenzofurano	<i>L. armeniaca</i>	MT	6c
<b>41</b>	dimetoxi-2-(3,4-metilenodioxifenil)-3-metil-2,3,3a, 4,5,6-hexa-hidro-6-oxobenzofurano	<i>L. armeniaca</i>	MT	6c
<b>42</b>	canelina-B	<i>L. canella</i>	MT	7a
<b>43</b>	Macrofilina	<i>L. macrophylla</i>	MT	8a
<b>44</b>	(7 <i>S</i> ,8 <i>S</i> )- $\Delta$ 8'-2',6'-Dimetoxi-3,4-metilenodioxi-7.O.3', 8.4', 1'.O.7'-neolignana	<i>L. puchury-major</i>	S	9a
<b>45</b>	Ferrearina B	<i>L. puchury-major</i>	S	9a
<b>46</b>	Ferrearina C	<i>L. puchury-major</i>	S	9a
<b>47</b>	<i>rel</i> -(7 <i>S</i> ,8 <i>S</i> ,1' <i>R</i> ,2' <i>S</i> )-2'-Hidroxi-3,4-dimetoxi-3'-oxo- $\Delta$ 4',8'-8.1',7.O.2'-neolignana	<i>L. puchury-major</i>	S	9a
<b>48</b>	Ferrearina G	<i>L. puchury-major</i>	S	9a
<b>49</b>	Oxaguianina	<i>L. puchury-major</i>	S	9a

Continuação p. 27

<b>50</b>	<i>rel</i> -(7 <i>S</i> ,8 <i>S</i> ,1' <i>R</i> ,5' <i>R</i> )-5'-metoxi-3,4metilenodioxi-4'-oxo- $\Delta$ 2',8'-8.1', 7.O.2'-neolignana	<i>L. puchury-major</i>	S	9a
<b>51</b>	3'-metoxiburchelina	<i>L. puchury-major</i>	S	9a
<b>52</b>	licarina A	<i>L. puchury-major, L. aritu</i>	MT, S	9a, 10a
<b>53</b>	Licarina B	<i>L. aritu</i>	MT	10a
<b>54</b>	<i>rel</i> -(7 <i>S</i> ,8 <i>R</i> ,1' <i>S</i> ,4' <i>S</i> ,5' <i>R</i> )-4'-Hydroxy-3,4,5,3', 5'- pentametoxi-6'-oxo- $\Delta$ -1,3,5,2', 8'-8,1', 7,5'-neolignana	<i>L. brasiliensis</i>	MT	11a
<b>55</b>	<i>rel</i> -(7 <i>S</i> ,8 <i>R</i> ,1' <i>S</i> ,4' <i>R</i> ,5' <i>R</i> )-4'-Hidroxi-3,4,5,3', 5'-pentametoxi-6'-oxo- $\Delta$ - 1,3,5,2', 8'-8,1', 7,5'-neolignana	<i>L. brasiliensis</i>	MT	11a
<b>56</b>	<i>rel</i> -(7 <i>S</i> ,8 <i>R</i> ,1' <i>S</i> ,5' <i>S</i> ,6' <i>S</i> ) -6-acetoxi-3'-hidroxi-3,5'- dimetoxi-4,5-metilenodioxi-4'-oxo- $\Delta$ -1,3,5,2', 8'-8,1',7,5'-neolignana	<i>L. brasiliensis</i>	MT	11a
<b>57</b>	<i>rel</i> (7 <i>R</i> ,8 <i>S</i> ,1' <i>S</i> ,5' <i>S</i> ,6' <i>S</i> )-6-acetoxi-3,4,5,3', 5'- pentametoxi-4'-oxo- $\Delta$ -1,3,5,2',8'-8,1',7,5'-neolignana	<i>L. brasiliensis</i>	MT	11a
<b>58</b>	<i>rel</i> -(7 <i>R</i> ,8 <i>S</i> ,1' <i>S</i> ,5' <i>S</i> ,6' <i>S</i> )-6'-hidroxi-3,4,5,3',5'-pentametoxi- 4'-oxo- $\Delta$ -1,3,5,2', 8'-8,1', 7,5'-neolignana	<i>L. brasiliensis</i>	MT	11a
<b>59</b>	<i>rel</i> -(7 <i>S</i> ,8 <i>R</i> ,1' <i>S</i> ,4' <i>R</i> ,5' <i>S</i> , 6' <i>S</i> )-6'-acetoxi-4'-hidroxi- 3,3',5'-trimetoxi-4,5-metilenodioxi- $\Delta$ -1,3,5,2', 8'-8,1',7,5'-neolignana	<i>L. brasiliensis</i>	MT	11a
<b>60</b>	Triandrina A	<i>L. triandra</i>	S	12a
<b>61</b>	Triandrina B	<i>L. triandra</i>	S	12a

62	Burchellina	<i>L. triandra</i>	S	12a
<b>Lignana de espécie do Gênero <i>Licaria</i></b>				
63	Magnolina	<i>L. armeniaca</i>	MT	6b
<b>Alcaloides de espécies do Gênero <i>Licaria</i></b>				
64	O-metilmoschatolina	<i>L. armeniaca</i>	MT	6b
65	Bracteolina	<i>L. armeniaca</i>	MT	6c
66	O-metilbracteolina	<i>L. armeniaca</i>	MT	6c
67	$\alpha$ -desidorreticulina	<i>L. armeniaca</i>	MT	6c
68	Reticulina	<i>L. puchury-major</i>	S	9b
69	Orientalina	<i>L. puchury-major</i>	S	9b
70	Cocclaurina	<i>L. puchury-major</i>	S	9b
71	N-metilcocclaurina	<i>L. puchury-major</i>	S	9b
72	Norjuzipina	<i>L. puchury-major</i>	S	9b
73	norisoboldina	<i>L. puchury-major</i>	S	9b
74	Isoboldina	<i>L. puchury-major</i>	S	9b
75	Glaziovina	<i>L. puchury-major</i>	S	9b
76	N-óxido de reticulina [N-Me (S)]	<i>L. puchury-major</i>	S	9b
77	N-óxido de reticulina [N-Me (R)]	<i>L. puchury-major</i>	S	9b

Continuação p. 29

Cumarina de espécie do Gênero <i>Licaria</i>				
78	5,6,7-dimetoxicumarina	<i>L. armeniaca</i>	MT	6a,6b
Esteróide de espécie do Gênero <i>Licaria</i>				
79	$\beta$ -sitosterol	<i>L. armeniaca</i>	MT	6 <sup>a</sup> , 6b
Lactonas de espécies do Gênero <i>Licaria</i>				
80	(-) - Di-hidro-hidranolido B	<i>L. mahuba</i>	MT	13a
81	(-) - iso-di-hidro-hidranolida B	<i>L. mahuba</i>	MT	13a

1a. Braz (1981), 2a. Ferreira *et al.*, (1982), 2b. Lopes *et al.*, (1986), 2c. Silva *et al.*, (1989), 2d. Bezerra *et al.*, (2012), 3a. Marques (1992), 4a. Barbosa-Filho *et al.*, (1989), 5a. Barbosa-Filho *et al.*, (1987), 6a. Aiba *et al.*, (1978), 6b. Alegrio *et al.*, (1981), 6c. Abdel-Hafiz *et al.*, (1985), 7a. Giesbrecht *et al.*, (1974), 8a. Franca *et al.*, (1974), 9a. Uchiyama *et al.*, (2009), 9b. Ohsaki *et al.*, (2015), 10a. Aiba *et al.*, (1973), 11a. Guilhon *et al.*, (1992), 12a. Castro & Ulate (1988), 13a. Tanaka & Yamashita (1981).

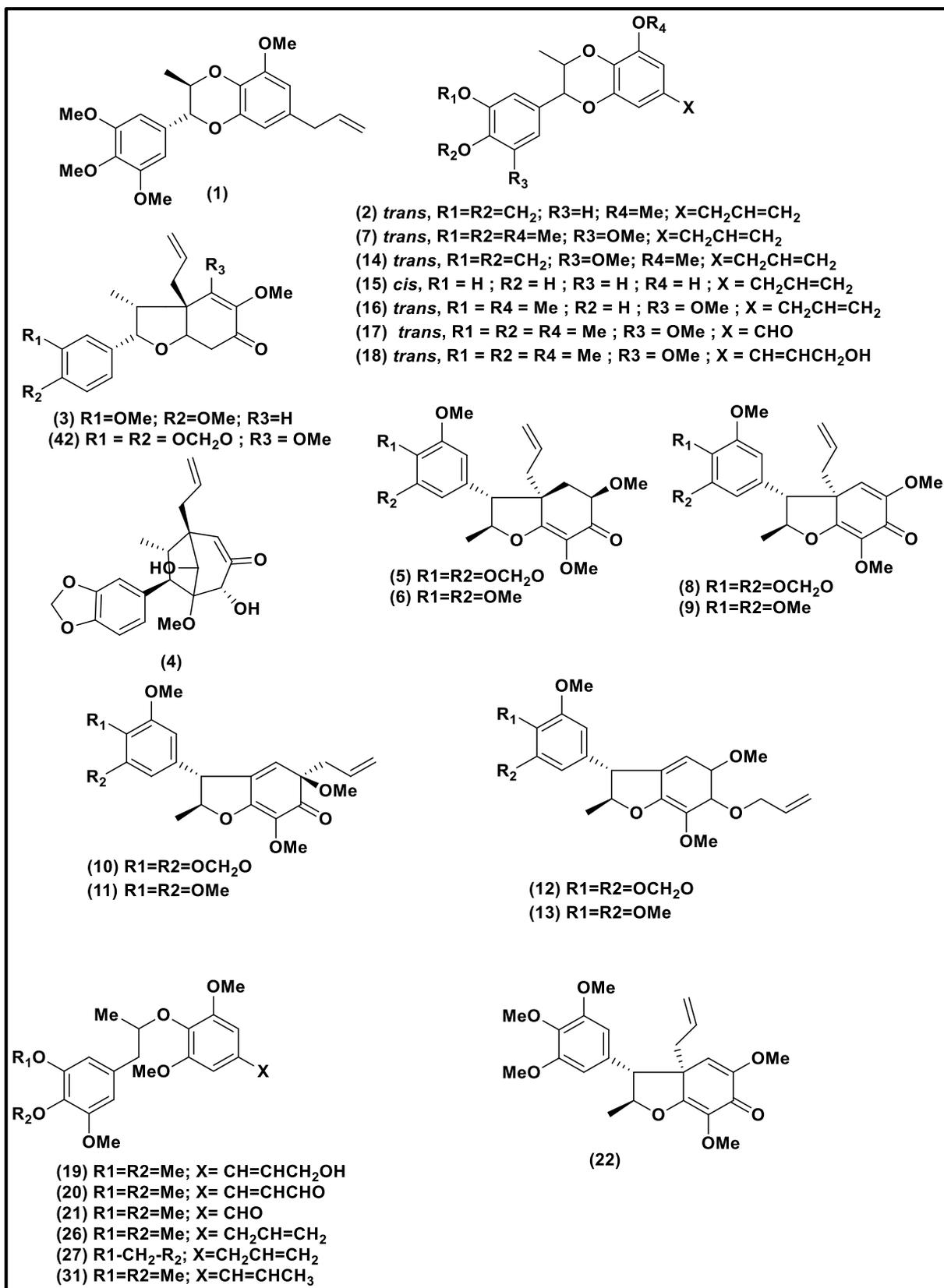
**Legenda:**

PV – Parte Vegetativa; R – Referência

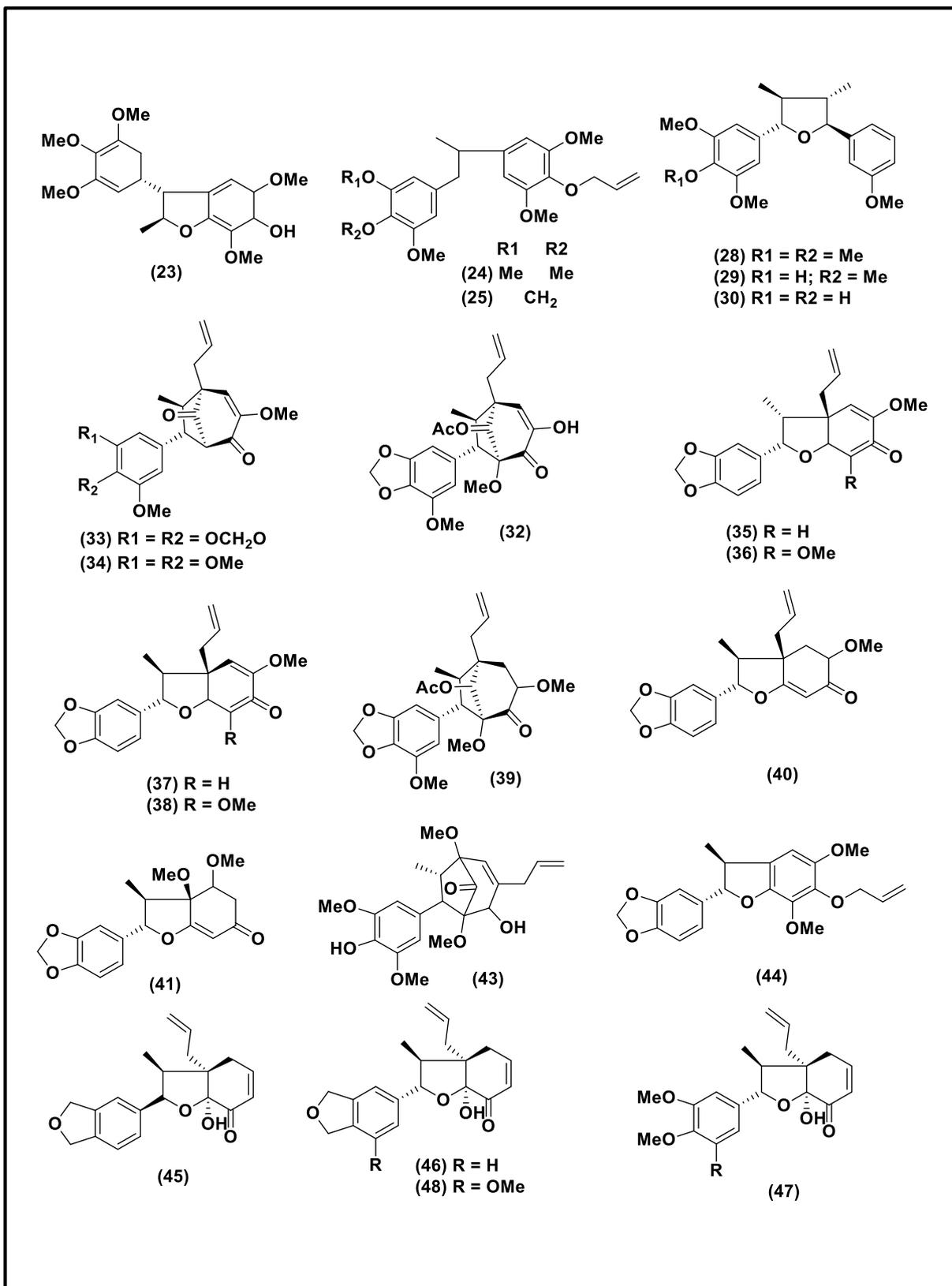
MT - Madeira do Tronco; S – Semente;

CM – Casca da Madeira; F – Fruto.

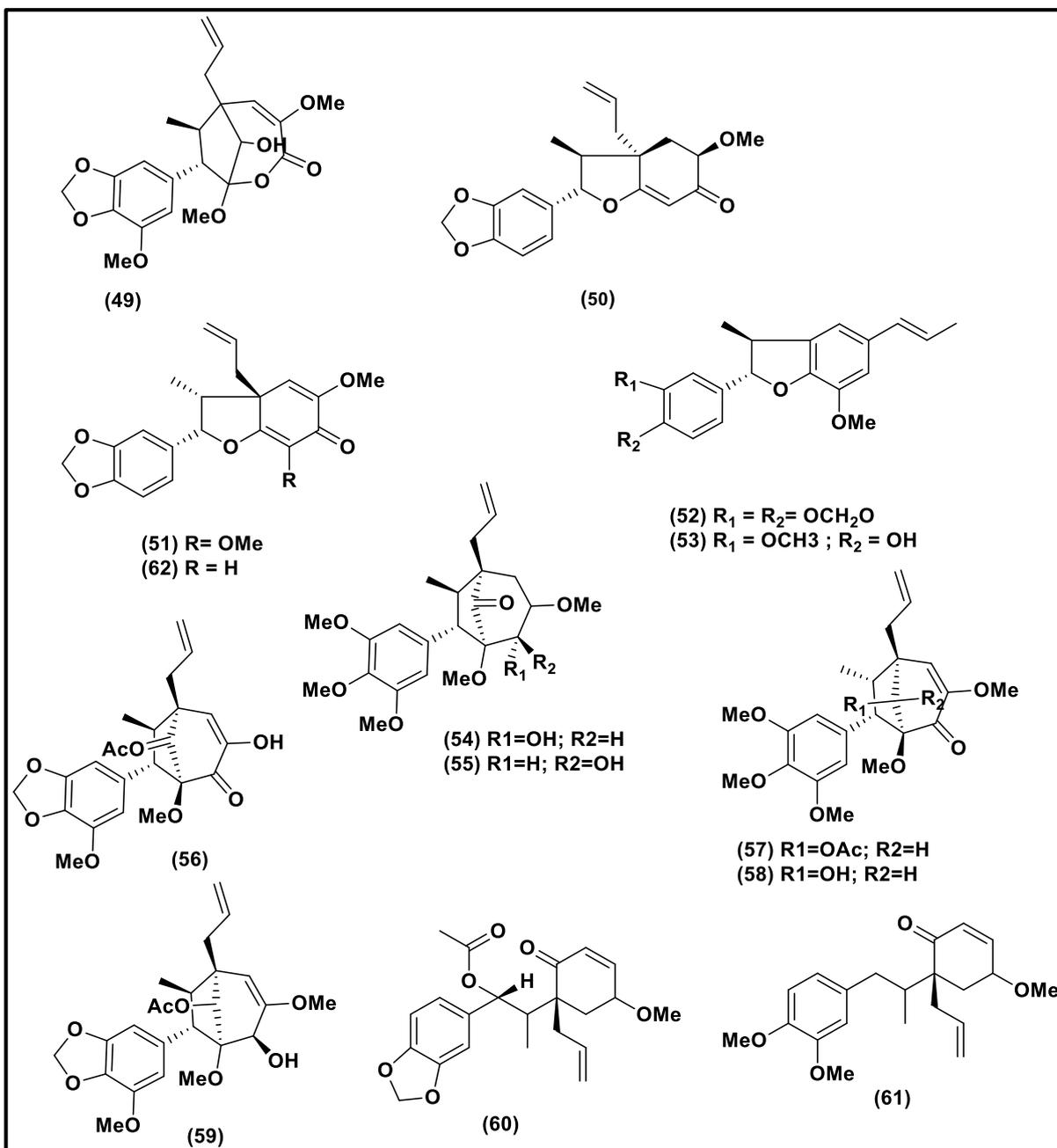
**Quadro 01.** Neolignanas isoladas de espécies do gênero *Licaria*



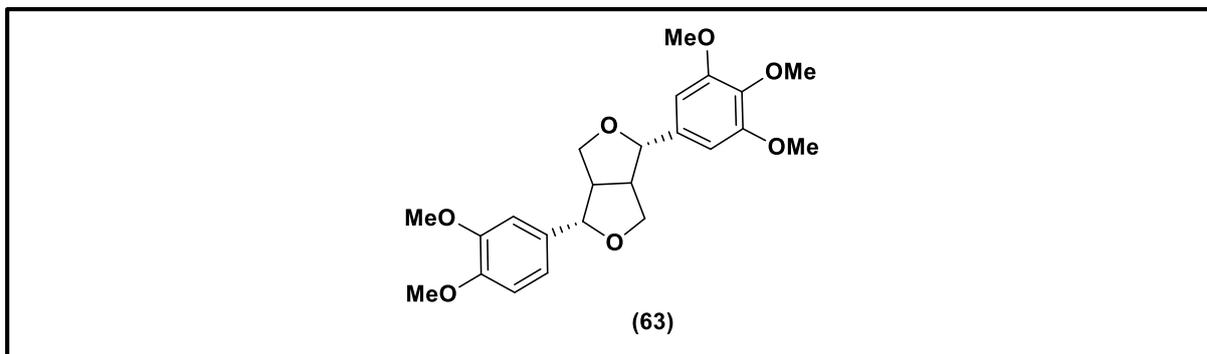
Quadro 02. Neolignanas isoladas de espécies do gênero *Licaria*



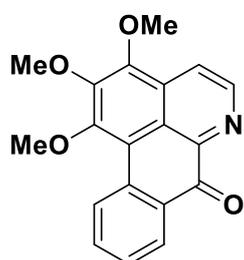
**Quadro 03.** Neolignanais isoladas de espécies do gênero *Licaria*



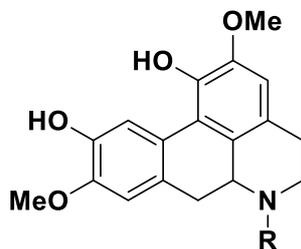
**Quadro 04.** Lignana isolada de espécie do gênero *Licaria*



**Quadro 05.** Alcaloides isolados de espécie do gênero *Licaria*

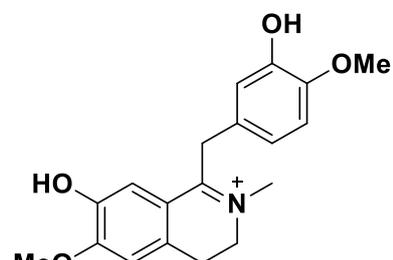


(64)

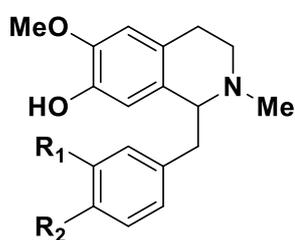


(65) R = H

(66) R = OCH<sub>3</sub>

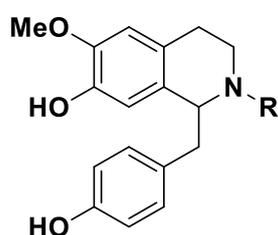


(67)



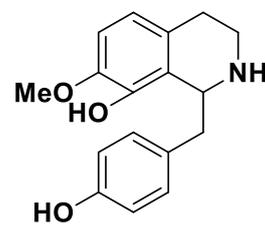
(68) R1 = OH; R2 = OMe

(69) R2 = OMe; R2 = OH

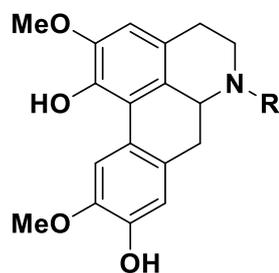


(70) R = H

(71) R = Me

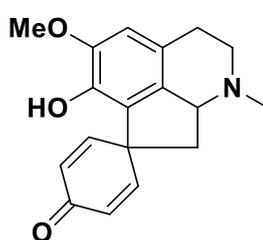


(72)

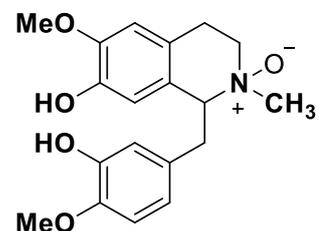


(73) R = H

(74) R = Me



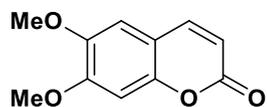
(75)



(76) N-CH<sub>3</sub>=(S)

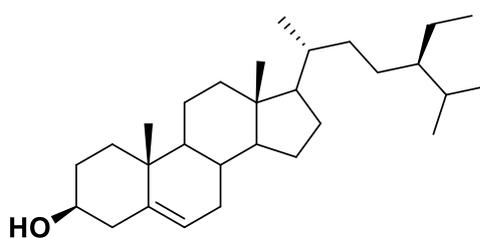
(77) N-CH<sub>3</sub>=(R)

**Quadro 06.** Cumarina isolada de espécie do gênero *Licaria*



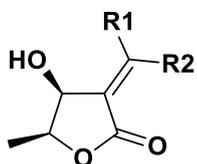
(78)

**Quadro 07.** Esteróide isolado de espécie do gênero *Licaria*



(79)

**Quadro 08.** Lactonas isoladas de espécie do gênero *Licaria*

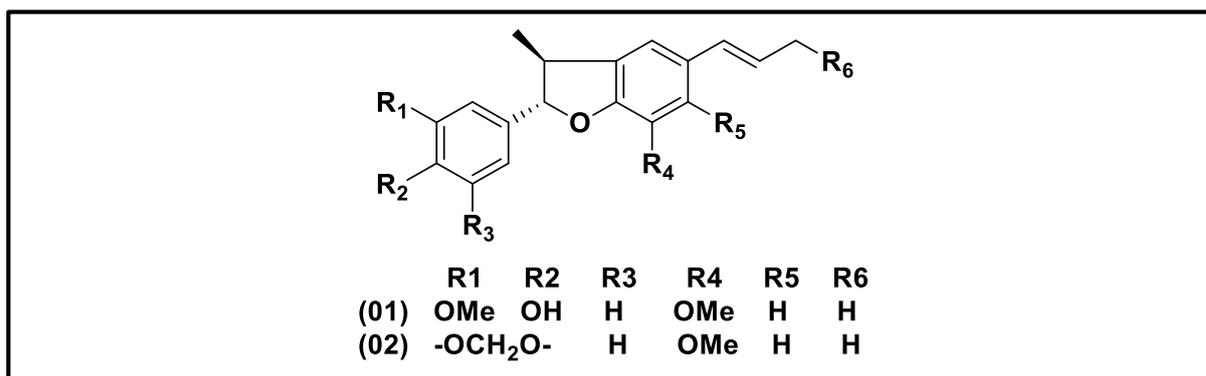


(80) R1 = H ; R2 = C<sub>15</sub>H<sub>31</sub>  
(81) R1 = C<sub>15</sub>H<sub>31</sub> ; R2 = H

### 2.2.3. A espécie *Licaria aritu* Ducke

A espécie *Licaria aritu* Ducke, popularmente conhecida como Louro aritu, apresenta como sinonímia *Misanteca aritu* Ducke Lundell, foi muito pouco estudada existindo apenas na literatura um trabalho do extrato benzênico de madeira do tronco de *L. aritu* o qual foi isolado as neolignananas (licarina-A **01** e licarina-B **02**, Quadro 09), (AIBA *et al.*, 1973). A licarina A, mostrou atividade neuroprotetora significativa contra a neurotoxicidade induzida por glutamato em culturas primárias de células corticais de ratos e induziu um efeito apoptótico em células HL-60 via ativação da caspase-3 (PARK *et al.*, 2004; MA-CHOONG *et al.*, 2004).

**Quadro 09.** Neolignananas isolada da espécie *Licaria aritu*



### 2.3. Atividade biológica

Atualmente há uma grande preocupação no surgimento de microrganismos resistentes a medicamentos, levando “superbactérias”, intratáveis pelos produtos farmacêuticos disponíveis, é um grave problema de saúde em todo o mundo (DEMIREV *et al.*, 2013). Segundo Luo Gang e colaboradores (2017), a formação de genes resistentes a antibióticos é resultado do uso extensivo de antibióticos em humanos e animais.

Alguns microrganismos e plantas são fontes de substâncias biologicamente ativas, que podem ser uma alternativa para produção de novos medicamentos com grande potencial, por esse motivo cresce a busca por novas substâncias antimicrobianas a partir de fontes naturais. Os compostos à base de plantas são potenciais candidatos na busca por medicamentos, uma vez que estes são bem conhecido por seus antimicrobianos (RAVISHANKAR *et al.*, 2018).

O potencial biológico das plantas está diretamente relacionado às variedades estruturais que os metabolitos secundários apresentam. Muitas plantas resistem fortemente à decomposição, é o caso do puchuri. Essa resistência parece dever-se a uma combinação de mecanismos físicos e químicos de defesa, na medida em que a semente é revestida por uma casca e contém grandes quantidades de constituintes antimicrobianos. (HIMEJIMA, M., & KUBO, I. 1992).

Estudos realizados com extratos da casca das espécies de Lauraceae, *Nectandra aff. hihua* e *Licaria canella*, respectivamente, utilizadas para fins de construção e contra dores de estômago, mostram que ambas exibiram atividade *in vitro* contra cepas sensíveis e resistentes a *P. falciparum*. (DEHARO *et al.*, 2001).

Desse modo, considerando a urgência por drogas com efeitos desejáveis para vários patógenos resistentes aos medicamentos atuais, têm-se a necessidade de buscar substâncias que sejam mais efetivas no combate às diversas enfermidades que acometem os seres humanos. Portanto, considerando os estudos realizados com espécies do gênero *Licaria* apresentarem atividades contra vários tipos de patógenos, há a necessidade de investigar a atividade antifúngica das substâncias isoladas provenientes dos resíduos madeireiros *L. aritu* contra micro-organismos.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. Objetivo Geral**

- ✓ Realizar os estudos fitoquímicos dos resíduos madeireiros de *Licaria aritu Ducke* (Lauraceae), buscando substâncias com atividade antifúngica nos extratos hexânico e metanólico.

#### **3.2. Objetivo Específico**

- ✓ Realizar os fracionamentos cromatográficos do extrato hexânico e metanólico;
- ✓ Isolar as substâncias através de métodos de extração e cromatografia clássica;
- ✓ Identificar e/ou elucidar as estruturas químicas das substâncias isoladas dos extratos, através de técnicas de RMN;
- ✓ Realizar o ensaio antifúngico com substâncias oriundas dos resíduos madeireiros de *Licaria aritu Ducke*.

## 4. METODOLOGIA

### 4.1. Materiais utilizados

#### 4.1.1. Solventes

Nas análises cromatográficas, utilizaram-se solventes comerciais (hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol) destilados no LQPN-INPA. Para os experimentos de RMN foram empregados solventes deuterados (Sigma- Aldrich).

#### 4.1.2. Na Cromatografia Clássica

- ✓ **Cromatografia em Coluna (CC):** Para os fracionamentos dos extratos e frações foram utilizadas colunas de vidro com variações de comprimento e diâmetro que variavam entre  $\varnothing = 0,5-3,5$  cm e  $h = 40-100$  cm, a escolha foi adequado à quantidade de massa da amostra à ser fracionada.
- ✓ **Fases Estacionárias para Cromatografia em Coluna:** Sílica gel 60 (70-230 e 230-400 mesh) da Merck; Sephadex LH-20 da Sigma-Aldrich e celulose microcristalina Avicel (Merck).
- ✓ **Cromatografia em Camada Delgada (CCD):** Foram utilizadas cromatofolhas de alumínio com sílica gel 60, indicador de fluorescência  $F_{254}$  e 0,2 mm de espessura da Merck.

#### 4.1.3 Reveladores empregados em CCD

- ✓ **Físicos:** Câmara de luz ultravioleta com irradiação de luz no comprimento de onda de 254 e 365 nm.
- ✓ **Químicos:** Vanilina sulfúrica, anisaldeído sulfúrico, vapores de iodo e cloreto férrico.

#### 4.1.4. Equipamentos e acessórios

- ✓ **Balança Analítica:** marca Shimadzu, com capacidade de até 320 g.
- ✓ **Chapa de aquecimento:** Fisatom, modelo 753 A.
- ✓ **Moinho:** marca Marconi, modelo MA-340.
- ✓ **Evaporador rotativo:** Yamato, modelo RE500, equipado com banho Yamato BM 200.
- ✓ **Espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear (RMN):** os espectros de RMN foram obtidos por meio de espectrômetros da Bruker, Fourier-300 (300 MHz –  $^1\text{H}$  e 75 MHz –  $^{13}\text{C}$ ) da CA – LTQPN do INPA.

#### 4.2. Obtenção e identificação do material vegetal

Os resíduos madeireiros foram fornecidos pelo Laboratório de Tecnologia da Madeira (LTM) do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA. A identificação dos resíduos foi realizada pelo Anatomista Jorge Alves de Freitas, utilizando, as características sensoriais e anatômicas macroscópicas, através do método de comparação (Confronto) das características macroscópicas com padrões das espécies disponíveis na Xiloteca do Laboratório de Tecnologia da Madeira (COTI-INPA). Esse trabalho de identificação anatômica gerou um laudo técnico (Nº 10/2019), que confirma que a espécie madeireira como *Licaria aritu* Ducke. Os resíduos são provenientes da sobra da manufatura de pequenos objetos e dos estudos das propriedades tecnológicas da madeira, cujas atividades estão inseridas no projeto INCT: Madeiras da Amazônia. Os resíduos de *Licaria aritu* Ducke, foram submetidos a procedimentos fitoquímicos para conhecimento dos seus metabólitos secundários, realizados no Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), nas instalações do Laboratório de Química de Produtos Naturais (LQPN).

#### 4.2.1. Determinação das propriedades anatômicas

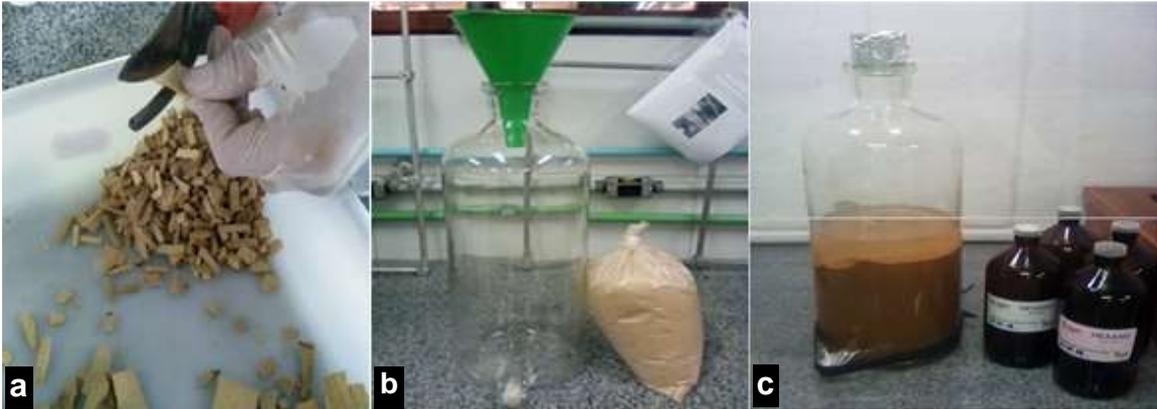
As células que constituem a madeira estão arranjadas no caule em duas direções, no sentido do eixo do tronco denominada direção axial e no sentido da casca para medula direção radial, as análises foram feitas com a madeira de *Licaria aritu* em três planos ou superfície, foi possível observar através da macrofotografia do plano transversal Figura 02, p. 41, vasos denominados poros; parenquima axial e as fibras.



**Figura 02.** Macrofotografia do plano transversal da madeira de *L. aritu*

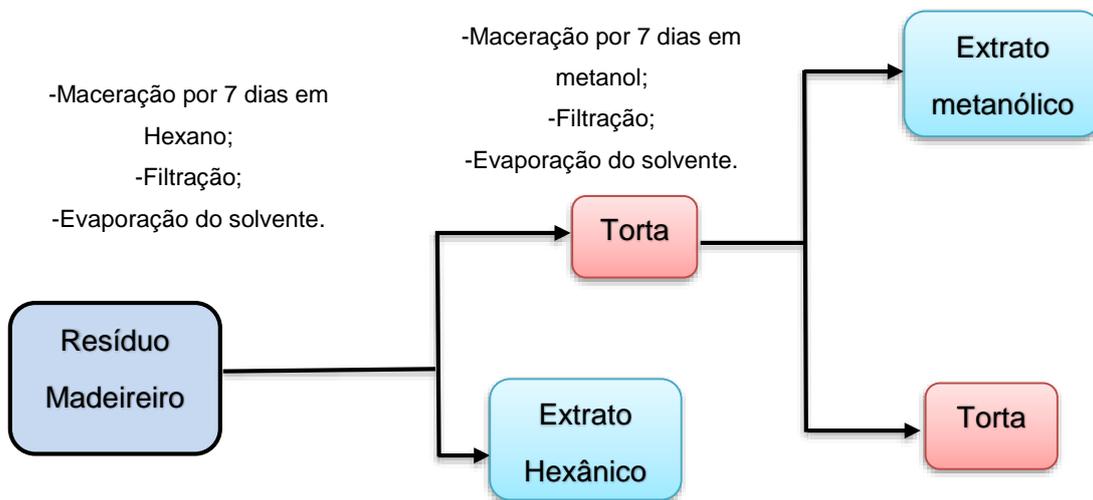
#### 4.3. Processamento dos resíduos, preparação dos extratos

A madeira foi cortada em pedaços menores e posteriormente triturado em moinho de 4 facas. Em seguida, o material moído, foi pesado e submetido à maceração à frio, com extração em hexano seguido por metanol, cada solvente permaneceu durante 7 dias (Esquema 1, p. 42). Os extratos brutos foram obtidos através de evaporação dos solventes em evaporador rotativo, posteriormente tiveram suas massas determinadas e rendimentos calculados.



FONTE: Arquivo pessoal, 2018

**Figura 03.** (a) Resíduo de *Licaria aritu* Ducke; (b) Frasco utilizado na maceração (marriote); (c) Maceração



**Esquema 01.** Obtenção dos extratos hexânico e metanólico

**Tabela 03.** Rendimentos dos Extratos de *L.aritu*

Massa dos resíduos	Extratos		Rendimentos %
	Código	Massa (g)	
1219,8	LAH	3,6	0,29
	LAM	19,8	1,62

**Legenda:** LAH (Extrato Hexânico); LAM (Extrato Metanólico).

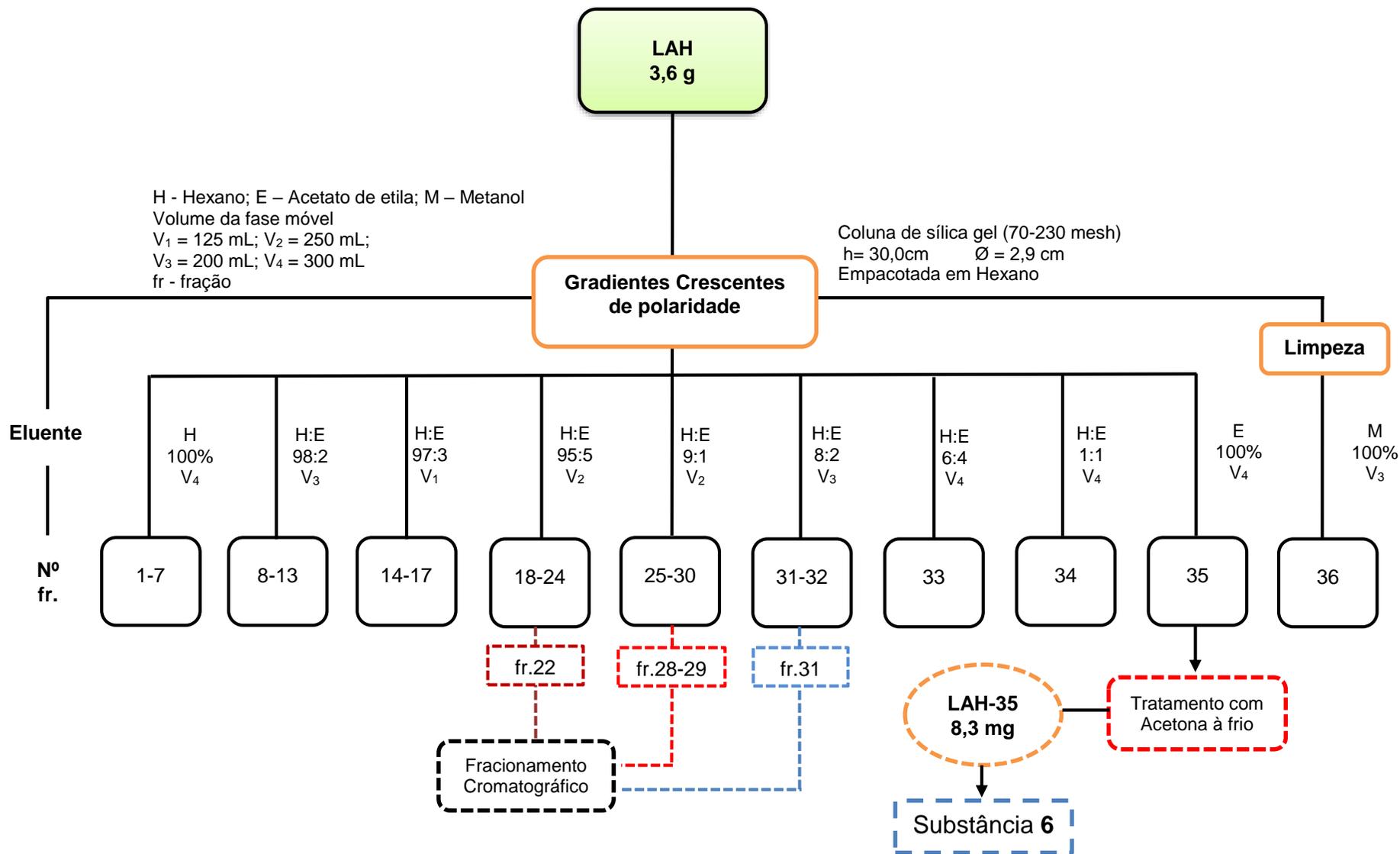
#### **4.4. Análise do extrato hexânico de *Licaria aritu* Ducke**

Nas análises prévias dos extratos de *L. aritu* por Cromatografia em Camada Delgada (CCD), com padrão de amirina e sitosterol, o extrato hexânico apresentou um perfil cromatográfico promissor devido a presença de uma substância com fluorescência em luz ultravioleta de comprimento 254 nm. Dessa forma foi selecionado o sistema mais adequado para processo de separação, iniciando-se o fracionamento cromatográfico pelo extrato hexânico.

##### **4.4.1. Fracionamento cromatográfico do extrato hexânico LAH**

O fracionamento cromatográfico inicial do extrato hexânico, foi efetuado em coluna cromatográfica aberta utilizando sílica gel tipo filtrante (70-230 mesh), e eluída em hexano, acetato de etila e metanol em gradientes crescentes de polaridade (Esquema 02, p. 44), fornecendo 36 frações que foram reunidas de acordo com as análises realizadas por Cromatografia em Camada Delgada (CCD). Posteriormente, as frações foram pesadas e codificadas, como apresentado na (Tabela 04, p. 45).

Das frações obtidas na coluna (Esquema 02, p. 44) foram analisadas por Cromatografia em Camada Delgada (CCD), verificou-se que as frações LAH-29, LAH-22, LAH-28, LAH-31, LAH-35, apresentaram perfil promissor pois as mesmas evidenciaram fluorescências em UV e revelaram em vanilina sulfúrica, as demais frações foram descartadas por apresentar muito material graxo, e presença de substâncias de baixa polaridade com pouca resolução em CCD.



**Esquema 02.** Fracionamento cromatográfico do extrato hexânico

**Tabela 04.** Reunião das frações de LAH

Frações reunidas	Códigos	Massa (mg)
1	LAH-1	591,1
2;4;5;6;8	LAH-2	29,0
3	LAH-3	35,3
7	LAH-8	2,2
9	LAH-9	1,7
10;12	LAH-10	4,7
11	LAH-11	1,8
13;14;15	LAH-13	5,9
16;17;18;19	LAH-16	372,8
20;21	LAH-20	6,5
<b>22</b>	<b>LAH-22</b>	<b>43,3</b>
23;24	LAH-23	359,2
25	LAH-25	192,8
26;27	LAH-26	64,6
<b>28</b>	<b>LAH-28</b>	<b>650,7</b>
<b>29</b>	<b>LAH-29</b>	<b>251,1</b>
30	LAH-30	93,1
<b>31;32</b>	<b>LAH-31</b>	<b>403,3</b>
33	LAH-33	265,3
34	LAH-34	114,8
<b>35</b>	<b>LAH-35</b>	<b>69,5</b>
36	LAH-36	70,1

Obs.: Descrição da Tabela (p.46), de acordo com a ordem de isolamento de cada substância.

**Legenda:**

CCDP - Cromatografia em Camada Delgada Preparativa;  
 TA - Tratamento com acetona à frio; CC- Coluna Celulose;  
 CSG - Coluna Sílica Gel 230-400 mesh  
 CSP - Coluna de Sephadex LH-20

Esquema 02, p. 44  
 Esquema 03, p. 48  
 Esquema 04, p. 50  
 Esquema 05, p. 51  
 Esquema 06, p. 53

A fração **LAH-29** (Tabela 04, p. 45) 251,1 mg, obtida a partir do fracionamento do extrato hexânico (Esquema 02, p. 44) apresentou aspecto sólido cristalino de cor amarelada, em análise cromatográfica verificou-se a presença de uma mancha majoritária juntamente com outras manchas, logo efetuou-se tratamento com acetona à frio originando 142,1 mg de um cristal de cor branca, em seguida realizou-se CCD, após esse procedimento foi verificado que ainda havia presença de outras manchas juntamente com a substância de interesse, então foi submetida sequencialmente a três fracionamentos cromatográfico (Esquema 03, p. 48) originando a substância **1** codificada como **LAH-29.1.2.9**. (5,0 mg).

Após análise em CCD da fração **LAH-22**, obtida a partir do fracionamento do extrato hexânico (Esquema 02, p. 44) mostrou-se promissora quando revelada em UV evidenciando a presença de fluorescência intensa no comprimento de onda 254 e outras que revelaram-se menos intensa, revelada em vanilina sulfúrica a mais intensa apresentou cor rocha, então optou-se em submeter a fração a uma coluna de sílica gel (Esquema 04, p. 50), obtendo-se 10 subfrações, ao serem analisadas em CCD, percebeu-se que a subfração 3 apresentava-se isolada, originando a substância **2 e 3** um sólido com característica cristalina translúcida, codificada como **LAH-22.3** (8,3 mg).

A fração **LAH-28** (650,7 mg) decorrente do fracionamento do extrato hexânico (Esquema 02, p.44), foi analisada por Cromatografia em Camada Delgada (CCD), apresentando em UV fluorescência no comprimento de onda de 254 nm e 365 nm, ao ser revelada em vanilina sulfúrica mostrou uma mancha roxa, então optou-se em fazer uma placa preparativa com 40,0 mg da fração (Esquema 05, p. 51), após o procedimento foram geradas 6 subfrações, ao serem analisadas em CCD verificou-se que em todas as subfrações haviam misturas, a qual a subfração 3 com 15,0 mg foi a mais promissora, então decidiu-se submetê-la a coluna de sílica gel (Esquema 05, p.51) para uma possível purificação, após o procedimento onde gerou 6 subfrações, evidenciou que a subfração 3 encontrava-se purificada, gerando assim a substância **4** (6,2 mg) codificada como **LAH-28.3.3**.

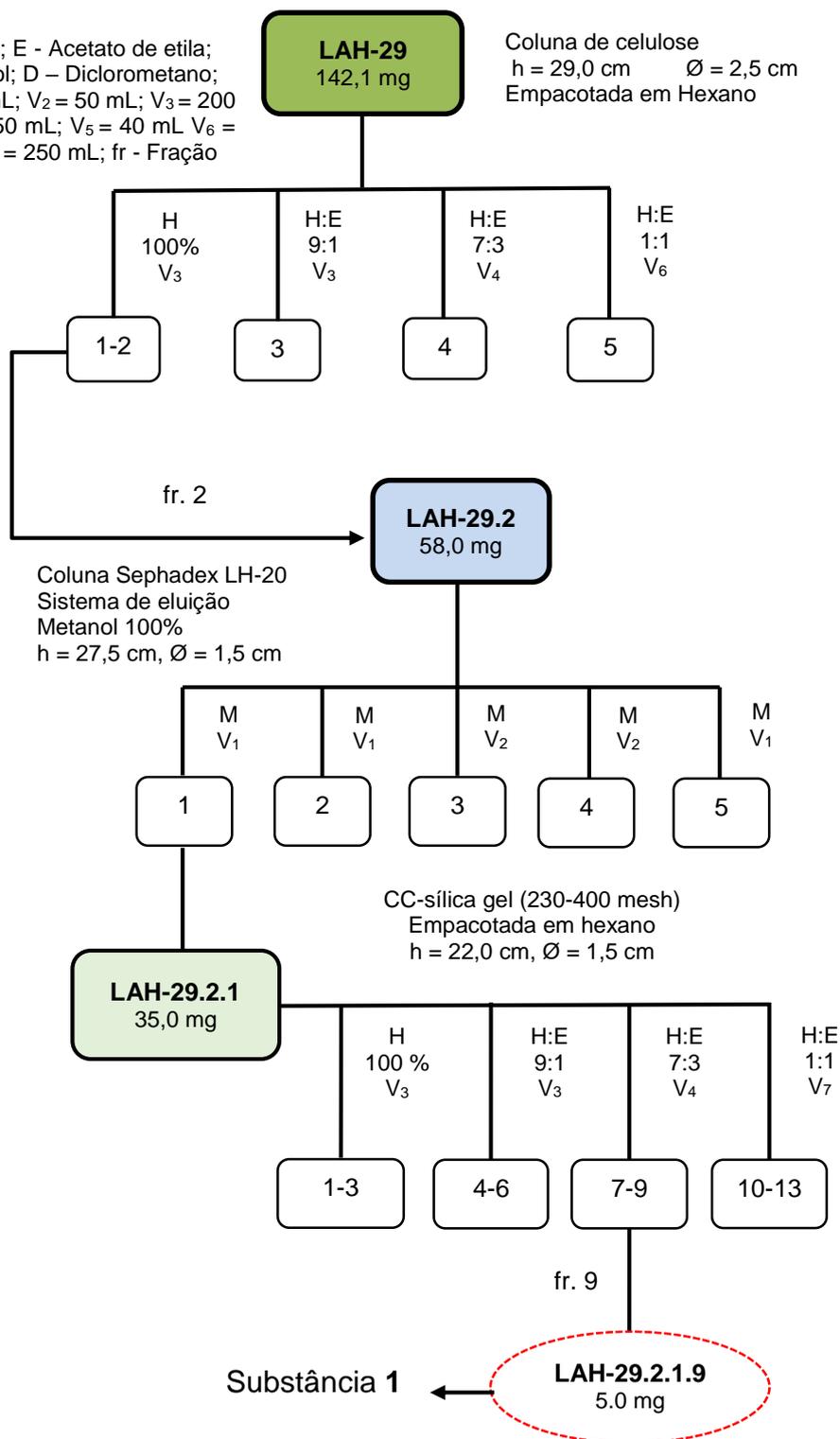
A fração **LAH-31** (403,3 mg) um sólido de coloração amarelada foi submetido à tratamento com acetona à frio gerando um sólido cristalino branco (197,0 mg) e uma graxa residual codificada como **LAH-M.31** (206,3 mg). Em CCD a fração **LAH-31**

mostrou-se promissora enquanto a fração **LAH-M.31** apresentou várias misturas sem definição, de difícil purificação, então resolveu-se descartá-la.

Logo a fração **LAH-31** foi submetida a coluna cromatográfica de sílica gel (230-400 mesh) na tentativa de purificação, obtendo-se 11 subfrações (Esquema 06, p. 53), em CCD verificou-se que a purificação das subfrações não ocorreu, no entanto, a subfração 1 codificada como **LAH-31.1** apresentou perfil mais adequado para um novo procedimento cromatográfico. Usou-se coluna de sephadex LH-20 (Esquema 06 p. 53), gerando 7 subfrações, das quais, apenas a subfração 4 em CCD mostrou-se promissora, quando revelada em UV apresentou fluorescência em 254 nm, em vanilina sulfúrica revelou manchas de cor laranja à qual se tinha interesse, então a subfração codificada como **LAH-31.1.4** com 82,3 mg foi submetida a mais um procedimento de purificação em coluna de sílica gel (230-400 mesh), obtendo-se 11 subfrações (Esquema 06, p.53), entre elas, foi verificado que a subfração 7 formou um sobrenadante, então realizou-se a filtração, após seca a fase líquida originou cristais translúcidos, realizou-se CCD e constatou-se que a subfração 7 “cristais” originado da fase líquida codificada como **LAH-31.1.4.7** (8,2 mg) estava purificada, que foi atribuída a substância **5**.

A fração **LAH-35** apresentou-se como cristal de cor amarelada, após análise em CCD verificou-se que continha impurezas, mas havia uma substância majoritária, então tratou-se a substância com acetona à frio, após o procedimento foi confirmado em CCD que havia sido purificada resultando na substância **6** (8,3 mg)

H - Hexano; E - Acetato de etila;  
M – Metanol; D – Diclorometano;  
V<sub>1</sub> = 100 mL; V<sub>2</sub> = 50 mL; V<sub>3</sub> = 200  
mL; V<sub>4</sub> = 150 mL; V<sub>5</sub> = 40 mL V<sub>6</sub> =  
500 mL; V<sub>7</sub> = 250 mL; fr - Fração



**Esquema 03.** Fracionamento cromatográfico da LAH-29; LAH-29.2; LAH-29.2.1

**Tabela 05.** Reunião das frações obtidas de LAH-29

Frações	Códigos	Massa
1	LHA-29.1	29,0 mg
2	LAH-29.2	58,0 mg
3	LHA-29.3	25,0 mg
4,5	LHA-29.4	39,0 mg

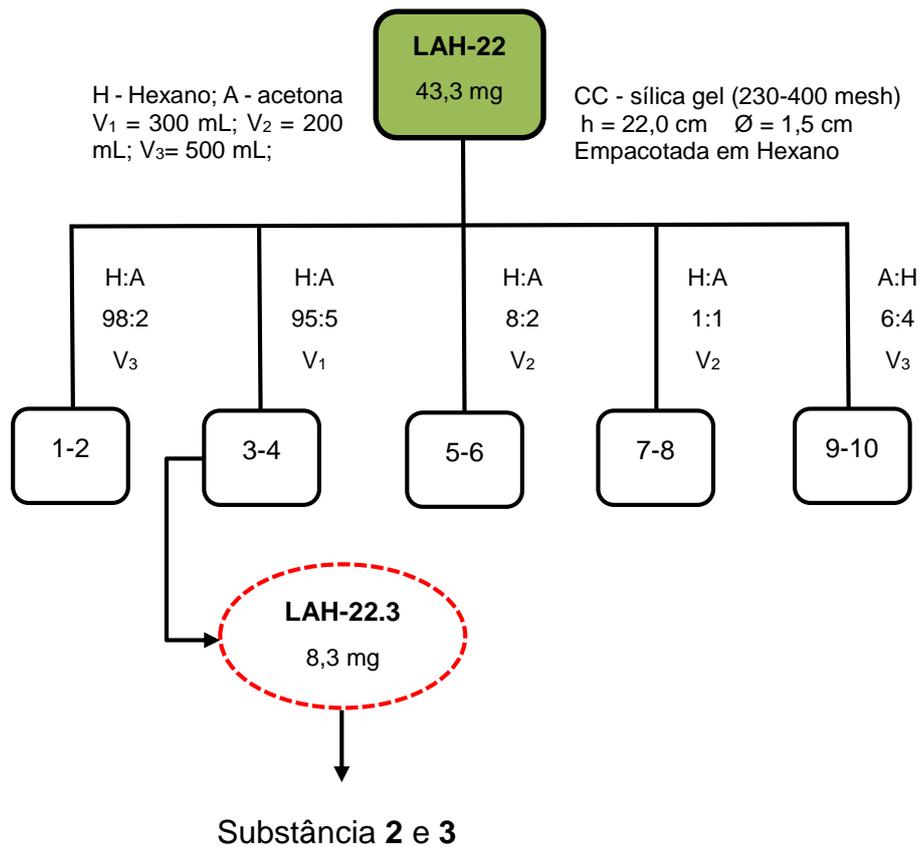
**Tabela 06.** Reunião das frações obtidas de LAH-29.2

Frações	Códigos	Massa
1	LAH-29.2.1	35,0 mg
2,4	LAH-29.2.2	5,3 mg
3	LAH-29.2.3	10,7 mg
5	LAH-29.2.5	7,5 mg

**Tabela 07.** Reunião das frações obtidas de LAH-29.2.1

fração	Códigos	Massa
1	LAH-29.2.1.9	1,0 mg
2	LAH-29.2.1.2	4,0 mg
3	LAH-29.2.1.3	7,9 mg
4;5;6;8	LAH-29.2.1.4	10,3 mg
7	LAH-29.2.1.7	1,5 mg
9	LAH-29.2.1.9	5,0 mg
10;11;12	LAH29.2.1.10	3,2 mg
13	LAH-29.2.1.13	1,3 mg

Substância 1

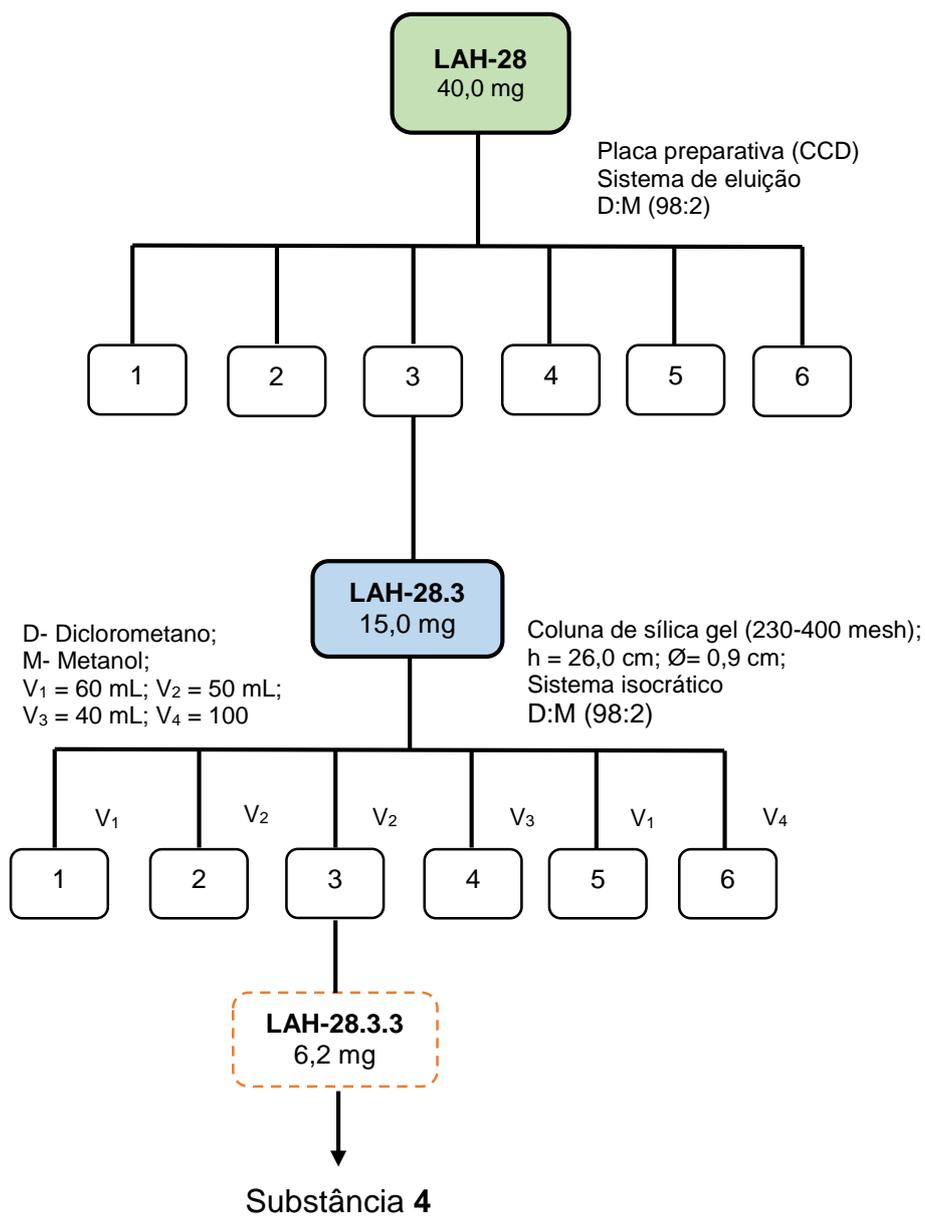


**Esquema 04.** Fracionamento cromatográfico da fração LAH-22

**Tabela 08.** Reunião das frações obtidas de LAH-22

Frações	Códigos	Massa
1	LAH-22.1	4,0 mg
2	LAH-22.2	3,8 mg
3	LAH-22.3	8,3 mg
4	LAH-22.4	5,7 mg
5	LAH-22.5	7,0 mg
6,7,8	LAH-22.6	10,3 mg
9	LAH-22.9	1,8 mg
10	LAH-22.10	4,0 mg

Substância 2 e 3



**Esquema 05.** Fracionamento cromatográfico de LAH-28 e LAH-28.3

**Tabela 09.** Reunião das frações obtidas de LAH-28

Frações	Códigos	Massa
1	LAH-28.1	2,0 mg
2	LAH-28.2	1,0 mg
3	LAH-28.3	15,0 mg
4,5,6	LAH-28.4	9,8 mg

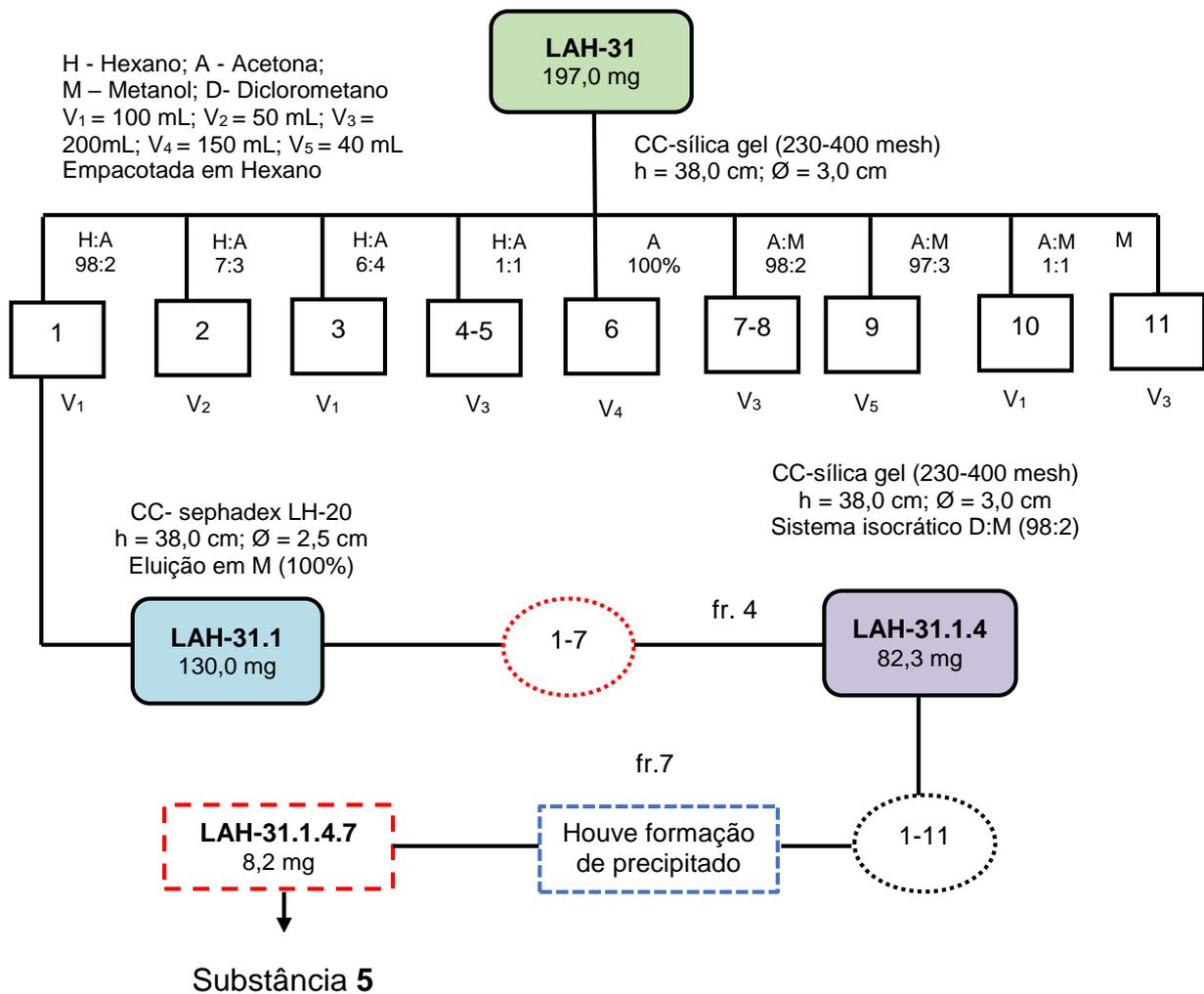
A fração **LAH-28** foi submetida a separação cromatográfica em placa preparativa (Esquema 05, p.51) que é uma técnica de separação utilizando o mecanismo de adsorção sólido-líquido bastante simples, que consiste na separação de uma mistura através da migração por capilaridade diferencial de seus componentes sobre uma camada de adsorvente retido sobre uma superfície plana “sílica”. Onde, a fase móvel (líquido) ascende por ação de capilaridade por uma camada adsorvente (sílica), fase estacionária estendida sobre um suporte. O suporte usado foi placa de vidro e eluída na proporção de 98:2 DCM : MeOH.

Após a análise em CCD das subfrações apenas a subfração LAH-28.3 mostrou-se promissora, mais apresentou impurezas, então foi submetida a um novo fracionamento em coluna de sílica gel 230-400 mesh usando sistema isocrático.

**Tabela 10.** Reunião das frações obtidas de LAH-28.3

Frações	Códigos	Massa
1	LAH-28.3.1	1,5 mg
2	LAH-28.3.2	2,1 mg
3	LAH-28.3.3	6,2 mg
4	LAH-28.3.4	2,3 mg
5	LAH-28.3.5	0,7 mg
6	LAH-28.3.6	1,1 mg

Substância 4



**Esquema 06.** Fracionamento cromatográfico da LAH-31; LAH-31.1; LAH-31.1.4

**Tabela 11.** Reunião das frações obtidas de LAH-31

Frações	Códigos	Massa
1	LAH-31.1	130,0 mg
2,3,4	LAH-31.2	14,3 mg
5,6,7	LAH-31.5	8,6 mg
8	LAH-31.8	10,3 mg
9	LAH-31.9	20,0 mg
10	LAH-31.10	6,5 mg
11	LAH-31.11	5,0 mg

**Tabela 12.** Reunião das frações obtidas de LAH-31.1

Frações	Códigos	Massa
1,3	LAH-31.1.1	10,2 mg
2	LAH-31.1.2	11,0 mg
4	LAH-31.1.4	82,3 mg
5	LAH-31.1.5	11,4 mg
6	LAH-31.1.6	3,3 mg
7	LAH-31.1.7	11,6 mg

**Tabela 13.** Reunião das frações de LAH-31.1.4

Frações	Códigos	Massa
1,2,3	LAH-31.1.4.1	15,2 mg
4	LAH-31.1.4.4	6,3 mg
5	LAH-31.1.4.5	6,8 mg
6	LAH-31.1.4.6	9,1 mg
7.3	LAH-31.1.4.7.3	31,8 mg
7.4	LAH-31.1.4.7.4	8,2 mg
8,9,10,11	LAH-31.1.4.8	4,6 mg

Substância 5

## 4.5. Ensaio antifúngico

### 4.5.1. Cepas testadas e preparação dos inóculos fúngicos

Para os testes de atividade antifúngica, foram utilizadas cepas padrão da *American Type Culture Collection* (ATCC), mantidas na Coleção de Microrganismos de interesse médico do INPA. Na tabela 14, p.55, encontramos as cepas fúngicas utilizadas nos testes.

**Tabela 14.** Cepas de fungos utilizadas nos testes

Tipos de fungo	Espécie	Cepas
Levedura	<i>Candida albicans</i>	ATCC 60193
	<i>Cryptococcus gattii</i>	CFP 61

O cultivo das culturas de fungos foi desenvolvido em meio ágar Sabouraud Dextrose e as cepas selecionadas (Tabela 14, p. 55) passaram por repiques para posteriormente serem utilizadas na preparação dos inóculos fúngicos, as quais seguiram as recomendações do protocolo M27-A3 da *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) (2008). As células foram submetidas ao processo de suspensão em 5 mL de solução salina esterilizada à 0,85%. Posteriormente, foram quantificadas em câmara de Neubauer através da leitura no microscópio óptico e, por fim, foram realizadas diluições da suspensão-padrão da levedura com meio líquido RPMI 1640 para obter uma concentração final de  $2,5 \times 10^3$  células/mL.

#### **4.5.2. Realização do teste de microdiluição em caldo**

O ensaio de sensibilidade antifúngica foi realizado no Laboratório de Micologia do INPA, com base na técnica de microdiluição em caldo - protocolo M27-A3, determinada pela CLSI (2008). Inicialmente foram preparados os inóculos de *Candida albicans* e *Cryptococcus gattii* numa concentração final de aproximadamente  $2,5 \times 10^3$  células/mL como descrito no item anterior. As substâncias testadas como agente antifúngico foram, **1**; mistura epimerica **2 e 3**; **4**; **5**, isoladas dos resíduos de madeira de *L. aritu*, passaram por diluições seriadas, partindo-se de uma concentração de 320 µg/mL em microplaca de 96 poços, com posterior incubação a 35 °C durante 24 h para *C. albicans* e 72 h para *C. gattii*. Após esse período, realizou-se a leitura macroscópica da placa para avaliar a concentração inibitória mínima (CIM) das substâncias, considerando o score à 100% de inibição. A leitura foi realizada comparando os poços do controle positivo (Inóculo fúngico + meio de cultivo RPMI) e os poços contendo as substâncias testadas. A anfotericina B foi utilizada como droga controle de sensibilidade para os dois tipos de fungos e os testes foram realizados em duplicata (CLSI, 2008).

## 5.0. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. Substâncias isoladas

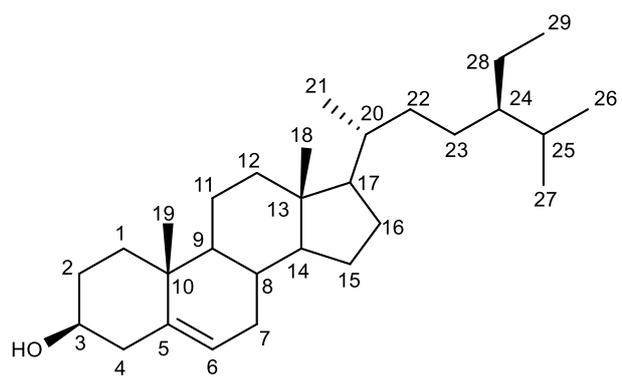
O estudo fitoquímico com os resíduos madeireiro de *Licaria aritu* Ducke resultou no isolamento de 6 substâncias. As identificações estruturais foram realizadas com base nas técnicas de unidimensionais (1D) RMN ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e DEPT) e bidimensionais (2D) (HSQC e HMBC).

### 5.2. Determinação estrutural das substâncias do extrato hexânico

#### 5.2.1. Identificação da substância 1

A substância **1** codificada como LAH-29.2.1.9, foi obtida após os fracionamentos cromatográficos apresentado no esquema 03, p. 48, mostrou aspecto cristalino, solúvel em DCM (diclorometano), em CCD, mostrou o mesmo  $R_f$  da amostra padrão de  $\beta$ -sitosterol, utilizando-se Hex:AcOEt (8:2) como sistema de eluição, apresentou mancha marrom escuro quando revelada em vanilina sulfúrica, em luz UV comprimento de onda de 254 nm e 365 nm, não apresentou nenhuma mancha.

A substância foi caracterizada com base nos dados de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz) e  $^{13}\text{C}$  (75MHz) tabela 15, p. 58, além dos mapas de contorno HSQC e HMBC. O espectro de RMN  $^1\text{H}$  obtido em  $\text{CDCl}_3$  (Fig. 5, p. 59), foram observadas a presença de sinais de hidrogênios com deslocamento característico de hidrogênio carbinólico  $\delta$  H em 3,52 ppm (multiplete) em 5,36, H-6 referente a um hidrogênio olefínico (multiplete), Foram observados sinais para seis metilas com deslocamentos em  $\delta$  0,69 (s); 0,82 (d; J = 6,7 Hz); 0,84 (d; J = 6,6 Hz); 0,87 (d; J = 7,1 Hz); 0,92 (d; J = 6,5 Hz); 1,02 (s). No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ , foi possível verificar a presença de carbono carbinólico devido o deslocamento em  $\delta$  71,8 em 140,7 e 121,7 referente a carbono de ligações  $\text{sp}^2$ . Os demais sinais confirmam para o esteroide  $\beta$ -sitosterol.



**Figura 04.** Substância 1  $\beta$ -sitosterol

**Tabela 15.** Dados de RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e HMBC da substância 1

N <sup>o</sup>	$^1\text{H}$	$^{13}\text{C}$	HMBC <sup>3*</sup>	$^1\text{H}$	$^{13}\text{C}$
	$\delta$ (ppm); mult. J (Hz) <sup>1*</sup>	$\delta$ (ppm) <sup>2*</sup>		$\delta$ (ppm); mult. J (Hz) <sup>4*</sup>	$\delta$ (ppm) <sup>5*</sup>
Substância 1			Liao <i>et al.</i> , (2018)		
1	1,84 (m)-1,09 (sl) 2H	37,2	C-2; C-5		37.1
2	2,02-1,54 (m) 2H	31,6			31.5
3	3,52 (m) 1H	71,8		3,49 (m)	71.6
4	2,28 (m) 2H	42,3	C-3; C-5; C-6		42.8
5	----	140,7			140.1
6	5,36 (m) 1H	121,7	C-8	5,36 (dd; 5,0; 1,4)	122.0
7	1,82-1,52 (m) 2H	31,9			31.6
8	1,42 (m) 1H	31,9			31.6
9	0,93 (m) 1H	50,1			50.3
10	----	36,5			36.3
11	1,49 (m) 2H	21,0			21.3
12	2,00 (m)-1,15 (sl) 2H	39,7	C-18		39.5
13	---	42,3			42.1
14	0,98 (m) 1H	56,7			56.9
15	1,05 (m) 2H	24,3			24.5
16	1,84 (m) -1,26 (sl) 2H	28,2			28.3
17	1,09 (m) 1H	56,0	C-12; C-14		56.3
18	0,69 (s) 3H	11,8	C-12; C-14; C-17	0,67 (s)	12.0
19	1,02 (s) 3H	19,4	C-5; C-9; C-10	1,00 (s)	19.5
20	1,35 (m) 1H	36,1			36.3
21	0,92 (d; 6,5) 3H	18,8	C-17; C-20; C-22	0,91 (d; 6,4)	18.9
22	1,31-1,02 (sl) 2H	33,9			34.1
23	1,17 (m) 2H	26,0	C-22; C-25; C-28		26.3
24	0,93 (m) 1H	45,8	C-29		46.0
25	1,66 (m) 1H	29,1			29.4
26	0,83 (d; 6,7) 3H	19,0	C-24; C-25; C-27	0,81 (d; 6,8)	18.9
27	0,84 (d; 6,7) 3H	19,8	C-25; C-26	0,83 (d; 6,8)	19.2
28	1,26 (m) 2H	23,0	C-24; C-25; C-29		23.2
29	0,87 (m) 3H	11,9	C-28	0,86 (t; 7,2)	12.0

\* 300 MHz, CDCl<sub>3</sub>; 2\* 75 MHz, CDCl<sub>3</sub>; 3\* 100 MHz, CDCl<sub>3</sub>; 4\* e 5\* CDCl<sub>3</sub>

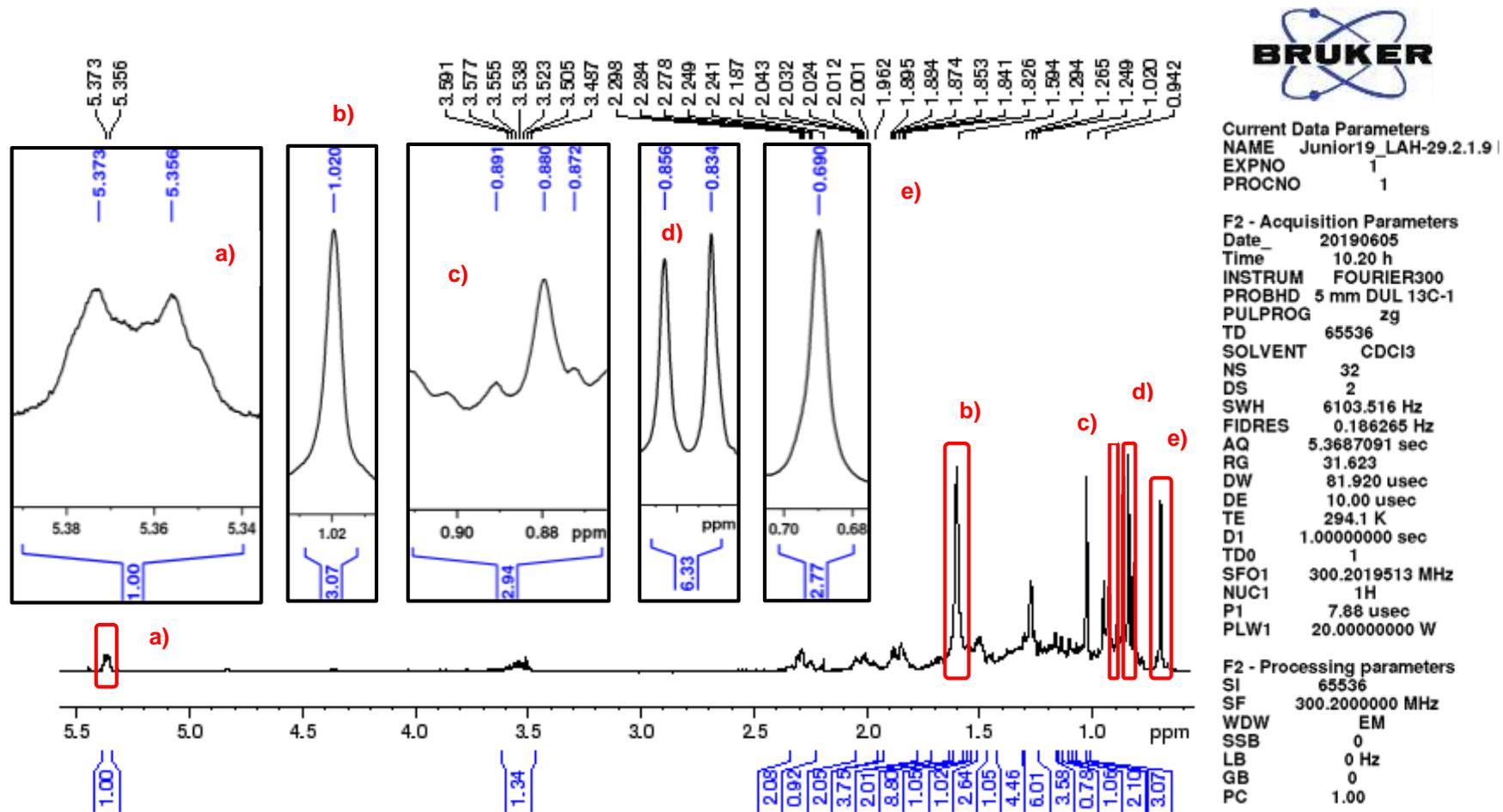


Figura 05. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da substância 1 com ampliações dos sinais (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

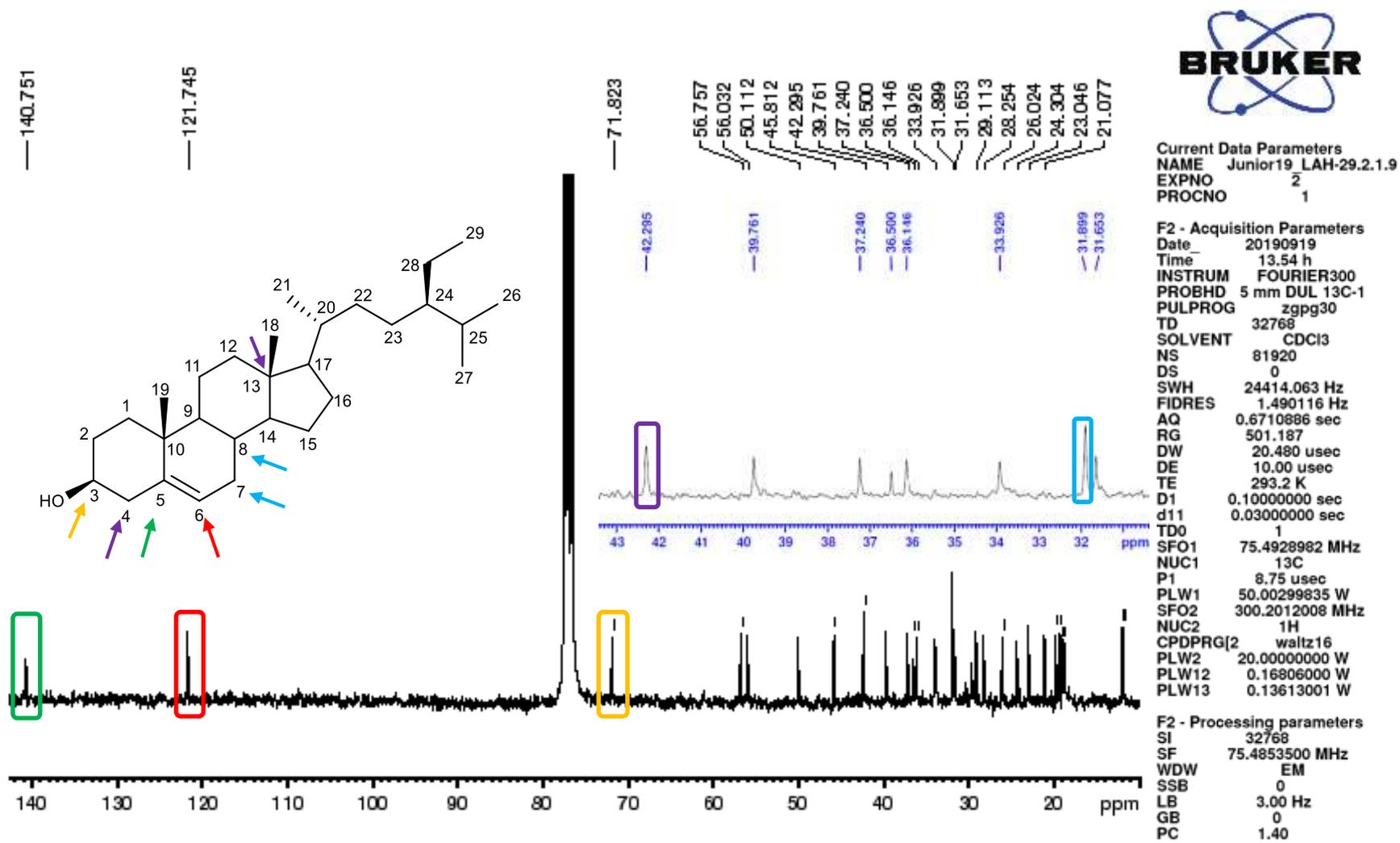
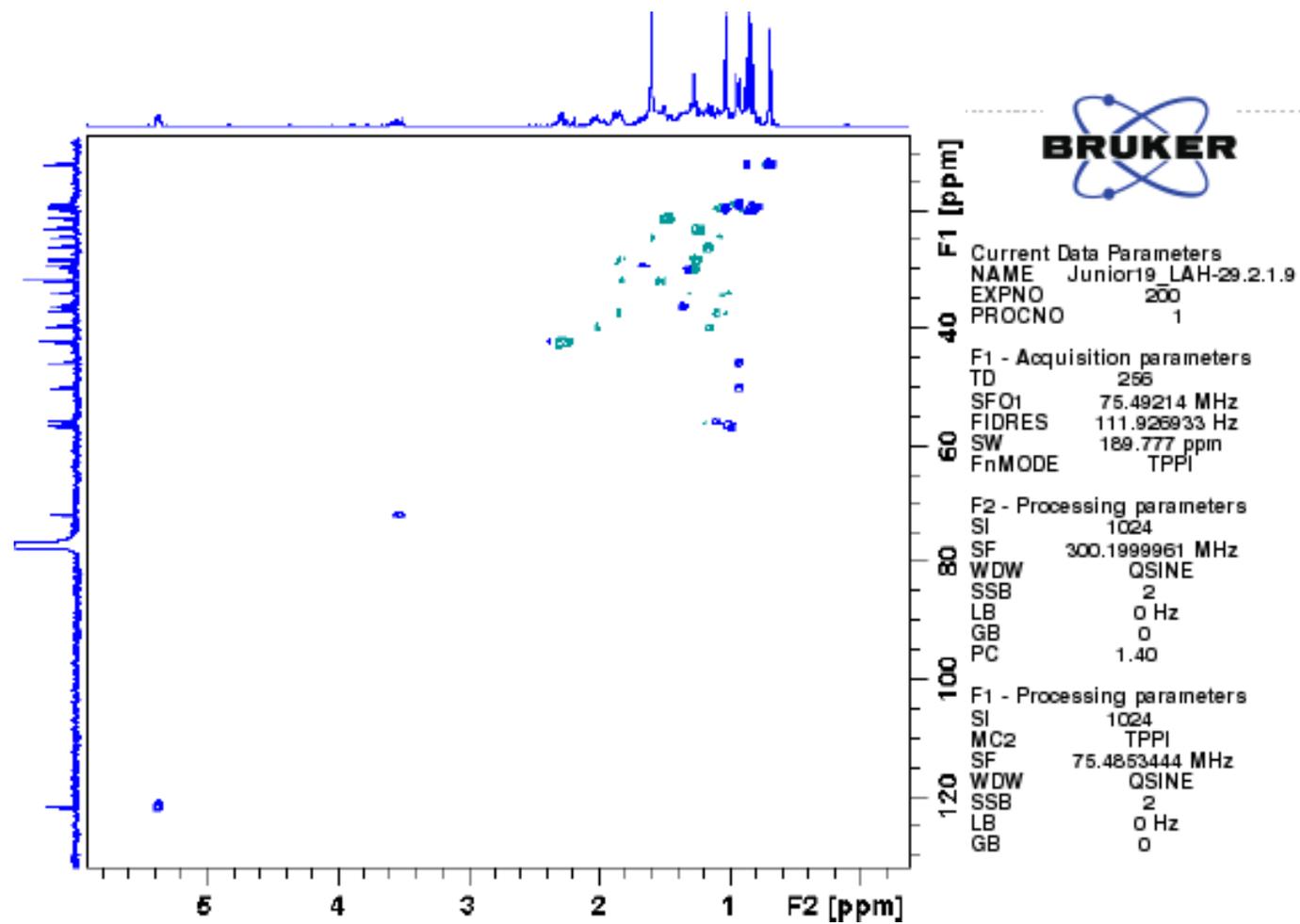
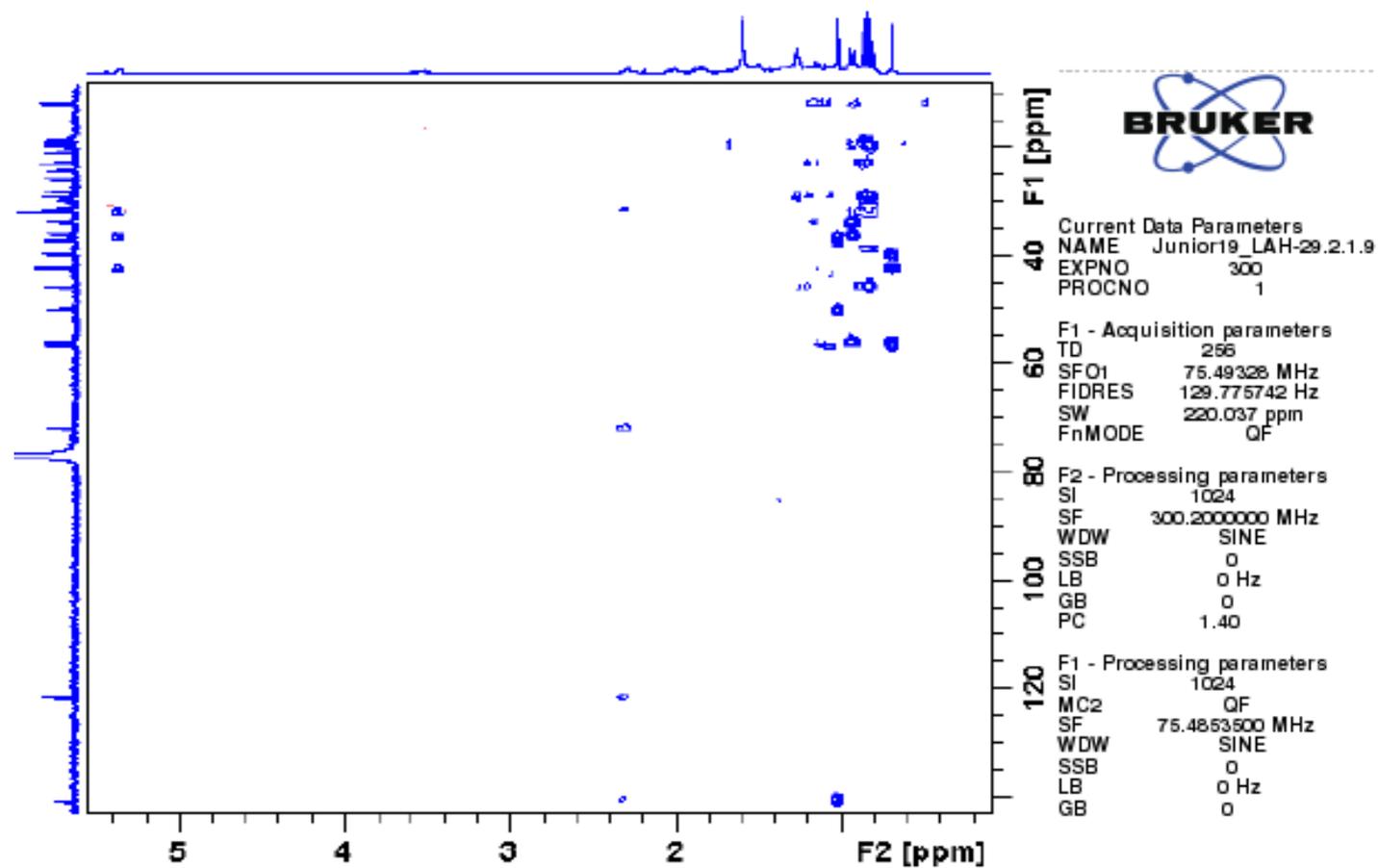


Figura 06. Espectro de RMN <sup>13</sup>C da substância 1 (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)



**Figura 07.** Mapa de contorno HSQC editado da substância 1 (300/75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)



**Figura 08.** Mapa de contorno HMBC da substância **1** (300/75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

### 5.2.2. Identificação da substância 2 e 3

As substâncias **2** e **3** codificada como LAH-22.3 foram isoladas conforme Esquema 06, p. 53, apresentou aspecto cristalino incolor, quando revelada em luz UV, em comprimento de onda 254 e 365 nm apresentou fluorescência, ao ser revelada em vanilina sulfúrica mostrou uma mancha roxa com  $R_f = 0,7$ , em sistema de eluição (Hex:AcOEt 9:1). O espectro de RMN  $^1\text{H}$  mostrou sinais em regiões característicos de hidrogênios olefínicos com intensidades diferentes em  $\delta$  5,56 *d*,  $J = 1,6$  Hz com intensidade maior (substância **2**) e 5,54 como singleto largo com menor intensidade (substância **3**). A presença de 8 metilas foi observada sendo quatro pertencentes a dois grupos isopropílicos, duas geminais ao grupo hidroxí e duas metilas vinílicas  $\delta$  1,66 (Me-15) e 1,64 (Me-15). Aos hidrogênios das metilas dos grupos isopropílicos verificou-se a presença de dubletos para substância **2**  $\delta$  0,88 (*d*;  $J = 7,1$ ) H-12; 0,83 (*d*;  $J = 7,0$ ) H-13 e para substância **3** 0,91 (*d*;  $J = 7,0$ ) H-12; 0,78 (*d*;  $J = 7,0$ ) H-13.

Na análise do espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  verificou-se a presença de 30 sinais de carbono, pelo DEPT 135 $^\circ$  foi possível verificar os tipos de carbonos, totalizando 8 carbonos de grupos metilas, ou seja, 4 metilas pertencentes a substância **2** e 4 pertencentes à substância **3**, quatro carbonos com insaturações, dois para cada estrutura, Cada substância apresenta 4 grupos metilênicos, 5 grupos metínicos, 4 metílicos e um carbono carbinólico. Esses dados espectrais aliados aos dados dos mapas de correlações HSQC e HMBC (Figura 14 e 15, p. 70 e 71, Tabela 17, p. 66), permitem identificar essas substâncias como uma mistura epimérica dos sesquiterpenos, *ent*-T-muurolol **2** e ( - )-T-muurolol **3**. Os dados de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  também foram comparados com a literatura (Nagashima *et al.*, 1994, Sung *et al.*, 1992), conforme mostra tabela 16, p. 65.

Figura 09 Substância 2

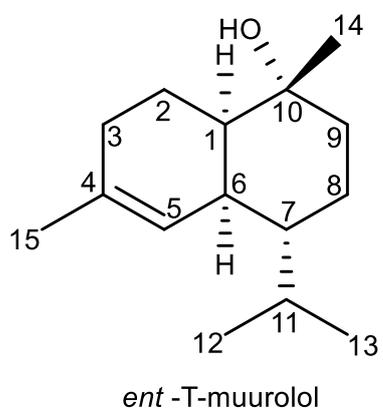
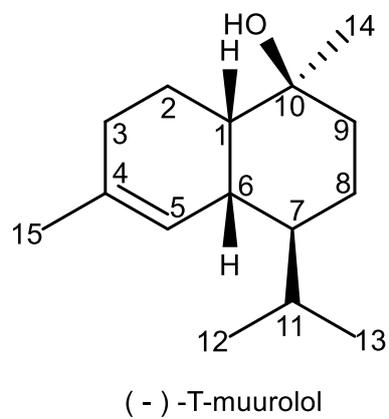


Figura 10. Substância 3



**Tabela 16.** Dados de RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  da substância **2** e **3** em  $\text{CDCl}_3$

N <sup>o</sup>	$^1\text{H}$	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$	$^{13}\text{C}$
	$\delta$ (ppm); mult. J (Hz) <sup>1*</sup>	$\delta$ (ppm) <sup>2*</sup>	$\delta$ (ppm); mult. J (Hz) <sup>3*</sup>	$\delta$ (ppm) <sup>4*</sup>	$\delta$ (ppm); mult. J (Hz) <sup>5*</sup>	$\delta$ (ppm) <sup>6*</sup>
	<i>ent</i> -T- muurolol ( <b>2</b> )		Nagashima <i>et al.</i> , (1994)		(-)-T- muurolol ( <b>3</b> )	
1	1,53 ( <i>m</i> ) 1H	46,1	1,45 ( <i>m</i> )	46,1	1,08 ( <i>m</i> )	47,9
2	1,55 ( <i>m</i> ) 2H	20,9	1,54 ( <i>m</i> )	20,9	1,92-1,37 ( <i>m</i> )	22,6
3	1,97 ( <i>m</i> ) 2H	31,2	2,00-1,94 ( <i>m</i> )	31,2	1,97 ( <i>m</i> )	30,9
4	----	133,4	----	133,4	----	134,4
5	5,56 ( <i>d</i> ; 1,6) 1H	124,8	5,56 ( <i>br d</i> )	124,8	5,54 ( <i>s l</i> )	122,6
6	2,25 ( <i>m</i> ) 1H	34,5	2,27 ( <i>m</i> )	34,5	1,97	37,7
7	1,24 ( <i>s l</i> ) 1H	43,9	1,25 ( <i>m</i> )	43,9	1,00	46,6
8	1,34-0,99 ( <i>m</i> ) 2H	19,3	1,41-1,32 ( <i>m</i> )	19,3	1,47-0,99 ( <i>m</i> )	19,8
9	1,53-1,42 ( <i>m</i> ) 2H	34,6	1,41-1,32 ( <i>m</i> )	34,6	1,73-1,40	40,3
10	----	72,3	----	72,3	----	70,7
11	1,98 ( <i>m</i> )1H	26,7	2,00-1,94 ( <i>m</i> )	26,6	2,18	26,2
12	0,88 ( <i>d</i> ; 7,1) 3H	21,6	0,83 ( <i>d</i> ,7,3)	21,6	0,91 ( <i>d</i> ; 7,0)	21,5
13	0,83 ( <i>d</i> ; 7,0) 3H	15,4	0,89 ( <i>d</i> , 6,8)	15,4	0,78 ( <i>d</i> ; 7,0)	15,2
14	1,19 ( <i>s</i> ) 3H	29,3	1,25 ( <i>s</i> )	29,3	1,21 ( <i>s</i> )	28,5
15	1,65 ( <i>s l</i> ) 3H	23,6	1,65 ( <i>s</i> )	23,6	1,66 ( <i>d</i> ; 0,84)	23,8

1\* 300 MHz  $\text{CDCl}_3$ ; 2\* 75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ; 3\*400 MHz  $\text{CDCl}_3$  e 4\* 50 MHz  $\text{CDCl}_3$ , 5\* 300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ; 6\* 75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ .

**Tabela 17.** Dados de HMBC (300/75 MHz) da substância **2** e **3** em CDCl<sub>3</sub>.

N <sup>o</sup>	<sup>1</sup> H	HMBC	<sup>1</sup> H	HMBC
	δ (ppm); mult. J (Hz)		δ (ppm); mult. J (Hz)	
	<i>ent</i> -T- muurolol		(-) -T- muurolol	
1	1,53 ( <i>m</i> ) 1H	C-1	1,08 ( <i>m</i> ) 1H	C-6
2	1,55 ( <i>m</i> ) 2H	C-6	1,92-1,37 ( <i>m</i> ) 1H	C-6; C10
3	1,97 ( <i>m</i> ) 2H	C-4; C-5	1,97 ( <i>m</i> ) 2H	
4	----		----	
5	5,56 ( <i>t</i> , 1,6) 1H	C-1; C-3; C-7; C-15	5,54 (1H)	C-1; C-3; C-7; C-15
6	2,25 ( <i>m</i> ) 1H		1,97 (1H)	C-1; C-4
7	1,24 ( <i>s l</i> ) 1H	C-8	1,00 (1H)	C-13
8	1,34-0,99 ( <i>m</i> ) 2H		1,47-0,99 ( <i>m</i> ) 2H	C-10
9	1,53-1,42 ( <i>m</i> ) 2H	C-1; C-8	1,73-1,40 2H	C-1; C-7; C-8; C-10; C-14
10	----		----	
11	1,98 ( <i>m</i> )1H	C-8; C-12; C-13	2,18 (1H)	C-7; C-8; C-13; C-12
12	0,88 ( <i>d</i> ; 7,1) 3H	C-7; C-11; C-13	0,91 ( <i>d</i> ; 7,0) 3H	C-7; C-11; C-13
13	0,83 ( <i>d</i> ; 7,0) 3H	C-7; C-11; C-12	0,78 ( <i>d</i> ; 7,0) 3H	C-7; C-11; C-12
14	1,19 ( <i>s</i> ) 3H	C-1; C-9; C-10	1,21 ( <i>s</i> ) 3H	C-1; C-9; C-10
15	1,65 ( <i>s l</i> ) 3H	C-3; C-4; C-5	1,66 ( <i>d</i> ; 0,84) 3H	C-3; C-4; C-5

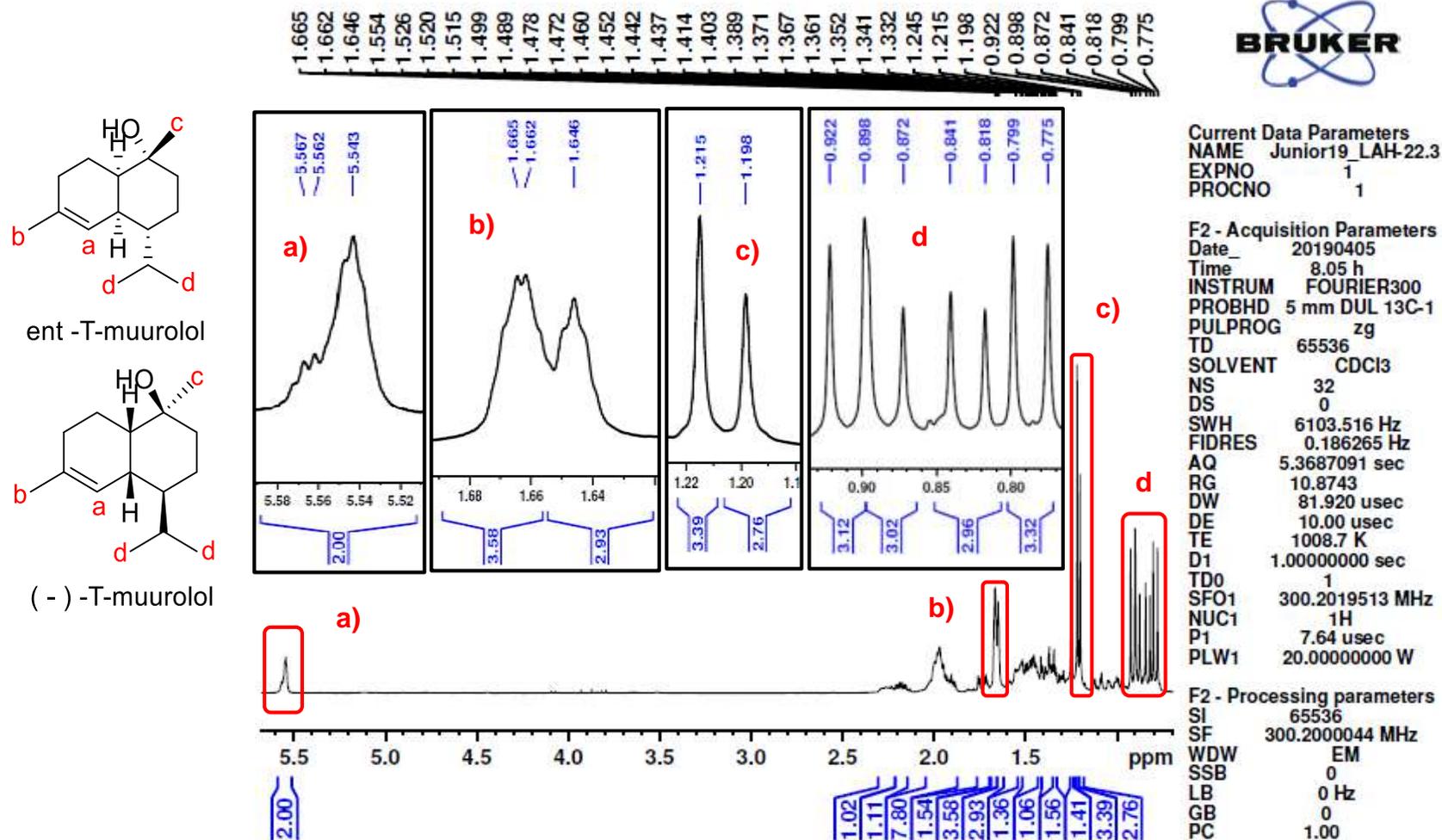


Figura 11. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da substância 2 e 3 com ampliações dos sinais (300 MHz  $\text{CDCl}_3$ )

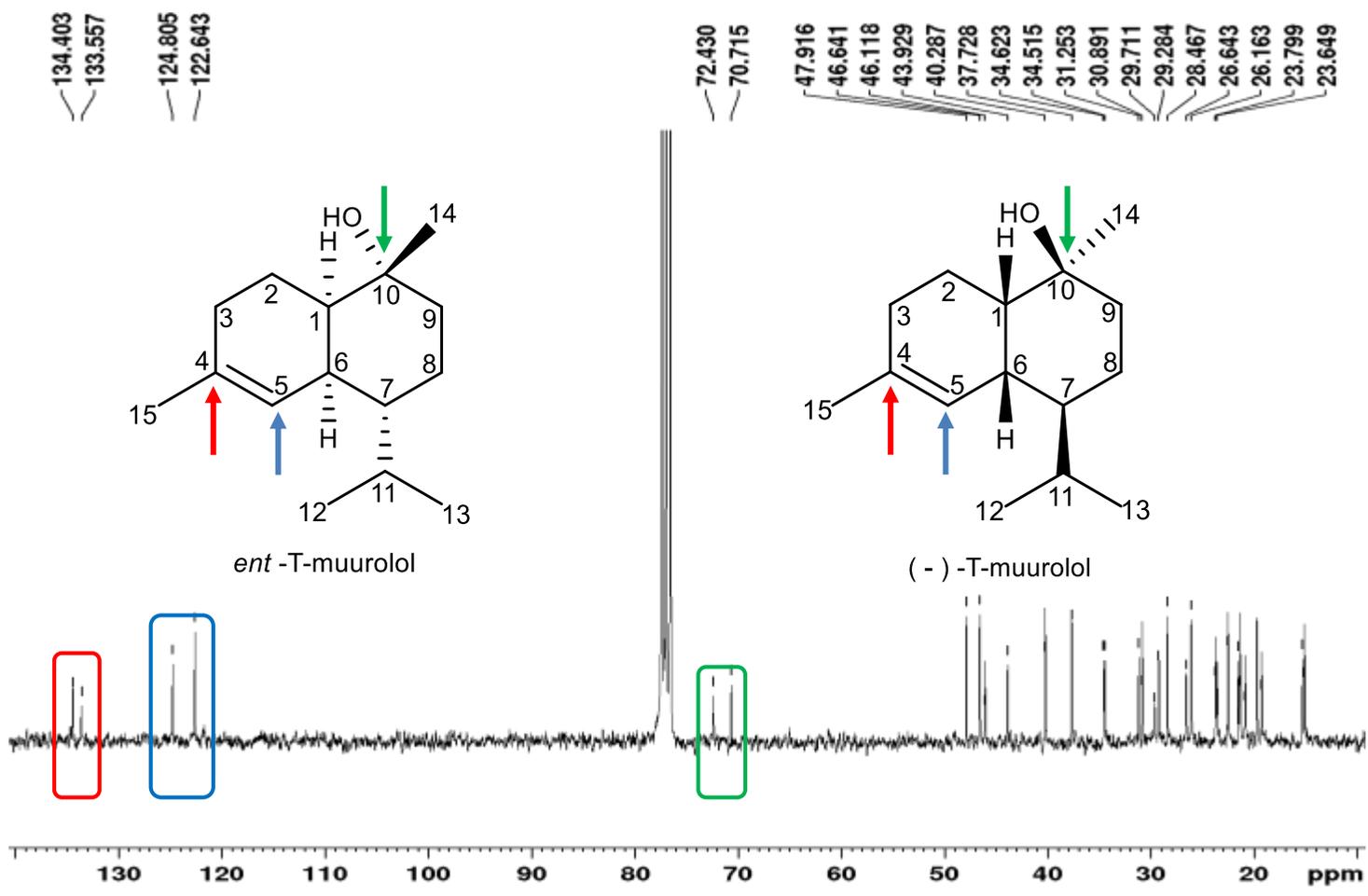


Figura 12. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  da substância 2 e 3 (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

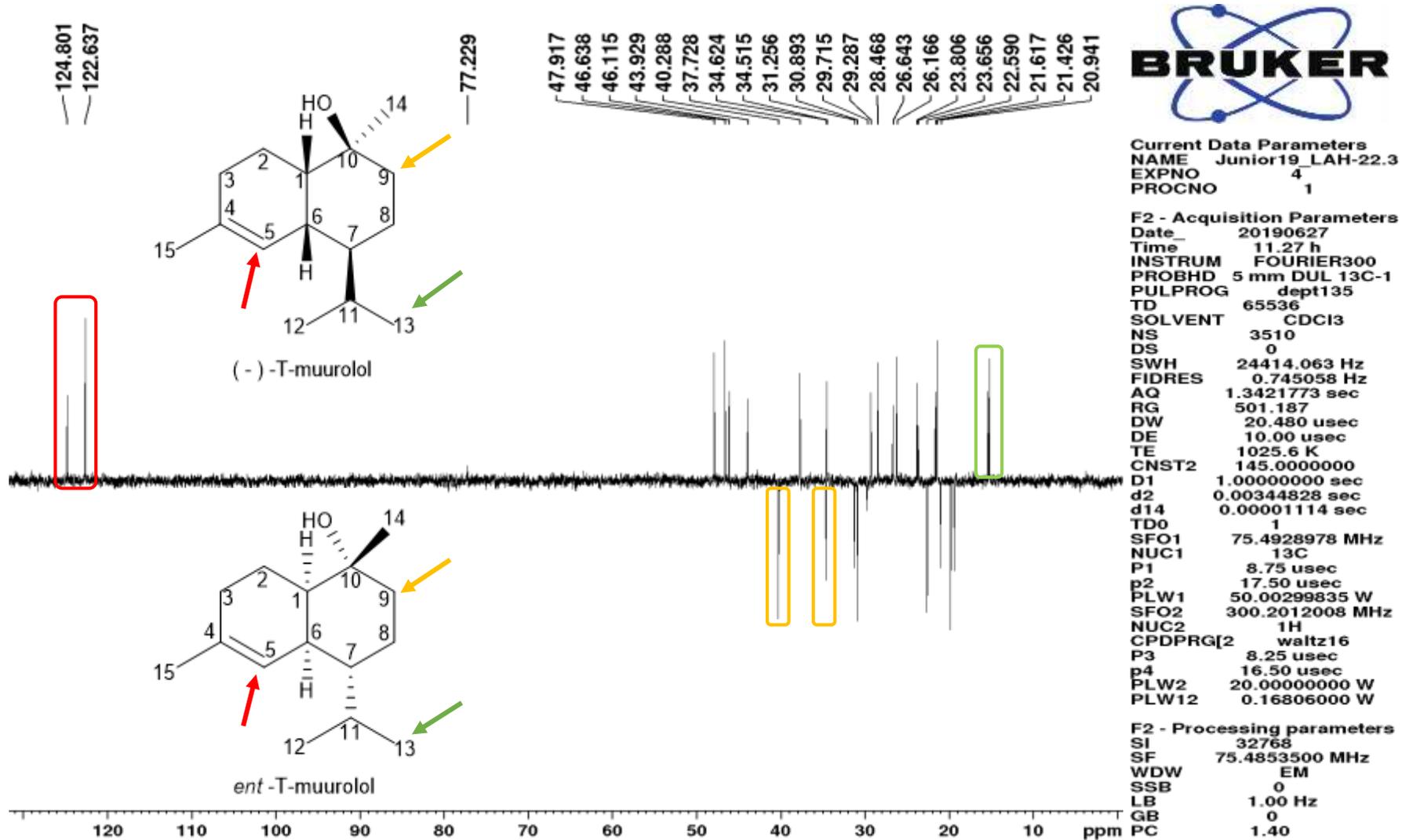


Figura 13. Espectro de DEPT 135° da substância 2 e 3 (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

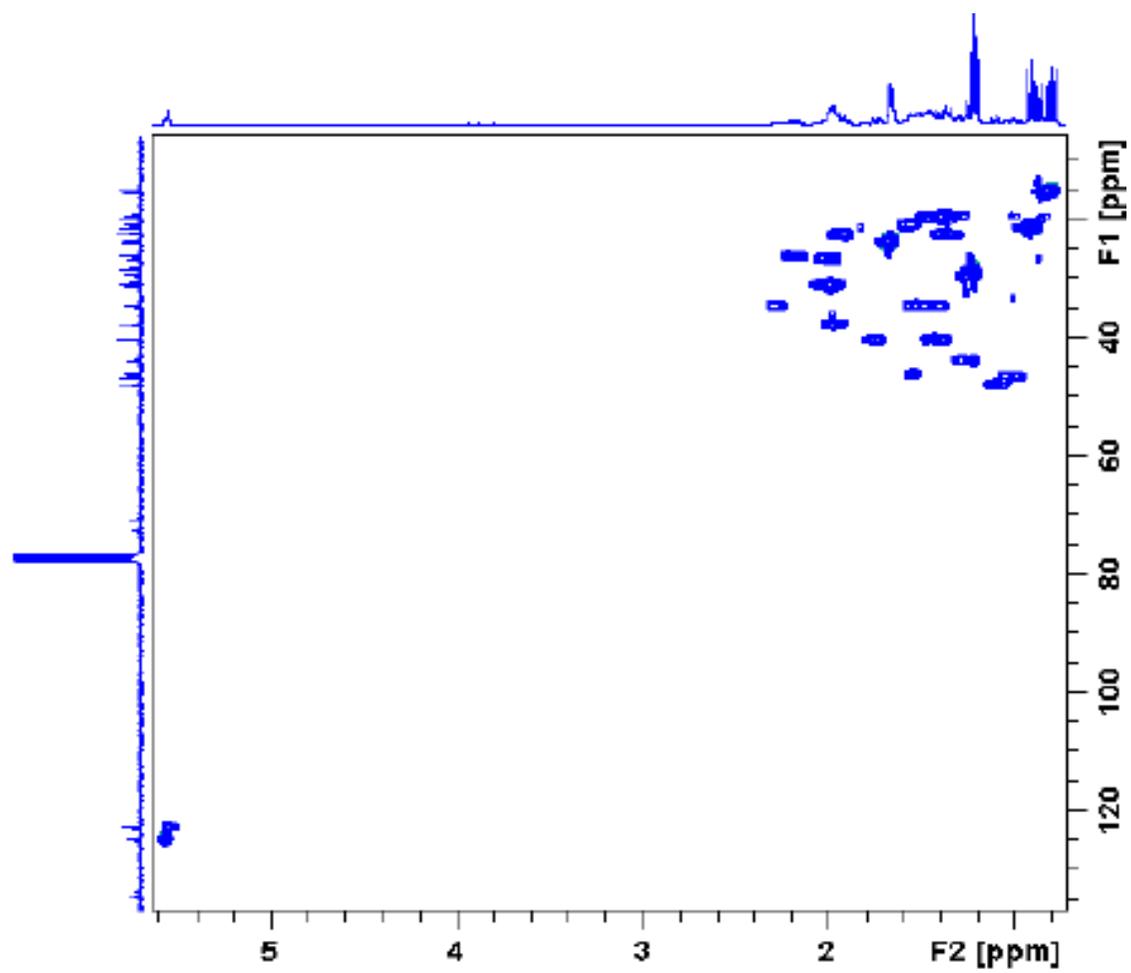


Figura 14. Mapa de contorno HSQC da substância 2 e 3 (300/75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

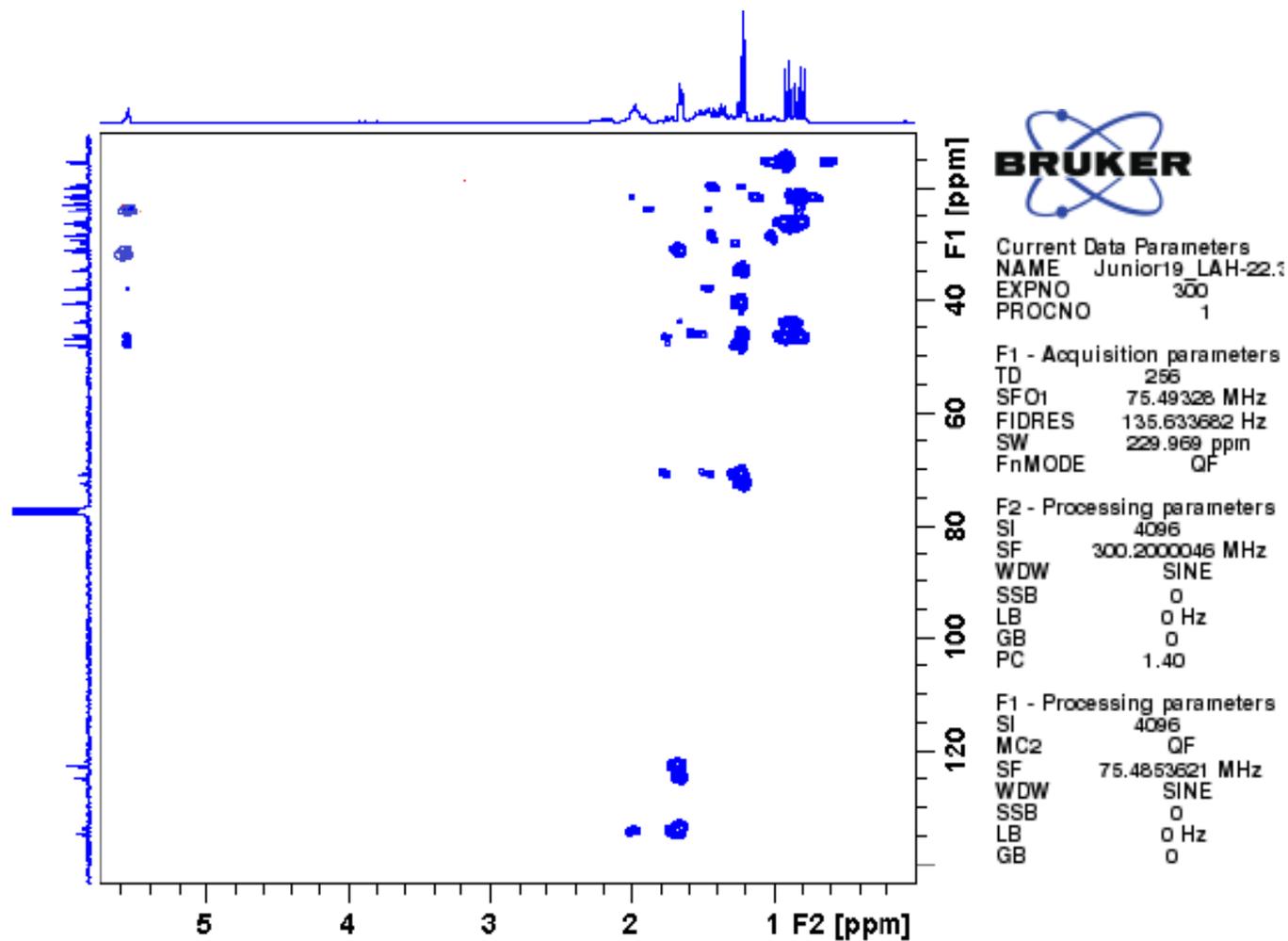


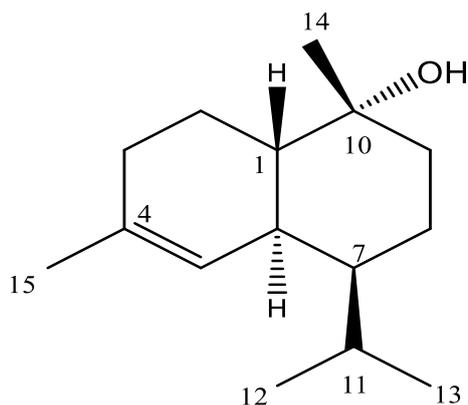
Figura 15. Mapa de contorno HMBC da substância 2 e 3 (300/75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

### 5.2.3. Identificação da substância 4

A substância **4** (6,2 mg) apresentou características oleosa translúcida, em CCD quando eluída em (Hex:AcOEt 9:1), revelou fluorescência em luz UV 254 e 365 nm, uma mancha rocha quando revelada em vanilina sulfúrica, com  $R_f = 0,5$ . No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da substância **4** observaram-se dois dubletos  $\delta$  0,79 ( $J = 6,93$  Hz) e 0,94 ( $J = 6,96$  Hz), atribuídos as metilas do grupo isopropila, um sinal de hidrogênio olefínicos em  $\delta$  5,51, H-5 (singleto largo) além de duas metilas como singletos em  $\delta$  1,68 e 1,11,

. No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  observaram-se 15 carbonos (Figura 18, p. 75) os quais com base no HSQC Editado (Figura 19, p.76) são quatro metílicos, quatro metilênicos, cinco metínicos e dois quaternários. Dois sinais característicos de carbonos olefínicos foram verificados em  $\delta$  122,30 e  $\delta$  135,00 evidenciando a presença de uma insaturação em C-4 e C-5 e um sinal de carbono carbinólico em  $\delta$  72,46.

A partir dos dados espectrais de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  associados a análise bidimensional de HSQC, HMBC e comparando com os dados de deslocamentos químicos de RMN de  $^{13}\text{C}$  registrados por Miranda e colaboradores (2014), foi possível identificar e propor a estrutura do  $\alpha$ -cadinol.



**Figura 16.** Estrutura da substância **4** ( $\alpha$ -cadinol.)

**Tabela 18.** Dados de RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e HMBC da substância **4**

Nº	$^1\text{H}$	$^{13}\text{C}$	HMBC <sup>3*</sup>	$^{13}\text{C}$
	$\delta$ (ppm); mult. J (Hz) <sup>1*</sup>	$\delta$ (ppm) <sup>2*</sup>		$\delta$ (ppm) <sup>4*</sup>
Substância <b>4</b>			Miranda <i>et al.</i> , (2014)	
1	1,21 (s)	49,9	---	50,0
2	1,44; 1,23	22,6	---	22,6
3	2,01 (m)	30,9	---	31,0
4	----	135,0	---	134,9
5	5,51 (s l)	122,3	---	122,3
6	1,73 (m)	39,8	---	39,8
7	1,05	46,7	---	46,6
8	1,61 (m)	21,9	---	22,6
9	1,79 (t;4,5)	42,1	---	42,1
10	---	72,4	---	72,4
11	2,18 (s l)	25,9	---	26,0
12	0,94 (d; 6,96)	21,5	C-7; C-11; C-13	21,5
13	0,79 (d; 6,93)	15,1	C-7; C-11; C-12	15,1
14	1,11 (s)	20,7	C-10; C-1; C-9	20,7
15	1,68 (s)	23,8	C-5; C-4; C-3	23,8

1\* 300 MHz  $\text{CDCl}_3$ ; 2\* 75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ; 3\*100 MHz  $\text{CDCl}_3$  e 4\* 75 MHz  $\text{CDCl}_3$

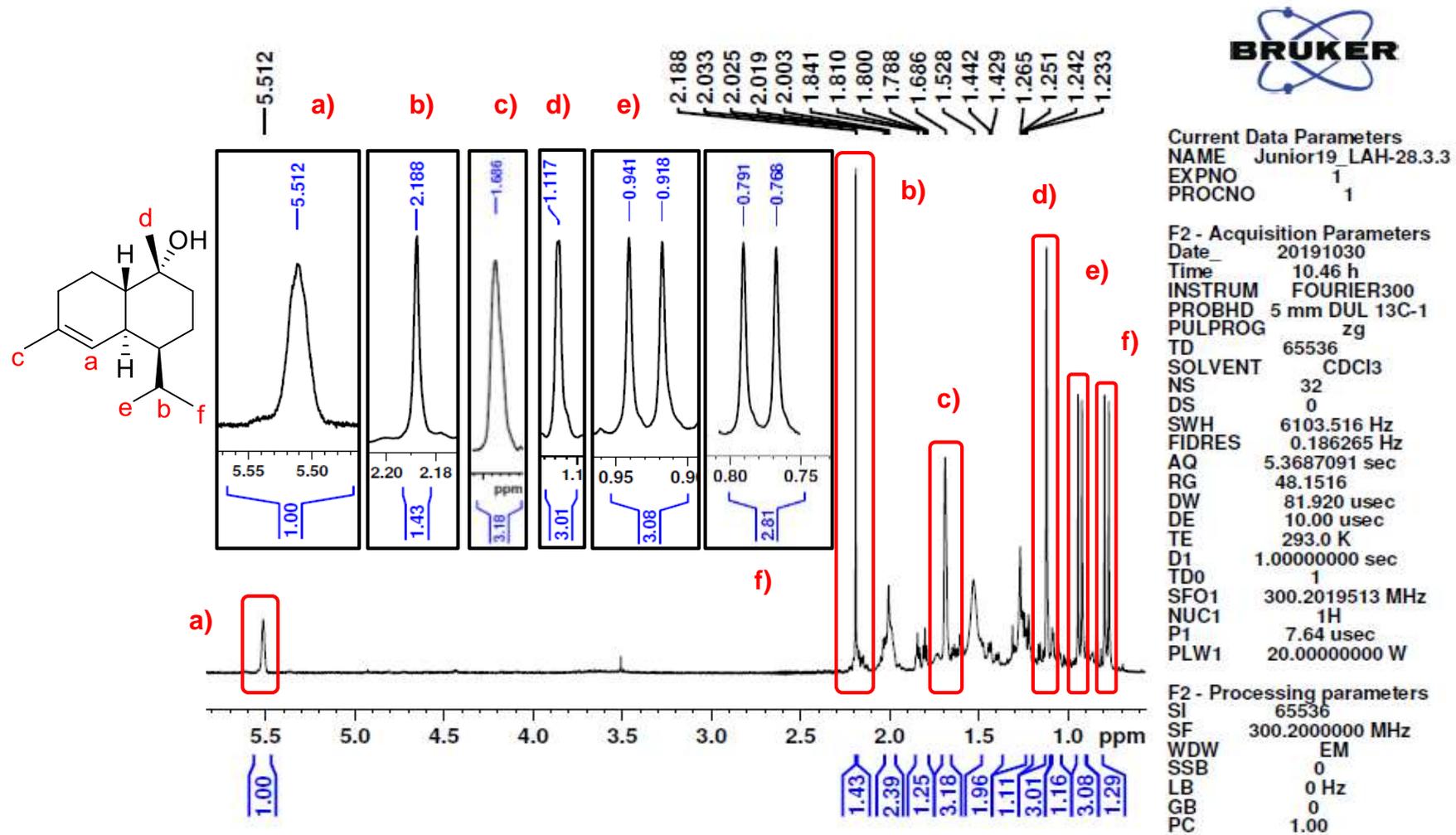


Figura 17. Espectro de RMN <sup>1</sup>H da substância 4 com ampliações dos sinais (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

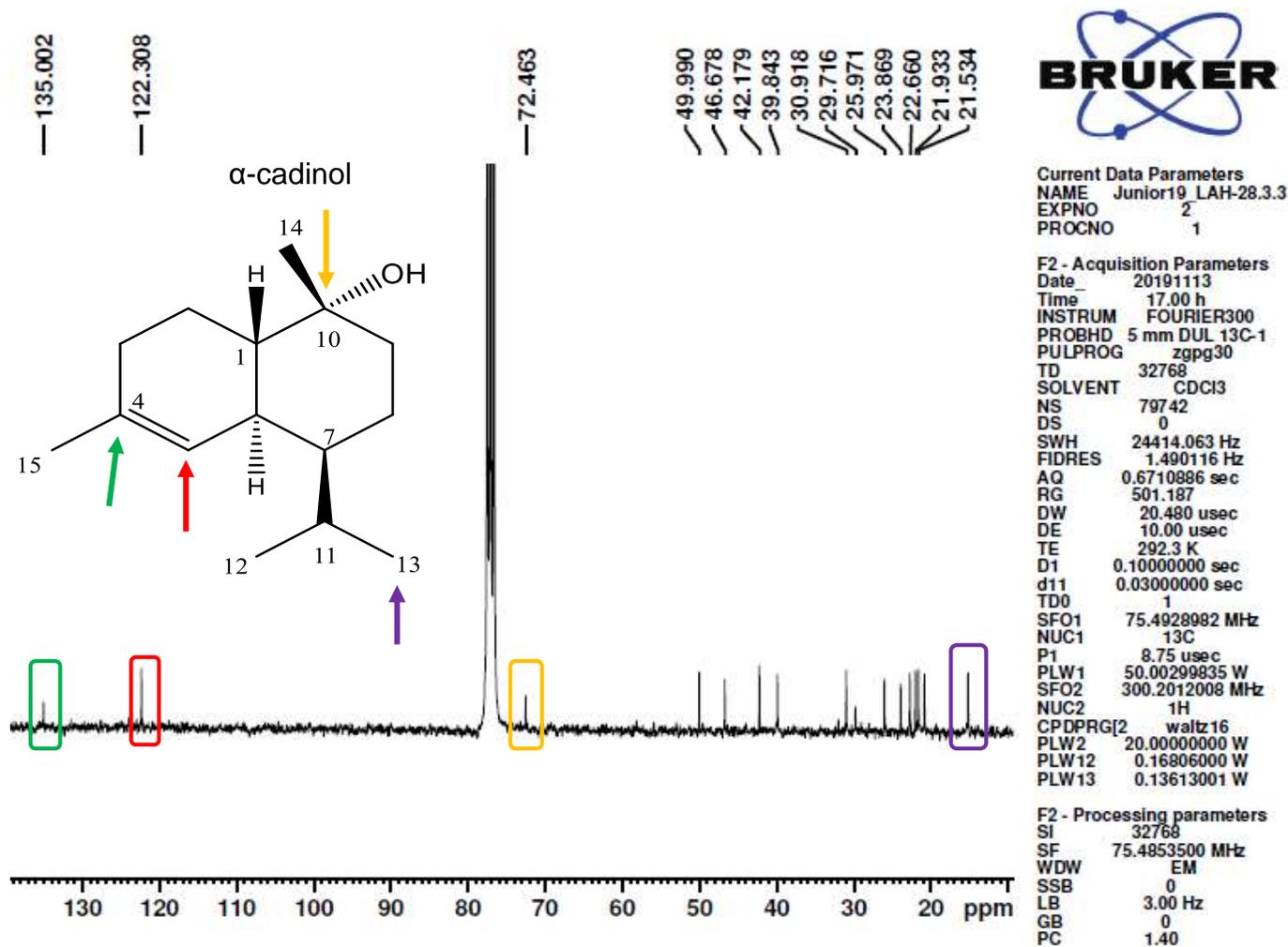
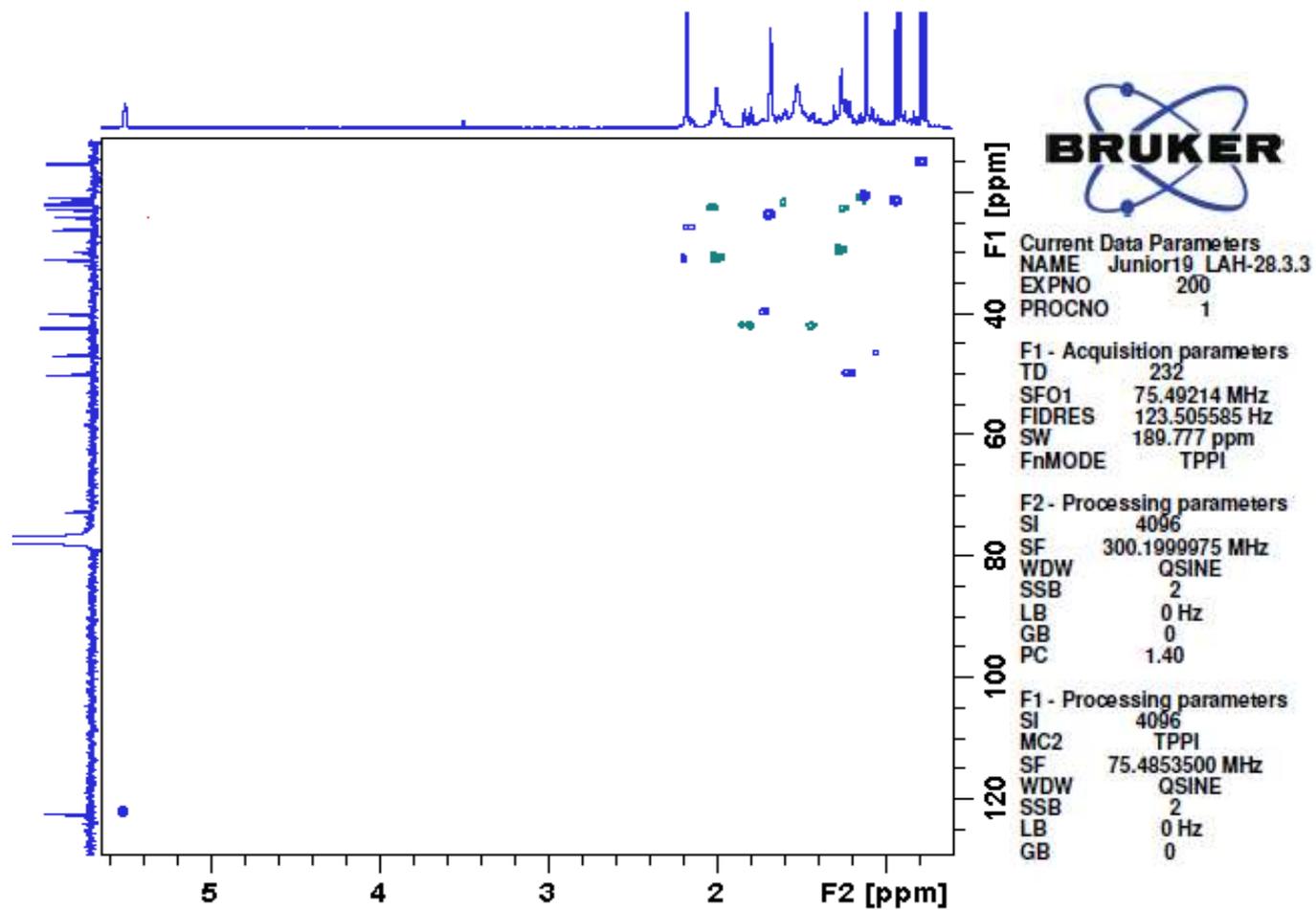


Figura 18. Espectro de RMN <sup>13</sup>C da substância 4 (75 MHz CDCl<sub>3</sub>)



**Figura 19.** Ampliação do mapa de contorno HSQC editado da substância **4** (300/75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

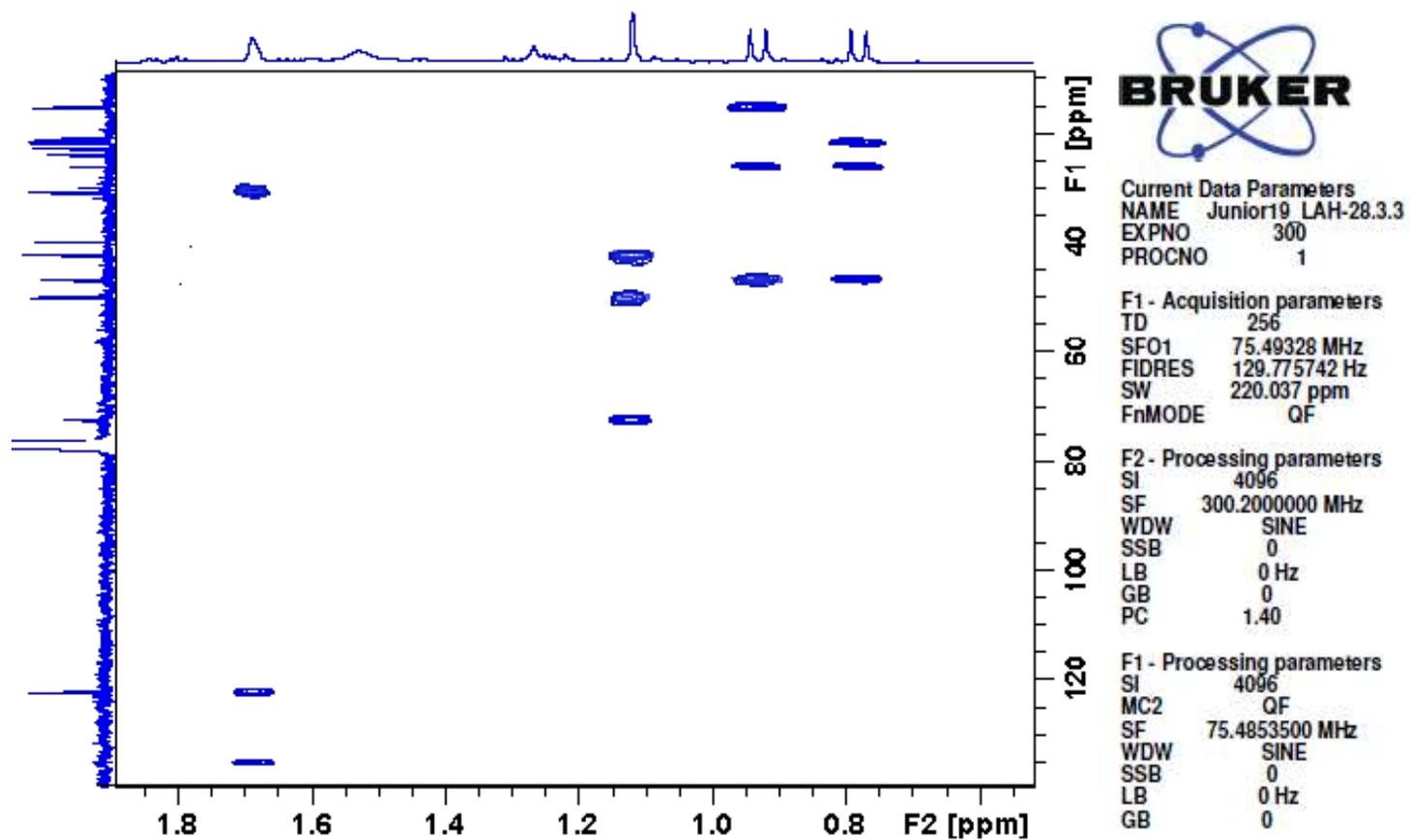


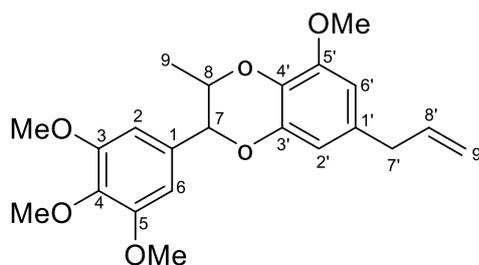
Figura 20. Mapa de contorno HMBC da substância 4 (300/75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

#### 5.2.4. Identificação da substância 5

A substância **5** (8,2 mg) apresentou perfil cristalino translúcido, em CCD quando eluída em (98:2 DCM / MeOH) com  $R_f = 0,6$ , revelou fluorescência azul em luz UV comprimento de onda 254 nm, quando revelada em vanilina sulfúrica a fluorescência azul revela em cor laranja. No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  pode-se observar quatro hidrogênios aromáticos, dentre eles, três dubletos com acoplamento em *meta* de 1,7 Hz com deslocamentos  $\delta$  6,39 (H-6), e 6,50 (H-2'), além de um singlete largo, com deslocamento de 6,58 (H-2). Três sinais em multipletos com deslocamentos em 4,13, 5,96 e 5,14-5,06 foram atribuídos aos oximetínico (H-8) e aos hidrogênios da dupla ligação H-8' e H-9', respectivamente. Outros sinais observados foram o grupo metilênico da cadeia lateral, com deslocamento em  $\delta$  3,32 ( $d$ ; 6,7 Hz) H-7' uma metila em 1,28 ( $d$ ; 6,3 Hz) e sinais referentes a quatro metoxilas ( $\delta$  3,90-3,86).

No mapa de contorno HSQC (Figura 24, p. 84) foi possível observar correlações direta entre H-C e as correlações a  $J^2$  e  $J^3$  foi realizada através do mapa de contorno HMBC (Figura 25, p. 85). Dessa forma foi possível prever a posição da cadeia lateral, das metoxilas e metila.

Ao analisar o espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  observou-se 22 sinais de carbonos, dentre eles, houve sobreposição de sinais nos carbonos com deslocamento em  $\delta$  104,39 ppm e 153,54; para esses, os sinais apresentaram maior intensidade, Dentre, os 22 sinais atribuídos aos carbonos, 12 são referentes a anel aromático, 3 são referentes a cadeia lateral com uma insaturação. Dessa forma, os dados foram comparados com deslocamentos químicos de RMN de  $^{13}\text{C}$  registrados por Silva *et al.*, (1989), sendo possível, identificar e propor a estrutura da substância **5** como eusiderina A.



**Figura 21.** Estrutura da eusiderina A

Tabela 19. Dados de RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  da substância 5

Nº	$\delta$ (ppm) $^1\text{H}$ , mult, J (Hz) <sup>1*</sup>	$^{13}\text{C}$ $\delta$ (ppm) <sup>2*</sup>	$\delta$ (ppm) $^1\text{H}$ , mult, J (Hz) <sup>3*</sup>	$^{13}\text{C}$ $\delta$ (ppm) <sup>4*</sup>
Substância 5		Da Silva <i>et al.</i> , (1989)		
1	---	132,4	---	132,4
2	6,58 (s l)	104,4	6,60 (s)	104,4
3	---	153,5	---	153,6
4	---	138,4	---	138,4
5	---	153,5	---	153,6
6	6,39 (d; 1,7)	104,4	6,60 (s)	104,7
7	4,58 (d; 7,83)	81,1	4,40 (d; 8,0)	81,1
8	4,13 (m)	74,1	4,2-3,8 (m)	74,1
9	1,28 (d; 6,3)	17,3	1,25 (d; 6,0)	17,3
1'	---	132,5	---	132,6
2'	6,50 (d; 1,7)	109,5	6,40 (d; 2,0)	109,7
3'	---	144,2	---	144,4
4'	---	131,2	---	131,5
5'	---	148,5	---	148,7
6'	6,39 (d; 1,7)	104,6	6,30 (d; 2,0)	104,8
7'	3,32 (d; 6,7)	40,0	3,25 (d; 6,0)	40,0
8'	5,96 (m)	137,3	6,2-5,7 (m)	137,4
9'	5,14-5,06 (m)	115,8	5,2-4,9 (m)	115,8
MeO (C-5')	3,90 (s)	56,1	3,75 (s)	56,0
MeO (C-5)	3,89 (s)	56,2	3,80 (s)	56,2
MeO (C-3)	3,89 (s)	56,2	3,85 (s)	56,3
MeO (C-4)	3,86 (s)	60,8	3,85 (s)	60,8

1\* 300 MHz  $\text{CDCl}_3$ ; 2\* 75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ; 3\*60 MHz  $\text{CDCl}_3$  e 4\* 20 MHz  $\text{CDCl}_3$ .

**Tabela 20.** Dados de HMBC (300/75 MHz) da substância **5**

Nº	$\delta$ (ppm) <sup>1</sup> H, mult, J(Hz)	HMBC
		Substância <b>5</b>
1	---	---
2	6,58 ( <i>s l</i> )	(C-3); (C-4); (C-1)
3	---	
4	---	
5	---	
6	---	
7	4,58 ( <i>d</i> ; 7,83)	(C-1); (C-2); (C-8)
8	4,13 ( <i>m</i> )	
9	1,28 ( <i>d</i> ; 6,36)	(C-7)
1'	---	
2'	6,50 ( <i>d</i> ; 1,74)	(C-3'); (C-1'); (C-6'); (C-7')
3'	---	
4'	---	
5'	---	
6'	6,39 ( <i>d</i> ; 1,77)	
7'	3,32 ( <i>d</i> ; 6,78)	(C-8'); (C-1'); (C-9'); (C-2'); (C-6')
8'	6,02-5,89 ( <i>m</i> )	(C-7')
9'	5,14-5,06 ( <i>m</i> )	(C-8'); (C-7')
MeO(C-5')	3,90	(C-5')
MeO(C-5)	3,89	(C-3); (C-1)
MeO(C-3)	3,89	(C-3); (C-1)
MeO(C-4)	3,86	(C-4)

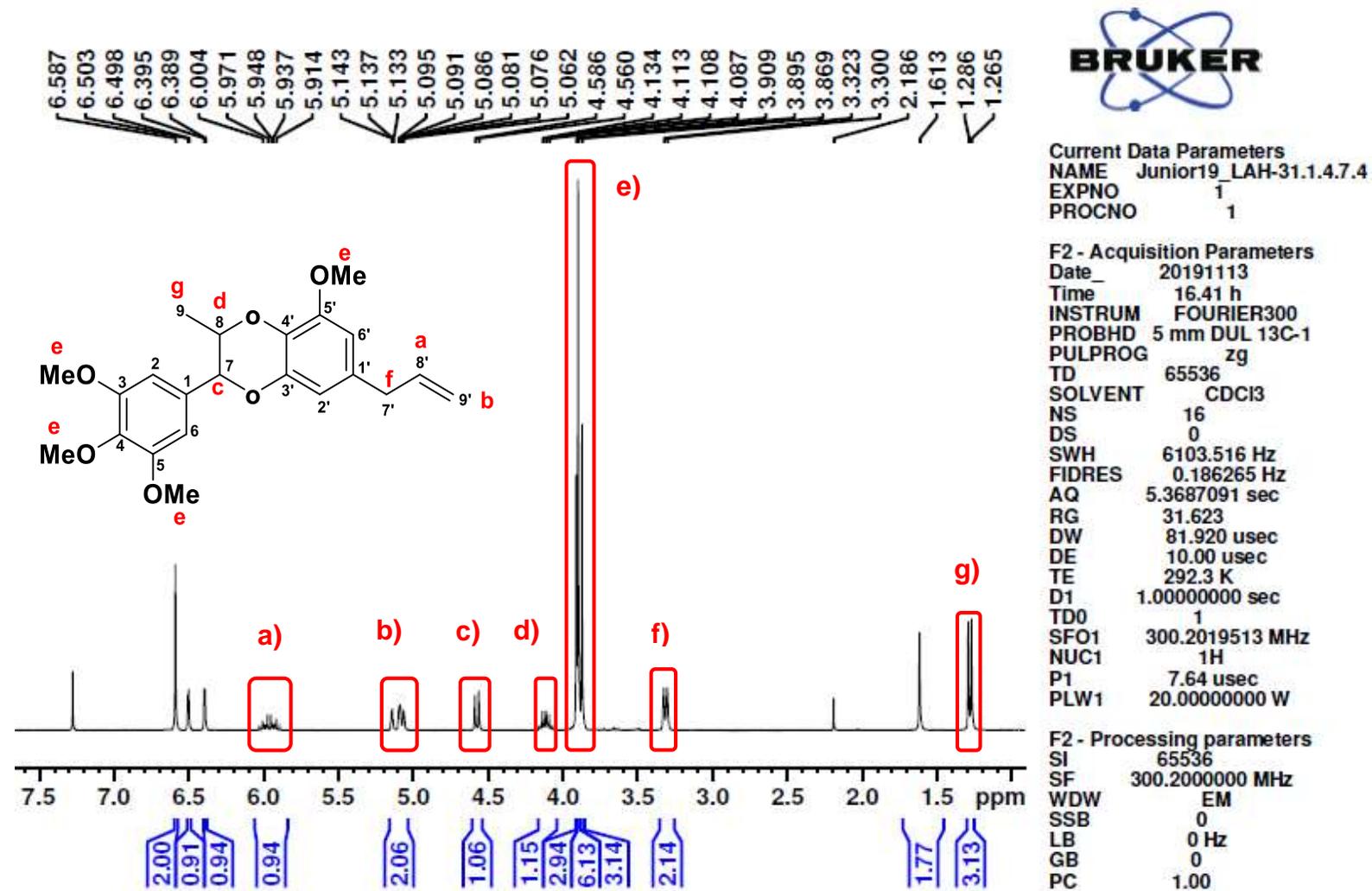
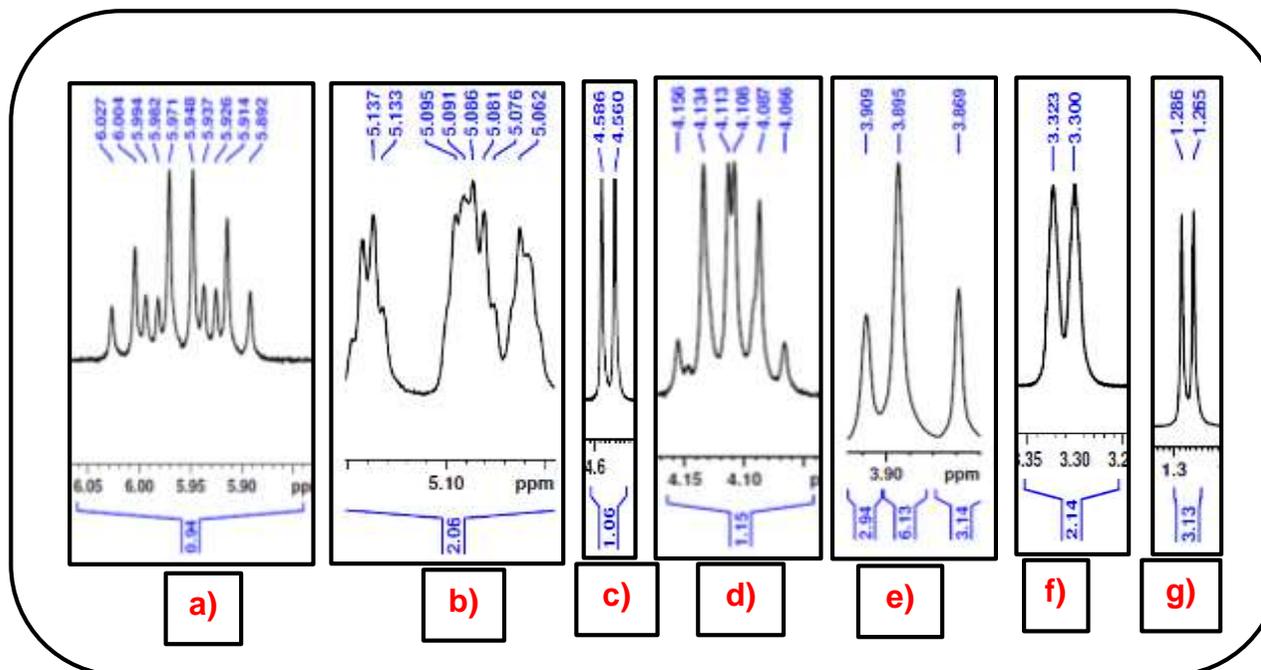


Figura 22. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da substância 5 (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

**Quadro 10.** Ampliação dos sinais do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da substância **5**



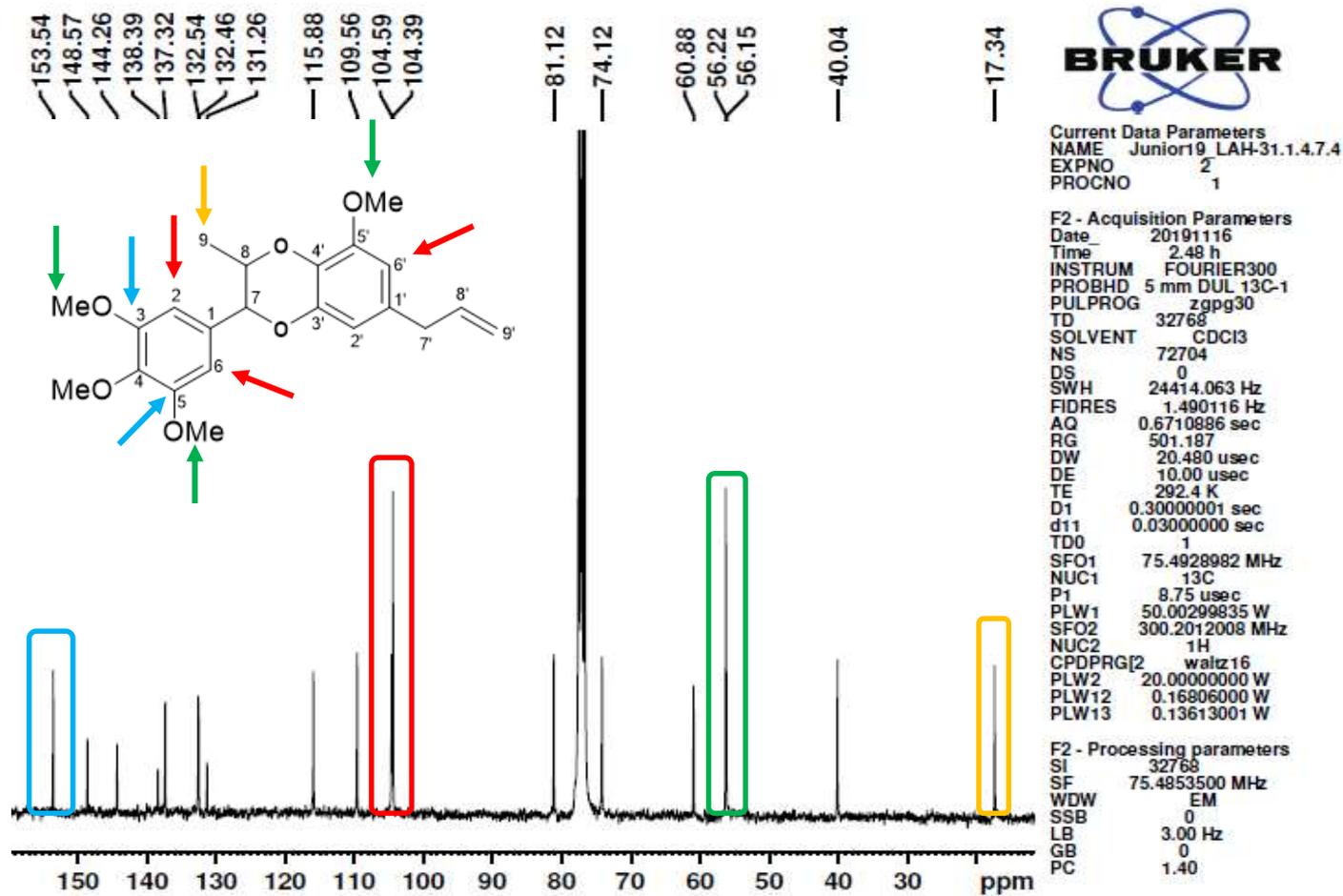


Figura 23. Espectro de RMN <sup>13</sup>C da substância 5 (75 MHz CDCl<sub>3</sub>)

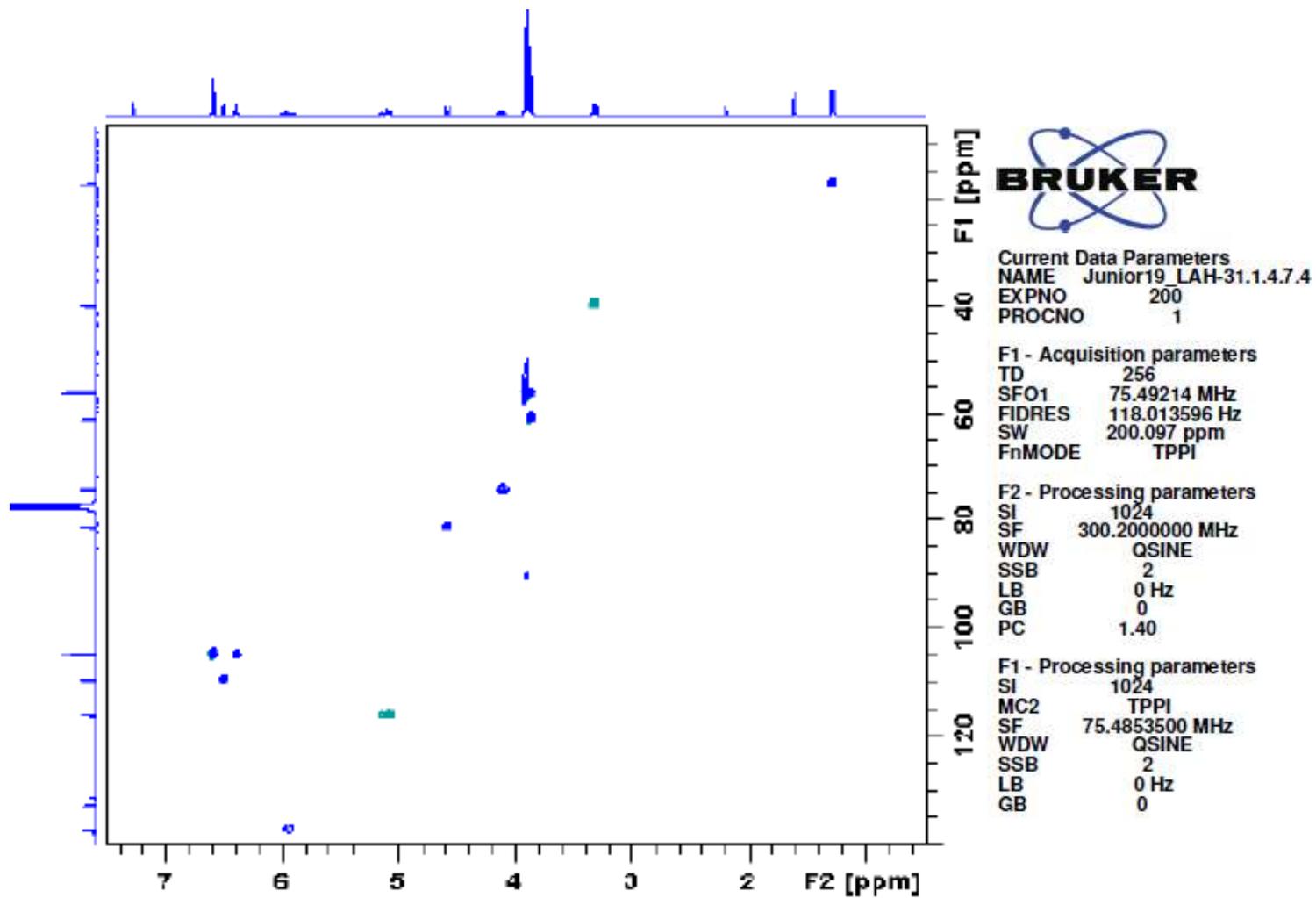


Figura 24. Mapa de contorno HSQC editado da substância 5 (300/75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

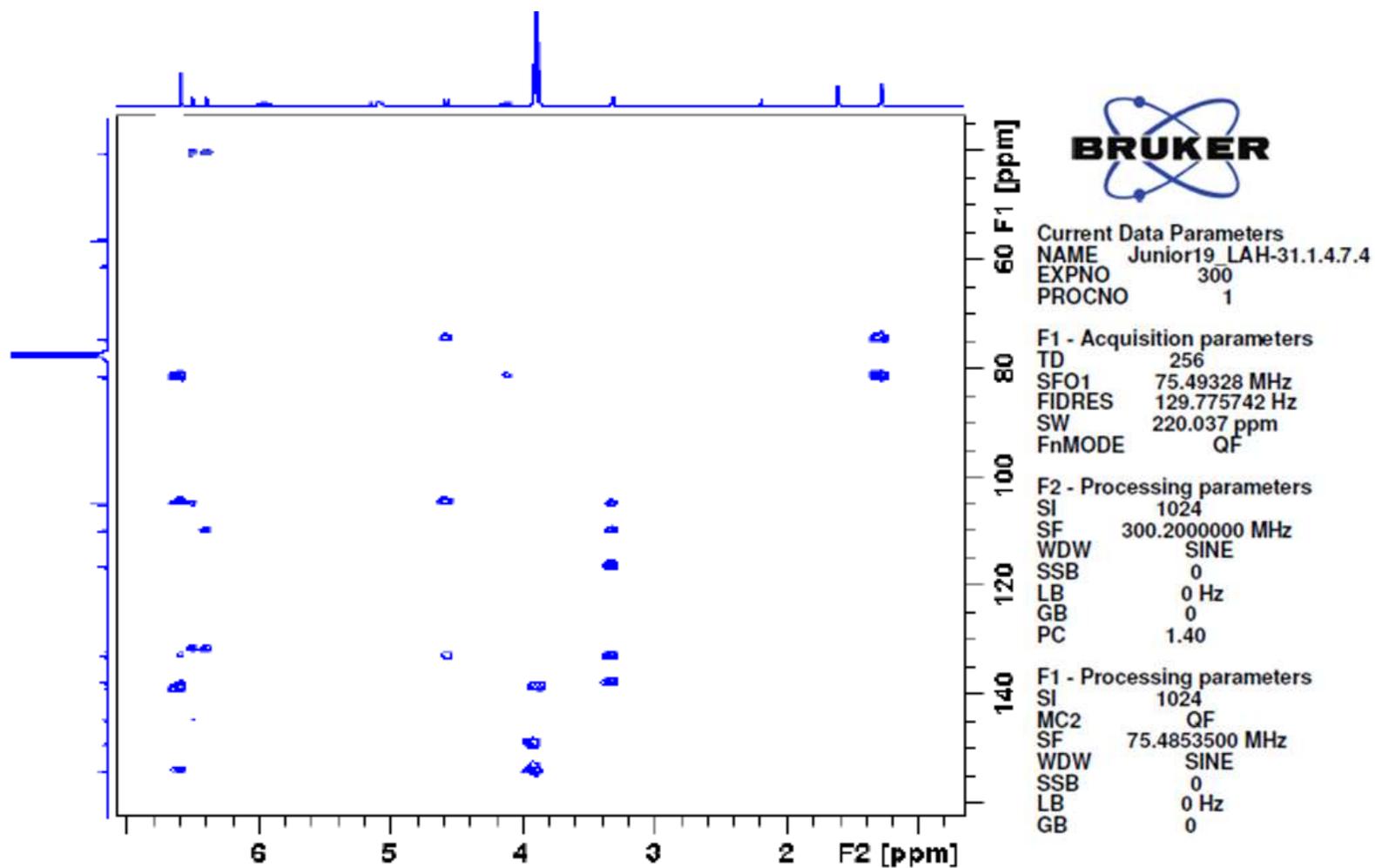


Figura 25. Mapa de contorno HMBC da substância 5 (300/75 MHz, CDCl<sub>3</sub>).

## 5.7 Identificação da substância 6

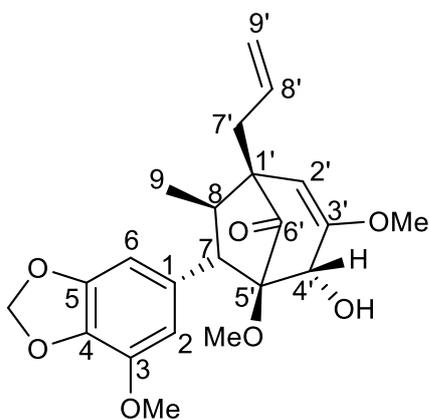
A substância **6** foi obtida conforme o fracionamento cromatográfico descrito pelo Esquema 2 (p. 44) e apresentou-se como sólido cristalino branco, solúvel em diclorometano (DCM). Na análise em CCD com sistema de eluição 98:2 (DCM / MeOH) não detectou-se absorção no UV, quando revelada em vanilina sulfúrica apresentou uma mancha amarela com  $R_f = 0,5$ . Esta amostra foi identificada por meio de análises espectroscópicas de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , HSQC e HMBC e comparada com os dados da literatura (Tabela 21, p. 88, Tabela 22, p. 89).

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 27, p.90) mostra sinais referentes a três metoxilas distintas  $\delta$  ( 3,89; 3,66; 2,90 ppm), sinais referentes a dois hidrogênios de sistema aromático com deslocamentos em  $\delta$  6,33 H-2 e 6,37 H-6, que acoplam entre si em *meta*, dando um dubleto para ambos os prótons, com constante de acoplamento de 1,4 Hz. Observou-se hidrogênios em anel dioxolano com  $\delta$  5,96 (*dd*; 4,0; 1,4 Hz), hidrogênio olefínico com deslocamento  $\delta$  4,55 ppm, metílico em  $\delta$  0,97 (*d*; 6,5 Hz) e carbinólico H-4' em  $\delta$  4,69 (*d*; 1,6) com acoplamento á  $J^4$  em W, com H-2'. Os hidrogênios da dupla ligação terminal foram verificados em  $\delta$  5,92 *m* (H-8') e  $\delta$  5,07 *m* (H-9') e o grupo metilênico em 2,32-2,42 *dd* (H-7').

Os deslocamentos químicos obtidos no espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (Figura 28, p. 92) em  $\delta$  132,7; 109,0; 143,4; 134,2; 148,8; 103,4 foram atribuídos aos carbonos do anel aromático, a presença de carbono com deslocamento em  $\delta$  209,0 ppm é característico de carbonila de cetona.

As correlações observadas nos mapas de contorno dos experimentos de HMBC (Figura 31, p. 95, Tabela 22, p. 89) e HSQC (Figura 30, p. 94) juntamente com as multiplicidades e constantes de acoplamento dos hidrogênios, auxiliaram nas atribuições para a elucidação. Verificou-se no HMBC as correlações entre metoxilas em  $\delta$  3,89 com os carbonos em  $\delta$  143,8 (C-3); 3,66 com o carbono em  $\delta$  154,4 (C-3') e 2,90 com o carbono em  $\delta$  83,2 (C-5'). Os hidrogênios com deslocamentos em  $\delta$  4,69 (H-4'); 2,42-2,32 (H-7') e 2,52; (H-7) fazem correlação  $J^3$  com carbono carbonílico (C-6'). As correlações entre hidrogênio em  $\delta$  5,96; com os carbonos  $\delta$  134,2 (C-4) e 148,8 C-5 confirmam a substituição do metilenodioxí do anel aromático. As demais correlações que permitiram a junção entre o anel aromático com o anel biciclo podem ser visualizadas na tabela 22, p. 89. A partir dos dados obtidos confrontado com

Guilhon e colaboradores (1992) foi possível propor a substância **6** como: (7*S*,8*R*,1'*R*,4'*S*,5'*R*)-1'-alil-4'-hidroxi-3,3',5'-trimetoxi-4,5-metilenodioxifenil-7-metilbicyclo[3.2.1]oct-2'-en-6'-ona.



**Figura 26.** Substância **6**

Tabela 21. Dados de RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  da substância 6

N <sup>o</sup>	$\delta$ (ppm) $^1\text{H}$ , mult, J (Hz) <sup>1*</sup>	$^{13}\text{C}$ $\delta$ (ppm) <sup>2*</sup>	$\delta$ (ppm) $^1\text{H}$ , mult, J (Hz) <sup>3*</sup>	$^{13}\text{C}$ $\delta$ (ppm) <sup>4*</sup>
Substância 6		Guilhon <i>et al.</i> , (1992)		
1	---	132,7	---	132,6
2	6,33 ( <i>d</i> ; 1,4)	109,0	6,32 ( <i>d</i> ; 2,0)	108,9
3	---	143,8	---	148,6
4	---	134,2	---	134,0
5	---	148,8	---	143,0
6	6,37 ( <i>d</i> ; 1,4)	103,4	6,36 ( <i>d</i> ; 2,0)	103,3
7	2,52 ( <i>d</i> ; 8,8)	52,7	2,52 ( <i>d</i> ; 8,5)	52,7
8	2,02 ( <i>m</i> )	48,7	2,02 ( <i>dq</i> ; 8,5; 7,0)	48,6
9	0,97 ( <i>d</i> ; 6,5)	12,3	0,97 ( <i>d</i> ; 7)	12,3
1'	---	49,1	---	49,0
2'	4,55 ( <i>d</i> ; 1,5)	100,4	4,54 ( <i>d</i> ; 2,0)	100,1
3'	---	154,4	---	154,3
4'	4,69 ( <i>d</i> ; 1,6)	78,1	4,68 ( <i>br s</i> )	77,9
5'	---	83,2	---	83,0
6'	---	209,0	---	?
7'	2,42-2,32 ( <i>dd</i> ; 14,1; 7,1)	35,2	2,2-2,5	35,2
8'	5,92 ( <i>m</i> )	133,7	5,7-6,2	133,5
9'	5,11 ( <i>m</i> ) - 5,07 ( <i>s l</i> )	118,1	4,9-5,2	117,9
OMe (C-3')	3,66 ( <i>s</i> )	55,7	3,66 ( <i>s</i> )	55,6
OMe (C-5')	2,90 ( <i>s</i> )	51,3	2,92 ( <i>s</i> )	51,2
OMe (C-3)	3,89 ( <i>s</i> )	56,7	?	56,6
O <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> (C-4,5)	5,96 ( <i>dd</i> ; 4,0; 1,4)	101,4	5,94 ( <i>s</i> )	101,2

1\* 300 MHz CDCl<sub>3</sub>; 2\* 75 MHz, CDCl<sub>3</sub>; 3\*100 MHz CDCl<sub>3</sub> e 4\* 20 MHz CDCl<sub>3</sub>.

**Tabela 22.** Dados de HMBC (300/75 MHz) da substância **6**

N <sup>o</sup>	$\delta$ (ppm) <sup>1</sup> H, mult, J(Hz)	HMBC
		Substância <b>6</b>
1	---	
2	6,33 ( <i>d</i> ;1,4 meta)	C-3; C-4; C-6; C-7
3	---	
4	---	
5	---	
6	6,37( <i>d</i> ; 1.4 <i>m</i> )	C-2; C-4; C-5; C-7
7	2,52 ( <i>d</i> ;8,8)	C-1; C-2; C-6; C-8; C-9; C-4'; C-5'; C-6'
8	2,02 ( <i>m</i> )	C-1; C-7; C-1'; C-2'; C-7'
9	0,97 ( <i>d</i> ;6,5)	C-7; C-8; C-1'
1'	---	
2'	4,55 ( <i>d</i> ;1,5 <i>m</i> )	C-1'; C-3'; C-4'
3'	---	
4'	4,69 ( <i>d</i> ;1,6 <i>m</i> )	C-7; C-2'; C-3'; C-5'; C-6'
5'	---	
6'	---	
7'	2,42-2,32	C-1'; C-2'; C-6'; C-8'; C-9'
8'	5,52	
9'	5,11-5,07	C-7'; C-8'
MeO(C-3')	3,66 ( <i>s</i> )	C-3'
MeO(C-5')	2,90 ( <i>s</i> )	C-5'
MeO(C-3)	3,89 ( <i>s</i> )	C-3
O <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> (C-4,5)	5,96 ( <i>dd</i> ; 4,0; 1,4)	C-4; C-5

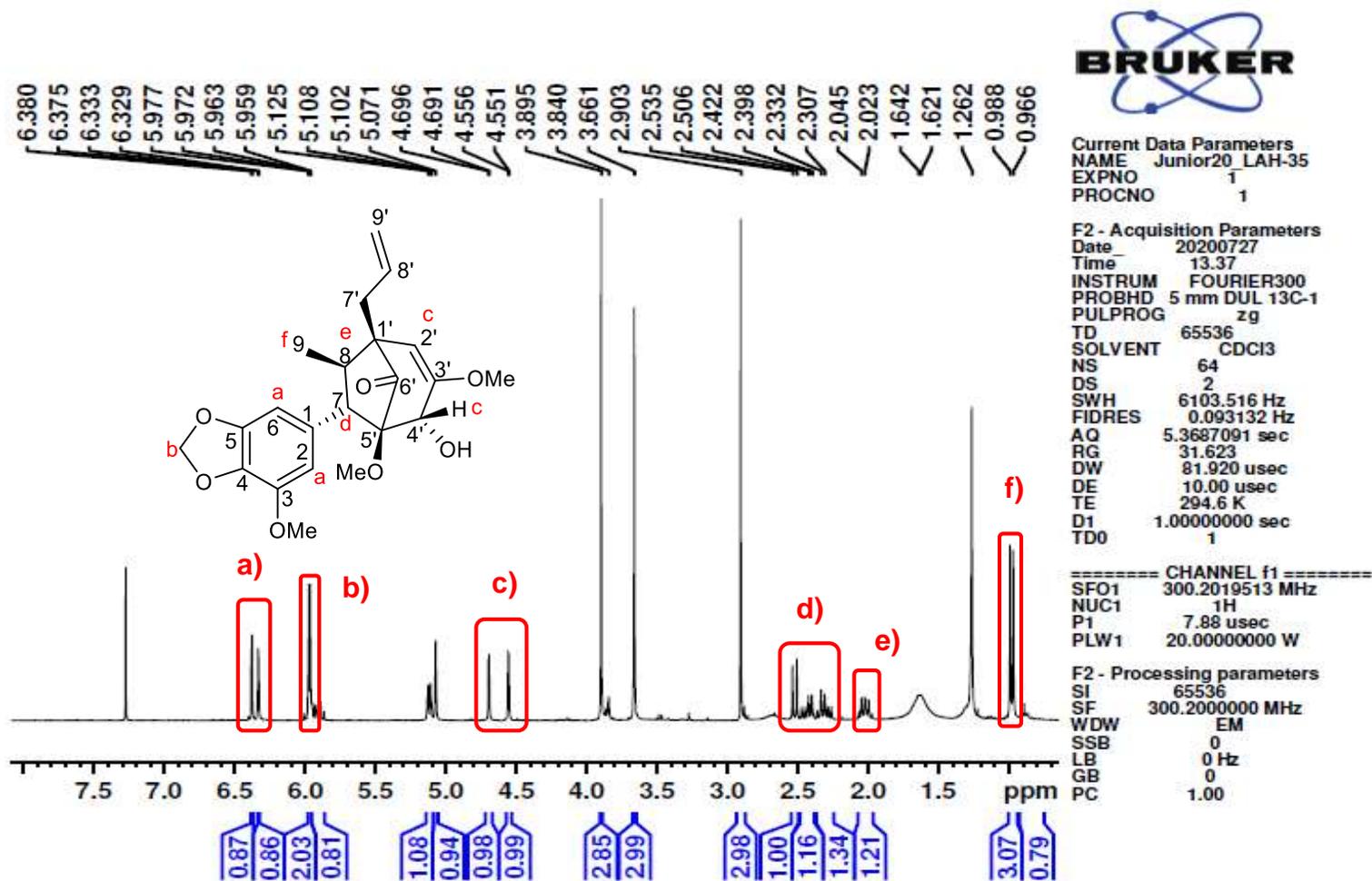
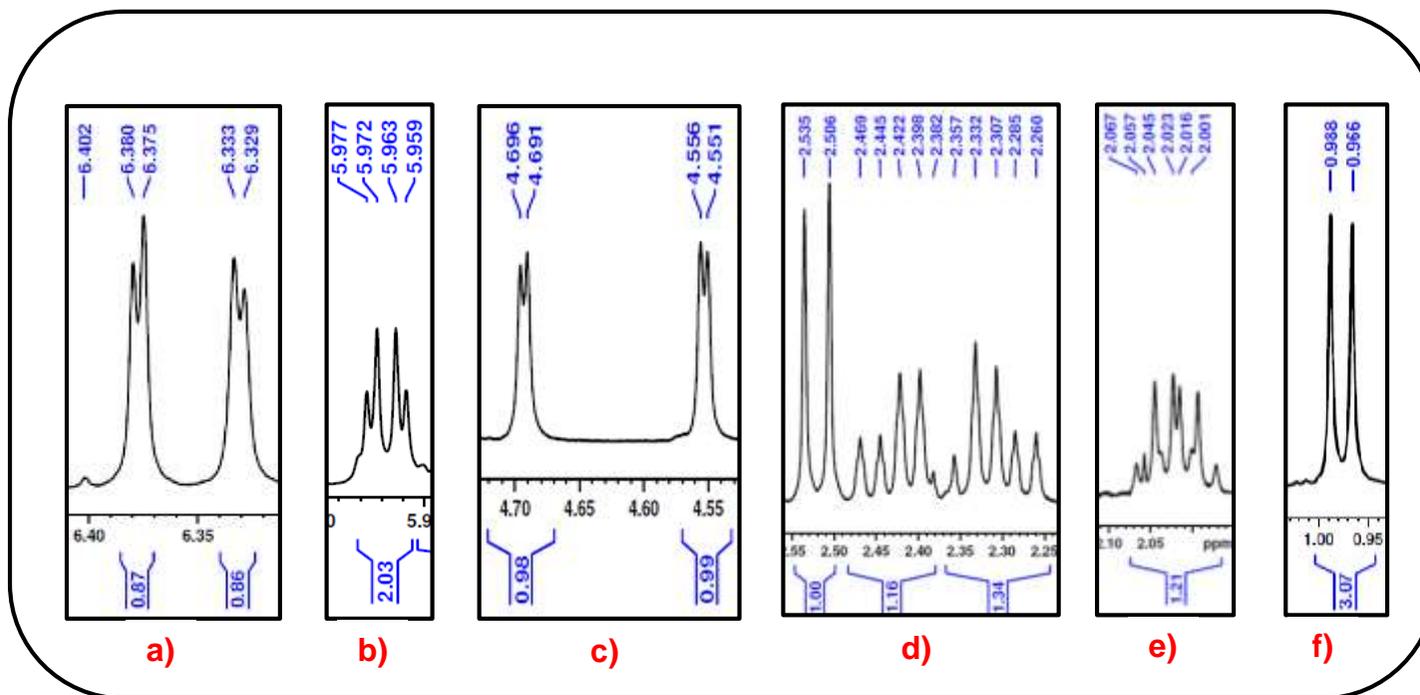


Figura 27. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da substância 6 (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

**Quadro 11.** Ampliação dos sinais do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da substância **6**



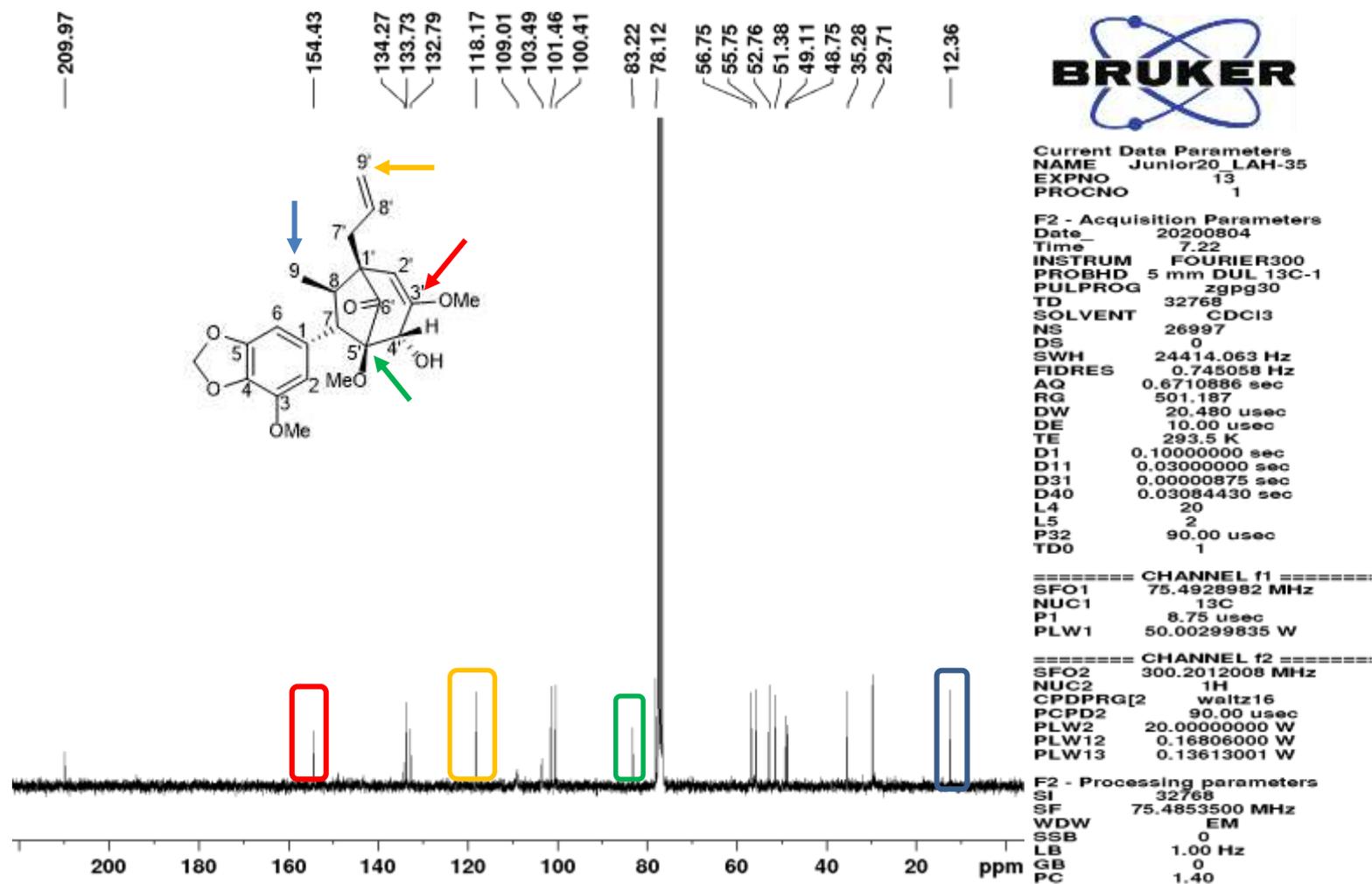


Figura 28. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  da substância 6 (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

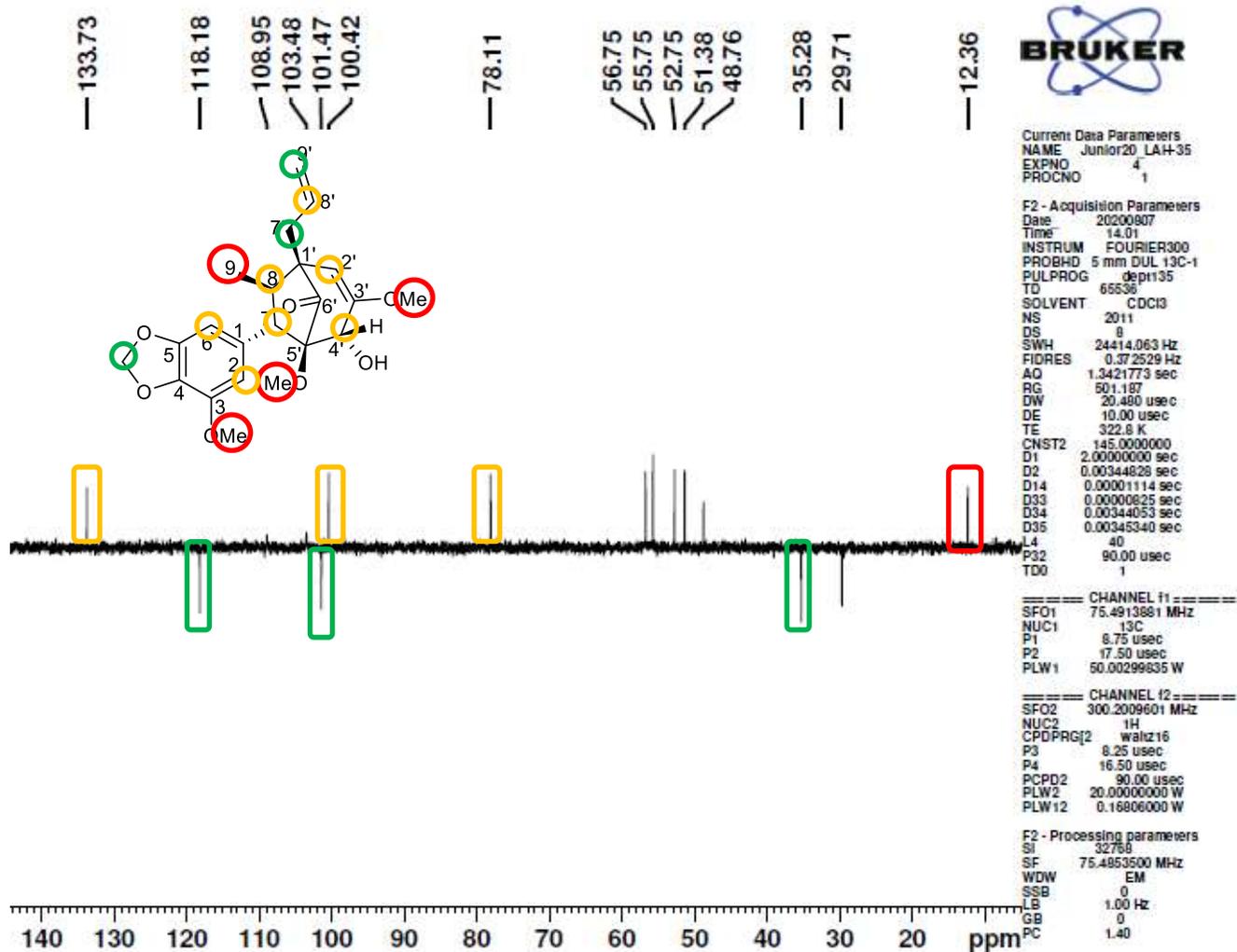


Figura 29. Espectro de DEPT 135° da substância 6 (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

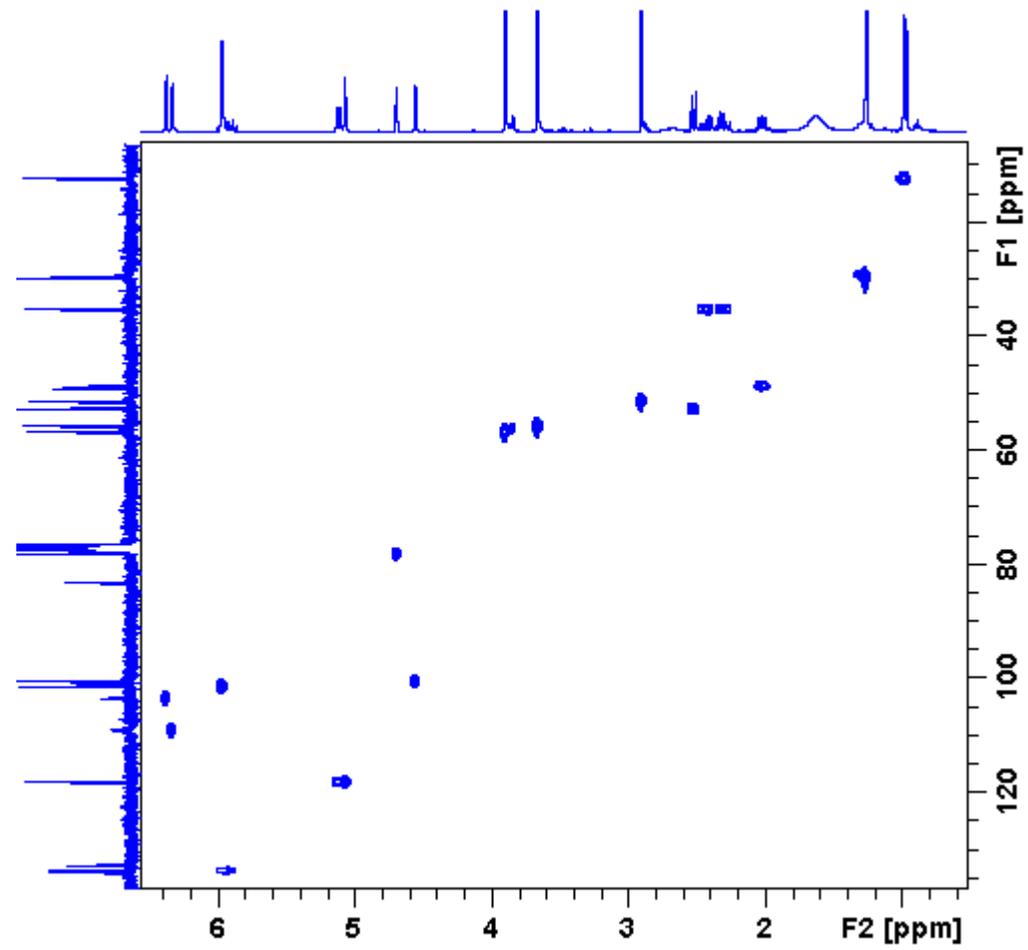


Figura 30. Mapa de contorno HSQC da substância 6 (300/75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

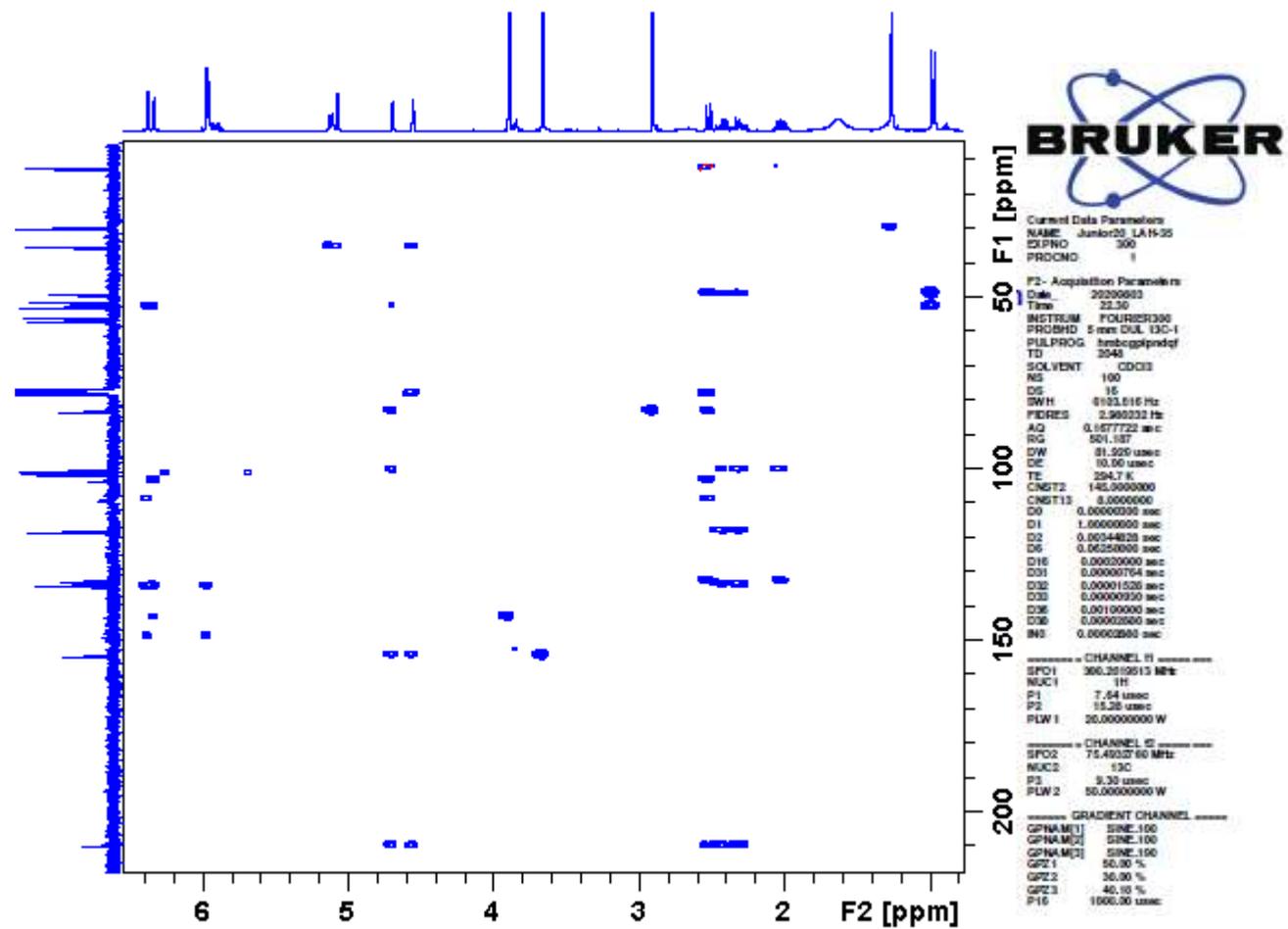
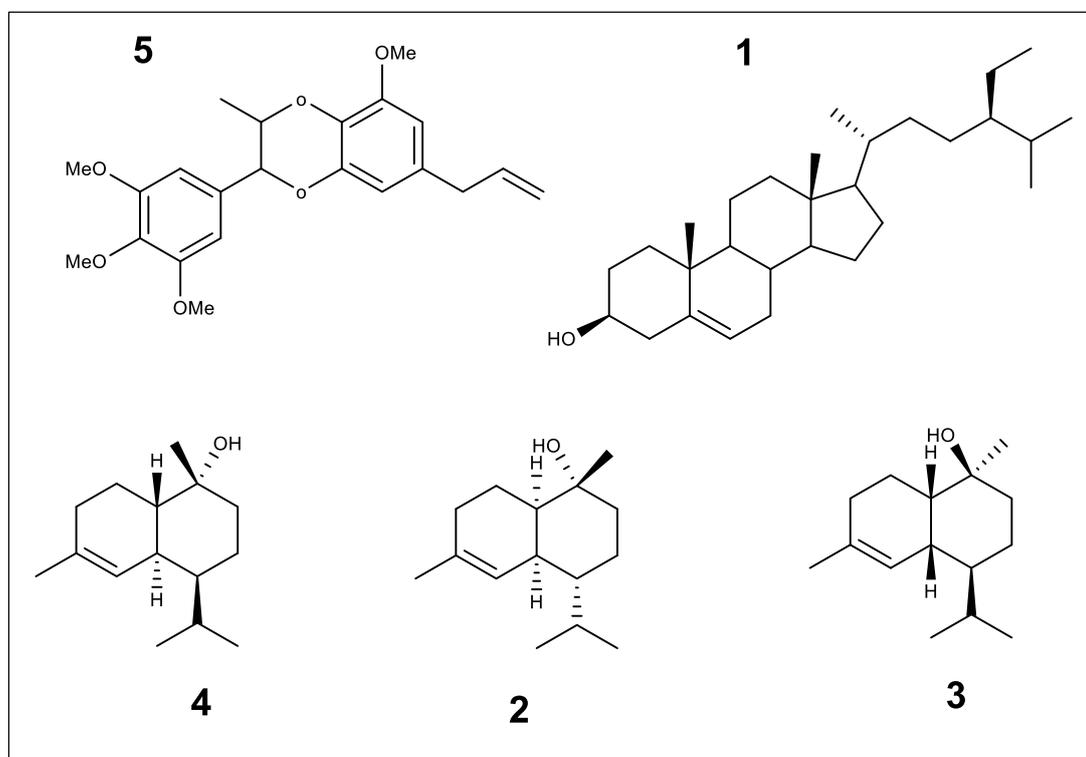


Figura 31. Mapa de contorno HMBC da substância 6 (300/75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

### 5.3. Atividade antifúngica sobre as cepas de *C. albicans* e *C. gatti*

Para avaliar atividade antifúngica das substâncias usadas no ensaio (Quadro12), foi realizado o teste de sensibilidade antifúngica pela técnica de microdiluição em caldo, que investigou a Concentração Inibitória Mínima (CIM) das substâncias frente as linhagem de *Candida albicans* (ATCC 60193), *Cryptococcus gattii* (CFP 61). Em pesquisa conduzida por Banerjee e colaboradores (1991), foi relatado que patógenos do gênero *Candida* são responsáveis por infecções fúngicas em hospitais, desafiando os clínicos de diferentes especialidades devido às dificuldades diagnósticas e terapêuticas das infecções causadas por tais agentes. Segundo Datta e colaboradores (2009), *C. gattii* emergiu como um patógeno humano e animal no noroeste do Pacífico, reconhecido pela primeira vez em Ilha de Vancouver, British Columbia, Canadá, causador de doenças que afeta imunocomprometidos e pessoas imunocompetentes, causando doença substancial e morte.

**Quadro 12.** Substâncias avaliadas no ensaio antifúngico



A Tabela 23, p. 98, apresenta os resultados encontrados para os testes *in vitro* das substâncias provenientes dos resíduos de madeira de *Licaria aritu* Ducke frente às diferentes linhagens de fungos. Os resultados mostram que as substâncias **1**, **(2,3)** e **4** na concentração de 320 µg/mL apresentaram redução de 100% do crescimento contra as cepas de *C. gattii*, sendo que, as mesmas substâncias não apresentaram atividade para *C. albicans*. Entretanto a neolignana eusiderina A **5**, não apresentou inibição para nenhuma das cepas. Apesar dos resultados da atividade antifúngica, Muhaimin e colaboradores (2020), relataram eusiderina A como um potente biopesticida e agente antifúngico. Estudos anteriores sobre a oxidação do metileno terminal da cadeia alílica em Eusiderina A foram capazes de produzir álcool primário, pinacol e um aldeído que demonstrou forte atividade contra fungos patogênicos de plantas.

Portanto, a atividade contra fungos dérmicos precisa ser estudada. Porém existem vários fatores que influenciam na atividade biológica como, o tipo de ensaio empregado, tempo de exposição e do mecanismo de ação da substância, concentração etc.

Segundo Brunton e colaboradores (2008), grupos hidroxilas influenciam na atividade das substâncias produzindo toxicidade aos fungos, através da desativação de enzimas, com isso os fungos sofrem uma alteração nas proteínas da membrana plasmática de suas células.

Em trabalhos realizados por Chang e colaboradores (2008) demonstrou que o T-muurolol e o  $\alpha$ -cadinol possuem atividades antifúngicas contra um amplo espectro de fungos fitopatogênicos testados, e podem ser usados como potenciais agentes antifúngicos para o controle de doenças fúngicas em plantas.

No estudo conduzido por Kiprono e colaboradores (2000), relatam forte atividade do  $\beta$ -sitosterol contra fungos do gênero *Fusarium*, o estudo também aponta que o  $\beta$ -sitosterol é ativo contra as bactérias *Salmonella typhii* e *Corynebacterium diphtheria*.

**Tabela 23.** Resultados da Concentração Inibitória Mínima (CIM) das substâncias sobre as cepas de fungos

Substância	Concentração Inibitória Mínima ( $\mu\text{g/mL}$ )	
	<i>Candida albicans</i>	<i>Cryptococcus gatti</i>
1	> 320	320
2,3	> 320	320
4	> 320	320
5	> 320	> 320
Controle anfotericina B	0,25	0,5

>Não sensível para essa concentração

## 6.0 CONCLUSÃO

Os estudos realizados com os resíduos madeireiros de *Licaria aritu* Ducke no presente trabalho, conduziram o isolamento e identificação das classes: de esteroide ( $\beta$ -sitosterol); sesquiterpenos ( $\alpha$ -cadinol e mistura de epímeros *ent*-T-muurolol; (-)-T-muurolol) e neolignanas (eusiderina A e (1R,4S,5R,6S,7R)-1-alil-4-hidroxi-3,5 dimetoxi-6-(7-metoxibenzo[d][1,3]dioxol-5-il)-7metilbicyclo[3.2.1]oct-2-en-8-ona.

Todas as referidas substâncias, são relatadas pela primeira vez na espécie.

As substâncias tiveram suas estruturas propostas a partir de análises por espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) e por comparação com dados da literatura. Enfatizando as substâncias que produziram toxicidade aos fungos com exceção da eusiderina A, que vale salientar que, ausência de uma zona de inibição não significa necessariamente que a amostra seja inativa, por isso é interessante avaliar a difusão das substâncias a serem testadas ou até mesmo cogitar os métodos aplicados. Visando a importância no investimento da pesquisa com os resíduos de madeira. Esse trabalho contribuiu para o conhecimento da composição química da madeira de *Licaria aritu*. Uma vez que é o segundo registro de perfil químico descrito na literatura, porém, nenhuma das substâncias apresentam relatos na literatura para espécie de *Licaria aritu* Ducke.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDEL-HAFIZ M. A.; SLATKIN D. J.; SCHIFF P. *Neolignans and alkaloids from Licaria armeniaca* (Nees) Kosterm. Part 1. Bull Pharm Sci Assiut Univ, v. 8, n. 1, p. 28-40, 1985.

ADEODATO, S.; VILELA, M.; BETIOL, L. S.; MONZONI, M. *Madeira de ponta a ponta: o caminho desde a floresta até o consumo*. São Paulo, SP: FGV RAE, v. 1, n. 1, p. 128, 2011.

AIBA, C. J.; CORRÊA, R. G. C.; GOTTLIEB, O. R. *Natural occurrence of Erdtman's dehydrodiisoeugenol*. Phytochemistry, v.12, n. 5, p.1163–1164, 1973.

AIBA, C. J.; GOTTLIEB O. R.; MAIA J. G. S.; PAGLIOSA F. M.; YOSHIDA M. *Benzofuranoid neolignans from Licaria armeniaca*. Phytochemistry, v. 1, n. 20, p.38-9, 1978.

ALEGRIO, L. V.; FO. BRAS, R.; GOTTLIEB, O. R. *Lignans and neolignans from Licaria armeniaca*. Phytochemistry, v.20, n.19, p.63-5, 1981.

APG IV Byng, J.W.; Chase, M.W.; Christenhusz, M.J.M.; Fay, M.F.; Judd, W.S.; Mabberley, D.J.; Sennikov, A.N.; Soltis, D.E.; Soltis, P.S. & Stevens, P.F. *An update of the Angiosperm Phylogeny. Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV*. Botanical Journal of the Linnean Society, v.181, p.1–20, 2016.

APG (Angiosperm Phylogeny Group). <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>. Acesso em: 08/07/2019

BANERJEE, S.N.; EMORI, T.G.; CULVER, D.H.; GAYNES, R.P.; JARVIS, W.R.; HORAN, T.; EDWARDS, J.R.; TOLSON, J.; HENDERSON, T.; MARTONE, W.J. *Secular trends in nosocomial primary bloodstream infections in the United States, 1980-1989. National Nosocomial Infections Surveillance System. American Journal of Medicine* v.91, n.3, p.86-89, 1991.

BARBOSA-FILHO, J. M.; YOSHIDA, M.; GOTTLIEB, O. R. *Neolignans from the fruits of Licaria armeniaca. Phytochemistry*, v.26, p.21-319, 1987.

BARBOSA-FILHO, J. M.; SILVA, M. S.; YOSHIDA, M.; GOTTLIEB, O. R. *Neolignans From Licaria aurea. Phytochemistry*, v.28, n. 22, p. 09-11, 1989.

BARBOSA, H.; LEONARDO C. G. DA SILVA, R.; COSTA-SILVA, T. A.; TEMPONE, A. G.; ANTAR, G. M.; HENRIQUE G. LAGO, J.; & CASELI, L. Interaction of dicentrinone, an antitrypanosomal aporphine alkaloid isolated from *Ocotea puberula* (Lauraceae), in cell membrane models at the air-water interface. *Bioorganic Chemistry*, v.101, p.103978, 2020.

BEZERRA, A. DE M.; LINS, A. C. DA S.; ATHAYDE-FILHO, P. F. DE.; SILVA, M. S. DA.; BARBOSA-FILHO, J. M.; CAMARA, C. A., SILVA, LUNA, V. DA S.; DOS SANTOS, C. F. *Neolignans from Licaria chrysophylla and Licaria aurea with DNA topoisomerase II- $\alpha$  inhibitory activity. Química Nova*, v. 35, n. 11, p. 2226–2228, 2012.

BRAZ FO, R.; DE. CARVALHO, M. G.; GOTTLIEB, O. R.; MAIA, J. G. S.; & DA SILVA, M. L. *Neolignans from Licaria rigida. Phytochemistry*, v. 20, n. 8, p. 2049–2050. 1981.

BRUNTON, L.; PARKER, K.; BLUMENTHAL, D.; BUXTON, I. 2007. GOODMAN & GILMAN'S *Manual of Pharmacology and Therapeutics*.1.ed. New York: MCGraw Hill, 1219 p.

CABRAL, M. M. O.; BARBOSA-FILHO, J. M.; MAIA, G. L. A.; CHAVES, M. C. O.; BRAGA, M. V.; DE SOUZA, W.; & SOARES, R. O. A. *Neolignans from plants in*

*northeastern Brazil (Lauraceae) with activity against Trypanosoma cruzi*. Experimental Parasitology, v.124 n. 3, p.319–324, 2010.

CAMARGO, M. J. DE.; MIRANDA, M. L. D.; KAGAMIDA, C. M.; RODRIGUES, E. D.; GARCEZ, F. R.; & GARCEZ, W. S. *Sesquiterpenos de Ocotea lancifolia (Lauraceae)*. Química Nova, v. 36, n. 7, p. 1008–1013, 2013.

CASTRO CO, ULATE CL. *New di-aryl propanoids in Licaria triandra (Lauraceae) seeds*. Rev Latinoam Quim, v.19, n. 2, p. 2-60, 1988.

CHANG, HUI-TING.; CHENG, YING-HUNG.; WU, CHI-LIN.; CHANG, SHANG-TZEN.; CHANG, TUN-TSCHU.; SU, YU-CHANG. *Antifungal activity of essential oil and its constituents from Calocedrus macrolepis var. formosana Florin leaf against plant pathogenic fungi*. Bioresource technology. V.99, n. 14, p.6266-6270, 2008.

CERCENADO, EMILIA. *Enterococcus: resistencias fenotípicas y genotípicas y epidemiología en España*. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, v.29, n. 5, p.59–65, 2011.

CHANDERBALI, A. S.; VAN DER WERFF, H.; & RENNER, S. S. *Phylogeny and Historical Biogeography of Lauraceae: Evidence from the Chloroplast and Nuclear Genomes*. Annals of the Missouri Botanical Garden, v.88, n. 1, p.104, 2001.

COY, E. D.; CUCA, L. E. *nuevo alcaloide oxoaporfínico y otros constituyentes químicos aislados de pleurothyrium cinereum Lauraceae*. Rev colombiana de química, v .37, n.2, p. 127-134, 2008.

COY, E. D.; CUCA, L. E.; & SEFKOW, M. *COX, LOX and platelet aggregation inhibitory properties of Lauraceae neolignans*. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, v.19 n.24, p. 6922–6925, 2009.

DA SILVA, M. S.; BARBOSA-FILHO, J. M.; YOSHIDA, M.; & GOTTLIEB, O. R. *Benzodioxane and  $\beta$ -aryloxy-arylpropane type neolignans from Licaria chrysophylla*. Phytochemistry, v.28, n.12, p.3477–3482, 1989.

DATTA, K., BARTLETT, K. H., BAER, R., BYRNES, E., GALANIS, E., ... HEITMAN, J. *Spread of Cryptococcus gattii into Pacific Northwest Region of the United States*. Emerging Infectious Diseases, v.15, n. 8, p.1185–1191, 2009.

DEHARO, E.; BOURDY, G.; QUENEVO, C.; MUÑOZ, V., RUIZ, G.; & SAUVAIN, M. *A search for natural bioactive compounds in Bolivia through a multidisciplinary approach. Part V. Evaluation of the antimalarial activity of plants used by the Tacana Indians*. Journal of Ethnopharmacology, v.77, n. 1, p. 91–98, 2001.

DEMIREV, P. A.; HAGAN, N. S.; ANTOINE, M. D.; LIN, J. S.; & FELDMAN, A. B. *Establishing Drug Resistance in Microorganisms by Mass Spectrometry*. Journal of The American Society for Mass Spectrometry, v. 24, n. 8, p.1194–1201, 2013.

FERREIRA, Z. S.; ROQUE, N. C.; GOTTLIEB, O. R.; GOTTLIEB, H. E. *An unusual porosin type neolignan from Licaria chrysophylla*. Phytochemistry, v. 21, n. 11, p. 2756-2758, 1982.

FIGUEIREDO, DE Q. D.; CASTRO S. F. L.; SANTOS N. R. K.; TEIXEIRA M. L.; MONDINO DE B. S. S. *Detecção de metalo-betalactamases em amostras hospitalares de Pseudomonas aeruginosa e Acinetobacter baumannii*. J Bras Patol Med Lab, v. 45, n. 3, p. 177-84, 2009.

FRANCA, N. C.; GOTTLIEB, O. R.; MAIA, J. G. S. *Macrophyllin, a neolignan from Licaria macrophylla*. Phytochemistry, v.13, n. 12, p. 2839-2842, 1974.

GARCEZ F. R.; DA SILVA A. F. G.; GARCEZ W. S.; LINCK G.; MATOS, F. M. C.; SANTOS E. C.; QUEIROZ, L. M. *Cytotoxic Aporphine Alkaloids from Ocotea acutifolia*. Planta Med. v. 77, p. 383, 2011.

GIESBRECH, A. M.; FRANCA, N. C.; GUTTLIEB, O. R. *The neolignans of licaria canella*. Phytochemistry, v. 13, n.10, p. 2285-2293, 1974.

GRECCO, S. S.; LORENZI, H.; TEMPONE, A. G.; LAGO, J. H. G. *biological and chemical aspects of Nectandra genus (Lauraceae)* Tetrahedron: Asymmetry, v. 27, n. 17-18, p. 793-810, 2016.

GUILHON, G. M. S. P.; CONSERVA, L. M.; MAIA, J. G. S.; YOSHIDA, M.; GOTTLIEB, O. R. *Bicyclo [3.2.1] octanoid neolignans from Licaria brasiliensis*. Phytochemistry, v.31, n. 8, 2847-2850, 1992.

HIMEJIMA, M.; & KUBO, I. *Antimicrobial Agents from Licaria puchuri-major and Their Synergistic Effect with Polygodial*. Journal of Natural Products, v. 55, n. 5, p. 620–625. 1992.

KIM, S.; COVINGTON, A.; PAMER, E. G. *The intestinal microbiota: Antibiotics, colonization resistance, and enteric pathogens*. Immunological Reviews, v. 279, n. 1, p.90–105, 2017.

KIPRONO, P. C.; KABERIA, F.; KERIKO, J. M.; & KARANJA, J. N. *The in vitro Anti-Fungal and Anti-Bacterial Activities of  $\beta$ -Sitosterol from Senecio lyratus (Asteraceae)*. Zeitschrift Für Naturforschung C, v. 55, n. 5-6, p. 485–488, 2000.

KUBITZKI, K.; & KURZ, H. *Synchronized dichogamy and dioecy in neotropicaLauraceae*. Plant Systematics and Evolution, v.147, n. 3-4, p.253–266, 1984.

KURTZ, B. C. *Composição florística e estrutura do estrato arbóreo de um trecho de Mata Atlântica situado na Estação Ecológica Estadual de Paraíso, Município de Cachoeiras de Macacu, Rio de Janeiro, Brasil*. Rodriguésia v.51, n. 78-79, p. 69-112, 2000.

LIAO, P.-C.; LAI, M. H.; HSU, K.-P.; KUO, Y. H.; CHEN, J.; TSAI, M.-C.; ... CHAO, L. K.-P. *Identification of  $\beta$ -Sitosterol as in Vitro Anti-Inflammatory Constituent in Moringa oleifera*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v.66, n.41, p. 10748-10759, 2018.

LOPES, M. N.; DA SILVA, M. S.; BARBOSA F, J. M.; FERREIRA, Z. S.; YOSHIDA, M.; & GOTTLIEB, O. R. *Unusual benzofuranoid neolignans from licaria chrysophylla*. *Phytochemistry*, v. 25, n.11, p. 2609–2612, 1986.

LUO, G.; LI, B.; LI, L.-G.; ZHANG, T.; & ANGELIDAKI, I. *Antibiotic Resistance Genes and Correlations with Microbial Community and Metal Resistance Genes in Full-Scale Biogas Reactors As Revealed by Metagenomic Analysis*. *Environmental Science & Technology*, v. 51, n. 7, p. 4069–4080, 2017.

MA-CHOONG J.; SUNG, S. H.; KIM, Y. C. *Neuroprotective Lignans from the Bark of Machilus thunbergii*. *Planta Medica*, v.70, n.1, p.79–80, 2004.

MARQUES, C.A. *Importância econômica da família Lauraceae Lindl*. *Floresta e Ambiente* v. 8, n. 1, p. 195-206, 2001.

MARQUES, M. O. M.; YOSHIDA, M.; GOTTLIEB, O. R.; MAIA, J. G. S. *Neolignans From Licaria Aurea*. *Phytochemistry*, v.31, n. 1, p. 360-361, 1992.

MIRANDA, D. L. M.; GARCEZ R. F.; ABOTB, R. A. G.; GARCEZ, S. W. *Sesquiterpenos e outros Constituintes das Folhas de Pterodon pubescens Benth (Leguminosae)*. *Química Nova*, v.37, n.3, p. 473-476, 2014.

MOITA, I. S.; YAMAGUCHI, K. K. L.; ALCÂNTARA, J. M.; SILVA, Y. C.; FERNANDES, N. S.; NAKAMURA, C. V.; VEIGA JUNIOR, V. F. *Estudos Fitoquímicos e Biológicos de Ocotea ceanothifolia (Nees) Mez*. *Rev. Virtual Quim*, v. 11, n. 4, p. 1267-1276, 2019.

MORAES, P.L.R. *Flora das cangas da Serra dos Carajás, Pará, Brasil: Lauraceae*, v. 69, n. 1, p. 081-117, 2018.

MUHAIMIN, SYAMSURIZAL, LATIEF, M., ISKANDAR, R., CHAERUNISAA, A. Y., & MUJAHIDIN, D. *Synthesis of 7,3'-epoxy-8,4'-oxyneolignane-1'-carboxylic acid from natural Eusiderin A and its activity against Trichophyton mentagrophytes*. *Current Organocatalysis*, V. 7, n.1, 2020.

NAGASHIMA, F.; SUDA, K.; ASAKAWA, Y. *Phytochemistry, Cadinene-type Sesquiterpenoids from the liverwort Scapania undulata*. Faculty of Pharmaceutical Sciences, v.37, n.5, p.1323–1325, 1994.

NEVES, R. PATRÍCIA.; MAMIZUKA, M. ELSA.; LEVY, E. CARLOS.; LINCOPAN NILTON. *Pseudomonas aeruginosa multirresistente: um problema endêmico no Brasil*. Jornal Bras Patol Med Labv. V.47, n.4, p. 409-420, 2011.

OHSAKI, A.; HOYA, T.; OZAWA, M.; KISHIDA, A.; KOMIYAMA, K.; KUBO, I. *Cytotoxicity of the alkaloid constituents from the seeds of Licaria puchury-major, Brazillian medicinal plant, in Vincristine-Resistant P388 cells*. Proceedings of the Institute of Natural Sciences, Nihon University, n.50, p. 295-298, 2015.

PARK, B.-Y.; MIN, B.-S.; KWON, O.-K.; OH, S.-R.; AHN, K.-S.; KIM, T.-J.; ... LEE, H.-K. *Increase of Caspase-3 Activity by Lignans from Machilus thunbergii in HL-60 Cells*. Biological & Pharmaceutical Bulletin, v. 27, n. 8, p.1305–1307, 2004.

PÉREZ-RODRÍGUEZ, F. & MERCANOGLU TABAN, B. *A State-of-Art Review on Multi-Drug Resistant Pathogens in Foods of Animal Origin: Risk Factors and Mitigation Strategies*. Frontiers in Microbiology, v.10, p. 2091, 2019.

QUINET, A.; BAITELLO, J.B.; MORAES, P.L.R.; DE-ASSIS, L.C.S.; ALVES, F.M. 2015. *Lauraceae*. In: *Lista das Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro*. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB143>. Acesso em: 20 julho 2019.

QUINET, A. *Sinopse taxonômica da família Lauraceae no Estado do Rio de Janeiro, Brasil*. Acta Botanica Brasilica, v.19, n.3, p. 563–572, 2005.

RAVISHANKAR, S. *Plant-Based Antimicrobials for Clean and Green Approaches to Food Safety*. ACS Symposium Series, 45–61, 2018.

REGO, G. M.; LAVORANTI, O. J. *Reproductive phenology: Lauraceae family in the Brazilian Atlantic Forest*. Geophysical Research Abstracts, Published in 8th EGU General Assembly v. 13, p. 13652, 2011.

ROHWER, J. G. *Lauraceae*. In: *The families and Genera of Vascular Plants*. (ed. KUBIZTKI, K. et al.). Spring Verlag, Berlin. v. 2, 1993.

SANTOS FILHO, L. et al. *Determinação da produção de metalo- $\beta$ -lactamases em amostras de Pseudomonas aeruginosa isoladas em João Pessoa, Paraíba*. J Bras Patol Med Lab, v. 38, n. 4, p. 291-6, 2002.

SISTEMA NACIONAL DE INFORMAÇÕES FLORESTAIS – SNIF. Brasília, 2019. Disponível em: < <http://snif.florestal.gov.br/pt-br/>>. Acesso em: 09. 05. 2019.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. *Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II*. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2005.

SUNG, T. V.; KUTSCHABSKY, L.; PORZEL, A.; STEGLICH, W.; & ADAM, G. *Sesquiterpenes from the roots of Homalomena aromatica*. Phytochemistry, v.31, n.5, p.1659–1661, 1992.

Tanaka, A. & Yamashita K. *Synthesis of (-)-dihydromahubanolide B and (-)-isodihydromahubanolide B*. Chem Lett, v.10, n. 3, p. 319-322, 1981.

UCHIYAMA, T.; TABATA, T.; NOMURA, S.; KANEKO, Y.; FUJIMOTO, Y.; SUZUKI, T. *Induction of Apoptosis in Human Leukemia Cell (Jurkat) by Neolignans Isolated from Seeds of Licaria Puchury-major*. Biol. Pharm. Bull, v. 32, n.10, p. 1749—1753, 2009.

VAN DER WERFF H. *A key to the genera of Lauraceae in the New World*. Annals of the Missouri Botanical Garden, v.78, p.377-387, 1991.

WAN OTHMAN, W. N. N.; SIVASOTHY, Y.; LIEW, S. Y.; MOHAMAD, J.; NAFIAH, M. A.; AHMAD, K.; ... AWANG, K. *Alkaloids from *Cryptocarya densiflora* Blume (Lauraceae) and their cholinesterase inhibitory activity*. *Phytochemistry Letters*, v. 21, p. 230–236, 2017.

ZANIN, S. M. W & LORDELLO, A. L. L.; *Alcalóides aporfinóides do gênero *Ocotea* (Lauraceae)*. *Química Nova*, v. 30, n. 01, p. 92-98, 2007.

ZANOL, F. M., PICOLI, S. U., & MORSCH, F. (2010). *Detecção fenotípica de metalobetalactamase em isolados clínicos de *Pseudomonas aeruginosa* de hospitais de Caxias do Sul*. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, v.46, n.4, p. 309-314, 2010.