

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

DJALMA DA SILVA PEREIRA

**ATIVIDADE ANTIMALÁRICA *in vitro* DE EXTRATOS E
METABÓLITOS NATURAIS DA *Simaba pubicarpa* (SIMAROUBACEAE)
E GALATOS DE ALQUILA SINTÉTICOS**

MANAUS

2025

DJALMA DA SILVA PEREIRA

**ATIVIDADE ANTIMALÁRICA *in vitro* DE EXTRATOS E
METABÓLITOS NATURAIS DA *Simaba pubicarpa* (SIMAROUBACEAE)
E GALATOS DE ALQUILA SINTÉTICOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Amazonas, como requisito para a obtenção do título de Doutor em Química, com ênfase em Transformações de Moléculas Orgânicas.

Dr. Adrian Martin Pohlitz
Orientador

Dr. Edizon Veiga Lopes
Coorientador

Manaus - AM
2025

Ficha Catalográfica

Elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

-
- P436a Pereira, Djalma da Silva
Atividade antimalárica in vitro de extratos e metabólitos naturais da
Simaba pubicarpa (Simaroubaceae) e galatos de alquila sintéticos / Djalma
da Silva Pereira. - 2025.
119 f. : il., color. ; 31 cm.
- Orientador(a): Adrian Martin Pohlit .
Coorientador(a): Edizon Veiga Lopes .
Tese (doutorado) - Universidade Federal do Amazonas, Programa de
Pós-Graduação em Química, Manaus-AM, 2025.
1. Simaba pubicarpa. 2. Antiplasmódica. 3. Galatos sintéticos. 4.
Plasmodium falciparum. 5. Quimiofenética. I. Pohlit, Adrian Martin. II.
Lopes, Edizon Veiga. III. Universidade Federal do Amazonas. Programa
de Pós-Graduação em Química. IV. Título
-



Ministério da Educação
Universidade Federal do Amazonas
Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Química

FOLHA DE APROVAÇÃO

Atividade antimalárica *in vitro* de Extratos e Metabólitos Naturais de *Simaba pubicarpa* (Simaroubaceae) e Galatos de Alquila Sintéticos

Djalma da Silva Pereira

Tese de Doutorado 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 Doutor(a) em Química.

Aprovada em 08 de julho de 2025.

Banca Examinadora:

PROF. DR. ADRIAN MARTIN POHLIT (PPGQ/UFAM) PRESIDENTE/ORIENTADOR(A)	
PROFA. DRA. RITA DE CÁSSIA SARAIVA NUNOMURA (PPGQ/UFAM) MEMBRO INTERNO	PROF. DR. RENYER ALVES COSTA (PPGQ/UFAM) MEMBRO INTERNO
PROFA. DRA. JAQUELINE DE ARAÚJO BEZERRA (PPGQ/UFAM) MEMBRO INTERNO	PROF. DR. ALISSON MEZA NOVAIS (PPGQ/UFAM) MEMBRO INTERNO

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS

Manaus, 08 de julho de 2025.



Documento assinado eletronicamente por **Alisson Meza Novais, Usuário Externo**, em 27/08/2026, às 15:53, conforme horário oficial de Manaus, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Adrian Martin Pohlit, Usuário Externo**, em 28/08/2026, às 00:08, conforme horário oficial de Manaus, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Renyer Alves Costa, Professor do Magistério Superior**, em 02/09/2026, às 21:57, conforme horário oficial de Manaus, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Rita de Cássia Saraiva Nunomura, Professor do Magistério Superior**, em 02/09/2026, às 22:09, conforme horário oficial de Manaus, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Jaqueline de Araújo Bezerra, Usuário Externo**, em 10/09/2026, às 10:26, conforme horário oficial de Manaus, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufam.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **3338004** e o código CRC **39623436**.

Av. General Rodrigo Octávio, 6200 - Bairro Coroado 1 Campus Universitário Senador Arthur Virgílio Filho, Setor Norte - Telefone: (92) (92) 3305-1181 / Ramal 2403
CEP 69080-900 Manaus/AM - ppgq@ufam.edu.br

Referência: Processo nº 23105.025010/2025-41

SEI nº 3338004

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus, pois Ele sempre esteve ao meu lado nos momentos de dificuldade e de alegria, fortalecendo minha fé ao longo desta jornada.

Aos meus filhos, Tiago e Débora, e especialmente à minha esposa, Sonia, minha gratidão pelo apoio incondicional e compreensão constantes. Sem o estímulo e a presença amorosa de vocês, esta conquista não teria o mesmo significado.

Agradeço aos colegas professores da Universidade do Estado do Amazonas (UEA), pelo companheirismo, pelas partilhas e pelo ambiente de crescimento mútuo que tanto contribuíram para minha formação acadêmica e pessoal.

Meu sincero reconhecimento à Ma. Laís Garcia e à Dra. Marlene Camargo, responsáveis pelo Laboratório de Malária e Dengue do INPA, pelo empenho e dedicação na realização dos ensaios antimaláricos, fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho.

Agradeço à equipe do Laboratório Temático de Química de Produtos Naturais (LTQPN/INPA) — Dra. Zelina, Me. Magno e Dra. Sabrina — pela constante disposição em cooperar e partilha de conhecimento. Da mesma forma, agradeço ao Dr. Felipe Moura, responsável pelo Laboratório de Cromatografia e Espectrometria de Massas (LABCEM/UFAM) pelas excelentes sugestões de análises para o desenvolvimento do trabalho.

Aos companheiros de laboratório do INPA, Ronei e Ritinha, sou grato por cada conversa, incentivo e demonstração de confiança, que tornaram o ambiente de trabalho mais leve e estimulante.

Ao Dr. Sergio Nunomura, agradeço pela confiança depositada em mim e pela oportunidade de utilizar o laboratório, o que foi essencial para a realização desta pesquisa.

Por fim, expresso meu profundo agradecimento ao Dr. Adrian M. Pohlit, pelas preciosas orientações, pelo incentivo constante e por compartilhar generosamente seu conhecimento e experiência ao longo de todo o percurso deste trabalho.

A todos, minha eterna gratidão.

RESUMO

Registros na África de resistência do *Plasmodium falciparum* à artemisinina e terapia combinada à base de artemisinina (TCAs) tem preocupado a comunidade médica e científica, tornando necessária a busca de novas estruturas químicas com atividade antiplasmodica. O gênero *Simaba* (Simaroubaceae) apresenta uma diversidade de metabólitos secundários com propriedades antimaláricas. A *Simaba pubicarpa*, é uma espécie arbórea nativa recentemente classificada e encontrada na floresta amazônica de terra firme nos estados do Acre, Amazonas e Rondônia do Brasil. Uma coleta dessa espécie foi realizada na Reserva Florestal Adolpho Ducke, Manaus-AM, e utilizada para esse estudo. Os extratos e frações de diferentes polaridades do lenho, da casca e das folhas da planta foram avaliados quanto à atividade antiplasmodica contra a cepa K1 de *Plasmodium falciparum* resistente à cloroquina. Os resultados indicaram que extratos mais apolares apresentaram maior potencial antimalárico, destacando-se o extrato hexânico da casca ($CI_{50} = 5,73 \mu\text{g/mL}$). Do lenho, foram isolados dois triterpenos de esqueleto tirucalano, o piscidinol A e a niloticina, além do alcaloide 9-metoxicantin-6-ona, compostos característicos do gênero *Simaba*. A presença do alcaloide 9-metoxicantin-6-ona, considerado marcador químico da família Simaroubaceae, contribui para a quimiofenética da espécie. Das folhas, foram isolados dois flavonóis (quercitrina e afzelina), um flavanol (epicatequina), duas flavonas C-glicosiladas (vitexina e isovitexina) e o galato de metila. Entre os flavonóis, a afzelina apresentou a melhor atividade antimalárica ($CI_{50} = 8,88 \mu\text{M}$), enquanto a epicatequina mostrou-se inativa ($CI_{50} = 125 \mu\text{M}$). O galato de metila ($CI_{50} = 15,1 \mu\text{M}$) isolado da planta e seus análogos sintéticos foram avaliados, observando-se que a atividade antimalárica diminui com o aumento da cadeia alquílica. Este estudo representa a primeira contribuição para o conhecimento da composição química de *S. pubicarpa*, fornecendo bases para futuras pesquisas, especialmente sobre novos agentes antimaláricos de origem natural.

Palavras chaves: *Simaba pubicarpa*; antiplasmodica, galatos sintéticos

ABSTRACT

Reports of resistance of *Plasmodium falciparum* to artemisinin and artemisinin-based combination therapies (ACTs) have raised significant concern within the medical and scientific communities, highlighting the urgent need to identify new chemical entities with antiplasmodial activity. The genus *Simaba* (Simaroubaceae) is known for its diversity of secondary metabolites with potential antimalarial properties. *Simaba pubicarpa*, a recently described tree species found in the Adolpho Ducke Forest Reserve, Manaus-AM, was investigated in this study. Extracts and fractions of varying polarity from the wood, bark, and leaves were evaluated for antiplasmodial activity against the chloroquine-resistant K1 strain of *Plasmodium falciparum*. Results indicated that the most nonpolar extracts exhibited the greatest antimalarial potential, particularly the hexane extract of the bark ($IC_{50} = 5.73 \mu\text{g/mL}$). Two tirucallane-type triterpenes, piscidinol A and niloticin, were isolated from the wood, along with the alkaloid 9-methoxycanthin-6-one, a compound characteristic of the genus *Simaba*. The presence of 9-methoxycanthin-6-one, considered a chemical marker of the Simaroubaceae family, adds to the chemophenetic understanding of the species. From the leaves, two flavonols (quercitrin and afzelin), a flavanol (epicatechin), two C-glycosylated flavones (vitexin and isovitexin), and methyl gallate were isolated. Afzelin demonstrated the most potent antimalarial activity ($IC_{50} = 8.88 \mu\text{M}$), whereas epicatechin showed low activity ($IC_{50} = 125 \mu\text{M}$). Methyl gallate ($IC_{50} = 15.1 \mu\text{M}$) isolated from the plant, along with its synthetic analogues, were evaluated and it was observed that antimalarial activity decreased with increasing alkyl chain length. This study represents the first contribution to the understanding of the chemical composition of *S. pubicarpa*, providing a foundation for future investigations, particularly in the search for new natural-source antimalarial agents.

Keywords: *Simaba pubicarpa*; antiplasmodial; synthetic gallates.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Dados de RMN 1D e 2D da amostra 2DP40F3-6 (SUB-1) e comparação com os dados da literatura para piscidinol A.....	41
Tabela 2 - Comparação dos dados de RMN ^1H e ^{13}C do piscidinol A e 2DP41F6-9 (SUB-2).....	44
Tabela 3 - Dados de RMN 1D e 2D da amostra 2DP41F6-9 (SUB-2) em comparação com a literatura para a niloticina	45
Tabela 4 - Dados de RMN 1D e 2D da amostra 2DP84A em comparação com a literatura para a 9-metoxicantín-6-ona.....	48
Tabela 5 - Dados de RMN 1D e 2D da amostra 5DP13A-18 em comparação com a literatura para a isovitexina.....	53
Tabela 6 - Dados de RMN 1D e 2D da amostra 5DP30P e comparação com dados da literatura para vitexina	57
Tabela 7 - Dados de RMN 1D e 2D da amostra 5DP13A-36 em comparação com dados da literatura para a quercitrina	60
Tabela 8 - Dados de RMN 1D e 2D da amostra 5DP64-B em comparação com dados da literatura para a afzelina.....	62
Tabela 9 - Dados de RMN 1D e 2D da amostra 5DP71F e comparação com dados da literatura para epicatequina.....	64
Tabela 10 - Dados de RMN 1D e 2 D do galato de metila	65
Tabela 11 - Dados de RMN de ^1H e ^{13}C dos ésteres do ácido gálico	68
Tabela 12 - Atividade antimalárica de extratos, frações da <i>S. pubicarpa</i>	70
Tabela 13 - Atividade antimalárica de metabólitos naturais e análogos sintéticos da <i>S. pubicarpa</i> e comparação com a literatura.....	71

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Substâncias antimaláricas mais importantes.....	15
Figura 2 - Gênero <i>Simaba</i> : substâncias e derivados, com atividade antimalárica.....	17
Figura 3 - Flavonoides testados quanto sua atividade antimalárica	18
Figura 4 - Ésteres de galato de alquila e ácido gálico	19
Figura 5 - Árvore de <i>Simaba pubicarpa</i> e partes de um galho.....	23
Figura 6 - Esquema das reações de síntese dos ésteres do ácido gálico.....	34
Figura 7- Ampliação da região δ 65-230 do espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) da 2DP40F3-6 (SUB-1)	36
Figura 8 - Estrutura numerada do piscidinol A (7)	37
Figura 9 - Ampliação da região δ 0,75-1,35 do espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) da substância SUB-1	37
Figura 10 - Ampliação na região de δ 110 – 150 do $^{13}\text{C}/\text{DEPT}$ 135 (75 MHz, CDCl_3) da 2DP40F3-6 (SUB-1)	38
Figura 11 - Ampliação na região de δ 69 – 76 do $^{13}\text{C}/\text{DEPT}$ 135 (75 MHz, CDCl_3) da 2DP40F3-6 (SUB-1).....	38
Figura 12 - Ampliação da região δ 3,0-5.1 do espectro de RMN de ^1H (300 MHz CDCl_3)	39
Figura 13 - Projeção de Newman do piscidinol A e do 24- <i>epi</i> -piscidinol A	40
Figura 14 - Correlação COSY/NOESY ^1H (300 MHz, CDCl_3) da substância SUB-1 (piscidinol A)	40
Figura 15 - Correlação ^2J , ^3J do mapa de contorno HMBC da substância SUB-1 (piscidinol A)	40
Figura 16 - Ampliação na região δ 0,6 – 2,6 dos espectros de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) da substância 2DP41F6-9 (SUB-2)	42
Figura 17 - Comparação entre os espectros do piscidinol A e a substância 2DP41F6-9 (SUB-2).....	43
Figura 18 - Correlação do HMBC H-24 com C-23 e C-27	43
Figura 19 - Estrutura numerada da niloticina (8)	44
Figura 20 - Ampliação de δ 6,96–7,16 e δ 7,90–8,30 do espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) da SUB-3	47

Figura 21 - Ampliação de δ 7,85–8,00 e δ 8,72–8,88 do espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) da SUB-3	47
Figura 22 - Correlações do HMBC e COSY para a amostra 2DP84A	47
Figura 23 - Picos fragmentados do extrato MeOH:H ₂ O (1:1) das folhas da <i>S. pubicarpa</i>	49
Figura 24 - Anotações no GNPS clássico do extrato MeOH:H ₂ O das folhas da <i>S. pubicarpa</i>	50
Figura 25 - Ampliação do espectro de RMN ^{13}C na região de δ_{C} 100-170	51
Figura 26- Ampliação do espectro de ^1H da substância na região de aromáticos δ 6,0-8,5	51
Figura 27 - Correlações do mapa de contorno HMBC da amostra 5DP13A-18 (isovitexina) com ampliação do acoplamento H-1''- C-6	52
Figura 28 - Espectro de massa APCI-EM da fração 5DP22C em modo negativo	54
Figura 29 - Espectro EM/EM de $[\text{M}-\text{H}]^-$ m/z 431 da fração cromatográfica 5DP22C	54
Figura 30 - Anotações do espectro EM/EM de m/z 431 $[\text{M}-\text{H}]$ da amostra 5DP22C pelo GNPS	55
Figura 31 - Ampliação do RMN ^1H e ^{13}C comparativa entre 5DP13A-18 (isovitexina) e 5DP30P	56
Figura 32 - Correlações de HMBC da molécula de vitexina	56
Figura 33 - A ampliação espectro de hidrogênio da amostra 5DP13A-36	58
Figura 34 - Correlações de HMBC da molécula de quercitrina	59
Figura 35 - Correção de HMBC da 5DP64-B e ampliação da correlação [H-1'' - C-3]	61
Figura 36 - Correlações HMBC da molécula epicatequina	63
Figura 37 - Correlações HMBC da molécula do galato de metila	65
Figura 38 - Empilhamento dos espectros de RMN de ^1H do galato de metila isolado da <i>S. pubicarpa</i> , análogos sintéticos e ácido gálico comercial	67
Figura 39 - Galatos de alquilas sintéticos	68

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

δ - Deslocamento químico

AcOEt - Acetato de etila

ACN – Acetonitrila

CC - Cromatografia em coluna

CCD - Cromatografia em camada delgada

CE₅₀ - Concentração efetiva para inibir 50% dos parasitas

CI₅₀ - Concentração que inibe 50% do crescimento dos parasitas

CLAE - Cromatografia líquida de alta eficiência

CLAE-EM - Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrometria de massas

COSY - Espectroscopia de correlação (*Correlation spectroscopy*)

d - Dubleto

DAD - Detector de arranjo de diodos (Diode Array Detector)

DCM - Diclorometano

dd - Duplo dubleto

ddd - Duplo dubleto de dubleto

DMSO - Dimetilsulfóxido

DMSO-*d*₆ - Dimetilsulfóxido deuterado

EM - Espectrometria de massas

EtOH - Etanol

FM - Fase móvel

Hex - Hexano

HMBC - Correlação heteronuclear a múltiplas ligações (*Heteronuclear Multiple Bond Correlation*)

HSQC - Correlação heteronuclear quântica simples (*Heteronuclear Single Quantum Coherence*)

Hz - Hertz

IS - Índice de seletividade

J - Constante de acoplamento

m - Multiplete

m/z - Relação massa/carga

MHz - Megahertz

ppm - Partes por milhão

q - Quarteto

RMN - Ressonância magnética nuclear

RMN ^1H - Ressonância magnética nuclear de hidrogênio

RMN ^{13}C - Ressonância magnética nuclear de carbono 13

s - Simpleto

t - Tripleto

UFLC - Cromatografia líquida ultra-rápida (*Ultra Fast Liquid Chromatography*)

UV - Ultravioleta

UV-Vis - Ultravioleta-visível

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
2.1	A malária	14
2.2	Tratamento da malária	14
2.3	Gênero <i>Simaba</i>	15
2.4	<i>Simaba pubicarpa</i>: um novo táxon	15
2.5	A química do gênero <i>Simaba</i>.....	15
2.5.1	Atividade antimalárica de alcaloides e triterpenos no gênero <i>Simaba</i>	16
2.5.2	Atividade antimalárica de flavonoides	18
2.5.3	Atividade antimalárica do ácido gálico e seus ésteres alquílicos	18
3	OBJETIVO GERAL	19
4	METODOLOGIA.....	19
4.1	Equipamentos utilizados	19
4.1.1	Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).....	19
4.1.2	Espectrômetro de ressonância magnética nuclear (RMN)	19
4.1.3	Espectrômetro de massa	19
4.2	Materiais e reagentes.....	20
4.2.1	Cromatografia em camada delgada (CCD)	20
4.2.2	Cromatografia em coluna (CC)	20
4.2.3	Reveladores	20
4.2.4	Solventes e reagentes.....	20
4.3	Procedimentos	20
4.3.1	Ensaio antimalárico in vitro.....	20
4.3.2	Coleta e tratamento do material vegetal	22
4.3.3	Prospecção por espectrometria de massas de extratos e frações	23
4.3.4	Extrato do lenho do galho para testes antimaláricos in vitro.....	24
4.3.5	Extrato da casca para teste antimalárico.....	24
4.3.6	Extratos hexânico e metanólico do lenho do galho para fracionamento	25
4.3.7	Extratos a partir das folhas	29
4.3.8	Preparação e purificação de análogos sintéticos do galato de metila (SUB-7)	34
5	RESULTADOS.....	35
5.1	Identificação das substâncias isoladas do lenho da <i>S. pubicarpa</i>	35
5.1.1	Análise e identificação da substância 2DP40F3-6 (SUB-1).....	36
5.1.2	Análise e identificação da substância 2DP41F6-9 (SUB-2).....	42
5.1.3	Análise e identificação de amostra 2DP84A (SUB-3).....	46
5.2	Identificação das substâncias isoladas das folhas da <i>S. pubicarpa</i>.....	49
5.2.1	Análise do espectro do extrato hidrometanólico das folhas por molecular networking GNPS.....	49
5.2.2	Análise dos dados de RMN 1D e 2D da 5DP13A-18.....	50
5.2.3	Análise das anotações do GNPS da fração cromatográfica 5DP22C.....	54
5.2.4	Análise dos dados de RMN 1D e 2D da 5DP30P	55
5.2.5	Análise dos dados de RMN 1D e 2D da 5DP13A-36.....	58
5.2.6	Análise dos dados de RMN 1D e 2D da 5DP64-B.....	61

5.2.7	Análise da amostra 5DP71F	63
5.2.8	Análise dos dados espectrométricos da amostra 5DP71E	65
5.2.9	Análise dos dados de RMN dos ésteres sintéticos.....	66
5.3	Atividade antimalárica dos extratos, frações, metabolitos isolados e análogos sintéticos da <i>Simaba pubicarpa</i>	69
6	CONCLUSÃO.....	72
7	REFERÊNCIAS	73
8	ANEXOS	79

1 INTRODUÇÃO

A história das civilizações mostra que a humanidade tem buscado na natureza sua principal fonte de procedimentos curativos a fim de promover a saúde (VIEGAS; BOLZANI; BARREIRO, 2006). O conhecimento tradicional, ou seja, o senso comum sobre os processos curativos e suas fontes, tem contribuído como referência para a descoberta de novos medicamentos, sejam eles naturais, derivados ou sintéticos. Atualmente, com a tecnologia disponível, o conhecimento das estruturas químicas e de alvos específicos nas doenças, é possível a produção de medicamentos com alta eficiência e em escala industrial (LI *et al.*, 2021). Apesar de toda esta expertise ter avançado na busca de medicamentos para o tratamento da malária, ainda há muito para ser feito. Dentre as doenças tropicais, a malária está entre as que mais causa morte, apesar de ela ser uma doença tratável e evitável (BRASIL, 2024). Atualmente, várias linhas de pesquisa têm dedicado recursos para encontrar novos medicamentos que possibilitem o tratamento da malária, entre elas estão desde vacinas, substâncias sintéticas, semissintéticas ou de origem natural. A química de produtos naturais se constitui uma importante linha de pesquisa nesse contexto, sendo um marco em sua história a descoberta da substância artemisinina. Extraída da planta *Artemisia annua* L., a artemisinina, um sesquiterpeno lactônico, contém em sua estrutura química uma ponte endoperóxido, que confere à substância a atividade antimalárica. Aliada à síntese orgânica, os derivados semissintéticos da artemisinina se tornaram a base do tratamento da malária causada por *P. falciparum* no mundo todo (OLIVEIRA; CRUZ; DIAS, 2022). No entanto, há registros na África, de resistência do *Plasmodium falciparum* à artemisinina e terapia combinada à base de artemisinina (TCAs) (WHO, 2024). A comunidade médica e científica se mostra preocupada com a resistência do protozoário ao tratamento, tornando necessária a busca por novas estruturas químicas com atividade antiplasmódica. Entre as plantas que apresentam propriedades medicinais estão aquelas que pertencem ao gênero *Simaba* (Simaroubaceae). Nele encontram-se uma diversidade de classes químicas, dentre elas estão os triterpenos, quassinoides (metabólitos naturais de triterpenos), alcaloides, cumarinas e flavonoides com atividades farmacológicas que incluem anticâncer (citotoxicidade), antiviral, leishmanicida, antimicrobiana e antimalárica. Este gênero, pouco tempo atrás, sofreu reformulação/reclassificação botânica, sendo constituído atualmente por aproximadamente dez espécies, distribuídas majoritariamente na Amazônia (DEVECCHI e PIRANI, 2015; DEVECCHI, THOMAS e PIRANI, 2022) de forma que muitas espécies, outrora consideradas *Simaba* migraram para outro gênero, denominado *Homalolepis* Turcz. Na Reserva Florestal Adolpho Ducke, Manaus-AM, são encontradas três espécies do gênero *Simaba*, sendo uma

delas um táxon relativamente novo denominado *Simaba pubicarpa* (DEVECCHI, THOMAS e PIRANI, 2022).

Por se tratar de uma espécie relativamente nova na literatura e sem referência do conhecimento tradicional, o estudo fitoquímico mostra-se extremamente importante para a identificação das principais substâncias de seu metabolismo secundário. Haja vista relatos sobre o uso tradicional de outras espécies de *Simaba* com atividade antimalárica e substâncias antiplasmodiais, o presente trabalho avaliou a atividade antimalárica *in vitro* de extratos, frações e metabólitos naturais isolados da *S. pubicarpa*, bem como avaliou a relação estrutura-atividade de galatos de alquila sintéticos.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A malária

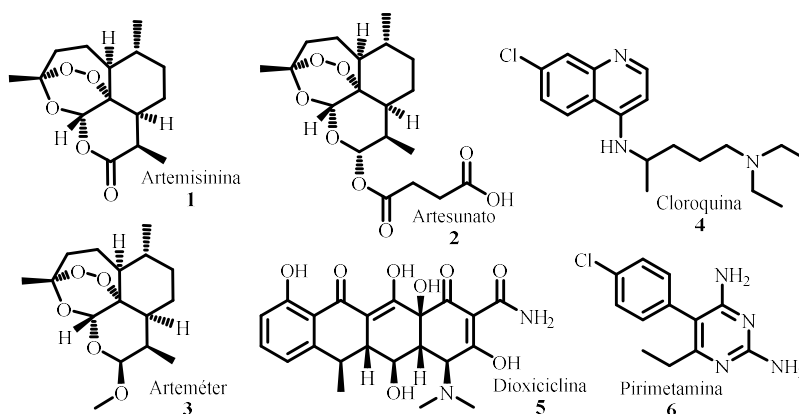
A malária é uma doença causada por protozoários do gênero *Plasmodium* transmitido ao homem através da picada de mosquitos fêmeas infectadas do gênero *Anopheles*. Das cinco espécies de *Plasmodium* (*P. falciparum*, *P. knowlesi*, *P. malariae*, *P. ovale* e *P. vivax*) que infectam o homem, a *P. falciparum* e a *P. vivax* são as mais prevalentes, sendo a *P. falciparum* a mais perigosa (ZEKAR; SHARMAN, 2023). De acordo com a Organização Mundial de Saúde (WHO, 2024), em 2023 foram registrados 263 milhões de casos de malária em 83 países endêmicos. Nesse ano, a doença matou cerca de 597 mil pessoas. No Brasil, a região amazônica concentra cerca de 99,9% da transmissão de malária, com municípios com alta incidência da doença e outros sem nenhum caso (BRASIL, 2024).

2.2 Tratamento da malária

Mais de 1.500 substâncias naturais com atividade antimalárica e seus derivados foram descobertos e muitas delas com alto potencial para o uso como antimaláricos (TAJUDDEEN; VAN HEERDEN, 2019). Entre os antimaláricos mais importantes estão a artemisinina (1), artesunato (2), arteméter (3), cloroquina (4), doxiciclina (5) e pirimetamina (6) (YANG *et al.*, 2022), representadas na Figura 1.

O tratamento da malária causada por *P. falciparum* resistente utiliza atualmente as terapias combinadas à base de artemisinina (TCAs). Embora muitas delas sejam altamente eficazes e bem toleradas, o fato é que nas últimas décadas a *P. falciparum* tem apresentado resistência à artemisinina e TCAs, mais recentemente (WHO, 2024; WICHT; MOK; FIDOCK, 2020).

Figura 1 - Substâncias antimaláricas mais importantes

Fonte: (YANG *et al.*, 2022)

2.3 Gênero *Simaba*

A família Simaroubaceae é formada por um grupo monofilético predominantemente pantropical, composto por 22 gêneros e aproximadamente 120 espécies (PIRANI; MAJURE; DEVECCHI, 2022). O gênero *Simaba*, que antes da reclassificação era o maior gênero da família Simaroubaceae é atualmente composto por aproximadamente 10 espécies, com 5 espécies restritas principalmente à bacia amazônica (DEVECCHI, 2017; DEVECCHI; THOMAS; PIRANE, 2022).

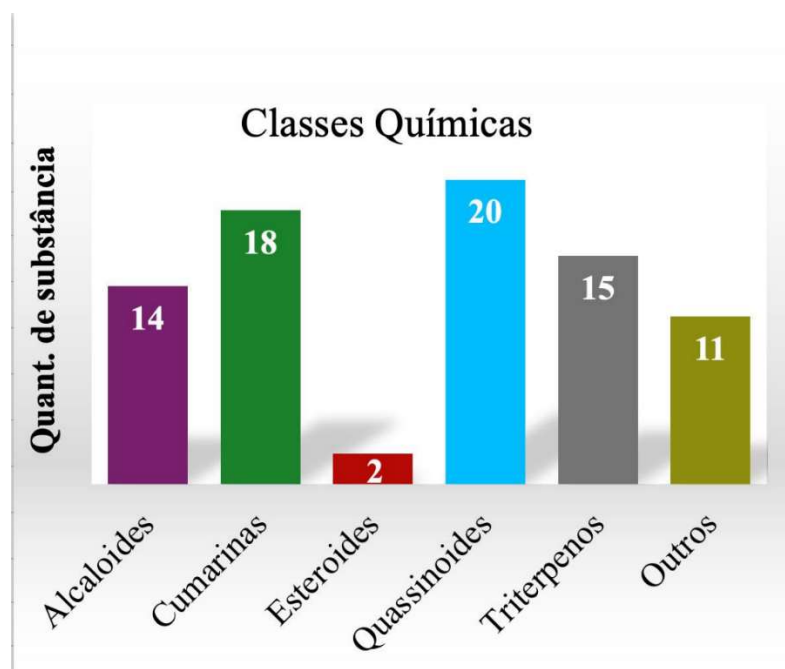
2.4 *Simaba pubicarpa*: um novo táxon

O táxon *Simaba pubicarpa* já havia sido catalogado no projeto Flora/INPA, porém sem uma classificação em nível de espécie. Devecchi, Thomas e Pirane (2022) classificaram o novo táxon como *Simaba pubicarpa*. Segundo os pesquisadores, o novo táxon difere de todos os seus congêneres pelos frutos densamente pubescentes a velutinos. Trata-se de uma árvore com 12–18 m de altura; caule cilíndrico, casca fina, folhas presas ao longo da porção terminal dos ramos, imparipinadas.

2.5 A química do gênero *Simaba*

Uma revisão bibliográfica dos constituintes químicos do gênero *Simaba*, conduzido por Barbosa, Braz-Filho e Vieira (2011), apresentou uma variedade de substâncias distribuída em várias classes químicas. Considerando a reformulação/reclassificação botânica realizada por Devecchi, Thomas e Pirane (2022) e o trabalho publicado por Nunomura e colaboradores (2012), a distribuição química para o gênero *Simaba* foi reorganizada neste trabalho e é apresentada no (Quadro 1)

Quadro 1 - Principais classes de metabólitos secundários encontradas no Gênero *Simaba*



Fonte: BARBOSA; BRAZ-FILHO; VIEIRA, (2011); NUNOMURA *et al.*, (2012); DEVECCHI; THOMAS; PIRANE, (2022)

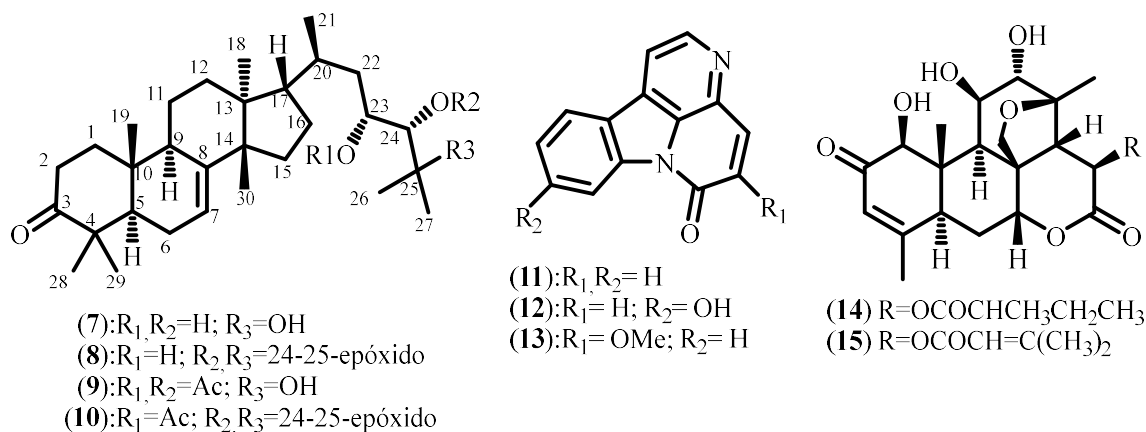
A explicação para o número elevado de quassinoides registrados em relação às demais substâncias encontradas no gênero *Simaba* reside no fato de eles terem sido alvos de intensa pesquisa por apresentarem propriedades anticâncer e antimalárica (HOUËL *et al.*, 2013), além de serem marcadores quimiofenéticos da família Simaroubaceae (SILVA *et al.*, 2022).

2.5.1 Atividade antimalárica de alcaloides e triterpenos no gênero *Simaba*.

Dentre as classes de substâncias encontradas no gênero *Simaba*, cuja atividade antimalárica já foi estudada, destacam-se os quassinoides e alcaloides como os mais importantes. Os triterpenos piscidinol A (7) e niloticina (8), isolados dos galhos da *Simaba polyphylla* (SARAIVA *et al.*, 2006; NUNOMURA *et al.*, 2012), e seus derivados semissintéticos, diacetato de piscidinol A (9), e acetato de niloticina (10) foram avaliados quanto a relação estrutura-atividade frente a cepa do *Plasmodium falciparum* resistentes à cloroquina (W2) (IRUNGU *et al.*, 2015). Ainda frente a cepa W2, a relação estrutura-atividade de alcaloides do tipo cantina-6-ona apresentou diferenças notáveis. O alcaloide cantina-6-ona (11) apresenta um CI_{50} de 10,17 μM (KUO *et al.*, 2003), enquanto o 9-hidroxicantina-6-ona (12) e 5-metoxicantina-6-ona (13) apresentam um CI_{50} de 9,896 μM e 0,219 μM , respectivamente (BOENO *et al.*, 2022; FAROUIL *et al.*, 2022). Assim fica evidente a necessidade de mais estudos sobre a relação estrutura atividade das cantina-6-onas como substâncias antimaláricas

Os quassinoides simalicalactona D (**14**) e a gutolactona (**15**) foram isoladas da *S. guianensis* e testada contra as cepas W2, apresentando um CI_{50} de 0,003 μM e 0,008 μM , respectivamente (CABRAL et al., 1993). As estruturas químicas desses compostos estão representadas na Figura 2.

Figura 2 - Gênero Simaba: substâncias e derivados, com atividade antimalária



O Quadro 2 apresenta a concentração inibitória (CI_{50}) de substâncias e derivados que tiveram suas propriedades antimaláricas estudadas em trabalhos anteriores.

Quadro 2 - Atividade antimalária e citotoxicidade de substâncias do gênero Simaba e derivados

Substância	CI ₅₀ (µM)				IS	Ref.
	<i>P. falciparum</i>		Linhagem celulares			
	D6	W2	HepG2	Vero		
4	°7,7±0,02	°108,0±0,1	ND	43,9±0,5	5701 ^a	(IRUNGU <i>et al.</i> , 2015)
7	37,6±1,4	36,7±4,4	8,4±0,0	41,1±5,8	1,1 ^a	(IRUNGU <i>et al.</i> , 2015)
8	48,2±2,3	77,0±0,4	6,9±0,6	14,4±0,4	0,3 ^a	(IRUNGU <i>et al.</i> , 2015)
9	68,3±5,3	172±4,5	121,9±0,1	>200,8	ND	(IRUNGU <i>et al.</i> , 2015)
10	ND	ND	15,2±0,8	179,2	ND	(IRUNGU <i>et al.</i> , 2015)
11	-	10,17	-	-	ND	(KUO <i>et al.</i> , 2003)
12	-	9,896	-	-	-	(FAROUIL <i>et al.</i> , 2022)
13		0,219	2,48	-	11,32 ^b	(BOENO <i>et al.</i> , 2022)

IS=índice de seletividade; D6= sensível a cloroquina; W2= resistente à cloroquina; ND = não determinado;

^a(CI_{50} Vero/ CI_{50} D6); ^b(CI_{50} HepG2/ CI_{50} W2); ^c CI_{50} em nM para a cloroquina.

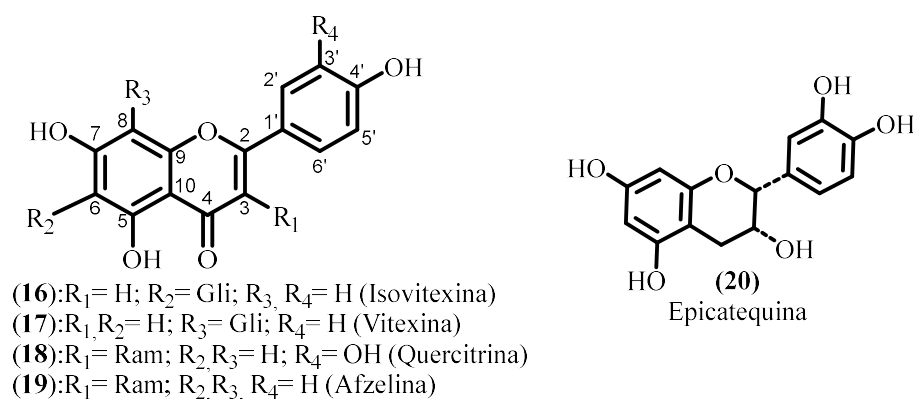
2.5.2 Atividade antimalárica de flavonoides

Os flavonoides são substâncias poli-hidroxiladas naturais sintetizadas em diversas partes da planta e apresentam propriedades benéficas à saúde humana, contribuindo para a prevenção de doenças crônicas como câncer, doenças cardiovasculares e neurodegenerativas (ZAHRA; ABRAHAMSE; GEORGE, 2024).

O potencial antimalárico desses compostos vem sendo estudado e muitos deles demonstraram atividades promissoras contra *Plasmodium falciparum*. Por exemplo, a isovitexina (**16**) apresenta um CI_{50} superior a 10 μM para a cepa resistente K1, enquanto o seu isômero de posição, a vitexina (**17**), demonstrou um CI_{50} de 4,4 μM frente à mesma cepa, indicando a importância da posição da glicona para a atividade antiplasmódica (LAGNIKA *et al.*, 2009). Outro flavonoide testado contra a malária foi a quercitrina (**18**), que apresentou um CI_{50} de 71,4 μM frente à cepa FcB1 (HOUËL *et al.*, 2016).

A afzelina (**19**), também estudada em ensaios *in vitro*, apresentou CI_{50} de 52,7 μM contra a *P. falciparum* (3D7), indicando inatividade para esta cepa (JUN *et al.*, 2025). Já a epicatequina (**20**) mostrou-se inativa frente a cepa K1 com um CI_{50} superior a 172,2 μM (JAIDEE *et al.* 2015). As estruturas químicas dos flavonoides citados estão representadas na Figura 3.

Figura 3 - Flavonoides testados quanto sua atividade antimalárica



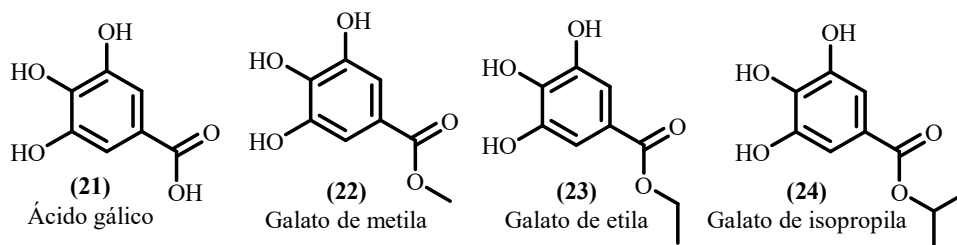
Fonte: LAGNIKA *et al.*, 2009; HOUËL *et al.*, 2016; JUN *et al.*, 2025; JAIDEE *et al.* 2015

2.5.3 Atividade antimalárica do ácido gálico e seus ésteres alquílicos

Assim como os flavonoides, que são poli-hidroxilados com atividade antiplasmódica, o ácido gálico e seus ésteres também podem apresentar atividades semelhantes. Em testes realizados frente a cepa multirresistente K1 (MRA-159, MR4, ATCC Manassas Virginia), o ácido gálico (**21**) com CI_{50} 18,3 μM , o galato de metila (**22**) com CI_{50} de 15,1 μM e o galato de etila (**23**) com CI_{50} 22,0 μM apresentaram atividade moderada; enquanto o galato de isopropila (**24**) com CI_{50} 36,2 μM , foi inativo (PEREIRA *et al.*, 2025). Esses dados indicam que a relação

estrutura-atividade diminui com o aumento da cadeia alquílica. As estruturas químicas dos galatos de alquila e do ácido gálico estão representadas na Figura 4.

Figura 4 - Ésteres de galato de alquila e ácido gálico



3 OBJETIVO GERAL

Realizar estudo da composição química de extratos e frações da casca, lenho e folhas da *Simaba pubicarpa* para isolar e identificar metabolitos secundários a fim de avaliar a atividade antimalárica *in vitro* frente a cepa K1 juntamente com análogos sintéticos do galato de metila.

4 METODOLOGIA

4.1 Equipamentos utilizados

4.1.1 Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

Os cromatogramas foram obtidos por um cromatógrafo *Shimadzu* CLAE-DAD modelo LC-20 com colunas de fase reversa C-18 analítica (CLAE-ANA) e semipreparativa (CLAE-PREP), Shim-pack (250 × 4,6 mm, partícula de 5 µm) e Shim-pack (250 × 20 mm, partícula de 5 µm), respectivamente.

4.1.2 Espectrômetro de ressonância magnética nuclear (RMN)

Os espectros de RMN uni e bidimensionais foram obtidos em CDCl₃ e DMSO-*d*₆ em espectrômetro da marca *Bruker Biospin*, modelo *Fourier* 300 MHz de 7,0 Tesla, operando em 300 MHz para núcleo de ¹H e 75 MHz para ¹³C no Laboratório Temático de Química de Produtos Naturais – LTQPN/INPA; e espectrômetro de RMN *Bruker AVANCE* III HD, operando a 11,75 tesla, observando os núcleos de ¹H e ¹³C a 500,13 e 125,76 MHz, respectivamente, no Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear – NMRLab/UFAM.

4.1.3 Espectrômetro de massa

As massas das substâncias isoladas foram determinadas em espectrômetro de massas com analisador *Time Of Flight* (TOF), marca *Bruker Daltonics*, modelo microTOF-Q II com

funil de íons Apollo IITM com precisão de massas de 1 a 2 ppm com resolução de 17.500 a 20.000 *full width at half maximum* (FWHM) do LTQPN do INPA.

4.2 Materiais e reagentes

4.2.1 Cromatografia em camada delgada (CCD)

Foram utilizadas cromatoplasas analíticas com suporte de alumínio marca *Merck* de sílica gel 60 F₂₅₄ e sílica gel 60 RP-18 F_{254S}.

4.2.2 Cromatografia em coluna (CC)

Para cromatografia em coluna foram usadas colunas de vidro de diferentes tamanhos e diâmetros, empacotadas com sílica gel 60 (70 – 230 *mesh*) ou sílica RP-18 (40-63 µm) da marca *Merck*.

4.2.3 Reveladores

Para revelação das placas de CCD foram utilizados anisaldeído (revelador para terpenos), reagente de Dragendorff (revelador para alcaloides), solução de cloreto de alumínio e solução de cloreto férrico (reveladores para flavonoides) e, para iluminação das placas, a luz ultravioleta 254 e 365 nm.

4.2.4 Solventes e reagentes

Os solventes utilizados para a preparação de extratos, procedimentos reacionais e de cromatografia em colunas abertas foram de grau comercial (marca *Labsynth*) e purificados no Laboratório de Princípios Ativos da Amazônia-LAPAAM/INPA, seguindo o protocolo descrito na literatura (PERRIN e ARMAREGO, 1998). Os solventes grau CLAE usados foram da marca VWR Chemicals. Nas análises espectroscópicas de ressonância magnética nuclear foram usados solventes deuterados das marcas Sigma-Aldrich (CDCl₃), Zeotome ((CD₃)₂CO) Cambridge Isotope Laboratories (D₂O, (CD₃)₂SO, CD₃OD). O ácido gálico comercial da marca InLab, lote 867539 foi utilizado para síntese de ésteres.

4.3 Procedimentos

4.3.1 Ensaio antimalárico *in vitro*

A atividade antimalárica *in vitro* dos extratos, frações e substâncias isoladas dos extratos de *Simaba pubicarpa* seguiu o protocolo de microteste de suscetibilidade *in vitro* e foi realizada no Laboratório de Malária e Dengue do INPA sob a responsabilidade e execução das integrantes do grupo de pesquisa LAPAAM-INPA, Ms. Laís G. Jordão e Dra. Marlene R. M. Carmargo.

O método de cultivo utilizado foi descrito por Trager e Jensen (1976) com adaptações (ANDRADE-NETO *et al.*, 2007) e está baseado no desenvolvimento *in vitro* dos estágios eritrocitários de *Plasmodium falciparum*. Os extratos e substâncias foram testados frente à cepa K1 de *Plasmodium falciparum* (MRA-159, MR4, ATCC do *Malaria Research and Reference Reagent Resource Center*, Manassas, Virginia), resistente à cloroquina e pirimetamina, cultivada em eritrócitos humanos do tipo A⁺ à temperatura de 37°C em frascos de poliestireno de 50 mL a uma atmosfera de baixa tensão de oxigênio (5% de CO₂, 5% de O₂ e N₂ balanceado).

O ensaio antimalárico foi realizado de acordo com o método descrito por (RIECKMANN *et al.*, 1978), com adaptações descritas por Andrade-Neto *et al.* (2007), em condições semelhantes à cultura do parasita. Para avaliação da atividade, as amostras foram submetidas à triagem em duas concentrações: 50 e 5,0 µg/mL. As amostras que apresentaram um percentual de inibição da parasitemia igual ou acima de 80% na maior concentração foram consideradas ativas (SILVA *et al.*, 2012) e avaliadas em sete concentrações, de 100 a 1,56 µg/mL (diluição 1:2) ou de 100 a 0,13 µg/mL (diluição 1:3) para determinação da concentração capaz de reduzir o crescimento do parasita em 50% (CI₅₀).

As amostras (extratos e frações) foram dissolvidas inicialmente em dimetilsulfóxido (DMSO), para formar soluções estoques na concentração de 10 mg/mL, e posteriormente diluídas em meio de cultura (RPMI 1640) para obtenção das concentrações para teste. O antimalárico padrão difosfato de cloroquina (*Sigma*) foi utilizado como controle e avaliado em sete concentrações, 2,5 a $3,4 \times 10^{-3}$ µg/mL. As amostras foram testadas em triplicata no processo de triagem e duplicata para cálculo de CI₅₀, em microplacas de 96 poços, sendo que para a realização dos testes os parasitos são sincronizados (estágio de anel) utilizando solução de D-sorbitol (LAMBROS; VANDERBERG, 1979). Para o cálculo de CI₅₀ são realizados 2 experimentos independentes, em dias diferentes.

As amostras foram colocadas nas placas de teste previamente diluídas e acrescidas da suspensão de hemácias com parasitemia inicial de 1% (estágio de anel) e volume final de 200 µL e incubadas em estufa a 37 °C por 48 h. Poços contendo suspensão de hemácias e DMSO correspondem ao controle de crescimento do parasito. Após o período de incubação, com o auxílio de uma pipeta foram preparadas as extensões sanguíneas (esfregaços) de cada poço (4 em cada lâmina). As lâminas foram coradas em Panótico® e a parasitemia foi determinada através da contagem de parasitos no esfregaço em microscópio óptico com objetiva de 100 × (imersão). A parasitemia foi expressa em porcentagem a partir da contagem de 2000 eritrócitos, utilizando a equação:

$$\text{Parasitemia \%} = \frac{\text{número total de parasitas}}{\text{número total de hemácias}} \times 100$$

A inibição do crescimento dos parasitos foi determinada através da comparação com os controles de crescimento (meio RPMI + suspensão de hemácias e meio RPMI + DMSO + suspensão de hemácias) e calculada utilizando a fórmula:

$$\% \text{ inibição} = \frac{(\text{parasitemia do controle} - \text{parasitemia do teste})}{\text{parasitemia do controle}} \times 100$$

A classificação da atividade através da CI_{50} para extratos e frações seguiu os seguintes critérios:

- $CI_{50} \geq 50,0 \text{ } \mu\text{g/mL}$ = inativo (I)
- $50,0 > CI_{50} \geq 10,0 \text{ } \mu\text{g/mL}$ = atividade moderada (AM)
- $10,0 > CI_{50} \geq 1,0 \text{ } \mu\text{g/mL}$ = ativo (A)
- $CI_{50} < 1,0 \text{ } \mu\text{g/mL}$ = muito ativo (MA)

A classificação da atividade através da CI_{50} para substâncias puras seguiu os seguintes critérios:

- $CI_{50} \geq 20,0 \text{ } \mu\text{M}$ = inativo (I)
- $20,0 > CI_{50} \geq 5,0 \text{ } \mu\text{M}$ = atividade moderada (AM)
- $5,0 > CI_{50} \geq 0,1 \text{ } \mu\text{M}$ = ativo (A)
- $CI_{50} < 0,1 \text{ } \mu\text{M}$ = muito ativo (MA)

A classificação da concentração inibitória (CI_{50}) segue o critério adotado por Silva (2014) e foi calculada com o auxílio do *software GraphPad Prism 6.0*, onde o efeito antiparasitário das amostras foi medido em relação ao controle livre de drogas, em um intervalo de confiança de 95% (IC_{95}).

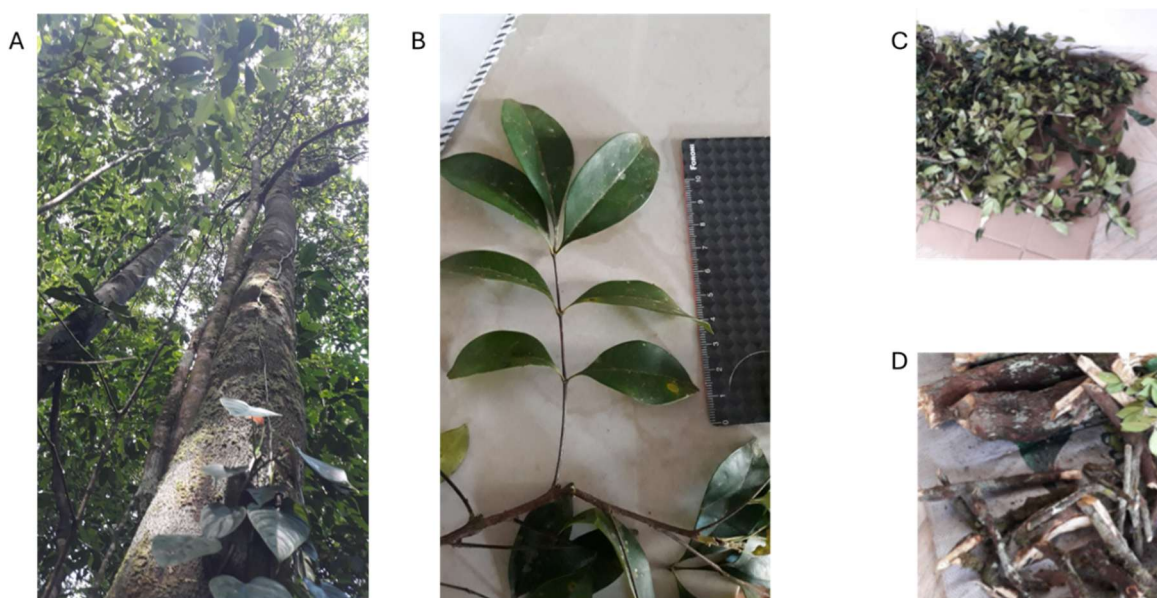
4.3.2 Coleta e tratamento do material vegetal

O material vegetal foi coletado em 12/11/2020 na Reserva Florestal Adolpho Ducke ($02^{\circ}53'S$, $59^{\circ}58'W$) do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), próxima à cidade de Manaus, estado do Amazonas, Brasil. A árvore foi identificada no campo pela placa de

identificação número 3861. Uma exsicata desse espécime foi depositada previamente por Assunção, P. A. C. L. no Herbário do INPA sob o número INPA 187011 (23/07/1996). Este espécime fez parte da coleção de amostras utilizadas por Devecchi, Thomas e Pirane (2022) para classificar a *Simaba pubicarpa*, como espécie nova.

A planta é uma árvore frondosa e o material coletado consistiu em um de seus galhos grossos. O lenho do galho foi inicialmente separado da casca e das folhas. Em seguida, o lenho do galho foi cortado em cavacos. Posteriormente, todo o material foi submetido à secagem em estufa de circulação de ar forçada, à temperatura de 35°C. Após a secagem, foi utilizado um moinho de facas para trituração do lenho do galho, da casca e das folhas. Por fim, as partes trituradas foram armazenadas separadamente em sacos de plásticos fechados. A Figura 5 mostra a árvore e as partes separadas do galho grosso que foi cortado.

Figura 5 - Árvore de *Simaba pubicarpa* e partes de um galho.



Simaba pubicarpa: (A) Arvore; (B e C) Folhas; (D) Lenho do galho com casca.

O acesso ao componente do patrimônio genético (PG) brasileiro recebeu os números de cadastro AAA58D3 (29/02/2020) e AF994F1 (09/09/2022) junto ao Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SISGEN) do Ministério de Meio-Ambiente (MMA) do Governo Brasileiro.

4.3.3 *Prospecção por espectrometria de massas de extratos e frações*

A análise por espectrometria de massas por injeção direta (DI-MS) foi realizada com o modelo de armadilha de íons LCQ Fleet (Thermo Scientific, Waltham, MA, EUA). Para a

análise por DI-MS, soluções estoque (1 mg/mL) da amostra foram preparadas em MeOH grau CLAE. Uma alíquota (10 µL) da solução estoque foi posteriormente transferida para frascos contendo 1 mL de MeOH. Finalmente, a solução diluída (10 ppm) foi analisada por injeção direta no espectrômetro equipado com uma fonte de ionização química a pressão atmosférica (APCI) operando em modo de polaridade negativa. As configurações de ionização foram as seguintes: tensão da fonte, 5 kV, corrente de descarga, 5 µA; temperatura do vaporizador, 350 °C; pressão do gás de bainha, 35 unidades arbitrárias (arb); pressão do gás de varredura de íons, 0,0 arb; pressão do gás auxiliar, 15 arb; temperatura capilar, 250 °C; deslocamento da lente do tubo, 110 V; deslocamento do skimmer, 0 V; Faixa de massa, m/z 100 a 1000. O gás He foi utilizado como gás de colisão, e os espectros de MS/MS foram obtidos usando energias de colisão variando de 20 a 25%. Os dados de DI(-)-MS/MS do extrato e da fração das folhas de *S. pubicarpa* foram processados usando o seguinte protocolo: os dados brutos de MS/MS foram convertidos para o formato mzXML utilizando a ferramenta MSConvert (ProteoWizard versão 3, <http://proteowizard.sourceforge.net>) e, em seguida, carregados diretamente na plataforma web *Global Natural Products Social Molecular Networking* (GNPS; <https://gnps2.org/homepage>). Os parâmetros para a busca na biblioteca foram definidos da seguinte forma: tolerância de massa do íon precursor, 2 Da; tolerância de massa do íon fragmentado, 0,5 Da; picos mínimos correspondentes, 6; limite de pontuação, 0,8.

4.3.4 Extrato do lenho do galho para testes antimaláricos in vitro

Os extratos do lenho moído (43,2 g) para teste antimalárico ocorreram por meio de extração sequencial para a obtenção dos extratos 3DP59A (28,3 mg), 3DP59B (113,7 mg) e 3DP59C (447,0 mg) com hexano (Hex), acetato de etila (AcOEt) e metanol (MeOH), respectivamente. Os extratos foram obtidos com uma única extração de 150 mL de solvente, sonificados por 60 minutos e em seguida filtrados e concentrados em rotaevaporador sob pressão reduzida. A atividade antimalárica dos extratos do lenho foi testada conforme descrito anteriormente na seção 4.3.1.

4.3.5 Extrato da casca para teste antimalárico

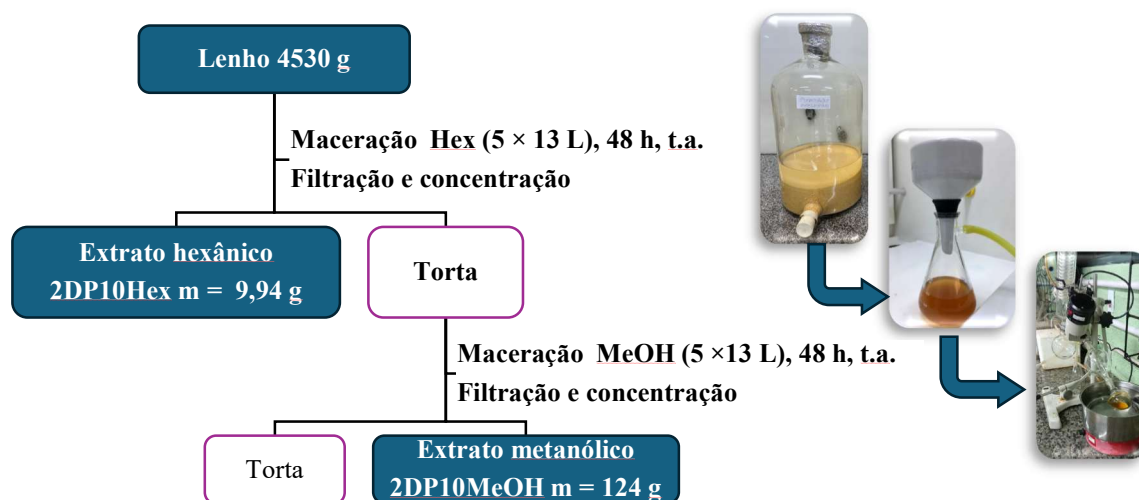
Uma quantidade de casca (40 g) foi sonicada com 200 mL de hexano, por duas horas. Após filtrado, o filtrado foi concentrado em rotaevaporador sob pressão reduzida, obtendo 57,6 mg do extrato hexânico 4DP15A, que corresponde à 0,144% m/m baseado na massa da casca extraída.

Uma segunda extração foi realizada adicionando à casca triturada (86,9 g), 200 mL de metanol e sonicado por duas horas, a temperatura de 50°C. Após filtrada, o filtrado foi concentrado em rotaevaporador sob pressão reduzida para obter o extrato metanólico 4DP10 (1,01 g). À torta residual foi adicionado 200 mL de MeOH, 20 mL de ácido acético e 30 mL de H₂O. Essa mistura foi submetida à sonicação por duas horas a 50 °C. Após esse tempo, realizou-se a filtração e o filtrado foi concentrado em rotaevaporador sob pressão reduzida até 1/4 de seu volume inicial. Este concentrado foi particionado com hexano (2×30 mL), resultando na obtenção da fase hexânica 4DP11A (74,30 mg), que corresponde à 0,0855% m/m baseado na massa da casca extraída. Em seguida, a fase aquosa ácida foi particionada com diclorometano (DCM), obtendo-se a fase DCM 4DP11B (48 mg), que corresponde à 0,0552% m/m baseado na massa da casca extraída. Posteriormente, o NH₄OH foi adicionado à fase aquosa ácida até alcançar pH 9, seguido do particionamento com acetona (Me₂CO) na presença de 5 g de NaCl, obtendo-se a fase acetônica 4D11C (311,0 mg), que corresponde à 0,0356% m/m baseado na massa da casca extraída. As amostras 4DP10, 4DP11A, 4D11C e 4DP15A foram enviadas para teste antimaláricos conforme método descrito anteriormente, na seção 4.3.1.

4.3.6 Extratos hexânico e metanólico do lenho do galho para fracionamento

O lenho do galho moído (4530 g) foi inicialmente macerado em hexano (5 × 13 L) por 48 h à temperatura ambiente. Após cada extração, as misturas foram filtradas e os filtrados concentrados à pressão reduzida, foram reunidos e identificado como 2DP10Hex (9,94 g), correspondendo a 0,219% m/m baseado na massa do lenho do galho extraída. Posteriormente a torta residual foi macerada com metanol (5 × 13 L) por 48 h à temperatura ambiente. Os filtrados foram concentrados à pressão reduzida, reunidos e identificados como 2DP10MeOH (124 g), que corresponde à 0,274% m/m baseado na massa do lenho do galho extraída, conforme apresentado no Fluxograma 1.

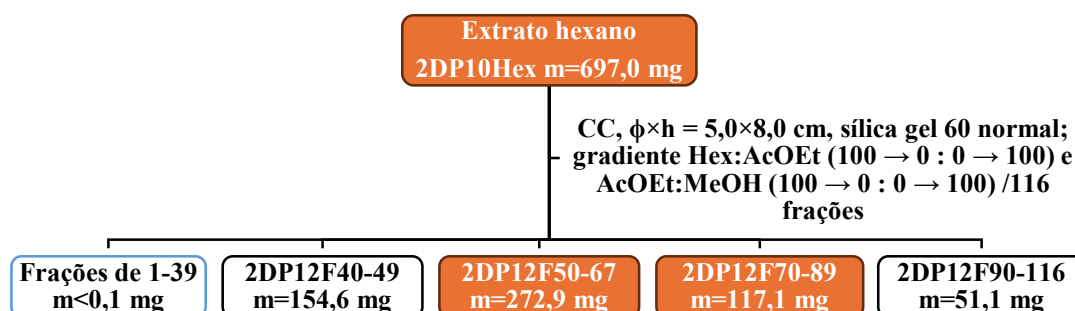
Fluxograma 1 - Obtenção de extratos hexânico e metanólico do lenho do galho



4.3.6.1 Isolamento das substâncias SUB-1 e SUB-2 a partir do extrato 2DP10Hex

Foram cromatografados 697,0 mg de 2DP10Hex, em coluna aberta ($\phi \times h$, 5×8 cm), empacotada com sílica gel 60 (70-230 mesh). A eluição inicia com hexano a 100% e posteriormente com misturas percentuais de Hex:AcOEt (80:20; 60:40; 50:50; 40:60; 20:80). A eluição prossegue com acetato de etila a 100% e posteriormente com misturas percentuais de AcOEt:MeOH (95:5; 70:30; 40:60; 0:100). Esse procedimento resultou na coleta de 116 frações que foram reunidas em cinco frações com base nas características em CCD, apresentando as massas descritas sequencialmente, conforme demonstrado no Fluxograma 2.

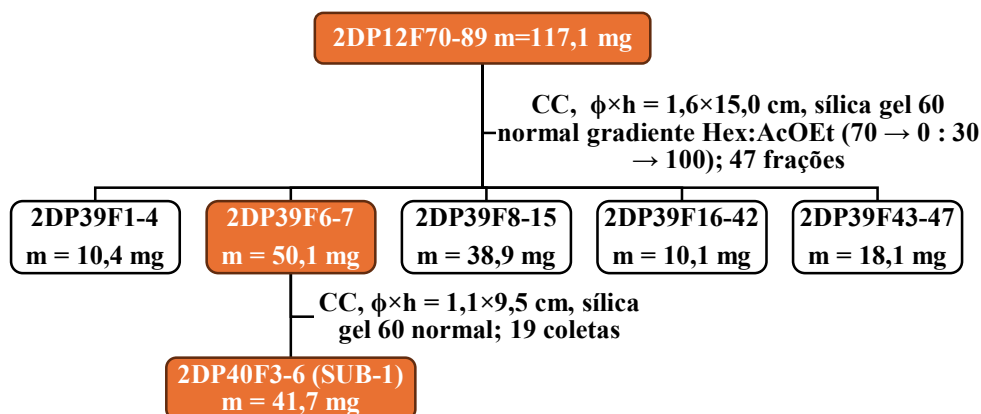
Fluxograma 2 - Fracionamento cromatográfico do extrato 2DP10Hex



Dessas, a terceira fração reunida (2DP12F50-67; 272,9 mg) e a quarta fração reunida (2DP12F70-89; 117,1 mg) foram cromatografadas novamente. As demais frações somadas apresentaram uma massa de 205,7 mg.

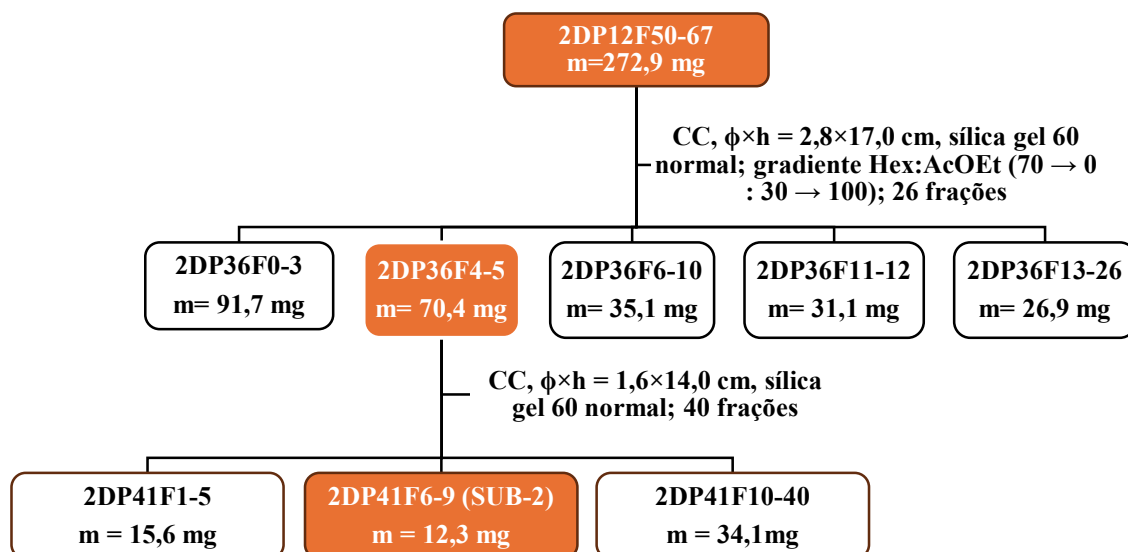
O fluxograma 3 apresenta o procedimento de obtenção da substância 2DP40F3-6 (denominada SUB-1) a partir da quarta fração reunida (2DP12F70-89; 117,1 mg).

Fluxograma 3 - Isolamento da amostra 2DP40F3-6 (SUB-1)



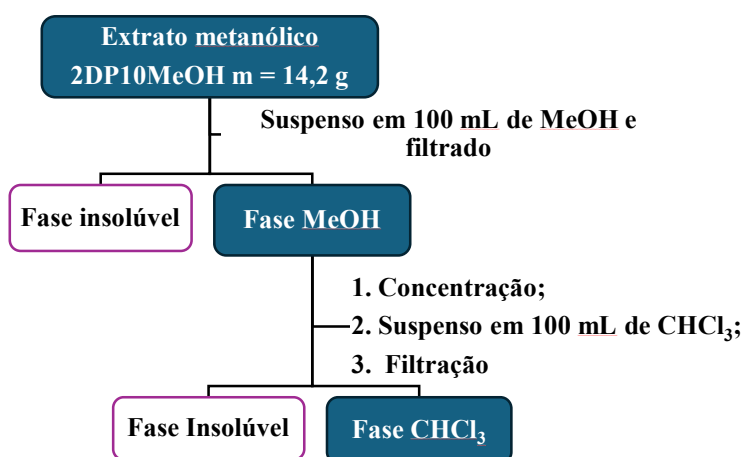
A terceira fração reunida (2DP12F50-67; 272,9 mg), obtida com Hex:AcOEt (60:40), foi cromatografada em coluna aberta ($\phi \times h$, 2,8×17 cm), empacotada com sílica gel 60 (70-230 mesh) e eluída com Hex:AcOEt (70:30; 50:50; 30:70; 0:100) resultando na coleta de 26 frações. A quarta e a quinta coletas eluídas com Hex:AcOEt (65:35) foram reunidas, obtendo-se a amostra 2DP36F4-5 (70,4 mg). A amostra reunida 2DP36F4-5 (70,4 mg) foi cromatografada em coluna aberta ($\phi \times h$, 1,6×15 cm), empacotada com sílica gel 60 (70-230 mesh) e eluída com Hex:AcOEt (70→30; 65→35), resultando na coleta de 40 frações; as frações de 31 a 37 eluídas com Hex:AcOEt (65:35) depois de reunidas apresentaram massa de 19,3 mg, que após purificadas em coluna aberta ($\phi \times h$, 1,1×9,5 cm) com sílica 60, obteve-se a coleta de 16 frações. As frações de 6 a 9 foram reunidas e delas obteve-se a amostra 2DP41F6-9 (12,3 mg) que foi encaminhada para análise de RMN e posteriormente identificada como SUB-2, conforme mostra o Fluxograma 4.

Fluxograma 4 - Isolamento da amostra 2DP41F6-9 (SUB-2)



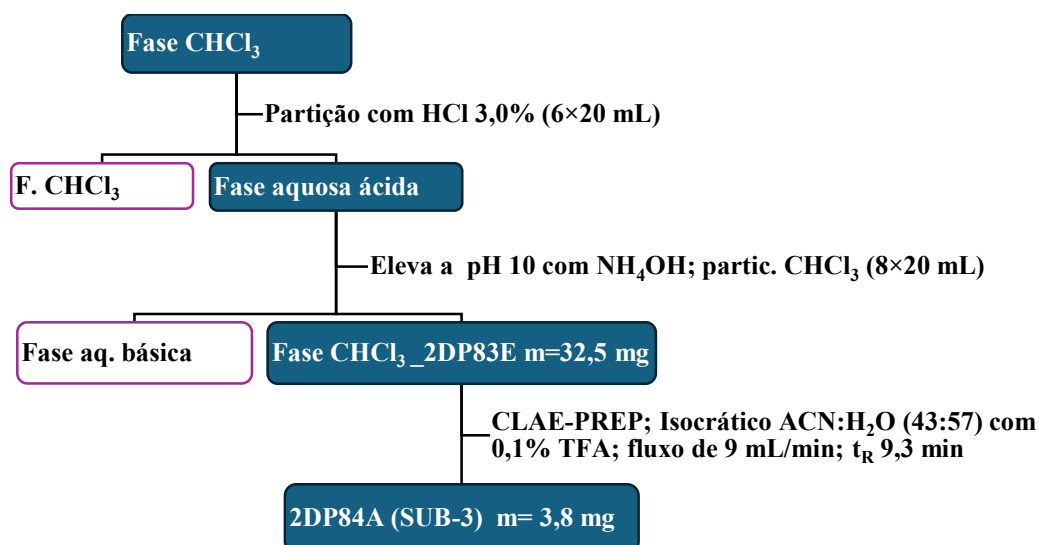
4.3.6.2 Isolamento da substância SUB-3 a partir do extrato MeOH do lenho do galho

A massa de 14,2 g de 2DP10MeOH foi suspensa em 100 mL de MeOH. Posteriormente, a fase solúvel em MeOH foi concentrada e suspensa em 100 mL CHCl_3 , conforme demonstrado no Fluxograma 5.

Fluxograma 5 - Obtenção de solúveis em CHCl_3 a partir do extrato MeOH

Em seguida, a fase CHCl_3 foi extraída com solução de ácido clorídrico a 3% (6×20 mL). Após separação, das duas fases, foi adicionado NH_4OH à fase aquosa ácida até pH 10; e particionado com CHCl_3 (8×20 mL). A fase clorofórmica rica em alcaloide, após ser concentrada foi identificada como 2DP83E (32,5 mg), conforme apresentado no Fluxograma 6.

Fluxograma 6 - Isolamento da substância 2DP84A (SUB-3)



Em seguida a amostra 2DP83E (32,5 mg) foi cromatografada em CLAE-PREP no sistema de solvente MeOH:H₂O (43:57) com 0,1% TFA por 20 min, fluxo de 9 mL/min, comprimento de onda 220 nm. Para a obtenção da amostra 2DP84A (3,8 mg). A amostra foi encaminhada para análise de RMN e posteriormente denominada SUB-3.

4.3.7 Extratos a partir das folhas

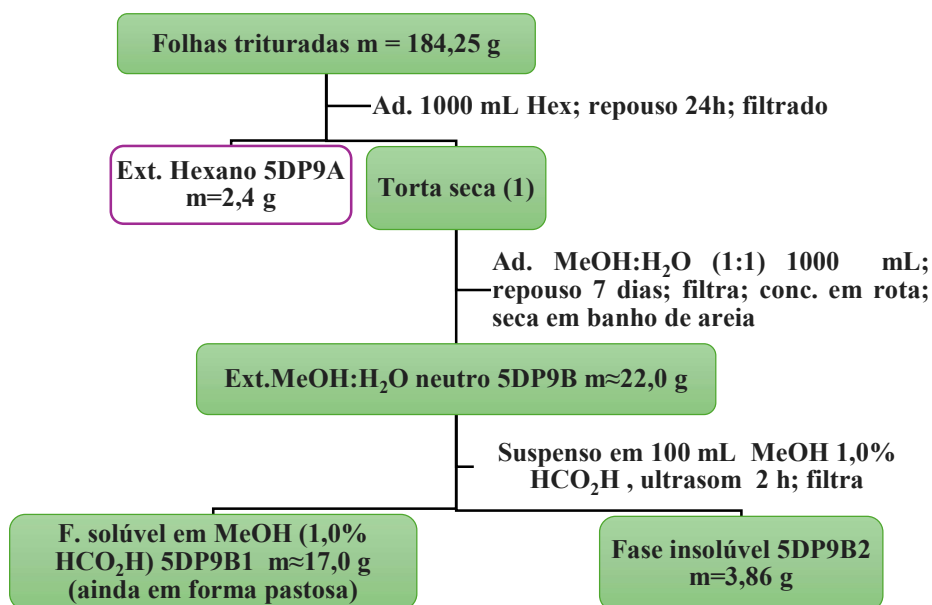
4.3.7.1 Preparação de extratos das folhas para prospecção em espectrometria de massa.

Os extratos a partir de 200 mg de folhas trituradas e secas foram preparados com hexano inicialmente utilizando duas extrações (2×20 mL) para materiais fortemente apolares. Em seguida, a torta residual e seca foi dividida em três partes de 50 mg. A uma parte foram adicionados 20 mL de DCM, à outra parte foram adicionados 20 mL de AcOEt e à terceira parte foram adicionados 20 mL de MeOH:H₂O (1:1). Cada extração foi deixada em ultrassom por 1 hora, à temperatura (t.a.) ambiente e depois em repouso por 24 horas. Após esse período, os extratos foram filtrados e concentrados em banho de areia. Os extratos obtidos foram encaminhados ao Laboratório de Cromatografia e Espectrometria de Massas (LABCEM/UFAM) para análise. O espectro de massa do extrato hidrometanólico se mostrou como o mais interessante por apresentar o melhor perfil para isolamento.

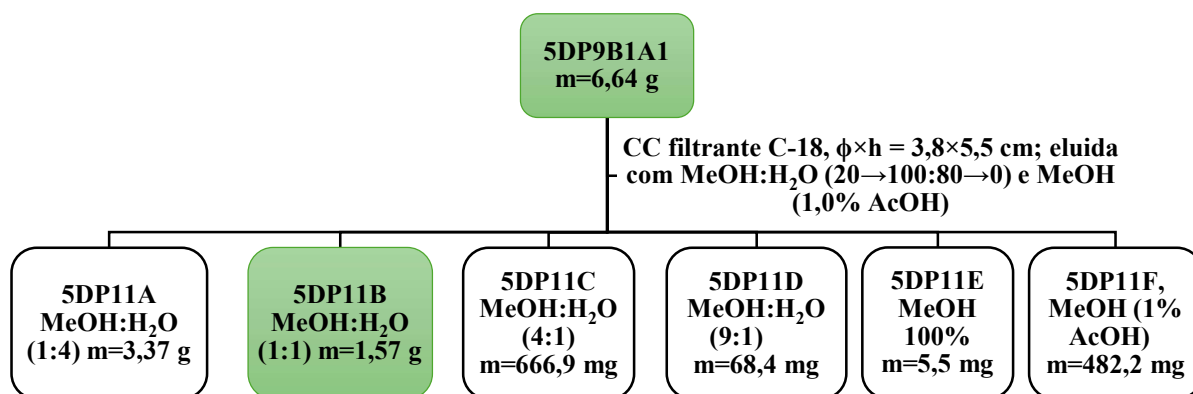
4.3.7.2 Isolamento das substâncias SUB-4, SUB-5 e SUB-6 a partir do extrato hidrometanólico das folhas em meio ácido

Folhas secas e trituradas (184,25 g) foram inicialmente maceradas com 1 L de hexano por 24 h à t.a. e filtradas sob pressão reduzida. Em seguida, foi adicionado 1 L de MeOH:H₂O (1:1, v/v) à torta residual que foi macerada por 7 dias. Depois, a mistura foi filtrada e o filtrado concentrado sob vácuo e seco em banho de areia, para obter o extrato hidrometanólico 5DP9B (22 g). O extrato 5DP9B foi suspenso em 100 mL MeOH com 1,0% de ácido fórmico e filtrado, gerando duas fases, uma solúvel e a outra insolúvel, conforme apresentado no Fluxograma 7.

Fluxograma 7 - Frações solúvel e insolúvel obtidas do extrato metanólico das folhas

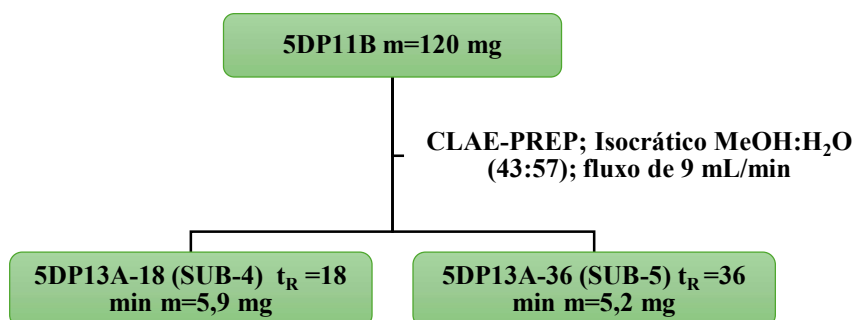


A fim de retirar a clorofila residual, a fase solúvel ácida (5DP9B1), após concentrada, foi eluída em modo isocrático com MeOH (1% de HCO₂H), em coluna aberta filtrante de fase reversa C-18 para obter uma única coleta, a amostra 5DP9B1A1 (13,55 g). Dessa amostra, 6,64 g foram cromatografados em coluna aberta reversa C-18 em modo gradiente com MeOH e água, obtendo-se a coleta de 6 frações, conforme apresentado no Fluxograma 8.

Fluxograma 8 - Fracionamento da fase 5DP9B1A1 solúvel em MeOH (1% de HCO₂H)

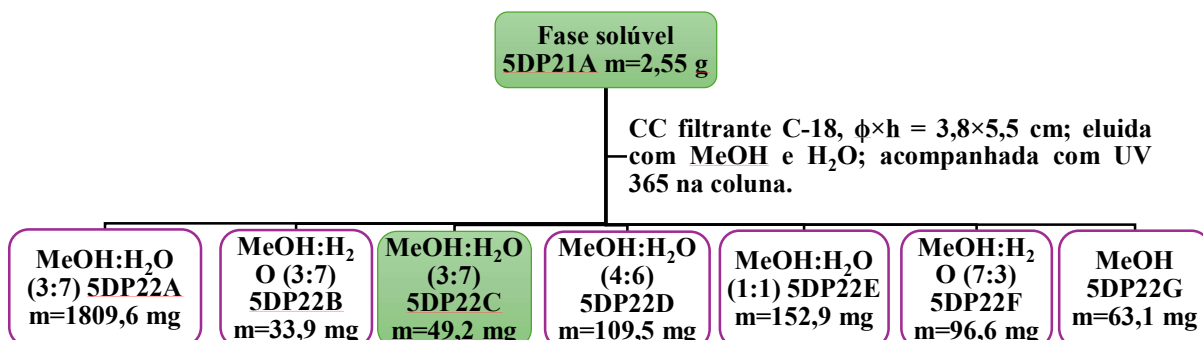
Da segunda fração coletada, eluida com MeOH:H₂O (1:1), identificada como 5DP11B (1,57g), foram cromatografados 120 mg e em CLAE-PREP, no sistema de solvente MeOH:H₂O (43:57), em modo isocrático para obter as amostras 5DP13A-18 (5,9 mg) e 5DP13A-36 (5,2 mg), conforme Fluxograma 9. As amostras foram encaminhadas para análise de RMN.

Fluxograma 9 - Isolamento das substâncias SUB-4 e SUB-5



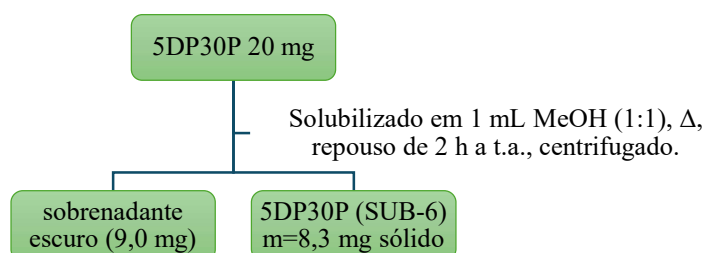
A fração insolúvel, identificada como 5DP9B2 (3,86 g), foi solubilizada 200 mL de Me₂CO:H₂O (7:3), deixada em banho de areia por 24 h e a temperatura ambiente por mais 2 h, obtendo-se a fase solúvel 5DP21A e a fase insolúvel 5DP21B (m = 841,4 mg). A fase solúvel após concentrada (5DP21A, m = 2,55 g) foi eluida em modo gradiente com MeOH:H₂O, em coluna aberta fase reversa C-18 para obter-se sete frações, conforme apresentado no Fluxograma 10. Todas as sete frações foram testadas quanto a atividade antimalárica e a fração 5DP22C foi encaminhada para análise em espectrômetro de massa a fim de verificar o perfil de seu espectro.

Fluxograma 10 - Fracionamento da amostra 5DP21A



Da amostra 5DP22C foram retirados 20 mg e solubilizado em MeOH:H₂O (1:1), com aquecimento, e deixada em repouso (2 h). Após centrifugado, o sólido obtido seco (5DP30P, 8,3 mg) foi encaminhado para análise de RMN, conforme apresentado no Fluxograma 11.

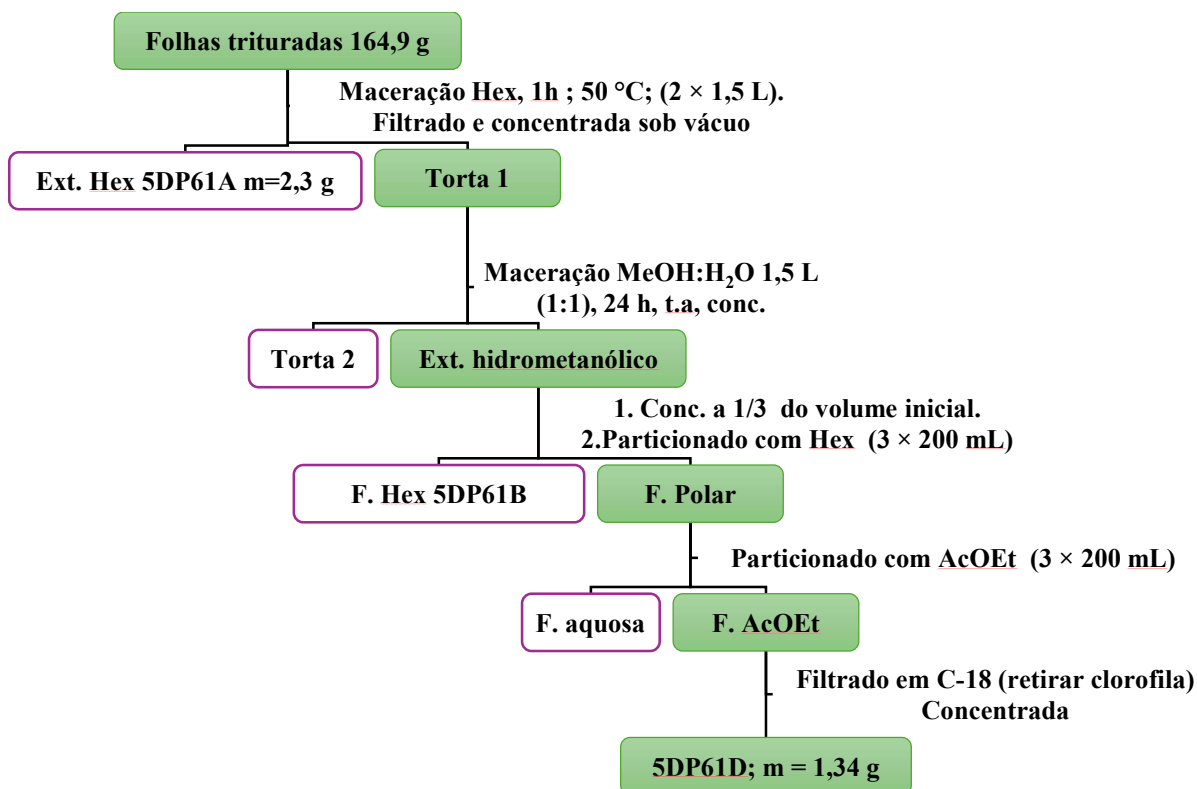
Fluxograma 11 - Isolamento da substância SUB-6



4.3.7.3 Isolamento das substâncias SUB-7, SUB-8 e SUB-9 a partir do extrato hidrometanólico das folhas em meio neutro

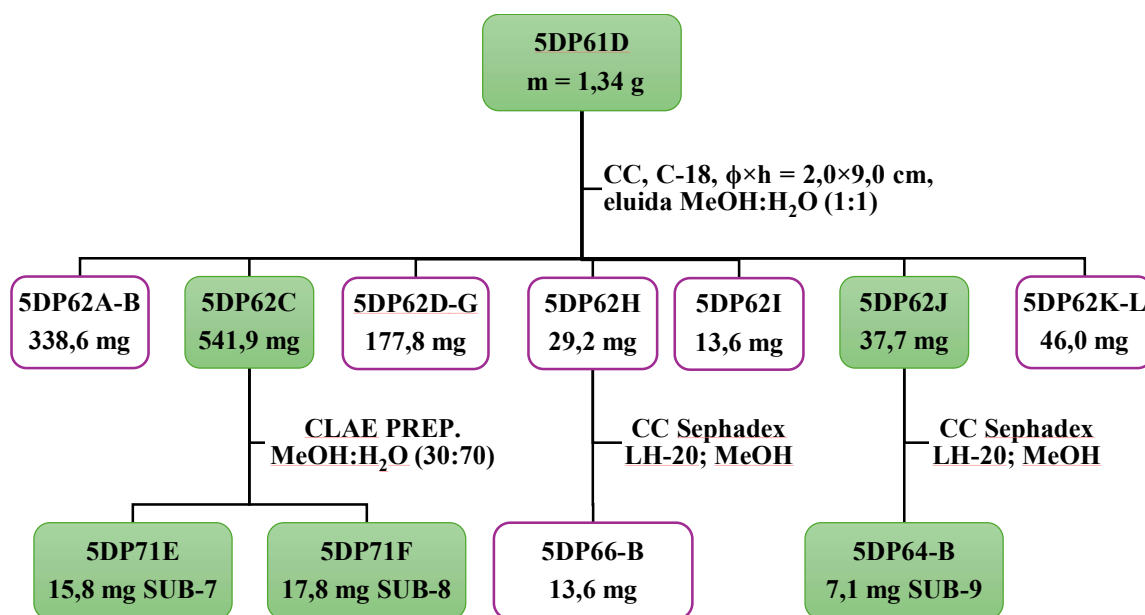
Folhas secas e moídas (164,9 g) foram maceradas em hexano (2×15 L) a 50°C por 60 min. Após filtradas, os filtrados foram concentrados à pressão reduzida e reunidos. A torta residual seca foi macerada em 1,5 L de MeOH:H₂O (1:1) a temperatura ambiente por 24 h. Depois a mistura foi filtrada e o filtrado foi concentrado sob vácuo até 1/3 do seu volume original, obtendo-se extrato hidrometanólico concentrado. Esse extrato foi particionado com hexano (2×200 mL) e em seguida com acetato de etila (3×200 mL). Este após concentrado e seco foi identificado como 5DP61D (1,34 g), conforme apresentado no Fluxograma 12.

Fluxograma 12 - Obtenção da fase acetato 5DP61D a partir do extrato hidrometanólico das folhas



A fase acetato de etila 5DP61D, após seca, foi transferida para coluna aberta de fase reversa C-18 e eluída com MeOH:H₂O (1:1), acompanhada por UV 365 nm, obtendo-se 12 frações. A terceira fração 5DP62C (541,9 mg) foi cromatografada em CLAE-PREP para obter as amostras 5DP71E (15,8 mg) e a amostra 5DP71F (17,8 mg). A oitava fração 5DP62H (29,2 mg) e a décima fração 5DP62J (37,7 mg) foram eluídas em coluna *Sephadex* LH-20 com MeOH para obter as amostras 5DP66B (13,6 mg), e a 5DP64-B (7,1 mg), conforme representado no Fluxograma 13. As amostras foram encaminhadas para análise de RMN.

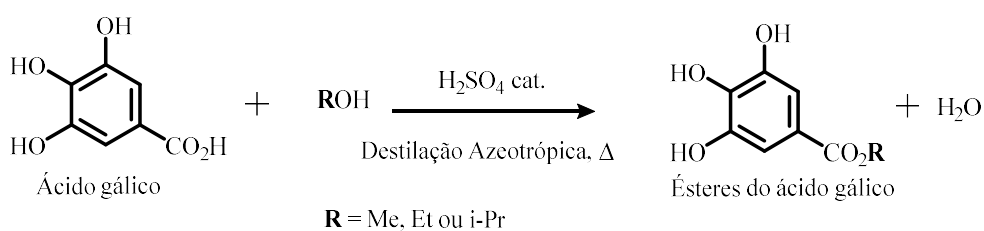
Fluxograma 13 - Isolamento das substâncias SUB-7, SUB-8 e SUB-9



4.3.8 Preparação e purificação de análogos sintéticos do galato de metila (SUB-7)

As reações de esterificação do ácido gálico comercial ocorreram na presença de ácido sulfúrico (H_2SO_4) como catalisador, um solvente de formação de azeótropo e o respectivo álcool (BAHEEJ *et al.*, 2023, modificado). Foi utilizado um sistema de destilação fracionada equipado com balão de 125 mL, uma coluna de Vigreux de 90 cm e condensador liso; aquecido em banho de óleo mineral e agitação magnética. O esquema geral da reação de esterificação está representado na Figura 6.

Figura 6 - Esquema das reações de síntese dos ésteres do ácido gálico



As reações foram acompanhadas por CCD a cada 60 min, usando cloreto férrico (FeCl_3) 1,0 % como revelador. Após decorrido o tempo de reação, a mistura reacional foi concentrada, utilizando rotaevaporador sob pressão reduzida. O balão contendo o meio reacional foi resfriado a 5 °C e adicionado 10 mL de H_2O gelada, seguida de partição com 25 mL AcOEt (2×). A fase AcOEt foi novamente particionada com 10 mL de solução 5,0% de NH_4OH e depois com 10

mL de H₂O. A fase AcOEt resultante, contendo o produto bruto, foi concentrada em banho de areia.

A síntese do galato de metila (5DP86-B) foi realizada a partir de 3,74 g de ácido gálico em 50 mL de MeOH, 12,0 mL de CHCl₃ e 1,5 mL de H₂SO₄, com o destilado coletado à temperatura de 43 °C, por 180 min. Após o procedimento pós-reacional, a fase de AcOEt (produto bruto) apresentou a massa de 2,3 g.

Para o galato de etila (5DP87-B), a reação ocorreu com 2,51 g de ácido gálico em 50 mL de EtOH, 20 mL de tolueno e 2,0 mL de H₂SO₄, com um tempo de 5 h de reação e com o destilado coletado a 67-69°C. Após o procedimento pós-reacional, a fase de AcOEt (produto bruto) apresentou a massa de 2,01 g.

Para os galatos de metila e etila sintéticos, uma quantidade de 400 mg do produto bruto de cada um deles foram aplicados no CLAE PREP (4 injeções) e obteve-se rendimentos de 16,8 e 18,0 %, para galatos de metila (5DP86-B) e galato de etila (5DP87-B) sintéticos, respectivamente, com base nas massas injetadas. Assim, o rendimento global corresponde a 9,6% e 12,3%, respectivamente para o galato de metila e galato de etila.

A obtenção do galato de isopropila (5DP89-B) ocorreu com 1,20 g de ácido gálico (495 mg recuperado) em 60,0 mL de álcool isopropílico, 12 mL de tolueno e 2,0 mL de H₂SO₄, a temperatura de 68°C, por 6,7 h. Após o procedimento pós-reacional, a fase de AcOEt (produto bruto) apresentou a massa de 770 mg. A amostra 5DP89-B foi pré-purificada em coluna aberta de sílica gel de fase reversa C-18. A primeira fração obtida foi de ácido gálico recuperado (495 mg), a segunda fração foi uma amostra ainda impura do galato de isopropila (178 mg). Foram aplicados 135 mg dessa amostra impura (3 injeções de 45 mg) no CLAE, resultando em galato de isopropila puro (5DP89-B) em 65,9 % de rendimento, com base na massa injetada. Assim, a reação global corresponde a 25,1%.

Amostras puras dos ésteres sintetizados forem encaminhadas para a obtenção de seus espectros de RMN em DMSO-*d*₆.

5 RESULTADOS

5.1 Identificação das substâncias isoladas do lenho da *S. pubicarpa*

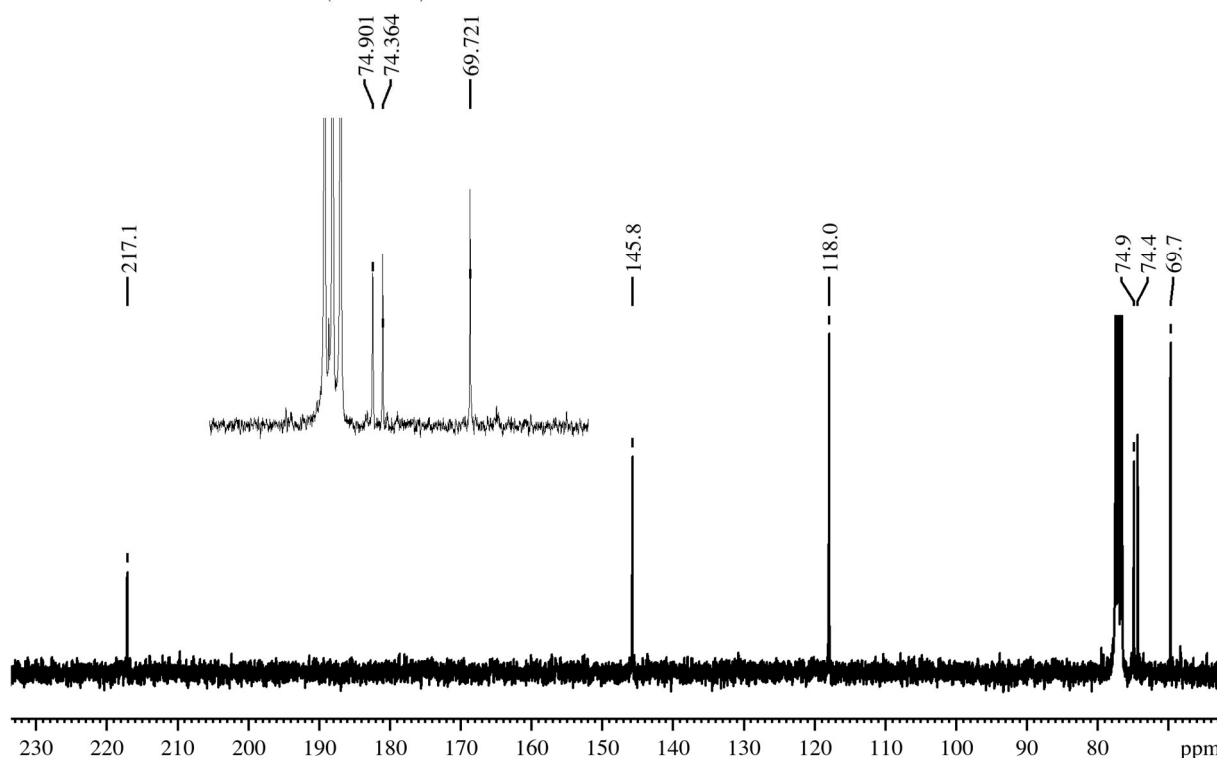
A maceração do lenho resultou na obtenção de três substâncias denominadas SUB-1 (41,7 mg) e SUB-2 (12,3 mg) provenientes do fracionamento do extrato hexânico, detalhado nos Fluxogramas 3 e 4, respectivamente; e SUB-3 (3,8 mg) isolada a partir do extrato metanólico, detalhado no Fluxograma 6. As três amostras foram analisadas neste trabalho por

espectrometria de espectro de EMAR, RMN 1D e 2D e seus dados comparados com dados descritos na literatura. Os resultados obtidos indicam tratar-se de dois triterpenos e um alcaloide, já conhecidos. A seguir, são apresentados os dados espectrométricos, a análise estrutural e a comparação com a literatura, para cada um desses metabólitos isolados.

5.1.1 Análise e identificação da substância 2DP40F3-6 (SUB-1)

A substância SUB-1 apresentou-se sob a forma de sólido amorfo de coloração amarela clara. Em CCD fase normal a substância SUB-1 foi eluída em Hex:AcOEt (60:40), obtendo com R_F de 0,19 e o *spot* de coloração marrom-escuro na presença de iodo.

Figura 7- Ampliação da região δ 65-230 do espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) da 2DP40F3-6 (SUB-1)

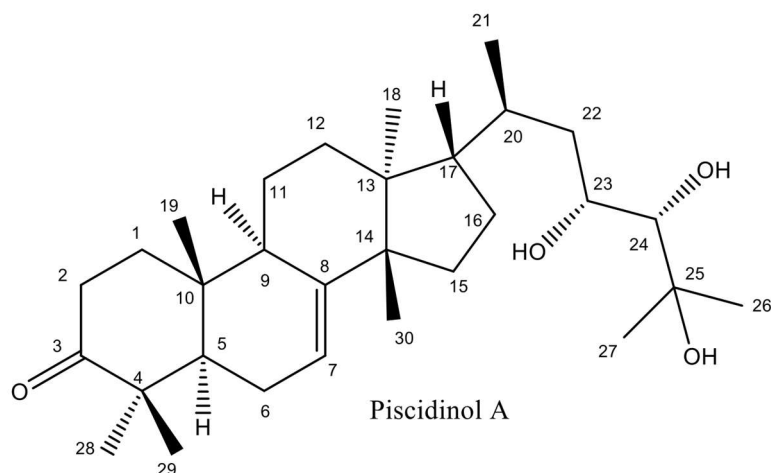


O EMAR (Anexo 1) com fonte APCI modo negativo mostrou três picos mais pronunciados com m/z 473,3657 ($\text{C}_{30}\text{H}_{49}\text{O}_4$) $^-$, 506,3637 ($\text{C}_{33}\text{H}_{48}\text{NO}_3$) $^-$ e 509,3386 ($\text{C}_{36}\text{H}_{45}\text{O}_2$) $^-$. Utilizando os dados dos espectros de RMN de ^1H (Anexo 2), ^{13}C (Anexo 3), DEPT 135 (Anexo 5), COSY (Anexo 7), HSQC (Anexo 8), HMBC (Anexo 9) e NOESY (Anexo 10) listados na Tabela 1, foi possível determinar a presença de trinta carbonos, quarenta e sete hidrogênios metínicos, metilênicos e metilas; além de três sinais característicos de carbonos carbinólicos (δ_{C} 69,7; 74,4 e 74,9) e a presença de deslocamento químico de carbonila característico ciclo-

hexanona (δ_c 217,1) (Figura 7). No conjunto, esses sinais propõem a fórmula íon molecular $[M-H]^-$ m/z 473,3657, com erro $\Delta = 4,4$ ppm.

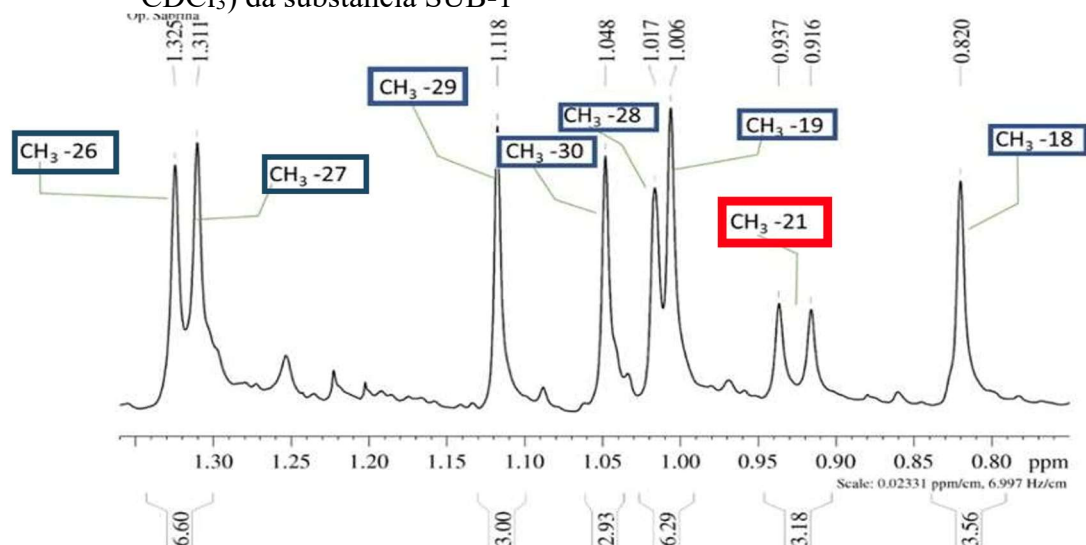
Posteriormente, utilizando a lista de substâncias encontradas no gênero *Simaba* (BARBOSA, BRAZ-FILHO e VIEIRA, 2011), foi possível inferir que a substância SUB-1 trata-se do triterpeno tetracíclico de esqueleto tirucalano, piscidinol A (7) representado na Figura 8.

Figura 8 - Estrutura numerada do piscidinol A (7)



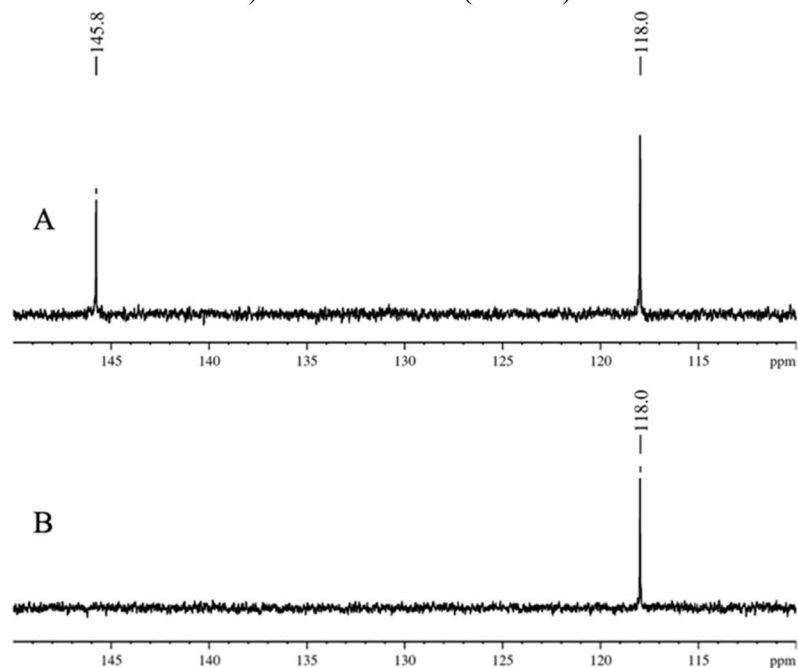
A análise da ampliação do espectro de RMN de ^1H (Figura 9) revela a presença de sete sinais de metilas terciárias e um sinal de metila secundária (δ_H 0,92; d ; $J = 6,2$ Hz).

Figura 9 - Ampliação da região δ 0,75-1,35 do espectro de RMN de ^1H (300 MHz, $CDCl_3$) da substância SUB-1



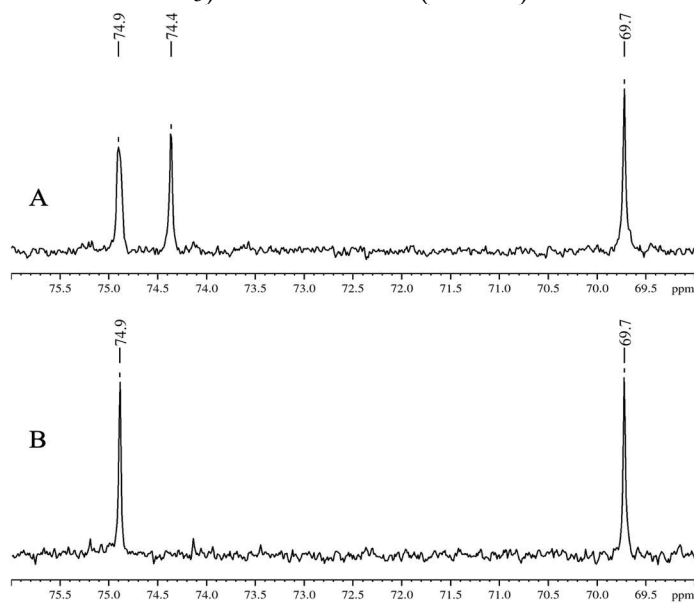
Já a ampliação do espectro de RMN de $^{13}\text{C}/\text{DEPT}135$ (Figura 10) evidencia sinais característicos de uma dupla ligação trissubstituída (δ_{C} 118,0 e 145,8).

Figura 10 - Ampliação na região de δ 110 – 150 do $^{13}\text{C}/\text{DEPT}135$ (75 MHz, CDCl_3) da 2DP40F3-6 (SUB-1)



Legenda- **A**: Ampliação do RMN de ^{13}C ; **B**: Ampliação do DEPT 135

Figura 11 - Ampliação na região de δ 69 – 76 do $^{13}\text{C}/\text{DEPT}135$ (75 MHz, CDCl_3) da 2DP40F3-6 (SUB-1)

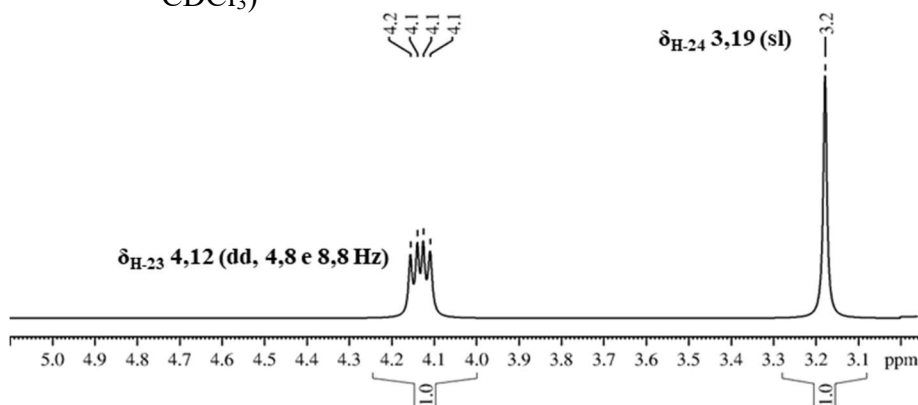


Legenda- **A**: Ampliação do RMN de ^{13}C ; **B**: Ampliação do DEPT 135

Além disso, os sinais referentes aos carbonos carbinólicos, previamente mencionados e, agora, comparados na ampliação do $^{13}\text{C}/\text{DEPT}$ (Figura 11), indicam a existência de dois secundários (δ_{C} 74,9 e 69,7) e um terciário (δ_{C} 74,4).

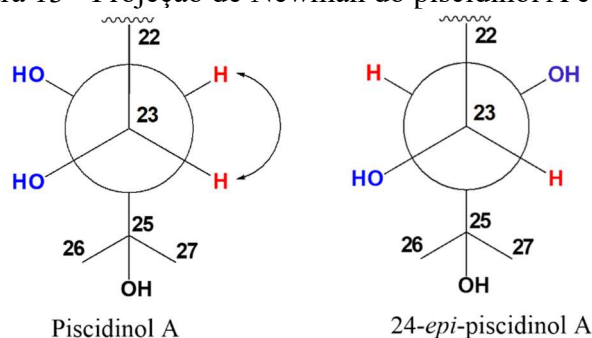
Nas Simaroubaceae, é comum o isolamento de triterpenoides, frequentemente com insaturação na posição C-7 (DEWICK, 2009). Também existem epímeros de piscidinol A, de acordo com a literatura. McChesney e colaboradores (1997) realizaram uma análise comparativa dos dados de RMN (^1H e ^{13}C) e dos obtidos por difração de raio X dos epímeros piscidinol A e 24-*epi*-piscidinol A, concluindo que em C-24 este apresenta configuração *R*, enquanto aquele apresenta configuração *S*. No caso do 24-*epi*-piscidinol A, observaram um deslocamento químico de ^{13}C mais alto para C-23 (δ 73,9) e C-24 (δ 79,3) em comparação ao piscidinol A, cujos valores são C-23 (δ 69,7) e C-24 (δ 74,9). Os autores relatam que similarmente aos carbonos C-23 e C-24, os prótons acoplados a esses também apresentam variações tanto nos deslocamentos quanto nos acoplamentos. Os dados de RMN ^1H da substância SUB-1 para H-23 δ 4,12 (1H; *dd*, *J* 9,17 e 4,97 Hz) e H-24 δ 3,19 (1H, *sl*) são concordantes com os dados do piscidinol A relatos pelos autores. A Figura 12 mostra o espectro de RMN ^1H expandido da substância SUB-1.

Figura 12 - Ampliação da região δ 3,0-5,1 do espectro de RMN de ^1H (300 MHz CDCl_3)



Segundo McChesney e colaboradores (1997), o piscidinol A apresenta um singlete para H-24, compatível com os dados da substância SUB-1, enquanto o 24-*epi*-piscidinol A apresenta para H-24 um duplo duplete. Esses dados são concordantes com as configurações dos carbonos C-23 e C-24 de cada um deles. A projeção de Newman para C-23 e C-24 do piscidinol A e do 24-*epi*-piscidinol A permite uma compreensão visual mais adequada de suas diferenças de acoplamento relacionadas ao sinal de H-24 em função do ângulo diedro formado com H-23 (Figura 13).

Figura 13 - Projeção de Newman do piscidinol A e do 24-*epi*-piscidinol A



Os dados de RMN de ^1H e ^{13}C da substância SUB-1 foram comparados aos da literatura, para o piscidinol A (7), conforme apresentado na Tabela 1. Além disso, as principais correlações dos experimentos de RMN bidimensional (COSY, NOESY e HMBC), ilustrados na Figura 14 e Figura 15, também foram utilizados como base comparativa.

Figura 14 - Correlação COSY/NOESY ^1H (300 MHz, CDCl_3) da substância SUB-1 (piscidinol A)

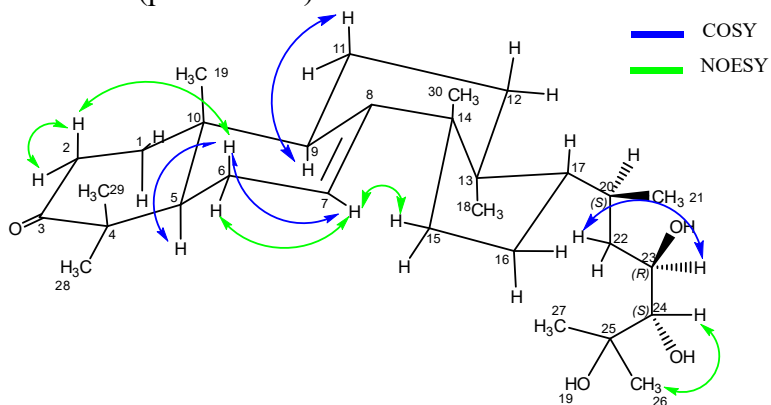


Figura 15 - Correlação ^2J , ^3J do mapa de contorno HMBC da substância SUB-1 (piscidinol A)

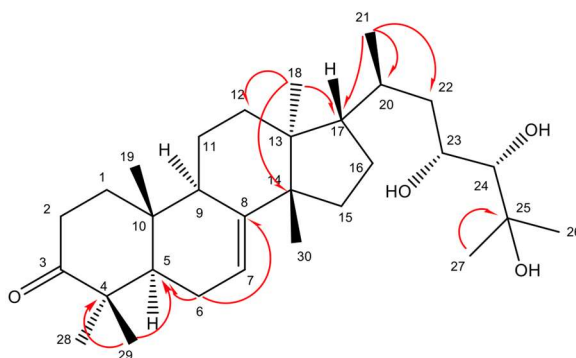


Tabela 1 - Dados de RMN 1D e 2D da amostra 2DP40F3-6 (SUB-1) e comparação com os dados da literatura para piscidinol A.

C/H	2DP40F3-6						Literatura ^a	
	δ ¹ H ^b	δ ¹³ C ^c	DEPT ^d	HMBC ^e	COSY	NOESY	δ ¹ H ^f	δ ¹³ C ^g
1	1,51 (1H, <i>m</i>); 2,02 (1H, <i>m</i>)	38,5	CH ₂	-	H-2	-	1,40 (<i>m</i>); 1,96 (<i>m</i>)	38,5
2	2,27 (1H, <i>m</i>); 2,84 (1H; <i>td</i> ; <i>J</i> 14,64 e 5,6 Hz);	34,9	CH ₂	-	-	-	2,20 (<i>t</i> ; <i>J</i> 3,3 e 14,4 Hz); 2,71 (<i>dd</i> ; <i>J</i> 5,4 e 14,4 Hz)	34,9
3	-	217,1	-	-	-	-	-	217,0
4	-	47,9	-	-	-	-	-	47,8
5	1,73 (1H, <i>m</i>)	52,3	CH	-	H-5	H-6	1,73 (<i>m</i>)	52,3
6	1,05 (1H, <i>m</i>); 2,09 (1H, <i>m</i>)	24,4	CH ₂	C-1; C-5; C-8	-	H-7	2,06(<i>m</i>)	24,3
7	5,31 (1H; <i>dd</i> ; <i>J</i> 5,84 Hz, 2,92 Hz)	118,0	CH	-	H-5; H-6	-	5,29 (<i>dd</i> ; <i>J</i> 3,3 e 10,5 Hz)	117,9
8	-	145,8	-	-	-	-	-	145,7
9	2,3 (1H, <i>m</i>)	48,5	CH	-	-	-	2,25 (<i>m</i>)	48,4
10	-	35,0	-	-	-	H-11	-	35,0
11	1,58 (1H, <i>m</i>); 1,04 (1H, <i>m</i>)	18,3	CH ₂	-	H-9	-	1,51 (<i>m</i>)	18,3
12	1,60 (1H, <i>m</i>); 1,82 (1H, <i>m</i>)	33,8	CH ₂	-	-	-	1,62 (<i>m</i>); 1,82 (<i>m</i>)	33,8
13	-	43,5	-	-	-	-	-	43,5
14	-	51,2	-	-	-	-	-	51,2
15	1,48 (2H, <i>m</i>)	34,0	CH ₂	-	-	-	1,45 (<i>m</i>)	34,0
16	2,02 (1H, <i>m</i>); 1,47 (1H, <i>m</i>)	28,5	CH ₂	-	-	-	2,00 (<i>m</i>); 1,47 (<i>m</i>)	28,4
17	1,48 (1H, <i>m</i>)	53,8	CH	-	-	-	1,48 (<i>m</i>)	53,8
18	0,82 (3H, <i>s</i>)	22,0	CH ₃	C-12; C-14; C-17	-	-	0,81 (<i>s</i>)	22,0
19	1,10 (3H, <i>s</i>)	12,8	CH ₃	-	-	-	1,00 (<i>s</i>)	12,8
20	1,8 (1H, <i>m</i>)	33,7	CH	-	-	-	1,34 (<i>m</i>)	33,7
21	0,92 (3H, <i>d</i> , <i>J</i> 6,24 Hz)	18,9	CH ₃	C-17; C-20; C-22	-	-	0,91 (<i>d</i> ; <i>J</i> 6,0 Hz)	18,9
22	1,87 (1H, <i>m</i>); 1,19 (1H, <i>m</i>)	40,5	CH ₂	-	H-23	H-23	1,84 (<i>m</i>); 1,18 (<i>m</i>)	40,5
23	4,10 (1H; <i>dd</i> , <i>J</i> 9,17 e 4,97 Hz)	69,7	CH	-	-	-	4,09 (<i>m</i>)	69,7
24	3,19 (1H, <i>sl</i>)	74,9	CH	-	-	-	3,15 (<i>d</i> ; <i>J</i> 8,1 Hz)	75,0
25	-	74,4	-	-	-	-	-	74,3
26	1,32 (3H, <i>s</i>)	27,5	CH ₃	-	-	-	1,30 (<i>s</i>)	27,4
27	1,30 (3H, <i>s</i>)	26,2	CH ₃	C-25	-	-	1,28 (<i>s</i>)	26,2
28	1,05 (3H, <i>s</i>)	24,5	CH ₃	-	-	-	1,03 (<i>s</i>)	24,5
29	1,12 (3H, <i>s</i>)	21,6	CH ₃	C-4; C-5	-	-	1,10 (<i>s</i>)	21,6
30	1,10 (3H, <i>s</i>)	27,4	CH ₃	-	-	-	0,99 (<i>s</i>)	27,4
OH	-	-	-	-	-	-	2,82 (<i>sl</i>)	-

^aLiteratura: Nunomura *et al.* (2012); ^b RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃); ^c RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃); ^d DEPT 135 (75 MHz, CDCl₃); ^e HMBC ¹³C-¹H (75 e 300 MHz, CDCl₃);

^f RMN de ¹H (200 MHz, CDCl₃); ^g RMN de ¹³C (50 MHz, CDCl₃)

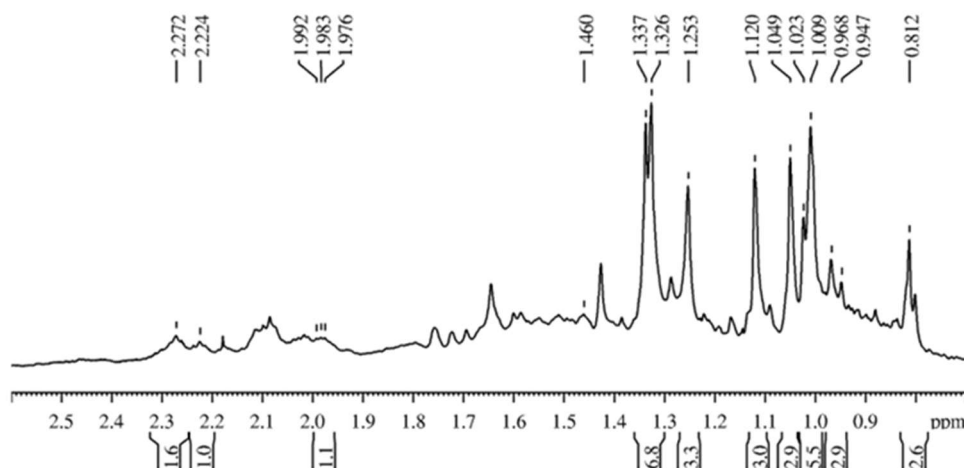
5.1.2 Análise e identificação da substância 2DP41F6-9 (SUB-2)

A substância 2DP41F6-9, isolada do extrato hexânico do lenho do galho da *S. pubicarpa* apresentou-se como um sólido amorfo e solúvel em CHCl_3 . A análise por EMAR (Anexo 11), mostrou um pico correspondente ao íon molecular $[\text{M}+\text{H}]^+ m/z$ 457,3646, atribuindo à fórmula íon molecular $\text{C}_{30}\text{H}_{49}\text{O}_3^+$.

Com base nos sinais identificados no espectro de RMN de ^1H (Anexo 12), suspeitou-se fortemente que a substâncias apresenta um esqueleto tirucalano. Os sinais intensos entre δ 0,5–1,2 em ^1H NMR (Figura 16) correspondentes aos grupamentos metila, juntamente com múltiplos sinais na faixa de δ 1,0–2,5 atribuídos a prótons do núcleo carbocíclico, são compatíveis com compostos desse tipo (GRAY, BHANDARI, WATERMAN, 1988).

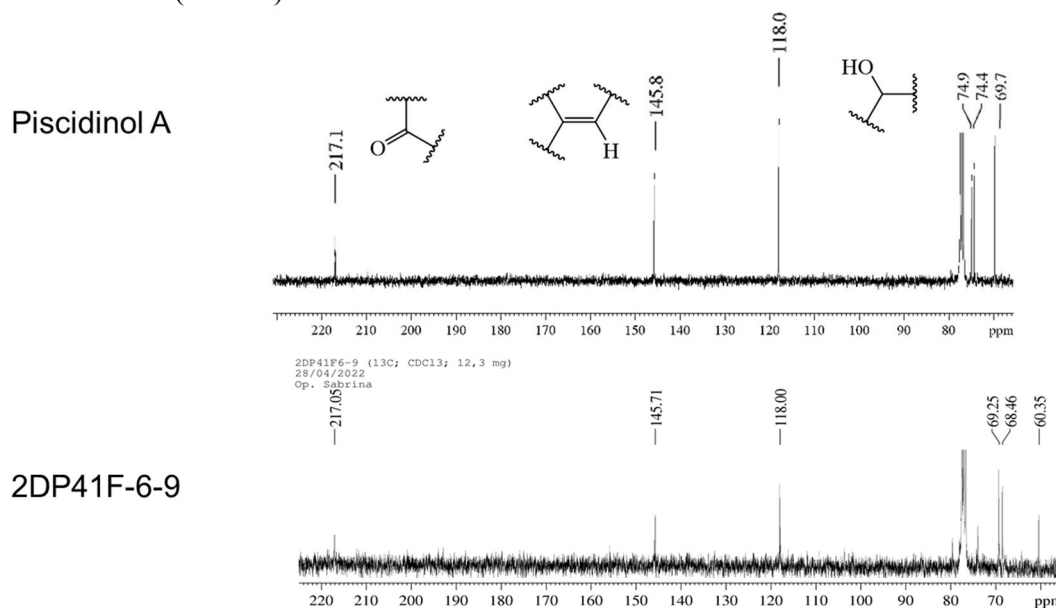
Considerando a suposição inicial e a observação da diferença de uma unidade de água (H_2O) no EMAR entre o íon molecular proposto para a substância SUB-2 e o piscidinol A, cuja íon molecular é $\text{C}_{30}\text{H}_{49}\text{O}_4^-$; os sinais de RMN de ^1H e ^{13}C (Anexos 12 e 16) foram comparados com os do piscidinol A (Tabela 1)

Figura 16 - Ampliação na região δ 0,6 – 2,6 dos espectros de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) da substância 2DP41F6-9 (SUB-2)



Essa análise revelou diferenças nos deslocamentos químicos dos carbonos C-24, C-25, C-26 e C-27 na substância SUB-2 (Tabela 2). Os valores de δ_{C} 60,4 e 68,5 indicam a presença de um epóxido (Figura 17). E o sinal de hidrogênio de epóxido blindado, δ 2,67 (H-24), característico de H- α de epóxido, conforme descrito por Gray, Bhandari, e Waterman, (1988). Além disso, Barbosa, Braz-Filho e Vieira (2011) e Boeno *et al.* (2022) corroboram que epóxidos na cadeia lateral são comumente observados em triterpenoides das Simaroubaceae.

Figura 17 - Comparação entre os espectros do piscidinol A e a substância 2DP41F6-9 (SUB-2)



Corroborando com essas observações, a ampliação do mapa de contorno HMBC Figura 18 que evidencia o acoplamento do sinal característico de hidrogênio do epóxido, em δ 2,67 (multipeto), com os carbonos C-27 e C-23. A comparação desses dados com a literatura permite inferir que a substância SUB-2 corresponde à niloticina (**8**), Figura 19. Todos os espectros usados para elaboração da Tabela 3 estão nos Anexos 11 – 22.

Figura 18 - Correlação do HMBC H-24 com C-23 e C-27

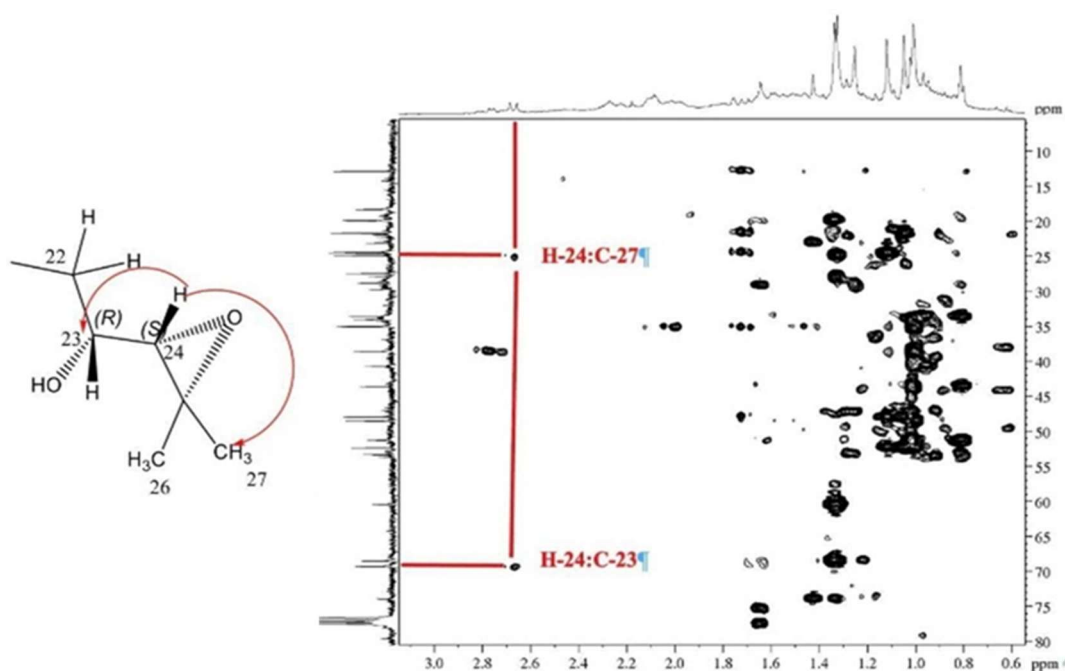
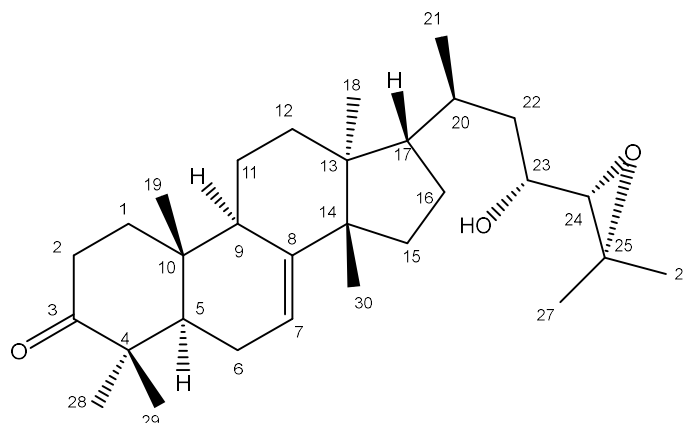


Figura 19 - Estrutura numerada da niloticina (8)

Tabela 2 - Comparação dos dados de RMN ^1H e ^{13}C do piscidinol A e 2DP41F6-9 (SUB-2)

C/H	piscidinol A		2DP41F6-9	
	$\delta\ ^1\text{H}^{\text{a}}$	$\delta\ ^{13}\text{C}^{\text{c}}$	$\delta\ ^1\text{H}^{\text{b}}$	$\delta\ ^{13}\text{C}^{\text{d}}$
1	1,51 (1H, <i>m</i>); 2,02 (1H, <i>m</i>)	38,5	1,46 (1H, <i>m</i>); 1,98 (<i>m</i>)	38,5
2	2,27 (1H, <i>m</i>); 2,84 (1H; <i>td</i> ; <i>J</i> 14,6 e 5,6 Hz);	34,9	2,22 (<i>sl</i>); 2,76 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> 14,5 e 4,1 Hz)	34,9
3	-	217,1	-	217,0
4	-	47,9	-	47,9
5	1,73 (1H, <i>m</i>)	52,3	1,72 (<i>sl</i> , 1H)	52,3
6	1,05 (1H, <i>m</i>); 2,09 (1H, <i>m</i>)	24,4	1,05 (1H, <i>sl</i>); 2,11 (2H, <i>sl</i>)	24,4
7	5,31 (1H; <i>dd</i> ; <i>J</i> 5,8 Hz, 2,9 Hz)	118,0	5,32 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> 6,6 e 3,6 Hz)	118,0
8	-	145,8	-	145,7
9	2,3 (1H, <i>m</i>)	48,5	2,28 (1H, <i>sl</i>)	48,5
10	-	35,0	-	35,0
11	1,58 (1H, <i>m</i>); 1,04 (1H, <i>m</i>)	18,3	1,58 (2H, <i>m</i>)	18,2
12	1,60 (1H, <i>m</i>); 1,82 (1H, <i>m</i>)	33,8	1,82 (2H, <i>sl</i>)	33,6
13	-	43,5	-	43,6
14	-	51,2	-	51,2
15	1,48 (2H, <i>m</i>)	34,0	1,49 (2H, <i>m</i>)	34,0
16	2,02 (1H, <i>m</i>); 1,47 (1H, <i>m</i>)	28,5	1,25 (1H, <i>m</i>)	28,7
17	1,48 (1H, <i>m</i>)	53,8	1,57 (1H, <i>m</i>)	53,3
18	0,82 (3H, <i>s</i>)	22,0	0,81 (3H, <i>sl</i>)	21,8
19	1,10 (3H, <i>s</i>)	12,8	1,02 (3H, <i>sl</i>)	12,8
20	1,8 (1H, <i>m</i>)	33,7	1,66 (1H, <i>m</i>)	33,5
21	0,92 (3H, <i>d</i> , <i>J</i> 6,2 Hz)	18,9	1,33 (3H, <i>d</i> , <i>J</i> 6,2 Hz)	19,8
22	1,87 (1H, <i>m</i>); 1,19 (1H, <i>m</i>)	40,5	1,43 (2H, <i>sl</i>); 1,65 (2H, <i>sl</i>)	40,6
23	4,10 (1H; <i>dd</i> , <i>J</i> 9,2 e 5,0 Hz)	69,7	3,58 (1H, <i>m</i>)	69,2
24	3,19 (1H, <i>sl</i>)	74,9	2,67 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> 8,4 Hz)	68,5
25	-	74,4	---	60,4
26	1,32 (3H, <i>s</i>)	27,5	1,32 (3H, <i>s</i>)	19,9
27	1,30 (3H, <i>s</i>)	26,2	1,33 (3H, <i>s</i>)	24,9
28	1,05 (3H, <i>s</i>)	24,5	1,05 (3H, <i>s</i>)	24,5
29	1,12 (3H, <i>s</i>)	21,6	1,12 (3H, <i>s</i>)	21,6
30	1,10 (3H, <i>s</i>)	27,4	1,02 (3H, <i>s</i>)	27,4
OH	-	-	-	-

^{a,b} RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3); ^{c,d} RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3)

Tabela 3 - Dados de RMN 1D e 2D da amostra 2DP41F6-9 (SUB-2) em comparação com a literatura para a niloticina

C/H	2DP41F6-9				Literatura ^a	
	δ ¹ H ^b	δ ¹³ C ^c	DEPT ^d	HMBC ^h	δ ¹ H ^f	δ ¹³ C ^g
1	1,46 (1H, <i>m</i>); 1,98 (<i>m</i>)	38,5	CH ₂	-	1,40 (<i>m</i>); 1,96 (<i>m</i>)	38,6
2	2,22 (<i>sl</i>); 2,76 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> 14,49 e 4,13 Hz)	34,9	CH ₂	-	2,24 (<i>t</i> ; 3,5; 3,5; 3,5); 2,76 (<i>dt</i> ; 14,2; 5,2)	35,0
3	-	217,0	C	-	----	217,0
4	-	47,9	C	-	----	48,0
5	1,72 (<i>sl</i> , 1H)	52,3	CH	C-8; C-10	1,72 (<i>m</i>)	52,4
6	1,05 (1H, <i>sl</i>); 2,11 (2H, <i>sl</i>)	24,4	CH ₂	C-8 e C1	2,08 (<i>m</i>)	24,6
7	5,32 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> 6,6 e 3,6 Hz)	118,0	CH	-	5,31 (<i>d</i> ; 3,0)	118,1
8	-	145,7	C	-	----	145,9
9	2,28 (1H, <i>sl</i>)	48,5	CH	-	2,28 (<i>m</i>)	48,6
10	-	35,0	C	-	----	35,1
11	1,58 (2H, <i>m</i>)	18,2	CH ₂	-	1,60 (<i>m</i>)	18,1
12	1,82 (2H, <i>sl</i>)	33,6	CH ₂	-	1,65 (<i>m</i>); 1,89 (<i>m</i>)	33,8
13	-	43,6	C	H	----	43,7
14	-	51,2	C	H-18	----	51,3
15	1,49 (2H, <i>m</i>)	34,0	CH ₂	-	1,46 (<i>m</i>)	43,1
16	1,25 (1H, <i>m</i>)	28,7	CH ₂	-	1,64 (<i>m</i>); 2,00 (<i>m</i>)	29,0
17	1,57 (1H, <i>m</i>)	53,3	CH	-	1,57 (<i>m</i>)	53,4
18	0,81 (3H, <i>sl</i>)	21,8	CH ₃	C-13; C-17	0,82 (<i>s</i>)	21,7
19	1,02 (3H, <i>sl</i>)	12,8	CH ₃	-	1,00 (<i>s</i>)	12,9
20	1,66 (1H, <i>m</i>)	33,5	CH	-	1,86 (<i>m</i>)	33,6
21	1,33 (3H, <i>d</i> , <i>J</i> 6,2 Hz)	19,8	CH ₃	C-17; C-22	0,95 (<i>s</i>)	20,0
22	1,43 (2H, <i>sl</i>); 1,6 (2H, <i>sl</i>)	40,6	CH ₂	-	1,43 (<i>m</i>); 1,67 (<i>m</i>)	41,0
23	3,58 (1H, <i>m</i>)	69,2	CH	-	3,58 (<i>ddd</i> ; 5,0; 8,5; 8,0)	69,3
24	2,67 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> 8,4 Hz)	68,5	CH	C-27; C-23	2,66 (<i>d</i> ; 8,0)	68,6
25	---	60,4	C	-	----	60,3
26	1,32 (3H, <i>s</i>)	19,9	CH ₃	-	1,33 (<i>s</i>)	19,9
27	1,33 (3H, <i>s</i>)	24,9	CH ₃	-	1,32 (<i>s</i>)	24,6
28	1,05 (3H, <i>s</i>)	24,5	CH ₃	-	1,05 (<i>s</i>)	25,0
29	1,12 (3H, <i>s</i>)	21,6	CH ₃	-	1,12 (<i>s</i>)	21,9
30	1,02 (3H, <i>s</i>)	27,4	CH ₃	-	1,02 (<i>s</i>)	27,5

^aLiteratura: Saraiva *et al.* (2006); ^bRMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃); ^cRMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃); ^dDEPT 135 (75 MHz, CDCl₃)^eHMBC ¹³C-¹H (75 e 300 MHz, CDCl₃); ^fRMN de ¹H (200 MHz, CDCl₃); ^gRMN de ¹³C (50 MHz, CDCl₃); ^h²*J* e ³*J*

5.1.3 Análise e identificação de amostra 2DP84A (SUB-3)

A fase clorofórmica CHCl_3 (2DP83E) obtida da marcha alcaloídica ácida a partir do extrato metanólico do lenho, após ter sido eluída em CLAE nas condições descritas (Fluxograma 6), resultou em uma substância sólida de aparência amarela clara, com forte absorção em UV 254 nm, sendo codificada aqui como 2DP84A.

Os dados de CL-EMAR (Anexo 23) indicam duas possíveis fórmulas moleculares para a amostra: uma com presença de nitrogênio e outra sem nitrogênio. Considerando que o procedimento utilizado foi de uma marcha alcaloídica, definiu-se a fórmula molecular da amostra 2DP84A como sendo $\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{N}_2\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ m/z 251,0830.

Com o objetivo de elucidar a estrutura, os espectros de RMN ^1H (Anexo 24), DEPT 135 (Anexo 26), COSY (Anexo 27), HSQC (Anexo 28) e HMBC (Anexo 29) foram organizados na Tabela 4. Além disso, a massa molecular foi comparada com substâncias isoladas do gênero *Simaba*, conforme publicado por Barbosa, Braz-Filho e Vieira (2011), e indica o alcaloide 9-metoxicantin-6-ona com grande potencial de ser a amostra 2DP84A.

Corroborando com essa proposta estrutural, os dados de DEPT 135 mostraram sete carbonos metínicos e uma metila. Pela análise dos dados de HMBC foi possível identificar sete carbonos não hidrogenados. Além disso, os sinais δ_{C} 159 e δ_{H} 4,01 indicam, respectivamente, a presença de carbonila α,β -insaturada de anel aromático e um grupo metoxila. Dessa forma, a amostra 2DP84A, apresenta um total de quize carbonos, dez hidrogênios e dois oxigênios, em concordância com a fórmula molecular proposta no EMAR.

A ampliação do espectro de RMN ^1H (Figura 20) dessa amostra apresenta um conjunto de prótons de acoplamento AMX, δ_{H} 8,0 (1H, *d*, J 8,6 Hz, H-11); δ_{H} 8,24 (1H, *d*, J 2,3 Hz, H-8) e δ_{H} 7,12 (1H, *dd*, J 2,3 e 8,6 Hz, H-10) (KANCHANAPOOM *et al.* 2001). Embora o sinal de H-2 se apresente como um singleto largo (Figura 21), seu deslocamento químico e demais dados da substância SUB-3 são comparáveis aos dados da literatura para a 9-metoxicantin-6-ona, conforme demonstrado (Tabela 4), além de outras correções observadas a partir dos espectros de HMBC e COSY (Figura 22). Segundo Kuo *et al.* (2003), os dados comentados são típicos de prótons heteroaromáticos de cantin-6-ona. O mapa de HMQC mostra o sinal da metoxila (δ_{H} 4,01) acoplando com o sinal do C-9 (δ_{C} 163,4) (Figura 22). E isso, segundo Fo e colaboradores (1992), sugere que a amostra possui um esqueleto 9-metoxicantin-6-ônico. Por fim, os resultados obtidos, quando comparado à literatura, permitem confirmar a estrutura da amostra em questão como sendo a 9-metoxicantin-6-ona!

Figura 20 - Ampliação de δ 6,96–7,16 e δ 7,90–8,30 do espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) da SUB-3

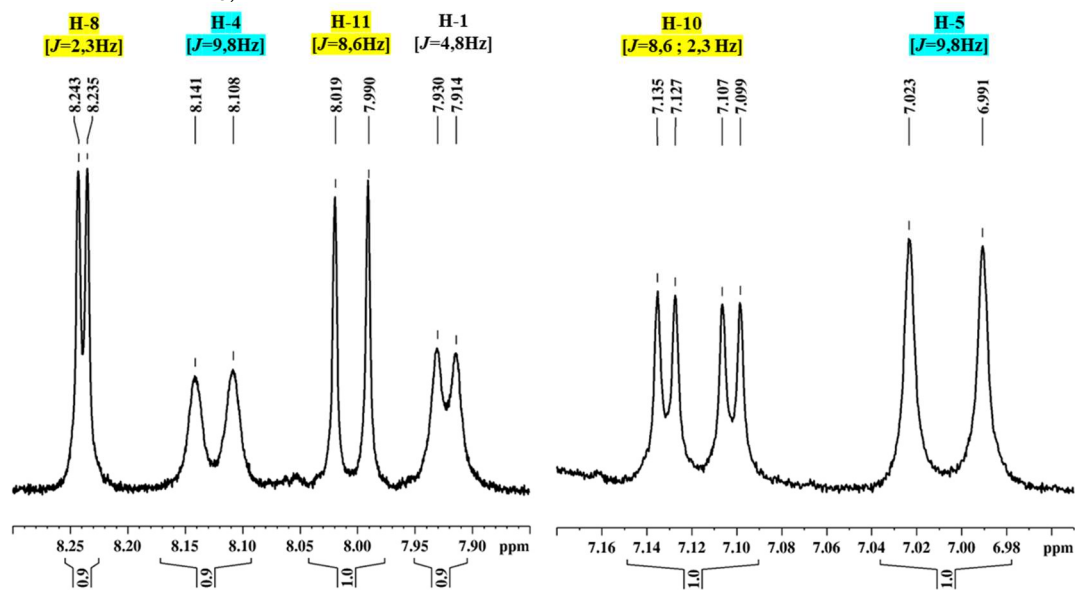


Figura 21 - Ampliação de δ 7,85–8,00 e δ 8,72–8,88 do espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) da SUB-3

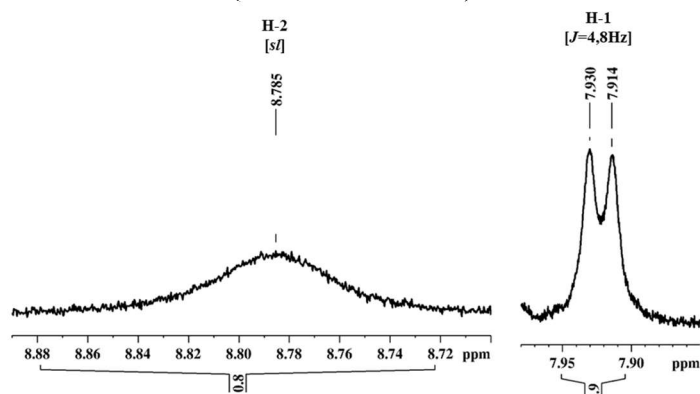


Figura 22 - Correlações do HMBC e COSY para a amostra 2DP84A

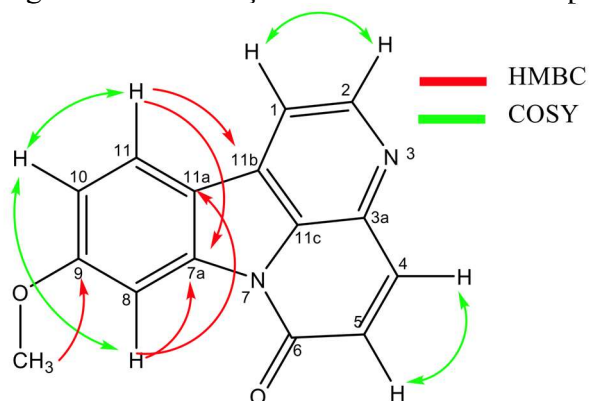


Tabela 4 - Dados de RMN 1D e 2D da amostra 2DP84A em comparação com a literatura para a 9-metoxicantin-6-ona

C/H	2DP84A					Literatura ^a	
	δ ¹ H ^b	δ ¹³ C ^c	DEPT ^d	HMBC ^e	COSY	δ ¹ H ^f	δ ¹³ C ^g
1	7,92 (<i>dl</i> , <i>J</i> 4,8 Hz)	115,6	CH	-	H-2	7,74 (<i>d</i> , <i>J</i> 4,9 Hz)	115,8
2	8,78 (<i>sl</i>)	143,7	CH	-	-	8,69 (<i>d</i> , <i>J</i> 4,9 Hz)	146,1
3	-	-	-	-	-	-	-
3a	-	133,8	-	-	-	-	135,8
4	8,12 (<i>dl</i> , <i>J</i> 9,8 Hz)	138,0	CH	-	H-5	7,94 (<i>d</i> , <i>J</i> 9,8 Hz)	140
5	7,00 (<i>d</i> , <i>J</i> 9,8 Hz)	129,8	CH	-	-	6,89 (<i>d</i> , 9,8 Hz)	128,6
6	-	159,0	-	-	-	-	159,6
7	-	-	-	-	-	-	-
7a	-	142,3	-	-	-	-	141,4
8	8,24 (<i>d</i> , <i>J</i> 2,3 Hz)	101,4	CH	C-7a; C-10; C-11a	-	8,24 (<i>d</i> , <i>J</i> 2,3 Hz)	101,4
9	-	163,4	-	-	-	-	162,6
10	7,12 (<i>dd</i> , <i>J</i> 8,6; 2,3 Hz)	114,8	CH	-	H-11; H-8	6,98 (<i>dd</i> , <i>J</i> 8,6; 2,3 Hz)	114,3
11	8,01 (<i>d</i> , <i>J</i> 8,6 Hz)	123,9	CH	C-7a; C-9; C-11b	-	7,94 (<i>dd</i> , <i>J</i> 8,6 Hz)	123,5
11a	-	116,5	-	-	-	-	117,4
11b	-	132,7	-	-	-	-	130,6
11c	-	132,4	-	-	-	-	132,4
9-OMe	4,01 s	56,2	CH ₃	C-9	-	3,93 s	56,1

^aLiteratura: Fajrian *et al.* (2010); ^b RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃); ^c RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃); ^d DEPT 135 (75 MHz, CDCl₃)

^e HMBC ¹³C-¹H (75 e 300 MHz, CDCl₃); ^f RMN de ¹H (200 MHz, CDCl₃); ^g RMN de ¹³C (50 MHz, CDCl₃)

5.2 Identificação das substâncias isoladas das folhas da *S. pubicarpa*

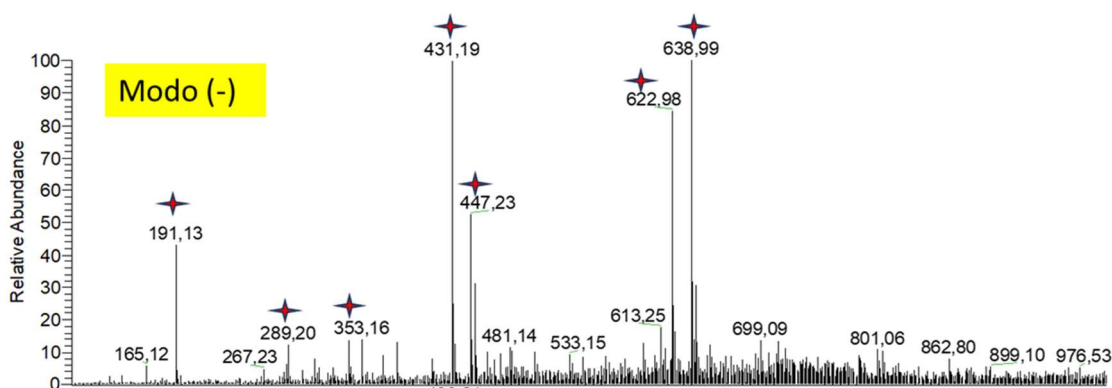
O trabalho com as folhas inicia com uma análise por espectrometria de massas por injeção direta (DI-MS) de extratos, onde verificou-se que o extrato hidrometanólico apresentava um melhor perfil para isolamento de substâncias. Das folhas foram isoladas seis substâncias e, três análogos sintéticos foram sintetizados de uma dessas substâncias isoladas. Neste trabalho, as amostras isoladas das folhas são analisadas por espectrometria de massa de alta resolução (EMAR), RMN 1D e 2D e seus dados comparados com os descritos na literatura.

A seguir, são apresentados a análise, os dados espectroscópicos e a proposta estrutural para cada um desses metabólitos isolados e análogos.

5.2.1 Análise do espectro do extrato hidrometanólico das folhas por molecular networking GNPS

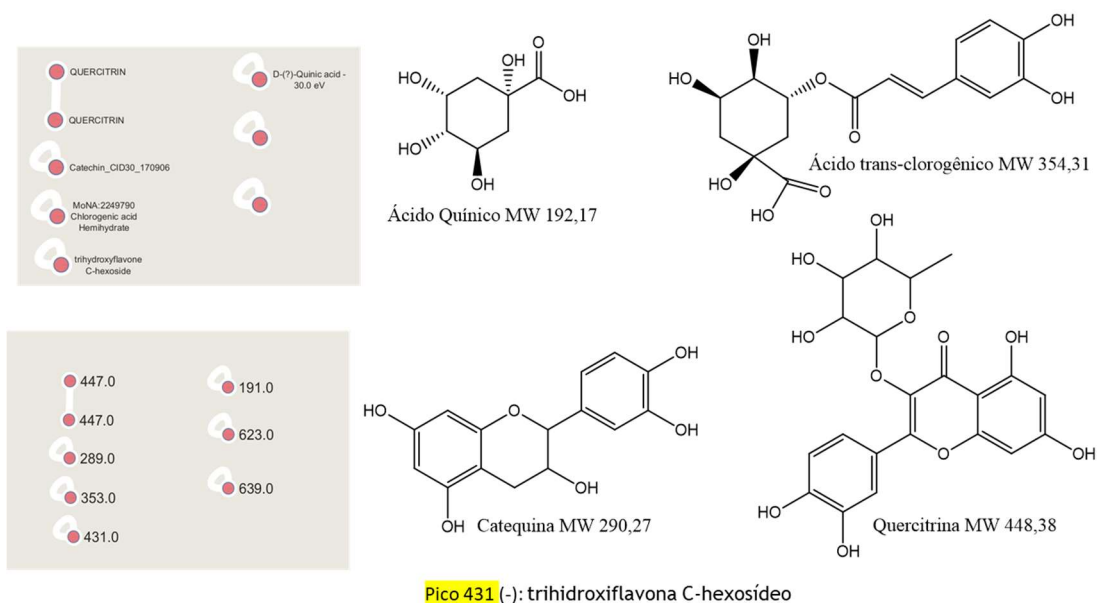
O perfil do espectro DI-APCI-EM obtido a partir do extrato hidrometanólico das folhas indica possibilidade de isolamento simples de substâncias. Assim, a fim de obter-se as anotações, sete picos desse espectro foram submetidos à fragmentação, conforme apresentado na Figura 23. Os espectros de cada fragmentação estão nos anexos de 30 a 34.

Figura 23 - Picos fragmentados do extrato MeOH:H₂O (1:1) das folhas da *S. pubicarpa*



Os dados foram aplicados ao GNPS (*Global Natural Products Social Molecular Networking*) resultando em cinco anotações, duas para ácidos e três para flavonoides (Figura 24).

Figura 24 - Anotações no GNPS clássico do extrato MeOH:H₂O das folhas da *S. pubicarpa*



O Quadro 3 apresenta as fragmentações no GNPS clássico do extrato MeOH:H₂O das folhas da *S. pubicarpa*, além dos cossenos para cada anotação. Os picos obtidos em cada fragmentação são compatíveis com os picos apresentados pela literatura. As discrepâncias nas intensidades dos picos são devidas, principalmente às diferentes técnicas usadas para induzir a fragmentação ou até mesmo o instrumento utilizado.

Quadro 3 Fragmentações e cossenos das anotações no GNPS clássico do extrato MeOH:H₂O das folhas da *S. pubicarpa*

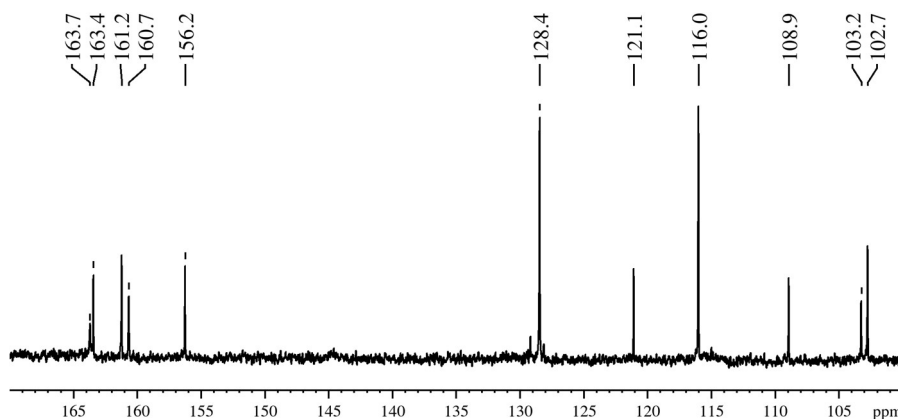
<i>m/z</i> [M-H] ⁻	ANOTAÇÕES DO GNPS			Referência
	Substâncias	Cosseno	MS/MS (<i>Pico base</i>)	
191,0	Ácido quínico	0,89	173, 127, 111, 85	ARAUJO et al. (2020)
289,0	Catequina	0,95	245, 205, 203, 179, 161	JIANG, C.; GATES, P. J. (2024)
353,0	Ácido trans-clorogênico	0,79	325, 309, 297, 269, 191	LUZ (2019)
431,0	Trihidroxiflavona C-hexosídeo	0,87	341, 311, 285, 284, 283	ARAUJO (2025)
447,0	Quercitrina	0,91	327, 301, 300, 284, 233	ARAUJO et al. (2020)

5.2.2 Análise dos dados de RMN 1D e 2D da 5DP13A-18

Os espectros de RMN 1D e 2D (Anexos 35 e 37 a 41), listados na Tabela 5, indicam a presença de 21 carbonos e 20 hidrogênios, o que aponta para um índice de deficiência de hidrogênio (IDH) de 12. Dando continuidade à elucidação estrutural, a análise dos espectros de RMN ¹H (Anexo 35) e ¹³C (Anexo 37) evidencia a presença de um esqueleto flavona do tipo apigenina. Nos espectros de ¹³C, são observados sinais característicos de carbonos dos anéis

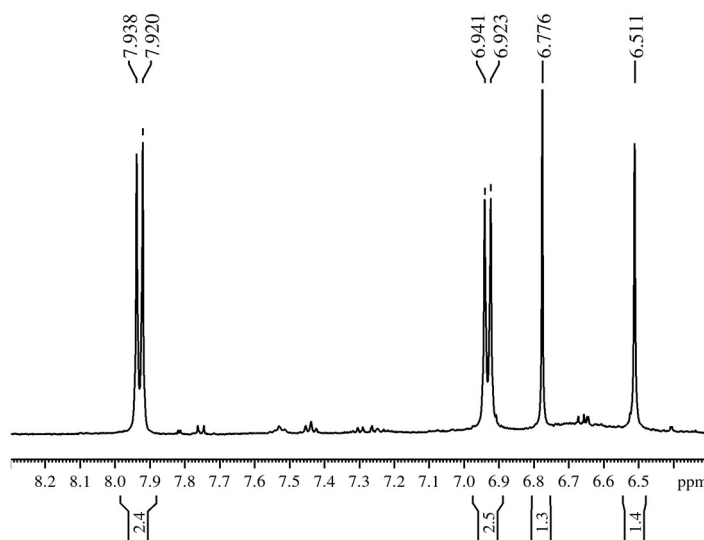
aromáticos B e C (Figura 25) de apigenina, em δ_c 103,2 (C-10), δ_c 128,4 (C-9), δ 116,0 (C-3' e C-6'), δ 128,4 (C-6'), δ 161,2 (C-2' e C-4') (SILVA, CARVALHO e BRAZ-FILHO, 2009).

Figura 25 - Ampliação do espectro de RMN ^{13}C na região de δ_c 100-170



Como parte dessa análise, o espectro de ^1H (Anexo 35) da substância, apresenta na região de aromáticos (Figura 26) os sinais de hidrogênio acoplados entre si, com deslocamento δ 7,93 (2H, *d*, *J* 8,8 Hz, H-2' e H-6') e δ 6,93 (2H, *d*, *J* 8,8 Hz, H-3' e H-5'), típicos do padrão do benzeno *para*-disubstituído. Segundo Silva, Carvalho e Braz-Filho (2009), as constantes dos dubletos indicam acoplamento *orto* dos hidrogênios no anel aromático C, o que sugere substituição simétrica no anel B. Portanto, os deslocamentos químicos de ^{13}C e ^1H , corroborados com os padrões de multiplicidade e constante de acoplamento e reforçam a ideia da amostra 5DP13A-18 ser uma flavona de esqueleto apigenina (SILVA, CARVALHO E BRAZ-FILHO, 2009).

Figura 26- Ampliação do espectro de ^1H da substância na região de aromáticos δ 6,0-8,5



Dando sequência à análise da região dos aromáticos, observa-se o simpleto em δ 6,51 (1H, *s*) (Figura 26), o que sugere a presença de um hidrogênio ligado a carbono aromático. Já o simpleto δ 6,78 (1H, *s*), é característico de hidrogênio metínico (H-3) de flavonas (SILVA, CARVALHO e BRAZ-FILHO, 2009). O espectro de RMN de ^1H ainda mostra o sinal em δ 4,59 (*d*, 1H, *J* 9,8 Hz), característico de hidrogênio anomérico; que juntamente com o único sinal de carbono metilênico em δ 61,22, apresentado no espectro de DEPT 135 (Anexo 38) colabora para inferir a presença de uma hexose.

Essas observações, juntamente com a constante de acoplamento do hidrogênio anomérico (*J* = 9,8 Hz), sugerem uma ligação C- β -glicosídica (ZIELINSKA-PISKLAK *et al.*, 2015). Utilizando o mapa de contorno HMBC (Anexo 41), é possível observar a correlação do hidrogênio anomérico com o C-6 (Figura 27); além dos acoplamentos do hidrogênio vinílico H-3 (δ 6,77) com C-2 (δ 128,4) e com o carbono carbonílico C-4 (181,9).

A presença de um sinal em δ 13,55 (1H, *s*), característico de hidrogênio de hidroxila desblindado por ligação de hidrogênio, possivelmente uma ligação intramolecular, é típico de flavonas do tipo apigenina (BHATTACHARYYA *et al.*, 2007).

Com base nos dados apresentados, somados aos da Tabela 5 e por comparação com a literatura, a substância 5DP13A-18 trata-se de isovitexina (Figura 27).

Figura 27 - Correlações do mapa de contorno HMBC da amostra 5DP13A-18 (isovitexina) com ampliação do acoplamento H-1''- C-6

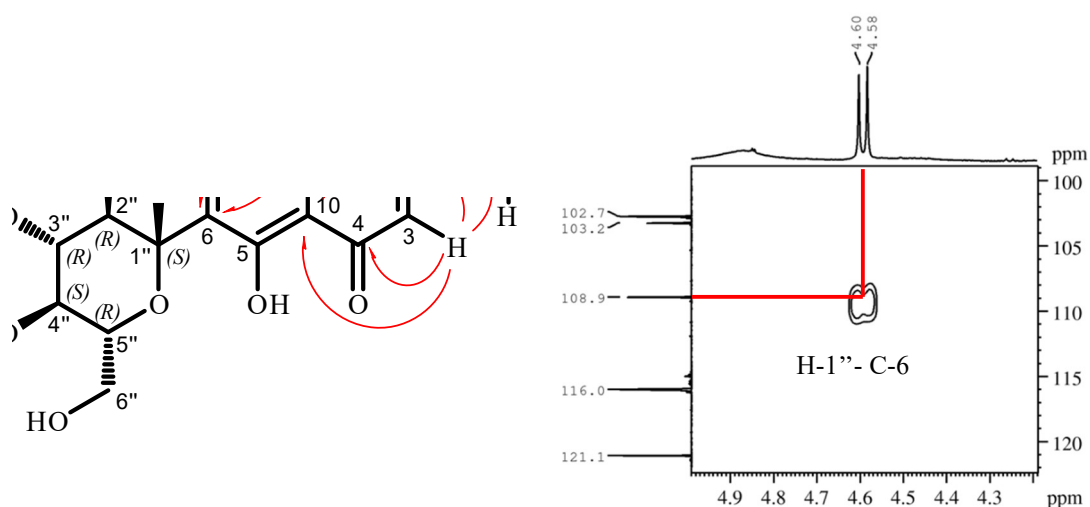


Tabela 5 - Dados de RMN 1D e 2D da amostra 5DP13A-18 em comparação com a literatura para a isovitexina

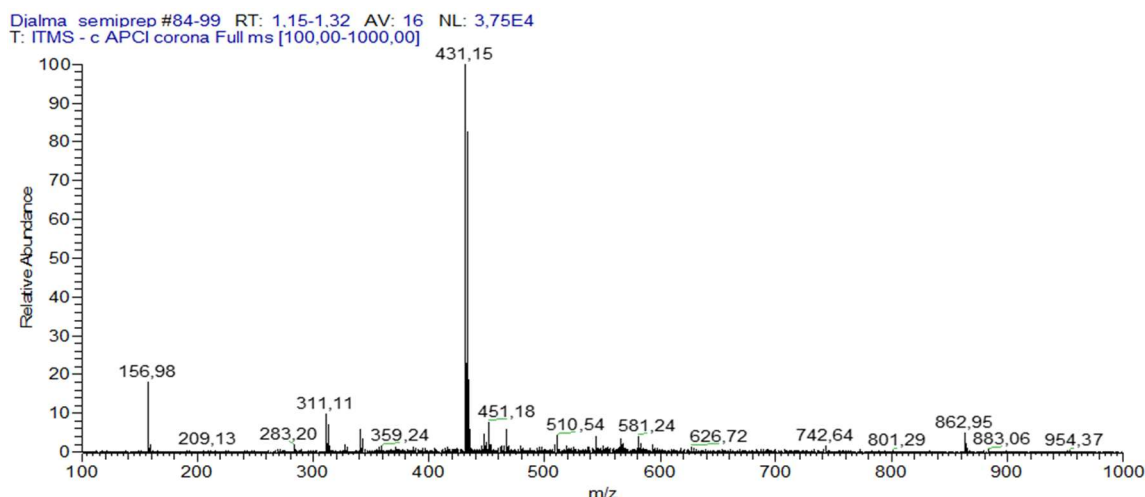
C/H	5DP13A-18 -Isovitexina				Literatura ^a	
	δ ¹ H ^b	δ ¹³ C ^c	DEPT ^d	HMBC ^e	δ ¹ H ^f	δ ¹³ C ^g
2	---	163,4 (C-2)	C		----	163,5 (C-2)
3	6,77 (1H, <i>sl</i> , H-3)	102,7 (C-3)	CH	C-2; C-4; C-10; C-1'	6,78 (1H, <i>s</i> , H-3)	102,9 (C-3)
4	---	181,9 (C-4)	C			181,9 (C-4)
C-5-OH	13,56 (1H, <i>sl</i> , OH-5)	160,7 (C-5)	C		13,55 (1H, <i>s</i> , OH-5)	156,2 (C-5)
6	---	108,9 (C-6)	C		----	108,9 (C-6)
C-7-OH	---	163, (C-7)	C		10,93 (1H, <i>brs</i> , OH-7)	163,2 (C-7)
8	6,51 (1H, <i>sl</i> , H-8)	93,4 (C-8)	CH	C-6; C-9; C-10	6,51 (1H, <i>s</i> , H-8)	93,6 (C-8)
9	---	156,2 (C-9)	C		----	161,2 (C-9)
10	---	103,2 (C-10)	C		----	103,4 (C-10)
1'	---	121,1 (C-1')	C		----	121,1 (C-1')
2'	7,93 (2H, <i>d</i> , <i>J</i> 8.80 Hz, H-2' e H-6')	128,4 (C-2' e C-6')	CH	C-2	7,93 (2H, <i>d</i> , <i>J</i> = 8.8 Hz, H-2'/H-6')	128,5 (C-2'/C-6')
3'	6,93 (2H, <i>d</i> , <i>J</i> 8.80 Hz, H-3' e H-5')	116,0 (C-3' e C-5')	CH	C-1'	6,93(2H, <i>d</i> , <i>J</i> = 8.8 Hz, H-3'/H-5')	116,0 (C-3'/C-5')
C-4'-OH	---	161,2 (C-4')	C		10,44 (1H, <i>brs</i> , OH-4')	160,6 (C-4')
5'	----	----	----		----	----
6'	----	----	----		----	----
1''	4,59 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> 9.83 Hz, H-1'')	72,8 (C-1'')	CH	C-6''; C-5''; C-3''; C-5; C-6; C-7	4,64 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 9.8 Hz, H-1'')	78,9 (C-1'')
2''	4,05 (1H, <i>t</i> , <i>J</i> 9,20 Hz, H-2'')	70,0 (C-2'')	CH		----	73,5 (C-2'')
3''	3,21 (1H, <i>m</i> , H-3'')	78,7 (C-3'')	CH		5,04–4.52 (4H, sobreposto, glucosil OH)	71,2 (C-3'')
4''	3,16 (1H, <i>m</i> , H-4'')	70,4 (C-4'')	CH		4,04–3,13 (6H, sobreposto, glucosil H)	70,6 (C-4'')
5''	3,16 (1H, <i>m</i> , H-5'')	81,3 (C-5'')	CH		----	81,6 (C-5'')
6''	3,42 (1H, <i>m</i> , H-6'');	61,2 (C-6'')	CH ₂		----	61,5 (C-6'')
6''	3,69 (1H, <i>m</i> , H-6'')	61,2 (C-6'')			----	

^aLiteratura: ZIELIŃSKA-PISKŁAK *et al.* 2015; ^b RMN de ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆); ^c RMN de ¹³C (125 MHz, DMSO-*d*₆); ^d DEPT 135 (125 MHz, DMSO-*d*₆); ^e HMBC ¹³C-¹H (125 e 500 MHz, DMSO-*d*₆); ^f RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆); ^g RMN de ¹³C (75 MHz, DMSO-*d*₆)

5.2.3 Análise das anotações do GNPS da fração cromatográfica 5DP22C

Foi realizada uma análise por espectrometria de massa da fração 5DP22C (Fluxograma 10), no LABCEM/UFAM. O espectro de massa por APCI em modo negativo apresentou um pico destacado em m/z 431 [M-H], conforme apresentado na Figura 28.

Figura 28 - Espectro de massa APCI-EM da fração 5DP22C em modo negativo



O pico [M-H]⁻ m/z 431 foi fragmentado (Figura 29) e os dados de EM/EM obtidos foram analisados pelo GNPS clássico, resultando em duas anotações. As anotações do GNPS são para duas flavonas glicosiladas e isômeras, a vitexina e a isovitexina, com um cosseno de 0,97 e 0,83, respectivamente, conforme observado na Figura 30.

Figura 29 - Espectro EM/EM de [M-H]⁻ m/z 431 da fração cromatográfica 5DP22C

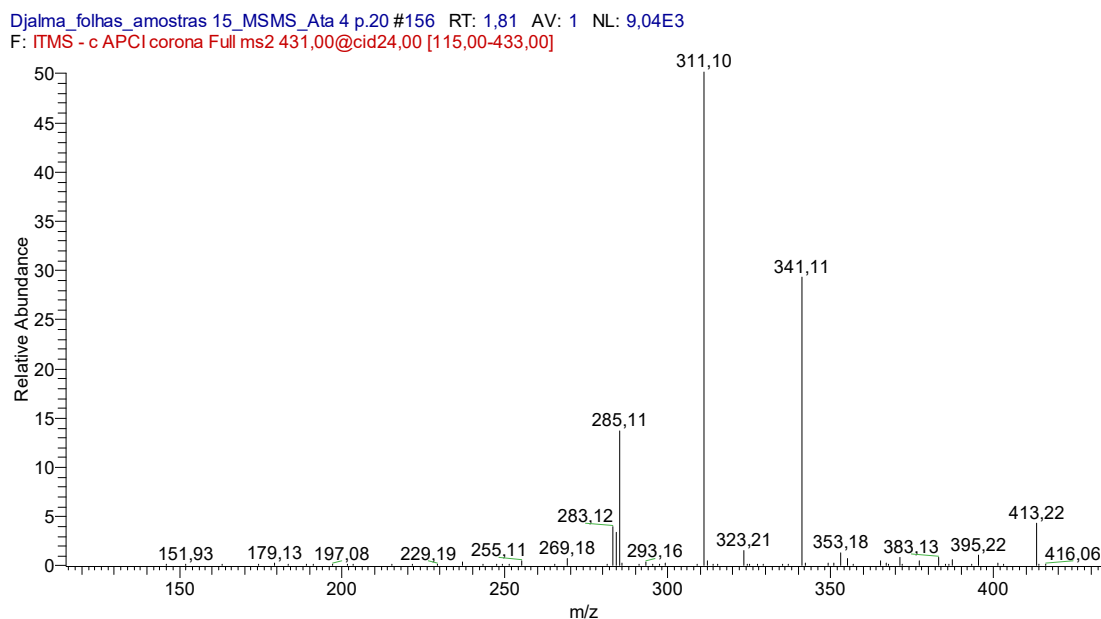
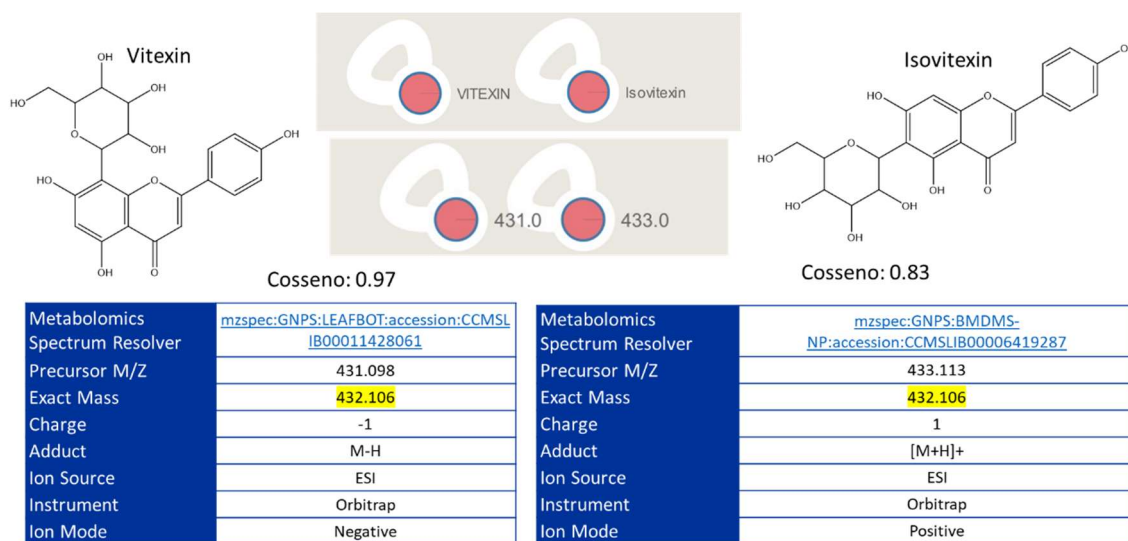


Figura 30 - Anotações do espectro EM/EM de m/z 431 [M-H] da amostra 5DP22C pelo GNPS



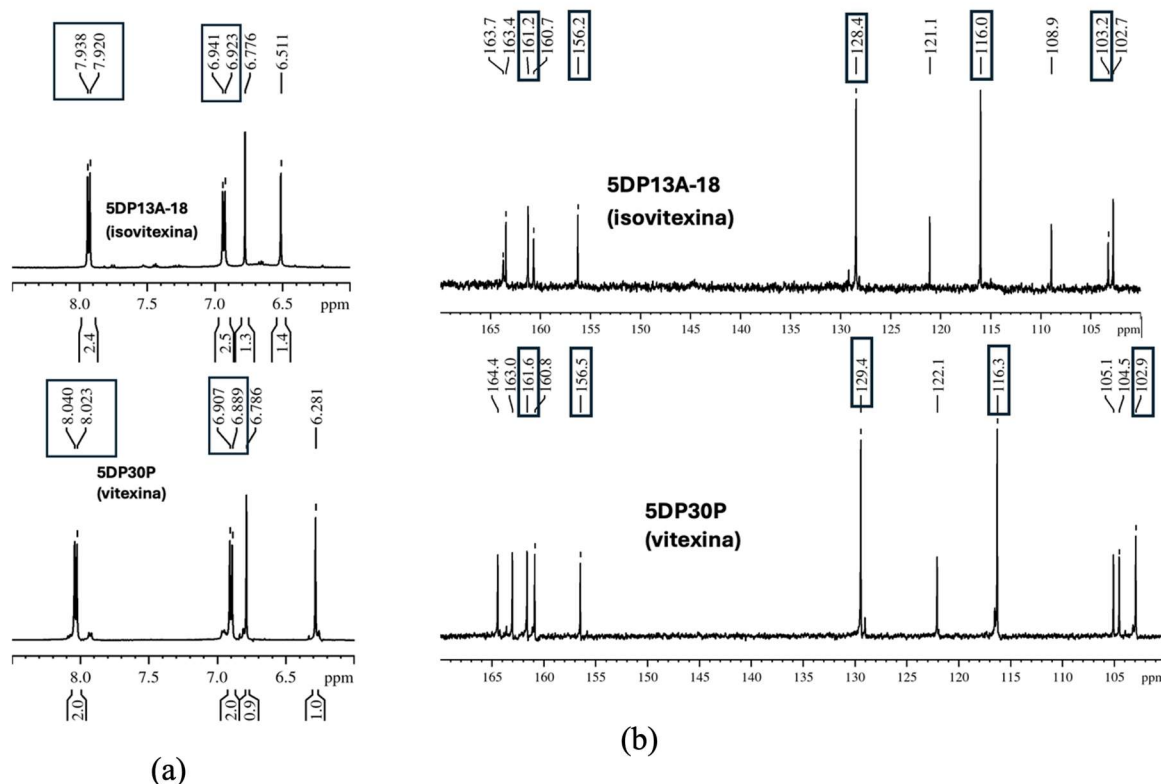
O espectro EM/EM de [M-H]⁻ m/z 431 da coleta 5DP22C apresentou os picos de fragmentação 311,10 (100%), 341,11 (29,26%), 283,12 (3,89%), concordante com a anotação do GNPS para a vitexina com um cosseno de 0,97. Araujo e colaboradores (2025) apresentam como proposta os íons fragmentados em m/z 341 [M - H - C₃H₆O₃]⁻, 311 [M - H - C₄H₈O₄]⁻ e 283 [M - H - C₄H₈O₄ - CO]⁻, correspondentes a perdas de 90 Da, 120 Da e CO, respectivamente. Os autores acrescentam que os íons fragmentados m/z 341 e 311 correspondem à quebra do anel glicosídico.

5.2.4 Análise dos dados de RMN 1D e 2D da 5DP30P

Assim como nas outras substâncias analisadas neste trabalho, os dados de RMN 1D e 2D (Anexos 42 e 44 a 48) foram listados em tabela (Tabela 6). A análise dos espectros de ¹H (Anexo 42) e ¹³C (Anexo 44) da 5DP30P apresentam os mesmos padrões de esqueleto apigenina da isovitexina (Figura 31). Além do sinal em δ 13,17 (1H, s) de hidrogênio de hidroxila característico de hidrogênio desblindado de ligação intramolecular.

O hidrogênio δ 6,78 (1H, s) está ligado ao carbono δ 102,9, característico de flavona do C-3 (FERREIRA *et al.* 2016; SILVA, CARVALHO e BRAZ-FILHO, 2009). O espectro de DEPT 135 (Anexo 45), mostra um aglomerado de sinais em entre δ_c 82 e 60, sendo um deles um carbono metilênico, correspondendo a sinais de glicose. Destaca-se ainda o sinal de hidrogênio em δ 4,68 (1H, d, J 9,95 Hz), característico de hidrogênio anomérico, e sua constante de acoplamento, indicando tratar-se de uma ligação C- β -glicosídica (ZIELINSKA-PISKLAK *et al.* 2015).

Figura 31 - Ampliação do RMN ^1H e ^{13}C comparativa entre 5DP13A-18 (isovitexina) e 5DP30P



Legenda - (a): RMN ^1H na região de δ 6,0-8,5; (b) RMN ^{13}C na região δ 100-170

Os resultados obtidos nos espectros comparados aos dados aqui apresentados e confirmados pela literatura, juntamente com as correlações de HMBC (Anexo 48 e Figura 32) indicam que a amostra 5DP30P é a vitexina.

Figura 32 - Correlações de HMBC da molécula de vitexina

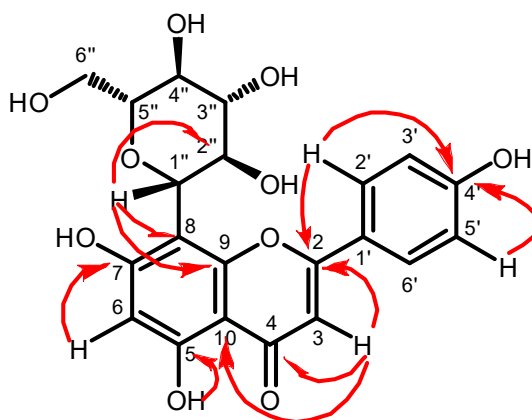


Tabela 6 - Dados de RMN 1D e 2D da amostra 5DP30P e comparação com dados da literatura para vitexina

C/H	5DP30P Vitexina				Literatura ^a	
	δ ¹ H ^b	δ ¹³ C ^c	DEPT ^d	HMBC	δ ¹ H ^f	δ ¹³ C ^g
2	-	164,4	C		---	163,9 (C-2)
3	6,78 (1H, <i>s</i>)	102,9	CH	C-2; C-4; C-10; C-1'	6,79 (1H, <i>s</i>)	102,5 (C-3)
4	-	182,6	C		---	182,1 (C-4)
C-5-OH	13,17 (1H, <i>s</i>)	160,8	C	C-5	13,17 (1H, <i>s</i>)	160,4 (C-5)
6	6,28 (1H, <i>s</i>)	98,6	CH	C-10; C-5; C-7; C-8	6,27 (<i>s</i>)	98,1 (C-6)
C-7-OH	10,86 (1H, <i>s</i>)	163,0	C		---	162,6 (C-7)
8	-	105,1	C		---	104,6 (C8)
9	-	156,4	C		---	156,0 (C-9)
10	-	104,5	C		---	104,0 (C-10)
1'	-	122,1	C		---	121,6 (C-1')
2'	8,03 (2H, <i>d</i> , <i>J</i> 8,8 Hz)	129,4 (C-2' e C-6')	CH	C-2; C-4'	8,02 (<i>d</i> ; <i>J</i> 8,5; H-2', 6')	129,0 (C-2', 6')
3'	6,89 (2H, <i>d</i> , <i>J</i> 8,8 Hz)	116,3 (C-3' e C-5'')	CH	C-1'; C-4'	6,87 (<i>d</i> ; <i>J</i> 8,5; H-3', 5')	115,8 (C-3', 5')
C-4'-OH	10,36 (1H, <i>s</i>)	161,6 (C-4')	C		---	---
5'	-	---	---		---	---
6'	-	---	---		---	---
1''	4,68 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> 9,9 Hz)	73,8 (C-1'')	CH	C-7; C-8; C-9; C-2''; C-3''; C-5''	4,73 (<i>d</i> ; <i>J</i> 9,8; H-1'')	73,4 (C-1'')
2''	3,84 (1H, <i>m</i>)	71,3 (C-2'')	CH		---	---
3''	3,26 (1H, <i>m</i>)	79,1 (C-3'')	CH		---	---
4''	3,38 (1H, <i>m</i>)	71,0 (C-4'')	CH	C-3''; C-5''; C-6''	---	---
5''	3,24 (1H, <i>m</i>)	82,3 (C-5'')	CH		---	---
6''	3,76 (1H, <i>m</i>)	61,7 (C-6'')	CH ₂	C-5''; C-4''	---	---
6''	3,53 (1H, <i>m</i>)				---	---

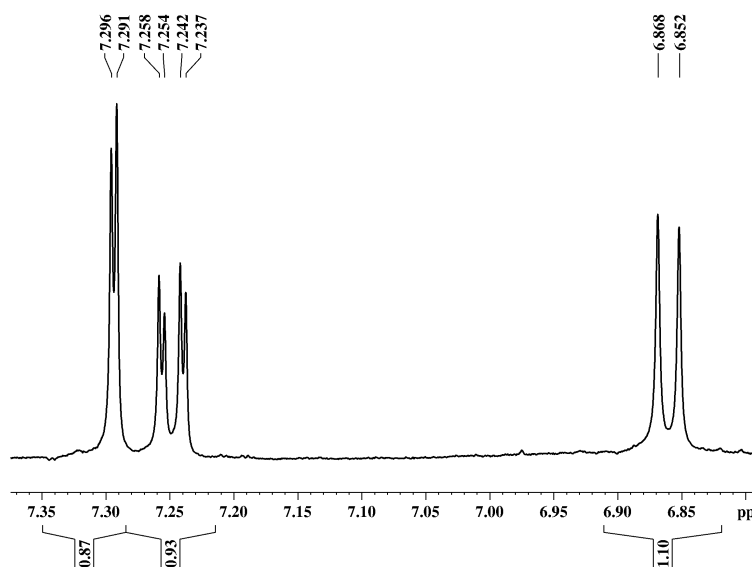
^aLiteratura: FERREIRA *et al.* 2016; ^b RMN de ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆); ^c RMN de ¹³C (125 MHz, DMSO-*d*₆); ^d DEPT 135 (125 MHz, DMSO-*d*₆); ^e HMBC ¹³C-¹H (125 500 MHz, DMSO-*d*₆); ^f RMN de ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆); ^g RMN de ¹³C (125 MHz, DMSO-*d*₆)

5.2.5 Análise dos dados de RMN 1D e 2D da 5DP13A-36

Todos os dados de RMN 1D e 2D (Anexos 49 e 51-55) foram organizados na Tabela 7. Posteriormente, a análise conjunta dos espectros de RMN de ^1H (Anexo 49), ^{13}C (Anexo 51) e DEPT 135 (Anexo 52), revelou a presença de vinte e um carbonos e treze hidrogênios.

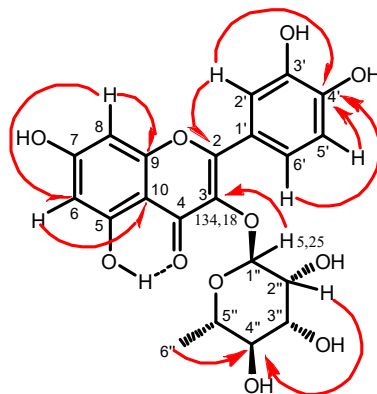
Continuando a discussão dos dados, o RMN ^1H apresenta um sinal em δ 12,64 indicando a presença de um próton formando ponte de hidrogênio intramolecular, possivelmente com a carbonila observada no espectro de ^{13}C em δ 177,7. A ampliação do espectro de hidrogênio (Figura 33) sugere a presença de três hidrogênios com um sinal de duplete em δ 7,30 (1H, *d*, *J* 2,12 Hz) acoplado a longa distância com um segundo hidrogênio de δ 7,25 (1H, *dd*, *J* 8,3 e 2,1 Hz), e este acoplado em *orto* ao terceiro hidrogênio δ 6,86 (1H, *d*, *J* 8,3 Hz).

Figura 33 - A ampliação espectro de hidrogênio da amostra 5DP13A-36



A constante de acoplamento dos hidrogênios em δ 6,20 (*d*, *J* 1,85 Hz) e δ 6,38 (*d*, *J* 1,85 Hz), indica estarem em posição meta. O sinal em δ 0,81 (3H, *d*, *J* 6,12 Hz), juntamente com os sinais no espectro de ^{13}C , no entorno de δ 70 sugere a presença da metila de uma ramnose. A constante de acoplamento do sinal em δ 5,25 (1H, *d*, *J* 1,30 Hz), do hidrogênio anomérico, indica uma ligação α -glicosídica (ZIELINSKA-PISKLAK *et al.*, 2014; ERHABOR, IWU e AMADI (2021). Algumas correlações do espectro de HMBC (Anexo 55) são apresentadas na Figura 34, em particular a correção entre o hidrogênio anomérico em δ 5,25 ppm e o carbono em 134,18 ppm, indicativa da ligação glicosídica.

Figura 34 - Correlações de HMBC da molécula de quercitrina



Os dados apresentados, comparados com a literatura, mostram que a substância 5DP13A-36 (ou 5DP66-B) trata-se da quercitrina, quercetina 3-O- α -ramnosídeo.

Tabela 7 - Dados de RMN 1D e 2D da amostra 5DP13A-36 em comparação com dados da literatura para a quercitrina

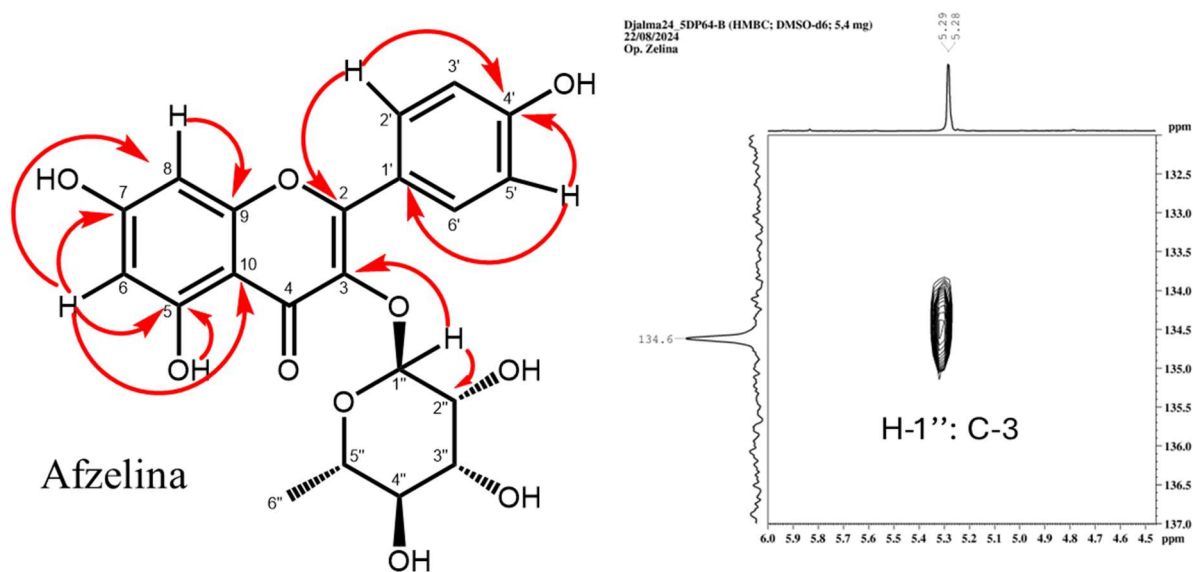
C/H	5DP13A-36 Quercitrina					Literatura ^a	
	δ ¹ H ^b	δ ¹³ C ^c	DEPT ^d	HMBC ^e		δ ¹ H ^f	δ ¹³ C ^g
2	-	156,5 C-2	C				157,5
3	-	134,2 C-3	C				134,3
4	-	177,7 C-4	C				177,9
C-5-OH	12,66 (1H, <i>s</i>)	161,3 C-5	C			12,64 (1H, <i>s</i>)	161,4
6	6,20 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> 1.8 Hz)	98,8 C-6	CH	C-5; C-7; C-10		6,10 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> 2.0 Hz)	98,8
C-7-OH	-	164,5 C-7	C				164,3
8	6,38 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> 1.8 Hz)	93,7 C-8	CH	C-6; C-7; C-9; C-10		6,46 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> 2.0 Hz)	93,8
9	-	157,2 C-9	C				156,6
10	-	104,0 C-10	C				104,2
1'	-	121,1 C-1'	C				121,3
2'	7,30 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> 2.1 Hz')	115,5 C-2'	CH	C-2; C-1'; C-3'; C-4'		7,30 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> 2,4 Hz)	115,8
C-3'-OH	-	145,2 C-3'	C				145,3
C-4'-OH	-	148,5 C-4'	C				148,6
5'	6,86 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> 8,2 Hz)	115,6 C-5'	CH	C-3'C-4'; C-6'		6,88 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> 8,0 Hz)	115,6
6'	7,25 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> 2,1 e 8,2 Hz)	120,7 C-6'	CH	C-4'		7,26 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> 2,4 e 8,4 Hz, 1H, H-6')	120,9
1''	5,25 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> 1.30 Hz)	101,8 C-1''	CH	C-3		5,25 (<i>d</i> , <i>J</i> 1,2 Hz)	101,9
2''	3,97 (1H, <i>m</i>)	70,6 (C-2'')	CH	C-4''		4,97-3,20 (H-2'' - H-5'' ramnosil)	70,5
C-2''-OH	-						
3''	3,51 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> 3,3 e 9,3 Hz)	70,3 (C-3'')	CH				70,2
C-3''-OH	-						
4''	3,21 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> 6,1 e 9,3 Hz)	71,2 C-4''	CH				71,3
C-4''-OH	-						
5''	3,15 (1H, <i>m</i>)	70,1 C-5''	CH				70,8
6''	0,81 (3H, <i>d</i> , <i>J</i> 6.12 H _z)	17,5 C-6''	CH ₃	C-4''		0,82 (3H, <i>d</i> , <i>J</i> 6,0 Hz)	17,6

^aLiteratura: ERHABOR, IWU e AMADI (2021); ^b RMN de ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆); ^c RMN de ¹³C (125 MHz, DMSO-*d*₆); ^d DEPT 135 (125 MHz, DMSO-*d*₆); ^e HMBC ¹³C-¹H (125 e 500 MHz, DMSO-*d*₆); ^f RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆); ^g RMN de ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆)

5.2.6 Análise dos dados de RMN 1D e 2D da 5DP64-B

O espectro de EMAR da amostra, apresenta no modo negativo $[M-H]^-$ m/z 431,0993 e fórmula molecular $C_{21}H_{19}O_{11}$ (Anexo 56). No espectro de RMN de ^1H da amostra 5DP64-B (Anexo 57), os sinais δ 7,74 (1H, *d*, J 8,7 Hz); e δ 6,91 (1H, *d*, J 8,7 Hz), ambos com integral para dois hidrogênios, indicam um anel benzênico dissustituído em posição *para*. A constante de acoplamento dos sinais δ 6,19 (1H, *d*, J 1,9 Hz) e δ 6,39 (1H, *d*, J 1,9 Hz), é indicação de hidrogênios em posição *meta*. O sinal em δ 0,780 (3H, *d*, J 5,7 Hz) é característico de metila de uma ramnose e o sinal em δ 5,28 (1H, *d*, J 1,1 Hz) do hidrogênio anomérico indica tratar-se da afzelina. A afzelina é uma glicosiloxiflavona, ligado a um resíduo ramnosil na posição 3 por meio de uma ligação glicosídica, conforme correlação de HMBC (Anexo 63) da molécula e ampliação do espectro de HMBC (Figura 35)

Figura 35 - Correção de HMBC da 5DP64-B e ampliação da correlação $[H-1'' - C-3]$



Todos os dados de RMN 1D e 2D (Anexos 57 e 59-63) foram organizados na Tabela 8.

Tabela 8 - Dados de RMN 1D e 2D da amostra 5DP64-B em comparação com dados da literatura para a afzelina

C/H	5DP64 – B: Afzelina				Literatura ^a	
	δ ¹ H ^b	δ ¹³ C ^c	DEPT ^d	HMBC ^e	δ ¹ H ^f	δ ¹³ C ^g
2	-	157,0 C-2	C		-	157,1
3	-	134,6 C-3	C		-	134,2
4	-	178,1 C-4	C		-	177,6
C-5-OH	-	161,7 C-5	C	C-5; C-6	-	161,2
6	6,19 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> 1,9 Hz)	99,3 C-6	CH	C-7; C-8; C-10	6,40(1H, <i>d</i> ; <i>J</i> 2,0 Hz)	98,7
C-7-OH	-----	165,1 C-7	C		-----	164,2
8	6,39 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> 1,9 Hz)	94,3 C-8	CH	C-9	6,22 (1H, <i>d</i> ; <i>J</i> 2,0 Hz)	93,7
9	-	157,0 C-9	C		-	157,4
10	-	104,5 C-10	C		-	104,1
1'	-	121,0 C-1'	C		-	120,5
2'	7,74 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> 8,7 Hz)	131,1 C-2'	CH	C-2; C-4'	7,76 (1H, <i>d</i> ; <i>J</i> 8,8 Hz)	130,5
C-3'	6,91(1H, <i>d</i> , <i>J</i> 8,74 Hz)	115,9 C-3'	CH	C-1'; C-4'	6,92 (1H <i>d</i> ; <i>J</i> 8,8 Hz)	115,3
C-4'-OH	-	160,5 C-4'	C		-----	159,9
5'	6,91(1H, <i>d</i> , <i>J</i> 8,7 Hz)	115,9 C-5'	CH		6,78 (1H, <i>d</i> ; <i>J</i> 8,8 Hz)	115,3
6'	7,74 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> 8,7 Hz)	131,1 C-6'	CH		7,62(1H, <i>d</i> ; <i>J</i> 8,8 Hz)	130,5
1''	5,28 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> 1,1 Hz)	102,2 C-1''	CH	C-3; C-2''	5,30 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> 1,5Hz)	101,7
2''	3,05 (1H, <i>m</i>	71,1 C-2''	CH			70,3
C-2''-OH	-	-			-	-
3''	3,97(1H, <i>m</i>)	70,5 C-3''	CH		-	70,5
C-3''-OH	-----	-----			-	-
4''	3,47 (1H, <i>m</i>)	70,8 C-4''	CH		-	71,1
C-4''-OH	-----	-----			-	-----
5''	3,04 (1H, <i>m</i>)	71,5 C-5''	CH		-	70,0
6''	0,780 (3H, <i>d</i> , <i>J</i> 5,7 Hz)	17,9 C-6''	CH ₃		0,80 (3H, <i>d</i> , <i>J</i> 5,8 Hz)	17,4

^aLiteratura:FUKUNAGA et al. (1988); ^b RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆); ^c RMN de ¹³C (75 MHz, DMSO-*d*₆); ^d DEPT 135 (75 MHz, DMSO-*d*₆); ^e HMBC ¹³C-¹H (75 e 300 MHz, DMSO-*d*₆); ^f RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆); ^g RMN de ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆)

5.2.7 Análise da amostra 5DP71F

A substância 5DP71F apresenta espectro de EMAR [M-H] m/z 289,0721 e fórmula molecular $C_{15}H_{14}O_6$ (Anexo 64). O espectro de ^{13}C (Anexo 66), mostra 15 carbonos, e o espectro de DEPT 135 (Anexo 67) apresenta um carbono metilênico, sete carbonos metínicos e por diferença, sete carbonos quaternários. O espectro de ^1H (Anexo 65) mostra os hidrogênios δ 5,91 (1H, *d*, J 2,2 Hz) e δ 5,71 (1H, *d*, J 2,2 Hz) em posição *meta*. Os sinais dos hidrogênios metilênicos δ 2,68 (1H, *dd*, J 16,5 e 4,4 Hz), δ 2,46 (1H, *dd*, J 16,5 e 3,1 Hz), estão acoplados a δ 4,00 (*sl*) (WATANABE, 1998). O sinal δ 4,75 (*sl*, 1H), concordante com Barreiros (2005, p. 183), e com os dados da literatura na Tabela 9, juntamente com as correlações HMBC (Anexo 70) e (Figura 36), permitiram inferir que a amostra 5DP71F é a epicatequina.

Figura 36 - Correlações HMBC da molécula epicatequina

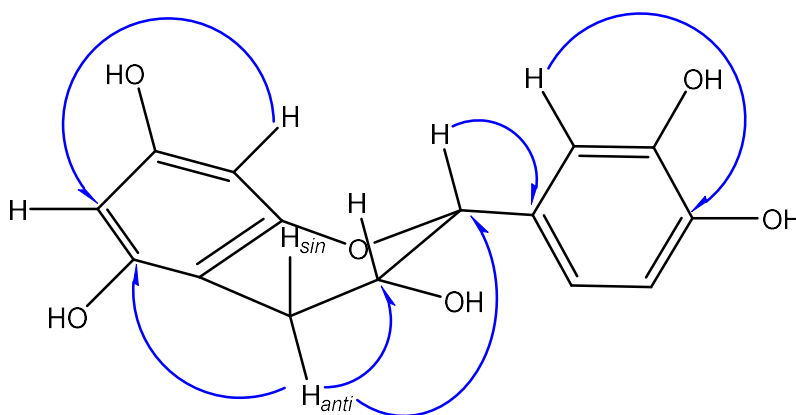


Tabela 9 - Dados de RMN 1D e 2D da amostra 5DP71F e comparação com dados da literatura para epicatequina

C/H	5DP71F - epicatequina				Literatura ^a	
	δ ¹ H ^b	δ ¹³ C ^c	DEPT ^d	HMBC ^e	δ ¹ H ^f	δ ¹³ C ^g
Posição	(δ ¹ H) RMN 300 MHz; DMSO- <i>d</i> ₆	(δ ¹³ C) RMN 75 MHz; DMSO- <i>d</i> ₆		HMBC	(δ ¹ H) RMN 399,65 MHz; DMSO- <i>d</i> ₆ Lit.	(δ ¹³ C) RMN 100,04 MHz; DMSO- <i>d</i> ₆ Lit.
2	4,75 (1H, <i>sl</i>)	78,5	CH	C-1'; C-2'; C-6'	4,74 (1H, <i>s</i>)	78,6
3	4,00 (1H, <i>sl</i>)	65,4	CH		3,92 (1H, <i>m</i>)	66,2
4a (anti)	2,68 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> 16,6 e 4,4 Hz)	28,7	CH ₂	C-3; C-10; C-5	2,46 - 2,71 (2H, <i>m</i>)	28,0
4b (sin)	2,46 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> 16,6 e 3,1 Hz)	28,7	CH ₂		-	
5-OH	----	156,2	C		-	156,5
6	5,91 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> 2,2 Hz)	95,5	CH	C-10	5,89 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> 2 Hz)	96,0
7-OH	----	157,0	C		-	156,2
8	5,71 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> 2,2 Hz)	94,5	CH	C-6; C-10	5,73 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> 2 Hz)	95,4
9	-----	156,7	C		-	156,2
10	-----	98,9	C		-	99,7
1'	-----	131,1	C		-	131,3
2'	6,66 (1H, <i>sl</i>)	115,2	CH		6,68 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> 8 Hz)	115,7
3'-OH	---	144,9	C			144,4
4'-OH	---	144,9	C			144,5
5'	6,88 (1H, <i>sl</i>)	115,3	CH		6,89 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> 8 Hz)	114,8
6'	6,65 (1H, <i>sl</i>)	118,4	CH	C-1'; C-2'; C-6'	6,90 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> 2; 8 Hz)	118,00

^aLiteratura: WATANABE, M. 1998; ^b RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆); ^c RMN de ¹³C (75 MHz, DMSO-*d*₆); ^d DEPT 135 (75 MHz, DMSO-*d*₆); ^e HMBC ¹³C-¹H (75 e 300 MHz, DMSO-*d*₆); ^f RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆); ^g RMN de ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆)

5.2.8 Análise dos dados espectrométricos da amostra 5DP71E

A substância 5DP71E apresenta no espectro de CL-IES(-)-EMAR $[M-H]$ m/z 183,0311 e fórmula molecular $C_8H_7O_5$ (Anexo 71). O espectro de hidrogênio (Anexo 72) apresenta somente dois sinais, sendo um sinal de metóxila em δ 3,73 (3H, s) e outro sinal em δ 6,93 (2 H, s). O espectro de RMN de ^{13}C (Anexo 73) apresenta seis carbonos, sendo o sinal em δ 166,8 de carbono de carbonila de éster. O experimento DEPT 135 (Anexo 74), mostra um sinal de carbono metínico em δ 108,9 e uma metila em δ 52,1. Juntamente com o mapa de correlações HMBC (Anexo 77), os dados indicam que a amostra 5DP71E é o galato de metila (Figura 37). A Tabela 10, resume os dados obtidos a partir dos espectros de RMN 1D e 2D da amostra (Anexos de 72 a 77).

Figura 37 - Correlações HMBC da molécula do galato de metila

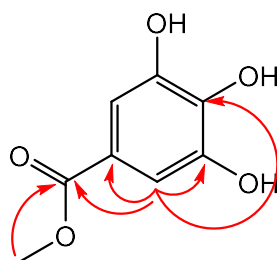


Tabela 10 - Dados de RMN 1D e 2 D do galato de metila

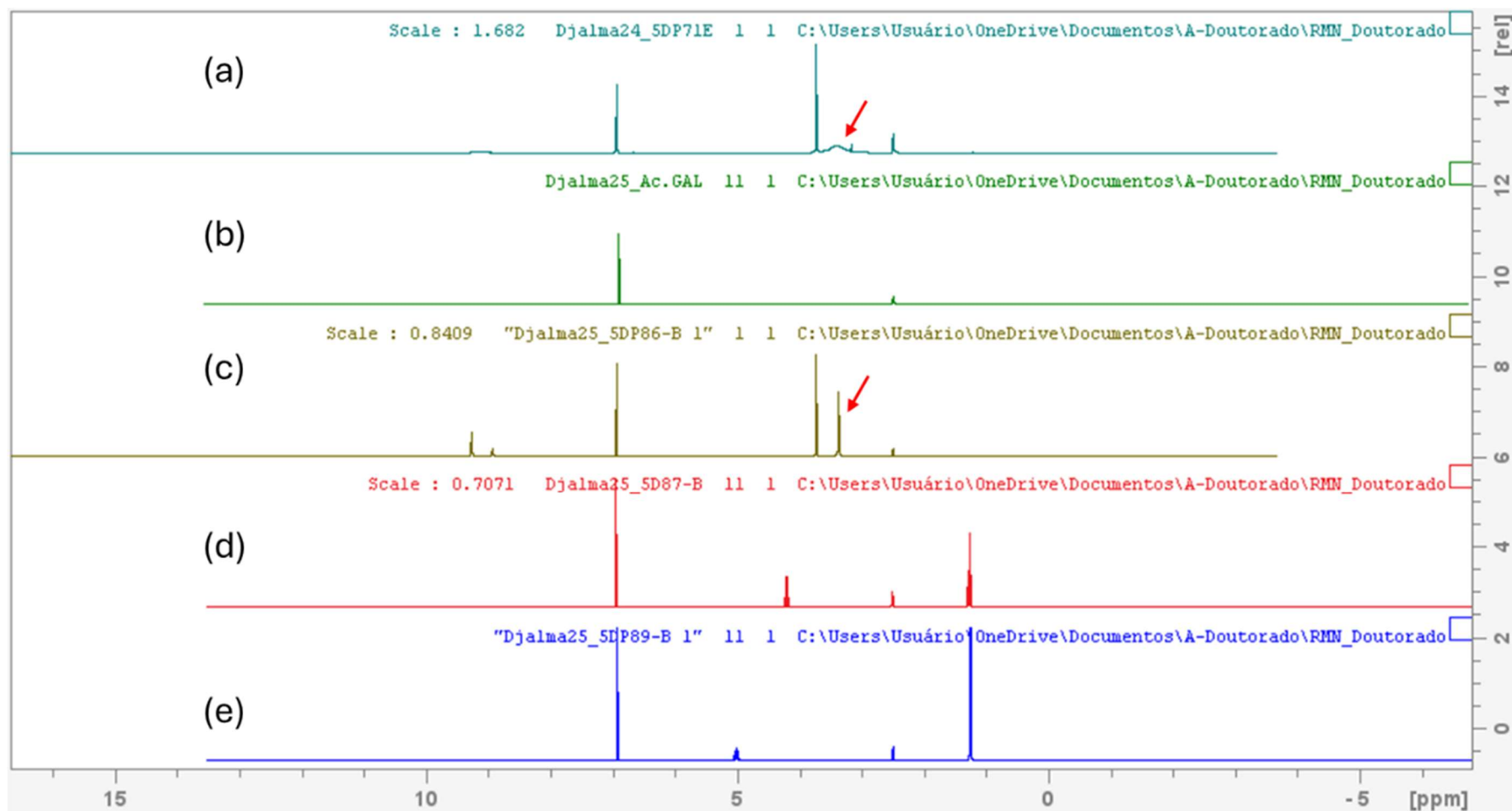
C/H	5DP71F - Galato de metila				Literatura ^a	
	δ $^1H^b$	δ $^{13}C^c$	DEPT ^d	HMBC	δ $^1H^f$	δ $^{13}C^g$
1	----	119,7	C		----	119,75
2	6,93 (2H, s)	108,9	CH	C-1; C-3; C-4; C-7	6,94 (2H, s)	108,95
3-OH	----	146,0	C		9,26 (2H, s, H-30/5)	146,04
4-OH	----	138,9	C		8,93 (1H, s)	138,87
5-OH	----	----	C		---	----
6	----	----	--		----	----
7	----	166,8	C		----	166,78
8-OMe	3,74 (3H, s)	52,1	CH ₃	C-7	3,75 (3H, s)	52,05

^aLiteratura: SANCHEZ *et al.* 2013; ^b RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6); ^c RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6); ^d DEPT 135 (75 MHz, DMSO- d_6); ^e HMBC ^{13}C - ^1H (75 e 300 MHz, DMSO- d_6); ^f RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6); ^g RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6)

5.2.9 *Análise dos dados de RMN dos ésteres sintéticos*

Os ésteres sintéticos apresentam espectros CL-ESI(-)-EMAR, RMN de ^1H e ^{13}C (Anexo 78-86) com dados comparáveis aos da literatura (BAHEEJ *et al.*, 2023; OOSHIRO *et al.*, 2009; SANCHEZ *et al.*, 2013). A Figura 38 mostra o empilhamento dos espectros de hidrogênios do galato de metila isolado da *S. pubicarpa*, dos análogos sintéticos (Figura 39) e do ácido gálico comercial utilizado nas sínteses. Os sinais em destaques são referentes ao sinal de água no galato de metila, enquanto nos outros espectros esse pico foi suprimido. Os sinais que aparecem em torno de δ 9,0 são referentes a hidroxilas fenólicas e o sinal em δ 6,93 são dos hidrogênios benzênicos. A Tabela 11 reuni os dados de RMN de ^1H e ^{13}C dos ésteres do ácido gálico.

Figura 38 - Empilhamento dos espectros de RMN de ^1H do galato de metila isolado da *S. pubicarpa*, análogos sintéticos e ácido gálico comercial

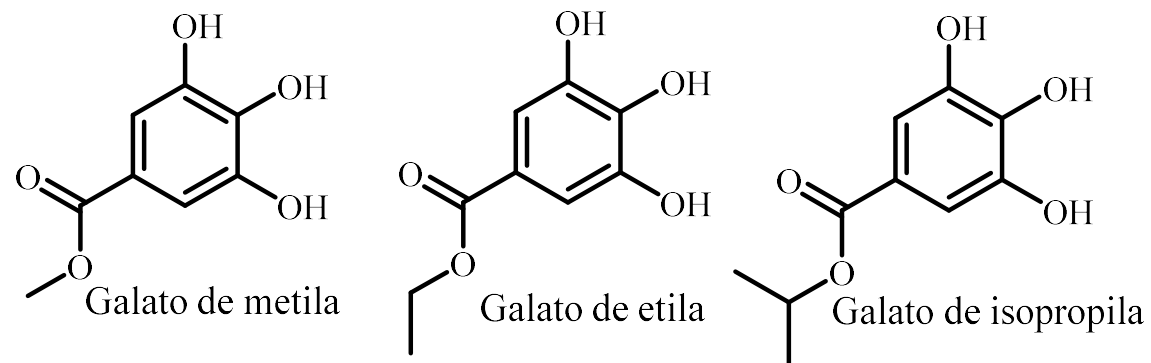


Espectros de RMN de ^1H : (a) galato metila (5DP71E) isolado da planta, (b) ácido gálico comercial, (c) galato metila sintético, (d) galato de etila sintético, (e) galato de isopropila sintético.

Tabela 11 - Dados de RMN de ^1H e ^{13}C dos ésteres do ácido gálico

Posição	$(\delta \text{ } ^1\text{H})$ RMN 300 MHz; $\text{DMSO}-d_6$			$(\delta \text{ } ^{13}\text{C})$ RMN 75 MHz; $\text{DMSO}-d_6$		
	Galato de metila	Galato de etila	Galato de isopropila	Galato de metila	Galato de etila	Galato de isopropila
1	----	----	----	119,7	120,1	120,4 (C-1)
2	6,93 (2H, <i>s</i> , H-2/H-6)	6,94 (2H, <i>s</i> , H-2/H-6)	6,93 (2H, <i>s</i> , H-2/H-6)	108,9	108,8	108,8 (C-2)
3-OH	9,26 (2H, <i>s</i> , 3-OH/5-OH)	----	----	146	145,8	145,7 (C-3/C-5)
4-OH	8,93 (1H, <i>s</i> 5-OH)	----	----	138,9	138,5	138,4 (C-4)
5-OH	----	----	----	----	----	----
6	----	----	----	----	----	----
7	----	----	----	166,8	166,3	165,8 (C-7)
8	3,74 (3H, <i>s</i> , 8-OMe)	4,20 (2H, <i>q</i> , <i>J</i> 7,1 Hz, H-8)	5,02 (1H, <i>sept</i> , <i>J</i> 6,3 Hz, H-8)	52,1	60,6	67,7 (C-8)
9	----	1,26 (3H, <i>t</i> , 3H, <i>J</i> 7,11Hz, H-9)	1,27 (6H, <i>d</i> , <i>J</i> 6,25 Hz, H-9)	----	14,7	22,2 (C-9/C-10)
10	----	----	----	----	----	----

Figura 39 - Galatos de alquilas sintéticos



5.3 Atividade antimalárica dos extratos, frações, metabólitos isolados e análogos sintéticos da *Simaba pubicarpa*

Foi realizado o teste de inibição do crescimento *in vitro* da cepa K1 de *P. falciparum* com extratos e frações de diferentes polaridades (Tabela 12) e com metabólitos isolados e análogos sintéticos de *S. pubicarpa* (Tabela 13). Na Tabela 12, os melhores desempenhos (menores CI_{50} , em $\mu\text{g/mL}$) concentram-se nas folhas, principalmente nas frações de coluna obtidas com metanol, com destaque para 5DP22G (2,82 $\mu\text{g/mL}$) e 5DP22E (3,56 $\mu\text{g/mL}$). Na casca, extratos/fases em hexano e acetona também apresentam boa atividade (5,65–5,73 $\mu\text{g/mL}$), ao passo que, para o lenho, os extratos em hexano e acetato de etila são moderadamente ativos ($\approx$ 9,5–9,7 $\mu\text{g/mL}$) e o extrato em metanol é menos ativo (20,8 $\mu\text{g/mL}$). Esses resultados indicam que a atividade antiplasmódica pode estar associada a constituintes extraídos em diferentes faixas de polaridade, dependendo da parte vegetal, e que o fracionamento das folhas foi determinante para alcançar os menores valores de CI_{50} .

Na Tabela 13, os destaques em CI_{50} (μM) foram afzelina (8,88 μM) e o galato de metila (15,1 μM), sendo este último consistente entre a amostra isolada e o padrão sintético, o que reforça a relação entre estrutura química e atividade. Em um nível intermediário, observam-se quercitrina (12,6 μM), isovitexina (17,68 μM), ácido gálico (18,28 μM) e vitexina (21,3 μM), enquanto (epi)catequina apresentou baixa potência (124,71 μM). Na comparação com a literatura, a afzelina já foi descrita como inativa frente à cepa 3D7 ($52,77 \pm 1,84 \mu\text{M}$) (Jun *et al.*, 2025) e ativa frente à cepa CDC1 ($CI_{50} = 1,1 \mu\text{g/mL}$; 2,54 μM) (Liu *et al.*, 2007), o que sugere influência de cepa, protocolo experimental e/ou pureza. A quercitrina apresentou, em outros estudos, atividade ligeiramente maior contra a cepa CDC1 ($CI_{50} = 4,1 \mu\text{g/mL}$; 9,14 μM) (Liu *et al.*, 2007) do que a observada aqui contra K1. Para (epi)catequina, a baixa atividade em K1 é compatível com os dados de Jaidee *et al.* (2009) para a mesma cepa ($CI_{50} > 172 \mu\text{M}$), apesar de existirem relatos de maior atividade em outras condições experimentais. O galato de metila, amplamente distribuído em extratos vegetais, apresenta efeitos antiplasmódicos que variam de altamente ativo a moderadamente ativo (para uma discussão, ver Pereira *et al.*, 2025); no presente trabalho, o valor obtido (15,1 μM) é comparável ao descrito para a cepa 3D7 por Degotte *et al.* (2021) (27,1 μM). Por fim, para os ésteres do ácido gálico, observa-se tendência de redução de atividade com o aumento da cadeia alcoólica, em concordância com a análise de relação estrutura–atividade discutida no presente estudo.

Tabela 12 - Atividade antimalárica de extratos, frações da *S. pubicarpa*

Amostras	Parte da Planta	Classificação da amostra	Solvente de extração	CI ₅₀ (µg/mL)	IC (95%)	Classificação da atividade
5DP9B-1A1	Folhas	Fração de coluna	MeOH	11,1	7,18 - 17,0	AM
3DP59A	Lenho	Extrato	Hex	9,73	8,08 – 10,2	A
3DP59B	Lenho	Extrato	AcOEt	9,47	8,45 - 10,63	A
3DP59C	Lenho	Extrato	MeOH	20,8	16,0 - 26,9	AM
4DP15A	Casca	Extrato	Hex	5,73	4,65 - 7,05	A
4DP10	Casca	Extrato	MeOH	11,7	8,03 – 17,0	AM
4DP11A	Casca	Fase Hex	Hex	5,7	4,51 – 7,20	A
4DP11C	Casca	Fase Acetona	Acetona	5,65	4,11 – 7,77	A
5DP21B	Folhas	Fase (sólida)	(CH ₃) ₂ CO:H ₂ O (1:1)	8,02	2,06 - 18,5	A
5DP22A	Folhas	Fração de coluna	MeOH:H ₂ O (3:7)	18,12	11,55 - 30,53	AM
5DP22B	Folhas	Fração de coluna	MeOH:H ₂ O (3:7)	9,38	5,86 - 14,4	A
5DP22D	Folhas	Fração de coluna	MeOH:H ₂ O (2:3)	14,81	10,64 - 19,85	AM
5DP22E	Folhas	Fração de coluna	MeOH:H ₂ O (1:1)	3,56	3,11 - 4,05	A
5DP22F	Folhas	Fração de coluna	MeOH:H ₂ O (7:3)	25,54	18,77 - 34,93	AM
5DP22G	Folhas	Fração de coluna	MeOH	2,82	2,49 - 3,19	A
5DP71G	Folhas	Fração de coluna	MeOH:H ₂ O (1:1)	25,11	NC	AM

Critério de atividade *in vitro* para extratos e frações: CI₅₀ ≥ 50,0 µg/mL = inativo (I); 50,0 > CI₅₀ ≥ 10,0 µg/mL = atividade moderada (AM); 10,0 > CI₅₀ ≥ 1,0 µg/mL = ativo (A); CI₅₀ < 1,0 µg/mL = muito ativo (MA); NC: não calculado.

Fonte: Lais G. Jordão e Marlene R. M. Camargo/ Laboratório de cultivo de *P. falciparum* e testes de atividade antiplasmodica/INPA

Tabela 13 - Atividade antimalárica de metabólitos naturais e análogos sintéticos da *S. pubicarpa* e comparação com a literatura

Amostras	Parte da Planta	Classificação da amostra	CI ₅₀ (µg/mL)	IC (95%)	CI ₅₀ (µM)	IC (95%)	Classificação da atividade	Referência	
								CI ₅₀ (µM) / Cepa	Autor
2DP40F3-6	Lenho	Piscidinol A	NT	NT	----	-----	---	36,7 / W2	IRUNGU <i>et al.</i> , 2015
2DP41F6-9	Lenho	Niloticina	NT	NT	----	-----	---	77 / W2	IRUNGU <i>et al.</i> , 2015
2DP84A	Lenho	9-metoxicantina-6-ona	NT	NT	----	-----	---	-----	-----
5DP13A-18	Folha	Isovitexina	7,65	2,34 - 16,6	17,68	5,4 - 38,4	AM	>10 / K1	LAGNIKA <i>et al.</i> 2009.
5DP30P	Folha	Vitexina	9,21	1,16 - 28,5	21,3	2,7 - 66,0	I	4,4 / K1	LAGNIKA <i>et al.</i> 2009.
5DP13A-36	Folha	Quercitrina	6,66	4,61 - 6,86	12,6	10,3 - 15,3	AM	71,4 / FcB1	HOUEL <i>et al.</i> 2016
5DP64-B	Folha	Afzelina	3,84	3,03 - 4,76	8,88	7,0 - 11,0	AM	52,77 / 3D7	JUN <i>et al.</i> 2025
5DP71F	Folha	(Epi)catequina	36,2	32,1 - 40,8	124,71	110,7 - 140,7	I	>172,2/ K1	JAIDEE <i>et al.</i> 2015
5DP71E	Folha	Galato de metila	2,78	2,44 - 3,20	15,1	13,3 - 17,4	AM	27,1 / 3D7	DEGOTTE <i>et al.</i> 2021
5DP86-B	Sintético	Galato de metila	3,51	2,79 - 4,31	15,1	15,2 - 23,4	AM	27,1 / 3D7	DEGOTTE <i>et al.</i> 2021
5DP87-B	Sintético	Galato de etila	4,35	3,52 - 5,49	21,96	17,8 - 27,7	I	22 / 3D7	DEGOTTE <i>et al.</i> 2021
5DP89-B	Sintético	Galato de isopropila	7,69	6,67 - 8,87	36,26	33,7 - 44,8	I	34,0 / 3D7	DEGOTTE <i>et al.</i> 2021
Ac.GAL	Comercial	Ácido gálico	3,11	2,06 - 4,46	18,28	9,7 - 21,0	AM	68,2 / 3D7	DEGOTTE <i>et al.</i> 2021
Difosfato de cloroquina	Comercial	Substância	0,182	0,112 - 0,285	0,353	0,2 - 0,6	A	controle	
Cloridrato de quinina	Comercial	Substância	0,062	0,032 - 0,114	0,172	0,1 - 0,3	A	controle	

Critério de atividade *in vitro* para substâncias puras: CI₅₀ ≥ 20,0 µM = inativo (I); 20,0 > CI₅₀ ≥ 5,0 µM = atividade moderada (AM); 5,0 > CI₅₀ ≥ 0,1 µM = ativo (A); CI₅₀ < 0,1 µM = muito ativo (MA); NT: Não foi testado.

Fonte: Lais G. Jordão e Marlene R. M. Camargo/ Laboratório de cultivo de *P. falciparum* e testes de atividade antiplasmodica/INPA

6 CONCLUSÃO

Os testes *in vitro* indicam que extratos e frações mais apolares da casca e lenho apresentam maior potencial antimalárico. O extrato hexânico da casca ($CI_{50}=5,73$ mg/mL) apresenta melhor atividade que o extrato de mesmo solvente do lenho ($CI_{50}=9,73$ mg/mL). Essa tendência é confirmada em seus extratos metanólicos da casca ($CI_{50}=11,7$ mg/mL) e do lenho ($CI_{50}=20,8$ mg/mL), respectivamente. Para as folhas, os melhores desempenhos (menores CI_{50} , em μ g/mL) concentra-se nas frações de coluna obtidas com metanol.

A partir das folhas, foram isolados três flavonóis, duas flavonas e um éster do ácido gálico. Entre os flavonóis isolados a afzelina ($CI_{50}=8,8$ μ M) mostrou melhor atividade antimalárica, inclusive melhor que as flavonas. Estranhamente não foi encontrado na literatura flavonoides isolados em outras espécies do gênero *Simaba*.

O galato de metila ($CI_{50}=15,1$ μ M), apresentou melhor atividade antimalárica que o ácido gálico e seus derivados análogos sintéticos. A relação estrutura-atividade mostra que os análogos sintéticos têm sua atividade diminuída à medida que aumenta a cadeia alquílica do éster. Resultado similar foi obtido por Degotte *et al.* (2021) ao testar os referidos galatos contra a cepa *Plasmodium falciparum* 3D7.

O alcaloide 9-metoxicantina-6-ona e os triterpenos niloticina e piscidinol A, isolados do lenho da *S. pubicarpa*, haviam sido isolados anteriormente por Saraiva *et al.* (2006) e Nunomura *et al.* (2012) a partir de outras duas *Simabas* spp, a *S. polyphylla* e a *S. guianensis*. Alcaloides do tipo cantinona, como a 9-metoxicantina-6-ona, são considerados marcadores químicos da família Simaroubaceae e sua presença no novo táxon se constitui em uma importante informação para a quimiofenética da *Simaba pubicarpa*.

Este estudo representa a primeira contribuição para o conhecimento da composição químico da *S. pubicarpa*, e da atividade antimalárica *in vitro*, fornecendo bases para futuras pesquisas, especialmente sobre novos agentes antimaláricos de origem natural.

7 REFERÊNCIAS

ANDRADE-NETO, Valter F. et al. *In vitro* inhibition of *Plasmodium falciparum* by substances isolated from Amazonian antimalarial plants. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 102, p. 359-366, 2007. <https://doi.org/10.1590/S0074-02762007000300016>

ARAUJO, K. A. L. G.; SOUSA, H. G.; GOMES, J. P. S.; SOUSA, R. P.; FERREIRA, É. L. F.; PUPO, M. T.; COSTA, P. M. S.; PESSOA, C.; RAI, M.; CHAVES, M. H.; VIEIRA-JUNIOR, G. M.. Phytochemical profile, antioxidant and cytotoxic activities of leaf extract of *dipteryx lacunifera* Ducke. *Quim. Nova*, Vol. 48, No. 2, e-20250070, 1-8, 2025. <http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20250070>

ARAUJO, N. M. P.; ARRUDA, H. S.; SANTOS, F. N.; MORAIS, D. R.; PEREIRA, G. A.; PASTORE, G. M. (2020). LC-MS/MS screening and identification of bioactive compounds in leaves, pulp and seed from *Eugenia calycina* Cambess. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109556>

BAHEEJ, Muhammad Salman Shahid; KHAN, Ajmal; JABEEN, Almas; ZAIB, Sumera; SHAH, Syed Adnan Ali; ISMAIL, Hammad; CHOUDHARY, M. Iqbal. Synthesis and biological evaluation of gallic acid esters as phagocyte oxidative burst inhibitors. *Journal of National Science Foundation of Sri Lanka*, v. 51, n. 3, 2023. [doi: 10.4038/jnsf.v51i3.11199](https://doi.org/10.4038/jnsf.v51i3.11199)

BARBOSA, L. F.; BRAZ-FILHO, R.; VIEIRA, I. J. (2011). Chemical constituents of plants from the genus *Simaba* (Simaroubaceae). *Chemistry & Biodiversity*, v. 8, n. 12, p. 2163-2178, <https://doi.org/10.1002/cbdv.201000323>

BARREIROS, A. L. B. (2005). Constituintes químicos bioativos de *Dioclea violacea*. Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal da Bahia UFBA. <http://www.repositorio.ufba.br/ri/handle/ri/9952>

BHATTACHARYYA, Jagannath; CROWLEY, Susan; REID, Margaret; TÖKÉS, Zoltán A. Isolation and characterization of the 'flavonoid crystals' of three species of *Prosthechea*: chemotaxonomic considerations of the genera *Prosthechea* and *Encyclia*. *Natural Product Communications*, v. 2, n. 7, 2007. <https://share.google/9ITuj8dL6X9T64oxr>

BOENO, Scheila Ines; ZANCHET, Elisa; SCHINAIDER, Andreia; PINTO, Éverson; GARCIA, Cleber; NOGUEIRA, César-Zucco; MAFRA, Áurea Liria; BELTRAME, Flávio Henrique; MONACHE, Francesco delle; MIGUEL, Obdulio Gomes; CUMAN, Roberto Kenji Nakamura; CORDEIRO, Lucimara Machinski. Antiplasmodial and cytotoxic effects of the methanol extract, canthinone alkaloids, squalene and protolimonoid-type triterpenes from *Homalolepis suffruticosa* roots. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 285, p. 114890, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.114890>

BRASIL. Boletim Epidemiológico, Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente, Ministério da Saúde. Dia da Malária nas Américas – um panorama da malária no Brasil em 2022 e no primeiro semestre de 2023. Volume 55 | N.º 1 | 18 jan. 2024. <https://share.google/49IxiJFXxEmPccJ5I>

CABRAL, Jose A.; MCCHESENEY, James D.; MILHOUS, Wilbur K. A new antimalarial quassinoid from *Simaba guianensis*. *Journal of Natural Products*, v. 56, n. 11, p. 1954-1961, 1993. <https://doi.org/10.1021/np50101a014>

DEGOTTE, G.; PIROTTE, B.; FRÉDÉRICH, M.; FRANCOTTE, P. 561 Polyhydroxybenzoic acid derivatives as potential new antimalarial agents. 562 *Archiv der Pharmazie*, v. 354, n. e2100190, p.1 - 13, 2021. <https://doi.org/10.1002/ardp.202100190>

DEVECCHI, M. F.; PIRANI, J. R. A new species of *Simaba* sect. *Grandiflorae* (Simaroubaceae) from Jalapão region, Tocantins, Brazil. *Phytotaxa*, v. 227, n. 2, p. 167–174, 2015. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.227.2.6>

DEVECCHI, Marcelo & THOMAS, William & PIRANI, Jose Rubens. (2022). Flora of the Reserva Ducke, Amazonas, Brazil: Simaroubaceae. *Rodriguesia*. 73. <https://doi.org/10.1590/2175-7860202273045>

DEVECCHI, Marcelo Fernando. Phylogeny and systematics of *Simaba* Aubl. (Simaroubaceae). 2017. Tese (Doutorado em Botânica) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017. <https://doi.org/10.11606/T.41.2017.tde-03102017-143438>

DEWICK, P. M. *Medicinal Natural Products: a biosynthetic approach*. 3rd ed. John Wiley & Sons, 2009.

ERHABOR, P. O.; IWU, M. M.; AMADI, J. E. (2021). *In vitro* bioactivity of the fractions and isolated compound from *Combretum elaeagnoides* leaf extract against selected foodborne pathogens. *Journal of Ethnopharmacology*. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.113981>

FAJRIAH, S.; HANAFI, M.; SUMIATI, A., NGADIMAN, N.. "Isolation and Identification of 9-methoxycanthin-6-one Compound From *Eurycoma Longifolia* Roots." *Indonesian Journal of Applied Chemistry*, vol. 12, no. 2, 2010. <https://share.google/ZDFjIa2WubHIT2pQX>

FAROUIL, L.; LANNUZEL, M.; SÉON-MÉNARD, B.; GUIBOUT, N.; DUPONT, J.; OURY, B.; SERVANT, L.; NICAUD, J.-M.; BERTEINA-RABOIN, S.; CAZORLA, C. Review on canthin-6-one alkaloids: distribution, chemical aspects and biological activities. *European Journal of Medicinal Chemistry Reports*, v. 5, p. 100049, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.ejmcr.2022.100049>

FERREIRA, R. O.; CARVALHO, A. R.; RIGERA, C. J.; CASTRO, R. N.; SILVA, T. M. S.; CARVALHO, M. G. (2016). Constituintes químicos e atividade antioxidante *in vivo* de flavonoides isolados de *Clusia lanceolata* (Clusiaceae). *Química Nova*, v. 39, n. 9, p. 1093-1097. <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20160131>

FO, E. R.; FERNANDES, J. B.; VIEIRA, P. C.; SILVA, M. F. (1992). Canthin-6-one alkaloids from *Picrolemma granatensis*. *Phytochemistry*, v. 31, n. 7, p. 2499-2501, 1992. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(92\)83309-M](https://doi.org/10.1016/0031-9422(92)83309-M)

FUKUNAGA, Takehiko; NISHIYA, Koichi; KAJIKAWA, Ikuo; WATANABE, Yasuhiro; SUZUKI, Nobutaka. Chemical studies on the constituents of *Hyphear tanakae* Hosokawa from different host trees. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, v. 36, n. 3, p. 1180-1184, 1988. <https://doi.org/10.1248/cpb.36.1180>

GRAY, Alexander I.; BHANDARI, Prabha; WATERMAN, Peter G. New protolimonoids from the fruits of *Phellodendron chinense*. *Phytochemistry*, v. 27, n. 6, p. 1807-1810, 1988. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(88\)80448-5](https://doi.org/10.1016/0031-9422(88)80448-5)

HOUËL, Emeline; NARDELLA, Flore; JULLIAN, Valérie; VALENTIN, Alexis; VONTHRON-SÉNÉCHEAU, Catherine; VILLA, Pascal; OBRECHT, Adeline; KAISER, Marcel; BOURREAU, Eliane; ODONNE, Guillaume; FLEURY, Marie; BOURDY, Geneviève; EPARVIER, Véronique; DEHARO, Eric; STIEN, Didier. Wayanin and guaijaverin, two active metabolites found in a *Psidium acutangulum* Mart. ex DC (syn. *P. peroonii* McVaugh) (Myrtaceae) antimalarial decoction from the Wayana Amerindians. *Journal of Ethnopharmacology*. 2016, <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.04.053>

HOUËL, Emeline; BERTANI, Stéphane; BOURDY, Geneviève; DEHARO, Eric; JULLIAN, Valérie; VALENTIN, Alexis. Quassinoids: anticancer and antimalarial activities. In: RAMAWAT, K. G.; MÉRILLON, J. M. (eds.). *Natural Products*. Springer, Berlin, Heidelberg, p. 3775–3802, 2013. <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:172475546>

IRUNGU, Beatrice N.; ADIPO, Daniel O.; ORWA, Jacob A.; KIMANI, Francis T.; HEYDENREICH, Matthias; RUKUNGA, Gabriel M. Antiplasmodial and cytotoxic activities of the constituents of *Turraea robusta* and *Turraea nilotica*. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 174, p. 419–425, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2015.08.039>

JAIDEE, A.; PROMCHAI, T.; TRISUWAN, K.; LAPHOOKHIEO, S.; RATTANAJAK, R.; KAMCHONWONGPAISAN, S.; PYNE, S. G.; RITTHIWIGROM, T.. Cytotoxic and Antimalarial Alkaloids from the Twigs of *Dasymaschalon obtusipetalum*. *Natural Product Communications* Vol. 10, 7, 2015. <https://share.google/nAOg0unQ3fqip68Fq>

JIANG, C.; GATES, P. J.. Systematic Characterisation of the Fragmentation of Flavonoids Using High-Resolution Accurate Mass Electrospray Tandem Mass Spectrometry. *Molecules* 2024, 29, 5246. <https://doi.org/10.3390/molecules29225246>

JUN, H.; LEE, D. S.; RYU, S. Y. Ellagic Acid from *Geranium thunbergii* and antimalarial activity of Korean medicinal plants. *Molecules*, v. 30, n. 2, p. 359, 2025. <https://doi.org/10.3390/molecules30020359>

KANCHANAPOOM, Tripetch; KASAI, Ryoji; CHUMSRI, Phannipha; HIRAGA, Yoshikazu; YAMASAKI, Kazuo. 2001. Canthin-6-one and-carboline alkaloids from *Eurycoma harmandiana*. <https://shoyaku.hiroshima-u.ac.jp/member/yamasaki/Pub/Canthinone01.pdf>

KUO, Ping-Chung; SHI, Lian-Shey; DAMU, Amooru G.; SU, Chang-Ruei; HUANG, Chi-Hsein; KE, Chun-Jen; WU, Pei-Lin; LIN, An-Jen; BASTOW, Kenneth F.; LEE, Kuo-Hsiung; WU, Tian-Shung. Cytotoxic and antimalarial β -carboline alkaloids from the roots of *Eurycoma*

longifolia. *Journal of Natural Products*, v. 66, n. 10, p. 1324–1327, 2003. <https://doi.org/10.1021/np030277n>

LAGNIKA, Latifou; OUEDRAOGO, Oumarou; EZOUBEIRI, Taha; LESSARD, Claude; SOSSOU, Victorien D.; VONTHRON-SÉNÉCHEAU, Catherine; MAMBU, Hippolyte; SANNI, Ambaliou. Antiprotozoal activities of compounds isolated from *Croton lobatos* L. *African Journal of Infectious Diseases*, v. 3, n. 1, p. 1–7, 2009. <https://journals.athmsi.org/index.php/ajid/article/view/5>

LAMBROS, C.; VANDERBERG, J. P. Synchronization of *Plasmodium falciparum* erythrocytic stages in culture. *The Journal of Parasitology*, v. 65, n. 3, p. 418–420, 1979. <https://doi.org/10.2307/3280287>.

LI, C. Q.; LEI, H. M.; HU, Q. Y.; LI, G. H.; ZHAO, P. J.. 2021. Recent Advances in the Synthetic Biology of Natural Drugs. *Front. Bioeng. Biotechnol.* <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.691152>

LIU, Y.; MURAKAMI, N.; JI, H.; ABREU, P.; ZHANG, S.. (2007). Antimalarial Flavonol Glycosides from *Euphorbia hirta*., *Pharmaceutical Biology*, 45:4, 278-281, <https://doi.org/10.1080/13880200701214748>

LUZ, Lícia dos Reis. Perfil químico e atividade citotóxica dos extratos de folha, galho e casca de baraúna: abordagem metabolômica e quimiométrica. 2019. <http://www.repositorio.ufc.br/handle/riufc/40139>

McCHESNEY, J. D.; DOU, J.; SINDELAR, R. D.; GOINS, D. K.; WALKER, L. A.; ROGERS, R. D. (1997). Tirucallane-type triterpenoids: nmr and X-ray diffraction analyses of 24-*epi*-piscidinol A and piscidinol A. *Journal of Chemical Crystallography*, Vol. 27, No. 5, 1997., 283–290. <https://doi.org/10.1007/BF02575975>

NUNOMURA, Rita de Cássia Saraiva; NUNOMURA, Sergio Massayoshi; POHLIT, Adrian Martin; AMARAL, Ana Claudia Fernandes. Constituintes químicos dos galhos de *Simaba guianensis* subesp. *Ecaudata* (Cronquist). *Química Nova*, v. 35, n. 11, p. 2153-2158, 2012. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422012001100009>

OLIVEIRA, Ramon Guerra de; CRUZ, Luiza dos Reis; DIAS, Luiz Carlos. Artemisinina e derivados: descoberta, estratégias sintéticas e obtenção industrial. *Química Nova*, v. 45, n. 07, p. 831-846, 2022. <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170888>

OOSHIRO, A.; HIRADATE, S.; KAWANO, S.; TAKUSHI, T.; FUJII, Y.; NATSUME, M.; ABE, H. (2009) Identification and activity of ethyl gallate as an antimicrobial compound produced by *Geranium carolinianum*. *Journal of Applied Microbiology*, v. 107, n. 2, p. 396-406. <https://doi.org/10.1111/j.1445-6664.2009.00335.x>

PEREIRA, D. da S.; JORDÃO, L. G.; CAMARGO, M. R. M.; ALMEIDA, A. K. M.; LOPES, E. V.; PEREIRA, T. B.; SILVA, F. M. A. da; POHLIT, A. M. Investigação da atividade antimalárica *in vitro* de extratos e galato de metila obtidos das folhas da árvore amazônica *Simaba pubicarpa* Devecchi, W.W. Thomas & Francesch. (Simaroubaceae DC.) e galatos de alquila sintéticos. *Cuadernos de Educación y Desarrollo*, v. 17, n. 6, p. e8531, 2025. DOI: 10.55905/cuadv17n6-021. <https://doi.org/10.55905/cuadv17n6-021>

PERRIN, D. D.; ARMAREGO, W. L. F. Purification of Laboratory Chemicals. 3ed. 1998.

PIRANI, J. R.; MAJURE, L. C.; DEVECCHI, M. F. An updated account of Simaroubaceae with emphasis on American taxa. *Brazilian Journal of Botany*, v. 45, n. 1, p. 201–221, 2022. <https://doi.org/10.1007/s40415-021-00731-x>

RIECKMANN, Karl H.; CAMPBELL, G. H.; MREMA, J. E.; SAX, L. J. (1978). Drug sensitivity of *Plasmodium falciparum*: an *in-vitro* microtechnique. *The Lancet*, v. 311, n. 8054, p. 22–23, 1978. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(78\)90365-3](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(78)90365-3)

SANCHEZ, C. G.; CISNEROS-ZEVALLOS, L.; HEREDIA, N.; GARCIA, S. Isolation, characterization and mode of antimicrobial action against *Vibrio cholerae* of methyl gallate isolated from *Acacia farnesiana*. *Journal of Applied Microbiology*, v. 115, n. 6, p. 1442-1450, 2013. <https://doi.org/10.1111/jam.12328>

SARAIVA, Rita de Cássia G.; PINTO, Zeneida T.; NUNOMURA, Sergio M.; POHLIT, Adrian M. Triterpenos e alcaloide tipo cantinona dos galhos de *Simaba polyphylla* (Cavalcante) W.W. Thomas (Simaroubaceae). *Química Nova*, v. 29, n. 2, p. 264–268, 2006. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422006000200017>

SILVA, L. F., MAGALHÃES, P. M., COSTA, M. R., ALECRIM, M., CHAVES, F. C., HIDALGO, A. F., POHLIT, A. M., & VIEIRA, P. P. (2012). *In vitro* susceptibility of *Plasmodium falciparum* Welch field isolates to infusions prepared from *Artemisia annua* L. cultivated in the Brazilian Amazon. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 107(7), 859–866. <https://doi.org/10.1590/s0074-02762012000700004>

SILVA, M. F. G. F.; PINTO, L. S.; AMARAL, J. C.; SILVA, D. F.; FORIM, M. R. & FERNANDES, J. B. Nortriterpenes, chromones, anthraquinones, and their chemosystematics significance in Meliaceae, Rutaceae, and Simaroubaceae (Sapindales). *Brazilian Journal of Botany*, v. 45, p. 15–40, 2022. <https://doi.org/10.1007/s40415-021-00733-9>

SILVA, T. M.; CARVALHO, M. G.; BRAZ-FILHO, R. Estudo espectroscópico em elucidação estrutural de flavonoides de *Solanum jabrense* Agra & Nee e *S. paludosum* MORIC. *Química Nova*, v. 32, n. 7, p. 1761-1764, 2009. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000500008>

SILVA, L. F. R. Identificação de potenciais novos antimaláricos a partir de produtos naturais de plantas amazônicas, e seus derivados: estudos *in vitro*, *in vivo* e de mecanismo de ação. Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Universidade Federal do Amazonas – UFAM. <https://tede.ufam.edu.br/bitstream/tede/5358/2/Tese%20-%20Luiz%20F.%20R.%20Silva.pdf>

TAJUDDEEN, N.; VAN HEERDEN, F. R. Antiplasmodial natural products: an update. *Malaria Journal*, v. 18, n. 1, p. 303, 2019. <https://doi.org/10.1186/s12936-019-3026-1>

TRAGER, W.; JENSEN, J. B. Human malaria parasites in continuous culture. *Science*, v. 193, n. 4254, p. 673–675, 1976. <https://doi.org/10.1126/science.781840>

VIEGAS JR, C.; BOLZANI, V. DA S.; BARREIRO, E. J.. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. *Química Nova*, v. 29, n. 2, p. 326–337, mar. 2006. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422006000200025>

WATANABE, M. Catechins as antioxidants from buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) groats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 46, n. 3, p. 839–845, 1998. <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:55399083>

WICHT, Kathryn J.; MOK, Sachel; FIDOCK, David A. Molecular mechanisms of drug resistance in *Plasmodium falciparum* malaria. *Annual Review of Microbiology*, v. 74, p. 431–454, 2020. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-020518-115546>

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO): The malaria situation worldwide. 2024. <https://worldmalaria-report2024.org/current-state>

YANG, J.; WANG, Y.; GUAN, W.; SU, W.; LI, G.; ZHANG, S.; YAO, H. Spiral molecules with antimalarial activities: a review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 239, p. 114484, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2022.114361>

ZAHRRA, Mehak; ABRAHAMSE, Heidi; GEORGE, Blassan P. Flavonoids: antioxidant powerhouses and their role in nanomedicine. *Antioxidants*, v. 13, n. 8, p. 922, 2024. <https://doi.org/10.3390/antiox13080922>

ZEKAR, L. & SHARMAN, T. *Plasmodium falciparum* Malaria. [Updated 2023 Aug 8]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK555962/>

ZIELIŃSKA-PISKLAK, M. A.; STOLARSKA, E.; KALISZ, O.; WROCZYŃSKI, P.; WÓJCICKI, J.; LUTOMSKI, J. Activity-guided isolation, identification and quantification of biologically active isomeric compounds from folk medicinal plant *Desmodium adscendens* using high performance liquid chromatography with diode array detector, mass spectrometry and multidimensional nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v. 102, p. 54–63, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2014.08.033>

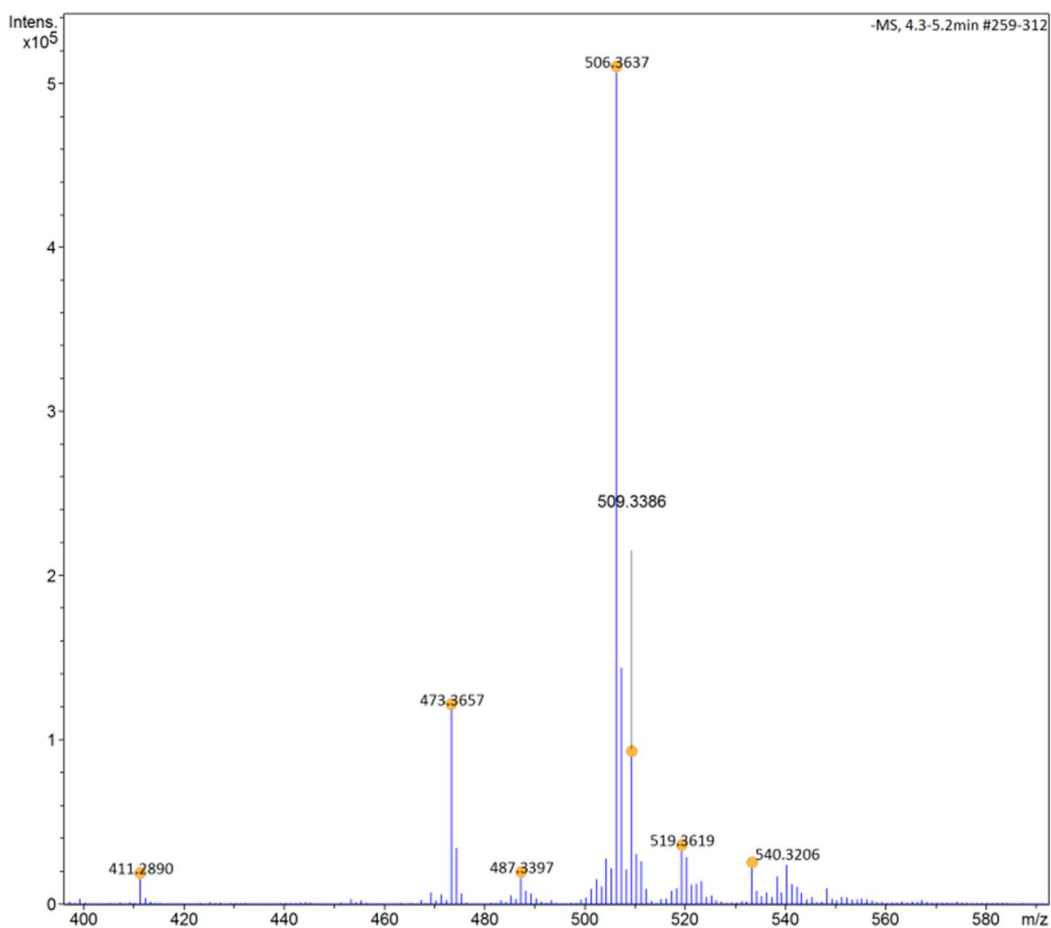
8 ANEXOS

Analysis Name D:\Data\Usuarios\2022\Adrian\Alunos\Djalma\MS\27-05-2022\ID_APCI-_2DP40F3-6.d
 Method ID_APCI+_50-1600 COM FOCO_TUNEMIX APCI.m Operator BDAL@DE
 Sample Name ID_APCI-_2DP40F3-6 Instrument micrOTOF-Q 228888.10431
 Comment DILUIÇÃO = 30uL (1mg/mL 2PrOH)+970uL 2PrOH

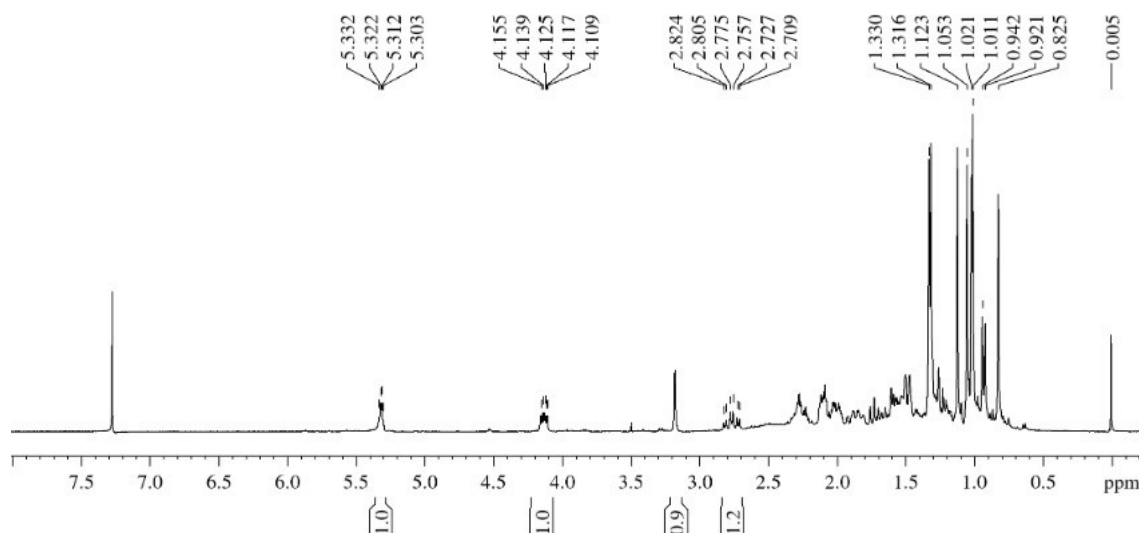
Acquisition Parameter

Source Type	APCI	Ion Polarity	Negative	Set Nebulizer	2.5 Bar
Focus	Active	Set Capillary	3500 V	Set Dry Heater	250 °C
Scan Begin	50 m/z	Set End Plate Offset	-500 V	Set Dry Gas	3.0 l/min
Scan End	1600 m/z	Set Collision Cell RF	150.0 Vpp	Set Divert Valve	Waste

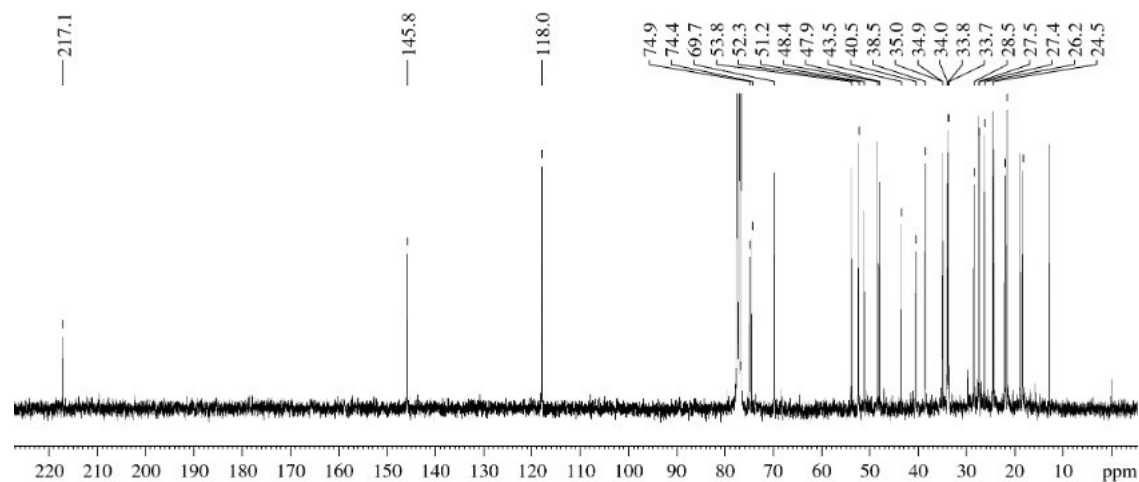
Adduct	Meas. m/z	#	Ion Formula	m/z	err [ppm]	mSigma	Score
M-H	411.2890	1	C27H39O3	411.2905	3.7	43.7	100.00
M-H	473.3657	1	C30H49O4	473.3636	-4.4	21.6	100.00
M-H	487.3397	1	C37H43	487.3370	-5.4	203.1	100.00
M-H	487.3397	2	C30H47O5	487.3429	6.6	222.4	10.37
M-H	506.3637	1	C33H48NO3	506.3640	0.6	44.5	100.00
M-H	509.3386	1	C36H45O2	509.3425	7.6	109.0	100.00
M-H	519.3619	1	C38H47O	519.3632	2.5	n.a.	100.00
M-H	533.3769	1	C39H49O	533.3789	3.7	n.a.	100.00



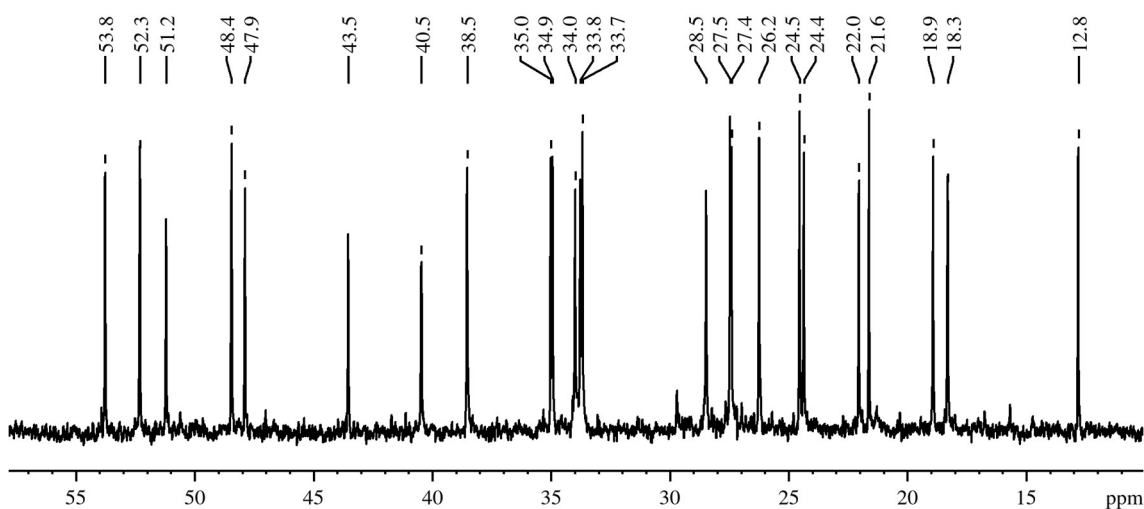
Anexo 1: EMAR em modo negativo da 2DP40F3-6 (piscidinol A); [M-H]⁻ m/z
 473,3657



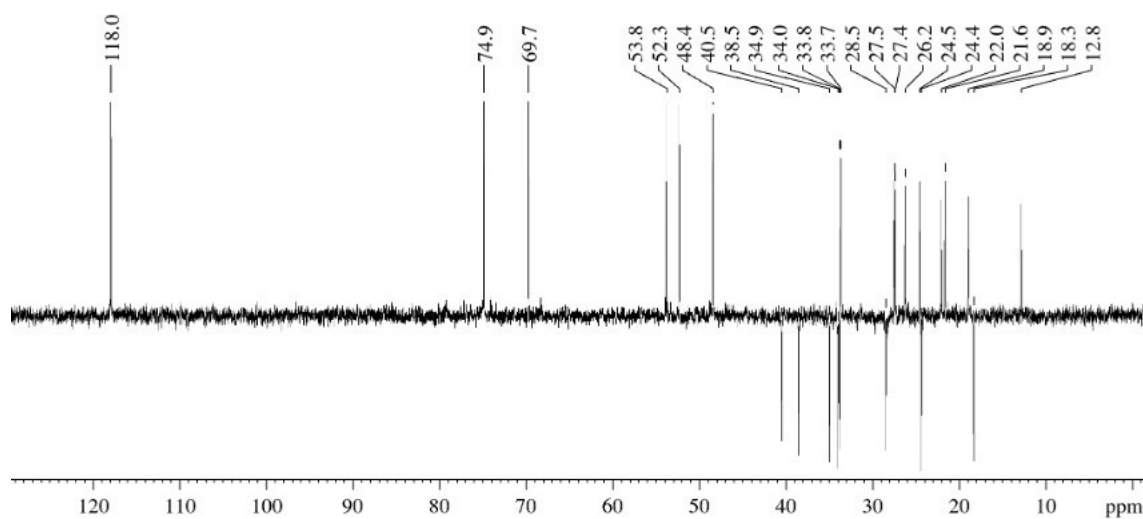
Anexo 2: Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) da 2DP40F3-6 (piscidinol A)



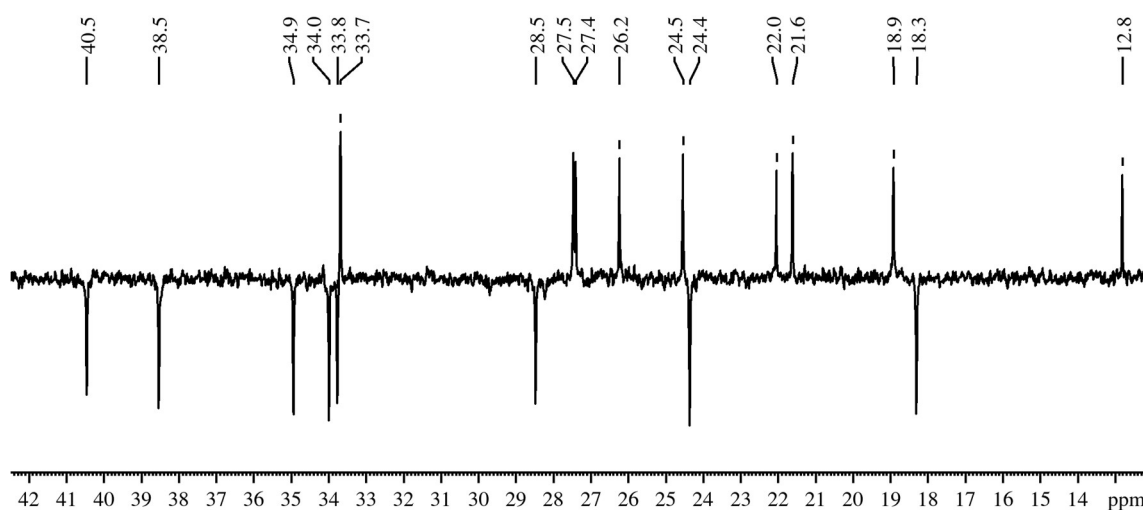
Anexo 3: Espectro de RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) da 2DP40F3-6 (piscidinol A)



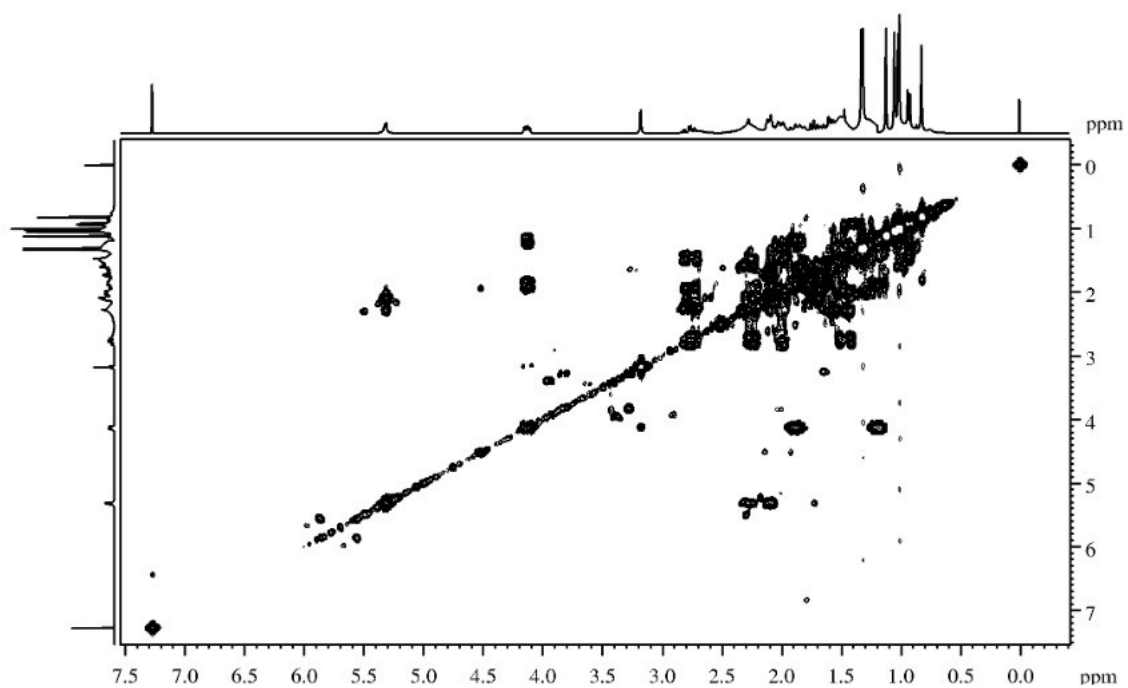
Anexo 4: Expansão da região δ 16 -52 do espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) da 2DP40F3-6 (piscidinol A)



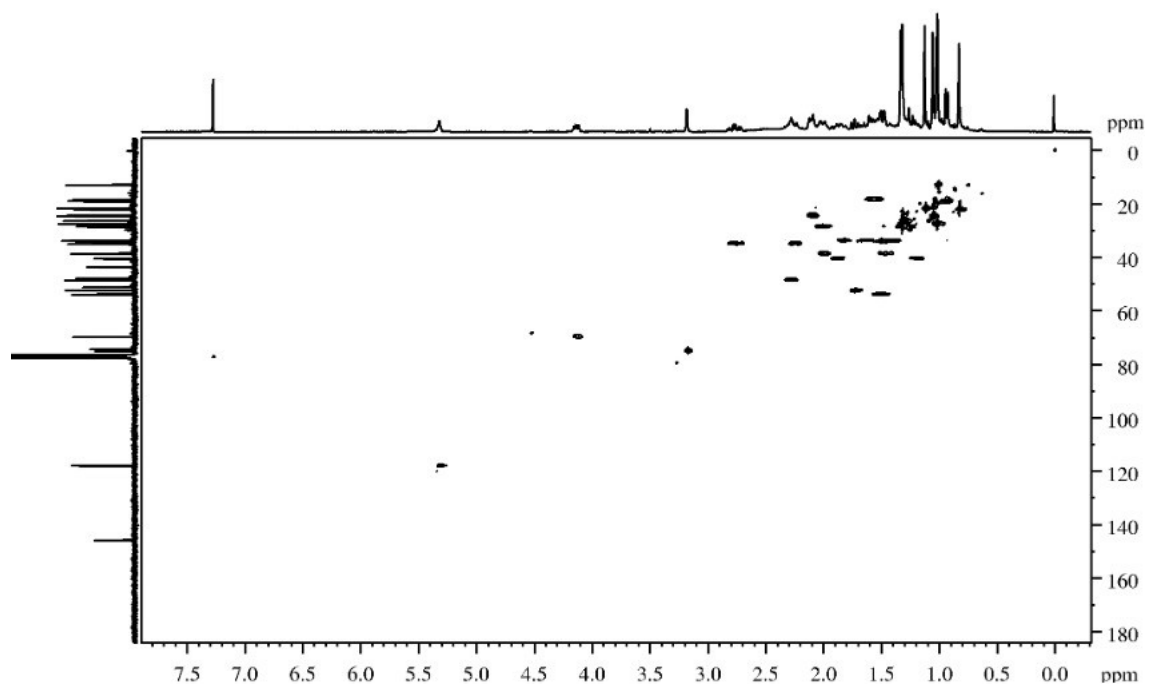
Anexo 5: Espectro de DEPT 135 (75 MHz, CDCl₃) da 2DP40F3-6 (piscidinol A)



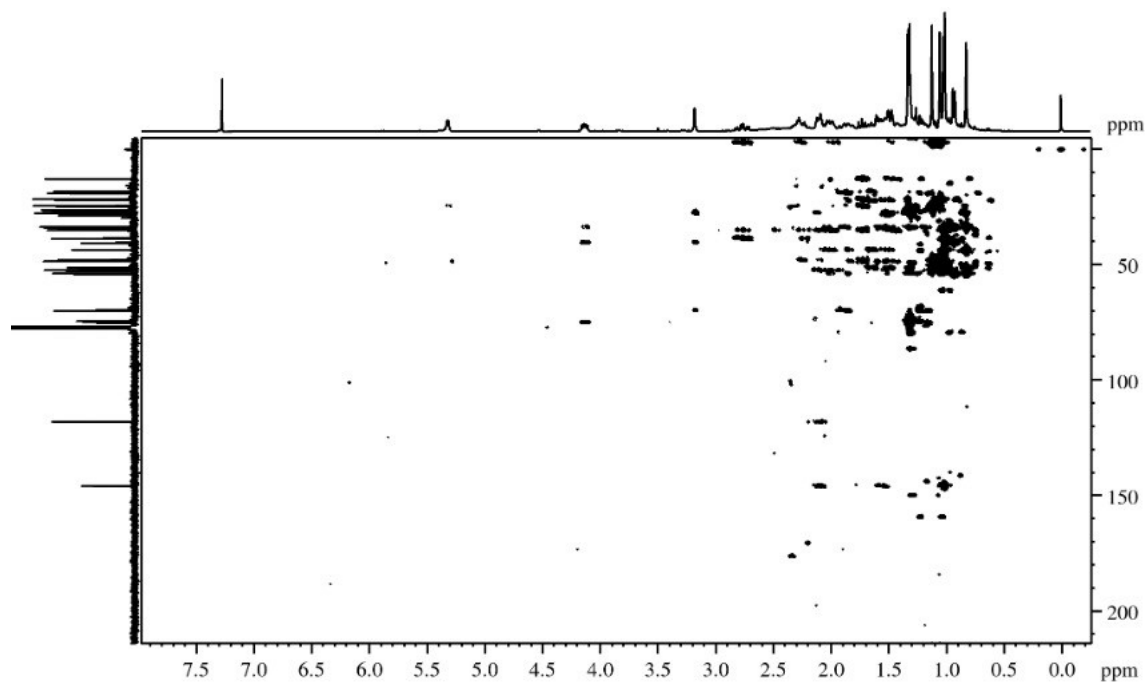
Anexo 6: Ampliação da região δ 11-45 do espectro de DEPT135 ¹³C (75 MHz, CDCl₃) da 2DP40F3-6 (piscidinol A)



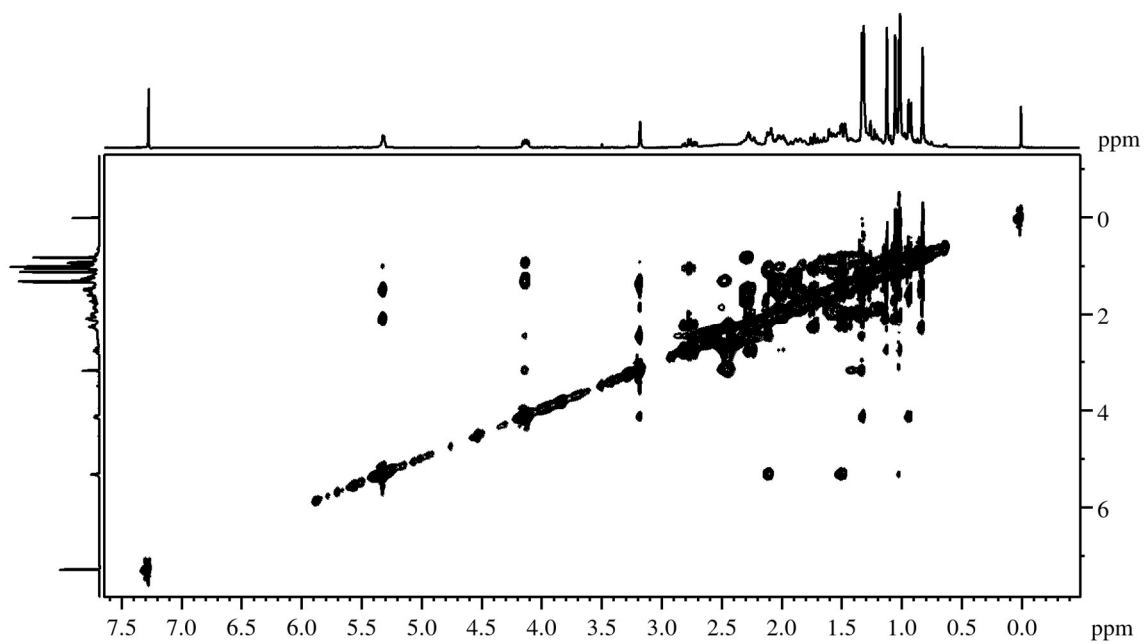
Anexo 7: Espectro de COSY ^1H - ^1H (300 MHz, CDCl_3) da 2DP40F3-6 (piscidinol A)



Anexo 8: Espectro de HSQC ^1H - ^{13}C (300 MHz; 75 MHz; CDCl_3) da 2DP40F3-6 (piscidinol A)

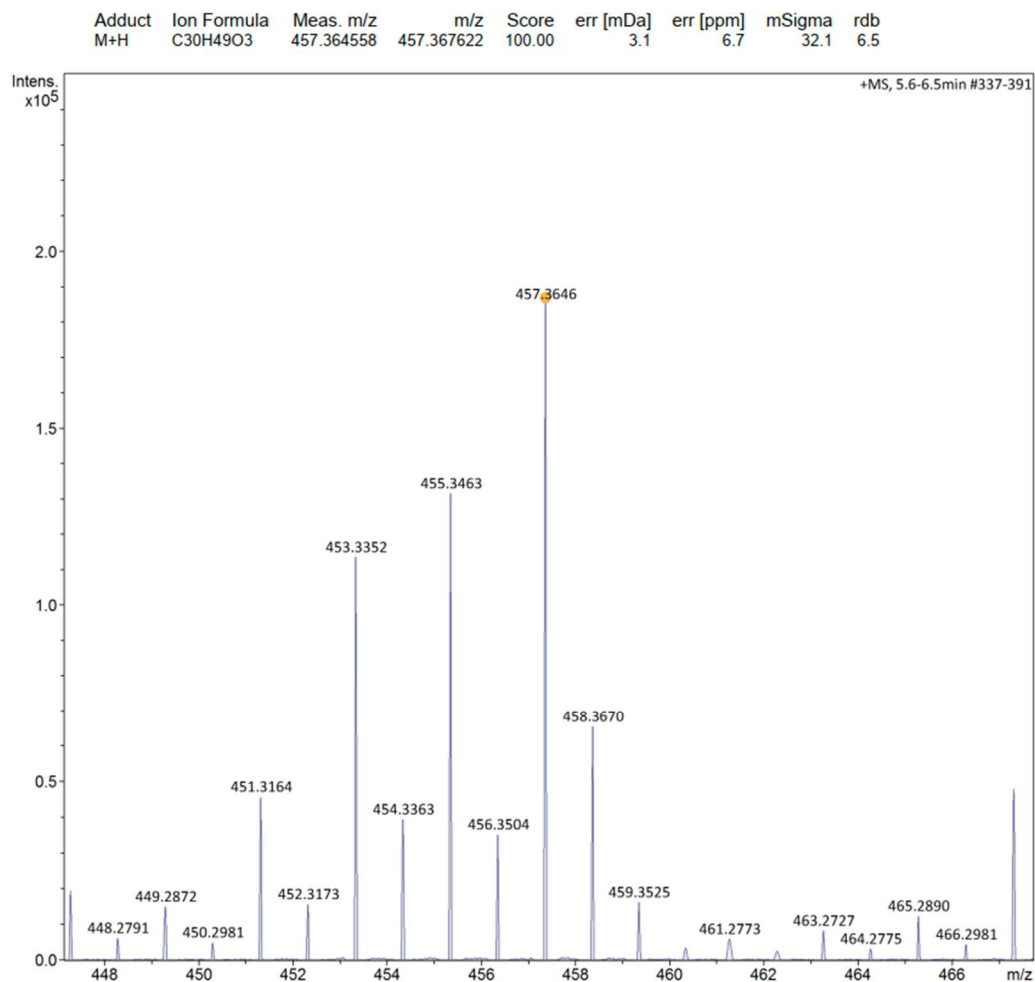


Anexo 9: Espectro de HMBC ^1H - ^{13}C (300 MHz; 75 MHz; CDCl_3) do 2DP40F3-6 (piscidinol A)



Anexo 10: Espectro de NOESY ^1H - ^1H (300 MHz, CDCl_3) da 2DP40F3-6 (piscidinol A)

Method	ID_APCI+__50-1600 COM FOCO_TUNEMIX APCI.m	Operator	BDAL@DE
Sample Name	ID_APCI+_2DP41F6-9	Instrument	micrOTOF-Q
Comment	DILUIÇÃO = 30uL (1mg/mL 2PrOH)+970uL 2PrOH		

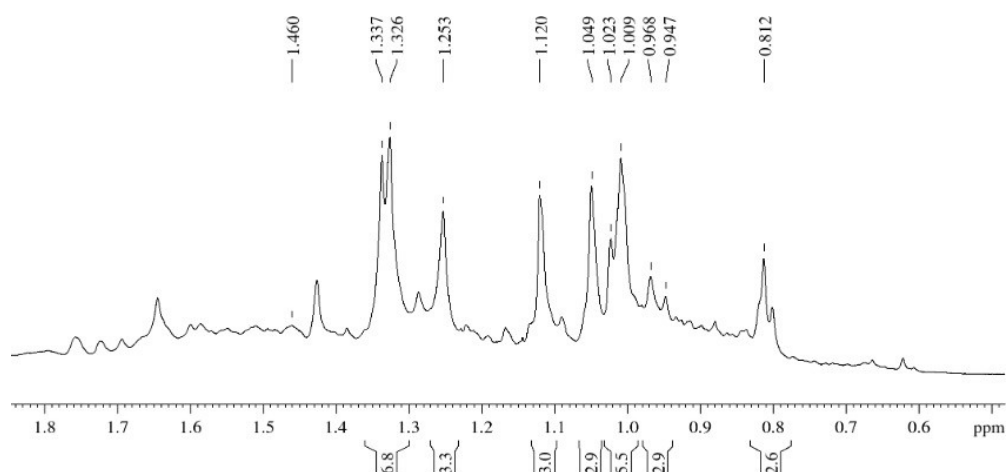


Anexo 11: EMAR modo positivo da 2DP41F6-9 (niloticina); $[M+H]^+$ m/z 457,3646

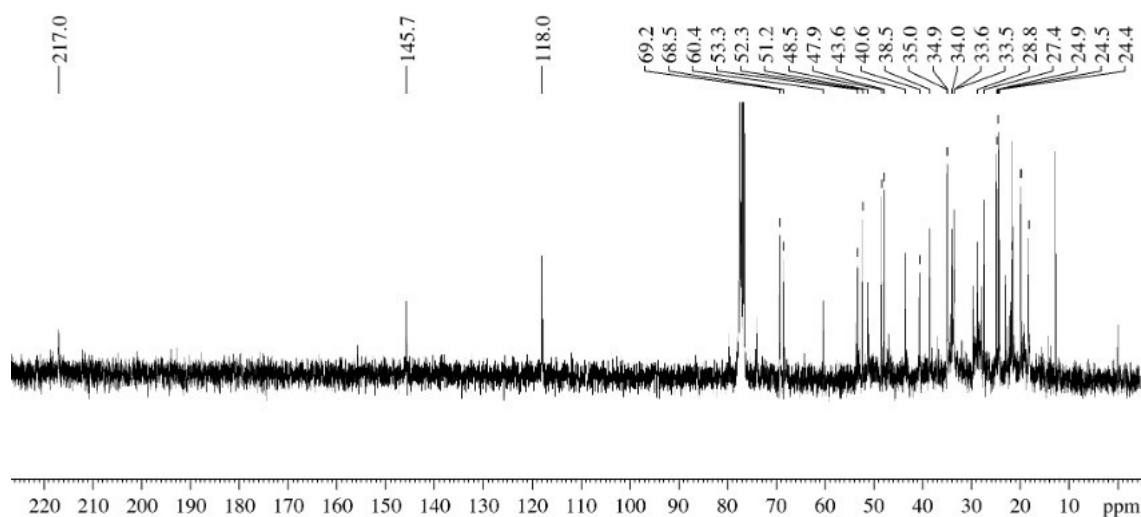
Chemical shifts (ppm): 5.322, 5.312, 5.050, 5.000, 4.792, 4.770, 4.370, 4.350, 3.904, 3.891, 3.745, 3.730, 3.617, 3.600, 3.591, 3.573, 3.563, 3.546.

Integration values: 1.0, 1.2, 1.3, 1.3, 2.0.

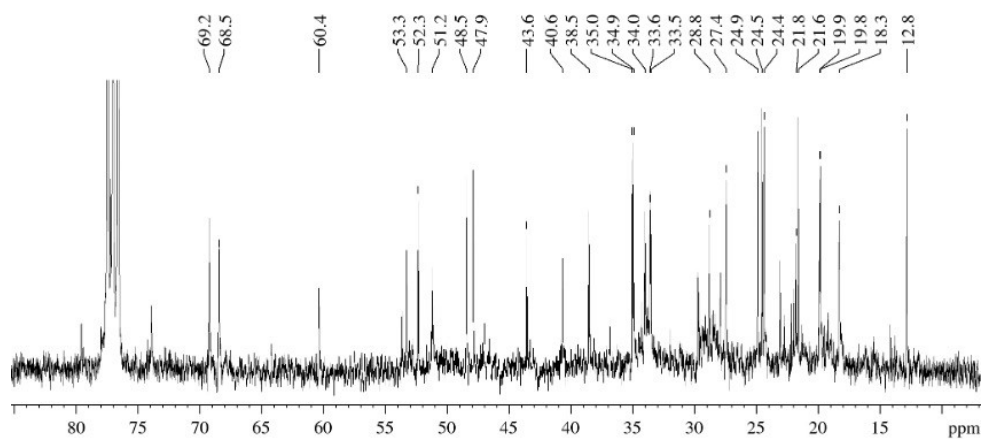
Anexo 14: Expansão da região δ 1,86-3,0 do espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) da 2DP41F6-9 (niloticina)



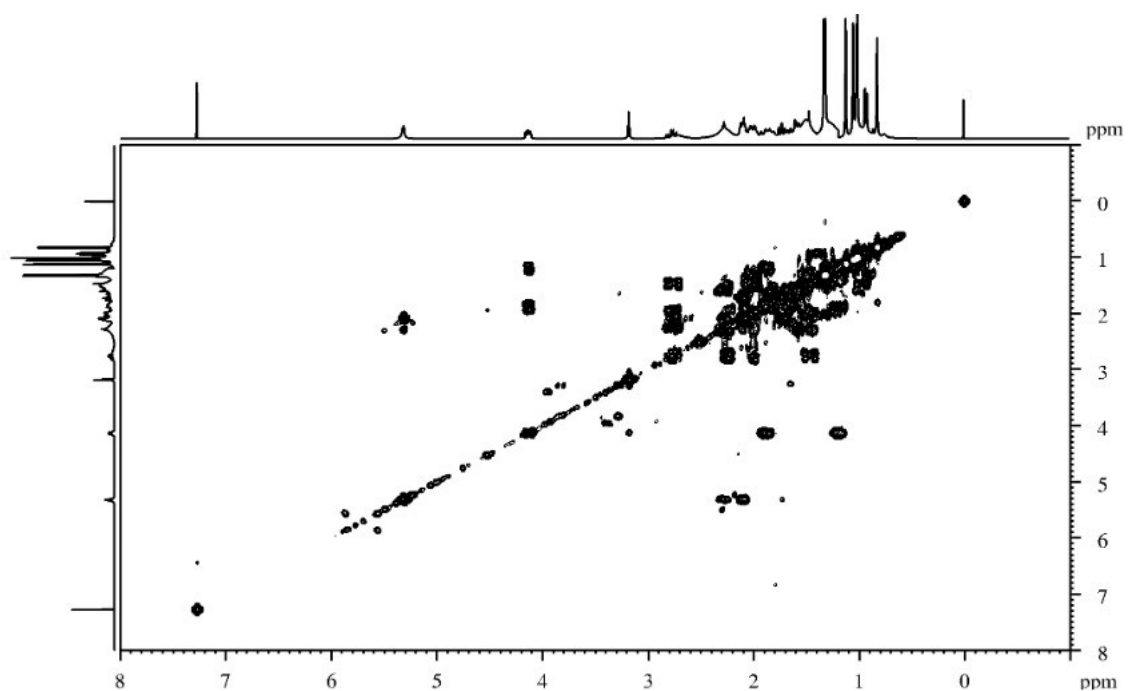
Anexo 15: Expansão da região δ 0.5-1.9 do espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) da 2DP41F6-9 (niloticina)



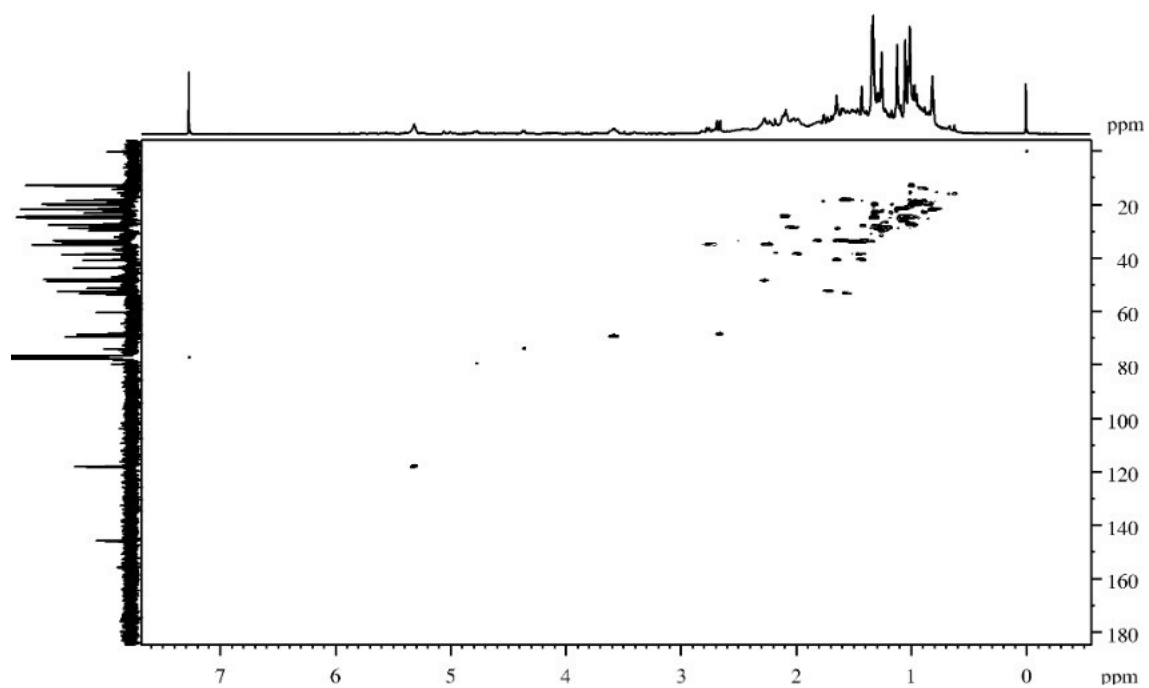
Anexo 16: Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) da 2DP41F6-9 (niloticina)



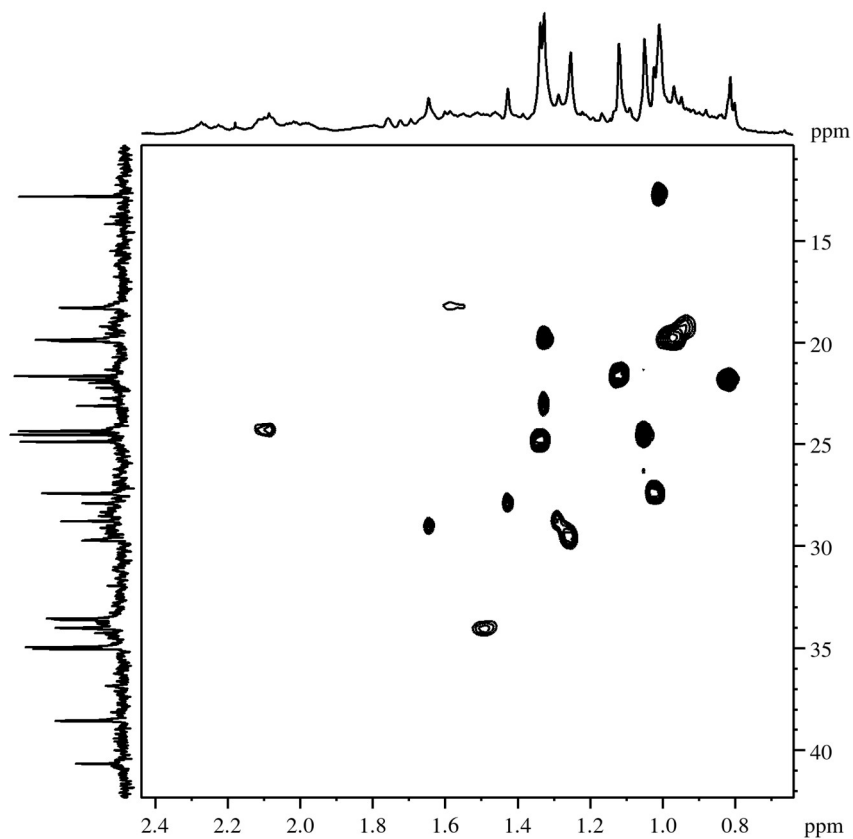
Anexo 17: Expansão da região δ 7.0-8.5 do espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) da 2DP41F6-9 (niloticina)



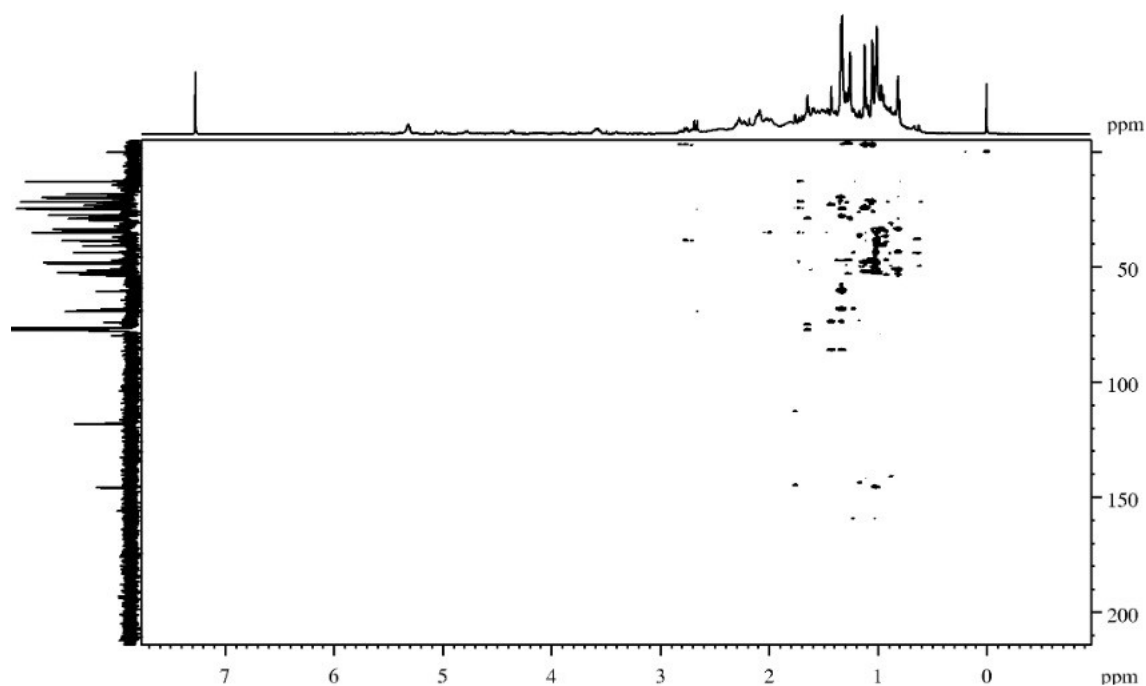
Anexo 18: Espectro de COSY ¹H - ¹H (300 MHz, CDCl₃) do da 2DP41F6-9 (niloticina)



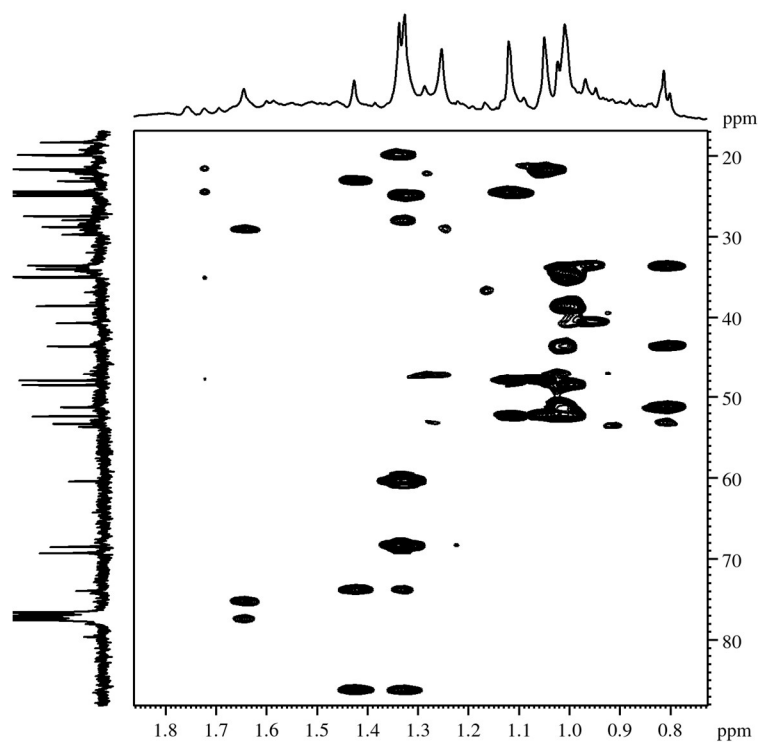
Anexo 19: Espectro de HSQC ¹H - ¹³C (300 MHz; 75 MHz; CDCl₃) da 2DP41F6-9 (niloticina)



Anexo 20: Expansão da região δ 0,5 -1,8 do espectro de HSQC ^1H - ^{13}C (300 MHz; 75 MHz; CDCl_3) da substância 2DP41F6-9 (niloticina)



Anexo 21: Espectro de HMBC ^1H - ^{13}C (300 MHz; 75 MHz; CDCl_3) da 2DP41F6-9 (niloticina)



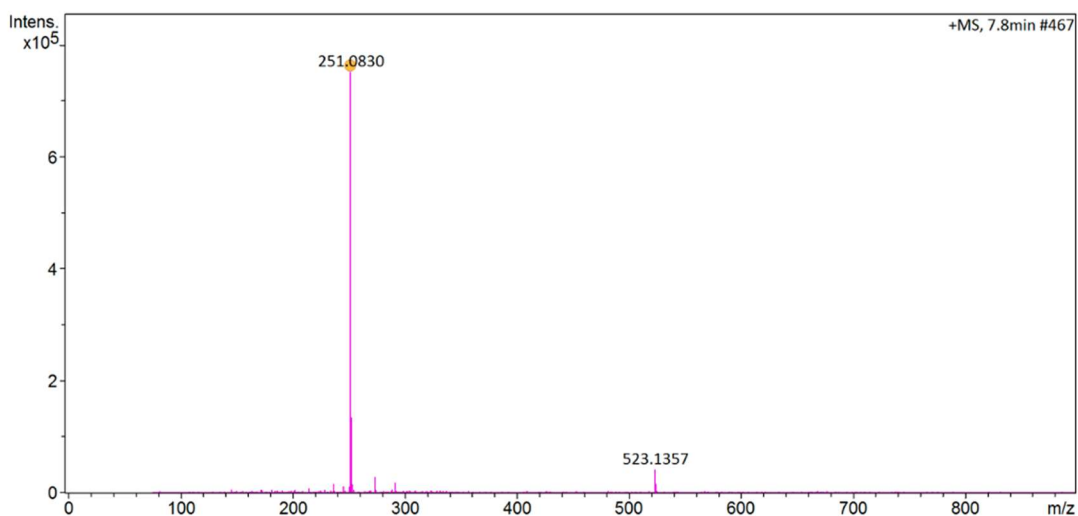
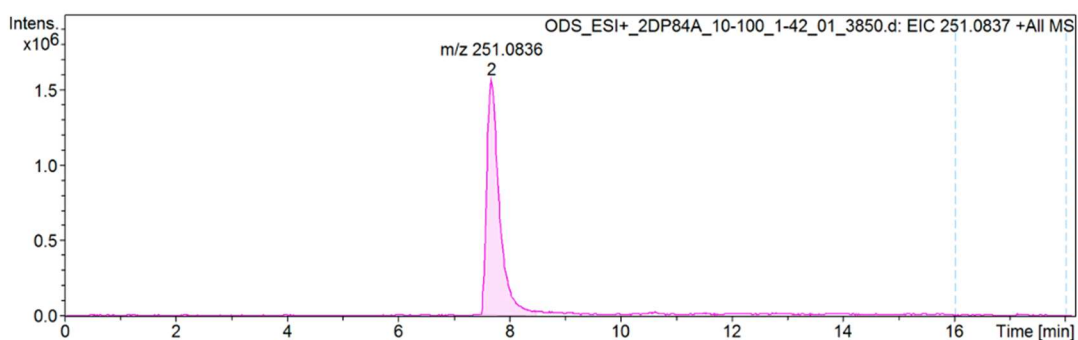
Anexo 22: Expansão da região δ 0,5 -1,8 do espectro de HMBC ^1H - ^{13}C (300 MHz; 75 MHz; CDCl_3) da substância 2DP41F6-9 (niloticina)

Method LC-MS_Tune-Low_ESI+_noFocus_100-900_18min.m Operator BDAL@DE
 Sample Name ODS_ESI+_2DP84A_10-100 Instrument micrOTOF-Q 228888.10431
 Comment ODS 50x2,0mm
 Flx=0,4 mL/min - CSplit; F=35oC; P=3011psi; Inj=1uL;
 A(H₂O+0.1%HCOOH)/B(MeOH)
 0-12m-10-100%
 12-14m-100%
 14-16m-100-10%
 16-18m-10%
 Inj:MeOH
 Calib.:HCOONa 10mM_end

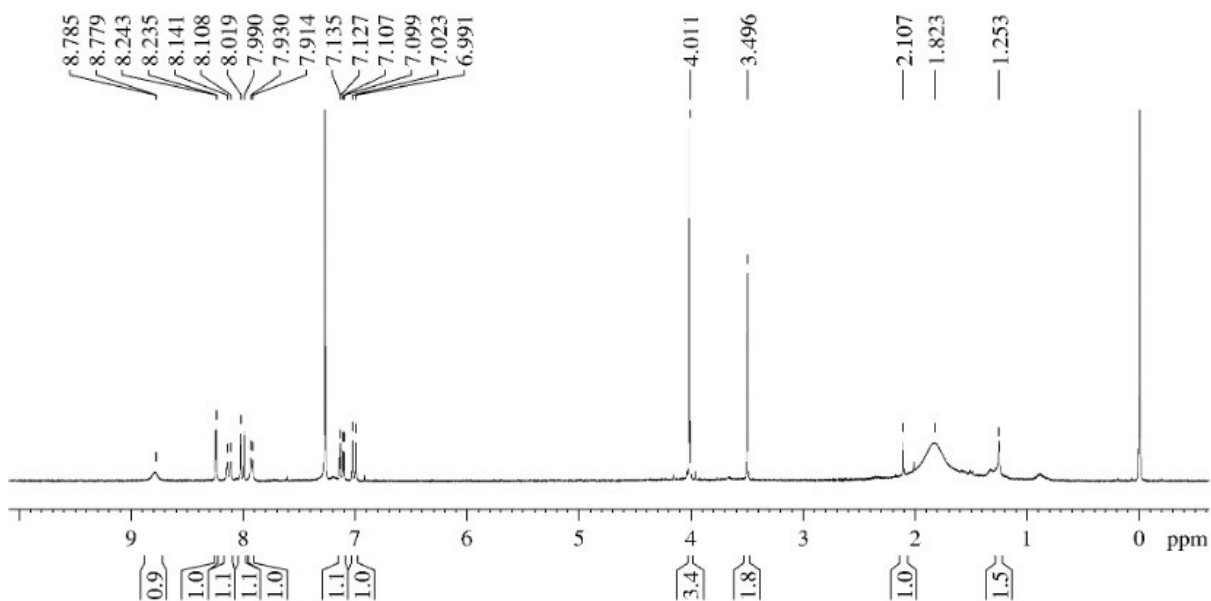
Acquisition Parameter

Source Type	ESI	Ion Polarity	Positive	Set Nebulizer	4.0 Bar
Focus	Not active	Set Capillary	4500 V	Set Dry Heater	200 °C
Scan Begin	80 m/z	Set End Plate Offset	-500 V	Set Dry Gas	9.0 l/min
Scan End	980 m/z	Set Collision Cell RF	100.0 Vpp	Set Divert Valve	Waste

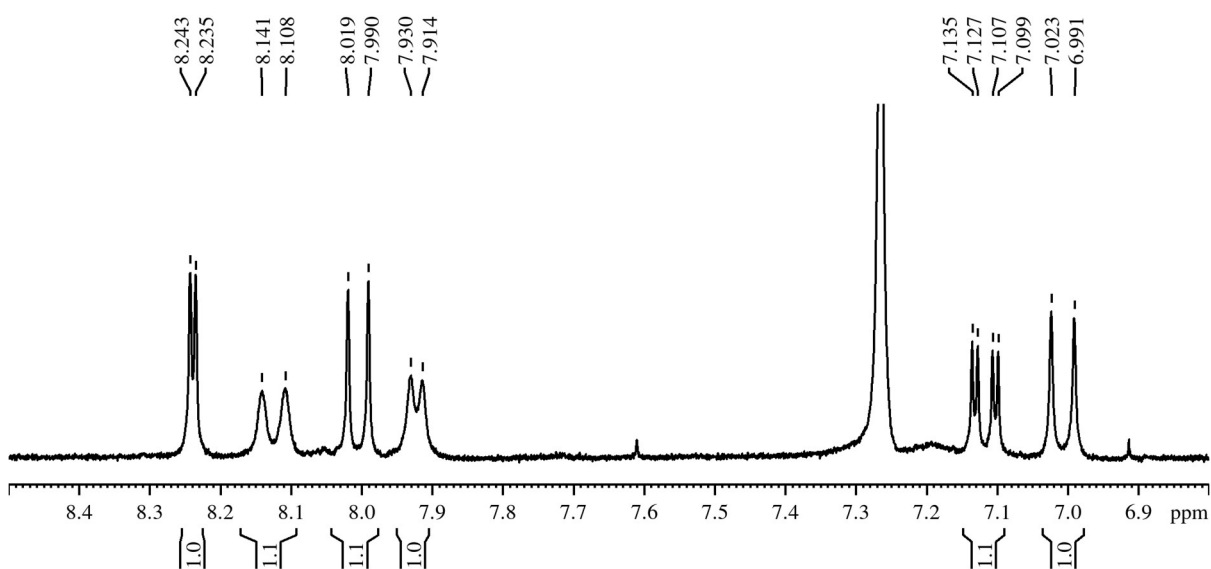
Adduct	Meas. m/z	Ion Formula	m/z	err [ppm]	mSigma	Score
M+H	251.0830	C ₁₅ H ₁₁ N ₂ O ₂	251.0815	-6.0	3.8	100.00
M+H	251.0830	C ₂₀ H ₁₁	251.0855	10.0	22.9	32.19



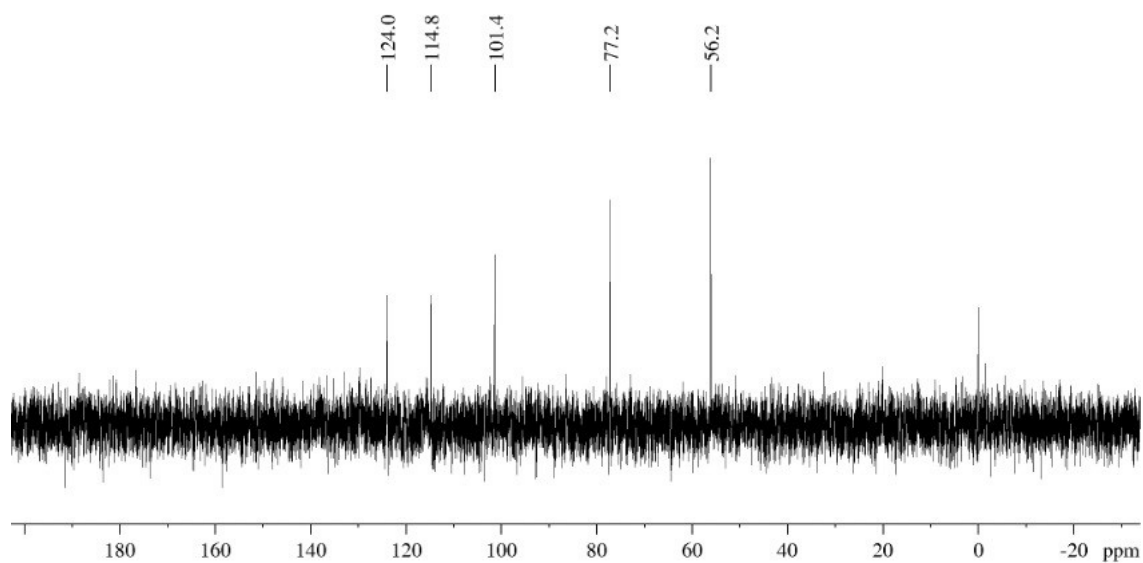
Anexo 23: CL-IES-(+)-EMAR da 2DP84A (9-metoxi-cantin-6-ona) [M+H]⁺ m/z 251,0830



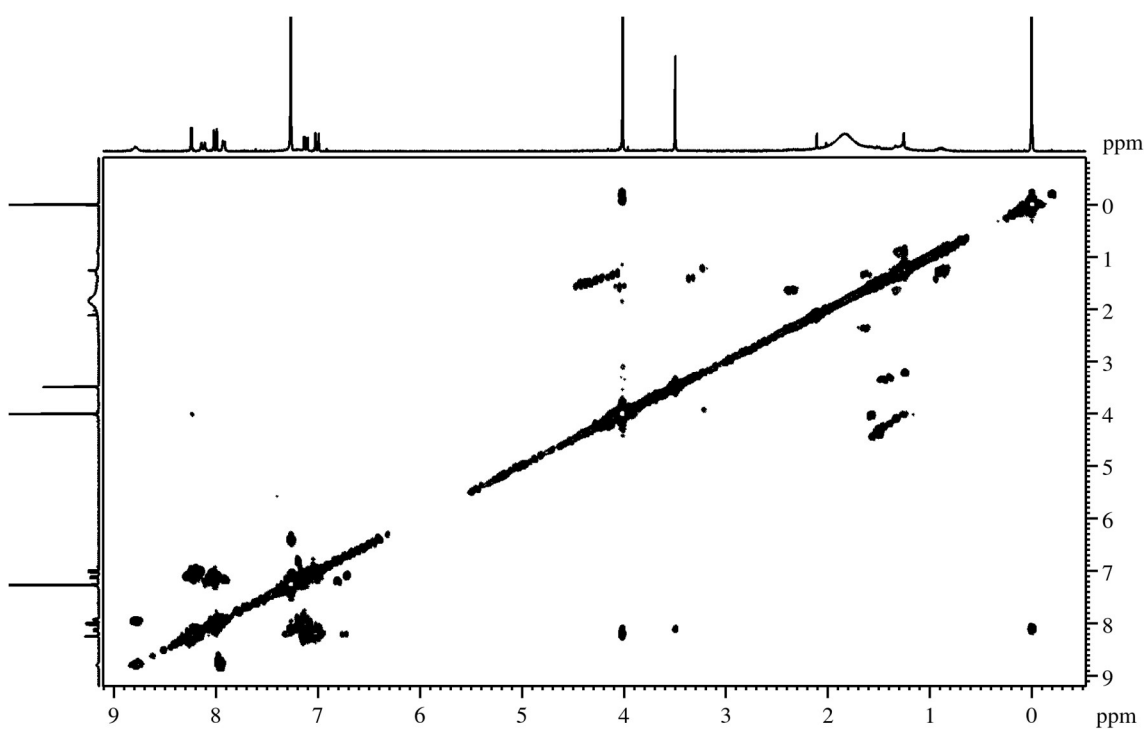
Anexo 24: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) da 2DP84A (9-metoxi-cantin-6-ona)



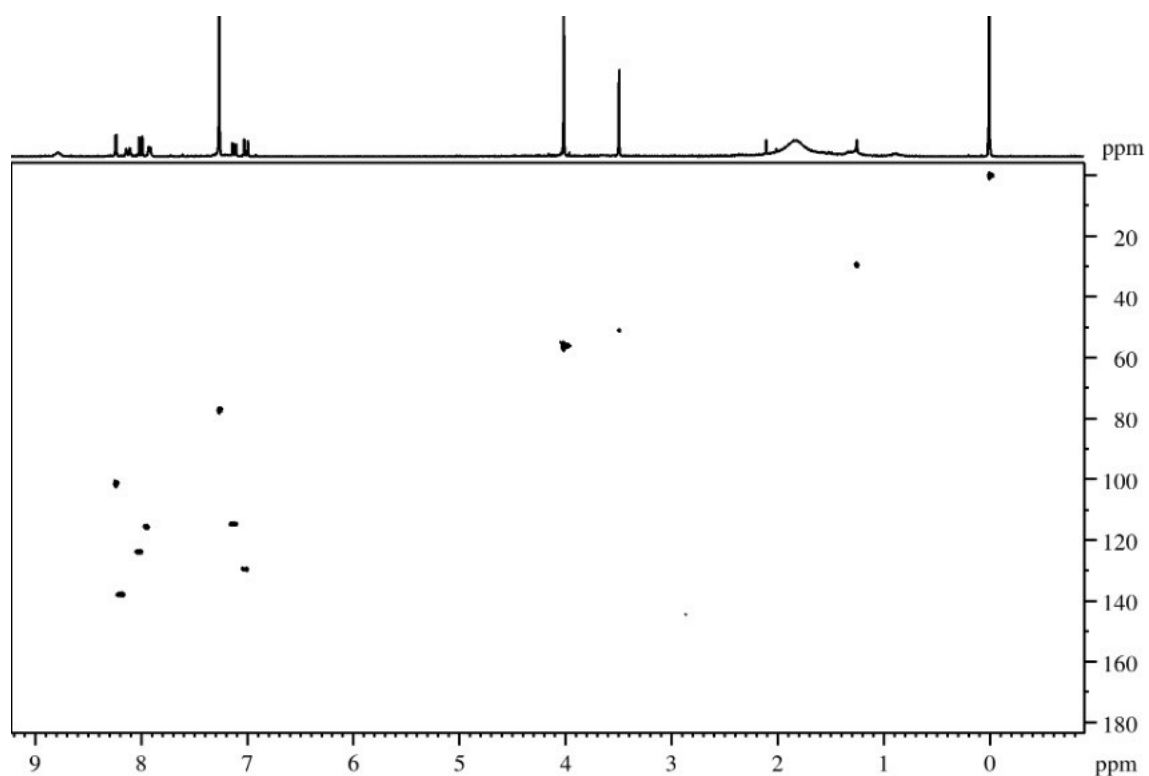
Anexo 25: Expansão da região δ 6.5-8,9 do espectro RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) da 2DP84A (9-metoxi-cantin-6-ona)



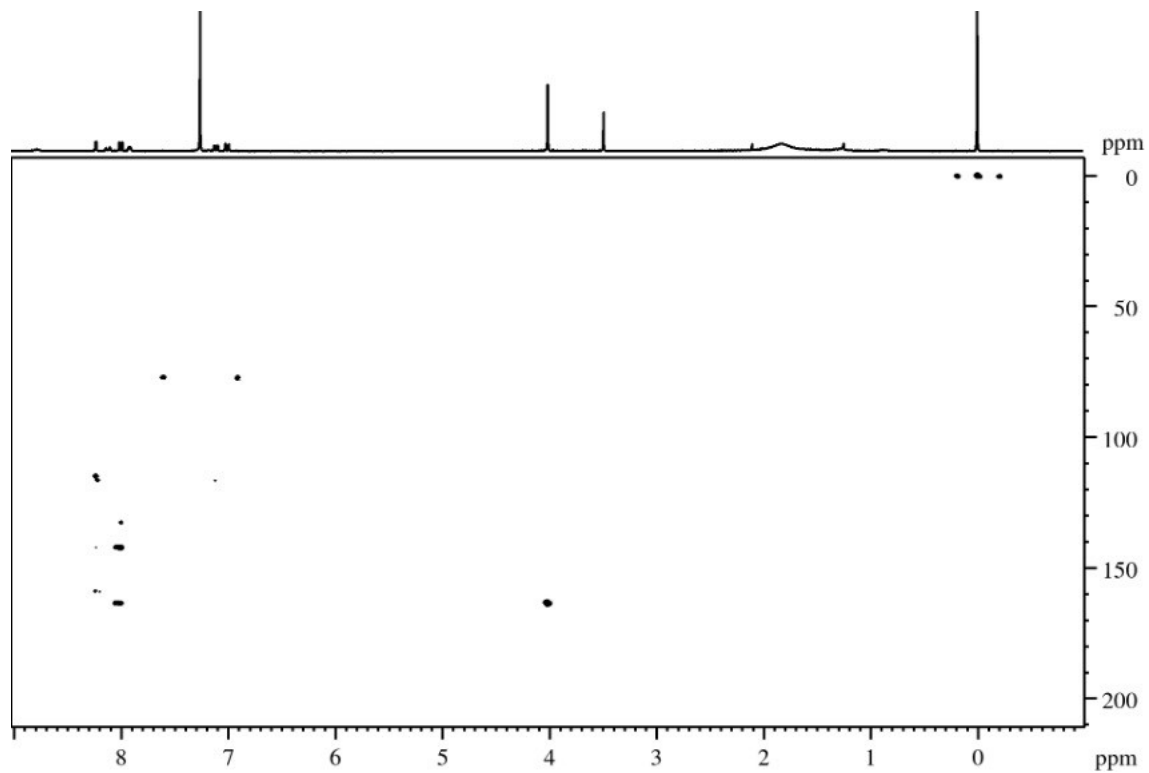
Anexo 26: Espectro de DEPT 135 (75 MHz, CDCl₃) da 2DP84A (9-metoxi-cantin-6-ona)



Anexo 27: Espectro de COSY ¹H-¹H (300 MHz, CDCl₃) da 2DP84A (9-metoxi-cantin-6-ona)

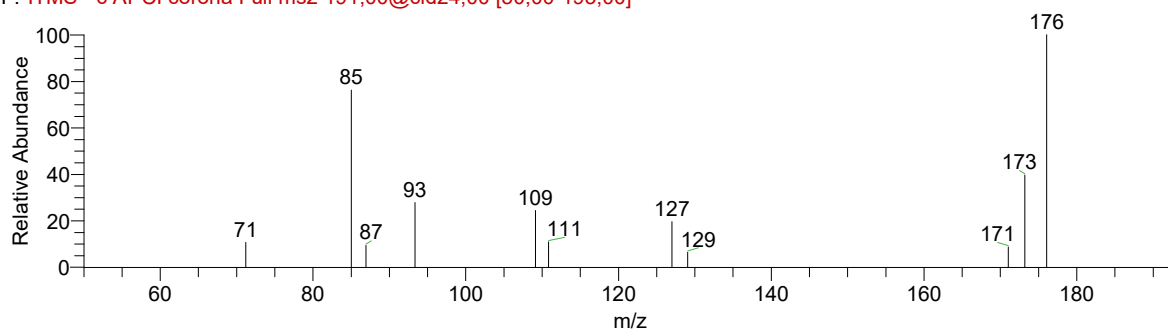


Anexo 28: Espectro de HSQC ^1H - ^{13}C (300 MHz; 75 MHz; CDCl_3) da 2DP84A (9-metoxi-cantin-6-ona)



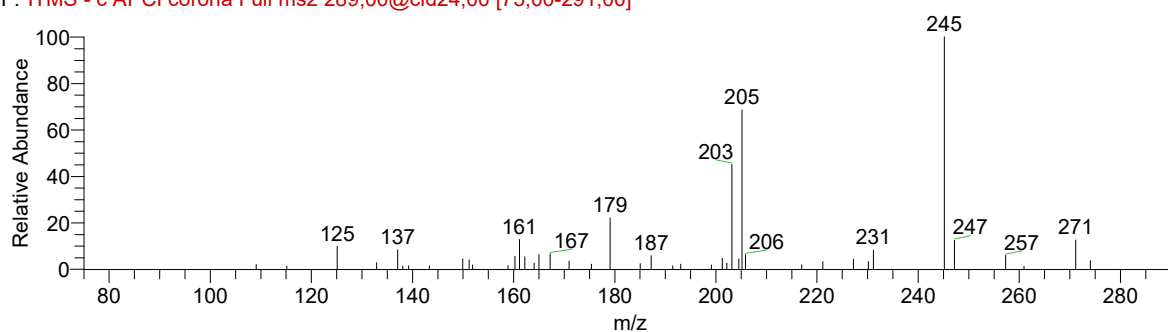
Anexo 29: Espectro de HMBC ^1H - ^{13}C (300 MHz; 75 MHz; CDCl_3) da 2DP84A (9-metoxi-cantin-6-ona)

Djalma_folhas_amstras 15_MSMS_Ata 4 p.20 #116 RT: 1,12 P: - NL: 2,13E1
 F: ITMS - c APCI corona Full ms2 191,00@cid24,00 [50,00-193,00]



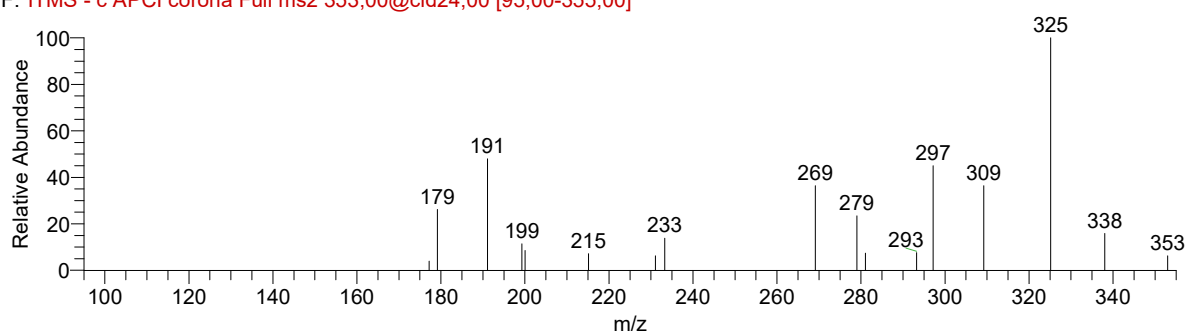
Anexo 30: Espectro EM/EM de [M-H]⁻ m/z 191 obtidos do extrato MeOH:H₂O das folhas da *S. pubicarpa*

Djalma_folhas_amstras 15_MSMS_Ata 4 p.20 #138 RT: 1,51 P: - NL: 1,00E2
 F: ITMS - c APCI corona Full ms2 289,00@cid24,00 [75,00-291,00]



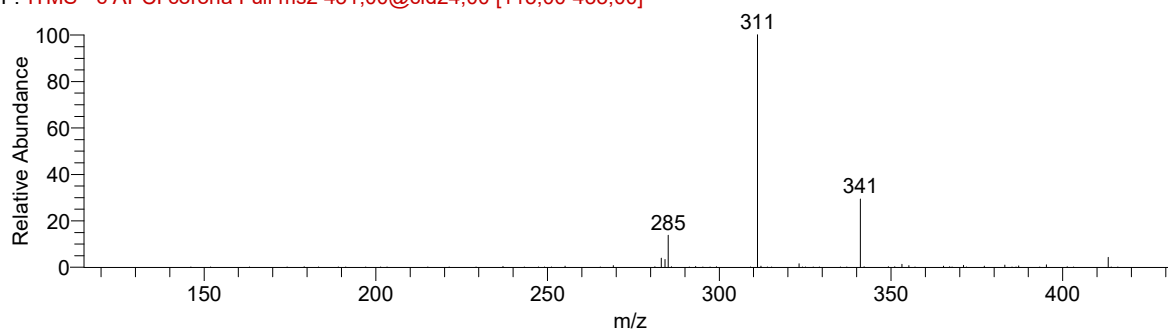
Anexo 31: Espectro EM/EM de [M-H]⁻ m/z 289 obtidos do extrato MeOH:H₂O das folhas da *S. pubicarpa*

Djalma_folhas_amstras 15_MSMS_Ata 4 p.20 #117 RT: 1,14 P: - NL: 3,02E1
 F: ITMS - c APCI corona Full ms2 353,00@cid24,00 [95,00-355,00]



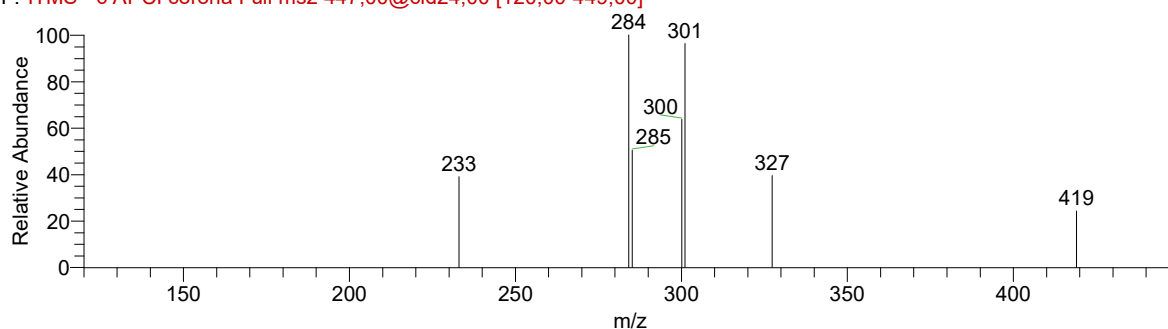
Anexo 32: Espectro EM/EM de [M-H]⁻ m/z 353 obtidos do extrato MeOH:H₂O das folhas da *S. pubicarpa*

Djalma_folhas_amstras 15_MSMS_Ata 4 p.20 #156 RT: 1,81 P: - NL: 9,04E3
 F: ITMS - c APCI corona Full ms2 431,00@cid24,00 [115,00-433,00]

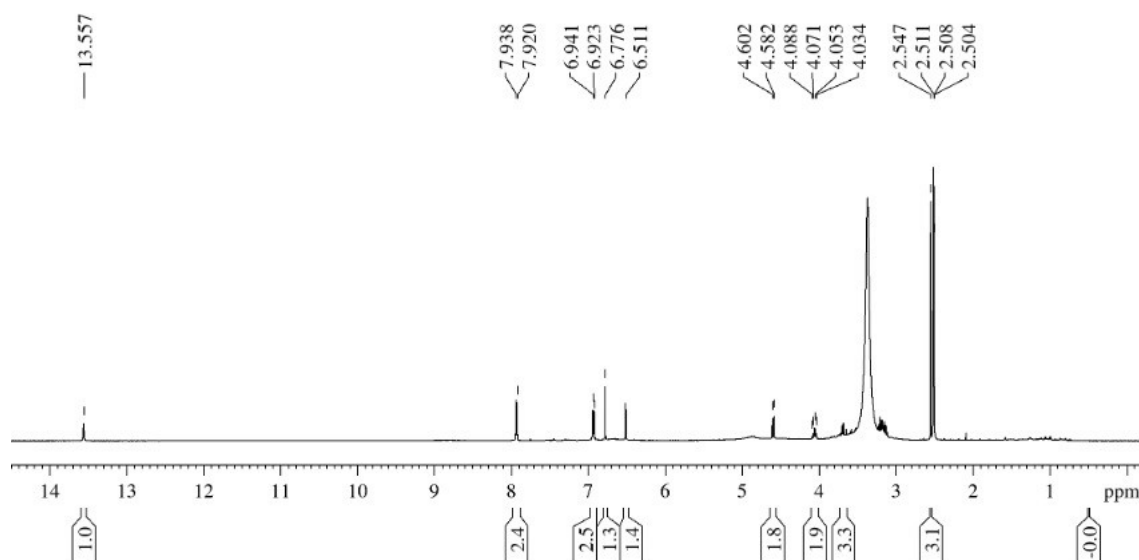


Anexo 33: Espectro EM/EM de $[M-H]^-$ m/z 431 obtidos do extrato MeOH:H₂O das folhas da *S. pubicarpa*

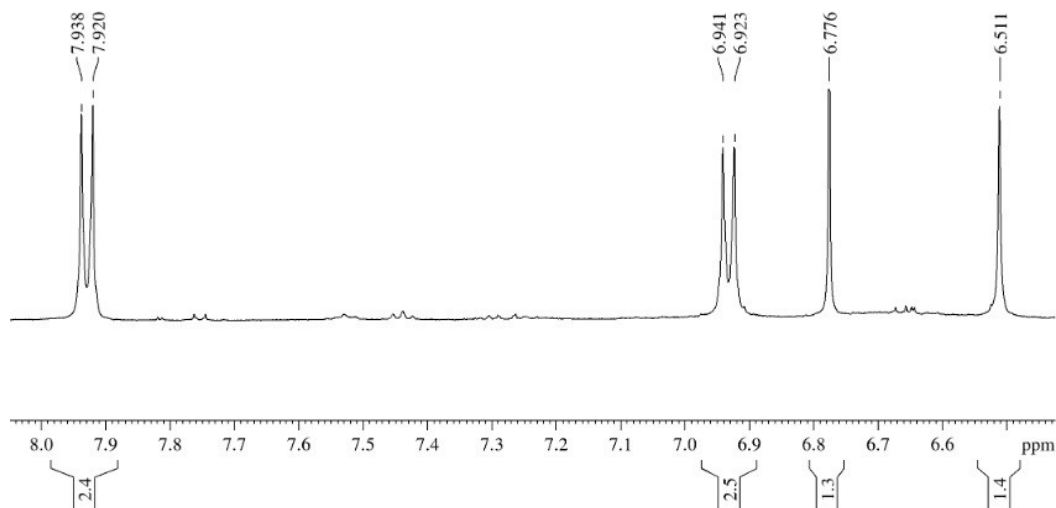
Djalma_folhas_amstras 15_MSMS_Ata 4 p.20 #168 RT: 2,03 P: - NL: 8,99
 F: ITMS - c APCI corona Full ms2 447,00@cid24,00 [120,00-449,00]



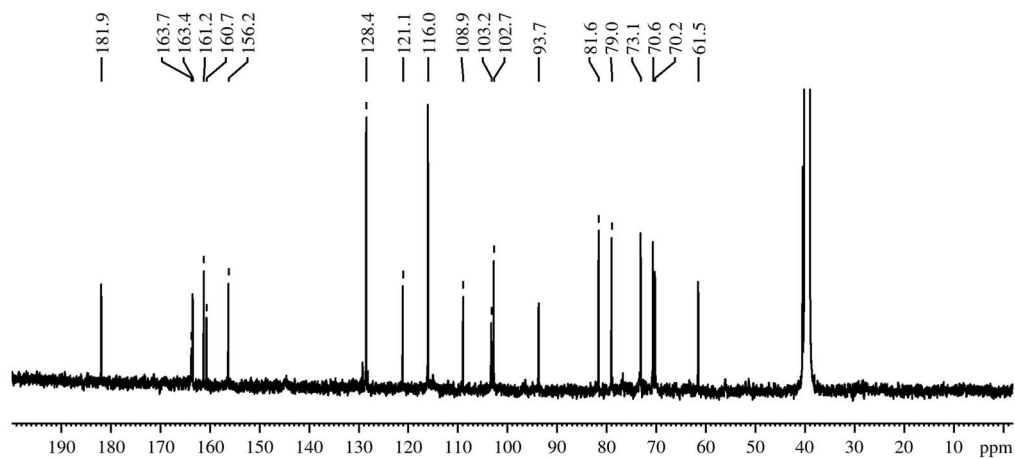
Anexo 34: Espectro EM/EM de $[M-H]^-$ m/z 447 obtidos do extrato MeOH:H₂O das folhas da *S. pubicarpa*



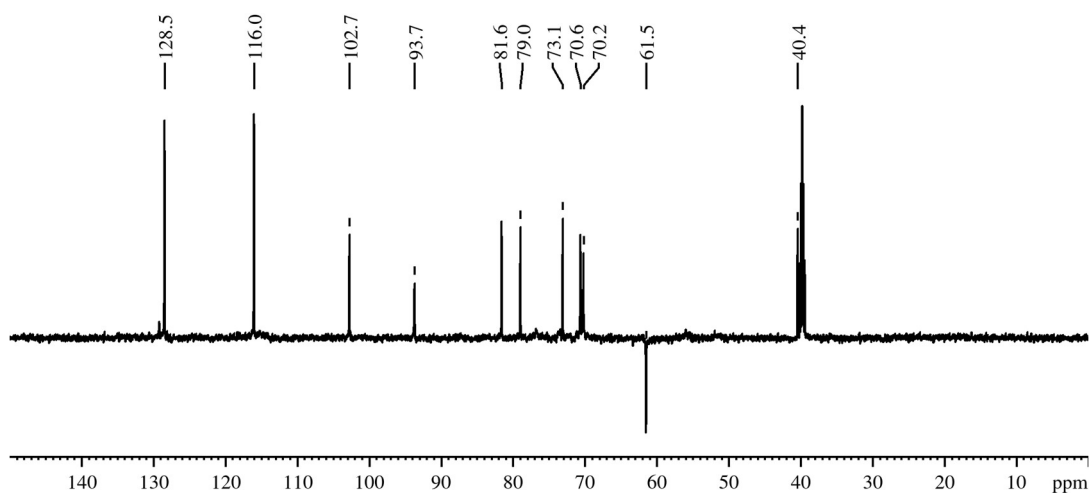
Anexo 35: Espectro de RMN ¹H (500 MHz, DMSO-d₆) da amostra 5DP13A-18 (isovitexina)



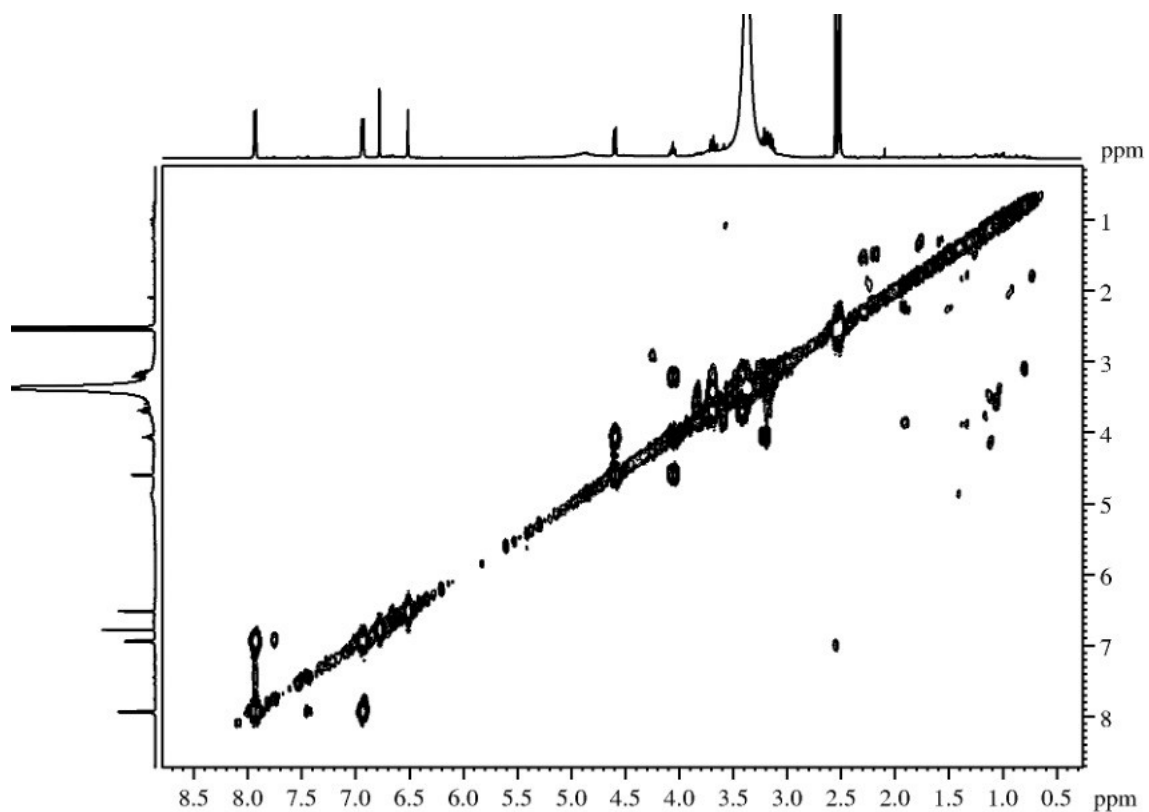
Anexo 36: Expansão da região δ 6,4 -8,5 do espectro de RMN ^1H (500 MHz, DMSO-*d*₆) da amostra 5DP13A-18 (isovitexina)



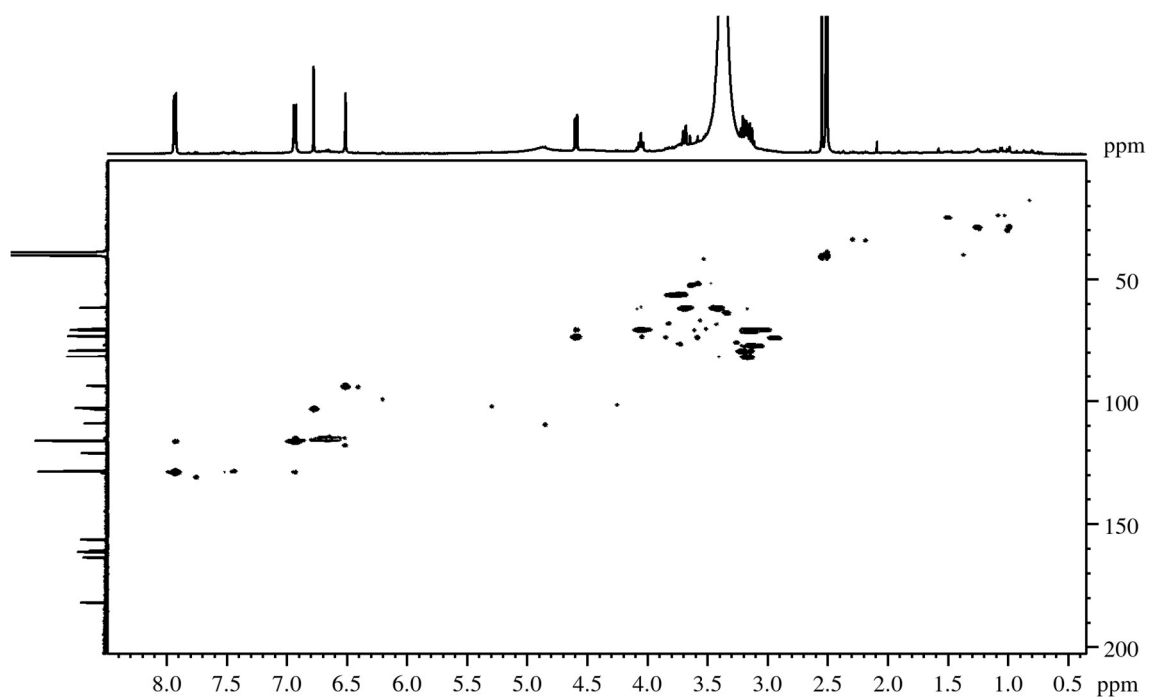
Anexo 37: Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, DMSO-*d*₆) do composto 5DP13A-18 (isovitexina)



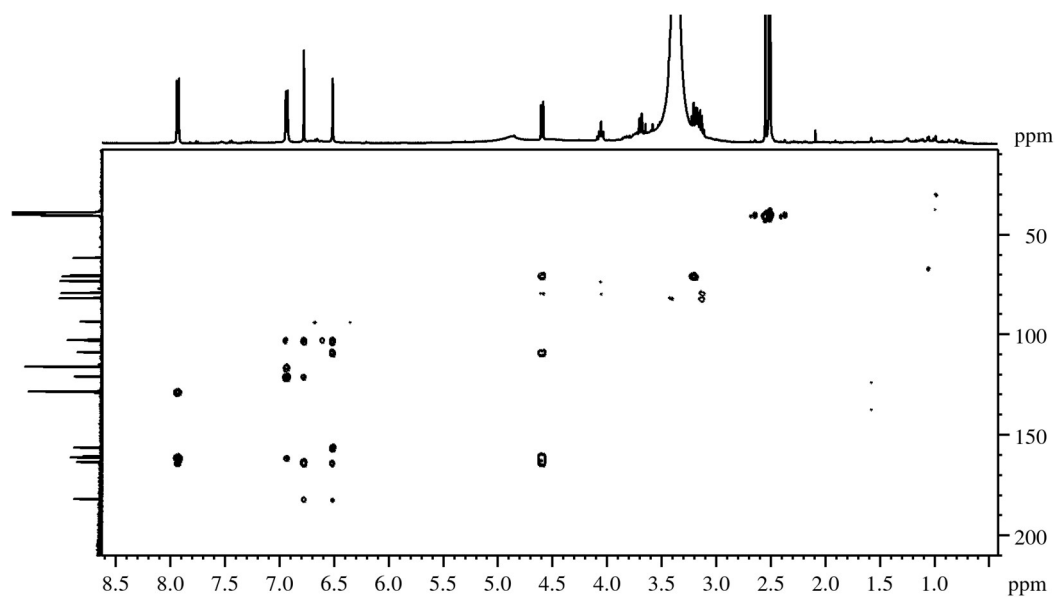
Anexo 38: Espectro de DEPT 135 (125 MHz, DMSO-*d*₆) da amostra 5DP13A-18 (isovitexina)



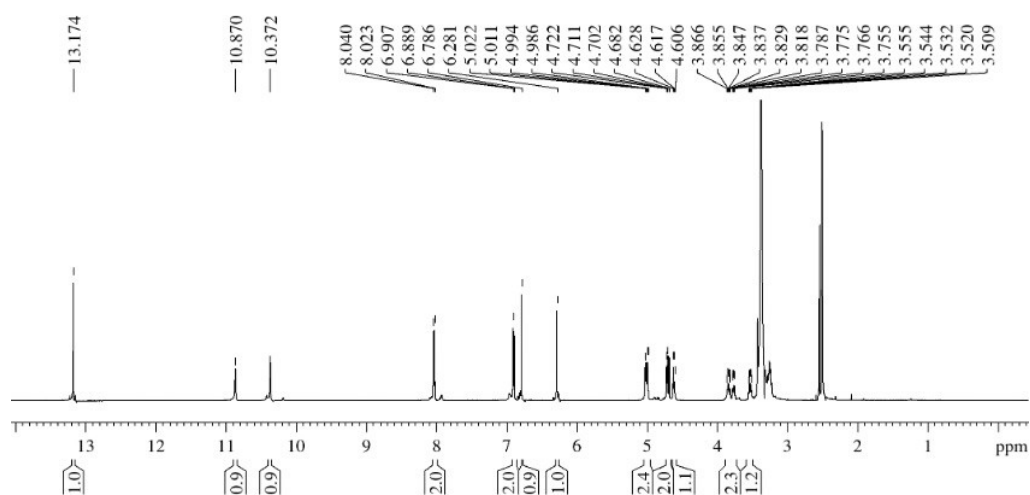
Anexo 39: Espectro de COSY ^1H - ^1H (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) da amostra 5DP13A-18 (isovitexina)



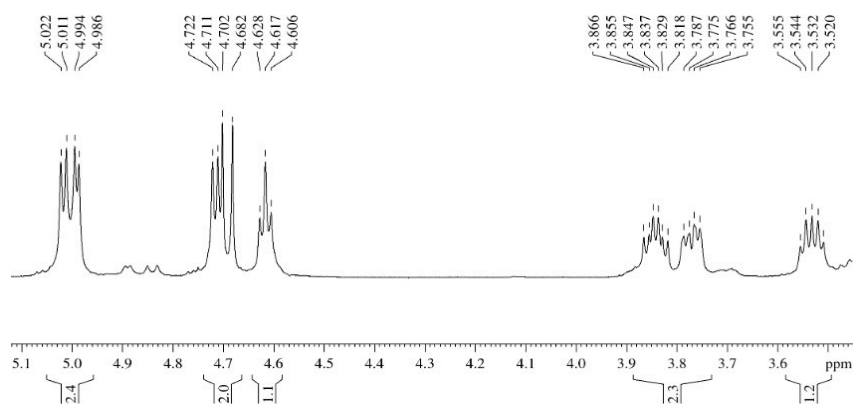
Anexo 40: Espectro de HSQC ^1H - ^{13}C (500 MHz, 125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) da amostra 5DP13A-18 (isovitexina)



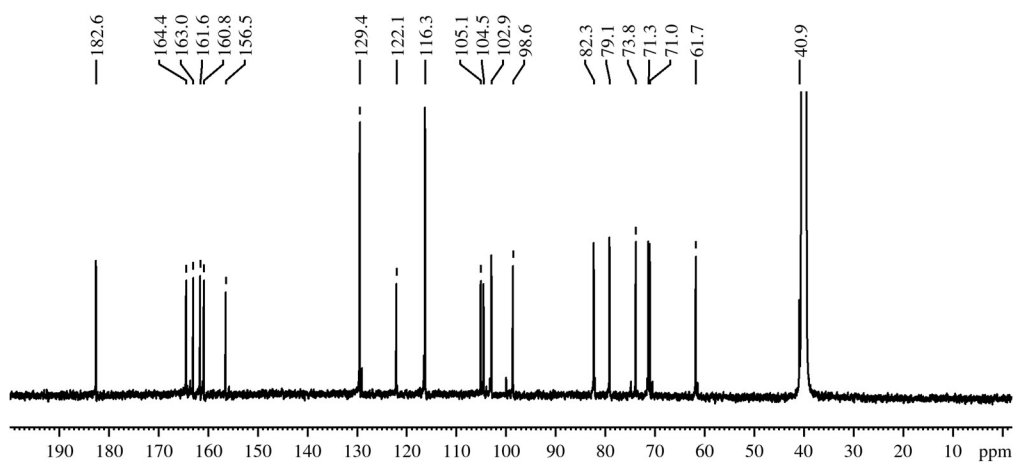
Anexo 41: Espectro de HMBC $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$ (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) da amostra 5DP13A-18 (isovitexina)



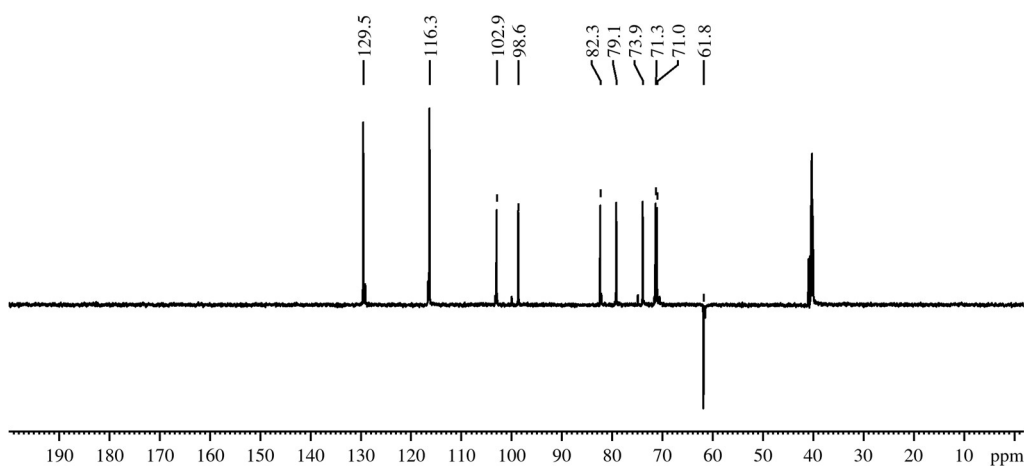
Anexo 42: Espectro de RMN ^1H (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) da amostra 5DP30P (vitexina)



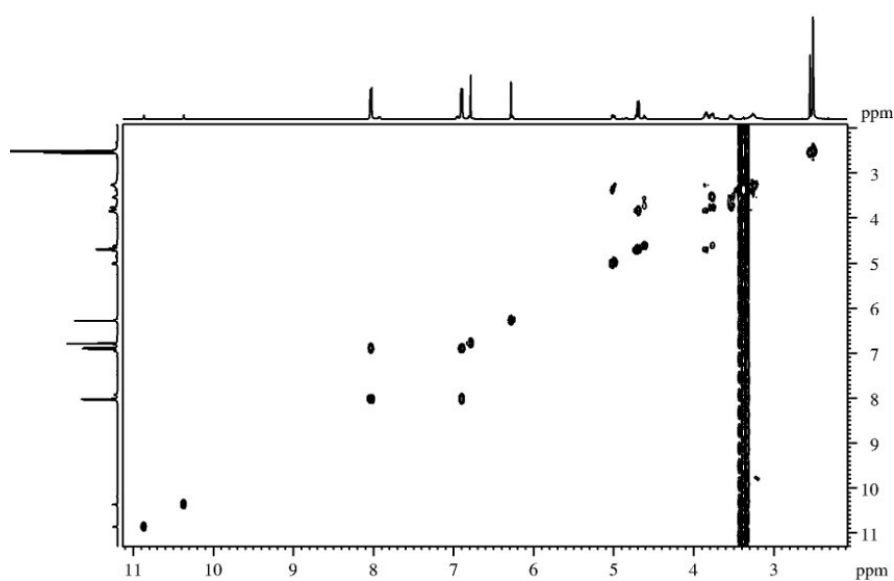
Anexo 43: Expansão da região δ 3,4-5,1 do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) do composto 5DP30P



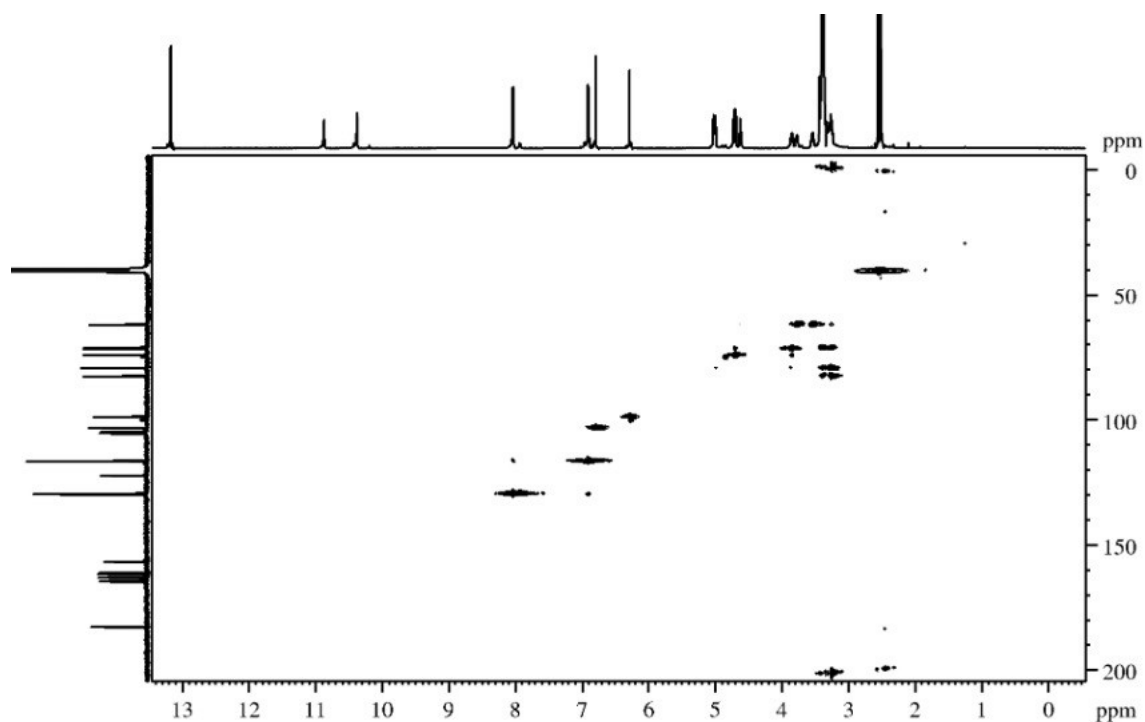
Anexo 44: Espectro de RMN ^{13}C (125, $\text{DMSO-}d_6$) do composto (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da 5DP30P (vitexina)



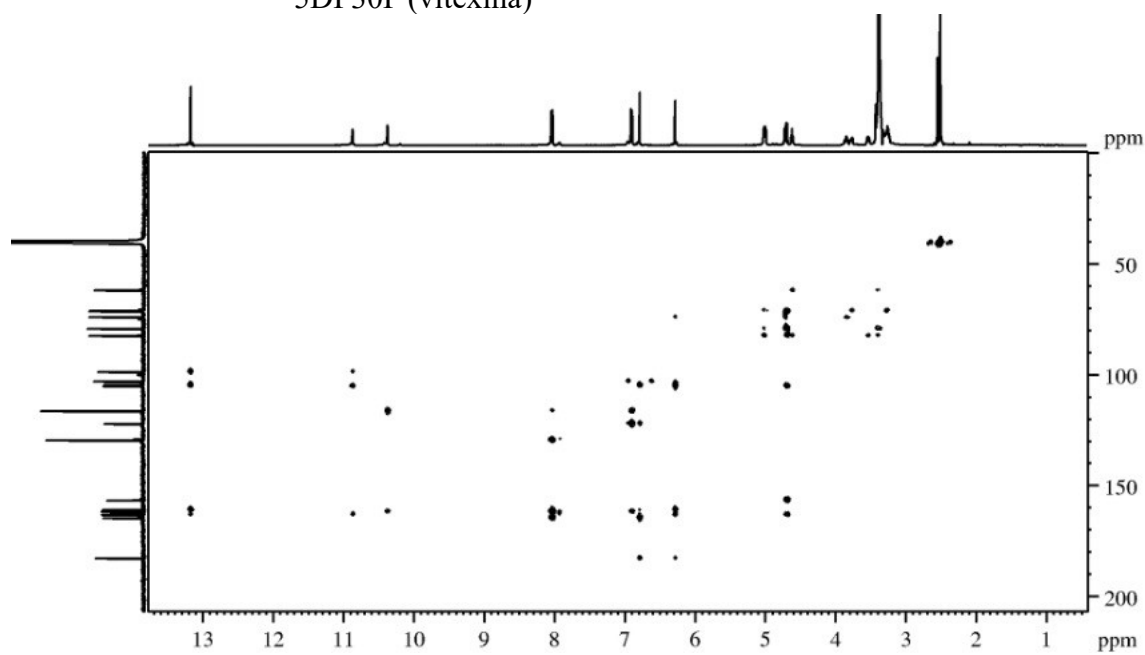
Anexo 45: Espectro de DEPT 135 (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da 5DP30P



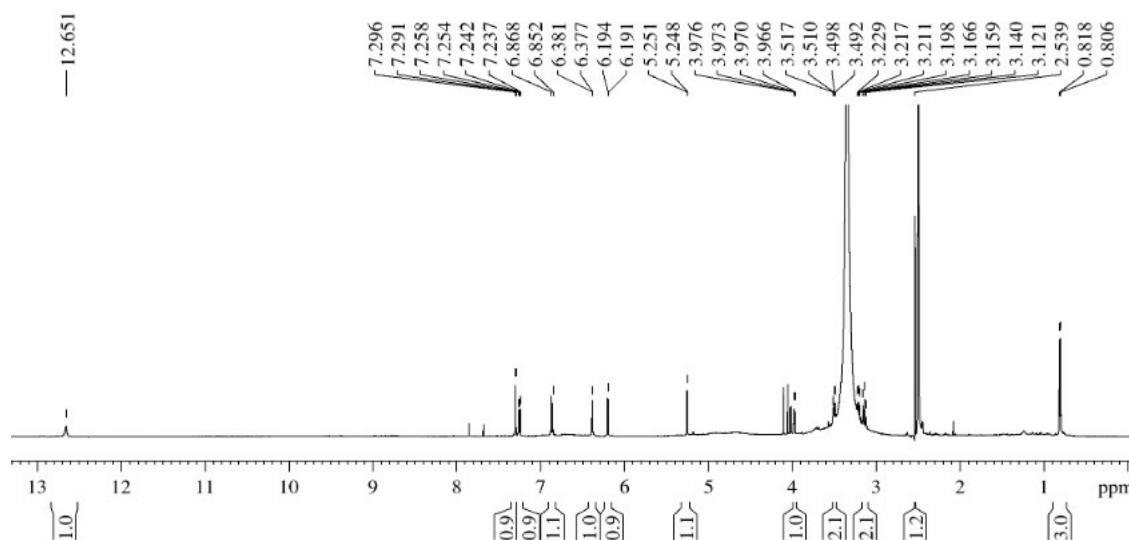
Anexo 46: Espectro de RMN de COSY $^1\text{H-}^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da 5DP30P (vitexina)



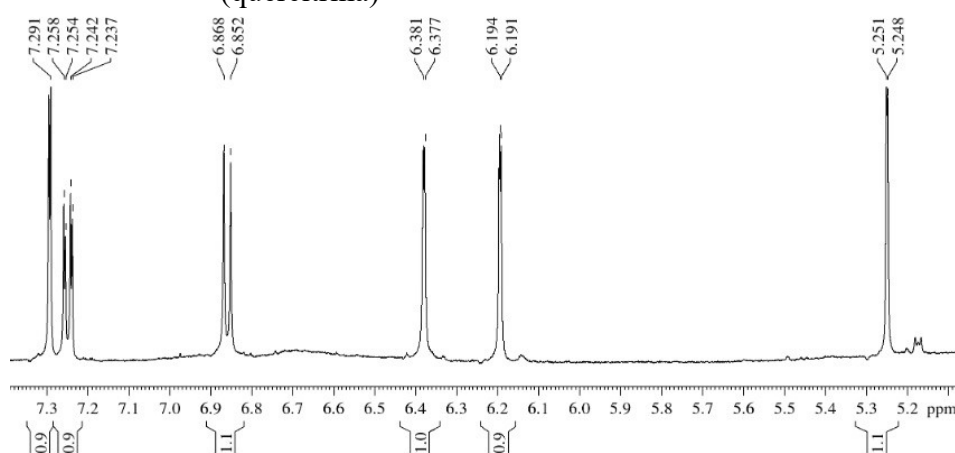
Anexo 47: Espectro de HSQC $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$ (500 MHz, 125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) da 5DP30P (vitexina)



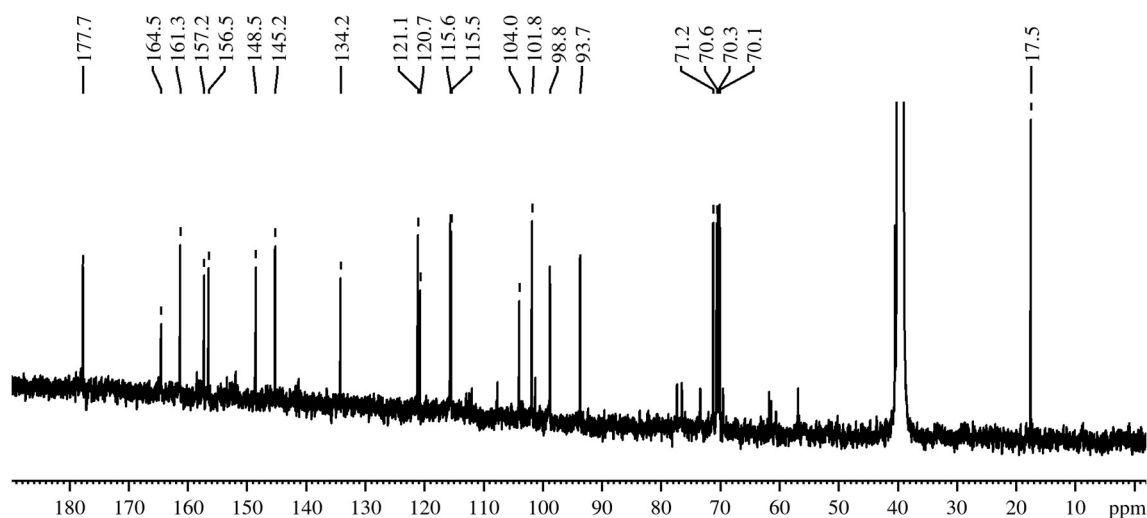
Anexo 48: Espectro de HMBC $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$ (500 MHz, 125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) da 5DP30P (vitexina)



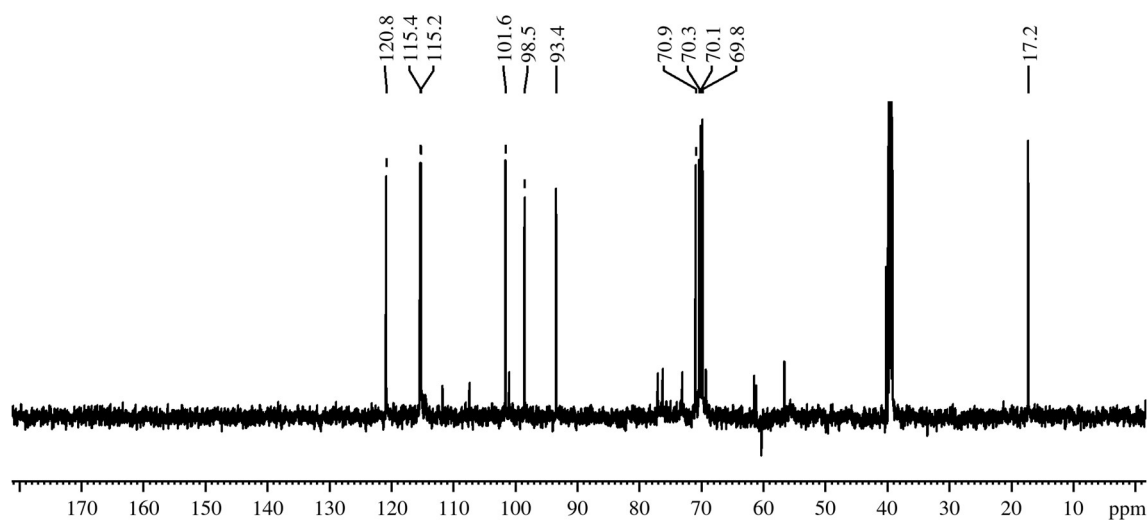
Anexo 49: Espectro de RMN ^1H (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da amostra 5DP13A-36 (quercitrina)



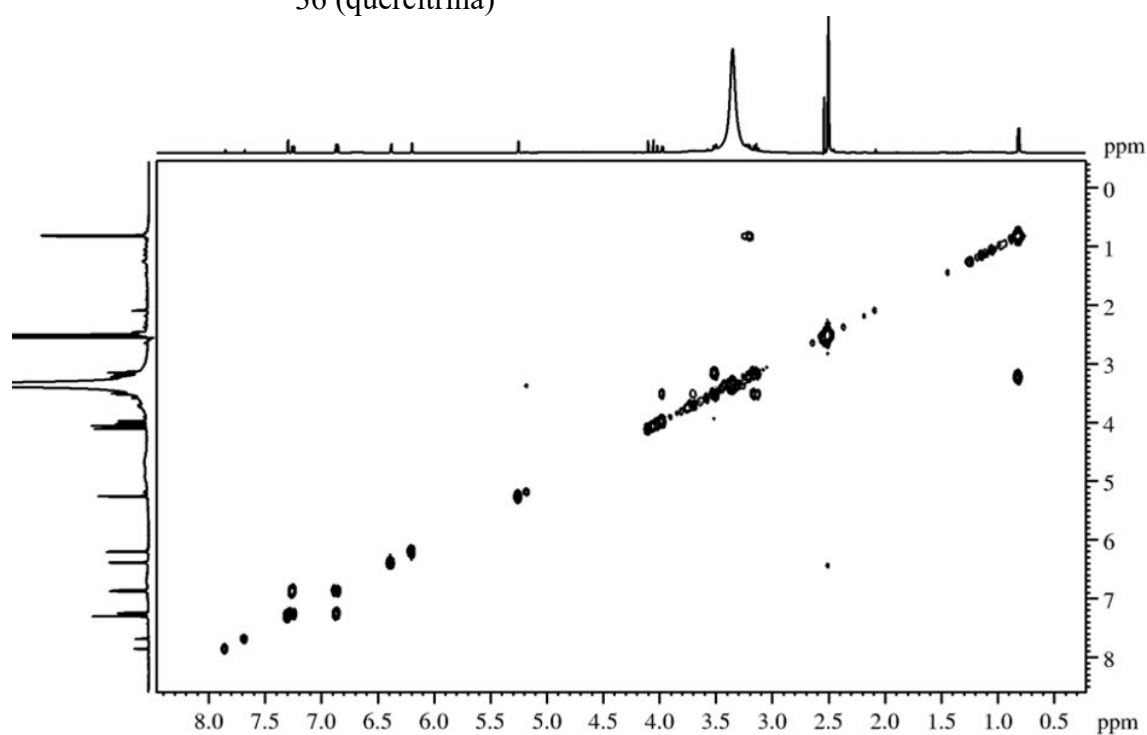
Anexo 50: Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) na região δ 5,1-7,4 da 5DP13A-36 (quercitrina)



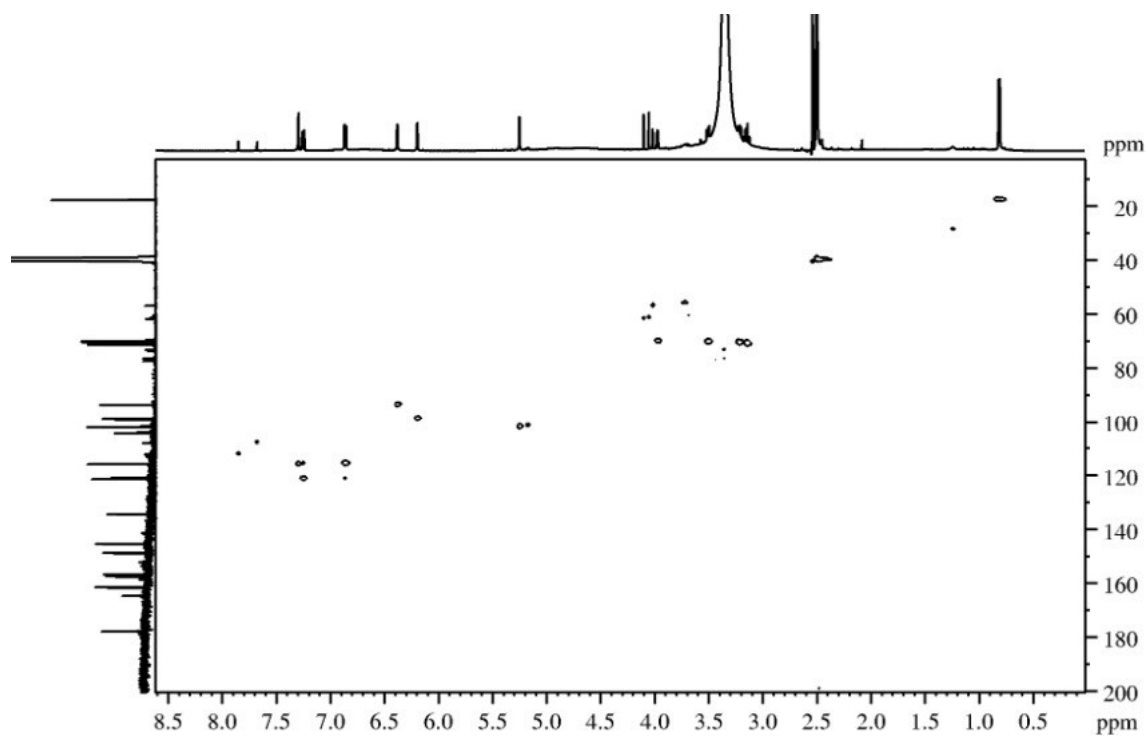
Anexo 51: Espectro de RMN ^{13}C (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da amostra 5DP13A-36 (quercitrina)



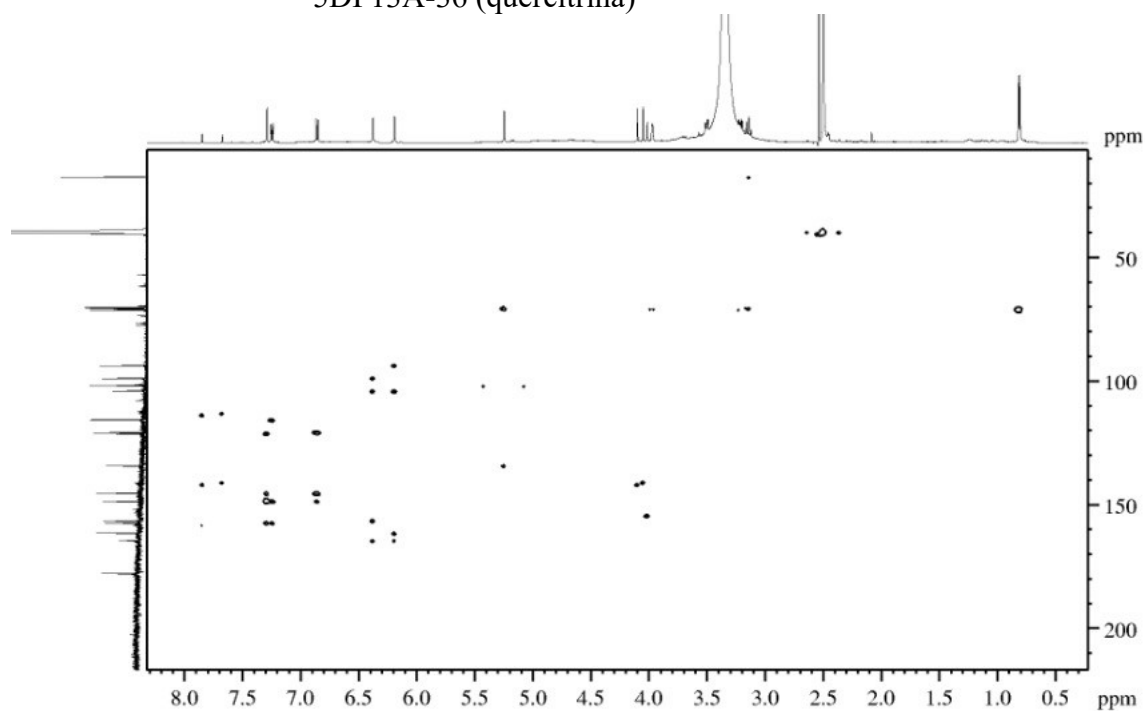
Anexo 52: Espectro de DEPT 135 (125 MHz, DMSO- d_6) da amostra 5DP13A-36 (quercitrina)



Anexo 53: Espectro de COSY ^1H - ^1H (500 MHz, DMSO- d_6) da 5DP13A-36 (quercitrina)



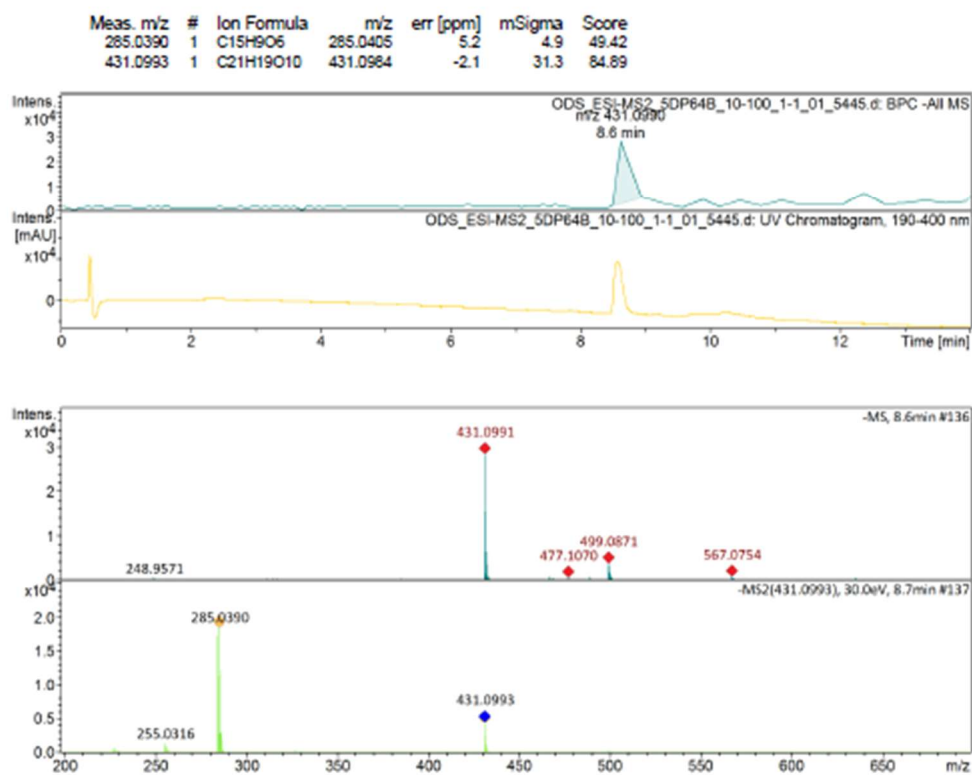
Anexo 54: Espectro de HSQC $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$ (500 MHz, 123 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) da 5DP13A-36 (quercitrina)



Anexo 55: Espectro HMBC $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$ (500 MHz, 123 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) da 5DP13A-36 (quercitrina)

Generic Display Report

Analysis Info	Acquisition Date 8/28/2024 12:17:42 PM		
Analysis Name	D:\Data\Usuarios\2024\Adrian\Alunos\DJalma\LC-MS\28-08-24\ODS_ESI-MS2_5DP64B_10-100_1-1_01_5445.d		
Method	LC-MS2_ESI- 50-1000_NP4_TA20_AE-EA2_RA	Operator	BDAL@DE
Sample Name	005_30-35-35_20min_m	Instrument	micrOTOF-Q
Comment	ODS_50x2.0mm Flow: 0.35 mL/min - SSplit; P=3282psi; C=1mg/mL (MeOH) Inj=1uL A(H2O 0.1% ac)/B(MeOH) 0-14 min_10-100% 14-18 min_100% 18-20min_100-10% 18-20min_10% Injetor: MeOH:H2O 1:1 Calib.: Formiatode Sodio 10mM_end		



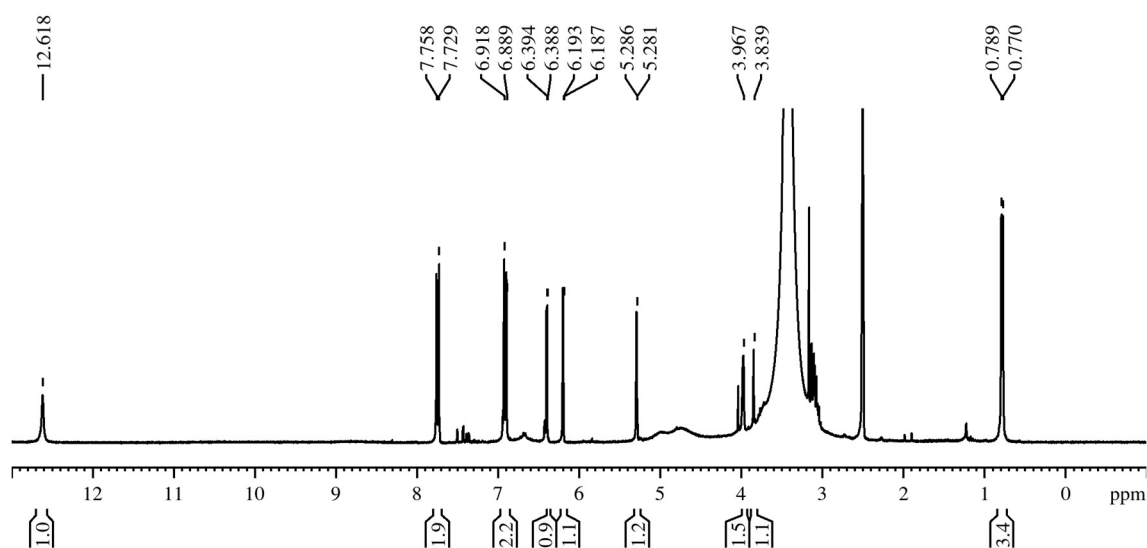
Bruker Compass DataAnalysis 4.2

printed: 8/28/2024 1:23:06 PM

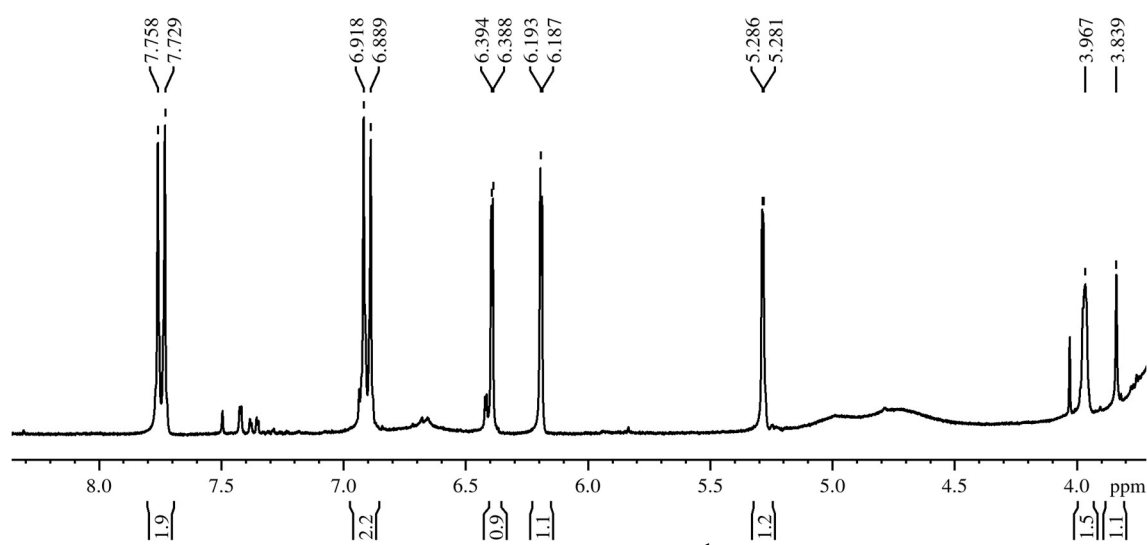
by: BDAL@DE

Page 1 of 1

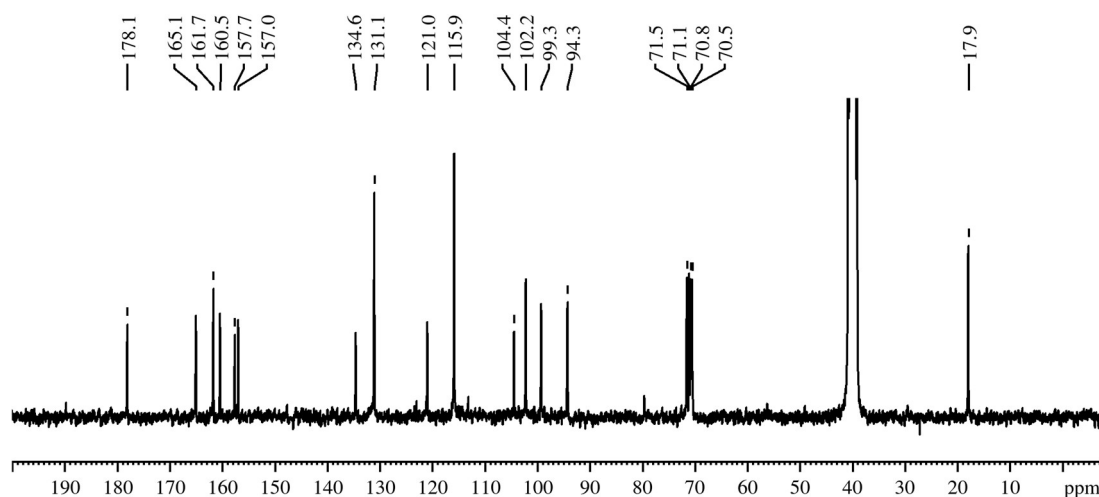
Anexo 56: EMAR modo negativo da 5DP64-B (afzelina); $[M-H]^-$ m/z 431,0993



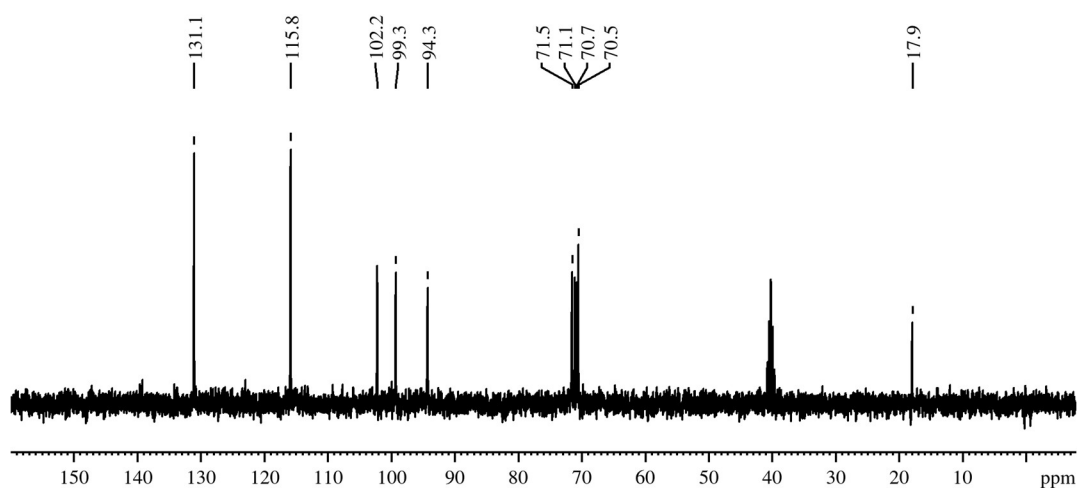
Anexo 57: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da 5DP64-B (afzelina)



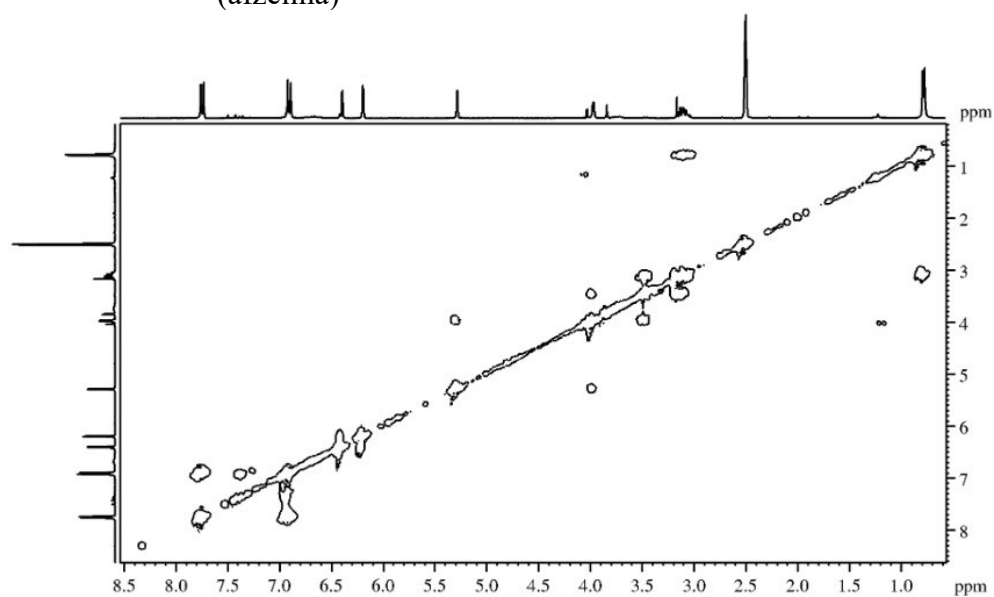
Anexo 58: Expansão do espectro de RMN ^1H (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) na região δ 3,7-8,3 da 5DP64-B (afzelina)



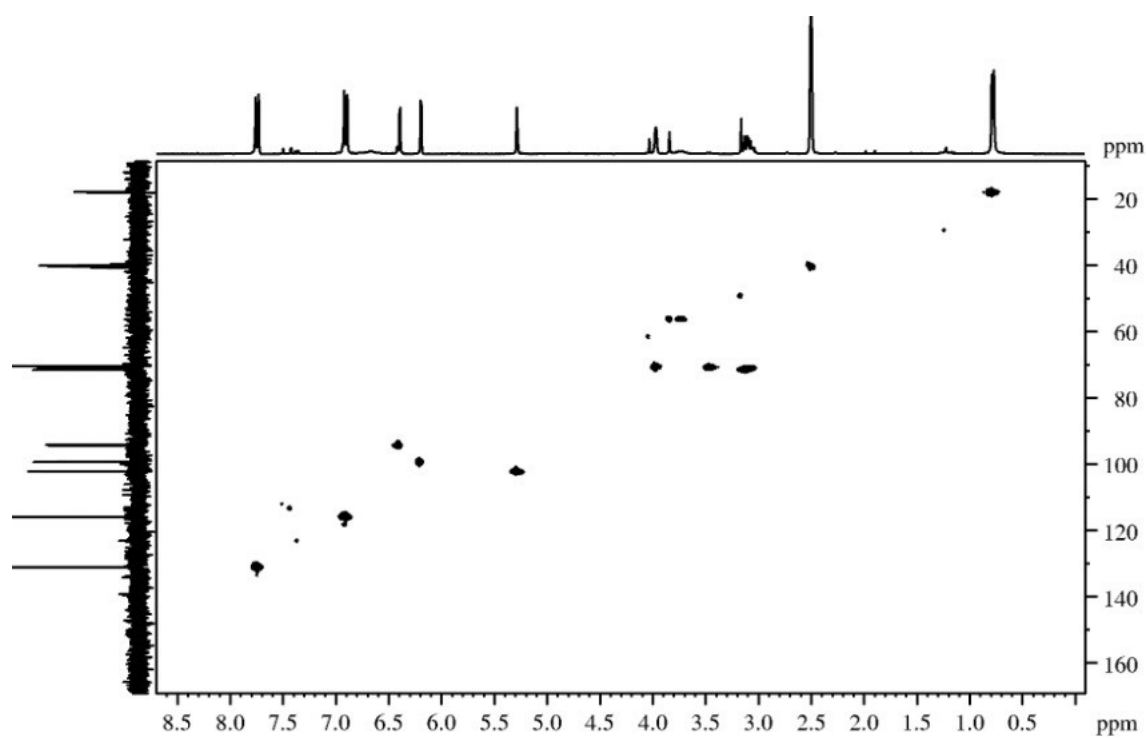
Anexo 59: Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) da amostra 5DP64-B (afzelina)



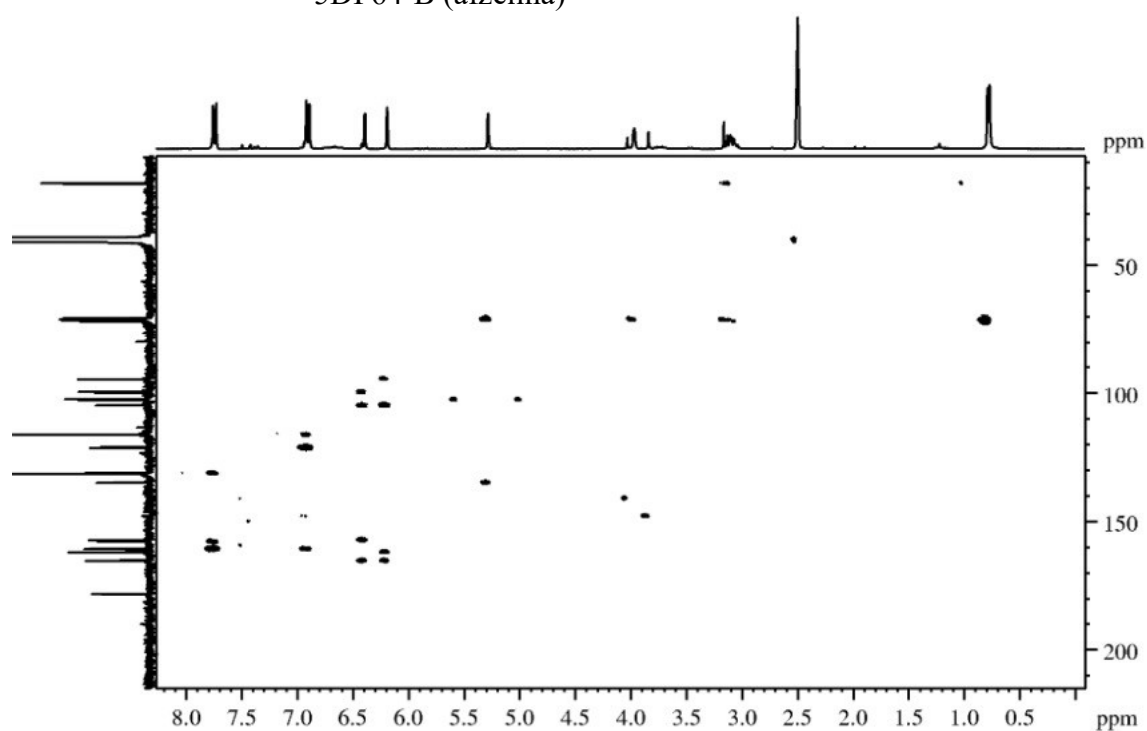
Anexo 60: Espectro de DEPT 135 (75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) da amostra 5DP64-B (afzelina)



Anexo 61: Espectro de COSY $^1\text{H} - ^1\text{H}$ (300 MHz, CDCl_3) 5DP64-B (afzelina)



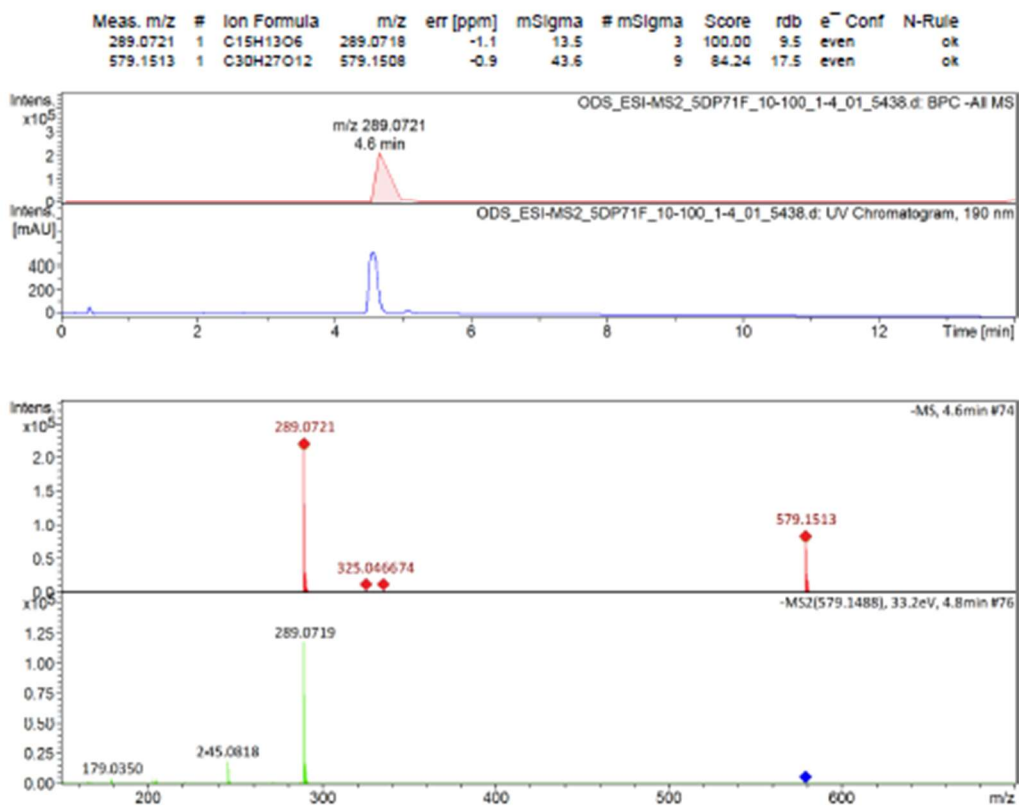
Anexo 62: Espectro de HSQC ^1H - ^{13}C (300 MHz; 75 MHz; $\text{DMSO}-d_6$) da 5DP64-B (afzelina)



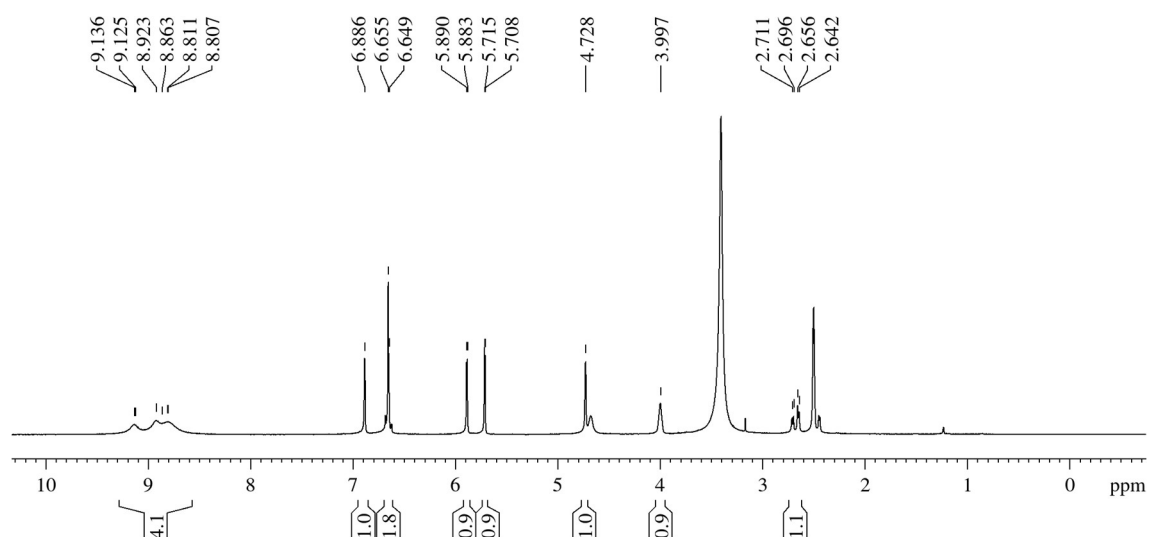
Anexo 63: Espectro de HMBC ^1H - ^{13}C (300 MHz; 75 MHz; $\text{DMSO}-d_6$) da 5DP64-B (afzelina)

Generic Display Report

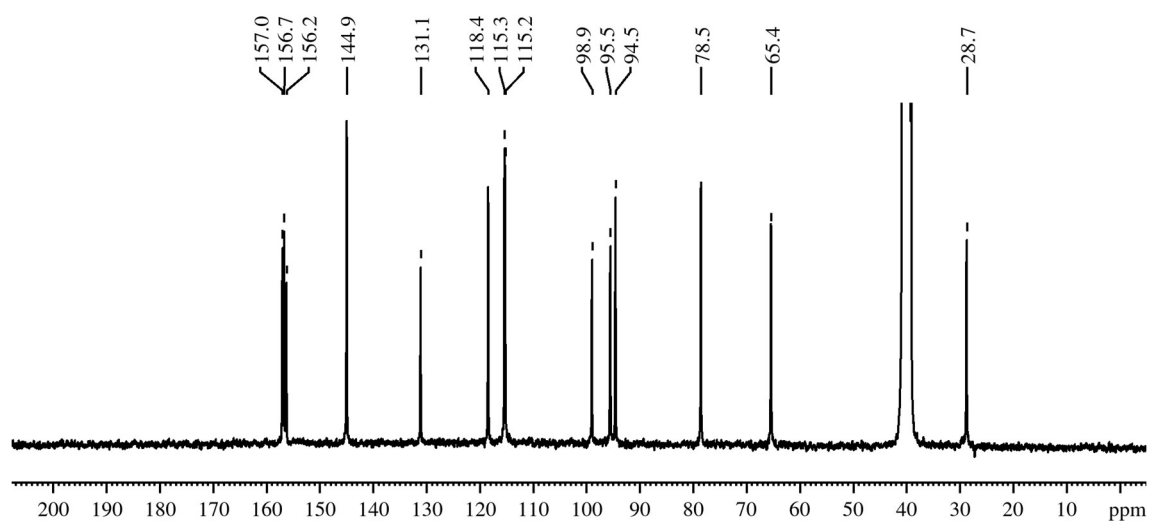
Analysis Info		Acquisition Date 8/26/2024 11:16:08 AM	
Analysis Name	D:\Data\Usuarios\2024\Adrian\Alunos\DJalma\LC-MS\26-08-24\ODS_ESI-MS2_SDP71F_10-100_1-4_01_5438.d		
Method	LC-MS2_ESI- 50-1000_NP4_TA20_AE-EA2_RA	Operator	BDAL@DE
Sample Name	005_30-35-35_20min_m	Instrument	micrOTOF-Q
Comment	ODS_ESI-MS2_SDP71F_10-100 ODS 50x2,0mm Flow=0,35 mL/min - SSplit; P=3282psi; C=1mg/mL (MeOH) Inj=1uL A(H2O 0,1% ac)/B(MeOH) 0-14 min_10-100% 14-16 min_100% 16-18min_100-10% 18-20min_10% Injector: MeOH:H2O 1:1 Calib.:FormiatodeSodio10mM_end		



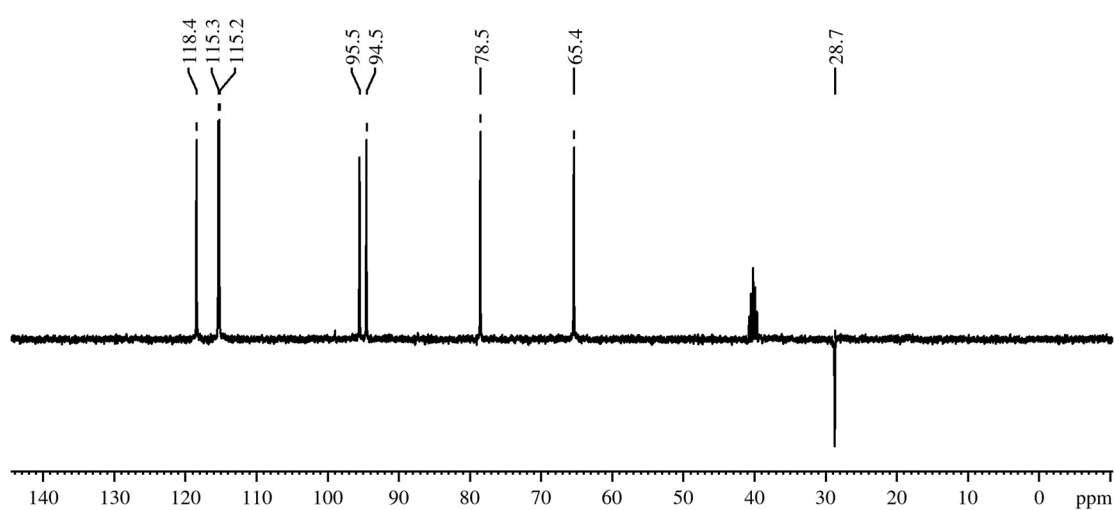
Anexo 64: EMAR modo negativo e EM/EM do íon *m/z* 289,0721 da amostra 5DP71F (Epicatequina)



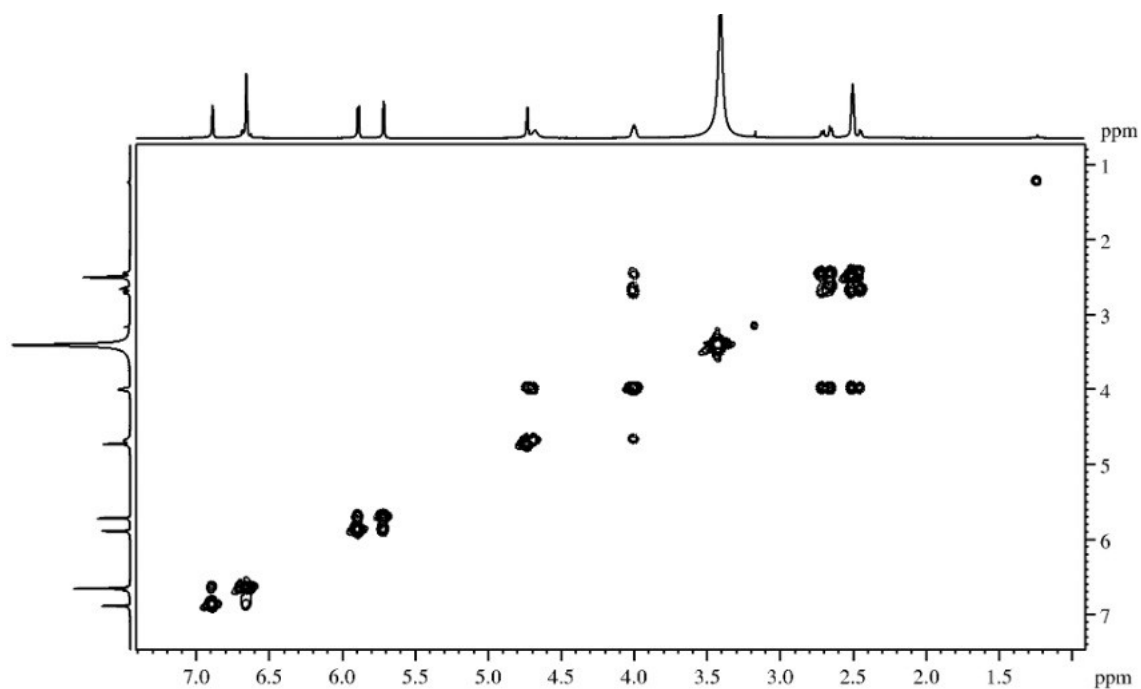
Anexo 65: Espectro de RMN ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) da 5DP71F (epicatequina)



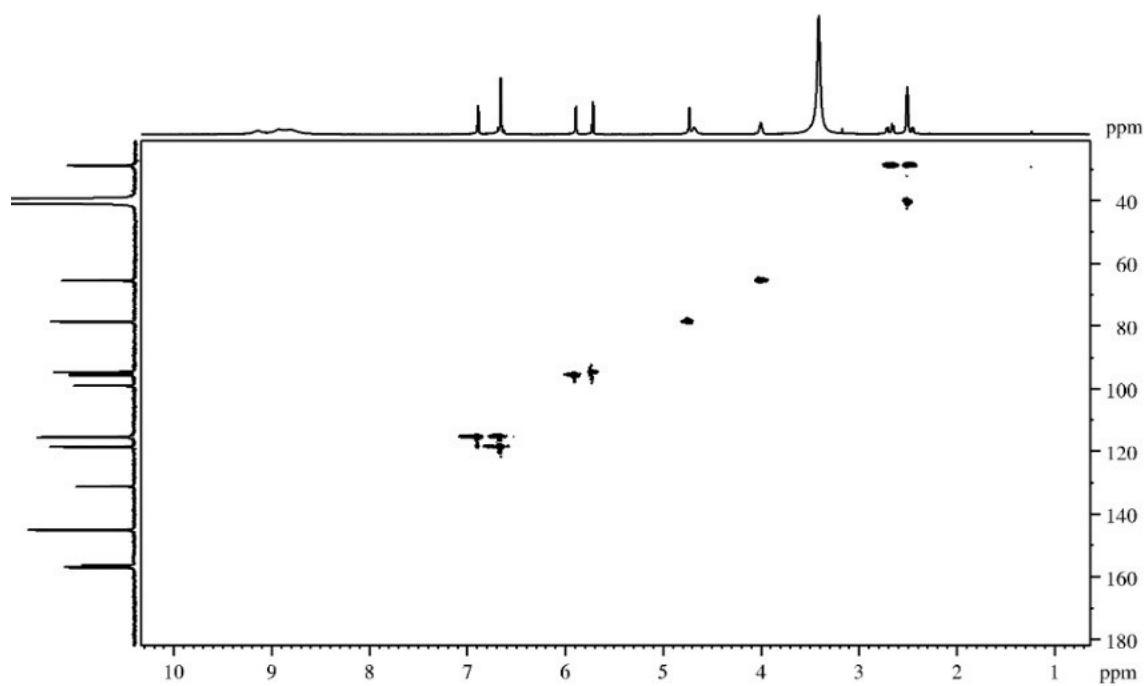
Anexo 66: Espectro de RMN ¹³C (75 MHz, DMSO-*d*₆) da 5DP71F (epicatequina)



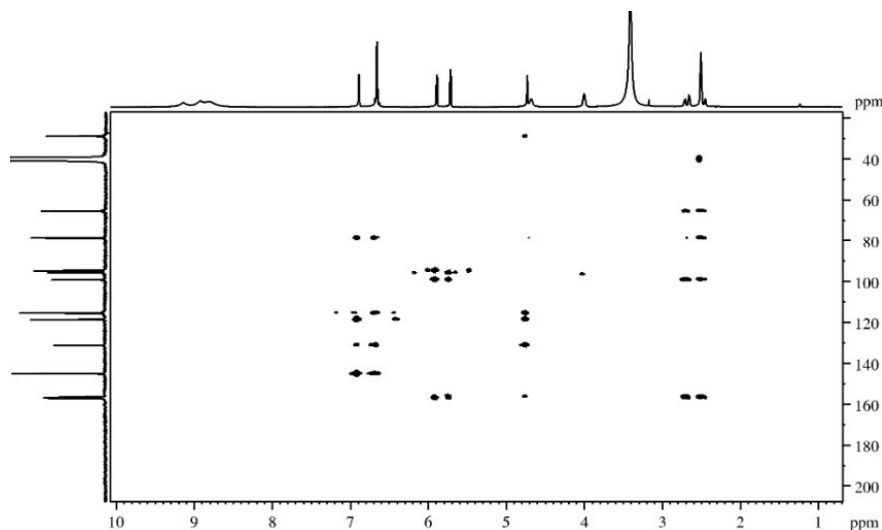
Anexo 67: Espectro de DEPT 135 (75 MHz, DMSO-*d*₆) da 5DP71F (epicatequina)



Anexo 68: Espectro de COSY ^1H - ^1H (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) da 5DP71F (epicatequina)

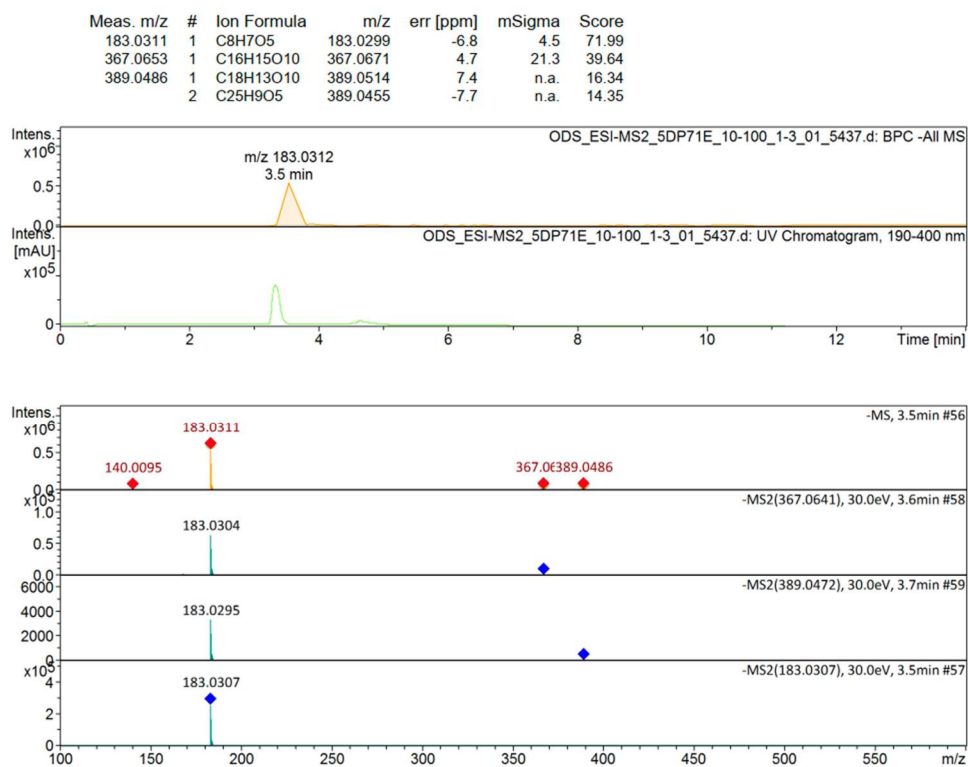


Anexo 69: Espectro de HSQC ^1H - ^{13}C (300 MHz, 75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) da 5DP71F (epicatequina)

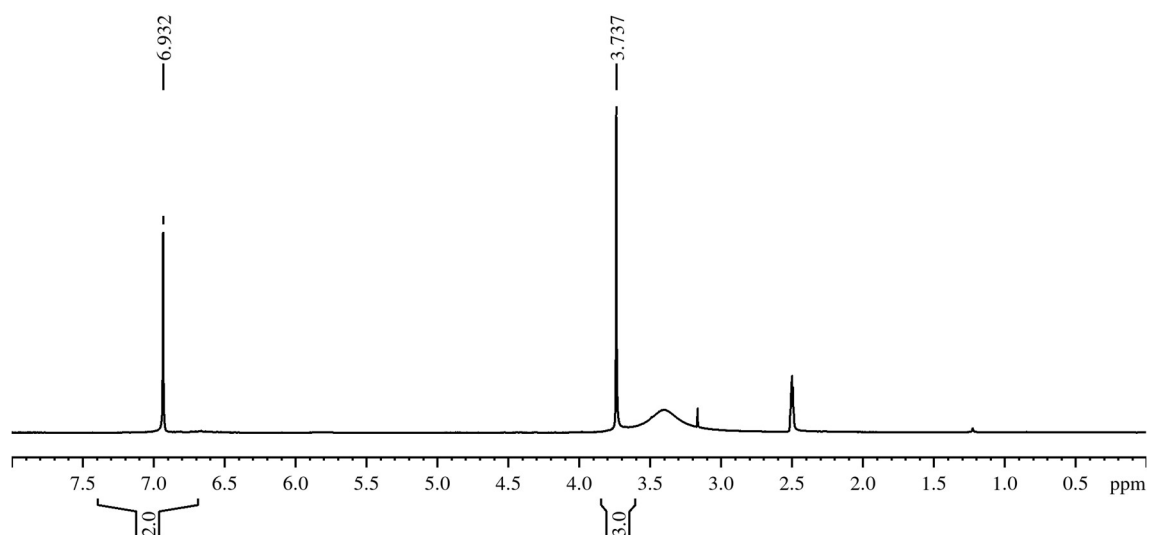


Anexo 70: Espectro de HMBC $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$ (300 MHz, 75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) da 5DP71F (epicatequina)

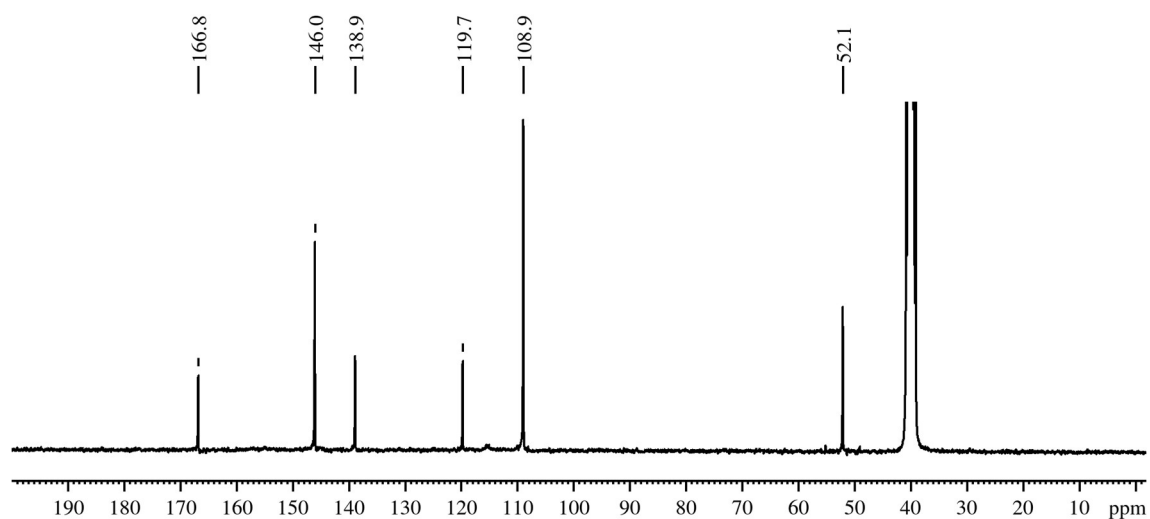
Method	LC-MS2_ESI- 50-1000_NP4_TA20_AE-EA2_RA	Operator	BDAL@DE
Sample Name	005_30-35-35_20min_m	Instrument	micrOTOF-Q
Comment	ODS_ESI-MS2_5DP71E_10-100 ODS 50x2,0mm Flow=0,35 mL/min - SSplit; P=3282psi; C=1mg/mL (MeOH) Inj=1uL A(H ₂ O 0,1% ac)/B(MeOH) 0-14 min_10-100% 14-16 min_100% 16-18min_100-10% 18-20min_10% Injetor: MeOH:H ₂ O 1:1 Calib.:FormiatodeSodio10mM_end		



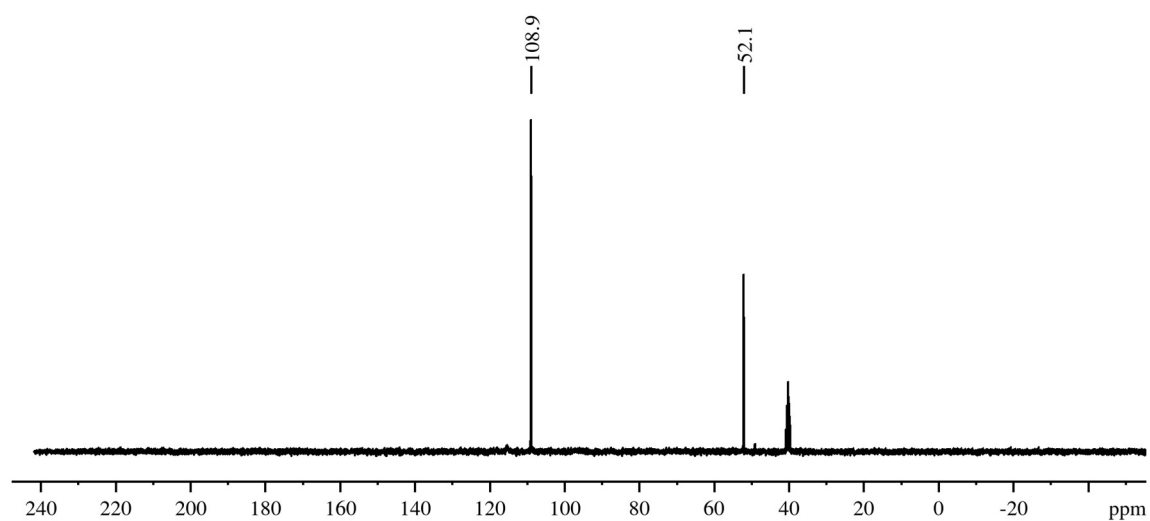
Anexo 71: CL-IES(-)-EMAR da 5DP71E e EM/EM de íon importantes (galato de metila)



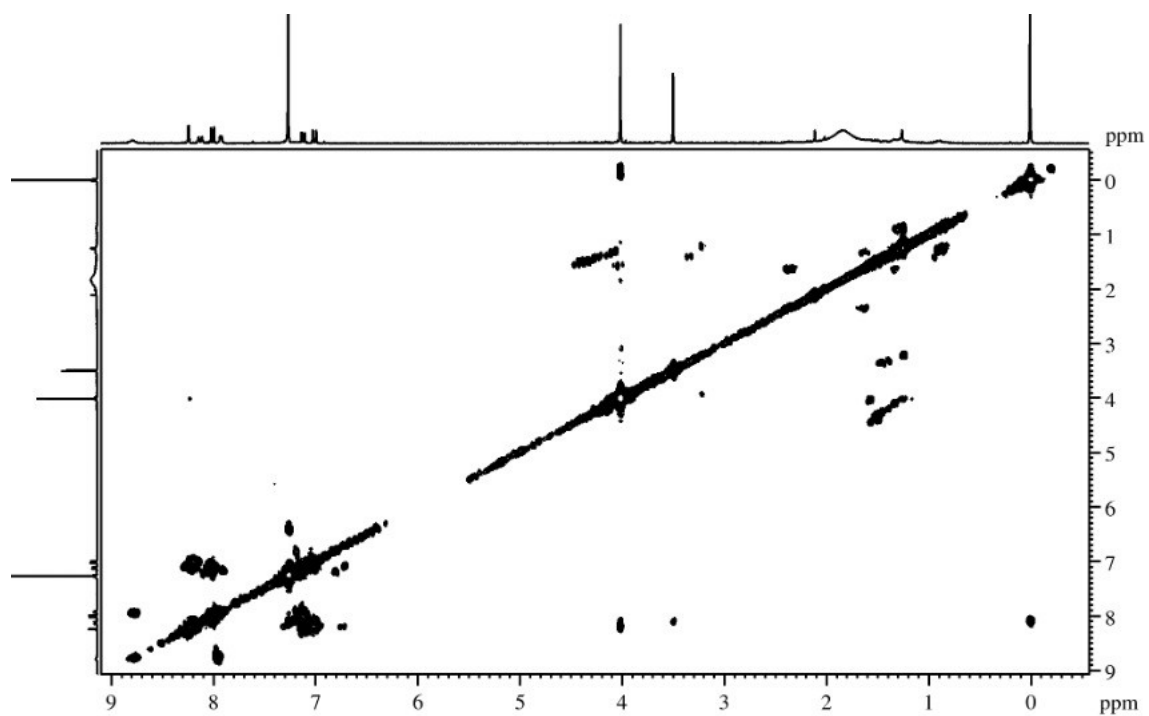
Anexo 72: Espectro de RMN ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) da 5DP71E (galato de metila)



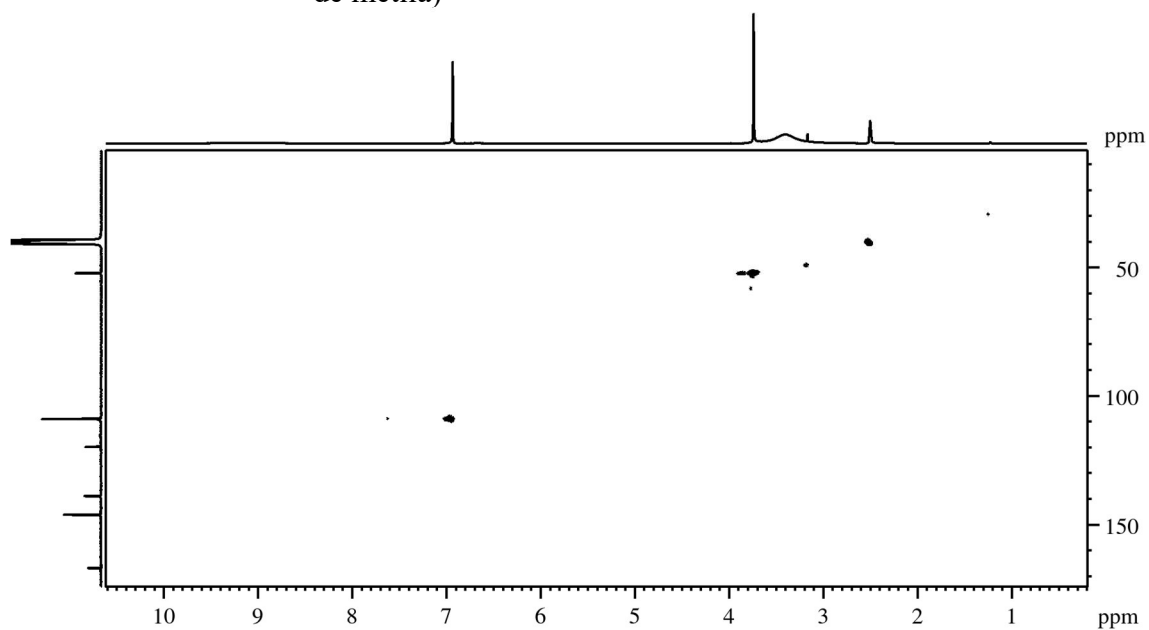
Anexo 73: Espectro de RMN ¹³C (75 MHz, DMSO-*d*₆) da 5DP71E



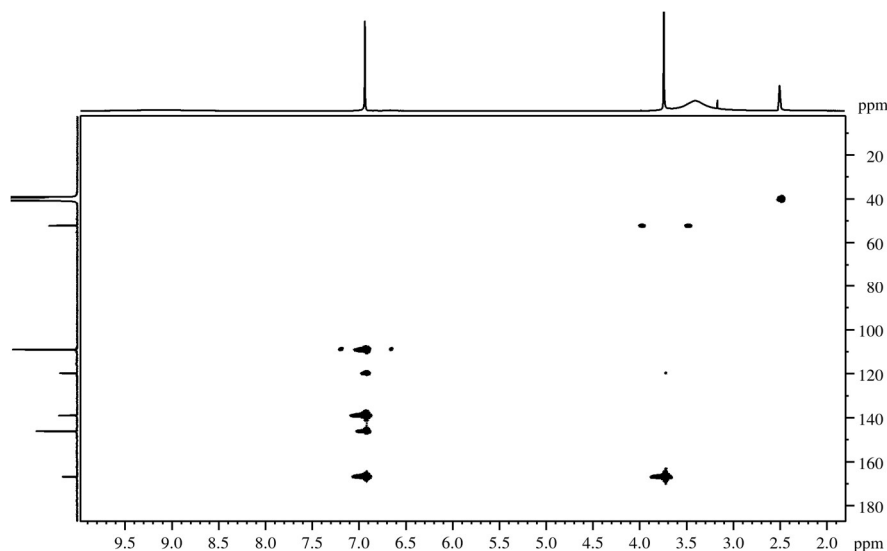
Anexo 74: Espectro de DEPT 135 (75 MHz, DMSO-*d*₆) da 5DP71E



Anexo 75: Espectro de COSY ^1H - ^1H (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) da 5DP71E (galato de metila)



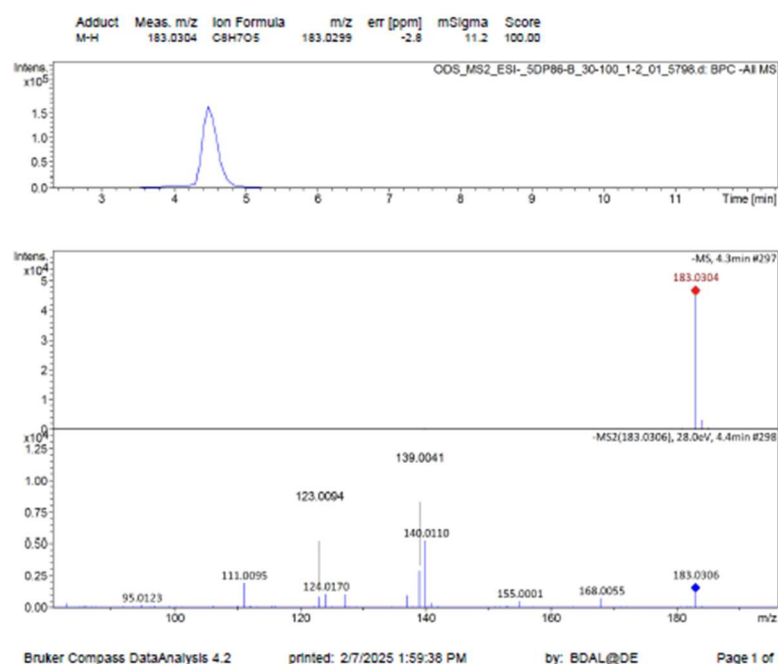
Anexo 76: Espectro de HSQC ^1H - ^{13}C (300 MHz, 75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) da amostra 5DP71E (galato de metila)



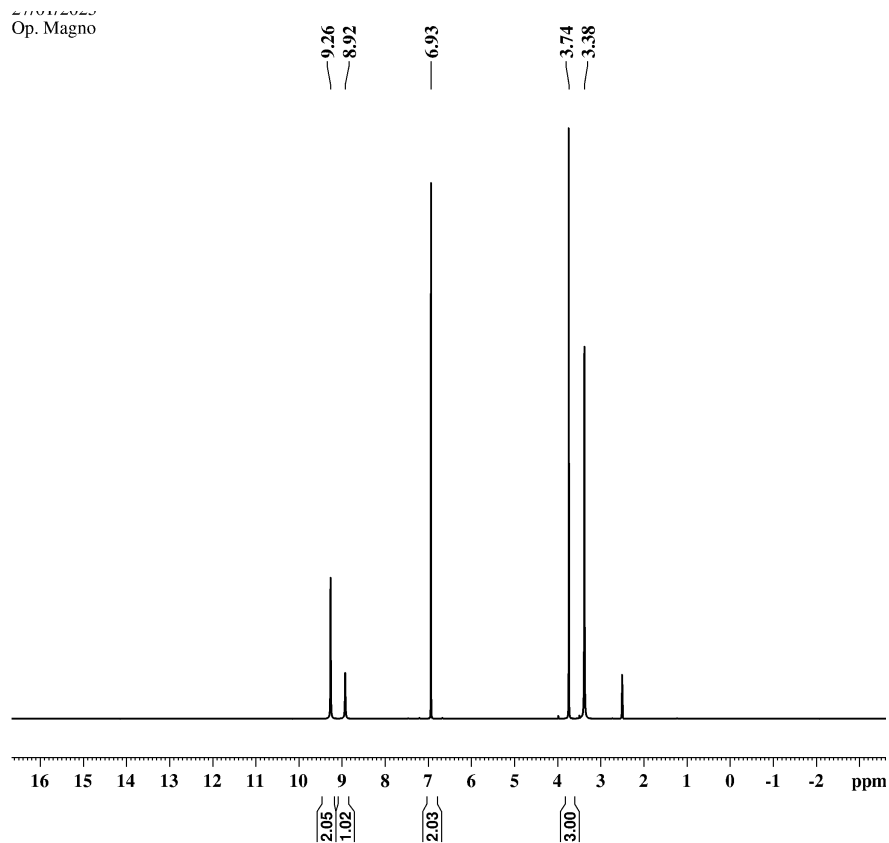
Anexo 77: Espectro de HMBC $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$ (300 MHz, 75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) da 5DP71E (galato de metila)

Generic Display Report

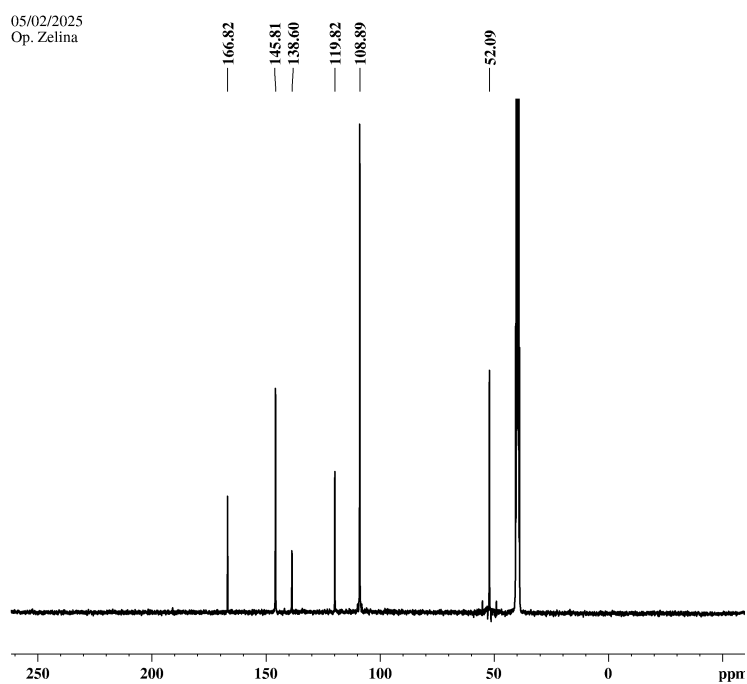
Analysis Info		Acquisition Date 2/7/2025 10:02:25 AM	
Analysis Name	D:\Data\Usuarios\2025\Adrian\Alunos\DJalma\LC-MS\ODS_MS2_ESI-_5DP86-B_30-100_1-2_01_5798.d		
Method	LC-MS2_ESI-_50-1200_20min_LAS1.m	Operator	BDAL@DE
Sample Name	ODS_MS2_ESI-_5DP86-B_30-100	Instrument	micrOTOF-Q
Comment	ODS 70x2,0mm Flow=0,30 mL/min - SSplit; P=2100psi; C=1mg/mL (MeOH) Inj=1uL A(H ₂ O 0,1% ac)/B(MeOH) 0-14 min_30-100% 14-16 min_100% 16-18min_100-30% 18-20min_30% Injetor: MeOH Calib.:FormiatodeSodio10mM_end		



Anexo 78: CL-IES(-)-EMAR modo negativo da 5DP86-B; (galato de metila sintético) e EM/EM do m/z 183,0304.



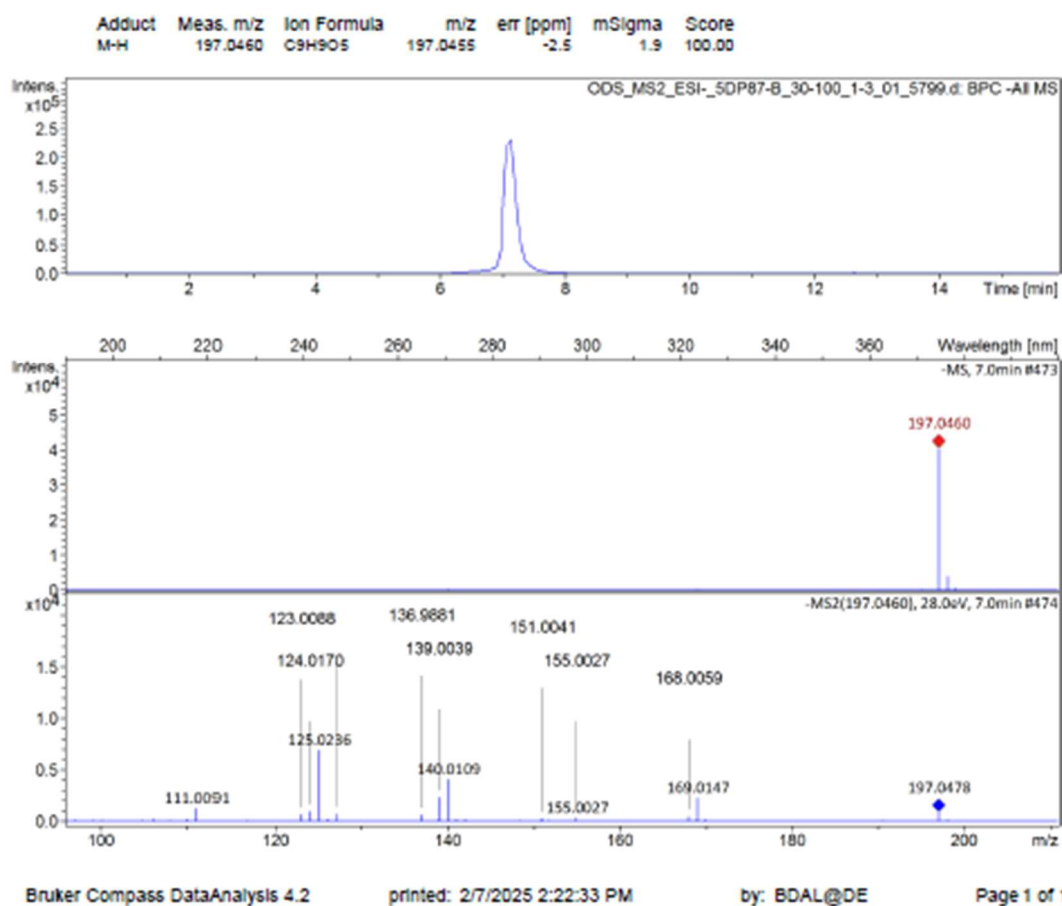
Anexo 79: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) da 5DP86-B (galato de metila sintético)



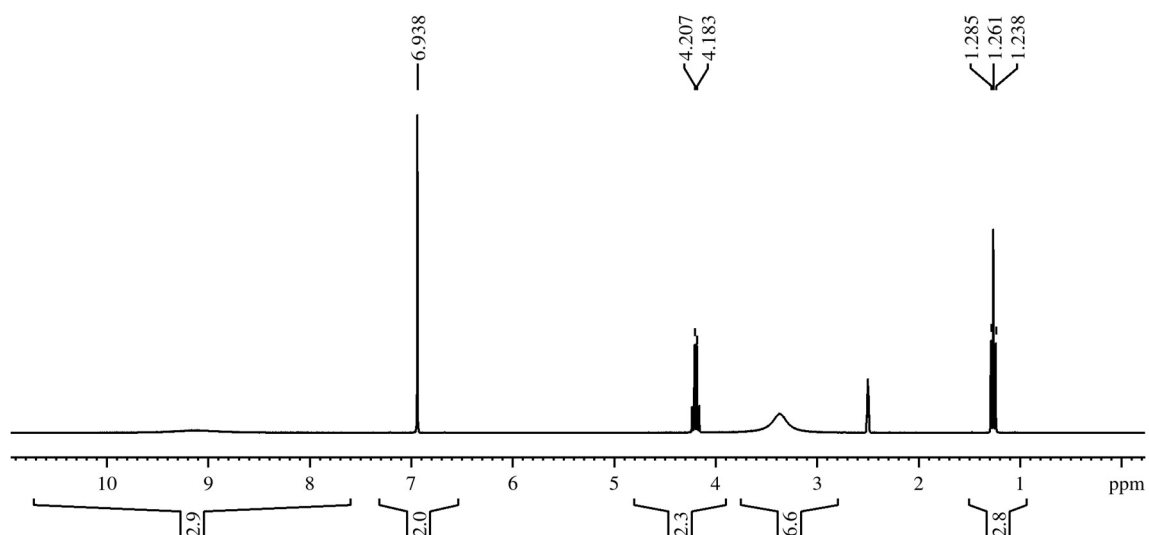
Anexo 80: Espectro ^{13}C (75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) da 5DP86-B (galato de metila sintético)

Generic Display Report

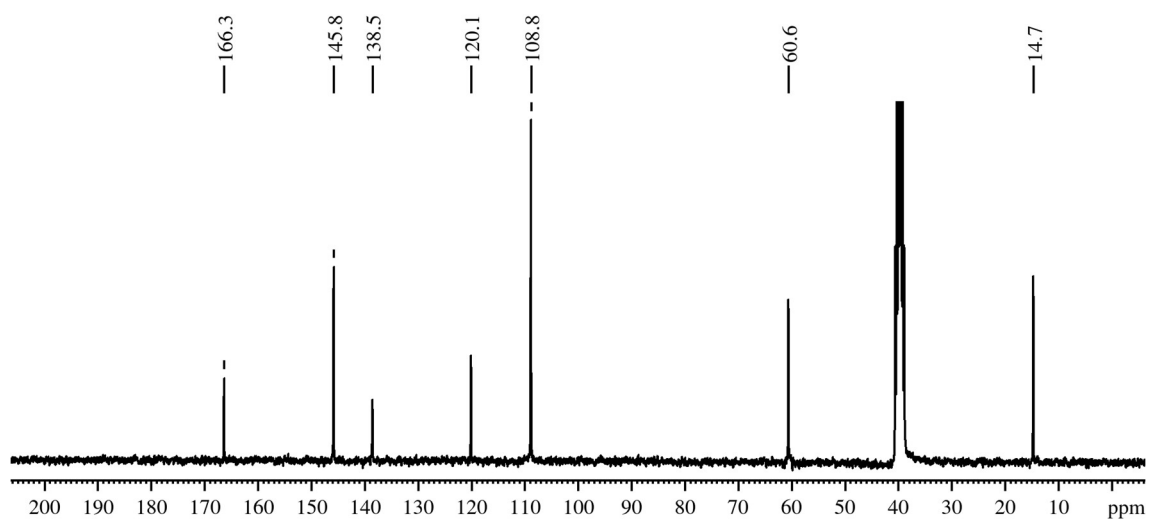
Analysis Info		Acquisition Date 2/7/2025 10:24:07 AM	
Analysis Name	D:\Data\Usuarios\2025\Adrian\Alunos\DJalma\LC-MS\ODS_MS2_ESI-5DP87-B_30-100_1-3_01_5799.d		
Method	LC-MS2_ESI-50-1200_20min_LASI.m	Operator	BDAL@DE
Sample Name	ODS_MS2_ESI-5DP87-B_30-100	Instrument	micrOTOF-Q
Comment	ODS 70x2,0mm Flow=0,30 mL/min - SSplit; P=2100psi; C=1mg/mL (MeOH) Inj=1uL A(H ₂ O 0,1% ac)/B(MeOH) 0-14 min_30-100% 14-16 min_100% 16-18min_100-30% 18-20min_30% Injector: MeOH Calib.:FormlatodeSodio10mM_end		



Anexo 81: CL-IES(-)-EMAR modo negativo da 5DP87-B (galato de etila sintético) e EM/EM da m/z 197,0406



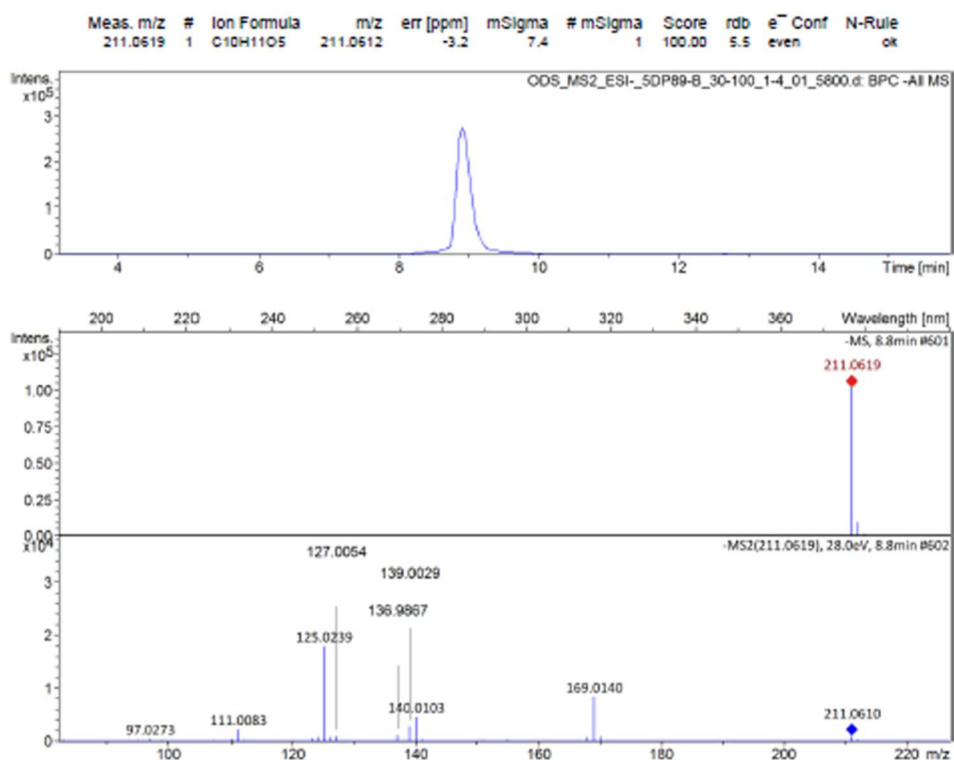
Anexo 82: Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) da 5DP87-B (galato de etila sintético)



Anexo 83: Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, DMSO-*d*₆) da 5DP87-B (galato de etila sintético)

Generic Display Report

Analysis Info		Acquisition Date 2/7/2025 10:45:53 AM	
Analysis Name	D:\Data\Usuarios\2025\Adrian\Alunos\DJalma\LC-MS\ODS_MS2_ESI-_5DP89-B_30-100_1-4_01_5800.d		
Method	LC-MS2_ESI-_50-1200_20min_LASI.m	Operator	BDAL@DE
Sample Name	ODS_MS2_ESI-_5DP89-B_30-100	Instrument	micrOTOF-Q
Comment	ODS 70x2,0mm Flow=0,30 mL/min - S-Split; P=2100psi; C=1mg/mL (MeOH) Inj=1uL A(H ₂ O 0,1% ac)/B(MeOH) 0-14 min_30-100% 14-16 min_100% 16-18min_100-30% 18-20min_30% Injector: ME ₂ OH Calib.:FormiatodeSodio10mM_end		



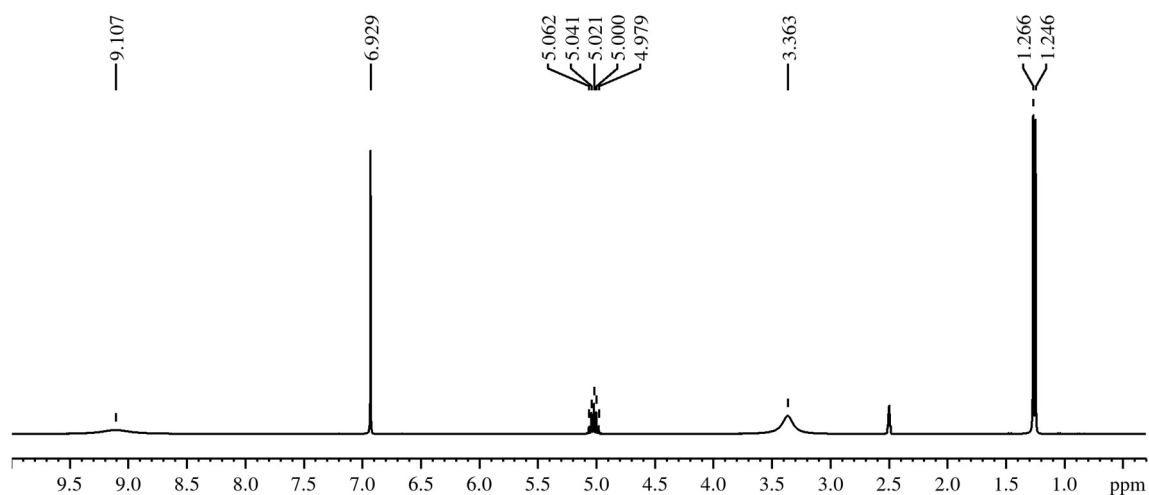
Bruker Compass DataAnalysis 4.2

printed: 2/7/2025 2:27:24 PM

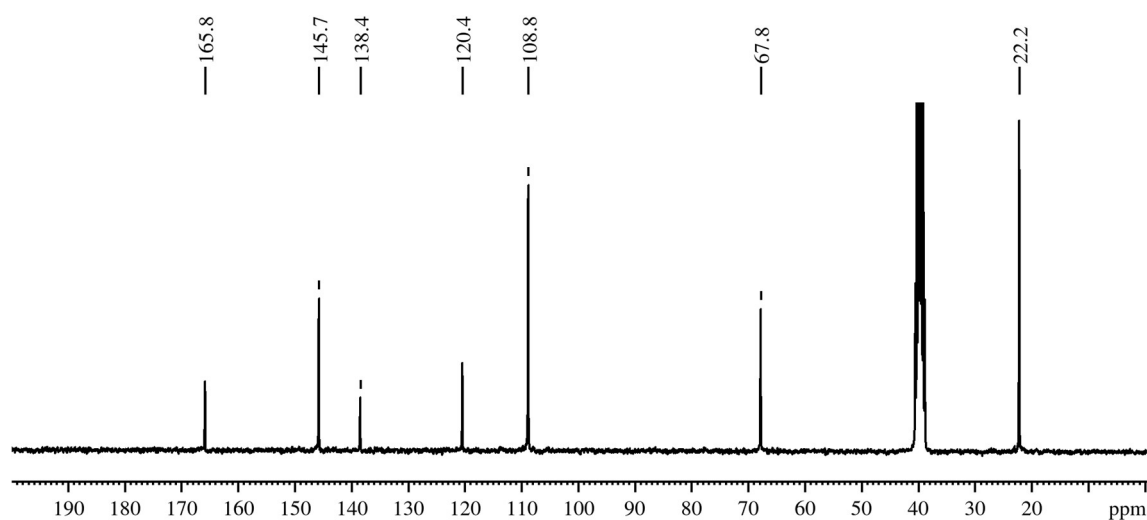
by: BDAL@DE

Page 1 of 1

Anexo 84: EMAR modo negativo do íon m/z da amostra 5DP89-B (galato de isopropila)



Anexo 85: Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) da 5DP89-B (galato de isopropila sintético)



Anexo 86: Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, DMSO-*d*₆) da 5DP89-B (galato de isopropila sintético)