



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

**AVALIAÇÃO FITOQUÍMICA E ATIVIDADE BIOLÓGICA DOS
RESÍDUOS MADEIREIROS DE *Sextonia rubra* (Mez) van der Werff e
Ocotea neesiana (Miq.) Kosterm.**

JENNIFER ARAÚJO DE OLIVEIRA LIMA

MANAUS

2025

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

JENNIFER ARAÚJO DE OLIVEIRA LIMA

**AVALIAÇÃO FITOQUÍMICA E ATIVIDADE BIOLÓGICA DOS
RESÍDUOS MADEIREIROS DE *Sextonia rubra* (Mez) van der Werff e
Ocotea neesiana (Miq.) Kosterm.**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Amazonas, como requisito para obtenção do título de doutora em química, área de concentração: química de produtos naturais.

Orientadora: Dra. Maria da Paz Lima (COTEI/INPA)

**MANAUS
2025**

Ficha Catalográfica

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

- L732a Lima, Jennifer Araújo de Oliveira
Avaliação fitoquímica e atividade biológica dos resíduos
madeireiros de *Sextonia rubra* (Mez) van der Werff e *Ocotea*
neesiana (Miq.) Kosterm. / Jennifer Araújo de Oliveira Lima. - 2025.
149 f. : il., color. ; 31 cm.
- Orientador(a): Maria da Paz Lima.
Tese (doutorado) - Universidade Federal do Amazonas,
Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal do
Amazonas, 2025.
1. Lauraceae. 2. neolignanas. 3. sesquiterpenos. 4. diterpeno
isorianodano. 5. *Xanthomonas citri* . I. Lima, Maria da Paz. II.
Universidade Federal do Amazonas. Programa de Pós-Graduação
em Química. III. Título
-



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

FOLHA DE APROVAÇÃO

"AVALIAÇÃO FITOQUÍMICA E ATIVIDADE BIOLÓGICA DOS RESÍDUOS MADEIREIROS DE SEXTONIA RUBRA (MEZ) VAN DER WERFF E OCOTEA NEESIANA (MIQ.) KOSTERM"

JENNIFER ARAÚJO DE OLIVEIRA LIMA

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 29 de setembro de 2025.

Banca Examinadora:

Documento assinado digitalmente gov.br MARIA DA PAZ LIMA Data: 13/01/2026 15:28:34-0300 Verifique em https://validar.iti.gov.br Profa. Dra. Maria da Paz Lima (PPGQ/UFAM) Presidente/Orientador(a)	
Documento assinado digitalmente gov.br JAQUELINE DE ARAUJO BEZERRA Data: 13/01/2026 22:36:28-0300 Verifique em https://validar.iti.gov.br Profa. Dra. Jaqueline de Araújo Bezerra (PPGQ/UFAM) Membro Interno	Documento assinado digitalmente gov.br ADRIAN MARTIN POHLIT Data: 21/01/2026 12:22:58-0300 Verifique em https://validar.iti.gov.br Prof. Dr. Adrian Martin Pohlit (PPGQ/UFAM) Membro Interno
Documento assinado digitalmente gov.br CECILIA VERONICA NUNEZ Data: 15/01/2026 18:55:20-0300 Verifique em https://validar.iti.gov.br Profa. Dra. Cecilia Veronica Nunez (INPA) Membro Externo	Documento assinado digitalmente gov.br JOEL APARECIDO PASSO Data: 20/01/2026 18:04:51-0300 Verifique em https://validar.iti.gov.br Prof. Dr. Joel Aparecido Passo (PPGQ/UFAM) Membro Interno

Universidade Federal do Amazonas

Manaus, 29 de setembro de 2025.

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 23105.037880/2025-63

SEI nº 2763152

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho primeiramente a Deus pois sem
Ele nada seria possível e aos meu pais Antonio Lima
e Rosanilda Lima que sempre investiram na minha
educação e acreditaram no meu potencial.

“Mas, buscai primeiro o reino de Deus, e a sua justiça, e todas estas coisas vos serão acrescentadas.” Mateus 6:33

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus que me guia e me orienta desde o nascimento e me mostra que eu não estou só nas situações mais difíceis e de vitórias também;

Aos meus pais Antonio e Rosanilda Lima que investiram na minha educação desde a infância, me apoiaram e me incentivaram, mesmo meu pai já ter falecido sei que teria orgulho de mim.

Aos meu familiares, ao meu namorado Emerson Guimarães por estar sempre ao meu lado me apoiando, me ouvindo, me incentivando, sendo meu parceiro, ao meu irmão que sempre foi compreensivo, minha prima Welem Melo e seu esposo Thiago de Melo que foram fundamentais na execução da parte final dos experimentos da minha tese, me recebendo em sua casa e São Carlos- SP e dando todo o suporte.

A Dra Maria da Paz Lima por ter toda paciência e disposição para transmitir seu vasto conhecimento científico, principalmente por fornecer mais que uma orientação, por compartilhar lições de vida e o apoio nos momentos difíceis da vida pessoal.

Aos meus amigos de laboratório Helena, Priscila, Henrique Davi e Paulo por terem sido verdadeiros parceiros com apoio mútuo em todas as atividades.

Aos técnicos de laboratório Magno, Sabrina e Zelina da Central Analítica do Laboratório Temático de Química de Produtos Naturais (CALTPQN) por todas as análises realizadas com todo cuidado, atenção, e pelo bom atendimento quanto a solicitação de análises.

As doutoras Jéssica Cristina, Danielle Fernandes e Maria de Fátima do laboratório de Produtos Naturais da UFScar que me acolheram com todo carinho e atenção os 3 meses que passei em São Carlos-SP fazendo ensaios biológicos.

A Dra Claudete pelo fornecimento do resíduo madeireiro e ao laboratório de micologia do INPA na pessoa da Dra Ana Cortês e seu aluno por terem aceitado fazer o ensaio antifúngico e não mediram esforços para realização do mesmo.

Enfim as instituições INPA, UFAM e UFScar que proporcionaram a realização da minha formação e desenvolvimento do projeto e a FAPEAM por financiar toda essa minha formação de doutora em química.

GRATIDÃO!!!!

RESUMO

A Amazônia brasileira abriga cerca 30% de todas as florestas tropicais remanescentes do mundo. Apesar de todo esse potencial, os estudos das partes lenhosas sobre os constituintes químicos e suas propriedades biológicas são escassos. Neste contexto, buscando agregar valor aos resíduos madeireiros, este trabalho teve como objetivo realizar o estudo fitoquímico dos resíduos madeireiros de *Ocotea neesiana* (Miq.) Kosterm. e *Sextonia rubra* (Mez) van der Werff e avaliar a atividade biológica das substâncias isoladas. Os extratos obtidos em metanol de *O. neesiana* e *S. rubra* foram submetidos a fracionamentos cromatográficos em coluna aberta com sílica gel 60 (70-230 e 230-400 mesh), sephadexLH-20 e placa em camada delgada preparativa (sílica gel 60). As substâncias purificadas foram identificadas/elucidadas pelas técnicas de espectroscópica de ressonância magnética nuclear (1D e 2D), espectrometria de massas de alta resolução (EMAR), cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM) e polarimetria. As frações mais voláteis LAM-7, LAM-5.P2 e LAM-5.P4 de *O. neesiana* também foram avaliadas em CG-EM. O extrato metanólico de *O. neesiana* forneceu a purificação dos sesquiterpenos α -cadinol (**1**), α -muurolol (**3**), T-cadinol (**5**), *ent*-T-muurolol (**6**), α -epi-cubenol (**7**), e do monoterpeneo α -terpineol (**2**), e do esteróide β -sitosterol (**4**), além dos fenilpropanoides apiol (**8**) e dilapiol (**9**), as neolignanas eusiderina A (**10**), rel-(7S,8R,1'R,3'S,4'S)-4'-hidroxi-5,3',5'-trimetoxi-3,4-metilenedioxi-2'-oxo- $\Delta^{1,3,5,5',8'}$ -8,1',7,3' (**11**), rel-(7S,8R,1'R,3'S,4'R)-4'-hidroxi-5,3',5'-trimetoxi-3,4-metileno dioxi-2'-oxo- $\Delta^{1,3,5,5',8'}$ -8,1',7,3'-neolignana. (**12**), o diterpeno 16-Metilesteritol A (**13**) (inérito) e o flavonoide catequina (**14**). O extrato metanólico de *S. rubra* resultou no isolamento do derivado de fenalenona esclerodina (**15**) e γ -lactonas rubrenolídeo (**16**) e rubrinolídeo (**17**).-Para avaliar o potencial biológico realizou-se os ensaios antifúngicos de interesse médico com as substâncias **10**, **11** e **13** frente a cepas de *Candida albicans*, *C. krusei*, *Cryptococcus gattii* e *C. neoformans*, O 16-Metilesteritol A (**13**) mostrou mais ativo *C. gattii* (CIM 40,6 μ g/mL) e *C. neoformans*, (CIM 81,2 μ g/mL). Para ensaio antibacteriano de relevância agrônômica, os extratos hexânico e metanólico e as substâncias em mistura **16** e **17** de *S. rubra*, assim como as substâncias **1**, **10**, **11** e **13** de *O. neesiana* foram testadas frente à *Xanthomonas citri* subsp. *citri*. Os resultados indicaram um efeito promissor, com inibição abaixo e igual ao controle positivo (CuSO₄ 250 μ g/mL) para α -cadinol (**1**) (CIM e CBM de 50 μ g/mL) e 16-Metilesteritol A (**13**) (CIM e CBM de 250 μ g/mL). Desse modo o estudo está contribuindo com o conhecimento da biodiversidade amazônica e agregado valor aos resíduos madeireiros.

Palavras-chaves: Lauraceae, neolignanas, sesquiterpenos, diterpeno isorianodano, *Xanthomonas citri*

ABSTRACT

The Brazilian Amazon harbors approximately 30% of all remaining tropical forests in the world. Despite this potential, studies of the woody parts regarding their chemical constituents and biological properties are scarce. In this context, seeking to add value to wood residues, this work aimed to conduct a phytochemical study of wood residues from *Ocotea neesiana* (Miq.) Kosterm. and *Sextonia rubra* (Mez) van der Werff and evaluate the biological activity of the isolated compounds. The methanol extracts obtained from *O. neesiana* and *S. rubra* were subjected to chromatographic fractionations in an open column with silica gel 60 (70-230 and 230-400 mesh), sephadexLH-20 and preparative thin-layer plate (silica gel 60). The purified compounds were identified/elucidated by nuclear magnetic resonance spectroscopy techniques (1D and 2D), high-resolution mass spectrometry (HRMS), gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS), and polarimetry. The most volatile fractions LAM-7, LAM-5.P2, and LAM-5.P4 of *O. neesiana* were also evaluated by GC-MS. The methanolic extract of *O. neesiana* resulted in the purification of the sesquiterpenes α -cadinol (**1**), α -muurolol (**3**), T-cadinol (**5**), ent-T-muurolol (**6**), α -epi-cubenol (**7**), and the monoterpene α -terpineol (**2**), and the steroid β -sitosterol (**4**), in addition to the phenylpropanoids apiol (**8**) and dilapiol (**9**), as neolignans eusiderin A (**10**), rel-(7S,8R,1'R,3'S,4'S)-4'-hydroxy-5,3',5'-trimethoxy-3,4-methylenedioxy-2'-oxo- $\Delta^{1,3,5,5',8'}-8,1',7,3'$ (**11**), rel-(7S,8R,1'R,3'S,4'R)-4'-hydroxy-5,3',5'-trimethoxy-3,4-methylenedioxy-2'-oxo- $\Delta^{1,3,5,5',8'}-8,1',7,3'$ -neolignan. (**12**), the diterpene 16-Methylsteritol A (**13**) (novel) and the flavonoid catechin (**14**). The methanolic extract of *S. rubra* was proven to isolate the phenalenone derivative sclerodine (**15**) and γ -lactones rubrenolide (**16**) and rubrinolide (**17**). To evaluate the biological potential, we performed antifungal assays of medical interest with compounds **10**, **11**, and **13** against strains of *Candida albicans*, *C. krusei*, *Cryptococcus gattii*, and *C. neoformans*. 16-Methylsteritol A (**13**) showed greater activity against *C. gattii* (MIC 40.6 μ g/mL) and *C. neoformans* (MIC 81.2 μ g/mL). For an antibacterial assay of agronomic relevance, the hexane and methanol extracts and the compounds in the mixture **16** and **17** of *S. rubra*, as well as compounds **1**, **10**, **11**, and **13** of *O. neesiana*, were tested against *Xanthomonas citri* subsp. *citri*. The results indicated a promising effect, with prevention below and equal to the positive control (CuSO₄ 250 μ g/mL) for α -cadinol (**1**) (MIC and MBC of 50 μ g/mL) and 16-Methylsteritol A (**13**) (MIC and MBC of 250 μ g/mL). Thus, the study is contributing to the knowledge of Amazonian biodiversity and added value to wood waste.

Keywords: Lauraceae, neolignans, sesquiterpenes, isorionodane diterpene, *Xanthomonas citri*

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Distribuição geográfica das espécies da família Lauraceae. Fonte: Tropicos, 2025 ^a	22
Figura 2. Estrutura química dos sesquiterpenos isolados de espécies do gênero <i>Ocotea</i>	25
Figura 3. Estruturas químicas das lignanas isoladas no gênero <i>Ocotea</i>	26
Figura 4. Estruturas químicas das 8.3' neolignanas isoladas espécies de <i>Ocotea</i> ..	28
Figura 5. Estruturas químicas das 8.1' neolignanas isoladas espécies de <i>Ocotea</i> . ..	29
Figura 6. Estruturas químicas das 7.3',8.1' cicloneolignanas isoladas espécies de <i>Ocotea</i>	30
Figura 7. Estruturas químicas de neolignanas de outros tipos e incomuns isoladas de espécies de <i>Ocotea</i>	31
Figura 8. Estruturas químicas dos monoterpênos de <i>O. neesiana</i>	32
Figura 9. Estruturas químicas das substâncias reportadas na literatura para <i>S. rubra</i>	33
Figura 10. Fungos patógenos prioritários determinados pela OMS. Fonte: WHO, 2022.	34
Figura 11. Sintomas nos frutos e folhas da doença <i>Xanthomonas citri</i> subsp. <i>citri</i> . Fonte: autoral.	35
Figura 12. Esquematização do ensaio antifúngico com a técnica microdiluição em caldo.	52
Figura 13. Esquematização do ensaio bactericida para determinação da CIM.	54
Figura 14. Esquematização do ensaio bactericida para determinação da CBM.	55
Figura 15. Ampliação da região entre 2,10-2,24 ppm do espectro de RMN de ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) da substância 1.	57
Figura 16. Ampliação da região entre 0,7-1,7 ppm do espectro de RMN de ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) da substância 1.	57
Figura 17. Estrutura química das substâncias α-cadinol (1), α-terpineol (2) e α-muurolol (3).	58
Figura 18. Ampliação da região entre 3,4-5,6 ppm do espectro de RMN de ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) da substância 4.	60
Figura 19. Estrutura química do β-sitosterol (substância 4).	61

Figura 20. Ampliação da região entre 0,80 -0,95 ppm do espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) das substâncias 5, 6 e 7.	62
Figura 21. Ampliação das regiões entre 5,45 – 5,60 ppm do espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) das substâncias 5, 6 e 7.	62
Figura 22. Estrutura química das substâncias T-cadinol (5), ent-T-muurolol (6) e epicubenol(7).	64
Figura 23. Ampliação das regiões 5,09 -6,5 ppm do espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) das substâncias 8 e 9.	66
Figura 24. Ampliação das regiões 5,00-5,15 e 3,2 – 4,0 ppm do espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) das substâncias 6 e 7.	67
Figura 25. Ampliação do HSQC em torno do sinal em δ 3,76 e 3,86 3,88 e 4,00 das substâncias 8 e 9.	67
Figura 26. Amplificação do HMBC em torno do sinal em δ 6,36 e δ 6,31 das substâncias 8 e 9.	68
Figura 27. Estrutura química das substâncias apiol (8) e dilapiol (9).	69
Figura 28. Ampliação da região entre δ 3,85-3,95; δ 3,2-3,4 e δ 1,20-1,35 ppm do espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) da substância 10.	71
Figura 29. Ampliação da região entre δ 5,9-6,6 ppm do espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) da substância 10.	72
Figura 30. Ampliação da região entre δ 4,1-5,2 ppm do espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) da substância 10.	72
Figura 31. Amplificação do HMBC em torno do sinal em δ 6,58 e 6,39 da substância 10.	73
Figura 32. Ampliação do HMBC em torno do sinal em δ 3,32 da substância 10.	73
Figura 33. Estrutura química da eusiderina A (substância 10).	74
Figura 34. Ampliação da região entre δ 4,6-6,6 ppm do espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) da substância 11.	75
Figura 35. Ampliação da região entre δ 1,9-2,7 ppm do espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) da substância 11.	75
Figura 36. Ampliação do HMBC em torno dos sinais em δ 1,94; 2,36 e 2,26 da substância 11.	77
Figura 37. Interações espaciais obtidas do NOESY da substância 11.	78

Figura 38. Estrutura química da neolignana rel-(7S,8R,1'R,3'S,4'S)-4'-Hidroxi-5,3',5'-trimetoxi 3,4-metilenodioxo-2'-oxo- $\Delta^{1,3,5,5',8'}$ -8.1',7.3' (substância 11).	78
Figura 39. Comparação das neolignanas bicíclicas 11 e 12 com a literatura na posição C-4'.	80
Figura 40. Estrutura química da substância 12.....	81
Figura 41. Ampliação da região entre 0,85- 1,35 ppm do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, MeOD) da substância 13.	83
Figura 42. Ampliação da região em 1,6- 2,8 ppm e 3,70-3,75 ppm do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, MeOD) da substância 13.....	84
Figura 43. Mapa de contorno HMBC da substância 13 (400/75 MHz, MeOD).	85
Figura 44. Ampliação do HMBC em torno dos sinais em δ 2,29, δ 1,82 da substância 13.....	85
Figura 45. Interações espaciais obtidas do NOESY.2D da substância 13.	86
Figura 46. Estrutura química do 16-metilesteritol A (substância 13).	86
Figura 47. Ampliação das regiões em δ 6,70 – 6,85 ppm e δ 5,80-5,96 ppm do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, MeOD) da substância 14.	89
Figura 48. Ampliação da região entre δ 2,5– 4,0 ppm do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, MeOD) da substância 14.	89
Figura 49. Estrutura química da catequina (substância 14).....	90
Figura 50. Ampliação das regiões em 4,66 – 6,76 ppm e 1,30-1,70 ppm do espectro de RMN de ^1H (300 MHz, MeOD) da substância 15.....	91
Figura 51. Amplificação do HMBC em torno dos sinais em δ 11,63; δ 11,64 da substância 15.....	92
Figura 52. Estrutura química da esclerodina (substância 15)	93
Figura 53. Ampliação das regiões em 5,75 – 5,90 ppm e δ 4,40-5,00 ppm do espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) das substâncias 16 e 17.....	94
Figura 54. Ampliação das regiões em 3,50 – 3,80 ppm e 2,50-3,10 ppm do espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) das substâncias 16 e 17.....	95
Figura 55. Ampliação das regiões em 1,30 – 2,20 ppm do espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) das substâncias 16 e 17.	95
Figura 56. Estrutura química do rubrenolídeo (substância 16) e rubrinolídeo (substância 17).	97

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Massas das frações geradas durante os fracionamentos cromatográficos do extrato LAM e da fração LAM-9.....	43
Tabela 2. Massas das bandas obtidas por CCDP de LAM-5 e LAM-9.6.	44
Tabela 3. Massas das bandas obtidas por CCDP de LAM-13.	45
Tabela 4. Massas das frações obtidas de LAM-14, LAM-14.4 e LAM-14.12.	47
Tabela 5. Massas das frações obtidas de SRM e SRM-7.	49
Tabela 6. Massas e rendimentos dos extratos de <i>O. neesiana</i> e <i>S. rubra</i>	56
Tabela 7. Principais compostos detectados em CG-EM de LAM-7.	58
Tabela 8. Dados de RMN de ^1H 300 MHz em CDCl_3 da substância 1 em comparação com a literatura.	59
Tabela 9. Dados de RMN de ^{13}C 75 MHz em CDCl_3 das substâncias 1, 2 e 3 em comparação com a literatura.	59
Tabela 10. Dados dos hidrogênios olefínico e carbinólico de RMN de ^1H 300 MHz em CDCl_3 da substância 4.	61
Tabela 11. Principais compostos detectados em CG-EM de LAM-5.P2.....	63
Tabela 12. Dados de RMN de ^1H 300 MHz em CDCl_3 das substâncias 5-7 em comparação com a literatura.....	64
Tabela 13. Dados de RMN de ^{13}C 75 MHz em CDCl_3 das substâncias 5-7 em comparação com a literatura.	65
Tabela 14. Dados de HMBC (300/75 MHz) das substâncias 5-7 em CDCl_3	65
Tabela 15. Principais compostos detectados em CG-EM de LAM-5.P4.....	68
Tabela 16. Dados de RMN de (^1H -300 MHz e ^{13}C -75 MHz) em CDCl_3 das substâncias 8 e 9 em comparação com a literatura.	70
Tabela 17. Dados de HMBC (300/75 MHz) das substâncias 8 e 7 em CDCl_3	70
Tabela 18. Dados de RMN de (^1H -300 MHz e ^{13}C -75 MHz) em CDCl_3 das substâncias 10 em comparação com a literatura.	74
Tabela 19. Dados de RMN de (^1H -300 MHz e ^{13}C -75 MHz) em acetona- D_6 da substância 11 em comparação com a literatura.	79
Tabela 20. Dados de RMN de (^1H -500 MHz e ^{13}C -125 MHz) em MeOD da substância 12 em comparação com a literatura.	82

Tabela 21. Tabela de RMN de (^1H -400 MHz e ^{13}C -100 MHz) em MeOD da substância 13 em comparação com os dados da literatura.	87
Tabela 22. Dados de RMN de (^1H -400 MHz e ^{13}C -100 MHz) em MeOD da substância 14 em comparação com a literatura.	90
Tabela 23. Dados de RMN de (^1H -300 MHz e ^{13}C -75 MHz) em CDCl_3 da substância 15 em comparação com a literatura.	93
Tabela 24. Dados de RMN de ^1H 300 MHz em CDCl_3 das substâncias 16 e 17 em comparação com a literatura.	97
Tabela 25. Dados de RMN de ^{13}C 75 MHz em CDCl_3 das substâncias 16 e 17 em comparação com a literatura.	98
Tabela 26. Dados de HMBC de RMN em CDCl_3 das substâncias 16 e 17 em comparação com a literatura.	98
Tabela 27. Resultados da CIM das substâncias sobre as cepas de fungos.	99
Tabela 28. Atividade antibacteriana de substâncias isolados de <i>Ocotea neesiana</i> e <i>Sextonia rubra</i>	101

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Sesquiterpenos isolados de espécies do gênero <i>Ocotea</i>	24
Quadro 2. Lignanas isoladas de espécies do gênero <i>Ocotea</i>	26
Quadro 3. Neolignanas isoladas de espécies do gênero <i>Ocotea</i>	27
Quadro 4. Neolignanas isoladas de espécies do gênero <i>Ocotea</i>	28
Quadro 5. Codificação dos extratos.	41
Quadro 6. Espécies de fungos utilizadas nos ensaios.	51
Quadro 7. Estrutura química das substâncias testadas no ensaio antifúngico.....	100
Quadro 8. Estrutura química das substâncias testadas contra <i>Xanthomonas citri</i> subsp. <i>citri</i>	102

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1. Esquema geral de obtenção dos extratos dos resíduos madeireiros. ..	40
Esquema 2. Fracionamento cromatográfico de LAM, LAM-5 e LAM-9.	42
Esquema 3. Fracionamento cromatográfico de LAM-13.	45
Esquema 4. Fracionamento cromatográfico de LAM-14.	46
Esquema 5. Fracionamento cromatográfico de extrato metanólico de SRM.	48

LISTA DE ABREVIATURA E SÍMBOLOS

AcOEt – Acetato de etila

BOD - *Biochemical Oxygen Demand*

CALTPQN - Central Analítica do Laboratório Temático de Química de Produtos Naturais

CC - Cromatografia em coluna

CCD - Cromatografia em camada delgada

CCDP- Cromatografia em camada delgada preparativa

CG-EM- Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas

CIM- Concentração inibitória mínima

CPPN - Coordenação de Pesquisa de Produtos Naturais

COTEI - Coordenação de Tecnologia e Inovação

DCM – Diclorometano

DMSO – Dimetilsulfóxido

DEPT 135° –*Distortionless enhancement by polarization transfer* – ângulo 135°

d dubleto

dd duplo dubleto

EM – Espectrometria de massas

Hex – Hexano

HMBC – Heteronuclear multiple-bond correlation

HSQC – Heteronuclear single-quantum correlation

INPA -Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia

J Constante de acoplamento

LTM- Laboratório de Tecnologia da Madeira

LQPN - Laboratório de Química dos Produtos Naturais

LAH- Extrato hexânico de *Ocotea neesiana*

LAM- Extrato metanólico de *Ocotea neesiana*

MeOH – Metanol

MeOD – Metanol deuterado

NOESY- Nuclear overhauser effect spectroscopy

m multipeto

s singleto

SEM- Extrato metanólico de. *Sextonia rubra*

SRH- Extrato hexânico de *Sextonia rubra*

RMN- Ressonância magnética nuclear

RMN ¹H- Ressonância magnética nuclear de hidrogênio

RMN ¹³C- Ressonância magnética nuclear de carbono 13

UV – Ultravioleta

UFG – Universidade Federal de Goiás

Xcc- *Xanthomonas citri* subsp. *citri*

t tripleto

Φ – Diâmetro

1D – unidimensional

2D – bidimensional

δ Deslocamento químico em parte por milhão

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO	20
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	22
2.1 A Família Lauraceae	22
2.2 O gênero <i>Ocotea</i>	23
2.2.1 A espécie <i>Ocotea neesiana</i>	31
2.3 O gênero <i>Sextonia</i>	32
2.4 Ensaios biológicos	33
2.4.1 Atividade antifúngica	33
2.4.2 Atividade bactericida	35
3. OBJETIVOS	37
3.1 Geral	37
3.2 Específicos	37
4. MATERIAIS E MÉTODOS	38
4.1 Materiais	38
4.2 Equipamentos	38
4.3 Obtenção e identificação dos resíduos madeireiros	39
4.4 Processamento das amostras e preparação dos extratos	40
4.5 Fracionamento cromatográfico do extrato metanólico de <i>Ocotea neesiana</i> (LAM)	41
4.5.1 Fracionamento cromatográfico de LAM-13	44
4.5.2 Fracionamento cromatográfico de LAM-14	45
4.6 Fracionamento cromatográfico do extrato metanólico de <i>Sextonia rubra</i> (Mez) van der Werff.	48
4.7. Determinação estrutural	49
4.8. Ensaios biológicos	51
4.8.1 Atividade antifúngica	51
4.8.1.1 Preparação dos inóculos fúngicos	51
4.8.1.2 Realização do teste de microdiluição em caldo	51
4.8.2 Atividade antibacteriana contra <i>Xanthomonas citri</i> subs. <i>citri</i>	52
4.8.2.1 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)	53
4.8.2.2 Determinação da Concentração Bactericida Mínima (CBM)	54

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	56
5.1 Rendimento dos extratos brutos.....	56
5.2 Identificação das substâncias isoladas de <i>Ocotea neesiana</i>	56
5.2.1 Identificação das substâncias 1, 2 e 3 (LAM-7)	56
5.2.2 Identificação da substância 4 (LAM-8)	60
5.2.3 Identificação em mistura das substâncias 5, 6 e 7 (LAM-5.P2)	61
5.2.4 Identificação em mistura das substâncias 8 e 9 (LAM-5.P4)	66
5.2.5 Identificação da substância 10 (LAM-9.6.P6)	71
5.2.6 Identificação da substância 11 (LAM-13.S)	75
5.2.7 Elucidação da substância 12 (LAM-13.P5).....	80
5.2.8 Elucidação da substância 13 (LAM-14.4.25)	83
5.2.9 Identificação da substância 14 (LAM-14.12.5).....	88
5.3 Identificação das substâncias isoladas de <i>Sextonia rubra</i>	91
5.3.1 Identificação da substância 15 (SRM-7.2).....	91
5.3.2 Identificação das substâncias 16 e 17 (SRM-9S)	94
5.4. Atividade antifúngica e antibacteriana	99
5.4.1 Atividade antifúngica sobre as cepas de <i>Candida</i> e <i>Cryptococcus</i>	99
5.4.2 Atividade antibacteriana contra <i>Xanthomonas citri</i> subs. <i>Citri</i>	100
7. CONCLUSÃO	103
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	104
9. ANEXO	118

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o país de maior extensão da América do Sul e possui a maior biodiversidade do planeta. Abriga em seus seis biomas cerca de 20% de todas as espécies catalogadas do mundo, contando aproximadamente 46.000 espécies vegetais (terrestre e marinho) conhecidas no país, e muitas são endêmicas. Dentre os seus biomas destaca-se a Amazônia que compõe a maior floresta tropical úmida do mundo, onde crescem cerca de 2.500 espécies de árvores que corresponde a um terço de toda madeira tropical do mundo (Brasil, 2023^{a,b}).

No passado, o setor madeireiro estava bem presente em todos os estados que compõem a Amazônia Legal, fazendo desta, a principal região produtora de madeira no Brasil e a segunda do mundo o que gerou a formação de muitos resíduos madeireiros (Barros; Veríssimo, 2002). Dentre as diversas aplicabilidades do uso da madeira havia para a construção civil (Lorenzi, 1992). Contudo com proibição do corte desordenado e a ação de fiscalização do IBAMA, a construção civil teve que se reinventar (IBAMA, 2014).

Desse modo, muitos prédios antigos que foram construídos nas décadas passadas foram construídos utilizando madeira. E atualmente eles passam por reformas, o que geram entulhos. Segundo Arif *et al.* (2012), nessas reformas, a falta de cultura de reduzir, reutilizar e reciclar é a principal causa dos resíduos gerados. Uma alternativa com o intuito de agregar valor aos resíduos madeireiros presentes nesses entulhos é a realização do estudo fitoquímico dos metabólitos secundários da madeira.

Os metabólitos secundários são encontrados em baixas concentrações nas plantas, mas são essenciais para a sobrevivência e perpetuação da espécie. Eles abrangem uma ampla diversidade de classes químicas tais como: terpenos, alcaloides, flavonoides, limonoides, cumarinas, saponinas, esteroides, antocianinas e quinonas, destacando-se pelo interesse quanto a diversidade de atividades biológicas, e sobretudo, pelas propriedades medicinais (Simões *et al.*, 2017). Por isso, diversos estudos fitoquímicos são relatados com diferentes partes vegetativas tais como: folhas, cascas, fruto e sementes, contudo há poucos estudos com a madeira.

Desse modo, o grupo de pesquisa “Plantas da Amazônia: Química, Quimiosistemática e Atividade Biológica”, coordenado pela Profa. Dra. Maria da Paz Lima do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA) vem desenvolvendo o

estudo fitoquímico dos metabólitos secundários da madeira. Esses estudos vêm mostrando resultados promissores, como de Melo *et al.* (2019) que isolaram do resíduo de ipê amarelo (*Handroanthus serratifolius* (Vahl) S. Grose) três naftoquinonas que apresentaram atividade antiplasmódica contra *Plasmodium falciparum* e atividade antifúngica significativa contra *Cryptococcus neoformans*. Ressaltando a importância dos estudos fitoquímicos com os resíduos madeireiros.

Portanto, considerando a escassez de estudos fitoquímicos com as madeiras das espécies de *Ocotea neesiana* e *Sextonia rubra*, e a disponibilidade de resíduos de madeiras desta espécie no Laboratório de Tecnologia da Madeira da COTI/NPA, é que surge a oportunidade em parceria de realizar o estudo fitoquímico dos resíduos madeireiros das duas espécies (*O. neesiana* e *S. rubra*), buscando isolar substâncias e avaliar potenciais agentes antimicrobianos.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A Família Lauraceae

A família Lauraceae tem sua distribuição de espécies em regiões com clima tropical e subtropical principalmente na América, Ásia tropical, Austrália e Madagascar, possuindo 50 gêneros que contêm cerca de 2500 espécies. No Brasil existem cerca de 400 espécies distribuídas em 25 gêneros. Essas árvores têm uma madeira resiliente, útil como madeira para construção e como lenha (Gottlieb, 1972; Van der Werff; Richter, 1996).

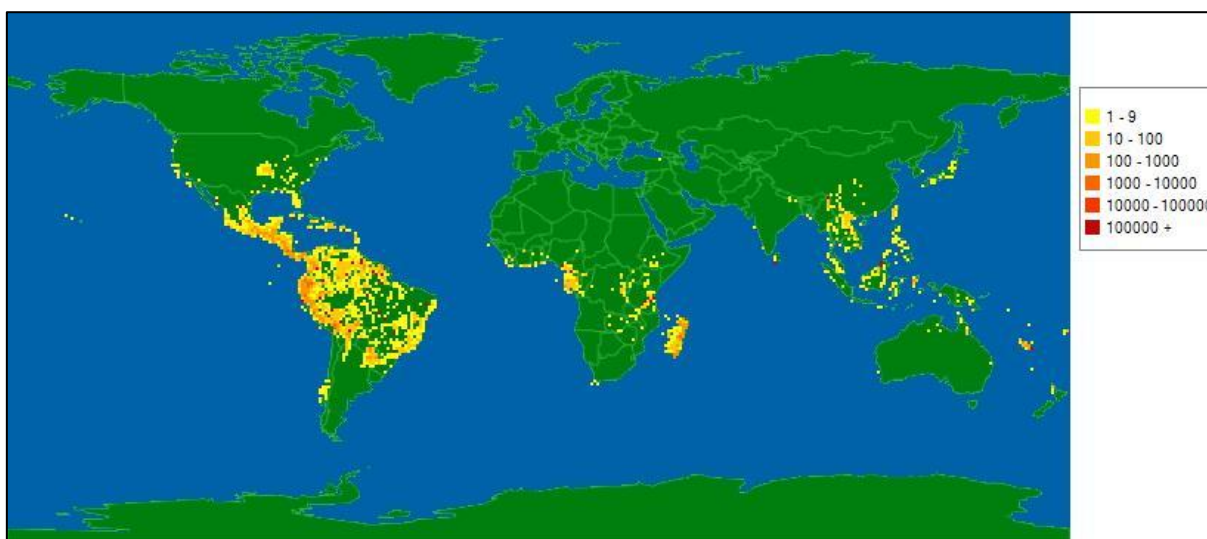


Figura 1. Distribuição geográfica das espécies da família Lauraceae. Fonte: Tropicos, 2025^a

Globalmente, essa família possui uma relevância econômica significativa devido à produção de aromas para a indústria de alimentos, perfumaria e medicamentos (*Cinnamomum zeylanicum* Blume, *C. canphora* (L.), *C. cassia* Presl.), como cultura agrícola (*Persea americana* Mill., abacate), ao seu uso como fonte de madeira para a construção e fabricação de móveis (gêneros como *Nectandra*, *Ocotea* e *Persea*) (Chaverri *et al.*, 2011).

Do ponto de vista químico, a família Lauraceae é uma rica fonte de lignanas e neolignanas que representam uma significância fitoquímica e taxonômico potencial no estudo da mesma (Li *et al.*, 2018), tendo uma enorme classe de compostos farmacologicamente ativos como antitumoral, anti-inflamatório, para imunossupressão, antioxidantes e antivirais (Pan *et al.*, 2009; Marcotullio *et al.*, 2018).

Outra classe abundante são os alcaloides isoquinolínicos tendo mais de 250 compostos relatados na literatura (Custódio; Veiga Junior, 2014). As espécies desta família são produtoras de óleos essenciais com predominância dos terpenos β -cariofileno e 1,8 cineol (Damasceno *et al.*, 2019).

Estudos com a madeira são escassos, tendo relatos de isolamento de lignanas e neolignanas para espécies do gênero *Aniba*, *Nectandra*, *Urbanodendron* e *Ocotea*. Há relatos de alcaloides extraídos da casca do caule, tendo substâncias com atividade de citotoxicidade (Custódio *et al.*, 2014). Percebe-se o potencial químico e biológico de espécies dessa família para os estudos da parte da madeira, sendo mais estudos com essa parte vegetativa.

2.2 O gênero *Ocotea*

O gênero *Ocotea* é um dos mais representativos na família Lauraceae, abrigando aproximadamente 400 espécies, as quais estão presentes nas zonas tropicais, subtropicais das Américas e na África (Van der Weff, 2017). No Brasil existem cerca de 172 espécies desse gênero, distribuídas em todas as regiões do país (BFG, 2015).

Espécies desse gênero são empregadas pela população na medicina tradicional. Por exemplo, a madeira do caule da espécie *O. bullata* tem sido utilizada no alívio de dores de cabeça e no tratamento de infecções no trato urinário masculino (Rakotondraibe *et al.*, 2015). Na literatura há relatos de efeitos farmacológicos e biológicos, alguns deles são: antioxidante (Rebouças *et al.*, 2015), antiinflamatório (Ballabeni *et al.*, 2010), além de propriedades antimicrobianas (Gontijo *et al.*, 2017), toxicidade contra larvas de *Artemia salina* e *Aedes aegypti* (Betim *et al.*, 2019) e atividade tripomastigota contra o parasito *Trypanosoma cruzi* (Moita *et al.*, 2019).

As espécies do gênero *Ocotea* produzem os óleos essenciais que podem ser extraídos de folhas, cascas e madeira, estes são ricos em monoterpenos e sesquiterpenos como mostra o estudo realizado por Chaverri *et al.* (2011) que verificou os compostos presentes no óleo essencial das espécies *O. gomezi* e *O. morae*. Contudo também pode ser encontrado na composição desses óleos compostos fenilpropanoides como a asaricina que compõe 84,6% do óleo essencial de *O. opifera* (Lorenzo *et al.*, 2001).

Sesquiterpenos além de serem identificados nos óleos essenciais, também são relatados como isolados em seis espécies do gênero conforme estão listados no Quadro 1 e suas estruturas na Figura 2.

Quadro 1. Sesquiterpenos isolados de espécies do gênero *Ocotea*.

Nº	Substâncias	Espécie	Parte Vegetativa/ Referência
1	Ácido(2 <i>E</i> ,6 <i>E</i>)-2,6-dimetil-10-metileno dodecatrienóico	<i>O. minarum</i>	[F] ^a
2	Caparratrieno	<i>O. caparrapi</i>	[OE] ^b
3	Nerolidol	<i>O. caparrapi</i>	[OE] ^b
4	<i>rel</i> -(5 <i>R</i> ,7 <i>R</i>)-10-desmetil-1-metil-1,10-dioxo-1,10-seco-11-eudesmeno	<i>O. corymbosa</i>	[FR] ^c
5	Ácido (+)-β-sesquifelandreno-12-óico	<i>O. minarum</i>	[F] ^a
6	Ácido(+)-2-Metil-6[4-oxo-2-ciclohexen-1-il]-2-(<i>E</i>)-heptenóico	<i>O. minarum</i>	[F] ^a
7	(-)-Ácido lanceólico	<i>O. minarum</i>	[F] ^a
8	Ácido 4-oxo-lanceólico	<i>O. minarum</i>	[F] ^a
9	Ácido (-)-curcumen-12-oico	<i>O. minarum</i>	[F] ^a
10	4β,5β,7β-eremofil-11-en-10α-ol	<i>O. lancifolia</i>	[F]
11	Ácido (<i>rel</i>)-4β,5β,7β-eremofil-9-en-12-oico	<i>O. lancifolia</i>	[F] ^d
12	Ácido(<i>rel</i>)-4β,5β,7β-eremofil-1(10)-en-12-oico	<i>O. lancifolia</i>	[F] ^d
13	Ácido (<i>rel</i>)-4β,5β,7β-eremofil-1(10)-en-2-oxo-12-óico	<i>O. lancifolia</i>	[F] ^d
14	(<i>rel</i>)-4β,5β,7β-eremofil-9-en-12,8α-olido	<i>O. lancifolia</i>	[F] ^d [F] ^d
15	(<i>rel</i>)-4β,5β,7β-eremofil-9-en-12,8β-olida	<i>O. lancifolia</i>	[F] ^d
16	Ácido (<i>rel</i>)-4β,5β,7β-eremofil-9α,10α-epoxi-12-óico	<i>O. lancifolia</i>	[F] ^d
17	<i>rel</i> -(1 <i>R</i> ,4 <i>S</i>)-7 Hidroxicalameneno	<i>O. elegans</i>	[F] ^e
18	<i>rel</i> -(1 <i>S</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> ,7 <i>R</i> ,10 <i>R</i>)-10-desmetil-1-metil-11-eudesmeno	<i>O. corymbosa</i>	[FR] ^c
19	<i>rel</i> -(1 <i>S</i> ,4 <i>R</i> ,5 <i>R</i> ,7 <i>R</i> ,10 <i>R</i>)-10-desmetil-10-hidroxi-1-metil-3-oxo-11-eudesmeno	<i>O. corymbosa</i>	[FR] ^c
20	Éster metílico do ácido costico	<i>O. caudata</i>	[F] ^f
21	Ácido(+)-(<i>E</i>)-exo-α-bergamoten -12-óico	<i>O. minarum</i>	[F] ^a
22	Espatulanol	<i>O. lancifolia</i>	[F] ^d

^a(Nogueira *et al.*, 2021); ^b(Palomino *et al.*, 1996); ^c(Chavez *et al.*, 1995); ^d(Camargo *et al.*, 2010); ^e(Batista *et al.*, 2010); ^f(Archila *et al.*, 2018).

Legenda: [F]- folhas; [FR]- fruto; [OE] – óleo essencial

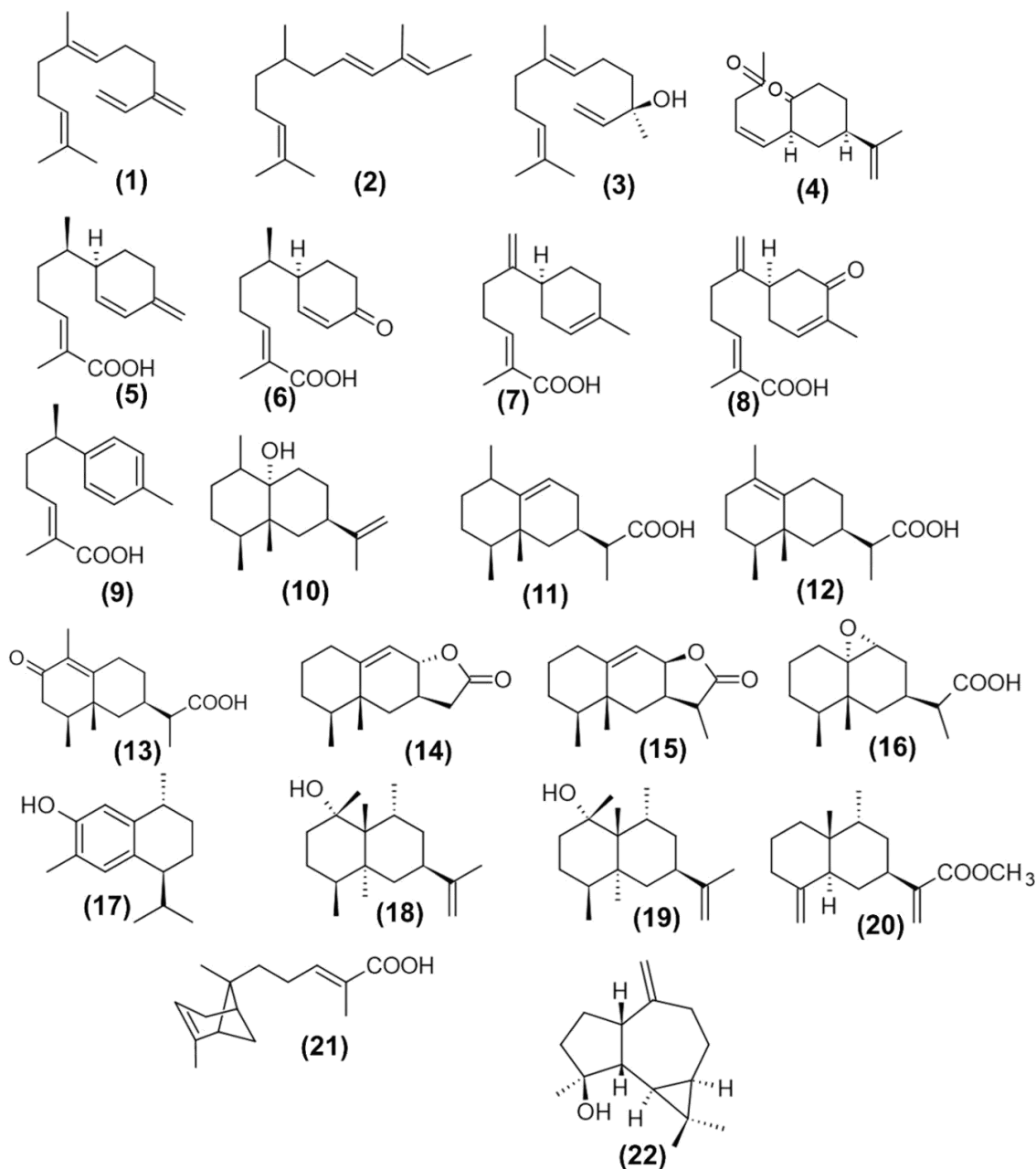


Figura 2. Estrutura química dos sesquiterpenos isolados de espécies do gênero *Ocotea*.

Substâncias pertencentes a classe dos flavonoides também foram isoladas através de estudos com as folhas (Garett *et al.*, 2012; Batista *et al.*, 2010) e frutos (Garcez *et al.*, 2005). A química do gênero *Ocotea* é caracterizada pela predominância de alcaloides aporfínicos (Zanin; Lordello, 2007) lignanas (Quadro 2; Figura 3) e neolignanas do tipo 8.3' (Figura 4), 8.1' (Figura 5), 7.3',8.1' cicloneolignanas (Figura 6) e de tipos diferenciados e incomuns (Figura 7). As neolignanas estão listadas nos Quadros 3 e 4

Quadro 2. Lignanas isoladas de espécies do gênero *Ocotea*.

Nº	Substâncias	Espécie	[Parte Vegetativa] Referência
23	<i>treo</i> -3,4,5,3',4',5'-hexametoxi-8,8'-lignana	<i>O. macrophylla</i>	[F] ^a
24	<i>meso</i> -3,4,5,3',4',5'-hexametoxi-8,8'-lignana	<i>O. macrophylla</i>	[F] ^a
25	Galgravina	<i>O. foetens</i>	[F] ^b
26	2-(2',5'-dimetoxi-fenil)-3,4-dimetil-5-(3'',4'',5''-trimetoxifenil)-tetrahidrofurano	<i>O. foetens</i>	[F] ^b
27	2-(2',5'-dimetoxi-fenil)-3,4-dimetil-5(3'',4''-dimetoxifenil)-tetrahidrofurano	<i>O. foetens</i>	[F] ^b
28	Veraguensina	<i>O. veraguensis</i>	[C] ^c
29	Vangambina	<i>O. duckei</i>	[F] ^d
30	Epiyangambina	<i>O. duckei</i>	[F] ^d
31	Episesartemina	<i>O. duckei</i>	[F] ^d

^a(Coy-Barrera *et al.*, 2011); ^b(Lopez *et al.*, 1995); ^c(Khan *et al.*,1987); ^d(Morais *et al.*, 1999)

Legenda: **[F]**- folhas; **[C]**-casca

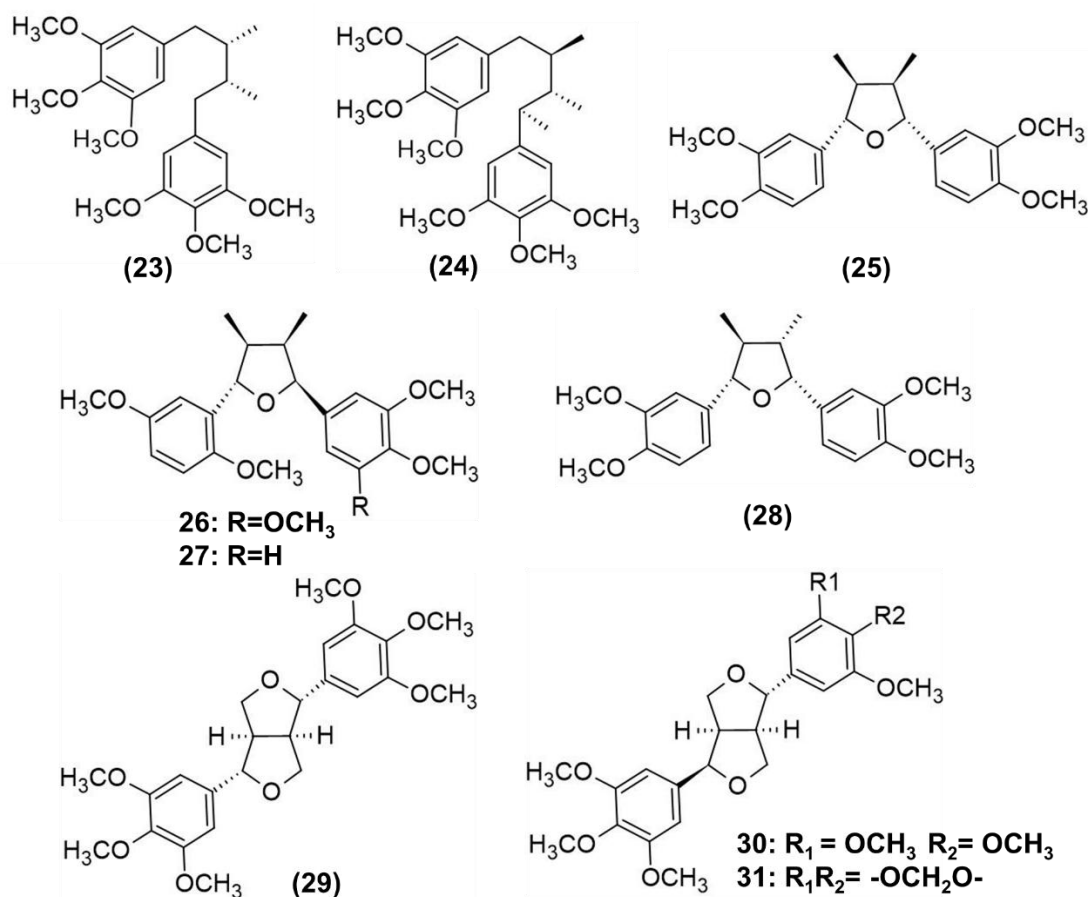


Figura 3. Estruturas químicas das lignanas isoladas no gênero *Ocotea*.

Quadro 3. Neolignanas isoladas de espécies do gênero *Ocotea*.

Nº	Substâncias	Espécie	[Parte Vegetativa] Referência
32	Burchelina	<i>O. porosa</i>	[M] ^a ; [CF] ^b
33	3'-Metoxiburcelina	<i>O. veraguensis</i> <i>O. aciphylla</i>	[C] ^c [M] ^d
35	Oxaguianina	<i>O. aciphylla</i>	[M] ^e
36	Armenina B	<i>O. catharinensis</i>	[M] ^f
37	Canellina B	<i>O. catharinensis</i>	[M] ^f
39	Porosina B	<i>O. porosa</i>	[M] ^a
40	(7 <i>R</i> ,8 <i>S</i> ,1' <i>R</i> ,3' <i>R</i>)- $\Delta^{5,8}$ -3,4,3',5'-Tetrametoxi-4'-oxo-8.1',7.O.6'-neolignana	<i>O. catharinensis</i>	[M] ^f
41	(7 <i>R</i> ,8 <i>S</i> ,1' <i>R</i> ,3' <i>R</i>)- $\Delta^{5,8}$ -3',5'-Dimetoxi-3,4-metilenedioxi-4'-oxo-8.1',7.O.6'-neolignana	<i>O. catharinensis</i>	[M] ^f
43	Ferrearina C	<i>O. catharinensis</i>	[M] ^f
44	Ferrearina E	<i>O. catharinensis</i>	[M] ^f
45	Ferrearina C	<i>O. aciphylla</i>	[M] ^d
46	Ferrearina D	<i>O. aciphylla</i>	[M] ^d
58	Licarina A	<i>O. porosa</i>	[CF] ^b
59	Licarina B	<i>O. porosa</i>	[CF] ^b
67	Ocofilal A	<i>O. macrophylla</i>	[F] ^m
68	Ocofilal B	<i>O. macrophylla</i>	[F] ^m
70	Perseal F	<i>O. porosa</i>	[CF] ^b
71	Guianina	<i>O. porosa</i>	[M] ^a
72	Epiguianina	<i>O. porosa</i>	[M] ^a
73	3'-metoxiguianina	<i>O. porosa</i>	[M] ⁿ
107	Canelina-C	<i>O. catharinensis</i>	[C] ^f
108	5-metoxicanelina-C	<i>O. catharinensis</i>	[C] ^f
109	Canelina-A	<i>O. aciphylla</i>	[M] ^d
110	<i>rel</i> -(7 <i>R</i> ,8 <i>R</i> ,1' <i>S</i> ,3' <i>S</i>)-5'-metoxi-3,4-metilenodioxi-7,3',8,1'-cicloneolign-8'-eno-2',4'(1' <i>R</i> ,3' <i>S</i>)-diona	<i>O. porosa</i>	[CF] ^b
111	Ocofilol B	<i>O. macrophylla</i>	[F] ^m

^a(Carvalho *et al.*, 1988); ^b(David *et al.*, 1994); ^c(Khan *et al.*, 1987); ^d(Romoff *et al.*, 1984); ^e(Felicio *et al.*, 1986); ^f(Ishige *et al.*, 1991); ^g(Dias *et al.*, 1986); ^h(Juan *et al.*, 1980); ⁱ(Dodson *et al.*, 1987); ^j(Haraguchi *et al.*, 1983); ^l(Drewes *et al.*, 1995); ^m(Coybarrera *et al.*, 2009); ⁿ(Marques *et al.*, 1992); ^o(Gomes *et al.*, 1983); ^p(Silva *et al.*, 1989);

Legenda: [M]- madeira; [CF]-cascas e folhas; [F]- folhas; [C]-cascas

Quadro 4. Neolignanais isoladas de espécies do gênero *Ocotea*.

Espécie	Substâncias [Parte Vegetativa] Referência
<i>O. porosa</i>	34, 42, 49 [M] ^a 47 e 50 [M] ^g 63 e 65[CF] ^a 77,78,90,94-96 [M] ^o 74-76, 79,91,92 [M] ⁿ 38, 42, 51, 52, 53-57, 60, 64 e 69[CF] ^b
<i>O. catharinensis</i>	61 [M] ^h 62 [M] ^j 99 [C] ^j
<i>O. bullata</i>	66 [C] ^l
<i>O. costulatum</i>	98 [M] ^p
<i>O. veraguensis</i>	61 [M] ⁱ 100-103 [FR] ⁱ 97,104 -106 [C] ^c

^a(Carvalho *et al.*, 1988); ^b(David *et al.*, 1994); ^c(Khan *et al.*, 1987); ^d(Romoff *et al.*, 1984); ^e(Felicio *et al.*, 1986); ^f(Ishige *et al.*, 1991); ^g(Dias *et al.*, 1986); ^h(Juan *et al.*, 1980); ⁱ(Dodson *et al.*, 1987); ^j(Haraguchi *et al.*, 1983); ^l(Drewes *et al.*, 1995); ^m(Coybarrera *et al.*, 2009); ⁿ(Marques *et al.*, 1992); ^o(Gomes *et al.*, 1983); ^p(Silva *et al.*, 1989);

[M]- madeira; [CF]-cascas e folhas; [F]- folhas; [C]-cascas; [FR]- fruto

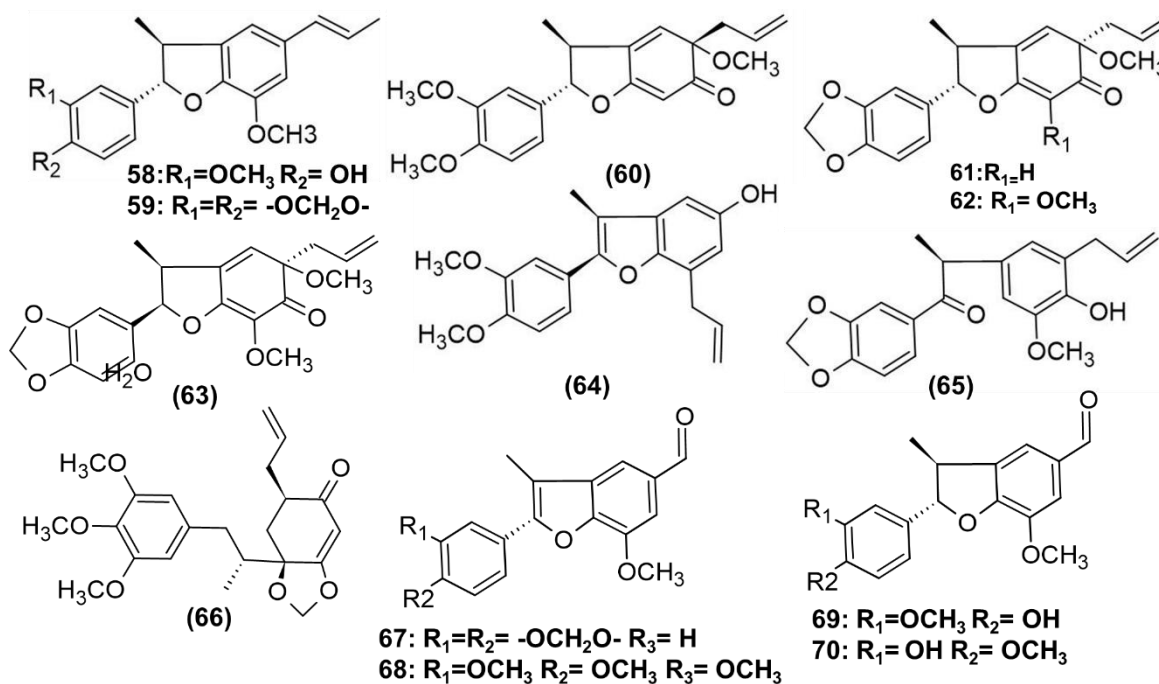


Figura 4. Estruturas químicas das 8.3' neolignanais isoladas espécies de *Ocotea*

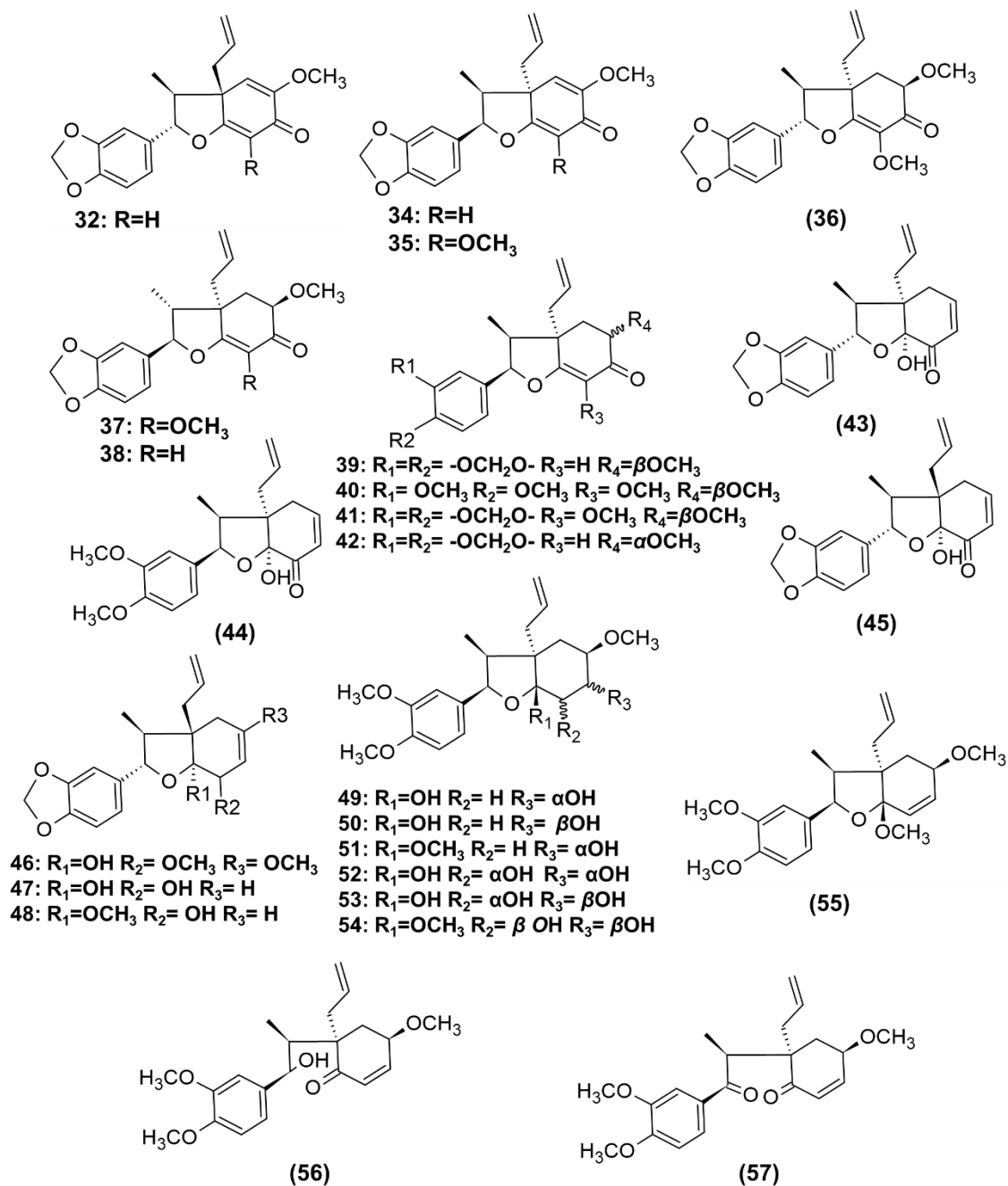


Figura 5. Estruturas químicas das 8.1' neolignanas isoladas espécies de *Ocotea*.

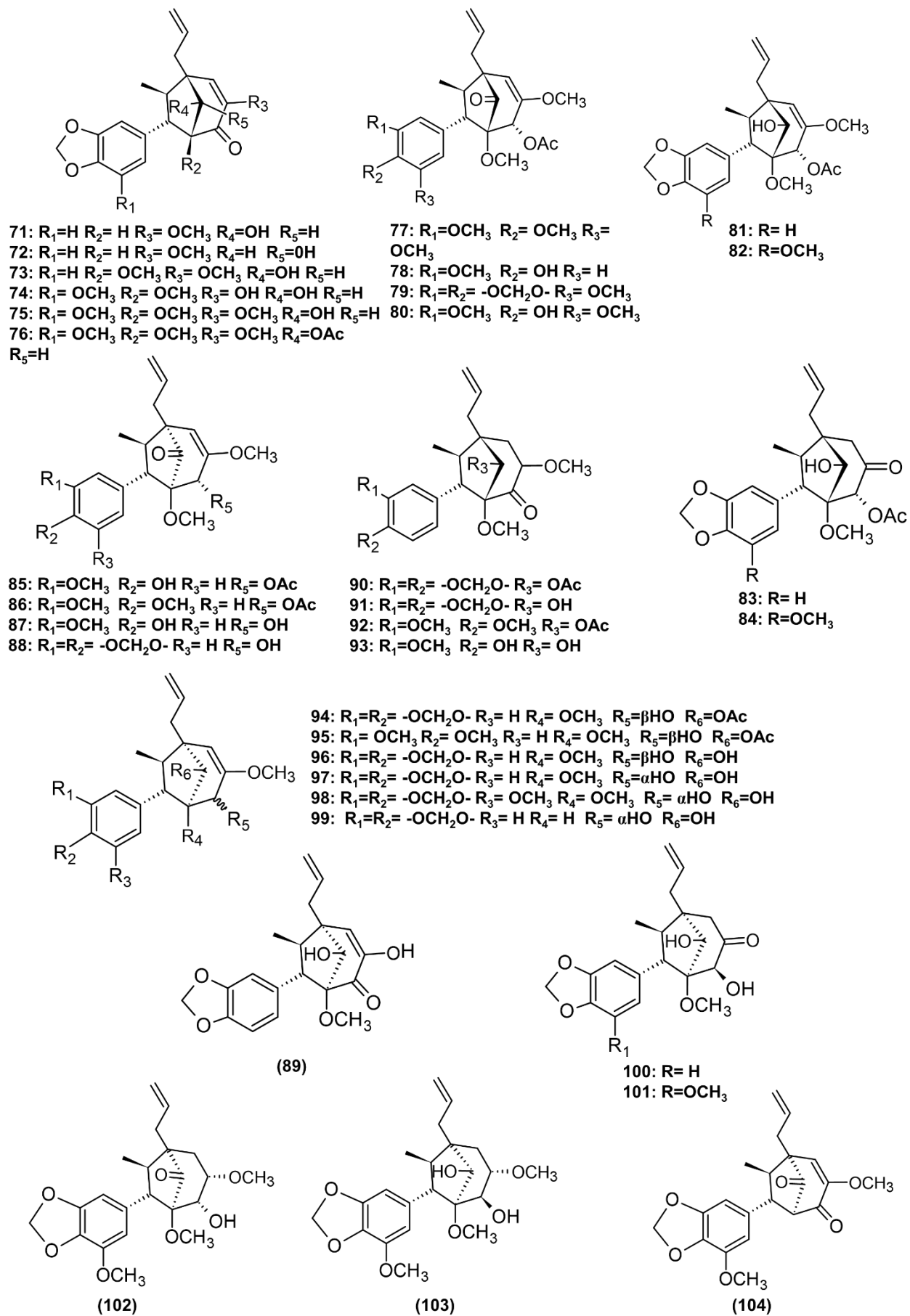


Figura 6. Estruturas químicas das 7.3',8.1' cicloneolignanas isoladas espécies de *Ocote*

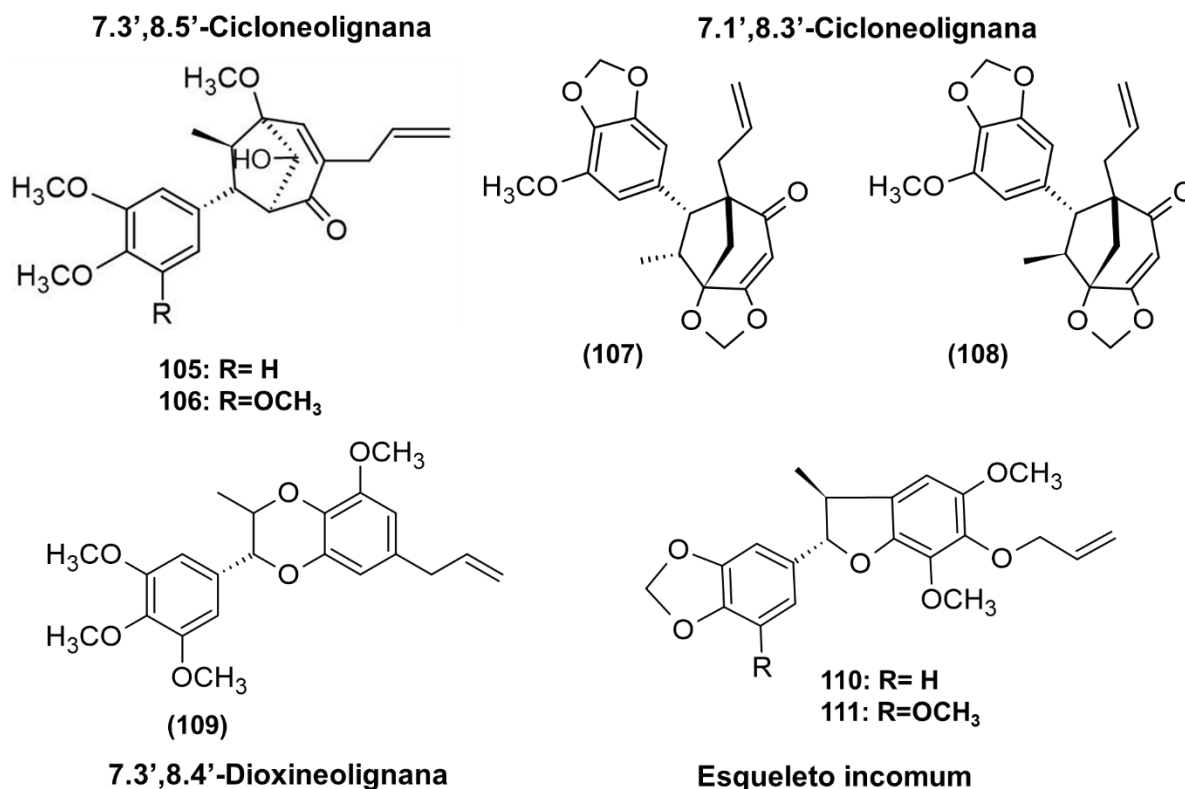


Figura 7. Estruturas químicas de neolignanas de outros tipos e incomuns isoladas de espécies de *Ocotea*.

2.2.1 A espécie *Ocotea neesiana*

Ocotea neesiana (Miq.) Kosterm. é conhecida popularmente como louro-aritu. Possui oito sinônimos: *Gymnobalanus sprucei* Meisn., *Nectandra neesiana* Miq., *Ocotea fallax* (Miq.) Mez, *Ocotea florulenta* (Meisn.) Mez, *Oreodaphne confusa* Meisn., *Oreodaphne fallax* Miq., *Oreodaphne florulenta* Meisn. e *Oreodaphne japurensis* Meisn. (Tropicos, 2025^b). No Brasil encontra-se distribuída nas regiões norte (Amazonas, Amapá, Pará e Rondônia) e centro-oeste (Mato Grosso) (Flora e Funga do Brasil, 2025^a).

Estudos anteriores realizados por Alcântara *et al* (2019) por meio da extração do óleo essencial da madeira de demolição resultou na identificação de 24 substâncias químicas, tendo como principais constituintes os monoterpenos monocíclico oxigenado α -terpineol (**112**) (53,89%) seguido pelos bicíclicos borneol (**113**) (16,20%) e α -fenchol (**114**) (9,80%) (Figura 8).

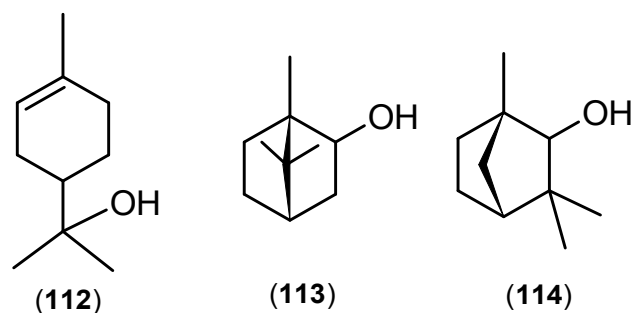


Figura 8. Estruturas químicas dos monoterpenos de *O. neesiana*.

2.3 O gênero *Sextonia*

O gênero *Sextonia* é composto por apenas duas espécies *Sextonia pubescens* van der Werff. e *Sextonia rubra* (Mez) van der Werff. As espécies desse gênero são facilmente reconhecidas por ter folhas e flores agrupadas com tépalas desiguais (Rohwer *et al.*, 1991). As suas árvores podem chegar até 45 metros de altura, com folhas alternada e agrupadas próxima às pontas dos galhos (van der Werff, 1997).

A espécie *S. pubescens* é encontrada apenas na Amazônia peruana, habitando áreas de floresta primária não sujeita à inundação, com potencial para atingir uma altura de até 25 metros, conforme documentado por van der Werff (1997). Até o momento não há relatos de estudos químicos nem farmacológicos sobre esta espécie.

A espécie *S. rubra* é encontrada no Brasil (Amazonas, Pará e Maranhão), na Guiana, Suriname e Venezuela. É conhecida popularmente como louro-gamela, gamela e louro-vermelho (Tropicos, 2025^c, Flora e Funga do Brasil, 2025^b). Anteriormente *S. rubra* pertencia ao gênero *Ocotea* (*Ocotea rubra* Mez), e posteriormente foi chamado de *Nectandra rubra* (Mez) C.K. Allen. Em 1997 van der Werff propôs a sua migração para o gênero *Sextonia* por apresentar-se bastante isolada entre as outras espécies dos gêneros anteriores, especialmente pela cor róseo-avermelhada, incomum no grupo. Tornando assim os dois nomes anteriores suas sinônimas (Fedalto *et al.*, 1989; Coradin *et al.*, 2009).

A literatura reporta dois estudos dos constituintes químicos dessa espécie. Do tronco da árvore Franca e Gottlieb (1972) isolaram as substâncias um par de alceno-alcino rubrenolídeo (**115**) e rubrinolídeo (**116**) (Figura 9), as quais apresentaram atividade antifúngica contra 16 fungos patogênicos e citotoxicidade para células de fibroblastos de mamífero NIH-3T (Rodrigues *et al.* 2010).

Alcântara *et al.* (2013) identificaram do óleo essencial extraído das folhas os componentes majoritários como: mistura dos monoterpenos α -pineno (**117**) e β -pineno (**118**) (21,7 e 15,4%), e os sesquiterpenos α -copaeno (**119**) (12,5%), germacreno D (**120**) (12,1%), β -cariofileno (**121**) (7,1%) e δ -cadineno (**122**) (5,0%) (Figura 9).

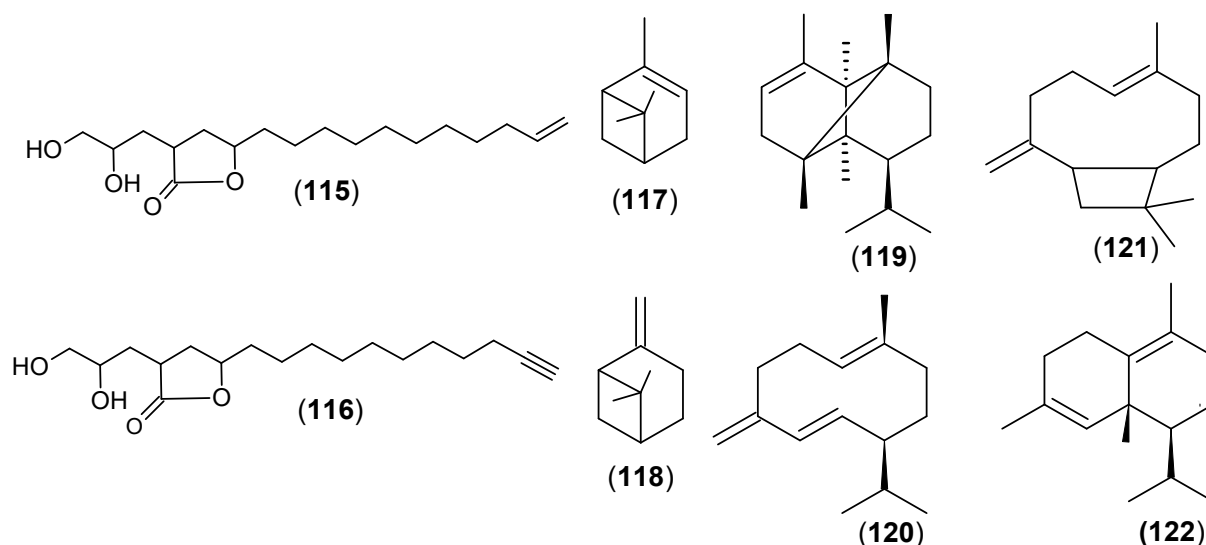


Figura 9. Estruturas químicas das substâncias reportadas na literatura para *S. rubra*.

2.4 Ensaios biológicos

2.4.1 Atividade antifúngica

As infecções causadas por fungos tornaram-se um importante problema de saúde pública e têm crescido em número e gravidade nas últimas décadas. No Brasil, as infecções fúngicas em seres humanos são predominantes. Estima-se que aproximadamente 3,8 milhões de indivíduos no país estejam enfrentando infecções fúngicas graves. Isso afeta principalmente pacientes com câncer maligno, imunosuprimidos, asmáticos, pessoas com histórico de tuberculose, portadores do vírus HIV e aqueles que residem em regiões onde fungos patogênicos verdadeiros são endêmicos (Ahmad *et al.*, 2011; Giacomazzi *et al.*, 2016).

O diagnóstico e o tratamento das doenças fúngicas invasivas são desafiados pelo acesso limitado a diagnósticos e tratamentos de qualidade, bem como pelo surgimento de resistência a antifúngicos em muitos cenários. Diante disso, a Organização Mundial da Saúde (OMS) publicou uma lista em 2022 contendo os patógenos fúngicos prioritários da OMS, como forma de orientar a pesquisa, o

desenvolvimento e as ações em saúde pública. O processo de priorização concentrou-se em patógenos fúngicos que podem causar infecções fúngicas sistêmicas invasivas, agudas e subagudas, para as quais existem resistência a medicamentos ou outros desafios de tratamento e manejo. Nesse documento os patógenos incluídos foram classificados e categorizados em três grupos de prioridade (crítica, alta e média) (Figura 10) (WHO, 2022).

Critical group	High group	Medium group
 <i>Cryptococcus neoformans</i>	 <i>Nakaseomyces glabrata</i> (<i>Candida glabrata</i>)	 <i>Scedosporium</i> spp.
 <i>Candida auris</i>	 <i>Histoplasma</i> spp.	 <i>Lomentospora prolificans</i>
 <i>Aspergillus fumigatus</i>	 Eumycetoma causative agents	 <i>Coccidioides</i> spp.
 <i>Candida albicans</i>	 Mucorales	 <i>Pichia kudriavzevii</i> (<i>Candida krusei</i>)
	 <i>Fusarium</i> spp.	 <i>Cryptococcus gattii</i>
	 <i>Candida tropicalis</i>	 <i>Talaromyces marneffeii</i>
	 <i>Candida parapsilosis</i>	 <i>Pneumocystis jirovecii</i>
		 <i>Paracoccidioides</i> spp.

Figura 10. Fungos patógenos prioritários determinados pela OMS. Fonte: WHO, 2022.

Dentre os patógenos listados pela OMS encontram-se fungos como *Cryptococcus neoformans* e *Candida albicans* no grupo crítico e *C. gatti* e *C. krusei* no grupo médio. A candidíase invasiva por *Candida albicans* apresenta mortalidade de 20% a 50%, com aumento da resistência a azóis. *Candida krusei* (*Pichia kudriavzevii*) tem mortalidade de 44% a 67% e é intrinsecamente resistente ao fluconazol, mas apresenta baixa resistência a outros azóis e equinocandinas. Entre as criptococoses, *Cryptococcus gattii* apresenta mortalidade de 10% a 25%, podendo chegar a 43% em infecções sanguíneas, enquanto *Cryptococcus neoformans* está

associada a mortalidade de 41% a 61%, especialmente em pacientes com HIV (WHO, 2022).

Mediante a essa problemática reportada acima ressalta-se a importância de buscar novas substâncias com propriedades antifúngicas sendo este um dos focos deste trabalho investigar a atividade antifúngica das substâncias oriundas de resíduos madeireiros.

2.4.2 Atividade bactericida

O cancro cítrico é uma doença bacteriana da citricultura causada por *Xanthomonas citri* subsp. *citri* (Xcc; sin. *X. campestris* pv. *citri* e *X. axonopodis* pv. *citri*) (Euzeby, 2007; Young *et al.*, 1978; Vauterin *et al.*, 1995; Ference *et al.*, 2018) resulta em desfolha das plantas, queda prematura dos frutos e redução da produtividade agrícola, entre outras consequências (Figura 11). Esta doença é de origem asiática e está distribuída por países tropicais e subtropicais, incluindo o Brasil, que é o maior produtor de laranja do mundo sendo responsável por 70% da produção global de suco de laranja (Behlau; Belasque, 2014; Lanza *et al.*, 2019; USDA, 2024).



Figura 11. Sintomas nos frutos e folhas da doença *Xanthomonas citri* subsp. *citri*.
Fonte: autoral.

As estratégias de controle desta praga envolvem erradicação e manejo, sendo o controle químico um dos métodos mais comuns no manejo do cancro cítrico. Assim, a aplicação de bactericidas à base de cobre demonstrou ser eficaz na redução da incidência da doença (Behlau, 2019; Gottwald *et al.*, 2002); no entanto, a exposição prolongada ao cobre pode causar alterações no solo agrícola (Shaw *et al.*, 2020) e o desenvolvimento de cepas resistentes a esse metal (Osiro *et al.*, 2011; Behlau *et al.*,

2011; Richard *et al.*, 2017). As bactérias Xcc produzem uma matriz extracelular e crescem na forma de biofilmes para suportar os estresses durante o crescimento epifítico. Portanto, moléculas que afetam a matriz extracelular ou rompem a estrutura do biofilme podem, em princípio, ser úteis para o controle do cancro cítrico.

Estudos demonstraram o potencial de pequenas moléculas de origem natural contra *X. citri*, como monoterpenos e sesquiterpenos, predominantes nos óleos essenciais das folhas de *Citrus aurantium* (limoneno e acetato de geranila), *Citrus aurantifolia* (linalol e acetato de linalila) (Mirzaei-Najafgholi *et al.*, 2017) e *Schinus molle* (espatulenol, β -cariofileno e óxido de cariofileno) (Da Silva *et al.*, 2024), além dos constituintes voláteis do extrato hexânico de sementes de *Pterodon pubescens* (Dos Santos *et al.*, 2023). Alguns experimentos envolveram compostos purificados, como sesquiterpenos (espatulenol) de *Schinus molle* (Da Silva *et al.*, 2024) e fenólicos, como hesperitina, ácido (*E*)-4-hidroxicinâmico e ácido (*E*)-ferúlico isolados da casca de laranjas Newhall (Liang *et al.*, 2023) além de compostos comercialmente disponíveis, como flavonoides (Li *et al.*, 2022^b). Nesse estudo se avalia os constituintes não voláteis da madeira de *Ocotea neesiana* e *Sextonia rubra*, estimulado pela variedade química e potencial antimicrobiano atribuído ao gênero *Ocotea* (Zanin *et al.*, 2007; Salleh *et al.*, 2017) mas com poucos relatos de seu uso contra *X. citri*.

3. OBJETIVOS

3.1 Geral

Realizar estudos químicos dos resíduos madeireiros de *Ocotea neesiana* (Miq.) Kosterm e *Sextonia rubra* (Mez) van der Werff, buscando isolar substâncias e avaliar potenciais agentes antimicrobianos.

3.2 Específicos

- Realizar os fracionamentos cromatográficos dos extratos metanólicos para o isolamento dos constituintes químicos;
- Determinar a estrutura química das substâncias isoladas por meio de técnicas espectroscópicas e espectrométrica;
- Realizar ensaio antifúngico frente aos fungos *Candida albicans* e *krusei*, *Cryptococcus gatti* e *neoformans* com as substâncias isoladas, para identificar potenciais agentes fungicidas para uso clínico;
- Analisar a atividade antibacteriana das substâncias isoladas e extratos em relação à bactéria *Xanthomonas citri* spp. *citri*, causadora da doença cancro cítrico;

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Materiais

Cromatografia em coluna (CC): Os fracionamentos cromatográficos foram realizados em coluna de vidro com comprimentos e diâmetros variados, conforme a quantidade de amostra a ser fracionada, utilizando as seguintes fases estacionárias: sílica gel 60 com partículas entre 70-230 e 230-400 *mesh* ASTM (Sigma-Aldrich) e SephadexLH-20 (Sigma-Aldrich).

Cromatografia em camada delgada (CCD): As análises em camada delgada foram realizadas em cromatofolhas de alumínio de 0,2 mm de espessura com sílica gel 60 tendo indicador de fluorescência F254 (Merck).

Cromatografia em camada delgada preparativa (CCDP): As análises em escala preparativa foram desenvolvidas em cromatoplasmas de vidro com camada de sílica gel de espessura 1,0 mm, com dimensões de 20 x 20 cm. As placas foram ativadas em estufa a 100°C por 30 minutos.

Reveladores: A revelação das faixas (spots) foi feita por meio de radiação ultravioleta (254 e 365 nm) e em solução alcoólica de vanilina sulfúrica, cloreto férrico, dragendorff com aquecimento em chapa aquecedora e vapor de iodo.

Solventes: Para cromatografia foram utilizados solventes comerciais destilados no LQPN-INPA, sendo eles hexano, diclorometano, acetato de etila, acetona e metanol. Para análises em RMN utilizou-se os solventes deuterados clorofórmio, acetona e metanol (Sigma-Aldrich).

4.2 Equipamentos

- **Agitador magnético com aquecimento:** Fisatom, Modelo 753°
- **Balança analítica:** Shimadzu, Modelo AUY220, com capacidade até 220 g
- **Chapa de aquecimento** - marca Fisatom, modelo 753
- **Lâmpada ultravioleta:** Spectroline, Modelo ENF-240C/FE
- **Evaporador rotativo:** Yamato, modelo RE500, equipado com banho Yamato BM 200
- **Moinho elétrico:** Modelo MA 340

- **Espectrômetro de Ressonância magnética nuclear (RMN):** Aparelhos Bruker, Modelo Fourier-300 (300 MHz para RMN ^1H e 75 MHz para RMN ^{13}C) da Central Analítica do Laboratório Temática de Química de Produtos Naturais (INPA); Modelo AVANCE III HD (500 MHz para RMN ^1H e 125 MHz para RMN ^{13}C) do Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear (UFAM) e Modelo AVANCE III (400 MHz para RMN ^1H e 100 MHz para RMN ^{13}C) do Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear da Central Analítica Multiusuário (UFG).
- **Espectrômetro de massas de alta resolução (EMAR):** A espectrometria de massas de alta resolução (EMAR) foi realizada utilizando um sistema UHPLC-QTOF/HRMS Infinity II 1290 - Agilent® – 6545 no Laboratório de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos usando os modos de análises de íons positivos e negativo. E um espectrômetro MicroTOF-QII (Bruker Daltonics), fonte de ionização ESI da Central Analítica do Laboratório Temático de Química de Produtos Naturais (CA-LTQPN) do INPA.
- **Cromatógrafo gasoso acoplado ao espectrômetro de massas (CG-EM):** Thermo Scientific (modelo TRACE 1300 Series GC) acoplado ao espectrômetro de massas (modelo ISQ 7000) e injetor automático Triplus RSH do Instituto Agronômico (Campinas- SP). O software Chromeleon® (Thermo Scientific-Waltham, MA, EUA) foi utilizado para aquisição e processamento dos dados.
- **Polarímetro:** Polarímetro Unipol L1000, Schmidt+Haensch) do Laboratório de Química de Produtos Naturais (LQPN-INPA), utilizando o solvente MeOH grau HPLC.

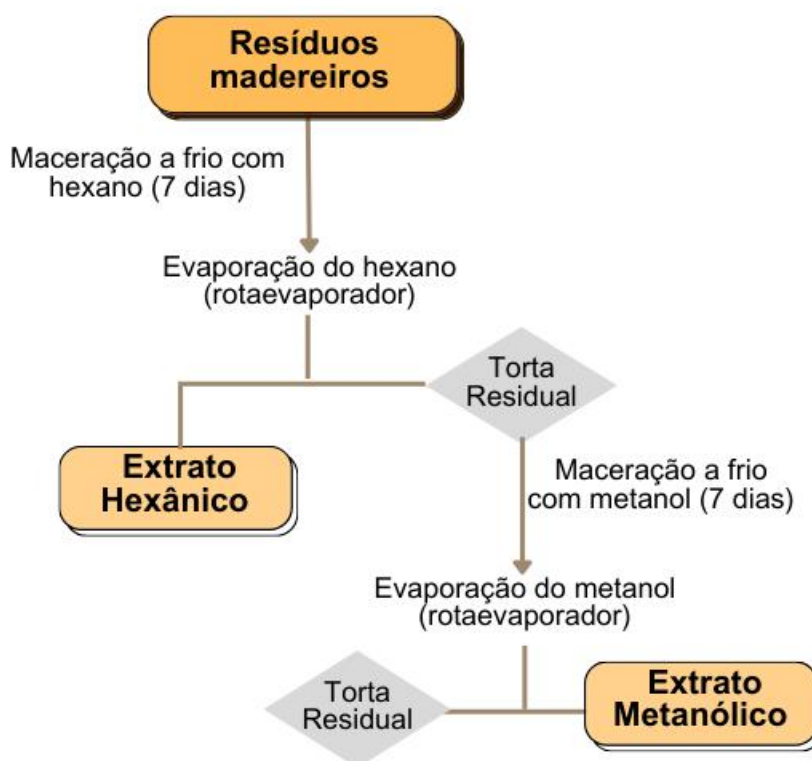
4.3 Obtenção e identificação dos resíduos madeireiros

As amostras dos resíduos madeireiros são provenientes de origens diferentes, sendo que a *Ocotea neesiana* (Miq.) Kosterm veio da demolição da estrutura de telhado (cerca de 45 anos) do prédio da diretoria do INPA (3°05'44.1"S; 59°59'15.1"W) e *Sextonia rubra* (Mez) van der Werff do projeto INCT-Madeiras da Amazônia. As identificações foram realizadas pelo anatomista de madeira Jorge Alves de Freitas no Laboratório de Anatomia e Identificação de Madeiras (Xiloteca) da Coordenação de Tecnologia e Inovação- COTEI-INPA. A análise foi efetuada com bases nas técnicas de identificação anatômica macroscópica da madeira, seguindo as orientações nas normas técnicas (IBAMA, 1991).

4.4 Processamento das amostras e preparação dos extratos

Para preparar os extratos, os resíduos madeireiros passaram por um processo que envolveu o corte em pedaços menores, a moagem em um moinho elétrico e a determinação do peso. Em seguida, eles foram submetidos a macerações à frio, com extrações feitas primeiro com hexano e depois com metanol. Após essa etapa, as soluções resultantes passaram por um processo de filtração e foram concentradas sob vácuo utilizando um evaporador rotativo, resultando nos extratos hexânicos e metanólicos, como ilustrado no Esquema 1. Os extratos foram codificados conforme o Quadro 5. O teor extrativo foi calculado utilizando a seguinte fórmula:

$$\text{Rendimento (\%)} = \frac{\text{massa do extrato (g)} \times 100}{\text{massa inicial do resíduo seco (g)}}$$



Esquema 1. Esquema geral de obtenção dos extratos dos resíduos madeireiros.

Quadro 5. Codificação dos extratos.

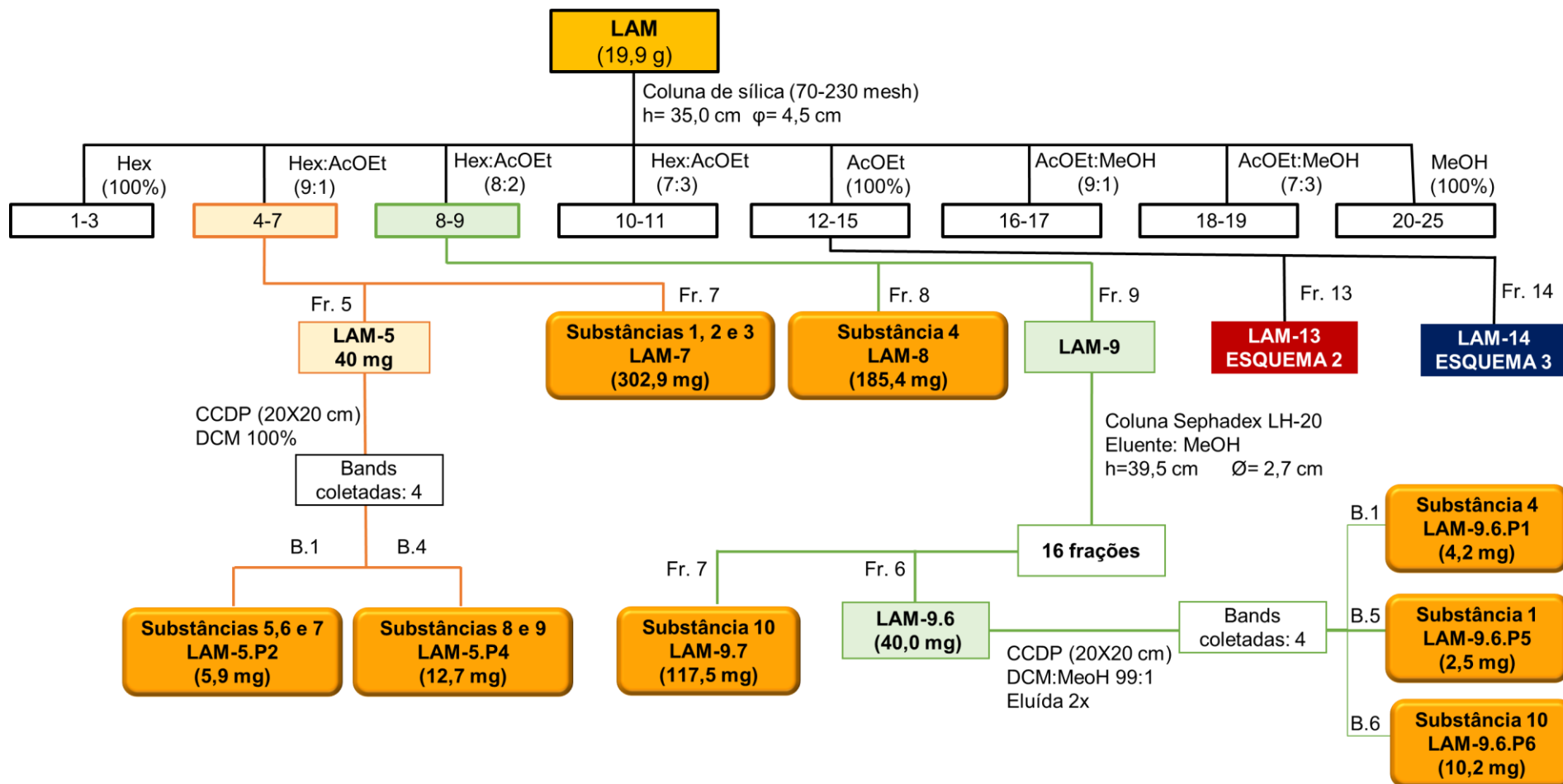
Espécies	Extrato	Código
<i>Ocotea neesiana</i> (Miq.) Kosterm.	Hexânico	LAH
	Metanólico	LAM
<i>Sextonia rubra</i> (Mez) van der Werff	Hexânico	SRH
	Metanólico	SRM

4.5 Fracionamento cromatográfico do extrato metanólico de *Ocotea neesiana* (LAM)

O extrato metanólico (19,9 g) foi fracionado em uma coluna filtrante de sílica gel (70-230 *mesh*), eluída em gradientes crescentes de polaridade (hexano, acetato de etila e metanol), gerando 25 frações (Esquema 2). Após análise em CCD as frações com similaridades foram reunidas (ver Tabela 1). As frações 7 (LAM-7) e 8 (LAM-8) apresentaram, em CCD revelada em vanilina sulfúrica, apenas uma macha roxa cada, resultando nas substâncias **1, 2 e 3** (LAM-7) e **4** (LAM-8). As frações reunidas LAM-5, LAM-9, LAM-13 e LAM 14, foram submetidas a novos fracionamentos (Esquemas 2-4). É importante ressaltar que as frações 1-7 apresentaram cheiro e foram armazenadas na geladeira.

Da fração **LAM-5** (1133,3 mg) retirou-se 40 mg para purificação por cromatografia em camada delgada preparativa (CCDP). A amostra foi solubilizada em diclorometano (DCM) com uma eluição em DCM 100%, ao visualizar na luz UV (254 nm) verificaram-se 4 bandas, as quais foram raspadas e extraídas com DCM e acetona (Tabela 2). A banda 2 (LAM-5.P2) resultou nas substâncias **5, 6 e 7** e a banda 4 (LAM-5.P4) nas substâncias **8 e 9**.

A fração **LAM-9** (498,3 mg) foi fracionada em coluna Sephadex-LH20, eluída com metanol, originando 16 frações, cujas junções foram feitas em conformidade com as similaridades em CCD (Tabela 1, Esquema 2). A subfração 6 (LAM-9.6) foi refracionada em CCDP, com eluição em DCM:MeOH, fornecendo 6 bandas (Tabela 2), fornecendo a purificação das substâncias **1 e 4** novamente e da substância **10** (LAM 9.6.P6; 10,2 mg), conforme Esquema 2. A subfração 7 (LAM-9.7) apresentou o mesmo valor de R_f em CCD da substância **10**.



Esquema 2. Fracionamento cromatográfico de LAM, LAM-5 e LAM-9.

Tabela 1. Massas das frações geradas durante os fracionamentos cromatográficos do extrato LAM e da fração LAM-9.

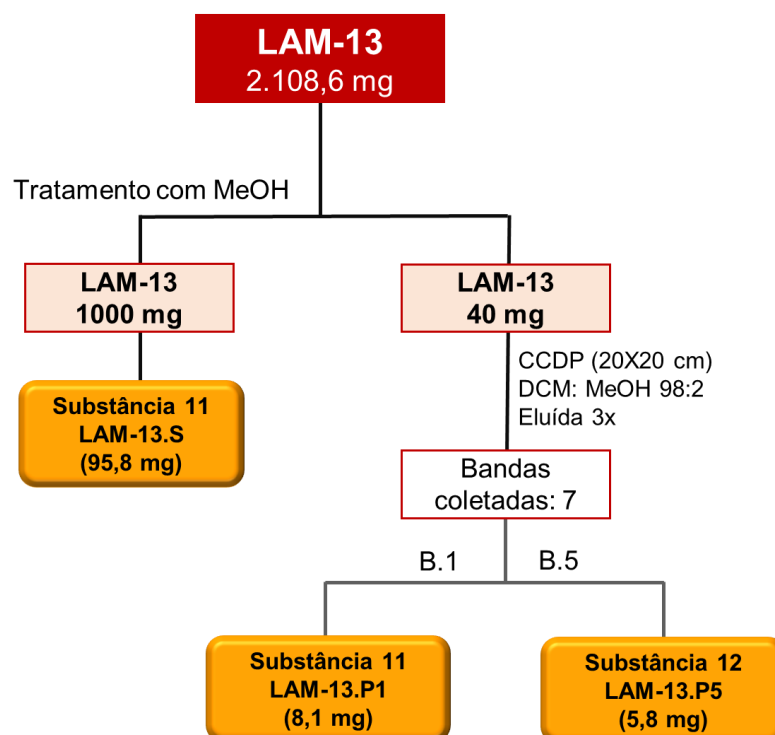
	Frações reunidas	Código	Massa (mg)	Rendimento (%)
LAM	1-2	LAM-1	339,9	1,7
	3	LAM-3	14,6	0,08
	4	LAM-4	13,8	0,07
	5	LAM-5	1133,3	5,7
	6	LAM-6	729,5	3,7
	7	LAM-7	302,9	1,5
	8	LAM-8	185,4	0,9
	9	LAM-9	498,3	2,5
	10	LAM-10	230,1	1,2
	11	LAM-11	64,2	0,3
	12	LAM-12	248,1	1,2
	13	LAM-13	2.108,6	10,6
	14	LAM-14	431,9	2,2
	15	LAM-15	155,8	0,8
	16	LAM-16	173,7	0,9
	17	LAM-17	719,0	3,6
	18	LAM-18	547,5	2,7
	19	LAM-19	3.350,9	16,8
	20	LAM-20	3.298,4	16,6
	21	LAM-21	2.128,5	10,7
	22	LAM-22	486,1	2,4
	23	LAM-23	375,0	1,9
	24	LAM-24	82,6	0,4
	25	LAM-25	29,4	0,2
LAM-9	1-3	LAM-9.1	33,8	0,2
	4	LAM-9.4	107,5	0,5
	5	LAM-9.5	35,8	0,2
	6	LAM-9.6	101,4	0,5
	7	LAM-9.7	117,5	0,6
	8	LAM-9.8	22,4	0,1
	9	LAM-9.9	4,1	0,02
	10	LAM-9.10	2,6	0,01
	11-16	LAM-9.11	3,9	0,02

Tabela 2. Massas das bandas obtidas por CCDP de LAM-5 e LAM-9.6.

	Bandas coletadas	Código	Massa (mg)	Rendimento (%)
LAM-5	1	LAM-5.P1	1,7	4,2
	2	LAM-5.P2	5,9	14,7
	3	LAM-5.P3	2,3	5,7
	4	LAM-5.P4	12,7	31,7
LAM-9.6	1	LAM-9.6.P1	4,2	10,5
	2	LAM-9.6.P2	1,5	3,7
	3	LAM-9.6.P3	1,6	4,0
	4	LAM-9.6.P4	1,2	3,0
	5	LAM-9.6.P5	2,5	6,2
	6	LAM-9.6.P6	10,2	25,5

4.5.1 Fracionamento cromatográfico de LAM-13

A fração **LAM-13** (2.108,6 mg) apresentou-se com coloração amarelada e com presença de sólidos. Separaram-se 1000 mg dessa fração e submeteu-se a sucessivas lavagens com metanol à frio fornecendo um sólido branco, que após análise em CCD (vanilina sulfúrica) verificou-se a presença de uma mancha amarelo escura indicando o isolamento da substância **11** (LAM-13.S). Da fração **LAM-13** retirou-se 40,00 mg para o fracionamento em CCDP com sílica gel, gerando 7 bandas, das quais as bandas 1 e 5 apresentaram-se purificadas gerando as substâncias **11** e **12**, respectivamente (Tabela 3; Esquema 3).



Esquema 3. Fracionamento cromatográfico de LAM-13.

Tabela 3. Massas das bandas obtidas por CCDP de LAM-13.

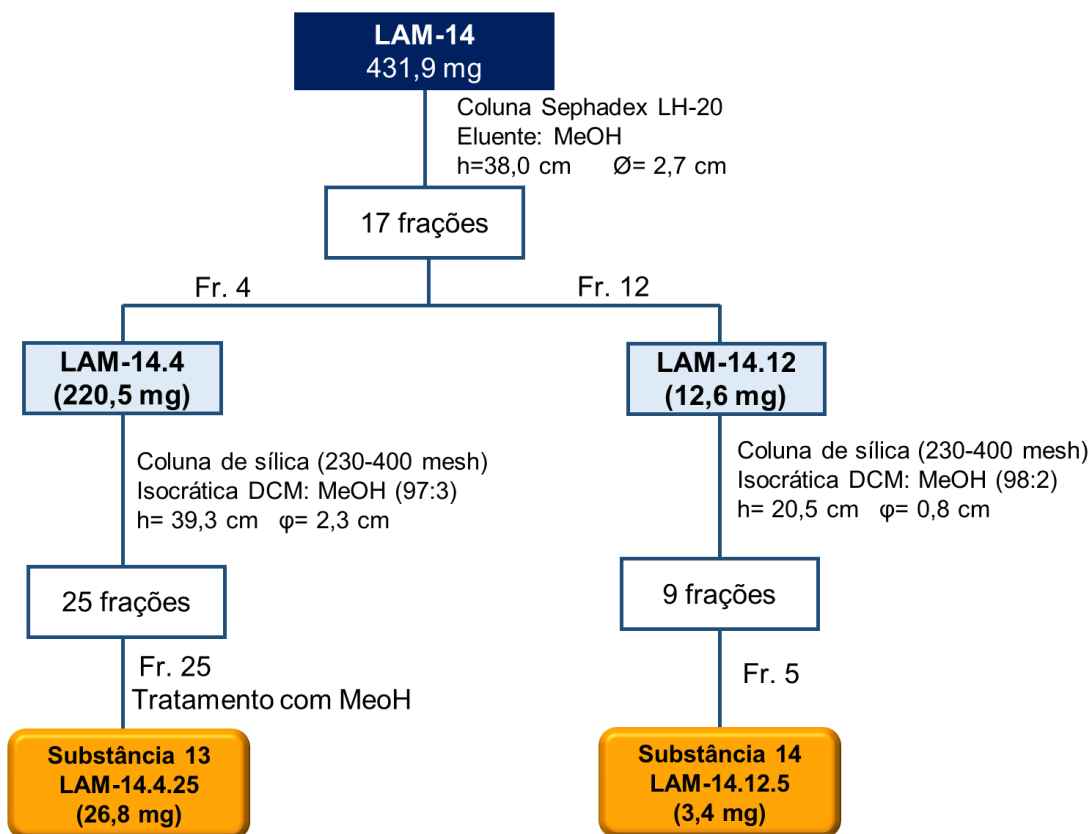
	Bandas coletadas	Código	Massa (mg)	Rendimento (%)
LAM-13	1	LAM-13.P1	8,1	20,2
	2	LAM-13.P2	5,2	13,0
	3	LAM-13.P3	5,3	13,2
	4	LAM-13.P4	3,8	9,5
	5	LAM-13.P5	5,8	14,5
	6	LAM-13.P6	5,9	14,7
	7	LAM-13.P7	1,5	3,7

4.5.2 Fracionamento cromatográfico de LAM-14

A fração **LAM-14** (431,9 mg) apresentava-se com pigmentação preta e por isso foi submetida a uma coluna SephadexLH-20, eluída em metanol, originando 17 subfrações (Tabela 4). As subfrações 4 e 12 foram submetidas a novos fracionamentos.

A subfração **LAM-14.4** mostrou uma boa separação em CCD para o sistema DCM:MeOH (97:3), logo foi fracionada em coluna de sílica gel (230-400 *mesh*) em sistema isocrático, obtendo-se 25 frações (Tabela 4, Esquema 4). A subfração 25 (LAM-14.4.25) apresentou cristais amarelados e apenas uma mancha azul escuro em CCD de sílica gel fase normal revelada em vanilina sulfúrica com fluorescência em lâmpada UV na região de 254 nm. Os cristais foram submetidos a um tratamento com MeOH, o que possibilitou a purificação da substância **13**.

A subfração **LAM-14.12** mostrou em CCD uma mancha rosa majoritária, com uma separação em DCM:MeOH (98:2), logo o fracionamento foi realizado em coluna de sílica gel (230-400 *mesh*), originando 9 frações (Tabela 4, Esquema 4). A subfração 5 (LAM-14.12.5; 3,4 mg) forneceu a substância **14** como um sólido amorfo alaranjado.



Esquema 4. Fracionamento cromatográfico de LAM-14.

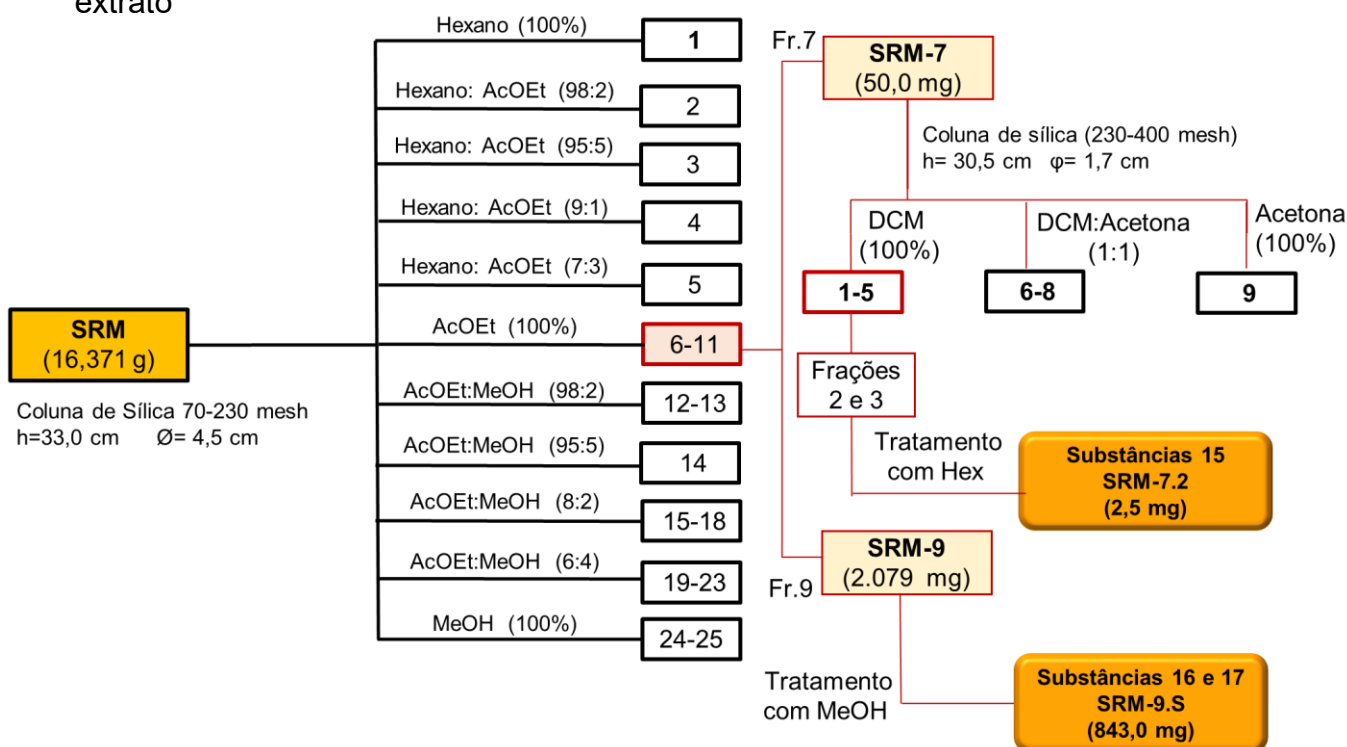
Tabela 4. Massas das frações obtidas de LAM-14, LAM-14.4 e LAM-14.12.

	Frações reunidas	Código	Massa (mg)	Rendimento (%)
LAM-14	1-2	LAM-14.1	3,1	0,7
	3	LAM-14.3	16,9	3,9
	4	LAM-14.4	220,5	51,0
	5	LAM-14.5	48,1	11,1
	6	LAM-14.6	10,0	2,3
	7	LAM-14.7	21,0	4,9
	8	LAM-14.8	9,2	2,1
	9	LAM-14.9	7,0	1,6
	10	LAM-14.10	17,9	4,1
	11	LAM-14.11	23,6	5,5
	12	LAM-14.12	12,6	2,9
	13-15	LAM-14.13	13,3	3,1
	16-17	LAM-14.16	7,5	1,7
LAM-14.4	1-3	LAM-14.4.1	3,7	1,7
	4	LAM-14.4.4	0,2	0,1
	5	LAM-14.4.5	1,5	0,7
	6-8	LAM-14.4.6	0,7	0,3
	9-12	LAM-14.4.9	42,6	19,3
	13	LAM-14.4.13	8,3	3,8
	14	LAM-14.4.14	11,3	5,1
	15-16	LAM-14.4.15	7,0	3,2
	17-19	LAM-14.4.17	11,8	5,3
	20	LAM-14.4.20	3,1	1,4
	21-23	LAM-14.4.21	12,8	5,8
	24	LAM-14.4.24	1,7	0,8
	25	LAM-14.4.25	89,4	40,5
LAM-14.12	1-3	LAM-14.12.1	1,0	8,0
	4	LAM-14.12.4	1,1	8,7
	5	LAM-14.12.5	3,4	27,0
	6	LAM-14.12.6	1,3	10,3
	7-9	LAM-14.12.7	5,8	46,0

4.6 Fracionamento cromatográfico do extrato metanólico de *Sextonia rubra* (Mez) van der Werff.

O extrato metanólico (16,371 g) foi fracionado em uma coluna filtrante de sílica gel (70-230 *mesh*), eluída em gradientes crescentes de polaridade (hexano, acetato de etila e metanol), gerando 25 frações (Esquema 5). Após análise em CCD as frações que apresentaram similaridades foram reunidas (ver Tabela 5). A fração SRM-7 (50 mg) apresentou uma fluorescência azul no UV em 365 nm e ausência de cor ao ser revelada em vanilina sulfúrica, esta foi submetida a um fracionamento cromatográfico em coluna de sílica gel (230-400 *mesh*) em sistema isocrático, obtendo-se 9 frações (Tabela 5, Esquema 5). As subfrações 2 e 3 (SRM-7.2; 9,1 mg) apresentaram um cristal o qual foi feito lavagem com hexano fornecendo a substância **15**.

As frações 9-11 (SRM-9; 12,538 g) apresentaram similaridade em CCD e quando reveladas em vanilina sulfúrica mostraram apenas uma mancha roxa com um marrom escuro. Da fração 2.079 mg foram submetidas um tratamento com etanol no qual obteve-se um sólido amarelo claro resultando nas substâncias **16** e **17** (SRM-9; 843,0 mg) (Esquema 5). Destaca-se a predominância das substâncias **16** e **17** no extrato metanólico pois as frações 9-11 concentraram a maior parte da massa do extrato



Esquema 5. Fracionamento cromatográfico de extrato metanólico de SRM.

Tabela 5. Massas das frações obtidas de SRM e SRM-7.

	Frações reunidas	Código	Massa (mg)	Rendimento (%)
SRM	1-4	SRM 1	2,0	0,01
	5-6	SRM 5	7,7	0,05
	7	SRM 7	52,9	0,3
	8	SRM 8	205,1	1,2
	9-11	SRM 9	12.538	76,6
	12-15	SRM 12	1.173,2	7,2
	16-17	SRM 16	161,8	1,0
	18	SRM 18	105,2	0,6
	19	SRM 19	524,3	3,2
	20-25	SRM 20	210,4	1,3
SRM-7	1	SRM 1	3,3	6,6
	2-3	SRM 2	9,1	18,2
	4	SRM 4	3,3	6,6
	5	SRM 5	4,2	8,4
	6-7	SRM 6	7,4	14,8
	8-9	SRM 8	20,0	40,0

4.7. Determinação estrutural

4.7.1 – Análises em Ressonância Magnética Nuclear

A determinação estrutural das substâncias **1-17** foi baseada nos dados espectrais de RMN unidimensionais ^1H e ^{13}C e bidimensionais (HSQC, HMBC e NOESY). As amostras foram preparadas em solventes deuterados (clorofórmio, acetona e metanol) conforme a solubilidade de cada substância. Os espectros de RMN foram obtidos em 300, 400 e 500 MHz em espectrômetro *Bruker* indicados nos dados dos parâmetros dos espectros com processamento no programa *TopSpin* versão 3.6.4.

4.7.2 – Análises por espectrometria de massas de alta resolução

A espectrometria de massas de alta resolução (HRMS) das substâncias **10-13** e **15-17** foi realizada utilizando um sistema UHPLC-QTOF/HRMS Infinity II 1290 - Agilent® – 6545 no Laboratório de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos. As amostras foram dissolvidas em metanol e analisadas por FIA a uma vazão de $0,30 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ e um volume de injeção de $8,0 \mu\text{L}$ a 40°C . A fase móvel consistiu

de H₂O + 0,1% de ácido fórmico e CH₃CN + 0,1% de ácido fórmico 20:80 até 100% da fase orgânica com um tempo de análise de 4,0 min.

Os espectros de massas foram adquiridos em modo de ionização positiva e negativa, utilizando varredura completa de MS na faixa de m/z 50-1500. As configurações instrumentais foram otimizadas da seguinte forma: tensão capilar a 3000 V, tensão do bocal 500 V, temperatura do gás 350 °C, gás de secagem 12 L.min⁻¹, nebulizador 35 psi, gás de feixe 320 °C, fragmentador 120 V, skimmer 80 V e tensão de energia de colisão 20 V. Além disso, os espectros MS/MS foram adquiridos no modo automático MS/MS para os 15 íons mais intensos na faixa de m/z 50-1500, usando as mesmas condições da varredura completa de MS. Uma energia de colisão fixa de 25,0, 28,0 e 30,0 V foi aplicada. A aquisição e a análise dos dados foram realizadas usando os softwares Qualitative Navigator B.08.00.

4.7.3 – Análises por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas

As frações LAM-5.P2 e P4 e LAM-7 foram diluídas em acetato de etila (grau cromatográfico, 1mg.mL⁻¹) e injetado 1 µL de solução. As análises foram realizadas em cromatógrafo a gás Thermo Scientific (modelo TRACE 1300 Series GC) acoplado ao espectrômetro de massas (modelo ISQ 7000) e injetor automático Triplus RSH do Instituto Agrônomo (Campinas-SP). O injetor foi mantido a 220 °C com divisão de vazão do gás de arraste (hélio, 99,9999% de pureza) na razão de 1:20. O espectrômetro de massas (EM) operou no modo *full scan*, por impacto de elétrons (70 eV) e faixa de aquisição de 40 a 450 m/z . A temperatura da interface foi mantida em 220°C e da *MS transfer line* em 250°C.

A separação das substâncias foi realizada em coluna capilar Rtx-5 MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm), com vazão de gás de arraste de 1,0 mL.min⁻¹ no seguinte programa de temperatura: 60°C - 240°C, 3°C.min⁻¹. O software *Chromeleon*® (Thermo Scientific-Waltham, MA, EUA) foi utilizado para aquisição e processamento dos dados.

A identificação das substâncias foi efetuada por meio da análise comparativa dos espectros de massas com as bibliotecas *National Institute of Standards and Technology (NIST 14)*; *Flavour & Fragrance Natural & Synthetic Compounds (FFNSC3)* e os índices de retenção linear das substâncias (IRL) com a literatura (Adams, 2017). Os índices de retenção linear foram obtidos a partir da injeção de uma

série de *n*-alcanos (C₉-C₂₄, Sigma-Aldrich, 99%) nas mesmas condições cromatográficas das amostras, aplicando-se a equação de Van den Dool e Kratz (1963).

4.8. Ensaios biológicos

4.8.1 Atividade antifúngica

Os testes de atividade antifúngica foram realizados no Laboratório de Micologia Médica do INPA. Foram utilizadas as cepas padrão da American Type Culture Collection (ATCC) e da Coleção de fungos patogênicos (CFP) conforme Quadro 6, mantida na Coleção de Microrganismos de Interesse Médico do INPA.

Quadro 6. Espécies de fungos utilizadas nos ensaios.

Espécie	Cepas
<i>Candida albicans</i>	ATCC 60193
<i>Candida krusei</i>	ATCC 34135
<i>Cryptococcus gattii</i>	CFP55
<i>Cryptococcus neoformans</i>	CFP59

4.8.1.1 Preparação dos inóculos fúngicos

Os inóculos fúngicos foram preparados seguindo as diretrizes do protocolo M27-A3 da *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2008). O procedimento envolveu a suspensão das células em 5 mL de solução salina esterilizada a 0,85%, com agitação em vórtex por 15 segundos. Em seguida, retiraram 10 µL da solução para quantificação em câmara de Neubauer através da leitura no microscópio óptico e, por fim, foram realizadas diluições da suspensão-padrão da levedura com meio líquido RPMI 1640 para obter uma concentração final de $2,5 \times 10^3$ células/mL.

4.8.1.2 Realização do teste de microdiluição em caldo

A avaliação da atividade antifúngica *in vitro* das substâncias **10**, **11** e **13** frente aos fungos apresentados no Quadro 6, foi realizada pela técnica de microdiluição em

microplaca de 96 orifícios, conforme as recomendações descritas pelo CLSI nos documentos M27-A3 (2008).

As amostras foram solubilizadas em 1% de TWEEN a 1,3 mg/mL (solução estoque). Estas passaram por diluições seriadas, partindo de uma concentração de 325 µg/mL à 0,634 µg/mL (substâncias) e de 64 a 0,125 µg/mL (Fluconazol, antibiótico de referência) em microplaca de 96 poços em duplicata, com posterior incubação a 35 °C durante 24 h para *C. albicans* e *krusei*, 72 h para *C. gattii* e *neoformans*. (Figura 12). Após esse período, realizou-se a leitura macroscópica da placa para avaliar a concentração inibitória mínima (CIM) das substâncias, considerando o score à 100% de inibição. A leitura foi realizada comparando os poços do controle positivo (Inóculo fúngico + meio de cultivo RPMI) e os poços contendo as substâncias testadas.

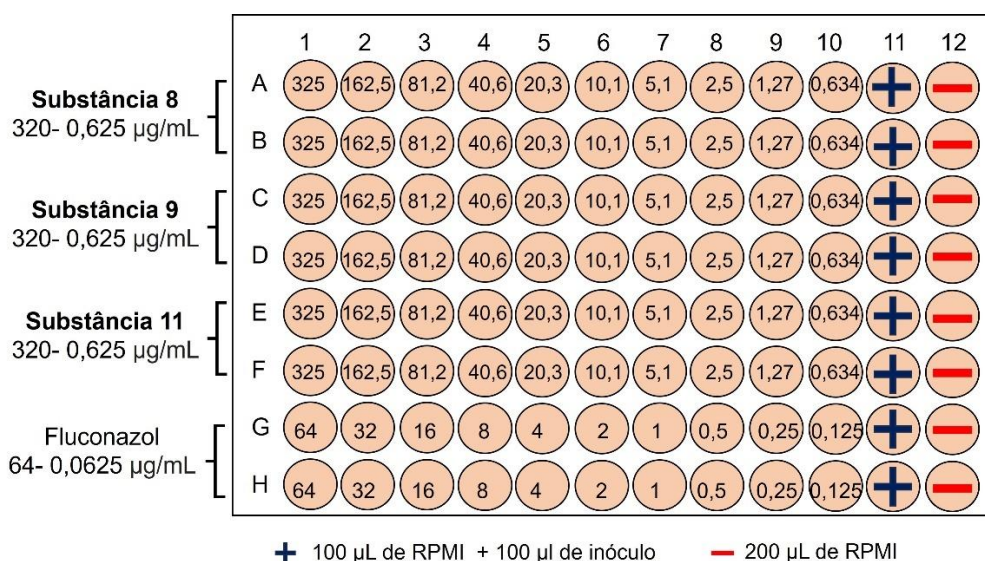


Figura 12. Esquematização do ensaio antifúngico com a técnica microdiluição em caldo.

4.8.2 Atividade antibacteriana contra *Xanthomonas citri* subs. *citri*

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Produtos Naturais, na área de bioensaios do Departamento de Química, na Universidade Federal de São Carlos (UFScar). A cepa bacteriana utilizada nos ensaios foi o isolado 12 da bactéria *Xanthomonas citri* ssp. *citri* de origem Paranavaí-Paraná (1997), sensível a cobre.

4.8.2.1 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

A CIM foi avaliada através do método de microdiluição em microplaca de 96 orifícios, metodologia segundo “*National Committee for Clinical Laboratory Standards*” (NCCLS, 2003). Os ensaios foram feitos em triplicata, contendo os seguintes controles: positivo (cobre), solvente (DMSO), assepsia da solução mãe e viabilidade do inóculo e do caldo.

Utilizou-se dois protocolos de diluições seriadas: o primeiro variando de 2000 a 62,5 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ e o segundo de 400 à 12,5 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. O primeiro protocolo foi realizado para os extratos (SRH e SRM) e as substâncias em mistura **16** e **17** de *S. rubra* e com as substâncias **1**, **10**, **11** e **13** de *O. neesiana*. O segundo protocolo para a substância **1**.

Para o primeiro protocolo, inicialmente preparou-se uma solução mãe (SM) com 4 mg de cada amostra a ser testada em 40 μL de dimetilsulfóxido (DMSO) e 200 μL do caldo nutritivo (NB), obtendo uma SM com concentração de 8.000 $\mu\text{g/mL}$. Para as amostras a serem testadas no segundo protocolo, fez-se uma SM com 2 mg de amostra em 125 μL DMSO e 500 μL do caldo de crescimento, obtendo uma SM com concentração de 1.600 $\mu\text{g/mL}$. Posteriormente em uma placa Eliza® com 96 orifícios, foram colocados os seguintes volumes de meio de cultura NB:

- 100 μL em cada orifício onde a SM seria testada;
- 100 μL para cada controle: positivo, DMSO, viabilidade do inóculo (2 poços);
- 180 μL para o controle da assepsia da solução mãe (2 poços);
- 200 μL para o controle do meio de cultura (2 poços)

Após preenchimento da placa com o caldo, o volume de 100 μL de cada SM foi adicionada no primeiro poço onde as amostras seriam testadas, com posterior diluição seriada partindo do poço 1 à 8. O mesmo procedimento de diluição seriada foi feito para o controle positivo e do DMSO. Nos poços com caldo nutriente para o controle da solução mãe pipetou-se 20 μL da mesma, para confirmar se não havia o crescimento de outros microrganismos.

O preparo do inóculo ocorreu a partir da suspensão de células de crescimento de 72 horas em solução salina 0,9%, correspondente a 0,5 da escala McFarland é 1,2, que equivale a 10^8 UFC. mL^{-1} . Em seguida foram realizadas diluições com o caldo nutriente para obter a concentração final de 5×10^5 UFC. Um volume de 100 μL deste

inóculo foi adicionado em cada poço contendo a SM e no controle do teste de atividade do inóculo.

Depois de realizada a metodologia do CIM, as placas Elisa® foram acondicionadas em câmara incubadora BOD (*Biochemical Oxygen Demand*) a temperatura de 28°C onde permaneceram por 72 horas.

Após o período de incubação, a análise do CIM foi realizada por adição de 30 µL em cada poço da solução aquosa de resazurina (Sigma) 0,02% (m/v) (Palomino, *et. al.*, 2002), como revelador do crescimento microbiano. A resazurina na presença de células bacterianas viáveis sofre uma reação de redução transformando-se em resofurina e mudando sua coloração de azul para rosa intenso.

Depois da adição da resazurina, as placas foram levadas à BOD novamente por 5 horas, após esse período realizou-se a leitura da CIM dos compostos frente à bactéria *Xanthomonas citri* ssp. *citri*. Os poços que apresentaram coloração rosa foram os que ocorreram crescimento bacteriano e os que permaneceram em azul indica que houve inibição.

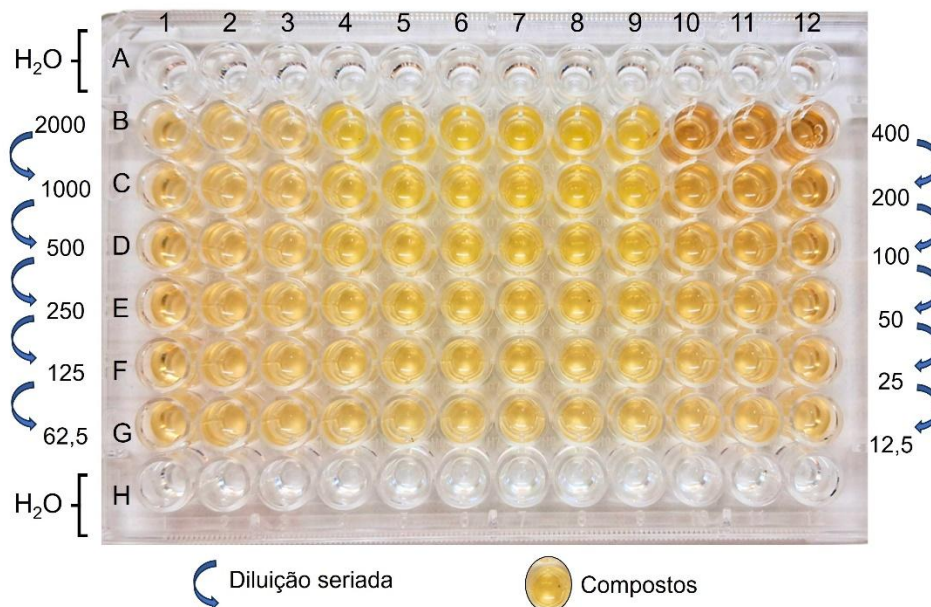


Figura 13. Esquematização do ensaio bactericida para determinação da CIM.

4.8.2.2 Determinação da Concentração Bactericida Mínima (CBM)

Os ensaios de CBM foram feitos em triplicata com o mesmo isolado da bactéria *Xanthomonas citri* ssp. *citri* testados para a CIM. Os compostos testados também foram os mesmos, o controle positivo também foi o cobre (Cu). Para realizar os testes

de CBM, primeiramente se faz os testes de CIM, pois os testes de CBM dos compostos dependem dos resultados da CIM, e alíquotas dos resultados da CIM são utilizados para os testes de CBM.

Antes de adicionar resazurina na placa Elisa® para determinar a CIM descrito anteriormente, retirou-se uma alíquota dos poços 1-5 dos dois protocolos de diluição seriada, semeando-as em placa de petri com meio de crescimento microbiano NB e marcadas com a concentração correspondente a cada poço (Figura 15).

As placas de petri foram levadas à B.O.D em temperatura de 28 °C e após um período de 72 horas avaliou-se os resultados identificando em quais concentrações houve crescimento bacteriano.

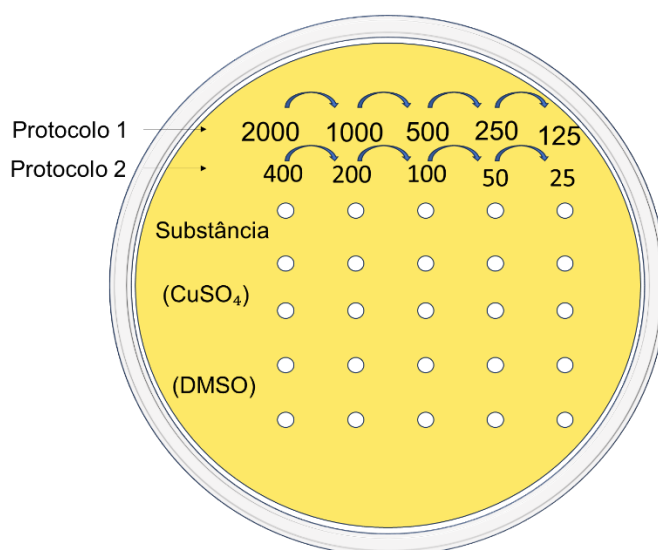


Figura 14. Esquematização do ensaio bactericida para determinação da CBM.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Rendimento dos extratos brutos

Os rendimentos dos extratos podem ser observados na Tabela 6, na qual fica evidente os maiores rendimentos para os extratos metanólicos, sendo o maior rendimento para os extratos de *S. rubra*.

Tabela 6. Massas e rendimentos dos extratos de *O. neesiana* e *S. rubra*

Espécies	Massa do resíduo (g)	Extrato		Rendimentos (%)
		Código	Massa (g)	
<i>Ocotea neesiana</i> (Miq.) Kosterm.	1.219,8	Hexânico	3,6	0,29 (LAH)
		Metanólico	19,9	1,62 (LAM)
<i>Sextonia rubra</i> (Mez) van der Werff	1.643,0	Hexânico	24,3	1,47 (SRH)
		Metanólico	39,4	2,40 (SEM)

5.2 Identificação das substâncias isoladas de *Ocotea neesiana*.

5.2.1 Identificação das substâncias 1, 2 e 3 (LAM-7)

As substâncias **1**, **2** e **3** foram isoladas em mistura na fração LAM-7 (302,9 mg) e a substância **1** também foi isolada na fração LAM-9.6.P5 (2,5 mg), de acordo com o Esquema 2 (p.42). Possui cheiro adocicado, aspecto oleoso, cor amarelada e solubilidade em DCM. Por análise em CCD eluída em Hex:AcOEt (9:1), verificou-se ausência de absorção na luz UV (254 nm e 365 nm) e presença de mancha roxa com $R_f = 0,39$ ao ser revelada em vanilina sulfúrica.

Pela análise do espectro de RMN de ^1H (Figura S1-p.118, Tabela 8), observou-se a presença de sinal de hidrogênio olefínico em δ 5,50 (s), além sinais característicos de grupo isopropílico, sendo dubletos de hidrogênios metílicos em δ 0,78 (6,9 Hz) e 0,93 (6,9 Hz) e um multiplete em δ 2,17 (Figura 15 e 16). O espectro mostrou sinais de singletos em δ 1,68 e 1,11 das metilas H-14 e H-15 (Figura 16), o conjunto desses sinais deram indícios de substância sesquiterpênica do tipo cadinano. Para as substâncias **2** e **3** não foi possível visualizar sinais claros no espectro de RMN de ^1H .

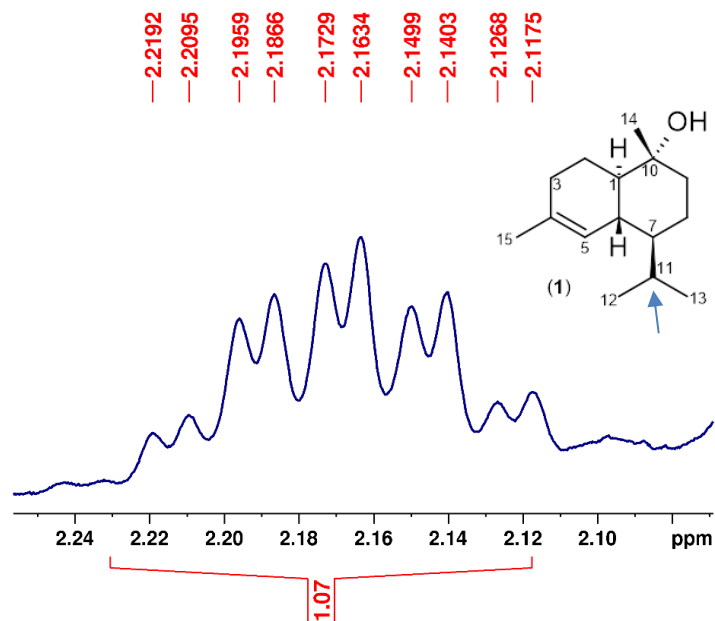


Figura 15. Ampliação da região entre 2,10-2,24 ppm do espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) da substância 1.

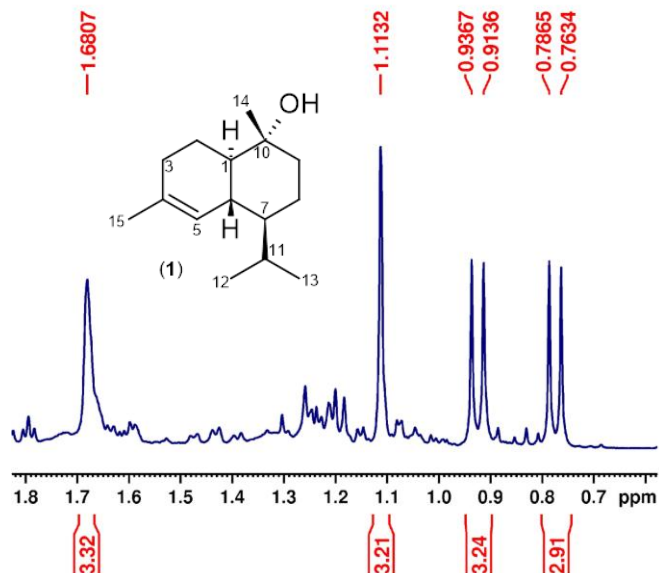


Figura 16. Ampliação da região entre 0,7-1,7 ppm do espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) da substância 1.

A análise do espectro RMN ^{13}C (Figura S2-p.118, Tabela 9) apresentaram 40 sinais com intensidades diferentes que davam indicativos de outros terpenos na fração LAM-7. Este mostrou sinais de carbonos olefínicos em δ 134,9; 122,3 (**1**), 134,0; 120,5 (**2**), 134,4; 124,6 (**3**) e de carbono carbinólico em δ 72,4; 72,8; 72,7 atribuído as

substâncias **1**, **2** e **3**, respectivamente. Com auxílio do DEPT-135 (Figura S3-p.119) e demais interpretações dos dados de RMN pode-se caracterizar os carbonos sendo onze metílicos, onze metilênicos, doze metínicos e seis desidrogenados.

Com base nos dados espectrais analisados acima e em comparação com os dados na literatura as substâncias **1** e **2** foram identificadas sendo o sesquiterpeno α -cadinol (Yap *et al.*, 2017; Miranda *et al.*, 2014) e o monoterpene α -terpineol (De Carvalho *et al.*, 2020) (Figura 17), para a substâncias 2 e 3 não foi possível distinguir os dados de ^1H RMN, no entanto, os dados de carbonos estão de acordo com a literarua. Ao realizar a análise de varredura em CG-EM com os picos mais intensos no cromatograma (Figura S4-p.119) e pelo espectro de massas (Figura S5-p.120) pode-se confirmar as substâncias **1** e **2**, além de identificar a substância **3** como α -muurolol ou torreyol (Figura 17) sendo estes os principais componentes da mistura sesquiterpeno α -cadinol (82,94%), seguido do α -terpineol (4,86%) e α -muurolol (4,05%) (Tabela 7).

Tabela 7. Principais compostos detectados em CG-EM de LAM-7.

Nº do pico	Substância	TR (min)	IR calculado	IR Literatura	% Área Relativa
5	α -terpineol	15,793	1205	1186	4,86
22	α -muurolol	34,255	1656	1644	4,05
24	α -cadinol	34,632	1666	1652	82,94

Legenda: TR- Tempo de retenção; IR- Índice de retenção calculado (equação de Van den Dool e Kratz) IR- Índice de retenção da literatura (Adams, 2017).

O α -terpineol já foi identificado em óleos essenciais de *O. neesiana* (Alcântara *et al.*, 2019). Contudo, α -cadinol e α -muurolol foram relatadas apenas em espécies do gênero *Ocotea* (Damasceno *et al.*, 2017), sendo este o primeiro relato para espécie *O. neesiana*.

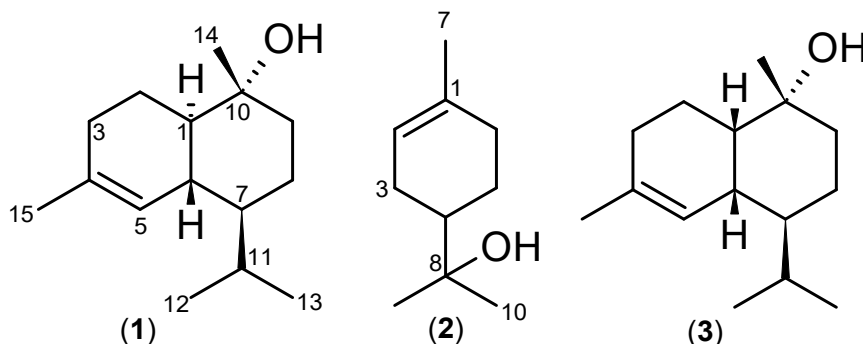


Figura 17. Estrutura química das substâncias α -cadinol (1), α -terpineol (2) e α -muurolol (3)

Tabela 8. Dados de RMN de ^1H 300 MHz em CDCl_3 da substância 1 em comparação com a literatura.

Nº	^1H $\delta(\text{ppm})$, mult; $J(\text{Hz})$	
	α -cadinol (1)	Yap <i>et al.</i> , 2017(1) ^a
5	5,50 s	5,50 s
11	2,17 m	2,15 m
12	0,93 d (6,9)	0,92 d
13	0,78 d (6,9)	0,77 d
14	1,11 s	1,10 s
15	1,68 s	1,67 s

^a600 MHz, CDCl_3

Tabela 9. Dados de RMN de ^{13}C 75 MHz em CDCl_3 das substâncias 1, 2 e 3 em comparação com a literatura.

Nº	^{13}C $\delta(\text{ppm})$					
	α -cadinol (1)	α -terpinol (2)	α -muurolol (3)	Miranda <i>et al.</i> , 2014(1) ^a	De Carvalho <i>et al.</i> , 2020 (2) ^b	Yap <i>et al.</i> , 2017(3) ^c
1	49,9	134,0	45,5	50,0	133,9	45,5
2	22,6	120,5	18,5	22,6	120,6	18,5
3	30,9	26,9	31,2	31,0	26,9	31,1
4	134,9	44,9	134,4	134,9	44,9	134,1
5	122,3	23,9	124,6	122,3	23,9	124,6
6	39,8	31,0	36,8	39,8	31,0	36,8
7	46,6	23,4	44,1	46,6	23,3	44,1
8	21,9	72,8	21,7	22,6	72,7	21,5
9	42,1	27,4	35,3	42,1	27,4	35,3
10	72,4	26,2	72,7	72,4	26,2	72,6
11	25,9		26,4	26,0		26,4
12	21,5		21,6	21,5		21,7
13	15,1		15,3	15,1		15,3
14	20,7		28,0	20,7		28,0
15	23,8		23,6	23,8		23,6

^a75 MHz, CDCl_3 ; ^b125 MHz, CDCl_3 ; ^c150 MHz, CDCl_3

5.2.2 Identificação da substância 4 (LAM-8)

A substância **4** isolada nas frações LAM-8 (185,4 mg) e LAM-9.6.P1 (4,2 mg) conforme o Esquema 2 (p.42), possui aspecto de sólido branco e solubilidade em clorofórmio. Por análise em CCD em Hex:AcEOt (8:2), verificou-se ausência de fluorescência na luz UV (254 nm e 365 nm) e presença de mancha roxa ao ser revelada em vanilina sulfúrica. Apresentando o mesmo fator de retenção ($R_f=0,42$) da amostra padrão β -sitosterol.

Para confirmação a amostra foi submetida à análise de RMN de ^1H (Figura S6-p.121; Tabela 10), pelo perfil do espectro com a presença de muitos sinais na região de campo baixo δ 2,37- 0,68 associados a hidrogênios metilênicos e metílicos, um duplete em δ 5,37 ($J=5,0$) atribuído ao hidrogênio vinílico H-6 e o sinal de multiplete do hidrogênio carbinólico (H-3) em δ 3,53 (Figura 18). O esteroide β -sitosterol (Figura 19), é comumente relatado na literatura sendo encontrado em diversas partes vegetativas das plantas, no entanto para espécie *O. neesiana* este é o primeiro relato.

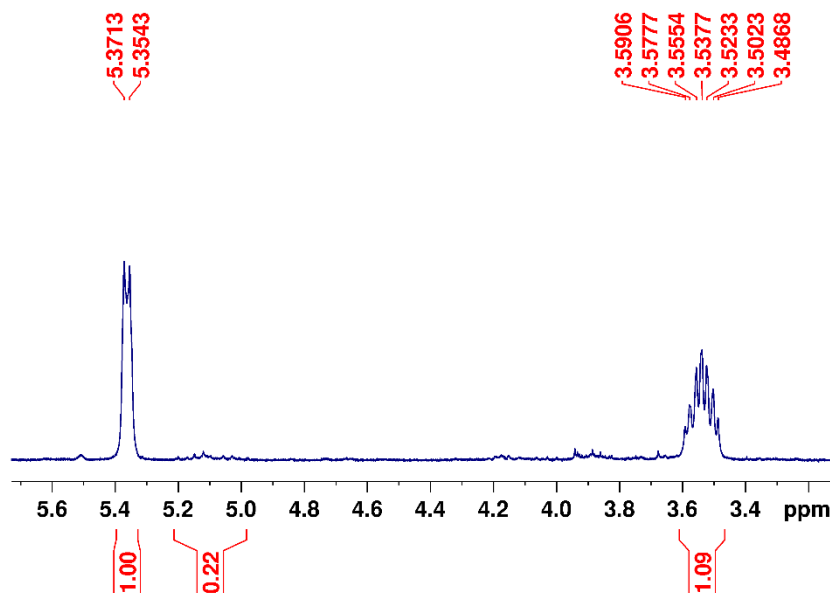


Figura 18. Ampliação da região entre 3,4-5,6 ppm do espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) da substância 4.

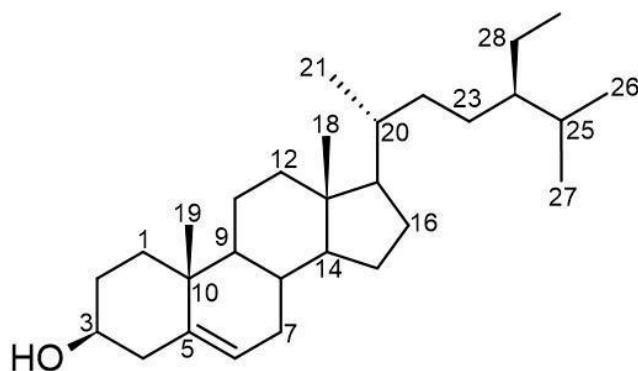


Figura 19. Estrutura química do β -sitosterol (substância 4).

Tabela 10. Dados dos hidrogênios olefínico e carbinólico de RMN de ^1H 300 MHz em CDCl_3 da substância 4.

Nº	^1H	
	$\delta(\text{ppm})$, mult; $J(\text{Hz})$	
	β -sitosterol (4)	Kojima <i>et al.</i> , 1990 (4) ^a
3	5,36 d (5,01)	5,36 m
6	3,53 m	3,52 m

^a400 MHz, CDCl_3 .

5.2.3 Identificação em mistura das substâncias 5, 6 e 7 (LAM-5.P2)

As substâncias **5**, **6** e **7** codificada como LAM-5.P2 (5,9 mg) foram isoladas conforme Esquema 2 (p. 42), apresentou aspecto oleoso incolor com solubilidade em DCM. Em placa de CCD, mostrou absorção no UV (254 nm), e mancha roxa quando revelada em vanilina sulfúrica, com $R_f = 0,5$ no gradiente de eluição Hex:AcOEt (95:5).

O espectro de RMN ^1H (Figura S7-121; Tabela 12) de LAM-5.P2 mostrou sinais com intensidades diferentes caracterizando uma possível mistura. Por meio do perfil do espectro com muitos sinais na região de 2,5 a 0,8 ppm pode-se propor que se tratava de substâncias terpênicas. Ao analisar a ampliação do espectro (Figura 21) observou-se sinais características de hidrogênios olefínicos em δ 5,58 (d; $J = 1,4$ Hz), δ 5,45 dl de intensidade menor para **6** e **7**, respectivamente e δ 5,56 (d; $J = 1,4$ Hz) com intensidade maior (**5**). A presença de 12 metilas foi notada sendo seis dubletos pertencentes a três grupos isopropílicos em δ 0,92 ($J = 7,2$ Hz) e 0,80 ($J = 6,9$ Hz), 0,89 ($J = 7,2$ Hz) e 0,84 ($J = 6,9$ Hz), 0,88 ($J = 7,0$ Hz) e 0,81 ($J = 7,0$ Hz) conforme Figura 20,

três germinais ao grupo hidroxí (δ 1,23 s, 1,21 s e 0,98 s) e três metilas vinílicas δ 1,67 sl, 1,65 sl e 1,71 (Figura 21), para as substâncias **5**, **6** e **7** respectivamente.

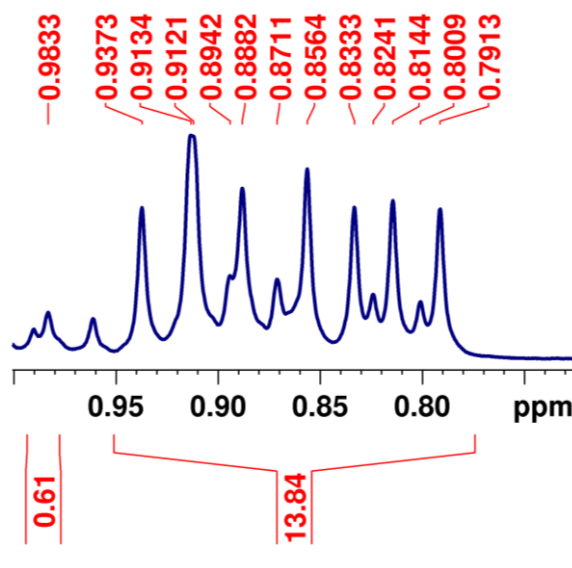


Figura 20. Ampliação da região entre 0,80 - 0,95 ppm do espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) das substâncias **5**, **6** e **7**.

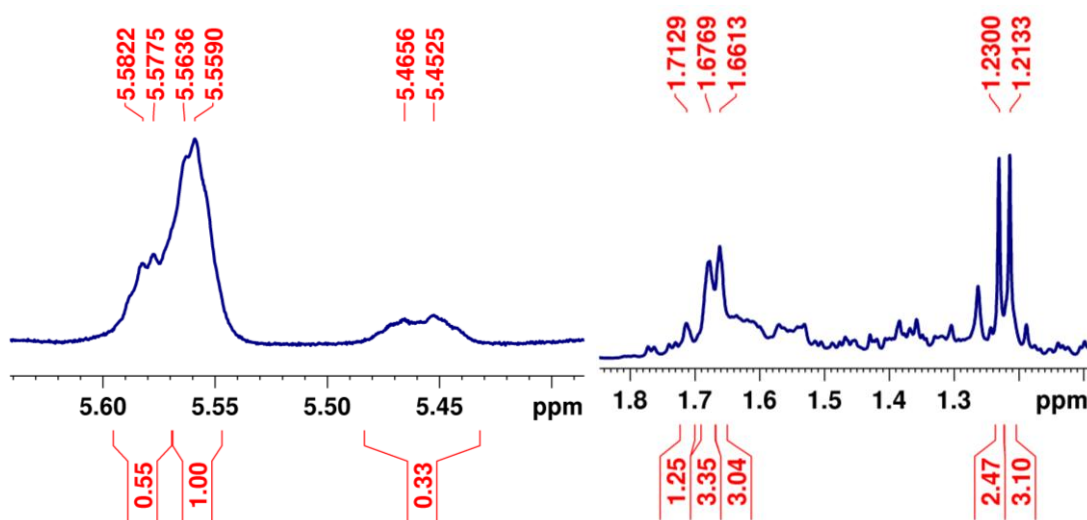


Figura 21. Ampliação das regiões entre 5,45 – 5,60 ppm do espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) das substâncias **5**, **6** e **7**.

Na análise do espectro de RMN de ^{13}C (Figura S8-p.122; Tabela 13) verificou-se a presença de seis carbonos com insaturações (δ 134,4; 122,6; 133,5; 124,8; 133,7; 122,1), três carbonos carbinólicos em δ 70,7; 72,4, e 72,7 atribuídos as substâncias **5**, **6** e **7** respectivamente, assim como carbonos metilênicos e metílicos, caracterizando uma mistura de sesquiterpenos. Pelo DEPT 135 (Figura S9-p.122) foi

possível caracterizar os carbonos em doze metílicos, doze metilênicos, quinze metínicos e pela ausência do sinal quatro desidrogenados.

O mapa de contorno HSQC (Figura S10-p.123) mostrou a correlação dos sinais em δ_H 1,01 e 1,26 com os carbonos (C-7) em δ 46,6 e 43,3 atribuídos na ordem as substâncias **5** e **6**. Através do mapa de contorno HMBC (Figura S11-p.123) pode-se definir os sinais em δ_H 0,92; 0,80; 0,89 e 0,84 correspondentes as metilas C-12 (δ 21,4 e 21,6) e C-13 (δ 15,2 e 15,4) dos grupos isopropílicos. As demais correlações encontram-se na Tabela 14.

Com base nos dados espectrais analisados acima e em comparação com os dados na literatura as substâncias **5**, **6** e **7** foram identificadas sendo os sesquiterpenos (-)-T-cadinol (Claeson *et al.*, 1991), *ent*-T-muurolol (Nagashima *et al.*, 1994) e 1-*epi*-cubenol (Weyerstahl *et al.*, 1998) (Figura 22). Esses dados são compatíveis com análise de varredura em CG-EM (Figura S12-p.124), que indicam para os principais componentes da mistura *ent*-T-muurolol ou *epi*- α -muurolol (44,98%), seguindo do T-cadinol (*epi*- α -cadinol) (28,64%) e 1-*epi*-cubenol (8,52%) (Tabela 11).

Tabela 11. Principais compostos detectados em CG-EM de LAM-5.P2.

Nº do pico	Substância	TR (min)	IR calculado	IR Literatura	% Área Relativa
10	1- <i>epi</i> -cubenol	33,503	1636	1627	8,52
12	<i>epi</i> - α -cadinol	34,079	1651	1638	28,64
13	<i>epi</i> - α -muurolol	34,176	1654	1640	44,98

Legenda: TR- Tempo de retenção; IR- Índice de retenção calculado (equação de Van den Dool e Kratz) IR- Índice de retenção da literatura (Adams, 2017).

Ao analisar as fragmentações dos íons no EM (Figuras S13 e S13a -p.127) pode-se perceber dois íons abundantes comuns para as três substâncias, sendo *m/z* 204 proveniente da perda de -H₂O, seguindo pela perda do grupo isopropila -CH(CH₃)₂ fornecendo *m/z* 161 e *m/z* 43 característicos da perda de -C₃H₇⁺. O *ent*-T-muurolol apresenta os picos que o diferencia de T-cadinol em *m/z* 121 - e *m/z* 95 referentes as perdas CH₂=C=CH₂ e HC≡CH. Este é o primeiro relato dessas substâncias no gênero *Ocotea* e na espécie *Ocotea neesiana*, contudo há relatos na família Lauraceae para óleos essenciais de espécies de *Persea* (Scora; Scora, 2001).

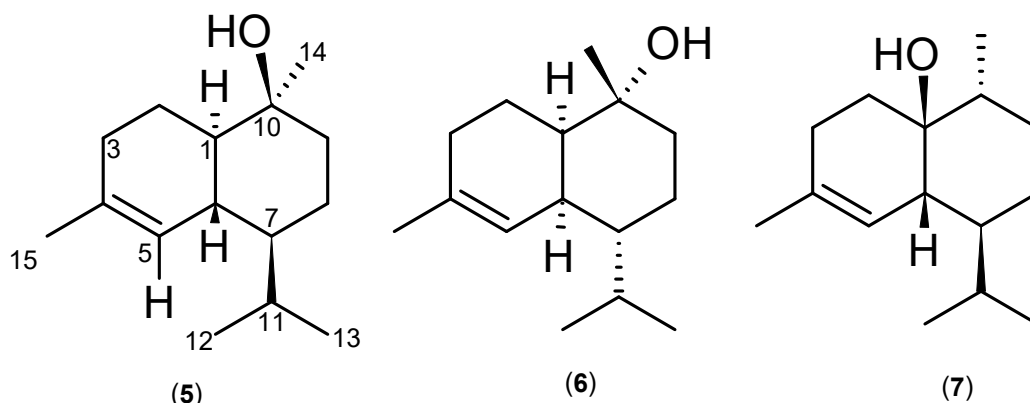


Figura 22. Estrutura química das substâncias T-cadinol (5), ent-T-muurolol (6) e epi-cubenol(7).

Tabela 12. Dados de RMN de ^1H 300 MHz em CDCl_3 das substâncias 5-7 em comparação com a literatura.

Nº	^1H $\delta(\text{ppm})$, mult; J(Hz)					
	(-)-T-cadinol (5)	ent-T-muurolol (6)	1-epi-cubenol (7)	Claeson, et al., 1991 (5) ^a	Nagashima et al., 1994 (6) ^b	Weyerstahl, et al., 1998 (7) ^c
1	1,10	1,55 m		1,09 ddd	1,45 m	
2	1,94 e 1,37 m	1,57 m		1,92 e 1,35 m	1,54 m	
3	1,99 m	1,99 m		1,92-2,08	1,94-2,00 m	
4	----	----	----	----	----	----
5	5,56 d (1,4)	5,58 d (1,4)	5,45 dl	5,55 br s	5,56 br d	5,45 br d
6	1,98 m	2,29 m		1,95	2,27 m	
7	1,01	1,26		1,0 tt	1,25 m	
8	1,47 m	1,37 m		1,47 e 1,32	1,32-1,41 m	
9	1,77 e 1,43	1,53		1,41 e 1,74 m	1,32-1,41 m	
10	----	----	----	----	----	----
11	2,17 m	1,98 m		2,18 hept d	1,94-2,00 m	
12	0,92 d (7,2)	0,89 d (7,2)	0,88 d (7,0)	0,91 d (7,0)	0,83 d (7,3)	0,89 d (7,0)
13	0,80 d (6,9)	0,84 d (6,9)	0,81 d (7,0)	0,79 d (6,9)	0,89 d (6,8)	0,81 d (7,0)
14	1,23 s	1,21 s	0,98 s	1,22 s	1,25 s	0,97 s
15	1,67 sl	1,65 sl	1,71 s	1,67 s	1,65 s	1,70 s

^{a,c} 400 MHz, CDCl_3 ; ^b 200 MHz, CDCl_3

Tabela 13. Dados de RMN de ^{13}C 75 MHz em CDCl_3 das substâncias 5-7 em comparação com a literatura.

Nº	^{13}C $\delta(\text{ppm})$					
	(-)-T-cadinol (4)	<i>ent</i> -T-muurolol (5)	1- <i>epi</i> -cubenol (6)	Claeson, <i>et al.</i> , 1991 (4) ^a	Nagashima <i>et al.</i> , 1994 (5) ^b	Weyerstahl, <i>et al.</i> , 1998 (6) ^c
1	47,9	46,1	72,7	47,9	46,1	72,7
2	22,6	20,9	26,7	22,6	20,9	26,7
3	30,9	31,2	31,2	30,9	31,2	31,2
4	134,4	133,5	133,7	134,3	133,4	133,9
5	122,6	124,8	122,1	122,6	124,8	122,2
6	37,7	34,6	41,9	37,7	34,5	42,0
7	46,6	43,3	49,2	46,6	43,9	49,3
8	19,8	19,3	22,0	19,8	19,3	22,1
9	40,2	34,5	24,0	40,3	34,6	24,1
10	70,7	72,4	48,1	70,6	72,3	48,1
11	26,2	26,6	26,9	26,2	26,6	26,9
12	21,6	21,4	21,6	21,4	21,6	21,6
13	15,2	15,4	15,2	15,2	15,4	15,2
14	28,5	29,3	15,1	28,5	29,3	15,1
15	23,6	23,8	23,6	23,8	23,6	23,6

^{a,c} 100 MHz, CDCl_3 ; ^b 50 MHz, CDCl_3

Tabela 14. Dados de HMBC (300/75 MHz) das substâncias 5-7 em CDCl_3 .

Nº	^1H $\delta(\text{ppm})$, mult; $J(\text{Hz})$	HMBC	^1H $\delta(\text{ppm})$, mult; $J(\text{Hz})$	HMBC
	(-)-T-cadinol(5)		<i>ent</i> -T-muurolol (6)	
1	1,10		1,55 m	
2	1,94 e 1,37 m		1,57 m	C-1
3	1,99 m	C-4	1,99 m	C-4
4	-----		-----	
5	5,56 d (1,4)	C-3	5,58 d (1,4)	C-3
6	1,98 m	C-4	2,29 m	
7	1,01		1,26	
8	1,47 m		1,37 m	
9	1,77 e 1,43	C-8	1,53	
10	-----		-----	
11	2,17 m		1,98 m	
12	0,92 d (7,2)	C-7, C-11 e C-13	0,89 d (7,2)	C-7, C-11 e C-13
13	0,80 d (6,9)	C-7, C-11 e C-12	0,84 d (6,9)	C-7, C-11 e C-12
14	1,23 s	C-1, C-9 e C-10	1,21 s	C-1, C-9 e C-10
15	1,67 sl	C-3, C-4 e C-5	1,65 sl	C-3, C-4 e C-5

5.2.4 Identificação em mistura das substâncias 8 e 9 (LAM-5.P4)

As substâncias **8** e **9** codificada como LAM-5.P4 (12,7 mg; esquema 2) tem aspecto oleoso incolor com solubilidade em DCM. Apresenta mancha amarela escura em CCD no gradiente de eluição Hex:AcOEt (95:5), com $R_f = 0,49$ e absorção na lâmpada UV em 254 nm.

No espectro de RMN ^1H (Figura S14-p.125; Tabela 16) pode-se observar singletos com intensidades diferentes, as quais, somadas às proporções diferentes obtidas pela integração dos sinais, deram indicativo de substâncias em mistura. O espectro mostrou singletos de hidrogênios aromáticos δ 6,31 e 6,36 caracterizando anéis aromáticos benzênicos. Os sinais em δ 5,05 e 5,94 evidenciaram hidrogênios de dupla terminal (Figura 23 e 24) e um dubleto em 3,32 comum para hidrogênios alílicos. Também é observado sinais de grupos metilenos dióxido em δ 5,96 e 5,89 (Figura 23) além de singletos de metoxilas em δ 3,86; 3,88; 3,76 e 4,02 (Figura 24). Esse perfil de espectro direcionou a classe dos fenilpropanoides.

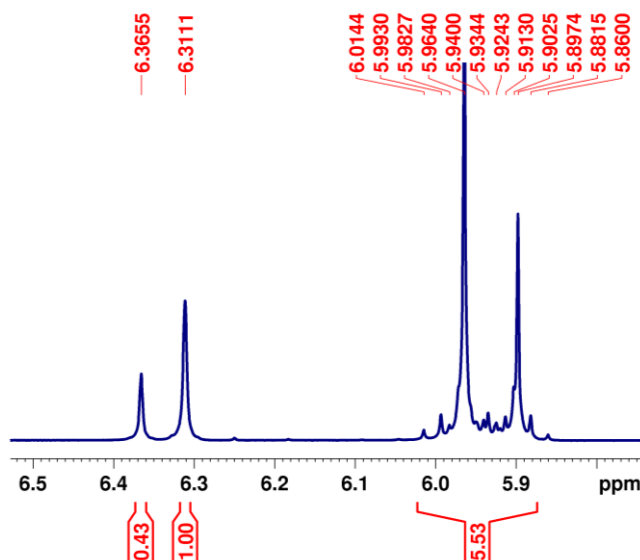


Figura 23. Ampliação das regiões 5,09 -6,5 ppm do espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) das substâncias 8 e 9.

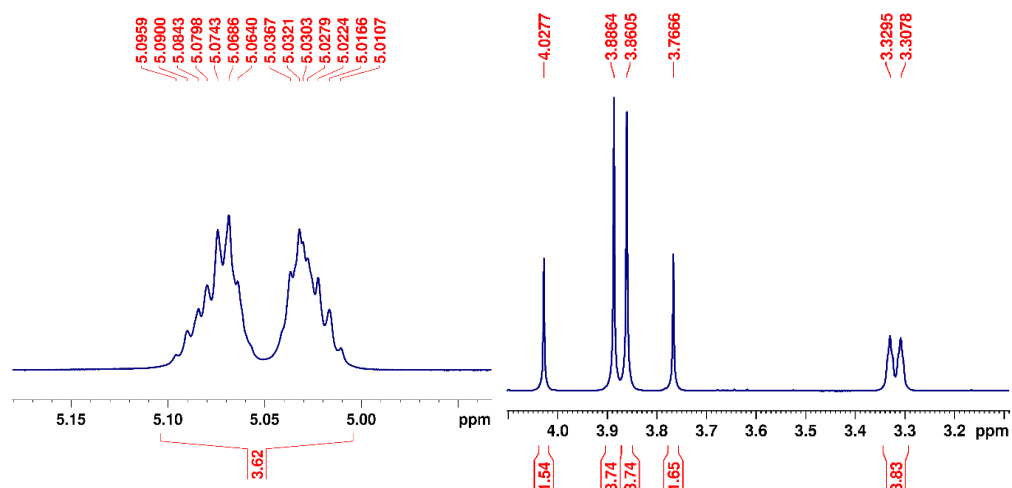


Figura 24. Ampliação das regiões 5,00-5,15 e 3,2 – 4,0 ppm do espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) das substâncias 6 e 7.

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura S15-p.125; Tabela 16) observou-se 23 sinais de carbonos, sendo o sinal em δ 137,4 atribuído para mais de um carbono devido a intensidade do sinal. Os carbonos em δ 56,9; 60,2; 60,0 e 61,3 reafirmaram a presença de quatro metoxilas e por meio das correlações no HSQC (Figura S17-p.126) foram atribuídos aos sinais δ_{H} 3,86; 3,88 (substância **8**) e 3,76; 4,0 (substância **9**) (Figura 25) a existência dos grupamentos metileno dióxido é comprovada pelos sinais em δ 101,5 e 101,1. Através das interpretações dos espectros e auxílio do DEPT-135 (Figura S16-p.126) os carbonos foram caracterizados como quatro metílicos, seis metilênicos, três metínicos e dez carbonos desidrogenados.

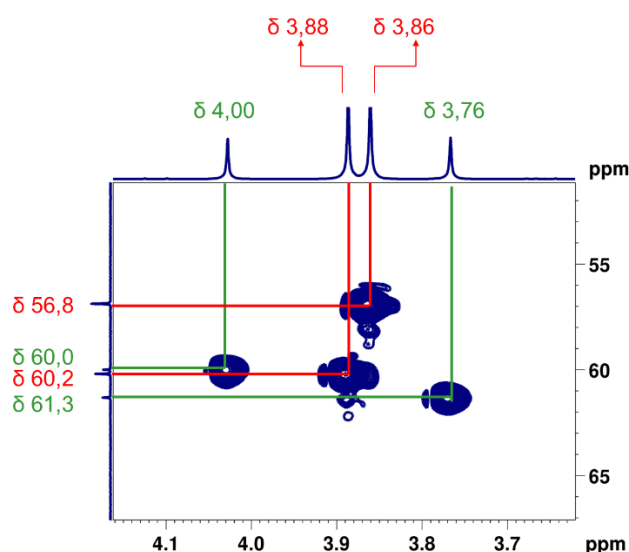


Figura 25. Ampliação do HSQC em torno do sinal em δ 3,76 e 3,86 3,88 e 4,00 das substâncias 8 e 9.

Por meio do mapa de contorno HSQC (Figura S17-p.126) pode-se atribuir o posicionamento nos carbonos do anel aromático, através da correlação dos sinais em δ 3,86 e 3,88 da substância **8** com os carbonos nas posições C-3 (δ 136,3) e C-6 (δ 139,1). Assim como os sinais em δ 3,76 e 4,02 da substância **9** com os carbonos nas posições C-2(δ 144,3) e C-3 (δ 137,9). Com o auxílio do mapa de contorno HMBC (Figura S18-p.127; Tabela 17) pode-se posicionar as metoxilas nos anéis aromáticos, devido a correlação do singlete em δ_H 6,31 da substância **8** com o sinal de carbono na posição C-3 (δ_C 136,2) e a ausência de correlação do singlete em δ_H 6,36 da substância **9** com o carbono C-3 (δ_C 137,6) (Figura 26).

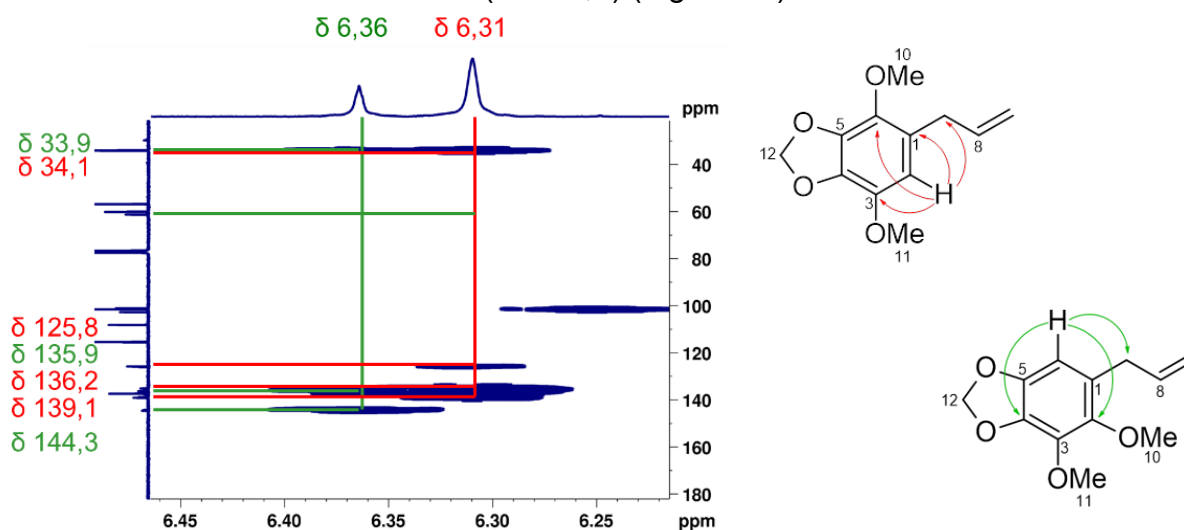


Figura 26. Amplificação do HMBC em torno do sinal em δ 6,36 e δ 6,31 das substâncias **8** e **9**.

Com base nos dados espectrais analisados acima e em comparação com os dados na literatura as substâncias **8** e **9** foram identificadas como os fenilpropanoides apiol (Kartika *et al.*, 2020) e dilapiol (Almeida *et al.*, 2009) (Figura 27). Esses dados estão de acordo com a análise de varredura em CG-EM os quais apresentaram dois picos intensos no cromatograma (Figura S19-p.127) indicando a substância majoritária apiol (69,76%) e dilapiol (29,79%) (Tabela 15).

Tabela 15. Principais compostos detectados em CG-EM de LAM-5.P4.

Nº do pico	Substância	TR (min)	IR calculado	IR Literatura	% Área Relativa
20	33,339	1632	1620	dilapiol	29,79
22	35,499	1690	1678	apiol	69,76

Legenda: TR- Tempo de retenção; IR- Índice de retenção calculado (equação de Van den Dool e Kratz) IR- Índice de retenção da literatura (Adams, 2017).

Os espectros de massas (Figura S20-p.128) apresentaram perfis bastante semelhantes, diferindo apenas na abundância relativa dos íons. O pico em m/z 207 pode ser atribuído à perda de um grupo metila ($-\text{CH}_3$) proveniente de uma metoxila. Em seguida, a perda de uma unidade formaldeído ($-\text{CH}_2\text{O}$) origina o íon em m/z 177, que, por sua vez, ao sofrer a perda de uma carbonila ($-\text{CO}$), gera o fragmento em m/z 149. Essas fragmentações corroboram com a identificação das estruturas apiol e dilapiol. No gênero *Ocotea* essas substâncias já foram identificadas na espécie *O. cymbarum* por Andrei *et al.*, (1988). No entanto este é o primeiro relato para *O. neesiana*.

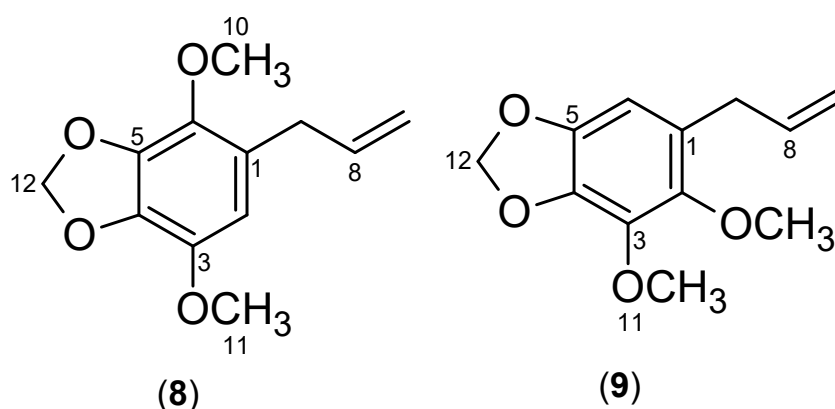


Figura 27. Estrutura química das substâncias apiol (8) e dilapiol (9).

Tabela 16. Dados de RMN de (^1H -300 MHz e ^{13}C -75 MHz) em CDCl_3 das substâncias 8 e 9 em comparação com a literatura.

Nº	^1H $\delta(\text{ppm})$, mult; J(Hz)				^{13}C $\delta(\text{ppm})$			
	Apiol (8)	Dilapiol (9)	Kartika <i>et al.</i> , 2020(8) ^a	Almeida <i>et al.</i> , 2009 (9)	Apiol (8)	Dilapiol (9)	Kartika <i>et al.</i> , 2020(8) ^a	Almeida <i>et al.</i> , 2009(9) ^b
1	----	----	----	----	125,8	126,1	----	125,9
2	6,31 s	----	6,30 s	----	108,2	144,3	108,4	144,2
3	----	----	----	----	136,3	137,6	139,3	137,5
4	----	----	----	----	135,2	135,9	135,3	135,8
5	----	----	----	----	138,7	144,6	139,0	144,5
6	----	6,36 s	----	6,35 s	139,1	102,6	139,0	102,6
7	3,31 dt (6,40; 1,50)	3,31 dt (6,40; 1,50)	3,31 dt (6,40; 1,50)	3,30 dt (6,60; 1,50)	34,1	33,9	34,1	33,8
8	5,94 m	5,94 m	5,94 m	5,84-5,93 m	137,4	137,4	137,4	137,3
9	5,05 m	5,05 m	5,04 m	5,01-5,07 m	115,4	115,6	115,6	115,4
OCH ₃ -10	3,86 s	3,76 s	3,85 s	3,75 s	56,9	61,3	57,1	59,8
OCH ₃ -11	3,88 s	4,02 s	3,88 s	4,01 s	60,2	60,0	60,4	61,1
12	5,96 sl	5,89 sl	5,95 s	5,87 s	101,5	101,1	101,8	101,0

^a400 MHz (^1H), 100 MHz (^{13}C), CDCl_3 ; ^b300 MHz (^1H), 75 MHz (^{13}C), CDCl_3

Tabela 17. Dados de HMBC (300/75 MHz) das substâncias 8 e 7 em CDCl_3 .

Nº	^1H $\delta(\text{ppm})$, mult; J(Hz)	HMBC	^1H $\delta(\text{ppm})$, mult; J(Hz)	HMBC
	Apiol (9)		Dilapiol (9)	
1	----		----	
2	6,31 s	C-1, C-6 e C-7	----	
3	----		----	
4	----		----	
5	----		----	
6	----		6,36 s	C-2, C-4 e C-7
7	3,31 dt	C-1, C-2, C-8 e C-9	3,31 dt	C-1, C-6 e C-9
8	(6,40; 1,50)		(6,40; 1,50)	
9	5,94 m	C-1 e C-7	5,94 m	C-1 e C-7
OCH ₃ -10	5,05 m	C-7 e C-8	5,05 m	C-3 e C-7
OCH ₃ -11	3,86 s	C-6	3,76 s	C-2
12	3,88 s	C-3	4,02 s	C-3
	5,96 sl	C-4 e C-5	5,89 sl	C-4 e C-5

5.2.5 Identificação da substância 10 (LAM-9.6.P6)

A substância **10** isolada nas frações LAM-9.6.P6 (10,2 mg) e LAM-9.7 (117,5 mg) (Esquema 2, p.42) tem aspecto oleoso amarelo com solubilidade em DCM. Apresenta mancha amarela escura em CCD no gradiente de eluição Hex:AcOEt (95:5), com absorção na lâmpada UV em 254 nm e $R_f = 0,40$.

O espectro de RMN de ^1H (Figura S21-p.129, Tabela 18) apresenta absorções características de neolignanans do tipo benzodioxano com sinais em δ 4,58 (H-7) e δ 4,06 (H-8) atribuído aos hidrogênios oximetínicos e um dubleto em δ 1,28 (3H), atribuído ao grupo metila ligado ao C-8 do anel benzodioxano (Figuras 28 e 30). Pode-se observar três sinais de hidrogênios aromáticos (Figura 29), os dubletos em δ 6,50 e 6,39 com constante de 1,8 Hz indicam o acoplamento meta entre os hidrogênios H-2' e H-6' e um singlete largo em δ 6,58 (2H) atribuído aos H-2 e H-6. São observados sinais de hidrogênios vinílicos terminais (δ 5,10) e vinílico metínico (δ 5,95), que em conjunto com o dubleto em δ 3,32 ($J = 6,77$ Hz, 2H), caracterizam um grupo alila (Figuras 28 e 29).

O espectro de RMN de ^{13}C (Figura S22-p.129) confirma a presença do anel benzodioxano (δ 144,3; 131,3; 81,1 e 74,1), de grupos metoxilas em δ 56,2; 56,1 e 60,9 sendo que o primeiro sinal apresentou intensidade maior os quais foram atribuídos para dois carbonos metoxilícos. Os sinais do grupo alila foi verificado em δ 137,3; 115,9 e 40,1 tendo a confirmação dos carbonos metilênicos pelo HSQC-editado conforme mostra o mapa de contorno na Figura S23-p.133.

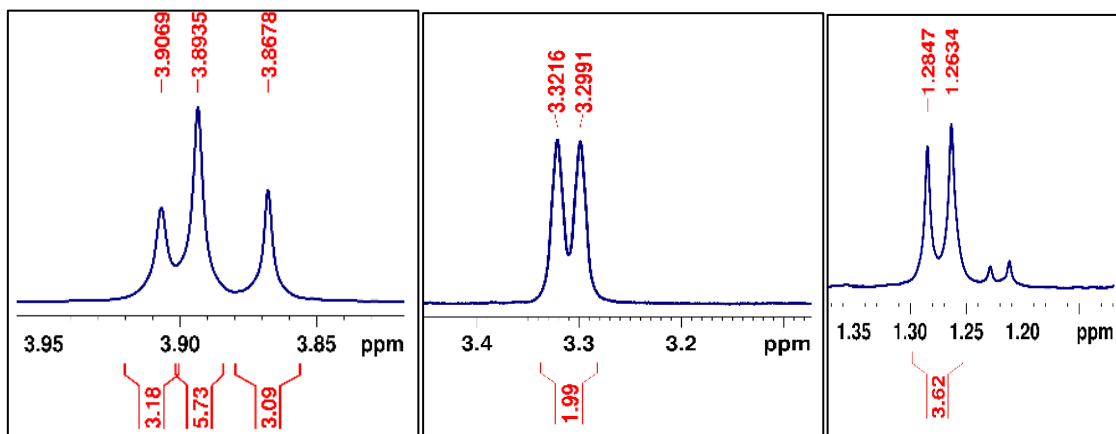


Figura 28. Ampliação da região entre δ 3,85-3,95; δ 3,2-3,4 e δ 1,20-1,35 ppm do espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) da substância 10.

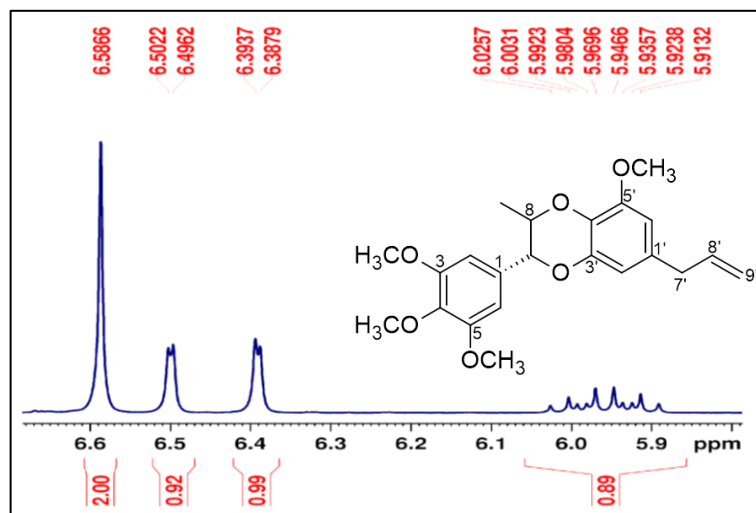


Figura 29. Ampliação da região entre δ 5,9-6,6 ppm do espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) da substância 10.

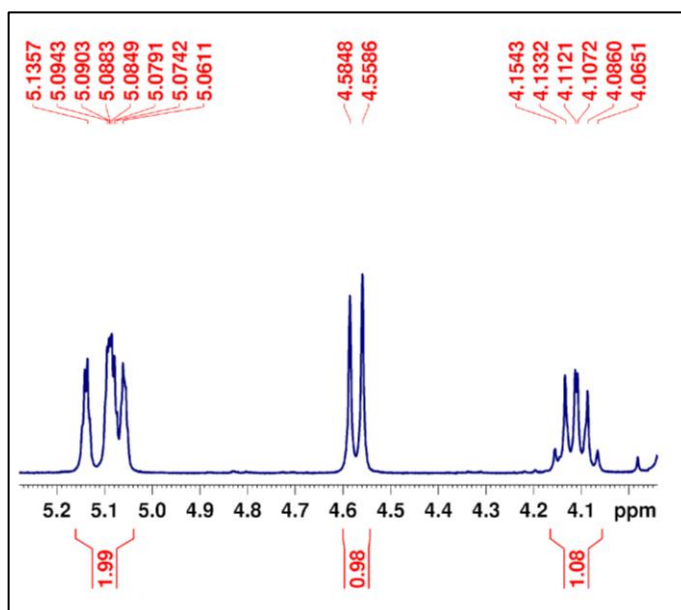


Figura 30. Ampliação da região entre δ 4,1-5,2 ppm do espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) da substância 10.

No mapa de correlação a longa distância (HMBC) (Figura S24-p.130) os singletos dos grupos metoxilas em δ_{H} 3,86; 3,89 e 3,90 mostrou correlação seguindo a ordem com os carbonos aromáticos em δ_{C} 60,9(C-4), 56,2(C-3 e C-5) e 56,1(C-5'). E seus posicionamentos nos anéis aromáticos vieram através da correlação dos sinais em δ_{H} 6,39 e 6,58 a ^2J com o C-5' e a $^2-3J_{\text{HC}}$ para os C-3, C-4 e C-5, respectivamente (Figura 31). Por meio das correlações do dubleto em δ_{H} 3,32 com os carbonos C-1', C-2', C-6', C-8' e C-9' pode-se confirmar a prenila e seu posicionamento no anel aromático (Figura 32)

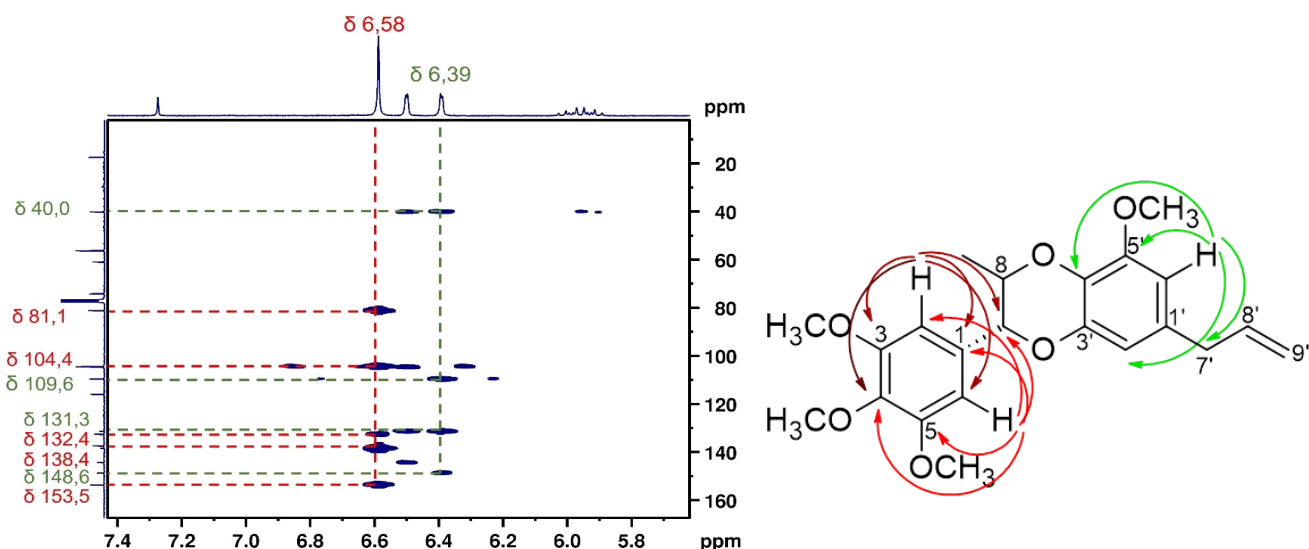


Figura 31. Amplificação do HMBC em torno do sinal em δ 6,58 e 6,39 da substância 10.

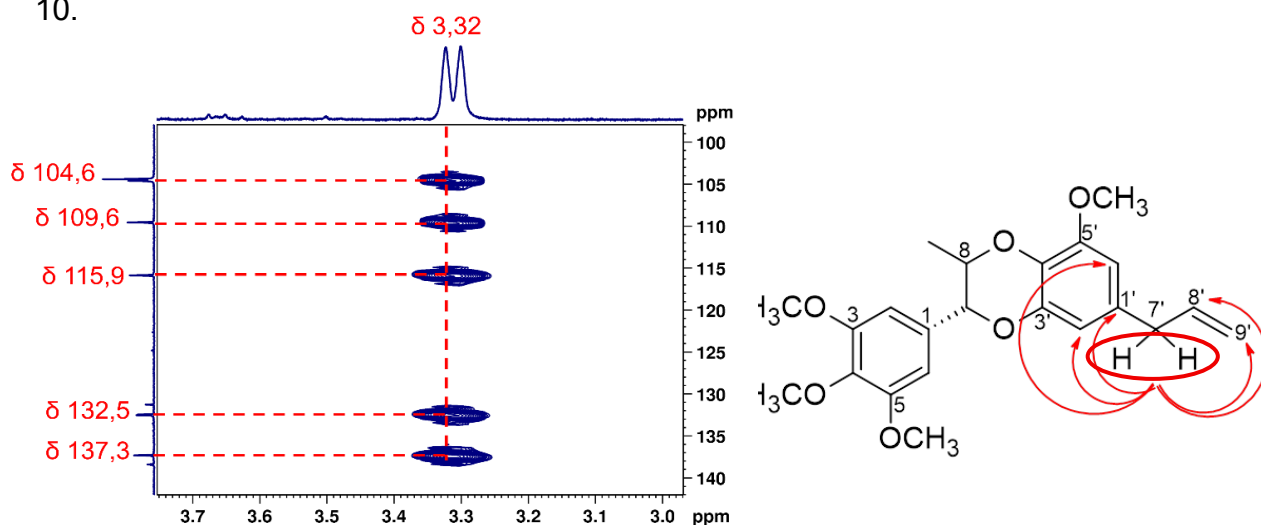


Figura 32. Ampliação do HMBC em torno do sinal em δ 3,32 da substância 10.

A análise por MS utilizando a ionização por electrospray operado no modo positivo (ESI^+), apresentou m/z 387,1792 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (Figura S25-p.131), sendo compatível com a fórmula molecular $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{O}_6\text{H}^+$ (massa calculada: 387,1808), conforme indicado pelos dados de RMN unidimensionais (^1H e ^{13}C) e bidimensionais (1D/2D). Com bases nesses resultados foi possível identificar a substância **10** como eusiderina A (Figura 33). Os dados obtidos estão de acordo com os valores reportados na literatura (Pilkington; Barker, 2012). Este é o primeiro relato para o gênero *Ocotea* e para espécie *O. neesiana*.

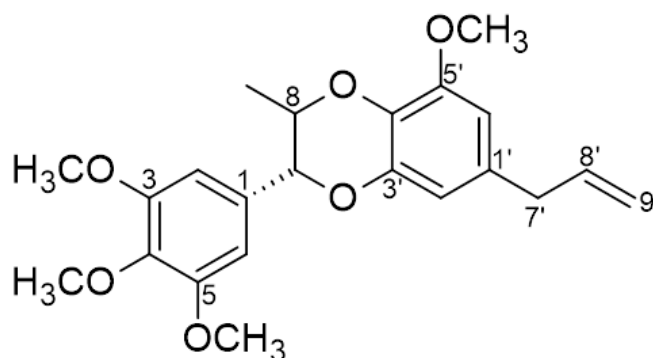


Figura 33. Estrutura química da eusiderina A (substância 10).

Tabela 18. Dados de RMN de (^1H -300 MHz e ^{13}C -75 MHz) em CDCl_3 das substâncias **10** em comparação com a literatura.

Nº	^1H $\delta(\text{ppm})$, mult; $J(\text{Hz})$		^{13}C $\delta(\text{ppm})$		HMBC
	Eusiderina (10)	Pilkington; Barker, 2012 (10) ^a	Eusiderina (10)	Pilkington; Barker, 2012 (10) ^a	
1	----	----	132,4	132,4	
2	6,58 sl	6,58 s	104,4	104,5	C-1, C-6 C-3, C-4 e C-7
3	----	----	153,5	153,5	
4	----	----	138,4	138,5	
5	----	----	153,5	153,5	
6	6,58 sl	6,58 s	104,4	104,5	C-1, C-2, C-5, C-4 e C-7
7	4,58 d (7,9)	4,55 d (7,6)	81,1	81,1	C-1, C-2, C-8 e C-9
8	4,11 m	4,08-4,13 m	74,1	74,1	C-7 e C-9
9	1,28 d (6,4)	1,26 d (6,4)	17,3	17,3	C-7 e C-8
1'	----	----	132,5	132,5	
2'	6,50 d (1,8)	6,48 d (2,0)	109,6	109,6	C-3', C-4', C-6'e C- 7'
3'	----	----	144,3	144,3	
4'	----	----	131,3	131,3	
5'	----	----	148,6	148,6	
6'	6,39 d (1,8)	6,38 d (2,0)	104,6	104,6	C-2', C-4', C-5' e C-7'
7'	3,32 d (6,7)	3,29 d (6,8)	40,0	40,0	C-1', C-2', C-6', C-8' e C- 9'
8'	5,95 m	5,90-6,00 m	137,3	137,3	C-7'
9'	5,10 m	5,04-5,13 m	115,9	115,8	C-7'
3-CH ₃ O	3,89 s	3,88 s	56,2	56,2	C-3
4-CH ₃ O	3,86 s	3,86 s	60,9	60,8	C-4
5-CH ₃ O	3,89 s	3,88 s	56,2	56,2	C-5
5'-CH ₃ O	3,90 s	3,89 s	56,1	56,1	C-5'

^a400 MHz(^1H); 100 MHz(^{13}C), CDCl_3

5.2.6 Identificação da substância 11 (LAM-13.S)

A substância **11** (103,9 mg, Esquema 3, p.45) apresentou característica de um sólido de coloração branca. Por meio da análise em CCD, com eluição em DCM:MeOH (98:2), verificou-se absorção intensa na lâmpada UV em 254 nm e coloração amarelo escuro ao revelar em vanilina sulfúrica com $R_f=0,4$.

O espectro de RMN de ^1H (Figura S27-p.132) mostrou sinais referentes a três metoxilas distintas em δ 3,86; 3,60 e 2,84, sinais referentes a dois hidrogênios de sistema aromático com deslocamentos em δ 6,55 (H-2) e 6,37 (H-6). Observaram-se hidrogênios do grupo metilenodióxi em δ 5,96 (d; 1,0 Hz) e δ 5,94 (d; 1,0 Hz), hidrogênio olefínico com deslocamento em δ 4,71 (H-2'). Os hidrogênios de ligação dupla terminal foram verificados em δ 5,96 m (H-8') e δ 5,07 m (H-9') (Figura 34) e o grupo metilênico em 2,36 (dd; 14,0 e 6,9 Hz- H-7'a) e 2,27 (dd; 14,0 e 7,5 Hz- H-7'b) (Figura 35).

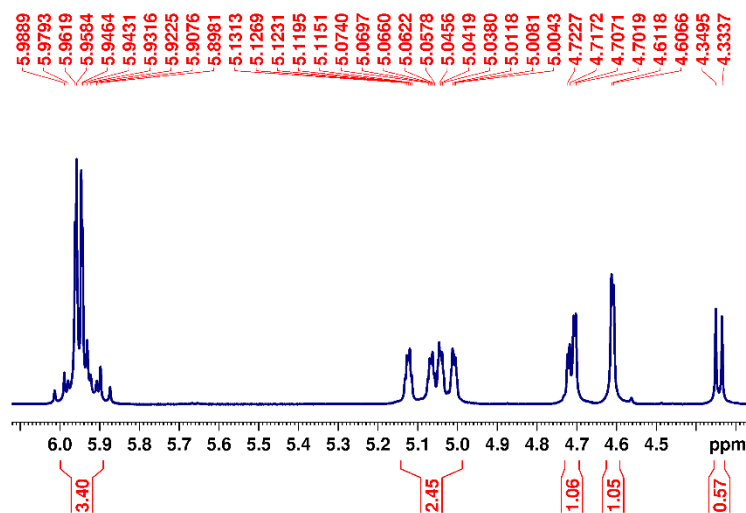


Figura 34. Ampliação da região entre δ 4,6-6,6 ppm do espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) da substância 11.

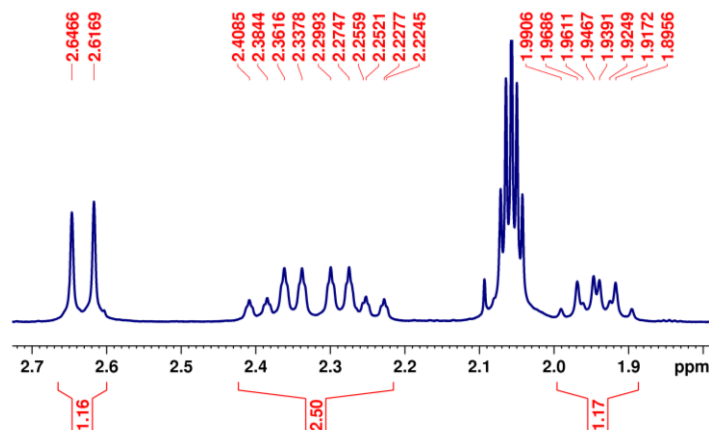


Figura 35. Ampliação da região entre δ 1,9-2,7 ppm do espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) da substância 11.

Os deslocamentos químicos obtidos no espectro de RMN ^{13}C (Figura S28-p.132) mostraram sinais de carbonos aromáticos (δ 133,9; 109,9; 143,1; 134,0; 148,7; 103,3). A presença de carbono com deslocamento em δ 208,9 é característico de carbonila de cetona não conjugada. Observaram os sinais do grupamento metilenodioxí em δ 101,1 e de metoxilas em δ 56,1; 54,8 e 50,1, que por meio do HSQC (Figura S30-p.133) foram atribuídos aos sinais δ_{H} 3,80; 3,64 e 3,39 respectivamente. Os carbonos foram caracterizados com auxílio do DEPT-135 (Figura S29-p.133), sendo quatro carbonos metílicos, três metilênicos, sete metínicos e pela ausência de sinais oito carbonos desidrogenados.

Por meio do mapa de contorno HMBC (Figura S31-p.134) pode-se definir o posicionamento da prenila, através da correlação do sinal em δ_{H} 1,94 à J^3 com o carbono em δ_{C} 35,2(C-7'), este sinal de hidrogênio em conjunto com o deslocamento em δ_{H} 4,71 com δ_{C} 99,2 e 155,7 direcionou na localização da dupla ligação em C-2' e C-3'. Mediante a interação à J^3 dos sinais δ_{H} 2,36; 2,26 $\rightarrow$ δ_{C} 208,9 pode-se atribuir a carbonila na posição C-6' (Figura 36). As metoxilas foram atribuídas aos carbonos C-3', C-5' e C-3 mediante as correlações dos sinais em δ_{H} 3,60; 2,84 e 3,86 com δ_{C} 155,7; 83,3 e 143,1 e seus posicionamentos foram definidos pelas correlações dos sinais em δ_{H} 4,61 e 4,71 $\rightarrow$ δ_{C} 155,7 (C-3'), δ_{H} 2,63 e 4,71 $\rightarrow$ δ_{C} 83,3 (C-5') e δ_{H} 6,55 $\rightarrow$ δ_{C} 143,1 (C-3). As correlações do grupamento metilenodioxí em δ_{H} 5,96 à J^3 com os sinais em δ_{C} 148,7 e 134,0, foram essenciais para o seu posicionamento no anel aromático, além de auxiliar na correção da literatura entre C-3 e C-5 (Guilhon *et al*, 1992). As demais correlações de HMBC encontram-se na Tabela 19.

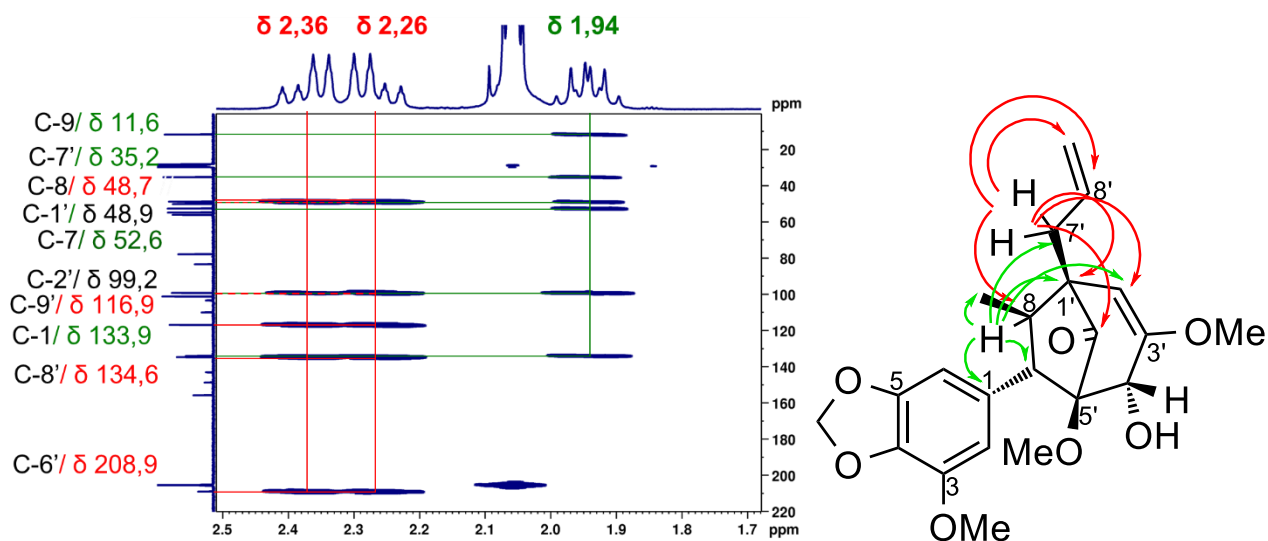


Figura 36. Ampliação do HMBC em torno dos sinais em δ 1,94; 2,36 e 2,26 da substância 11.

O espectro NOESY 2D (Figura S32-p.134) mostrou correlações entre o sinal 4,71 sl (H-4') com os sinais 2,63 d (H-7) e 2,84 d (5-CH₃O) sugeriram que H-4' está na orientação β , enquanto OH-14 em α . Esses dados, em conjunto com os valores das constantes de acoplamento indicaram que a estereoquímica do composto **11** é semelhante a rel-(7*S*,8*R*,1'*R*,3'*S*,4'*S*)-4'-hidroxi-5,3',5'-trimetoxi-3,4-metilenedioxi-2'-oxo- $\Delta^{1,3,5,5',8'}-8.1',7.3'$ (Guilhon *et al.*, 1992), as demais correlações são mostradas na Figura 37.

A análise por MS utilizando a ionização por electrospray operado no modo positivo (ESI⁺), apresentou m/z 425,1576 [M+Na]⁺ (Figura S33-p.135), sendo compatível com a fórmula molecular C₂₂H₂₆O₇Na⁺(massa calculada: 425,1571), os quais corroboram com os dados de RMN unidimensionais (¹H e ¹³C) e bidimensionais (1D/2D). De acordo com esses resultados foi possível elucidar a substância **11** como neolignana rel-(7*S*,8*R*,1'*R*,3'*S*,4'*S*)-4'-hidroxi-5,3',5'-trimetoxi-3,4-metilenedioxi-2'-oxo- $\Delta^{1,3,5,5',8'}-8.1',7.3'$ (Figura 38). Os dados obtidos estão de acordo com os valores reportados na literatura (Guilhon *et al.*, 1992). Embora essa neolignana já tenha sido reportada anteriormente de *O. costulatum* (Silva *et al.*, 1989), este é o primeiro relato para espécie *O. neesiana*.

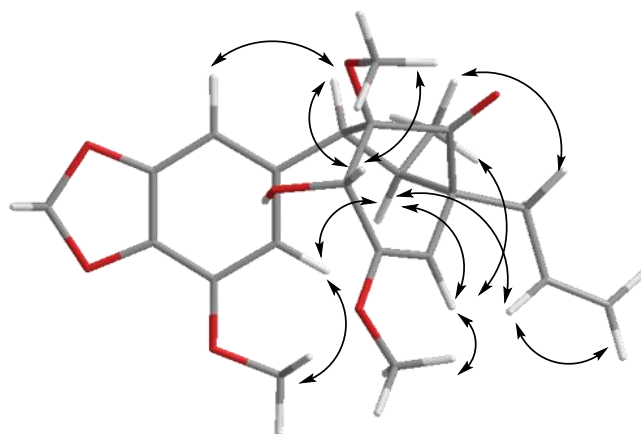


Figura 37. Interações espaciais obtidas do NOESY da substância 11.

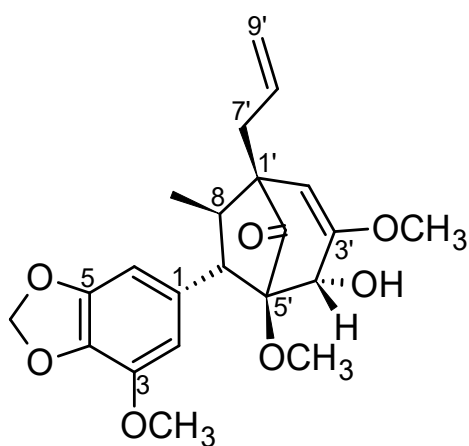


Figura 38. Estrutura química da neolignana rel-(7S,8R,1'R,3'S,4'S)-4'-Hidroxi-5,3',5'-trimetoxi 3,4-metilenodioxi-2'-oxo- $\Delta^{1,3,5,5',8'-8.1',7.3'}$ (substância 11).

Tabela 19. Dados de RMN de (^1H -300 MHz e ^{13}C -75 MHz) em acetona-D6 da substância 11 em comparação com a literatura.

Posição	^1H $\delta(\text{ppm})$, mult; $J(\text{Hz})$		^{13}C $\delta(\text{ppm})$		HMBC
	Substância 11	Guilhon <i>et al.</i> , 1992 ^a	Substância 11	Guilhon <i>et al.</i> , 1992 ^a	
1	----	----	133,9	132,6	
2	6,55 sl	6,32 d (2,0)	109,9	109,0	C-7, C-6, C-4, C-3
3	----	----	143,1	148,6	
4	----	----	134,0	134,1	
5	----	----	148,7	143,0	
6	6,37 sl	6,36 d (2,0)	103,3	103,3	C-7, C-2, C-4, C-5
7	2,63 d (8,91)	2,52 d (8,5)	52,6	52,7	C-9, C-8, C-4', C-5', C-6, C-2, C-4, C=O
8	1,94 dd (8,91;6,54)	2,02 dq (8,5;7,0)	48,7	48,7	C-7', C-9, C-1', C-7, C-2', C-1
9	0,96 d (6,54)	0,97 d (7,0)	11,6	12,3	C-1', C-7
1'	----	----	48,9	49,1	
2'	4,61 d (1,65)	4,54 d (2,0)	99,2	100,2	C-7', C-4', C-3', C=O
3'	----	----	155,7	154,3	
4'	4,71 dd (4,68;1,65)	4,68 s	77,8	78,0	C-7, C-5', C-2', C-3', C=O
5'	----	----	83,3	83,1	
C=O	----	----	208,9	210,1	
OH	4,34 d (4,68)	----	----	----	C-6', C-5', C-2', C-3'
7'a	2,36 dd (14,01;6,81)	2,20-2,50 m	35,2	35,2	C-8, C-1', C-2', C-9', C-8', C=O
7'b	2,26 dd (14,01;7,50)		35,2	35,2	C-8, C-1', C-2', C-9', C-8', C=O
8'	5,93 m	5,70-6,20 m	134,6	133,6	C-7'
9'	5,07 m	4,90-5,20 m	116,9	117,9	C-7', C-8'
OCH ₃ 3	3,86 s	3,81 s	56,1	56,7	C-3
OCH ₃ 3'	3,60 s	3,66 s	54,8	55,6	C-3', C-2', C-3
OCH ₃ 5'	2,84 s	2,92 s	50,1	51,2	C-5'
O ₂ CH ₂	5,96 d (1,0) 5,94 d (1,0)	5,94 s	101,1	101,3	C-4, C-5

^a 100MHz (^1H), 50 MHz(^{13}C), CDCl_3

5.2.7 Elucidação da substância 12 (LAM-13.P5)

A substância **12** codificada como LAM-13.P5 (5,8 mg; Esquema 3, p. 45) tem aspecto de sólido amorfo de coloração branca. Na análise em placa de CCD em gradiente de eluição DCM:MeOH (98:2), apresentou absorção sob luz UV em 254 nm e, após revelação em vanilina sulfúrica, exibiu uma mancha de coloração amarelo-escuro, com $R_f = 0,5$.

Os espectros de RMN de ^1H (Figura S35-p.136) e ^{13}C (Figura S36-p.136) da substância **12** mostraram um padrão de sinais de neolignana bicíclica [3,2,1] octano semelhante ao da substância **11**. No entanto, os sinais de H e C próximos de C-4' apresentam uma variação em seu deslocamento, sugerindo uma configuração diferente em C-4'. A endo-hidroxila em C-4' de **12** explica a desproteção relativa de H-7 (d 3,29) e a proteção de C-7 pelo efeito γ .

Os espectros de RMN de ^{13}C mostraram sinais característicos da região C-4', como 52,6 (C-7), 77,8 (C-4') e 83,3 (C-3) típicos de OH na posição β conforme reportado na literatura por Lordello e colaboradores (1997) (Figura 39). Porém a neolignana reportada na literatura não apresenta a metoxila na posição 3 do anel aromático, tornando a substância **12** inédita na literatura por conter na mesma molécula o grupo OH na posição β e a metoxila na posição 3 do anel aromático. Os demais dados de RMN encontram-se na Tabela 20.

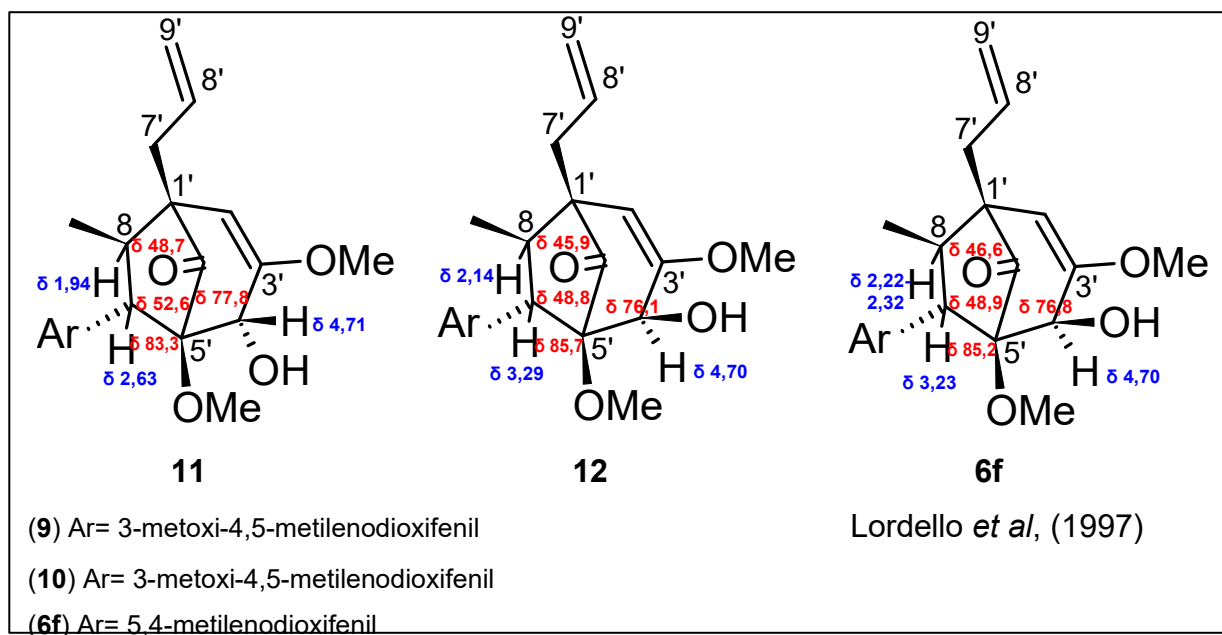


Figura 39. Comparação das neolignanas bicíclicas **11** e **12** com a literatura na posição C-4'.

A análise por MS utilizando a ionização por electrospray operado no modo positivo (ESI^+), apresentou m/z 403,1756 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (Figura S38-p.137), sendo compatível com a fórmula molecular $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{O}_7\text{H}^+$ (massa calculada: 403,1752), e estando de acordo com os dados de RMN ^1H e ^{13}C (1D/2D). Assim, a substância **12** foi nomeado como rel-(7S,8R,1'R,3'S,4'R)-4'-hidroxi-5,3',5'-trimetoxi-3,4-metilenodioxi-2'-oxo- $\Delta^{1,3,5,5',8'}-8,1',7,3'$ (Figura 40)

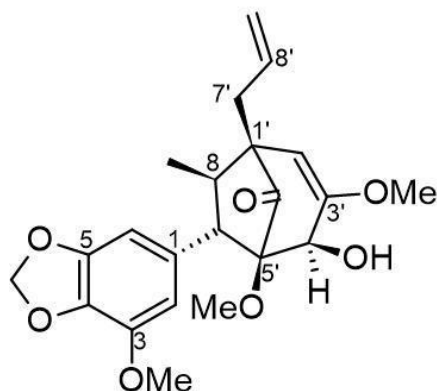


Figura 40. Estrutura química da substância 12.

Tabela 20. Dados de RMN de (^1H -500 MHz e ^{13}C -125 MHz) em MeOD da substância 12 em comparação com a literatura.

Posição	^1H $\delta(\text{ppm})$, mult; $J(\text{Hz})$		^{13}C $\delta(\text{ppm})$		HMBC
	Substância 12	Guilhon <i>et al.</i> , 1992(12) ^a	Substância 12	Guilhon <i>et al.</i> , 1992(12) ^a	
1	----	----	133,8	132,6	
2	6,41 d (1,3)	6,32 d (2,0)	109,7	109,0	C-1, C-3, C-6 e C-7
3	----	----	143,0	148,6	
4	----	----	134,5	134,1	
5	----	----	148,7	143,0	
6	6,31 d (1,3)	6,36 d (2,0)	103,1	103,3	C-1, C-2, C-5 e C-7
7	3,29 d (8,8)	2,52 d (8,5)	48,8	52,7	C-1, C-2, C-6, C-8, C-9, C-4', C-5' e C-6'
8	2,14 dd (8,8; 6,6)	2,02 dq (8,5; 7,0)	45,9	48,7	C-1, C-7, C-9, C-2' e C-7'
9	0,94 d (6,6)	0,97 d (7,0)	11,4	12,3	C-7, C-8 e C-5'
1'	----	----	49,6	49,1	
2'	4,56 s	4,54 d (2,0)	98,1	100,2	C-3', C-4', C-6' C-7'
3'	----	----	155,3	154,3	
4'	4,65 s	4,68 s	76,1	78,0	C-2', C-3', C-5' e C-7
5'	----	----	85,7	83,1	
C=O	----	----	209,9	210,1	
7'a	2,42 dd (14,1; 6,9)	2,2-2,5	35,1	35,2	C-8, C-2', C-6', C-8' e C-9'
7'b	2,32 dd (14,1; 7,7)	2,2-2,5	35,1	35,2	C-8, C-2', C-6', C-8' e C-9'
8'	5,93 m	5,7-6,2	133,9	133,6	C-7'
9'	5,11 m	4,9-5,2	117,1	117,9	C-7' e C-8'
OCH ₃ 3	3,86 s		55,9	56,7	C-3
OCH ₃ 3'	3,64 s	3,66 s	54,4	55,6	C-2' e C-3'
OCH ₃ 5'	3,19 s	2,92 s	52,8	51,2	C-5'
O ₂ CH ₂	5,91 d (1,15) 5,90 (1,15)	5,94 s (1,0)	101,0	101,3	C-4 e C-5

^a100 MHz(^1H), 50 MHz (^{13}C), CDCl_3 ^bValor não reportado na literatura

5.2.8 Elucidação da substância 13 (LAM-14.4.25)

A substância **13** codificada como LAM-14-4.25 (26,8 mg; Esquema 4, p. 46) tem aspecto de sólido cristalino branco, solúvel em MeOH. Na análise em placa CCD de sílica normal no gradiente de eluição DCM:MeOH (95:5) com absorção em UV (254 nm) apresenta mancha roxa azulada, após ser revelada em vanilina sulfúrica e $R_f = 0,45$. Apresentou um $[\alpha]_D^{25} +24,0$ (c 0,23, MeOH).

No espectro de RMN de ^1H (Figura S39-p.138) observaram-se sinais apenas na região de campo alto com deslocamentos de δ 3,74 a 0,89. A integração dos sinais foi realizada com base no singlete em δ 3,70 (3H) região comum para metoxilas. Desse modo, pode-se observar na região de hidrogênios metílicos três dubletos em δ 0,91 ($J=6,5$), δ 1,04 ($J=7,0$) e δ 1,06 ($J=6,5$) e um singlete em δ 1,28, atribuído aos hidrogênios H-20, H-15, H-19 e H-17 respectivamente (Figura 41 e 42). Os sinais em δ 3,74 (d, $J=1,6$) e 3,73 s ambos integrando para 1H deram indicativos de hidrogênios oximetínicos (Figura 42).

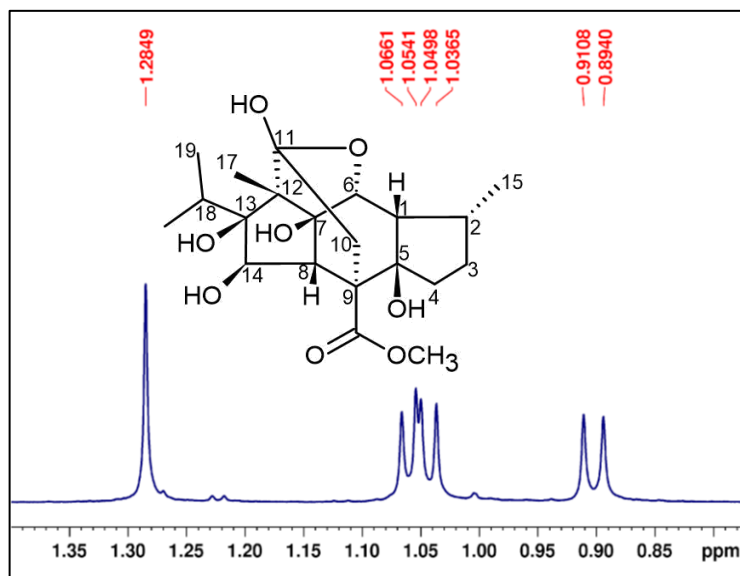


Figura 41. Ampliação da região entre 0,85- 1,35 ppm do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, MeOD) da substância 13.

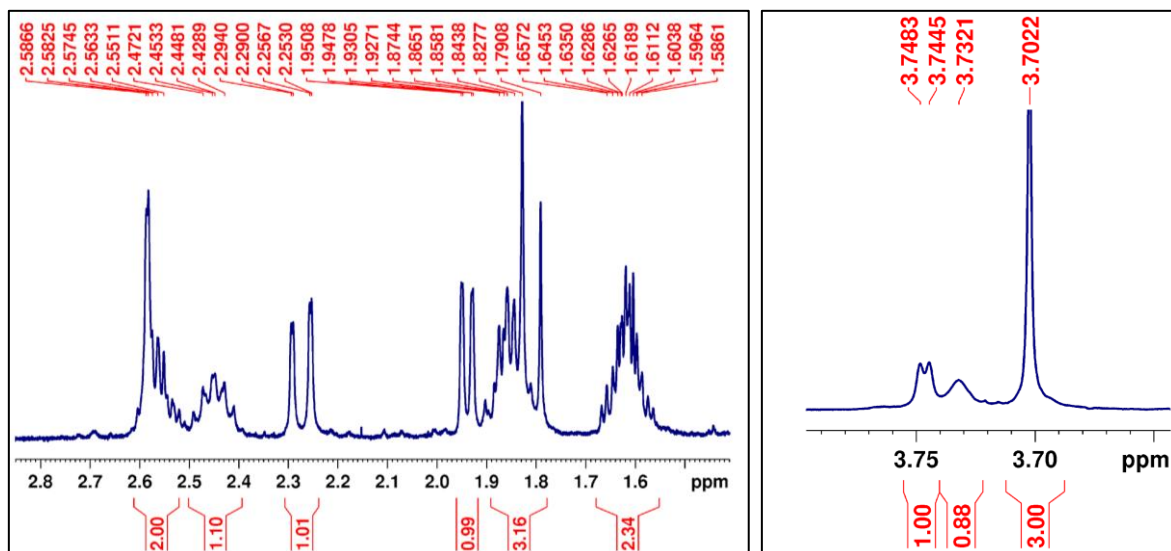


Figura 42. Ampliação da região em 1,6- 2,8 ppm e 3,70-3,75 ppm do espectro de RMN de ¹H (400 MHz, MeOD) da substância 13.

O espectro de RMN de ¹³C (Figura S40-p.138; Tabela 21) apresentou 20 sinais. Verificou-se deslocamentos de carbonos carbinólicos em δ 80,8; 82,1; 88,8 e 86, 4 para os carbonos C-14, C-13, C-7 e C-5 respectivamente. Foi observado um sinal característico de carbonila de éster em δ 174,4. Os carbonos foram caracterizados com o auxílio do DEPT-135 e interpretações dos outros dados nos espectros (Figura S41-p.142) sendo: cinco metílicos, três metilênicos, seis metínicos e pela ausência de sinais seis desidrogenados.

O mapa de contorno HSQC (Figura S42-p.139) mostrou correlações dos sinais em δ 0,91; 1,06; 1,04 e 1,28 com os sinais em δ 16,8; 14,5; 17,3 e 8,8, atribuído aos carbonos metílicos C-20, C-19 do grupo isopropílico e C-15 e C-17, respectivamente. O sinal em δ 3,70 característico para metoxila mostrou correlação com δ 50,6. O HSQC foi fundamental para sugerir os hidrogênios metilênicos α e β das posições 3, 4 e 10.

Por meio do mapa de contorno HMBC (Figura S43-p.140) pode-se definir o posicionamento do grupo éster, através da correlação dos sinais à J^3 dos sinais δ 2,58 e 1,82 $\rightarrow$ δ 174,4. As metilas foram atribuídas aos carbonos C-15, C-17, C-19 e C-20 mediante as correlações dos sinais em δ 1,04; 1,28; 1,06 e 0,91 com δ 34,4; 61,3 e 33,5 respectivamente. A correlação dos sinais em δ 2,29 e 1,82 $\rightarrow$ δ 86,4 e 104,8 direcionou o posicionamento das hidroxilas em C-5 e C-11 (Figura 44). Já a localização das hidroxilas em C-14 e C-13 veio seguindo a ordem da interação J^2 e J^3

de δ_H 2,58 $\rightarrow$ δ_C 80,8 e 82,1 (Figura 43). As demais correlações de HSQC e HMBC encontram-se na Tabela 16.

O espectro NOESY 2D (Figura S44-p.140) mostrou interações espaciais entre H-8/H-1 indicando que estão orientados na mesma face, definida como β . Correlações entre o sinal 3,73 sl (H-14) com os sinais 0,91 d (H-20) e 1,87 m (H-18) sugeriram que H-14 está na orientação α , enquanto OH-14 em β (Figura 45). Esses dados, em conjunto com os valores das constantes de acoplamento indicaram que a estereoquímica do composto **13** é semelhante a do itol A (Chai, 2008), diferindo apenas na presença do grupo éster ligado ao carbono 9, desta forma esta substância é inédita na literatura.

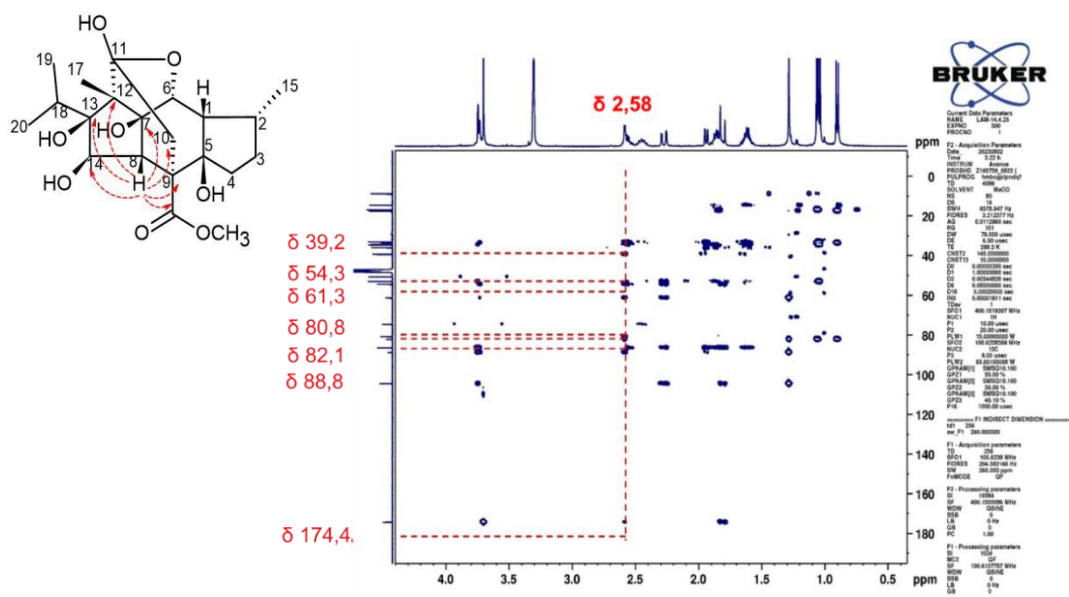


Figura 43. Mapa de contorno HMBC da substância 13 (400/75 MHz, MeOD).

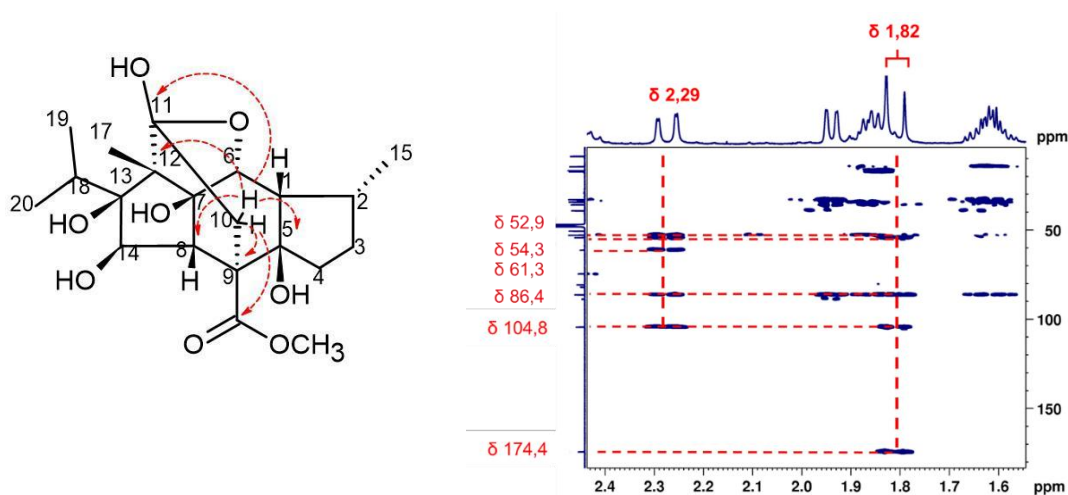


Figura 44. Ampliação do HMBC em torno dos sinais em δ 2,29, δ 1,82 da substância 13.

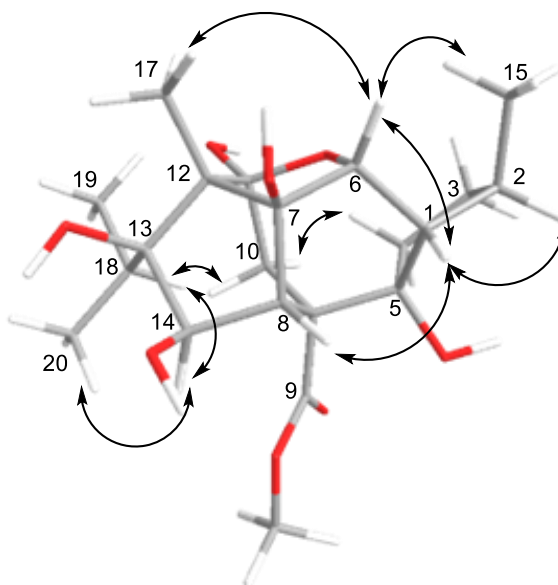


Figura 45. Interações espaciais obtidas do NOESY.2D da substância 13.

A análise por MS utilizando a ionização por electrospray operado no modo positivo (ESI^+), apresentou m/z 435,2017 $[\text{M-Na}]^+$ (Figura S45-p.141), sendo compatível com a fórmula molecular $\text{C}_{21}\text{H}_{32}\text{O}_8\text{Na}^+$ (massa calculada: 435,1995), conforme indicado pelos dados de RMN unidimensionais (^1H e ^{13}C) e bidimensionais (1D/2D). Com bases nesses resultados foi possível identificar a substância **13** como 16-metilesteritol A (Figura 46). Os dados obtidos estão de acordo com os valores reportados na literatura (Chai *et al* 2008; Govindachari *et al.* 1992) pode-se elucidar a substância **13** como um diterpeno do tipo isorianodano. Este é o primeiro relato de diterpenos com esse esqueleto no gênero e na espécie *O. neesiana*.

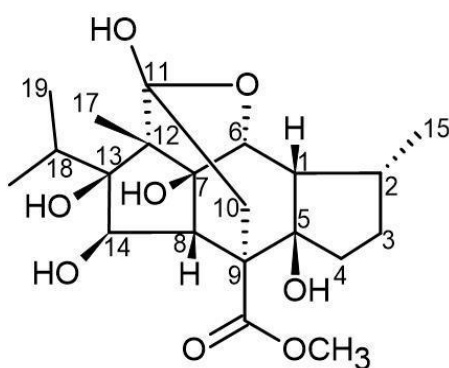


Figura 46. Estrutura química do 16-metilesteritol A (substância 13).

Tabela 21. Tabela de RMN de (^1H -400 MHz e ^{13}C -100 MHz) em MeOD da substância 13 em comparação com os dados da literatura.

Nº	^1H $\delta(\text{ppm})$, mult; J(Hz)		^{13}C $\delta(\text{ppm})$		HMBC
	16-metilesteritol A (13)	Chai <i>et al.</i> , 2008 (13) ^a	16-metilesteritol A (13)	Chai <i>et al.</i> , 2008 (13) ^a	
1	1,94 dd (8,12;1,2)	1,88 br d (2,0)	53,0	53,9	C-4, C-2, C-3 e C-5
2	2,45 m	2,46 m	34,4	36,9	C-6, C-1 e C-3
3 α	1,61 m	1,66 m	33,1	35,2	C-15, C-2 e C-4
3 β	1,87 m	1,79m			C-19 e C-20
4 α	2,56 m	2,18 m	35,9	37,3	C-3, C-2, C-5 e C-9
4 β	1,61 m	1,57 m			C-3, C-5 e C-6
5	-----		86,4	88,3	
6	3,74 d (1,6)	3,73 d (2,0)	74,6	75,9	C-2, C-1, C-11
7	-----	-----	88,8	90,8	
8	2,58 m	2,06 d (2,0)	52,9	57,4	C-10, C-14, C-13, C-7, C-12 e COO-9
9	-----	-----	54,3	42,1	
10 α	2,29 dd (14,8;1,6)	1,84 d (14,5)	39,2	45,3	C-8, C-5, C-9, C-12 e C-11
10 β	1,82 d (14,8)	1,50 d (14,5)			C-5, C-9, C-11 e COO-9
11	-----	-----	104,5	105,7	
12	-----	-----	61,3	62,5	
13	-----	-----	82,1	83,5	
14	3,73 sl	3,95 s	80,8	79,2	C-12 e C-18
15	1,04 d (7,0)	1,05 d (7,0)	14,5	15,5	C-3, C-2 e C-1
16	-----	-----	-----	22,3	
17	1,28 s	1,29 s	8,8	10,4	C-12, C-13, C-7 e C-11
18	1,87 m	1,91 m	33,5	35,0	
19	1,06 d (6,5)	0,95 d (6,5)	17,3	18,8	C-20 e C-13
20	0,91 d (6,5)	1,07 d (6,5)	16,8	18,3	C-19, C-18, C-13
COO Me	3,70 s		50,6	52,8**	COO-9
COO- 9			174,4	173,20**	

^a500 MHz(^1H), 125 MHz(^{13}C), MeOD); ** Govindachari *et al.*, 1992 (100 MHz, CDCl_3)

5.2.9 Identificação da substância 14 (LAM-14.12.5)

A substância **14** (3,4 mg; Esquema 4, p.46) tem aparência de um sólido amorfo com cor alaranjada. Ao ser analisada em CCD com eluição em DCM:MeOH (9:1) apresentou uma fraca absorção no UV na região de 254 nm e coloração rosa ao ser revelada em vanilina sulfúrica e $R_f = 0,4$.

O espectro de RMN de ^1H (Figura S46-p.141; Tabela 22) mostrou 5 sinais típicos de sistemas aromáticos. Os dois dubletos em δ 5,85 e 5,92 com constante de 2,0 Hz evidenciaram o acoplamento meta entre os H-6 e H-8 caracterizaram uma dioxigenação do anel A em C-5 e C-7 (Figura 47). O sinal observado como duplo dubleto em δ 6,72 ($J = 8,4$ Hz e 2,0 Hz) corresponde ao acoplamento *orto* e *meta* de H-6' com os hidrogênios H-5' e H-2', respectivamente. Assim como os dubletos em δ 6,83 ($J = 2,0$ Hz) e δ 6,76 ($J = 8,4$ Hz) mostram os acoplamentos *meta* de H-2' com H-6' e *orto* entre H-5' e H-6', os quais correspondem ao anel B do flavonoide dissubstituído (Figura 47).

O anel C foi caracterizado pela presença de um dubleto em δ 4,56 ($J = 7,6$ Hz) atribuído a H-2, que acopla com H-3, o valor da constante desse dubleto determinou a configuração 2,3 *trans*. Observou-se hidrogênios diasterotópicos por meios do par de duplo dubleto em δ 2,85 ($J = 5,5$ e 16,2 Hz) e 2,50 ($J = 8,1$ e 16,2 Hz) sendo o primeiro correspondente a 4- H_α , devido seu acoplamento geminal com 4- H_β ($J = 16,2$ Hz) e acoplamento pseudo-equatorial-axial com H-3 ($J = 5,5$ Hz), o segundo foi atribuído a 4- H_β por causa do seu acoplamento pseudo-diaxial com H-3 ($J = 8,1$ Hz) (Figura 48).

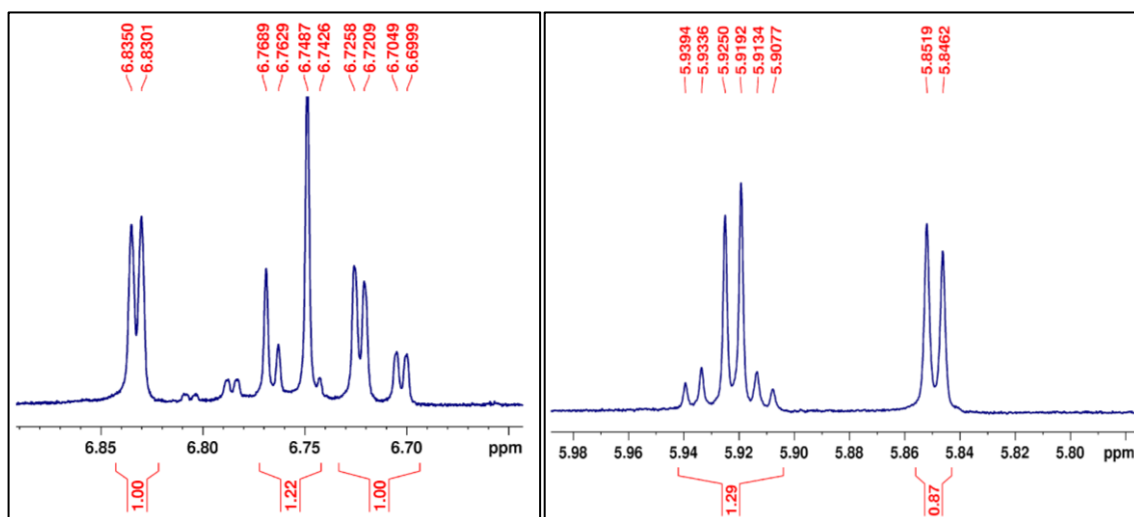


Figura 47. Ampliação das regiões em δ 6,70 – 6,85 ppm e δ 5,80-5,96 ppm do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, MeOD) da substância 14.

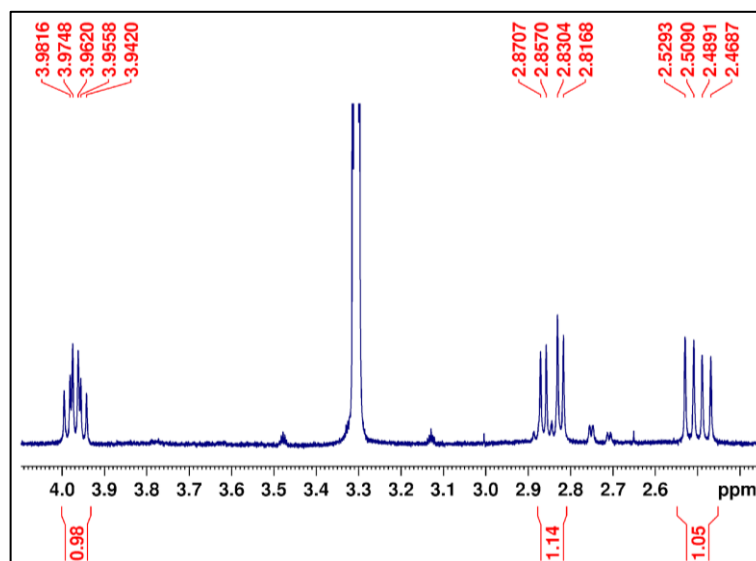


Figura 48. Ampliação da região entre δ 2,5– 4,0 ppm do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, MeOD) da substância 14.

O espectro de RMN ^{13}C (Figura S47-p.142; Tabela 22) apresentou 15 sinais com predominância de sinais característicos de carbonos aromáticos. Percebeu-se a ausência de sinal de carbonila e presença de um carbinólico em δ 67,4 (C-3) sugerindo um esqueleto de flavonoide flavan-3-ol. No mapa de contorno HSQC editado (Figura S48-p.145) observou-se a correlação dos hidrogênios H-4 α e H-4 β com um carbono metilênico em δ 27,1 (C-4), confirmando o esqueleto de flavonoide sugerido anteriormente. No mapa de contorno no HMBC (Figura S49-p.143) o hidrogênio em δ 4,56 (H-2) correlaciona com os carbonos desidrogenados em δ 130,8 (C-1') e δ 155,5 (C-9), com os carbonos metínicos em δ 67,4 (C-3), δ 118,6 (C-2') e δ 113,8 (C-6'), além do carbono metilênico em δ 27,1 (C-4), reafirmando assim o tipo de esqueleto flavan-3-ol. As demais correlações estão descritas na Tabela 22.

Após a análise de todos os dados obtidos resultante da análise dos espectros junto com a comparação com os dados descritos na literatura (Burger *et al.*, 2011; Ayres *et al.*, 2009), permitiram identificar a substância **14** como catequina (Figura 49). Um estudo realizado recentemente por Ruttanaphan *et al.* (2023) destacou o alto potencial inseticida deste flavonoide frente a largata *Spodoptera litura* com LD₅₀ ~8.37 $\mu\text{g/larva}$ em 24h. Esta substância já foi isolada anteriormente na espécie *Ocotea notata* (Garett *et al.*, 2012), contudo para a espécie *O. neesiana* é o primeiro relato.

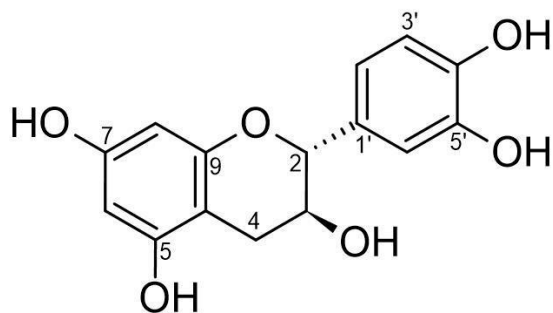


Figura 49. Estrutura química da catequina (substância 14)

Tabela 22. Dados de RMN de (^1H -400 MHz e ^{13}C -100 MHz) em MeOD da substância 14 em comparação com a literatura.

Nº	^1H $\delta(\text{ppm})$, mult; J(Hz)		^{13}C $\delta(\text{ppm})$		HMBC
	Catequina (14)	Burger <i>et al.</i> , 2011 (14) ^a	Catequina (14)	Ayres <i>et al.</i> , 2009 (14)	
2	4,56 d (7,6)	4,58 d (7,8)	81,4	82,6	C-3, C-4, C-9, C-1', C-6' e C-2'
3	3,97 m	3,98 ddd (5,2; 7,8; 8,4)	67,4	68,6	C-10 e C-1'
4 α	2,85 dd (5,5; 16,2)	2,82 dd (5,2; 16,1)	27,1	28,2	C-2, C-3, C-9 e C-10
4 β	2,50 dd (8,1; 16,2)	2,52 dd (8,4; 16,1)			
5	-----	-----	156,2	157,3	C-5 e C-8
6	5,85 d (2,3)	5,85 d (2,3)	94,0	94,6	
7	-----	-----	156,4	157,4	C-6, C-7 e C-10
8	5,92 d (2,3)	5,92 d (2,3)	94,8	95,6	
9	-----	-----	155,5	156,7	
10	-----	-----	99,4	100,9	
1'	-----	-----	130,8	132,0	C-2, C-6' e C-4'
2'	6,72 dd (8,1; 2,0)	6,74 m	118,6	120,1	
3'	6,76 d (8,1)	6,74 m	114,6	116,2	C-1', C-5' e C-4'
4'	-----	-----	144,8	146,0	C-2, C-4', C-5' e C-2'
5'	-----	-----	144,8	146,0	
6'	6,83 d (2,0)	6,83 d (1,5)	113,8	115,2	

^a400 MHz, MeOD; ^b75 MHz, MeOD)

5.3 Identificação das substâncias isoladas de *Sextonia rubra*.

5.3.1 Identificação da substância 15 (SRM-7.2)

A substância **15** (2,5 mg; Esquema 5, p.48) tem aparência de um sólido cristalino. Ao ser analisada em CCD com eluição em Hex:AcOEt (9:1) apresentou uma absorção azul no UV na região de 365 nm não apresentando coloração quando revelada em vanilina sulfúrica.

O espectro de RMN de ^1H (Figura S50-p.143; Tabela 23) mostrou 1 sinal de singlete largo em δ 6,86 característico de próton aromático atribuído a H-6, assim como o sinal referente à metila do sistema aromático, um singlete em δ 2,82 (5-CH₃). Outros três sinais de hidrogênios metílicos foram observados sendo dois singletos em δ 1,31 (H-4') e 1,55 (H-5') e um dubleto em δ 1,51 ($J = 6,63$ Hz) (Figura 50). Foi observado um quarteto referente ao próton metínico H-2' com deslocamento em δ 4,70 que se encontra em um campo mais baixo devido à presença de um átomo de oxigênio em ligação próxima (Figura 50). Além de dois sinais típicos de hidroxilas queladas, encontradas em δ 11,41 e 11,62 foram atribuídas nos sistemas de anéis B e C.

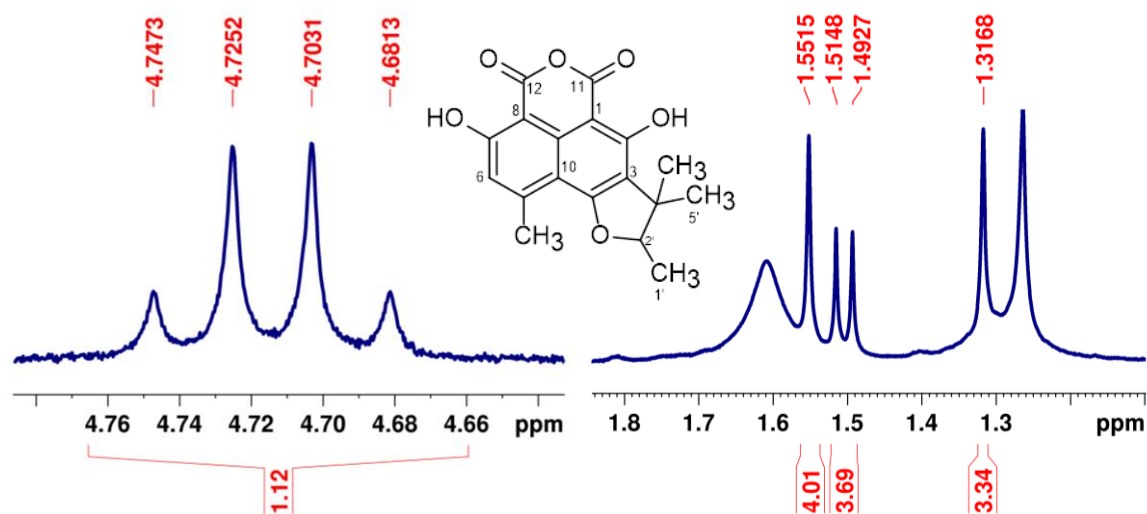


Figura 50. Ampliação das regiões em 4,66 – 6,76 ppm e 1,30-1,70 ppm do espectro de RMN de ^1H (300 MHz, MeOD) da substância 15.

O espectro de RMN de ^{13}C (Figura 51-p.144; Tabela 23) da substância **15** apresenta 8 sinais característicos dos sistemas aromáticos. Os outros dois sinais que completam esse sistema em δ 93,5 (C-1) e 97,3 (C-8) encontram-se mais blindados devido ao efeito de ressonância exercido pelas carbonilas adjacentes (δ 164,8; C-11

e 165,4; C-12). Em δ 92,0 e 43,4 encontra-se os sinais referentes aos carbonos do sistema hidrofurano (C-2' e C-3' respectivamente), e na região mais blindada do espectro encontra-se os sinais referentes as metilas desse sistema em δ 14,5 (C-1'), 20,7(C-4') e 25,6(C-5'), posicionadas pelas correlações observadas no HSQC (Figura S52-p.147) e HMBC (Figura S53-p.145). Também se observa nessa região o sinal em δ 23,7 referente à metila a qual foi posicionada no anel B.

Através do mapa de contorno HMBC (Figura 53-p.145) pela correlação dos sinais em δ_H 2,82; 1,51; 1,31; 1,55 com os carbonos com sinais em δ_C 149,8; 14,6; 20,7 e 25,6 em conjunto com o HMBC pode-se posicionar as metilas em C-5, C-1', C-4' e C-5' respectivamente. As hidroxilas foram atribuídas aos carbonos C-2 e C-7 pelas correlações observadas no HMBC em δ_H 11,63 com os carbonos C-1 (93,5); C-3 (119,0) e C-2 (164,2) e para o sinal δ_H 11,44 com os carbonos C-12 (165,4) e C-7 (165,9) (Figura 51).

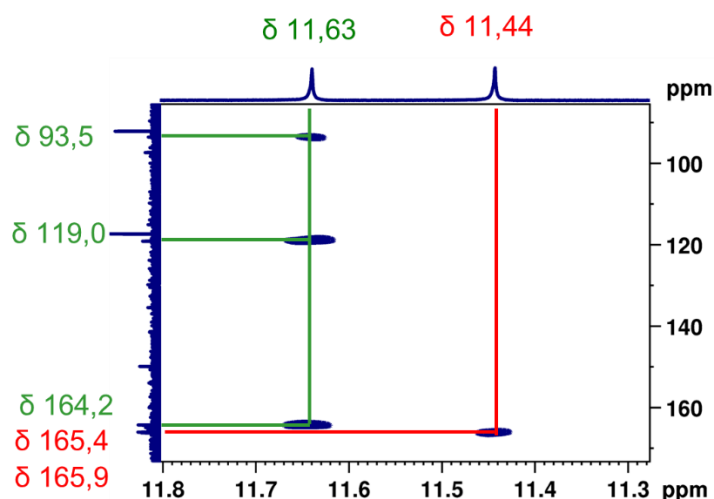


Figura 51. Amplificação do HMBC em torno dos sinais em δ 11,63; δ 11,64 da substância 15.

A análise por EM utilizando a ionização por eletrospray operado no modo positivo (ESI⁺), apresentou m/z 329,1042 [M-H]⁺ (Figura S54-p.145), sendo compatível com a fórmula molecular C₁₈H₁₆O₆H⁺ (massa calculada: 329,1020), conforme indicado pelos dados de RMN unidimensionais (¹H e ¹³C) e bidimensionais (1D/2D). Com bases nesses resultados foi possível identificar a substância **15** como esclerodina (Figura 52). Os dados obtidos estão de acordo com os valores reportados na literatura (Hussain *et al.*, 2015; Takenaka *et al.*, 2013).

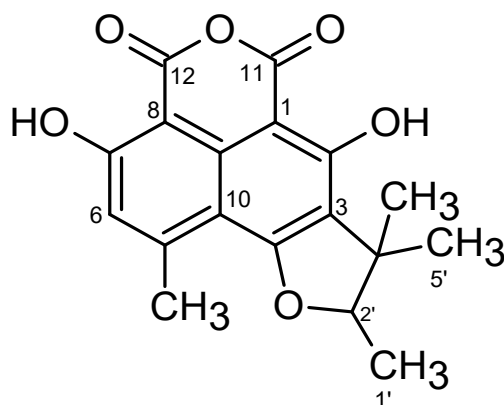


Figura 52. Estrutura química da esclerodina (substância 15)

Tabela 23. Dados de RMN de (^1H -300 MHz e ^{13}C -75 MHz) em CDCl_3 da substância 15 em comparação com a literatura.

Nº	^1H $\delta(\text{ppm})$, mult; J(Hz)		^{13}C $\delta(\text{ppm})$		HMBC
	Esclerodina (15)	Hussain <i>et al.</i> , 2015 ^a	Esclerodina (15)	Takenaka <i>et al.</i> , 2013 ^b	
1	----	----	93,5	93,4	5-CH ₃ , C-8, C-10
2	----	----	164,2	164,2	
3	----	----	119,0	119,1	
4	----	----	166,1	166,2	
5	----	----	149,8	149,9	
6	6,86 s	6,82 s	117,1	117,2	
7	----	----	165,9	165,9	
8	----	----	97,3	97,2	
9	----	----	135,4	135,3	
10	----	----	108,5	108,5	
11	----	----	164,8	164,8	
12	----	----	165,4	165,4	
1'	1,51 d (6,63)	1,53 d (6,60)	14,6	14,5	C-3', C-2'
2'	4,72 q (6,63)	4,75 q (6,60)	92,0	92,1	C-5', C-4'
3'	----	----	43,4	43,5	C-5', C-3', C-2', C-3 C-4', C-3', C-2', C-3 C-10, C-6, C-5
4'	1,31 s	1,34 s	20,7	20,7	
5'	1,55 s	1,59 s	25,6	25,5	
5-CH ₃	2,82 s	2,83 s	23,7	23,7	
2-OH	11,63 s	11,62 s	----	----	
7-OH	11,44 s	11,38 s	----	----	C-1, C-3, C-2 C-7, C-12

^a500MHz, CDCl_3 ; ^b125 MHz, CDCl_3

5.3.2 Identificação das substâncias 16 e 17 (SRM-9S)

As substâncias **16** e **17** (843,0 mg) foram isoladas conforme o Esquema 5 (p. 48) apresentou aparência de um sólido amarelo claro com solubilidade em DCM. Ao ser analisada em CCD com eluição em DCM:MeOH (97:3) não apresentou absorção nas regiões de 254 e 365 do UV, ao ser revelada em vanilina sulfúrica apresentou coloração azul.

O espectro de RMN de ^1H (Figura S56-p.146) apresentou sinais entre δ 1,30 a 5,87 ppm. O fato de apresentar muitos sinais na região de hidrogênios metilênicos, pode-se propor a presença de uma cadeia lateral. Por meio das integrais deu-se o indicativo que se tratava de uma mistura de substâncias 1:1. Notou-se a diferença das substâncias pelos sinais de hidrogênios vinílicos em δ 5,81 ddt ($J= 17,04; 10,23; 6,63$, H-13), δ 4,91(H-14 α) e 4,96 m (Figura 53), assim como o multipeto em δ 2,04 atribuídos a substância **16**. Um sinal em δ 2,18 dt ($J= 6,93; 2,61$, H-12) que integrou para 2H foi atribuído para a substância **17**. Os demais dados dos sinais de RMN de ^1H encontram-se na Tabela 24 (Figuras 54 e 55).

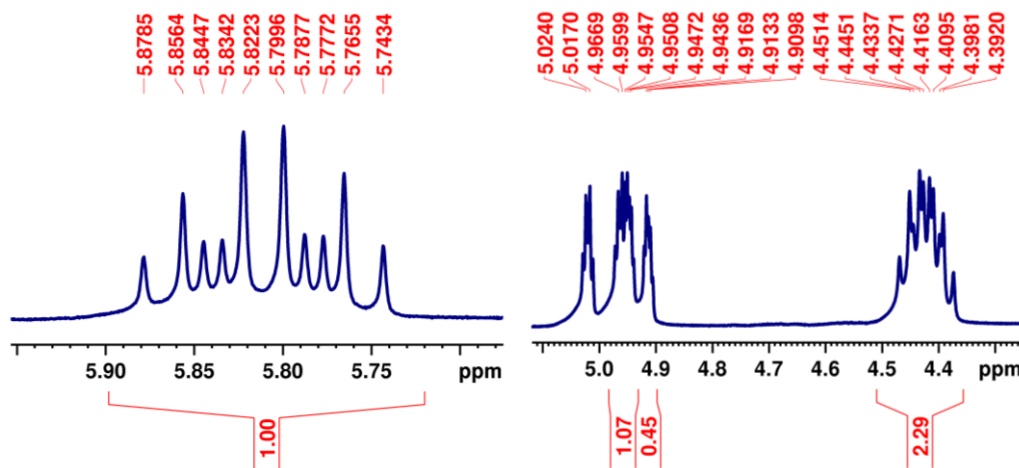


Figura 53. Ampliação das regiões em 5,75 – 5,90 ppm e δ 4,40-5,00 ppm do espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) das substâncias 16 e 17.

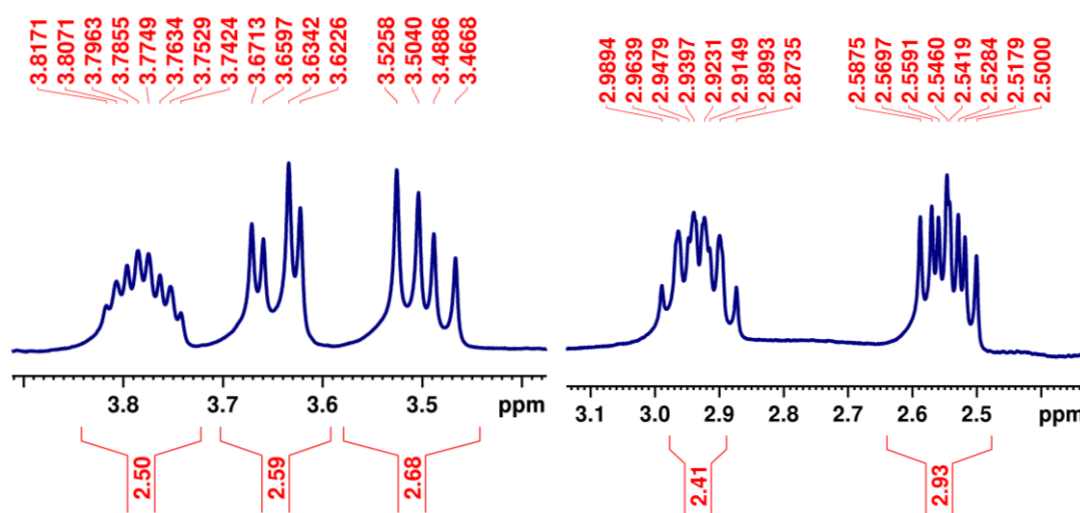


Figura 54. Ampliação das regiões em 3,50 – 3,80 ppm e 2,50-3,10 ppm do espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) das substâncias 16 e 17.

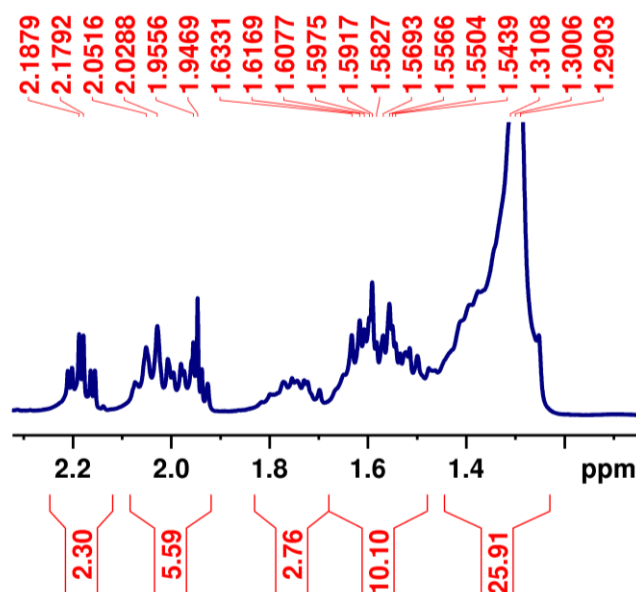


Figura 55. Ampliação das regiões em 1,30 – 2,20 ppm do espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) das substâncias 16 e 17.

O espectro de RMN de ^{13}C (Figura S57-p.147; Tabela 25) mostrou 20 sinais. Os sinais em δ 139,1 e δ 114,1 confirmaram a presença da dupla olefínica para a substância **16** e os sinais em δ 84,7(C-13) e δ 68,1(C14) indicaram uma ligação tripla para substância **17**. A presença de sinais de carbonos metilênicos reafirmaram a presença de uma cadeia lateral para essas substâncias. O mapa de contorno HSQC editado auxiliou nessa interpretação (Figura S58-p.147). Esses dados deram indicativos que a mistura se tratava de um par alceno-alcino. Além disso, pode-se

observar sinais de carbonos carbinólicos atribuídos para C-3' (δ 66,7) e C-2' (70,5), assim como um sinal característico de carbonila de éster em δ 180,5.

Através do mapa de contorno HMBC (Figura S59-p.148; Tabela 26) por meio da correlação δ_H 2,18 $\rightarrow$ 84,7 pode-se propor o carbono (C-13) desidrogenado e δ_H 2,18 $\rightarrow$ 68,1 o carbono metínico (C-14) que formam a tripla ligação da substância **17**. A correlação de δ_H 4,46 com os carbonos C-5 e C-6 permitiram propor a localização da cadeia lateral maior em C-4. A correlação de δ_H 2,93 $\rightarrow$ 33,7 (C-1'); 70,5(C-2'); 180,5 (C=O) permitiu posicionar uma segunda cadeia lateral menor em C-2 e auxiliou no posicionamento da carbonila.

A análise por EM utilizando a ionização por eletrospray operado no modo positivo (ESI⁺), apresentou m/z 299,2218 [M-H]⁺ (Figura S60-p.148), sendo compatível com a fórmula molecular C₁₇H₃₀O₄H⁺(massa calculada: 297,2298) para substância **16**. Para substância **17** EM-ESI⁺, apresentou m/z 297,2098 [M-H]⁺ (Figura S62-p.149), sendo compatível com a fórmula molecular C₁₇H₂₈O₄H⁺(massa calculada: 297,2066).

Ao analisar as fragmentações dos íons no EM (Figura S61-p. 149 e S63-p.149) percebe-se a perda sucessiva dos grupos hidroxilas para substância **16** pelos picos m/z 281,2101 e m/z 263,200, já para substância **17** pelos picos m/z 279,1945 e m/z 261,1840. A fragmentação da cadeia lateral maior encontra-se nos picos menores que m/z 135,1165 e 133,1007 para **16** e **17**, respectivamente. Esses resultados estão de acordo com o estudo realizado por Fu e colaboradores (2018).

Os dados de RMN unidimensionais (¹H e ¹³C) e bidimensionais (1D/2D) corroboram com os dados obtidos de EM. Dessa forma, foi possível identificar como as γ -lactonas rubrenolídeo (substância **16**) e rubrinolídeo (substância **17**) (Figura 52). Os dados obtidos estão de acordo com os valores reportados na literatura (Taylor *et al.*, 1991). O rubrenolídeo e rubrinolídeo já foram reportados na literatura para *Sextonia rubra* (Franca; Gottlieb, 1972). Vale ressaltar a sua predominância no extrato metanólico correspondendo a cerca de 30%.

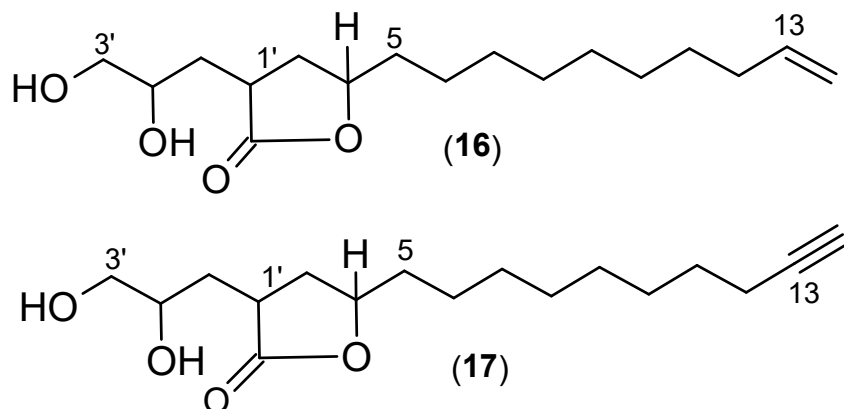


Figura 56. Estrutura química do rubrenolídeo (substância 16) e rubrinolídeo (substância 17).

Tabela 24. Dados de RMN de ^1H 300 MHz em CDCl_3 das substâncias 16 e 17 em comparação com a literatura.

Nº	^1H $\delta(\text{ppm})$, mult; J(Hz)			
	Rubrenolideo (16)	Rubrinolídeo (17)	Taylor <i>et al.</i> , 1991 ^a (16)	Taylor <i>et al.</i> , 1991 ^a (17)
C=O	----	----	----	----
2	2,93 m	2,93 m	2,92 (12,4; 8,35; 7,09)	2,92 (12,4; 8,35; 7,09)
3	2,54 ddd (5,34;8,52;10,62)	2,54 ddd (5,34;8,52;10,62)	2,53 12,50;8,40;5,32	2,53 12,50;8,40;5,32
4	4,46 (10,62; 7,2; 5,31)	4,46 (10,62; 7,2; 5,31)	4,42 (10,6; 7,34; 5,31)	4,42 (10,6; 7,34; 5,31)
5	1,74 m	1,74 m		
6	1,41 m	1,41 m	<i>b</i>	<i>b</i>
7-11	1,57- 1,23	1,57- 1,23		
12	2,04 m	2,18 dt (6,93; 2,61)	2,04 (7,1; 1,52)	2,18 (7,08; 2,78)
13	5,81ddt (17,04; 10,23; 6,63)	----	5,81 (17,00;10,30;6,70)	----
14 α	4,91 m		4,93 (10,10;1,60)	1,94
14 β	4,96 m	<i>c</i>	4,99 (17,2;1,85)	(2,5-2,8)
1' α	1,63 m	1,63 m	1,62 (14,4; 7,1; 3,29)	1,62 (14,4; 7,1; 3,29)
1' β	1,94 m	1,94 m	1,96 (14,4; 9,86; 7,09-7,34)	1,96 (14,4; 9,86; 7,09-7,34)
2'	3,81 ddd (9,48;6,54;3,15)	3,81 ddd (9,48;6,54;3,15)	3,81 (9,86; 6,57; 3,54; 3,04)	3,81 (9,86; 6,57; 3,54; 3,04)
3' α	3,65 dd (11,13;3,15)	3,65 dd (11,13;3,15)	3,66 (10,9; 3,54)	3,66 (10,9; 3,54)
3' β	3,52 dd (11,13;6,54)	3,52 dd (11,13;6,54)	3,51 (10,9; 6,58)	3,51 (10,9; 6,58)

^a 300 MHz, CDCl_3 ; ^bNão informado pela literatura; ^cNão visualizado no espectro.

Tabela 25. Dados de RMN de ^{13}C 75 MHz em CDCl_3 das substâncias 16 e 17 em comparação com a literatura.

Nº	^{13}C $\delta(\text{ppm})$			
	Rubrenolideo (16)	Rubrinolideo (17)	Madda <i>et al.</i> , 2014 ^a (16)	Madda <i>et al.</i> , 2014 ^a (17)
C=	180,5	180,5	180,4	180,3
O				
2	39,2	39,2	39,3	39,4
3	35,9	35,9	35,9	35,9
4	80,0	80,0	79,9	79,9
5	35,3	35,3	35,3	35,3
6	25,2	25,2	25,2	25,1
7-11	28,6; 28,8, 28,9; 29,0; 29,3	28,4; 28,8, 28,9; 29,0; 29,3	29,3; 29,0; 28,8	29,2; 28,9; 28,6; 28,4
12	33,7	18,3	33,7	18,3
13	139,1	84,7	139,1	84,7
14	114,1	68,1	114,1	68,1
1'	33,7	33,7	33,7	33,7
2'	70,5	70,5	70,6	70,6
3'	66,7	66,7	66,7	66,7

^a 75 MHz, CDCl_3

Tabela 26. Dados de HMBC de RMN em CDCl_3 das substâncias 16 e 17 em comparação com a literatura.

Nº	^1H $\delta(\text{ppm})$, mult; J(Hz)	HMBC ^a	^1H $\delta(\text{ppm})$, mult; J(Hz)	HMBC ^a
	Rubrenolideo (16)		Rubrinolideo(17)	
2	2,93 m	C-1', C-3, C-2', C=O	2,93 m	C-1', C-3, C-2', C=O
3	2,54 ddd (5,34;8,52;10,62)	C-2, C=O	2,54 ddd (5,34;8,52;10,62)	C-2, C=O
4	4,46 (10,62; 7,2; 5,31)	C-6, C-5	4,46 (10,62; 7,2; 5,31)	C-6, C-5
5	1,74 m	C-6	1,74 m	C-6
6	1,41 m	C-5	1,41 m	C-5
7-11	1,57- 1,23		1,57- 1,23	
12	2,04 m	C-13, C-14	2,18 dt (6,93; 2,61)	C-11, C-13, C-14
13	5,81ddt (17,04; 10,23; 6,63)	C-11, C-12	-----	-----
14α	4,91 m	C-12, C-13		
14β	4,96 m	C-12, C-13		
1'α	1,63 m	C-2, C-3', C-2', C=O	1,63 m	C-2, C-3', C-2', C=O
1'β	1,94 m	C-3, C-3', C-2', C=O	1,94 m	C-3, C-3', C-2', C=O
2'	3,81 ddd	C-3'	3,81 ddd	C-3'

3'α	(9,48;6,54;3,15) 3,65 dd (11,13;3,15)	C-2', C-1'	(9,48;6,54;3,15) 3,65 dd (11,13;3,15)	C-2', C-1'
3'β	3,52 dd (11,13;6,54)	C-2', C-1'	3,52 dd (11,13;6,54)	C-2', C-1'

Obs: Continuação da página 99.

5.4. Atividade antifúngica e antibacteriana

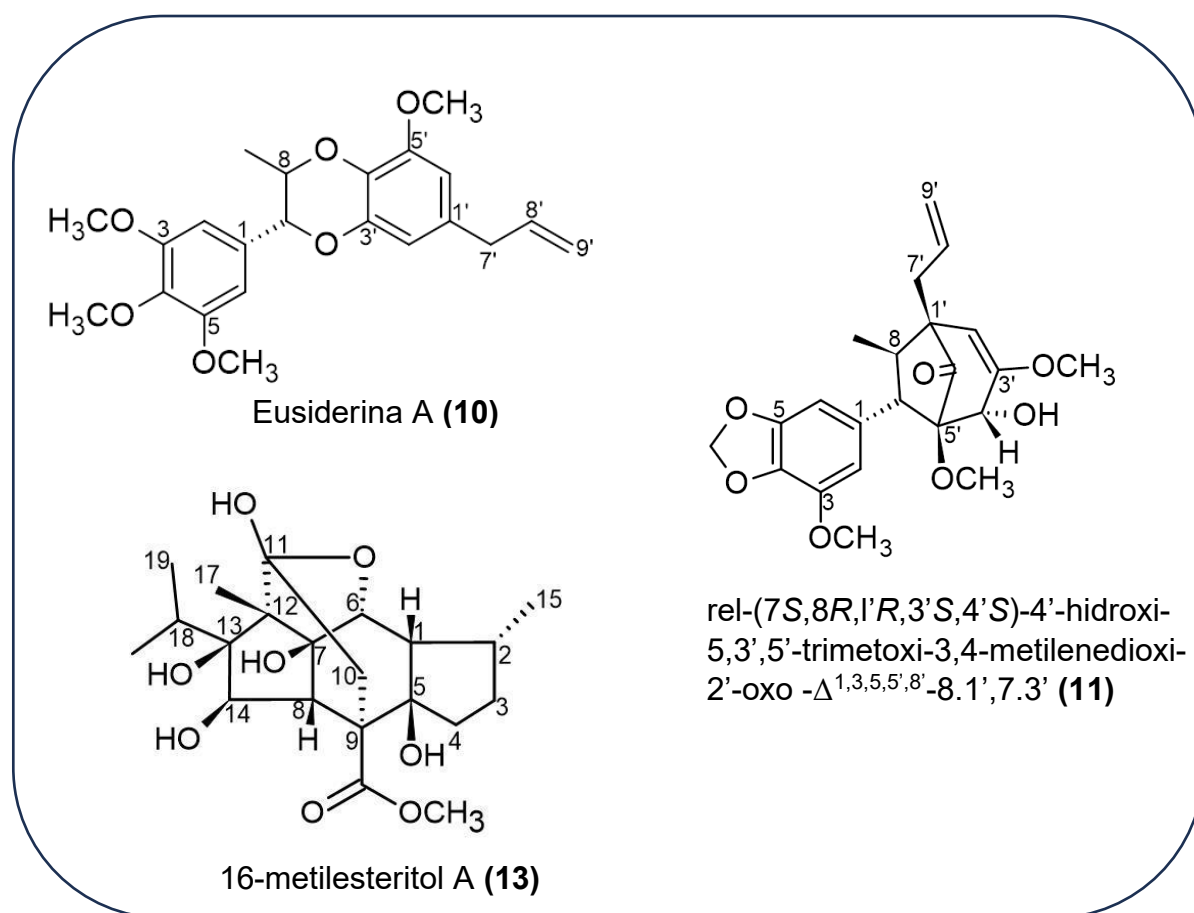
5.4.1 Atividade antifúngica sobre as cepas de *Candida* e *Cryptococcus*

Os resultados encontrados para os testes *in vitro* das substâncias **10**, **11** e **13** (Quadro 7) provenientes dos resíduos de madeira de *Ocotea neesiana* frente às diferentes linhagens de fungos *Candida albicans* (ATCC 60193), *Candida krusei* (ATCC 34135), *Cryptococcus gatii* (CFP55) e *Cryptococcus neoformans* (CFP59) encontram-se na Tabela 27.

Tabela 27. Resultados da CIM das substâncias sobre as cepas de fungos.

Substâncias	<i>Candida albicans</i> (µg/mL)	<i>Candida krusei</i> (µg/mL)	<i>Cryptococcus neoformans</i> (µg/mL)	<i>Cryptococcus gatii</i> (µg/mL)
Eusiderina A (10)	325	325	325	162,5
rel-(7S,8R,1'R,3'S,4'S)-4'-Hidroxi-5,3',5'-trimetoxi-3,4-metilenodioxi-2'-oxo-Δ^{1,3,5,5',8'}-8.1',7.3' (11)	325	325	81,2	162,5
16- Metilesteritol A (13)	325	S.A	40,6	81,2
Fluconazol	0,25	32	0,5	1

Os resultados demonstram que ao comparar as duas cepas testadas percebe que houve maior inibição para as cepas de *Cryptococcus* do que para as cepas de *Candida*. Na cepa de *Candida* ocorreu uma baixa inibição para todas as substâncias testadas, sendo na maior concentração de 325 µg/mL, e nesta concentração também para LAM-9.6.P6 (**10**) para *C. neoformans*. Os resultados mais expressivos encontram-se na cepa de *Cryptococcus*, onde o diterpeno LAM-14.4.25 (**13**) apresentou inibição de 100% na concentração 40,6 µg/mL para *C. neoformans* e 81,2 µg/mL para *C. gatii*. Já para a neolignana LAM-13.S (**11**) em *C. neoformans* e *C. gatii* mostrou-se ativa com 99,9% de inibição nas concentrações, 81,2 e 162,5 µg/mL respectivamente.



Quadro 7. Estrutura química das substâncias testadas no ensaio antifúngico.

5.4.2 Atividade antibacteriana contra *Xanthomonas citri* subs. *Citri*

A CIM e CBM foram determinadas e são mostradas na Tabela 28. Os valores de CIM e CBM foram idênticos para os compostos testados, sugerindo ação bactericida eficaz. O resultado indica que a mesma concentração capaz de inibir o crescimento bacteriano também é suficiente para eliminar 99,9% das células viáveis (Albuquerque *et al.*, 2023). Assim, mesmo que as bactérias estejam posteriormente em condições favoráveis, o crescimento não será retomado, confirmando o efeito letal do composto sobre o microrganismo.

Tabela 28. Atividade antibacteriana de substâncias isolados de *Ocotea neesiana* e *Sextonia rubra*.

Espécies	Substâncias e extratos	CIM	CBM	CIM	CBM
		2000-62,5 (µg/mL)	2000-125,0 (µg/mL)	400-12,5 (µg/mL)	400-25,0 (µg/mL)
<i>Ocotea neesiana</i>	1	62,5	62,5	50,0	50,0
	10	2000	2000		
	11	2000	2000		
	13	250	250		
<i>Sextonia rubra</i>	SRH	2000	2000		
	SRM	1000	1000		
	16 e 17	>2000	>2000		

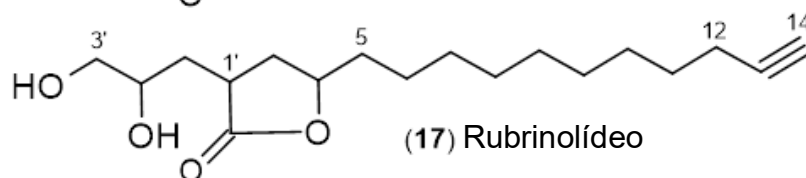
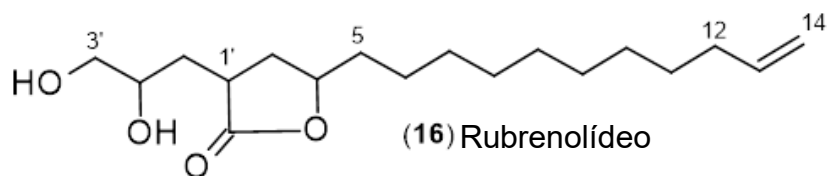
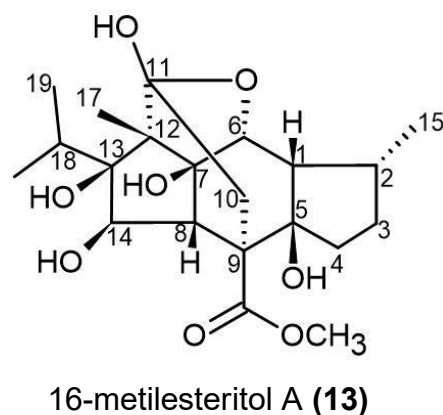
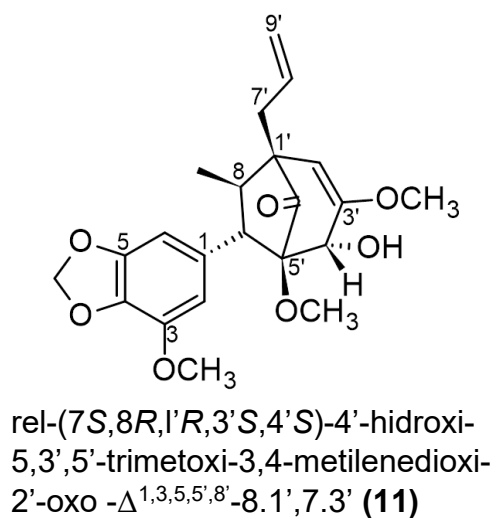
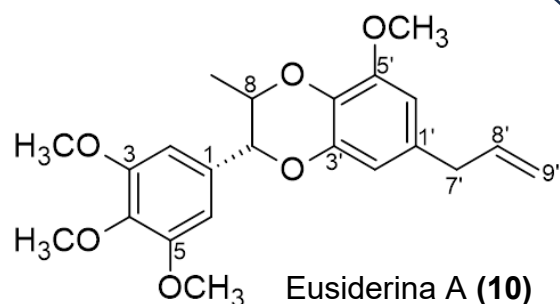
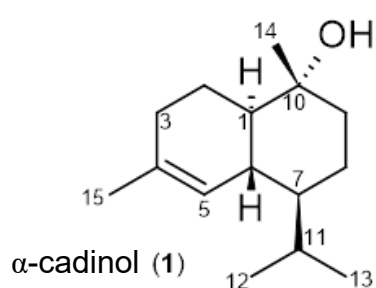
Os terpenos (α -cadinol (**1**) e 16-metilesteritol A (**13**)) exibiram atividade antibacteriana a 50 e 250 $\mu\text{g mL}^{-1}$ contra Xcc in vitro. Verificou-se que o α -cadinol apresentou uma atividade inibitória significativamente mais forte do que o controle positivo, sulfato de cobre (CIM = 250 $\mu\text{g mL}^{-1}$), com CIM de 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Neolignanas com diferentes esqueletos não apresentaram atividade antibacteriana, assim como as γ -lactonas (rubrenolídeo (**16**) e rubrinolídeo (**17**)), apesar de seus extrato metanólico SRM apresentar CIM e CBM de 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e esta mistura representar 30% do extrato. Isso pode ser justificado pelo efeito do sinergismo com outras substâncias ou que outras substâncias no extrato que provocaram essa inibição. Vale ressaltar que esta é o primeiro relato de ensaio frente Xcc com as classes de neolignanas e γ -lactonas.

Na literatura, existem poucos relatos sobre os efeitos antibacterianos de compostos isolados contra a bactéria Xcc. Silva *et al.* (2024) fornecem informações que justificam que a atividade anti-*Xanthomonas citri* do óleo essencial pode estar relacionada aos sesquiterpenos espatulenol, β -cariofileno e óxido de cariofileno. O espatulenol puro também apresenta atividade contra Xcc (CIM 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$).

Utilizou-se o α -cadinol no ensaio antibacteriano, e este sesquiterpeno é normalmente identificado como um componente de óleos essenciais. Existem poucos estudos conhecidos sobre o mecanismo de atividade antibacteriana de pequenas moléculas, como os terpenos de óleos essenciais, mas uma característica importante é sua hidrofobicidade, que permite que se dividam entre os lipídios da membrana celular bacteriana e mitocôndrias, rompendo as estruturas e tornando-as mais

permeáveis (Sikkema *et al.*, 1995). Sesquiterpenos com esqueleto de cadinano são considerados bons candidatos à atividade antibacteriana, portanto, o grupo hidroxila C-10 e as ligações duplas em C-4 e C-5 podem contribuir para a atividade antibacteriana (Li *et al.*, 2022^c).



Quadro 8. Estrutura química das substâncias testadas contra *Xanthomonas citri* subsp. *citri*.

7. CONCLUSÃO

O estudo fitoquímico das espécies *Sextonia rubra* e *Ocotea neesiana* proporcionou maior conhecimento do perfil químico e potencial biológico dessas espécies. Para *Sextonia rubra* pode-se isolar a esclerodina e identificar em mistura o rubrenolídeo e rubrinolídeo, estes representam cerca de 30% do extrato metanólico.

Em *O. neesiana* ocorreu a predominância da classe de sesquiterpenos (α -cadinol, α -muurolol, ent-T-muurolol, T-cadinol e 1-epi-cubenol), além do monoterpeneo α -terpineol, fenilpropanoides (apiol e dilapiol), esteroide (β -sitosterol), flavonoide (catequina), neolignanas eusiderina A, relatada a primeira vez no gênero *Ocotea*, rel-(7*S*,8*R*,1'*R*,3'*S*,4'*S*)-4'-hidroxi-5,3',5'-trimetoxi-3,4-metilenedioxi-2'-oxo $\Delta^{1,3,5,5',8'}$ -8,1',7,3') e rel-(7*S*,8*R*,1'*R*,3'*S*,4'*R*)-4'-hidroxi-5,3',5'-trimetoxi-3,4-metilenodioxi-2'-oxo $\Delta^{1,3,5,5',8'}$ -8,1',7,3' inédita na literatura, assim como o diterpeno 16-metilesteritol A. Com exceção do α -terpineol, todas as substâncias estão sendo reportadas pela primeira vez para espécie *O. neesiana*. É importante ressaltar a conservação dessas substâncias em madeira utilizada por aproximadamente 45 anos; portanto, os compostos encontrados provavelmente contribuíram para a preservação da madeira, uma vez que não foram detectados danos causados por organismos xilófagos.

Na busca por substâncias com potencial biológico, para o ensaio antifúngico o diterpeno 16-metilesteritol A mostrou os melhores resultados para *C. neoformans* e *C. gatti*. com CIM de 40,6 $\mu\text{g/mL}$ e 81,2 respectivamente. Já para atividade bactericida contra *Xanthomonas citri* subsp. *citri* o sesquiterpeno α -cadinol apresentou um resultado mais promissor com CIM e CBM de 50 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ sendo abaixo do controle positivo e o diterpeno 16-metilesteritol A apresentou o mesmo valor do controle positivo com 250 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. Apesar das neolignanas γ -lactonas não apresentarem resultado promissor ressalta-se que é a primeira vez que é relatado ensaios com essas classes frente *Xanthomonas citri* subsp. *citri*.

Este trabalho descreveu a relevância dos estudos dos metabólitos secundários destas espécies, assim como, do estudo fitoquímico e biológico da madeira para plantas que ainda não possuem relatos químicos dessa parte vegetativa. Os resultados indicam que substâncias com potencial biológico podem surgir a partir de metabólitos secundários isoladas de resíduos de madeira.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, R. P. *Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy*. Illinois: Allured Publishing Corporation, 2017. 809 p.

AHMAD, A.; KAHN, A.; KUMAR, P.; BHATT, R. P.; MANZOOR, N. Antifungal activity of *Coriaria nepalensis* essential oil by disrupting ergosterol biosynthesis and membrane integrity against *Candida*. *Yeast*, v. 28, n. 8, p. 611-617, 2011.

ALBUQUERQUE, R. N. O.; MARTINS, C. H. G.; SOUZA, J. H.; SACRAMENTO, V. M.; OLIVEIRA, D. A.; MELO-JÚNIOR, A. F.; MENEZES, E. V.; SOUZA, L. F.; ROYO, V. A. Evaluation of *Stryphnodendron polyphyllum* Mart. pollen as antioxidant and antibacterial potential. *Anales de Biología*, v. 45, p. 33-41, 2023.

ALCÂNTARA, J. M.; YAMAGUCHI, K. K.; VEIGA JUNIOR, V. F. Óleos essenciais de *Sextonia rubra* (Mez) van der Werff (Lauraceae). *Acta Amazonica*, v. 43, p. 113-116, 2013.

ALCÂNTARA, J. M.; NASCIMENTO, C. C.; MARQUES, M. O. M.; FACANALI, R.; FREITAS, J. A.; LIMA, M. P. Volatile composition, anatomical and technological aspects of demolition wood from *Ocotea neesiana* (Miq.) Kosterm. *Review of Research*, v. 8, n. 5, p. 1-7, 2019.

ALMEIDA, R. R. P. de; SOUTO, R. N. P.; BASTOS, C. N.; SILVA, M. H. L. da; MAIA, J. G. S. Chemical variation in *Piper aduncum* and biological properties of its dillapiol-rich essential oil. *Chemistry & Biodiversity*, v. 6, p. 1427-1434, 2009.

ANDREI, C. C.; BRAZ-FILHO, R.; GOTTLIEB, O. R. Allylphenols from *Ocotea cymbarum*. *Phytochemistry*, v. 27, n. 12, p. 3992-3993, 1988.

ARCHILA, G.; CUCA SUAREZ, L. E. Phytochemical study of leaves of *Ocotea caudata* from Colombia. *Natural Product Research*, v. 32, n. 2, p. 195-201, 2018.

ARIF, M.; BENDI, B.; TOMA-SABBAGH, T. Construction waste management in India: an exploratory study. *Construction Innovation*, v. 12, n. 2, p. 133-155, 2012.

AYRES, M. C. C.; CHAVES, M. H.; RINALDO, D.; VILEGAS, W.; VIEIRA JÚNIOR, G. M. Constituintes químicos e atividade antioxidante de extratos das folhas de *Terminalia fagifolia* Mart. et Zucc. *Química Nova*, v. 32, n. 6, p. 1509-1512, 2009.

BARROS, A. C.; VERÍSSIMO, A. *A expansão madeireira na Amazônia: impactos e perspectivas para o desenvolvimento sustentável no Pará*. Belém: Imazon, 2002. 7 p.

BALLABENI, V.; TOGNOLINI, M.; GIORGIO, C.; BERTONI, C.; BRUNI, R.; BAROCELLI, E. *Ocotea quixos* Lam. essential oil: in vitro and in vivo investigation on its anti-inflammatory properties. *Fitoterapia*, v. 81, p. 289-295, 2010.

BATISTA, A. N. L.; BATISTA JUNIOR, J. M.; LOPEZ, S. N.; FURLAN, M.; CAVALHEIRO, A. J.; BOLZANI, D. H. S. Aromatic compounds from three Brazilian Lauraceae species. *Química Nova*, v. 33, n. 2, p. 321-323, 2010.

BEHLAU, F.; BELASQUE JUNIOR, J. *Cancro cítrico: a doença e seu controle*. 1. ed. Araraquara: Fundecitrus, 2014.

BEHLAU, F.; CANTEROS, B. I.; MINSAVAGE, G. V. et al. Molecular characterization of copper resistance genes from *Xanthomonas citri* subsp. *citri* and *Xanthomonas alfalfae* subsp. *citrumelonis*. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 77, p. 4089-4096, 2011.

BETIM, F. C. M.; OLIVEIRA, C. F.; SOUZA, A. M.; SZABO, E. M.; MIGUEL, O. G.; MIGUEL, M. D.; DIAS, J. F. G. *Ocotea nutans* (Nees) Mez (Lauraceae): chemical composition, antioxidant capacity and biological properties of essential oil. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 55, p. 18284, 2019.

BFG. Growing knowledge: an overview of seed plant diversity in Brazil. *Rodriguésia*, v. 66, n. 4, p. 1085-1113, 2015.

BRASIL. 2023a. MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. 2023. Biodiversidade Brasileira. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br>>. Acesso em: 03 de fevereiro de 2023.

BRASIL. 2023b. MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE E MUDANÇA DO CLIMA. 2023. Biodiversidade. Disponível em: < <https://www.gov.br/mma/pt-br/assuntos/biodiversidade>>. Acesso em: 03 de outubro de 2023.

CAMARGO, M. J.; MIRANDA, M. L. D.; KAGAMIDA, C. M.; RODRIGUES, E. D.; GRACEZ, F. R. G. W. S. Sesquiterpenes of *Ocotea lancifolia* (Lauraceae). *Química Nova*, v. 36, n. 7, p. 1008-1013, 2010.

CARVALHO, M. G. D.; YOSHIDA, M.; GOTTLIEB, H. E. Bicyclooctanoid, carinatone and megaphone type neolignans from *Ocotea porosa*. *Phytochemistry*, v. 27, p. 2319-2323, 1988.

CHAI, X. Y.; BAI, C. C.; SHI, H. M.; XU, Z. R.; REN, H. Y.; LI, F. F.; LU, Y. N.; SONG, Y. L.; TU, P. F. Six insecticidal isoryanodane diterpenoids from the bark and twigs of *Itoa orientalis*. *Tetrahedron*, v. 64, p. 5743-5747, 2008.

CHAVERRI, C.; DIAZ, C.; CICCIO, J. F. Chemical analysis of essential oils from *Ocotea gomezii* W. C. Burger and *Ocotea morae* Gomez-Laur. (Lauraceae) collected at "Reserva Biológica Alberto M. Brenes" in Costa Rica and their cytotoxic activity on tumor cell lines. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 22, p. 741-745, 2011.

CHAVEZ, J. P.; GOTTLIEB, O. R.; YOSHIDA, M. 10-Desmethyl-1-methyleudesmanes from *Ocotea corymbosa*. *Phytochemistry*, v. 39, n. 4, p. 849-852, 1995.

CLAESON, P.; ANDERSSON, R.; SAMUELSSON, G. T-Cadinol: a pharmacologically active constituent of scented myrrh: introductory pharmacological characterization and high field ¹H- and ¹³C-NMR data. *Planta Medica*, v. 57, p. 352-356, 1991.

CLSI - Clinical And Laboratory Standards Institute. 2008. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts, CLSI M27 – A3 (28). 3rd ed.

CORADIN, V. T. R.; CAMARGOS, J. A. A.; MARQUES, L. F.; SILVA JÚNIOR, E. R. *Madeiras similares ao mogno (Swietenia macrophylla King.): chave ilustrada para identificação anatômica em campo*. Brasília: SFB, 2009. 28 p.

COY-BARRERA, E. D.; CUCA-SUÁREZ, L. E.; SEFKOW, M. PAF-antagonistic bicyclo[3.2.1]octanoid neolignans from leaves of *Ocotea macrophylla* Kunth. (Lauraceae). *Phytochemistry*, v. 70, n. 10, p. 1309-1314, 2009.

CUSTÓDIO, D. L.; VEIGA JUNIOR, V. F. Lauraceae alkaloids. *RSC Advances*, v. 4, p. 21864-21890, 2014.

DA SILVA, R. R.; FERNANDES, C. C.; GONÇALVES, D. S.; MARTINS, C. H. G.; MIRANDA, M. L. D. Chemical composition and anti-*Xanthomonas citri* activities of essential oils from *Schinus molle* L. fresh and dry leaves and of its major constituent spathulenol. *Natural Product Research*, v. 38, p. 3476, 2024.

DAMASCENO, C. S. B.; HIGAKI, F. N. T.; DIAS, J. F. G.; MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G. Composição química e atividades biológicas de óleos essenciais na família Lauraceae: uma revisão sistemática da literatura. *Planta Medica*, v. 85, p. 1054-1072, 2019.

DAMASCENO, C. S. B.; OLIVEIRA, L. F.; SZABO, E. M.; SOUZA, A. M.; DIAS, J. F. G.; MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G. Chemical composition, antioxidant and biological activity of *Ocotea bicolor* Vattimo-Gil (Lauraceae) essential oil. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 53, n. 4, p. 1-8, 2017.

DAVID, J. M.; YOSHIDA, M.; GOTTLIEB, O. R. Neolignans from bark and leaves of *Ocotea porosa*. *Phytochemistry*, v. 36, p. 491-499, 1994.

DIAS, D. A.; YOSHIDA, M. Further neolignans from *Ocotea porosa*. *Phytochemistry*, v. 25, p. 2613-2616, 1986.

DODSON, C. D.; STERMITZ, F. R.; OSCAR, C. C.; JANZEN, D. H. Neolignans from fruits of *Ocotea veraguensis*. *Phytochemistry*, v. 26, p. 2037-2040, 1987.

DOS SANTOS, J. G.; FERNANDES, C. C.; SILVA, N. B. S.; CALEFI, G. G.; MARTINS, C. H. G.; VOLPINI, G. A.; CROTTI, A. E. M.; RIBEIRO, A. B.; ESPERANDIM, T. R.; TAVARES, D. C.; BATALINI, C.; MIRANDA, M. L. D. Volatile compounds of hexane extract from *Pterodon pubescens* Benth seeds and its significant *in vitro* potential against different bacterial strains. *Natural Product Research*, v. 39, p. 1428, 2023.

DREWES, S. E.; HORN, M. M.; SEHLAPELO, B. M.; RAMESAR, N.; FIELD, J. S.; SHAW, S.; SANDOR, P. Isoicobullenone and a neolignan ketone from *Ocotea bullata* bark. *Phytochemistry*, v. 38, p. 1505–1508, 1995.

FEDALTO, L. C.; MENDES, I. C. A.; CORADIN, V. T. R. Madeiras da Amazônia: descrição do lenho de 40 espécies ocorrentes na Floresta Nacional do Tapajós. Brasília: IBAMA, 1989. 156 p.

FELICIO, J. D. A.; MOTIDOME, M.; YOSHIDA, M. Further neolignans from *Ocotea aciphylla*. *Phytochemistry*, v. 25, p. 1707–1710, 1986.

ERENCE, Christopher M.; GOCHEZ, Alberto M.; BEHLAU, Franklin; WANG, Nian; GRAHAM, James H.; JONES, Jeffrey B. Recent advances in understanding *Xanthomonas citri* subsp. *citri* pathogenesis and citrus canker disease management. *Molecular Plant Pathology*, v. 19, p. 1302-1318, 2018.

FLORA E FUNGA DO BRASIL. 2025^a. *Ocotea neesiana* (Miq.) Kosterm. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB84376>>. Acesso em: 03/09/2025.

FLORA E FUNGA DO BRASIL. 2025^b. *Sextonia rubra* (Mez) van der Werff. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: < <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB84433> >. Acesso em: 03/09/2025.

FRANCA, N. C.; GOTTLIEB, O. R. Constitutions of rubrenolide and rubrymolide: an alkene-alkyne pair from *Nectandra rubra*. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*, n. 1, p. 514–515, 1972.

FEDALTO, L. C.; MENDES, I. C. A.; CORADIN, V. T. R. *Madeiras da Amazônia: descrição do lenho de 40 espécies ocorrentes na Floresta Nacional do Tapajós*. Brasília: IBAMA, 1989. 156 p.

FU, T.; TOUBOUL, D.; DELLA-NEGRA, S.; HOUEL, E.; AMUSANT, N.; DUPLAIS, C.; FISHER, G. L.; BRUNELLE, A. Tandem mass spectrometry imaging and in situ characterization of bioactive wood metabolites in Amazonian tree species *Sextonia rubra*. *Analytical Chemistry*, v. 90, p. 7535–7543, 2018.

JUAN, C. M. V.; MAIA, J. S.; YOSHIDA, M. Neolignans from an *Aniba* species. *Phytochemistry*, v. 19, p. 474–476, 1980.

GARCEZ, W. S.; GARCEZ, F. R.; DA SILVA, L. M. G. E.; SHIMABUKURO, A. A. Indole alkaloid and other constituents from *Ocotea minarum*. *J. Braz. Chem. Soc.*, v. 16, p. 1382–1386, 2005.

GARETT, R.; ROMANOS, M. T. V.; BORGES, R. M.; SANTOS, M. G.; ROCHA, L.; DA SILVA, A. J. R. Antiherpetic activity of a flavonoid fraction from *Ocotea notata* leaves. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 22, p. 306–313, 2012.

GIACOMAZZI, J.; BAETHGEN, L.; CARNEIRO, L. C.; MILLINGTON, M. A.; DENNING, D. W.; COLOMBO, A. L.; PASQUALOTTO, A. C. The burden of serious human fungal infections in Brazil. *Mycoses*, v. 59, n. 3, p. 145–150, 2016.

GONTIJO, D. C.; BRANDÃO, G. C.; GONTIJO, P. C.; OLIVEIRA, A. B.; DIAZ, M. A. N.; FIETTO, L. G.; LEITE, J. P. V. Identification of phenolic compounds and biologically related activities from *Ocotea odorífera* aqueous extract leaves. *Food Chem.*, v. 230, p. 618–626, 2017.

GOVINDACHARI, T. R.; SANDHYA, G.; RAJ, S. P. G. Azadirachtins H and I: two new tetranortriterpenoids from *Azadirachta indica*. *Journal of Natural Products*, v. 55, n. 5, p. 596–601, 1992.

GOTTLIEB, O. R. Review article chemosystematics of the Lauraceae. *Phytochemistry*, v. 11, p. 1537–1570, 1972.

GOTTWALD, T. R.; GRAHAM, J. H.; SCHUBERT, T. S. Citrus canker: the pathogen and its impact. *Plant Health Progress*, 2002.

GOMES, M. C. C. P.; YOSHI, M.; GOTTLI, O. R.; JUAN, C.; MARTINEZ, C.; GOTTLIEB, H. E. Bicyclo(3.2.1) octane neolignans from an *Ocotea* species. *Phytochemistry*, v. 22, p. 269–273, 1983.

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

HARAGUCHI, M.; MOTIDOME, M.; YOSHIDA, M.; GOTTLIEB, O. R. Neolignans from *Ocotea catharinensis*. *Phytochemistry*, v. 22, p. 561–563, 1983.

HUSSAIN, H.; JOHN, M.; AL-HARRASI, A.; HASSAN, A. S. Z.; ABBAS, G.; RANAD, U. A.; GREEN, I. R.; SCHULZ, B.; KROHN, K. Phytochemical investigation and antimicrobial activity of an endophytic fungus *Phoma* sp. *Journal of King Saud University-Science*, v. 27, p. 92–95, 2015.

IBAMA. Espécies da flora ameaçadas de extinção. Disponível em: <<https://www.ibama.gov.br>> Acesso em: 29 jul. 2023.

IBAMA. Padronização da nomenclatura comercial brasileira das madeiras tropicais amazônicas. Brasília: IBAMA, 1991. 85 p.

IBAMA. Madeiras tropicais brasileiras. 2. ed. Brasília: IBAMA-LPF, 2002. 152 p.

ISHIGE, M.; MOTIDOME, M.; YOSHIDA, M.; GOTTLIEB, O. R. Neolignans from *Ocotea catharinensis*. *Phytochemistry*, v. 30, p. 4121–4128, 1991.

KARTIKA, I. G. A. A.; BANG, I. J.; RIANI, C.; INSANU, M.; KWAK, J. H.; CHUNG, K. H.; ADNYANA, I. K. Isolation and characterization of phenylpropanoid and lignan compounds from *Peperomia pellucida* [L.] Kunth with estrogenic activities. *Molecules*, v. 25, n. 4914, p. 1–18, 2020.

KOJIMA, H.; SATO, N.; HATANO, A.; OGURA, H. Sterol glucosides from *Prunella vulgaris*. *Phytochemistry*, v. 29, p. 2351-2355, 1990.

LANZA, F. E.; MARTI, W.; SILVA, G. J.; BEHLAU, F. Characteristics of citrus canker lesions associated with premature drop of sweet orange fruit. *Phytopathology*, v. 109, n. 1, p. 44–51, 2019.

LORENZI, H. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. São Paulo: Plantarum, 1992. 352 p.

LI, Y.; XIE, S.; YING, J.; WEI, W.; GAO, K. Chemical structures of lignans and neolignans isolated from Lauraceae. *Molecules*, v. 30, p. 3164, 2018a.

LI, A.-P.; HE, Y.-H.; ZHANG, S.-Y.; SHI, Y.-P. Antibacterial activity and action mechanism of flavonoids against phytopathogenic bacteria. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, v. 188, p. 105221, 2022^b.

LI, H.-Y.; YU, W.-Q.; ZHANG, X.-Z.; SUN, F.; SHI, T.; GUO, H.-Y.; ZHOU, J.; ZHANG, L.-M. Antibacterial and antifungal sesquiterpenoids: chemistry, resource, and activity. *Biomolecules*, v. 12, p. 1271, 2022c.

LIANG, Y.; ZHANG, L.; LAI, C.; OUYANG, Z.; ZHANG, J. Evaluation of antibacterial activity of compounds isolated from the peel of Newhall navel orange. *Natural Product Research*, v. 37, p. 2060, 2023.

LORDELLO, A. L. L.; YOSHIDA, M. Neolignans from leaves of *Ocotea catharinensis*. *Phytochemistry*, v. 46, n. 4, p. 741-744, 1997.

LORENZO, D.; LOAYZA, I.; LEIGUE, L.; FRIZZO, C.; DELLACASSA, E.; MOYNA, P. Asaricin, the main component of *Ocotea opifera* Mart. essential oil. *Natural Product Letters*, v. 15, n. 3, p. 163-170, 2001.

MADDA, J.; KHANDREGULA, S.; BANDARI, S. K.; KOMMU, N.; YADAV, J. S. Stereoselective total synthesis of rubrenolide and rubrynlolide. *Tetrahedron: Asymmetry*, v. 25, n. 22, p. 1494–1500, 2014.

MARCOTULLIO, M. C.; CURINI, M.; BECERRA, J. X. An ethnopharmacological, phytochemical and pharmacological review on lignans from Mexican *Bursera* spp. *Molecules*, v. 23, p. 1976–1995, 2018.

MARQUES, M. O. M.; GOMES, M. C. C. P.; YOSHIDA, M. Bicyclo[3.2.1] octanoid neolignans from *Ocotea porosa*. *Phytochemistry*, v. 31, p. 275–277, 1992.

MELO, L. E. S.; CRUZ, K. S.; SOARES, P. I. L.; NASCIMENTO, C. C.; SOUZA, J. V. B.; MARCELINO, B. M. M.; ANDRADE NETO, V. F.; FERREIRA, A. G.; LIMA, M. P. Antifungal and antiplasmodial activity of isolated compounds from *Handroanthus serratifolius* (Vahl) S. Grose sawdusts. *International Journal of Advanced Engineering Research and Science*, v. 6, p. 270–275, 2019.

MIRZAEI-NAJAFGHOLI, H.; TARIGHI, S.; GOLMOHAMMADI, M.; TAHERI, P. The effect of citrus essential oils and their constituents on growth of *Xanthomonas citri* subsp. *citri*. *Molecules*, v. 22, p. 591, 2017.

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

MORAIS, L. C. S. L.; ALMEIDA, R. N.; DACUNHA, E. V. L.; DASILVA, M. S.; BARBOSAFILHO, J. M.; GRAY, A. I. Further lignans from *Ocotea duckei*. *Pharm. Biol.*, v. 37, p. 144–147, 1999.

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

NOGUEIRA, C. R.; CARBONEZI, L. H.; DE OLIVEIRA, C. T. F.; GARCEZ, W. S.; GARCEZ, F. R. Sesquiterpene derivatives from *Ocotea minarum* leaves. *Phytochemistry Letters*, v. 42, p. 8–14, 2021.

NCCLS. *Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; approved standard – sixth edition*. NCCLS document M7-A6. NCCLS, USA, 2003.

OSIRO, D.; FRANCO, R. W. A.; COLNAGO, L. A. Spectroscopic characterization of the exopolysaccharide of *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* in Cu²⁺ resistance mechanism. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 22, n. 7, p. 1339-1345, 2011.

PALOMINO, C. E.; MALDONADO, M. B.; KEMPFF, M. B.; KSEBATI. Caparratriene, an active sesquiterpene hydrocarbon from *Ocotea caparrapi*. *J. Nat. Prod.*, v. 59, n. 1, p. 77–79, 1996.

PAN, J. Y.; CHEN, S. L.; YANG, M. H.; WU, J.; SINKKONEN, J.; ZOU, K. An update on lignans: natural products and synthesis. *Natural Product Reports*, v. 26, p. 1251–1292, 2009.

PILKINGTON, L. I.; BARKER, D. Asymmetric synthesis and CD investigation of the 1,4-benzodioxane lignans Eusiderins A, B, C, G, L, and M. *The Journal of Organic Chemistry*, v. 77, n: 18, p. 8156-8166, 2012.

RAKOTONDRAIBE, L. H.; GRAUPNER, P. R.; XIONG, Q.; OLSON, M.; WILEY, J. D. W.; KRAI, P.; BRODIE, P. J.; CALLMANDER, M. W.; RAKOTOBÉ, E.; RATOVOSON, F.; RASAMISON, V. E.; CASSERA, M. B.; HAHN, D. R.; KINGSTON, D. G. I.; FOTSO, S. Neolignans and other metabolites from *Ocotea cymosa* from the Madagascar rain forest and their biological activities. *Journal of Natural Products*, v. 78, p. 431–440, 2015.

REBOUÇAS, A. C.; DA SILVA, C. B.; DALARMI, L.; DE OLIVEIRA, M.; RECH, K. S.; DIAS, J. F. G.; ZANIN, S. M. W.; KERBER, V. A.; MIGUEL, O. G.; MIGUEL, M. D. In vitro antioxidant action of the crude ethanolic extract from the leaves of *Ocotea pulchella* (Nees & Mart.) and their fractions. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, v. 9, n. 6, p. 145–153, 2015.

RICHARD, D.; TRIBOT, N.; BOYER, C.; TERVILLE, M.; BOYER, K.; JAVEGNY, S.; ROUX-CUVELIER, M.; PRUVOST, O.; MOREAU, A.; CHABIRAND, A.; VERNIÈRE, C. First report of copper-resistant *Xanthomonas citri* pv. *citri* pathotype a causing asiatic citrus canker in réunion, France. *Plant Disease*, v. 101, p. 503, 2017.

ROMOFF, P.; YOSHIDA, M.; GOTTLIEB, O. R. Neolignans from *Ocotea aciphylla*. *Phytochemistry*, v. 23, p. 2101–2104, 1984.

ROHWER, J. G.; RICHTER, H. G.; VAN DER WERFF, H. Two new genera of neotropical Lauraceae and critical remarks on the generic delimitation. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, v. 78, p. 388–400, 1991.

RODRIGUES, A. M. S.; THEODORO, P. N. E. T.; EPARVIER, V.; BASSET, C.; SILVA, M. R. R.; BEAUCHÊNE, J.; ESPÍNDOLA, L. S.; STIEN, D. Search for antifungal compounds from the wood of durable tropical trees. *Journal of Natural Products*, v. 73, p. 1706–1707, 2010.

RUTTANAPHAN, L.; PLUEMPANUPAT, V.; BULLANGPOTI, W. Potential insecticidal extracts from *Artocarpus lacucha* against *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. *Journal of Economic Entomology*, v. 116, n. 4, p. 1205–1210, 2023.

SALLEH, W. M. N. H. W.; AHMAD, F. Phytochemistry and biological activities of the genus *Ocotea* (Lauraceae): a review on recent research results (2000-2016). *Applied Pharmaceutical Science*, v. 7, p. 204, 2017.

SCORA, R. W.; SCORA, P. E. Essential leaf oil of *Persea* subgenus *Eriodaphne* and closely related perseoid genera. *Journal of Essential Oil Research*, v. 13, n. 1, p. 37–42, 2001.

SILVA, W. D. D.; BRAZ-FILHO, R. Bicyclooctanoid neolignans from *Ocotea costulatum*. *Phytochemistry*, v. 28, p. 661–662, 1989.

DA SILVA, I. R. R. da; FERNANDES, C. C.; GONÇALVES, D. S.; MARTINS, C. H. G.; MIRANDA, M. L. D. Chemical composition and anti-*Xanthomonas citri* activities of essential oils from *Schinus molle* L. fresh and dry leaves and of its major constituent spathulenol. *Natural Product Research*, v. 38, n. 19, 2024.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMAN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. *Farmacognosia: do produto natural ao medicamento*. Porto Alegre: Artmed, 2017. p. 24.

SIKKEMA, J.; BONT, J. A. de; POOLMAN, B. Mechanisms of membrane toxicity of hydrocarbons. *Microbiological Reviews*, v. 59, n. 2, p. 201-222, 1995.

TAKENAKA, Y.; NAITO, Y.; HOANG LE, D.; HAMADA, N.; TANAHASHI, T. Naphthoquinones and phenalenone derivatives from the cultured lichen mycobionts of *Trypethelium* sp. *Heterocycles*, v. 87, n. 9, p. 1897–1902, 2013.

TAYLOR, S. K.; HOPKINS, J. A.; SPANGENBERG, K. A. Synthesis of (±)-Rubrynolide and a revision of its reported stereochemistry. *The Journal of Organic Chemistry*, v. 56, p. 5951–5955, 1991.

TROPICOS.ORG. Missouri Botanical Garden. 2025^a. Lauraceae. Disponível em: <https://www.tropicos.org/name/42000016>. Acesso em: 03/09/2025.

TROPICOS. Missouri Botanical Garden. 2025^b. *Ocotea neesiana* (Miq.) Kosterm. Disponível em: <https://www.tropicos.org/name/17802482>. Acesso em: 03/09/2025.

TROPICOS. Missouri Botanical Garden. 2025^c. *Sextonia* van der Werff. Disponível em: <<https://www.tropicos.org/name/50109309>>. Acesso em: 03/09/2025.

VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, D. J. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas–liquid partition chromatography. *J. Chromatography*, v. 11, p. 463–467, 1963.

VAN DER WERFF, H. *Sextonia*, a new genus of Lauraceae from South America. *Novon*, v. 7, p. 436–439, 1997.

VAN DER WERFF, H.; RICHTER, H. G. Toward an improved classification of Lauraceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, v. 83, p. 409–418, 1996.

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

VAN DER WERFF, H. Studies in Andean *Ocotea* (Lauraceae) IV. Species with unisexual flowers and densely pubescent leaves, or with erect pubescence or domatia,

occurring above 1000 m in altitude. *A Journal for Botanical Nomenclature*, v. 25, n. 3, p. 343–393, 2017.

WEYERSTAHL, P.; MARSCHALL, H.; THEFELD, K.; SUBBA, G. C. Constituents of the essential oil from the rhizomes of *Hedychium gardnerianum* Roscoe. *Flavour and Fragrance Journal*, v. 13, p. 377–388, 1998.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. *WHO fungal priority pathogens list to guide research, development and public health action*. Geneva: World Health Organization, 2022.

YAP, H. Y. Y.; MURIA-GONZALEZ, M. J.; KONG, B. H.; STUBBS, K. A.; TAN, C. S.; NG, S. T.; TAN, N. H.; SOLOMON, P. S.; FUNG, S. Y.; CHOOI, Y. H. Heterologous expression of cytotoxic sesquiterpenoids from the medicinal mushroom *Lignosus rhinocerotis* in yeast. *Microbial Cell Factories*, v. 16, n. 103, p. 1–13, 2017. (material suplementar)

YOUNG, J. M.; DYE, D. W.; BRADBURY, J. F.; PANAGOPOULOS, C. G.; ROBBS, C. F. Proposed nomenclature and classification for plant pathogenic bacteria. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, v. 21, p. 153-177, 1978.

ZANIN, S. M. W.; LORDELLO, A. L. L. Alcaloides aporfinóides do gênero *Ocotea* (Lauraceae). *Química Nova*, v. 30, p. 92, 2007.

9. ANEXO

SUBSTÂNCIAS 1, 2 e 3

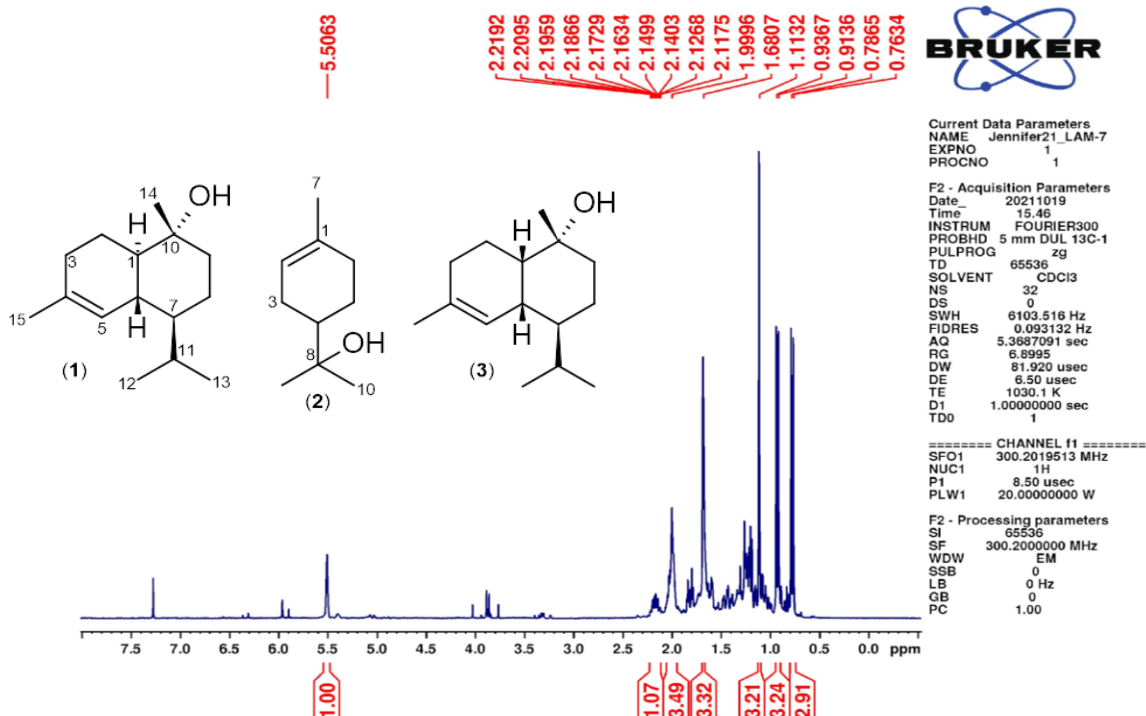


Figura S1. Espectro de RMN ^1H das substâncias 1, 2 e 3 (300 MHz, CDCl_3).

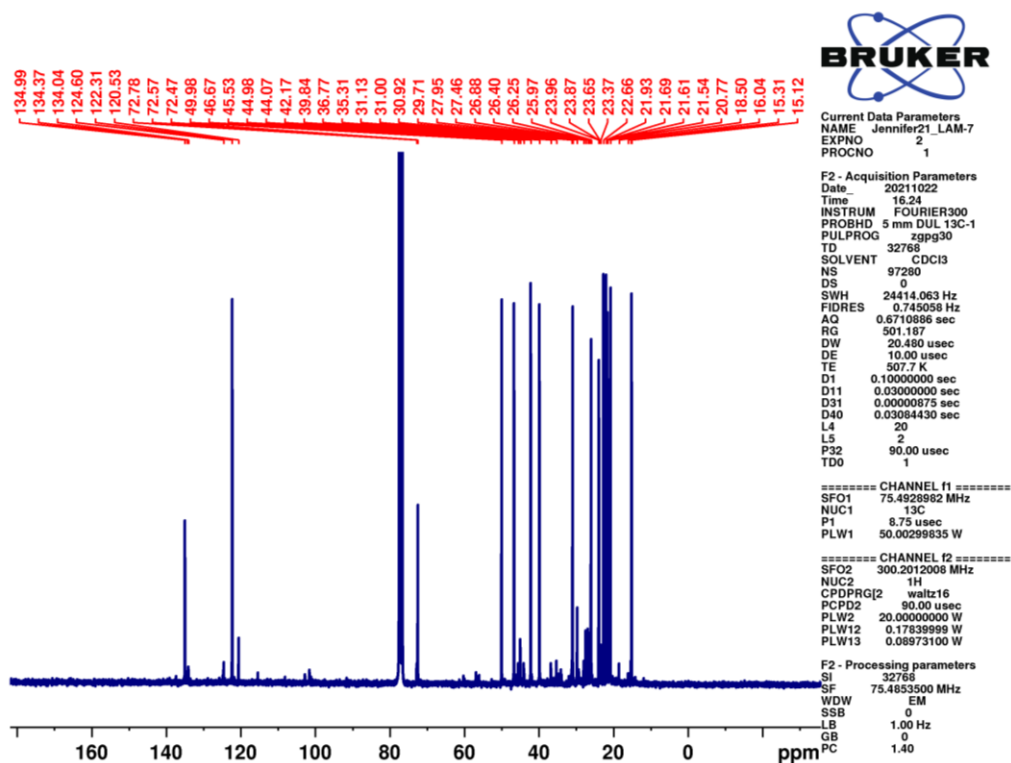


Figura S2. Espectro de RMN ^{13}C das substâncias 1, 2 e 3 (75 MHz; CDCl_3).

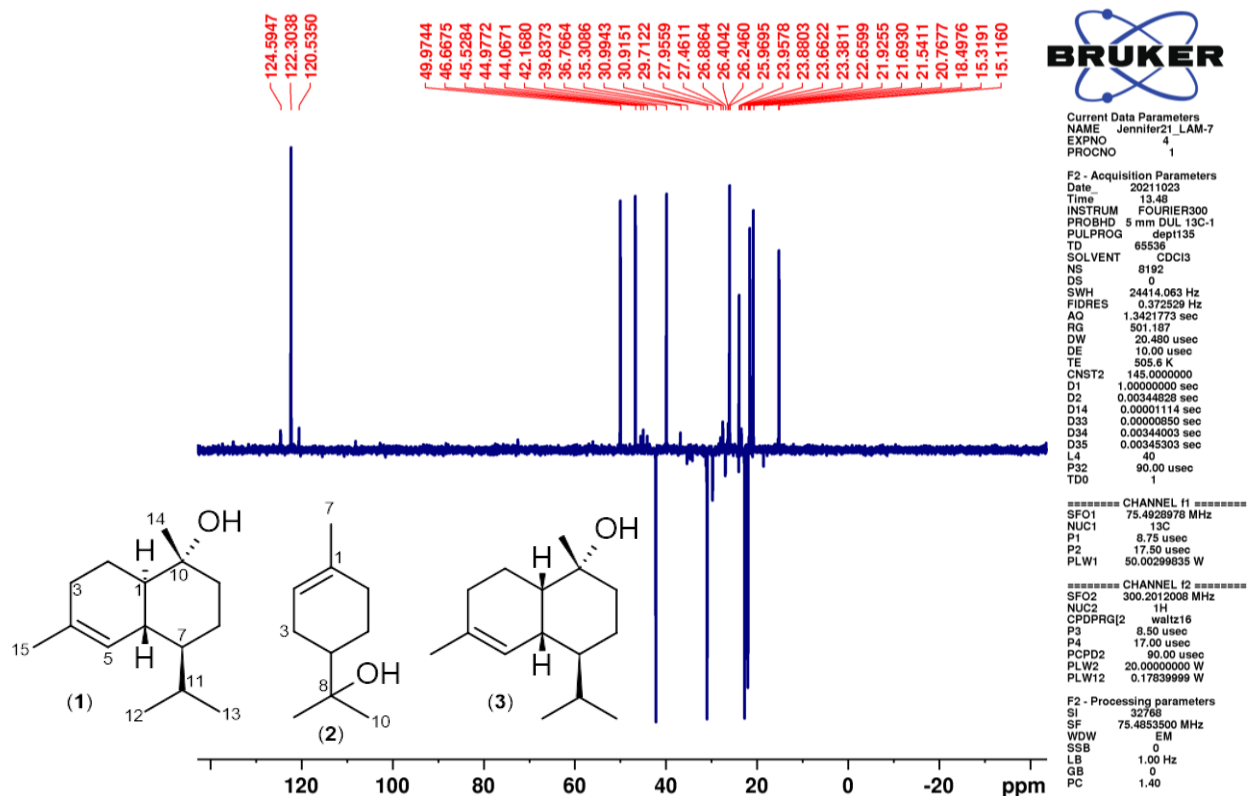


Figura S3. Espectro de DEPT -135 das substâncias 1, 2 e 3 (75 MHz; CDCl₃).

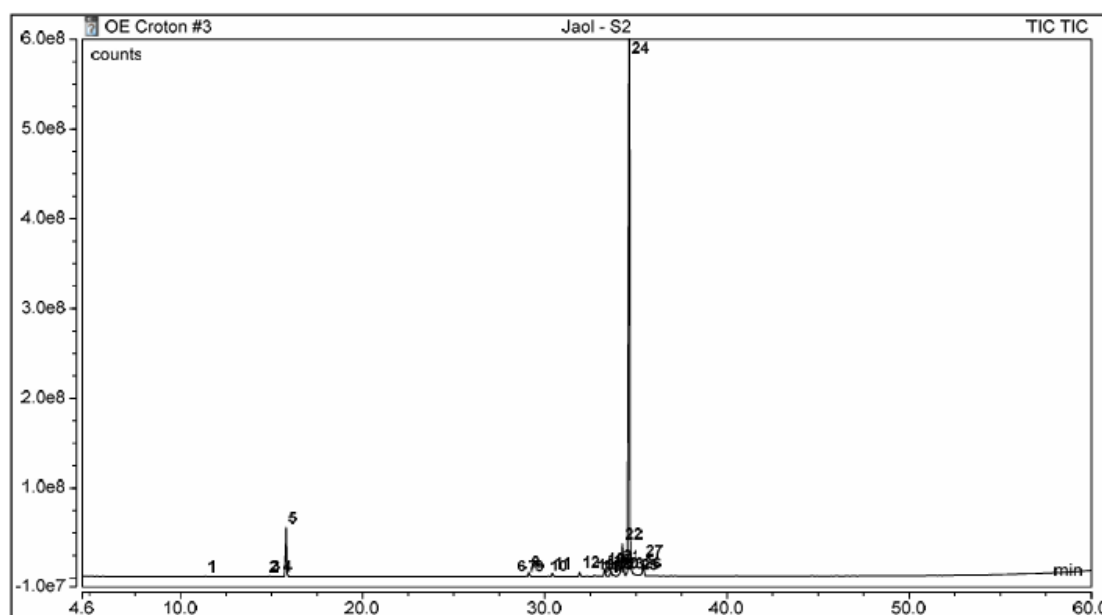


Figura S4. Cromatograma de íons totais obtidos por CG-EM de LAM-7.

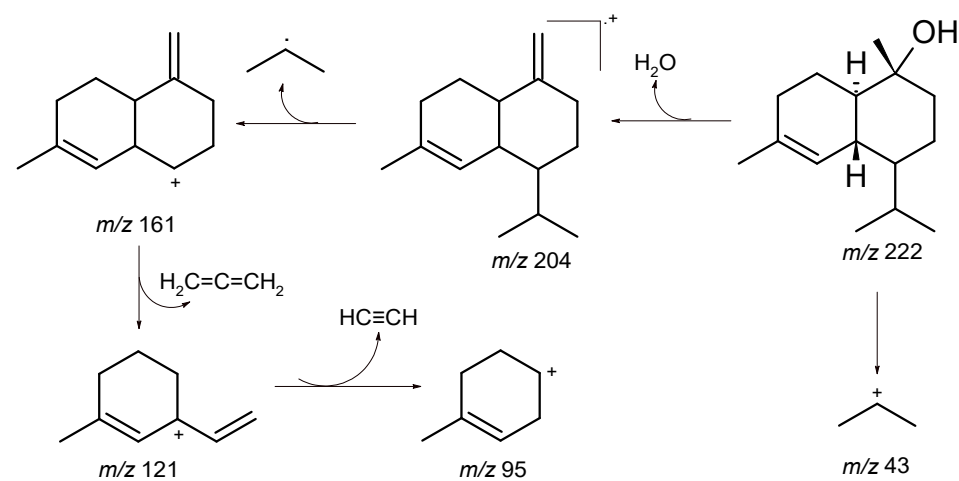
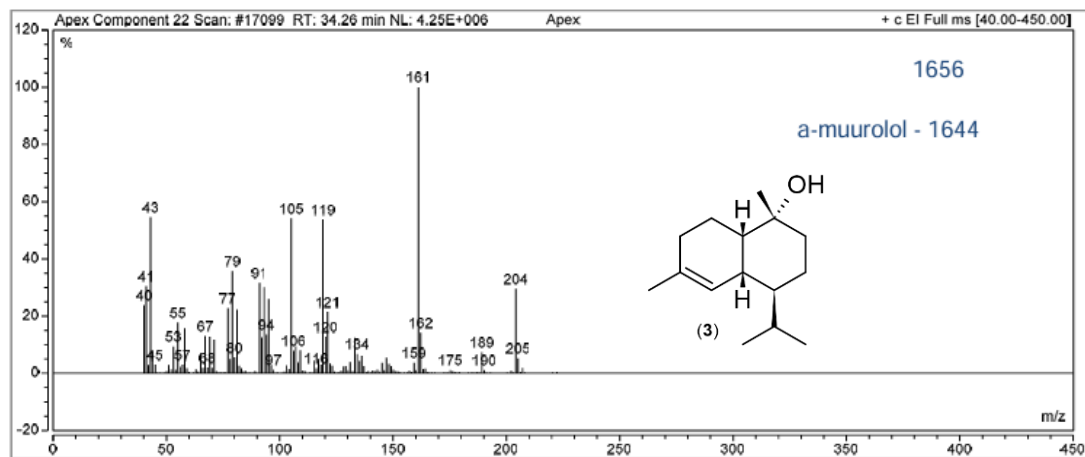
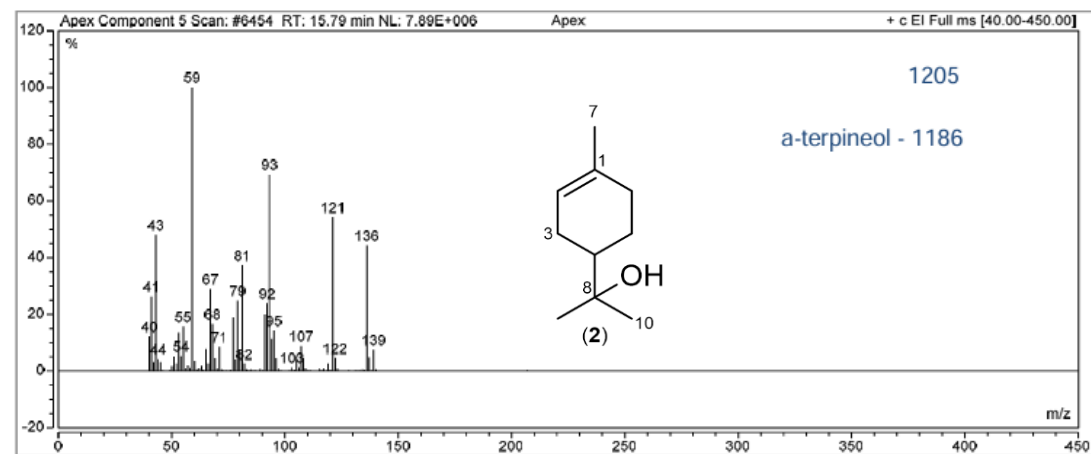
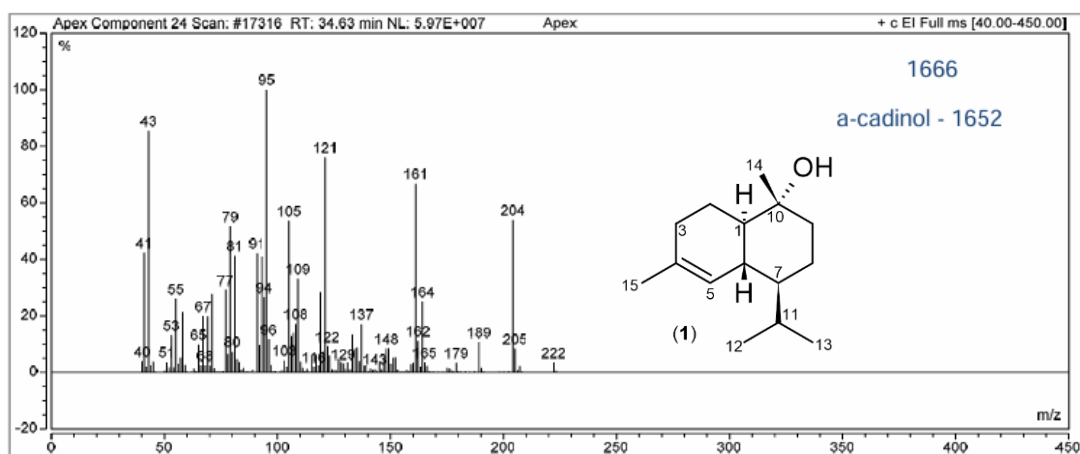


Figura S5. Espectro de massas das substâncias 1, 2 e 3 e proposta de fragmentação dos principais picos.

SUBSTÂNCIA 4

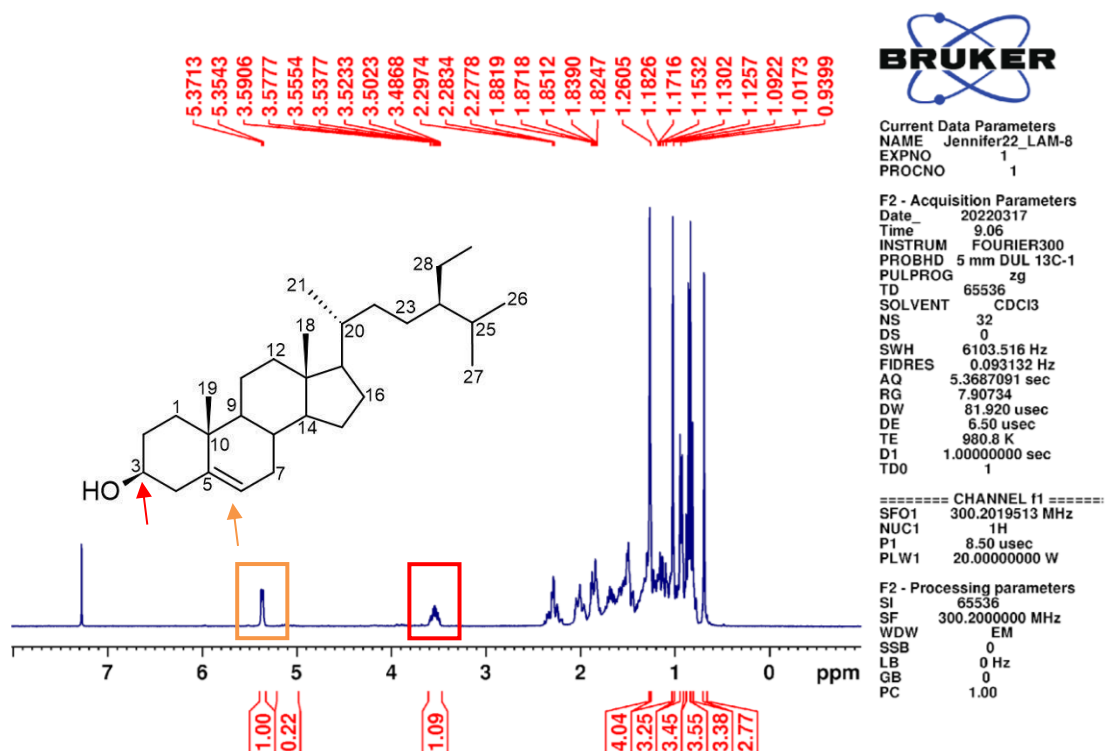


Figura S6. Espectro de RMN ^1H da substância 4 (300 MHz, CDCl_3)

SUBSTÂNCIAS 5, 6 e 7

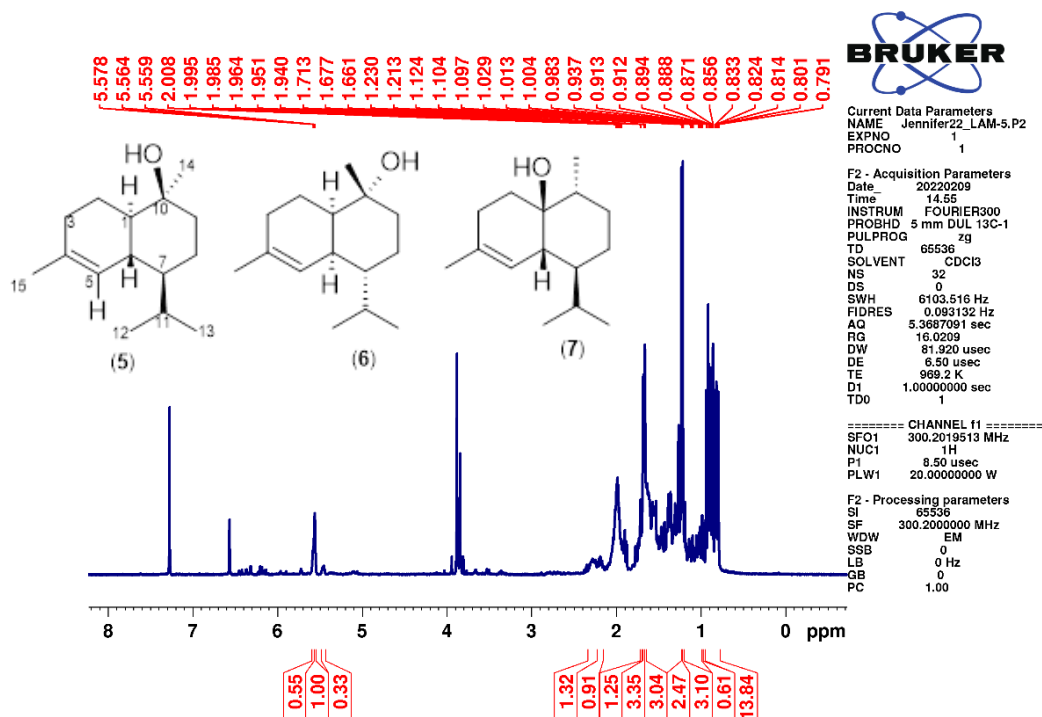


Figura S7. Espectro de RMN ^1H das substâncias 5, 6 e 7 (300 MHz, CDCl_3).

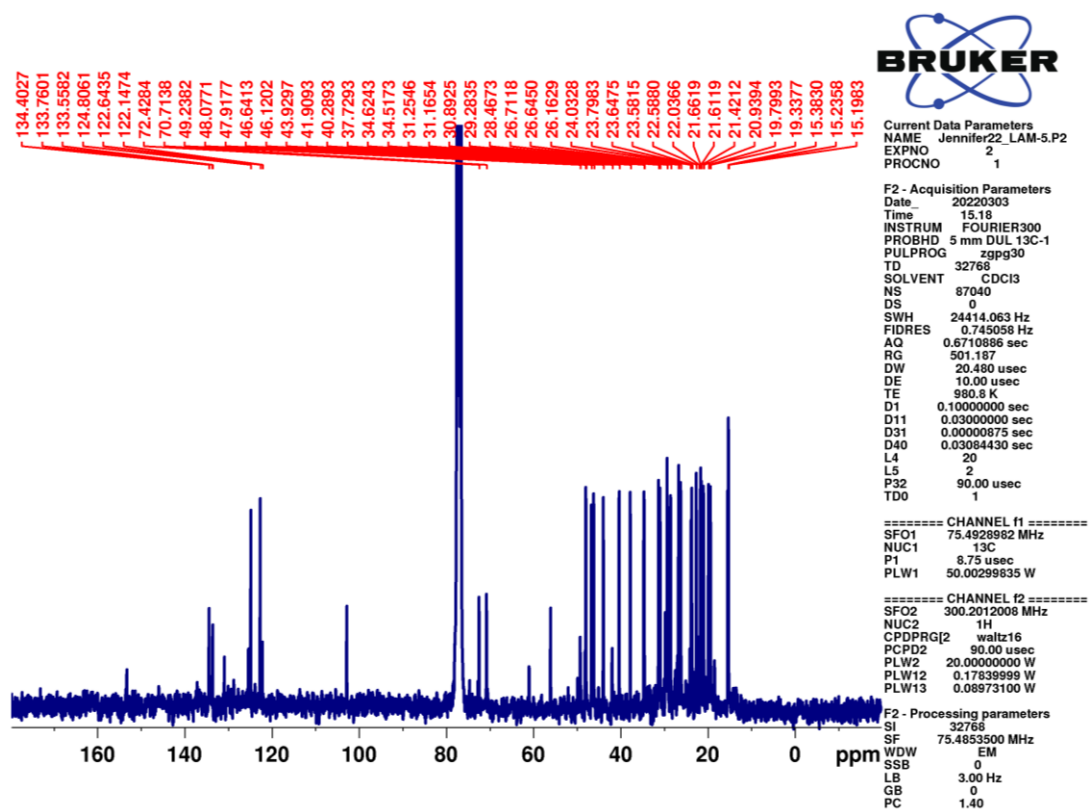


Figura S8. Espectro de RMN ^{13}C das substâncias 5, 6 e 7 (75 MHz; CDCl_3).

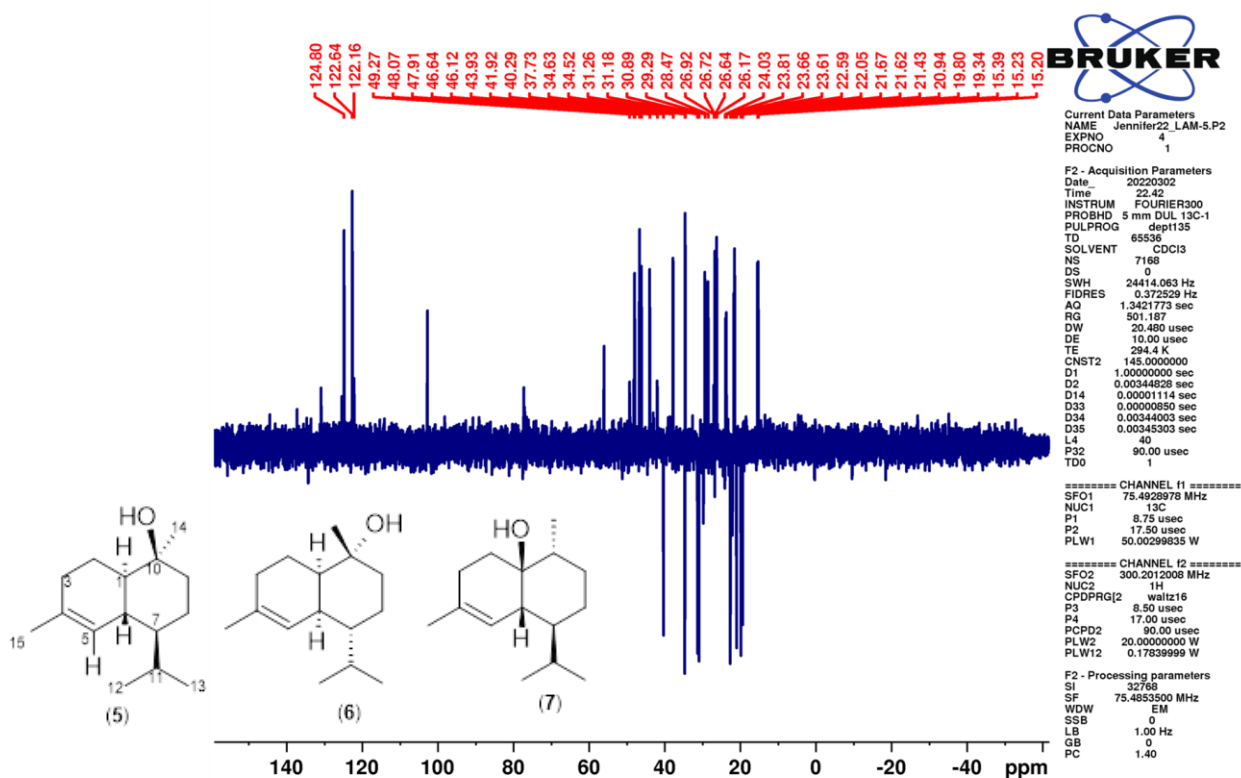


Figura S9. Espectro de DEPT -135 das substâncias 5, 6 e 7 (75 MHz; CDCl_3).

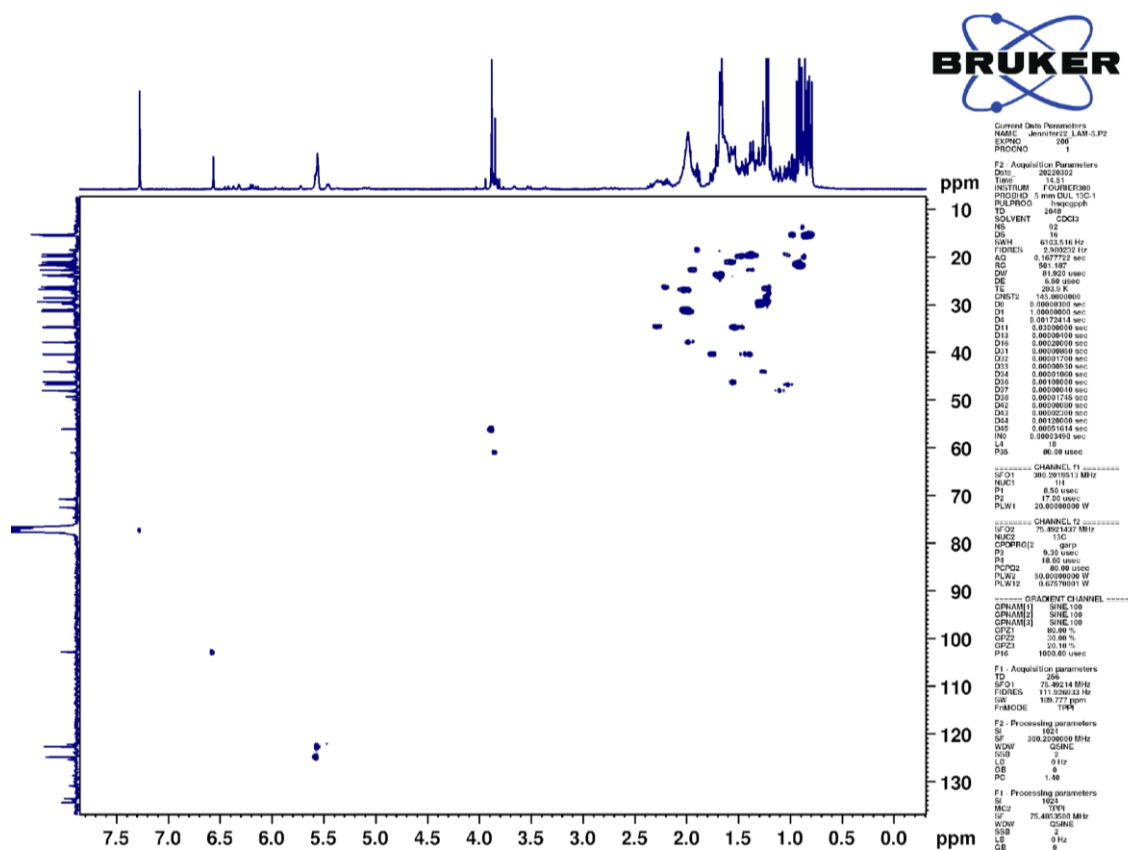


Figura S10 Mapa de contorno HSQC das substâncias 5, 6 e 7 (75 MHz; CDCl₃).

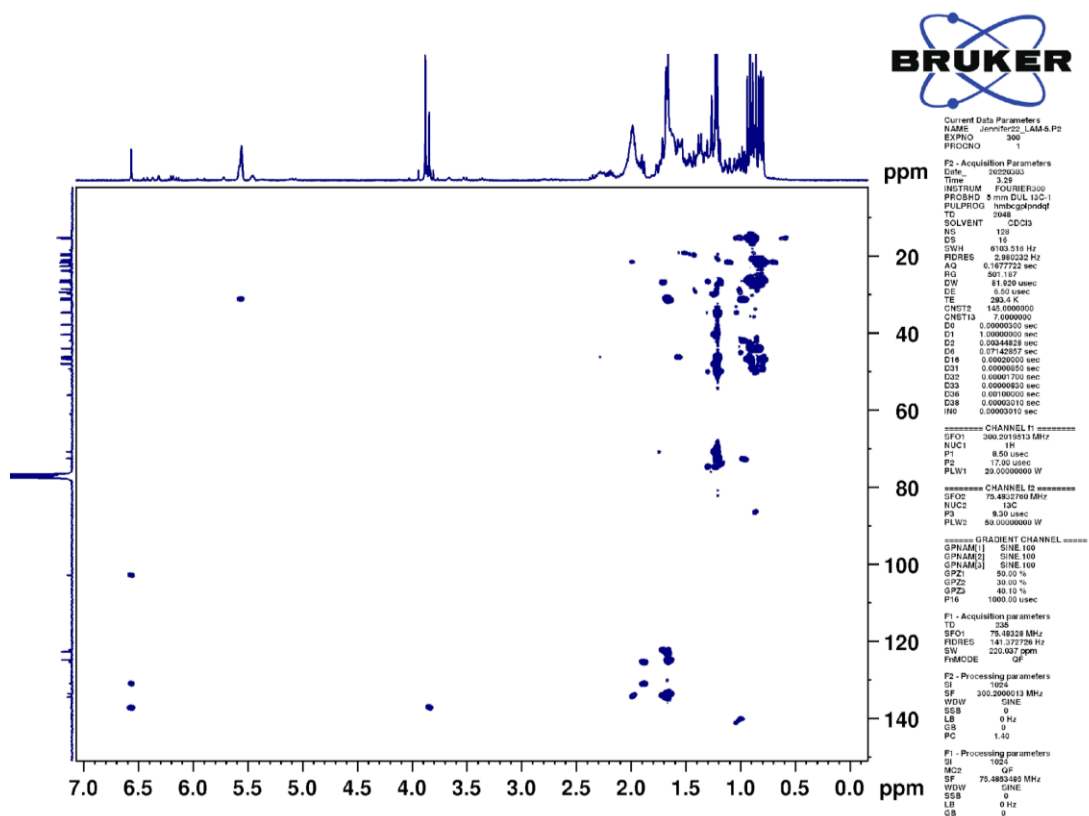


Figura S11. Mapa de contorno HMBC das substâncias 5, 6 e 7 (75 MHz; CDCl₃).

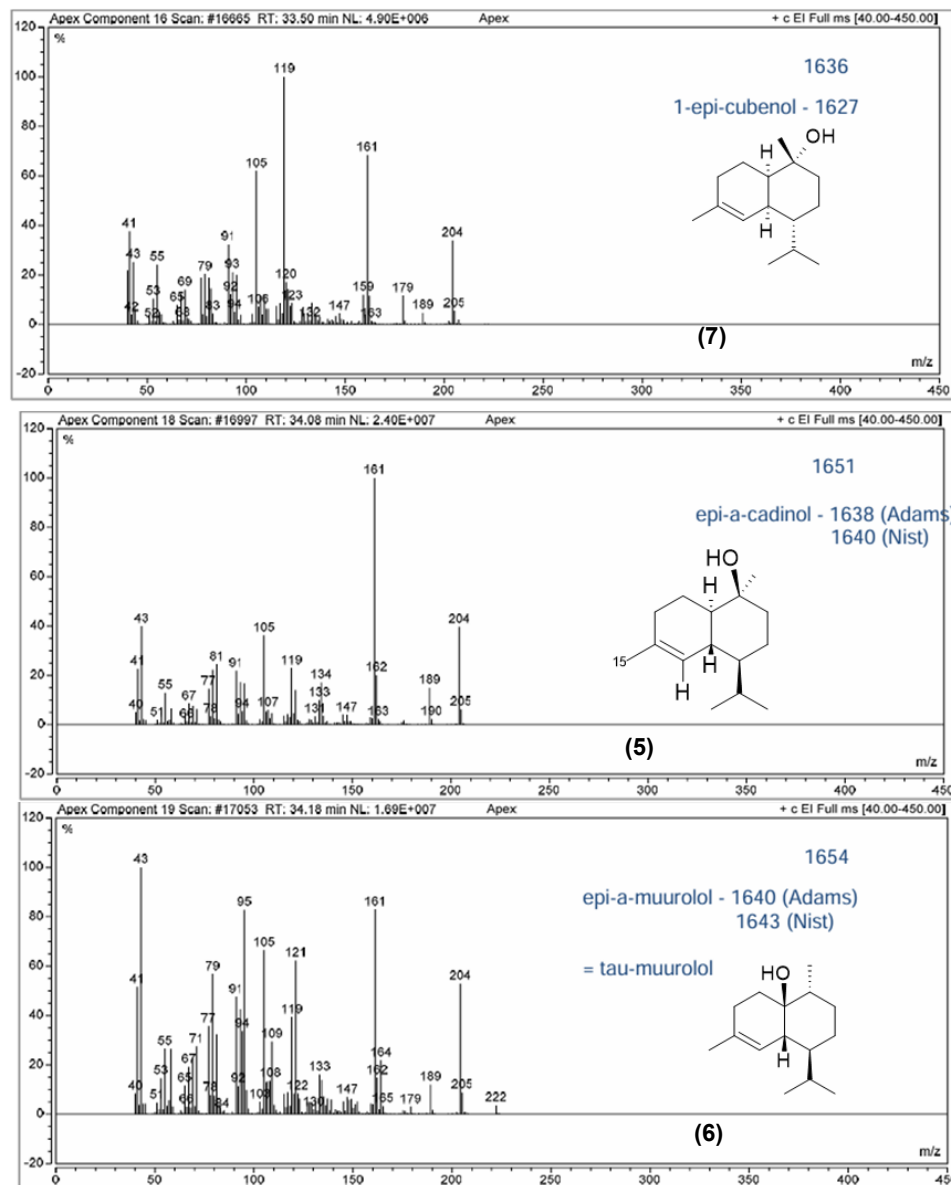


Figura S13. Espectro de massas das substâncias 5, 6 e 7.

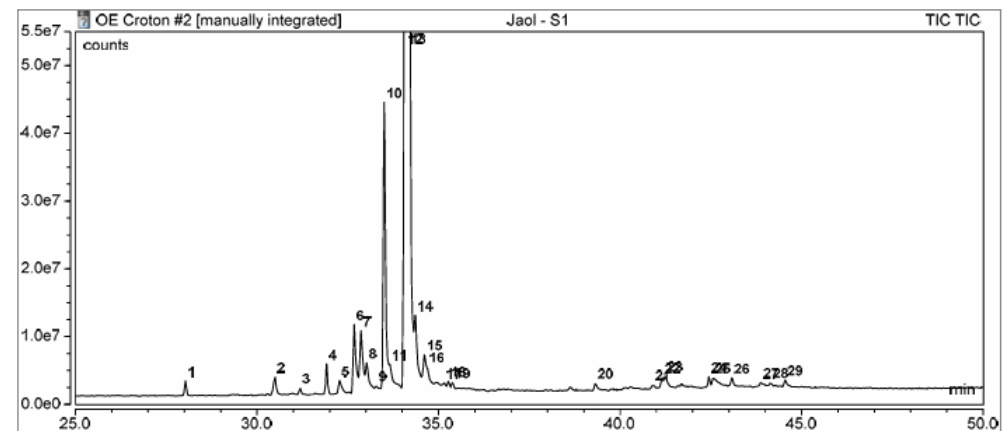


Figura S12. Cromatograma de íons totais obtidos por CG-EM de LAM-5.P2

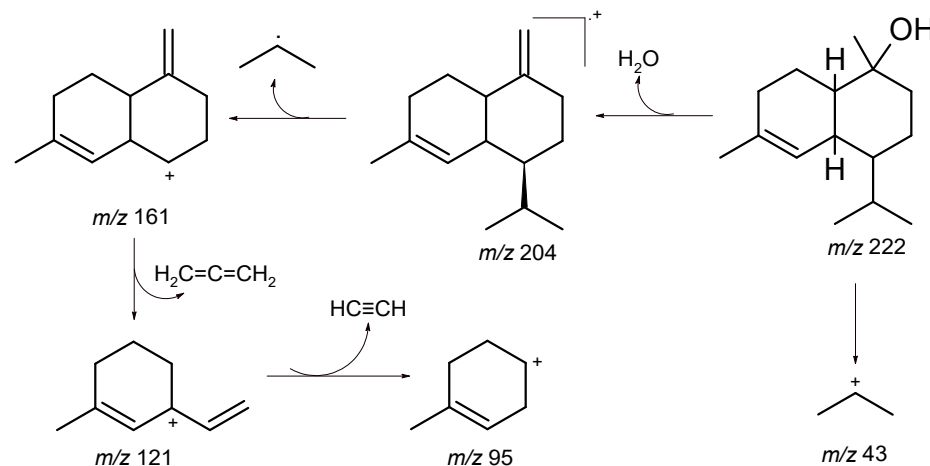


Figura S13a. Proposta de fragmentação dos principais picos das substâncias 5, 6 e 7.

SUBSTÂNCIAS 8 e 9

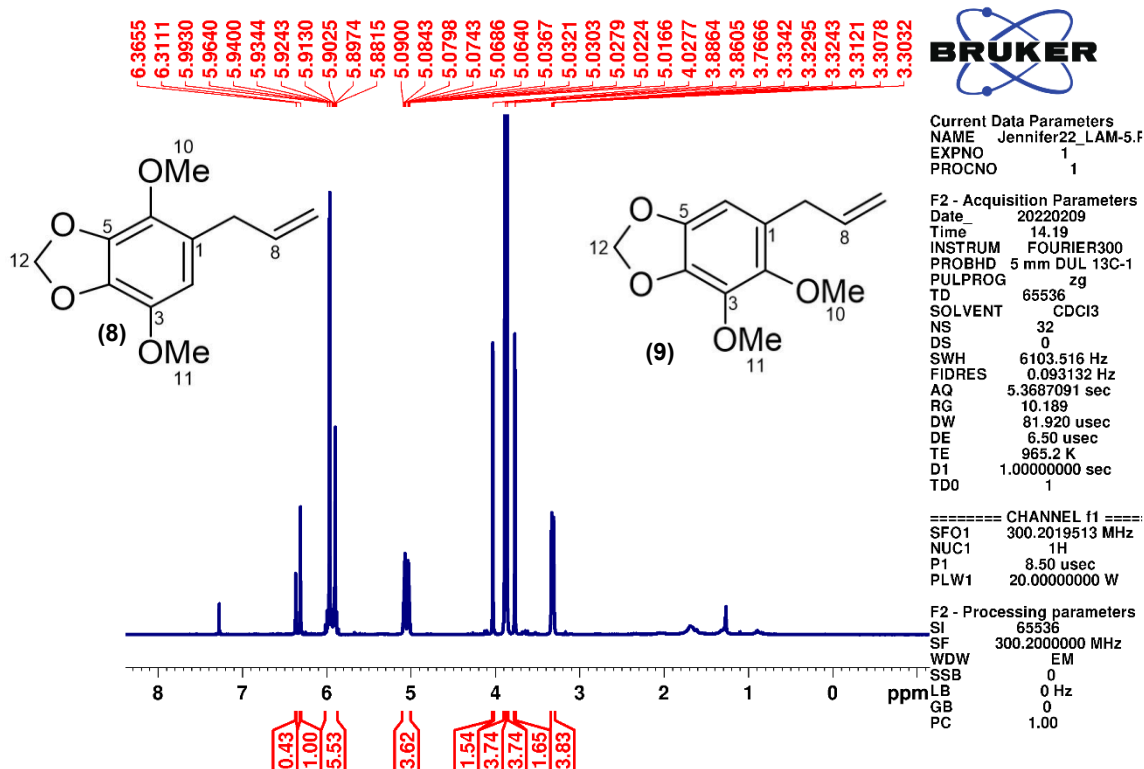


Figura S14. Espectro de RMN ^1H das substâncias 8 e 9 (300 MHz, CDCl_3).

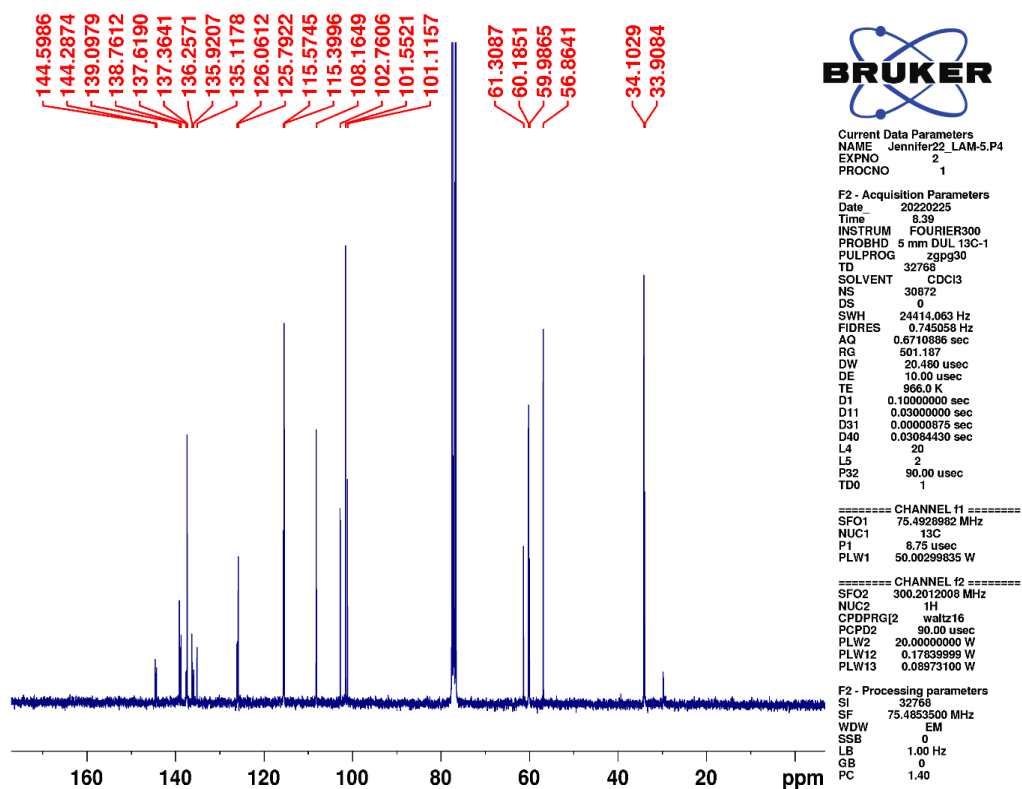


Figura S15. Espectro de RMN ^{13}C das substâncias 8 e 9 (300 MHz, CDCl_3).

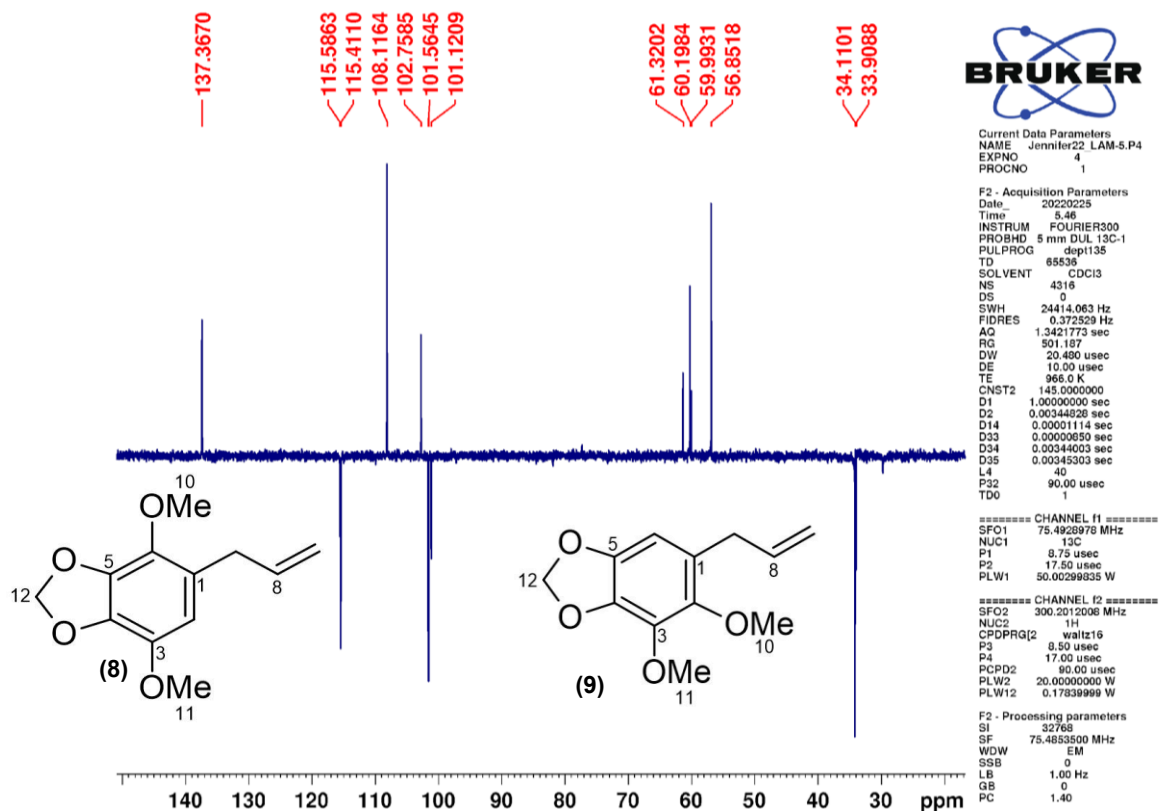


Figura S16. Espectro de DEPT -135 das substâncias 8 e 9 (75 MHz; CDCl₃).

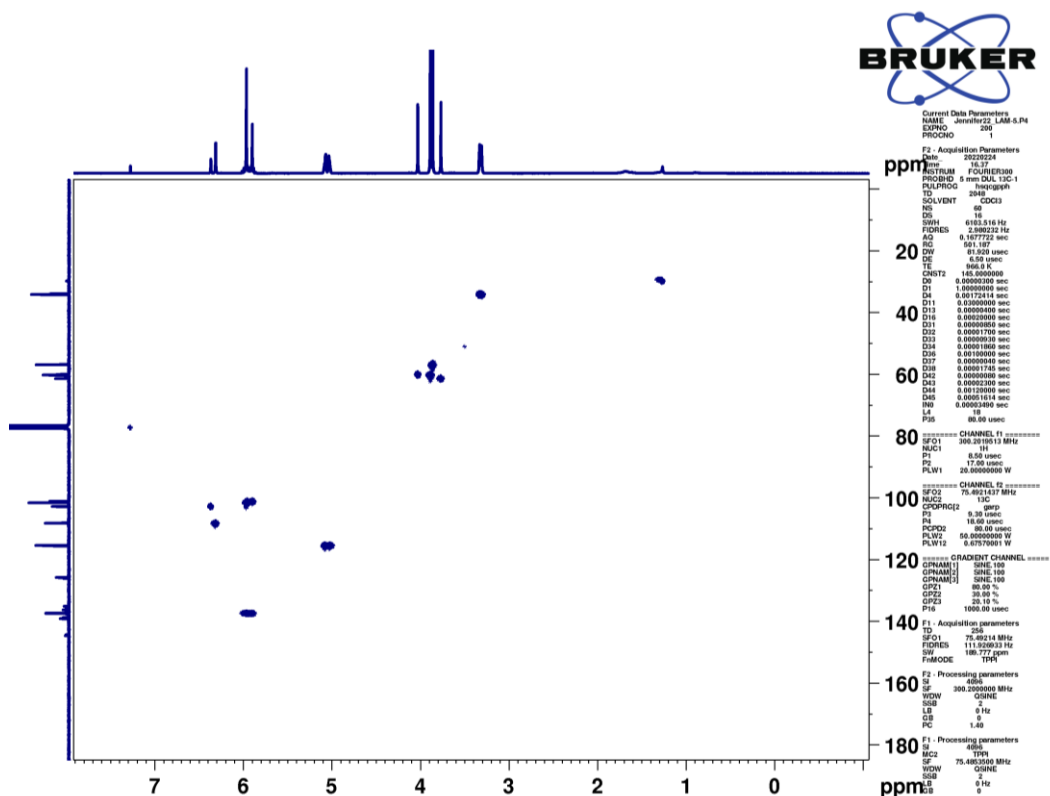


Figura S17. Mapa de contorno HSQC das substâncias 8 e 9 (300/75 MHz, CDCl₃).

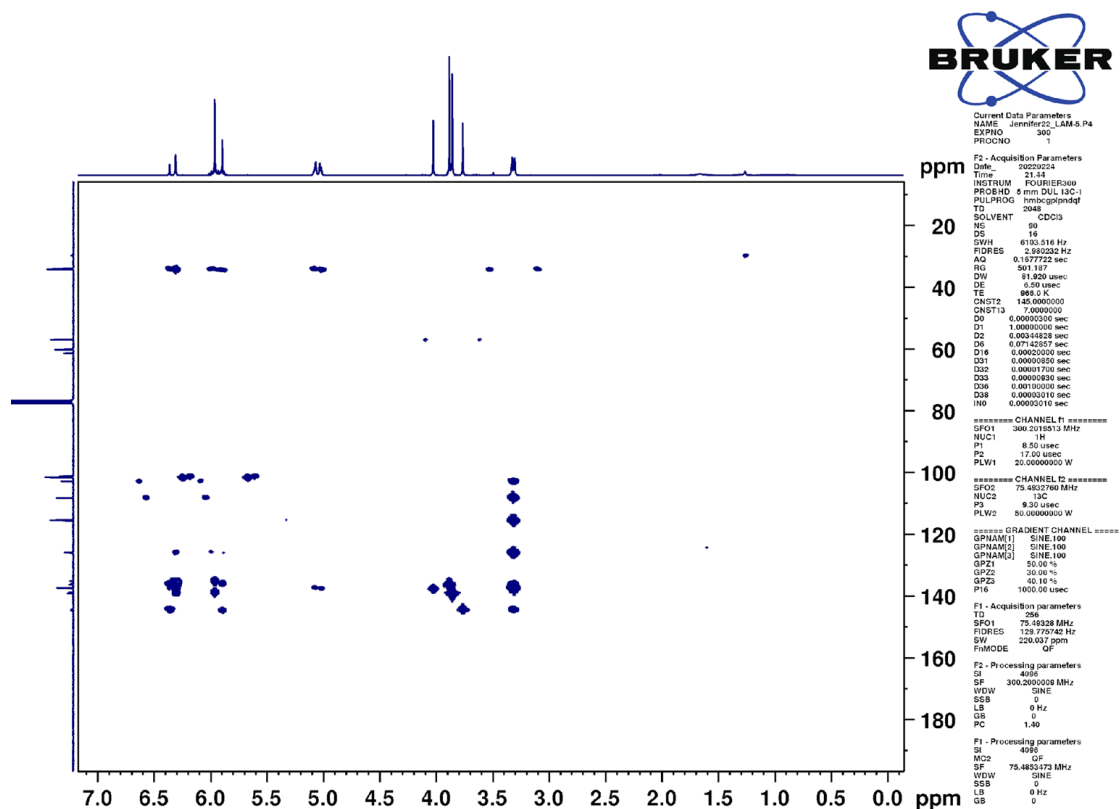


Figura S18. Mapa de contorno HMBC das substâncias 8 e 9 (300/75 MHz; CDCl₃).

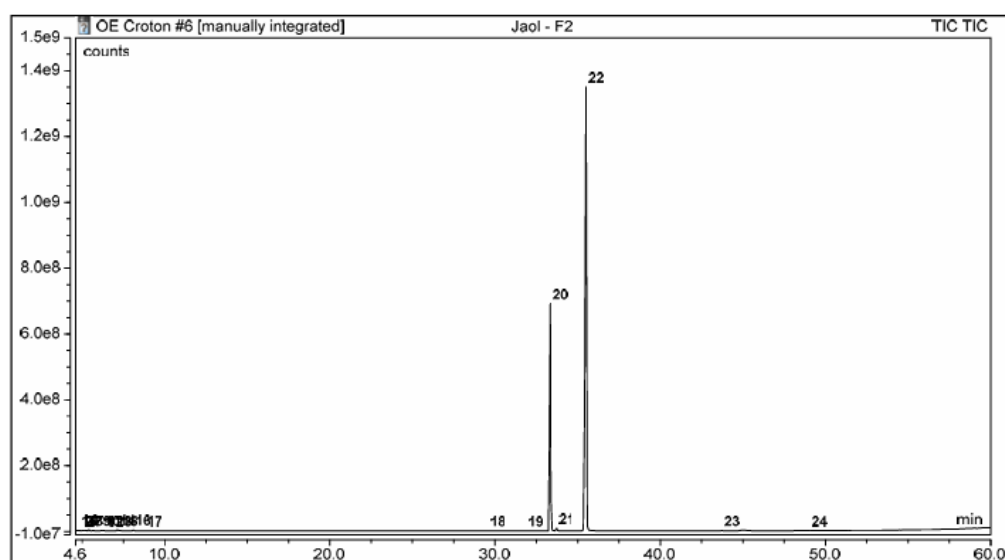


Figura S19. Cromatograma de íons totais obtidos por CG-EM de LAM-5.P4.

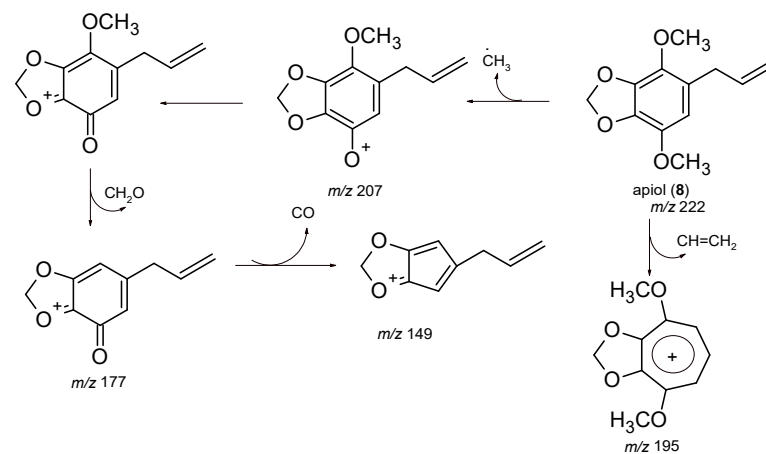
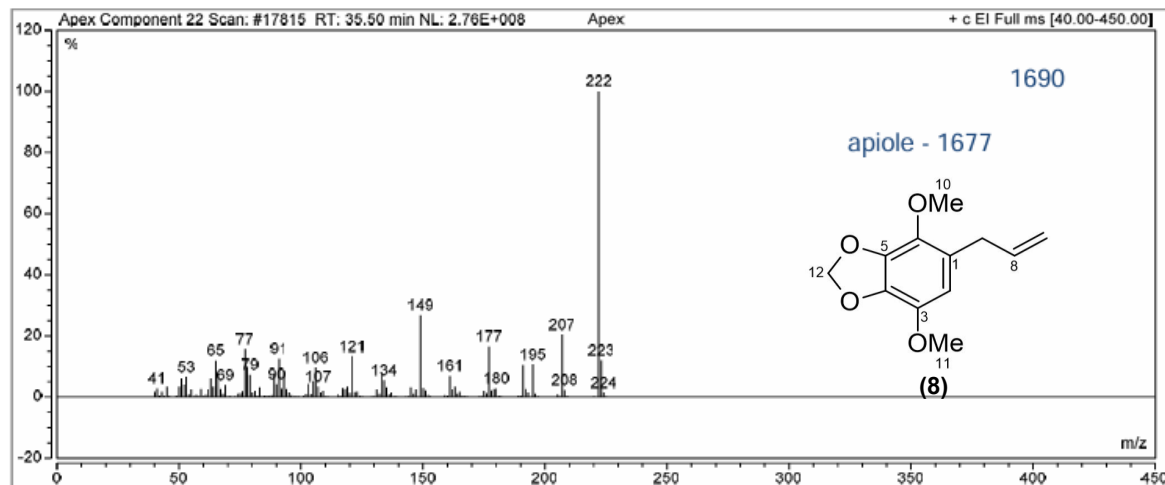
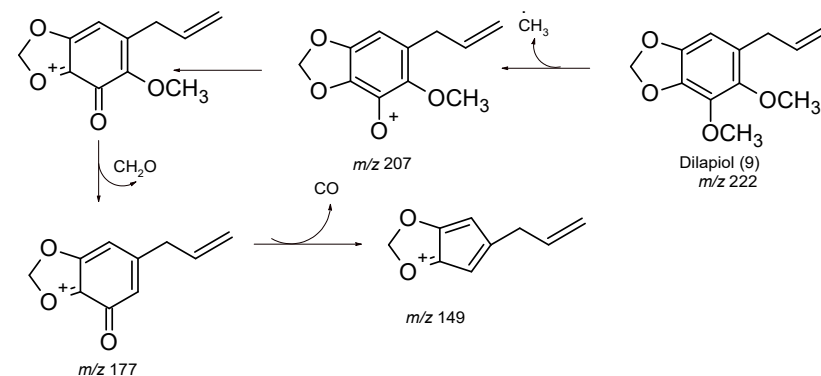
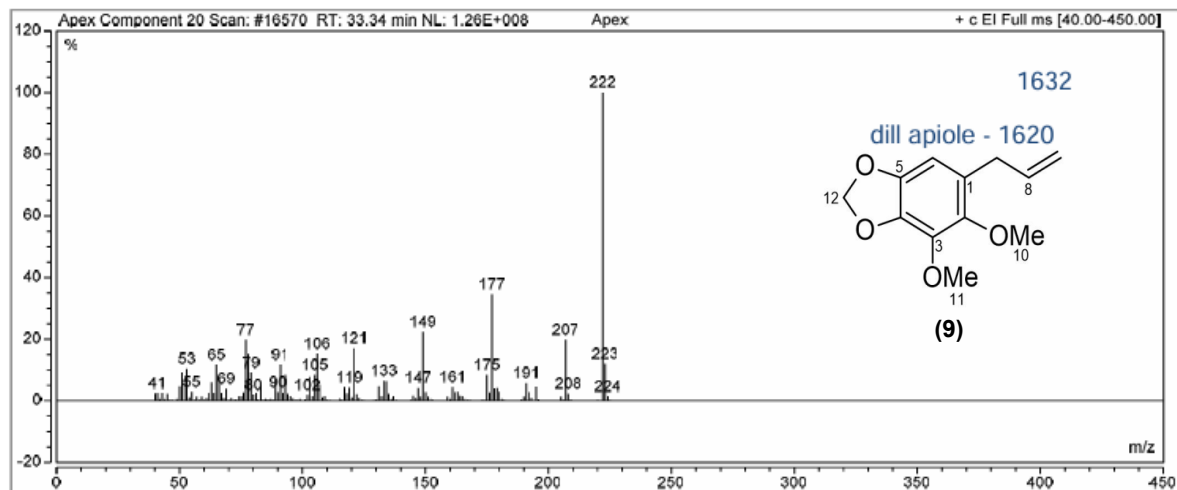


Figura S20. Espectro de massas das substâncias 8 e 9 e suas propostas de fragmentações.

SUBSTÂNCIA 10

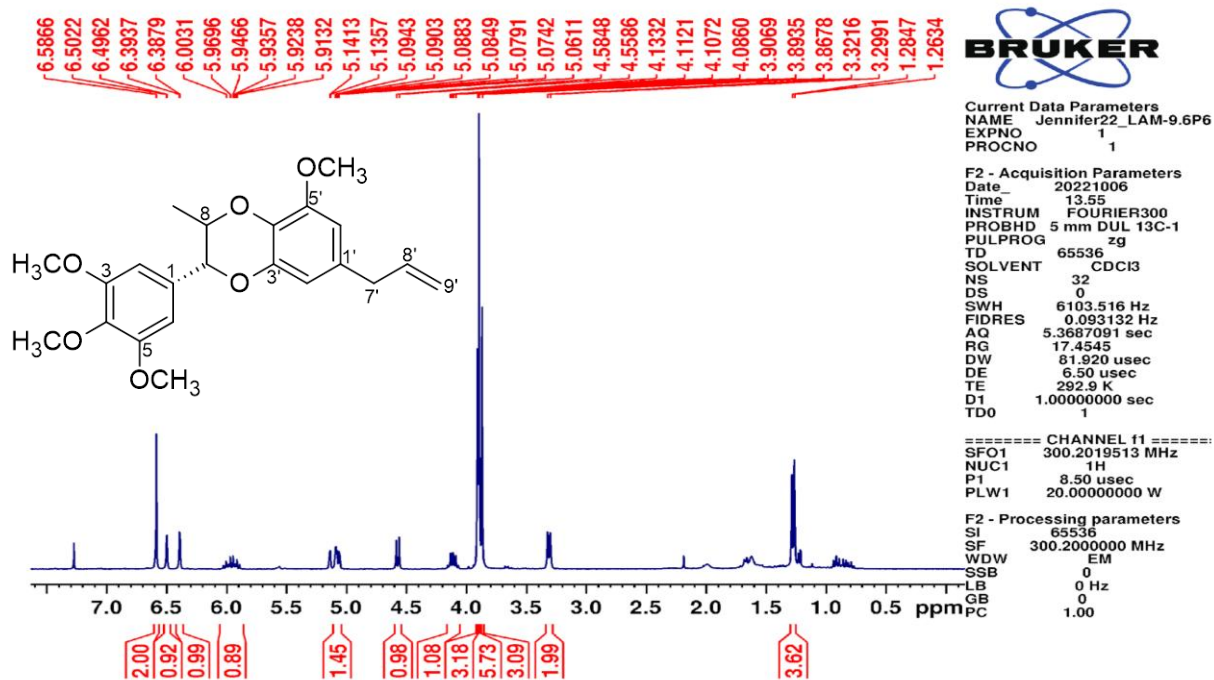


Figura S21. Espectro de RMN ^1H da substância 10 (300 MHz, CDCl_3)

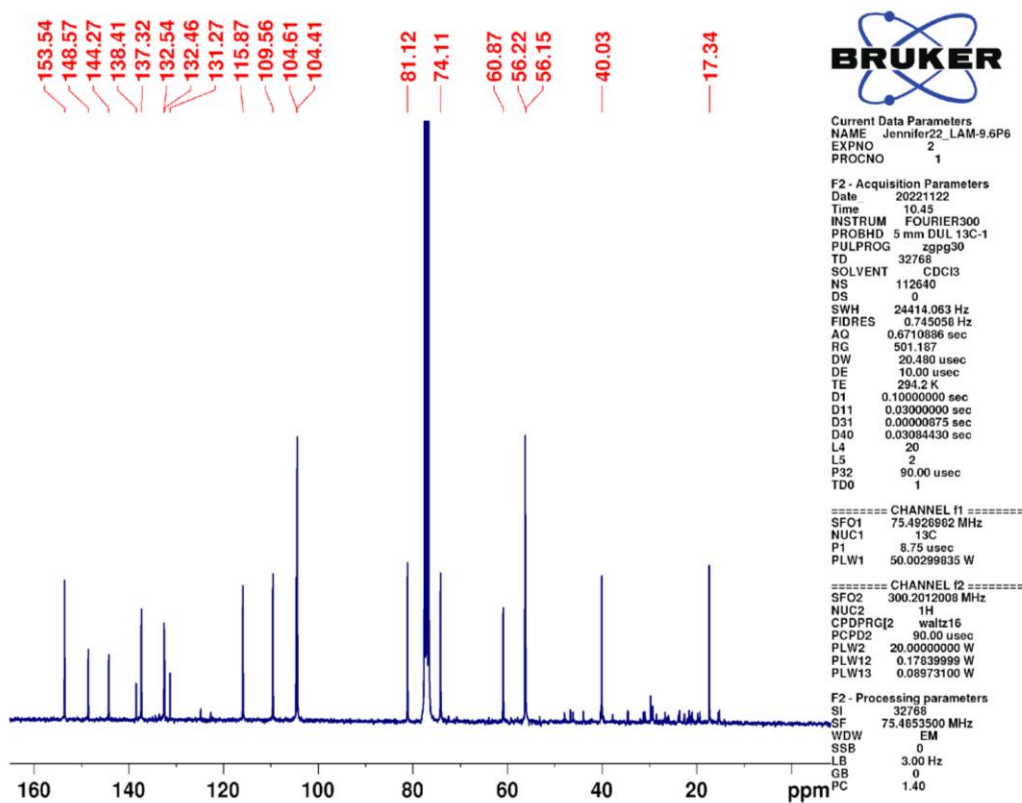


Figura S22. Espectro de RMN ^{13}C da substância 10 (75 MHz; CDCl_3).

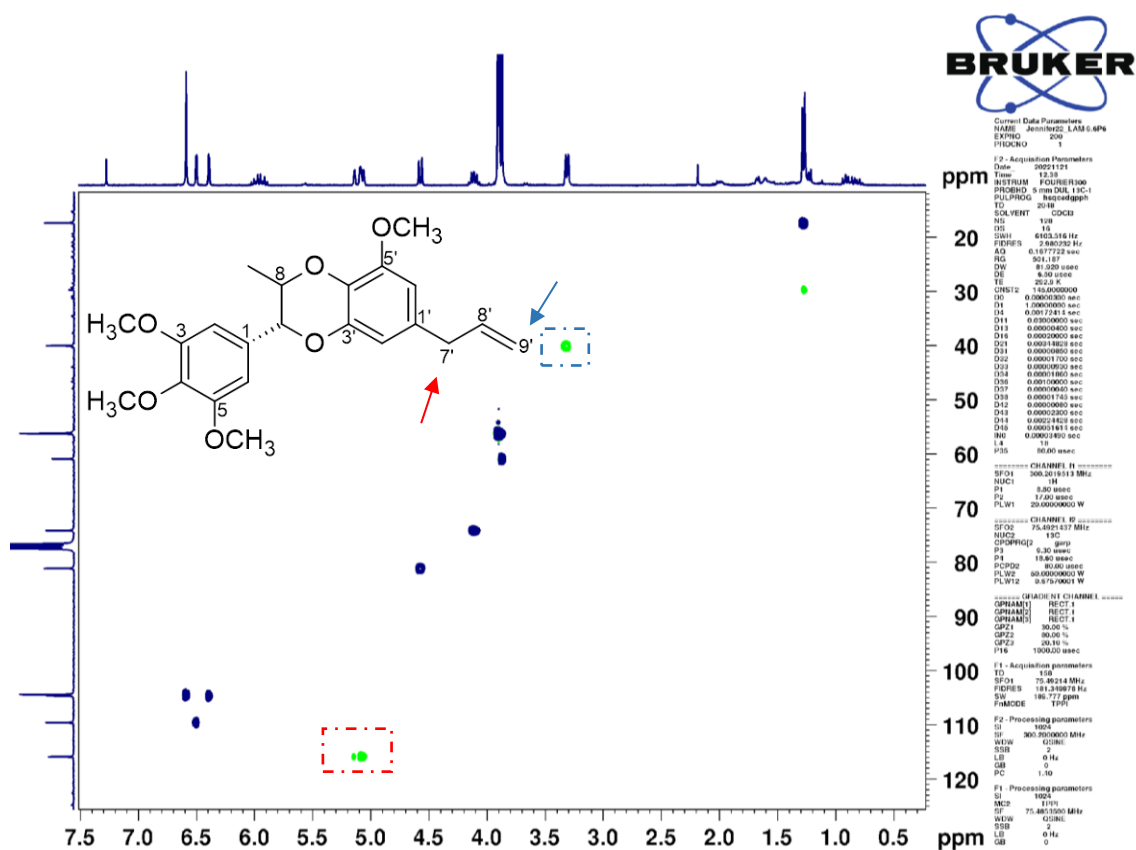


Figura S23. Mapa de contorno HSQC-EDIT da substância 10 (75 MHz; CDCl₃).

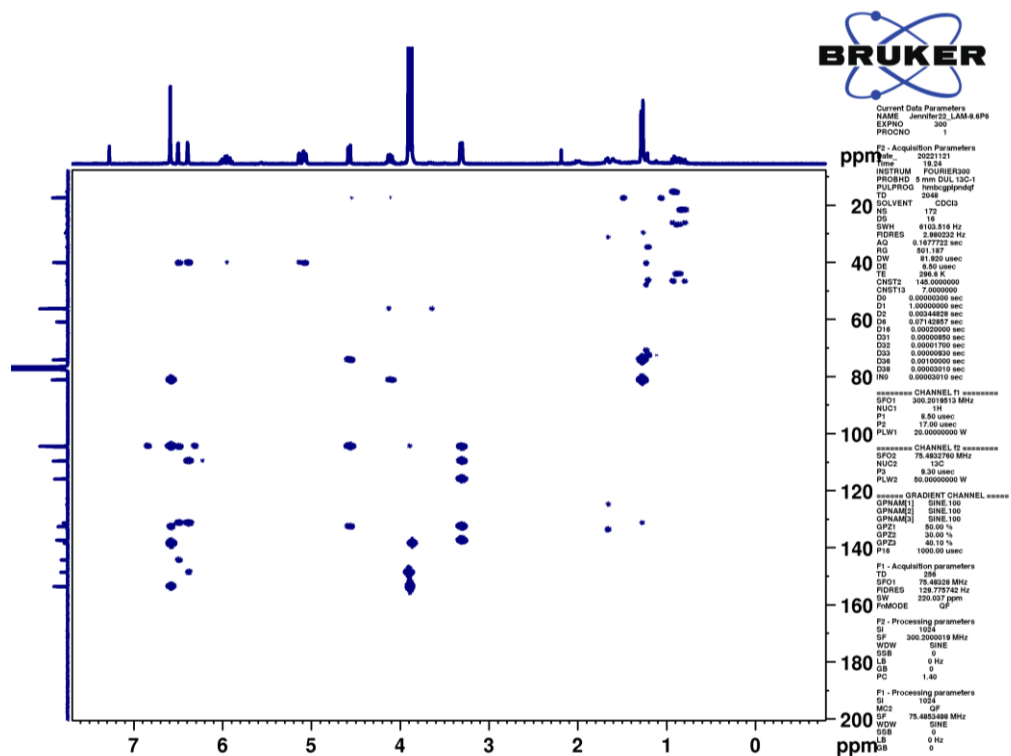
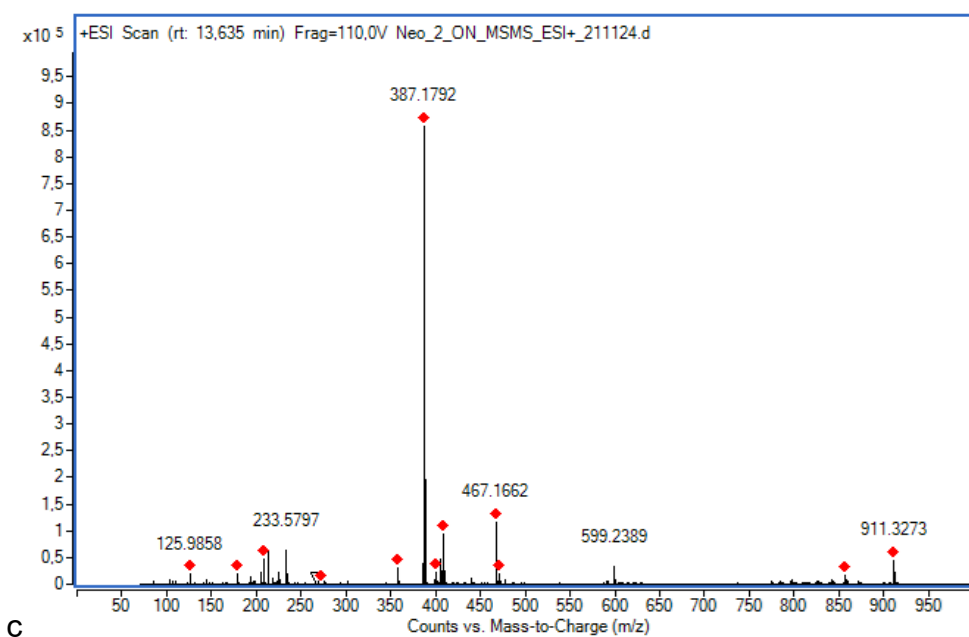


Figura S24. Mapa de contorno HMBC da substância 10 (75 MHz; CDCl₃).



C

Figura S25. Espectro de massas MS ESI – positivo $[M + H]^+$ da substância 10.

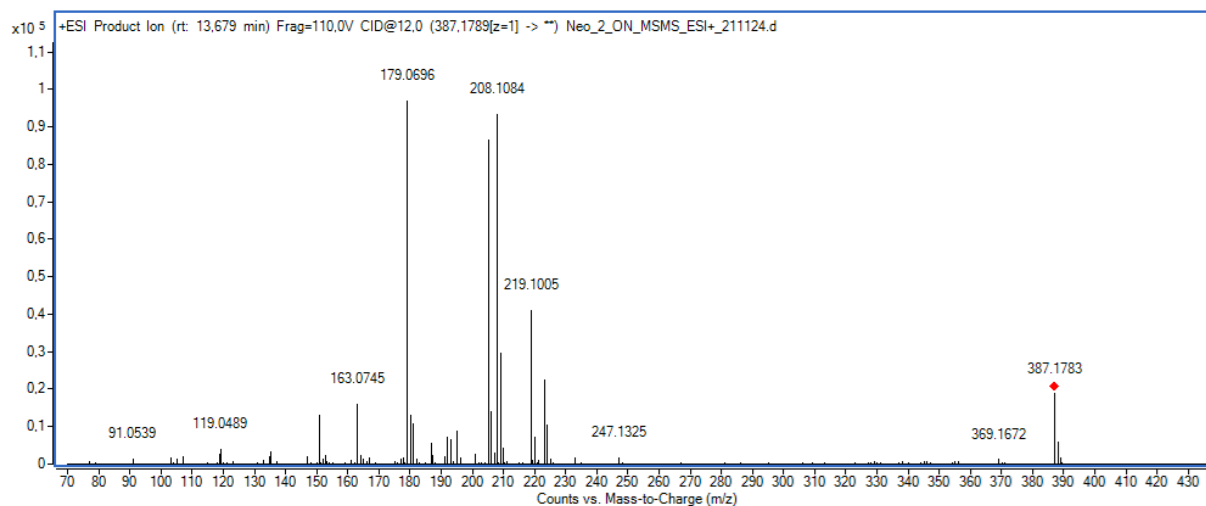


Figura S26. Espectro de massas MS/MS ESI – positivo $[M + H]^+$ 387,1783 em EC= 12 V.da substância 10

SUBSTÂNCIA 11

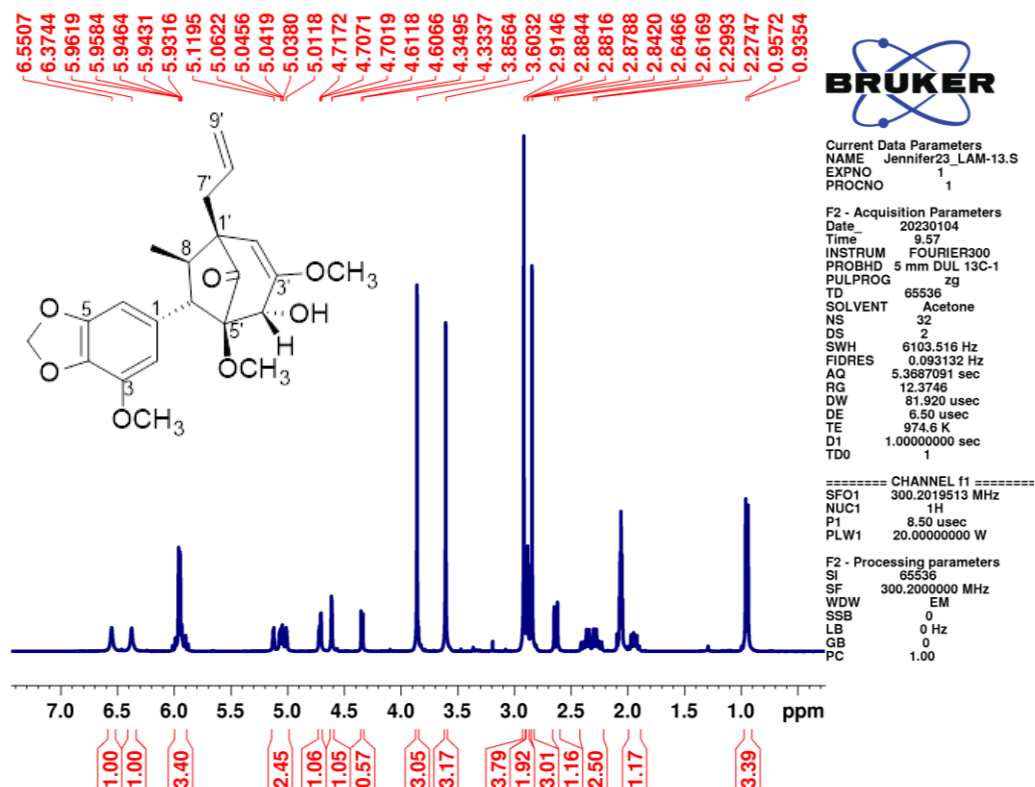


Figura S27. Espectro de RMN ^1H da substância 11 (300 MHz, Acetona- D_6).

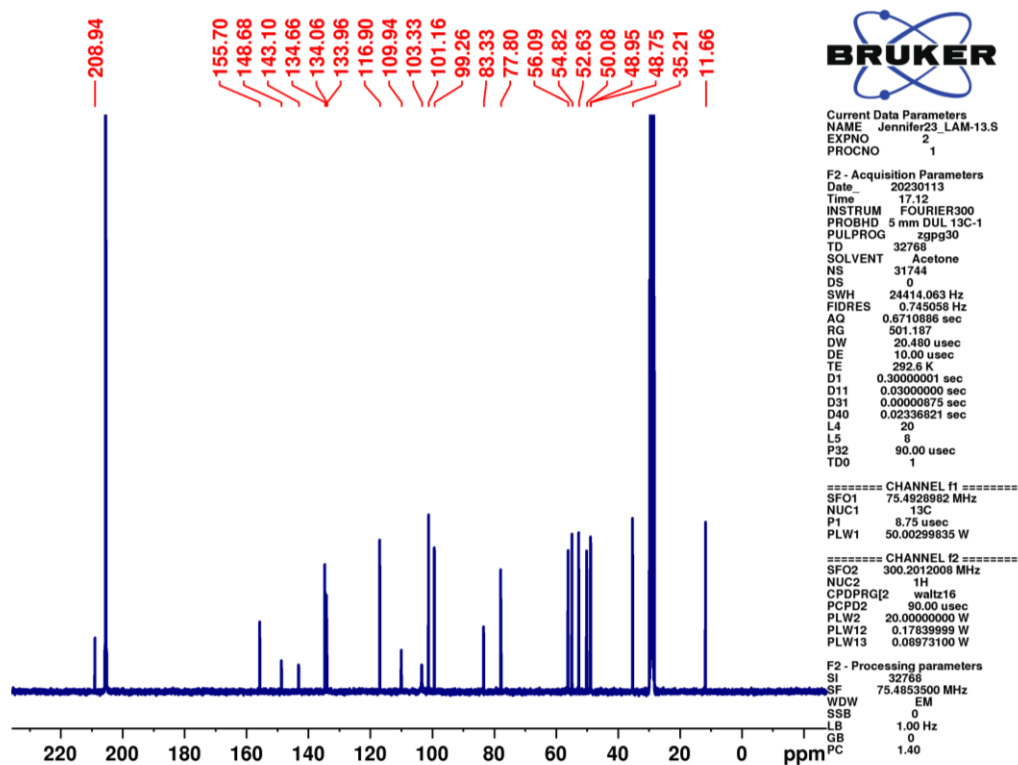


Figura S28. Espectro de RMN de ^{13}C da substância 11 (75 MHz, Acetona- D_6).

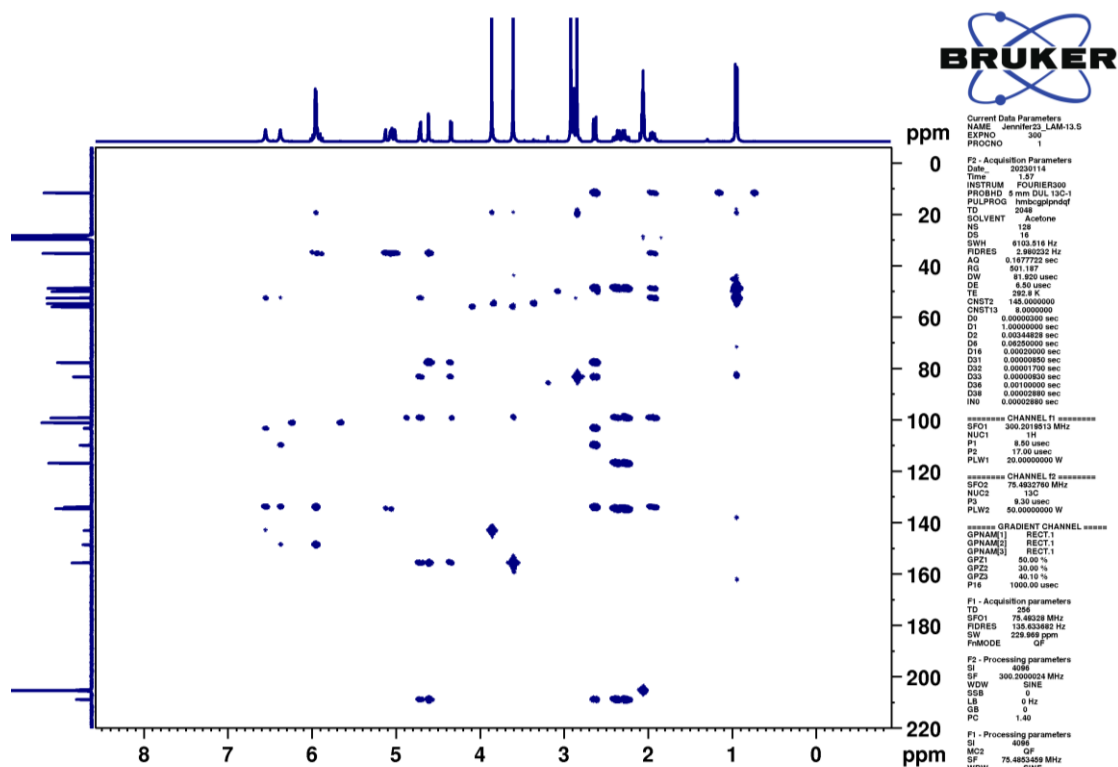


Figura S31. Mapa de contorno HMBC da substância 11 (300/75 MHz, Acetona-D6).

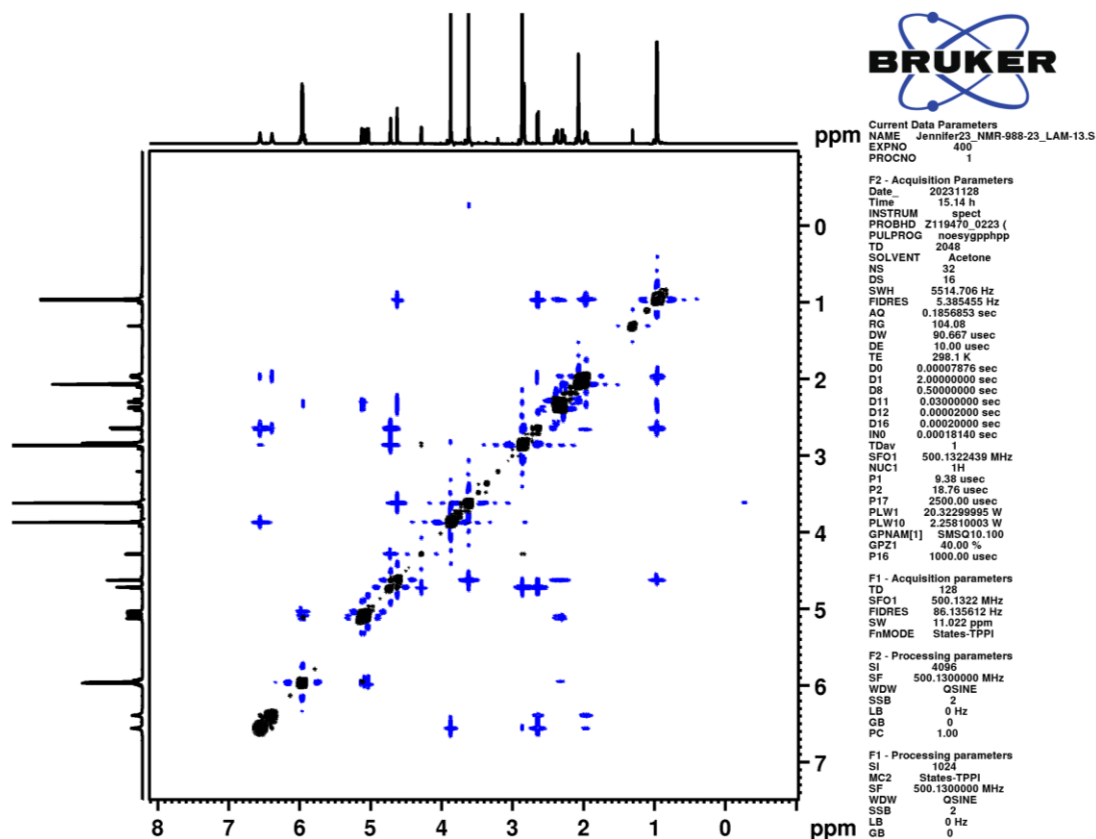


Figura S32. Espectro de NOESY 2D da substância 11 (500 MHz, Acetona-D6).

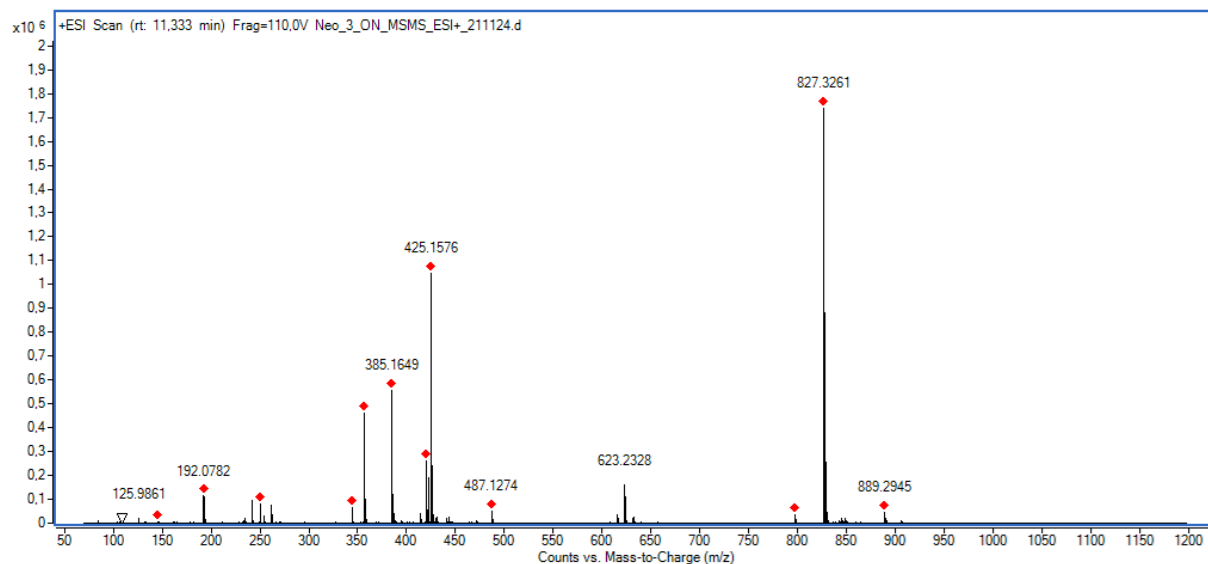


Figura S33. Espectro de massas MS ESI – positivo $[M + Na]^+$ da substância 11.

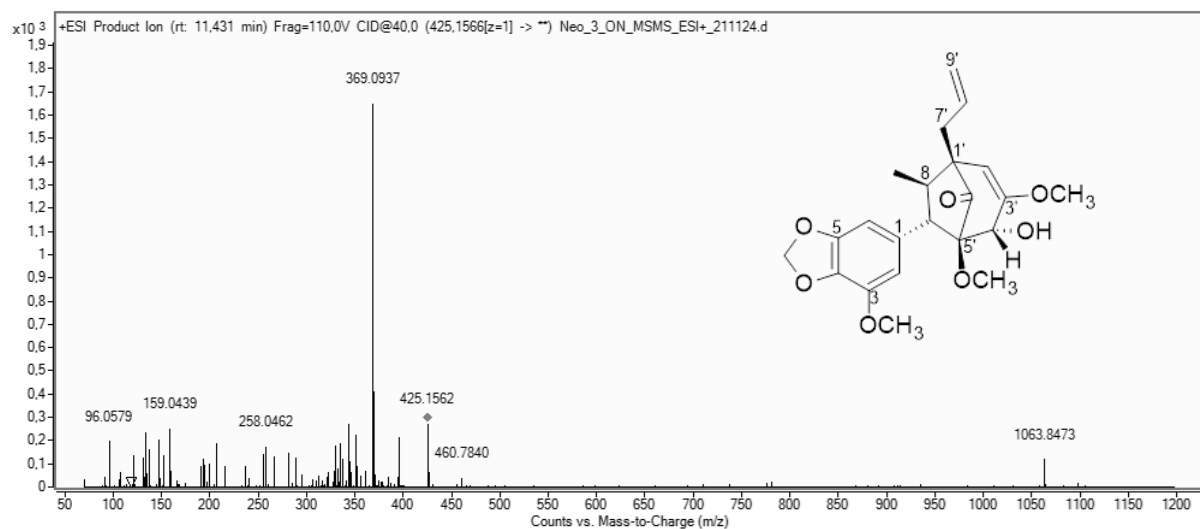


Figura S34. Espectro de massas MS/MS ESI – positivo $[M + Na]^+$ 425,1576 em EC= 40 V da substância 11.

SUBSTÂNCIA 12

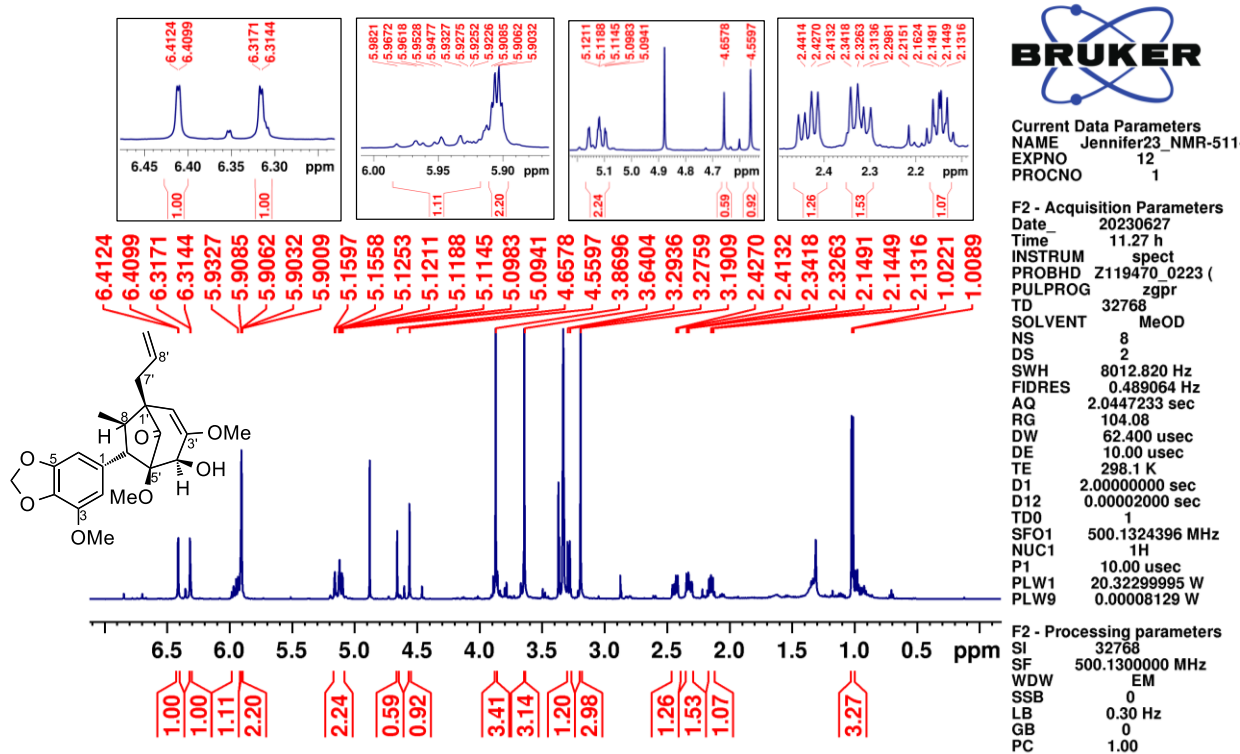


Figura S35. Espectro de RMN ^1H da substância 12 (500 MHz, MeOD).

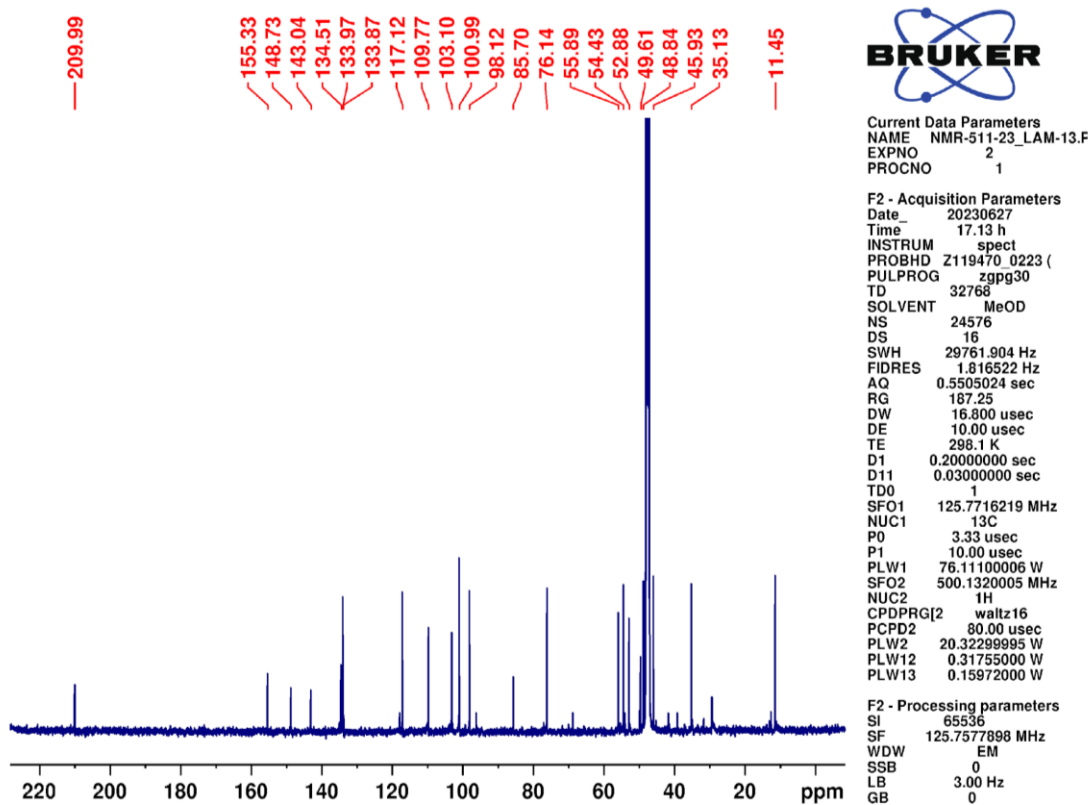


Figura S36. Espectro de RMN de ^{13}C da substância 12 (125 MHz, MeOD)

SUBSTÂNCIA 13

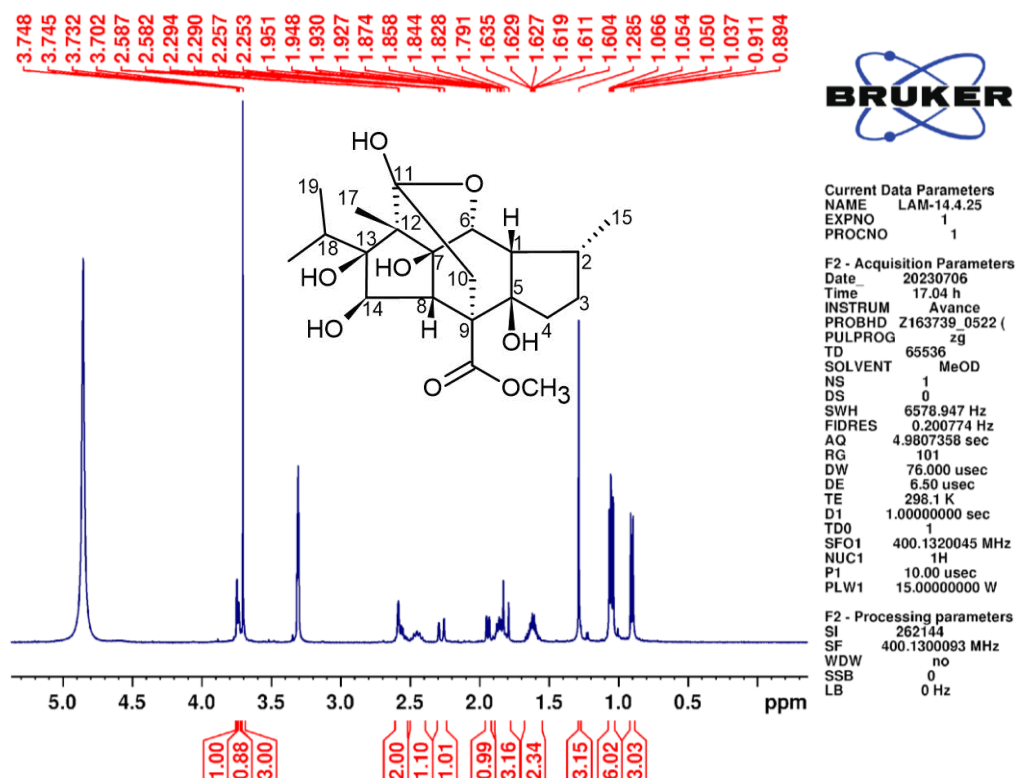


Figura S39. Espectro de RMN ¹H da substância 13 (400 MHz, MeOD).

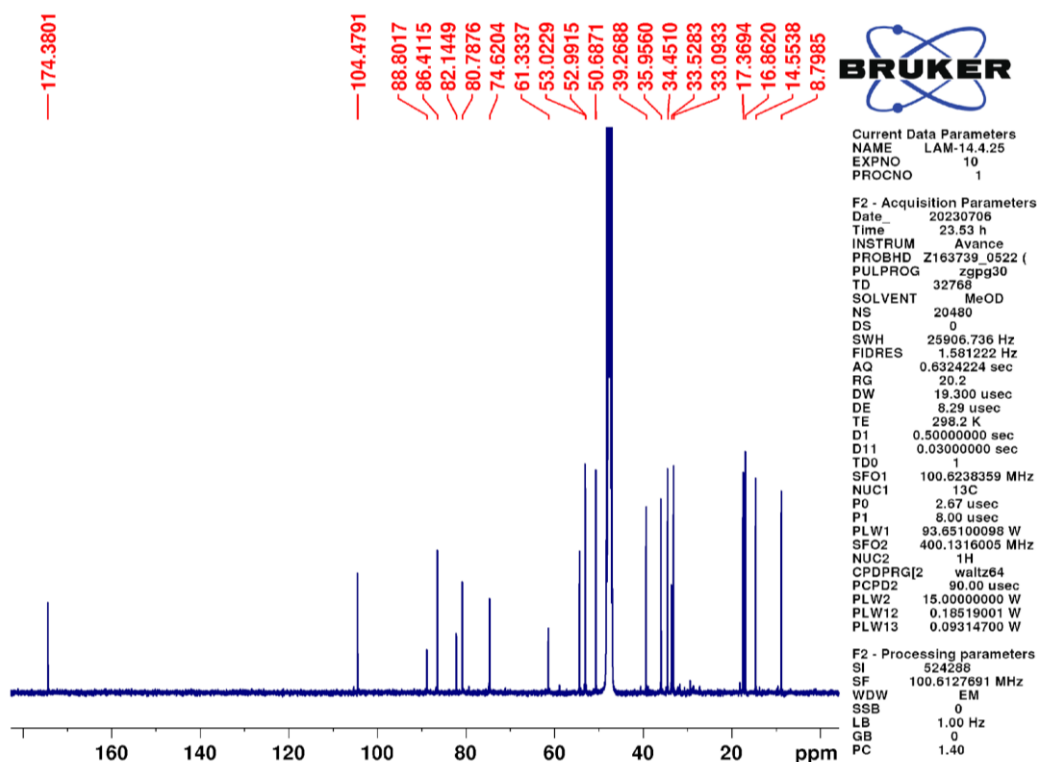


Figura S40. Espectro de RMN de ¹³C da substância 13 (100 MHz, MeOD).

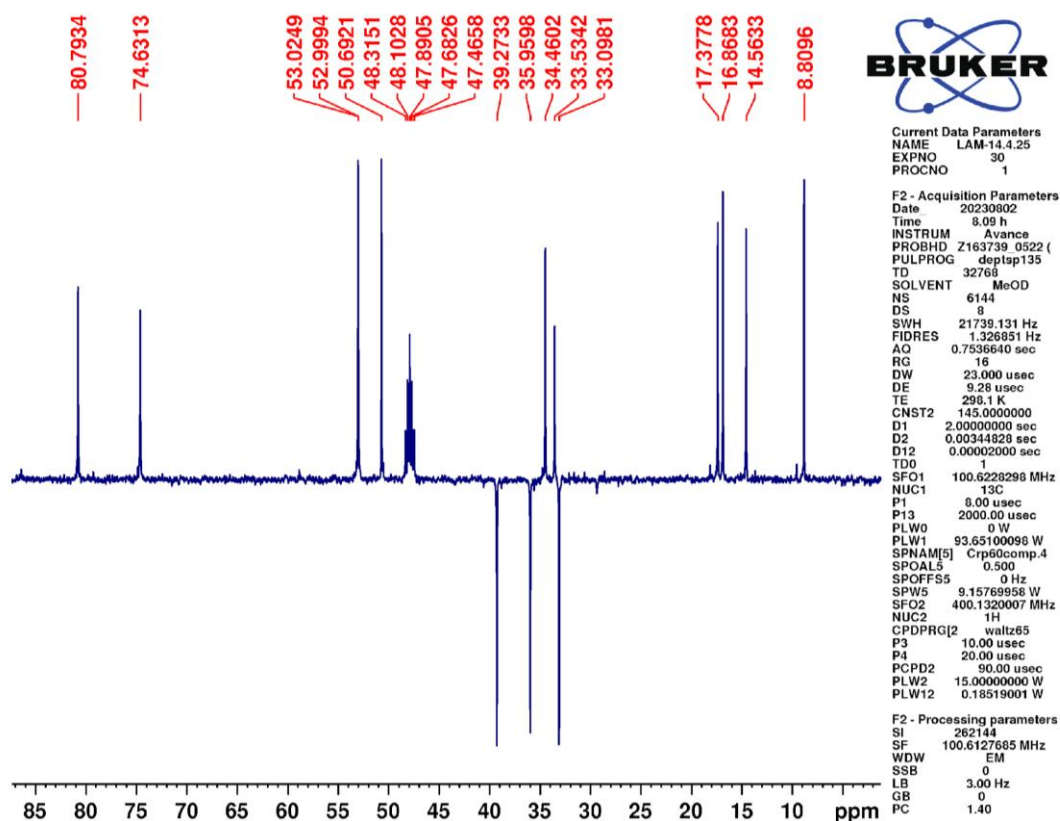


Figura S41. Espectro de DEPT -135 da substância 13 (100 MHz; MeOD).

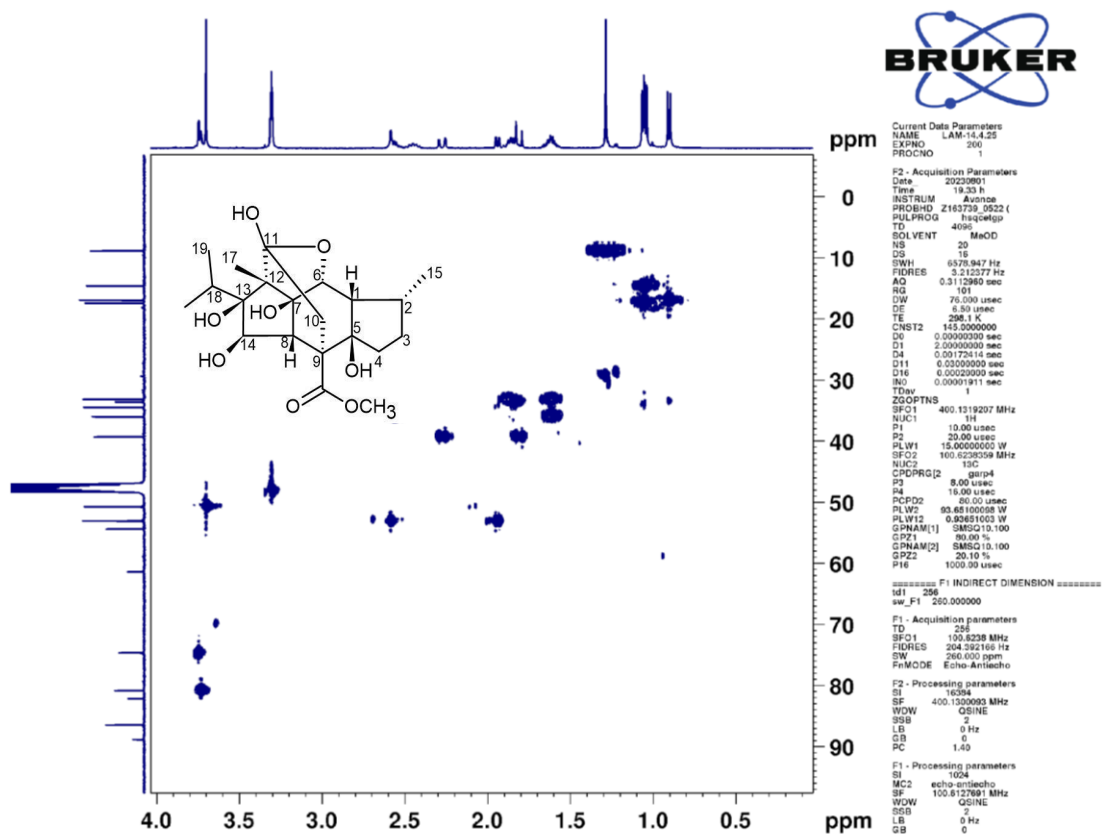


Figura S42. Mapa de contorno HSQC da substância 13 (400/100 MHz, MeOD).

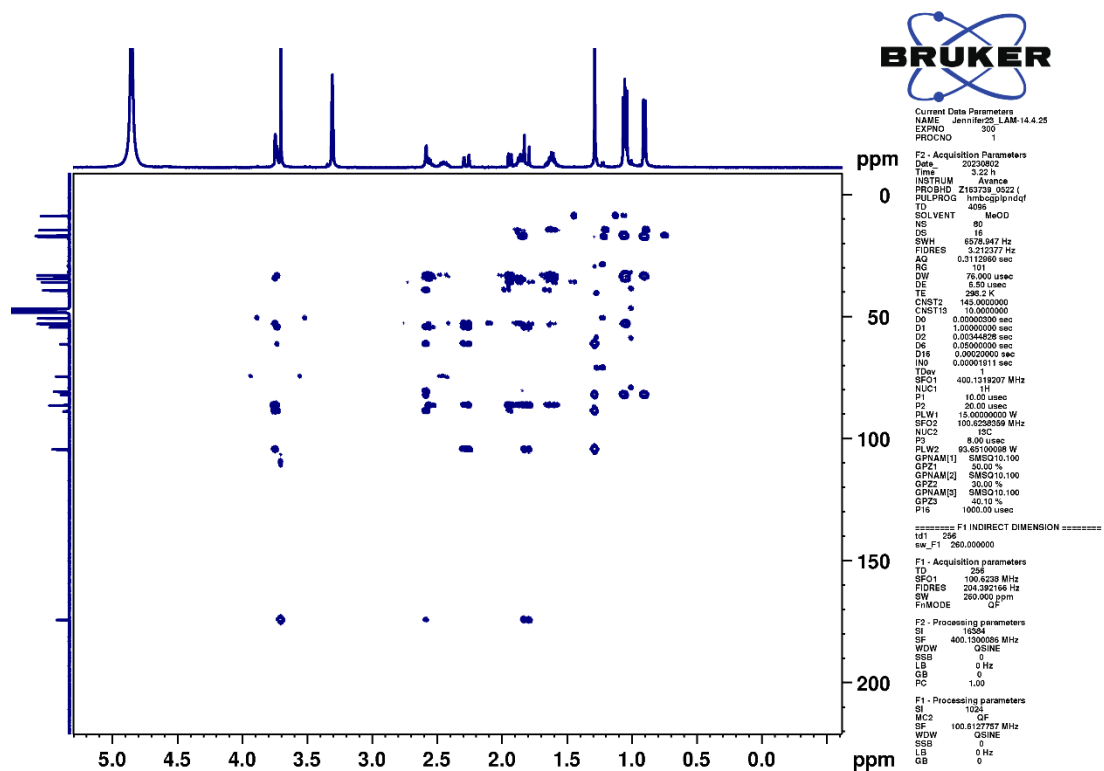


Figura S43. Mapa de contorno HMBC da substância 13 (400/100 MHz, MeOD).

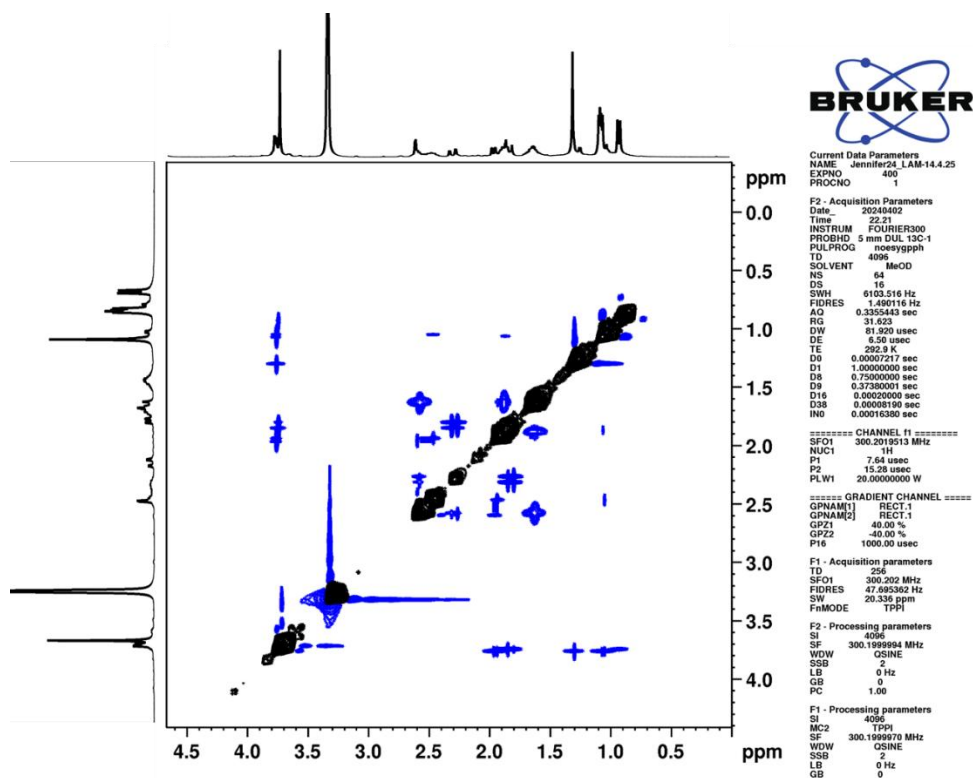


Figura S44. Espectro NOESY 2D da substância 13 (600/150 MHz, MeOD)

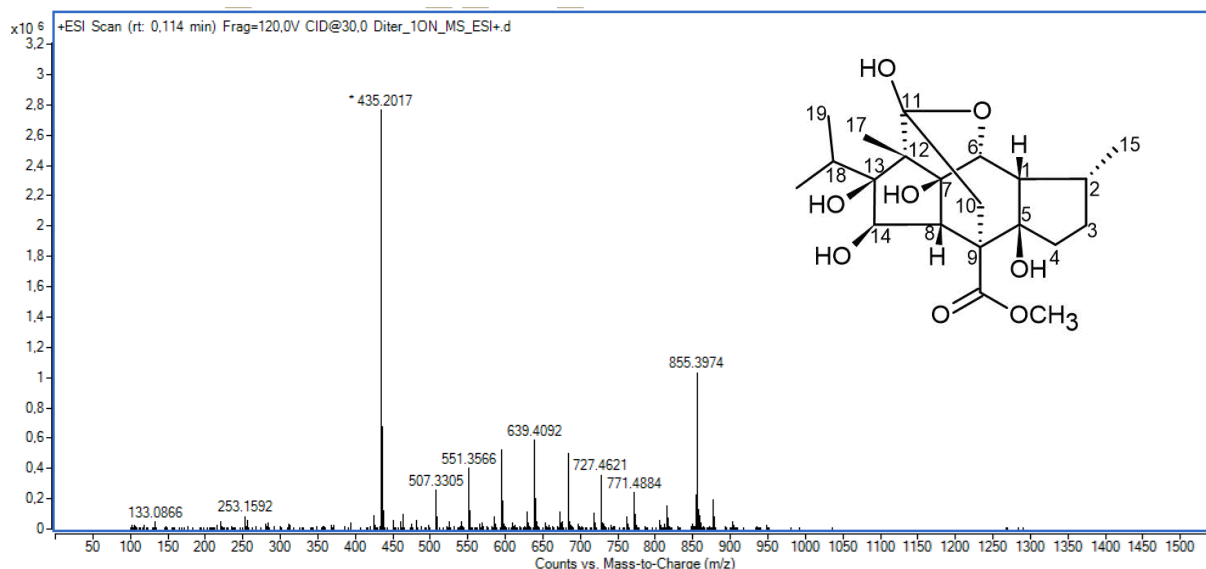


Figura S45. Espectro de massas MS ESI – negativo $[M + Na]^+$ da substância 13.

SUBSTÂNCIA 14

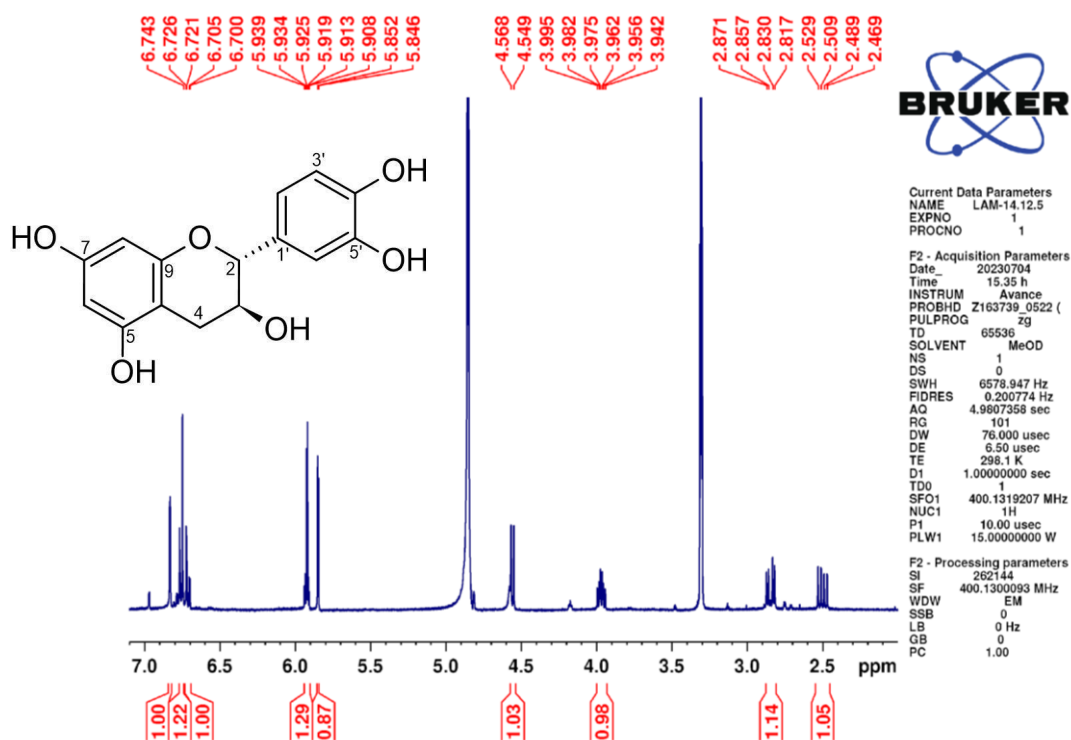


Figura S46. Espectro de RMN ^1H da substância 14 (400 MHz; MeOD).

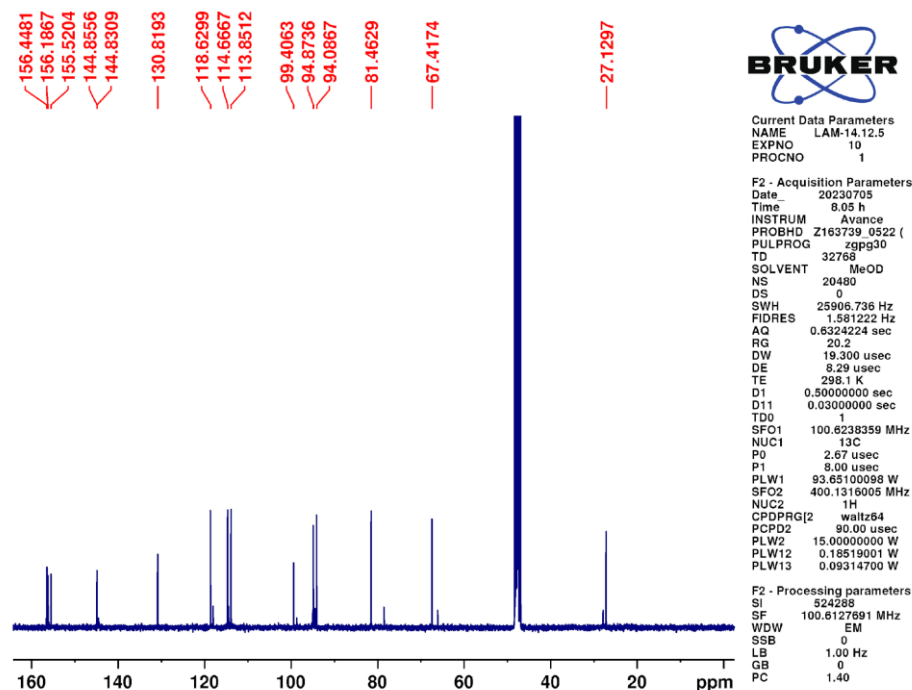


Figura S47. Espectro de RMN ^{13}C da substância 14 (100 MHz; MeOD).

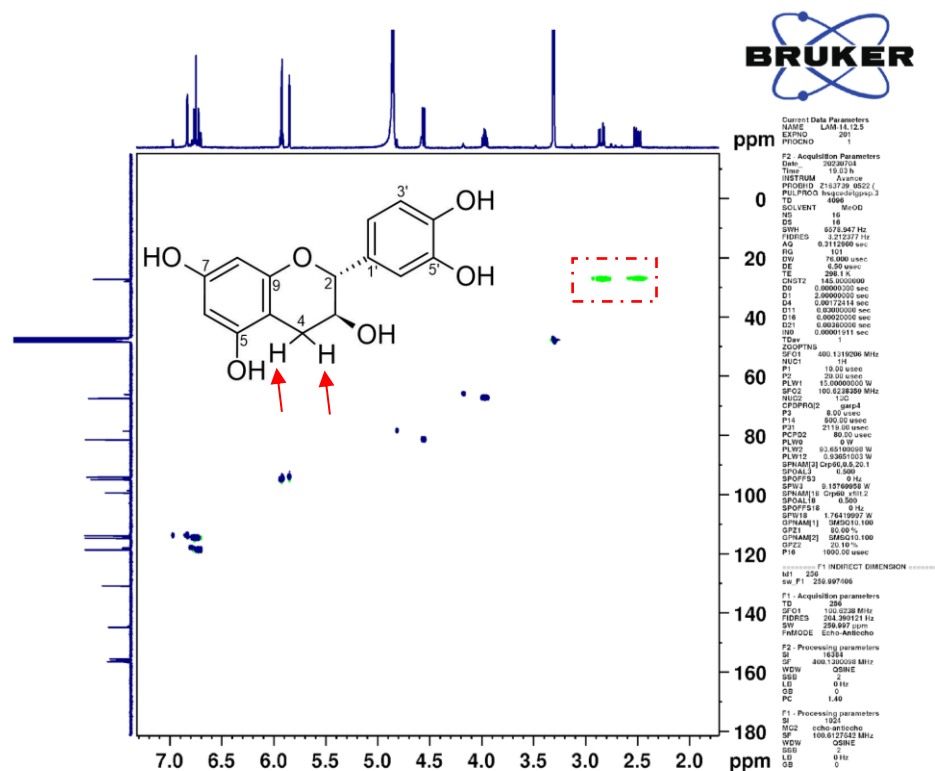


Figura S48. Mapa de contorno HSQC-EDIT da substância 14 (100 MHz; MeOD).

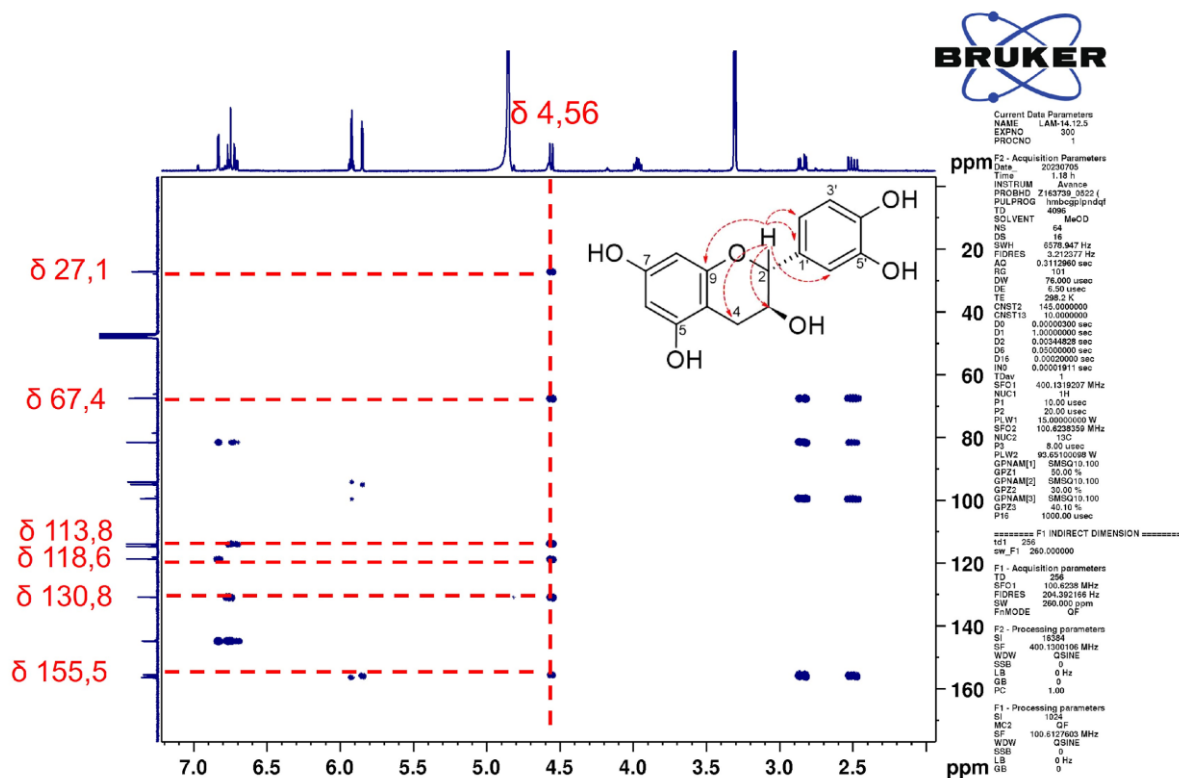


Figura S49. Mapa de contorno HMBC da substância 14 (100 MHz; MeOD).

SUBSTÂNCIA 15

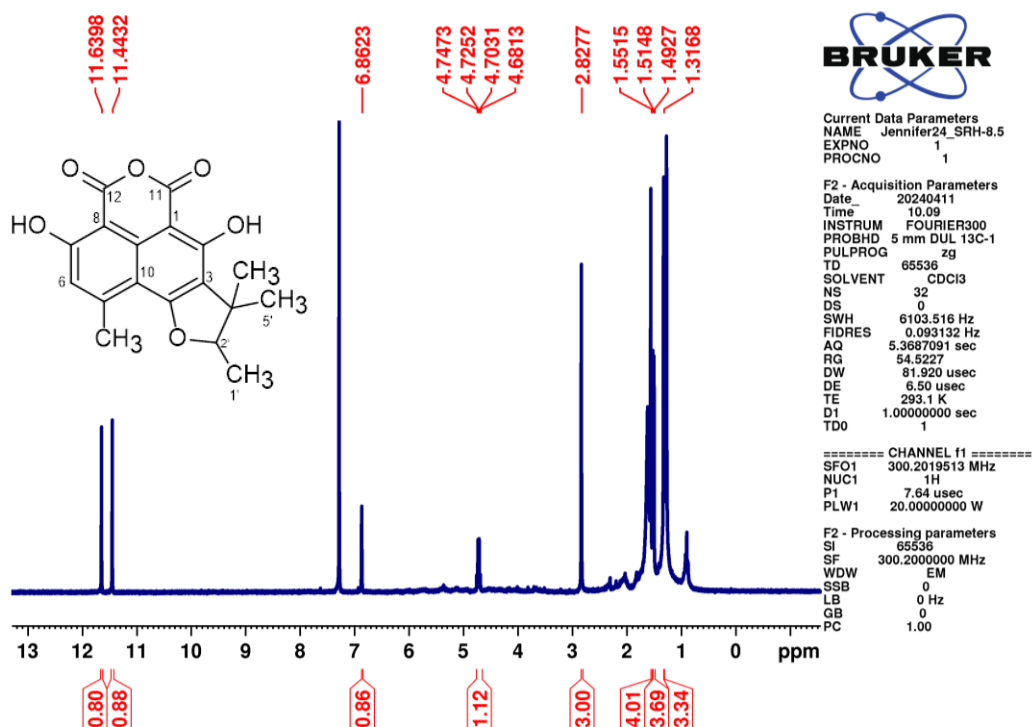


Figura S50. Espectro de RMN ^1H da substância 15 (300 MHz; CDCl_3).

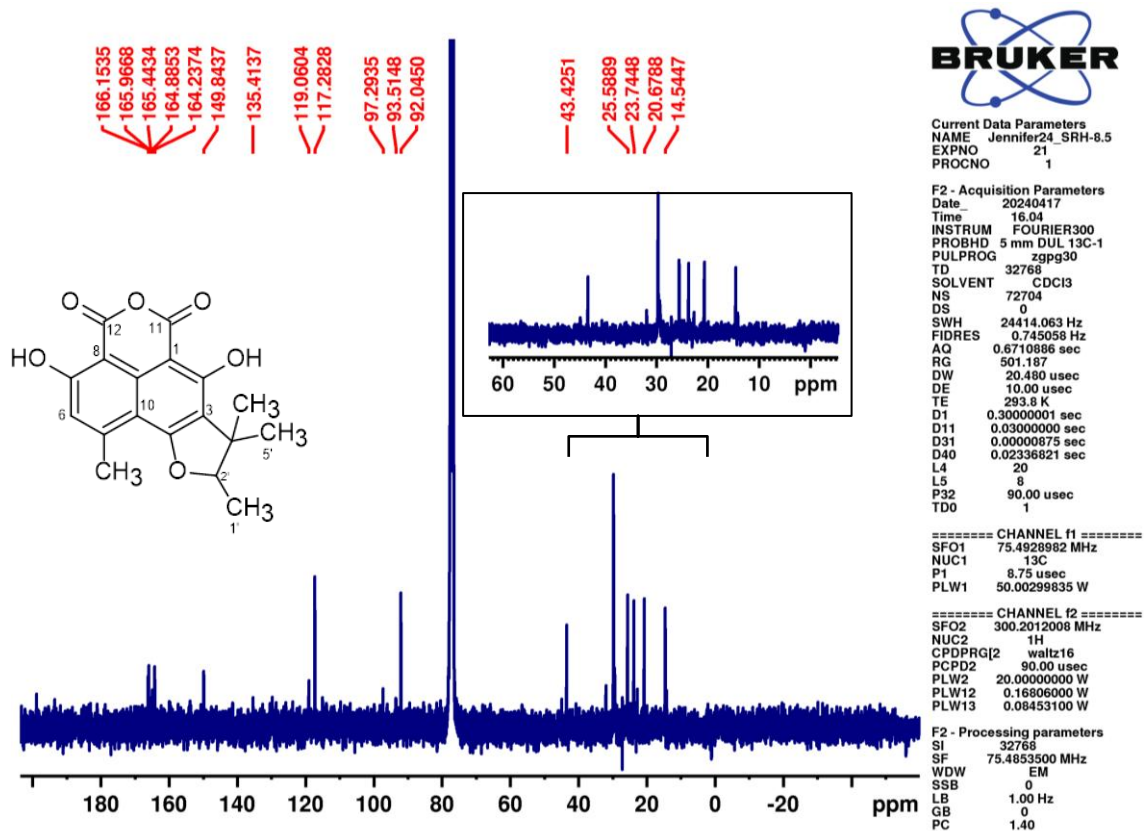


Figura S51. Espectro de RMN ^{13}C da substância 15 (75 MHz; CDCl_3).

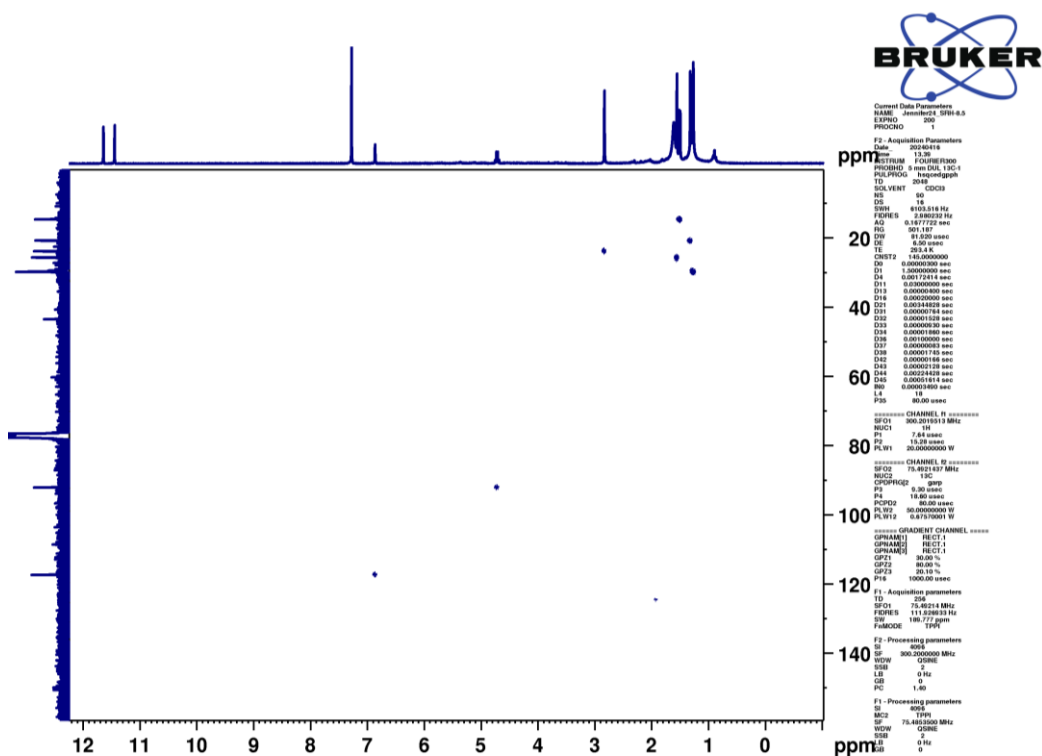


Figura S52. Mapa de contorno HSQC da substância 15 (75 MHz; CDCl_3).

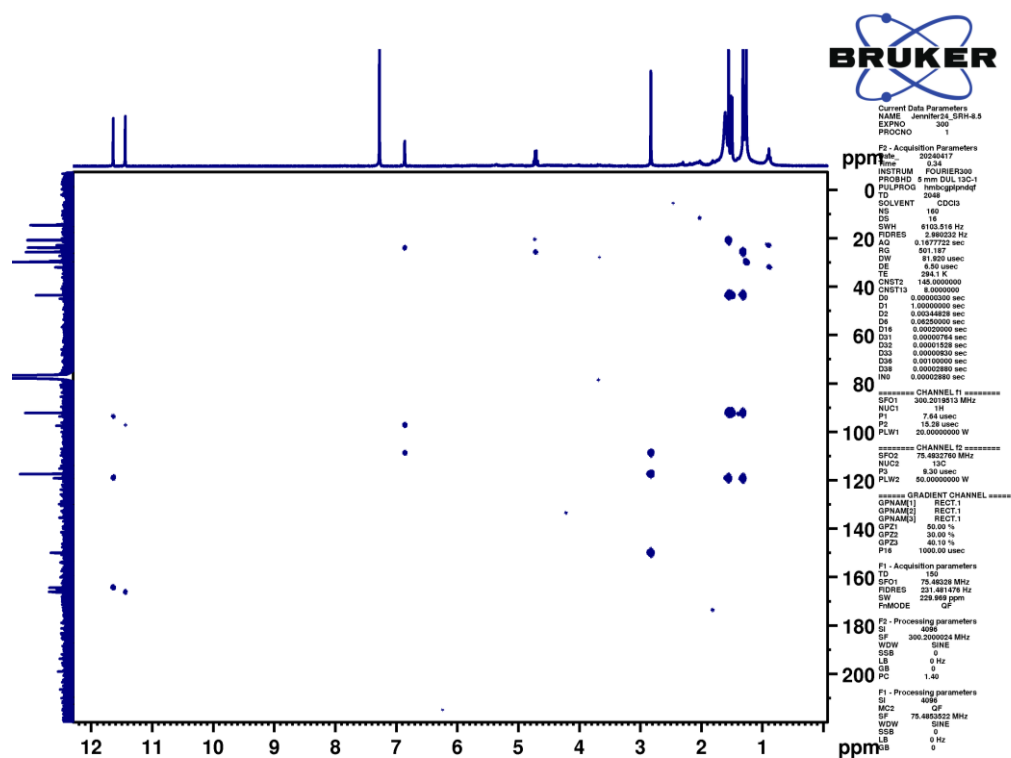


Figura S53. Mapa de contorno HMBC da substância 15 (75 MHz; CDCl₃).

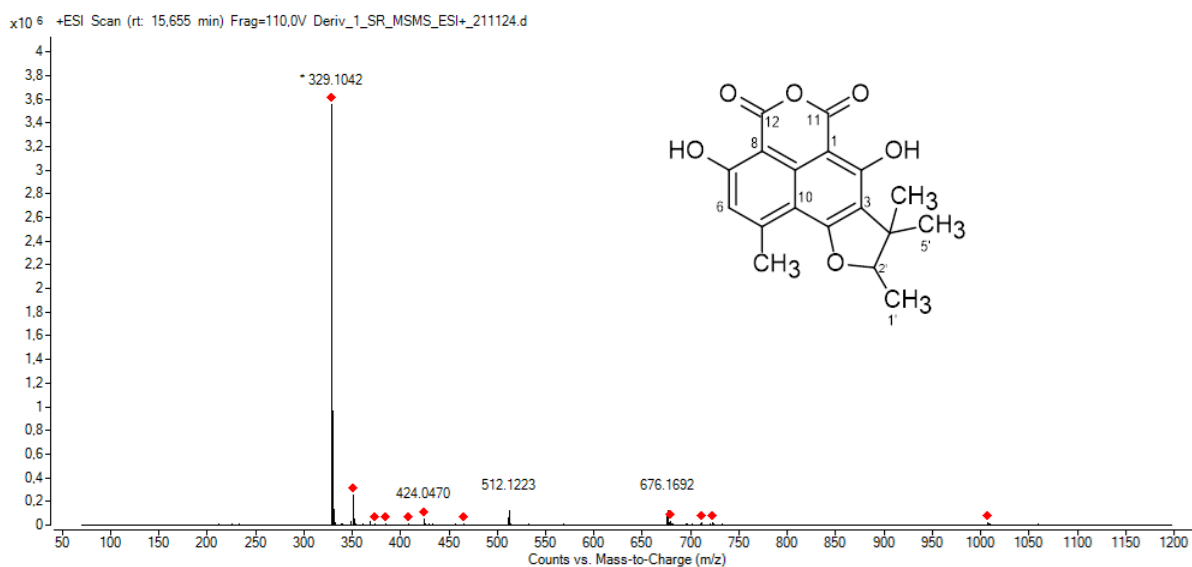


Figura S54. Espectro de massas MS ESI – positivo [M+H]⁺ da substância 15.

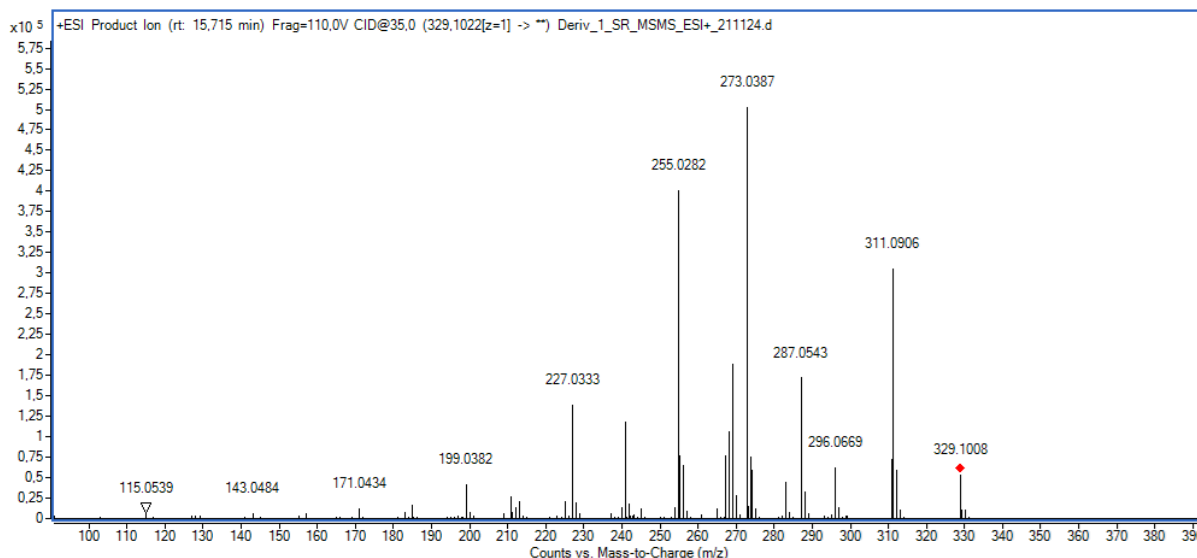


Figura S55. Espectro de massas MS/MS ESI – positivo $[M + Na]^+$ 329,1042 em EC= 35 V da substância 15.

SUBSTÂNCIAS 16 e 17

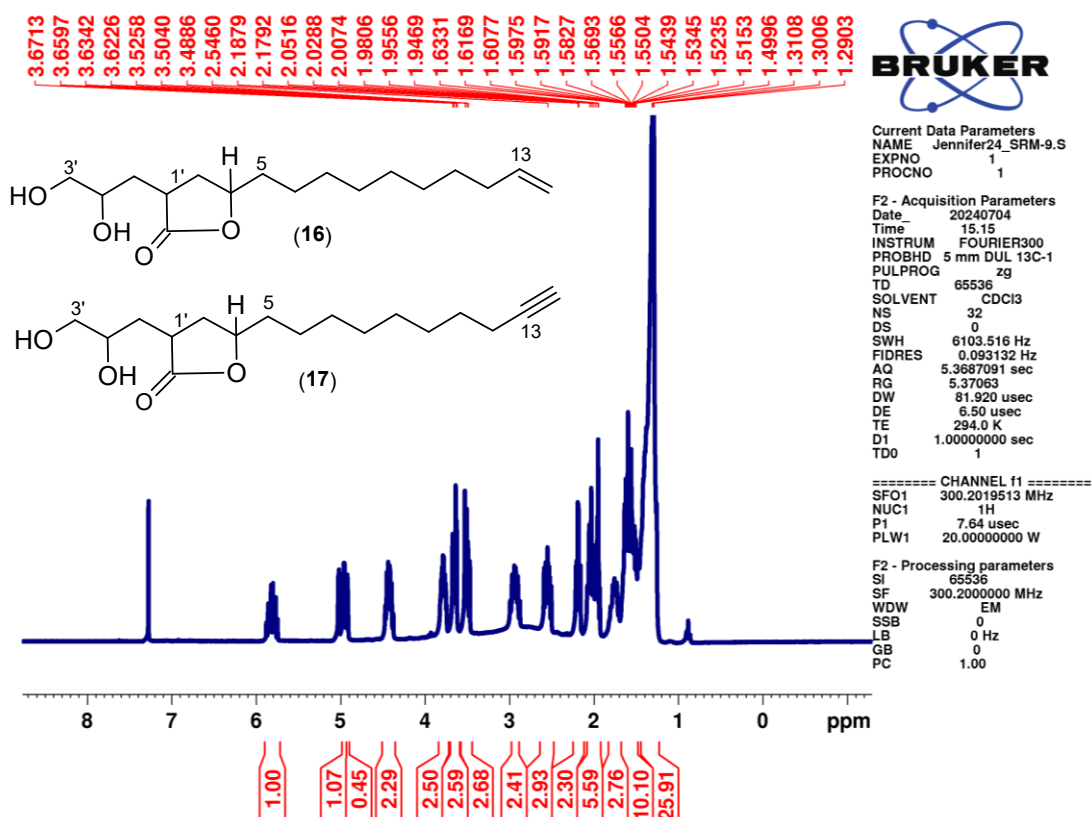


Figura S56. Espectro de RMN ^1H das substâncias 16 e 17 (300 MHz; CDCl_3).

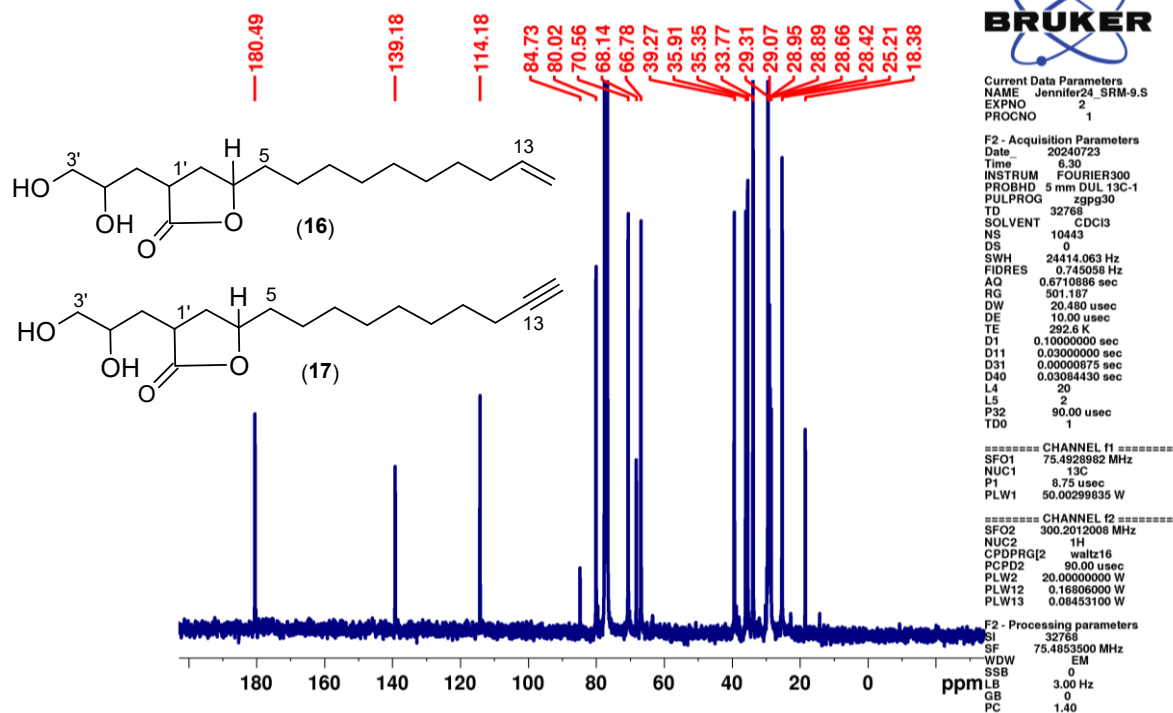


Figura S57. Espectro de RMN ^{13}C das substâncias 16 e 17 (75 MHz; CDCl_3).

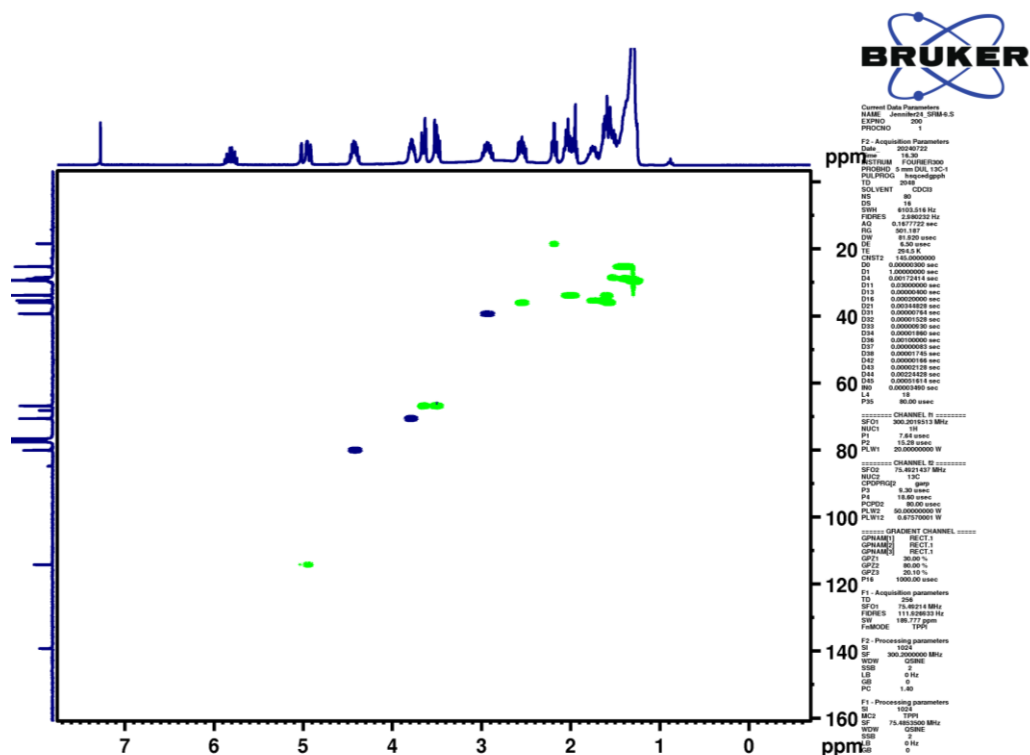


Figura S58. Mapa de contorno HSQC-EDIT das substâncias 16 e 17 (75 MHz; CDCl_3).

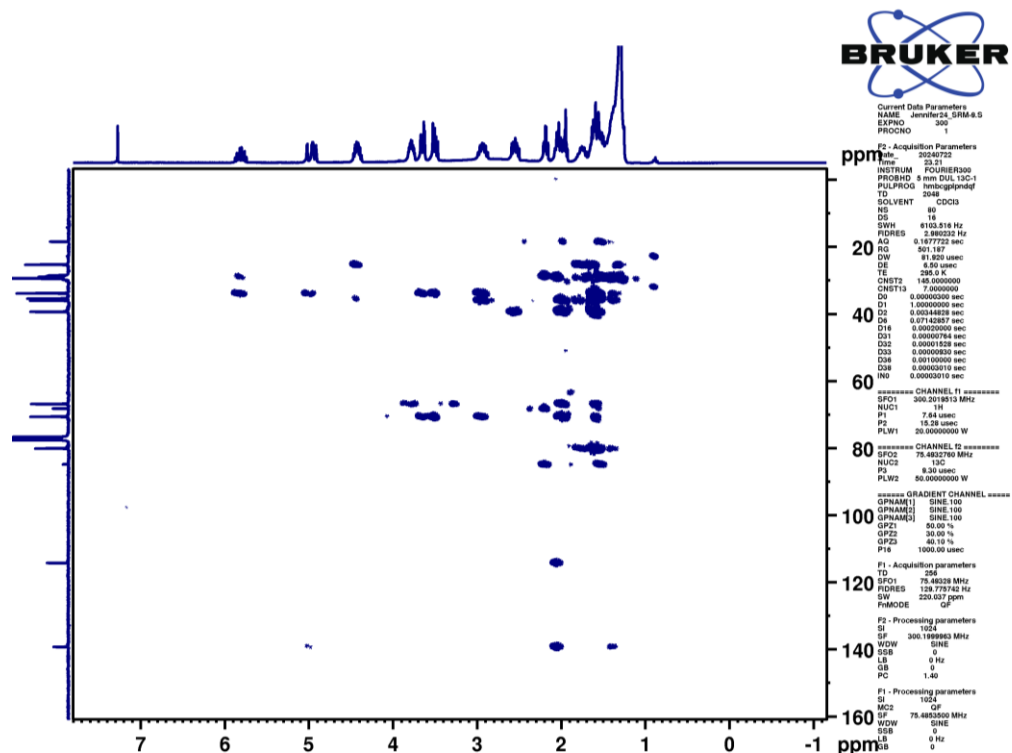


Figura S59. Mapa de contorno HMBC das substâncias 16 e 17 (75 MHz; CDCl₃).

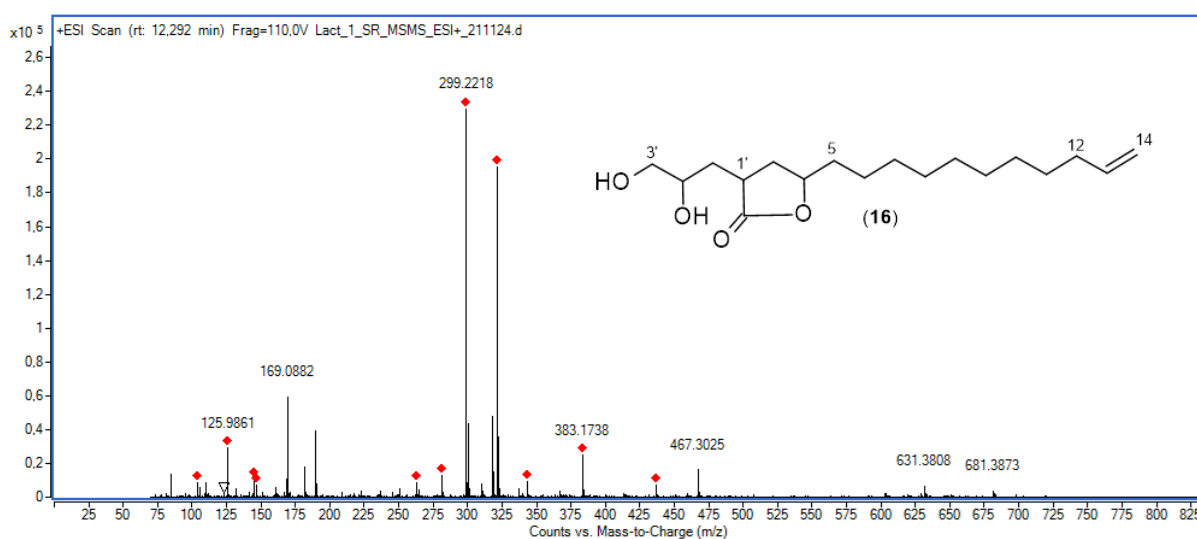


Figura S60. Espectro de massas MS/MS ESI – positivo [M+H]⁺ da substância 16.

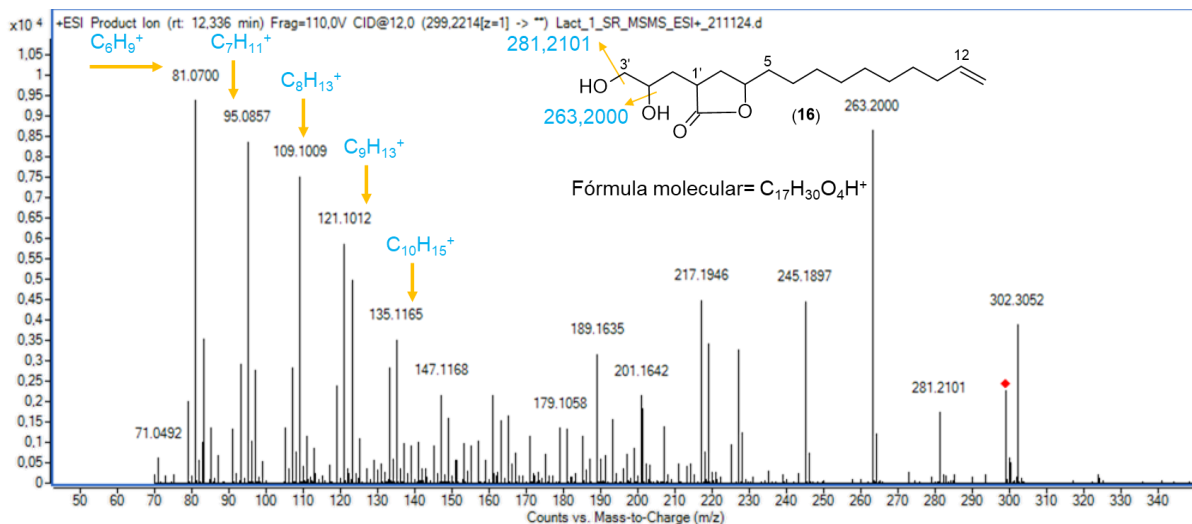


Figura S61. Espectro de massas MS/MS ESI – positivo $[M+H]^+$ da substância 16 297,2049 em EC= 12 V.

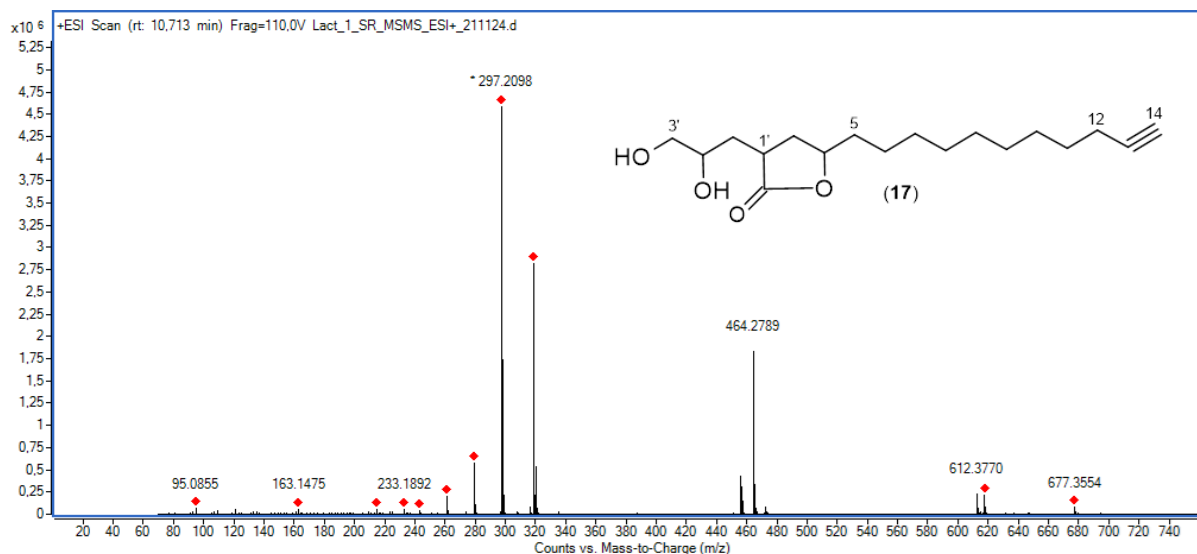


Figura S62. Espectro de massas MS/MS ESI – positivo $[M+H]^+$ da substância 17.

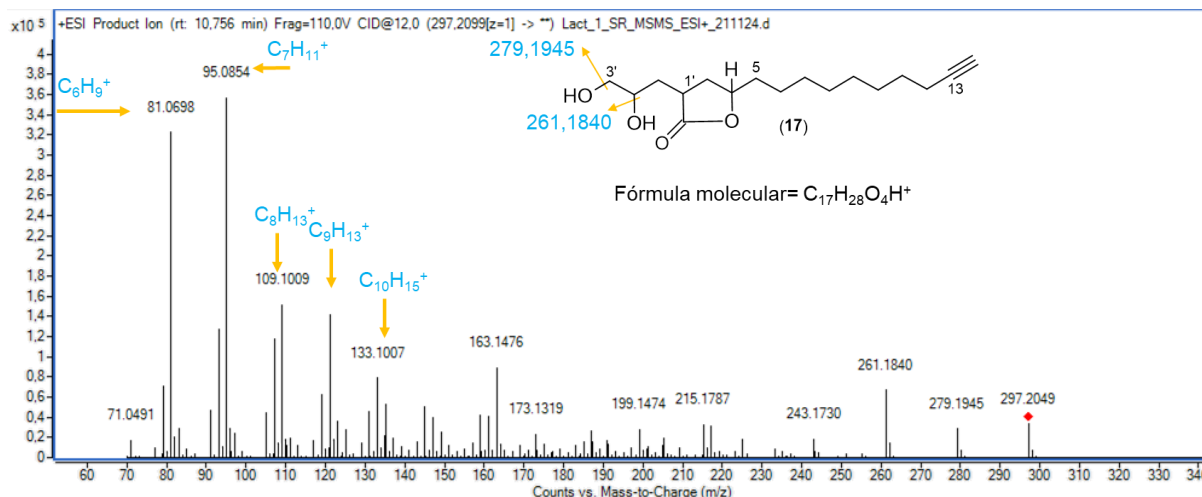


Figura S63. Espectro de massas MS/MS ESI – positivo $[M+H]^+$ 297,2049 em EC= 12 V da substância 17.