UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA – UESB

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

TIAGO GOMES DOS SANTOS

COMPONENTES QUÍMICOS EM *Chondrodendron microphyllum* (MENISPERMACEAE) E *Croton tetradenius* (EUPHORBIACEAE)

JEQUIÉ - BA

DEZEMBRO / 2020

TIAGO GOMES DOS SANTOS

COMPONENTES QUÍMICOS EM *Chondrodendron microphyllum* (MENISPERMACEAE) E *Croton tetradenius* (EUPHORBIACEAE)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Mestre em Química.

Área de concentração: Química Analítica

Orientador: Prof. Dr. Jeferson Chagas do Nascimento

JEQUIÉ-BA

DEZEMBRO / 2020

FICHA CATALOGRÁFICA

S237c Santos, Tiago Gomes dos.
Componentes químicos em chondrodendron microphyllum (menispermaceae) e croton tetradenius (euphorbiaceae) / Tiago Gomes dos Santos.- Jequié, 2020.
68f.

(Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - UESB, sob orientação do Prof. Dr. Jeferson Chagas do Nascimento)

1.Croton tetradenius 2.Chondrodendron microphyllum 3.Gusanlung C 4.Limoneno 5.Óleo essencial I.Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia II.Título

CDD – 540

Rafaella Câncio Portela de Sousa - CRB 5/1710. Bibliotecária – UESB - Jequié

TERMO DE APROVAÇÃO

TIAGO GOMES DOS SANTOS

Componentes químicos em *Chondrodendron microphyllum* (Menispermaceae) e *Croton tetradenius* (Euphorbiaceae)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Química.

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Jeferson Chagas do Nascimento
(UFBA, Salvador - BA, 2011)
(Orientador)

Prof. Dr. Clayton Queiroz Alves
(UFBA, Salvador - BA, 2012)

Prof. Dr. Bruno Oliveira Moreira
(UFBA, Salvador - BA, 2014)

Dissertação aprovada pelo Colegiado do Curso de Pós-graduação em Química em 29 / 12 / 2020

AGRADECIMENTOS

A Deus por ter me dado saúde e força para superar as dificuldades.

Agradeço a toda minha família, em especial mãe e pai pelo apoio e incentivo.

Aos amigos do laboratório de produtos naturais, Andressa, Hion e Daniel.

À professora Dr. Vanderlúcia Fonseca de Paula coordenadora do laboratório de produtos naturais, pelo apoio e contribuição à minha trajetória.

Ao professor Dr. Jeferson Chagas do Nascimento, pela orientação, apoio e confiança, sendo fundamental para realização deste trabalho.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal do Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro.

Ao Programa de Pós-Graduação em Química da UESB por nos proporcionar uma formação completa.

A todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação.

EPÍGRAFE

“O que sabemos é uma gota; o que ignoramos é um oceano.”

(Isaac Newton)

COMPONENTES QUÍMICOS EM *Chondrodendron microphyllum* (MENISPERMACEAE) E *Croton tetradenius* (EUPHORBIACEAE)

Autor: Tiago Gomes dos Santos

Orientador: Prof. Dr. Jeferson Chagas do Nascimento

RESUMO: Este trabalho apresenta o estudo químico das raízes de *Chondrodendron microphyllum* e do óleo essencial oriundo das folhas e dos caules de *Croton tetradenius* coletados em Jequié-BA. Essas plantas foram estudas com o objetivo de identificar a composição química; visto que espécies utilizadas na medicina popular, contribuindo dessa forma com o est taxonômico das espécies. No desenvolvimento desse trabalho utilizou-se técnicas usuais de separação, purificação e de identificação tais como: maceração, hidrodestilação, cromatografia em coluna, cromatografia em camada delgada comparativa, cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM), cromatografia gasosa com detector de ionização por chama (CG-DIC) e ressonância magnética nuclear de ^{1}H e ^{13}C. Dessa investigação pode-se identificar quatro substâncias naturais nas raízes de *Chondrodendron microphyllum*, a lignana siringaresinol, os fitosteróis estigmasterol e *β*-sitosterol e o alcaloide gusanlung C sendo relatados pela primeira vez na espécie. O óleo essencial das folhas de *Croton tetradenius* mostrou ser formado majoritariamente por limoneno (Fevereiro 33,14 %, Setembro 16,75 %), cânfora (Fev. 11,26 %, Set. 8,17 %), *p*-cimeno (Fev. 7,55 %, Set. 11,03 %), *cis*-*p*-menta-1(7),8-dien-2-ol (Fev. 6,64 %, Set. 8,90 %) e *trans*-*p*-menta-1(7),8-dien-2-ol (Fev. 6,30 %, Set. 7,58 %). O caule de *C. tetradenius* apresentou como principais componentes do óleo essencial o limoneno (30,65 %), cânfora (14,32 %), *cis*-*p*-menta-1(7),8-dien-2-ol (4,76 %), *trans*-*p*-menta-1(7),8-dien-2-ol (4,65 %) e 1,8-cineol (4,33 %). Esses dados indicam que a espécie estudada se trata de uma nova variedade química de *C. tetradenius.* Foi realizado o teste de atividade anticolinesterásica com substâncias previamente isoladas das raízes de *C. Microphyllum*; a substância (-)-8-oxo-1,3,9,10-tetrametoxiberbina tem baixa atividade e as substâncias 6'-hidroxi-6,12-dimetoxi-(+)-curina-2'β-N-óxido e 8-oxipalmatina mostraram média atividade.

Palavras-chave: *Croton tetradenius*. *Chondrodendron microphyllum.* Gusanlung C. Limoneno. Óleo essencial.

COMPONENTES QUÍMICOS EM *Chondrodendron microphyllum* (MENISPERMACEAE) E *Croton tetradenius* (EUPHORBIACEAE)

Autor: Tiago Gomes dos Santos

Orientador: Prof. Dr. Jeferson Chagas do Nascimento

ABSTRACT: This work presents the chemical study of the roots of *Chondrodendron microphyllum* and the essential oil from the leaves and stems of *Croton tetradenius* collected in Jequié-BA. These plants were studied in order to identify the chemical composition; since they are species used in popular medicine, thus contributing to the taxonomic study of species. In the development of this work, usual separation, purification and identification techniques were used, such as: maceration, hydrodistillation, column chromatography, comparative thin layer chromatography, gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS), gas chromatography with flame ionization detector (GC-FID) and ^{1}H and ^{13}C nuclear magnetic resonance. From this investigation, four natural substances can be identified in the roots of *Chondrodendron microphyllum*, lignan syringaresinol, phytosterols stigmasterol and *β*-sitosterol and the alkaloid gusanlung C being reported for the first time in the species. The essential oil of *Croton* tetradenius leaves was found to be formed mainly by limonene (Feb. 33.14%, Sept. 16.75%), camphor (Feb. 11.26%, Sept. 8.17%), *p*-cymene (Feb. 7.55%, Sept. 11.03%), *cis-p*-mentha-1(7),8-dien-2-ol (Feb. 6.64%, Sept. 8.90%) and *trans-p*-mentha-1(7),8-dien-2-ol (Feb. 6.30%, Sept. 7.58%). The stem of *C. tetradenius* presented limonene (30.65%), camphor (14.32%), *cis-p*-mentha-1(7),8-dien-2-ol (4,76%), *trans-p*-mentha-1(7),8-dien-2-ol (4.65%) and 1.8-cineole (4.33%) as main components of the essential oil. These data indicate that the species studied is a new chemical variety of *C. tetradenius*. An anticholinesterase activity test was performed with substances previously isolated from the roots of *C. Microphyllum*, the substance (-)-8-oxo-1,3,9,10-tetramethoxyberbina has low activity and the substances 6'-hydroxy-6,12-dimethoxy-(+)-curin-2'*β*-N-oxide and 8-oxipalmatin showed medium activity.

Keywords: *Croton tetradenius*. *Chondrodendron microphyllum.* Gusanlung C. Limonene. Essential oil.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Estrutura química de alcaloides BBI. 17

Figura 2. Estruturas dos alcaloides bisbenzilisoquinolínicos de S. tetrandra. Fonte: (WANG et al., 2020) 18

Figura 3. Estruturas dos alcaloides de S. cepharantha. Fonte: (XIAO et al., 2020) 20

Figura 4. Distribuição geográfica de Chondrodendron microphyllum no estado da Bahia. Fonte (TEIXEIRA & AMORIM, 2012) 22

Figura 5. Estrutura química dos alcaloides de Chondrodendron microphyllum 23

Figura 6. Estrutura química de dois novos diterpenoides em Croton crassifolius 25

Figura 7. Estrutura química de novos derivados fenilpropanoides em Croton velutinus 25

Figura 8. Esquema das principais frações metanólicas estudadas. 30

Figura 9. Estrutura molecular da substância siringaresinol 34

Figura 10. Espectro de RMN de ^{1}H da substância RO4 visão geral e ampliações [300 MHz, $CDCl_3$, δ (ppm)]. 35

Figura 11. Espectro de RMN de ^{13}C (a) e DEPT 135 (b) da substância RO4 [75 MHz, $CDCl_3$, δ (ppm)]. 36

Figura 12. Estrutura molecular da substância gusanlung C 39

Figura 13. Espectro de RMN de ^{1}H da substância RO2 visão geral e ampliações [300 MHz, acetona, δ (ppm)]. 40

Figura 14. Espectro de RMN de ^{13}C (a) e DEPT 135 (b) da substância RO2 [75 MHz, acetona, δ (ppm)]. 41

Figura 15. Espectro de RMN de ^{1}H da substância R03 visão geral e ampliações [300 MHz, $CHCl_3$, δ (ppm)]. 45

Figura 16. Espectro de RMN de ^{13}C da substância R03 [75 MHz, $CHCl_3$, δ (ppm)]. 46

Figura 17. Espectro de RMN DEPT 135 da substância R03 [75 MHz, $CHCl_3$, δ (ppm)]. 47

Figura 18. Perfil cromatográfico (CG-EM) do óleo essencial das folhas de Croton tetradenius coletado em setembro. 50

Figura 19. Perfil cromatográfico (CG-EM) do óleo essencial da a) folha e do b) caule de Croton tetradenius coletado em fevereiro. 51

Figura 20. Estrutura química dos principais componentes no óleo essencial de Croton tetradenius. 52

Figura 21. Perfil cromatográfico do óleo essencial das folhas de Croton tetradenius (OEF) em fevereiro no CG-DIC. 66

Figura 22. Perfil cromatográfico do óleo essencial das folhas de Croton tetradenius (OEF2-1) em setembro no CG-DIC. 67
Figura 23. Perfil cromatográfico do óleo essencial das folhas de Croton tetradenius (OEF2-2) em setembro no CG-DIC. 67

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Atividade biológica de extratos da família Menispermaceae. 16

Tabela 2. Alcaloides bisbenzilisoquinolínicos na família Menispermaceae. 18

Tabela 3. Atividade biológica de alcaloides bisbenzilisoquinolínico na família Menispermaceae. 19

Tabela 4. Relação de estudos químicos do óleo essencial de Croton tetradenius 26

Tabela 5. Dados das colunas cromatográfica metanólicas. 29

Tabela 6. Dados de RMN ^{1}H, ^{13}C e DEPT 135 [300 MHz (^{1}H) e 75 MHz (^{13}C), $CDCl_3$, δ H e C (ppm), J (Hz)] de RO4 e siringaresinol. 33

Tabela 7. Dados de RMN ^{13}C, ^{1}H do Gusanlung C (^{1}H 300 MHz e ^{13}C 75 MHz, Acetona). 38

Tabela 8. Dados de RMN ^{1}H, ^{13}C e DEPT 135 [300 MHz (^{1}H) e 75 MHz (^{13}C), $CDCl_3$, δ H e C (ppm), J (Hz)] de R03 e estigmasterol. 43

Tabela 9. Dados de RMN ^{1}H, ^{13}C e DEPT 135 [300 MHz (^{1}H) e 75 MHz (^{13}C), $CDCl_3$, δ H e C (ppm), J (Hz)] de R03 e β-sitosterol. 44

Tabela 10. Dados do rendimento da extração dos óleos essenciais de C. tetradenius. 48

Tabela 11. Composição (%, média ± desvio padrão) do óleo essencial das folhas de C. tetradenius coletado em fevereiro. 53

Tabela 12. Composição (%, média ± desvio padrão) do óleo essencial das folhas de C. tetradenius coletado em setembro. 54

Tabela 13. Composição (%) do óleo essencial do caule de C. tetradenius coletado em fevereiro. 55

Tabela 14. Resultado da atividade anticolinesterásica em 10 minutos 56

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CG-EM - Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas

CG-DIC - Cromatografia Gasosa com Detector de Ionização por Chama

OEF - Óleo Essencial das Folhas

OEC - Óleo Essencial do Caule

BBI - Bisbenzilisoquinolínico

DA - Doença de Alzheimer

RMN - Ressonância Magnética Nuclear

CC - Cromatografia em Coluna

CCD - Cromatografia em Camada Delgada

DCM - Diclorometano

AcOEt - Acetato de etila

Hex - Hexano

MeOH - Metanol

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO 13

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 15

1.1 Família Menispermaceae – aspectos gerais 15

1.1.1 Alcaloides bisbenzilisoquinolínicos (BBI) 17

1.2 Gênero *Chondrodendron* 20

1.2.1 Aspectos gerais do gênero *Chondrodendron* 20

1.2.2 Fitoquímica e atividade biológica do gênero *Chondrodendron* 20

1.3 A espécie *Chondrodendron microphyllum* 21

1.4 Gênero *Croton* – Aspectos gerais 23

1.5 *Croton tetradenius* – Aspectos gerais 26

PARTE EXPERIMENTAL 27

2.1 Materiais e métodos 27

2.2 Coleta da planta e preparo do extrato 28

2.3 Isolamento dos Constituintes Químicos de *Chondrodendron microphyllum* 28

2.4 Obtenção do óleo essencial de *Croton tetradenius* 30

2.5 Atividade anticolinesterásica 31

RESULTADOS E DISCUSSÃO 32

3.1 Substâncias identificadas em *Chondrodendron microphyllum* 32

3.1.1 Elucidação estrutural do siringaresinol 32

3.1.2 Elucidação estrutural do Gusanlung C 37

3.1.3 Elucidação estrutural do estigmasterol e *β*-sitosterol 42

3.2 Estudo químico do óleo essencial das folhas de *Croton tetradenius* 48

3.3 Atividade anticolinesterásica 56

CONCLUSÃO 57

REFERÊNCIAS 58

APÊNDICE 66

INTRODUÇÃO

O Brasil é um país que tem grande biodiversidade, com uma biota que corresponde a cerca de 13,1% da riqueza mundial conhecida. O grupo mais estudado é o das plantas, com 34.916 espécies catalogadas no Brasil, sendo que 55% são endêmicas (SIMÕES *et al*, 2016).

A química, como todas as ciências, busca melhorar a qualidade da vida humana, e a pesquisa em produtos naturais proporciona isso, atualmente, aproximadamente 60% dos agentes antitumorais disponíveis no mercado ou em estágio de avaliação clínica são de origem natural (MONTEIRO & BRANDELLI, 2017). Em razão das propriedades medicinais de algumas espécies de plantas, muitos metabólitos secundários foram purificados e caracterizados estruturalmente, fazendo com que centenas de plantas sejam cultivadas para se obter substâncias úteis para medicina e farmácia. Muitas substâncias oriundas de plantas são modelos para o desenvolvimento de medicamentos sintéticos modernos, tais como procaína, cloroquina, tropicamida (KINGHORN *et al.*, 1996).

A doença de Alzheimer (DA) caracteriza-se pelo declínio cognitivo, é a forma mais comum de demência, sendo um transtorno neurodegenerativo que não dispõe até o momento de medicamento capaz de interromper o curso da doença (CANINEU *et al*., 2005).

As vias neurais pertencentes ao sistema colinérgico e suas conexões são preferencialmente atingidas na DA. A abordagem terapêutica para os portadores da DA mais eficaz atualmente é a que utiliza o método da inibição da acetilcolinesterase (enzima responsável pela degradação da acetilcolina) (FORLENZA, 2005).

Esse trabalho teve como objetivo contribuir para o conhecimento químico da espécie *Chondrodendron microphyllum*, por meio do estudo químico das raízes. que são utilizadas na medicina popular para o tratamento de cálculos no trato urinário, cólicas uterinas, dores abdominais e como diurético. O estudo químico da mesma é bastante escasso sendo que o primeiro estudo recente foi realizado por nosso grupo de pesquisa. Para isso, foi efetuado o isolamento e identificação dos constituintes fixos das raízes dessa espécie. Um outro objetivo

do trabalho foi o estudo da composição química e quantificação dos constituintes voláteis presentes no óleo essencial das folhas de *Croton tetradenius,* popularmente conhecida como “Velaminho” que ocorre predominantemente na Caatinga, a técnica utilizada para essa determinação foi CG-EM/DIC. Nesse trabalho também foi realizado o teste de atividade anticolinesterásica para algumas substâncias identificadas e isoladas anteriormente pelo nosso grupo de pesquisa (Silva, 2018). As substâncias que tiveram sua atividade anticolinesterásica avaliadas foram: 6’-hidroxi-6,12-dimetoxi-(+)-curina-2’*β*-N-óxido (AO7), (-)-8-oxo-1,3,9,10-tetrametoxiberbina (AO4) e 8-oxipalmatina (AO5).

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 Família Menispermaceae – aspectos gerais

A família Menispermaceae pertence a ordem Ranunculales, composta por aproximadamente 520 espécies de distribuição tropical e subtropical, essa família está dividida em 72 gêneros (WANG *et al*., 2007; WEFFERLING *et al*., 2013). Segundo Flora do Brasil 2020, são encontrados 16 gêneros e 110 espécies no Brasil, principalmente nas florestas amazônica e atlântica.

No Brasil os gêneros encontrados são: *Abuta, Anomospermum, Borismene, Caryomene, Chondrodendron, Cissampelos, Cocculus, Curarea, Disciphania, Elephantomene, Hyperbaena, Odontocarya, Orthomene, Sciadotenia, Telitoxicum* e *Ungulipetalum* (Flora do Brasil, 2020). Na Bahia, Menispermaceae está representada por 12 gêneros e 22 espécies (TEIXEIRA & AMORIM, 2012).

Em relação à atividade biológica na família, a **Tabela 1** apresenta algumas atividades, como exemplo, a espécie *Cissampelos sympodialis* possui atividades biológicas diversas, como: melhora no tecido pulmonar, gastroprotetora, suprime sintomas da ansiedade e asma.

Tabela 1. Atividade biológica de extratos da família Menispermaceae.

Espécie	Parte da planta	Atividade	Extrato	Ref.
Cissampelos sympodialis	Folha	Melhora tecido pulmonar	Extrato hidroetanólico	(MEDEIROS *et al.*, 2020)
	Partes aéreas	Gastroprotetora	Extrato etanólico	(DE SALES *et al.*, 2018)
	Folha	Suprime sintomas da ansiedade e asma	Extrato etanólico	(BEZERRA-SANTOS *et al*., 2020)
Tiliacora triandra	Folha	Efeito neuroprotetor	Extrato etanólico	(THONG-ASA & BULLANGPOTI, 2020)
Tiliacora acuminata	Folha	Antimicrobiana	Extrato metanólico	(SIMON *et al.*, 2016)
Stephania pierrei	Raiz	Antibacteriana	Extrato aquoso	(KAMONWANNASIT & KAMCHAROEN, 2018)
Tinomiscium philippinense	Folha	Antiangiogênica e antibacteriana	Extratos hexânico, diclorometano e butanoico	(RENA-AGUILA *et al.*, 2016)
Triclisia subcordata	Folha	Antioxidante e antidiabético	Extratos metanólico e diclorometano	(AKINWUNMI *et al.*, 2020)
Tinospora cordifolia	Caule	Anticâncer cerebral	Extratos clorofórmico e hexânico	(SHARMA *et al.*, 2019)
Stephania Elegans	Raiz	Antioxidante e anticâncer de mama	Extrato metanólico	(SHARMA *et al.*, 2017)
Tinospora sinensis	Caule	Anti-inflamatória	Extrato etanólico	(CASTILLO *et al.*, 2018)
Cissampelos pareira e *Stephania glabra*	Folha	Antiartrítico	Extrato etanólico	(HEMRAJ *et al.*, 2019)
Stephania pierrei	Raiz	Antifúngica e antioxidante	Extrato aquoso	(KAMONWANNASIT *et al.*, 2019)
Stephania rotunda	Raiz	Hipoglicêmica	Extrato etanólico	(SINGH *et al.*, 2019)

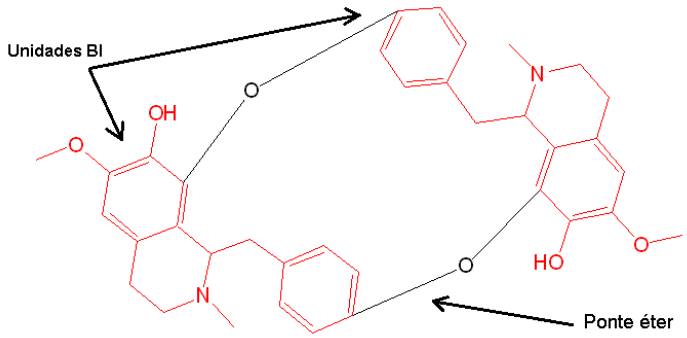
A família Menispermaceae tem como característica principal a presença de alcaloides, sendo os mais abundantes bisbenzilisoquinolínicos, seguido pelos aporfínicos e os protoberberínicos (ARAGÃO, 2002).

Cerca de 600 alcaloides bisbenzilisoquinolínicos foram isolados e caracterizados estruturalmente a partir de plantas, sendo estes distribuídos principalmente nas famílias Berberidaceae, Menispermaceae, Monimiaceae e Ranunculaceae, com diversas atividades biológicas (WEBER & OPATZ, 2019).

1.1.1 Alcaloides bisbenzilisoquinolínicos (BBI)

Os alcaloides BBI são constituídos por duas unidades benzilisoquinolínicas (BI) ligadas por pontes de éter (**Figura 1**). Além dessa ligação éter, a ponte metilenoxi ou a ligação de carbono-carbono também é encontrada entre as duas unidades de BI (GUHA *et al*., 1979).

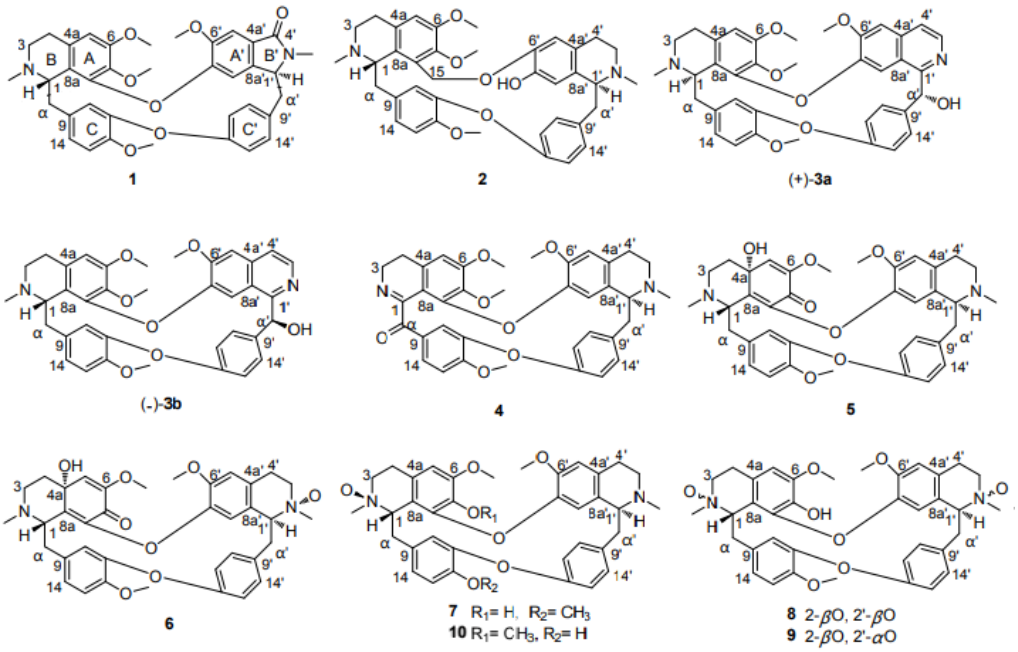
Figura 1. Estrutura química de alcaloides BBI.



Os alcaloides BBI são classificados em grupos e subgrupos com base nas diferenças de ligações entre as duas unidades BI, os membros de cada grupo diferem na natureza dos substituintes oxigenados (OH, OMe, OCH_2O); a substituição dos dois átomos de nitrogênio (NH, NMe, $N^{-}Me_2$, NO); o grau de insaturação dos heteroanéis e a estereoquímica dos dois centros assimétricos (GUHA *et al.*, 1979).

Destacando alguns dos trabalhos mais recentes sobre estes alcaloides, Wang *et al.* (2020) obteve dez novos alcaloides bisbenzilisoquinolínicos (**Figura 2**) a partir das raízes de *Stephania tetrandra*. Os compostos de 1 a 4 mostraram atividade anti-inflamatória.

Figura 2. Estruturas dos alcaloides bisbenzilisoquinolínicos de *S. tetrandra*. Fonte: (WANG *et al.*, 2020)



Uma série de novos alcaloides BBI da família Menispermaceae identificados em diferentes partes das plantas são apresentados na **Tabela 2**.

Tabela 2. Alcaloides bisbenzilisoquinolínicos na família Menispermaceae.

Nome do composto	Parte da planta	Espécie	Ref.
(1R, 1′S)-N-formilcefarantina	Raiz	*Stephania cepharantha*	(XIAO *et al.*, 2020)
(1R, 1′S) -N-formilisotetrandrina			
(-) – picmanilina	Caule	*Tricilisia gilletii*	(KANYANGA *et al.*, 2018)
(-) – faeantina			
Cissampentine B	Raiz	*Cyclea tonkinensis*	(WANG *et al.*, 2015)
Cissampentine C			
Cissampentine D			
Nelumborine A	Semente	*Nelumbo nucifera*	(ITOH *et al.*, 2011)
Nelumborine B			
Nelumboferine			
Racemosidine A	Raiz	*Cyclea racemosa*	(WANG *et al.*, 2010)
Racemosidine B			
Racemosidine C			
Racemosinine A			
Racemosinine B			
Racemosinine C			

Os alcaloides BBI têm muitas atividades biológicas, na **Tabela 3** são apresentados os alcaloides e a sua respectiva atividade. Nos estudos de Kim *et al.* (2019) com os alcaloides tetrandrina, fangchinolina e cefarantina obtidos de *Stephania tetrandra* constatou-se que estes apresentam efeito antiviral em células pulmonares humanas infectadas com o coronavírus HCoV-OC43.

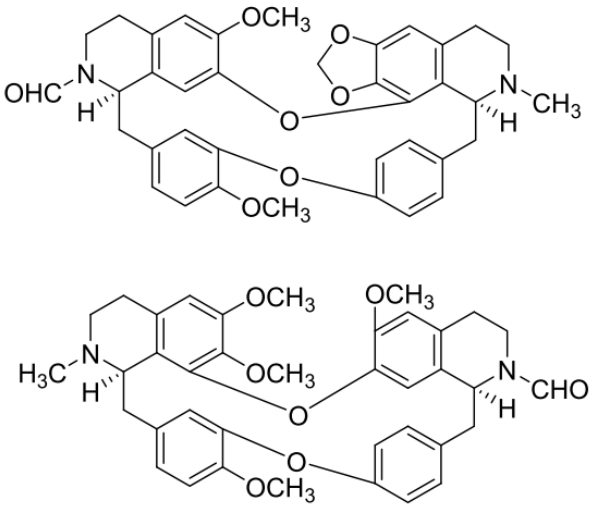
Tabela 3. Atividade biológica de alcaloides bisbenzilisoquinolínico na família Menispermaceae.

Espécie	Alcaloide	Atividade	Ref.
Stephania tetrandra	Fangquinolina	Inibe a formação de osteoclastos	(ZHOU *et al.*, 2020)
	Cefarantina	Coronavírus humano (HCoV) -OC43	(KIM *et al.*, 2019)
	Tetrandrina		
		Efeito protetor de danos nos podócitos	(YU *et al.*, 2020)
Cyclea peltata	Tetrandrina	Contra células cancerígenas pancreáticas (PANC-1) e mamárias (MDA-MB-231)	(BHAGYA *et al.*, 2019)
Tiliacora racemosa	Tiliamosina	Efeito hepatoprotetor	(DARVIN *et al.*, 2018)
Cissampelos sympodialis	Warifteine	Imunomodulador	(VIEIRA *et al.*, 2018)
		Suprime sintomas da ansiedade e asma	(BEZERRA-SANTOS *et al.*, 2020)
Cyclea tonkinensis	Cissampentine A	Contra células tumorais HCT-8	(WANG *et al.*, 2015)
	Cissampentine D		
Tiliacora acuminata	Tiliamosina	Contra ovos, larvas e células larvais de *Cx. Quinquefasciatus*	(SANDHANAM *et al.*, 2019)
Cyclea racemosa	Racemosidine A	Contra células tumorais HCT-8, BEL-7402 e A2780	(WANG *et al.*, 2010)
	Racemosidine B	Contra células tumorais HCT-8 e BEL-7402	(WANG *et al.*, 2010)
	Racemosidine C		

Stephania cepharantha amplamente distribuída na China, é usada para o tratamento de dor de estômago, mordida de cobra e disenteria bacteriana. Foi

realizado um estudo fitoquímico guiado por bioatividade em que chegou ao isolamento de dois novos alcaloides Isoquinolínicos (**Figura 3**) que exibiram atividade anti-inflamatório mais potente do que o controle positivo minociclina (XIAO *et al.*, 2020).

Figura 3. Estruturas dos alcaloides de *S. cepharantha*. Fonte: (XIAO *et al.*, 2020)



1.2 Gênero *Chondrodendron*

1.2.1 Aspectos gerais do gênero *Chondrodendron*

No Brasil, o gênero está representado por três espécies: *Chondrodendron microphyllum, Chondrodendron platyphyllum e Chondrodendron tomentosum*. A distribuição geográfica ocorre no norte (Acre, Amazonas), nordeste (Bahia, Ceará, Paraíba, Pernambuco, Rio Grande do Norte) e sudeste (Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo) (Flora do Brasil, 2020). Na Bahia, existem duas espécies, *C. microphyllum* e *C. platyphyllum*, ambas com distribuição predominantemente em Floresta Atlântica (TEIXEIRA & AMORIM, 2012).

1.2.2 Fitoquímica e atividade biológica do gênero *Chondrodendron*

A curina é o principal alcaloide bisbenzilisoquinolínico obtido de *Chondrodendron platyphyllum*. Esta substância é utilizada para o tratamento de doenças inflamatórias na medicina popular brasileira e em estudos científicos vem demostrando algumas atividades biológicas, a exemplo: ação antialérgica

(RIBEIRO-FILHO *et al*., 2013, 2014, 2015), efeito vasodilatador (MEDEIRO *et al*., 2011), atividade anticancerígena contra linhagem de células leucêmicas HL-60 (DANTAS *et al.*, 2015), propriedades anti-inflamatórias e efeito analgésico (RIBEIRO-FILHO *et al*., 2013; LEITE *et al*., 2014).

Atualmente foi comprovado que a curina tem atividade anti-inflamatória em ratos, devido à inibição da ativação de macrófagos e recrutamento de neutrófilos, a inibição da produção de citocinas e diminuição do nível de óxido nítrico (RIBEIRO-FILHO *et al.*, 2019). Cong *et al.* (2017) verificou que a curina exerce citotoxicidade em células de carcinoma hepatocelular.

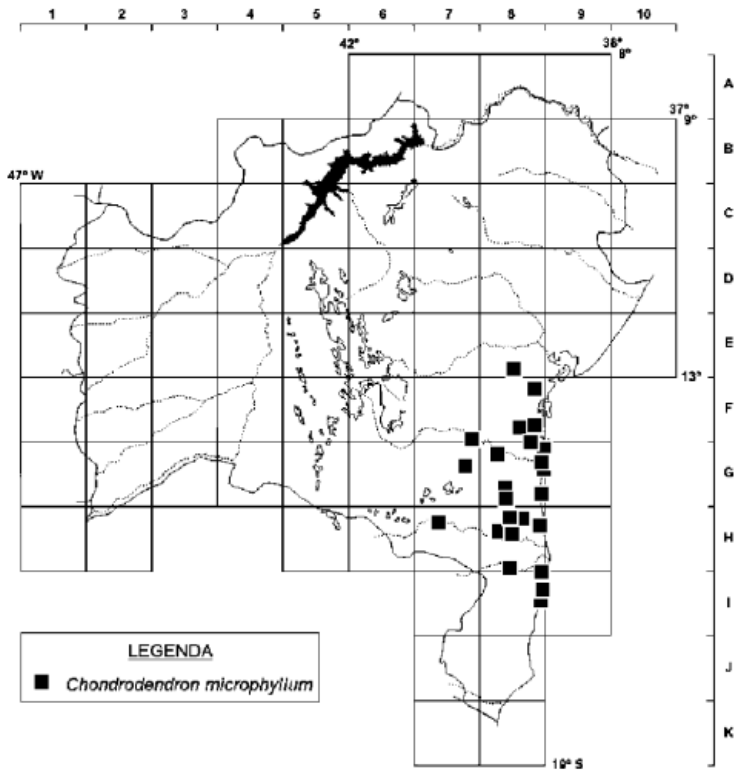
Em um estudo da fração total de alcaloides de *C. platyphyllum* foi possível determinar uma atividade depressora do sistema nervoso central em camundongos (MONTENEGRO *et al.*, 2010).

Na espécie *Chondrodendron tomentosum* foram identificados os seguintes compostos: cloreto de tubocurarina; curina, isocondrodendrina, dimetilisocondrodendrina, condrocurina e tomentocurina (KING, 1947) (BICK & CLEZY, 1960).

1.3 A espécie *Chondrodendron microphyllum*

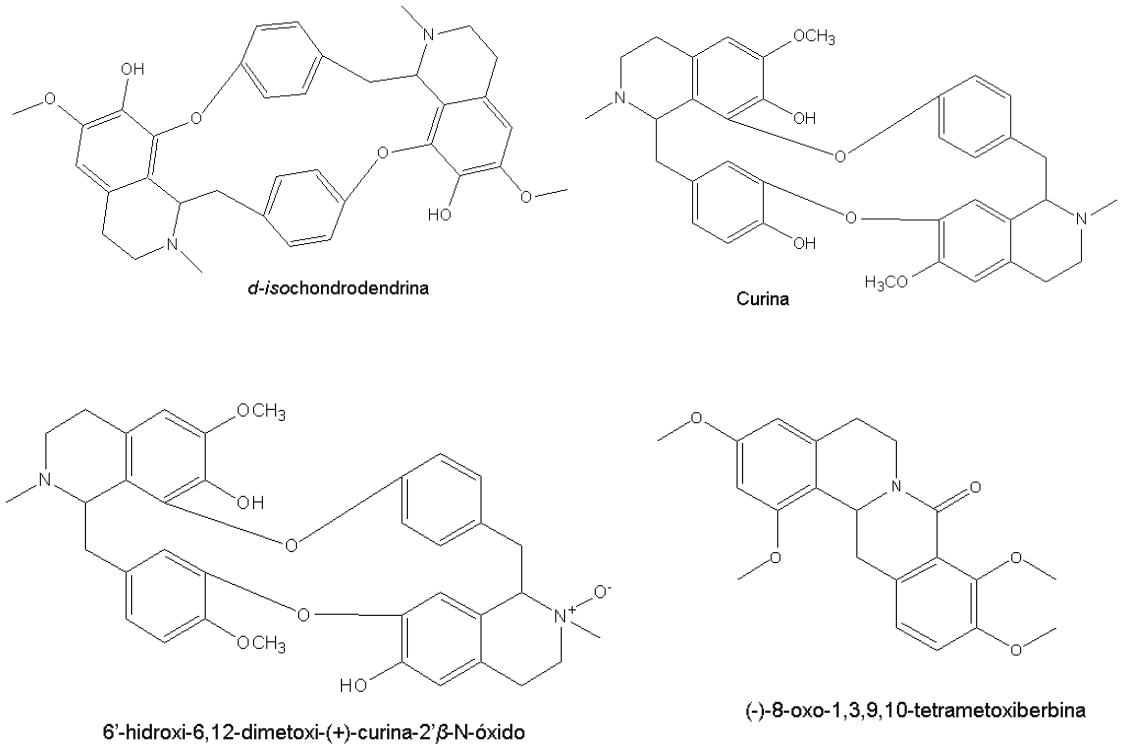
A espécie *Chondrodendron microphyllum* é endêmica do Brasil e conhecida popularmente como buti ou bute (Flora do Brasil, 2020). As raízes eram comercializadas no mercado inglês com o nome de parreira brava, com indicação para o tratamento de cálculos, problemas na bexiga, cólicas uterinas, dores abdominais e como diurético (KING, 1940). As espécies *Chondrodendron platyphyllum* e *Chondrodendron microphyllum* têm características taxonômicas semelhantes (KING, 1940). A distribuição geográfica da espécie no estado da Bahia ocorre na região de mata atlântica do extremo sul, litoral sul, sudoeste e recôncavo, como mostra a **Figura 4**.

Figura 4. Distribuição geográfica de *Chondrodendron microphyllum* no estado da Bahia. Fonte (TEIXEIRA & AMORIM, 2012)



King (1940), estudando as raízes da espécie *Chondrodendron microphyllum*, identificou os alcaloides *d-iso*chondrodendrina e curina (**Figura 5**). O estudo fitoquímico e biológico dessa espécie é bastante escasso, logo é muito importante conhecer mais sobre os seus constituintes. Também estudando as raízes, Silva (2018) identificou o alcaloide bisbenzilisoquinolínico 6'-hidroxi-6,12-dimetoxi-(+)-curina-2'*β*-N-óxido e o protoberberínico (-)-8-oxo-1,3,9,10-tetrametoxiberbina inéditos (**Figura 5**).

Figura 5. Estrutura química dos alcaloides de *Chondrodendron microphyllum*



1.4 Gênero *Croton* – Aspectos gerais

A família Euphorbiaceae é composta por cerca de 334 gêneros e mais de 8.000 espécies, distribuídas especialmente nos trópicos (MWINE; DAMME, 2011). O gênero *Croton*, um dos maiores representantes da família Euphorbiaceae, consiste em cerca de 1300 espécies, distribuídas em regiões tropicais e subtropicais regiões das Américas, África e Ásia (LIMA & PIRANI, 2008).

O gênero *Croton* possui aproximadamente 309 espécies catalogadas no Brasil, sendo 239 endêmicas. Encontra-se em todas as regiões brasileiras e abrangem os domínios fitogeográficos da Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica, Pampa e Pantanal (REFLORA, 2020).

A química do gênero *Croton* é consideravelmente diversa. Os terpenoides são os metabólitos secundários predominante no gênero, principalmente os diterpenoides, triterpenoides e esteroides pentacíclicos têm sido frequentemente

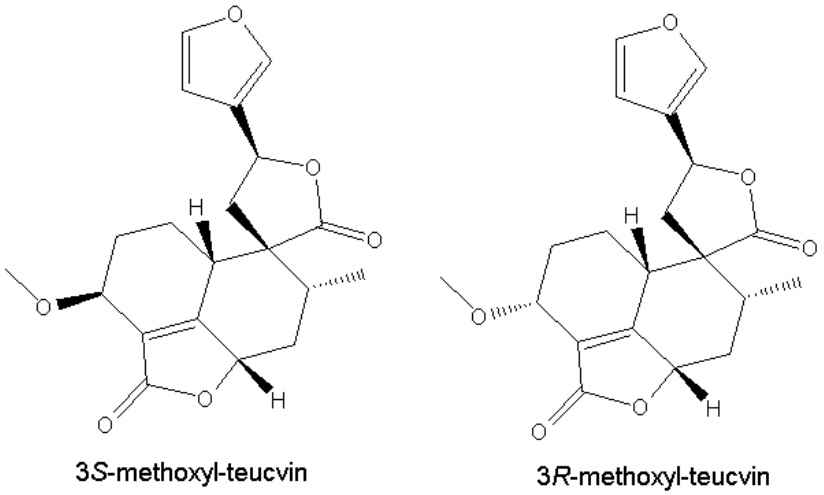
relatados. Alcaloides não são comuns em Euphorbiaceae, mas algumas espécies de *Croton* apresentam estes compostos. Substâncias fenólicas têm sido frequentemente relatadas, entre as quais predominam flavonoides, lignoides e proantocianidinas (SALATINO *et al.*, 2007).

Xu *et al.* (2018) em seu artigo de revisão relatou 399 novos compostos isolados e identificados a partir de espécies de *Croton*, sendo 339 diterpenoides, sete sesquiterpenoides, um sesterterpenoide , um triterpenoide, 21 glicosídeos, oito alcaloides, três derivados de benzoato, três derivados de piran-2-ona, dois ciclopeptídeos, dois derivados de tropona, dois limonoides e dez compostos diversos.

O gênero *Croton* tem um papel fundamental na medicina tradicional, muitas espécies são usadas popularmente no tratamento de câncer, constipação intestinal, diarreia e outros problemas digestivos, diabetes, feridas externas, febre, hipertensão, inflamação, malária, úlcera e obesidade (SALATINO *et al*., 2007). Os compostos isolados de espécies de *Croton* exercem uma ampla gama de atividades biológicas, incluindo citotóxico, anti-inflamatório, antifúngico, inibidor de acetilcolinesterase e atividade promotora de crescimento de neurites (XU *et al*., 2018).

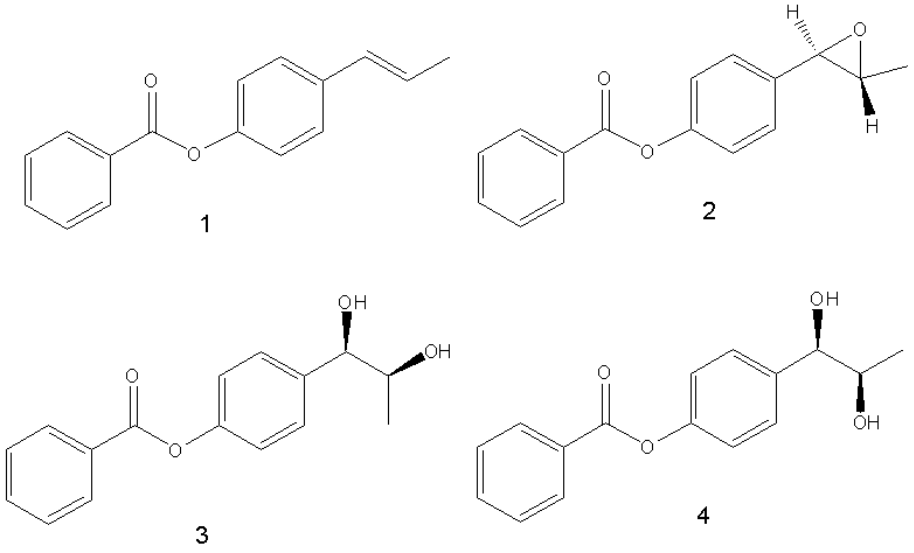
Em um estudo recente Zhang *et al*. (2020) identificou dois novos diterpenoides nas raízes do *Croton crassifolius*, 3*S*-methoxyl-teucvin e 3*R*-methoxyl-teucvin (**Figura 6**), estes compostos exibiram atividade anti-inflamatória.

Figura 6. Estrutura química de dois novos diterpenoides em *Croton crassifolius*



No estudo fitoquímico das raízes de *Croton velutinus* coletadas no município de Morro do Chapéu-BA, foram isolados quatro novos derivados fenilpropanoides velutines A–D (1–4)(**Figura 7**), os compostos 3 e 4 foram relatados pela primeira vez no gênero *Croton*. O composto 2 apresentou atividades tripanocida e anti-inflamatório (ABREU *et al*., 2020).

Figura 7. Estrutura química de novos derivados fenilpropanoides em *Croton velutinus*



1.5 *Croton tetradenius* – Aspectos gerais

A espécie *Croton tetradenius* é endêmica do Brasil e popularmente conhecida como “Velaminho”, ocorrendo predominantemente na Caatinga (Flora do Brasil, 2020).

Na **Tabela 4** são apresentados os estudos químicos do óleo essencial de *C. tetradenius*, local de coleta e compostos majoritários, podemos observar que a composição química muda em função do local de coleta.

Tabela 4. Relação de estudos químicos do óleo essencial de *Croton tetradenius*

Fonte	Local	Compostos majoritários
Carvalho *et al*., 2016	Contendas do Sincorá - BA	Cânfora (25,49 %) γ-Terpineol (15,06 %) α-Terpineno (6,48 %)
Almeida-Pereira *et al*., 2019	Poço Redondo – SE Porto da Folha – SE	α-Terpineno (0,90-7,74%) p-Cimeno (12,22–23,38%) 1,8-Cineol (8,43–19,46%)
	Lagarto - SE	α-Pineno (3,75-10,33%) p-Cimeno (7,16-1,22%) 1,8-Cineol (4,04-12,99%)
Rocha, 2020	Cocalzinho – Distrito de Viçosa- CE	p-Cimeno (28,35%) Cânfora (18,29%) α-Felandrene (8,98%)

Carvalho *et al.* (2016) concluíram que o óleo essencial de *C. tetradenius* possui potencial inseticida para *Aedes aegypti*. A ação antibacteriana de *C. tetradenius* foi determinada recentemente por Almeida-Pereira *et al.* (2019), apresentando resultados promissores contra *S. aureus*.

PARTE EXPERIMENTAL

2.1 Materiais e métodos

- Os solventes utilizados no preparo dos extratos, na solubilização das amostras, nas eluições em CCD e CC foram: acetato de etila, hexano, diclorometano e metanol (grau analítico das marcas Qhemis, Vetec, Cromoline, Química moderna e Synth).
- Nos processos de separação por cromatografia em coluna os adsorventes utilizados como fase estacionária foram sílica gel 60 (0,063 – 0,200 mm) da Aldrich.
- Nos procedimentos de cromatografia em camada delgada comparativa foram utilizadas placas de vidro (0,25 mm de sílica-gel 60 G-F254 da Vetec, ativadas em estufa a 100 ºC).
- Os métodos de revelação utilizados nas cromatografias em camada delgada consistiram na exposição das placas à radiação, empregando-se, em gabinete apropriado, lâmpada ultravioleta nos comprimentos de onda de 254 e 365 nm (BOITTON – Modelo BOIT-GAB01) e vapores de iodo.
- O evaporador rotatório utilizado para evaporação de solventes sob pressão reduzida foi da marca Fisatom, modelo 801, com temperatura em geral entre 35 e 60 ºC.
- Para identificação dos componentes presentes nos óleos essenciais as amostras obtidas foram submetidas à análise em um cromatógrafo em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas da Shimadzu modelo QP2010 SE. As condições de análise por CG-EM foram: temperaturas do injetor e da interface, 220 ºC, temp. inicial da coluna 40 ºC, durante 1 min, sendo aumentada 2 ºC/min, até atingir 240 ºC; fluxo do gás de arraste (He) foi de 1,8 mL/min.
- Já a análise quantitativa foi realizada em equipamento Agilent 7890B, com coluna J&W HP-5ms (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm), modo de injeção com divisão de fluxo 20:1, gás carreador nitrogênio com fluxo 0,6 mL/min, com a temperatura do injetor a 240°C e temperatura do detector a 300°C. Programação do forno cromatográfico: temperatura inicial de 40 °C, com rampa de aquecimento de 3 °C/min até 240 °C e tempo de espera 30 min.

- A extração por arraste a vapor foi realizada em aparelho do tipo Clevenger conectado a um balão de fundo redondo e um condensador, o sistema foi aquecido em uma manta aquecedora.

2.2 Coleta da planta e preparo do extrato

As raízes de *Chondrodendron microphyllum* foram coletadas na região conhecida como Brejo Novo localizado em 13°96''13.09'S 40°13''67.4'W, município de Jequié-BA. A exsicata da planta se encontra depositada no herbário da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - UESB sob o registro n° 1888. O acesso ao patrimônio genético foi informado junto ao Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen), sob cadastro nº ABD3B4A.

As raízes de *C. microphyllum* foram secas à temperatura ambiente. Em seguida foram trituradas com auxílio de um moinho de facas tipo Willey, modelo SL 31 da SOLAB até se tornar um pó finamente granulado.

Após a moagem 1178 g da raiz foi submetido a uma extração a frio com solvente 3L de etanol por 15 dias, o solvente foi então removido e concentrado em evaporador rotatório sob pressão reduzida. Esse extrato etanólico bruto das raízes apresentou massa igual a 89,7 g.

Foi feito um segundo extrato utilizando 2838 g de raiz moída. Essa massa foi adicionada em dois balões com 2,5 L de etanol em cada um para extração a frio por 15 dias, o solvente foi removido e adicionado novamente para uma segunda extração por 7 dias resultando em um extrato etanólico bruto de 144,99 g. Os dois extratos foram misturados tendo uma massa total de 234,69 g.

Esse extrato etanólico bruto foi incorporado à sílica para ser feita uma coluna filtrante, utilizou-se primeiramente 2 L de hexano gerando assim a fração HCM (11,293 g); em seguida 2,5 L de acetato de etila gerando assim a fração AECM (19,730 g); e 3 L de metanol gerando assim a fração MCM (119,960 g).

2.3 Isolamento dos Constituintes Químicos de *Chondrodendron microphyllum*

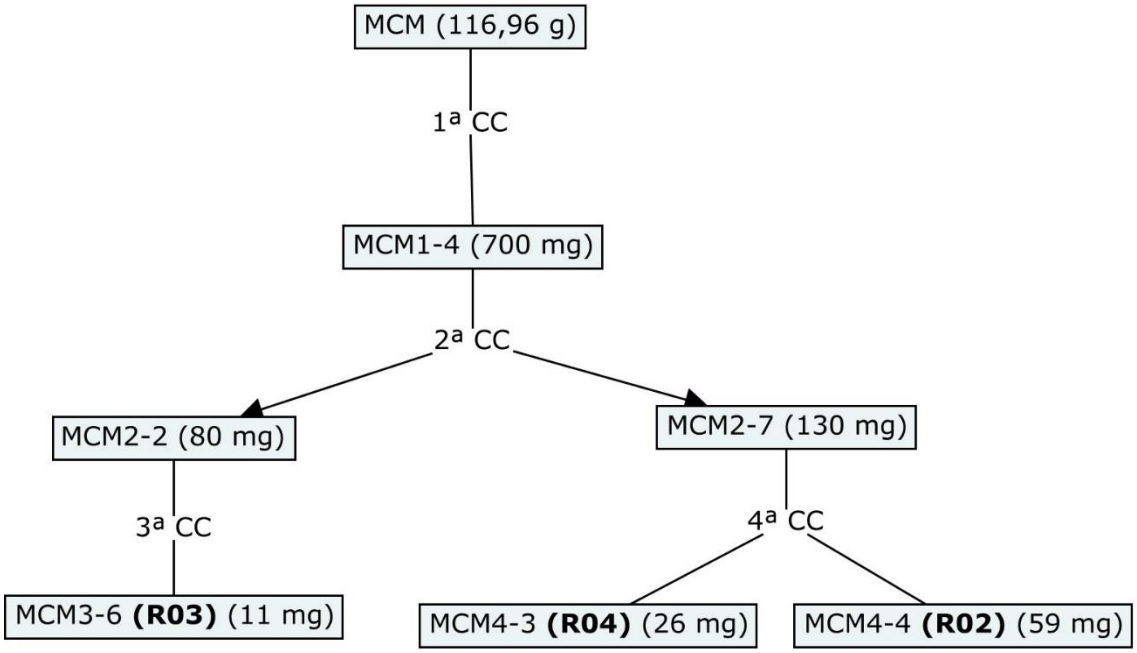
Na **Tabela 4** estão todos os dados referente a cromatografia em coluna do extrato metanólico e suas frações, as subfrações geradas dessas colunas

foram coletadas em um volume de aproximadamente 50 mL e foram concentradas em evaporador rotatório sob pressão reduzida e utilizada a técnica de CCD para que as frações semelhantes fossem agrupadas resultando em um número menor de frações.

Tabela 5. Dados das colunas cromatográfica metanólicas.

Coluna cromatográfica	Fração (massa)	Eluente	Frações resultantes
1ª CC	MCM (116,96 g)	AcOEt; AcOEt/MeOH (12:1); AcOEt/MeOH (10:1); AcOEt/MeOH (9:1); AcOEt/MeOH (8:2); AcOEt/MeOH (7:3); AcOEt/MeOH (6:4); AcOEt/MeOH (5:5); MeOH	53
2ª CC	MCM1-4 (700 mg)	300 mL Hex/AcOEt (7:3); 200 mL Hex/AcOEt (6:4); 150 mL Hex/AcOEt (5:5); 210 mL Hex/AcOEt (1:2); 200 mL Hex/AcOEt (1:3); 120 mL Hex/AcOEt (1:5); 100 mL AcOEt; 150 mL metanol	8
3ª CC	MCM2-2 (80 mg)	200 mL Hex/AcOEt (12:1); 100 mL Hex/AcOEt (9:1); 100 mL Hex/AcOEt (8:2); 100 mL Hex/AcOEt (7:3); 100 mL Hex/AcOEt (6:4); 100 mL Hex/AcOEt (5:5); 50 mL AcOEt; 50 mL metanol	8
4ª CC	MCM2-7 (130 mg)	250 mL DMC/Metanol (12:1); 150 mL DMC/Metanol (9:1); 100 mL DMC/Metanol (8:2); 100 mL DMC/Metanol (7:3); 50 mL DMC/Metanol (6:4); 50 mL DMC/Metanol (5:5)	5

Figura 8. Esquema das principais frações metanólicas estudadas.



2.4 Obtenção do óleo essencial de *Croton tetradenius*

A coleta de *Croton tetradenius* foi realizada em fevereiro e setembro no Posto Dantas localizado em 13°44''0.01'S 40°22''0.02'W, município de Jequié – BA, aproximadamente 20 Km do centro da cidade. A exsicata da planta se encontra depositada no herbário da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - UESB sob o registro n° 10664. O acesso ao patrimônio genético foi informado junto ao Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen), sob cadastro nº A2108JF.

Para extração dos óleos essenciais de *Croton tetradenius*, foram coletados 38,6 g de folhas em fevereiro, 33,53 g de caule e para a extração em setembro foi coletado 50 g e 52 g de folhas. Foi submetida, em triplicadas, a hidrodestilação em aparelho tipo Clevenger por um período de 2 horas, utilizando 300 mL de água destilada. Os óleos resultantes foram secos com sulfato de sódio anidro (Merck), pesados e os rendimentos calculados em relação ao peso do material fresco. Os óleos obtidos foram armazenados a aproximadamente 0 °C, até que fossem analisados por CG-DIC e CG-EM.

2.5 Atividade anticolinesterásica

As amostras foram submetidas à avaliação da atividade anticolinesterásica, de acordo com o teste de Ellmann e colaboradores (1961) com adaptações. Primeiramente, foram adicionados nas cavidades das microplacas 140 µL de tampão fosfato pH 7,5, 20 µL da enzima acetilcolinesterase (0,5 U/mL), 20 µL das amostras a serem testadas (500 µmol para o padrão eserina, A04 e A05; para A07, como não tinha disponível a MM, foi preparada solução 330µg/mL – solução etanólica). A placa foi então incubada a 37±1°C por 10 minutos sendo, em seguida, adicionado 10 µL de ácido 5-5'-ditiobis-[2-nitrobenzóico] (10 mM) e 10 µL de iodeto de acetiltiocolina (15 mM).

A absorbância foi monitorada a cada 10 minutos, até atingir o tempo de 60 minutos, em λ = 405 nm em leitor de microplacas MultiskanTM GO 3.2.

A porcentagem de inibição foi calculada, conforme a equação abaixo:

$$\%IAChE = (\Delta Ab - \Delta Ai)/ \Delta Ab \times 100$$

Em que, %IAChE é a porcentagem de inibição da AChE, ΔAb é a diferença de absorbância do branco no tempo final e no tempo inicial, enquanto que ΔAi é a diferença de absorbância do inibidor (padrão ou amostra) no tempo final e no tempo inicial. Todo o teste foi realizado em triplicata.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Substâncias identificadas em *Chondrodendron microphyllum*

3.1.1 Elucidação estrutural do siringaresinol

A amostra RO4 apresentou-se como um sólido castanho e foi identificada como sendo a lignana siringaresinol. Sua estrutura foi determinada através da análise dos espectros de RMN de ^{1}H, de ^{13}C e DEPT 135 (Tabela 6).

O espectro de RMN de ^{1}H ($CDCl_3$, 300 MHz) (**Figura 10**) apresentou um singleto intenso em δ_H 3,89 referente as metoxilas com integração para doze hidrogênios; dupleto em δH 3,90 com integração para dois hidrogênios (H4b e H8b) onde metade do dupleto está sendo sobreposto pelo singleto das metoxilas; um singleto em δ_H 6,58 atribuído aos hidrogênios aromáticos com integração para quatro hidrogênios (H2', H2'', H6' e H6''); um singleto em δ_H 5,53 atribuído aos hidrogênios da hidroxila com integração para dois hidrogênios (H4'-OH e H4''-OH); um dubleto em δ_H 4,73 com integração para dois hidrogênios (H2 e H6, *J* = 4,25 Hz); multipleto em δ_H 3,09 com integração para dois hidrogênios (H1 e H5); multipleto em δ_H 4,28 com integração para dois hidrogênios (H4a e H8a);

O espectro de RMN de ^{13}C e DEPT 135 ($CDCl_3$, 75 MHz) (**Figura 11**) apresenta sinal em δ_C 56,60 (CH_3) referente às metoxilas; sinal em δ_C 72,03 (CH_2) correspondente aos carbonos C4 e C8; sinal em δ_C 134,46 correspondente aos carbonos C4' e C4'' ligados as hidroxilas dos anéis aromáticos ; sinal em δ_C 54,29 (CH) correspondente aos carbonos C1 e C5; sinal em δ_C 86,31 (CH) correspondente aos carbonos C2 e C6; sinal em δ_C 102,87 (CH) correspondente aos carbonos do anel com hidrogênio C2', C6', C2'' e C6'' ; sinal em δ_C 132,29 correspondente aos carbonos C1' e C1''; sinal em δ_C 147,36 correspondente aos carbonos C3', C5', C3'' e C5'' que ligam-se com as quatro metoxilas.

Tabela 6. Dados de RMN ^{1}H, ^{13}C e DEPT 135 [300 MHz (^{1}H) e 75 MHz (^{13}C), $CDCl_3$, δ H e C (ppm), J (Hz)] de RO4 e siringaresinol.

	RO4	Siringaresinol*		RO4	Siringaresinol*
Carbono	δ ^{13}C (DEPT)	δ ^{13}C	Hidrogênio	δ ^{1}H (JHz)	δ ^{1}H (JHz)
1	54,57 (CH)	54,29	1	3,09 (m)	3,12 (m)
2	86,31 (CH)	86,01	2	4,73 (d, 4,25)	4,76 (d, 4,0**)
3	-	-	-	-	-
4	72,03 (CH_2)	71,75	4a	4,28 (m)	4,30 (m)
			4b	3,90 (d)	3,94 (d,12,4;8,16)
5	54,57 (CH)	54,29	5	3,09 (m)	3,12 (m)
6	86,31 (CH)	86,01	6	4,73 (d, 4,25)	4,76 (d, 4,0**)
7	-	-	-	-	-
8	72,03 (CH_2)	71,75	8a	4,28 (m)	4,30 (m)
			8b	3,90 (d)	3,94 (d,12,4;8,16)
1’	132,29	132,04	-	-	-
2’	102,87 (CH)	102,69	2’	6,58 (s)	6,61 (s)
3’	147,36	147,13	-	-	-
4’	134,46	134,29	-	-	-
5’	147,36	147,13	-	-	-
6’	102,87 (CH)	102,69	6’	6,58 (s)	6,61 (s)
1’’	132,29	132,04	-	-	-
2’’	102,87 (CH)	102,69	2’’	6,58 (s)	6,61 (s)
3’’	147,36	147,13	-	-	-
4’’	134,46	134,29	-	-	-
5’’	147,36	147,13	-	-	-
6’’	102,87 (CH)	102,69	6’’	6,58 (s)	6,61 (s)
3’-OCH_3	56,60 (CH_3)	56,33	3’-OCH_3	3,89 (s)	3,92 (s)
4’-OH	-	-	4’-OH	5,53 (s)	5,57 (s)
5’-OCH_3	56,60 (CH_3)	56,33	5’-OCH_3	3,89 (s)	3,92 (s)
3’’-OCH_3	56,60 (CH_3)	56,33	3’’-OCH_3	3,89 (s)	3,92 (s)

4''-OH	-	-	4''-OH	5,53 (s)	5,57 (s)
5''-OCH_3	56,60 (CH_3)	56,33	5''-OCH_3	3,89 (s)	3,92 (s)

* MONTHONG *et al*. 2011

** ANDRADE, 2020

Figura 9. Estrutura molecular da substância siringaresinol

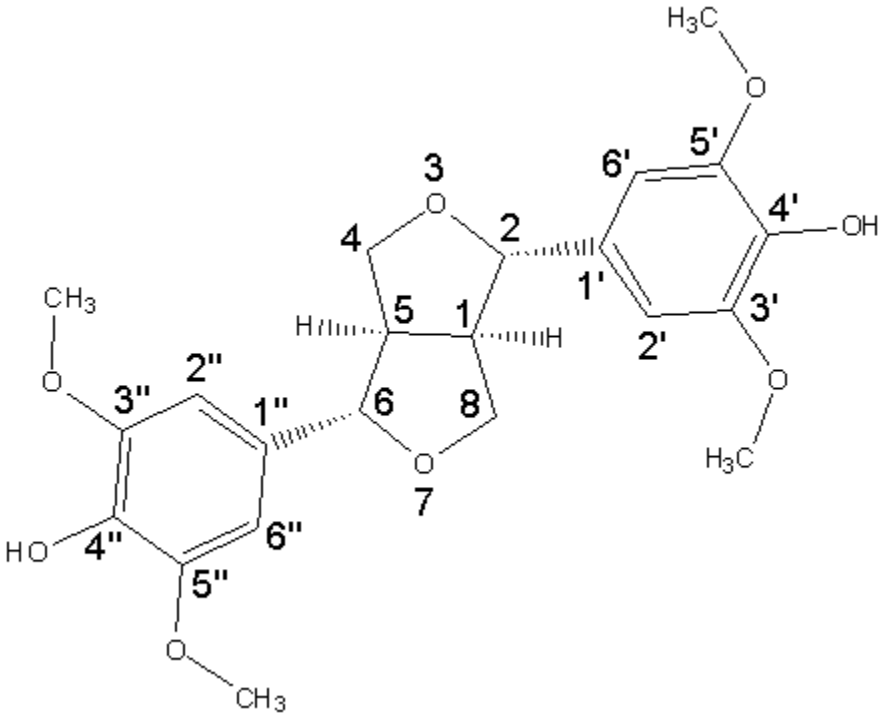


Figura 10. Espectro de RMN de ^{1}H da substância RO4 visão geral e ampliações [300 MHz, $CDCl_3$, δ (ppm)].

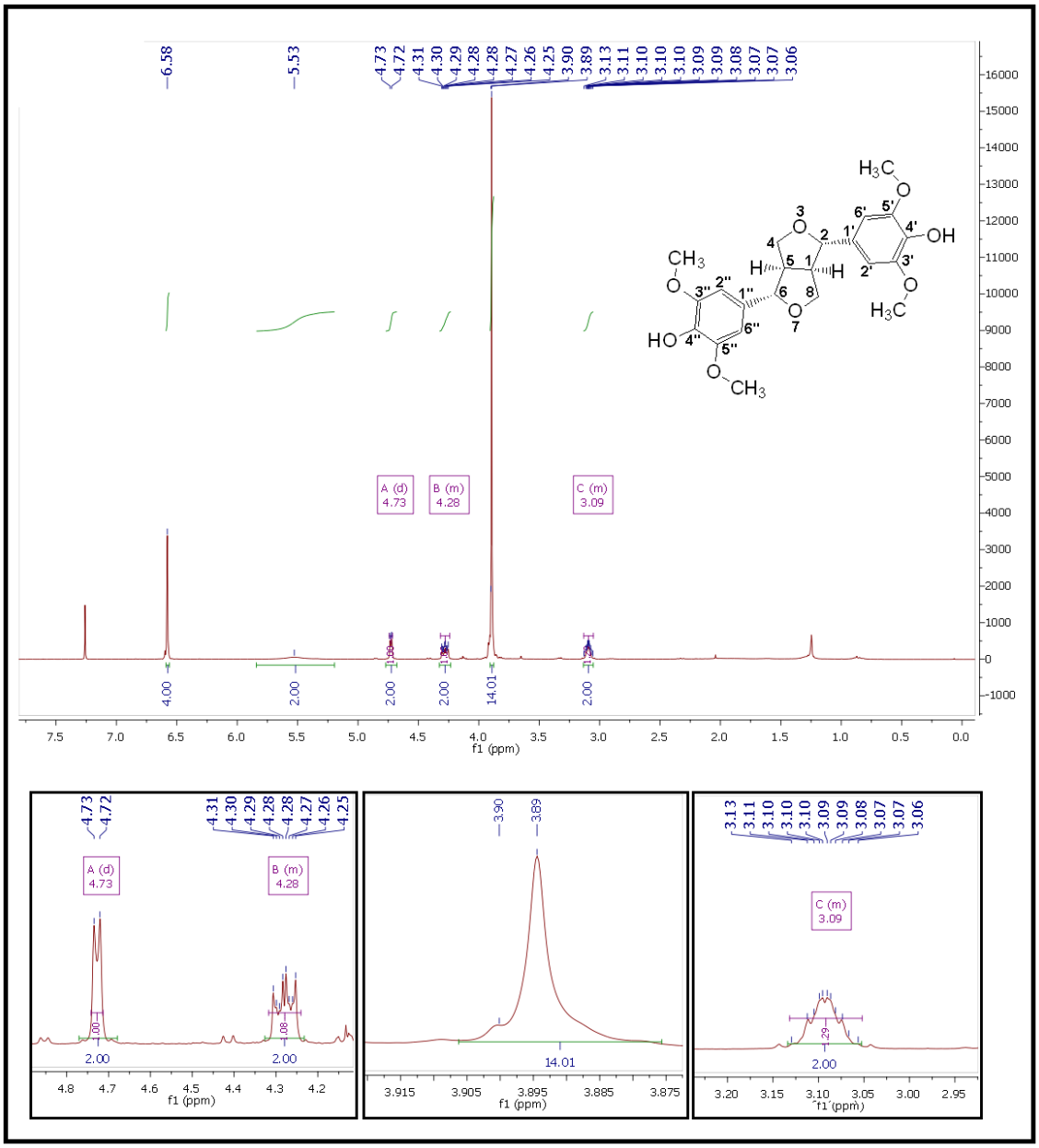
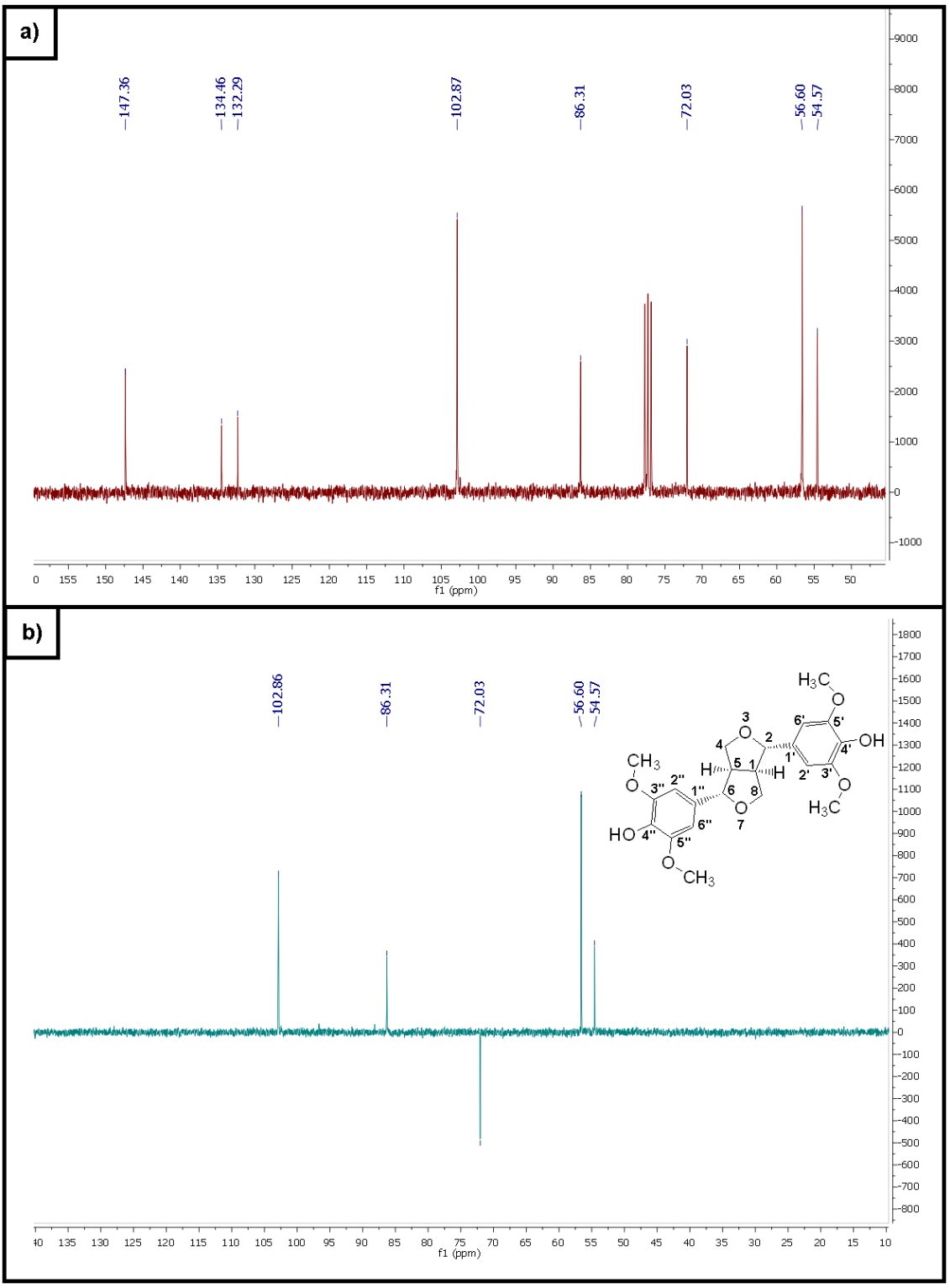


Figura 11. Espectro de RMN de ^{13}C (a) e DEPT 135 (b) da substância RO4 [75 MHz, $CDCl_3$, δ (ppm)].



3.1.2 Elucidação estrutural do Gusanlung C

A amostra R02 apresentou-se como um sólido cristalino amarelado e foi identificada como sendo o alcaloide gusanlung C. Sua estrutura foi determinada através da análise dos espectros de RMN de ^{1}H, de ^{13}C e DEPT 135 (Tabela 7). O gusanlung C está sendo relatado pela primeira vez na espécie.

O espectro de RMN de ^{1}H (**Figura 13**) mostrou um dupleto em δ_H 7,06 com integração para dois hidrogênios (H9 e H13, *J* = 8,3 Hz) e dupleto em δ_H 6,76 com integração para dois hidrogênios (H10 e H12, *J* = 8,5 Hz) sendo esses do anel aromático *para*-substituído; dois dupletos em δ_H 7,46 (*J* = 15,6 Hz) e δ_H 6,52 (*J* = 15,6 Hz) referente aos hidrogênios vinílicos que estão em uma relação *trans*; o dupleto em δ_H 7,15 (*J* = 2,0 Hz) corresponde ao hidrogênio aromático H1, duplo-dubleto em δ_H 7,03 (*J* = 1,85 Hz) corresponde ao hidrogênio aromático H3 e o dupleto em δ_H 6,83 (*J* = 8,1 Hz) corresponde ao hidrogênio aromático H4, sendo esses do anel aromático 1,2,4-trissubstituído; um tripleto em δ_H 2,75 (*J* = 7,3 Hz) com integração para dois hidrogênios e quarteto em δ_H 3,50 (*J* = 6,1; 6,5 Hz) com integração para dois hidrogênios, sendo ambos alifáticos; um singleto referente a metoxila em δ_H 3,87 com integração para três hidrogênios.

O espectro de RMN de ^{13}C e DEPT 135 (**Figura 14**) apresentou sinal em δ_C 55,5 (-OCH_3) referente à metoxila. No anel aromático 1,2,4-trissubstituído os sinais em δ_C 119,3, 121,9 e 115,5 correspondem aos carbonos ligados a hidrogênio, já o sinal em δ_C 156,1 foi atribuído ao carbono (C2) ligado à hidroxila, os sinais em δ_C 130,4 (C4a) e δ_C 127,6 (C16a) correspondem aos carbonos do anel que se liga aos substituintes. No anel aromático *para*-substituído os sinais em δ_C 115,4 (C9 e C13) e δ_C 129,9 (C10 e C12) correspondem aos quatro carbonos ligados a hidrogênio, já o sinal em δ_C 148,5 foi atribuído ao carbono (C11) ligado à hidroxila e o sinal em δ_C 147,9 (C14) corresponde ao carbono do anel que se liga ao substituinte. Os sinais em δ_C 35,1 (C5) e δ_C 41,3 (C6) correspondem aos dois CH_2; o sinal em δ_C 165,9 (C8) é referente à carbonila; os sinais em δ_C 139,8 (C15) e δ_C 110,5 (C16) foram atribuídos aos carbonos da dupla ligação que une os anéis aromáticos.

Tabela 7. Dados de RMN ^{13}C, ^{1}H do Gusanlung C (^{1}H 300 MHz e ^{13}C 75 MHz, Acetona).

	RO2	Gusanlung C*		RO2	Gusanlung C*
Carbono	δ ^{13}C (DEPT)	δ ^{13}C	Hidrogênio	δ ^{1}H (*J* Hz)	δ ^{1}H (*J* Hz)
1	119,3 (CH)	119,8	1	7,15 (d, *J* = 2,0 Hz)	7,14 (d, *J* = 0,5 Hz)
2	156,1	156,6	-	-	-
3	121,9 (CH)	122,6	3	7,03 (m, *J*= 1,85 Hz)	7,03 (dd, *J* = 8,4; 0,5 Hz)
4	115,5 (CH)	116,1	4	6,83 (d, *J* = 8,1 Hz)	6,81 (d, *J* = 8,4 Hz)
4ª	130,4	131,0	-	-	-
5	35,1 (CH_2)	35,7	5	2,75 (2H, t, *J* = 7,3 Hz)	2,73 (2H, t, *J* = 7,2 Hz)
6	41,3 (CH_2)	41,9	6	3,50 (2H, q, *J* = 6,1; 6,5 Hz)	3,46 (2H, q, *J* = 7,2 Hz)
8	165,9	167,0	-	-	-
9	115,4 (CH)	116,0	9	7,06 (d, *J* = 8,3 Hz)	7,05 (d, *J* = 8,0 Hz)
10	129,9 (CH)	130,4	10	6,76 (d, *J* = 8,5 Hz)	6,74 (d, *J* = 8,0 Hz)
11	148,5	149,1	-	-	-
12	129,9 (CH)	130,4	12	6,76 (d, *J* = 8,5 Hz)	6,74 (d, *J* = 8,0 Hz)
13	115,4 (CH)	116,0	13	7,06 (d, *J* = 8,3 Hz)	7,05 (d, *J* = 8,0 Hz)
14	147,9	148,6	-	-	-
15	139,8 (CH)	140,6	15	7,46 (d, *J* = 15,6 Hz)	7,43 (d, *J* = 15,5 Hz)
16	110,5 (CH)	111,6	16	6,52 (d, *J* = 15,6 Hz)	6,48 (d, *J* = 15,5 Hz)
16ª	127,6	128,2	-	-	-
OCH_3	55,5 (CH_3)	56,4	OCH_3	3,87 (s, 3H)	3,85 (s, 3H)

* ZHANG *et al*. 1995 (^{1}H 400 MHz e ^{13}C 75 MHz)

Figura 12. Estrutura molecular da substância gusanlung C

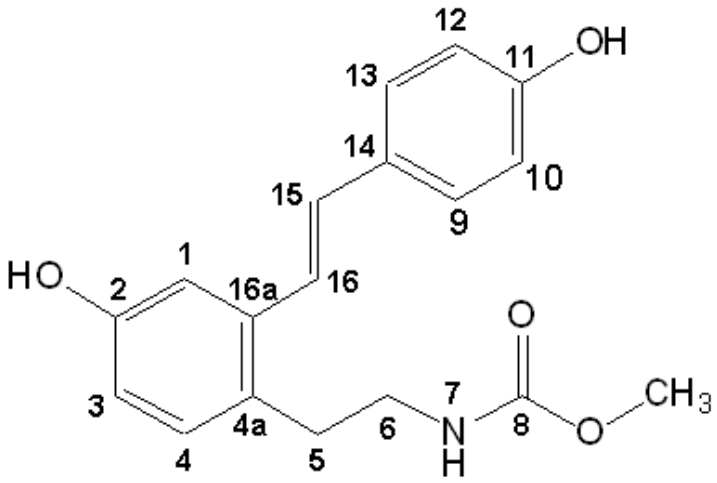


Figura 13. Espectro de RMN de ^{1}H da substância RO2 visão geral e ampliações [300 MHz, acetona, δ (ppm)].

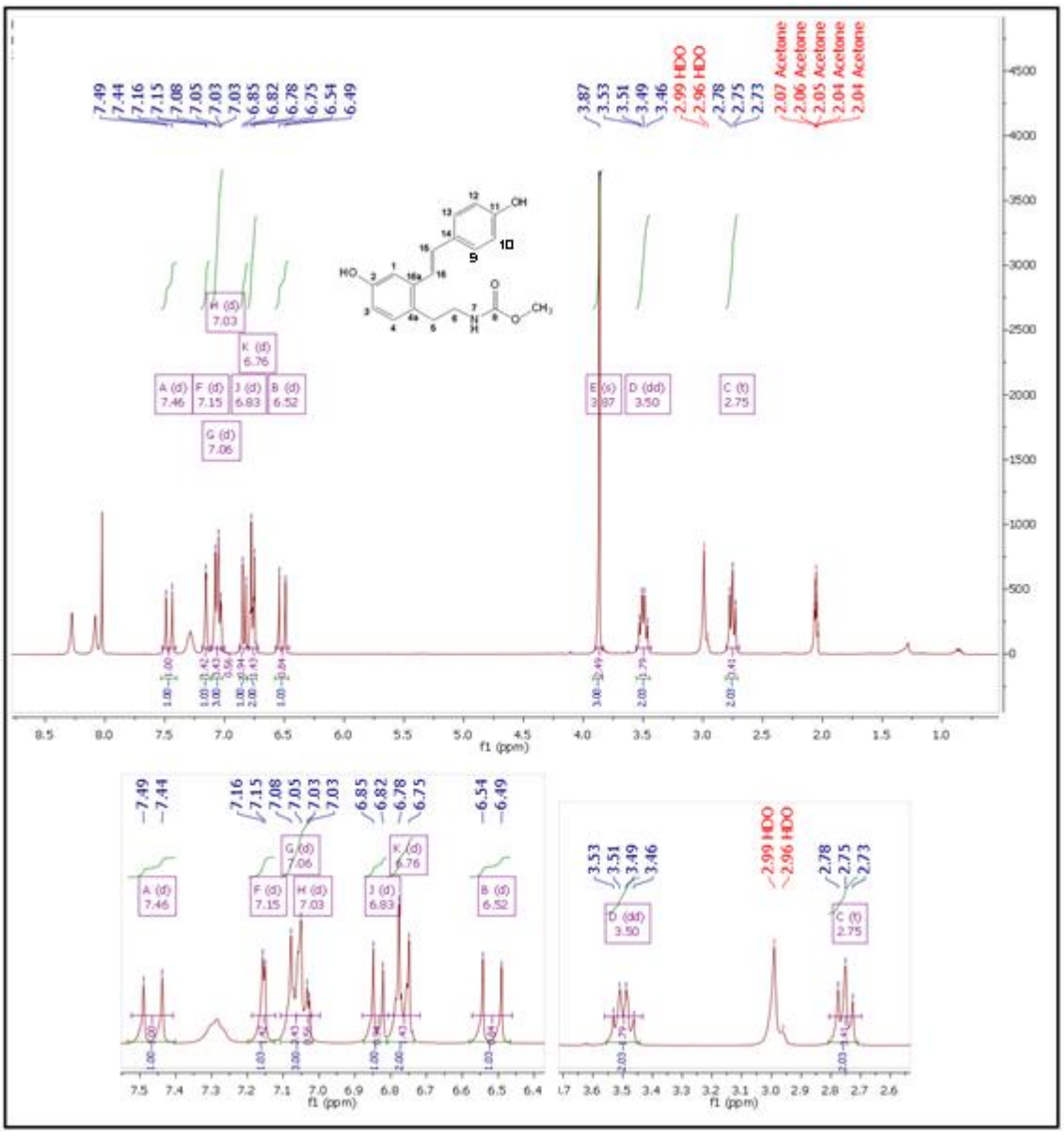
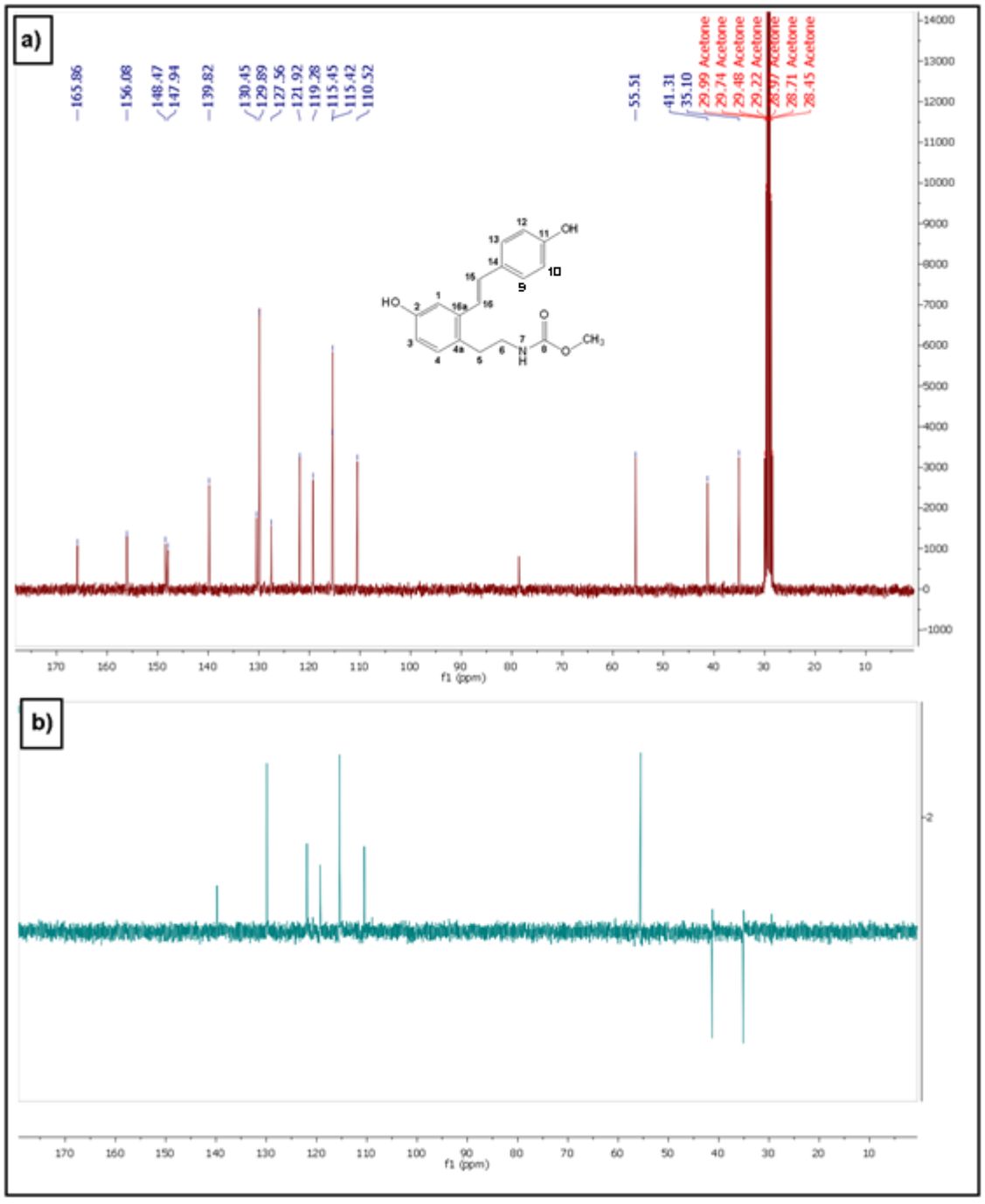


Figura 14. Espectro de RMN de ^{13}C (a) e DEPT 135 (b) da substância RO2 [75 MHz, acetona, δ (ppm)].



3.1.3 Elucidação estrutural do estigmasterol e *β*-sitosterol

A amostra R03 se apresentou-se como um sólido brando e foi identificada como sendo uma mistura dos fitosteróis estigmasterol e *β*-sitosterol. Sua estrutura foi determinada através da análise dos espectros de RMN de ^{1}H, de ^{13}C e DEPT 135 (Tabela 8 e 9).

O espectro de RMN de ^{1}H da amostra R03 (**Figura 15**) apresenta dois singletos de metila em δ_H 0,67 e 1,00; três dupletos de metila que apareceram em δ_H 0,80, 0,83 e 0,92; e um multipleto de metila a δ_H 0,86; o espectro apresentou dupleto em δ_H 5,35 (J = 4,9 Hz) correspondente a um hidrogênio da ligação dupla trissubstituída; multipleto em δ_H 3,51 correspondente ao hidrogênio H3 geminal a hidroxila, esses dados espectrais são consistentes com os valores da literatura relatados do *β*-sitosterol (CHATURVEDULA & PRAKASH, 2012). O espectro apresentou também dois duplo dupletos em δ_H 5,01 (J = 8,5 Hz) e δ_H 5,15 (J = 8,5 Hz) referente aos hidrogênios vinílicos característico de estigmasterol indicando uma conformação *cis*; esses sinais sugerem a presença também de estigmasterol, sendo assim uma mistura de dois esteroides.

O espectro de RMN de ^{13}C (**Figura 16**) apresentou sinal em δ_C 140,96 e 121,99 referente aos carbonos da ligação dupla em C5 e C6, comum nos dois esteroides; os sinais em δ_C 138,57 e 129,48 são característicos de estigmasterol referentes aos carbonos da dupla ligação em C20 e C21 respectivamente. Os dados espectrais são consistentes com os valores da literatura relatados para a mistura de estigmasterol e *β*-sitosterol (CHATURVEDULA & PRAKASH, 2012).

Tabela 8. Dados de RMN ^{1}H, ^{13}C e DEPT 135 [300 MHz (^{1}H) e 75 MHz (^{13}C), $CDCl_3$, δ H e C (ppm), *J* (Hz)] de R03 e estigmasterol.

Posição	R03	Estigmasterol*	R03	Estigmasterol*
	^{1}H	^{1}H	^{13}C (DEPT 135)	^{13}C
1			37,46 (CH_2)	37,6
2			31,84 (CH_2)	32,1
3	3,51 (m, 1H, *J* = 5,6, 4,0, 1,4 Hz)	3,51 (tdd, 1H, *J* = 4,5, 4,2, 3,8 Hz)	72,07	72,1
4			42,47 (CH_2)	42,4
5			140,96	141,1
6	5,35 (d, 1H, *J* = 4,9 Hz)	5,31 (t, 1H, *J* = 6,1 Hz)	121,99	121,8
7			32,12 (CH_2)	31,8
8			32,12	31,8
9			50,34	50,2
10			36,72	36,6
11			21,30 (CH_2)	21,5
12			39,89 (CH_2)	39,9
13			42,54	42,4
14			57,08	56,8
15			24,53 (CH_2)	24,4
16			29,17 (CH_2)	29,3
17			56,15	56,2
18			40,75	40,6
19	0,92 (d,3H, *J* = 6,5 Hz)	0,91 (d,3H, *J* = 6,2 Hz)	21,45	21,7
20	5,01 (dd, 1H *J* = 8,5 Hz)	4,98 (m, 1H)	138,57	138,7
21	5,15 (dd, 1H *J* = 8,5 Hz)	5,14 (m, 1H)	129,48	129,6
22			46,04	46,1
23			25,65 (CH_2)	25,4
24	0,86 (m, 3H, *J* = 7,1, 3,2 Hz)	0,83 (t, 3H, *J* = 7,1 Hz)	12,21	12,1
25			29,34	29,6
26	0,83 (d, 3H, *J* = 6,4 Hz)	0,82 (d, 3H *J* = 6,6 Hz)	20,06	20,2
27	0,78 (d, 3H *J* = 1,4 Hz)	0,80 (d, 3H *J* = 6,6 Hz)	19,63	19,8
28	0,69 (s, 3H)	0,71 (s, 3H)	19,01	18,9
29	1,00 (s, 3H)	1,03 (s, 3H)	12,49	12,2

* CHATURVEDULA & PRAKASH 2012 (^{1}H 600 MHz e ^{13}C 150 MHz)

Tabela 9. Dados de RMN ^{1}H, ^{13}C e DEPT 135 [300 MHz (^{1}H) e 75 MHz (^{13}C), $CDCl_3$, δ H e C (ppm), *J* (Hz)] de R03 e *β*-sitosterol.

Posição	R03	*β*-sitosterol*	R03	*β*-sitosterol*
	^{1}H	^{1}H	^{13}C (DEPT 135)	^{13}C
1			37,46 (CH_2)	37,5
2			31,84 (CH_2)	31,9
3	3,51 (m, 1H, *J* = 5,55, 4,05, 1,44 Hz)	3,53 (tdd, 1H, *J* = 4,5, 4,2, 3,8 Hz)	72,07	72,0
4			42,47 (CH_2)	42,5
5	5,35 (d, 1H, *J* = 4,9 Hz)	5,36 (t, 1H, *J* = 6,4Hz)	140,96	140,9
6			121,99	121,9
7			32,12 (CH_2)	32,1
8			32,12	32,1
9			50,34	50,3
10			36,72	36,7
11			21,30 (CH_2)	21,3
12			39,98 (CH_2)	39,9
13			42,54	42,6
14			56,98	56,9
15			26,25 (CH_2)	26,3
16			28,48 (CH_2)	28,5
17			56,26	56,3
18			36,37	36,3
19	0,92 (d,3H, *J* = 6,5 Hz)	0,93 (d, 3H, *J* = 6,5 Hz)	19,25	19,2
20			34,15 (CH_2)	34,2
21			26,25 (CH_2)	26,3
22			46,04	46,1
23			23,27 (CH_2)	23,3
24	0,86 (m, 3H, *J* = 7,1, 3,2 Hz)	0,84 (t, 3H *J* = 7,2 Hz)	12,27	12,2
25			29,34	29,4
26	0,83 (d, 3H, *J* = 6,4 Hz)	0,83 (d, 3H *J* = 6,4 Hz)	20,06	20,1
27	0,80 (d, 3H *J* = 0,9 Hz)	0,81 (d, 3H *J* = 6,4 Hz)	19,63	19,6
28	0,67 (s, 3H)	0,68 (s, 3H)	19,21	19,0
29	1,00 (s, 3H)	1,01 (s, 3H)	12,09	12,0

* CHATURVEDULA & PRAKASH 2012 (^{1}H 600 MHz e ^{13}C 150 MHz)

Figura 15. Espectro de RMN de ^{1}H da substância R03 visão geral e ampliações [300 MHz, $CHCl_3$, δ (ppm)].

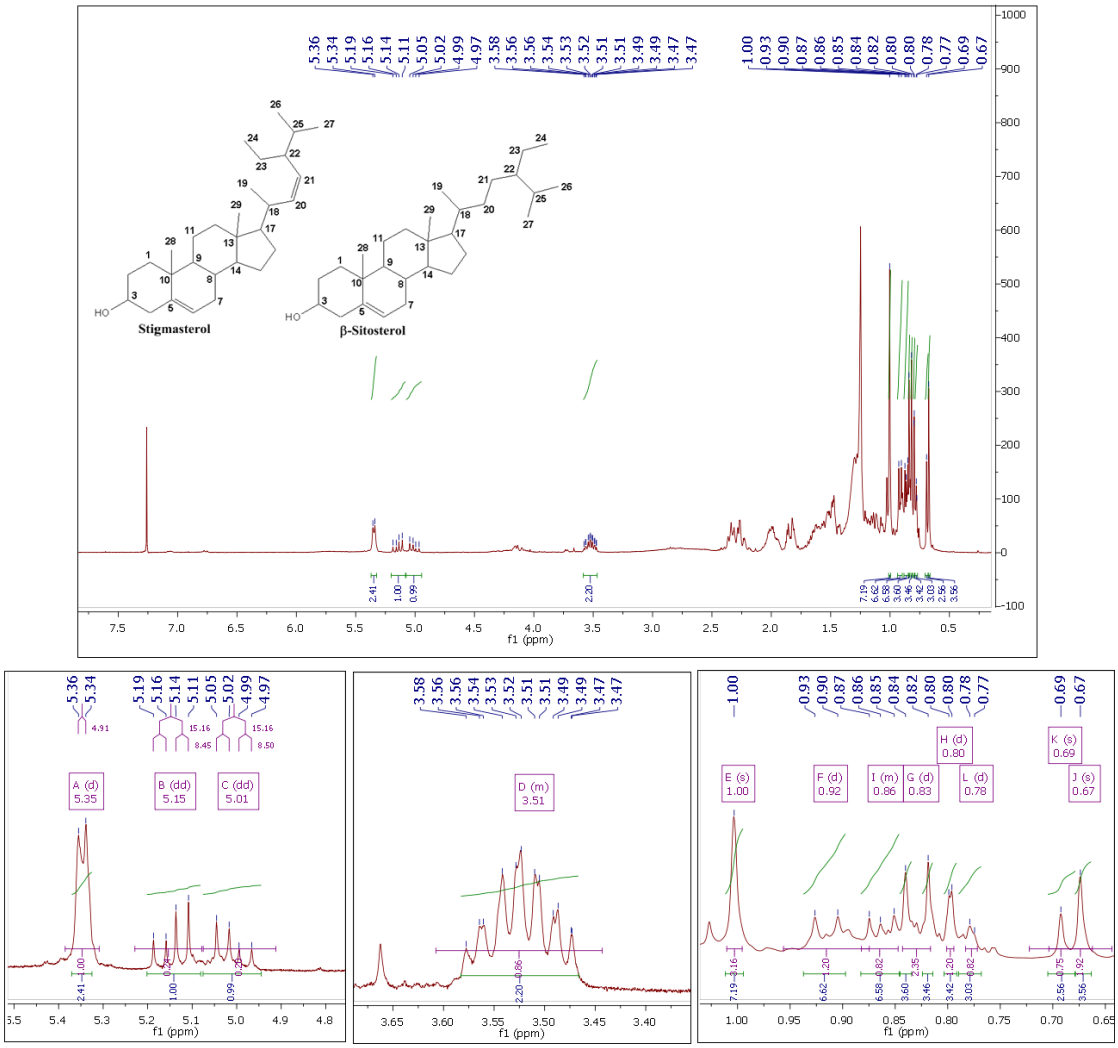


Figura 16. Espectro de RMN de ^{13}C da substância R03 [75 MHz, $CHCl_3$, δ (ppm)].

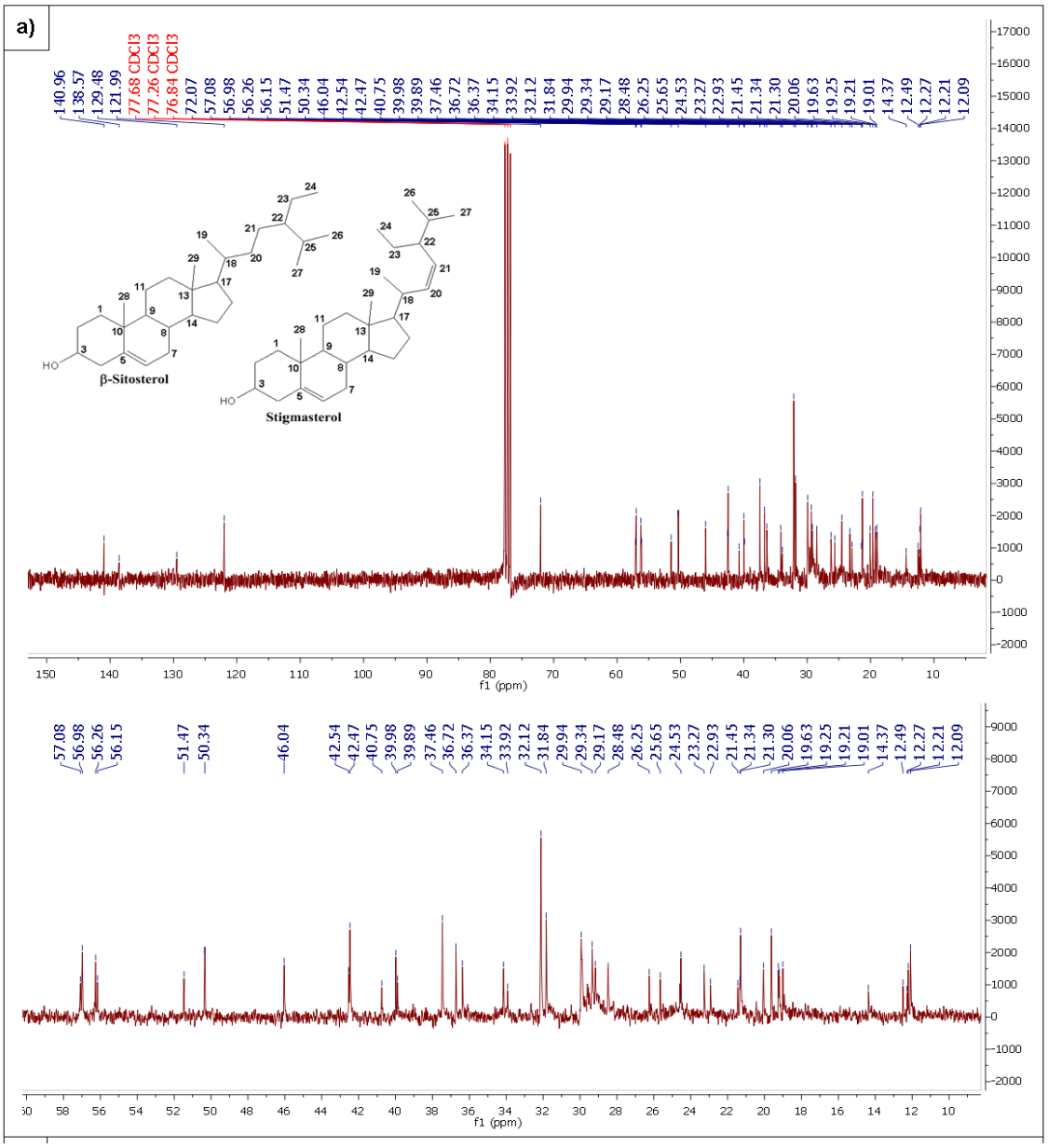
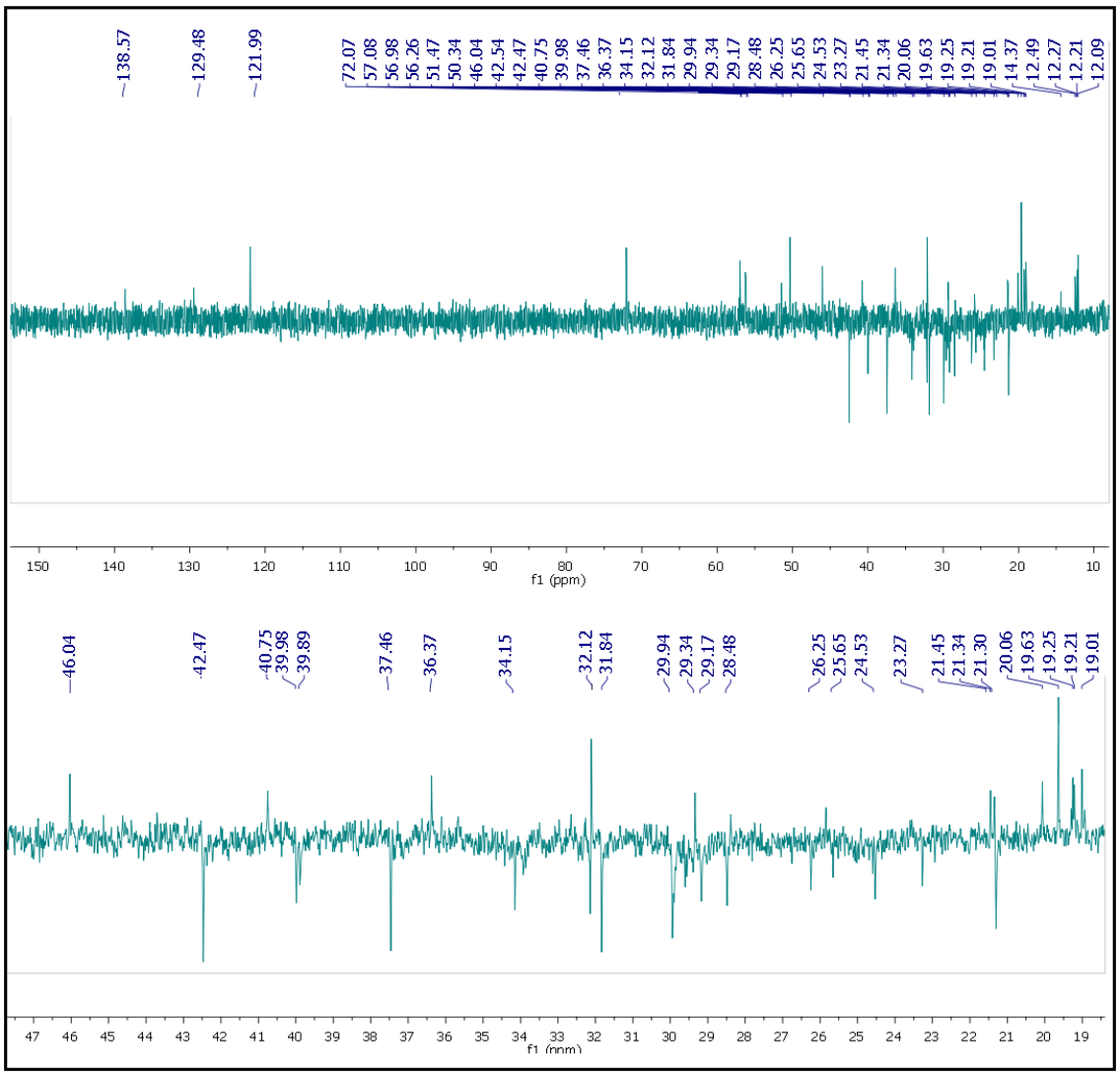


Figura 17. Espectro de RMN DEPT 135 da substância R03 [75 MHz, $CHCl_3$, δ (ppm)].



3.2 Estudo químico do óleo essencial das folhas de *Croton tetradenius*

O óleo essencial das folhas (OEF) de *C. tetradenius* foi obtido com rendimento de 0,998% em fevereiro e 2,33 % em setembro, no óleo essencial do caule (OEC) de *C. tetradenius* coletado em fevereiro teve o rendimento de 0,0588 % (Tabela 10).

Tabela 10. Dados do rendimento da extração dos óleos essenciais de *C. tetradenius.*

Amostras	Massa utilizada (g)		Massa do óleo extraído (mg)	Rendimento (%)		Mês de coleta
OEF	38,61		385,4	0,998		Fev.
OEC	33,53		19,70	0,0588		
OEF2	1	50,00	1269,40	2,54	2,33 ± 0,29	Set.
	2	52,00	1105,50	2,13		

A análise química do OEF de *C. tetradenius*, com a utilização de CG-EM revelou a presença de 25 componentes diferentes sendo dez monoterpenos oxigenados, nove hidrocarbonetos monoterpênicos, dois hidrocarbonetos sesquiterpênicos, dois acetatos, um óxido e um fenilpropeno.

Os principais componentes do óleo essencial das folhas de *C. tetradenius* coletado em fevereiro foi o limoneno (33,14 ± 0,03 %), cânfora (11,2564 ± 0,0003 %), *p*-cimeno (7,552 ± 0,006 %), *cis-p*-menta-1(7),8-dien-2-ol (6,639 ± 0,001 %) e *trans-p*-menta-1(7),8-dien-2-ol (6,30 ± 0,10 %)(**Figura 20**), juntos correspondem a aproximadamente 64% da composição do óleo (Tabela 11). Já para o óleo essencial das folhas de *C. tetradenius* coletado em setembro os principais componentes identificados foram o limoneno (16,75 ± 4,17 %), *p*-cimeno (11,03 ± 0,67 %), *cis-p-m*enta-1(7),8-dien-2-ol (8,90 ± 2,78 %), cânfora (8,17 ± 3,20 %) e *trans-p*-menta-1(7),8-dien-2-ol (7,58 ± 2,40 %) (**Figura 20**), juntos correspondem a aproximadamente 52% da composição do óleo (Tabela 12). Podemos perceber que quatro dos cinco componentes principais estão presentes nas duas coletas, existindo uma variação na concentração dos compostos, sendo comum em óleos essenciais coletados em diferentes épocas do ano, mas permanece constante o componente principal limoneno.

Não é reportado na literatura o limoneno como o componente principal do óleo essencial de *C. tetradenius,* alguns fatores podem ter influenciado nesta

mudança de composição, como condições climáticas da região, pelos efeitos de temperatura e luminosidade, também relaciona os efeitos da sazonalidade e o horário de coleta (MORAIS, 2009). Carvalho *et al.* (2016) identificaram como componentes principais a cânfora (25,49%) e *γ*-terpineol (15,06%); Brito *et al*. (2020) identificaram o *p*-cimeno (20,07%) e cânfora (10,63%); ao estudar vários espécimes Almeida-Pereira *et al*. (2019) identificou os principais compostos sendo: *p*-cimeno (variando de 7,16 a 23,38%), 1,8-cineol (variando de 4,04 a 19,46%), *trans*-pinocarveol (variando de zero a 13,61%), cânfora (variando de 6,82 a 17,05%) e *trans*-ascaridol (variando de 2,55 a 19,20%.

Em um artigo de revisão Vieira *et al.* (2018) afirma que o limoneno apresenta ação anti-inflamatória, antidiabética, antioxidante, anticâncer, atividades antialérgicas, antinociceptivas e antiestresse, além de efeitos positivos no tratamento de úlcera gástrica, colite, asma e inflamação das vias aéreas, entre outras atividades.

Levando em consideração as diversas atividades biológicas do limoneno esse óleo essencial tem potencial para ajudar na manutenção da saúde e bem-estar humano.

Os cromatogramas dos óleos essenciais das folhas de *C. tetradenius* são apresentados na **Figura 18** e **19.**

Figura 18. Perfil cromatográfico (CG-EM) do óleo essencial das folhas de *Croton tetradenius* coletado em setembro.

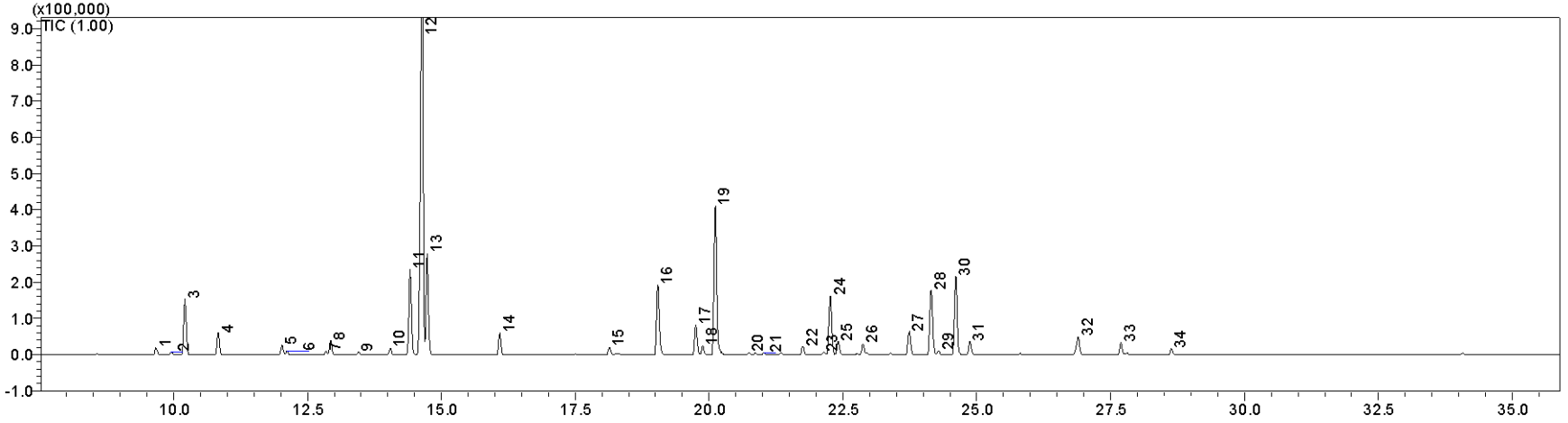


Figura 19. Perfil cromatográfico (CG-EM) do óleo essencial da a) folha e do b) caule de *Croton tetradenius* coletado em fevereiro.

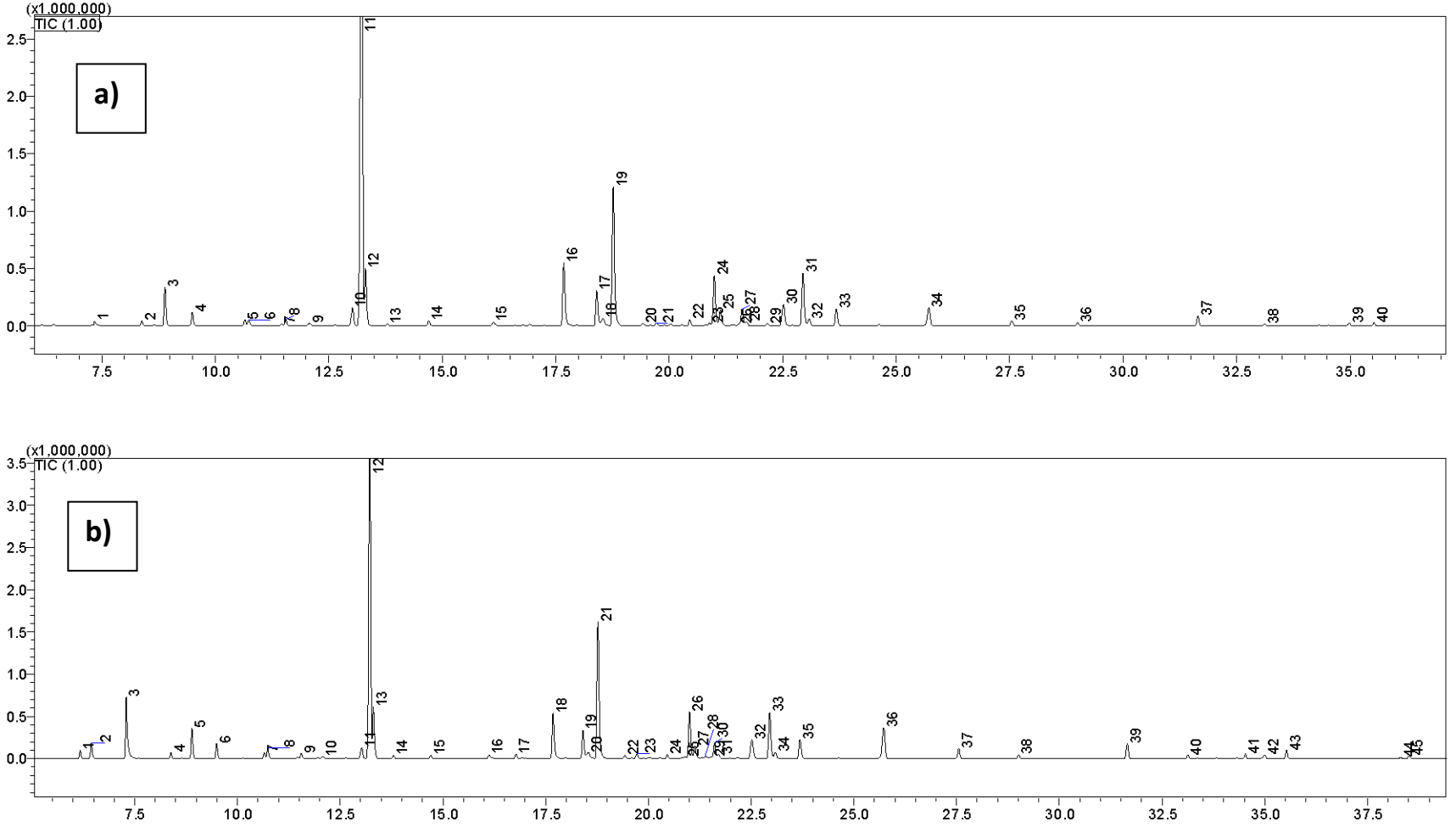


Figura 20. Estrutura química dos principais componentes no óleo essencial de *Croton tetradenius*.

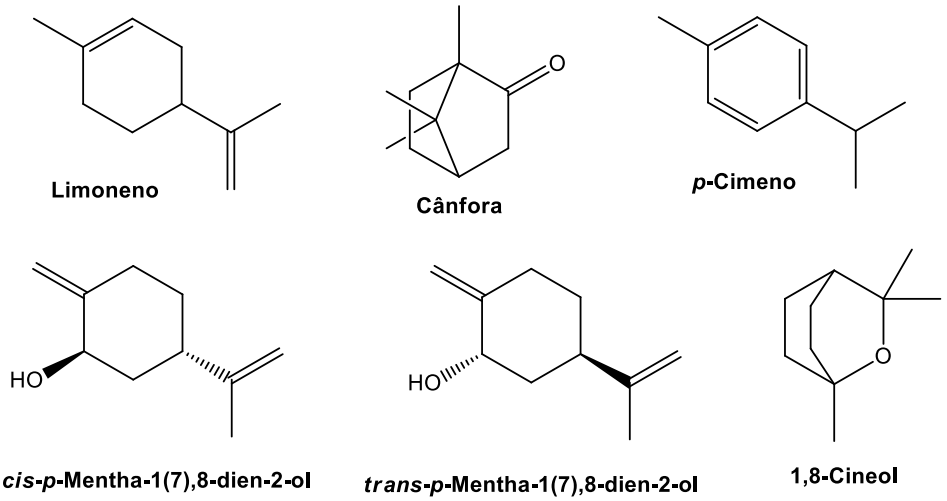


Tabela 11. Composição (%, média ± desvio padrão) do óleo essencial das folhas de *C. tetradenius* coletado em fevereiro.

Compostos	TR*	IRC**	IRL***	Composição (%)
α-Pineno	8,890	943	932	1,42 ± 0,002
Canfeno	9,491	956	946	0,62 ± 0,0009
Sabineno	10,653	981	969	0,20 ± 0,001
β-Pineno	10,735	983	974	0,28 ± 0,0005
Mirceno	11,553	1001	988	0,49 ± 0,001
Felandreno	12,080	1013	1002	5,03 ± 0,004
***p*-Cimeno**	**13,021**	**1030**	**1020**	**7,55 ± 0,006**
Limoneno	**13,225**	**1034**	**1024**	**33,14 ± 0,03**
1,8-Cineol	13,307	1035	1028	2,69 ± 0,004
γ-Terpineno	14,701	1063	1054	0,30 ± 0,0005
cis-p-Menta-2,8-dien-1-ol	18,401	1137	1133	0,50 ± 0,005
trans-Óxido de limoneno	18,54	1139	1135	0,83 ± 0,0007
Cânfora	**18,765**	**1144**	**1141**	**11,26 ± 0,0003**
Pinocarvona	19,715	1163	1160	0,32 ± 0,08
p-Cimen-8-ol	20,889	1187	1179	0,92 ± 0,0002
***trans*-p-Menta-1(7),8-dien-2-ol**	**20,994**	**1189**	**1187**	**6,30 ± 0,10**
α-Terpineol	21,125	1192	1186	1,48 ± 0,004
cis-Carveol	22,516	1220	1226	1,87 ± 0,003
***cis*-p-Menta-1(7),8-dien-2-ol**	**22,945**	**1229**	**1227**	**6,64 ± 0,001**
Carvona	23,682	1244	1239	1,95 ± 0,001
Acetato de bornila	25,718	1285	1284	1,80 ± 0,50
Acetato de mirtenila	27,546	1322	1324	0,81 ± 0,0005
Eugenol	29,001	1357	1356	1,92 ± 0,001
(E)-Cariofileno	31,649	1417	1417	1,26 ± 0,0005
β-Bisaboleno	35,525	1504	1505	0,67 ± 0,0004
Total	-	-	-	90,28

* Tempo de retenção
** Índice de retenção calculado
*** Índice de retenção literatura

Tabela 12. Composição (%, média ± desvio padrão) do óleo essencial das folhas de *C. tetradenius* coletado em setembro.

Compostos	TR*	IRC**	IRL***	Composição (%)
α-Pineno	8,890	941	932	1,18 ± 0,37
Canfeno	9,491	955	946	0,58 ± 0,18
Mirceno	11,553	1001	988	0,75 ± 0,14
***p*-Cimeno**	**13,021**	**1030**	**1020**	**11,03 ± 0,67**
Limoneno	**13,225**	**1034**	**1024**	**16,75 ± 4,17**
1,8-Cineol	13,307	1036	1028	2,34 ± 1,55
γ-Terpineno	14,701	1063	1054	0,69 ± 0,17
trans-p-Menta-2,8-dien-1-ol		1121	1119	1,66 ± 0,46
cis-p-Menta-2,8-dien-1-ol	18,401	1136	1133	0,68 ± 0,14
trans-Óxido de limoneno	18,54	1138	1135	0,86 ± 0,02
Cânfora	**18,765**	**1143**	**1141**	**8,17 ± 3,20**
***trans*-p-Menta-1(7),8-dien-2-ol**	**20,994**	**1187**	**1187**	**7,58 ± 2,40**
γ-Terpineol	21,125	1190	1199	1,67 ± 0,27
trans-Carveol	22,516	1216	1215	2,40 ± 0,75
***cis*-p-Menta-1(7),8-dien-2-ol**	**22,945**	**1225**	**1227**	**8,90 ± 2,78**
Carvona	23,682	1239	1239	2,19 ± 0,64
Acetato de bornila	25,718	1280	1284	2,70 ± 0,57
Acetato de mirtenila	27,546	1317	1324	1,03 ± 0,24
Total	-	-	-	71,16

* Tempo de retenção
** Índice de retenção calculado
*** Índice de retenção literatura

Os principais componentes do óleo essencial do caule de *C. tetradenius* coletado em fevereiro foi o limoneno (30,65 %), cânfora (14,32 %), *cis-p*-menta-1(7),8-dien-2-ol (4,76 %), *trans-p*-menta-1(7),8-dien-2-ol (4,65 %), 1,8-cineol (4,33 %)(Figura 19), juntos correspondem a aproximadamente 59 % da composição do óleo (Tabela 13). Comparando o caule coletado em fevereiro com a folha coletada em fevereiro os componentes limoneno e cânfora são os principais e com valores parecidos.

Tabela 13. Composição (%) do óleo essencial do caule de *C. tetradenius* coletado em fevereiro.

Compostos	TR*	IRC**	IRL***	Composição %
α-Pineno	8.892	943	932	2,34
Canfeno	9.494	956	946	1,17
Sabineno	10.655	982	969	0,42
β-Pineno	10.737	983	974	0,82
Mirceno	11.554	1001	988	0,4
Felandreno	12.076	1013	1002	0,2
p-Cimeno	13.025	1030	1020	1,04
Limoneno	**13.220**	**1034**	**1024**	**30,65**
1,8-Cineol	**13.307**	**1035**	**1028**	**4,33**
γ-Terpineno	14.707	1063	1054	0,24
Linalool	16.775	1103	1095	0,35
cis-p-Menta-2,8-dien-1-ol	18.406	1137	1133	2,67
trans-Óxido de limoneno	18.539	1139	1135	0,89
Cânfora	**18.770**	**1144**	**1141**	**14,32**
Pinocarvona	19.717	1163	1160	0,43
p-Cimen-8-ol	20.897	1187	1179	0,13
***trans*-p-Menta-1(7),8-dien-2-ol**	**21.002**	**1189**	**1187**	**4,65**
α-Terpineol	21.132	1192	1186	1,27
cis-Carveol	22.519	1220	1226	2,3
***cis*-p-Menta-1(7),8-dien-2-ol**	**22.951**	**1229**	**1227**	**4,76**
Carvona	23.688	1244	1239	1,91
Acetato de bornila	25.727	1285	1284	3,99
Acetato de mirtenila	27.552	1322	1324	0,93
Eugenol	29.008	1357	1356	0,32
(E)-Cariofileno	31.654	1417	1417	1,44
β-Bisaboleno	35.530	1504	1505	0,73
Total	-	-	-	82,7

* Tempo de retenção
** Índice de retenção calculado
*** Índice de retenção literatura

3.3 Atividade anticolinesterásica

Nesse trabalho foi realizado o teste de atividade anticolinesterásica para algumas substâncias identificadas anteriormente no nosso grupo de pesquisa (Silva, 2018). As substâncias que tiveram sua atividade anticolinesterásica avaliadas foram: 6'-hidroxi-6,12-dimetoxi-(+)-curina-2'*β*-N-óxido (AO7), (-)-8-oxo-1,3,9,10-tetrametoxiberbina (AO4) e 8-oxipalmatina (AO5).

As substâncias testadas apresentaram baixa e média atividade quando comparados com o padrão eserina, como indicado na **Tabela 14**.

Tabela 14. Resultado da atividade anticolinesterásica em 10 minutos

Amostra	**%IAChE (Média)**
A04	15,99
A05	32,61
A07	33,66
Eserina	90,43

De acordo com Vinutha e colaboradores (2007), inibição menor do que 30% significa baixa atividade, inibição entre 30 e 50% média atividade e, acima de 50% potentes inibidores. Dessa forma, pode-se concluir que apesar de não apresentarem valores próximos do padrão eserina, as amostras A05 e A07 têm média atividade anticolinesterásica com potencial aplicação em doenças neurodegenerativas que dependem da modulação desta enzima, incluindo a doença de Alzheimer.

CONCLUSÃO

Por meio do estudo químico das raízes de *Chondrodendron microphyllum*, foi possível identificar quatro substâncias, os fitosteróis estigmasterol e *β*-sitosterol; a lignana siringaresinol e o alcaloide gusanlung C sendo todos relatados pela primeira vez na espécie. O óleo essencial da folha de *Croton tetradenius* tem como principais componentes o limoneno (Fev. 33,14 %, Set. 16,75 %), cânfora (Fev. 11,26 %, Set. 8,17 %), *p*-cimeno (Fev. 7,55 %, Set. 11,03 %), *cis*-*p*-menta-1(7),8-dien-2-ol (Fev. 6,64 %, Set. 8,90 %) e *trans*-*p*-menta-1(7),8-dien-2-ol (Fev. 6,30 %, Set. 7,58 %). Já no caule de *C. tetradenius* os principais componentes encontrados foram o limoneno (30,65 %), cânfora (14,32 %), *cis*-*p*-menta-1(7),8-dien-2-ol (4,76 %), *trans*-*p*-menta-1(7),8-dien-2-ol (4,65 %) e 1,8-cineol (4,33 %). Esse é o primeiro relato do limoneno como o componente principal do óleo essencial de *C. tetradenius*. Uma vez que, o limoneno apresenta diversas atividades biológicas o óleo essencial obtido da espécie vegetal estudada tem potencial para ajudar na manutenção da saúde e bem-estar humano. Em relação a atividade anticolinesterásica pode-se concluir que a substância (-)-8-oxo-1,3,9,10-tetrametoxiberbina tem baixa atividade e as substâncias 6’-hidroxi-6,12-dimetoxi-(+)-curina-2’*β*-N-óxido e 8-oxipalmatina têm média atividade, com potencial aplicação em doenças neurodegenerativas que dependem da modulação desta enzima, incluindo a doença de Alzheimer.

REFERÊNCIAS

ABREU, Lucas Silva, et al. Phenylpropanoids from Croton velutinus with cytotoxic, trypanocidal and anti-inflammatory activities. **Fitoterapia**, 104, 2020.

ALMEIDA-PEREIRA, Camila Santos, et al. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of a Croton tetradenius Baill. germplasm. **Journal of Essential Oil Research**, 31.5: 379-389, 2019.

ANDRADE, R. S. **Contribuição ao conhecimento fitoquímico de Krameria tomentosa A.St.-Hil. (Krameriaceae)**. Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) - Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa, 2020.

ARAGÃO, C.F.S. **Desenvolvimento de Metodologias Analíticas para Padronização de Cissampelos Sympodialis EICHL (Milona)**. 2002. Tese (Doutorado em Produtos Naturais) – Laboratório de Tecnologia Farmacêutica, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2002.

AKINWUNMI, Olubunmi Adenike, et al. Phytochemical quantification, in vitro antioxidant and antidiabetic potentials of methanol and dichloromethane extracts of Triclisia subcordata (Oliv) leaves. **Trends in Phytochemical Research**, 4.1: 17-24, 2020.

BEZERRA-SANTOS, Claudio R., et al. Cissampelos sympodialis and Warifteine Suppress Anxiety-Like Symptoms and Allergic Airway Inflammation in Acute Murine Asthma Model. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 1-9, 2020.

BHAGYA, N., et al. Tetrandrine isolated from Cyclea peltata induces cytotoxicity and apoptosis through ROS and caspase pathways in breast and pancreatic cancer cells. **In Vitro Cellular & Developmental Biology-Animal**, 55.5: 331-340, 2019.

BICK, I. R. C.; CLEZY, P. S. 485. Tertiary bases from Chondrodendron tomentosum. **Journal of the Chemical Society,** 2402-2407, 1960.

BRITO, Fabiany de Andrade, et al. Toxicity and behavioral alterations caused by essential oils of Croton tetradenius and their major compounds on Acromyrmex balzani. **Crop Protection**, 105259, 2020.

CABRAL, Célia, et al. Plantas medicinais: entre o passado e o presente: a colecção de fármacos vegetais da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (séculos xix-xx). Imprensa da Universidade de Coimbra/Coimbra University Press, 2014.

CANINEU, Paulo Renato, et al. Terapia Multidisciplinar: uma proposta de tratamento global do idoso. **Mundo saúde (Impr.)**, 662-665, 2005.

CARVALHO, Karine Da Silva, et al. Toxicological evaluation of essential oil from the leaves of Croton tetradenius (Euphorbiaceae) on Aedes aegypti and Mus musculus. **Parasitology research**, 115.9: 3441-3448, 2016.

CASTILLO, Agnes L., et al. Effectiveness of Tinospora sinensis (Menispermaceae) extracts in dinitrofluorobenzene (DNFB)-induced allergic contact dermatitis (ACD) mice model. **Acta Manilana**, 66: 35-45, 2018.

CHATURVEDULA, Venkata Sai Prakash; PRAKASH, Indra. Isolation of Stigmasterol and β-Sitosterol from the dichloromethane extract of Rubus suavissimus. **International Current Pharmaceutical Journal**, 1.9: 239-242, 2012.

Croton in **Flora do Brasil 2020 em construção.** Jardim Botânico do Rio de Janeiro.Disponível em: <http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB17541>. Acesso em: 23 nov. 2020

DANTAS, B. B.; FAHEINA-MARTINS, G. V.; COULIDIATI, T. H.; BOMFIM, C. C. B.; DIAS, C. S.; BARBOSA-FILHO, J. M.; ARAÚJO, D. A. M. Effects of curine in HL-60 leukemic cells: cell cycle arrest and apoptosis induction. **Journal of Natural Medicines**, v.69, p.218, 2015.

DARVIN, S. Sylvester, et al. Hepatoprotective effect of bisbenzylisoquinoline alkaloid tiliamosine from Tiliacora racemosa in high-fat diet/diethylnitrosamine-induced non-alcoholic steatohepatitis. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, 108: 963-973, 2018.

DE SALES, Igor Rafael Praxedes, et al. Cytoprotective, antioxidant and anti-inflammatory mechanism related to antiulcer activity of Cissampelos sympodialis Eichl. in animal models. **Journal of ethnopharmacology**, 222: 190-200, 2018.

ELLMAN, G.L.; COURTNEY, K.D., et al. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity, **Biochemical Pharmacology**, v.7, n.2, p. 88-90, 1961.

Flora do Brasil 2020 em construção. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/ >. Acesso em: 21 abr. 2020

FORLENZA, Orestes V. Tratamento farmacológico da doença de Alzheimer. **Archives of Clinical Psychiatry (São Paulo),** 32.3: 137-148, 2005.

GONG, Shu, et al. (−)-Curine induces cell cycle arrest and cell death in hepatocellular carcinoma cells in a p53-independent way. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, 89: 894-901, 2017

GUHA, K. P., et al. Bisbenzylisoquinoline alkaloids--a review. **Journal of natural products**, 42.1: 1-84, 1979.

HEMRAJ, Vashist, et al. Anti-Arthritics Activity of Cissampelos pareira Leaves and Stephania glabra Rhizome Ethanolic Extract on Adjuvant and Potassium Oxonate Treated Rat. **The Open Rheumatology Journal**, 13.1, 2019.

ITOH, Atsuko, et al. Bisbenzylisoquinoline alkaloids from Nelumbo nucifera. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, 59.8: 947-951, 2011.

KAMONWANNASIT, Sirilak; KAMCHAROEN, Agarat. Phytochemical Screening and Antibacterial Activities of Tuber Extract of Stephania pierrei Diels. **CHIANG MAI JOURNAL OF SCIENCE**, 45.3: 1396-1406, 2018.

KAMONWANNASIT, Sirilak, et al. Antifungal and antioxidant activities of the extract of Stephania pierrei tubers. **In: Proceeding of RSU International Research Conference**. 2019.

KANYANGA, R. Cimanga, et al. Isolation and structure elucidation of two antiprotozoal bisbenzylisoquinoline alkaloids from Triclisia gilletii stem bark. **Phytochemistry letters**, 28: 19-23, 2018.

KIM, Dong Eon, et al. Natural Bis-Benzylisoquinoline Alkaloids-Tetrandrine, Fangchinoline, and Cepharanthine, Inhibit Human Coronavirus OC43 Infection of MRC-5 Human Lung Cells. **Biomolecules**, 9.11: 696, 2019.

KING, Harold. 137. Alcalóides Curare. Parte V. Alcalóides de algumas espécies de condrodendros e a origem do radix pareiræ bravæ. **Journal of the Chemical Society (Resumo)**, 737-746, 1940.

KING, Harold. 174. Curare alkaloids. Part VI. Alkaloids from Chondrodendron tomentosum R. and P. **Journal of the Chemical Society (Resumed)**, 936-937, 1947.

LIMA, Letícia Ribes de; PIRANI, José Rubens. Revisão taxonômica de Croton sect. Lamprocroton (Müll. Arg.) Pax (Euphorbiaceae ss). **Biota Neotropica**, 8.2: 0-0, 2008.

MEDEIRO, M.A., et al. Curine, a bisbenzylisoquinoline alkaloid, blocks L-type Ca2+ channels and decreases intracelular Ca2+ transients in A7r5 cells. **European Journal of Pharmacology**, v.669, p.100, 2011.

MEDEIROS, Tessio David de, et al. Ethanol extract of Cissampelos sympodialis ameliorates lung tissue damage in streptozotocin-induced diabetic rats. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, 56, 2020.

MONTEIRO, S. C.; BRANDELLI, C. L. C. Farmacobotânica: Aspectos Teóricos e Aplicação. **Artmed Editora**, 2017.

MONTENEGRO, Fabrícia Costa, et al. Evidência de uma ação central exercida pela fração total de alcalóides de Chondrodendron Platyphyllum em camundongos. **Revista Brasileira de ciências da saúde**, 2010.

MONTHONG, Wisit, et al. (+)-Syringaresinol lignan from new species Magnolia thailandica. **American Journal of Applied Sciences**, 8.12: 1268-1271, 2011.

MORAIS, Lilia Aparecida Salgado de. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. In: Embrapa Meio Ambiente-Artigo em anais de congresso (ALICE). Horticultura Brasileira, Brasília, DF, v. 27, n. 2, p. S3299-S3302, ago. 2009. (Suplemento CD-ROM). Trabalho apresentado no 49º **Congresso Brasileiro de Olericultura**, Águas de Lindóia, SP., 2009.

MWINE, J. T.; DAMME, P. V. Why do Euphorbiaceae tick as medicinal plants? A review of Euphorbiaceae family and its medicinal features. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 5, n. 5, p. 652-662, 2011.

PEREZ, Diana, et al. TOXICITY OF PAULLINIA CLAVIGERA SCHLTDL. (SAPINDACEAE) AND CHONDRODENDRON TOMENTOSUM RUIZ ET PAV. (MENISPERMACEAE) ON JUMPING LICE OF CAMU CAMU TUTHILLIA COGNATA (HEMIPTERA: PSYLLIDAE). **Gayana Botanica**, v. 65, n. 2, p. 145-152, 2008.

RIBEIRO-FILHO, Jaime, et al. **Propriedades antialérgicas e antiinflamatórias da curina, um alcaloide bisbenzilisoquinolínico isolado de Chondrodendron platyphyllum (Menispermaceae)**. Tese (Doutorado em Biologia Celular e Molecular) – Instituto Oswaldo cruz, 2013.

RENA-AGUILA, Sheryl, et al. The anti-angiogenic and antibacterial effect of Tinomiscium philippinense Miers.(Menispermaceae) leaf extract. **Journal of Coastal Life Medicine**, 4.1: 61-68, 2016.

RIBEIRO-FILHO, Jaime, et al. Curine Inhibits Macrophage Activation and Neutrophil Recruitment in a Mouse Model of Lipopolysaccharide-Induced Inflammation. **Toxins**, 11.12: 705, 2019.

RIBEIRO-FILHO, J., et al. Curine inhibits mast cell-dependent responses in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v.155, p.1118-1124, 2014.

RIBEIRO-FILHO, J., et al. Anti-Allergic Properties of Curine, a Bisbenzylisoquinoline Alkaloid. **Molecules**, v.20, p.4695, 2015.

ROCHA, R. R. **Estudo comparativo sobre a composição química, atividade antibacteriana e efeito sinérgico dos óleos essenciais de Croton tetradenius Baill. e c. pulegiodorus Baill. contra isolados de Staphylococcus aureus.** 2019. 81 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia - Campus de Sobral, Universidade Federal do Ceará, Sobral, 2020.

SALATINO, A., et al. Traditional uses, chemistry and pharmacology of Croton species (Euphorbiaceae). **Journal Brazilian Chemical Society**, v.18, p. 11-33, 2007.

SANDHANAM, Sylvester Darvin, et al. Effect of tiliamosine, a bis, benzylisoquinoline alkaloid isolated from Tiliacora acuminata (Lam.) Hook. f. & Thom on the immature stages of filarial mosquito Culex quinquefasciatus say (Diptera: Culicidae). **Experimental parasitology**, 204: 107719, 2019.

SILVA, Andressa Oliveira. **Estudo químico e biológico dos extratos e alcaloides oriundos da espécie Chondrodendron microphyllum (MENISPERMACEAE)**. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - UESB Jequié, 2018.

SHARMA, Anuradha, et al. Anti-brain cancer activity of chloroform and hexane extracts of Tinospora cordifolia Miers: an in vitro perspective. **Annals of Neurosciences**, 26.1: 10-20, 2019.

SHARMA, RAVIN, et al. Antioxidant and anticancer activity of methanolic extract from Stephania elegans. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, 9.2: 245-9, 2017.

SIMÕES, Cláudia Maria Oliveira, et al. Farmacognosia: do produto natural ao medicamento. **Artmed Editora**, 2016.

SIMON, Lins, et al. Phytochemical analysis and antimicrobial activity of Tiliacora acuminata (Lam.) F. Thoms.(Menispermaceae). **Journal of Medicinal Plants**, 4.6: 18-22, 2016.

SINGH, Asem Robinson, et al. Evaluation of hypoglycemic and antioxidant activities of ‘Koubru Yai’(Stephania rotunda Engl.): An important medicinal plant used in traditional medicine of Manipur. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, 8.1: 1364-1369, 2019.

TEIXEIRA, M. D. R. & AMORIM, A. M. A. Flora da Bahia: Menispermaceae. **Sitientibus série Ciências Biológicas**, v.12, p.207, 2012.

THONG-ASA, Wachiryah; BULLANGPOTI, Vasakorn. Neuroprotective effects of Tiliacora triandra leaf extract in a mice model of cerebral ischemia reperfusion. **Avicenna Journal of Phytomedicine**, 10.2: 202, 2020.

VIEIRA, Giciane C., et al. Warifteine, um alcalóide de Cissampelos sympodialis, modula o perfil alérgico em um modelo de rinite alérgica crônica. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 28.1: 50-56, 2018.

VINUTHAB, B., et al. Screening of selected Indian medicinal plants for acetylcholinesterase inhibitory activity**. Journal of Ethnopharmacology,** v. 109, n. 2, p. 359–363, 2007.

WANG, Jian-zhong, et al. Bisbenzylisoquinoline Alkaloids from the Roots of Cyclea tonkinensis. **Planta medica**, 81.07: 600-605, 2015.

WANG, Jian-Zhong, et al. Cytotoxic bisbenzylisoquinoline alkaloids from the roots of Cyclea racemosa. **Journal of natural products**, 73.7: 1288-1293, 2010.

WANG, Renzhong, et al. Bioactive bisbenzylisoquinoline alkaloids from the roots of Stephania tetrandra. **Bioorganic Chemistry**, 103697, 2020.

WANG, W., et al. Phylogeny and morphological evolution of tribe Menispermeae (Menispermaceae) inferred from chloroplast and nuclear sequences. **Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics**, v. 8, p. 141, 2007.

WEBER, Carina; OPATZ, Till. Bisbenzylisoquinoline Alkaloids. In: The Alkaloids: Chemistry and Biology. **Academic Press**. p. 1-114, 2019

WEFFERLING, K. M., et al. Phylogeny and fruit evolution in Menispermaceae. **American Journal of Botany**, v. 100, n. 5, p. 1–23, 2013.

XIAO, Jiao, et al. Amide–Iminoate Isomerism in Antineuroinflammatory Isoquinoline Alkaloids from Stephania cepharantha. **Journal of Natural Products**, 2020.

Xu, W.-H., et al. Chemical Constituents from Croton Species and their Biological Activities. **Molecules**, 23, 2333, 2018.

YU, Jin, et al. Tetrandrine Suppresses Transient Receptor Potential Cation Channel Protein 6 Overexpression-Induced Podocyte Damage via Blockage of

RhoA/ROCK1 Signaling. **Drug Design, Development and Therapy**, 14: 361, 2020

ZHANG, Jin-Sheng, et al. Isoquinoline alkaloids from Acangelisia gusanlung. **Phytochemistry**, 39.2: 439-442, 1995.

ZHOU, Lin, et al. Fangchinoline protects against bone loss in OVX mice via inhibiting osteoclast formation, bone resorption and RANKL-induced signaling. **International Journal of Biological Sciences**, 16.2: 309, 2020.

APÊNDICE

Figura 21. Perfil cromatográfico do óleo essencial das folhas de *Croton tetradenius* (OEF) em fevereiro no CG-DIC.

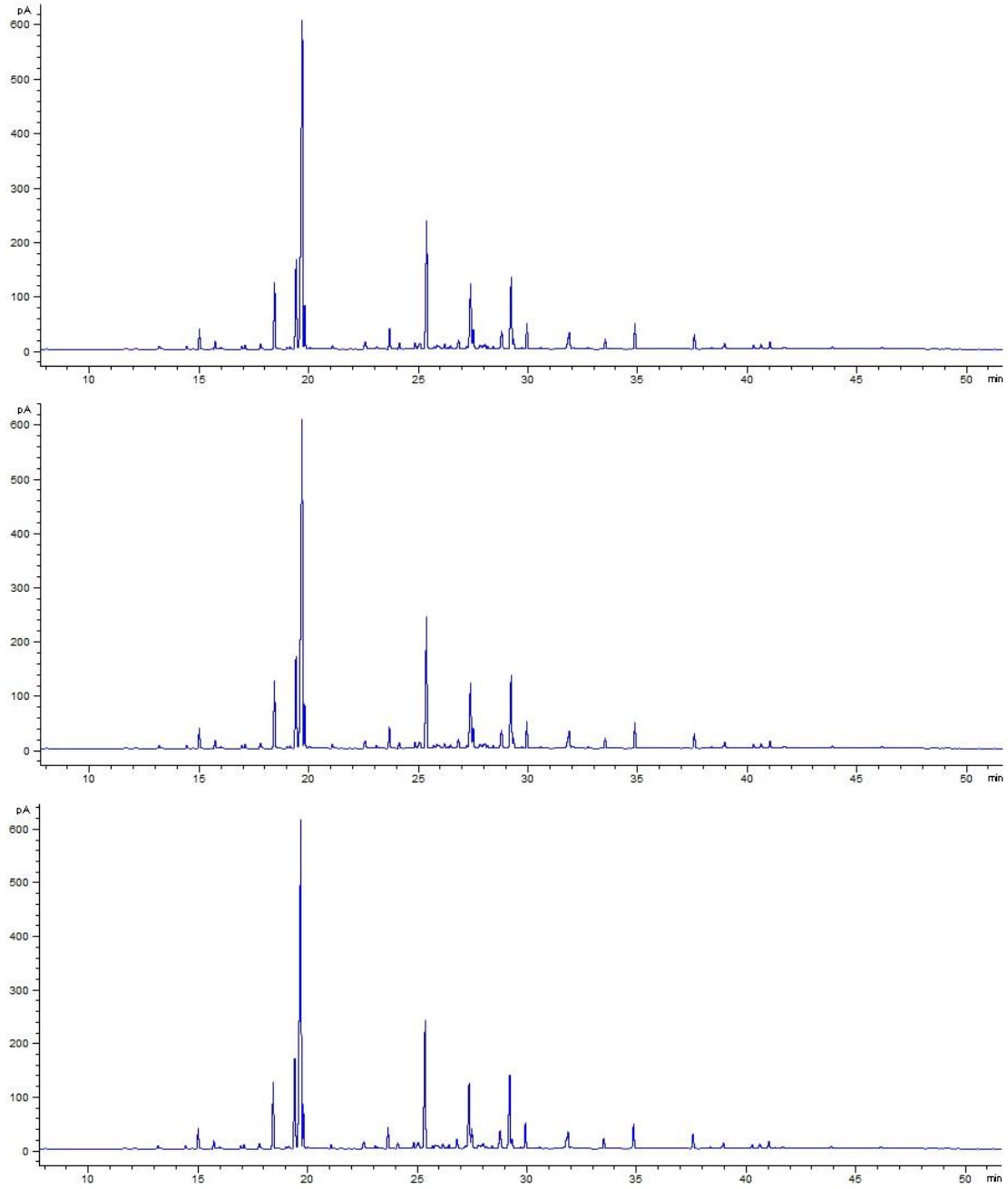


Figura 22. Perfil cromatográfico do óleo essencial das folhas de *Croton tetradenius* (OEF2-1) em setembro no CG-DIC.

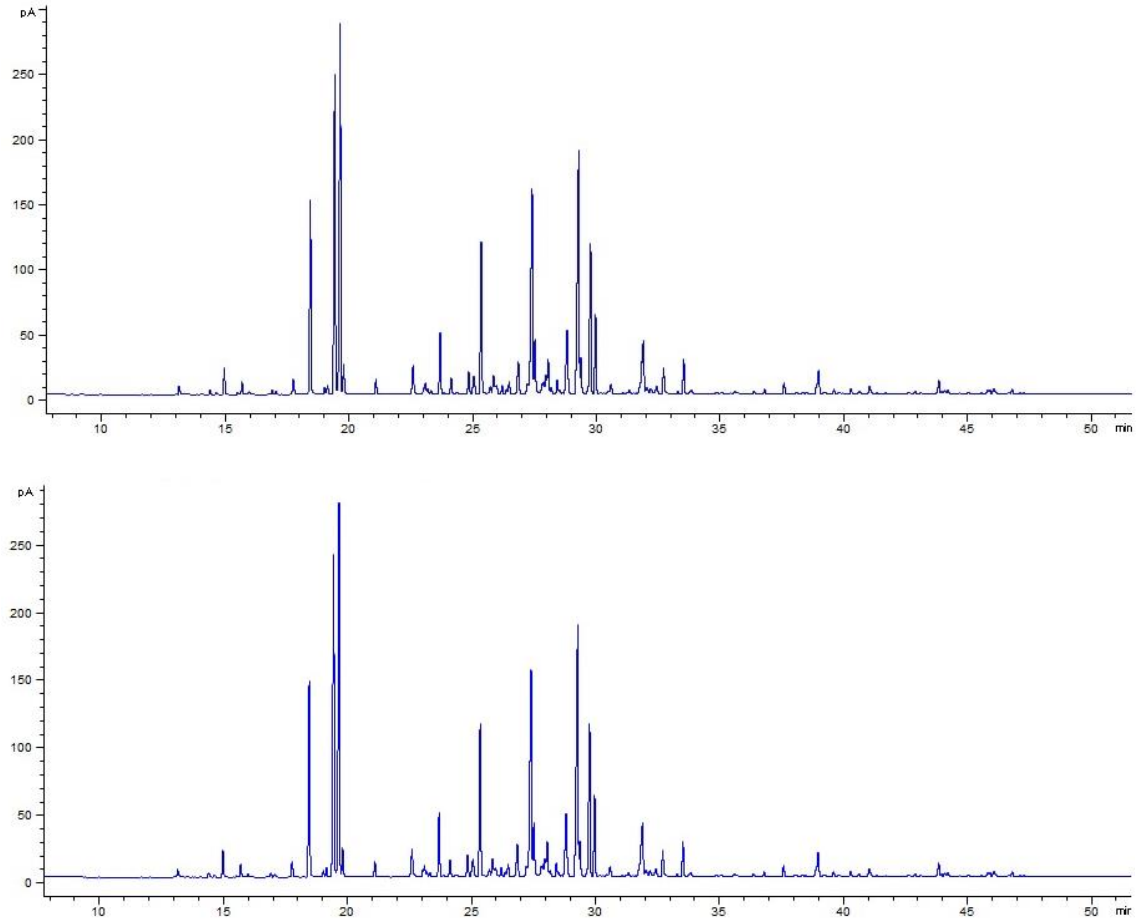
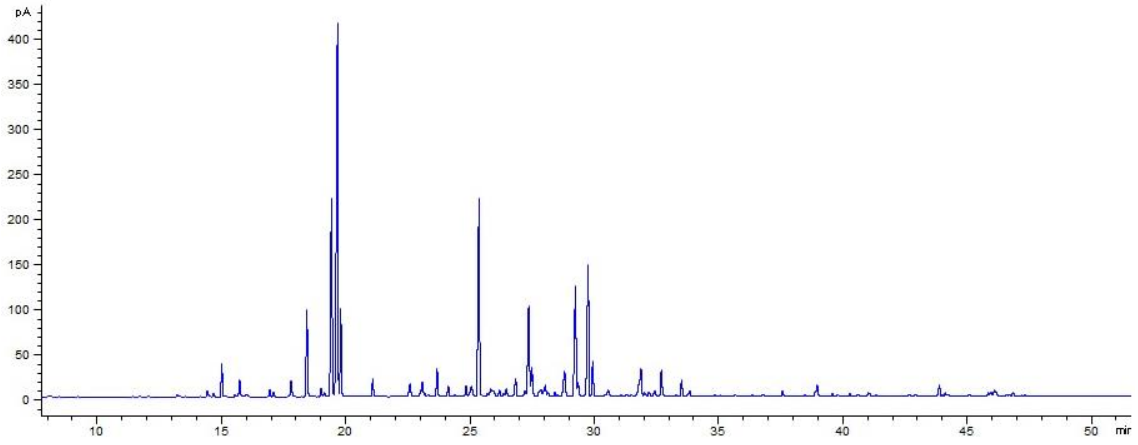
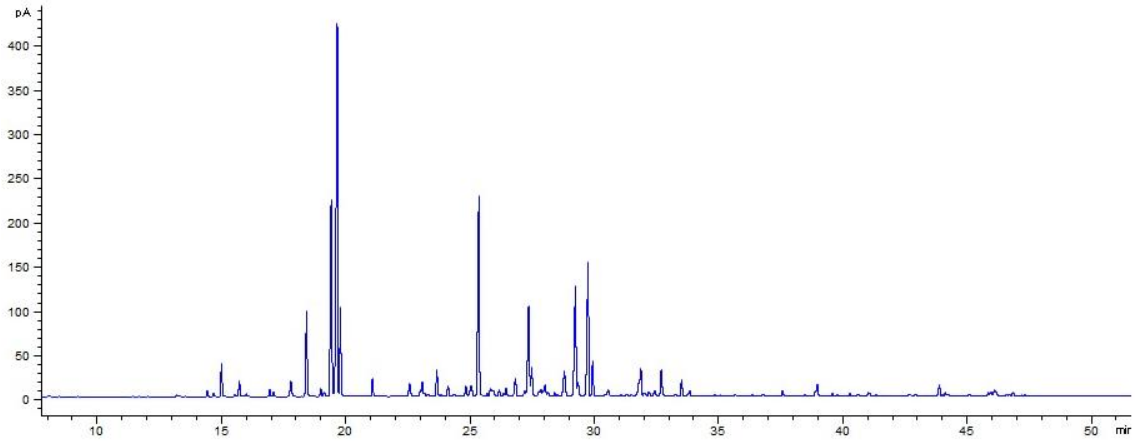


Figura 23. Perfil cromatográfico do óleo essencial das folhas de *Croton tetradenius* (OEF2-2) em setembro no CG-DIC.




pA
400
350
300
250
200
150
100
50
0
10
15
20
25
30
35
40
45
50
min