

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMAÇÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO
LABORATÓRIO DE PRODUTOS NATURAIS

Busca de compostos bioativos de *Himatanthus articulatus* e *Vismia guianensis* para o controle de formigas cortadeiras (*Atta sexdens*): um estudo Biomonitorado

ARTUR DA SILVA CRUZ *

Tese apresentada ao programa de pós-Graduação em química como parte dos requisitos para obtenção do título de DOUTOR EM CIÊNCIAS, na área de concentração QUÍMICA ORGÂNICA.

Orientador: Prof. Dr. João Batista Fernandes

*Bolsista: CAPES

São Carlos-SP

2026

Folha de Aprovação

Defesa de 944^a Tese de Doutorado (a) candidato(a) _Artur da Silva Cruz, realizada em 27/02/2026.

Comissão Julgadora:

Prof. Dr. João Batista Fernandes (Orientador)

Prof. Dr. Manoel Leão Lopes Júnior (UFPA)*

Profa. Dra. Jéssica Cristina Amaral (DQ/UFSCar)

Profa. Dra. Buana Carvalho de Almeida (IFPI)*

Prof. Dr. Jairo Kenupp Bastos (FCFRP/USP)*

DEDICATÓRIA

Dedico esta tese...

*Aos meus pais, Álvaro e Eracinte, à
minha querida irmã Alana, aos meus avós Alexandrina e em in
memoriam ao meu estimado pai/avô Pedro, agradeço pelo carinho,
amor, dedicação e apoio em todos os momentos.*

"Os rios não bebem sua própria água; as árvores não comem seus próprios frutos. O sol não brilha para si mesmo; e as flores não espalham sua fragrância para si. Viver para os outros é uma regra da natureza. (...)A vida é boa quando você está feliz; mas a vida é muito melhor quando os outros estão felizes por sua causa".

Papa Francisco

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida e pela força para enfrentar os percalços e desafios que se apresentam ao longo do caminho.

Ao meu querido orientador, Dr. João Batista, que desde o início deste trabalho ofereceu orientações precisas e insights perspicazes, contribuindo significativamente para a construção da pesquisa e para o aprimoramento das minhas habilidades acadêmicas. Sua disponibilidade constante para discutir ideias, revisar manuscritos e fornecer feedback crítico foi inestimável. Cada reunião foi uma valiosa oportunidade de aprendizado e inspiração.

À professora Dra. Maria de Fátima, pelos ensinamentos, contribuições e apoio essencial para o desenvolvimento deste trabalho.

À técnica Dorai, pelo suporte no laboratório, pela dedicação e por sempre estar disposta a ajudar nas atividades experimentais, contribuindo diretamente para o sucesso das etapas práticas da pesquisa.

À minha mãe, Eracinete, à minha irmã, Alana Cruz, e ao meu pai, Álvaro de Cruz, pelo amor, incentivo e apoio incondicional em todos os momentos da minha vida. Vocês são minha base, minha força e minha maior motivação.

Aos meus amigos André, Sean, Luiz Felipe, Luciano e Anderson, pelos anos de amizade, pelas conversas, pela parceria e pelo apoio durante toda a pesquisa. Sou grato por cada momento de incentivo e por caminharem ao meu lado nessa jornada acadêmica.

Aos colegas de laboratório Luiz, Jéssica, João Oiano, Alicia e Christiane, pela convivência diária, pela ajuda nas rotinas experimentais,

pelas trocas de conhecimento e por contribuírem para um ambiente de trabalho leve e colaborativo.

Ao meu amigo Renan Campos, por todo o suporte na coleta do material botânica, ideias e parceria, nesses últimos anos.

À Luliana e à Janaína, pela colaboração nos ensaios fúngicos, pela dedicação, paciência e pelas contribuições valiosas que enriqueceram os resultados desta pesquisa.

Ao professor Odair, da UNESP de Rio Claro, pela realização dos ensaios frente às operárias e pela colaboração científica que foi fundamental para o avanço desta pesquisa.

Ao Dr. Lucas Martins, pelas análises de *docking* molecular, pela prontidão em colaborar e pelas importantes interpretações que enriqueceram a discussão dos resultados.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos, e aos órgãos de fomento FAPESP e CNPq pelo apoio financeiro e incentivo à pesquisa científica. Sem o suporte dessas instituições, a realização deste trabalho não teria sido possível.

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

ACN – Acetonitrila

AChE – Acetilcolinesterase

CCD – Cromatografia em Camada Delgada

CHCl₃ – Clorofórmio

CLAE – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

COSY – *Correlation Spectroscopy*

DAD – Detector de Arranjo de Diodos (*Diode Array Detector*)

DMSO – Dimetilsulfóxido

δ – Deslocamento químico (ppm)

ESI – Ionização por Eletrospray (*Electrospray Ionization*)

EtOH – Etanol

g – Grama

HMBC – *Heteronuclear Multiple Bond Correlation*

HSQC – *Heteronuclear Single Quantum Coherence*

HPLC – *High Performance Liquid Chromatography*

Hz – Hertz

J – Constante de acoplamento (Hz)

kcal/mol – Quilocalorias por mol

L – Litro

m/z – Relação massa/carga

MeOH – Metanol

MeOD – Metanol deuterado

MHz – Megahertz

min – Minuto

mg – Miligrama

mL – Mililitro

mm – Milímetro
μL – Microlitro
μm – Micrômetro
NMR / RMN – Ressonância Magnética Nuclear
¹H RMN – Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
¹³C RMN – Ressonância Magnética Nuclear de Carbono-13
PDA – Detector de Arranjo de Fotodiodos (*Photodiode Array*)
ppm – Partes por milhão
Q-TOF – *Quadrupole Time-of-Flight*
RMN 1D – Ressonância Magnética Nuclear unidimensional
RMN 2D – Ressonância Magnética Nuclear bidimensional
SPE – Extração em Fase Sólida (*Solid Phase Extraction*)
SF – Subfração
t – Tempo
T – Tesla
UV – Ultravioleta
v/v – Volume/volume
λ – Comprimento de onda
Å – Ångström

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1.1- Ramo e fruto de *Himatanthus articulatus*, destacando suas folhas simples, opostas e de coloração verde intensa, além do fruto alongado característico, ainda imaturo, coletado em ambiente de mata nativa. _____ 11
- FIGURA 1.2- Distribuição geográfica de registros de *Himatanthus articulatus* na América do Sul. Os pontos indicam áreas com ocorrência documentada da espécie, com maior concentração na região amazônica, abrangendo principalmente Brasil, Colômbia, Peru, Venezuela, Bolívia, Suriname e Equador. Fonte: JARDIM BOTÂNICO DO RIO DE JANEIRO – REFLORA. _____ 11
- FIGURA 1.3- Principais classes de metabólitos secundários identificados em *Himatanthus articulatus*. _____ 12
- FIGURA 1.4- Principais classes de metabólitos secundários identificados em *Vismia*. 24
- FIGURA 1.5- Distribuição geográfica de *Vismia guianensis* (Aubl.) na América do Sul. Os pontos indicam registros documentados da espécie, evidenciando maior concentração na região amazônica, incluindo Colômbia, Venezuela, Guiana, além de amplas regiões do Norte e Nordeste do Brasil. Fonte: Jardim Botânico do Rio de Janeiro – REFLORA. _____ 25
- FIGURA 3.1- Localização geográfica do município de Curuçá, no estado do Pará, Brasil, destacando a área aproximada de coleta das espécies *Himatanthus articulatus* e *Vismia guianensis*, na região da Mata do Camandeteua. _____ 29
- FIGURA 3.2- Vista geral do formigueiro de *Atta sexdens* mantido no laboratório do Centro de Estudos de Insetos Sociais (CEIS). _____ 40
- FIGURA 3.3- Operárias de *Atta sexdens* submetidas ao tratamento com o extrato incorporado em dieta artificial. Fonte: Arquivo pessoal. _____ 41
- FIGURA 3.4- Todas as dietas utilizadas, já distribuídas e prontas para o oferecimento. _____ 42
- FIGURA 4.1- Perfil cromatográfico do extrato etanólico de *H. articulatus* em 254 nm. _____ 48
- FIGURA 4.2- Cromatograma do perfil cromatográfico da SF2 no comprimento de onda de 254nm. _____ 49

FIGURA 4.3- Cromatograma otimizado para coleta da fração SF2, usando H ₂ O e ACN e seus respectivos compostos isolados. _____	50
FIGURA 4.4- Cromatograma da SF3, no modo isocrático de eluição, usando H ₂ O:ACN na proporção 40-60%. _____	51
FIGURA 4.5- Perfil cromatográfico do extrato etanolico de <i>Vismia guianensis</i> em 254 nm. _____	52
FIGURA 4.6- Cromatograma da Fração PLC-F1 monitorada pelo comprimento de onda de 254 nm. _____	54
FIGURA 4.7- Cromatograma da fração PLC-f1-F5, obtido com eluição em gradiente e detecção à 250 nm. _____	55
FIGURA 4.8- Cromatograma da fração PLC-F1-F5 para coleta, no modo isocrático de eluição e 250 nm de detecção. _____	56
FIGURA 4.9 – Perfil cromatográfico da PLC-F2, modo isocrático em λ 254nm, H ₂ O:ACN – 26 e 74%, respectivamente+ 0.1% de ácido fórmico em ambas as fases. _	55
FIGURA 4.10- Substâncias isoladas, classificadas em iridoides, benzofenonas, antraquinonas e antranol. _____	58
FIGURA 4.11- Estrutura química da substância 1. _____	59
FIGURA 4.12- Principais correlações observadas no mapa de contorno HMBC para o sinal δ 3,96 (d, J = 9,6 Hz, 1H) para H-5. _____	60
FIGURA 4.13– Relação entre o ângulo diedro (φ) e a constante de acoplamento vicinal ($^3J_{\{H-H\}}$). A curva representa a equação de Karplus, descrevendo a variação da constante de acoplamento vicinal ($^3J_{\{H-H\}}$, em Hz) em função do ângulo diedro φ entre os hidrogênios H _a e H _{β} . As projeções estruturais ilustram as diferentes orientações espaciais das ligações C–H, evidenciando as conformações que resultam em valores máximos e mínimos de acoplamento escalar. Claridge (2016) _____	62
FIGURA 4.14- Espectro em comparação com teórico e experimental, em A: espectro teórico e B: espectro observado. _____	63
FIGURA 4.15- Espectro obtido através do programa de simulação de espectro FOMSC3, com maior resolução para o sinal H13 a e b. _____	63
FIGURA 4.16- Correlações chaves mencionadas a cima, observadas pelo mapa de contorno HMBC, para a porção inferior da substância 1. _____	64
FIGURA 4.17- Proposta de fragmentação para a proposta estrutural da Substância 1. _____	66
FIGURA 4.18- A: Espectros de MS e em B: MS/MS da substância 1. _____	66
FIGURA 4.19- Estrutura química do iridoide 2. _____	67

FIGURA 4.20- Espectro ampliado do sinal em 3.76 ppm integrando para 3H referente a esterificação da substância 2. _____	68
FIGURA 4.21- Mapa de contorno do experimento HMBC evidenciando as correlações-chave, com destaque para o cruzamento entre os prótons ligados a C-16 e o carbono carbonílico C-15, confirmando a conectividade estrutural proposta para essa região da molécula. _____	68
FIGURA 4.22- A: Espectros de MS e em B: MS/MS da substância 2. _____	71
FIGURA 4.23- Proposta de fragmentação do composto com base nos dados de ESI-MS/MS (modo positivo), evidenciando o íon precursor em m/z 293.1013 e os principais fragmentos observados. _____	71
FIGURA 4.24- Estrutura química da substância 3. _____	72
FIGURA 4.25- As linhas em verde representam as correlações observadas no COSY. As setas em vermelho indicam as correlações observados no HMBC $^1\text{H}\rightarrow^{13}\text{C}$. _____	73
FIGURA 4.26- A: Espectros de MS e em B: MS/MS da substância 3. _____	75
FIGURA 4.27- Proposta de fragmentação do composto com base nos dados de ESI-MS/MS (modo positivo), evidenciando o íon protonado $[MH]^+$. _____	75
FIGURA 4.28- Estrutura química da substância 4. _____	76
FIGURA 4.29- Correlações observadas via mapa de contorno HMBC $^1\text{H}\rightarrow^{13}\text{C}$. _____	77
FIGURA 4.30- A: Espectros de MS e em B: MS/MS da substância 4. _____	80
FIGURA 4.31- Proposta de fragmentação da substância 4 por ESI-MS/MS (modo positivo), destacando o aduto $[MNa]^+$ em m/z 493.1310 ($\Delta = -1,21$ ppm). _____	81
FIGURA 4.32- Estrutura química da substância 5. _____	81
FIGURA 4.33- A: Espectros de MS e em B: MS/MS da substância 5. _____	84
FIGURA 4.34- Proposta de fragmentação da substância 5 por ESI-MS/MS (modo positivo), destacando o aduto $[MNa]^+$ em m/z 493.1310 ($\Delta = -1,21$ ppm). _____	85
FIGURA 4.35- Proposta estrutural para o composto 6. _____	85
FIGURA 4.36- Mapa de contorno observados no HMBC $^1\text{H}\rightarrow^{13}\text{C}$. _____	86
FIGURA 4.37- As linhas em verde representam as correlações observadas no COSY. As setas em vermelho indicam as correlações observados no HMBC $^1\text{H}\rightarrow^{13}\text{C}$. _____	87
FIGURA 4.38- A: Espectros de MS e em B: MS/MS da substância 6. _____	88
FIGURA 4.39 - Proposta de fragmentação da substância 6 por ESI-MS/MS (modo positivo), destacando o aduto $[MNa]^+$ em m/z 493.1310 ($\Delta = -1.97$ ppm). _____	89
FIGURA 4.40- Estrutura química da substância 7. _____	90
FIGURA 4.41- Seta em vermelho mostra a correlação de HMBC da substância 07. _____	91

FIGURA 4.42- A: Espectros de MS e em B: MS/MS da substância 7. _____	93
FIGURA 4.43- Proposta de fragmentação da substância 7 por ESI-MS/MS (modo positivo), destacando o aduto $[MNa]^+$ em m/z: 639.1690 ($\Delta = 0.93$ ppm). _____	94
FIGURA 4.44- Estrutura química da substância 8. _____	94
FIGURA 4.45- Seta em vermelho mostra a correlação de HMBC $^1H \rightarrow ^{13}C$, da substância 8. _____	95
FIGURA 4.46- A: Espectros de MS e em B: MS/MS da substância 8. _____	97
FIGURA 4.47- Proposta de fragmentação da substância 7 por ESI-MS/MS (modo positivo), destacando o aduto $[MNa]^+$ em m/z: 801.2202 ($\Delta = -1.37$ ppm). _____	98
FIGURA 4.48- Estrutura química da substância 9. _____	98
FIGURA 4.49- As linhas em verde representam as correlações observadas no COSY. As setas em vermelho indicam as correlações observados no HMBC $^1H \rightarrow ^{13}C$. _____	100
FIGURA 4.50- Espectros de MS e em B: MS/MS da substância 9. _____	102
FIGURA 4.51- Proposta de fragmentação da substância 9 por ESI-MS/MS (modo positivo), destacando o aduto $[M-H_2O]^+$ em m/z: 229.0495 ($\Delta = 4.36$ ppm). _____	102
FIGURA 4.52- Estrutura química da substância 10. _____	103
FIGURA 4.53- A: Espectros de MS e em B: MS/MS da substância 10. _____	106
FIGURA 4.54- Proposta de fragmentação da substância 10 por ESI-MS/MS (modo positivo), destacando o aduto $[M+H]^+$ em m/z: 271.0601 ($\Delta = 0$ ppm). _____	106
FIGURA 4.55- Estrutura química da substância 11. _____	107
FIGUA 4.56- A: Espectros de MS e em B: MS/MS da substância 11. _____	110
FIGURA 4.57- Proposta de fragmentação da substância 11 por ESI-MS/MS (modo positivo), destacando o aduto $[M+H]^+$ em m/z: 381.1697 ($\Delta = 0$ ppm). _____	111
FIGURA 4.58- Estrutura química da substância 12. _____	112
FIGURA 4.59- A: Espectros de MS e em B: MS/MS da substância 12. _____	115
FIGURA 4.60- Proposta de fragmentação da substância 12 por ESI-MS/MS (modo positivo), $[M+H]^+$ em m/z: 365.1757 ($\Delta = 2.73$ ppm). _____	116
FIGURA 4.61- Estrutura química da substância 13. _____	117
FIGURA 4.62- A: Espectros de MS e em B: MS/MS da substância 13. _____	119
FIGURA 4.63- Proposta de fragmentação da substância 13 por ESI-MS/MS (modo positivo), $[M+H]^+$ em m/z: 379.1921 ($\Delta = 1.58$ ppm). _____	120
FIGURA 4.64- Estrutura química da substância 14. _____	121
FIGURA 4.65- A: Espectros de MS e em B: MS/MS da substância 14. _____	124

FIGURA 4.66- Proposta de fragmentação da substância 14 por ESI-MS/MS (modo positivo), $[M+H]^+$ em m/z: 365.1757 ($\Delta = 2.73$ ppm).	124
FIGURA 4.67- Estrutura química da substância 15.	125
FIGURA 4.68- A: Espectros de MS e em B: MS/MS da substância 15.	128
FIGURA 4.69- Proposta de fragmentação da substância 15 por ESI-MS/MS (modo positivo), $[M+H]^+$ em m/z: 367.1911 ($\Delta = 1.90$ ppm).	128
FIGURA 4.70- Estrutura química da substância 16.	129
FIGURA 4.71- A: Espectros de MS e em B: MS/MS da substância 16.	132
FIGURA 4.72- Proposta de fragmentação da substância 16 por ESI-MS/MS (modo positivo), $[M+H]^+$ em m/z: 477.2649 ($\Delta = 2.72$ ppm).	133
FIGURA 4.73- Curvas de sobrevivência de operárias de <i>Atta sexdens</i> submetidas à dieta controle com metanol e aos extratos que tiveram maior índice de mortalidade.	134
FIGURA 4.74- Curvas de sobrevivência de operárias de <i>Atta sexdens</i> submetidas à dieta controle com metanol e as frações de <i>H. articulatus</i> .	136
FIGURA 4.75- Curvas de sobrevivência de operárias de <i>Atta sexdens</i> submetidas à dieta controle com metanol e as frações de <i>Vismia guianensis</i> .	139
FIGURA 4.76- Experimento de inibição de <i>Leucoagaricus gongylophorus</i> , usando <i>Himantanthus articulatus</i> .	139
FIGURA 4.77- Experimento de inibição de <i>Leucoagaricus gongylophorus</i> , usando extrato de <i>Vismia guianensis</i> .	140
FIGURA 4.78- Avaliação inibitória das frações de <i>Hymantatus articulatus</i> , A: SF-1 1; B: SF-2; C:SF-3; D: SF-4-; E: SF-5; F:SF-6.	141
FIGURA 4.79- Curva de sobrevivência de operárias de <i>Atta sexdens</i> submetidas à Dieta Pura (grupo controle) e ao tratamento com frações de <i>Vismia guianensis</i> oferecidos em dieta artificial sólida.	143
FIGURA 4.80- Curva de sobrevivência de operárias de <i>Atta sexdens</i> submetidas à Dieta Pura (grupo controle) e ao tratamento com substâncias pura de 12 à 16.	145
FIGURA 4.81- Gráfico de Ramachandran do modelo tridimensional da acetilcolinesterase de <i>Atta sexdens</i> obtido por modelagem por homologia.	152

Representação estrutural da acetilcolinesterase utilizada na modelagem por homologia e sua comparação com o *template* cristalográfico. (A) Estrutura da acetilcolinesterase de *Anopheles gambiae* (template 5ydj.1.A), representada em cartoon e destacada em azul. (B) Modelo tridimensional da acetilcolinesterase de *Atta sexdens* obtido por modelagem

por homologia, representado em cartoon e destacado em laranja. (C) Sobreposição estrutural entre o modelo e o template, evidenciando elevada similaridade conformacional global e conservação do dobramento característico da acetilcolinesterase. As imagens foram geradas no programa PyMOL. _____ 153

Figura 4.83- Representação tridimensional das poses de docking e interações intermoleculares dos ligantes (A) substância 9, (B) substância 10, (C) substância 11, (D) substância 12, (E) substância 13, (F) substância 14, (G) substância 15 e (H) LIG16 no sítio de ligação da AChE. Os ligantes estão representados em bastões coloridos e os resíduos do sítio ativo em bastões cinza. A estrutura secundária da proteína é exibida em formato cartoon cinza semitransparente. Para melhor visualização os hidrogênios foram ocultados das Figuras _____ 156

LISTA DE TABELAS

TABELA 1.1- Classificação taxonômica do gênero <i>Hymantatus</i> _____	10
TABELA 1.2- Classificação taxonômica do gênero <i>Vismia</i> _____	15
TABELA 3.1- Extratos preparados e seus respectivos rendimentos <i>H. articulatus</i> e <i>V. guianensis</i> _____	30
TABELA 3.2- Proporções de solvente utilizados para o fracionamento em fase sólida do extrato de etanólico de <i>H. Articulatus</i> _____	33
TABELA 4.1 - Gradiente exploratório utilizado na análise do perfil químico da amostra _____	50
TABELA 4.2 - Método analítico para isolamento dos compostos da fração sf2 _____	51
TABELA 4.3- Otimização cromatográfica de método de eluição para amostra SF3 para purificação de compostos _____	52
TABELA 4.4- Proporções de solvente usados para o fracionamento do extrato de <i>Vismia guianenses</i> _____	53
TABELA 4.5 - Dados de RMN de ^1H , ^{13}C comparado com dados da literatura _____	65
TABELA 4.6- Dados de RMN de ^1H , ^{13}C da substância 2, comparado com dados da literatura _____	69
TABELA 4.7- Dados de RMN de ^1H , ^{13}C da substância 3, comparado com dados da literatura _____	73
TABELA 4.8- Dados de RMN de ^1H , ^{13}C da substância 4, comparado com dados da literatura. _____	78
TABELA 4.9- Dados de RMN de ^1H , ^{13}C da substância 5, comparado com dados da literatura. _____	82
TABELA 4.10- Dados de RMN de ^1H , ^{13}C da substância 6, com todas as correlações observadas em HMBC, COSY e NOESY _____	87
TABELA 4.11- Dados de RMN de ^1H , ^{13}C comparado com dados da literatura _____	91
TABELA 4.12- Dados de RMN de ^1H , ^{13}C comparado com dados da literatura _____	96
TABELA 4.13 - Dados de RMN de ^1H , ^{13}C comparado com dados da literatura. ____	100
TABELA 4.14- Comparação dos dados de RMN de ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) do composto isolado com aqueles reportados para a emodina na literatura _____	104
TABELA 4.15- Dados de RMN para substância 11 _____	110
TABELA 4.16- Dados de RMN de ^1H e ^{13}C (δ , ppm), constantes de acoplamento (J, Hz) e correlações HMBC e COSY do composto isolado, obtidos em CDCl_3 _____	114

TABELA 4.17- Dados de RMN de ^1H e ^{13}C (δ , ppm), constantes de acoplamento (J, Hz) e correlações HMBC e COSY do composto isolado, obtidos em CDCl_3 .	119
TABELA 4.18- Dados de RMN de ^1H e ^{13}C (δ , ppm), constantes de acoplamento (J, Hz) e correlações HMBC e COSY do composto isolado, obtidos em CDCl_3 .	123
TABELA 4.19- Dados de RMN de ^1H (δ , ppm; J em Hz) e ^{13}C (δ , ppm), bem como correlações observadas nos experimentos bidimensionais HMBC e COSY, da vismiaquina 6, obtidos em CDCl_3 .	127
TABELA 4.20- Dados de RMN de ^1H e ^{13}C (δ , ppm), constantes de acoplamento (J, Hz) e correlações HMBC e COSY do composto isolado, obtidos em CDCl_3 .	132
TABELA 4.21- Percentual acumulado de mortalidade ao longo do tempo para diferentes tratamentos	136
TABELA 4.21A- Percentual acumulado de mortalidade acumulada das frações ao longo do tempo	137
TABELA 4.22- Atividade antifúngica frente a <i>Leucoagaricus gongylophorus</i> avaliada pelo halo de inibição, usando extrato de <i>Himatanthus articulatus</i>	141
TABELA 4.23- Atividade antifúngica frente a <i>Leucoagaricus gongylophorus</i> avaliada pelo halo de inibição, usando extrato de <i>Vismia guianensis</i> .	141
TABELA 4.24- Atividade antifúngica frente a <i>Leucoagaricus gongylophorus</i> avaliada pelo halo de inibição, usando as substâncias 1 à 8.	143
TABELA 4.25- Atividade antimicrobiana do extrato de <i>Vismia guianensis</i> (100 mg/mL) comparado ao controle negativo (DMSO) e ao controle positivo xantiletina (100 $\mu\text{g/mL}$). O extrato não apresentou inibição detectável nas condições avaliadas	150
TABELA 4.26- Valores de afinidade de ligação (MolDock Score) obtidos para os ligantes avaliados via docking molecular	156
TABELA 4.27- Resumo das interações não covalentes identificadas para a série de ligantes LIG9-LIG16 via servidor PLIP	156

LISTA DE FLUXOGRAMAS

FLUXOGRAMA 1: Refracionamento da fração PLC-F1 _____	37
FLUXOGRAMA 2- Fracionamento do extrato de <i>Himatanthus articulatus</i> _____	49
FLUXOGRAMA 3- Fracionamento do extrato de <i>Vismia guianensis</i> _____	53
FLUXOGRAMA 4- Refracionamento da fração PLC-F1 _____	54

RESUMO

BUSCA DE COMPOSTOS BIOATIVOS DE *Himatanthus articulatus* E *Vismia guianensis* PARA O CONTROLE DE FORMIGAS CORTADEIRAS (*Atta sexdens*): UM ESTUDO BIOMONITORADO- A agricultura é uma das atividades mais importantes para a subsistência humana, garantindo o fornecimento de alimentos, fibras e matérias-primas. Contudo, sua produtividade é constantemente ameaçada por diversos fatores, entre eles os insetos-praga. Esses organismos atacam as plantas cultivadas, alimentando-se de folhas, caules, raízes ou frutos, o que pode causar perdas significativas na qualidade e quantidade da produção agrícola. O manejo adequado dessas pragas é, portanto, essencial para assegurar colheitas sustentáveis e reduzir impactos econômicos e ambientais. Os compostos orgânicos de produtos naturais têm se destacado como alternativas promissoras no manejo de pragas agrícolas, incluindo formigas cortadeiras, que estão entre os principais insetos-praga em diferentes culturas. Esses insetos causam grandes prejuízos ao cortarem folhas e partes das plantas para o cultivo de fungos simbiotes, comprometendo o desenvolvimento das lavouras. Diferentemente dos inseticidas sintéticos, os metabólitos secundários de origem vegetal, como alcaloides, terpenos e fenóis, apresentam potencial bioativo, podendo atuar como repelentes, atrativos tóxicos ou inibidores de crescimento. Dessa forma, o estudo e a aplicação de compostos naturais representam uma estratégia sustentável e ambientalmente mais segura para o controle dessas pragas. As espécies *Himatanthus articulatus* (Apocynaceae) e *Vismia guianensis* (Hypericaceae) são plantas amazônicas de grande interesse fitoquímico devido à diversidade de metabólitos secundários presentes em seus extratos. *H. articulatus*, conhecida popularmente como suucuba, apresenta em sua composição principalmente iridoides, alcaloides indólicos, triterpenos e cumarinas, compostos que têm

sido associados a atividades anti-inflamatórias, antitumorais e antiparasitárias. Já *V. guianensis*, espécie tradicionalmente utilizada na medicina popular, é rica em xantonas, antraquinonas, naftoquinonas e flavonoides, metabólitos com reconhecidas propriedades antioxidantes, antimicrobianas e citotóxicas. Utilizando a metodologia de biomonitoramento guiado, foi possível identificar 4 classes de compostos presentes nessas plantas, através dos extratos etanólicos dessas espécies. A espécie *Himatanthus articulatus* revelou elevado potencial químico frente ao estudo de compostos bioativos contra formigas cortadeiras (*Atta* spp.) e seu fungo simbiote *Leucoagaricus gongylophorus*. Do extrato bruto, foram isolados 8 compostos, pertencentes à classe dos iridoides lactônicos. Os ensaios biológicos demonstraram que, na concentração de 0,1 mg/mL, todos os iridoides apresentaram atividade significativa frente ao fungo simbiote. Em contrapartida, o extrato de *Vismia guianensis* também demonstrou atividade contra formigas cortadeiras, possibilitando o isolamento e identificação de 8 compostos, majoritariamente benzofenonas e antraquinonas e um antranol. Entre estes, destacou-se a substância 12, responsável por induzir cerca de 60% de mortalidade das formigas em aproximadamente 10 dias de bioensaio. A partir dessa resposta biológica positiva, buscou-se compreender o possível mecanismo de ação dos metabólitos. Para isso, empregou-se a metodologia de docking molecular por homologia, a qual sugeriu que a atividade dos compostos poderia estar relacionada à inibição da enzima acetilcolinesterase, fundamental na neurotransmissão dos insetos. Os compostos isolados de *Himatanthus articulatus* e *Vismia guianensis* apresentam potencial promissor no controle de formigas cortadeiras. Esses resultados reforçam a importância dos produtos naturais como alternativas sustentáveis aos inseticidas sintéticos.

ABSTRACT

SEARCH FOR BIOACTIVE COMPOUNDS FROM *Himatanthus articulatus* AND *Vismia guianensis* FOR THE CONTROL OF LEAF-CUTTING ANTS (*Atta sexdens*): A BIO MONITORED STUDY - Agriculture is one of the most important activities for human subsistence, ensuring the supply of food, fibers, and raw materials; however, its productivity is constantly threatened by insect pests that attack cultivated plants, causing significant losses in both quality and quantity of agricultural production, which makes proper pest management essential to ensure sustainable harvests and reduce economic and environmental impacts. In this context, organic compounds from natural products have emerged as promising alternatives for the management of agricultural pests, including leaf-cutting ants, which are among the main insect pests in different crops and cause major damage by cutting leaves and plant parts for the cultivation of symbiotic fungi, thereby compromising crop development. Unlike synthetic insecticides, plant-derived secondary metabolites such as alkaloids, terpenes, and phenolics exhibit bioactive potential, acting as repellents, toxic attractants, or growth inhibitors, thus representing a more sustainable and environmentally safer strategy. The Amazonian species *Himatanthus articulatus* (Apocynaceae) and *Vismia guianensis* (Hypericaceae) are of great phytochemical interest due to the diversity of secondary metabolites present in their extracts. *H. articulatus*, popularly known as “suucuba,” mainly contains iridoids, indole alkaloids, triterpenes, and coumarins, compounds associated with anti-inflammatory, antitumor, and antiparasitic activities. *V. guianensis*, traditionally used in folk medicine, is rich in xanthenes, anthraquinones, naphthoquinones, and flavonoids, metabolites with recognized antioxidants, antimicrobial, and cytotoxic properties. Using a bioassay-guided fractionation approach, four classes of compounds were

identified from the ethanolic extracts of these species. *Himatanthus articulatus* showed high chemical potential in studies of bioactive compounds against leaf-cutting ants (*Atta* spp.) and their symbiotic fungus *Leucoagaricus gongylophorus*; from the crude extract, eight compounds were isolated, all belonging to the class of lactonic iridoids, and biological assays demonstrated that at a concentration of 0.1 mg/mL, all iridoids showed significant activity against the symbiotic fungus. In contrast, the extract of *Vismia guianensis* also showed activity against leaf-cutting ants, allowing the isolation and identification of eight compounds, mainly benzophenones and anthraquinones, as well as one anthranol, among which compound 12 stood out, inducing approximately 60% ant mortality after about 10 days of bioassay. Based on this positive biological response, the possible mechanism of action of the metabolites was investigated using homology-based molecular docking, which suggested that the activity of the compounds may be related to inhibition of the enzyme acetylcholinesterase, essential for insect neurotransmission. The compounds isolated from *Himatanthus articulatus* and *Vismia guianensis* therefore show promising potential for the control of leaf-cutting ants, reinforcing the importance of natural products as sustainable alternatives to synthetic insecticides.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
1.1	Agricultura em um contexto global	1
1.2	Agricultura no Brasil: Impactos Ambientais e Uso de Agrotóxicos	2
1.3	Formigas Cortadeiras (<i>Atta</i> e <i>Acromyrmex</i>): Biologia, Impactos Ecológicos e Manejo	4
1.4	Uso de Inseticidas no Controle de Formigas Cortadeiras: Desafios e Impactos Ambientais	5
1.5	Inseticidas naturais	7
1.6	Mecanismo de Ação dos Inseticidas e a Importância do Conhecimento Colaborativo	8
1.7	O gênero <i>Himatanthus</i> e a espécie <i>Himatanthus articulatus</i> como fonte de compostos bioativos	10
1.8	O gênero <i>Vismia</i> e a espécie <i>Vismia guianensis</i> como fonte de compostos bioativos	14
2.	Objetivo GERAL E ESPECÍFICO	26
3.	MATERIAIS E MÉTODOS	27
3.1	Materiais	27
3.2	Metodologia	29
3.2.1	Preparação dos extratos	29
3.2.2	Estratégia experimental para prospecção de metabólitos bioativos com potencial inseticida e antifúngico	30
3.2.3	Estudo do extrato bruto etanólico de <i>H. articulatus</i> e <i>V. guianensis</i>	32
3.2.4	Análise e fracionamento cromatográfico do extrato etanólico das cascas de <i>H. articulatus</i>	32
3.2.5	Fracionamento e otimização cromatográfica da SF2	34
3.2.6	Fracionamento e otimização cromatográfica da SF3	35

3.2.7 Análise e fracionamento cromatográfico do extrato etanólico das cascas de <i>Vismia guianensis</i> _____	36
3.2.8 Fracionamento da fração PLC-F1 _____	37
3.2.9 Fracionamento PLC-F1-F5 _____	37
3.2.10 Fracionamento da fração PLC-F2 _____	38
3.2.11 Ensaios frente <i>Atta sexdens</i> - Coleta e manutenção das formigas utilizadas nos bioensaios _____	39
3.2.12 Bioensaios para determinação da toxicidade _____	40
3.2.13 Para os compostos puros, foram solubilizados em metanol. _____	40
3.2.13 Análise dos dados de toxicidade _____	42
3.2.14 Atividade antimicrobiana- Análise qualitativa da atividade antimicrobiana obtida pelos extratos de plantas _____	43
3.2.15-Leitura das placas e interpretação dos resultados _____	44
3.2.16-Análises por Espectrometria de Massas _____	44
3.2.17 Modelagem molecular por Homologia _____	45
3.2.18 Validação Estrutural do Modelo (1.2) _____	47
3.2.19 Docking em Ache _____	48
4 Resultados e Discussões _____	49
4.1 Resultados _____	49
4.1.1 Perfil cromatográfico de <i>Himatanthus articulatus</i> _____	49
4.1.2 Otimização cromatográfica e isolamento para SF2 _____	50
4.1.3 Otimização cromatográfica e isolamento para SF3 _____	52
4.1.4 Perfil cromatográfico e fracionamento de extrato de <i>Vismia guianensis</i> _____	53
4.1.5 Perfil cromatográfico e fracionamento da PLC-F1 _____	54
4.1.6 Perfil cromatográfico e fracionamento da PLC-F1-F5 _____	55
4.1.7 Fracionamento da PLC-F2 _____	56
4.1.8 Substâncias isoladas _____	57
4.1.8.-Substância 1- Ácido β -Dihydroplumericina _____	60

4.1.8.1. -Espectro de massas para a substância Ácido β -Dihydroplumericina (Plumericina)	66
4.1.8.2 Substância 02- β -Dihydroplumericin	68
4.1.8.2.1 Espectro de massas para a substância β -Dihydroplumericin	70
4.1.8.3 Substância 03- Plumericina	73
4.1.8.3.1 Espectro de massas para a substância 3	75
4.1.8.4 Substância 04- isoplumierídeo (esteroquímica em C-1 R)	76
4.1.8.4.1 Espectro de massas para a substância Isoplumierídeo (esteroquímica em C-1 R)	80
4.1.8.5 Substância 05- isoplumierídeo isomérico (esteroquímica em C-1 S)	82
4.1.8.5.1 Espectro de massas para a substância 5 (esteroquímica em C-1 S)	84
4.1.8.6 Substância 06	86
4.1.8.6.1 Espectro de massas para a substância 6	88
4.1.8.7 Substância 07- 15-demethyl-plumieride p-E-coumarate	90
4.1.8.7.1 Espectro de massas para a substância 7	93
4.1.8.8 Substância 08, 1 α -Protoplumericina B	95
4.1.8.8.1 Espectro de massas de 1 α -Protoplumericina B	98
4.1.8.9 Substância 09	99
4.1.8.9.1 Espectro de massas para a substância 9	102
4.1.8.10 Substância 10- Emodina	103
4.1.8.10.1 Espectro de massas para a substância 10, Emodina	106
4.1.8.11 Substância 11- Vismiaguienona 1	108
4.1.8.11.1 Espectro de massas para a substância 11	110
4.1.8.12 Substância 12- Vismiaguienona 3	112
4.1.8.12.1 Espectro de massas para a substância Vismiaguienona 3	115
4.1.8.13 Substância 13- Vismiaguienona 4	118
4.1.8.13.1 Espectro de massas para a Vismiaguienona 4	120
4.1.8.14 Substância 14 - Vismiaguienona 5	122

4.1.8.14.1 Espectro de massas para a substância Vismiaguienona 5 _____	124
4.1.8.15 Substância 15- Vismiaguienona 6 _____	126
4.1.8.15.1 Espectro de massas para a substância Vismiaguienona 6 _____	127
4.1.8.16 Substâncias 16- Hidroxiferruginin A _____	129
4.1.8.16.1 Espectro de massas para a substância 16 _____	132
4.2 Resultados-biológicos _____	134
4.2.1 Ensaios com Formigas – Extratos Brutos _____	134
4.2.2 Ensaios com Formigas – Frações de <i>Himatanthus articulatus</i> _____	137
4.2.3 Ensaios com Formigas – Frações e Compostos de <i>Vismia guianensis</i> ____	139
4.2.4 Ensaios antimicrobiana de <i>Himatanthus articulatus</i> e <i>Vismia guianenses</i> contra <i>L. gongylophorus</i> _____	140
4.2.5 Ensaios antimicrobiana de frações de <i>Himatanthus articulatus</i> _____	141
4.2.6 Ensaios antimicrobiana de compostos isolados de <i>Himatanthus articulatus</i>	142
4.3 DISCUSSÃO _____	143
4.3.1 Frações PLC-f1 a PLC-f4 de <i>Vismia guianensis</i> _____	143
4.3.2 Compostos isolados de <i>Vismia guianensis</i> sobre <i>Atta sexdens</i> _____	145
4.3.3 Análise e Discussão da Atividade Fungicida Máxima dos Iridoides de <i>Himatanthus articulatus</i> _____	147
4.3.4 Atividade Fungicida Máxima de Metabólitos de <i>Himatanthus articulatus</i> contra <i>Leucoagaricus gongylophorus</i> _____	147
4.3.5 Confirmação da Bioatividade Inibitória _____	148
4.3.6 Implicações da Estrutura Química na Atividade _____	148
4.3.7 Relevância Ecológica e Biológica _____	149
4.3.8 Análise do Potencial Antimicrobiano de <i>Vismia guianensis</i> em Ensaio de Difusão em Ágar _____	149
4.3.9 Estudo computacional em Ache-modelagem (acetilcolinesterase de <i>Atta sexdens</i>) por homologia _____	152
4.3.10 Validação estrutural do modelo _____	152

4.3.11 Afinidade de Ligação e Critérios de Seleção _____	155
4.3.12 Análise Comparativa das Interações Intermoleculares _____	156
5 Conclusão _____	160
REFERÊNCIAS _____	162

1 INTRODUÇÃO

1.1 Agricultura em um contexto global

A agricultura representa um dos pilares fundamentais para a sobrevivência humana: é dela que se obtém a maior parte dos alimentos, fibras e insumos industriais utilizados globalmente. Entretanto, o crescimento acelerado da produção agrícola ao longo das últimas décadas tem exigido uma expansão contínua das áreas cultivadas, resultando em pressões significativas sobre os ecossistemas florestais. Estudos recentes mostram que aproximadamente 86% do desmatamento global entre 2001 e 2022 esteve associado direta ou indiretamente à agricultura e à criação de gado (WEST et al., 2025).

No cenário internacional, os sistemas agrícolas modernos estão profundamente integrados ao comércio global. Produtos como carne bovina, soja, óleo de palma, cacau e café são exportados em larga escala para atender à demanda em países desenvolvidos e emergentes. Isso cria o conceito de pegada de desmatamento, que atribui a perda florestal não apenas ao local de produção, mas também às cadeias de consumo globais (CARVALHO; RICHARDS; ARIMA, 2022).

Apesar de seu papel essencial, o atual modelo agrícola global está associado a graves impactos ambientais, incluindo perda de habitat, emissão de gases de efeito estufa e maior vulnerabilidade das paisagens aos efeitos climáticos (GALLARDO, R. K, 2024). Além disso, parte das áreas convertidas para fins agropecuários não se transforma em produção estável, demonstrando falhas no uso da terra (CARVALHO; RICHARDS; ARIMA, 2022).

Outro problema crescente é o aumento da incidência de insetos-praga e doenças agrícolas, favorecidos pelas mudanças climáticas e por monoculturas extensas. Essa pressão sobre as lavouras intensifica o uso de inseticidas e fungicidas, que representam parcela significativa dos agrotóxicos consumidos

globalmente (ZHANG et al., 2023). Embora esses insumos tenham papel no controle de pragas e na garantia de produtividade, seu uso intensivo causa também efeitos colaterais, como:

- Contaminação de solos e recursos hídricos;
- Desenvolvimento de resistência em insetos;
- Toxicidade para polinizadores e fauna benéfica;
- Riscos ocupacionais e alimentares à saúde humana.

Segundo Kunte e Bhat (2024), esse aumento no uso de defensivos agrícolas contribui para a degradação dos serviços ecossistêmicos, reduzindo a resiliência do sistema agrícola e exigindo ainda mais insumos para manter a produção — criando um ciclo insustentável.

Portanto, a agricultura mundial enfrenta o grande desafio de atender à demanda alimentar de uma população que deve atingir quase 10 bilhões de pessoas até 2050, ao mesmo tempo em que controla os impactos ambientais decorrentes da expansão territorial e do uso de agroquímicos. Compreender a pegada global de desmatamento e os efeitos do manejo agrícola intensivo é fundamental para desenvolver um sistema produtivo que garanta a segurança alimentar sem comprometer os ecossistemas florestais e a qualidade ambiental das futuras gerações.

1.2 Agricultura no Brasil: Impactos Ambientais e Uso de Agrotóxicos

A agricultura brasileira desempenha papel central na economia nacional e no abastecimento global, destacando-se na produção e exportação de commodities como soja, milho, café e carne bovina (FAO, 2022). Entretanto, o modelo de produção intensiva adotado tem causado impactos ambientais e à saúde

pública, principalmente devido à expansão de monoculturas e ao uso extensivo de agrotóxicos.

O desmatamento para a expansão agrícola é um dos principais fatores de perda de biodiversidade no Brasil, sobretudo nas regiões da Amazônia e do Cerrado. Estudos indicam que grande parte do desmatamento recente está associada à conversão de áreas de vegetação nativa em pastagens e lavouras de soja, com efeitos diretos sobre a emissão de gases de efeito estufa e o equilíbrio climático regional (COLMAN et al., 2024; CABALLERO et al., 2023; GARRETT; RUEDA; LAMBIN, 2013).

Paralelamente, o uso intensivo de agrotóxicos tem sido um componente crítico do modelo agrícola brasileiro. O país é o maior consumidor mundial desses produtos, que incluem herbicidas, inseticidas e fungicidas (FAO, 2022). A aplicação indiscriminada de defensivos químicos provoca contaminação de solos, água e alimentos, além de impactos negativos sobre a fauna, como a morte de abelhas e outros polinizadores essenciais para a produção agrícola (HEINRICH BÖLL FOUNDATION, 2023; FAITA, 2021).

Os efeitos sobre a saúde humana também são relevantes. Trabalhadores rurais expostos a agrotóxicos estão sujeitos a intoxicações agudas e crônicas, e há evidências de que o uso prolongado desses produtos está associado a doenças como câncer, distúrbios neurológicos e reprodutivos (JORNAL USP, 2025). Além disso, a repetida aplicação de agrotóxicos favorece o desenvolvimento de resistência por parte das pragas, exigindo doses cada vez maiores e perpetuando o ciclo de dependência química (RIBEIRO, 2022).

Diante desse cenário, diversas alternativas sustentáveis têm sido propostas para reduzir os impactos do uso de defensivos agrícolas. Entre elas, destacam-se os bioinsumos, o manejo integrado de pragas (MIP) e a agricultura de precisão, que permitem a redução do uso de produtos químicos e a preservação da biodiversidade (BARZMAN et al., 2015; LI; ZHANG; XU, 2020). Tais

estratégias demonstram que é possível conciliar produtividade agrícola com sustentabilidade ambiental e segurança alimentar.

Em síntese, a agricultura brasileira exemplifica a tensão entre produção econômica e conservação ambiental. Compreender os efeitos do desmatamento e do uso intensivo de agrotóxicos é essencial para orientar políticas públicas e práticas agrícolas sustentáveis, garantindo a produtividade e a preservação dos recursos naturais para as futuras gerações (GHELFI, 2024; FAITA, 2021).

1.3 Formigas Cortadeiras (*Atta* e *Acromyrmex*): Biologia, Impactos Ecológicos e Manejo

As formigas cortadeiras, pertencentes aos gêneros *Atta* e *Acromyrmex*, são insetos sociais altamente especializados, distribuídos principalmente em florestas tropicais da América Latina. Essas espécies cultivam fungos em jardins subterrâneos, utilizando folhas cortadas como substrato para o crescimento do fungo, que serve como fonte alimentar para toda a colônia (KHAYAT, 2023).

A organização social das formigas cortadeiras é complexa e apresenta divisão de trabalho rigorosa entre castas, incluindo operárias, soldados e rainhas. Essa estrutura permite que a colônia execute tarefas simultâneas de forrageamento, higiene e manutenção do fungo cultivado, garantindo a sobrevivência e crescimento do ninho (ABREU, 2019). Estudos indicam que a eficiência das colônias está diretamente ligada à coordenação comportamental e à comunicação química entre indivíduos, o que demonstra um elevado nível de organização social (KHAYAT, 2023).

Ecologicamente, as formigas cortadeiras têm grande impacto sobre os ecossistemas tropicais. Elas são responsáveis por significativa herbivoria, podendo consumir até 17% da biomassa foliar em determinadas regiões, o que

altera a estrutura vegetal e a disponibilidade de recursos para outras espécies (SANTOS-NETO et al., 2025). Além disso, o transporte e corte de folhas promovem a aeração do solo e a reciclagem de nutrientes, contribuindo para a fertilidade do ambiente e para a manutenção de processos ecológicos fundamentais (LEAL; WIRTH; TABARELLI, 2014).

Do ponto de vista econômico, formigas cortadeiras representam uma preocupação para a agricultura, causando danos consideráveis a culturas de alto valor, como soja, café e hortaliças. Por essa razão, pesquisas recentes têm buscado estratégias de manejo que combinem eficiência e sustentabilidade. Entre os métodos estudados, destacam-se o uso de compostos biológicos, controle integrado de pragas e manejo de colônias de forma preventiva, visando reduzir o impacto ambiental e minimizar perdas agrícolas (MASIULIONIS, 2025).

Em síntese, as formigas cortadeiras são elementos-chave dos ecossistemas tropicais, exercendo funções ecológicas essenciais, mas também representando desafios para a agricultura intensiva. A compreensão de sua biologia, comportamento social e impactos ambientais é fundamental para o desenvolvimento de estratégias de manejo sustentáveis, conciliando conservação ecológica e produtividade agrícola (KHAYAT, 2023; ABREU, 2019; GARCÍA-CÁRDENAS, 2022; SABATTINI, 2023; MASIULIONIS, 2025).

1.4 Uso de Inseticidas no Controle de Formigas Cortadeiras: Desafios e Impactos Ambientais

O controle de formigas cortadeiras, como *Atta sexdens* e *Acromyrmex* spp., representa um desafio significativo na agricultura e na gestão de ecossistemas tropicais. Essas espécies são reconhecidas por cultivar fungos em jardins subterrâneos, utilizando folhas cortadas como substrato para o crescimento do fungo, que serve como fonte alimentar para toda a colônia. Essa prática as torna

uma das principais pragas agrícolas em regiões tropicais, causando danos significativos a diversas culturas (MASIULIONIS, 2025, LASMAR et al., 2023).

A aplicação de inseticidas para o controle de formigas cortadeiras enfrenta diversas dificuldades. A estrutura social complexa dessas formigas, com castas especializadas e comunicação eficiente, permite que a colônia se recupere rapidamente após a aplicação de substâncias químicas. Além disso, a localização subterrânea dos ninhos dificulta a penetração dos inseticidas, tornando os tratamentos menos eficazes (LASMAR et al., 2023).

Outro desafio significativo é a resistência adquirida por algumas populações de formigas cortadeiras a determinados inseticidas. Estudos indicam que *Atta sexdens* demonstrou resistência a compostos como aldrin, dieldrin e lindano, reduzindo a eficácia dos tratamentos químicos convencionais (MAGALHÃES, 2025).

O uso indiscriminado de inseticidas também pode ter efeitos adversos sobre o meio ambiente. Produtos de amplo espectro podem afetar organismos não-alvo, como polinizadores e fauna benéfica do solo, além de contaminar corpos d'água e solos. A persistência de certos compostos químicos no ambiente pode levar à bioacumulação e afetar cadeias alimentares (MÜLLER et al., 2024).

A aplicação repetida de inseticidas ainda pode resultar no desenvolvimento de resistência em populações de formigas cortadeiras, exigindo doses maiores ou o uso de substâncias mais tóxicas, o que aumenta os impactos ambientais e econômicos (MASIULIONIS, 2025).

Diante desses desafios, a pesquisa científica desempenha papel crucial no desenvolvimento de estratégias de manejo mais eficazes e sustentáveis. Estudos recentes sugerem alternativas ao uso exclusivo de inseticidas, como fungos enteropatogênicos, óleos essenciais de plantas e técnicas baseadas em

RNAi, que interferem nos processos biológicos das formigas de maneira mais específica e menos prejudicial ao meio ambiente. Além disso, a implementação de programas de manejo integrado de pragas (MIP), combinando métodos biológicos, culturais e químicos, pode oferecer soluções mais equilibradas e eficazes para o controle de formigas cortadeiras, minimizando os impactos ambientais e promovendo a sustentabilidade agrícola (MASIULIONIS, 2025).

1.5 Inseticidas naturais

Os inseticidas naturais são substâncias produzidas por plantas, micro-organismos ou outros organismos vivos que possuem atividade tóxica ou repelente contra insetos. Ao contrário dos inseticidas sintéticos, esses compostos apresentam menor persistência ambiental, menor toxicidade para organismos não-alvo e menor risco à saúde humana, sendo considerados uma alternativa sustentável para o manejo de pragas agrícolas (ISMAN, 2020).

Entre os principais tipos de inseticidas naturais, destacam-se os óleos essenciais, extratos vegetais, piretróides naturais e fungos entomopatogênicos. Óleos essenciais de nim (*Azadirachta indica*), citronela (*Cymbopogon spp.*) e hortelã (*Mentha spp.*) atuam como repelentes e inseticidas, podendo substituir parcialmente produtos químicos sintéticos em culturas de alto valor (REGNARD et al., 2021). Extratos vegetais atuam como inibidores de crescimento ou alimentares, dificultando o desenvolvimento larval de diversas pragas e oferecendo uma abordagem mais específica do que os inseticidas químicos de amplo espectro (GHOSH et al., 2019).

Fungos entomopatogênicos, como *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae*, infectam e matam insetos pragas sem prejudicar plantas, vertebrados ou outros organismos benéficos, demonstrando alto potencial como bioinseticidas em sistemas agrícolas sustentáveis (VEIGA et al., 2022). Além disso, técnicas modernas, como o uso de RNAi e bioformulações combinadas, têm ampliado a eficácia dos inseticidas naturais, aproximando seu desempenho do

controle químico sintético, mas com menores impactos ambientais (ISMAN, 2020; REGNARD et al., 2021).

A principal vantagem dos inseticidas naturais como alternativa aos sintéticos é o equilíbrio entre eficácia e sustentabilidade ambiental. Eles apresentam menor risco de contaminação do solo e da água, reduzem a mortalidade de organismos não-alvo, evitam bioacumulação e minimizam a seleção de resistência em populações de pragas (GHOSH et al., 2019). No entanto, possuem limitações, como menor persistência, sensibilidade a fatores ambientais e necessidade de aplicações mais frequentes, o que requer formulações e estratégias de manejo aprimoradas (VEIGA et al., 2022).

Portanto, os inseticidas naturais surgem como uma solução promissora para substituir ou reduzir o uso de inseticidas sintéticos, integrando-se a programas de manejo integrado de pragas (MIP) e contribuindo para a agricultura sustentável. A pesquisa contínua sobre sua eficácia, mecanismos de ação e compatibilidade com sistemas de cultivo é essencial para consolidar seu uso como alternativa viável e segura no controle de pragas agrícolas (ISMAN, 2020; REGNARD et al., 2021; VEIGA et al., 2022).

1.6 Mecanismo de Ação dos Inseticidas e a Importância do Conhecimento Colaborativo

Compreender o mecanismo de ação dos inseticidas é fundamental para o desenvolvimento de estratégias de controle de pragas mais eficazes, seguras e sustentáveis. Inseticidas atuam interferindo em processos fisiológicos ou bioquímicos essenciais para a sobrevivência dos insetos, como transmissão nervosa, síntese de proteínas, metabolismo energético e crescimento larval (CORBETT et al., 2021).

Entre os diferentes mecanismos, os inseticidas colinérgicos merecem destaque. Esses compostos atuam sobre o sistema nervoso dos insetos,

interferindo na transmissão de sinais através da acetilcolina, um neurotransmissor essencial. Inseticidas como os organofosforados e carbamatos inibem a enzima acetilcolinesterase, responsável por degradar a acetilcolina na sinapse. A inibição dessa enzima provoca acúmulo de acetilcolina, levando à estimulação contínua dos neurônios, convulsões, paralisia e morte do inseto (SANTOS et al., 2020).

O conhecimento detalhado do mecanismo colinérgico é crucial por várias razões. Primeiro, permite o desenvolvimento de inseticidas mais específicos, que atacam apenas pragas-alvo, minimizando efeitos sobre organismos benéficos e humanos. Segundo, auxilia na prevenção e manejo da resistência, já que entender como o inseto reage ao composto possibilita o planejamento de rotações químicas ou combinações com outros modos de ação (CORBETT et al., 2021).

Além do mecanismo colinérgico, existem outros modos de ação, como interferência nos canais de sódio (inseticidas do tipo piretróide), bloqueio de receptores de GABA (organoclorados) e inibição de chitinases, essenciais para a síntese do exoesqueleto (GHOSH et al., 2019). Cada mecanismo específico oferece oportunidades para controle mais direcionado e reduz os impactos ambientais, especialmente quando aliado a técnicas de manejo integrado de pragas (ISMAN, 2020).

Portanto, o estudo dos mecanismos de ação não é apenas acadêmico, mas uma ferramenta prática para otimizar o controle de pragas, reduzir o uso de produtos químicos de amplo espectro e preservar a saúde ambiental. O enfoque no mecanismo colinérgico exemplifica como o conhecimento bioquímico pode ser aplicado na agricultura, promovendo intervenções mais seguras e eficientes (SANTOS et al., 2020; CORBETT et al., 2021).

1.7 O gênero *Himatanthus* e a espécie *Himatanthus articulatus* como fonte de compostos bioativos

O gênero *Himatanthus*, pertencente à família Apocynaceae, é constituído por árvores e arbustos nativos da América Tropical, com distribuição que abrange desde o Panamá até a Bolívia, incluindo diversas regiões da América do Sul e Central. As espécies desse gênero são caracterizadas pela presença de látex espesso e branco, rico em compostos bioativos que conferem potencial medicinal significativo (LIMA et al., 2012).

As plantas do gênero *Himatanthus* apresentam folhas alternadas, coriáceas e com nervuras bem desenvolvidas. As inflorescências são do tipo cimeira, geralmente terminais, e as flores possuem corola hipocraterimorfa, com lobos enrolados. O fruto consiste em dois folículos que contêm sementes aladas, adaptadas à dispersão pelo vento, o que favorece a ampla distribuição dessas espécies (POWO, 2025).

TABELA 1.1- Classificação taxonômica do gênero *Hymantatus*

Taxonômico	Classificação
Reino	Plantae
Filo	Streptophyta
Classe	Equisetopsida
Subclasse	Magnoliidae
Ordem	Gentianales
Família	Apocynaceae
Gênero	<i>Himatanthus</i>
Espécie	<i>Himatanthus articulatus</i>

Fonte: POWO (2025); World Flora Online (2025); iNaturalist (2025).

Entre as espécies do gênero, *Himatanthus articulatus* se destaca por seu porte arbóreo, podendo atingir até 20 metros de altura. Suas folhas são grandes e coriáceas, enquanto as flores, de coloração branca, são organizadas em

inflorescências terminais. O fruto é composto por folículos que liberam sementes aladas quando maduros (POWO, 2025). Figura 1.1



FIGURA 1.1- Ramo e fruto de *Himatanthus articulatus*, destacando suas folhas simples, opostas e de coloração verde intensa, além do fruto alongado característico, ainda imaturo, coletado em ambiente de mata nativa.

Essa espécie apresenta ampla distribuição geográfica, ocorrendo principalmente nas regiões Norte e Centro-Oeste do Brasil, incluindo estados como Amazonas, Acre, Rondônia e Mato Grosso, e também em países vizinhos, como Venezuela, Colômbia, Equador e Peru (POWO, 2025). Figura 1.2.



FIGURA 1.2- Distribuição geográfica de registros de *Himatanthus articulatus* na América do Sul. Os pontos indicam áreas com ocorrência documentada da espécie, com maior concentração na região amazônica, abrangendo principalmente Brasil, Colômbia, Peru, Venezuela, Bolívia, Suriname e Equador. Fonte: JARDIM BOTÂNICO DO RIO DE JANEIRO – REFLORA.

A espécie *Himatanthus articulatus* é amplamente conhecida por seu uso tradicional na medicina popular amazônica, mas nos últimos anos estudos fitoquímicos revelaram uma diversidade de compostos bioativos em sua casca, folhas e látex que indicam potencial para aplicações além da farmacologia, estendendo-se ao controle de pragas e doenças. Por exemplo, pesquisas demonstraram que extratos dessa planta contém iridoides como Pumieride e isoplumieride, bem como lactonas plumericinas (plumericin e Isolumericin), além de triterpenos como cinamato de lupeol, α -amyrin cinamato, β -amyrin cinamato, lupeol acetato, ácido ursólico, esteroides como sitosterol e estigmasterol, e outros compostos (VALE et al., 2015; BARRETO et al., 1998). Figura 1.3.

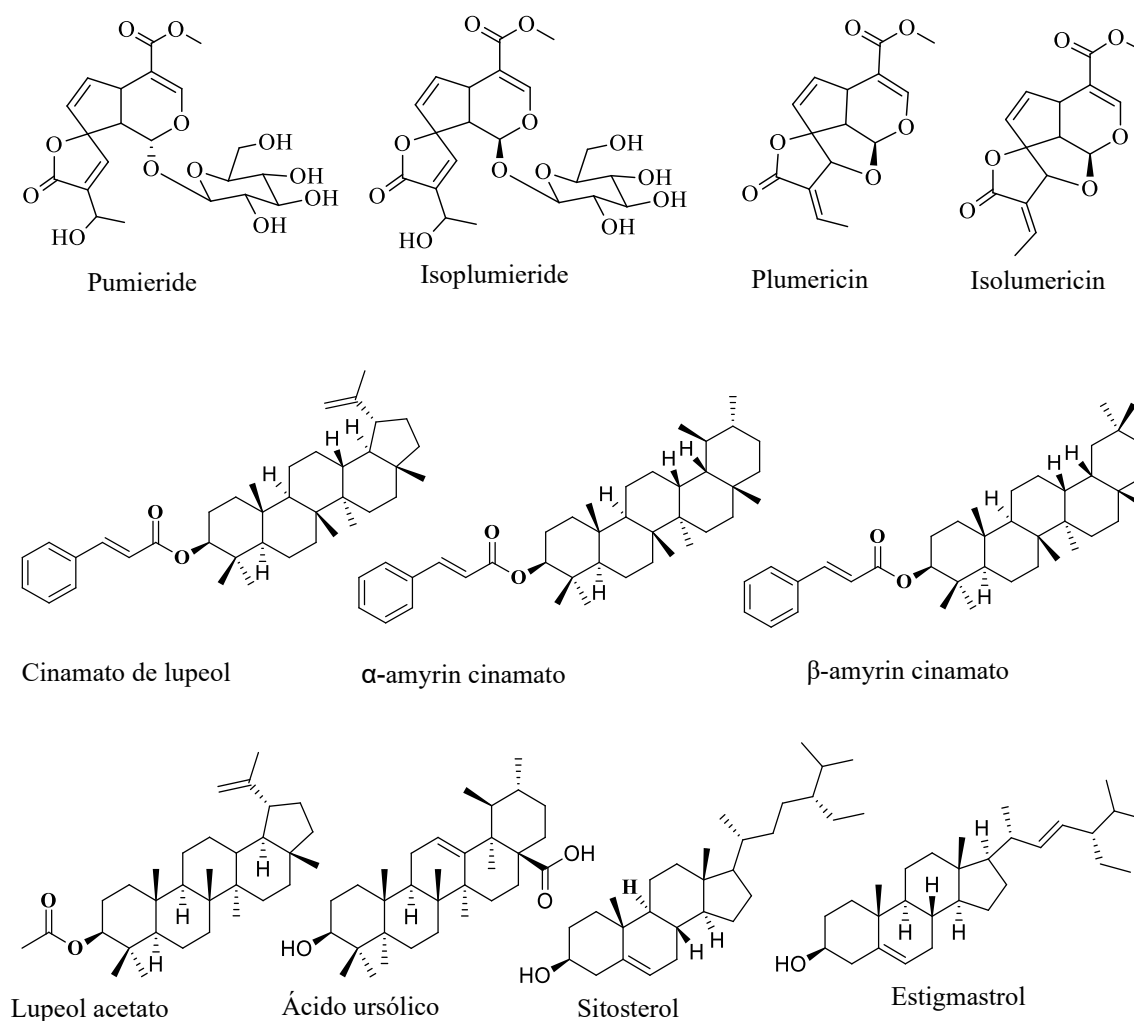


FIGURA 1.3- Principais classes de metabólitos secundários identificados em *Himatanthus articulatus*.

Essa composição química diversa é significativa porque muitos desses tipos de moléculas (iridoides, triterpenos, esteróis) têm sido estudados por suas atividades biológicas — inclusive antimicrobianas e potencialmente inseticidas ou fungicidas. Por exemplo, a presença de plumericina e isoplumericina em *H. articulatus* foi apontada como uma das responsáveis por efeitos antifúngicos observados em extratos da planta (SEQUEIRA et al., 2009). Além disso, BARRETO et al. (1998) relatam que a fração de látex e extratos hexânicos ou metanólicos da planta permitiu isolamento de compostos como α -amirina e β -amirina derivados, sugerindo potenciais aplicações além da terapia humana.

No que tange à aplicação como inseticida, embora não existam amplos estudos publicados referente especificamente a *H. articulatus*, há evidência de que espécies próximas do gênero (por exemplo *Himatanthus drasticus*) apresentam atividade inseticida. Um trabalho relata que o composto plumieride isolado de látex de *H. drasticus* teve ação letal contra larvas de *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera) e inibição de α -amilase intestinal da larva, reduzindo infestação de sementes tratadas (MORAIS et al., 2021). Embora este estudo não seja de *H. articulatus* diretamente, a presença de Plumieride em *H. articulatus* sugere que parte dos mesmos mecanismos podem estar presentes.

Quanto à aplicação fungicida, a atividade antifúngica de extratos de *H. articulatus* já foi demonstrada in vitro contra *Candida albicans* e outras cepas fungais, com extratos metanólicos e de látex mostrando inibição clara (SEQUEIRA et al., 2009; TURN0SEARCH1). A hipótese de aplicação prática seria tratar doenças fúngicas em plantações ou armazenamentos por meio de formulações baseadas nesses extratos bioativos.

Entretanto, há obstáculos e desafios importantes para transformar esse potencial em uso prático como inseticida ou fungicida agrícola. Primeiro, a

concentração eficaz útil, a estabilidade dos compostos no ambiente, a formulação e o modo de aplicação ainda são pouco estudados. Segundo a especificidade de ação, toxicidade para organismos não-alvo (benefícios ou polinizadores) e efeitos ambientais devem ser investigados. Terceiro, a padronização da extração, quantificação dos compostos ativos e viabilidade econômica de uso agrícola precisam de avaliação detalhada.

Em resumo, a espécie *Himatanthus articulatus* apresenta composição química rica e promissora, contendo iridoides, triterpenos, esteróis e outros metabólitos secundários que têm sido associados com atividade biológica, incluindo antifúngica e potencial inseticida. Embora ainda sejam necessários estudos específicos para formulações agrícolas, esse material vegetal representa uma alternativa natural interessante para o controle de pragas e doenças, e merece investimento em pesquisa para desenvolver aplicações sustentáveis no campo.

Diante disso, *Himatanthus articulatus* representa uma espécie de grande interesse científico, não apenas pela ampla distribuição e características morfológicas peculiares, mas também pelo potencial farmacológico associado a seus compostos bioativos. A compreensão detalhada de sua biologia, ecologia e química vegetal é essencial para explorar de forma sustentável suas aplicações medicinais e terapêuticas, contribuindo para o desenvolvimento de estratégias baseadas em recursos naturais que sejam seguras e eficazes.

1.8 O gênero *Vismia* e a espécie *Vismia guianensis* como fonte de compostos bioativos

O gênero *Vismia* compreende aproximadamente 55 espécies, distribuídas amplamente nas Américas Central e do Sul, com especial incidência no Brasil. Pequenas árvores e arbustos desse gênero ocorrem em diferentes estados brasileiros, incluindo Acre, Amazonas, Amapá, Pará, Rondônia, Roraima,

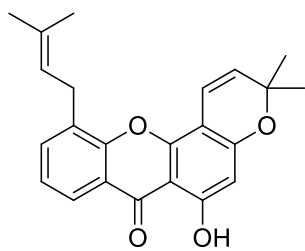
Tocantins, Alagoas, Bahia, Ceará, Maranhão, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do Norte, Sergipe, Goiás, Mato Grosso e Espírito Santo (Rodrigues, 2013; Nobre et al., 2015; Vogel et al., 2020; Mota, 2020). Essa distribuição se estende por diversos domínios fitogeográficos, como Amazônia, Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica, conferindo ao gênero um potencial promissor para estudos sobre seus metabólitos secundários e aplicações biológicas (Rodrigues, 2013; Mota, 2020).

TABELA 1.2- Classificação taxonômica do gênero *Vismia*

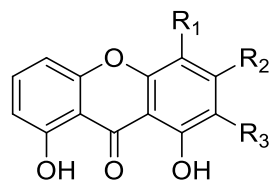
Taxonômico	Classificação
Reino	Plantae
Divisão	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordem	Malpighiales
Família	Hypericaceae
Gênero	<i>Vismia</i> Vand.
Espécie	<i>Vismia guianensis</i>

Fonte: REFLORA – Jardim Botânico do Rio de Janeiro (2025); Rodrigues (2013); Mota (2020).

Do ponto de vista químico, as espécies de *Vismia* são ricas em compostos fenólicos, incluindo antraquinonas preniladas, xantonas e benzofenonas. Estudos indicam a presença de flavonoides, lignanas, esteroides, monoterpenos e triterpenos em diferentes espécies do gênero (Tala et al., 2013; Barbosa et al., 2013). Entre os metabólitos mais recorrentes, destacam-se as antraquinonas, que apresentam relevância estrutural e funcional. Compostos específicos, como vismiaquinonas e isovismiafenonas, demonstram propriedades químicas notáveis e têm sido alvo de estudos para aplicações farmacológicas e agrícolas (Fuller, 1999; Vizcaya et al., 2011). Apresentados na figura 1.4.

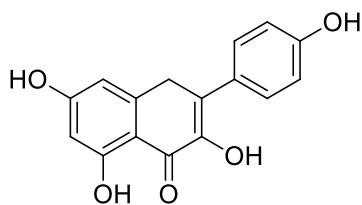


1

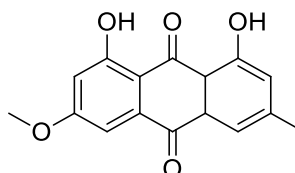


2 R1= R2=R3=R4= OMe

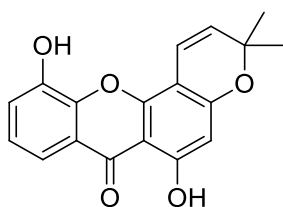
5 R1= R2=R4= H R3= OH



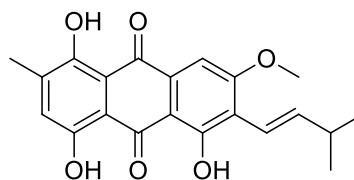
3



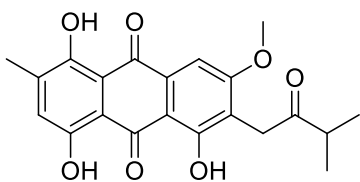
4



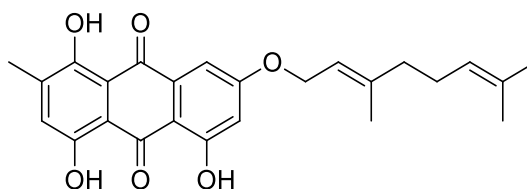
6



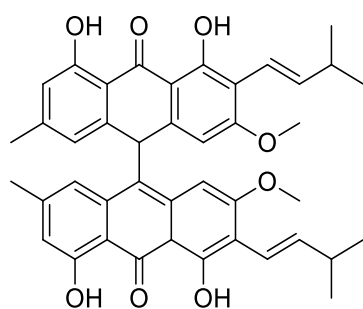
7



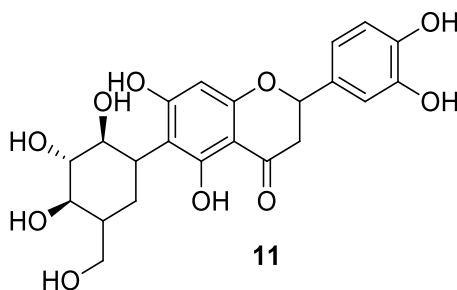
8



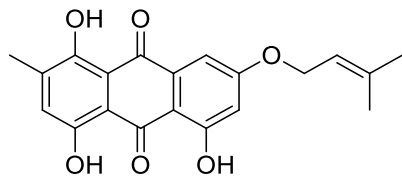
9



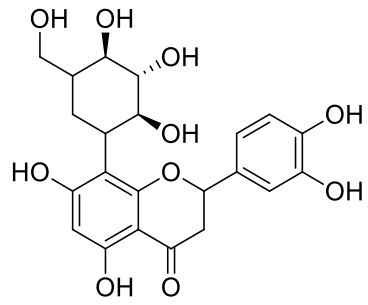
10



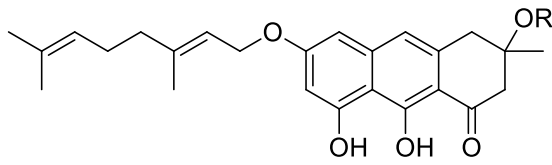
11



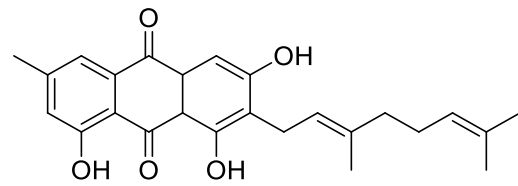
12



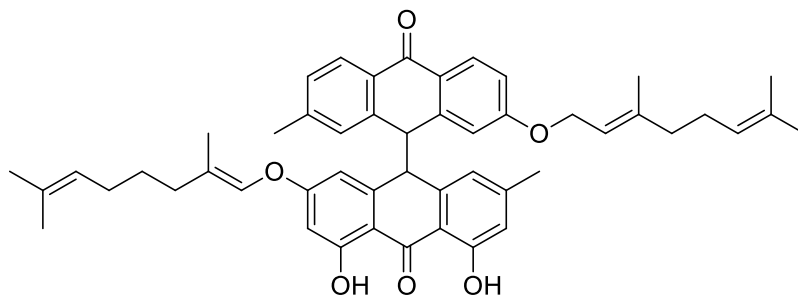
13



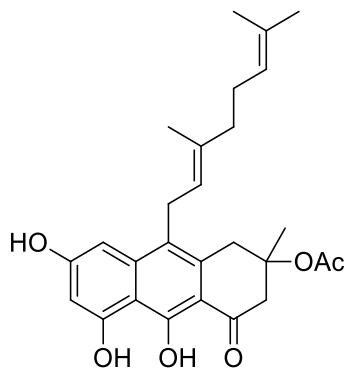
14 R= H
19 R= Ac



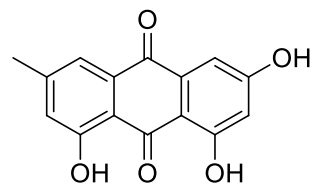
16



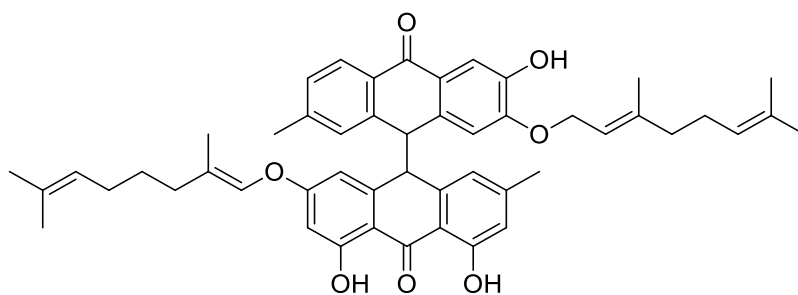
22



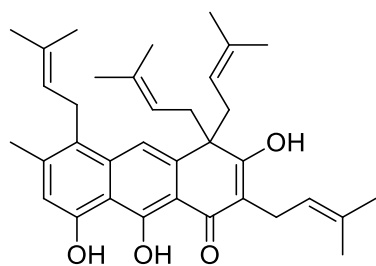
17



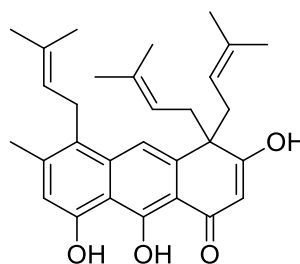
24



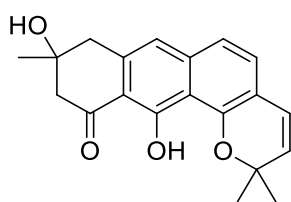
23



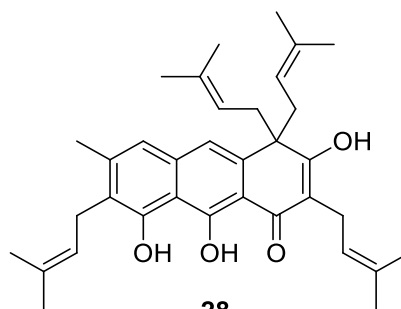
25



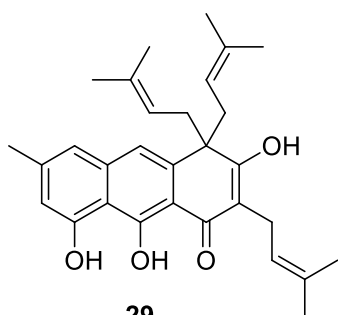
26



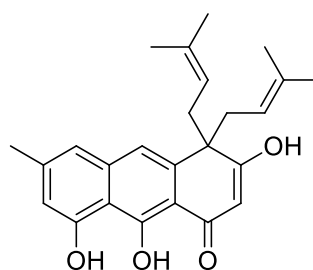
27



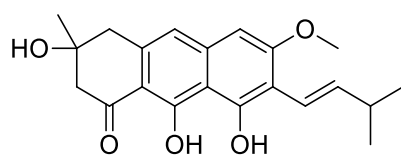
28



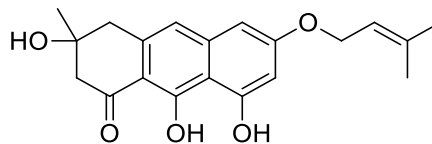
29



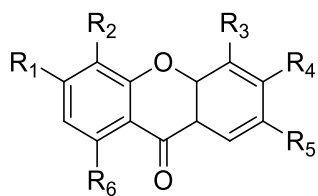
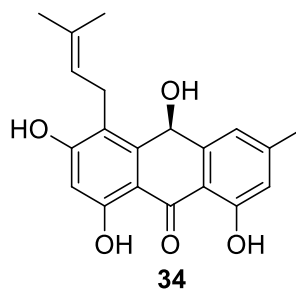
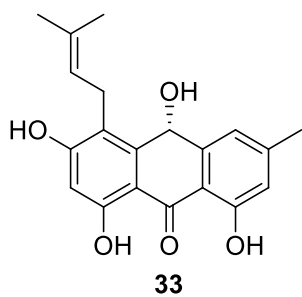
30



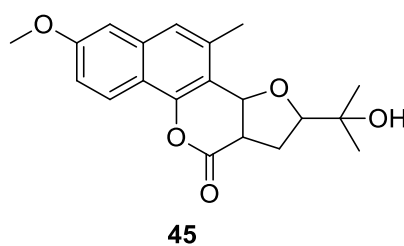
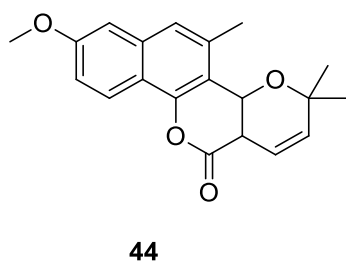
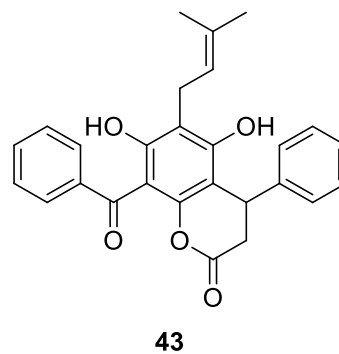
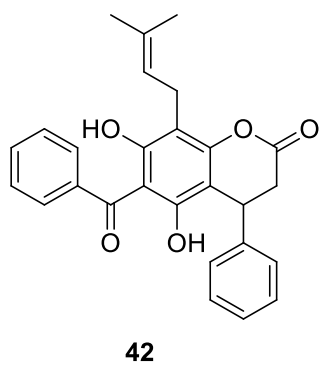
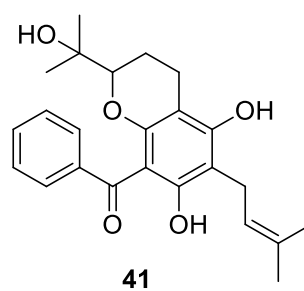
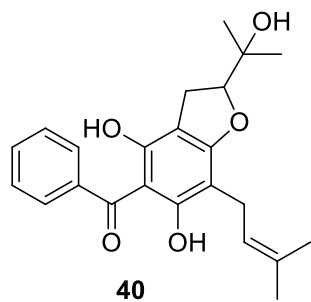
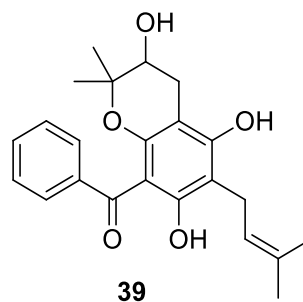
31

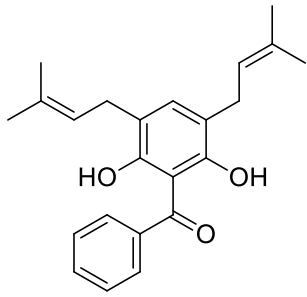


32

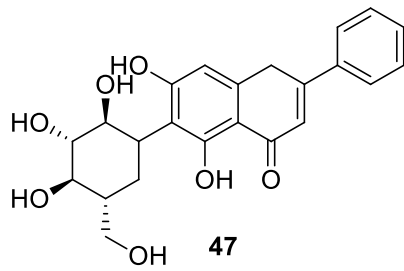


- 35 R1=R4=R5=H, R2=R3=R6=OH
 36 R2=R5=H, R1=R3=R4=R6= OH
 37 R2=R5=OMe, R1=R3=R4=R6= OH

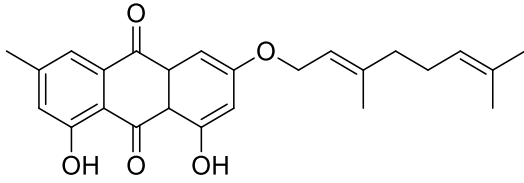




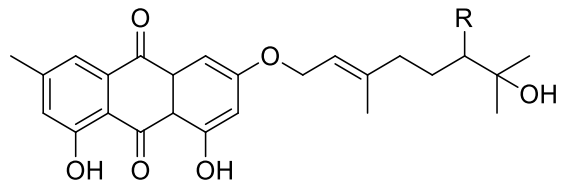
46



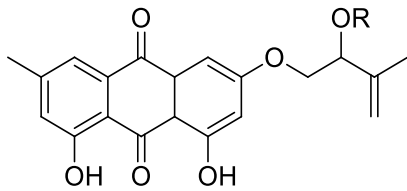
47



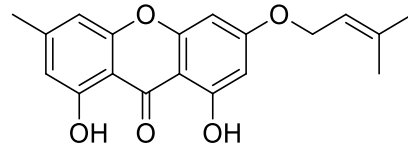
48



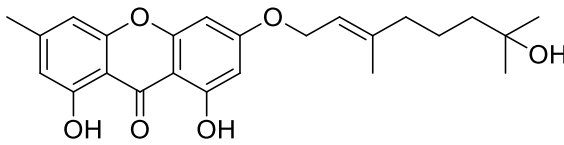
49 R=H
50R=OH



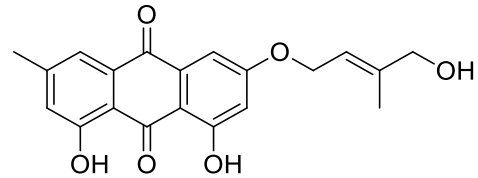
51 R=H
52 R= Me



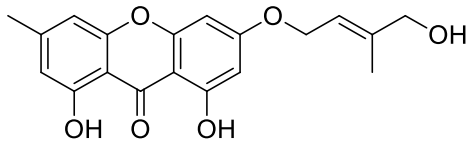
53



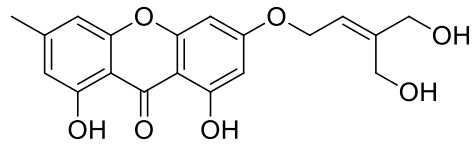
54



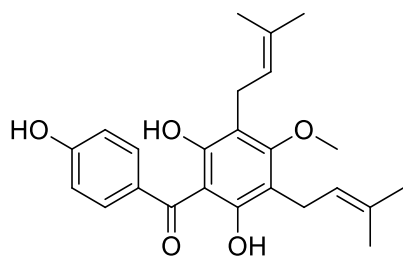
55



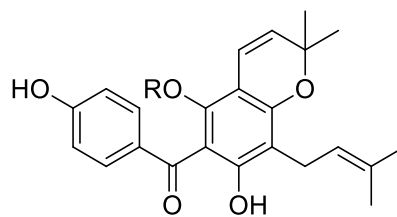
57



58

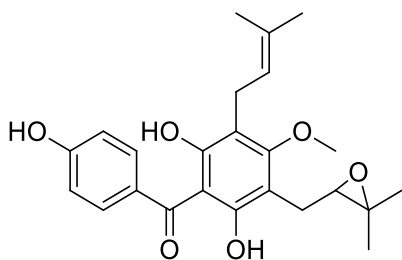


59

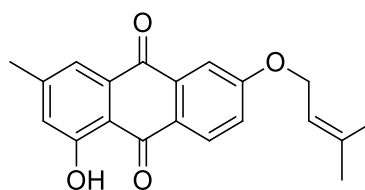


60 R=Me

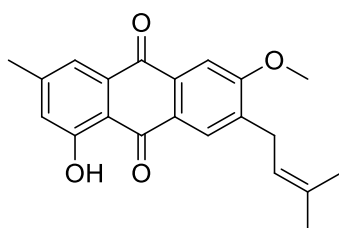
61 R=H



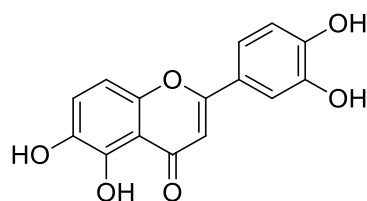
62



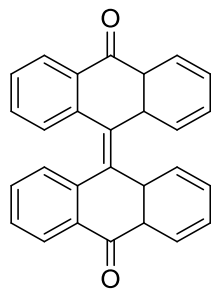
63



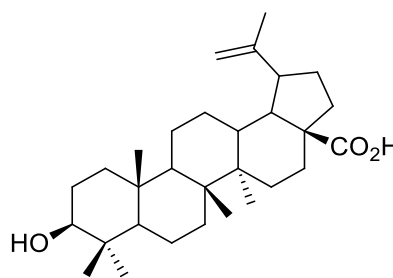
64



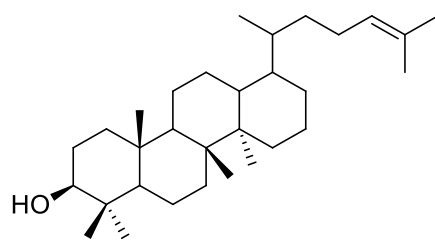
65



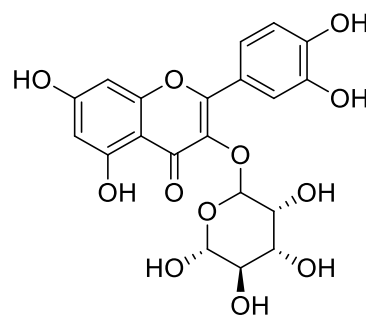
66



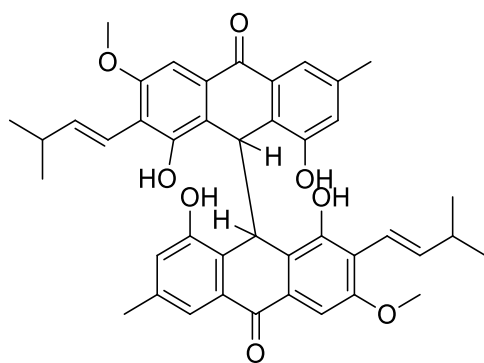
67



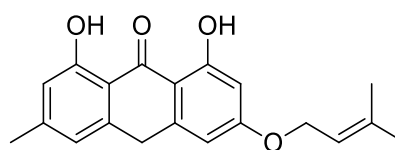
68



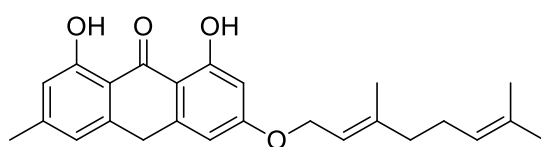
69



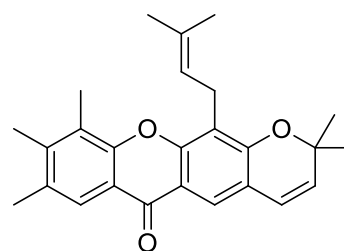
70



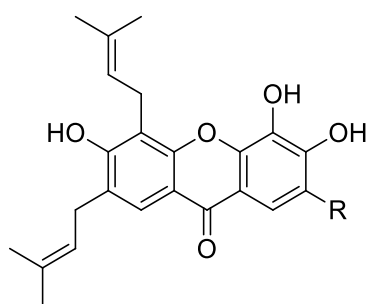
71



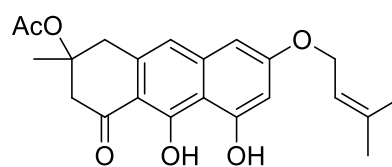
72



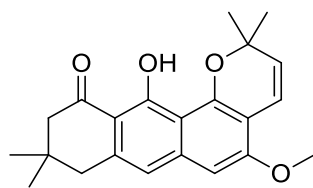
73 R1=R2=R3= H R4= OMe
77 R1=R2=R3 Ac, R4=H



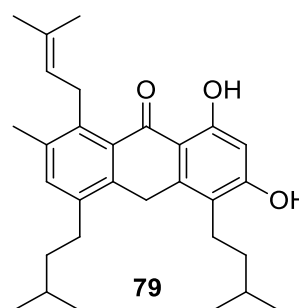
74 R=H
75 R=OMe



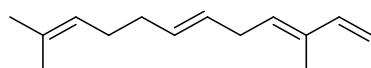
76



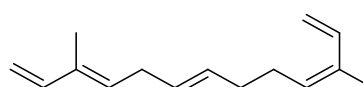
78



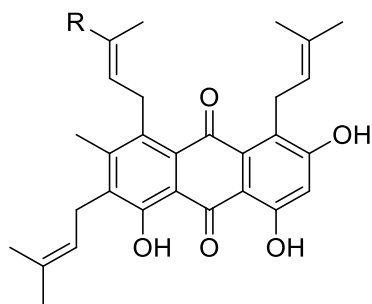
79



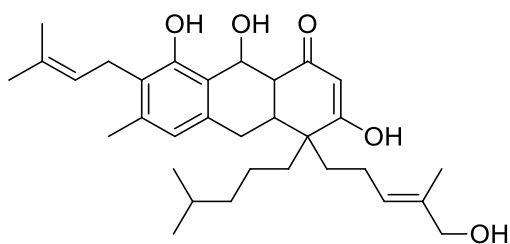
80



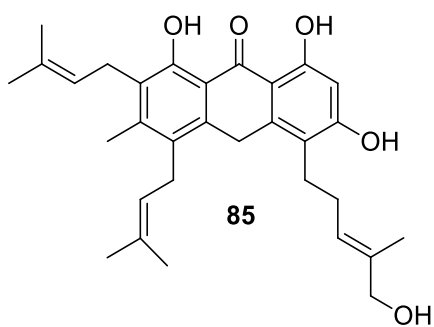
84



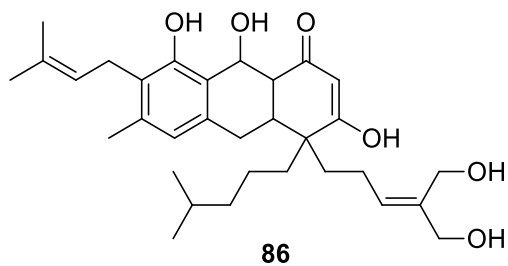
81 R= H
82 R= CH₂OH



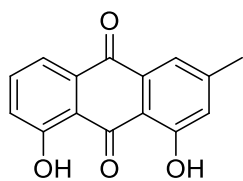
83



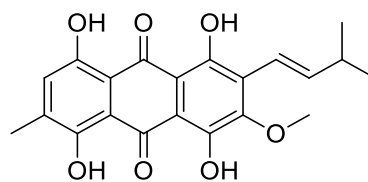
85



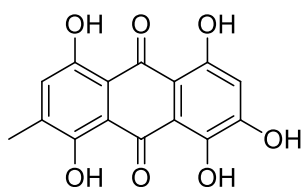
86



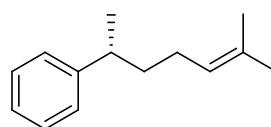
87



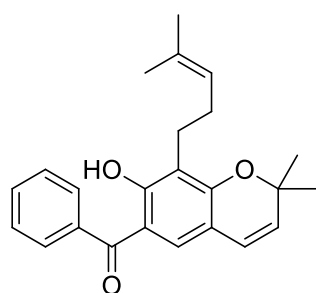
88



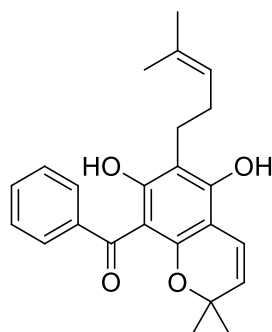
89



90



91



92

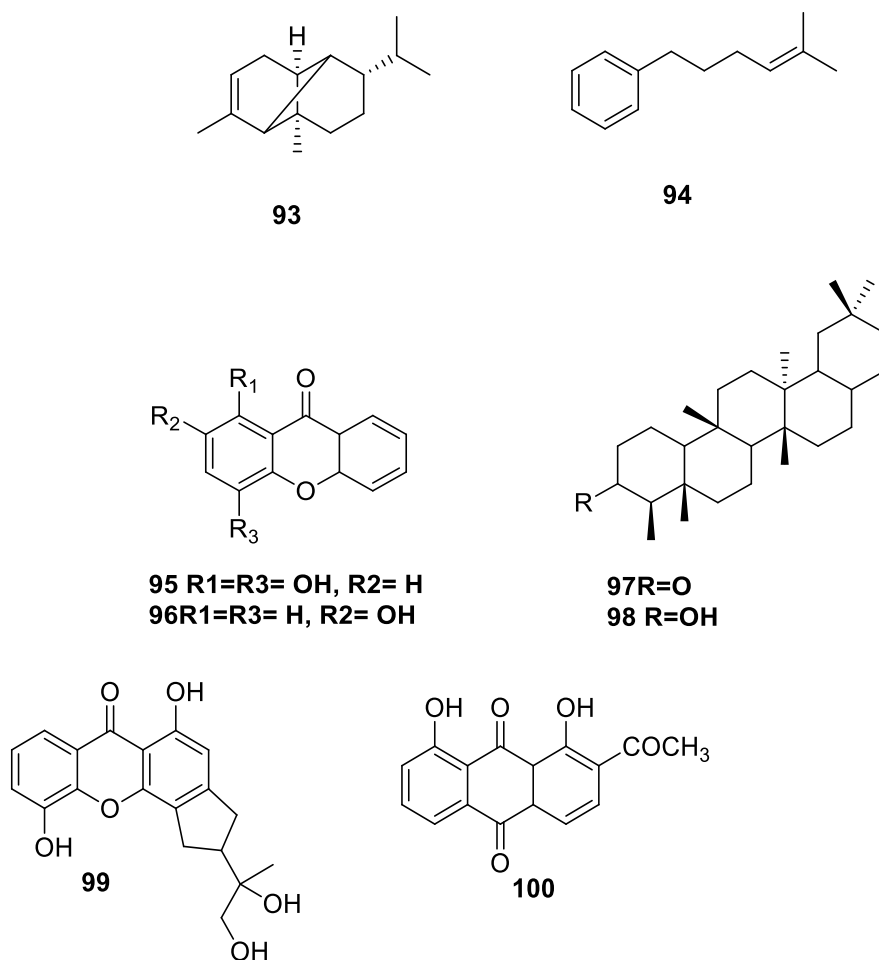


FIGURA 1.4- Principais classes de metabólitos secundários identificados em *Vismia*.

A espécie *Vismia guianensis* (Aubl.), popularmente conhecida como lacre ou pau-de-lacre, é um arbusto ou pequena árvore de folhas ovaladas e inflorescências em panículas terminais (Mota, 2020; Oliveira, 2017). Sua distribuição geográfica inclui países da América Tropical, como Colômbia, Venezuela, Guiana, além de amplas regiões do Norte e Nordeste do Brasil (Almeida-Cortez & Melo-de-Pinna, 2006), figura 1.5. O látex amarelo-avermelhado exsudado de galhos e folhas confere à espécie propriedades tradicionalmente valorizadas na medicina popular para tratar feridas, dermatites, febres e reumatismo (Vizcaya et al., 2011; Oliveira, 2017).



FIGURA 1.5- Distribuição geográfica de *Vismia guianensis* (Aubl.) na América do Sul. Os pontos indicam registros documentados da espécie, evidenciando maior concentração na região amazônica, incluindo Colômbia, Venezuela, Guiana, além de amplas regiões do Norte e Nordeste do Brasil. Fonte: Jardim Botânico do Rio de Janeiro – REFLORA.

Dessa forma, o gênero *Vismia*, e em particular a espécie *Vismia guianensis*, demonstram grande relevância científica, não apenas por sua ampla distribuição e diversidade química, mas também pelo potencial de aplicação de seus compostos bioativos em saúde humana e proteção de culturas agrícolas. A pesquisa contínua sobre suas propriedades fitoquímicas e biológicas contribui para o avanço do conhecimento sobre plantas medicinais da flora brasileira.

2. OBJETIVO GERAL E ESPECÍFICO

O foco principal deste trabalho foi a obtenção de produtos naturais com propriedades inseticidas e/ou fungicidas, no controle de *Atta sexdens*.

De modo específico, pretende-se:

- Conduzir um estudo de Biomonitoramento das plantas *Himatanthus articulatus* e *Vismia guianensis*, com o objetivo de isolar novos compostos que possuam atividade inseticida e/ou fungicida;
- Isolar e caracterizar os compostos das plantas investigadas que não demonstrem tais atividades;
- Realizar docking molecular para compreender a interação das moléculas ativas presentes nos extratos com a enzima acetilcolinesterase;
- Reportar todas as moléculas encontradas para auxiliar na quimiosistemática das espécies envolvidas.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Materiais

3.1.1 Solventes

Foram utilizados os seguintes solventes ao longo dos experimentos: água ultrapura deionizada; solventes grau HPLC, tais como acetonitrila (ACN), metanol (MeOH) e clorofórmio (CHCl₃) (J.T. Baker, Panreac, Honeywell e Tedia); solventes deuterados, incluindo clorofórmio deuterado (CDCl₃) e metanol deuterado (MeOD) (Merck e Aldrich). Etanol (EtOH) foi empregado na preparação dos extratos, enquanto diclorometano (CH₂Cl₂) foi utilizado nos ensaios de toxicidade dos extratos.

3.1.2 Colunas cromatográficas e fases estacionárias

Para as análises cromatográficas, foram utilizadas:

- Coluna analítica Phenomenex® Gemini, 150 × 4,6 mm, 5 μm;
- Coluna semipreparativa Phenomenex® Gemini C18, 250 × 10 mm, 5 μm;
- Cartucho C18 Supelco® (SUPELLEAN™ LC-18, 10 g, 60 mL, partículas de 45 μm).

3.1.3 Equipamentos

Os experimentos cromatográficos e espectrométricos foram realizados utilizando:

- Sistema de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) Agilent 1290 Infinity II, acoplado a espectrômetro de massas Agilent G6545B Q-TOF, com ionização por ESI;
- Sistema HPLC Shimadzu, modelo SPD-M20A, com detector de arranjo de diodos (PDA/DAD);
- Espectrômetro de massas Synapt G2-S (Waters Technologies), com fonte ESI e analisador híbrido Q-TOF;
- Equipamento de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) Bruker® DRX 9,4 T (400 MHz para ¹H e 100 MHz para ¹³C).

3.1.4 Análises por Ressonância Magnética Nuclear

As análises de RMN foram conduzidas em:

- RMN Bruker Avance DRX 9,8 T, com trocador automático de amostras (400 MHz para ^1H e 100 MHz para ^{13}C);
- RMN Bruker Avance III – 14,1 T, equipado com cryossonda TCI de 5 mm (ATMA®) e sonda BBI de 5 mm (ATMA®) (600 MHz para ^1H e 125 MHz para ^{13}C).

Os espectros foram processados utilizando o software MestReNova® (MNova©), versão 14.0.0 (Mestrelab Research S.L.).

3.1.5 Balanças

As massas foram determinadas utilizando as seguintes balanças:

- Shimadzu, modelo AY220;
- Toledo, modelo 9094C/5.

3.1.6 Outros materiais e acessórios

Foram empregados ainda:

- Rotaevaporador;
- Filtros de seringa (25 mm × 0,45 µm, Millipore), não estéreis;
- Micropipetas Eppendorf (1–10 µL; 20–200 µL; 200–1000 µL);
- Tubos de centrifugação de 1 mL (Eppendorf);
- Vials para HPLC de 1,5 mL.

3.1.7 Materiais vegetais

Neste trabalho, foram estudadas as espécies *Himatanthus articulatus* e *Vismia guianensis*. Exemplares de ambas as plantas foram coletados e posteriormente depositados no acervo botânico do Parque Zoobotânico do Museu Paraense Emílio Goeldi. As coletas foram realizadas no município de Curuçá, estado do Pará, Brasil, especificamente na região da Mata do Camandeteua, nas coordenadas 0°44'24" S, 47°51'07" W (latitude -0,739878; longitude -47,851900), conforme ilustrado na Figura 3.1.

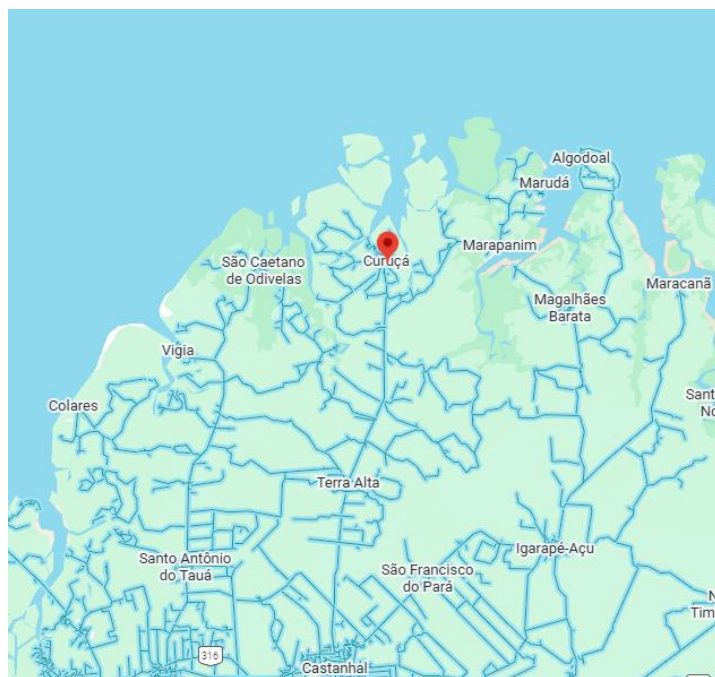


FIGURA 3.1- Localização geográfica do município de Curuçá, no estado do Pará, Brasil, destacando a área aproximada de coleta das espécies *Himatanthus articulatus* e *Vismia guianensis*, na região da Mata do Camandeteua.

3.2 Metodologia

3.2.1 Preparação dos extratos

Os extratos foram preparados, seguindo um protocolo de maceração a frio, a cada 3 dias foi estabelecido para sua produção. Inicialmente, as partes das plantas, como folhas e cascas, foram secas em estufa e posteriormente moídas para aumentar a superfície de contato. Em seguida, o material vegetal foi submetido a extrações exaustivas utilizando etanol destilado. Após esse processo, os extratos resultantes foram armazenados no freezer do laboratório de produtos naturais para preservação. A tabela 3.1 apresenta os dados em massa dos materiais secos e dos extratos obtidos.

TABELA 3.1- Extratos preparados e seus respectivos rendimentos *H. articulatus* e *V. guianensis*

Plata	Parte do vegetal	Massa seca(g)	Extrato etanolico(g)
<i>H. articulatus</i>	Cascas	500,0	75
<i>V. guianensis</i>	Folhas	500,0	45
	Cascas	500,0	58

3. 2. 2 Estratégia experimental para prospecção de metabólitos bioativos com potencial inseticida e antifúngico

Os extratos obtidos das diferentes partes das plantas foram submetidos a uma série de ensaios para avaliação de sua atividade biológica. Entre os testes realizados, destacaram-se: (i) análises de mortalidade em *Atta sexdens* para determinação do potencial inseticida, e (ii) testes de inibição do crescimento do fungo simbiote *Leucoagaricus gongylophorus*, fundamental para o sistema de cultivo de fungo das formigas cortadeiras.

Aqueles extratos que apresentaram resultados promissores foram selecionados para análises químicas aprofundadas. Para essa etapa, empregaram-se técnicas analíticas avançadas, incluindo espectrometria de massas, cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) em modo analítico e ressonância magnética nuclear (RMN) de ^1H e ^{13}C . Essas abordagens permitiram a identificação e a caracterização dos constituintes químicos presentes, evidenciando principalmente iridoides, antraquinonas, antranóis e benzofenonas.

O extrato ativo foi posteriormente fracionado com base no perfil cromatográfico obtido em CLAE em fase reversa. A seleção das proporções e dos solventes utilizados fundamentou-se nos resultados previamente obtidos por extração em fase sólida (SPE), também realizada em fase reversa. As frações com maiores atividades biológicas foram submetidas a etapas adicionais de purificação por meio de CLAE semipreparativa. Quando necessário, empregou-se coluna de

sílica gel do tipo flash (70–230 mesh), utilizando-se uma mistura de hexano e acetato de etila como fase móvel.

Após o isolamento e a purificação, os compostos bioativos foram caracterizados por espectroscopia de RMN unidimensional (1D) e bidimensional (2D), além de espectrometria de massas de alta resolução. Em seguida, os ensaios biológicos foram novamente realizados, com o objetivo de confirmar o potencial biológico das substâncias isoladas.

Adicionalmente, a atividade potencial de interação dos compostos com a enzima acetilcolinesterase (AChE) foi investigada por meio de estudos de docking molecular. Essa abordagem computacional permitiu avaliar a afinidade e o modo de ligação dos metabólitos estruturalmente elucidados ao sítio ativo da AChE, identificando interações-chaves, como ligações de hidrogênio, interações hidrofóbicas e contatos eletrostáticos com resíduos catalíticos e regiões responsáveis pelo reconhecimento dos substratos. Os valores de energia de ligação e o posicionamento conformacional dos compostos no sítio catalítico serviram como indicativos do potencial inibitório, complementando os resultados obtidos experimentalmente nos ensaios enzimáticos. Dessa forma, o docking molecular contribuiu de maneira significativa para a compreensão do mecanismo de ação dos metabólitos bioativos, reforçando a correlação entre estrutura química e atividade biológica observada.

Dessa forma, o processo analítico permitiu não apenas isolar e identificar os metabólitos ativos, como também validar experimentalmente sua atividade biológica. Adicionalmente, uma varredura expandida foi conduzida para ampliar o perfil metabolômico da matriz vegetal e fortalecer a compreensão sobre sua diversidade química.

3.2.3 Estudo do extrato bruto etanólico de *H. articulatus* e *V. guianensis*

O extrato etanólico bruto de *articulatus* foi submetido a ensaios biológicos utilizando operárias de *Atta sexdens*, além de testes de inibição do crescimento do fungo simbiote *Leucoagaricus gongylophorus*. Com base nos resultados obtidos, esse extrato foi selecionado como foco primário de investigação, em razão de seu potencial bioativo com dupla atuação, apresentando propriedades tanto inseticidas quanto fungicidas. Dessa forma, estabeleceu-se como meta o isolamento e a caracterização dos compostos ativos presentes no extrato.

De maneira semelhante, o extrato etanólico de *Vismia guianensis* foi avaliado nos mesmos bioensaios, incluindo a inibição da enzima acetilcolinesterase, testes com operárias de *A. sexdens* e ensaios antimicrobianos direcionados ao fungo *L. gongylophorus*. Os dados obtidos indicaram que este extrato apresenta compostos com potencial atividade inseticida e capacidade de interferência enzimática, particularmente relacionada à inibição da acetilcolinesterase. Dessa forma, sua investigação foi direcionada para elucidar os mecanismos de ação e os metabólitos responsáveis por tais atividades, reforçando seu potencial como fonte de substâncias bioativas de interesse para o controle integrado de formigas cortadeiras.

3.2.4 Análise e fracionamento cromatográfico do extrato etanólico das cascas de *H. articulatus*

Inicialmente, o extrato bruto foi submetido à caracterização cromatográfica por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a detector de arranjo de diodos (CLAE-DAD), utilizando um sistema Shimadzu e uma coluna analítica Phenomenex® Gemini C18 (250 × 10 mm, 5 µm). Foram avaliados dois sistemas eluentes, constituídos por acetonitrila (ACN) + água ultrapura e metanol (MeOH) + água ultrapura, com o propósito de investigar o perfil de distribuição

dos compostos em função de sua polaridade e determinar o sistema de solventes mais eficiente para a separação. Para tal, empregou-se um gradiente exploratório, iniciando com 95% de fase aquosa e progredindo até 100% de fase orgânica (ACN ou MeOH), ao longo de um tempo total de análise de 60 minutos.

Para o preparo da amostra, foram pesados 20 mg do extrato brutos, os quais foram ressuspensos em 1 mL de MeOH. A solução resultante foi filtrada por meio de filtro de seringa em PVDF com porosidade de 0,22 µm, e filtrado transferido para vial de 2 mL adequado para injeção no sistema cromatográfico.

Após a análise cromatográfica da amostra, determinou-se que o comprimento de onda mais adequado para a detecção foi 254 nm, uma vez que nessa faixa, observou-se o maior número de bandas cromatográficas. Na sequência foram testadas diferentes proporções e combinações de solventes, sendo a mistura ACN:H₂O a que apresentou melhor desempenho na separação dos constituintes motivo pelo qual foi selecionada para o fracionamento.

O extrato bruto foi então submetido ao fracionamento em fase reversa utilizando cartuchos de extração em fase sólida (SPE) C18 de 10 g (Sigma-Aldrich). Para evitar a sobrecarga do material adsorvente e garantir maior eficiência no processo, aplicou-se 1 g de extrato por ciclo. Esse procedimento foi repetido 15 vezes, totalizando a concentração das frações obtidas. As proporções de solventes usados para cada fração estão presentes na tabela 3.2.

Foram geradas seis frações a partir de gradientes crescentes de eluição com ACN:H₂O. Após o fracionamento, todas as frações foram analisadas novamente sob as mesmas condições cromatográficas utilizadas para o extrato bruto, com o objetivo de verificar a eficiência da separação e a distribuição dos metabólitos nas diferentes porções coletadas.

TABELA 3.2- Proporções de solvente utilizados para o fracionamento em fase sólida do extrato de etanolico de *H. Articulatus*

FRAÇÃO	H ₂ O%	ACN%	MeOH%	CHCl ₃ %
--------	-------------------	------	-------	---------------------

SF1	80	20	-	-
SF2	60	40	-	-
SF3	20	80	-	-
SF4	-	100	-	-
SF5	-	-	100	-
SF6	-	-	-	100

3.2.5 Fracionamento e otimização cromatográfica da SF2

A fração SF2, que apresentou inibição significativa do crescimento fúngico e mortalidade em formigas, foi analisada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) em equipamento Shimadzu equipado com detector de arranjo de diodos (DAD) e coluna analítica Phenomenex® Gemini C18 110 Å (250 × 4,6 mm, 5 µm). A amostra foi preparada a uma concentração de 30 mg/mL, filtrada em membrana de PVDF com porosidade de 0,22 µm e transferida para vial de 2 mL, sendo posteriormente injetado um volume de 30 µL.

A análise foi realizada em gradiente utilizando como fase móvel H₂O e ACN, sob vazão de 1 mL/min. O perfil cromatográfico obtido demonstrou que o processo de fracionamento concentrou compostos na faixa de eluição prevista para metabólitos bioativos. As frações correspondentes foram novamente avaliadas frente ao fungo *Leucoagaricus gongylophorus* e às formigas *Atta sexdens*, confirmando potencial atividade biológica.

A fração SF2 foi submetida a um processo de otimização cromatográfica com o objetivo de promover a separação e purificação dos compostos nela presentes. A etapa inicial foi conduzida em modo isocrático, com fluxo de 1 mL/min, para avaliação das condições de separação. Posteriormente, o método foi adaptado para uma coluna semipreparativa Phenomenex® Gemini C18 110 Å (250 × 10 mm, 5 µm), operada com fluxo de 2,5 mL/min, de modo a aumentar a capacidade de injeção e o rendimento do fracionamento.

Para as análises, preparou-se uma solução da fração SF2 na concentração de 100 mg/mL em metanol, sendo injetado um volume de 100 µL por corrida cromatográfica. Um total de 30 injeções foi realizado, resultando na coleta de 12 subfrações. Esse procedimento possibilitou a elucidação estrutural de sete compostos presentes na fração, os quais foram posteriormente submetidos a análises espectroscópicas e ensaios biológicos complementares.

3.2.6 Fracionamento e otimização cromatográfica da SF3

A fração SF3 demonstrou potencial atividade antifúngica e efeito tóxico sobre formigas cortadeiras. Com o objetivo de investigar sua composição química, foi realizada análise por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), utilizando um sistema Shimadzu equipado com detector de arranjo de diodos (DAD). A separação foi conduzida em uma coluna analítica Phenomenex® Gemini C18 110 Å (250 × 4,6 mm, 5 µm).

A amostra foi preparada na concentração de 20 mg/mL, filtrada com filtro de seringa em PVDF (0,22 µm de porosidade) e transferida para frascos tipo vial de 2 mL. Em seguida, foram injetados 30 µL da solução para realização da otimização cromatográfica.

Inicialmente, foi utilizado um gradiente exploratório com fase móvel composta por água (H₂O) e acetonitrila (ACN), sob fluxo de 1 mL/min. A partir dessa triagem, observou-se que o método isocrático proporcionou melhor resolução dos picos cromatográficos e, portanto, foi selecionado para as etapas subsequentes.

Com base nesse método otimizado, preparou-se uma nova solução da fração SF3 na concentração de 100 mg/mL, visando ao isolamento dos constituintes majoritários. Essa solução foi submetida à purificação em uma coluna semi-preparativa Phenomenex® Gemini C18 110 Å (250 × 10 mm, 5 µm),

operando sob fluxo de 2,5 mL/min. Foram realizadas 20 injeções sucessivas, permitindo a coleta das frações purificadas.

3.2.7 Análise e fracionamento cromatográfico do extrato etanólico das cascas de *Vismia guianensis*

O extrato bruto foi inicialmente submetido à análise por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), utilizando um sistema Shimadzu equipado com detector DAD e coluna analítica Phenomenex® Gemini C18 (250 × 10 mm, 5 µm). Com o objetivo de avaliar a distribuição dos compostos de acordo com sua polaridade e selecionar o sistema de solventes mais eficiente para a separação, foram testadas duas combinações de fase móvel: ACN/H₂O e MetOH/H₂O, ambas na presença e ausência de ácido fórmico. O método cromatográfico foi conduzido em gradiente, iniciando em 95% de H₂O e progredindo até 100% de fase orgânica (ACN ou MetOH) ao longo de 60 minutos.

Com base no perfil cromatográfico obtido, observou-se melhor resolução utilizando o sistema H₂O + ACN contendo 0,1% de ácido fórmico, o qual foi selecionado para as análises e etapas subsequentes de fracionamento. A preparação da amostra para a análise consistiu na pesagem de 20 mg do extrato, ressuspensos em 1 mL de metanol e filtrados em membrana PVDF (0,22 µm), sendo o filtrado transferido para vial de 2 mL.

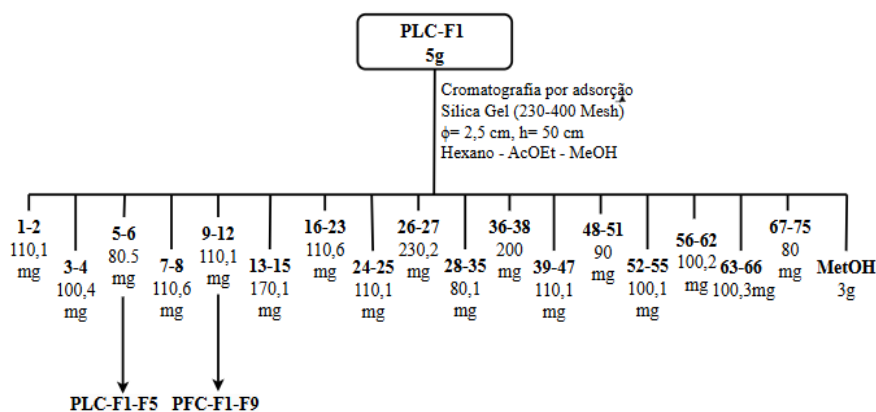
A avaliação espectral demonstrou que o comprimento de onda de 254 nm proporcionou o maior número de bandas cromatográficas, sendo, portanto, adotado para monitoramento analítico. Definido o sistema cromatográfico, procedeu-se ao fracionamento do extrato por meio de cartuchos de extração em fase sólida (SPE) C18 de 10 g (Sigma-Aldrich), empregando eluição em fase reversa. Para evitar sobrecarga do material adsorvente e garantir maior eficiência na separação, foram aplicados 1 g de extrato por ciclo, totalizando 15 repetições. Ao final do processo, obtiveram-se cinco frações,

posteriormente analisadas sob as mesmas condições cromatográficas utilizadas para o extrato bruto, com o intuito de avaliar a eficácia da separação.

3.2.8 Fracionamento da fração PLC-F1

A fração PLC-F1 demonstrou potencial de atividade e, por isso, foi analisado seu perfil cromatográfico. Para essa análise, utilizou-se a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) em um equipamento Shimadzu, com uma coluna analítica Phenomenex® Gemini C18 (250 x 10 mm, 5 µm). A análise foi realizada por meio de gradiente exploratório, utilizando uma mistura de solventes H₂O e acetonitrila (ACN), com fluxo de 1 mL/min.

Posterior a análise de CLAE, foi observado a grande quantidade de compostos então foi definido fracionar a amostra por sílica flash de fase normal onde foi eluída de modo gradiente com a mistura de solventes, Hexanos e acetato iniciando do mais apolar ao mais polar, finalizando com a última fração de 100% MetOH as frações foram reunidas por similaridade utilizando CCD.



FLUXOGRAMA 1: Refracionamento da fração PLC-F1.

3.2.9 Fracionamento PLC-F1-F5

A fração foi analisada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) utilizando um equipamento Shimadzu e a coluna analítica Phenomenex® Gemini C18 (250 x 10 mm, 5 µm). Utilizou-se um gradiente exploratório com

uma mistura de solventes H₂O e acetonitrila (ACN) e um fluxo de 1 mL/min. Observou-se que a metodologia concentrou os compostos na faixa de eluição esperada. Esses compostos foram posteriormente submetidos a ensaios frente a *Atta sexdens*, uma vez que a classe dos compostos demonstrou atividade biológica.

A SF2 foi submetida a otimização cromatográfica para a separação e purificação dos compostos presentes na fração. A otimização do método cromatográfico foi realizada em modo isocrático de eluição, utilizando uma fase móvel composta por 68% de acetonitrila (ACN) e 22% de água (H₂O) durante 40 minutos por análise, com um fluxo de 1 mL/min. Em seguida, o método foi transferido para uma coluna semi-preparativa, onde a purificação das frações foi realizada com um fluxo de 2,5 mL/min e também com um tempo de 40 minutos por análise.

Foi preparada uma solução de 80.5 mg/mL da fração, que foi ressuspendido em metanol e injetada a 100 µL por análise. Foram coletadas um total de 4 frações, resultando na elucidação de 3 compostos.

3.2.10 Fracionamento da fração PLC-F2

A fração PLC-F2 mostrou potencial mortalidade contra as formigas cortadeiras *Atta sexdens*, sendo assim foi preparada uma solução de 100 mg/mL da fração, então, filtrada com um filtro de seringa em PVDF com porosidade de 0,22 µm e transferida para um vial de 2 mL. A qual submetida a fracionamento realizado em modo isocrático de eluição usando uma coluna semi-preparativa de fase reversa Phenomenex® Gemini C18 (250 x 10 mm, partícula de 5µm), onde as fases foram preparadas: H₂O (ultrapura Milli-Q®) + ácido fórmico 0,1% e ACN (grau HPLC Sigma-Aldrich®) + ácido fórmico 0,1%. A eluição foi observada no comprimento de onda de 254nm com fluxo de 2mL/min, ACN de

74% em 65min e volume de injeção de 50µL. Posteriormente, estas subfrações foram analisadas por técnicas de RMN de 1H e espectrometria de massas.

3.2.11 Ensaios frente *Atta sexdens*- Coleta e manutenção das formigas utilizadas nos bioensaios

As operárias de *Atta sexdens*, com massa corpórea entre 15 e 25 mg, foram coletadas de colônias mantidas no laboratório do Centro de Estudos de Insetos Sociais (CEIS), Universidade Estadual Paulista (UNESP), Campus de Rio Claro. As colônias foram mantidas por meio do fornecimento diário de folhas frescas de *Eucalyptus* sp., *Hibiscus* sp., *Ligustrum* sp., *Acalypha wilkesiana* e *Syzygium cumini*, além de, ocasionalmente, flocos de aveia, farinha de milho e outras plantas consideradas palatáveis às saúvas, como folhas de amoreira (Figura 3.2).

Para a manutenção das formigas isoladas das colônias — e, portanto, na ausência do fungo simbiote e das folhas que compõem sua dieta natural — foram utilizadas dietas sólidas artificiais. A formulação consistiu em 1,5 g de glicose, 0,3 g de peptona bacteriológica, 0,03 g de extrato de levedura e 0,3 g de ágar bacteriológico, dissolvidos em 30 mL de água destilada. Após homogeneização, as soluções foram autoclavadas a 120 °C e 1 atm por 20 minutos. A mistura ainda quente foi vertida em placas de Petri estéreis (10 cm de diâmetro), previamente autoclavadas nas mesmas condições, sendo então adicionados os extratos dissolvidos em metanol e incorporados à dieta antes da solidificação.

Além das dietas tratadas com extratos, foram preparadas dietas controle: duas dietas sem adição de extratos e uma dieta contendo apenas metanol. Após solidificação, as dietas foram envolvidas em filme PVC e armazenadas sob refrigeração até sua utilização, durante o período experimental (BUENO et al., 1997).



FIGURA 3.2- Vista geral do formigueiro de *Atta sexdens* mantido no laboratório do Centro de Estudos de Insetos Sociais (CEIS).

3.2.12 Bioensaios para determinação da toxicidade

Para os ensaios biológicos, todos os extratos foram pesados individualmente (300 mg) em balança analítica e transferidos para frascos de vidro. Em seguida, foi adicionado 1 mL do solvente correspondente ao processo de extração para cada amostra, sendo utilizados metanol, etanol ou acetona, conforme o tratamento. Após a adição do solvente, os frascos foram submetidos à agitação em vórtex para promover homogeneização completa das soluções. Nos extratos denominados *Himatanthus*. e *Vismia*, foi necessário adicionar 1 mL adicional de metanol para permitir a completa solubilização. Após a diluição, os extratos foram incorporados à dieta artificial ainda em estado líquido. Após a solidificação, as dietas foram embaladas com filme plástico e armazenadas sob refrigeração até o uso.

3.2.13 Para os compostos puros, foram solubilizados em metanol.

Em todos os tratamentos, operárias de *Atta sexdens* foram retiradas dos formigueiros e distribuídas em lotes de 50 indivíduos por extrato testado,

divididas em grupos de 10 formigas e acondicionadas em cinco placas de Petri (10 cm de diâmetro) forradas com papel filtro (Figura 3.3). As placas foram mantidas em incubadora B.O.D. a $24\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa superior a 70%. A mortalidade das operárias foi monitorada diariamente por 21 dias, com a remoção e registro do número de indivíduos mortos.

A dieta controle (sem extratos) ou contendo os compostos (tratamentos) foi ofertada diariamente em pequenos fragmentos de aproximadamente 0,4 a 0,5 g, posicionados sobre papel alumínio (Figura 3.4). A cada 24 horas, a dieta e o papel filtro — quando danificado pelas formigas — eram substituídos, de modo a evitar contaminações e garantir condições adequadas de higiene durante o experimento.

As formigas pertencentes aos tratamentos receberam continuamente a dieta suplementada com extratos pelo período total de 21 dias, enquanto o grupo controle foi alimentado com dieta isenta de extratos durante o mesmo intervalo experimental.



FIGURA 3.3- Operárias de *Atta sexdens* submetidas ao tratamento com o extrato incorporado em dieta artificial. Fonte: Arquivo pessoal.

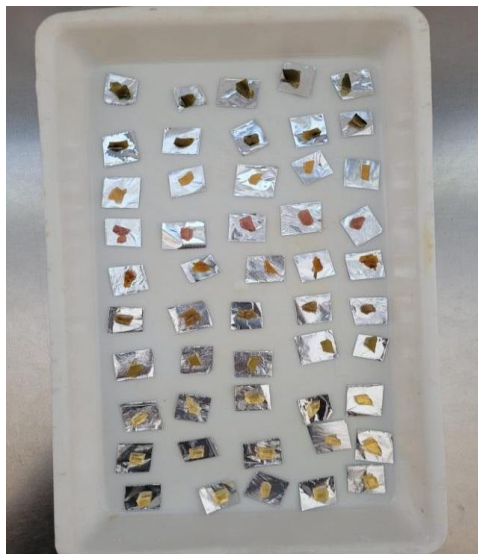


FIGURA 3.4. Dietas utilizadas, já e prontas para o oferecimento.

3.2.13 Análise dos dados de toxicidade

A análise dos dados foi realizada por meio da determinação das porcentagens acumuladas de formigas vivas ao longo dos dias para cada tratamento. A partir dessas curvas, foi estimado o tempo de sobrevivência mediana das operárias. As curvas de sobrevivência foram comparadas utilizando o teste não paramétrico Log-Rank (Mantel-Cox), adotando-se nível de significância de 5% (ELANDT-JOHNSON et al., 1980). Todas as análises estatísticas foram conduzidas no software GraphPad Prism versão 3.0.

Nos bioensaios cujos extratos foram diluídos em metanol, as amostras foram comparadas ao controle constituído por dieta pura acrescida de metanol. Inicialmente, o grupo controle foi comparado individualmente a cada tratamento. Posteriormente, todos os tratamentos e o controle foram analisados em conjunto pelo teste Log-Rank, a fim de verificar a presença ou ausência de diferenças estatisticamente significativas entre os compostos avaliados.

3.2.14 Atividade antimicrobiana- Análise qualitativa da atividade antimicrobiana obtida pelos extratos de plantas

As análises da atividade antimicrobiana dos extratos vegetais foram conduzidas pelo método de difusão em ágar por poço, utilizando como microrganismo-teste o fungo simbiote *Leucoagaricus gongylophorus*.

Inicialmente, foi preparado o meio de cultura específico (MIX), composto de extrato de malte (20 g/L), ágar (17 g/L), digestão enzimática de gelatina (5 g/L) e extrato de levedura (2 g/L), dissolvidos em água destilada. O meio e as placas de Petri de vidro foram esterilizados em autoclave a 1 atm por 15 minutos. Após esterilização, o meio ainda quente foi distribuído nas placas de Petri, que foram mantidas em capela de fluxo laminar até o completo resfriamento e solidificação, a fim de evitar contaminações.

Para o preparo do inóculo, o caldo Sabouraud foi preparado conforme as especificações do fabricante e esterilizado em autoclave. Em tubo de ensaio estéril, o caldo foi misturado a uma suspensão salina (NaCl 0,9%) contendo *L. gongylophorus* na proporção de 1:5. O inóculo foi incubado em estufa a 25 °C por 15 dias para assegurar o crescimento ativo do fungo.

Os extratos vegetais foram pesados e solubilizados em dimetilsulfóxido (DMSO) nas concentrações finais de 0,1 g/mL e 0,05 g/mL. Para substâncias puras isoladas, empregaram-se concentrações de 0,01 g/mL.

Após o período de incubação do inóculo, foram confeccionados poços de aproximadamente 6,0 mm no centro das placas contendo o meio MIX sólido, utilizando pipeta de Pasteur esterilizada acoplada a bomba a vácuo. Em seguida, 1 mL do inóculo foi distribuído sobre cada placa e espalhado com auxílio de alça de Drigalski estéril. Após absorção do excesso de umidade (~1 h), foram aplicados 50 µL de cada extrato no interior dos poços. As placas foram incubadas a 25 °C por 15 dias.

Todos os ensaios foram realizados em triplicata. O DMSO foi utilizado como controle negativo. A atividade antimicrobiana foi avaliada pela formação de halos de inibição ao redor dos poços.

3.2.15 Leitura das placas e interpretação dos resultados

Após o período de 15 dias de incubação, as placas contendo os extratos vegetais foram avaliadas quanto à uniformidade do crescimento fúngico, à ausência de contaminações externas e à definição dos halos de inibição formados ao redor dos poços. Após essa inspeção preliminar, a mensuração dos halos de inibição foi realizada com o auxílio de uma régua milimetrada de 30 cm, posicionada sobre fundo branco para melhor visualização e precisão das medições.

3.2.16 Análises por Espectrometria de Massas

As análises foram realizadas por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas de alta resolução (LC-MS/Q-TOF), utilizando um espectrômetro do tipo Q-TOF, modelo Agilent 6545B Q-TOF, equipado com fonte de ionização por eletrospray assistida por jato (Dual AJS ESI), operando no modo de ionização positiva. A aquisição de dados foi conduzida no modo Auto MS/MS (AutoMS²), permitindo a seleção automática de íons precursores para fragmentação. Os espectros de massas foram adquiridos na faixa de m/z 50–1000, tanto para MS quanto para MS/MS, com taxa de aquisição de 3 espectros por segundo e largura de isolamento média (~ 4 Da). Foram selecionados até 5 precursores por ciclo, com limiar absoluto de 10 contagens e pureza mínima de 80% para fragmentação, sendo a energia de colisão aplicada de forma dependente da massa e do estado de carga dos íons.

Os parâmetros da fonte foram ajustados com temperatura do gás de

secagem de 350 °C, fluxo de 12 L min⁻¹, pressão do nebulizador de 40 psig, temperatura do gás de bainha de 325 °C e fluxo de 11 L min⁻¹. A voltagem do capilar foi mantida em 3200 V, com voltagem do nozzle de 715 V, fragmentor ajustado para 105 V, skimmer em 35 V e RF do octopolo em 473 V. A aquisição utilizou limiar absoluto de 100 contagens para MS e 5 contagens para MS/MS, com limiar relativo de 0,01% em ambos os casos, sem utilização de massa de referência interna (lock mass).

A separação cromatográfica foi realizada em sistema de UHPLC composto por bomba quaternária Agilent G7104A e amostrador automático Agilent G7167B Multisampler. A fase móvel foi constituída por água (A) e acetonitrila (B), com fluxo de 0,300 mL min⁻¹. O gradiente de eluição foi programado da seguinte forma: 0–10 min, 100% B; 10–13 min, 22% B; 13–17 min, 22% B. O volume de injeção foi de 10 µL. A coluna cromatográfica foi mantida a 40 °C em compartimento termostaticado Agilent G7116B Column Compartment.

A aquisição e o processamento dos dados foram realizados utilizando o software Agilent MassHunter, sendo os cromatogramas monitorados por meio do cromatograma de íons totais (TIC). A amostragem foi conduzida com velocidade de aspiração de 100 µL min⁻¹ e velocidade de ejeção de 400 µL min⁻¹, com tempo de espera de 1,2 s após aspiração, utilizando lavagem padrão da agulha por 3 s para minimizar contaminação cruzada.

3.2.17 Modelagem molecular por Homologia

A modelagem estrutural por homologia da enzima acetilcolinesterase (AChE) foi realizada utilizando a plataforma SWISS-MODEL Workspace (Waterhouse et al., 2018), com o objetivo de obter um modelo tridimensional da acetilcolinesterase de *Atta sexdens*, organismo de interesse no estudo

experimental associado. A sequência primária da proteína alvo foi obtida a partir de um banco de dados público de proteínas e inserida no sistema no formato FASTA. Considerando a ausência de estruturas cristalográficas da AChE de *Atta sexdens* disponíveis em bancos de dados estruturais, a abordagem de modelagem por homologia foi empregada como alternativa para a obtenção de informações estruturais da enzima.

A identificação de estruturas molde foi conduzida automaticamente pelo servidor por meio de buscas baseadas em similaridade de sequência e perfis evolutivos, utilizando os algoritmos BLAST e HHblits, contra a biblioteca interna do SWISS-MODEL, composta por estruturas experimentais depositadas no Protein Data Bank (PDB). A seleção dos *templates* considerou critérios como identidade e cobertura de sequência, bem como a qualidade estrutural das estruturas candidatas, a partir do alinhamento entre a sequência-alvo e os modelos disponíveis.

A construção do modelo tridimensional foi realizada com o programa ProMod3 (Studer et al., 2021), no qual as coordenadas estruturalmente conservadas foram transferidas do *template* para o modelo, enquanto regiões correspondentes a inserções e deleções foram remodeladas. As cadeias laterais foram reconstruídas, e a geometria final do modelo foi otimizada por meio de regularização com campo de força. A qualidade estrutural do modelo gerado foi avaliada globalmente e por resíduo utilizando a função de pontuação QMEAN (Studer et al., 2020), fornecendo uma estimativa da confiabilidade do modelo obtido.

Entre os *templates* identificados pelo SWISS-MODEL, selecionou-se como molde principal a estrutura 5y dj.1.A, correspondente à acetilcolinesterase de *Anopheles gambiae* (AgAChE), determinada por cristalografia de raios X com resolução de 3,0 Å. Esse *template* apresentou elevada identidade de sequência

(69,57%) e ampla cobertura do alinhamento, justificando sua escolha como modelo de referência.

O modelo tridimensional foi então construído automaticamente pelo SWISS-MODEL, originando o Model 01, o qual apresentou valores de GMQE = 0,80 e QMEANDisCo Global = $0,87 \pm 0,05$, indicativos de boa qualidade estrutural. O modelo final foi exportado em formato PDB para análises estruturais subsequentes e eventuais simulações computacionais.

3.2.18 Validação Estrutural do Modelo (1.2)

A qualidade estrutural do modelo tridimensional gerado foi avaliada utilizando o servidor SAVES v6.1 (UCLA-DOE), que integra diferentes ferramentas destinadas à verificação estereoquímica e à análise da consistência estrutural de modelos proteicos. As seguintes análises foram empregadas:

PROCHECK: Avalia parâmetros geométricos da proteína, incluindo ângulos de torção, comprimentos e ângulos de ligação, planaridade e conformações cis/trans. O programa também gera o diagrama de Ramachandran, permitindo a inspeção da distribuição dos ângulos ϕ (phi) e ψ (psi) dos resíduos e a identificação daqueles localizados em regiões preferenciais, permitidas ou não permitidas do espaço conformacional.

ERRAT: Examina padrões de interações não ligadas entre diferentes classes de átomos, com base em estatísticas derivadas de estruturas cristalográficas de alta resolução. O resultado é expresso como um Overall Quality Factor, variando de 0 a 100, sendo valores superiores a 50 indicativos de boa consistência estrutural e confiabilidade do modelo.

VERIFY3D: Avalia a compatibilidade entre a estrutura tridimensional (3D) do modelo e o perfil unidimensional (1D) da sequência de aminoácidos, analisando o ambiente estrutural de cada resíduo. Modelos

considerados adequados apresentam, tipicamente, pelo menos 80% dos resíduos com escores iguais ou superiores a 0,1.

A integração dessas análises permite a identificação de possíveis regiões estruturalmente inconsistentes ou geometricamente desfavoráveis, assegurando a confiabilidade do modelo para etapas subsequentes, como refinamento estrutural e estudos de ancoramento molecular (*molecular docking*).

3.2.19 Docking em Ache

As estruturas tridimensionais das moléculas avaliadas pelos cálculos de *docking molecular* (Figura 4.83) foram construídas *in silico* utilizando o software Avogadro. Após a construção, as moléculas foram submetidas a um procedimento de otimização geométrica com o objetivo de obter conformações energeticamente mais estáveis. A otimização foi realizada empregando o campo de força MMFF94 (*Merck Molecular Force Field*) (Halgren, 1996), conforme implementado no próprio software.

Em seguida, os estudos de *docking molecular* foram conduzidos por meio do *software* Molegro Virtual Docker 6.0 (MVD) (Thomsen & Christensen, 2006). O algoritmo selecionado para a simulação foi o MolDock SE, escolhido por sua robustez e ampla aplicação em estudos de acoplamento molecular. Os parâmetros do algoritmo foram mantidos nos valores padrão recomendados pelo programa, de modo a garantir um equilíbrio adequado entre custo computacional e qualidade das soluções obtidas. Foram realizadas 10 execuções independentes (runs), utilizando tamanho de população igual a 50 indivíduos, número máximo de 1500 iterações, fator de escala de 0,50 e taxa de crossover de 0,90.

A avaliação das poses geradas foi realizada por meio da função de pontuação MolDock Score (Thomsen & Christensen, 2006), utilizada para estimar a afinidade de ligação entre os ligantes e o sítio de interação do receptor. Durante as simulações, a flexibilidade do ligante foi ativada, permitindo a exploração

conformacional das moléculas estudadas, enquanto a estrutura da proteína foi mantida rígida, não sendo considerada flexibilidade do receptor.

Após a realização do docking molecular, as melhores poses obtidas foram selecionadas para análise detalhada das interações intermoleculares entre os ligantes e o receptor AChE. Essa análise foi realizada utilizando o servidor Protein–Ligand Interaction Profiler (PLIP), uma ferramenta automatizada destinada à identificação e caracterização de interações não covalentes em complexos proteína–ligante.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Resultados

4.1.1 Perfil cromatográfico de cascas de *Himatanthus articulatus*

A partir da análise cromatográfica, (figura 4.1), pode ser definido as proporções de solventes aplicados para o fracionamento, ademais foi definido que o melhor comprimento de onda a ser trabalhado em 254 nm. O rendimento para cada fração esta apresentados no FUXOGRAMA 2.

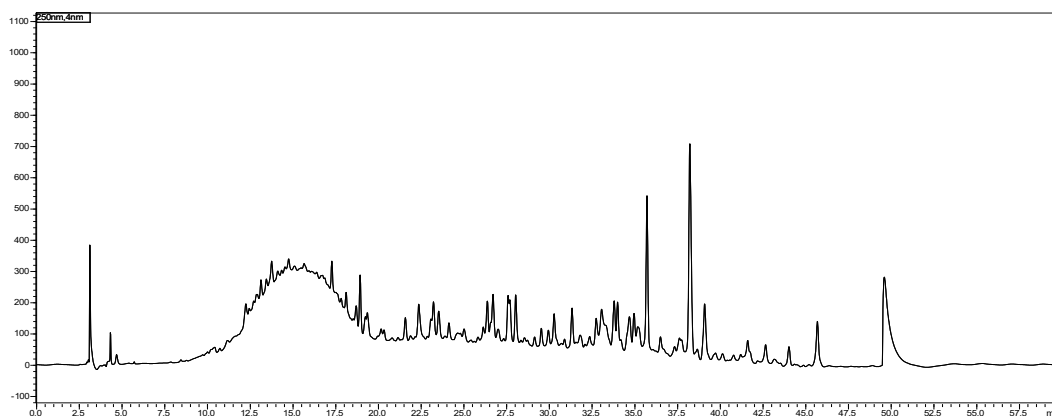


FIGURA 4.1- Perfil cromatográfico do extrato etanolico de *H. articulatus* em 254 nm.



FLUXOGRAMA 2- Fracionamento do extrato de cascas de *Himatanthus articulatus*.

4.1.2 Otimização cromatográfica e isolamento para SF2

Ao analisar o perfil cromatográfico da SF2, verificou-se que os compostos estavam concentrados em uma faixa de eluição estreita e próxima entre si (Figura 4.2). O método cromatográfico utilizado encontra-se descrito na Tabela 5. Em função desse comportamento, adotou-se o modo de eluição isocrático, com o objetivo de estabelecer a condição mais apropriada para a separação eficiente para coleta dos compostos.

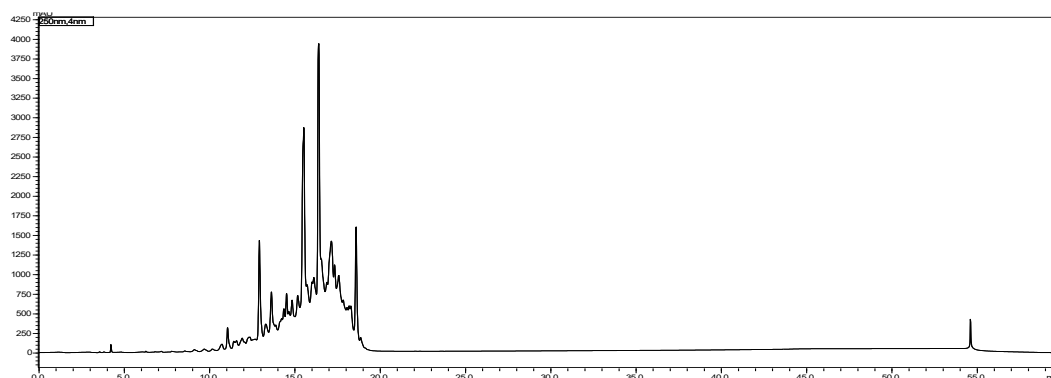


FIGURA 4.2- Cromatograma do perfil cromatográfico via HPLC da SF2 no comprimento de onda de 254nm.

TABELA 4.1 - Gradiente exploratório utilizado na análise do perfil químico da amostra

Tempo (min)	H ₂ O%	ACN%
0	95	5
40	0	100
45	0	100
46	95	5
60	95	5

Após a otimização cromatográfica, o método considerado ideal consistiu na eluição isocrático com 76:24% H₂O/ACN por 17 minutos, seguida de um gradiente até 67:33% da mesma mistura de solventes, mantido até 30 minutos, conforme descrito na Tabela 4.2. A partir dessa fração, foram isolados cinco compostos. O cromatograma da amostra obtido sob as condições otimizadas está apresentado na Figura 4.3, na qual as bandas cromatográficas que deram origem aos compostos isolados encontram-se devidamente numeradas, juntamente com seus respectivos tempos de retenção.

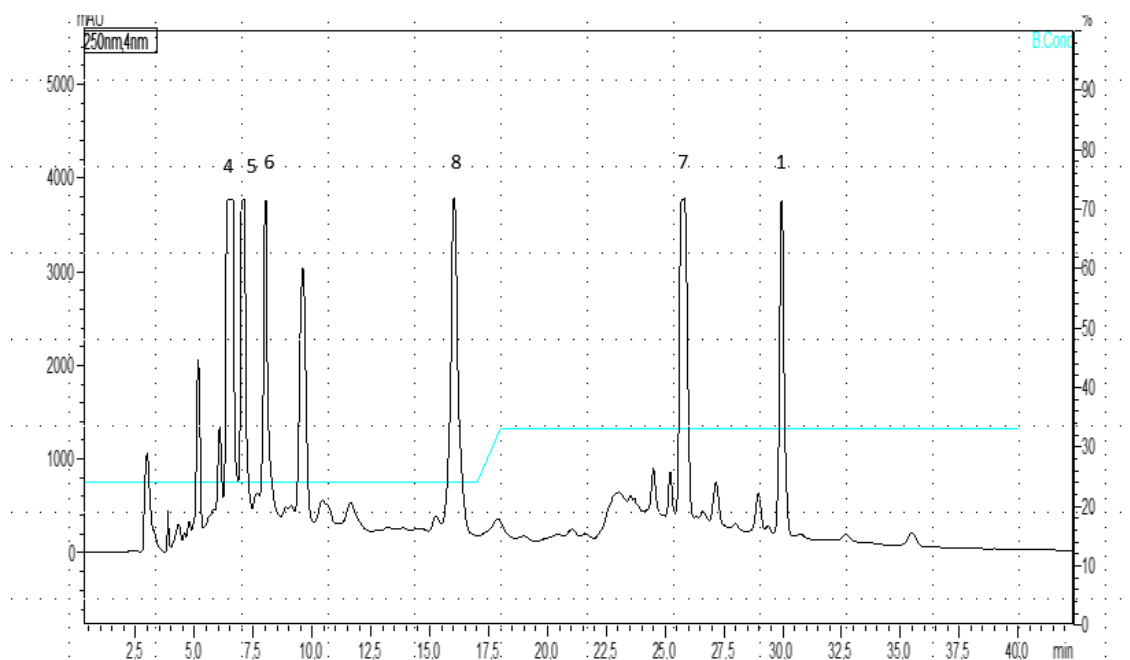


FIGURA 4.3- Cromatograma otimizado para coleta da fração SF2, usando H₂O e ACN e seus respectivos compostos isolados.

TABELA 4.2- Método analítico para isolamento dos compostos da fração sf2

Tempo (min)	H ₂ O%	ACN%
0	76	24
17	76	24
18	67	33
30	67	33

4.1.3 Otimização cromatográfica e isolamento para SF3

Após a otimização cromatográfica, o método considerado ideal consistiu na eluição isocrático com 40:60 %, mantido até 30 minutos, conforme descrito na Tabela 4.3. A partir dessa fração, foram isolados 2 compostos. O cromatograma da amostra obtido sob as condições otimizadas está apresentado na Figura 4.4, na qual as bandas cromatográficas que deram origem aos compostos isolados encontram-se devidamente numeradas, juntamente com seus respectivos tempos de retenção.

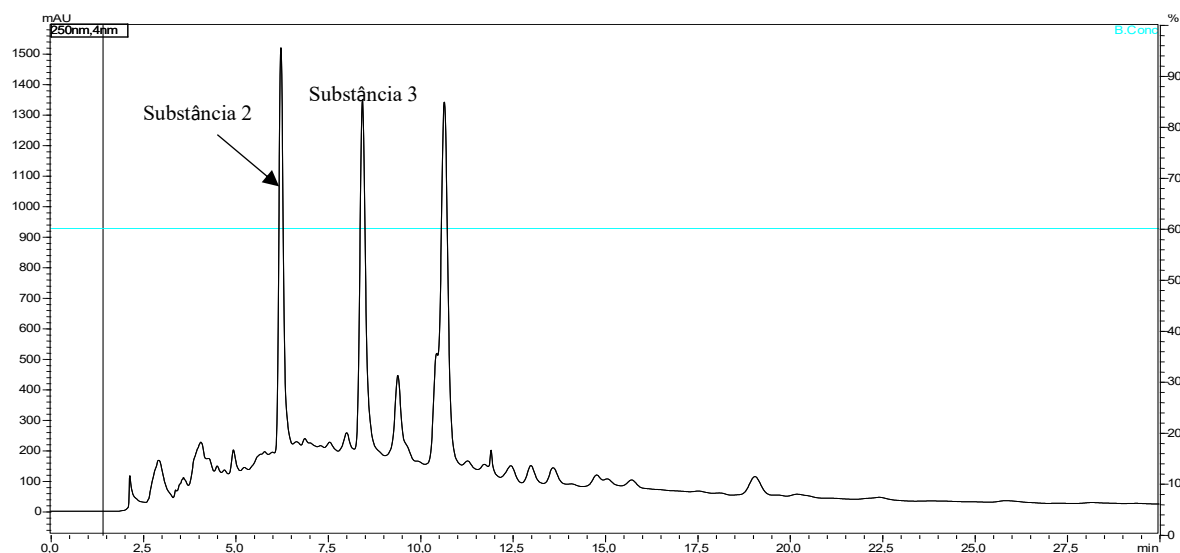


FIGURA 4.4- Cromatograma da SF3, no modo isocrático de eluição, usando H₂O:ACN na proporção 40-60%.

TABELA 4.3- Otimização cromatográfica de método de eluição para amostra SF3 para purificação de compostos

Tempo (min)	H ₂ O%	ACN%
0	40	60
15	40	60

4.1.4 Perfil cromatográfico e fracionamento de extrato de *Vismia guianensis*

A partir da análise cromatográfica, (figura 4.5), pode ser definido as proporções de solventes aplicados para o fracionamento, ademais foi definido que o melhor comprimento de onda a ser trabalhado em 254 nm. Os dados de proporções aplicadas para o fracionamento do extrato está presente na tabela 4.4. O rendimento para cada fração esta apresentados no FUXOGRAMA 2.

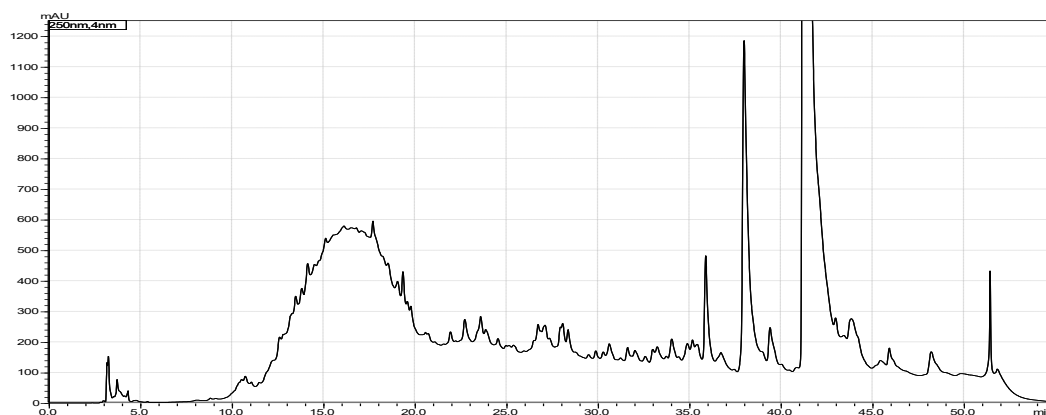
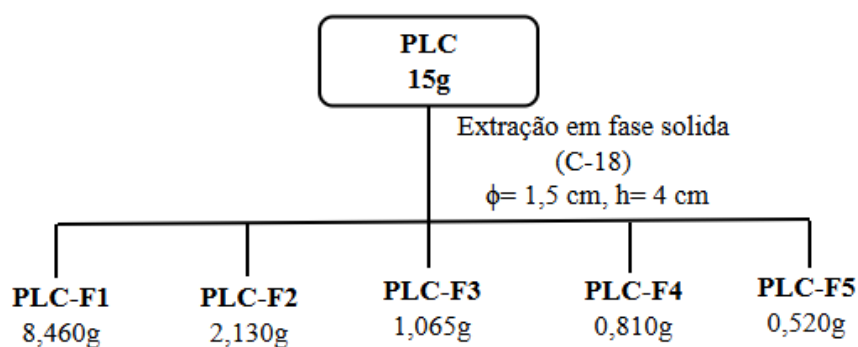


FIGURA 4.5- Perfil cromatográfico do extrato etanolico de *Vismia guianensis* em 254 nm.



FLUXOGRAMA 3- Fracionamento do extrato de *Vismia guianensis*.

TABELA 4.4- Proporções de solvente usados para o fracionamento do extrato de *Vismia guianensis*

Fração	H ₂ O%	ACN%	MeOH%	CHCl ₃ %
PLC-f1	50	50	-	-
PLC-f2	80	20	-	-
PLC-f3	-	100	-	-
PLC-f4	-	-	100	-
PLC-f5	-	-	50	50

4.1.5 Perfil cromatográfico e fracionamento da PLC-F1

Na figura 4.6, está apresentado revela o perfil cromatográfico da amostra PLC-F1. Devido a grande quantidade de compostos presentes da fração, foi necessário fracionar mais a amostra, como mencionado no item 3.2.7, o fluxograma 4 mostra as massas das frações reunidas com uso de CCD, baseado na sua similaridade, foi usado câmara de revelação UV no comprimento de onda de 254 nm para fazer a observação.

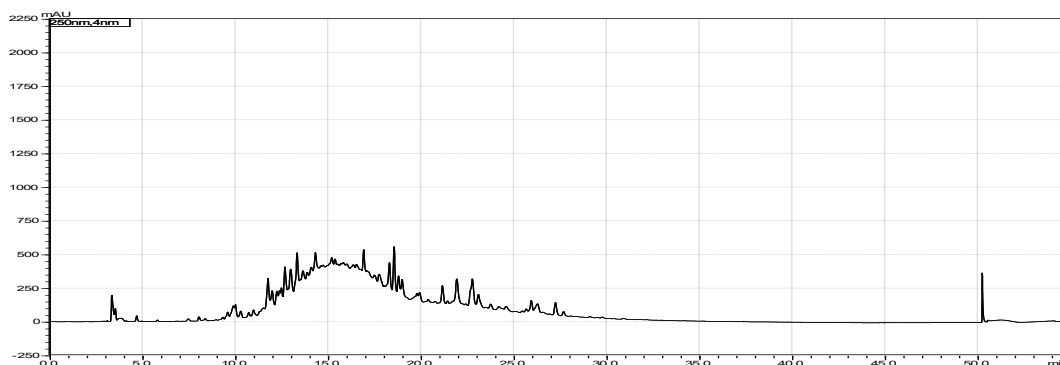
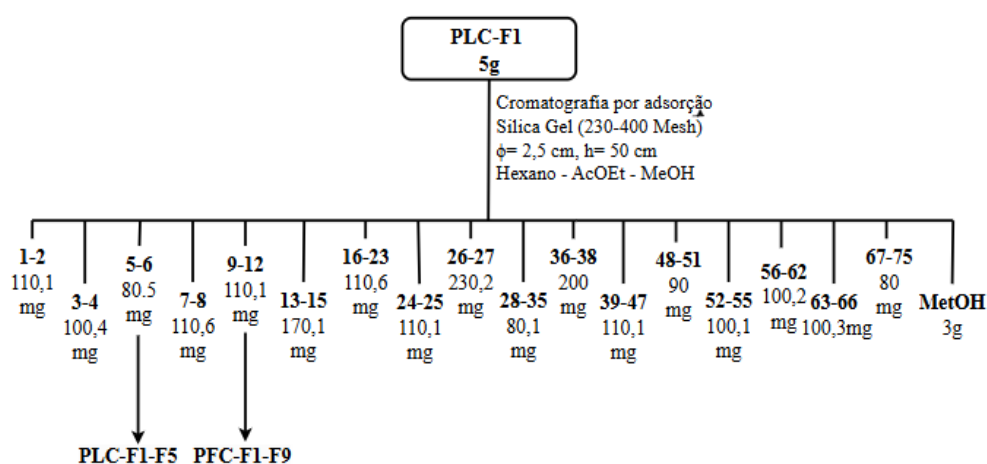


FIGURA 4.6- Cromatograma da Fração PLC-F1 monitorada pelo comprimento de onda de 254 nm.



FLUXOGRAMA 4- Refracionamento da fração PLC-F1.

4.1.6 Perfil cromatográfico e fracionamento da PLC-F1-F5

Ao analisar o perfil cromatográfico da fração PLC-F1-F5 (Figura 4.7), foi possível realizar a otimização das condições cromatográficas utilizando a proporção de 22:68% de H₂O:ACN. Após essa otimização, observou-se uma melhora significativa na resolução dos picos, favorecendo a separação dos constituintes e auxiliando no isolamento dos compostos, além da redução do

tempo total de análise para 30 minutos. Os compostos isolados, identificados como 9 e 10, encontram-se destacados na Figura 4.8.

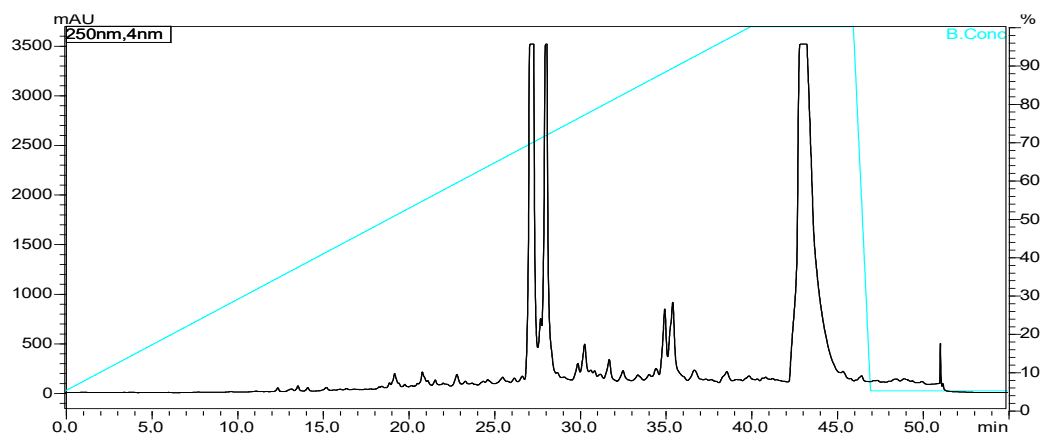


FIGURA 4.7- Cromatograma da fração PLC-f1-F5, obtido com eluição em gradiente e detecção à 250 nm.

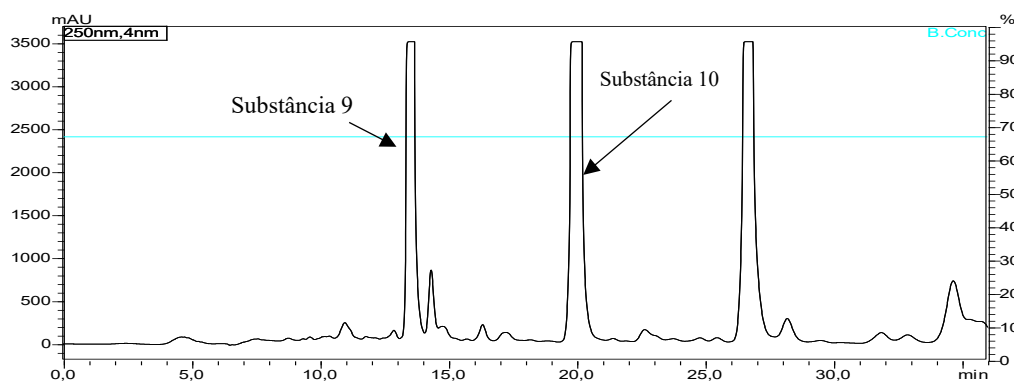


FIGURA 4.8- Cromatograma da fração PLC-F1-F5 para coleta, no modo isocrático de eluição e 250 nm de detecção.

4.1.7 Fracionamento da PLC-F2

Após a otimização cromatográfica, o método considerado ideal consistiu na eluição isocrático com 26:74 % de H₂O:ANC + ácido fórmico 0,1% em ambas das fases moveis, mantido até 60 minutos. A partir dessa fração, foram isolados 6 compostos. O cromatograma da amostra obtido sob as condições otimizadas está apresentado na Figura 4.9, na qual as bandas cromatográficas que

deram origem aos compostos isolados encontram-se devidamente numeradas, juntamente com seus respectivos tempos de retenção.

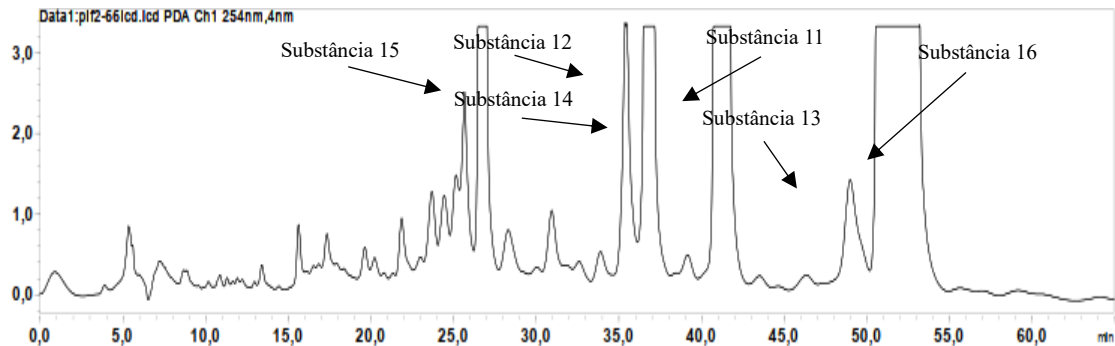
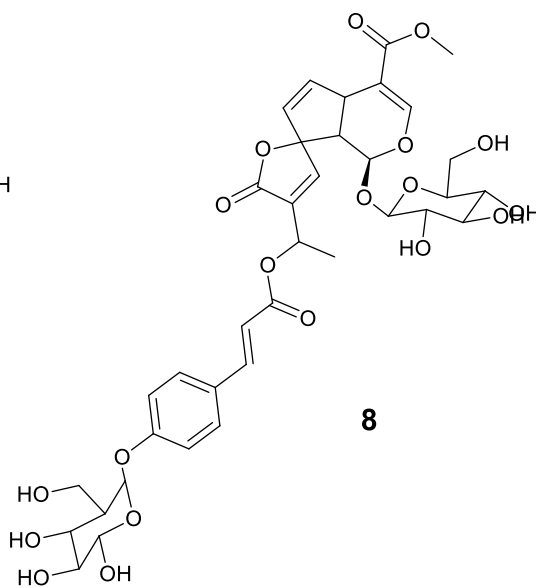
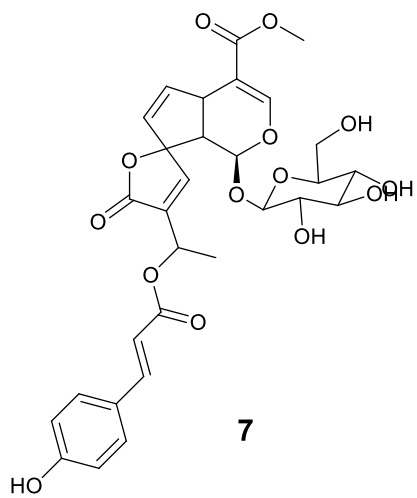
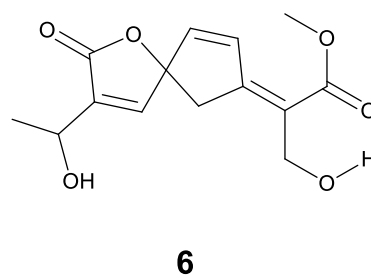
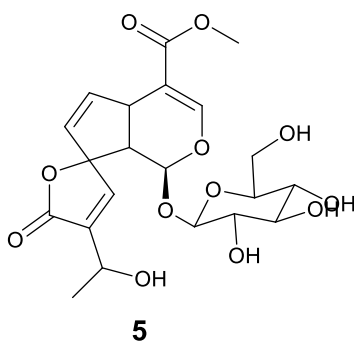
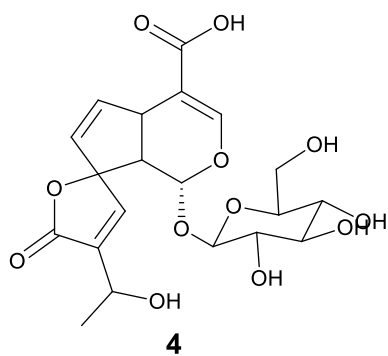
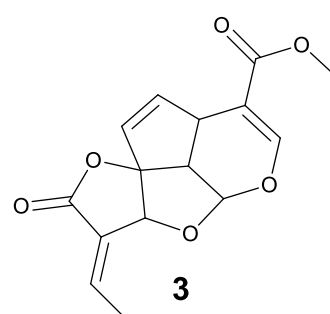
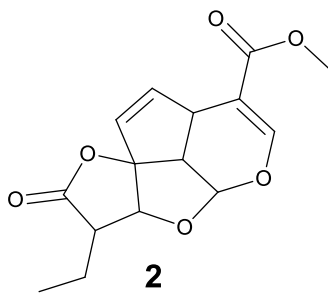
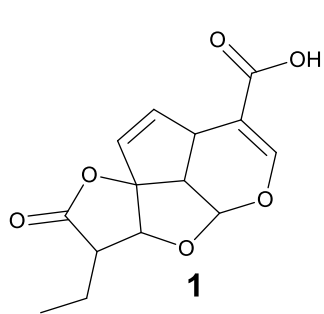


FIGURA 4.9– Perfil cromatográfico da PLC-F2, modo isocrático em λ 254nm.

4.1.8 Substâncias isoladas

Nesse estudo foram isolados metabolitos secundários das espécies de *Hymantatus articulatus* e *Vismia guianensis* (Aubl.) Choisy, dentre os quais foram isolados substancias da classes de iridoides, antraquinonas, benzofenonas e antranois, somando um total de 16 Substâncias, figura 4.10.



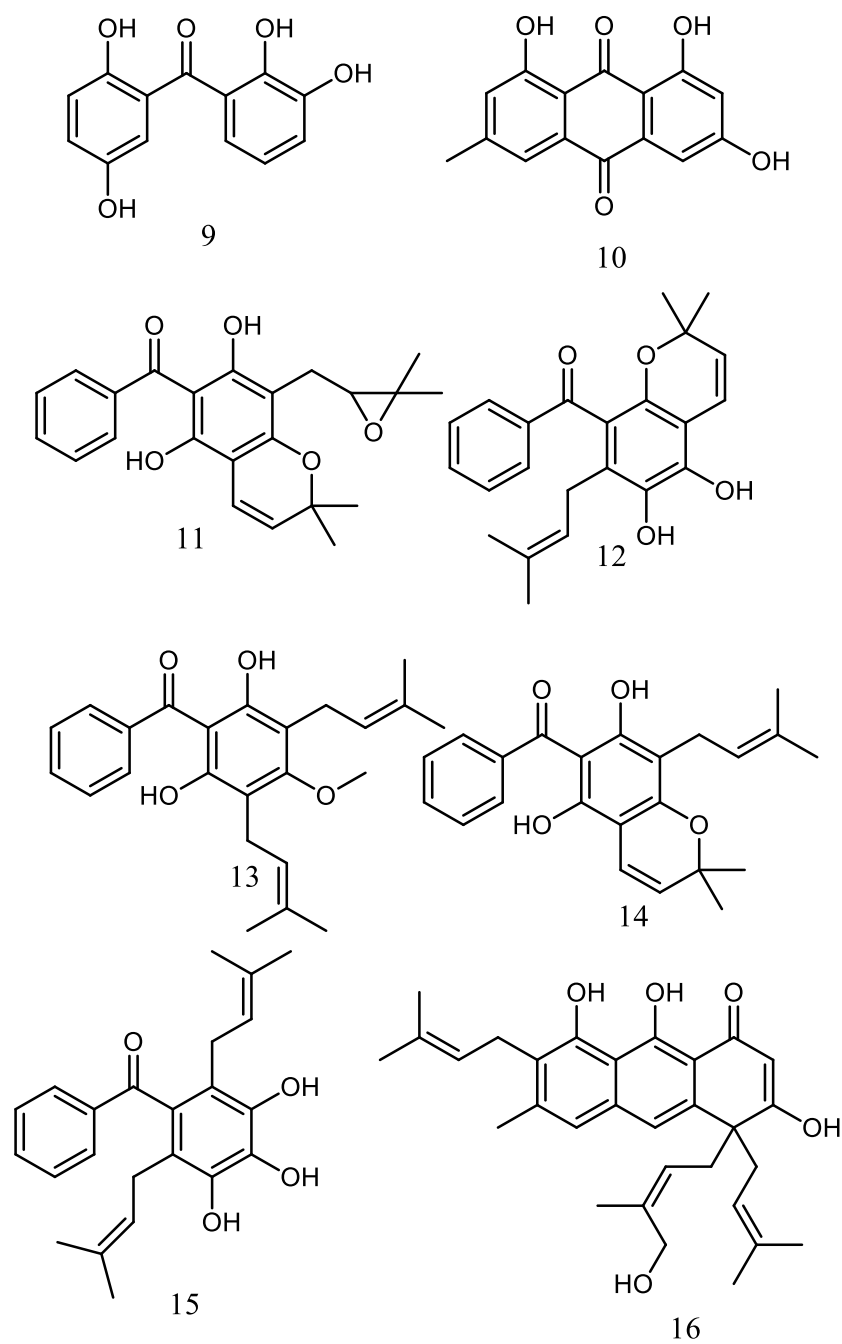


FIGURA 4.10 - Substâncias isoladas, classificadas em iridoides, benzofenonas, antraquinonas e antranol.

4.1.8.1 Substância 1- Ácido β -Dihydroplumericina

A substância 01- Ácido β -Dihydroplumericina, figura 4.11, foi isolada da casca de *H. articulatus* por meio de um extrato etanólico, presente na fração Sf-2, sendo sua estrutura determinada por experimentos de RMN de ^1H , ^{13}C , HSQC, COSY e EM de alta resolução (HRESI-MS). A validação da determinação estrutural foi assegurada pela comparação dos espectros obtidos com dados previamente publicados na literatura (BARRETO et al, 1998). Este processo foi crucial para garantir a consistência e confiabilidade na elucidação da estrutura molecular da substância 01. Os espectros complementares referentes a essa substância encontram-se apresentados no Apêndice A (Figuras A1–A5).

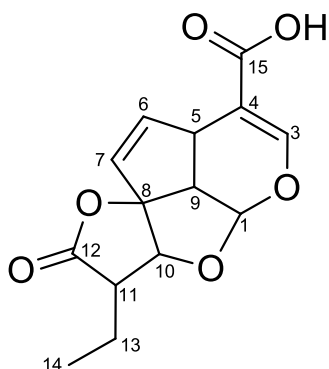


FIGURA 4.11- Estrutura química da substância 1.

A substância 01 apresentou características espectrais compatíveis com a estrutura de Ácido β -Dihydroplumericina ($\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{O}_6$). Os dados de RMN uni e bidimensionais confirmaram a presença de um esqueleto iridoidal, evidenciado pelos sinais em δ 3,96 (*d*, $J = 9,6$ Hz, 1H) para H-5 e δ 3,46 (*dd*, $J = 9,6; 6,0$ Hz, 1H) para H-9. A análise conjunta dos espectros de RMN ^{13}C e HSQC permitiu a atribuição completa dos carbonos do esqueleto (vide Tabela), destacando-se os sinais em δ 37,6 e 53,7, correspondentes aos carbonos C-5 e C-9, respectivamente, os quais participam da junção de anéis da molécula.

A partir desses dois sinais-chave, as demais atribuições foram realizadas com base nas correlações observadas no espectro HMBC. O hidrogênio

H-5 apresentou correlações com os carbonos C-9, C-1, C-4, C-7, C-6, C-3 e C-15, com deslocamentos em δ 53,7; 101,6; 107,7; 126,4; 141,4; 155,0 e 172,0, respectivamente. Apresentados na figura 4.12.

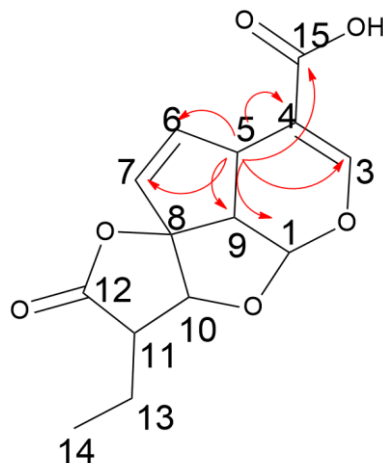


FIGURA 4.12- Principais correlações observadas no mapa de contorno HMBC para o sinal δ 3,96 (*d*, $J = 9,6$ Hz, 1H) para H-5.

A posição C-4 (δ 107,7) mostrou-se substituída por grupos sem hidrogênios, enquanto a análise do sinal em δ 155,0 (C-3) revelou, por HSQC, correlação com o Hidrogênio δ 7,56 (*s*, 1H), atribuído ao H-3. A ausência de acoplamento e a presença de um único pico (singleto) sugerem que H-3 está em um ambiente isolado, sem vizinhança de outros prótons, e provavelmente adjacente a um grupo retirador de densidade eletrônica. Pelo HMBC, o H-3 correlacionou-se com os carbonos C-5, C-9, C-1, C-4, C-6 e C-15, reforçando a substituição heteroatômica na vizinhança.

O sinal em δ 5,60 (*d*, $J = 5,9$ Hz, 1H), correlacionado no HSQC ao carbono δ 101,6 (C-1), foi atribuído ao H-1, caracterizando um hidrogênio alílico. As correlações de H-1 com os carbonos C-9 (53,8), C-8 (106,3) e C-3 (155,0) no HMBC apoiam essa atribuição.

Já os sinais de H-6 e H-7 foram observados em δ 6,08 (*dd*, $J = 8,9$; 5,1 Hz, 1H) e δ 5,66 (*d*, $J = 5,0$ Hz, 1H), respectivamente, compatíveis com hidrogênios olefinicos. A constante de acoplamento de 5 Hz indica um sistema *cis*

entre eles, e a constante de 9 Hz para H-6 sugere um acoplamento trans-diaxial com H-5, com um ângulo diedro próximo de 180°.

O sinal de H-7 correlacionou-se no HMBC com os carbonos C-5 (37,6), C-9 (53,7), C-8 (104,7) e C-6 (141,4). O sinal de C-8 (δ 104,7), conforme HSQC, trata-se de um carbono tetrassubstituído, também correlacionado com o próton H-9, reforçando seu papel como junção de anel, provavelmente de um sistema espirânico.

Até então, todas as atribuições estavam coerentes, mas ainda havia sinais remanescentes. Um deles, em δ 1,11 (*t*, $J = 7,4$ Hz, 3H), foi atribuído ao H-14, um grupo metílico terminal. Pelo HSQC, correlacionou-se com o carbono em δ 12,0 (C-14). O HMBC revelou correlação com os carbonos C-13 (22,8) e C-11 (48,8).

Os sinais em δ 1,13 (*m*) e δ 1,66 (*m*), cada um integrando para 1H, mostraram correlação com o carbono C-13, conforme observado no espectro de HSQC, sugerindo que se tratam de hidrogênios diastereotópicos. No experimento de HMBC, esses prótons apresentaram correlações com os carbonos C-14, C-11, C-10 (δ 86,8) e C-12 (δ 176,8). Adicionalmente, o espectro COSY evidenciou acoplamentos entre os prótons H-13, H-14 (δ 1,11, *t*) e H-11 (δ 2,77, *dd*, $J = 8,1$; 6,8 Hz), o que reforça a presença de um centro quiral em C-11 e de um ambiente assimétrico ao redor de C-13, justificando a diastereotopicidade dos hidrogênios ali presentes.

A presença de dois sinais distintos no espectro de ^1H RMN foi corroborada pela análise do mapa de contornos do HSQC, no qual observou-se a correlação de dois deslocamentos químicos diferentes com um único carbono (C-13). Esses sinais foram, portanto, atribuídos aos prótons H-13a e H-13b, ambos localizados em um carbono metilênico vizinho a um grupo metílico (H-14) e ao centro estereogênico em C-11, como ilustrado na figura 4.13.

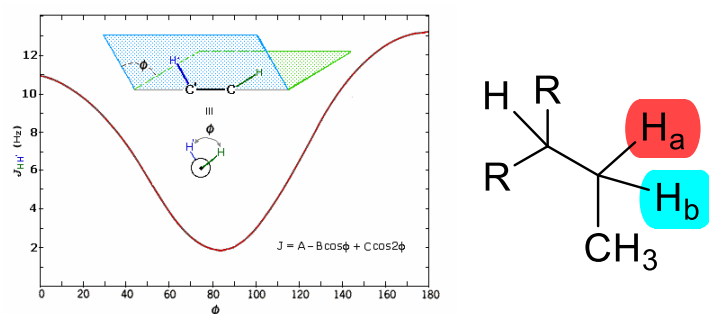


FIGURA 4.13– Relação entre o ângulo diedro (ϕ) e a constante de acoplamento vicinal (${}^3J_{\{H-H\}}$). A curva representa a equação de Karplus, descrevendo a variação da constante de acoplamento vicinal (${}^3J_{\{H-H\}}$, em Hz) em função do ângulo diedro ϕ entre os hidrogênios H_a e H_b . As projeções estruturais ilustram as diferentes orientações espaciais das ligações C–H, evidenciando as conformações que resultam em valores máximos e mínimos de acoplamento escalar. Claridge (2016).

Conforme a projeção apresentada na figura, a presença de multiplicidade de segunda ordem decorrente de sinais fortemente acoplados e a dificuldade em atribuir experimentalmente as constantes de acoplamento para os núcleos H-13 levaram à simulação do espectro no software FOMSC-3, utilizando-se os valores de J dos acoplamentos adjacentes. Inicialmente, espera-se que tanto H-13a e H-13b apresentem acoplamento com o grupo metila, resultando em um quarteto, o qual, por sua vez, acopla-se vicinalmente com H-11, originando um dubleto, e adicionalmente sofre acoplamento geminal entre H-13a e H-13b, resultando em uma multiplicidade do tipo ddq, conforme esperado para sistemas de primeira ordem.

Após a simulação, obtêm-se o espectro abaixo, comparado com o sinal observado experimentalmente:

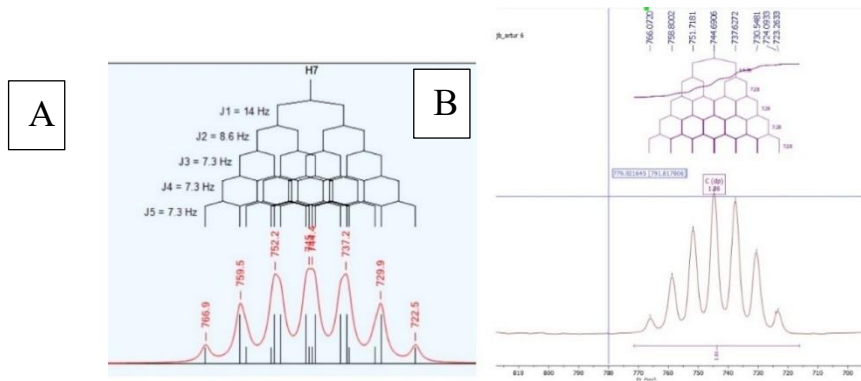


FIGURA 4.14- Espectro em comparação com teórico e experimental, em A: espectro teórico e B: espectro observado.

Após a simulação indicar a multiplicidade esperada, com alta resolução, para esse sinal tanto em H13a quanto em H13b, esta seria, como apresentado na figura a baixo:

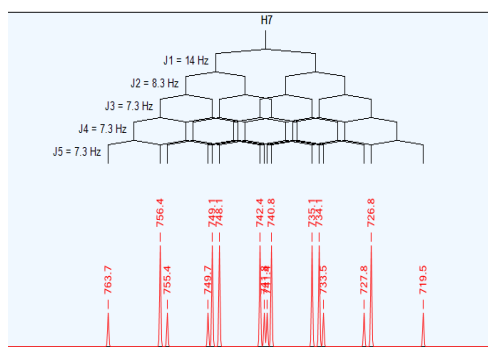


FIGURA 4.15- Espectro obtido através do programa de simulação de espectro FOMSC3, com maior resolução para o sinal H13 a e b.

Para o carbono C-11, o experimento de HMBC revelou correlações com os carbonos C-14 (δ 12,0), C-13 (δ 22,8), C-10 (δ 86,8), C-8 (δ 106,2) e C-12 (δ 176,8). A correlação observada com o carbono C-8 sustenta a proposta de formação de um anel espiro na estrutura. A conexão com C-10, que apresenta correlação no HSQC com o próton δ 4,40 (s, 1H), indica a presença de um grupo fortemente retirador de densidade eletrônica ligado a esse carbono, o que justifica seu deslocamento químico elevado. Por fim, o carbono C-12, que não apresenta hidrogênios acoplados e exibe um sinal compatível com uma função carboxílica,

contribui para a definição da conectividade e arquitetura final da molécula proposta.

As correlações observadas no espectro de HMBC, destacadas em vermelho, indicam interações de longo alcance (2J e 3J) entre os hidrogênios do grupo metileno em C-13 e os carbonos C-12 e C-14, bem como entre os hidrogênios de C-14 e o carbono carbonílico em C-12. Adicionalmente, foram observadas correlações entre os hidrogênios ligados a C-10 e os carbonos C-12 e C-13, permitindo estabelecer a conectividade entre esses fragmentos e confirmando a posição do substituinte lateral ligado ao esqueleto principal da molécula, figura 4.16.

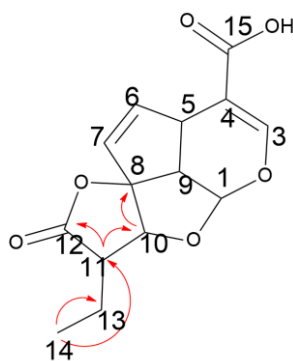


FIGURA 4.16- Correlações chaves mencionadas acima, observadas pelo mapa de contorno HMBC, para a porção inferior da substância 1.

Todos os dados obtidos puderam ser comparados com dados previamente descritos e estão compilados de modo comparativo na tabela 9.

TABELA 4.5- Dados de RMN de ^1H , ^{13}C comparado com dados da literatura

C	δ ^1H	δ ^{13}C	δ $^1\text{H(Lit.)}$ δ^*	δ $^{13}\text{C(Lit.)}$ δ^*
1	5,60 (<i>d</i> , $J = 6.0$ Hz, 1H)	101,6	5.62 (<i>d</i> , $J = 6.0$ hz, 1H)	101.3
3	7,56 (<i>s</i> , 1H)	155,0	7.58(<i>s</i> , 1H)	154.7
4	–	107,6	-	105.9
5	3,96 (<i>d</i> , $J = 9.7$ Hz, 1H)	37,6	3.96 (<i>td</i> , $J = 9.7, 2.0, 2.0$ Hz)	37.2
6	6,08 (<i>dd</i> , $J = 8.9, 5.1$ Hz, 1H)	141,3	5.68 (<i>dd</i> , $J = 6.0, 2.0$ Hz)	141.1
7	5,66 (<i>d</i> , $J = 5.0$ Hz, 1H)	126,1	6.09 (<i>dd</i> , $J = 6.0, 2.0$ Hz)	126.1

8	–	106,2	-	107.4
9	3,46 (<i>dd</i> , $J = 9.6, 6.0$ Hz, 1H)	53,73	3.48 (<i>dd</i> , $J = 9.7, 6.0$ Hz)	53.4
10	4,40 (<i>s</i> , 1H)	86,8	4.42 (<i>s</i>)	86.5
11	2,77 (<i>dd</i> , $J = 8.1, 6.8$ Hz, 1H)	48,8	2.77 (<i>dd</i> , $J = 8.6, 6.4$ Hz)	48.5
12	–	176,8	-	176.5
13	1,77 (<i>m</i>)	22,8	1.77 (<i>m</i> , $J = 8.6, 6.4, 7.4, 6.8$ Hz)	22.5
14	1,11 (<i>t</i> , $J = 7.4$ Hz, 3H)	12,0	1.12 (<i>t</i> , $J = 7.4, 6.8$ Hz)	11.7
15	–	172,0	-	171.9

Dados de RMN realizados no solvente CDCl_3 *(Veloso et al., 1999).

4.1.8.1.1 Espectro de massas para a substância Ácido β -Dihydroplumericina (Plumericina)

A proposta de fragmentação do composto foi elaborada a partir da análise do espectro de massas, no qual o íon precursor foi observado em $[\text{M} + \text{H}]^+$ 279.0859, condizente com a fórmula molecular de $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{O}_6$, apresentando um erro de massa de $-1,43$ ppm. Os espectros de MS e MS/MS encontram-se apresentados na Figura 4.18. Foi observada uma perda de 18 Da, atribuída à eliminação de uma molécula de água ($-\text{H}_2\text{O}$), resultando na formação do fragmento em m/z 261.

A partir do íon em m/z 261, ocorre uma reorganização estrutural acompanhada pela eliminação de uma unidade de (C=O), resultando no fragmento em m/z 191. Esse processo é favorecido pela formação de um sistema conjugado mais estável no núcleo lactônico da molécula.

Alternativamente, o íon em m/z 261 pode sofrer perda de monóxido de carbono ($-\text{CO}$), gerando o fragmento em m/z 233, mecanismo típico de compostos contendo funções carbonílicas ativadas. A partir desse intermediário, uma nova eliminação de $-\text{C}_4\text{H}_6\text{O}$ conduz à formação do fragmento em m/z 163.

O íon em m/z 163 é observado como um sistema estabilizado por ressonância, representado por duas estruturas canônicas, o que justifica sua

elevada intensidade relativa no espectro de massas. Dessa forma, os caminhos de fragmentação propostos explicam de maneira consistente os principais íons observados experimentalmente e corroboram a estrutura sugerida para o substância 1, conforme ilustrado na figura 4.17.

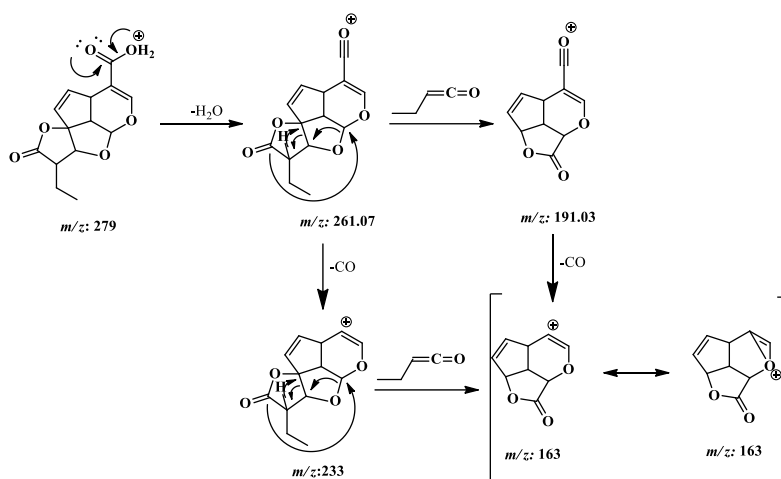


FIGURA 4.17- Proposta de fragmentação para a proposta estrutural da Substância 1.

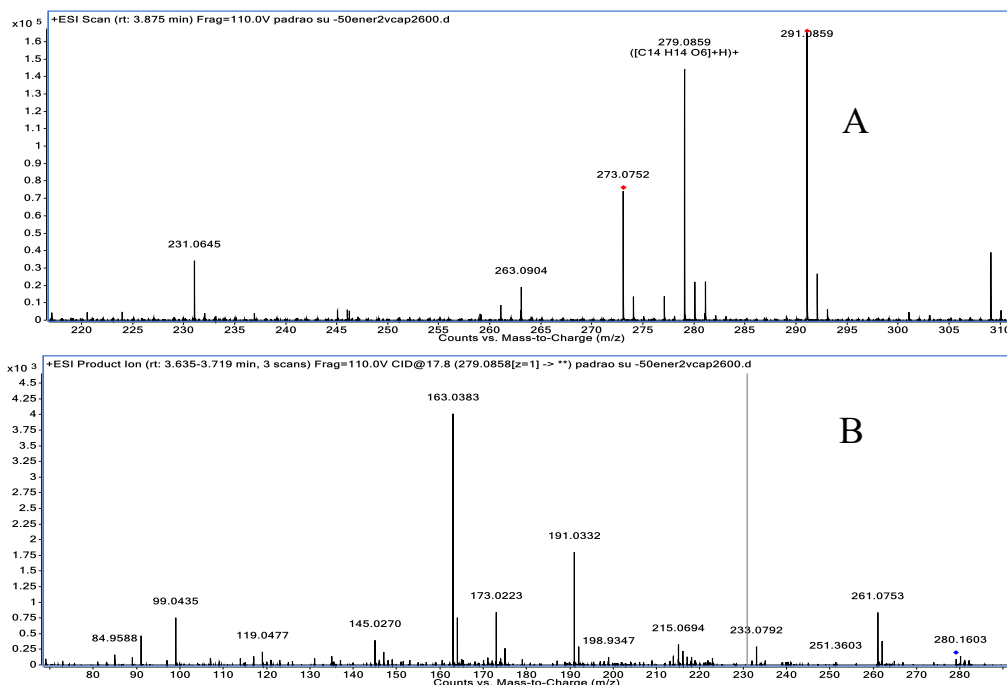


FIGURA 4.18- Espectro de massas de alta resolução (HRMS) da substância 1, compatível com a fórmula molecular $C_{14}H_{14}O_6$. (B) Espectro de fragmentação (MS/MS) do íon molecular protonado $[M+H]^+$ em m/z 279, evidenciando perdas neutras características e íons fragmentos que sustentam a estrutura proposta.

4.1.8.2 Substância 02- β -Dihydroplumericin

A substância 02 – β -Dihydroplumericina, (figura 4.19) foi isolada da casca de *Himatanthus articulatus* a partir de um extrato etanólico, da fração Sf-3. (Figura 4.19). Sua estrutura foi elucidada por meio de experimentos de RMN de ^1H , ^{13}C , HSQC, HMBC, COSY e espectrometria de massas de alta resolução (HRESI-MS). A validação estrutural foi confirmada pela comparação dos espectros obtidos com dados previamente publicados na literatura (BARRETO et al, 1998), assegurando consistência e confiabilidade na determinação da estrutura molecular. Os espectros complementares referentes a essa substância encontram-se apresentados no Apêndice A (Figuras A6–A10).

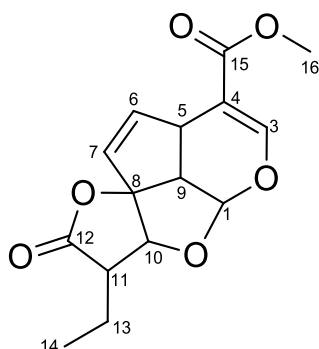


FIGURA 4.19- Estrutura química do iridoide 2.

A substância 02 demonstrou similaridade estrutural com a substância 01. No espectro de RMN de ^1H , observou-se um sinal em δ 3,76 ppm, integrando para três hidrogênios, indicando a presença de um grupo metílico, possivelmente decorrente de um processo de metilação figura 4.20. No experimento de HSQC, esse sinal apresentou correlação direta com um carbono em δ 51,8 ppm, sugerindo que o átomo de carbono se encontra ligado a um grupo eletronegativo ou retirador de densidade eletrônica.

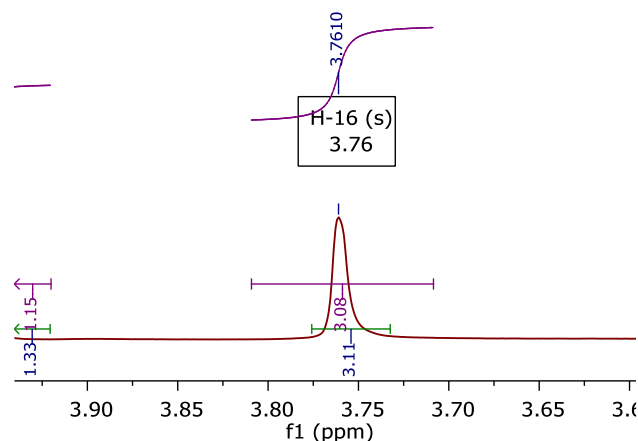


FIGURA 4.20- Espectro ampliado do sinal em 3.76 ppm integrando para 3H referente a esterificação da substância 2.

Além disso, no espectro de HMBC foi observada uma correlação com o sinal de carbono em δ 172 ppm, correspondente a um carbono de grupo acila (C=O), anteriormente atribuído ao C15 na estrutura da substância 01. Essa correlação indica a ocorrência de uma esterificação nessa posição, corroborando a proposta estrutural para a substância 02, apresentado da figura 4.21.

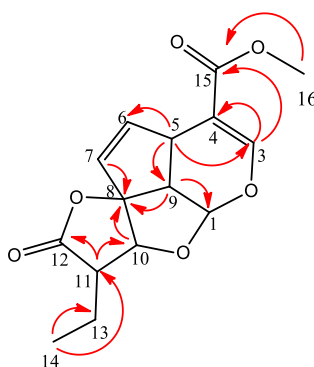


FIGURA 4.21- Mapa de contorno do experimento HMBC evidenciando as correlações-chave, com destaque para o cruzamento entre os prótons ligados a C-16 e o carbono carbonílico C-15, confirmando a conectividade estrutural proposta para essa região da molécula.

Os dados obtidos puderam ser comparados com aqueles reportados na literatura (BARRETO et al, 1998), conferindo maior confiabilidade à análise realizada (Tabela 4.6).

TABELA 4.6 - Dados de RMN de ^1H , ^{13}C da substância 2, comparado com dados da literatura

Nº	$\delta^1\text{H}$	$\delta^{13}\text{C}$	Lit. $\delta^1\text{H}$	Lit. $\delta^{13}\text{C}$
1	5,56 (<i>d</i> , $J = 5.9$)	101.6	5,58 (<i>d</i> , $J = 5.8$)	101.4
3	7,44 (<i>s</i>)	155.0	7,43 (<i>s</i>)	152.7
4	–	107.6	–	108.6
5	3,97 (<i>d</i> , $J = 9.6$)	37.6	3,97 (<i>td</i> , $J = 9.5; 2.1$)	37.9*
6	6,06 (<i>dd</i> , $J = 5.0, 1.0$)	141.3	6,08 (<i>dd</i> , $J = 5.5; 2.1$)	141.4
7	5,66 (<i>d</i> , $J = 5.0$)	126.1	5,66 (<i>dd</i> , $J = 5.5; 2.1$)	126.4
8	–	106.2	–	106.0
9	3,43 (<i>dd</i> , $J = 9.6; 6.0$)	53.73	3,43 (<i>dd</i> , $J = 9.5; 5.8$)	53.8
10	4,40 (<i>s</i>)	86.8	4,40 (<i>s</i>)	86.7
11	2,76 (<i>m</i>)	48.8	2,74 (<i>dd</i> , $J = 6.7; 1.8$)	48.8
12	–	176.8	–	176.5
13-a	1,66 (<i>m</i>)	22.8	1,76 (<i>m</i>)	22.7
13-b	1,86 (<i>m</i>)	22.8	–	22.7
14	1,11 (<i>t</i> , $J = 7.4, 3\text{H}$)	12	1,10 (<i>t</i> , $J = 7.3, 3\text{H}$)	11.9
15	–	172	–	166.6
16 (O-Me)	3,76 (<i>s</i>)	51.4	3,76 (<i>s</i>)	51.6

*Dados de RMN realizados no solvente CDCl_3 *(SOUZA et al., 2006).

4.1.8.2.1 Espectro de massas para a substância β -Dihydroplumericin

A proposta de fragmentação apresentada evidencia um padrão coerente com a estrutura do composto e com os íons observados no espectro de MS/MS. O íon precursor foi observado em m/z 293,1013, com erro de massa de $-2,38$ ppm, condizente com o íon $[\text{M} + \text{H}]^+$, correspondente à fórmula molecular $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{O}_6$. Os espectros de MS e MS/MS estão apresentados na Figura.4.22. Inicialmente, esse íon sofre perda neutra de uma molécula de água (-18 Da), originando o fragmento em m/z 275.09, o que sugere a ocorrência de uma desidratação intramolecular. Em seguida, observa-se a formação do fragmento em m/z 261.07, atribuída à eliminação adicional de um grupo hidroxila ou a rearranjos estruturais associados à estabilização do cátion formado. A partir desse

intermediário, a fragmentação prossegue por clivagens no anel e reorganizações internas, resultando no íon em m/z 215.06, compatível com perdas neutras sucessivas e com a abertura parcial do sistema policíclico, um processo frequentemente relatado para estruturas oxigenadas e condensadas submetidas à ionização por ESI em modo positivo.

Etapas subsequentes da fragmentação envolvem rearranjos estruturais mais profundos e a perda de pequenas moléculas neutras, como CO_2 , levando à formação de fragmentos de menor massa, notadamente o íon em m/z 177.05. A partir desse ponto, ocorrem isomerizações da dupla ligação e clivagens adicionais que favorecem a formação de um sistema aromático mais estável, culminando no fragmento em m/z 145.02, observado como um dos íons mais intensos do espectro. A recorrência desse fragmento final, obtido por diferentes rotas de fragmentação, sugere elevada estabilidade estrutural, sustentando a proposta mecanística apresentada. Dessa forma, o conjunto de perdas neutras, rearranjos e íons diagnósticos observados fornece forte suporte à elucidação estrutural do composto, sendo a proposta de fragmentação apresentada na Figura 4.23.

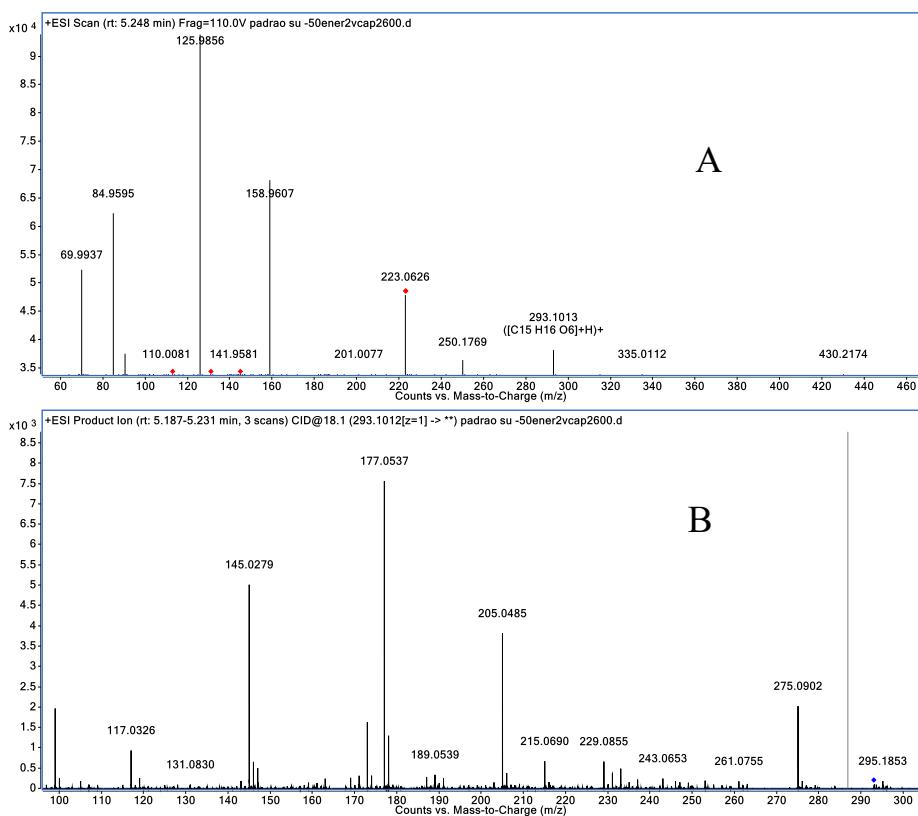


FIGURA 4.22- A: Espectros de MS e em B: MS/MS da substância 2.

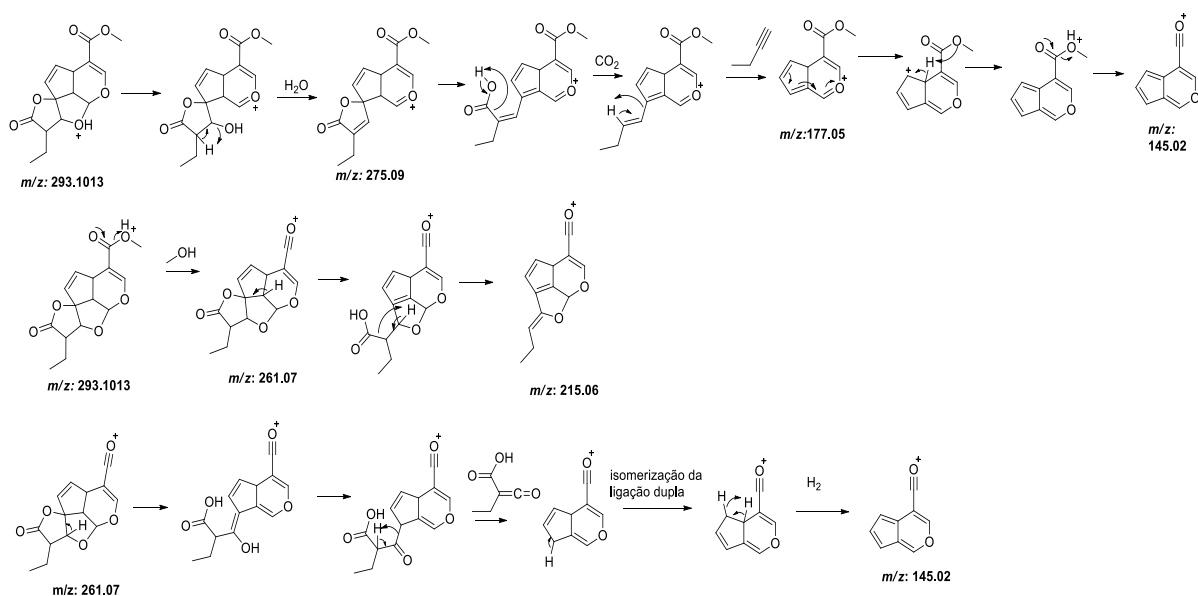


FIGURA 4.23- Proposta de fragmentação do composto com base nos dados de ESI-MS/MS (modo positivo), evidenciando o íon precursor em m/z 293.1013 e os principais fragmentos observados.

4.1.8.3 Substância 03- Plumericina

A substância 03 – Plumericina (figura 4.24), foi isolada da casca de *Himatanthus articulatus* a partir da fração Sf-3. Sua estrutura foi elucidada por meio de experimentos de RMN de ^1H , ^{13}C , HSQC, HMBC, COSY e espectrometria de massas de alta resolução (HRESI-MS). A validação estrutural foi confirmada pela comparação dos espectros obtidos com dados previamente publicados na literatura (BARRETO et al, 1998), assegurando consistência e confiabilidade na determinação da estrutura molecular. Os espectros complementares referentes a essa substância encontram-se apresentados no Apêndice A (Figuras A11–A15).

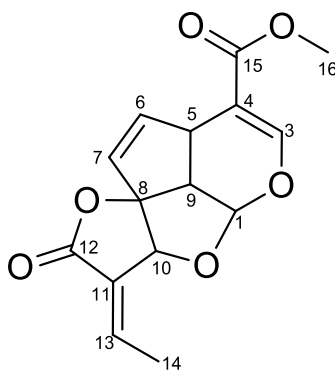


FIGURA 4.24- Estrutura química da substância 3.

A substância 03 apresentou similaridade estrutural com a substância 02. Entretanto, no espectro de RMN de ^1H observou-se a alteração da multiplicidade do sinal da metila em δ 2,08 ppm, que passou a apresentar-se como um duplete, bem como a ausência dos sinais atribuídos ao H-11 quando comparado à estrutura anterior. Adicionalmente, foi observado um sinal em δH 7,17 ppm, atribuído ao hidrogênio ligado ao carbono C-13, enquanto o respectivo deslocamento químico em RMN ^{13}C foi observado em δC 16,2 ppm. Esses dados sugerem a presença de uma insaturação entre as posições C-11 e C-13, sendo o sinal em δC 127,4 ppm atribuído ao carbono C-11.

No espectro de HMBC, foram observadas correlações entre os carbonos C-11 e C-13, as quais foram fundamentais para a confirmação do esqueleto carbônico e da posição relativa dos grupos funcionais no composto. Destacam-se ainda as correlações do carbono C-14 com os carbonos C-12, C-13 e C-11, correspondentes aos deslocamentos químicos em δC 168,2; 145,4 e 127,4 ppm, respectivamente, corroborando a proposta estrutural. No espectro de COSY, o hidrogênio em δH 7,17 apresentou correlação vicinal com o sinal de Hidrogenio de metila em δH 2,08, reforçando a presença de uma insaturação nessa região da estrutura da substância 03, figura 4.25.

Os dados espectroscópicos obtidos foram comparados com valores previamente reportados na literatura (BARRETO et al, 1998), sendo apresentados de maneira comparativa na Tabela 4.7.

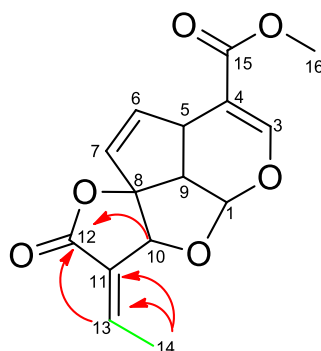


FIGURA 4.25- As linhas em verde representam as correlações observadas no COSY. As setas em vermelho indicam as correlações observados no HMBC 1H→13C.

TABELA 4.7- Dados de RMN de 1H , ^{13}C da substância 3, comparado com dados da literatura

Nº	δ 1H	δ ^{13}C	δ 1H (Lit)	δ ^{13}C (Lit)
1	5.56 (<i>d</i> , $J = 6.0$ Hz, 1H)	102.3	5.55 (<i>d</i> , $J = 5.5$ Hz)	102.1
3	7.44 (<i>s</i> , 1H)	152.7	7.43 (<i>s</i>)	152.5
4	-	109.4	-	109.2
5	4.01 (<i>dd</i> , $J = 9.2, 1.7$ Hz, 1H)	38.4	4.00 (<i>dd</i> , $J = 9.4, 1.6$ Hz)	38.2
6	6.04 (<i>d</i> , $J = 5.6$ Hz, 1H)	141.1	6.03 (<i>d</i> , $J = 5.5$ Hz)	140.9
7	5.65 (<i>d</i> , $J = 5.6$ Hz, 1H)	126.4	5.64 (<i>d</i> , $J = 5.5$ Hz)	126.2
8	-	104.6	-	104.4
9	3.43 (<i>dd</i> , $J = 9.2, 6.0$ Hz, 1H)	53.7	3.42 (<i>dd</i> , $J = 9.1, 6.0$ Hz)	53.5

10	5.11 (s, 1H)	80.3	5.10 (s)	80.1
11	-	127.4	-	127.2
12	-	166.7	-	166.5
13	7.17 (q, $J = 7.2$ Hz, 1H)	145.4	7.16 (q, $J = 7.1$ Hz)	145.2
14	2.08 (d, $J = 7.2$ Hz, 2H)	16.2	2.07 (d, $J = 7.1$ Hz)	16
15	-	168.3	-	168.1
16 (O-Me)	3.77 (s, 3H)	51.7	3.76 (s)	51.5

*Dados de RMN realizados no solvente CDCl_3 (KARDONO *et al.*, 1990).

4.1.8.3.1 Espectro de massas para a substância 3

A fragmentação do composto foi analisada a partir dos dados de ESI-MS/MS em modo positivo, nos quais o íon protonado $[M+H]^+$ foi observado em m/z 291.0851, apresentando erro de massa de $-4,12$ ppm. Os espectros de MS e MS/MS encontram-se apresentados na figura 4.26, enquanto a proposta mecânica de fragmentação está ilustrada na figura 4,27. A partir do íon precursor, observa-se inicialmente a formação do fragmento em m/z 273.07, indicando uma perda de -18 Da de H_2O , favorecidos pela presença de grupos oxigenados na estrutura. Em sequência, a fragmentação prossegue com clivagens adicionais do esqueleto molecular, resultando no íon em m/z 241.04, compatível com reorganizações estruturais e perdas neutras sucessivas, frequentemente observadas em sistemas policíclicos oxigenados sob ionização por ESI.

Etapas posteriores da fragmentação envolvem rearranjos mais profundos, incluindo isomerização da ligação dupla e clivagens seletivas, que conduzem à formação dos fragmentos em m/z 231.06 e m/z 213.05. A continuidade do processo resulta em perdas neutras de monóxido de carbono (CO), originando os íons em m/z 185.05 e, posteriormente, m/z 157.06. Esses fragmentos refletem a formação de sistemas conjugados e aromaticamente mais estáveis, o que explica sua recorrência no espectro. Dessa forma, a concordância entre os íons observados nos espectros, figura 4.26, e as rotas, figura 4.27, fornece forte suporte à elucidação estrutural do composto e à consistência do mecanismo de fragmentação.

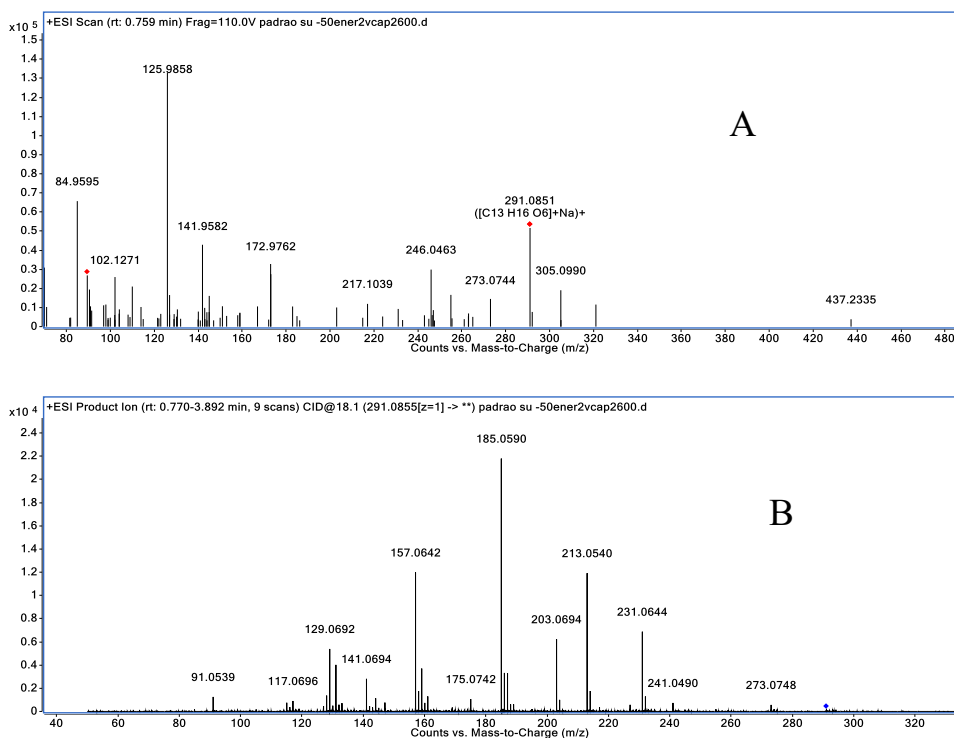


FIGURA 4.26- A: Espectros de MS e em B: MS/MS da substância 3.

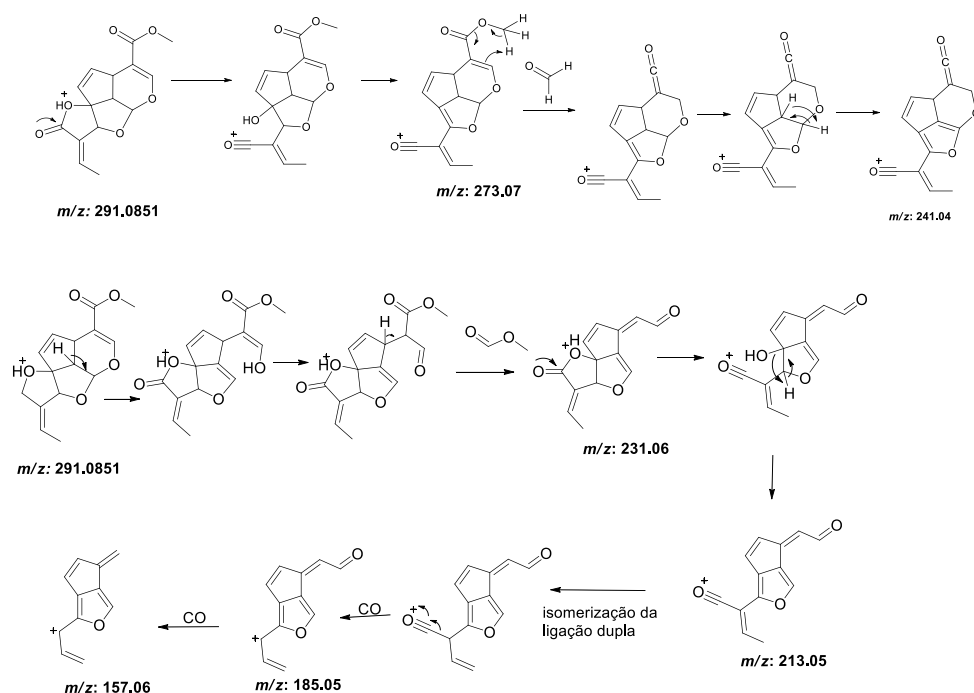


FIGURA 4.27- Proposta de fragmentação do composto com base nos dados de ESI-MS/MS (modo positivo de ionização), evidenciando o íon protonado $[M+H]^+$.

4.1.8.4 Substância 04- isoplumierídeo (esteroquímica em C-1 R)

A substância 04 – isoplumierídeo (esteroquímica em C-1 R) foi isolada da casca de *H. articulatus* a partir do extrato etanólico, estando presente na fração Sf-2. A determinação estrutural foi realizada por meio de experimentos de RMN de ^1H e ^{13}C , bem como técnicas bidimensionais HSQC, HMBC e COSY, além de espectrometria de massas de alta resolução (HRESI-MS).

A validação da elucidação estrutural foi assegurada pela comparação dos dados espectroscópicos obtidos com aqueles previamente descritos na literatura (BARRETO et al, 1998), garantindo a consistência e a confiabilidade da identificação da estrutura molecular da substância 04 (figura 4.28). Os espectros complementares referentes a essa substância encontram-se apresentados no Apêndice A (Figuras A16–A22)

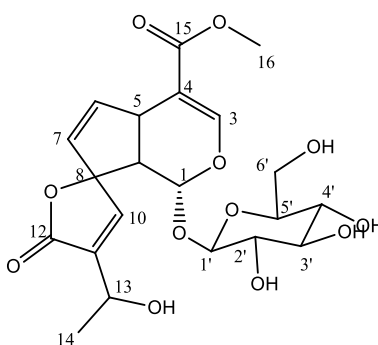


FIGURA 4.28- Estrutura química da substância 4.

A partir da análise do espectro de RMN de ^1H , foi possível verificar a presença de multipletos na região característica de glicosídeo, juntamente com um duplete em δH 4,8, integrando para 1H, atribuído ao hidrogênio anomérico (H-1') da unidade glicosídica.

No espectro de RMN de ^{13}C , observou-se a presença de seis sinais adicionais quando comparado à estrutura base dos iridoides previamente reportados na literatura (BARRETO et al, 1998). Esses sinais, localizados em δC 98,0; 74,6; 77,7; 71,1; 78,3 e 62,5 ppm, foram atribuídos aos carbonos C-1' a C-6', respectivamente, correspondentes a uma unidade de açúcar. A constante de acoplamento do hidrogênio anomérico (H-1') foi de aproximadamente 8 Hz, valor

compatível com uma configuração β -glicosídica. Devido os sinais no espectro de ^1H , na região de glicosilação estarem coalescidos não possível definir suas multiplicidades.

No espectro de mapa de contorno HMBC, foi possível observar uma correlação entre o C-1' da unidade glicosídica e um carbono em δC 94,1 ppm, atribuído à posição C-1 do iridoide lactonico discutido anteriormente, indicando que a glicosilação ocorre nessa posição. Além disso, o carbono C-13 foi observado em δC 63,5 ppm, sugerindo que ocorreu uma oxidação nessa posição, resultando na introdução de um grupo hidroxila (OH) como substituinte. Concomitantemente, o carbono C-10 passou a ser atribuído como uma olefina, apresentando sinal em δC 150,2 ppm. As principais correlações observadas no experimento HMBC estão apresentadas na figura 4.29.

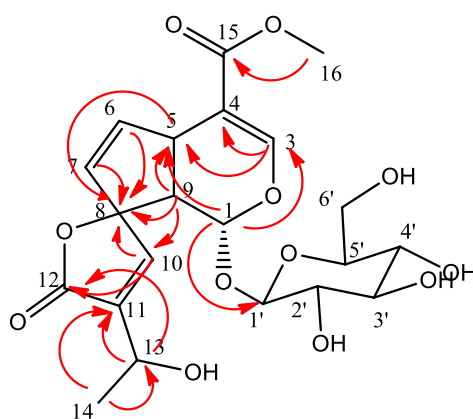


FIGURA 4.29- Correlações observadas via mapa de contorno HMBC $^1\text{H}\rightarrow^{13}\text{C}$.

Para o hidrogênio H-1 foi observada uma constante de acoplamento (J) de aproximadamente 5 Hz em relação ao H-9, o que indica um ângulo diedro estimado entre $30\text{--}40^\circ$, de acordo com a relação de Karplus. Esse valor é compatível com uma orientação pseudo-axial para H-1, sugerindo que o substituinte ligado ao C-1 se encontra em configuração relativa pseudo-equatorial. Essa disposição espacial está de acordo com a conformação proposta para o esqueleto iridoídico e é consistente com a estrutura apresentada na figura 35.

Todos os sinais de ^1H foram conferidos em relação as suas multiplicidades e estavam condizentes com a proposta estrutural aqui apresentada. Os dados espectroscópicos obtidos foram comparados com valores previamente reportados na literatura (BARRETO et al, 1998), sendo apresentados de maneira comparativa na Tabela 4.8.

TABELA 4.8- Dados de RMN de ^1H , ^{13}C da substância 4, comparado com dados da literatura.

Posição	δ ^1H	δ ^{13}C	δ ^1H (Lit)	δ ^{13}C (Lit)
1	5.18 (<i>d</i> , $J = 5$ Hz, 1H)	94.1	5,25 (<i>d</i> , $J = 4,8-5,5$)	94,5
3	7.49 (<i>d</i> , $J = 1.6$ Hz, 1H)	152.4	7,35 (<i>d</i> , $J = 1,5$)	152,0
4	-	111	-	111,2
5	3.92 (<i>m</i>)	40.1	3,85 (<i>dt</i> , $J = 2,5$; 1,2)	40,0
6	6.45 (<i>dd</i> , $J = 5.6, 2.5$ Hz, 1H)	145.4	6,40 (<i>dd</i> , $J = 5,6$; 2,4)	145,0
7	5.50 (<i>dd</i> , $J = 5.6, 2.5$ Hz, 1H)	130	5,48 (<i>dd</i> , $J = 5,6$; 2,0)	130,1
8	-	97.8	-	97,5
9	2.93 (<i>dd</i> , $J = 7.7, 4.8$ Hz, 1H)	50.5	2,90 (<i>dd</i> , $J = 7,5$; 4,8)	50,3
10	7.35 (<i>d</i> , $J = 1.4$ Hz, 1H)	150.2	7,30 (<i>d</i> , $J = 1,3$)	150,0
11	-	138.1	-	138,0
12	-	172.7	-	172,5
13	4.53 (<i>qd</i> , $J = 6.6, 1.4$ Hz, 1H)	63.4	4,50 (<i>qd</i> , $J = 6,5$; 1,3)	63,2
14	1.40 (<i>d</i> , $J = 6.6$ Hz, 1H)	22.4	1,38 (<i>d</i> , $J = 6,6$)	22,3
15	-	168.2	-	168,0
O-Me	3.74(<i>S</i>)	51.9	-	51,0
1'	4.66 (<i>d</i> , $J = 7.9$ Hz, 1H)	98	4,70 (<i>d</i> , $J = 7,8$) 3,18 (<i>dd</i> , $J = 8,8$; 7,8)	98,2
2'	3.17 (<i>dd</i> , $J = 8.9, 7.9$ Hz, 1H)	74.6	7,8)	74,5
3'	3.35 (<i>m</i>)	77.7	3,35 (<i>m</i>)	77,6
4'	3.17(<i>m</i>)	71.1	3,17 (<i>m</i>)	71,0
5'	3.29(<i>m</i>)	78.3	3,28 (<i>m</i>)	78,2
6'	3.79 (<i>m</i>)	62.5	3,78 (<i>m</i>)	62,4

*Dados de RMN realizados no solvente CD_3OD (LI *et al.*, 2019) e ROCHA *et al.*, 2007).

4.1.8.4.1 Espectro de massas para a substância Isoplumierídeo (esteroquímica em C-1 R)

A fragmentação do composto apresentada evidencia um comportamento típico de moléculas glicosiladas analisadas por ESI-MS/MS (figura 4.30), com destaque para a formação do aduto sodiado $[M + Na]^+$, observado em m/z 493,1310, apresentando erro de massa de $-1,21$ ppm, correspondente à fórmula molecular $C_{22}H_{26}O_{12}$. Os espectros de MS e MS/MS estão apresentados na Figura 4.30. A presença do cátion sódio favorece a ionização e direciona a fragmentação inicial para a clivagem da ligação glicosídica, resultando na liberação parcial ou total da unidade de açúcar. Esse processo leva à formação do fragmento em m/z 391.08, associado à perda do resíduo glicosídico com retenção do sódio, bem como ao íon em m/z 291.08, correspondente a glicose protonado, após a eliminação completa do açúcar. Esse padrão de fragmentação é consistente com compostos contendo múltiplos grupos hidroxila, nos quais o sódio atua como agente estabilizante durante as clivagens iniciais.

Em etapas subsequentes, o íon da aglicona formado em m/z 291.08 sofre perdas neutras adicionais, como a eliminação de $^{\circ}C_2H_5O$ $-45,04$ Da, culminando na formação do fragmento em m/z 246.04, indicativo de rearranjos estruturais e clivagens no esqueleto carbônico. A recorrência desses fragmentos sugere a ocorrência de rotas de fragmentação competitivas, envolvendo tanto a dissociação induzida pelo sódio quanto processos de desidratação e reorganização intramolecular. Dessa forma, a correlação entre os íons observados experimentalmente e as rotas propostas fornece suporte consistente à elucidação estrutural do composto e à presença de uma unidade glicosídica ligada a um núcleo aglicônico oxigenado. Mecanismo de fragmentação presente na figura 4.31.

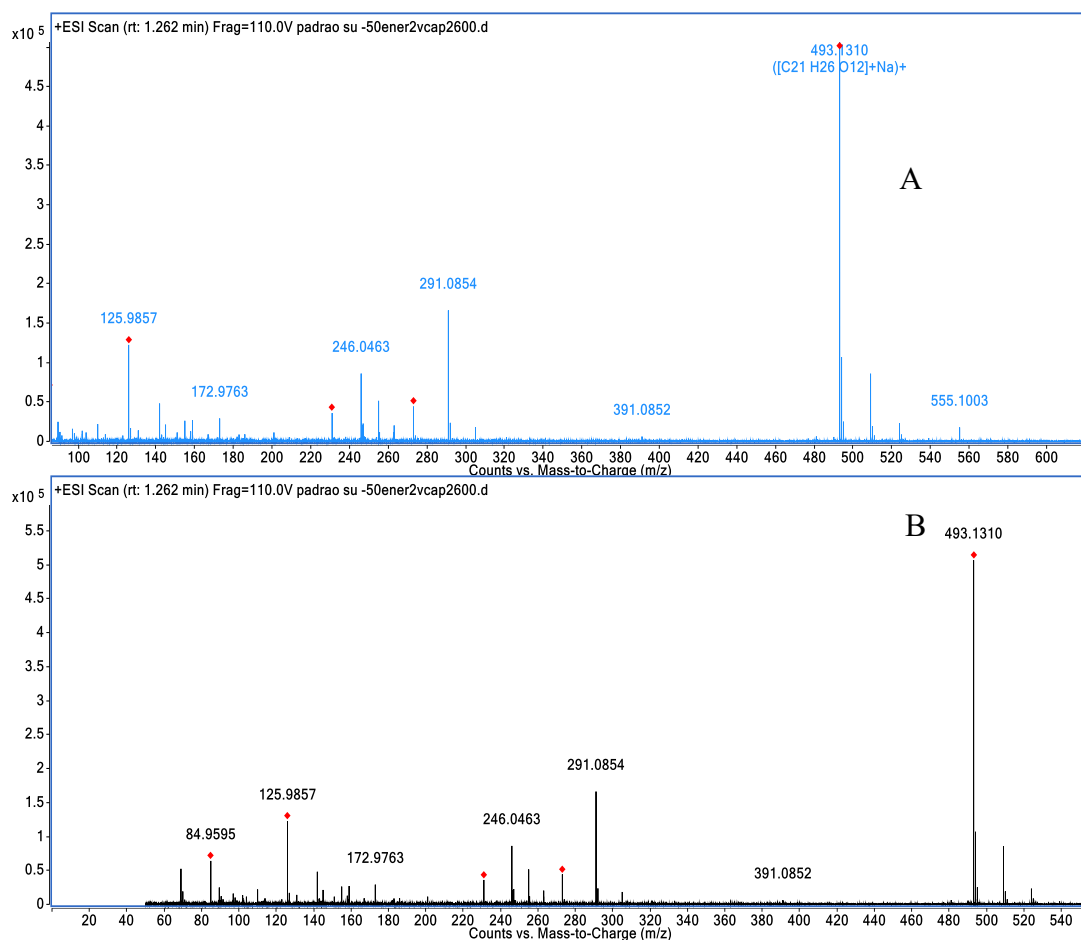


FIGURA 4.30- A: Espectros de MS e em B: MS/MS da substância 4.

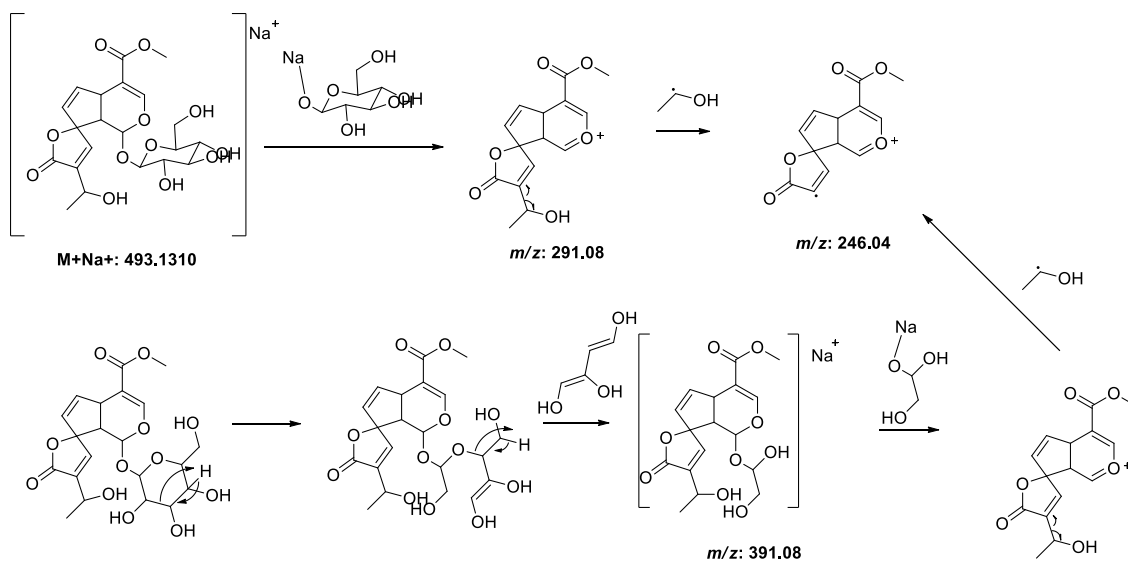


FIGURA 4.31- Proposta de fragmentação da substância 4 por ESI-MS/MS (modo positivo), destacando o aduto $[M+Na]^+$ em m/z 493.1310 ($\Delta = -1,21$ ppm).

4.1.8.5 Substância 05- isoplumierídeo isomérico (esteroquímica em C-1 S)

A substância 05 (figura 4.32) isoplumierídeo (esteroquímica em C-1 S) foi isolada da casca de *H. articulatus* a partir do extrato etanólico, estando presente na fração Sf-2. A determinação estrutural foi realizada por meio de experimentos de RMN de ^1H e ^{13}C , bem como técnicas bidimensionais HSQC, HMBC e COSY, além de espectrometria de massas de alta resolução (HRESI-MS).

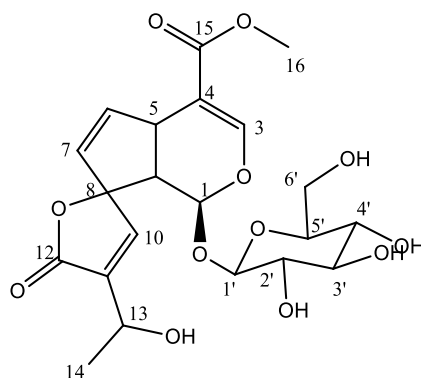


FIGURA 4.32- Estrutura química da substância 5.

A validação da elucidação estrutural foi assegurada pela comparação dos dados espectroscópicos obtidos com aqueles previamente descritos na literatura (BARRETO et al, 1998), garantindo a consistência e a confiabilidade da identificação da estrutura molecular da substância 05 (Figura 4.32). Os espectros complementares referentes a essa substância encontram-se apresentados no Apêndice A (Figuras A23–A29).

A única diferença observada em relação à substância anteriormente descrita foi a constante de acoplamento (J) do hidrogênio em C-1, que apresentou valor de aproximadamente 5 Hz no composto 5, enquanto para o composto em questão foi observado um valor reduzido de cerca de 2 Hz. Essa diferença indica a presença de um par de isômeros conformacionais/estereoisoméricos, nos quais,

no presente composto, o H-1 encontra-se quase ortogonal em relação ao H-9, com um ângulo diedro estimado entre 60–90°. Tal disposição espacial resulta em baixa sobreposição orbital, refletida na pequena constante de acoplamento observada, em concordância com a relação descrita pela equação de Karplus.

Todos os sinais de ^1H foram conferidos em relação as suas multiplicidades e estavam condizentes com a proposta estrutural aqui apresentadas. Os dados espectroscópicos obtidos foram comparados com valores previamente reportados na literatura (BARRETO et al, 1998), sendo apresentados de maneira comparativa na Tabela 4.9.

TABELA 4.9- Dados de RMN de ^1H , ^{13}C da substância 5, comparado com dados da literatura.

Posição	δ ^1H	δ ^{13}C	δ ^1H (Lit)	δ ^{13}C (Lit)
1	5.30 (<i>d</i> , $J = 2$ Hz, 1H)	92.5	5,25 (<i>d</i> , $J = 5,5$)	94,5
3	7.42 (<i>d</i> , $J = 1.6$ Hz, 1H)	152.1	7,35 (<i>d</i> , $J = 1,5$)	152,0
4	-	110.2	-	111,2
5	3.88 (<i>m</i>)	40.1	3,85 (<i>dt</i> , $J = 2,5; 1,2$)	40,0
6	6.58 (<i>dd</i> , $J = 5.6, 2.5$ Hz, 1H)	142.4	6,40 (<i>dd</i> , $J = 5,6; 2,4$)	145,0
7	5.51 (<i>dd</i> , $J = 5.6, 2.5$ Hz, 1H)	129.0	5,48 (<i>dd</i> , $J = 5,6; 2,0$)	130,1
8	-	99.6	-	97,5
9	3.04 (<i>dd</i> , $J = 7.7, 4.8$ Hz, 1H)	46.6	2,90 (<i>dd</i> , $J = 7,5; 4,8$)	50,3
10	7.34 (<i>d</i> , $J = 1.4$ Hz, 1H)	150.9	7,30 (<i>d</i> , $J = 1,3$)	150,0
11	-	140.4	-	138,0
12	-	173.0	-	172,5
13	4.58	63.5	4,50 (<i>qd</i> , $J = 6,5; 1,3$)	63,2
14	1.41 (<i>d</i> , $J = 6.6$ Hz, 1H)	22.2	1,38 (<i>d</i> , $J = 6,6$)	22,3
15	-	168.2	-	168,0
O-Me	3.74(<i>S</i>)	51.9	-	51.0
1'	4.60 (<i>d</i> , $J = 7.9$ Hz, 1H)	98.0	4,70 (<i>d</i> , $J = 7,8$)	98,2
2'	3.14 (<i>dd</i> , $J = 8.9, 7.9$ Hz, 1H)	74.6	3,18 (<i>dd</i> , $J = 8,8; 7,8$)	74,5
3'	3.34 (<i>m</i>)	77.7	3,35 (<i>m</i>)	77,6
4'	3.17(<i>m</i>)	71.1	3,17 (<i>m</i>)	71,0
5'	3.29(<i>m</i>)	78.3	3,28 (<i>m</i>)	78,2
6'	3.79 (<i>m</i>)	62.5	3,78 (<i>m</i>)	62,4

*Dados de RMN realizados no solvente CD_3OD . LI et al., 2019 e ROCHA et al., 2007).

4.1.8.5.1 Espectro de massas para a substância 5 (esteroquímica em C-1 S)

A análise por ESI-MS/MS do isômero da substância 5 revelou um comportamento espectrométrico praticamente idêntico ao do composto previamente descrito, diferindo apenas no tempo de retenção cromatográfico, que foi observado em 0,759 minutos, figura 4.33. A coincidência dos íons precursores e dos principais fragmentos gerados indica que ambos compartilham a mesma fórmula molecular e o mesmo padrão de substituição, reforçando a natureza isomérica da substância. A ausência de variações significativas no perfil de fragmentação sugere que as diferenças estruturais entre os compostos não afetam os sítios preferenciais de clivagem sob as condições de ionização empregadas.

O padrão de fragmentação observado para o isômero segue as mesmas rotas descritas para a substância 4, incluindo a formação do aduto sodiado $[M+Na]^+$ e a subsequente clivagem da ligação glicosídica, com geração dos fragmentos diagnósticos característicos. Dessa forma, a distinção entre os dois compostos está associada exclusivamente a diferenças sutis de conformação ou estereoquímica, refletidas no tempo de retenção cromatográfico, mas não no comportamento em MS/MS. Esses resultados corroboram a atribuição do composto como um isômero da substância 4 e evidenciam a proposta de fragmentação, descrito na figura 4.34.

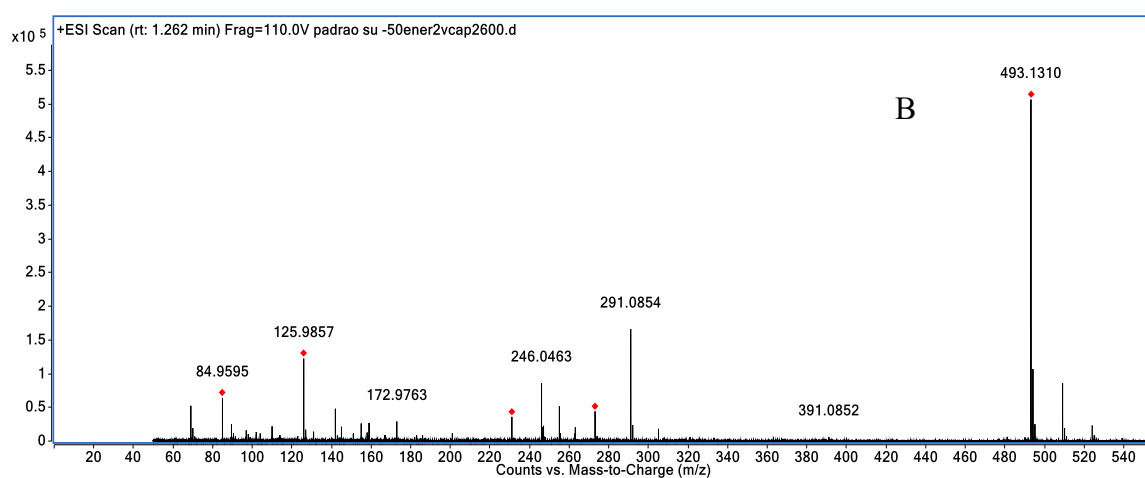
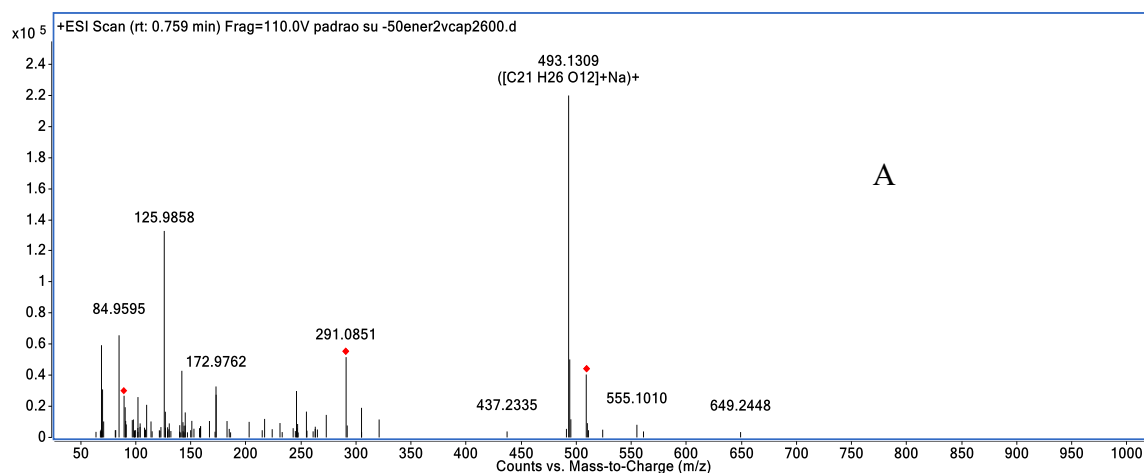


FIGURA 4.33- A: Espectros de MS e em B: MS/MS da substância 5.

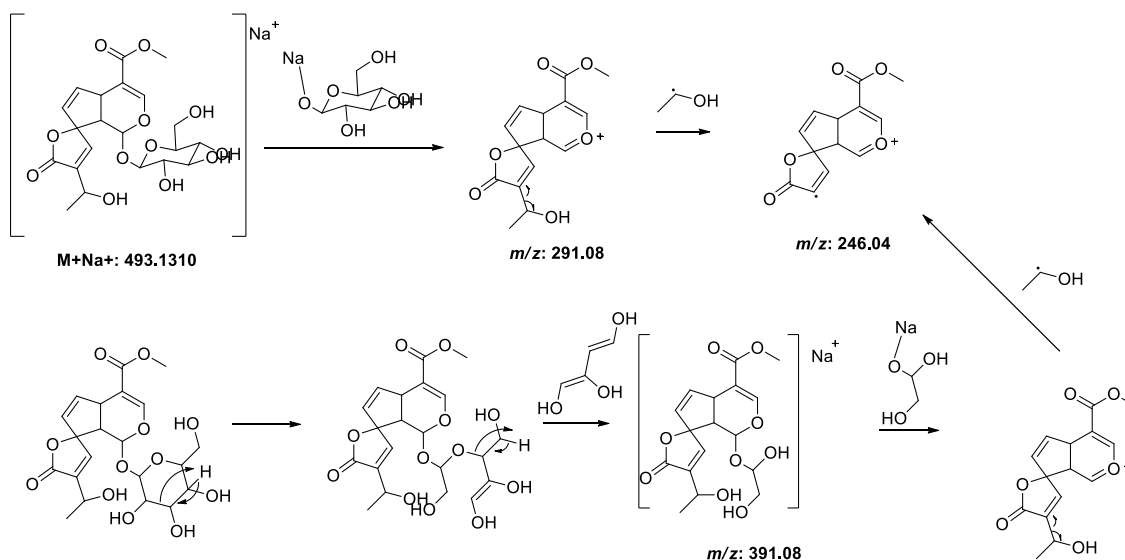


FIGURA 4.34- Proposta de fragmentação da substância 5 por ESI-MS/MS (modo positivo), destacando o aduto $[M+Na]^+$ em m/z 493.1310 ($\Delta = -1,21$ ppm).

4.1.8.6 Substância 06

A substância 06 (figura 4.35) – foi isolada da casca de *Himatanthus articulatus* a partir da fração Sf-2. Sua estrutura foi elucidada por meio de experimentos de RMN de ^1H , ^{13}C , HSQC, HMBC, COSY e espectrometria de massas de alta resolução (HRESI-MS). A validação estrutural foi confirmada pela comparação dos espectros obtidos com dados previamente publicados na literatura (BARRETO et al, 1998, 2007), assegurando consistência e confiabilidade na determinação da estrutura molecular. Os espectros complementares referentes a essa substância encontram-se apresentados no Apêndice A (Figuras A30–A37).

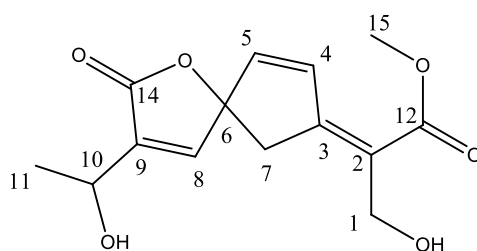


FIGURA 4.35- Proposta estrutural para o composto 6.

A substância 6 teve similaridade com os demais compostos em relação aos anéis de 5 membros que estavam unidos por um carbono espíro, no entanto, foi observado que o terceiro anel estava incompleto e agora acíclico.

O sinal em δH 4,32 (m) foi atribuído ao hidrogênio da posição H-1. A partir dessa atribuição, foi possível observar, por meio do mapa de contorno HMBC, correlações de longo alcance entre H-1 e os sinais em δC 125,0, 156,6 e 168,4, os quais foram atribuídos aos carbonos C-2, C-3 e C-12, respectivamente, conforme ilustrado na figura 4.36.

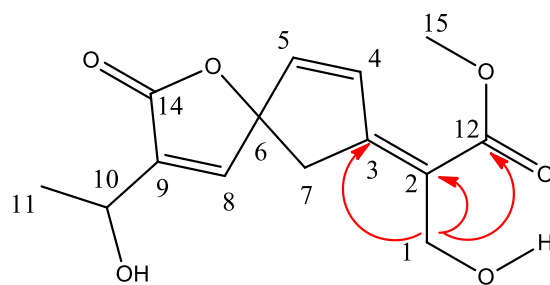


FIGURA 4.36- Mapa de contorno observados no HMBC $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$.

Outro sinal chave foi atribuído ao H-4, observado em δH 6,17 (*d*, $J = 5,5$ Hz). Esse sinal apresentou correlação no espectro $^1\text{H}-^1\text{H}$ COSY com o sinal em δH 7,51 (*d*, $J = 5,5$ Hz), indicando que esses hidrogênios estão em relação *cis* entre si. Adicionalmente, por meio do mapa de contorno HMBC, foram observadas correlações entre H-4 e os sinais em δC 40,5, 95,2, 138,4 e 156,0, os quais foram atribuídos aos carbonos C-7, C-6, C-5 e C-3, respectivamente, conforme apresentado na Figura 4.37.

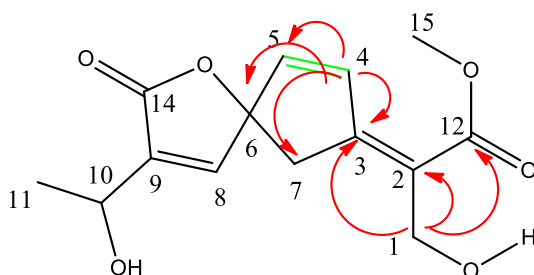


FIGURA 4.37- As linhas em verde representam as correlações observadas no COSY. As setas em vermelho indicam as correlações observados no HMBC $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$.

Ao analisar o espectro NOESY 2D, foi observada uma correlação espacial entre H-1 e H-7, indicando que esses hidrogênios se encontram no mesmo lado da dupla ligação, o que permite atribuir a essa porção estrutural a configuração geométrica *Z*. Dessa forma, não foi encontrado dados essa substância descrita na literatura. Os dados espectroscópicos obtidos foram compilados na Tabela 4.10.

TABELA 4.10- Dados de RMN de ^1H , ^{13}C da substância 6, com todas as correlações observadas em HMBC, COSY e NOESY

Nº	δ 1H	δ 13C	HMBC	COSY	NOESY
1	4.38 – 4.28 (<i>m</i> , 1H)	52.2	C-10, C9		H-7a e7b
2	-	125.2	-		-
3	-	156.2	-		-
4	6.17 (<i>d</i> , $J = 5.5$ Hz, 1H)	142.6	C-7, C6, C9 e C3	H-5	H-5
5	7.51 (<i>d</i> , $J = 5.5$ Hz, 1H)	138.4	C-7, C6, C4, C3	H-4	H-4
6	-	94.6	-	-	-
7a	3.09 (<i>d</i> , $J = 18.1$ Hz, 1H)	39.2	C-6, C-2, C5 e C3	-	-
7b	3.22 (<i>d</i> , $J = 18.2$ Hz, 1H)	39.2	C-2, C-5, C4, C8 e C3	-	-
8	7.25 (<i>d</i> , $J = 1.5$ Hz, 1H)	150.2	C-10, C-6, C-5, C-9 e C-14	H-10	H-7a e7b
9	-	139.3	-	-	-
10	4.55 (<i>qd</i> , $J = 6.5, 1.5$ Hz, 1H)	63.6	C-11, C-9 e C8	H-11	H-11
11	1.40 (<i>d</i> , $J = 6.5$ Hz, 1H)	22.3	C-10 e C-9	H-8	H-8
12	-	168.4	-	-	-
14	-	173.1	-	-	-
OMe 15	3.79 (<i>s</i> , 3H)	52.2	C-12	-	-

4.1.8.6.1 Espectro de massas para a substância 6

A proposta de fragmentação apresentada é compatível com um iridoide, classe de monoterpenoides caracterizada por um núcleo ciclopentano[c]pirânico. A observação do íon precursor como aduto sodiado $[M+Na]^+$ em m/z 303.0833 condizente com a fórmula molecular $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{O}_6$, apresentado na figura 4.38. As perdas iniciais de H_2O (m/z 285.07) e CO (m/z 275.08) refletem a presença de hidroxilas livres e de funções carbonílicas/lactônicas, comuns nesse tipo de metabólito secundário.

Fragmentações subsequentes, figura 4.39, envolvem perdas adicionais de pequenas moléculas neutras, como CO_2 , além de clivagens do esqueleto iridoídico, resultando em fragmentos de menor massa (m/z 243.09), sustentando a proposta de que o composto representado corresponde a um novo iridoide, ainda não descrito na literatura, cuja elucidação estrutural é apoiada pelo conjunto de dados espectrométricos.

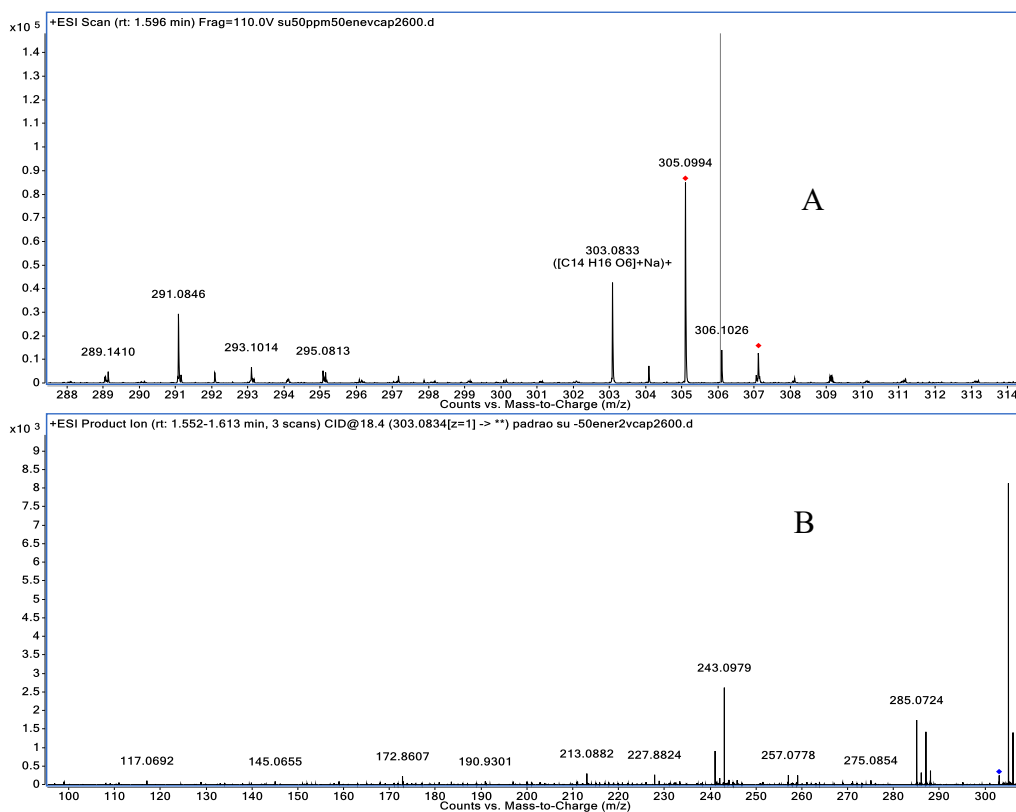


FIGURA 4.38- A: Espectros de MS e em B: MS/MS da substância 6.

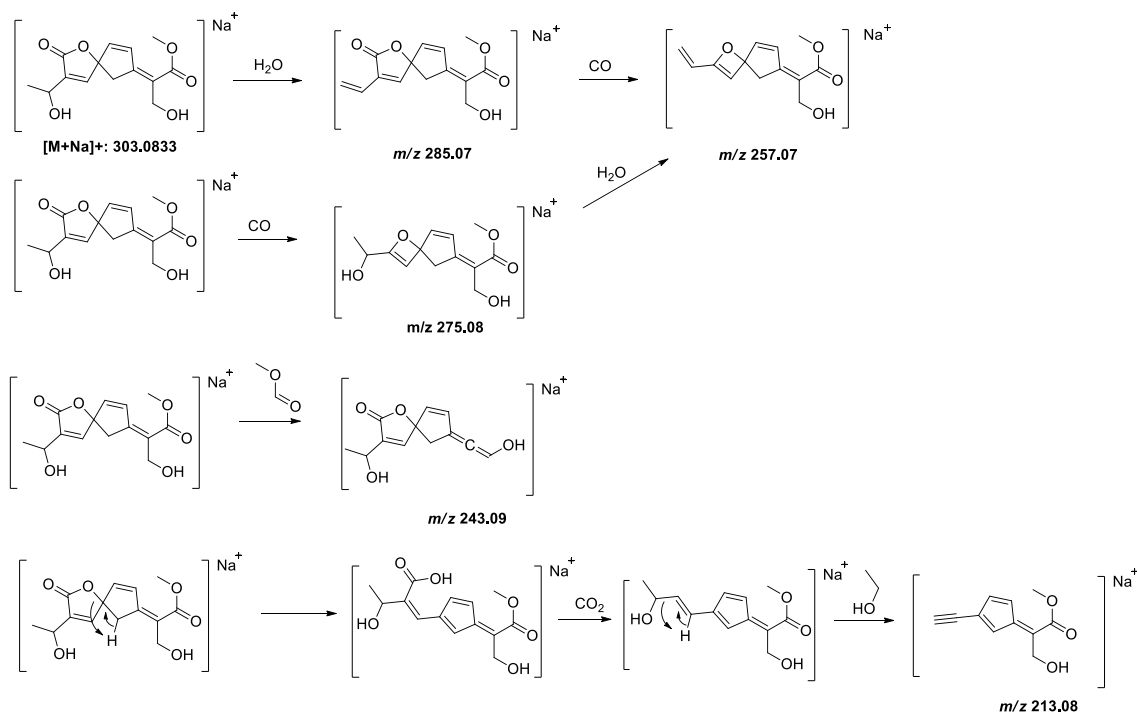


FIGURA 4.39 - Proposta de fragmentação da substância 6 por ESI-MS/MS (modo positivo), destacando o aduto $[M+Na]^+$ em m/z 493.1310 ($\Delta = -1.97$ ppm).

4.1.8.7 Substância 07- 15-demethyl-plumieride p-E-coumarate

A substância 07, (figura 4.40), 15-demethyl-plumieride p-E-coumarate foi isolada da casca de *Himatanthus articulatus* a partir da fração Sf-2. Sua estrutura foi elucidada por meio de experimentos de RMN de ^1H , ^{13}C , HSQC, HMBC, COSY e espectrometria de massas de alta resolução (HRESI-MS). A validação estrutural foi confirmada pela comparação dos espectros obtidos com dados previamente publicados na literatura (BARRETO et al. 2007), assegurando consistência e confiabilidade na determinação da estrutura molecular. Os espectros complementares referentes a essa substância encontram-se apresentados no Apêndice A (Figuras A38–A45).

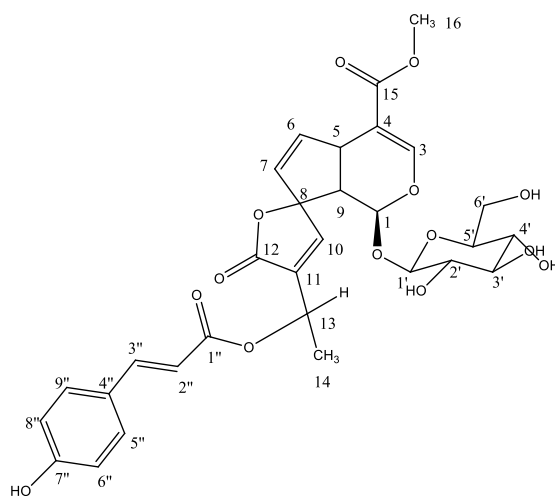


FIGURA 4.40- Estrutura química da substância 7.

A substância 7 se assemelha com a substância 05, com diferença estrutural com uma unidade de ácido p-cumárico, cuja presença de uma unidade de ácido *p*-cumárico no composto foi confirmada pelos dados de RMN. No espectro de RMN ^1H , observaram-se dois sinais característicos da dupla ligação conjugada em δH 6,37 (*d*, $J = 15,9$ Hz, H-2'') e δH 7,65 (*d*, $J = 15,9$ Hz, H-3''), cuja elevada constante de acoplamento é indicativa de configuração trans (E). No espectro de ^{13}C RMN, o sinal em δC 168,1 ppm foi atribuído à carbonila do grupo

éster (C-1''), corroborando a esterificação da unidade cumárica ao núcleo iridoídico. Adicionalmente, os sinais aromáticos em δH 7,47 (*s*, H-5''/H-9'') e δH 6,82 (*d*, $J = 8,4$ Hz, H-6''/H-8''), juntamente com o sinal em δC 161,3 ppm referente ao carbono fenólico (C-7''), são compatíveis com um anel aromático *para*-substituído, confirmando a atribuição da unidade de ácido *p*-cumárico na estrutura do composto.

As posições H-2'' e H-3'' apresentaram sinais em δH 6,37 (*d*, $J = 15,9$ Hz) e δH 7,65 (*d*, $J = 15,9$ Hz), respectivamente. A elevada constante de acoplamento observada ($J = 15,9$ Hz) é característica de dupla ligação em configuração *trans*, confirmando que a unidade de ácido *p*-cumárico encontra-se nesse isomerismo geométrico. No espectro de HMBC, foi observada correlação entre o H-13 (δH 5,69) e o carbono da carbonila C-1'' (δC 168,1), evidenciando o ponto de esterificação da unidade cumárica ao esqueleto iridoídico, conforme apresentado na figura 4.41.

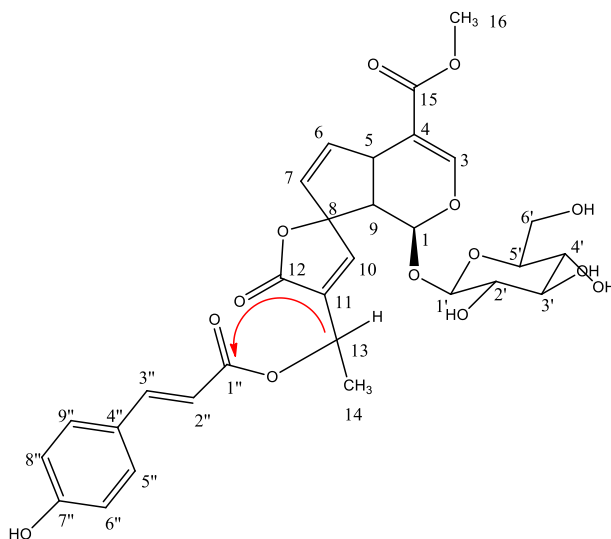


FIGURA 4.41- Seta em vermelho mostra a correlação de HMBC da substância 07.

Todos os sinais de ^1H foram conferidos em relação as suas multiplicidades e estavam condizentes com a proposta estrutural aqui apresentada.

Os dados espectroscópicos obtidos foram comparados com valores previamente reportados na literatura (Siddiqui *et al.*, 1993, XIA *et al.*, 2018), sendo apresentados de maneira comparativa na Tabela 4.11.

TABELA 4.11 - Dados de RMN de ^1H , ^{13}C comparado com dados da literatura

Nº	δH (ppm)	δC	δH (Lit)	δC (Lit)
1	5.28 (<i>d</i> , $J = 5.3$ Hz, 1H)	94.0	5.07 (<i>d</i> , $J = 5.7$, 1H)	94.1
3	7.52 (<i>d</i> , $J = 1.6$ Hz, 1H)	152.7	7.52 (<i>s</i>)	151.9
4	–	110.7	-	110.8
5	3.97 – 3.90 (<i>m</i> , 0H)	40.6	3.94(<i>ddd</i> , $J = 7.4, 2.4, 2.3$)	40.7
6	5.52 (<i>dd</i> , $J = 5.6, 2.2$ Hz, 1H)	129.4	5.54 (<i>dd</i> , $J = 5.6, 2.3$)	142.6
7	6.46 (<i>dd</i> , $J = 5.6, 2.4$ Hz, 1H)	142.0	5.54(<i>dd</i> , $J = 5.6, 2.3$)	129.3
8	–	98.1	-	98.0
9	2.92 (<i>dd</i> , $J = 7.5, 5.4$ Hz, 0H)	50.7	2.88 (<i>dd</i> , $J = 7.4, 5.7$)	51.0
10	7.49 (<i>s</i>)	152	7.49 (<i>d</i> , $J = 1.2$)	152.1
11	–	134.4	-	134.7
12	–	172.0	-	171.8
13	5.69 (<i>q</i> , $J = 6.5$ Hz, 1H)	66.1	5.70 (<i>dq</i> , $J = 6.6, 1.2$)	66.0
14	1.56 (<i>d</i> , $J = 6.6$ Hz, 1H)	19.6	1.56 (<i>d</i> , $J = 6.6$)	19.6
15	–	168.5	-	168.1
1'	4.72 (<i>d</i> , $J = 7.9$ Hz, 0H)	99.7	4.70 (<i>d</i> , $J = 7.9$)	100.4
2'	3.27 – 3.17 (<i>m</i> , 1H)	74.6	3.23 (<i>dd</i> , $J = 9.1, 7.9$)	74.6
3'	3.42 – 3.32 (<i>m</i> , 1H)	77.7	3.42 (<i>dd</i> , $J = 9.1, 8.0$)	77.7
4'	3.27 – 3.17 (<i>m</i> , 1H)	71.5	3.38 (<i>dd</i> , $J = 9.1, 8.0$)	71.7
5'	3.42 – 3.32 (<i>m</i> , 1H)	78.5	3.5 (<i>ddd</i> , $J = 9.1, 5.3, 2.8$)	75.9
6'	3.65 (<i>dd</i> , $J = 11.9, 5.9$ Hz, 2H)	62.7	4.35 (<i>dd</i> , $J = 11.9, 2.8$)	64.6
1''	-	168.1	-	168.4
2''	6.37 (<i>d</i> , $J = 15.9$ Hz, 1H)	114.6	6.35(<i>d</i> , $J = 15.9$)	114.8
3''	7.65 (<i>d</i> , $J = 15.9$ Hz, 1H)	147.3	7.66(<i>d</i> , $J = 15.9$)	147.3
4''	-	127.0	-	127.1
5''	7.47 (<i>s</i> , 1H)	131.3	7.47 (<i>d</i> , $J = 8.7$)	131.3
6''	6.82 (<i>d</i> , $J = 8.4$ Hz, 1H)	116.9	6.80 (<i>d</i> , $J = 8.7$)	116.9
7''	-	161.3	-	161.4
8''	6.82 (<i>d</i> , $J = 8.4$ Hz, 1H)	116.9	6.81 (<i>d</i> , $J = 8.7$)	161.4
9''	7.47 (<i>s</i> , 1H)	131.3	7.47 (<i>d</i> , $J = 8.7$)	131.3
16				
OMe	3.74 (<i>s</i> , 1H)	52.0	3.75 (<i>s</i>)	52.0

*Dados de RMN realizados no solvente CDCl_3 (Siddiqui *et al.*, 1993), (XIA *et al.*, 2018).

4.1.8.7.1 Espectro de massas para a substância 7

O espectro de massas do iridoide glicosilado, figura 4.42 apresenta íon molecular como aduto de sódio em $[M + Na]^+$ 639,16, condizente com a fórmula molecular $C_{30}H_{32}O_{14}$, consistente com uma estrutura contendo núcleo iridoídico, em concordância com a estrutura proposta. A fragmentação inicial envolve a clivagem da porção glicosídica, originando o íon m/z 437,12, correspondente à perda neutra de -180.06 Da, atribuída à eliminação da unidade açúcar ou de parte dela. Em seguida, observa-se a formação do íon m/z 291,08,05, resultante de nova fragmentação da cadeia lateral oxigenada, indicando a instabilidade dessa região sob ionização.

Nos experimentos de MS/MS, o íon em m/z 437,12 sofre sucessivas perdas de monóxido de carbono, gerando os fragmentos m/z 328,07, m/z 291,08 e - 206.06 Da, cada um associado a perdas características de sistemas iridoídicos conjugados e carbonilados. O espectro de MS e MS/MS é apresentado na Figura 4.42, e o esquema proposto de fragmentação do iridoide glicosilado encontra-se ilustrado na Figura 4.43.

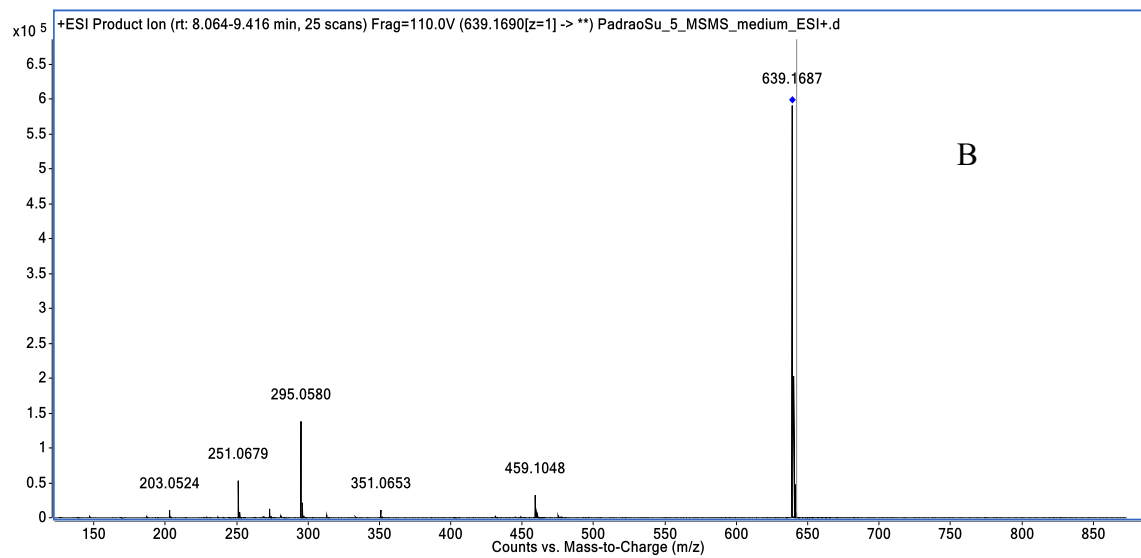
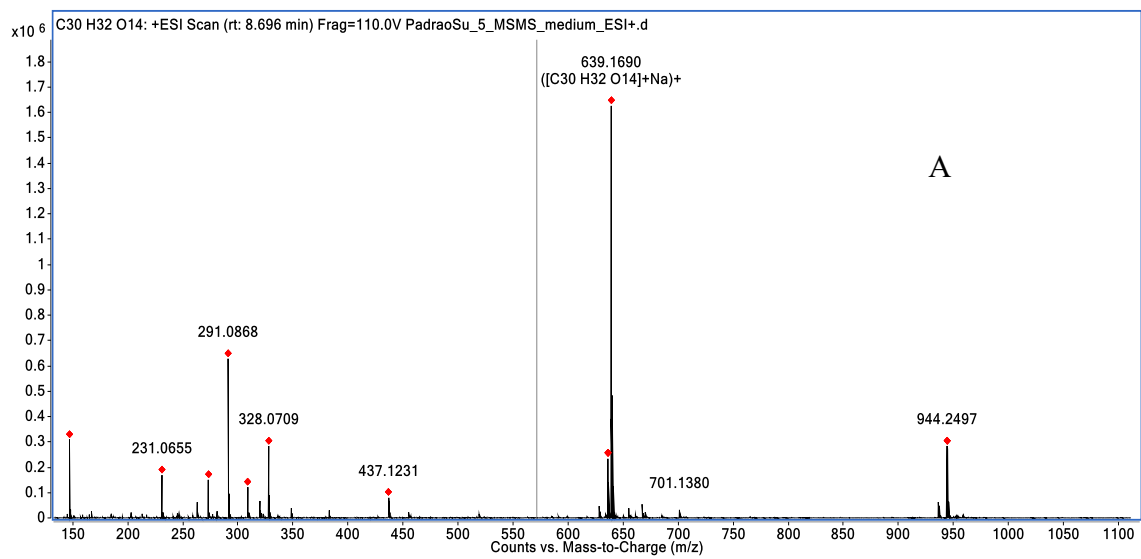


FIGURA 4.42- A: Espectros de MS e em B: MS/MS da substância 7.

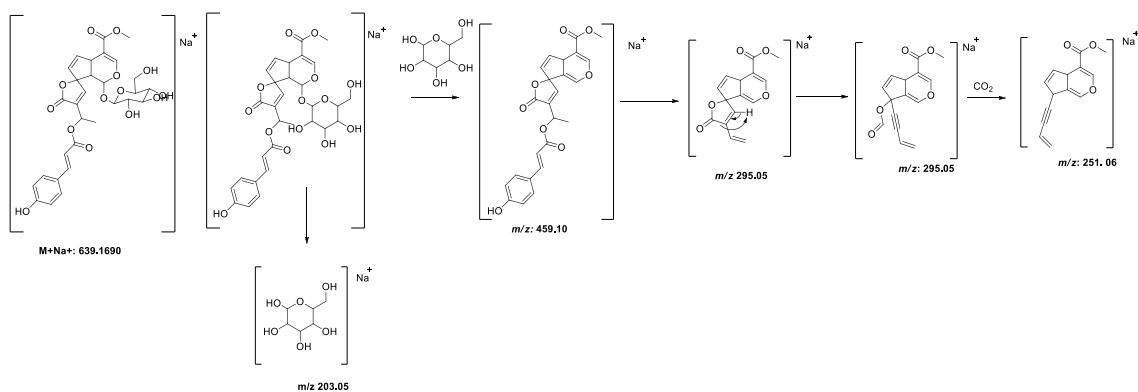


FIGURA 4.43- Proposta de fragmentação da substância 7 por ESI-MS/MS (modo positivo), destacando o aduto $[M+Na]^+$ em m/z : 639.1690 ($\Delta = 0.93$ ppm).

4.1.8.8 Substância 08, 1 α -Protoplumericina B

A substância 08, figura 4.44, foi isolada da casca de *Himatanthus articulatus* a partir da fração Sf-2. Sua estrutura foi elucidada por meio de experimentos de RMN de ^1H , ^{13}C , HSQC, HMBC, COSY e espectrometria de massas de alta resolução (HRESI-MS). A validação estrutural foi confirmada pela comparação dos espectros obtidos com dados previamente publicados na literatura, assegurando consistência e confiabilidade na determinação da estrutura molecular. Os espectros complementares referentes a essa substância encontram-se apresentados no Apêndice A (Figuras A46–A55).

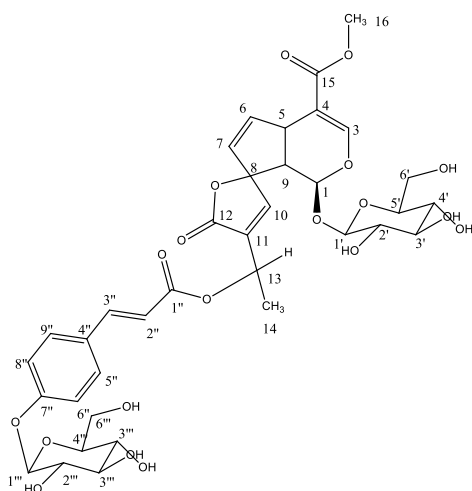


FIGURA 4.44- Estrutura química da substância 8.

No espectro de RMN de ^{13}C foi observada a presença de seis sinais adicionais atribuídos aos carbonos de unidades glicosídicas, bem como a observação de dois carbonos do tipo CH_2 , correspondentes aos grupos metilênicos dos açúcares. Com base nessas evidências espectroscópicas, foi proposta como modificação estrutural a presença de duas unidades glicosídicas na molécula. No espectro de ^1H , foi observado que os Hidrogênios $8''$ e $6''$ sofreram efeito de desproteção, ficando mais desblindados em comparação com a estrutura anterior.

No espectro de HMBC, o sinal em δH 4,96 (*d*), atribuído ao hidrogênio anomérico $\text{H}-1'''$, apresentou correlação de longo alcance com o carbono em δC 161,0, designado como $\text{C}-7''$ do anel aromático, sugerindo que a unidade glicosídica se encontra ligada a essa posição, figura 4.45.

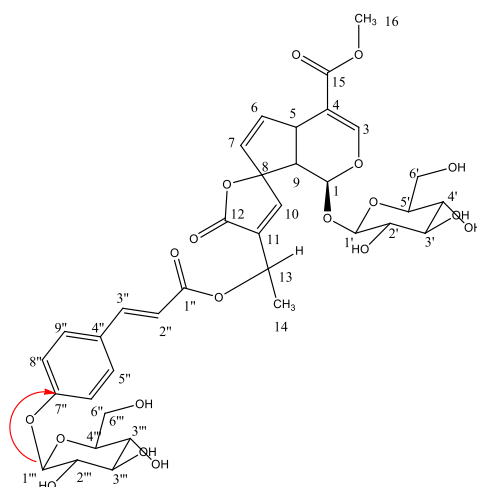


FIGURA 4.45- Seta em vermelho mostra a correlação de HMBC $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$, da substância 8.

Todos os sinais de ^1H foram conferidos em relação as suas multiplicidades e estavam condizentes com a proposta estrutural aqui apresentadas. Os dados espectroscópicos obtidos foram comparados com valores previamente reportados na literatura (XIA *et al.*, 2018), sendo apresentados de maneira comparativa na Tabela 4.12.

TABELA 4.12- Dados de RMN de ^1H , ^{13}C comparado com dados da literatura

Nº	δH (ppm)	δC	δH (Lit)	δC (Lit)
1	5.28 (d, $J = 5.3$ Hz, 1H)	94.0	5.07 (d, 5.7 d, $J = 5.7$, 1H)	94.1
3	7.52 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H)	152.7	7.52 (s)	151.9
4	–	110.7	-	110.8
5	3.97 – 3.90 (m, OH)	40.6	3.94 (ddd, $J = 7.4, 2.4, 2.3$)	40.7
6	5.52 (dd, $J = 5.6, 2.2$ Hz, 1H)	129.4	5.54 (dd, $J = 5.6, 2.3$)	142.6
7	6.46 (dd, $J = 5.6, 2.4$ Hz, 1H)	142.0	5.54 (dd, $J = 5.6, 2.3$)	129.3
8	–	98.1	-	98.0
9	2.92 (dd, $J = 7.5, 5.4$ Hz, OH)	50.7	2.88 (dd, $J = 7.4, 5.7$)	51.0
10	7.49	152.0	7.49 (d, $J = 1.2$)	152.1
11	–	134.4	-	134.7
12	–	172.0	-	171.8
13	5.69 (q, $J = 6.5$ Hz, 1H)	66.1	5.7 (dq, $J = 6.6, 1.2$)	66.0
14	1.56 (d, $J = 6.6$ Hz, 1H)	19.6	1.56 (d $J = 6.6$)	19.6
15	–	168.5	-	168.1
1'	4.72 (d, $J = 7.9$ Hz, OH)	99.7	4.7 (d, $J = 7.9$)	100.4
2'	3.27 – 3.17 (m, OH)	74.6	3.23 (dd, $J = 9.1, 7.9$)	74.6
3'	3.42 – 3.32 (m, OH)	77.7	3.42 (dd, $J = 9.1, 8.0$)	77.7
4'	3.27 – 3.17 (m, OH)	71.5	3.38 (dd, $J = 9.1, 8.0$)	71.7
5'	3.42 – 3.32 (m, OH)	78.5	3.5 ddd (9.1, 5.3, 2.8)	75.9
6'	3.65 (dd, $J = 11.9, 5.9$ Hz, 2H)	62.7	4.35 (dd, $J = 11.9, 2.8$)	64.6
1''	-	168.1	-	168.4
2''	6.37 (d, $J = 15.9$ Hz, OH)	114.6	6.35(d, $J = 15.9$)	114.8
3''	7.65 (d, $J = 15.9$ Hz, OH)	147.3	7.66(d, $J = 15.9$)	147.3
4''	-	127.0	-	127.1
5''	7.47 (s, OH)	131.3	7.47 (d, $J = 8.7$)	131.3
6''	6.82 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H)	116.9	6.8 (d, $J = 8.7$)	116.9
7''	-	161.3	-	161.4
8''	6.82 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H)	116.9	6.81 (d, $J = 8.7$)	161.4
9''	7.47 (s, OH)	131.3	7.47 (d, $J = 8.7$)	131.3
16				
OMe	3.74 (s, 1H)	52.0	3.75 (s)	52.0
1'''	4.96 (d, $J = 7.6$ Hz, OH)	101.8	5.39 (d, $J = 8.0$)	100.2
2'''	3.48 – 3.43 (m, 1H)	74.7	4.08 (dd, $J = 8.0, 9.0$)	75.2
3'''	3.48 – 3.43 (m, 1H)	78.6	4.26 (dd, $J = 9.0, 8.5$)	78.6
4'''	3.48 – 3.43 (m, 1H)	71.6	4.18 (dd, $J = 8.5, 9.0$)	71.5
5'''	3.71 – 3.60 (m, 1H)	77.8	3.98 (ddd, $J = 9.0, 5.5, 2.5$)	78.9
6'''	3.71 – 3.60 (m, 2H)	62.8	4.54 (dd, $J = 12.0, 2.5$)	62.6

*Dados de RMN realizados no solvente CDCl_3 , (XIA *et al.*, 2018).

4.1.8.8.1 Espectro de massas de 1 α -Protoplumericina B

A análise por espectrometria de massas em tandem (ESI-MS/MS, modo positivo), figura 4.46, permitiu propor a rota de fragmentação do composto glicosilado. O íon molecular sodiado $[M+Na]^+$ foi observado em m/z 801.2212, com desvio de massa -1.37 ppm. Os espectros de Ms e Ms/Ms estão apresentados na figura 4.46. A fragmentação inicial é caracterizada pela clivagem da unidade glicosídica, resultando no íon diagnóstico em m/z 203, atribuído ao açúcar sodiado, bem como no fragmento em m/z 621, correspondente ao aglicona sodiado. Fragmentações subsequentes do íon em m/z 621 levam à formação dos íons em m/z 251 e m/z 295, este último associado à perda neutra de dióxido de carbono ($-CO_2$). O padrão de fragmentação observado é compatível com a presença de uma unidade glicosídica ligada ao núcleo aromático do composto, corroborando a proposta estrutural estabelecida com base nos dados espectroscópicos. Proposta de fragmentação está presente na figura 4.47.

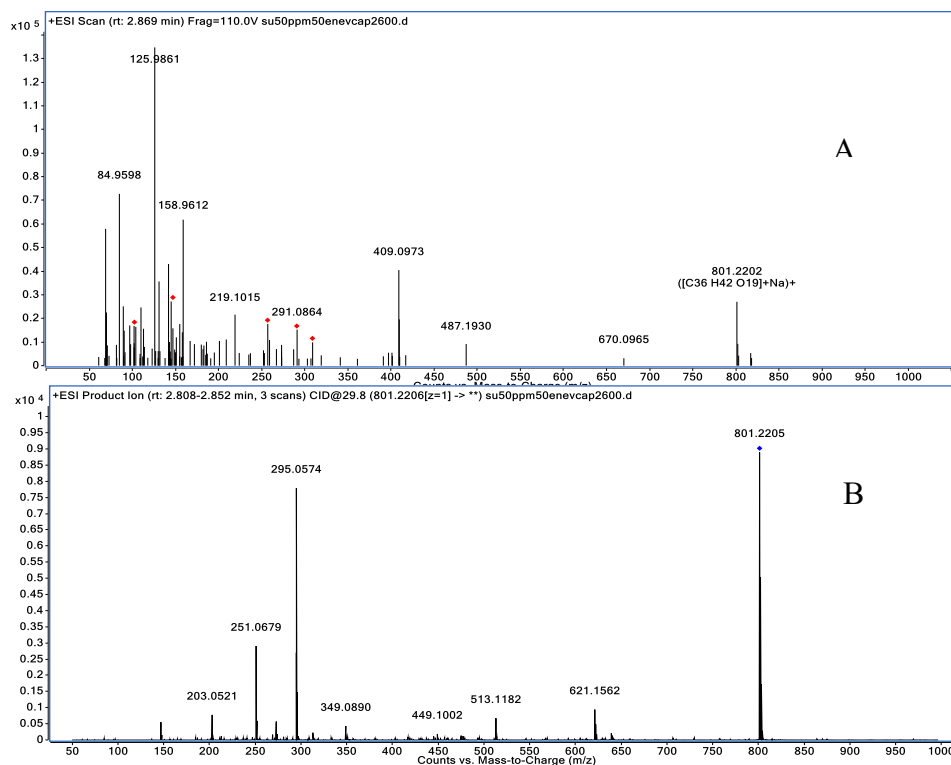


FIGURA 4.46- A: Espectros de MS e em B: MS/MS da substância 8.

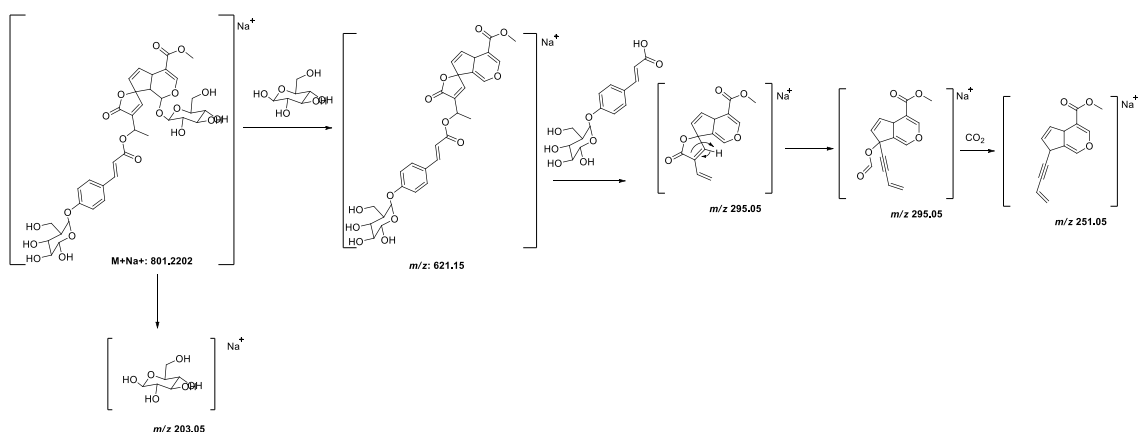


FIGURA 4.47- Proposta de fragmentação da substância 8 por ESI-MS/MS (modo positivo), destacando o aduto $[M+Na]^+$ em m/z : 801.2202 ($\Delta = -1.37$ ppm).

4.1.8.9 Substância 09

A substância 09, figura 4.48, foi isolada da casca de *Vismia guianenses* a partir da fração PLC-F1-F5. Sua estrutura foi elucidada por meio de experimentos de RMN de ¹H, ¹³C, HSQC, HMBC, COSY e espectrometria de massas de alta resolução (HRESI-MS). A validação estrutural foi confirmada pela comparação dos espectros obtidos com dados previamente publicados na literatura (Monache et al. 1980, Fuller et al. 1998 e Seo et al. 2000), assegurando consistência e confiabilidade na determinação da estrutura molecular. Os espectros complementares referentes a essa substância encontram-se apresentados no Apêndice A (Figuras A56–A61).

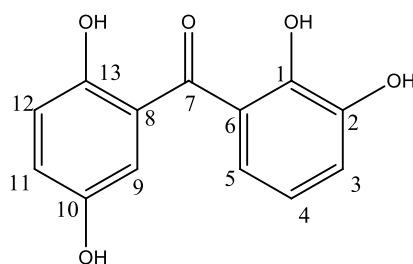


FIGURA 4.48 - Estrutura química da substância 9.

Os dados de RMN unidimensional e bidimensional evidenciaram a presença de um esqueleto aromático, indicado pela ocorrência de hidrogênios aromáticos, resultando em seis sinais nessa região, todos com integração para um

hidrogênio. Considerando que a classe das benzofenonas é majoritariamente representada pelos metabólitos já descritos para essa espécie, levantou-se a hipótese de que o composto isolado pertença a essa classe. No espectro de ^{13}C RMN, foram identificados 13 sinais de carbono, sendo seis carbonos hidrogenados, quatro carbonos aromáticos oxigenados, dois carbonos aromáticos totalmente substituídos e integrados ao anel e um carbono acila, característico de benzofenonas.

A análise do espectro de RMN ^1H revelou sinais em δH 7,32 (*dd*, $J = 9,0$ e $3,0$ Hz, H-3), 7,44 (*d*, $J = 9,0$ Hz, H-4) e 7,52 (*d*, $J = 3,0$ Hz, H-5), correlacionados aos carbonos em δC 120,2, 126,1 e 109,0 ppm, respectivamente. As constantes de acoplamento observadas ($J = 9,0$ e $3,0$ Hz) são indicativas de interações orto e meta, confirmadas pelas correlações observadas no mapa de contorno COSY, caracterizando um sistema aromático trissubstituído. Adicionalmente, no espectro de HMBC, foram observadas correlações entre os hidrogênios H-4 e H-5 e os carbonos C-1, C-2, C-4, C-6 e C-7, consistentes com a organização estrutural desse anel aromático.

Os carbonos C-1 (δC 155,5 ppm) e C-2 (δC 151,4 ppm) foram atribuídos como carbonos aromáticos totalmente substituídos, enquanto o sinal em δC 183,5 ppm (C-7) foi caracterizado como o carbono acila, típico do grupo carbonílico de benzofenonas.

Outro conjunto de sinais aromáticos foi observado em δH 6,74 (*dd*, $J = 8,2$ e $0,9$ Hz, H-9), 7,63 (*t*, $J = 8,3$ Hz, H-11) e 6,95 (*dd*, $J = 8,5$ e $0,9$ Hz, H-12), correlacionados aos carbonos em δC 110,6, 137,9 e 108,0 ppm, respectivamente. A ausência de correlações COSY com o primeiro sistema aromático indica que esses sinais pertencem a um segundo anel aromático independente. As constantes de acoplamento observadas sugerem interações orto e para compatíveis com um padrão de substituição distinto.

No espectro de HMBC, foram observadas correlações entre H-9 e H-12 com o carbono C-7, indicando que os dois anéis aromáticos estão conectados pelo carbono acila, confirmando a estrutura benzofenônica. Além disso, correlações entre H-9, H-11 e H-12 com os carbonos C-10 ($\delta^{\text{C}} 157,7 \text{ ppm}$) e C-13 ($\delta^{\text{C}} 162,8 \text{ ppm}$) permitiram a atribuição desses sinais a carbonos aromáticos oxigenados, associados a grupos hidroxila. Todas as correlações observadas nos espectros de HMBC e COSY estão apresentadas na figura 4.49. Todos os dados espectroscópicos estão apresentados na Tabela 4.13.

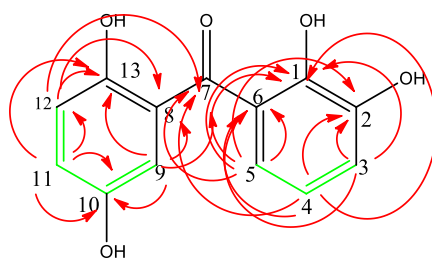


FIGURA 4.49- As linhas em verde representam as correlações observadas no COSY. As setas em vermelho indicam as correlações observadas no HMBC $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$.

TABELA 4.13- Dados de RMN de ^1H , ^{13}C comparado com dados da literatura.

Nº	$\delta^1\text{H}$	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$ (ppm) –(lit)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm) – (lit)
1	–	155.5	–	156.0–158.0
2	–	151.4	–	150.5–152.0
3	7.32 (dd, $J = 9.0, 3.0$)	120.2	7.25–7.35 (dd)	119.5–121.0
4	7.44 (d, $J = 9.0$)	126.1	7.40–7.50 (d)	125.0–127.0
5	7.52 (d, $J = 3.0$)	109	7.45–7.55 (d)	108.0–110.0
6	–	122.1	–	121.0–123.0
7	–	183.5	–	182.0–185.0
8	–	109.4	–	108.5–110.0
9	6.74 (dd, $J = 8.2, 0.9$)	110.6	6.70–6.80 (dd)	109.5–111.0
10	–	157.7	–	156.0–159.0
11	7.63 (t, $J = 8.2$)	137.9	7.55–7.65 (t)	136.5–138.5
12	6.95 (dd, $J = 8.2, 0.9$)	108	6.90–7.00 (dd)	107.0–109.0
13	–	162.8	–	161.0–164.0

*Dados de RMN realizados no solvente CD_6OD . (Monache et al. 1980, Fuller et al. 1998 e Seo et al. 2000).

4.1.8.9.1 Espectro de massas para a substância 9

A fragmentação do composto evidencia um comportamento típico de compostos fenólicos analisados por ESI-MS/MS em modo positivo, figura 4.50. O íon observado em m/z 229,05 corresponde ao íon $[M + H - H_2O]^+$, indicando que a molécula sofreu perda de uma molécula de água ainda na fonte de ionização, fenômeno comum em estruturas ricas em grupos hidroxila. A partir desse íon, observa-se a formação do fragmento em m/z 201,05, atribuída à perda neutra de CO (-28 u), evidenciando a presença de grupos carbonílicos conjugados. Em seguida, o íon em m/z 201,05 sofre nova fragmentação, originando o fragmento em m/z 183,04, correspondente à perda adicional de H_2O (-18 u), associada à eliminação de grupos hidroxila fenólicos.

O fragmento em m/z 183,04 sofre ainda uma perda de CO (-28 u), originando o íon em m/z 155,04, que representa um sistema aromático estabilizado por ressonância. Por fim, a fragmentação adicional resulta no íon de menor massa observado em m/z 127,05, associado à quebra adicional do esqueleto aromático e à formação de fragmentos ciclopentadienílicos estabilizados. Esse conjunto de perdas sucessivas de H_2O e CO, aliado às clivagens aromáticas observadas, é plenamente coerente com a estrutura proposta para o composto, conforme ilustrado na proposta de fragmentação apresentada na figura 4.51.

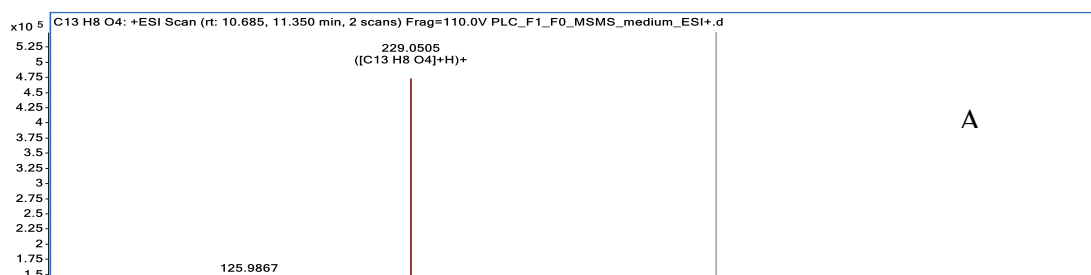


FIGURA 4.50- Espectros de MS e em B: MS/MS da substância 9.

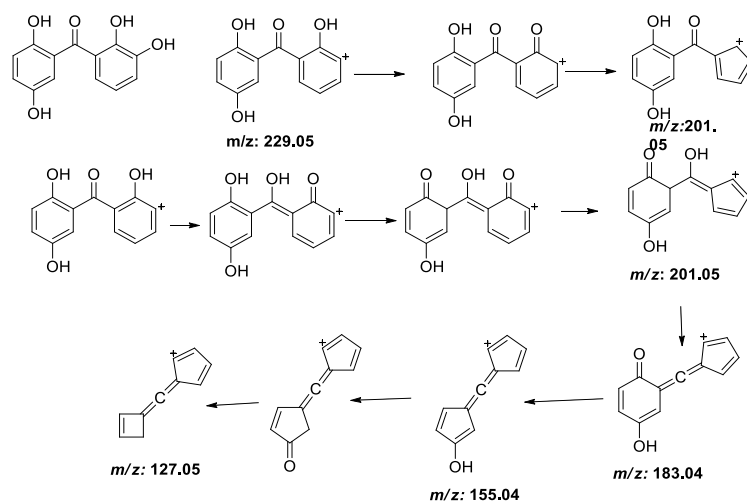


FIGURA 4.51- Proposta de fragmentação da substância 9 por ESI-MS/MS (modo positivo), destacando o aduto $[M-H_2O]^+$ em $m/z: 229.0495$ ($\Delta = 4.36$ ppm).

4.1.8.10 Substância 10- Emodina

A substância 10, figura 4.52, foi isolada da casca de *Vismia guianenses* a partir da fração PLC-F1-F5 (MOTA, 2020). Sua estrutura foi elucidada por meio de experimentos de RMN de 1H , ^{13}C , HSQC, HMBC, COSY

e espectrometria de massas de alta resolução (HRESI-MS). A validação estrutural foi confirmada pela comparação dos espectros obtidos com dados previamente publicados na literatura, assegurando consistência e confiabilidade na determinação da estrutura molecular. Os espectros complementares referentes a essa substância encontram-se apresentados no Apêndice A (Figuras A62–A67).

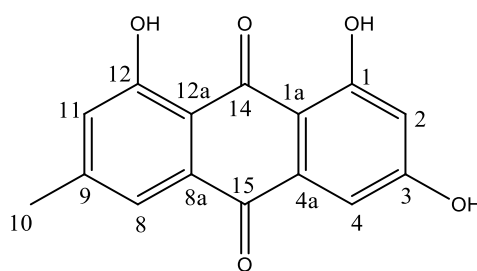


FIGURA 4.52- Estrutura química da substância 10.

Os dados de RMN de ^1H do composto isolado revelaram quatro sinais aromáticos como singletos em δH 6.55, 7.09, 7.48 e 7.16 ppm, integrando para um hidrogênio cada, além de um sinal em δH 2.41 ppm (s, 3H) correspondente a um grupo metil aligado ao anel aromático. Esse padrão é característico de um sistema antraquinônico altamente substituído, no qual a presença de hidroxilas fenólicas nas posições 1, 3 e 8 resulta no isolamento magnético dos hidrogênios aromáticos remanescentes, justificando a ausência de acoplamentos vicinais significativos. A posição e a multiplicidade desses sinais estão em excelente concordância com aquelas descritas para a emodina em DMSO- d_6 , especialmente para os hidrogênios H-2, H-4, H-5 e H-7, cujos deslocamentos químicos são fortemente influenciados pelo efeito anisotrópico dos grupos carbonila e hidroxila adjacentes.

O espectro de RMN de ^{13}C apresentou 15 sinais, incluindo dois carbonílos quinônicos em δC 189.4 e 181.6 ppm, típicos de antraquinonas, além de três carbonos aromáticos oxigenados em δC 161.4, 166.4 e 164.6 ppm, compatíveis com a presença de três hidroxilas fenólicas. O sinal em δC 21.6 ppm confirma a presença de um grupo metil ligado ao anel aromático, atribuído à posição C-6, enquanto os demais carbonos quaternários e aromáticos aparecem na

faixa esperada para a emodina. A comparação direta com dados de literatura (MOTA *et al.*, 2020), revela excelente concordância tanto no número quanto nos valores dos deslocamentos químicos, permitindo atribuir de forma inequívoca o composto isolado como emodina (1,3,8-triidroxi-6-metilantraquinona).

Os dados de RMN de ^1H e ^{13}C do composto isolado foram comparados com aqueles reportados para a emodina na literatura, conforme apresentado na Tabela 4.14, evidenciando excelente concordância entre os deslocamentos químicos observados.

TABELA 4.14- Comparação dos dados de RMN de ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) do composto isolado com aqueles reportados para a emodina na literatura

Nº	$\delta^1\text{H}$	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$	$\delta^{13}\text{C}$ (lit.)
1	-	161.4	12.11 (s, 1H, OH)	161.9
2	6.55 (s, 1H)	108	6.63 (d, J = 2.4 Hz, 1H)	108.4
3	-	166.4	12.04 (s, 1H, OH)	166.0
4	7.09 (s, 1H)	109.4	7.19 (s, 1H)	109.4
4a	-	108.6	-	109.3
5	7.48 (s, 1H)	120.5	7.51 (s, 1H)	120.9
6	-	148.2	-	148.7
7	7.16 (s, 1H)	124.2	7.15 (d, J = 2.3 Hz, 1H)	124.5
8	-	164.6	-	164.9
8a	-	113.5	-	113.7
9	-	189.4	-	190.1
9a	-	132.9	-	133.2
10	-	181.6	-	181.7
10a	-	135.1	-	135.5
Me-	2.41 (s, 3H)	21.6	2.45 (s, 3H)	22.0

*Dados de RMN realizados no solvente DMSO-D₆, (MOTA, 2020).

4.1.8.10.1 Espectro de massas para a substância 10, Emodina

A análise do espectro de massas, figura 4.53, em modo ESI⁺ revelou a formação predominante do íon protonado [M+H]⁺ em m/z 271.0601, compatível com a fórmula molecular da emodina, espectro de MS e MS/MS na figura 4.53. A partir desse íon precursor, observa-se uma perda neutra inicial de H₂O, levando à formação do fragmento em m/z 253.04, processo associado à eliminação de uma hidroxila fenólica, frequentemente relatado para antraquinonas hidroxiladas analisadas em modo positivo.

Fragmentações subsequentes envolvem perdas sucessivas de CO e rearranjos intramoleculares, resultando em íons característicos em m/z 241.07 e m/z 169.02, os quais refletem a clivagem do sistema quinônico e a contração do esqueleto aromático. Esses fragmentos são usados como diagnósticos para composto emodina, reforçando a proposta de fragmentação apresentada e corroborando a identificação estrutural do composto isolado. A coerência entre os íons observados experimentalmente e aqueles esperados teoricamente sustenta a atribuição inequívoca da emodina como constituinte majoritário da amostra analisada. A proposta está presente na figura 4.54.

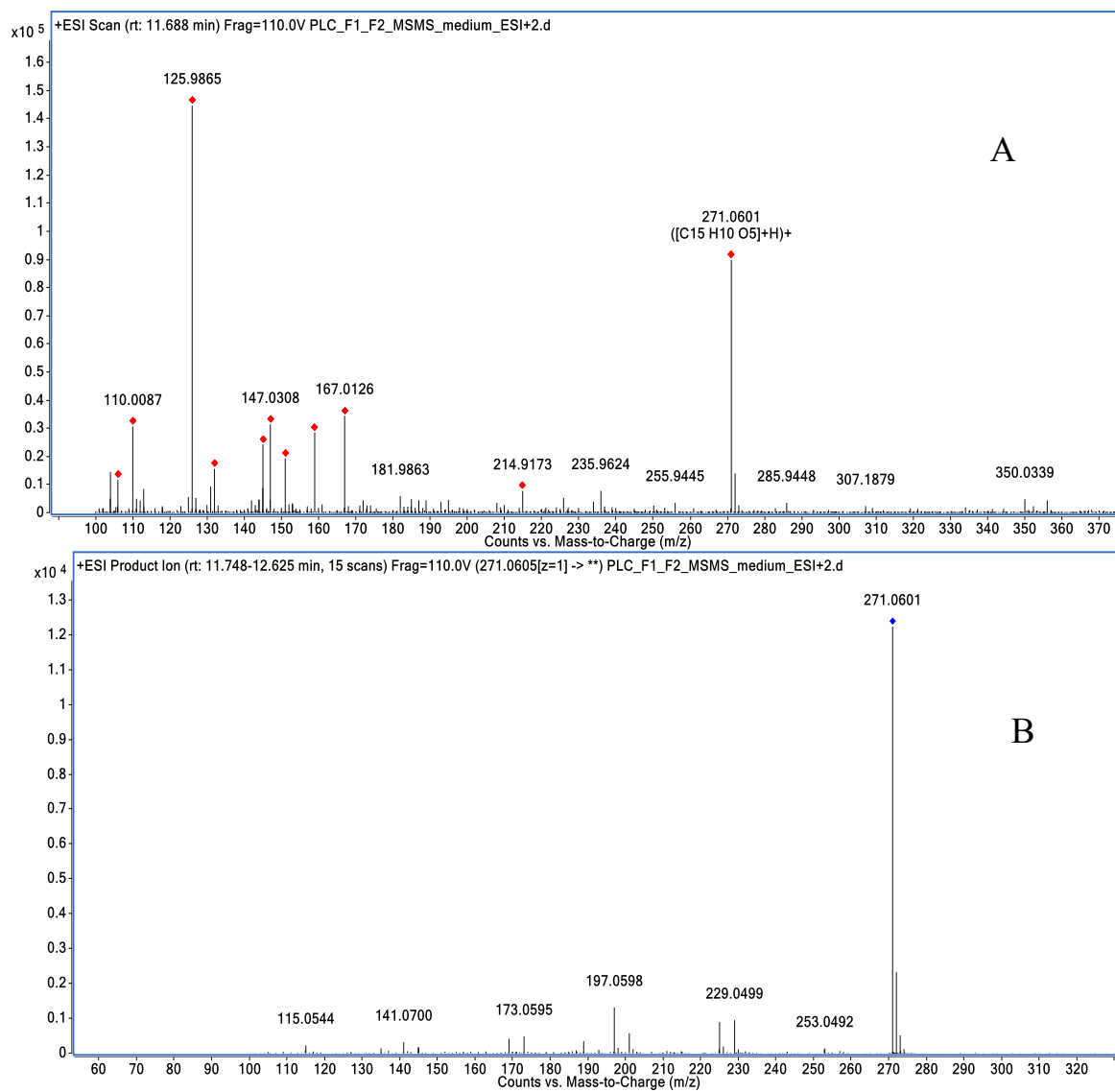


FIGURA 4.53 - A: Espectros de MS e em B: MS/MS da substância 10.

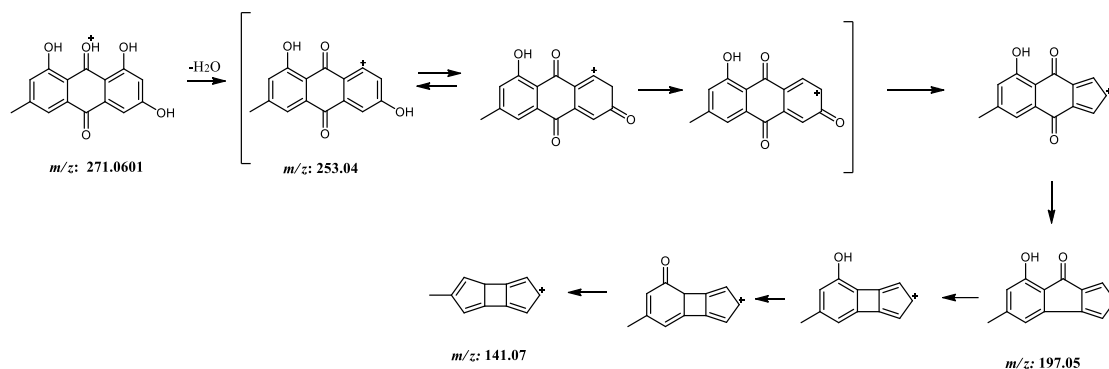


FIGURA 4.54- Proposta de fragmentação da substância 10 por ESI-MS/MS (modo positivo), destacando o aduto $[M+H]^+$ em $m/z: 271.0601$ ($\Delta = 0$ ppm).

4.1.8.11 Substância 11- Vismiaguienona 1

A substância 11, figura 4.55, foi isolada da casca de *Vismia guianensis* por meio da fração PLC-F2 (Fuller et al, 1999, Seo et al, 2000). A determinação de sua estrutura molecular foi realizada a partir de uma análise espectroscópica abrangente, envolvendo RMN de hidrogênio (1H) e carbono (^{13}C), além de experimentos bidimensionais (HSQC, COSY e HMBC) e espectrometria de massas de alta resolução (HRESI-MS). A validação estrutural foi obtida pela comparação dos dados experimentais com aqueles descritos anteriormente na literatura, conferindo elevada confiabilidade à elucidação proposta. Os espectros complementares referentes a essa substância encontram-se apresentados no Apêndice A (Figuras A68–A75).

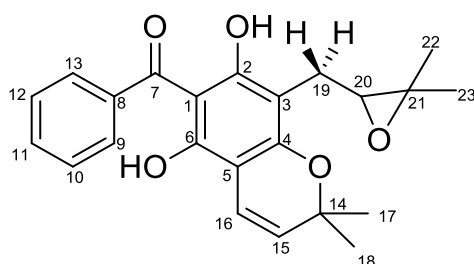


FIGURA 4.55- Estrutura química da substância 11.

O espectro de RMN de ^1H apresentou um sinal em 12,50 ppm, característico de um hidrogênio fenólico envolvido em ligação de hidrogênio intramolecular com um grupo carbonila. Esse grupo carbonílico foi observado no espectro de RMN ^{13}C em 200,0 ppm e atribuído ao carbono 7, confirmando a presença de uma cetona conjugada a um sistema aromático hidroxilado

A análise espectroscópica também indicou a presença de um anel benzênico monossustituído, identificado pelos sinais em 7,44/130,7 ppm, 7,37/127,6 ppm, 7,40/127,9 ppm e 143,0 ppm. As correlações bidimensionais observadas no HSQC confirmaram a conectividade entre os hidrogênios e carbonos correspondentes, enquanto o deslocamento químico dos carbonos indicou que este anel está ligado ao carbono carbonílico em C-7.

O segundo anel benzênico foi proposto como totalmente substituído, contendo duas hidroxilas (em C-2 e C-6), uma unidade prenila epoxidada e uma unidade prenila ciclizada formando um anel cromeno. A presença deste anel foi confirmada pelos sinais de hidrogênios olefínicos em 6,69/115,9 ppm e 5,43/121,9 ppm, e pelos hidrogênios metilênicos em 1,43/28,3 ppm, ligados a um carbono oxigenado em 78,3 ppm. As correlações observadas no experimento HMBC, especialmente entre o hidrogênio de posição 15 e o carbono 5, permitiram posicionar o anel cromeno entre as posições 4 e 5 da molécula.

A unidade prenila epoxidada apresentou sinais alílicos em 2,55 e 2,78 ppm (correspondentes a um carbono em 25,8 ppm), além de sinais em 3,60/69,2 ppm e 77,9 ppm, confirmando a presença de um grupo epóxi. Duas metilas, com sinais em 0,82/21,0 ppm e 0,93/25,0 ppm, foram atribuídas ligadas ao carbono 21, conforme confirmado pelas correlações no HMBC. Os hidrogênios do carbono 19 apresentaram comportamento diastereotópico, resultando em dois dupletos de dupletos distintos, reflexo da presença de um centro estereogênico. O espectro COSY evidenciou correlação entre os hidrogênios 19 e 20, enquanto o HMBC demonstrou a conexão entre o carbono 19 e o carbono 3, permitindo posicionar o

grupo epoxidado na posição 3 da molécula. As hidroxilas foram definitivamente atribuídas às posições 2 e 6 com base na comparação com dados da literatura. Os dados foram comparados com dados encontrados na literatura, dispostos na Tabela 4.15.

TABELA 4.15- Dados de RMN para substância 11

Nº	¹ H (J/Hz) δ	¹ H (Lit.) δ*	¹³ C δ	¹³ C (Lit.) δ*
1	-	-	105.0	104
2	12.50 OH	-	159.0	158.3
3	-	-	98.3	-
4	-	-	158.9	156.7
5	-	-	102.0	107.4
6	-	-	154.9	150.0
7	-	-	200.0	198.3
8	-	-	143.1	143.0
9 e 13	7.40 <i>m</i>	7.40 <i>m</i>	127.9	127.3
10 e 12	7.37 (<i>t</i> , <i>J</i> =7.4 Hz)	7.37 <i>m</i>	127.6	127.5
11	7.44 <i>m</i>	7.46 <i>m</i>	130.7	130.1
14	-	-	78.3	78.1
15	6.69 (<i>d</i> , <i>J</i> =10 Hz)	6.56 (<i>d</i> , <i>J</i> =10)	115.9	117.5
16	5.47 (<i>d</i> , <i>J</i> =10 Hz)	5.52 (<i>d</i> , <i>J</i> =10)	125.9	126.7
17 e 18	1.43 <i>s</i> (6H, <i>s</i>)	1.49 (6H, <i>s</i>)	28.3	28.2
19a	2.54 (<i>dd</i> , <i>J</i> =16.9, 5.8 Hz)	2.60 (<i>dd</i> , <i>J</i> =17.0, 5.3)	25.8	22.2
19b	2.78 (<i>dd</i> , <i>J</i> =16.9, 6.0 Hz)	2.92 (<i>dd</i> , <i>J</i> =17.0, 7.0)		
20	3.60 (<i>t</i> , <i>J</i> =5.2 Hz)	3.60 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> =5.3)	69.2	69.6
21	-	-	77.9	78.5
22	0.82 <i>s</i>	-	21.0	20.5
23	0.93 <i>s</i>	-	25.0	25.3
OH-2 ou 6	12.50 <i>s</i>	-	-	-

*Dados de RMN realizados no solvente CDCl₃ *(Fuller et al, 1999) (Seo et al, 2000).

4.1.8.11.1 Espectro de massas para a substância 11

O espectro de massas, figura 4.56 do composto apresenta íon molecular protonado em *m/z* 381,1697, compatível com uma benzofenona prenilada contendo grupos hidroxila e uma cadeia isoprenílica. A fragmentação

inicial envolve a perda de uma molécula de água, originando o íon em m/z 363,15, correspondente à perda neutra de 18 Da, associada à eliminação de H_2O a partir de grupos hidroxila. Em seguida, observa-se a formação do fragmento em m/z 309,11, ocorre a perda de -72,054Da, de maneira direta a partir do íon molecular, atribuída à clivagem parcial da cadeia prenilada.

Na sequência, ocorre a formação do íon em m/z 189,01, atribuída à ruptura do esqueleto benzofenônico por rearranjos e clivagens do tipo retro-Diels–Alder, típicos de sistemas aromáticos conjugados, levando à geração de fragmentos aromáticos estabilizados. Por fim, observa-se o fragmento em m/z 105,03, correspondente a um cátion benzílico ou benzóico substituído, resultante da clivagem completa do núcleo aromático. Esse padrão de fragmentação é consistente com uma estrutura de benzofenona prenilada, corroborando a estrutura proposta. O espectro de massas (MS) e o espectro de fragmentação (MS/MS) da benzofenona prenilada encontram-se apresentados na Figura 4.56, enquanto a proposta mecanística de fragmentação está ilustrada na figura 4.57.

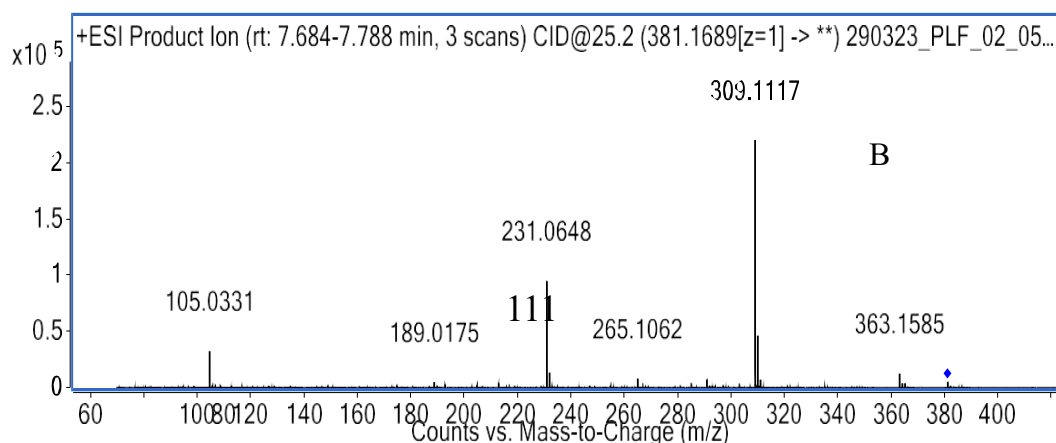
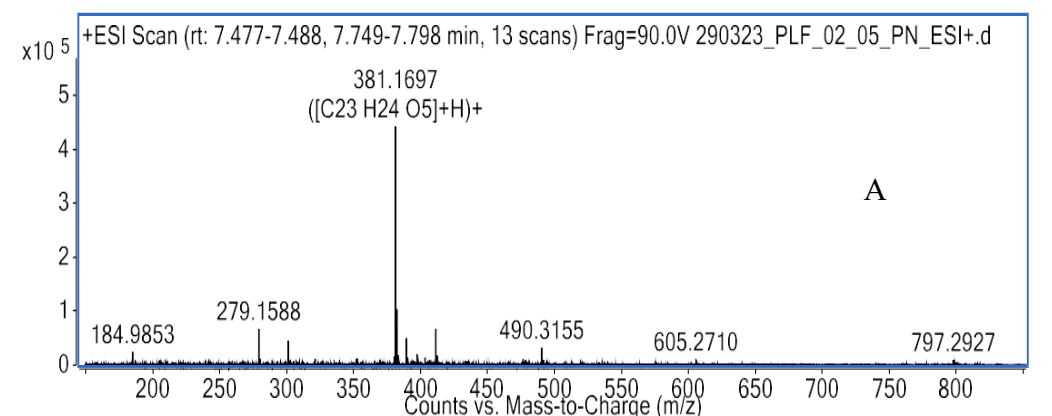


FIGURA 4.56- A: Espectros de MS e em B: MS/MS da substância 11.

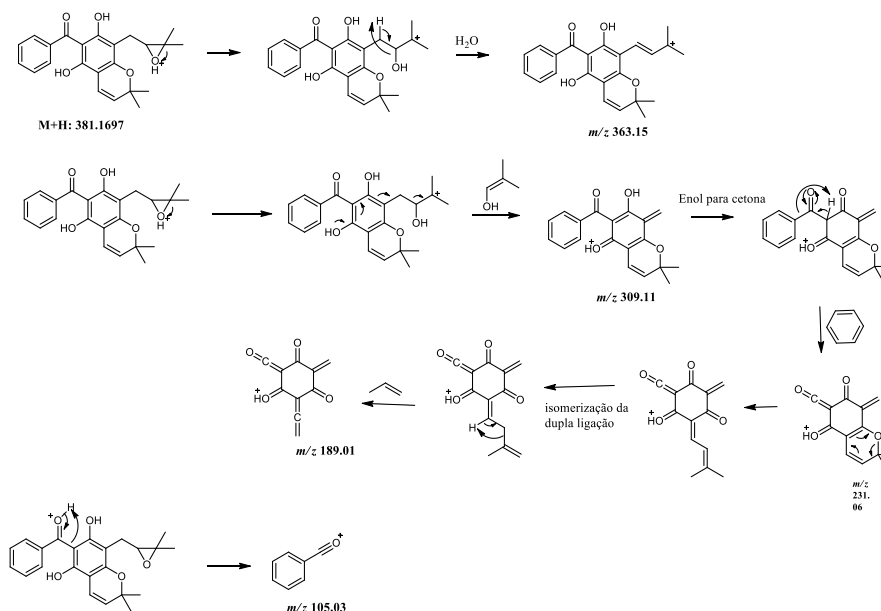


FIGURA 4.57- Proposta de fragmentação da substância 11 por ESI-MS/MS (modo positivo), destacando o aduto $[M+H]^+$ em m/z : 381.1697 ($\Delta = 0$ ppm).

4.1.8.12 Substância 12- Vismiaguienona 3

A substância 12 (figura 4.58) foi isolada da casca de *Vismia guianenses* a partir da fração PLC-F2 (FULLER et al., 1999; SEO et al., 2000). Sua estrutura foi elucidada por meio de experimentos de RMN de 1H , ^{13}C , HSQC, HMBC, COSY e espectrometria de massas de alta resolução (HRESI-MS). A validação estrutural foi confirmada pela comparação dos espectros obtidos com dados previamente publicados na literatura, assegurando consistência e confiabilidade na determinação da estrutura molecular. Os espectros de RMN complementares referentes a essa substância encontram-se apresentados no Apêndice A (Figuras A76–A83).

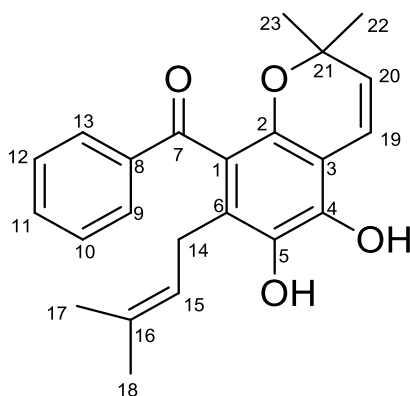


FIGURA 4.58- Estrutura química da substância 12.

A interpretação dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C evidencia um conjunto de sinais característicos de uma estrutura aromática mono-substituída, corroborada pelas correlações diretas observadas no experimento bidimensional de HSQC. Observa-se ainda um sinal intenso de carbono carbonílico em δC 197,7, atribuído ao C-7, o qual apresenta correlação heteronuclear de longo alcance com o próton H-9 no espectro de HMBC, confirmando sua inserção em um sistema benzofenônico. Adicionalmente, os deslocamentos químicos e padrões de acoplamento indicam a presença de unidades preniladas na molécula. A ausência de sinal correspondente a hidrogênio fenólico fortemente quelado indica a inexistência de grupo hidroxila na posição C-2, distinguindo este composto de benzofenonas estruturalmente relacionadas previamente descritas. Em conjunto, os dados espectroscópicos sustentam a caracterização do composto como uma benzofenona prenilada, em concordância com relatos anteriores da literatura (FULLER et al., 1999; SEO et al., 2000).

A análise espectroscópica indica que o segundo anel aromático se encontra totalmente substituído, apresentando duas hidroxilas fenólicas, uma unidade prenilada ciclizada formando um anel cromênico, além de uma prenila acíclica. A unidade prenil ciclizada exibe um padrão de deslocamentos químicos e correlações compatível com aquele previamente descrito para o composto 1, sendo associada às posições C-2 e C-3. Essa atribuição é corroborada pelas

correlações heteronucleares de longo alcance observadas no espectro de HMBC entre os carbonos correspondentes e o próton H-19.

No espectro de COSY, são observadas correlações escalarmente acopladas entre os prótons H-15/H-14 e H-19/H-20, além das interações características entre os prótons do anel benzênico mono-substituído, conforme resumido na Tabela 4.16. A presença das hidroxilas fenólicas foi atribuída às posições C-4 e C-5, com base nos valores de deslocamento químico observados e em comparação com dados reportados na literatura. Adicionalmente, o espectro DEPT 135 evidencia a presença de um grupo metilênico (CH₂), confirmando a ocorrência de uma cadeia prenilada não ciclizada.

Considerando o conjunto de dados obtidos a partir dos experimentos de RMN uni- e bidimensionais, em concordância com descrições estruturais previamente relatadas (FULLER et al., 1999; SEO et al., 2000).

TABELA 4.16- Dados de RMN de ¹H e ¹³C (δ, ppm), constantes de acoplamento (*J*, Hz) e correlações HMBC e COSY do composto isolado, obtidos em CDCl₃

C	¹ H (J/Hz) δ	¹³ C δ	HMBC	COSY
1	–	104.3	–	–
2	–	155.2	–	–
3	–	102.6	–	–
4	–	159.0	–	–
5	–	159.5	–	–
6	–	108.5	–	–
7	–	197.7	–	–
8	–	140.1	–	–
9 e 13	7.63 <i>m</i>	128.0	C-11, C-7	H-11
10 e 12	7.51 <i>m</i>	129.3	C-8	–
11	7.57 <i>m</i>	132.3	C-9	H-9
14	3.26 <i>d</i>	21.5	C-6, C-15, C-16, C-5	H-15
15	5.17 <i>m</i>	122.2	C-17, C-18, C-14	H-14
16	–	132.6	–	–
17	1.76 <i>s</i>	26.0	C-18, C-15, C-16	–
18	1.68 <i>s</i>	25.8	C-17, C-15, C-16	–
19	6.61 (<i>d</i> , <i>J</i> = 10.0 Hz)	116.3	C-21, C-2	H-20

20	5.49 (<i>d</i> , <i>J</i> = 10.0 Hz)	126.0	C-21, C-3	H-19
21	–	78.0	–	–
22 e 23	1.45 <i>s</i>	28.5	C-21, C-19	–
OH-2 ou 6	11.90 <i>s</i>	–	–	–

4.1.8.12.1 Espectro de massas para a substância Vismiaguienona 3

A proposta de fragmentação do composto foi estabelecida com base na análise do espectro de massas de alta resolução (HR-ESI-MS), no qual o íon pseudomolecular $[M+H]^+$ foi observado em m/z 365,1757, compatível com a fórmula molecular proposta. O espectro de Ms e Ms/Ms esta presente na figura 4.59. A partir desse íon precursor, observou-se inicialmente a perda neutra de um radical metila ($\bullet\text{CH}_3$), originando o fragmento em m/z 349,14, indicando a clivagem de grupos metoxilados presentes na estrutura.

Em sequência, a fragmentação envolve a quebra da ligação C–O do sistema aromático, promovendo a reorganização do anel e a formação de um íon estabilizado por ressonância, evidenciada pelo sinal em m/z 231,07. Esse fragmento é característico de estruturas policíclicas oxigenadas e reforça a presença de um núcleo aromático condensado.

Adicionalmente, foi observada a formação do fragmento em m/z 189,02, atribuída à clivagem do anel central, mecanismo comum em compostos aromáticos altamente conjugados, resultando em íons menores e energeticamente favorecidos. Fragmentos adicionais, como o íon em m/z 105,03, são consistentes com a geração de subunidades aromáticas simples, corroborando a arquitetura policíclica proposta para a molécula.

Assim, o conjunto de fragmentos observados e os mecanismos de fragmentação propostos mostram-se consistentes com a estrutura sugerida, fornecendo suporte adicional à elucidação estrutural do composto, conforme ilustrado na figura 4.60.

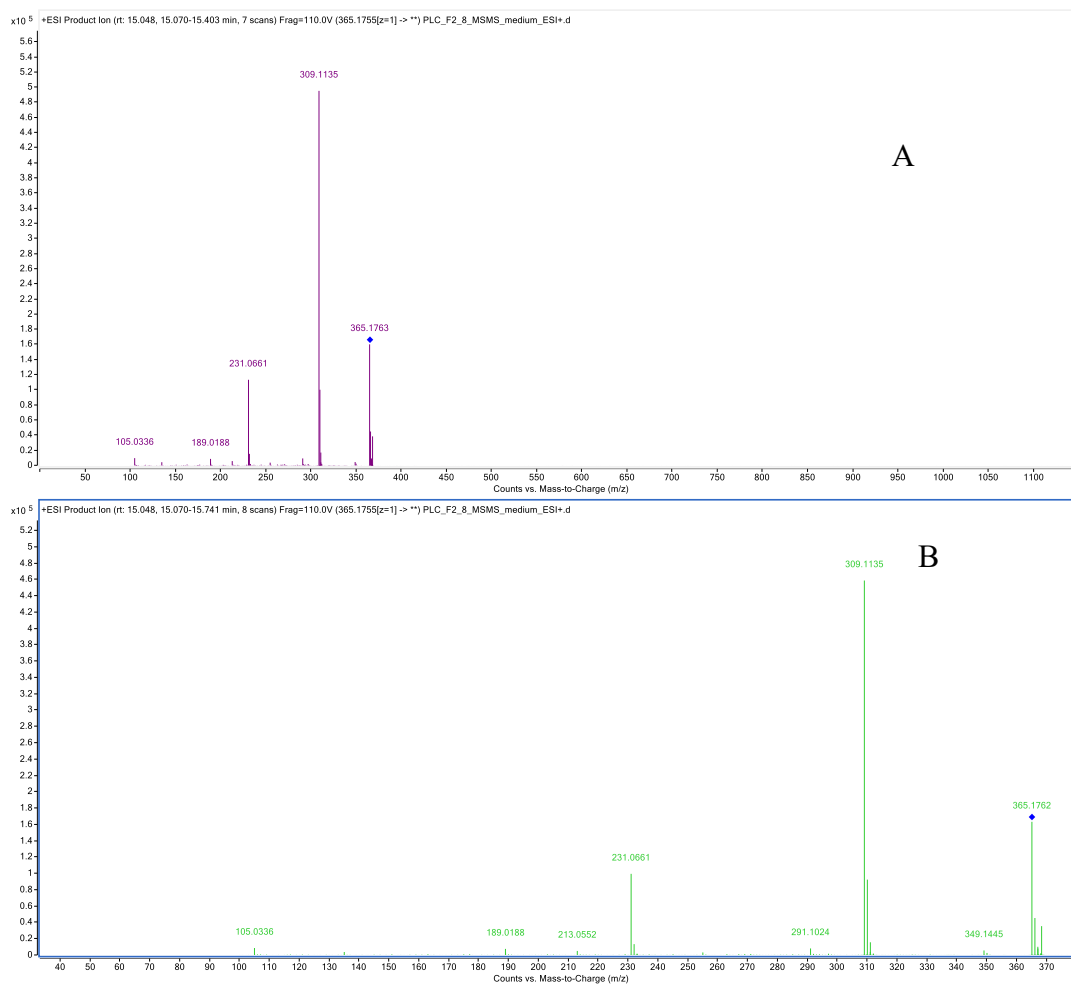


FIGURA 4.59- A: Espectros de MS e em B: MS/MS da substância 12.

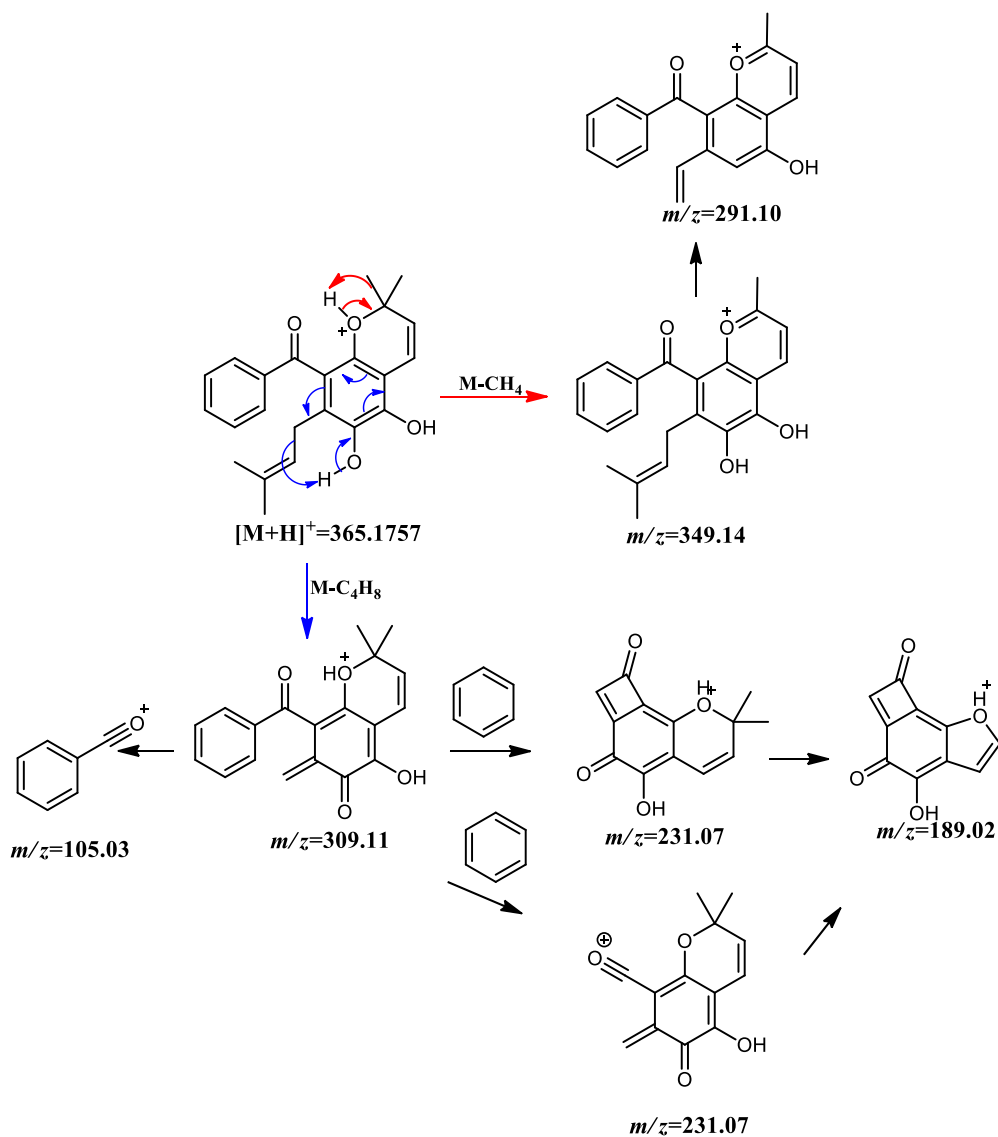


FIGURA 4.60- Proposta de fragmentação da substância 12 por ESI-MS/MS (modo positivo), $[M+H]^+$ em m/z : 365.1757 ($\Delta = 2.73$ ppm).

4.1.8.13 Substância 13- Vismiaguienona 4

A substância 13 (figura 4.61) – foi isolada da casca de *Vismia guianenses* a partir da fração PLC-F2. Sua estrutura foi elucidada por meio de experimentos de RMN de ^1H , ^{13}C , HSQC, HMBC, COSY e espectrometria de massas de alta resolução (HRESI-MS). A validação estrutural foi confirmada pela comparação dos espectros obtidos com dados previamente publicados na literatura, assegurando consistência e confiabilidade na determinação da estrutura molecular. Os espectros de RMN complementares referentes a essa substância encontram-se apresentados no Apêndice A (Figuras A84–A95).

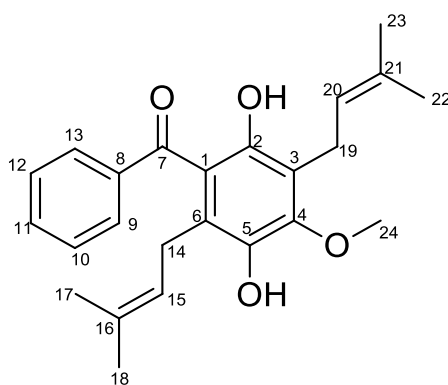


FIGURA 4.61- Estrutura química da substância 13.

Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C exibem um perfil espectroscópico consistente com os compostos previamente caracterizados, indicando tratar-se de uma benzofenona prenilada. A presença de uma hidroxila fenólica na posição C-2 é evidenciada pelo sinal de próton fortemente quelado observado em δH 11,90, atribuído à interação intramolecular com o grupo carbonílico, o qual se manifesta em δC 199,9. Esses dados estão em consonância com informações reportadas na literatura para benzofenonas estruturalmente relacionadas (BOTTA et al., 1986; FULLER et al., 1999; SEO et al., 2000).

A análise do segundo anel aromático revela um padrão de substituição envolvendo duas hidroxilas fenólicas, duas unidades preniladas e um grupo metoxila. O sinal correspondente ao grupo metoxila, assim como aqueles

associados às cadeias preniladas, apresenta comportamento espectral semelhante ao descrito anteriormente para a substância 12. A localização desses substituintes foi confirmada por meio das correlações heteronucleares de longo alcance observadas no espectro de HMBC, destacando-se as interações entre H-14/C-5 e H-19/C-3. Com base no conjunto de dados obtidos a partir dos experimentos de RMN uni- e bidimensionais, a estrutura do composto foi estabelecida como Vismiaguienona (Tabela 4.17).

TABELA 4.17- Dados de RMN de ^1H e ^{13}C (δ , ppm), constantes de acoplamento (J , Hz) e correlações HMBC e COSY do composto isolado, obtidos em CDCl_3 .

C	^1H (J/Hz) δ	^{13}C δ	HMBC	COSY
1	–	108.3	–	–
2	–	160.3	–	–
3	–	111.0	–	–
4	–	158.3	–	–
5	–	160.7	–	–
6	–	112.9	–	–
7	–	199.9	–	–
8	–	140.7	–	–
9 e 13	7.66 (<i>d</i> , $J = 7.6$ Hz)	128.9	C-11, C-7	–
10 e 12	7.40 (<i>t</i> , $J = 7.6$ Hz)	127.7	C-8	–
11	7.50 (<i>t</i> , $J = 7.7$ Hz)	131.7	C-9	–
14	3.30 (<i>d</i> , $J = 7.1$ Hz)	22.7	C-5, C-15, C-16, C-4, C-6	H-15
15	5.18 (<i>t</i> , $J = 2.4$ Hz)	122.5	–	H-14
16	–	134.7	–	–
17	1.76 <i>s</i>	26.0	C-18, C-15, C-16	–
18	1.85 <i>s</i>	18.0	C-17, C-15, C-16	–
19	3.43 (<i>dd</i> , $J = 7.1$ Hz)	22.2	C-20, C-3, C-21, C-2	H-20
20	5.29 (<i>t</i> , $J = 3.9$ Hz)	121.9	–	H-19
21	–	134.5	–	–
22	1.75 <i>s</i>	25.9	C-23, C-21	–
23	1.74 <i>s</i>	18.0	C-22, C-21	–
24	3.17 <i>s</i>	62.7	–	–
OH-2 ou 6	11.90 <i>s</i>	–	–	–

4.1.8.13.1 Espectro de massas para a Vismiaguienona 4

O espectro de massas da benzofenona prenilada, figura 4.62, apresenta íon molecular desprotonado $[M - H]^-$ em m/z 379,1921, compatível com a estrutura proposta contendo grupos hidroxila e cadeias preniladas. A fragmentação inicial envolve a clivagem da cadeia isoprenílica, formando o íon em m/z 321,14, correspondente à perda neutra de 58 Da, atribuída à eliminação de um fragmento isopropenílico. Em seguida, observa-se a formação do íon em m/z 364,16, resultante da perda adicional de 15 Da, associada à eliminação de um radical metil.

Na sequência, ocorre a formação do fragmento em m/z 305,11, atribuída à perda combinada de 74 Da, envolvendo clivagem adicional da cadeia lateral prenilada e rearranjos do esqueleto benzofenônico. Por fim, observa-se o fragmento em m/z 255,08, correspondente à ruptura do núcleo benzofenônico, com formação de um íon aromático estabilizado. Esse conjunto de fragmentações é consistente com o comportamento espectral esperado para benzofenonas preniladas e corrobora a estrutura proposta. O espectro de massas (MS) e o espectro de fragmentação (MS/MS) da benzofenona prenilada estão apresentados na figura 4.62, enquanto a proposta de fragmentação encontra-se ilustrada na figura 4.63.

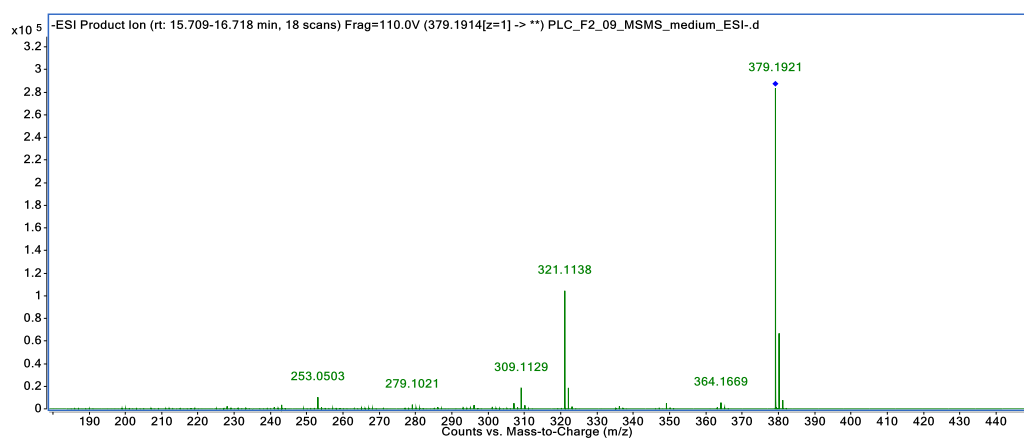
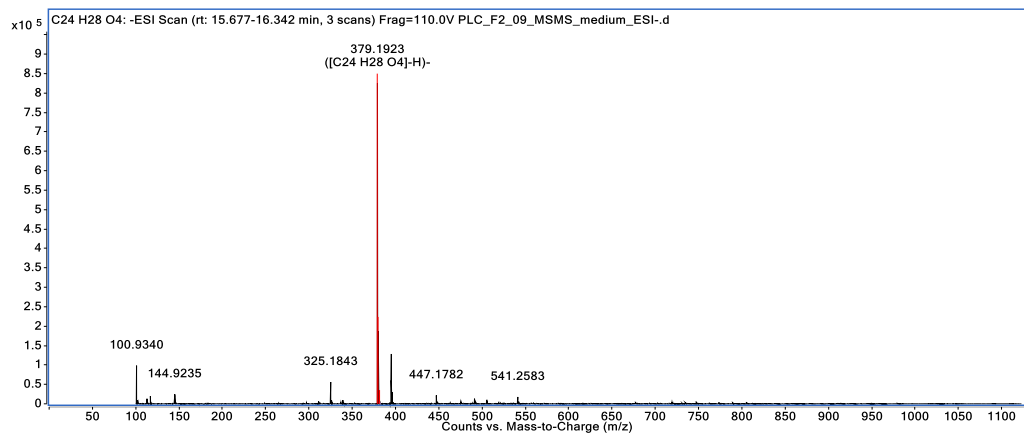


FIGURA 4.62- A: Espectros de MS e em B: MS/MS da substância 13.

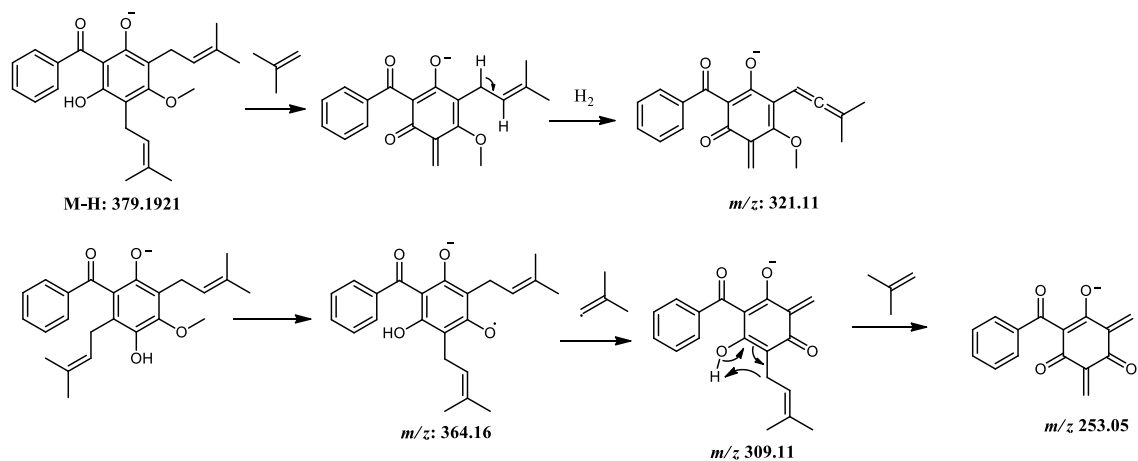


FIGURA 4.63- Proposta de fragmentação da substância 13 por ESI-MS/MS (modo negativo), $[M-H]^-$ em m/z : 379.1921 ($\Delta = 1.58$ ppm).

4.1.8.14 Substância 14 - Vismiaguienona 5

A substância 14 (figura 4.64) foi isolada da casca de *Vismia guianenses* a partir da fração PLC-F2 (BOTTA et al., 1986; FULLER et al., 1999; SEO et al., 2000). Sua estrutura foi elucidada por meio de experimentos de RMN de ^1H , ^{13}C , HSQC, HMBC, COSY e espectrometria de massas de alta resolução (HRESI-MS). A validação estrutural foi confirmada pela comparação dos espectros obtidos com dados previamente publicados na literatura, assegurando consistência e confiabilidade na determinação da estrutura molecular. Os espectros de RMN complementares referentes a essa substância encontram-se apresentados no Apêndice A (Figuras A96–A103).

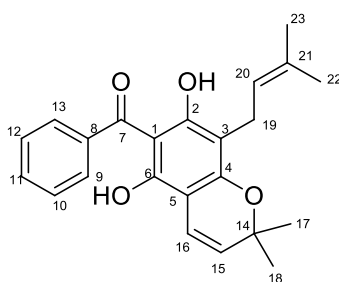


FIGURA 4.64- Estrutura química da substância 14.

Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C apresentam um perfil espectral compatível com o observado para os compostos previamente descritos, indicando tratar-se de uma benzofenona prenilada estruturalmente relacionada às discutidas nos tópicos anteriores. A presença de um próton fenólico fortemente quelado com o grupo carbonílico, associado à posição C-2, reforça essa proposta estrutural, embora sejam observadas variações na distribuição dos substituintes ao longo do anel aromático.

A atribuição posicional dos grupos substituintes foi fundamentada nas correlações heteronucleares de longo alcance observadas no espectro de HMBC, em conjunto com a análise dos deslocamentos químicos obtidos nos espectros unidimensionais. Duas hidroxilas fenólicas foram atribuídas às posições

C-2 e C-6, enquanto a unidade prenilada ciclizada, formando um anel cromênico, foi localizada nas posições C-4 e C-5. Adicionalmente, a presença de uma prenila acíclica foi estabelecida na posição C-3.

TABELA 4.18- Dados de RMN de ^1H e ^{13}C (δ , ppm), constantes de acoplamento (J , Hz) e correlações HMBC e COSY do composto isolado, obtidos em CDCl_3

C	^1H (J/Hz) δ	^{13}C δ	HMBC	COSY
1	–	105.4	–	–
2	–	162.1	–	–
3	–	105.2	–	–
4	–	158	–	–
5	–	101.9	–	–
6	–	154.7	–	–
7	–	200.7	–	–
8	–	143	–	–
9 e 13	7.47 <i>m</i>	127.2	C-7, C-11	–
10 e 12	7.37 (<i>t</i> , $J = 7.4$ Hz)	127.7	C-8	–
11	7.43 (<i>t</i> , $J = 7.7$ Hz)	130.0	C-9	–
14	–	77.3	–	–
15	6.47 (<i>d</i> , $J = 9.9$ Hz)	116.0	C-14	H-16
16	5.20 (<i>d</i> , $J = 10.0$ Hz)	125.3	C-14, C-5	H-15
17 e 18	1.43 <i>s</i>	27.4	C-14, C-16	–
19	3.43 (<i>d</i> , $J = 7.3$ Hz)	21.8	C-20, C-21, C-3, C-4 e C-2	H-20
20	5.30 (<i>t</i> , $J = 3.9$ Hz)	121.8	–	H-19
21	–	136.8	–	–
22	0.82 <i>s</i>	18.0	C-23, C-20, C-21	–
23	0.93 <i>s</i>	26.0	C-21, C-23, C-22	–
OH-2 ou 6	12.24 <i>s</i>	–	–	–

4.1.8.14.1 Espectro de massas para a substância Vismiaguienona 5

O íon precursor em m/z 365,17 sofre inicialmente clivagem da cadeia prenilada, resultando na formação do fragmento em m/z 309,11, correspondente à perda neutra de 56 Da, atribuída à eliminação de uma subunidade isoprenílica. Em seguida, observa-se a formação do íon em m/z 297,11, decorrente de rearranjos estruturais associados à abertura do anel e à reorganização da cadeia lateral prenilada, figura 4.65.

Na sequência, ocorre a fragmentação para o íon em m/z 231,06, atribuída à ruptura do núcleo benzofenônico e eliminação adicional de fragmentos alquênílicos, gerando um sistema aromático estabilizado. Por fim, observa-se a formação do fragmento em m/z 105,03, correspondente a um cátion benzílico ou benzóico substituído, resultante da clivagem completa do anel aromático. Esse padrão de fragmentação é consistente com o comportamento esperado para benzofenonas preniladas e sustenta a proposta mecanística apresentada na figura 4.66.

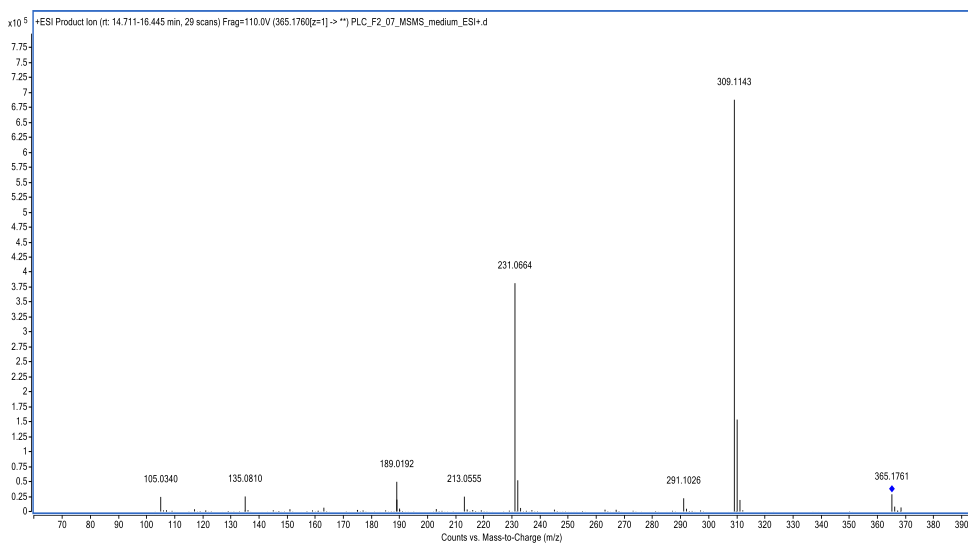
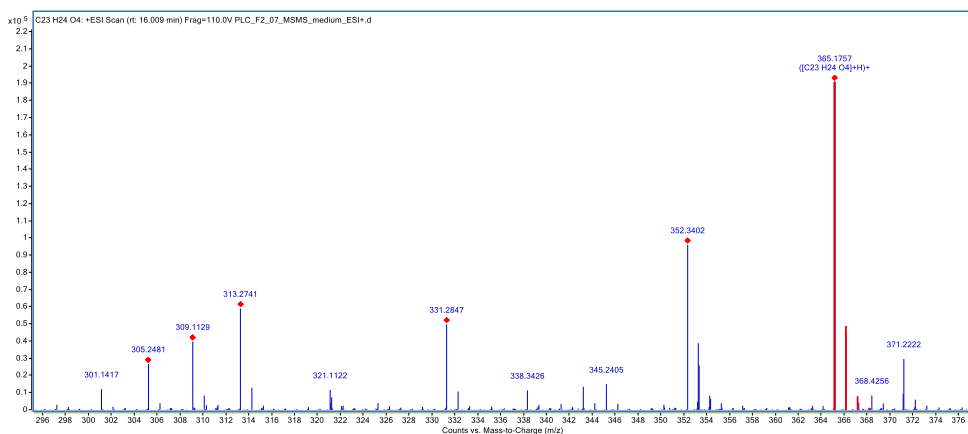


FIGURA 4.65- A: Espectros de MS e em B: MS/MS da substância 14.

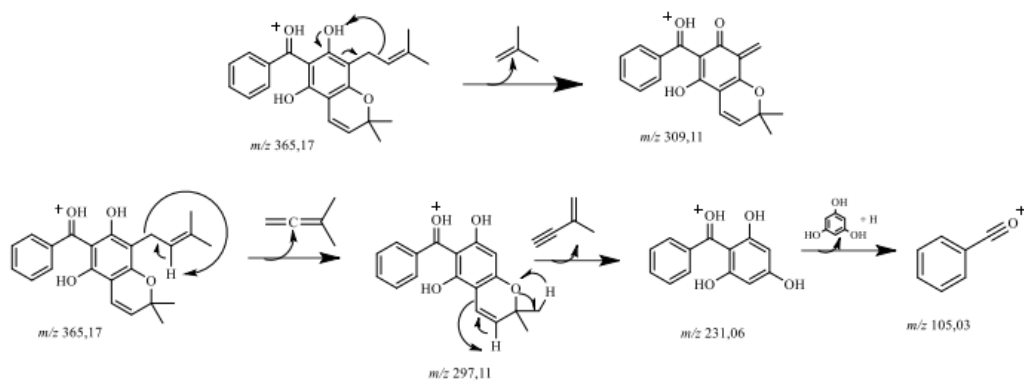


FIGURA 4.66- Proposta7 de fragmentação da substância 14 por ESI-MS/MS (modo positivo), $[M+H]^+$ em m/z : 365.1757 ($\Delta = 2.73$ ppm).

4.1.8.15 Substância 15- Vismiaguienona 6

A substância 15 (figura 4.67) Vismiaguienona 6, foi isolada da casca de *Vismia guianenses* a partir da fração PLC-F2 (BOTTA et al., 1986; FULLER et al., 1999; SEO et al., 2000). Sua estrutura foi elucidada por meio de experimentos de RMN de ^1H , ^{13}C , HSQC, HMBC, COSY e espectrometria de massas de alta resolução (HRESI-MS). A validação estrutural foi confirmada pela comparação dos espectros obtidos com dados previamente publicados na literatura, assegurando consistência e confiabilidade na determinação da estrutura molecular. Os espectros de RMN complementares referentes a essa substância encontram-se apresentados no Apêndice A (Figuras A104–A110).

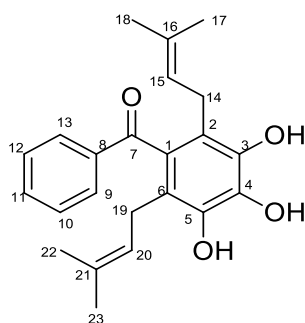


FIGURA 4.67- Estrutura química da substância 15.

Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C obtidos encontram-se em concordância com os compostos previamente descritos na literatura, permitindo caracterizar a substância como uma benzofenona prenilada, com estrutura semelhante àquelas discutidas nas seções anteriores.

Entretanto, a molécula apresenta indícios claros de simetria molecular, evidenciados pela presença de sinais de hidrogênios metílicos em δH 1,70 e 1,80, ambos integrandos para seis hidrogênios cada, o que confirma a presença de quatro grupos metila equivalentes. Adicionalmente, observa-se o sinal em δH 3,34, atribuído aos hidrogênios metilênicos da cadeia prenila, integrando

para quatro hidrogênios, indicando a presença de duas unidades prenila inseridas em ambientes químicos equivalentes.

Essa simetria estrutural é corroborada pelo espectro de RMN de ^{13}C , no qual se observa a intensidade aumentada de determinados sinais, como o deslocamento em δC 157,8, atribuído simultaneamente aos carbonos C-3 e C-5, confirmando a equivalência química dessas posições na molécula.

A atribuição dos sinais de ^1H e ^{13}C foi realizada com base nos experimentos de RMN unidimensionais e bidimensionais (COSY e HMBC), cujos dados encontram-se sumarizados na Tabela 4.19.

TABELA 4.19 - Dados de RMN de ^1H (δ , ppm; J em Hz) e ^{13}C (δ , ppm), bem como correlações observadas nos experimentos bidimensionais HMBC e COSY, da vismiaguinona 6, obtidos em CDCl_3 .

Posição	RMN ^1H	^{13}C (δ)	HMBC	COSY
1	–	104.7	–	–
2 e 6	–	106.4	–	–
3 e 5	–	157.8	–	–
4	–	161.2	–	–
7	–	198.2	–	–
8	–	140.4	–	–
9 e 13	7.64 (m)	128.1	C-11, C-7	–
10 e 12	7.51 (m)	129.2	C-8	–
11	7.57 (m)	132.2	C-9	–
14 e 19	3.34 (d, $J = 7.1$)	22.0	C-16, C-3, C-4	H-18, H-15
15 e 20	5.22 (t, $J = 1.4$)	121.9	C-21, C-19, C-17	H-14
16 e 21	–	135.2	–	–
17 e 23	1.70 (s)	25.9	C-16, C-18, C-15	H-15
18 e 22	1.80 (s)	18.0	C-16, C-17, C-15	H-14

4.1.8.15.1 Espectro de massas para a substância Vismiaguinona 6

A proposta de fragmentação apresentada na Figura 4.69 evidencia um padrão coerente com a estrutura benzofenônica prenilada do composto analisado. O íon molecular observado em m/z 367,1911 confirma a massa

molecular proposta e serve como ponto de partida para as principais rotas de dissociação. A formação do fragmento em m/z 311,12 pode ser atribuída à perda neutra de 56 Da, compatível com a clivagem de uma unidade isoprenoide, um comportamento recorrente em metabólitos prenilados. Essa etapa inicial de fragmentação indica que os grupos prenila estão ligados de forma relativamente lábil, favorecendo sua eliminação sob condições de ionização, o que sustenta a presença dessas unidades na estrutura.

A fragmentação subsequente conduz à formação dos íons em m/z 255,006 e m/z 177,001, os quais podem ser racionalizados por perdas adicionais envolvendo rearranjos do esqueleto benzofenônico e clivagens do anel aromático conjugado ao grupo carbonílico. O fragmento em m/z 255,006 sugere a manutenção do núcleo aromático-carbonílico após sucessivas perdas laterais, enquanto o íon de menor massa em m/z 177,001 indica uma fragmentação mais profunda, típica de sistemas aromáticos altamente conjugados. Em conjunto, esse padrão de fragmentação, figura 4.69, é consistente com dados previamente descritos para benzofenonas preniladas na literatura e reforça a elucidação estrutural proposta com base nos dados espectroscópicos de RMN.

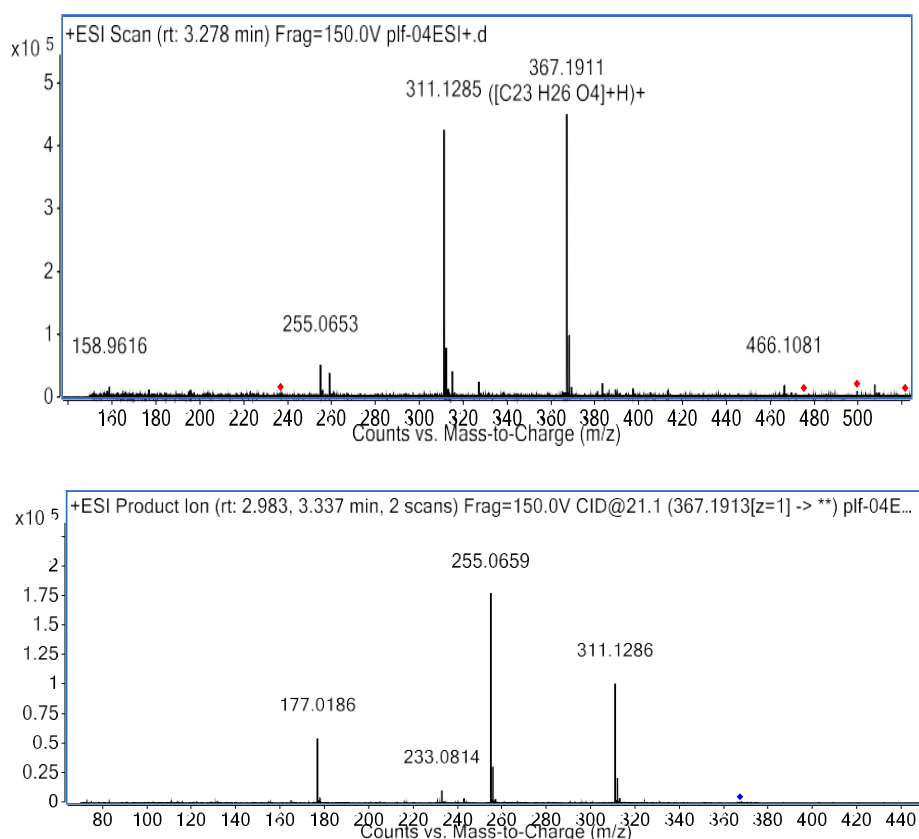


FIGURA 4.68- A: Espectros de MS e em B: MS/MS da substância 15.

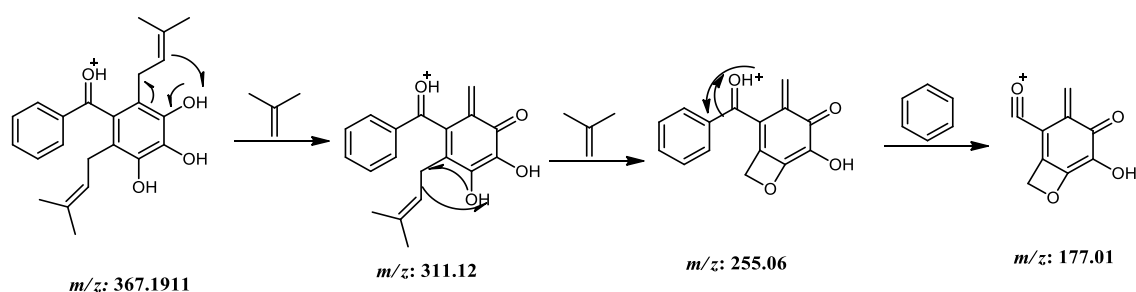


FIGURA 4.69- Proposta de fragmentação da substância 15 por ESI-MS/MS (modo positivo), $[M+H]^+$ em m/z : 367.1911 ($\Delta = 1.90$ ppm).

4.1.8.16 Substâncias 16- Hidroxiferruginin A

A substância 16 (figura 4.70) – Hidroxiferruginin A, foi isolada da casca de *Vismia guianenses* a partir da fração PLC-F2. Sua estrutura foi elucidada por meio de experimentos de RMN de ¹H, ¹³C, HSQC, HMBC, COSY e espectrometria de massas de alta resolução (HRESI-MS). A validação estrutural foi confirmada pela

comparação dos espectros obtidos com dados previamente publicados na literatura (MONACHE et al., 1980; LENTA et al., 2007), assegurando consistência e confiabilidade na determinação da estrutura molecular. Os espectros de RMN complementares referentes a essa substância encontram-se apresentados no Apêndice A (Figuras A111–A117).

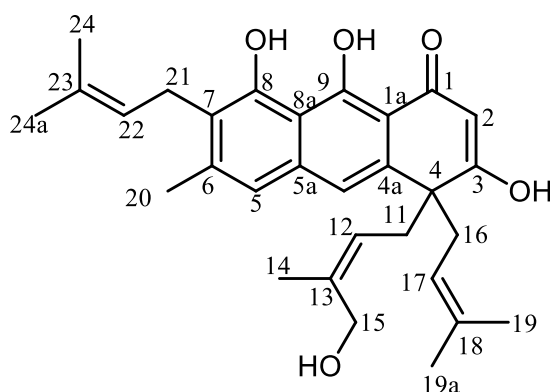


FIGURA 4.70- Estrutura química da substância 16.

A análise do espectro de RMN de ^{13}C revelou a presença de 30 sinais de carbono, cuja atribuição foi realizada com o auxílio do experimento bidimensional de HSQC. Esses sinais correspondem a seis grupos metila, quatro metilenos, seis carbonos vinílicos hidrogenados e quatorze carbonos quaternários, incluindo um grupo carbonílico característico observado em δC 192,2, em concordância com dados previamente reportados para compostos estruturalmente relacionados (MONACHE et al., 1980; LENTA et al., 2007).

O espectro de RMN de ^1H evidenciou a presença de um próton hidroxílico fortemente quelado em δH 10,09, além de dois prótons aromáticos singletos em δH 7,04 (1H, *s*) e 7,13 (1H, *s*), e sinais atribuídos a hidrogênios metilênicos em δH 3,76 (2H, *m*). O deslocamento químico e o padrão de multiplicidade desses sinais são compatíveis com a influência desblindante de um grupo hidroxila, atribuída à elevada eletronegatividade do oxigênio.

O grupo metilênico previamente mencionado ($\text{CH}_2\text{--OH}$) integra uma unidade prenilada presente na molécula. Adicionalmente, foram identificados

sinais característicos de outras duas prenilas, incluindo hidrogênios metilênicos em δH 3,03 e um duplete em δH 3,47 (2H, $J = 7,2$ Hz), cuja desblindagem está associada à proximidade com ligações duplas. Observam-se ainda sinais de hidrogênios vinílicos como tripletos em δH 5,15 (1H, $J = 7,1$ Hz) e δH 4,63 (1H, $J = 7,1$ Hz), além de quatro singletos correspondentes a grupos metila olefinicos na região de δH 1,40–1,90, corroborando a presença de múltiplas unidades preniladas.

Essas atribuições foram confirmadas pelos dados de RMN de ^{13}C , que indicaram três carbonos metilênicos em δC 25,4, 40,8 e 41,5, três carbonos vinílicos em δC 118,4, 121,5 e 122,8, bem como sinais correspondentes a cinco grupos metila entre δC 18,4 e 26,3. Adicionalmente, foi observado um sinal característico de metila ligada a anel aromática em δC 21,1, reforçando a proposta estrutural.

No espectro bidimensional de HMBC foram observadas correlações entre os prótons metílicos em δH 2,39 e os carbonos C-7 e C-5, indicando a localização desse grupo metila na posição C-6, em conformidade com considerações biogenéticas (figura 4.21). Além disso, os prótons metilênicos da unidade prenil apresentaram correlações de longo alcance com o carbono saturado em δC 50,2 (C-4), evidenciando de forma inequívoca a ligação dessa cadeia ao C-4.

A presença de uma hidroxila livre foi atribuída ao carbono C-3 (δC 181,9), um carbono quaternário cujo deslocamento químico é característico de um carbono vinílico ligado a oxigênio. Observou-se ainda que os prótons aromáticos em δH 7,04 (1H, s) e 7,13 (1H, s) apresentam correlações no espectro de HMBC com os carbonos (C-5a, C-10, C-7, C-8a, C-20) e (C-1a, C-5a, C-5, C-8a, C-4), respectivamente. Essas correlações confirmam a localização desses prótons aromáticos nas posições C-5 e C-10 do esqueleto aromático.

Em conjunto, os dados obtidos a partir dos espectros de RMN unidimensionais e bidimensionais permitem uma atribuição estrutural consistente, em pleno acordo com os dados previamente descritos na literatura para compostos da mesma classe química. Tabela (MONACHE et al., 1980; LENTA et al., 2007).

TABELA 4.20 - Dados de RMN de ^1H e ^{13}C (δ , ppm), constantes de acoplamento (J , Hz) e correlações HMBC e COSY do composto isolado, obtidos em CDCl_3

Posição	$\delta^1\text{H}$ (ppm, J/Hz)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	HMBC	COSY
1	–	192.2	–	–
1a	–	108.7	–	–
2	5.79 s	104.9	C-4, C-1a	–
3	–	181.9	–	–
4	–	50.2	–	–
4a	–	139.7	–	–
5	7.04 s	119.1	a, C-10, C-7, C-8a, C	–
5a	–	111.5	–	–
6	–	142.2	–	–
7	–	122.9	–	–
8	–	154.5	–	–
8a	–	136.8	–	–
9	10.09 (OH)	163.1	–	–
10	7.13 s	115.7	C-4a, C-5a, C-8a	–
11	2.62 (dd, $J = 13.1, 5.7$)	41.5	C-4, C-12	H-16, H-17, H-12
12	4.90 (dd, $J = 7.1, 4.8$)	121.5	–	–
13	–	137.2	–	–
14	1.54 s	14.5	C-15, C-12, C-13	–
15	3.76 m	68.9	C-11, C-13	–
16	3.03 (dd, $J = 23.0, 14.2$)	40.8	C-4, C-18, C-4a	H-11
17	4.63 (d, $J = 7.1$)	118.4	C-19, C-19a, C-16	H-19, H-18
18	–	135.4	–	–
19	1.48 s	26.2	C-19, C-17, C-18	H-17
19a	2.48 s	48.4	C-5, C-6, C-7	H-17
21	3.47 (d, $J = 7.8$)	122.1	C-7, C-23, C-6	H-22
22	5.15 (d, $J = 7.8$)	75.8	C-7, C-21, C-23	H-21
23	–	122.1	–	–
24a	1.70 s	26.2	C-24a, C-22, C-23	–
24b	1.82 s	18.4	C-24, C-22, C-23	–

4.1.8.16.1 Espectro de massas para a substância 16

O espectro de massas (figura 4.71) apresenta íon molecular em m/z 477,2649, compatível com uma estrutura policíclica altamente oxigenada e prenilada. A fragmentação inicial envolve a perda de uma molécula de água (-18 Da), resultando no íon em m/z 459,25, atribuída à desidratação de grupos hidroxila

alifáticos. Em seguida, observa-se a clivagem da cadeia prenilada, levando à formação do fragmento em m/z 382,20, correspondente à perda neutra de 95 Da, compatível com a eliminação de uma subunidade isoprenílica funcionalizada.

Na sequência, ocorre a formação do íon em m/z 408,19, resultante de rearranjos estruturais envolvendo migração de hidrogênios e reorganização da cadeia lateral, com retenção parcial da unidade prenilada. Esse padrão de fragmentação é consistente com a substância proposta e com o mecanismo de fragmentação apresentado na figura 4.72.

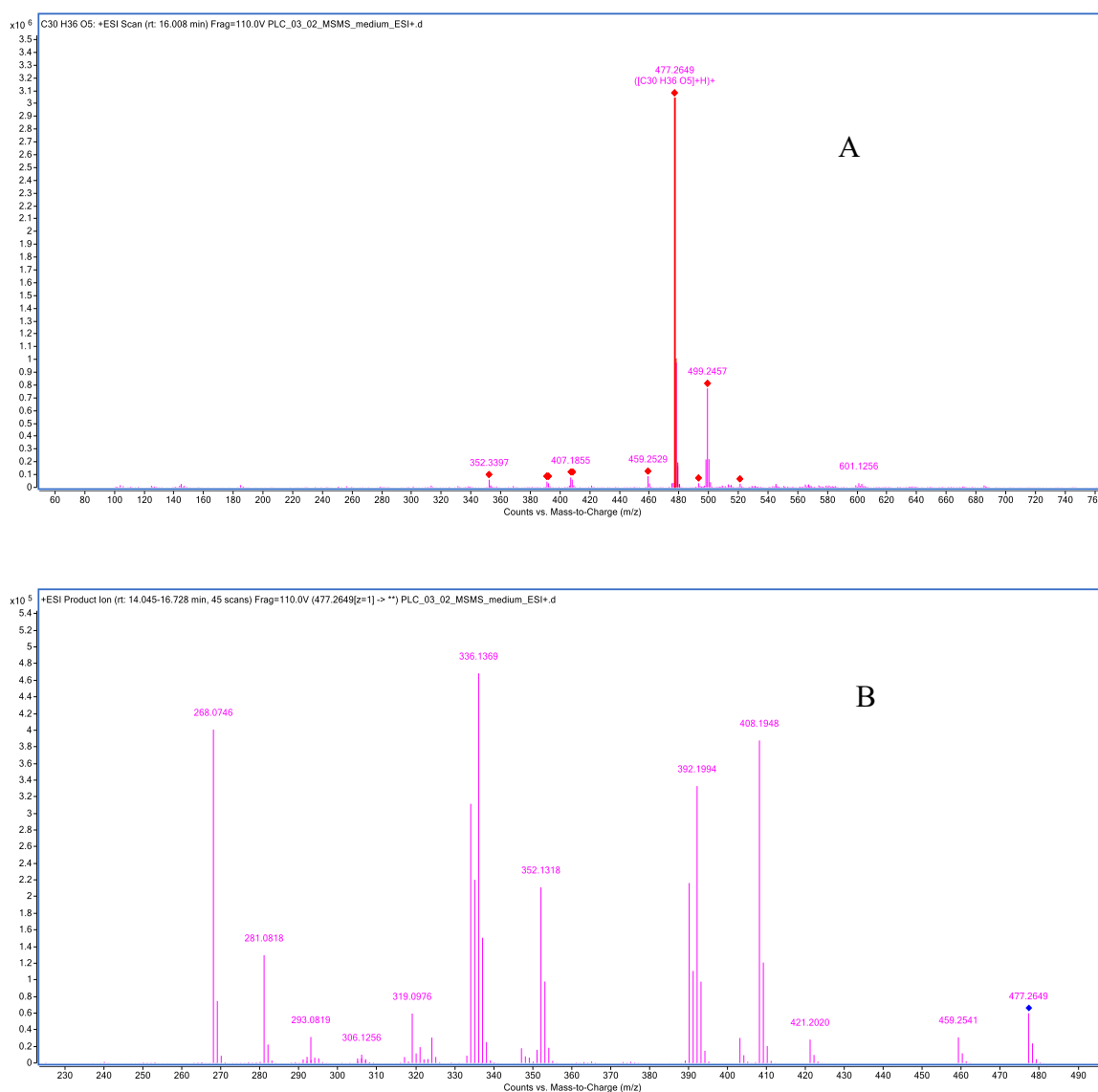


FIGURA 4.71- A: Espectros de MS e em B: MS/MS da substância 16.

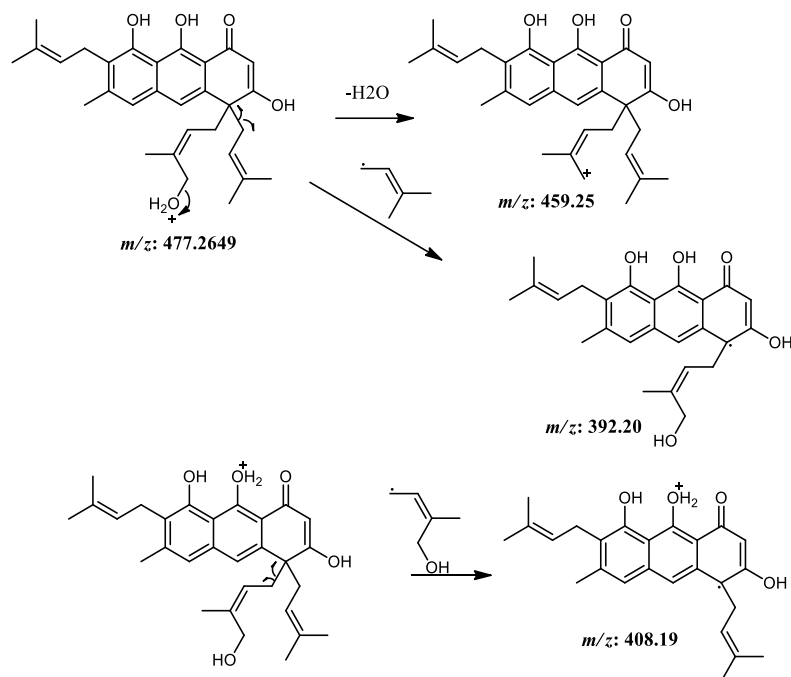


FIGURA 4.72- Proposta de fragmentação da substância 16 por ESI-MS/MS (modo positivo), [M+H]⁺ em m/z: 477.2649 ($\Delta = 2.72$ ppm).

4.2 Resultados-biológicos

4.2.1 Ensaio com Formigas – Extratos Brutos

Os resultados obtidos mostram a ação tóxica dos extratos vegetais avaliados frente às operárias de *Atta sexdens*. As curvas de sobrevivência revelam diferenças significativas entre os tratamentos ao longo dos 21 dias de observação.

O grupo controle tratado com dieta contendo apenas metanol apresentou alta sobrevivência durante todo o período experimental, confirmando

que o solvente utilizado não exerceu efeito deletério significativo sobre as formigas. Figura 4.73.

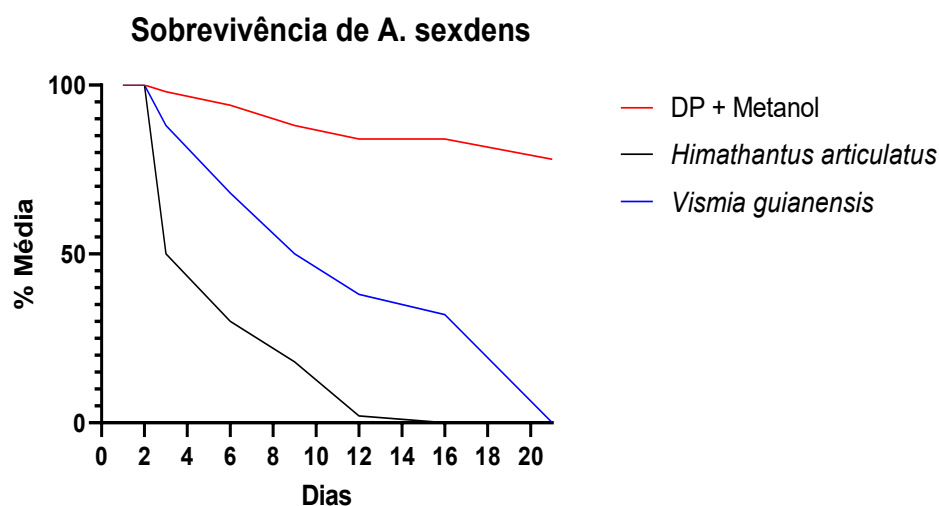


FIGURA 4.73- Curvas de sobrevivência de operárias de *Atta sexdens* submetidas à dieta controle com metanol e aos extratos que tiveram maior índice de mortalidade.

Por outro lado, os extratos testados ocasionaram reduções expressivas na sobrevivência das operárias, indicando seus potenciais atividades inseticidas.

O extrato de *Himatanthus articulatus* destacou-se por promover mortalidade acelerada, com 100% de mortalidade alcançada por volta do 12º dia. Esse comportamento foi corroborado pelos valores acumulados de mortalidade apresentados na Figura 4.73, os quais demonstram incremento crescente e significativo já a partir do 6º dia de experimento, com valores superiores a 90% até o 12º dia. A mediana de sobrevivência (Md) observada para esse tratamento foi de 6 dias, evidenciando efeito letal rápido sobre as operárias.

Da mesma forma, o extrato de *Vismia guianensis* também apresentou efeito tóxico, embora menos pronunciado que *H. articulatus* (Figura 4.73). A mortalidade acumulada atingiu 100% no 21º dia, com mediana observada de 9 dias. Esse perfil indica uma ação inseticida progressiva, porém mais lenta em comparação ao extrato de *H. articulatus*. Ambos os extratos diferiram estatisticamente do controle, reforçando a eficácia dos compostos bioativos presentes nas espécies avaliadas, como indicado pelas letras distintas atribuídas pelo teste de log-rank ($p < 0,05$).

A Tabela 4.21 apresenta os tratamentos avaliados quanto à mortalidade observada no experimento, em comparação ao controle negativo, composto por dieta padrão contendo o solvente metanol, bem como os dados comparativos correspondentes apresentados ao decorrer dos dias de análise.

TABELA 4.21- Percentual acumulado de mortalidade ao longo do tempo para diferentes tratamentos

TRATAMENTO	% acumulada de mortalidade por dia								
	1	2	3	6	9	12	16	21	
DP + Metanol	0	0	2	6	12	16	16	22	>21a
<i>Vismia guianensis</i>	0	0	12	32	50	62	68	100	9b
<i>Himatanthus articulatus</i>	0	0	4	62	92	98	100	100	6b

* Letras distintas em relação ao controle indicam diferença significativa de acordo com o teste “log rank” ($p < 0,05$)

Esses achados sugerem que *H. articulatus*, em particular, possui substâncias com elevado potencial para o desenvolvimento de formulações inseticidas direcionadas ao controle de formigas cortadeiras. A rápida redução na sobrevivência das operárias pode refletir mecanismos de ação ligados à interferência em processos fisiológicos essenciais ou à presença de metabólitos secundários com forte atividade tóxica. Assim, os dados gerados reforçam a importância de estudos fitoquímicos e toxicológicos complementares, com vistas à caracterização dos compostos responsáveis e à exploração do potencial dessas

espécies como alternativas sustentáveis para o manejo integrado de pragas agrícolas.

4.2.2 Ensaio com Formigas – Frações de *Himatanthus articulatus*

As frações obtidas a partir do extrato de *Himatanthus articulatus* apresentaram distintos perfis de toxicidade frente às operárias de *Atta sexdens*, demonstrando que a atividade inseticida da espécie está distribuída de forma diferencial entre seus constituintes químicos. Conforme ilustrado na curva de sobrevivência, todas as frações reduziram significativamente a sobrevivência das formigas em comparação ao controle (dieta + metanol), evidenciando forte potencial bioinseticida, figura 4.74.

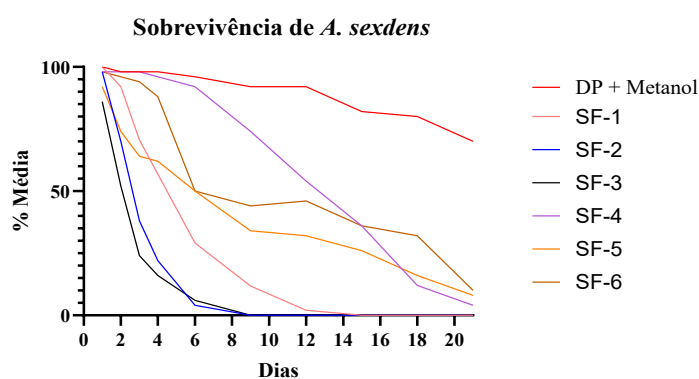


FIGURA 4.74- Curvas de sobrevivência de operárias de *Atta sexdens* submetidas à dieta controle com metanol e as frações de *H. articulatus*.

Entre as frações avaliadas, destacam-se SF-1, SF-2 e SF-3, que promoveram mortalidade acelerada, resultando em 100% de mortalidade em aproximadamente 6–8 dias. A fração SF-2 apresentou o perfil mais agressivo, com queda abrupta na sobrevivência já nos primeiros dias de experimento, indicando alta concentração de compostos bioativos com ação direta e rápida sobre fisiologia e/ou comportamento alimentar das operárias.

As frações SF-4, SF-5 e SF-6 também apresentaram efeitos tóxicos significativos, porém com mortalidade mais gradual ao longo dos dias. Esses perfis sugerem a presença de substâncias com ação cumulativa e possivelmente

mecanismos tóxicos menos imediatos, como inibição metabólica progressiva ou interferência no sistema digestivo das formigas, Tabela 4.21.

TABELA 4.21A- Percentual acumulado de mortalidade acumulada das frações ao longo do tempo

TRATAMENTO	% Acumulada de mortalidade por dia										Md*
	1	2	3	4	6	9	12	15	18	21	
DIETA PURA	0	2	2	2	4	8	8	18	20	30	>21a
SF-1	0	7	29	43	70	88	98	100	100	100	5b
SF-2	2	30	62	78	96	100	100	100	100	100	3b
SF-3	14	48	76	84	94	100	100	100	100	100	3b
SF-4	2	2	2	4	8	26	46	64	88	96	13b
SF-5	8	26	36	38	50	66	68	74	84	92	6b
SF-6	2	4	4	6	12	50	56	64	68	90	9b

* Letras distintas em relação ao controle indicam diferença significativa de acordo com o teste "log rank" (p< 0,05)

O grupo controle, alimentado com dieta contendo apenas metanol, manteve elevada taxa de sobrevivência, demonstrando que o solvente não interferiu no comportamento ou viabilidade das operárias, reforçando que a mortalidade observada nos demais grupos decorre exclusivamente das frações avaliadas

Esses resultados reforçam o potencial de *H. articulatus* como fonte relevante de compostos com atividade inseticida natural. A resposta diferenciada entre as frações indica que a atividade biológica está relacionada a grupos químicos específicos, evidenciando a necessidade de prosseguir com estudos de fracionamento direcionado, isolamento e elucidação estrutural dos metabólitos bioativos. Ademais, os compostos já isolados a partir deste extrato ainda serão

avaliados quanto ao seu potencial inseticida específico, permitindo validar e complementar os resultados observados nas frações brutas.

A possibilidade de interações sinérgicas entre os constituintes também deve ser considerada, uma vez que efeitos combinados podem desempenhar papel significativo na eficácia observada. A caracterização detalhada dessas moléculas e a compreensão de seus mecanismos de ação poderão subsidiar o desenvolvimento de estratégias sustentáveis e ecologicamente compatíveis para o manejo integrado de formigas cortadeiras, pragas de elevada relevância econômica em sistemas agrícolas tropicais.

Assim, os achados deste estudo contribuem para o avanço do conhecimento sobre produtos naturais com potencial inseticida e abrem perspectivas para aplicações biotecnológicas na proteção de culturas e redução do uso de pesticidas sintéticos.

4.2.3 Ensaios com Formigas – Frações e Compostos de *Vismia guianensis*

As curvas de sobrevivência de operárias de *Atta sexdens* submetidas ao tratamento avaliado e ao grupo controle evidenciam comportamentos distintos ao longo do período experimental. O grupo controle manteve elevada taxa de sobrevivência durante todo o ensaio, confirmando que o veículo utilizado não exerceu efeito tóxico significativo sobre as operárias. Em contraste, o grupo tratado apresentou redução progressiva da sobrevivência, com declínio mais acentuado a partir dos dias intermediários do experimento, indicando efeito tóxico cumulativo do tratamento. A separação consistente entre as curvas de sobrevivência demonstra diferença significativa no padrão de mortalidade entre os grupos, reforçando o impacto biológico do composto testado e seu potencial inseticida frente a *Atta sexdens* (Figura 4.75).

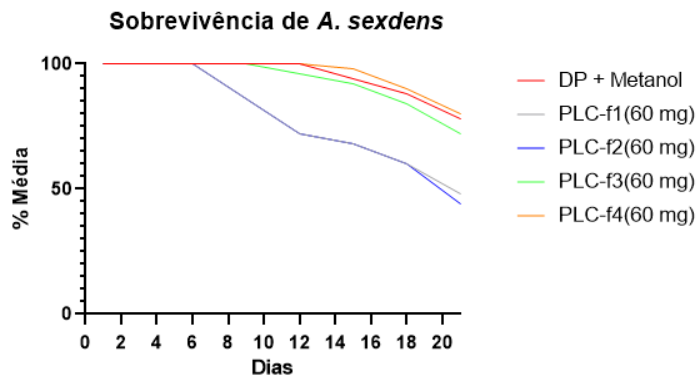


FIGURA 4.75- Curvas de sobrevivência de operárias de *Atta sexdens* submetidas à dieta controle com metanol e as frações de *Vismia guianensis*.

4.2.4 Ensaio antimicrobiano de *Himatanthus articulatus* e *Vismia guianensis* contra *L. gongylophorus*

Foram avaliados os dois extratos estudados neste trabalho quanto à atividade antifúngica frente ao fungo simbiote *Leucoagaricus gongylophorus*, utilizando o halo de inibição do crescimento fúngico como parâmetro avaliativo. Os resultados demonstraram que o extrato de *Himatanthus articulatus* apresentou maior atividade antifúngica, promovendo inibição total do crescimento micelial, com halo de 70 mm (figura 4.76, Tabela 4.22).

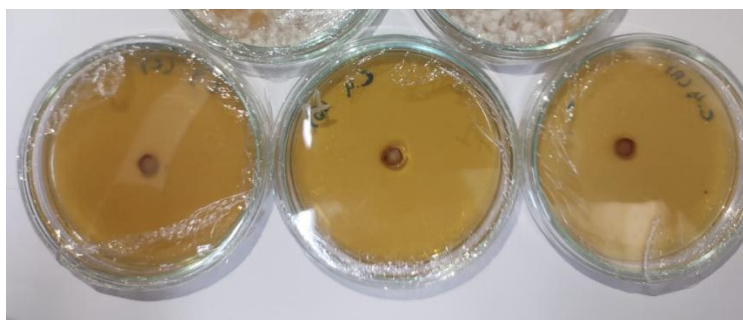


FIGURA 4.76- Experimento de inibição de *Leucoagaricus gongylophorus*, usando *Himatanthus articulatus*.

TABELA 4.22- Atividade antifúngica frente a *Leucoagaricus gongylophorus* avaliada pelo halo de inibição, usando extrato de *Himatanthus articulatus*

Amostra (100mg/mL)	HALO DE INIBIÇÃO			MÉDIA	SD
	(mm)				
Extrato de <i>Himatanthus articulatus</i>	70	70	70	70.0	0.0
Controle negativo (DMSO)	6.00	6.00	6.00	6.00	0.00
Xantiletina (100ug/mL)	70.00	70.00	70.00	70.00	0.00

Em contraste, o extrato de *Vismia guianensis* apresentou halo de inibição reduzido, de apenas 6 mm, sendo considerado pouco ativo e, portanto, inadequado para a continuidade das avaliações frente ao fungo (figura 4.77, Tabela 4.23).



FIGURA 4.77- Experimento de inibição de *Leucoagaricus gongylophorus*, usando extrato de *Vismia guianensis*.

TABELA 4.23- Atividade antifúngica frente a *Leucoagaricus gongylophorus* avaliada pelo halo de inibição, usando extrato de *Vismia guianensis*.

Amostra (100mg/mL)	HALO DE INIBIÇÃO			MÉDIA	SD
	(mm)				
<i>Vismia guianensis</i>	6	6	6	6.0	0.0
Controle negativo (DMSO)	6.00	6.00	6.00	6.00	0.00
Xantiletina (100ug/mL)	70.00	70.00	70.00	70.00	0.00

4.2.5 Ensaios antimicrobiana de frações de *Himatanthus articulatus*

A atividade homogênea observada entre todas as frações sugere que os metabólitos responsáveis pelo efeito se encontram amplamente distribuídos no

extrato bruto ou que diferentes classes químicas possuem ação sinérgica na inibição microbiana. Essa característica torna a espécie um alvo promissor para futuros processos de fracionamento direcionado, purificação de compostos e posterior elucidação estrutural, com potencial aplicação no desenvolvimento de agentes antimicrobianos naturais. Figura 4.78.

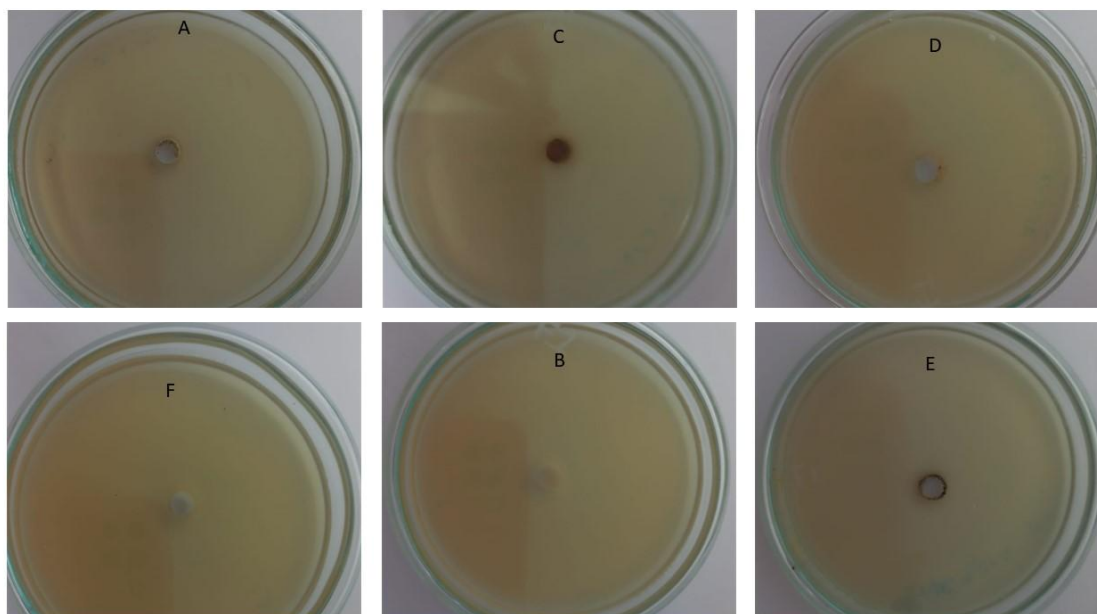


FIGURA 4.78- Avaliação inibitória das frações de *Himantanthus articulatus*, A: SF-1 1; B: SF-2; C:SF-3; D: SF-4-; E: SF-5; F:SF-6.

4.2.6 Ensaios antimicrobiana de compostos isolados de *Himantanthus articulatus*

A avaliação da atividade fungicida dos metabólitos isolados de *Himantanthus articulatus* frente a *Leucoagaricus gongylophorus* evidenciou inibição completa do crescimento micelial para a maioria dos tratamentos testados. Conforme observado, as substâncias de 01 a 8 apresentaram halos de inibição correspondentes a 70,0 mm, valor equivalente ao diâmetro total da placa de Petri, indicando inibição de 100% do crescimento fúngico. Esse padrão uniforme, associado a desvio-padrão nulo, demonstra elevada reprodutibilidade e potência fungicida máxima dos compostos avaliados nas concentrações testadas.

A ausência de crescimento micelial visível reforça a elevada susceptibilidade de *L. gongylophorus* aos iridoídes de *H. articulatus*, destacando o potencial desses metabólitos como agentes fungicidas direcionados ao controle do fungo simbiote de formigas cortadeiras apresentadas na Tabela 4.24.

TABELA 4.24- Atividade antifúngica frente a *Leucoagaricus gongylophorus* avaliada pelo halo de inibição, usando as substâncias 1 à 8.

Tratamento	Tamanho	Tamanho	Tamanho	Média	Desvio	μM
Substâncias	mm	mm	mm		padrão	
1	70.0	70.0	70.0	70.0	0.0	35.9
2	70.0	70.0	70.0	70.0	0.0	34.2
3	70.0	70.0	70.0	70.0	0.0	34.4
4	70.0	70.0	70.0	70.0	0.0	21.9
5	70.0	70.0	70.0	70.0	0.0	21.9
6	70.0	70.0	70.0	70.0	0.0	35.7
7	70.0	70.0	70.0	70.0	0.0	16.3
8	70.0	70.0	70.0	70.0	0.0	12.8

4.3 DISCUSSÃO

4.3.1 Frações PLC-f1 a PLC-f4 de *Vismia guianensis*

A avaliação da toxicidade das frações PLC-f1 a PLC-f4 de *Vismia guianensis* sobre operárias de *Atta sexdens* indicou que as diferentes frações apresentaram comportamentos distintos quanto ao impacto na sobrevivência das formigas. O grupo controle (DP + metanol) manteve elevada taxa de sobrevivência ao longo do experimento, confirmando que os veículos utilizados não afetaram significativamente a mortalidade e assegurando a confiabilidade dos dados, apresentados na figura 4.79.

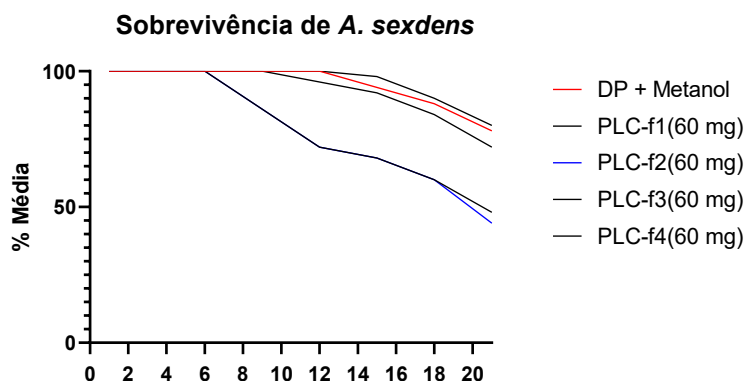


FIGURA 4.79- Curva de sobrevivência de operárias de *Atta sexdens* submetidas à Dieta Pura (grupo controle) e ao tratamento com frações de *Vismia guianensis* oferecidos em dieta artificial sólida.

Dentre as frações avaliadas, observou-se que PLC-f2 e PLC-f1 apresentaram maior atividade inseticida, com medianas de sobrevivência de 21 e 20 dias, respectivamente. Embora a diferença em relação ao controle tenha sido moderada, ambas as frações promoveram mortalidade progressiva ao longo do período experimental, sobretudo após o 12º dia de exposição, indicando um efeito tóxico acumulativo. Esse padrão gradativo é consistente com compostos que podem atuar por vias metabólicas ou fisiológicas que exigem tempo para provocar desbalanço letal no organismo das formigas, indicando uma possível interferência em processos biológicos cruciais como digestão, metabolismo energético ou comunicação social.

As frações PLC-f3 e PLC-f4 não diferiram significativamente do controle, apresentando medianas de sobrevivência superiores a 21 dias, sugerindo baixo ou nenhum efeito tóxico no nível testado (60 mg). Essas frações podem conter compostos menos ativos ou em menor concentração, reforçando a necessidade de prosseguimento com análises químicas direcionadas a identificação de fitoconstituintes majoritários e/ou bioativos.

A comparação entre as frações demonstra que o fracionamento do extrato bruto pode concentrar componentes com atividade anti-formigas, embora nem todas as frações tenham exibido potencial relevante. Notavelmente, PLC-f1

e PLC-f2 mostraram-se candidatas mais promissoras para investigações posteriores, incluindo estudos mecanísticos e ensaios com concentrações mais amplas. Além disso, a diferença observada entre as frações indica que compostos bioativos podem estar distribuídos de forma seletiva, reforçando a importância do fracionamento como estratégia para prospecção de metabólitos naturais com potencial inseticida.

De modo geral, os resultados sugerem que *Vismia guianensis* possui substâncias com potencial de aplicação no manejo de *Atta sexdens*, praga de grande relevância agrícola. Entretanto, os efeitos mais suaves observados nas frações, em comparação aos compostos purificados, indicam que a ação biológica pode estar associada a moléculas específicas ou à sinergia entre componentes presentes no extrato total. Estudos futuros visando elucidar o perfil químico de cada fração, bem como ensaios comportamentais e toxicológicos adicionais, serão essenciais para determinar a viabilidade de desenvolvimento de formulações bioinseticidas baseadas nessa espécie vegetal.

4.3.2 Compostos isolados de *Vismia guianensis* sobre *Atta sexdens*

No presente estudo, foram avaliados os efeitos de substâncias isoladas de *Vismia guianensis* (sub 12 à 16), sobre a sobrevivência de operárias de *Atta sexdens*, utilizando dieta artificial como veículo de exposição. Os resultados demonstraram que diferentes compostos apresentaram potenciais atividades inseticidas, refletidas tanto na curva de sobrevivência quanto na mediana de sobrevivência das operárias (Md). Figura 4.80.

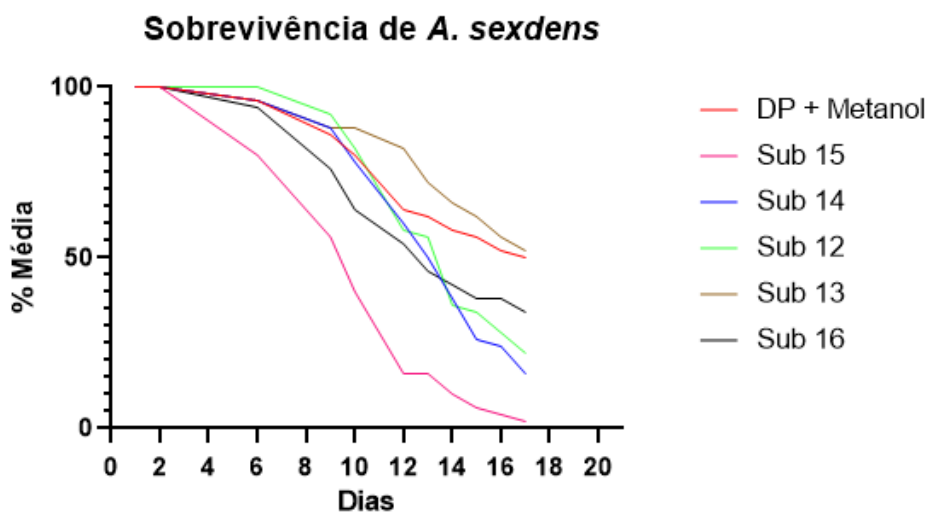


FIGURA 4.80- Curva de sobrevivência de operárias de *Atta sexdens* submetidas à Dieta Pura (grupo controle) e ao tratamento com substâncias puras, de 12 à 16.

O grupo controle (DP + metanol) manteve maior taxa de sobrevivência ao longo do período experimental, confirmando a ausência de efeito tóxico significativo dos veículos utilizados e validando o ensaio. Comparativamente, alguns compostos isolados evidenciaram impacto substancial na mortalidade das operárias. Dentre eles, destacou-se o composto 15, que apresentou a menor mediana de sobrevivência (10 dias), seguido por 14 (11 dias) e 16 (13 dias), indicando maior toxicidade relativa. Essas substâncias promoveram declínio acentuado da sobrevivência a partir do 6º dia de exposição, com elevada acumulação de mortalidade após o 10º dia.

Os compostos 13 e 15 também demonstraram efeito significativo sobre a mortalidade das operárias, com medianas de sobrevivência de 13 e 9 dias, respectivamente, porém com taxas de mortalidade inicial mais graduais quando comparadas às observadas para 12 e 14. Por outro lado, 15 apresentou baixa atividade inseticida, exibindo mediana de sobrevivência superior a 17 dias,

semelhante ao grupo controle, sugerindo menor potencial bioativo frente às operárias de *A. sexdens*.

A análise estatística pelo teste log-rank evidenciou diferenças significativas para a maioria dos compostos quando comparados ao controle, reforçando seu potencial como moléculas bioativas. O conjunto dos resultados sugere que determinados metabólitos da *V. guianensis*, especialmente 15, 12 e 14, possuem efeitos tóxicos relevantes sobre formigas cortadeiras, o que aponta para possível aplicação futura no manejo integrado dessas pragas agrícolas.

Do ponto de vista ecológico e econômico, o controle de *Atta sexdens* representa desafio crítico, dada sua relevância para perdas agrícolas e dificuldade de manejo com produtos convencionais. Assim, a identificação de moléculas naturais com atividade inseticida abre perspectivas para desenvolvimento de bioinseticidas menos impactantes ao ambiente e com possíveis propriedades seletivas. Estudos complementares visando elucidação do mecanismo de ação, avaliação de toxicidade em organismos não-alvo e formulação aplicada serão essenciais para o avanço desse potencial biotecnológico.

4.3.3 Análise e Discussão da Atividade Fungicida Máxima dos Iridoides de *Himatanthus articulatus*

Com base na interpretação de que o valor numérico 70.0 mm corresponde ao diâmetro máximo da placa de Petri, e, portanto, a uma inibição de 100% do crescimento micelial esperado de *Leucoagaricus gongylophorus*, o texto para a tese é reformulado para refletir uma atividade fungicida máxima e robusta dos compostos.

4.3.4 Atividade Fungicida Máxima de Metabólitos de *Himatanthus articulatus* contra *Leucoagaricus gongylophorus*

O presente estudo avaliou o potencial fungicida de metabólitos secundários isolados de *Himatanthus articulatus* contra *Leucoagaricus gongylophorus*, o fungo simbiote das formigas cortadeiras (*Atta* sp.). Diferentemente de fungos de vida livre, *L. gongylophorus* é um organismo co-evoluído e altamente especializado, tornando sua suscetibilidade a compostos vegetais um achado de grande relevância ecológica e farmacológica.

4.3.5 Confirmação da Bioatividade Inibitória

Os resultados quantitativos do ensaio antimicrobiano são inequívocos. Os tratamentos ativos (incluindo 1 à 8 correspondentes a diferentes compostos isolados) apresentaram um halo de inibição de 70.0 a 0.0 mm. Considerando que 70.00 mm representa o diâmetro total da placa de ensaio, este resultado deve ser interpretado como uma inibição completa (100%) do crescimento micelial. Isso demonstra que os derivados de *H. articulatus* possuem uma potência fungicida máxima nas concentrações testadas, impedindo totalmente a proliferação do simbiote fúngico.

4.3.6 Implicações da Estrutura Química na Atividade

As substâncias testadas são iridoides, caracterizados pela estrutura monoterpênica. O ensaio avaliou dois grupos principais (Sub 1-8): os iridoides não glicosilados (agliconas) (1, 2, 3 e 6) e os glicosídeos iridoides (4, 5, 7 e 8). A observação de que múltiplas frações e compostos resultaram em inibição máxima sugere que:

Potencial Amplo: Vários iridoides presentes em *H. articulatus* possuem a capacidade de interferir em vias metabólicas ou estruturais essenciais de *L. gongylophorus*.

Sinergismo: Caso os tratamentos SF1 a SF6 representem frações, a atividade máxima pode ser decorrente de um efeito sinérgico entre os iridoides e outros fitoquímicos presentes.

Bioatividade Intrínseca: Se os compostos 1-8 corresponderem a tratamentos individuais, a atividade máxima implica que tanto as agliconas (lipofílicas) quanto os glicosídeos (polares) são capazes de atingir e afetar o fungo, sugerindo um mecanismo de ação altamente eficaz ou uma alta susceptibilidade do simbiote.

4.3.7 Relevância Ecológica e Biológica

A atividade fungicida máxima dos iridoides contra *L. gongylophorus* é um achado de significativa relevância ecológica. A co-evolução entre as formigas cortadeiras e seu fungo simbiote resulta em uma associação altamente protegida de predadores e patógenos. A capacidade dos iridoides de *H. articulatus* de interromper este sistema fúngico indica que estes metabólitos possuem um grande potencial para o desenvolvimento de agentes anti-simbióticos ou fungicidas direcionados.

Em conclusão, a atividade máxima observada reforça o potencial de *H. articulatus* como fonte de moléculas bioativas. Os iridoides representam uma classe promissora, e sua capacidade de inibir completamente um fungo tão especializado como *L. gongylophorus* merece aprofundamento na elucidação dos seus mecanismos de ação molecular.

4.3.8 Análise do Potencial Antimicrobiano de *Vismia guianensis* em Ensaio de Difusão em Ágar

A avaliação da atividade antimicrobiana do extrato bruto de *Vismia guianensis* (Figura 4.77) não evidenciou formação significativa de halo de inibição, com valores médios equivalentes a 6 mm, idênticos aos observados no controle negativo contendo DMSO. Esses resultados indicam que, na concentração testada (100 mg/mL), o extrato bruto não apresentou efeito inibitório mensurável frente ao microrganismo utilizado no ensaio. A ausência de zona de inibição maior do que o controle negativo demonstra que os potenciais

metabólitos bioativos presentes no extrato não se difundiram ou não atuaram com eficiência no meio experimental.

TABELA 4.25- Atividade antimicrobiana do extrato de *Vismia guianensis* (100 mg/mL) comparado ao controle negativo (DMSO) e ao controle positivo xantiletina (100 µg/mL). O extrato não apresentou inibição detectável nas condições avaliadas

AMOSTRA (100mg/mL)	HALO DE INIBIÇÃO (mm)			MÉDIA	SD
<i>Vismia guianensis</i>	6.00	6.00	6.00	6.00	0.00
Controle negativo (DMSO)	6.00	6.00	6.00	6.00	0.00
Xantiletina (100ug/mL)	70.00	70.00	70.00	70.00	0.00

O controle positivo, representado pela xantiletina a 100 µg/mL, apresentou halo de 70 mm, confirmando a eficiência do método utilizado. Isso garante a confiabilidade do ensaio e reforça que a ausência de atividade observada no extrato não decorre de falhas metodológicas ou experimentais. Dessa forma, os dados obtidos sugerem que o extrato bruto de *V. guianensis* apresenta baixa ou nenhuma atividade antimicrobiana nas condições avaliadas, ou que sua ação pode depender de concentrações superiores.

É importante destacar que a literatura aponta diversas espécies do gênero *Vismia* como fontes potenciais de metabólitos secundários com propriedades antioxidantes, citotóxicas e antimicrobianas, por exemplo, xantonas isoladas de *Vismia laurentii* com atividade antimicrobiana significativa (AZEBAZE et al., 2006; KUETE et al., 2007) e extratos etanólicos de *Vismia guianensis* com ação contra bactérias e fungos (PEREIRA CAMELO et al., 2011; MOTTA et al., 2022). Entretanto, a atividade biológica pode variar substancialmente entre espécies, tecidos vegetais, condições de coleta e método

de extração. Esses fatores podem justificar a ausência de resultados positivos no presente estudo, especialmente considerando que *V. guianensis* possui composição química distinta de outras espécies do gênero frequentemente investigadas.

Outro aspecto relevante é que extratos brutos frequentemente apresentam misturas complexas de compostos, incluindo substâncias que podem antagonizar a ação antimicrobiana, mascarando a presença de constituintes ativos. Dessa forma, o fracionamento pode ser uma estratégia essencial para revelar a atividade farmacológica das moléculas presentes na planta, isolando e concentrando metabólitos secundários com potencial terapêutico que, no extrato total, encontram-se diluídos ou inibidos por outras substâncias.

Os resultados também podem ser interpretados considerando a natureza fisiológica dos compostos bioativos de *V. guianensis*. Alguns estudos relatam que os metabólitos mais relevantes dessa espécie possuem maior atividade citotóxica ou antiparasitária do que antimicrobiana direta. Assim, a ausência de efeito antibacteriano detectável não exclui o potencial bioativo da planta, sugerindo a necessidade de ampliar futuros testes para outros modelos biológicos, como fungos, linhagens celulares tumorais ou parasitas de relevância médica e agrícola.

Além disso, a solubilidade e difusão dos compostos no meio de cultura são fatores determinantes no halo de inibição. Se os compostos presentes no extrato não apresentarem boa difusão no ágar, mesmo moléculas ativas podem não formar zonas claras detectáveis. Portanto, métodos complementares, como microdiluição em caldo, podem ser mais sensíveis e fornecer resultados adicionais para confirmar a ausência ou presença de atividade antimicrobiana.

Em conclusão, embora o extrato bruto de *Vismia guianensis* não tenha demonstrado atividade antimicrobiana detectável pelo método de difusão em ágar nas condições empregadas, os resultados não descartam o potencial

farmacológico da espécie. O fracionamento químico, testes em outras cepas e métodos analíticos complementares são recomendados para explorar adequadamente o potencial bioativo desta planta, à luz da diversidade química documentada para o gênero *Vismia*. Esses dados contribuem cientificamente ao demonstrar que nem todas as espécies vegetais com potencial etnofarmacológico exibem atividade em extratos brutos, reforçando a importância da etapa de bioprospecção guiada por bioensaios.

4.3.9 Estudo computacional em Ache-modelagem (acetilcolinesterase de *Atta sexdens*) por homologia

A busca por estruturas modelo a realizada no SWISS-MODEL identificou um total de 2147 templates relacionados evolutivamente à sequência alvo, com diferentes níveis de identidade de sequência e qualidade estrutural. Dentre esses, a estrutura 5ydj.1.A destacou-se por apresentar a melhor combinação entre identidade de sequência (69,57%), ampla cobertura do alinhamento e compatibilidade oligomérica, sendo selecionada como *template* para a construção do modelo tridimensional.

O modelo gerado apresentou valores de GMQE = 0,80 e QMEANDisCo Global = $0,87 \pm 0,05$, indicando elevada confiabilidade estrutural. A análise dos escores QMEANDisCo Local revelou uma distribuição globalmente consistente ao longo da cadeia polipeptídica, sem concentrações extensas de regiões estruturalmente desfavoráveis, conforme reportado pelo servidor.

De forma geral, os valores obtidos situam o modelo dentro da faixa esperada para estruturas derivadas por modelagem por homologia, sustentando sua adequação para análises estruturais subsequentes.

4.3.10 Validação estrutural do modelo

A qualidade estereoquímica do modelo tridimensional foi avaliada por meio do PROCHECK. A análise do gráfico de Ramachandran (figura 4.81)

revelou que 89,0% dos resíduos (824 resíduos) estão localizados nas regiões mais favorecidas, enquanto 9,5% (88 resíduos) encontram-se em regiões adicionalmente permitidas. Apenas 1,3% (12 resíduos) situam-se em regiões generosamente permitidas e 0,2% (2 resíduos) aparecem em regiões desfavoráveis, em um total de 1080 resíduos avaliados, incluindo resíduos não glicina/não prolina, glicinas e prolina.

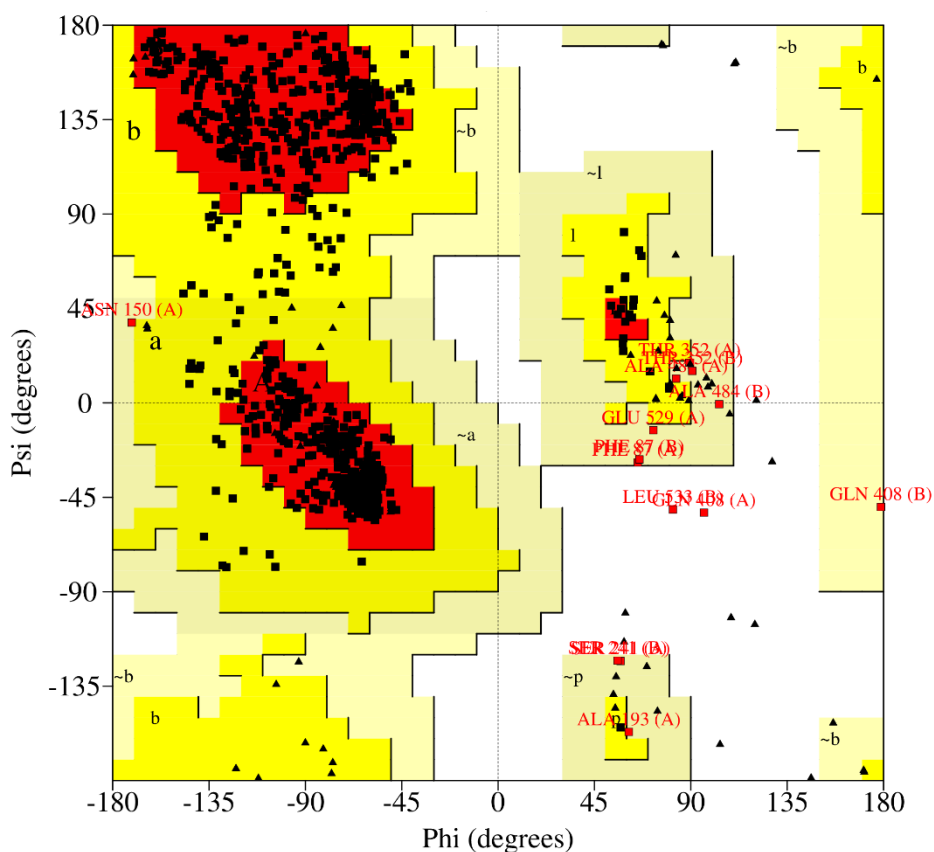


FIGURA 4.81- Gráfico de Ramachandran do modelo tridimensional da acetilcolinesterase de *Atta sexdens* obtido por modelagem por homologia.

Embora estruturas cristalográficas de alta resolução ($\leq 2,0$ Å) geralmente apresentem mais de 90% dos resíduos em regiões mais favorecidas, o percentual observado para o modelo encontra-se muito próximo desse limiar, sendo considerado plenamente aceitável para modelos obtidos por modelagem por homologia. Além disso, a distribuição dos resíduos fora das regiões mais favorecidas é restrita e não sugere a presença de distorções geométricas

sistemáticas, indicando boa conformação dos ângulos φ e ψ ao longo da cadeia polipeptídica.

A análise pelo ERRAT resultou em um Overall Quality Factor de 91,71, valor compatível com estruturas experimentais de boa qualidade, reforçando a consistência dos contatos não ligados do modelo. Complementarmente, a validação pelo VERIFY3D indicou que 82,96% dos resíduos apresentaram escore $\geq 0,1$, atendendo ao critério mínimo recomendado e evidenciando boa correspondência entre o ambiente tridimensional dos resíduos e sua identidade na sequência primária.

A comparação estrutural entre o modelo obtido e o *template* cristalográfico revelou elevada similaridade conformacional global. Conforme ilustrado na Figura 4.82, a sobreposição das estruturas da acetilcolinesterase de *Atta sexdens* e de *Anopheles gambiae* evidencia a conservação do dobramento global característico da enzima, corroborando os resultados das análises estereoquímicas e estruturais.

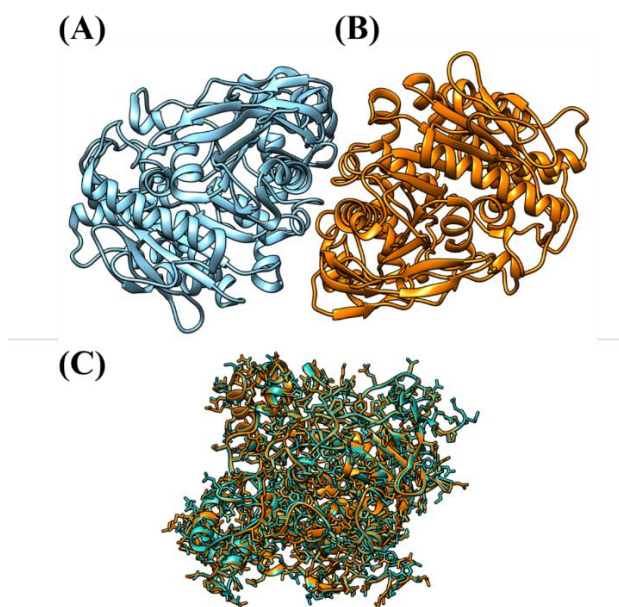


FIGURA 4.82- Representação estrutural da acetilcolinesterase utilizada na modelagem por homologia e sua comparação com o *template* cristalográfico. (A) Estrutura da acetilcolinesterase de *Anopheles gambiae* (template 5ydj.1.A), representada em cartoon e

destacada em azul. (B) Modelo tridimensional da acetilcolinesterase de *Atta sexdens* obtido por modelagem por homologia, representado em cartoon e destacado em laranja. (C) Sobreposição estrutural entre o modelo e o template, evidenciando elevada similaridade conformacional global e conservação do dobramento característico da acetilcolinesterase. As imagens foram geradas no programa PyMOL.

De forma integrada, os resultados indicam que o modelo apresenta geometria adequada, interações atômicas coerentes e organização estrutural compatível com padrões de qualidade reconhecidos, sendo, portanto, apropriado para aplicações subsequentes, como refinamento estrutural, simulações de dinâmica molecular e estudos de docking molecular.

4.3.11 Afinidade de Ligação e Critérios de Seleção

Os estudos de acoplamento molecular foram realizados para uma série de oito moléculas Substância 9 à 16. A afinidade de ligação foi estimada por meio da função de pontuação MolDock Score, cujos valores representam a energia livre de interação; dessa forma, valores mais negativos sugerem uma maior estabilidade termodinâmica do complexo proteína-ligante no sítio de ligação.

Os resultados obtidos revelaram uma variação significativa na afinidade dos compostos, com valores de MolDock Score situados no intervalo de -97,77 a -154,45 kcal/mol (Tabela 4.26). Dentre a série avaliada, os compostos 16 (-154,45 kcal/mol) e substância 13 (-150,69 kcal/mol) apresentaram as melhores pontuações, sugerindo um perfil de interação mais favorável com a macromolécula alvo. No entanto, a seleção das poses mais representativas não se limitou exclusivamente ao critério energético. Adotou-se uma análise criteriosa da orientação espacial e da proximidade dos ligantes em relação aos resíduos catalíticos do sítio ativo, visando identificar modos de ligação biologicamente relevantes e consistentes com o mecanismo de ação proposto.

TABELA 4.26- Valores de afinidade de ligação (MolDock Score) obtidos para os ligantes avaliados via docking molecular

Identificação do Ligante	MolDock Score (kcal/mol)
Composto 9	-118,16
Composto 10	-97,77
Composto 11	-142,51
Composto 12	-142,78
Composto 13	-150,69
Composto 14	-130,35
Composto 15	-148,83
Composto 16	-154,45

4.3.12 Análise Comparativa das Interações Intermoleculares

A análise das poses de acoplamento revelou que os ligantes ocupam de forma similar o sítio de ligação, estabelecendo uma rede de interações polares e hidrofóbicas com resíduos-chave (Figura 4.83). Para facilitar a visualização comparativa, as interações identificadas via servidor PLIP estão sintetizadas na Tabela 4.27.

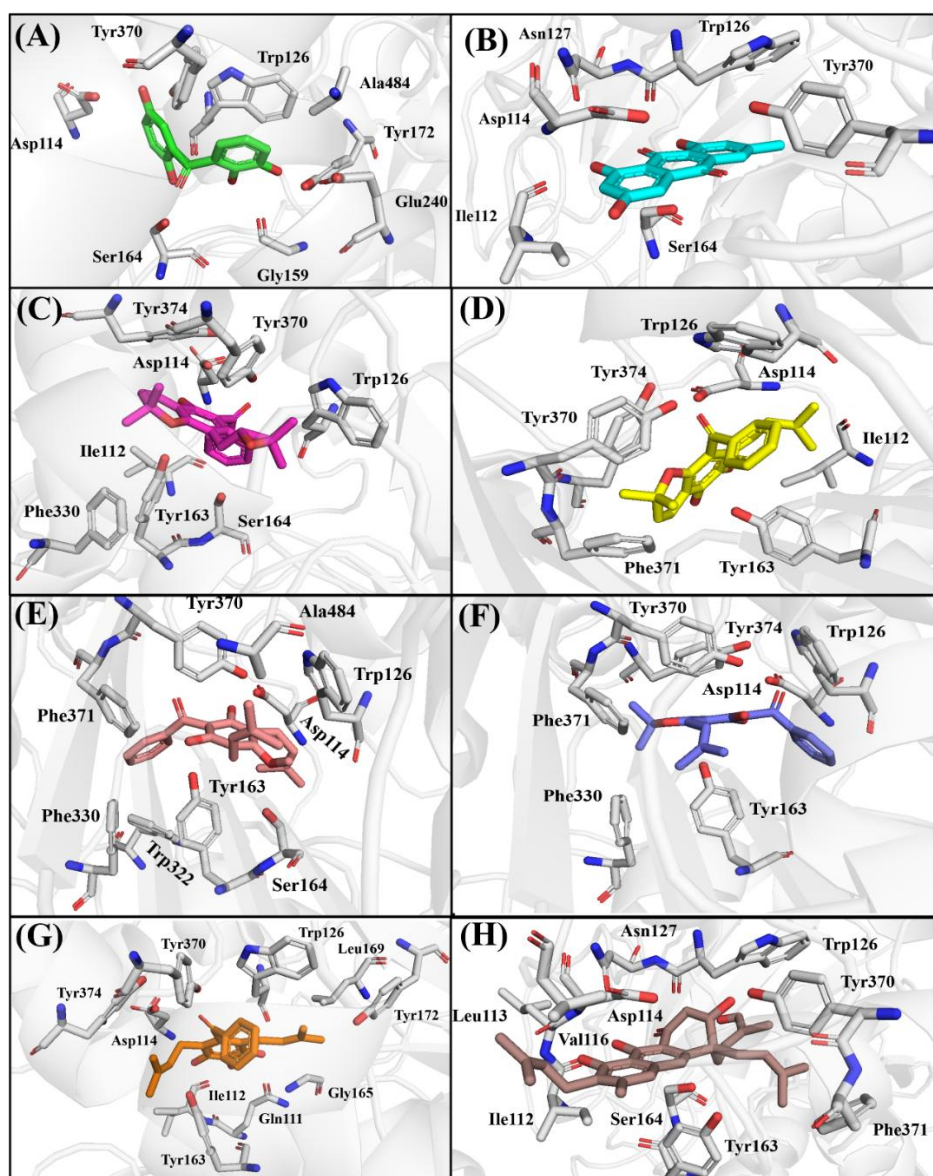


Figura 4.83- Representação tridimensional das poses de docking e interações intermoleculares dos ligantes (A) substância 9, (B) substância 10, (C) substância 11, (D) substância 12, (E) substância 13, (F) substância 14, (G) substância 15 e (H) substância 16 no sítio de ligação da AChE. Os ligantes estão representados em bastões coloridos e os resíduos do sítio ativo em bastões cinza. A estrutura secundária da proteína é exibida em formato cartoon cinza semitransparente. Para melhor visualização os hidrogênios foram ocultados da Figura.

TABELA 4.27- Resumo das interações não covalentes identificadas para a série de ligantes LIG9-LIG16 via servidor PLIP

Ligante	Resíduos em Contato Hidrofóbico	Resíduos em Ligação de Hidrogênio	Interações π -stacking
LIG9	Asp114, Trp126, Tyr370, Ala484	Gly159, Ser164, Tyr172, Glu240, Tyr370	Trp126 (Paralelo)

Ligante	Resíduos em Contato Hidrofóbico	Resíduos em Ligação de Hidrogênio	Interações π-stacking
LIG10	Ile112	Asp114, Trp126, Asn127, Ser164, Tyr370	-
LIG11	Ile112, Asp114, Trp126, Phe330, Tyr370, Tyr374, Ala484	Asp114, Tyr163, Ser164, Tyr370	Tyr163 (T-shaped)
LIG12	Ile112, Asp114, Trp126, Tyr163, Tyr370, Phe371, Tyr374	Tyr370	Tyr163 (T-shaped), Tyr374 (Paralelo)
LIG13	Asp114, Trp126, Tyr163, Trp322, Phe330, Tyr370, Phe371, Ala484	Asp114, Tyr163, Ser164, Tyr370	-
LIG14	Asp114, Trp126, Phe330, Tyr370, Phe371, Tyr374	Asp114, Tyr163, Tyr370	Tyr163 (T-shaped)
LIG15	Ile112, Asp114, Trp126, Tyr163, Leu169, Tyr172, Tyr374	Gln111, Ile112, Asp114, Gly165, Tyr370	-
LIG16	Ile112, Asp114, Val116, Trp126, Tyr163, Tyr370, Phe371	Leu113, Trp126, Asn127, Ser164, Tyr370	-

A análise detalhada dos complexos revelou um perfil de ancoragem altamente seletivo voltado ao Sítio Aniônico Periférico (PAS), composto pelos resíduos Asp114, Trp126, Tyr172 e Tyr370. Embora a tríade catalítica da AChE seja classicamente composta por Ser241, His483 e Glu367, os parâmetros de *docking* indicaram que a série de ligantes se estabiliza preferencialmente na entrada da fenda do sítio ativo, não sendo detectadas interações diretas com os resíduos catalíticos profundos.

Observou-se um padrão de conservação nas interações, onde Asp114, Trp126 e Tyr370 atuam como os pontos centrais de ancoragem para quase todos os compostos. Destaca-se a versatilidade do resíduo Trp126, que

desempenha múltiplos papéis na estabilização do complexo: desde contatos hidrofóbicos e empilhamentos aromáticos do tipo π -stacking (como visto em substância 9 e substância 12) até a formação de ligações de hidrogênio (como em substância 16).

Quanto à estabilização geométrica, as interações de π -stacking mostraram-se fundamentais para as ligantes substâncias 11, substância 12 e substância 14, ocorrendo predominantemente na conformação perpendicular (*T-shaped*) com o resíduo Tyr163. É notável que, nos ligantes de maior afinidade (substância 15 e substância 16), esse tipo de interação aromática específica é substituído por uma rede mais densa de outros contatos.

O desempenho superior do LIG16 (-154,45 kcal/mol) pode ser atribuído à formação de uma rede de ligações de hidrogênio densa e altamente direcional. O diferencial desta molécula reside na interação com o resíduo Tyr370, que exibiu uma distância de apenas 1,70 Å, indicando uma força de interação superior às demais. Em contrapartida, as ligantes substâncias 11 e substância 13 demonstraram uma estratégia de estabilização distinta, baseada em uma maior dependência de contatos hidrofóbicos em regiões ricas em resíduos aromáticos, como Phe330 e Tyr374, sugerindo uma excelente complementaridade lipofílica com o bolso catalítico.

5 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos na execução deste trabalho, mostraram-se consistentes e integrada. Por meio o elevado potencial bioativo de espécies vegetais amazônicas, em especial *Himatanthus articulatus* e *Vismia guianensis*, no controle de formigas cortadeiras (*Atta sexdens*) e de microrganismo associado de uma abordagem biomonitorada, foi possível isolar compostos de *H. articulatus*, sendo o composto 6 reportado pela primeira vez na literatura, e os compostos 7 e 8 reportados pela primeira vez para a espécie. No caso de *V. guianensis*, foram isolados oito compostos, todos relatados pela primeira vez a partir das cascas dessa planta. A identificação e caracterização dos compostos majoritários responsáveis pela atividade observada destacaram os iridoides como a principal classe bioativa quanto antifúngica.

Os ensaios biológicos revelaram que os extratos, frações e compostos isolados apresentaram eficácia significativa sobre a sobrevivência das formigas e sobre o crescimento do fungo simbiote, reforçando a hipótese de que a interrupção dessa simbiose constitui uma estratégia eficiente para o manejo dessas pragas. Além disso, a caracterização estrutural detalhada, empregando técnicas espectroscópicas modernas como RMN e espectrometria de massas, permitiu a elucidação inequívoca das substâncias bioativas, contribuindo para o avanço do conhecimento químico dessas espécies.

O estudo de docking molecular pode auxiliar na visualização das possíveis interações entre os compostos 12 a 16 e a enzima-alvo. Os resultados preliminares indicam interações com o Sítio Aniônico Periférico, o que permite inferir mecanismos potenciais pelos quais esses compostos exercem sua atividade enzimática. Além disso, essa abordagem possibilita o início de uma série de avaliações com diferentes moléculas, contribuindo para a previsão e a

compreensão das interações com a enzima e, conseqüentemente, da atividade biológica observada.

Os resultados obtidos nesta pesquisa reforçam a viabilidade do uso de produtos naturais como alternativa sustentável aos inseticidas sintéticos, oferecendo menor impacto ambiental e reduzido risco de desenvolvimento de resistência. Ademais, este trabalho amplia o repertório de compostos com potencial aplicação agrícola e farmacológica, abrindo novas perspectivas para o desenvolvimento de bioinseticidas e biofungicidas.

Por fim, esta tese estabelece uma base científica sólida para estudos futuros, incluindo a avaliação em campo, o desenvolvimento de formulações mais estáveis e eficazes, como sistemas nanoestruturados, e a investigação da atividade desses compostos frente a outras pragas e patógenos agrícolas. Assim, os achados aqui apresentados contribuem de maneira significativa para a química de produtos naturais, a entomologia aplicada e o manejo sustentável de pragas, fortalecendo a interface entre biodiversidade, ciência e inovação tecnológica.

REFERÊNCIAS

ABREU, C. S. Fatores endógenos e exógenos influenciam o forrageamento de colônias de *Atta sexdens* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Formicidae). 2019. 67 f. Tese (Doutorado em Entomologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2019.

AZEBAZE, A.G.B.; AZEBAZE, J. R. N.; KUETE, V.; CARLY, N. N. E.; PENLAP BENG, V.; MEYER, M.; BLOND, A.; BODO, B.; NKENGFACK, A. E. Laurentixanthonones A and B, antimicrobial xanthonones from *Vismia laurentii*. *Phytochemistry*, v. 67, n. 13, p. 1341–1346, 2006. DOI: 10.1016/j.phytochem.2006.03.018.

BARBOSA, W. L. R.; ROCHA, L. M.; BARBOSA, J. A.; TALA, M. F. Chemical constituents of *Vismia* species: phenolic compounds and biological activities. *Química Nova*, v. 36, n. 5, p. 705–713, 2013. DOI: 10.5935/0100-4042.20130084.

BARRETO, A. C.; SILVA, A. J. R.; ALBUQUERQUE, S.; PINTO, A. C. Iridoids and triterpenes from *Himatanthus articulatus*. *Phytochemistry*, v. 47, n. 8, p. 1401–1404, 1998. DOI: 10.1016/S0031-9422(98)00084-0.

BARRETO, A. S.; CARVALHO, M. G. de; NERY, I. A.; GONZAGA, L.; KAPLAN, M.A. C. Chemical constituents from *Himatanthus articulata*. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, São Paulo, v. 9, n. 5, p. 430-434, 1998. DOI: 10.1590/S0103-50531998000500004

BARRETO, A.S.; AMARAL, A.C.F.; SILVA, J.R.; SCHRIPSEMA, J.15-Demethylisoplumieride acid, a new iridoid isolated from the bark of *Plumeria rubra* and latex of *Himatanthus sucuuba*. *Química Nova*, v. 30, n. 5, p.1133-1135, 2007. DOI: 10.1590/S0100-40422007000500015

BARZMAN, M.; BERTOLACCINI, M.; BIRCH, A. N. E.; BOONEKAMP, P.; DACHBRODT-SAAAYDEH, S.; GRAF, B.; HOMMEL, B.; JENSEN, J. E.; KISS,

J.; KUDSK, P.; LAMICHHANE, J. R.; MESSÉAN, A.; MOONEN, A. C.; RATNADASS, A.; RICCI, P.; SARAH, J.-L.; SATTIN, M. Eight principles of integrated pest management. *Agronomy for Sustainable Development*, v. 35, p. 1199–1215, 2015. DOI: 10.1007/s13593-015-0327-9.

BUENO, O. C.; FOWLER, H. G.; DELLA LUCIA, T. M. C.; BUENO, F. C.; DIAS, B. F. S. Sobrevivência de colônias iniciais de *Atta sexdens rubropilosa* Forel (Hymenoptera: Formicidae) em laboratório. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, v. 26, n. 1, p. 107–115, 1997.

CABALLERO, C. B.; BIGGS, T. W.; VERGOPOLAN, N.; WEST, T. A. P.; RUHOFF, A. Transformation of Brazil's biomes: The dynamics and fate of agriculture and pasture expansion into native vegetation. *Science of the Total Environment*, v. 896, 2023. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2023.166323.

CARVALHO, W.; RICHARDS, P.; ARIMA, E. Disentangling the numbers behind agriculture-driven tropical deforestation. *Science*, v. 376, n. 6593, p. 742–748, 2022. DOI: 10.1126/science.abm9267.

CLARIDGE, T. D. W. High-resolution NMR techniques in organic chemistry. 3. ed. Oxford: Elsevier, 2016.

COLMAN, C. B.; CARVALHO, M.; SILVA, J. S.; OLIVEIRA, A. R.; LIMA, R. A.; PEREIRA, H. M.; METZGER, J. P. Modeling the Brazilian Cerrado land use change highlights the need to account for private property sizes for biodiversity conservation. *Scientific Reports*, v. 14, p. 4559, 2024. DOI: 10.1038/s41598-024-55207-1.

CORBETT, J.; GASKIN, P.; GULLAN, P.; HARRISON, P.; HODGSON, C.; SPARKS, T. Neurotoxic insecticides and their mechanisms of action: implications for pest management. *Pest Management Science*, v. 77, n. 2, p. 534–550, 2021. DOI: 10.1002/ps.6603.

ELANDT-JOHNSON, R. C.; JOHNSON, N. L. Survival models and data analysis. New York: Wiley, 1980.

FAITA, M. R.; CHAVES, A.; NODARI, R. O. A expansão do agronegócio: impactos nefastos do desmatamento, agrotóxicos e transgênicos nas abelhas. *Desenvolvimento & Meio Ambiente*, v. 57, p. 79–105, 2021. DOI: 10.5380/dma.v57i0.76157.

FAO – ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA A ALIMENTAÇÃO E A AGRICULTURA. Relatório anual 2022. Roma: FAO, 2022.

FULLER, R. W. Anthraquinones and benzophenones from the genus *Vismia*: chemistry and biological activity. *Journal of Natural Products*, v. 62, n. 5, p. 713–716, 1999. DOI: 10.1021/np980521x.

FULLER, R. W.; CHANG, C. J.; McKEE, T. C.; CARDONELL, G. A.; McLAUGHLIN, J. L. Xanthonones from *Vismia* species: structure elucidation and biological activity. *Journal of Natural Products*, v. 62, n. 3, p. 341–345, 1999.

FULLER, R. W.; CHANG, C. J.; McKEE, T. C.; CARDONELL, G. A.; McLAUGHLIN, J. L. Cytotoxic xanthonones from *Vismia* species. *Journal of Natural Products*, v. 61, n. 2, p. 197–200, 1998.

GALLARDO, R. K. The environmental impacts of agriculture: a review. *International Review of Environmental and Resource Economics*, v. 18, n. 1–2, p. 165–235, 2024. DOI: 10.1561/101.00000166.

GARRETT, R. D.; RUEDA, X.; LAMBIN, E. F. Globalization's unexpected impact on soybean production in South America. *Environmental Research Letters*, v. 8, n. 4, p. 044055, 2013. DOI: 10.1088/1748-9326/8/4/044055.

GHELFI, A.; MARIMON JUNIOR, B. H.; MARIMON, B. S. O uso de agrotóxicos como uma ameaça à conservação nos diferentes biomas brasileiros. *Revista FOCO*, v. 17, n. 7, 2024. DOI: 10.54751/revistafoco.v17n7-089.

GHOSH, S.; TARAFDER, A.; MUKHOPADHYAY, S.; CHAKRABORTY, A. Botanical insecticides: their role in pest management and sustainable agriculture. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, v. 7, n. 2, p. 772–778, 2019.

HALGREN, T. A. Merck Molecular Force Field. I. Basis, form, scope, parameterization, and performance of MMFF94. *Journal of Computational Chemistry*, v. 17, n. 5–6, p. 490–519, 1996. DOI: 10.1002/(SICI)1096-987X(199604)17:5/6<490::AID-JCC1>3.0.CO;2-P.

HEINRICH BÖLL FOUNDATION; FRIENDS OF THE EARTH EUROPE; PAN EUROPE. Atlas dos agrotóxicos 2023: fatos e dados do uso dessas substâncias na agricultura. Rio de Janeiro: Fundação Heinrich Böll, 2023.

HUSSAIN, H.; HUSSAIN, J.; AL-HARRASI, A.; SALEEM, M.; GREEN, I.R.; REE, T.VAN; GHULAM, A. Chemistry and biology of genus *Vismia*, *Pharmaceutical Biology*, v. 50, n. 11, p. 1448–1462, 2012.

INATURALIST. *Himatanthus articulatus* (Vahl) Woodson. 2025. Disponível em: <https://www.inaturalist.org/>. Acesso em: 6 fev. 2026.

ISMAN, M. B. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture. *Annual Review of Entomology*, v. 65, p. 233–251, 2020. DOI: 10.1146/annurev-ento-011019-025010.

JORNAL USP. Uso intensivo de agrotóxicos gera impactos não só ao ambiente, mas à saúde também. São Paulo, 2025. Disponível em: <https://jornal.usp.br/>. Acesso em: 6 fev. 2026.

KARDONO, L. B. S.; TSUJI, Y.; ARIYOSHI, M.; UEDA, S.; MORITA, H.; YAMAMURA, S. Iridoid glucosides from *Himatanthus sucuuba*. *Journal of Natural Products*, v. 53, n. 2, p. 386–390, 1990. DOI: 10.1021/np50068a014.

KHAYAT, R. O. The interplay between leaf-cutter ants behaviour and social organization. *Journal of Umm Al-Qura University for Applied Sciences*, v. 10, p. 225–231, 2024. DOI: 10.1007/s43994-023-00074-1.

KUNTE, G.; BHAT, V. Deforestation, climate change and the sustainability of agriculture. *Journal of Resources and Ecology*, v. 15, n. 1, p. 112–125, 2024. DOI: 10.5814/j.issn.1674-764x.2024.01.012.

LASMAR, C. J.; CAMARGO, R. S.; QUEIROZ, A. C. M.; LEAL, I. R.; WIRTH, R. Testing the context dependence of ant nutrient preference across habitat strata and trophic levels in neotropical biomes. *Ecology*, v. 104, n. 4, e3975, 2023. DOI: 10.1002/ecy.3975.

LEAL, I. R.; WIRTH, R.; TABARELLI, M. The multiple impacts of leaf-cutting ants on neotropical forest ecosystems. *Biological Reviews*, v. 89, n. 4, p. 967–984, 2014. DOI: 10.1111/brv.12089.

LENTA, B. N.; VARDAMIDES, J. C.; NKENGFACK, A. E.; FOTSO, S.; TANE, P.; MEYER, M.; BODO, B. Anthraquinones from the fruits of *Vismia laurentii*. *Phytochemistry*, v. 69, n. 4, p. 1024–1028, 2008. DOI: 10.1016/j.phytochem.2007.10.026.

LI, Y.; LIU, J.; LI, Y.; ZHANG, X.; LIU, S. Iridoid glycosides from *Plantago asiatica* and their biological activities. *Phytochemistry Letters*, v. 30, p. 131–136, 2019. DOI: 10.1016/j.phytol.2019.01.014.

LIMA, R. S.; SILVA, J. A.; OLIVEIRA, P. Pharmacological potential of *Himatanthus articulatus* latex. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 22, n. 5, p. 1014–1021, 2012. DOI: 10.1590/S0102-695X2012005000060.

MAGALHÃES, M. Alternativas para controle de populações de *Atta sexdens*. *Acta Biológica Brasiliensia*, v. 8, n. 2, 2025. DOI: 10.18554/acbiobras.v8i2.8761.

MASIULIONIS, V. E. Investigating the biology of leaf-cutting ants to support sustainable agriculture. *Agriculture*, v. 15, n. 6, p. 642, 2025. DOI: 10.3390/agriculture15060642.

MONACHE, F. D.; MONACHE, G. D.; SANTOS, M. H. Xanthones from *Vismia* species. *Phytochemistry*, v. 19, n. 10, p. 2071–2075, 1980.

MONACHE, F. D.; TORRES, F. F.; MARINI-BETTOLO, G. B. Chemistry of the genus *Vismia*. IV: Deacetylvismione A and vismin. *Planta Medica*, v. 40, n. 6, p. 340–346, 1980. DOI: 10.1055/s-2008-1074982.

MORAIS, F. S.; SILVA, J. A.; ARAÚJO, R. C.; RODRIGUES, F. E. A.; FREITAS, C. A. S.; LOPES, L. M. X.; RODRIGUES, F. F. G. Insecticidal compound from *Himatanthus drasticus* latex against cowpea infestation by *Callosobruchus maculatus*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 69, n. 17, p. 5049–5058, 2021. DOI: 10.1021/acs.jafc.1c01177.

MOTA, M. F. Distribuição geográfica e potencial bioativo de espécies do gênero *Vismia* no Brasil. *Acta Botanica Brasilica*, v. 34, n. 3, p. 560–573, 2020. DOI: 10.1590/0102-33062020abb0314.

NOBRE, C. B.; SILVA, M. S.; SILVA, E. O.; BARBOSA-FILHO, J. M.; FARIAS, J. C.; LIMA, M. D. A. Chemical constituents and biological activities of species of the genus *Vismia*. *Química Nova*, v. 38, n. 6, p. 837–847, 2015. DOI: 10.5935/0100-4042.20150094.

PEREIRA CAMELO, SARAH REGINA; SILVA, M. S.; LIMA, J. B.; SANTOS, F. R.; ALMEIDA, R. N. Phytochemical evaluation and antimicrobial activity of ethanolic extract of *Vismia guianensis* (Aubl.) Choisy. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 2011.

POWO – PLANTS OF THE WORLD ONLINE. *Himatanthus articulatus* (Vahl) Woodson. Kew Science, 2025. Disponível em: <https://powo.science.kew.org/>. Acesso em: 6 fev. 2026.

REFLORA – JARDIM BOTÂNICO DO RIO DE JANEIRO. Flora do Brasil 2025: *Vismia*. Rio de Janeiro: JBRJ, 2025. Disponível em: <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/>. Acesso em: 6 fev. 2026.

REGNARD, J. L.; BOYER, L.; VIEIRA, C.; GARCIA, M.; LAGARDE, F.; LEMAIRE, J.; MARTIN, C. Essential oils as sustainable alternatives to synthetic insecticides. *Industrial Crops and Products*, v. 172, p. 114042, 2021. DOI: 10.1016/j.indcrop.2021.114042.

RIBEIRO, H. Agrotóxicos e saúde humana. *Ciência & Saúde Coletiva*, v. 27, n. 3, p. 1023–1036, 2022. DOI: 10.1590/1413-81232022273.23452021.

ROCHA, A. I.; OLIVEIRA, A. B.; BRAGA, F. C. Iridoid glycosides from *Himatanthus sucuuba*. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 18, n. 2, p. 286–292, 2007. DOI: 10.1590/S0103-50532007000200013.

RODRIGUES, A. C. O gênero *Vismia* (Hypericaceae) no Brasil: taxonomia e distribuição. *Rodriguésia*, v. 64, n. 4, p. 857–878, 2013.

SALENTIN, S.; SCHREIBER, S.; HAUPT, V. J.; ADAMS, G.; SCHROEDER, M. PLIP: fully automated protein–ligand interaction profiler. *Nucleic Acids Research*, v. 43, n. W1, p. W443–W447, 2015. DOI: 10.1093/nar/gkv315.

SANTOS, A. C.; SILVA, R. P.; LIMA, E. S.; BARBOSA, J. M.; ROCHA, E. J. P. Mecanismos de ação dos inseticidas colinérgicos. *Química Nova*, v. 43, n. 6, p. 780–790, 2020. DOI: 10.21577/0100-4042.20170579.

SANTOS-NETO, P. E. F.; LEAL, I. R.; WIRTH, R.; QUEIROZ, A. C. M.; TABARELLI, M. Human disturbance and aridity influence biomass harvesting by leaf-cutting ants. *Biotropica*, 2025. DOI: 10.1111/1365-2656.70008.

SEO, E. K.; KIM, N. C.; MIURA, I.; CLARDY, J.; KINGHORN, A. D. Bioactive xanthenes from *Vismia* species. *Journal of Natural Products*, v. 63, n. 7, p. 1060–1064, 2000.

SEO, E. K.; KIM, N. C.; MIURA, I.; CLARDY, J.; KINGHORN, A. D. Prenylated xanthenes from *Vismia* species and their cytotoxic activity. *Journal of Natural Products*, v. 63, n. 3, p. 331–336, 2000.

SEQUEIRA, B. J.; NASCIMENTO, A. M.; ROCHA, J. A.; GOMES, M. S.; ROCHA, E. M. M. Antibacterial and antifungal activity of *Himatanthus articulatus*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 104, n. 4, p. 659–661, 2009. DOI: 10.1590/S0074-02762009000400022.

SIDDQUI, S.; AHMAD, F.; KHAN, M. A.; KHAN, M. S. Iridoid glycosides from *Ajuga bracteosa*. *Phytochemistry*, v. 34, n. 5, p. 1321–1325, 1993. DOI: 10.1016/0031-9422(93)80023-7.

STUDER, G.; REMPELLI, G.; WATERHOUSE, A.; GOSSELIN, M.; SCHWEDE, T. QMEANDisCo—distance constraints applied on model quality estimation. *Bioinformatics*, v. 36, n. 6, p. 1765–1771, 2020. DOI: 10.1093/bioinformatics/btaa058.

STUDER, G.; TEBALDI, M.; BUSATO, F.; SCHMIDT, S.; SCHWALBE, H.; SCHWEDE, T. ProMod3: modeling of protein structures and complexes. *Bioinformatics*, v. 37, n. 22, p. 4340–4342, 2021. DOI: 10.1093/bioinformatics/btab401.

TALA, M. F.; BARBOSA, W. L. R.; ROCHA, L. M.; BARBOSA, J. A.; NKENGFAK, A. E. Phenolic compounds and biological activities of species from the genus *Vismia*. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 24, n. 6, p. 935–946, 2013. DOI: 10.5935/0103-5053.20130065.

THOMSEN, R.; CHRISTENSEN, M. H. MolDock: a new technique for high-accuracy molecular docking. *Journal of Medicinal Chemistry*, v. 49, n. 11, p. 3315–3321, 2006. DOI: 10.1021/jm051197e.

VALE, V. V.; SILVA, M. S.; SILVA, E. O.; BARBOSA-FILHO, J. M.; LIMA, M. D. A.; FARIAS, J. C. Phytochemical study of *Himatanthus articulatus*. *Journal of*

the Brazilian Chemical Society, v. 26, n. 12, p. 2516–2524, 2015. DOI: 10.5935/0103-5053.20150241.

VEIGA, F. R.; SILVA, R. A.; SOUSA, M. L.; LIMA, E. M.; PEREIRA, M. A. Fungos entomopatogênicos no controle biológico de insetos-praga. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, v. 17, n. 4, p. e8885, 2022. DOI: 10.5039/agraria.v17i4a8885.

VELOSO, M. P.; NAGEM, T. J.; OLIVEIRA, T. T. β -Dihidroplumericinic acid from *Himatanthus phagedaenicus*. *Biochemical Systematics and Ecology*, v. 27, p. 669–671, 1999. DOI: 10.1016/S0305-1978(99)00025-4.

VIZCAYA, M.; KENFACK, A. E.; FOTSO, S.; TANE, P.; NKENGFACK, A. E.; BODO, B. Vismiaquinones and isovismiafenones from *Vismia* species. *Phytochemistry*, v. 72, n. 5–6, p. 583–588, 2011. DOI: 10.1016/j.phytochem.2011.01.019.

WATERHOUSE, A.; BERTONI, M.; BIENERT, S.; STUDER, G.; TETTELIN, H.; KELLEY, L. A.; SCHWEDE, T. SWISS-MODEL: homology modelling of protein structures and complexes. *Nucleic Acids Research*, v. 46, n. W1, p. W296–W303, 2018. DOI: 10.1093/nar/gky427.

WEST, C.; MEYFROIDT, P.; LAMBIN, E. F.; GIBBS, H. K.; GRAU, H. R.; MUNGER, J. W.; HANSEN, M. C. The global deforestation footprint of agriculture and forestry. *Nature Reviews Earth & Environment*, v. 6, p. 325–340, 2025. DOI: 10.1038/s43017-025-00477-7.

WORLD FLORA ONLINE CONSORTIUM. *Himatanthus articulatus* (Vahl) Woodson. 2025. Disponível em: <https://www.worldfloraonline.org/>. Acesso em: 6 fev. 2026.

XIA, Y.; ZHANG, H.; ZHOU, X.; LI, Y.; ZHOU, Y. Phenylpropanoid-substituted iridoid glycosides from *Plantago depressa*. *Journal of Natural Products*, v. 81, n. 4, p. 836–843, 2018. DOI: 10.1021/acs.jnatprod.7b01065.

ZHANG, X.; LIU, Y.; WANG, J.; LI, M.; ZHAO, Y. Pesticide use and environmental impacts. *Environmental Research Letters*, v. 18, n. 5, p. 054012, 2023. DOI: 10.1088/1748-9326/accc52.

Apêndice A- Espectros de ressonância magnética nuclear

Lista de figuras continua

FIGURA A.1- Espectro de RMN de ^1H da substância 1 em CDCl_3 (9,4 T). _____	0
FIGURA A.2- Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ do iridoide 01 em CDCl_3 (9,4 T). _____	1
FIGURA A.3- Mapa de contorno HSQC da substância 1 em CDCl_3 (9,4 T). _____	2
FIGURA A.4- Mapa de contorno HMBC da Substância 01 em CDCl_3 (9,4 T). _____	3
FIGURA A.5- Mapa de contorno COSY do Substância 1 em CDCl_3 (9,4 T). _____	4
FIGURA A.6- Espectro de RMN de ^1H da substância 2 em CDCl_3 (9,4 T), com ampliações de regiões. _____	5
FIGURA A.7- Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ da Subtância 02 em CDCl_3 (9,4 T). _____	6
FIGURA A.8- Mapa de contorno HSQC da Substância 02 em CDCl_3 (9,4 T). _____	7
FIGURA A.9- Mapa de contorno HMBC da Substância 02 em CDCl_3 (9,4 T). _____	8
FIGURA A.10- Mapa de contorno COSY do Substância 2 em CDCl_3 (9,4 T). _____	9
FIGURA A.11- Espectro de RMN de ^1H da substância 3 em CDCl_3 (9,4 T), com ampliações de algumas regiões. _____	10
FIGURA A.12- Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ da Substância 3 em CDCl_3 (9,4 T). _____	11
FIGURA A.13- Mapa de contorno HSQC da Substância 03 em CDCl_3 (9,4 T). _____	12
FIGURA A.14- Mapa de contorno HMBC da Substância 3 em CDCl_3 (9,4 T). _____	13
FIGURA A.15- Mapa de contorno COSY do Substância 3 em CDCl_3 (9,4 T). _____	14
FIGURA A.16- Espectro de RMN de ^1H da Substância 04 em CD_3OD (9,4 T). _____	15
FIGURA A.17- Ampliação do Espectro de RMN de ^1H da Substância 04 em CD_3OD (9,4 T). _____	16
FIGURA A.18- Ampliação do Espectro de RMN de ^1H da Substância 4 em CD_3OD (9,4 T). _____	17
FIGURA A.19- Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ da Substância 4 em CD_3OD (9,4 T). _____	18
FIGURA A.20- Mapa de contorno HSQC da Substância 4 em CD_3OD (9,4 T). _____	19
FIGURAA.21- Mapa de contorno HMBC da substância 4 em CD_3OD (9,4 T). _____	20
FIGURA A.22- Mapa de contorno COSY do Substância 4 em CD_3OD (9,4 T). _____	21
FIGURA A.23- Espectro de RMN de ^1H da Substância 5 em CD_3OD (9,4 T). _____	22
FIGURA A.24- Ampliação do Espectro de RMN de ^1H da Substância 5 em CD_3OD (9,4 T). _____	23
FIGURA A.25- Ampliação do Espectro de RMN de ^1H da Substância 5 em CD_3OD (9,4 T). _____	24
FIGURA A.26- Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ da Substância 5 em CD_3OD (9,4 T). _____	25
FIGURA A.27- Mapa de contorno HSQC da Substância 5 em CD_3OD (9,4 T). _____	26
FIGURA A.28- Mapa de contorno HMBC da substância 5 em CD_3OD (9,4 T). _____	27
FIGURA A.29- Mapa de contorno COSY do Substância 5 em CD_3OD (9,4 T). _____	28

FIGURA A.30- Espectro de RMN de ^1H da Substância 5 em CD_3OD (9,4 T). _____	29
FIGURA A.31- Ampliação do Espectro de RMN de ^1H da Substância 6 em CD_3OD (9,4 T). _____	30
FIGURA A.32- Ampliação do Espectro de RMN de ^1H da Substância 6 em CD_3OD (9,4 T). _____	31
FIGURA A.33- Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ da Substância 6 em CD_3OD (9,4 T). _____	32
FIGURA A.34- Mapa de contorno HSQC da Substância 6 em CD_3OD (9,4 T). _____	33
FIGURA A.35- Mapa de contorno HMBC da substância 6 em CD_3OD (9,4 T). _____	34
FIGURA A.36- Mapa de contorno COSY do Substância 6 em CD_3OD (9,4 T). _____	35
FIGURA A.37- Mapa de contorno NOESY-2D do Substância 6 em CD_3OD (9,4 T). _____	36
FIGURA A.38- Espectro de RMN de ^1H da Substância 7 em CD_3OD (9,4 T). _____	37
FIGURA A.39- Ampliação do Espectro de RMN de ^1H da Substância 7 em CD_3OD (9,4 T). _____	38
FIGURA A.40- Ampliação do Espectro de RMN de ^1H da Substância 7 em CD_3OD (9,4 T). _____	39
FIGURA A.41- Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ da Substância 7 em CD_3OD (9,4 T). _____	40
FIGURA A.42- Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT da substância 7 em CD_3OD . _____	41
FIGURA A.43- Mapa de contorno HSQC da Substância 7 em CD_3OD (9,4 T). _____	42
FIGURA A.44- Mapa de contorno HMBC da Substância 7 em CD_3OD (9,4 T). _____	43
FIGURA A.45- Mapa de contorno COSY do Substância 7 em CD_3OD (9,4 T). _____	44
FIGURA A.46- Espectro de RMN de ^1H da Substância 8 em CD_3OD (9,4 T). _____	45
FIGURA A.47- Ampliação do Espectro de RMN de ^1H da Substância 8 em CD_3OD (9,4 T). _____	46
FIGURA A.48- Ampliação do Espectro de RMN de ^1H da Substância 8 em CD_3OD (9,4 T). _____	47
FIGURA A.49- Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ da Substância 8 em CD_3OD (9,4 T). _____	48
FIGURA A.50- Ampliação do espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ da Substância 8 em CD_3OD (9,4 T). _____	49
FIGURA 51- Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT da substância 8 em CD_3OD . _____	50
FIGURA A.52- Mapa de contorno HSQC da Substância 8 em CD_3OD (9,4 T). _____	51
FIGURA A.53- Ampliação da região de glicosilação do mapa de contorno HSQC da Substância 8 em CD_3OD (9,4 T). _____	52
FIGURA A.54- Mapa de contorno HMBC da substância 8 em CD_3OD (9,4 T). _____	53
FIGURA A.55- Mapa de contorno COSY do Substância 8 em CD_3OD (9,4 T). _____	54
FIGURA A.56- Espectro de RMN de ^1H da Substância 9 em CD_3OD (9,4 T). _____	55
FIGURA A.57- Ampliação do Espectro de RMN de ^1H da Substância 9 em CD_3OD (9,4 T). _____	56
FIGURA 58- Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ da Substância 9 em CD_3OD (9,4 T). _____	57
FIGURA A.59- Ampliação do mapa de contorno HSQC da Substância 9 em CD_3OD (9,4 T). _____	58
FIGURA A.60- Mapa de contorno HMBC da substância 9 em CD_3OD (9,4 T). _____	59

FIGURA A.61- Mapa de contorno COSY do Substância 9 em CD ₃ OD (9,4 T).	60
FIGURA A.62- Espectro de RMN de ¹ H da substância 10 em DMSO-D6 (14,1 T)	61
FIGURA 63- Espectro de RMN de ¹³ C{ ¹ H} da Substância 10 em DMSO-D6 (14,1 T).	62
FIGURA A.64- Mapa de contorno HSQC da substância 10 em DMSO-D6 (14,1 T).	63
FIGURA A65- Mapa de contorno HMBC da substância 10 em DMSO-D6 (14,1T).	64
FIGURA A.66- Mapa de contorno COSY do Substância 10 em DMSO-D6 (14,1T).	65
FIGURA A.67- Espectro de RMN de ¹ H da Substância 11 em CDCl ₃ (9,4 T).	66
FIGURA A.68- Ampliação do Espectro de RMN de ¹ H da Substância 11 em CDCl ₃ (9,4 T).	67
FIGURA A.69- Ampliação do Espectro de RMN de ¹ H da Substância 11 em CDCl ₃ (9,4 T).	68
FIGURA 70- Espectro de RMN de ¹³ C{ ¹ H} da Substância 11 em CDCl ₃ (9,4 T).	69
FIGURA A.71- Espectro de RMN de ¹³ C-DEPT da substância 11 em CDCl ₃ .	70
FIGURA A.72- Mapa de contorno HSQC da Substância 11 em CDCl ₃ (9,4 T).	71
FIGURA A.73- Mapa de contorno HMBC da substância 11 em CDCl ₃ (9,4 T).	72
FIGURA A.74- Mapa de contorno COSY do Substância 11 em CDCl ₃ (9,4 T).	73
FIGURA A.75- Espectro de RMN de ¹ H da Substância 12 em CDCl ₃ (9,4 T).	74
FIGURA A.76- Ampliação do Espectro de RMN de ¹ H da Substância 12 em CDCl ₃ (9,4 T).	75
FIGURA A.77- Ampliação do Espectro de RMN de ¹ H da Substância 12 em CDCl ₃ (9,4 T).	76
FIGURA A.78- Espectro de RMN de ¹³ C{ ¹ H} da Substância 12 em CDCl ₃ (9,4 T).	77
FIGURA A.79- Espectro de RMN de ¹³ C-DEPT da substância 7 em CDCl ₃ (9,4 T).	78
FIGURA A.80- Mapa de contorno HSQC da Substância 12 em CDCl ₃ (9,4 T).	79
FIGURA A.81- Mapa de contorno HMBC da substância 12 em CDCl ₃ (9,4 T).	80
FIGURA A.82- Mapa de contorno COSY do Substância 12 em CDCl ₃ (9,4 T).	81
FIGURA A.83- Espectro de RMN de ¹ H da Substância 13 em CDCl ₃ (9,4 T).	82
FIGURA A.84- Ampliação do Espectro de RMN de ¹ H da Substância 13 em CDCl ₃ (9,4 T).	83
FIGURA A.85- Ampliação do Espectro de RMN de ¹ H da Substância 13 em CDCl ₃ (9,4 T).	84
FIGURA A.86- Espectro de RMN de ¹³ C{ ¹ H} da Substância 13 em CDCl ₃ (9,4 T).	85
FIGURA A.87- Ampliação do Espectro de RMN de ¹³ C{ ¹ H} da Substância 13 em CDCl ₃ (9,4 T).	86
FIGURA A.88- Espectro de RMN de ¹³ C-DEPT da substância 13 em CDCl ₃ (9,4 T).	87
FIGURA A.89- Ampliação do espectro de mapa de contorno HSQC da Substância 13 em CDCl ₃ (9,4 T).	88
FIGURA A.90- Ampliação do espectro de mapa de contorno HSQC da Substância 13 em CDCl ₃ (9,4 T).	89
FIGURA A.91- Mapa de contorno HMBC da substância 13 em CDCl ₃ (9,4 T).	90

FIGURA A.92- Ampliação do espectro de mapa de contorno HMBC da substância 13 em CDCl ₃ (9,4 T).	91
FIGURA A.93- Ampliação do espectro de mapa de contorno HMBC da substância 13 em CDCl ₃ (9,4 T).	92
FIGURA A.94- Mapa de contorno COSY do Substância 13 em CDCl ₃ (9,4 T).	93
FIGURA A.95- Espectro de RMN de ¹ H da Substância 5 em CDCl ₃ (9,4 T).	94
FIGURA A.96- Ampliação do Espectro de RMN de ¹ H da Substância 14 em CDCl ₃ (9,4 T).	95
FIGURA A.97- Ampliação do Espectro de RMN de 1H da Substância 14 em CDCl ₃ (9,4 T).	96
FIGURA A.98- Espectro de RMN de ¹³ C{ ¹ H} da Substância 14 em CDCl ₃ (9,4 T).	97
FIGURA A.99- Ampliação do Espectro de RMN de ¹ H da Substância 14 em CDCl ₃ (9,4 T)	98
FIGURA A.100- Mapa de contorno HSQC da Substância 14 em CDCl ₃ (9,4 T).	99
FIGURA A.101- Mapa de contorno HMBC da substância 14 em CDCl ₃ (9,4 T).	100
FIGURA A.102- Mapa de contorno COSY do Substância 14 em CDCl ₃ (9,4 T).	101
FIGURA A.103- Espectro de RMN de ¹ H da Substância 15 em CDCl ₃ (9,4 T).	102
FIGURA A.104- Ampliação do Espectro de RMN de ¹ H da Substância 15 em CDCl ₃ (9,4 T).	103
FIGURA A.105- Ampliação do Espectro de RMN de 1H da Substância 5 em CDCl ₃ (9,4 T).	104
FIGURA A.106- Espectro de RMN de ¹³ C{ ¹ H} da Substância 15 em CDCl ₃ (9,4 T).	105
FIGURA A.107- Mapa de contorno HSQC da Substância 15 em CDCl ₃ (9,4 T).	106
FIGURA A.108- Mapa de contorno HMBC da substância 15 em CDCl ₃ (9,4 T).	107
FIGURA A.109- Mapa de contorno COSY do Substância 15 em CDCl ₃ (9,4 T).	108
FIGURA A.110- Espectro de RMN de ¹ H da Substância 16 em CDCl ₃ (9,4 T).	109
FIGURA A111- Ampliação do Espectro de RMN de ¹ H da Substância 16 em CDCl ₃ (9,4 T).	110
FIGURA A.112- Ampliação do Espectro de RMN de ¹ H da Substância 16 em CDCl ₃ (9,4 T).	111
FIGURA A.113- Espectro de RMN de ¹³ C{ ¹ H} da Substância 16 em CDCl ₃ (9,4 T).	112
FIGURA A.114- Mapa de contorno HSQC da Substância 16 em CDCl ₃ (9,4 T).	113
FIGURA A.115- Mapa de contorno HMBC da substância 16 em CDCl ₃ (9,4 T).	114
FIGURA A.116- Mapa de contorno COSY do Substância 16 em CDCl ₃ (9,4 T).	115

SUBSTÂNCIA 1

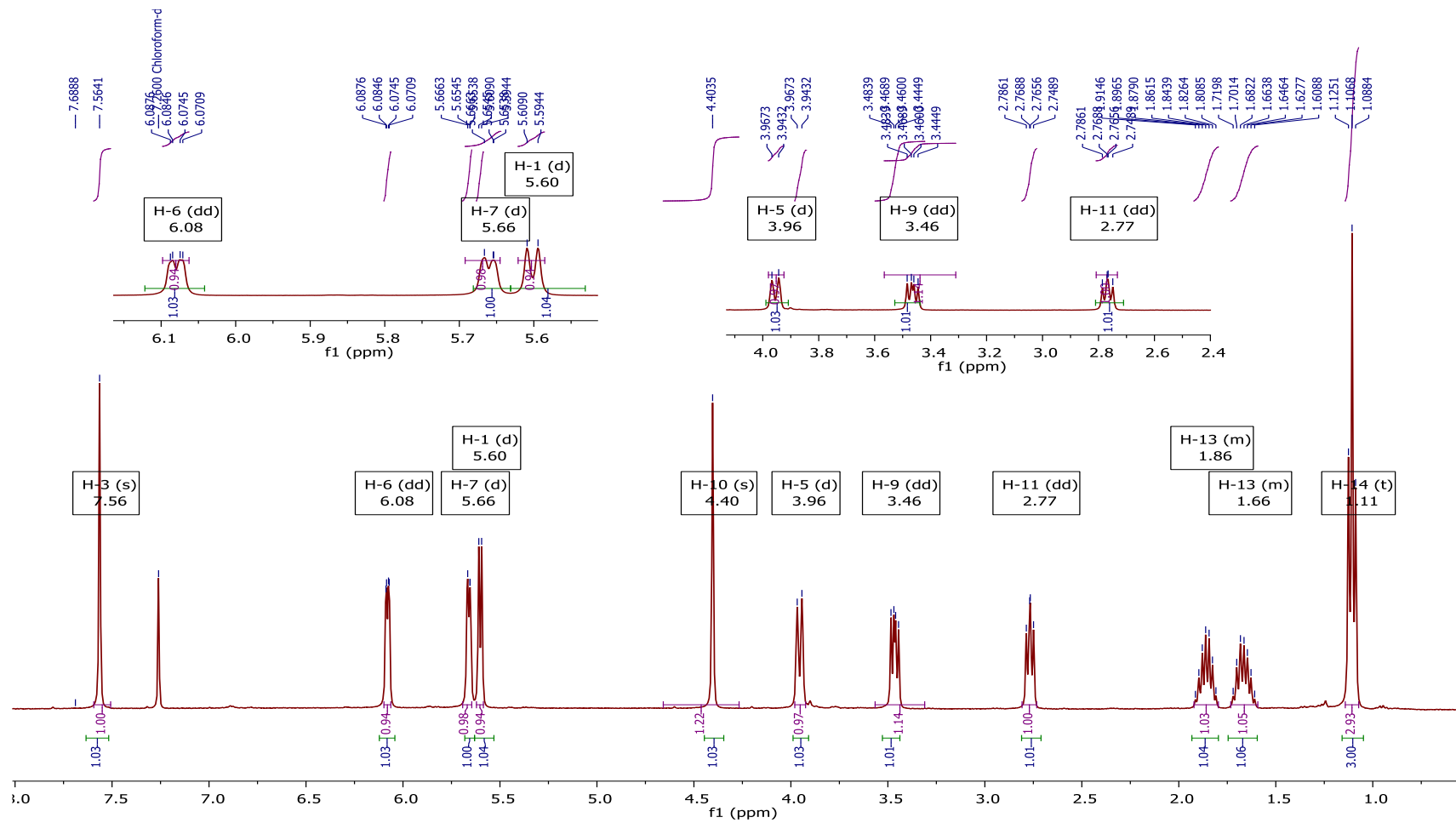


FIGURA A.7-

Espectro de RMN de ¹H da substância 1 em CDCl₃ (9,4 T).

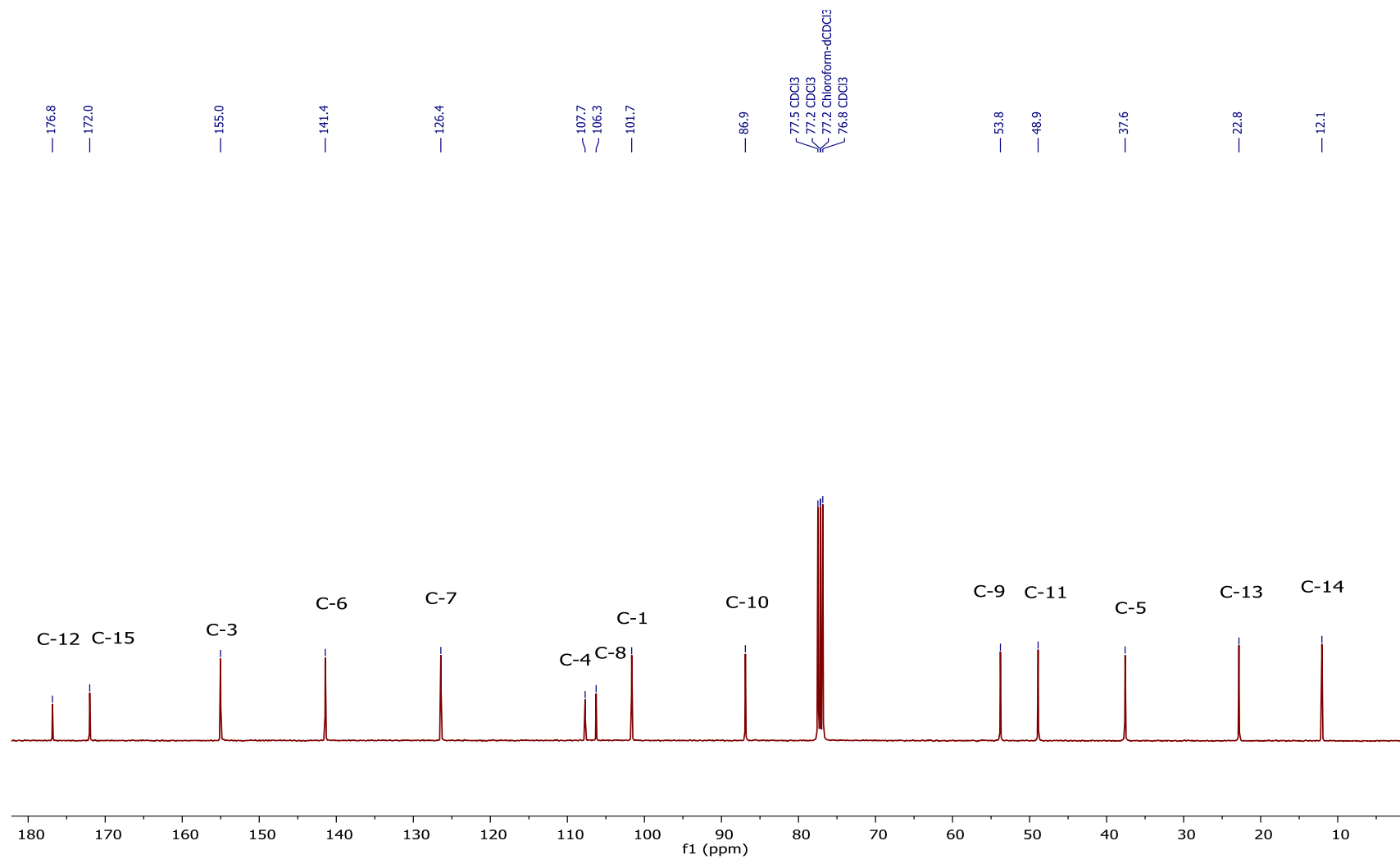


FIGURA A.8- Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ do iridoide 01 em CDCl_3 (9,4 T).

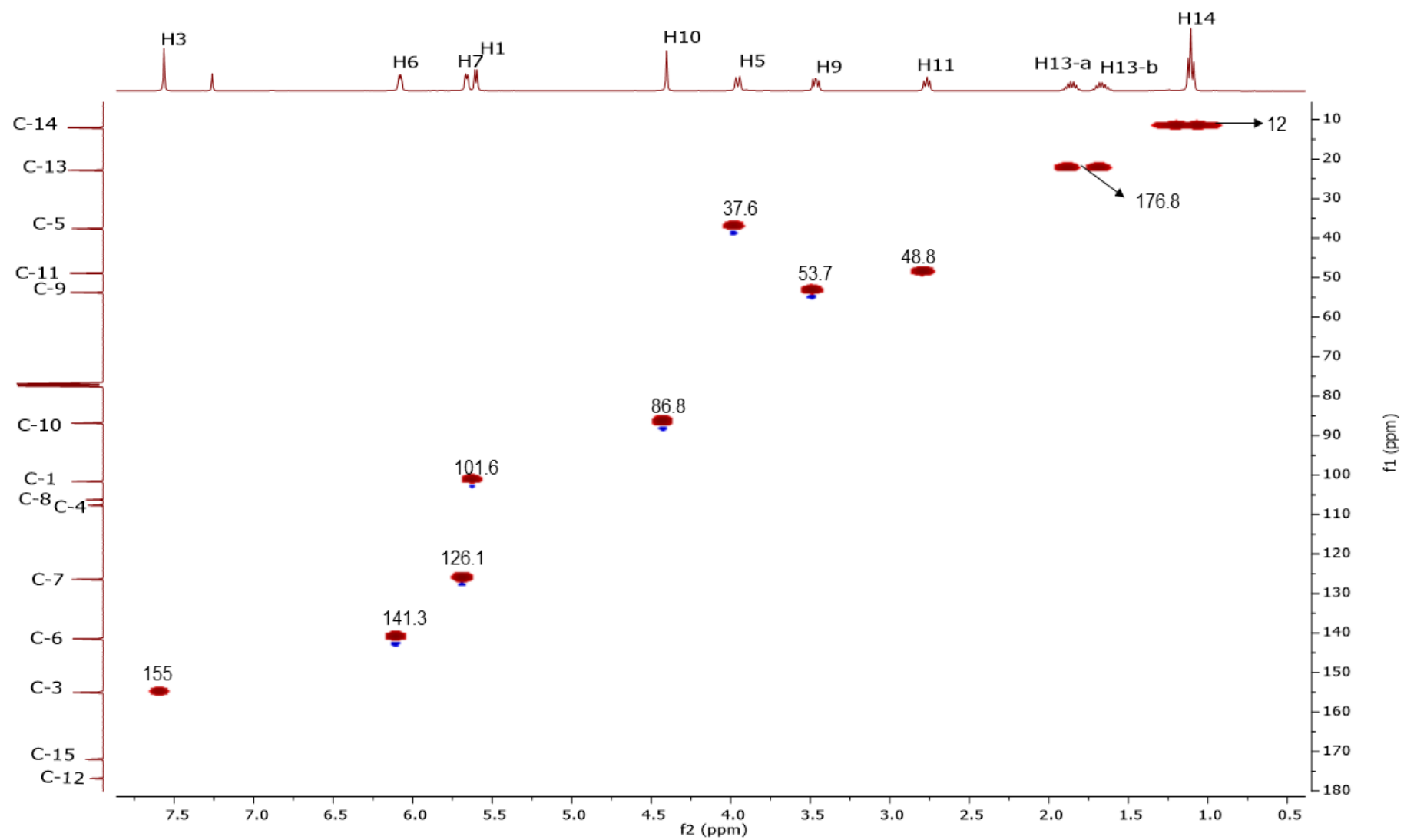


FIGURA A.9- Mapa de contorno HSQC da substância 1 em CDCl₃ (9,4 T).

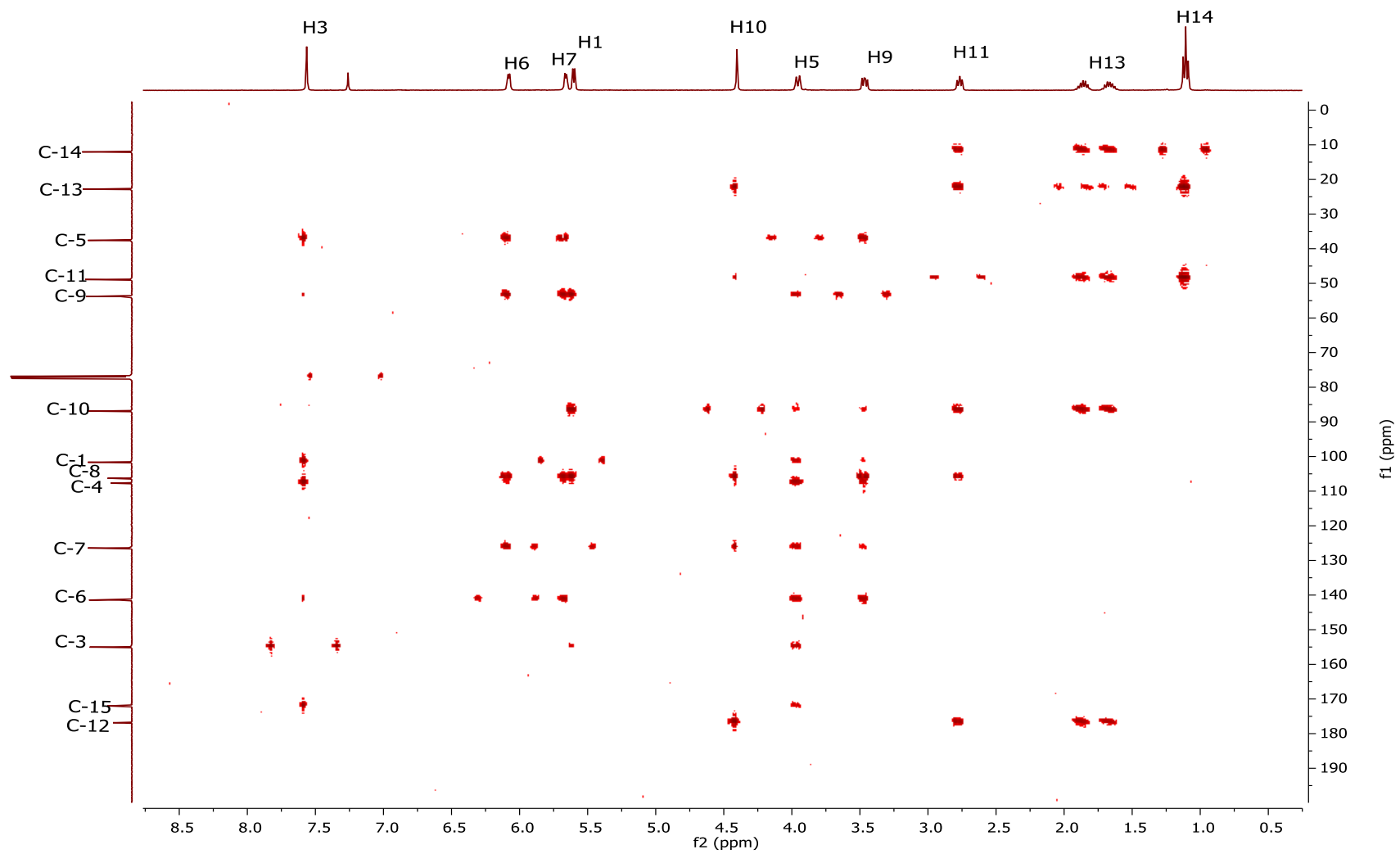


FIGURA A.10- Mapa de contorno HMBC da Substância 01 em CDCl_3 (9,4 T).

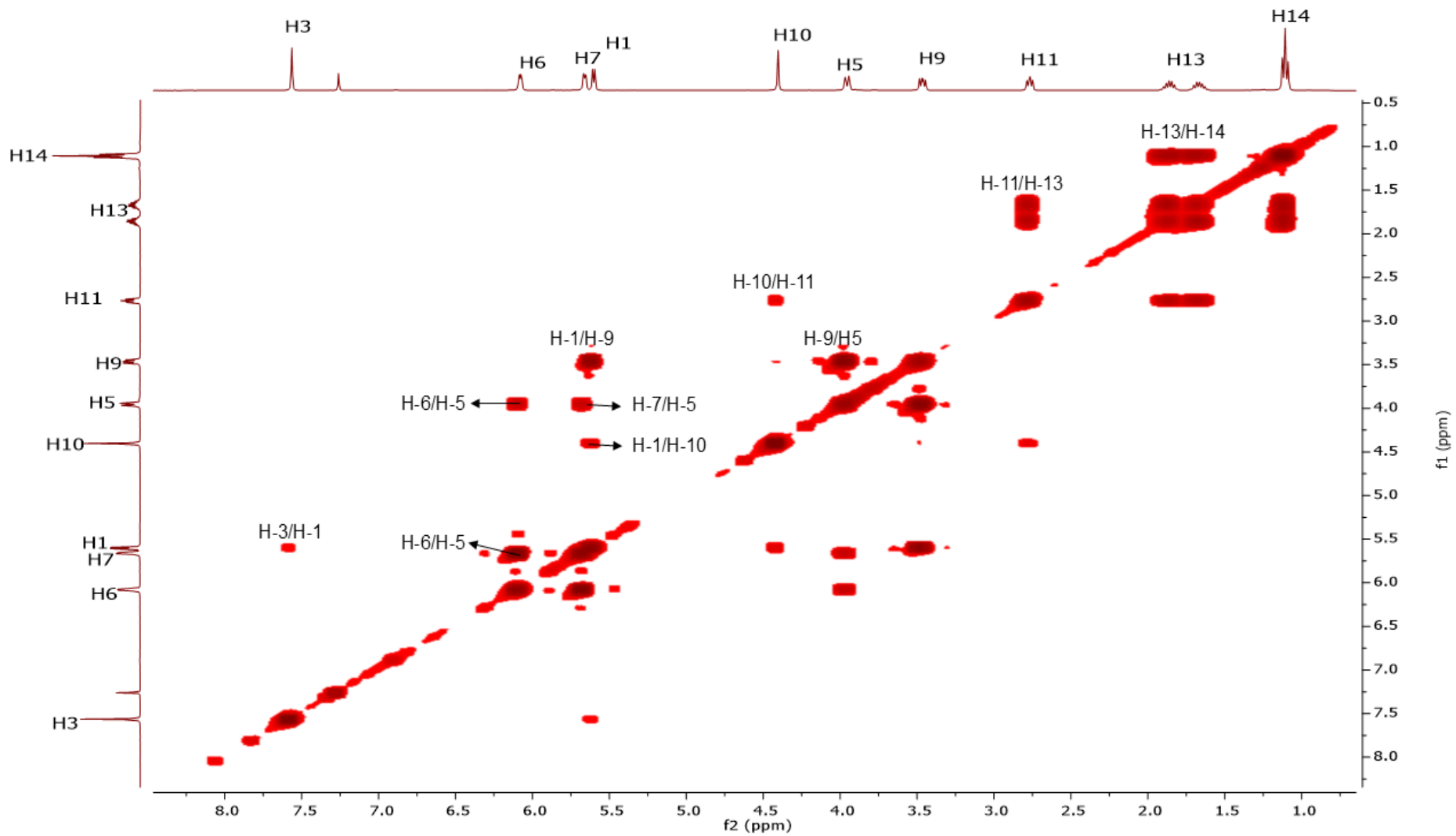


FIGURA A.11- Mapa de contorno COSY do Substância 1 em CDCl₃ (9,4 T).

SUBSTÂNCIA 2

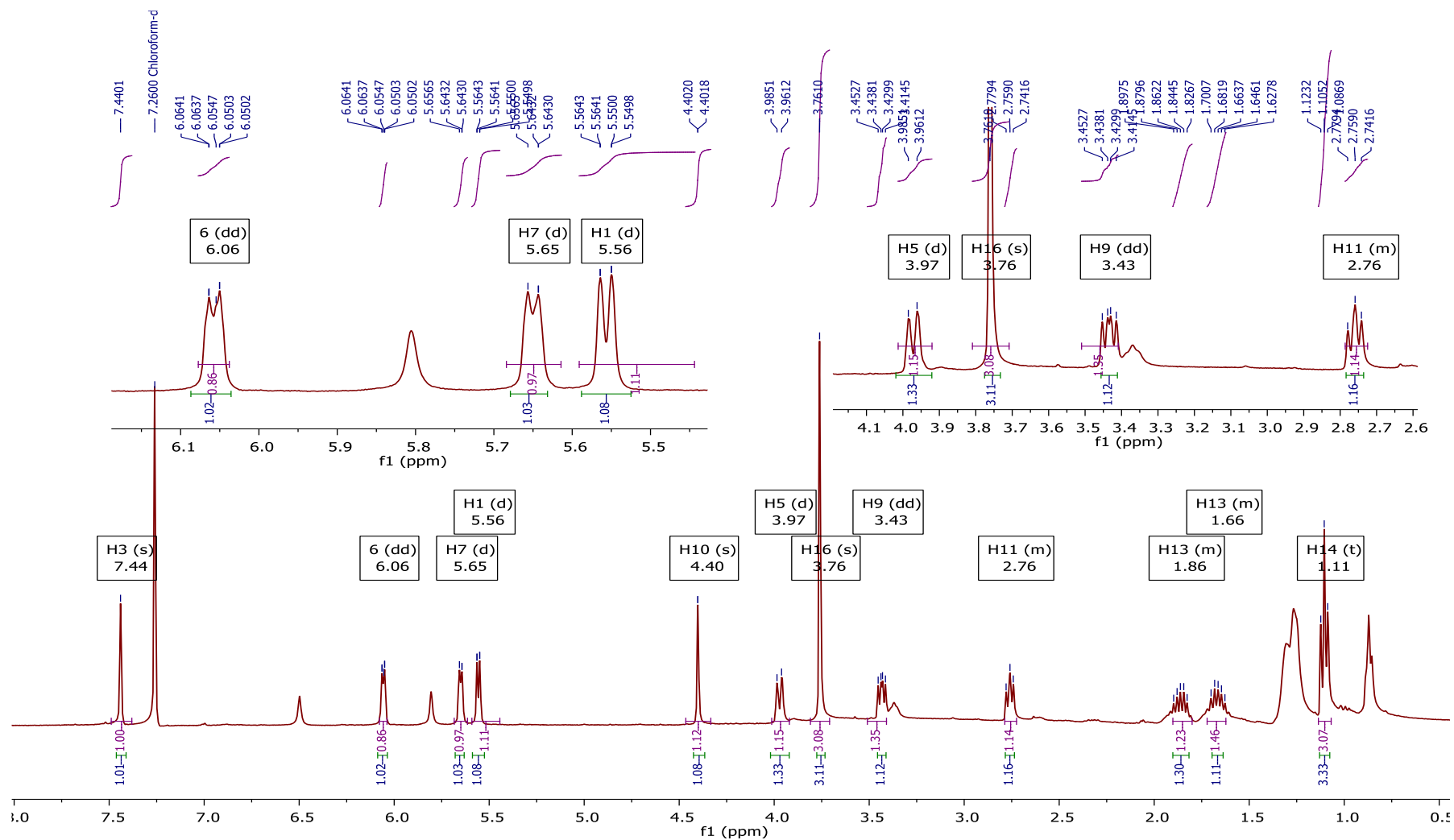


FIGURA A.12- Espectro de RMN de ¹H da substância 2 em CDCl₃ (9,4 T), com ampliações de regiões.

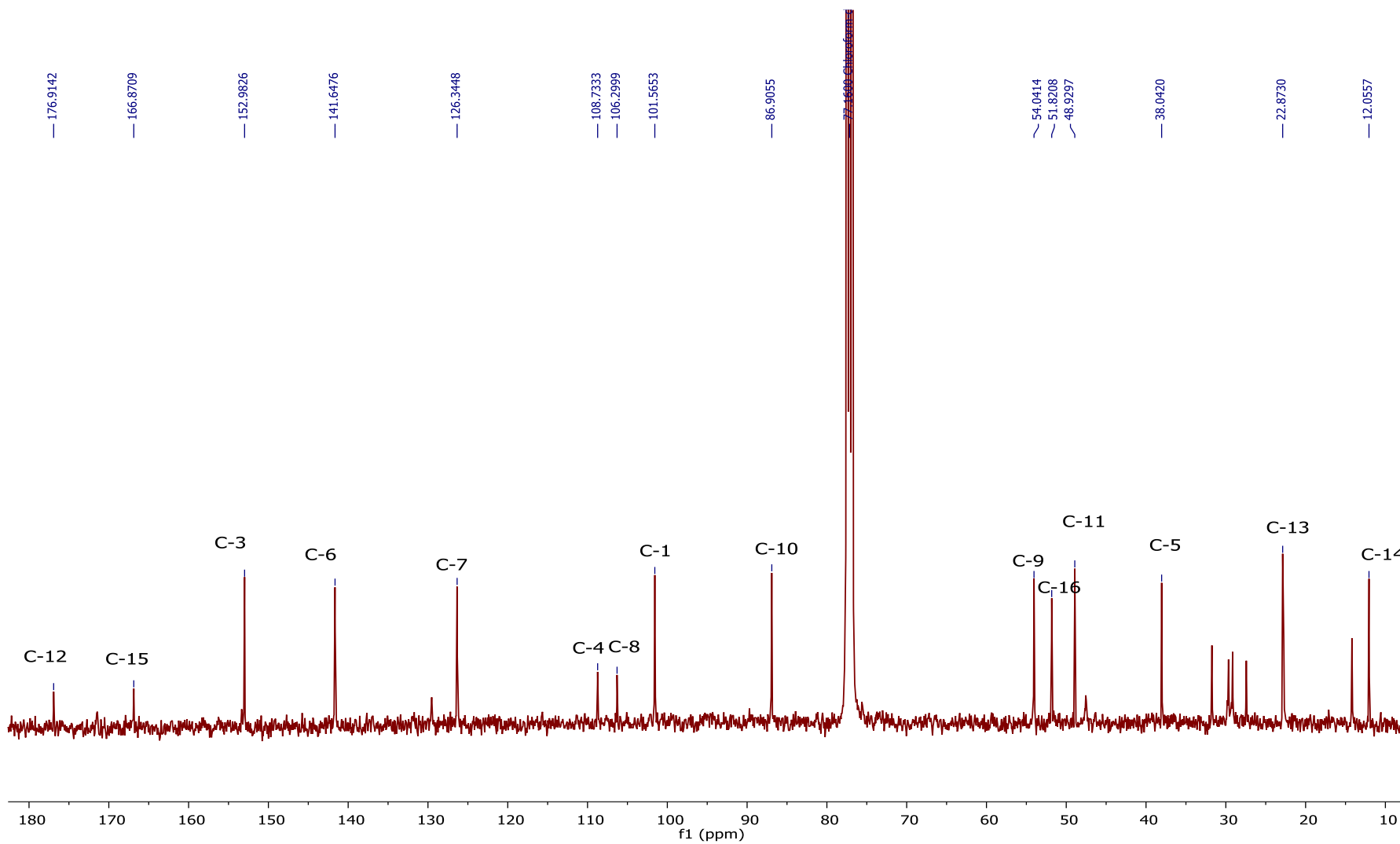


FIGURA A.13- Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ da Substância 02 em CDCl_3 (9,4 T).

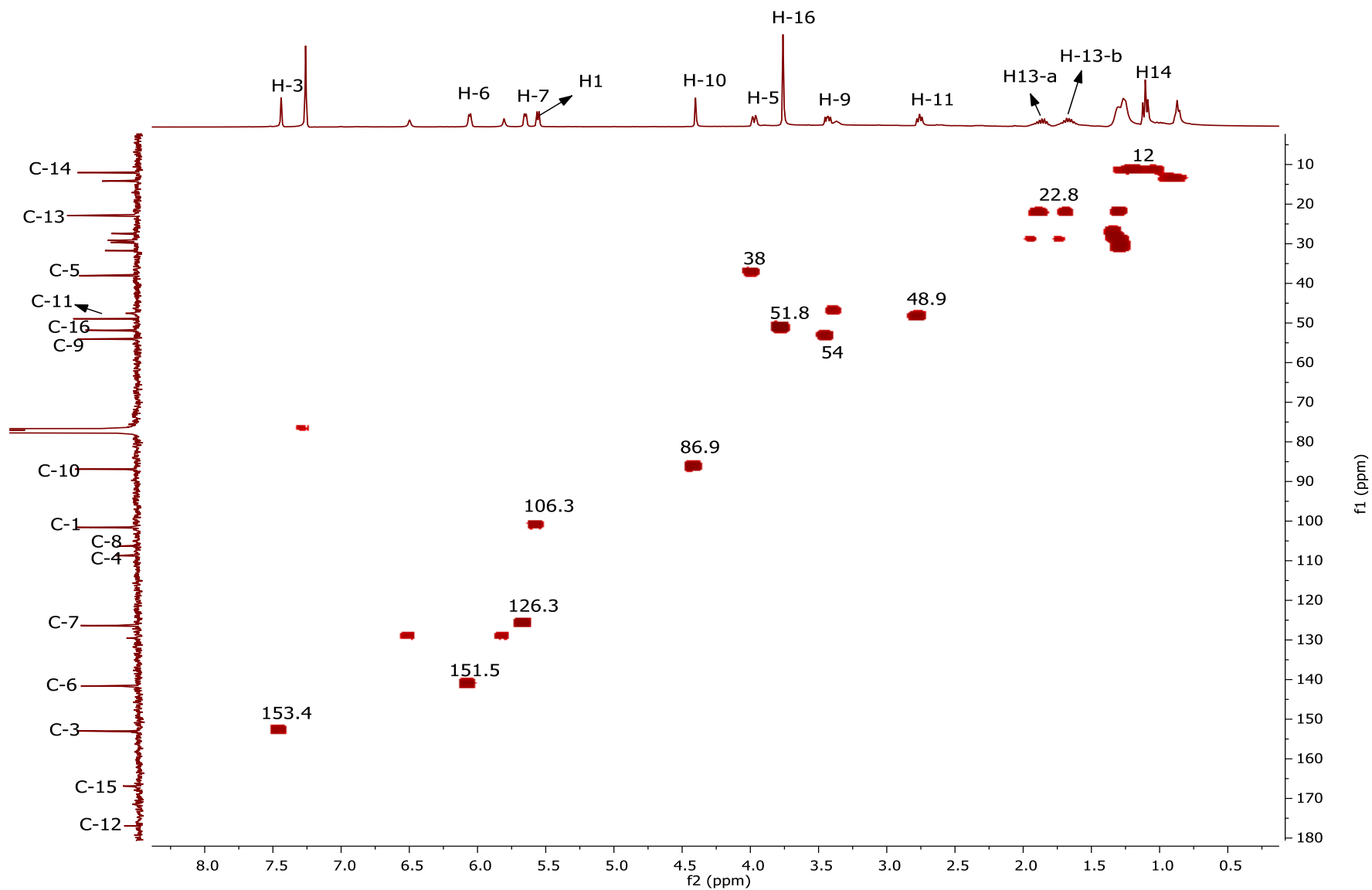


FIGURA A.14- Mapa de contorno HSQC da Substância 02 em CDCl_3 (9,4 T).

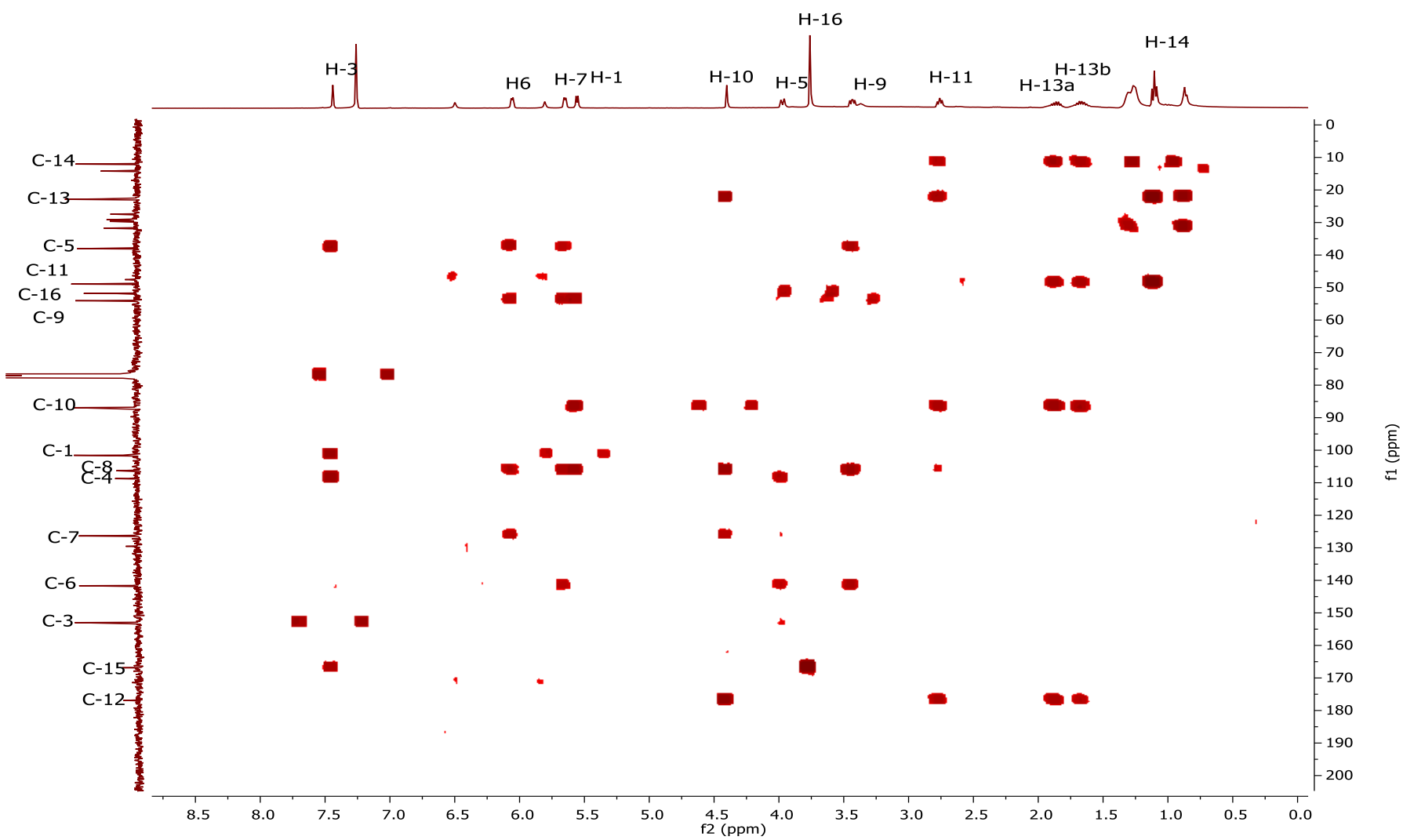


FIGURA A.15- Mapa de contorno HMBC da Substância 02 em CDCl_3 (9,4 T).

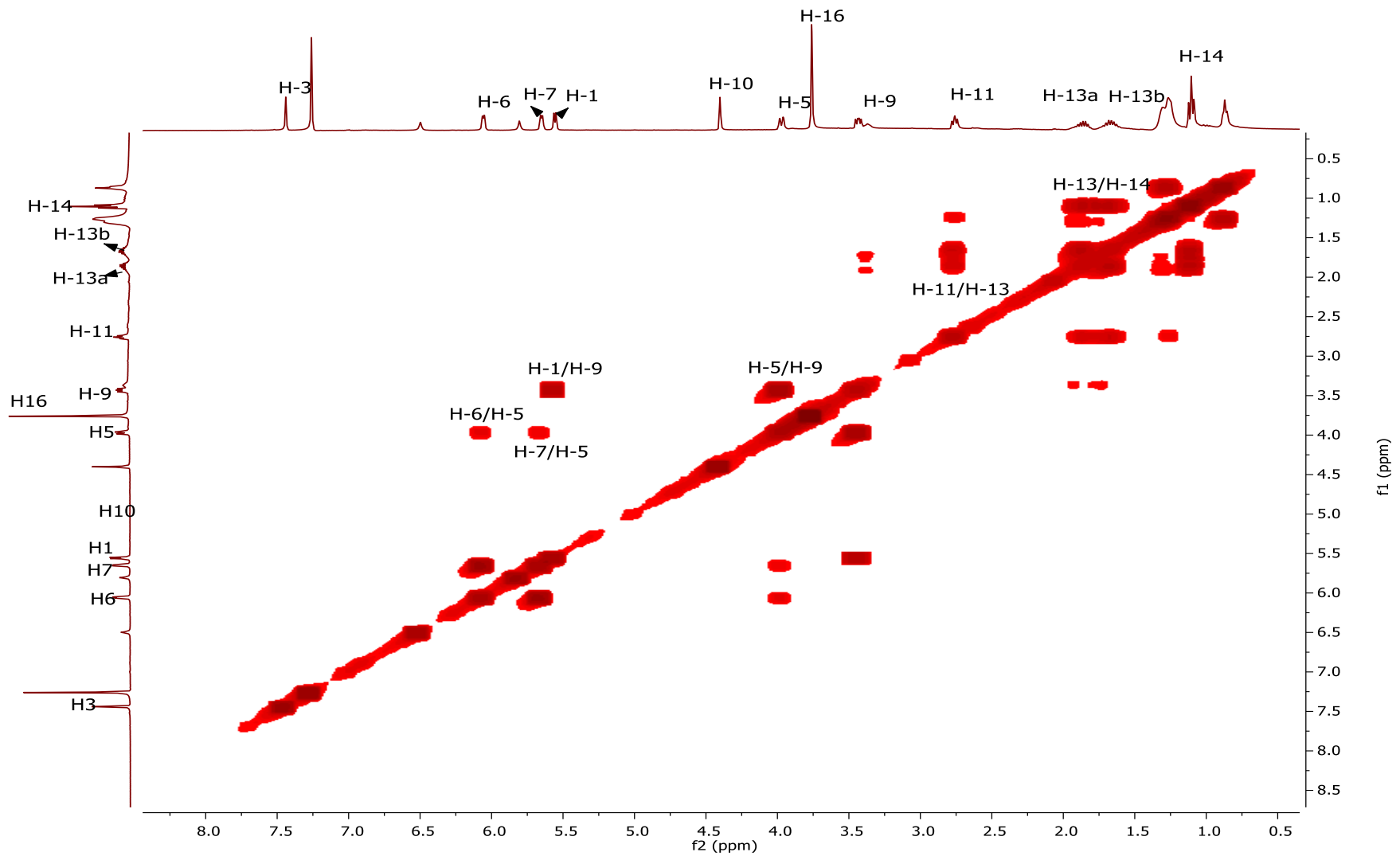


FIGURA A.16- Mapa de contorno COSY do Substância 2 em CDCl₃ (9,4 T).

Substância 3

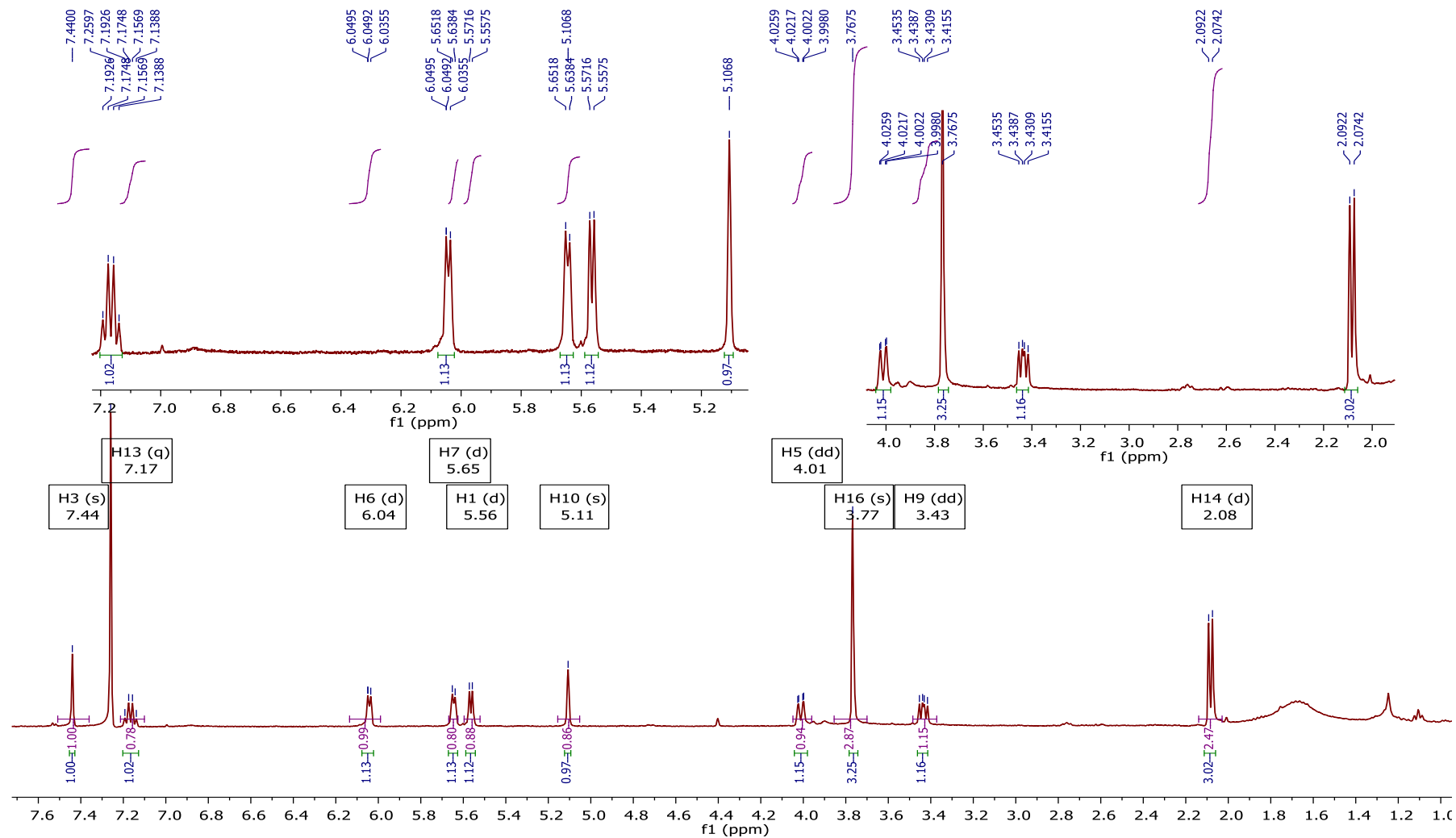


FIGURA A.17- Espectro de RMN de ¹H da substância 3 em CDCl₃ (9,4 T), com ampliações de algumas regiões.

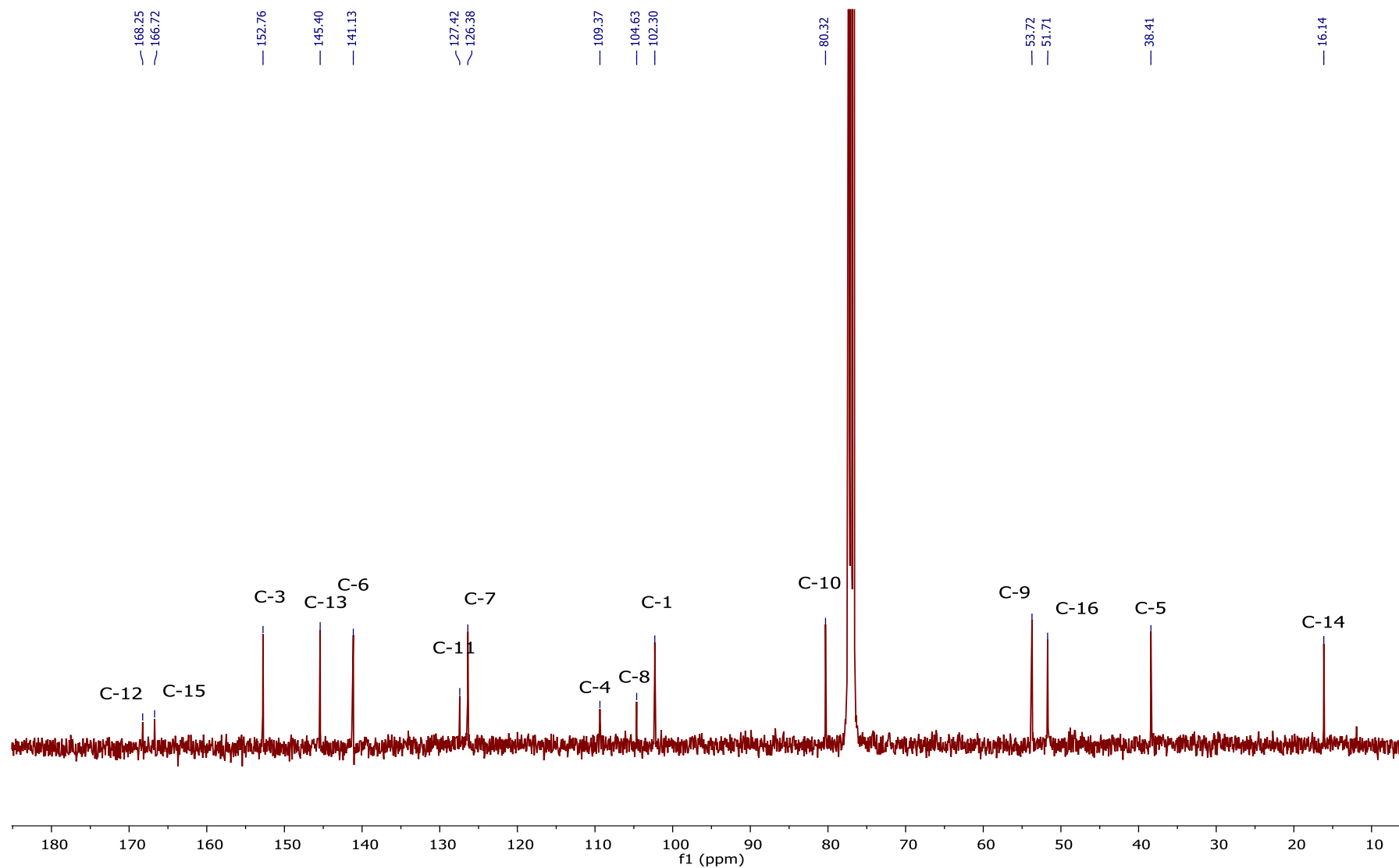


FIGURA A.18- Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ da Substância 3 em CDCl_3 (9,4 T).

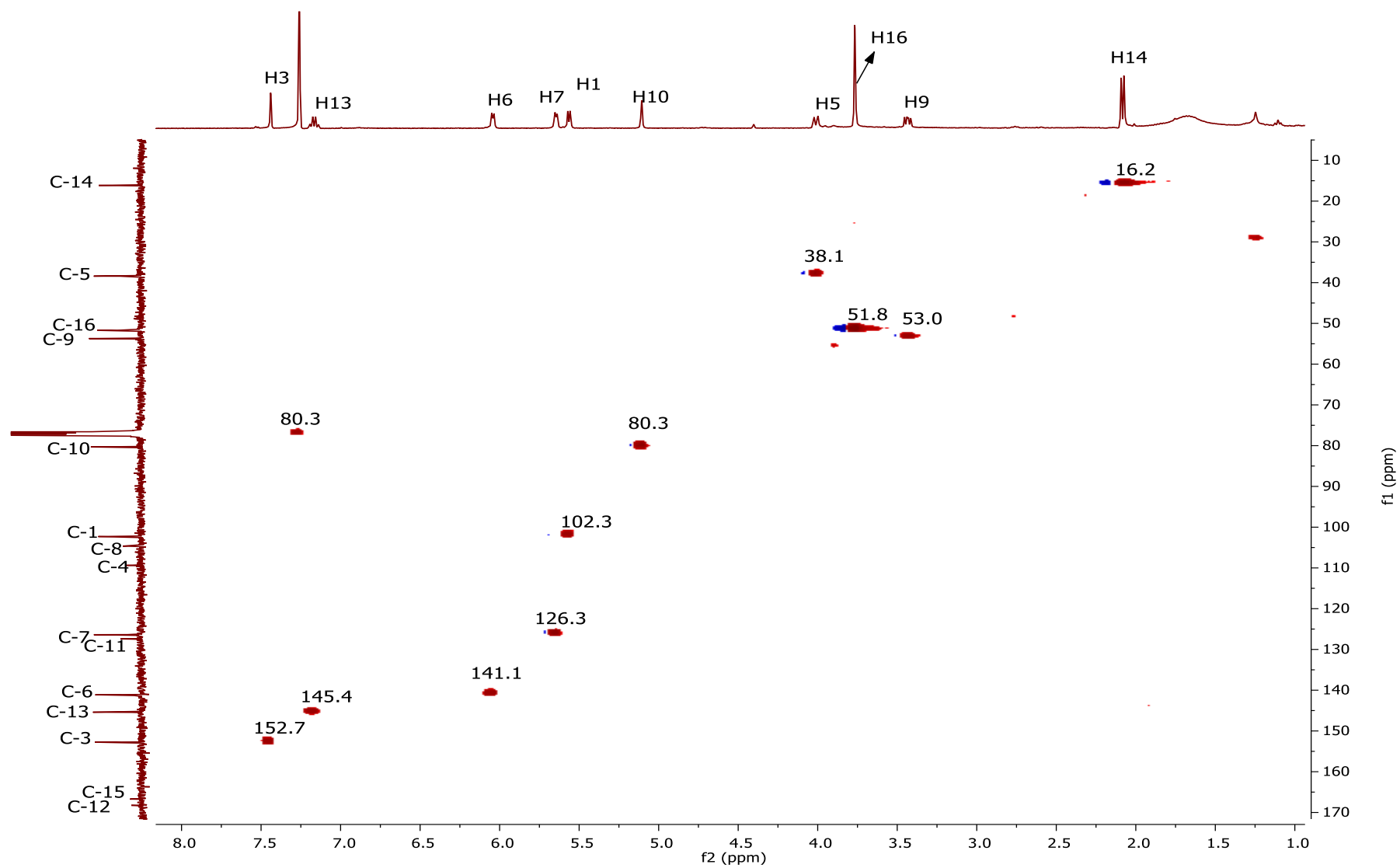


FIGURA A.19- Mapa de contorno HSQC da Substância 03 em CDCl_3 (9,4 T).

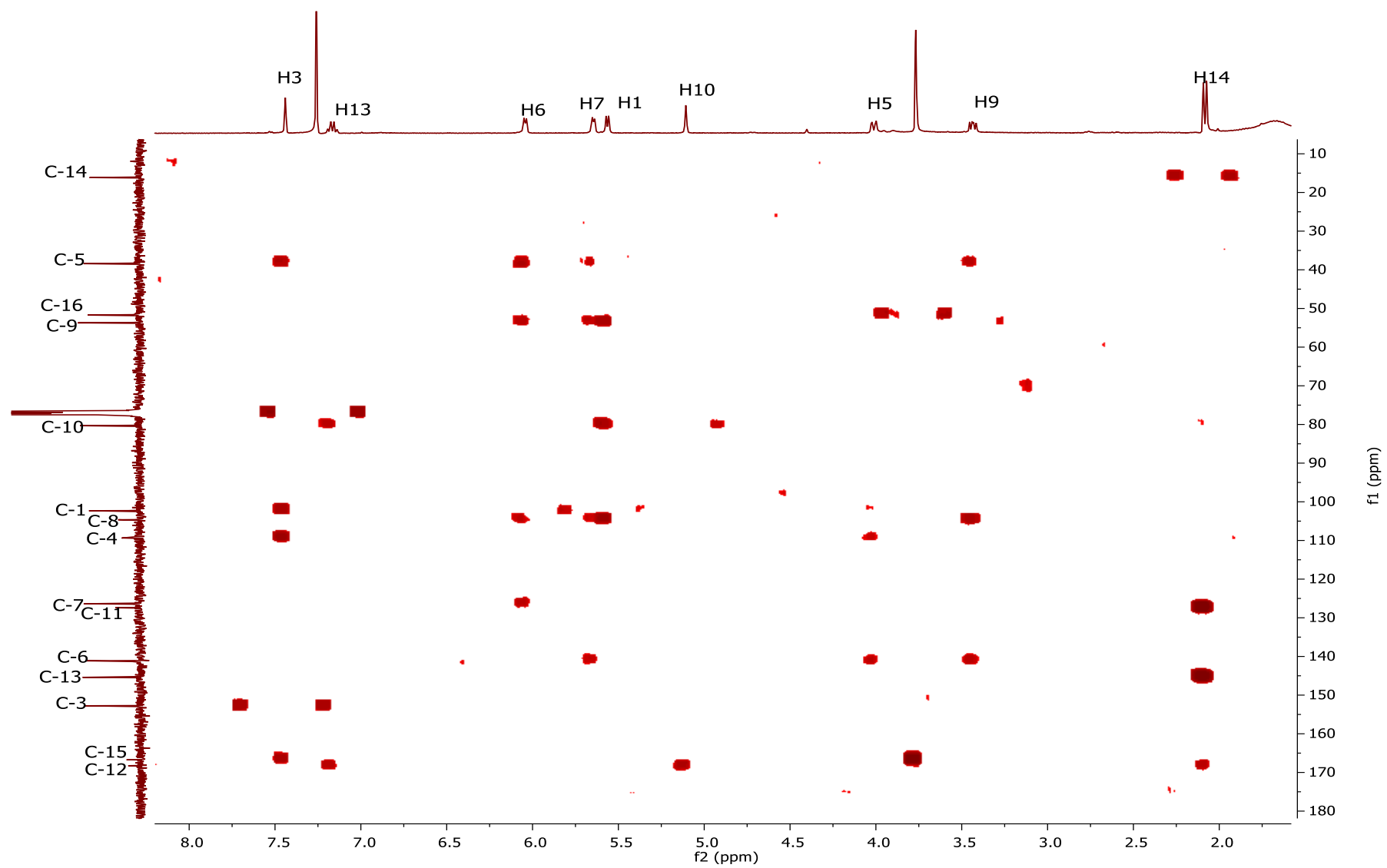


FIGURA A.20- Mapa de contorno HMBC da Substância 3 em CDCl₃ (9,4 T).

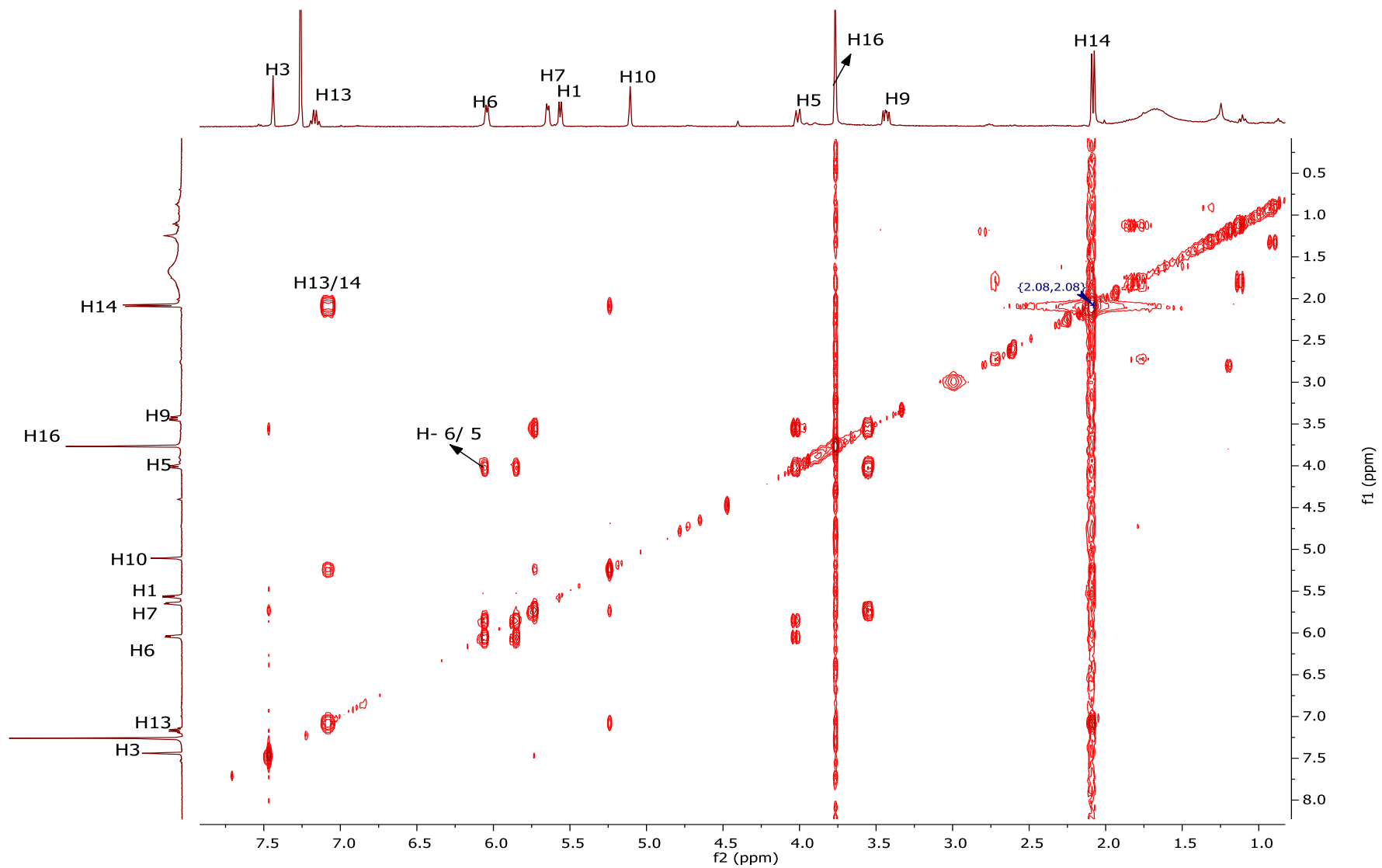


FIGURA A.21- Mapa de contorno COSY do Substância 3 em CDCl₃ (9,4 T).

SUBSTÂNCIA 4

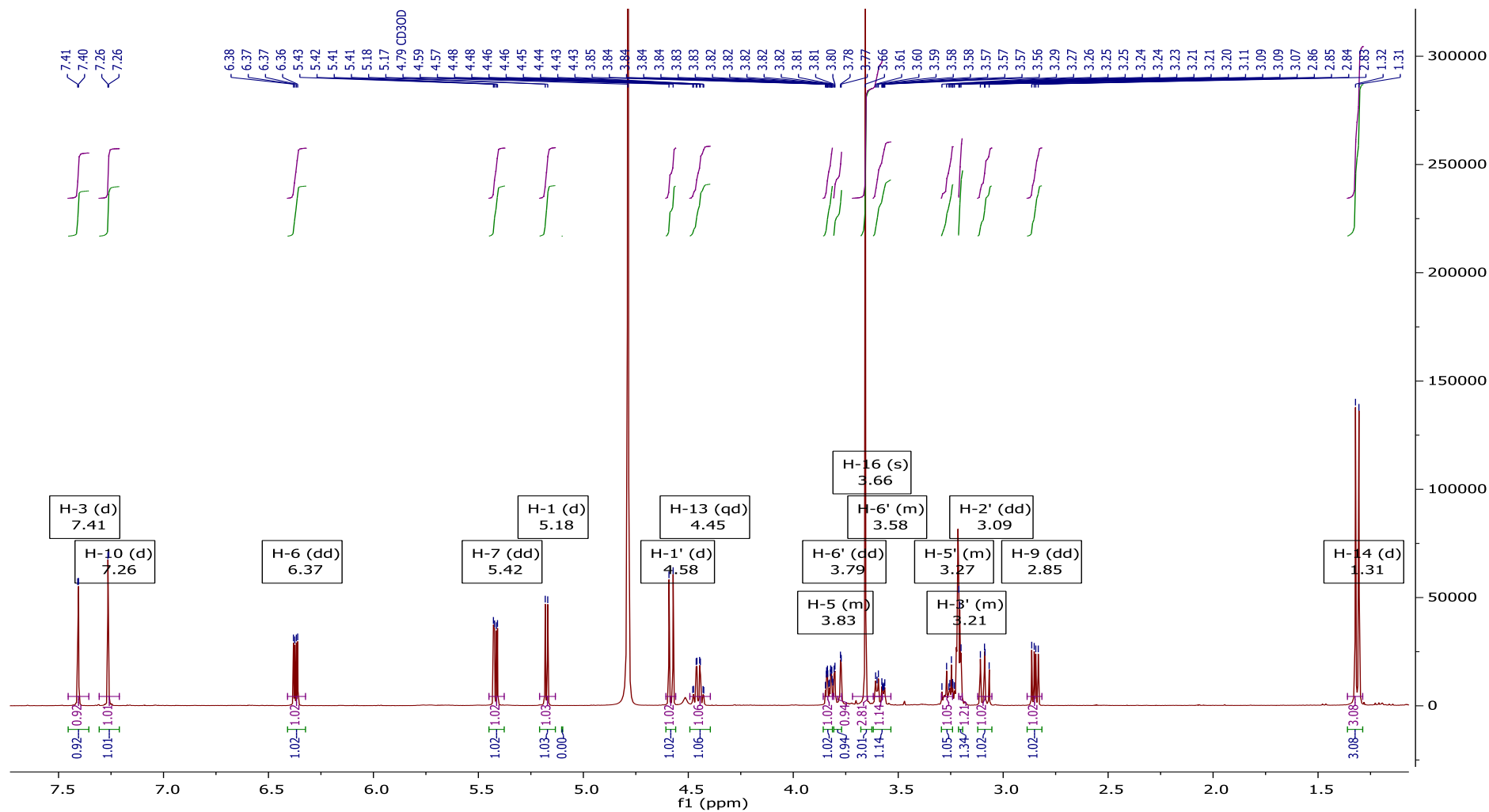


FIGURA A.22- Espectro de RMN de ¹H da Substância 04 em CD₃OD (9,4 T).

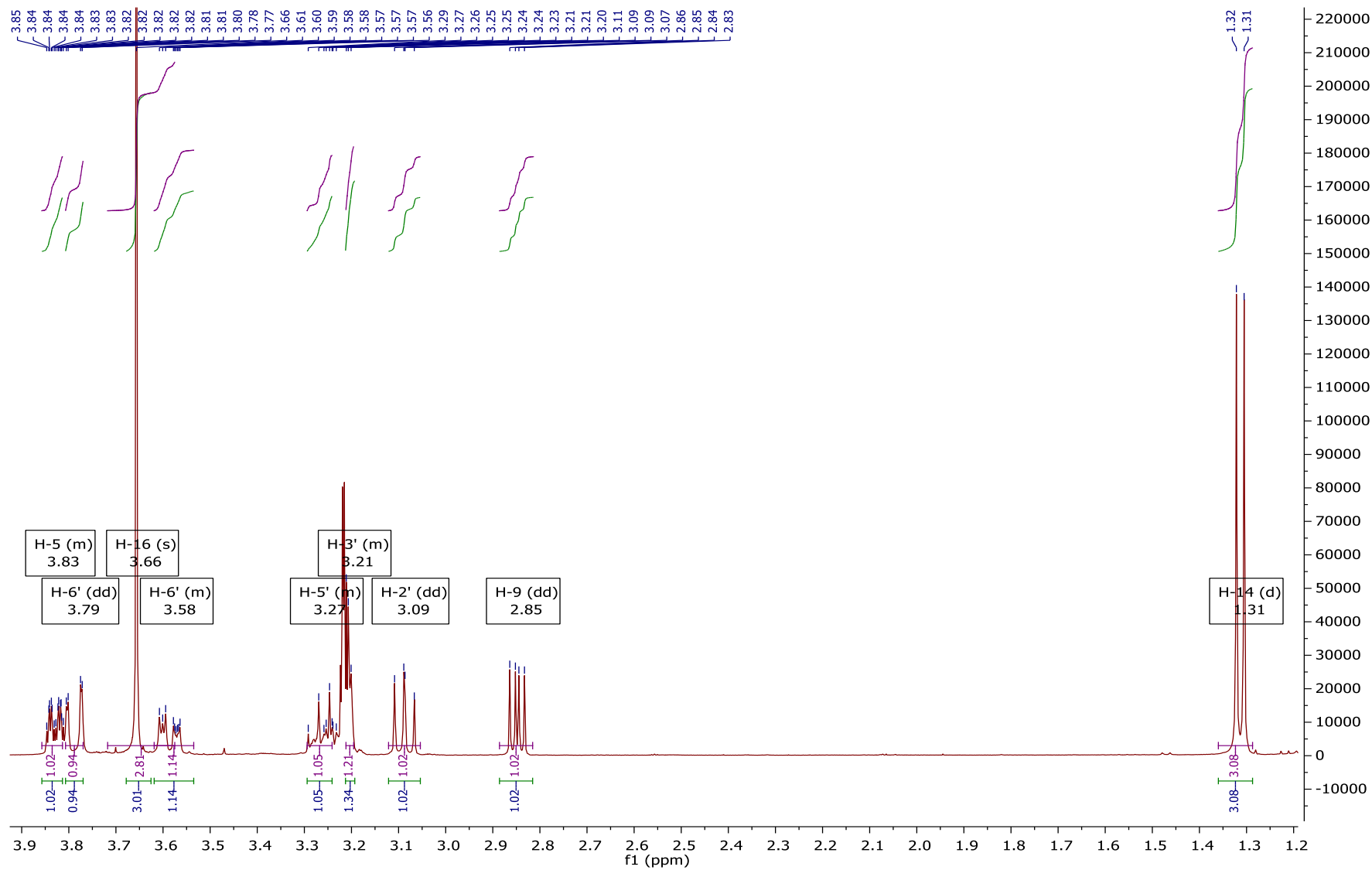


FIGURA 23- Ampliação do Espectro de RMN de 1H da Substância 04 em CD₃OD (9,4 T).

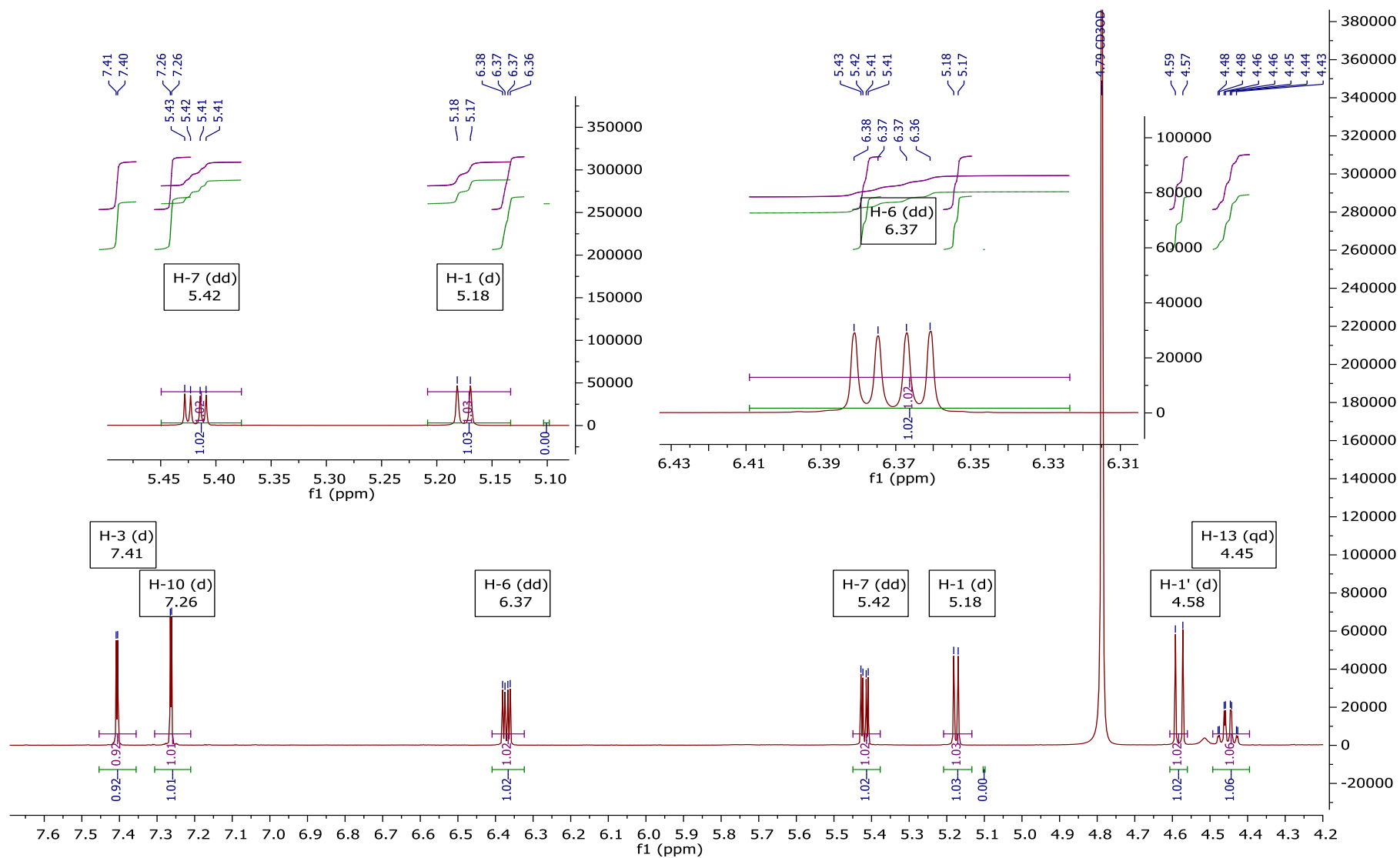


FIGURA A.24- Ampliação do Espectro de RMN de ^1H da Substância 4 em CD_3OD (9,4 T).

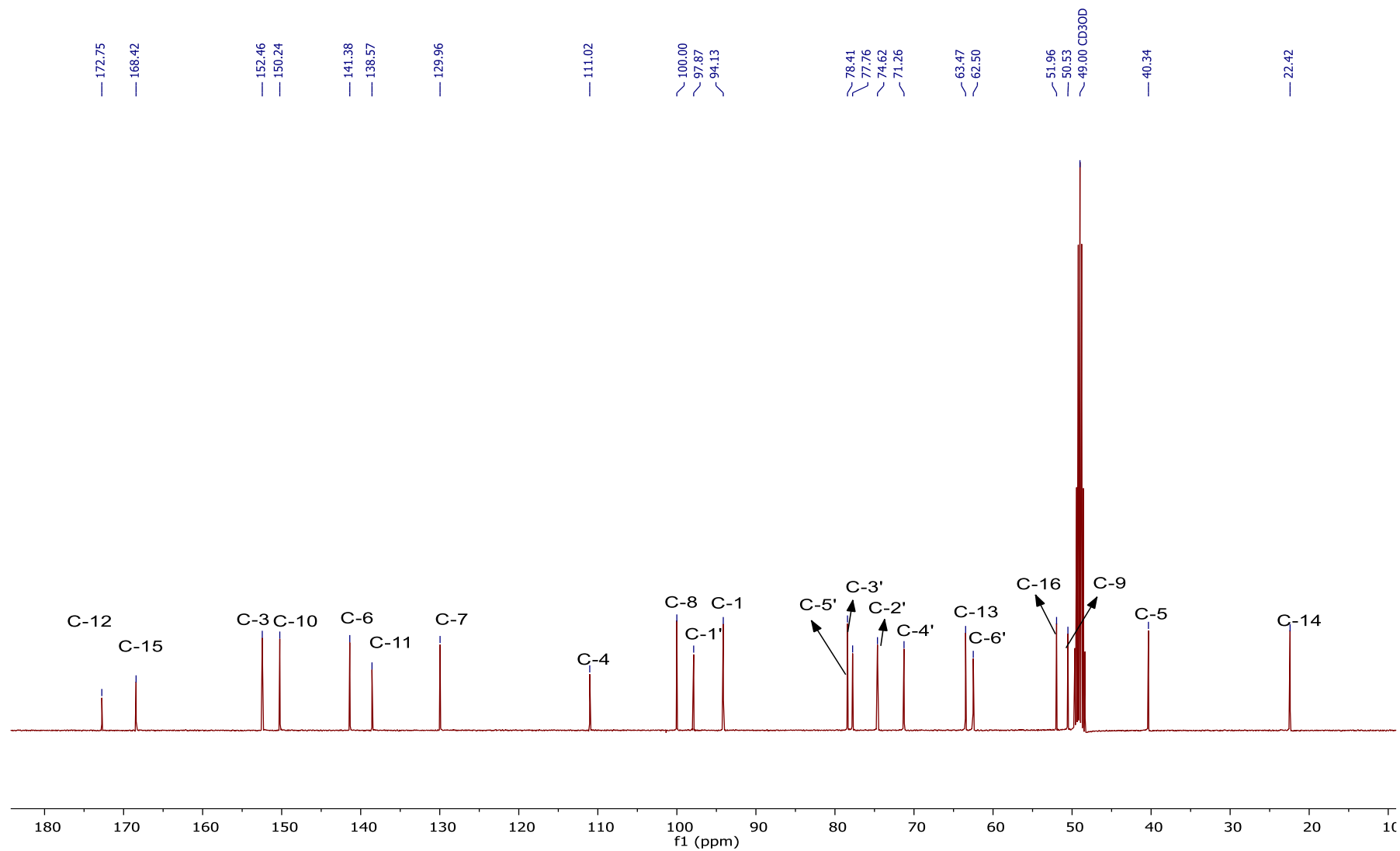


FIGURA A.25- Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ da Substância 4 em CD_3OD (9,4 T).

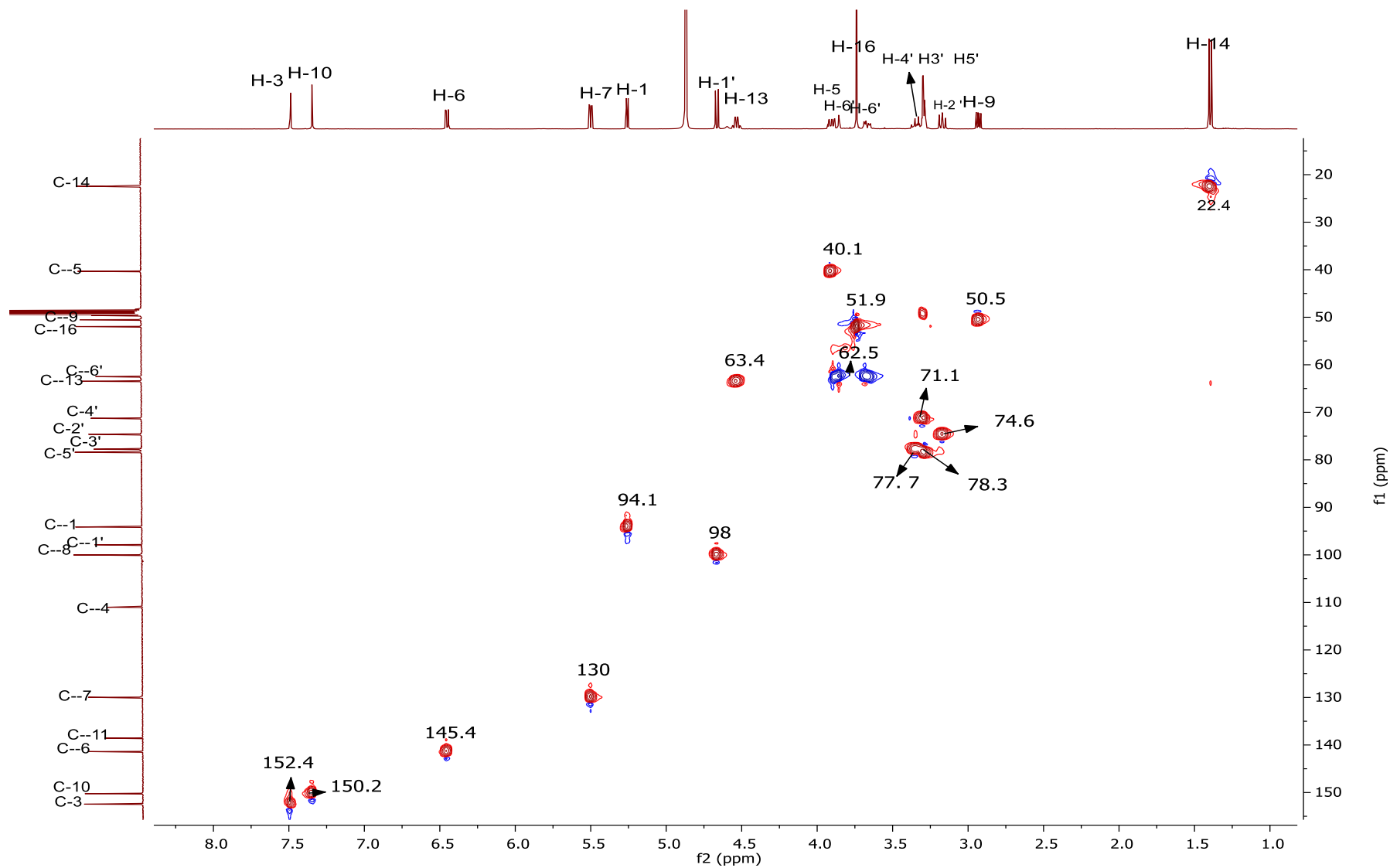
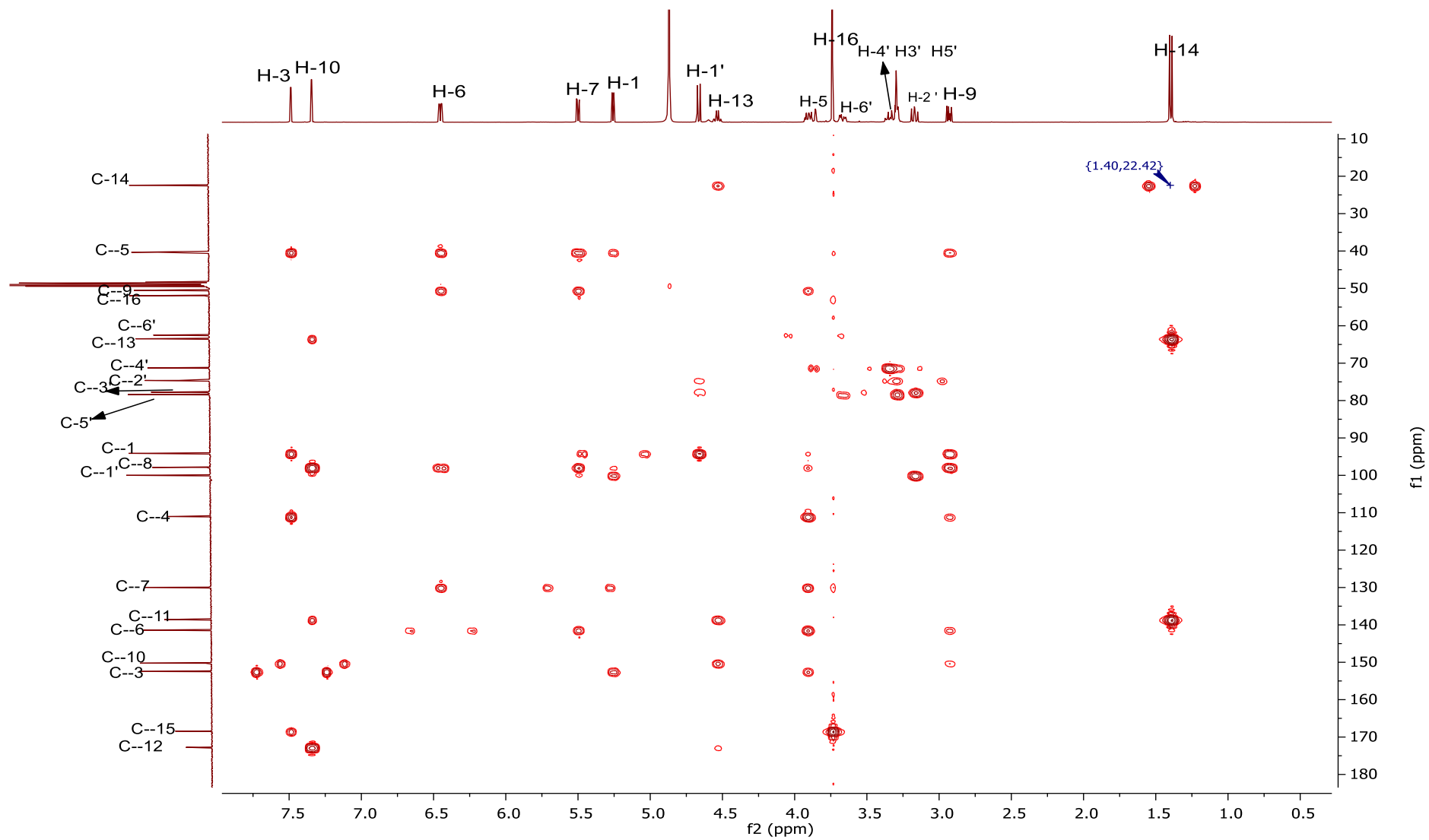


FIGURA A.26- Mapa de contorno HSQC da Substância 4 em CD_3OD (9,4 T).



FIGURAA.27- Mapa de contorno HMBC da substância 4 em CD₃OD (9,4 T).

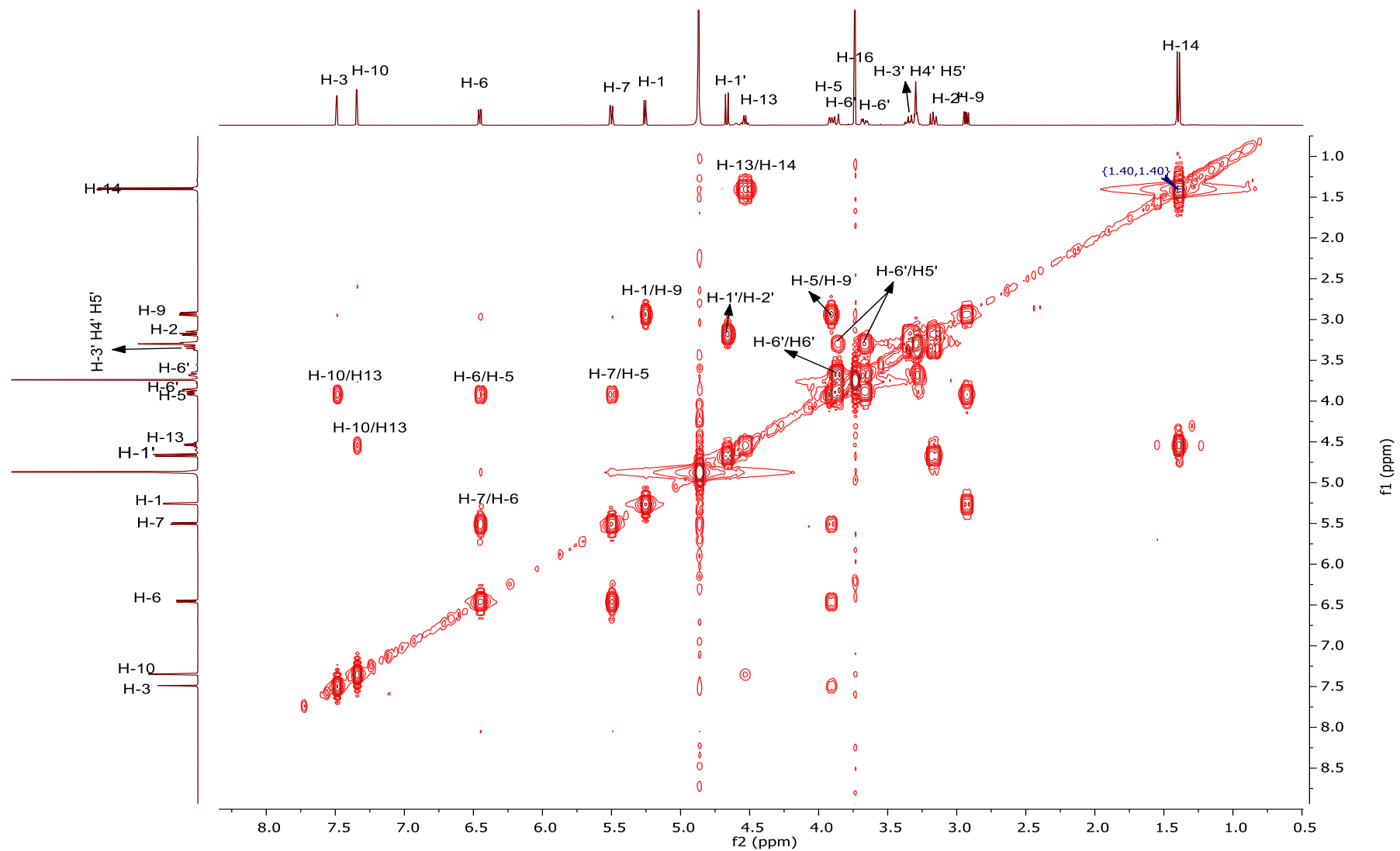


FIGURA A.28- Mapa de contorno COSY do Substância 4 em CD₃OD (9,4 T).

Substância 5

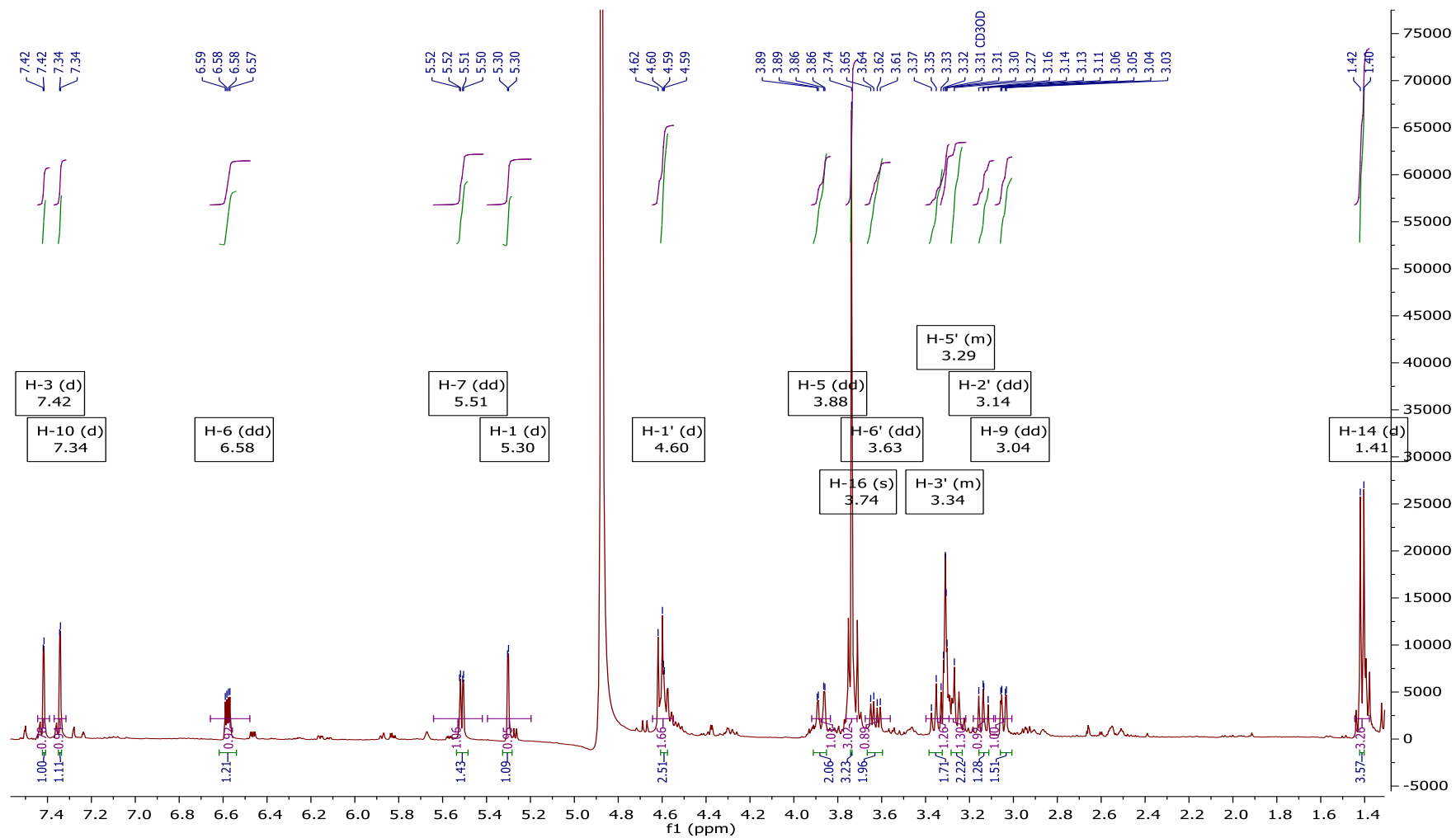


FIGURA A.29- Espectro de RMN de ^1H da Substância 5 em CD_3OD (9,4 T).

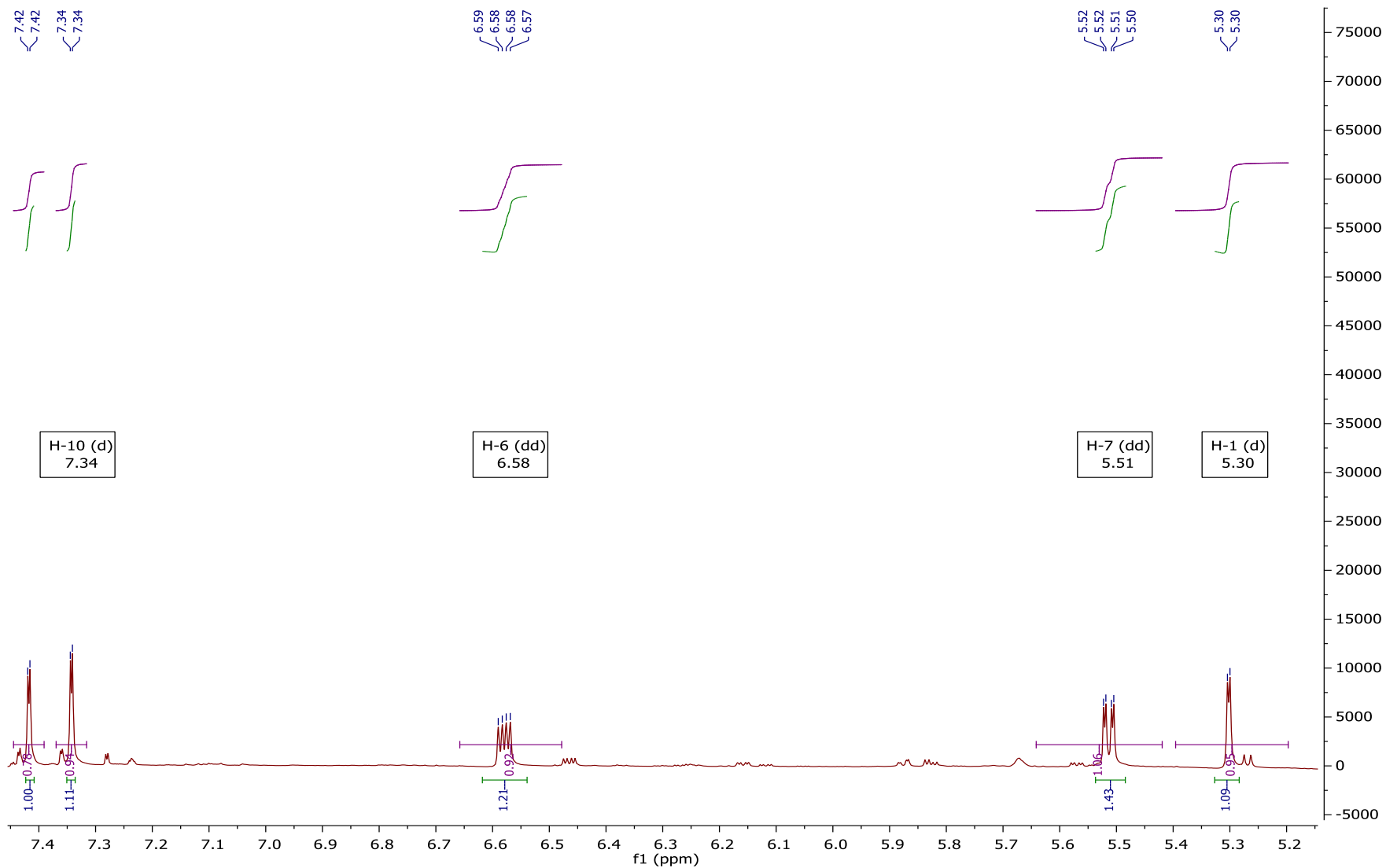


FIGURA A.30- Ampliação do Espectro de RMN de ^1H da Substância 5 em CD_3OD (9,4 T).

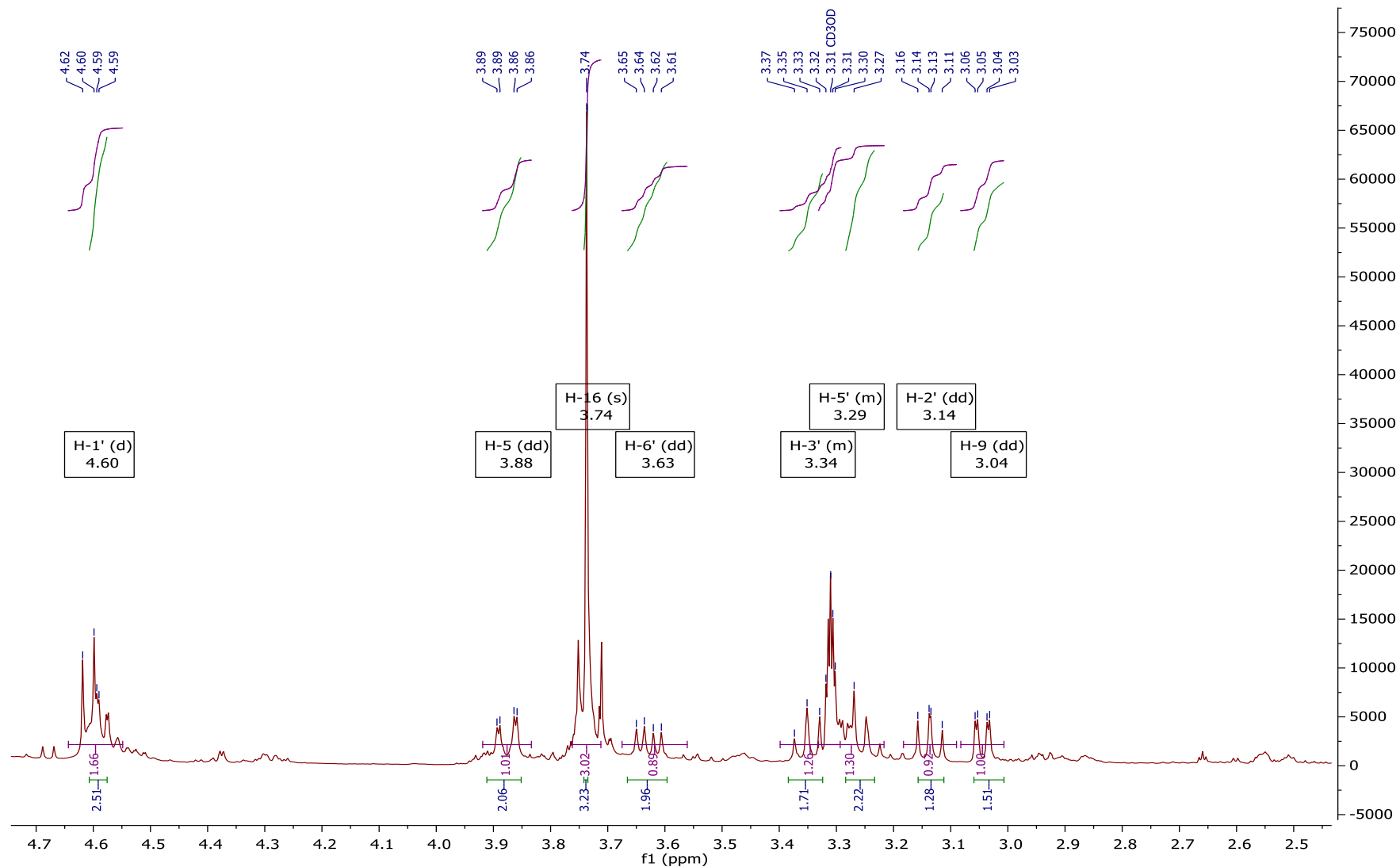


FIGURA A.31- Ampliação do Espectro de RMN de ^1H da Substância 5 em CD_3OD (9,4 T).

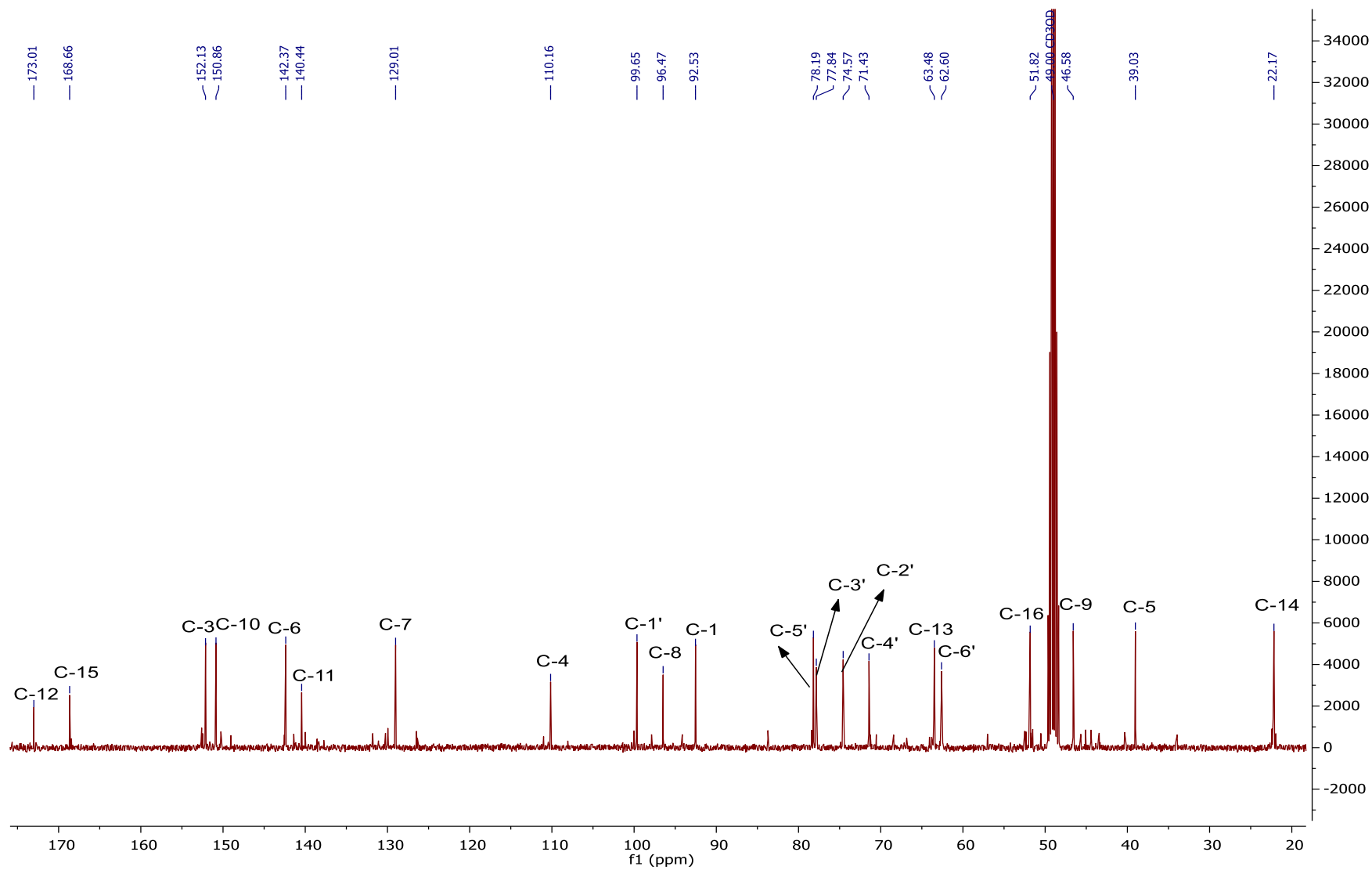


FIGURA A.32- Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ da Substância 5 em CD_3OD (9,4 T).

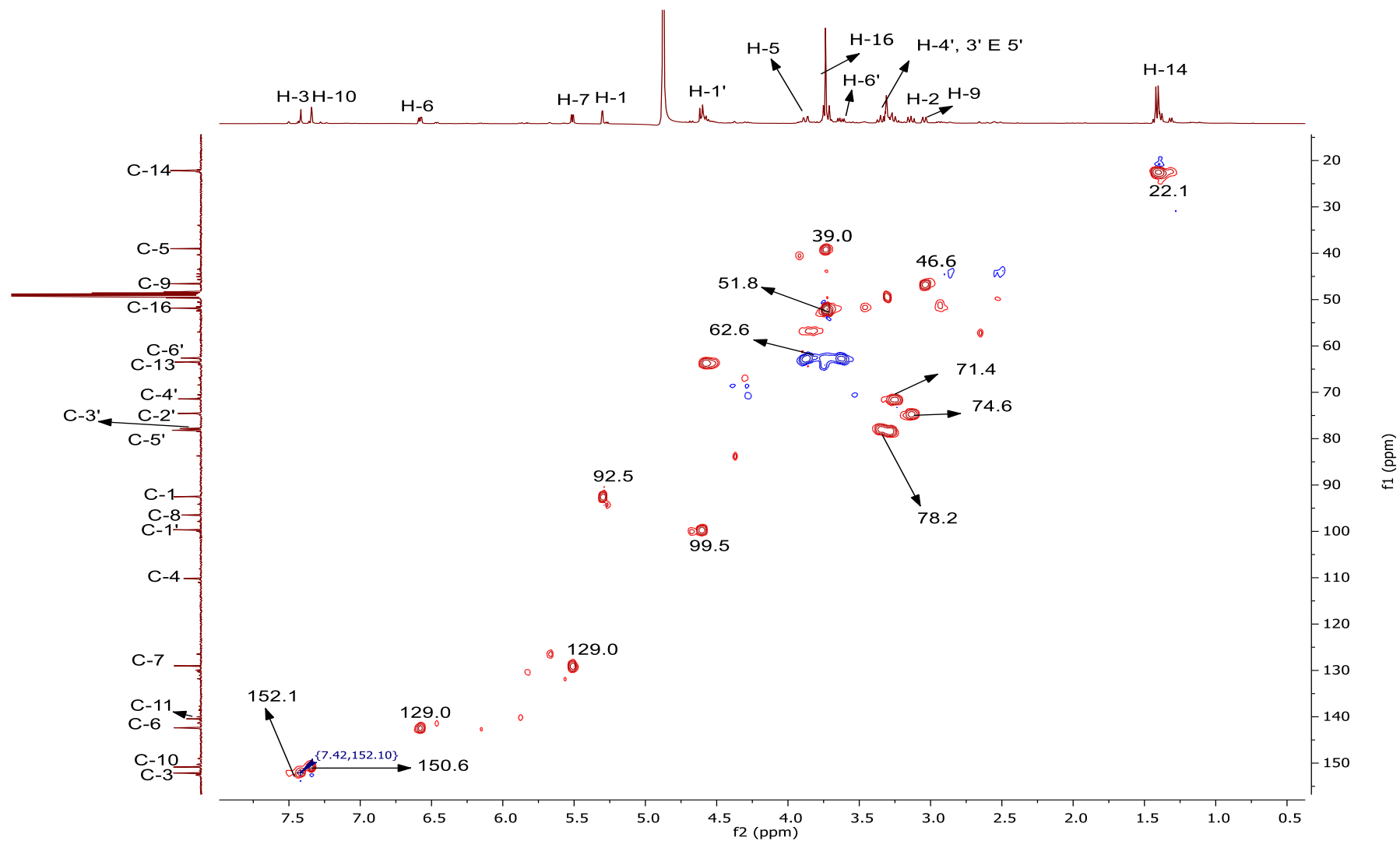


FIGURA A.33- Mapa de contorno HSQC da Substância 5 em CD_3OD (9,4 T).

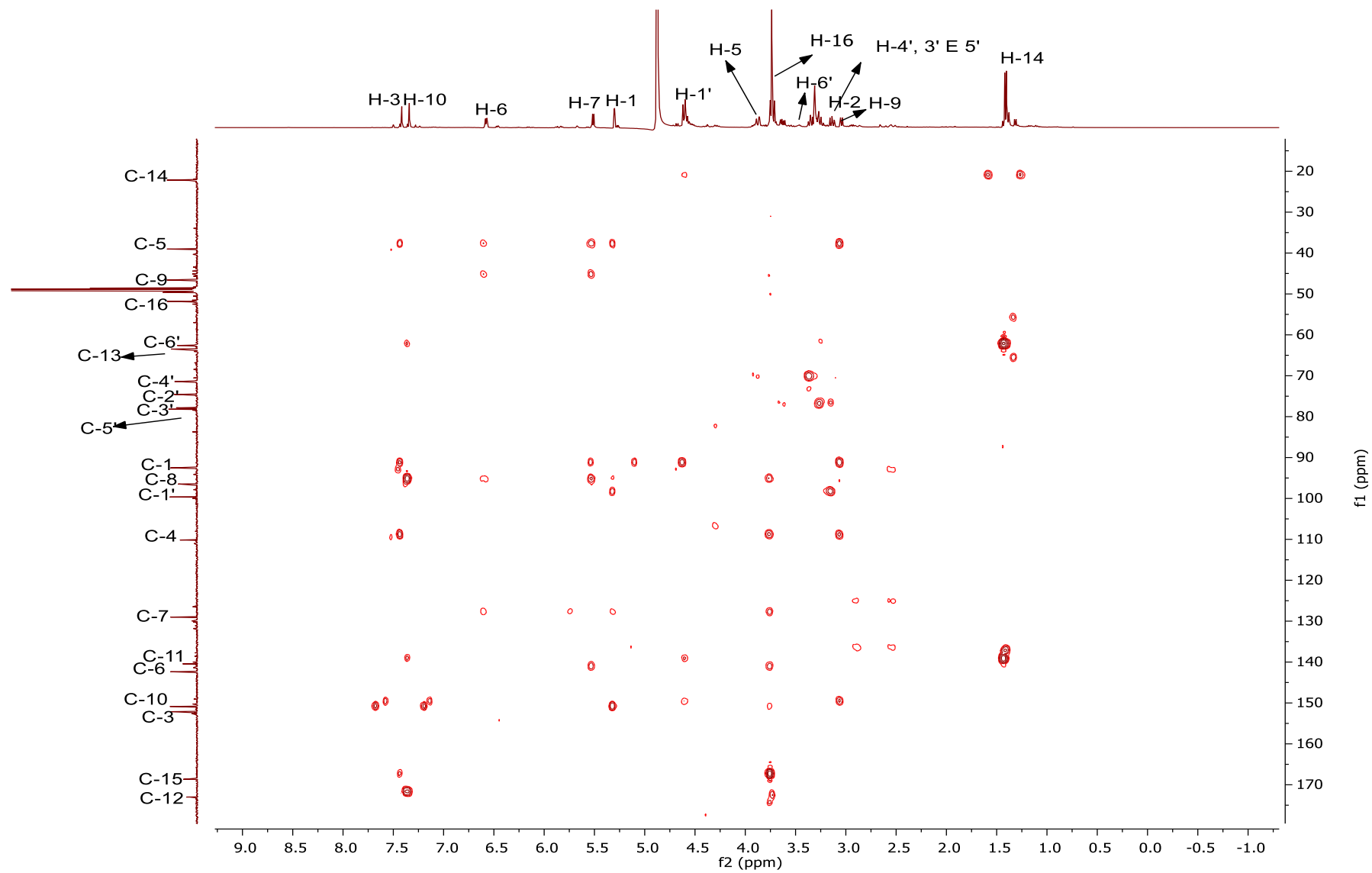


FIGURA A.34- Mapa de contorno HMBC da substância 5 em CD₃OD (9,4 T).

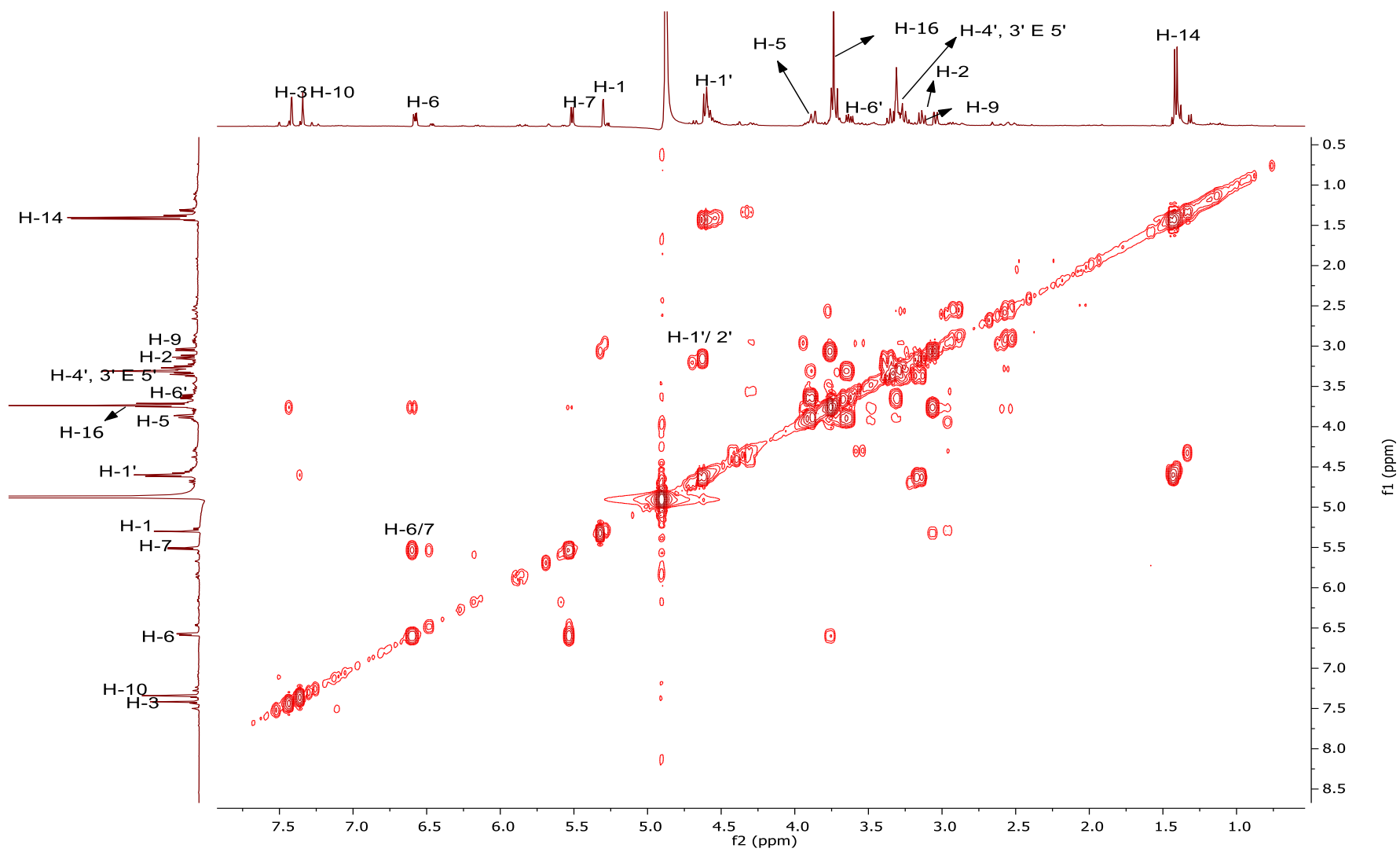


FIGURA A.35- Mapa de contorno COSY do Substância 5 em CD₃OD (9,4 T).

Substância 6

SF2-4.2.fid

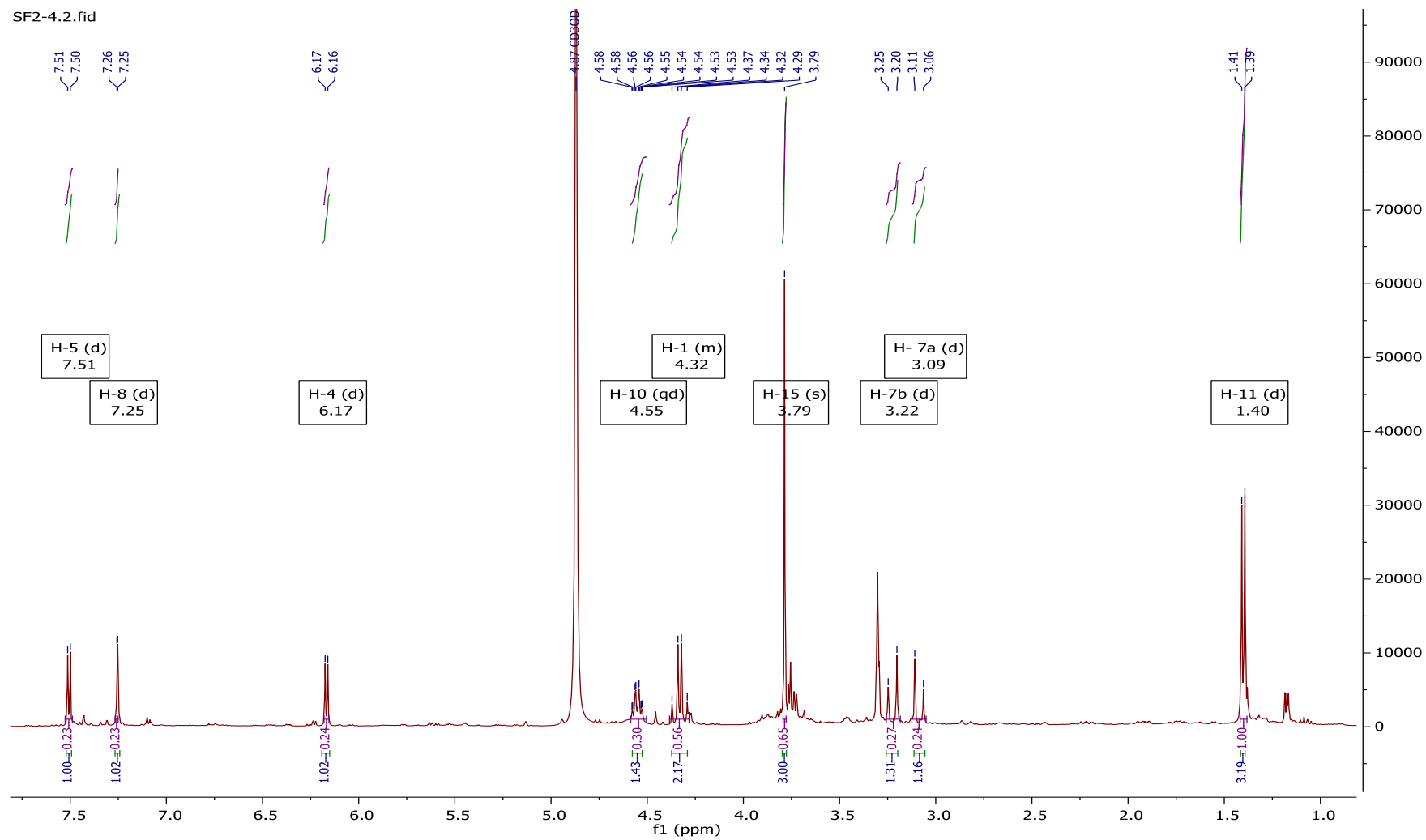


FIGURA A.36- Espectro de RMN de ¹H da Substância 5 em CD₃OD (9,4 T).

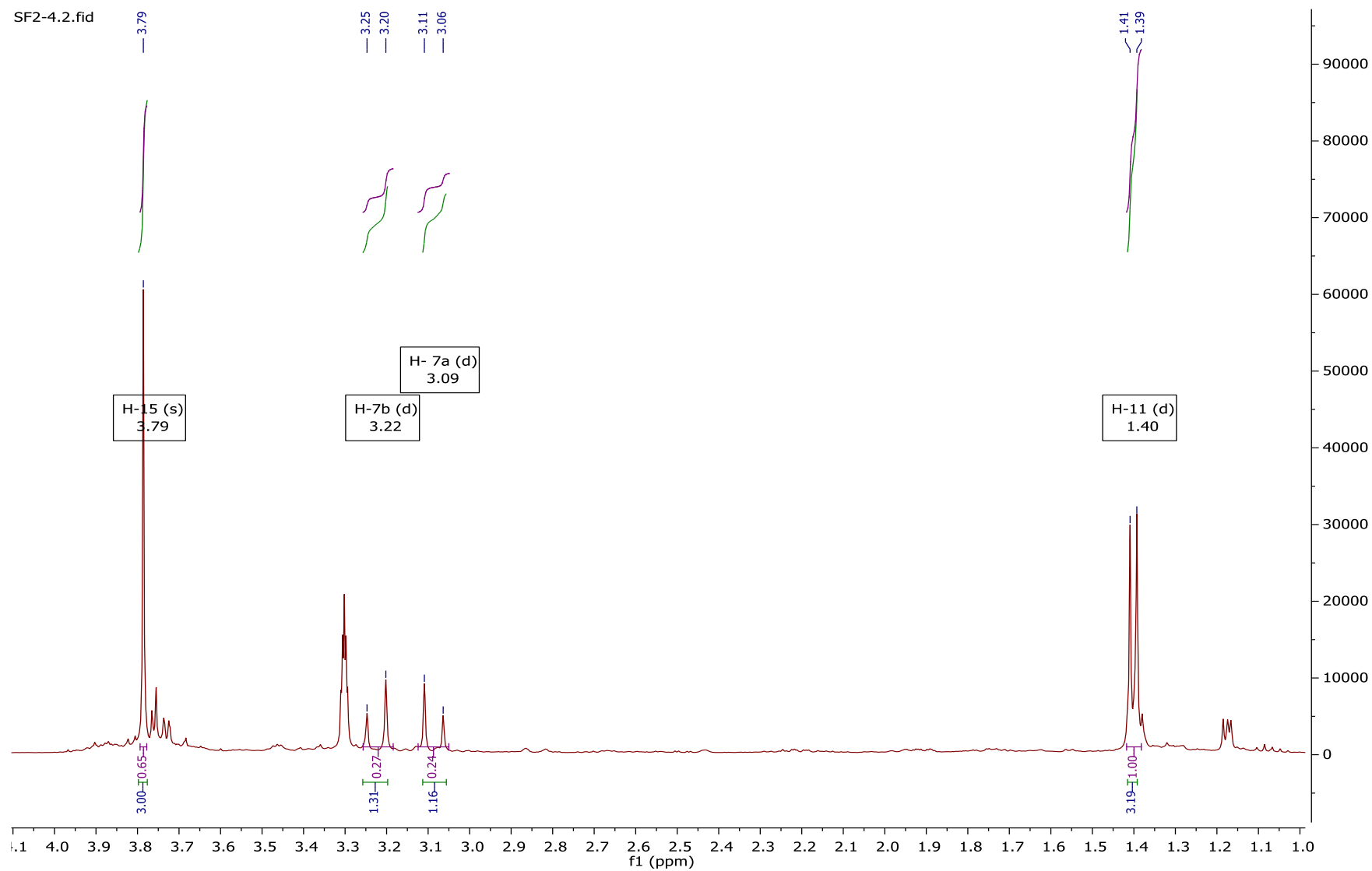


FIGURA A.37- Ampliação do Espectro de RMN de ^1H da Substância 6 em CD_3OD (9,4 T).

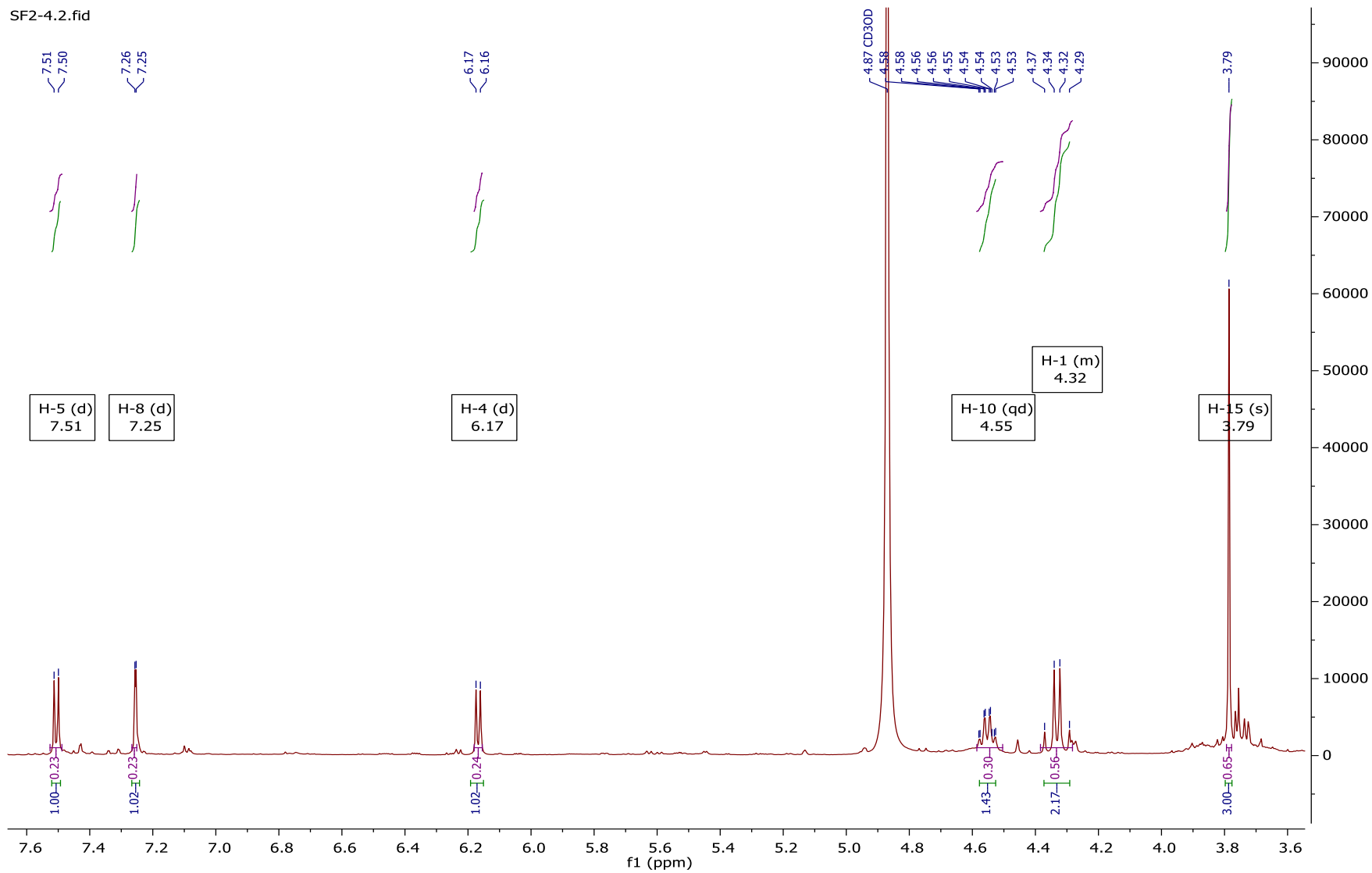


FIGURA A.38- Ampliação do Espectro de RMN de ^1H da Substância 6 em CD_3OD (9,4 T).

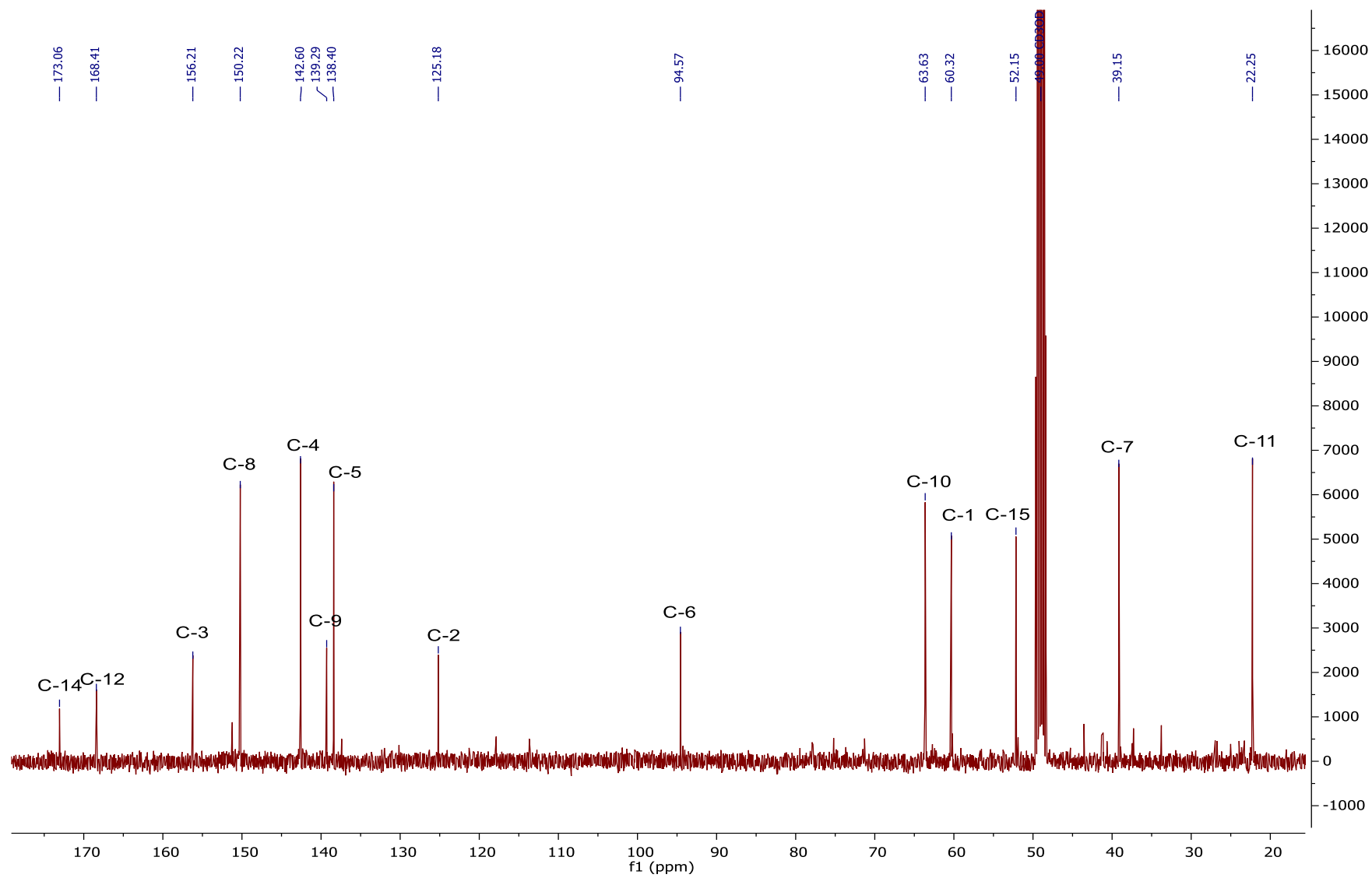


FIGURA A.39-Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ da Substância 6 em CD_3OD (9,4 T).

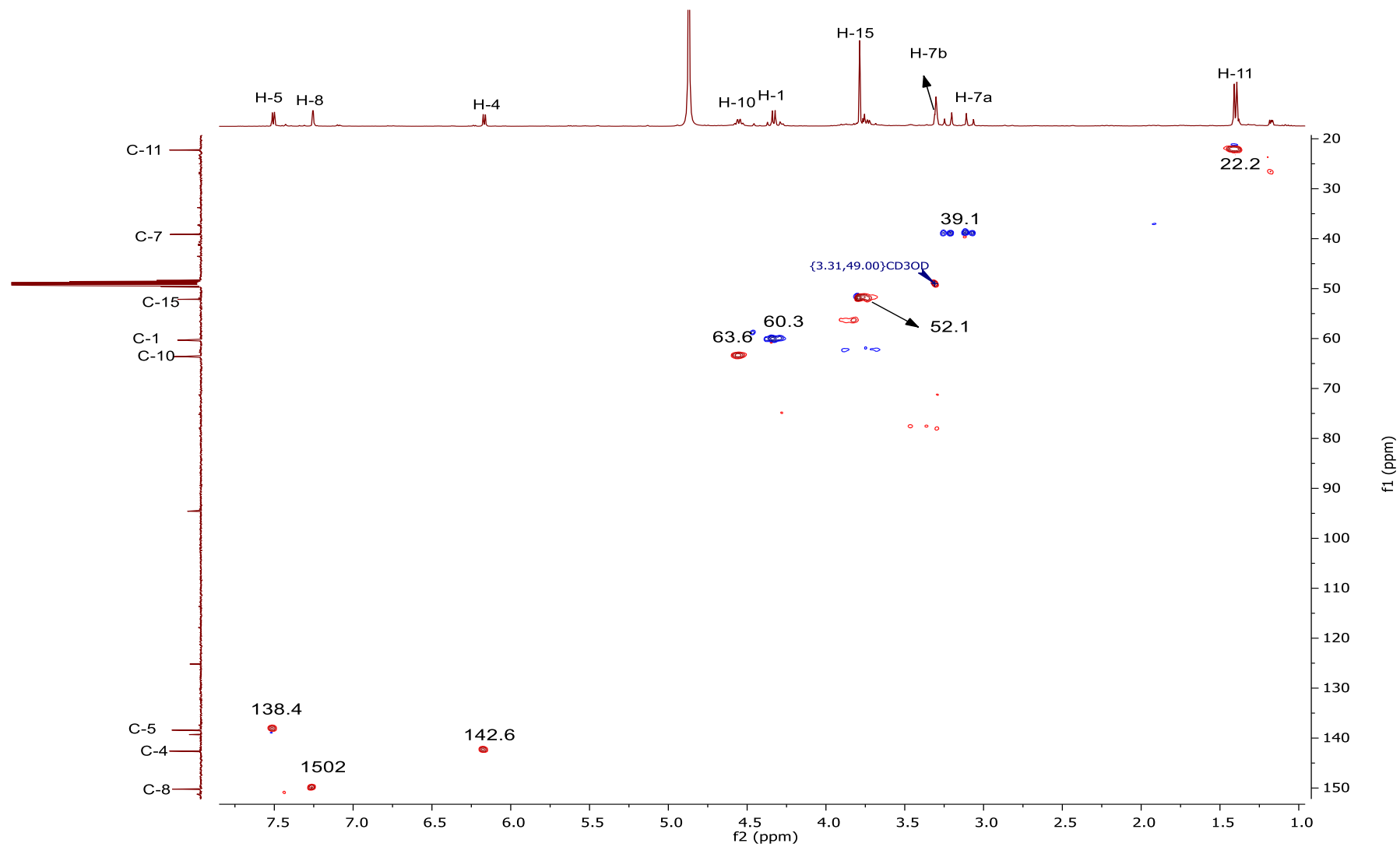


FIGURA A.40- Mapa de contorno HSQC da Substância 6 em CD₃OD (9,4 T).

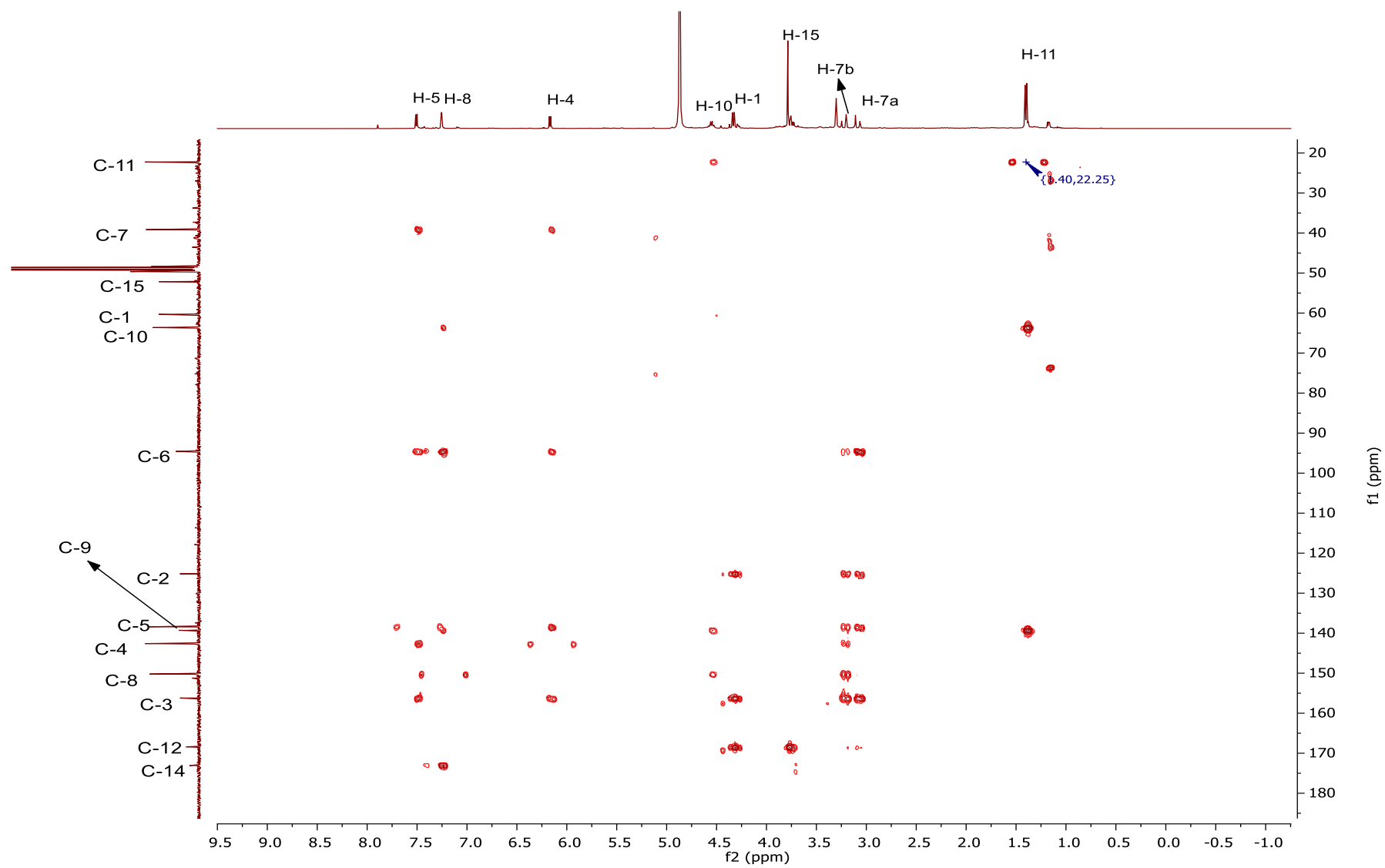


FIGURA A.41- Mapa de contorno HMBC da substância 6 em CD₃OD (9,4 T).

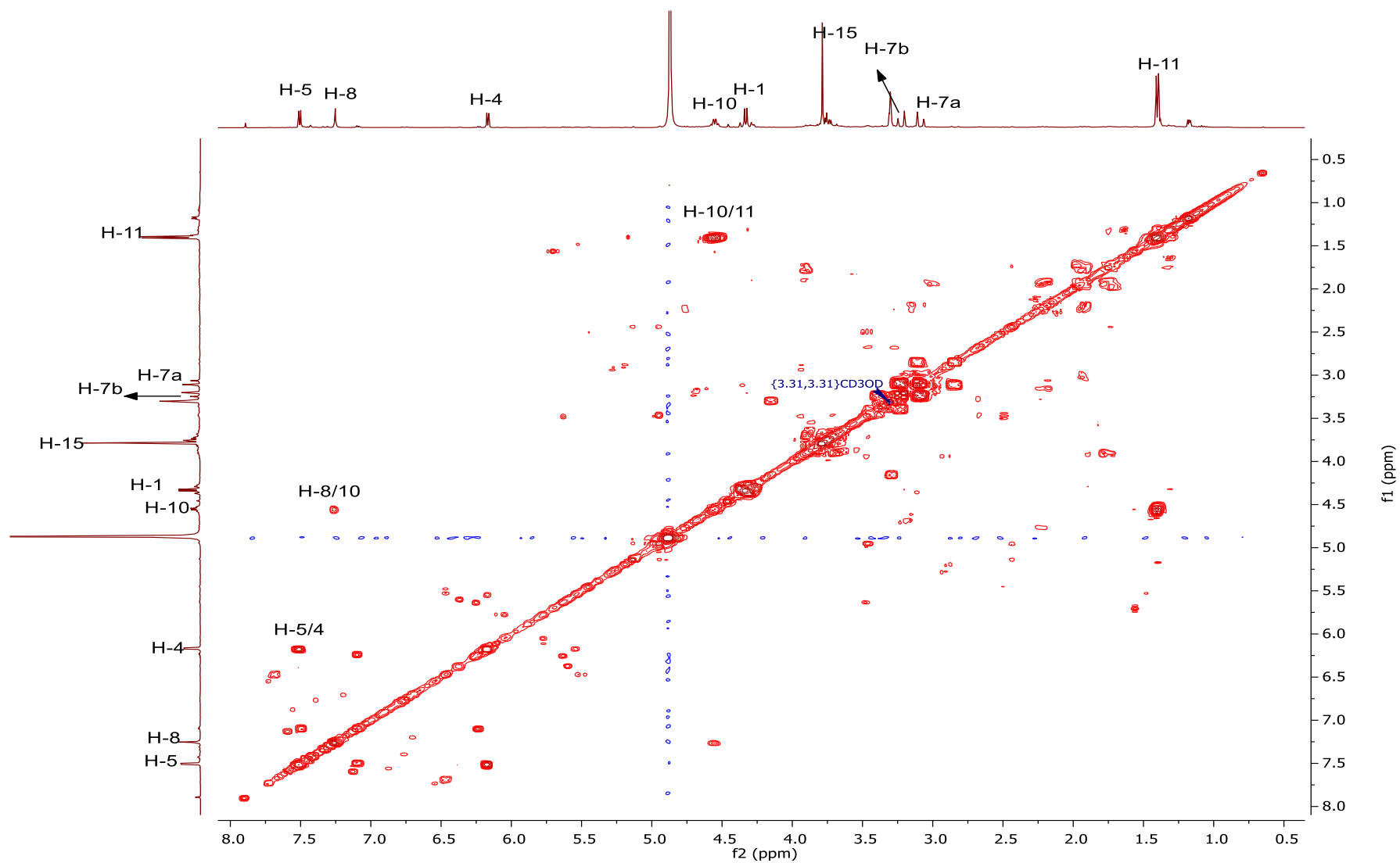


FIGURA A.42- Mapa de contorno COSY do Substância 6 em CD₃OD (9,4 T).

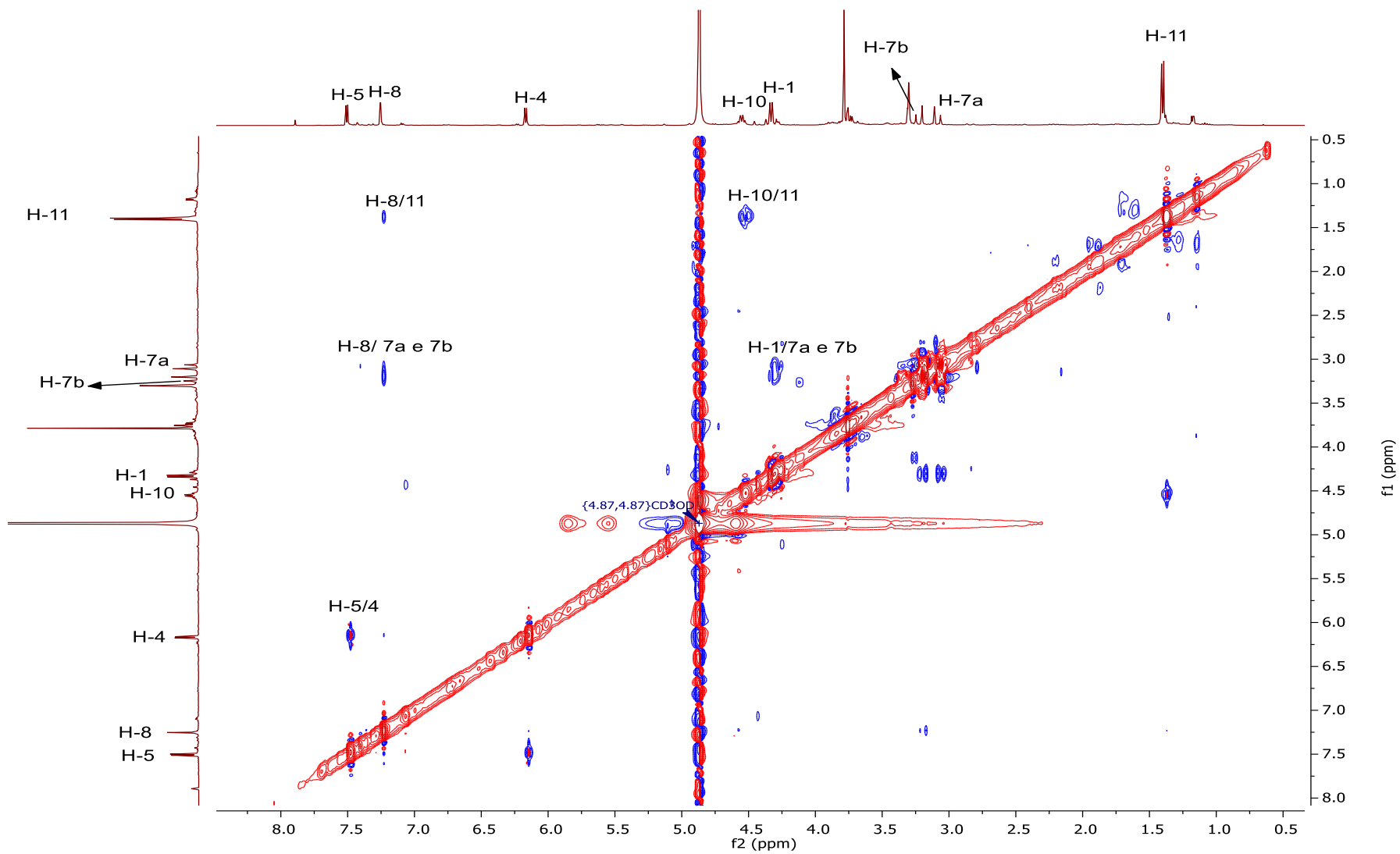


FIGURA A.43- Mapa de contorno NOESY-2D do Substância 6 em CD₃OD (9,4 T).

Substância 7

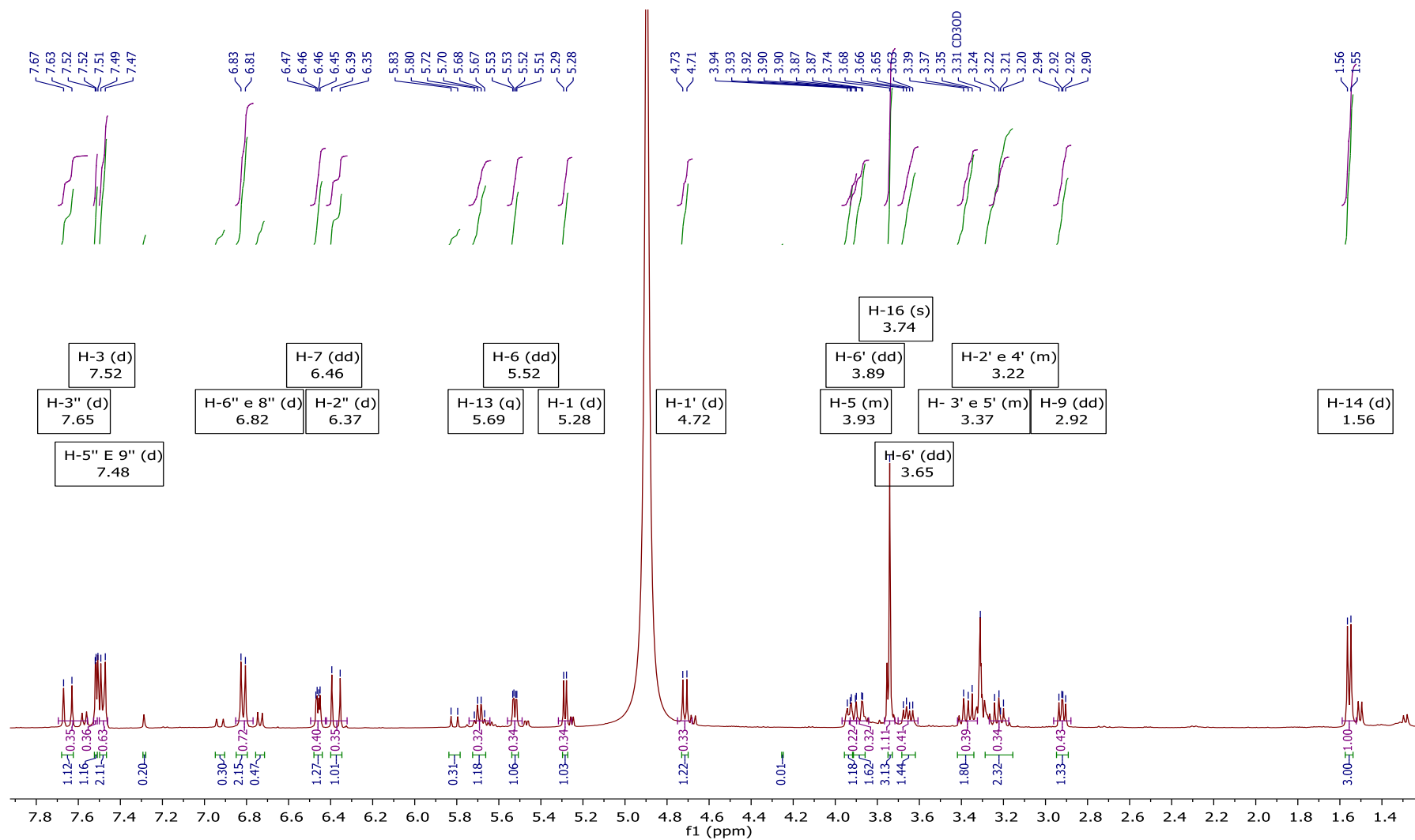


FIGURA A.44- Espectro de RMN de ¹H da Substância 7 em CD₃OD (9,4 T).

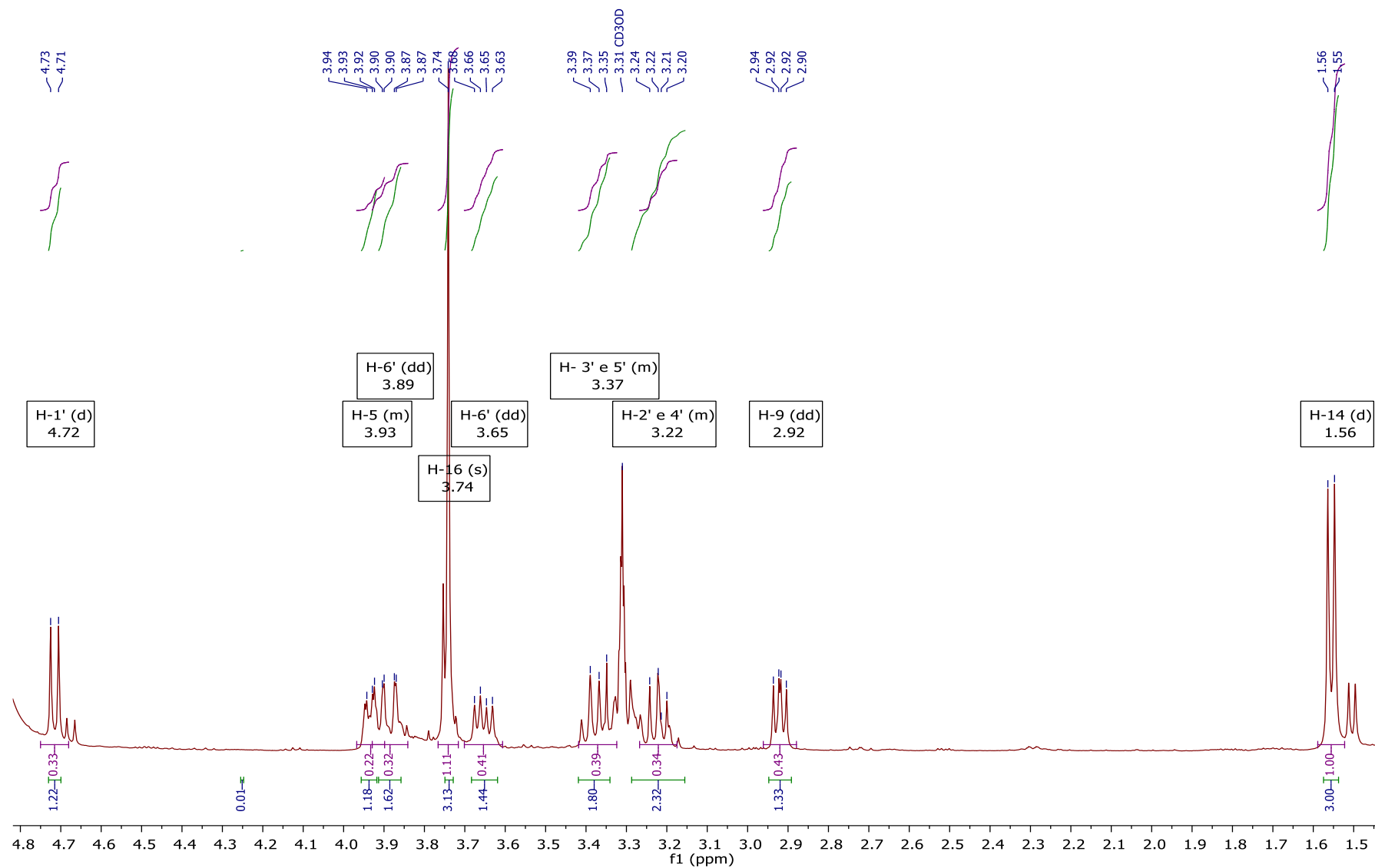


FIGURA A.45- Ampliação do Espectro de RMN de ^1H da Substância 7 em CD_3OD (9,4 T).

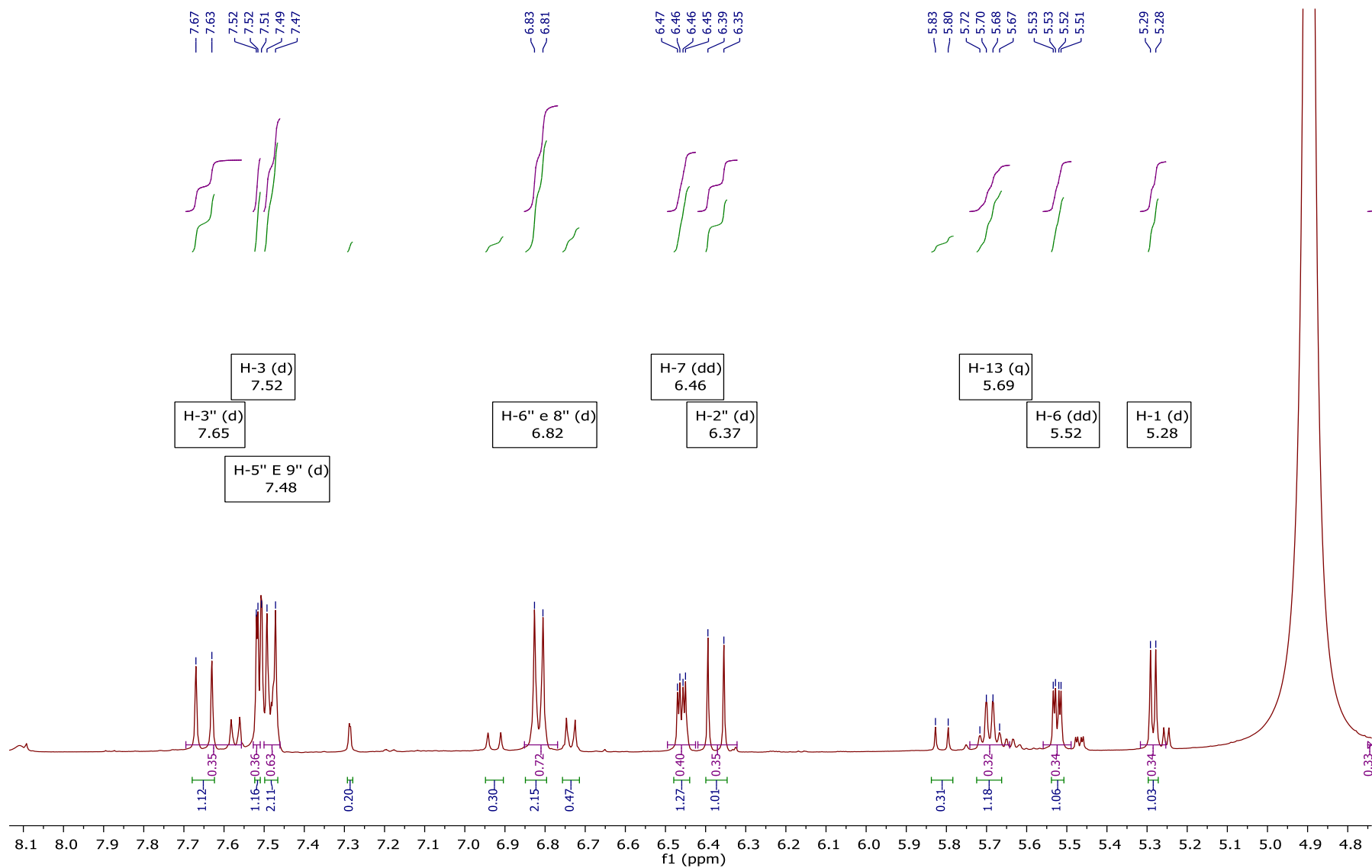


FIGURA A.46- Ampliação do Espectro de RMN de ^1H da Substância 7 em CD_3OD (9,4 T).

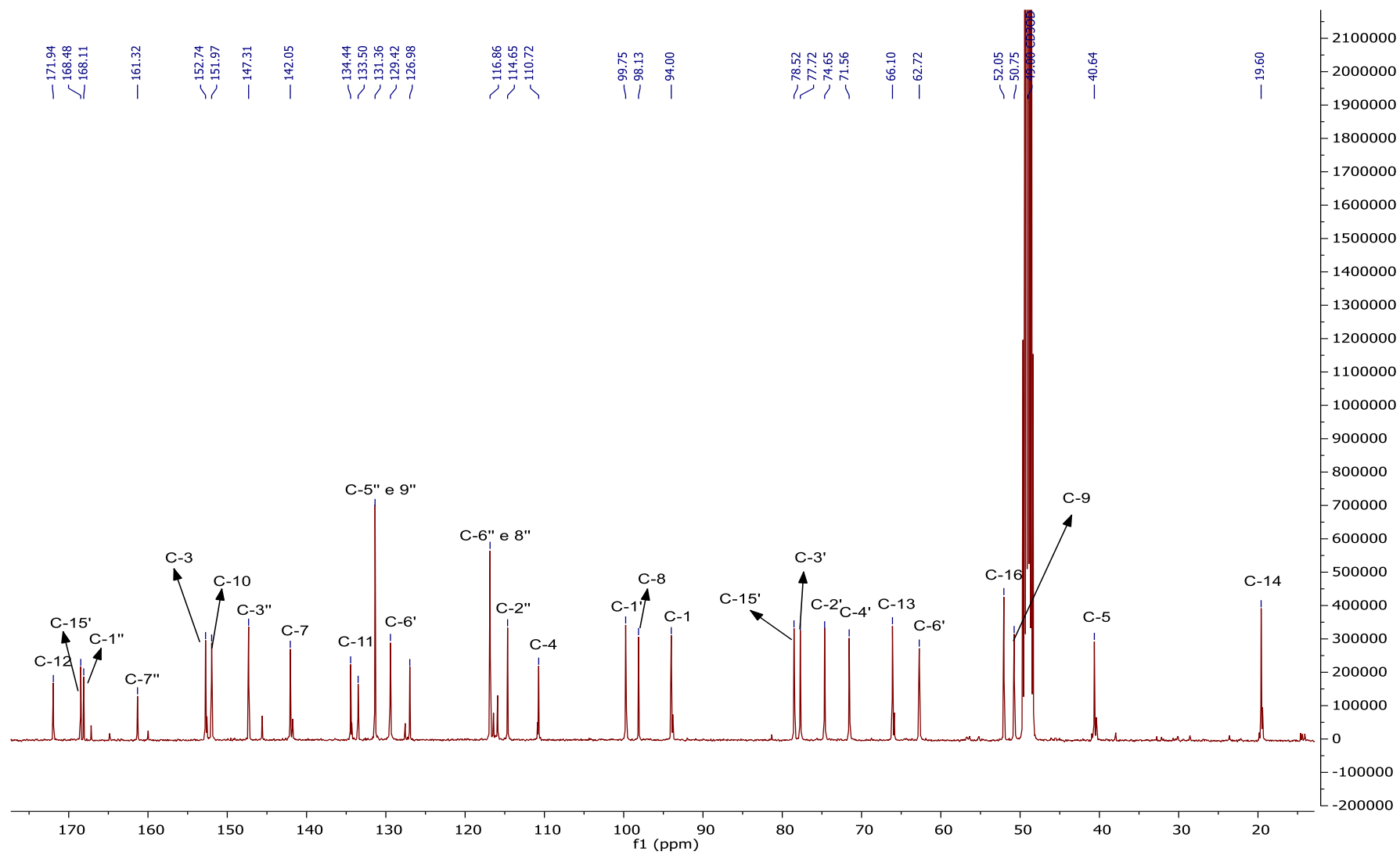


FIGURA A.47- Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ da Substância 7 em CD_3OD (9,4 T).

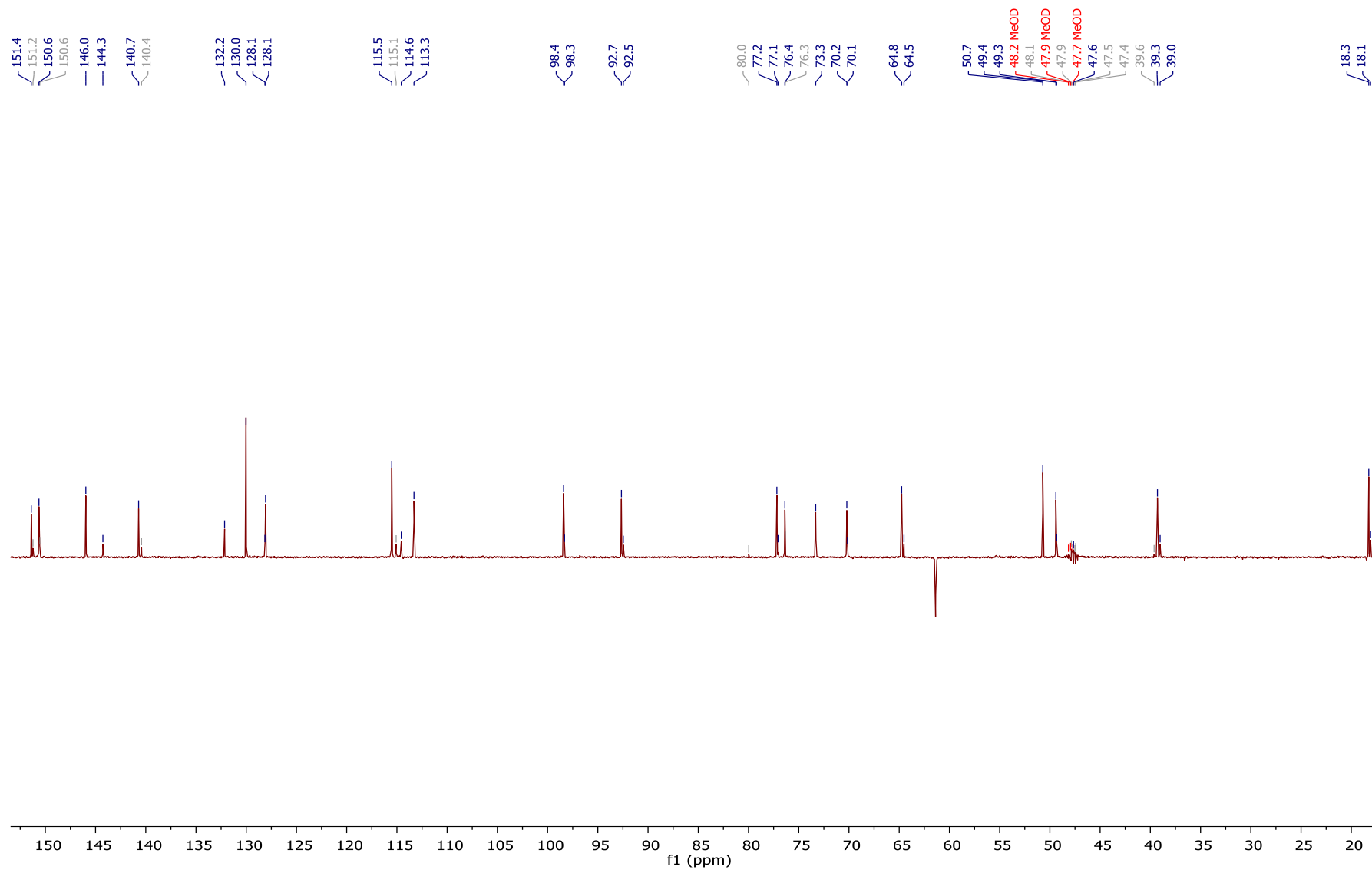


FIGURA A.48- Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT da substância 7 em CD_3OD .

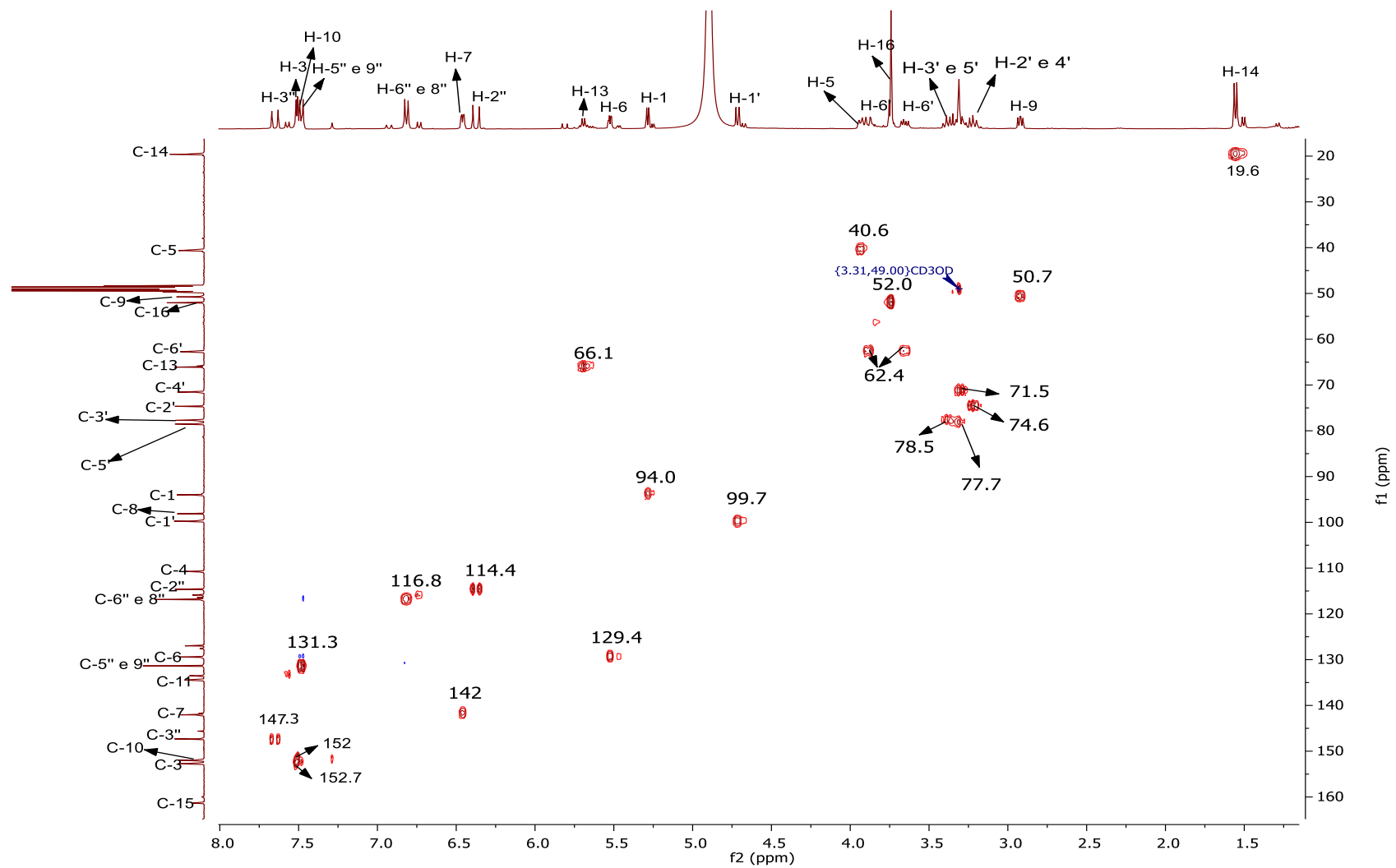


FIGURA A.49- Mapa de contorno HSQC da Substância 7 em CD₃OD (9,4 T).

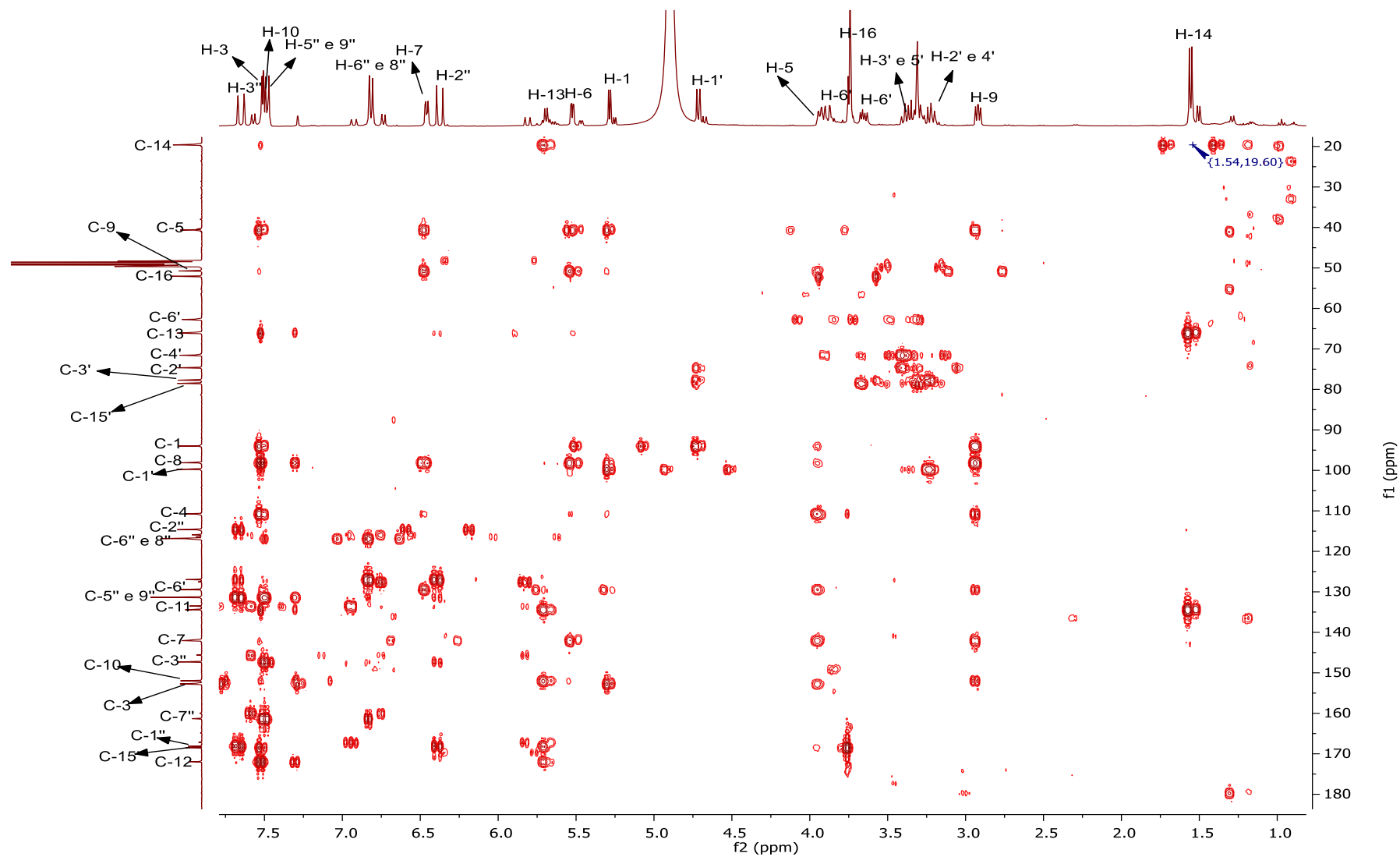


FIGURA A.50- Mapa de contorno HMBC da Substância 7 em CD₃OD (9,4 T).

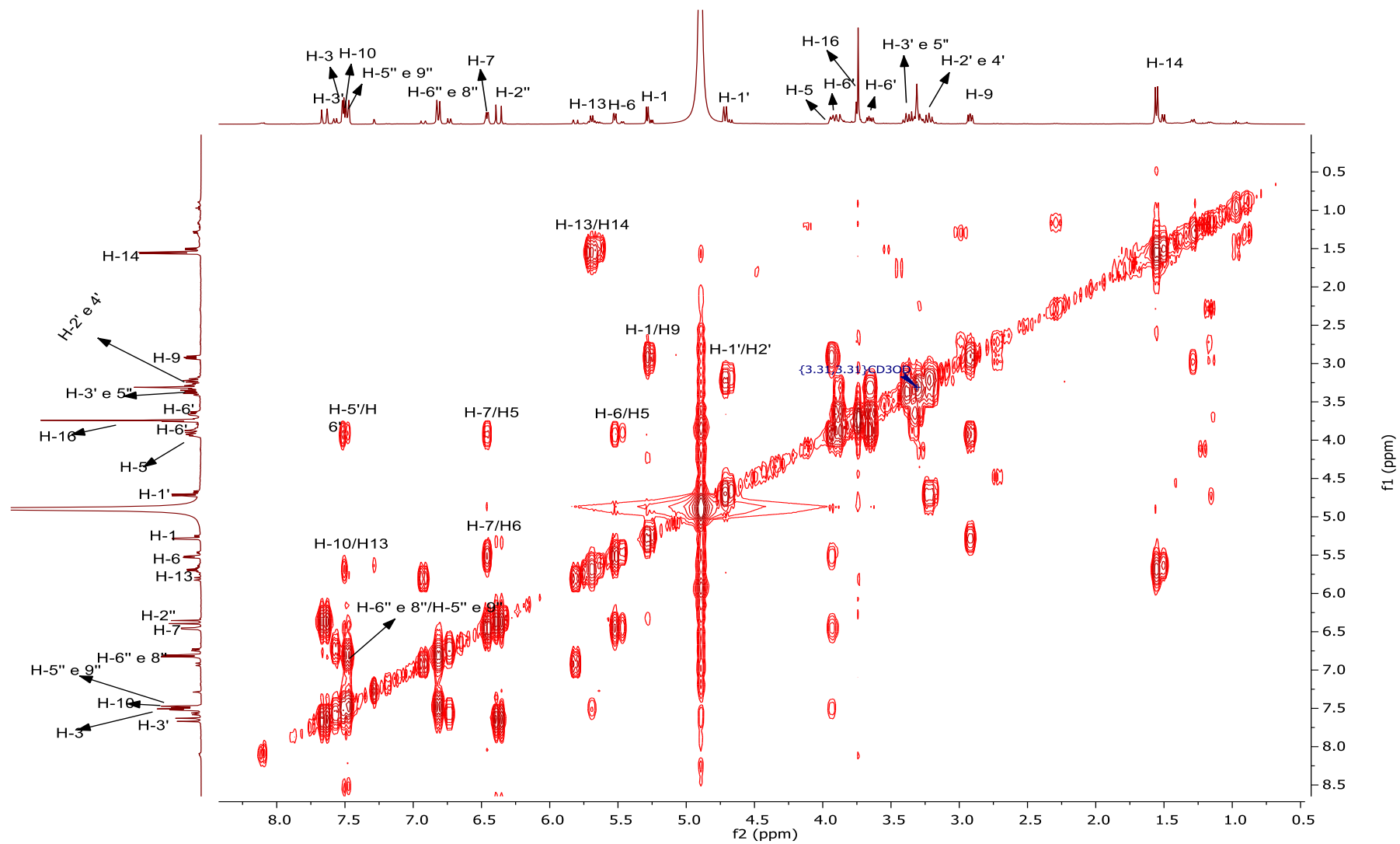


FIGURA A.51- Mapa de contorno COSY do Substância 7 em CD₃OD (9,4 T).

Substância 8

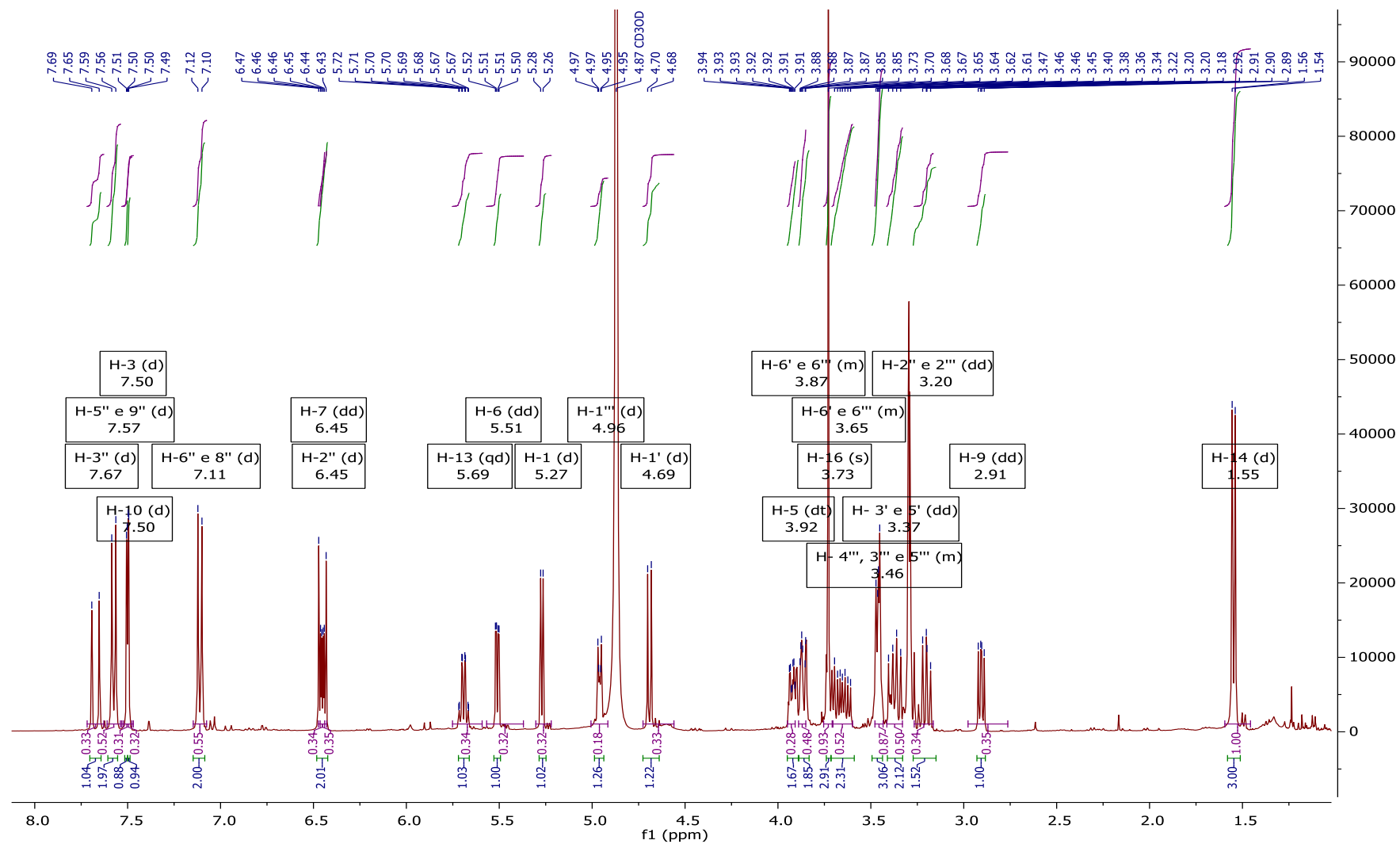


FIGURA A.52- Espectro de RMN de ¹H da Substância 8 em CD₃OD (9,4 T).

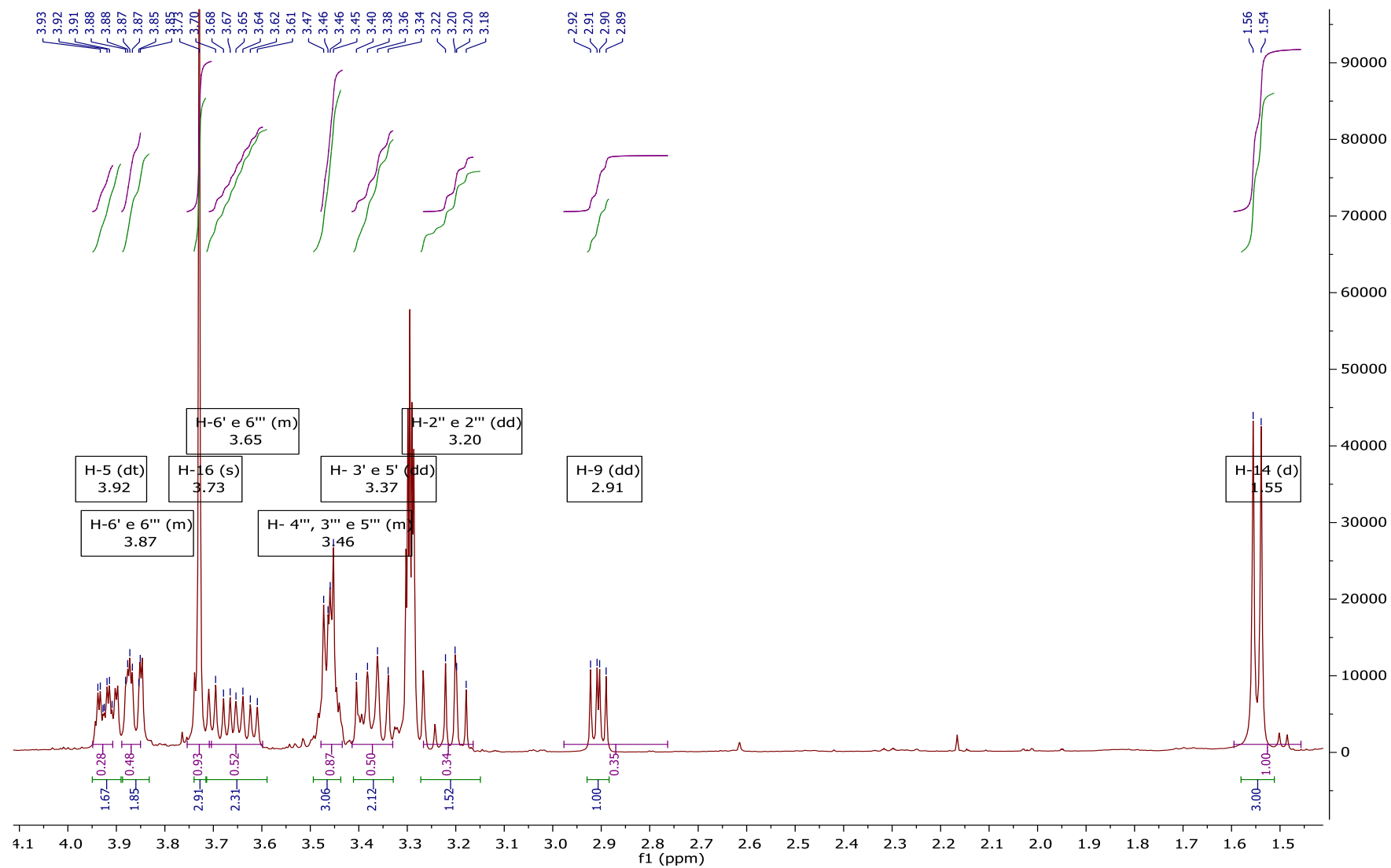


FIGURA A.53- Ampliação do Espectro de RMN de ^1H da Substância 8 em CD_3OD (9,4 T).

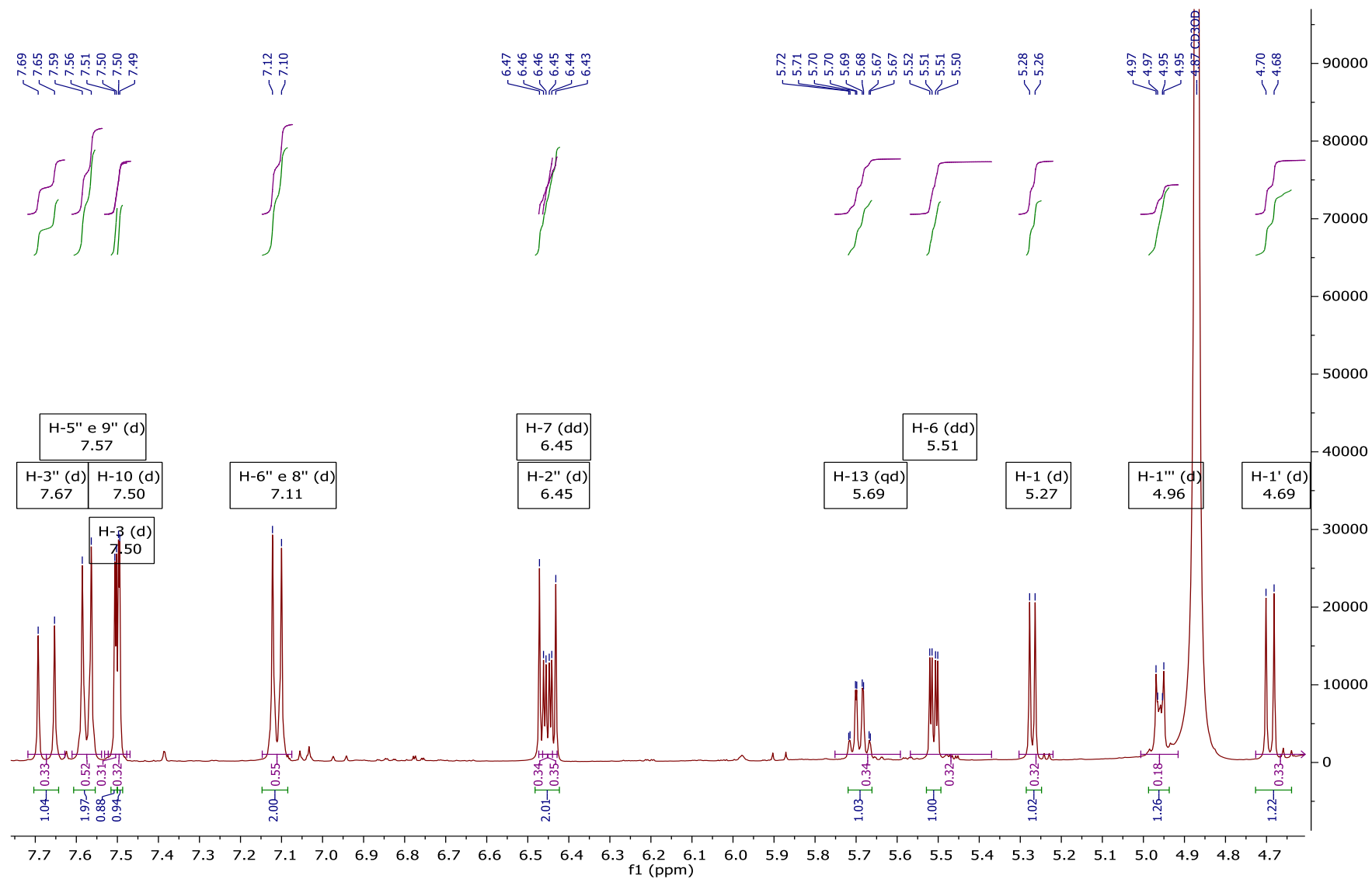


FIGURA A.54- Ampliação do Espectro de RMN de ^1H da Substância 8 em CD_3OD (9,4 T).

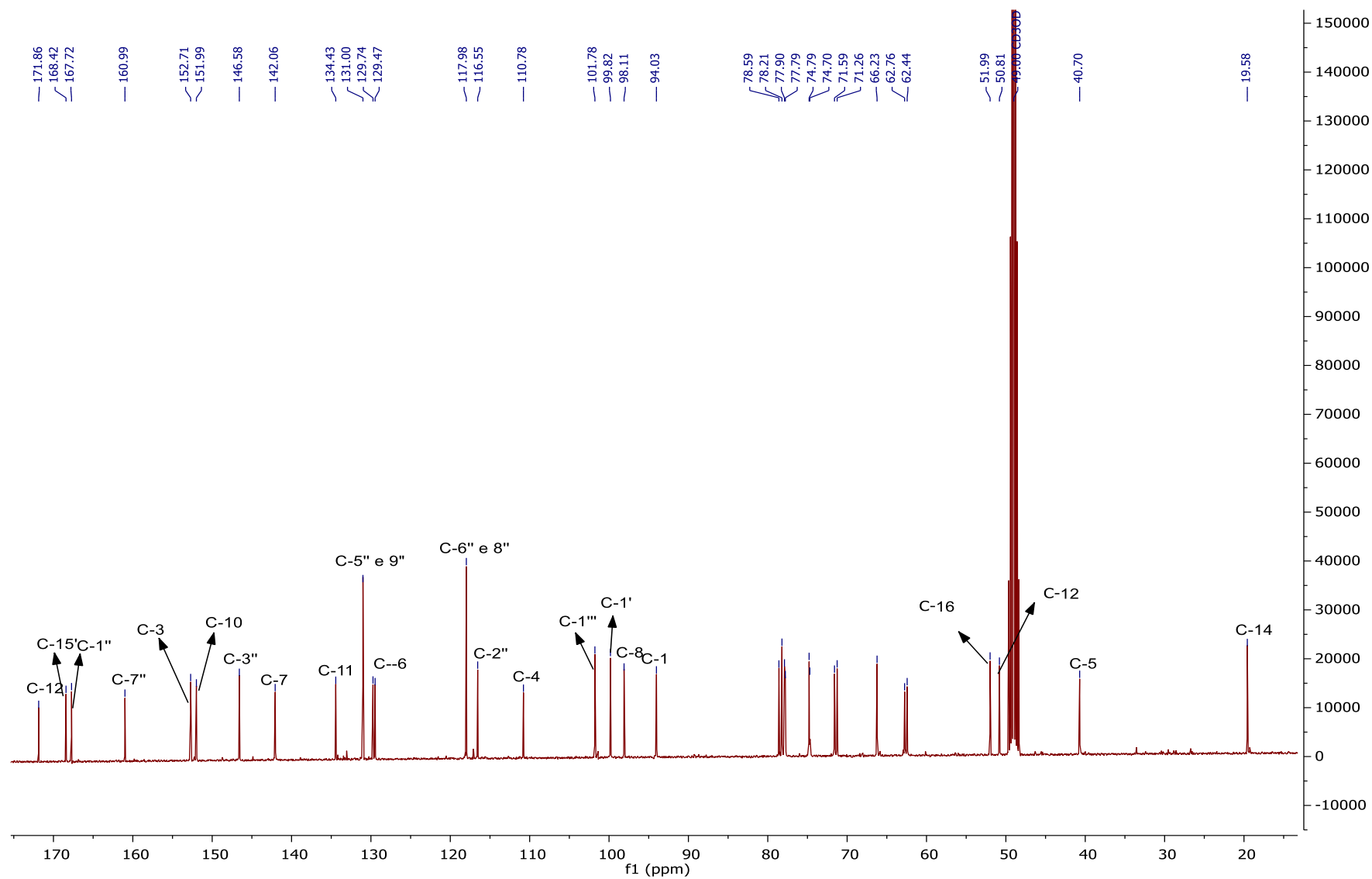


FIGURA A.55- Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ da Substância 8 em CD_3OD (9,4 T).

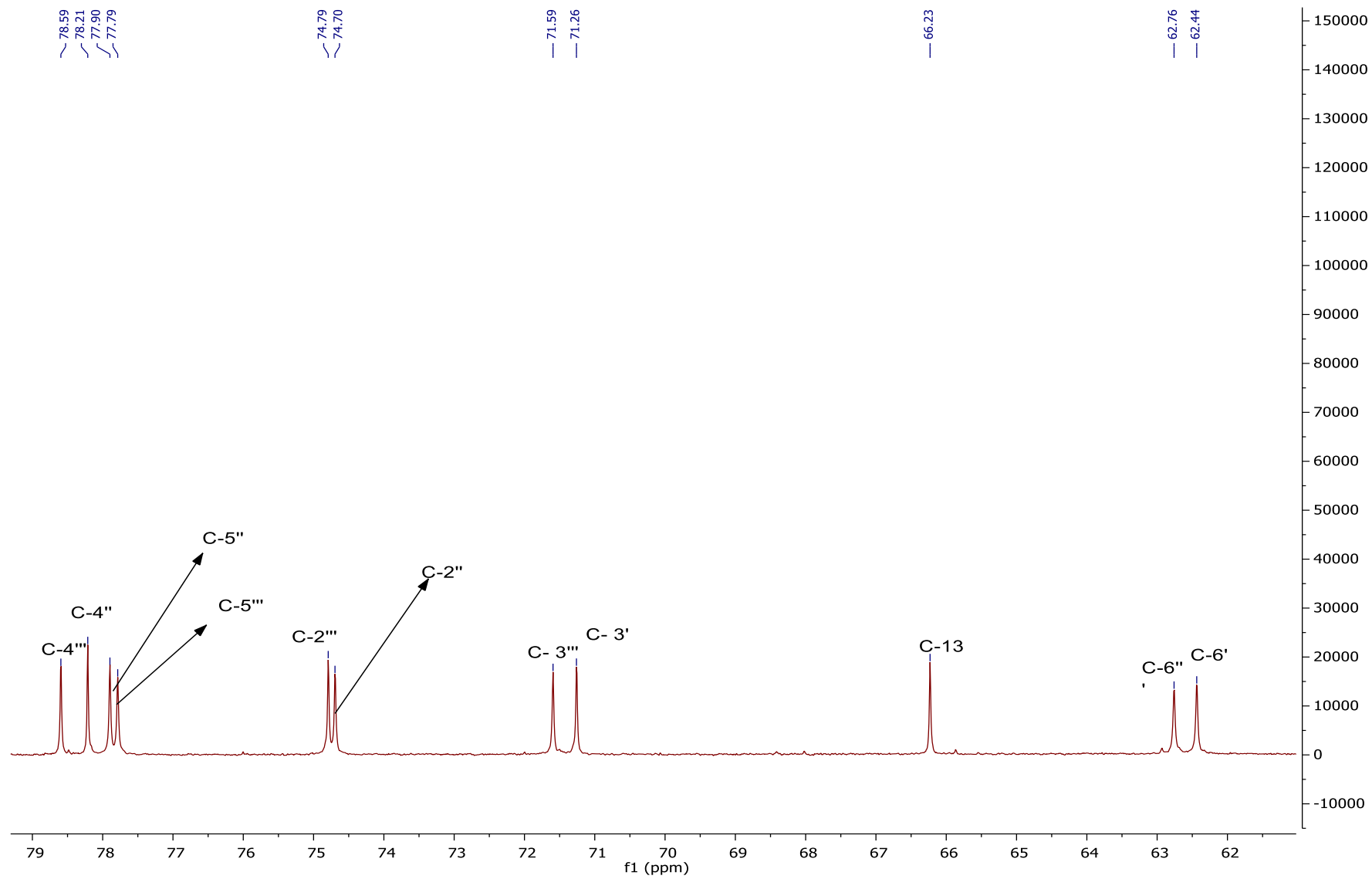


FIGURA A.56- Ampliação do espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ da Substância 8 em CD_3OD (9,4 T).



FIGURA 57- Espectro de RMN de ¹³C-DEPT da substância 8 em CD₃OD.

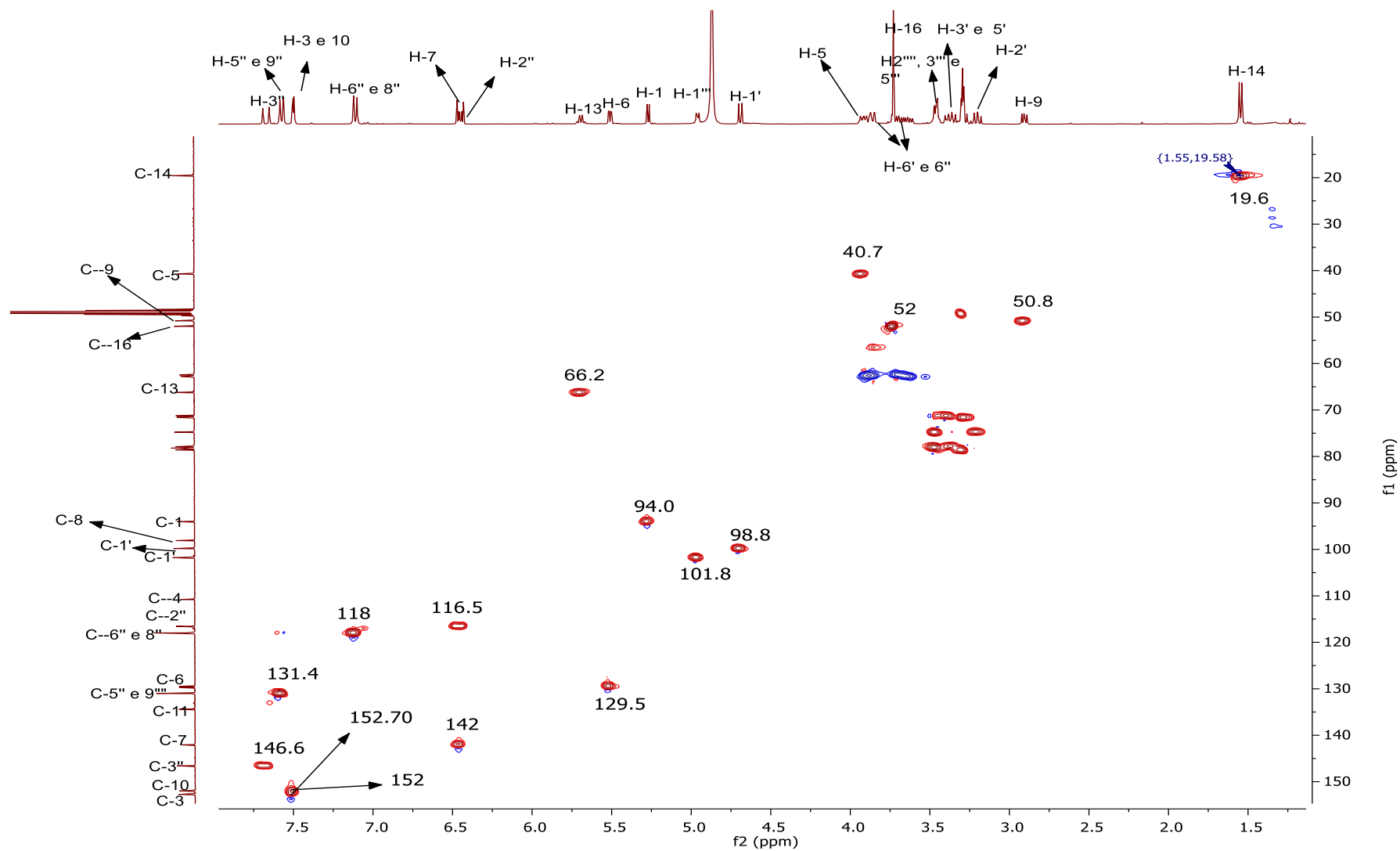


FIGURA A.58- Mapa de contorno HSQC da Substância 8 em CD₃OD (9,4 T).

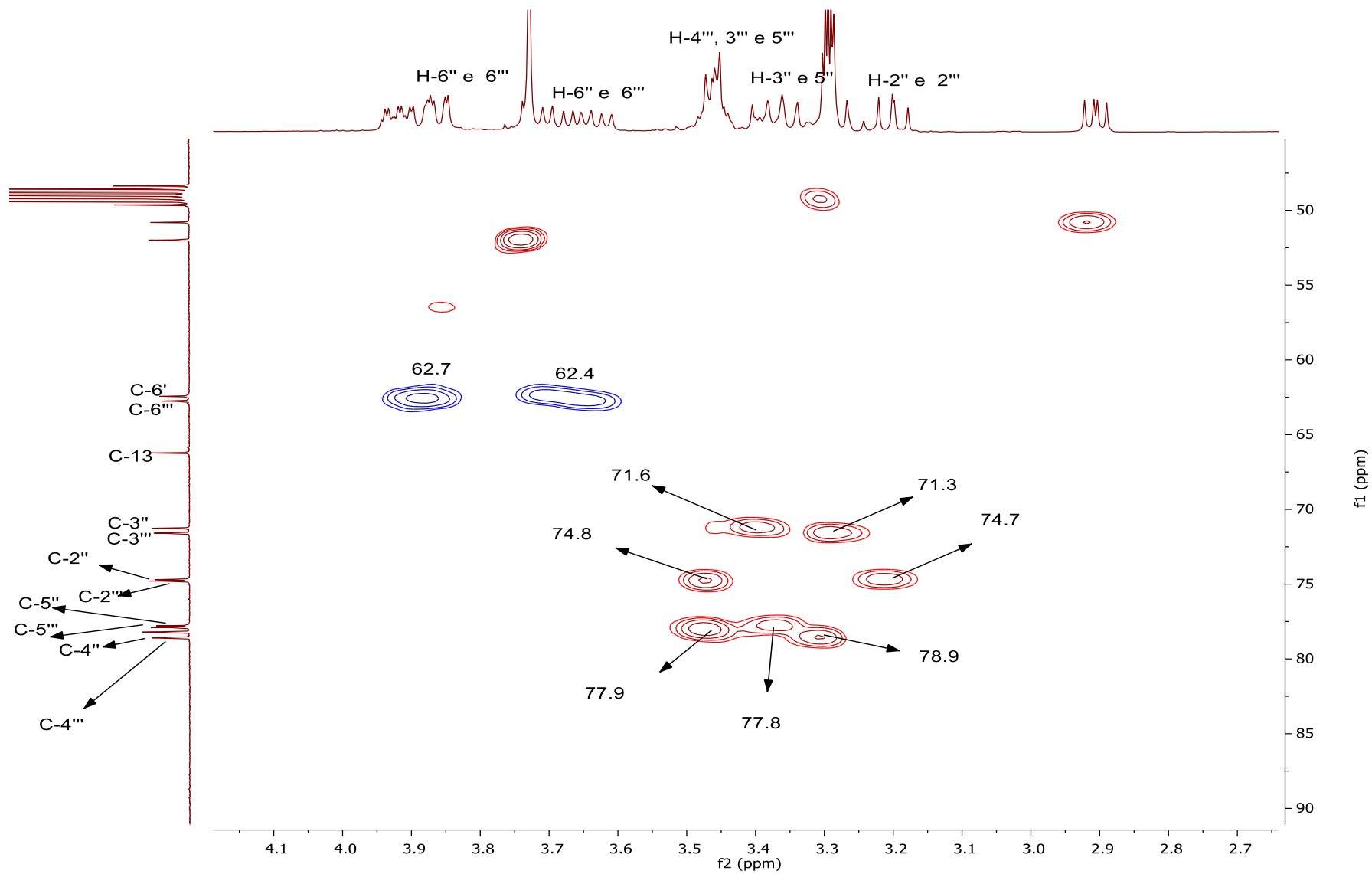


FIGURA A.59-Ampliação da região de glicosilação do mapa de contorno HSQC da Substância 8 em CD_3OD (9,4 T).

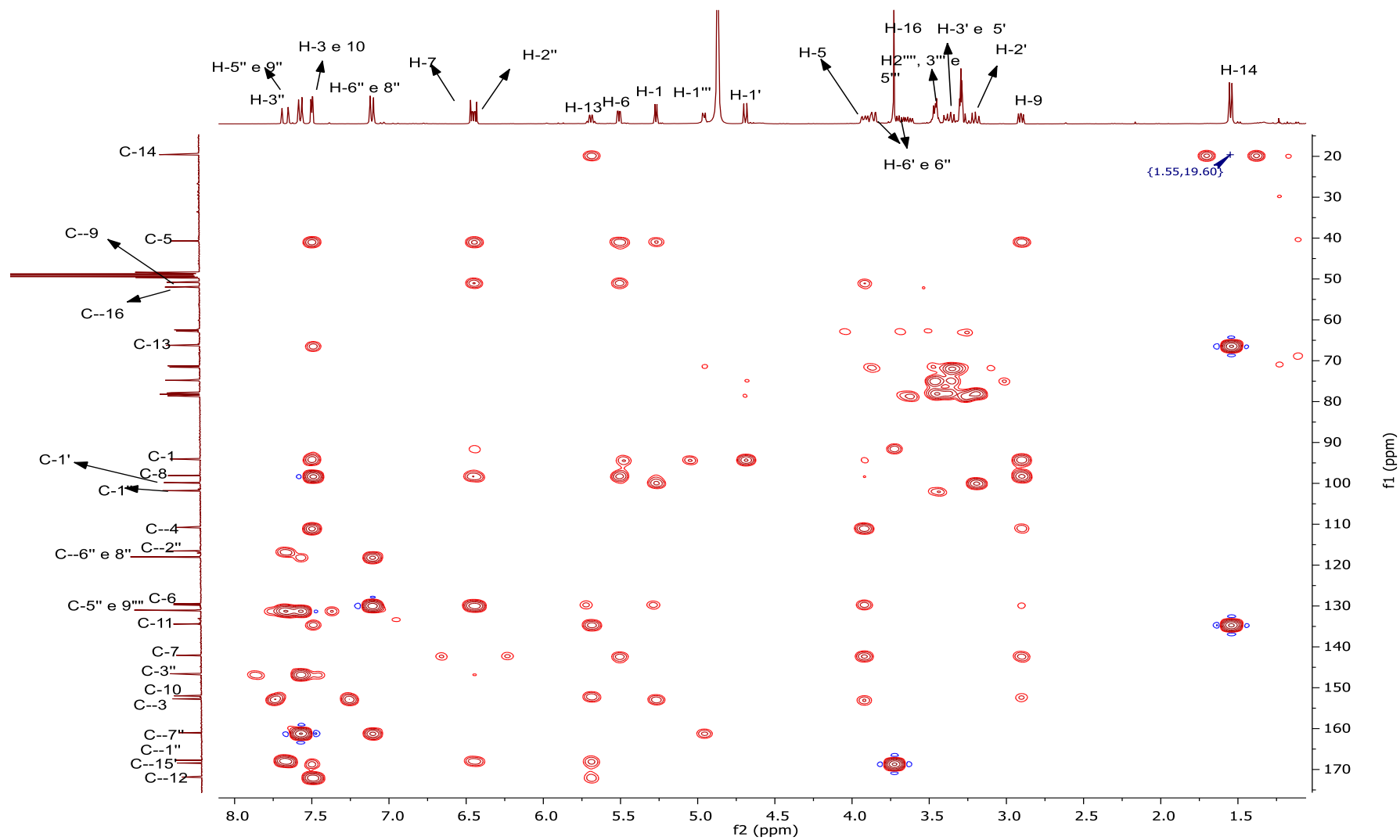


FIGURA A.60- Mapa de contorno HMBC da substância 8 em CD₃OD (9,4 T).

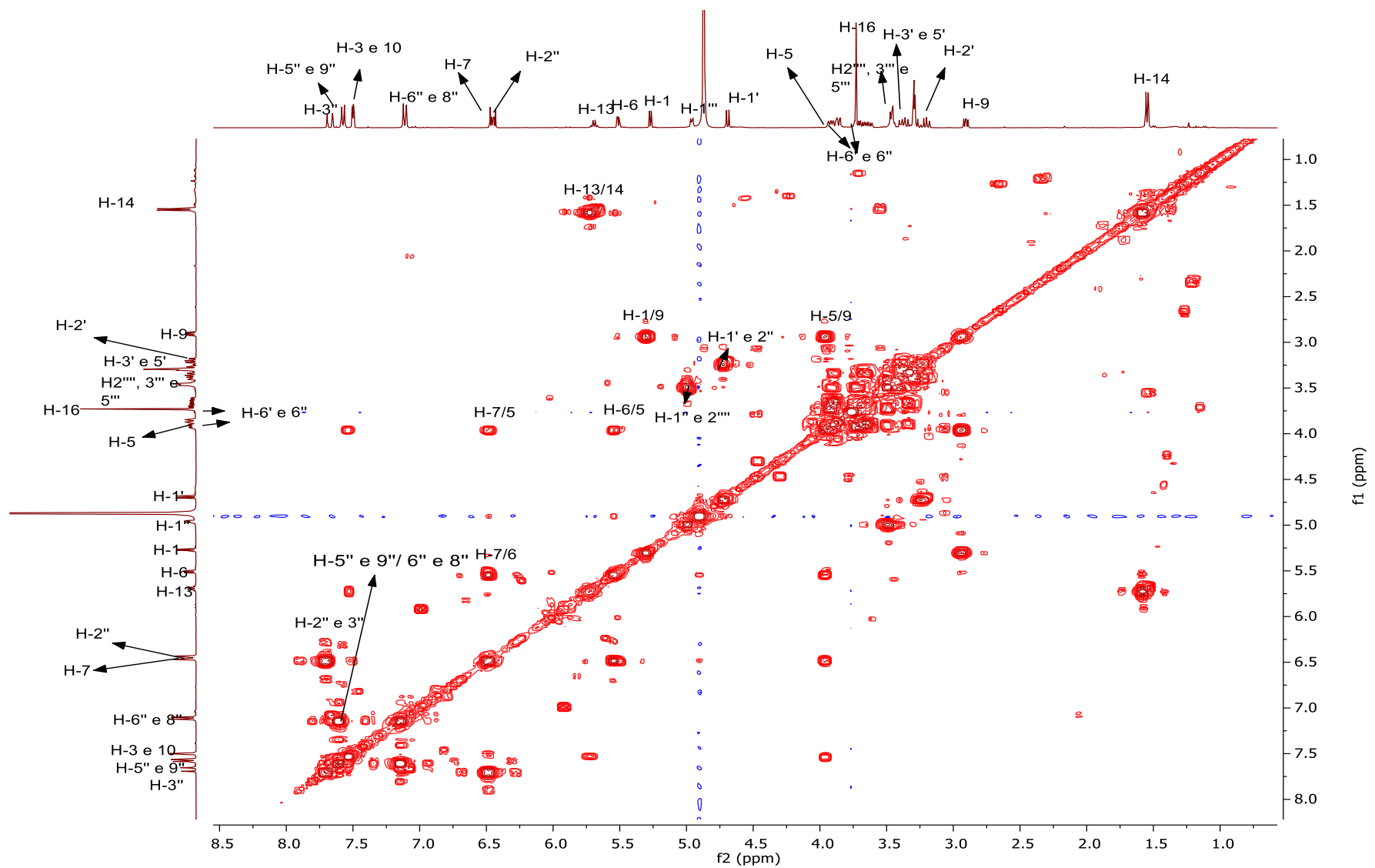


FIGURA A.61- Mapa de contorno COSY do Substância 8 em CD₃OD (9,4 T).

Substância 9

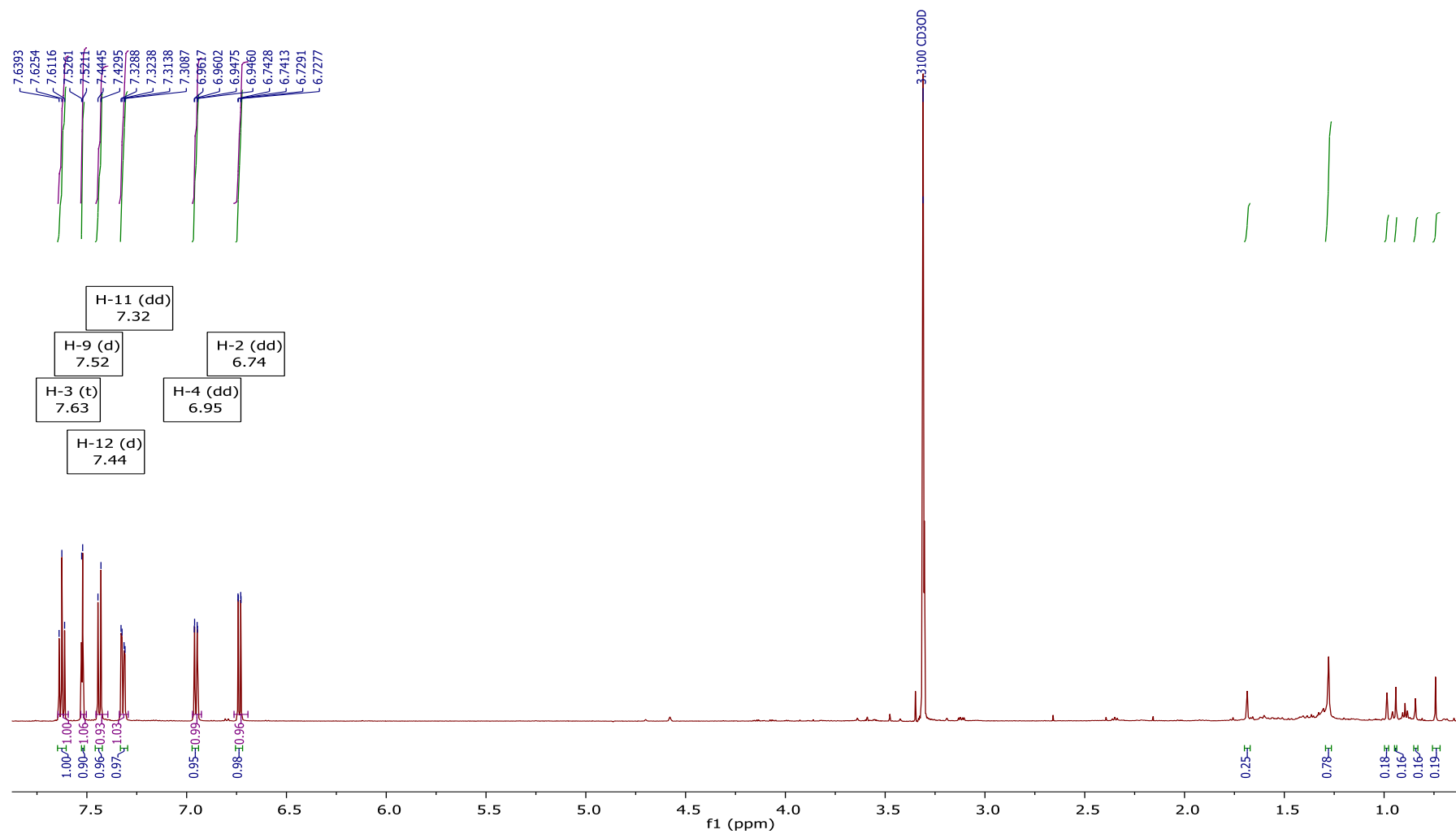


FIGURA A.62- Espectro de RMN de ^1H da Substância 9 em CD_3OD (9,4 T).

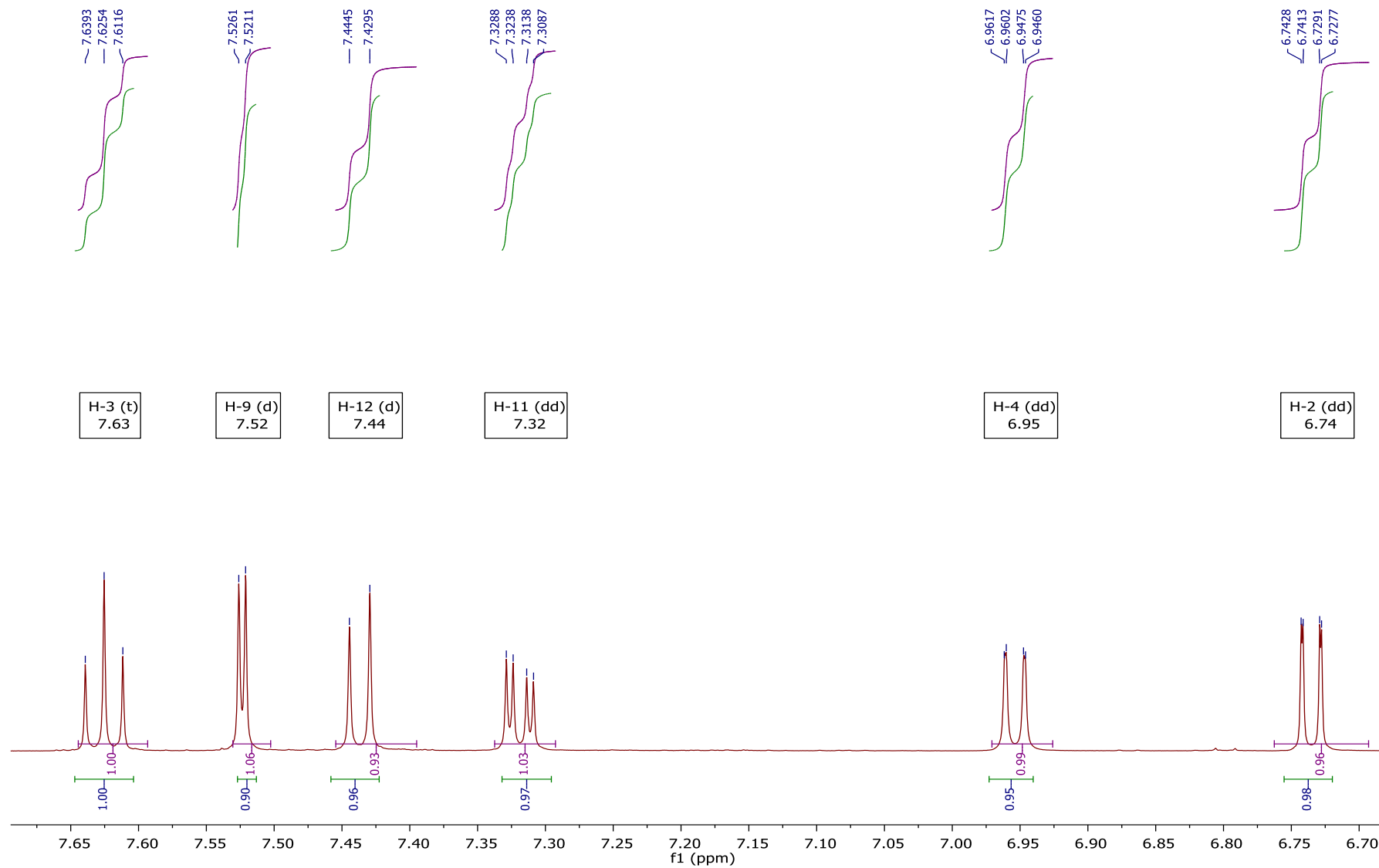


FIGURA A.63- Ampliação do Espectro de RMN de ^1H da Substância 9 em CD_3OD (9,4 T).

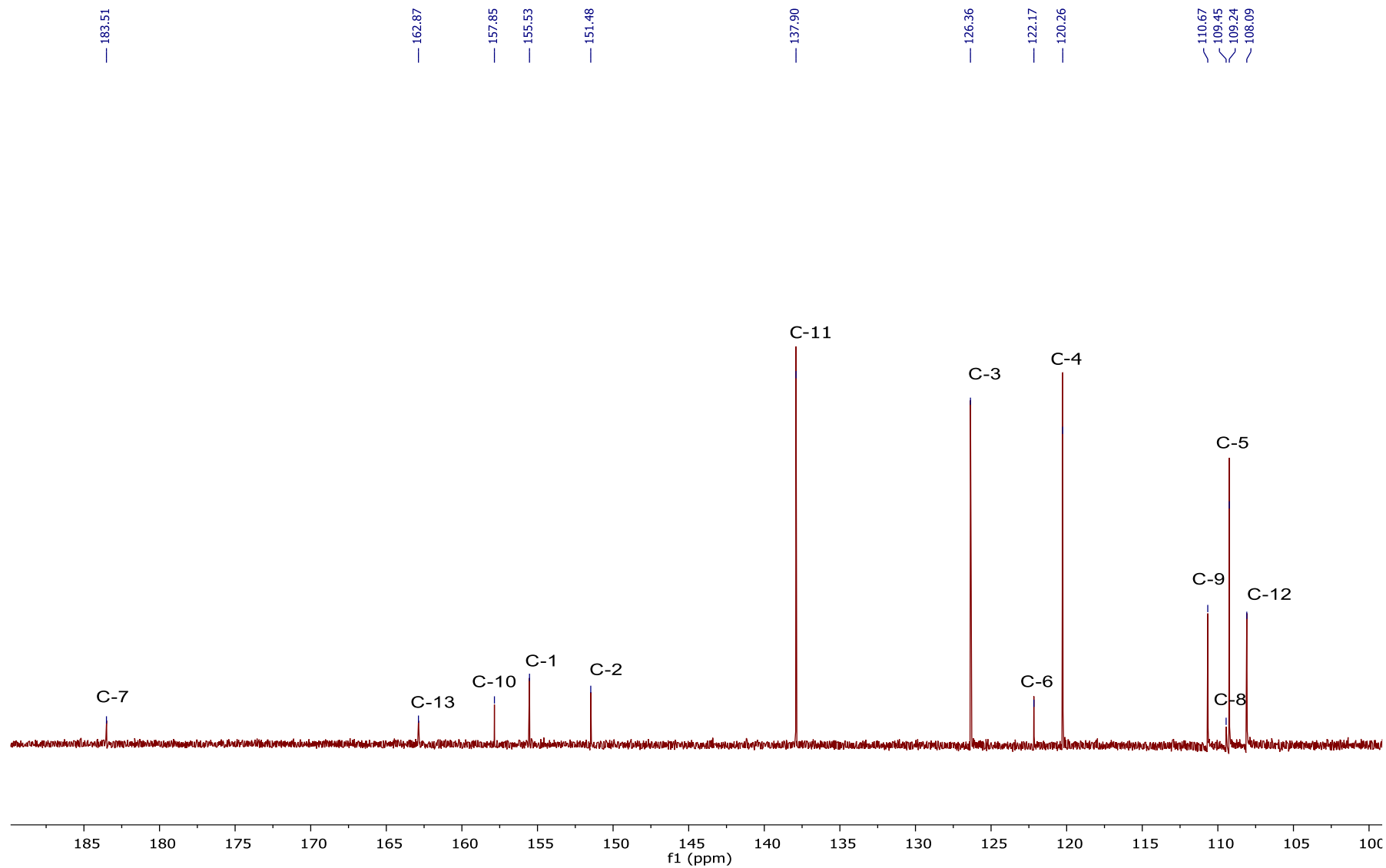


FIGURA 64- Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ da Substância 9 em CD_3OD (9,4 T).

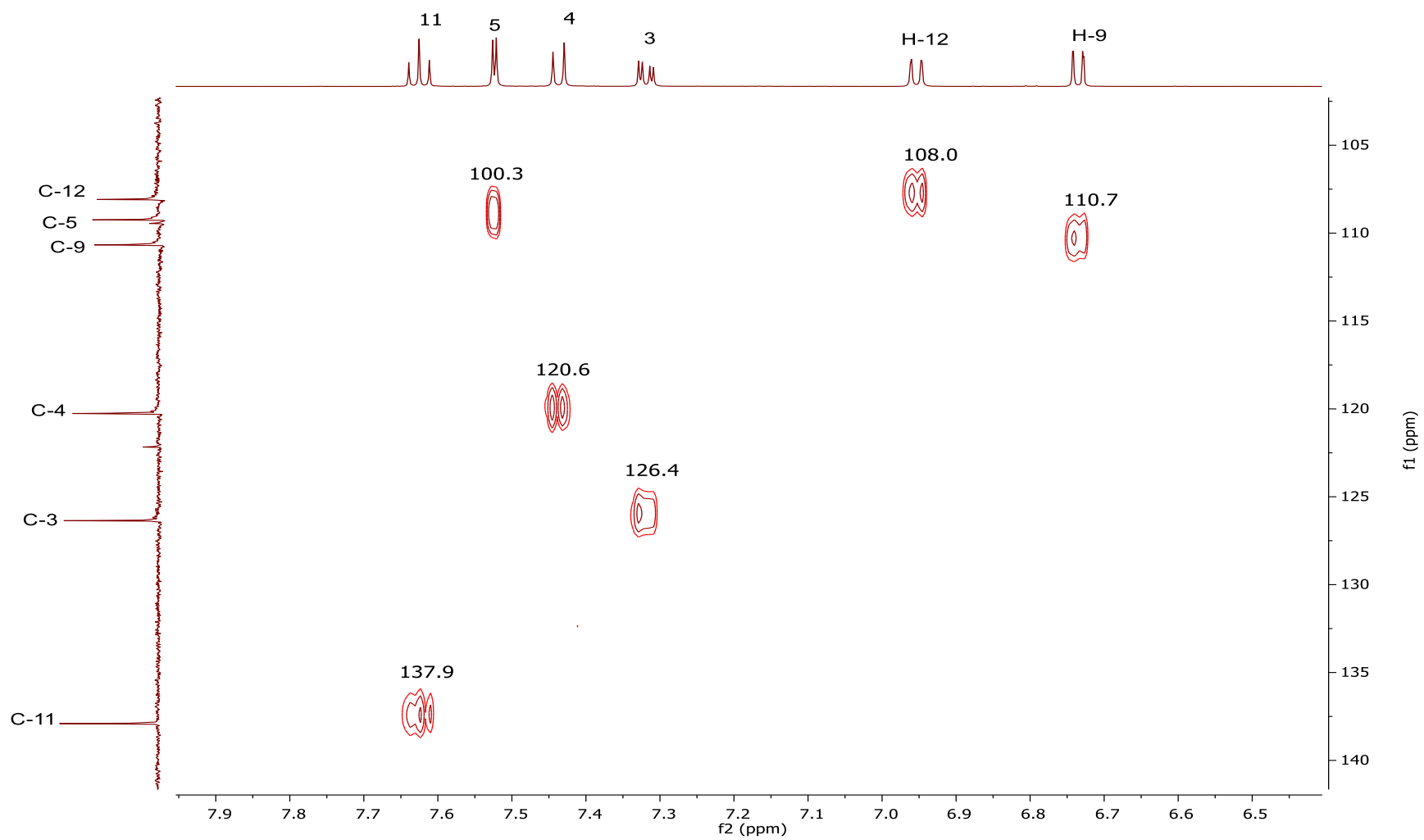


FIGURA A.65- Ampliação do mapa de contorno HSQC da Substância 9 em CD₃OD (9,4 T).

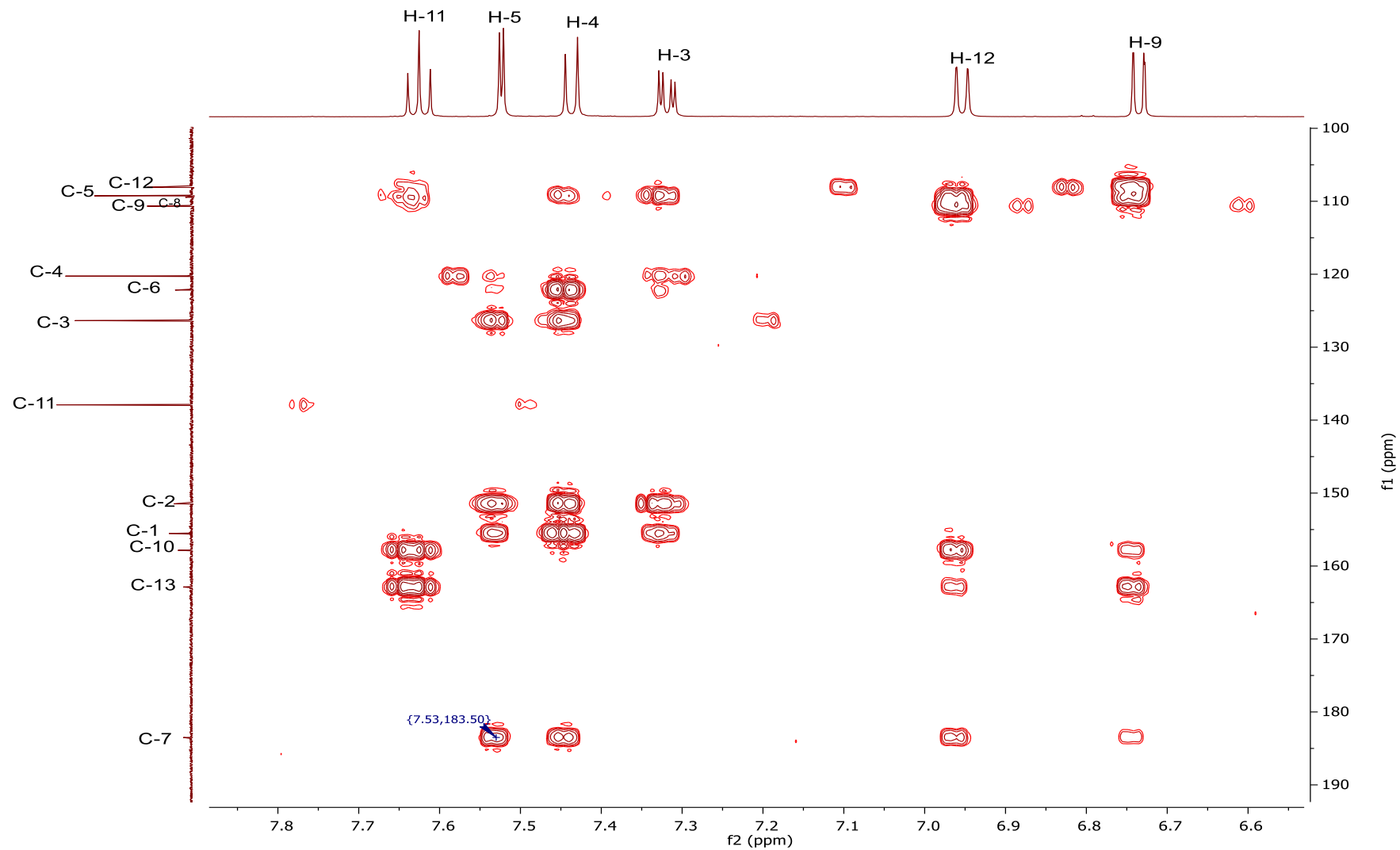


FIGURA A.66- Mapa de contorno HMBC da substância 9 em CD₃OD (9,4 T).

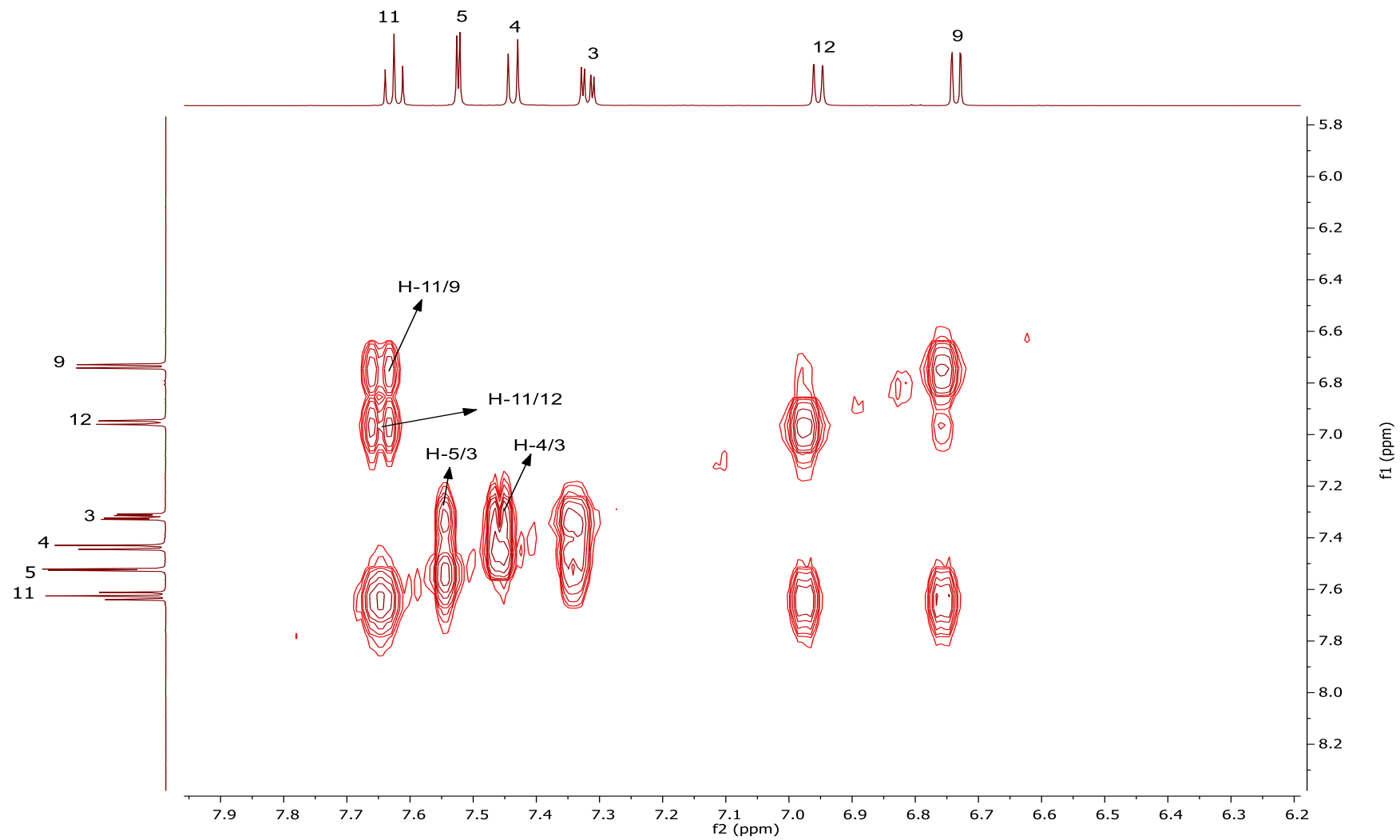


FIGURA A.67- Mapa de contorno COSY do Substância 9 em CD₃OD (9,4 T).

Substância 10

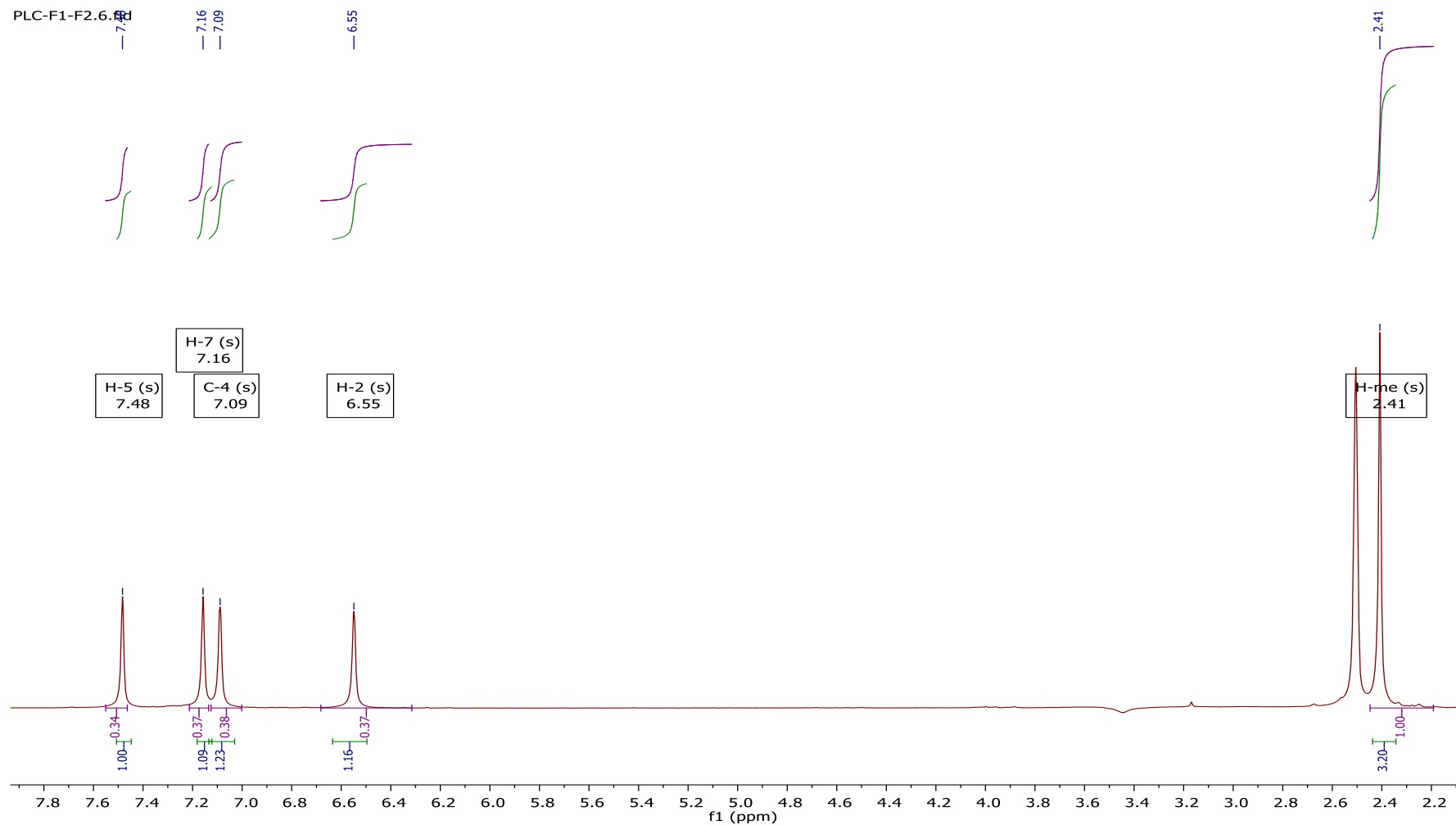


FIGURA A.68- Espectro de RMN de ^1H da substância 10 em DMSO-D6 (14,1 T)

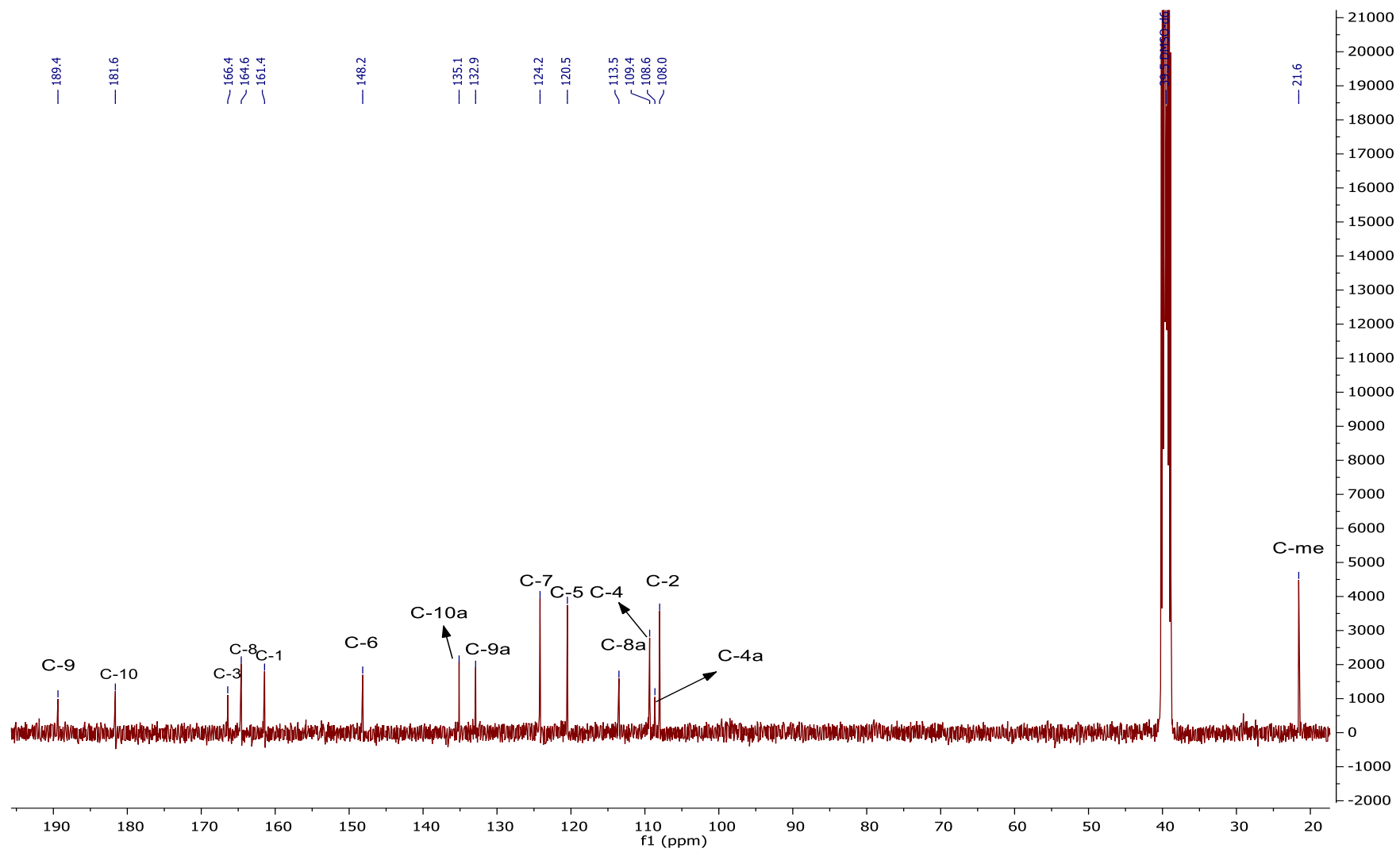


FIGURA 69- Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ da Substância 10 em DMSO-D6 (14,1 T).

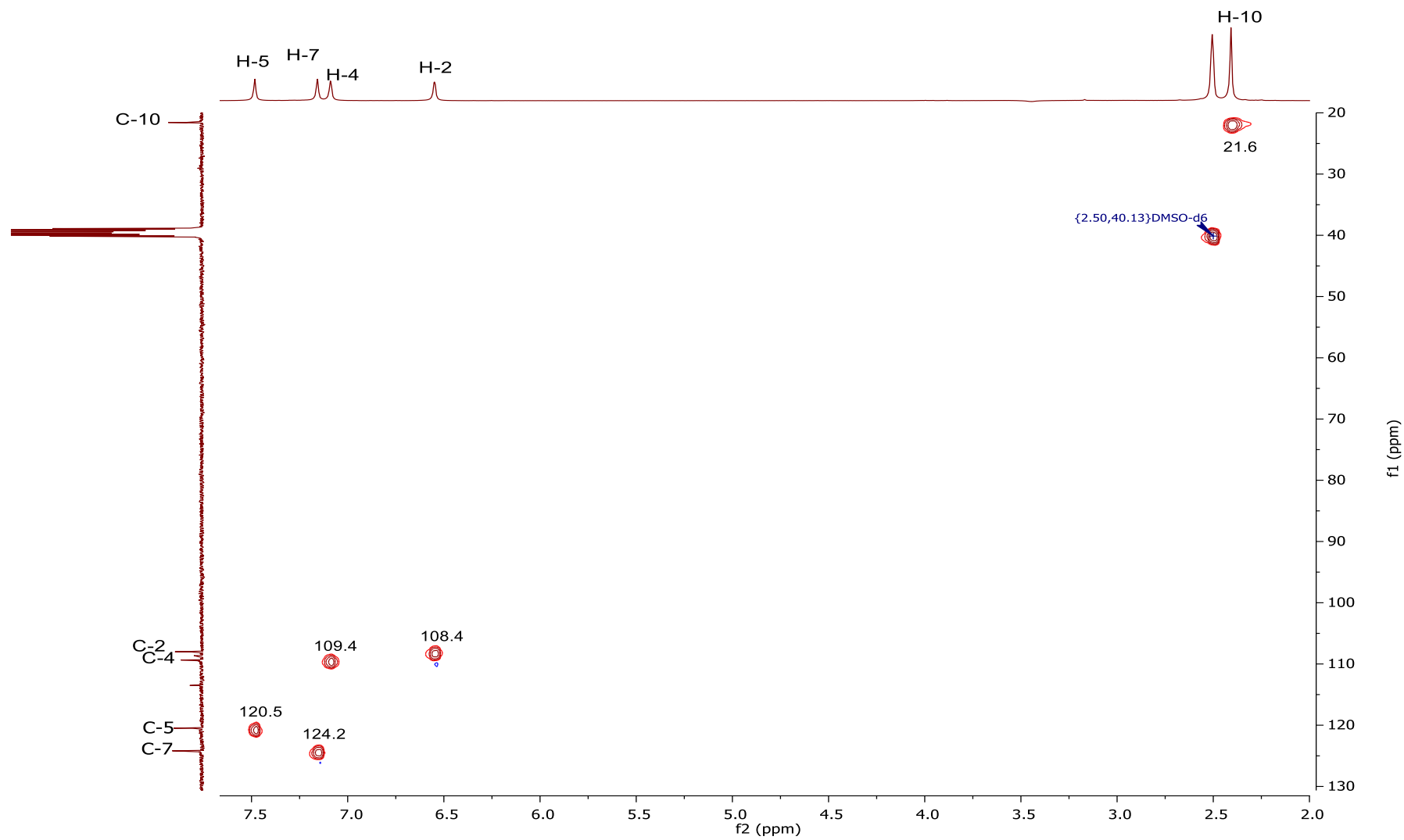


FIGURA A.70- Mapa de contorno HSQC da substância 10 em DMSO-D6 (14,1 T).

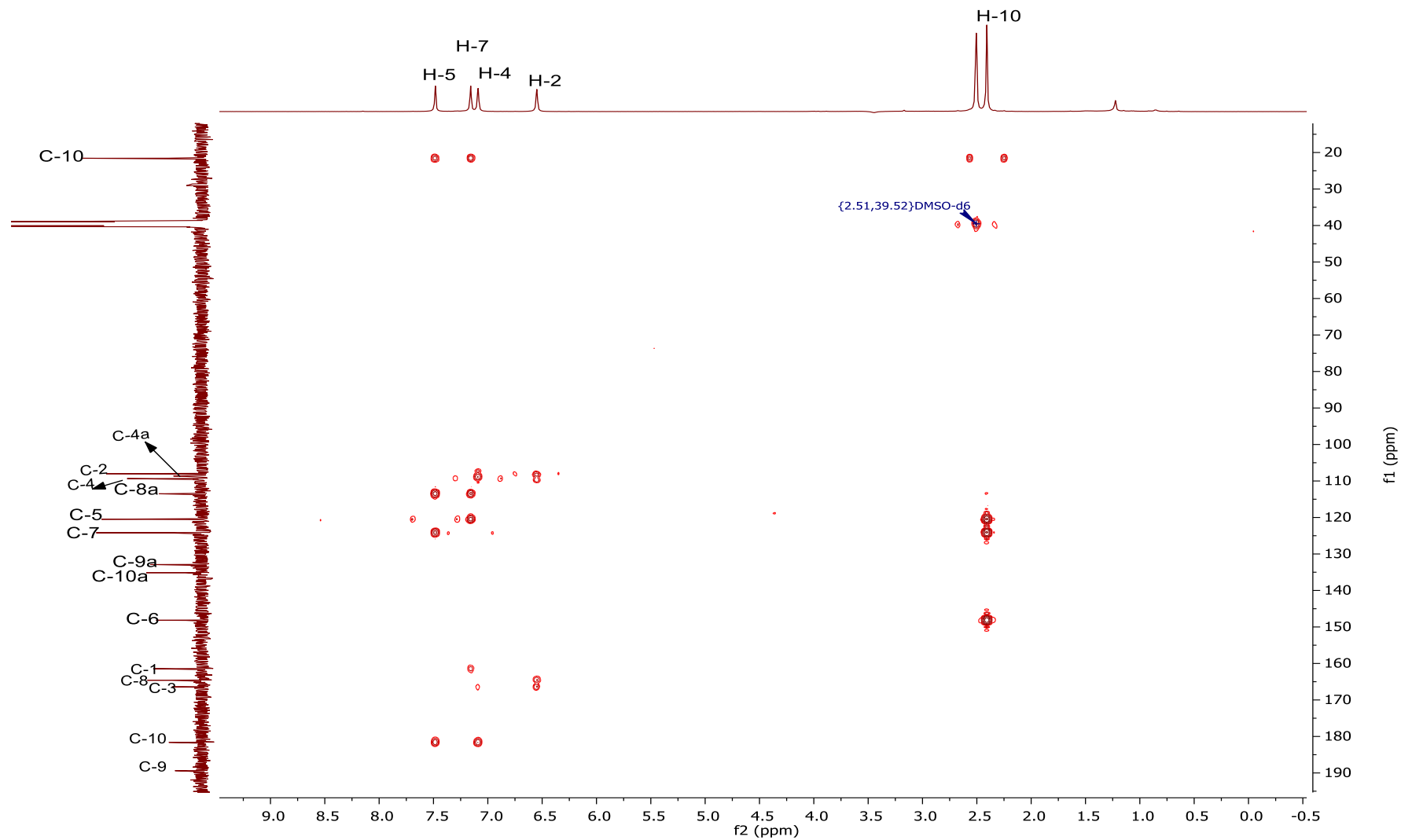


FIGURA A71- Mapa de contorno HMBC da substância 10 em DMSO-D6 (14,1T).

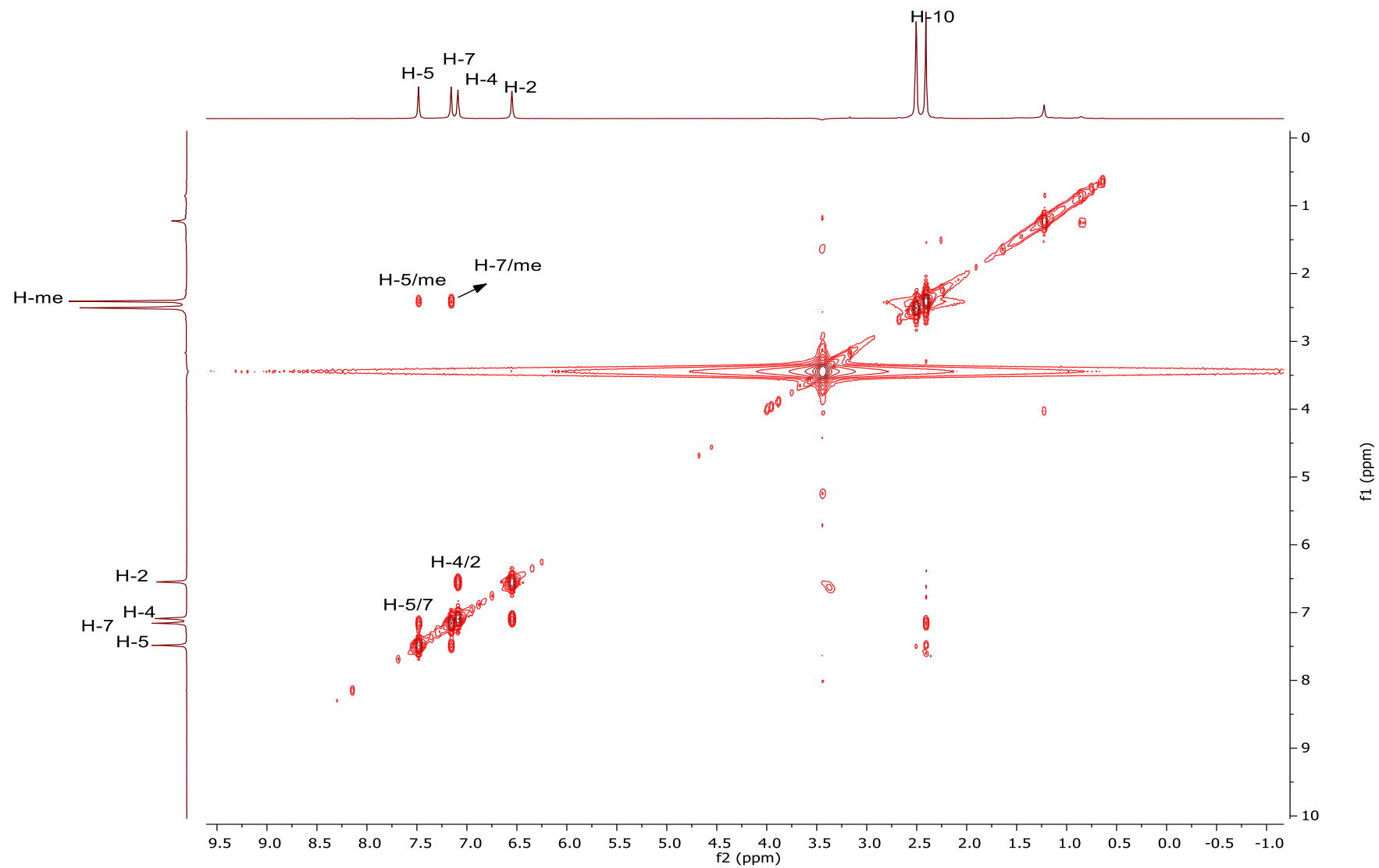


FIGURA A.72- Mapa de contorno COSY do Substância 10 em DMSO-D6 (14,1T).

Substância 11

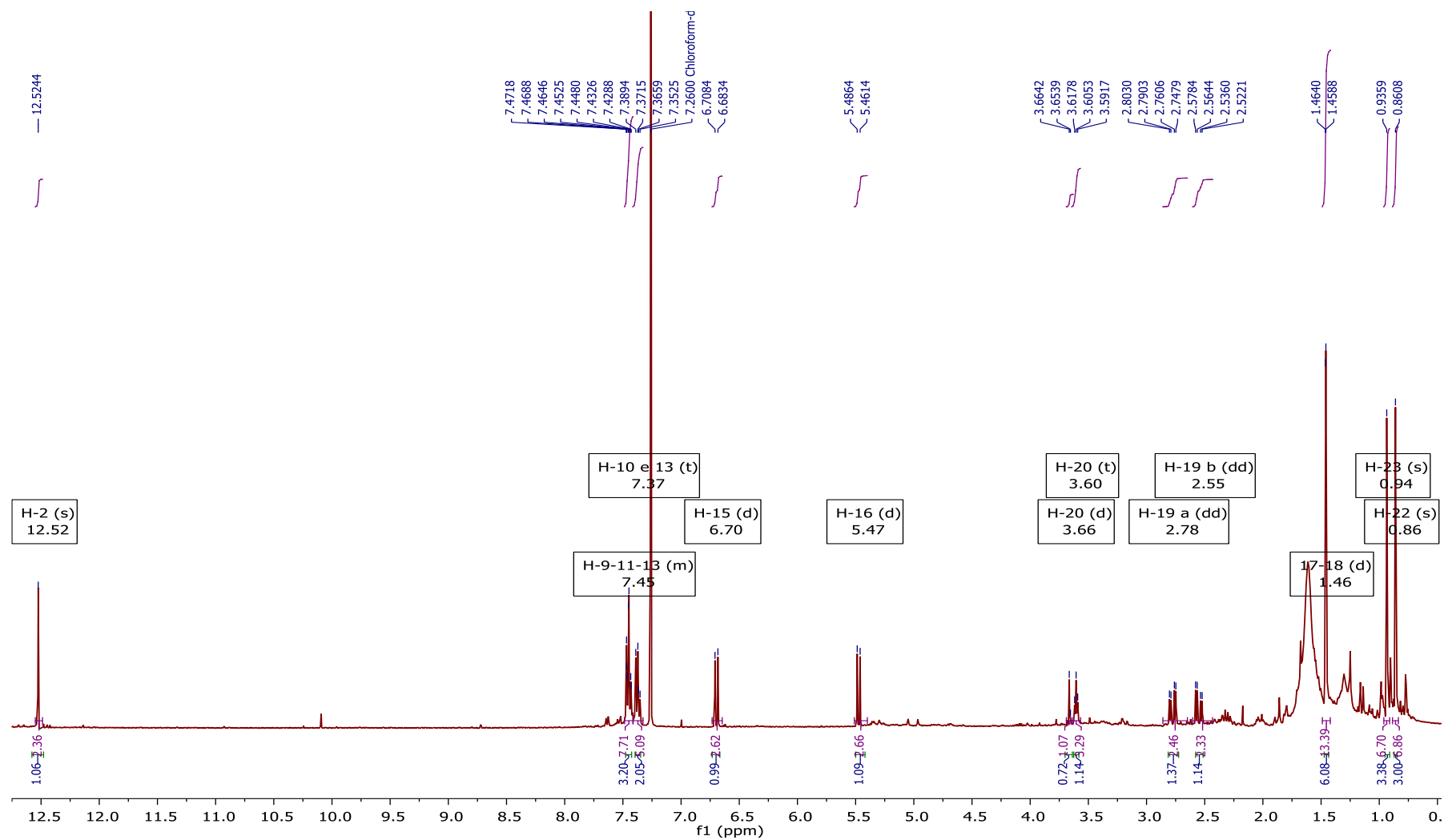


FIGURA A.73- Espectro de RMN de ^1H da Substância 11 em CDCl_3 (9,4 T).

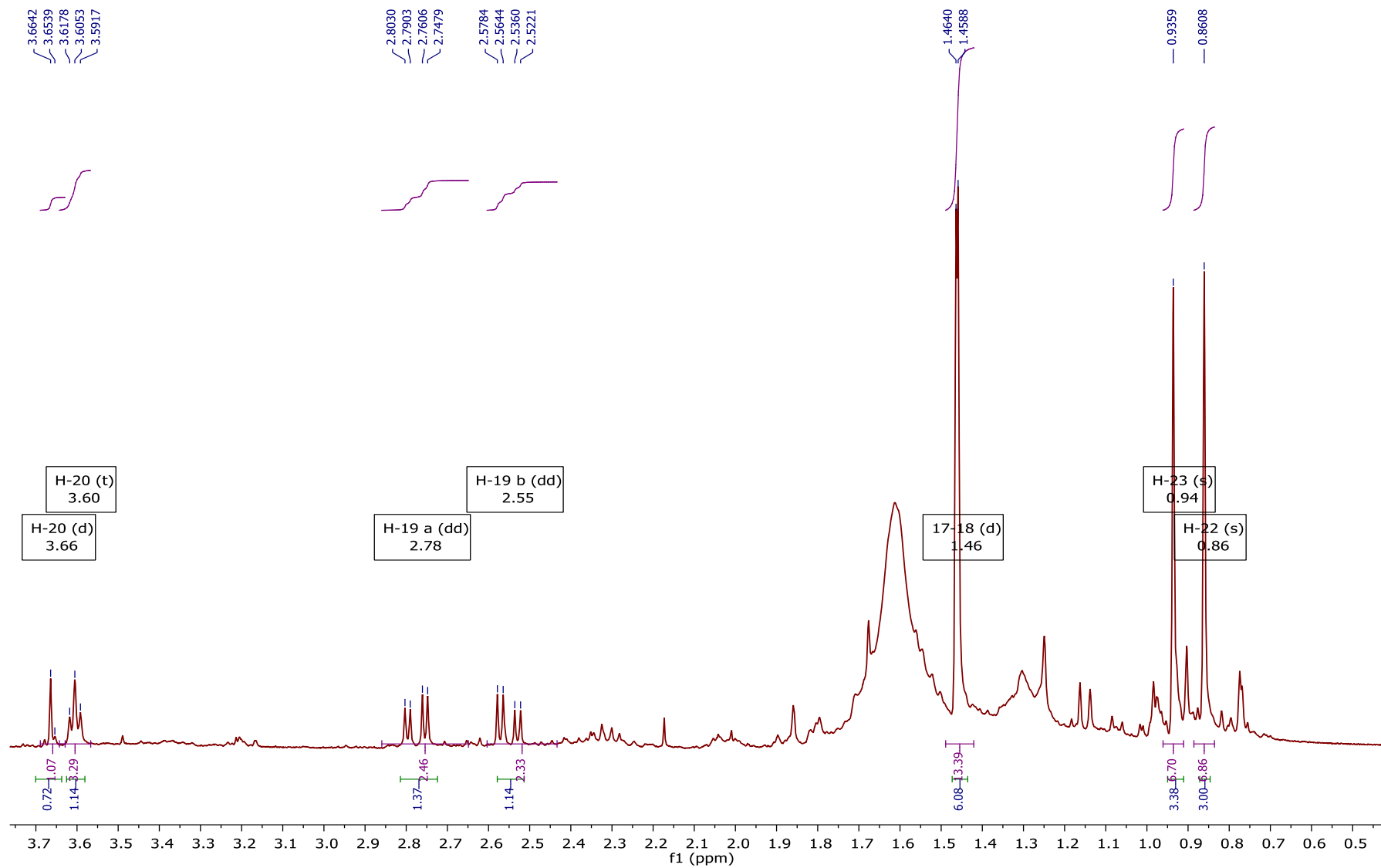


FIGURA A.74- Ampliação do Espectro de RMN de ^1H da Substância 11 em CDCl_3 (9,4 T).

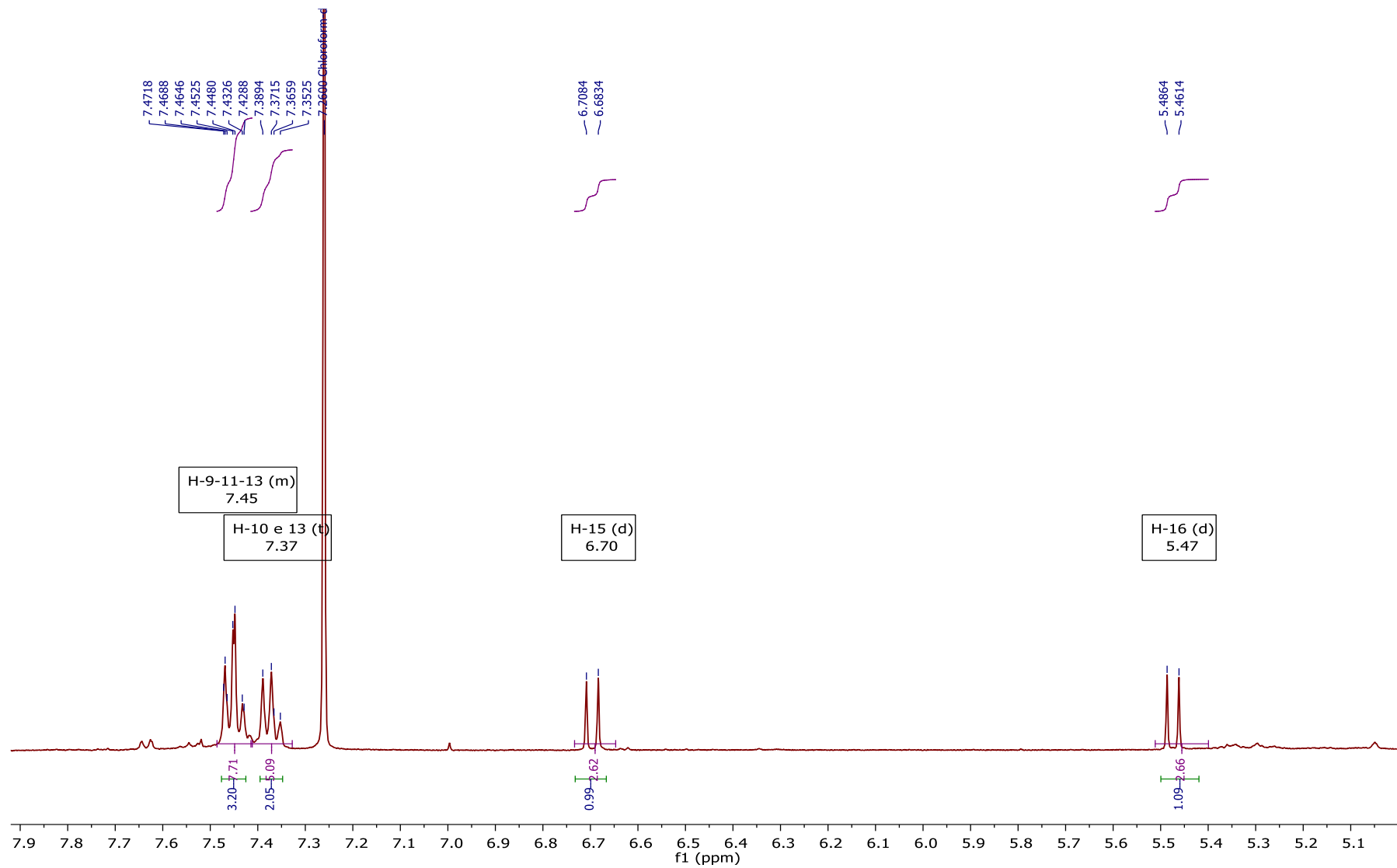


FIGURA A.75- Ampliação do Espectro de RMN de ^1H da Substância 11 em CDCl_3 (9,4 T).

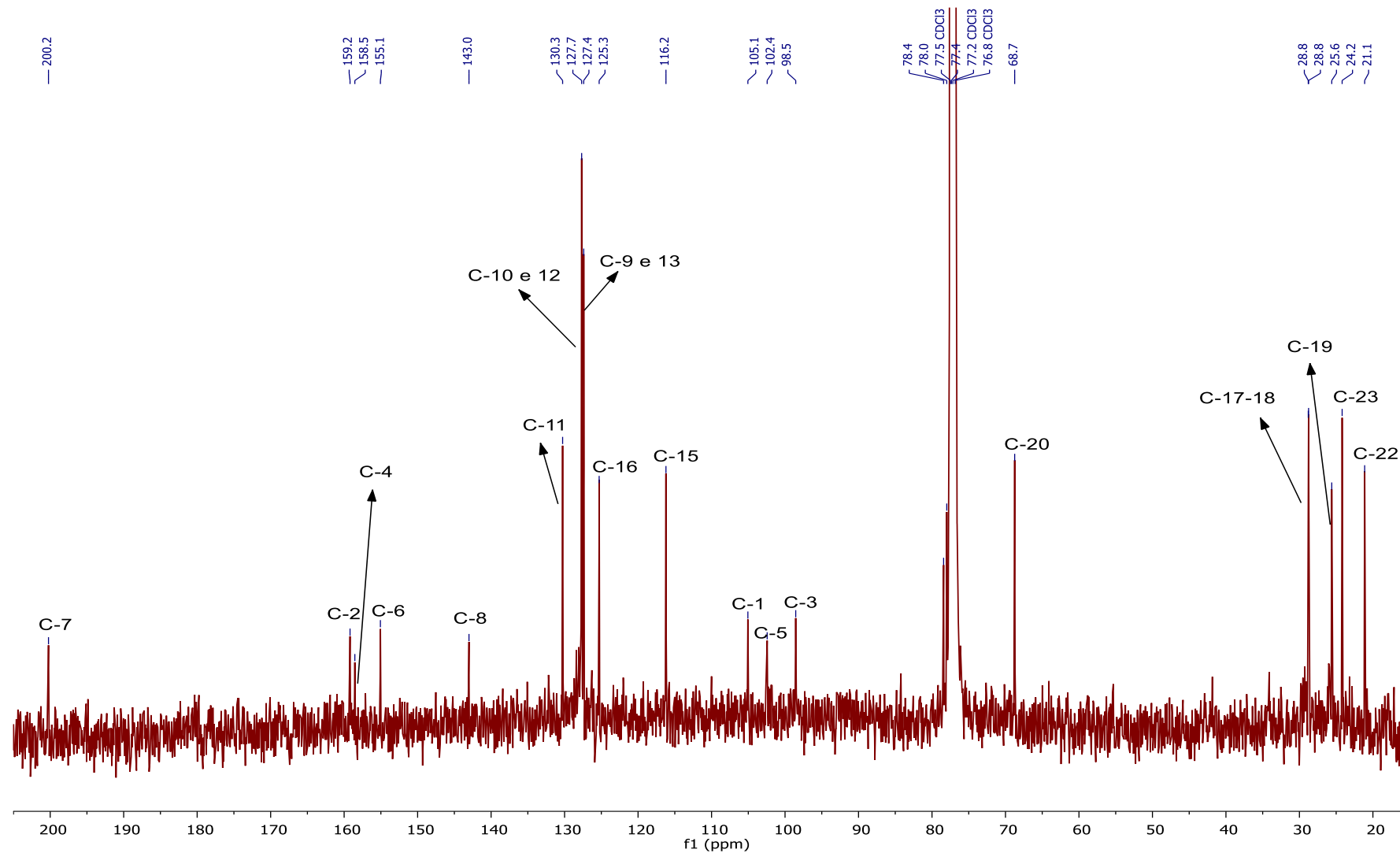


FIGURA 76- Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ da Substância 11 em CDCl_3 (9,4 T).

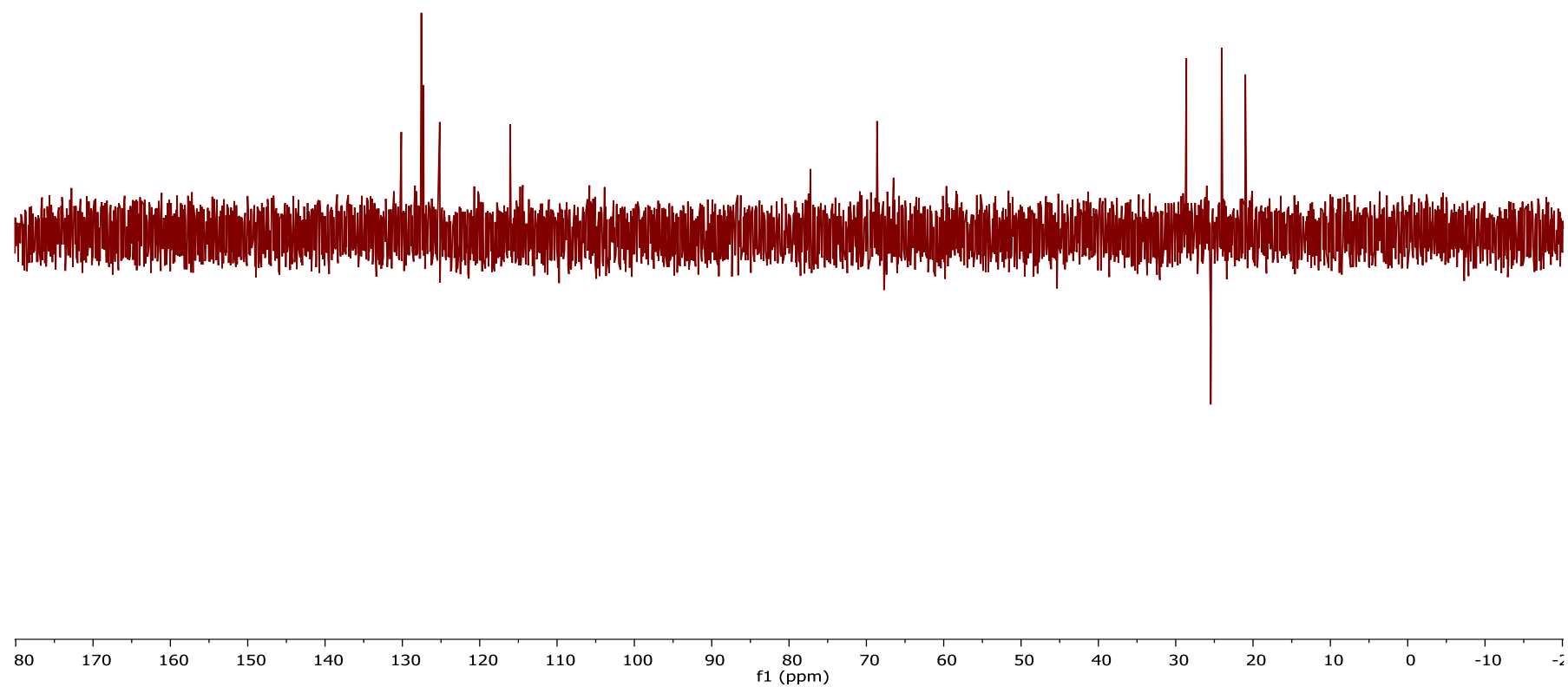


FIGURA A.77- Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT da substância 11 em CDCl_3 .

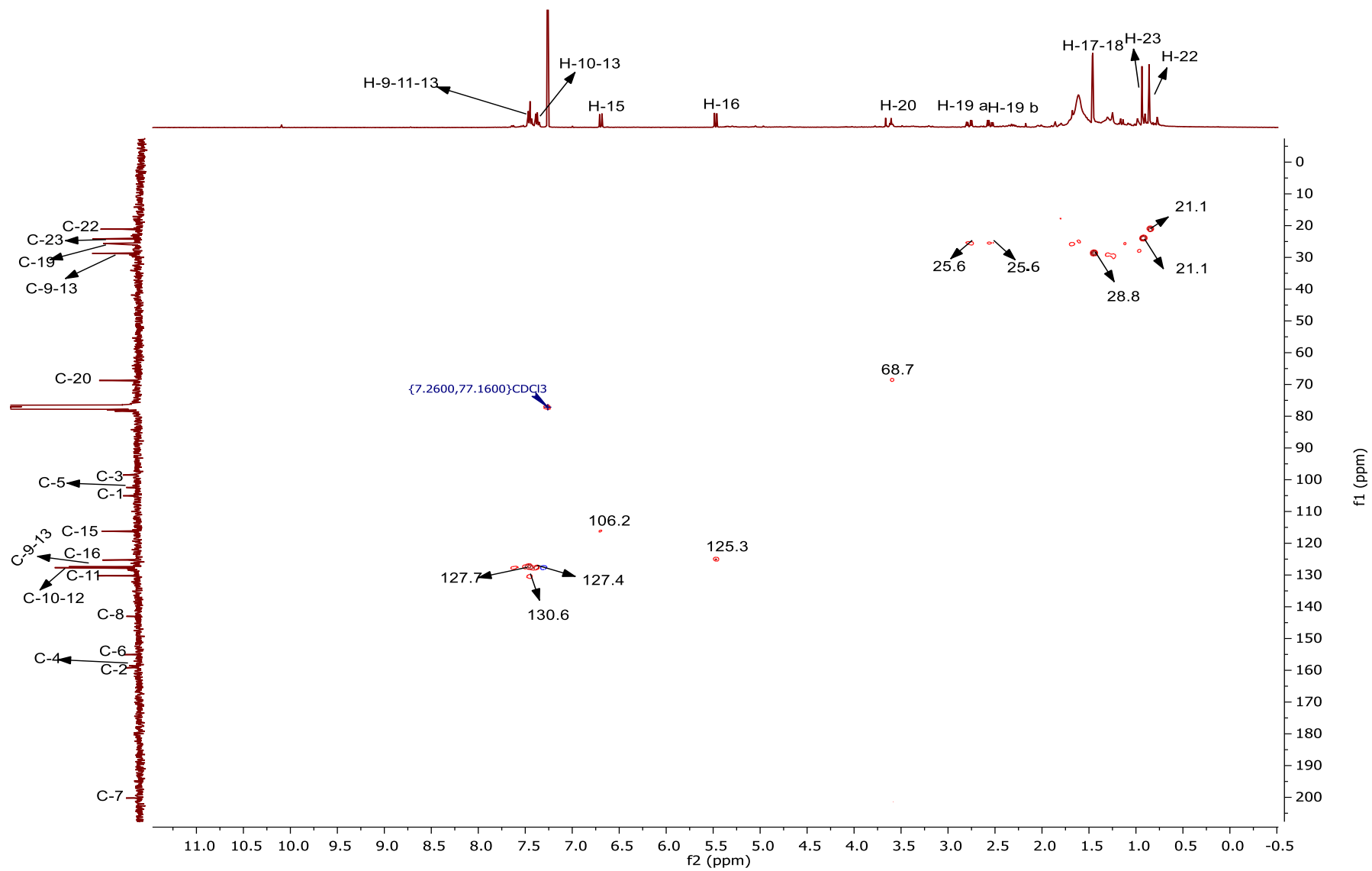


FIGURA A.78- Mapa de contorno HSQC da Substância 11 em CDCl_3 (9,4 T).

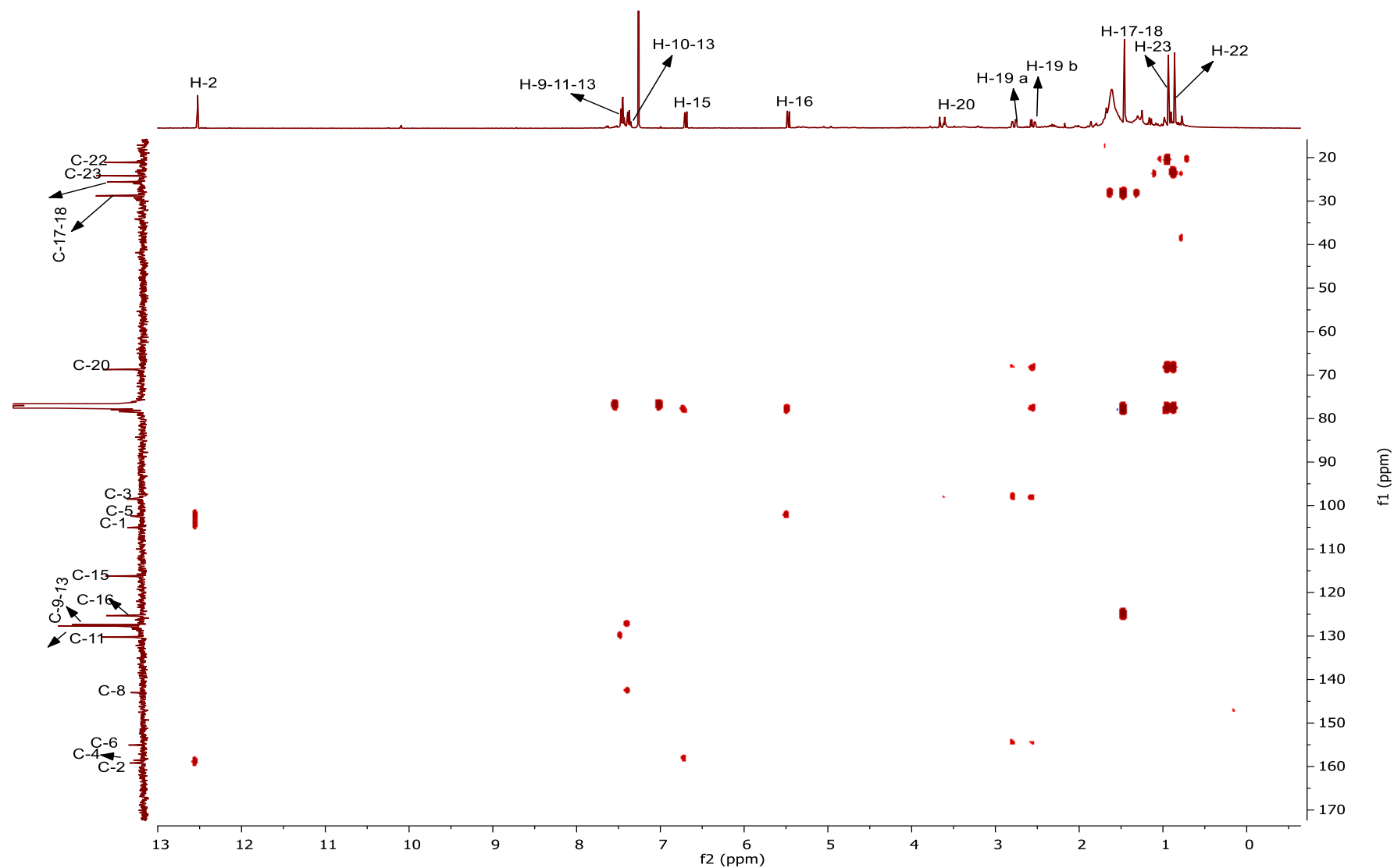


FIGURA A.79- Mapa de contorno HMBC da substância 11 em CDCl₃ (9,4 T).

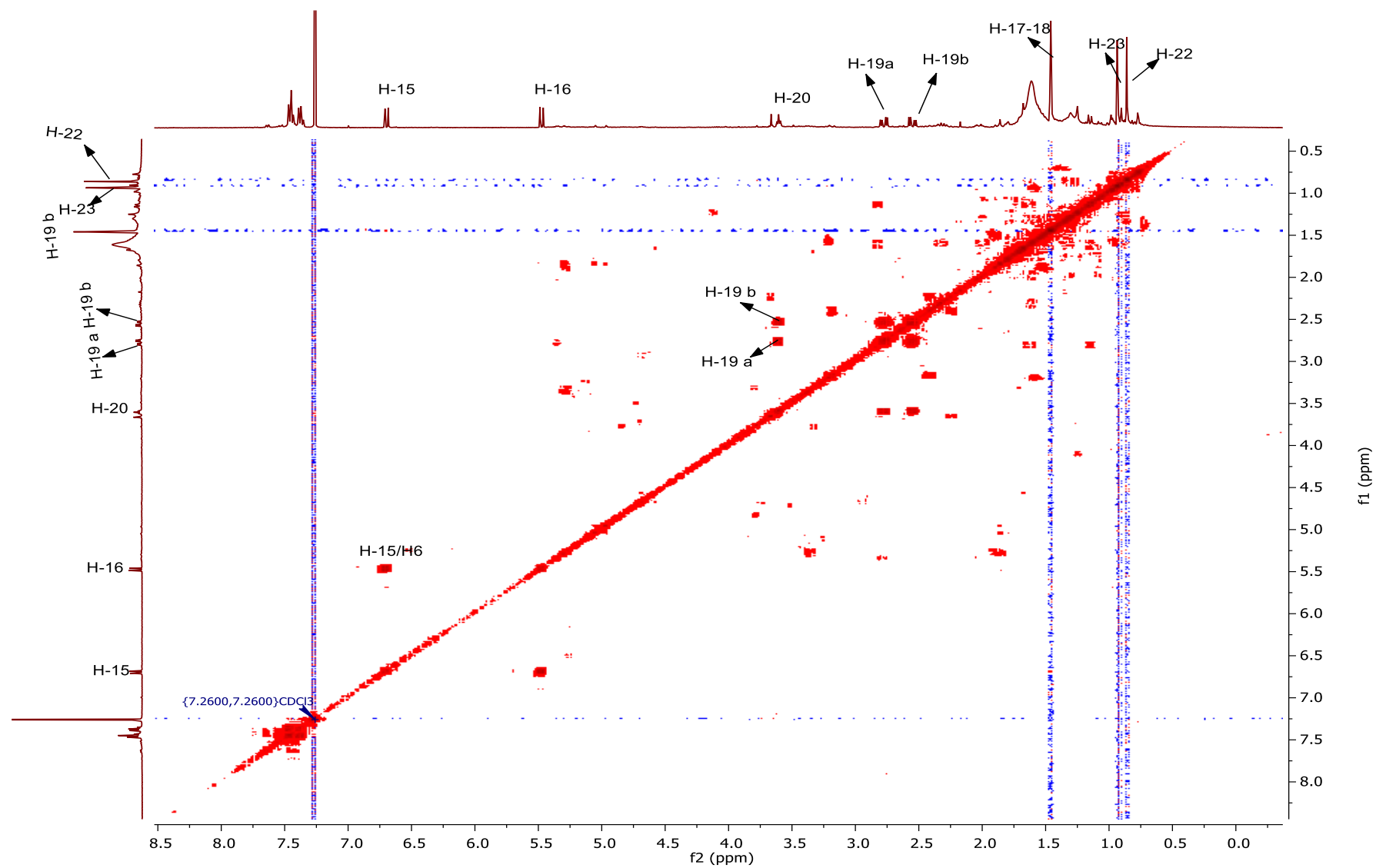


FIGURA A.80- Mapa de contorno COSY do Substância 11 em CDCl₃ (9,4 T).

Substância 12

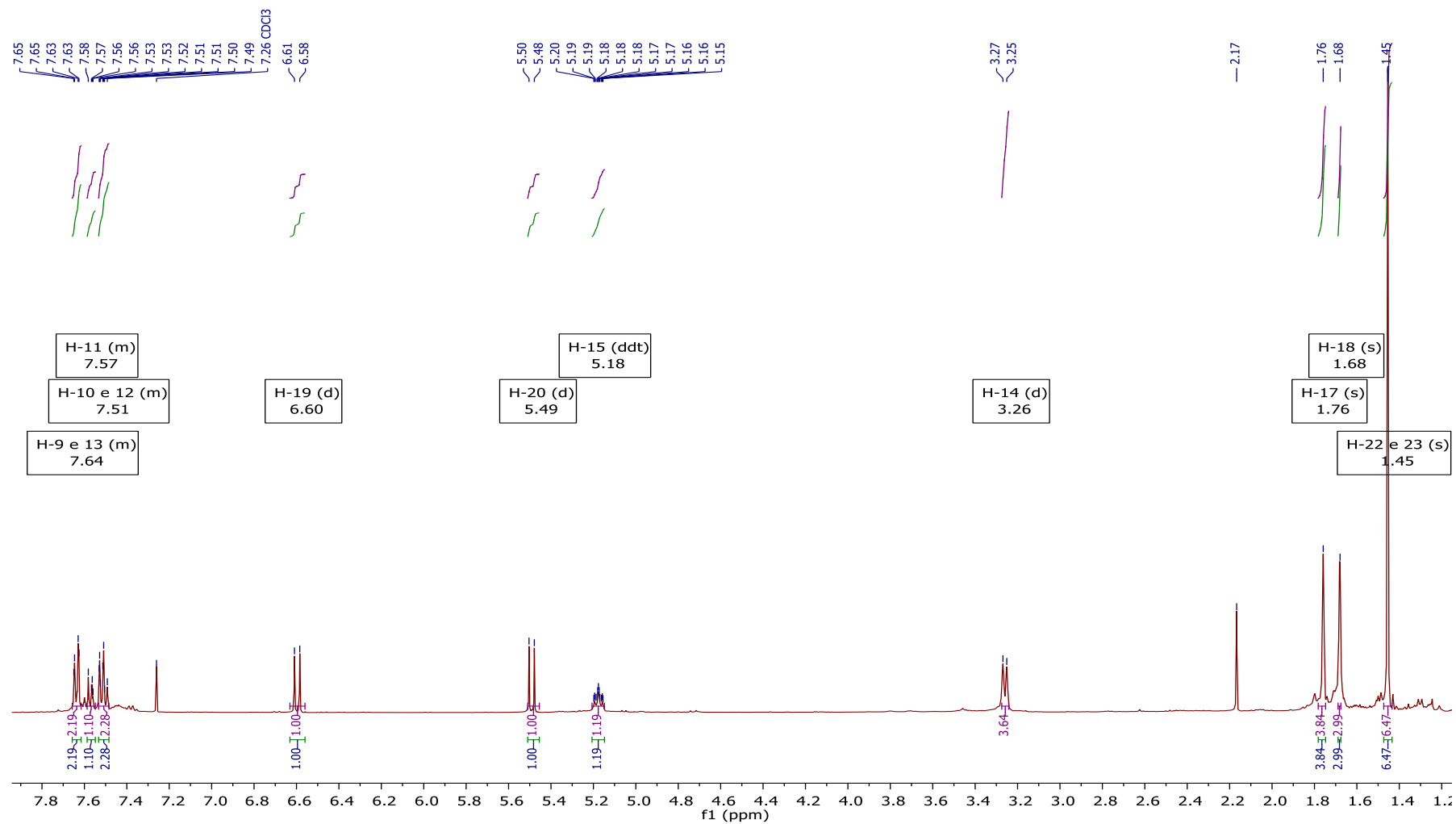


FIGURA A.81- Espectro de RMN de ¹H da Substância 12 em CDCl₃ (9,4 T).

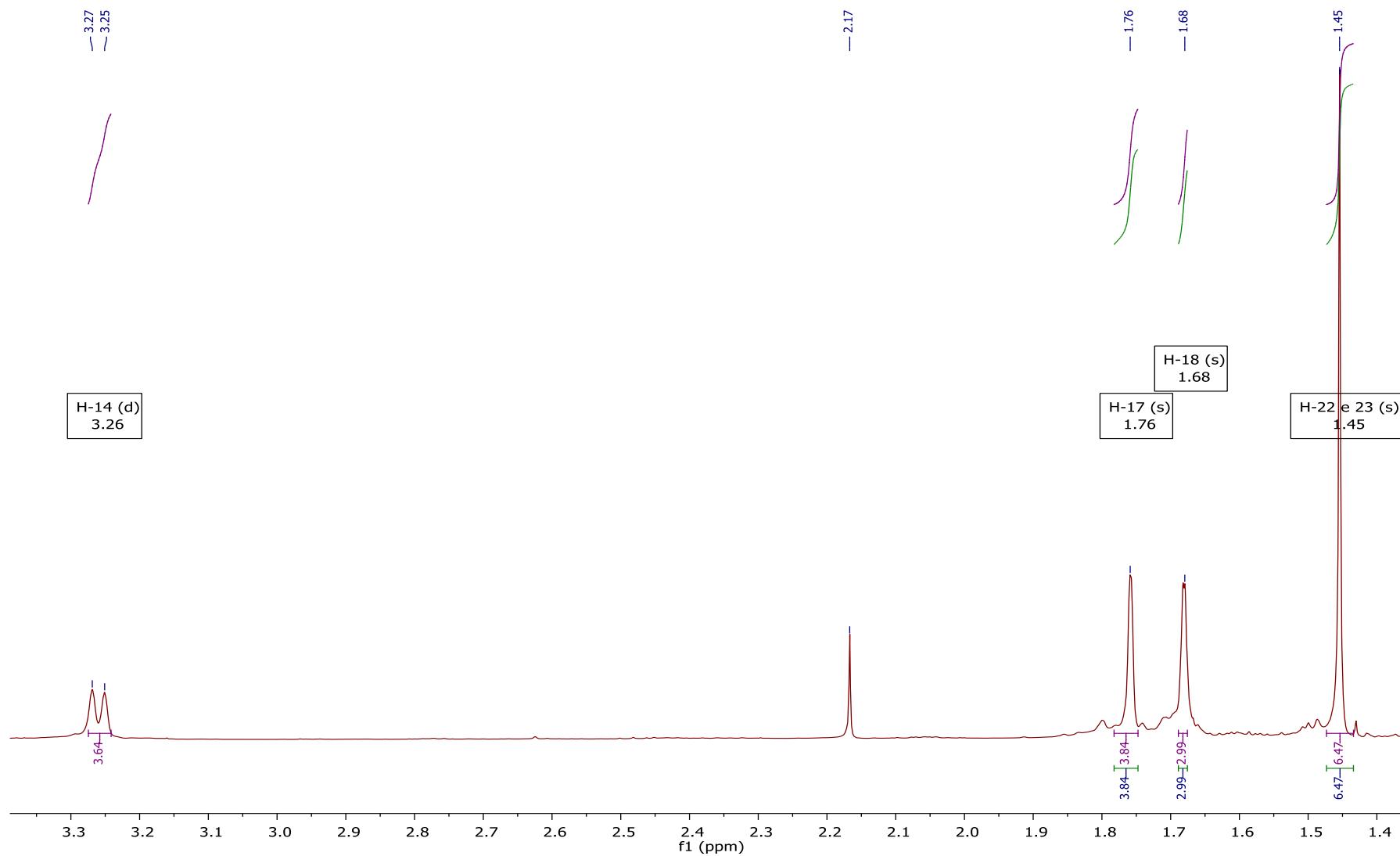


FIGURA A.82- Ampliação do Espectro de RMN de ^1H da Substância 12 em CDCl_3 (9,4 T).

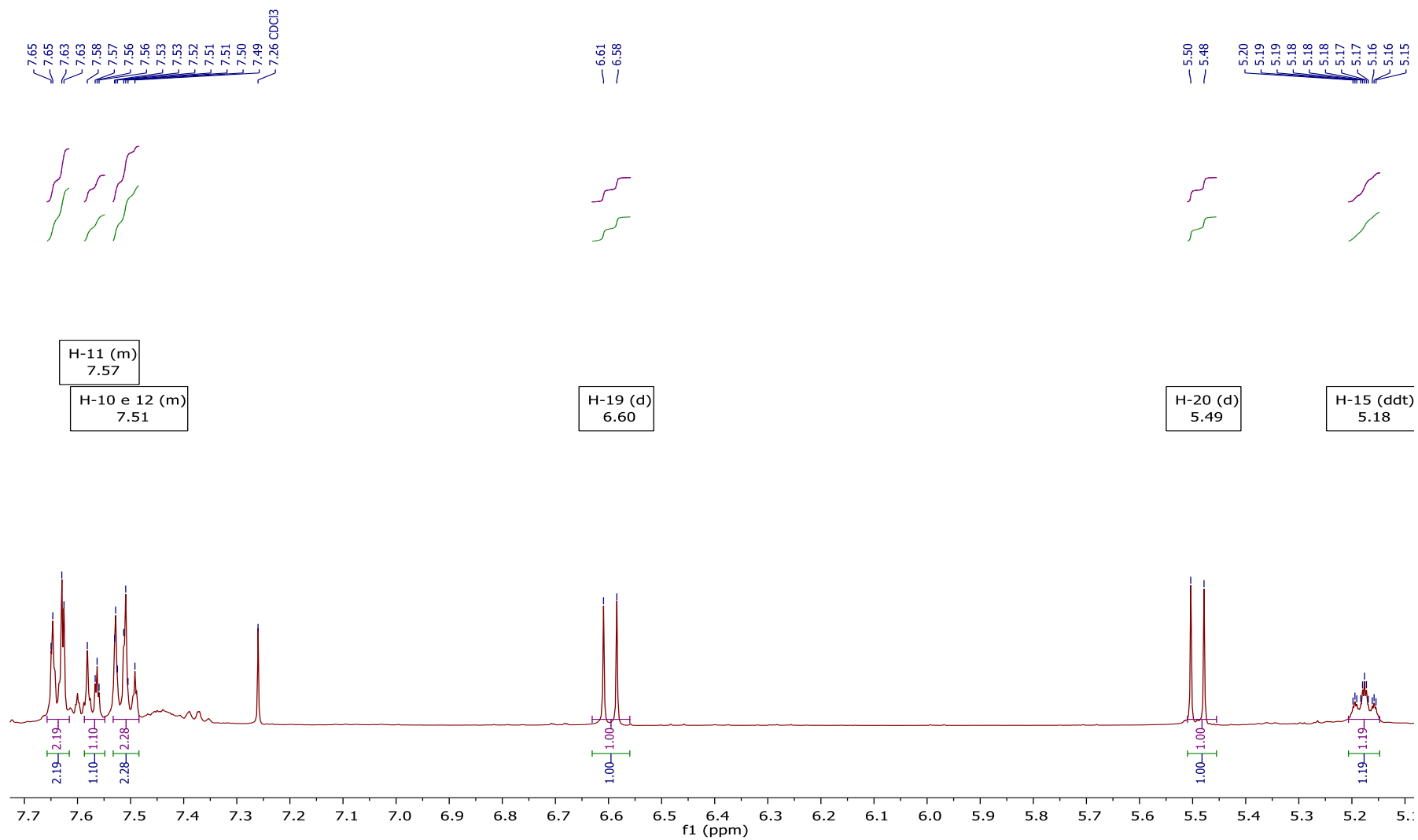


FIGURA A.83- Ampliação do Espectro de RMN de ¹H da Substância 12 em CDCl₃ (9,4 T).

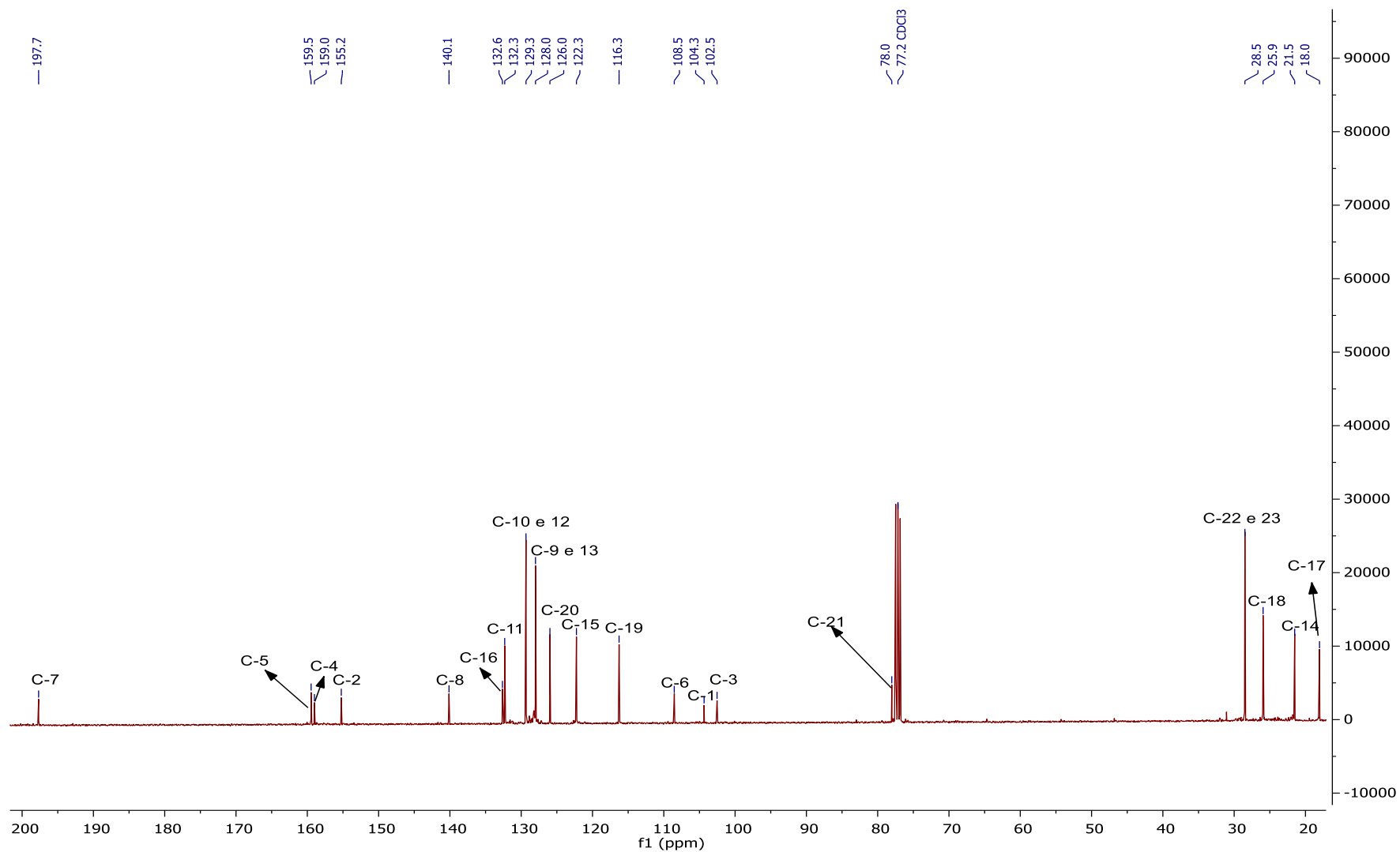


FIGURA A.84- Espectro de RMN de ¹³C{¹H} da Substância 12 em CDCl₃ (9,4 T).

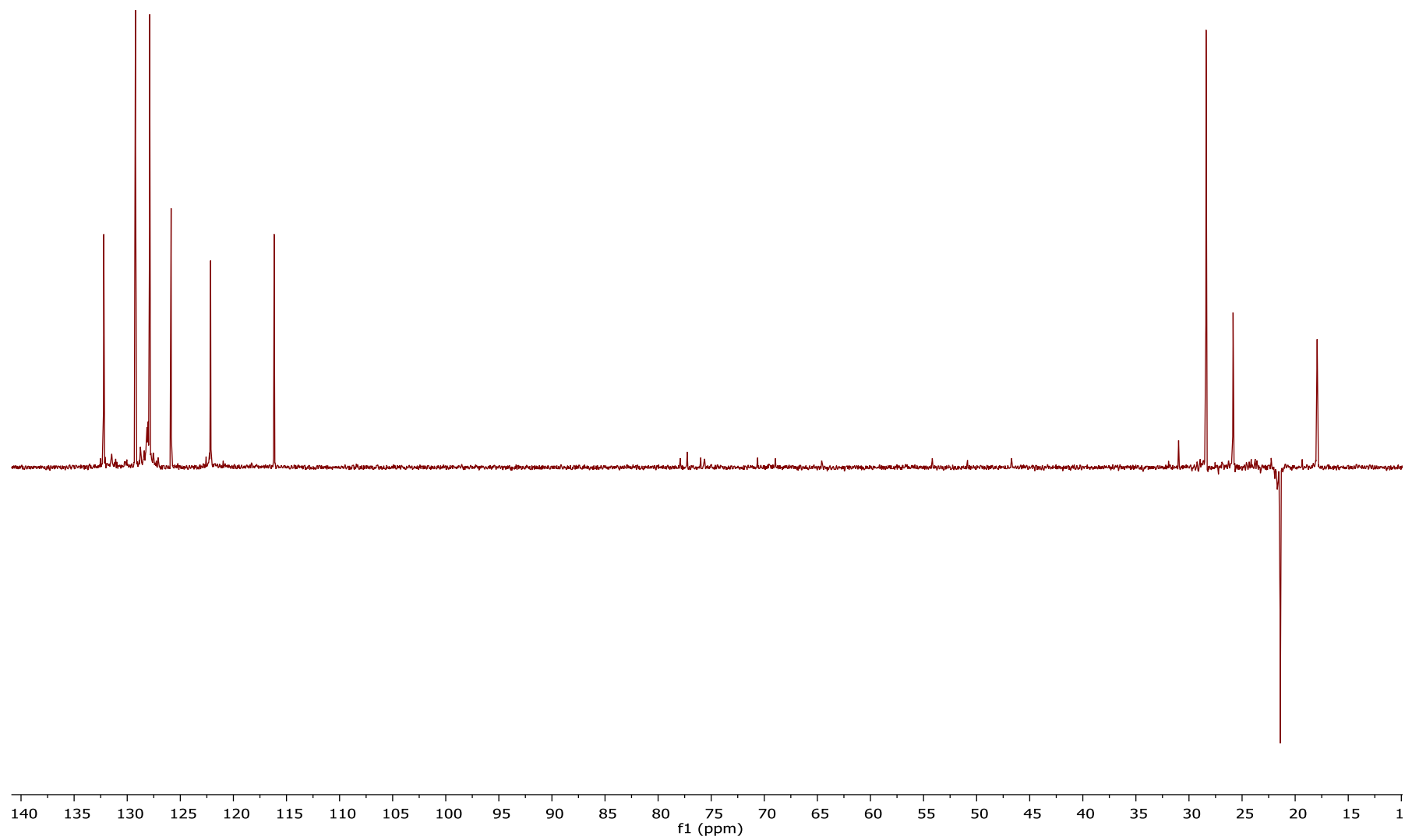


FIGURA A.85- Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT da substância 7 em CDCl_3 (9,4 T).

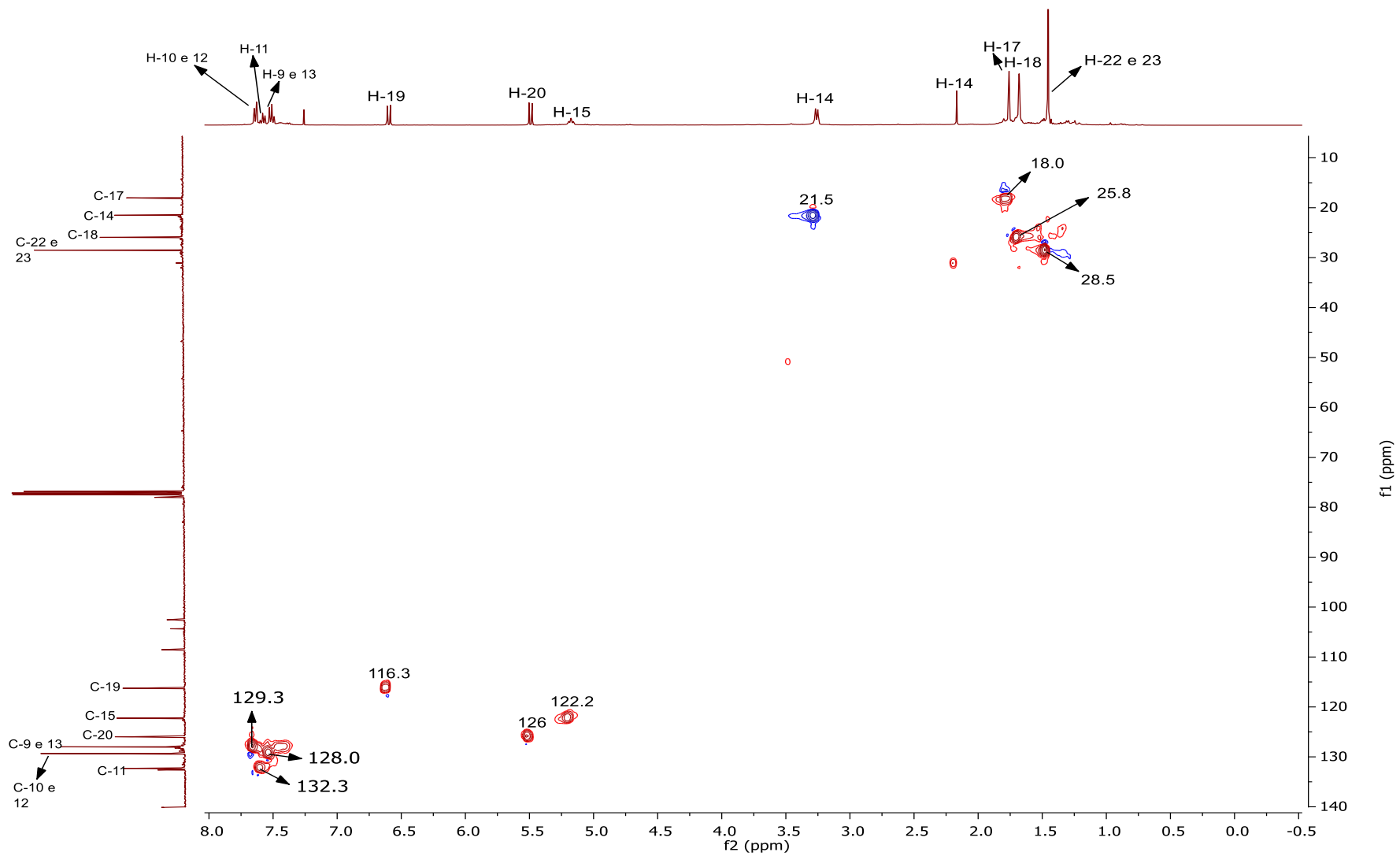


FIGURA A.86- Mapa de contorno HSQC da Substância 12 em CDCl₃ (9,4 T).

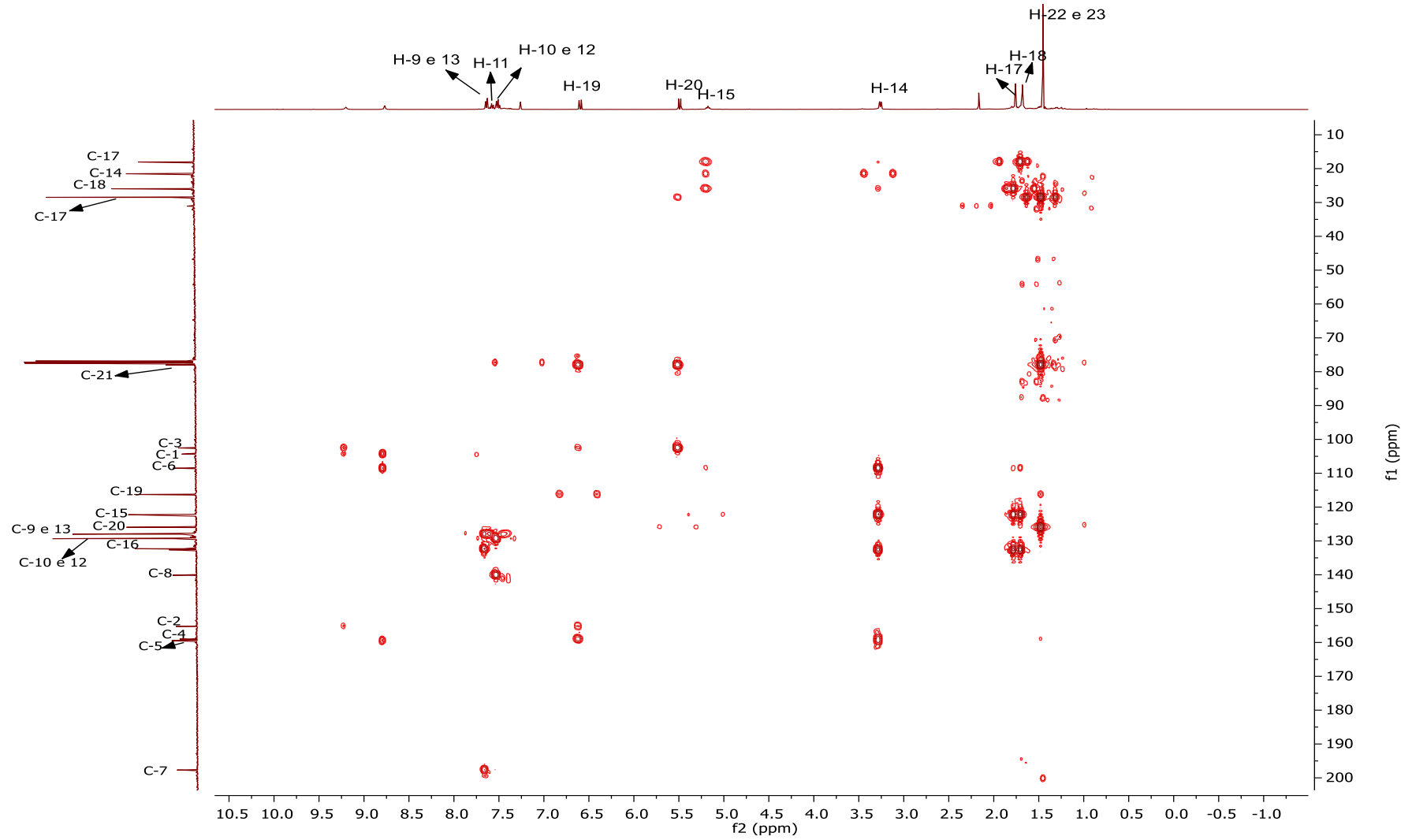


FIGURA A.87- Mapa de contorno HMBC da substância 12 em CDCl_3 (9,4 T).

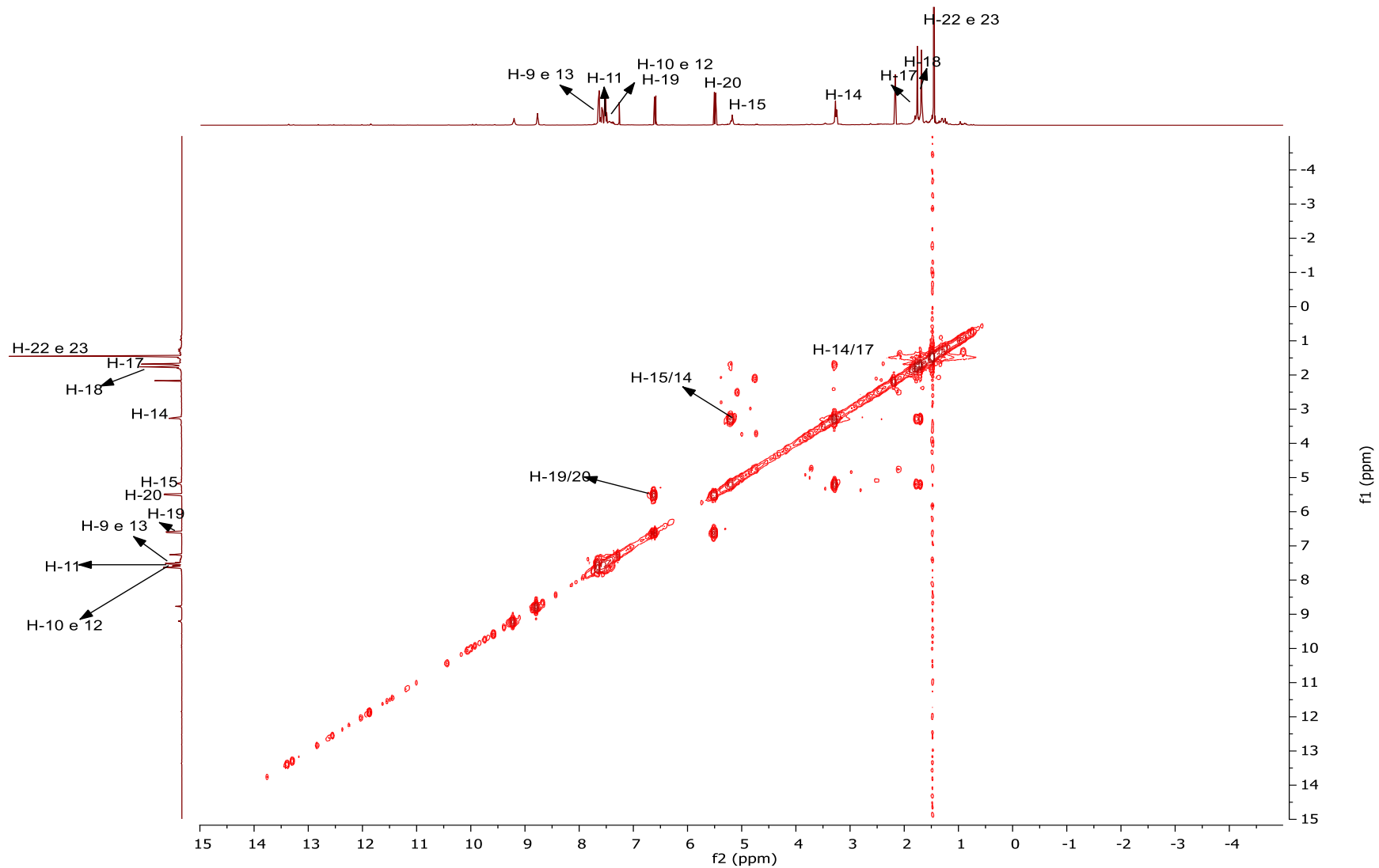


FIGURA A.88- Mapa de contorno COSY do Substância 12 em CDCl₃ (9,4 T).

Substância 13

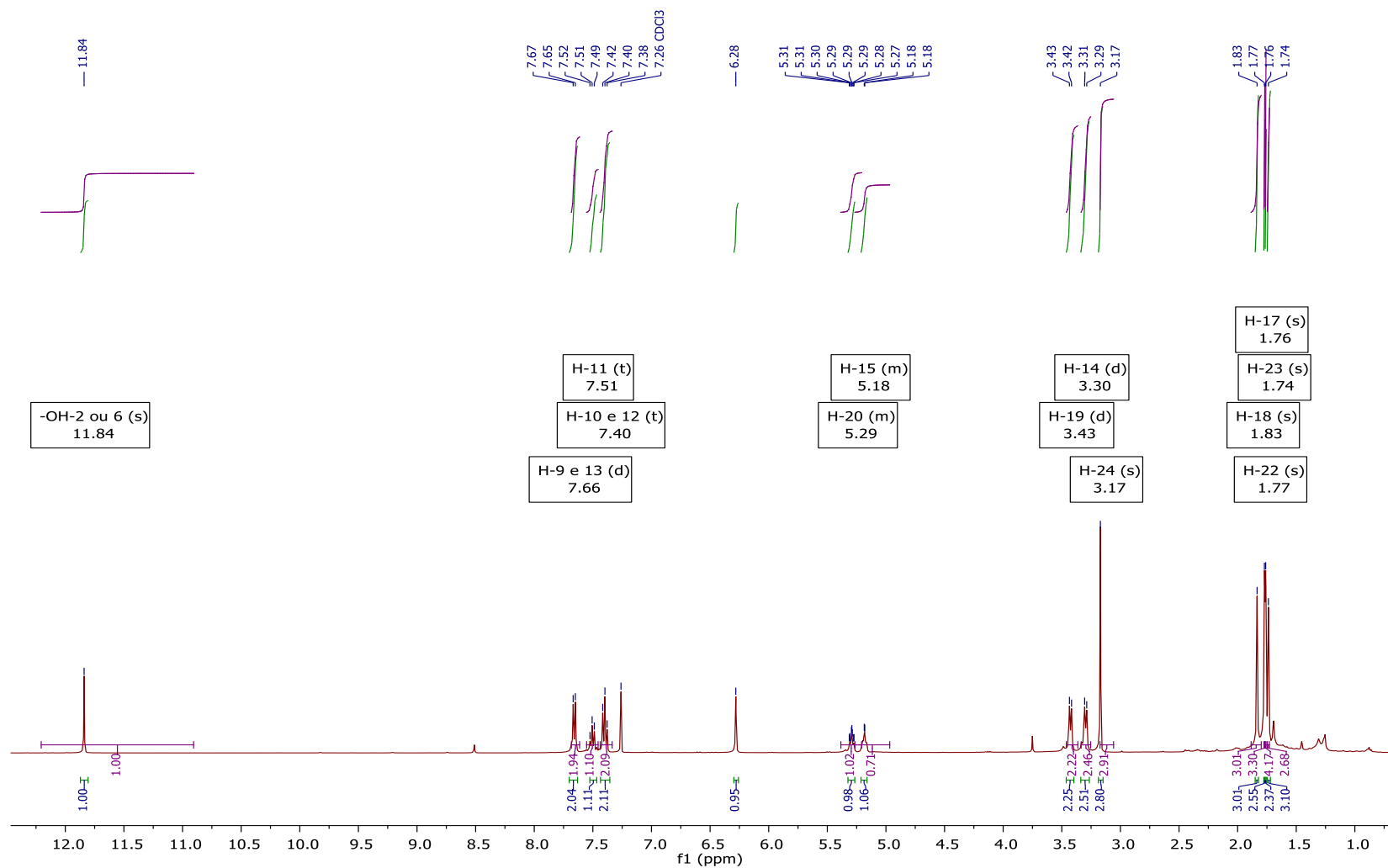


FIGURA A.89- Espectro de RMN de 1H da Substância 13 em CDCl₃ (9,4 T).

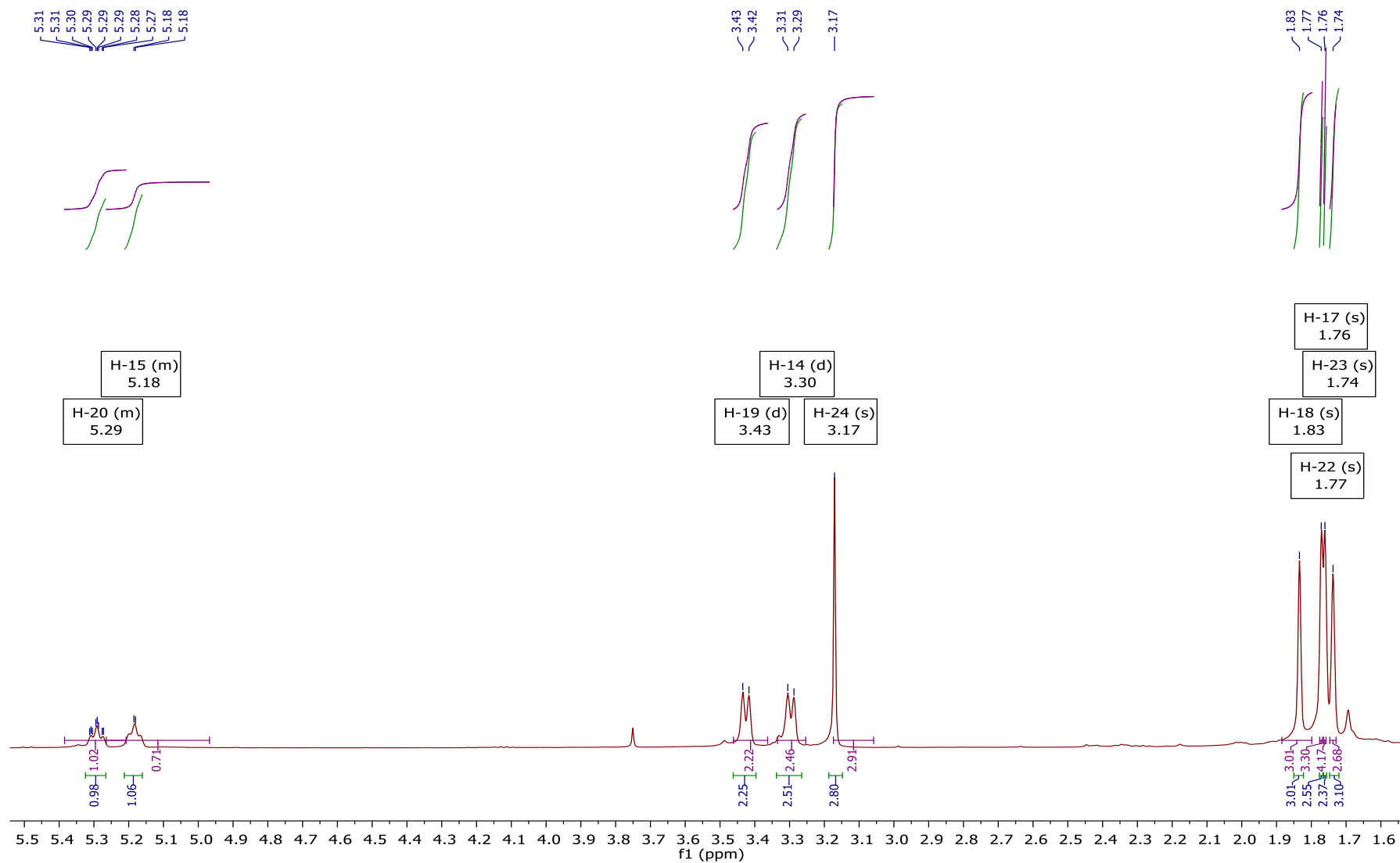


FIGURA A.90- Ampliação do Espectro de RMN de ^1H da Substância 13 em CDCl_3 (9,4 T).

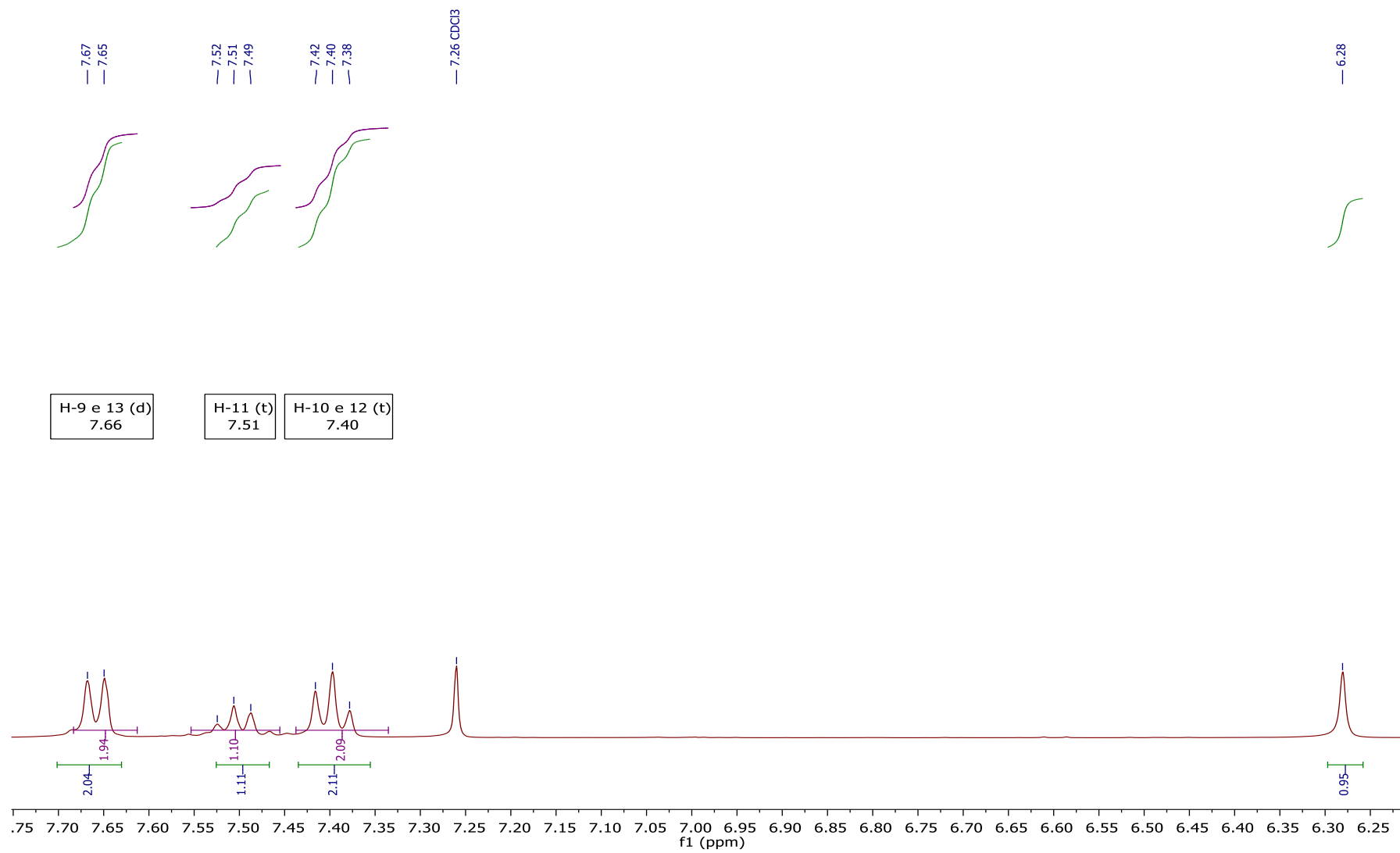


FIGURA A.91- Ampliação do Espectro de RMN de ¹H da Substância 13 em CDCl₃ (9,4 T).

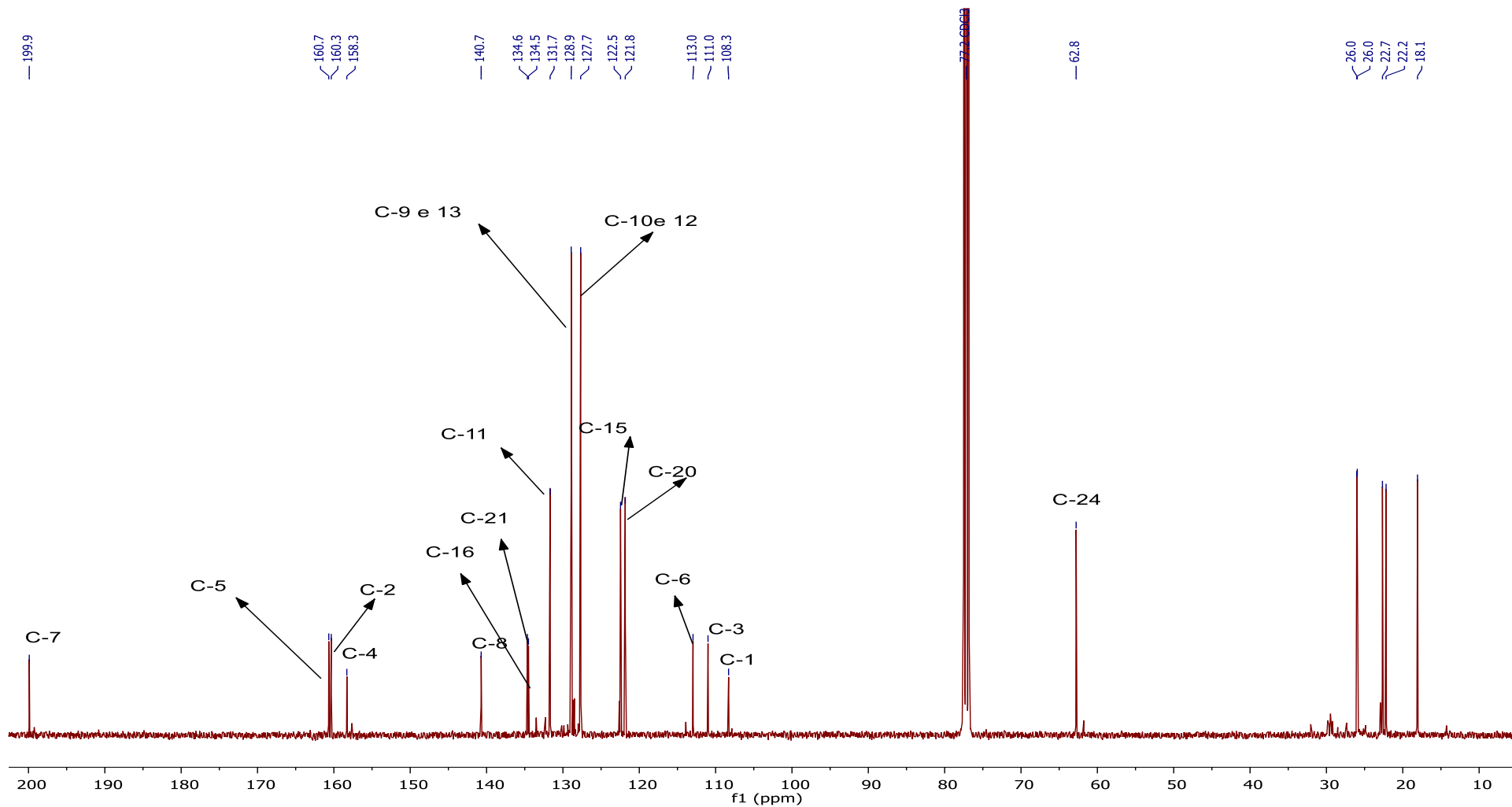


FIGURA A.92- Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ da Substância 13 em CDCl_3 (9,4 T).

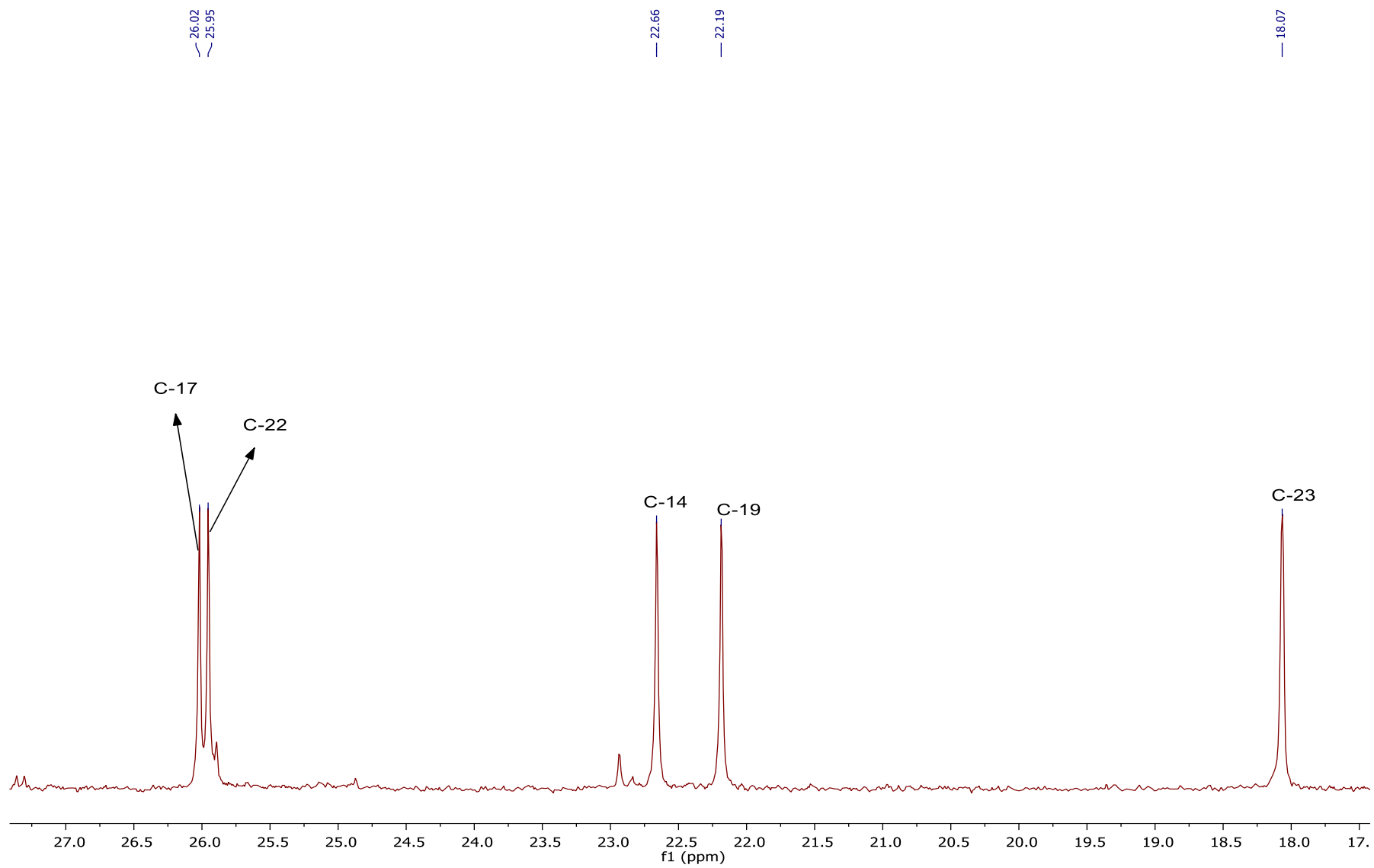


FIGURA A.93- Ampliação do Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ da Substância 13 em CDCl_3 (9,4 T).

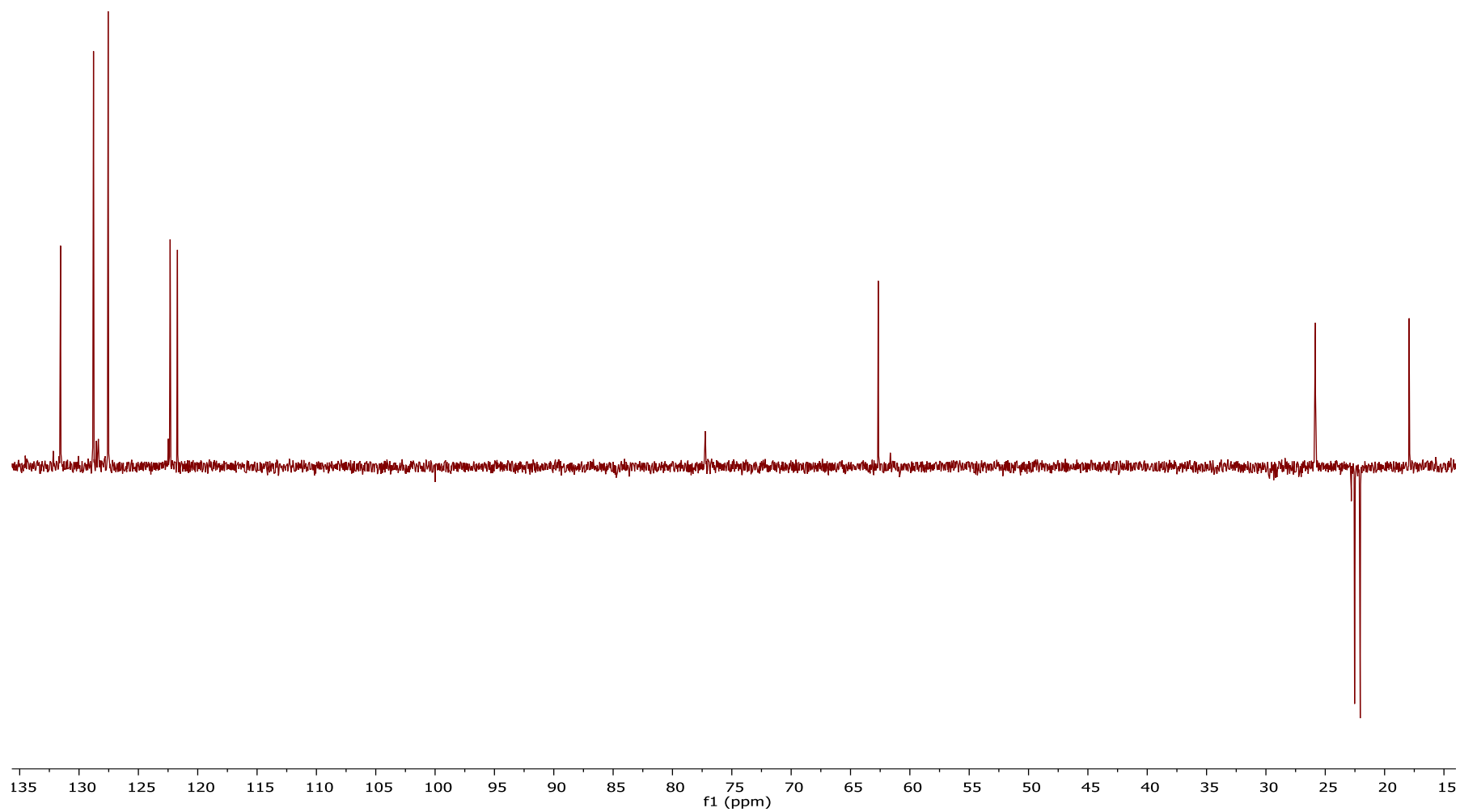


FIGURA A.94- Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT da substância 13 em CDCl_3 (9,4 T).

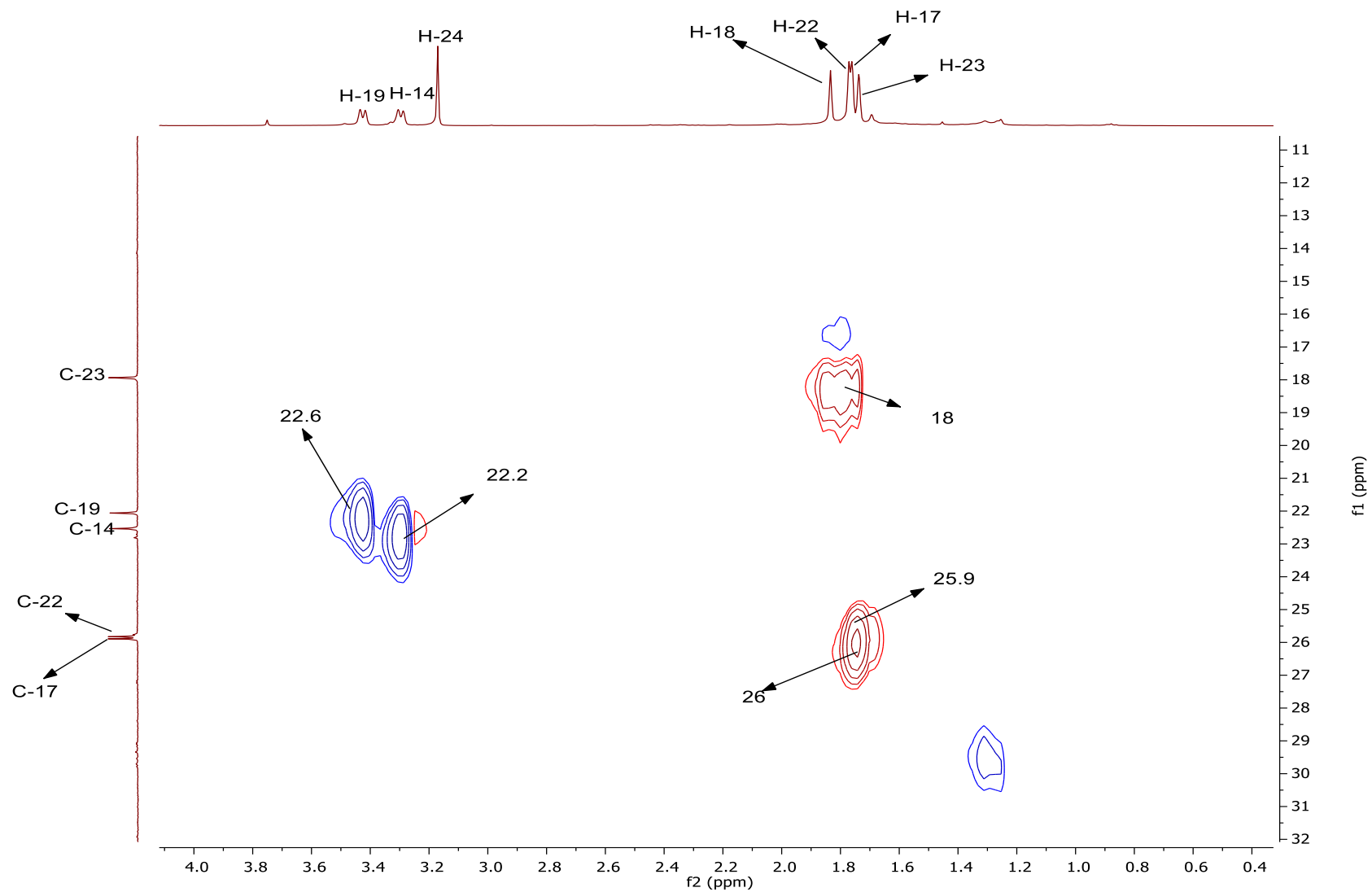


FIGURA A.95- Ampliação do espectro de mapa de contorno HSQC da Substância 13 em CDCl_3 (9,4 T).

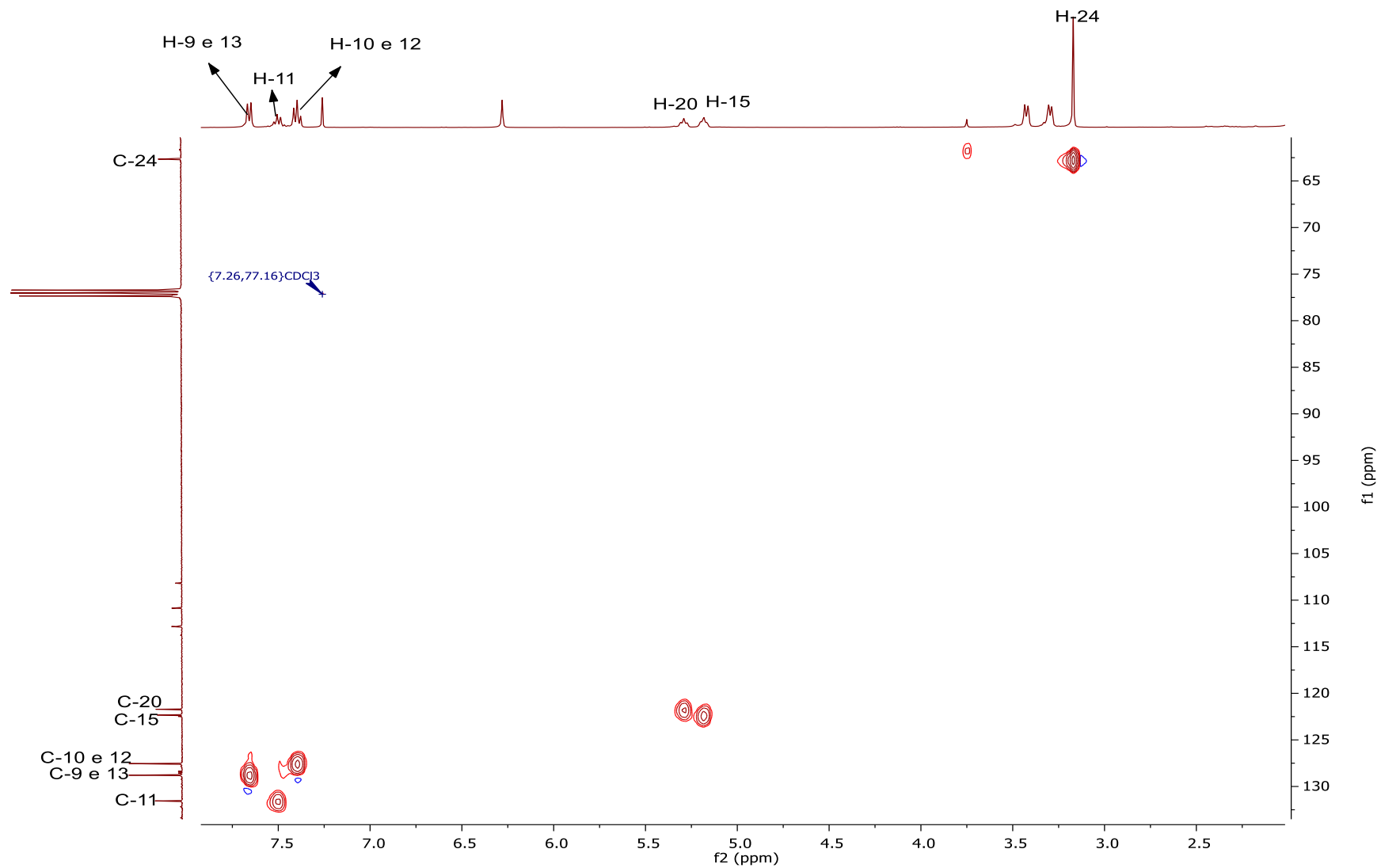


FIGURA A.96- Ampliação do espectro de mapa de contorno HSQC da Substância 13 em CDCl₃ (9,4 T).

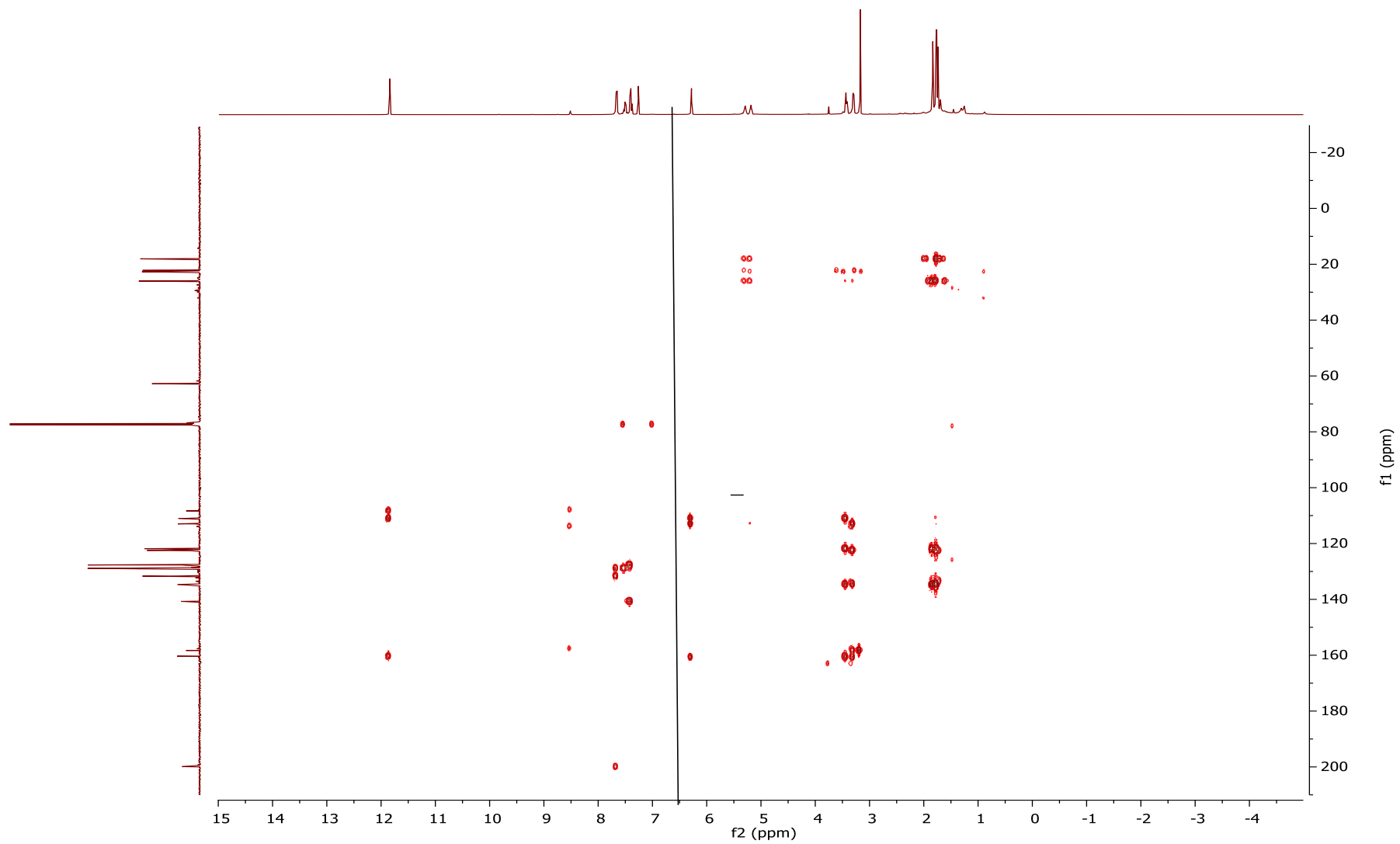


FIGURA A.97- Mapa de contorno HMBC da substância 13 em CDCl₃ (9,4 T).

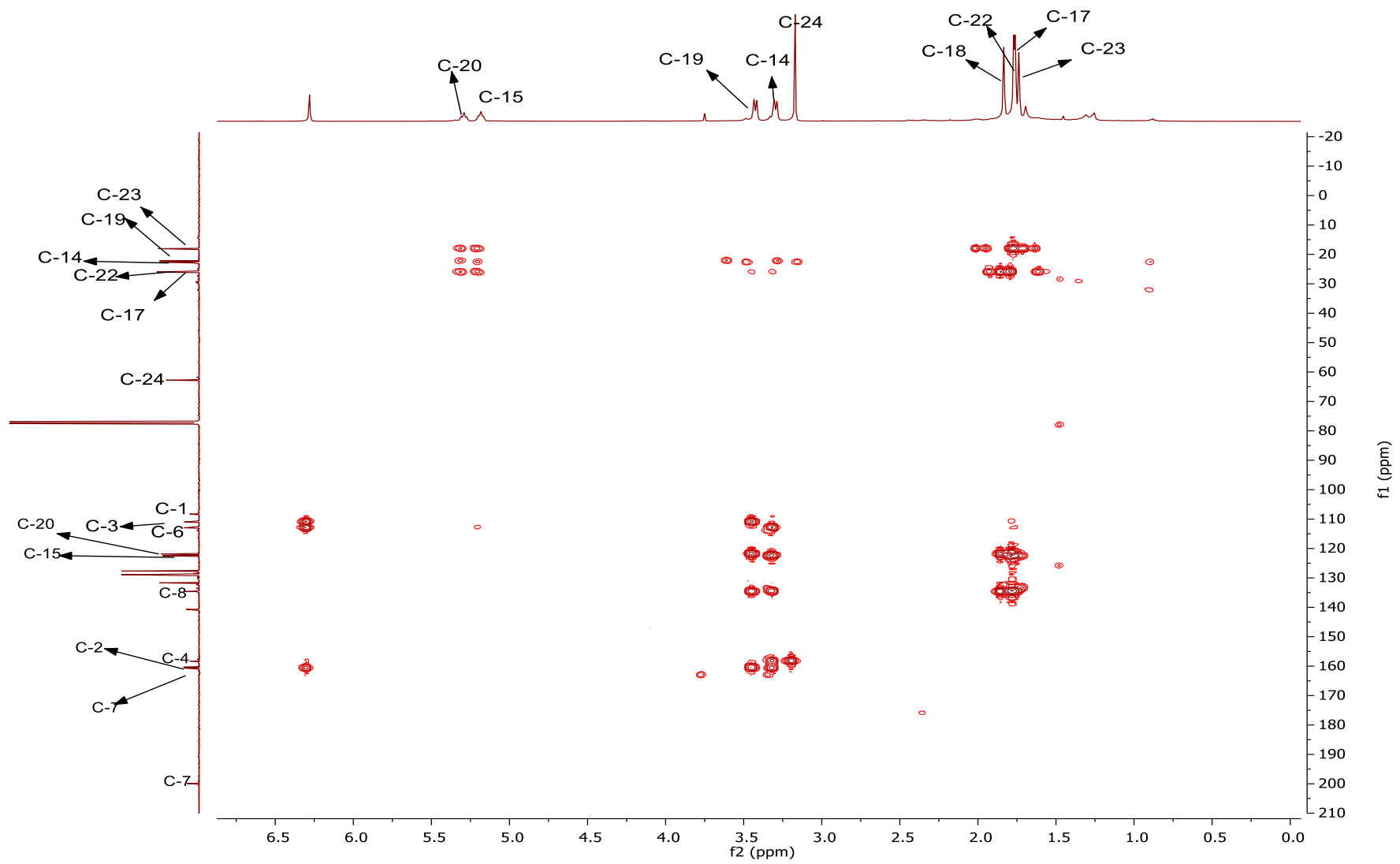


FIGURA A.98- Ampliação do espectro de mapa de contorno HMBC da substância 13 em CDCl₃ (9,4 T).

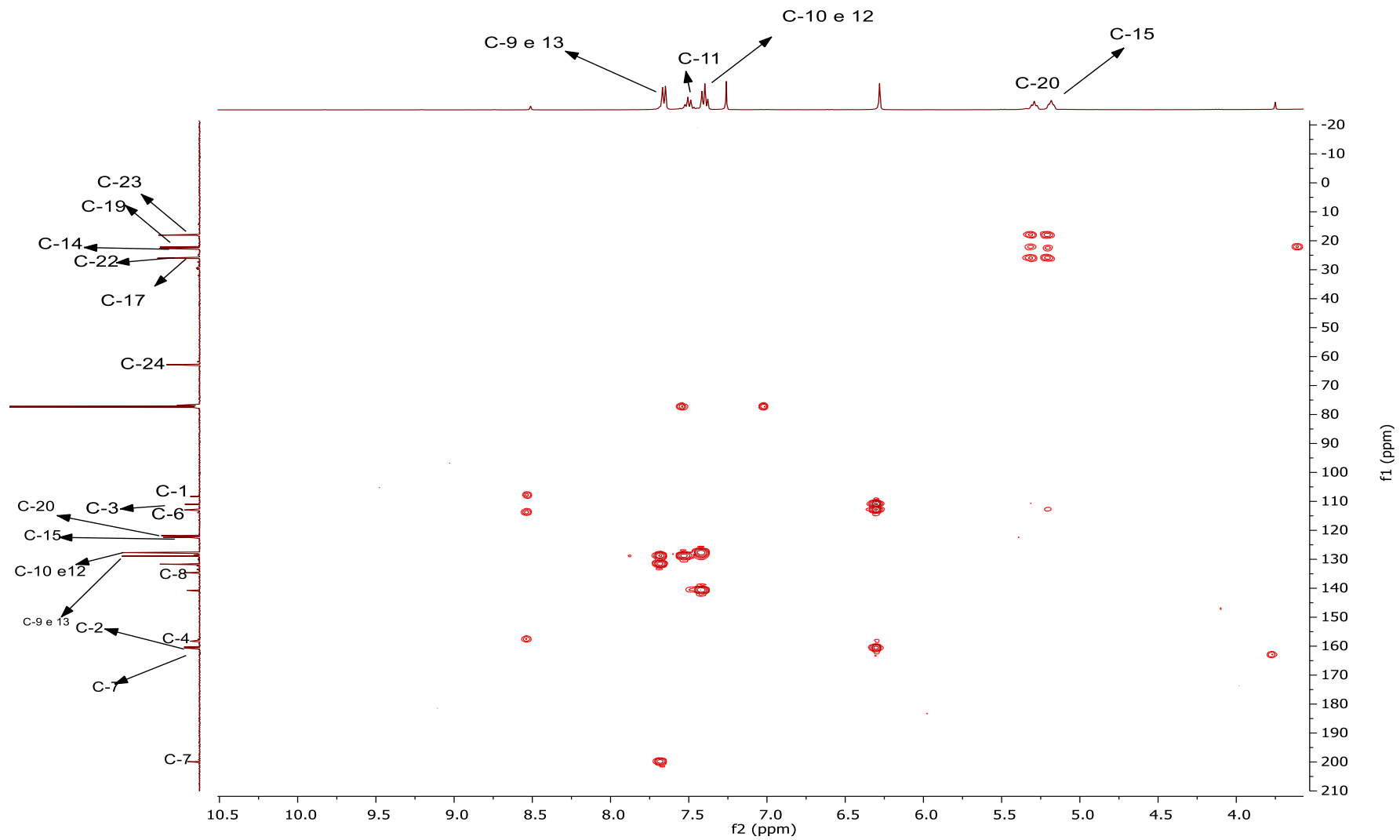


FIGURA A.99- Ampliação do espectro de mapa de contorno HMBC da substância 13 em CDCl_3 (9,4 T).

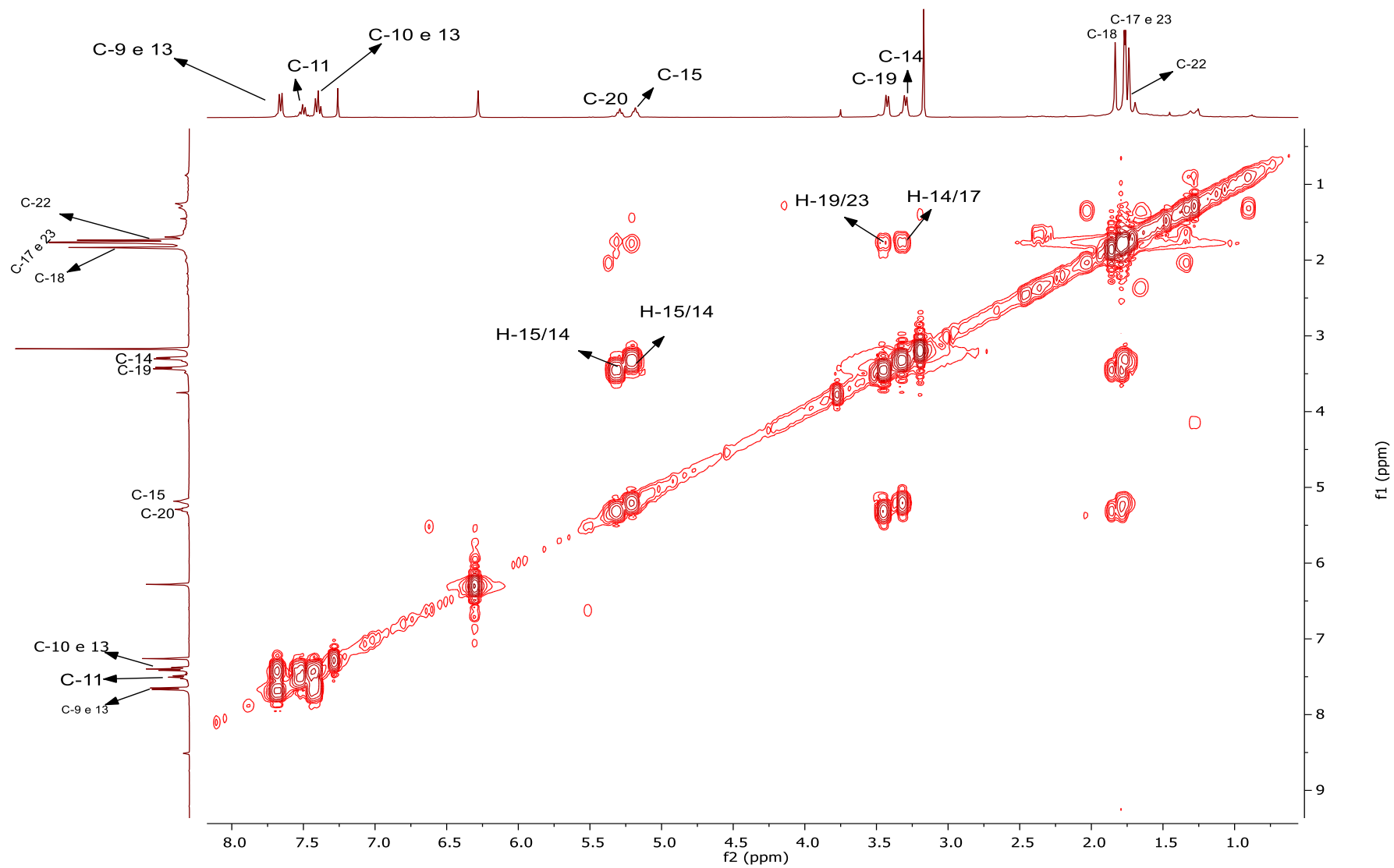


FIGURA A.100- Mapa de contorno COSY do Substância 13 em CDCl₃ (9,4 T).

Substância 14

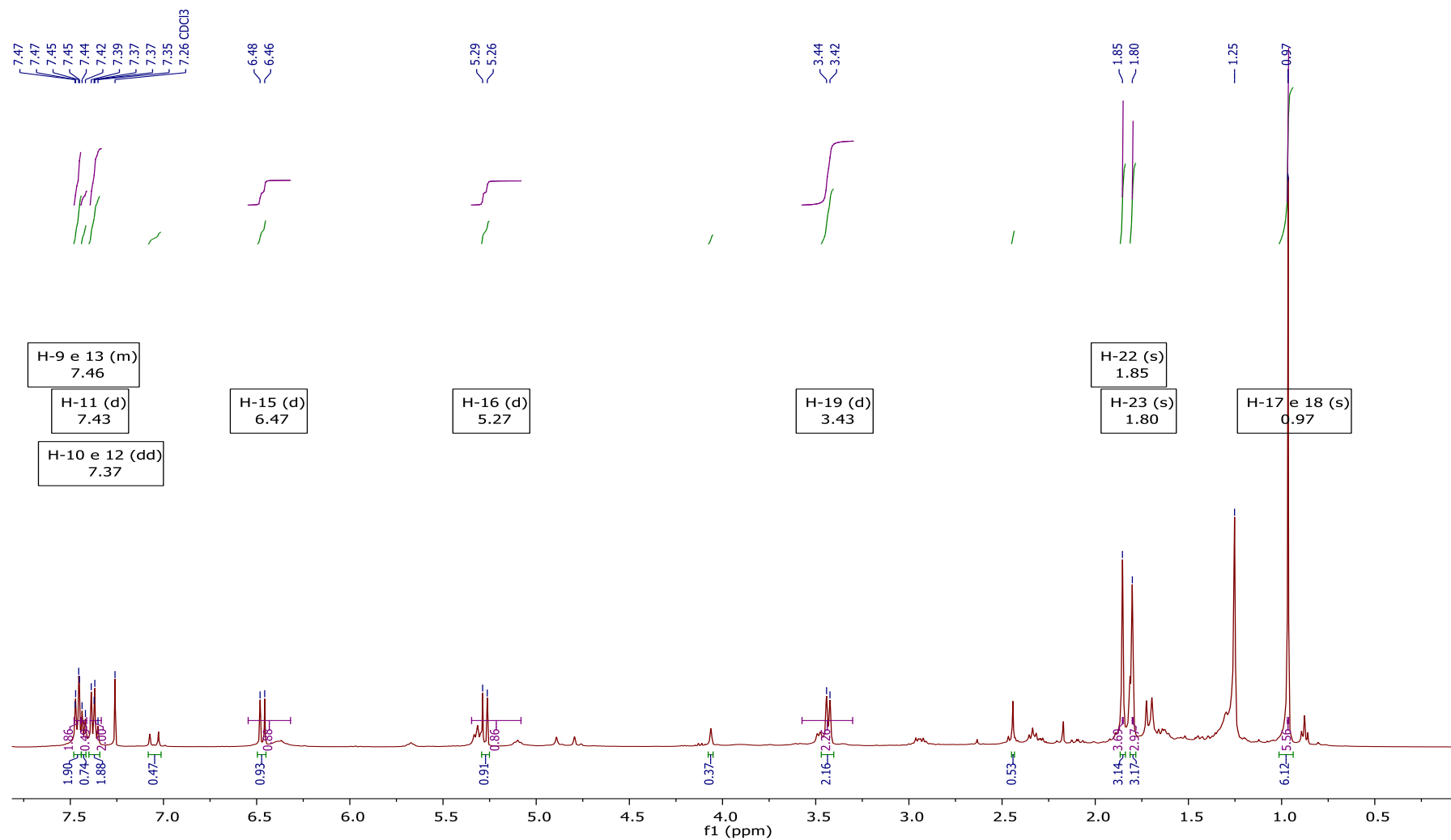


FIGURA A.101- Espectro de RMN de ^1H da Substância 5 em CDCl_3 (9,4 T).

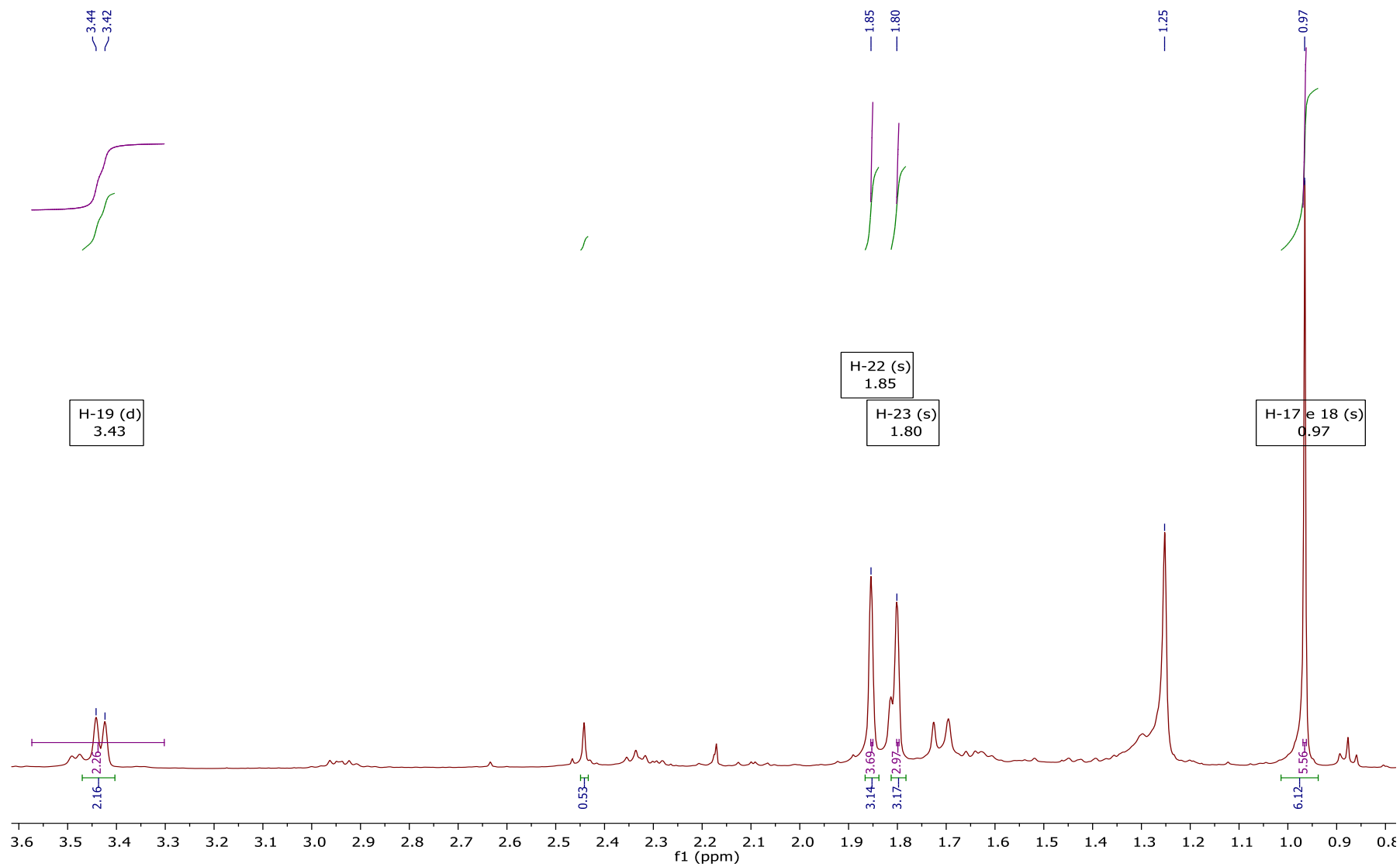


FIGURA A.102- Ampliação do Espectro de RMN de ^1H da Substância 14 em CDCl_3 (9,4 T).

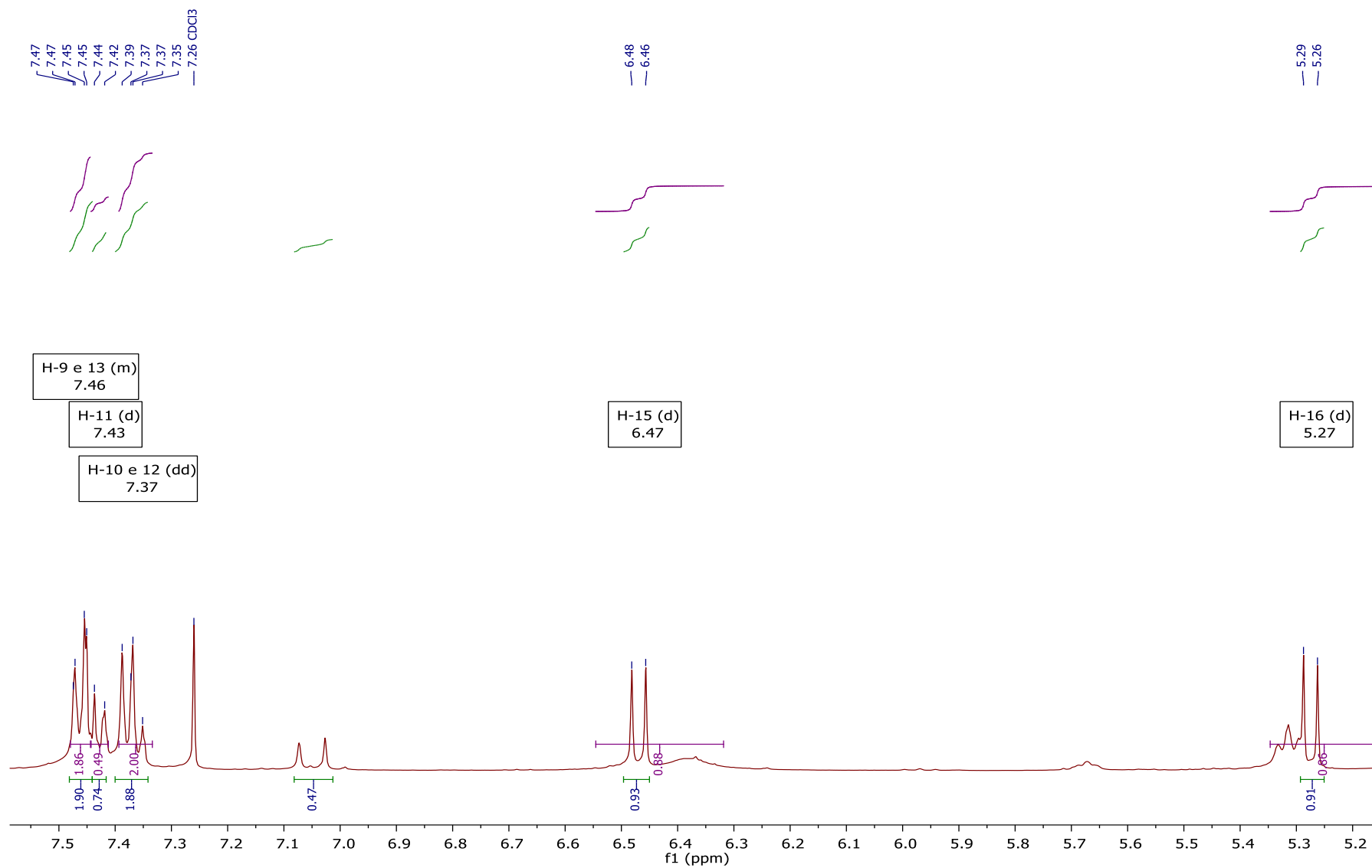


FIGURA A.103- Ampliação do Espectro de RMN de ¹H da Substância 14 em CDCl₃ (9,4 T).

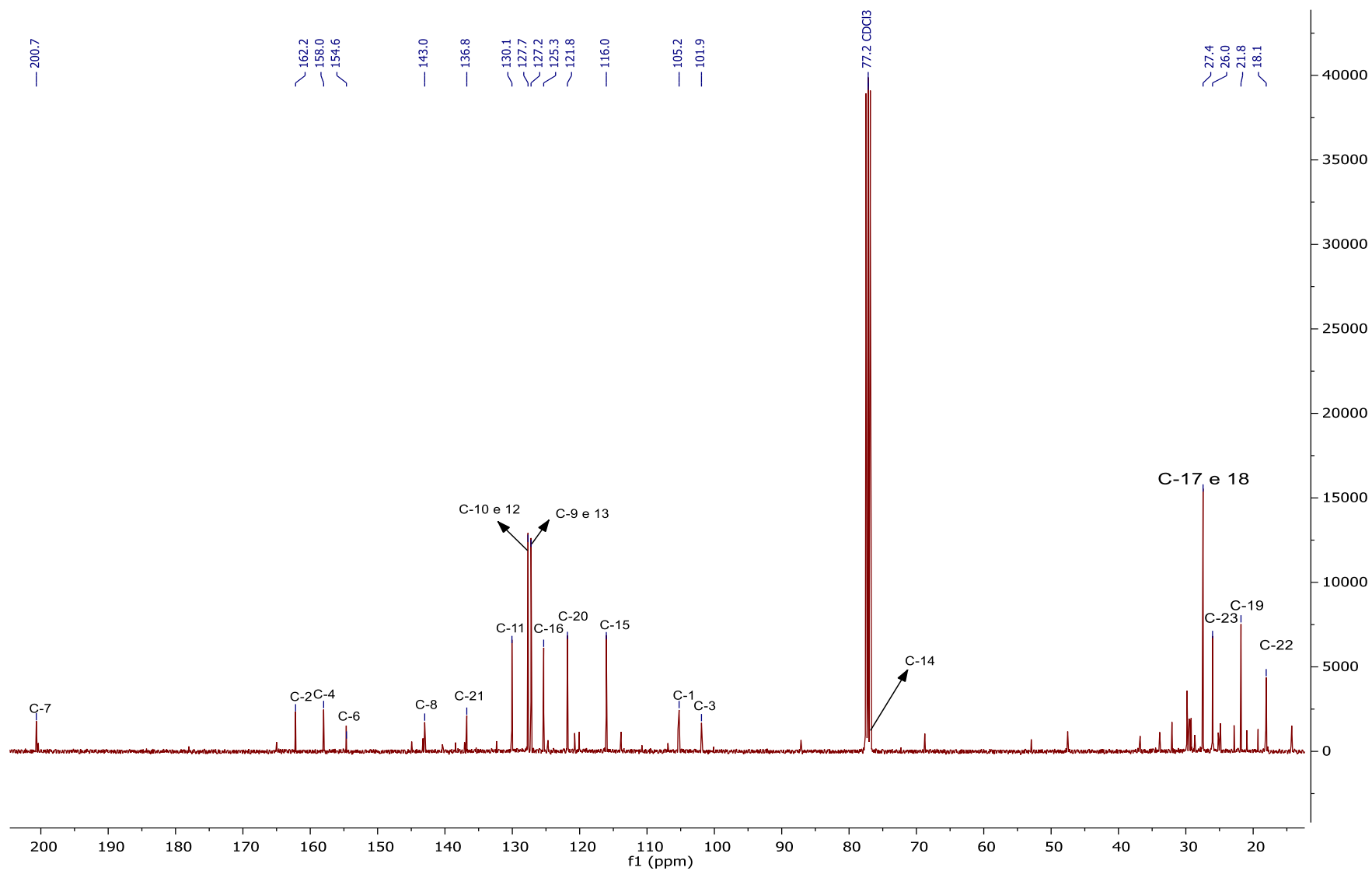


FIGURA A.104- Espectro de RMN de ¹³C{¹H} da Substância 14 em CDCl₃ (9,4 T).

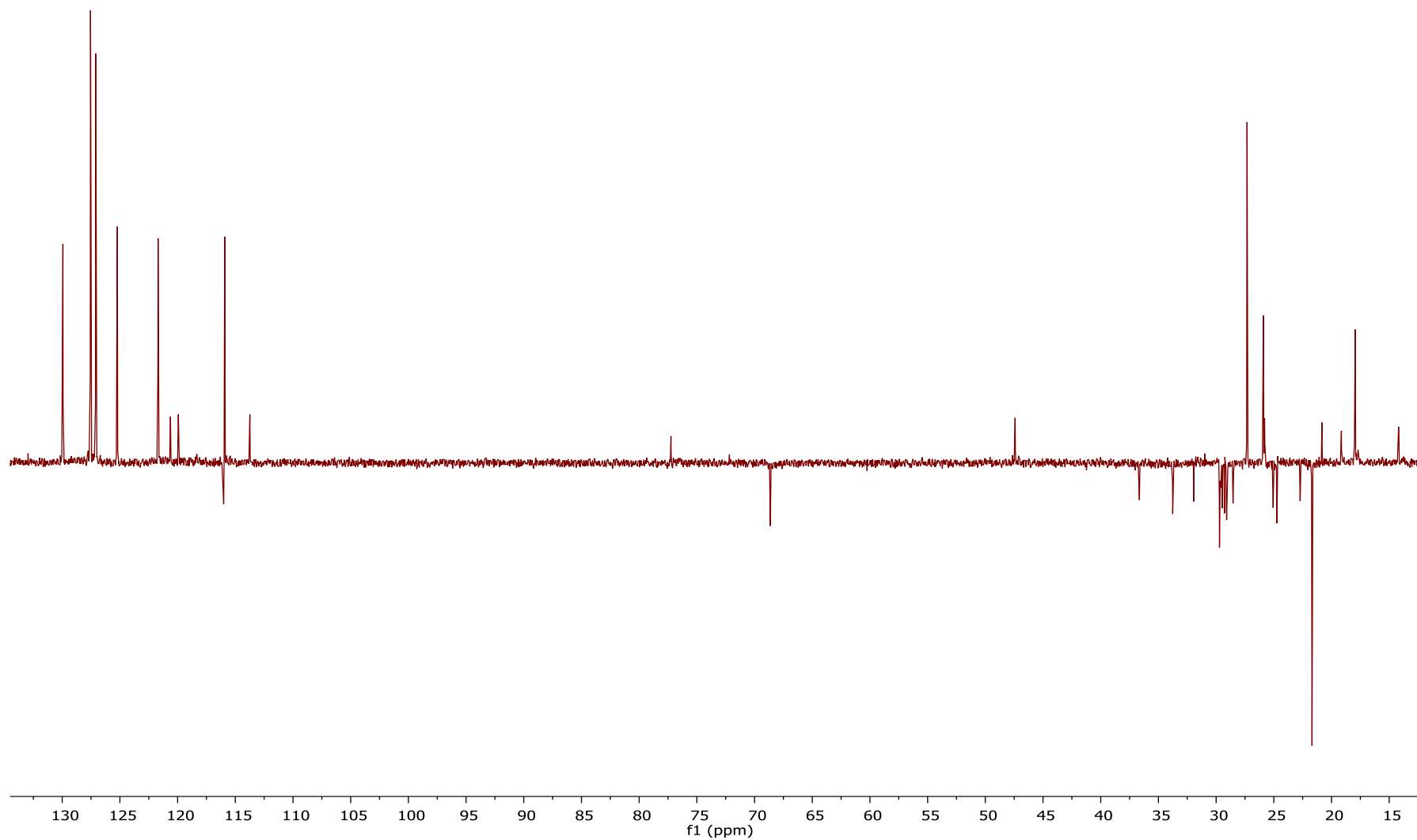


FIGURA A.105- Ampliação do Espectro de RMN de ^1H da Substância 14 em CDCl_3 (9,4 T)

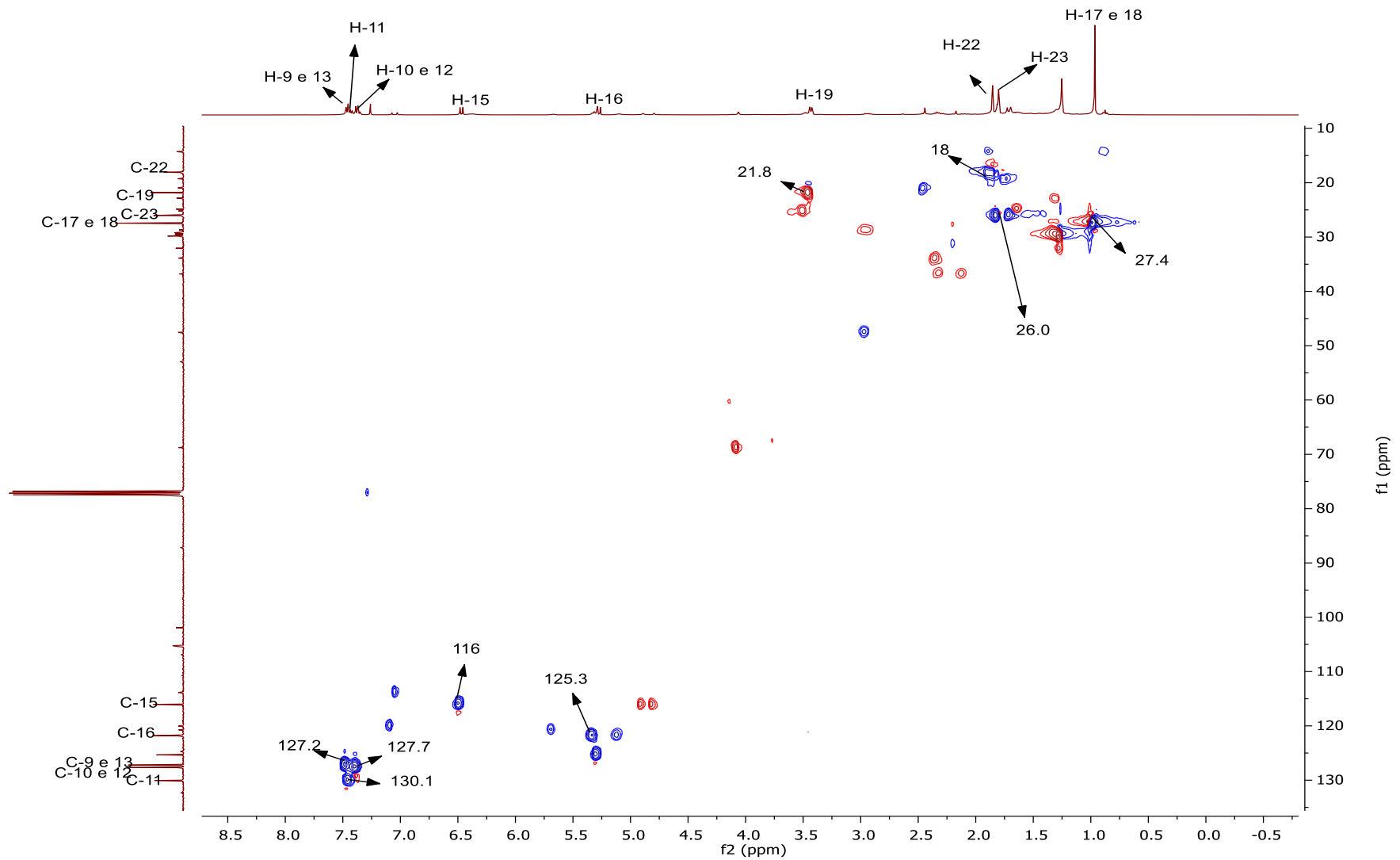


FIGURA A.106- Mapa de contorno HSQC da Substância 14 em CDCl₃ (9,4 T).

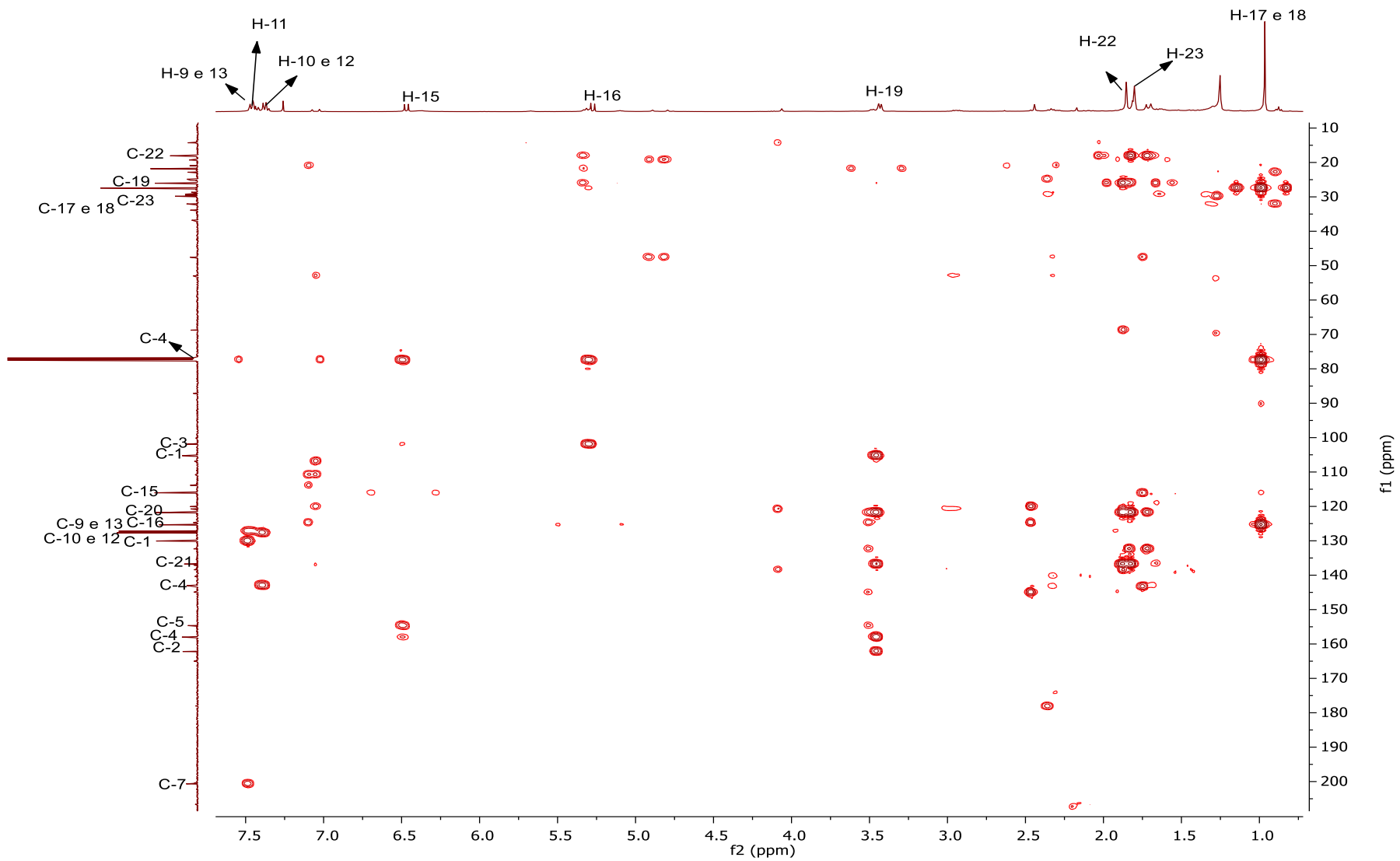


FIGURA A.107- Mapa de contorno HMBC da substância 14 em CDCl_3 (9,4 T).

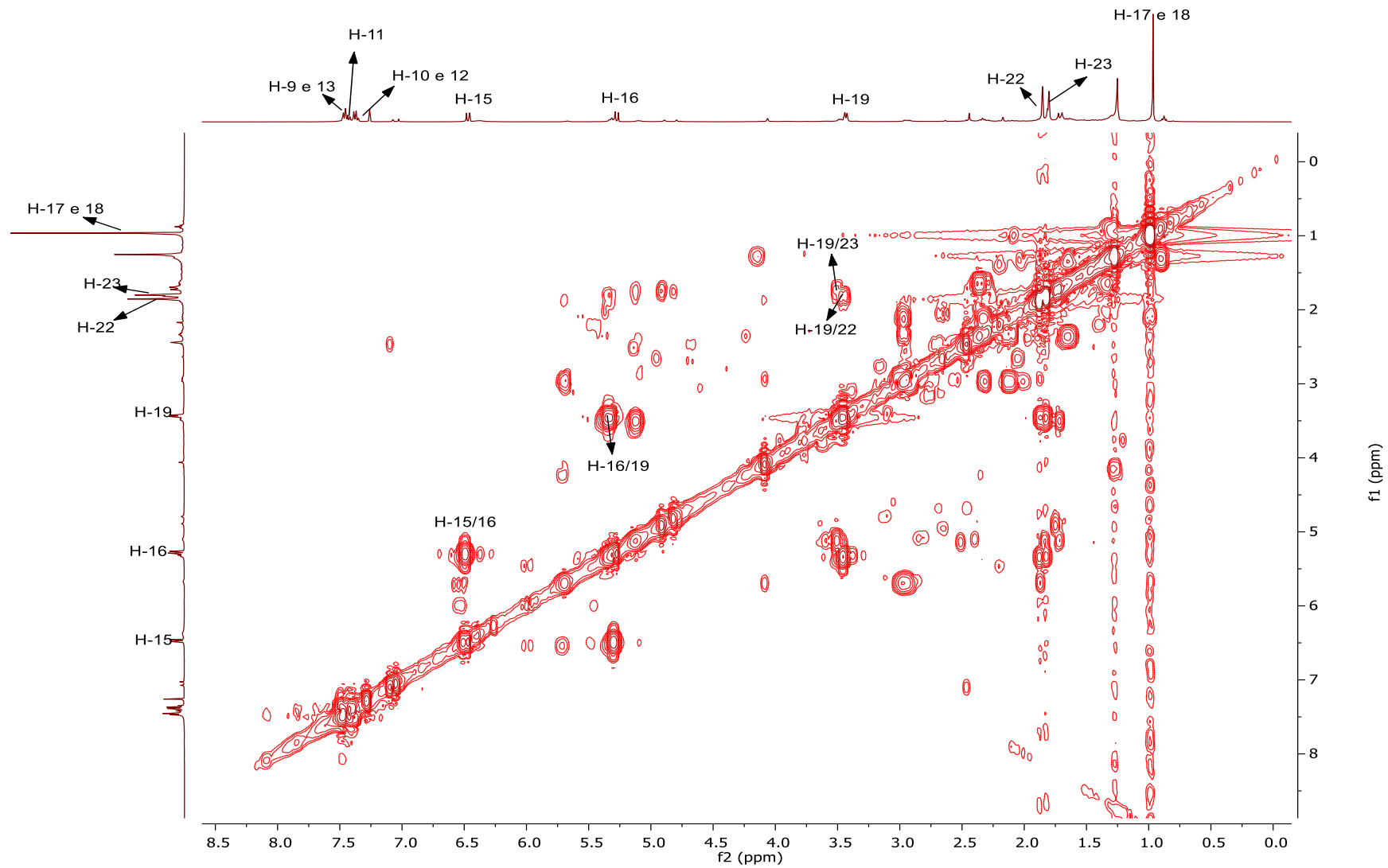


FIGURA A.108- Mapa de contorno COSY do Substância 14 em CDCl_3 (9,4 T).

Substância 15

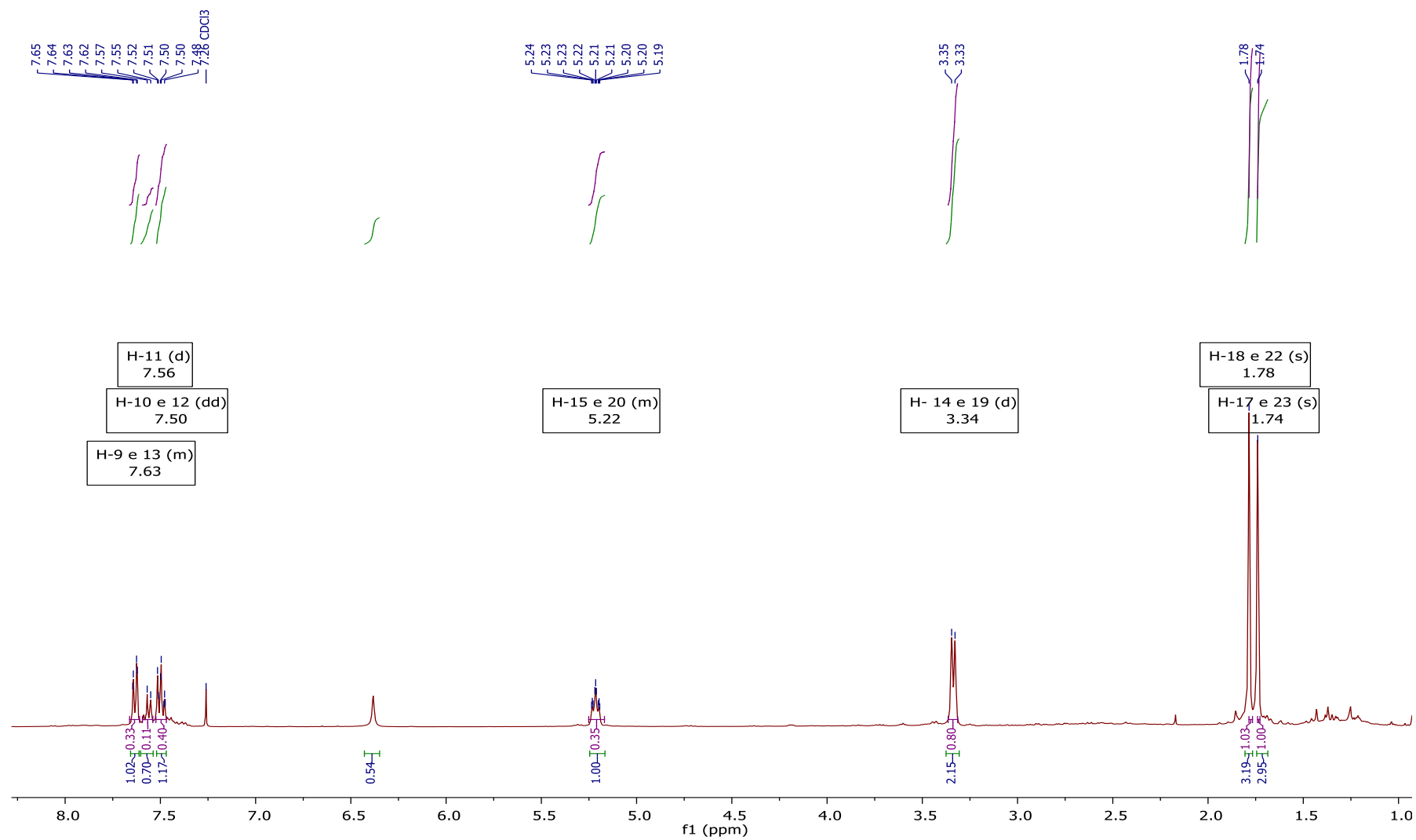


FIGURA A.109- Espectro de RMN de ^1H da Substância 15 em CDCl_3 (9,4 T).

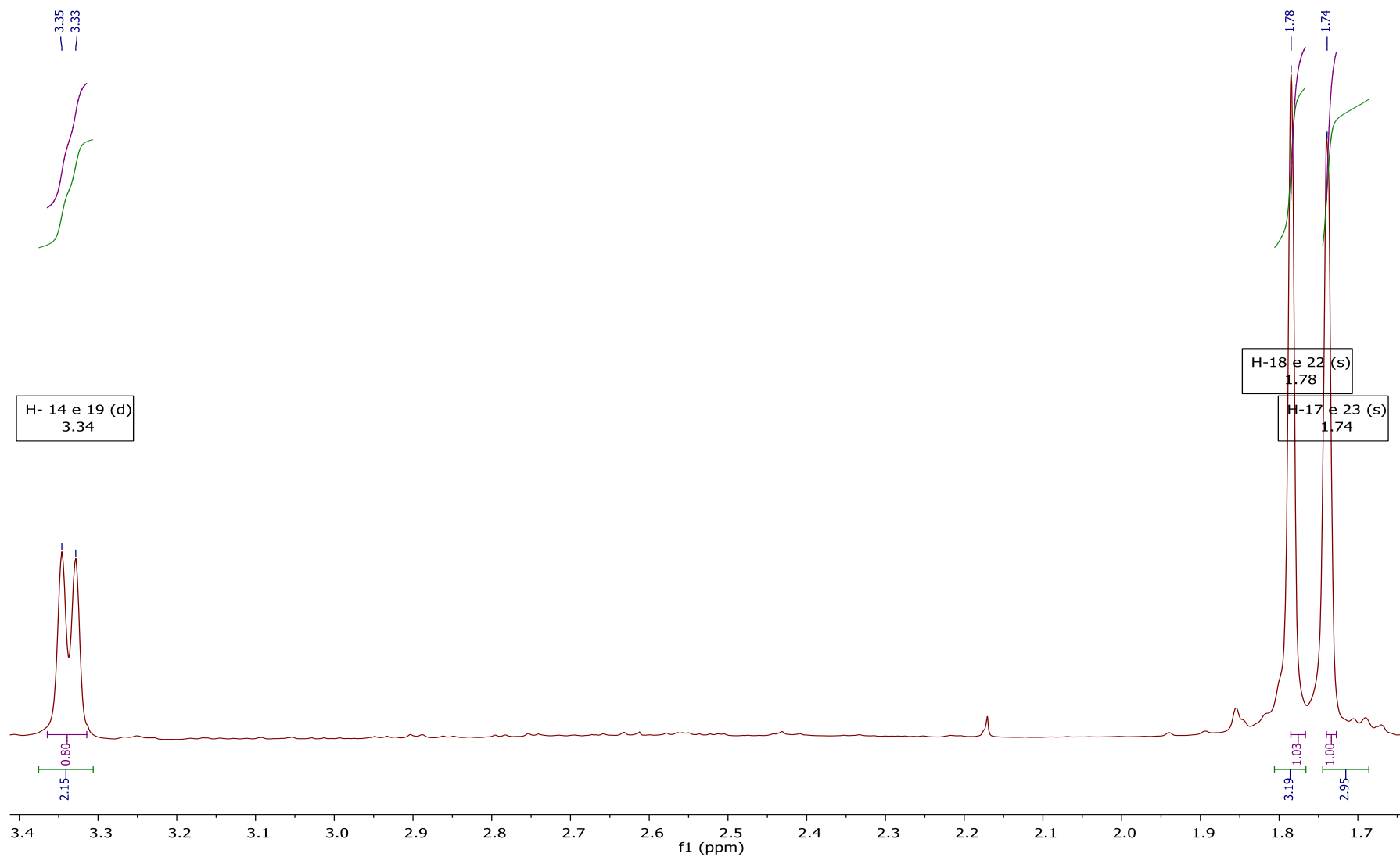


FIGURA A.110- Ampliação do Espectro de RMN de ^1H da Substância 15 em CDCl_3 (9,4 T).

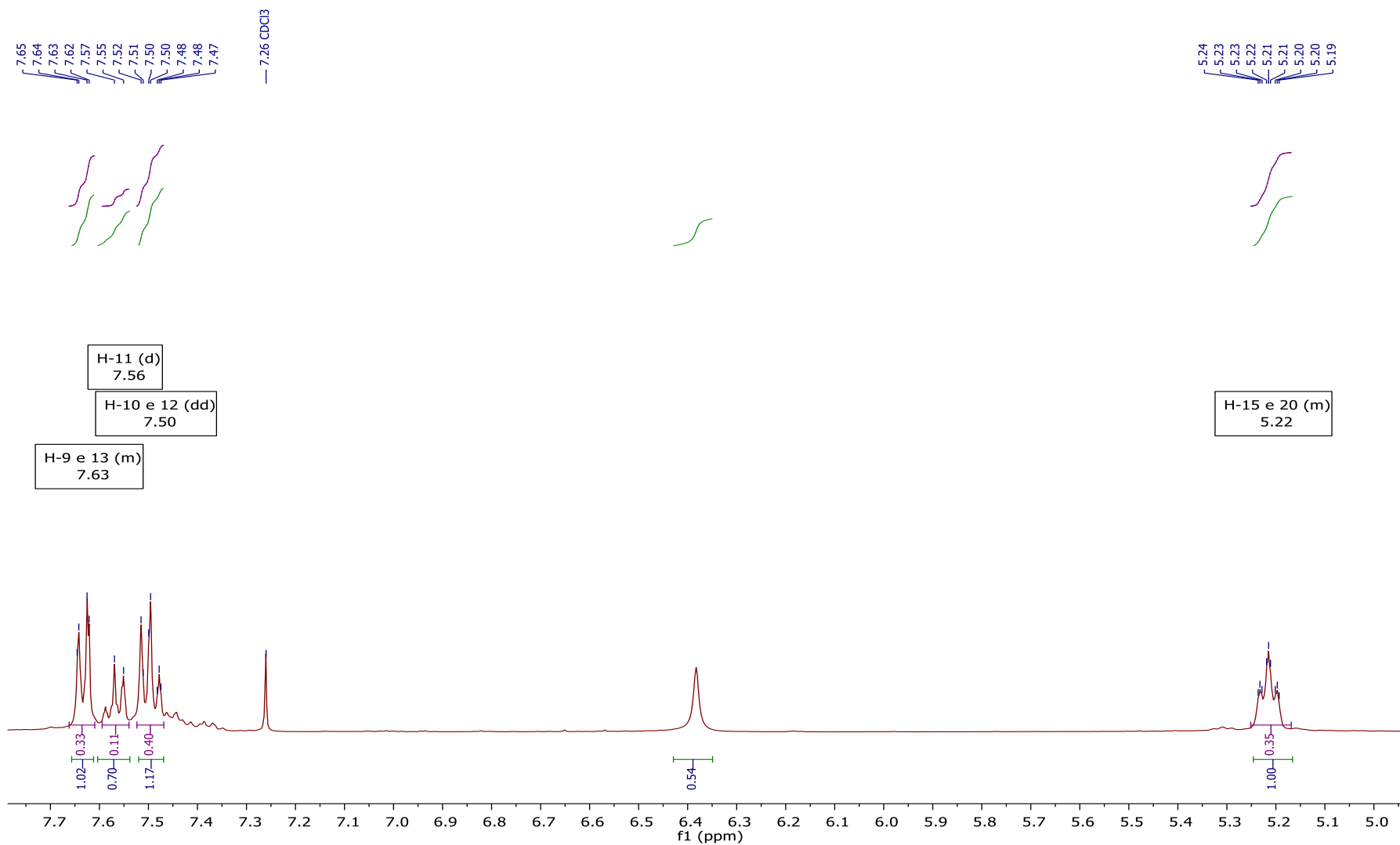


FIGURA A.111- Ampliação do Espectro de RMN de ¹H da Substância 5 em CDCl₃ (9,4 T).

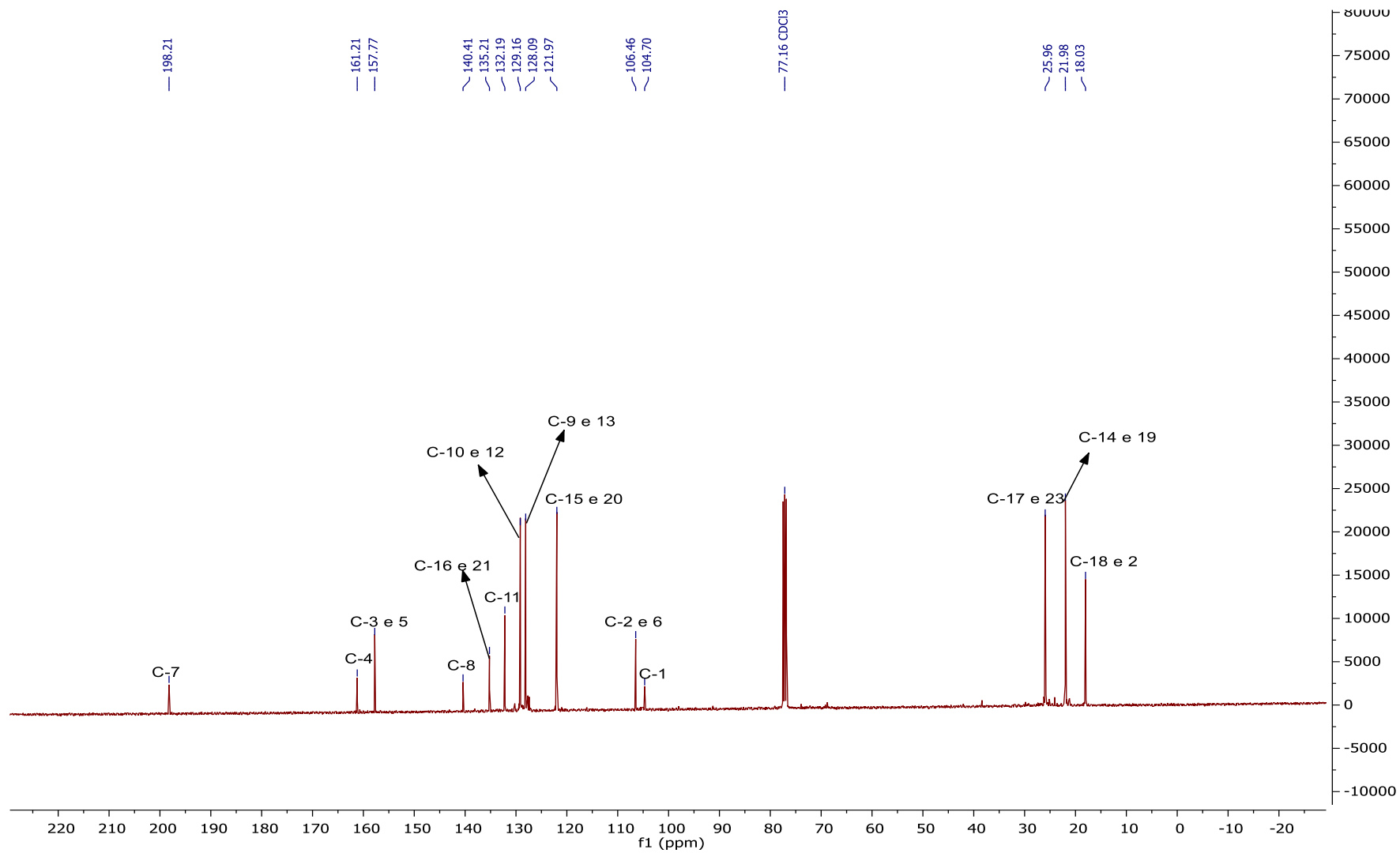


FIGURA A.112- Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ da Substância 15 em CDCl_3 (9,4 T).

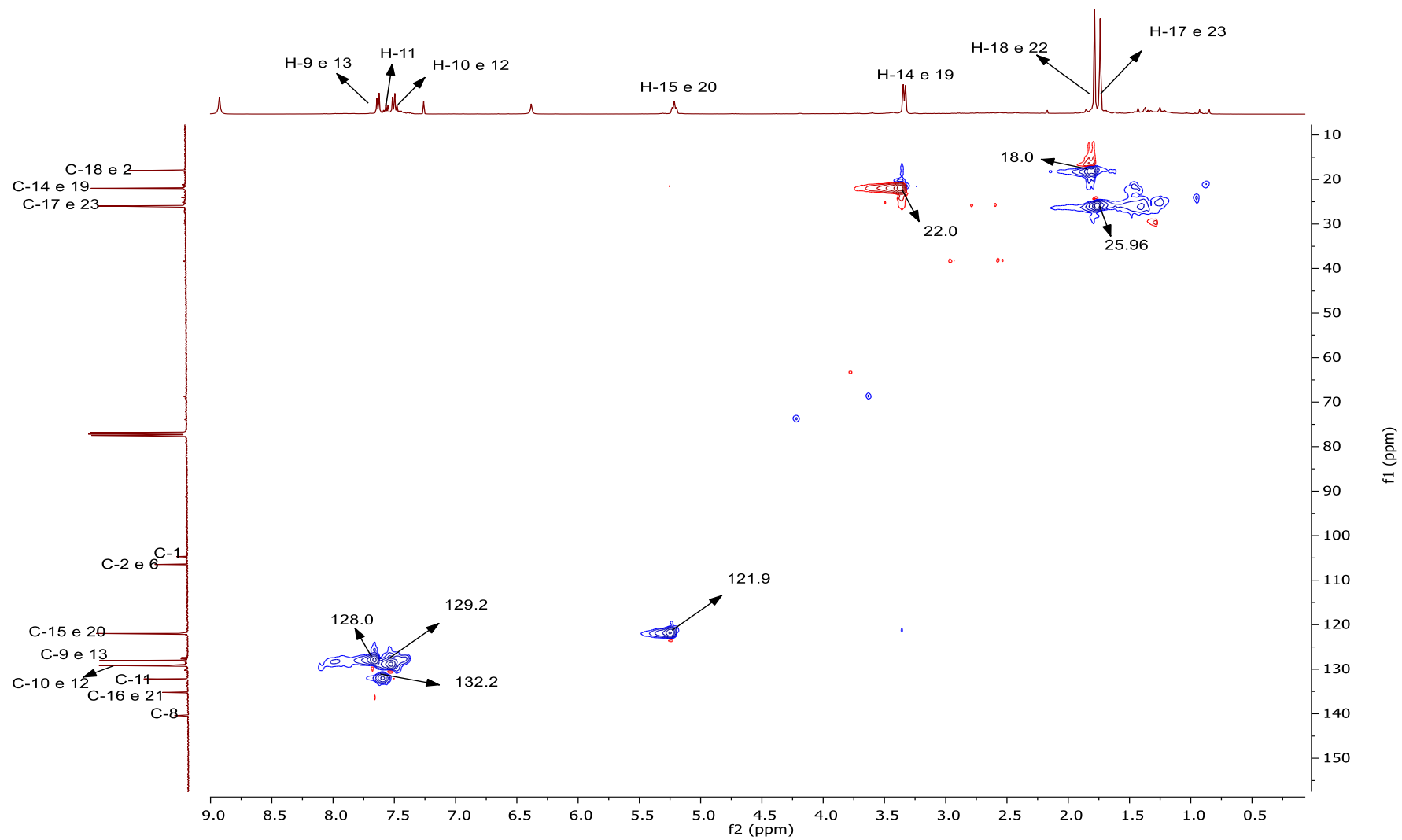


FIGURA A.113- Mapa de contorno HSQC da Substância 15 em CDCl_3 (9,4 T).

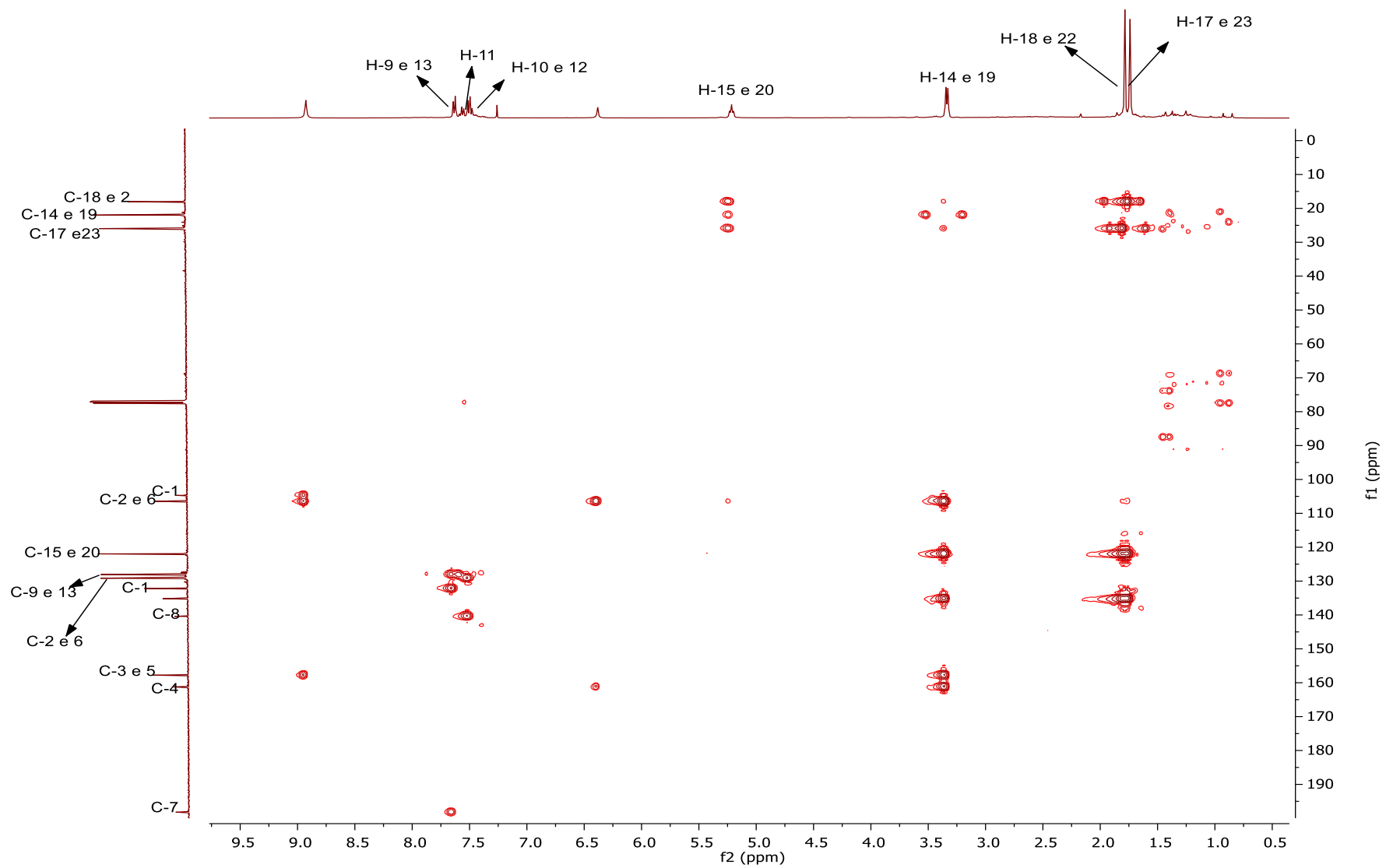


FIGURA A.114- Mapa de contorno HMBC da substância 15 em CDCl_3 (9,4 T).

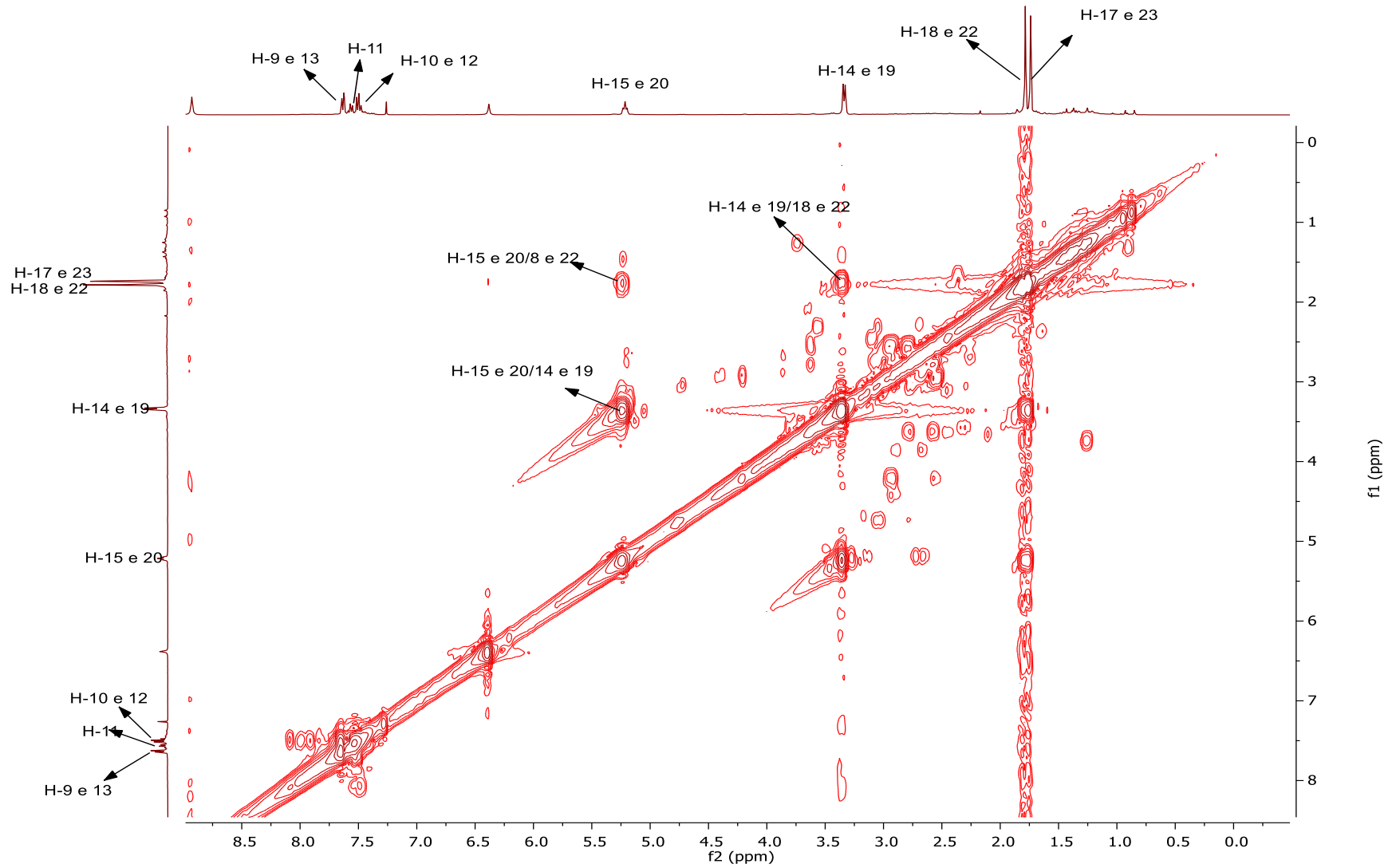


FIGURA A.115- Mapa de contorno COSY do Substância 15 em CDCl_3 (9,4 T).

Substância 16

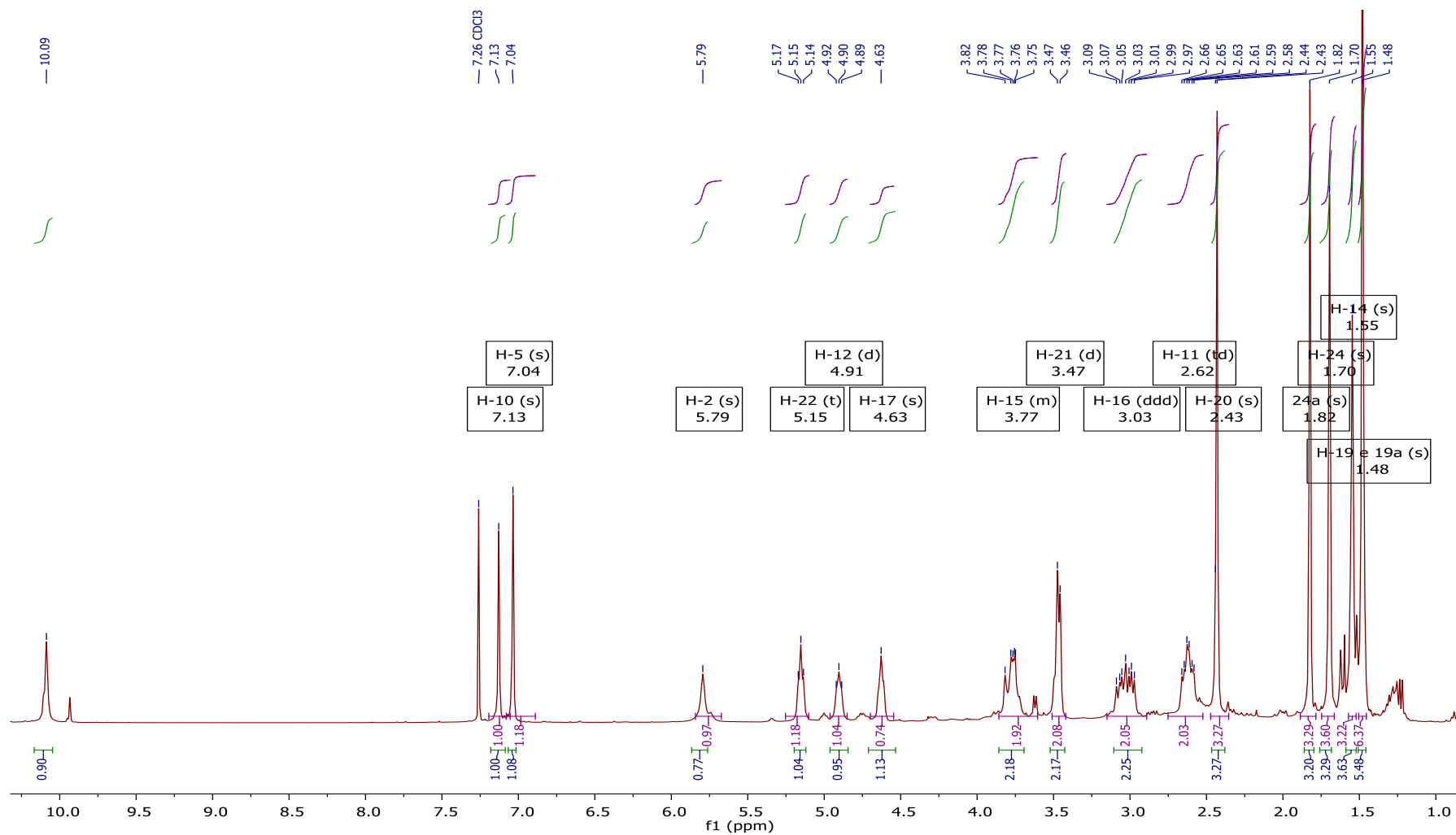


FIGURA A.116- Espectro de RMN de ¹H da Substância 16 em CDCl₃ (9,4 T).

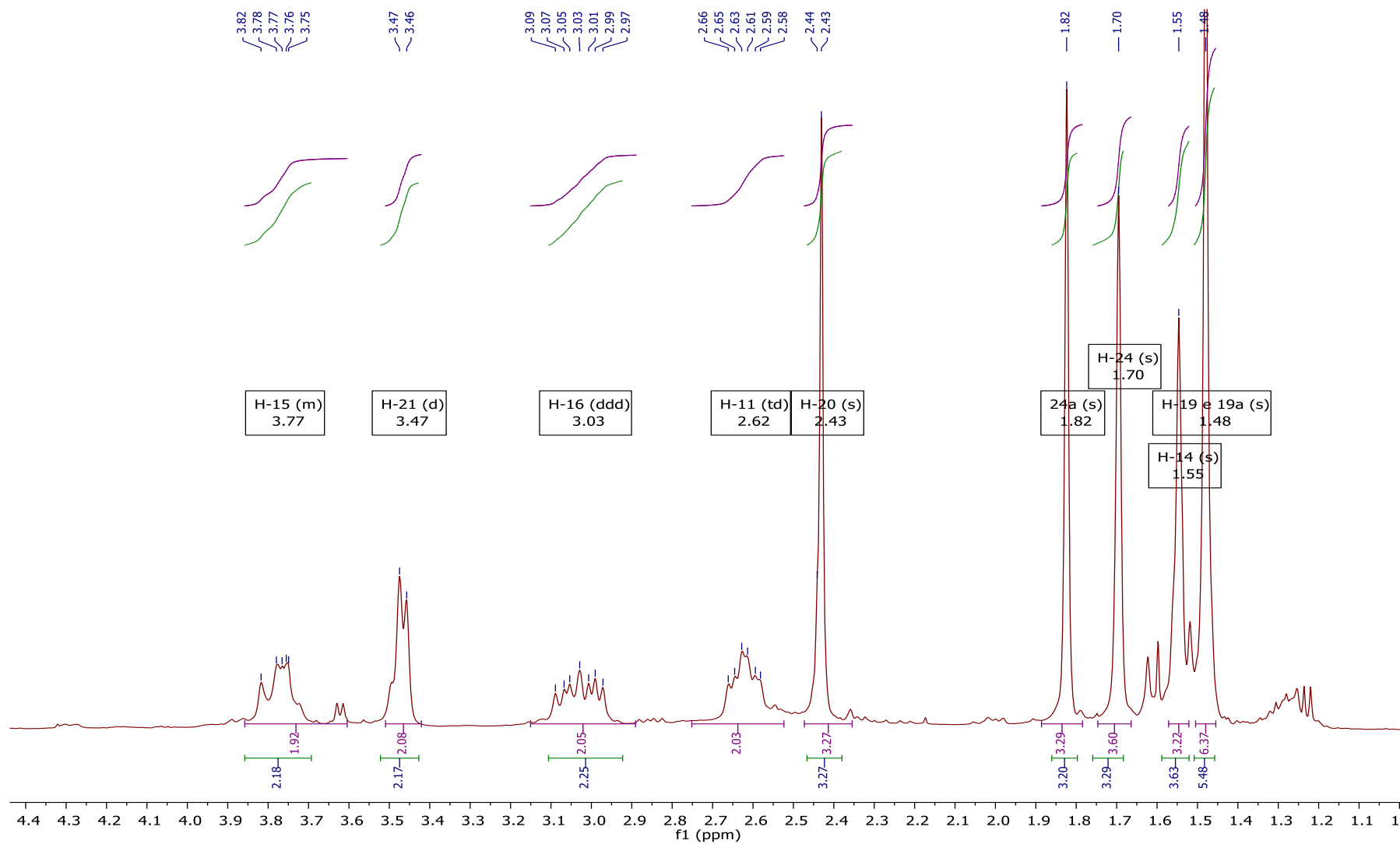


FIGURA A117- Ampliação do Espectro de RMN de ^1H da Substância 16 em CDCl_3 (9,4 T).

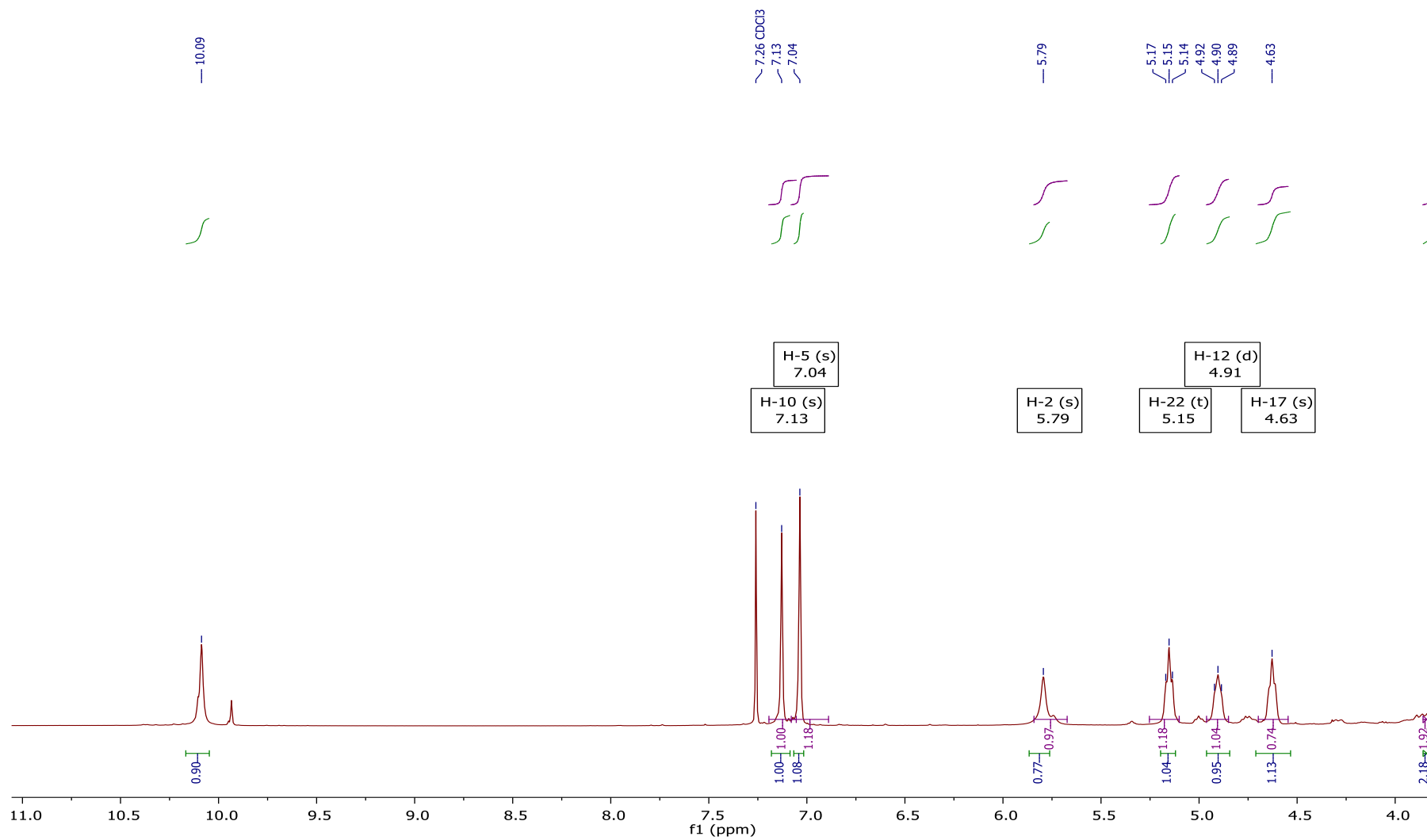


FIGURA A.118- Ampliação do Espectro de RMN de ^1H da Substância 16 em CDCl_3 (9,4 T).

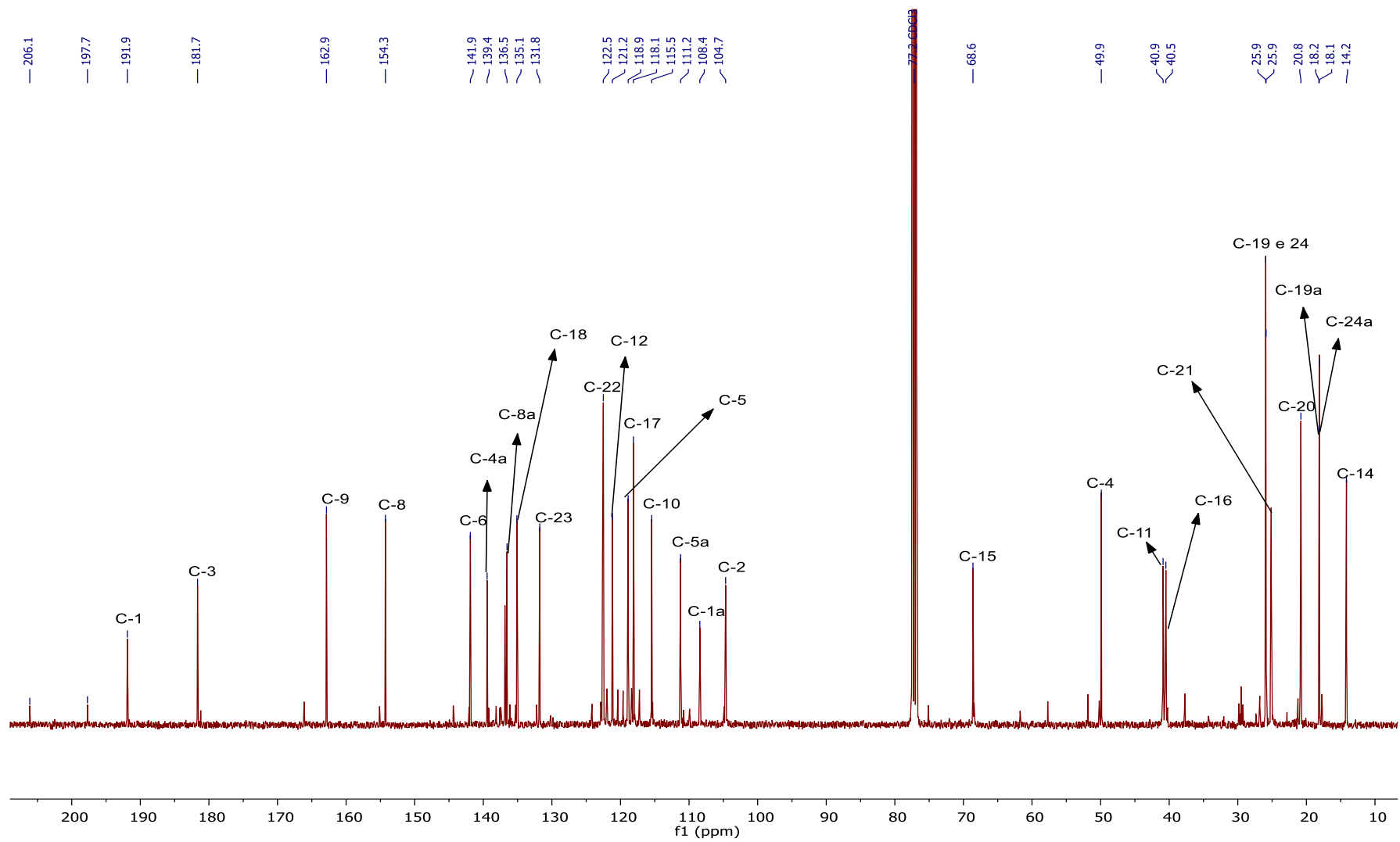


FIGURA A.119- Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ da Substância 16 em CDCl_3 (9,4 T).

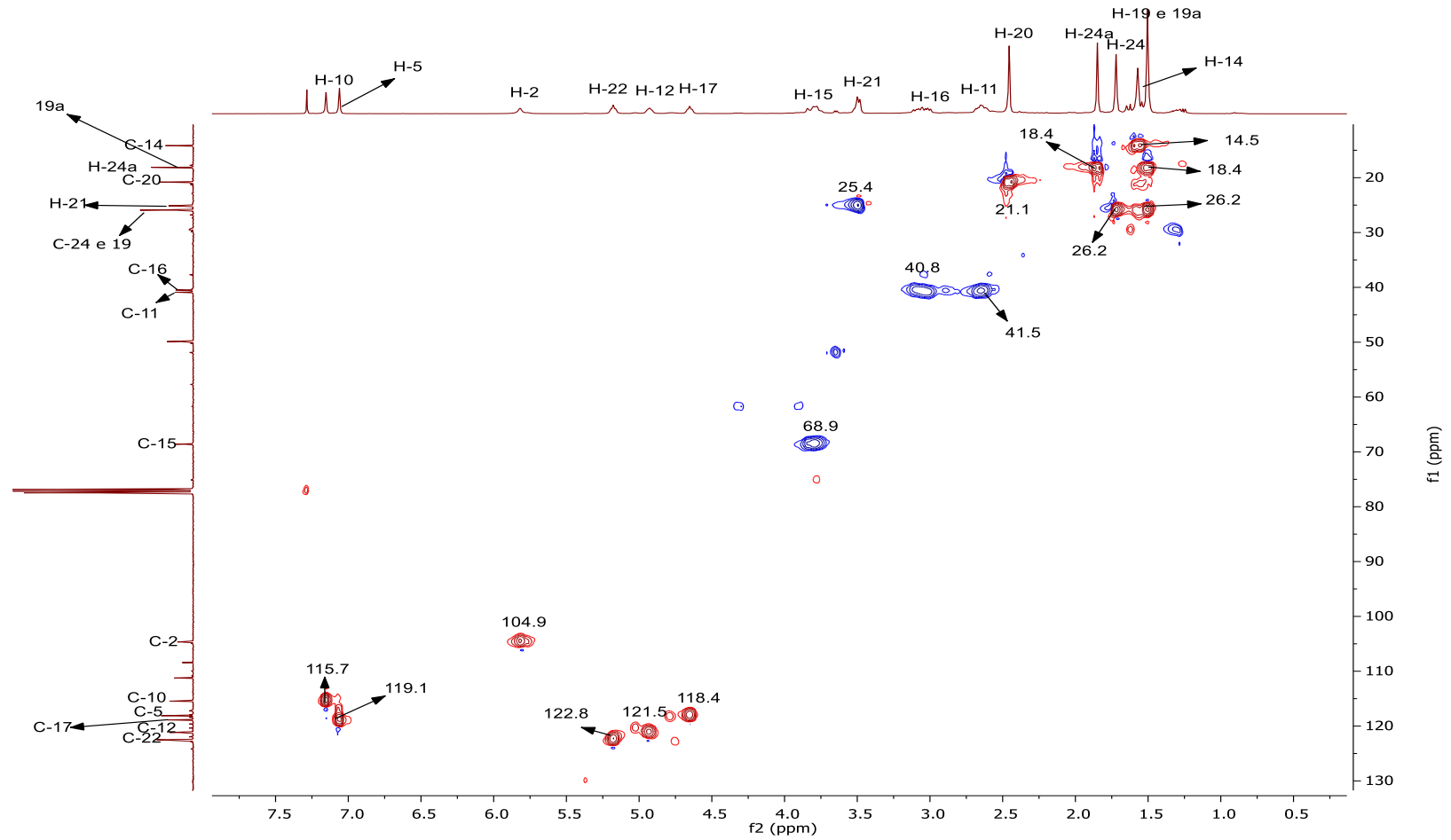


FIGURA A.120- Mapa de contorno HSQC da Substância 16 em CDCl_3 (9,4 T).

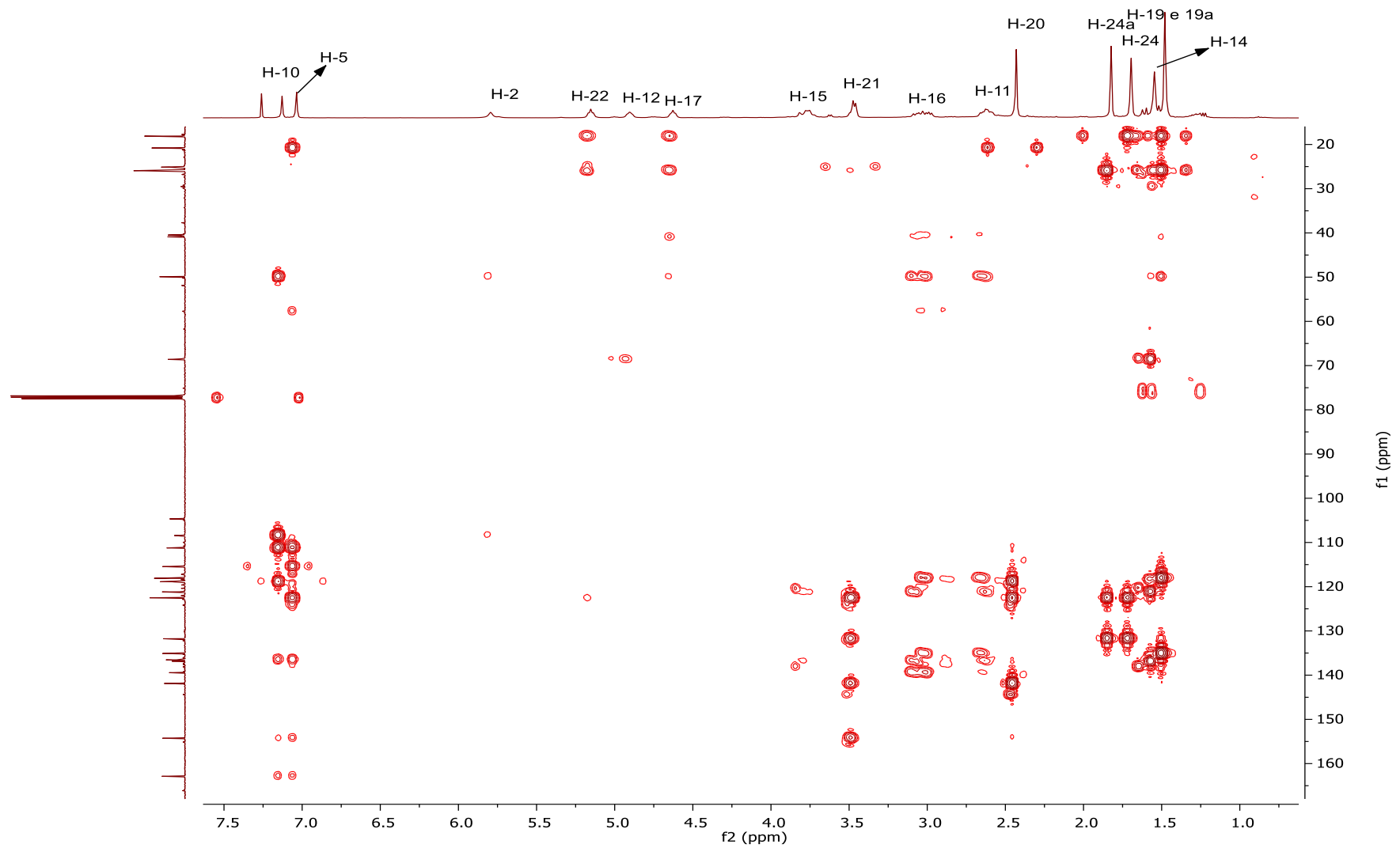


FIGURA A.121- Mapa de contorno HMBC da substância 16 em CDCl₃ (9,4 T).

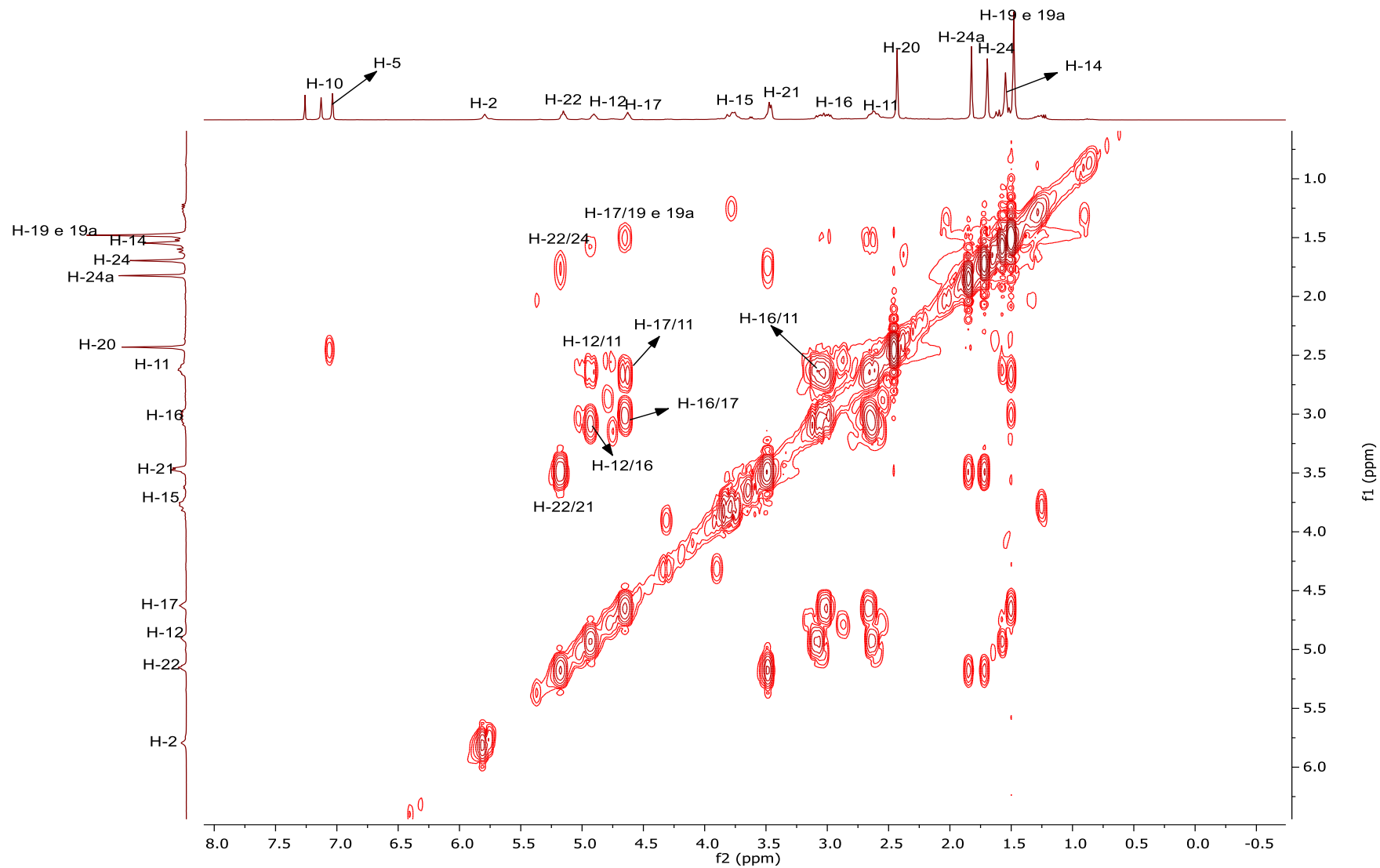


FIGURA A.122-Mapa de contorno COSY do Substância 16 em CDCl_3 (9,4 T).