

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA**

Gustavo Silva Queiroz

**FLAVONOIDES DE *Bunchosia armeniaca* E DERIVADOS DE
2-ARILIDENO-1- α -TETRALONA: OBTENÇÃO E ATIVIDADES
BIOLÓGICAS**

Dissertação submetida ao programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Santa Catarina para obtenção do Grau de Mestre em Química. Área de concentração: Química Orgânica.

Orientadora: Prof^a Dra. Ines Maria Costa Brighente
Co-orientador: Prof. Dr. Ricardo José Nunes

Florianópolis
2012

Gustavo Silva Queiroz

**FLAVONOIDES DE *Bunchosia armeniaca* E DERIVADOS DE
2-ARILIDENO-1- α -TETRALONA: OBTENÇÃO E ATIVIDADES
BIOLÓGICAS**

Esta Dissertação foi julgada e aprovada para a obtenção do título de Mestre em Química no Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Santa Catarina.

Florianópolis-SC, 28 de Fevereiro de 2012.

Prof. Almir Spinelli
Coordenador do Programa

Banca Examinadora:

Prof.^a Dr.^a Inês Maria Costa Brighente
(Orientadora – UFSC)

Prof. Dr. Ricardo José Nunes
(Co-orientador – UFSC)

Prof.^a Dr.^a Michele Debiasi Alberton Magina
(Examinadora – FURB)

Prof. Dr. Miguel Soriano Balparda Caro
(Examinador – UFSC)

Prof. Dr. Vanderlei Gageiro Machado
(Examinador – UFSC)

DEDICATÓRIA

A imaginação é mais importante que a ciência, porque a ciência é limitada, ao passo que a imaginação abrange o mundo inteiro.

Albert Einstein

Dedico este trabalho
à minha família
e à família que estou construindo.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho não teria sido possível sem a contribuição de todos que agradeço a seguir.

À CAPES, ao CNPQ e à UFSC pelo apoio financeiro.

À Professora Ines Brighente que é pra mim mais do que orientadora de pesquisa, mas é também uma amiga e parceira de várias conversas e reflexões.

Aos professores Moacir Pizzolatti, Ricardo Nunes e Rosendo Yunes que foram mais que mestres me ensinando muito mais do que química, mas muito sobre os valores da vida.

Aos meus colegas e amigos do Lab. de Química de Produtos Naturais – LQPN: Ana Paula, Aldo Sena, Cristian Soldi (fidumaégua), Dalila Venzke, Francieli Kanumfre, Guilherme Colla, Henrique Moresco, Heros Horst (sexta tem caipira!), Ingrid Cavalcanti, Juliana Dalmarco (ai que vontade... já passou!!), Leandro Espíndola (Leko, quem é rico mora na praia...), Lizandra Bretanha (Liiiiiiiiza), Luciana Tavares (“Cabeção, tu vai ter tua cúia...”), Rafael Padoveze, Suelen Buratto, Thiago Schambach.

Aos meus colegas e amigos do Lab. Estrutura e Atividade – LEAT: Alessandra Mascarello, Bruna Voltolini, Jorge Haberbeck, Karin Mazur (IC radical), Louise Chiaradia (A chefe Lou), Luiz Felipe (... e o pintinho piu!), Marlon Cordeiro (“o Marlon Brando mantegou Maria Schneider...”), Patrícia Neuenfeldt e Romain.

Agradeço ao Professor Miguel Caro e ao amigo e colega Heros Horst que me auxiliaram no manuseio do aparelho de RMN 200 MHz da Bruker® estando sempre disponível quando eu precisava de “socorro”.

Agradeço a todos que colaboraram com a execução deste trabalho: Professor Daniel Falkenberg, que fez a identificação botânica da espécie estudada; Professor Eduardo Dalmarco, que executou os testes antibacterianos e antiinflamatórios; Melina Heller, que, sob orientação do Professor Gustavo Micke, fez as análises em eletroforese capilar; Louise Chiaradia, que, sob orientação do Professor Hernán Terenzi, fez os testes com as enzimas PtpA e PtpB; A equipe da Central de Análises do Depto de Química, Ângelo (Passarinho), Eliane e Marcelo que fizeram todas as

análises de RMN de ^1H e de ^{13}C e IV e ao Professor Adailton que fez as análises com difratômetro de raios X. Também não posso deixar de agradecer à grande amiga e parceira musical Leila Maria (Leiloka), que se tornou nossa fornecedora “oficial” de vidrinhos de injeção para armazenarmos nossos compostos.

Agradeço a Deus e à minha família, especialmente meus pais Isabel e Enedino, meus irmãos Ismar, Elaine, Laize e Priscyla (Magrela), meus primos Marcos e Mauro e aos meus tios de Florianópolis Pio, Áurea e Marizete. Todos sempre me deram apoio e incentivo nesta jornada.

Meu agradecimento todo especial para minha amada Juliana Ried, que chamo carinhosamente de “Juzinha”, que se tornou meu porto seguro e mostrou o grande valor da verdade, liberdade e do amor. Agradeço também às famílias Borba e Ried, principalmente Waldir, Luci e Mariana, que também estavam me dando muita força e incentivo nesta jornada.

Agradeço também à psicóloga Vera Dias que se tornou uma amiga muito preciosa e que me conduziu na re-significação da minha história de vida.

Agradeço também aos meus três grupos musicais: Coral da UFSC, Nós & Vozes e banda Rock Hunter, que, além de estarem presentes nos meus momentos de lazer, tiveram que ficar de lado nos momentos mais atarefados na minha jornada.

Por fim agradeço aos amigos que, assim como alguns já citados, estiveram presentes em muitos momentos importantes da minha vida nesta jornada: Solomon Amoah, Angela Campos, Andressa Gilioli, Diogo Souza, Diogo Pereto, Jonathan Wilhelm, Raphael Moreira, Simone Schmidt, Miriam Moritz, Paulo Ibanez, Marisa Salgado, Mariana Sanches, Bárbara Giese, Danilo Wilhelm e todos aqueles que eu tenha esquecido de mencionar.

RESUMO

Dentre as dez maiores famílias de plantas presentes no Brasil encontra-se a família *Malpighiaceae*, que é rica em flavonoides, alcaloides e triterpenos vários dos quais são bioativos. A espécie *Bunchosia armeniaca*, uma planta pertencente a esta família, é nativa da região dos Andes, conhecida como cafezinho, ciruela ou falso guaraná que é utilizado na medicina tradicional no tratamento de doenças endócrinas, nutricionais e metabólicas e também no tratamento de câncer. Poucos são os estudos fitoquímicos e biológicos desenvolvidos com espécies desta família e, até o presente momento, não há relatos na literatura de estudos fitoquímicos desenvolvidos com espécies do gênero *Bunchosia*. Compostos naturais geralmente são reconhecidos por organismos vivos apresentando uma série de atividades biológicas e a síntese orgânica baseada nestes compostos representa uma ferramenta de grande valor para a química medicinal. As chalconas são compostos precursores dos flavonoides pela rota biossintética do chiquimato e são facilmente obtidas pela reação de condensação de Claisen-Schmidt. Assim como os flavonoides as chalconas possuem uma série de atividades biológicas devido à variedade de substituições que a sua síntese oferece. Devido aos poucos estudos desenvolvidos com os derivados de 2-arilideno-1- α -tetralona (série **GSQ**), que apresenta vasta possibilidade de condensação entre aldeídos substituídos com a α -tetralona, e à falta de estudos fitoquímicos desenvolvidos espécies do gênero *Bunchosia* propôs-se obter o extrato bruto, frações e compostos da espécie *B. armeniaca* assim como obter uma série de compostos a partir da α -tetralona e avaliar suas atividades antioxidantes, antibacteriana, antiinflamatória e inibidora da proteína tirosina fosfatase (PtpA e PtpB) de *Mycobacterium tuberculosis*. Da espécie *B. armeniaca* foi obtida uma mistura de flavonoides composta de quercetina 3-*O*- α -*L*-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 6)- β -*D*-glicopiranosídeo (rutina), canferol 3-*O*- α -*L*-ramnopiranosídeo (afzelina) e quercetina 3-*O*- β -*D*-glicopiranosídeo (isoquercitrina) nas porcentagens respectivas de 83,48%, 10,95% e 5,57%, identificadas através de eletroforese capilar e ressonância magnética nuclear de ^1H e de ^{13}C . Este foi o primeiro relato da presença do flavonóide afzelina em uma espécie da família *Malpighiaceae*. O extrato bruto apresentou atividade antibacteriana classificada como boa frente ao microorganismo *S. aureus* e moderada frente à *E. coli* e à *P. aeruginosa* e foi capaz de inibir o processo inflamatório em cerca de 40% pelo modelo de inflamação induzida pela carragenina. A mistura de flavonoides também foi testada e apresentou excelente atividade frente a todos os microorganismos testados, foi capaz de inibir o processo inflamatório em até 60%, porém não foi capaz de inibir a ação das proteínas tirosina fosfatase (PtpA e PtpB) de *Mycobacterium tuberculosis*. Foi testada a atividade antibacteriana dos derivados de 2-arilideno-1- α -tetralona (série **GSQ**), e estes não apresentaram atividade relevante frente aos microorganismos testados. Dos compostos da série **GSQ** testados frente às proteínas tirosina fosfatase (PtpA e PtpB) de *Mycobacterium tuberculosis*, somente aqueles possuindo os substituintes 2-tiofeno e 4-nitro-fenil como anel B apresentaram atividade relevante (CI₅₀ de 198,0 μM e 205,13 μM frente a PtpB, respectivamente).

Palavras-chave: *B. armeniaca*, flavonoides, eletroforese capilar, 2-arilideno-1- α -tetralona

ABSTRACT

Among the ten largest families of plants present in Brazil is the family *Malpighiaceae*, which is rich in flavonoids, alkaloids and triterpenes several of which are bioactive. The species *Bunchosia armeniaca*, a plant belonging to this family, is native to the Andes, known as coffee, false guarana or ciruela that is used in traditional medicine in the treatment of endocrine, nutritional and metabolic diseases and also in the treatment of cancer. Few phytochemical and biological studies carried out with species of this family, and to date, no published reports of studies carried out with phytochemicals *Bunchosia* species of the genus. Natural compounds are generally recognized by living organisms presenting a series of organic synthesis and biological activities based on these compounds represents a valuable tool for medicinal chemistry. The chalcones are precursors of flavonoid compounds by the shikimate biosynthetic route and are easily obtained by condensation reaction of Claisen-Schmidt. As the chalcones flavonoids have a number of biological activities due to the variety of substitutions that offers its synthesis. Due to the few studies conducted with derivatives of 2-arylidene-1- α -tetralone (**GSQ** series), which has vast possibility of condensation between aldehydes substituted with α -tetralone, and lack of phytochemical studies developed species of the genus proposed *Bunchosia* to obtain the crude extract, fractions and compounds of *B. armeniaca* species as well as obtaining a series of compounds from the α -tetralona and evaluate their antioxidant, antibacterial, anti-inflammatory and inhibitor of protein tyrosine phosphatase (PtpA and PtpB) of *Mycobacterium tuberculosis*. The species *B. armeniaca* was obtained a mixture of flavonoid compound quercetin 3-*O*- α -*L*-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -*D*-glucopyranoside (rutin), kaempferol 3-*O*- α -*L*-rhamnopyranoside (afzelin) and quercetin 3-*O*- β -*D*-glucopyranoside (isoquercitrin) in the respective percentages of 83.48%, 10.95% and 5.57%, identified by capillary electrophoresis and nuclear magnetic resonance of ^1H and ^{13}C . This was the first report of the presence of the flavonoid afzelin in a species of the family *Malpighiaceae*. The crude extract showed antibacterial activity classified as good against the microorganism *S. aureus* and moderate front of the *E. coli* and *P. aeruginosa* was able to inhibit the inflammatory process in about 40% by the model of carrageenan-induced inflammation. The mixture of flavonoids was also tested and showed excellent activity against all microorganisms tested, was able to inhibit the inflammatory process in up to 60%, but was unable to inhibit the action of protein tyrosine phosphatase (PtpA and PtpB) of *Mycobacterium tuberculosis*. We tested the antibacterial activity of derivatives of 2-arilideno-1- α -tetralone (**GSQ** series), and they did not show significant activity against the tested microorganisms. **GSQ** series of compounds tested against protein tyrosine phosphatase (PtpA and PtpB) of *M. tuberculosis*, only those possessing the 2-thiophene and 4- NO_2 -phenyl as ring B showed significant activity (IC_{50} of 198.0 μM and 205.13 μM against PtpB, respectively).

Keywords: *B. armeniaca*, flavonoids, capillary electrophoresis, 2-arylidene-1- α -tetralone

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura da salicina, precursora do ácido acetilsalicílico (AAS)	25
Figura 2. Estruturas de alguns compostos naturais, sintéticos e semi-sintéticos	27
Figura 3. Biossíntese de chalconas e flavonoides (esquema baseado em Dewick, 2002 [1]).....	29
Figura 4. Estrutura do composto 606 - salvarsan.....	30
Figura 5. Esquema de Topliss para otimização de substituintes aromáticos	31
Figura 6. Estrutura geral das chalconas (a) e 2-arilideno-1-benzocicloalcanonas (b).....	32
Figura 7. Equação química da síntese de chalconas através de condensação de Claisen-Schmidt	32
Figura 8. Árvore do cafezinho, <i>B. armeniaca</i> , e imagem ampliada das folhas e frutos	35
Figura 9. Estruturas moleculares dos compostos identificados na família <i>Malpighiaceae</i>	43
Figura 10. Esquema representativo do método utilizado para a formação de monocristais.....	53
Figura 11. Espectro de IV da mistura de flavonoides de <i>Bunchosia armeniaca</i>	66
Figura 12. Eletroferogramas da mistura de flavonoides antes e após a hidrólise ácida.....	67
Figura 13. Espectro de RMN (400 MHz) de ^1H e de ^{13}C da mistura de flavonoides hidrolisados de <i>Bunchosia armeniaca</i> em metanol-D.....	69
Figura 14. Eletroferogramas com e sem co-injeção de padrão e sobreposição dos espectros de UV-VIS.....	71
Figura 15. Flavonoides glicosilados identificados em <i>Bunchosia armeniaca</i>	73
Figura 16. Espectro de RMN (400 MHz) de ^1H da mistura de flavonoides glicosilados de <i>Bunchosia armeniaca</i> em metanol-D.....	74
Figura 17. Espectro de RMN (400 MHz) de ^{13}C da mistura de flavonoides glicosilados de <i>Bunchosia armeniaca</i> em metanol-D.....	76

Figura 18. Condensação de Claisen-Schmidt para a síntese de 1-benzilideno-2- α -tetralonas	79
Figura 19. Estruturas dos derivados de 2-arilideno-1- α -tetralona (série GSQ).....	81
Figura 20. Espectro de RMN (200 MHz) de ^1H em CDCl_3 do 2-(4-clorobenzilideno)-1- α -tetralona (GSQ-01).....	82
Figura 21. Esquema da conversão do isômero <i>E</i> em <i>Z</i>	83
Figura 22. Estrutura cristalina dos derivados de 2-arilideno-1- α -tetralona .	86
Figura 23. Formação do complexo entre Al^{3+} e os flavonoides de <i>Bunchosia armeniaca</i> (é mostrado o complexo formado entre rutina e Al^{3+})	90
Figura 24. Reação entre um flavonoide e o radical livre DPPH	90
Figura 25. Atividade antiinflamatória do extrato bruto das folhas de <i>B. armeniaca</i>	99
Figura 26. Atividade antiinflamatória da mistura de flavonoides de <i>B. armeniaca</i>	100

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Compostos encontrados em espécies da família <i>Malpighiaceae</i> .	37
Tabela 2. Dados dos espectros de RMN de ^1H dos flavonoides de <i>Bunchosia armeniaca</i> após a hidrólise	70
Tabela 3. Dados dos espectros de RMN de ^{13}C dos flavonoides de <i>Bunchosia armeniaca</i> após a hidrólise	70
Tabela 4. Dados dos espectros de RMN de ^1H dos flavonoides de <i>Bunchosia armeniaca</i> antes da hidrólise	75
Tabela 5. Dados dos espectros de RMN de ^{13}C dos flavonoides de <i>Bunchosia armeniaca</i> antes da hidrólise	77
Tabela 6. Dados experimentais da série de derivados de 1-benzilideno-2- α -tetralona	80
Tabela 7. Deslocamentos químicos (ppm) atribuídos ao H olefínico ligado ao carbono β dos derivados de 2-arilideno-1- α -tetralona.....	84
Tabela 8. Atividades antioxidantes e conteúdos de fenólicos e flavonoides de <i>B. armeniaca</i>	91
Tabela 9. Avaliação do poder redutor dos derivados de 2-arilideno-1- α -tetralona	93
Tabela 10. Atividade antibacteriana do extrato bruto das folhas e flavonoides isolados de <i>Bunchosia armeniaca</i> e dos derivados de 2-arilideno-1- α -tetralona	95
Tabela 11. Atividade residual das proteínas tirosina fosfatase A e B (PtpA e PtpB) de <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	103

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- AA** – Ácido ascórbico
AcOEt – Acetato de etila
AcOH – Ácido acético
AG – Ácido gálico
ANOVA – *Analysis of variance* (análise de variância)
ATCC – *American type culture collection*
CAS - *Chemical Abstracts Service*
CCD – Cromatografia em Camada Delgada
Cg – Carragenina
CI₅₀ – Concentração inibitória 50%
CIM – Concentração inibitória mínima
CLSI – *Clinical Laboratory Standards Institute*
D.I. – Diâmetro interno
DMSO – Dimetilsulfóxido
DNA – Ácido desoxirribonucléico
DPPH – 1,1-difenil-2-picril-hidrazil
DTT – _{DL}-ditiotreitól
EB – Extrato Bruto
EC – Eletroforese Capilar
EDTA – Ácido etilen-odiamina-tetracético
ELISA - *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*
EQ – Equivalente de quercetina
ERK – *Extracellular Signal Regulated Kinases*
ERO – Espécies reativas de oxigênio
FAe – Fração acetato de etila
FB – Fração butanólica
FH – Fração hexano
HCO₂ – Ácido fórmico
i.p. – Intraperitoneal
i.pl. – Intrapleural
i.v. – Intravenoso
IMAC – Cromatografia de afinidade com metal imobilizado

IPTG – *iso*-propil- β -D-tiogalactopiranosídeo
IV –Infravermelho
J – Constante de acoplamento
L_{det} – Distância do ponto de injeção até o ponto de detecção
L_{tot} – Comprimento do capilar
MeOH – Metanol
MPO – Enzima mieloperoxidase
Mtb – *Micobacterium tuberculosis*
NAPROC-13 – *Natural Products 13C NMR Database*
p.f. – Ponto de fusão
PBS – Tampão fosfato de sódio
pNPP – *p*-nitrofenilfosfato
ppm – Partes por milhão
Ptp – Proteína tirosina fosfatase
PtpA – Proteína tirosina fosfatase A (de *Micobacterium tuberculosis*)
PtpB – Proteína tirosina fosfatase B (de *Micobacterium tuberculosis*)
Rf – Fator de retenção (cromatografia)
RMN de ¹³C – Ressonância Magnética Nuclear de Carbono treze
RMN de ¹H – Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
SDS-PAGE – Eletroforese em gel de poliacrilamida-dodecil sulfato de sódio
TCC – 2,3,5 trifenil-tetrazólio
UFC – Unidade formadora de colônia
UI – Unidade Internacional
UV – Ultravioleta
UV-VIS – Ultravioleta Visível
VPS33B – *Vacuolar Protein Sorting 33 Homologo B*

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	23
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	25
2.1. BUSCA E DESENVOLVIMENTO DE FÁRMACOS.....	25
2.2. BIOSÍNTESE DE CHALCONAS E FLAVONOIDES.....	27
2.3. PLANEJAMENTO PARA OBTENÇÃO DE CANDIDATOS A FÁRMACOS	29
2.4. CHALCONAS E 2-ARILIDENO-1-BENZOCICLOALCANONAS.....	31
2.5. FAMÍLIA <i>MALPIGHIACEAE</i>	33
2.6. ASPECTOS QUÍMICOS E BIOLÓGICOS DE ESPÉCIES DA FAMÍLIA <i>MALPIGHIACEAE</i>	36
3. OBJETIVOS.....	47
3.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	47
3.1.1. <i>Estudo fitoquímico de Bunchosia armeniaca</i>	47
3.1.2. <i>Síntese de derivados de 2-arilideno-1-α-tetralona</i>	47
3.1.3. <i>Atividades :Biológicas</i>	48
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	49
4.1. MATERIAIS E REAGENTES	49
4.2. MATERIAL VEGETAL	49
4.3. OBTENÇÃO E PARTICIONAMENTO DO EXTRATO BRUTO HIDROALCOÓLICO (EB)	50
4.4. CROMATOGRAFIA FLASH EM COLUNA PARA SEPARAÇÃO DA MISTURA DE FLAVONOIDES DE <i>BUNCHOSIA ARMENIACA</i>	50
4.5. HIDRÓLISE ÁCIDA DE FLAVONOIDES.....	51
4.6. ANÁLISE POR ELETROFORESE CAPILAR (EC)	51
4.7. PROCEDIMENTO PARA A SÍNTESE DA SÉRIE DE 2-ARILIDENO-1-ALFA- TETRALONA (GSQ)	52
4.8. PROCEDIMENTO DE FORMAÇÃO DE MONOCRISTAIS PARA ANÁLISE DE DIFRATOMETRIA DE RAIOS X	53
4.9. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	53
4.9.1. <i>Determinação do conteúdo de fenólicos totais</i>	53

4.9.2.	<i>Determinação do conteúdo de flavonoides</i>	54
4.9.3.	<i>Determinação do poder redutor</i>	54
4.9.4.	<i>Determinação da ação sequestradora de radicais livres</i>	55
4.9.5.	<i>Análise estatística</i>	55
4.10.	ATIVIDADES BIOLÓGICAS	56
4.10.1.	<i>Atividade antibacteriana</i>	56
4.10.2.	<i>Atividade antiinflamatória: método da pleurisia induzida pela carragenina</i>	57
4.10.3.	<i>Atividade inibitória e seletividade de compostos frente às enzimas PtpA e PtpB de Mycobacterium tuberculosis</i>	60
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	65
5.1.	ESTUDO FITOQUÍMICO DE <i>BUNCHOSIA ARMENIACA (MALPIGHIACEAE)</i>	65
5.2.	SÍNTESE DE DERIVADOS DE 1-BENZILIDENO-2-ALFA-TETRALONAS VIA CONDENSAÇÃO DE CLAISEN	78
5.3.	ATIVIDADES BIOLÓGICAS	88
5.3.1.	<i>Ensaio antioxidante</i>	88
5.3.2.	<i>Atividade antibacteriana</i>	93
5.3.3.	<i>Atividade antiinflamatória</i>	96
5.3.4.	<i>Atividade inibitória da proteína tirosina fosfatase A e B (PtpA e PtpB)</i>	101
6.	CONCLUSÕES	105
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	108
ANEXO 1.	Dados dos espectros de RMN de ¹H dos compostos GSQ-01 a GSQ-06	124
ANEXO 2.	Dados dos espectros de RMN de ¹³C dos compostos GSQ-01 a GSQ-06	125
ANEXO 3.	Dados dos espectros de RMN de ¹H dos compostos GSQ-07 a GSQ-11	126
ANEXO 4.	Dados dos espectros de RMN de ¹³C dos compostos GSQ-07 a GSQ-11	127

ANEXO 5. Dados dos espectros de RMN de ^1H dos compostos GSQ-12 a GSQ-16	128
ANEXO 6. Dados dos espectros de RMN de ^{13}C dos compostos GSQ-12 a GSQ-16	129
ANEXO 7. Dados dos espectros de RMN de ^1H dos compostos GSQ-17 a GSQ-20	130
ANEXO 8. Dados dos espectros de RMN de ^{13}C dos compostos GSQ-17 a GSQ-20	131
ANEXO 9. Dados dos espectros de RMN de ^1H dos compostos GSQ-21 a GSQ-24	132
ANEXO 10. Dados dos espectros de RMN de ^{13}C dos compostos GSQ-21 a GSQ-24	133
ANEXO 11. Dados dos espectros de RMN de ^1H dos compostos GSQ-26 a GSQ-33	134
ANEXO 12. Dados dos espectros de RMN de ^{13}C dos compostos GSQ-26 a GSQ-33	135
ANEXO 13. Dados dos espectros de RMN de ^1H dos compostos GSQ-34 a GSQ-42	136
ANEXO 14. Dados dos espectros de RMN de ^{13}C dos compostos GSQ-34 a GSQ-42	137
ANEXO 15. Espectro de RMN de ^1H e de ^{13}C do composto GSQ-20	138
ANEXO 16. Espectro de RMN de ^1H e de ^{13}C do composto GSQ-26	139
ANEXO 17. Espectro de RMN de ^1H e de ^{13}C do composto GSQ-33	140
ANEXO 18. Espectro de RMN de ^1H e de ^{13}C do composto GSQ-40	141
ANEXO 19. Dados de cristal e refinamento de estrutura do composto GSQ-08	142
ANEXO 20. Dados de cristal e refinamento de estrutura do composto GSQ-10	143

ANEXO 21. Dados de cristal e refinamento de estrutura do composto GSQ-12..... 144

ANEXO 22. Dados de cristal e refinamento de estrutura do composto GSQ-13..... 145

1. INTRODUÇÃO

Certa vez, na minha infância, observei o meu cachorro comer grama e vomitar em seguida. Quando questionada sobre o fato, a minha mãe disse que isso era comum entre os cachorros. “Cá fiquei eu matutando”: Será que ele estaria doente precisando de remédio? E estaria usando a grama para fins medicinais? Como ele ficou sabendo disso? Apenas divagações de uma criança!

Mas e os seres humanos, como descobriram e desde quando utilizam as plantas para fins medicinais? “Desde sempre” seria a melhor resposta. O ser humano faz parte da natureza e dela obtém o sustento que representa sua fonte de sobrevivência.

As plantas, através do seu metabolismo secundário, sintetizam substâncias que são úteis para sua defesa e que podem também servir como moduladores hormonais ou para atrair polinizadores. Muitas destas substâncias são reconhecidas por outros organismos apresentando alguma propriedade biológica ou farmacológica, podendo ser benéfica ou tóxica.

Os povos primitivos utilizavam as plantas para os mais variados fins como nutricionais, medicinais, tóxicos e também utilizavam como corantes para seus rituais. O vasto conhecimento acumulado por estes povos acerca das propriedades das plantas foi de fundamental importância para que os cientistas, dentre eles os químicos, pudessem investigar a qual ou quais substâncias tais propriedades eram atribuídas.

A química dos corantes representou um solo fértil para a evolução da síntese orgânica. Até meados do século XIX, os corantes eram obtidos apenas de fontes naturais. Estes foram bastante explorados pelos europeus da época das expedições marítimas. A alta demanda de corantes foi como o vento na vela dos cientistas da época para o desenvolvimento da síntese orgânica a partir dos corantes naturais.

Muitas substâncias naturais são obtidas em quantidades muito pequenas sendo necessária uma grande quantidade de material vegetal e às vezes estas substâncias estão presentes nas raízes e não nas folhas onde a planta inteira é sacrificada, além disso, algumas destas plantas

apresentam um crescimento vegetativo muito lento tornando-as inviáveis como fontes de fármacos. Por esta razão, buscam-se estas substâncias principalmente através da síntese e/ou semi-síntese de derivados partindo de um protótipo bioativo com avaliação das suas propriedades biológicas e posterior avaliação da relação estrutura/atividade a fim de encontrar uma substância com elevada atividade biológica e farmacológica e baixa toxicidade.

Considerando que não foram encontrados relatos na literatura científica com plantas do gênero *Bunchosia* fez-se um estudo fitoquímico com a espécie *Bunchosia armeniaca* e avaliou-se sua atividade antioxidante, antibacteriana e antiinflamatória. Além disso, foram sintetizados alguns derivados de 2-arilideno- α -tetralona através da reação de condensação de Claisen-Schmidt entre a α -tetralona e benzaldeídos substituídos e avaliou-se a atividade antioxidante, antibacteriana e inibitória da enzima tirosina fosfatase de *Mycobacterium tuberculosis*, uma vez que chalconas sintéticas apresentam uma gama de atividades biológicas.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O uso dos produtos naturais pela humanidade se confunde com a própria história da sua existência. É possível se encontrar alguns registros, da Idade Antiga, de sua utilização para os mais variados fins que vão do uso medicinal à defesa, caça e até na execução de prisioneiros, como foi o caso do filósofo Sócrates, durante a democrática Grécia antiga, utilizando o veneno de Hemlock obtido de *Conium maculatum* (cicuta) [1].

2.1. Busca e desenvolvimento de fármacos

A busca por alívio e cura de doenças pela ingestão de ervas e folhas talvez tenha sido uma das primeiras formas de utilização dos produtos naturais e é ainda hoje a principal motivação para o seu estudo [2]. Entre os produtos naturais, principalmente os de origem vegetal, encontra-se uma ampla e diversificada arquitetura molecular, como é o caso dos triterpenos, que apresentam diversos centros estereogênicos e formados apenas por átomos de carbono, hidrogênio e oxigênio [3] e apresentam atividades biológicas diversas dependendo da estrutura.

O exemplo mais conhecido e citado da importância dos produtos naturais na busca de fármacos é a síntese do ácido acetilsalicílico (AAS, **01**) a partir da salicina (**02**), um glicosídeo natural de *Salix sp.*, derivado do ácido salicílico e encontrado no salgueiro (*Salicaceae*) [4].

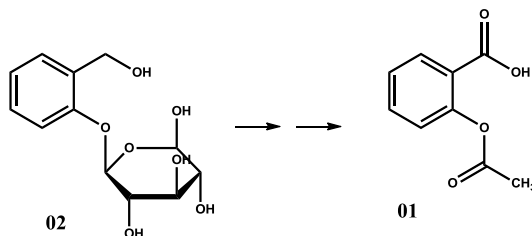


Figura 1. Estrutura da salicina, precursora do ácido acetilsalicílico (AAS)

O AAS é considerado o pioneiro dos fármacos sintéticos, porém existem diversos exemplos de compostos que foram descobertos, sintetizados ou modificados que se tornaram fármacos, como é o caso do agente hipnótico barbital (**03**), de 1903; a epinefrina (**04**), sintetizada em 1904, usada como broncodilatador e descongestionante nasal; a procaína (**05**) e a benzocaína (**06**), dois anestésicos locais racionalizados a partir da estrutura da cocaína (**07**) [2].

O taxol (**08**), pertencente à classe dos taxanos, principal componente químico das cascas de *Taxus brevifolia* (*Taxaceae*), foi isolado pela primeira vez em 1971 por Monroe Wall e Mansukh Wani [3]. Este composto apresenta uma potencial atividade antineoplásica, porém sua obtenção não o tornava promissor pelo baixo teor na planta e, como possuía vários centros estereogênicos, era difícil também a sua síntese. Nos anos 80, foram identificados outros taxanos, como a bacatina III (**09**) e a 10-desacetil-bacatina III (**10**), isolados em quantidade superior ao taxol em outras espécies do gênero *Taxus*, o que possibilitou sua produção em escala industrial através de semi-síntese [5]. Várias estratégias foram estudadas, mas somente em 1994, através de publicação simultânea de Houton e Nicolaou [6-8], foi anunciada a síntese total do taxol, representando um marco importante na síntese baseada em produtos naturais. O taxol foi licenciado em 1998 pela FDA (Food and Drug Administration) para uso no tratamento do câncer [9].

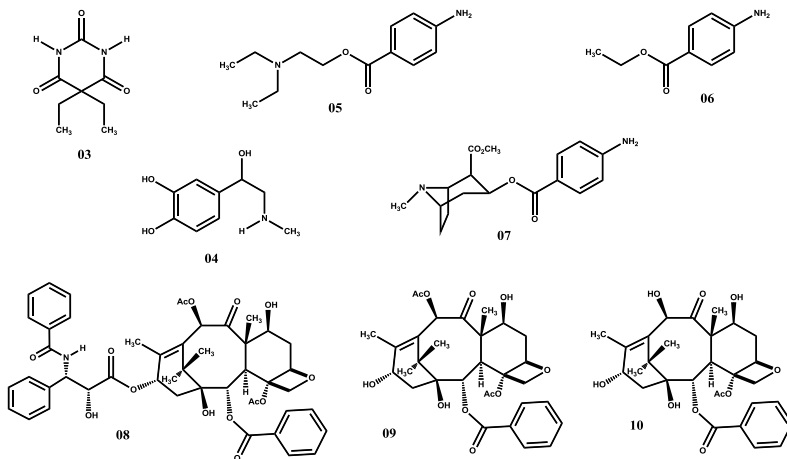


Figura 2. Estruturas de alguns compostos naturais, sintéticos e semi-sintéticos

Os produtos naturais ainda contribuem com uma parcela significativa como fonte de novos fármacos sendo que, dos compostos licenciados pela FDA como fármacos, 5% são produtos naturais, 23% são provenientes de semi-síntese utilizando produtos naturais, 4% são produtos sintéticos baseados em um farmacóforo natural e os 48% restantes se referem a substâncias baseadas em farmacóforo não-natural, mimetizados através de química computacional, etc. Apesar disso, os compostos puramente sintéticos são responsáveis por 30% dos compostos que são disponibilizados para tratamento de doenças. [10].

2.2. Biossíntese de chalconas e flavonoides

A biossíntese de chalconas e flavonoides inicia-se pela condensação de Claisen entre uma unidade de cinamoil-CoA, um fenilpropanóide advindo da rota do chiquimato, com três moléculas de malonil-CoA. Essa condensação ocorre inicialmente através do ataque nucleofílico do carbânion da unidade malonil-CoA à carbonila do cinamoil-CoA, juntamente com a descarboxilação da unidade malonil (Figura 3). Após a adição e descarboxilação das três unidades de

malonil-CoA, forma-se um policetídeo. Este policetídeo segue uma condensação de Claisen intramolecular catalisada pela enzima chalcona sintetase formando a chalcona com o anel aromático “A” possuindo um padrão de oxigenação *meta* relacionados entre si, semelhante a um sistema fluoroglucinol. Esta chalcona pode sofrer uma reação tipo Michael, onde uma das hidroxilas nucleofílicas ataca a cetona α , β -insaturada gerando uma flavanona, estrutura com dois anéis aromáticos “A” e “B” e um anel central “C”. Esta isomerização pode ocorrer quimicamente, favorecida por condições ácidas à flavanona e condições básicas à chalcona. Na natureza, a reação é estereoespecífica e catalisada por uma enzima, resultando na formação de um único enantiômero flavanona. Esta flavanona sofre a ação de oxidases e redutases formando as diferentes classes de flavonoides, entre os quais se pode citar, flavonas, flavonóis, di-hidroxi-flavonóis, leucoantocianidinas, catequinas e antocianinas, encontrados amplamente no reino vegetal. Modificações no padrão de hidroxilação nos dois anéis aromáticos podem ocorrer, assim como metilação, glicosilação e dimetilalilação é também possível, aumentando enormemente o número possível de estruturas flavonoídicas [1].

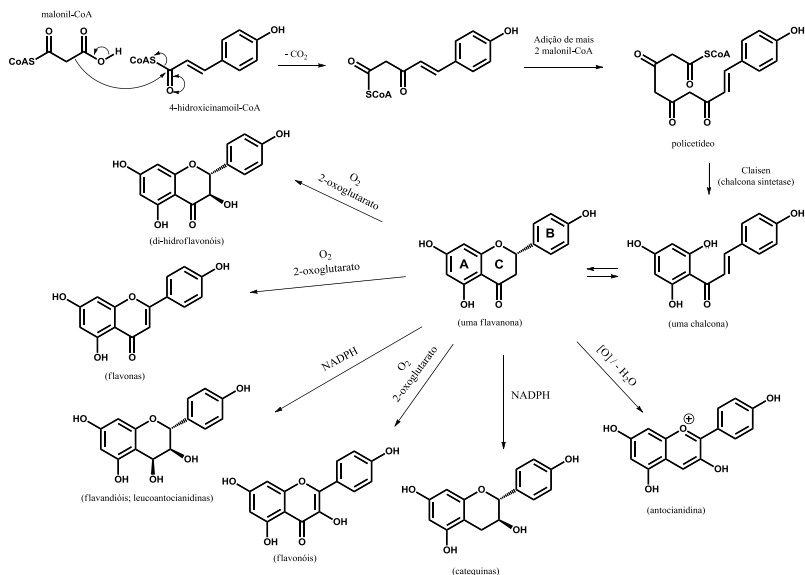


Figura 3. Biossíntese de chalconas e flavonoides (esquema baseado em Dewick, 2002 [1])

Flavonoides contribuem para a coloração das plantas como o amarelo das chalconas e flavonoides e vermelhos, azuis e violetas das antocianidinas.

Foi estabelecido que a conversão de flavanona glicosídeo, por exemplo, a naringenina da casca da toranja (*Citrus paradisi*), que é intensamente amarga, a di-hidrochalconas pela hidrogenação em solução alcalina, produz uma pronunciada mudança no seu gosto, sendo que ficam intensamente doces, 300–1000 vezes mais doce que a sacarose. Esta e outras di-hidrochalconas tem sido investigadas como potenciais agentes adoçantes [1].

2.3. Planejamento para obtenção de candidatos a fármacos

A obtenção de um candidato a fármaco passa por um processo, que requer altos investimentos em inovação e pode levar mais de dez anos para ser concluído seguindo as etapas de descoberta de alvos

terapêuticos, desenho e seleção da molécula líder para o alvo pretendido, otimização da molécula líder, escolha da molécula candidata ao desenvolvimento, ensaios clínicos até que, finalmente seja considerado um medicamento [11].

A expressão “bala mágica” foi criada pelo pai da quimioterapia, Paul Ehrlich (1854-1915), após constatar que apenas alguns tecidos se coravam com certos corantes, dando origem ao conceito de “receptores específicos” em biologia (*Corpora non agunt nisi fixate* – Uma substância não funcionará a menos que ela seja capaz de se ligar em um sítio específico) [11].

Em 1906, Paul Ehrlich, em parceria com a empresa Hoechst, decidiu fazer modificações nos compostos chamados arsenobenzenos e, após ter obtido 606 compostos, descobriu a arsfernamina (salvarsan, **11**), conhecida como “composto 606” (**Figura 04**) [12].

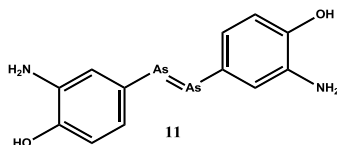


Figura 4. Estrutura do composto 606 - salvarsan

Atualmente existem vários métodos computacionais avançados que realizam modelagens moleculares ou *dockings*, fazendo uma previsão acerca do tipo de estrutura que melhor interagiria com o alvo biológico facilitando a busca do composto líder para, em seguida, serem sintetizados compostos baseados no modelo teórico encontrado. Porém, quando não se dispõe deste tipo de ferramenta e nem sempre se conhece o alvo biológico, utiliza-se o método proposto por Topliss [13], um esquema baseado em estudos teóricos sobre as características eletrônicas, lipofílicas e estéricas dos substituintes, que orienta a síntese de compostos através de um fluxograma que define a escolha do composto a ser sintetizado comparando suas atividades biológicas (**Figura 5**).

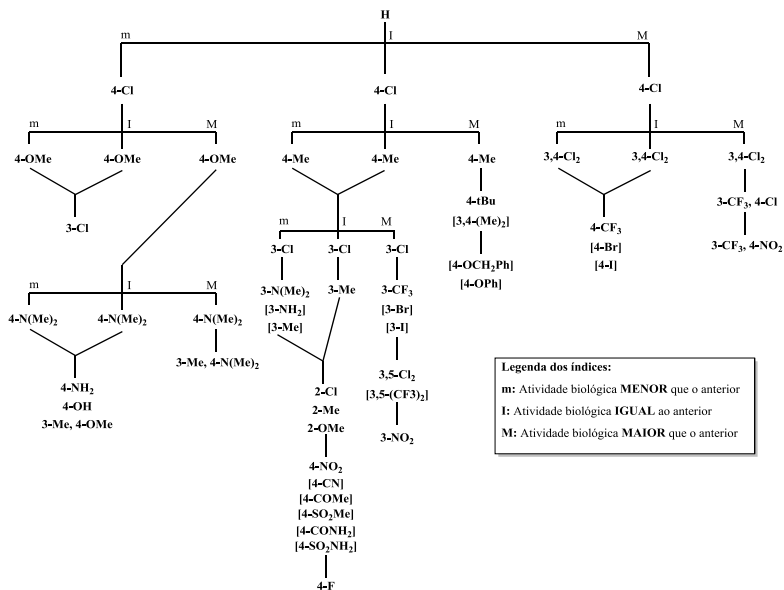


Figura 5. Esquema de Topliss para otimização de substituintes aromáticos

2.4. Chalconas e 2-arilideno-1-benzocicloalcanonas

As chalconas (**Figura 6a**) são cetonas α,β -insaturadas, que apresentam o núcleo 1,3-diarilprop-2-en-1-ona e o esqueleto C6-C3-C6, considerado privilegiado no desenho de fármacos [14, 15]. São compostos precursores da via de biossíntese dos flavonoides [1], encontrados largamente nos vegetais, principalmente nas pétalas das flores, onde têm um importante papel na polinização das plantas, pois sua cor amarela atrai insetos e pássaros, que assim polinizam outras plantas [15]. Os compostos 2-arilideno-1-benzocicloalcanonas (**Figura 6b**) são análogos cíclicos das chalconas, que podem ser sintetizados a partir de cetonas exocíclicas [16].

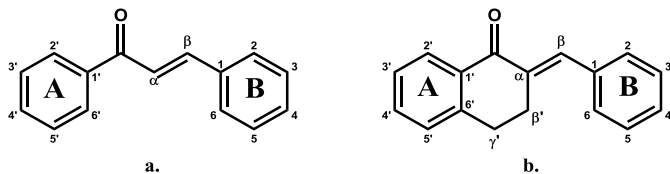


Figura 6. Estrutura geral das chalconas (a) e 2-arilideno-1-benzocicloalcanonas (b).

Na literatura há relatos de diversos métodos de síntese de chalconas como o de Suzuki [17], com reagentes, solventes e catalisadores submetidos à irradiação em ultra-som [18, 19], ou utilizando um catalisador inorgânico como NaNO_3/NP (fosfato natural) [20], ou ainda, de forma simples e direta reagindo cetonas e aldeídos aromáticos, com hidróxido de sódio (NaOH) ou hidróxido de potássio (KOH) como catalisador e metanol ou etanol como solvente, à temperatura ambiente [21]. Atualmente, o método mais utilizado é a condensação de Claisen-Schmidt [16, 19] na qual se realiza a condensação de um aldeído com uma cetona, ambos aromáticos, porém um deles sem o hidrogênio α -carbonílico, utilizando um solvente polar como metanol ou etanol e uma base forte como catalisador (**Figura 7**). É um método bastante versátil e conveniente, que confere rendimentos muito variados, desde 5% até 90% [22].

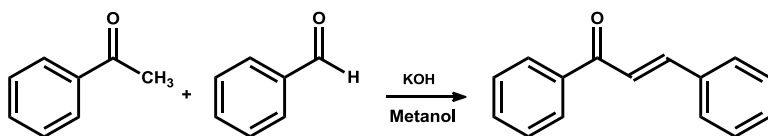


Figura 7. Equação química da síntese de chalconas através de condensação de Claisen-Schmidt.

Devido à estrutura relativamente simples e à diversidade de atividades farmacológicas que apresentam, as chalconas e seus derivados têm despertado bastante interesse por pesquisadores da área de desenvolvimento de protótipos de fármacos [23, 24].

Há relatos na literatura científica de que chalconas e derivados apresentam uma série de atividades biológicas como inibidoras da tirosina fosfatase A (PtpA) de *Mycobacterium tuberculosis* [25, 26], antifúngica [27-29], antiinfeciosa [30], antibacteriana [31-34], inseticida [35], bacteriostática [36], antiviral [37, 38], antimalárica [39-43], tripanocida [44] e leishmanicida [45-48]. Atividades como hipoglicemiante [49], vasorrelaxante [50], antioxidante [51], hipolipidêmica [52], citotóxica [22, 53-55], antitumoral [56-59], antileucêmica [60-63], antiinflamatória [30, 64-68], inclusive por regulação de vias bioquímicas como a do óxido nítrico [25, 69, 70], antinociceptiva [71, 72] e antiedematogênica [71] também foram observadas. Algumas chalconas também apresentaram atividade inibidora da enzima monoamino oxidase (MAO) [73].

Para alguns compostos do tipo 2-arilideno-1-benzocicloalcanonas sintetizados a partir da α -tetralona, as 2-arilideno-1- α -tetralonas, foram publicados dados de atividades antifúngica [74] e antileucêmica [75].

Essa vasta gama de atividades pôde ser observada graças às inúmeras possibilidades de substituições nos anéis aromáticos, pois a metodologia de síntese desses compostos permite a obtenção de uma grande variedade estrutural, uma vez que existem inúmeros aldeídos e cetonas aromáticos que podem ser combinados.

2.5. Família *Malpighiaceae*

Malpighiaceae é uma família de árvores, arbustos, subarbustos e lianas (cipós) com aproximadamente 75 gêneros e cerca de 1300 espécies [76], que se distribuem em florestas tropicais, subtropicais e savanas do Velho e Novo Mundo, compreendendo 85% das espécies nestes ambientes [77, 78]. O nome da família é baseado no gênero *Malpighia*, idealizado pelo botânico Carolus Linnaeus, o pai da taxonomia moderna, em homenagem ao anatomista Marcello Malpighi (1628-1694), pioneiro em microscopia que publicou um trabalho inovador em anatomia vegetal, "Anatome plantarum" (1675-1679) [79].

Várias espécies dessa família são utilizadas para fins medicinais pela população de países americanos, principalmente como moduladores do sistema nervoso central (gêneros *Banisteriopsis*, *Diplopterys*, *Galphimia* e *Heteropteris*) e afrodisíacos (gênero *Heteropteris*) [80-84].

No Brasil, a maior parte das espécies do gênero *Stigmaphyllon* são conhecidas por serem utilizadas como alimentos, como por exemplo *S. fulgens* (cajuçára), mas também apresenta o grupo de espécies do conhecidas como cipó guassú [85, 86].

Dentro do gênero *Malpighia* destacam-se as espécies *M. emarginata*, *M. punicifolia* e *M. glabra* (acerola) que são cultivadas principalmente pelo alto teor e biodisponibilidade de vitamina C em seus frutos que são indicados contra a gripe [87, 88].

Um dos mais importantes representantes da família *Malpighiaceae* são os cipós originários da Amazônia, do gênero *Banisteropsis*, os quais contêm alcaloides β -carbolíneos, com propriedades alucinógenas que são empregados em rituais indígenas (chá de Ayahuasca) e pelos adeptos das religiões União do Vegetal (UDV) e Santo Daime [89].

O gênero *Byrsonima* é o maior da família *Malpighiaceae*, contendo cerca de 150 espécies, muitas das quais são de grande importância medicinal (como a *B. crassa*, que é utilizada como anti-hemorragica com comprovação científica [90]), ornamental e produtora de frutos comestíveis [91].

O gênero *Bunchosia* possui aproximadamente 75 espécies, todas americanas, encontradas no México, Caribe, Argentina, Andes e, no Brasil, está presente na Amazônia, Mata Atlântica e Pantanal. Seus habitats incluem florestas relativamente secas, savanas e florestas úmidas. O nome *Bunchosia* provém de uma palavra árabe, *bunchos* que significa café, pela semelhança das suas sementes com as de *Coffea arabica*. Espécies deste gênero as quais os frutos são comestíveis são chamadas ciruela, ciruela de Fraile, ciruela de montaña (países de língua espanhola) e marmelo no Brasil [92].

A espécie *Bunchosia armeniaca* (**Figura 8**) é uma planta nativa da região dos Andes, conhecida como cafezinho, ciruela ou falso

guaraná. Na medicina tradicional é usada no tratamento de doenças endócrinas, nutricionais e metabólicas e no tratamento de câncer [93]. Até o presente momento não foram encontrados na literatura estudos sobre a constituição química e/ou atividades biológicas de espécies do gênero.



Figura 8. Árvore do cafezinho, *B. armeniaca*, e imagem ampliada das folhas e frutos

A seguir é mostrada a classificação taxonômica da espécie *Bunchosia armeniaca* [76].

Reino	<i>Plantae</i>
Divisão	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Ordem	<i>Malpighiales</i>
Família	<i>Malpighiaceae</i>
Gênero	<i>Bunchosia</i>
Espécie	<i>Bunchosia armeniaca</i> (Cav.) DC.
Sinonímia	<i>Malpighia armeniaca</i>

2.6. Aspectos químicos e biológicos de espécies da família *Malpighiaceae*

A família *Malpighiaceae* está entre as 10 maiores famílias em quantidade de espécies ocorrentes no Brasil (480), cerca de 40% das espécies da família, das quais 300 são endêmicas [94]. Apesar do grande número de espécies, pouco é conhecido acerca da constituição química sendo que apenas 27 espécies foram estudadas sob este aspecto.

Os poucos trabalhos na literatura reportam principalmente a presença de flavonoides e triterpenos para a maioria dos gêneros já estudados. Há também relatos sobre a presença de alcaloides β -carbólicos no gênero *Banisteropsis* (*B. caapi* e *B. inebrians*) e de iridoides no gênero *Stigmaphyllon* (isolados das raízes e folhas de *S. convolvulifolium* e *S. sagittatum*) (**Tabela 1**).

No nordeste brasileiro, ocorrem várias espécies do gênero *Byrsonima* que são conhecidas pela utilização dos seus frutos na alimentação e pelo emprego com fins medicinais. As espécies deste gênero são utilizadas principalmente como antidiarréico, antiasmático e contra infecções da pele, mas também há estudos confirmando sua atividade antiinflamatória, antibacteriana, antifúngica e antioxidante [88, 95, 96]. Do gênero já foram isolados alguns derivados flavonoídicos [97], em sua maioria catequinas e glicosídicos de quercetina, porém os triterpenos representam a classe de substâncias naturais mais frequentes [98] principalmente triterpenos com esqueletos do tipo oleanano [95].

Os compostos que já foram identificados em espécies da família *Malpighiaceae*, dispostos na **Tabela 1**, foram numerados de acordo com a classe a que pertencem, a saber: **A** para alcaloides, **E** para esteróides, **FE** para fenólicos, **F** para flavonoides, **G** para derivados do ácido gálico, **I** para iridoides, **O** para outras substâncias, **P** para proantocianidinas, **Q** para derivados do ácido quínico e **T** para triterpenos.

Do gênero *Camarea* há registro sobre a presença de agliconas livres, como apigenina (**F01**), crisoeriol (**F02**), canferol (**F03**) e quercetina (**F04**), bem como 7-*O*-glicosídeos de apigenina e luteolina (**F05** e **F06**), 3-*O*-glicosídeos de canferol e quercetina (**F07–F12**)

identificados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) a partir do extrato metanólico das folhas das sete espécies estudadas [99] (**Tabela 1**).

Do gênero *Malpighia* já foram identificados principalmente glicosídicos de quercetina presentes no fruto da acerola (*M. glabra* e *M. emarginata*) [88, 100]. Da espécie *M. emarginata* (acerola) foi identificado também um flavonóide inédito que foi nomeado de aceronidina (**F13**) [101].

Apesar dos pouquíssimos estudos realizados, é importante salientar algumas atividades relevantes para a espécie *Hepteropteris aphrodisiaca*, da qual a infusão das raízes é utilizada como tônico sexual, afrodisíaco e melhoria de memória e aprendizado em ratos idosos ou com déficit de memória [81, 83] e a espécie *Lophanthera lactescens*, da qual foi isolado o nor-triterpeno LLD-3 (**T01**), composto este que apresentou atividade leishmanicida [102].

A seguir estão dispostos os compostos que já foram identificados em espécies da família *Malpighiaceae* (**Tabela 1**) e mais adiante são apresentadas as respectivas estruturas esquemáticas (**Figura 9**).

Tabela 1. Compostos encontrados em espécies da família *Malpighiaceae*

Gênero Espécie	Substância identificada	Ref.
<i>Acridocarpus</i>		
<i>A. vivy</i>	4',5-di-hidroxi-7-metoxiflavona (F14), 4',5-di-hidroxi-3',7-dimetoxiflavona (F15), ácido morônico (T02), ácido ursólico (T03), ácido oleanólico (T04), ácido acridocarpúsico A-E (T05-T09)	[103]
<i>Banisteriopsis</i>		
<i>B. caapi</i>	harmol (A01), harmina (A02), harmano (A03), harmine-N-óxido (A04), harmato de metila (A05), acetilnorharmina (A06), ácido hármico (A07), harmicamida (A08), harmalol (A09), harmalina (A10), ácido harmalínico (A11), di-hidrochihunina (A12),	[104] [105] [106] [107] [108] [109] [110]

Tabela 1. Compostos encontrados em espécies da família Malpighiaceae (continuação)

<i>B. caapi</i>	chihunina (A13), tetrahidronorharmina (A14), [104]
	tetrahidroharmina (A15), harmalacidina (A16), [105]
	banistenoside A (A17), banistenoside B (A18), β - [106]
	sitosterol (E01), estigmasterol (E02), (-)-epicatequina [107]
	(F16), (-)-epicatequina-(4 β →8)-(-)-epicatequina (P01), [108]
ácido ursólico (T03), ácido oleanólico (T04) [109]	
	[110]
<i>B. inebrians</i>	harmol (A01), harmina (A02), harmalina (A10), [111]
	tetrahidroharmina (A15), cafeína (A19) [112]
	[113]
<i>Byrsonima</i>	
<i>B. basiloba</i>	quercetina-3- <i>O</i> - α - <i>L</i> -2''-galoilarabinopiranosídeo (F17), [114]
	(+)-catequina (F18), amentoflavona (F19), quercetina-3- [115]
	<i>O</i> - α - <i>L</i> -arabinopiranosídeo (guaijaverina) (F20), [116]
	quercetina-3- <i>O</i> - α - <i>L</i> -ramnopiranosil-(1→3)- <i>O</i> -[α - <i>L</i> - [116]
ramnopiranosil-(1→6)]- β - <i>D</i> -alopiranosídeo (F21), [115]	
quercetina 3- <i>O</i> - α - <i>L</i> -ramnopiranosil-(1→6)- β - <i>D</i> - [116]	
galactopiranosídeo (F22), quercetina 3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -2''- [116]	
galoilgalactopiranosídeo (F23), ácido gálico (G01), galato [116]	
de metila (G02)	
<i>B. bucidifolia</i>	galato de metila (G02), <i>m</i> -trigalato de metila (G03) [117]
	quercetina (F04), quercetina 3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -galactopiranosídeo [117]
<i>B. crassa</i>	(hiperina) (F07), (-)-epicatequina (F16), quercetina 3- <i>O</i> - [117]
	α - <i>L</i> -2''-galoilarabinopiranosídeo (F17), (+)-catequina [117]
	(F18), amentoflavona (F19), quercetina 3- <i>O</i> - α - <i>L</i> - [117]
	arabinopiranosídeo (guaijaverina) (F20), quercetina 3- <i>O</i> - [117]
	β - <i>D</i> -2''-galoilgalactopiranosídeo (F23), (+)-catequina- [117]
	[4 α →8]-(+)-catequina (F24), (+)-catequina-[4 α →8]-(+)- [117]
	catequina-[4 α →8]-(+)-catequina (F25), (+)-catequina- [117]
	[4 α →8]-(+)-catequina-[4 α →8]-(+)-catequina-[4 α →8]- [117]
	(+)-catequina (F26), (+)-catequina-[4 α →8]-(+)- [117]
	catequina-[4 α →8]-(+)-catequina-[4 α →8]-(+)-catequina- [117]
[4 α →8]-(+)-catequina (F27), 3- <i>O</i> -galoil-(+)-catequina [117]	
(F28), 3- <i>O</i> -galoil-(+)-catequina-[4 α →8]-3- <i>O</i> -galoil-(+)- [117]	
catequina (F29), galato de (-)-epigalocatequina (F30), [117]	
galato de metila (G02), ácido 3- <i>O</i> -galoil-quinóico (Q01), [117]	
ácido 3,4- <i>O</i> -digaloil-quinóico (Q02), ácido 3,4,5- <i>O</i> - [117]	
trigaloil-quinóico (Q03), ácido 1,3,4,5- <i>O</i> -tetragaloil- [117]	
quinóico (Q04), β -amirina (T10), friedelina (T11) [117]	

Tabela 1. Compostos encontrados em espécies da família Malpighiaceae (continuação)

<i>B. crassifolia</i>	<p>β-sitosterol (E01), daucosterol (E03), quercetina (F04), quercetina 3-<i>O</i>-β-<i>D</i>-galactopiranosídeo (hiperina) (F07), quercetina 3-<i>O</i>-β-<i>D</i>-glicopiranosídeo (isoquercetina) (F08), (+)-catequina (F18), quercetina 3-<i>O</i>-α-<i>L</i>-arabinopiranosídeo (guaijaverina) (F20), 3-<i>O</i>-galoil-(+)-epicatequina (F31), (+)-epicatequina (F32), quercetina 3-<i>O</i>-β-<i>D</i>-6''-galoilgalactopiranosídeo (F33), ácido gálico (G01), galato de metila (G02), 3-<i>O</i>-galoil-(+)-epicatequina-[4α→8]-3-<i>O</i>-galoil-(+)-epicatequina (P02), 3-<i>O</i>-galoil-(+)-epicatequina-[4α→8]-(+)-epicatequina (P03), (+)-epicatequina-[4α→8]-(+)-epicatequina (P04), (+)-epicatequina-[4α→8]-3-<i>O</i>-galoil-(+)-epicatequina (P05), (+)-epicatequina-[4α→6]-(+)-epicatequina (P06), 3-<i>O</i>-galoil-(+)-epicatequina-[4α→8]-3-<i>O</i>-galoil-(+)-epicatequina-[4α→8]-(+)-epicatequina (P07), 3-<i>O</i>-galoil(-)-epicatequina-[4β→8]-3-<i>O</i>-galoil-(+)-epicatequina-[4α→8]-(+)-epicatequina (P08), ácido oleanólico (T04), 2-β-hidróxi-lupeol (T12), ácido betulínico (T13), ácido 2-α-hidroxi-oleanólico (T14), ácido 2-β-hidróxi-oleanólico (T15), betulina (T16), betulinaldeído (T17), lupeol (T18), ursenaldeído (T19)</p>	<p>[124] [125] [126] [127]</p>
<i>B. fagifolia</i>	<p>quercetina 3-<i>O</i>-β-<i>D</i>-glicopiranosídeo (isoquercetina) (F08), quercetina 3-<i>O</i>-β-<i>D</i>-2''-galoilgalactopiranosídeo (F23), quercetina 3-<i>O</i>-β-<i>D</i>-2''-galoilglicopiranosídeo (F34), quercetina 3-<i>O</i>-β-<i>D</i>-xilopiranosídeo (F35), ácido gálico (G01), galato de metila (G02), ácido 3-<i>O</i>-galoil-quínico (Q01), ácido 3,4-<i>O</i>-digaloil-quínico (Q02), ácido 3,4,5-<i>O</i>-trigaloil-quínico (Q03), ácido 1,3,4,5-<i>O</i>-tetragaloil-quínico (Q04), dotriacontano (O02), β-amirina (T10), lupeol (T16), acetato de α-amirina (T20), ácido bássico (T21), α-amirina (T22)</p>	<p>[128] [129, 130]</p>
<i>B. intermedia</i>	<p>quercetina (F04), quercetina 3-<i>O</i>-β-<i>D</i>-galactopiranosídeo (hiperina) (F07), quercetina 3-<i>O</i>-α-<i>L</i>-2''-galoilarabinopiranosídeo (F17), amentoflavona (F19), quercetina 3-<i>O</i>-α-<i>L</i>-arabinopiranosídeo (guaijaverina) (F20), quercetina 3-<i>O</i>-β-<i>D</i>-2''-galoilgalactopiranosídeo (F23), ácido gálico (G01), galato de metila (G02), 1,2-benzenodiol (catecol, pirocatecol, pirocatequina) (G04), 1,2,3-benzenotriol (pirogalol, ácido pirogálico) (G05), β-amirina (T08)</p>	<p>[131, 132]</p>

Tabela 1. Compostos encontrados em espécies da família Malpighiaceae (continuação)

<i>B. microphylla</i>	<p>quercetina (F04), (2<i>S</i>, 3<i>S</i>)-3'-hidróxi-5,7,4'-trimetóxi-flavan-3-ol (F36), 3,4-di-hidro-2-(3-hidroxi-4-metoxifenil)-5,7-dimetoxi-(2<i>S</i>,3<i>S</i>)-2H-1-benzopirano-3-ol (F37), galato de metila (G02), dotriacontano (O02), 3-hidroxi-2-metoxi-8,8,10-trimetil-1,4,5(8H)-(-) - antraceno-1,4,5-triona (O03), 3-hidroxi-2-metóxi-8,8,10-trimetil-8H-antraceno-1,4,5-triona (O04), 7,8-di-hidro-3,7-di-hidroxi-2-metoxi-8,8,10-trimetil(-)-1,4,5(6H)-antraceno-1,4,5-triona (O05), 3,7-di-hidroxi-2-metóxi-8,8,10-trimetil-7,8-di-hidro-6H-antraceno-1,4,5-triona (O06), (2<i>S</i>*, 10αR*)-2,8-di-hidroxi-6-metóxi-1,1,7-trimetil-2,3,10,10α-tetra-hidro-1-H-fenatreno-9-ona (O07), ácido oleanólico (T04), β-amirina (T10), betulina (T16), lupeol (T18), Δ^1-lupenona (T23), ácido 21α-hidroxi-ursólico (T24), 3β-eicosanato de 24-hidroxi-olean-12-enila (T25), 3β-estearato de 24-hidroxi-olean-12-enila (T26), 3β-palmitato de 24-hidroxi-olean-12-enila (T27), 3β-eicosanato de 24-hidroxi-urs-12-enila (T28), 3β-estearato de 24-hidroxi-urs-12-enila (T29), 3β-palmitato de 24-hidroxi-urs-12-enila (T30)</p>	[133-135]
<i>B. variabilis</i>	<p>quercetina 3-<i>O</i>-β-<i>D</i>-glicopiranosídeo (isoquercetina) (F08), 3', 4', 5, 7-tetra-hidroxiflavanona (F38), galato de etila (G06)</p>	[136]
<i>B. verbascifolia</i>	<p>β-sitosterol (E01), quercetina (F04), quercetina 3-<i>O</i>-β-<i>D</i>-glicopiranosídeo (isoquercitrina) (F08), quercetina 3-<i>O</i>-α-<i>L</i>-arabinopiranosídeo (guajaverina) (F20), ácido ursólico (T03), ácido oleanólico (T04), β-amirina (T10), friedelina (T11), α-amirina (T22), 3-<i>O</i>-acetil-lupeol (T31), ácido 3-<i>O</i>-acetil-oleanólico (T32), β-amirirona (T33)</p>	[97, 98]
<i>Camarea</i>		
<i>C. affinis</i>	<p>apigenina (F01), luteolina 3'-<i>O</i>-metil éter (crisoeriol) (F02), quercetina (F04), apigenina 7-<i>O</i>-β-<i>D</i>-glicopiranosídeo (F05), luteolina 7-<i>O</i>-β-<i>D</i>-galactopiranosídeo (F06), quercetina 3-<i>O</i>-β-<i>D</i>-galactopiranosídeo (hiperina) (F07), canferol 3-<i>O</i>-β-<i>D</i>-glicopiranosídeo (F09), canferol 3-<i>O</i>-β-<i>D</i>-galactopiranosídeo (F10), canferol 3-<i>O</i>-α-<i>L</i>-ramnopiranosil-(1\rightarrow6)-β-<i>D</i>-glicopiranosídeo, (F11), quercetina 3-<i>O</i>-α-<i>L</i>-ramnopiranosil-(1\rightarrow6)-β-<i>D</i>-glicopiranosídeo (rutina) (F12)</p>	[99]

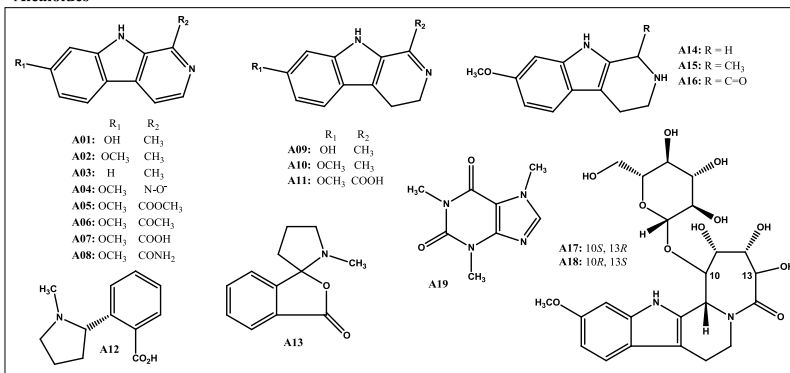
Tabela 1. Compostos encontrados em espécies da família Malpighiaceae (continuação)

<i>C. axillaris</i>	apigenina (F01), canferol (F03), quercetina (F04), apigenina 7- <i>O</i> - β - <i>D</i> -glicopiranosídeo (F05), quercetina 3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -galactopiranosídeo (hiperina) (F07), quercetina 3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -glicopiranosídeo (isoquercitrina) (F08), canferol 3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -glicopiranosídeo (F09), canferol 3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -galactopiranosídeo (F10)	[99]
<i>C. elongata</i>	apigenina (F01), canferol (F03), quercetina (F04), apigenina 7- <i>O</i> - β - <i>D</i> -glicopiranosídeo (F05), canferol 3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -glicopiranosídeo (F09), quercetina 3- <i>O</i> - α - <i>L</i> -ramnopiranosil-(1 \rightarrow 6)- β - <i>D</i> -glicopiranosídeo (rutina) (F12)	[99]
<i>C. ericoides</i>	quercetina 3- <i>O</i> - α - <i>L</i> -ramnopiranosil-(1 \rightarrow 6)- β - <i>D</i> -glicopiranosídeo (rutina) (F12)	[99]
<i>C. hirsuta</i>	apigenina (F01), luteolina 3'- <i>O</i> -metil éter (crisoeriol) (F02), apigenina 7- <i>O</i> - β - <i>D</i> -glicopiranosídeo (F05), quercetin 3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -galactopiranosídeo (hiperina) (F07), canferol 3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -galactopiranosídeo (F10), quercetina 3- <i>O</i> - α - <i>L</i> -ramnopiranosil-(1 \rightarrow 6)- β - <i>D</i> -glicopiranosídeo (rutina) (F12)	[99]
<i>C. humifusa</i>	canferol 3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -galactopiranosídeo (F10), canferol 3- <i>O</i> - α - <i>L</i> -ramnopiranosil-(1 \rightarrow 6)- β - <i>D</i> -glicopiranosídeo (F11), quercetina 3- <i>O</i> - α - <i>L</i> -ramnopiranosil-(1 \rightarrow 6)- β - <i>D</i> -glicopiranosídeo (rutina) (F12)	[99]
<i>C. sericea</i>	quercetina (F04), luteolina 7- <i>O</i> - β - <i>D</i> -galactopiranosídeo (F06), canferol 3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -galactopiranosídeo (F10), canferol 3- <i>O</i> - α - <i>L</i> -ramnopiranosil-(1 \rightarrow 6)- β - <i>D</i> -glicopiranosídeo (F11), quercetina 3- <i>O</i> - α - <i>L</i> -ramnopiranosil-(1 \rightarrow 6)- β - <i>D</i> -glicopiranosídeo (rutina) (F12)	[99]
<i>Heteropterys</i>		
<i>H. angustifolia</i>	1,2,4,6-tetra-3-nitropropanoil- β - <i>D</i> -glicopiranosídeo (hiptagina) (O08)	[137]
<i>Lophanthera</i>		
<i>L. lactescens</i>	estigmasterol (E02), estigmasta-4,22-dien-3-ona (E04), ergost-4-en-3-ona (E05), campesterol (E06), 6 α , 7 α , 15 β , 16 β , 24-pentacetoxi-22 α -carbometoxi-21 β ,22 β -epoxi-18 β -hidróxi-27,30-bisnor-3,4-,secofriedela-1,20(29)-dien-3,4 <i>R</i> -olide (LLD-3) (T01), β -amirinona (T33)	[102, 138]

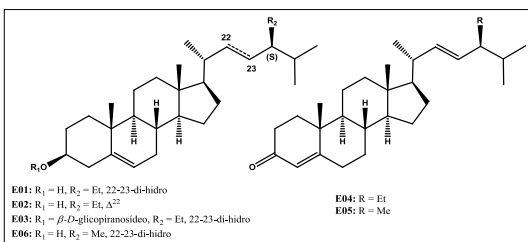
Tabela 1. Compostos encontrados em espécies da família Malpighiaceae (continuação)

<i>Malpighia</i>		
<i>M. emarginata</i>	<p>quercetina 3-<i>O</i>-β-<i>D</i>-galactopiranosídeo (hiperina) (F07), quercetina 3-<i>O</i>-α-<i>L</i>-ramnopiranosil-(1\rightarrow6)-β-<i>D</i>- glicopiranosídeo (rutina) (F12), leucocianidina 3-<i>O</i>-β-<i>D</i>- glicopiranosídeo (aceronidina) (F13), (-)-epicatequina (F16), Galato de (-)-epigalocatequina (F30), cianidina 3- <i>O</i>-α-<i>L</i>-ramnopiranosídeo (F39), cianidina 3-<i>O</i>-α-<i>L</i>- ramnopiranosil-(1\rightarrow6)-β-<i>D</i>-glicopiranosídeo (F40), pelargonidina 3-<i>O</i>-α-<i>L</i>-ramnopiranosídeo (F41), quercetina 3-<i>O</i>-α-<i>L</i>-ramnopiranosídeo (quercitrina) (F42), di-hidroquercetina 3-<i>O</i>-α-<i>L</i>-ramnopiranosídeo (astilbina) (F43), ácido <i>p</i>-cumárico (FE1), ácido clorogênico (FE2), ácido <i>L</i>-ascórbico (O01), (+)- epicatequina-[4$\alpha$$\rightarrow$8]-(+)-epicatequina (procianidina B1) (P09)</p>	[100, 101, 139- 143]
<i>M. glabra</i>	<p>apigenina (F01), canferol (F03), quercetina (F04), luteolina (F44), miricetina (F45)</p>	[144]
<i>Mascagnia</i>		
<i>M. pubiflora</i>	<p>quercetina (F04), canferol (F03), quercetina 3-<i>O</i>-α-<i>L</i>- ramnopiranosil-(1\rightarrow6)-β-<i>D</i>-glicopiranosídeo (rutina) (F12), mascagnina A (F46), mascagnina B (F47), malvidina 3,5-<i>O</i>-β-<i>D</i>-diglicopiranosídeo (F48), cianidina 3-<i>O</i>-β-<i>D</i>-glicopiranosídeo (F49), pelargonidina (F50), ácido <i>p</i>-cumarico (FE1), ácido clorogênico (FE2), ácido caféico (FE3), ácido ferúlico (FE4)</p>	[145, 146]
<i>Stigmaphyllon</i>		
<i>S. convolvulifolium</i>	<p>monotropeína (I01)</p>	[147]
<i>S. paralias</i>	<p>luteolina 7-<i>O</i>-α-<i>L</i>-ramnopiranosil-(1\rightarrow6)-β-<i>D</i>- glicopiranosídeo (F51), friedelina (T11), lupeol (T18), Δ^1-lupenona (T23), β-amirinona (T33), α-amirinona (T34), 3β-palmitato de α-amirina (T35), 3β-estearato de α-amirina (T36), ácido 3,4-seco-friedelan-3-óico (T38)</p>	[148]
<i>S. sagittatum</i>	<p>monotropeína (I01), ácido geniposídico (I02), 6β- hidroxigeniposide (I03), galioside (I04), geniposide (I05)</p>	[147, 149]

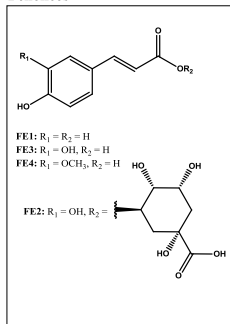
Alcaloides



Esteroides



Fenólicos



Derivados do ácido gálico

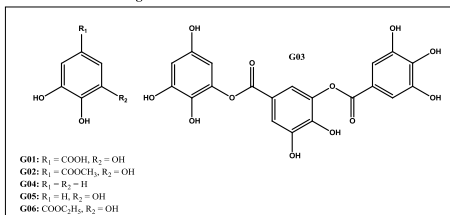
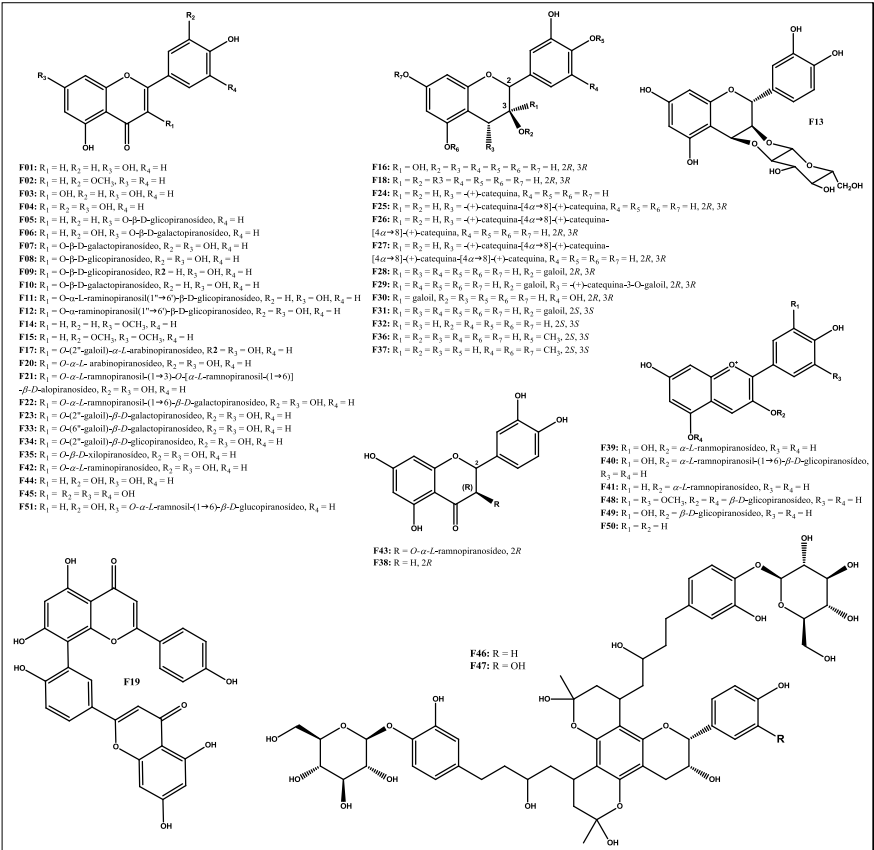
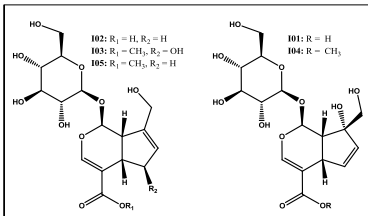


Figura 9. Estruturas moleculares dos compostos identificados na família *Malpigiaceae*

Flavonóides



Iridóides



Derivados do ácido quínico

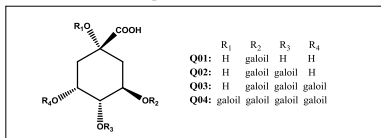
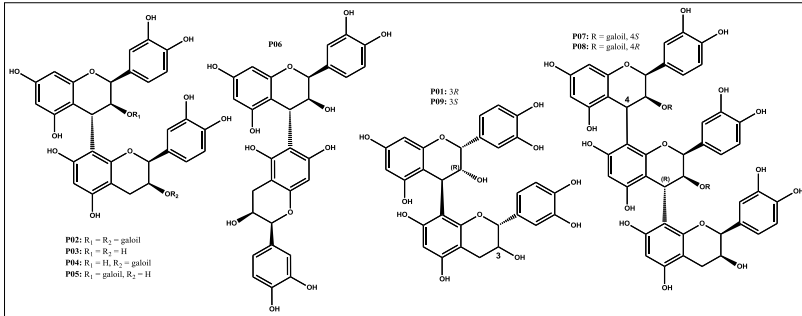


Figura 9. Estruturas moleculares dos compostos identificados na família *Malpighiaceae* (continuação)

Proantocianidinas



Triterpenos

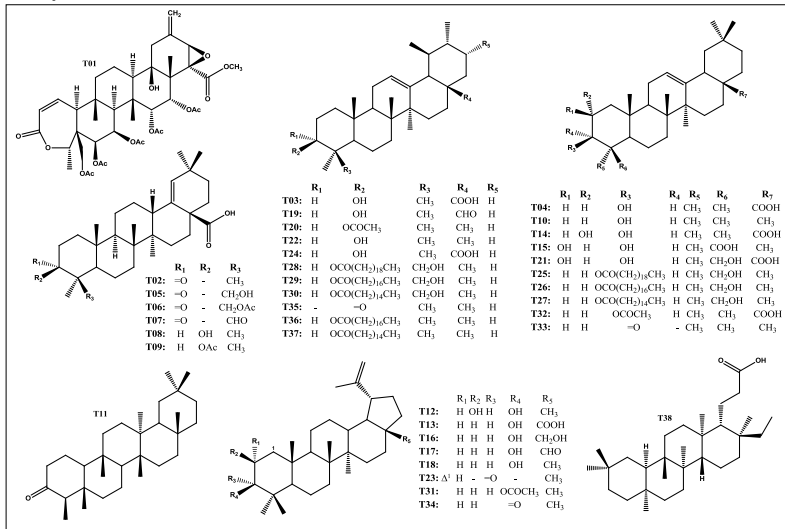


Figura 9. Estruturas moleculares dos compostos identificados na família *Malpighiaceae* (continuação)

Outras Substâncias

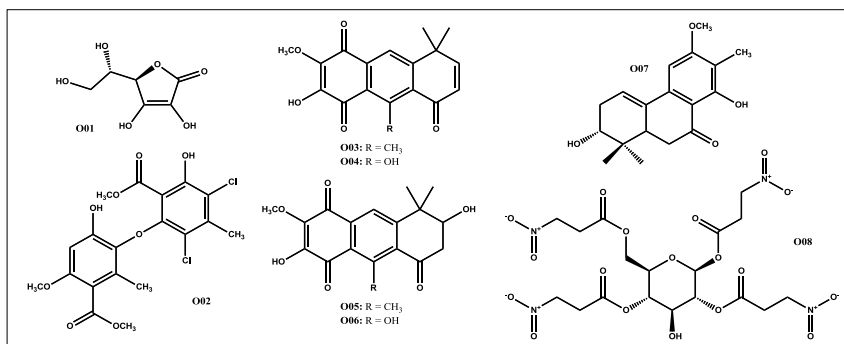


Figura 9. Estruturas moleculares dos compostos identificados na família *Malpighiaceae* (continuação)

3. OBJETIVOS

Este trabalho apresenta três objetivos principais sendo o primeiro o estudo fitoquímico da espécie *Bunchosia armeniaca* (*Malpighiaceae*), o segundo a síntese de uma série de derivados de 2-arilideno-1- α -tetralona (série **GSQ**) e finalmente avaliar as atividades biológicas.

3.1. Objetivos específicos

3.1.1. Estudo fitoquímico de *Bunchosia armeniaca*

- Coletar as folhas da espécie *Bunchosia armeniaca*;
- Obter e o extrato bruto das folhas secas efetuar particionamento líquido-líquido;
- Isolar compostos presentes na espécie através de técnicas de cromatografia em coluna de sílica gel;
- Identificar os compostos isolados da espécie através de técnicas espectroscópicas como RMN de ^1H e de ^{13}C , IV, UV-VIS e eletroforese capilar;

3.1.2. Síntese de derivados de 2-arilideno-1- α -tetralona

- Obter compostos derivados de 2-arilideno-1- α -tetralona através da reação de condensação de Claisen-Schmidt entre a α -tetralona e diferentes aldeídos para compor a série **GSQ**;
- Identificar os compostos sintéticos através de comparação dos seus pontos de fusão com os disponíveis na literatura e através de RMN de ^1H e de ^{13}C ;
- Obter cristais de alguns dos derivados de 2-arilideno-1- α -tetralona através de técnicas de formação de monocristais e elucidar a estereoquímica da dupla ligação através de difratometria de raios X;

3.1.3. Atividades Biológicas

- Avaliar a atividade antioxidante do extrato bruto e frações de *B. armeniaca* através dos ensaios do poder redutor e da capacidade sequestrante de radicais livres correlacionando com o conteúdo de fenólicos e de flavonoides;
- Avaliar a atividade antibacteriana do extrato bruto e compostos isolados de *B. armeniaca* assim como dos derivados de 2-arilideno-1- α -tetralona (série **GSQ**) contra bactérias gram+ e gram-;
- Avaliar a atividade antiinflamatória do extrato bruto e compostos isolados de *B. armeniaca* através do método da pleurisia induzida pela carragenina;
- Avaliar a atividade residual das proteínas tirosina fosfatase A e B (PtpA e PtpB) de *Mycobacterium tuberculosis* nos compostos isolados de *B. armeniaca* e nos derivados de 2-arilideno-1- α -tetralona (série **GSQ**);
- Avaliar a atividade antioxidante através do teste que mede o poder redutor dos derivados de 2-arilideno-1- α -tetralona (série **GSQ**).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Materiais e reagentes

Os solventes utilizados foram alcoóis etílico, metílico e n-butílico, acetona, hexano, acetato de etila, diclorometano, ácido acético e álcool de cereais, todos obtidos comercialmente. Utilizou-se sulfato de sódio anidro, como sal dessecante (Cromaline). Reagentes como DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazil) e de Folin-Ciocalteu foram adquiridos da Aldrich. Para as reações de síntese foram utilizados como reagentes a α -tetralona e aldeídos aromáticos com variações de substituição no anel. Os demais reagentes químicos utilizados nos testes biológicos eram de pureza analítica e foram utilizados sem tratamento prévio. Todos os reagentes foram obtidos de fonte comercial (Aldrich, Vetec e Synth).

Para cromatografia em camada delgada (CCD) analítica foram usadas cromatoplas de alumínio cobertas com sílica gel 60 em uma camada de 0,2 mm de espessura (Merck). Os reveladores utilizados foram: iodo, soluções reagentes de anisaldeído sulfúrico 5% em metanol, sulfato de cério 2% em ácido sulfúrico 2 mol.L⁻¹ e cloreto férrico 5% em etanol.

Os equipamentos utilizados para a realização deste projeto foram os mais diversos, tais como: estufa, rota- evaporador, balança analítica, câmara com luz UV, lavadora ultra-sônica, espectrofotômetro UV-VIS PERKIN ELMER Lambda2S e um aparelho digital Micro Química MQA PF – 301 para medir o ponto de fusão. Os espectros de IV foram analisados em um espectrômetro ABB FTLA 2000. As análises de RMN de ¹³C e ¹H foram feitas nos equipamentos VARIAN NMR AS 400 (400 MHz) e BRUKER AC 200 (200 MHz).

4.2. Material vegetal

As folhas de *Bunchosia armeniaca* foram coletadas em fevereiro de 2010 na praia da Pinheira na cidade de Palhoça - SC (27,867°S; 48,604°W), Grande Florianópolis, sendo identificado pelo professor

Daniel de Barcelos Falkenberg do Departamento de Botânica da Universidade Federal de Santa Catarina e depositada no Herbário FLOR sob o número de exsicata 41422.

4.3. Obtenção e particionamento do extrato bruto hidroalcoólico (EB)

Após a coleta, as folhas (580 g) foram secas em estufa a 50 °C e trituradas. Em seguida, as folhas foram maceradas exaustivamente em álcool de cereais durante sete dias por três vezes. O extrato bruto hidroalcoólico (EB) foi filtrado e o solvente evaporado sob pressão reduzida num rotoevaporador à temperatura de aproximadamente 60 °C. Após ser concentrado, o EB (14,11g / 100 g folhas) foi dissolvido em 300 mL de água/etanol 8:2 (v/v) onde se obteve um material insolúvel, INS (7,94 g / 100 g EB), que foi separado por filtração. O filtrado foi particionado com solventes de polaridade crescente rendendo as frações hexânica, FH (0,13 g / 100 g EB), acetato de etila, FAe (2,13 g / 100 g EB), butanólica, FB (0,36 g / 100 g EB) e aquosa. As frações desta planta não foram estudadas sob o ponto de vista fitoquímico, mas nestas foram aplicados testes biológicos.

4.4. Cromatografia flash em coluna para separação da mistura de flavonoides de *Bunchosia armeniaca*

Este procedimento foi executado baseado no que foi proposto por Still e Mitra (1978) [150]. Primeiramente foi necessário encontrar o solvente que melhor separasse os componentes da mistura, para este fim foi feita uma análise em CCD utilizando algumas combinações de solventes.

A pastilha foi preparada através da impregnação de 200 mg de sílica gel com 50 mg do sólido da mistura de flavonoides dissolvidos em metanol. Em seguida, uma coluna de 20 mm foi recheada com sílica gel (0,040-0,063 mm) até a altura de 20 cm e empacotada sob pressão utilizando a melhor combinação de solventes, que foi

AcOEt/HCO₂/AcOH/H₂O (100:11:11:26). A pastilha foi aplicada, o solvente adicionado e foram coletadas 20 frações de 10 mL cada sendo monitorada por CCD para avaliar a separação.

4.5. Hidrólise ácida de flavonoides

A amostra foi dissolvida em 10 mL de uma solução metanólica 2mol.L⁻¹ de HCl em um balão de 25 mL de fundo redondo e uma boca e deixada sob agitação e refluxo durante três horas. A reação foi monitorada por CCD. Após o arrefecimento, a mistura reacional foi submetida a uma extração líquido-líquido utilizando acetato de etila [151]. Após a evaporação do solvente, o sólido foi encaminhado para análise de RMN de ¹H e de ¹³C.

4.6. Análise por Eletroforese Capilar (EC)

As análises foram executadas pela doutoranda Melina Heller no Laboratório de Eletroforese Capilar, Departamento de Química – UFSC, sob orientação do Professor Gustavo Amadeu Mücke.

O equipamento utilizado foi o Eletroforese Capilar HP^{3D}CE da marca Agilent Technologies com as seguintes características: capilar de sílica fundida com revestimento externo de poliimida, dimensões: 40 cm L_{det}, 48,5 cm L_{tot}; 75 μm D.I. Tensão aplicada 30 kV. Injeção por pressão 50 mbar durante 6 s. Temperatura do capilar 25 °C. Detecção direta em 200 nm. Primeiro condicionamento do capilar: 30 min. com hidróxido de sódio 1,0 mol.L⁻¹, seguidos de 30 min. de água deionizada. Condicionamento diário: 5 min. com hidróxido de sódio 1,0 mol.L⁻¹, seguidos de 5 min. de água deionizada e 5 min. com o eletrólito de corrida.

Para executar a análise por eletroforese capilar, a amostra foi diluída em solução MeOH:H₂O 1:1 (v/v). O eletrólito de corrida foi constituído de tetraborato de sódio 20 mmol.L⁻¹ e metanol 10%, pH 9,0. A detecção foi feita em 200 nm e os espectros foram comparados com padrões disponíveis no laboratório (rutina, isoquercitrina, quercetina e

canferol). Para aumentar a confiabilidade da análise foi feita mais uma corrida com co-injeção dos padrões. A proporção de cada componente da amostra foi calculada a partir das respectivas áreas dos picos apresentados nos eletroferogramas, uma vez que esta é proporcional à concentração.

A amostra foi submetida a uma hidrólise ácida na qual 500 μL de uma solução metanólica dos compostos foram diluídos em água e transferida para um tubo de ensaio com tampa. A seguir foram adicionados 200 μL de HCl 8 M e o tubo foi colocado em estufa a 100°C durante 1 hora para hidrólise. Após o arrefecimento, foram adicionados 2 mL de água e 2 mL de acetato de etila para extração. A fase orgânica foi seca sob fluxo de N_2 e aquecimento a 70 °C e o resíduo foi dissolvido em 200 μL de uma solução MeOH:H₂O 1:1 (v/v). As condições da corrida após a hidrólise foram as mesmas da anterior.

4.7. Procedimento para a síntese da série de 2-arilideno-1- α -tetralona (GSQ)

Em um balão de fundo redondo de 50 mL e uma boca, adicionou-se α -tetralona (1,0 mmol), arilaldeído (1,0 mmol) em etanol (10 mL). Os reagentes foram dissolvidos sob agitação magnética e, em seguida, dez gotas de KOH 50 % (v/v) foram lentamente adicionadas. A reação foi deixada sob agitação magnética à temperatura ambiente. Após 24 horas, adicionou-se água destilada à reação e acidificou-se com ácido clorídrico 10 % (v/v) para aumentar a precipitação dos compostos. A mistura reacional foi deixada na geladeira por algumas horas para aumentar ainda mais a precipitação e, em seguida, foi filtrada em funil de Büchner. A pureza do produto obtido foi verificada por CCD e, quando necessário, foram efetuadas recristalizações em etanol ou com o sistema diclorometano/hexano.

4.8. Procedimento de formação de monocristais para análise de difratometria de raios X

Alguns compostos da série **GSQ** foram submetidos ao procedimento que se baseia na evaporação lenta do solvente da solução do composto em estudo com saturação lenta desta solução. O método, já descrito na literatura [152], é relativamente demorado. Em um recipiente de vidro, com capacidade para 10 mL, foram dissolvidos aproximadamente 10-20 mg de sólido na menor quantidade possível de etanol e aquecidos para melhorar a dissolução, em seguida mantidos ao abrigo da luz. Os compostos que formaram bons cristais foram encaminhados à análise de difratometria de raios X. O sistema de formação de cristais está mostrado na **Figura 10**.

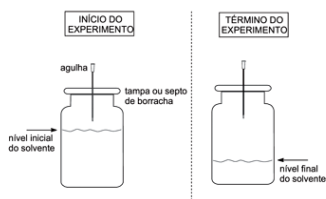


Figura 10. Esquema representativo do método utilizado para a formação de monocristais

4.9. Atividade antioxidante

Estes testes foram executados no nosso grupo de pesquisa, o Laboratório de Química de Produtos Naturais – LQPN.

4.9.1. Determinação do conteúdo de fenólicos totais

O teor de compostos fenólicos foi determinado de acordo com o método já descrito [153] utilizando o reativo de Folin-Ciocalteu. A cada 0,5 mL de uma solução 1000 ppm da amostra vegetal, foram adicionados 5,0 mL de água destilada e 0,25 mL do reativo de Folin-Ciocalteu. Após três minutos adicionou-se 1,0 mL de solução saturada

de Na_2CO_3 e a solução foi deixada em repouso por uma hora. As absorvâncias destas soluções foram determinadas em um espectrofotômetro de UV-VIS a 725 nm. Como branco, utilizou-se uma solução preparada conforme descrito acima, porém sem a presença da amostra. O aparecimento da coloração azul-escuro é o indicativo da presença de compostos fenólicos na amostra testada. Foi construída uma curva analítica com solução padrão de ácido gálico, nas concentrações de 50 a 1000 mg/mL, para comparação ($y = 5,60X - 21,83$; $R^2 = 0,999$). Todos os testes foram realizados em triplicata. O teor de compostos fenólicos totais foi expresso em equivalente de ácido gálico, ou seja, mg AG / g de amostra.

4.9.2. Determinação do conteúdo de flavonoides

A determinação do conteúdo de flavonoides baseia-se em método já descrito [154]. A 0,5 mL da amostra vegetal (1000 ppm) foram adicionados 2,5 mL de etanol e 0,5 mL de uma solução de AlCl_3 2 %. Após uma hora de repouso, foram feitas as leituras das absorvâncias das misturas em um espectrofotômetro de UV-VIS a 415 nm. Como branco, foi utilizada uma solução preparada conforme o procedimento acima, sem a adição da solução de AlCl_3 . O aparecimento de coloração verde é indicativo da presença de flavonoides. Foi construída uma curva analítica com solução de quercetina nas concentrações de 2,5 a 100 mg/mL, para comparação ($y = 10,57X - 2,29$; $R^2 = 0,999$). Os testes foram feitos em triplicata. O teor de flavonoides foi expresso em equivalentes de quercetina, ou seja, em mg EQ / g de amostra vegetal.

4.9.3. Determinação do poder redutor

A análise da atividade antioxidante através da determinação do potencial redutor baseia-se no método de Price e Butler (1977) conforme descrito na literatura [155, 156]. Neste teste foram preparadas, em triplicata, misturas reacionais compostas por 100 μL de amostra a 1000 ppm, 8,5 mL de água deionizada e 1,0 mL de uma solução de FeCl_3 0,1

mol.L⁻¹. Após três minutos, adicionou-se 1,0 mL de uma solução de ferricianeto de potássio 0,08 mol.L⁻¹. O aparecimento da cor azul da Prússia é indicativo de amostra com potencial atividade redutora. Após 15 minutos foram feitas as leituras das absorvâncias em espectrofotômetro de UV-VIS a 720 nm. Como branco, foi utilizada uma solução preparada conforme descrito acima, porém na ausência de amostra. Foi construída uma curva analítica utilizando solução de ácido ascórbico nas concentrações de 150 a 1000 ppm, para comparação ($y = 2,33X + 39,63$; $R^2 = 0,999$). O potencial redutor das amostras foi expresso em equivalente de ácido ascórbico, mg AA / g amostra.

4.9.4. Determinação da ação sequestradora de radicais livres

A avaliação da ação sequestradora de radicais livres usando o DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazil) baseia-se em método já descrito [157], com modificações. A cada 1,0 mL de solução etanólica das amostras a 100 ppm foram adicionados 2,0 mL de uma solução metanólica de DPPH 4×10^{-3} % (m/v). As absorvâncias foram medidas em um espectrofotômetro de UV-VIS a 517 nm após 30 minutos. O teste foi feito em triplicata e, como branco, foi utilizada uma solução preparada como descrito acima, sem a presença de DPPH. A atividade foi obtida através de uma curva analítica ($y = -0,0773X - 0,96$; $R^2 = 0,999$) utilizando o flavonóide quercetina, que possui alta capacidade de seqüestrar radicais livres, e foi expressa equivalentes de quercetina, ou seja, em mg EQ / g de amostra.

4.9.5. Análise estatística

Os testes antioxidantes foram expressos como média \pm desvio padrão e os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de Fisher para múltiplas comparações fixando-se $p < 0,05$ para indicar significância estatística.

4.10. Atividades biológicas

4.10.1. Atividade antibacteriana

Este ensaio foi realizado no departamento de Ciências Farmacêuticas da Universidade Regional de Blumenau (FURB) sob a supervisão do Professor Dr. Eduardo Monguilhott Dalmarco.

Para a determinação da atividade antibacteriana do extrato bruto e compostos isolados de *B. armeniaca* e dos derivados de 2-arilideno-1- α -tetralona foram utilizadas a bactéria gram-positiva *Staphylococcus aureus*, (ATCC25923). Foram utilizadas também as bactérias gram-negativas *Escherichia coli* (ATCC25922) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC27853). A identificação das estirpes foi confirmada pela utilização de perfis bioquímicos de acordo com a recomendação do Manual of Clinical Microbiology [158].

A atividade antibacteriana foi avaliada pelo método de microdiluição em caldo, como recomendado pelo *Clinical Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2008) [159] para a determinação da concentração inibitória mínima (CIM), que foi definida como a menor concentração necessária para inibir o crescimento bacteriano [160].

Inicialmente, uma solução de 10.000,0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ foi preparada para o extrato bruto, e 100,0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ para os compostos (isolados de *B. armeniaca* ou derivados de 2-arilideno-1- α -tetralona) usando dimetilsulfóxido (DMSO). No passo seguinte, foram transferidos 100 μL de cada diluição para uma placa contendo 100 μL de Muller-Hinton. Em seguida, foi realizada uma diluição de dezesseis vezes em série, resultando em diferentes concentrações de 5.000,0 – 0,30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ para o extrato bruto e de 500 – 0,03 $\mu\text{g}/\text{mL}$ para os compostos.

O inóculo (5 μL) contendo $1,5 \times 10^8$ unidades formadoras de colônias por mL (UFC/mL) (0,5 na escala McFarland) de cada microorganismo foi adicionado a cada poço. Alguns poços em cada microplaca foram reservados para realização do controle negativo (caldo estéril com bactérias e sem amostra-teste) e controle positivo (caldo estéril com bactérias e gentamicina: 100-0,1 $\mu\text{g}/\text{mL}$).

As placas foram incubadas aerobicamente por 24 horas a 35 °C. Em seguida foram adicionados a cada poço 10 µL de uma solução metanólica 5% de cloreto de 2,3,5 trifenil-tetrazólio (TTC, Vetec, São Paulo, Brasil) para detectar a presença de bactérias viáveis evidenciada pela mudança de coloração da solução de transparente para vermelha.

4.10.2. Atividade antiinflamatória: método da pleurisia induzida pela carragenina

Este ensaio foi realizado no departamento de Ciências Farmacêuticas da Universidade Regional de Blumenau (FURB) sob a supervisão do Professor Dr. Eduardo Monguilhott Dalmarco.

Animais: O estudo utilizou 240 (duzentos e quarenta) camundongos albinos suíços, de um mês de idade, de ambos os sexos, pesando entre 18 e 25 g, fornecidos pelo Biotério Central da FURB.

Os animais mencionados foram acomodados em gaiolas plásticas com serragem, sob temperatura ambiente e luz natural. Estes animais receberam alimentação e água durante todos os experimentos. Este projeto foi aprovado pelo Comitê de ética na experimentação com animais (CEEA) da FURB sob protocolo N° 026/2007.

Procedimento anestésico: A anestesia foi induzida com pentobarbital (25 mg/kg) administrados por via intraperitoneal, a fim de possibilitar a administração da solução corante de azul de Evans (25 mg/kg, i.v.) com o objetivo de se avaliar de forma indireta a exsudação.

Eutanásia dos animais: Os animais foram sacrificados com overdose de pentobarbital (120 mg/kg, i.p.), administrado por via intraperitoneal.

Pleurisia induzida pela carragenina: No dia dos experimentos, os animais receberam 0,1 mL de solução fisiológica estéril (NaCl 0,9%) ou do agente flogístico carragenina (Cg, 1%), administrado na cavidade pleural (i.pl.) direita, através do espaço intercostal, utilizando-se de uma agulha 13 x 5 mm e cânula de poliestireno. De acordo com cada protocolo experimental, após a administração da carragenina ou da solução salina estéril, os animais foram sacrificados com overdose de

pentobarbital em 4 h após a indução da inflamação. A seguir, os animais foram fixados em mesa cirúrgica, em declive de 30° a 45°, sendo feita uma incisão transversal na pele e nos músculos abdominais. Posteriormente, o apêndice xifóide foi pinçado e, através de duas incisões paralelas ao longo do esterno, a cavidade pleural foi exposta. Imediatamente, a cavidade pleural foi lavada com duas alíquotas de 0,5 mL (totalizando 1 mL) de solução de tampão fosfato/salina (PBS, pH 7,6, NaCl 130 mmol.L⁻¹, Na₂HPO₄ 5 mmol.L⁻¹, KH₂PO₄ 1 mmol.L⁻¹ e heparina 20 UI.mL⁻¹). Alíquotas do lavado pleural foram coletadas com auxílio de pipeta automática para a quantificação do número total de células. De acordo com o protocolo experimental, 10 minutos antes dos experimentos, alguns grupos de animais foram tratados com solução de Azul de Evans (25 mg/kg, 0,2 mL/animal, i.v.), para posterior determinação indireta do grau de exsudação na cavidade pleural.

Para análise da enzima mieloperoxidase, os animais não foram previamente tratados com o corante azul de Evans, uma vez que este interfere nas dosagens colorimétricas para a quantificação destes parâmetros.

Contagem total dos leucócitos: No dia dos experimentos, após sacrifício dos animais e abertura das cavidades, alíquotas do lavado pleural (200 μ L) foram reservadas para a contagem celular total, utilizando-se líquido de Türk (1:20) e câmara de Neübauer, com auxílio de microscópio ótico comum (aumento 400 vezes). Os resultados foram expressos em número total de células ($\times 10^6$).

Determinação da exsudação: No dia dos experimentos, uma alíquota (200 μ L) do lavado pleural foi reservada para a determinação da concentração de Azul de Evans em leitor de microplaca (Organon-Tecknica, Roseland, New Jersey, EUA), por leitura da densidade ótica, em comprimento de onda 620 nm, de acordo com a metodologia descrita [161]. Para a quantificação da concentração de azul de Evans, curvas padrão com concentrações previamente conhecidas do corante (0,01 - 50 μ g/mL) tiveram suas densidades óticas determinadas. Os valores das concentrações de azul de Evans nas amostras foram interpolados com base na reta padrão e expressos em μ g/mL.

Determinação da atividade da enzima mieloperoxidase: Neste grupo de experimentos, imediatamente após o sacrifício dos animais, uma amostra do lavado pleural de camundongos foi coletada e imediatamente processada para a quantificação da atividade da enzima mieloperoxidase (MPO) segundo metodologia descrita [162]. Volumes de 20 μL do lavado da cavidade pleural ou do padrão (MPO de neutrófilos humanos (0,7 - 140 mUI/mL)) foram transferidos para microplacas contendo 96 poços e a reação bioquímica iniciada com a adição de 180 μL de uma solução de 0,167 mg/mL de *o*-dianisidina 2 HCl e 0,0005% de H_2O_2 . Após 15 min. de incubação, à temperatura ambiente, a reação enzimática foi interrompida com a adição de 30 μL de azida sódica (1%). A seguir, as placas contendo as amostras foram lidas em densidade ótica (450 nm) em leitor de microplacas (Organon-Technica, Roseland, New Jersey, EUA). Curvas-padrão com atividades conhecidas da MPO (0,7 - 140 mU/mL) também tiveram suas densidades óticas determinadas, permitindo a quantificação dos valores desconhecidos. Os valores da MPO foram expressos em mU/mL, com o auxílio da curva padrão.

Análise estatística: Os resultados de todos os parâmetros inflamatórios estudados foram expressos como média \pm erro padrão os quais foram analisados pelos testes estatísticos utilizando o programa de estatística GraphPad Prism[®] versão 3.00 (San Diego, Califórnia, EUA). Diferenças estatísticas entre os grupos controle e os grupos tratados com as amostras foram avaliadas por meio do teste de variância ANOVA (teste paramétrico bicaudal de duas vias), complementado pelos testes *pos-hoc* de Dunnett. Quando necessário utilizou-se o teste *t* de Student (não-pareado) e o teste de correlação de Pearson. Para todas as análises estatísticas, valores de *p* menores que 0,05 foram considerados significativos.

4.10.3. Atividade inibitória e seletividade de compostos frente às enzimas PtpA e PtpB de *Mycobacterium tuberculosis*

Os experimentos foram desenvolvidos no Centro de Biologia Molecular Estrutural, no Departamento de Bioquímica da Universidade Federal de Santa Catarina, sob coordenação do Prof. Dr. Hernán Terenzi. A expressão e purificação das enzimas foi realizada pela aluna Ângela Camila Orbem Menegatti e os ensaios de atividade pela Dra. Louise Domeneghini Chiaradia.

PtpA de *M. tuberculosis* WT (wildtype): expressão e purificação: O vetor de expressão pRT29a (QIAGEN) contendo o gene da proteína PtpA de *M. tuberculosis*, foi cedido pelo PhD. Pedro M. Alzari, do Institut Pasteur, Paris. Este vetor foi inserido em *Escherichia coli* BL21(DE3) para produzir proteínas recombinantes contendo uma cauda de seis histidinas. As bactérias contendo o vetor de expressão foram incubadas por 16 horas (*overnight*) em 10 mL de meio Luria-Bertani (LB) contendo 50 µg/mL de canamicina a 37 °C.

Para a expressão da proteína, 5 mL de cultura *overnight* foram transferidos para 250 mL de meio LB e incubou-se a 37 °C com agitação (140 rpm) até a fase de crescimento exponencial, correspondente a uma densidade ótica de 0,6-0,8 nm. Em seguida, as bactérias foram colocadas a 15°C por 20 min. e depois se adicionou 0,5 mmol.L⁻¹ de *iso*-propil-β-D-tiogalactopiranosídeo (IPTG) para a indução da síntese da proteína. As culturas foram incubadas *overnight* a 15 °C e então recolhidas por centrifugação a 5.000 x g por 30 min.; o sedimento foi ressuspenso em tampão *lysis* (20 mmol.L⁻¹ Tris-HCl pH = 8,0, 0,5 mol.L⁻¹ NaCl, 10 mmol.L⁻¹ imidazol e 10% glicerol) contendo inibidores de proteases (Amersham Biosciences). As células foram então lisadas por sonicação em gelo (Fischer Scientific Model 60 Sonic Dismembrator) e depois centrifugadas a 12.000 x g por 1 hora, a 4 °C.

As proteínas recombinantes com cauda de histidina na porção *N*-terminal (*His-tag*), foram purificadas em condições nativas por cromatografia de afinidade com metal imobilizado (IMAC) [163]. Foram utilizadas colunas *His-trap* (*His Trap HP Kit for purification of*

histidine tagged proteins, Amersham Biosciences), carregadas com níquel, conectadas a um sistema ÄKTA (GE Healthcare). A resina foi inicialmente equilibrada com o tampão de lise, e o sobrenadante obtido após a lise e centrifugação dos cultivos foi incubado com a coluna, à temperatura ambiente. Em seguida, a coluna foi lavada com concentrações crescentes de imidazol, desde um tampão sem imidazol até uma concentração final de 500 mmol.L⁻¹. O imidazol compete quimicamente com a cauda de histidina da proteína recombinante e, ao serem aumentadas as concentrações do imidazol, a proteína é eluída da coluna [164].

A pureza das frações foi analisada por SDS-PAGE (eletroforese em gel de poliacrilamida-dodecil sulfato de sódio) e as frações contendo proteína purificada foram reunidas e dialisadas a 4 °C, em 4 etapas por 2 h em tampão de diálise (tampão D), com concentrações decrescentes de imidazol (150 mmol.L⁻¹, 75 mmol.L⁻¹, 35 mmol.L⁻¹ e sem imidazol). O último tampão (tampão D) contém 20 mmol.L⁻¹ Tris-HCl pH=8,0, 50 mmol.L⁻¹ NaCl, 5 mmol.L⁻¹ EDTA, 20% glicerol e 5 mmol.L⁻¹ DTT (DL-ditiotreitol). As proteínas foram concentradas por ultrafiltração usando membrana porosa de 10 kDa (Amicon Ultra-15 Millipore) e armazenadas a -20°C. A concentração da proteína foi determinada por ensaio de Bradford usando albumina soro bovina como padrão [165]. Um passo adicional de purificação por gel filtração foi feita em um sistema AKTA Basic system (GE Healthcare): volumes de 5 mL de proteína dialisada (5 mg) foram injetadas na coluna preparativa Superdex 200 16/60 (GE Healthcare) previamente lavada e equilibrada no tampão D; a proteína foi eluída com 2 VC do tampão D; as frações contendo PtpA recombinante foram associadas, concentradas por centrifugação suplementada com 50 mmol.L⁻¹ DTT de concentração final e armazenadas a -20 °C.

PtpB de *M. tuberculosis* WT (wildtype): expressão e purificação: O vetor de expressão pET29 (QIAGEN) contendo o gene da proteína PtpB de *M. tuberculosis*, foi cedido pelo PhD. Pedro M. Alzari, do Institut Pasteur, Paris. Este vetor foi inserido em *Escherichia coli* BL21(DE3) para produzir proteínas recombinantes contendo uma

cauda de 6 histidinas. As bactérias contendo o vetor de expressão foram incubadas por 16 horas (*overnight*) em 10 mL de meio Luria-Bertani (LB) contendo 50 µg/mL de canamicina a 37 °C.

Os procedimentos de expressão, purificação e análise da pureza da proteína recombinante PtpB foram idênticos aos descritos para a PtpA. As frações contendo PtpB recombinante foram associadas, concentradas por centrifugação (sem adição de DTT) e armazenadas a -20°C.

Avaliação da atividade residual das enzimas PtpA e PtpB: Os testes de avaliação da inibição enzimática pelos compostos foram feitos de acordo com metodologia já descrita [166]. Os ensaios foram realizados em placas de 96 poços contendo 5 µL do composto diluído a 1,0 mmol.L⁻¹ (concentração final de 25 µM), 20 µL de imidazol 200 mmol.L⁻¹ pH=7,0 (concentração final de 20 mmol.L⁻¹), 10 µL de *p*-nitrofenilfosfato [*p*NPP] 400 mmol.L⁻¹ (concentração final de 40 mmol.L⁻¹), água MilliQ q.s.p 198 µL em cada poço, seguidos da adição de 2 µL de proteína recombinante diluída para início da reação. Alternativamente, os ensaios foram realizados com incubação anterior da PtpB por 10 min. em estufa a 37 °C com os compostos, tampão imidazol e água MilliQ, e após este período adicionado o substrato *p*NPP para iniciar a reação. No caso da PtpA os ensaios foram realizados nas mesmas condições alterando-se a incubação da proteína por 5 min. à temperatura ambiente.

As proteínas foram usadas nas seguintes concentrações: *i*) PtpA 1,15 µg/µL (diluída 5 vezes para uso em Tampão D, que contém 20 mmol.L⁻¹ Tris-HCl pH=8,0, 50 mmol.L⁻¹ NaCl, 5 mmol.L⁻¹ EDTA, 20% glicerol e 5 mmol.L⁻¹ DTT) – concentração de 0,4 µg/µL em cada poço; e *ii*) PtpB 0,11 µg/µL (diluída 2 vezes para uso, em Tampão D) – concentração de 0,4 µg/µL em cada poço. As enzimas, quando ativas, clivam o substrato (*p*NPP), liberando *p*-nitrofenol, de cor amarela. A absorbância foi medida em espectrofotômetro UV-VIS para placas de ELISA (TECAN), por 10 minutos a 37 °C (a 410 nm com leituras a cada 1 minuto). Controles negativos foram feitos na ausência de enzima e

compostos, e controles positivos na presença de enzima e DMSO 100% no lugar do composto. O percentual de atividade residual foi calculado pela diferença de absorbância entre o tempo 6 minutos e 2 minutos, obtido pela média de dois experimentos feitos em triplicata.

Determinação dos valores de CI_{50} : A inibição dos compostos foi determinada por cálculos de CI_{50} (concentração necessária para um composto inibir 50% a atividade da enzima). Os valores de CI_{50} foram determinados usando concentrações crescentes de inibidor (5, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 65, 80 e 100 $\mu\text{mol.L}^{-1}$) *versus* % de inibição, obtidos pela mesma metodologia do item anterior. A atividade enzimática foi expressa em valores de percentual de atividade residual comparada ao controle sem inibidor. Os dados experimentais foram analisados com o programa Microsoft Office Excel 7.0 e os valores de CI_{50} determinados graficamente através da regressão linear de melhor ajuste.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Esta seção foi dividida em três partes para melhor discussão, sendo a primeira o estudo fitoquímico da espécie *Bunchosia armeniaca*, a segunda a síntese dos derivados de 2-arilideno-1- α -tetralona e finalmente a discussão das atividades biológicas do extrato bruto, frações e compostos obtidos naturalmente e os sintéticos.

5.1. Estudo fitoquímico de *Bunchosia armeniaca* (Malpighiaceae)

Durante o particionamento líquido-líquido do extrato bruto (EB) das folhas de *B. armeniaca*, observou-se, na fração butanólica, a formação de um precipitado amarelo em forma de pequenos grãos. A solução foi deixada em repouso à temperatura ambiente para a maior precipitação. Em seguida, foi feita a filtração e recristalização em metanol. Obteve-se então 1,20 g de precipitado (14,7 mg/g EB) e faixa de fusão de 167,7–175,0 °C. O teste colorimétrico de Shinoda (HCl/limalhas de Mg), específico para flavonoides apresentou resultado positivo (mudança de coloração para vermelha). Foram feitas análises em CCD utilizando algumas combinações de solventes como CHCl₃/MeOH (3:7), AcOEt/HCO₂/AcOH (90:5:5), porém foi encontrada na literatura a combinação AcOEt/HCO₂/AcOH/H₂O (100:11:11:26) [167], ideal para separação de flavonoides glicosilados. A revelação com cloreto férrico mostrou a presença de uma mistura de três manchas (R_f: 0,36; 0,43 e 0,64).

O precipitado foi analisado por espectrofotometria de IV e o espectro apresentou uma banda larga e intensa em 3428 cm⁻¹ característica de estiramentos de ligações O-H, uma banda em 1655 cm⁻¹ característica de estiramentos de ligação C=O (sistema α - β insaturado), uma banda em 1602 cm⁻¹ característica de estiramentos de ligação C=C, uma banda em 1297 cm⁻¹ característica de estiramentos de ligação C-O e uma banda pouco intensa em 2909 cm⁻¹ característica de estiramentos de ligações C-H (**Figura 11**).

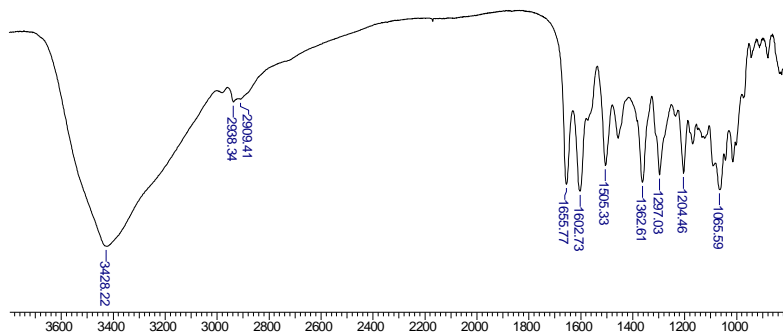


Figura 11. Espectro de IV da mistura de flavonoides de *Bunchosia armeniaca*

A tentativa de separação dos componentes da mistura através de uma cromatografia flash com sílica gel utilizando o sistema de solventes AcOEt/HCO₂/AcOH/H₂O (100:11:11:26) não obteve sucesso.

O precipitado foi analisado por eletroforese capilar onde foi observada a presença de três picos na região de flavonoides glicosilados. Em seguida, o precipitado foi submetido a uma hidrólise ácida e novamente analisado por eletroforese capilar com co-injeção dos padrões de quercetina e canferol e, em seguida, foi feita a comparação do espectro de UV-VIS destes padrões com o dos picos obtidos no eletroferograma. A **Figura 12** mostra a comparação dos eletroferogramas antes (**12a**) e após a hidrólise (**12b**) onde os picos observados antes da hidrólise não aparecem após a hidrólise sugerindo que se trata de flavonoides *O*-glicosídicos, pois uma hidrólise ácida não é capaz de hidrolisar o açúcar em flavonoides *C*-glicosídicos [151].

Através da análise por eletroforese capilar e comparação dos espectros de UV-VIS com alguns padrões disponíveis foi possível identificar, no eletroferograma antes da hidrólise (**12a**) os picos referentes à rutina, um flavonóide desconhecido e à isoquercitrina na proporção respectivamente de 83,48%, 10,95% e 5,57% e no eletroferograma após a hidrólise (**12b**) foram identificados os picos referentes ao canferol e à quercetina nas porcentagens de 13% e 87% (1,0 : 6,7), respectivamente.

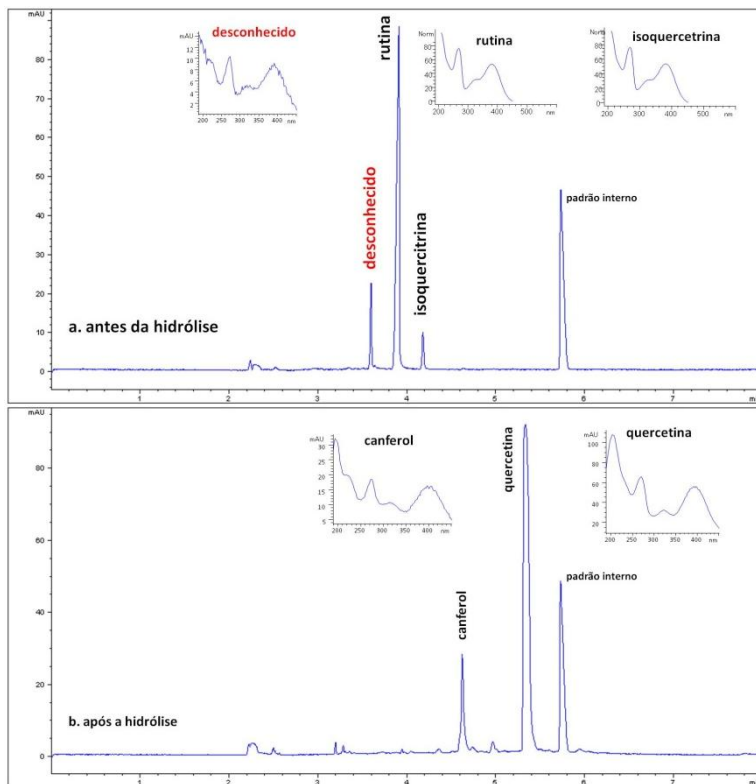


Figura 12. Eletroferogramas da mistura de flavonoides antes e após a hidrólise ácida

O produto hidrolisado foi analisado por espectrometria de RMN de ^1H e de ^{13}C . O espectro de RMN de ^1H mostrou uma variedade de sinais com dois conjuntos distintos de integração em uma proporção de 1,0 para aproximadamente 7,0. Analisando os sinais de maior proporção observou-se um padrão de dois dupletos em 6,17 e 6,38 ppm, com constante de acoplamento de 2,0 Hz, indicando acoplamento *meta* entre eles, e integral correspondente a um hidrogênio cada, atribuídos respectivamente aos hidrogênios ligados aos carbonos C6 e C8 do anel A dos flavonóides. Também foi observado o padrão de dois dupletos em 6,87 e 7,73 ppm, com constantes de acoplamento respectivamente de 8,6 Hz (acoplamento *orto*) e 2,1 Hz (acoplamento *meta*), atribuídos

respectivamente aos hidrogênios ligados aos carbonos C5' e C2' do anel B e um duplo duplete em 7,62 ppm possuindo constantes de acoplamento de 8,6 e 2,1 Hz, atribuído ao hidrogênio ligado ao carbono C6' do anel B, todos com integrais correspondentes a um hidrogênio. Estes dados são correspondentes à estrutura da quercetina ou 3, 5, 7, 3', 4' penta-hidroxiflavona (**F04**). Analisando os sinais de menor proporção foi observado o mesmo padrão de dois dupletos em 6,12 e 6,33 ppm, atribuídos respectivamente aos hidrogênios ligados aos carbonos C6 e C8 do anel A, com constante de acoplamento de 1,8 Hz, indicando acoplamento *meta*, e integral correspondente a um hidrogênio. Foram observados também dois dupletos em 6,89 e 8,08 ppm com integração para dois hidrogênios e constante de acoplamento de 9,0 Hz, indicando acoplamento *orto*, atribuídos respectivamente aos pares de hidrogênios 3'/5' e 2'/6' do anel B. Estes dados correspondem à estrutura do canferol ou 3, 5, 7, 4' tetra-hidroxiflavona (**F03**). O espectros de RMN de ¹H é apresentado na **Figura 13** e os dados compilados estão dispostos na **Tabela 2** juntamente com os dados da literatura.

O espectro de RMN de ¹³C do produto hidrolisado apresentou 30 sinais referentes à mistura de flavonóides, onde foram observados os sinais característicos das agliconas canferol e quercetina (**Figura 13**). Os dados foram dispostos na **Tabela 3** juntamente com os dados da literatura para comparação.

Foi utilizado ainda o NAPROC-13, uma ferramenta *online* de compilação de dados de espectros de RMN de ¹³C de compostos naturais e sintéticos referenciados na literatura científica, onde se pesquisou as estruturas através dos deslocamentos químicos característicos [168].

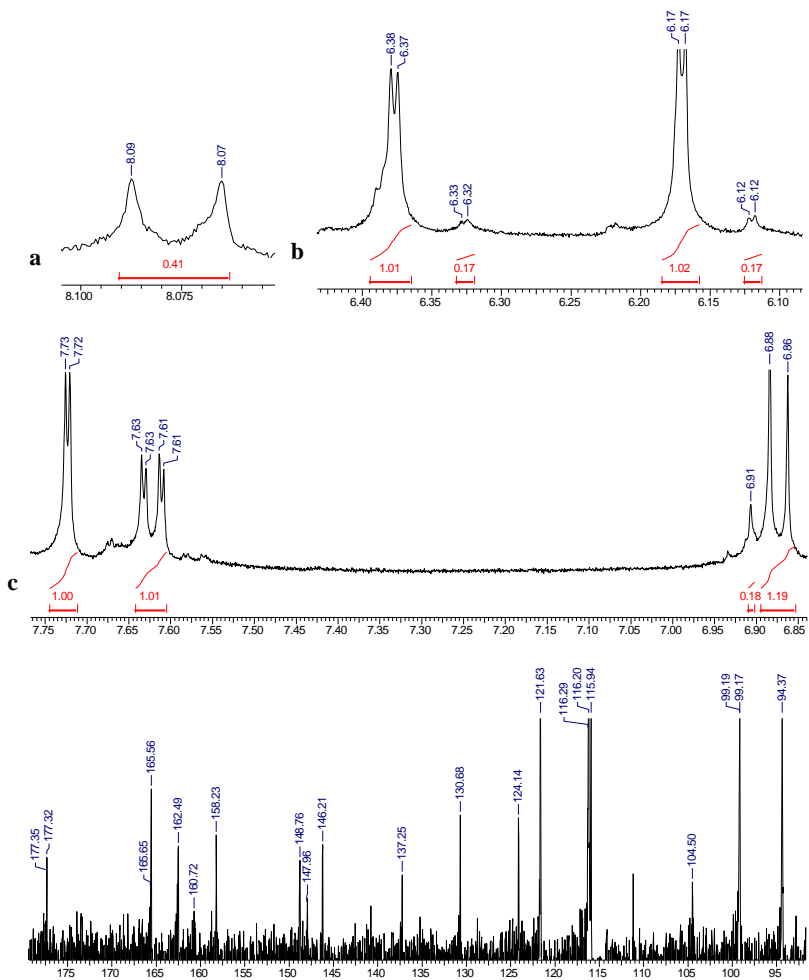


Figura 13. Espectro de RMN (400 MHz) de ^1H e de ^{13}C da mistura de flavonoides hidrolisados de *Bunchosia armeniaca* em metanol-D
 Regiões do espectro de RMN de ^1H ampliadas: **a** – anel A do canferol, **b** – anel A do canferol e da quercetina e **c** – anel B da quercetina e do canferol.

Tabela 2. Dados dos espectros de RMN de ¹H dos flavonoides de *Bunchosia armeniaca* após a hidrólise

	quercetina (F04)		canferol (F03)	
	Lit.[169]	Exp.	Lit.[170]	Exp.
H-6	6,18 (d; 2,0)	6,17 (d; 1,9)	6,27 (d; 2,0)	6,12 (d; 1,8)
H-8	6,39 (d; 2,0)	6,38 (d; 1,9)	6,34 (d; 2,0)	6,33 (d; 1,8)
H-2'	7,66 (d; 2,1)	7,73 (d; 2,1)	7,98 (d; 8,3)	8,08 (d; 9,0)
H-3'	-	-	6,96 (d; 8,3)	6,89 (d; 9,0)
H-5'	6,88 (d; 8,5)	6,87 (d; 8,6)	6,96 (d; 8,3)	6,89 (d; 9,0)
H-6'	7,52 (dd; 2,2; 8,5)	7,62 (dd; 2,1; 8,6)	7,98 (d; 8,3)	8,08 (d; 9,0)

RMN 400 MHz; solvente metanol-D. Dados: deslocamento químico / ppm (multiplicidade – d=duplete, dd=duplo-duplete; acoplamento (*J*) / Hz).

Tabela 3. Dados dos espectros de RMN de ¹³C dos flavonoides de *Bunchosia armeniaca* após a hidrólise

	quercetina (F04)		canferol (F03)	
	Lit.[171]	Exp.	Lit.[172]	Exp.
C-2	147,5	148,01	146,8	147,96
C-3	136,5	137,25	135,6	137,23
C-4	176,5	177,35	175,9	177,32
C-5	161,0	162,51	160,7	162,49
C-6	99,5	99,19	98,2	99,17
C-7	166,0	166,65	163,9	165,56
C-8	94,5	94,37	93,5	94,34
C-9	156,7	158,23	156,2	159,19
C-10	104,0	104,53	103,1	104,50
C-1'	123,0	124,14	121,7	121,65
C-2'	116,0	116,20	129,5	130,68
C-3'	145,7	146,21	115,4	115,94
C-4'	148,1	148,76	159,2	160,72
C-5'	116,5	116,29	115,4	115,94
C-6'	121,0	121,63	129,5	130,68

RMN 400 MHz; solvente metanol-D.

A mistura de flavonoides glicosídicos foi analisada novamente por eletroforese capilar comparando seus espectros de UV-VIS com os de alguns padrões de rutina e isoquercitrina. Através desta última análise foi possível identificar dois dos três flavonoides da mistura: rutina (quercetina 3-*O*- α -*L*-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 6)- β -*D*-glicopiranosídeo) (**F12**) e isoquercitrina (quercetina 3-*O*- β -*D*-glicopiranosídeo) (**F08**). Para aumentar a confiabilidade desta análise foi feita outra análise por eletroforese capilar com co-injeção dos respectivos padrões.

A **Figura 14** mostra o eletroferograma (**14a**) sem e (**14b**) com padrão co-injetado assim como a sobreposição dos espectros de UV-VIS dos flavonoides presentes na amostra com seus respectivos padrões. Observa-se o aumento dos picos referentes à rutina e à isoquercitrina sem a formação de ombros confirmando a composição da mistura, porém um dos picos continua desconhecido.

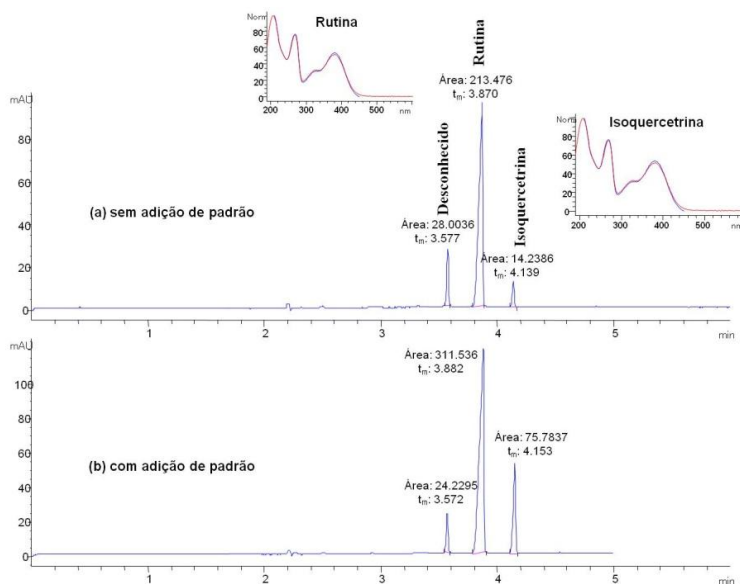


Figura 14. Eletroferogramas com e sem co-injeção de padrão e sobreposição dos espectros de UV-VIS

A identificação de todos os componentes da mistura de flavonoides glicosilados somente por eletroforese capilar não foi possível. Por isso se utilizou a técnica de RMN de ^1H para a mistura não hidrolisada. Apesar de não ser uma tarefa muito fácil, visto que há uma quantidade muito grande e sobreposição de sinais na região de campo alto referentes aos hidrogênios do açúcar, foi o que permitiu a total elucidação da estrutura do flavonóide glicosídico desconhecido.

Após se conhecer dois dos três glicosídeos de flavonoides presentes na mistura foi possível confirmá-los no espectro de RMN de ^1H e de ^{13}C atribuindo-lhe os sinais. Para a isoquercitrina (**F08**), além dos sinais referentes ao núcleo comum da aglicona quercetina, observa-se o duplete em 5,24 ppm, com constante de acoplamento de 7,4 Hz, indicando acoplamento do tipo axial-axial da ligação β -glicosídica, e integral correspondente a um hidrogênio, atribuído ao hidrogênio anomérico da glicose. Os espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C são apresentados nas **Figuras 16 e 17** e os dados de encontram-se nas **Tabelas 4 e 5**, respectivamente, juntamente com os dados da literatura.

Para a rutina (**F12**), composto majoritário da mistura, além dos sinais referentes ao núcleo comum da aglicona quercetina, pode-se destacar, como principais sinais para identificação da rutinose, os dupletos em 5,10 ppm, com constante de acoplamento de 7,6 Hz, indicando acoplamento axial-axial da ligação β -glicosídica, e 4,51 ppm, com constante de acoplamento de 1,6 Hz, indicando acoplamento equatorial-equatorial da ligação α -glicosídica, ambos com integração equivalente a um hidrogênio e atribuídos ao hidrogênio anomérico da glicose e da ramnose, respectivamente. Também é evidente a presença do duplete em 1,11 ppm, com constante de acoplamento de 6,2 Hz e integral referente a três hidrogênios atribuídos à metila da ramnose (**Tabela 4**). No espectro de RMN de ^{13}C observa-se o sinal em 17,87 ppm atribuído ao carbono da metila desta ramnose (**Figura 17 e Tabela 5**).

Sabendo-se que dois dos três picos presentes no eletroferograma antes da hidrólise (**Figura 12a**) são referentes a glicosídeos de quercetina, conclui-se que o composto desconhecido é um glicosídeo de

canferol, o qual também foi confirmado nos espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C . Observando mais atentamente o espectro de RMN de ^1H da mistura de flavonoides não hidrolisado foi possível encontrar os sinais referentes ao núcleo comum da aglicona canferol assim como mais um duplete em 4,46 ppm com integração para um hidrogênio e constante de acoplamento de 1,6 Hz, indicando um acoplamento equatorial–equatorial da ligação α -glicosídica, atribuído a hidrogênio anomérico de ramnose. Também foi observado o duplete em 1,06 ppm com integração para três hidrogênios e acoplamento de 6,2 Hz, atribuído aos hidrogênios ligados à metila de ramnose (**Figura 16 e Tabela 4**). No espectro de RMN de ^{13}C observa-se o sinal em 17,83 ppm atribuído ao carbono desta metila de ramnose (**Figura 17 e Tabela 5**). Com estes dados foi possível identificar este composto desconhecido como sendo a afzelina (canferol 3- O - α -*L*-ramnopiranosídeo) (**F52**) sendo este o primeiro relato da ocorrência deste composto na família *Malpighiaceae*. As estruturas dos compostos identificados na espécie *B. armeniaca* são mostradas na **Figura 15**.

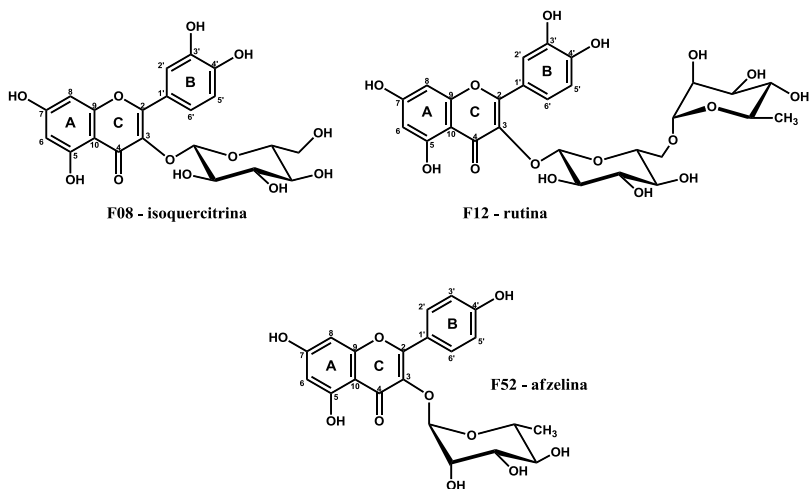


Figura 15. Flavonoides glicosilados identificados em *Bunchosia armeniaca*

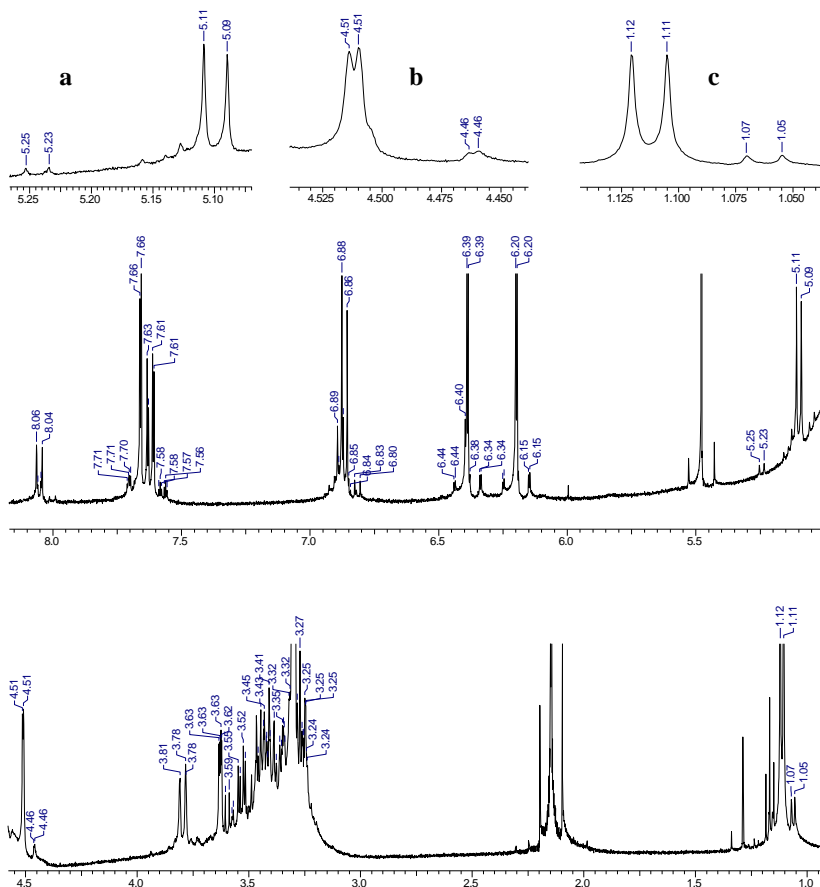


Figura 16. Espectro de RMN (400 MHz) de ^1H da mistura de flavonoides glicosilados de *Bunchosia armeniaca* em metanol-D

Regiões ampliadas do espectro de RMN de ^1H : **a** – dois dupletos referentes ao hidrogênio anomérico das glicoses de isoquercitrina e rutina; **b** – dois dupletos referentes ao hidrogênio anomérico das ramnoses de rutina e afzelina; **c** - dois dupletos referentes aos hidrogênios da metila das ramnoses de rutina e afzelina.

Tabela 4. Dados dos espectros de RMN de ¹H dos flavonoides de *Bunchosia armeniaca* antes da hidrólise

	rutina (F12)		isoquercitrina (F08)		afzelina (F52)	
	Lit.[173]	Exp.	Lit.[173]	Exp.	Lit.[174]	Exp.
H-6	6,21 (d; 2,0)	6,20 (d; 2,1)	6,20 (d; 2,2)	6,25 (d; 2,0)	6,30 (d; 1,9)	6,15 (d; 2,0)
H-8	6,40 (d; 2,0)	6,39 (d; 2,1)	6,39 (d; 2,2)	6,44 (d; 2,0)	6,48 (d; 1,9)	6,34 (d; 2,0)
H-2'	7,66 (d; 2,1)	7,66 (d; 2,1)	7,70 (d; 2,2)	7,58 (d; 2,3)	7,86 (d; 8,6)	8,05 (d; 9,0)
H-3'	-	-	-	-	7,03 (d; 8,7)	6,88 (d; 9,0)
H-5'	6,87 (d; 8,5)	6,87 (d; 8,4)	6,86 (d; 8,3)	6,82 (d; 8,6)	7,03 (d; 8,7)	6,88 (d; 9,0)
H-6'	7,62 (dd; 2,1; 8,5)	7,62 (dd; 8,4; 2,1)	7,58 (dd; 2,2; 8,3)	7,57 (dd; 2,3; 8,6)	7,86 (d; 8,6)	8,05 (d; 9,0)
	Glc		Glc		Rha	
H-1''	5,10 (d; 7,7)	5,10 (d; 7,6)	5,23 (d; 7,6)	5,24 (d; 7,4)	5,47 (d; 1,6)	4,46 (d; 1,6)
H-2''	3,46 (dd; 7,7; 8,9)	*	3,47 (dd; 7,6; 9,0)	*	4,31 (dd; 1,6; 3,3)	*
H-3''	3,40 (t; 8,9)	*	3,42 (t; 9,0)	*	3,80 (dd; 3,4; 9,0)	*
H-4''	3,26(t; 8,9)	*	3,34 (t; 9,0)	*	3,42 m	*
H-5''	3,32 (ddd; 1,2; 6,1, 8,9)	*	3,21 (ddd; 2,4; 5,4; 9,0)	*	3,40 m	*
H-6''a	3,80 (dd; 1,2; 11,0)	3,80 (dd; 1,0; 10,7)	3,70 (dd; 2,4; 12,0)	*	1,01 (d; 5,6)	1,06 (d; 6,2)
H-6''b	3,38 (dd; 6,1; 11,0)	3,38 (dd; 6,1; 10,7)	3,56 (dd; 5,4; 12,0)	*	-	-
	Rha					
H-1'''	4,51 (d, 1,5)	4,51 (d; 1,6)				
H-2'''	3,62 (dd; 1,5; 3,4)	*				
H-3'''	3,53 (dd; 3,4; 9,6)	*				
H-4'''	3,27 (t; 9,6)	*				
H-5'''	3,44 (dq; 6,2; 9,6)	*				
H-6'''	1,11 (d; 6,2)	1,11 (d; 6,2)				

MN 400 MHz; solvente metanol-D. Dados: deslocamento químico / ppm (multiplicidade – d=duplete, dd=duplo-duplete, ddd=duplo-duplo-duplete, multiplete, t=tripleto; acoplamento – J / Hz).

* difícil atribuição devido à sobreposição excessiva de sinais. Glc = glicose, Rha = ramnose.

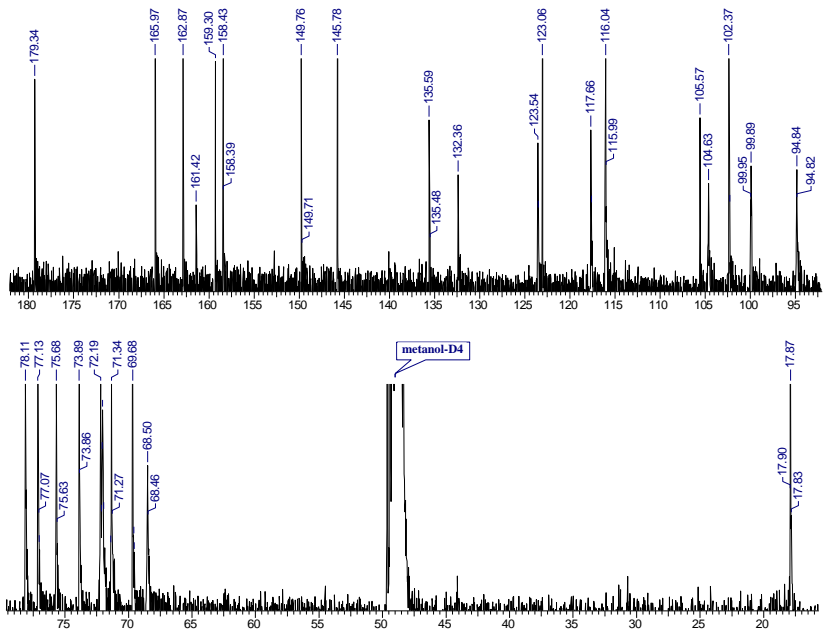


Figura 17. Espectro de RMN (400 MHz) de ^{13}C da mistura de flavonoides glicosilados de *Bunchosia armeniaca* em metanol-D

Tabela 5. Dados dos espectros de RMN de ¹³C dos flavonoides de *Bunchosia armeniaca* antes da hidrólise

	rutina (F12)		isoquercitrina (F08)		afzelina (F52)	
	Lit.[173]	Exp.	Lit.[173]	Exp.	Lit.[174]	Exp.
C-2	158,52	158,39	158,47	*	159,32	159,3
C-3	135,62	135,59	135,61	*	136,23	135,54
C-4	179,44	179,34	179,5	*	179,66	179,31
C-5	162,98	162,87	163,07	*	163,26	*
C-6	99,95	99,89	99,87	99,88	99,84	99,95
C-7	166,01	165,97	165,99	*	165,93	*
C-8	94,87	94,84	94,69	94,79	94,75	94,91
C-9	159,35	158,43	159,02	*	158,59	158,39
C-10	105,66	104,64	105,7	104,63	105,94	105,57
C-1'	123,15	123,06	123,18	*	122,64	123,02
C-2'	117,69	115,99	115,99	*	131,91	132,36
C-3'	145,84	145,78	149,84	*	116,54	116,11
C-4'	149,81	149,76	145,91	149,71	161,62	161,42
C-5'	116,06	116,04	117,54	*	116,54	116,11
C-6'	123,55	123,06	123,08	*	131,91	132,36
	Glc		Glc		Rha	
C-1''	104,69	102,37	104,28	102,28	103,52	102,32
C-2''	75,74	75,68	75,73	75,63	71,93	71,39
C-3''	78,2	78,11	78,12	78,06	72,13	72,06
C-4''	71,42	71,34	71,22	69,65	73,19	73,86
C-5''	77,25	78,07	78,39	77,06	72,05	71,27
C-6''	68,56	68,5	62,56	*	17,66	17,83
	Rha					
C-1'''	102,42	102,25				
C-2'''	72,12	72,03				
C-3'''	72,26	72,19				
C-4'''	73,94	73,89				
C-5'''	69,71	69,68				
C-6'''	17,87	17,87				

RMN 400 MHz; solvente metanol-D. Glc = glicose e Rha = ramnose.

* difícil atribuição devido à sobreposição excessiva de sinais.

5.2. Síntese de derivados de 1-benzilideno-2- α -tetralonas via condensação de Claisen

Já foram descritos diversos métodos para a síntese de chalconas, porém o método da condensação de Claisen-Schmidt é, sem dúvida, o mais empregado por ser mais conveniente em termos de baixa toxicidade reacional e prover rendimentos satisfatórios em sua maioria.

A condensação entre os aldeídos aromáticos substituídos e a α -tetralona em etanol ocorre através da adição de algumas gotas de uma solução aquosa de hidróxido de potássio 50% (KOH), o qual desempenha o papel de catalisador. Inicialmente o íon hidróxido (OH^-) formado *in situ* remove o hidrogênio ácido da α -tetralona formando um carbânion estabilizado por ressonância. A reação segue com o ataque nucleofílico do enolato ao carbono da carbonila do aldeído formando assim o íon alcóxido, um intermediário tetraédrico que, por sua vez, é protonado pela água convertendo-se no intermediário β -hidroxicarbonílico, o produto de adição. Na etapa seguinte, o produto de adição sofre uma desidratação básica onde um hidrogênio é removido da posição α -carbonílica formando novamente o íon enolato. O grupo hidróxi β -carbonílico é protonado, sendo eliminado em seguida, formando o produto de condensação (**Figura 18**) [21].

O ataque nucleofílico à carbonila do aldeído é mais favorecido quanto maior o caráter retirador de elétrons do substituinte do anel.

A escolha dos substituintes no aldeído para as sínteses dos protótipos foi baseada na árvore de Topliss [13], com algumas estruturas adicionais, para facilitar uma futura correlação entre estrutura e as atividades biológicas.

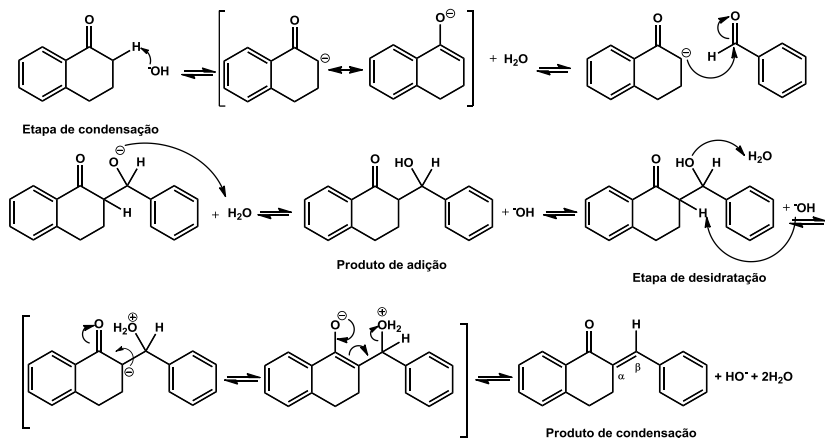
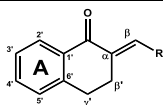


Figura 18. Condensação de Claisen-Schmidt para a síntese de 1-benzilideno-2- α -tetralonas

Inicialmente foi executada a síntese do composto 2-(4-clorobenzilideno)-1- α -tetralona (**GSQ-01**), a partir da α -tetralona e do 4-clorobenzaldeído, onde o 4-Cl é um substituinte retirador de elétrons por efeito indutivo. A reação foi testada em etanol e metanol como meio reacional para avaliar em qual deles a reação apresentaria melhor rendimento sob agitação magnética por 24h, temperatura ambiente e adição de dez gotas de KOH (50%). A reação executada em metanol resultou em um produto impuro e, após recristalização em etanol a quente, apresentou rendimento de 33,4% formando cristais amarelos em forma de agulhas. A reação executada em etanol apresentou melhor rendimento (94%) resultando em um sólido amarelo o qual teve a pureza confirmada por CCD (R_f 0,61; Hex:AcOEt 9:1) e ponto de fusão 134,5-135,0 °C. Por este método foram obtidos 28 compostos (série **GSQ**). Os dados experimentais tais como rendimento, pontos de fusão, comparados com dados da literatura, e CAS dos compostos que não são inéditos, foram dispostos na **Tabela 6** e suas estruturas são apresentadas na **Figura 19**.

Tabela 6. Dados experimentais da série de derivados de 1-benzilideno-2- α -tetralona



Composto	R	MM (g/mol)	R(%)	p.f. (°C)		CAS
				Lit.	Exp.	
GSQ-01	4-Cl-fenil	269,69	94,10	132,0-3,0[74]	134,5-5,0	59082-24-5
GSQ-02	4-NO ₂ -fenil	279,31	77,60	185,0-6,0[175]	183,0-3,5	59082-21-2
GSQ-03	2-NO ₂ -fenil	279,31	não reagiu	—	—	130689-18-8
GSQ-04	4-OBu-fenil	255,62	64,90	*	97,0-8,5	544666-30-0
GSQ-05	2-Cl-fenil	269,69	não reagiu	—	—	444890-69-1
GSQ-06	3-Br-fenil	313,20	80,10	*	101,9-4,6	227030-22-0
GSQ-07	4-OMe-fenil	264,33	94,80	105,0-6,0[175]	98,5-9,7	59120-87-5
GSQ-08	fenil	234,19	55,90	100,0-1,0[175]	102-2,6	57558-64-2
GSQ-09	3,4-(OH) ₂ -fenil	266,19	não reagiu	—	—	130689-15-5
GSQ-10	4-Br-fenil	313,22	49,00	141,0-3,0[175]	151,2-3,6	59082-23-4
GSQ-11	4-N(Me) ₂ -fenil	277,38	18,30	*	144,1-7,0	59082-27-8
GSQ-12	4-F-fenil	252,30	34,90	110,0-2,0[74]	109,7-10,8	59082-25-6
GSQ-13	3-NO ₂ -fenil	279,31	91,10	*	137,5-8,4	224948-22-5
GSQ-14	3-Cl-fenil	268,76	45,40	108,0-9,0[175]	108,0-8,8	61926-42-9
GSQ-15	4-OH-fenil	250,19	não reagiu	—	—	124996-02-7
GSQ-16	4-Me-fenil	248,34	51,90	121,0-2,0[74]	116,8-8,0	59082-26-7
GSQ-17	3,4-Cl ₂ -fenil	303,20	96,30	*	148,6-9,0	258832-18-7
GSQ-18	2,5(OMe) ₂ -fenil	294,37	49,60	106,0[176]	72,9-4,4	101480-18-6
GSQ-19	4-CF ₃ -fenil	302,30	87,80	*	169,4-70,2	151885-84-6
GSQ-20	3,5-Cl ₂ -fenil	303,20	53,10	*	174,2-5,6	Inédito
GSQ-21	3-CF ₃ -fenil	302,30	3,20	*	103,4-3,9	452950-58-2
GSQ-22	2,4-Cl ₂ -fenil	303,20	96,10	170,8-2,8[177]	102,5-3,4	440344-91-2
GSQ-23	1-naftil	284,37	91,40	*	114,2-6,0	258352-54-4
GSQ-24	3,4-OCH ₂ O-fenil	278,32	80,80	132,0-3,0[178]	129,0-30,1	80554-35-4
GSQ-25	2-OH-fenil	250,10	não reagiu	—	—	99618-52-7
GSQ-26	2,4,6-(OMe) ₃ -fenil	324,39	87,30	*	119,0-9,7	Inédito
GSQ-27	3,4,5(OMe) ₃ -fenil	324,39	não reagiu	—	—	444890-67-9
GSQ-28	2,4,5(OMe) ₃ -fenil	324,39	não reagiu	—	—	903360-55-4
GSQ-29	2,6-Cl ₂ -fenil	303,20	não reagiu	—	—	852931-96-5
GSQ-30	2-tiofeno	240,34	93,40	*	87,7-8,4	106368-03-0
GSQ-31	3-CN-fenil	259,32	não reagiu	—	—	70516-15-3
GSQ-32	2-naftil	284,37	95,60	130,0-1,0[175]	131,0-2,5	218150-17-5
GSQ-33	5-(2-Cl,5-CF ₃ -fenil)-furfural	402,82	71,90	*	103,0-4,3	Inédito
GSQ-34	4-CN-fenil	259,32	10,60	161,0-3,0[179]	136,5-8,3	59082-22-3
GSQ-35	Indol-3-carboxaldeído	273,35	não reagiu	—	—	149169-77-7
GSQ-36	4(5)-imidazol-carboxaldeído	224,28	não reagiu	—	—	157058-34-9
GSQ-37	4-Me-5-imidazol-carboxaldeído	238,31	não reagiu	—	—	Inédito
GSQ-38	5-NO ₂ -furfural	269,28	não reagiu	—	—	67001-69-8
GSQ-39	5-(2-NO ₂ -fenil)-furfural	345,37	91,00	*	116,0-8,0	362473-02-7
GSQ-40	2,6(OMe) ₂ -fenil	294,37	94,00	*	103,0-4,0	Inédito
GSQ-41	2-COOH-fenil	278,49	não reagiu	—	—	29045-90-7
GSQ-42	2,3,4(OMe) ₃ -fenil	324,39	54,40	*	109,0-10,0	571935-95-0

*não foi encontrado na literatura científica

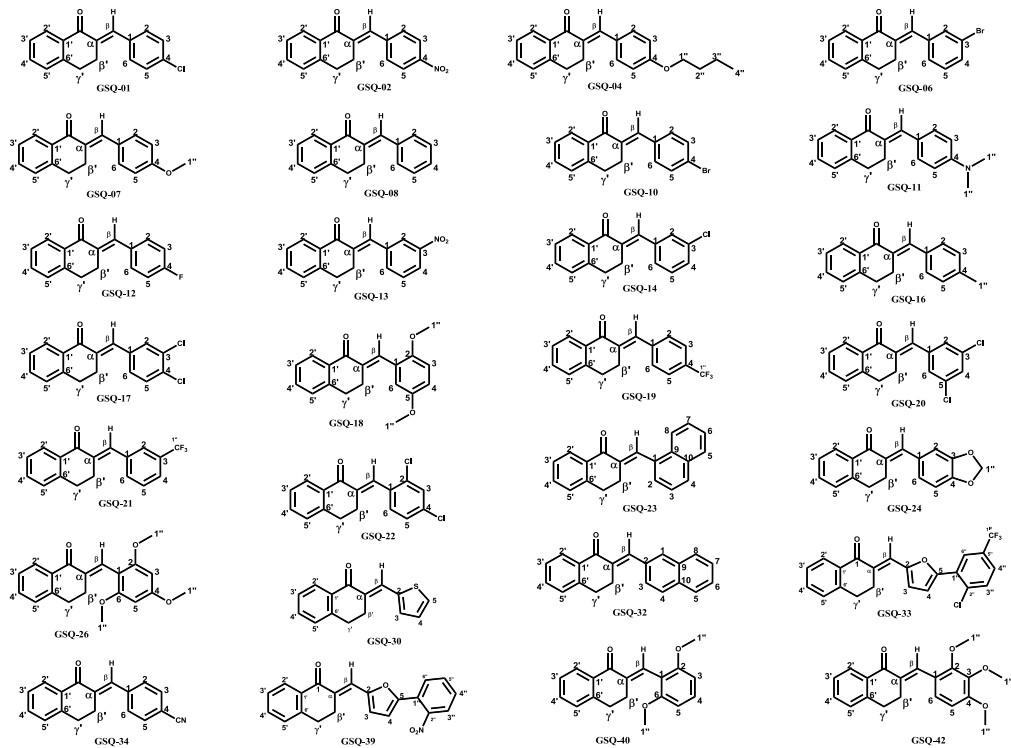


Figura 19. Estruturas dos derivados de 2-arilideno-1- α -tetralona (série GSQ)

O composto **GSQ-01** foi analisado por espectrometria de RMN de ^1H e, dentre os sinais, podem-se destacar o simpleto em 7,67 ppm, com integral relativa de um hidrogênio, referente ao hidrogênio olefínico ligado ao carbono β , sendo este o principal sinal para se constatar a formação do produto da reação. Também se observa um duplo duplete centrado em 8,0 ppm com constantes de acoplamento de 7,7 Hz, correlação *orto*, e de 1,1 Hz, correlação *meta*, atribuído ao hidrogênio ligado ao C2', um duplo duplete centrado em 7,40 ppm ($J_{orto} = 7,3$ Hz e $J_{meta} = 1,5$ Hz) atribuído ao hidrogênio ligado ao C3', todos com integral relativa de 1,0; por fim os dois tripletos centrados em 2,97 e 2,82 ppm com integrais relativas de dois atribuídos respectivamente aos hidrogênios dos metilenos β' e γ' . Não foram atribuídos os sinais relativos aos demais hidrogênios devido à sobreposição entre si e com o sinal do solvente (**Figura 20**).

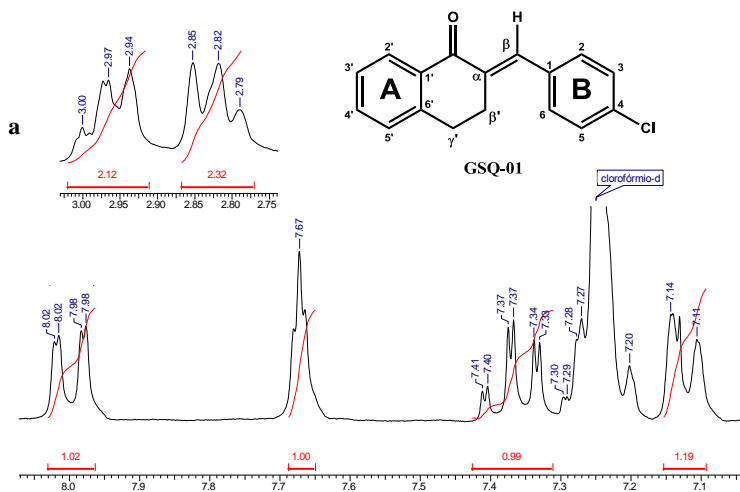


Figura 20. Espectro de RMN (200 MHz) de ^1H em CDCl_3 de 2-(4-clorobenzilideno)-1- α -tetralona (GSQ-01)

a: ampliação da região em campo alto do espectro de RMN.

Os dados dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C dos 28 derivados de 2-arilideno-1- α -tetralona sintetizados neste trabalho a partir da condensação de Claisen-Schmidt neste trabalho foram dispostos em forma de tabela nos anexos (**anexos 1 a 14**).

Quanto à estereoquímica da dupla ligação α - β -carbonílica, cálculos computacionais simples utilizando o programa HiperChem[®] mostraram que há uma diferença de 2,0 a 3,0 kcal.mol⁻¹ no calor de formação entre os isômeros *E* e *Z*, sendo o isômero *Z* o de maior energia, porém o isômero *E* pode ser fotoisomerizado pela radiação ultravioleta sendo convertido no isômero *Z* conforme descrito na literatura [16] e mostrado na figura abaixo.

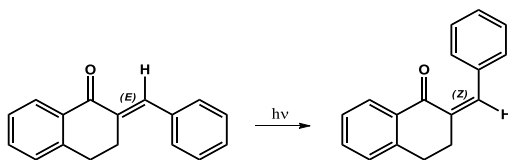


Figura 21. Esquema da conversão do isômero *E* em *Z*

Os compostos da série **GSQ** apresentam uma insaturação α - β -carbonílica trissubstituída dificultando a elucidação da sua estereoquímica (*E* ou *Z*) através de RMN de ^1H por não apresentarem acoplamentos H-H (*trans* ou *cis*), porém seus isômeros podem ser diferenciados pela comparação do deslocamento químico atribuído ao hidrogênio olefínico ligado ao carbono β . O efeito de desblindagem promovido pela anisotropia diamagnética do grupo carbonila resulta em um deslocamento químico maior para o isômero *E* do que para o isômero *Z* [180]. Não foram encontrados na literatura científica espectros de RMN de ^1H de algum isômero *Z* da série de compostos **GSQ** para comparação do deslocamento químico do hidrogênio olefínico ligado ao carbono β .

Foram feitas simulações dos espectros de RMN de ^1H (200 MHz) dos isômeros *E* e *Z* dos compostos da série **GSQ** obtidos utilizando o software ACD/SpecManager (versão: ACD/Labs 6.0) para comparação

dos deslocamentos químicos do hidrogênio olefínico ligado ao carbono β com os dados experimentais. Os resultados compilados foram dispostos na **Tabela 7**.

Tabela 7. Deslocamentos químicos (ppm) atribuídos ao H olefínico ligado ao carbono β dos derivados de 2-arilideno-1- α -tetralona

Composto	Exp.	(E)*	(Z)*	Composto	Exp.	(E)*	(Z)*
GSQ-01	7,67	7,78	6,01	GSQ-19	7,85	7,78	6,01
GSQ-02	7,84	7,78	6,01	GSQ-20	7,65	7,91	6,14
GSQ-04	7,84	7,89	6,01	GSQ-21	7,84	7,84	6,07
GSQ-06	7,76	7,89	6,11	GSQ-22	7,80	7,66	7,31
GSQ-07	7,84	7,78	6,01	GSQ-23	8,37	7,55	7,21
GSQ-08	7,67	7,78	6,01	GSQ-24	7,78	7,64	5,97
GSQ-10	7,77	7,78	6,01	GSQ-26	7,70	7,55	7,19
GSQ-11	7,86	7,78	6,01	GSQ-30	8,05	7,90	7,70
GSQ-12	7,82	7,78	6,01	GSQ-32	8,03	7,77	7,45
GSQ-13	7,84	7,87	6,16	GSQ-33	7,63	7,71	7,41
GSQ-14	7,77	7,85	6,07	GSQ-34	7,80	7,78	6,01
GSQ-16	7,86	7,78	6,01	GSQ-39	7,54	7,71	7,41
GSQ-17	7,72	7,85	6,07	GSQ-40	7,68	7,55	7,19
GSQ-18	7,95	7,59	7,24	GSQ-42	7,92	7,59	7,24

* dados obtidos de simulações utilizando o software ACD/SpecManager (versão: ACD/Labs 6.0)

Os dados das simulações mostrados na **Tabela 7** não foram suficientes para uma elucidação de alta confiabilidade da estereoquímica da dupla ligação, por isso foi necessário utilizar técnicas de formação de monocristais para efetuar análise em difratômetro de raios X para se comprovar a estereoquímica.

Foram testadas algumas condições para a formação de monocristais dos compostos desta série, porém nem todos foram obtidos. Então, baseando-se no método descrito [152] e utilizando etanol como solvente em uma câmara escura foram obtidos os cristais de quatro dos 28 compostos sintetizados a saber: 2-benzilideno-1- α -tetralona (**GSQ-08**), 2-(4-bromobenzilideno)-1- α -tetralona (**GSQ-10**), 2-(4-fluorobenzilideno)-1- α -tetralona (**GSQ-12**) e 2-(4-nitrobenzilideno)-1- α -tetralona (**GSQ-13**).

As análises de difratometria de raios X foram executadas no Laboratório de Difratometria de Raios X, na Central de Análises do Departamento de Química da UFSC, pelo Professor Dr. Adailton José Bortoluzzi. Os dados de cristal e refinamento de estrutura estão disponíveis na parte dos anexos deste trabalho (**Anexos 19 a 22**). Os resultados dessas análises mostraram que os compostos apresentam uma estereoquímica *E* para a dupla ligação α - β carbonílica (**Figura 22**).

Analisando os espectros de RMN de ^1H dos compostos da série aqui sintetizados observa-se que todos apresentam um simpleto em torno de 7,8 ppm atribuído ao hidrogênio olefínico ligado ao carbono β (**Tabela 7**). Comparando-se o sinal atribuído ao hidrogênio olefínico destes quatro compostos com o mesmo sinal no espectro dos demais compostos, chegou-se à conclusão de que todos derivados de 2-arilideno-1- α -tetralona aqui sintetizados apresentam a estereoquímica *E* para a dupla ligação, condizente com as previsões dos cálculos computacionais simples.

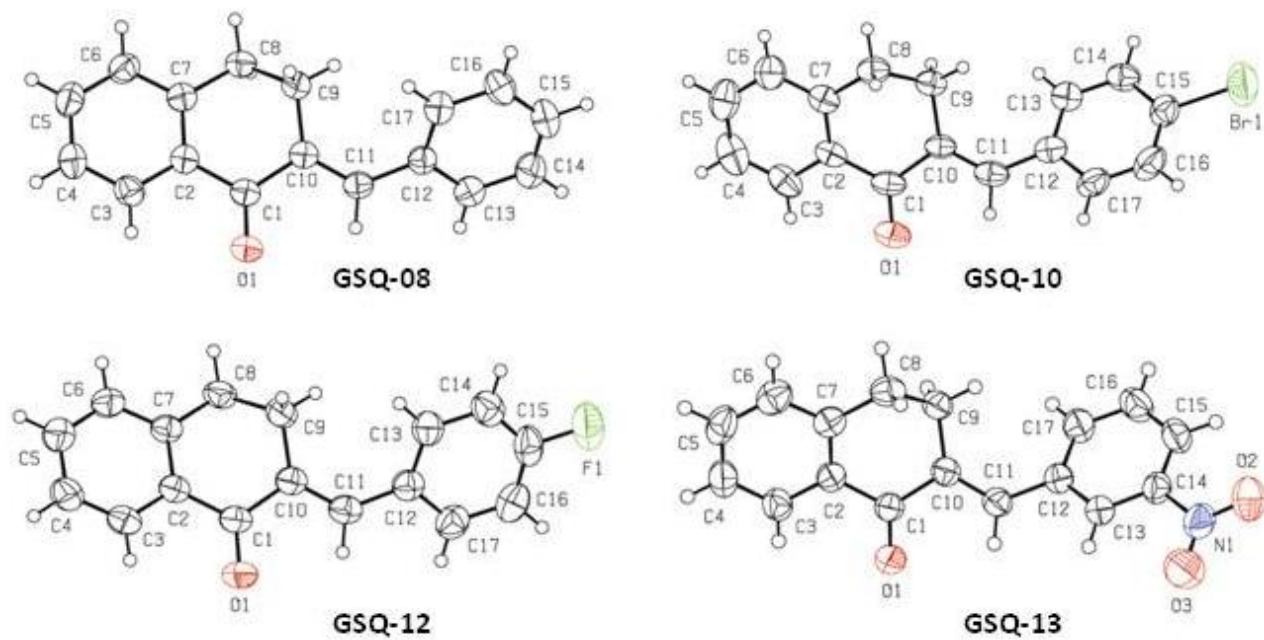


Figura 22. Estrutura cristalina dos derivados de 2-arilideno-1- α -tetralona

Alguns compostos objetivados para este trabalho não obtiveram sucesso na síntese utilizando o método descrito e não foi feito um estudo focado na busca de estratégias para estas sínteses. Como exemplos de compostos que não puderam ser sintetizados podem ser citados alguns que partem de aldeídos na posição *orto* (2-NO₂, **GSQ-03**; 2-Cl, **GSQ-05**; 2-OH, **GSQ-25** e 2-COOH, **GSQ-41**). Porém não se pode afirmar que o fator determinante seja impedimento estérico, pois os compostos **GSQ-18**, **GSQ-22**, **GSQ-26**, **GSQ-40** e **GSQ-42** apresentam substituintes na posição *orto* e, mesmo assim, foram obtidos. Esta dificuldade também foi observada em outros trabalhos de síntese executadas em nosso grupo e pesquisas onde aldeídos *orto* substituídos também não foram obtidos.

No caso dos compostos que partem de aldeídos apresentando substituintes hidróxi (3,4-diidróxi, **GSQ-09** e 4-hidróxi, **GSQ-15**) ou trimetóxi (3,4,5-trimetóxi, **GSQ-27** e 2,4,5-trimetóxi, **GSQ-28**) a síntese também não foi bem sucedida, porém o composto inédito **GSQ-26**, que parte do 2,4,6-trimetóxi-benzaldeído, foi obtido com um rendimento de 87,3%. Isto mostra que o efeito doador de elétrons destes grupos não é o fator determinante para a síntese destes compostos.

Os compostos partindo de aldeídos com substituinte flúor ou ciano (4-F, **GSQ-12**; 3-CF₃, **GSQ-21** e 4-CN, **GSQ-34**) foram obtidos de forma impura, conforme análise através de CCD e foram submetidos a uma série de recristalizações utilizando o sistema diclorometano / hexano ocasionando possíveis perdas o que acarretou um baixo rendimento (**Tabela 6**).

Apesar de alguns compostos não terem sido obtidos, a maioria das sínteses foi bem sucedida e se obteve quatro compostos inéditos e com rendimentos satisfatórios, a saber: 3,5-Cl₂-fenil (**GSQ-20**), 2,4,6-(OMe)₃-fenil (**GSQ-26**), 5-(2-Cl,5-CF₃-fenil-furfural) (**GSQ-33**) e 2,6-(OMe)₂-fenil (**GSQ-40**) e os espectros de RMN de ¹H e ¹³C foram dispostos na parte dos anexos para apreciação (**anexos 15 a 18**).

Os compostos obtidos foram submetidos a ensaios biológicos como atividade antioxidante, antibacteriana e inibidora das proteínas tirosina fosfatase (PtpA e PtpB) de *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb).

5.3. Atividades biológicas

5.3.1. Ensaio antioxidantes

A pesquisa do potencial antioxidante de alguns extratos vegetais e compostos tem sido incentivada, uma vez que a formação de radicais livres e o processo oxidativo no organismo humano está relacionado à gênese de várias doenças como aterosclerose, doenças cardíacas e do sistema nervoso central, entre outras.

Um radical livre é qualquer espécie capaz de existir contendo um ou mais elétrons desemparelhados. As espécies reativas de oxigênio (ERO), radicais livres de maior importância no organismo, incluem todos os radicais gerados a partir do oxigênio como o ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$); os radicais hidroxila ($\cdot OH$), alcoxila ($RO\cdot$) e peroxila ($ROO\cdot$). Espécies reativas incluem, não só os radicais, mas também intermediários neutros ou carregados (H_2O_2 e $ONOO^-$) e outras espécies capazes de formar radicais livres no organismo humano (1O_2 , O_3 e Fe, Cu). Os radicais livres atacam lipídios insaturados das biomembranas, iniciando o processo de peroxidação lipídica. Estes radicais podem também atacar o DNA, causando mutação, o que pode levar ao desenvolvimento de câncer. A atividade antimutagênica de alguns antioxidantes deve-se, muitas vezes, à capacidade de capturarem radicais livres ou induzirem enzimas antioxidantes [181].

Os antioxidantes são substâncias que, numa concentração menor que o substrato oxidável, retardam o processo oxidativo diminuindo a velocidade da reação ou prolongando o seu período de indução. Quanto aos antioxidantes de baixa massa molecular (antioxidantes “químicos”), devem-se incluir algumas vitaminas (C, E e A), outros produtos naturais como carotenoides, flavonoides, outros polifenóis, furanoides, tióis e produtos sintéticos [182].

Tendo como objetivo uma rápida avaliação da capacidade antioxidante de extratos vegetais e compostos naturais e sintéticos, muitos ensaios estão descritos na literatura, como a oxidação forçada de um substrato lipídico, a co-oxidação de substratos como, por exemplo, o

β -caroteno, capacidade sequestrante de radicais livres e poder redutor, entre outros.

Como a atividade antioxidante está geralmente relacionada à quantidade de compostos fenólicos nas plantas, entre eles os flavonoides, foi avaliado o teor desses compostos no extrato bruto e frações de *Bunchosia armeniaca*. Várias técnicas já foram descritas na literatura científica para a quantificação espectrofotométrica de compostos fenólicos, porém a mais empregada é a que utiliza o reagente de Folin-Ciocalteu, que consiste de uma mistura dos ácidos fosfomolibdico ($H_3Mo_{12}PO_{40}$) e fosfotúngstico ($H_3W_{12}PO_{40}$), no qual o molibdênio e o tungstênio encontram-se no estado de oxidação 6^+ e em presença de certos agentes redutores, como os compostos fenólicos, formam-se os chamados molibdênio azul e tungstênio azul, nos quais a média do estado de oxidação dos metais está entre 5 e 6 e cuja coloração permite a determinação da concentração das substâncias redutoras, que não necessariamente precisam ter natureza fenólica [183-185].

O teste para a determinação do conteúdo de flavonoides se fundamenta na formação de anéis estáveis de cinco e seis membros com o alumínio, proveniente do reagente $AlCl_3$, com o flavonóide. A formação desse complexo entre o alumínio e o flavonóide provoca um deslocamento batocrômico e uma intensificação da absorção que é analisada por espectrofotometria de UV-VIS (**Figura 23**). Desta maneira é possível determinar a quantidade de flavonoides evitando-se a interferência de outras substâncias fenólicas, principalmente os ácidos fenólicos que invariavelmente acompanham os flavonoides nos tecidos vegetais, pois estes apresentam comprimentos de onda bastante inferiores se comparados com o complexo flavonóide-Al.

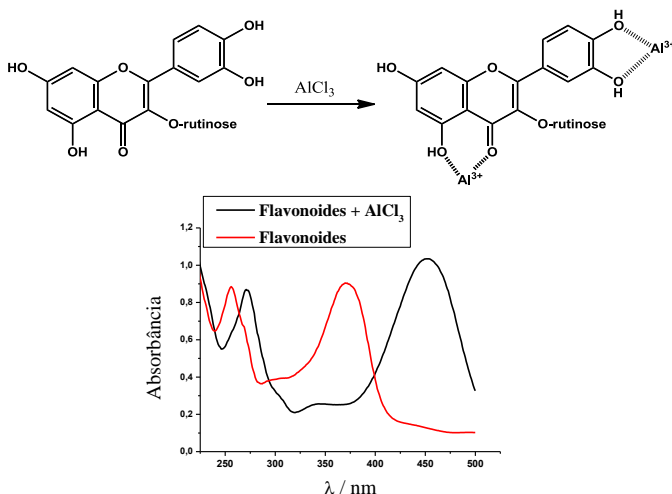


Figura 23. Formação do complexo entre Al³⁺ e os flavonoides de *Bunchosia armeniaca* (é mostrado o complexo formado entre rutina e Al³⁺)

Aplicaram-se dois ensaios para avaliação da atividade antioxidante do extrato e frações de *B. armeniaca*, um deles utiliza o radical livre 1,1-difenil-2-picril-hidrazil (DPPH) que é relativamente estável, de forte coloração azulada e suficientemente solúvel em alcoóis miscíveis em água, como o metanol. A ação sequestrante de radicais livres pelos compostos presentes na amostra deve-se a reação destes com o DPPH, o qual abstrai um átomo de hidrogênio de acordo com equação mostrada na **Figura 24**.

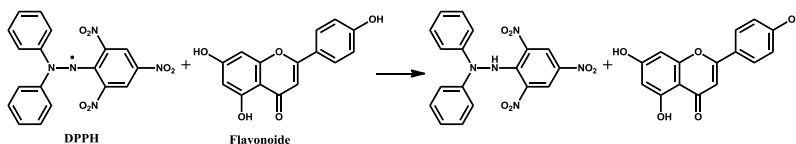


Figura 24. Reação entre um flavonoide e o radical livre DPPH

O outro teste aplicado para a avaliação da atividade antioxidante é o potencial redutor que se fundamenta na redução de íons férricos a

íons ferrosos pela oxidação do substrato, geralmente compostos fenólicos. Os íons ferrosos formam um complexo com o ferricianeto de potássio de coloração azul intenso (azul da Prússia). Quanto mais intensa sua coloração, medida no espectrofotômetro, maior a atividade antioxidante do substrato.

Na **Tabela 8** encontram-se os resultados da determinação do teor dos compostos fenólicos e dos flavonoides e dos testes antioxidantes realizados no extrato bruto e frações de *B. armeniaca*. Na mesma tabela foram dispostos os dados obtidos para a espécie *Eugenia brasiliensis* (grumixama) [186], espécie já estudada pelo nosso grupo de pesquisas para simples comparação.

Tabela 8. Atividades antioxidantes e conteúdos de fenólicos e flavonoides de *B. armeniaca*

Extrato / fração		Fenólicos ^(a)	Flavonoides ^(b)	Poder Redutor ^(c)	DPPH ^(b)
<i>B. armeniaca</i>	Extrato bruto	45,98 ± 0,98	18,68 ± 0,84 *	145,6 ± 1,10	29,4 ± 1,23
	F. insolúvel	14,35 ± 0,05	17,56 ± 0,63 *	122,0 ± 0,90 **	22,7 ± 1,23
	F. hexano	21,94 ± 0,21	9,8 ± 0,00	127,2 ± 1,40 **	16,1 ± 0,35
	F. ac. etila	72,43 ± 0,57	52,78 ± 0,55	270,3 ± 3,30	66,9 ± 1,76
	F. butanólica	59,83 ± 0,00	24,6 ± 0,14	204,3 ± 1,20	37,2 ± 1,20
<i>E. brasiliensis</i> ^(d)	Extrato bruto	162,65 ± 9,26	14,44 ± 1,08	318,33 ± 3,15	-
	F. hexano	48,49 ± 2,91	35,19 ± 2,05	12,66 ± 2,43	-
	F. ac. etila	494,51 ± 1,18	54,12 ± 0,01	834,99 ± 0,98	-
	F. butanólica	461,65 ± 2,09	12,44 ± 0,20	790,66 ± 1,80	-

^(a) mg de ác. gálico/g de amostra, ^(b) mg de quercetina/g de amostra, ^(c) mg de ác. ascórbico/g de amostra, ^(d) [186]. * e **: indicam semelhança estatística entre as médias.

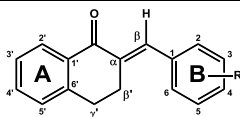
O extrato bruto e frações de *B. armeniaca* são mais pobres em compostos fenólicos do que os extratos e frações de *E. brasiliensis*, espécie já estudada neste grupo de pesquisas e que apresenta boa atividade antioxidante [186]. Na fração acetato de etila concentram-se os compostos fenólicos, para as duas espécies.

Conforme mostrado na tabela acima, as frações acetato de etila e butanólica apresentaram maior conteúdo de flavonoides que as demais frações do extrato bruto e com valores próximos ao da espécie *E. brasiliensis*, da qual já foram isolados alguns flavonoides neste grupo de pesquisa [186].

No teste que avalia a ação sequestrante de radical livre com DPPH, para a fração acetato de etila e butanólica, obtiveram-se valores equivalentes de quercetina de 66,9 e 37,2 mg EQ/g. A correlação feita entre os resultados do teste antioxidante com o radical livre DPPH e o conteúdo de fenólicos mostrou um valor de $R^2 = 0,7727$. Isto implica que a ação sequestrante de radicais livres é atribuída principalmente à presença de grupos fenólicos. Porém a correlação feita entre o conteúdo de fenólicos e de flavonoides ($R^2 = 0,6603$), aplicado ao extrato bruto e frações, indicou que 66% dos compostos fenólicos são de natureza flavonoídica. Portanto a presença de flavonoides nesta espécie também influencia na sua atividade antioxidante.

Foi aplicado o teste do potencial redutor somente ao primeiro lote de compostos sintetizados, constituído de 11 derivados, como uma forma de triagem e devido a terem sido os que já estavam disponíveis no momento do teste. O composto 2-(4-dimetilaminobenzilideno)-1- α -tetralona (**GSQ-11**) apresentou uma atividade correspondente a 422,66 equivalentes de ácido ascórbico/g, sendo esta a maior atividade antioxidante que os demais derivados possivelmente devido à maior capacidade do nitrogênio em doar elétrons (**Tabela 9**).

Tabela 9. Avaliação do poder redutor dos derivados de 2-arilideno-1- α -tetralona



	R	Poder redutor*
GSQ-01	4-Cl	13,33 \pm 0,63
GSQ-02	4-NO ₂	27,46 \pm 0,82
GSQ-04	4-OBu	7,43 \pm 0,17
GSQ-06	3-Br	9,76 \pm 0,24
GSQ-07	4-OMe	26,36 \pm 0,71
GSQ-08	H	6,61 \pm 0,57
GSQ-10	4-Br	23,69 \pm 1,02
GSQ-11	4-N(Me) ₂	422,66 \pm 1,63
GSQ-12	4-F	0,00 \pm 0,87
GSQ-13	3-NO ₂	**
GSQ-14	3-Cl	5,24 \pm 0,16

* mg ác. ascórbico/g amostra; ** insolúvel nas condições do ensaio.

5.3.2. Atividade antibacteriana

Várias espécies de bactérias já foram identificadas como causadoras de infecções, o que faz com que elas sejam alvos de grandes pesquisas. O uso de substâncias com atividade antimicrobiana nas infecções é uma medida muito utilizada. Entretanto, são cada vez maiores os índices de resistência das bactérias frente às substâncias testadas. As bactérias *E. coli*, *S. aureus* e *P. aeruginosa* são exemplos de organismos amplamente estudados por sua patogenicidade, responsáveis por diversos tipos de infecções [187]. A alta incidência de infecções hospitalares causadas por bactérias resistentes justifica a preocupação na busca de compostos sintéticos ou naturais que possam auxiliar no seu combate.

O método utilizado para a avaliação da atividade antibacteriana foi a determinação da concentração inibitória mínima (CIM), definida como a menor concentração de substrato capaz de inibir o crescimento bacteriano. Este ensaio utiliza a quantificação da atividade das enzimas desidrogenases presentes nos processos respiratórios dos tecidos.

Durante a respiração celular, ocorre a liberação de íons hidrogênio, com os quais o sal cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólio (TTC) reage formando uma substância de cor vermelha e insolúvel, denominada de formazan [160, 188] evidenciando a presença de bactérias viáveis.

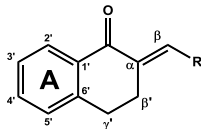
Para a classificação da atividade antibacteriana de extratos e frações vegetais é utilizado o critério proposto por Machado *et. al* 2005 [189], onde as amostras que apresentam valores de concentração inibitória mínima (CIM) abaixo de 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ são classificadas com atividade excelente, CIM entre 10 e 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ com atividade boa, CIM entre 100 e 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ com atividade moderada, CIM entre 500 e 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ com atividade fraca e CIM acima de 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ inativos. De acordo com este critério o extrato bruto de *B. armeniaca* apresentou atividade considerada boa frente ao microorganismo *S. aureus* e moderada frente aos microorganismos *E. coli* e *P. aeruginosa*. Esta atividade já foi relatada antes para outras espécies da família *Malpighiaceae* como algumas espécies do gênero *Byrsonima* [95] e a espécie *Stigmaphyllon ovatum* [190].

Tendo obtido um bom resultado para o extrato bruto, foi avaliada também a atividade da mistura de flavonoides a qual apresentou excelente atividade frente a todas as bactérias testadas, de acordo com o critério proposto por Rios e Recio (2005) [191], para compostos isolados. É possível que a atividade apresentada pelo extrato bruto seja atribuída à presença desta mistura de flavonoides (14,7 mg/g EB). Os dados das atividades antibacterianas são mostrados na **Tabela 10**.

Os compostos da série **GSQ**, cujos substituintes foram mostrado na **Tabela 5**, não apresentaram relevante frente aos microorganismos testados (**Tabela 8**). Apesar disso, os compostos **GSQ-17**, que apresenta o 3,4-Cl₂-fenil como anel B, **GSQ-21**, que apresenta o 3-CF₃-fenil, e **GSQ-30**, que apresenta o 2-tiofeno, destacaram-se dos demais por terem apresentado atividades um pouco melhores que os demais, porém se faz necessária a síntese planejada de mais derivados, baseados nestes resultados iniciais, para se obter informações sobre um possível mecanismo de ação assinalando o grupo farmacofórico e, com isto, avançar na busca de compostos com atividade cada vez maior.

Tabela 10. Atividade antibacteriana do extrato bruto das folhas e flavonoides isolados de *Bunchosia armeniaca* e dos derivados de 2-arilideno-1- α -tetralona

Amostra	<i>S. aureus</i> ($\mu\text{g/mL}$)	<i>E. coli</i> ($\mu\text{g/mL}$)	<i>P. aeruginosa</i> ($\mu\text{g/mL}$)
Gentamicina	0,312	1,25	0,625
Extrato bruto das folhas	87,5	175	350
Flavonoides	3,0	1,5	1,5



Amostra	R	<i>S. aureus</i> ($\mu\text{g/mL}$)	<i>E. coli</i> ($\mu\text{g/mL}$)	<i>P. aeruginosa</i> ($\mu\text{g/mL}$)
GSQ-01	4-Cl-fenil	507	254	507
GSQ-02	4-NO ₂ -fenil	315	315	315
GSQ-04	4-OBu-fenil	530	265	265
GSQ-06	2-Br-fenil	545	272	272
GSQ-07	4-OMe-fenil	552	276	276
GSQ-08	Fenil	515	257	257
GSQ-10	4-Br-fenil	675	337	337
GSQ-11	4-N(Me) ₂ -fenil	532	266	266
GSQ-12	4-F-fenil	510	510	255
GSQ-13	3-NO ₂ -fenil	500	250	250
GSQ-14	3-Cl-fenil	517	129	258
GSQ-16	4-Me-fenil	350	350	175
GSQ-17	3,4-Cl ₂ -fenil	180	360	178
GSQ-19	4-CF ₃ -fenil	310	310	153
GSQ-20	3,5-Cl ₂ -fenil	350	340	171
GSQ-21	3-CF ₃ -fenil	150	300	150
GSQ-22	2,4-Cl ₂ -fenil	375	370	187
GSQ-23	1-naftil	350	350	173
GSQ-24	3,4-OCH ₂ O-fenil	350	350	173
GSQ-26	2,4,6-(OMe) ₃ -fenil	380	380	190
GSQ-30	2-tiofeno	190	390	193
GSQ-32	2-naftil	830	420	208
GSQ-33	5-(2-Cl,5-CF ₃ -fenil) -furfural	370	370	183
GSQ-39	5-(2-NO ₂ -fenil) -furfural	380	370	187
GSQ-40	2,6(OMe) ₂ -fenil	450	450	223

5.3.3. Atividade antiinflamatória

A inflamação é um evento defensivo complexo definido como a reação local que envolve o reconhecimento do agente ou do estímulo lesivo (físico, químico ou provocado por microorganismos) para sua posterior destruição e recomposição dos tecidos e, às vezes, formação de um novo tecido. O reconhecimento desencadeia a ativação e a amplificação do sistema imune resultando na ativação de células e na liberação de diversos mediadores inflamatórios que são responsáveis pela vasodilatação, extravasamento de líquido e migração de leucócitos [192]. O aspecto macroscópico do tecido inflamado é caracterizado por cinco sinais: calor, rubor, dor, edema e perda funcional.

Para enfrentar a invasão de um agente inflamatório o organismo pode recorrer a várias respostas de defesa e a organização destas constitui a reação inflamatória/imunológica. Um dos eventos iniciais da resposta imune inata consiste na atuação dos leucócitos (neutrófilos e monócitos) no tecido inflamado, através da fagocitose do agente invasor. Este evento inicia-se com a aderência destes leucócitos ao endotélio vascular com posterior migração destes para o local onde se encontra o agente invasor, processo chamado de diapedese. Em seguida, os leucócitos o englobam formando uma “bolha” chamada fagossomo. Os neutrófilos possuem grânulos (organelas) chamados lisossomos que contêm, entre outras substâncias, a enzima mieloperoxidase, que catalisa reações para a formação de compostos bactericidas. Estes lisossomos fusionam-se ao fagossomo liberando seu conteúdo que inclui a enzima mieloperoxidase [192].

A enzima mieloperoxidase utiliza H_2O_2 e íons haleto (normalmente Cl^-) para produzir hipohalitos, uma substância tóxica, que pode se decompor espontaneamente para produzir oxigênio singleto. O resultado dessas reações é a produção de hipoclorito (OCl^-) e oxigênio singleto (1O_2) [193].

Para avaliar a atividade antiinflamatória, foram medidos alguns parâmetros como a quantidade total de leucócitos, determinação da exsudação medida indiretamente através da concentração de azul de

Evans e a atividade da enzima mieloperoxidase medida indiretamente através da reação com H_2O_2 e Cl^- .

As **Figura 24** e **25** exibem os resultados obtidos para as atividades antiinflamatórias do extrato bruto das folhas e da mistura de flavonoides de *Bunchosia armeniaca*. A barra branca dos gráficos representa a medida do parâmetro em questão para o grupo de animais tratados com solução salina (**S**), a barra preta representa a medida para o grupo ao qual foi administrado o agente inflamatório carragenina (**Cg 4h**), as barras em verde-claro representam cada concentração de amostra administrada juntamente com a carragenina e, finalmente, a barra azul representa o grupo ao qual foi administrado o fármaco de referência, a dexametasona (0,5 mg/kg, i.p.), juntamente com a carragenina. A semelhança ou diferença estatística entre a atividade da amostra em uma dada concentração e o fármaco de referência é indicada no gráfico por asteriscos em cima da barra. O desvio padrão de cada medida é mostrado na própria barra.

Os parâmetros da inflamação medidos para o extrato bruto na dose de 200,0 mg/kg demonstrou sua capacidade em inibir o processo em cerca de 40 % não apresentando diferença significativa do fármaco de referência, a dexametasona (**Figura 25a, b e c**). Esta atividade já foi observada para espécies da família *Malpighiaceae* como em espécies do gênero *Byrsonima* [95].

Tendo o extrato bruto das folhas de *B. armeniaca* demonstrado atividade relevante, foi também avaliado o potencial da mistura de flavonoides em inibir o processo inflamatório onde, através da contagem de leucócitos e da atividade da enzima mieloperoxidase, foi observada sua capacidade em inibir em cerca de 60 % e 30 %, respectivamente, na dose de 1,0 mg/kg, não apresentando diferença estatística do fármaco de referência a 0,5 mg/kg (**Figura 26a e 26c**). Porém, através da medida da exsudação, apesar de haver uma redução de 30 % no processo inflamatório, a mistura de flavonoides, na dose de 1,0 mg/kg apresentou diferença estatística ao ser comparado com a inibição da dexametasona (**Figura 26b**). Na Figura 26 se observa que o aumento da concentração diminui a capacidade da amostra em reduzir a inflamação.

Isto pode ser explicado por uma possível mudança de mecanismo de ação em que a mistura de flavonoides deixam de ser antioxidantes e se tornam pró-oxidantes com o aumento da concentração.

Já foi relatada a atividade antiinflamatória para a rutina (**F12**) a qual apresentou uma inibição de $58\% \pm 6$ avaliado após 5 horas após a indução de edema da pata em ratos [194], porém sabe-se que uma mistura de compostos pode ocasionar uma diferença na atividade em relação ao composto isolado devido à ação sinérgica no alvo farmacêutico.

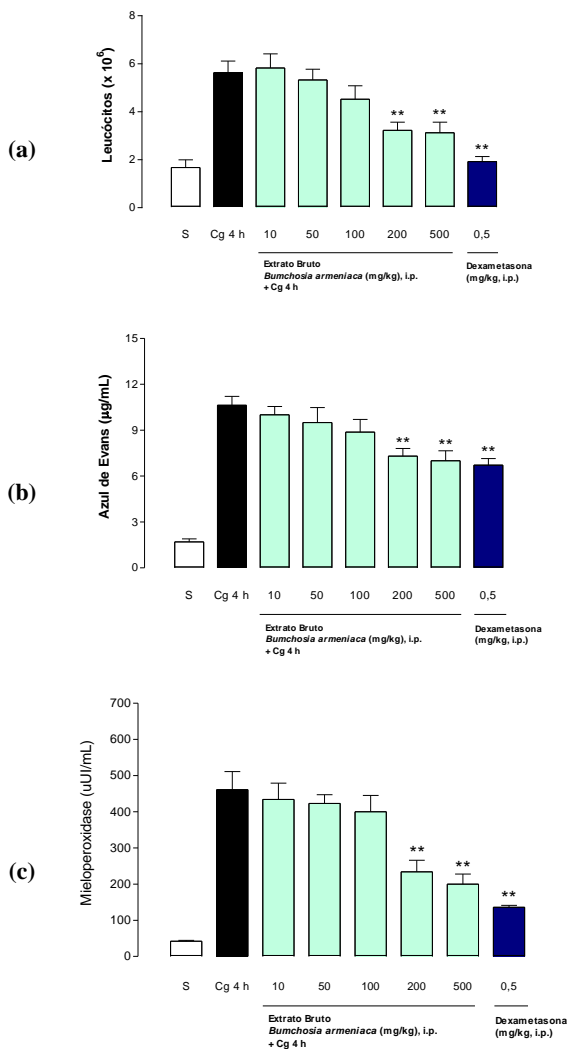


Figura 25. Atividade antiinflamatória do extrato bruto das folhas de *B. armeniaca*
S = grupo de animais tratados com solução salina; **Cg 4h** = grupo de animais tratados com carragenina; * e **: indicam semelhança estatística entre as medidas.

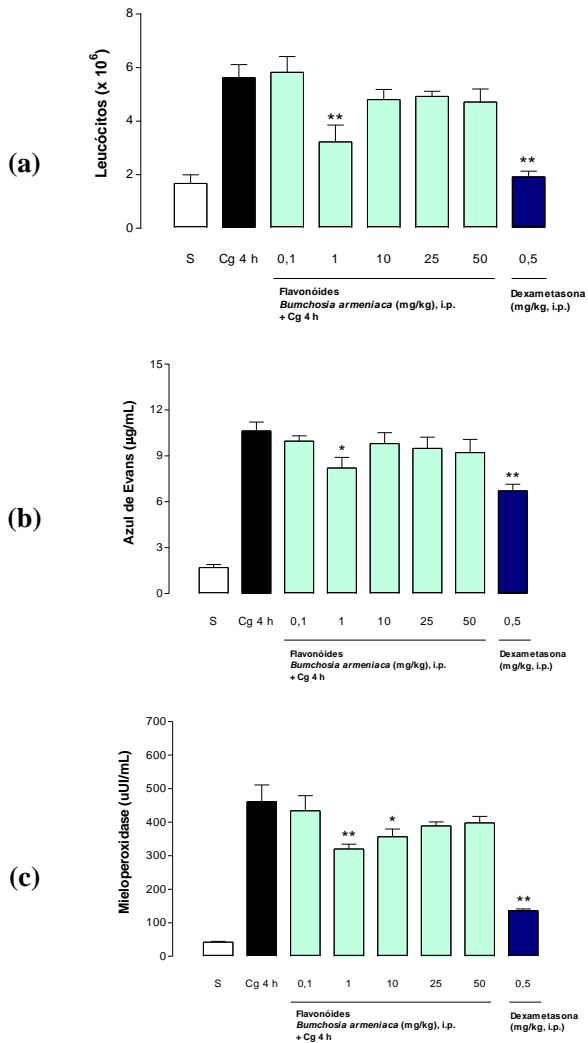


Figura 26. Atividade antiinflamatória da mistura de flavonoides de *B. armeniaca*
 S = grupo de animais tratados com solução salina; Cg 4h = grupo de animais tratados com carragenina; * e **: indicam semelhança estatística entre as medidas.

5.3.4. Atividade inibitória da proteína tirosina fosfatase A e B (PtpA e PtpB)

A tuberculose é uma doença grave, provocada pela bactéria *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), também conhecida como bacilo de Koch, que atinge principalmente as vias respiratórias. Conforme descrito no item anterior, o organismo pode recorrer a várias respostas de defesa e a organização destas constitui a reação imunológica. Recentemente, foi demonstrado que a PtpA e a PtpB são secretadas pelo *M. tuberculosis* em macrófagos humanos infectados, e estão envolvidas em sua sobrevivência no hospedeiro [195]. A principal função destas duas proteínas é modular as proteínas fosforiladas do hospedeiro (macrófago).

A enzima PtpA atravessa a membrana celular do hospedeiro e desfosforila a proteína citoplasmática VPS33B (*vacuolar protein sorting 33 homolog* B), um regulador de fusão de membrana que já se tem identificado como sendo substrato da enzima PtpA, inibindo a maturação de fagossomos, e conseqüentemente, impede a fusão destes com lisossomos, mecanismo pelo qual os macrófagos promovem sua atividade microbicida[196].

A enzima PtpB subverte as respostas imune inata através do bloqueio do sinal das ERK 1 e 2 (*extracellular signal regulated kinases 1 e 2*) ativando a via Akt e bloqueando a atividade da caspase-3, responsável pela morte celular. Em outras palavras, a PtpB causa um conflito na cascata química desta resposta imune inata e o organismo não reconhece que está sendo invadido, além disso a célula infectada permanece viva enquanto o *M. tuberculosis* se multiplica para infectar células vizinhas [197].

Desta forma, Bach *et al.* [196] e Zhou *et al.* [197] demonstraram que PtpA e PtpB são essenciais para a sobrevivência da bactéria no meio intracelular, sugerindo que a inativação destas enzimas reduz o crescimento de *M. tuberculosis* em macrófagos humanos.

A base para a utilização de um fármaco que atua por inibição enzimática consiste no fato de que a inibição de uma determinada

enzima em uma via bioquímica particular resulta na diminuição da concentração do metabólito correspondente, o que implica em uma resposta clínica útil [198]. Um inibidor enzimático é uma substância capaz de interagir com uma enzima, bloqueando parcial ou completamente sua atividade catalítica.

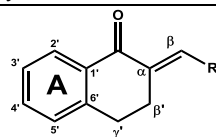
Foi avaliada a capacidade da mistura de flavonoides de *B. armeniaca* em inibir a ação destas proteínas, porém não foi observada atividade considerável para a mistura (**Tabela 11**).

Poucos produtos naturais têm sido identificados como inibidores de Ptp, por isso a principal estratégia que tem sido adotada nas pesquisas é o desenho de pequenas moléculas baseadas em análogos não-hidrolisáveis de fosfotirosinas [199]. A triagem de inibidores que se liguem seletivamente às enzimas de interesse torna-se importante do ponto de vista farmacêutico e as chalconas sintéticas se mostram como uma classe promissora de compostos na busca por novos inibidores de proteínas tirosina fosfatases de *M. tuberculosis*. Por este motivo, os análogos de chalconas da série **GSQ** foram avaliados quanto à sua capacidade inibidora destas proteínas. (**Tabela 11**).

A presença do exociclo da estrutura dos derivados de 2-arilideno-1- α -tetralona confere uma maior rigidez ao sistema e aparentemente e faz com que sua atividade seja menor ou nenhuma em comparação às chalconas que já apresentaram atividade inibitória destas enzimas [25, 26, 200].

Os compostos 2-(4-nitro-benzilideno)-1- α -tetralona (**GSQ-02**) e o 2-(2-tiofenoilideno)-1- α -tetralona (**GSQ-30**), que apresentaram maior inibição da atividade da PtpB, foram selecionados para determinação da concentração inibitória 50% (CI₅₀) com incubação. O composto **GSQ-30** apresentou um valor de CI₅₀ de 198,0 $\mu\text{mol.L}^{-1}$, enquanto que o **GSQ-02** apresentou um valor de 205,13 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ frente a PtpB. Já havia sido relatada na literatura a atividade inibitória de uma chalcona, que possui o grupo 4-nitro no anel A, a qual apresentou uma atividade mais pronunciada (51 $\mu\text{mol.L}^{-1}$) frente à PtpB [200].

Tabela 11. Atividade residual das proteínas tirosina fosfatase A e B (PtpA e PtpB) de *Mycobacterium tuberculosis*



Composto	R	Atividade PtpB s/ incub (% ± erro)	Atividade PtpB c/ incub (% ± erro)	Atividade PtpA s/ incub (% ± erro)
GSQ-01	4-Cl-fenil	97,85 ± 2,63	85,29 ± 7,36	>100
GSQ-02	4-NO ₂ -fenil	95,00 ± 4,62	57,46 ± 1,90	81,44 ± 6,30
GSQ-04	4-OBu-fenil	>100	99,15 ± 9,07	94,07 ± 1,32
GSQ-06	3-Br-fenil	>100	>100	85,24 ± 5,38
GSQ-07	4-OMe-fenil	>100	>100	88,45 ± 9,24
GSQ-08	fenil	>100	>100	>100
GSQ-10	4-Br-fenil	>100	99,27 ± 6,01	>100
GSQ-11	4-N(Me) ₂ -fenil	>100	>100	>100
GSQ-12	4-F-fenil	>100	>100	>100
GSQ-13	3-NO ₂ -fenil	>100	>100	>100
GSQ-14	3-Cl-fenil	>100	93,57 ± 4,80	80,54 ± 5,26
GSQ-16	4-Me-fenil	>100	91,56 ± 0,94	82,63 ± 6,32
GSQ-17	3,4-Cl ₂ -fenil	>100	87,29 ± 0,02	82,42 ± 4,38
GSQ-19	4-CF ₃ -fenil	>100	79,67 ± 0,16	90,10 ± 3,26
GSQ-20	3,5-Cl ₂ -fenil	>100	93,39 ± 1,73	83,89 ± 7,09
GSQ-22	2,4-Cl ₂ -fenil	>100	87,71 ± 0,44	>100
GSQ-24	3,4-OCH ₂ O-fenil	>100	93,16 ± 3,11	83,68 ± 5,32
GSQ-30	2-tiofeno	>100	50,16 ± 9,48	98,25 ± 2,61
GSQ-32	2-naftil	>100	97,19 ± 1,21	>100
GSQ-33	5-(2-Cl,5-CF ₃ -fenil) -furfural	>100	81,56 ± 5,68	92,49 ± 7,92
GSQ-39	5-(2-NO ₂ -fenil) -furfural	>100	77,48 ± 1,49	95,63 ± 1,29
Flavonoides (<i>B. armeniaca</i>)*		não realizado	88,35 ± 3,08	84,64 ± 2,45

Os compostos foram testados a 25 $\mu\text{mol.L}^{-1}$. * testada a 10 mg/mL,

6. CONCLUSÕES

Neste trabalho fez-se um estudo fitoquímico e biológico de *Bunchosia armeniaca*, além da síntese de derivados de 2-arilideno-1- α -tetralona através da reação entre a α -tetralona e diferentes aldeídos com posterior avaliação da atividade biológica destes derivados. As principais conclusões foram:

Em relação ao estudo fitoquímico e biológico de *B. armeniaca*:

- Foi obtido uma mistura de flavonoides composta por rutina (83,48%), afzelina (10,95%) e isoquercitrina (5,57%), com um rendimento de 1,47 % do extrato bruto. sendo identificado através de eletroforese capilar (EC) e RMN de ^1H e de ^{13}C em comparação com a literatura.
- Este é o primeiro relato da presença do flavonóide afzelina (canferol 3-*O*- α -*L*-ramnopiranosídeo) em alguma espécie da família *Malpighiaceae*.
- As frações acetato de etila e butanólica de *B. armeniaca* apresentaram maior conteúdo de flavonoides que as demais frações do extrato bruto e com valores próximos ao da espécie *E. brasiliensis*, espécie já estudada neste grupo de pesquisas e que apresenta boa atividade antioxidante.
- O extrato bruto de *B. armeniaca* apresentou atividade antibacteriana considerada boa frente ao microorganismo *S. aureus* e moderada frente aos microorganismos *E. coli* e *P. aeruginosa* e a mistura de flavonoides apresentou excelente atividade frente a todas as bactérias testadas.
- Os parâmetros da atividade antiinflamatória, contagem de leucócitos, atividade da enzima mieloperoxidase e exsudação medidos para o extrato bruto na dose de 200,0 mg/kg demonstraram capacidade

em inibir o processo inflamatório em cerca de 40 %, não apresentando diferença significativa do fármaco de referência (dexametasona).

- Os modelos de contagem de leucócitos e atividade da enzima mieloperoxidase para a mistura de flavonoides na dose de 1,0 mg/kg demonstraram sua capacidade em inibir em cerca de 60% e 30% da inflamação, respectivamente, não apresentando diferença estatística do fármaco de referência.
- A mistura de flavonoides não apresentou atividade inibitória considerável frente às proteínas tirosina fosfatase A e B (PtpA e PtpB) de *Mycobacterium tuberculosis*.

Em relação aos derivados de 2-arilideno- α -tetralona:

- Foi obtida a série **GSQ** com 28 compostos puros derivados de 2-arilideno-1- α -tetralona apresentando rendimentos variados sendo a maioria acima de 70 %. Os compostos foram identificados por comparação dos seus pontos de fusão com os disponíveis na literatura e suas estruturas elucidadas através de RMN de ^1H e de ^{13}C . Dos compostos obtidos, quatro são inéditos e a porção aldeídica (anel B) é como segue: 3,5-Cl₂-fenil (**GSQ-20**), 2,4,6-(OMe)₃-fenil (**GSQ-26**), 5-(2-Cl,5-CF₃-fenil-furfural) (**GSQ-33**) e 2,6-(OMe)₂-fenil (**GSQ-40**).
- A estereoquímica da dupla ligação foi elucidada por difratometria de raios X dos composto *E*-2-benzilideno-1- α -tetralona (**GSQ-08**), *E*-2-(4-bromobenzilideno)-1- α -tetralona (**GSQ-10**), *E*-2-(4-fluorobenzilideno)-1- α -tetralona (**GSQ-12**) e *E*-2-(4-nitrobenzilideno)-1- α -tetralona (**GSQ-13**) e, comparando-se o deslocamento químico referente ao hidrogênio olefínico ligado ao carbono β presente no seu espectro de RMN de ^1H com o mesmo sinal no espectro dos demais compostos, foi atribuída a todos os demais compostos a estereoquímica *E* para a dupla ligação, condizente com as previsões dos cálculos computacionais simples.
- Dentre os onze compostos da série **GSQ** testados, dez apresentaram fraca atividade antioxidante e o composto 2-(4-dimetilamino

benzilideno)-1- α -tetralona (**GSQ-11**) apresentou atividade mais de cem vezes a atividades dos demais.

- Os compostos da série **GSQ** testados não apresentaram atividade antibacteriana relevante frente aos microorganismos gram+ e gram- testados.
- Os compostos da série **GSQ** apresentaram uma fraca atividade inibitória das proteínas tirosina fosfatase (PtpA e PtpB) de *Mycobacterium tuberculosis*, porém os compostos **GSQ-02** e **GSQ-30**, que possuem os grupos 4-nitrofenil e 2-tiofeno como anel B, respectivamente, destacaram-se por apresentarem melhores atividades que os demais frente a PtpB.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Dewick, P.M., *The shikimate pathway: aromatic amino acids and phenylpropanoids in Medicinal natural products : a biosynthetic approach*. 2002, John Wiley & Sons Ltd. p. 121-166.
2. Viegas Jr, C., V.S. Bolzani, and E.J. Barreiro, *Os produtos naturais e a química medicinal moderna*. Quimica Nova, 2006. **29**: p. 326-337.
3. Barreiro, E.J. and C.A.M. Fraga, *Química medicinal as bases moleculares da ação dos fármacos*. 2008, Porto Alegre: Artmed.
4. Tainter, M.L. and A.J. Ferris, *Aspirin in modern therapy; a review*. 1969, New York: Bayer Co.
5. Senilh, V., et al., *Evidence of new taxol derivatives extracted from Taxus baccata*. Journal of Natural Products, 1984. **47**(1): p. 131-137.
6. Holton, R.A., et al., *First total synthesis of taxol. 2. Completion of the C and D rings*. Journal of the American Chemical Society, 1994. **116**(4): p. 1599-1600.
7. Holton, R.A., et al., *First total synthesis of taxol. 1. Functionalization of the B ring*. Journal of the American Chemical Society, 1994. **116**(4): p. 1597-1598.
8. Nicolaou, K.C., et al., *Total synthesis of taxol*. Nature, 1994. **367**(6464): p. 630-634.
9. Food and Drug Administration, F. *Drug Approval Package - Taxol (Paclitaxel) Injection*. 1998 11/21/2011]; Available from: http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/98/20262s024.cfm.
10. Newman, D.J. and G.M. Cragg, *Natural products as sources of new drugs over the last 25 years*. Journal of Natural Products, 2007. **70**(3): p. 461-477.
11. Calixto, J.B. and J.M.S. Jr., *Desenvolvimento de Medicamentos no Brasil: Desafios*. Gazeta Médica da Bahia, 2008. **78**((Suplemento 1)): p. 98-106.
12. Nogueira, L.J., C.A. Montanari, and C.L. Donnicia, *Histórico da evolução da química medicinal e a importância da lipofilia: de Hipócrates e Galeno a Paracelsus e as contribuições de Overton e de Hansch*. Revista Virtual de Química, 2009. **1**(3): p. 227-240.
13. Topliss, J.G., *Utilization of operational schemes for analog synthesis in drug design*. Journal of Medicinal Chemistry, 1972. **15**(10): p. 1006-1011.
14. Polinsky, A., *Lead-likeness and drug-likeness*, in *The Practice of Medicinal Chemistry*, C.G. Wermuth, Editor. 2008, Elsevier: Illkirch, France. p. 244-254.

15. Zuanazzi, J.A.S., *Flavonóides*, in *Farmacognosia da planta ao medicamento*, C.M.O. Simões, Editor. 2001, Editora da UFSC: Florianópolis-SC, Brasil. p. 499-526.
16. Levai, A., *Synthesis of exocyclic alpha,beta-unsaturated ketones*. *Arkivoc*, 2004: p. 15-33.
17. Eddarir, S., et al., *An efficient synthesis of chalcones based on the Suzuki reaction*. *Tetrahedron Letters*, 2003. **44**(28): p. 5359-5363.
18. Li, J.-T., et al., *Improved synthesis of chalcones under ultrasound irradiation*. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2002. **9**(5): p. 237-239.
19. Calvino, V., et al., *Ultrasound accelerated Claisen-Schmidt condensation: A green route to chalcones*. *Applied Surface Science*, 2006. **252**(17): p. 6071-6074.
20. Sebti, S.d., et al., *Calcined sodium nitrate/natural phosphate: an extremely active catalyst for the easy synthesis of chalcones in heterogeneous media*. *Tetrahedron Letters*, 2001. **42**(45): p. 7953-7955.
21. Vogel, A.I. and B.S. Furniss, *Vogel's textbook of practical organic chemistry*. 1991, Harlow (GB); New York: Longman scientific & technical : J. Wiley & sons.
22. Go, M.L., X. Wu, and X.L. Liu, *Chalcones: An update on cytotoxic and chemoprotective properties*. *Current Medicinal Chemistry*, 2005. **12**(4): p. 483-499.
23. Dimmock, J.R., et al., *Bioactivities of chalcones*. *Current Medicinal Chemistry*, 1999. **6**(12): p. 1125-1149.
24. Ni, L.M., C.Q. Meng, and J.A. Sikorski, *Recent advances in therapeutic chalcones*. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 2004. **14**(12): p. 1669-1691.
25. Chiaradia, L.D., et al., *Synthetic chalcones as efficient inhibitors of Mycobacterium tuberculosis protein tyrosine phosphatase PtpA*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2008. **18**(23): p. 6227-6230.
26. Mascarello, A., et al., *Inhibition of Mycobacterium tuberculosis tyrosine phosphatase PtpA by synthetic chalcones: Kinetics, molecular modeling, toxicity and effect on growth*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2010. **18**(11): p. 3783-3789.
27. Boeck, P., et al., *Antifungal activity and studies on mode of action of novel xanthoxylene-derived chalcones*. *Archiv Der Pharmazie*, 2005. **338**(2-3): p. 87-95.
28. Lahtchev, K.L., et al., *Antifungal activity of chalcones: A mechanistic study using various yeast strains*. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2008. **43**(10): p. 2220-2228.

29. López, S.N., et al., *In vitro antifungal evaluation and structure–activity relationships of a new series of chalcone derivatives and synthetic analogues, with inhibitory properties against polymers of the fungal cell wall*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2001. **9**(8): p. 1999-2013.
30. Nowakowska, Z., *A review of anti-infective and anti-inflammatory chalcones*. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2007. **42**(2): p. 125-137.
31. Kulkarni, G.B., et al., *3D-QSAR studies of antibacterial chalcones*. *International Journal of ChemTech Research*, 2009. **1**(3): p. 717-721.
32. Nielsen, S.F., et al., *Antibacterial chalcones-bioisosteric replacement of the 4'-hydroxy group*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2004. **12**(11): p. 3047-3054.
33. Selvakumar, N., et al., *Synthesis, SAR and antibacterial studies on novel chalcone oxazolidinone hybrids*. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2007. **42**(4): p. 538-543.
34. Sivakumar, P.M., S. Priya, and M. Doble, *Synthesis, Biological Evaluation, Mechanism of Action and Quantitative Structure–Activity Relationship Studies of Chalcones as Antibacterial Agents*. *Chemical Biology & Drug Design*, 2009. **73**(4): p. 403-415.
35. Nalwar, Y.S., et al., *Synthesis and Insect Antifeedant Activity of Some New Chalcones Against Phenacoccus solanopsis*. *World Journal of Chemistry*, 2009. **4**(2): p. 123-126.
36. Lin, Y.M., et al., *Chalcones and flavonoids as anti-tuberculosis agents*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2002. **10**(8): p. 2795-2802.
37. Kiat, T.S., et al., *Inhibitory activity of cyclohexenyl chalcone derivatives and flavonoids of fingerroot, Boesenbergia rotunda (L.), towards dengue-2 virus NS3 protease*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2006. **16**(12): p. 3337-3340.
38. Wu, J.-H., et al., *Anti-AIDS agents 54. A potent anti-HIV chalcone and flavonoids from genus Desmos*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2003. **13**(10): p. 1813-1815.
39. Dominguez, J.N., et al., *Synthesis of quinolinyl chalcones and evaluation of their antimalarial activity*. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2001. **36**(6): p. 555-560.
40. Domínguez, J.N., et al., *Synthesis and antimalarial activity of sulfonamide chalcone derivatives*. *Il Farmaco*, 2005. **60**(4): p. 307-311.

41. Li, R., et al., *In Vitro Antimalarial Activity of Chalcones and Their Derivatives*. Journal of Medicinal Chemistry, 1995. **38**(26): p. 5031-5037.
42. Liu, M., P. Wilairat, and M.L. Go, *Antimalarial alkoxyated and hydroxylated chalcones: Structure-activity relationship analysis*. Journal of Medicinal Chemistry, 2001. **44**(25): p. 4443-4452.
43. Mishra, N., et al., *Synthesis of novel substituted 1,3-diaryl propenone derivatives and their antimalarial activity in vitro*. European Journal of Medicinal Chemistry, 2008. **43**(7): p. 1530-1535.
44. Lunardi, F., et al., *Trypanocidal and leishmanicidal properties of substitution-containing chalcones*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2003. **47**(4): p. 1449-1451.
45. Bergmann, B.R., et al., *Preparation of chalcones for the treatment of parasitic diseases*. 2004.
46. Boeck, P., et al., *Synthesis of chalcone analogues with increased antileishmanial activity*. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2006. **14**(5): p. 1538-1545.
47. Nielsen, S.F., et al., *Antileishmanial chalcones: Statistical design, synthesis, and three-dimensional quantitative structure-activity relationship analysis*. Journal of Medicinal Chemistry, 1998. **41**(24): p. 4819-4832.
48. Yunes, R.A., et al., *Chalcones as new drugs against Leishmaniasis*. Current Trends in Medicinal Chemistry, 2006. **4**: p. 47-56.
49. Kamei, R., et al., *2'-benzyloxychalcone derivatives stimulate glucose uptake in 3T3-L1 adipocytes*. Life Sciences, 2003. **73**(16): p. 2091-2099.
50. Dong, X.W., et al., *Design, Synthesis, and Biological Evaluation of Prenylated Chalcones as Vasorelaxant Agents*. Archiv Der Pharmazie, 2009. **342**(7): p. 428-432.
51. Gacche, R.N., et al., *In-vitro evaluation of selected chalcones for antioxidant activity*. Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry, 2008. **23**(1): p. 28-31.
52. Santos, L., et al., *Biological evaluation of chalcones and analogues as hypolipidemic agents*. Archiv Der Pharmazie, 2006. **339**(10): p. 541-546.
53. Bhat, B.A., et al., *Synthesis and biological evaluation of chalcones and their derived pyrazoles as potential cytotoxic agents*. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2005. **15**(12): p. 3177-3180.
54. Nam, N.H., et al., *Cytotoxic 2',5'-dihydroxychalcones with unexpected antiangiogenic activity*. European Journal of Medicinal Chemistry, 2003. **38**(2): p. 179-187.

55. Rao, Y.K., S.H. Fang, and Y.M. Tzeng, *Differential effects of synthesized 2'-oxygenated chalcone derivatives: modulation of human cell cycle phase distribution*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2004. **12**(10): p. 2679-2686.
56. Potter, G.A. and P.C. Butler, *3,4-methylenedioxy-substituted chalcones as therapeutic agents*. 2003: UK WO 03/028713.
57. Robinson, T.P., et al., *Synthesis and biological evaluation of aromatic enones related to curcumin*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2005. **13**(12): p. 4007-4013.
58. Won, S.J., et al., *Synthetic chalcones as potential anti-inflammatory and cancer chemopreventive agents*. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2005. **40**(1): p. 103-112.
59. Xia, Y., et al., *Antitumor agents. Part 202: Novel 2'-amino chalcones: Design, synthesis and biological evaluation*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2000. **10**(8): p. 699-701.
60. Ducki, S., et al., *Potent antimetabolic and cell growth inhibitory properties of substituted chalcones*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 1998. **8**(9): p. 1051-1056.
61. Ducki, S., et al., *Combretastatin-like chalcones as inhibitors of microtubule polymerisation. Part 2: Structure-based discovery of alpha-aryl chalcones*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2009. **17**(22): p. 7711-7722.
62. Ducki, S., et al., *Combretastatin-like chalcones as inhibitors of microtubule polymerization. Part 1: Synthesis and biological evaluation of antivascular activity*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2009. **17**(22): p. 7698-7710.
63. Saydam, G., et al., *Cytotoxic and inhibitory effects of 4,4'-dihydroxy chalcone (RVC-588) on proliferation of human leukemic HL-60 cells*. *Leukemia Research*, 2003. **27**(1): p. 57-64.
64. Batt, D.G., et al., *2'-substituted chalcone derivatives as inhibitors of interleukin-1 biosynthesis*. *Journal of Medicinal Chemistry*, 1993. **36**(10): p. 1434-1442.
65. Deshpande, A.M., et al., *Synthesis and screening of a combinatorial library of naphthalene substituted chalcones: Inhibitors of leukotriene B-4*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 1999. **7**(6): p. 1237-1240.
66. Meng, C.Q., et al., *Discovery of novel heteroaryl-substituted chalcones as inhibitors of TNF-alpha-induced VCAM-1 expression*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2004. **14**(6): p. 1513-1517.

67. Sogawa, S., et al., *3,4-dihydroxychalcones as potent 5-lipoxygenase and cyclooxygenase inhibitors*. Journal of Medicinal Chemistry, 1993. **36**(24): p. 3904-3909.
68. Zarghi, A., et al., *Synthesis and biological evaluation of 1,3-diphenylprop-2-en-1-ones possessing a methanesulfonamido or an azido pharmacophore as cyclooxygenase-1/-2 inhibitors*. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2006. **14**(20): p. 7044-7050.
69. Herencia, F., et al., *Novel anti-inflammatory chalcone derivatives inhibit the induction of nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 in mouse peritoneal macrophages*. Febs Letters, 1999. **453**(1-2): p. 129-134.
70. Rojas, J., et al., *Synthesis and inhibitory activity of dimethylamino-chalcone derivatives on the induction of nitric oxide synthase*. European Journal of Medicinal Chemistry, 2002. **37**(8): p. 699-705.
71. Cechinel, V., et al., *Synthesis of xanthoxyline derivatives with antinociceptive and antioedematogenic activities*. European Journal of Medicinal Chemistry, 1996. **31**(10): p. 833-839.
72. Correa, R., et al., *Antinociceptive properties of chalcones. Structure-activity relationships*. Archiv Der Pharmazie, 2001. **334**(10): p. 332-334.
73. Chimenti, F., et al., *Chalcones: A Valid Scaffold for Monoamine Oxidases Inhibitors*. Journal of Medicinal Chemistry, 2009. **52**(9): p. 2818-2824.
74. Al Nakib, T., et al., *Synthesis and antifungal activity of some 3-benzylidenechroman-4-ones, 3-benzylidenethiochroman-4-ones and 2-benzylidene-1-tetralones*. European Journal of Medicinal Chemistry, 1990. **25**(5): p. 455-462.
75. Dimmock, J.R., et al., *Correlations between cytotoxicity and topography of some 2-arylidenebenzocycloalkanones determined by X-ray crystallography*. Journal of Medicinal Chemistry, 2002. **45**(14): p. 3103-3111.
76. Anderson, W.R. *Herbarium - University of Michigan - Malpighiaceae website*. 2011 [cited 2011 October, 06]; Available from: <http://herbarium.lsa.umich.edu/herb/malpigh/>.
77. Cameron, K.M., et al., *Molecular systematics of Malpighiaceae: Evidence from plastid rbcL and matK sequences*. American Journal of Botany, 2001. **88**(10): p. 1847-1862.
78. Davis, C.C., et al., *Laurasian migration explains Gondwanan disjunctions: Evidence from Malpighiaceae*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2002. **99**(10): p. 6833-6837.

79. Conceição, G.M., A.C. Ruggieri, and M.S. Rodrigues, *Malpighiaceae do cerrado do Parque Estadual do Mirador, Maranhão, Brasil*. Scientia Plena, 2011. **7**(2): p. 01-06.
80. Galietta, G., et al., *Neurophysiological studies of Heteropteris glabra Hok. & Arn. (Malpighiaceae) in DBA/2J mice*. Journal of Ethnopharmacology, 2005. **97**(3): p. 415-419.
81. Galvao, S.M.P., et al., *Heteropterys aphrodisiaca (extract BST0298): a Brazilian plant that improves memory in aged rats*. Journal of Ethnopharmacology, 2002. **79**(3): p. 305-311.
82. Mattei, R., et al., *Heteropteris aphrodisiaca O. Machado: Effects of extract BST 0298 on the oxidative stress of young and old rat brains*. Phytotherapy Research, 2001. **15**(7): p. 604-607.
83. Mendes, F.R. and E.A. Carlini, *Brazilian plants as possible adaptogens: An ethnopharmacological survey of books edited in Brazil*. Journal of Ethnopharmacology, 2007. **109**(3): p. 493-500.
84. Monteiro, J.C., et al., *Heteropterys aphrodisiaca infusion reduces the collateral effects of cyclosporine A on the testis*. Anatomical Record-Advances in Integrative Anatomy and Evolutionary Biology, 2008. **291**(7): p. 809-817.
85. Corrêa, M.P. and L.A. Pena, *Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas*. Vol. III. 1984, Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal.
86. Joly, A.B., *Botânica: introdução à taxonomia vegetal*. 1976, São Paulo: Companhia Editora Nacional.
87. Schreckinger, M.E., et al., *Berries from South America: A Comprehensive Review on Chemistry, Health Potential, and Commercialization*. Journal of Medicinal Food, 2010. **13**(2): p. 233-246.
88. Agra, M.D., et al., *Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil*. Revista Brasileira De Farmacognosia-Brazilian Journal of Pharmacognosy, 2008. **18**(3): p. 472-508.
89. Costa, M.C.M., M.C. Figueiredo, and S.d.O.S. Cazenave, *Ayahuasca: uma abordagem toxicológica do uso ritualístico*. Revista de Psiquiatria Clínica, 2005. **32**(6): p. 310-318.
90. Nishijima, C.M., et al., *Anti-hemorrhagic Activity of Four Brazilian Vegetable Species Against Bothrops jararaca Venom*. Molecules, 2009. **14**(3): p. 1072-1080.
91. Ribeiro, J.E.L.d.S., *Flora da Reserva Ducke : guia de identificação das plantas vasculares de uma floresta de terra-firme na Amazônia Central*. 1999, Manaus, Amazonas, Brasil; [Great Britain?]: INPA ; DFID.

92. Bonpland, A., A.v. Humboldt, and K.S. Kunth, *Nova genera et species plantarum: quas in peregrinatione ad plagam æquinoctialem orbis novi collegerunt, descripserunt, partim adumbraverunt. Amat. Bonpland et Alex. de Humboldt ; ex schedis autographis Amati Bonplandi in ordinem digessit Carol. Sigismund. Kunth.* Vol. v. 5. 1821, Lutetiae Parisiorum: sumtibus Librariae Graeco-Latino-Germanico.
93. Giraldi, M. and N. Hanazaki, *Uso e conhecimento tradicional de plantas medicinais no Sertão do Ribeirão, Florianópolis, SC, Brasil.* Acta Botanica Brasilica, 2010. **24**(2): p. 395-406.
94. Giulietti, A.M., et al., *Biodiversidade e conservação das plantas no Brasil.* MEGADIVERSIDADE, 2005. **1**(1): p. 52-61.
95. Guilhon-Simplicio, F. and M.D. Pereira, *Chemical and pharmacological aspects of Byrsonima (Malpighiaceae).* Química Nova, 2011. **34**(6): p. 1032-1041.
96. Michelin, D.C., et al., *Antimicrobial activity of Byrsonima species (Malpighiaceae).* Revista Brasileira de Farmacognosia, 2008. **18**(suppl 0): p. 690-695.
97. Dosseh, C., et al., *Chemical study on the leaves of Byrsonima verbascifolia Rich. ex Juss.* Plantes Medicinales et Phytotherapie, 1980. **14**(3): p. 136-142.
98. Gottlieb, O.R., P. Henriques Mendes, and M. Taveira Magalhaes, *Triterpenoids from Byrsonima verbascifolia.* Phytochemistry, 1975. **14**(5-6): p. 1456-1456.
99. Motta, L.B., et al., *Flavonoids and the taxonomy of Camarea (Malpighiaceae).* Biochemical Systematics and Ecology, 2009. **37**(3): p. 201-205.
100. Hanamura, T., T. Hagiwara, and H. Kawagishi, *Structural and functional characterization of polyphenols isolated from acerola (Malpighia emarginata DC.) fruit.* Bioscience Biotechnology and Biochemistry, 2005. **69**(2): p. 280-286.
101. Kawaguchi, M., H. Tanabe, and K. Nagamine, *Isolation and characterization of a novel flavonoid possessing a 4,2 "-glycosidic linkage from green mature acerola (Malpighia emarginata DC.) fruit.* Bioscience Biotechnology and Biochemistry, 2007. **71**(5): p. 1130-1135.
102. Danelli, M.G.M., et al., *Leishmanicidal effect of LLD-3 (1), a nor-triterpene isolated from Lophanthera lactescens.* Phytochemistry, 2009. **70**(5): p. 608-614.

103. Cao, S.G., et al., *Cytotoxic triterpenoids from Acridocarpus vivy from the Madagascar rain forest*. Journal of Natural Products, 2004. **67**(6): p. 986-989.
104. de Siqueira, D.S., et al., *Determination of high molecular mass compounds from amazonian plant's leaves*. Química Nova, 2003. **26**(5): p. 633-640.
105. Wang, Y.-H., et al., *Composition, standardization and chemical profiling of Banisteriopsis caapi, a plant for the treatment of neurodegenerative disorders relevant to Parkinson's disease*. Journal of Ethnopharmacology, 2010. **128**(3): p. 662-671.
106. Kawanishi, K., Y. Uhara, and Y. Hashimoto, *Shihunine and dihydroshihunine from Banisteriopsis caapi*. Journal of Natural Products, 1982. **45**(5): p. 637-639.
107. Hochstein, F.A. and A.M. Paradies, *Alkaloids of Banisteria caapi and Prestonia amazonicum*. Journal of the American Chemical Society, 1957. **79**(21): p. 5735-5736.
108. Hashimoto, Y. and K. Kawanishi, *New organic bases from amazonian Banisteriopsis caapi*. Phytochemistry, 1975. **14**(7): p. 1633-1635.
109. Hashimoto, Y. and K. Kawanishi, *New alkaloids from Banisteriopsis caapi*. Phytochemistry, 1976. **15**(10): p. 1559-1560.
110. Aquino, R., S. De Crescenzo, and F. De Simone, *Constituents of Banisteriopsis caapi*. Fitoterapia 1991. **62**(5): p. 453.
111. O'Connell, F.D., *Isolation of caffeine from Banisteriopsis inebrians (Malpighiaceae)*. Naturwissenschaften, 1969. **56**(3): p. 139-140.
112. Ribas, I., J. Saa, and L. Castedo, *Alkaloid components of Banisteriopsis inebrians*. Anales de Química (1968-1979), 1972. **68**(3): p. 299-302.
113. Saa Rodriguez, J.M., *Alkaloids of Banisteriopsis inebrians and synthesis of corunnine*. Acta Científica Compostelana, 1972. **9**((3/4)): p. 159-164.
114. Lira, W.D., et al., *Modulatory effect of Byrsonima basiloba extracts on the mutagenicity of certain direct and indirect-acting mutagens in Salmonella typhimurium assays*. Journal of Medicinal Food, 2008. **11**(1): p. 111-119.
115. Figueiredo, M.E., et al., *Avaliação química e da atividade anti-diarréica das folhas de Byrsonima cinera DC. (Malpighiaceae)*. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, 2005. **41**(1): p. 79-83.
116. Sannomiya, M., et al., *Preparative isolation of a novel flavonoid from an infusion of Byrsonima basiloba leaves by high-speed counter-current chromatography*. Natural Product Communications, 2007. **2**(8): p. 829-834.

117. Castillo-Avila, G.M., K. Garcia-Sosa, and L.M. Pena-Rodriguez, *Antioxidants from the Leaf Extract of Byrsonima bucidaefolia*. Natural Product Communications, 2009. **4**(1): p. 83-86.
118. Cardoso, C.R.P., et al., *Mutagenic activity promoted by amentoflavone and methanolic extract of Byrsonima crassa Niedenzu*. Toxicology, 2006. **225**(1): p. 55-63.
119. Sannomiya, M., et al., *Application of preparative high-speed counter-current chromatography for the separation of flavonoids from the leaves of Byrsonima crassa Niedenzu (IK)*. Journal of Chromatography A, 2004. **1035**(1): p. 47-51.
120. Sannomiya, M., et al., *Application of liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry to the analysis of polyphenolic compounds from an infusion of Byrsonima crassa Niedenzu*. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 2005. **19**(16): p. 2244-2250.
121. Sannomiya, M., et al., *Flavonoids and antiulcerogenic activity from Byrsonima crassa leaves extracts*. Journal of Ethnopharmacology, 2005. **97**(1): p. 1-6.
122. Higuchi, C.T., et al., *Triterpenes and antitubercular activity of Byrsonima crassa*. Química Nova, 2008. **31**(7): p. 1719-1721.
123. de Almeida, L.F.R., et al., *In vitro allelopathic effects of extracts and amentoflavone from Byrsonima crassa (Malpighiaceae)*. Journal of Plant Interactions, 2007. **2**(2): p. 121-124.
124. Amarquaye, A., et al., *A new glycolipid from Byrsonima crassifolia*. Planta Medica, 1994. **60**(1): p. 85-86.
125. Bejar, E., et al., *Constituents of Byrsonima crassifolia and their spasmogenic activity*. International Journal of Pharmacognosy, 1995. **33**(1): p. 25-32.
126. Geiss, F., et al., *Proanthocyanidins with (+)-epicatechin units from Byrsonima crassifolia bark*. Phytochemistry, 1995. **39**(3): p. 635-643.
127. Rastrelli, L., et al., *Glycolipids from Byrsonima crassifolia*. Phytochemistry, 1997. **45**(4): p. 647-650.
128. Lima, Z.P., et al., *Byrsonima fagifolia: An integrative study to validate the gastroprotective, healing, antidiarrheal, antimicrobial and mutagenic action*. Journal of Ethnopharmacology, 2008. **120**(2): p. 149-160.
129. Sannomiya, M., et al., *Liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry profiling of compounds from the infusion of Byrsonima fagifolia Niedenzu*. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 2007. **21**(8): p. 1393-1400.

130. Higuchi, C.T., et al., *Byrsonima fagifolia* Niedenzu Apolar Compounds with Antitubercular Activity. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2011.
131. Sannomiya, M., et al., *Mutagenic evaluation and chemical investigation of Byrsonima intermedia* A. Juss. leaf extracts. Journal of Ethnopharmacology, 2007. **112**(2): p. 319-326.
132. Reis, M.G., et al., *Byrsonic acid - the clue to floral mimicry involving oil-producing flowers and oil-collecting bees*. Journal of Chemical Ecology, 2007. **33**(7): p. 1421-1429.
133. Rocha, J.H.C., et al., *A novel chlorinated diphenyl ether from Byrsonima microphylla* (Malpighiaceae). Bioscience Biotechnology and Biochemistry, 2006. **70**(11): p. 2759-2761.
134. Mendes, C.C., et al., *Triterpenos esterificados com ácidos graxos e ácidos triterpênicos isolados de Byrsonima microphylla*. Química Nova, 1999. **22**(2): p. 185-188.
135. Aguiar, R.M., J.P. David, and J.M. David, *Unusual naphthoquinones, catechin and triterpene from Byrsonima microphylla*. Phytochemistry, 2005. **66**(19): p. 2388-2392.
136. Aragão, P.C.d.A., et al., *Substâncias Naturais Isoladas de Stigmaphyllon tormentosum e Byrsonima variabilis*. Química Nova, 1990. **13**(4): p. 254.
137. Stermitz, F.R., et al., *Screening of argentine plants for aliphatic nitro-compounds hiptagin from Heteropteris angustifolia*. Phytochemistry, 1975. **14**(5-6): p. 1341-1345.
138. Abreu, H.D., et al., *A nor-triterpenoid from Lophanthera lactescens*. Phytochemistry, 1990. **29**(7): p. 2257-2261.
139. Delva, L., et al., *Separation and determination of phenolic compounds in fresh and concentrated acerola (Malpighia emarginata, DC) juice*. Abstracts of Papers of the American Chemical Society, 2009. **238**: p. 146-146.
140. Hanamura, T., E. Uchida, and H. Aoki, *Changes of the composition in acerola (Malpighia emarginata DC.) fruit in relation to cultivar, growing region and maturity*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2008. **88**(10): p. 1813-1820.
141. Hanamura, T. and H. Aoki, *Toxicological Evaluation of Polyphenol Extract from Acerola (Malpighia emarginata DC.) Fruit*. Journal of Food Science, 2008. **73**(4): p. 55-61.
142. de Rosso, V.V., et al., *Determination of anthocyanins from acerola (Malpighia emarginata DC.) and acai (Euterpe oleracea Mart.) by HPLC-PDA-MS/MS*. Journal of Food Composition and Analysis, 2008. **21**(4): p. 291-299.

143. De Brito, E.S., et al., *Anthocyanins present in selected tropical fruits: Acerola, jambolao, jussara, and guajiru*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2007. **55**(23): p. 9389-9394.
144. Hoffmann-Ribani, R. and D.B. Rodriguez-Amaya, *Otimização de método para determinação de flavonóis e flavonas em frutas por cromatografia líquida de alta eficiência utilizando delineamento estatístico e análise de superfície de resposta*. Quimica Nova, 2008. **31**: p. 1378-1384.
145. Garcez, W.S., et al., *Two Unusual Epicatechin and Epiafzelechin Derivatives from Mascagnia pubiflora, a Plant Toxic to Cattle*. Journal of the Brazilian Chemical Society, 2009. **20**(4): p. 674-679.
146. Vendramini, A.L.A. and L.C. Trugo, *Phenolic compounds in acerola fruit (Malpighia puniceifolia, L.)*. Journal of the Brazilian Chemical Society, 2004. **15**(5): p. 664-668.
147. Davioud, E., et al., *Iridoids of Guyanese species of Stigmaphyllon*. Planta Medica, 1985. **51**(1): p. 78-78.
148. David, J.M., et al., *Flavonoid and triterpenes from Stigmaphyllon paralias*. Química Nova, 2003. **26**(4): p. 484-487.
149. Sainty, D., et al., *Malpighiaceae: new family with iridoids. Study of Stigmaphyllon sagittatum*. Journal of Natural Products, 1981. **44**(5): p. 576-578.
150. Still, W.C., M. Kahn, and A. Mitra, *Rapid chromatographic technique for preparative separations with moderate resolution*. Journal of Organic Chemistry, 1978. **43**(14): p. 2923-2925.
151. Markham, K.R., *Techniques of flavonoid identification*. 1982, London; New York: Academic Press.
152. Cunha, S., *Simple methods of monocrystal formation of organic compounds for X-ray structural studies*. Quimica Nova, 2008. **31**(4): p. 906-909.
153. Anagnostopoulou, M.A., et al., *Radical scavenging activity of various extracts and fractions of sweet orange-peel (Citrus sinensis)*. Food Chemistry, 2006. **94**(1): p. 19-25.
154. Woisky, R.G. and A. Salatino, *Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control*. Journal of Apicultural Research, 1998. **37**(2): p. 99-105.
155. Price, M.L. and L.G. Butler, *Rapid visual estimation and spectrophotometric determination of tannin content of sorghum grain*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1977. **25**(6): p. 1268-1273.
156. Waterman, P.G. and S. Mole, *Analysis of phenolic plant metabolites*. 1994, Oxford: Blackwell Scientific Publications.

157. Cavin, A., et al., *Antioxidant and lipophilic constituents of Tinospora crispa*. *Planta Medica*, 1998. **64**(5): p. 393-396.
158. Murray, P.R., E.J. Baron, and M. American Society for, *Manual of clinical microbiology*. 2003, Washington, D.C.: ASM Press.
159. Wikler, M.A., Clinical, and I. Laboratory Standards, *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing : eighteenth informational supplement*. 2008, Wayne, Pa.: Clinical and Laboratory Standards Institute.
160. Rahman, M., et al., *Evaluation of a scanner-assisted colorimetric MIC method for susceptibility testing of gram-negative fermentative bacteria*. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004. **70**(4): p. 2398-2403.
161. Saleh, T.S.F., J.B. Calixto, and Y.S. Medeiros, *Anti-inflammatory effects of theophylline, cromolyn and salbutamol in a murine model of pleurisy*. *British Journal of Pharmacology*, 1996. **118**(3): p. 811-819.
162. Rao, T.S., et al., *Comparative-evaluation of arachidonic-acid (AA)-induced and tetradecanoylphorbol acetate (TPA)-induced dermal inflammation*. *Inflammation*, 1993. **17**(6): p. 723-741.
163. Porath, J., *Immobilized metal-ion affinity-chromatography*. *Protein Expression and Purification*, 1992. **3**(4): p. 263-281.
164. Martins, S., et al., *Differential behavior of recombinant wild-type and altered amidases on immobilized metal-ion affinity chromatography*. *International Journal of Bio-Chromatography*, 2000. **5**(2): p. 111-129.
165. Bradford, M.M., *A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding*. *Analytical Biochemistry*, 1976. **72**: p. 248-254.
166. Grundner, C., et al., *Structural basis for selective inhibition of Mycobacterium tuberculosis protein tyrosine phosphatase PtpB*. *Structure*, 2007. **15**(4): p. 499-509.
167. Wagner, H., S. Bladt, and E.M. Zgainski, *Plant drug analysis : a thin layer chromatography atlas*. 1984, Berlin; New York: Springer-Verlag.
168. Lopez-Perez, J.L., et al., *NAPROC-13: a database for the dereplication of natural product mixtures in bioassay-guided protocols*. *Bioinformatics*, 2007. **23**(23): p. 3256-3257.
169. Miyazawa, M. and M. Hisama, *Antimutagenic activity of flavonoids from Chrysanthemum morifolium*. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 2003. **67**(10): p. 2091-2099.
170. Itoh, T., et al., *Inhibitory effects of flavonoids isolated from Fragaria ananassa Duch on IgE-mediated degranulation in rat basophilic*

- leukemia RBL-2H3*. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2009. **17**(15): p. 5374-5379.
171. Agrawal, P.K., *Carbon 13 NMR of flavonoids*. 1989, Amsterdam [u.a.]: Elsevier.
172. Okuyama, T., et al., *The Constituents of Osmunda spp. II. : A New Flavonol Glycoside of Osmunda asiatica*. Chemical & Pharmaceutical Bulletin, 1978. **26**(10): p. 3071-3074.
173. Kazuma, K., N. Noda, and M. Suzuki, *Malonylated flavonol glycosides from the petals of Clitoria ternatea*. Phytochemistry, 2003. **62**(2): p. 229-237.
174. Fossen, T., et al., *Flavonoids from blue flowers of Nymphaea caerulea*. Phytochemistry, 1999. **51**(8): p. 1133-1137.
175. Xu, W.-Z., Z.-T. Huang, and Q.-Y. Zheng, *Synthesis of Benzo[c]xanthenes from 2-Benzylidene-1-tetralones by the Ultraviolet Radiation-Mediated Tandem Reaction*. The Journal of Organic Chemistry, 2008. **73**(14): p. 5606-5608.
176. Varache-Beranger, M., et al., *3,4-Dihydro-2-arylidene-1-(2H)-naphthalenones with platelet-antiaggregant properties. Synthesis and pharmacological and structural studies*. . Fr. Farmaco, 1986. **41**(2): p. 156-67.
177. Oloo, E.O., et al., *2-(2,4-Dichlorophenylmethylene)-1-tetralone*. Acta Crystallographica, Section E: Structure Reports Online, 2002. **E58**(5): p. o580-o581.
178. Donnelly, J.A., P.J. Macken, and S. O'Brien, *Ring-expansion of cyclopropyl ketones to furans*. Israel Journal of Chemistry, 1981. **21**(2-3): p. 185-189.
179. Wagner, G., et al., *Synthesis of 2-(3- and 4-amidinobenzylidene) derivatives of 1-indanone, 1-tetralone and benzosuberone*. Pharmazie, 1979. **34**(1): p. 56-57.
180. Kevill, D.N., N.H. Cromwell, and E.D. Weiler, *Cis-trans isomerism of exocyclic alpha,beta-unsaturated indanones + tetralones*. Journal of Organic Chemistry, 1964. **29**(5): p. 1276-&.
181. Gao, J., K. Igarashi, and M. Nukina, *Three new phenylethanoid glycosides from Caryopteris incana and their antioxidative activity*. Chemical & Pharmaceutical Bulletin, 2000. **48**(7): p. 1075-1078.
182. Halliwell, B., et al., *The characterization of antioxidants*. Food and Chemical Toxicology, 1995. **33**(7): p. 601-617.
183. Naczk, M. and F. Shahidi, *Extraction and analysis of phenolics in food*. Journal of Chromatography A, 2004. **1054**(1-2): p. 95-111.

184. Ikawa, M., et al., *Utilization of Folin-Ciocalteu phenol reagent for the detection of certain nitrogen compounds*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003. **51**(7): p. 1811-1815.
185. Sousa, C.M.d.M., et al., *Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais*. Quimica Nova, 2007. **30**: p. 351-355.
186. Magina, M.A., et al., *Antioxidant Activity of Three Species of Eugenia (Myrtaceae)*. Latin American Journal of Pharmacy, 2010. **29**(3): p. 376-382.
187. Haida, K.S., et al., *Avaliação in vitro da atividade antimicrobiana de oito espécies de plantas medicinais* Arq. Ciênc. Saúde Unipar, 2007. **11**(3): p. 185-192.
188. Johnson, T.L., et al., *Rapid method of MIC determinations utilizing tetrazolium reduction*. American Journal of Clinical Pathology, 1985. **83**(3): p. 374-378.
189. Machado, K.E., et al., *Potent antibacterial activity of Eugenia umbelliflora*. Pharmaceutical Biology, 2005. **43**(7): p. 636-639.
190. Edema, M.O. and O. Iyekowa, *Chemical analysis, antimicrobial and antiplasmodial activities of Stigmaphyllon ovatum (Cav.)*. International Journal of Chemistry, 2007. **17**(3): p. 231-236.
191. Ríos, J.L. and M.C. Recio, *Medicinal plants and antimicrobial activity*. Journal of Ethnopharmacology, 2005. **100**(1-2): p. 80-84.
192. Medzhitov, R., *Origin and physiological roles of inflammation*. Nature, 2008. **454**(7203): p. 428-435.
193. Male, D.K., *Immunology*. 2006, [Edinburgh]: Mosby Elsevier.
194. Selloum, L., et al., *Anti-inflammatory effect of rutin on rat paw oedema, and on neutrophils chemotaxis and degranulation*. Experimental and Toxicologic Pathology, 2003. **54**(4): p. 313-318.
195. Koul, A., et al., *Interplay between mycobacteria and host signalling pathways*. Nature Reviews Microbiology, 2004. **2**(3): p. 189-202.
196. Bach, H., et al., *Mycobacterium tuberculosis virulence is mediated by PtpA dephosphorylation of human vacuolar protein sorting 33B*. Cell Host & Microbe, 2008. **3**(5): p. 316-322.
197. Zhou, B., et al., *Targeting mycobacterium protein tyrosine phosphatase B for antituberculosis agents*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2010. **107**(10): p. 4573-4578.
198. Wermuth, C.G. *The practice of medicinal chemistry*. 2008; Available from: <http://www.knovel.com/knovel2/Toc.jsp?BookID=2777>.
199. Koch, M.A. and H. Waldmann, *Protein structure similarity clustering and natural product structure as guiding principles for chemical genomics*, in *Chemical Genomics: Small Molecule Probes to Study*

- Cellular Function*, S. Jaroch and H. Weinmann, Editors. 2006, Springer-Verlag Berlin: Berlin. p. 89-109.
200. Chiaradia, L.D., et al., *Synthesis, Biological Evaluation, And Molecular Modeling of Chalcone Derivatives As Potent Inhibitors of Mycobacterium tuberculosis Protein Tyrosine Phosphatases (PtpA and PtpB)*. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2012. **55**(1): p. 390-402.

ANEXO 1. Dados dos espectros de RMN de ¹H dos compostos GSQ-01 a GSQ-06

Estrutura					
Numeração		GSQ-01	GSQ-02	GSQ-04	GSQ-06
Anel A	C2'	8,0 (dd; 1,2; 7,7)	8,13 (dd; 1,0; 7,4)	8,11 (dd; 1,5; 7,4)	8,12 (dd; 1,4, 7,6)
	C3'	7,38 (dd; 1,2; 7,7)	7,53 (dd; 1,0; 7,4)	7,47 (dd; 1,5; 7,4)	7,49 (dd; 1,4; 7,6)
	C4'	*	7,38 (dd; 1,0; 7,4)	7,28 (dd; 1,5; 7,4)	7,36 (dd; 1,4; 7,6)
	C5'	7,12 (d; 7,7)	7,28 (d; 7,4)	7,21 (d; 7,4)	7,26 (d; 7,6)
	γ	2,97 (t; 6,8)	3,10 (t; 6,4)	3,14 (t; 6,8)	3,09 (t; 6,8)
	β	2,82 (t; 6,8)	2,97 (t; 6,4)	2,93 (t; 6,8)	2,95 (t; 6,8)
sp ²	C β	7,67 (s)	7,84 (s)	7,84 (s)	7,76 (s)
Anel B	C2	*	7,56 (d; 8,4)	7,40 (d; 8,4)	7,56 (sl)
	C3	*	8,27 (d; 8,4)	6,93 (d; 8,4)	-
	C4	-	-	-	7,47 (dd; 1,60; 7,6)
	C5	*	8,27 (d; 8,4)	6,93 (d; 8,4)	7,29 (dd; 1,60; 7,6)
	C6	*	7,56 (d; 8,4)	7,40 (d; 8,4)	7,33 (dd; 1,60; 7,6)
Subst.	C1''	-	-	4,00 (t; ; 6,4)	-
	C2''	-	-	1,79 (qui)	-
	C3''	-	-	1,47 (sept)	-
	C4''	-	-	0,98 (t)	-

* sinal de difícil atribuição devido à sobreposição de sinais entre si e/ou com solvente. Dados: deslocamento químico / ppm (multiplicidade – d=duplete, dd=duplo-duplete, qui= quinteto, s=simpleto, sept= septeto, t=triplete; acoplamento – J / Hz)

ANEXO 2. Dados dos espectros de RMN de ^{13}C dos compostos GSQ-01 a GSQ-06

GSQ		01 – 4-Cl	02 – 4-NO ₂	04 – 4-OBu	06 – 3-Br
Anel A	C1'	134,44	133,76	133,66	136,65
	C2'	128,19	128,33	128,05	128,27
	C3'	128,25	128,38	128,14	128,39
	C4'	133,39	133,65	133,34	134,81
	C5'	127,09	127,28	126,94	127,11
	C6'	143,11	143,10	143,06	143,17
	C=O	187,63	187,23	187,88	187,56
	C α	135,95	138,55	136,80	137,92
	C β	28,76	28,68	28,79	28,77
C γ	27,17	27,28	27,22	27,13	
sp ²	C β	133,33	133,76	133,05	131,38
Anel B	C1	134,25	142,48	133,34	133,25
	C2	128,70	130,39	131,75	133,46
	C3	131,11	123,71	114,45	122,50
	C4	135,25	147,27	159,58	129,97
	C5	131,11	123,71	114,45	132,38
	C6	128,70	130,39	131,75	128,24
Subst.	C1''	-	-	67,77	-
	C2''	-	-	31,23	-
	C3''	-	-	19,22	-
	C4''	-	-	13,82	-

ANEXO 3. Dados dos espectros de RMN de ^1H dos compostos GSQ-07 a GSQ-11

Estrutura					
Numeração	GSQ-07	GSQ-08	GSQ-10	GSQ-11	
Anel A	C2'	8,12 (dd; 1,1; 7,70)	8,13 (dd; 1,1. 7,6)	8,12 (dd; 1,4; 7,7)	8,11 (dd; 1,0; 7,4)
	C3'	7,47 (dd; 1,5; 7,45)	7,49 (dd; 1,4; 7,6)	*	*
	C4'	*	*	7,47 (dd; 1,4; 7,6)	7,34 (d; 8,5)
	C5'	*	*	7,37 (dd; 1,2; 7,6)	7,24 (d; 8,5)
	Cβ'	3,14 (t; 6,7)	3,13 (t; 6,3)	3,09 (t; 6,5)	3,18 (t; 6,7)
	Cγ'	2,94 (t; 6,7)	2,94 (t; 6,3)	2,94 (t; 6,5)	2,93 (t; 6,7)
sp ²	Cβ	7,84 (s)	7,67 (s)	7,77 (s)	7,86 (s)
	C2	7,43 (d; 8,7)	*	7,54 (d; 8,4)	7,44 (d; 8,9)
Anel B	C3	6,93 (d; 8,7)	*	7,29 (d; 8,4)	6,73 (d; 8,9)
	C4	-	*	-	-
	C5	6,93 (d; 8,7)	*	7,29 (d; 8,4)	6,73 (d; 8,9)
	C6	7,43 (d; 8,7)	*	7,54 (d; 8,4)	7,44 (d; 8,9)
	C1''	3,84 (s)	-	-	3,03 (s)

* sinal de difícil atribuição devido à sobreposição de sinais entre si e/ou com solvente. Dados: deslocamento químico / ppm (multiplicidade – d=dupletto, dd=duplo-dupletto, s=simpleto, t=tripleto; acoplamento – J / Hz)

ANEXO 4. Dados dos espectros de RMN de ^{13}C dos compostos GSQ-07 a GSQ-11

	GSQ	07 – 4-OMe	08 – H	10 – 4-Br	11 – 4-N(Me)₂
Anel A	C1'	133,65	135,42	135,27	133,96
	C2'	126,97	126,99	122,71	126,83
	C3'	128,08	128,15	127,09	127,89
	C4'	133,53	133,44	133,40	132,73
	C5'	128,40	128,51	128,25	128,00
	C6'	143,07	143,20	143,11	142,92
	C=O	187,88	187,88	187,63	187,84
	C α	136,69	136,63	136,04	137,94
	C β	28,80	28,84	28,75	28,75
C γ	27,24	27,17	27,18	27,33	
sp ²	C β	131,76	133,25	131,34	131,01
Anel B	C1	128,15	135,81	134,69	123,59
	C2	133,10	128,41	131,66	132,07
	C3	113,94	18,19	133,31	111,61
	C4	159,95	129,85	128,19	150,55
	C5	113,94	129,19	133,31	111,61
	C6	133,10	128,41	131,66	132,07
	C1''	55,35	-	-	40,15

ANEXO 5. Dados dos espectros de RMN de ^1H dos compostos GSQ-12 a GSQ-16

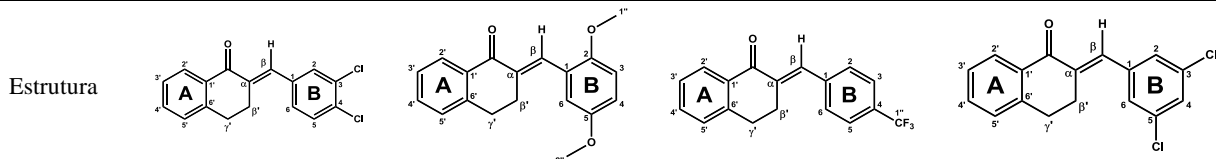
Estrutura					
Numeração	GSQ-12	GSQ-13	GSQ-14	GSQ-16	
Anel A	C2'	8,12 (dd; 1,2; 7,5)	8,13 (dd; 1,48; 7,4)	8,12 (d; 7,5)	8,12 (dd; 1,4; 7,6)
	C3'	7,49 (dd; 1,5; 7,5)	7,52 (dd; 1,48; 7,4)	7,50 (dd; 1,1; 7,5)	7,49 (dd; 1,4; 7,6)
	C4'	7,33 (dd; 1,2; 7,5)	7,38 (dd; 1,48; 7,4)	*	7,37 (d; 7,7)
	C5'	7,24 (dd; 1,5; 7,5)	7,27 (d; 7,4)	*	7,22 (d; 7,7)
	C β	3,10 (t; 6,8)	3,12 (t; 6,8)	3,10 (t; 6,8)	3,14 (t; 6,8)
	C γ	2,94 (t; 6,8)	2,97 (t; 6,8)	2,95 (t; 6,8)	2,94 (t; 6,8)
sp ²	C β	7,82 (s)	7,84 (s)	7,77 (s)	7,86 (s)
Anel B	C2	7,40 (d; 8,4)	8,27 (sl)	*	7,36 (d; 8,1)
	C3	7,08 (d; 8,4)	-	-	7,23 (d; 8,1)
	C4	-	7,73 (d; 7,9)	*	-
	C5	7,08 (d; 8,4)	7,62 (d; 7,9)	*	7,23 (d; 8,1)
	C6	7,40 (d; 8,4)	8,20 (d; 7,9)	*	7,36 (d; 8,1)
	Cl''	-	-	-	2,39 (s)

* sinal de difícil atribuição devido à sobreposição de sinais entre si e/ou com solvente. Dados: deslocamento químico / ppm (multiplicidade – d=duplete, dd=duplo-duplete, s=simpleto, sl=simpleto largo, t=tripleto; acoplamento – J / Hz)

ANEXO 6. Dados dos espectros de RMN de ^{13}C dos compostos GSQ-12 a GSQ-16

GSQ		12 – 4-F	13 – 3-NO ₂	14 – 3-Cl	16 – 4-Me
Anel A	C1'	135,49	133,68	134,89	134,67
	C2'	127,07	123,05	127,10	126,96
	C3'	128,18	128,30	128,24	128,11
	C4'	135,26	133,48	133,37	133,17
	C5'	128,24	128,33	128,47	128,17
	C6'	160,15	137,87	143,17	143,16
	C=O	187,71	187,22	187,54	186,66
	C α	143,11	137,47	137,64	138,79
	C β	28,78	28,65	28,77	28,83
C γ	27,12	27,12	27,15	27,22	
sp ²	C β	133,33	143,07	129,71	132,95
Anel B	C1	133,42	135,68	136,63	133,53
	C2	131,84	124,09	128,26	129,16
	C3	115,77	148,27	134,37	129,97
	C4	165,11	129,51	133,27	136,81
	C5	115,34	133,04	129,49	129,97
	C6	131,67	127,23	127,95	129,16
	C1''	-	-	-	21,39

ANEXO 7. Dados dos espectros de RMN de ^1H dos compostos GSQ-17 a GSQ-20



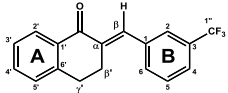
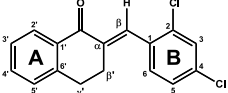
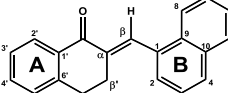
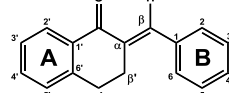
Numeração		GSQ-17	GSQ-18	GSQ-19	GSQ-20
Anel A	C2'	8,12 (dd; 1,2; 7,6)	8,13 (dd; 1,48; 7,6)	8,15 (d; 7,7)	8,10 (dd; 1,5; 7,5)
	C3'	7,51 (dd; 1,5; 7,6)	7,47 (dd; 1,48; 7,6)	*	7,49 (dd; 1,5; 7,5)
	C4'	7,36 (dd; 1,2; 7,6)	7,34 (dd; 1,48; 7,6)	7,40 (d; 7,4)	7,35 (1,5; 7,1)
	C5'	7,24 (d; 7,6)	7,23 (d; 7,6)	7,27 (d; 7,4)	7,24 (d; 7,1)
	C β	3,07 (t; 6,4)	3,04 (t; 6,4)	3,11 (t; 6,5)	3,04 (t; 5,7)
	C γ	2,96 (t; 6,4)	2,93 (t; 6,4)	2,97 (t; 6,5)	2,94 (t; 5,7)
	sp ²	C β	7,72 (s)	7,95 (s)	7,85 (s)
Anel B	C2	7,50 (sl)	-	7,53 (d; 8,1)	7,31 (d; 1,7)
	C3	-	*	7,68 (d; 8,1)	-
	C4	-	*	-	7,24 (d; 1,7)
	C5	7,25 (d; 8,1)	-	7,68 (d; 8,1)	-
	C6	7,48 (dd; 1,3; 8,1)	*	7,53 (d; 8,1)	7,31 (d; 1,7)
	C1''	-	3,78 (s)	-	-
C2''	-	3,81 (s)	-	-	

* sinal de difícil atribuição devido à sobreposição de sinais entre si e/ou com solvente. Dados: deslocamento químico / ppm (multiplicidade – d=dupleteo, dd=duplo-dupleteo, s=simpleto, sl=simpleto largo, t=tripleto; acoplamento – J / Hz)

ANEXO 8. Dados dos espectros de RMN de ^{13}C dos compostos GSQ-17 a GSQ-20

GSQ		17 – 3,4-Cl ₂	18 – 2,5(OMe) ₂	19 – 4-CF ₃	20 – 3,5-Cl ₂
Anel A	C1'	133,82	133,12	137,36	137,73
	C2'	127,18	126,88	127,15	127,82
	C3'	128,25	128,13	128,26	128,33
	C4'	133,17	132,43	134,65	133,63
	C5'	129,04	128,16	128,29	128,40
	C6'	143,09	143,35	143,16	143,12
	C=O	187,37	187,77	187,48	187,23
	C α	136,99	135,78	139,42	138,77
	C β	28,69	28,96	28,76	28,69
C γ	27,17	27,54	27,15	27,17	
sp ²	C β	131,31	133,46	133,19	133,07
Anel B	C1	135,82	125,60	139,45	133,39
	C2	130,46	152,84	129,88	127,19
	C3	133,56	111,58	125,39	135,07
	C4	132,69	114,38	133,54	128,28
	C5	132,52	152,56	125,39	135,07
	C6	128,31	116,12	129,88	127,19
	C1''	-	55,76	125,24	-
	C2''	-	55,99	-	-

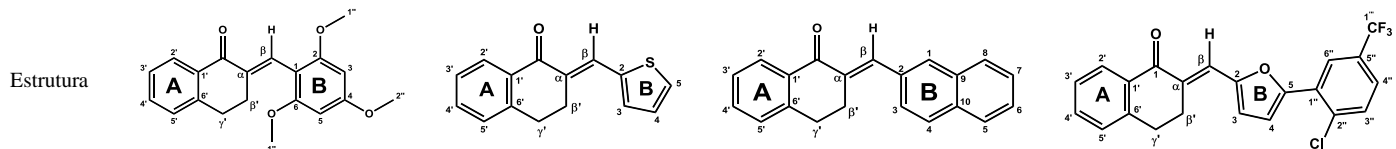
ANEXO 9. Dados dos espectros de RMN de ^1H dos compostos GSQ-21 a GSQ-24

Estrutura					
Numeração	GSQ-21	GSQ-22	GSQ-23	GSQ-24	
Anel A	C2'	8,13 (dd; 1,4; 7,6)	8,13 (dd; 1,0; 7,5)	8,21 (dd; 1,3; 7,5)	8,10 (dd; 1,4; 7,6)
	C3'	7,50 (dd; 1,6; 7,6)	7,49 (dd; 1,0; 7,5)	*	7,48 (dd; 1,5; 7,6)
	C4'	7,37 (dd; 1,4; 7,5)	7,35 (d; 7,5)	7,39 (dd; 1,3; 7,4)	7,34 (dd; 1,4; 7,4)
	C5'	7,27 (d; 7,5)	*	7,24 (d; 7,4)	7,23 (d; 7,4)
	Cβ	3,10 (t; 6,2)	*	2,99 (t; 6,4)	3,12 (t; 6,4)
	Cγ	2,96 (t; 6,2)	*	2,93 (t; 6,4)	2,93 (t; 6,4)
sp ²	Cβ	7,84 (s)	7,80 (s)	8,37 (s)	7,78 (s)
Anel B	C2	7,66 (d; 1,6)	-	7,54 (dd; 1,1; 8,6)	6,95 (d; 1,3)
	C3	-	*	7,53 (d; 8,6)	-
	C4	*	-	*	-
	C5	*	7,47 (dd; 1,2; 7,3)	7,85 – 8,04 (m)	6,86 (d; 7,8)
	C6	*	*	7,85 – 8,04 (m)	6,96 (dd; 1,3; 7,8)
	C7	-	-	7,85 – 8,04 (m)	-
	C8	-	-	7,85 – 8,04 (m)	-
	C1''	-	-	-	6,00 (s)

* sinal de difícil atribuição devido à sobreposição de sinais entre si e/ou com solvente. Dados: deslocamento químico / ppm (multiplicidade – d=duplete, dd=duplo-duplete, s=simpleto, t=tripleto; acoplamento – J / Hz)

ANEXO 10. Dados dos espectros de RMN de ¹³C dos compostos GSQ-21 a GSQ-24

	GSQ	21 – 3-CF₃	22 – 2,4-Cl₂	23 – 1-naftil	24 – piperonal
Anel A	C1'	134,67	133,54	134,77	134,00
	C2'	128,08	127,12	126,21	126,98
	C3'	128,26	128,29	126,47	128,16
	C4'	133,52	133,12	133,49	133,55
	C5'	128,99	131,07	128,55	129,89
	C6'	143,16	143,29	143,59	143,04
	C=O	187,45	187,28	187,83	187,73
	C α	137,03	137,69	137,46	136,66
	C β	28,78	28,90	29,24	28,75
C γ	27,13	27,39	27,68	27,25	
sp ²	C β	133,24	128,31	133,39	133,14
Anel B	C1	136,64	132,97	133,14	128,07
	C2	125,05	134,73	133,54	109,74
	C3	132,90	129,66	127,07	147,73
	C4	127,02	135,57	128,88	148,01
	C5	126,22	126,77	132,03	108,46
	C6	128,30	132,18	125,09	125,04
	C7	-	-	128,33	-
	C8	-	-	124,86	-
	C9	-	-	126,74	-
	C10	-	-	133,29	-
	C1''	127,16	-	-	101,35

ANEXO 11. Dados dos espectros de RMN de ^1H dos compostos GSQ-26 a GSQ-33

Numeração		GSQ-26	GSQ-30	GSQ-32	GSQ-33
Anel A	C2'	8,14 (dd; 1,1; 7,3)	8,10 (dd; 1,0; 7,6)	8,16 (dd; 1,1; 7,5)	8,11 (dd; 1,1; 8,0)
	C3'	7,44 (dd; 1,1; 7,3)	7,48 (dd; 1,1; 7,6)	7,54 (dd; 1,6; 7,5)	7,45 (dd; 1,5; 8,0)
	C4'	7,31 (dd; 1,1; 7,3)	7,35 (d; 7,3)	7,38 (dd; 1,1; 7,5)	7,35 (dd; 1,1; 7,5)
	C5'	7,20 (d; 7,3)	7,27 (d; 7,3)	7,26 (d; 7,5)	7,27 (d; 7,5)
	C β	2,89 (t; 6,6)	3,20 (t; 6,7)	3,23 (t; 6,2)	3,38 (t; 6,8)
	C γ	2,68 (t; 6,6)	3,02 (t; 6,7)	2,96 (t; 6,2)	3,05 (t; 6,8)
sp ²	C β	7,70 (s)	8,05 (s)	8,03 (s)	7,63 (s)
Anel B	C1	-	-	7,46 – 7,54 (m)	-
	C3	6,16 (s)	7,40 (d; 3,8)	7,46 – 7,54 (m)	7,32 (d; 3,7)
	C4	-	7,13 (dd; 3,8; 4,5)	7,46 – 7,54 (m)	6,82 (d; 3,7)
	C5	6,16 (s)	7,49 (d; 4,5)	7,83 – 7,91 (m)	-
	C6	-	-	7,83 – 7,91 (m)	-
	C7	-	-	7,83 – 7,91 (m)	-
	C8	-	-	7,83 – 7,91 (m)	-
	Subst.	C1''	3,79 (s)	-	-
C2''		3,84 (s)	-	-	-
C3''		-	-	-	7,46 (d; 8,4)
C4''		-	-	-	7,56 (d; 8,4)
C6''		-	-	-	*

* sinal de difícil atribuição devido à sobreposição de sinais entre si e/ou com solvente. Dados: deslocamento químico / ppm (multiplicidade – d=duplete, dd=duplo-duplete, m=multiplete, s=simpleto, t=triplete; acoplamento – J / Hz)

ANEXO 12. Dados dos espectros de RMN de ¹³C dos compostos GSQ-26 a GSQ-33

GSQ	26 – 2,4,6-(OMe) ₃	30 – 2-tiofeno	32 – 2-naftil	33 – 5-(2-Cl, 5-CF ₃)- fenil-furfural	
Anel A	C1'	132,66	133,63	133,33	133,74
	C2'	126,61	126,99	127,23	128,11
	C3'	128,00	127,55	127,68	129,31
	C4'	129,32	129,38	133,27	133,72
	C5'	128,05	128,07	128,21	129,98
	C6'	144,00	142,95	143,17	143,29
	C=O	187,61	187,15	187,82	186,94
	C α	136,52	129,37	135,68	124,84
	C β	29,08	28,08	28,84	28,15
C γ	28,85	26,99	27,32	26,89	
sp ²	C β	133,82	133,22	128,28	129,00
Anel B	C1	106,73	-	125,76	-
	C2	159,08	133,07	133,05	150,23
	C3	90,37	131,78	126,45	118,32
	C4	161,93	128,08	133,47	98,26
	C5	90,37	139,09	127,99	152,37
	C6	159,08	-	127,01	-
	C7	-	-	128,16	-
	C8	-	-	129,57	-
	C9	-	-	136,73	-
	C10	-	-	126,77	-
Subst.	C1''	55,54	-	-	131,55
	C2''	55,31	-	-	134,85
	C3''	-	-	-	133,39
	C4''	-	-	-	126,99
	C5''	-	-	-	133,18
	C6''	-	-	-	122,07
	C1'''	-	-	-	114,47

ANEXO 13. Dados dos espectros de RMN de ^1H dos compostos GSQ-34 a GSQ-42

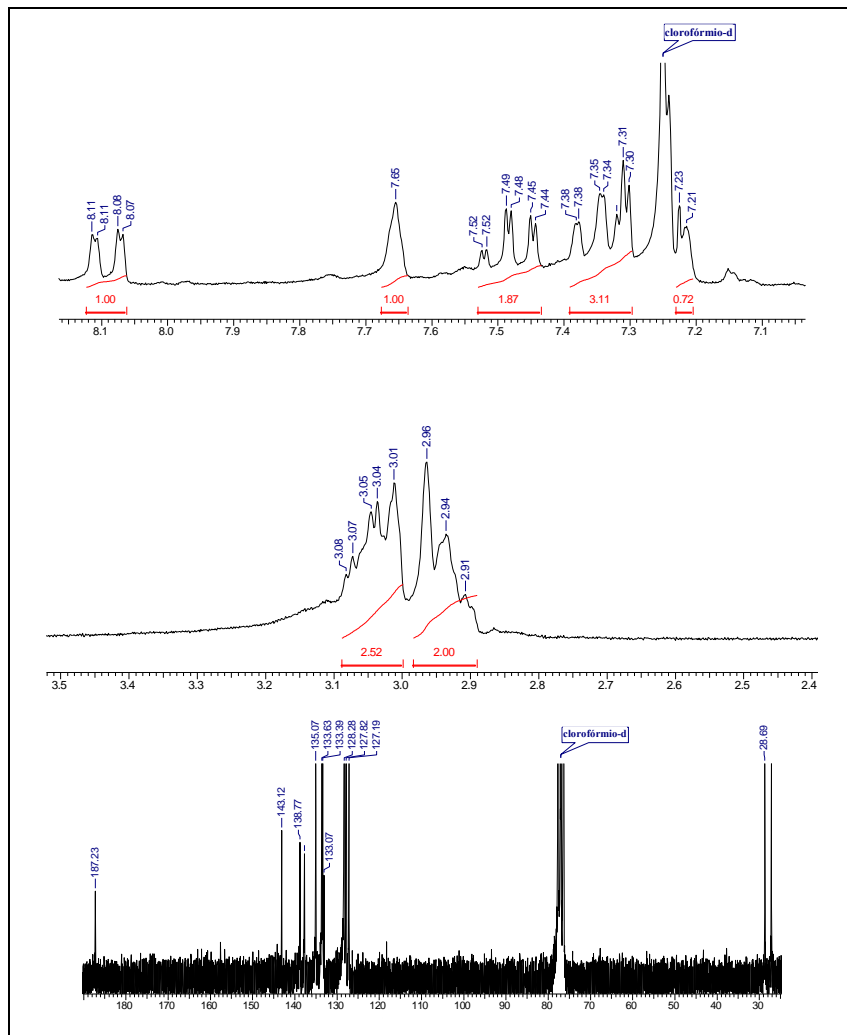
Estrutura					
Numeração		GSQ-34	GSQ-39	GSQ-40	GSQ-42
Anel A	C2'	8,12 (d; 7,7)	8,08 (dd; 1,0; 7,6)	8,12 (d; 7,5)	8,12 (d; 7,5)
	C3'	*	7,48 (dd; 1,4; 7,6)	7,41 (t; 7,5)	7,45 (d; 7,5)
	C4'	7,37 (d; 7,6)	7,37 (d; 7,4)	7,32 (d; 7,5)	7,32 (d; 7,5)
	C5'	7,27 (d; 7,6)	7,26 (d; 7,4)	7,17 (d; 8,5)	7,21 (d; 7,5)
	C β	3,08 (t; 6,0)	3,26 (t; 6,5)	2,87 (t; 6,2)	3,03 (t; 6,0)
	C γ	2,96 (t; 6,0)	3,02 (t; 6,5)	2,65 (t; 6,2)	2,91 (t; 6,0)
sp ²	C β	7,80 (s)	7,54 (s)	7,68 (s)	7,92 (s)
Anel B	C2	7,70 (d; 8,1)	-	-	-
	C3	7,50 (d; 8,1)	6,81 (d; 3,7)	6,55 (d; 8,3)	-
	C4	-	6,77 (d; 3,7)	*	-
	C5	7,50 (d; 8,1)	-	6,55 (d; 8,3)	6,68 (d; 8,6)
	C6	7,70 (d; 8,1)	-	-	7,03 (d; 8,6)
	C1''	-	-	3,77 (s)	3,88 (s)
Subst.	C3''	-	7,71 (dd; 1,3; 7,5)	-	3,88 (s)
	C4''	-	7,60 (dd; 0,9; 7,5)	-	3,88 (s)
	C5''	-	7,46 (d; 7,6)	-	-
	C6''	-	7,72 (dd; 1,3; 7,6)	-	-

* sinal de difícil atribuição devido à sobreposição de sinais entre s i e/ou com solvente. Dados: deslocamento químico / ppm (multiplicidade – d=duplete, dd=duplo-duplete, s=simpleto, t=triplete; acoplamento – J / Hz)

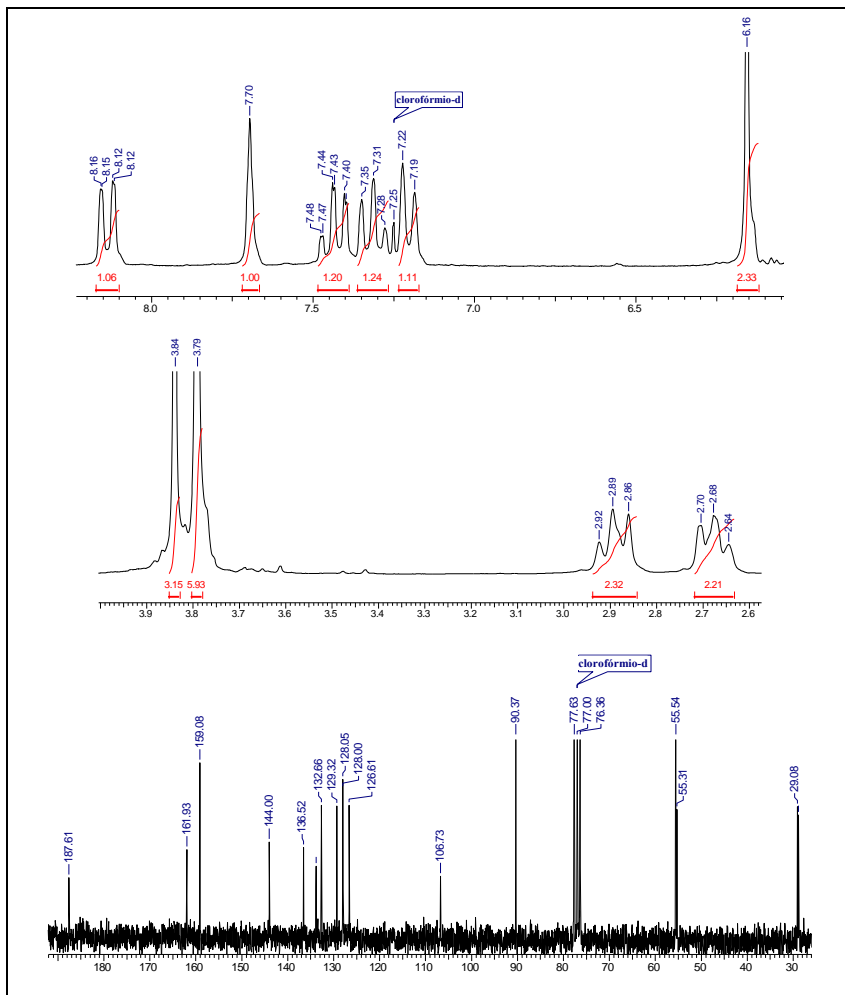
ANEXO 14. Dados dos espectros de RMN de ^{13}C dos compostos GSQ-34 a GSQ-42

GSQ	34 – 4-CN	39 - 5-(2-NO ₂)- fenil-furfural	40 – 2,6(OMe) ₂	42 – 2,3,4(OMe) ₃	
Anel A	C1'	134,09	133,40	129,86	133,02
	C2'	127,24	123,39	126,67	126,82
	C3'	128,29	128,05	128,08	128,03
	C4'	133,69	133,13	129,12	132,22
	C5'	128,35	128,83	128,12	128,05
	C6'	143,09	143,63	144,07	143,17
	C=O	187,30	187,21	187,53	187,70
	C α	138,07	121,74	137,57	134,81
	C β	28,69	28,18	28,99	28,92
	C γ	27,21	26,58	28,67	27,55
sp ³	C β	133,06	128,14	133,72	133,45
Anel B	C1	140,51	-	113,69	122,67
	C2	130,06	153,57	158,17	153,12
	C3	132,18	124,06	103,57	142,19
	C4	111,79	111,99	132,80	154,35
	C5	132,18	150,02	103,57	106,69
	C6	130,06	-	158,17	124,82
Subst.	C1''	118,59	131,95	55,58	61,26
	C2''	-	147,55	-	60,83
	C3''	-	126,89	-	55,93
	C4''	-	128,84	-	-
	C5''	-	133,38	-	-
	C6''	-	118,53	-	-

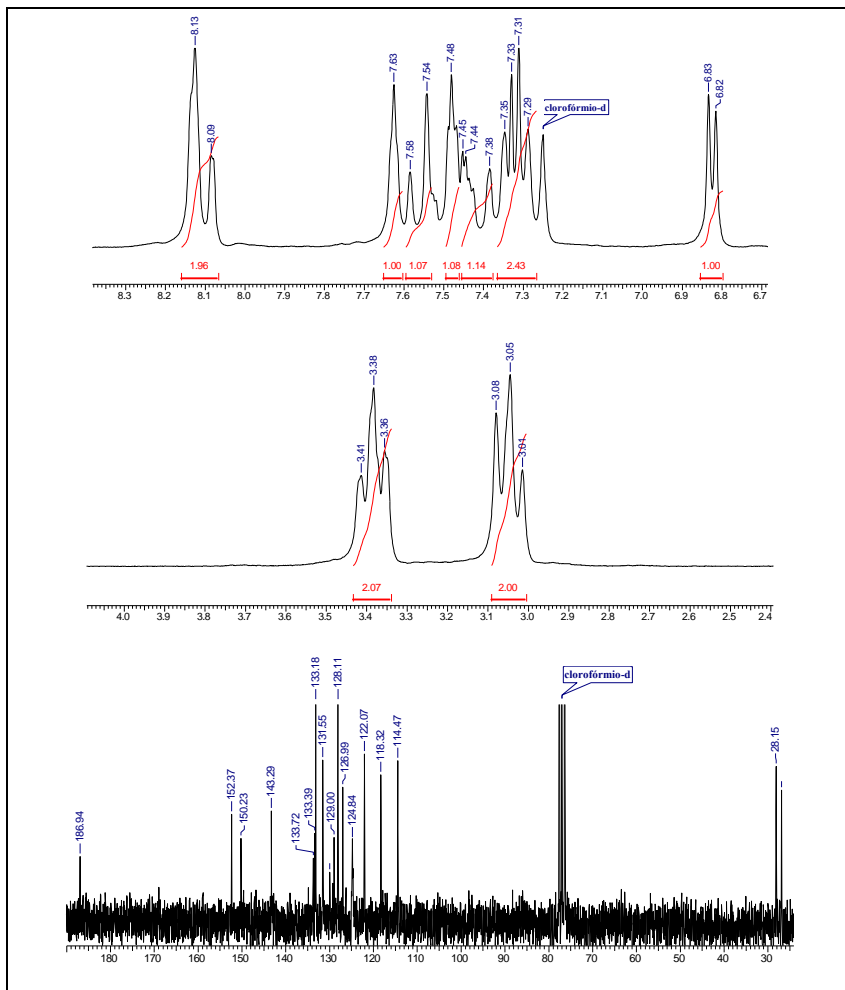
ANEXO 15. Espectro de RMN de ^1H e de ^{13}C do composto GSQ-20



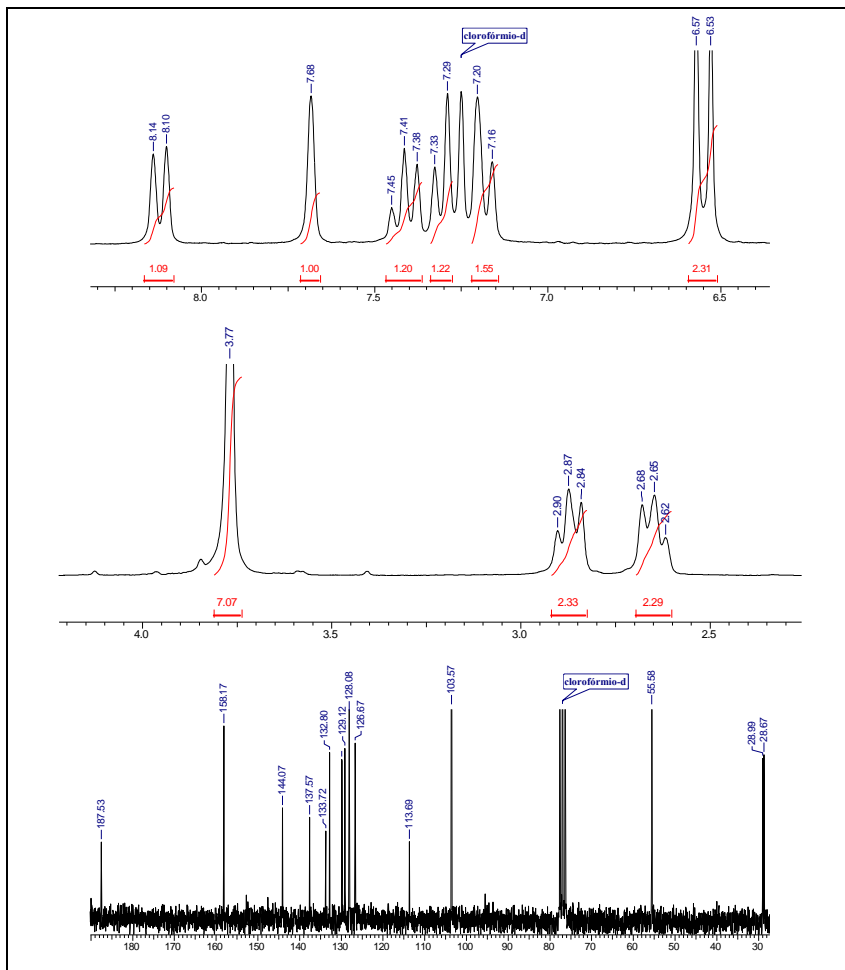
ANEXO 16. Espectro de RMN de ^1H e de ^{13}C do composto GSQ-26



ANEXO 17. Espectro de RMN de ^1H e de ^{13}C do composto GSQ-33



ANEXO 18. Espectro de RMN de ^1H e de ^{13}C do composto GSQ-40



**ANEXO 19. Dados de cristal e refinamento de estrutura do composto
GSQ-08**

Fórmula empírica	C ₁₇ H ₁₄ O	
Massa molar	234,28 g.mol ⁻¹	
Temperatura	293(2) K	
Comprimento de onda	0,71073 Å	
Sistema cristalino	Monoclínico	
Grupo de espaço	P 21/c	
Dimensões da célula unitária	a = 9,0353(9) Å b = 16,2450(9) Å c = 8,6929(8) Å	$\alpha = 90^\circ$ $\beta = 102,709(7)^\circ$ $\gamma = 90^\circ$
Volume	1244,67(18) Å ³	
Z	4	
Densidade (calculada)	1,250 Mg/m ³	
Coefficiente de absorção	0,076 mm ⁻¹	
F(000)	496	
Tamanho do cristal	0,40 x 0,23 x 0,15 mm ³	
Escala do <i>theta</i>	2,31 a 25,07°	
faixa dos índices	-10 ≤ h ≤ 0, 0 ≤ k ≤ 19, -10 ≤ l ≤ 10	
Reflexões coletadas	2326	
Reflexões independentes	2189 [R(int) = 0,0299]	
Integralidade para <i>theta</i> = 25,07°	99,0 %	
Correção da absorção	Nenhuma	
Método de refinamento	Full-matrix least-squares on F ²	
Dados / restrições / parametros	2189 / 0 / 163	
<i>Goodness-of-fit</i> em F ²	1,031	
Final R índices [I > 2σ(I)]	R1 = 0,0516; wR2 = 0,1193	
R índices (todos os dados)	R1 = 0,1242; wR2 = 0,1415	
Maior diferença entre pico e buraco	0,136 e -0,242 e.Å ⁻³	

**ANEXO 20. Dados de cristal e refinamento de estrutura do composto
GSQ-10**

Fórmula empírica	C ₁₇ H ₁₃ BrO	
Massa molar	313,18	
Temperatura	293(2) K	
Comprimento de onda	0,71069 Å	
Sistema cristalino	Monoclínico	
Grupo de espaço	P 21/c	
Dimensões da célula unitária	a = 13,625(2) Å b = 14,8761(17) Å c = 6,7563(8) Å	$\alpha = 90^\circ$ $\beta = 94.273(14)^\circ$ $\gamma = 90^\circ$
Volume	1365.6(3) Å ³	
Z	4	
Densidade (calculada)	1,523 Mg/m ³	
Coefficiente de absorção	2,998 mm ⁻¹	
F(000)	632	
Tamanho do cristal	0,46 x 0,33 x 0,07 mm ³	
Escala do <i>theta</i>	1,50 a 25,07°	
Faixa dos índices	-16<=h<=0, 0<=k<=17, -8<=l<=8	
Reflexões coletadas	2513	
Reflexões independentes	2411 [R(int) = 0,0705]	
Integridade para o <i>theta</i> = 25,07°	100,0 %	
Correção da absorção	Psi-scan	
Max. e min. de transmissão	0,818 and 0,339	
Método de refinamento	Full-matrix least-squares on F ²	
Dados / restrições / parametros	2411 / 0 / 172	
<i>Goodness-of-fit</i> em F ²	0,982	
Final R indices [I>2sigma(I)]	R1 = 0,0529; wR2 = 0,1037	
R indices (all data)	R1 = 0,2008; wR2 = 0,1325	
Maior diferença entre pico e buraco	0,234 e -0,263 e.Å ⁻³	

**ANEXO 21. Dados de cristal e refinamento de estrutura do composto
GSQ-12**

Fórmula empírica	C ₁₇ H ₁₃ FO	
Massa molar	252,27	
Temperatura	293(2) K	
Comprimento de onda	0,71069 Å	
Sistema cristalino	Monoclínico	
Grupo de espaço	P 21/c	
Dimensões da célula unitária	a = 10,981(3) Å b = 10,9647(7) Å c = 11,3160(15) Å	$\alpha = 90^\circ$ $\beta = 111,165(15)^\circ$ $\gamma = 90^\circ$
Volume	1270,6(4) Å ³	
Z	4	
Densidade (calculada)	1,319 Mg/m ³	
Coefficiente de absorção	0,091 mm ⁻¹	
F(000)	528	
Tamanho do cristal	0,50 x 0,40 x 0,26 mm ³	
Escala do <i>theta</i>	1,99 a 25,07°	
Faixa dos índices	-12 ≤ h ≤ 13, -13 ≤ k ≤ 0, -13 ≤ l ≤ 0	
Reflexões coletadas	2372	
Reflexões independentes	2248 [R(int) = 0,0255]	
Integralidade do <i>theta</i> = 25,07°	99,9 %	
Correção da absorção	Nenhuma	
Método de refinamento	Full-matrix least-squares on F ²	
Dados / restrições / parâmetros	2248 / 0 / 172	
<i>Goodness-of-fit</i> em F ²	1,023	
Final R índices [I > 2σ(I)]	R1 = 0,0453; wR2 = 0,1113	
R índices (all data)	R1 = 0,1140; wR2 = 0,1333	
Maior diferença entre pico e buraco	0,124 e -0,150 e.Å ⁻³	

**ANEXO 22. Dados de cristal e refinamento de estrutura do composto
GSQ-13**

Fórmula empírica	C ₁₇ H ₁₃ NO ₃	
Massa Molar	279,28	
Temperatura	293(2) K	
Comprimento de onda	0,71069 Å	
Sistema cristalino	Triclínico	
Grupo de espaço	P-1	
Dimensões da célula unitária	a = 8,0086(14) Å	$\alpha = 74,463(4)^\circ$
	b = 8,1236(2) Å	$\beta = 72,208(8)^\circ$
	c = 12,5150(8) Å	$\gamma = 62,180(7)^\circ$
Volume	678,03(13) Å ³	
Z	2	
Densidade (calculada)	1,368 Mg/m ³	
Coefficiente de absorção	0,095 mm ⁻¹	
F(000)	292	
Tamanho do cristal	0,50 x 0,36 x 0,30 mm ³	
Escala do theta	1,73 a 25,47°	
Faixa dos índices	-9<=h<=9, -9<=k<=9, -15<=l<=0	
Reflexões coletadas	2645	
Reflexões independentes	2520 [R(int) = 0,0157]	
Integralidade do $\theta = 25.47^\circ$	100,0 %	
Correção da absorção	Nenhuma	
Método de refinamento	Full-matrix least-squares on F ²	
Dados / restrições / parâmetros	2520 / 0 / 191	
<i>Goodness-of-fit</i> em F ²	1,038	
Final R índices [I>2sigma(I)]	R1 = 0,0401; wR2 = 0,1081	
R índices (all data)	R1 = 0,0650; wR2 = 0,1218	
Coefficiente de extinção	0,037(5)	
Maior diferença entre pico e buraco	0,189 e -0,173 e.Å ⁻³	