

# **Caracterização fitoquímica dos extratos de casca e raízes de *Alchornea cordifolia***

(Versão final após defesa)

**Nsinga Lufuankenda**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em  
**Química Industrial**  
(2<sup>o</sup> ciclo de estudos)

**Novembro 2024**



# **Caracterização fitoquímica dos extratos de casca e raízes de *Alchornea cordifolia***

**Nsinga Lufuankenda**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em  
**Química Industrial**  
(2º ciclo de estudos)

Orientador: Professor Doutor Jesus Miguel Lopez Rodilla

**Novembro 2024**



## **Declaração de Integridade**

Eu, Nsinga Lufuankenda, que abaixo assino, estudante com o número de inscrição M12448 do curso de mestrado em Química Industrial da Faculdade de Ciências, declaro ter desenvolvido o presente trabalho e elaborado o presente texto em total consonância com o **Código de Integridades da Universidade da Beira Interior**.

Mais concretamente afirmo não ter incorrido em qualquer das variedades de Fraude Académica, e que aqui declaro conhecer, que em particular atendi à exigida referenciação de frases, extratos, imagens e outras formas de trabalho intelectual, e assumindo assim na íntegra as responsabilidades da autoria.

Universidade da Beira Interior, Covilhã 12/11/2024

A handwritten signature in blue ink that reads "Nsinga Lufuankenda". The signature is written in a cursive style with a long horizontal stroke at the end.



# **Dedicatória**

Dedico esta dissertação à minha filha Jandira Nsinga.



# Epígrafe

*“Descobrir consiste em olhar para o que todo mundo está vendo e pensar uma coisa diferente”.*

Roger Von Oech



# Agradecimentos

Agradeço, em primeiro lugar, a Deus Todo-Poderoso por me ter iluminado e protegido ao longo deste percurso académico, especialmente nos momentos mais desafiantes, onde Ele foi a minha principal força para continuar em frente.

Gostaria de expressar minha profunda gratidão ao meu Orientador, Professor Doutor Jesus Miguel Lopez Rodilla, por ter aceitado a orientação deste trabalho, pela acessibilidade, disponibilidade e paciência para esclarecer todas as minhas dúvidas, e por todo o auxílio prestado sempre que o solicitei. As suas orientações teórico-práticas foram cruciais para a realização deste trabalho e para o meu crescimento académico e profissional.

A todos os Professores do curso de Mestrado em Química Industrial, em especial às Professoras Ana Carreira Lopes e Maria Pacheco, pela partilha dos conhecimentos metodológico-científicos para elaboração desta dissertação. À Professora Doutora Maria Lúcia Silva, pelo apoio prestado na realização das análises CG-EM.

À Universidade da Beira Interior (UBI), por proporcionar os recursos necessários para a realização deste estudo e pelo ambiente académico propício ao aprendizado e pesquisa.

Aos meus colegas da turma do Mestrado em Química Industrial (2022-2024), nomeadamente, Beatriz Francisco, Simão Pacheco, Marla Machava, Joel Martins, Elizandra Lende, Cláudia Antunes e Daliany Farinon pela amizade e partilhas de experiências e conhecimentos, contribuindo para o enriquecimento deste trabalho.

À minha colega de laboratório, Nswadi Kinkela, pela camaradagem e pelo ambiente colaborativo que tanto enriqueceram minha experiência de pesquisa.

À minha esposa Fanny Dimba por amor, pelo apoio moral e espiritual prestado dia-pós-dia, incentivo, e pela compreensão das constantes ausências ao seu lado. Aos meus filhos Jandira Juliana Miguel Nsinga, João Miguel Nsinga e Sofia Nkuna por todo o carinho, apoio moral e espiritual, pela paciência que têm, eles são a fonte a minha motivação.

Agradeço aos meus pais pelo amor incondicional e pelo apoio moral e espiritual, que foram fundamentais para a concretização dos meus objectivos.

Agradeço à Direção do ISCED do Uíge (2021-2022) por ter permitido a minha saída para formação; e aos Professores Mona Panzo, Benjamim José Pedro Maielano, Alves Bunga Makonga, Paulo Manuel, Mantantu Kavena Francisco e Teresa da Glória Paulo pelo inestimável apoio moral concedido.

Ao Doutor Nsevolo Samba pela amizade e apoios moral e científico durante as minhas pesquisas.

À meu irmão Didier Mpanda por certos apoios e orientações estratégicas.

Por fim, agradeço a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização desta dissertação. Cada um de vocês foi vital para que este momento se tornasse realidade.

Muito obrigado por tudo!



## Resumo

A pesquisa de substâncias naturais de plantas resultou na descoberta de vários medicamentos úteis para o tratamento de diferentes doenças, impulsionando o desenvolvimento de tecnologias de extração e separação, métodos espectroscópicos para elucidação da estrutura e metodologias sintéticas fundamentais da Química orgânica analítica. Este trabalho teve como objetivo caracterizar os compostos fitoquímicos presentes nos extratos da casca e raízes de *Alchornea cordifolia*, pertencente à família Euphorbiaceae. Foram utilizadas técnicas de extração sólido-líquido com solventes de polaridade crescente (n-hexano, acetona e etanol) e o extrato de hexano foi submetido à desceração e a cera obtida foi primeiramente submetida ao processo de hidrólise com metanol em presença de NaOH obtendo a parte neutra e as partes ácidas (1 e 2) e depois as partes ácidas foram esterificadas com diazometano. A análise por Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM) de cera do extrato de hexano da casca da parte aérea identificou quinze compostos fitoquímicos, incluindo triterpenoides, fitoesteróis e álcoois graxos. A caracterização por RMN dos extratos sugeriu a presença de substâncias bioativas, incluindo flavonoide, triterpenoide, ésteres, compostos fenólicos. Recomenda-se continuar o estudo com mais técnicas espectroscópicas (IV, CG-EM, HPLC) e investigações de actividades biológicas, como antimicrobiana e antidiabética.

## Palavras-chave

*Alchornea cordifolia* (Schumach. e Thonn.) Müll. Arg., caracterização fitoquímica, substâncias naturais, extrato de hexano, extrato de acetona, extrato de etanol, cera de extrato de hexano.



# Abstract

Research into natural plant substances has resulted in the discovery of several useful drugs for the treatment of different diseases, driving the development of extraction and separation technologies, spectroscopic methods for structure elucidation and fundamental synthetic methodologies in analytical organic chemistry. The aim of this work was to characterise the phytochemical compounds present in extracts of the bark and roots of *Alchornea cordifolia*, which belongs to the Euphorbiaceae family. Solid-liquid extraction techniques were used with solvents of increasing polarity (n-hexane, acetone and ethanol) and the hexane extract was subjected to deceration and the wax obtained was first subjected to the hydrolysis process with methanol in the presence of NaOH, obtaining the neutral part and the acidic parts (1 and 2) and then the acidic parts were esterified with diazomethane. Gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC-MS) analysis of the wax from the hexane extract of the bark of the aerial part identified fifteen phytochemical compounds, including triterpenoids, phytosterols and fatty alcohols. NMR characterisation of the extracts suggested the presence of bioactive substances, including flavonoids, triterpenoids, esters and phenolic compounds. It is recommended to continue the study with more spectroscopic techniques (IR, GC-MS, HPLC) and investigations of biological activities, such as antimicrobial and antidiabetic.

## Keywords

*Alchornea cordifolia* (Schumach. e Thonn.) Müll. Arg., phytochemical characterisation, natural substances, hexane extract, acetone extract, ethanol extract, hexane extract wax.



# Índice

Dedicatória .....	v
Epígrafe .....	vii
Agradecimentos.....	ix
Resumo.....	xii
Abstract.....	xiv
Índice.....	xvi
Lista de Figuras .....	xx
Lista de Tabelas .....	xxv
Lista de Acrónimos.....	xxviii
Capítulo 1: Introdução.....	1
Objectivos do estudo .....	3
Objectivo geral.....	3
Objectivos específicos.....	3
Capítulo 2: Revista teórica.....	4
2.1. <i>Alchornea cordifolia</i> .....	4
2.1.1. Descrição da planta .....	4
2.1.2. Origem e Distribuição geográfica da planta .....	5
2.1.3. Taxonomia da <i>Alchornea cordifolia</i> (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. ....	6
2.1.4. Usos tradicionais da <i>Alchornea Cordifolia</i> (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg.....	7
2.1.5. Química de <i>Alchornea cordifolia</i> (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg.....	8
2.1.6. Actividades farmacológicas de <i>Alchornea cordifolia</i> (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. ....	19
2.1.7. Toxicidade da <i>Alchornea cordifolia</i> (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. ....	23
2.2. Métodos de extração fitoquímica .....	23
2.2.1. Extração por Soxhlet.....	24

2.2.2. Maceração.....	24
2.3. Métodos de isolamento e purificação .....	25
2.3.1. Cromatografia em Coluna (CC).....	26
2.3.2. Cromatografia em Camada Fina (CCF) .....	26
2.4. Métodos de caracterização fitoquímica.....	27
2.4.1. Espectroscopia Ultravioleta (UV-Vis).....	27
2.4.2. Espectroscopia de infravermelho (IV) .....	27
2.4.3. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN).....	28
2.4.4. Espectrometria de massa .....	29
Capítulo 3: Materiais e métodos.....	31
3.1. Equipamentos, reagentes e material vegetal .....	31
3.1.1. Equipamentos.....	31
3.1.2. Reagentes .....	32
3.1.3. Material vegetal.....	32
3.2. Técnicas experimentais .....	34
3.2.1. Preparação dos extratos .....	34
3.2.2. Isolamento e purificação dos extratos.....	37
3.2.3. Caracterização dos produtos .....	45
Capítulo 4: Resultados e discussão .....	47
4.1. Resultado de rendimentos das extrações.....	47
4.2. Isolamento e purificação dos extratos.....	48
4.3. Análise cromatográfica das ceras por CG-EM.....	49
4.3.1. Identificação dos compostos químicos nas ceras das cascas .....	49
4.4. Análise e identificação espectroscópica dos compostos encontrados nas frações dos extratos por RMN de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ .....	73
4.4.1. Análise do extrato de acetona de cascas por RMN de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ .....	74
4.4.2. Análise do extrato de etanol de cascas por RMN de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ .....	81
4.4.3. Análise do extrato de hexano descerrado de raízes por RMN de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ .....	90

4.4.4. Análise do extrato de acetona do de raízes por RMN de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ .....	100
Capítulo 5: Conclusões e perspectivas futuras.....	105
Referências bibliográficas .....	107
Apêndices .....	113



# Lista de Figuras

Figura 2. 1: Descrição de <i>Alchornea Cordifolia</i> (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. (folhas, floras, frutas) (Ngbolua et al., 2022) .....	5
Figura 2. 2: Distribuição geográfica de <i>Alchornea Cordifolia</i> (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. (Ngaha et al., 2016) .....	6
Figura 2. 3: Estruturas dos compostos fenólicos derivados de <i>Alchornea Cordifolia</i> (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. revelados em estudos fitoquímicos interiores .....	10
Figura 2. 4: Estruturas dos flavonoides derivados de <i>Alchornea Cordifolia</i> (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. revelados em estudos fitoquímicos anteriores .....	12
Figura 2. 5: Estruturas dos terpenoides e esteroides derivados de <i>Alchornea Cordifolia</i> (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. isolados em estudos fitoquímicos anteriores.....	16
Figura 2. 6: Estruturas dos alcaloides derivados de <i>Alchornea Cordifolia</i> (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. isolados em estudos fitoquímicos anteriores .....	17
Figura 2. 7: Estruturas dos outros compostos identificados nos extratos de <i>Alchornea Cordifolia</i> (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. revelados em estudos fitoquímicos prévios .....	18
Figura 2. 8: Esquematização do extrator Soxhlet, adaptado de (Peiris et al., 2023).....	24
Figura 3. 1: Localização geográfica da coleta da casca da parte aérea do material vegetal.....	33
Figura 3. 2: Localização geográfica da coleta das raízes do material vegetal.....	33
Figura 3. 3: Processo de extração realizado a partir do material vegetal seco e moído até o extrato final obtido utilizando diferentes solventes. ....	34
Figura 3. 4: Montagem laboratorial de extração sólido-líquido, usando o extrator Soxhlet ...	35
Figura 4. 1: Gráfico de rendimentos das extrações em percentagem (%) .....	48
Figura 4. 2: Placas de CCF de algumas frações analisadas dos extratos obtidos .....	49
Figura 4. 3: Espectro de massa de acetato de hexadeca-7,11-dien -1-ilo de uma análise de CG-EM .....	52
Figura 4. 4: Estrutura de acetato de hexadeca-7,11-dien -1-ilo .....	53
Figura 4. 5: Espectro de massa de $\gamma$ -sitosterol de uma análise de CG-EM.....	53
Figura 4. 6: Estrutura de $\gamma$ -sitosterol .....	54

Figura 4. 7: Espectro de massa de 24-metileno-9,19-ciclolanostan-3-ol de uma análise de CG-EM .....	54
Figura 4. 8: Estrutura de 24-metileno-9,19-ciclolanostan-3-ol.....	54
Figura 4. 9: Espectro de massa de 3,4-dimetoxicinamato de metilo de uma análise de CG-EM .....	60
Figura 4. 10: Estrutura de 3,4-dimetoxicinnamato de metilo.....	60
Figura 4. 11: Estrutura de ácido 3,4-dimetoxicinâmico .....	60
Figura 4. 12: Espectro de massa de Palmitato de metiltrimetilsililo de uma análise de CG-EM .....	61
Figura 4. 13: Estrutura de Palmitato de metiltrimetilsililo .....	61
Figura 4. 14: Estrutura de ácido palmitoléico .....	61
Figura 4. 15: Espectro de massa de Eicosanoato de metilo de uma análise de CG-EM.....	62
Figura 4. 16: Estrutura de Eicosanoato de metilo .....	62
Figura 4. 17: Estrutura de ácido araquídico .....	62
Figura 4. 18: Espectro de massa de Tetracosanoato de metilo de uma análise de CG-EM ....	63
Figura 4. 19: Estrutura de Tetracosanoato de metilo .....	63
Figura 4. 20: Estrutura de ácido lignocérico.....	64
Figura 4. 21: Espectro de massa de Hexacosanoato de metilo de uma análise de CG-EM.....	64
Figura 4. 22: Estrutura de Hexacosanoato de metilo.....	64
Figura 4. 23: Estrutura de ácido cerótico .....	64
Figura 4. 24: Espectro de massa de Octacosanoato de metilo de uma análise de CG-EM .....	65
Figura 4. 25: Estrutura de Octacosanoato de metilo.....	65
Figura 4. 26: Estrutura de ácido montânico .....	65
Figura 4. 27: Espectro de massa de 1-triacontanol de uma análise de CG-EM.....	66
Figura 4. 28: Estrutura de 1-triacontanol .....	66
Figura 4. 29: Espectro de massa de Triacotanoato de metilo de uma análise de CG-EM .....	66
Figura 4. 30: Estrutura de Triacotanoato de metilo .....	67
Figura 4. 31: Estrutura de ácido melíssico .....	67

Figura 4. 32: Espectro de massa de 2,5-dimetoxicinnamato de metilo de uma análise de CG-EM .....	70
Figura 4. 33: Estrutura de 2,5-dimetoxicinnamato de metilo .....	70
Figura 4. 34: Estrutura de ácido 2,5-dimetoxicinâmico .....	70
Figura 4. 35: Espectro de massa de 11-octadecenoato de metilo de uma análise de CG-EM ...	71
Figura 4. 36: Estrutura de 11-octadecenoato de metilo.....	71
Figura 4. 37: Estrutura de ácido vaccênico .....	71
Figura 4. 38: Espectro de massa de tricosanoato de metil(trimetilsililo) de uma análise de CG-EM .....	72
Figura 4. 39: Estrutura de tricosanoato de metil(trimetilsililo) .....	72
Figura 4. 40: Estrutura de ácido triacontílico .....	72
Figura 4. 41: Espectro de massa de octacosanol de uma análise de CG-EM.....	73
Figura 4. 42: Estrutura de Octacosanol.....	73
Figura 4. 43: Espectro de RMN de <sup>1</sup> H (400 MHz, acetona-d <sub>6</sub> ) da fração AL.C1-80.....	74
Figura 4. 44: Espectro de RMN de <sup>13</sup> C da fração AL.C1-80 .....	75
Figura 4. 45: Espectro de RMN de <sup>1</sup> H da fração AL.C1-87 .....	77
Figura 4. 46: Espectro de RMN de <sup>13</sup> C da fração AL.C1-87.....	78
Figura 4. 47: Espectro de RMN de <sup>1</sup> H da fração AL.C1-89 .....	79
Figura 4. 48: Espectro de RMN de <sup>13</sup> C da fração AL.C1-89 .....	80
Figura 4. 49: Espectro de RMN de <sup>1</sup> H da fração AL.C2-22.....	81
Figura 4. 50: Espectro de RMN de <sup>13</sup> C da fração AL.C2-22 .....	82
Figura 4. 51: Espectro de RMN de <sup>1</sup> H da fração AL.C2-29 .....	83
Figura 4. 52: Espectro de RMN de <sup>13</sup> C da fração AL.C2-29 .....	84
Figura 4. 53: Espectro de RMN de <sup>1</sup> H da fração AL.C2-32 .....	86
Figura 4. 54: Espectro de RMN de <sup>13</sup> C da fração AL.C2-32 .....	87
Figura 4. 55: Espectro de RMN de <sup>1</sup> H da fração AL.C2-45 .....	88
Figura 4. 56: Espectro de RMN de <sup>13</sup> C da fração AL.C2-45 .....	89
Figura 4. 57: Espectro de RMN de <sup>1</sup> H da fração AL.C3-22 .....	90

Figura 4. 58: Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ da fração AL.C3-22 .....	91
Figura 4. 59: Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da fração AL.C3-23 .....	93
Figura 4. 60: Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ da fração AL.C3-23 .....	94
Figura 4. 61: Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da fração AL.C3-28 .....	95
Figura 4. 62: Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ da fração AL.C3-28 .....	96
Figura 4. 63: Espectro de Correlação de HSQC da fração AL.C3-28 .....	97
Figura 4. 64: Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da fração AL.C3-31 .....	98
Figura 4. 65: Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ da fração AL.C3-31 .....	99
Figura 4. 66: Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da fração AL.C4-78 .....	101
Figura 4. 67: Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ da fração AL.C4-78 .....	102
Figura 4. 68: Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da fração AL.C4-83 .....	103
Figura 4. 69: Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ da fração AL.C4-83 .....	104
Figura 1: Moinho RetschMühle SM1 .....	122
Figura 2: Evaporador rotativo - Büchi .....	122
Figura 3: Equipamento da Cromatografia em coluna (CC) - Büchi .....	123
Figura 4: Câmara de CCF .....	123
Figura 5: Aparelho CG-EM da Agilent® Technologies 7890A GC-System .....	124
Figura 6: Tabela de zonas dos desvios químicos aproximados de RMN de $^1\text{H}$ .....	125
Figura 7: Tabela de zonas dos desvios químicos aproximados de RMN de $^{13}\text{C}$ .....	125



## Lista de Tabelas

Tabela 2. 1: Usos tradicionais das diferentes partes de <i>Alchornea Cordifolia</i> (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. ....	7
Tabela 3. 1: Reagentes e solventes utilizados com os seus respetivos fabricantes e graus de pureza .....	32
Tabela 3. 2: Quantidades das extrações com n-hexano a quente utilizando extrator Soxhlet da casca da parte aérea e das raízes da planta <i>Alchornea Cordifolia</i> (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. ....	36
Tabela 3. 3: Quantidades de extratos descerados de n-hexano da casca da parte aérea e das raízes da planta <i>Alchornea Cordifolia</i> (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. e as ceras .....	36
Tabela 3. 4: Quantidades das extrações por maceração com acetona das cascas da parte aérea e raízes da planta <i>Alchornea Cordifolia</i> (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. ....	37
Tabela 3. 5: Quantidades das extrações por maceração com etanol das cascas da parte aérea e raízes da planta <i>Alchornea Cordifolia</i> (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. ....	37
Tabela 3. 6: Frações cromatográficas dos extratos de n-hexano obtidos das raízes de <i>Alchornea Cordifolia</i> (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg., com a massa suficiente para RMN. ....	38
Tabela 3. 7: Frações cromatográficas dos extratos de acetona obtidos das cascas da parte aérea de <i>Alchornea Cordifolia</i> (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg., com a massa suficiente para RMN .....	40
Tabela 3. 8: Frações cromatográficas dos extratos de acetona obtidos das raízes de <i>Alchornea Cordifolia</i> (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg., com a massa suficiente para RMN .....	42
Tabela 3. 9: Frações cromatográficas dos extratos de etanol acetilados obtidos das cascas da parte aérea de <i>Alchornea Cordifolia</i> (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg., com a massa suficiente para RMN .....	44
Tabela 3. 10: Quantidades das diferentes partes recolhidas na hidrólise de ceras da <i>Alchornea Cordifolia</i> (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. ....	46
Tabela 4. 1: Rendimentos dos extratos de n-hexano, acetona e etanol de cascas e raízes da <i>Alchornea Cordifolia</i> (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. ....	47
Tabela 4. 2: Compostos da parte neutra da cera de cascas de <i>Alchornea Cordifolia</i> (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg identificados por CG-EM .....	50

Tabela 4. 3: Compostos da parte ácida 1 da cera de cascas de Alchornea Cordifolia (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg identificados por CG-EM .....	55
Tabela 4. 4: Compostos da parte ácida 2 da cera de cascas da parte aérea de Alchornea Cordifolia (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg identificados por CG-EM .....	67



## Lista de Acrónimos

CCF	Cromatografia em Camada Fina (do inglês, <i>Thin Layer Chromatography</i> - TLC)
RMN <sup>13</sup> C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono
RMN <sup>1</sup> H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogénio
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
CG-EM	Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas
UBI	Universidade da Beira Interior
HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i> (do português, Cromatografia Líquida de Alta Eficiência)
CG	Cromatografia Gasosa
Hex	Hexano
AcetOEt	Acetato de Etilo
MetOH	Metanol
ciIC <sub>50</sub>	Concentração inibitória média
DPPH	<i>2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl</i>
ABTS	<i>2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)</i>
NO	<i>Nitric Oxide</i>
DL <sub>50</sub> ou LD <sub>50</sub>	Dose letal mediana
ID <sub>50</sub>	Dose infectante 50 (do inglês, <i>Infectious Dose 50</i> )
EATAC	Extrato Aquoso Total de <i>Alchornea Cordifolia</i>
MAE	<i>Microwave-Assisted Extraction</i> (do português, Extração assistida por micro-ondas)
UAE	<i>Ultrasonic Assisted Extraction</i> (do português, Extração assistida por ultrassom)
SFE	<i>Supercritical Fluid Extraction</i> (em português, Extração com fluido supercrítico)
HPTLC	<i>High-Performance Thin-Layer Chromatography</i> (em português, Cromatografia em Camada Fina de Alta Eficiência)
OPLC	<i>Overpressured-Layer Chromatography</i> (em português,

Rf	Factor de retenção
UV	Ultravioleta
UV-Vis	Ultravioleta-visível
<i>BB Decoupling</i>	<i>Broadband Decoupling</i>
$\delta$	Deslocamento químico
J	Constante de acoplamento
TMS	Tetrametilsilano
DFR	Dissociação Fora de Ressonância
INEPT	Transferência de Polarização por Núcleo Insensível Aprimorado
DEPT	Desacoplamento Aprimorado por Transferência de Polarização
OMS	Organização Mundial da Saúde
etc.	<i>Et cetera</i> (do português, “outras coisas semelhantes”, ou “e assim por diante”)
ppm	partes por milhão
AMPK	<i>Adenosine Monophosphate-Activated Protein Kinase</i> (do português, Proteína Quinase Ativada por Monofosfato de Adenosina)
PI <sub>3</sub> K/Akt	<i>Phosphoinositide 3-Kinase/Protein Kinase B</i> (do português, Fosfoinosítideo 3-quinase/proteína quinase B)
MAPK/NF- $\kappa$ B	<i>Mitogen-Activated Protein Kinase/Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells</i> (do português, Proteína Quinase Ativada por Mitógeno/Fator Nuclear potenciador de cadeia leve kappa de células B ativadas)

## Capítulo 1: Introdução

Há milhares de anos, a humanidade tem utilizado fontes vegetais para aliviar ou curar doenças. As plantas fornecem uma ampla gama de compostos químicos que têm potencial uso na medicina e em outras aplicações. A vida de uma planta produz duas categorias principais de compostos fitoquímicos. A primeira categoria compreende os metabolitos primários, essenciais para o crescimento e desenvolvimento normais das plantas, como ácidos nucleicos, carboidratos, ácidos graxos, proteínas, e outros componentes necessários para o crescimento e desenvolvimento, como reguladores de crescimento e componentes da parede celular. A segunda categoria é composta pelos metabolitos secundários, que auxiliam as plantas a sobreviver e superar ameaças em seu ambiente. Esses compostos são produzidos pelas plantas para se adaptarem ao seu ambiente local e como sistema de proteção. Os metabolitos secundários desempenham várias funções na fisiologia e bioquímica das plantas, podendo ter propriedades inseticidas, fungicidas, antibacterianas ou antivirais e outras (Bitwell et al., 2023).

As plantas contêm muitos compostos activos, como alcaloides, esteroides, taninos, glicosídeos, óleos voláteis, resinas, fenóis e flavonoides, depositados em partes específicas como folhas, flores, cascas, sementes e raízes. Os efeitos medicinais benéficos dos materiais vegetais geralmente resultam da combinação desses produtos secundários. Cerca de 11% dos 255 fármacos considerados básicos e essenciais pela Organização Mundial da Saúde (OMS) são obtidos de plantas, e alguns fármacos sintéticos são derivados de precursores naturais. Os fitoquímicos são conhecidos por possuírem propriedades antioxidantes, antibacterianas, antifúngicas, antidiabéticas, anti-inflamatórias, antiartríticas e radioprotetoras, sendo amplamente utilizados para fins medicinais (Gupta et al., 2012).

A pesquisa sobre os poderes terapêuticos das plantas remonta à pré-história, com diversas culturas aplicando infusões e cataplasmas de milhares de plantas indígenas. A extração de substâncias naturais tem sido realizada desde os tempos da Mesopotâmia e do Egito, onde a produção de perfumes, ceras e óleos farmacologicamente activos era uma actividade importante. As substâncias naturais são compostos químicos produzidos por organismos vivos, podendo ser extraídos de tecidos vegetais, organismos marinhos ou da fermentação de micro-organismos. A pesquisa de substâncias naturais de plantas resultou na descoberta de vários medicamentos úteis para o tratamento de diferentes doenças, impulsionando o desenvolvimento de tecnologias de extração e separação, métodos espectroscópicos para elucidação da estrutura e metodologias sintéticas fundamentais da Química orgânica analítica (Ben Salah & Allouche, 2019a).

O estudo das plantas medicinais envolve procedimentos de pré-extração e extração, etapas fundamentais para o processamento de substâncias químicas bioativas úteis a partir de partes de plantas. Métodos convencionais, como extração por Soxhlet e maceração, são comuns em pequena escala ou em pequenas e médias empresas. Actualmente, métodos avançados como extração assistida por micro-ondas (MAE), extração assistida por ultrassom (UAE) e extração com fluido supercrítico (SFE) são empregues para obter rendimentos mais elevados a um custo inferior. A avaliação cuidadosa é necessária para seleccionar os métodos de extração adequados entre uma variedade de opções (Kaur, 2018).

A *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. é uma planta da família *Euphorbiaceae*, amplamente distribuída em regiões tropicais e subtropicais da África. Esta espécie vegetal desperta interesse devido às suas propriedades medicinais relatadas na medicina tradicional em várias partes do mundo, especialmente em regiões da África, como Angola. As cascas e raízes dessa planta têm sido objeto de estudos científicos devido ao seu potencial fitoterápico e sua composição fitoquímica. A *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. é utilizada tradicionalmente no tratamento de diversas condições, como dor, doenças inflamatórias, problemas ginecológicos, infertilidade, problemas urinários, respiratórios e intestinais, além de febres semelhantes à malária, convulsões, prostatite, lepra, icterícia, conjuntivite e problemas nervosos. A análise fitoquímica dos extratos obtidos da casca e das raízes da *Alchornea cordifolia* (Schumach. e Thonn.) Müll. Arg. revela a presença de uma ampla variedade de compostos químicos, como alcaloides, flavonoides, terpenoides, taninos, entre outros. Esses compostos são reconhecidos por exibirem diversas actividades biológicas, incluindo propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, antimicrobianas, antitumorais, hepatoprotetoras, entre outras (Boniface et al., 2016).

O presente estudo visa aprofundar a compreensão da composição química dos extratos das cascas e raízes da *Alchornea cordifolia* (Schumach. e Thonn.) Müll. Arg, explorando seu potencial terapêutico e promovendo avanços na busca por novos compostos bioativos com aplicações farmacêuticas e nutracêuticas. Por meio de métodos analíticos e técnicas modernas de caracterização fitoquímica, espera-se contribuir para a valorização e uso sustentável dessa planta medicinal, além do desenvolvimento de novos produtos naturais com benefícios para a saúde humana.

Este trabalho está estruturado em cinco capítulos. O primeiro é uma breve introdução ao estudo realizado. O segundo capítulo apresenta uma revisão teórica abordando conceitos, teorias e informações relevantes relacionadas ao tema, fornecendo uma base sólida de conhecimento sobre a área de estudo. O terceiro capítulo descreve os materiais utilizados e os procedimentos experimentais realizados. O quarto capítulo apresenta e interpreta os

dados experimentais coletados durante o estudo, seguido do quinto capítulo que aborda as conclusões e perspectivas futuras, bibliografia e apêndices que encerram o trabalho.

## **Objectivos do estudo**

No presente estudo, apresenta-se os seguintes objectivos:

### **Objectivo geral**

O objectivo geral deste trabalho é de caracterizar os compostos fitoquímicos presentes nos extratos de casca da parte aérea e das raízes da *Alchornea cordifolia* (Schumach. e Thonn.) Müll. Arg.

### **Objectivos específicos**

- Preparar os extratos de casca da parte aérea e raízes da *Alchornea cordifolia* (Schumach. e Thonn.) Müll. Arg.
- Isolar e purificar os compostos presentes nos extratos preparados de casca da parte aérea e raízes da *Alchornea cordifolia* (Schumach. e Thonn.) Müll. Arg. através de métodos cromatográficos como a cromatografia em coluna e cromatografia em camada fina (CCF).
- Identificar as estruturas dos compostos isolados recorrendo às técnicas espectroscópicas, IV, RMN e CG-EM.

## Capítulo 2: Revista teórica

### 2.1. *Alchornea cordifolia*

#### 2.1.1. Descrição da planta

A *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. é um arbusto perene de folhagem persistente ou uma pequena árvore que pode atingir de 4 a 8 metros de altura e cerca de 30 cm de circunferência do tronco. A planta apresenta muitos ramos com rebentos jovens inicialmente eretos, que posteriormente tornam-se horizontais, ocos e glabros (Boniface et al., 2016; Ngbolua et al., 2022). O caule é lenhoso, com numerosos ramos folhosos, tornando-se arbustivo quando jovem.

As folhas (Fig. 1a) são simples, alternas, largamente ovadas, medindo de 10 a 28 cm de comprimento por 6,5 a 16,5 cm de largura, com uma superfície lisa, geralmente com poucas glândulas na base (Ngaha et al., 2016). As flores (Fig. 1b) são unissexuais e sésses. As flores masculinas apresentam 2 sépalas e 8 estames agrupados em forma de cálice, sem pétalas. Já as flores femininas são caracterizadas por cálices de 2 a 4 lóbulos com pontas obtusas, um ovário densamente sedoso e peludo, e ausência de pétalas. Os frutos (Fig. 1c) são cápsulas de 3 lóbulos comprimidos, geralmente verdes que se tornam vermelhos, com poucos pelos e contêm sementes elipsoides a ovoides, lisas e de coloração vermelho brilhante (Boniface et al., 2016; Ngaha et al., 2016).

A *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. se reproduz tanto sexualmente (por sementes) quanto assexuadamente (por propagação vegetativa a partir de estacas). A propagação a partir de estacas de caule resulta em enraizamento em cerca de 9 semanas. Quando cultivadas por sementes, a germinação pode levar de 3 a 12 semanas se plantadas diretamente em solo úmido (Mavar-Manga et al., 2008a).

A *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. é utilizada na medicina tradicional e consumida por suas propriedades medicinais. Todas as partes úteis da planta são colhidas frescas e utilizadas imediatamente ou secas para uso posterior. Embora as folhas sejam as partes mais comumente utilizadas, outras partes como a casca do caule, a medula do caule, os ramos folhosos, a casca das raízes, as raízes e os frutos também são empregados na medicina tradicional (Ngaha et al., 2016; Ngbolua et al., 2022).

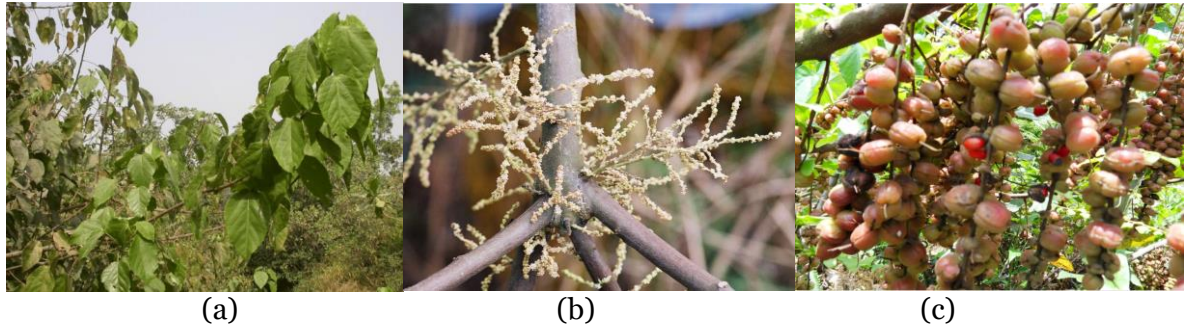


Figura 2. 1: Descrição de *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. (folhas, floras, frutas)  
(Ngbolua et al., 2022)

### **2.1.2. Origem e Distribuição geográfica da planta**

A *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. foi descrita pela primeira vez em 1865 por Johannes Müller Argoviensis (Müller, 1865). Também é conhecida como *Alchornea cordifolia* Benth e *Schousboea cordifolia* Schum. ou Thonn. (Boniface et al., 2016; Ngaha et al., 2016).

A distribuição geográfica de *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. abrange várias regiões da África. Essa espécie é encontrada na parte oriental do Senegal, país localizado no noroeste da África, no Quênia, país da África Oriental, em Angola e no sul da Tanzânia, além de diversos países da África Ocidental, como Costa do Marfim, Benin, Burkina Faso, Gâmbia, Gana, Guiné, Guiné-Bissau, Ilha de São Tomé e Príncipe, Libéria, Mali, Nigéria, Senegal, Serra Leoa e Togo. Além disso, está presente em toda a região da África Central, incluindo Uganda e Sudão (ver a Figura 2.2) (Ngaha et al., 2016; Agyare et al., 2016; Boniface et al., 2016; Pompermaier et al., 2018).

Na África tropical, *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. é encontrada em florestas secundárias, geralmente em locais próximos à água, como áreas úmidas ou pantanosas, onde pode alcançar altura significativa, mantendo-se com hábito arbustivo ou ramificado (Ngaha et al., 2016).



Figura 2. 2: Distribuição geográfica de *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. (Ngaha et al., 2016)

### **2.1.3. Taxonomia da *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg.**

A classificação taxonómica de *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. conforme descrita por Kouakou et al. (2013), Ngaha et al. (2016) e Ngbolua et al. (2022), é a seguinte:

- Reino: *Plantae*
- Sub-reino: *Tracheobionta* (planta vascular)
- Superdivisão: *Spermatophyta* (plantas com sementes)
- Divisão: *Magnoliophyta*
- Clado (ramo): Angiospermas
- Classe: *Magnoliopsida*
- Subclasse: *Rosídeos*
- Ordem: *Malpighiales*
- Família: *Euphorbiaceae*
- Subfamília: *Acalyphoideae*
- Género: *Alchornea*
- Espécies: *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg

A planta *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. é conhecida por vários nomes em diferentes idiomas. Em português, é chamada de “Bugi-bugi”, “bunce” e “pô d’arco”; em inglês, é conhecida como “*Christmas bush*” e “*Dove wood*”; em francês, é chamada de “*Arbre de djeman*”. Na língua “Yoruba”, falada no sudoeste da Nigéria, é referida como *ewe eepa*, *esinsin* e *eepa*; no dialeto “Asante-Twi” do Gana, é conhecida como *agyama*. Nos Camarões, é chamada de *Libo'owhile* pelo grupo étnico “Bakoko”. O povo “Bambara” do Mali utiliza os termos *Kôgira*, *Kounaninkala*, *Dunféké* e *Konossasa* para se referir a esta planta. Em “kikongo”, uma língua falada no norte de Angola e em parte da República Democrática do Congo, é chamada de *Mbunzi-kibunzi*, *Muunze*, *Unze* ou *Gunze* (Adeneye et al., 2014; Agyare et al., 2016; Ishola et al., 2014; Ngaha et al., 2016; Nnamdi et al., 2017).

#### **2.1.4. Usos tradicionais da *Alchornea Cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg.**

A *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. é amplamente utilizada, individualmente ou em combinação com outras plantas, para fins medicinais. As folhas ou os caules folhosos são consumidos frescos em infusão ou mastigados devido às suas propriedades sedativas e antiespasmódicas, sendo empregados no tratamento de várias condições respiratórias, como dor de garganta, tosse e bronquite, além de problemas intestinais como úlceras gástricas, diarreia, disenteria amebiana e infestações por vermes (Boniface et al., 2016; Ngbolua et al., 2022).

Embora as folhas sejam a parte mais utilizada, outras partes da planta, incluindo a casca do caule, a medula do caule, os caules folhosos, a casca da raiz, as raízes e os frutos, também são empregadas na medicina local (Boniface et al., 2016).

Os estudos realizados pelos diversos autores sobre o uso de *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. na medicina tradicional estão resumidos na Tabela 2.1.

Tabela 2. 1: Usos tradicionais das diferentes partes de *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg.

<b>Parte da planta utilizada</b>	<b>Tipo de preparação</b>	<b>Via de administração</b>	<b>Usos tradicionais</b>	<b>Referências</b>
Folhas	Mastigação e espremeção <sup>e</sup>	Aplicação nos olhos	Condições oculares	(Boniface et al., 2016)
	Infusão	Aplicação localmente	Doenças da pele	(Boniface et al., 2016)
	Decocção	Via oral	Convulsões em crianças, febre, hipertensão, cefalga, bronquite, tosse e dor abdominal, diabetes, malária, reumatismo, dor de dente e feridas na boca, antimicrobiano, diurético, purgante, anemia, doenças sexualmente	(Noundou et al., 2016) (Thomford et al., 2015) (Ngbolua et al., 2022) (Mavar-Manga et al., 2008b)

			transmissíveis, incluindo gonorreia e sífilis, prostatite, antídoto de venenos vegetais.	(Boniface et al., 2016) (Koomson, 2023)
		Banho de vapor vaginal	Vaginite	(Boniface et al., 2016)
		Banho de vapor aplicar no local doente	Disenteria, dermatite, anemia, dor de dente, panaceia para bruxaria	(Manga et al., 2004)
		Aplicação nos olhos	Conjuntivite, antiespasmódico	(Essien et al., 2015)
	Maceração	Via oral	Cólica, enterite, gastroenterite, drepanocitose	(Adeyemi et al., 2008; Noundou et al., 2016)
	Fumigação	Via oral	Tosse	(Boniface et al., 2016)
	As folhas são moídas	Esfregação no corpo de uma pessoa inconsciente	Para despertar uma pessoa inconsciente	(Boniface et al., 2016)
		pasta é ingerida por via oral	Epilepsia	(Boniface et al., 2016)
		Contacto	Repelente de mosquitos	(Boniface et al., 2016)
Casca	Decocção	Via oral	Febre, reumatismo, dor de dente e feridas na boca, antimicrobiano, diurético, purgante, gonorreia	(Ngaha et al., 2016)
	Pulverização de casca seca	Aplicação localmente	Feridas	(Boniface et al., 2016)
Caules	Decocção	Via oral	Febre e malária, diarreia e cólica infantil, tosse com sangue e rouquidão, pneumonia, bronquite.	(Boniface et al., 2016)
Raízes	Mastigação	Via oral	Dor de dente e limpeza dos dentes	(Boniface et al., 2016)
	Infusão	Aplicação localmente	Úlcera de pele	(Boniface et al., 2016)
	Decocção feita com as partes aéreas da <i>Sapium ellipticum</i> , <i>Acanthus pubescens</i> , <i>Crassocephalum vitellinum</i> e <i>Emília javanica</i>	Via oral	Evitar o aborto espontâneo, Gonorreia, sífilis.	(Boniface et al., 2016)
	Decocção feita a partir de raízes fervidas junto com folhas e raízes de <i>Trichilia emetica</i> , <i>Zehneria scabrae</i> , <i>Sapium ellipticum</i>	Via oral (administrada xícara três vezes ao dia por até 7 dias)	Evitar o aborto espontâneo, malária.	(Boniface et al., 2016)

### 2.1.5. Química de *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll.

**Arg.**

#### 2.1.5.1. Composição fitoquímica de *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg.

Os pesquisadores têm se dedicado há muito tempo ao estudo dos constituintes químicos e princípios ativos de *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg., resultando no

isolamento e identificação de várias classes de compostos em diferentes estudos (Boniface et al., 2016).

As análises fitoquímicas realizadas nos extratos de *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. revelaram a presença de ácidos graxos e seus derivados, ácidos fenólicos, taninos, esteroides, terpenoides, alcaloides, flavonoides, glicosídeos, resinas e carboidratos (Boniface et al., 2016; Kouakou et al., 2013; Njila et al., 2018; Nnamdi et al., 2017). Esses metabólitos secundários estão presentes em todas as partes da planta, sendo mais abundantes nas folhas (Ngaha et al., 2016).

#### **2.1.5.1.1. Compostos fenólicos**

Os ácidos gálico e antranílico são alguns dos compostos fenólicos mais antigos isolados de *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. Além disso, em outros estudos, o ácido elágico e o ácido gálico foram identificados como os principais constituintes desta planta. Em uma investigação adicional, o extrato metanólico das folhas de *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. foi submetido à cromatografia em coluna, resultando no isolamento de vários ácidos fenólicos, nomeadamente ácido gálico, ácido elágico e ácido protocatecuico (Boniface et al., 2016).

Em estudos conduzidos por Mavar-Manga et al. (2008), o composto fenólico di(2-etilhexil)ftalato foi isolado das folhas e da casca do caule de *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. (Mavar-Manga et al., 2008b). Oloyede e Onocha (2010) citado por Noundou et al. (2016) relataram o isolamento de m-difeniloxibenzeno de *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. Outro ácido fenólico, conhecido como 4H-1-benzopiran-3,5,7-triol, também foi identificado nas folhas de *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. Mais recentemente, o ácido fenólico derivado de 3,4,5-trihidroxibenzoato de metilo (galato de metilo) foi isolado da casca do caule desta planta (Noundou et al., 2016).

Essien et al. (2015) observaram que três compostos fenólicos, incluindo (E)-2-hexenil benzoato, benzoato de  $\alpha$ -benzilo e salicilato de metilo, foram detectados por CG-EM no óleo essencial dos frutos de *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. (Essien et al., 2015).

A Figura 2.3 apresenta as estruturas dos compostos fenólicos derivados de *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. revelados em estudos fitoquímicos anteriores.

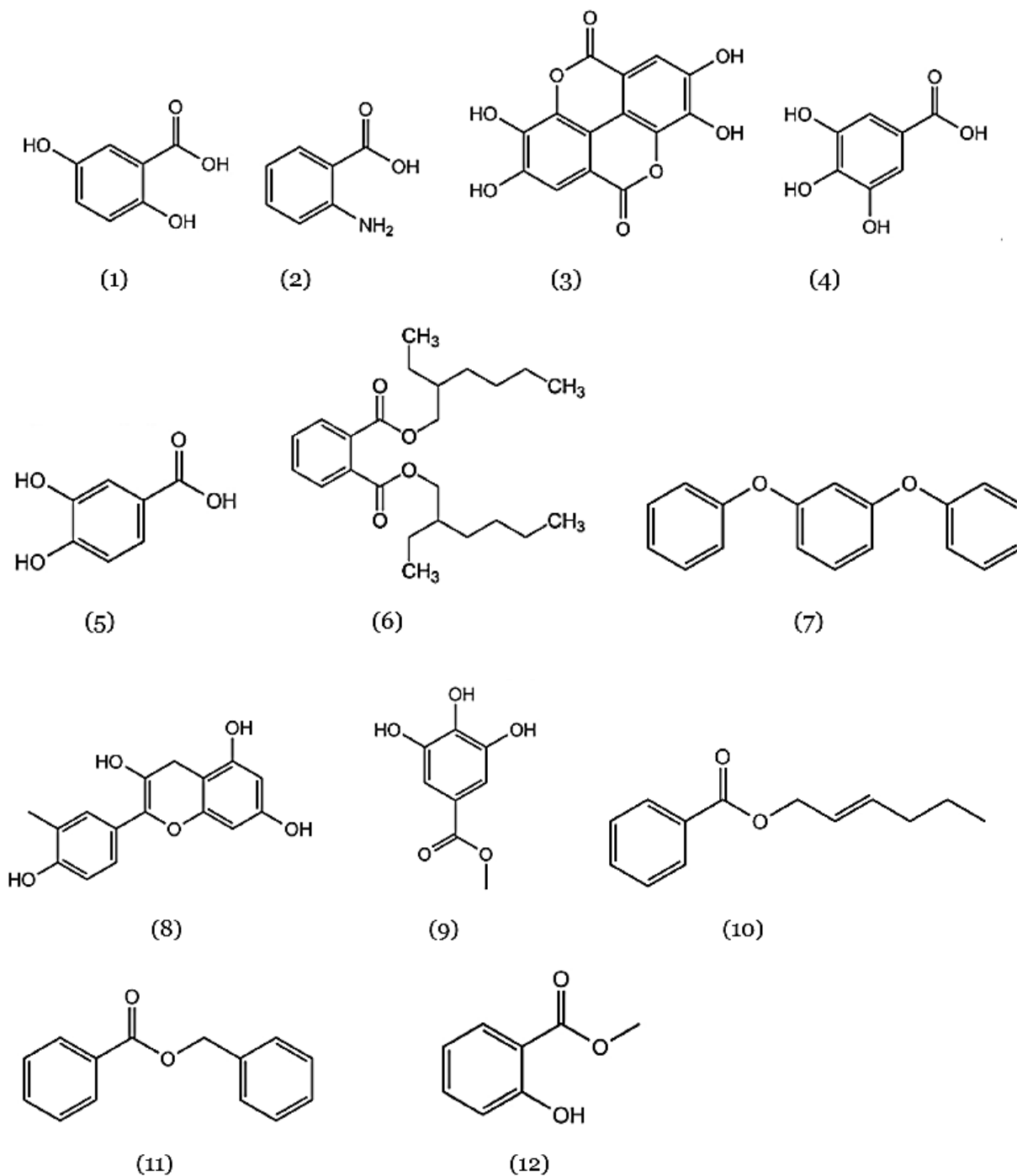


Figura 2. 3: Estruturas dos compostos fenólicos derivados de *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. revelados em estudos fitoquímicos interiores

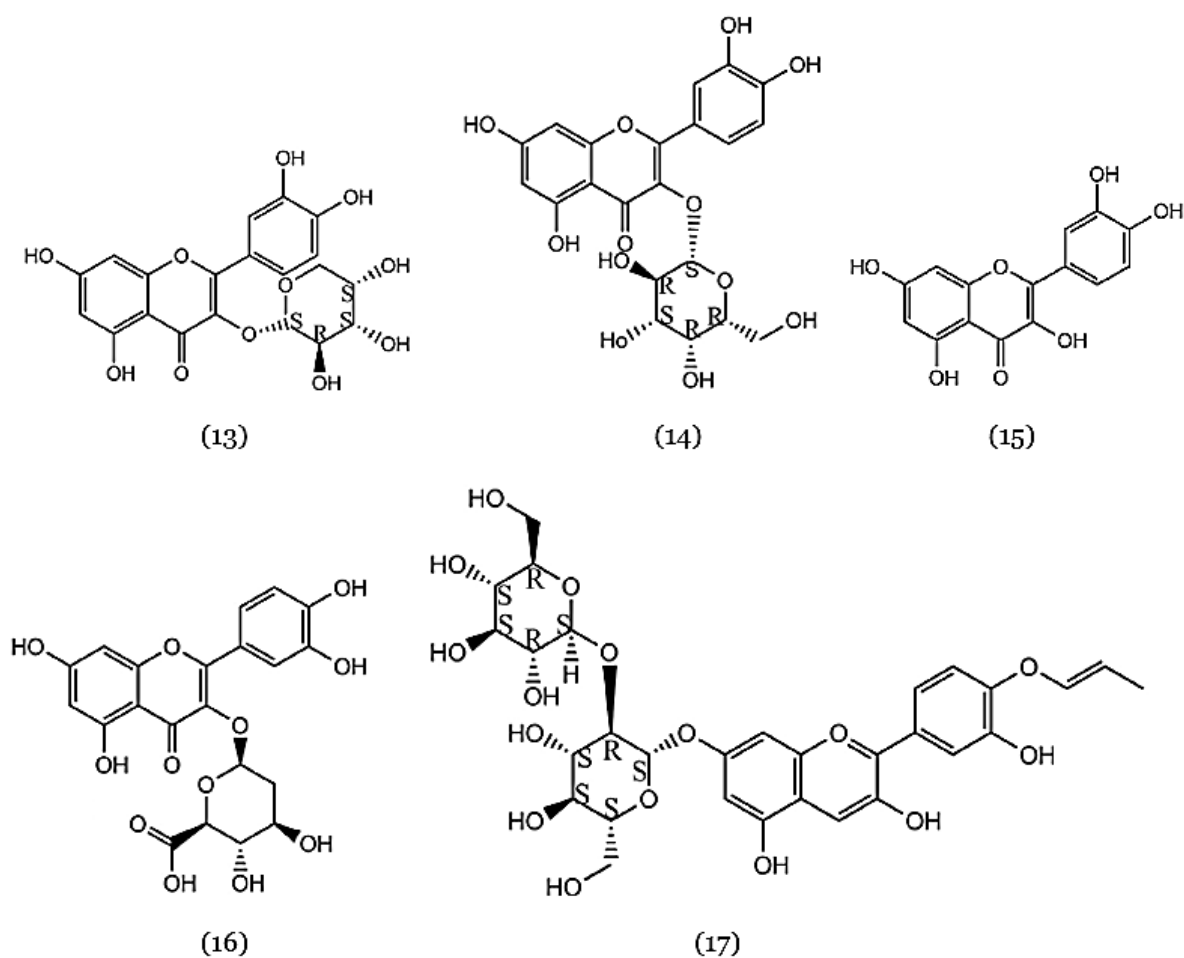
(1) Ácido gentísico, (2) ácido antranílico, (3) ácido elárgico, (4) ácido gálico, (5) ácido protocatecuico, (6) di (2-etilhexil) ftalato, (7) m-difeniloxibenzeno, (8) 4H-1-benzopiran-3,5,7-triol, (9) 3,4,5-tri-hidroxibenzoato de metilo (galato de metilo), (10) (E)-2-hexenil benzoato, (11) benzoato de  $\alpha$ -benzilo e (12) salicilato de metilo.

### 2.1.5.1.2. Flavonoides

Estudos prévios revelaram o isolamento de três flavonoides das folhas de *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg., a saber, guaijaverina, hiperina e quercetina.

Além disso, a quercetina arabinose, um derivado da quercetina, foi identificada no extrato metanólico das folhas dessa planta. Em uma investigação conduzida por Okwu e Ukanwa (2010), conforme citado por Boniface et al. (2016), o fracionamento e a caracterização do princípio ativo de extrato etanólico das folhas de *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. resultaram o isolamento de um glicosídeo de antocianina, especificamente 5-metil 4'-propenoxi antocianinas 7-O- $\beta$ -D-diglucopiranosídeo. Mais recentemente, um novo flavonoide, 1-O-galoil-6-O-luteoil- $\beta$ -D-glucopiranosídeo, juntamente com cinco compostos conhecidos, incluindo quatro flavonoides (miricentina-3-O- $\beta$ -D-glucopiranosídeo, miricentina-3-O- $\beta$ -D-galactopiranosídeo, miricentina-3-O- $\alpha$ -L-rhamnopiranosídeo, quercetina-3-O- $\beta$ -D-glucopiranosídeo) e um ácido fenólico (ácido elágico), foram isolados do extrato metanólico das folhas de *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. (Boniface et al., 2016).

A Figura 2.4 apresenta as estruturas dos flavonoides derivados de *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. revelados em estudos fitoquímicos anteriores.



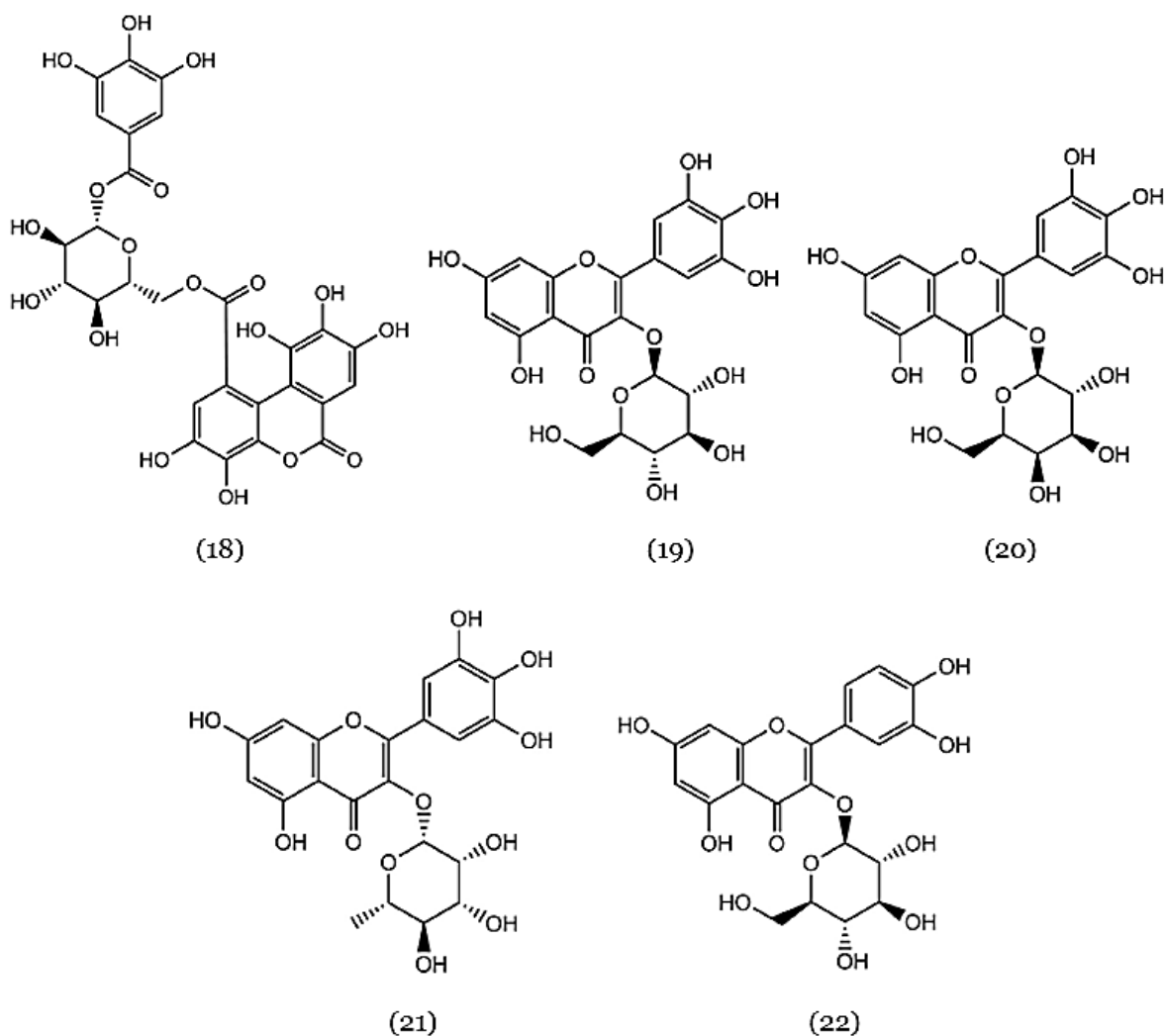


Figura 2. 4: Estruturas dos flavonoides derivados de *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. revelados em estudos fitoquímicos anteriores

(13) guajaverina, (14) hiperina, (15) quercetina, (16) quercetina arabinose, (17) 5-metil 4'-propenoxi antocianinas 7-O- $\beta$ -D-diglucopiranosídeo, (18) 1-O-galoil-6-O-luteoil- $\beta$ -D-glucopiranosídeo, (19) miricentina-3-O- $\beta$ -D-glucopiranosídeo, (20) miricentina-3-O- $\beta$ -D-galactopiranosídeo, (21) miricentina-3-O- $\beta$ -L-ramnopiranosídeo, (22) quercetina-3-O- $\beta$ -D-glucopiranosídeo.

### 2.1.5.1.3. Terpenoides e esteroides

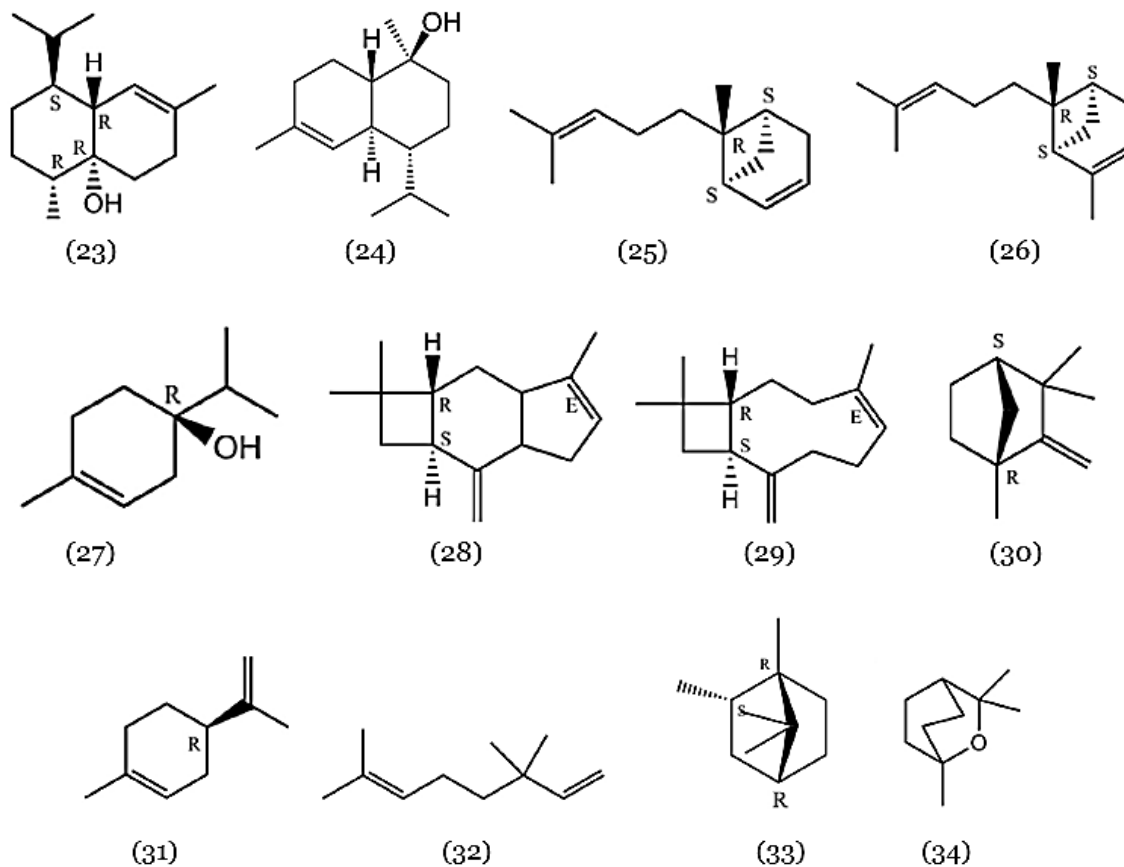
Os estudos conduzidos por Osadebe et al. (2007) relataram a presença de triterpenoides nas folhas de *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. Em 2011, Okoye et al. identificaram vários mono-, sesqui- e triterpenoides no extrato hexânico das folhas da mesma planta, utilizando análise por CG-EM. Os compostos mais proeminentes incluíram cubenol, cadinol, 2-norpineno, (-)-trans- $\alpha$ -bergamoteno, (-)-4-terpineol, (-)-(E)-cariofileno, eudenol, L-fenchona, D-limoneno, linalol, borneol, eucaliptol, 3-acetoxi-7,8-epoxilano-11-ol e iso-alocolato de etilo. Em um estudo anterior, o fracionamento de extratos das folhas e cascas das raízes de *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. levou ao isolamento de seis compostos, incluindo um triterpeno pentacíclico chamado

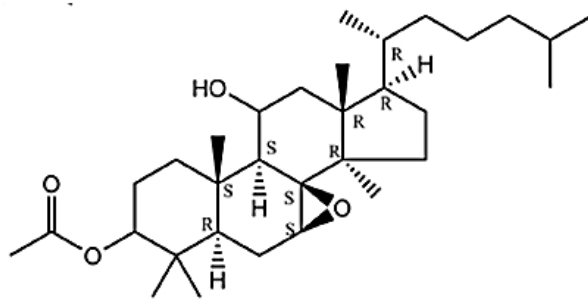
ácido 3-O-acetilaleuritólico e dois esteroides, daucosterol e beta-sitosterol (Mavar-Manga et al., 2008).

Noundou et al. (2016) relataram que, para isolar alguns constituintes antimicrobianos de *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg., o extrato de metanol da casca do caule da mesma planta foi fracionado, resultando no isolamento de seis terpenoides, incluindo 3-O-acetileroitrodiol, estigmasterol, friedelina, ácido 3-O-acetilaleuritólico, friedelano-3-one-28-al e estigmasta-4,22-dien-3-one (Noundou et al., 2016).

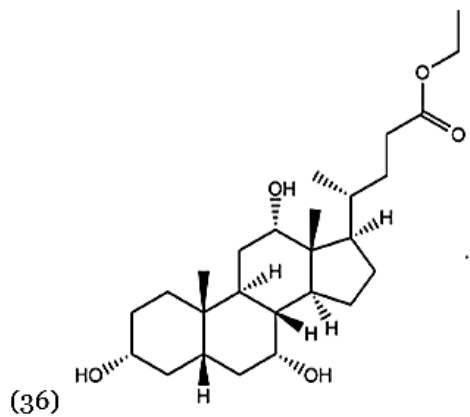
Essien et al. (2015) realizaram um estudo de CG-EM do óleo essencial dos frutos de *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg., onde descobriram que o óleo era dominado por vários terpenoides, incluindo terpinoleno,  $\alpha$ -calacoreno, isogeraniol,  $\alpha$ -(E)-ionona, germacreno D, geosmina,  $\alpha$ -copaeno, 1,8-cineol, (E)-nerolidol,  $\alpha$ -bisabolol, 1-epi-cubenol,  $\alpha$ -pineno, 10-epi- $\gamma$ -eudesmol,  $\delta$ -cadineno, óxido de cariofileno, biciclogermacreno, humuleno,  $\beta$ -selineno,  $\alpha$ -alooaromadendreno, citronelol,  $\alpha$ -gurjuneno,  $\alpha$ -felandreno, geral, nerol, geraniol, p-cimeno, (E)- $\beta$ -damascenona, geranial, (Z)-óxido de rosa,  $\beta$ -elemeno,  $\beta$ -cariofileno e cubenol (Essien et al., 2015).

A Figura 2.5 apresenta as estruturas dos terpenoides e esteroides derivados de *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. revelados em estudos fitoquímicos anteriores.

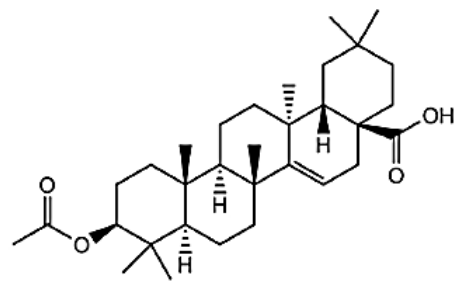




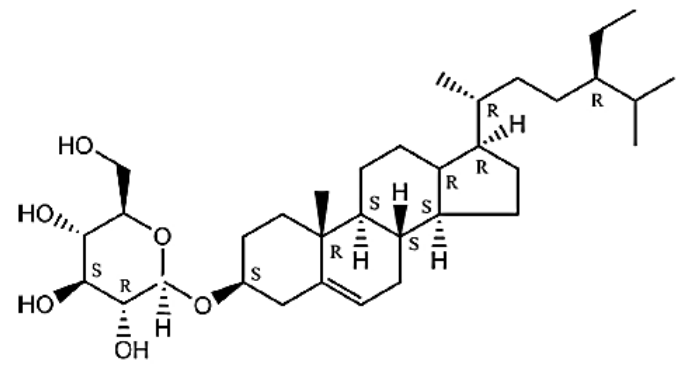
(35)



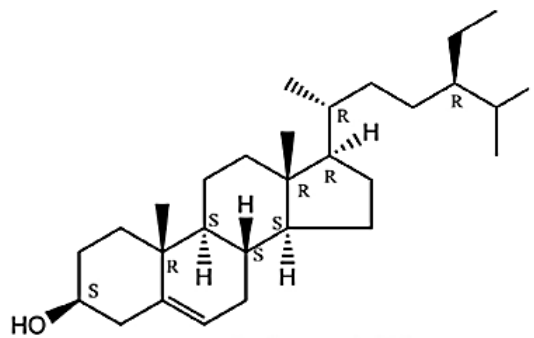
(36)



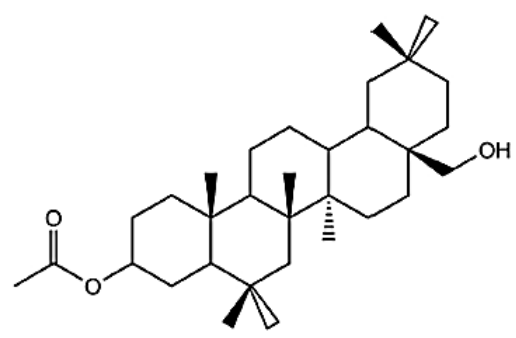
(37)



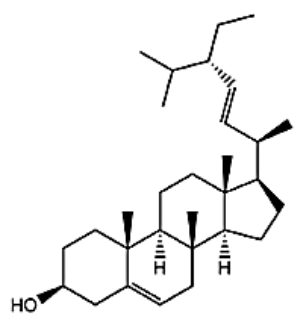
(38)



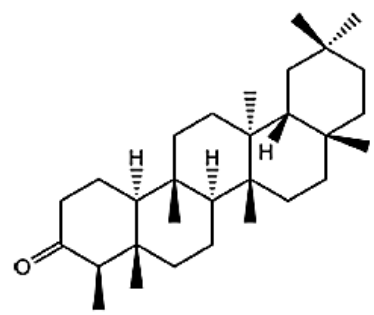
(39)



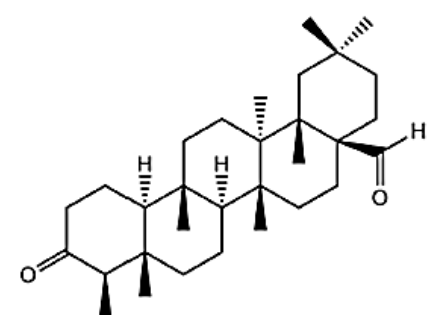
(40)



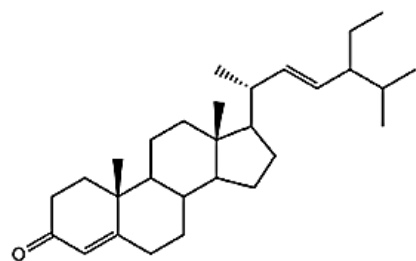
(41)



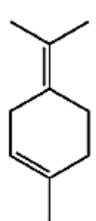
(42)



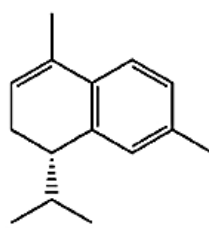
(43)



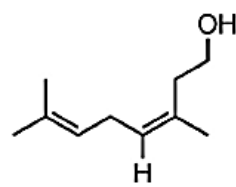
(44)



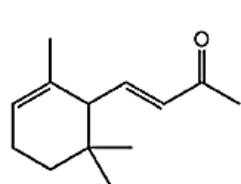
(45)



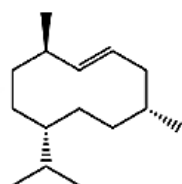
(46)



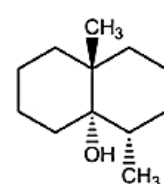
(47)



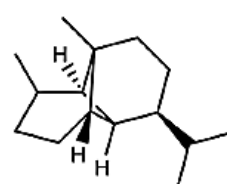
(48)



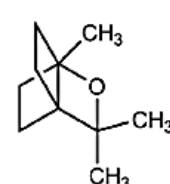
(49)



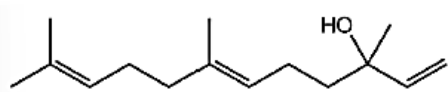
(50)



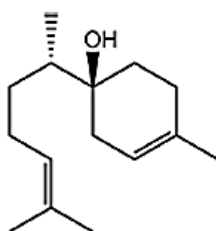
(51)



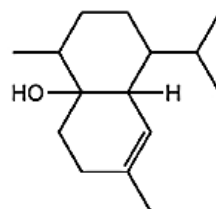
(52)



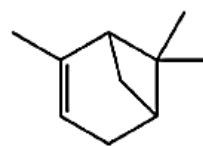
(53)



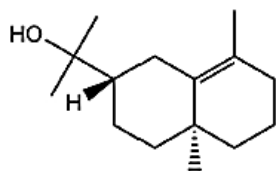
(54)



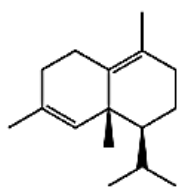
(55)



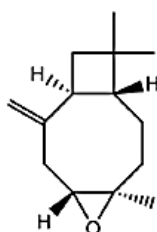
(56)



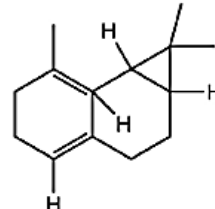
(57)



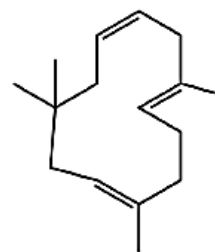
(58)



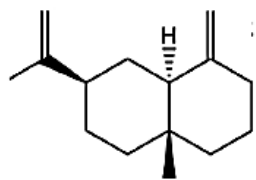
(59)



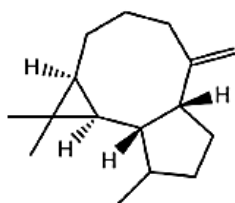
(60)



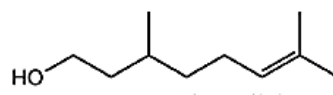
(61)



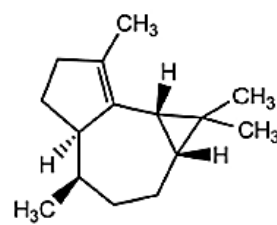
(62)



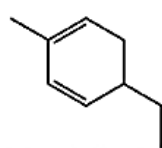
(63)



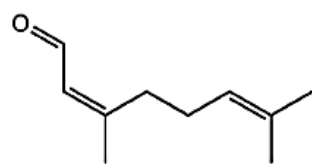
(64)



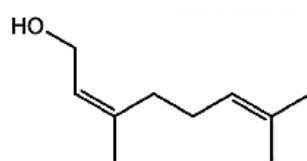
(65)



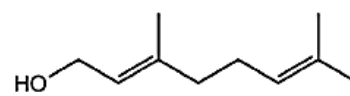
(66)



(67)



(68)



(69)

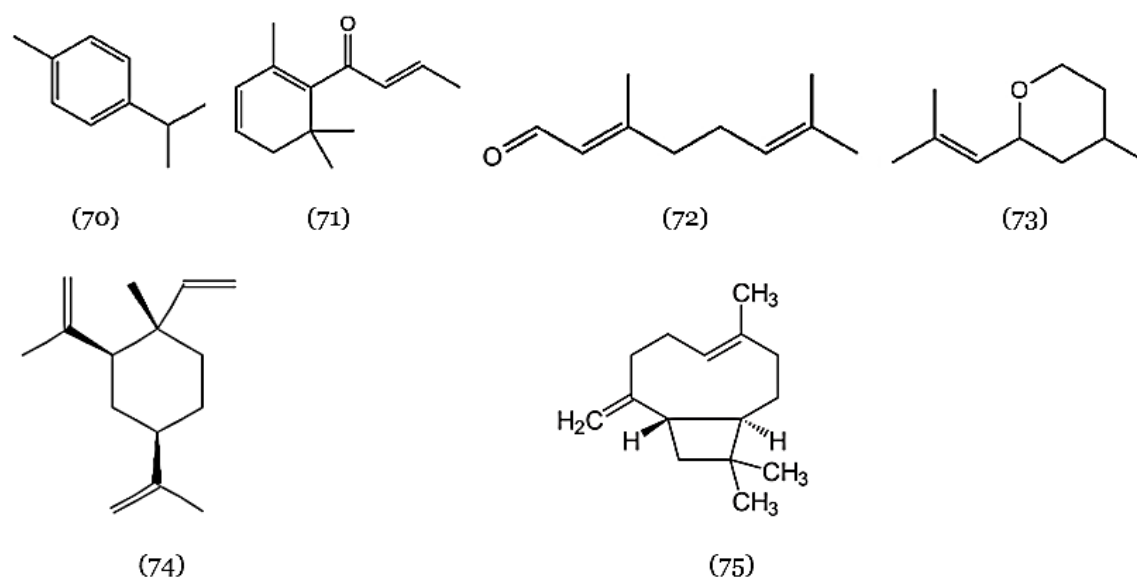


Figura 2. 5: Estruturas dos terpenoides e esteroides derivados de *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. isolados em estudos fitoquímicos anteriores

(23) cubenol, (24) cadinol, (25) 2-norpineno, (26) (-)-trans- $\alpha$ -bergamoteno, (27) (-)-4-terpineol, (28) (-)-(E)-cariofileno, (29) eudenol, (30) L-fenchona, (31) D-limoneno, (32) linalol, (33) borneol, (34) eucaliptol, (35) 3-acetoxi-7,8-epoxilano-11-ol, (36) isoalcolato de etila, (37) ácido 3-O-acetil aleuritólico, (38) daucosterol, (39) beta-sitosterol, (40) 3-O-acetileritrodol, (41) estigmasterol, (42) friedelina, (43) friedelano-3-one-28-al, (44) estigmasta-4,22-dien-3-one, (45) terpinoleno, (46)  $\alpha$ -calacoreno, (47) isogeraniol, (48)  $\alpha$ -(E)-ionona, (49) germacreno D, (50) geosmina, (51)  $\alpha$ -copaeno, (52) 1,8-cineol, (53) (E)-nerolidol, (54)  $\alpha$ -bisabolol, (55) 1-epi-cubenol, (56)  $\alpha$ -pineno, (57) 10-epi- $\gamma$ -eudesmol, (58)  $\delta$ -cadineno, (59) óxido de cariofileno, (60) biciclogermacreno, (61)  $\alpha$ -humuleno, (62)  $\beta$ -selineno, (63)  $\alpha$ -alooaromadendreno, (64) citronelol, (65)  $\alpha$ -gurjuneno, (66)  $\alpha$ -felandreno, (67) neral, (68) nerol, (69) geraniol, (70) p-cimeno, (71) (E)- $\beta$ -damascenona, (72) geranial, (73) (Z)-óxido de rosa, (74)  $\beta$ -elemeno, (75)  $\beta$ -cariofileno.

#### 2.1.5.1.4. Alcaloides

Estudos anteriores revelaram o isolamento de alcaloide de guanidina chamado iohombina das raízes de *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. (Mavar-Manga et al., 2008b). Em outra investigação, foram isolados das folhas e casca do caule de *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. dois outros alcaloides de guanidina, nomeadamente N1,N2-diisopentenil guanidina e N1,N2,N3-triisopentenil guanidina, juntamente com um alcaloide indol chamado indometacina (Boniface et al., 2016). Lamikanra et al. (1990), citado pelo mesmo autor, isolaram das folhas de *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. um alcaloide imidazopirimidina denominado alchorneína [(2R)-(1-Metoxi-7,7-dimetil-2-(prop-1-en-2-il)-1,2,3,7-tetraidroimidazo[1,2-a]pirimidina)].

A Figura 2.6 apresenta as estruturas dos alcaloides derivados de *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. isolados em estudos fitoquímicos anteriores.

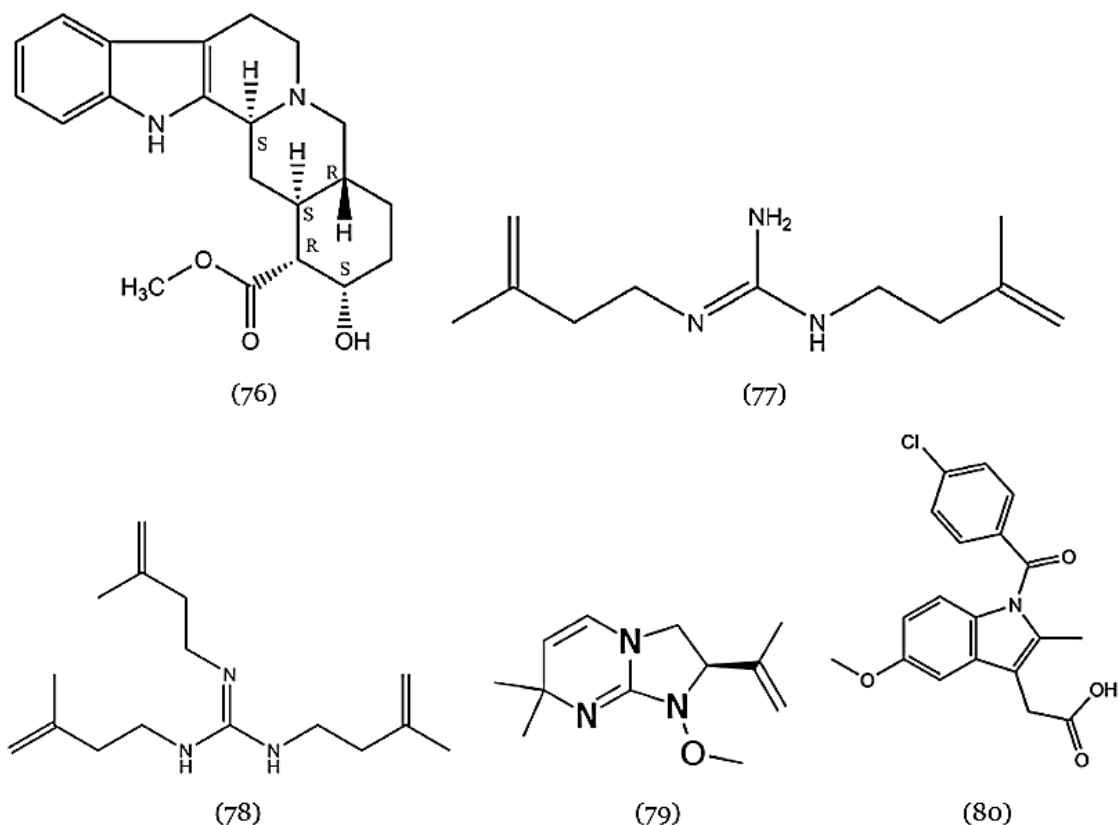


Figura 2. 6: Estruturas dos alcaloides derivados de *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. isolados em estudos fitoquímicos anteriores

(76) Iohombina, (77) N1,N2-diisopentenil guanidina, (78) N1,N2,N3-trisopentenil guanidina, (79) alchorneína ((2R)-1-Methoxy-7,7-dimethyl-2-(prop-1-en-2-yl)-1,2,3,7-tetrahydroimidazo[1,2-a] pyrimidine, (80) indometacina.

#### 2.1.5.1.5. Outros compostos identificados

Anteriormente foram realizadas as investigações sobre a fração lipofílica do extrato hexânico das folhas de *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. através de análise por Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM), na qual foram identificados os álcoois primários de cadeia longa, incluindo 1-heptatriacontanol, octen-3-ol e farnesanol, juntamente com hidrocarbonetos saturados de cadeia longa, como nonacosano e oleato de 3-(octadeciloxi) propilo. Em outro estudo, investigou-se sobre o óleo essencial obtido a partir da hidrodestilação das folhas de *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg., utilizando análise de Cromatografia Gasosa (CG) e CG-EM, na qual foram identificados octadecanal, 1,19-Eicosadieno, hexadecanal, acetato de (14Z)-14-octadecen-1-il, 1,30-triacontanodiol, 1-acetato de 11-tetradecina-1-ol, hexadeciloxirano ou óxido de octadecileno, rel-(6aR,16aR)-octadecahidrociclooctaciclododeceno e ácido oleico (Boniface et al., 2016).

Em outro estudo, Essien et al. (2015) realizaram a análise CG-EM do óleo essencial do fruto de *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. e descobriram a presença de três

componentes incluindo (E,E)- $\alpha$ -farneseno, (E)-2-hexenal e 1-octen-3-ol (Essien et al., 2015).

A Figura 2.7 apresenta as estruturas dos outros compostos identificados nos extratos de *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. revelados em estudos fitoquímicos prévios.

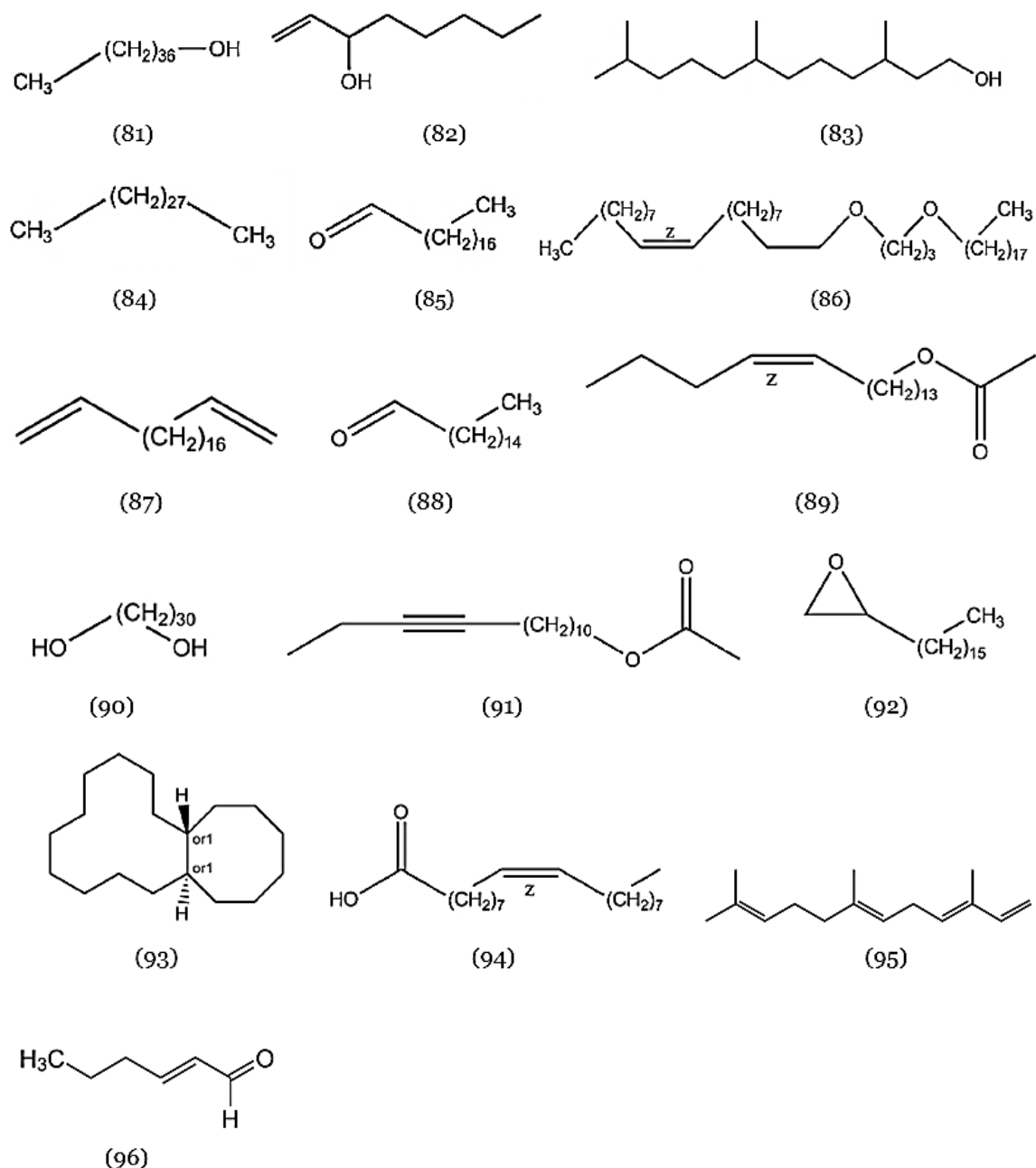


Figura 2. 7: Estruturas dos outros compostos identificados nos extratos de *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. revelados em estudos fitoquímicos prévios

(81) 1-heptatriacontanol, (82) Octen-3-ol, (83) Farnesanol /3,7,11-trimetila dodecanol, (84) Nonacosano, (85) Octadecanal, (86) 3-oleato de octadecicloxi propil, (87) 1,19-Eicosadieno, (88) Hexadecanal, (89) acetato de (14Z)-14-octadecen-1-il, (90) 1,30-triacontanediol, (91) 11-tetradecin-1-ol, 1-acetato, (92) hexadeciloxirano ou óxido de octadecileno, (93) rel-(6aR,16aR)-octadecahidrociclooctaciclododeceno, (94) Ácido oléico, (95) (E,E)- $\alpha$ -farneseno, (96) (E)-2-hexenal.

### **2.1.5.2. Composição mineral de *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg.**

Os estudos sobre a composição mineral dos extratos aquosos das folhas, caules e raízes de *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. revelam a presença de minerais como Na, Ca, Mg, Mn, K, Fe, Cu e Zn em proporções variáveis. O sódio, seguido do ferro, é identificado como o mineral mais abundante nos extratos. Observa-se que os extratos de folhas são mais ricos em Ca, Mn, K e Fe em comparação com os extratos de caules e raízes. Por outro lado, os extratos das raízes apresentam maiores teores de Na, Mg e Cu do que os extratos das folhas e caules. Além disso, o Zn é encontrado em concentrações semelhantes nas folhas e nos caules (Koffi et al., 2021).

### **2.1.6. Actividades farmacológicas de *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg.**

#### **2.1.6.1. Actividade antioxidante e anti-radicalar**

A *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. apresenta fitoquímicos com potencial antioxidante e anti-radicalar (Sisein et al., 2022). Estudos demonstraram que os extratos metanólico e de infusão exibiram uma capacidade antioxidante significativamente maior do que o extrato de acetato de etilo em todos os ensaios antioxidantes realizados (Sinan et al., 2021).

A análise antioxidante *in vitro* do extrato aquoso das folhas de *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. revelou actividade antioxidante dose-dependente contra DPPH, capacidade redutora, antioxidante total e actividade de óxido nítrico (Oruka & Achuba, 2023).

Os extratos metanólicos de *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. apresentaram uma inibição consideravelmente maior das actividades da  $\alpha$ -amilase e  $\alpha$ -glicosidase em comparação com o extrato aquoso, como evidenciado pelos valores de IC<sub>50</sub> (concentração inibitória média). Portanto, o metanol foi mais eficaz na extração dos componentes activos da planta. Este estudo valida as actividades antioxidantes da casca do caule da *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg., explicando sua utilização na medicina popular. Os fitoquímicos identificados no extrato metanólico também estavam presentes no extrato aquoso, exceto os terpenoides. Ambos os extratos mostraram efeitos dose-dependentes na eliminação de radicais livres nos modelos experimentais, com valores de IC<sub>50</sub> de 0,24±0,01 e 0,30±0,01 para os extratos metanólico e aquoso, respectivamente, no ensaio DPPH (*2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl*); valores de IC<sub>50</sub> de 0,23±0,05 (extrato metanólico) e 0,31±0,01 (extrato aquoso) no método ABTS [*2,2'-azino-bis(3-*

*ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid*]); e valores de IC<sub>50</sub> de 0,31±0,03 e 0,24±0,06, respectivamente, para o extrato metanólico e aquoso no método NO (*Nitric Oxide*). Portanto, o extrato de metanol apresentou melhores resultados na eliminação de radicais (Okoro et al., 2022).

#### **2.1.6.2. Actividade antiplasmodial**

Diversos estudos foram conduzidos para investigar a actividade da *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. contra a malária. Estudos reportaram que extratos das folhas desta planta apresentaram actividade antimalárica contra diferentes estirpes do parasita *Plasmodium falciparum*. Outras investigações exploraram os extratos do fruto da planta e também encontraram actividade antiplasmodica. Além disso, o extrato de etanol das folhas demonstrou actividade antimalárica em testes *in vitro*, com o ácido elágico sendo identificado como um dos componentes activos desse extrato. Estudos mais recentes utilizando ratinhos infectados com *Plasmodium berghei* mostraram que a administração dos extratos de *Alchornea Cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. resultou em uma redução significativa na parasitemia após quatro dias de tratamento (Boniface et al., 2016; Ngbolua et al., 2022).

#### **2.1.6.3. Actividade antipirética e analgésica**

A actividade antipirética foi avaliada em ratos utilizando o método de hiperpirexia induzida por levedura de cerveja, conforme descrito por Teotino (1963). O efeito antipirético do extrato metanólico das folhas de *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. foi comparado com o paracetamol (100 mg/kg de peso corporal), administrados por via oral. Os grupos de ratos tratados com doses de 6500; 3250; 1625; e 812,5 mg/kg do extrato não apresentaram mortalidade, alteração significativa no peso corporal ou nos movimentos espontâneos. Entretanto, foi observada uma actividade hipotérmica incompleta e dependente da dose com doses de 50,78; 101,56; 203,12; 406,25; e 812,5 mg/kg do extrato administradas por via oral, indicando a toxicidade aguda da planta. No ensaio antipirético, o extrato nas doses de 50,78; 101,56; 203,12; 406,25; e 812,5 mg/kg por via oral apresentou uma actividade antipirética significativa e dose-dependente semelhante ao paracetamol (100 mg/kg por via oral) em ratos. Portanto, sugere-se que *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. pode inibir a biossíntese de prostaglandinas no hipotálamo, o que apoia as suas utilizações tradicionais no tratamento da febre. No entanto, é importante ressaltar que *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. pode afetar o hipotálamo não apenas durante a febre, mas também em situações de temperatura corporal normal (Effe et al., 2013).

#### **2.1.6.4. Actividade anti-inflamatória**

Em 2004, Manga et al. conduziram um estudo para avaliar a actividade anti-inflamatória da decocção aquosa e dos extratos de metanol das folhas de *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. O objetivo era reduzir o edema na orelha de ratos induzido pelo óleo de Croton após aplicação tópica. O fracionamento líquido-líquido do extrato de metanol foi orientado por quatro bioensaios, resultando em quatro frações activas distintas. Os resultados demonstraram que o extrato metanólico das folhas, de forma dose-dependente, conseguiu suprimir o edema auricular induzido pelo óleo de Croton em ratos ( $ID_{50} < 500\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ). A fração de hexano foi a mais eficaz, com 42% de inibição a  $0,7\mu\text{g}/\text{cm}^2$ , enquanto as outras frações apresentaram menor actividade.

Além disso, os pesquisadores avaliaram as propriedades anti-inflamatórias do extrato bruto metanólico das folhas de *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. e de cinco frações em ratos. Eles concluíram que a  $DL_{50}$  do extrato aquoso foi de 1131,4 mg/kg, enquanto o extrato metanólico na dose de 50 mg/kg exibiu um efeito anti-inflamatório significativo. As doses de 100 mg/kg da fração terpenoide e da fração multi-componente contendo tanino demonstraram a melhor actividade, com uma inibição do edema de 87,69% cada (Ngbolua et al., 2022).

#### **2.1.6.5. Actividade antibacterial**

A resistência bacteriana é uma preocupação global crescente e uma das principais causas de falha no tratamento de doenças infecciosas. Os fitoquímicos derivados de plantas representam uma potencial fonte para combater a resistência microbiana. Um estudo realizado com óleos essenciais extraídos dos frutos da planta *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. revelou uma actividade antibacteriana potente contra *Staphylococcus aureus* e uma actividade antifúngica marginal contra *Aspergillus niger* (Essien et al., 2015).

Em outro estudo, os melhores extratos das folhas, casca e raízes da mesma planta demonstraram actividade antibacteriana contra várias bactérias, sendo o extrato da casca o mais eficaz contra *Pseudomonas aeruginosa PAO1* (Mambe et al., 2016). Além disso, pesquisas adicionais indicam que as folhas e os caules da planta exibem actividades antibacterianas contra oito agentes patogênicos, sendo as actividades mais pronunciadas observadas contra *Staphylococcus saprophyticus*, *Escherichia coli*, *Moraxella catarrhalis*, *Klebsiella pneumoniae* e *Staphylococcus aureus*. Os componentes fitoquímicos isolados do caule da planta também demonstraram actividade antibacteriana contra esses agentes (Noundou et al., 2016).

#### **2.1.6.6. Actividade antidiabética**

Em estudos prévios, foram avaliados os efeitos do n-butanol das folhas de *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. em ratos Wistar diabéticos induzidos por estreptozotocina. Verificou-se que os extratos das folhas de *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. reduziram significativamente os níveis de glicose no sangue dos ratos tratados com doses de 200, 400 e 800 mg/kg de peso corporal. Esses resultados sugerem que o extrato possui potencial antidiabético, possivelmente atuando nas células  $\beta$  ou facilitando a utilização da glicose pelas células (Ngaha et al., 2016). Estudos indicam que essa actividade antidiabética está associada à presença de flavonoides, um tipo de metabólito secundário encontrado no extrato das folhas de *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. (Okoro et al., 2022; Thomford et al., 2015).

Thomford et al. (2015) investigaram os efeitos do extrato etanólico de *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. em ratos diabéticos induzidos por dexametasona. Os resultados demonstraram que doses de 250 mg/kg e 500 mg/kg do extrato foram eficazes na prevenção do aumento dos níveis de glicose no sangue em jejum. Os estudos destacam que o extrato das folhas de *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. possui propriedades antidiabéticas, provavelmente devido à presença de flavonoides, e é capaz de reduzir os níveis de glicose no sangue em ratos diabéticos (Thomford et al., 2015).

#### **2.1.6.7. Actividade antidiarreica**

Agbor et al. conduziram um estudo para avaliar a eficácia de um extrato etanólico das folhas da *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. no tratamento da diarreia induzida por óleo de rícino em ratos, utilizando morfina como padrão de referência. Os resultados indicaram que a dose de 800 mg/kg foi a mais eficaz na prevenção da diarreia após administração intraluminal. Além disso, os pesquisadores investigaram os efeitos do extrato aquoso e etanólico da casca da mesma planta na diarreia induzida pelo óleo de rícino, na motilidade gastrointestinal e no enteropooling. Observou-se que ambos os extratos demonstraram propriedades antidiarreicas dose-dependentes, sendo as doses de 200 mg/kg e 400 mg/kg as mais eficazes (Ngbolua et al., 2022).

#### **2.1.6.9. Outras actividades**

Diversos estudos conduzidos sobre *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. revelaram uma ampla gama de actividades farmacológicas, incluindo actividades anti-sickling, anti-stress, anticonvulsivante, antiviral, reprodutiva, antiamoebica, antelmíntica, efeitos linfoproliferativos, propriedades imunoestimuladoras e adjuvantes, efeitos antidepressivos, ação contra a doença de *Babesia duncani*, e actividade entomotóxica (Boniface et al., 2016; Ngbolua et al., 2022; Umukoro & Aladeokin, 2010).

### **2.1.7. Toxicidade da *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg.**

O estudo de toxicidade aguda conduzido por Goueh et al. (2021) demonstrou que o extrato aquoso total de *Alchornea cordifolia* (EATAC) não exibe toxicidade aguda por administração única, com uma DL<sub>50</sub> superior a 500 mg/kg de peso corporal. Testes conduzidos com administração diária de EATAC não resultaram em alterações significativas no peso corporal dos animais ou nos pesos dos órgãos vitais. Após 28 dias de tratamento, não foram observadas diferenças significativas nos elementos figurados do sangue ou nos parâmetros bioquímicos. Reduções significativas nos níveis de ureia e alanina aminotransferase foram observadas após 60 dias de tratamento. *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. não demonstrou efeitos adversos sobre a função renal, hepática ou cardíaca. Portanto, o extrato não apresenta toxicidade em doses de 100 mg/kg, 200 mg/kg e 400 mg/kg de peso corporal em ratos (Goueh et al., 2021).

## **2.2. Métodos de extração fitoquímica**

A extração é o processo de separação dos compostos bioativos de uma planta usando procedimentos seletivos e padronizados, representando o primeiro passo crucial na análise de plantas medicinais. Este procedimento é essencial para extrair os componentes químicos desejados dos materiais vegetais para posterior separação e caracterização. Existem diversos métodos de extração, que podem ser classificados como convencionais ou modernos. Os métodos convencionais geralmente empregam solventes orgânicos ou água e são realizados à pressão atmosférica, exigindo um volume significativo de solventes e tempo prolongado de extração. Entre os métodos convencionais mais utilizados estão a extração por Soxhlet e a maceração, frequentemente empregados em pequena escala. Por outro lado, os métodos modernos, como a extração assistida por micro-ondas (MAE), a extração assistida por ultrassom (UAE) e a extração com fluido supercrítico (SFE), aplicam pressão e/ou temperaturas elevadas, proporcionando vantagens como menor consumo de solventes orgânicos, tempo reduzido de extração e maior rendimento. Os métodos de extração abrangem diferentes técnicas, como extração por solventes, destilação, prensagem e sublimação, baseadas nos princípios de extração. A extração por solventes é a técnica mais comum, envolvendo as etapas em que o solvente penetra na matriz sólida, dissolve o soluto, que então se difunde para fora da matriz, sendo finalmente recolhido. Os solventes amplamente utilizados nos procedimentos de extração incluem água, etanol, clorofórmio, diclorometano, hexano, acetato de etilo, metanol, acetona, entre outros. Este processo é essencial para obter os produtos naturais desejados das plantas e constitui uma etapa crítica na pesquisa com plantas medicinais (Kaur, 2018; Rasul, 2018).

### 2.2.1. Extração por Soxhlet

A extração por Soxhlet é um método de extração líquido-sólido que aplica um calor contínuo. Trata-se de uma técnica de extração muito eficaz nos casos em que as substâncias a extrair têm uma solubilidade limitada no *menstruum*, mas possuem impurezas insolúveis. Neste processo, o material vegetal finamente moído é colocado num saco poroso (cartucho) ou “dedal” feito de papel de filtro forte, que é colocado num instrumento de vidro conhecido como extrator de Soxhlet. O solvente de extração é aquecido no balão de fundo redondo inferior (Ben Salah & Allouche, 2019). Isto resulta na produção de vapor de solvente. Este vapor sobe pelo tubo de destilação, entra na câmara principal e sobe até ao condensador, onde se condensa e escorre. À medida que o solvente enche a câmara principal, alguns dos compostos desejados na amostra sólida serão dissolvidos. Eventualmente, a câmara ficará quase cheia de solvente. Quando isto acontece, o tubo do sifão esvazia a câmara principal enquanto transfere o solvente de volta para o frasco de solvente, promovendo o recomeço do processo. Com cada extração subsequente, mais componentes do alvo são dissolvidos, deixando os contaminantes insolúveis no dedal. É assim que os compostos de interesse são removidos de uma amostra (Peiris et al., 2023).

A Figura 2.8 ilustra a esquematização do extrator Soxhlet.

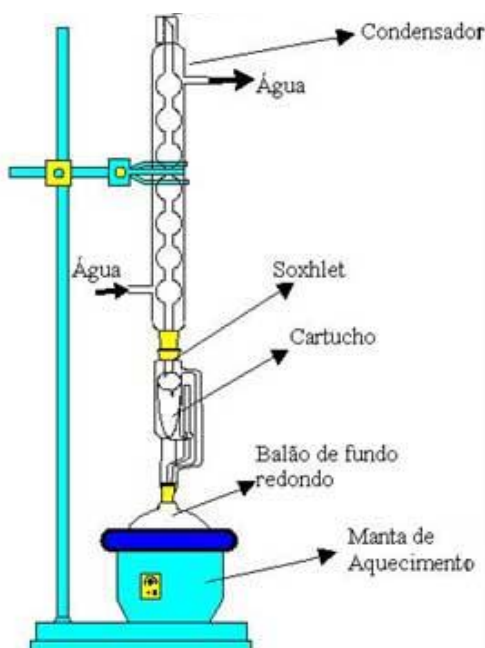


Figura 2. 8: Esquematização do extrator Soxhlet, adaptado de (Peiris et al., 2023)

### 2.2.2. Maceração

A maceração é uma técnica amplamente utilizada na Fitoquímica para extrair produtos vegetais bioativos. Nesse método, os materiais vegetais são mergulhados em um recipiente hermético fechado (de preferência de cor âmbar) com um solvente adequado e deixá-los

repousar à temperatura ambiente com agitação contínua e regular durante um período mínimo de 3 dias até que os fitoquímicos solúveis sejam liberados pela quebra das paredes celulares das plantas. O recipiente é preenchido com material vegetal pulverizado, como cascas, flores, folhas, raízes, sementes ou tubérculos, cobertos por solvente (*menstruum*). O tempo de maceração varia de acordo com o tipo de material vegetal e o método de evaporação escolhido. Após o período de maceração, a mistura é filtrada através de peneiras ou uma rede com pequenos pontos encontrados. O bagaço resultante (material sólido úmido) é prensado para extrair o líquido restante, que é então limpo por filtração ou decantação após um período de descarte. A maceração é preferencialmente realizada em um recipiente com tampa para evitar a evaporação excessiva do solvente. É importante escolher um solvente adequado para a maceração, pois isso influencia as classes de fitoquímicos extraídos. Além disso, certos solventes podem permitir a remoção de fitoquímicos termolábeis. Embora a maceração seja um método eficaz, possui uma eficiência relativamente baixa e pode exigir um tempo específico para obter um extrato concentrado. Outros métodos semelhantes incluem a decocção e a infusão, onde a matéria vegetal é embebida em água fria ou fervida por um período definido. No entanto, para a infusão, o período de maceração é mais curto e o material vegetal é fervido num volume específico de água (por exemplo, 1:4 ou 1:16) durante um tempo definido. Além disso, a decocção é utilizada apenas para a extração de compostos estáveis ao calor de materiais vegetais duros, como raízes e cascas. A percolação é outro método que utiliza um equipamento chamado percolador para extrair compostos de amostras secas em pó através de água fervente. Comparativamente, a decocção tende a produzir extratos mais solúveis em óleo em relação à maceração e à infusão (Ben Salah & Allouche, 2019b; Bitwell et al., 2023; Kaur, 2018; Peiris et al., 2023; Rasul, 2018).

### **2.3. Métodos de isolamento e purificação**

Os extratos obtidos pelos métodos acima mencionados são complexos e contêm uma diversidade de produtos naturais com polaridades diferentes que requerem separação e purificação adicionais para obter a fração ativa ou os compostos bioativos puros. A separação é realizada com base em diferenças físicas ou químicas de produtos naturais bioativos individuais (Zhang et al., 2018). Muitos produtos naturais bioativos foram isolados e purificados utilizando diferentes técnicas de separação, tais como Cromatografia em Camada Fina (CCF), Cromatografia em Camada Fina de Alta Eficiência (HPTLC), cromatografia em papel, cromatografia em coluna (CC), cromatografia em fase gasosa, OPLC e Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC). A cromatografia em coluna e a cromatografia em camada fina continuam a ser as mais utilizadas devido à sua conveniência, economia e disponibilidade de várias fases estacionárias (Rasul, 2018).

### **2.3.1. Cromatografia em Coluna (CC)**

A cromatografia em coluna é uma técnica antiga amplamente utilizada para o isolamento de moléculas naturais, sendo um método cromatográfico preparativo com diversas ferramentas analíticas. Este método continua a ser popular devido à sua economia, conveniência e à disponibilidade de várias fases estacionárias, como a sílica, a alumina, a celulose, a poliamida, etc. (Ben Salah & Allouche, 2019). Na cromatografia em coluna, a separação dos compostos ocorre entre duas fases: a fase estacionária (como sílica gel) colocada dentro de uma coluna e a fase móvel (eluente) que passa através da coluna após os extratos serem aplicados no topo da fase estacionária. A fase móvel transporta os produtos naturais da mistura a diferentes velocidades, com base em suas afinidades com a fase estacionária e a fase móvel. Compostos que interagem menos com a fase estacionária ou mais com a fase móvel se movem mais rapidamente pela coluna. Os componentes separados podem ser coletados junto com a fase móvel (Ben Salah & Allouche, 2019; Rasul, 2018).

### **2.3.2. Cromatografia em Camada Fina (CCF)**

A Cromatografia em Camada Fina (CCF) é uma técnica cromatográfica amplamente empregada na fitoquímica para a separação de diversas classes de produtos naturais. Esta abordagem é utilizada para visualizar a separação das moléculas do extrato durante o fracionamento em uma coluna, além de avaliar a complexidade das frações. É considerada uma das técnicas mais simples e econômicas, aplicável tanto na análise quanto no isolamento, além de ser útil para definir parâmetros necessários para a cromatografia em coluna. A CCF é uma cromatografia de adsorção sensível e rápida, baseada na diferença das interações do soluto com uma fina camada de adsorvente fixada em uma placa de plástico, alumínio ou vidro. Geralmente, a sílica ou a alumina (mais polar) são utilizadas como fase estacionária, enquanto solventes orgânicos (menos polares) são empregues como fase móvel, caracterizando a cromatografia de fase normal. Em contrapartida, na cromatografia de fase inversa, a fase estacionária é constituída por sílica ou alumina ligada a alquilos (menos polar), e a fase móvel é um solvente polar, como água ou álcool. Na CCF, os produtos presentes na mistura são separados conforme suas interações distintas com a fase estacionária e a fase móvel. Os compostos analisados por CCF podem ser detectados visualmente sob uma lâmpada UV (254 nm), em câmara de iodo ou utilizando reagentes de pulverização específicos, como vanilina, ácido sulfúrico ou ácido crômico. Além disso, a CCF é empregue para a identificação de um composto na mistura, comparando seu fator de retenção ( $R_f$ ) com o de um composto conhecido. A CCF preparativa, realizada em placas de vidro, é empregue para separações preparativas. Sua sensibilidade permite a separação de quantidades muito pequenas de extrato, frequentemente inferiores a 1 mg (Ben Salah & Allouche, 2019; Rasul, 2018).

## **2.4. Métodos de caracterização fitoquímica**

A determinação da estrutura dos produtos naturais é realizada por meio de uma ampla variedade de técnicas espectroscópicas, incluindo UV-Visível, Infravermelho (IV), Ressonância Magnética Nuclear (RMN) e Espectrometria de Massa (EM). O princípio básico da espectroscopia envolve a passagem de radiação eletromagnética por um composto orgânico, que absorve parte dessa radiação, resultando em um espectro característico. Os espectros fornecem informações específicas sobre as ligações presentes no composto, permitindo a identificação de sua estrutura. Os cientistas utilizam principalmente espectros obtidos em diferentes regiões espectrais, como ultravioleta (UV), visível, infravermelho (IV) e radiofrequência (RMN e FTIR), para elucidar a estrutura dos compostos naturais. Cada técnica espectral fornece percepções valiosas sobre a composição química e a estrutura molecular dos produtos naturais, permitindo uma análise detalhada de suas propriedades e características (Altemimi et al., 2017; Rasul, 2018).

### **2.4.1. Espectroscopia Ultravioleta (UV-Vis)**

A espectroscopia UV-visível pode ser efectuada para análise qualitativa e para identificação de certas classes de compostos, tanto em misturas puras como biológicas. De preferência, a espectroscopia UV-visível pode ser utilizada para a análise quantitativa porque as moléculas aromáticas são cromóforos potentes na gama UV. Os compostos naturais podem ser determinados utilizando a espectroscopia de UV-visível. Os compostos fenólicos, incluindo as antocianinas, os taninos, os corantes poliméricos e os fenóis, formam complexos com o ferro que foram detectados por espectroscopia ultravioleta/visível (UV-Vis). Além disso, verificou-se que as técnicas espectroscópicas UV-Vis são menos selectivas e fornecem informações sobre a composição do teor total de polifenóis. A espectroscopia UV-Vis foi utilizada para determinar o extrato fenólico total (280 nm), as flavonas (320 nm), os ácidos fenólicos (360 nm) e os antocianídeos totais (520 nm). Esta técnica não é morosa e apresenta um custo reduzido em comparação com outras técnicas (Altemimi et al., 2017).

### **2.4.2. Espectroscopia de infravermelho (IV)**

A espectroscopia de infravermelho (IV) é uma técnica analítica poderosa empregada na identificação e caracterização de compostos químicos com base nas vibrações moleculares que absorvem radiação infravermelha. Amplamente utilizada em química orgânica, química de materiais, bioquímica e outras disciplinas científicas, o espectro de infravermelho revela as vibrações das ligações químicas em uma molécula, relacionadas a diferentes modos de vibração molecular, como estiramentos e flexões de ligações simples e duplas, rotações e deformações de anéis. A absorção de IV ocorre devido à transição do nível de energia de vibração-rotacional da molécula, na faixa de 4000 a 625  $\text{cm}^{-1}$ . A região acima de 1250  $\text{cm}^{-1}$

é conhecida como região do grupo funcional, onde ocorre a absorção de grupos característicos como hidroxilos, aminas, carbonilos, ésteres e anéis aromáticos. Já a região de 1250 a 625  $\text{cm}^{-1}$  é denominada região das impressões digitais, onde os picos surgem principalmente devido às vibrações de estiramento das ligações simples C-X (X = C, O, N) e várias vibrações de flexão. A espectroscopia de IV é amplamente utilizada na determinação de grupos funcionais e tipos de substituição em anéis aromáticos. Em certos casos, também pode ser aplicada para determinar a configuração dos constituintes químicos presentes em plantas. Esta técnica oferece informações valiosas sobre a estrutura molecular e é fundamental para a análise e caracterização de compostos em diversos contextos científicos (Feng et al., 2019; Harris, 2016; Silverstein et al., 2005).

### **2.4.3. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)**

A RMN está essencialmente relacionada com as propriedades magnéticas de certos núcleos atômicos, nomeadamente o núcleo do átomo de hidrogénio (o protão), o carbono-13 e o nitrogênio-15, que são isótopos com momento magnético nuclear. A espectroscopia de RMN permitiu a muitos investigadores estudar moléculas, registando as diferenças entre os vários núcleos magnéticos e dando assim uma imagem clara das posições desses núcleos na molécula. Além disso, demonstra quais os átomos que estão presentes em grupos vizinhos. Em última análise, pode concluir quantos átomos estão presentes em cada um destes ambientes. No passado, foram efectuadas várias tentativas utilizando cromatografia em camada fina preparativa ou semi-preparativa, cromatografia líquida e cromatografia em coluna para isolar fenóis individuais, cujas estruturas são posteriormente determinadas por RMN off-line (Altemimi et al., 2017).

#### **2.4.3.1. Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de protões (RMN de $^1\text{H}$ )**

Os sinais de ressonância são gerados quando os núcleos de hidrogénio absorvem ondas eletromagnéticas em diferentes frequências dentro de um campo magnético externo. A Ressonância Magnética Nuclear de Protões (RMN de  $^1\text{H}$ ) é uma técnica altamente sensível, de fácil medição e amplamente utilizada. Os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  fornecem informações estruturais, como deslocamentos químicos ( $\delta$ ) e constantes de acoplamento (J), que indicam as interações entre diferentes núcleos de hidrogénio, bem como o número de protões (a área do pico é proporcional ao número de protões que causam a absorção). Devido aos diferentes ambientes químicos ao redor dos núcleos de hidrogénio, estes apresentam diferentes densidades de nuvens magnéticas e efeitos de blindagem magnética devido à rotação ao redor do núcleo, resultando em diferentes tipos de sinais de ressonância nuclear  $^1\text{H}$  em diferentes regiões. O tetrametilsilano (TMS) é comumente utilizado como

um composto de referência devido ao forte efeito de blindagem dos grupos metilo. Portanto, os picos de absorção gerados pelos compostos comuns aparecem em campos de deslocamento químico mais baixos em comparação com o TMS, resultando em valores  $\delta$  positivos. As deslocamentos químicos nos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  normalmente variam na faixa de  $\delta$  0-20. Além da técnica padrão de espectroscopia RMN de  $^1\text{H}$ , existem técnicas auxiliares que facilitam a análise estrutural, como dissociação seletiva, troca de hidrogênio pesado, adição de reagentes de reação e irradiação dupla (Feng et al., 2019).

#### **2.4.3.2. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Carbono (RMN de $^{13}\text{C}$ )**

Os espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  fornecem informações estruturais detalhadas sobre compostos orgânicos, incluindo o número, tipo e ambiente químico dos átomos de carbono presentes. Esta técnica é fundamental para a identificação estrutural de compostos orgânicos, especialmente em casos onde há sobreposições significativas nos sinais do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ou quando as moléculas contêm vários átomos de carbono quaternários. Existem diversas técnicas comuns de RMN de  $^{13}\text{C}$ , incluindo a Dissociação de Banda Larga de Protões (*BB Decoupling*), Dissociação Fora de Ressonância (OFR), Transferência de Polarização por Núcleo Insensível Aprimorado (INEPT) e Desacoplamento Aprimorado por Transferência de Polarização (DEPT). Entre estas, a Dissociação de Banda Larga de Protões e os espectros DEPT são amplamente utilizados atualmente devido à sua eficácia e aplicabilidade na análise estrutural de compostos orgânicos (Feng et al., 2019).

#### **2.4.4. Espectrometria de massa**

A espectrometria de massa é uma técnica analítica poderosa utilizada para a identificação de compostos desconhecidos, quantificação de compostos conhecidos e elucidação da estrutura e propriedades químicas das moléculas. Esta técnica é essencial para determinar as massas moleculares, elementos presentes e, por meio da análise dos padrões de fragmentação, fornecer informações estruturais importantes (Rasul, 2018). Ao contrário de outras técnicas espectroscópicas, os espectros de massa não envolvem radiação eletromagnética. Neste método, uma molécula é ionizada com um feixe de elétrons de alta energia, resultando na formação de iões fragmentados que são separados de acordo com sua massa e sua abundância é medida. Um espectro de massa é um gráfico que representa a abundância relativa dos iões fragmentados em relação à razão massa/carga desses iões. A espectrometria de massa permite determinar a massa molecular relativa (peso molecular) com alta precisão e identificar a fórmula molecular exata da molécula com base nos locais de fragmentação observados durante a análise. Essa técnica é essencial para a sequenciação de peptídeos ou oligonucleotídeos, bem como para monitorar a presença de compostos

específicos em misturas complexas, fornecendo informações precisas sobre a estrutura e composição das moléculas analisadas (Altemimi et al., 2017; Fabirkiewicz & Stowell, 2016).

# Capítulo 3: Materiais e métodos

## 3.1. Equipamentos, reagentes e material vegetal

### 3.1.1. Equipamentos

Durante a realização do trabalho experimental, além dos materiais de laboratório usuais, foram empregues os equipamentos a seguir mencionados:

- Evaporador rotativo: foi utilizado na evaporação dos solventes orgânicos dos extratos e das frações recolhidas. Usou-se o evaporador com bomba Büchi VAC® V-500, controlador da rotação RE 111, controlador de pressão Büchi *Vacuum Controller* B-721 e banho de água Büchi 461 *Water Bath*.
- Espectrómetro Bruker® Avance 400, um instrumento dos espectros de ressonância magnética nuclear (RMN), foi utilizado para análise estrutural de compostos orgânicos presentes nos extratos em estudo.
- Balança analítica METTLER AE 260 DeltaRange®, utilizada para medir as quantidades dos extratos e das diferentes frações.
- Câmara escura de UV CN-15.LC: utilizada para visualizar sob irradiação de luz ultravioleta as placas de alumínio imersas em solução reveladora (KMnO<sub>4</sub>) durante a cromatografia em camada fina (CCF).
- Aparelho de Cromatografia de Gases acoplado a um Espectrofotómetro de Massas (CG-EM) da marca Agilent. O modelo do cromatógrafo é o 7890 A e o do espectrómetro de massa é o 5975 C inert XL MSD with Triple- Axis. Foi utilizado na análise e identificação das ceras removidas dos extratos de n-hexano das cascas da parte aérea e das raízes da *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg.
- Destilador para destilação de solventes (Rotoquímica), utilizado na destilação do hexano comercial.
- Frigorífico Meireles MFC 355 W usado na conservação da mistura dos extratos de hexano com metanol durante processo da remoção das ceras.
- Cromatografia em coluna (CC): a Cromatografia em Coluna sob pressão moderada foi conduzida utilizando uma bomba Büchi *Pump Module* C-601 conectada a um controlador Büchi *Pump Controller* C-610, com as frações sendo coletadas por um coletor automático Büchi *Fraction Collector* C-660.
- Moinho Retsch Mühle GmbH tipo SM1, Nr. 71419, conectado a um motor Dietz-motoren GmbH&Co.KG DR 90L/4P, Nr. 3756298: utilizado na moagem das cascas e raízes secas de *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg.

### 3.1.2. Reagentes

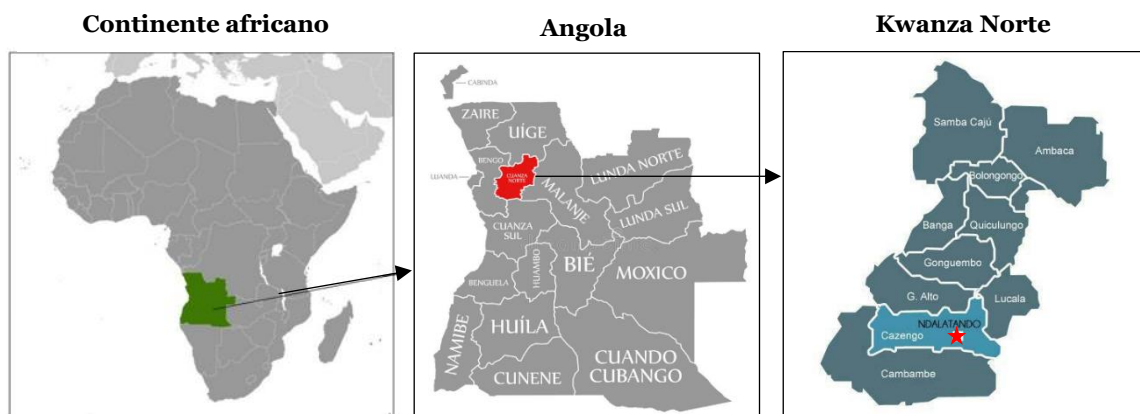
A Tabela 3.1 apresenta os diferentes reagentes e solventes químicos utilizados ao longo do trabalho experimental, incluindo informações sobre o fabricante e o grau de pureza correspondente.

Tabela 3. 1: Reagentes e solventes utilizados com os seus respetivos fabricantes e graus de pureza

Reagentes e solventes	Fabricante	Grau de pureza (%)
Acetato de etilo	José Manuel Gomes dos Santos, LDA	99,94
Metanol	Trinidad and Tobago by Fisher Chemical	99,90
Hexano comercial	Valente e Ribeiro, LDA	---
Acetona	José Manuel Gomes dos Santos, LDA	99,70
Etanol	AGA – Álcool e Géneros Alimentares, S.A.	99,50
Diclorometano	Honeywell   Riedel-de Haën <sup>TM</sup>	99,90
Água deuterada	---	---
Clorofórmio deuterado	Aldrich Chemical Company, Inc.	99,60
Piridina	May & Baker LTD	99,50
Anidrido acético	Farmitalia Carlo Erba S.p.A.	98,00
(Trimetilsilil) diazometano	---	---
Ácido clorídrico	Sigma-Aldrich <sup>®</sup>	37,00
Hidróxido de sódio Lentilhas	Eka Chemicals	---
Sulfato de sódio anidro	José Manuel Gomes dos Santos, LDA	99,82

### 3.1.3. Material vegetal

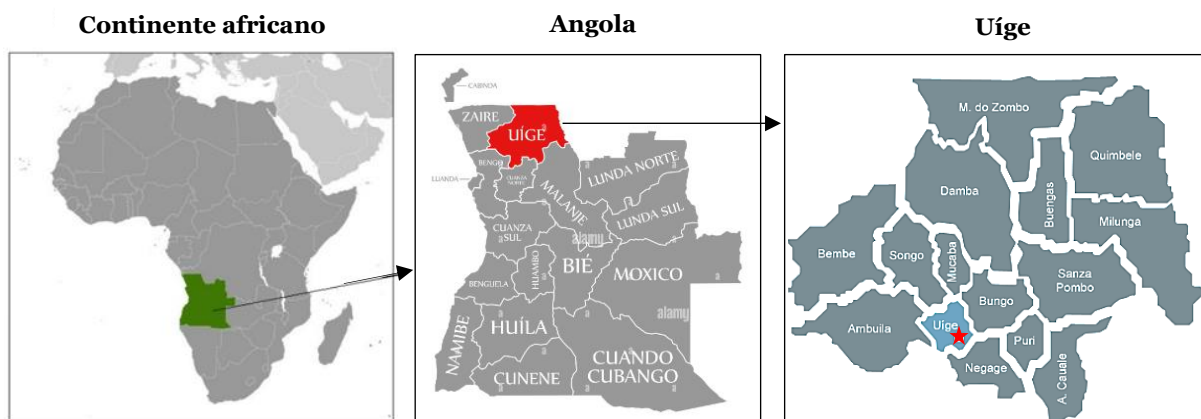
Para realização deste trabalho, usou-se a casca da parte aérea e as raízes da *Alcornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. A casca da planta foi recolhida em março de 2017, com as coordenadas geográficas a sul -9.409904, 14.865096 (9° 24' 35.6544" S + 14° 51' 54.3456" E), em N'dalatando, Município do N'dalatando, na Província de Kwanza Norte na República de Angola.



★ Local de coleta da casca da parte aérea de *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg.: N'dalatando.

Figura 3. 1: Localização geográfica da coleta da casca da parte aérea do material vegetal

As raízes da *Alchornea cordifolia* foram colhidas em dezembro de 2023 nas coordenadas geográficas -7.624853, 15.020269 (36°56'40" N + 10°22'41"W), localizadas no Município de Uíge, na Província de Uíge, em Angola. Colhidas pela manhã, passaram por um processo de secagem ao ar livre por sete dias, sendo expostas ao sol das 8:00 h às 17:00 h. Durante o restante do dia, foram mantidas à sombra em temperatura ambiente, que variava entre 24 e 27 graus Celsius.



★ Local de coleta das raízes de *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg.: Município do Uíge.

Figura 3. 2: Localização geográfica da coleta das raízes do material vegetal

Para este estudo, foram usados 262,865 g de casca da parte aérea de *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg., e 173,166 g de raízes secas da mesma planta. As amostras foram transportadas para o Laboratório de Investigação de Química Orgânica dos Produtos Naturais, localizado na Faculdade de Ciências, Departamento de Química da UBI, em Covilhã, Portugal, onde foram conduzidas as análises fitoquímicas.

## 3.2. Técnicas experimentais

### 3.2.1. Preparação dos extratos

Na preparação dos diferentes extratos da casca da parte aérea e das raízes da planta *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg., inicialmente secas, procedeu-se à corte e tritura num moinho RetschMühle SM1 com um molde de 2,0 mm (apêndice 1) da casca da parte aérea e das raízes da planta *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg., e posteriormente os materiais vegetais foram extraídos usando a extração contínua com extractor Soxhlet (extração com n-hexano a quente) e extração contínua a frio por maceração (extração com acetona e extração com etanol).

A Figura 3.3 ilustra de forma concisa o processo de extração realizado a partir do material vegetal seco e moído até o extrato final obtido utilizando diferentes solventes.

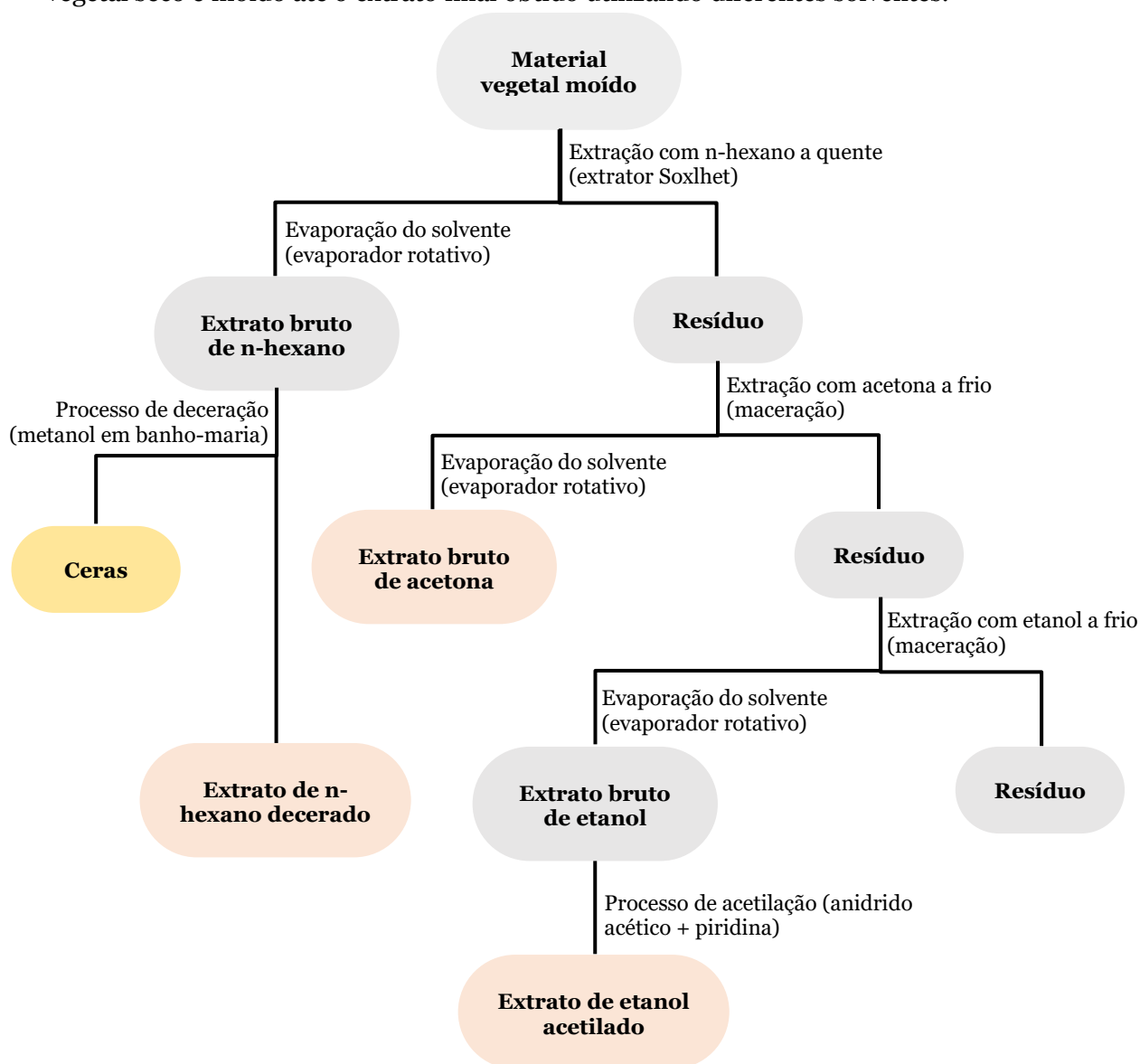


Figura 3. 3: Processo de extração realizado a partir do material vegetal seco e moído até o extrato final obtido utilizando diferentes solventes.

### 3.2.1.1. Extração com extrator Soxhlet

Os componentes da casca da parte aérea e das raízes da planta *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. foram extraídos utilizando um extrator Soxhlet, empregando n-hexano como solvente, e mantidos sob aquecimento por 24 horas em cada ciclo de extração.

Para cada ciclo de extração, o material vegetal preparado previamente, que estava seco e triturado, foi acondicionado em papel de filtro e introduzido no extrator. Este, por sua vez, foi montado em um balão de destilação. Durante todo o processo de extração com o extrator Soxhlet, apenas um tipo de solvente orgânico foi empregado, o n-hexano. A extração foi considerada completa quando o solvente em contato com o material em extração mudou de cor para incolor (conforme mostrado na Figura 3.4).



Figura 3. 4: Montagem laboratorial de extração sólido-líquido, usando o extrator Soxhlet

Terminada a extração, os extratos obtidos foram separados do solvente por meio de um evaporador rotativo. Para este processo, foi utilizado um evaporador rotativo equipado com uma bomba Buchi VAC V-500 e um controlador de pressão Buchi Vacum Controller V-850, sendo colocado em um banho a 40°C, dentro de um Buchi 461 Water Bath, conforme ilustrado no apêndice 2. O solvente foi recuperado para futura reutilização, enquanto o material vegetal (resíduo) empregado foi exposto ao ar livre para que o solvente evaporasse e o material secasse, preparando-o para o próximo passo, que consistiu na extração por maceração utilizando acetona. Todos os extratos foram devidamente etiquetados e armazenados para uso futuro.

Após a evaporação dos solventes, os extratos obtidos foram pesados e suas massas foram registradas na Tabela 3.2.

Tabela 3. 2: Quantidades das extrações com n-hexano a quente utilizando extrator Soxhlet da casca da parte aérea e das raízes da planta *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg.

<b>Material vegetal</b>	<b>Massa inicial (g)</b>	<b>Massa do extrato (g)</b>
Casca da parte aérea	---	---
Raízes	173,166	2,746

Os extratos brutos de n-hexano obtidos depois da extração com extrator Soxhlet foram submetidos ao processo de desceração, ou seja, a remoção das ceras presentes nos extratos brutos de n-hexano para melhorar a análise cromatográfica, porque em técnicas analíticas como cromatografia gasosa (CG) ou cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), a presença de ceras nos extratos pode interferir nos resultados da análise. As ceras podem adsorver-se nas colunas cromatográficas, diminuindo a eficiência da separação e afetando a precisão dos resultados.

Os extratos brutos secos de n-hexano encontrados no balão foram transferidos o solvente metanol e colocado na geleira durante 24 horas, depois colocou-se o balão no banho-maria agitando até que aconteceu a precipitação das ceras. A Tabela 3.3 apresenta as quantidades de extratos desceraçados de n-hexano da casca da parte aérea e das raízes da planta *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. e as ceras eliminados.

Tabela 3. 3: Quantidades de extratos desceraçados de n-hexano da casca da parte aérea e das raízes da planta *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. e as ceras

<b>Material vegetal</b>	<b>Massa de extratos de hexano (g)</b>	<b>Massa de extratos de hexano desceraçados (g)</b>	<b>Massa de ceras (g)</b>
Casca da parte aérea	---	---	1,854
Raízes	2,746	1,723	1,015

### **3.2.1.2. Extração por maceração com acetona**

Após a extração utilizando um extrator Soxhlet, as cascas da parte aérea e as raízes da planta *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. (materiais vegetais resultantes da extração com extrator de Soxhlet) foram submetidas a uma extração contínua a frio por maceração com acetona, realizada ao longo de 5 dias. Após este processo, o material vegetal foi separado por filtração usando papel de filtro. Uma vez completada a filtração, a parte líquida foi evaporada utilizando um evaporador rotativo para recuperar o solvente,

enquanto a parte seca do extrato de acetona foi pesada. Os resultados dessas pesagens estão detalhados na Tabela 3.4. Os materiais vegetais (resíduo) foram reservados para o próximo passo, que consiste na extração contínua a frio por maceração com etanol.

Tabela 3. 4: Quantidades das extrações por maceração com acetona das cascas da parte aérea e raízes da planta *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg.

<b>Material vegetal</b>	<b>Massa inicial (g)</b>	<b>Massa do extrato (g)</b>
Casca da parte aérea	262,865	1,892
Raízes	173,166	3,166

### **3.2.1.3. Extração por maceração com etanol**

Da mesma forma, os materiais vegetais provenientes das cascas da parte aérea e raízes da planta *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. foram submetidos a extração a frio por maceração com etanol durante 5 dias. Após a conclusão da extração, o material vegetal foi separado por filtração utilizando papel de filtro. Concluída a filtração, a parte líquida foi evaporada utilizando um evaporador rotativo, enquanto a parte seca do extrato de etanol foi então pesada. Os resultados destas medições estão detalhados na Tabela 3.5.

Tabela 3. 5: Quantidades das extrações por maceração com etanol das cascas da parte aérea e raízes da planta *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg.

<b>Material vegetal</b>	<b>Massa inicial (g)</b>	<b>Massa do extrato (g)</b>
Casca da parte aérea	262,865	3,421
Raízes	173,166	1,558

### **3.2.2. Isolamento e purificação dos extratos**

Após a extração, os compostos dos extratos obtidos foram isolados e purificados por meio de cromatografia em coluna (CC), empregando sílica gel como fase estacionária, com controlo de pressão moderada (6.8) utilizando a bomba Büchi Pump Module C-601®. As frações foram coletadas automaticamente por um coletor automático Büchi Fraction Collector C-660 (apêndice 3) e cada fração foi posteriormente analisada por cromatografia em camada fina de gel de sílica (CCF) (apêndice 4).

#### **3.2.2.1. Purificação dos extratos descerados de n-hexano por cromatografia em coluna**

Os extratos descerados de n-hexano das cascas da parte aérea e das raízes da planta *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. foram fracionados por

cromatografia em coluna (CC). A coluna foi preparada e compactada a vácuo. Em um Béquer de 50 mL, foram adicionados 1,0250 g do extrato descerado de n-hexano das raízes, também dissolvido em n-hexano, que foram então transferidos para a coluna cromatográfica. Para este trabalho, não foi possível trabalhar com extrato de n-hexano das cascas da parte aérea.

Inicialmente, foi utilizada uma fase móvel composta por n-hexano (100% n-hexano) e, em seguida, a proporção de n-hexano/acetato de etilo foi ajustada em uma série de gradientes: 98:2, 95:5, 90:10, 80:20, 70:30, 60:40, e 50:50. Posteriormente, a fase móvel foi transicionada para acetato de etilo (100% acetato de etilo) e, finalmente, para uma mistura de acetato de etilo/metanol com proporções de 95:5 e 90:10, culminando em metanol (100% metanol), visando a obtenção de frações em ordem crescente de polaridade.

As frações coletadas durante o processo foram posteriormente analisadas por cromatografia em camada fina (CCF), utilizando eluentes correspondentes aos solventes empregados na fase móvel, com suas respectivas proporções de polaridade.

As cromatografias em camada fina (CCF) foram realizadas em placas de alumínio revestidas com sílica-gel Macherey-Nagel (60 G/UV254) com uma espessura de 0,2 mm. Os eluentes utilizados e suas proporções volumétricas, quando misturados, são indicados para cada caso específico. Após a eluição, as placas foram imersas em uma solução reveladora composta por permanganato de potássio (KMnO<sub>4</sub>) a 4% em meio aquoso e em seguida, foram visualizadas sob irradiação de luz ultravioleta (UV) a um comprimento de onda de 254 nm. Posteriormente, as placas foram aquecidas a 80°C por alguns minutos.

As diferentes frações com o mesmo nível de eluição foram combinadas e os solventes foram evaporados utilizando um evaporador rotativo. Os produtos secos de diferentes partes da planta resultantes foram pesados (conforme mostrado na Tabela 3.6) e amostras dos produtos foram preparadas para análise por ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN de <sup>1</sup>H) e carbono (RMN de <sup>13</sup>C). Os espectros obtidos foram cuidadosamente analisados para identificação e caracterização dos compostos presentes.

Tabela 3. 6: Frações cromatográficas dos extratos de n-hexano obtidos das raízes de *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg., com a massa suficiente para RMN.

Balão	Eluentes	Frações	Massa do Produto (g)
22	Hex/AcetOEt (90:10)	22	0,052
23	//	23 -24	0,036
25	Hex/AcetOEt (80:20)	25 -27	0,008

28	//	28-30	0,298
31	//	31-33	0,100
34	Hex/AcetOEt (70:30)	34	0,015
35	//	35-38	0,083
39	//	39-42	0,053
43	Hex/AcetOEt (60:40)	43-46	0,041
47	//	47-50	0,033
51	Hex/AcetOEt (50:50)	51-54	0,027
54	//	55-58	0,024
59	AcetOEt /MetOH (98:2)	59	0,009
62	//	62	0,008
63	//	63	0,011
64	//	64-66	0,008
70	AcetOEt /MetOH (90:10)	70-71	0,027
72	//	72	0,024
73	//	73-74	0,026
75	AcetOEt /MetOH (80:20)	75-77	0,026
78	//	78-79	0,011
81	//	81-83	0,008
87	MetOH (100)	87	0,066
88	//	88-89	0,055
90	//	90-92	0,023
93	//	93-96	0,022
97	//	97-100	0,015

### 3.2.2.2. Purificação dos extratos de acetona por cromatografia em coluna

Os extratos de acetona das cascas da parte aérea e das raízes da planta *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg., obtidos por maceração, foram fracionados por cromatografia em coluna (CC) utilizando gel de sílica, da mesma forma que os extratos de n-hexano. Em um béquer de 50 mL, foram adicionados 0,7588 gramas do extrato de acetona das cascas da parte aérea, previamente dissolvido em n-hexano, e transferidos para a coluna cromatográfica. Em outro béquer de mesma capacidade, 1,5002 gramas de extrato de acetona das raízes, também dissolvido em n-hexano, foi transferida para a mesma coluna.

O processo utilizou as mesmas fases móveis e proporções de polaridade mencionadas anteriormente (conforme detalhado no ponto 3.2.2.1). Os produtos de cada fração foram analisados por cromatografia em camada fina (CCF), seguindo os procedimentos descritos anteriormente. Frações idênticas foram combinadas e os solventes foram evaporados utilizando um evaporador rotativo. Os produtos secos obtidos a partir das diferentes partes da planta foram pesados (conforme mostrado nas Tabelas 3.7 e 3.8) e amostras desses produtos foram preparadas para análise por ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN de  $^1\text{H}$ ) e carbono (RMN de  $^{13}\text{C}$ ). Os espectros resultantes foram cuidadosamente analisados para identificação e caracterização dos compostos presentes.

Tabela 3. 7: Frações cromatográficas dos extratos de acetona obtidos das cascas da parte aérea de *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg., com a massa suficiente para RMN

Balão	Eluentes	Fracões	Massa do Produto (g)
22	Hex/AcetOEt (95:5)	22-26	0,017
27	Hex/AcetOEt (90:10)	27-29	0,003
31	//	31-37	0,004
39	//	39-42	0,006
43	Hex/AcetOEt (80:20)	43-44	0,001
45	//	45-48	0,012
49	Hex/AcetOEt (70:30)	49-50	0,002
54	Hex/AcetOEt (60:40)	54-58	0,011
59	//	59-62	0,012

63	Hex/AcetOEt (50:50)	63-66	0,016
67	//	67-68	0,002
69	AcetOEt (100)	69-70	0,002
71	//	71-73	0,011
74	//	74-75	0,005
76	AcetOEt/MetOH (95:5)	76-79	0,004
80	//	80-84	0,017
85	AcetOEt/MetOH (90:10)	85-86	0,010
87	//	87-88	0,0207
89	//	89-93	0,032
94	//	94-96	0,016
97	MetOH	97-99	0,020
100	//	100	0,117
101	//	101-102	0,096
103	//	103	0,026
104	//	104	0,022
105	//	105-106	0,041
107	//	107-110	0,068
111	//	111-112	0,035
113	//	113-116	0,075
117	//	117-118	0,023
119	//	119-121	0,022
122	//	122	0,002

Tabela 3. 8: Frações cromatográficas dos extratos de acetona obtidos das raízes de *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg., com a massa suficiente para RMN

<b>Balão</b>	<b>Eluentes</b>	<b>Fracões</b>	<b>Massa do Produto (g)</b>
21	Hex/AcetOEt (95:5)	21-24	0,014
34	Hex/AcetOEt (80:20)	34-36	0,008
37	//	37-41	0,008
42	Hex/AcetOEt (70:30)	42-48	0,014
74	AcetOEt/MetOH (95:5)	74-77	0,011
78	//	78-80	0,025
81	//	81-82	0,016
83	AcetOEt/MetOH (90:10)	83-85	0,023
86	//	86-88	0,078
89	//	89-90	0,039
91	MetOH	91-93	0,029
94	//	94	0,075
95	//	95	0,422
96	//	96	0,245
97	//	97	0,298
98	//	98	0,056
99	//	99-101	0,045
102	//	102-105	0,023
106	//	106-108	0,018
111	//	111-113	0,011
116	//	116-118	0,009
119	//	119-120	0,016

### 3.2.2.3. Purificação dos extratos de etanol por cromatografia em coluna

Para isolar e purificar os extratos de etanol das cascas da parte aérea e das raízes da *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. obtidos por maceração, realizou-se o processo de acetilação desses extratos para converter grupos -OH em grupos acetilo (-COCH<sub>3</sub>), a fim de facilitar a identificação e análise por técnicas cromatográficas. Este processo envolve a reação de grupos hidroxila (-OH) presentes nos compostos com um agente acetilante, o anidrido acético em presença do catalisador, a piridina, para formar grupos acetila (-COCH<sub>3</sub>).

Em um balão com extrato de etanol, adicionou-se anidrido acético na proporção adequada para a reação de acetilação. A quantidade pode variar dependendo da quantidade de amostra, mas geralmente é utilizada uma proporção de 1:1 a 1:10 em relação à massa da amostra. Adicionou-se a piridina como catalisador em uma proporção de 1:1 em relação ao anidrido acético utilizado. Agitou-se a mistura em temperatura ambiente por 24 horas para permitir a reação de acetilação ocorrer. Para parar a reação de acetilação, adicionou-se água gelada (0°C). Com ajuda do funil de separação, separou-se a fase aquosa da fase orgânica. A fase orgânica foi lavada, primeiramente com um volume de uma solução de hidróxido de sódio (NaOH) a 4% para neutralizar o ácido (ácido acético) em excesso, em seguida, adicionou-se um volume de uma solução de ácido clorídrico (HCl) diluído para neutralizar a base (piridina) em excesso. A fase orgânica foi extraída com ajuda de diclorometano e foi evaporado com evaporador rotativo.

Os extratos de etanol acetilados foram submetidos à fracionamento por cromatografia em coluna (CC) de gel de sílica sob pressão moderada de 6.8. A coluna foi preparada e compactada a vácuo. Foram utilizados 0,588 g do extrato de etanol acetilado das cascas da parte aérea da planta em estudo para a cromatografia em coluna. O extrato de etanol acetilado das raízes não foi estudado neste trabalho.

Durante o processo, a fase móvel foi composta pelos seguintes eluentes em sequência: n-hexano, n-hexano/acetato de etilo nas proporções de 100, 95:5, 90:10, 80:20, 70:30, 60:40, 50:50 e, posteriormente, acetato de etilo (100), seguido de acetato de etilo/metanol nas proporções de 95:5, 90:10 e metanol (100).

As frações eluídas foram coletadas e subsequentemente analisadas por cromatografia em camada fina (CCF) utilizando os eluentes n-hexano/acetato de etilo nas proporções de 90:10, 80:20, 70:30, 60:40, 50:50, acetato de etilo (100), acetato de etilo/metanol (95:5, 90:10) e metanol (100).

As placas de CCF foram reveladas utilizando uma solução reveladora mencionada no ponto 3.2.2.1. Com base nas observações sob luz ultravioleta (UV) e após a revelação, as frações coletadas foram combinadas conforme necessário e os solventes foram evaporados utilizando um evaporador rotativo. Os produtos secos obtidos a partir das cascas da parte aérea da planta foram pesados (conforme mostrado na Tabela 3.9) e as frações juntadas desse extrato foram preparadas para análise por ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN de  $^1\text{H}$ ) e carbono (RMN de  $^{13}\text{C}$ ). Os espectros resultantes foram cuidadosamente analisados para identificação e caracterização dos compostos presentes.

Tabela 3. 9: Frações cromatográficas dos extratos de etanol acetilados obtidos das cascas da parte aérea de *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg., com a massa suficiente para RMN

<b>Balão</b>	<b>Eluentes</b>	<b>Frações</b>	<b>Massa do Produto (g)</b>
12	Hex/AcetOEt (90:10)	12	0,020
21	Hex/AcetOEt (80:20)	21	0,018
22	//	22	0,019
23	//	23-25	0,039
26	Hex/AcetOEt (70:30)	26-28	0,011
29	//	29-31	0,025
32	Hex/AcetOEt (60:40)	32-36	0,192
38	Hex/AcetOEt (50:50)	38	0,009
39	//	39	0,013
40	//	40	0,010
41	//	41	0,012
42	//	42-44	0,008
45	AcetOEt (100)	45-47	0,038
48	//	48-49	0,012
50	AcetOEt/MetOH (95:5)	50-51	0,007
62	AcetOEt/MetOH (90:10)	62	0,035
63	MetOH (100)	63	0,010

### 3.2.3. Caracterização dos produtos

A determinação estrutural das substâncias identificadas foi conduzida por meio de uma abordagem abrangente, empregando diversas técnicas analíticas de alto desempenho. Especificamente, a análise foi realizada utilizando cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM), espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN de  $^1\text{H}$ ) e carbono (RMN de  $^{13}\text{C}$ ), bem como técnicas de correlação bidimensional.

#### 3.2.3.1. Cromatografia Gasosa e Espectrometria de Massa (CG-EM)

As ceras removidas dos extratos de n-hexano das cascas da parte aérea da *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. foram analisadas e identificados por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa.

Esta análise foi realizada num aparelho de Cromatografia de Gases (CG) da Agilent® Technologies 7890A GC-System equipado com uma coluna capilar DB-5MS, 30m x 0,25mm i.d., com filme de Polidimetilsiloxano (j.&w LTM coluna module) de espessura 0,25 $\mu\text{m}$  (apêndice 5). A temperatura inicial da coluna é 60°C durante 5 minutos, aumentando até aos 200°C numa rampa de crescimento de 4°C/min; numa seguinte rampa de temperatura aumenta de 200°C até 280°C, numa rampa de crescimento de 10°C/min; A temperatura final mantém-se constante durante algum tempo. A temperatura do injetor é de 250°C, o detetor tem uma temperatura de 180°C. O gás de arraste é Hélio, com um caudal de 1mL/min e com volume de injeção de amostra de 1 $\mu\text{L}$ . O CG está acoplado a um detetor de massas da Agilent® Technologies 5975C, Inert XL MSD com detetor triple-Axis (quadrupolo), com uma voltagem de ionização de 70 eV e com a fonte iónica a uma temperatura de 230°C. A análise dos espetros é feita no *software Chemstation* para análise das áreas obtidas e dos vários constituintes, realizando-se a identificação dos componentes com a ajuda das bases de dados *NIST mass spectral software*.

As ceras a ser analisadas por CG-EM foram primeiramente submetidas ao processo de hidrólise com metanol em presença de NaOH para quebrar as moléculas de cera em ácidos graxos e álcoois (metanol), através de uma reação de saponificação. O metanol foi evaporado por evaporador rotativo e os ácidos graxos reagem com NaOH para formar o sal orgânico. Sabendo que as ceras contêm inicialmente os hidrocarbonetos, as cetonas, etc. que são considerados como os produtos neutros para não participar na hidrólise.

Para separar o sal orgânico dos produtos neutros, adicionou-se o diclorometano para dissolver a parte orgânica (produtos neutros) e a água dissolve o sal orgânico formando assim duas fases; a separação se fez com ajuda do funil de separação. Na camada aquosa, adicionou-se uma quantidade de HCl a 37% para atingir pH = 2 a fim de neutralizar a parte

básica. Utilizou-se o diclorometano para lavagem obtendo a camada orgânica (parte ácida 1) e repetiu-se a operação obtendo outra camada orgânica (parte ácida 2).

Para secar, adicionou-se o  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro em diferentes soluções a fim de eliminar a humidade, depois filtrou-se e evaporou-se o solvente.

Depois de evaporar o solvente, mediu-se as quantidades das diferentes partes recolhidas, isto é, parte neutra, partes ácidas (1 e 2) que são apresentadas na Tabela 3.10. As partes ácidas foram esterificadas com diazometano.

Tabela 3. 10: Quantidades das diferentes partes recolhidas na hidrólise de ceras da *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg.

Ceras do matéria vegetal	Parte neutra	Parte ácida 1	Parte ácida 2
Casca da parte aérea	0,5695	0,9998	0,1922
Raízes	---	---	---

### 3.2.3.2. Espectrometria de Ressonância magnética nuclear de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$

Os espetros de RMN de protão ( $^1\text{H}$ ) e de carbono 13 ( $^{13}\text{C}$ ) das amostras foram realizados num Espectrómetro Bruker® Avance 400, a 400 MHz e 100 MHz, respetivamente para hidrogénio e para carbono 13. Os desvios químicos ( $\delta$ ) são expressos em partes por milhão (ppm) e as constantes de acoplamento (J) em Hertz (Hz). Os solventes utilizados nas amostras foram o clorofórmio deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ), sendo que o pico do clorofórmio residual foi usado para acertar a escala, para o  $^1\text{H}$  RMN é a 7,26 ppm e para o  $^{13}\text{C}$  RMN é a 77,2 ppm; e água deuterada ( $\text{D}_2\text{O}$ ).

## Capítulo 4: Resultados e discussão

Neste capítulo, são apresentados e discutidos os resultados obtidos na caracterização fitoquímica dos compostos isolados dos extratos de hexano, acetona e etanol das cascas da parte aérea e raízes de *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg.

Esta seção aborda os resultados obtidos na análise dos compostos extraídos dos diferentes solventes e partes da planta, destacando a identificação e discussão dos compostos fitoquímicos presentes nos extratos de hexano, acetona e etanol das cascas da parte aérea e raízes de *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg.

### 4.1. Resultado de rendimentos das extrações

Para a análise fitoquímica da *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg., foram realizadas três extrações sólido-líquido utilizando os solventes n-hexano, acetona e etanol. Os rendimentos das extrações dos materiais vegetais estão detalhados na Tabela 4.1 e representados no Gráfico 4.1, expressos em percentagem.

Tabela 4. 1: Rendimentos dos extratos de n-hexano, acetona e etanol de cascas e raízes da *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg.

<b>Solventes</b>	<b>Material vegetal</b>	<b>Massa inicial (g)</b>	<b>Massa do extrato (g)</b>	<b>Rendimento (%)</b>
<b>n-hexano</b>	Casca da parte aérea	262,865	---	---
	Raízes	173,166	2,746	1,586
<b>Acetona</b>	Casca da parte aérea	262,865	1,892	0,720
	Raízes	173,166	3,166	1,828
<b>Etanol</b>	Casca da parte aérea	262,865	3,421	1,301
	Raízes	173,166	1,558	0,900

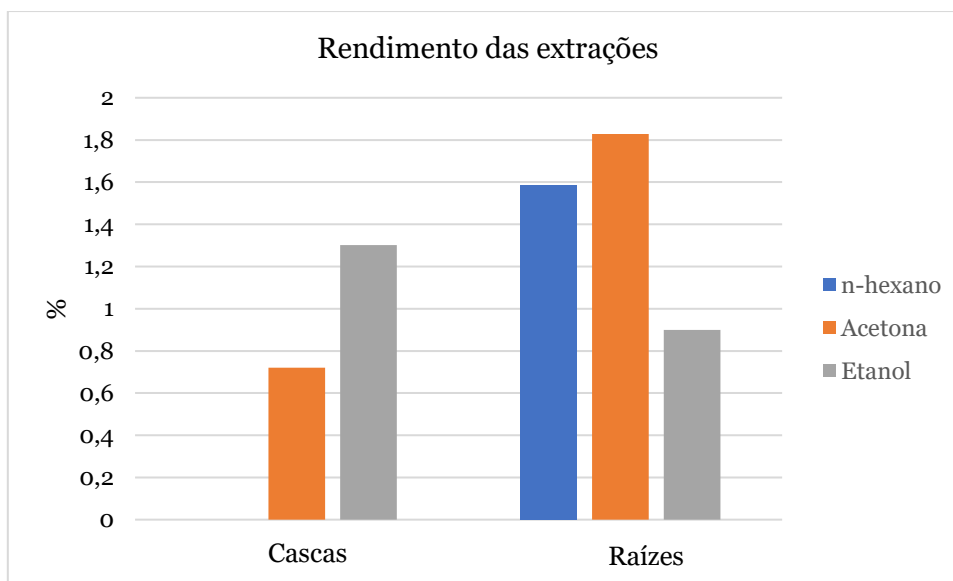


Figura 4. 1: Gráfico de rendimentos das extrações em porcentagem (%)

Os resultados mencionados na Tabela 4.1. e o Gráfico 4.1. mostram que de 262,865 g do material seco de cascas da parte aérea de *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. originou 1,892 g do extrato bruto de acetona perfazendo 0,719% de rendimento e 3,421 g de extrato bruto de etanol equivalente a 1,301% de rendimento. De 173,166g do material seco das raízes de *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. originou 2,746 g de extrato bruto de n-hexano perfazendo 1,586% de rendimento, 3,166 g de extrato bruto de acetona perfazendo 1,828% de rendimento e 1,558 g de extrato bruto de etanol equivalente a 0,900% de rendimento.

Ao comparar esses resultados, observou-se que a extração dos compostos das raízes por maceração com acetona apresentou o melhor rendimento em comparação com as outras técnicas utilizadas. No caso da casca da parte aérea, a extração por maceração com etanol mostrou um rendimento superior à extração com acetona. Por outro lado, para as raízes, a extração por maceração com etanol resultou em menor rendimento.

## 4.2. Isolamento e purificação dos extratos

Após a extração, os compostos dos extratos obtidos foram isolados e purificados utilizando cromatografia em coluna (CC) e analisados por cromatografia em camada fina (CCF), conforme descrito na seção 3.2.2. Durante esta análise, observou-se que os compostos eluíam mais rapidamente ao longo da coluna à medida que a polaridade do solvente aumentava. Em outras palavras, quanto mais polar era a mistura usada na coluna cromatográfica, mais eficiente era a separação dos compostos de interesse.

A Figura 4.2. apresenta algumas placas de CCF de frações analisadas com diferentes polaridades dos extratos dos solventes das cascas e raízes da planta estudada.

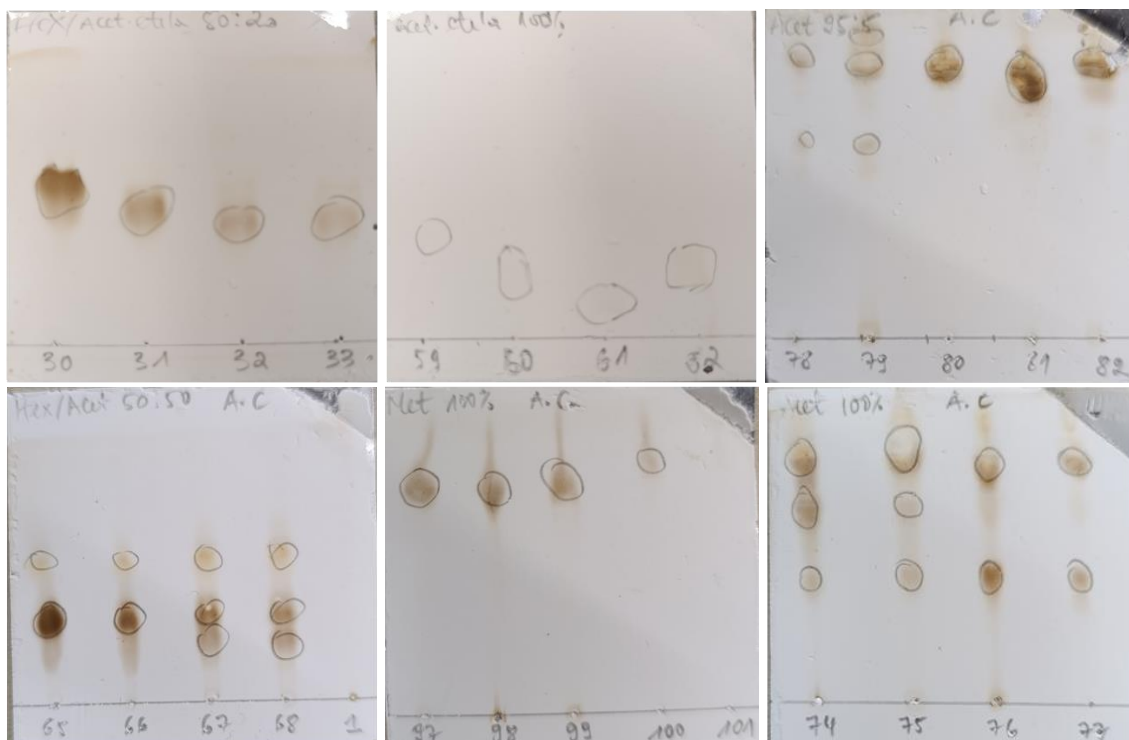


Figura 4. 2: Placas de CCF de algumas frações analisadas dos extratos obtidos

Os fracionamentos efetuados aos extratos mostraram ser eficientes uma vez que todas as massas depositadas na coluna foram recuperadas e nenhuma amostra ficou retida na sílica.

A polaridade dos solventes foi adequada para a separação dos compostos na coluna. Todas as frações foram analisadas por CCF, aquelas que apresentaram as mesmas Rf foram juntas e as outras separadamente depois de evaporação dos solventes, as massas medidas foram apresentadas nas Tabelas 3.6, 3.7, 3.8 e 3.9.

### 4.3. Análise cromatográfica das ceras por CG-EM

As ceras removidas nos extratos de n-hexano de cascas e raízes de *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. foram caracterizados por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (CG-EM).

#### 4.3.1. Identificação dos compostos químicos nas ceras das cascas

Pela análise dos espectros de massa obtidos por CG-EM foi possível a identificação dos constituintes das diferentes partes recolhidas na hidrólise de ceras desta planta.

#### 4.3.1.1. CG-EM da parte neutra

A Tabela 4.2. apresenta os resultados de CG-EM da parte neutra, tendo em conta os nomes de compostos identificados, tempos de retenção massa e a sua abundância relativa.

Tabela 4. 2: Compostos da parte neutra da cera de cascas de *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg identificados por CG-EM

Pico	Nome do composto	Tempo de retenção	Massa	Abundância relativa (%)
1	2-etil-1-hexanol	3:17	130	0,09
2	Aromadendreno	8:25	204	0,07
3	2,6-dimetoxitolueno	10:67	152	0,06
4	8-heptadeceno	10:96	238	0,00
5	11-hexadecenal	12:27	238	0,05
6	tetradecanoato de trimetilsililo	12:61	238	0,08
7	6,10,14-trimetil-2-pentadecanona	12:67	268	0,10
8	Acetato de 11-hexadecen-1-ol	12:93	282	0,12
10	2-heptadecanona	13:25	254	0,18
11	13-octadecenal	13:32	266	0,11
12	hexadecanoato de metilo	13:47	270	0,25
13	pentadecanoato de trimetilsililo	13:64	314	0,08
14	ácido hexadecanóico	13:83	256	0,11
15	oleil metil éter	13:95	282	0,69
16	9-heptadecenoato de metilo	14:35	282	0,15
17	ácido (E)-hexadec-12-enoico	14:53	326	0,09
18	ácido hexadecanoico	14:61	328	0,97
19	Acetato de 7,11-hexadecadien - 1-ilo	15:11	280	2,37

20	9-octadecenoato de metilo	15:16	296	0,16
21	2-nonadecanona	15:20	282	0,12
22	10-octadecenoato de metilo	15:30	296	0,52
23	octadecanoato de metilo	15:37	298	0,12
24	ácido 10-heptadecenoico	15:45	340	0,03
25	ácido oleico	15:51	282	0,10
26	ácido 13-octadecenóico	15:63	282	0,68
27	16-metil-heptadecanoato de isso-propilo	15:70	326	0,30
29	ácido 11-octadecenoico	16:34	354	0,10
30	ácido 10-heptadecenoico	16:48	340	0,07
31	Pentacosano	16:88	352	0,80
32	eicosanoato de metilo	17:13	326	0,18
33	13-octadecenoato de TBDMS	17:32	396	0,12
34	Hentriacontano	17:70	436	0,52
35	estearato de metiltrimetilsililo	17:74	370	0,09
36	álcool behenico	18:49	326	0,84
37	Pentacosano	18:53	352	2,70
39	docosanoato de metilo	18:81	354	0,65
41	Hexacosano	19:45	422	0,26
42	Heptacosano	20:53	380	2,37
43	tetracosanoato de metilo	20:92	382	0,38
45	octacosano	21:81	394	0,08
46	nonacosano	23:40	408	0,44
49	estigmasta-3,5-dieno	28:05	396	0,26

50	campesterol	30:67	400	0,72
51	estigmasterol	31:28	412	0,60
53	$\gamma$ -sitosterol	32:49	414	11,99
54	norolean-12-eno	33:21	396	0,36
55	$\alpha$ -amirina	34:24	426	0,17
57	24-metileno-9,19-ciclolanostan-3-ol	35:58	440	1,71

Os resultados da análise por CG-EM da parte neutra da cera das cascas de *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg, apresentados na Tabela 4.2, revelam que alguns picos (9, 28, 44, 47, 48, 52, 56, 58 e 59) não foram identificados como compostos conhecidos e, portanto, não estão listados na tabela. Além disso, os picos 38 e 40, que correspondem respectivamente ao ftalato de bis-(2-etilhexilo) (0,42%) e ao ftalato de dioctilo (58,74%), foram excluídos dos resultados de análise devido à sua classificação como impurezas.

Destaca-se que cinco compostos exibem uma abundância relativa superior a 1%, com o  $\gamma$ -sitosterol sendo o composto predominante. Dos cinco, foram excluídos dois (pentacosano e heptacosano com abundâncias respectivamente de 2,70% e 2,37%) por ser metabolitos primários. Assim, realça-se os três dos cinco compostos mais abundantes.

#### 4.3.1.1.1. Acetato de hexadeca-7,11-dien -1-ilo

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 4.2, o Acetato de hexadeca-7,11-dien -1-ilo saiu com tempo de retenção de 15,11 minutos apresentando uma abundância relativa de 2,37%. Pela análise do seu espectro de massa verifica-se o seu ião molecular aparece a  $m/z$  280, o que corresponde à fórmula molecular  $C_{18}H_{32}O_2$  (Figura 4.3).

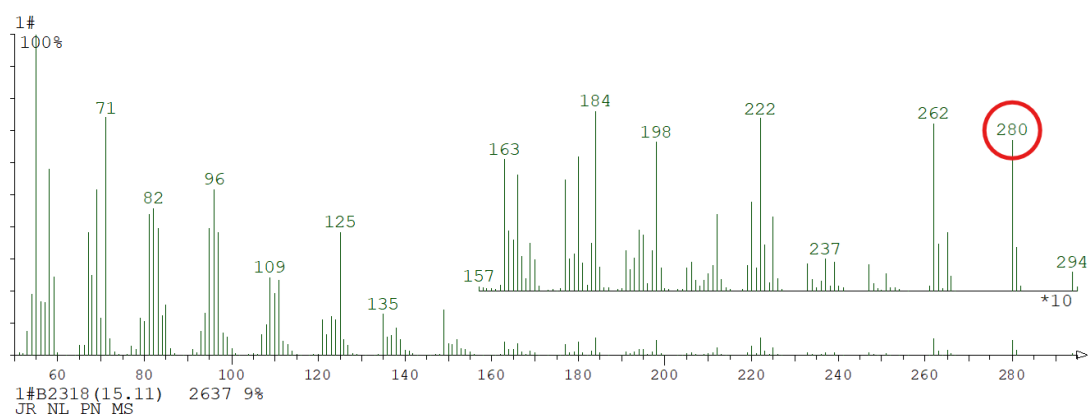


Figura 4. 3: Espectro de massa de acetato de hexadeca-7,11-dien -1-ilo de uma análise de CG-EM

A Figura 4.4 ilustra a estrutura de acetato de hexadeca-7,11-dien -1-ilo:

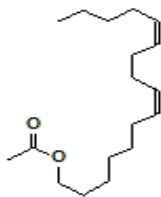


Figura 4. 4: Estrutura de acetato de hexadeca-7,11-dien -1-ilo

#### 4.3.1.1.2. $\gamma$ -sitosterol

O  $\gamma$ -sitosterol aparece com o tempo de retenção de 32,49 minutos apresentando uma abundância relativa de 11,99%. O seu ião molecular a  $m/z$  414 corresponde à sua massa molecular (Figura 4.5).

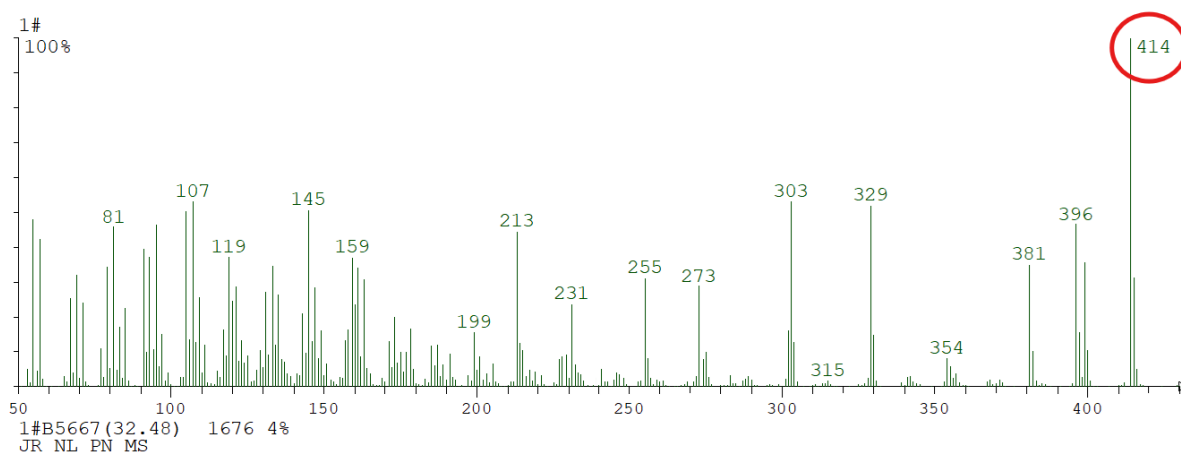


Figura 4. 5: Espectro de massa de  $\gamma$ -sitosterol de uma análise de CG-EM

De acordo com Tripathi et al. (2013), o  $\gamma$ -sitosterol é um esteroide vegetal, inicialmente identificado na planta *Girardinia heterophylla*. Essa molécula natural demonstrou eficácia na redução no tratamento do diabetes devido ao impacto na regulação do açúcar no sangue e a promoção da saúde do corpo. O  $\gamma$ -sitosterol não deve sua utilidade apenas ao tratamento do diabetes, mas também ele possui propriedades anticancerígenas, pois o  $\gamma$ -sitosterol pode alterar os níveis e as atividades dos componentes da via apoptótica extrínseca em células humanas de adenocarcinoma pulmonar e mamário, implicando potenciais aplicabilidades do composto na oncoterapia. Isso torna esta molécula um candidato extremamente promissor para a medicina moderna. Assim, a descoberta do  $\gamma$ -sitosterol apenas confirma a necessidade de explorar toda a diversidade da vida na Terra para encontrar as melhores soluções para os problemas de saúde actual (Tripathi et al., 2013). A Figura 4.6 ilustra a estrutura de  $\gamma$ -sitosterol:

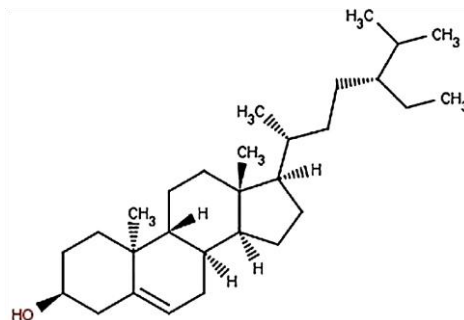


Figura 4. 6: Estrutura de  $\gamma$ -sitosterol

#### 4.3.1.1.3. 24-metileno-9,19-ciclolanostan-3-ol

O 24-metileno-9,19-ciclolanostan-3-ol foi identificado aos 35,58 minutos apresentando uma abundância relativa de 1,71%. Ele possui um íão molecular a  $m/z$  440, o que sugere tratar-se do composto ilustrado na Figura 4.7.

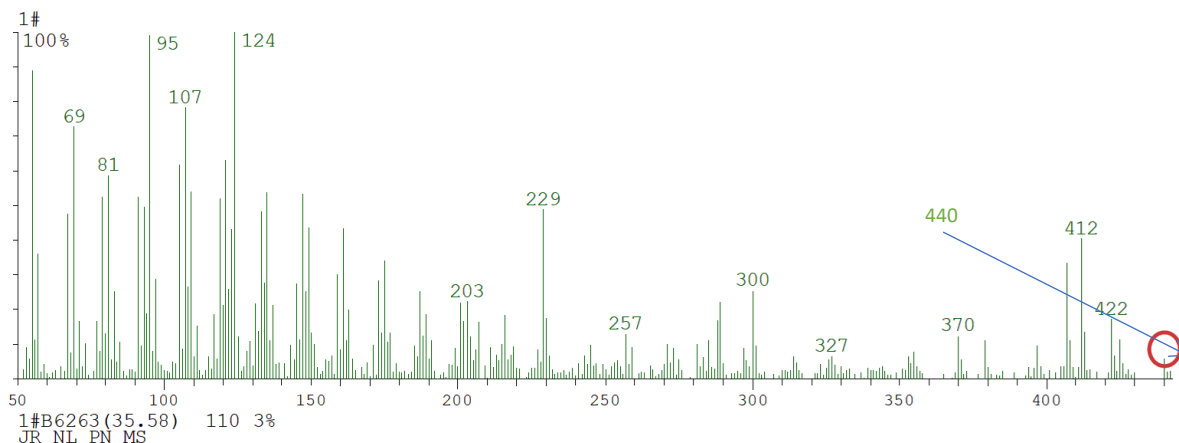


Figura 4. 7: Espectro de massa de 24-metileno-9,19-ciclolanostan-3-ol de uma análise de CG-EM

Segundo Sari et al. (2020), o 24-metileno-9,19-ciclolanostan-3-ol é um triterpenoide, uma subclasse de terpenoides, que possui actividade antimicrobiana. Esse composto, além disso, foi descoberto como uma escolha alternativa eficaz para o tratamento de hipercolesterolemia e pode agir como um anti-HIV sendo utilizado para prevenir infecções pelo vírus HIV (Sari et al., 2020). A Figura 4.8 ilustra a estrutura de 24-metileno-9,19-ciclolanostan-3-ol:

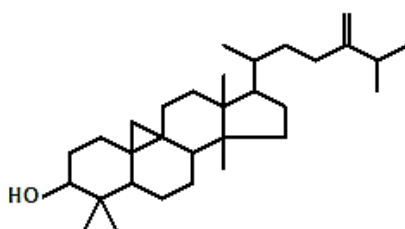


Figura 4. 8: Estrutura de 24-metileno-9,19-ciclolanostan-3-ol

#### 4.3.1.2. CG-EM da parte ácida 1

A Tabela 4.3. apresenta os resultados de CG-EM da parte ácida 1 esterificada com diazometano, tendo em conta os nomes de compostos identificados, tempos de retenção massa e a sua abundância relativa.

Tabela 4. 3: Compostos da parte ácida 1 da cera de cascas de *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg identificados por CG-EM

Pico	Nome do composto	Tempo de retenção	Massa	Abundância relativa
1	1-(2-hidroxi-4-metoxifenil)-etanona	3:43	166	0,06
2	maleato de 1-etilo bis-(trimetilsililo)	4:07	306	0,11
3	2,6-trimetilsililoxiacetofenona	4:23	296	0,15
4	1-fenoxipropan-2-ol	5:60	152	0,11
5	fenoxietanol	7:08	210	0,06
6	trimetil-(1-metil-2-fenoxietoxi)-silano	7:20	254	0,07
7	octanoato de metiltrimetilxililo	7:63	230	0,02
8	octanodioato de dimetilo	8:06	202	0,03
9	6-acetil-8-hidroxichromano	8:18	192	0,06
10	Veratraldeído	8:56	166	0,10
11	nonanoato de metiltrimetilsililo	8:86	244	0,03
12	9-oxodecanoato de metilo	8:99	200	0,04
13	dodecanoato de metilo	9:03	241	0,07
14	nonanodioato de dimetilo	9:31	216	0,15
15	3,4-dimetoxibenzoato de metilo	9:90	196	0,06
16	dodecanodioato de dimetilo	10:50	230	0,03
17	3-(4-metoxifenil)-2-propenoato de metilo	10:91	192	0,13

19	tetradecanoato de metilo	11:35	242	0,26
21	undecanodioato de dimetilo	11:62	244	0,05
23	1,6-dimetoxicinnamato de metilo	12:00	222	0,05
24	laurato de metil(trimetilsililo)	12:23	286	0,07
25	10-pentadecenoato de metilo	12:27	254	0,14
26	pentadecanoato de metilo	12:43	256	0,14
28	12-metiltridecanoato de metilo	12:63	242	0,03
29	dodecanodioato de dimetilo	12:69	258	0,21
30	3,4-dimetoxicinnamato de metilo	13:11	222	1,66
31	7-hexadecenoato de metilo	13:23	268	0,06
32	9-hexadecenoato de metilo	13:26	268	0,06
33	11-hexadecenal	13:31	238	0,03
34	9-hexadecenoato de metilo	13:36	268	0,23
35	hexadecanoato de metilo	13:46	270	2,72
36	tridecanodioato de dimetilo	13:71	272	0,25
37	miristato de metiltrimetilsililo	14:23	314	0,21
38	8-heptadecenoato de metilo	14:26	282	0,06
39	10-heptadecenoato de metilo	14:35	282	0,89
40	heptadecanoato de metilo	14:44	284	0,16
41	palmitelaidato de trimetilsililo	14:66	326	0,10
42	9,12-octadecadienoato de metilo	15:10	294	0,71
43	9-octadecenoato de metilo	15:16	296	1,51
44	11-octadecenoato de metilo	15:20	296	0,25

45	13-octadecenoato de metilo	15:31	296	5,39
46	estearato de metilo, ou octadecanoato de metilo	15:37	298	1,23
47	10-heptadecenoato de trimetilsililo	15:47	340	0,06
49	NI (*)	15:91	294	1,05
50	hexadecenoato de metiltrimetilsililo	15:99	340	0,17
51	palmitato de metiltrimetilsililo	16:06	342	1,45
52	16-hidroxi-hexadecanoato de metilo	16:14	286	0,36
54	13-octadecenoato de trimetilsililo	16:34	354	0,21
55	hexadecanodioato de dimetilo	16:50	354	0,41
57	16-(trimetilsililoxi)-hexadecanoato de metilo	16:74	358	0,36
58	11-octadecenoato de trimetilsililo	16:85	354	0,91
63	eicosanoato de metilo	17:13	326	1,69
64	Mistura	17:20	294 + 366	0,16
67	octadecenoato de metiltrimetilsililo	17:55	368	0,78
69	octadecenoato de metiltrimetilsililo	17:70	368	2,89
71	13-metileicosanoato de metilo	17:95	340	0,40
73	18-(trimetilsililoxi)-9-octadecenoato	18:14	384	0,20
74	octadecanodioato de dimetilo	18:18	342	0,14
75	1-tetracosanol	18:49	354	0,22

76	pentacosano	18:52	352	0,61
77	heptadecan-1,2-bis-(trimetilsililoxi)	18:58	416	0,19
79	13-docosenoato de metilo	18:75	352	0,20
80	docosanoato de metilo	18:81	354	4,86
82	2-dodecenodioato de bis-(TBDMS)	19:34	456	0,61
84	eicosanoato de metiltrimetilsililo	19:49	398	1,03
85	tricosanoato de metilo	19:77	368	0,51
86	eicosan-1,20-dioato de dimetilo	20:08	370	0,30
87	mistura	20:30	424 + 456	0,33
88	heptacosano	20:52	380	0,99
90	tetracosanoato de metilo	20:92	382	3,58
91	tetracosanol o-trimetilsililo	21:12	426	0,18
92	11-docosenoato de metilo	21:30	352	0,25
93	ácido docosanoico	21:89	426	2,78
94	mistura	22:26	396	1,08
95	docosanodioato de dimetilo	22:78	398	0,36
96	22-(trimetilsililoxi)-docosanoato de metilo	23:05	442	0,67
97	Octacosanol	23:40	410	0,90
100	hexacosanoato de metilo	24:00	410	1,73
101	1-(trimetilsililoxi)hexacosano	24:24	454	0,26
102	NI (*)	25:44	454	1,82
103	21-metil-hexacosanoato de metilo	26:08	424	0,63

105	mistura	27:87	424 + 480	0,30
107	octacosanoato de metilo	28:65	438	1,56
108	1-(trimetilsililoxi)octacosano	28:90	482	0,78
111	metil triacontil éter	30:55	452	0,52
113	3 $\beta$ -metoxi-estigmast-5-eno	31:28	428	0,11
114	1-triacontanol	32:04	438	2,68
115	estigmast-5-en-3 $\beta$ -ol	32:45	414	0,49
116	triacontanoato de metilo	32:64	466	1,21
117	NI (*)	32:81	494	1,23
119	3 $\beta$ -(trimetilsililoxi)-estigmast-5-eno	33:16	486	0,14

(\*) Composto não identificado na análise por CG-EM.

Os resultados da análise por CG-EM da parte ácida 1 da cera das cascas de *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg, apresentados na Tabela 4.3, revelam que alguns picos (18, 20, 22, 27, 48, 49, 53, 56, 59, 60, 61, 62, 65, 66, 68, 70, 72, 83, 89, 98, 104, 106, 109, 110, 112, 118, 120, 121 e 122) não foram identificados como compostos conhecidos e, por consequência, não estão listados na tabela, excepto os compostos não identificados dos picos 49 e 117 que figuram na tabela por ter uma abundância relativa superior a 1%. Além disso, os picos 78, 81 e 102, que correspondem respectivamente ao ftalato de bis-(2-etilhexilo) (0,36%) e ao ftalato de dioctilo (18,07%), foram excluídos da análise devido à sua classificação como impurezas. Notou-se também a presença de misturas nos picos 64, 87, 94 e 105.

Dos compostos com uma abundância relativa superior a 1%, destaca-se os seguintes metabolitos secundários:

#### 4.3.1.2.1. 3,4-dimetoxicinnamato de metilo

O 3,4-dimetoxicinnamato de metilo foi o composto identificado aos 13,11 minutos apresentando uma abundância relativa de 1,66%, um ião molecular com m/z 222, como apresenta a Figura 4.9.

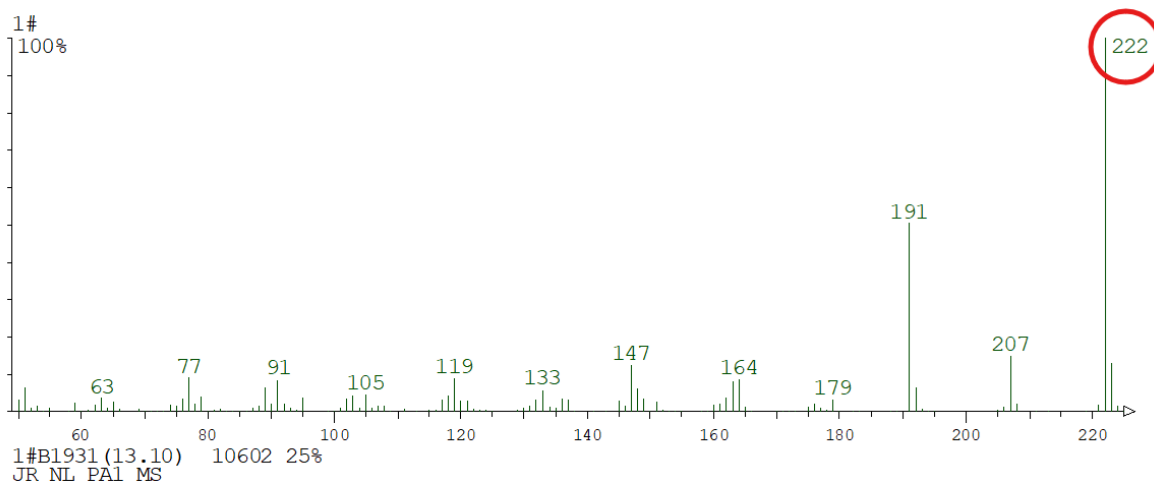


Figura 4. 9: Espectro de massa de 3,4-dimetoxicinamato de metilo de uma análise de CG-EM

A Figura 4. 10 ilustra a estrutura de 3,4-dimetoxicinamato de metilo de acordo com os dados acima referidos:

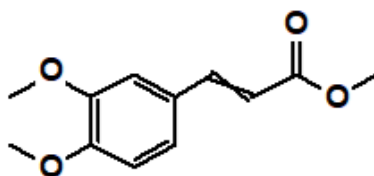


Figura 4. 10: Estrutura de 3,4-dimetoxicinnamato de metilo

Esta análise por CG-EM identificou o composto 3,4-dimetoxicinamato de metilo, que é um éster metílico do ácido 3,4-dimetoxicinâmico obtido a partir da reação de metilação da cera da planta em estudo. Na verdade, o composto presente na fração ácida 1 da cera desta planta é o ácido 3,4-dimetoxicinâmico, cuja estrutura ilustrada na Figura 4.11:

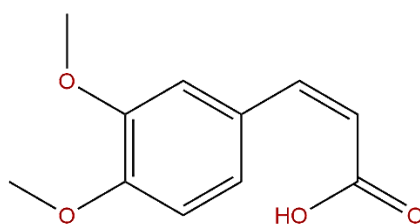


Figura 4. 11: Estrutura de ácido 3,4-dimetoxicinâmico

O ácido 3,4-dimetoxicinâmico, também conhecido como ácido dimetoxiferúlico, é um ácido fenólico amplamente distribuído no reino vegetal. Ele apresenta várias actividades biológicas significativas. Como antioxidante, o ácido 3,4-dimetoxicinâmico actua como um agente sequestrador de radicais livres. Este composto possui também actividade anti-inflamatória, sendo capaz de reduzir o edema eduzido por carragenina em ratos, com uma eficácia comparável a de anti-inflamatórios não esteroides. Ele apresenta uma actividade hipolipemiante, mostrando uma redução significativa nos índices lipídicos, diminuindo os

níveis de triglicérides e colesterol total. Enfim, a sua combinação com complexos de cobre (II) tem sido estudada por possuir actividades bactericidas e fungicidas, mostrando potencial em aplicações antimicrobianas (Theodosis-Nobelos et al., 2023; Zoroddu & Berardi, 1989).

#### 4.3.1.2.2. Palmitato de metiltrimetilsililo

O Palmitato de metiltrimetilsililo foi identificado aos 16,6 minutos de tempo de retenção, com uma abundância relativa de 1,45%. O seu íão molecular a m/z 342 corresponde à sua massa molecular (Figura 4.12).

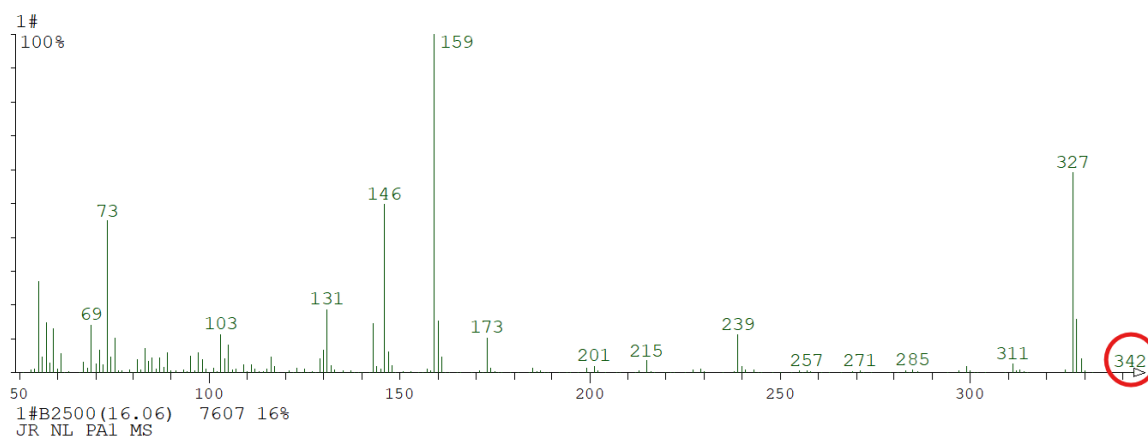


Figura 4. 12: Espectro de massa de Palmitato de metiltrimetilsililo de uma análise de CG-EM

A Figura 4. 13 ilustra a estrutura de Palmitato de metiltrimetilsililo de acordo com os dados acima mencionados:

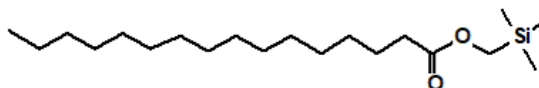


Figura 4. 13: Estrutura de Palmitato de metiltrimetilsililo

O composto Palmitato de metiltrimetilsililo identificado nesta análise, é um éster metílico do ácido palmitoléico obtido a partir da reação de metilação da cera da planta em estudo. De facto, o composto presente na fração ácida 1 da cera desta planta é o ácido palmitoléico, cuja estrutura ilustrada na Figura 4.14.

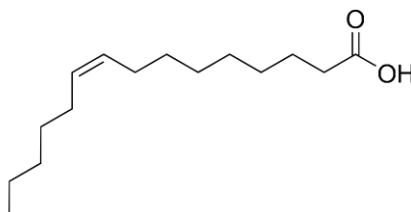


Figura 4. 14: Estrutura de ácido palmitoléico

O ácido palmitoléico é um suplemento de saúde popular de ácidos gordos monoinsaturados ômega 7, utilizado principalmente para reduzir a inflamação, bem como para a prevenção da diabetes, obesidade, câncer e de doenças cardiovasculares. É também amplamente utilizado como agente antitrombótico para a prevenção de acidentes vasculares cerebrais no domínio farmacêutico. Devido à sua capacidade de inibir a melanogênese, é habitualmente utilizado em produtos de limpeza da pele e pode servir como um agente eficaz de clareamento da pele. Ele apresenta também (Frigolet & Gutiérrez-Aguilar, 2017; Hu et al., 2019).

#### 4.3.1.2.3. Eicosanoato de metilo

O eicosanoato de metilo saiu com tempo de retenção de 17,13 minutos apresentando uma abundância relativa de 1,69% com seu íon molecular que aparece a m/z 326, o que corresponde à fórmula molecular  $C_{21}H_{42}O_2$ , como ilustra a Figura 4.15.

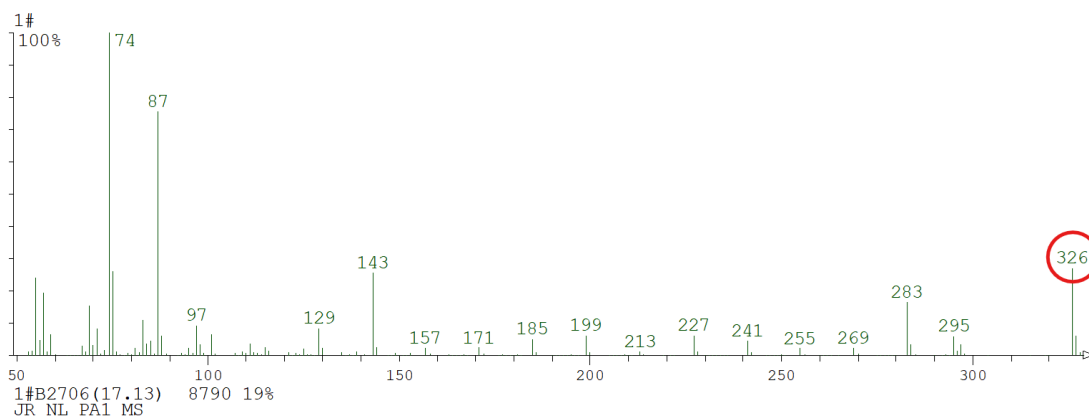


Figura 4. 15: Espectro de massa de Eicosanoato de metilo de uma análise de CG-EM

A Figura 4. 14 ilustra a estrutura de Eicosanoato de metilo de acordo com os dados acima mencionados:

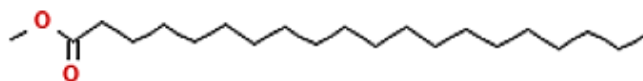


Figura 4. 16: Estrutura de Eicosanoato de metilo

O Eicosanoato de metilo identificado nesta análise é o éster metílico do ácido eicosanóico (ácido araquídico), formado pela metilação da cera extraída da planta em estudo. Na realidade, o composto presente na fração ácida 1 da cera desta planta é o próprio ácido araquídico (Figura 4.17).

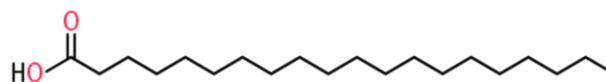


Figura 4. 17: Estrutura de ácido araquídico

O ácido araquídico é um ácido gordo saturado de cadeia longa com uma espinha dorsal de 20 carbonos (ácido eicosanóico), geralmente formado a partir da hidrogenação do ácido araquidônico (AA) plasmático no organismo. Alguns estudos anteriores realizados apresentam um papel neuroprotector do ácido araquídico na perturbação do espectro do autismo (PEA). O estudo constatou a diminuição dos níveis de ceruloplasmina, transferrina e superóxido dismutase, que têm propriedades neuroprotectoras. A diminuição dos níveis plasmáticos de AA e ceruloplasmina contribui para a fisiopatologia da PEA. Assim, salienta-se a importância do AA ou do ácido araquídico na neuroprotecção da PEA. Além disso, tratamentos como o Aramchol, que envolve o ácido araquídico, mostraram benefícios na redução da gordura hepática (Pan et al., 2021; Sandhir et al., 2021).

#### 4.3.1.2.4. Tetracosanoato de metilo

O Tetracosanoato de metilo aparece com o tempo de retenção de 20,92 minutos apresentando uma abundância relativa de 3,58%. O seu ião molecular a  $m/z$  382 corresponde a massa molecular do composto (Figura 4.18).

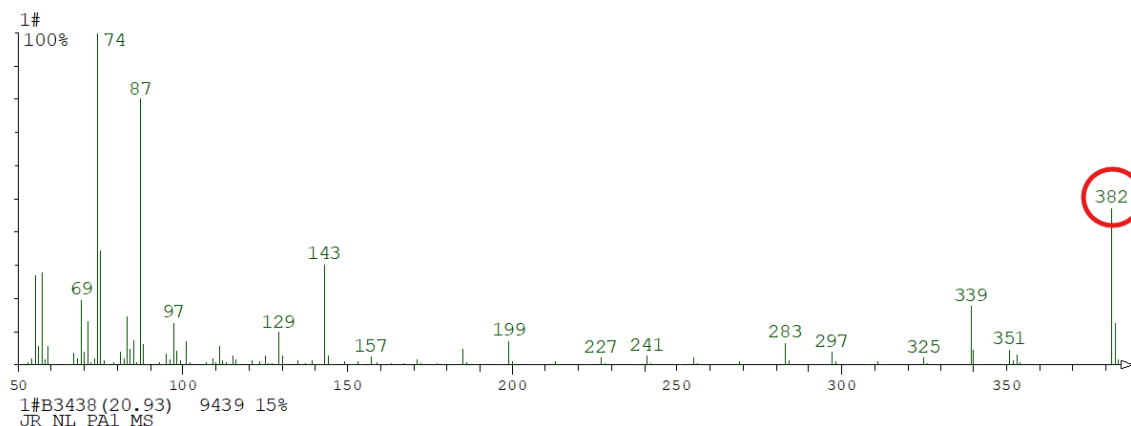


Figura 4. 18: Espectro de massa de Tetracosanoato de metilo de uma análise de CG-EM

A Figura 4. 16 ilustra a estrutura de Tetracosanoato de metilo de acordo com os dados acima mencionados:



Figura 4. 19: Estrutura de Tetracosanoato de metilo

O composto Tetracosanoato de metilo identificado nesta análise, é um éster metílico do ácido tetracosanóico, também conhecido como ácido lignocérico obtido a partir da reação de metilação da cera da planta em estudo. Na verdade, o composto presente na fração ácida 1 da cera desta planta é o ácido lignocérico, cuja estrutura foi ilustrada na Figura 4.20.

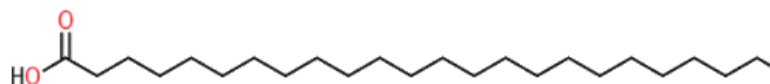


Figura 4. 20: Estrutura de ácido lignocérico

O ácido lignocérico (ácido tetracosanoico, C<sub>24</sub>:0) é um ácido gordo saturado que ocorre como componente de lípidos derivados de plantas. Foi identificado em *P. tremuloides*, e pode ser facilmente reduzido a álcool lignocerílico. As suas actividades biológicas são pouco exploradas (Devappa et al., 2015).

#### 4.3.1.2.5. Hexacosanoato de metilo

O Hexacosanoato de metilo saiu ao tempo de retenção de 24,00 minutos apresentando uma abundância relativa de 1,73%. Pela análise do seu espectro de massa observou-se que o seu íon molecular apareceu a m/z a 410, o que corresponde à sua massa molecular, como apresenta a Figura 4.21.

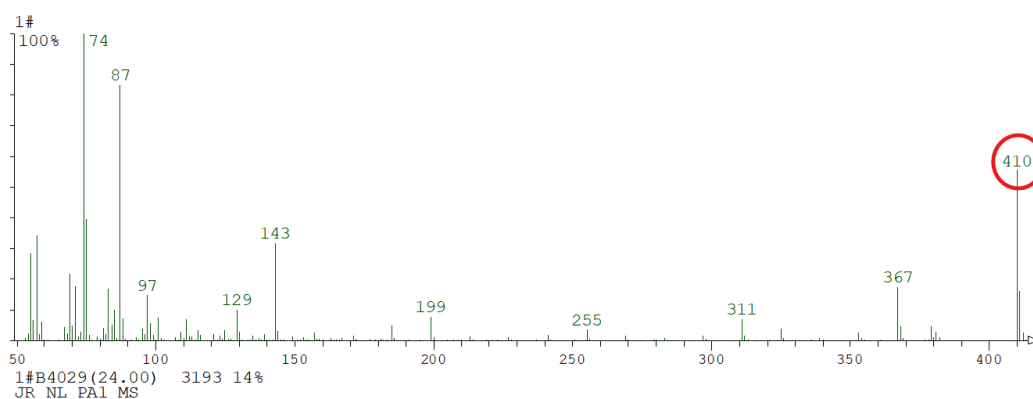


Figura 4. 21: Espectro de massa de Hexacosanoato de metilo de uma análise de CG-EM

A Figura 4. 22 ilustra a estrutura de Hexacosanoato de metilo de acordo com os dados acima referidos:

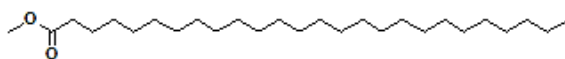


Figura 4. 22: Estrutura de Hexacosanoato de metilo

O composto Hexacosanoato de metilo identificado nesta análise, é um éster metílico do ácido hexacosanoico, também conhecido como ácido cerótico obtido a partir da reação de metilação da cera da planta em estudo. Realmente, o composto presente na fração ácida 1 da cera desta planta é o ácido cerótico (Figura 4.23).

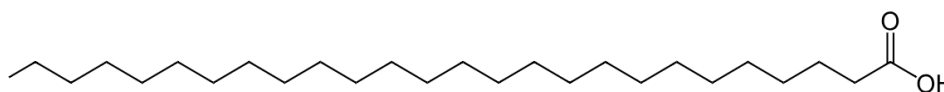


Figura 4. 23: Estrutura de ácido cerótico

Segundo Mika et al. (2017), o ácido cerótico pode ser considerado como um forte candidato a marcador metabólico específico para o aumento da incidência de câncer colorretal (CRC), apesar da limitação do pequeno tamanho da amostra no estudo (Mika et al., 2017).

#### 4.3.1.2.6. Octacosanoato de metilo

O Octacosanoato de metilo de metilo foi o composto identificado aos 28,65 minutos de tempo de retenção apresentando uma abundância relativa de 1,56%, com um íon molecular a  $m/z$  438 que corresponde a sua massa molecular (Figura 4.24).

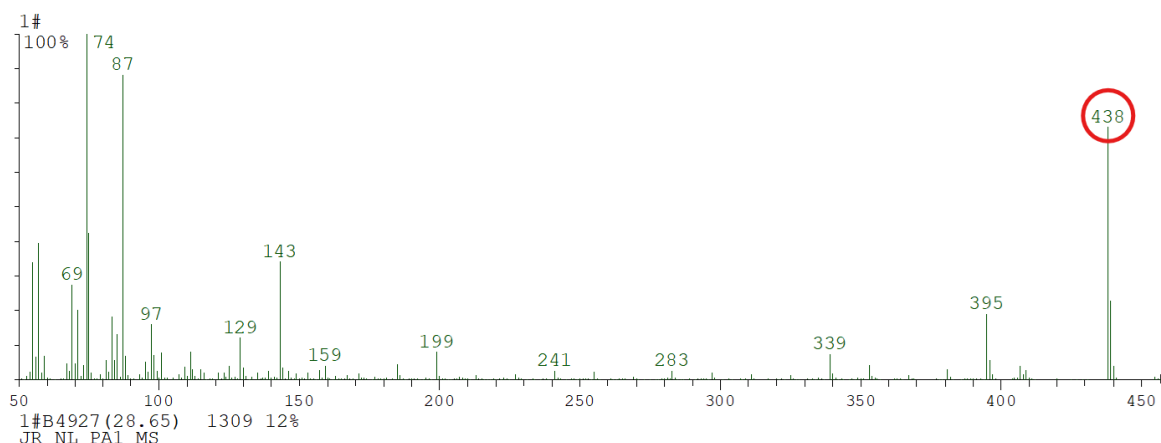


Figura 4. 24: Espectro de massa de Octacosanoato de metilo de uma análise de CG-EM

A Figura 4. 25 ilustra a estrutura de Hexacosanoato de metilo de acordo com os dados acima referidos:

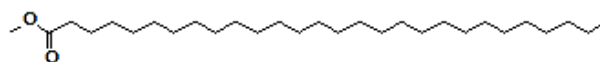


Figura 4. 25: Estrutura de Octacosanoato de metilo

O Octacosanoato de metilo identificado nesta análise, é um éster metílico do ácido octacosanóico, também conhecido como ácido montânico obtido a partir da reação de metilação da cera da planta em estudo. Realmente, o composto presente na fração ácida 1 da cera desta planta é o ácido montânico (Figura 4.26).

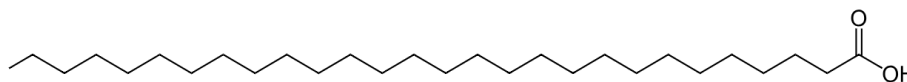


Figura 4. 26: Estrutura de ácido montânico

#### 4.3.1.2.7. 1-triacontanol

O composto 1-triacontanol foi identificado aos 32,04 minutos de tempo de retenção apresentando uma abundância relativa de 2,68%, com um íon molecular a  $m/z$  438 que corresponde à sua massa molecular, como apresenta a Figura 4.27.

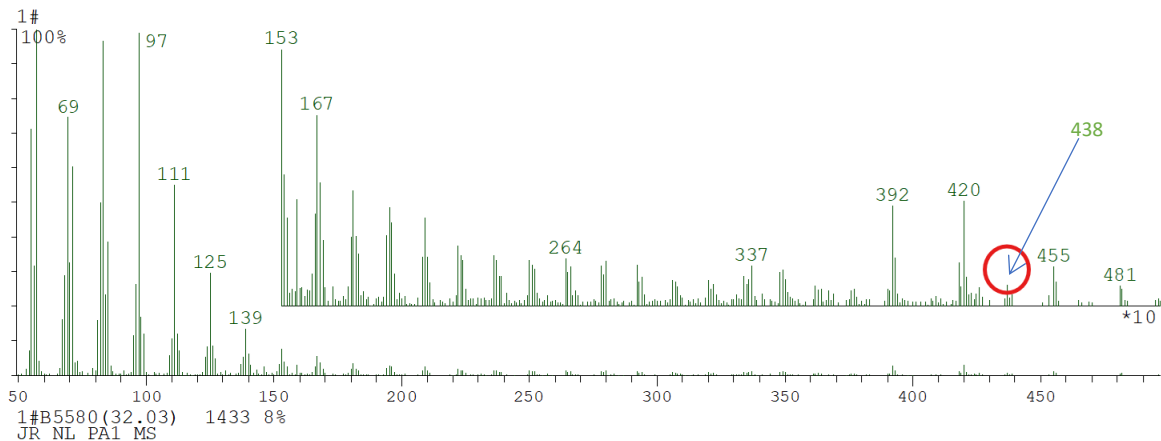


Figura 4. 27: Espectro de massa de 1-triacontanol de uma análise de CG-EM

A Figura 4. 28 ilustra a estrutura de 1-triacontanol conforme os dados acima referidos:



Figura 4. 28: Estrutura de 1-triacontanol

O 1-triacontanol (ou simplesmente triacontanol) é considerado como uma substância secundária de crescimento vegetal e é uma fitohormona não convencional. É um álcool gordo alifático que se encontra naturalmente em plantas como a alfafa, cana-de-açúcar, chá verde, rícino, etc. Ele melhora o crescimento pelo seu efeito na fotossíntese, no metabolismo das plantas e pode aumentar o crescimento das raízes, dos rebentos e da produção de flores. Também possui actividade anti-inflamatória, anti-úlceras e antitumoral (Sontakke et al., 2018).

#### 4.3.1.2.8. Triacontanoato de metilo

O Triacontanoato de metilo apareceu aos 32,64 minutos de tempo de retenção com uma abundância relativa de 1,21%. O seu ião molecular a m/z 466 corresponde a sua massa molecular, como apresenta a Figura 4.29.

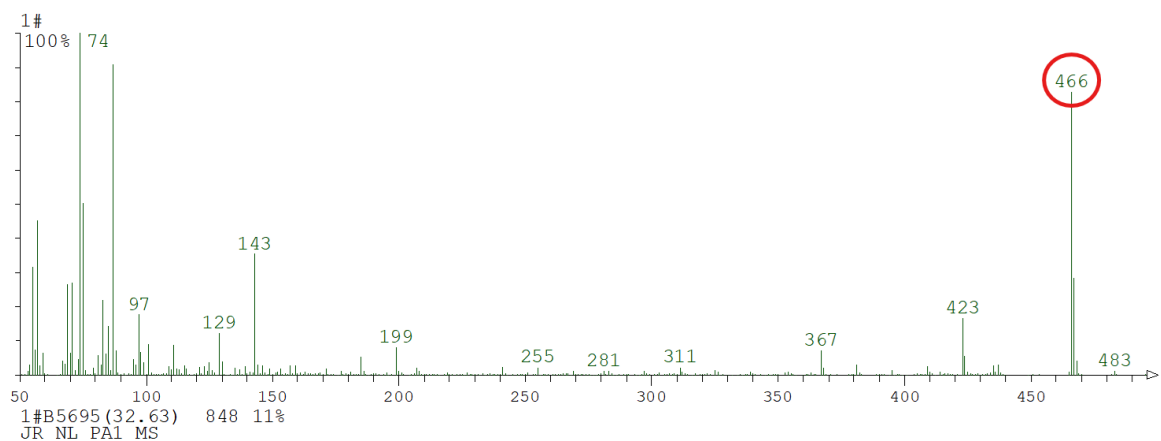


Figura 4. 29: Espectro de massa de Triacontanoato de metilo de uma análise de CG-EM

A Figura 4. 30 ilustra a estrutura de triacontanoato de metilo conforme os dados acima referidos:

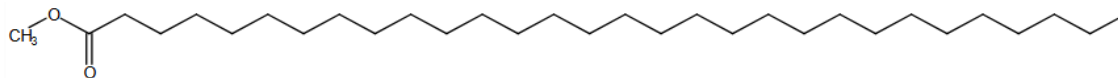


Figura 4. 30: Estrutura de Triacontanoato de metilo

O Triacontanoato de metilo identificado nesta análise, é um éster metílico do ácido triacontanóico, também conhecido como ácido melíssico obtido a partir da reação de metilação da cera da planta em estudo. Na verdade, o composto presente na fração ácida 1 da cera desta planta é o ácido melíssico (Figura 4.31).

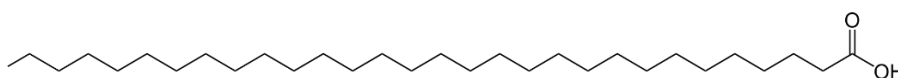


Figura 4. 31: Estrutura de ácido melíssico

#### 4.3.1.3. CG-EM da parte ácida 2

A Tabela 4.4 apresenta os resultados da análise por CG-EM da parte ácida 2 esterificada com diazometano, incluindo os nomes dos compostos identificados, os tempos de retenção e a sua abundância relativa.

Tabela 4. 4: Compostos da parte ácida 2 da cera de cascas da parte aérea de *Alchornea cordifolia* (Schumacher & Thonn.) Müll. Arg identificados por CG-EM

Pico	Nome do composto	Tempo de retenção	Massa	Abundância relativa (%)
1	1,4-ditrimetilsiloxi-2-buteno	5:06	232	0,21
2	1-fenoxipropan-2-ol	5:61	152	0,15
3	3,3-dimetilbenzo[D,E]-isocoumarina	6:65	212	0,001
4	5-metil-2,4-diisopropilfenol	8:18	192	0,001
5	nonanodioato de dimetilo	9:32	216	0,23
6	4-metoxicinnamato de metilo	10:93	192	0,001
8	tetradecanoato de metilo	11:36	242	0,13

10	dodecanoato de metil(trimetilsililo)	12:49	298	0,23
11	4-hidroxi-3-metoxicinnamato de metilo	12:72	208	0,87
12	2,5-dimetoxicinnamato de metilo	13:11	222	1,21
13	hexadecanoato de metilo	13:46	270	0,57
14	tridecanodioato de dimetilo	13:71	272	0,25
15	10-heptadecenoato de metilo	14:35	282	0,21
16	8,11-octadecadienoato de metilo	15:10	294	0,26
17	9-octadecenoato de metilo	15:15	296	0,45
18	11-octadecenoato de metilo	15:29	296	1,43
19	estearato de metilo ou octadecanoato de metilo	15:37	298	0,32
22	palmitato de metil(trimetilsililo)	16:06	342	0,31
23	11-octadecenoato de trimetilsililo	16:35	354	0,22
24	hexadecandioato de dimetilo	16:50	314	0,37
25	eicosanoato de metilo	17:12	326	0,59
26	octadecenoato de metil(trimetilsililo)	17:55	368	0,19
27	octadecenoato de metil(trimetilsililo)	17:69	368	0,70
28	estearato de metil(trimetilsililo)	17:74	370	0,18

29	nonacosano	18:51	408	0,19
31	docosanoato de metilo	18:80	354	2,81
33	eicosanoato de metil(trimetilsililo)	19:49	398	0,40
34	tricosanoato de metilo	19:76	368	0,19
35	triacontano	20:52	422	0,45
36	tetracosanoato de metilo	20:91	382	2,55
37	docosanoato de metil(trimetilsililo)	21:88	426	1,53
38	pentacosanoato de metilo	22:28	396	0,49
39	docosanodioato de dimetilo	22:78	398	0,34
40	hexacosanoato de metilo	23:99	410	1,66
41	tricosanoato de metil(trimetilsililo)	25:43	454	1,48
43	octacosanol	27:85	410	2,50
44	octacosanoato de metilo	28:63	438	1,65
47	1-triacontanol	32:01	438	3,39
48	triacontanoato de metilo	32:62	466	1,34

Os resultados da análise por CG-EM da parte ácida 2 da cera das cascas da parte aérea de *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg, apresentados na Tabela 4.4, revelam que alguns picos (7, 9, 20, 21, 42, 45, 46, 49 e 50) correspondem a compostos não identificados e, portanto, não estão listados na tabela. Adicionalmente, os picos 30 e 32, que representam o ftalato de bis(octilo) (0,23%) e o ftalato de bis-(2-etilhexilo) (60,51%), foram excluídos da análise por serem considerados impurezas.

Destaca-se que nove metabolitos secundários cujas abundâncias relativas são superiores a 1%, sendo o 1-triacontanol o composto predominante. Os compostos como tetracosanoato de metilo, hexacosanoato de metilo, octacosanoato de metilo, 1-triacontanol e triacontanoato de metilo não foram desenvolvidos por ser já apresentados e abordados no ponto anterior. Aqui, apresenta-se os seguintes compostos:

#### 4.3.1.3.1. 2,5-dimetoxicinnamato de metilo

O 2,5-dimetoxicinnamato de metilo foi identificado aos 13,11 minutos de tempo de retenção com uma abundância relativa de 1,21%. O seu ião molecular a  $m/z$  222 equivale a sua massa molecular e sua estrutura molecular (Figura 4.32).

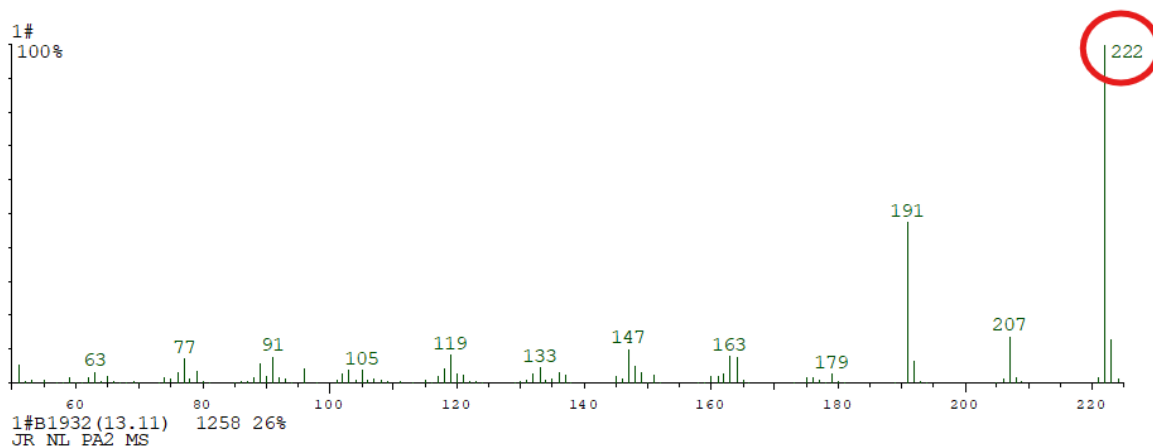


Figura 4. 32: Espectro de massa de 2,5-dimetoxicinnamato de metilo de uma análise de CG-EM

A Figura 4.33 ilustra a estrutura de 2,5-dimetoxicinnamato de metilo conforme aos dados acima mencionados:

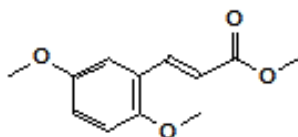


Figura 4. 33: Estrutura de 2,5-dimetoxicinnamato de metilo

O composto 2,5-dimetoxicinnamato de metilo identificado nesta análise, é um éster metílico do ácido 2,5-dimetoxicinâmico, também conhecido como ácido 2,5-dimetoxi-3-fenilpropiónico (DMPA) obtido a partir da reação de metilação da cera da planta em estudo. Na realidade, o composto presente na fração ácida 1 da cera desta planta é o ácido 2,5-dimetoxicinâmico, cuja estrutura foi ilustrada na Figura 4.34.

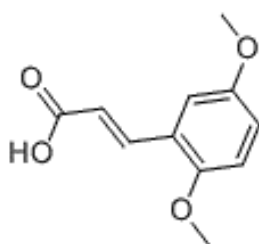


Figura 4. 34: Estrutura de ácido 2,5-dimetoxicinâmico

#### 4.3.1.3.2. 11-octadecenoato de metilo

O 11-octadecenoato de metilo apareceu ao tempo de retenção de 15,29 minutos com uma abundância relativa de 1,43% e um íon molecular a  $m/z$  296 que corresponde à sua massa molecular, como apresenta o seu espectro de massa na Figura 4.35.

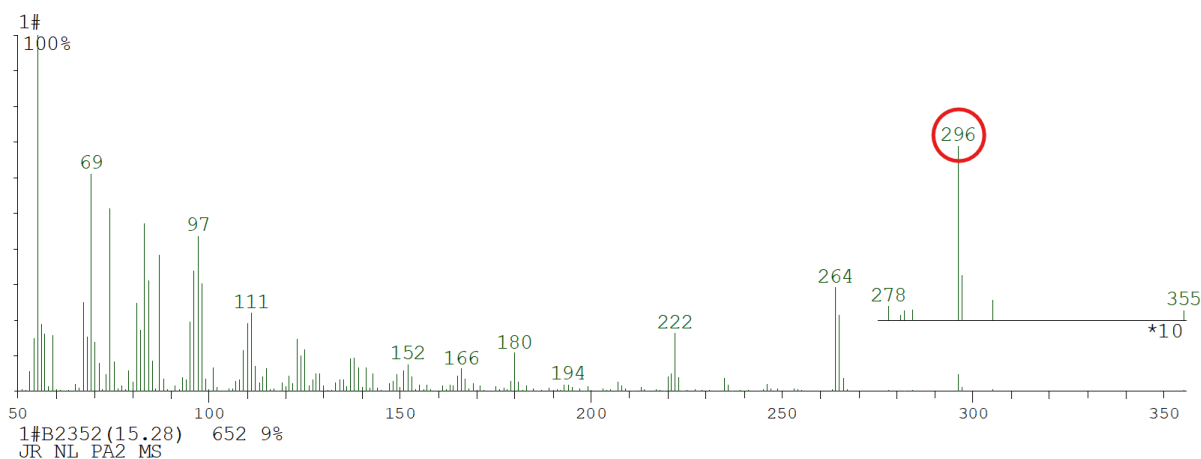


Figura 4. 35: Espectro de massa de 11-octadecenoato de metilo de uma análise de CG-EM

A Figura 4.36 ilustra a estrutura de 11-octadecenoato de metilo conforme aos dados acima referidos:

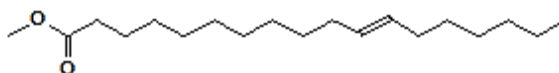


Figura 4. 36: Estrutura de 11-octadecenoato de metilo

O composto 11-octadecenoato de metilo identificado nesta análise, é um éster metílico do ácido 11-octadecenoico, também conhecido como ácido vaccênico obtido a partir da reação de metilação da cera da planta em estudo. Com efeito, o composto presente na fração ácida 1 da cera desta planta é o ácido vaccênico.

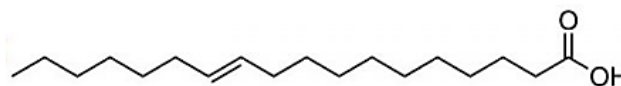


Figura 4. 37: Estrutura de ácido vaccênico

#### 4.3.1.3.3. Tricosanoato de metil(trimetilsililo)

O Tricosanoato de metil(trimetilsililo) saiu com tempo de retenção de 25,43 minutos apresentando uma abundância relativa de 1,48%. Pela análise do seu espectro de massa, observa-se o seu íon molecular que aparece a  $m/z$  454, o que corresponde à sua massa molecular, como apresenta a Figura 4.38.

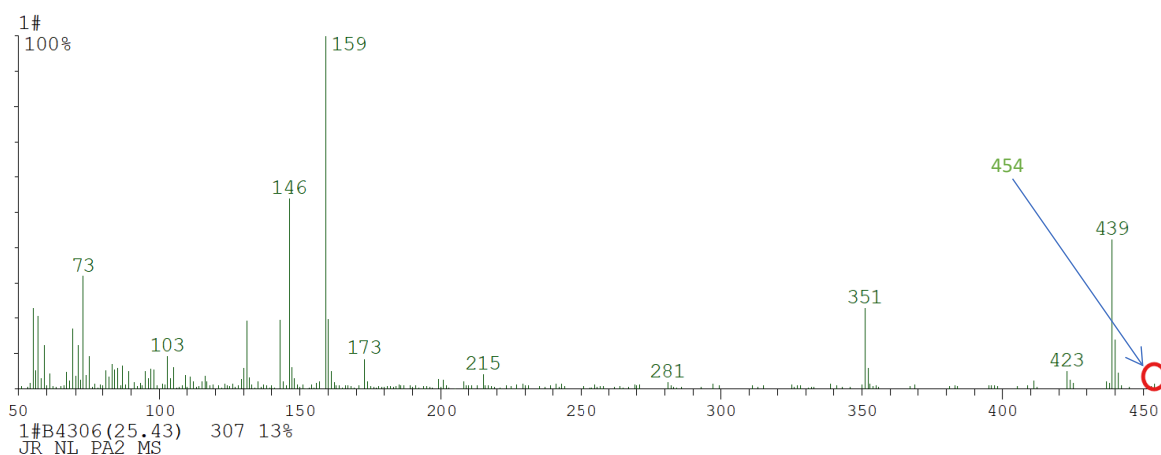


Figura 4. 38: Espectro de massa de tricosanoato de metil(trimetilsililo) de uma análise de CG-EM

A Figura 4.39 ilustra a estrutura de tricosanoato de metil(trimetilsililo) conforme aos dados acima referidos:

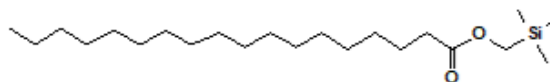


Figura 4. 39: Estrutura de tricosanoato de metil(trimetilsililo)

O composto 2,5-dimetoxicinnamato de metilo identificado nesta análise, é um éster metílico do ácido tricosanóico, também conhecido como ácido triacontílico obtido a partir da reação de metilação da cera da planta em estudo. De facto, o composto presente na fração ácida 1 da cera desta planta é o ácido triacontílico.

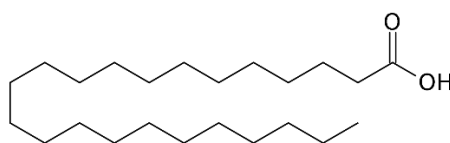


Figura 4. 40: Estrutura de ácido triacontílico

#### 4.3.1.3.4. Octacosanol

O octacosanol aparece com tempo de retenção de 27,85 minutos, apresentando uma abundância relativa de 2,50%. O seu ião molecular a  $m/z$  410 corresponde à sua massa molecular, como apresenta a Figura 4.41.

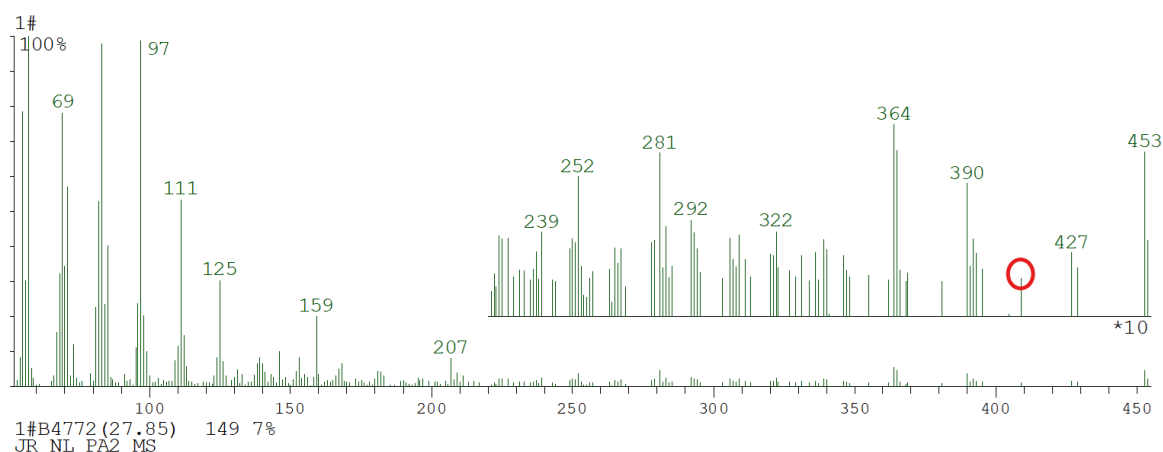


Figura 4. 41: Espectro de massa de octacosanol de uma análise de CG-EM

A Figura 4.42 ilustra a estrutura de octacosanol de acordo com os dados acima referidos:

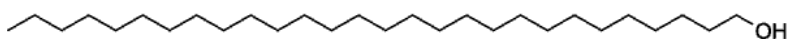


Figura 4. 42: Estrutura de Octacosanol

Zhou et al. (2022) afirmam que o octacosanol é um álcool alifático superior natural amplamente distribuído que pode ser isolado e purificado a partir de farelo de arroz, cana-de-açúcar, cera de abelha, cera de inseto, etc. O octacosanol exerce vários efeitos biológicos, incluindo anti-fadiga, anti-hipóxia, antioxidante, anti-inflamatório, antitumoral, etc. Entretanto, tem os efeitos de regular a função imunitária do organismo e o metabolismo energético e tem benefícios potenciais para as doenças cardiovasculares, doenças cerebrovasculares, diabetes, doença de Parkinson e outras. O octacosanol é o principal responsável pela regulação de múltiplas vias de sinalização, como a AMPK, PI3K/Akt e MAPK/NF-κB, para atingir diferentes funções fisiológicas (Zhou et al., 2022).

#### 4.4. Análise e identificação espectroscópica dos compostos encontrados nas frações dos extratos por RMN de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$

Para a análise e identificação dos compostos nos extratos estudados, foram selecionadas as frações de maior massa. As frações dos extratos escolhidos são as seguintes:

- do extrato de acetona das cascas da parte aérea, foram escolhidas as frações 80, 87 e 89,
- do extrato acetilado de etanol das cascas da parte aérea, as frações selecionadas foram 22, 29, 32 e 45.
- do extrato de hexano descerrado das raízes, foram escolhidas as frações 22, 23, 28 e 31.

- do extrato de acetona das raízes as frações selecionadas foram 78, 83 e 86.

Das frações selecionadas, são apresentados, analisados e interpretados os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  de cada uma, com o intuito de identificar e caracterizar os compostos nelas presentes, contribuindo assim para a elucidação da estrutura molecular dos mesmos.

Para interpretar esses dados de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$  ou acetona- $d_6$ ), analisou-se cada sinal em termos do seu deslocamento químico ( $\delta$  em ppm) e multiplicidade (s, d, dd, t, m, etc.).

Para interpretar o espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  fornecido, precisamos analisar as posições dos picos e suas possíveis atribuições. O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  é tipicamente menos congestionado que o de  $^1\text{H}$ , pois cada carbono aparece como um singular, a menos que seja adequado a núcleos como  $^1\text{H}$ , o que pode ser desacoplado no espectro para simplificação.

#### 4.4.1. Análise do extrato de acetona de cascas por RMN de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$

São apresentados, analisados e interpretados os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  de cada uma das frações do extrato de acetona de cascas da parte aérea da planta em estudo, com o objetivo de identificar e caracterizar os compostos nelas presentes, contribuindo para a elucidação da estrutura molecular dos mesmos.

##### 4.4.1.1. Fração AL.C1– 80

As Figuras 4.43 e 4.44 mostram, respetivamente, os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  da fração AL.C1-80, acompanhados com as suas interpretações.

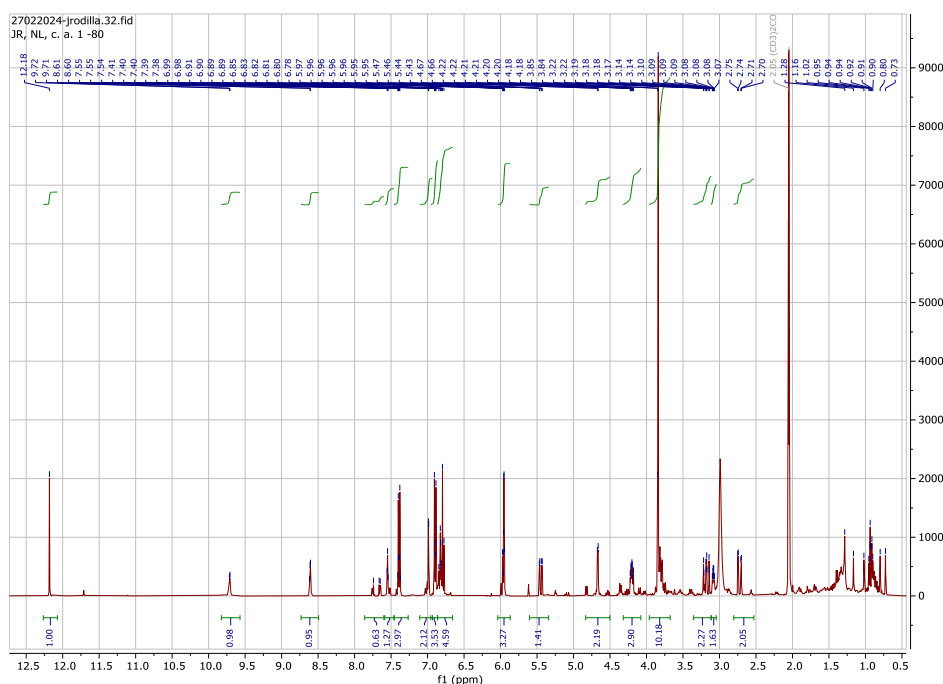


Figura 4. 43: Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz, acetona- $d_6$ ) da fração AL.C1-80

De acordo com o espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da fração AL.C1-80 mostrado na Figura 4.43, a interpretação dos dados fornecidos apresenta-se a seguinte maneira:

- os sinais de prótons a 12.18 ppm e 9.70 ppm indicam a presença de prótons (singletos) em grupos carboxílicos (ácido carboxílico:  $-\text{COOH}$ ), ou carbonilos (aldeído:  $-\text{COH}$  ou cetonas:  $-\text{CO}-$ ).
- os sinais de prótons encontrados entre 8.61 ppm e 4.19 ppm indicam a presença de prótons possivelmente ligados em carbonos do anel aromático ou prótons de grupos hidroxilos ligados ao anel aromático ou prótons de carbonos olefínicos.
- os sinais de prótons encontrados entre 3.84 ppm e 3.08 ppm indicam a presença de prótons (singletos, dupletos e tripletos) possivelmente ligados aos carbonos adjacentes aos heteroátomos (X, O, N).
- os sinais de prótons encontrados entre 2.75 ppm e 2.70 ppm sugerem uma possível presença de prótons (singletos) ligados em carbonos adjacentes aos carbonos olefínicos, ao anel benzênico, ao grupo carbonilo e aos carbonos acetilénicos.
- os sinais de prótons encontrados entre 1.28 ppm e 0.73 ppm indicam a presença de prótons (singletos e dupletos) metílicos ( $-\text{CH}_3$ ) ou metilénicos ( $-\text{CH}_2-$ ) em cadeias alifáticas saturadas.

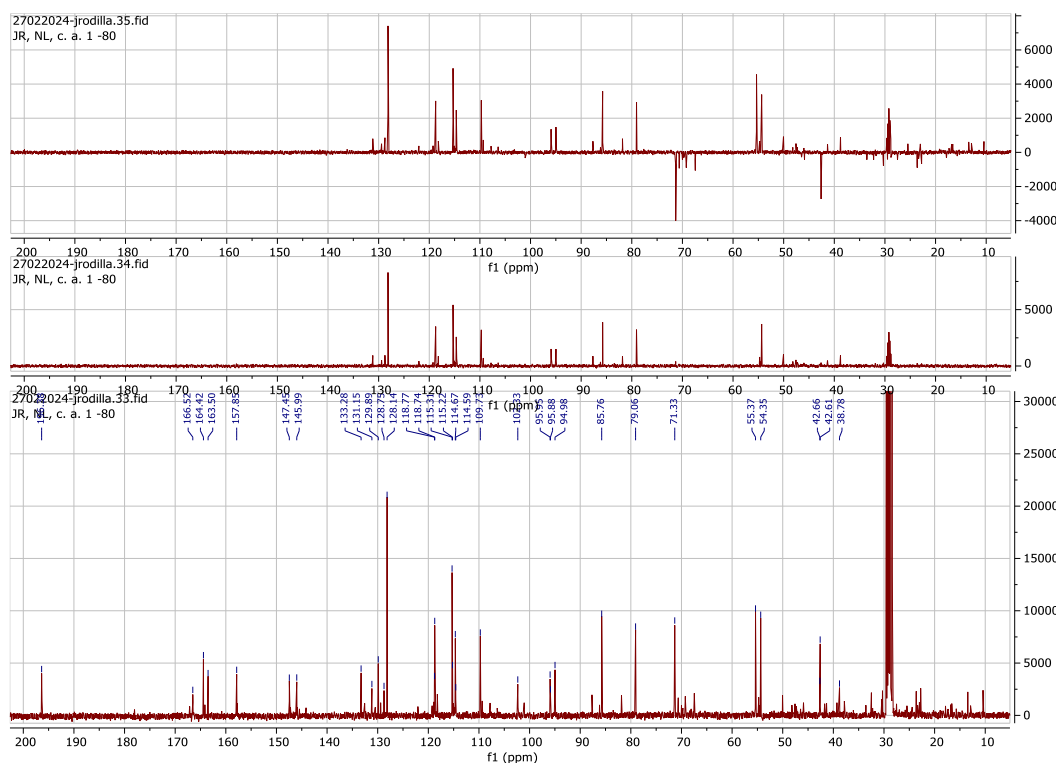


Figura 4. 44: Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  da fração AL.C1-80

Olhando o espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  da fração AL.C1-80, fez-se as seguintes observações:

O espectro mostra picos significativos em várias regiões, indicando a presença de diferentes tipos de carbonos no composto:

- o sinal de  $^{13}\text{C}$  a 196.38 ppm indica a presença de carbono do grupo carbonilo ( $\text{C}=\text{O}$ ), possivelmente aldeído ou cetona.
- os sinais de  $^{13}\text{C}$  a 166.52 ppm, 164.42 ppm, 163.50 ppm e 157.85 ppm indicam possível presença de ácidos carboxílicos, ésteres ou amidas.
- os sinais de  $^{13}\text{C}$  a 147.45 ppm e 145.99 ppm indicam uma provável presença de carbonos de anéis aromáticos ligados a grupos desblindantes, como nitro, halogênios ou oxigênio ou também podem ser carbonos de sistemas conjugados (por exemplo, em compostos com duplas ligações conjugadas com carbonilos ou outros grupos eletronegativos).
- os sinais de  $^{13}\text{C}$  a 133.28 ppm, 131.15 ppm, 129.89 ppm, 128.75 ppm e 128.14 ppm indicam carbonos aromáticos. A presença de múltiplos picos nesta região sugere um anel benzênico substituído.
- os sinais de  $^{13}\text{C}$  a 118.77 ppm, 118.74 ppm, 115.31 ppm, 115.22 ppm, 114.67 ppm, 114.59 ppm, 109.73 ppm e 102.33 ppm indicam a presença de carbonos vinílicos.
- os sinais de  $^{13}\text{C}$  a 95.95 ppm, 95.88 ppm e 94.98 ppm podem representar carbonos de anéis aromáticos com efeitos conjugados que desblindam ligeiramente os carbonos, empurrando-os para essa região. Também podem indicar carbonos vinílicos em sistemas conjugados ou carbonos em heterociclos.
- os sinais de  $^{13}\text{C}$  a 85.76 ppm, 79.06 ppm e 71.33 ppm) podem indicar carbonos de alquinos ou carbonos em ligação com oxigênio (éteres, álcoois).
- os sinais de  $^{13}\text{C}$  a 55.37 ppm, 54.35 ppm, 42.66 ppm, 42.61 ppm e 38.78 ppm indicam a presença de carbonos de grupos metilo e metileno próximos a grupos funcionais, como haletos de alquilo, álcoois ou éteres.

As informações dos espectros de RMN da fração AL.C1-80 sugerem que o composto pode ser um flavonoide. Porque observou-se a presença de vários carbonos aromáticos, carbonos carbonílicos ( $\text{C}=\text{O}$ ) e carbonos alifáticos substituídos, como por exemplos grupos metilos.

#### **4.4.1.2. Fração AL.C1– 87**

As Figuras 4.45 e 4.46 mostram, respetivamente, os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  da fração AL.C1-87, juntamente com as suas interpretações.

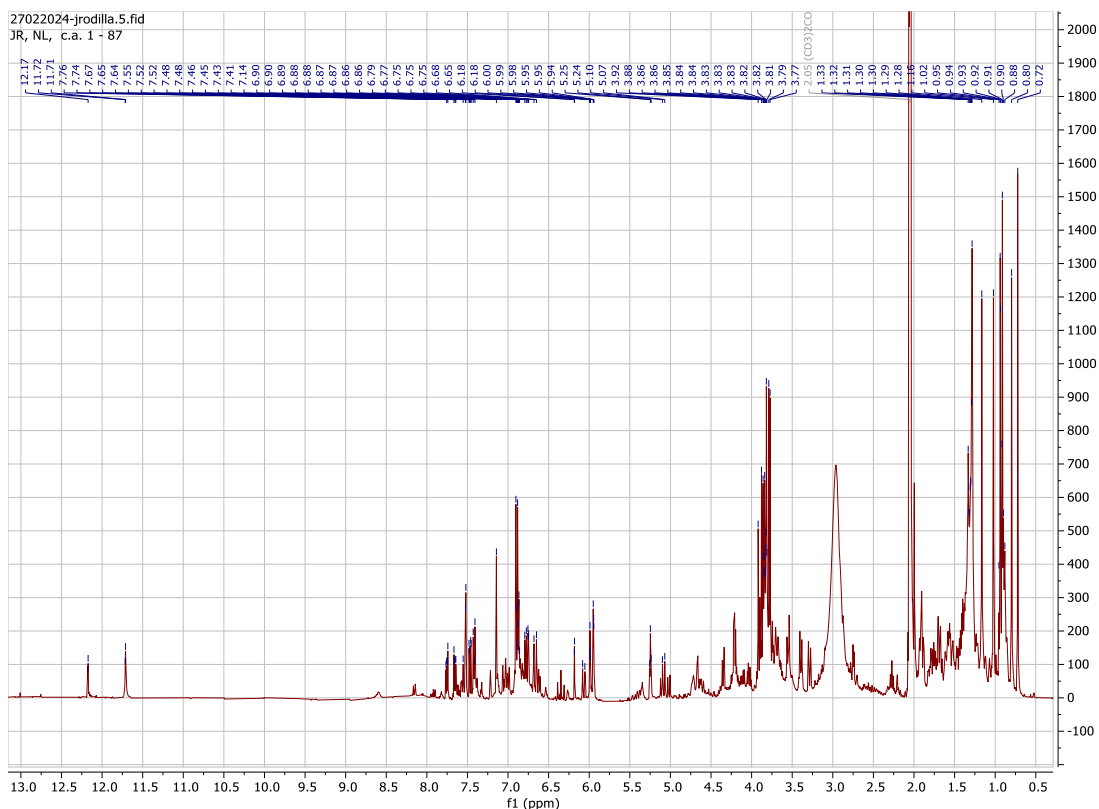


Figura 4. 45: Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da fração AL.C1-87

Analisando esse espectro, explorou-se os principais picos ao longo das diferentes regiões de deslocamento químico e apresentou-se as seguintes interpretações:

- os sinais de prótons a 12.07 ppm, 11.72 ppm e 11.71 ppm indicam a presença de prótons (singletos) em grupos carboxílicos (-COOH) ou carbonilos (-COH).
- os sinais de prótons encontrados entre 7.76 ppm e 5.07 ppm indicam a presença de prótons (singletos e dupletos) provavelmente ligados em carbonos do anel aromático ou prótons de grupos hidroxilos ligados ao anel aromático.
- os sinais de prótons encontrados entre 3.92 ppm e 3.77 ppm indicam a presença de prótons (singletos, dupletos e triplete) possivelmente ligados aos carbonos adjacentes aos heteroátomos (X, O, N).
- os sinais de prótons encontrados entre 1.33 ppm a 0.72 ppm indicam a presença de prótons (singletos e duplete) metílicos (-CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>, etc.) em cadeias alifáticas saturadas.

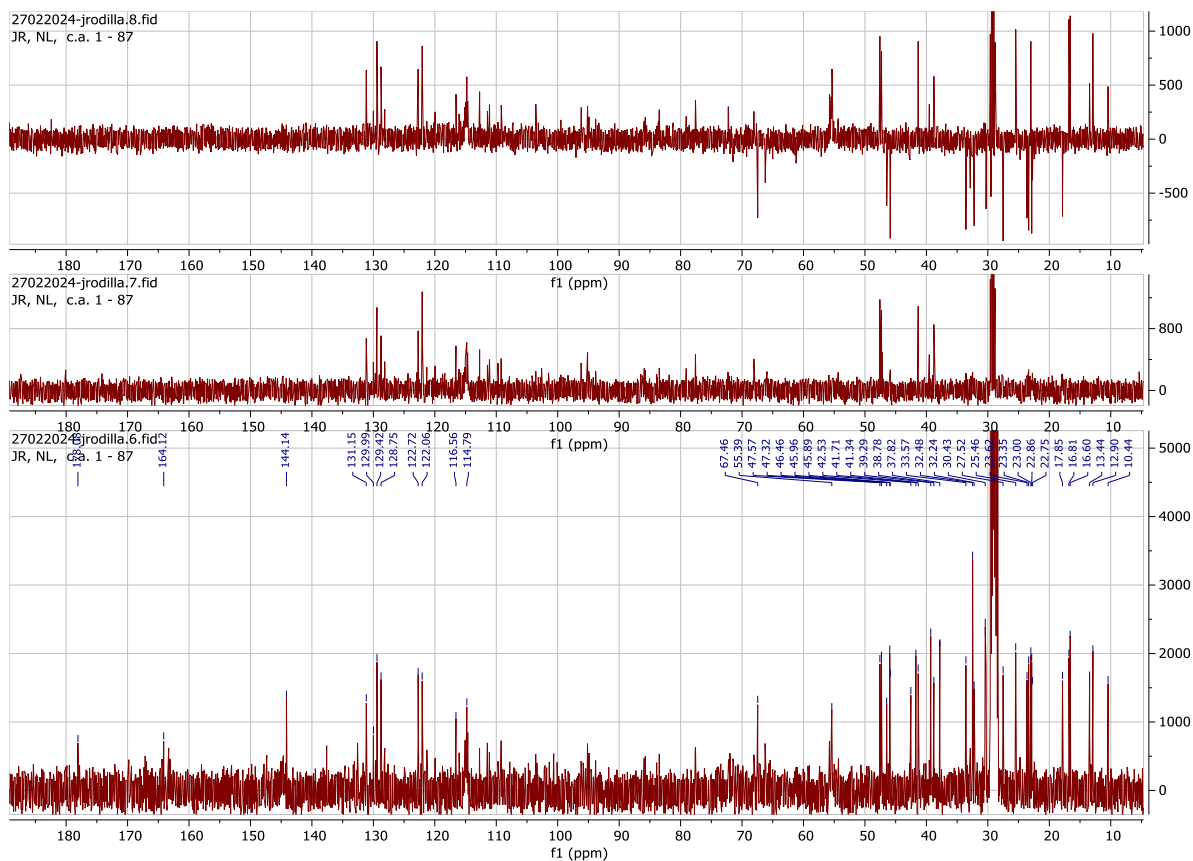


Figura 4. 46: Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  da fração AL.C1-87

O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  da fração AL.C1-87 fornece uma visão detalhada dos diferentes tipos de carbonos na molécula estudada. Aqui está uma análise dos principais picos ao longo do espectro:

- os sinais de  $^{13}\text{C}$  a 178.08 ppm e 164.12 ppm indicam possível presença de carbonos em grupos carbonilos ( $-\text{C}=\text{O}$ ), comuns em ácidos carboxílicos, aldeídos e amidas.
- o sinal de  $^{13}\text{C}$  a 144.14 ppm indica uma provável presença de carbonos de anéis aromáticos ou carbonos de duplas ligações.
- os sinais de  $^{13}\text{C}$  a 131.15 ppm, 129.99 ppm, 129.42 ppm, 128.75 ppm, 122.72 ppm e 122.06 ppm indicam a presença de carbonos aromáticos de anel benzénico substituído.
- os sinais de  $^{13}\text{C}$  a 116.56 ppm e 114.79 ppm indicam a presença de carbonos vinílicos.
- os sinais de  $^{13}\text{C}$  encontrados entre 67.46 ppm e 22.75 ppm indicam carbonos ligados aos átomos electronegativos (oxigénio em ambientes de grupos alcoólicos ( $-\text{C}-\text{O}-$ ) ou éteres, halogénios, ou nitrogénio com ligação simples).
- os sinais de  $^{13}\text{C}$  encontrados entre 17.85 ppm e 10.44 ppm indicam a presença de carbonos metilénicos ( $-\text{CH}_2-$ ) e metílicos ( $-\text{CH}_3$ ) em ambientes alifáticos, típicos de cadeias saturadas.

De acordo com as informações dos espectros de RMN da fração AL.C1-87 observados, sugere-se que o composto pode ser um triterpenoide. Porque os sinais analisados mostram a presença de carbonos aromáticos, carbonos carbonílicos (C=O) e carbonos alifáticos em cadeias de metilo, metileno.

#### 4.4.1.3. Fração AL.C1- 89

As Figuras 4.47 e 4.48 mostram, respetivamente, os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  da fração AL.C1-89, acompanhados com as suas interpretações.

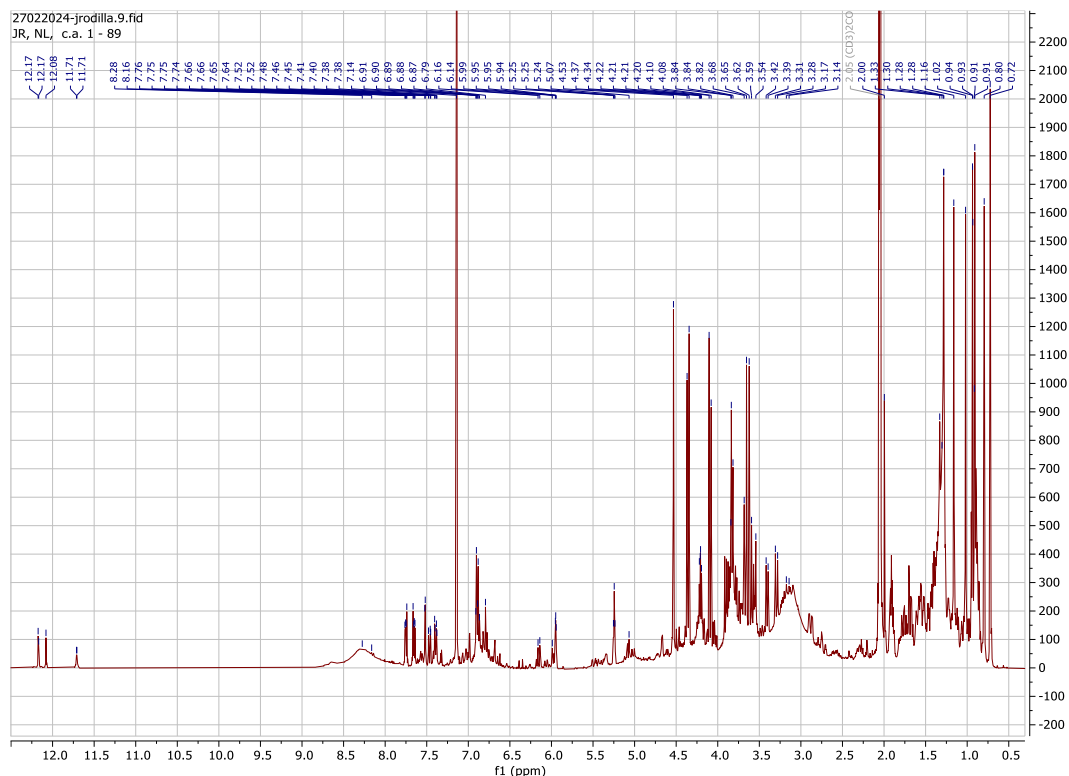


Figura 4. 47: Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da fração AL.C1-89

Observando os sinais apresentados no espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da fração AL.C1-89, interpreta-se de seguinte maneira:

- os sinais de prótons a 12.17 ppm, 12.08 ppm e 11.71 ppm indicam a presença de prótons (dupletos, singletos) em grupos carboxílicos (-COOH) ou carbonilos (-COH).
- os sinais de prótons encontrados entre 8.28 ppm e 4.08 ppm indicam a presença de prótons (singletos e dupletos) possivelmente ligados em carbonos do anel aromático ou prótons de grupos hidroxilos ligados ao anel aromático, ou prótons vinílicos (parte de uma ligação dupla).
- os sinais de prótons encontrados entre 3.84 ppm e 3.14 ppm indicam a presença de prótons (singletos e dupletos) provavelmente ligados aos carbonos adjacentes aos heteroátomos (X, O, N).

- os sinais de prótons encontrados entre 2.00 ppm a 0.72 ppm indicam a presença de prótons (singletos e dupletos) em grupos metilo (-CH<sub>3</sub>) e metileno (-CH<sub>2</sub>-) em ambientes alifáticos saturados.

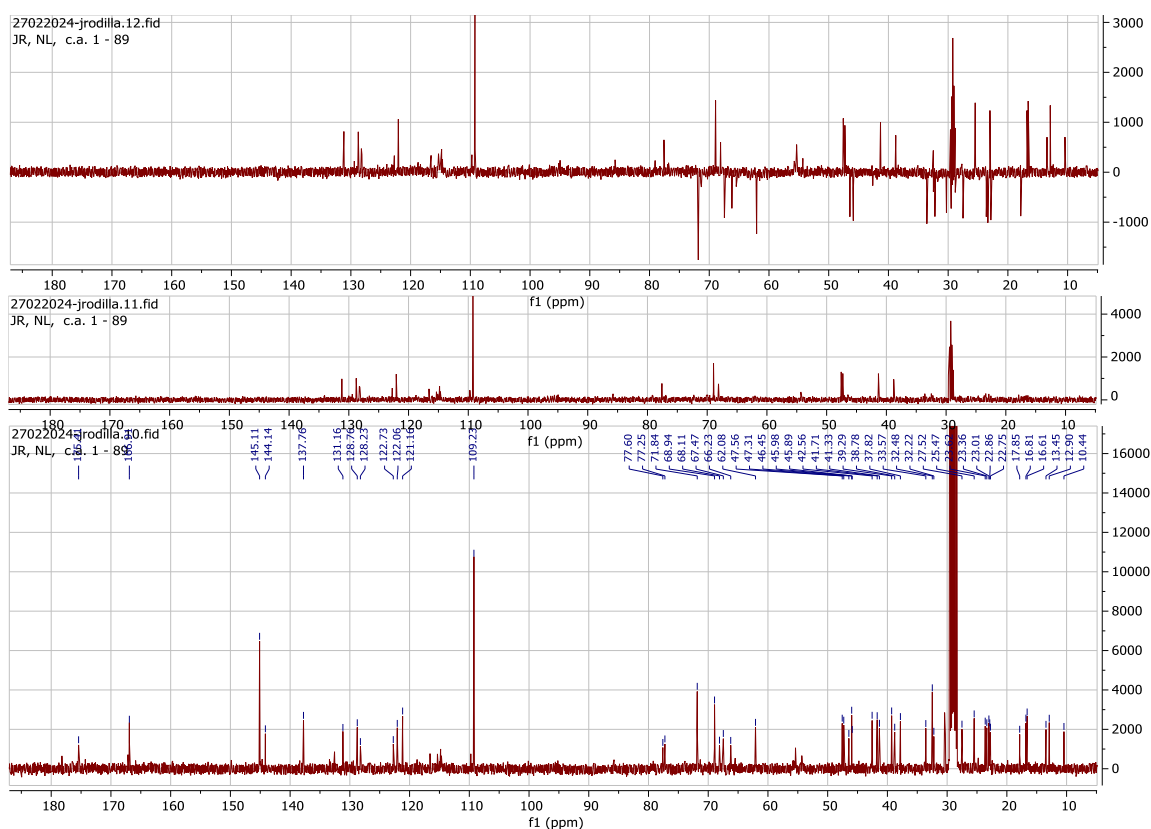


Figura 4. 48: Espectro de RMN de <sup>13</sup>C da fração AL.C1-89

Para a interpretação do espectro de RMN de <sup>13</sup>C da fração AL.C1-89 apresentado, analisou-se cada faixa significativa de deslocamento químico e os picos correspondentes:

- os sinais de <sup>13</sup>C a 175.41 ppm e 166.91 ppm indicam provável presença de carbonos em grupos carbonílicos (-C=O), incluindo ácidos carboxílicos, ésteres e amidas.
- os sinais de <sup>13</sup>C encontrados entre 145.11 ppm a 121.16 ppm indicam a presença de carbonos aromáticos de anel benzênico substituído ou carbonos vinílicos.
- Os sinais de <sup>13</sup>C encontrados entre 77.60 ppm e 22.75 ppm indicam carbonos ligados aos átomos electronegativos (oxigénio em ambientes de grupos alcoólicos (-C-O-) ou éteres, halogénios, ou nitrogénio com ligação simples).
- Os sinais de <sup>13</sup>C encontrados entre 17.85 ppm e 10.44 ppm indicam a presença de carbonos metilénicos (-CH<sub>2</sub>-) e metílicos (-CH<sub>3</sub>) em ambientes alifáticos, típicos de cadeias saturadas.

Os dados apresentados nos espectros de RMN da fração AL.C1-89 observados mostram que o composto provavelmente possui estrutura aromática ou carbonos insaturados, um grupo

carbonilo típico de ésteres de derivados de ácidos aromáticos ou ácido carboxílico, cadeias alifáticas. ou carboxílico pode ser um triterpenoide. Porque os sinais analisados mostram a presença de carbonos aromáticos, carbonos carbonílicos (C=O) e carbonos alifáticos em cadeias de metilo, metileno. Isso sugere que o composto pode ser um éster aromático ou ácido carboxílico aromático ou composto fenólico.

#### 4.4.2. Análise do extrato de etanol de cascas por RMN de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$

São apresentados, analisados e interpretados os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  de cada uma das frações selecionadas do extrato acetilado de etanol de cascas da parte aérea, para identificar e caracterizar os compostos fitoquímicos presentes na mesma a fim de contribuir para a elucidação da estrutura molecular dos mesmos.

##### 4.4.2.1. Fração AL.C2- 22

As Figuras 4.49 e 4.50 mostram, respectivamente, os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  da fração AL.C2-22, com as suas interpretações.

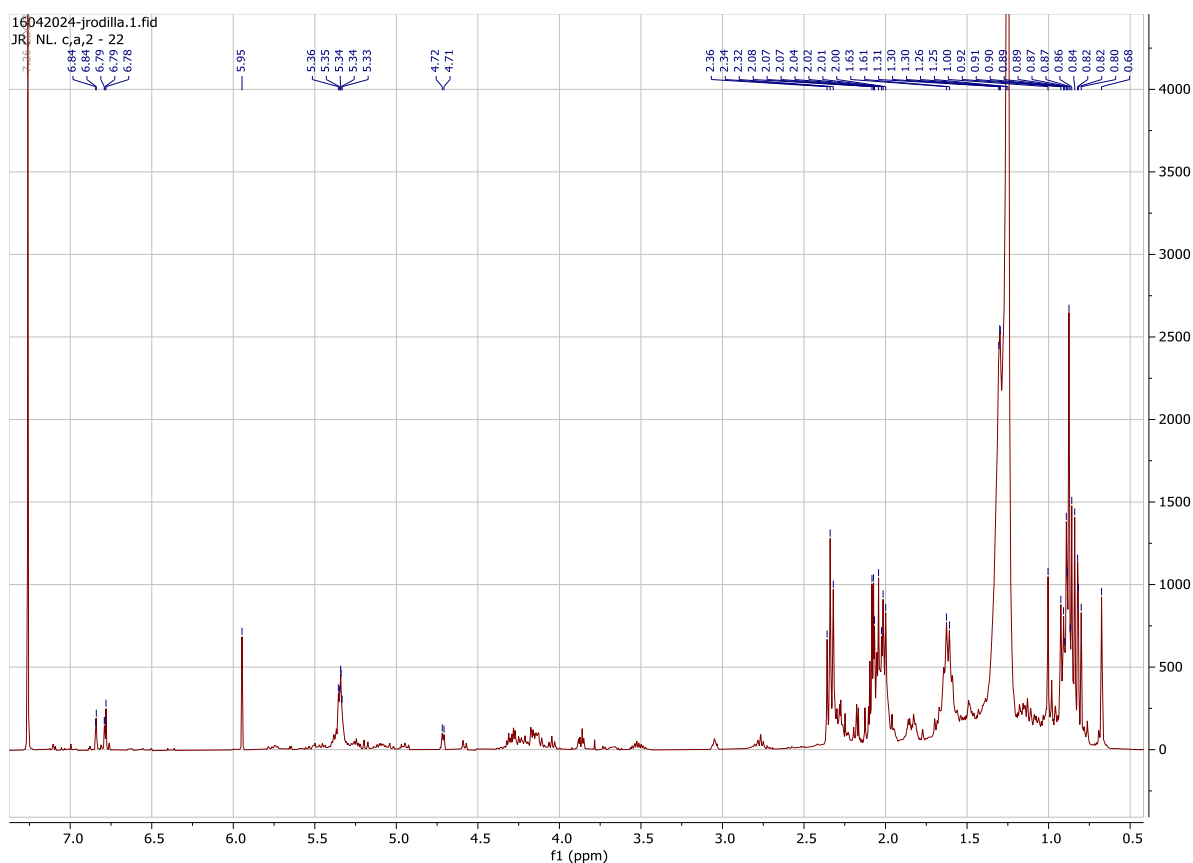


Figura 4. 49: Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da fração AL.C2-22

Analisando o espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da fração AL.C2-22, interpreta-se da seguinte maneira:

- os sinais de prótons encontrados entre 6.84 ppm e 4.71 ppm mostram uma possível presença de prótons (singletos e dupletos) ligados em carbonos vinílicos ou prótons de grupos hidroxilos ligados ao anel benzênico.
- os sinais de prótons encontrados entre 2.36 ppm a 2.00 ppm indicam a presença de prótons (singletos e dupletos) provavelmente ligados em carbonos adjacentes ao carbono da dupla ligação, ao anel aromático, ao grupo carbonilo e ao carbono da tripla ligação.
- os sinais de prótons encontrados entre 1.63 ppm a 0.68 ppm indicam a presença de prótons (singletos e dupletos) em grupos metilo (-CH<sub>3</sub>) e metileno (-CH<sub>2</sub>-) em ambientes alifáticos saturados

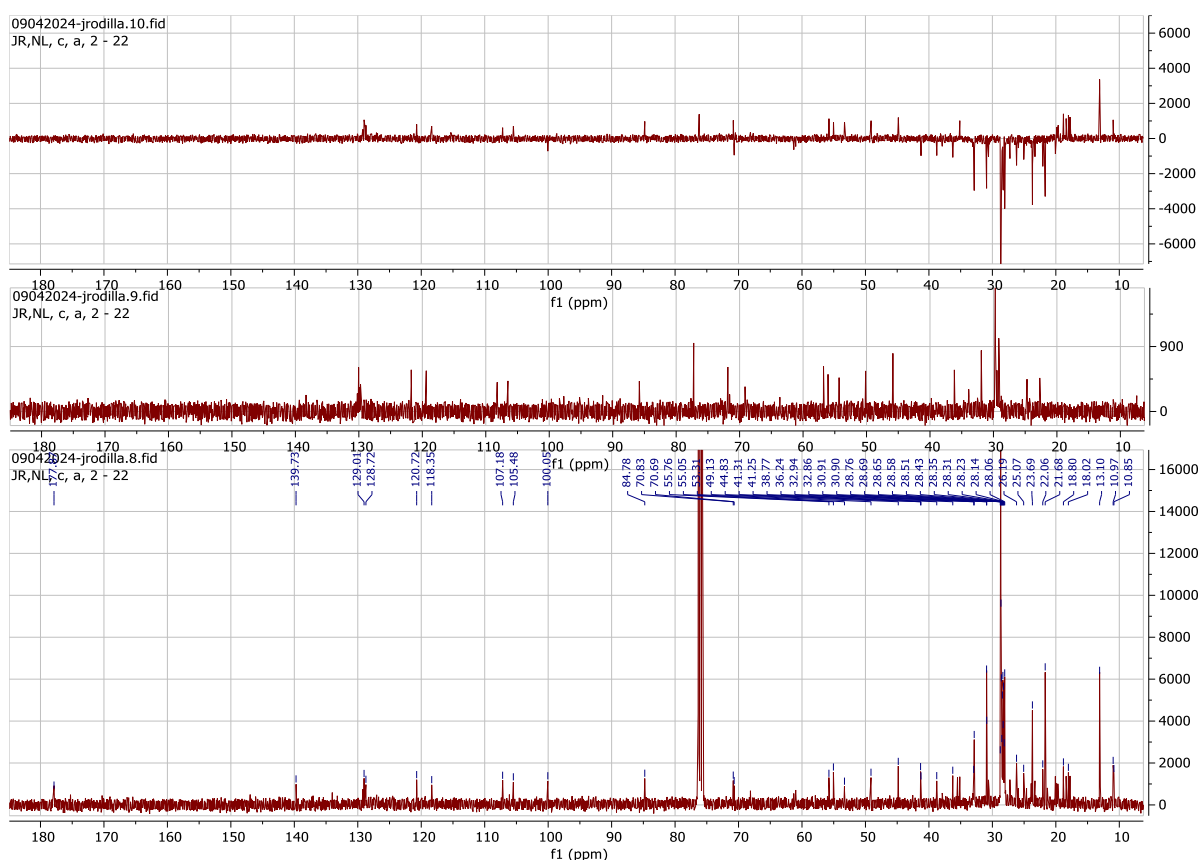


Figura 4. 50: Espectro de RMN de <sup>13</sup>C da fração AL.C2-22

Esse espectro mostra que:

- o sinal de <sup>13</sup>C a 177.87 ppm indica uma possível presença de carbono em grupos carbonilos (-C=O), como ácido carboxílico, éster e amida.
- os sinais de <sup>13</sup>C encontrados entre 139.73 ppm a 120.72 ppm indicam provavelmente a presença de carbonos aromáticos de anel benzênico substituído ou carbonos vinílicos.

- os sinais de  $^{13}\text{C}$  a 118.35 ppm, 107.18 ppm, 105.48 ppm e 100.05 ppm indicam a presença de carbonos vinílicos.
- os sinais de  $^{13}\text{C}$  a 84.78 ppm, 70.83 ppm e 70.69 ppm indicam carbonos alquinos.
- os sinais de  $^{13}\text{C}$  encontrados entre 49.13 ppm e 41.25 ppm indicam carbonos ligados aos átomos electronegativos (oxigénio em ambientes de grupos alcoólicos (-C-O-) ou éteres, halogénios, ou nitrogénio com ligação simples).
- os sinais de  $^{13}\text{C}$  encontrados entre 38.77 ppm e 10.85 ppm indicam a presença de carbonos metilénicos (-CH<sub>2</sub>-) e metílicos (-CH<sub>3</sub>) em cadeias alifáticas. Esses carbonos são indicativos de uma estrutura saturada ou ligeiramente desblindada, comum em ambientes alifáticos menos complexos.

Esses espectros revelam uma mistura de grupos funcionais que inclui anéis aromáticos substituídos, grupos metilénicos e metílicos em ambientes alifáticos e possivelmente grupos funcionais polares como álcoois, éteres ou amidas. A presença de picos em várias regiões indica uma estrutura molecular complexa com uma variedade de ambientes químicos.

#### 4.4.2.2. Fração AL.C2- 29

As Figuras 4.51 e 4.52 mostram, respetivamente, os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  da fração AL.C2-29, com as suas interpretações.

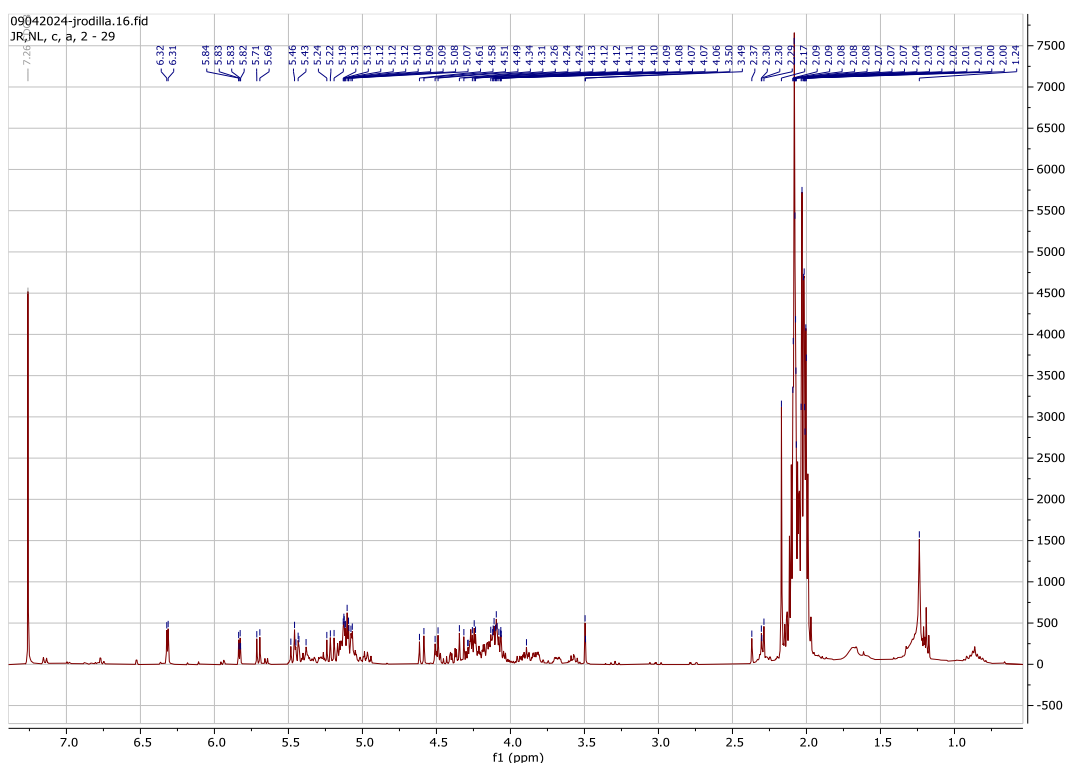


Figura 4. 51: Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da fração AL.C2-29

Analisando o espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da fração AL.C2-29, abaixo segue a sua interpretação:

- os sinais de prótons encontrados entre 6.32 ppm e 4.06 ppm mostram a presença de prótons (singletos, dupletos e tripletos) ligados em carbonos vinílicos ou prótons de grupos hidroxilos ligados aos anéis aromáticos.
- os sinais de prótons a 3.50 ppm e 3.49 ppm indicam uma provável presença de prótons (singletos) ligados aos carbonos adjacentes aos heteroátomos (X, O, N).
- os sinais de prótons encontrados entre 2.37 ppm a 2.00 ppm indicam a presença de prótons (singletos, dupletos e tripletos) possivelmente ligados em carbonos adjacentes ao carbono da dupla ligação, ao anel aromático, ao grupo carbonilo e ao carbono da tripla ligação.
- o sinal de próton (singlete) a 1.24 ppm indica a presença de próton dos grupos metilo (-CH<sub>3</sub>) e metileno (-CH<sub>2</sub>-) em ambientes alifáticos saturados.

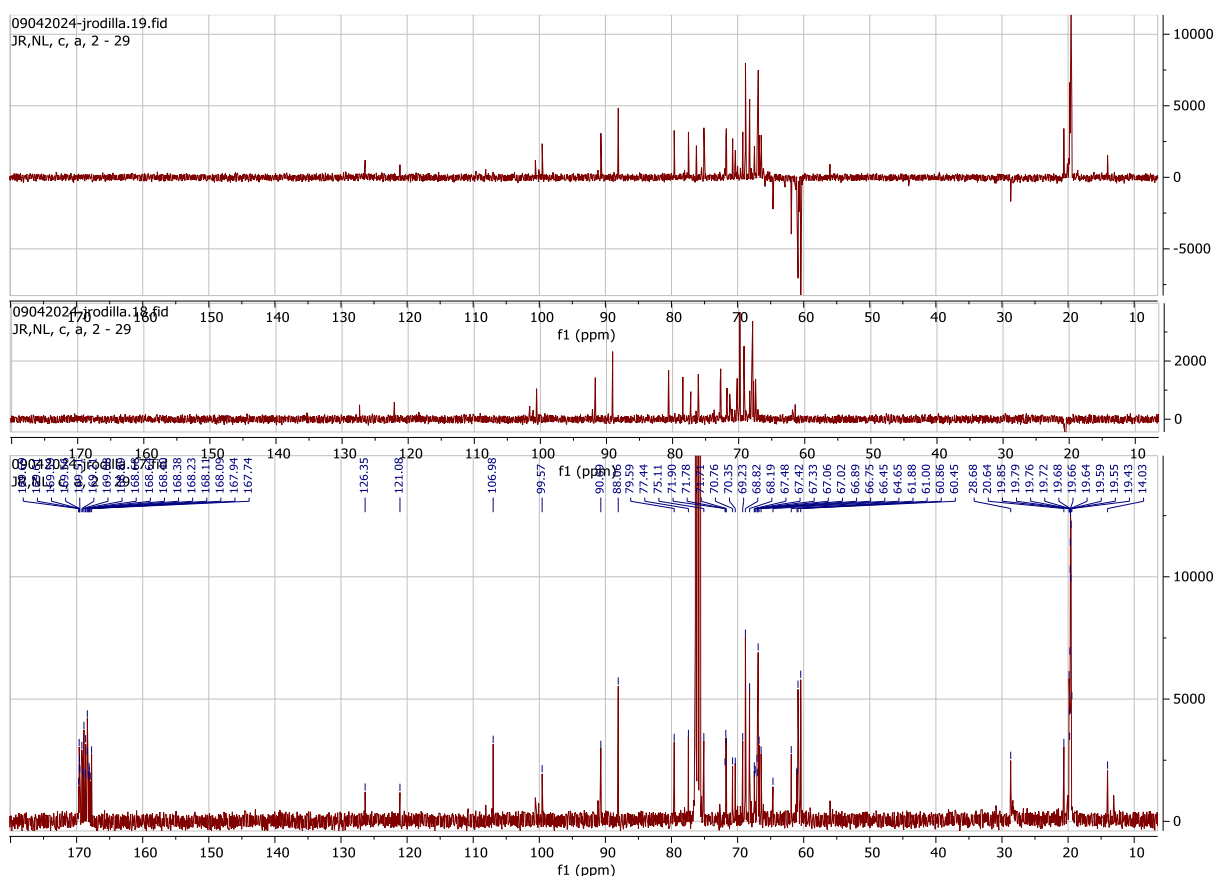


Figura 4. 52: Espectro de RMN de <sup>13</sup>C da fração AL.C2-29

O espectro de RMN de <sup>13</sup>C apresentado para a fração AL.C2-29, interpretou-se da seguinte maneira:

- os sinais de <sup>13</sup>C encontrados entre 169.69 ppm e 167.74 ppm indicam a presença de carbonos em grupos carbonilos (-C=O), incluindo ácidos carboxílicos, ésteres e amidas.

- os sinais de  $^{13}\text{C}$  a 126.35 ppm e a 121.08 ppm mostram possivelmente a presença de carbonos aromáticos. A variação na localização destes picos sugere substituições no anel aromático que influenciam a desblindagem dos carbonos.
- o sinal de  $^{13}\text{C}$  a 106.98 ppm indica a presença de carbonos vinílicos.
- os sinais de  $^{13}\text{C}$  encontrados entre 99.57 ppm e 70.35 ppm indicam a presença de carbonos insaturados (tripla ligação) ou carbonos de um anel benzênico com substituintes.
- os sinais de  $^{13}\text{C}$  encontrados entre 69.23 ppm e 60.45 ppm indicam carbonos ligados aos átomos electronegativos (oxigénio: éter ou álcool; halogénios, ou nitrogénio com ligação simples).
- os sinais de  $^{13}\text{C}$  encontrados entre 28.68 ppm e 14.03 ppm indicam a presença de carbonos alifáticos metilénicos ( $-\text{CH}_2-$ ) e metílicos ( $-\text{CH}_3$ ), indicativos de uma estrutura saturada com cadeias alifáticas.

Os dados dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  da fração AL.C2-29 sugerem uma estrutura molecular que inclui as cadeias alifáticas com um anel aromático e a presença do grupo carbonilo. Isso indica que o composto pode ser um éster aromático ou um composto fenólico.

#### **4.4.2.3. Fração AL.C2– 32**

As Figuras 4.53 e 4.54 mostram, respetivamente, os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  da fração AL.C2-32, com as suas interpretações.

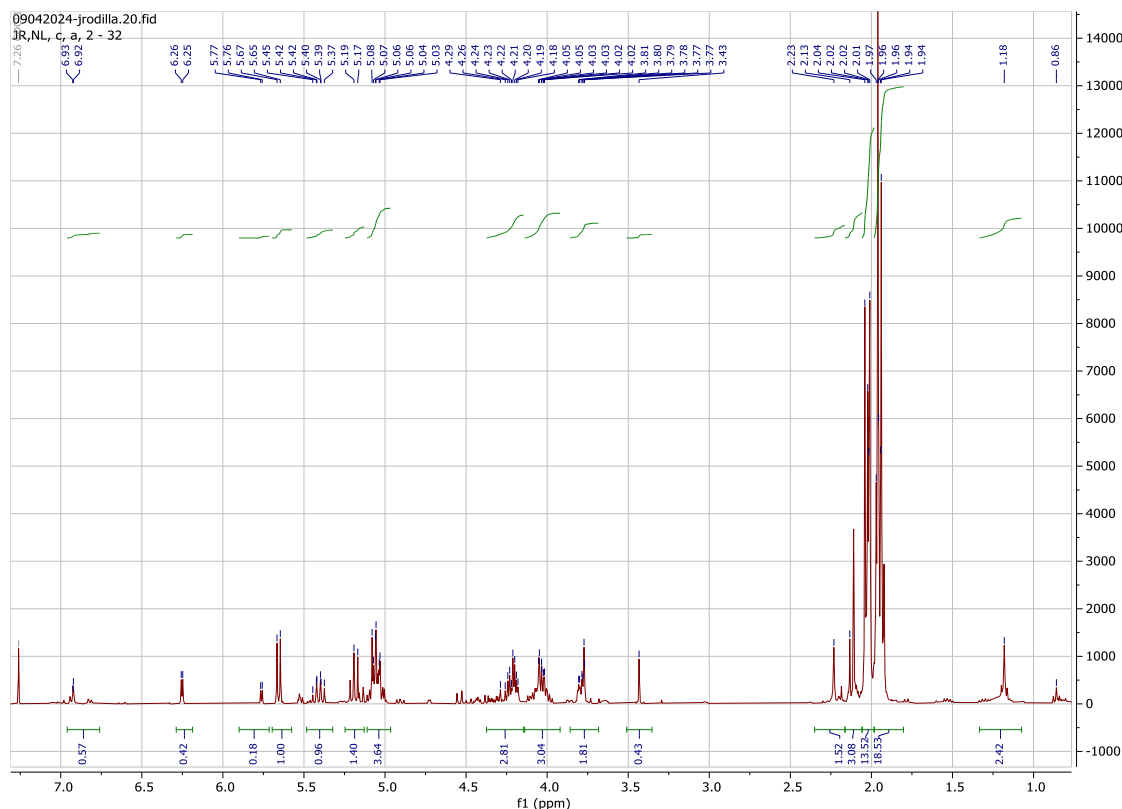


Figura 4. 53: Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da fração AL.C2-32

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  acima mencionado interpretou-se da seguinte maneira:

- os sinais de prótons encontrados entre 6.93 ppm e 4.02 ppm: são típicos de prótons em anéis benzênicos ou outros sistemas aromáticos. A multiplicidade e deslocamento sugerem a presença de substituição variada no anel, o que afeta os padrões de acoplamento e desblindagem dos prótons.
- os sinais de prótons encontrados entre 3.81 ppm e 3.43 ppm: diversos multipletos e um quarteto. Presença de prótons em metilenos ( $-\text{CH}_2-$ ) próximos a heteroátomos (X, O, N), indicativos de grupos funcionais como éteres, álcoois ou aminas. Os prótons são desblindados pelo efeito dos heteroátomos adjacentes.
- os sinais de prótons encontrados entre 2.23 ppm a 2.01 ppm indicam a presença de prótons (singletos, dupletos e tripletos) possivelmente ligados em carbonos adjacentes ao carbono da dupla ligação, ao anel aromático, ao grupo carbonilo e ao carbono da tripla ligação.
- os sinais de prótons encontrados entre 1.97 ppm a 0.86 ppm indicam a presença de prótons metilênicos ( $-\text{CH}_2-$ ) em cadeias alifáticas. Essa multiplicidade é típica para prótons metilênicos acoplados com outros prótons metilênicos ou metílicos, indicando uma cadeia alifática saturada. Prótons metílicos ( $-\text{CH}_3$ ) terminais em cadeias alifáticas.

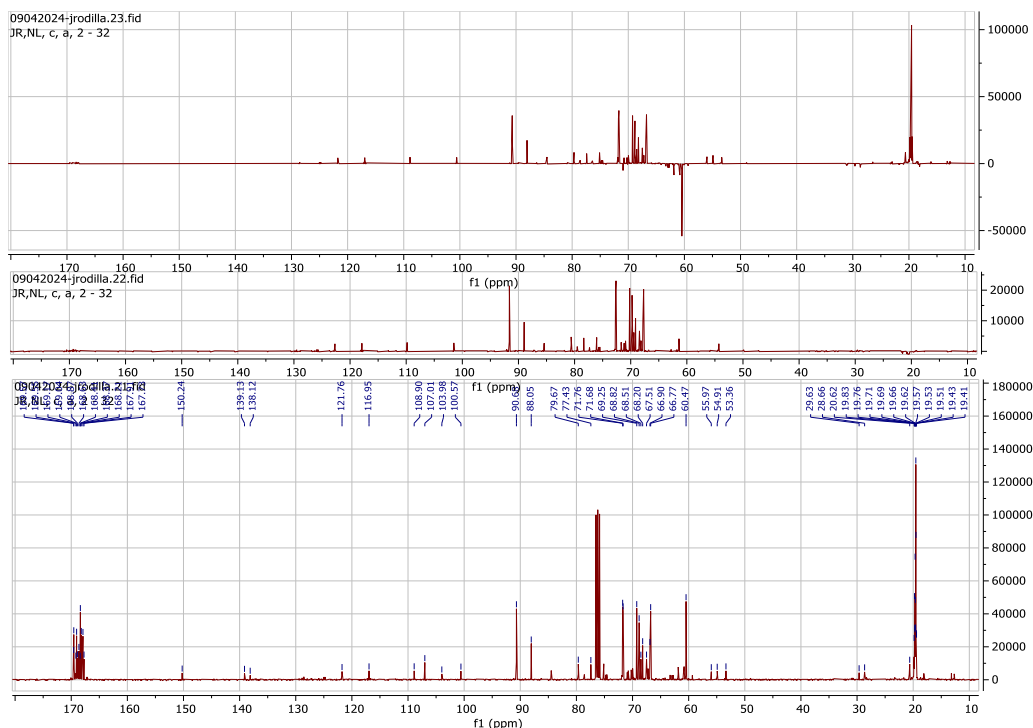


Figura 4. 54: Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  da fração AL.C2-32

O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  da fração AL.C2-32 pode se interpretar da seguinte maneira:

- os sinais de  $^{13}\text{C}$  encontrados entre 169.57 ppm e 167.73 ppm, e o sinal a 150.24 ppm indicam a presença de carbonos do grupo carbonilo ( $-\text{C}=\text{O}$ ), como em amidas, ácidos carboxílicos, ou ésteres.
- os sinais de  $^{13}\text{C}$  encontrados entre 139.13 ppm e 100.57 ppm indicam a presença de carbonos aromáticos, sugerindo um anel benzênico ou sistemas aromáticos substituídos ou duplas ligações ( $-\text{C}=\text{C}-$ ).
- os sinais de  $^{13}\text{C}$  encontrados entre 90.68 ppm e 71.68 ppm indicam a presença de carbonos acetilénicos ou carbonos de um anel aromático substituído.
- os sinais de  $^{13}\text{C}$  encontrados entre 68.75 ppm e 53.36 ppm indicam carbonos ligados a heteroátomos, como em álcoois, éteres ou grupos éter-oxigênio.
- Os sinais de  $^{13}\text{C}$  encontrados entre 29.63 ppm e 19.41 ppm indicam a presença de carbonos metilénicos ( $-\text{CH}_2-$ ) e metílicos ( $-\text{CH}_3$ ), indicando uma cadeia alifática ou grupos alquila substituintes.

De acordo com os dados observados nos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$ , o composto provavelmente possui uma parte aromática ou insaturada, um grupo carbonilo e extensas cadeias alifáticas. Isso sugere que o composto pode ser um composto fenólico, ácido carboxílico ou um éster.

#### 4.4.2.4. Fração AL.C2- 45

As Figuras 4.55 e 4.56 mostram, respectivamente, os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  da fração AL.C2-45, com as suas interpretações.

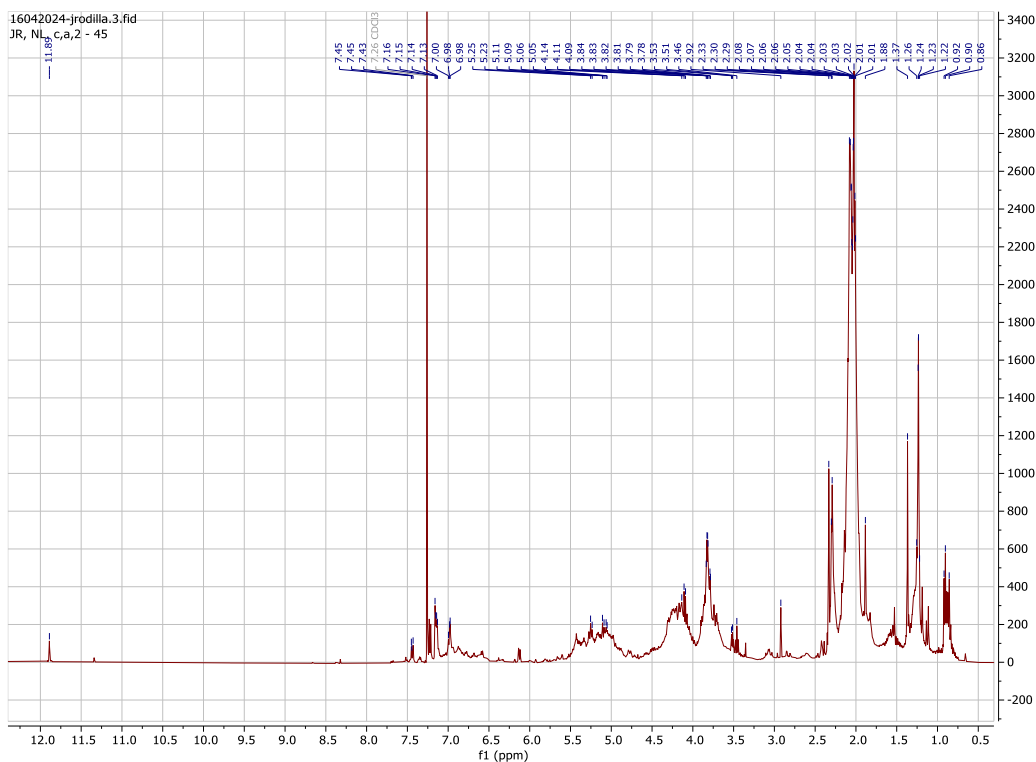


Figura 4. 55: Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da fração AL.C2-45

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  fornecido da fração AL.C2-45 mostra uma série de picos ao longo do espectro de 0 a 12 ppm, indicando uma variedade de ambientes químicos dos prótons:

- o sinal de próton a 11,89 ppm indica fortemente a presença de um próton de ácido carboxílico ou, menos comumente, um próton de aldeído em um ambiente fortemente ligado.
- os sinais de prótons encontrados entre 7,45 ppm e 6,98 ppm mostram uma possível presença de prótons (singletos e dupletos) aromáticos típicos de anéis benzênicos ou sistemas aromáticos ou prótons de hidroxilo ligados aos anéis benzênicos.
- os sinais de prótons encontrados entre 5,25 e 4,09 ppm indicam a presença de prótons (singletos) provavelmente ligados em carbonos vinílicos ou próton de hidroxilo ligados ao anel benzênico.
- os sinais de prótons encontrados entre 3,84 ppm e 3,46 indica a presença de prótons singletos provavelmente ligados ao carbono adjacente aos heteroátomos (X, O, N).
- os sinais de prótons encontrados entre 2,34 ppm e 2,01 ppm indicam a presença de prótons (singletos e dupletos) provavelmente ligados em carbonos adjacentes ao

carbono da dupla ligação, ao anel aromático, ao grupo carbonilo e ao carbono da tripla ligação.

- os sinais de prótons de 1.88 ppm a 0.86 ppm indicam a presença de prótons (singletos) metilénicos (-CH<sub>2</sub>-) em ambientes alifáticos, indicando a presença de cadeias alifáticas com acoplamento com prótons adjacentes ou prótons metílicos (-CH<sub>3</sub>) terminais em cadeias alifáticas.

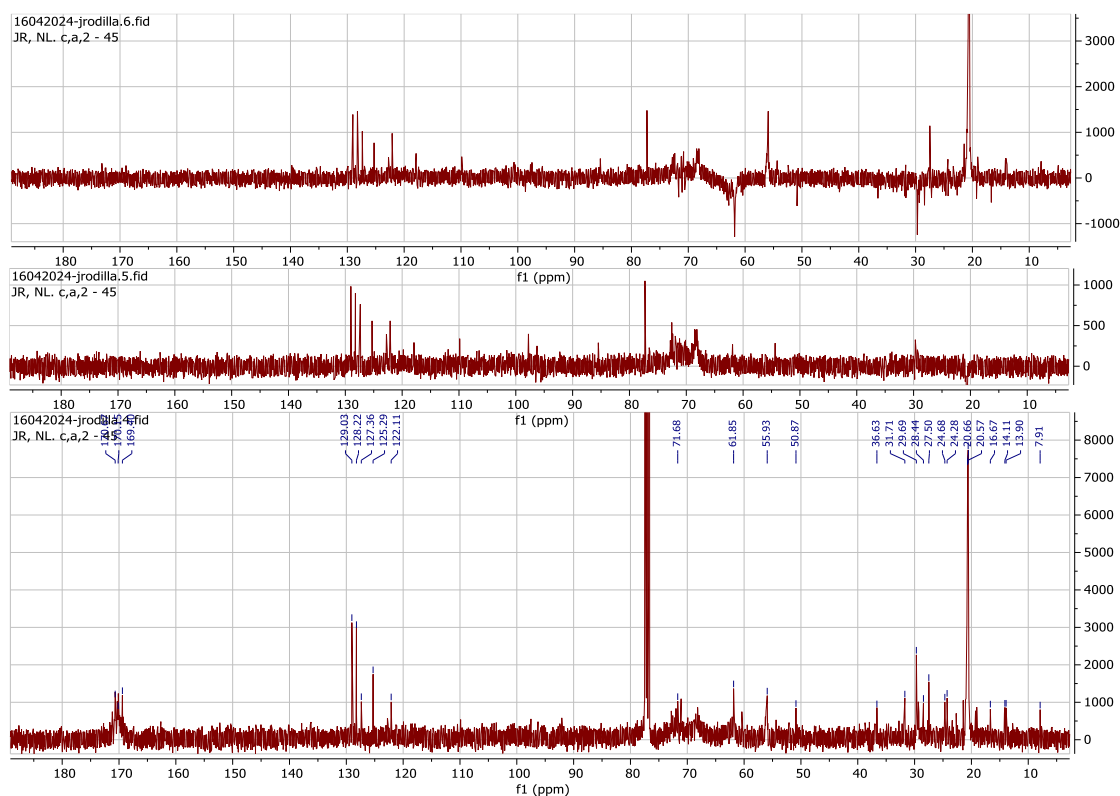


Figura 4. 56: Espectro de RMN de <sup>13</sup>C da fração AL.C2-45

O espectro de RMN de <sup>13</sup>C acima apresentado, interpreta-se da seguinte maneira:

- os sinais de <sup>13</sup>C no intervalo de 170.67 ppm a 169.40 ppm caracterizam os carbonos em grupos carbonilo (-C=O), como encontrados em ácidos carboxílicos, ésteres, cetonas ou amidas.
- os sinais de <sup>13</sup>C no intervalo de 129.03 ppm a 122.11 ppm indicativos de carbonos aromáticos, carbonos vinílicos ou carbono do grupo nitrilo. A presença desses sinais sugere anéis benzénicos ou outros sistemas conjugados, possivelmente substituídos.
- os sinais de <sup>13</sup>C encontrados entre 71.68 ppm e 50.87 ppm: carbonos ligados a heteroátomos (X, O, N), como em grupos alcoólicos (álcoois, éteres) ou em ambientes onde o oxigênio está presente, causando uma desblindagem intermediária.

- os sinais de  $^{13}\text{C}$  encontrados entre 36.63 ppm e 7.91 ppm indicam a presença de carbonos metilénicos ( $-\text{CH}_2-$ ) e metílicos ( $-\text{CH}_3$ ), tipicamente em ambientes alifáticos. Esses sinais indicam uma estrutura saturada, como em cadeias alifáticas ou grupos alquila.

Os dados mencionados nos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  da fração AL.C2-45 sugerem que o composto possui uma estrutura com uma combinação complexa de estruturas aromáticas possivelmente substituídas, grupos carbonilo, e uma diversidade de ambientes alifáticos, que corresponde com éster, ácido carboxílico ou composto fenólico.

#### 4.4.3. Análise do extrato de hexano descerrado de raízes por RMN de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$

Os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  de cada uma das frações selecionadas do extrato de hexano descerrado de raízes da planta em estudo, foram apresentados, analisados e interpretados a fim de identificar e caracterizar os fitoquímicos presente na mesma, visando a contribuir para elucidação das estruturas moleculares dos referidos compostos.

##### 4.4.3.1. Fração AL.C3– 22

As Figuras 4.57 e 4.58 mostram, respetivamente, os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  da fração AL.C3-22, com as suas interpretações.

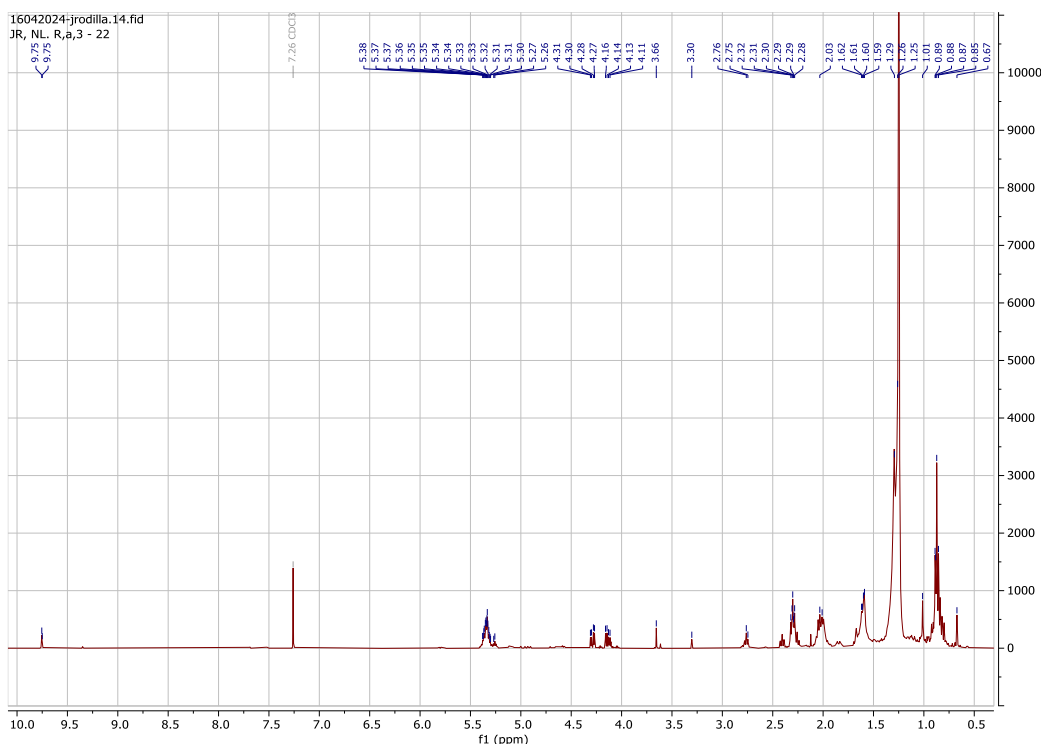


Figura 4. 57: Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da fração AL.C3-22

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da fração AL.C3-22 acima mostrado, apresenta uma série de picos ao longo do espectro de 0.67 a 9.75 ppm, indicando uma variedade de ambientes químicos dos prótons:

- o sinal de próton a 9.75 ppm indica a presença de um duplete de hidrogênios em aldeídos ou ácidos carboxílicos.
- os sinais de prótons encontrados entre de 5.38 ppm e 4.11 ppm indicam a presença de prótons (singletos e dupletos) em sistemas olefínicos ( $-\text{C}=\text{C}-$ ) ou próton de hidroxilo ligados ao anel aromático.
- os sinais de prótons a 3.66 ppm e 3.30 ppm indicam uma possível presença de prótons (singletos) ligados a grupos próximos a átomos mais eletronegativos, como oxigênio ou halogênios.
- os sinais de prótons encontrados entre 2.76 ppm e 2.03 ppm indicam a presença de prótons (singletos e dupletos) ligados em carbonos olefínicos, ao anel benzênico, ao grupo carbonilo e ao carbono acetilênico.
- os sinais de prótons encontrados entre 1.62 ppm e 0.67 ppm indicam a presença de prótons (singletos) metilênicos ( $-\text{CH}_2-$ ) e prótons metílicos ( $-\text{CH}_3$ ) em ambientes alifáticos.

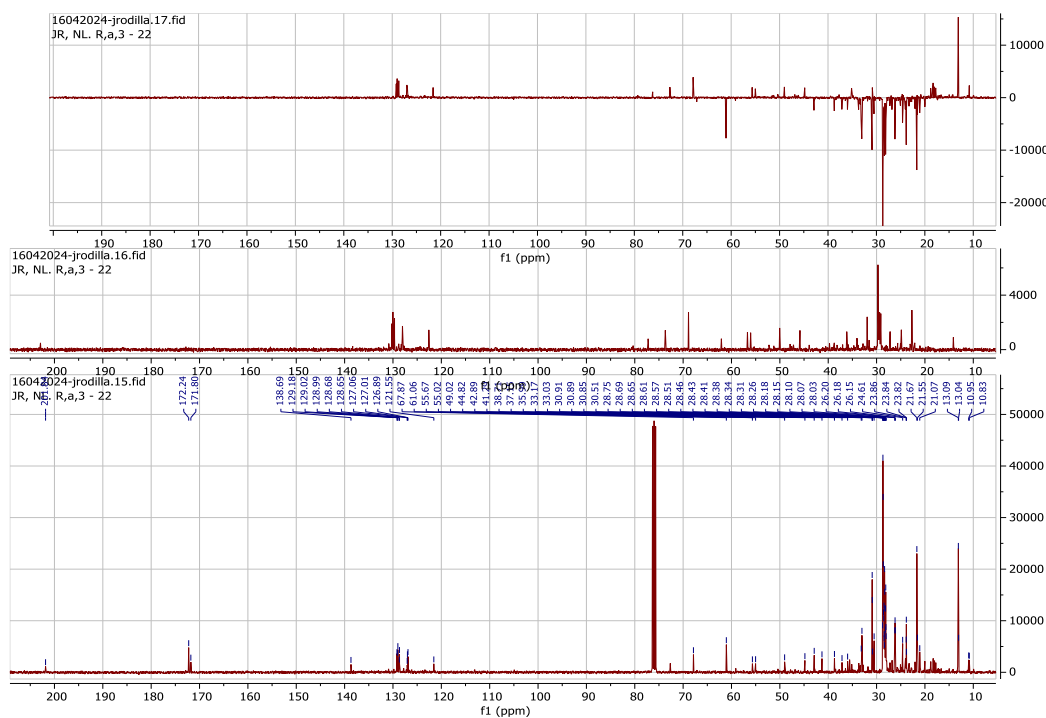


Figura 4. 58: Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  da fração AL.C3-22

O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  acima apresentado, interpreta-se da seguinte maneira:

- o sinal de  $^{13}\text{C}$  a 201.34 ppm indica a presença de um carbono do grupo cetona ou aldeído.
- os sinais de  $^{13}\text{C}$  a 172.24 ppm e 171.80 ppm indicam a presença de carbonos em grupos carbonílicos (C=O), comuns em ácidos carboxílicos, ésteres e amidas.
- os sinais de  $^{13}\text{C}$  no intervalo de 138.69 ppm a 121.55 ppm indicam a presença de carbonos em sistemas conjugados, como anéis aromáticos ou duplas ligações (-C=C-).
- os sinais de  $^{13}\text{C}$  encontrados entre 67.87 ppm e 41.29 ppm sugerem a presença de carbonos adjacentes a heteroátomos (X, O, N), como em grupos alcoólicos (álcoois, éteres) ou nitrilo.
- os sinais de  $^{13}\text{C}$  encontrados entre 38.71 ppm e 10.83 ppm indicam a presença de carbonos metilénicos (-CH<sub>2</sub>-) e metílicos (-CH<sub>3</sub>), em ambientes alifáticos.

O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  da fração AL.C2-45 apresentado parece ser de um composto orgânico que contém 62 átomos de carbonos provavelmente com uma estrutura molecular aromática substituída aos grupos alquilos e possivelmente grupos funcionais carbonílicos (ácido carboxílicos, ésteres, cetonas ou aldeídos).

De acordo com os dados observados nos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  da fração AL.C3-22, o composto provavelmente possui uma parte correspondente ao esqueleto de glicerol que dá origem aos sinais específicos particularmente na região de 4-5 ppm para RMN de  $^1\text{H}$  e 60-70 ppm para RMN  $^{13}\text{C}$ , a presença de grupo carbonilo, de grupos metilo e metileno em longas cadeias alifáticas, possíveis insaturações (carbonos com ligações duplas). Isso sugere que o composto pode ser um triglicerídeo.

#### **4.4.3.2. Fração AL.C3- 23**

As Figuras 4.59 e 4.60 mostram, respetivamente, os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  da fração AL.C3-23, com as suas interpretações.

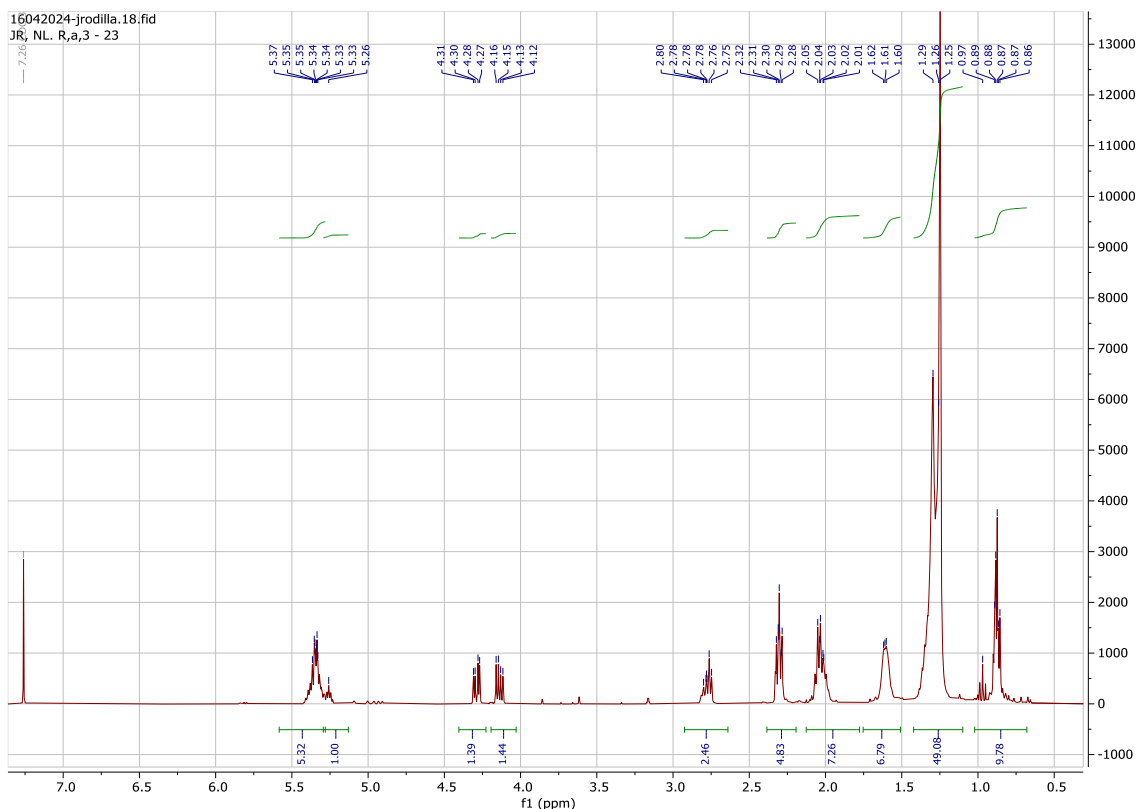


Figura 4. 59: Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da fração AL.C3-23

Observando o espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da fração AL.C3-23, pode interpretar os seus dados da seguinte maneira:

- os sinais de prótons encontrados entre 5,37 e 5,26 ppm podem representar prótons em duplas ligações ou em sistemas alílicos. A complexidade dos padrões de proteção aqui sugere diferentes ambientes de proteção para estes prótons.
- os sinais de prótons encontrados entre 4,31 e 4,12 ppm caracterizam provavelmente os prótons em grupos metilenos ( $-\text{CH}_2-$ ) adjacentes a heteroátomos (como oxigênio ou nitrogênio) ou em ambientes heterocíclicos. A presença de vários padrões de proteção sugere diversos tipos de substituição ou proximidade a grupos funcionais eletronegativos.
- os sinais de prótons encontrados entre 2,80 ppm e 0,86 ppm: típicos de prótons metílicos ou metilénicos em ambientes mais saturados ou alifáticos, frequentemente próximos a carbonilos ou outros retiradores de elétrons, o que se reflete na posição química presente.

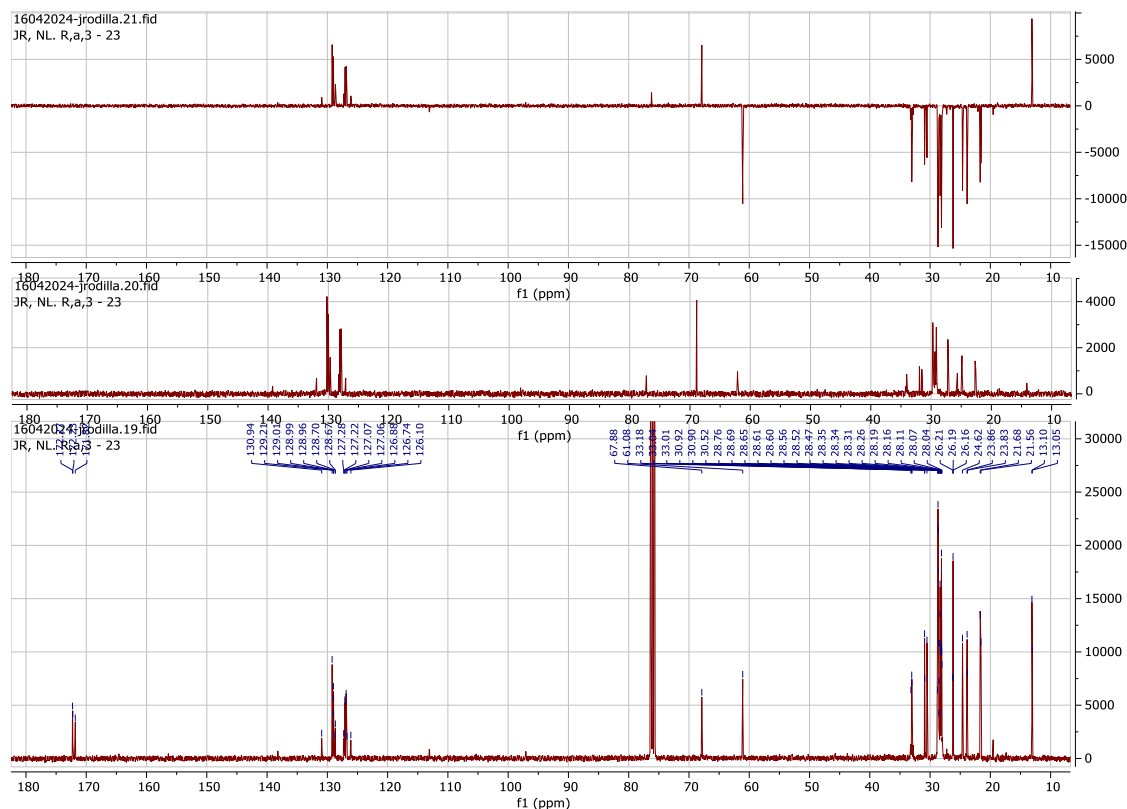


Figura 4. 60: Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  da fração AL.C3-23

O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  acima apresentado, interpreta-se da seguinte maneira:

- os sinais de  $^{13}\text{C}$  encontrados entre 172.27 ppm e 171.82 ppm sugerem a presença de 3 carbonos em grupos funcionais de ácidos carboxílicos ou ésteres.
- os sinais de  $^{13}\text{C}$  encontrados entre 130.94 ppm e 126.10 ppm indicam a presença de 14 carbonos em anéis aromáticos ou duplas ligações ( $-\text{C}=\text{C}-$ ).
- os sinais de  $^{13}\text{C}$  a 67.88 ppm e 61.08 ppm indicam a presença de carbonos ligados a heteroátomos (X, O, N), como em grupos alcoólicos (álcoois, éteres) ou nitrilo.
- os sinais de  $^{13}\text{C}$  encontrados entre 33.18 ppm e 67.08 ppm indicam a presença de 34 carbonos saturados em grupos alquila ( $-\text{CH}_3$ ,  $-\text{CH}_2-$ , etc.).

Os dados observados nos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  da fração AL.C3-23 apresentam as mesmas características com os da fração AL.C3-22 acima referido. Isso significa que o composto sugerido pode ser um triglicerídeo.

#### 4.4.3.3. Fração AL.C3– 28

As Figuras 4.61, 4.62, 4.63 mostram, respetivamente, os espectros de RMN de  $^1\text{H}$ , de  $^{13}\text{C}$  e da correlação de HSQC da fração AL.C3-28, com as suas interpretações.

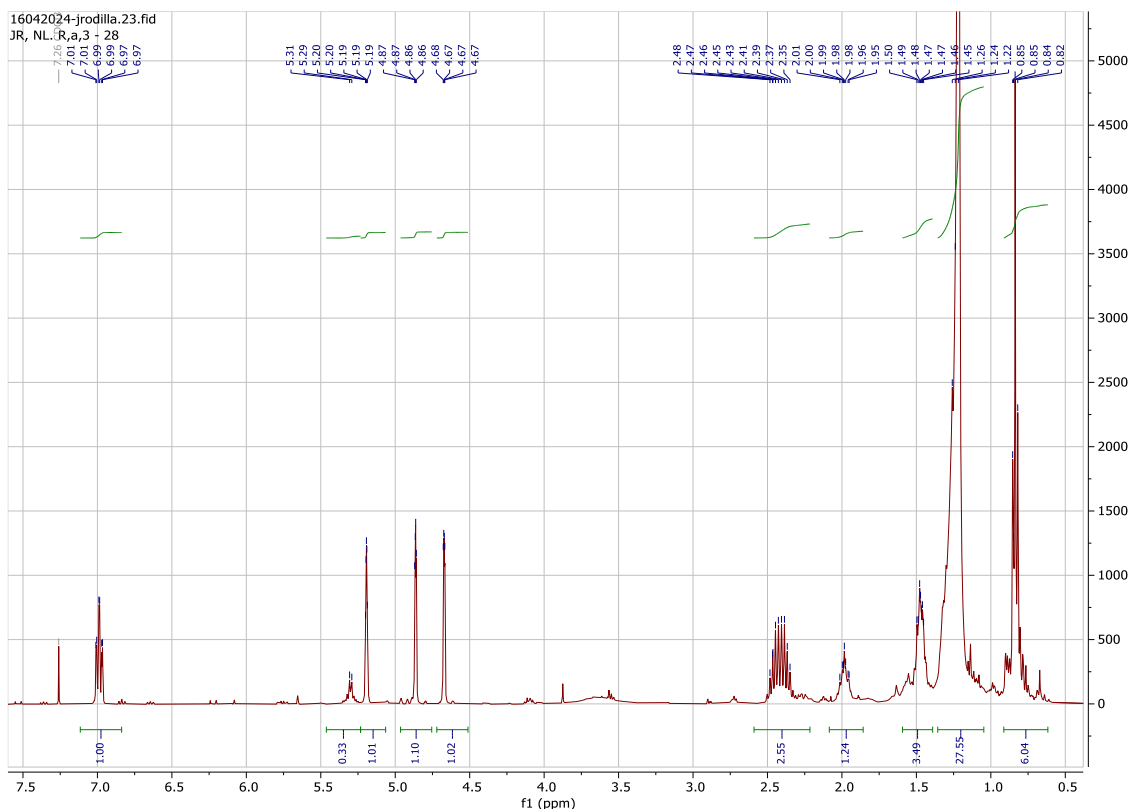


Figura 4. 61: Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da fração AL.C3-28

Os dados do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da fração AL.C3-28 observados, podem ser interpretados da seguinte maneira:

- os sinais de prótons encontrados entre 7.01 ppm e 6.97 ppm sugerem a presença de prótons (dupletos) ligados a carbonos do anel benzênico.
- os sinais de prótons encontrados entre 5.51 ppm e 4.67 ppm indicam uma provável presença de prótons (singletos, dupletos e tripletos) provavelmente ligados em carbonos em anéis aromáticos ou duplas ligações ( $-\text{C}=\text{C}-$ ).
- os sinais de prótons encontrados entre 2.48 ppm e 2.00 ppm apresentam possibilidade de prótons (singletos e dupletos) em carbonos da tripla ou dupla ligação, em carbono aromático, ou em carbono ligado ao grupo carbonilo.
- os sinais de prótons encontrados entre 1.99 ppm a 0.82 ppm indicam a presença de vários prótons metilos ou metilenos em ambientes saturados ou alifáticos.

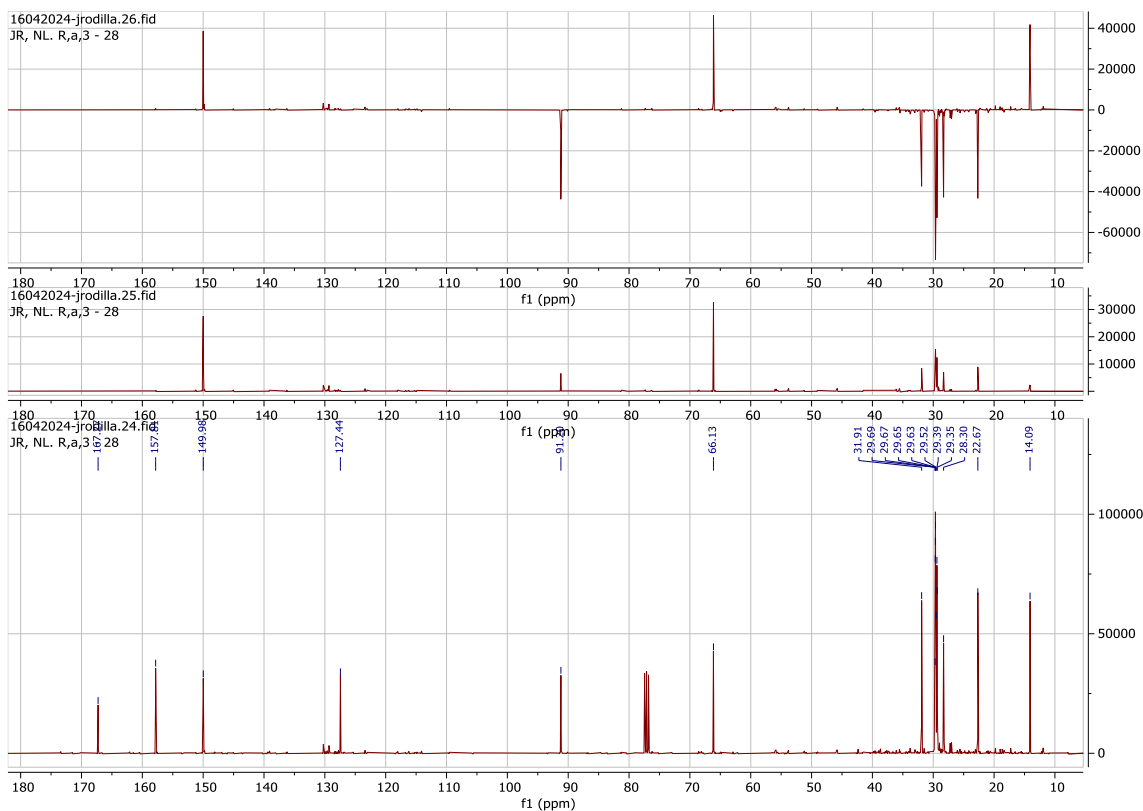


Figura 4. 62: Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  da fração AL.C3-28

O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  da fração AL.C3-28 apresentado, interpreta-se da seguinte maneira:

- o sinal de  $^{13}\text{C}$  a 167.27 ppm indica a presença de um carbono do grupo carbonilo de grupos funcionais do ácido carboxílico, do éster ou da amida.
- o sinal de  $^{13}\text{C}$  a 157.81 ppm indica a presença de um carbono do grupo carbonilo de grupos funcionais do éster ou da amida.
- os sinais de  $^{13}\text{C}$  encontrados entre 149.98 ppm e 127.44 ppm indicam a presença de dois carbonos em anéis aromáticos ou duplas ligações ( $-\text{C}=\text{C}-$ ).
- o sinal de  $^{13}\text{C}$  a 91.20 ppm indica a presença de um carbono insaturado (tripla ligação) ou carbono de um anel aromático substituído.
- o sinal de  $^{13}\text{C}$  a 66.13 ppm indica um carbono ligado aos átomos electronegativos (oxigénio: éter ou álcool; halogénios, ou nitrogénio com ligação simples).
- os sinais de  $^{13}\text{C}$  encontrados entre 31.97 ppm e 14.09 ppm indicam a presença de 11 carbonos saturados em grupos alquila ( $-\text{CH}_3$ ,  $-\text{CH}_2-$ , etc.).

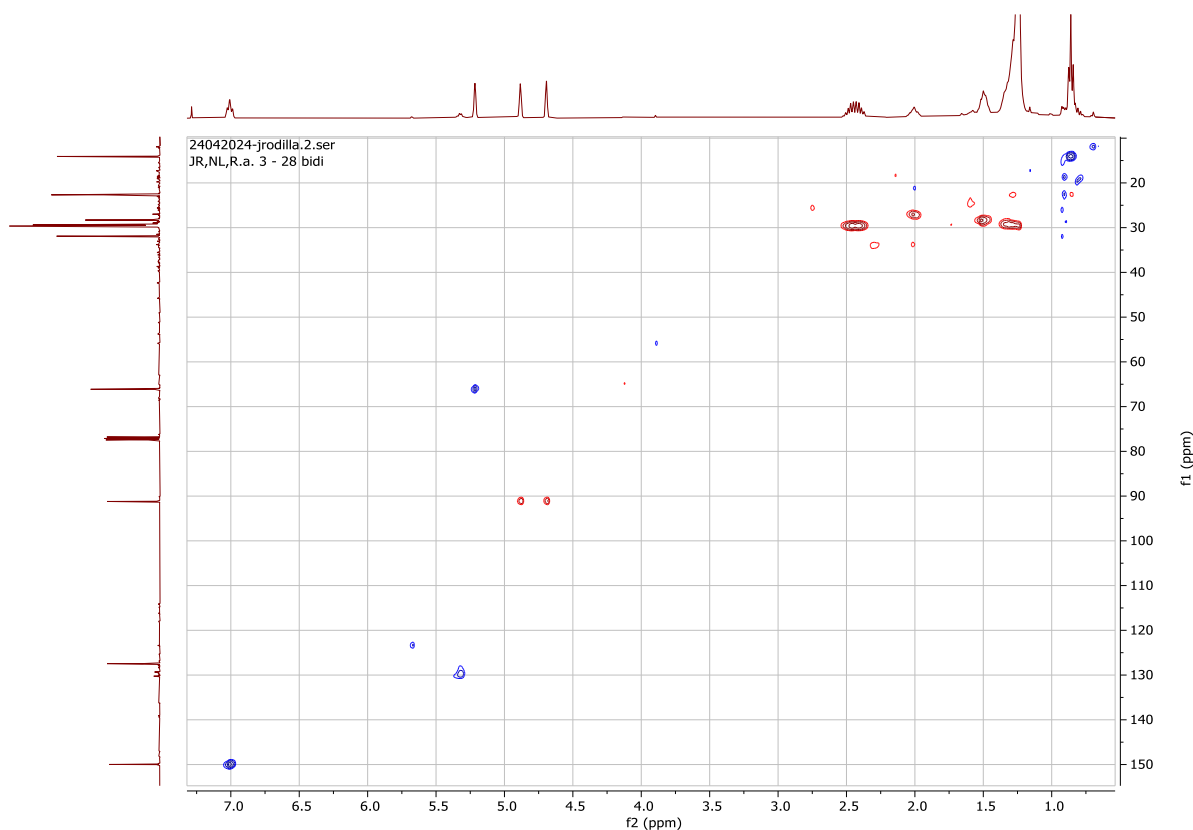


Figura 4. 63: Espectro de Correlação de HSQC da fração AL.C3-28

Neste espectro de correlação de HSQC da fração AL.C3-28 verifica-se a correlação entre:

- o sinal de próton a 7.0 ppm e o sinal de  $^{13}\text{C}$  a aproximadamente 157.81 ppm;
- os sinais de prótons encontrados no intervalo 4.5 ppm - 5.5 ppm e um sinal de  $^{13}\text{C}$  (q) a 66.13 ppm, e dois sinais de  $^{13}\text{C}$  (q) a 91.20 ppm.
- os sinais de prótons encontrados entre 2.35 ppm a 2.48 ppm e um sinal de  $^{13}\text{C}$  a 31.97 ppm.
- os sinais de prótons encontrados entre 1.45 ppm - 1.50 ppm e os sinais de  $^{13}\text{C}$  a 28.30 ppm e no intervalo de 29.35 ppm - 29.69 ppm.
- os sinais de prótons encontrados entre 1.22 ppm - 1.26 ppm e o sinal de  $^{13}\text{C}$  a 22.67 ppm.
- os sinais de prótons encontrados entre 0.82 ppm - 0.85 ppm e o sinal de  $^{13}\text{C}$  a 14.09 ppm.

De acordo com os dados dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  acima mencionados sugerem um composto com grupo carbonilo em sistemas aromáticos ou carbonos insaturados (duplas ligações) com substitutos grupos alquila com carbonos saturados que corresponde a um éster de um ácido insaturada substituído desconhecido.

#### 4.4.3.4. Fração AL.C3- 31

As Figuras 4.64 e 4.65 mostram, respectivamente, os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  da fração AL.C3-31, acompanhados de suas interpretações.

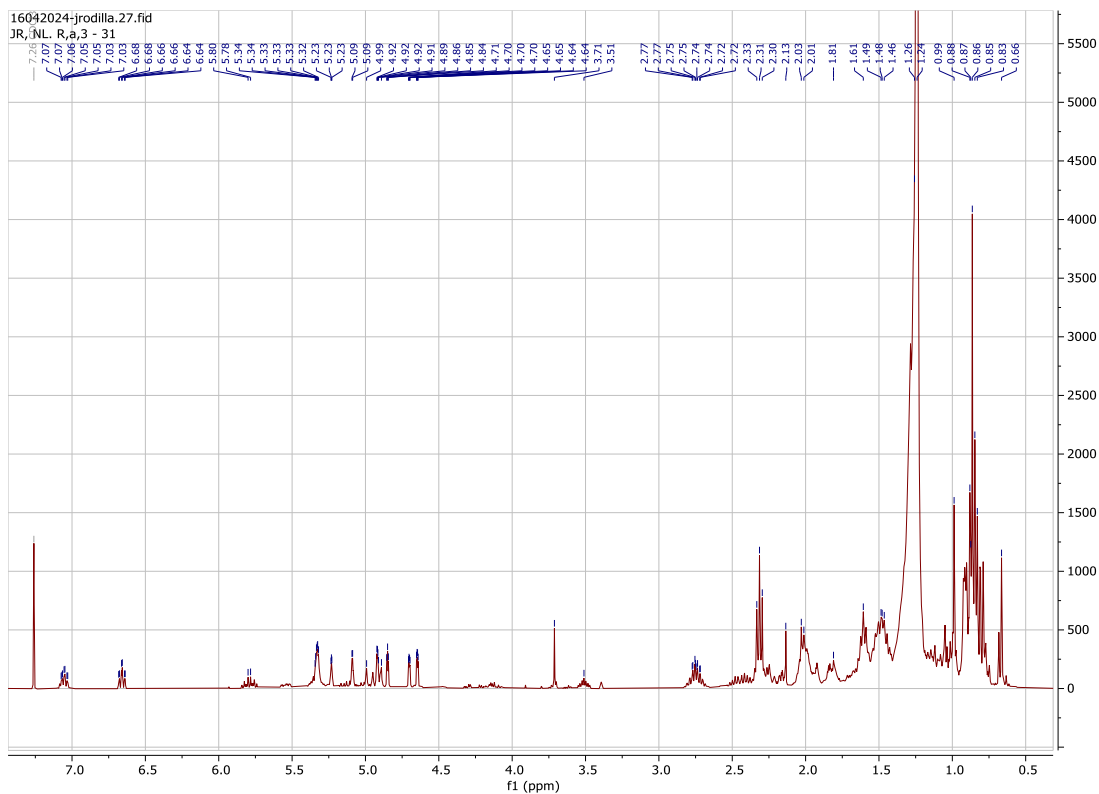


Figura 4. 64: Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da fração AL.C3-31

Os dados do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da fração AL.C3-31 observados, podem ser interpretados da seguinte maneira:

- os sinais de prótons a 7.07 ppm (duplete), 7.06 ppm (singleto), 7.05 ppm (duplete) e 7.03 ppm (duplete) apresentam os sinais de próton ligado a um carbono do anel benzénico.
- os sinais de prótons a 6.68 ppm (duplete), 6.66 ppm (duplete) e 6.64 ppm (duplete) apresentam os sinais de próton do grupo hidroxilo ligado ao carbono do anel benzénico.
- os sinais de prótons a 5.80 ppm (singleto), 5.78 ppm (singleto), 5.34 ppm (duplete), 5.33 ppm (triplete), 5.32 ppm (singleto), 5.23 ppm (triplete), 5.09 ppm (duplete), 4.99 ppm (singleto), 4.92 ppm (triplete), 4.91 ppm (singleto), 4.89 ppm (singleto), 4.86 ppm (singleto), 4.85 ppm (singleto), 4.84 ppm (singleto), 4.71 ppm (singleto), 4.70 ppm (triplete), 4.65 ppm (duplete), 4.64 ppm (duplete) apresentam os sinais

de próton provavelmente ligado ao carbono do anel aromático ou da dupla ligação (-C=C-).

- os sinais de prótons a 3.71 ppm (singleto) e 3.51 ppm (singleto) indicam os sinais de prótons adjacentes a heteroátomos (como oxigênio ou nitrogênio) (X,N,O-CH).
- os sinais de prótons do intervalo de 2.77 ppm a 2.01 ppm (dupletos e singletos) indicam os sinais de prótons em carbonos da tripla ou dupla ligação, em carbono aromático, ou em carbono ligado ao grupo carbonilo.
- os sinais de prótons do intervalo de 1.81 ppm a 0.66 ppm (singletos) indicam a presença de vários prótons metilos ou metilenos em ambientes saturados ou alifáticos.

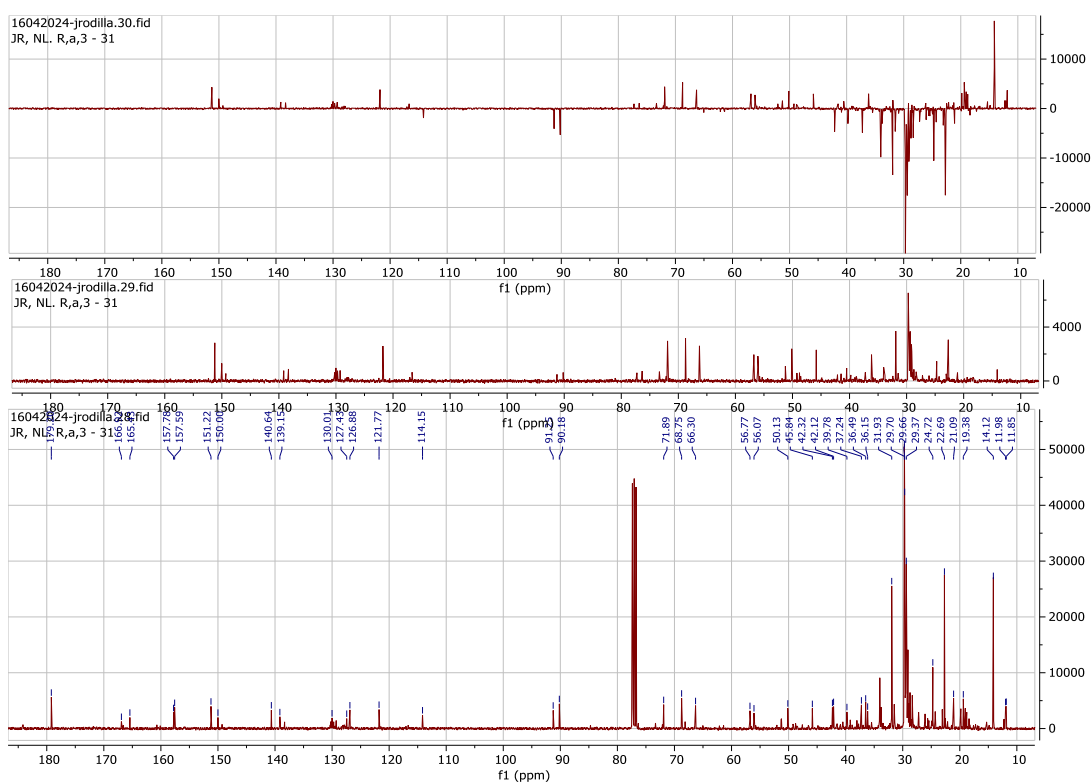


Figura 4. 65: Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  da fração AL.C3-31

O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  da fração AL.C3-31 apresentado, interpreta-se da seguinte maneira:

- O sinal de  $^{13}\text{C}$  a 179.20 ppm indica a presença de um carbono do grupo carbonilo de grupos funcionais do ácido carboxílico ou do éster.
- Os sinais de  $^{13}\text{C}$  a 166.93 ppm, 165.43 ppm, 157.78 ppm, 157.59 ppm, 151.22 ppm e 150.00 ppm indicam a presença de carbonos do grupo carbonilo de grupos funcionais do éster ou da amida.

- Os sinais de  $^{13}\text{C}$  a 140.64 ppm, 139.15 ppm, 130.01 ppm, 127.43 ppm, 126.88 ppm, 121.77 ppm e 114.15 ppm indicam a presença de carbonos em anéis aromáticos ou duplas ligações ( $-\text{C}=\text{C}-$ ).
- Os sinais de  $^{13}\text{C}$  a 91.25 ppm, 90.18 ppm e 71.89 ppm indicam a presença de três carbonos insaturados (tripla ligação) ou carbonos de um anel aromático substituído.
- Os sinais de  $^{13}\text{C}$  encontrados entre 68.75 ppm e 21.09 ppm indicam carbonos ligados aos átomos electronegativos (oxigênio: éter ou álcool; halogénios, ou nitrogênio com ligação simples).
- Os sinais de  $^{13}\text{C}$  encontrados entre 56.77 ppm e 11.85 ppm indicam a presença de carbonos saturados em grupos alquila ( $-\text{CH}_3$ ,  $-\text{CH}_2-$ , etc.).

O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  acima mencionado sugere uma estrutura molecular com 40 átomos de carbonos cujos 1 pode ser associado ao grupo funcional de ácido carboxílico ou éster e 6 aos grupos funcionais do éster ou da amida em sistemas aromáticos com substitutos grupos alquila com carbonos saturados. Isso pode ser um éster ou um ácido carboxílico.

#### **4.4.4. Análise do extrato de acetona do de raízes por RMN de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$**

Os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  de cada uma das frações selecionadas do extrato de acetona de raízes da planta em estudo, foram apresentados, analisados e interpretados a fim de identificar e caracterizar os fitoquímicos presente na mesma, visando a contribuir para elucidação das estruturas moleculares dos referidos compostos.

##### **4.4.4.1. Fração AL.C4– 78**

As Figuras 4.66 e 4.67 mostram, respetivamente, os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  da fração AL.C4-78, juntamente com as suas interpretações.

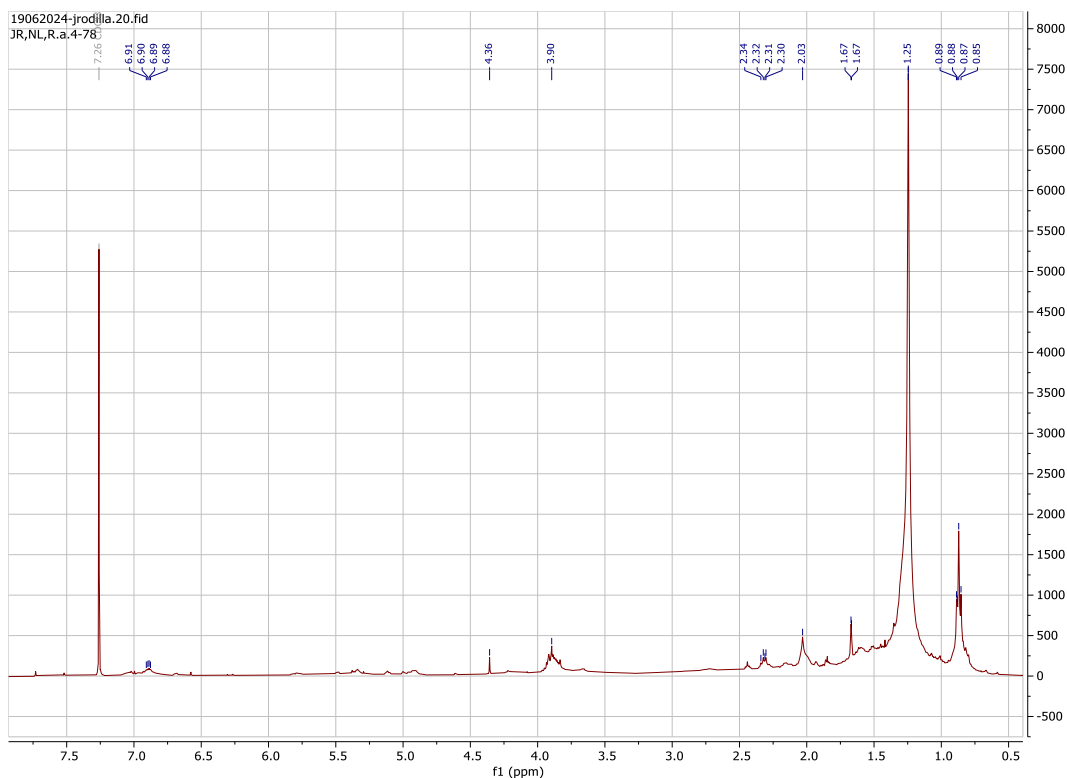


Figura 4. 66: Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da fração AL.C4-78

Os dados do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da fração AL.C4-78 observados, podem ser interpretados da seguinte maneira:

- Os sinais de prótons encontrados entre 6.91 ppm e 6.88 ppm indicam a presença de prótons singletos provavelmente ligados em carbonos de duplas ligações ( $-\text{C}=\text{C}-$ ) ou prótons de grupos hidroxilos ligados ao anel aromático.
- O sinal de próton a 4.36 ppm indica a presença do próton singlete provavelmente ligado em carbonos de duplas ligações ( $-\text{C}=\text{C}-$ ).
- O sinal de próton a 3.90 ppm indica a presença do próton singlete provavelmente ligado ao carbono adjacente aos heteroátomos (X, O, N).
- Os sinais de prótons encontrados entre 2.34 ppm e 2.03 ppm indicam a presença de prótons singletos provavelmente ligados em carbonos adjacentes ao carbono da dupla ligação, ao anel aromático, ao grupo carbonilo e ao carbono da tripla ligação.
- Os sinais de prótons a 1.67 ppm (duplete) e prótons encontrados entre 1.25 ppm e 0.85 ppm indicam a presença de prótons (singletos) metilos ou metilenos em ambientes saturados.

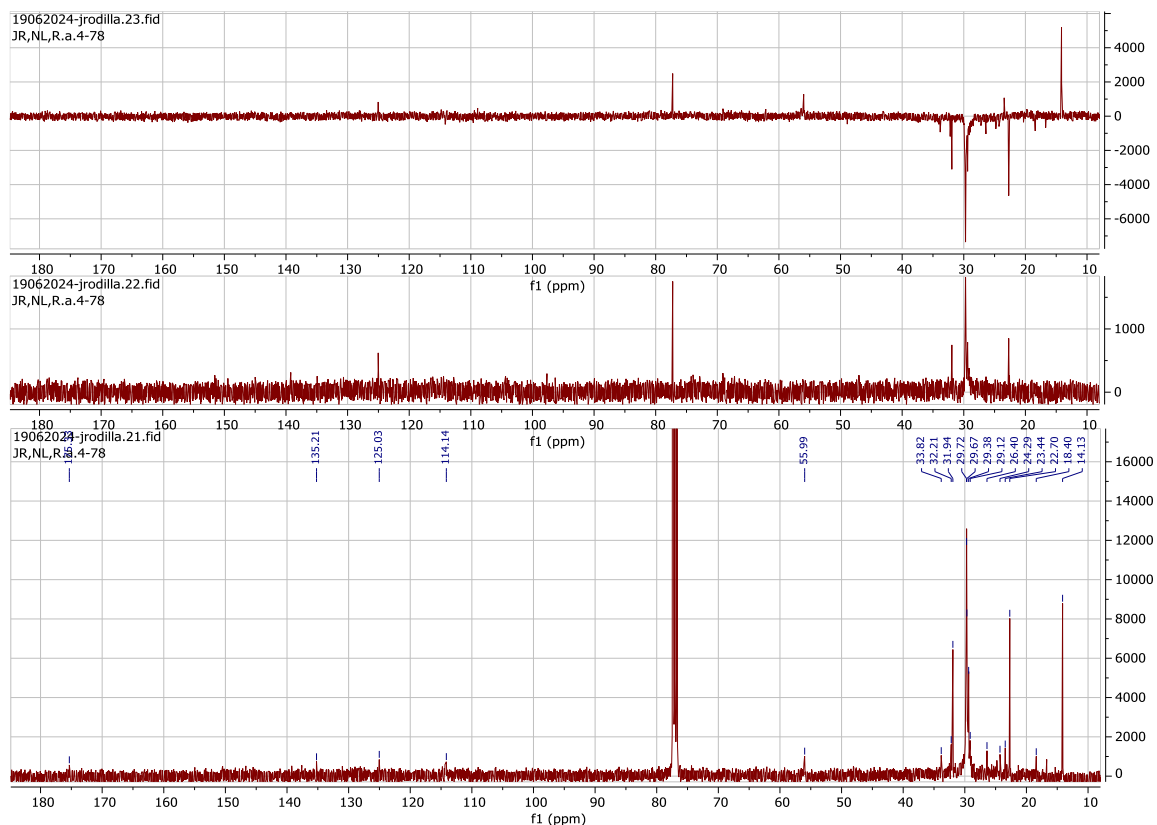


Figura 4. 67: Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  da fração AL.C4-78

O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  da fração AL.C4-78 apresentado, interpreta-se da seguinte maneira:

- O sinal de  $^{13}\text{C}$  a 175.33 ppm indica a presença de um carbono do grupo carbonilo de grupos funcionais do ácido carboxílico ou do éster.
- Os sinais de  $^{13}\text{C}$  a 135.21 ppm, 125.03 ppm e 114.14 ppm indicam a presença de carbonos em anéis aromáticos ou duplas ligações (-C=C-).
- O sinal de  $^{13}\text{C}$  a 55.99 ppm indica a presença de carbono adjacente aos heteroátomos (X, O, N).
- Os sinais de  $^{13}\text{C}$  encontrados entre 33.82 ppm e 14.13 ppm indicam a presença de carbonos saturados em grupos alquila (-CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>-, etc.).

Os dados mencionados nos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  da fração AL.C4-78 mostram que o composto possui uma estrutura com grupo carbonilo em sistema aromático ou insaturado com substitutos dos grupos alifáticos saturados, como metilo e metileno. Isso pode ser um éster de um ácido graxo.

#### 4.4.4.2. Fração AL.C4- 83

As Figuras 4.68 e 4.69 apresentam, respectivamente, os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  da fração AL.C4-83, acompanhando com as suas interpretações.

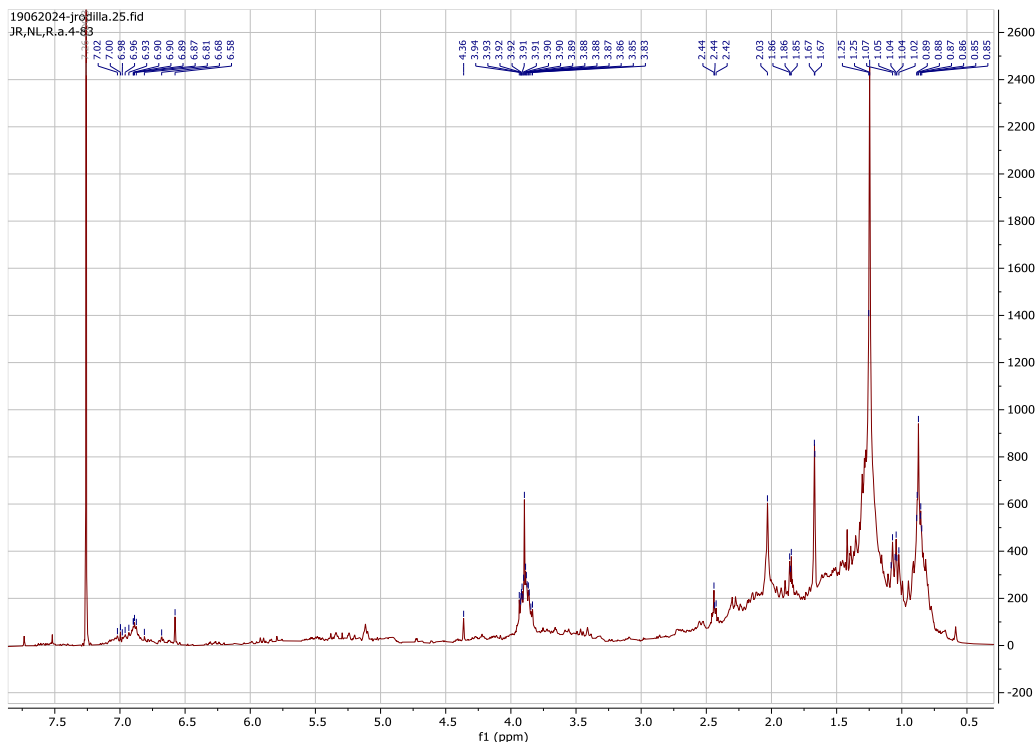


Figura 4. 68: Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da fração AL.C4-83

Os dados do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da fração AL.C4-83 observados, podem ser interpretados da seguinte maneira:

- Os sinais de prótons encontrados entre 7.02 ppm e 6.58 ppm indicam a presença de prótons (singletos e dupletos) provavelmente ligados em carbonos do anel aromático ou prótons de grupos hidroxilos ligados ao anel aromático.
- O sinal de próton a 4.36 ppm indica a presença do próton singlete provavelmente ligado em carbonos de duplas ligações ( $-\text{C}=\text{C}-$ ).
- Os sinais de prótons encontrados entre 3.94 ppm e 3.83 ppm indicam a presença de prótons (singletos e dupletos) provavelmente ligado ao carbono adjacente aos heteroátomos (X, O, N).
- Os sinais de prótons encontrados entre 2.44 ppm e 2.03 ppm indicam a presença de prótons singletos provavelmente ligados em carbonos adjacentes ao carbono da dupla ligação, ao anel aromático, ao grupo carbonilo e ao carbono da tripla ligação.
- Os sinais de prótons encontrados entre 1.86 ppm a 0.85 ppm indicam a presença de prótons (singletos e dubletos) metilos ou metilenos em ambientes saturados.

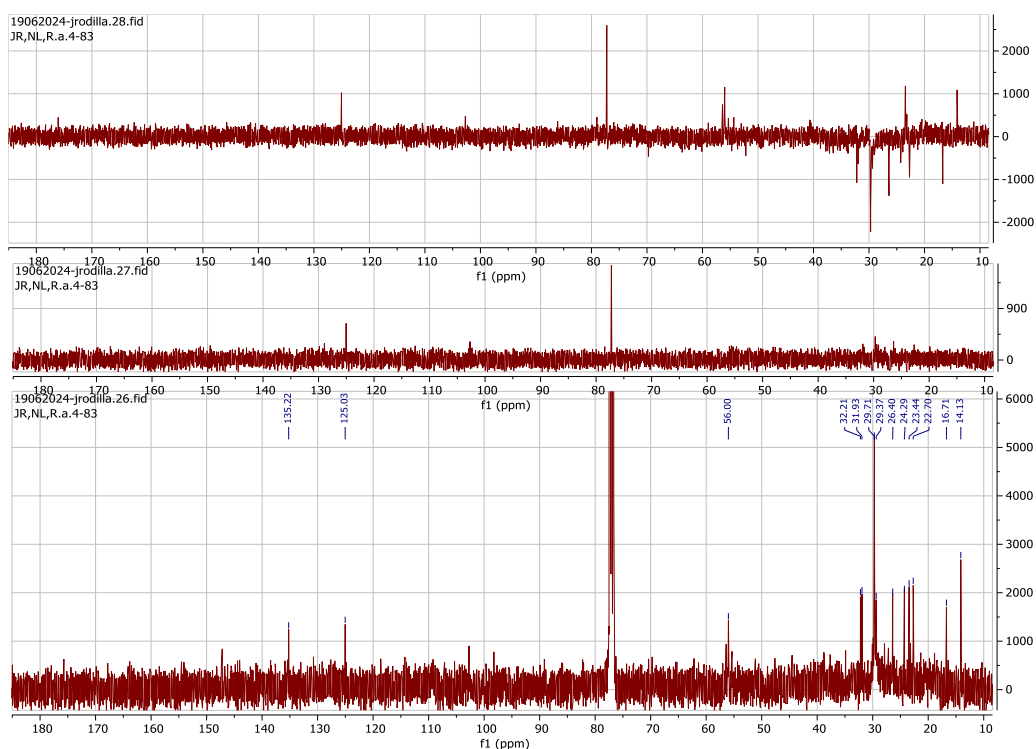


Figura 4. 69: Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  da fração AL.C4-83

O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  da fração AL.C4-83 apresentado, interpreta-se da seguinte maneira:

- Os sinais de  $^{13}\text{C}$  a 135.22 ppm e 125.03 ppm indicam a presença de carbonos em anéis aromáticos ou duplas ligações ( $-\text{C}=\text{C}-$ ).
- O sinal de  $^{13}\text{C}$  a 56.00 ppm indica a presença de carbono adjacente aos heteroátomos (X, O, N).
- Os sinais de  $^{13}\text{C}$  encontrados entre 32.21 ppm e 14.13 ppm indicam a presença de carbonos saturados em grupos alquila ( $-\text{CH}_3$ ,  $-\text{CH}_2-$ , etc.).

Com as observações feitas nos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  da fração AL.C4-83, o composto sugerido provavelmente possui uma estrutura com anel aromático ou carbonos com duplas ligações, carbono adjacente aos heteroátomos. Isso sugere que o composto pode ser um hidrocarboneto ou um álcool.

## Capítulo 5: Conclusões e perspectivas futuras

A presente dissertação teve como objectivo geral caracterizar os compostos fitoquímicos presentes nos extratos de casca da parte aérea e das raízes da *Alchornea cordifolia* (Schumach. e Thonn.) Müll. Arg., e como objetivos específicos preparar os extratos, isolar e purificar os compostos, e identificar suas estruturas usando técnicas espectroscópicas. De acordo com os métodos usados, concluiu-se o seguinte:

Os extratos da casca da parte aérea e das raízes da *Alchornea cordifolia* (Schumach. e Thonn.) Müll. Arg. foram preparados utilizando métodos de extração apropriados, como a extração por Soxhlet e extração por maceração, o que permitiu a obtenção eficiente de uma ampla gama de compostos fitoquímicos. Os solventes utilizados incluíram hexano, acetona e etanol, foram selecionados para extrair diferentes classes de compostos com base em sua polaridade. Os extratos obtidos foram analisados para determinar o rendimento e a eficiência dos diferentes métodos de extração, permitindo selecionar os solventes e condições mais adequados para futuras análises.

Os compostos presentes nos extratos foram isolados e purificados através de métodos cromatográficos, como a cromatografia em coluna (CC) e a cromatografia em camada fina (CCF). Estes métodos permitiram a separação eficaz dos componentes complexos das misturas de extratos. Foram identificadas várias frações distintas, que foram posteriormente submetidas a análises mais detalhadas. A cromatografia em coluna foi fundamental para o isolamento de grandes quantidades de compostos, enquanto a CCF auxiliou na rápida identificação e purificação de compostos menores. Os extratos brutos de hexano obtidos foram submetidos ao processo de desceração, e a cera do extrato de hexano da casca da parte aérea obtida foi analisada por CG-EM para identificar os compostos fitoquímicos presentes.

Para identificar as estruturas dos compostos isolados foram identificadas, foi questão de utilizar as técnicas espectroscópicas avançadas, incluindo Espectroscopia Infravermelha (IV), Ressonância Magnética Nuclear (RMN) e Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM), mas por problemas técnicos, só foi possível realizar as análises de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  nas frações selecionadas, que forneceram informações sobre as prováveis estruturas dos compostos pesquisados. A integração e o deslocamento químico dos picos no espectro de RMN permitiram a determinação das estruturas das cadeias de carbono e a identificação da posição dos grupos funcionais.

A CG-EM realizada na cera do extrato de hexano da casca da parte aérea permitiu na identificação de quinze compostos fitoquímicos majoritários, nomeadamente: Acetato de

7,11-hexadecadien -1-ilo,  $\gamma$ -sitosterol, 24-metileno-9,19-ciclolanostan-3-ol obtidos da parte neutre; 3,4-dimetoxicinnamato de metilo, Palmitato de metiltrimetilsililo, Eicosanoato de metilo, Tetracosanoato de metilo, Hexacosanoato de metilo, Octacosanoato de metilo, 1-triacontanol, Triacotanoato de metilo; 2,5-dimetoxicinnamato de metilo, 11-octadecenoato de metilo, Tricosanoato de metil(trimetilsililo) e Octacosanol isolados das partes ácidas 1 e 2. A caracterização destes compostos fitoquímicos revelou a possível presença de várias classes de compostos bioativos, incluindo terpenoides, flavonoides, ácidos graxos e ácidos fenólicos. Alguns dos compostos identificados são conhecidos por suas propriedades medicinais e terapêuticas, destacando o potencial da *Alchornea cordifolia* (Schumach. e Thonn.) Müll. Arg. como fonte de substâncias bioativas com possíveis aplicações farmacêuticas.

A combinação de métodos cromatográficos, como CC e CCF, demonstrou ser eficaz na separação e purificação dos compostos presentes nos extratos, permitindo a obtenção de frações adequadas para análise estrutural.

As informações obtidas da técnica espectroscópica (RMN) utilizada na identificação de estruturas precisam mais técnicas complementares para a identificação precisa e detalhada dos compostos isolados, a implicação das outras técnicas (IV, CG-EM) são necessárias e importantes para um resultado claro e adequado. As análises dos espectros de RMN das frações realizadas deram as ideias sobre as estruturas dos compostos identificados.

Considerando a importância medicinal desta planta, aponta-se um estudo mais completo começando para completar o estudo não concluído realizando o resto das análises espectroscópicas (IV, CG-EM, HPLC, etc.) nas frações selecionadas e um estudo completo do extrato de etanol acetilado das raízes. Sugere-se de analisar a cera do extrato de hexano das raízes. Achou-se pertinente realizar estudo das actividades biológicas, como actividade antimicrobiana, antidiabética, e outras actividades. Em outros estudos futuros seria mais importante de proceder a uma caracterização fitoquímica das frutas desta planta visto que os investigadores não se interessam nesta parte da mesma.

## Referências bibliográficas

- Adeneye, A. A. dewale, Oreagba, A. I. brahim, Ishola, I. O. gunbayode, & Kalejaiye, H. A. deola. (2014). Evaluation of the anti-arthritic activity of the hydroethanolic leaf extract of *Alchornea cordifolia* in rats. *African Journal of Traditional, Complementary, and Alternative Medicines : AJTCAM / African Networks on Ethnomedicines*, 11(2), 402–410. <https://doi.org/10.4314/ajtcam.v11i2.26>
- Adeyemi, I. A., Omonigbehin, A. E., Stella, S., Oluwatosin, O., & Jumoke, S. (2008). Antibacterial activity of extracts of *Alchornea cordifolia* (Schum and Thonn) Mull.Arg., *Boerhavia diffusa* (L) and *Bridellia micrantha* (Hoscht) Baill. used in traditional medicine in Nigeria on *Helicobacter pylori* and four diarrhoeagenic bacterial pathogens. *African Journal of Biotechnology*, 7(20), 3761–3764. <http://www.academicjournals.org/AJB>
- Agyare, C., Boakye, Y. D., Bekoe, E. O., Hensel, A., Dapaah, S. O., & Appiah, T. (2016). Review: African medicinal plants with wound healing properties. *Journal of Ethnopharmacology*, 177, 85–100.
- Altemimi, A., Lakhssassi, N., Baharlouei, A., Watson, D. G., & Lightfoot, D. A. (2017). Phytochemicals: Extraction, isolation, and identification of bioactive compounds from plant extracts. In *Plants* (Vol. 6, Issue 4). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/plants6040042>
- Ben Salah, H., & Allouche, N. (2019a). *Plant-Based Chemicals Extraction and Isolation* (pp. 89–117). [https://doi.org/10.1007/978-981-13-3810-6\\_4](https://doi.org/10.1007/978-981-13-3810-6_4)
- Ben Salah, H., & Allouche, N. (2019b). *Plant-Based Chemicals Extraction and Isolation* (pp. 89–117). [https://doi.org/10.1007/978-981-13-3810-6\\_4](https://doi.org/10.1007/978-981-13-3810-6_4)
- Bitwell, C., Indra, S. Sen, Luke, C., & Kakoma, M. K. (2023). A review of modern and conventional extraction techniques and their applications for extracting phytochemicals from plants. *Scientific African*, 19. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2023.e01585>
- Boniface, P. K., Ferreira, S. B., & Kaiser, C. R. (2016). Recent trends in phytochemistry, ethnobotany and pharmacological significance of *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Muell. Arg. In *Journal of Ethnopharmacology* (Vol. 191, pp. 216–244). Elsevier Ireland Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.06.021>

- Devappa, R. K., Rakshit, S. K., & Dekker, R. F. H. (2015). Forest biorefinery: Potential of poplar phytochemicals as value-added co-products. *Biotechnology Advances*, 33(6), 681–716.
- Effo, K. E., Kouakou-Siransy, G., Irie-Nguessan, G., Sawadogo, R. W., Dally, I. L., Kamenan, A. B., Kouakou, L. S., & Kablan-Brou, J. (2013). Acute Toxicity and Antipyretic Activities of a Methanolic Extract of *Alchornea cordifolia* Leaves. *Pharmacology & Pharmacy*, 04(07), 1–6. <https://doi.org/10.4236/pp.2013.47a2001>
- Essien, E., Newby, J., Walker, T., Setzer, W., & Ekundayo, O. (2015). Characterization and Antimicrobial Activity of Volatile Constituents from Fresh Fruits of *Alchornea cordifolia* and *Canthium subcordatum*. *Medicines*, 3(1), 1. <https://doi.org/10.3390/medicines3010001>
- Fabirkiewicz, A. M., & Stowell, J. C. (2016). *Intermediate organic chemistry* (J. & S. Inc. Wiley, Ed.; Third Edition).
- Feng, W., Li, M., Hao, Z., & Zhang, J. (2019). Analytical Methods of Isolation and Identification. In *Phytochemicals in Human Health*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.88122>
- Frigolet, M. E., & Gutiérrez-Aguilar, R. (2017). The role of the novel lipokine palmitoleic acid in health and disease. *Advances in Nutrition*, 8(1), 173S-181S. <https://doi.org/10.3945/an.115.011130>
- Goueh, G., Allassane, K., John, K. K., & Koffi, K. (2021). Assessment of the acute, subacute and Subchronic toxicity of a total aqueous extract of leaves of *Alchornea cordifolia* (Schumach and Thonn) Müll Arg (Euphorbiaceae) on rats Wistar. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 10(1), 1609–1614. <https://doi.org/10.22271/phyto.2021.v10.i1w.13576>
- Gupta, A., Kothari, V., & Naraniwal, M. (2012). *Modern extraction methods for preparation of bioactive plant extracts*. <https://www.researchgate.net/publication/236229645>
- Harris, D. C. (2016). *Quantitative Chemical Analysis* (W.H. Freeman and Company, Ed.; 9th Edition).
- Hu, W., Fitzgerald, M., Topp, B., Alam, M., & O'Hare, T. J. (2019). A review of biological functions, health benefits, and possible de novo biosynthetic pathway of palmitoleic acid in macadamia nuts. *Journal of Functional Foods*, 62(103520).
- Ishola, I. O., Agbaje, E. O., Akinleye, M. O., Ibeh, C. O., & Adeyemi, O. O. (2014). Antidepressant-like effect of the hydroethanolic leaf extract of *Alchornea cordifolia*

- (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. (Euphorbiaceae) in mice: Involvement of monoaminergic system. *Journal of Ethnopharmacology*, 158(PartA), 364–372. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.10.008>
- Kaur, H. (2018). Review on the extraction methods used in medicinal plants. *International Journal of Advanced in Management, Technology and Engineering Sciences*, 8(3), 1314–1320. <http://ijamtes.org/>
- Koffi, E. N., N'Guessan, O. H. A., N'Da, P. K., Ouattara, I. S., Konan, S. K., & Adima, A. A. (2021). Comparative Study of the Chemical Composition and Antioxidant Capacity of Leaves, Stems and Roots of *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. *European Journal of Medicinal Plants*, 65–75. <https://doi.org/10.9734/ejmp/2021/v32i430385>
- Koomson, C. K. (2023). Adulticidal, ovicidal and repellent potencies of *Alchornea cordifolia* (Schum. & Thonn.) in the management of the malaria vector *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae). *Arthropods*, 12(4), 251–259. [www.iaees.org/Article](http://www.iaees.org/Article)
- Kouakou, K., Schepetkin, I. A., Yapi, A., Kirpotina, L. N., Jutila, M. A., & Quinn, M. T. (2013). Immunomodulatory activity of polysaccharides isolated from *Alchornea cordifolia*. *Journal of Ethnopharmacology*, 146(1), 232–242. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.12.037>
- Mambe, F. T., Voukeng, I. K., Beng, V. P., & Kuete, V. (2016). Antibacterial activities of methanol extracts from *Alchornea cordifolia* and four other Cameroonian plants against MDR phenotypes. *Journal of Taibah University Medical Sciences*, 11(2), 121–127. <https://doi.org/10.1016/j.jtumed.2015.12.001>
- Manga, H. M., Brkic, D., Marie, D. E. P., & Quetin-Leclercq, J. (2004). In vivo anti-inflammatory activity of *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. (Euphorbiaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 92(2–3), 209–214. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.02.019>
- Mavar-Manga, H., Haddad, M., Pieters, L., Baccelli, C., Penge, A., & Quetin-Leclercq, J. (2008a). Anti-inflammatory compounds from leaves and root bark of *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. *Journal of Ethnopharmacology*, 115(1), 25–29. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.08.043>
- Mavar-Manga, H., Haddad, M., Pieters, L., Baccelli, C., Penge, A., & Quetin-Leclercq, J. (2008b). Anti-inflammatory compounds from leaves and root bark of *Alchornea cordifolia* (Schumach. & Thonn.) Müll. Arg. *Journal of Ethnopharmacology*, 115(1), 25–29. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.08.043>

- Mika, A., Kobiela, J., Czumaj, A., Chmielewski, M., Stepnowski, P., & Sledzinski, T. (2017). Hyper-Elongation in Colorectal Cancer Tissue - Cerotic Acid is a Potential Novel Serum Metabolic Marker of Colorectal Malignancies. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 41(2), 722–730. <https://doi.org/10.1159/000458431>
- Ngaha, N. M. I., Dahlan, I., & Massoma, L. D. (2016). Alchornea Cordifolia, a Special Plant for Traditional Medicine: A Review. *Journal of Agroecology and Natural Resource Management*, 3(2), 140–144. <http://www.krishisanskriti.org/Publication.html>
- Ngbolua, K.-T.-N., Mbembo Blaise, M. W., Damien, N. K., Patience, M. L., Colette, M. A., Jean-Jacques, A. D., Mawi, C. F., & Mpiana, P. T. (2022). A mini-review on ethnomedical uses, chemical constituents, pharmacological activities and toxicological study of Alchornea cordifolia (Schum & Thonn) Muell. Arg. *Pharmacy & Pharmacology International Journal*, 10(4), 139–147. <https://doi.org/10.15406/ppij.2022.10.00376>
- Njila, M. I. N., Meng, G. Y., Baiee, F. H., Hambe, C. M., Ebrahimi, M., Awad, E. A., Kenmogne, H., Koloko, B. L., Hambe, M., Mandenguè, S. H., & Lembè, D. M. (2018). Effect of methanolic extract of Alchornea cordifolia leaves on the sexual behavior of senescent and sexually inexperienced rats. *The Journal of Phytopharmacology*, 7(6), 471–476. [www.phytopharmajournal.com](http://www.phytopharmajournal.com)
- Nnamdi, A., Etebong, E., & Davis, K. (2017). Antiplasmodial and antioxidant activities of methanolic leaf extract and fractions of Alchornea cordifolia. In *Journal of Herbmed Pharmacology J Herbmed Pharmacol* (Vol. 6, Issue 4). <http://www.herbmedpharmacol.com>
- Noundou, X. S., Krause, R. W. M., Van Vuuren, S. F., Ndinteh, D. T., & Olivier, D. K. (2016). Antibacterial effects of Alchornea cordifolia (Schumach. and Thonn.) Müll. Arg extracts and compounds on gastrointestinal, skin, respiratory and urinary tract pathogens. *Journal of Ethnopharmacology*, 179, 76–82. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2015.12.043>
- Okoro, I. O., Okoro, E. O., & Isoje, F. E. (2022). In vitro Antidiabetic and Antioxidant Activities of Alchornea cordifolia stem bark. *Nigerian Journal of Pure and Applied Sciences*, 35(1), 4322–4332. <https://doi.org/10.48198/NJPAS/22.A23>
- Oruka, O., & Achuba, F. I. (2023). In vitro Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Aqueous Leaf Extract of Alchornea cordifolia. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management*, 27(2), 299–304. <https://doi.org/10.4314/jasem.v27i2.16>

- Pan, Z., Fan, J.-G., & Eslam, M. (2021). An update on drug development for the treatment of metabolic (dysfunction) associated fatty liver disease: Progress and opportunities. *Current Opinion in Pharmacology*, *60*, 170–176.
- Peiris, D. S. H. S., Fernando, D. T. K., Senadeera, S. P. N. N., & Ranaweera, C. B. (2023). Phytochemical Screening for Medicinal Plants: Guide for Extraction Methods. *Asian Plant Research Journal*, *11*(4), 13–34. <https://doi.org/10.9734/aprj/2023/v11i4216>
- Rasul, M. G. (2018). Extraction, Isolation and Characterization of Natural Products from Medicinal Plants. *International Journal of Basic Sciences and Applied Computing (IJBSAC)*, *2*(6), 2394–367. <https://www.researchgate.net/publication/330702256>
- Sandhir, R., Khurana, M., & Singhal, N. K. (2021). Potential benefits of phytochemicals from *Azadirachta indica* against neurological disorders. *Neurochemistry International*, *146*(105023).
- Sari, M., Tamrin, ., Kaban, J., & Alfian, Z. (2020). *Bioactivity and Phytochemical Constituents of Extract Etanol from Musa paradisiaca Linn.* 89–95. <https://doi.org/10.5220/0008855100890095>
- Silverstein, R. M., Webster, F. X., & Kiemle, D. J. (2005). *Spectrometric Identification of Organic Compounds* (Inc. John Wiley & Sons, Ed.; 7th Edition).
- Sinan, K. I., Ak, G., Etienne, O. K., Jekó, J., Cziáky, Z., Gupcsó, K., Rodrigues, M. J., Custodio, L., Mahomoodally, M. F., Sharmeen, J. B., Brunetti, L., Leone, S., Recinella, L., Chiavaroli, A., Orlando, G., Menghini, L., Tacchini, M., Ferrante, C., & Zengin, G. (2021). Deeper insights on alchornea cordifolia (Schumach. & thonn.) müll. arg extracts: Chemical profiles, biological abilities, network analysis and molecular docking. *Biomolecules*, *11*(2), 1–17. <https://doi.org/10.3390/biom11020219>
- Sisein, E. A., Owaba, A. D., & Faith, R. O. (2022). Antioxidant and gas chromatography-mass spectrometry characterization of methanol extract of *Alchornea cordifolia*. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, *21*(3), 071–076. <https://doi.org/10.30574/gscbps.2022.21.3.0449>
- Sontakke, S., Nagavekar, N., Dubey, K. K., & Singhal, R. (2018). Supercritical carbon dioxide extraction of triacontanol from green tea leaves and its evaluation as an unconventional plant growth regulator for spinach tissue culture. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, *16*, 476–482. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.09.018>
- Theodosis-Nobelos, P., Papagiouvannis, G., & Rekka, E. A. (2023). Ferulic, Sinapic, 3,4-Dimethoxycinnamic Acid and Indomethacin Derivatives with Antioxidant, Anti-

Inflammatory and Hypolipidemic Functionality. *Antioxidants*, 12(7).  
<https://doi.org/10.3390/antiox12071436>

Thomford, A. K., Thomford, K. P., Ayertey, F., Edoh, D. A., Thomford, K. A., Ameyaw, E. O., Boampong, J. N., Enimil, M., & Bioh, S. A. (2015). The ethanolic leaf extract of *Alchornea cordifolia* (Schum. & Thonn.) Muell. arg inhibits the development of dyslipidaemia and hyperglycaemia in dexamethasone-induced diabetic rats. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 5(9), 052–055.  
<https://doi.org/10.7324/JAPS.2015.50910>

Tripathi, N., Kumar, S., Singh, R., Singh, C. J., Singh, P., & Varshney, V. K. (2013). Isolation and identification of  $\gamma$ -sitosterol by GC-MS from roots of *Girardinia heterophylla*. *Oriental Journal of Chemistry*, 29(2), 705–707.  
<https://doi.org/10.13005/ojc/290245>

Umukoro, S., & Aladeokin, A. C. (2010). Evaluation of the anti-stress and anticonvulsant activities of leaf extract of *Alchornea cordifolia* in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 127(3), 768–770. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2009.11.023>

Zhang, Q. W., Lin, L. G., & Ye, W. C. (2018). Techniques for extraction and isolation of natural products: A comprehensive review. In *Chinese Medicine (United Kingdom)* (Vol. 13, Issue 20, pp. 1–26). BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s13020-018-0177-x>

Zhou, Y., Cao, F., Luo, F., & Lin, Q. (2022). Octacosanol and health benefits: Biological functions and mechanisms of action. In *Food Bioscience* (Vol. 47). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.101632>

Zoroddu, M. A., & Berardi, E. (1989). Metal-cinnamic acids interactions. Part IV. Synthesis, study and antimicrobial activity of copper(II) complexes of 3, 4-dimethoxyhydrocinnamic acid. In *Transition Met. Chem* (Vol. 14).

## **Apêndices**

## Apêndice 1: Equipamentos usados durante a pesquisa



Figura 1: Moinho RetschMühle SM1



Figura 2: Evaporador rotativo - Büchi

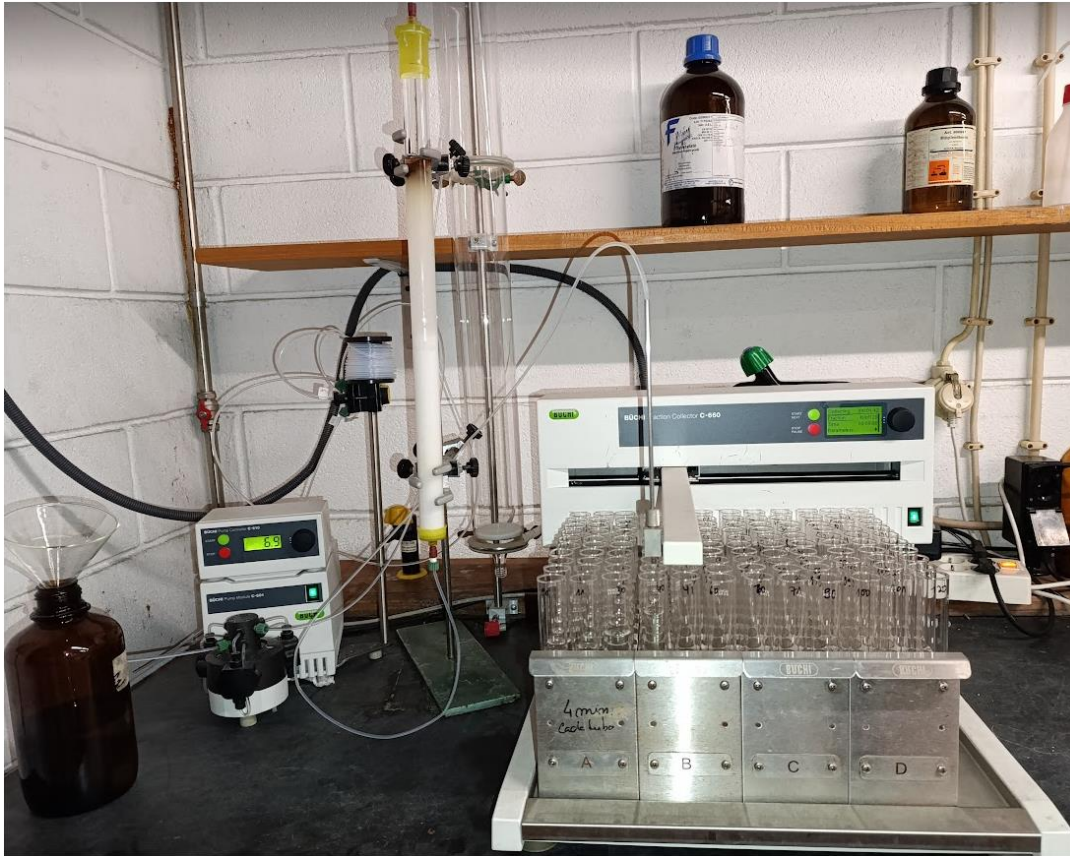


Figura 3: Equipamento da Cromatografia em coluna (CC) - Büchi



Figura 4: Câmara de CCF



Figura 5: Aparelho CG-EM da Agilent® Technologies 7890A GC-System

