

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA ORGÂNICA

OUTROS CONSTITUINTES QUÍMICOS ISOLADOS DE *Lafoensia glyptocarpa*
KOEHNE (LYTHRACEAE) E DEPSÍDEO E TRITERPENOS ISOLADOS DE
Ouratea floribunda ST. HILL (OCHNACEAE)

GEIZI JANE ALVES DE CARVALHO

Seropédica, Rio de Janeiro

Março de 2000

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA ORGÂNICA

OUTROS CONSTITUINTES QUÍMICOS ISOLADOS DE *Lafoensia glyptocarpa*
KOEHNE (LYTHRACEAE) E DEPSÍDEO E TRITERPENOS ISOLADOS DE
Ouratea floribunda ST. HILL (OCHNACEAE)

GEIZI JANE ALVES DE CARVALHO

Sob orientação do Professor Dr. Mário Geraldo de Carvalho

Tese submetida como
requisito parcial Para
obtenção do grau de Doutora
em Ciências. Área de
concentração em Química
Orgânica.

Seropédica, Rio de Janeiro

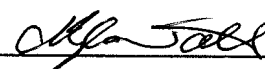
Março de 2000

OUTROS CONSTITUINTES QUÍMICOS ISOLADOS DE *Lafoensia glyptocarpa*
KOEHNE (LYTHRACEAE) E DEPSÍDEO E TRITERPENOS ISOLADOS DE
Ouratea floribunda ST. HILL (OCHNACEAE)

GEIZI JANE ALVES DE CARVALHO

Aprovada em

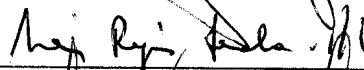
Prof. Dr. Mário Geraldo de Carvalho (DQ-UFRRJ)



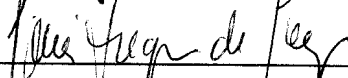
Prof. Dr. Eudes da Silva Velozo (FF-UFRRJ)



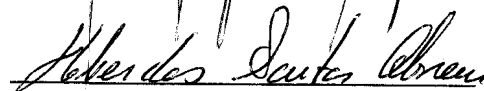
Prof. Dr. Ney Regis Seabra da Brito (FF-UFRJ)



Prof. Dra. Sonia Regina de Souza (DQ-UFRRJ)



Prof. Dr. Heber dos Santos Abreu (IF-UFRRJ)



Prof. Dr. Ricardo Luís Louro Berbara (DS-UFRRJ)

(suplente)

Seropédica, Rio de Janeiro

Março de 2000

A memória de meu pai e a minha mãe pelo carinho;

Ao meu marido cujo amor, companheirismo e incentivo,
tornou possível a minha vitória.

BIOGRAFIA

Geizi Jane Alves de Carvalho, filha de Domingos Alves de Carvalho e Geizy de Souza Carvalho, nascida em 03 de março de 1965, casada com o Engenheiro Agrônomo José Antonio Azevedo Espindola.

Graduou-se em, Licenciatura em Ciências - Habilitação em Química pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro em fevereiro de 1989. Durante o ano de 1990 foi Bolsista de Aperfeiçoamento, com bolsa concedida pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Rio de Janeiro (FAPERJ), sob orientação do Professor Doutor Euclides Lameiras Barreiros, até o ingresso em março de 1991 no Curso de Mestrado em Química Orgânica, com tese defendida em novembro de 1994, finalmente ingressou no Programa de Pós-Graduação em Química Orgânica em março de 1995 para cursar o Doutorado.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Mário Geraldo de Carvalho pela orientação, ensinamentos, amizade e estímulo.

Ao Professor Dr. Raimundo Braz-Filho pela co-orientação, ensinamentos, amizade e valiosas sugestões.

Ao Professor Anselmo Alpandes Moraes pela amizade e incentivo.

À Professora Sônia Regina da Silva por contribuições neste trabalho.

À Professora Leila Vilela Alegrio pela amizade e contribuições.

À Professora Alcení Augusta Werle (UFOP) pela amizade e colaboração junto com o técnico Jorge para a coleta da Planta da família Ochnaceae.

As funcionárias Frances Regiane e Aurea Tatagiba pelos espectros, sugestões e principalmente amizade.

À bolsista de iniciação e amiga Elisete pela amizade e ajuda nos trabalhos.

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro pela oportunidade de realizar este trabalho.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq) pela bolsa concedida.

Aos demais professores do Curso de Pós-graduação em Química Orgânica, que contribuíram para os trabalhos desta tese.

Aos funcionários Osmar, Reginaldo, Carlão, Eli, Aldir, Rui, Conceição, Maurício, Arlete e Rubens.

Aos demais funcionários de PPGQO.

À amiga Denise, companheira desde a graduação.

As amigas Márcia Cristina, Margareth Rose, Mônica, Daniela, Ana Paula, Raquel e Cássia pela amizade, colaboração e apoio durante o decorrer do curso.

Aos demais alunos do PPGQO pela amizade.

À minha mãe e as minhas crianças Camila e Maxwell pelo carinho.

À minha família pelo apoio.

Ao amigo e companheiro José Antonio, pelo grande incentivo, amor e dedicação.

À nova família, Márcia, Aid e Sirene.

Vocês olham coisa que já existem
e perguntam por quê?

Eu sonho com coisas que não existem
e pergunto: porque não?

Paula Cristina Barbosa

ÍNDICE

LISTA DE TABELAS	xi
LISTA DE FIGURAS	xiv
LISTA DE ESQUEMAS	xx
LISTA DE QUADROS	xxi
ABREVIATURAS E SÍMBOLOS	xxiii
RESUMO	xxv
ABSTRACT	xxvi
INTRODUÇÃO GERAL	1
CAPÍTULO I	3
ESTUDO QUÍMICO DE <i>Lafoensia glyptocarpa</i> KOEHNE	4
INTRODUÇÃO	4
OBJETIVOS	14
DESCRIÇÃO DE <i>Lafoensia glyptocarpa</i> KOEHNE	15
CONSTITUINTES QUÍMICOS ISOLADOS DE <i>Lafoensia glyptocarpa</i> KOEHNE	17
PARTE EXPERIMENTAL	18
DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DOS CONSTITUINTES	25
SAPONINA ESTEROIDAL (1)	25
SITOSTEROL (2)	32
SAPONINA TRITERPÊNICA (3)	37
α -D-GLICOSE (4) E β -D-GLICOSE (5)	67
IDITOL (6)	72
ÉSTERES AROMÁTICOS	83
PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS	84
DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DAS SUBTÂNCIAS SINTETIZADAS	87
Cinamato de dodecila (I) e Cinamato de hexadecila (II)	87
Ferrulato de dodecila (III) e Ferrulato de hexadecila (IV)	100
(3,4-metilenodioxi)-fenil acrilato de hexadecila (V), (3,4-metilenodioxi)-fenil propionato de hexadecila (VI) e	

3-(3,4-metilenodioxi-6-nitro)-fenil propionato de hexadecila (VII)	111
Ferrulato de sitosterila	123
ENSAIO DE GERMINAÇÃO DE SEMENTES	128
CAPÍTULO II	133
ESTUDO QUÍMICO DE <i>Ouratea floribunda</i> ST. HILL	134
INTRODUÇÃO	134
OBJETIVO	141
DESCRIÇÃO DE <i>Ouratea floribunda</i> ST. HILL	145
CONSTITUINTES QUÍMICOS ISOLADOS DE <i>Ouratea floribunda</i> ST. HILL	145
PARTE EXPERIMENTAL	143
DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DOS CONSTITUINTES	150
Atranorina (7)	150
Friedelina (8)	169
Friedelanol (9)	180
Lupeol (10)	187
Taraxerol (11) E Taraxenona (12)	192
Ésteres triterpênicos (13 E 14)	202
Éster triterpênico (15)	217
ENSAIO DE TOXICIDADE	226
CONSIDERAÇÕES FINAIS	229
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	230

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Alguns constituintes químicos isolados de espécies da família Lythraceae.	5
Tabela 2	Dados espectrais de RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) da substância 1a comparados com valores citados na literatura (Akisa et al., 1988; Kojima et al., 1990; Teresa et al., 1987).	27
Tabela 3	Dados espectrais de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) e de ^{13}C -PND e DEPT (50 MHz, CDCl_3) da substância 2 comparados com valores citados na literatura (Akisa et al., 1988; Kojima et al., 1990; Teresa et al., 1987).	33
Tabela 4	Dados espectrais de ^1H (400MHz) e ^{13}C (100MHz), incluindo ligações a longa distância heteronuclear observado no espectro 2D de RMN ^1H , ^{13}C -COSY- $^n\text{J}_{\text{CH}}$ (n=1, 2 e 3) para a aglicona para 3 (MeOH- D_4) e em heptaacetil para o derivado 3a (CDCl_3).	42
Tabela 5	Dados espectrais de RMN ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100MHz), incluindo ligações a longa distância heteronuclear observado no espectro 2D de RMN ^1H , ^{13}C -COSY- $^n\text{J}_{\text{CH}}$ (n=1, 2 e 3) para os açúcares de 3 (MeOH- D_4) e em heptaacetil para o derivado 3a (CDCl_3)	43
Tabela 6	Dados espectrais de RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de 4a e 5a comparados com valores citados na literatura (Breitmeier, 1987).	68
Tabela 7	Dados espectrais de RMN de ^1H dos derivados acetilados 4a e 5a .	68
Tabela 8	Dados espectrais de RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) da substância 6a comparados com valores citados na literatura (Breitmeier, 1987).	73

Tabela 9	Detalhamento das quantidades de reagentes e produtos	86
Tabela 10	Dados de RMN ^1H , RMN ^{13}C e ^1H - ^1H -COSY do produto I , comparados com valores citados na literatura [Comte et al., 1996 (1) e Carvalho, 1994 (2)]	88
Tabela 11	Dados de RMN ^1H , RMN ^{13}C e ^1H - ^1H -COSY do produto II , comparados com valores citados na literatura [Comte et al., 1996 (1) e Carvalho, 1994 (2)]	89
Tabela 12	Dados de RMN ^1H , RMN ^{13}C e ^1H - ^1H -COSY do produto III , comparados com valores citados na literatura (Govindachari et al., 1971)	101
Tabela 13	Dados de RMN ^1H , RMN ^{13}C e ^1H - ^1H -COSY do produto IV , comparados com valores citados na literatura (Govindachari et al., 1971)	102
Tabela 14	Dados de RMN ^1H , RMN ^{13}C e ^1H - ^1H -COSY do produto V , comparados com valores citados na literatura (Rascado, 1997)	112
Tabela 15	Dados de RMN ^1H , RMN ^{13}C e ^1H - ^1H -COSY do produto VI , comparados com valores citados na literatura (Rascado, 1997)	113
Tabela 16	Dados de RMN ^1H , RMN ^{13}C e ^1H - ^1H -COSY do produto VII , comparados com valores citados na literatura (Rascado, 1997)	113
Tabela 17	Dados de RMN ^1H , RMN ^{13}C e ^1H - ^1H -COSY do produto V , comparados com valores citados na literatura (Guevara et al, 1989)	124
Tabela 18	Percentagem de germinação das sementes de alface, submetidas à ação de diferentes substâncias químicas em duas concentrações.	130
Tabela 19	Percentagem de germinação das sementes de tomate, submetidas à ação de diferentes substâncias químicas em duas concentrações.	131

Tabela 20	Constituintes químicos isolados de espécies da família Ochnaceae.	135
Tabela 21	Dados espectrais de RMN ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz), dados espectrais da atranorina (7) e de seu derivado acetilado (7a) em CDCl_3 e TMS como referência interna.	157
Tabela 22	Dados de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) do trieterpeno 8 , comparado com dados descritos na literatura (Patra et al., 1990).	173
Tabela 23	Dados de RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) do triterpeno 8 , comparado com dados descritos na literatura (Patra et al., 1990).	174
Tabela 24	Dados de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) do trieterpeno 9 , comparado com dados descritos na literatura (Patra et al., 1990; Mahato & Kundu, 1994).	184
Tabela 25	Dados de RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) do triterpeno 9 , comparado com dados do triterpeno 8 e dados descritos na literatura (Patra et al., 1990; Mahato & Kundu, 1994).	185
Tabela 26	Dados de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) e RMN ^{13}C do trieterpeno 10 , comparado com dados descritos na literatura (Mahato & Kundu, 1994).	191
Tabela 27	Dados de RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) do trieterpeno 11 e 12 , comparados com dados descritos na literatura (Mahato & Kundu, 1994).	197
Tabela 28	Dados de RMN ^{13}C comparados com valores citados na literatura (Mahato & Kundu, 1994).	208
Tabela 29	Dados de RMN ^{13}C (50 MHz) de 15 comparado com valores citados na literatura (Mahato & Kundu, 1994).	

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) de 1a	28
Figura 2	Espectro de RMN – 2D ^1H - ^1H – COSY (200 MHz, CDCl_3) de 1a	29
Figura 3	Espectro de IV de 1a	30
Figura 4	Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de 1a	30
Figura 5	Espectro de RMN ^{13}C -PND (a) e DEPT [$\theta=135^\circ$ (b) e $\theta=90^\circ$ (c)] (50 MHz, CDCl_3) de 1a	31
Figura 6	Espectro de IV de 1a	32
Figura 7	Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) de 2	34
Figura 8	Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de 2	35
Figura 9	Espectro de RMN ^{13}C -PND (a) e DEPT [$\theta=135^\circ$ (b) e $\theta=90^\circ$ (c)] (50 MHz, CDCl_3) de 2	36
Figura 10	Espectro de IV de 3	45
Figura 11	Espectro de IV de 3a	45
Figura 12	Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) de 3a	46
Figura 13	Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) de 3a (expansão)	46
Figura 14	Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) de 3a (expansão)	47
Figura 15	Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) de 3a (expansão)	47
Figura 16	Espectro de RMN – 2D ^1H - ^1H – COSY (400 MHz, CDCl_3) de 3a	48
Figura 17	Espectro de RMN ^{13}C -PND (a) e DEPT [$\theta=135^\circ$ (b) e $\theta=90^\circ$ (c)] (100 MHz, CDCl_3) de 3a	49
Figura 18	Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de 3a	50
Figura 19	Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de 3	50
Figura 20	Espectro de RMN ^1H - ^{13}C $^n\text{J}_{\text{CH}}$ ($n=2,3$) HMBC de 3a (expansão)	51
Figura 21	Espectro de RMN ^1H - ^{13}C - HMQC de 3a (expansão)	52
Figura 22	Espectro de RMN ^1H - ^{13}C - HMQC de 3a (expansão)	53

Figura 23	Espectro de RMN ^1H - ^{13}C - HMQC de 3a (expansão)	54
Figura 24	Espectro de IV de 3a	55
Figura 25	Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) de 3 (expansão)	56
Figura 26	Espectro de RMN ^1H - ^{13}C - HMQC de 3a (expansão)	57
Figura 27	Espectro de RMN ^1H - ^{13}C - HMQC de 3 (expansão)	58
Figura 28	Espectro de RMN ^1H - ^{13}C - HMQC de 3a (expansão)	59
Figura 29	Espectro de RMN ^1H - ^{13}C - HMQC de 3a (expansão)	60
Figura 30	Espectro de RMN ^1H - ^{13}C - HMQC de 3 (expansão)	61
Figura 31	Espectro de RMN ^1H - ^{13}C $^n\text{J}_{\text{CH}}$ (n=2,3) HMBC 3a (expansão)	62
Figura 32	Espectro de RMN – 2D ^1H - ^1H – COSY (400 MHz, CDCl_3) de 3	63
Figura 33	Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, MeOD_{d4}) de 3	64
Figura 34	Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, MeOD_{d4}) de 3 (expansão)	64
Figura 35	Espectro de RMN ^1H - ^{13}C $^n\text{J}_{\text{CH}}$ (n=2,3) HMBC 3 (expansão)	65
Figura 36	Espectro de RMN ^1H - ^{13}C $^n\text{J}_{\text{CH}}$ (n=2,3) HMBC 3a (expansão)	66
Figura 37	Espectro de IV de 4 e 5	69
Figura 38	Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) de 4 e 5	69
Figura 39	Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de 4 e 5	70
Figura 40	Espectro de RMN ^{13}C -PND (a) e DEPT [$\theta=135^\circ$ (b) e $\theta=90^\circ$ (c)] (50 MHz, CDCl_3) de 4 e 5	71
Figura 41	Espectro de IV de 6	75
Figura 42	Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) de 6	75
Figura 43	Espectro de RMN – 2D ^1H - ^1H – COSY (200 MHz, CDCl_3) de 6	76
Figura 44	Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de 6	76
Figura 45	Espectro de RMN ^{13}C -PND (a) e DEPT [$\theta=135^\circ$	

	(b) e $\theta=90^\circ$ (c)] (50 MHz, CDCl_3) de 6	78
Figura 46	Espectro de RMN – $2D^1\text{H}-^{13}\text{C}$ – COSY (50, 200 MHz, CDCl_3) de 6	79
Figura 47	Espectro de massas de 6	80
Figura 48	Espectro de massas de 6 , comparado com espectros da biblioteca do aparelho	81
Figura 49	Espectros de RMN ^1H do catálogo da Aldrich	82
Figura 50	Espectro de IV do produto I	92
Figura 51	Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) do produto I	92
Figura 52	Espectro de RMN – $2D^1\text{H}-^1\text{H}$ – COSY (200 MHz, CDCl_3) do produto I	93
Figura 53	Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) do produto I	94
Figura 54	Espectro de massas do produto I	95
Figura 55	Espectro de IV do produto II	96
Figura 56	Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) do produto II	96
Figura 57	Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) do produto II	97
Figura 58	Espectro de RMN ^{13}C -PND (a) e DEPT [$\theta=135^\circ$ (b) e $\theta=90^\circ$ (c)] (50 MHz, CDCl_3) do produto II	98
Figura 59	Espectro de massas do produto II	99
Figura 60	Espectro de IV do produto III	104
Figura 61	Espectro de RMN ^1H (200 MHz, acetona- d_6) do produto III	104
Figura 62	Espectro de RMN – $2D^1\text{H}-^1\text{H}$ – COSY (200 MHz, acetona- d_6) do produto III	105
Figura 63	Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, acetona- d_6) do produto III	106
Figura 64	Espectro de massas do produto III	107
Figura 65	Espectro de IV do produto IV	108
Figura 66	Espectro de RMN ^1H (200 MHz, acetona- d_6) do produto IV	108
Figura 67	Espectro de RMN – $2D^1\text{H}-^1\text{H}$ – COSY (200 MHz, acetona- d_6) do produto IV	109
Figura 68	Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, acetona- d_6) do produto IV	110
Figura 69	Espectro de RMN ^1H (200 MHz, acetona- d_6) do produto V	114

Figura 70	Espectro de RMN – 2D ^1H - ^1H – COSY (200 MHz, acetona- d_6) do produto V	114
Figura 71	Espectro de IV do produto V	116
Figura 72	Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, acetona- d_6) do produto V	116
Figura 73	Espectro de RMN ^1H (200 MHz, acetona- d_6) do produto VI	117
Figura 74	Espectro de RMN – 2D ^1H - ^1H – COSY (200 MHz, acetona- d_6) do produto VI	118
Figura 75	Espectro de IV do produto VI	119
Figura 76	Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, acetona- d_6) do produto VI	119
Figura 77	Espectro de RMN ^1H (200 MHz, acetona- d_6) do produto VII	120
Figura 78	Espectro de RMN – 2D ^1H - ^1H – COSY (200 MHz, acetona- d_6) do produto VII	121
Figura 79	Espectro de IV do produto VII	122
Figura 80	Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, acetona- d_6) do produto VII	122
Figura 81	Espectro de RMN ^1H (200 MHz, acetona- d_6) do produto VIII	125
Figura 82	Espectro de RMN – 2D ^1H - ^1H – COSY (200 MHz, acetona- d_6) do produto VIII	126
Figura 83	Espectro de IV do produto VIII	127
Figura 84	Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, acetona- d_6) do produto VIII	127
Figura 85	Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) de 7	156
Figura 86	Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de 7	156
Figura 87	Espectro de RMN ^{13}C -PND (a) e DEPT [$\theta=135^\circ$ (b) e $\theta=90^\circ$ (c)] (50 MHz, CDCl_3) de 7	157
Figura 88	Espectro de RMN ^1H - ^{13}C - HMQC de 8 (expansão)	158
Figura 89	Espectro de massas de 7	159
Figura 90	Espectro de RMN ^1H - ^{13}C $^n\text{J}_{\text{CH}}$ (n=2,3) HMBC 7 (expansão)	160
Figura 91	Espectro de RMN ^1H - ^{13}C $^n\text{J}_{\text{CH}}$ (n=2,3) HMBC 7 (expansão)	161
Figura 92	Espectro de RMN ^1H - ^{13}C $^n\text{J}_{\text{CH}}$ (n=2,3) HMBC 7 (expansão)	162

Figura 93	Espectro de RMN ^1H - ^1H NOESY (100 MHz, CDCl_3) de 7	163
Figura 94	Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) de 7a	164
Figura 95	Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) de 7a (expansão)	164
Figura 96	Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) de 7a (expansão)	165
Figura 97	Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) de 7a (expansão)	165
Figura 98	Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de 7a	166
Figura 99	Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de 7a (expansão)	167
Figura 100	Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de 7a (expansão)	167
Figura 101	Espectro de RMN ^1H - ^{13}C $^n\text{J}_{\text{CH}}$ (n=2,3) HMBC 7a (expansão)	168
Figura 102	Espectro de IV de 8	173
Figura 103	Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) de 8	174
Figura 104	Espectro de RMN – 2D ^1H - ^1H – COSY (200 MHz, CDCl_3) de 8	175
Figura 105	Espectro de RMN – 2D ^1H - ^{13}C – COSY (50, 200 MHz, CDCl_3) de 8	176
Figura 106	Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de 8	177
Figura 107	Espectro de RMN ^{13}C -PND (a) e DEPT [$\theta=135^\circ$ (b) e $\theta=90^\circ$ (c)] (50 MHz, CDCl_3) de 9	178
Figura 108	Espectro de massas de 8	179
Figura 109	Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) de 8 e 9	183
Figura 110	Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de 8 e 9	184
Figura 111	Espectro de RMN ^{13}C -PND (a) e DEPT [$\theta=135^\circ$ (b) e $\theta=90^\circ$ (c)] (50 MHz, CDCl_3) de 8 e 9	185
Figura 112	Espectro de IV de 8 e 9	186
Figura 113	Espectro de IV de 10	189
Figura 114	Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) de 10	189
Figura 115	Espectro de RMN – 2D ^1H - ^1H – COSY (200 MHz, CDCl_3) de 10	190
Figura 116	Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de 10	191
Figura 117	Espectro de IV de 11 e 12	196

Figura 118	Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) de 11 e 12	197
Figura 119	Espectro de RMN – 2D ^1H - ^1H – COSY (200 MHz, CDCl_3) de 11 e 12	198
Figura 120	Espectro de RMN ^{13}C -PND (a) e DEPT [$\theta=135^\circ$ (b) e $\theta=90^\circ$ (c)] (50 MHz, CDCl_3) de 11 e 12	199
Figura 121	Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de 11 e 12	200
Figura 122	Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de 11 e 12 (expansão)	200
Figura 123	Espectro de massas de 11 e 12	201
Figura 124	Espectro de IV de 13 e 14	208
Figura 125	Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) de 13 e 14	208
Figura 126	Espectro de RMN – 2D ^1H - ^1H – COSY (200 MHz, CDCl_3) de 13 e 14	209
Figura 127	Espectro de RMN ^{13}C -PND (a) e DEPT [$\theta=135^\circ$ (b) e $\theta=90^\circ$ (c)] (50 MHz, CDCl_3) de 13 e 14	210
Figura 128	Espectro de RMN ^{13}C -PND (a) e DEPT [$\theta=135^\circ$ (b) e $\theta=90^\circ$ (c)] (50 MHz, CDCl_3) de 13 e 14	211
Figura 129	Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de 13 e 14	212
Figura 130	Espectro de massas de 13 e 14	213
Figura 131	Espectro de massas de 13 e 14 (expansão)	214
Figura 132	Espectro de massas de 13a	215
Figura 133	Espectro de massas de 14a	216
Figura 134	Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) de 15	220
Figura 135	Espectro de RMN ^{13}C -PND (a) e DEPT [$\theta=135^\circ$ (b) e $\theta=90^\circ$ (c)] (50 MHz, CDCl_3) de 15	221
Figura 136	Espectro de RMN – 2D ^1H - ^1H – COSY (200 MHz, CDCl_3) de 15	222
Figura 137	Espectro de RMN – 2D ^1H - ^{13}C – COSY (50, 200 MHz, CDCl_3) de 15	223
Figura 138	Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) de 15a	224
Figura 139	Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de 16a	225

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1	Processamento para obtenção dos extratos de <i>Lafoensia glyptocarpa</i> Koehne (“Mirindiba rosa”)	18
Esquema 2	Obtenção e fracionamento do extrato em diclorometano da madeira de <i>Lafoensia glyptocarpa</i> Koehne (“Mirindiba rosa”) (MRFLMD).	19
Esquema 3	Obtenção e fracionamento do extrato em butanol de <i>Lafoensia glyptocarpa</i> Koehne (“Mirindiba rosa”) (MRFLMB).	20
Esquema 4	Proposta de fragmentação da substância 3a .	44
Esquema 5	Proposta de fragmentação da substância 6a .	74
Esquema 6	Obtenção dos ésteres sintéticos	85
Esquema 6	Obtenção do éster a partir do produto natural sitosterol	85
Esquema 8	Proposta de fragmentação da substância I .	90
Esquema 9	Proposta de fragmentação da substância II .	91
Esquema 10	Proposta de fragmentação da substância III .	103
Esquema 11	Processamento para obtenção dos extratos de <i>Ouratea floribunda</i> .	148
Esquema 12	Fracionamento do extrato em hexano da madeira de <i>Ouratea floribunda</i> (OFMH).	149
Esquema 13	Fracionamento do extrato em acetato de etila das flores de <i>Ouratea floribunda</i> (OFFA).	150
Esquema 14	Proposta de fragmentação para o composto 7	158
Esquema 15	Proposta de fragmentação do composto 8 (friedelina).	175
Esquema 16	Proposta de fragmentação dos triterpenos 11 e 12 .	198
Esquema 17	Proposta de fragmentação dos compostos 13 e 14	209
Esquema 18	Proposta de fragmentação dos ésteres metílicos dos ácidos obtidos como produtos da hidrólise ácida para 13a	

e **13d** 210

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Estrutura de alguns constituintes químicos isolados de espécies da família Lythraceae	06
Quadro 2	Estrutura de alguns constituintes químicos isolados de espécies da família Lythraceae	07
Quadro 3	Estrutura de alguns constituintes químicos isolados de espécies da família Lythraceae	08
Quadro 4	Estrutura de alguns constituintes químicos isolados de espécies da família Lythraceae	09
Quadro 5	Estrutura de alguns constituintes químicos, citados acima, Que possuem atividades alelopáticas	12
Quadro 6	Foto de um espécimen de <i>Lafoencia glyptocarpa</i> Koehne, destacando as flores, frutos e detalhes da casca	15
Quadro 7	Estrutura dos constituintes químicos isolados de <i>Lafoensia glyptocarpa</i> Koehne neste trabalho	17
Quadro 8	Substâncias submetidas ao processo de acetilação	21
Quadro 9	Estruturas das saponinas 1 e 1a	26
Quadro 10	Estrutura do sitosterol	33
Quadro 11	Estruturas das saponinas 3 e 3a	41
Quadro 12	Estruturas dos carboidratos 4a (α -D-glicose) e 5a (β -D-glicose)	68
Quadro 13	Estruturas do Iditol e do Hexaacetiliditol	73
Quadro 14	Estruturas dos derivados do ácido cinâmico	83
Quadro 15	Estruturas dos ésteres cinâmicos I e II	88
Quadro 16	Estruturas dos ésteres III e IV	101
Quadro 17	Estruturas dos ésteres V , VI e VII	112
Quadro 18	Estrutura de VIII	123
Quadro 19	Estruturas de alguns constituintes químicos isolados de espécies da família Ochnaceae	136

Quadro 20	Estruturas de alguns constituintes químicos isolados de espécies da família Ochnaceae	137
Quadro 21	Estruturas de alguns constituintes químicos isolados de espécies da família Ochnaceae	138
Quadro 22	Foto de um espécimen de <i>Ouratea floribunda</i> St. Hill	143
Quadro 23	Constituintes químicos isolados de <i>Ouratea floribunda</i> St. Hill	145
Quadro 24	Constituintes químicos isolados de <i>Ouratea floribunda</i> St. Hill	146
Quadro 25	Estrutura de alguns depsídeos	154
Quadro 26	Estruturas das substâncias 7 (atranorina) e os derivados acetilados 7a e 7b	156
Quadro 27	Estrutura da friedelina	173
Quadro 28	Estrutura do friedelanol	183
Quadro 29	Estrutura do lupeol	191
Quadro 30	Estrutura das substâncias 11 (taraxerol) e 12 (taraxerona)	196
Quadro 31	Estruturas dos ésteres triterpênicos 13a-13d e 14a-14d	207
Quadro 32	Estruturas dos ésteres provenientes da hidrólise ácido 13a e 13d	207
Quadro 33	Estruturas dos ésteres triterpênicos 15-16 e 15a-16a	221

ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

δ	deslocamento químico
M ⁺	pico de íon molecular
Ac	acetila
Ac ₂ O	anidrido acético
AcOEt	acetato de etila
AcOH	ácido acético
aq	aquoso
ar	Arila
ax	Axial
CC	cromatografia em coluna (à pressão atmosférica)
CCDA	cromatografia em camada delgada analítica
CCDP	cromatografia em camada delgada preparativa
CG-EM	cromatografia de gás acoplada ao espectro de massas
CLAE	cromatografia líquida de alta eficiência
CoA	coenzima
COSY	correlated spectroscopy
d	dubleto
dd	duplo dubleto
dl	dubleto largo
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
DMSO-d ₆	dimetilsulfóxido deuterado
EM	espectroscopia de massas
EMAR	espectroscopia de massas de alta resolução
EM-IE	espectroscopia de massas com ionização por impacto eletrônico
eq	equatorial
EtOH	atanol
ext.	extrato
Fig.	figura

F.M.	fórmula molecular
gr	grama
HMBC	Heteronuclear Multi Bond Connectivity
HMQC	Heteronuclear Multiple Quantum Coherence
Hz	hertz
IV	infravermelho
J	constante de acoplamento
Lit.	Literatura
m	multipleteo
m/z	relação massa/carga
Me	metil
MeOH	metanol
MHz	megahertz
NOE	Nuclear Effect Overhauser
NOESY	Nuclear Overhauser and Exchange Spectroscopy
O.	<i>Ouratea</i>
pág.	Página
P.F.	ponto de fusão
PND	Proton Noise Decoupling
Ref.	Referência
RMN ¹³ C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono
RMN ¹ H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
s	singleto
sl	singleto largo
t	tripleto

RESUMO

Este trabalho descreve o estudo químico da parte aérea das espécies vegetais *Lafoensia glyptocarpa* Koehne e *Ouratea floribunda* St. Hill. Foram utilizadas técnicas cromatográficas para fracionamento e isolamento dos constituintes dos extratos das plantas. As estruturas foram determinadas através de análise de dados fornecidos por espectrometria de infravermelho, de massas e de RMN de ^1H e de ^{13}C uni e bidimensionais das substâncias naturais e derivados. O extrato metanólico das folhas de *L. glyptocarpa* forneceu duas saponinas ($3\beta\text{-O-D-glicopiranosil-sitosterol}$ e $\beta\text{-O-}\beta\text{-L-arabinopiranosil-olean-12-eno-28-oato de } \beta\text{-D-glicopiranoíla}$) e sitosterol. O extrato metanólico do caule desta planta forneceu os carboidratos α e $\beta\text{-D-glicose}$ e o iditol. O extrato hexânico da madeira de *O. floribunda* forneceu o depsídeo atranorina e os triterpenos friedelina, friedelinol, lupeol, taraxerol e taraxenona e do extrato em AcOET das flores foram isolados a mistura dos ácidos hexadecanoato de olean-12-en-28 óico, $3\beta\text{-O-tetraeicosonoato de olean-12-en-28-óico}$, 2-hidroxi-3-acil-olean-12-en-28-óico e 3-hidroxi-2-acil-olean-12-en-28-óico. Preparou-se um novo derivado acetilado da atranorina (3-formil-2,4-diidroxi-6-metil-benzoato de 3-acetil-4-metoxi-carbonil-2,5-dimetil-benzeno). Além de registrar este novo derivado fez-se a completa atribuição dos dados de RMN ^{13}C da atranorina que ainda não constavam na literatura. A saponina triterpênica isolada de *L. glyptocarpa* foi registrada pela primeira vez na literatura. Algumas das substâncias isoladas foram submetidas ao ensaio de letalidade em *Artemia salina* Leach. A espécie *L. glyptocarpa* possui constituintes químicos com propriedades alelopáticas e, por isso prepararam-se produtos derivados do ácido cinâmico para avaliar seus efeitos na germinação de sementes de alface e tomate.

ABSTRACT

This research is related to the chemistry study of the shoots of *Lafoensia glyptocarpa* Koehne and *Ouratea floribunda* St. Hill. The products found in this phytochemistry research were isolated from MeOH extract of *L. glyptocarpa* and hexanic and AcOET extracts of *O. floribunda* by chromatography techniques. The structure were established by analysis of infrared, mass and NMR spectroscopy data of the natural products and its derivatives. From the leaves of *L. glyptocarpa* were isolated two saponins (3 β -O-D-glicopyranosylsitosterol and 3 β -O- β -L-arabinopyranosylolean-12-en--28-O- β -D-glucopiranosyl-ester). The carbohydrates α e β -D-glucose and iditol, were isolated from MeOH extract of wood of *L. glyptocarpa*. From the hexanic extract of wood of *O. Floribunda* were isolated a depside (atranorin) and the triterpenes friedelin, friedelinol, lupeol, taraxerol and taraxenone. The mixture of triterpenic esters also were identificit in from the flowers of *O. floribunda*. Toegther with the mixture of 3-O-hexadecanoate-olean-12-en-28-oic acid and 3-O-tetraeicosanoate-olean-12-en-28-oic acid beside the mixture of 2-hydroxy-3-O-acyl-olean-12-en-28-oic acid and 3-hydroxy-2-O-acyl-olean-12-en-28-oic acid. Some of the isolated products were evaluated in a *Artemia salina* Leach assay. *L. glyptocarpa* has chemical products with alelopatic activities described in the literature. So the germination assays with cultivars of lettuce and tomato to avaluated synthetic products derivated from cinamic acid were done.

INTRODUÇÃO GERAL

Estima-se a existência de 250.000 espécies de plantas superiores. Cerca de 80% da população dos países subdesenvolvidos e em desenvolvimento continuam completamente dependentes da medicina caseira, utilizando vegetais para as necessidades primárias de saúde. Isto tem revelado o esplêndido acervo natural de vegetais nos ambientes aquático e terrestre como um potencial químico adormecido, que pode ser explorado de uma forma racional para estudo em prol da humanidade (Braz-Filho, 1994).

A relativa facilidade de coleta e toda a diversidade de espécimes nas florestas tropicais têm fascinado os estudiosos e estimulado o estudo fitoquímico das mais diversas famílias de plantas, com busca do conhecimento da biodiversidade dos constituintes químicos dos metabólitos especiais.

As substâncias naturais, seus derivados e análogos, representam cerca de 50% de todas as drogas medicinais, sendo que aproximadamente 25% destas são obtidas de plantas (Braz-Filho, 1994).

Com o desenvolvimento das técnicas de isolamento e identificação, o número de substâncias naturais encontradas em plantas tem crescido verticalmente. Além da possibilidade da descoberta de substâncias ativas biologicamente, existe a relevante contribuição para os químicos na obtenção de modelos para síntese, modificações estruturais e otimização de propriedades biológicas (Braz-Filho, 1994).

O uso de plantas como fontes de novos agentes químicos medicinais tem sido evidenciada pela implementação de diversos programas em vários países desenvolvidos, com o objetivo de descobrir substâncias para resolver problemas da humanidade.

Essa programação para a descoberta de novos medicamentos em plantas envolve o isolamento, a elucidação estrutural, a preparação de derivados e a definição de sínteses totais. Infelizmente esta consideração das plantas como um exímio solucionador dos problemas relacionado à doenças (cura) tem conduzido à desconsideração do conhecimento científico global das plantas. Há grupos que, com a ansiedade de adquirir informações rápidas para seus objetivos específicos, descartam extratos que poderiam ser usados com outros objetivos e contribuir para o conhecimento científico mais amplo e para outras áreas das ciências como agronomia, ecologia e quimiosistemática.

CAPÍTULO I
ESTUDO QUÍMICO DE *Lafoensia glyptocarpa* Koehne

CAPÍTULO I

ESTUDO QUÍMICO DE *Lafoensia glyptocarpa* KOEHNE

INTRODUÇÃO

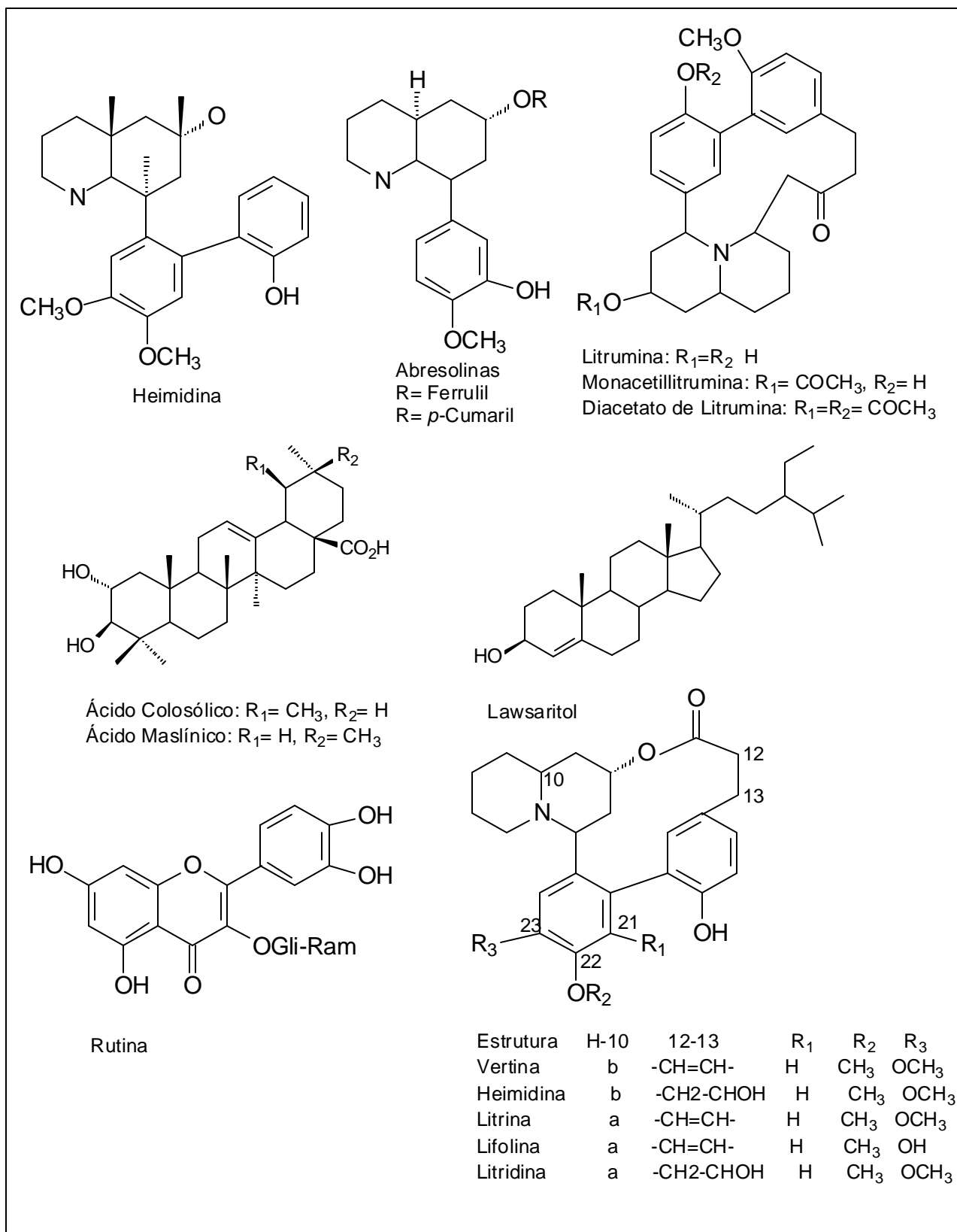
A família Lythraceae é constituída por aproximadamente 20-30 gêneros e 500 espécies. Esta família ocorre nas regiões tropicais e é representada por árvores e arbustos (Barroso, 1986).

As plantas desta família são pouco estudadas química e biologicamente. Na tabela 1 são citadas as espécies desta família que já foram estudadas e seus principais constituintes químicos isolados.

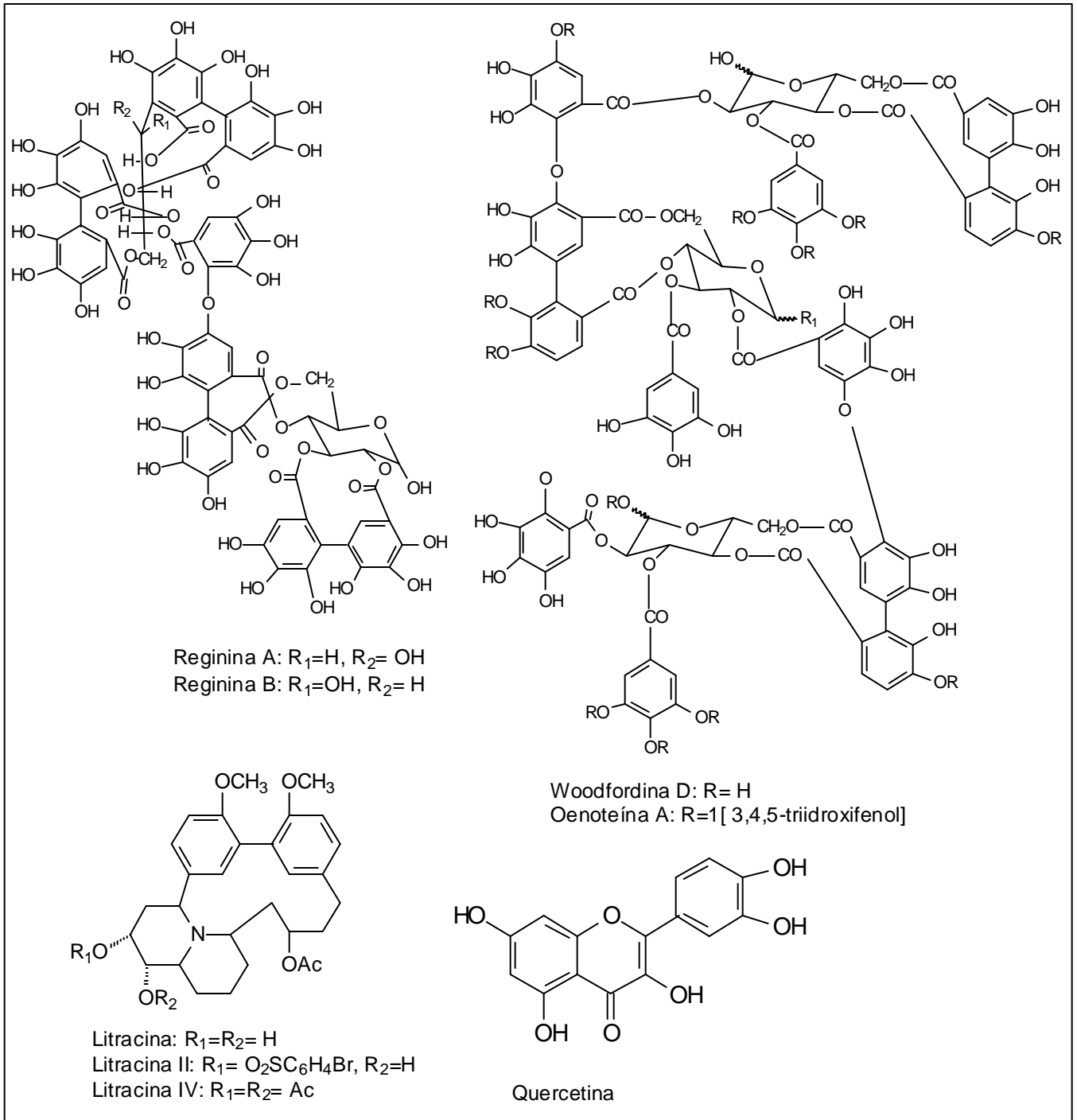
Tabela 1. Alguns constituintes químicos isolados de espécies da família Lythraceae.

Espécie	Substâncias Isoladas	Referências
<i>Heimia salicifolia</i>	Alcalóides: Heimidina, Abresolinas	1, 2, 3, 4
<i>Lythrum lanceolatum</i>	Alcalóides: Litrumina, Monacetilitrumina, Diacetato de Litrumina	5
<i>Lythrum anceps</i>	Alcalóides: Litracina, Litracina II, Litracina IV	6
<i>Ammannia coccinea</i>	Flavonóides: Quercetina, Rutina	7
<i>Heimia montana</i>	Alcalóides: Vertina, Heimidina, Litrina, Lifolina, Litridina	8
<i>Lagerstroemia flos-reginae</i>	Taninos: Reginina A, Reginina B	9
<i>Woodfordia fruticosa</i>	Taninos: Woodfordina D, Oenoteina A	10, 11
<i>Lagerstroemia speciosa</i>	Terpenos: Ácido Colosólico, Ácido Maslínico	12
<i>Lawsonia inermis</i>	Esteróide: 24- β -etilcolesterol-4-eno-3- β -ol	13
<i>Lafoensia pacari</i>	Aminoácidos e açúcares	14
<i>Lafoensia densiflora</i>	Ésteres graxos <i>cis</i> e <i>trans</i> cumáricos, ácido betulínico, ácido ursólico, nor-triterpeno, saponina (chebulosídeo), três flavonóides (5,7,4'-triidroxiflavonol, 5,7,3',4'-tetraidroxiflavonol e canferol-3-O- β -Dglicopiranosídeo) e 2-hidroxi-4-O- β -D-glicopiranosil-6-metoxiacetofenona	15
<i>Lafoensia glyptocarpa</i>	Cinamato de sitosterila, sitosterol, cumarato de alquila, ferrulato de alquila, acetonoilato de butirospermila e triglicerídeo	16

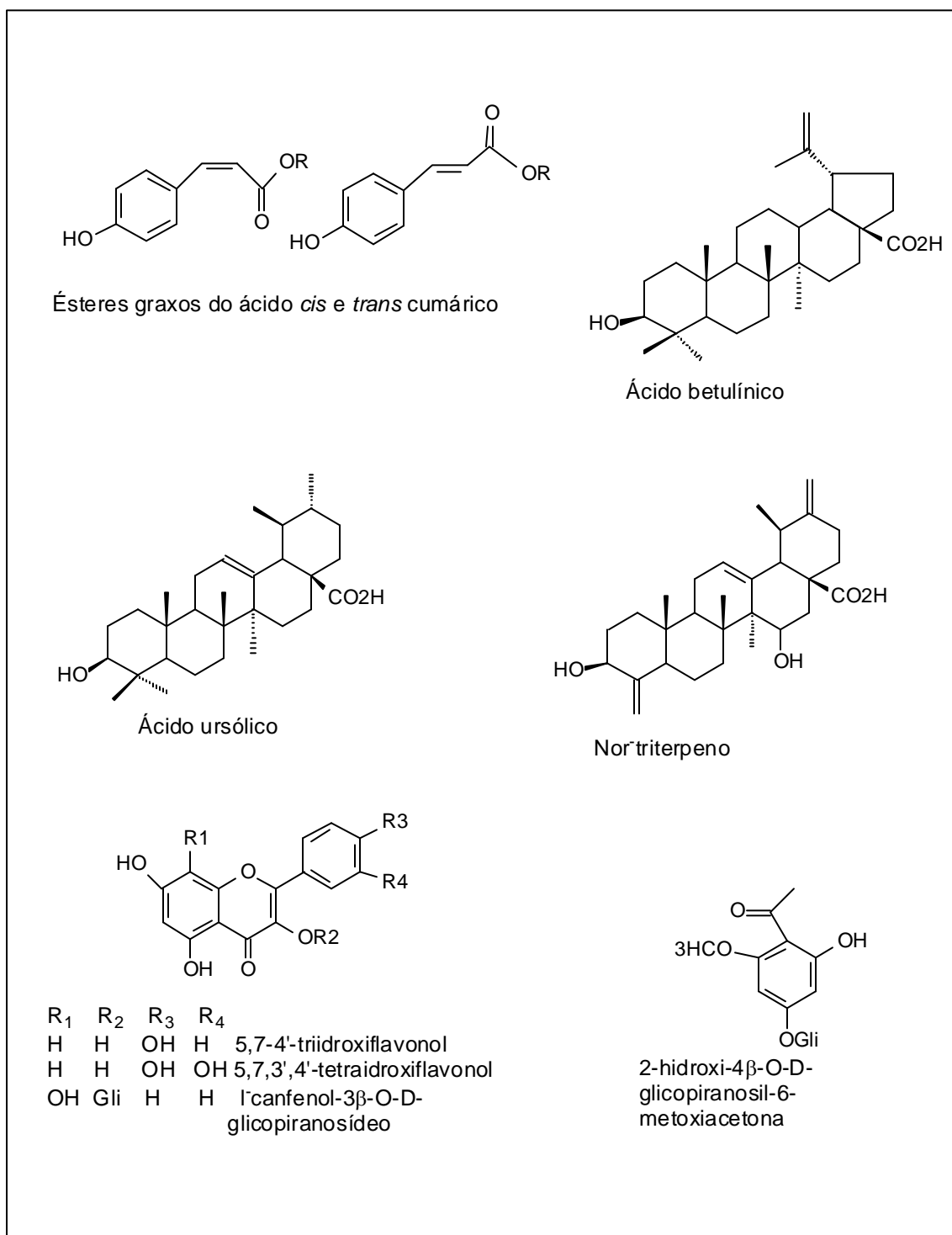
Referências: 1 - Rother & Schwarting, 1974; 2 - Rother & Edwards, 1994; 3 - Pelosi et al., 1985; 4 - El-Olemy & Stohs, 1971; 5 - Sharnoff & Shain, 1973; 6 - Barrow et al., 1974; 7 - Graham et al., 1980; 8 - Rother, 1990; 9 - Xu et. al, 1991; 10 - Yoshida et al., 1991; 11- Yoshida et al., 1992; 12 - Murakami et. al, 1993; 13 - Gupta et al., 1992; 14 - Gottsberger et al., 1984; 15 - Garcez et al., 1998; 16 -Carvalho, 1994



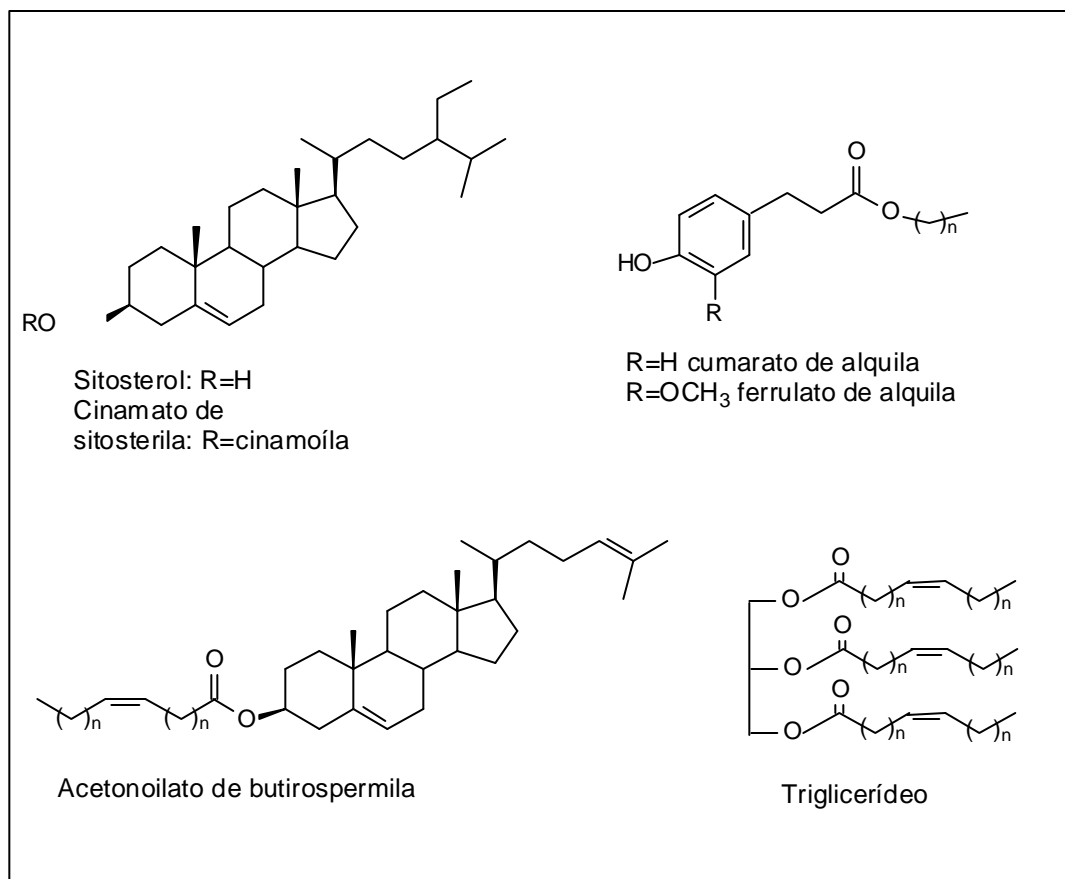
Quadro 1. Estrutura de alguns constituintes químicos isolados de espécies da família Lythraceae.



Quadro 2. Estrutura de alguns constituintes químicos isolados de espécies da família Lythraceae.



Quadro 3. Estrutura de alguns constituintes químicos isolados de espécies da família Lythraceae.



Quadro 4. Estrutura de alguns constituintes químicos isolados de espécies da família Lythraceae.

O conhecimento químico das espécies vegetais contribui certamente para o conhecimento mais aprofundado da biodiversidade e também para outras áreas do conhecimento. Deve-se destacar que um dos considerado relevante para o estudo químico das plantas é a descoberta de fármacos ignorando, inclusive, outras diversas atividades biológicas dos constituintes.

Como pode-se observar na tabela 1, dentre os constituintes químicos comuns encontrados nas espécies vegetais, ocorre nesta família alcalóides do tipo indólico, flavonóides e derivados do ácido cinâmico.

Os alcalóides são bases nitrogenadas, cuja estruturas molecular são bastante diversificadas e por isso sua classificação é complexa. De todos os grupos de princípios ativos os alcalóides são os que mais se destacam quanto a

atividade biológica (Di Stasi, 1996), e as vezes conferindo sabor amargo as plantas (exemplos: heimidina e litracinas).

Devido às propriedades dos alcalóides tem-se grande interesse na biossíntese destes compostos. Considerando-se estes fatos, foram realizados vários estudos com crescimento de *Heimia salicifolia*, utilizando nitrogênio marcado para estabelecer as rotas biossintéticas dos alcalóides derivados de aminoácidos para melhor utilização dos mesmos (Rother & Schwarting, 1974; Rother & Edwards, 1994; Pelosi & Rother, 1985; El-Olemy et al., 1971).

Os compostos terpenóides representam a segunda classe com maior número de constituintes ativos (Di Stasi, 1996). Estes compostos estão bem representados em espécies de Lythraceae.

A espécie *Lawsonia inermis* Linn é comumente conhecida como Hena, sendo um pequeno arbusto usado no tratamento de icterícia, distúrbios do fígado, baço, lepra e outras enfermidades da pele. Entre os compostos isolados desta espécie temos um derivado do sitosterol, o lawsaritol, que tem ação bactericida (Gupta et al., 1992).

A espécie *Lagerstroemia speciosa* L. é bem distribuída nas Filipinas, Índia, Malásia, Sul da China e Austrália. As folhas desta planta são chamadas de “Banaba” nas Filipinas e usadas no tratamento da diabete. A sua decocção foi clinicamente testada e reduz aceitavelmente o nível de açúcar no sangue (Murakami et. al, 1993).

A espécie *Woodfordia fruticosa* Kurtz cresce amplamente na Indonésia, Malásia e Índia. As flores secas são usadas popularmente na medicina tradicional onde é conhecida como “Sindowaya” ou “Sedowaya”, sendo usadas para o tratamento de diarreia e reumatismo. Das flores desta espécie foram isolados os taninos woodfordina D e oenotheina A (Tabela 1.1), que em testes com camundongos apresentaram satisfatória atividade antitumoral contra sarcoma 180 (Yoshida et al., 1991; Yoshida et al., 1992).

O gênero *Lafoensia* é constituído de apenas 12 espécies, das quais sete são originárias do Brasil. Têm-se poucos estudos relatados na literatura sobre este gênero. Em 1991, iniciou-se o estudo fitoquímico de uma espécie deste

gênero, *Lafoensia glyptocarpa* Koehne, pelo Grupo de Produtos Naturais da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Até então, só havia um relato de espécie deste gênero estudado, *Lafoensia Pacari* St. Hill, em 1984. A espécie *L. Pacari*, foi estudada juntamente com mais 31 espécies de plantas, foram comparadas as concentrações e composições de açúcares e aminoácidos existentes no seu néctar, visando uma avaliação de características evolucionárias destas espécies, uma vez que consideravam que elevadas concentrações de açúcares estão relacionadas à características morfológicas mais avançadas (Gott Sberger et al., 1984).

Em 1994, um segundo relato foi divulgado sobre o gênero *Lafoensia* (Carvalho et al., 1994). A espécie *Lafoensia glyptocarpa* Koehne, objeto do presente estudo, foi estudada quimicamente, tendo os constituintes químicos isolados e determinados. Outros dois relatos deram prosseguimento aos estudos fitoquímicos desta espécie (Carvalho et al., 1996; Carvalho et al., 1998). Dentre as substâncias químicas encontradas, destacaram-se os terpenóides (Tabela 1).

A espécie *Lafoensia densiflora* Pohl é uma árvore bastante difundida no Mato Grosso do Sul e conhecida por “Dedaleira”. É empregada na medicina popular como cicatrizante. Na tabela 1 constam os constituintes químicos isolados desta espécie. Esta foi a terceira espécie deste gênero a ser estudada. Também foi encontrada uma grande contribuição química de terpenóides nesta espécie. (Garcez et al., 1998).

Além dos exemplos de atividades farmacológicas citados acima, mais freqüentes nos trabalhos sobre fitoquímica, pode-se exemplificar alguns casos relacionados com ecologia química.

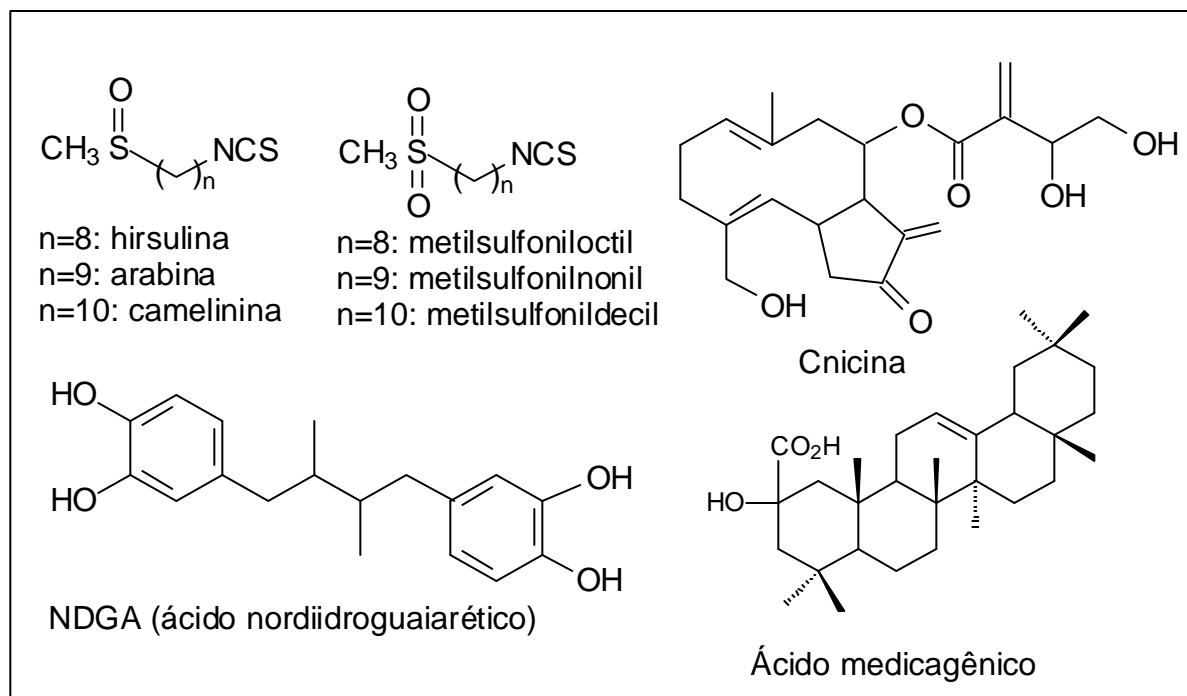
O extrato em acetato de etila de *Rorippa indica* Hiem. (Cruciferae), contendo hirsulina, arabina, camelinina e três isotiocianatos [ω -metil-sulfonilalquil isotiocianatos (n=8, 9 e 10)], inibiram severamente o crescimento de hipocótilo e raízes de alface (*Lactuca sativa*), nas concentrações de 1,0 mM ou abaixo desta concentração (Yamane et al., 1992).

Cnicina, uma lactona sesquiterpênica, isolada do extrato em clorofórmio de *Centaurea maculosa* Lam., retardou o crescimento das raízes de alface e de

plantas invasoras como *Agropyron crislatum* (L.), *Agropyron spicatum* (Pursh) e *Centaurea maculosa* nas concentrações de 1 e 4 mg/mL. Alface e *Agropyron spicatum* foram inibidos em todas as concentrações testadas (0, 1, 2, 4, 6, 8 e 10 mg/mL) (Kelsey & Locken, 1987).

O ácido nordiidroguaiarético (NDGA), isolado de *Larrea tridentada* Cav. (Zygophyllaceae) reduziu o crescimento das raízes de plântulas de *Echinochloa crusgalli*, *Setaria viridis*, *Lolium perene*, alface (*Lactuca sativa*) e alfafa (*Medicago sativa*), e reduziu o crescimento de hipocótilo de alface e *Setaria viridis* (Elakovich & Stevens, 1985).

A saponina (ácido medicagênico) isolada de alfafa (*Medicago sativa*) foi tóxica para larvas de *Costelytra zealandica* (Coleopatera: Scarabaeidae), *Empoasca fabae* (Harris), *Acyrtosiphon pisum* (Harris) (Sutherland et al., 1982; Horber et al., 1974).



Quadro 5. Estrutura de alguns constituintes químicos, citados acima, que possuem atividade alelopática.

A espécie *Lafoensia glyptocarpa* Koehne é árvore de grande porte, tendo uso comercial. Foi observado que sementes desta espécie não germinavam no solo próximo a indivíduos da mesma espécie, em uma área de reflorestamento no

Horto Florestal de Seropédica, Seropédica- RJ. O fato das referidas sementes germinarem normalmente em outro local, levantou suspeitas de que a espécie produzia substâncias químicas que exerciam efeito alelopático sobre as sementes.

O estudo fitoquímico realizado por Carvalho, 1994 teve como resultado o isolamento de constituintes químicos (Tabela 1) que de acordo com a literatura possuem efeitos alelopáticos. Estes fatos motivaram a continuidade do estudo químico desta espécie e inclusive, a preparação em laboratório de substâncias, derivadas do ácido cinâmico, para fazer testes de germinação de sementes, usando como plantas testes, cultivares de alface e de tomate .

Foram obtidas substâncias como o sitosterol, já isolado anteriormente (Carvalho, 1994), carboidratos e duas saponinas, uma esteroidal e outra triterpênica, cuja estrutura está sendo relatada pela primeira vez na literatura (Carvalho et al., 1999). A existência de saponinas no gênero *Lafoensia*, foi relatada pela primeira vez através do estudo fitoquímico de *Lafoensia glyptocarpa* que consta da dissertação de mestrado de Carvalho, G. J. A..

OBJETIVOS

- 1 - Ampliar o estudo químico da espécie *Lafoensia glyptocarpa* Koehne através do isolamento e identificação de constituintes especiais;
- 2 - Elucidar estruturas de metabolitos especiais desta espécie.
- 3 - Testar a influência de derivados do ácido cinâmico, *p*-cumárico, ferrúlico e outros equivalentes na germinação de sementes de alface e tomate.

1.1. DESCRIÇÃO DE *Lafoensia glyptocarpa* KOEHNE

Lafoensia glyptocarpa Koehne é uma árvore de grande porte, com folhas de bordas lisas, frutos redondos, de diâmetro aproximado de 4 cm, cor castanha escura. No quadro 6 pode se observar uma fotografia detalhada de um exemplar desta espécie.



Quadro 6. Foto de um espécimen de *Lafoensia glyptocarpa* Koehne, destacando as flores, frutos e detalhes da casca

Fonte: Lorenzi, 1992.

1.2. CLASSIFICAÇÃO BOTÂNICA CRONQUIST, 1981:

Divisão: Magnoliophyta

Classe: Magnoliopsida

Subclasse: Rosidae Takhtajan, 1996

Ordem: Myrtales Lindley, 1833

Família: Lythraceae St. Hill, 1805

Gênero: *Lafoensia* (Vand)

Espécie: *Lafoensia glyptocarpa* Koehne

Nome vulgar: Mirindiba Rosa, Mirindiba Bagre, Mirinduva, Louro-de São Paulo

A família Lythraceae, compreende aproximadamente 20-30 gêneros e 500 espécies.

1.3. DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DA FAMÍLIA

Lythraceae é amplamente distribuída, encontra-se na América do Sul e demais regiões tropicais, no Brasil estende-se da Bahia até São Paulo.

1.4. IMPORTÂNCIA ECONÔMICA

A espécie *Lafoensia glyptocarpa* quando nova presta-se para cerca de arbustos, ramos, estacas, sebes, etc.. Fornece madeira de lei própria para a construção civil, marcenaria e carpintaria. Muito recomendada para arborização de cidades, reflorestamento e para a produção de lenha (Corrêa,1984).

1.5. COLEÇÃO BOTÂNICA DE REFERÊNCIA

Coletores: Geizi Jane Alves de Carvalho e José Aguiar Sobrinho

Data: Fevereiro de 1992

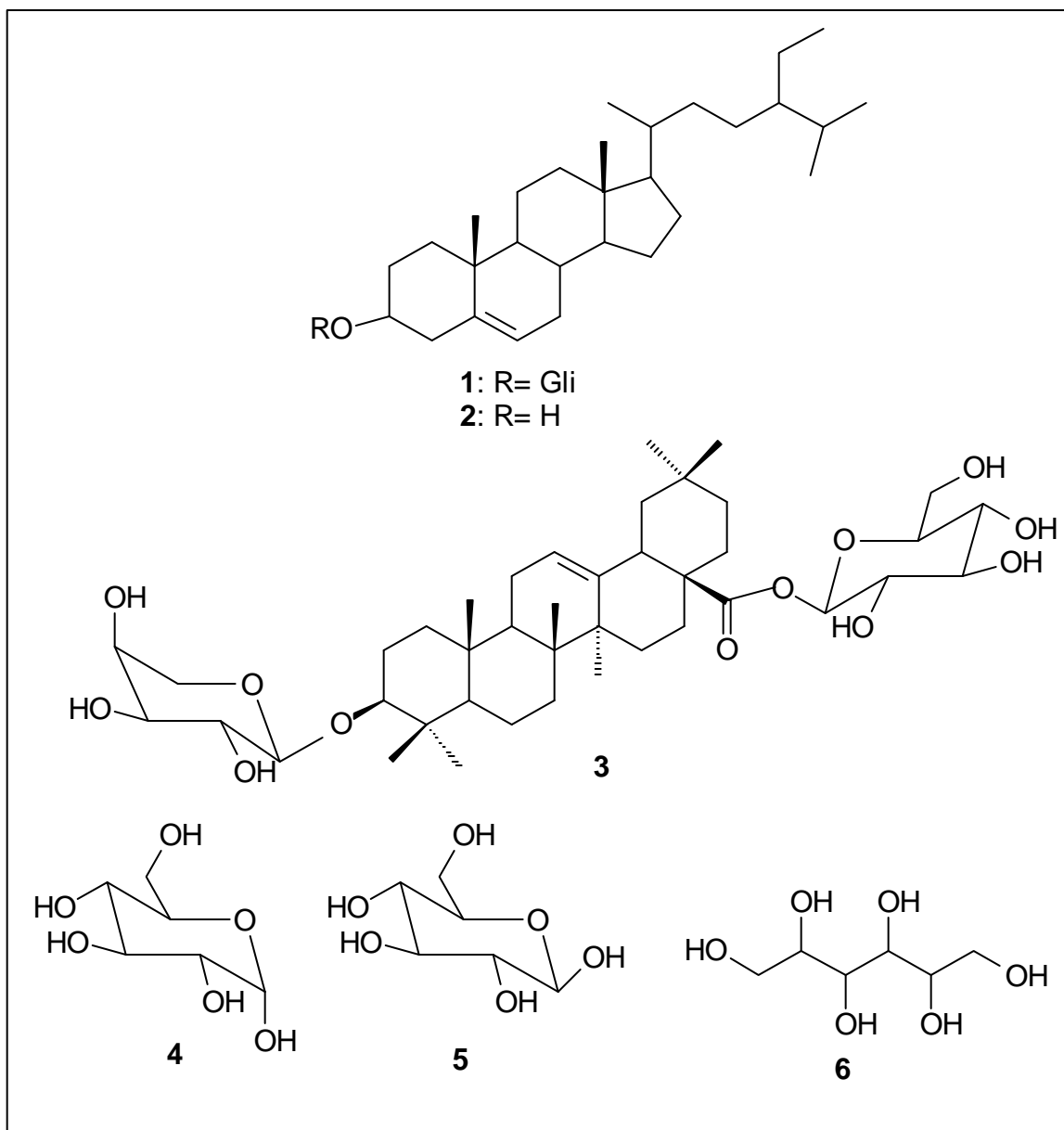
Local: Horto Florestal de Seropédica, Seropédica – RJ.

Identificadores: José Aguiar Sobrinho, Engenheiro Florestal da UFRRJ e José Ribamar de Souza, Engenheiro Florestal do Horto Florestal de Seropédica.

Herbário: Herbário do Horto Florestal de Seropédica sob o número 379.

1.6. CONSTITUINTES QUÍMICOS ISOLADOS DE *Lafoensia glyptocarpa* KOEHNE NESTE TRABALHO.

As substâncias **1**, **2** e **3** foram isoladas do extrato metanólico das folhas e as substâncias **4**, **5** e **6** foram isoladas do extrato metanólico do caule de *Lafoensia glyptocarpa* Koehne.



Quadro 7. Estruturas dos constituintes químicos isolados de *Lafoensia glyptocarpa* Koehne neste trabalho.

1.8. PARTE EXPERIMENTAL

1.8.1. COLETA DA PLANTA

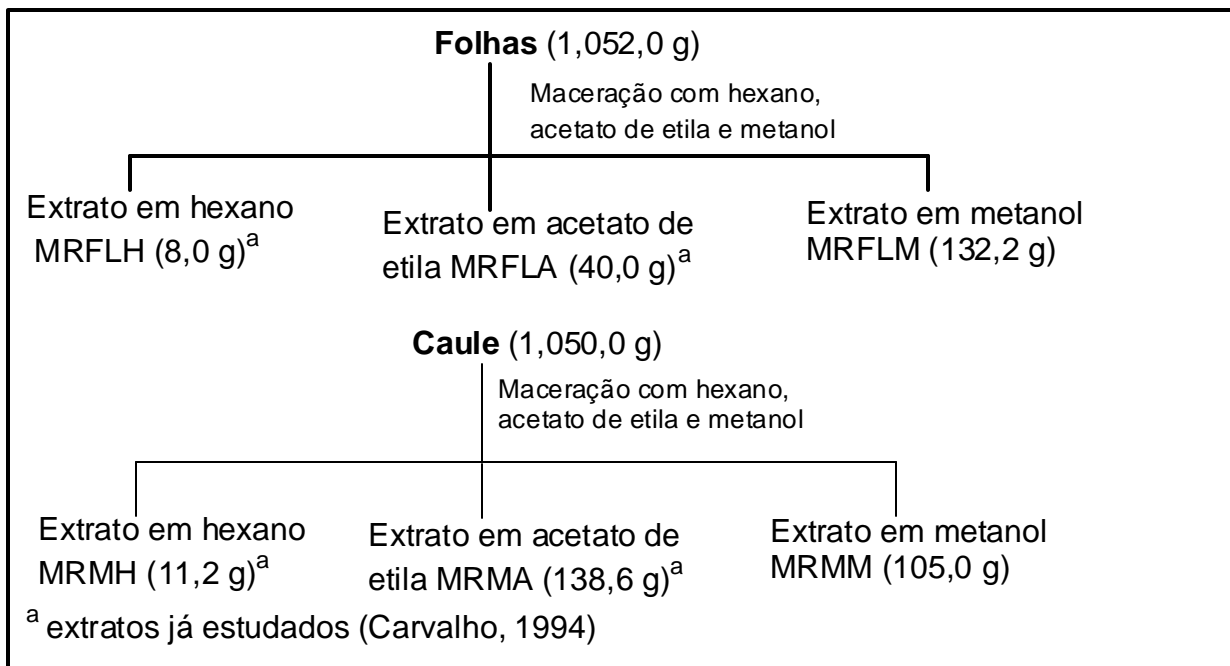
Lafoensia glyptocarpa Koehne foi coletada na Floresta Nacional (FLONA) de Seropédica – Seropédica – RJ, no mês de fevereiro de 1992. O espécime coletado foi identificado pelo engenheiro florestal José Ribamar Souza (FLONA de Seropédica) e pelo professor José Aguiar Sobrinho (UFRRJ).

O material foi separado em folhas e caule, submetidos a secagem durante 4 semanas exposto ao ar sobre folhas de jornal e convertido a pó em moinho de facas.

1.8.2. EXTRAÇÃO

O material moído obtido das folhas (1.052 g) e do caule (3.150 g) foram submetidos a extração por maceração com hexano, acetato de etila e metanol.

A destilação dos extratos foi feita à pressão reduzida em rotavapor. Estas operações encontram-se resumidas no esquema 1.



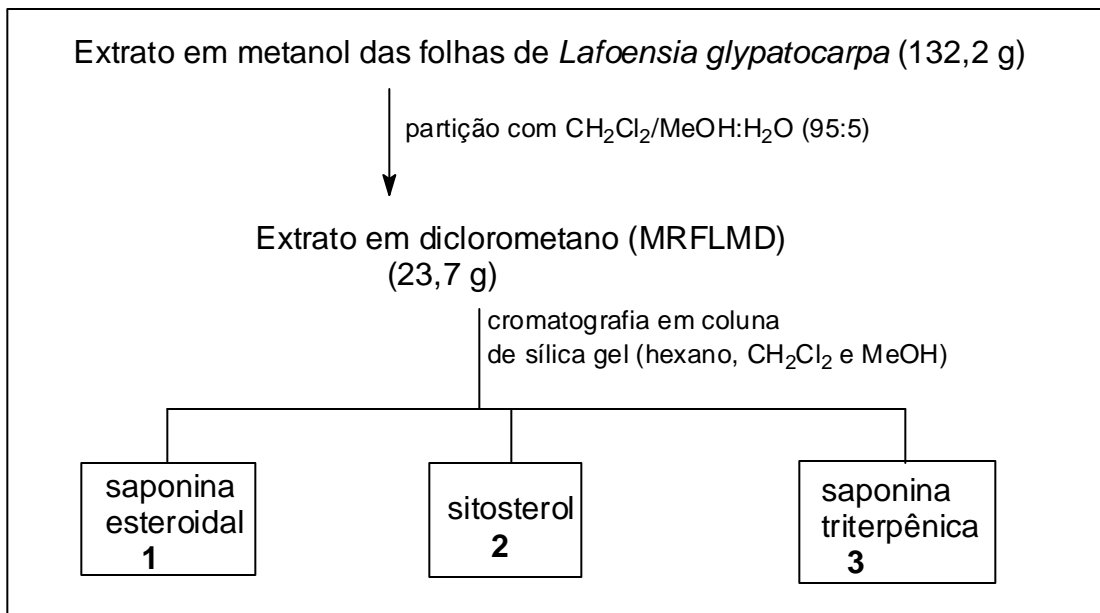
Esquema 1. Processamento para obtenção dos extratos de *Lafoensia glyptocarpa* Koehne ("Mirindiba rosa")

1.8.3. ISOLAMENTO E PURIFICAÇÃO DOS CONSTITUINTES

1.8.3.1. EXTRATO EM DICLOROMETANO DAS FOLHAS DE *Lafoensia glyptocarpa* KOEHNE “MIRINDIBA ROSA” (Esquema 2)

O extrato em metanol (132,2 g) foi submetido à partição com solventes $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}$ (95:5), obtendo-se o extrato em diclorometano (23,7 g).

O extrato em diclorometano foi submetido a cromatografia em coluna, usando-se como eluentes hexano, diclorometano e metanol em gradiente de polaridade. Recolheram-se 33 frações de 125 mL cada. Deste extrato foram isoladas as substâncias **1**, **2** e **3**. (Esquema 2)

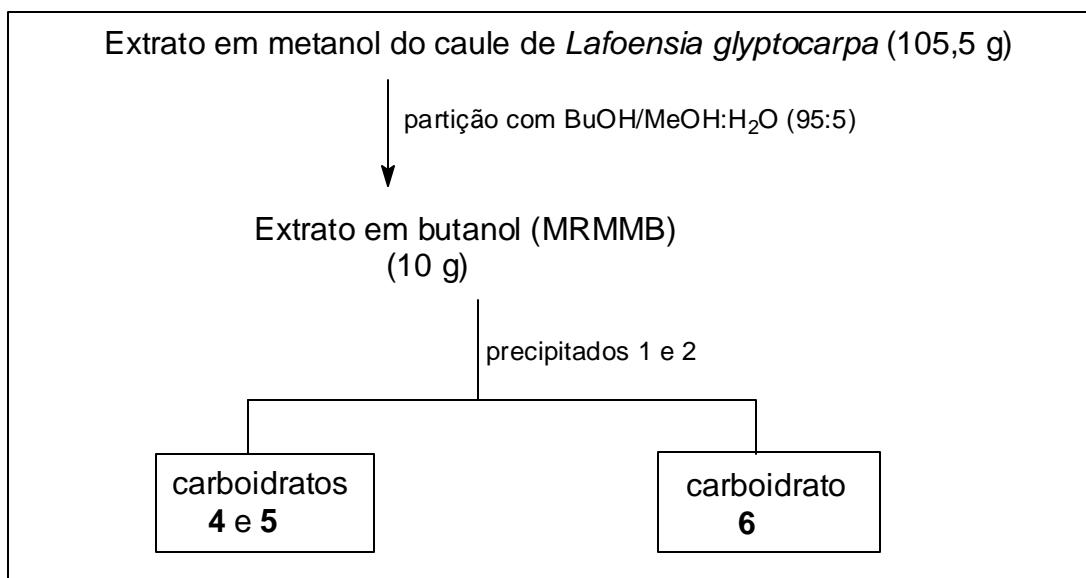


Esquema 2. Obtenção e fracionamento do extrato em diclorometano das folhas de *Lafoensia glyptocarpa* Koehne (“Mirindiba rosa”) (MRFLMD).

1.8.3.2. EXTRATO EM BUTANOL DO CAULE DE *Lafoensia glyptocarpa* KOEHNE “MIRINDIBA ROSA” (Esquema 3)

O extrato em metanol (105,5 g) foi submetido à partição com solventes $\text{BuOH}/\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}$ (95:5), obtendo-se o extrato em butanol (10 g).

O extrato em butanol apresentou dois precipitados de constituintes muito polares que foram submetidos a acetilação e foram identificados os derivados acetilados como os carboidratos **4a**, **5a** e **6a** para, então, caracterizar a porção dos constituintes naturais **4**, **5** e **6** neste extrato.



Esquema 3. Obtenção e fracionamento do extrato em butanol de *Lafoensia Glyptocarpa* Koehne

1.8.4. REAÇÕES DE DERIVATIZAÇÕES

1.8.4.1. Acetilação

Foi adicionado à amostra piridina e anidrido acético na proporção de 1:1, a solução foi mantida à temperatura ambiente por 24 horas. Quando necessário a solução foi mantida por mais 24 horas com agitação, ou ainda agitação e aquecimento sob refluxo. Adicionou-se água destilada (0 a 5 °C) e extraiu-se com clorofórmio (3 x 30 mL) em funil de separação. A solução em clorofórmio foi lavada com solução aquosa de HCl (5%) (30 mL) e posteriormente lavada com água destilada (3 x 30, mL). À solução resultante foi adicionado sulfato de sódio anidro e o solvente foi destilado sob vácuo em rotavapor, a amostra acetilada foi pesada e submetida à análise por CCDA.

substância	Quantidade mg	derivado acetilado	quantidade mg
1	90	1a	80
3*	120	3a*	110
4 e 5	150	4a e 5a	140
6	150	6a	140

* Substância nova

Quadro 8. Substâncias naturais submetidas ao processo de acetilação.

1.8.4.2. REAÇÃO PARA CONFIRMAÇÃO DE NITROGÊNIO EM **6a**, (ENSAIO DE LASSAIGNE, Vogel, 1984).

A amostra **6a** (cerca de 0,05 mg) foi adicionada em tubo de ensaio sobre sódio metálico fundido. Aqueceu-se ao “rubro” e mergulhou-se o tubo de ensaio em água destilada (10 mL). Após o término da reação, o material foi novamente aquecido e filtrado. Derramou-se cerca de 2 mL da fusão sobre recipiente contendo cristais de sulfato ferroso em pó, aqueceu-se a mistura com agitação até a ebulição e adicionou-se então ácido sulfúrico diluído. A presença de nitrogênio na substância levaria a formação de um precipitado de cor azul, mas isto não ocorreu.

Repetiu-se o procedimento anterior, adicionando além do ácido sulfúrico diluído, 1 mL de fluoreto de potássio, que geralmente conduz ao azul-da prússia mais puro. Novamente não foi observada coloração azul no meio reacional. Deste modo deduz-se que a referida substância não possui átomo de nitrogênio na sua estrutura.

1.8.5. CONSIDERAÇÕES SOBRE O MATERIAL E MÉTODOS UTILIZADOS

- Os solventes utilizados foram de grau analítico das marcas Merck ou Vetec, para extrações, partições e sistemas cromatográficos. Para maior grau de pureza os solventes foram destilados em aparelhagem de destilação, com coluna Vigreux de 1,5 m de comprimento.

- As separações por cromatografia em coluna (CC) foram efetuadas usando-se sílica gel de marca Merck ou Riedel-de Haen Ag-Kieselgel (0,063-0,2 mm) como adsorvente. Para cromatografia em camada delgada (CCD) analítica, espessura de cerca de 0,5 mm utilizou-se sílica gel Kieselgel G ou H (tipo 60) Merck, e para cromatografia em camada delgada preparativa (CCD) normal ou circular (Cromatotron), espessura com cerca de 1,0 e 2,0 mm, respectivamente, empregou-se Kieselgel 60 PF 254.

Nos primeiros casos a sílica foi suspensa em água destilada e distribuída em camadas sobre placas de vidro utilizando-se espalhador e as placas para o Cromatotron foram preparadas manualmente.

- As revelações foram efetuadas por irradiações ultravioleta a 254 e 356 nm de comprimento e/ou com vapores de iodo em cuba saturada para cromatografia em camada fina e ultravioleta a 254 e 356 nm para as preparativas.

- O critério de pureza adotado foi obtenção de mancha única por cromatografia em camada delgada de sílica, variando-se o sistema de solventes na eluição.

- Os espectros de RMN de ^1H (200 MHz) e de ^{13}C (50 MHz), unidimensional (1D) e bidimensional (2D), foram registrados em espectrômetro AC-200 da Bruker. Os espectros de RMN ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz), foram registrados em espectrômetro UM-400 da Varian, utilizando-se com solventes CDCl_3 , $\text{MeOH-}d_4$, acetona- d_6 , $\text{DMSO-}d_6$ e TMS como referência interna.

- Os espectros de Infravermelho (IV), foram registrados em espectrômetro Perkin Elmer FT-IR 1600, em pastilhas de KBr ou filme sobre cristal de NaCl.

- Os espectros de massas foram registrados em espectrômetros VG Auto Spec-30, operando a 70 eV e VG QUATRO.
- A cromatografia circular (Cromatotron), foi realizada com aparelho Chromatotron, utilizando como adsorvente sílicagel-60 Merck com espessura de 2 mm.
- Os pontos de fusão foram determinados em bloco de Koffler e não foram corrigidos.

1.8.6. DADOS FÍSICOS COMPLEMENTARES DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS DE *Lafoensia glyptocarpa* KOEHNE "MIRINDIBA ROSA"

- Saponina esteroidal (3O- β -D-tetraacetil-glicopiranosil-sitosterol) (**1a**)

P.F. 160 °C (CHCl₃) (90 mg)

RMN ¹H 0,65 (s), 1,23 (s), 0,80(s) e 1,15 (s), 3,46 (m), 5,33 (dd), 4,56 (d), 4,93 (t), 5,23 (t), 5,13 (t), 3,63 (m), 4,07 (dd) e 4,22 (dd).

RMN ¹³C Tab. 2, pág. 27

- Sitosterol (**2**)

P.F. 137-138 °C (CHCl₃) (80 mg)

RMN ¹H 0,65 (s), 0,98 (s), 0,76 (s), 0,90 (s), 3.49 (m), 5.32 (dl).

RMN ¹³C Tab. 2, pág. 33

- Saponina triterpênica (3 β -O-L-arabinopiranosiloleanato-12-eno--28-óico de β -D-glicopiranosila) (**3**)

P.F. 220 °C (**3**) (MeOH), 130 °C (**3a**) (CHCl₃) (120 mg)

RMN ¹H Tab. 3 e 3a, pág. 42 e 43

RMN ¹³C Tab. 3 e 3a, pág. 37 e 38

- Carboidratos: 1,2,3,4,6-penta-O-acetil- α -D-glicopiranoose (**4a**) e 1,2,3,4,6-penta-O-acetil- β -D-glicopiranoose (**5a**)

Sólido amorfo (CHCl₃) (200 mg)

RMN ¹H 2,04 (s), 2,06 (s), 4,32 (m), 5,12 (m), 5,40 (t), 5,23 (sl), 3,50 (m), 4,27 (sl), 4,08 (sl)

RMN ¹³C Tab. 4, pág. 68

- Carboidrato: Hexaacetil iditol (**6a**)

P. F. 95 ° C (CHCl₃) (150 mg)

RMN ¹H 1,97 (s), 2,00 (s), 2,06 (s), 2,84 (sl), 4,09 (dd), 4,25 (dd), 5,07 (m), 5,43 (d)

RMN ¹³C Tab. 5, pág. 73

1.7. RESULTADOS E DISCUSSÃO

1.7. 1. DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DOS CONSTITUINTES

1.7.1.1. SAPONINA ESTEROIDAL (1)

Esta substância apresentou-se como um sólido branco e insolúvel nos solventes freqüentemente usados para registrar os espectros de RMN (CDCl_3 e MeOD_{d4}).

O espectro obtido no IV desta substância (fig. 3, pág. 30) revelou a presença de uma banda de absorção larga em 3.414 cm^{-1} , correspondente a deformação axial de OH. O sinal observado em 2.932 cm^{-1} foi atribuído à deformação axial de CH, CH_2 e CH_3 e 1.461 cm^{-1} foi atribuído à deformação angular de CH, CH_2 e CH_3 e o sinal em 1.161 cm^{-1} à deformação axial de C-O.

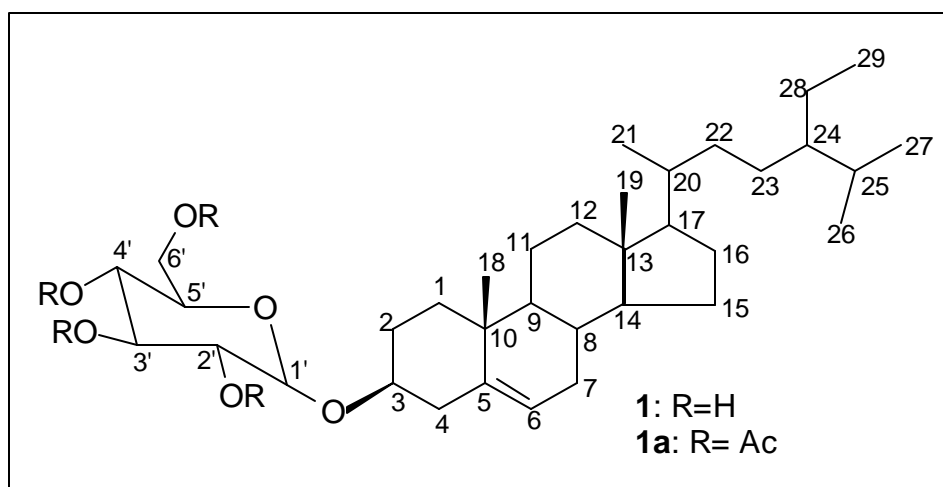
Estes dados serviram como orientação para a preparação do derivado acetilado **1a**, através do tratamento de anidrido acético e piridina (1:1). O espectro de IV do derivado acetilado revelou a presença de duas bandas de absorção características de substância acetilada. Em 1.740 cm^{-1} , correspondente a deformação axial de C=O e 1.220 cm^{-1} atribuída a deformação axial de C-O de acetato.

O espectro de RMN de ^1H (fig. 1, pág, 28) possui dois sinais simples em δ_{H} : 0,65 e 1,23 e outro sinais múltiplos entre δ_{H} : 0,80 e 1,15 que são compatíveis com os sinais de metilas em estruturas de esteróides. Os sinais em δ_{H} : 3,46 (m) e 5,34 (dd, 11,0 Hz) são, respectivamente, referentes às freqüências de absorção do hidrogênio carbinólico H-3 ligado ao C-3 (δ_{C} : 80,0) e olefínico H-6 ligado ao C-6 (δ_{C} : 122,1), os sinais de hidrogênio em δ_{H} : 4,55 (d, 7,6 Hz, 1H), 4,94 (t, 8,3 Hz, 1H) 5,14 (t, 9,3 Hz, 1H), 5,05 (t, 9,6 Hz, 1H), 3,63 (m, 1H), 4,05 (dd, 13,0 HZ) e 2,0 Hz, 1H) e 4,20 (dd, 13,0 e 4,0 Hz, 1H) correspondem às freqüências de absorção da uma unidade de glicose acetilada, ligada ao esteróide, estes sinais pertencem respectivamente aos hidrogênios H-1', H-2', H-3', H-4', H-5', H-6'a e H-6'b.

O espectro de RMN de ^1H bidimensional $^1\text{H} - ^1\text{H}$ -COSY de **1a** (fig. 2, pág. 26), possui sinais de interações dos hidrogênios H-3 (δ_{H} : 3,46) com 2H-4 (δ_{H} : 2,20), H-6 (δ_{H} : 5,14) com 2H-7 (δ_{H} : 1,85), H-1' (δ_{H} : 4,55) com H-2' (δ_{H} : 4,93), H-2' com H-3' (δ_{H} : 5,23), H-3' com H-4' (δ_{H} : 5,05), H-4' com H-5' (δ_{H} : 3,63) e H-5' com H-6a' (δ_{H} : 4,05) e H-6b' (δ_{H} : 4,20). Estes dados confirmam a proposta da unidade de açúcar ligada ao esteróide.

A análise do espectro de RMN de ^{13}C (fig. 4, pág. 30) PND e DEPT (fig. 5, pág. 31) permitiu observar os deslocamentos químicos: um carbono carbinólico a δ_{C} : 80,0 (C-3), um carbono vinílico a δ_{C} : 122,1 (C-6), um carbono quaternário a δ_{C} : 140,3 (C-5) e duas metilas ligadas à carbono quaternário a δ_{C} : 11,9 (C-18) e δ_{C} : 19,0 (C-19) que são referentes da unidade aglicônica. O sinal em δ_{C} : 99,6 (C-1') atribuído ao CH anomérico, sinais de três CH e um CH_2 que são compatíveis com uma unidade de glicose ligada ao C-3 da aglicona.

A comparação dos dados de **1a** com dados citados na literatura (Akisa et al., 1988; Kojima et al., 1990; Teresa et al., 1987) confirmaram a estrutura de **1** como sendo o produto natural 3O- β -D-glicopiranosil-sitosterol identificada através da análise dos dados espectrométricos de seu derivado acetilado **1a** (3O- β -D-tetraacetil-glicopiranosil-sitosterol).



Quadro 9. Estrutura das saponinas esteroidais **1** e **1a**.

Esta substância foi isolada anteriormente de espécies como *Wedelia paludosa* (Carvalho, 1994), *Plunella vulgaris* (Kojima et al., 1990), *Ouratea*

semiserrata (Velandia, 1998). Embora não se tenham estudos específicos sobre uma possível atividade biológica, em bioensaio de citotoxicidade com *Artemia salina* Leach (Meyer et al., 1982), a substância **1** apresentou valor de $DL_{50} = 116,97$ ppm. Este resultado indica que esta substância merece estudos adicionais, pois apresentou-se bastante citotóxica, considerando-se que substâncias que apresentam $DL_{50} < 1000$ são tóxicas, enquanto que o derivado acetilado **1a** não foi citotóxica, apresentando valor de $DL_{50} > 1000$ ppm.

A semelhança estrutural da saponina **1** com saponinas que possuem efeito alelopático (Sutherland et al., 1982), estimulou o estudo deste composto em relação a germinação de sementes de cultivares de alface e tomate, no qual não se constatou a inibição de germinação da substância **1** em relação à tomate e alface, mas **1a** apresentou efeito inibidor para alface e tomate quando comparados com a testemunha.

Tabela 2. Dados espectrais de RMN de ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$) da substância **1a** comparados com valores citados na literatura (Akisa et al., 1988; Kojima et al., 1990; Teresa et al., 1987).

C	δ_C 1	Literatura	C	δ_C 1	Literatura
1	37,2	37,2	21	19,3	21,1
2	29,4	29,4	22	33,8	33,8
3	80,0	71,8	23	26,0	29,4
4	38,8	42,3	24	45,8	51,3
5	140,3	140,8	25	29,1	32,0
6	122,1	121,7	26	19,8	21,3
7	31,8	32,0	27	19,0	19,0
8	31,8	32,0	28	25,5	25,5
9	50,1	50,2	29	12,1	12,1
10	36,7	36,6	1'	99,6	99,7
11	21,0	21,3	2'	71,5	71,5
12	39,7	39,8	3'	72,9	72,9
13	42,3	42,3	4'	68,5	68,5
14	56,7	56,9	5'	71,7	71,7
15	24,2	24,4	6'	62,1	62,1
16	28,2	28,9	OC=O	170,4-169,4	170,7-169,3
17	56,0	56,1	CH ₃	20,7-20,6	20,8-20,6
18	11,9	12,2			
19	19,0	19,4			
20	36,1	40,4			
1	19,3	21,1			

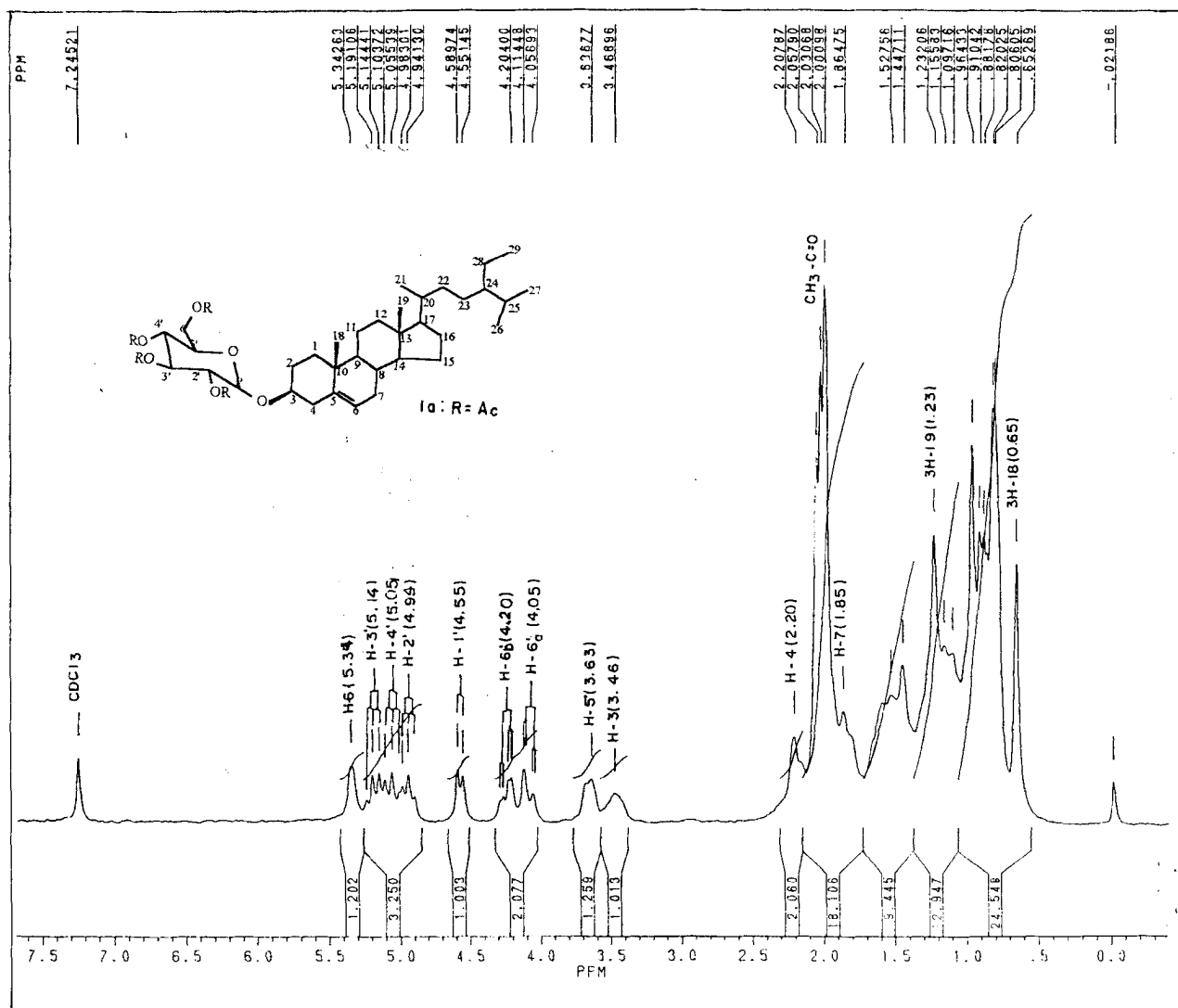


Figura 1. Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) de 1a

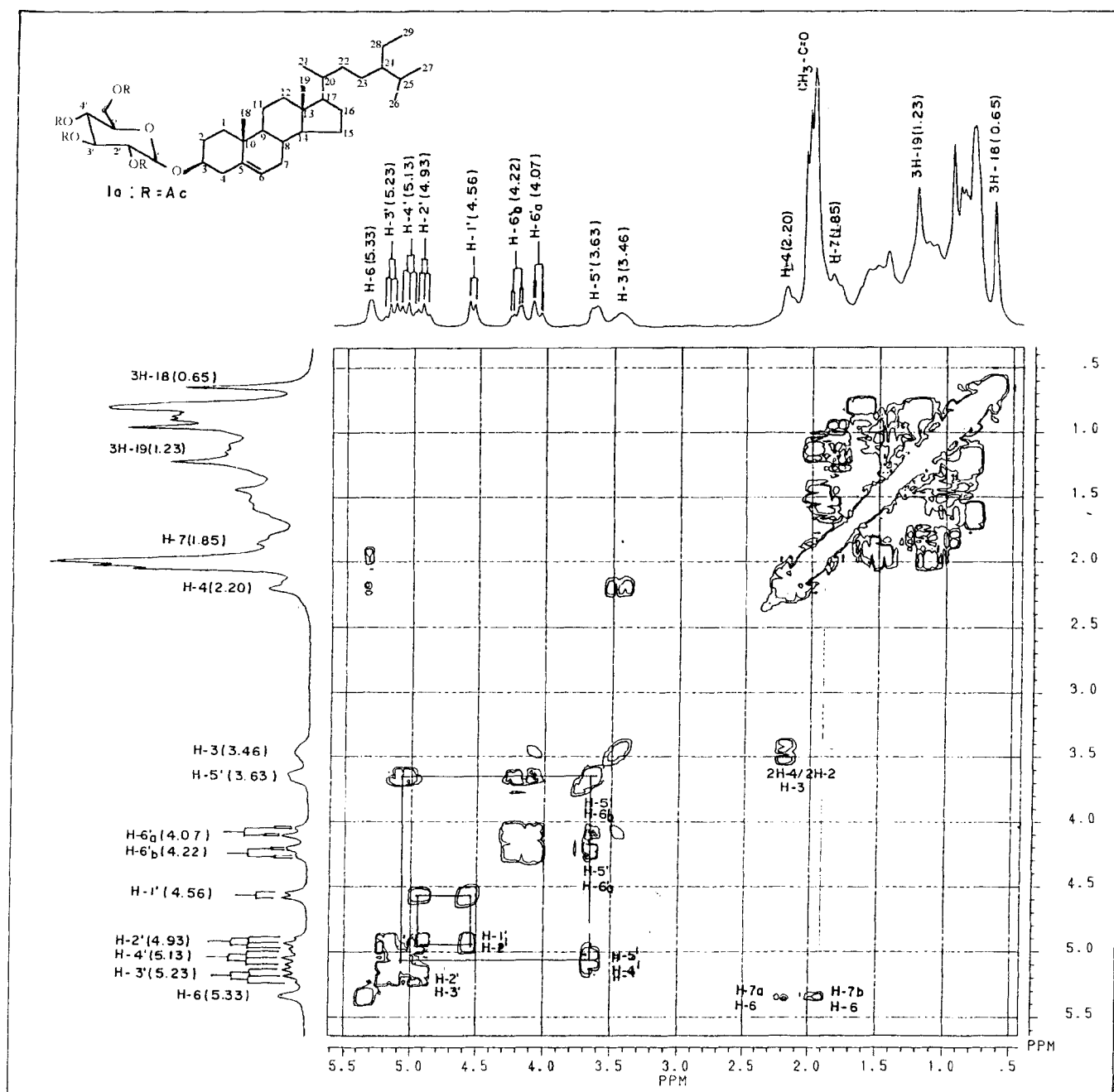


Figura 2. Espectro de RMN – 2D ^1H - ^1H – COSY (200 MHz, CDCl_3) de 1a

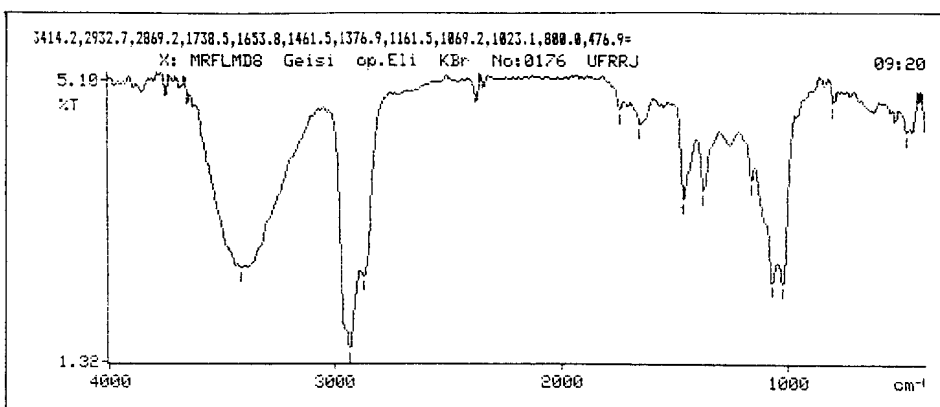


Figura 3. Espectro de IV de 1

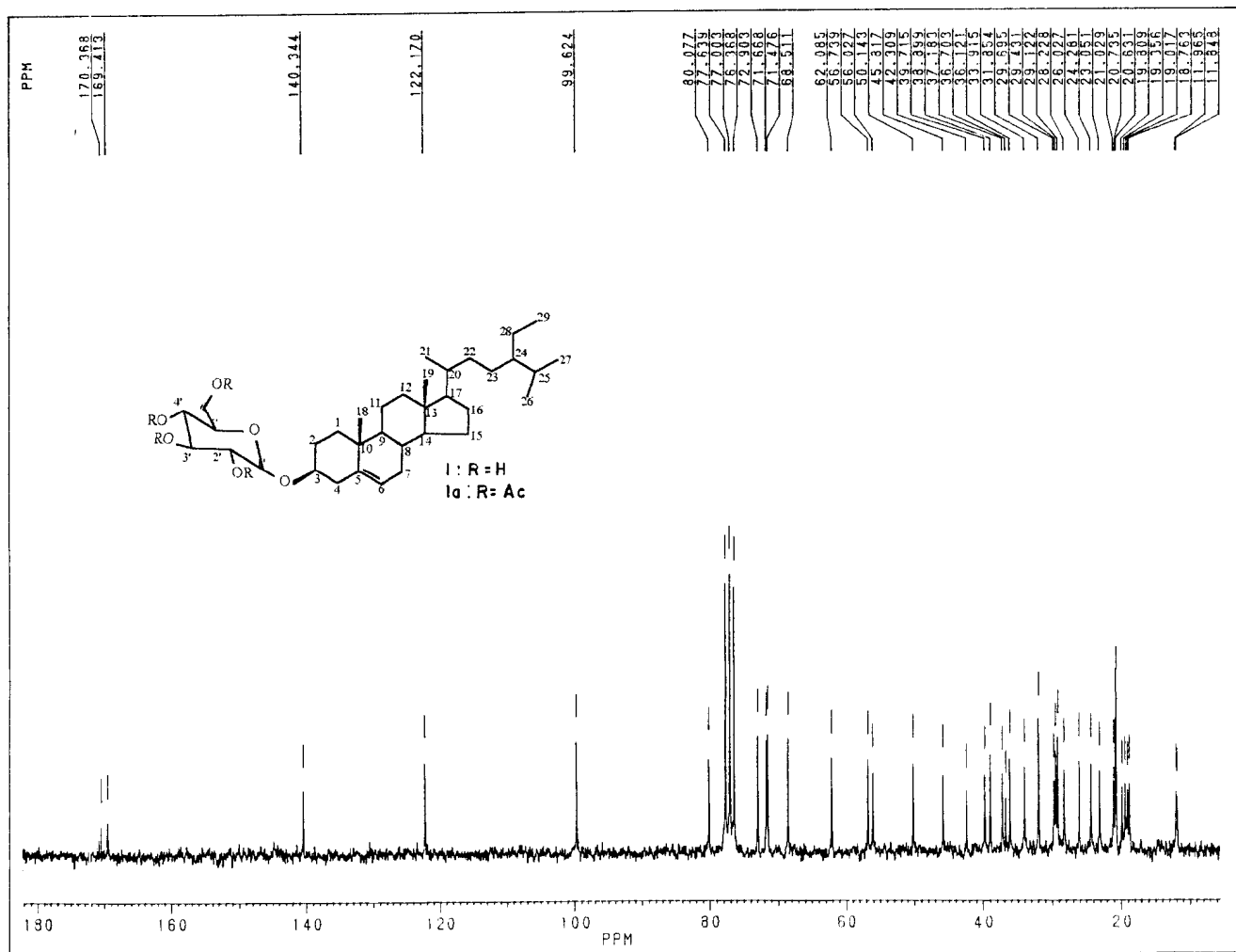


Figura 4. Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de 1a

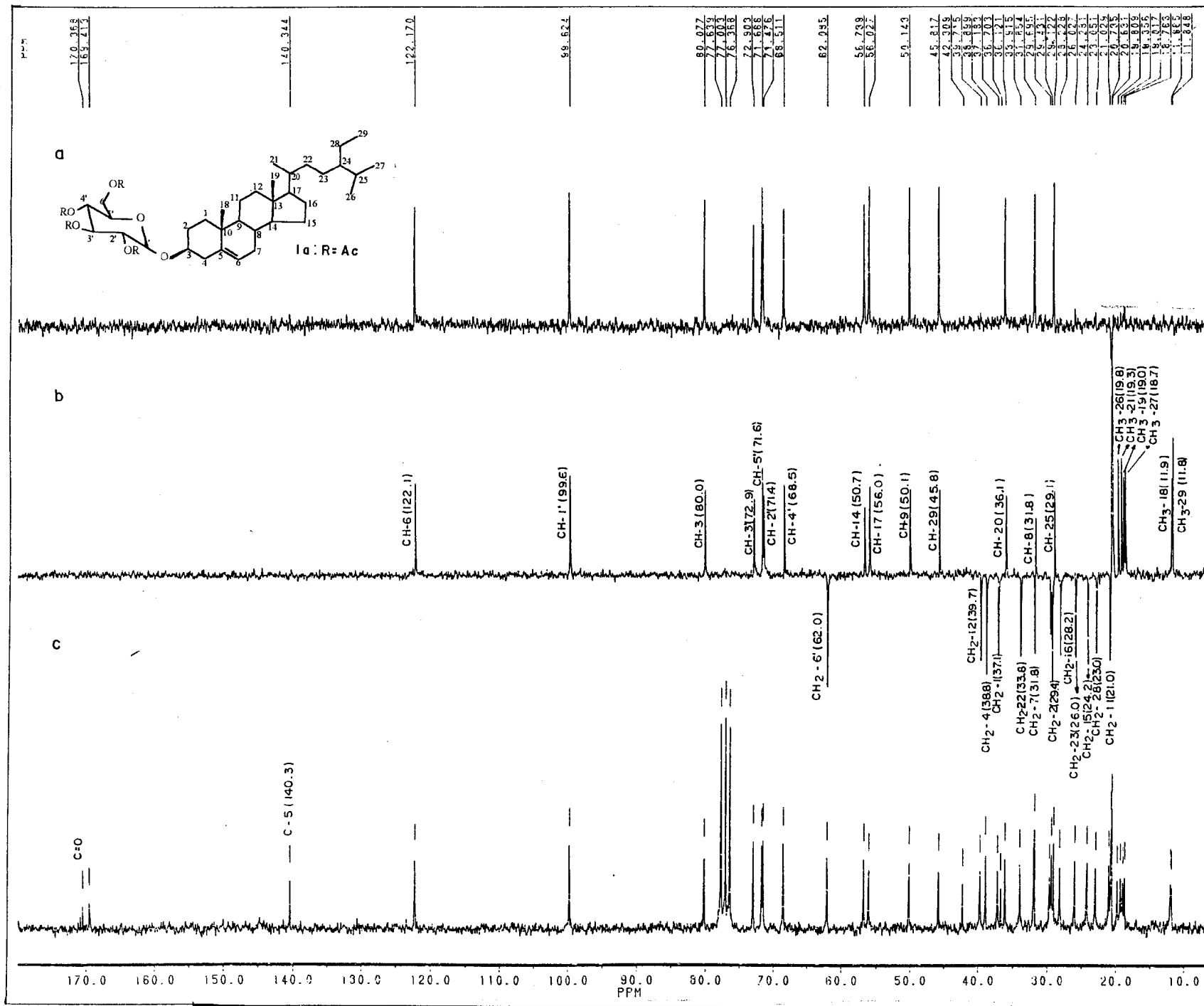


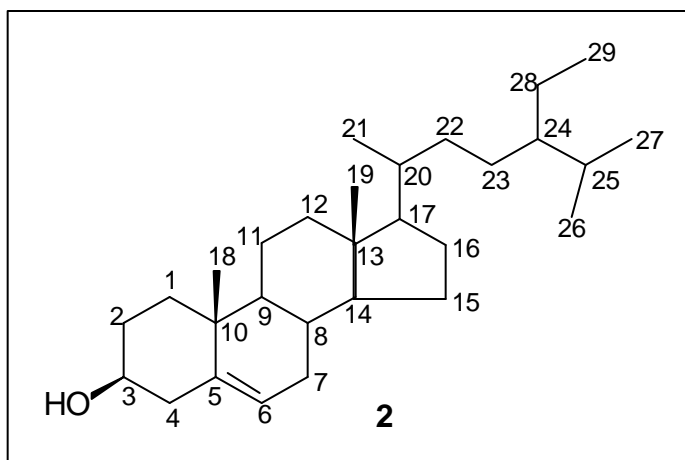
Figura 5. Espectro de RMN ¹³C-PND (a) e DEPT [θ=135° (b) e θ=90° (c)] (50 Hz, CDCl₃) de 1a

1.7.1.2. SITOSTEROL (2)

O espectro de RMN de ^1H (Fig. 7, pág. 34) possui dois sinais simples em δ_{H} : 0,65 e 0,98 e outros sinais múltiplos entre δ_{H} : 0,76 e 0,90 que são compatíveis com as frequências de absorção de grupos metilas, que dão ao espectro uma feição compatível com os espectros de esteróides. Os demais sinais em δ_{H} : 3.49 (m) e δ_{H} : 5.32 (dl) são, respectivamente, referentes às frequências de absorção do hidrogênio carbinólico ligado ao carbono 3 (δ_{C} : 73.1) e olefínico ligado ao carbono 6 (δ_{C} : 121.6).

O espectro de RMN de ^{13}C (Fig. 8, pág. 35) possui sinais referentes a 29 átomos de carbono, cuja multiplicidade foi definida com base na análise dos espectros RMN de ^{13}C PND e DEPT (Fig. 9, pág. 36). Esta análise permitiu identificar três carbonos quaternários (C), nove metínicos (CH), onze metilênicos (CH_2), e seis metilas (CH_3). Os sinais em δ_{C} : 121,6 e δ_{C} : 140,7 são referentes às absorções de carbonos olefínicos de uma dupla trissubstituída e o sinal em δ_{C} : 73.1 corresponde a um carbono carbinólico.

A comparação das frequências de absorção dos hidrogênios e carbonos com dados da literatura (Akisa et al., 1988; Kojima et al., 1990; Teresa et al., 1987) permitiu identificar a estrutura de **2** como sitosterol. Esta conclusão está de acordo com as deduções iniciais feitas com comparação de p.f. (136 - 138 $^{\circ}\text{C}$) e por comparação com amostra autêntica por cromatografia em camada delgada analítica.



Quadro 10. Estrutura do sitosterol

Tabela 3. Dados espectrais de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) e de ^{13}C -PND e DEPT (50 MHz, CDCl_3) da substância **2** comparados com valores citados na literatura (Akisa et al., 1988; Kojima et al., 1990; Teresa et al., 1987).

C	2		Literatura	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1	1,14-1,89	37,2	1,15-1,89	37,3
2	1,56-1,84	37,5	1,56-1,85	37,6
3	3,50	71,7	3,53	71,7
4	2,25	42,3	2,28	42,2
5	-	140,7	-	140,7
6	5,30	121,6	5,36	121,6
7	1,51	31,8	1,53	31,9
8	1,93	31,9	1,93	31,9
9	0,97	50,1	0,98	50,2
10	-	36,1	-	36,5
11	1,48	21,0	1,51	21,1
12	1,19-2,01	39,7	1,19-2,03	39,8
13	-	42,2	-	42,3
14	1,04	56,0	1,00	56,8
15	1,13-1,60	24,2	1,13-1,61	24,3
16	1,34-1,89	28,2	1,35-1,86	28,3
17	1,10	56,7	1,10	56,1
18	0,64	11,8	0,68	11,8
19	1,02	19,3	1,00	19,4
20	1,38	36,4	1,37	36,3
21	0,91	18,7	0,92	18,8
22	1,04-1,34	33,9	1,04-1,35	33,9
23	1,19	26,0	1,20	26,4
24	0,97	45,7	0,97	46,1
25	1,73	29,1	1,70	28,9
26	0,82	19,3	0,84	19,1
27	0,81	19,7	0,81	19,6
28	1,26	23,0	1,27	23,1
29	0,84	11,9	0,85	12,3

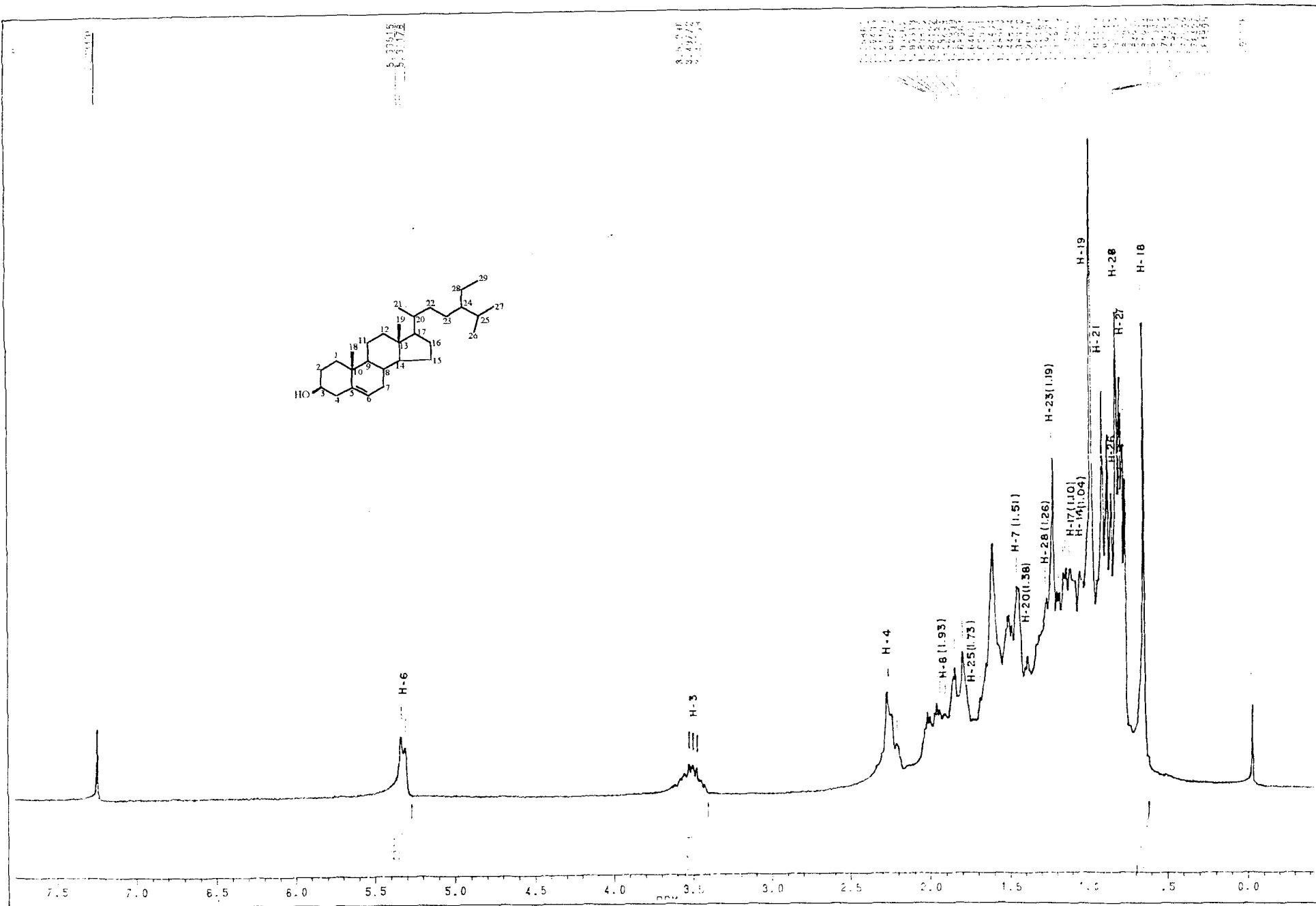


Figura 7. Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) de **2**

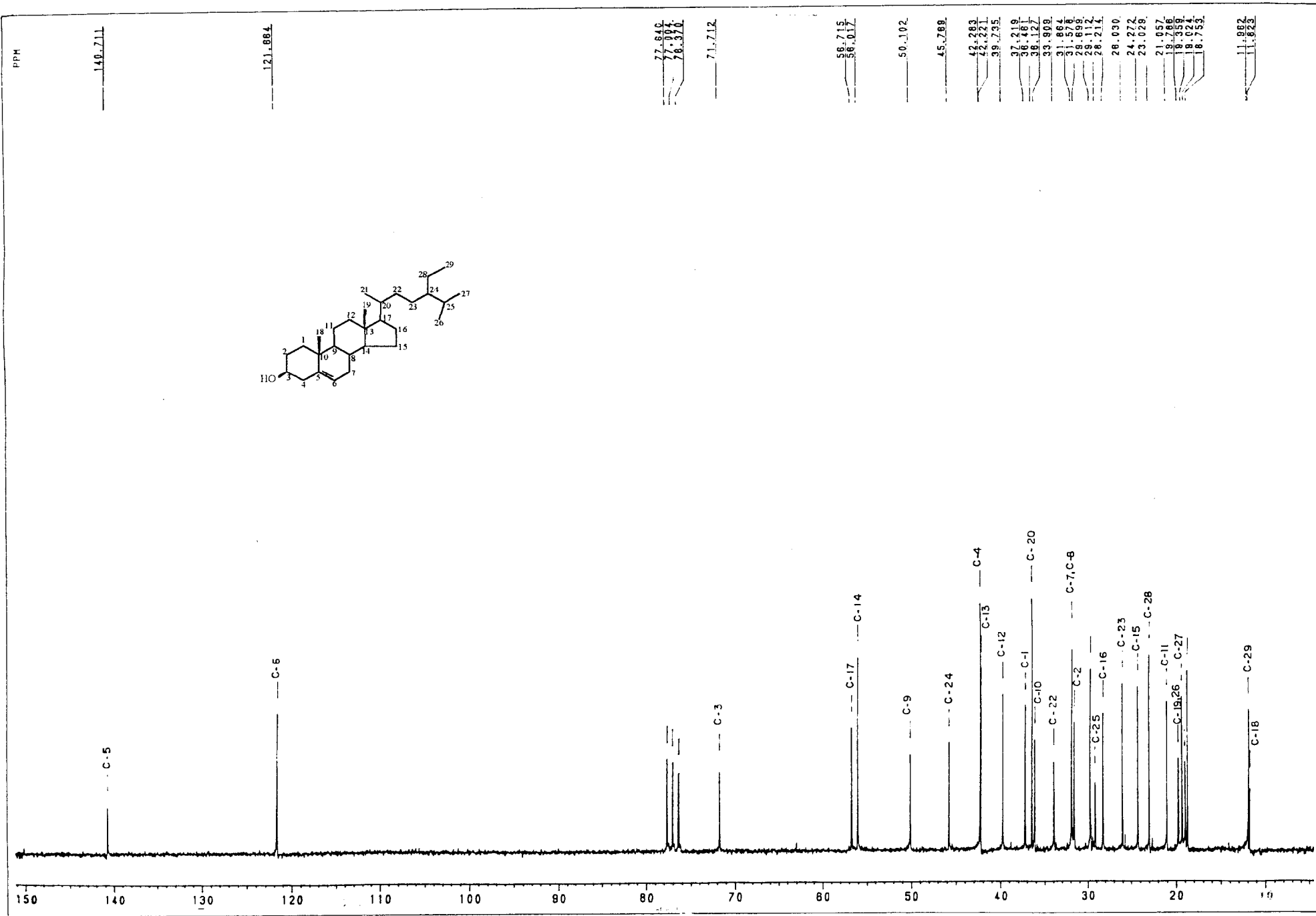


Figura 8. Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de 2

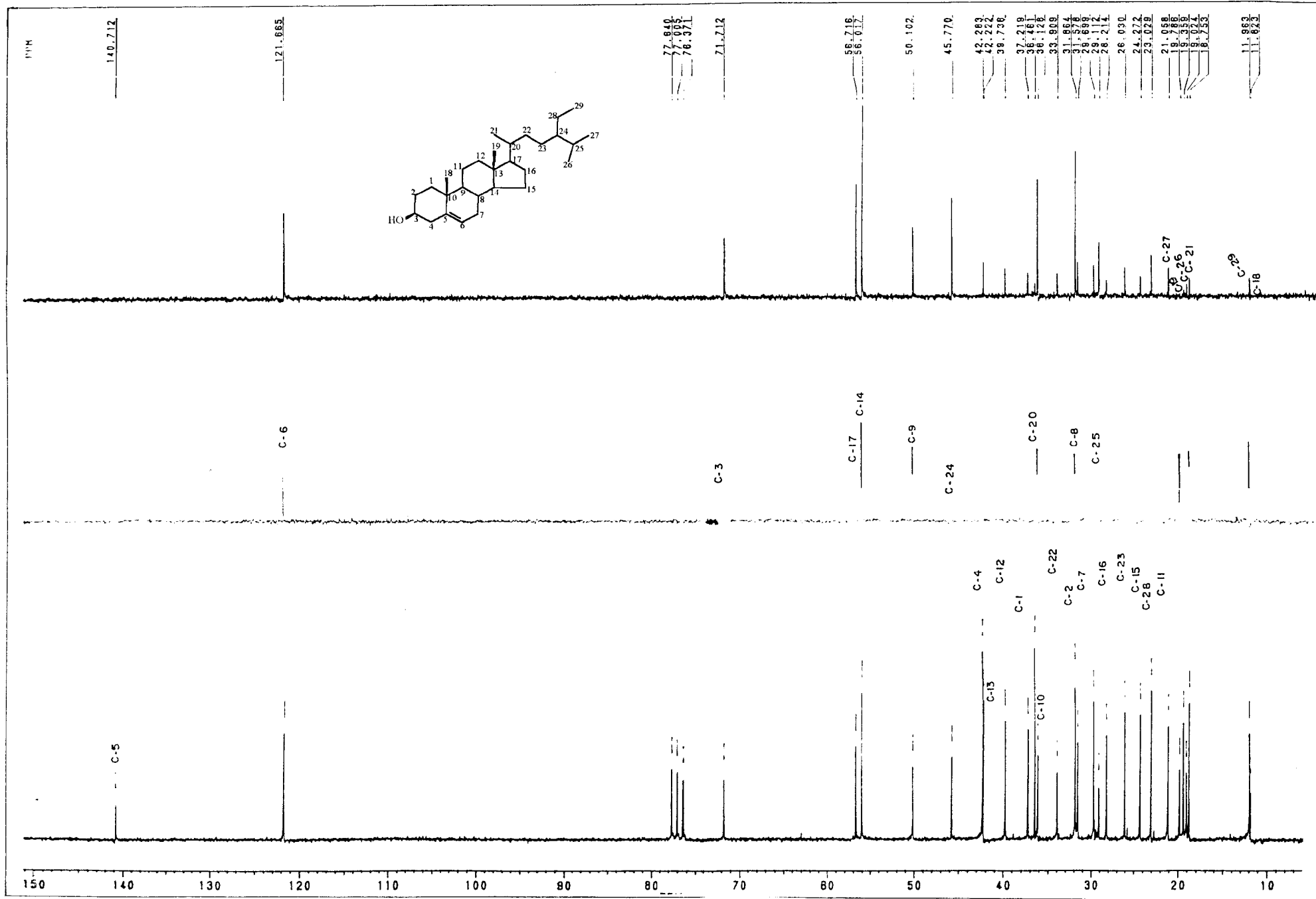


Figura 9. Espectro de RMN ¹³C-PND (a) e DEPT [0=135° (b) e 0=90° (c)] (50 MHz, CDCl₃) de 2

1.7.1.3. SAPONINA TRITERPÊNICA (3)

Esta substância apresentou-se como um sólido amorfo, de coloração amarelo pálido.

O espectro obtido no IV da substância **3** (fig. 10, pág. 45) revelou a presença de uma banda de absorção larga em 3.415 cm^{-1} , correspondente a deformação axial de OH. Os sinais observados em 2.943 ; $1,453\text{ cm}^{-1}$ foram atribuídos a deformação axial e angular de CH, CH₂ e CH₃ e o sinal em 1.166 cm^{-1} à deformação axial de C-O. Como esta amostra apresentou-se insolúvel nos solventes freqüentemente usados para registrar os espectros de RMN (CDCl₃ e MeOD_{d4}), preparou-se o derivado acetilado **3a**, através do tratamento de anidrido acético e piridina (1:1). Deste modo pode-se obter os dados experimentais em clorofórmio que fornece espectros com melhor resolução.

O espectro obtido no IV do derivado acetilado **3a** (fig. 11, pág. 45) revelou a presença de bandas de absorção forte em 1.750 cm^{-1} , correspondente a deformação axial de C=O e em 1.224 e 1.257 cm^{-1} deformação axial de C-O. Os sinais observados em 2.900 e 1.380 cm^{-1} foram atribuídos a deformação axial e angular respectivamente de CH, CH₂ e CH₃ e o sinal em 1.130 cm^{-1} à deformação axial de C-O.

O espectro de RMN de ¹H de **3a** (fig. 12 e 13, pág. 46) revelou sinais referentes a sete grupos metilas (δ_{H} 0,70, 0,74, 0,88, 0,88, 0,90, 1,09 e 1,23) permitindo sugerir a presença de um esqueleto pentacíclico. As expansões do espectro de RMN de ¹H de **3a** (fig. 14 e 15, pág. 47) mostraram sinal em δ_{H} : 2,80 (dd), atribuído ao H-18 comum em esqueleto do tipo oleanano. Além disto, foi possível observar sinal de hidrogênio olefínico em δ_{H} 5,29 (dd, H-12) e um sinal típico do H-3_{ax} [δ_{H} 3,18 (dd, J= 11,0 Hz)] consistente com a presença de um grupo na posição β -OR no C-3 (Tabela 3). Os demais sinais são referentes a unidades de açúcares ligadas à aglicona.

O espectro de interação homonuclear (¹H-¹H-COSY) (fig. 16, pág. 48) possui sinais de acoplamento de um hidrogênio anomérico (H-1') (δ_{H} : 4,43) com H-2' (δ_{H} : 5,16) e dentro do multiplete estão localizado o H-2' (δ_{H} : 5,16) que acopla

com o H-3' (δ_{H} : 5,01) permitindo verificar que o H-4' (δ_{H} : 5,18) e um H-5' (δ_{H} : 3,98) que apresenta um forte sinal de acoplamento com o H-5'b (δ_{H} : 3,50) devido ao acoplamento geminal. O HMQC (fig. 22 e 23, pág. 53 e 54) confirma a relação geminal entre os H-5'.a Estes dados permitem sugerir a arabinose como uma unidade de açúcar (Tabela 5). Os sinais de acoplamento entre o tripleto em δ_{H} : 5,50 (H-1") e o sinal em δ_{H} : 5,11 (m, H-2"). Um sinal do H-5" (δ_{H} : 3,77) com o H-6"a (δ_{H} : 4,02) que apresenta acoplamento geminal com H-6"b (δ_{H} : 4,26). Os sinais do HMQC (fig. 22 e 23, pág. 53 e 54) foram usados com o auxílio nesta leitura de deslocamentos químicos (δ). Os valores do δ_{H} e δ_{C} , citados anteriormente são compatíveis com os da glicose e, portanto propõem-se este carboidrato como representante da hexose deduzida acima (Tabela 5).

Análise comparativa dos espectros de RMN de ^{13}C – PND e DEPT (fig. 17 e 18, pág. 49 e 50) foi usada para identificar os sinais correspondentes a carbonos quaternários [incluindo um olefínico sp^2 (δ_{C} : 144,9) e um sp^2 de carbonila de éster (δ_{C} : 178,2)], carbonos metínicos [incluindo um olefínico sp^2 (δ_{C} : 123,9)]. Os sinais de oito carbonos carbinólicos (δ_{C} : 90,8, 78,8, 78,4, 74,4, 74,0, 72,9, 71,2 e 69,6) dois carbinólicos ligados a dois oxigênios (carbono anomérico) (δ_{C} : 107,3 e 95,8), dois metilênicos (δ_{C} : 66,5 e 69,6) foram atribuídos aos acetatos de uma hexose e de uma pentose. Estes dados são comparáveis com um triterpeno ligado a dois carboidratos.

A posição da ligação dupla entre C-12 e C-13 foi estabelecida com base nas seguintes evidências:

1) Havia somente uma ligação de hidrogênio (δ_{H} : 5,24, H-12) ligado ao átomo de carbono sp^2 [δ_{C} : 121,5 (C-12)], correspondente a uma dupla trissubstituída, ($\text{CH}=\text{C}$, δ_{C} : 144,9) que são semelhantes aos da dupla da β -amirina;

2) O espectro de RMN de ^1H , ^{13}C -HMQC- $^n\text{J}_{\text{CH}}$ ($n=2$ e 3) (fig. 21, pág. 52) revelou acoplamento entre 3H-27 (δ_{H} : 1,09) e C-13 (δ_{C} : 144,9, $^3\text{J}_{\text{CH}}$) e C-14 (δ_{C} : 40,8, $^2\text{J}_{\text{CH}}$). A proposta do triterpeno olean-12(13)-eno-28-óico como aglicona e a presença de duas unidades de açúcares foi confirmada pelo espectro de massas FAB negativo de **3** (fig. 24, pág. 55) que revelou um pico do íon molecular m/z de

751 ($[M+H]^+$), consistente com a fórmula molecular $C_{41}H_{66}O_{12}$, e picos proeminentes esperados da perda de $C_6H_{11}O_5$ para **3b** [m/z 587 (100%)] seguido por perda de $C_5H_8O_4$ para **3d** [m/z 455 (12%)], correspondente a uma hexose e uma pentose respectivamente. O pico em m/z 179 (55%) atribuído ao fragmento **3c** sugeriu também a presença da hexose. O pico em m/z 247 (12%) foi atribuído ao fragmento **3e**, proveniente de um rearranjo Retro Diels Alder da aglicona (Esquema 4, pág. 44).

Desta maneira, todas estas informações conduziram a proposta estrutural do ácido oleano-12-eno-28-óico como aglicona para **3a**.

A esterificação do açúcar substituído no C-28 foi confirmada pelos seguintes resultados:

a) A alteração do deslocamento químico do H-1" [**3a**: δ_H 5,56 (d, $J= 8,0$ Hz) (fig. 12, pág. 46); **3**: δ_H 5,38 (d, $J= 8,0$ Hz) (fig. 22, pág. 53)], mostrando significativa diferença quando comparado com o sinal de H-1' [**3a**: δ_H 4,43 (d, $J= 8,8$ Hz) (fig. 22, pág. 53); **3**: δ_H 4,26 (d, $J= 7,2$ Hz) (fig. 22, pág. 53)];

b) sinais correspondentes ao acoplamento ($^1J_{CH}$) entre o hidrogênio H-1" [δ_H 5,37 (**3**) e 5,56 (**3a**) e o carbono CH-1" [δ_C 91,4 (**3a**) e 95,8 (**3**)] foram observados no espectro 2D de RMN 1H e ^{13}C -HMQC- $^1J_{CH}$ para **3a** (fig. 23, pág. 54) e **3** (fig. 30, pág. 61) (Tabela 4);

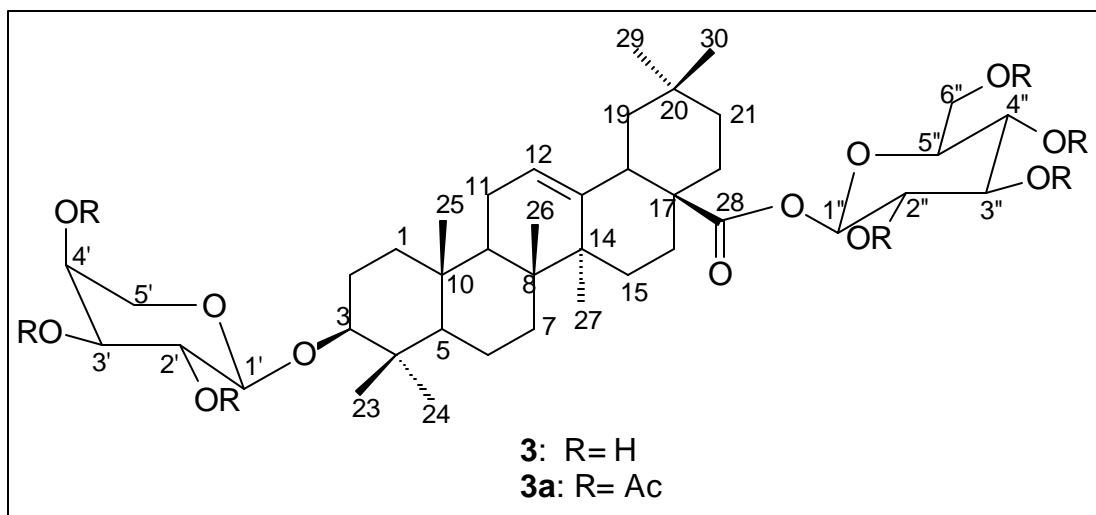
c) o espectro 2D de RMN 1H e ^{13}C -HMBC- $^nJ_{CH}$ ($n=2$ e 3) (fig. 31, pág. 62) para **3a** revelou sinais de acoplamento a longa distância entre o hidrogênio H-1" (δ_H 5,56) e o carbono C-28 (δ_C 175,4) (Tabela 4). O espectro Homonuclear 2D 1H - 1H -COSY (fig. 32, pág. 63) de **3a** permitiu observar todas as interações spin-spin correspondentes à β -D-glicopiranosil depois da identificação do sinal do H-1" (δ_H 5,56). Os valores das constantes de acoplamento [$J= 8,0$ Hz (**3a**) e $J= 8,0$ Hz (**3**)] observado para os sinais do H-1" (δ_H : 5,56 (**3a**) (fig. 12, pág. 46) e 5,38 (**3**) (fig. 22, pág. 53) foram usados para indicar a posição axial para este átomo de hidrogênio e a comparação com dados da literatura (Hamed et al., 1996) permitiu a caracterização para o 28-O- β -D-glicopiranosil. A correlação heteronuclear de átomos de hidrogênio e carbono permitiu confirmar esta unidade usando os espectros de 1H , ^{13}C -HMQC- $^1J_{CH}$ para **3** e **3a** (Tabela 5).

O fato de não ocorrer alteração dos deslocamentos químicos dos dois sinais de ^1H e ^{13}C para o hidrogênio carbinólico após acetilado foi usado para estabelecer um β -L-arabinopiranosil localizado na posição β no carbono {CH-3 [**3**: δ_{C} 90,8 (fig. 33, pág. 64)} ligado ao hidrogênio em δ_{H} 3,18 (dd, $J= 11,0$ Hz, H-3_{ax}) (fig. 22, pág. 53); **3a**: δ_{C} 89,9 (fig. 17, pág. 49) ligado ao hidrogênio em δ_{H} 3,16 (dd, $J= 11,2$ e $4,4$ Hz) (fig. 15, pág. 47)]. A presença de um carbono anomérico CH-1' [**3**: δ_{C} 107,31 (fig. 33, pág. 64) ligado ao hidrogênio em δ_{H} 4,26 (d, $J= 7,2$ Hz) (fig. 30, pág. 61); **3a**: δ_{C} 103,1 (fig. 27, pág. 58) ligado ao hidrogênio em δ_{H} 4,43 (d, $J= 8,0$ Hz) (fig. 21, pág. 52)], quatro carbonos metínicos ligados a hidroxilas e um carbono metilênico (Tabela 5).

Deslocamento químico dos hidrogênios e carbonos do grupo metilênico CH₂-5' [**3**: δ_{C} 66,5 (fig. 12, pág. 46) e δ_{H} 3,57 (m, H-5'_{eq}) e 3,51 (dd, $J^2_{\text{ae}}=8,0$ e $J^3_{\text{ae}}=4,8$ Hz, H-5'_{ax}) (fig. 22, pág. 53); **3a**: δ_{C} 63,1 (fig. 27, pág. 58) e δ_{H} 3,98 (dd, $J=12,8$ e $2,4$ Hz, H-5'_{eq}) e 3,51 (dd, $J= 12,8$ Hz, H-5'_{ax}) (fig. 15, pág. 47) e a constante de acoplamento ($J= 3,6$ Hz) atribuída ao hidrogênio H-3' [δ_{H} 5,01 (dd, $J= 10,0$ Hz, interação spin-spin com H-2', $3,6$ Hz)] permitiu identificar esta unidade como sendo uma pentose. Estas deduções foram confirmadas por espectros de ^1H , ^{13}C -HMQC e ^1H , ^{13}C -HMBC para **3** (fig. 32, pág. 63) e **3a** (fig. 16, pág. 48) e a comparação dos dados de deslocamentos químicos da substância com dados da literatura (Hamed et al., 1996) (Tabela 5).

Nos espectros de ^1H , ^{13}C -HMBC (fig. 35, pág. 65) de **3** e **3a** foram também verificados a presença de sinais correspondentes a acoplamento a longa distância entre H-1' [δ_{H} 4,26 (**3**) e 4,43 (**3a**) e CH-3 [δ_{C} 90,8 (**3**) e 89,9 (**3a**)], confirmando a posição de ligação desta unidade de açúcar ao CH-3 da aglicona. (Tabelas 4 e 5).

Deste modo a estrutura de **3**, foi estabelecida como a saponina triterpênica 3β -O-L-arabinopiranosiloleano-12-eno--28-O-oato de β -D-glicopiranosila. Esta saponina está sendo registrada pela primeira vez na literatura no *Phytochemistry*, (1999) **52**, 1617-1619. Esta classe de substância está sendo relatada pela primeira no gênero *Lafoensia*.



Quadro 11. Estrutura das saponinas triterpênicas **3** e **3a**.

A semelhança estrutural da saponina **3**, com saponinas descritas na literatura que possuem atividade biológica (Schenkel et al, 1997) ou alelopática (Horber, 1974), motivou um estudo adicional com esta substância. Foi feito bioensaio de toxicidade com *Artemia salina* Leach, com o derivado acetilado **3a**, onde foi observado que esta substância possui $DL_{50}=25,55$ ppm, sendo considerada bastante tóxica, estimulando deste modo, um estudo mais específico.

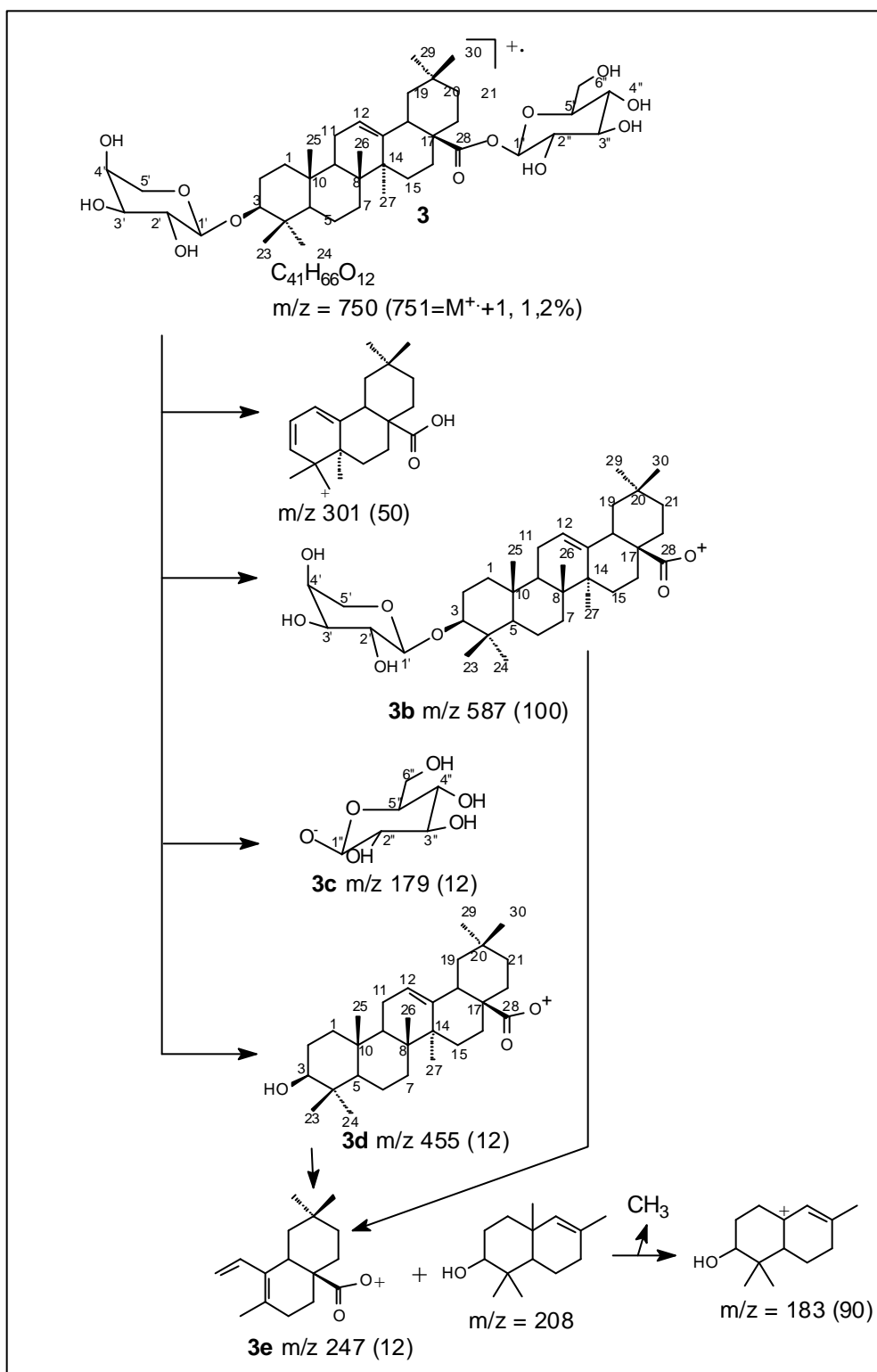
No bioensaio de germinação de sementes de alface e tomate, a substância **3** mostrou maior efeito inibidor, tanto para o alface quanto para o tomate do que a substância **3a**, quando comparados com a testemunha (Tabela 18, pág. 130).

Tabela 4. Dados espectrais de ^1H (400MHz) e ^{13}C (100MHz), incluindo ligações a longa distância heteronuclear observado no espectro 2D de RMN ^1H , ^{13}C -COSY- $^n\text{J}_{\text{CH}}$ (n=1, 2 e 3) para a aglicona para **3** (MeOH- D_4) e em heptaacetil para o derivado **3a** (CDCl_3).

C	3			3a		
	$\delta\text{C}^{\text{b}}$	HMQC $\delta\text{H}^{\text{a}}$	HMBC $^{2,3}\text{J}_{\text{CH}}$	$\delta\text{H}^{\text{b}}$	HMQC $\delta\text{H}^{\text{a}}$	HMBC $^{2,3}\text{J}_{\text{CH}}$
1	40,3	1,59, 0,92	-	38,3	1,61, 0,96	-
2	24,8	1,89, 1,28	-	25,7	1,74	-
3	90,8	3,18(dd,11,0Hz)	H-1', 3H-23,24	89,9	3,16(dd, 11,2, 4,4Hz)	H-1'
4	38,0	-	-	38,7	-	-
5	57,1	0,79 (m)	3H-23,24,25	55,3	0,68	-
6	19,5	1,54, 1,35	-	18,0	1,46	-
7	33,2	1,74, 1,58	-	32,9	1,61, 1,68	-
8	40,3	-	-	39,2	-	-
9	49,1	-	-	46,4	1,50	-
10	36,1	-	-	36,6	-	-
11	24,1	-	-	22,7	1,84	-
12	123,9	5,24 (dd)	-	122,7	5,30 (br s)	-
13	144,9	-	3H-27	142,7	-	-
14	40,8	-	3H-27	41,5	-	-
15	27,1	1,82, 1,64	-	27,6	1,19, 1,42	-
16	24,6	0,88	-	23,3	1,30, 1,50	-
17	47,2	-	-	46,6	-	-
18	42,7	2,84(dd,11,0Hz)	-	40,9	2,79(dd, 11,0, 3,1 Hz)	-
19	47,3	-	3H-29, 30	45,6	1,60, 1,15	-
20	31,6	-	3H-27,30	30,5	-	-
21	34,9	1,32, 1,20	3H-29,30	33,6	1,28, 1,32 (m)	-
22	34,0	1,48,1,28	-	32,9	1,20, 1,42	-
23	28,6	1,03 (s)	-	27,6	0,90 (s)	-
24	17,0	0,84 (s)	-	16,2	0,74 (s)	-
25	16,1	0,94 (s)	-	15,0	0,89 (s)	-
26	17,8	0,79 (s)	-	16,8	0,70 (s)	-
27	26,4	0,97 (s)	-	25,7	1,09 (s)	-
28	178,1	-	-	175,4	-	H-1''
29	33,6	0,90 (s)	-	32,9	0,88 (s)	-
30	24,0	0,92 (s)	-	23,3	0,89 (s)	-

Tabela 5. Dados espectrais de RMN ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100MHz), incluindo ligações a longa distância heteronuclear observado no espectro 2D de RMN ^1H , ^{13}C -COSY- $^n\text{J}_{\text{CH}}$ (n=1, 2 e 3) para os açúcares de **3** (MeOH- D_4) e em heptacetil para o derivado **3a** (CDCl_3).

	3			3a		
	HMQC		HMBC	HMBC		HMQC
C	$^a\text{C}^b$	δH^a	$^{2,3}\text{J}_{\text{CH}}$	δC^b	δH^a	$^{2,3}\text{J}_{\text{CH}}$
1'	107,3	4,26(D, 7,2 Hz)	H-2'	103,1	4,43(d, 8,0Hz)	2H-5',H-3',H-3
2'	74,4	3,58 (dd)	-	69,4	5,16(dd, 10,0, 8,0)	H-3'
3'	72,9	3,50 (m)	2H-5'	70,3	5,01(dd, 10,0, 3,6)	H-4'
4'	69,6	3,80 (m)	-	67,6	5,18 (m)	H-5'-
5'	66,5	3,57 (m)	-	63,1	3,98(dd, 12,8, 2,4)	-
		3,51(dd,8,0,4,8Hz)	-		5,50(dd, 12,8 1,2)	-
1''	95,8	5,38 (d, 8,0 Hz)	H-2''	91,4	5,56(d, 8,0 Hz)	H-2''
2''	74,0	3,31	-	69,8	5,11 (m)	-
3''	78,4	3,26 (m)	-	72,7	5,20 (m)	H-4''
4''	71,2	3,34 (m)	-	67,8	5,11 (m)	H-2''
5''	78,8	3,34 (m)	-	72,3	5,20 (m)	-
6''	62,5	3,80 (m)	-	61,4	4,26(dd, 12,4, 4,4)	-
		3,67(dd,11,6,3,6Hz)	-		4,02(dd, 12,4, 3,2)	-
H ₃ C CO	-	-	-	20,46- 20,87	2,10-1,99	-
H ₃ C CO	-	-	-	170,5- 168,8	-	-



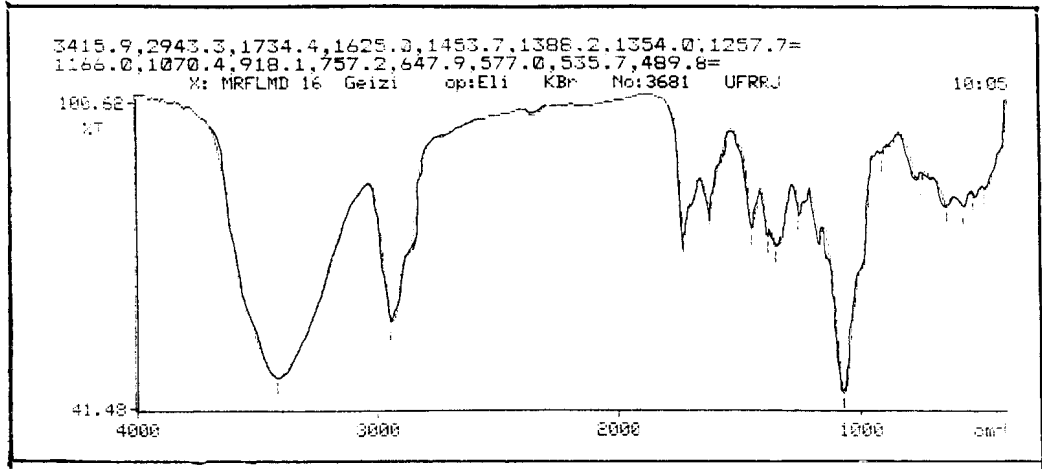


Figura 10. Espectro de IV de 3

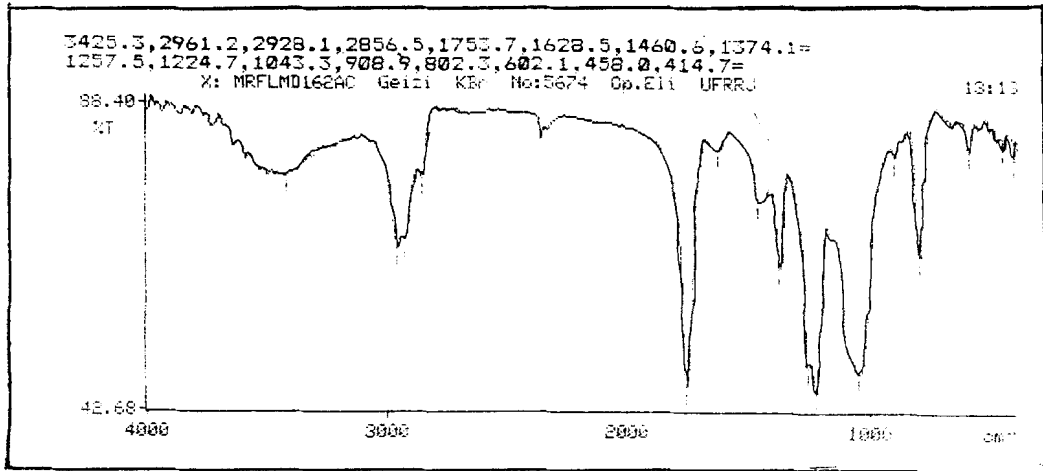


Figura 11. Espectro de IV de 3a

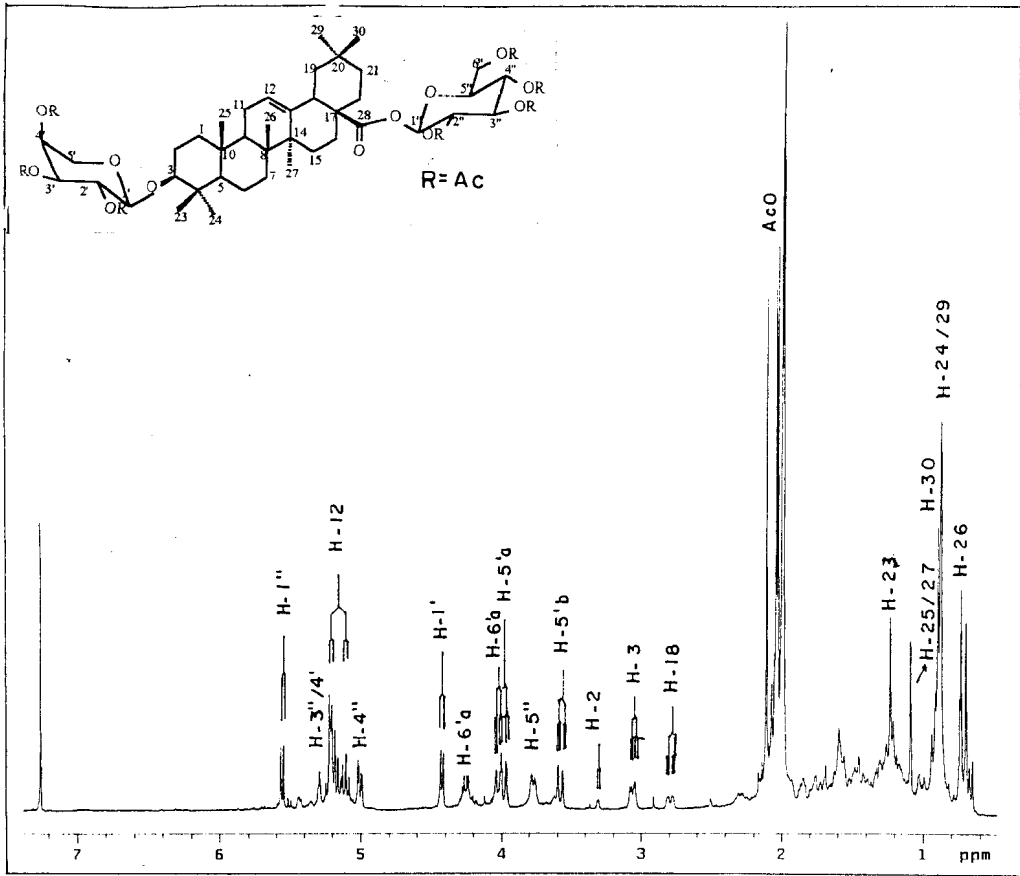


Figura 12. Espectro de RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) de 3a

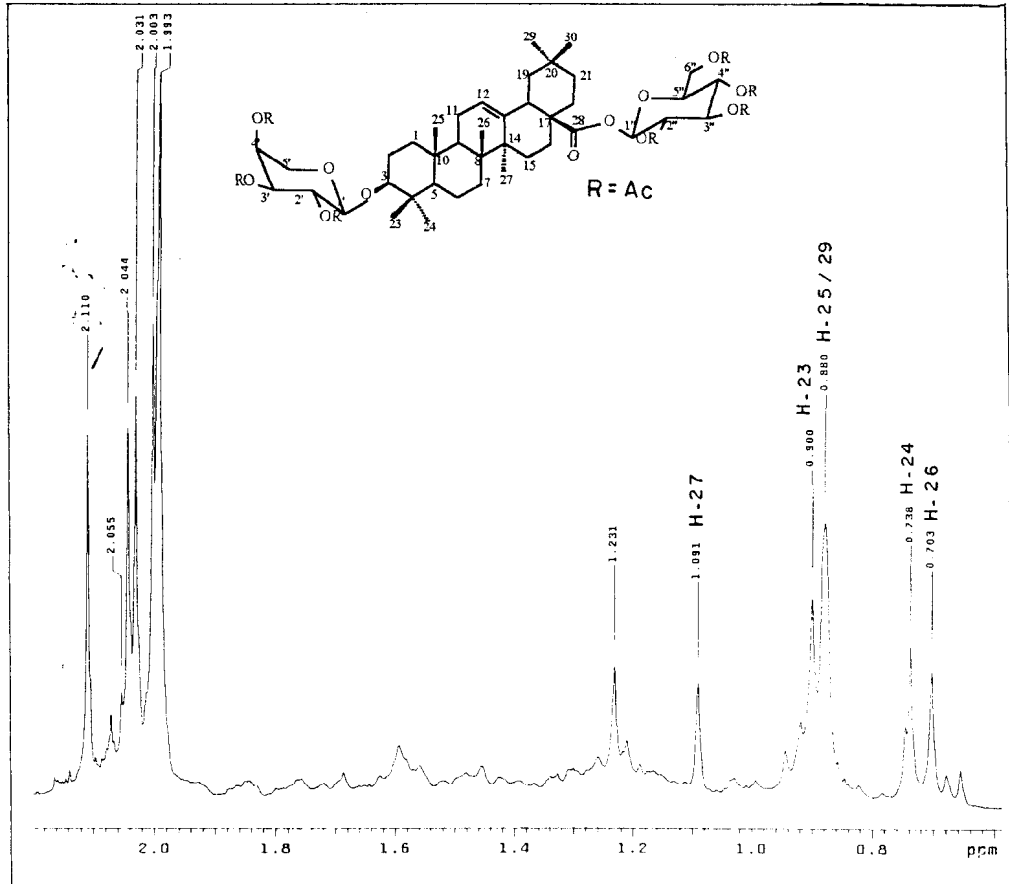


Figura 13. Espectro de RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) de 3a (expansão)

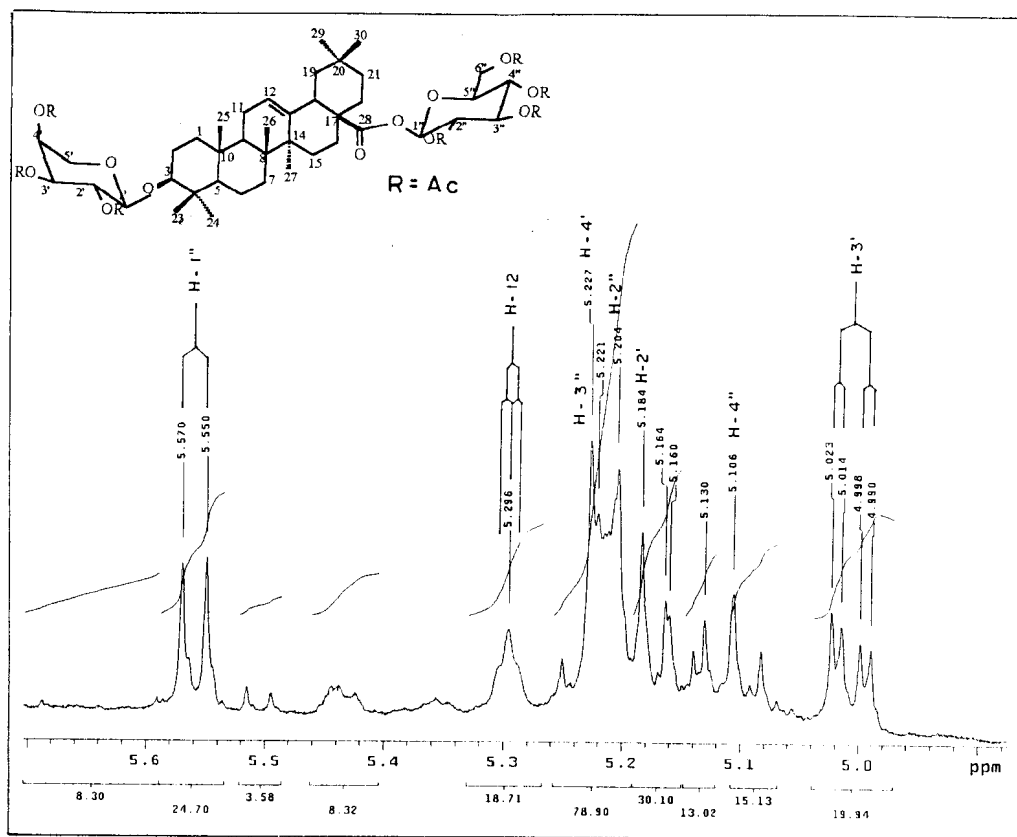


Figura 14. Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) de **3a** (expansão)

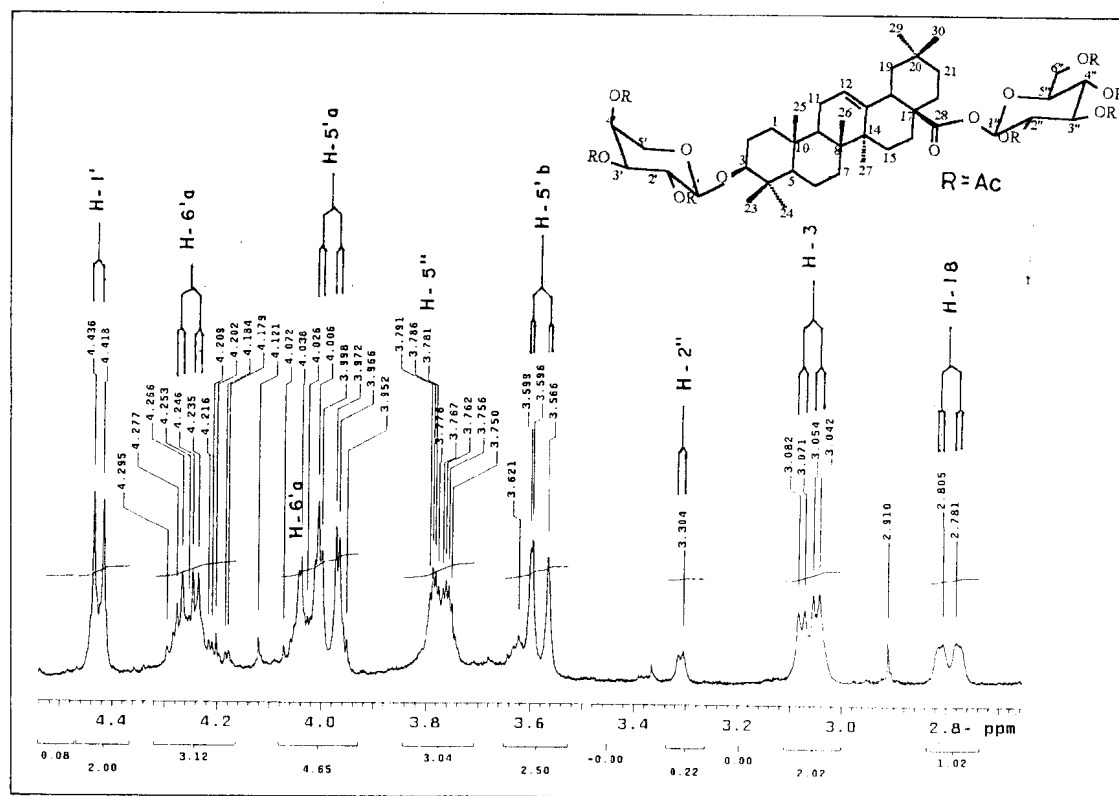


Figura 15. Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) de **3a** (expansão)

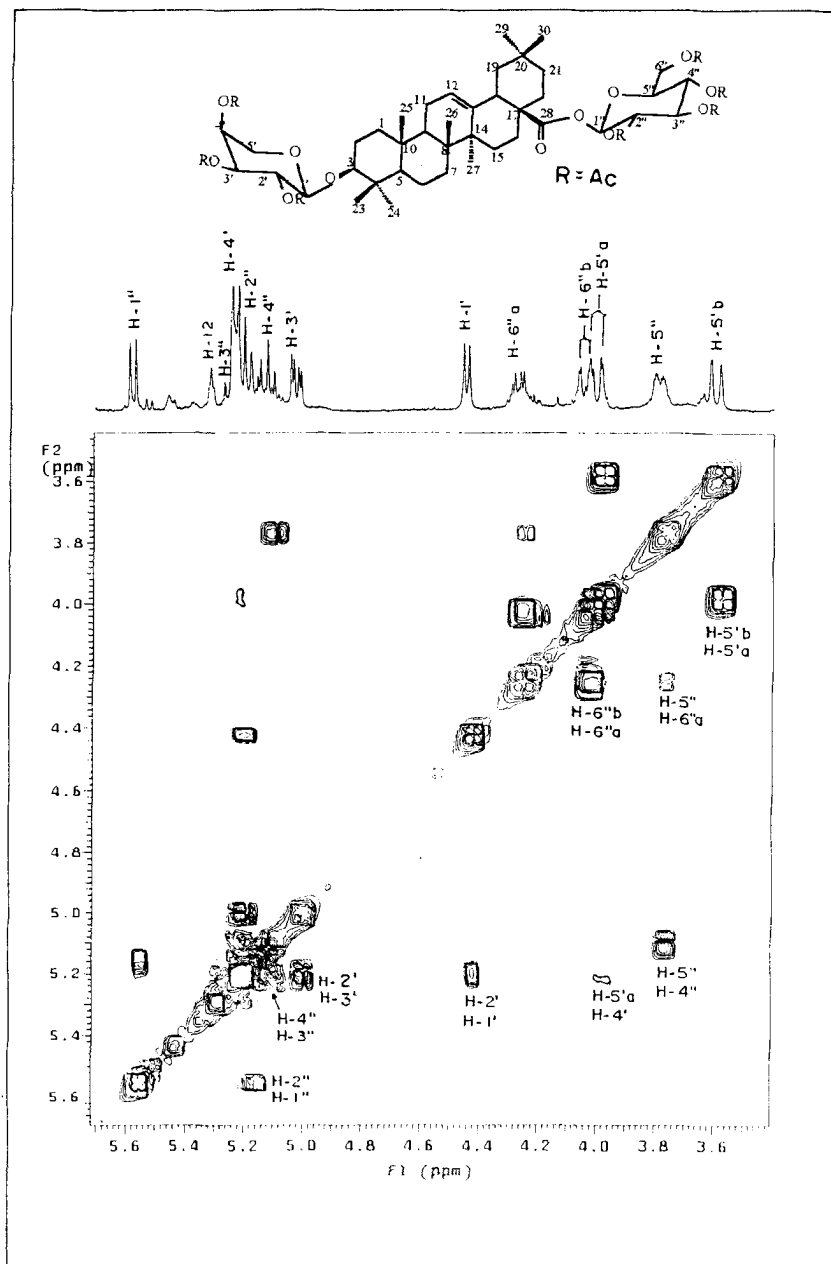


Figura 16. Espectro de RMN – 2D ^1H - ^1H – COSY (400 MHz, CDCl_3) de 3a

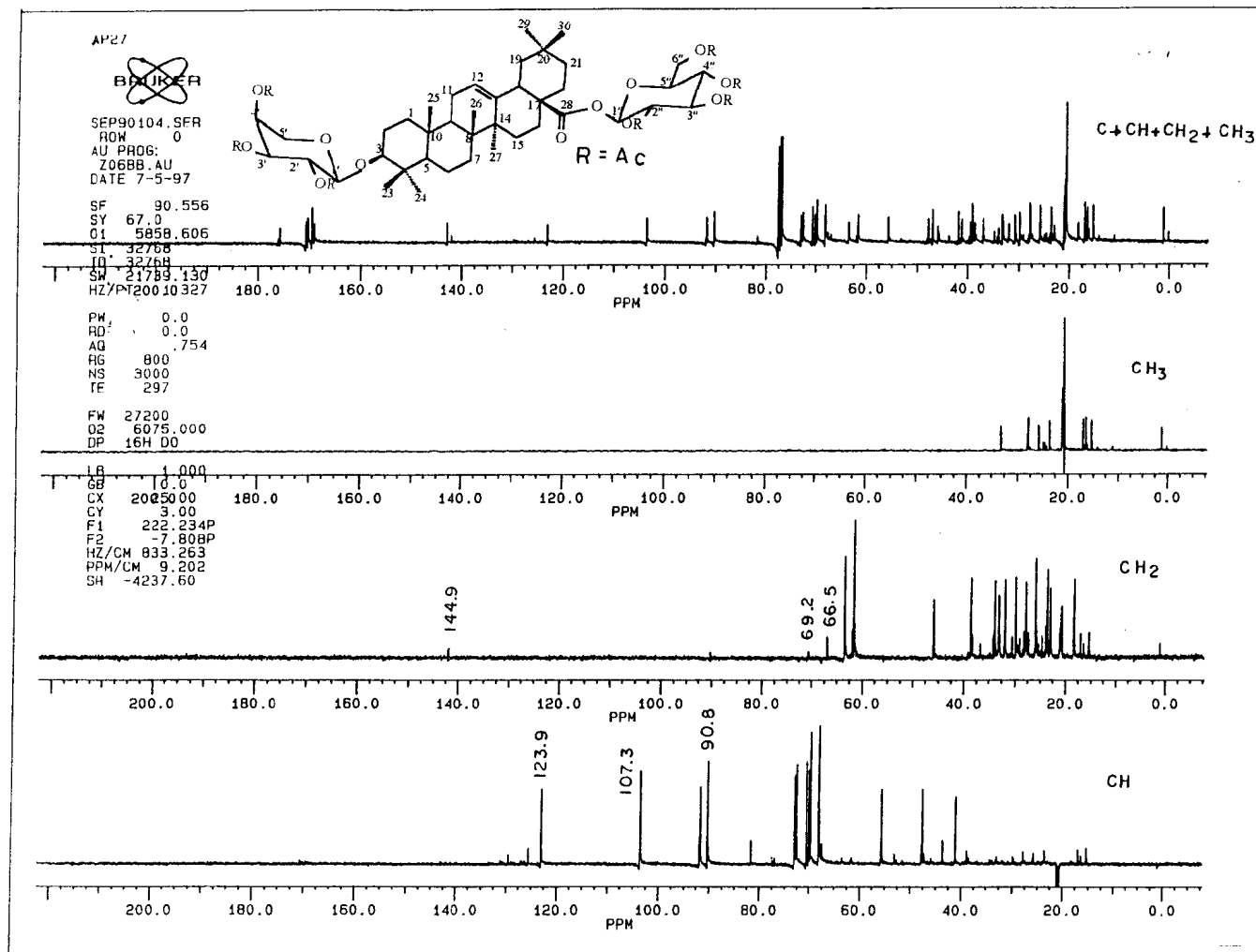


Figura 17. Espectro de RMN ^{13}C -PND (a) e DEPT [$\theta=135^\circ$ (b) e $\theta=90^\circ$ (c)] (100 MHz, CDCl_3) de **3a**

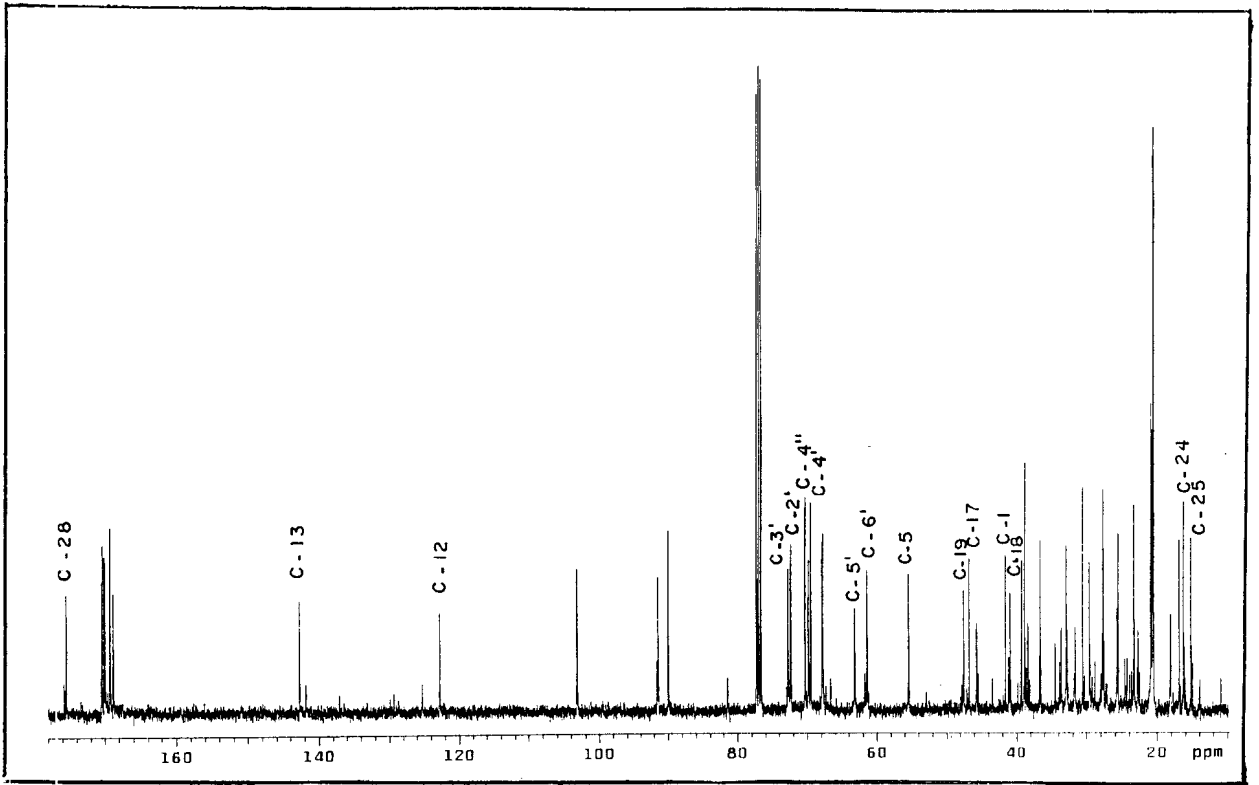


Figura 18. Espectro de RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) de 3a

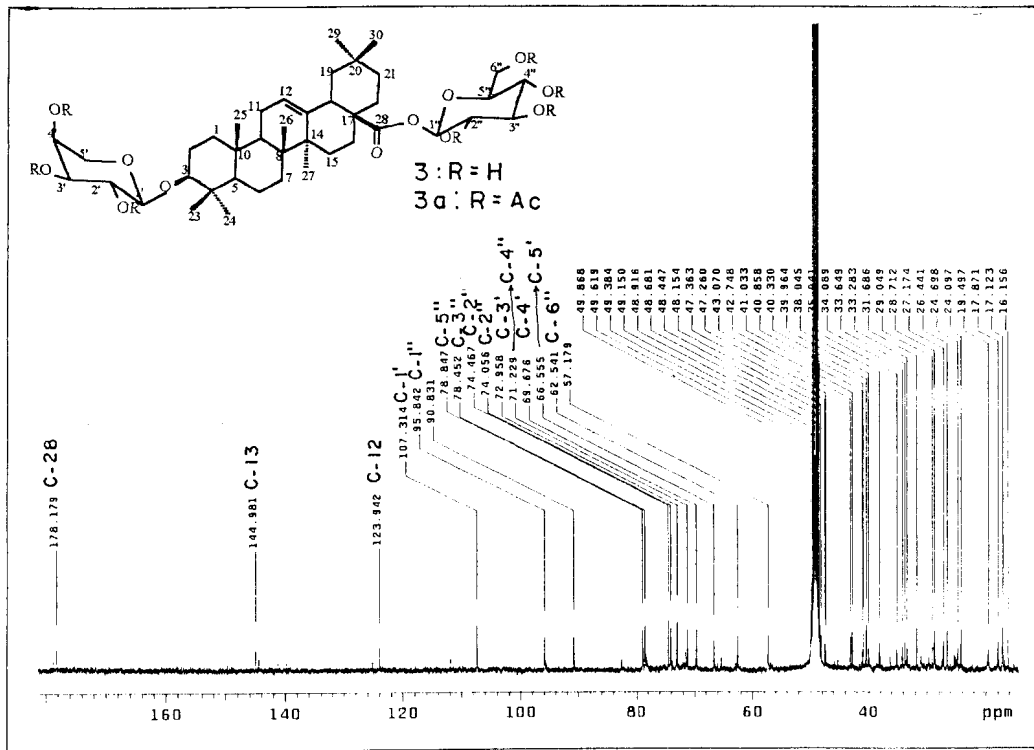


Figura 19. Espectro de RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) de 3

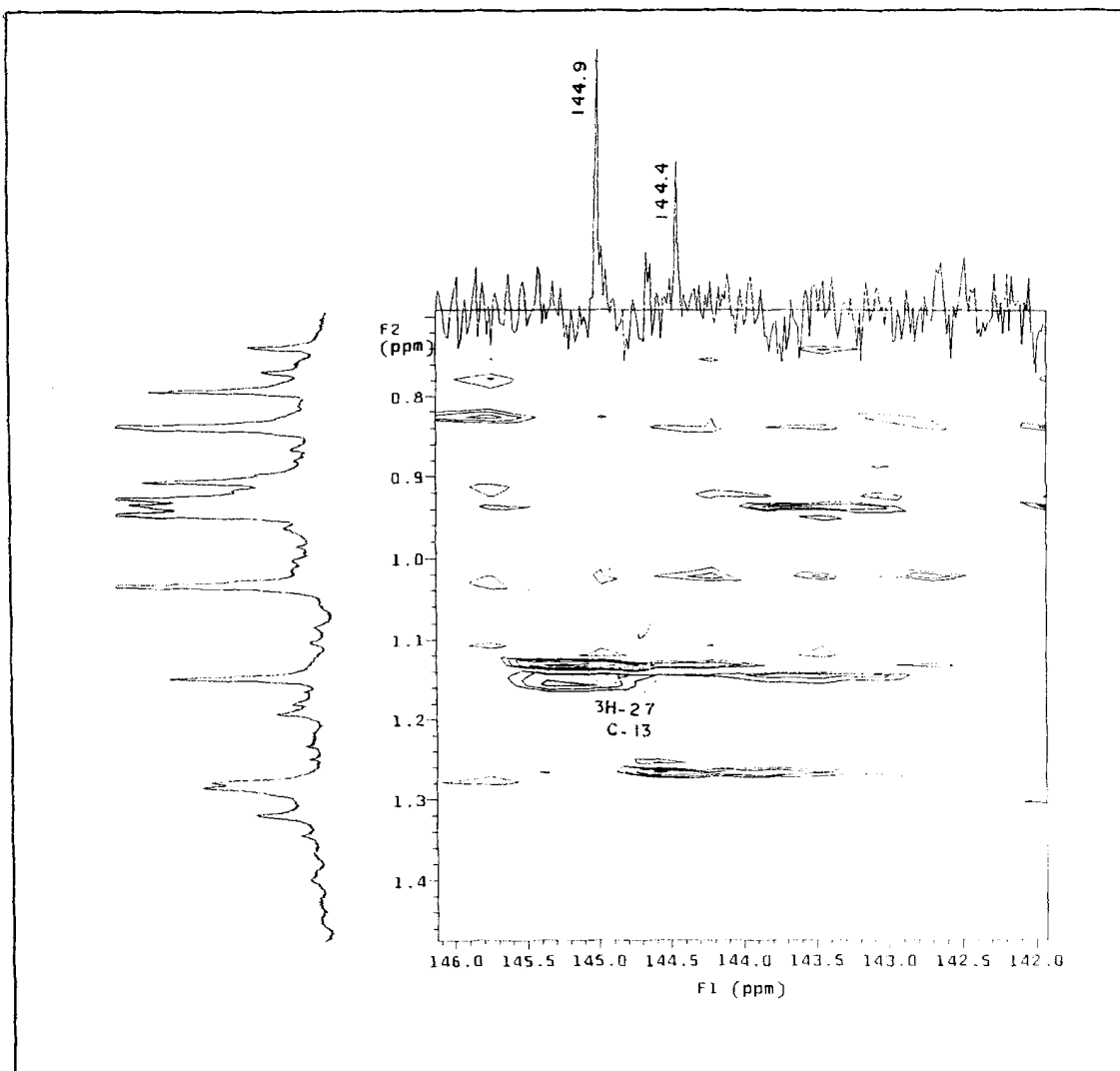


Figura 20. Espectro de RMN $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ $^n\text{J}_{\text{CH}}$ ($n=2,3$) HMBC de 3a (expansão)

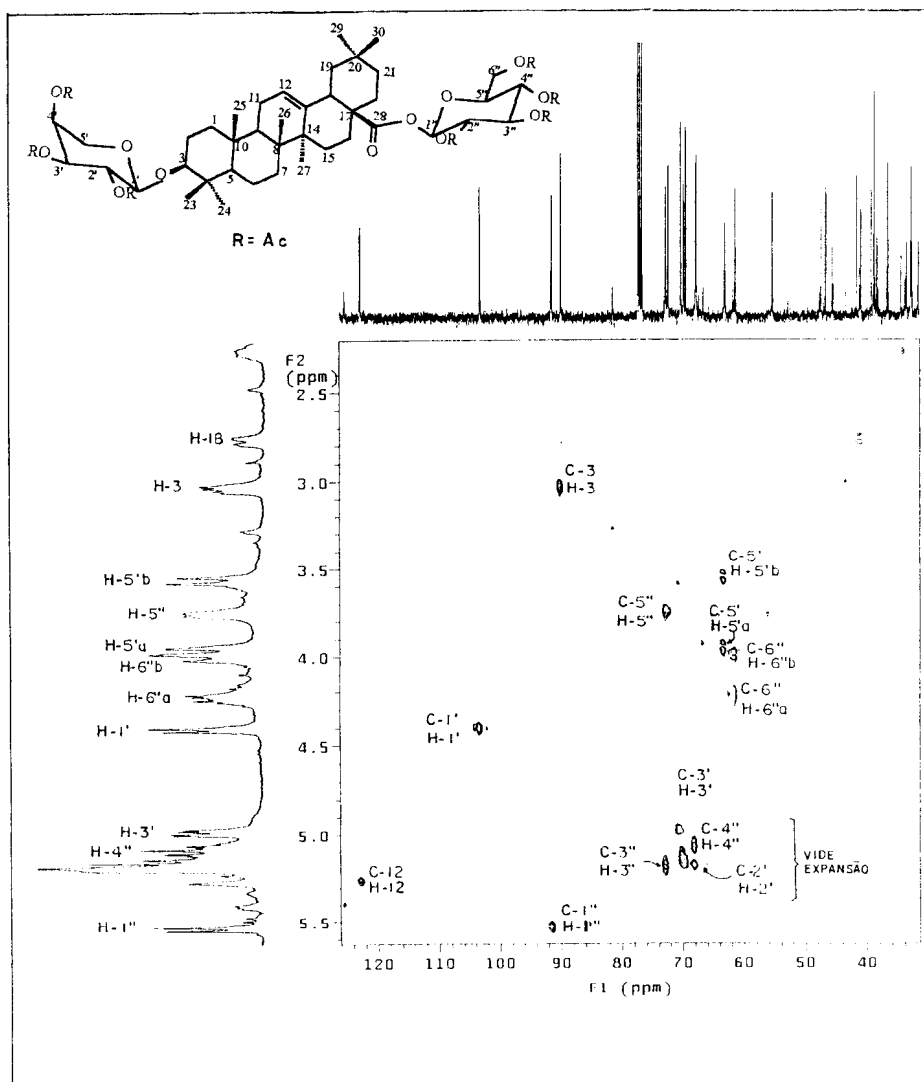


Figura 21. Espectro de RMN ^1H - ^{13}C - HMQC de **3a** (expansão)

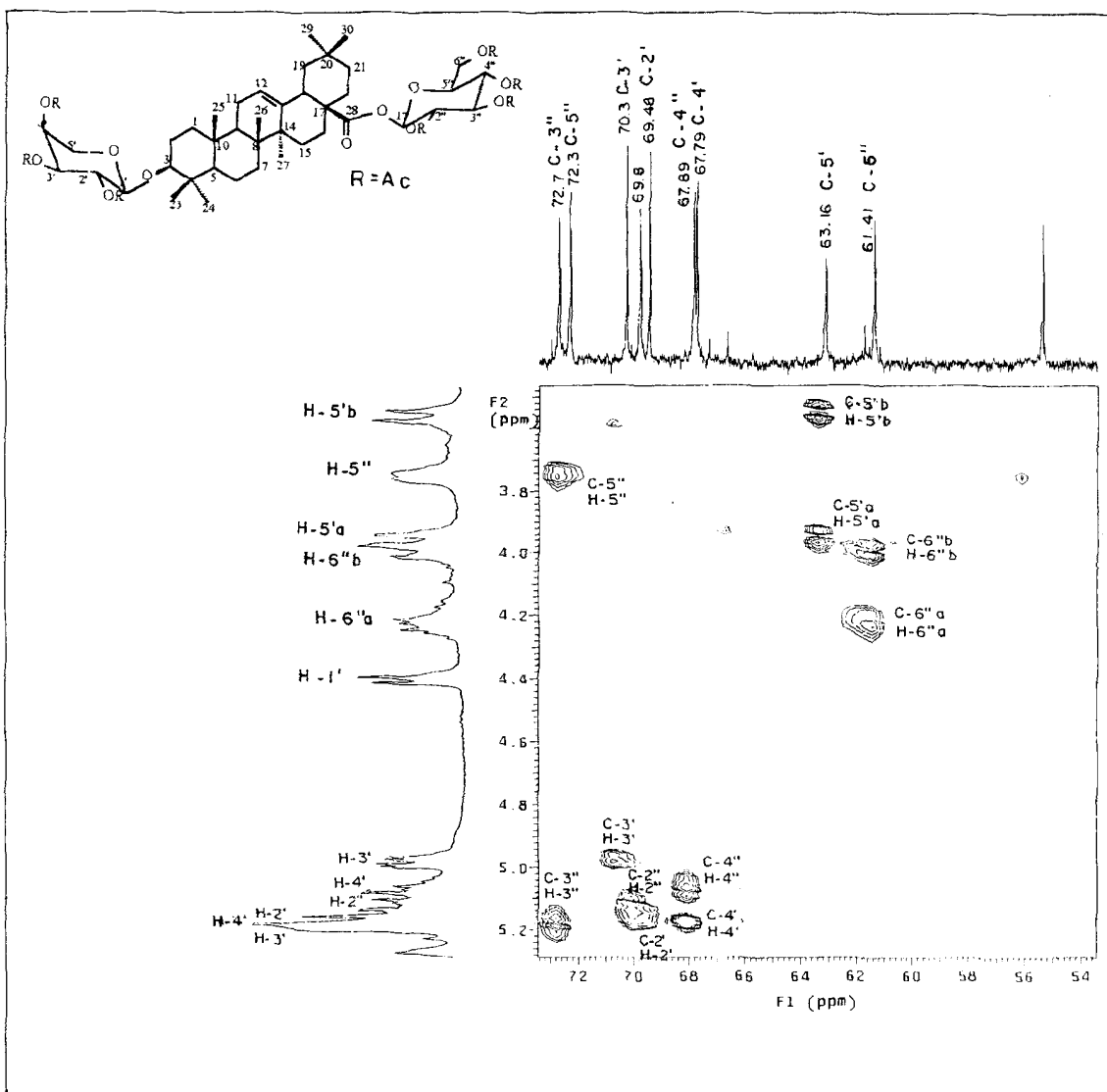


Figura 22. Espectro de RMN ^1H - ^{13}C - HMQC de **3a** (expansão)

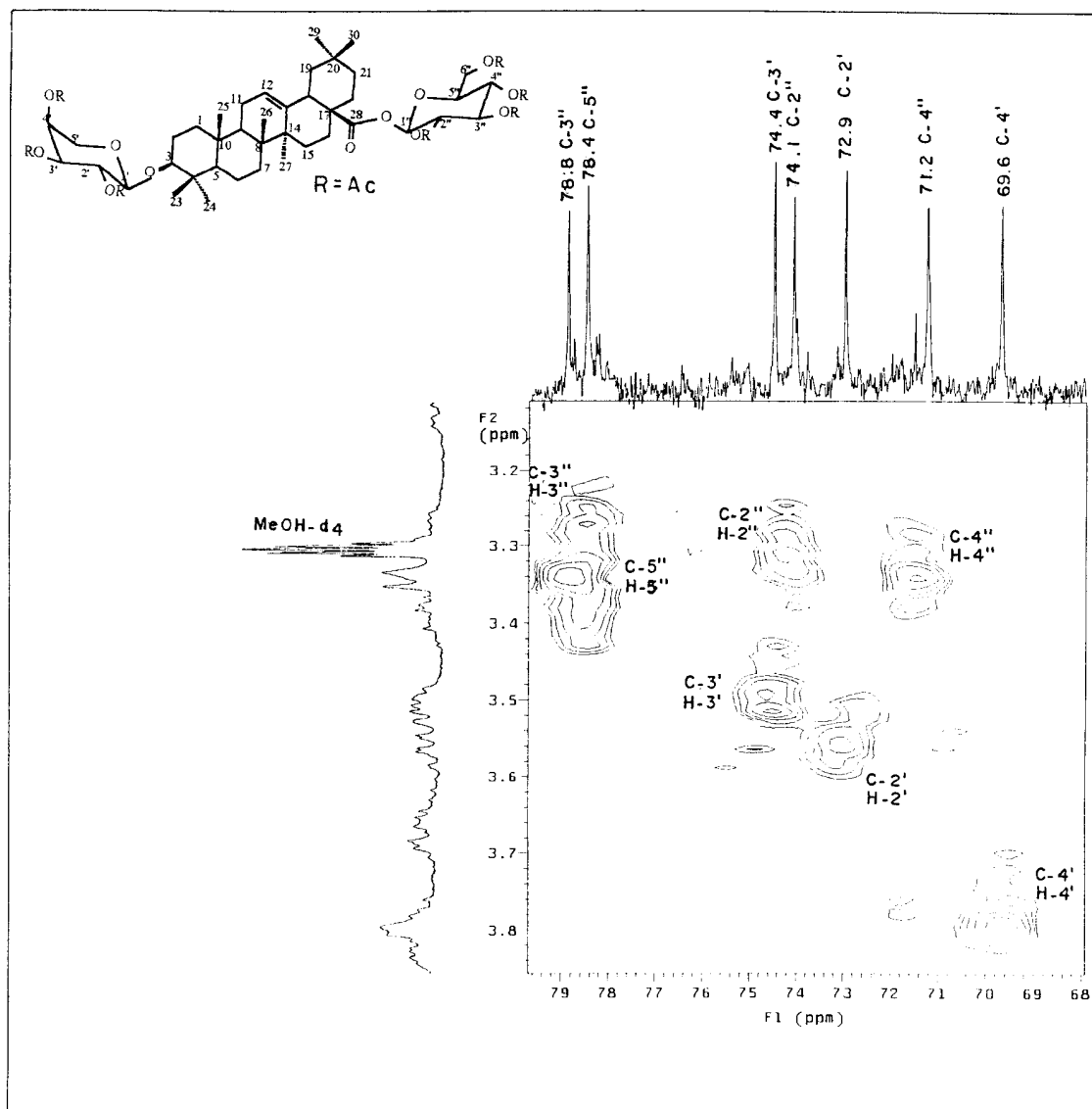


Figura 23. Espectro de RMN ^1H - ^{13}C - HMQC de 3a (expansão)

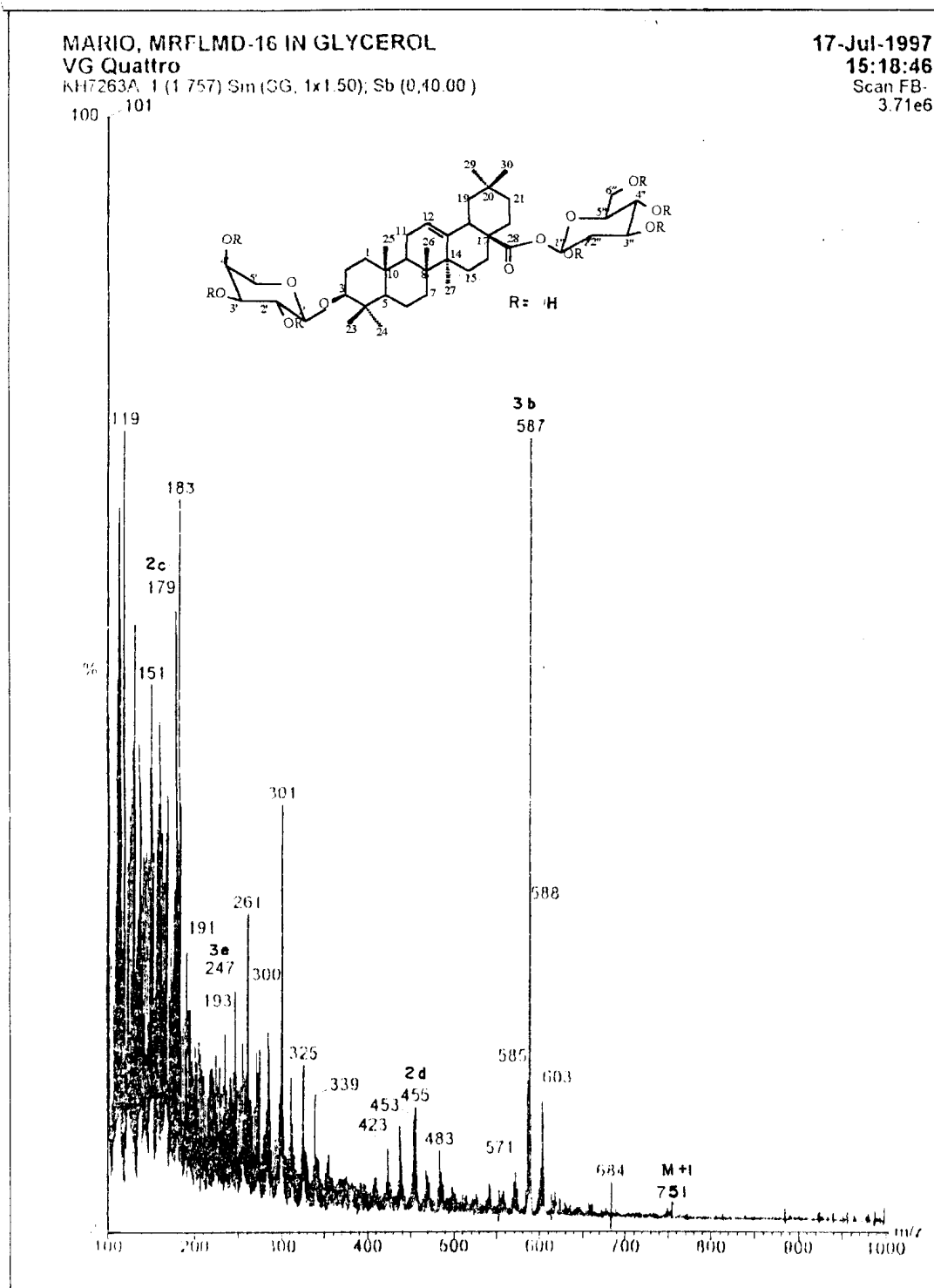


Figura 24. Espectro de massas de 3a

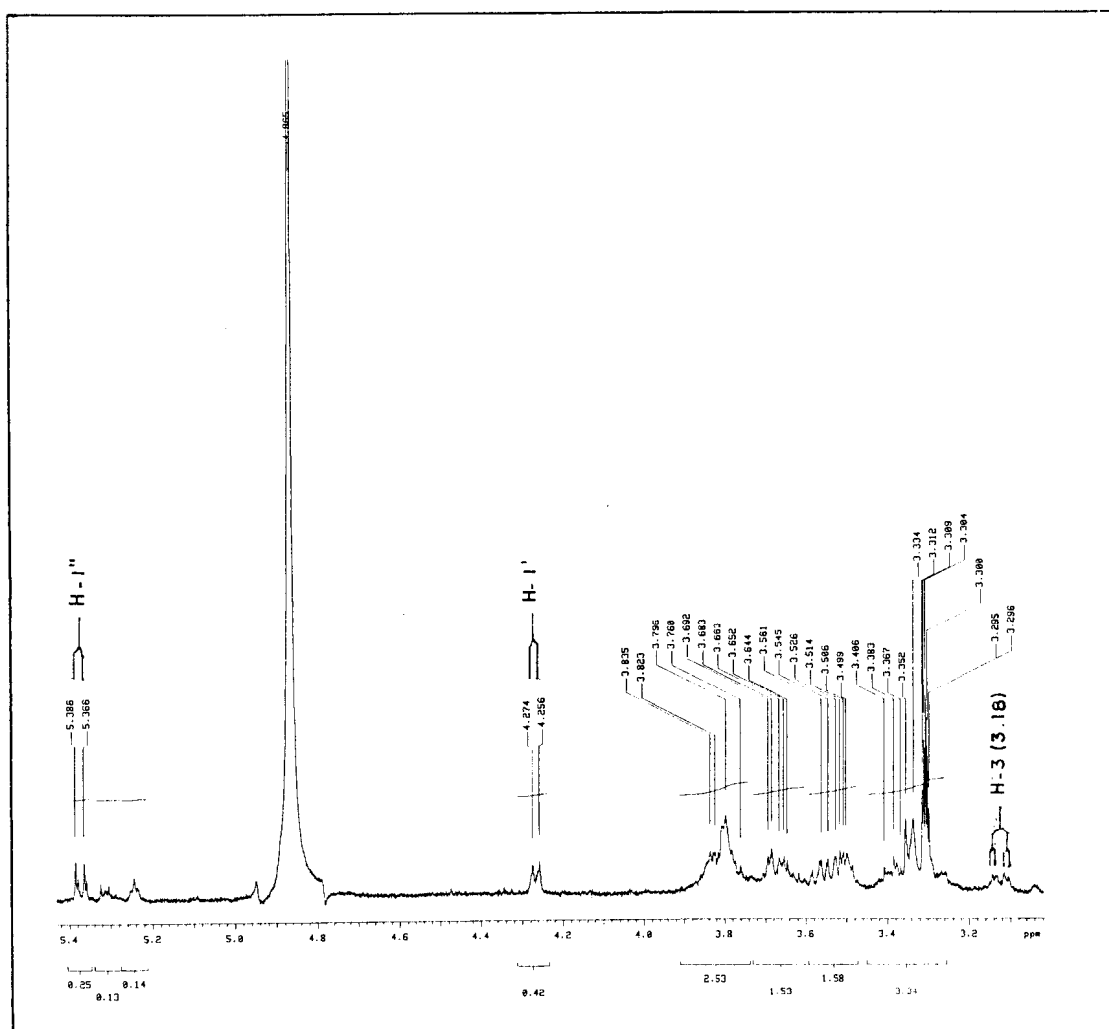


Figura 25. Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) de **3** (expansão)

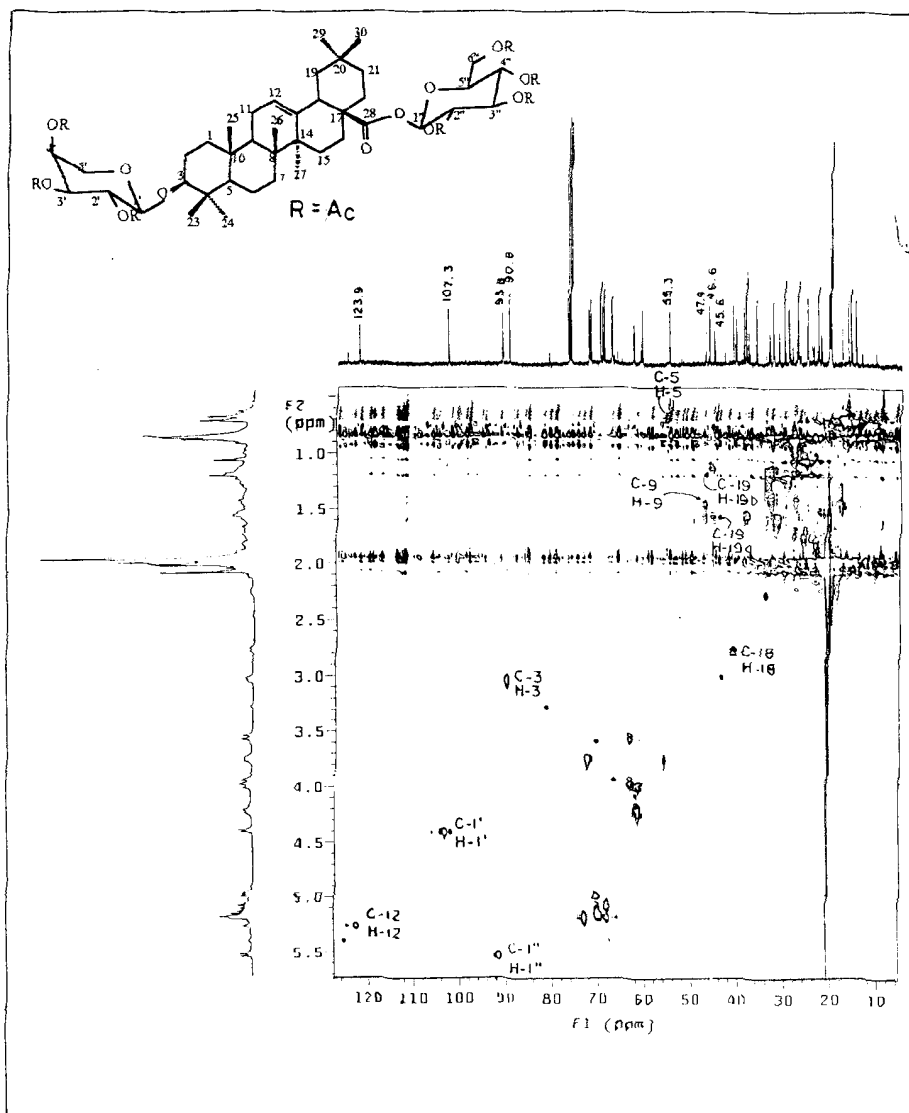


Figura 26. Espectro de RMN ^1H - ^{13}C - HMQC de 3a (expansão)

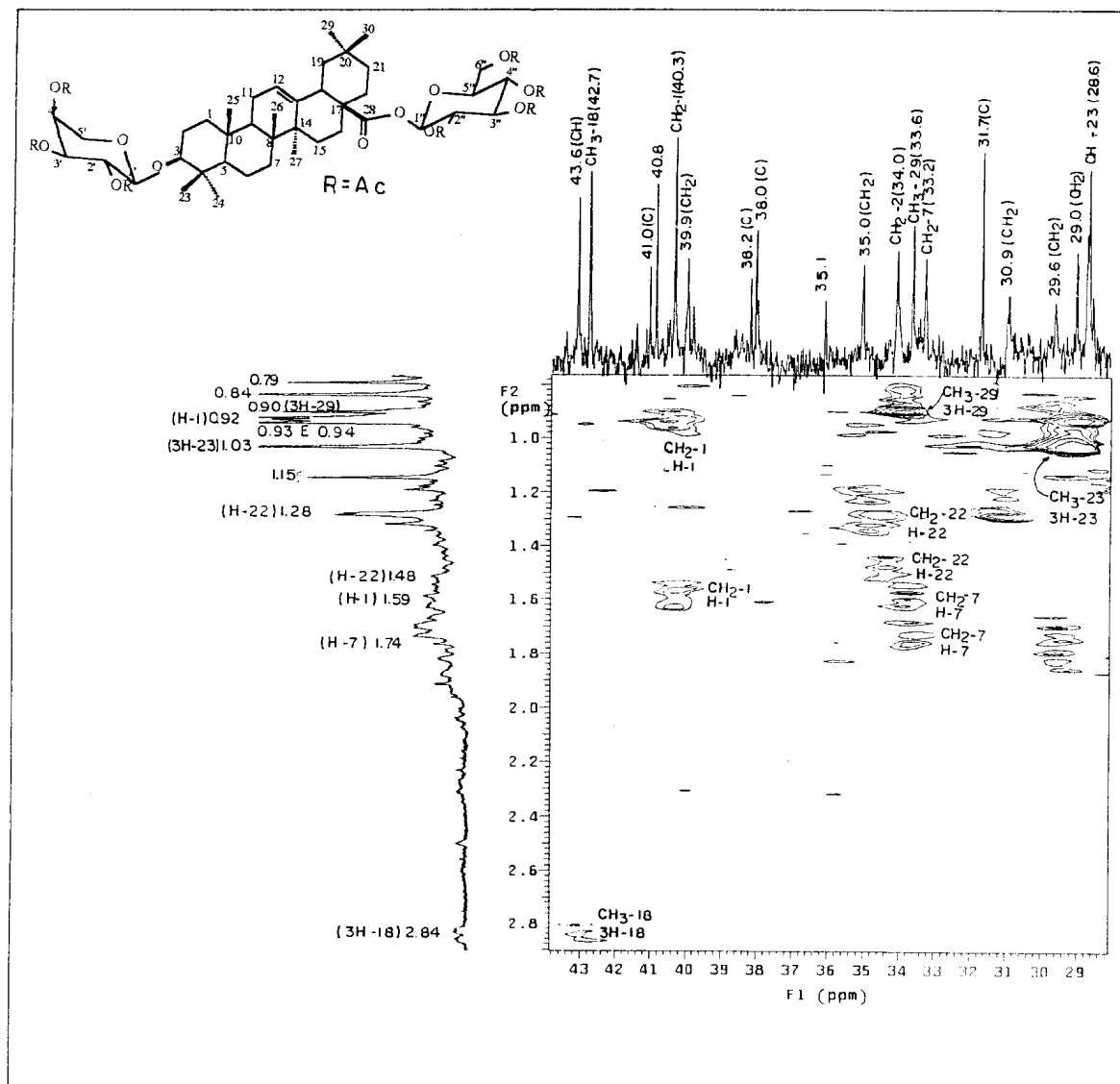


Figura 27. Espectro de RMN ^1H - ^{13}C - HMQC de 3 (expansão)

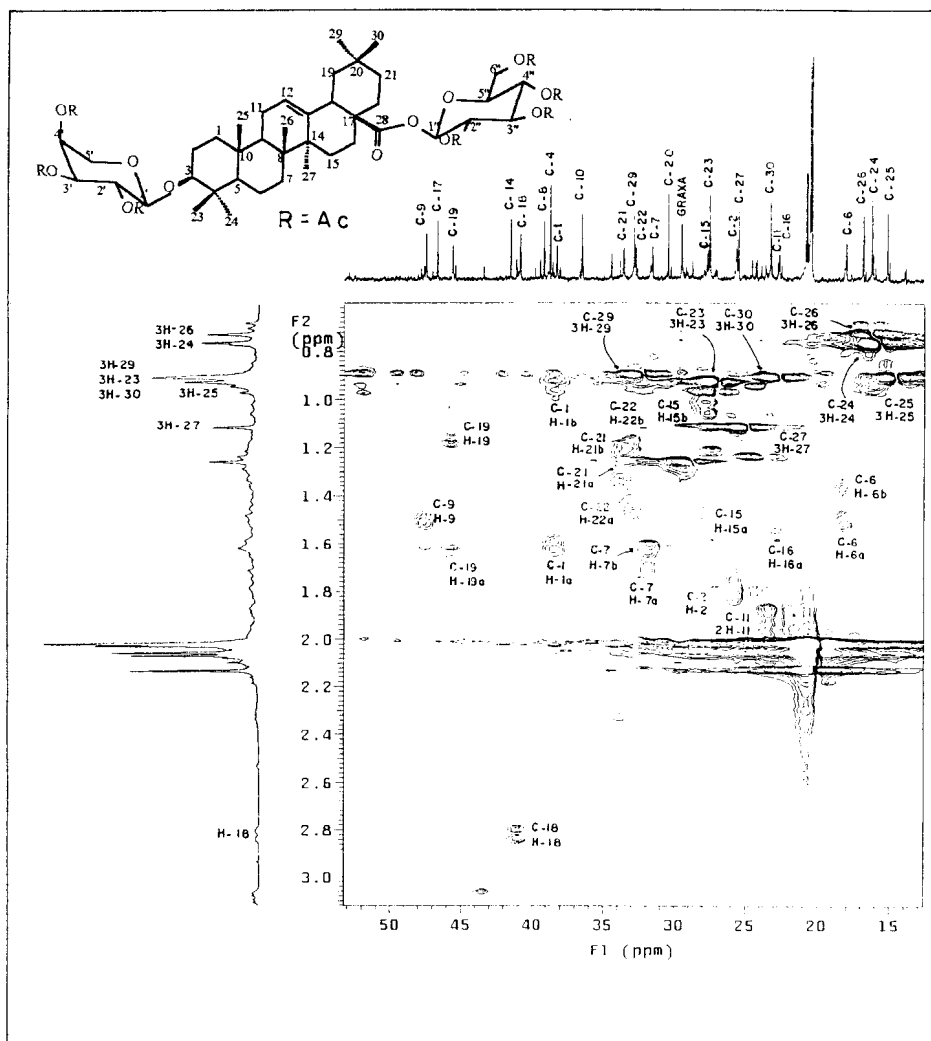


Figura 28. Espectro de RMN ^1H - ^{13}C - HMQC de 3a (expansão)

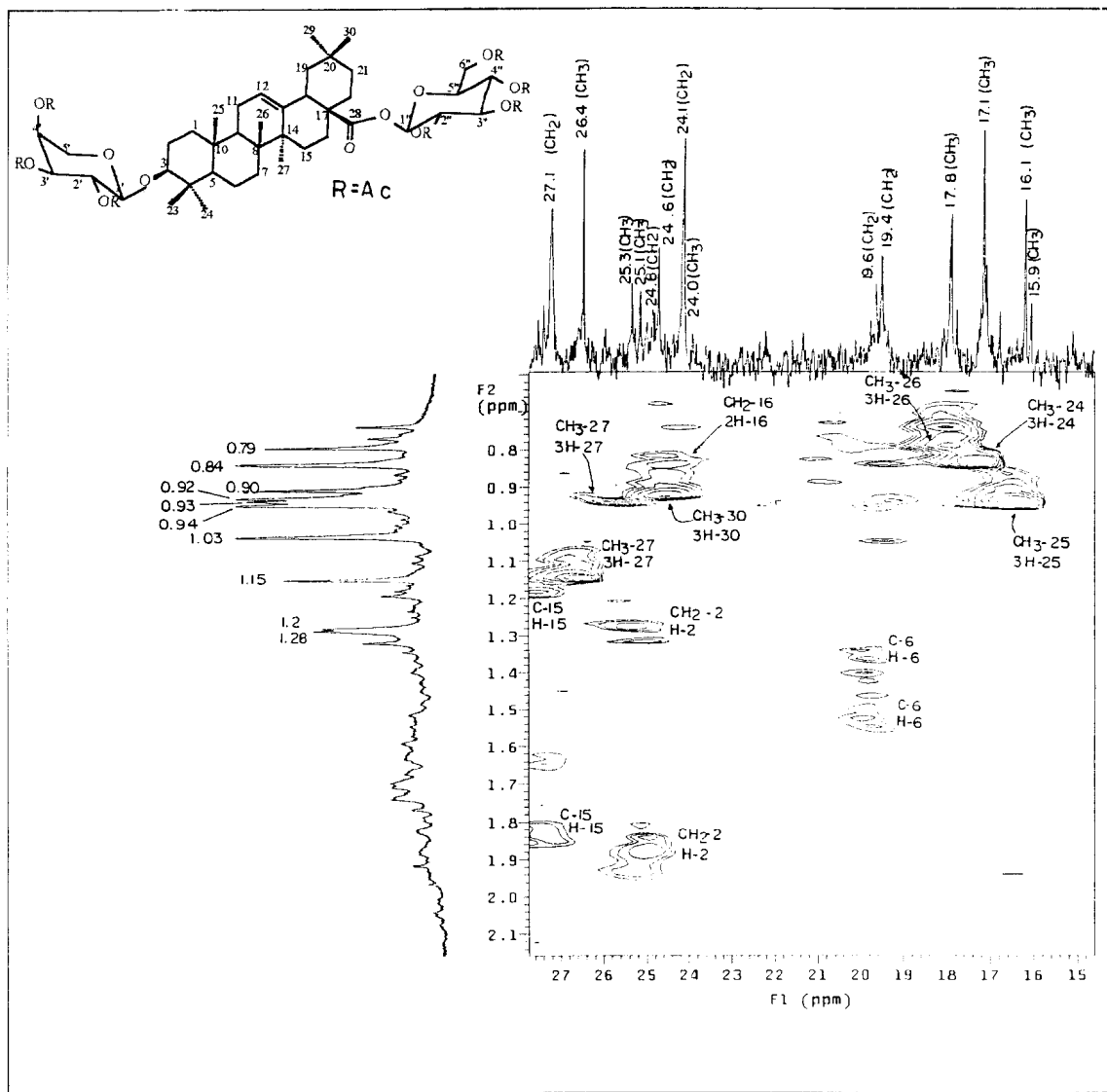


Figura 29. Espectro de RMN $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ - HMQC de **3a** (expansão)

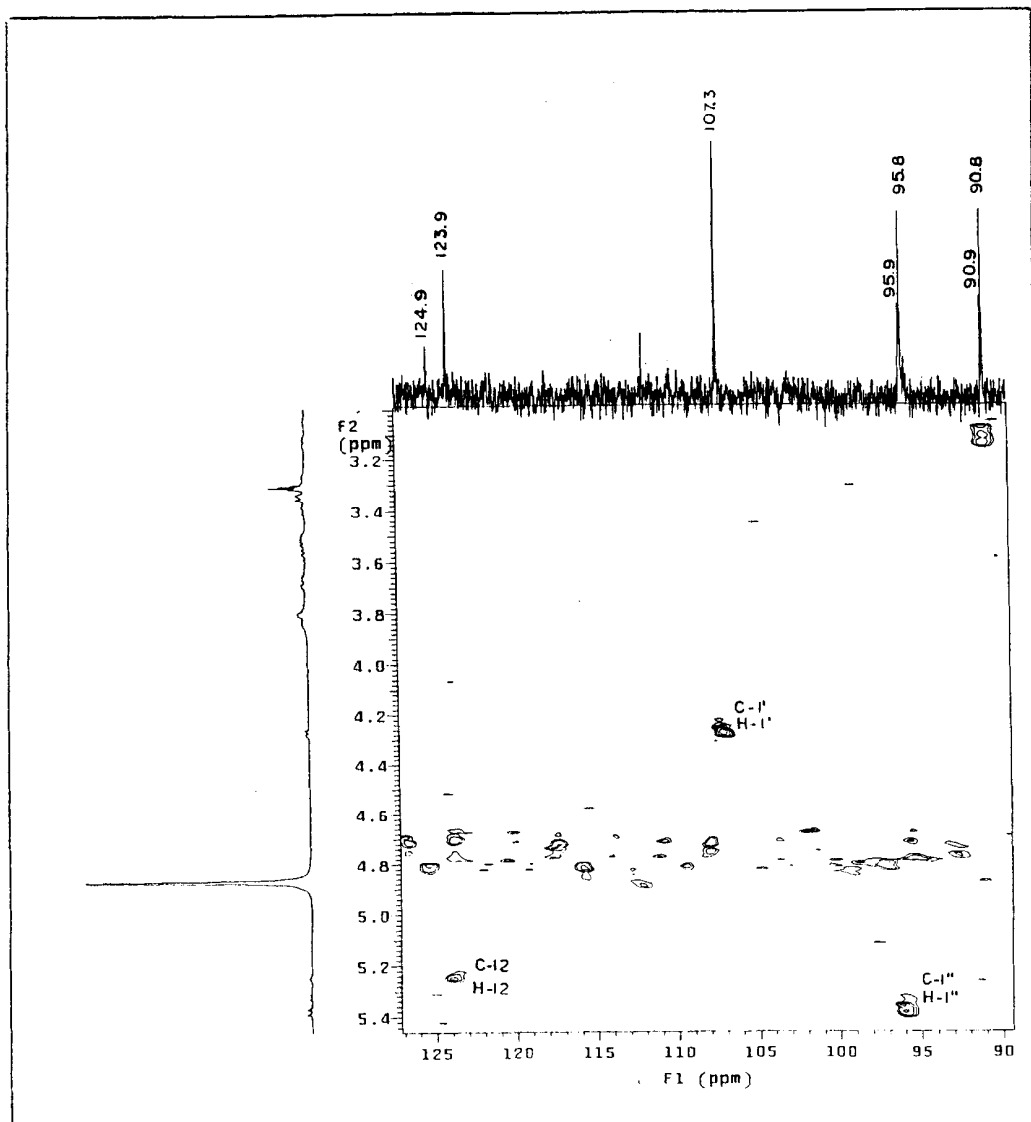


Figura 30. Espectro de RMN ^1H - ^{13}C - HMQC de 3 (expansão)

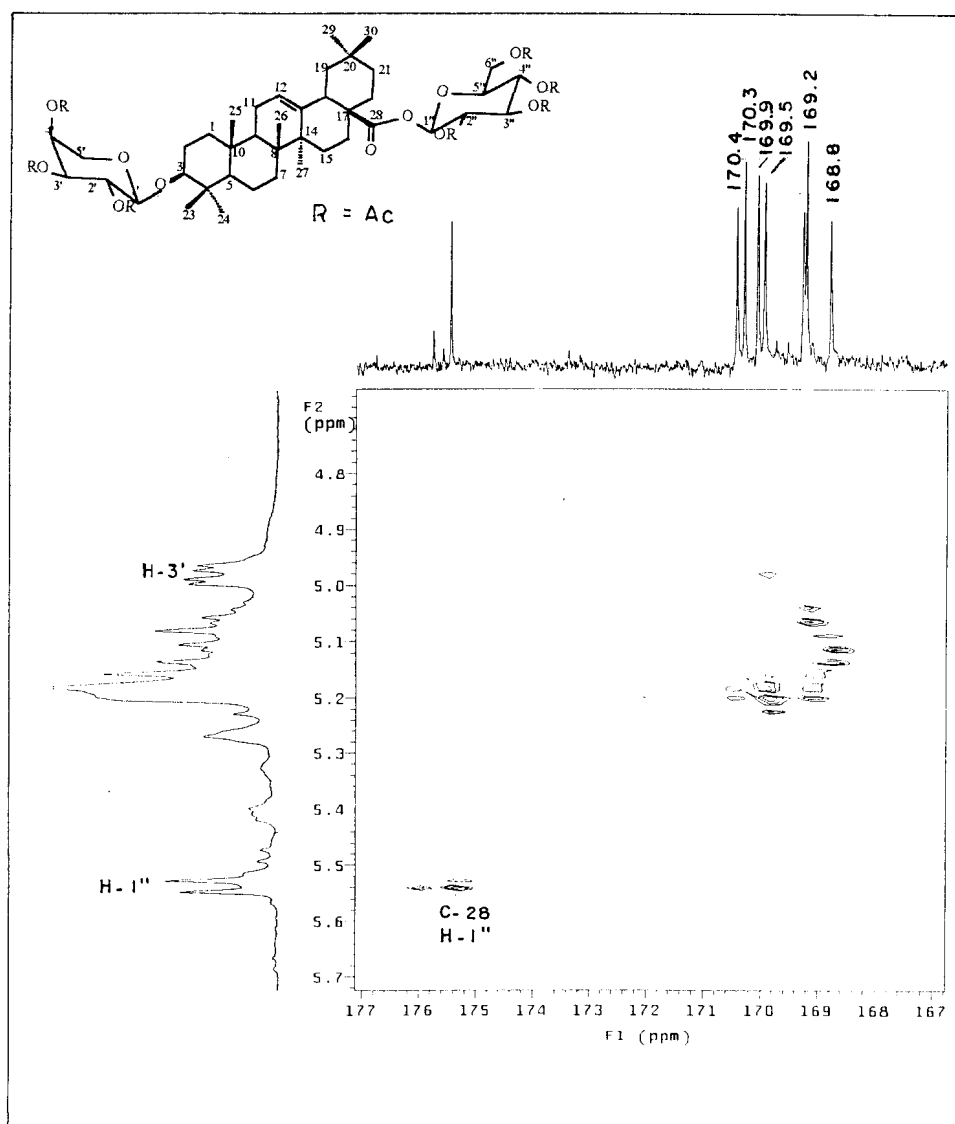


Figura 31. Espectro de RMN ^1H - ^{13}C $^n\text{J}_{\text{CH}}$ ($n=2,3$) HMBC 3a (expansão)

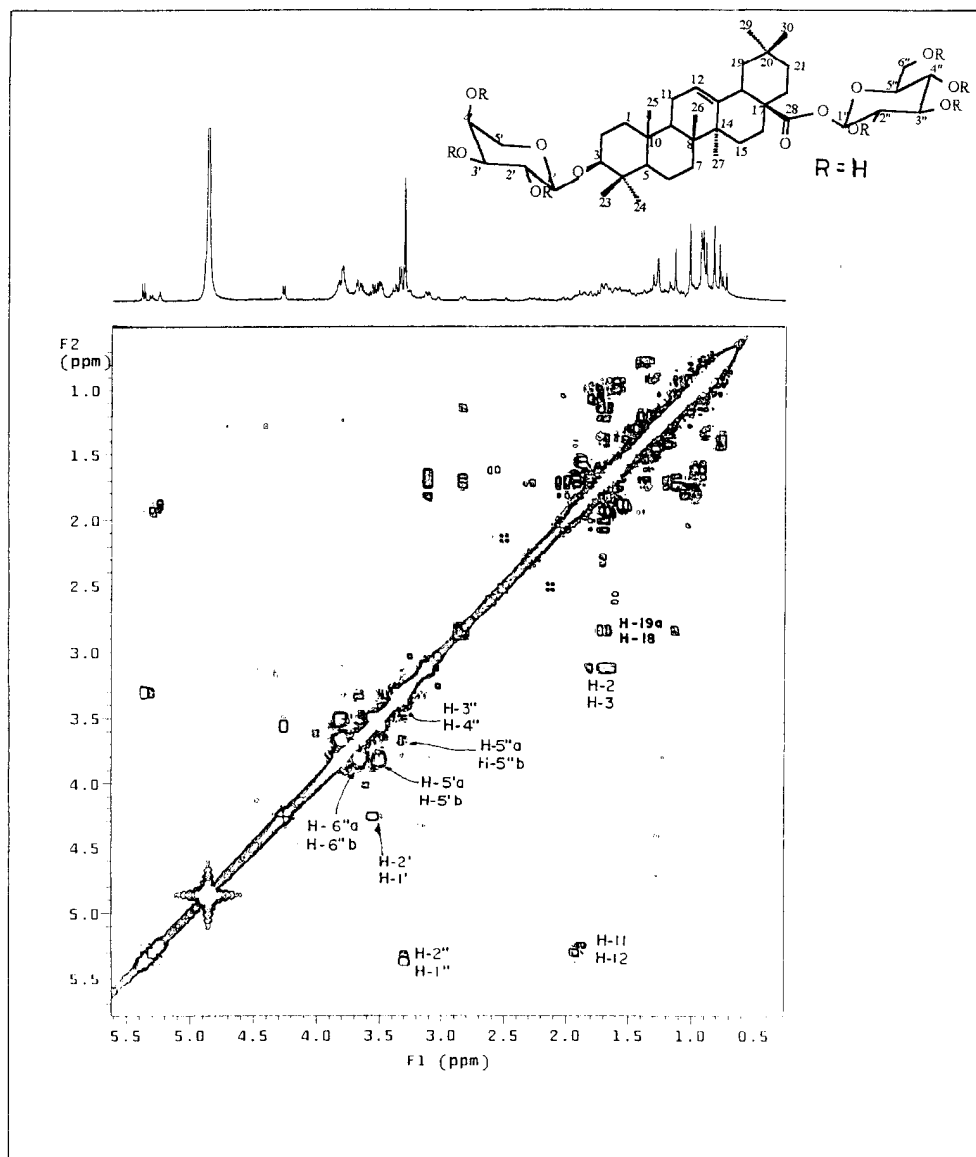


Figura 32. Espectro de RMN ^1H - ^1H - COSY (400 MHz, MeOd $_d$) de **3**

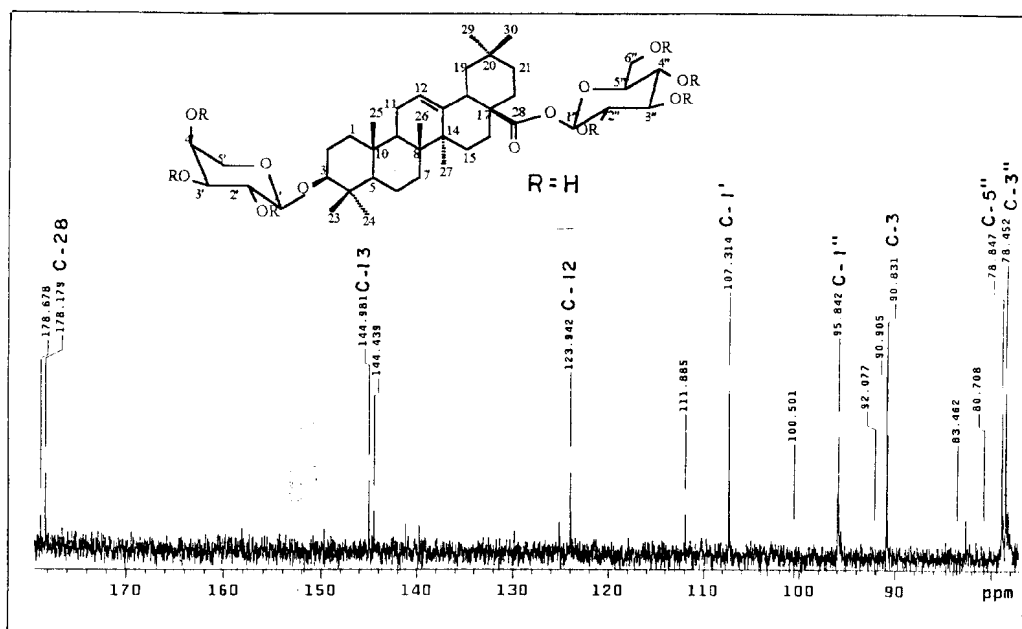


Figura 33. Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, MeOD_d4) de 3

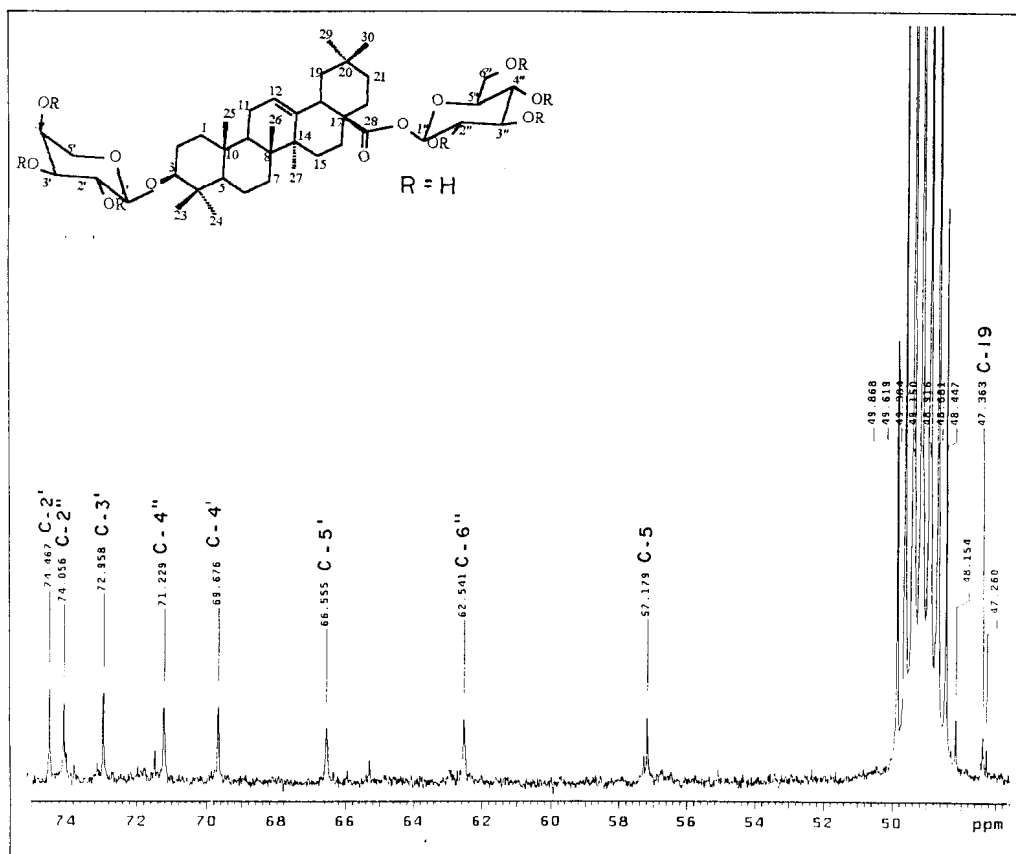


Figura 34. Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, MeOD_d4) de 3 (expansão)

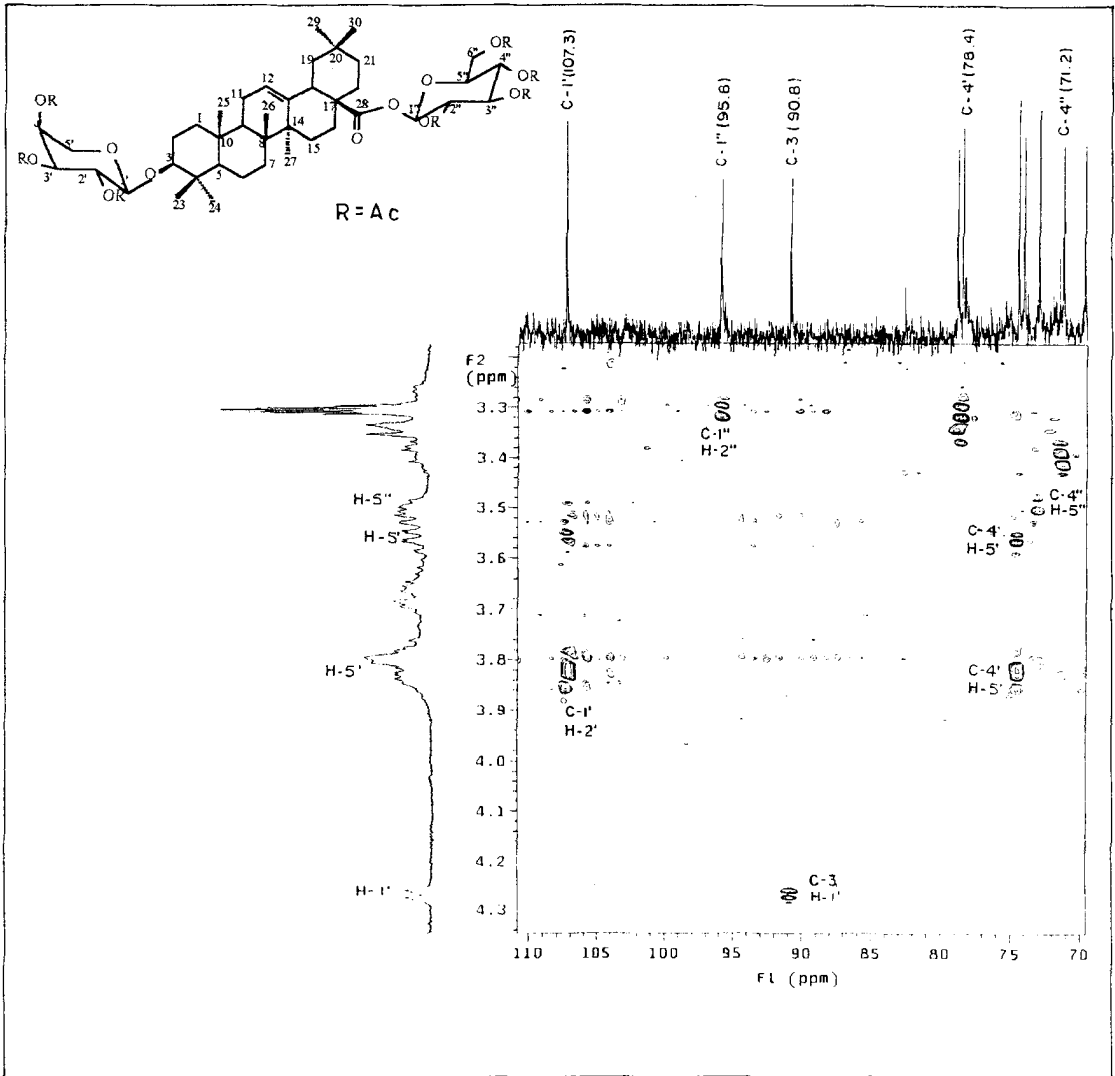


Figura 35. Espectro de RMN $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ $^n\text{J}_{\text{CH}}$ (n=2,3) HMBC 3 (expansão)

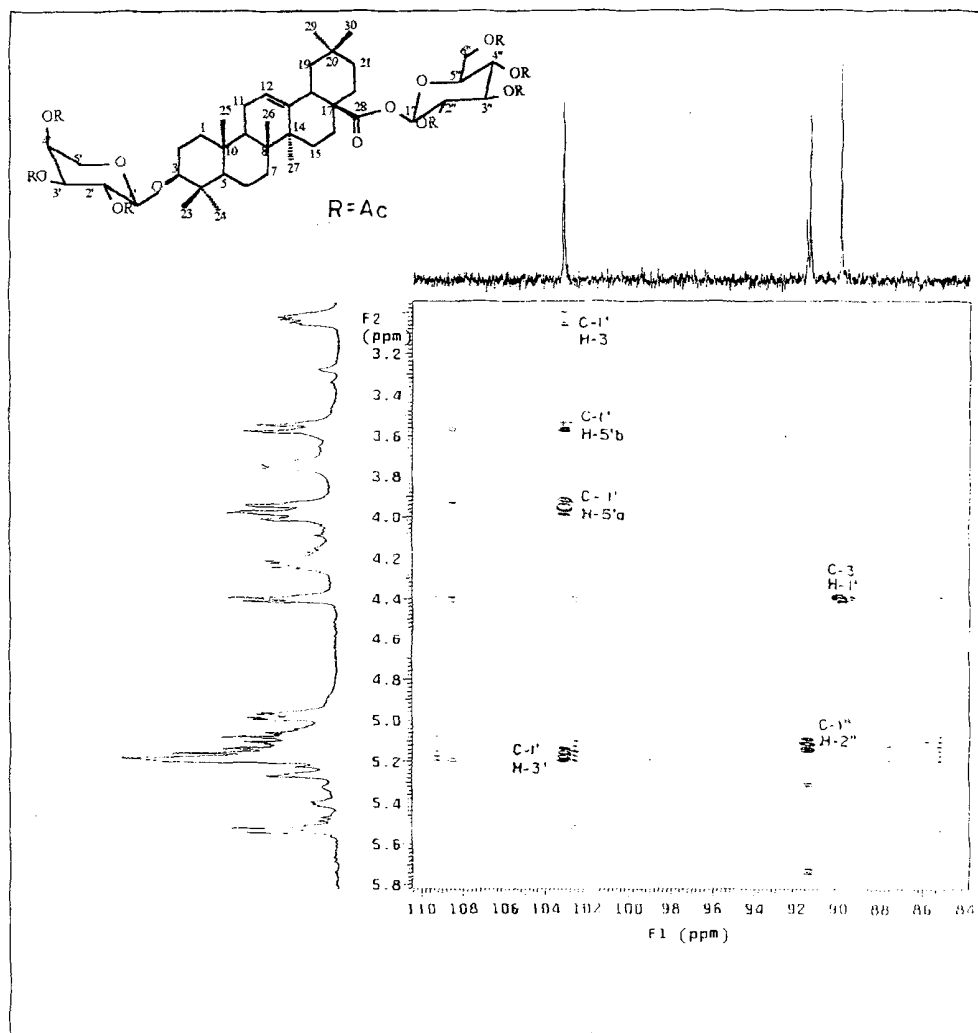


Figura 36. Espectro de RMN ^1H - ^{13}C nJ_{CH} ($n=2,3$) HMBC 3a (expansão)

1.7.1.4. α -D-GLICOSE (**4**) E β -D-GLICOSE (**5**)

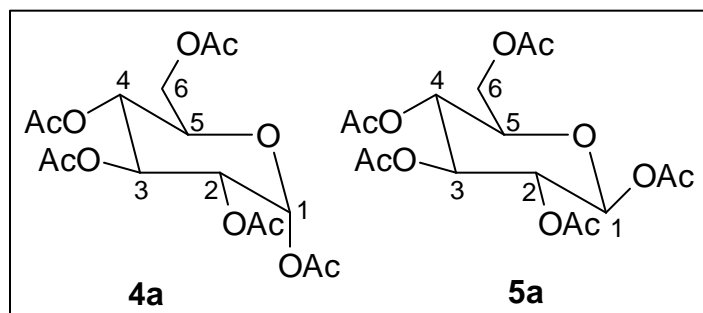
Durante o processo de isolamento da saponina através da partição do extrato metanólico do caule com BuOH/MeOH:H₂O (95:5), houve formação de dois precipitados, sendo um deles identificado como a mistura dos carboidratos **4** e **5** (200 mg). Esta mistura foi insolúvel em clorofórmio, e então, foi preparado o derivado acetilado através do tratamento com anidrido acético e piridina (1:1).

O espectro de IV do derivado acetilado da mistura **4a** e **5a** (fig.37, pág. 69) possui uma banda de absorção forte em 1,746 cm⁻¹, correspondente a deformação axial de C=O e deformação axial de C-C(=O)-O de acetato em 1,220 cm⁻¹, característica de ésteres.

O espectro de RMN de ¹H (fig. 38, pág. 69) mostrou sinais simples entre δ_H : 2,04 e 2,06 correspondentes aos grupos acetoxilas da unidade acetato. Os sinais em δ_H : 4,32; 5,12; 5,40; 5,23; 3,50; 4,27 e 4,08 correspondem aos hidrogênios carbinólicos H-1, H-2, H-3, H-4, H-5; H-6a e H-6b.

O espectro de RMN de ¹³C-PND e DEPT (fig. 39 e 40, pág. 70 e 71) confirmaram estas deduções pelos sinais de deslocamentos químicos de átomos de carbono característicos de açúcar acetilado (Tabela 6).

Os sinais em δ_C : 88,6 e 91,3 foram atribuídos aos carbonos anoméricos e os demais sinais de CH e CH₂ comparados com dados citados na literatura (Breitmaier, 1987), mostraram-se semelhantes aos dados da α e β -D-glicose. Desta forma foi possível identificar os componentes da mistura como 1,2,3,4,6-penta-O-acetil- α -Dglicopiranosose (**4a**) e 1,2,3,4,6-penta-O-acetil- β -Dglicopiranosose (**5a**). Esta conclusão está de acordo com as deduções iniciais feitas com comparação com amostra autêntica por cromatografia em camada delgada analítica.



Quadro 12. Estruturas dos carboidratos **4a** e **5a**.

Tabela 6. Dados espectrais de RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de **4a** e **5a** comparados com valores citados na literatura (Breitmeier, 1987).

C	4a		5a	
	α -D (lit.)	4 ^a	β -D (lit.)	5a
1	88,6	89,0	91,3	91,5
2	68,9	68,2	70,0	70,0
3	69,5	69,7	72,3	72,5
4	67,7	67,8	67,6	67,7
5	69,5	69,0	72,3	72,5
6	61,1	61,9	61,3	61,9
C=O	169,8	170,5	169,8	170,5
C=O	169,4	170,0	169,3	170,0
C=O	169,2	169,7	169,8	169,7
C=O	168,8	169,6	168,7	196,6
C=O	168,3	169,6	168,4	169,6
CH ₃	20,3	20,7	19,9	20,7
CH ₃	19,8	20,5	19,8	20,5
CH ₃	19,3	20,5	19,8	20,5

Tabela 7. Dados espectrais de RMN de ^1H dos derivados acetilados **4a** e **5a**.

H	δH : 4a e 5a
1	4,32
2	5,12
3	5,40
4	5,23
5	3,50
6	4,27 e 4,08
CH ₃	2,04-2,06

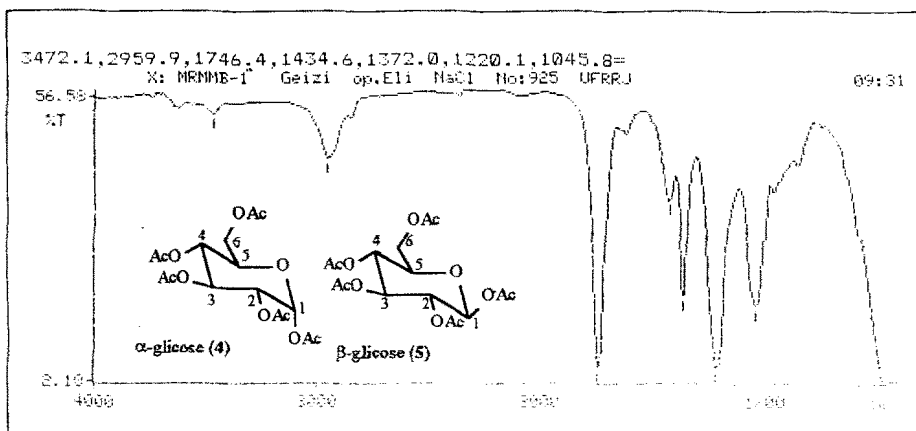


Figura 37. Espectro de IV de 4 e 5

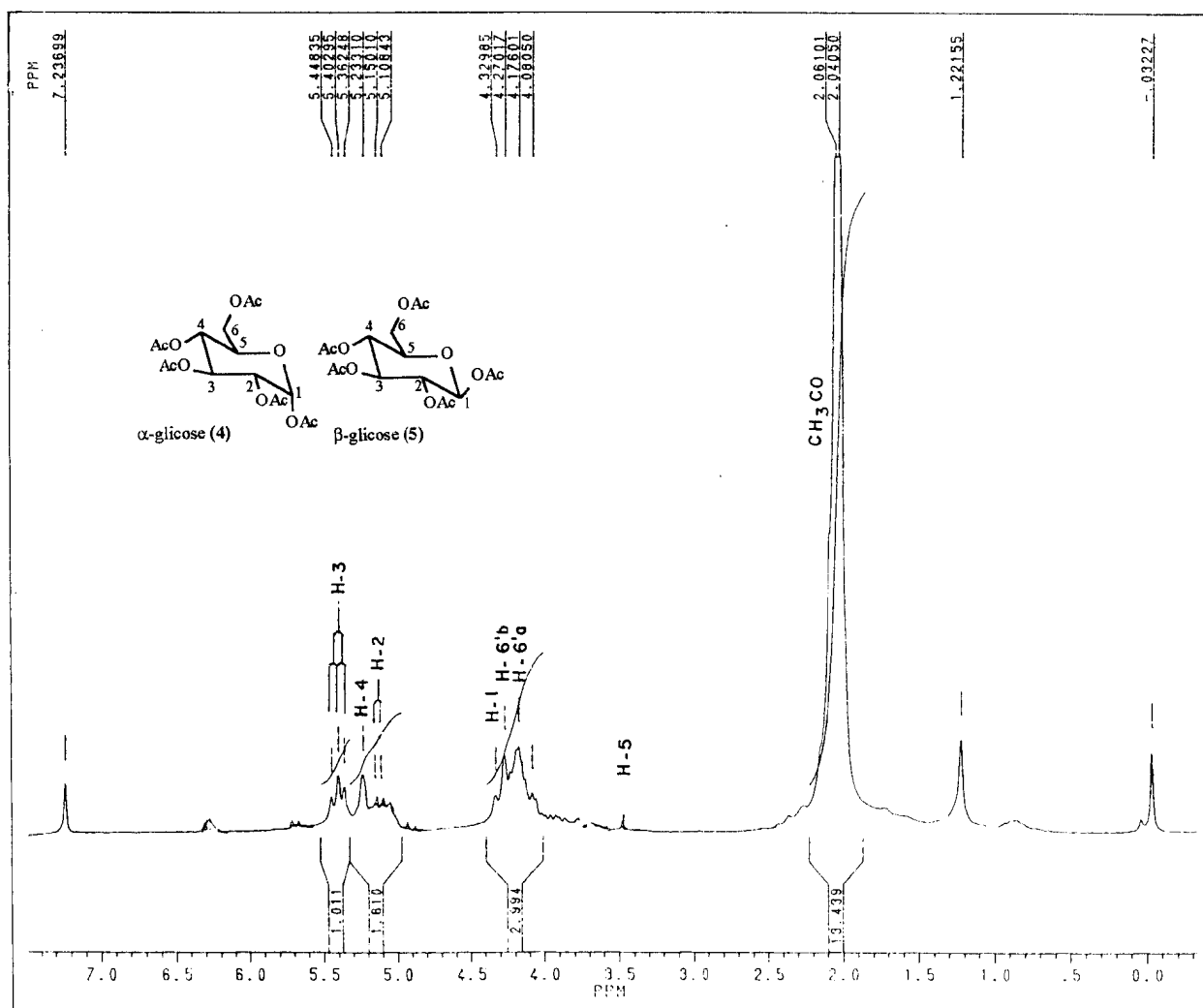


Figura 38. Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) de 4 e 5

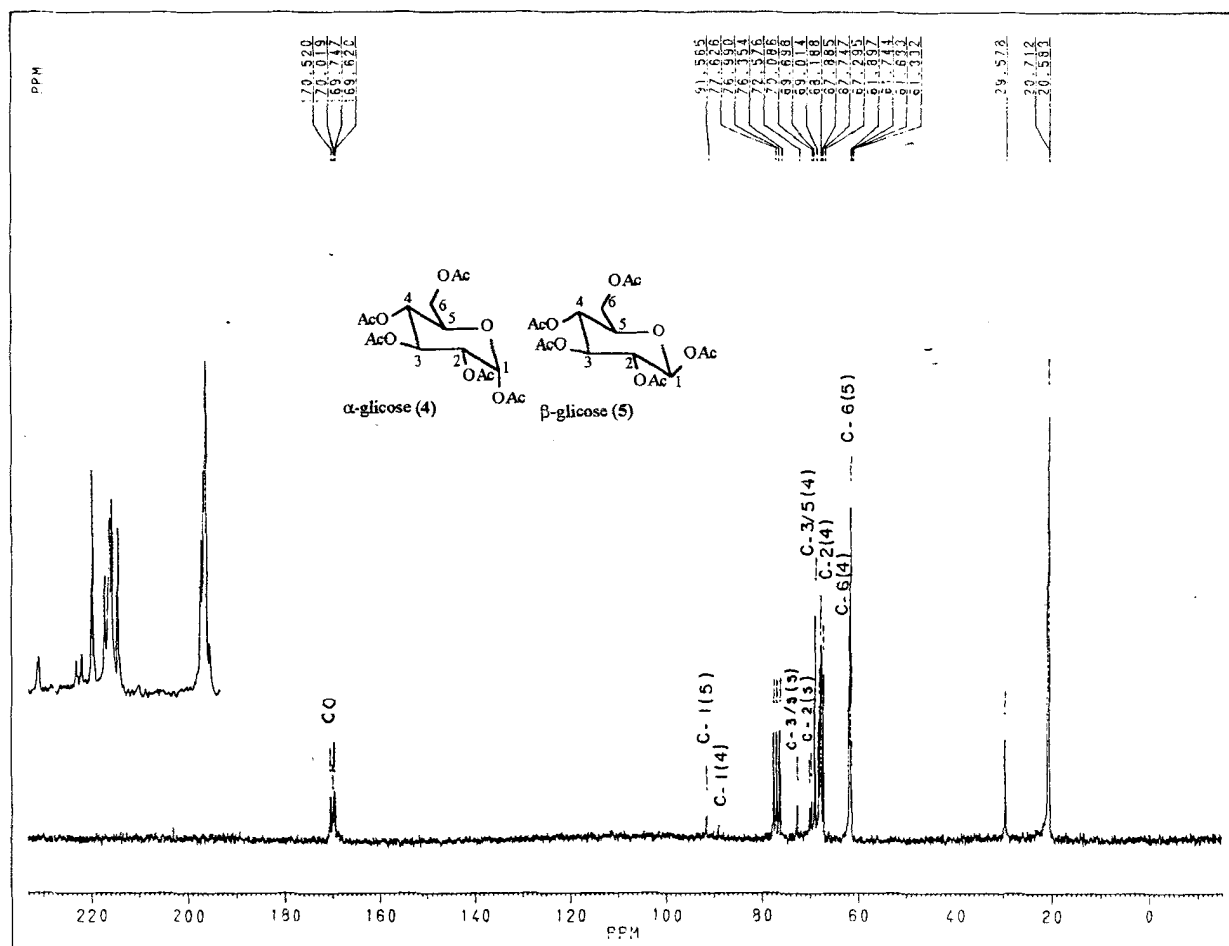


Figura 39. Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de 4 e 5

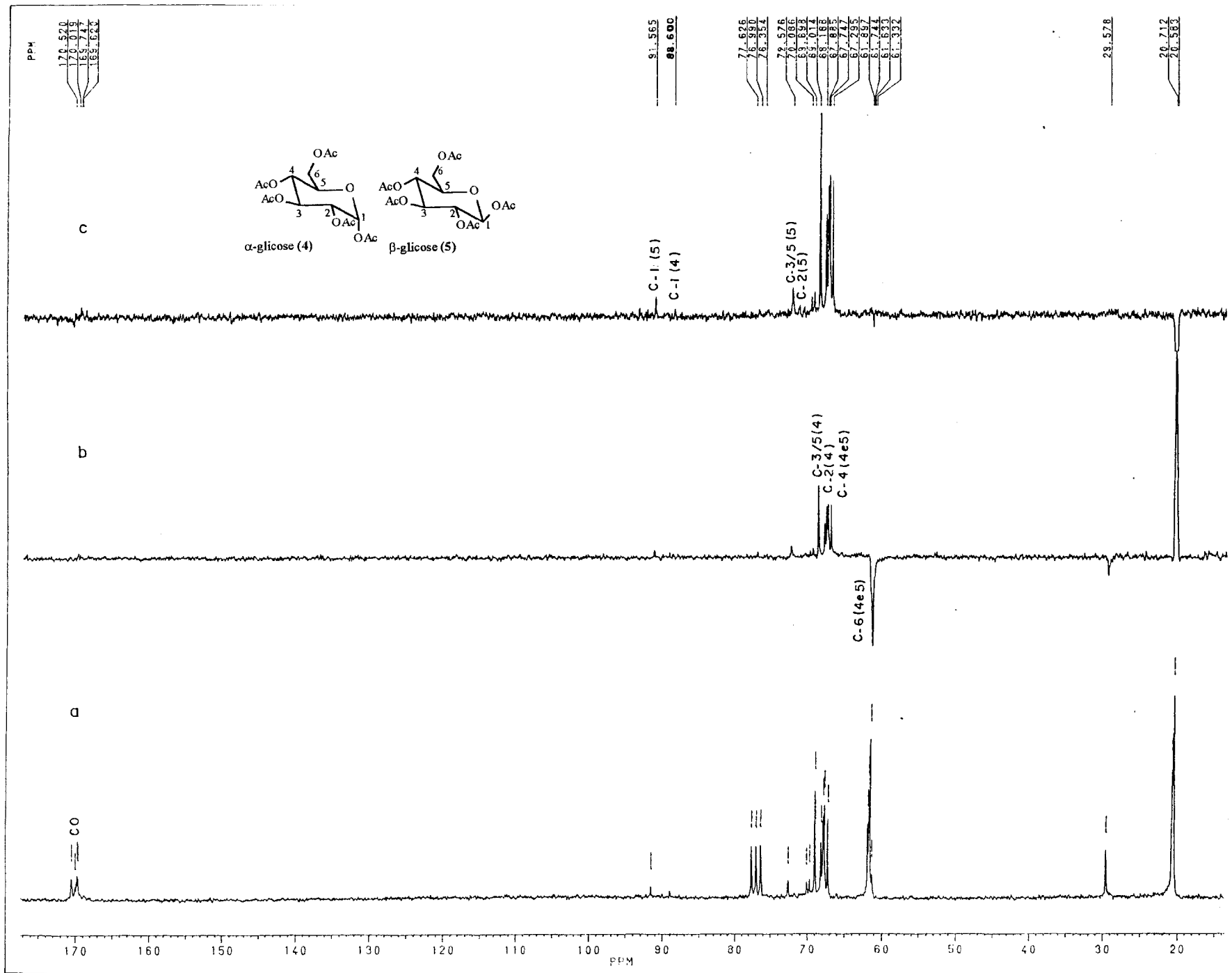


Figura 40. Espectro de RMN ^{13}C -PND (a) e DEPT [$\theta=135^\circ$ (b) e $\theta=90^\circ$ (c)] (50 MHz, CDCl_3) de 4 e 5

1.7.1.5. IDITIOL (**6**)

Durante o processo de isolamento da saponina através da partição do extrato metanólico com BuOH/MeOH:H₂O (95:5), houve formação de dois precipitados, sendo um deles identificado como o carboidrato **6** (150 mg). Este composto foi insolúvel em clorofórmio, e então, foi preparado o derivado acetilado através do tratamento com anidrido acético e piridina (1:1).

O espectro de IV do derivado acetilado **6a** (fig. 41, pág. 75) possui uma banda de absorção forte em 1.740 cm⁻¹, correspondente a deformação axial de C=O e deformação axial de C-C(=O)-O de acetato em 1.220 cm⁻¹, característica de ésteres.

O espectro de RMN de ¹H (fig. 42, pág. 75) mostrou sinais simples entre δ_H: 1,95 e 2,09 correspondentes aos grupos acetoxilas da unidade acetato. Os sinais em δ_H: 4,25 (dd) e 4,09 (dd) foram atribuídos à hidrogênios metilênicos em carbonos ligados a oxigênio. Os sinais em δ_H: 5,08 e 5,45 (d) foram atribuídos à hidrogênios metílicos carbinólicos.

O espectro de RMN ¹H-¹H - COSY de **6a** (fig. 43, pág. 76) mostrou sinais de interação entre os hidrogênios H-1/6 (δ_H: 4,25 e 4,09) com CH₃CO (δ_H: 2,09-1,97), de H-2/5 (δ_H: 5,08) com H-1/6 (δ_H: 4,25 e 4,09) com H-3/4 (δ_H: 5,45).

O espectro de RMN de ¹³C de **6a** (fig. 44, pág. 77) mostrou sinais de carbonos metílicos em δ_C: 20,5, atribuídos às metilas dos grupos acetoxilas. Sinais em δ_C: 170,6-170,1 atribuídos às carbonilas dos grupos acetoxilas, sinais do solvente e sinais em δ_C: 62,3; 68,2 e 68,6 referentes a três átomos de carbonos.

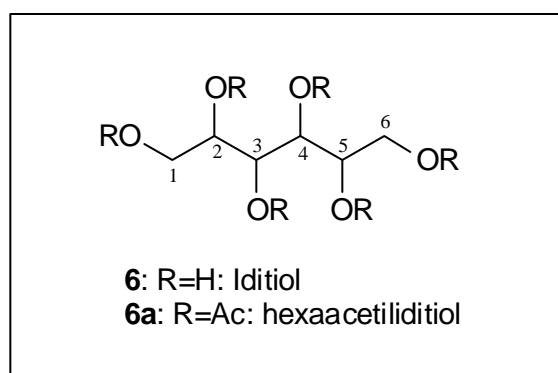
O espectro de RMN de ¹³C-PND e DEPT de **6a** (fig. 45, pág. 78) mostrou que o sinal em δ_C: 62,3 pertence a um carbono metilênico e os sinais em δ_C: 68,6 e 68,2 pertencem a carbonos metílicos.

O espectro de RMN ¹H-¹³C - COSY de **6a** (fig. 46, pág. 79) mostrou a interação entre H- 1/6 (δ_H: 4,25 e 4,09) com C-1/6 (δ_C: 62,3) de H-2/5 (δ_H: 5,08)

com C-2/5 (δ_C : 68,6) e de H- 3/4 (δ_H : 5,45) com C-3/4 (δ_C : 68,2), confirmando as atribuições feitas anteriormente.

O espectro de massas (fig. 47, pág. 80) apresentou pico em m/z 361, que embora não seja referente ao íon molecular, apresentou outros picos referentes à fragmentos (Esquema 5), que comparados com espectros da biblioteca do aparelho (fig. 48, pág. 81) mostrou semelhança com a fragmentação do hexaacetil-iditíol, hexaacetil-galactíol e hexaacetil-mannitol.

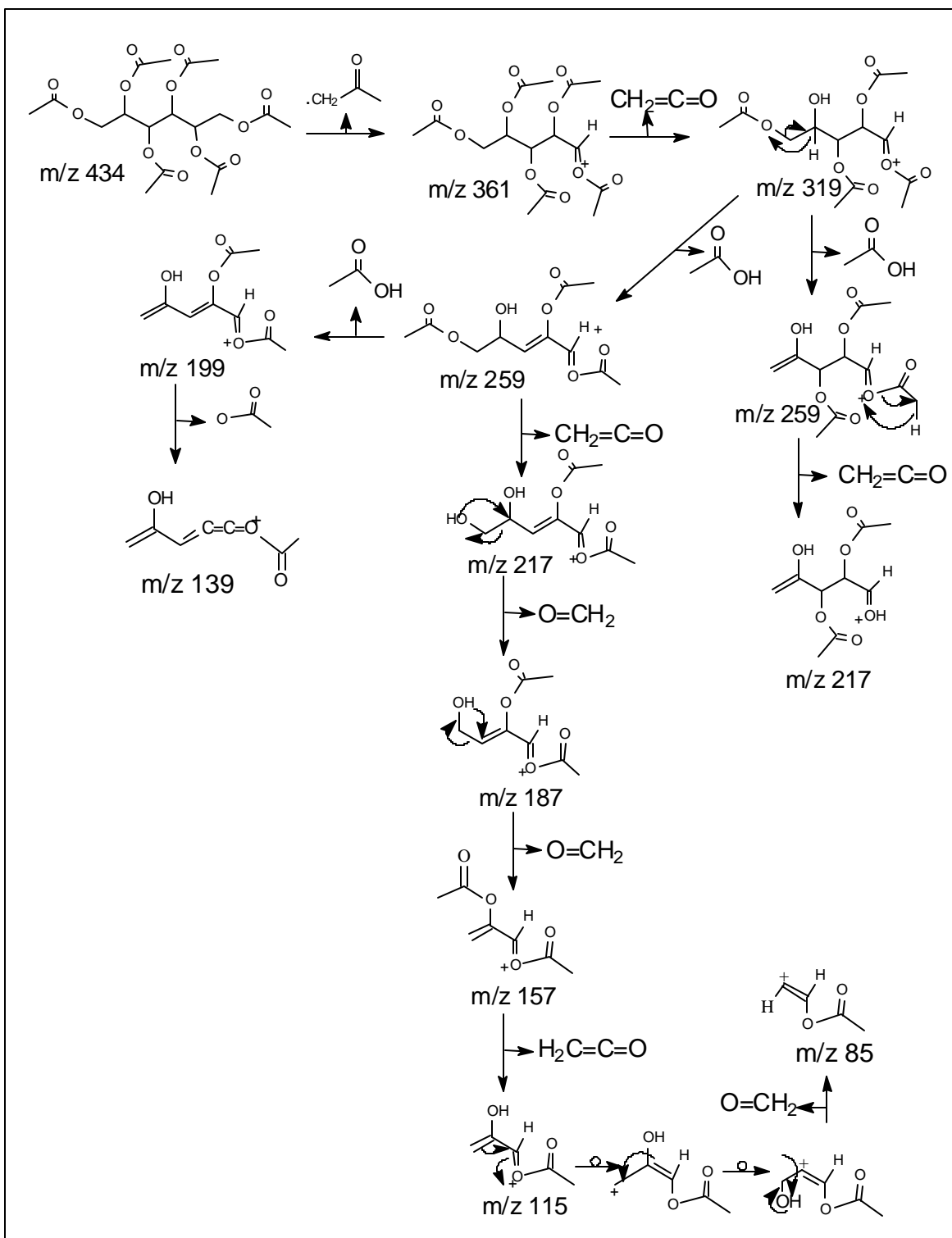
A comparação dos espectros de RMN de ^1H (fig. 42, pág. 75) e ^{13}C (fig. 44, pág. 77) de **6** com espectros de RMN de ^1H e ^{13}C do catálogo da Aldrich (fig. 49, pág. 82) destes açúcares, induziu-nos a propor para **6** a estrutura do iditíol. O iditíol é um composto simétrico, que justifica os três sinais de carbono mostrados no espectro de RMN de ^{13}C -PND e DEPT (Tabela 8).



Quadro 13. Estrutura do Iditíol e do Hexaacetiliditíol

Tabela 8. Dados espectrais de RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) da substância **6a** comparados com valores citados na literatura (Breitmeier, 1987).

6a			
C	δ_C :	δ_H :	^1H - ^1H
1	62,3	4,25 e 4,17- 4,09 e 4,07	2/5
2	68,6	5,08-5,05	1/6-3/4
3	68,2	5,45 e 5,41	2/5
4	68,2	5,45 e 5,41	2/5
5	68,6	5,08-5,05	1/6-3/4
6	62,3	4,25 e 4,17- 4,09 e 4,07	2/5
CH_3	20,5	2,09-1,97	
C=O	170,6-170,1	-	



Esquema 5. Proposta de fragmentação da substância 6a.

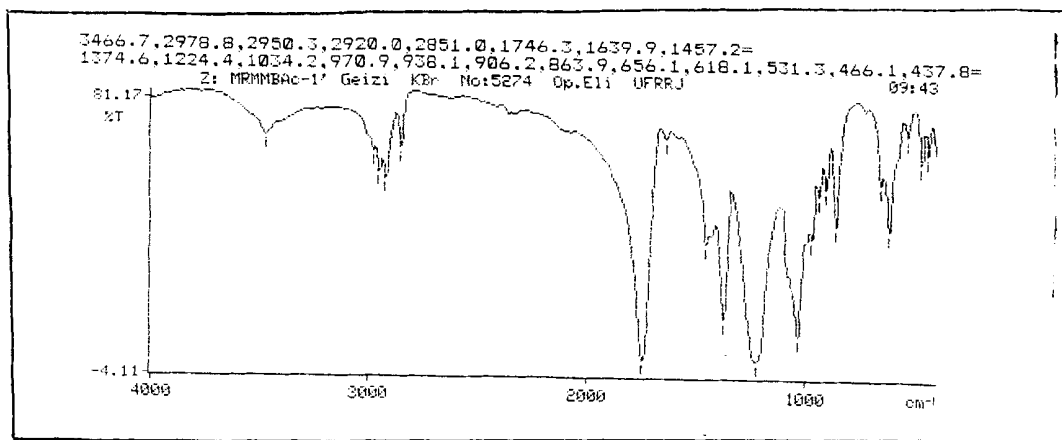


Figura 41. Espectro de IV de 6

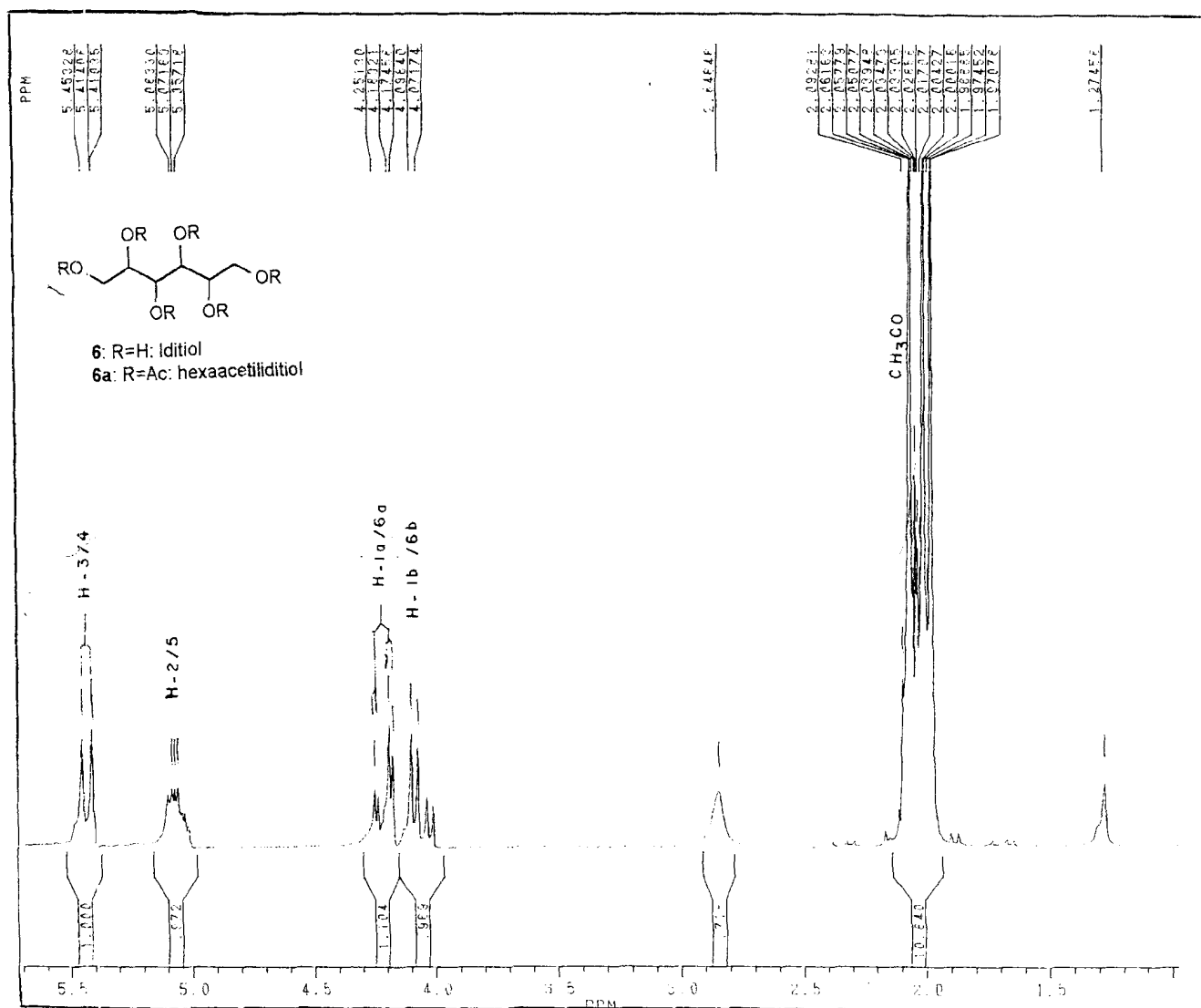


Figura 42. Espectro de RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) de 6.

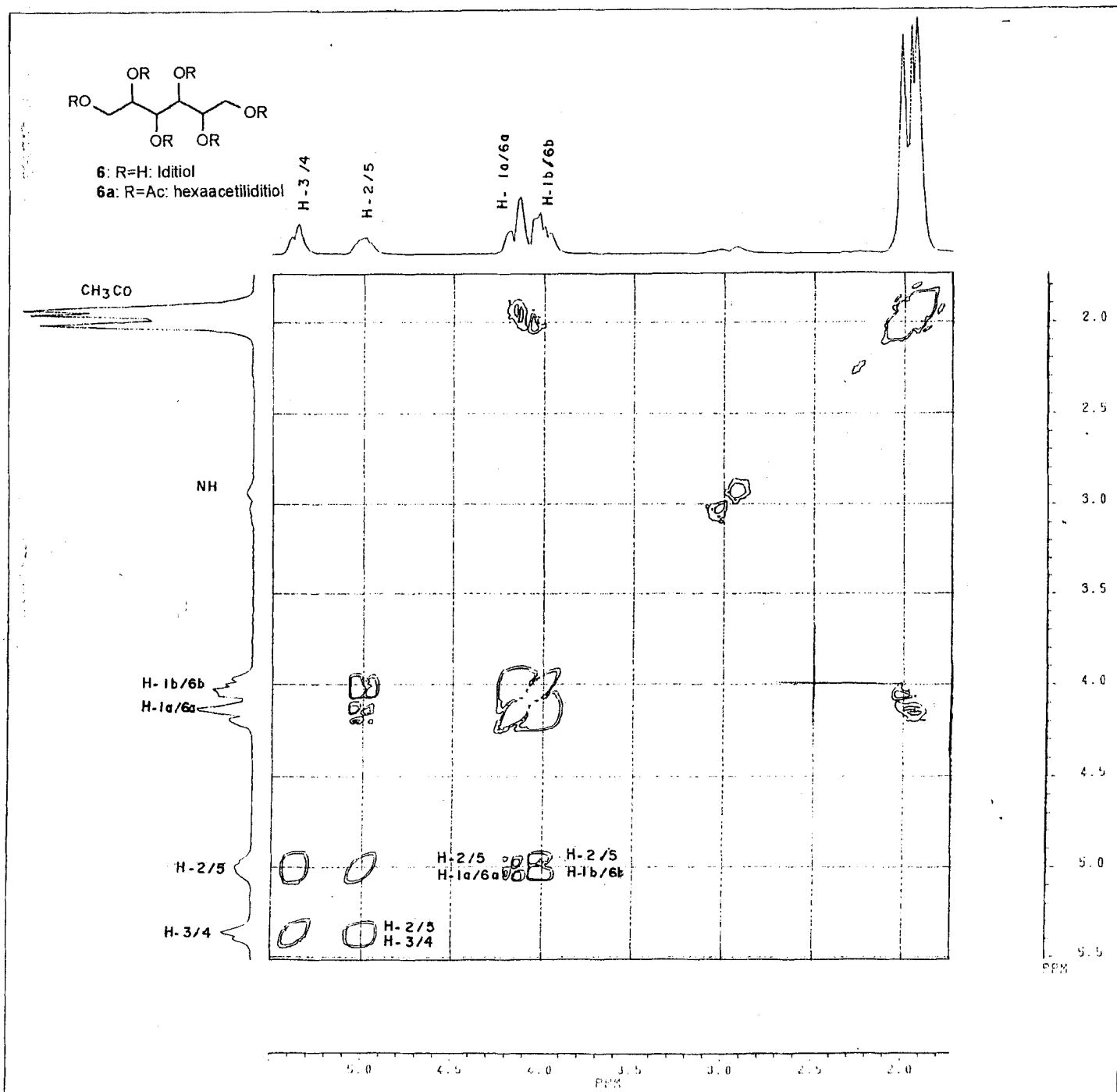


Figura 43. Espectro de RMN – 2D ^1H - ^1H – COSY (200 MHz, CDCl_3) de **6**

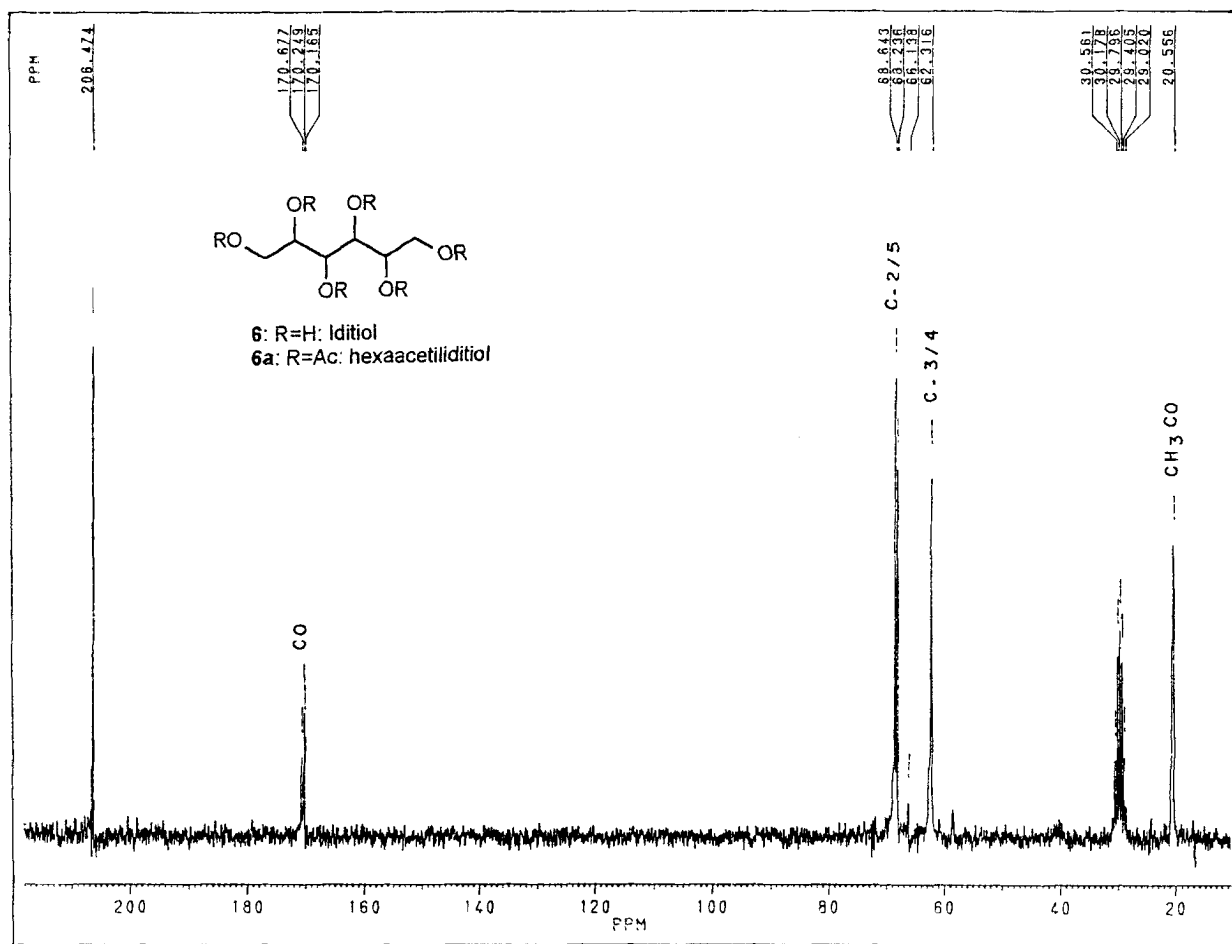


Figura 44. Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de **6**

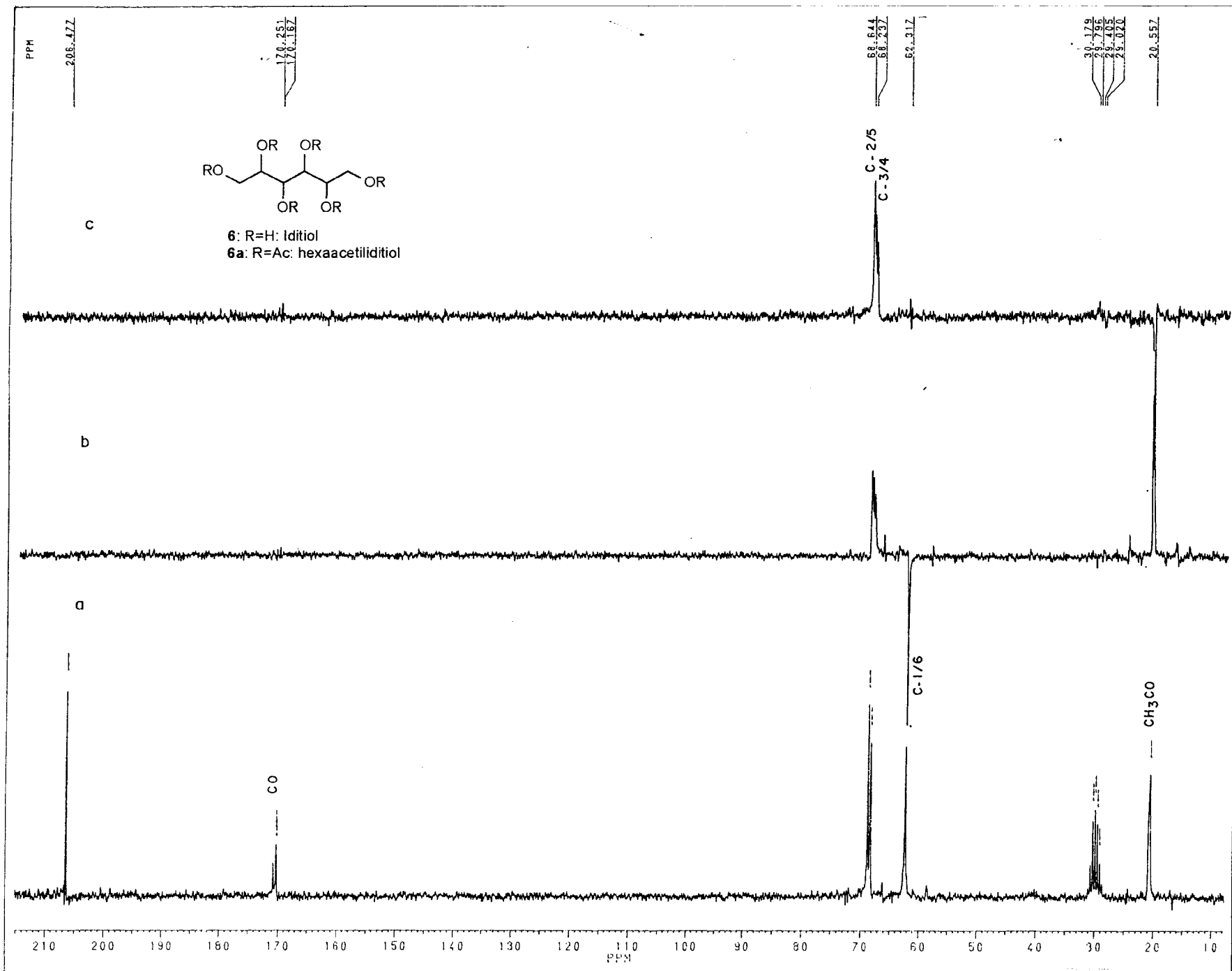


Figura 45. Espectro de RMN ^{13}C -PND (a) e DEPT [$\theta=135^\circ$ (b) e $\theta=90^\circ$ (c)] (50 MHz, CDCl_3) de **6**

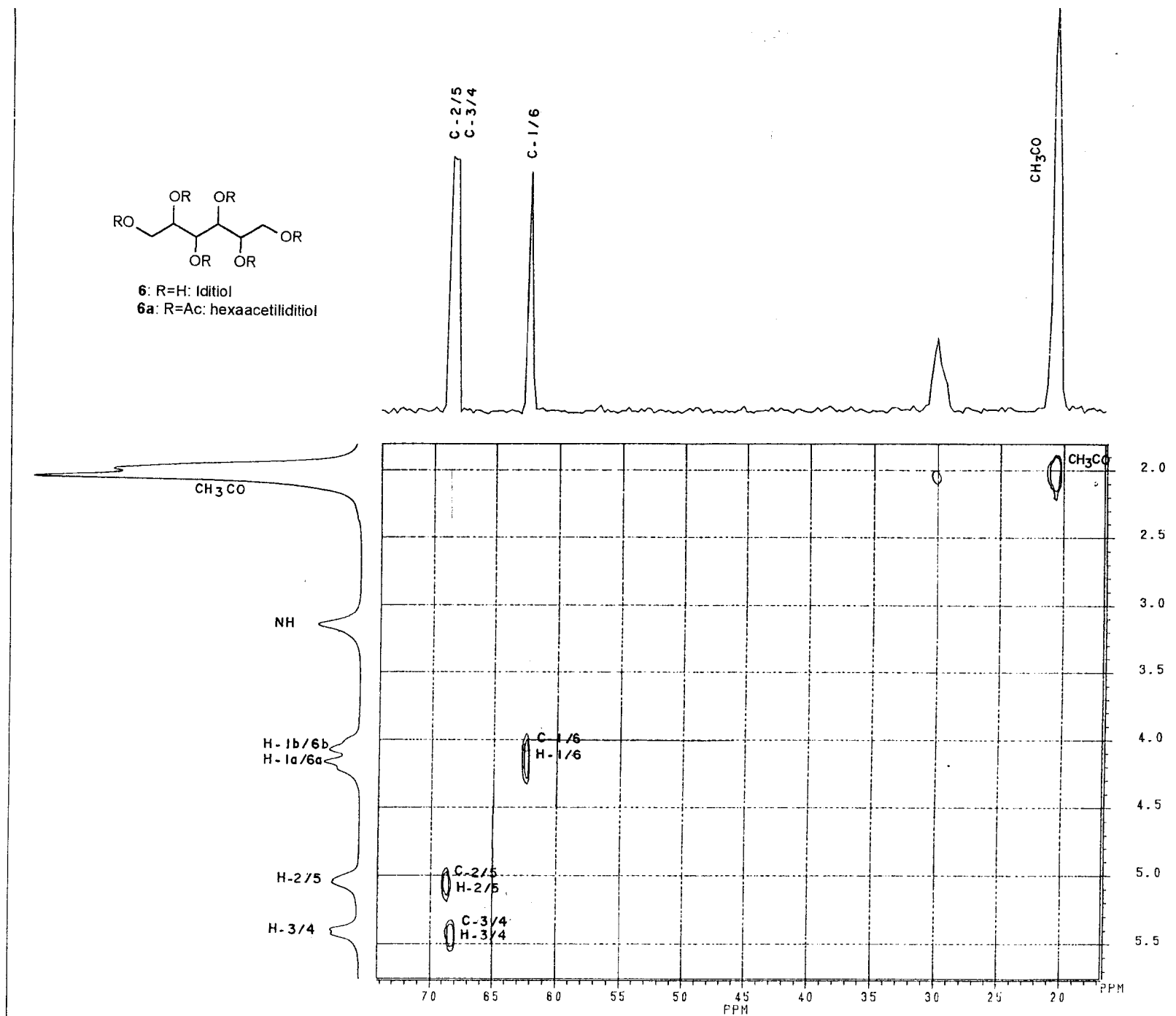


Figura 46. Espectro de RMN – 2D ¹H-¹³C – COSY (50, 200 MHz, CDCl₃) de **6**

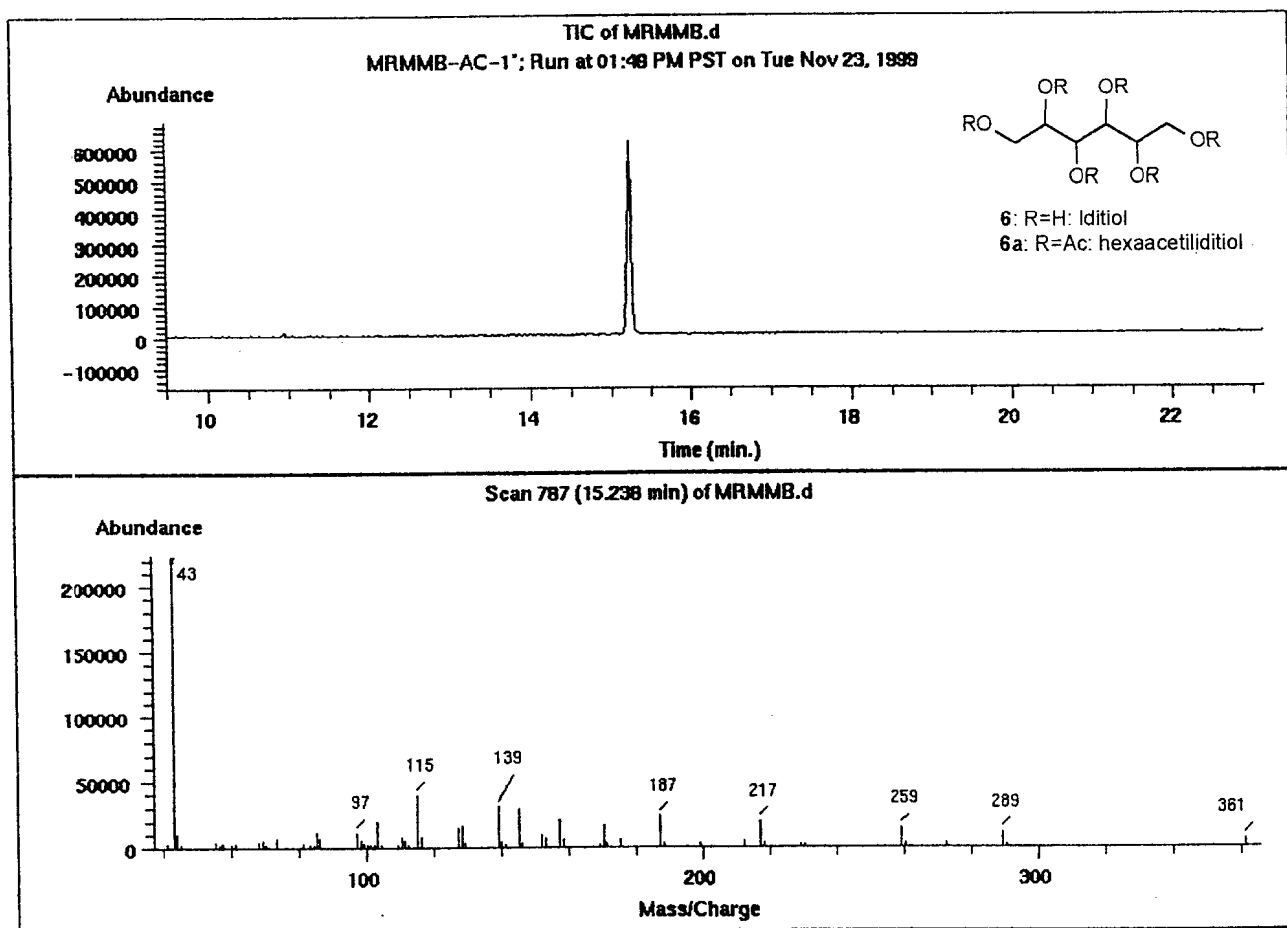


Figura 47. Espectro de massas de 6

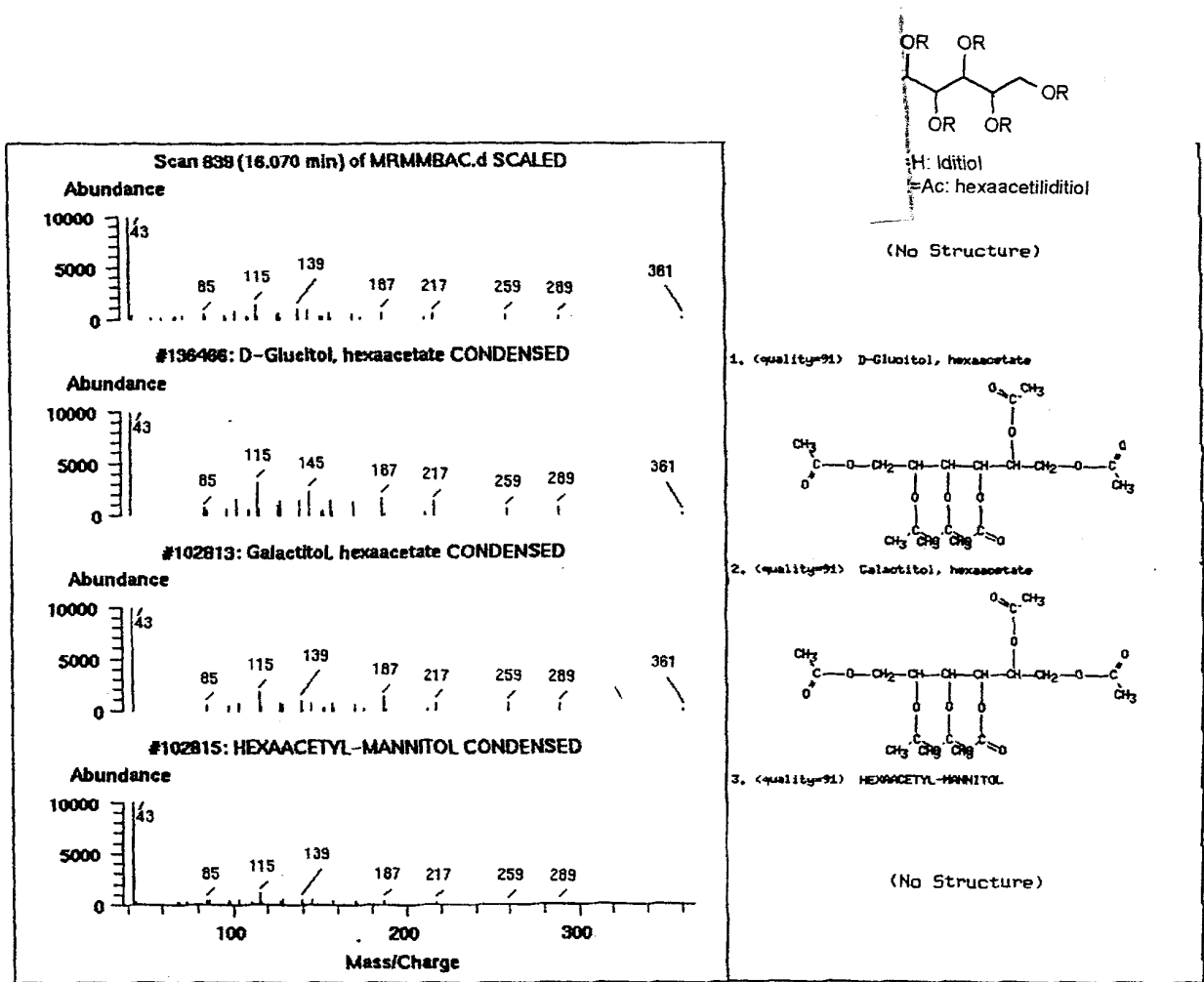


Figura 48. Espectro de massas de 6, comparado com espectros da biblioteca do aparelho

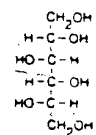
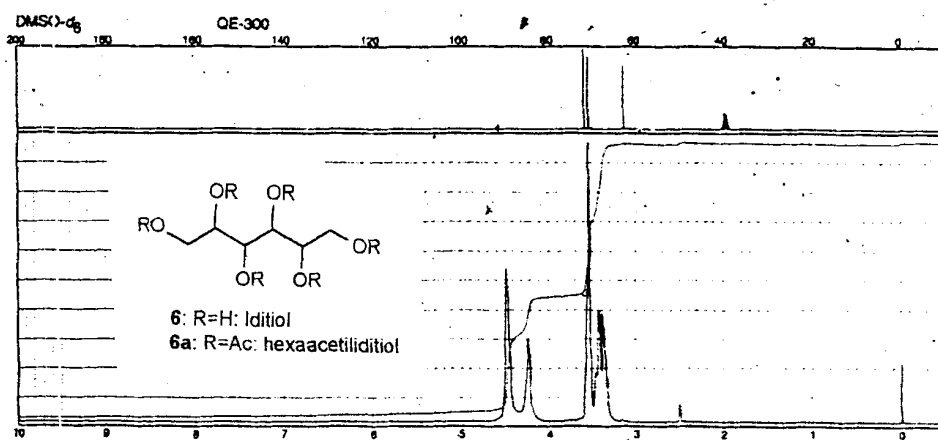
Non-Aromatic Alcohols

Aldrich 30,227-9
L-Iditol, 99%

CAS [488-45-9]

$C_6H_{14}O_6$
FW 182.17
mp 79°C

71.82°
70.85°
62.68°



A

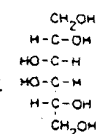
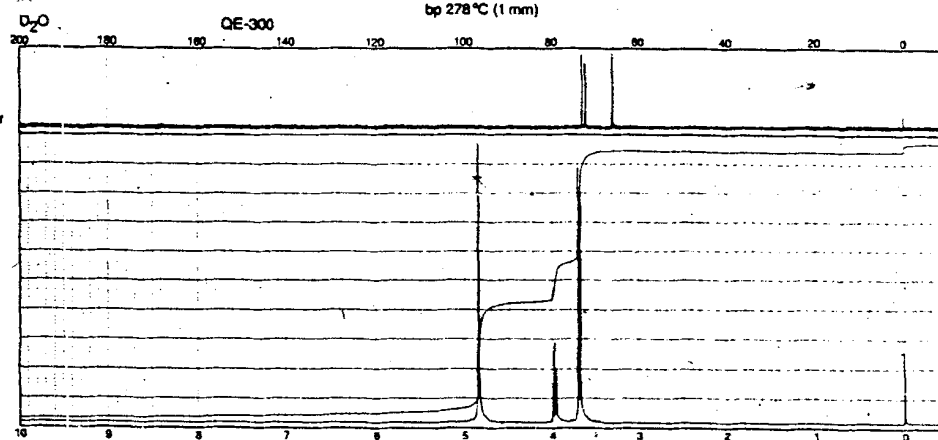
Aldrich D22,315-8
Dulcitol, 97%

CAS [608-66-2]

$C_6H_{14}O_6$
FW 182.17
mp 190°C
bp 278°C (1 mm)

60 MHz: 2,902D
FT-IR: 7,186D

72.88°
72.17°
66.06°



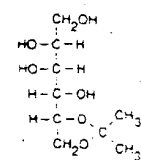
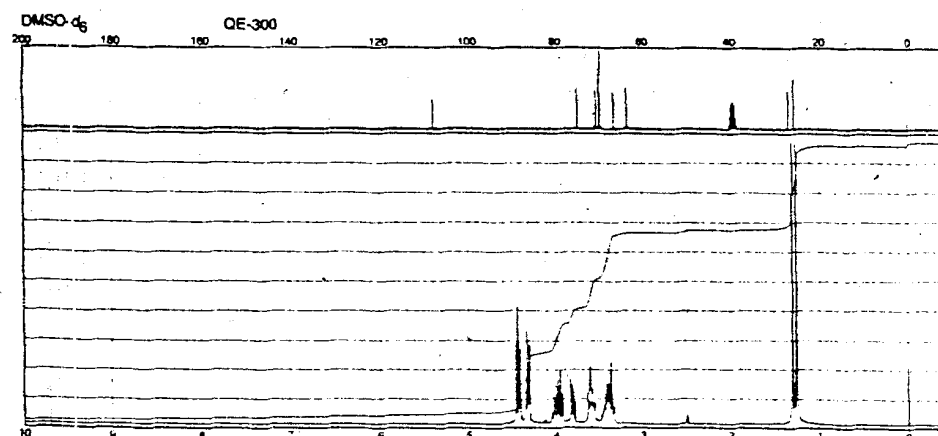
B

Aldrich 37,467-9
1,2-O-isopropylidene-D-mannitol, 97%

CAS [4306-35-8]

$C_9H_{18}O_5$
FW 222.24
mp 160°C

107.82 86.70
74.98° 63.58°
70.74° 28.31°
66.94° 25.42°



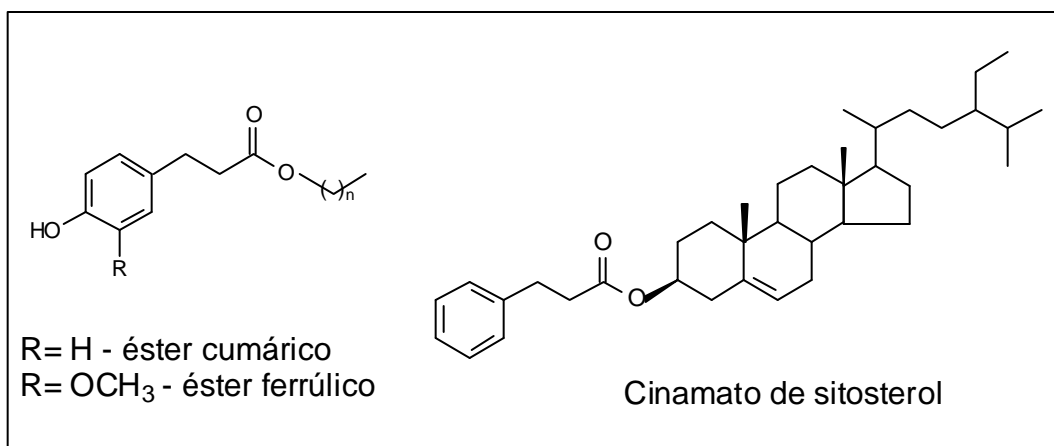
C



Figura 49. Espectros de RMN ¹H do catálogo da Aldrich

1.8. ÉSTERES AROMÁTICOS

Levando em consideração que a espécie *Lafoensia glyptocarpa* elabora ésteres derivados do ácido cinâmico, como por exemplo os éteres cumárico e ferrúlico e cumarato de sitosterol, isolados anteriormente do extrato apolar da espécie, e que a literatura (Nair et al., 1988) cita estes ésteres como inibidores químicos de sementes, procurou-se continuar os estudos com estes ésteres, obtidos através da síntese, para posteriormente fazer avaliação de suas atividades. Estes constituintes constam da dissertação de Mestrado de Carvalho, 1994.



Quadro 14. Estrutura dos derivados do ácido cinâmico

Para dar continuidade a este estudo foram sintetizados análogos destes ésteres naturais, tendo como ácidos precursores das sínteses, o ácido cinâmico, ácido *p*-cumárico, ácido ferrúlico, ácido-(3,4-metilenodioxo)-fenil-acrílico, ácido-(3,4-metilenodioxo)-fenil-propiónico e ácido 3-(3,4-metilenodioxo-6-nitro)-fenil-propiónico. Os álcoois foram escolhidos de acordo com a disponibilidade de material, deste modo foram usados os álcoois, láurico (dodecanol) e o cetílico (hexadecanol).

Também foi sintetizado um éster usando o ácido ferrúlico e como álcool o produto natural sitosterol.

As sínteses foram realizadas através da preparação do cloreto de ácido (um intermediário) para a formação dos ésteres.

O cloreto de tionila (SOCl_2) é usualmente o reagente de escolha para a síntese de cloretos de acila. Apresenta a grande vantagem de formar subproduto gasoso (SO_2) que não contamina o produto.

O SOCl_2 utilizado na preparação do cloreto, foi destilado a fim de eliminar o conteúdo de HCl presente no mesmo. Desta forma este método é bastante eficaz, possibilitando a conversão quase que total do ácido à cloreto de ácido.

Todas as sínteses de ésteres passaram pelo cloreto de ácido uma descrição geral do método de formação destes produtos é mostrado a seguir (Esquemas 6 e 7), bem como uma tabela mostrando a quantificação individual de cada um dos ésteres (Tabela 9).

1.8.1. PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

1.8.1.1. OBTENÇÃO DO CLORETO DE ÁCIDO:

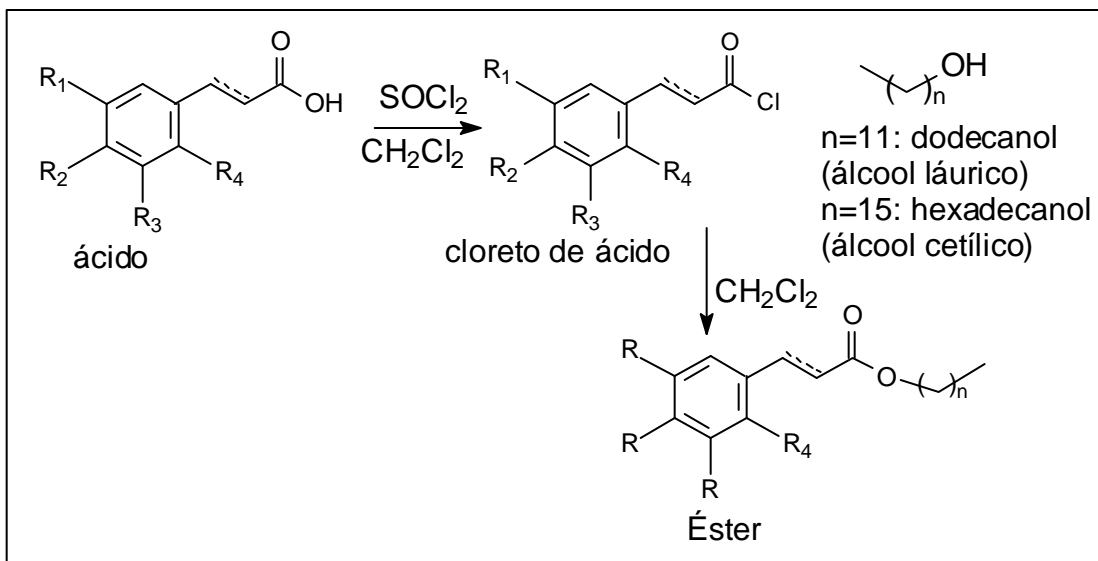
Em balão de 50 mL foram colocados o ácido, diclorometano (CH_2Cl_2) seco e cloreto de tionila. A mistura reacional foi deixada sob agitação à temperatura ambiente por 2-3 horas, em atmosfera inerte de nitrogênio, até que não fosse mais observada a presença do ácido por Cromatografia de Camada Delgada (CCD) (foi feito acompanhamento indireto da formação do cloreto de ácido que consiste na verificação da formação do éster metílico, menos polar que o ácido, por CCD).

Verificada a formação do cloreto de ácido, evaporou-se o SOCl_2 em excesso e o solvente (Vide esquema abaixo).

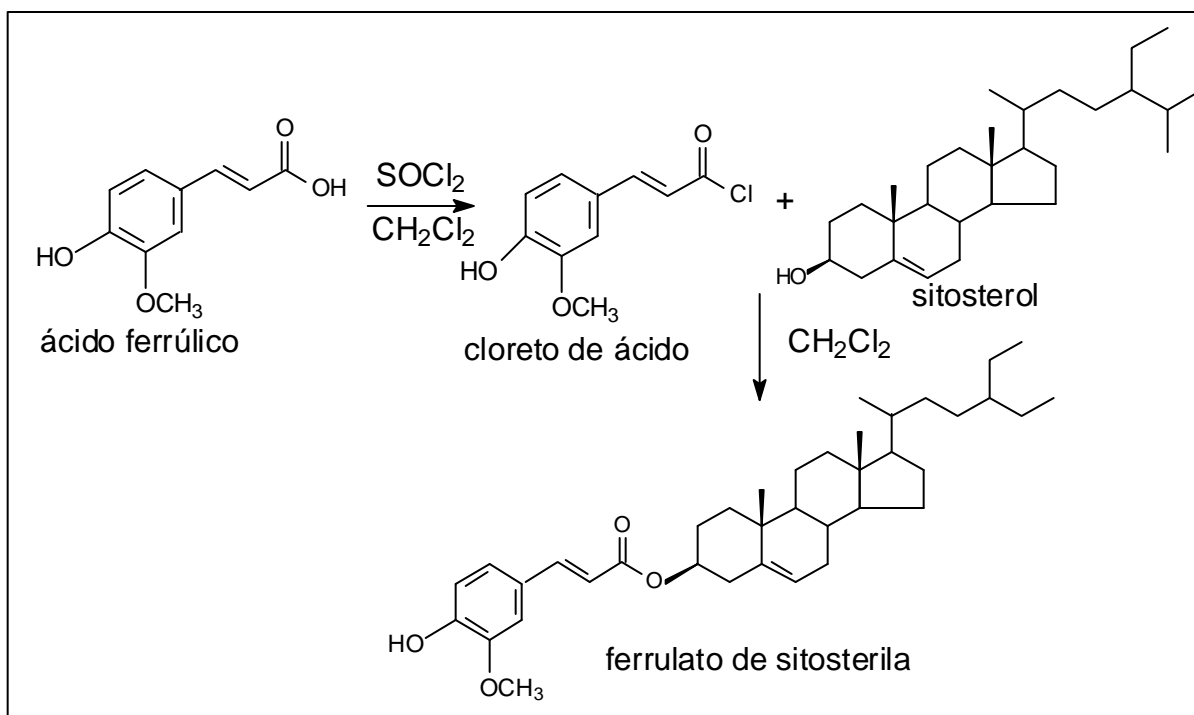
1.8.1.2. OBTENÇÃO DOS ÉSTERES

Após formado o cloreto de ácido, adicionou-se CH_2Cl_2 e o álcool no balão (50 mL) que foi mantido em atmosfera inerte de nitrogênio sob agitação por 24 horas. (Berardi et al., 1998). Após decorrido as 24 horas, evaporou-se o excesso de solvente, em rotavapor e purificou-se a amostra através de coluna cromatográfica de sílicagel (Vide esquema abaixo).

1.8.1.3. Esquema geral de obtenção dos ésteres.



Esquema 6. Obtenção dos ésteres sintéticos.



Quadro 7. Obtenção do éster a partir do produto natural sitoasterol.

Tabela 9. Detalhamento das quantidades de reagentes e produtos.

R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	Ácido	Álcool	Estr.	Éster
H	H	H	H	Cinâmico* [200mg (0,0013mmol)]	Dodecanol {0,3mL (0,001mmol)}	I	Cinamato de dodecila* [1,5mL (29,5%)]
H	H	H	H	Cinâmico* [260mg (0,0017mmol)]	Hexadecanol [441mg (0,0017mmol)]	II	Cinamato de hexadecila* [318mg (50,3%)]
H	OH	OCH ₃	H	Ferrúlico* {200mg (0,001mmol)}	Dodecanol [2,2mL (0,0017mmol)]	III	Ferrulato de dodecila* [0,mL (10,1%)]
H	OH	OCH ₃	H	Ferrúlico* [200mg (0,001mmol)]	Hexadecanol [240mg (0,001mmol)]	IV	Ferrulato de hexadecila* [325mg (77,0%)]
R ₁ =R ₂ =CH ₂ O		H	H	(3,4- metilenodioxi)- fenil-acrílico* [70mg (0,0036mmol)]	Hexadecanol [87mg (0,0036mmol)]	V	(3,4- metilenodioxi)- fenil-acrílate de hexadecila* [93mg (61,1%)]
R ₁ =R ₂ =CH ₂ O		H	H	(3,4- metilenodioxi)- fenil- propiónico** [100mg (0,0005mmol)]	Hexadecanol [125mg (0,0005mmol)]	VI	(3,4- metilenodioxi)- fenil-propionato de hexadecila** [108mg (50,7%)]
R ₁ =R ₂ =CH ₂ O		H	NO ₂	3-(3,4- metilenodioxi- nitro)-fenil- propiónico**	Hexadecanol [101mg (0,0004mmol)]	VII	3-(3,4- metilenodioxi- nitro)-fenil- propionato de hexadecila** [140mg (72,2mmol)]
H	OH	OCH ₃	H	Ferrúlico* [200mg (0,00048mmol)]	Sitosterol [200mg (0,00048mmol)]	VIII	Ferrulato de sitosterila* [235mg (55,2mmol)]

* Δ^{7,8} e Δ^{7',8'}

** Δ diidro

1.9. IDENTIFICAÇÃO ESTRUTURAL DAS SUBSTÂNCIAS SINTETIZADAS

1.9.1. CINAMATO DE DODECILA (I) E CINAMATO DE HEXADECILA (II)

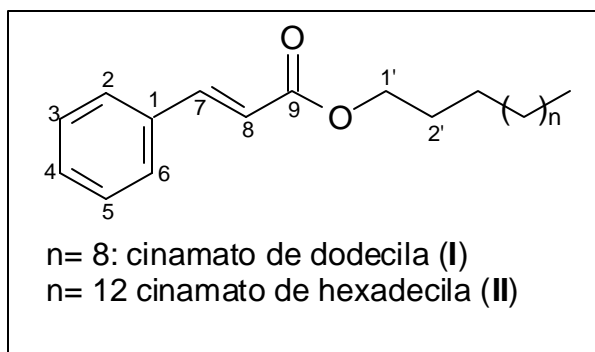
Os sinais em 2.855 cm^{-1} (I) e 2.850 cm^{-1} (II), deformação axial de CH de alifáticos, 1.715 cm^{-1} (I) e 1.712 cm^{-1} (II), deformação axial de C=O de ésteres e 1.462 cm^{-1} (I) e 1.472 cm^{-1} (II), vibrações do núcleo aromático, mostrados no espectro obtido no IV de I (fig. 50, pág. 92) e de II (fig. 55, pág. 96), são característicos de ésteres aromáticos.

A avaliação dos deslocamentos químicos dos hidrogênios de I (fig. 51, pág. 92) e de II (fig. 56, pág. 96), permitiu identificar hidrogênios aromáticos com absorção em δ_{H} : 7,46 [(m) H-2/6] (I), 7,30 [(m) H-3/4/5] (I) e 7,51 [(m) H-2/6] (II), 7,34 [(m) H-3/4/5] (II) e o sistema AB de éster α,β insaturado representada pelos sinais em δ_{H} : 7,67 [(d) H-7, J=16,0 Hz] (I), 7,63 [(d) H-7, J=16,0 Hz] (II), 6,42 [(d) H-8, J=16,0 Hz] (I) e 6,44 [(d) H-8, J=16,0 Hz] (II). As frequências dos hidrogênios justificam o anel aromático conjugado com a enona. O sinal triplo δ_{H} : 4,14 (I) e 4,17 (II) são atribuídos a CH₂ carbinólico vizinho a CH₂ [δ_{H} : 1,60 (I) e 1,65 (II) O-CH₂-CH₂-]. Os demais sinais presentes no espectro δ_{H} : 1,21 (I), 1,24 (II) [(CH₂)_n], 0,85 (I) e 0,85 (II) [CH₂-CH₃] são compatíveis com a cadeia alifática do éster e do álcool como impureza.

O espectro de RMN ¹H-¹H – COSY de I (fig. 52, pág. 93), mostrou sinais de interação entre H-7 (δ_{H} : 7,67) com H-8 (δ_{H} : 6,42) e de H-1' (δ_{H} : 4,14) com H-2' (δ_{H} : 1,60).

O espectro de RMN ¹³C de I (fig. 53, pág. 94) e de II (fig. 57 e 58, pág. 97 e 98), mostraram sinais que comparados com a literatura (Comte et al., 1996) (Tabelas 12 e 13) confirmam a estrutura dos ésteres.

O espectro de massas de I (fig. 54, pág. 95) e de II (fig. 59, pág. 99) mostraram os íons moleculares: m/z (20%) que corresponde a fórmula molecular da substância cinamato de dodecila (I) C₂₁H₃₂O₂ e cinamato de hexadecila (II) C₂₅H₄₀O₂, os demais sinais são compatíveis com as fragmentações das moléculas (Esquema 8, pág. 90 de I e Esquema 9, pág. 91 de II).



Quadro 15. Estrutura dos ésteres sintéticos I e II.

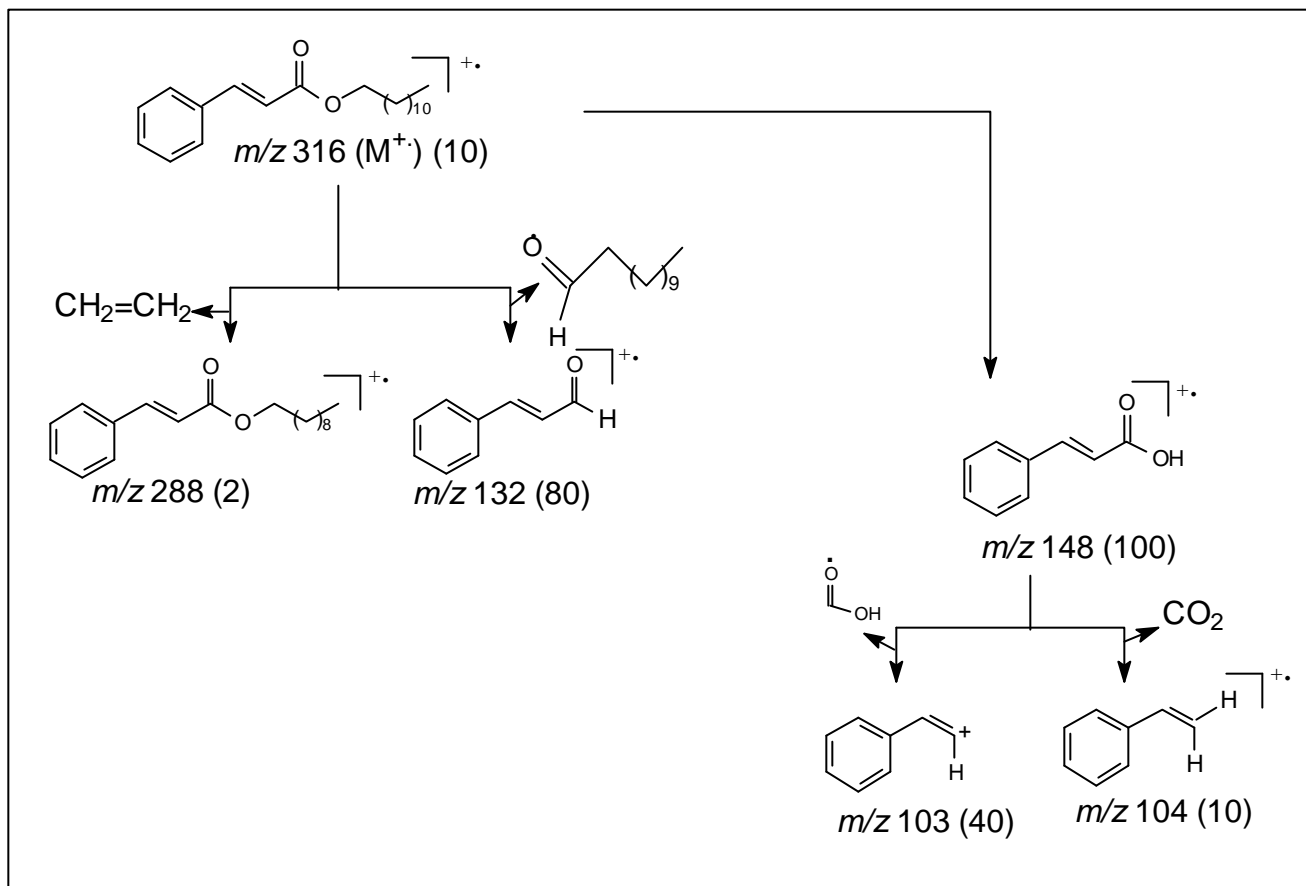
A numeração adotada foi para facilitar a comparação dos dados de deslocamentos químicos entre todos os compostos sintetizados.

Tabela 10. Dados de RMN ^1H , RMN ^{13}C e ^1H - ^1H -COSY do produto I, comparados com valores citados na literatura [Comte et al., 1996 (1) e Carvalho, 1994 (2)]

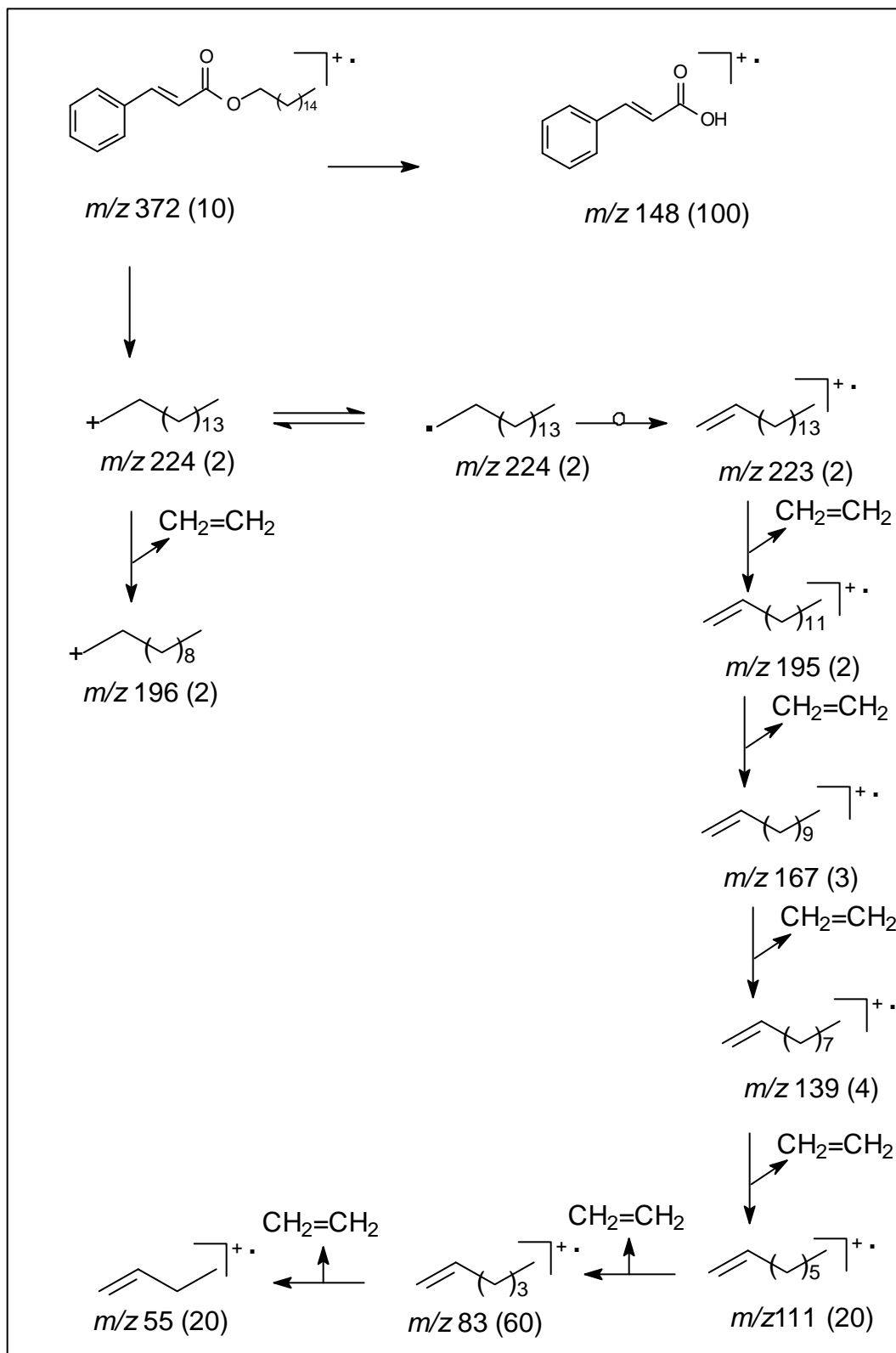
C	δ_{H}	δ_{C}	^1H - ^1H -COSY	δ_{H} (Lit., 2)	δ_{C} (Lit., 1)
1	-	134,0	-	-	138,3
2	7,46	128,5	-	7,42	127,5
3	7,30	129,9	-	6,82	129,6
4	7,30	128,5	-	-	128,7
5	7,30	129,9	-	6,82	129,6
6	7,46	128,5	-	7,42	127,5
7	7,67	127,7	H-8	7,62	133,9
8	6,42	117,7	H-7	6,32	126,6
9	-	166,9	-	-	167,5
1'	4,14	64,5	H-2'	4,18	61,7
2'	1,60	28,5	H-1'	1,63	28,8
3'-10'	1,21	29,3	-	1,26	29,5
11'	1,21	22,4	-	1,27	26,0
12'	0,85	13,8	-	0,87	14,1

Tabela 11. Dados de RMN ^1H , RMN ^{13}C e ^1H - ^1H -COSY do produto **II**, comparados com valores citados na literatura [Comte et al., 1996 (1) e Carvalho, 1994 (2)]

C	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H} (Lit., 2)	δ_{C} (Lit., 1)
1	-	134,3	-	138,3
2	7,51	128,7	7,42	127,5
3	7,34	128,7	6,82	129,6
4	7,34	130,0	-	128,7
5	7,34	128,7	6,82	129,6
6	7,51	128,7	7,42	127,5
7	7,62	144,4	7,62	133,9
8	6,44	127,9	6,32	126,6
9	-	166,9	-	167,5
1'	4,17	64,3	4,18	61,7
2'	1,65	31,8	1,63	28,8
3'-14'	1,24	29,3	1,26	29,5
15'	1,25	25,9	1,27	26,0
16'	0,85	14,0	0,87	14,1



Esquema 8. Proposta de fragmentação da substância I.



Esquema 9. Proposta de fragmentação da substância II.

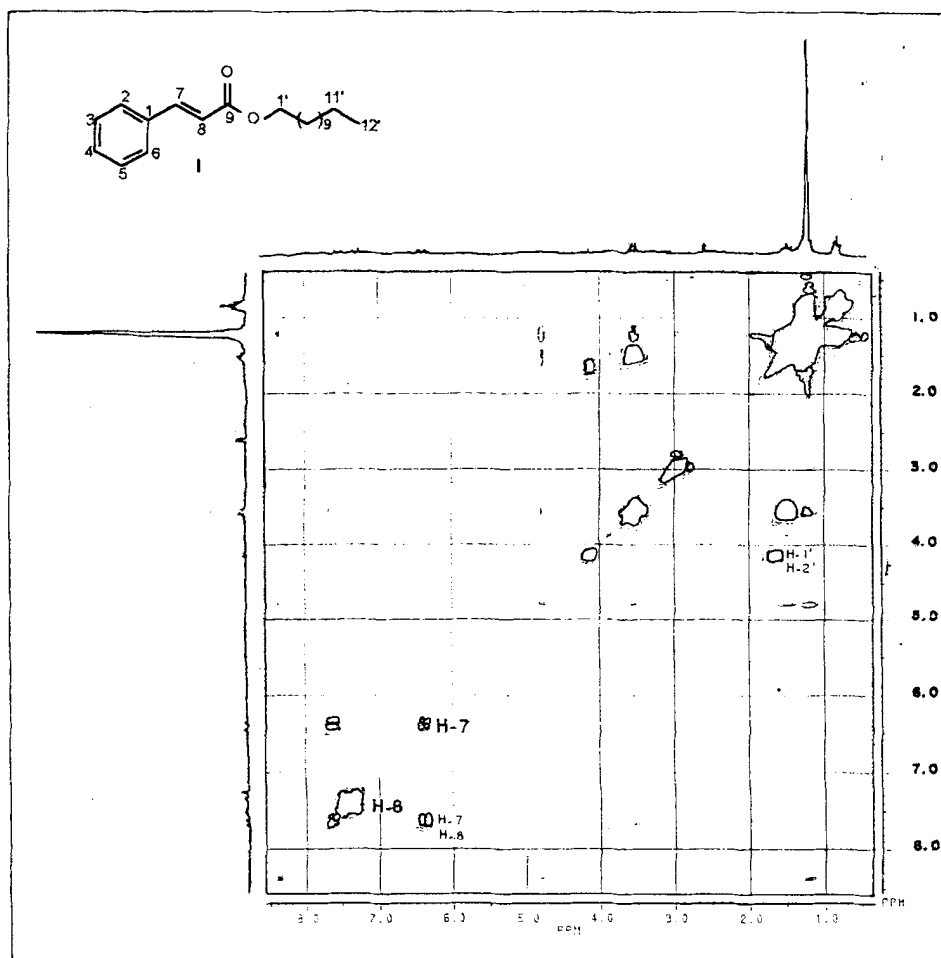


Figura 52. Espectro de RMN – 2D ^1H - ^1H – COSY (200 MHz, CDCl_3) do produto I

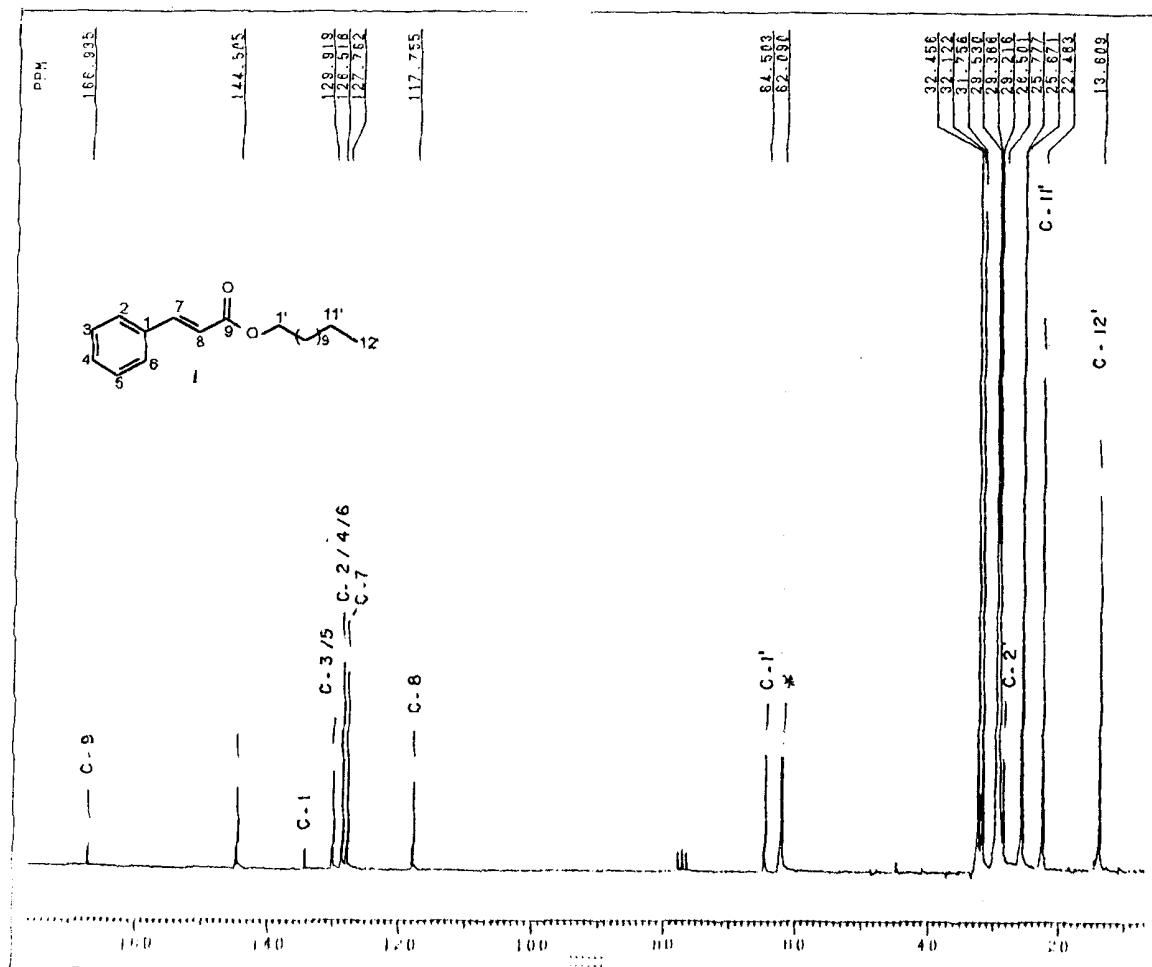


Figura 53. Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) do produto I

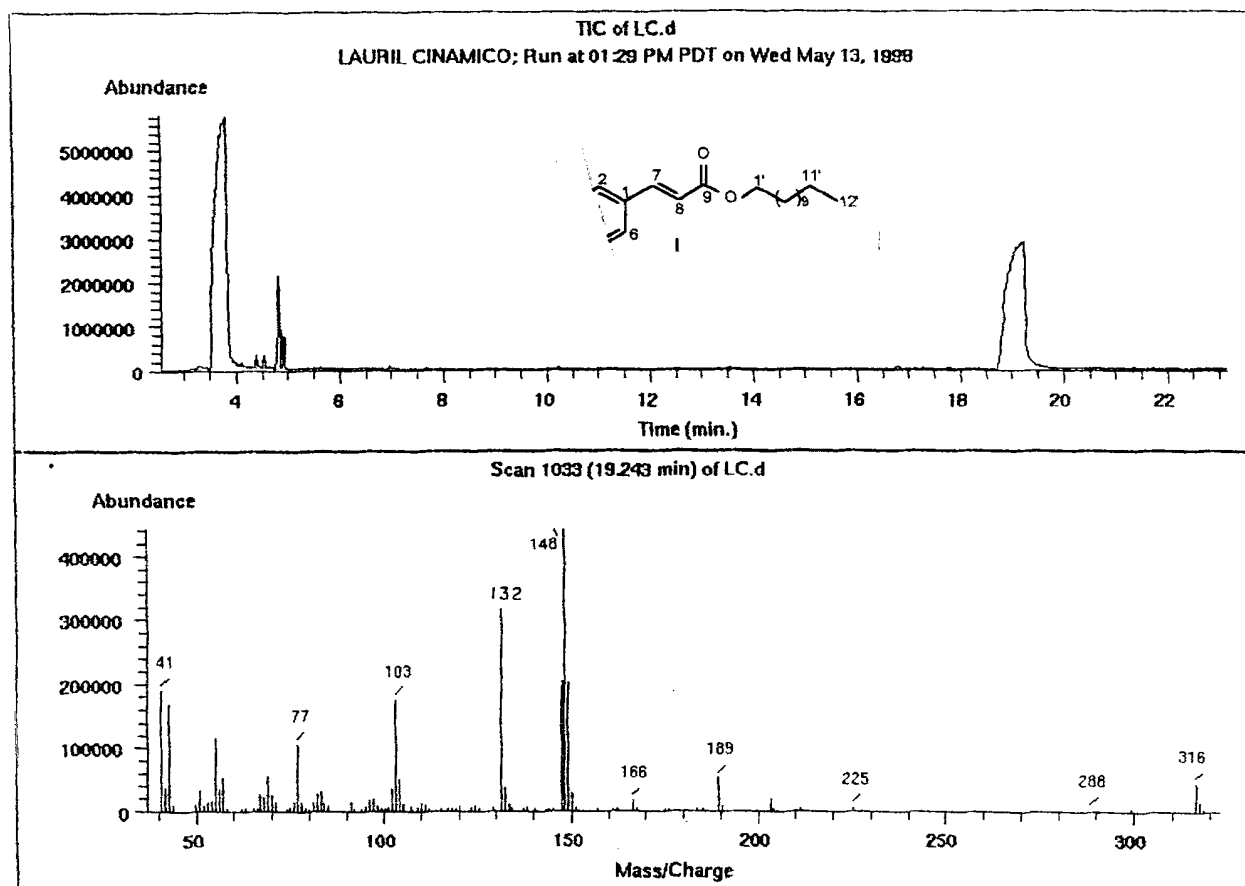


Figura 54. Espectro de massas do produto I

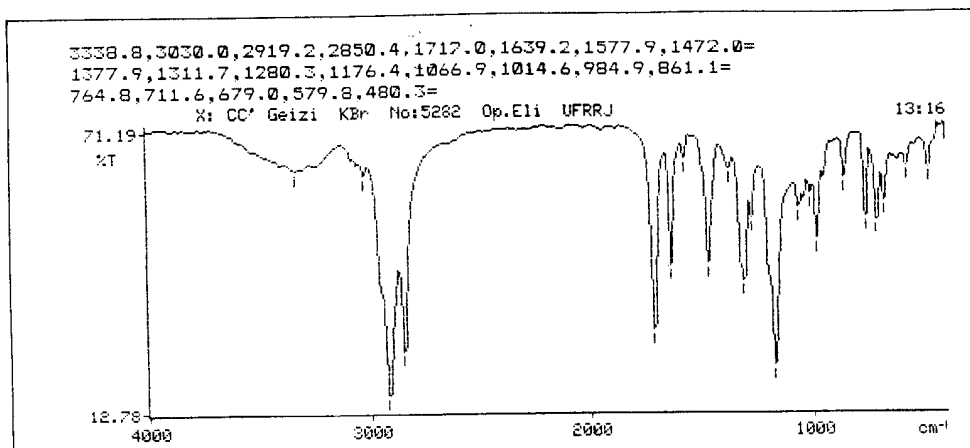


Figura 55. Espectro de IV do produto II

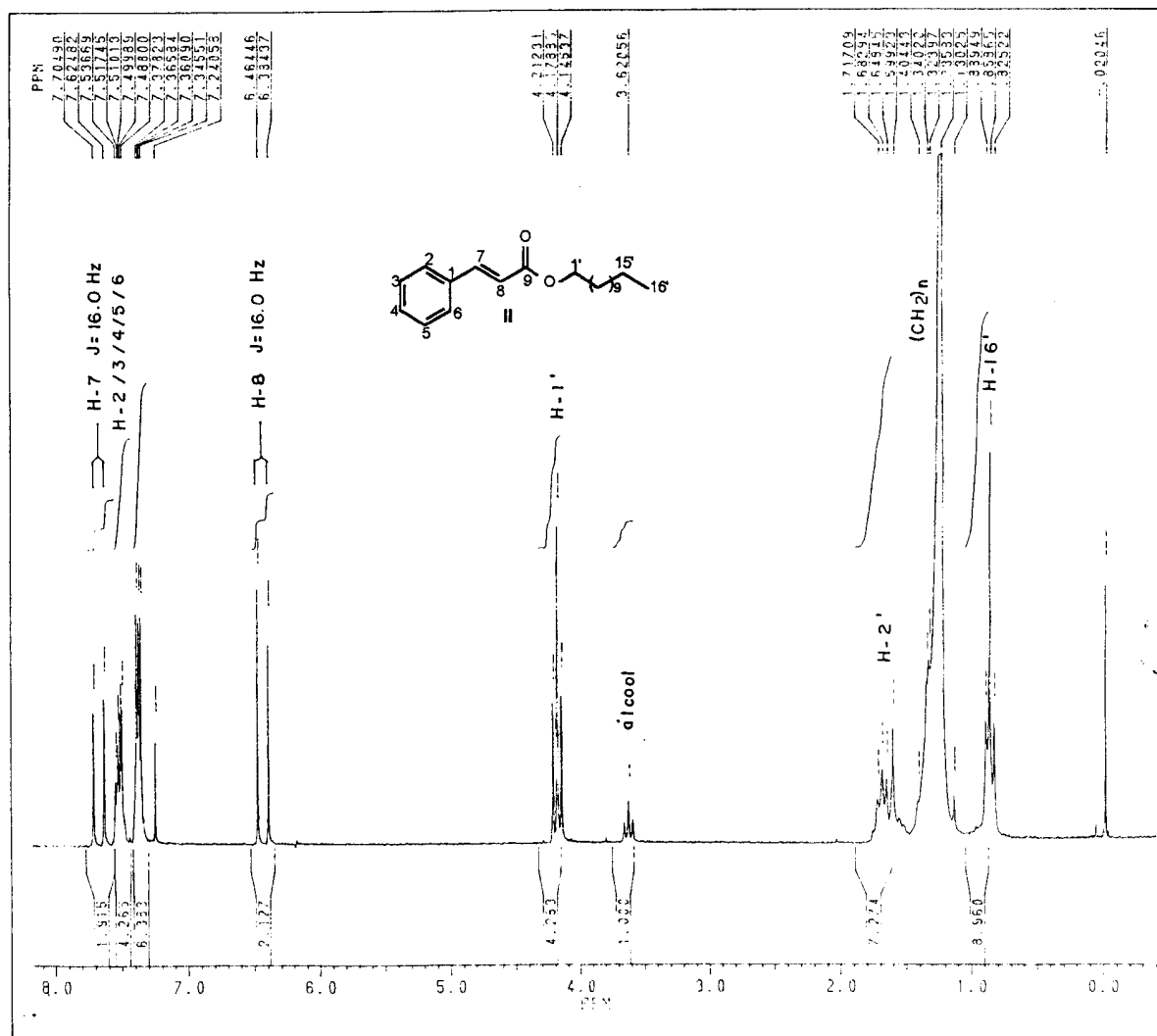


Figura 56. Espectro de RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) do produto II

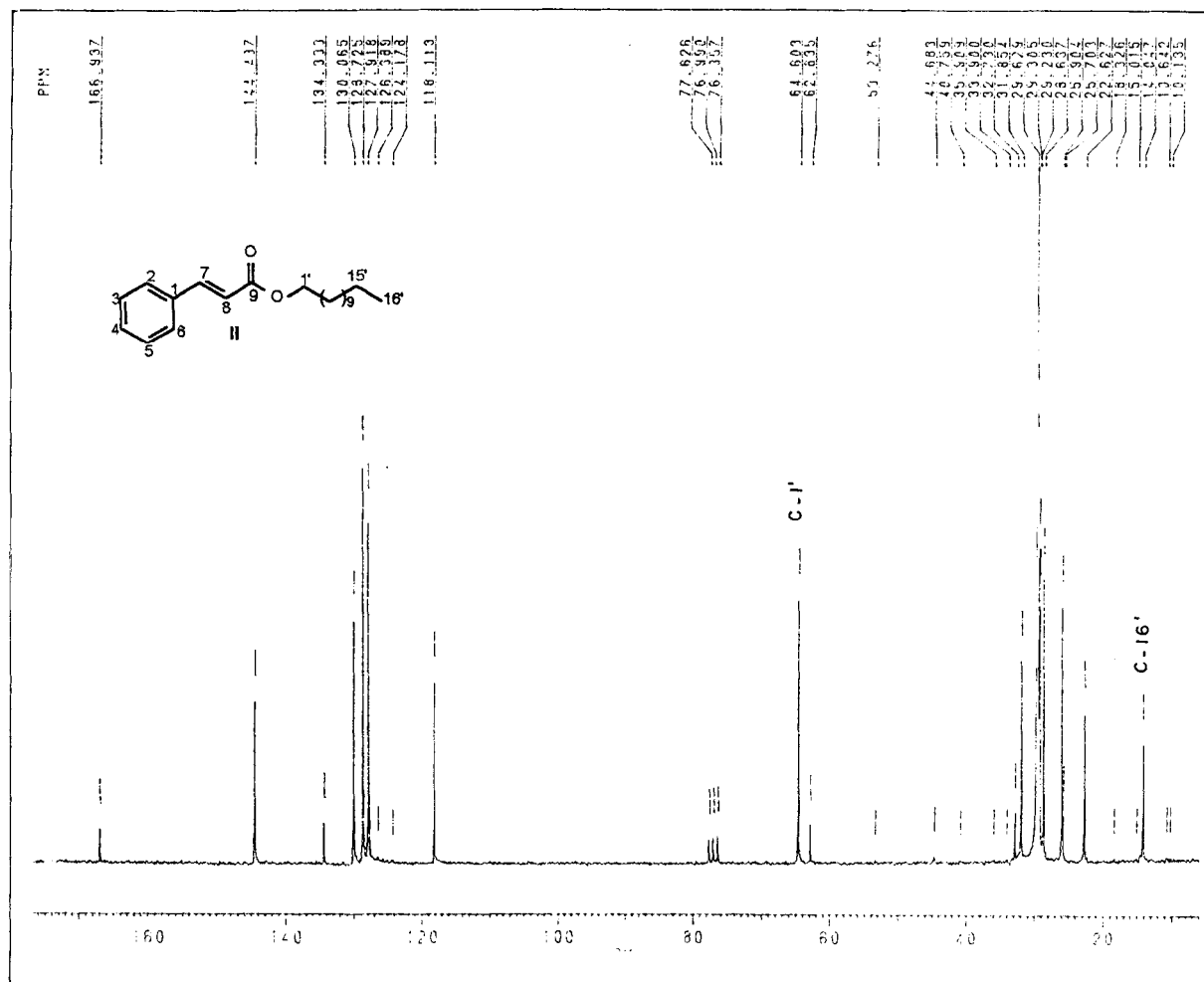


Figura 57. Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) do produto II

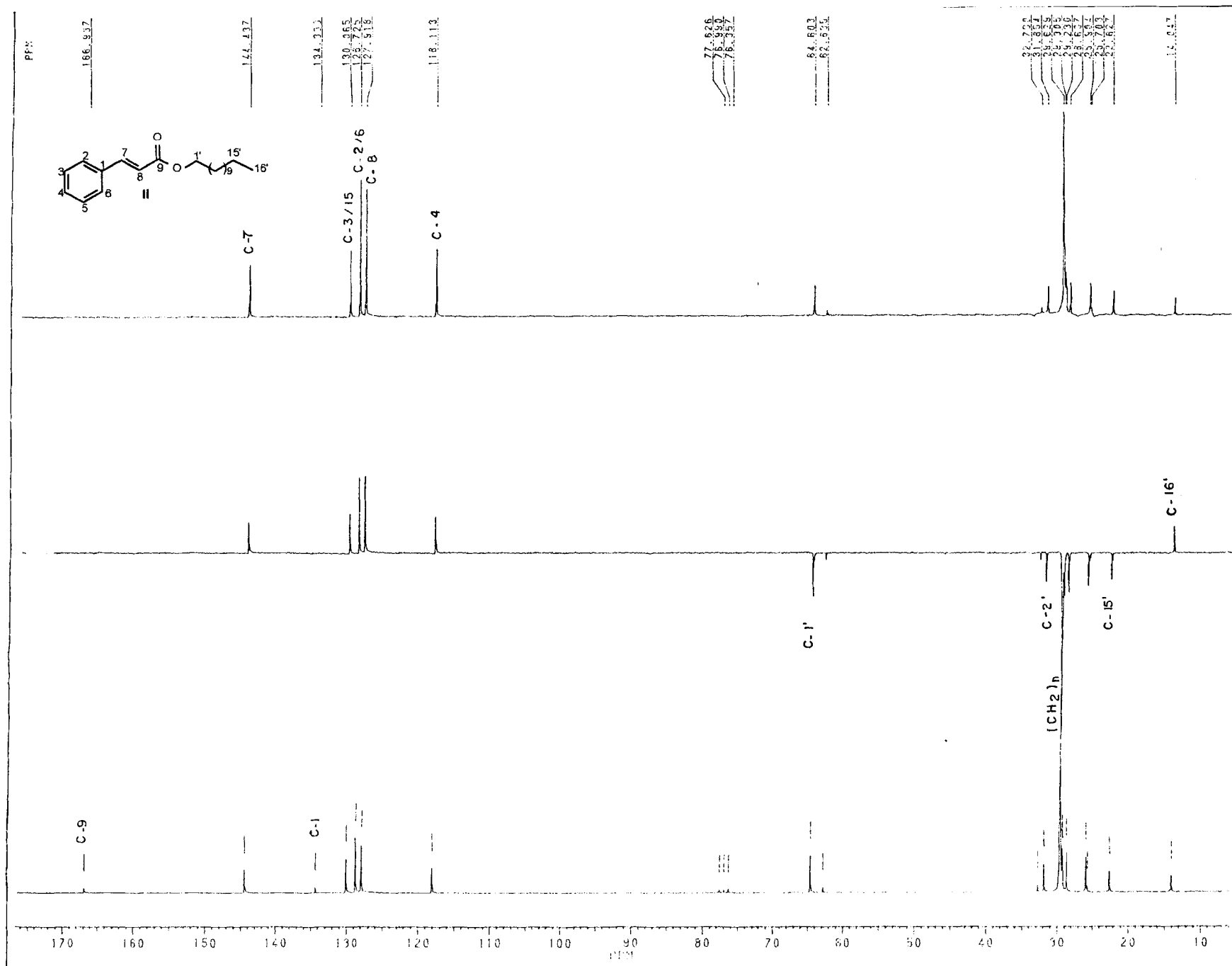


Figura 58. Espectro de RMN ¹³C-PND (a) e DEPT [θ=135° (b) e θ=90° (c)] (50 MHz, CDCl₃) do produto II

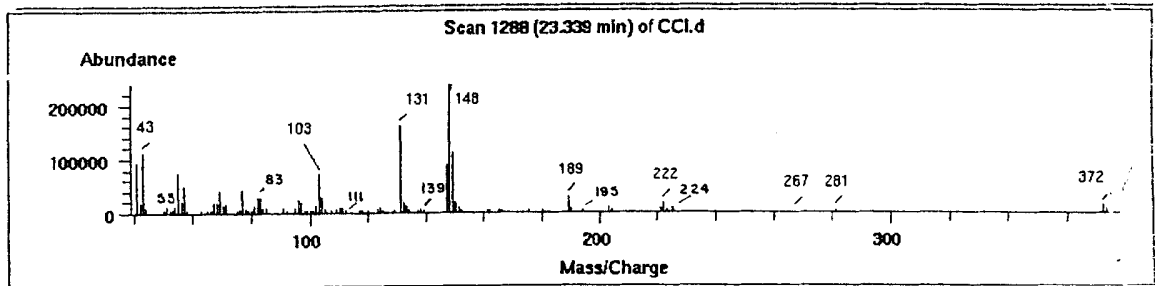
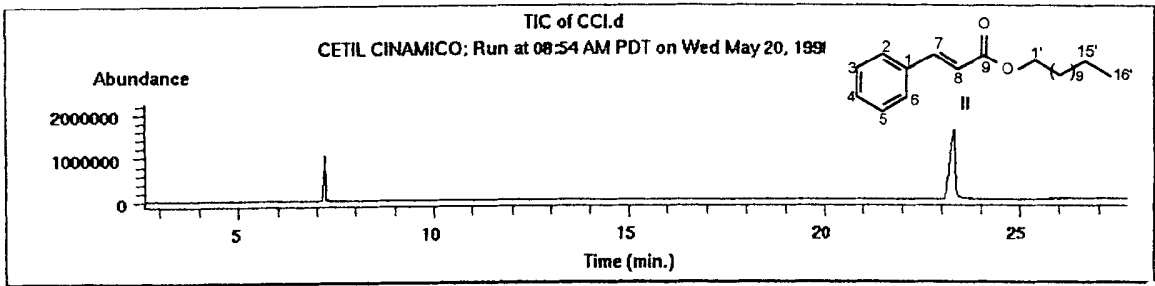


Figura 59. Espectro de massas do produto II

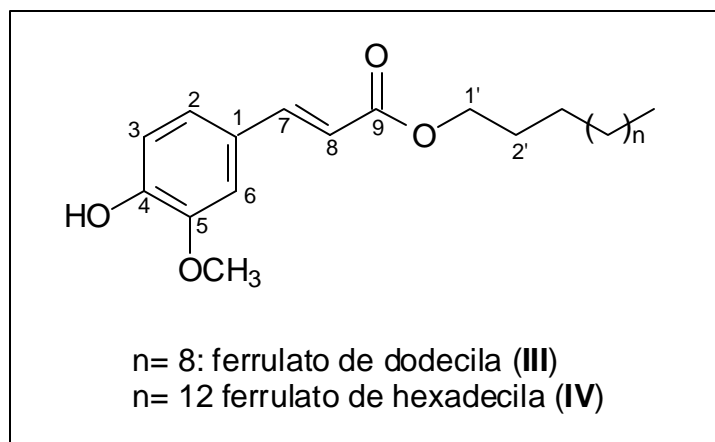
1.9.2. FERRULATO DE DODECILA (III) E FERRULATO DE HEXADECILA (IV)

O espectro obtido no IV de III (fig. 60, pág. 104) e de IV (fig. 65, pág. 108) mostraram sinais compatíveis com a formação dos ésteres: 2.855 cm^{-1} (III) e 2.852 cm^{-1} (IV) atribuídos à deformação axial de CH de alifáticos, 1.711 cm^{-1} (III) e 1.722 cm^{-1} (IV) deformação axial de C=O de ésteres e 1.462 cm^{-1} (III) e 1.465 cm^{-1} (IV) vibrações do núcleo aromático.

Os espectros de RMN ^1H de III (fig. 61, pág. 104) e de IV (fig. 66, pág. 108), permitiu identificar sinais duplos com constante de acoplamento igual a 15,8 Hz (III e IV), com frequência correspondente a éster α,β insaturado [δ_{H} : 7,72 (H-7 de III) e 7,80 (H-7 de IV) e 6,41 (H-8 de III) e 6,42 (H-8 de IV)]. Os sinais em δ_{H} : 7,43 (d, H-2 de III) e 7,14 (d, H-2 de IV), 7,30 (d, H-3, J= 7,0 Hz de III) e 6,65 (d, H-3, J= 7,5 Hz de IV), 7,09 (H-6 de III) e 7,25 (H-6 de IV), são compatíveis com sistema aromático conjugado e sustentando dois oxigrupos. Os sinais em δ_{H} : 3,84 (OCH₃ de III) e 3,42 (OCH₃ de IV) e 5,85 (OH de III) e 5,70 (OH de IV), juntamente com os sinais acima, confirmam a estrutura dos ésteres, que estão de acordo com as interações observadas nos espectros de RMN ^1H - ^1H – COSY de III (fig. 62, pág. 105) e de IV (fig. 67, pág. 109), onde os hidrogênios H-7 (δ_{H} : 7,72 de III e 7,80 de IV) acopla com H-8 (δ_{H} : 6,41 de III e 6,42 de IV) e H-1' (δ_{H} : 4,13 de III e 4,13 de IV) acopla com H-2' (δ_{H} : 1,66 de III e 1,65 de IV). Os demais sinais mostrados nos espectros são atribuídos ao álcool como impureza das amostras.

Os sinais mostrados nos espectros de RMN ^{13}C de III (fig. 63, pág. 106) e de IV (fig. 68, pág. 110): δ_{C} : 56,0 (OCH₃ de III) e 56,3 (OCH₃ de IV), 145,2 (C-7 de III) e 144,6 (C-7 de IV), 115,7 (C-8 de III) e 116,0 (C-8 de IV) e os demais sinais comparados com valores citados na literatura (Fang et al., 1995), permitem confirmar as estruturas dos ésteres.

O espectro de massas de III (fig. 64, pág. 107), mostrou o íon molecular m/z (40%) que corresponde à fórmula molecular C₂₂H₃₄O₂ do éster, Os demais sinais são compatíveis com as fragmentações da molécula.



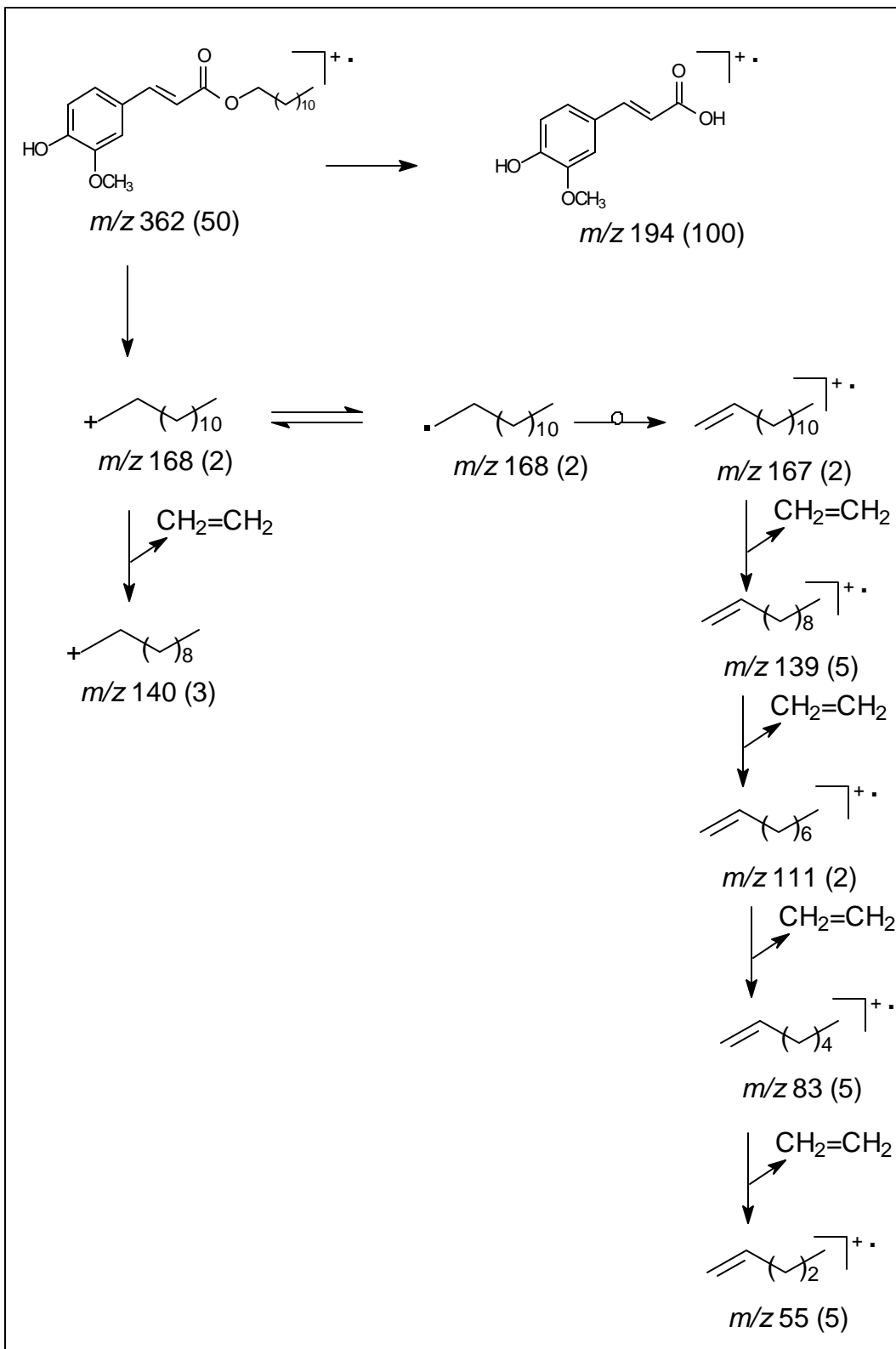
Quadro 16. Estruturas dos ésteres ferrúlicos III e IV.

Tabela 12. Dados de RMN ^1H , RMN ^{13}C e ^1H - ^1H -COSY do produto III, comparados com valores citados na literatura (Govindachari et al., 1971)

C	δ_{H}	δ_{C}	^1H - ^1H -COSY	δ_{H} (Lit.)	δ_{C} (Lit.)
1	-	127,0	-	-	127,4
2	7,60	133,8	-	7,63	129,9
3	7,45	113,9	-	7,43	115,8
4	-	150,3	-	-	157,6
5	-	149,8	-	-	149,0
6	6,31	123,6	-	6,27	129,9
7	7,72	145,2	H-8	7,63	144,2
8	6,41	115,7	H-7	6,27	155,8
9	-	167,2	-	-	167,5
OH	5,85	-	-	5,95	-
OCH ₃	3,84	56,0	-	3,90	-
1'	4,13	64,7	H-2'	4,20	61,7
2'	1,66	28,4	H-1'	1,63	28,8
3'-10'	1,27	29,3	-	1,25	29,3
11'	1,27	26,4	-	1,25	26,0
12'	0,86	14,1	-	0,88	14,1

Tabela 13. Dados de RMN ^1H , RMN ^{13}C e ^1H - ^1H -COSY do produto **IV**, comparados com valores citados na literatura (Govindachari et al., 1971)

C	δ_{H}	δ_{C}	^1H - ^1H -COSY	δ_{H} (Lit.)	δ_{C} (Lit.)
1	-	127,3	-	-	127,4
2	7,49	134,1	-	7,43	129,9
3	7,10	116,0	-	7,03	115,8
4	-	152,8	-	-	157,6
5	-	150,5	-	-	149,0
6	7,25	124,4	-	6,27	129,9
7	7,80	144,6	H-8	7,63	144,2
8	6,42	116,0	H-9	6,27	155,8
9	-	167,0	-	-	167,5
OH	-	56,3	-	5,95	-
OCH ₃	3,42	56,3	-	3,90	-
1'	4,13	64,7	H-2'	4,20	61,7
2'	1,65	30,9	H1'	1,63	28,8
3'-10'	1,27	29,5	H-2'	1,25	29,3
11'	1,27	23,3	H-16'	1,25	26,0
12'	0,86	14,3	-	0,88	14,1



Esquema 10. Proposta de fragmentação da substância III.

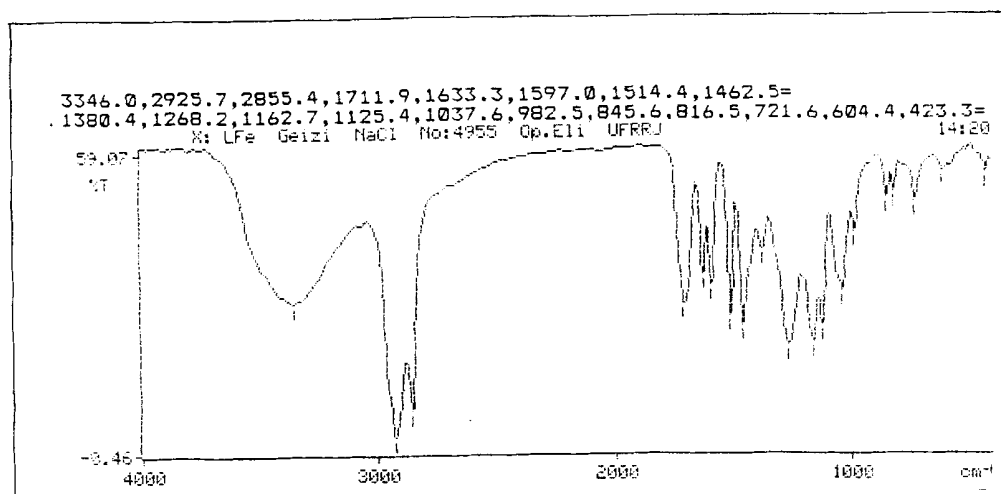


Figura 60. Espectro de IV do produto III

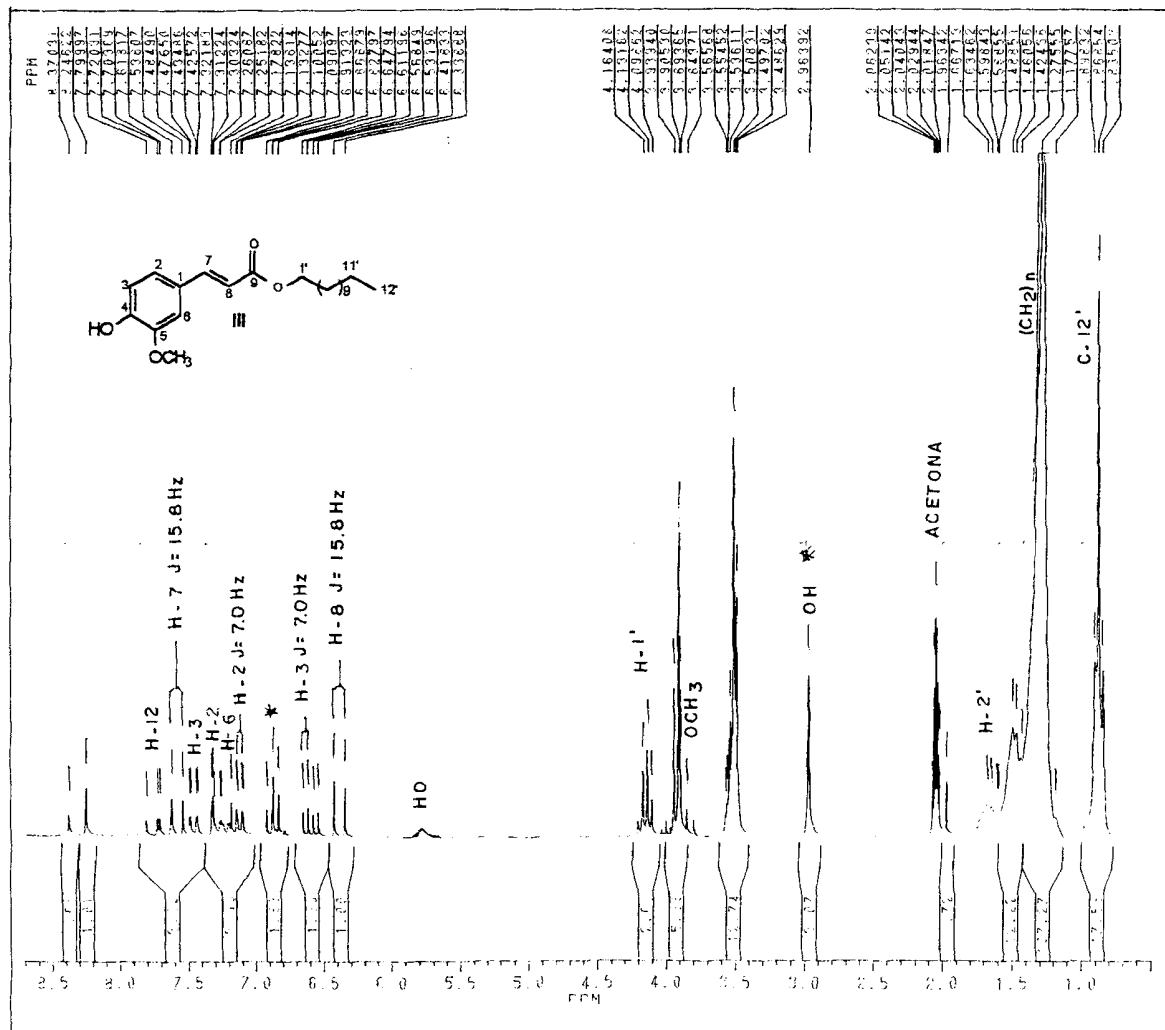


Figura 61. Espectro de RMN ¹H (200 MHz, acetona-d₆) do produto III

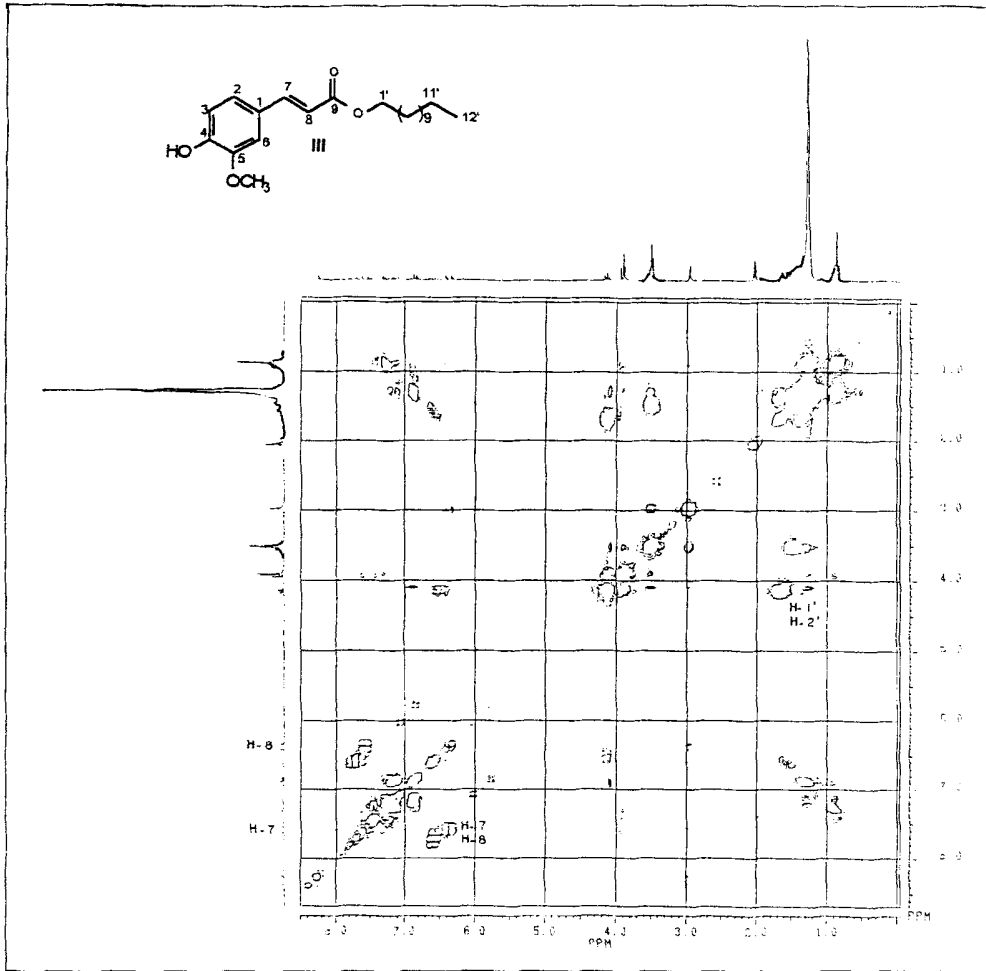


Figura 62. Espectro de RMN – 2D ^1H - ^1H – COSY (200 MHz, acetona- d_6) do produto III

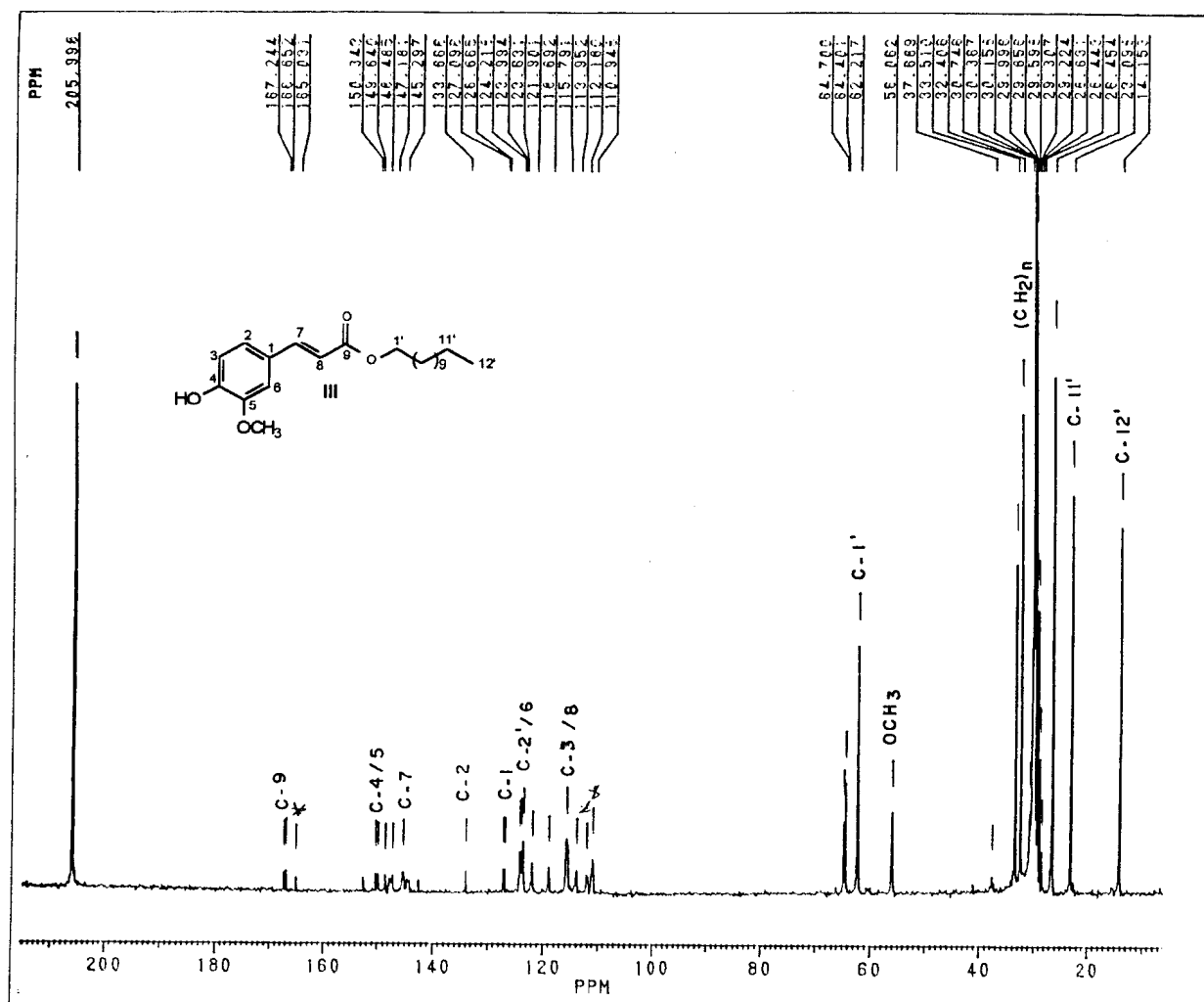


Figura 63. Espectro de RMN ¹³C (50 MHz, acetona-d₆) do produto III

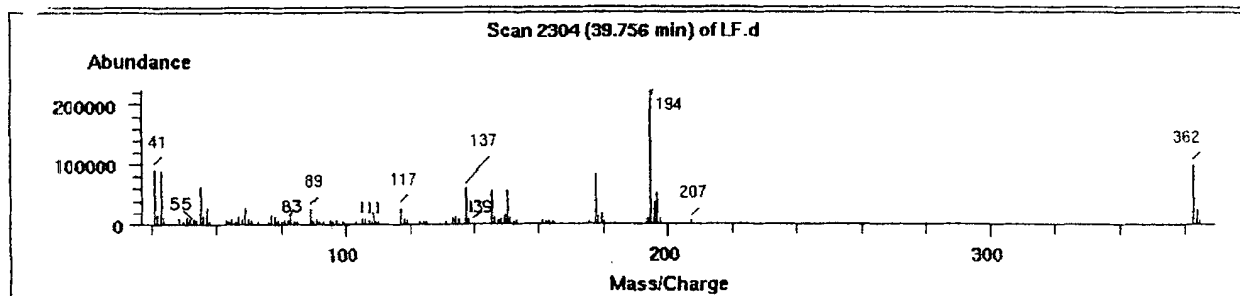
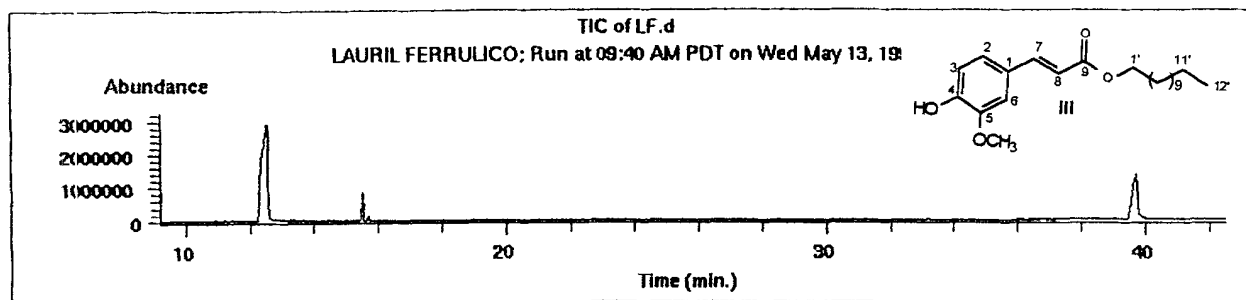


Figura 64. Espectro de massas do produto III

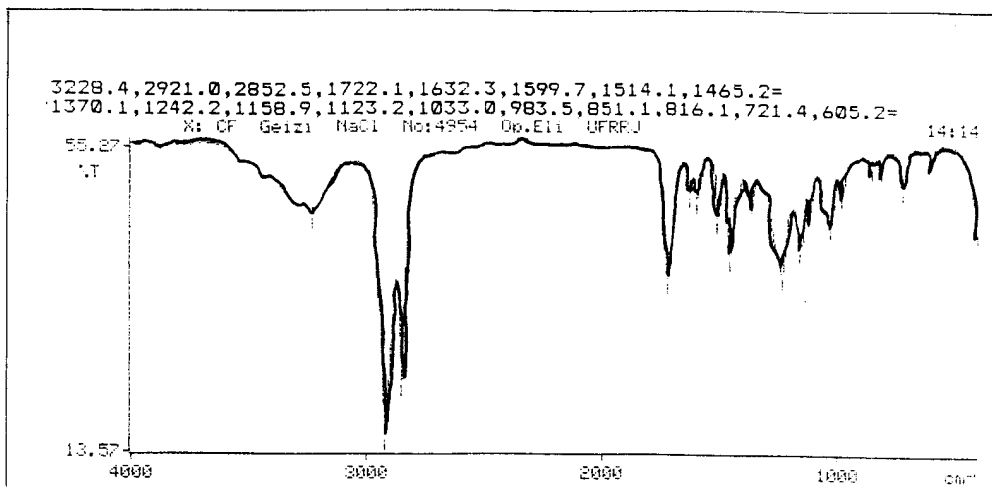


Figura 65. Espectro de IV do produto IV

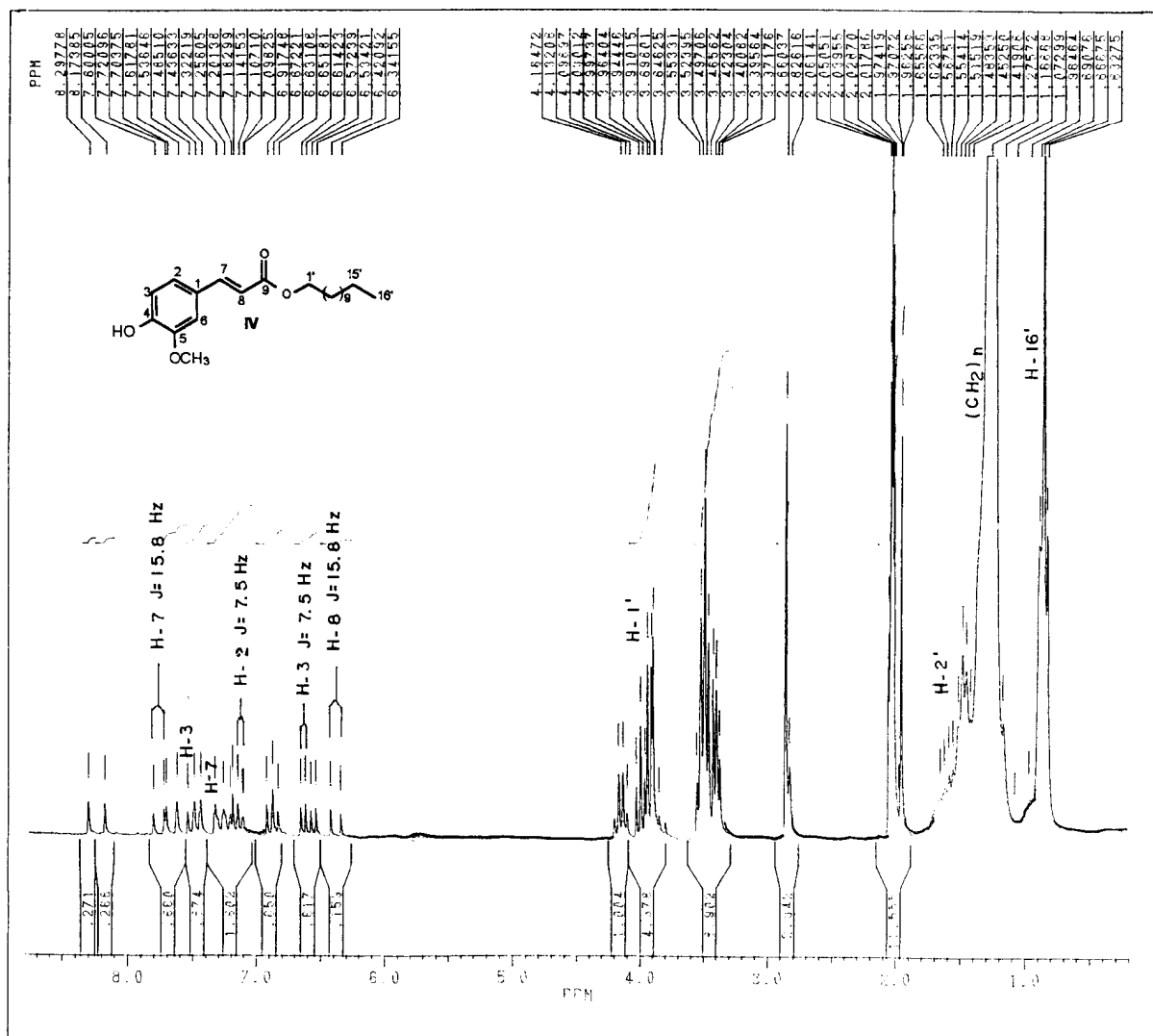


Figura 66. Espectro de RMN ^1H (200 MHz, acetona- d_6) do produto IV

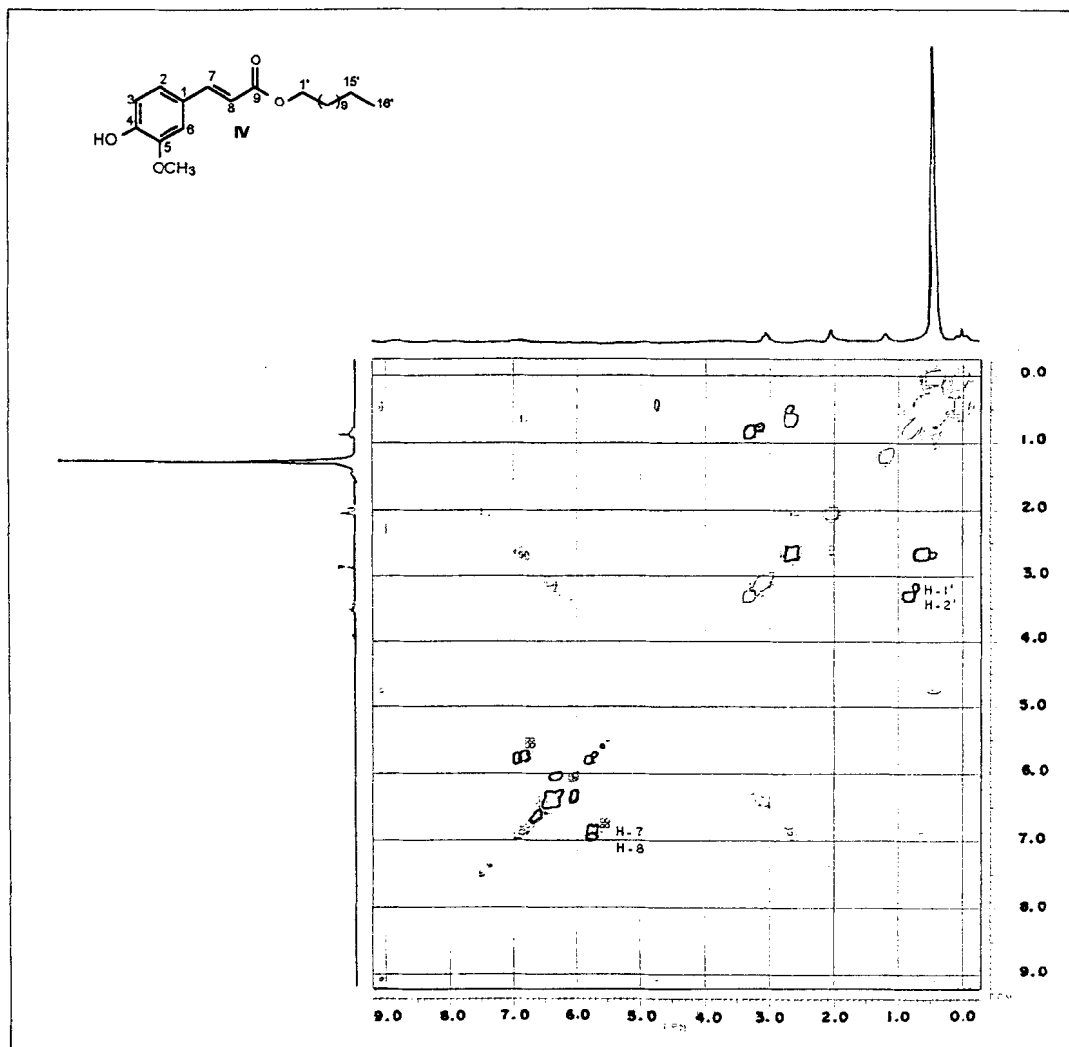


Figura 67. Espectro de RMN – 2D ^1H - ^1H – COSY (200 MHz, acetona- d_6) do produto IV

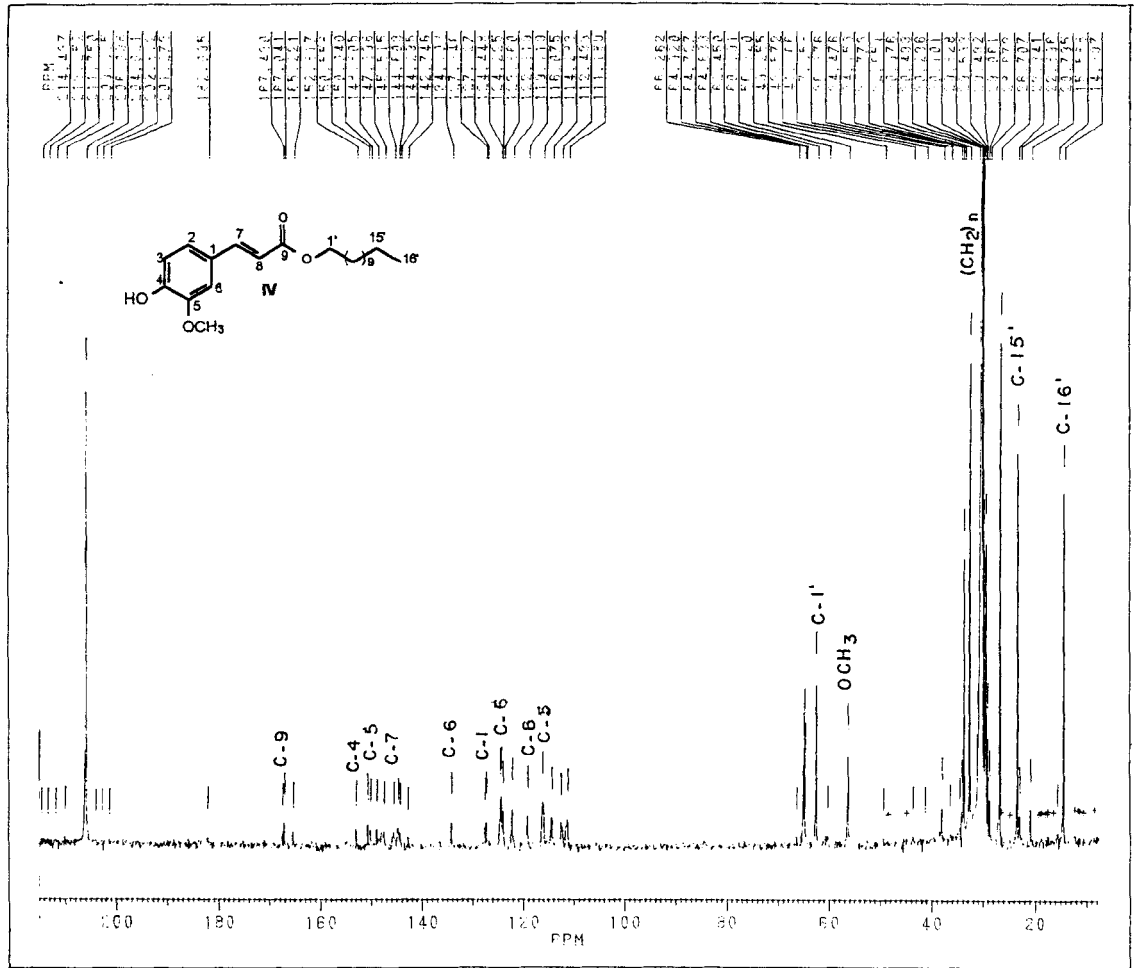


Figura 68. Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, acetona- d_6) do produto IV

1.9.3. (3,4-METILENODIOXI)-FENIL ACRILATO DE HEXADECILA (**V**), (3,4-METILENODIOXI)-FENIL PROPIONATO DE HEXADECILA (**VI**) E 3-(3,4-METILENODIOXI-6-NITRO)-FENIL PROPIONATO DE HEXADECILA (**VII**)

Os espectros obtidos no IV das substâncias **V** (fig. 71, pág. 116), **VI** (fig. 75, pág. 119) e **VII** (fig. 79, pág. 127), mostraram sinais em 1.691 cm^{-1} (**V**), 1.729 cm^{-1} (**VI**) e 1.727 cm^{-1} (**VII**) que são atribuídos à deformação axial de C=O de ésteres. Os demais sinais são compatíveis com as estruturas sintetizadas.

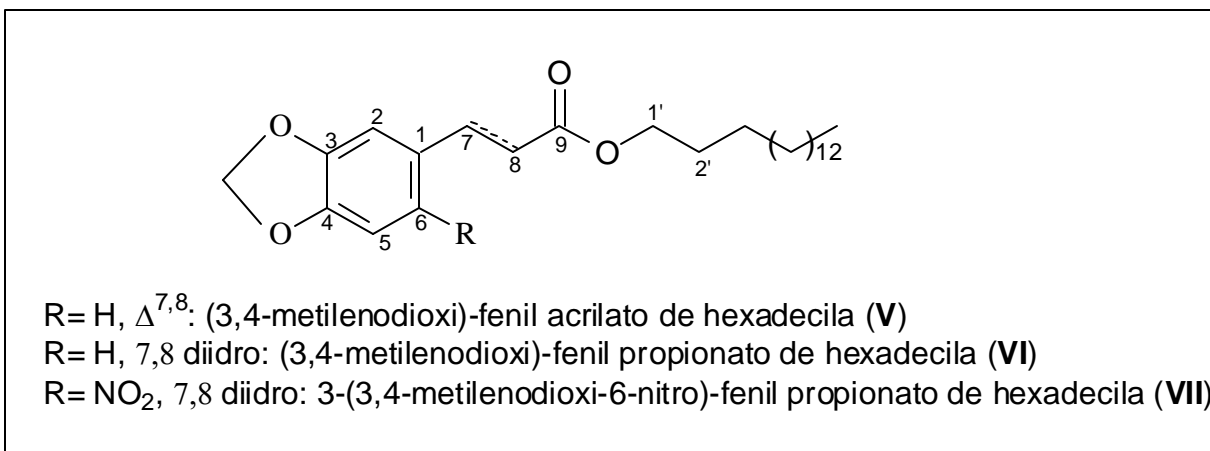
Nos espectros de RMN ^1H de **V** (fig. 69, pág. 114), **VI** (fig. 73, pág. 117) e **VII** (fig. 77, pág. 120), foram observados sinal simples em δ_{H} : 6,06 (**V**), 6,73 (**VI**) e 6,20 (**VII**), atribuídos à CH₂ (metilenodioxi). Os hidrogênios H-7 (δ_{H} : 7,53) e H-8 (δ_{H} : 6,43) de **V**, apresentaram-se como sinais duplos, com constante de acoplamento igual a 16,0 Hz, caracterizando a dupla *trans*, conjugada com o anel aromático. Os hidrogênios H-7 (δ_{H} : 2,52 e 2,67) e H-8 (δ_{H} : 2,86 e 3,13) de **VI** e **VII** respectivamente, apresentaram-se como sinais triplos. Estas estruturas não possuem dupla conjugada com o anel aromático. O hidrogênio H-2 das três substâncias [δ_{H} : 7,26 (**V**), 7,56 (**VI**) e 6,99 (**VII**)] foram observados como sinais simples. Os hidrogênios H-5 (δ_{H} : 7,16 (**V**) e 6,66 (**VI**) e H-6 (δ_{H} : 7,52 (**V**) e 7,52 (**VI**) das estruturas de **V** e **VI**, foram observados como sinais duplos, com constante de acoplamento igual a 8,0 Hz.

A estrutura **VII** possui um sinal simples em δ_{H} : 7,48 atribuído ao H-5. Os hidrogênios ligados à carbonos carbinólicos da cadeia alifática H-1', apresentam-se como um sinal triplo, bem definido em cada espectro (δ_{H} : 4,13 (**V**), 4,94 (**VI**) e 4,03 (**VII**)). Estes dados confirmaram a cadeia alifática da estrutura dos ésteres.

Os espectros de RMN ^1H - ^1H – COSY de **V** (fig. 70, pág. 115), **VI** (fig. 74, pág. 118) e **VII** (fig. 78, pág. 121), mostraram interações previstas, possíveis para cada estrutura como H-7 [δ_{H} : 7,53 (**V**), 2,52 (**VI**) e 2,67 (**VII**)] com H-8 [δ_{H} : 6,42 (**V**), 2,86 (**VI**) e 3,13 (**VII**)] e de H-1' [δ_{H} : 4,13 (**V**), 4,04 (**VI**) e 4,03 (**VII**)] com H- 2' [δ_{H} : 1,27 (**V**), 2,86 (**VI**) e 1,27 (**VII**)].

Os espectros de RMN ^{13}C de **V** (fig. 72, pág. 116), **VI** (fig. 76, pág. 119) e **VII** (fig. 80, pág. 122), possuem sinais que são compatíveis com as estruturas dos

ésteres. Estes sinais estão devidamente atribuídos nas tabelas 16 (V), 17 (VI) e 18 (VII).



Quadro 17. Estruturas dos ésteres V, VI e VII.

Tabela 14. Dados de RMN ¹H, RMN ¹³C e ¹H-¹H-COSY do produto V, comparados com valores citados na literatura (Rascado, 1997)

C	δ_H	δ_C	δ_H Lit.	δ_C Lit.	¹ H- ¹ H-COSY
1	-	129,7	-	128,7	-
2	7,26	109,0	7,36	108,5	-
3	-	149,3	-	148,1	-
4	-	150,0	-	149,2	-
5	7,16	107,1	7,15	106,7	-
6	6,90	129,0	6,94	128,0	-
7	7,53	125,3	7,49	117,1	H-8
8	6,43	116,9	6,38	124,7	H-7
9	-	167,1	-	167,3	-
10	6,06	102,5	6,06	101,8	-
1'	4,13	64,6	-	-	H-2'
2'	1,66	29,7	-	-	H-1'
3'-14'	1,28	29,4	-	-	H-2'
15'	-	26,1	-	-	H-16'
16'	0,86	14,2	-	-	H-15'

Tabela 15. Dados de RMN ^1H , RMN ^{13}C e ^1H - ^1H -COSY do produto **VI**, comparados com valores citados na literatura (Rascado, 1997)

C	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H} Lit.	δ_{C} Lit.	^1H - ^1H -COSY
1	-	134,9	-	134,9	-
2	6,66-6,76	108,8	6,61-6,73	108,3	-
3	-	147,0	-	147,3	-
4	-	145,0	-	145,6	-
5	6,66-6,76	109,0	6,61-6,73	109,0	-
6	6,66-6,76	121,4	6,61-6,73	121,3	-
7	2,52	30,0	2,61	30,3	H-8
8	2,86	35,6	2,85	35,8	H-7
9	-	172,3	-	174,0	-
10	5,95	101,1	5,94	100,8	-
1'	4,04	64,1	-	-	H-2'
2'	2,86	35,0	-	-	H-1'
3'-14'	1,27	29,3	-	-	-
15'	1,56	28,0	-	-	H-16'
16'	0,89	13,7	-	-	H-15'

Tabela 16. Dados de RMN ^1H , RMN ^{13}C e ^1H - ^1H -COSY do produto **VII**, comparados com valores citados na literatura (Rascado, 1997)

C	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H} Lit.	δ_{C} Lit.	^1H - ^1H -COSY
1	-	-	-	132,8	-
2	6,99	111,2	7,06	110,5	-
3	-	-	-	151,6	-
4	-	-	-	146,4	-
5	7,48	105,9	7,54	105,2	-
6	-	-	-	142,5	-
7	2,67	28,5	2,53	28,1	H-8
8	3,13	35,1	2,97	34,5	H-7
9	-	172,4	-	173,6	-
10	6,20	104,0	6,18	103,3	-
1'	4,03	64,8	-	-	H-2'
2'	1,27	22,7	-	-	H-1'
3'-14'	1,27	29,6	-	-	-
15'	1,27	29,6	-	-	H-16'
16'	0,86	14,2	-	-	H-15'

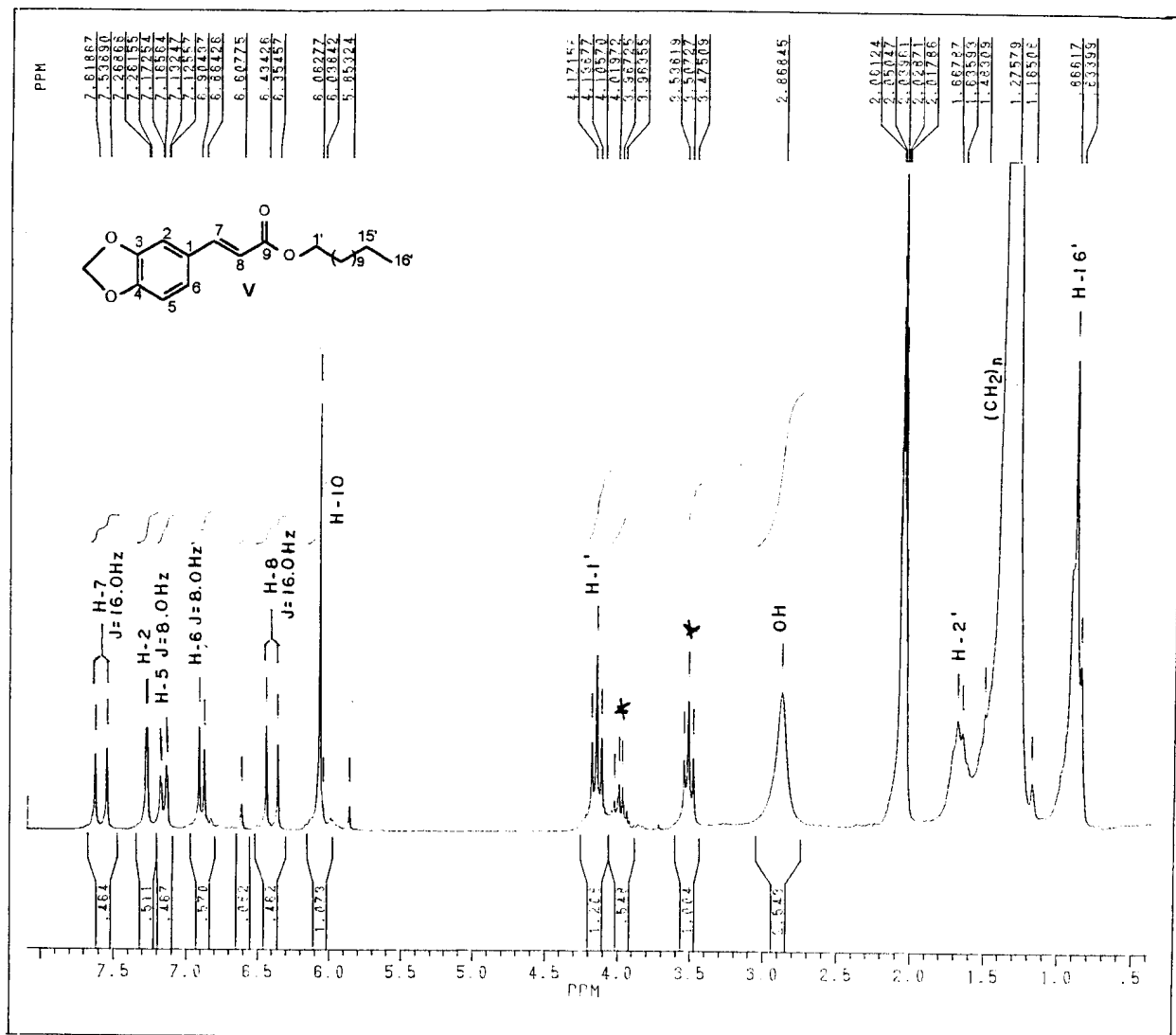


Figura 69. Espectro de RMN ^1H (200 MHz, acetona- d_6) do produto V

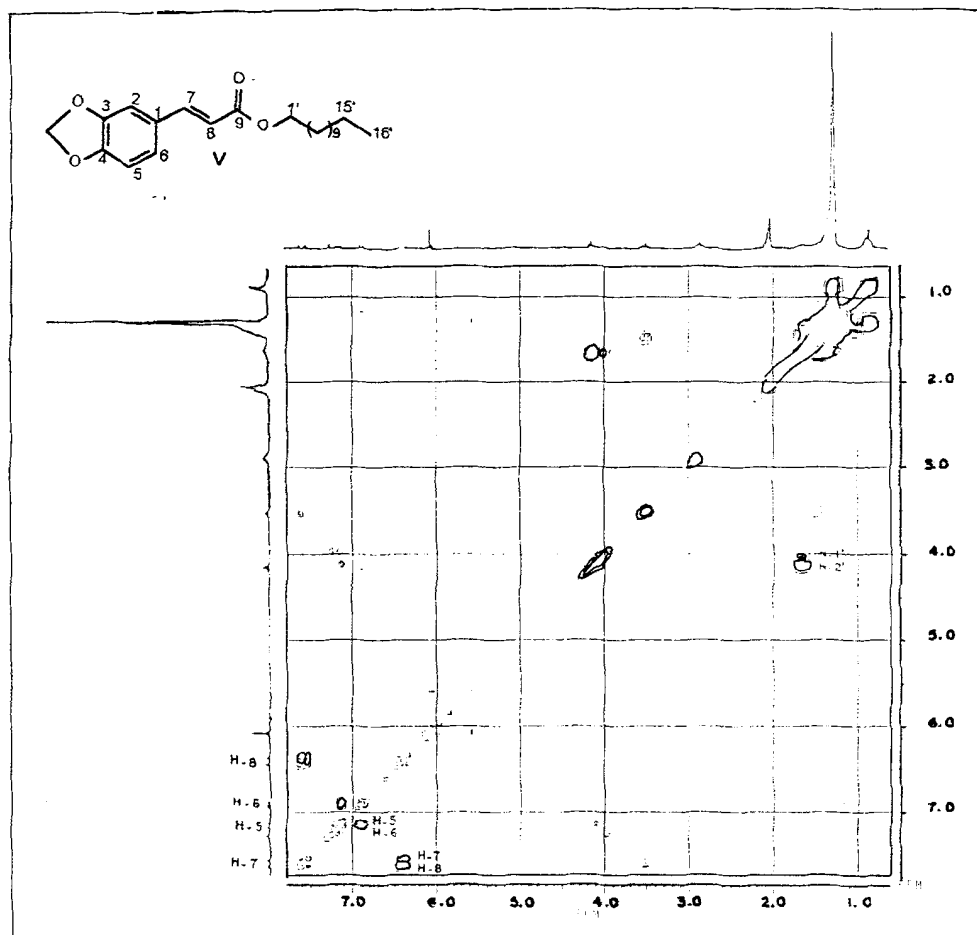


Figura 70. Espectro de RMN – 2D ^1H - ^1H – COSY (200 MHz, acetona- d_6) do produto V

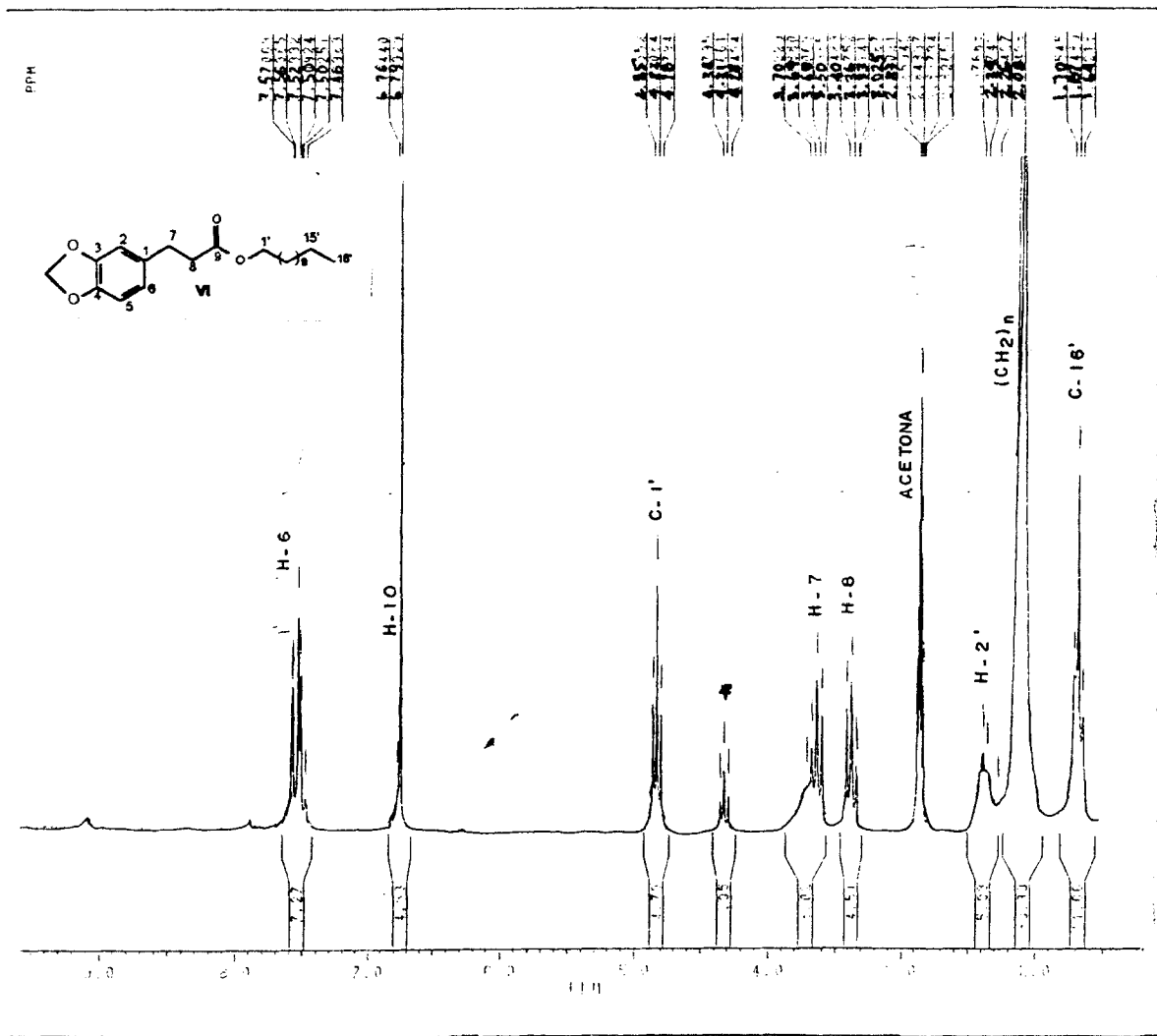


Figura 73. Espectro de RMN ^1H (200 MHz, acetona- d_6) do produto VI

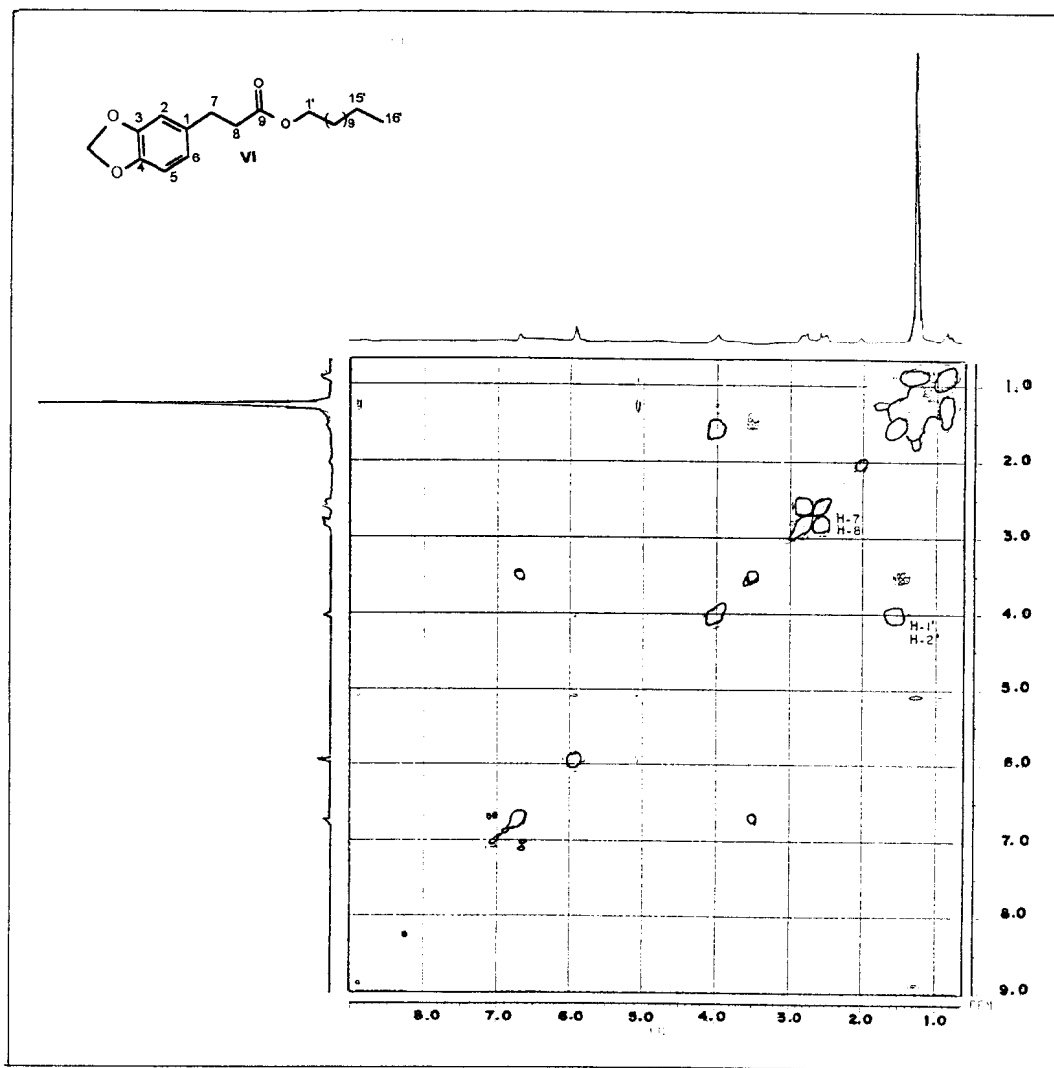


Figura 74. Espectro de RMN – 2D ^1H - ^1H – COSY (200 MHz, acetona- d_6) do produto VI

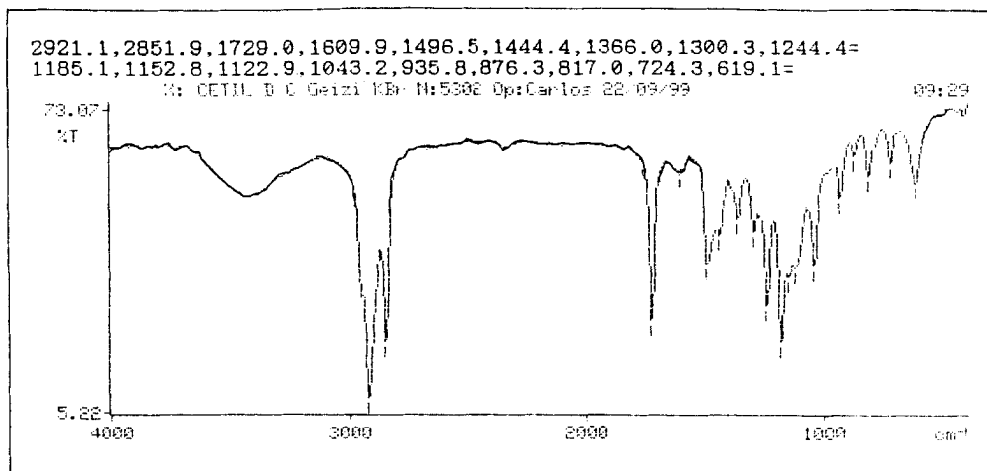


Figura 75. Espectro de IV do produto VI

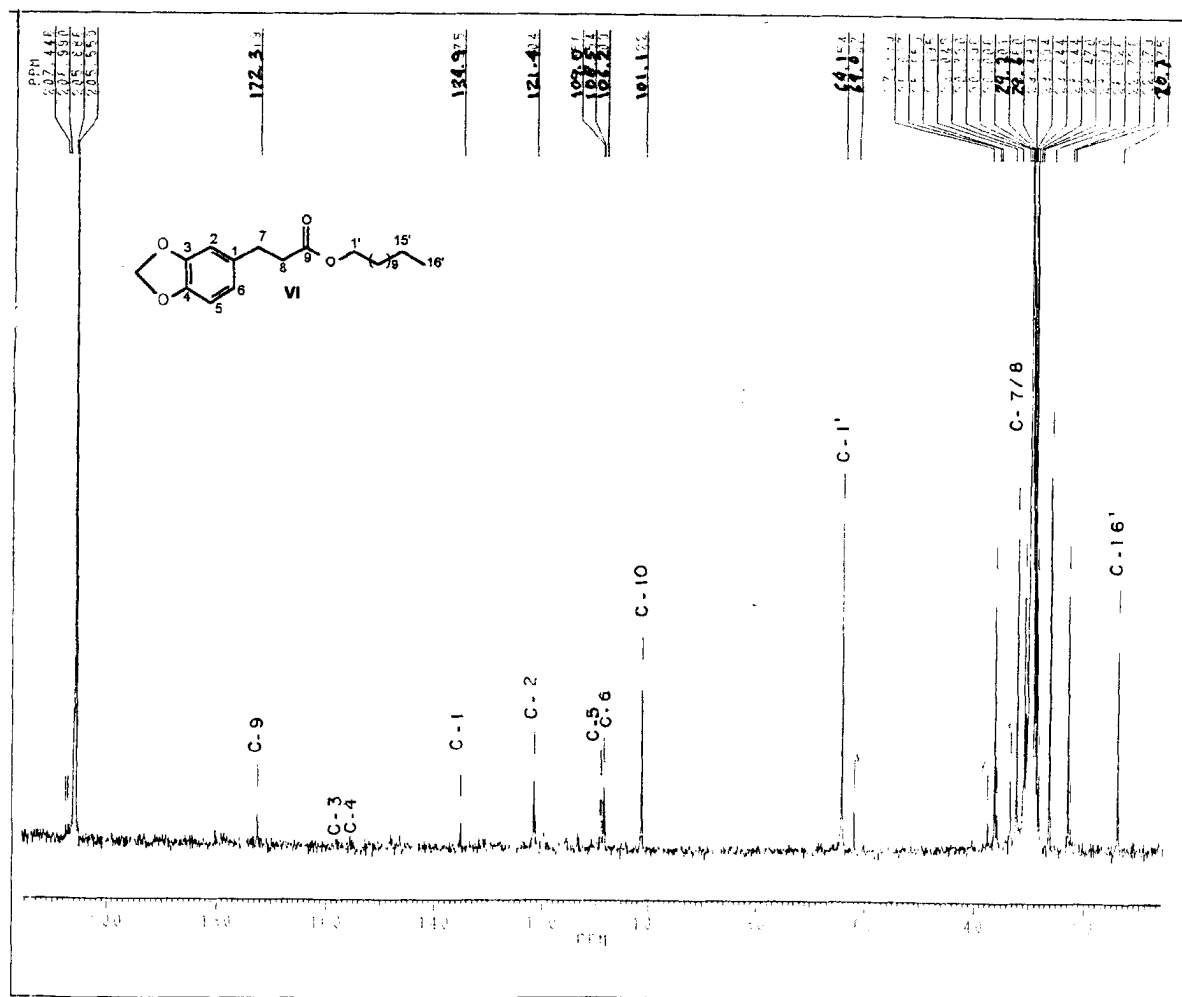


Figura 76. Espectro de RMN ¹³C (50 MHz, acetona-d₆) do produto VI

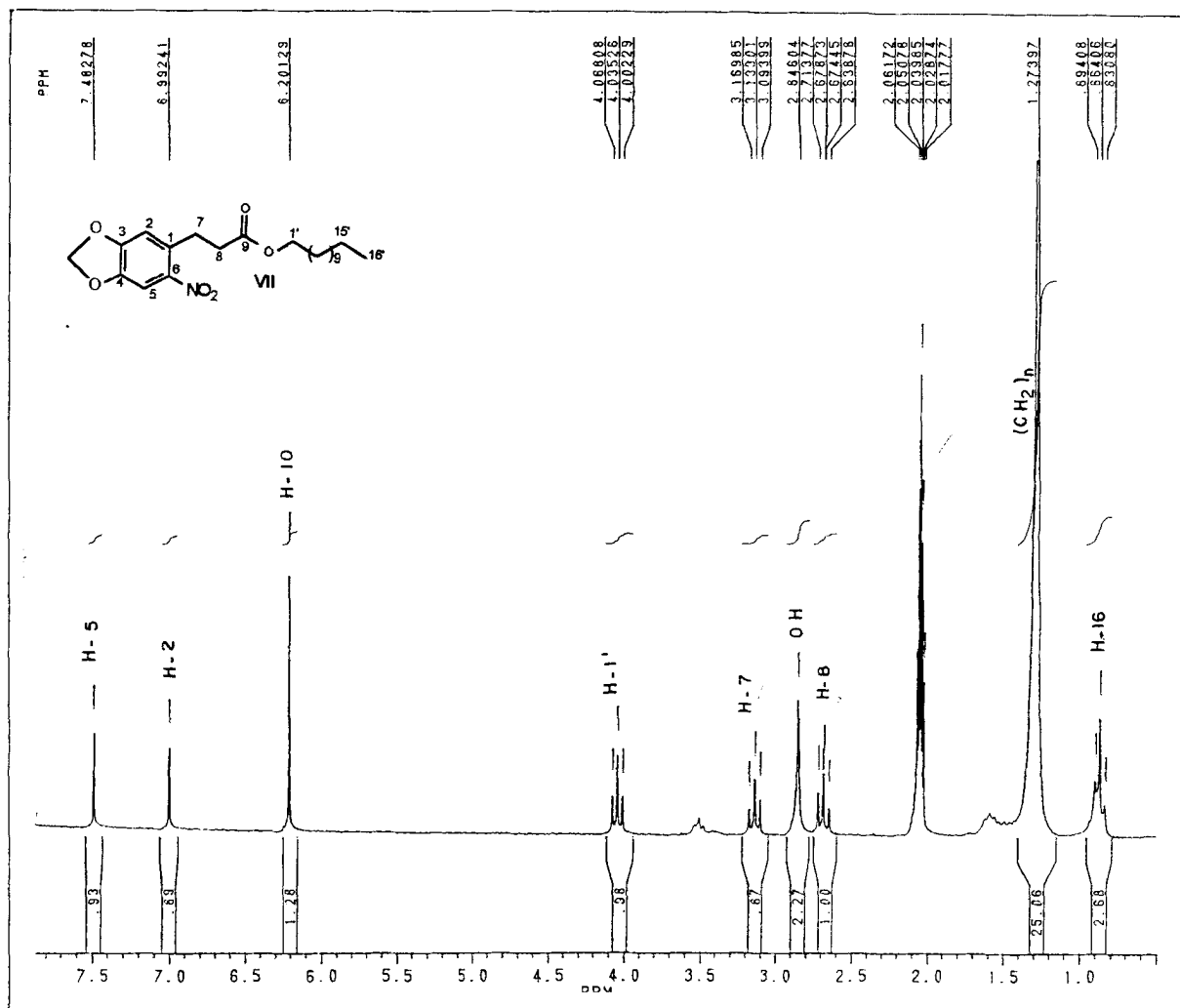


Figura 77. Espectro de RMN ¹H (200 MHz, acetona-d₆) do produto VII

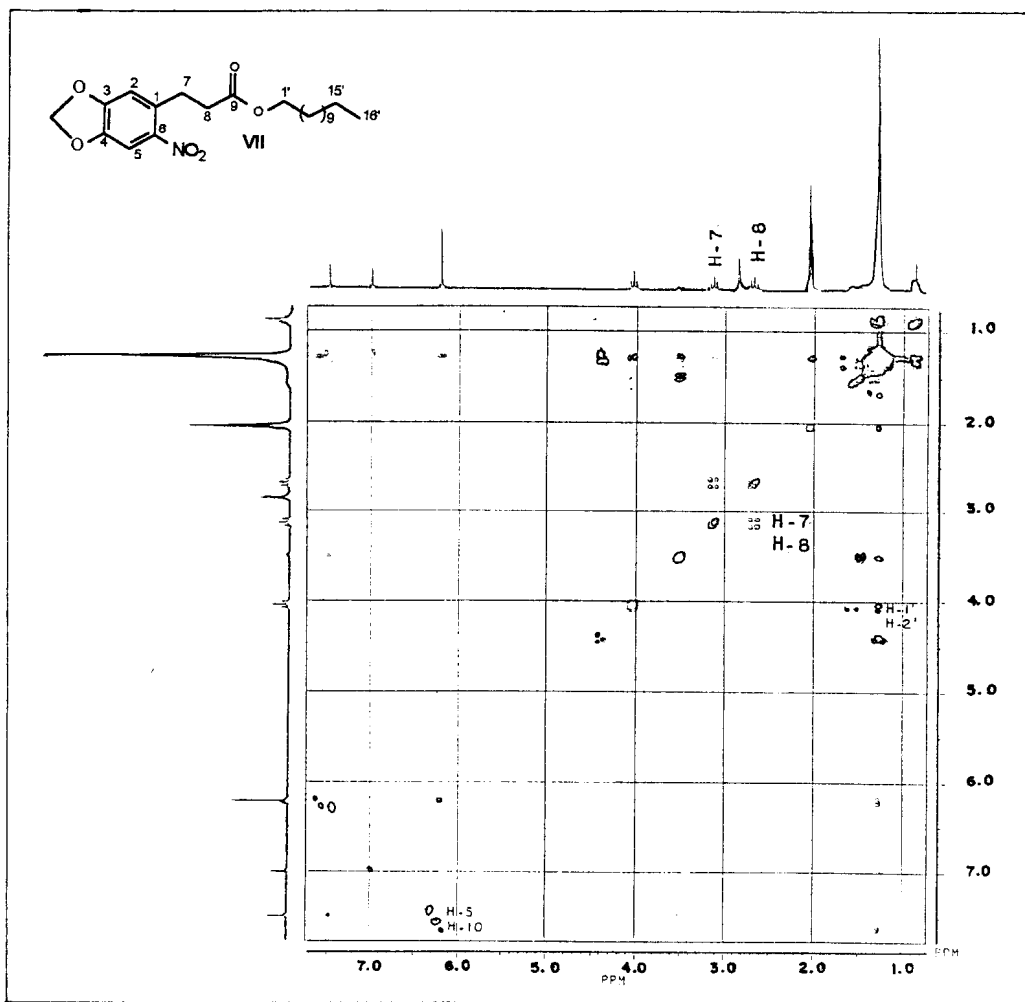


Figura 78. Espectro de RMN – 2D ^1H - ^1H – COSY (200 MHz, acetona- d_6) do produto VII

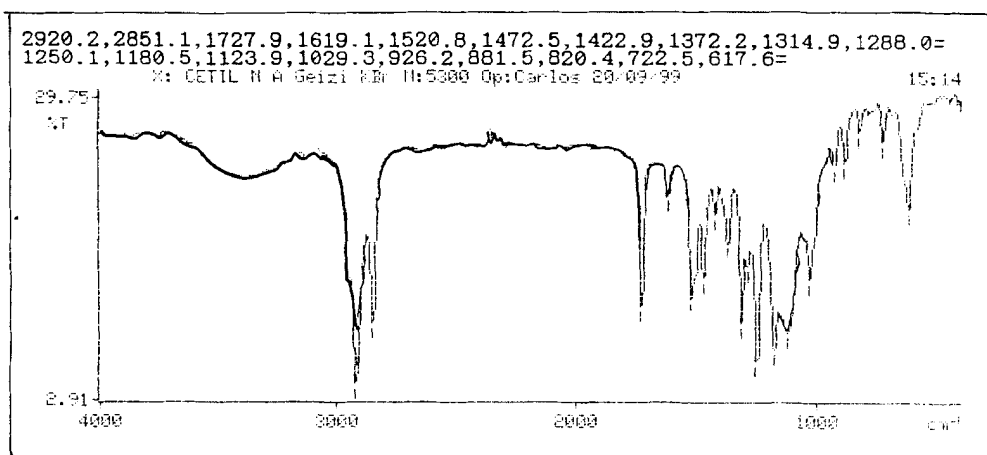


Figura 79. Espectro de IV do produto VII

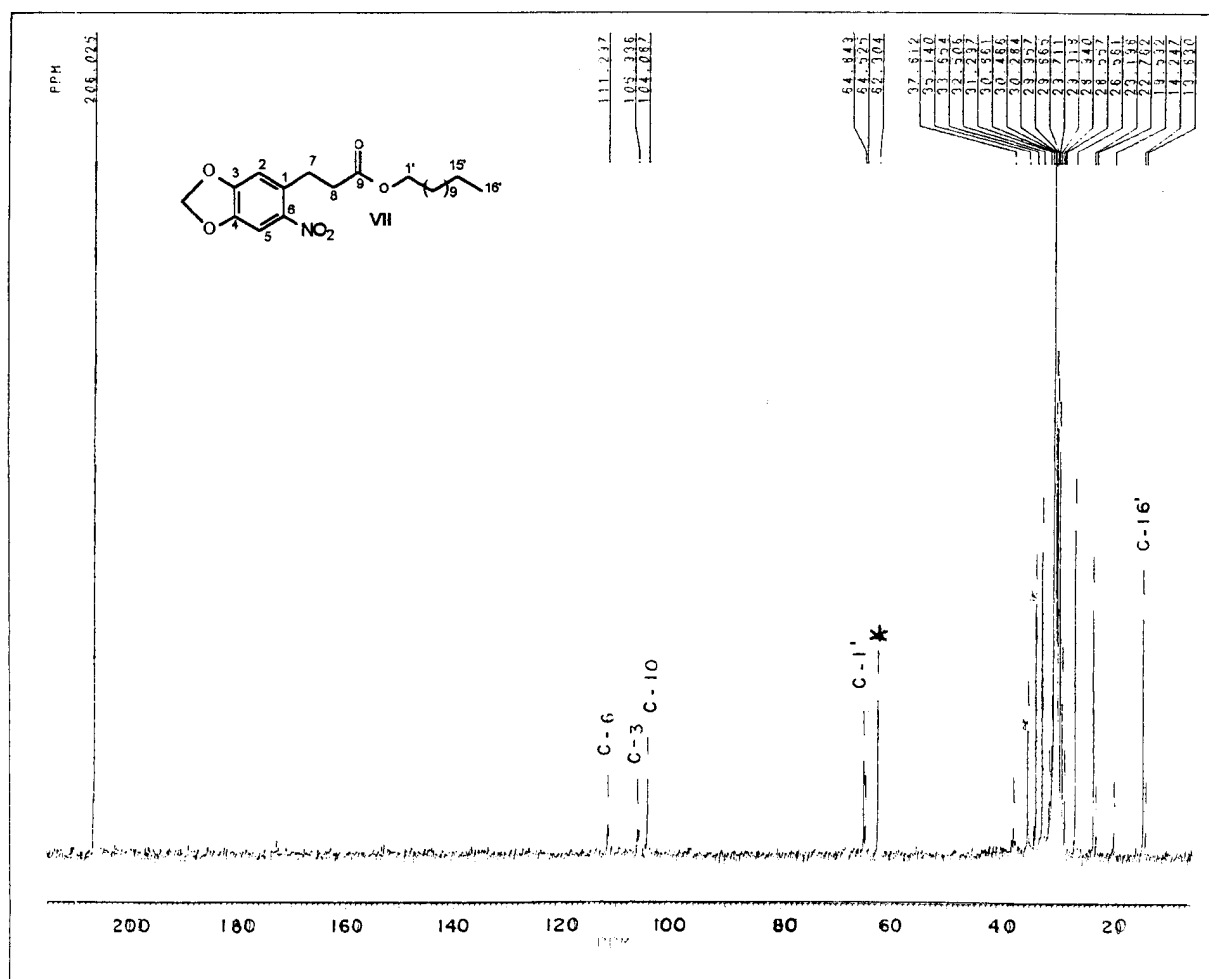


Figura 80. Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, acetona- d_6) do produto VII

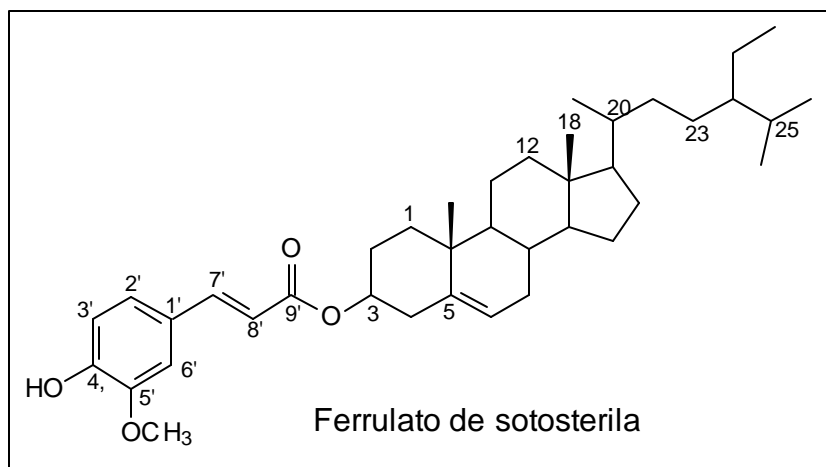
1.9.4. FERRULATO DE SITOSTERILA (VIII)

O espectro obtido no IV de **VIII** (fig. 83, pág. 127) mostrou banda de absorção em 1.721 cm^{-1} , correspondente à deformação axial de C=O de éster e outros sinais compatíveis com a estrutura do éster derivado do produto natural sitosterol.

O espectro de RMN ^1H de **VIII** (fig. 81, pág. 125), mostrou dois sinais duplos com constante de acoplamento igual a 15,8 Hz, atribuídos aos hidrogênios H-7' (δ_{H} : 7,63) e H-8' (δ_{H} : 6,30) e outros dois sinais duplos com constante de acoplamento igual a 10,0 Hz, atribuídos aos hidrogênios H-2' (δ_{H} : 7,12 e H-3' (δ_{H} : 7,01) do ferrulato. O sinal em δ_{H} : 3,80 (m) corresponde à frequência de absorção do hidrogênio ligado ao carbono carbinólico C-3 (δ_{C} : 72,5), o sinal em δ_{H} : 5,35 corresponde ao hidrogênio olefínico da ligação dupla do esteróide e os sinais simples em δ_{H} : 0,82-0,84 são atribuídos as metilas do unidade do sitosterol. O espectro também mostra sinais que são atribuídos ao sitosterol como impureza da amostra.

O espectro de RMN ^1H - ^1H – COSY de **VIII** (fig. 82, pág. 126) revelou interações entre H-7' (δ_{H} : 7,63) com H-8' (δ_{H} : 6,30) e do H-3 (δ_{H} : 3,80) com H-2 (δ_{H} : 1,27) e com H-4 (δ_{H} : 2,40).

Estes dados e as frequências de absorção do CH olefínico em δ_{C} : 122,4 (C-6) e carbinólico δ_{C} : 72,5 (C-3) revelados no espectro de RMN ^{13}C (fig. 84, pág. 132) confirmam a estrutura do ferrulato de sitosterila.



Quadro 17. Estrutura do éster VIII.

Tabela 17. Dados de RMN ^1H , RMN ^{13}C e ^1H - ^1H -COSY do produto **VIII**, comparados com valores citados na literatura (Guevara et al, 1989).

C	δ_{H}	δ_{C}	δ_{C} Lit.	^1H x ^1H -COSY
1	-	36,1	37,3	
2	-	36,3	37,6	H-3
3	3,80	72,5	71,7	H-2-H-4
4	2,40	42,2	42,3	H-3
5	-	140,7	140,7	
6	5,35	122,4	121,6	
7	1,52	31,8	31,9	
8	1,95	31,7	31,9	
9	-	50,0	50,2	
10	-	36,3	36,5	
11	-	20,9	21,1	
12	-	39,6	39,8	
13	-	42,3	42,3	
14	1,04	56,6	56,8	
15	-	24,2	24,3	
16	-	28,2	28,3	
17	1,08	56,6	56,1	
18	0,65	11,8	11,8	
19	1,00	19,2	19,4	
20	1,37	36,3	36,3	
21	0,91	18,7	18,8	
22	-	33,8	33,9	
23	1,18	26,0	26,4	
24	-	45,7	46,1	
25	1,79	28,2	28,9	
26	0,82	19,0	19,1	
27	0,80	19,8	19,6	
28	1,27	23,9	23,1	
29	0,84	11,9	12,3	
1'	-	127,0	-	
2'	7,01	123,0	7,63	
3'	-	144,7	7,43	
4'	-	148,5	-	
5'	7,12	114,7	-	
6'	7,24	133,6	6,27	
7'	7,63	144,7	7,63	H-8'
8'	6,30	115,5	6,27	H-7'
9'	-	168,5	-	
OH	5,85	-	5,95	
OCH ₃	3,90	56,6	3,90	

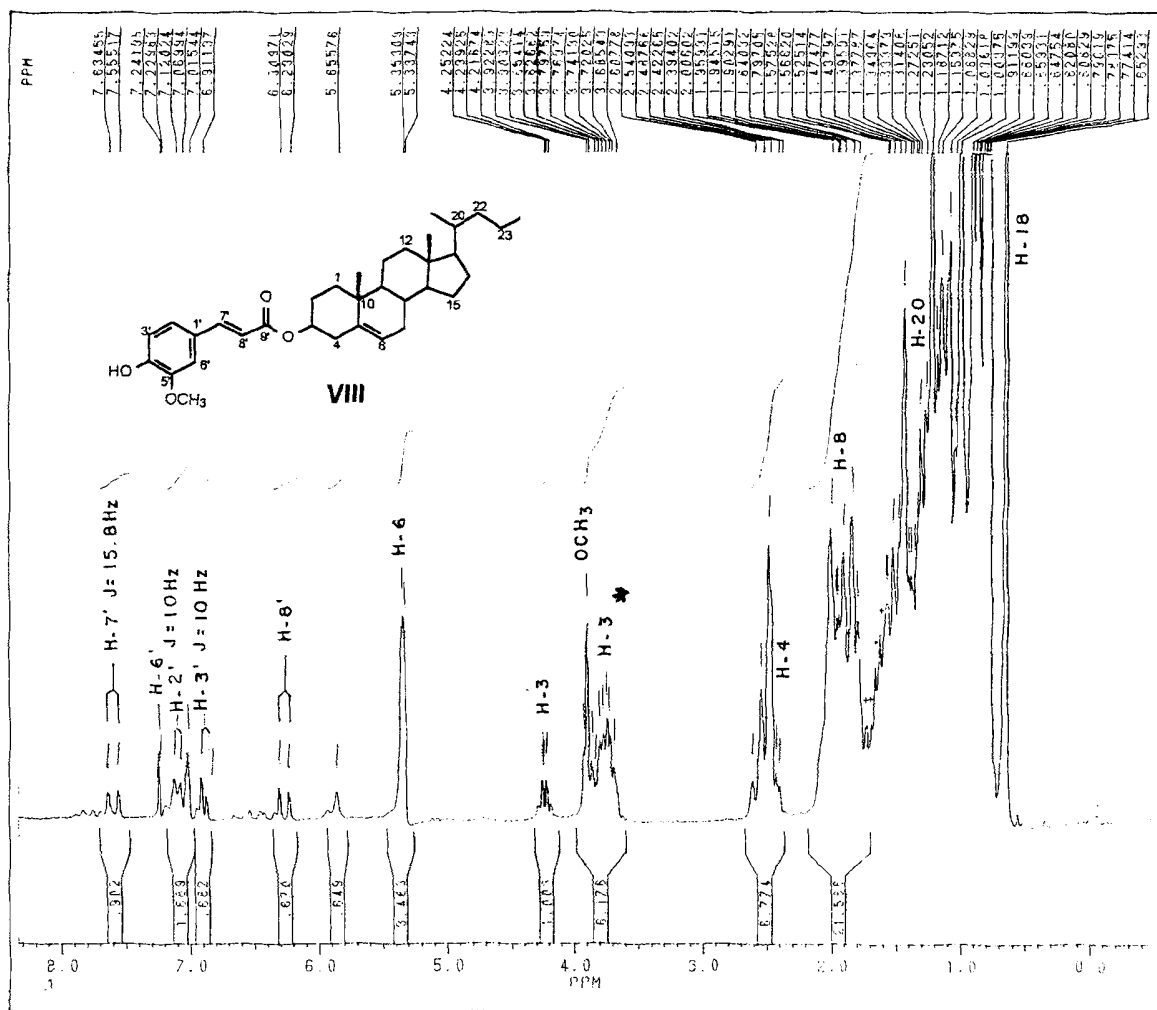


Figura 81. Espectro de RMN ^1H (200 MHz, acetona- d_6) do produto VIII

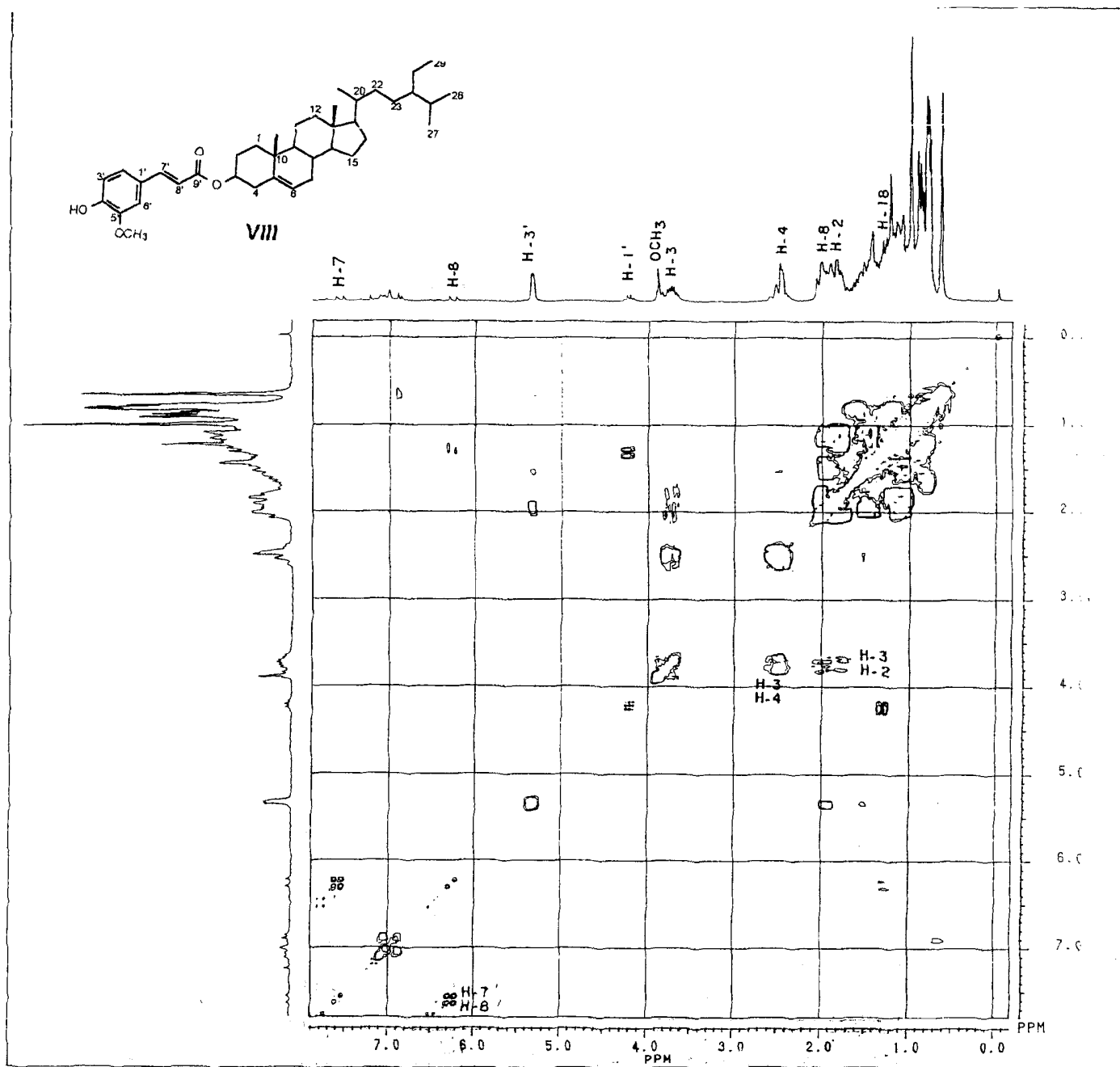


Figura 82. Espectro de RMN – 2D ^1H - ^1H – COSY (200 MHz, acetona- d_6) do produto VIII

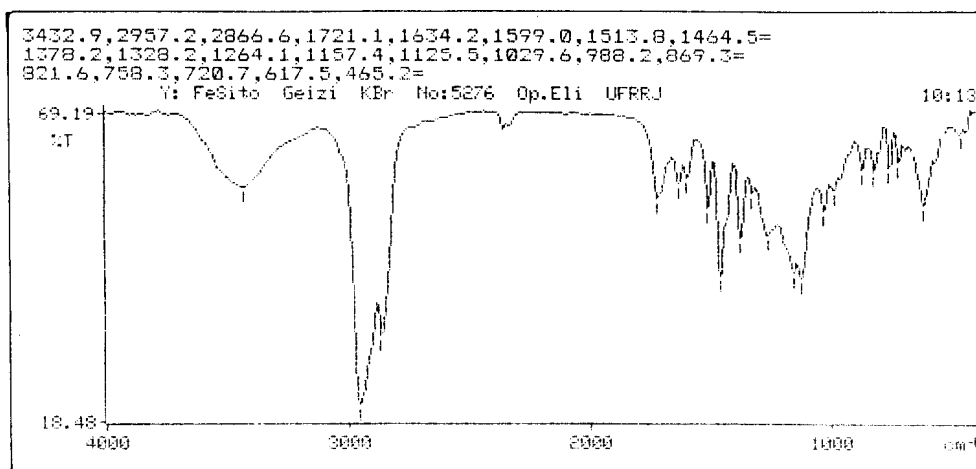


Figura 83. Espectro de IV do produto VIII

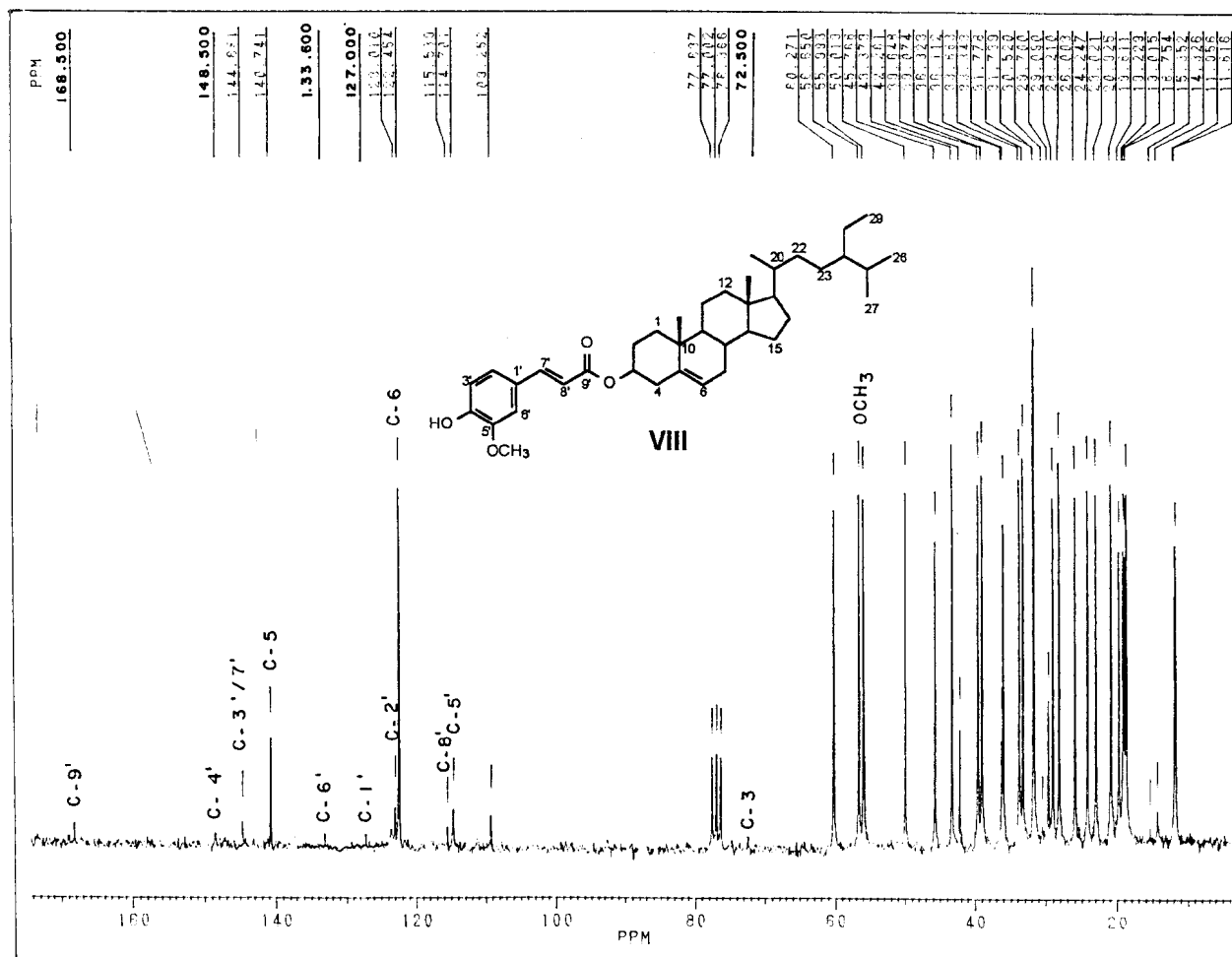


Figura 84. Espectro de RMN ¹³C (50 MHz, acetona-d₆) do produto VIII

1.10.2. ENSAIO DE GERMINAÇÃO DE SEMENTES

Diversos ensaios são citados na literatura para avaliação dos efeitos dos aleloquímicos, envolvendo parâmetros como germinação de sementes, alongação de raízes, crescimento de plântulas e avaliação da biomassa da parte aérea (Kelsey & Locken, 1982 e Elakovich & Stevens, 1985).

A busca de substâncias químicas com atividades alelopáticas vêm despertando interesse a medida que substâncias já conhecidas, são testadas e apresentam o referido efeito.

Sementes de alface (*Lactuca sativa*) e tomate (*Lycopersicon esculentum*), disponíveis comercialmente, vêm sendo utilizadas para avaliação de germinação frente a substâncias aleloquímicas. O teste é simples, de baixo custo e não necessita de muitos aparatos especiais para realização.

O ensaio em laboratório foi feito utilizando placas de Petri, onde colocou-se papel de filtro contendo a amostra adsorvida através do umedecimento do papel na solução (80 e 200 $\mu\text{g/mL}$) da amostra em solvente orgânico e posterior evaporação do mesmo. Em cada placa foram colocadas 10 sementes de cada espécie teste e água. Cada tratamento foi composto de 4 repetições. As testemunhas receberam apenas água (Feliciano & López, 1983). As amostras foram mantidas em câmara de germinação com temperatura controlada (28-30 °C) e avaliadas diariamente durante sete dias.

1.10.2.1. PREPARAÇÃO DA AMOSTRA

As amostras de 0,4 e 10 mg da substância a ser testada foram dissolvidas em 5 mL de CHCl_3 (clorofórmio) e mantidas em balão volumétrico.

1.10.2.2. EXPERIMENTAL

O procedimento experimental utilizado, baseou-se no trabalho desenvolvido por Freitas et al., (1990).

1.10.2.3. PREPARAÇÃO DO MATERIAL PARA TESTE

Tomaram-se alíquotas de 1 mL da solução da substância (em CHCl_3), embebendo-se o papel de filtro, previamente colocado em placa de Petri. Deixou-se secar por aproximadamente 10 minutos. Colocaram-se então as sementes (10 sementes por placa) e 3 mL de água destilada. O teste foi feito em quadruplicata para dose testada.

1.10.2.4. AVALIAÇÃO ESTATÍSTICA DOS DADOS OBTIDOS

O delineamento experimental usado foi blocos ao acaso, com quatro repetições, sendo os tratamentos arranjados num fatorial de 12x2 (doze substâncias e duas concentrações). Foram efetuadas análise de variância para a percentagem de germinação das sementes de alface e tomate no quinto dia após a instalação do experimento. O teste de médias utilizado foi o de Tukey ao nível de 5%.

Os dados foram sistematizados nas tabelas 10 e 11 a seguir.

Tabela 18. Percentagem de germinação das sementes de alface, submetidas à ação de diferentes substâncias químicas em duas concentrações.

Germinação de alface		
Substância sintéticas	Concentração das substâncias	
	80 ppm	200 ppm
I	82,1 abc	85,5 bcd
II	75,0 abc	75,5 cd x
III	82,5 abc	70,0 cd x
IV	85,5 abc	72,5 bcd
V	55,0 bcd x	67,5 de x
VI	47,5 cd x	52,5 e x
VII	77,5 abc	85,0 bcd
VIII	70,0 abc	57,5 cde x
Branco*	95,0 a	92,5 ab
Controle*	97,5 a	97,5 a
Alcôois precursores		
Dodecanol	90,0 ab	80,0 abc
Hexadecanol	76,3 ab	85,5 bcd
Ácidos precursores		
1	10,0 e x	-
2	80,0 abc	-
3	10,0 e x	-
4	90,0 ab	-
Substâncias naturais		
Cumarato de sitosterila	87,5 abc	-
1	90,0 ab	-
1a	70,0 bc x	-
3	17,5 de x	-

* O branco foi composto somente de água e o controle de clorofórmio.

X ocorreu inibição

Ácidos: 1= ácido ferúlico; 2= ácido (3,4-metilenodioxo)-fenil-acrílico; 3= ácido (3,4-metilenodioxo)-fenil-propiónico; 4= ácido 3-(3,4-metilenodioxo-6-nitro)-fenil-propiónico

As letras maiúsculas contidas nas tabelas, indicam diferenças significativas entre as substâncias testadas, dentro das diferentes concentrações (80 ppm e 200 ppm).

Tabela 19. Percentagem de germinação das sementes de tomate, submetidas à ação de diferentes substâncias químicas em duas concentrações.

Germinação de tomate		
	Concentração das substâncias	
Substância sintéticas	80 ppm	200 ppm
I	0,69 cd x	10,0 cd
II	10,0 abc	30,0 abc
III	7,5 abcd	22,5 abcd
IV	20,0 cd x	17,5 abc
V	2,45 cd x	2,5 cd
VI	0,0 d x	2,5 d
VII	2,5 d x	0,0 d
VIII	5,0 bcd x	7,5 bcd
Branco*	37,5 a	25,0 a
Controle*	32,5 a	27,5 a
Alcôois precussores		
Dodecanol	29,8 bcd	20,0 bcd
Hexadecanol	29,8 bcd	20,0 bcd

* O branco foi composto somente de água e o controle de clorofórmio.

X ocorreu inibição

As letras maiúsculas contidas nas tabelas, indicam diferenças significativas entre as substâncias testadas, dentro das diferentes concentrações (80 ppm e 200 ppm).

1.9.2.5. RESULTADOS

A substância sintética (3,4-metilenodioxo)-fenil-propionato de hexadecila (**VI**), foi a que apresentou maior efeito inibitório para germinação de alface quando comparada ao controle e ao branco. As substâncias (3,4-metilenodioxo)-fenil-propionato de hexadecila (**VI**) e 3-(3,4-metilenodioxo-nitro)-fenil-propionato de hexadecila foram as que apresentaram maior efeito alelopático quando testadas com sementes de tomate (Tabela 11). Dentre as substâncias testadas observou-se que a **VI** apresentou efeito inibidor tanto para sementes de alface quanto para tomate (Tabelas 11 e 12).

Das substâncias naturais testadas, a saponina triterpênica [(**3**) substância nova descrita neste trabalho], foi a que apresentou maior inibição de germinação, em relação ao controle e ao branco, quando testada com sementes de alface (Tabela 10).

Os alcóois usados nas sínteses foram testados quanto ao seu possível efeito alelopático, para sementes de alface e tomate nas duas concentrações testadas, devido as substâncias sintetizadas o conterem como impureza. O fato de não apresentarem nenhum efeito, indica que eles não interferem no efeito das referidas substâncias (Tabelas 10 e 11).

Os ácidos **2**, **3** e **4**, precursores das sínteses também foram testados, pois não há relatos sobre estes ácidos na literatura, sendo relevante então o teste. Deste modo pode se observar que o ácido **3** (ácido (3,4-metilenodioxo)-fenil-acrílico) possui efeito inibitório, quando comparado com o controle, e efeito similar ao ácido ferrúlico (**1**), já conhecido e citado na literatura como tendo efeito inibitório de germinação (Nair et al., 1988).

As substâncias que apresentaram caráter alelopático, inibitório de germinação, nestes testes, devem ser estudadas, visando avaliar seus efeitos sobre as plantas cultivadas e principalmente sua aplicação para o controle de plantas invasoras que afetam as culturas.

CAPÍTULO II
ESTUDO QUÍMICO DE *Ouratea floribunda* St. Hill

CAPÍTULO II

ESTUDO QUÍMICO DE *Ouratea floribunda* ST. HILL

INTRODUÇÃO

A família Ochnaceae compreende aproximadamente 40 gêneros e 600 espécies. Esta família ocorre nas regiões pantropicais sendo constituída por árvores, arbustos, ervas e plantas ornamentais. O gênero *Ouratea* compreende aproximadamente 300 espécies, ocorrendo 9 gêneros e 105 espécies no Brasil. (Barroso, 1986).

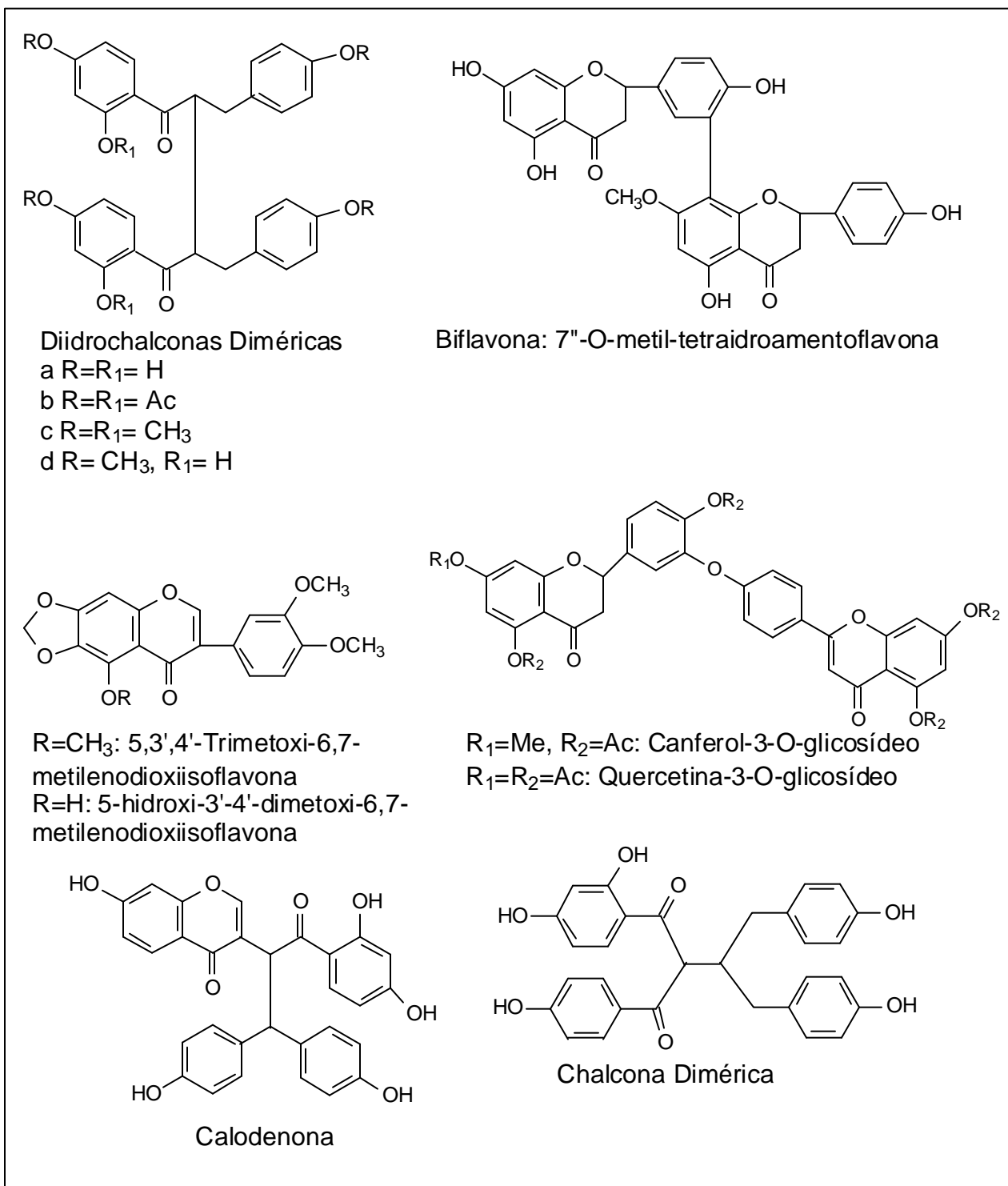
Apesar das contribuições da química de Produtos Naturais para as diversas áreas do conhecimento, verifica-se uma maior tendência dos grupos de pesquisa em direcionar seus trabalhos para linhas que visam somente a exploração econômica. Este fato não leva em consideração a importância da pesquisa básica, ou seja, o estudo fitoquímico de uma planta.

As plantas desta família são pouco estudadas química e biologicamente. Na tabela 2 são citadas algumas espécies desta família que já foram estudadas e seus principais constituintes químicos isolados.

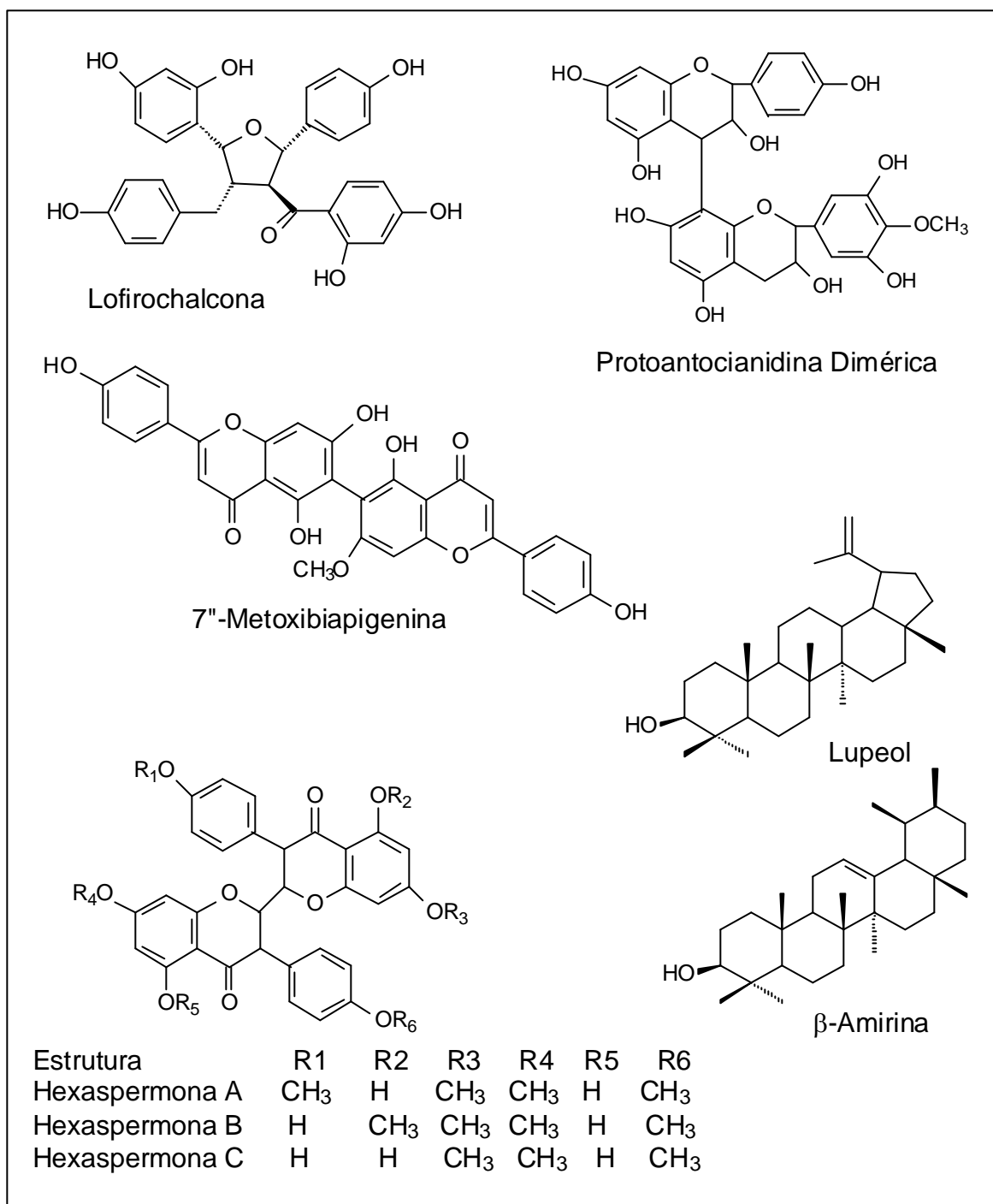
Tabela 20. Constituintes químicos isolados de espécies da família Ochnaceae.

Espécie	Substâncias Isoladas	Referências
<i>Brackaenridgea zanguebaria</i>	Diidrochalconas Diméricas	17, 18
<i>Ochna pumila</i>	Biflavona: 7"-O-metil- etraidroamentoflavona	19
<i>Ochna squarrosa</i>	5,3',4'-Trimetoxi-6,7- metilenodioxiiisoflavona e 5-hidroxi-3'-4'- dimetoxi-6,7- metilenodioxiiisoflavona	20, 21, 22
<i>Ochna obtusata</i>	Biflavonóides: Canferol-3-O-glicosídeo e quercetina-3-Oglicosídeo	23
<i>Ochna calodendron</i>	Biflavonóide: Calodenona	24
<i>Lophira alata</i>	Chalcona Dimérica	25
<i>Luxemburgia nobilis</i>	Ofiurina B, rutina, epicatequina	26
<i>Lophira lanceolata</i>	Chalcona: Lofirochalcona	27, 28
<i>Ouratea species</i>	Protoantocianidina Dimérica	29
<i>Ouratea spectabilis</i>	Biflavonóide: 7"-Metoxibiapigenina	30, 31
<i>Ouratea hexasperma</i>	Biisoflavonas: Hexaspermona A, B, C, Lupeol, β -amirina	32, 33
<i>Ouratea semisserrata</i>	Biflavonóides, Friedelina, Lupeol	34
<i>Ouratea parviflora</i>	7,7" dimetoxiagastiflavona	35, 36, 37
<i>Ouratea cuspidata</i>	Açúcares	38

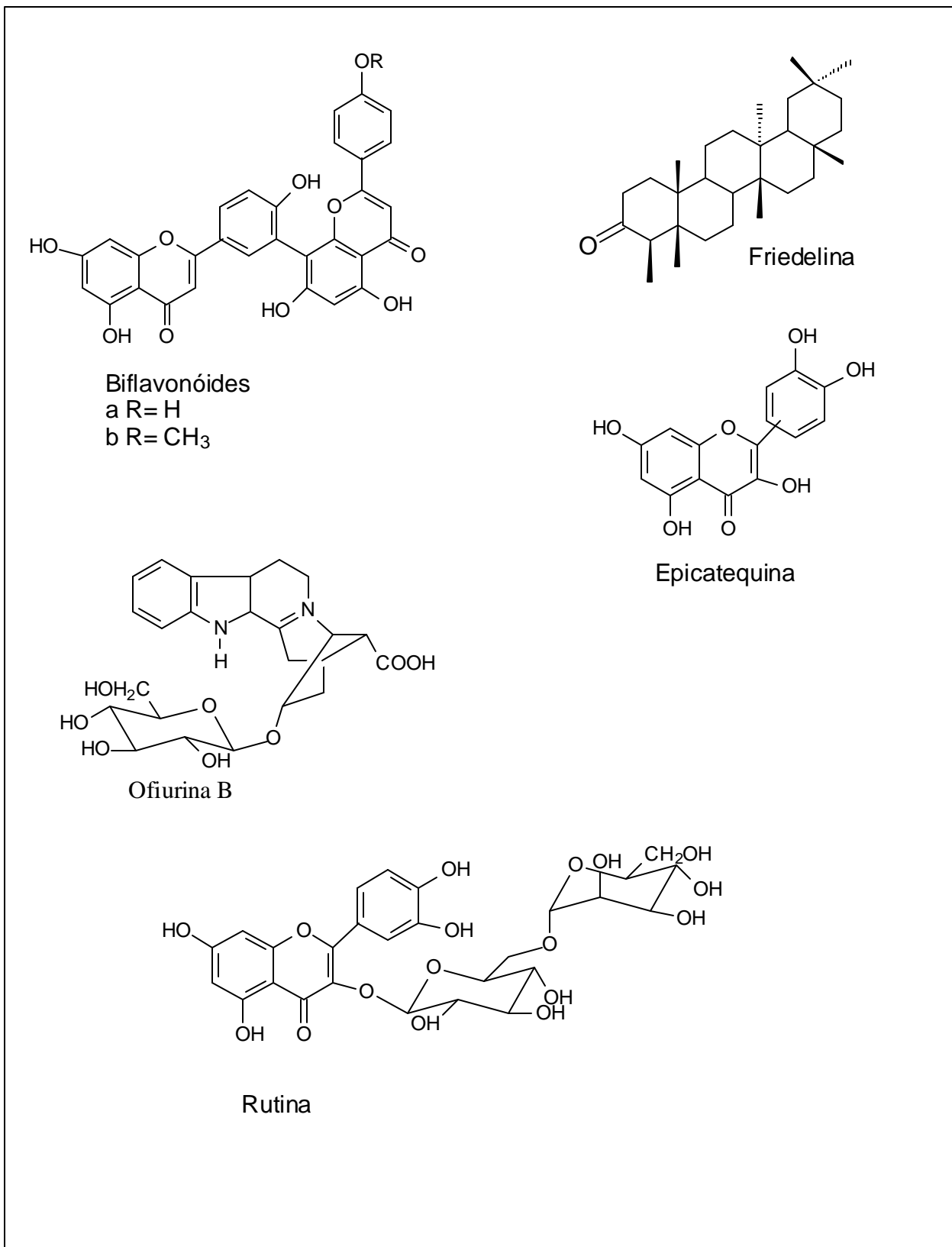
Referências: 17 – Drewes & Hudson, 1983; 18 – Bates & Linz, 1984; 19 – Kamil et al., 1987; 20 – Okigawa & Kawano, 1976; 21 – Rao & Gunasekar, 1989; 22 – Reddy et al., 1983; 23 – Rao et al., 1997; 24 – Messanga et al., 1992; 25 – Tih et al., 1988; 26- Tih et al., 1989; 27 – Tih et al., 1990; 28 – Oliveira et al., 1999; 29 – Monache et al., 1967; 30 – Felício et al., 1993; 31 – Felício et al., 1994; 32 – Moreira, 1994; 33 – Moreira et al., 1994; 34 – Velandia, 1997; 35 – Pak et al, 1997; 36 – Pak, et al., 1997; 37 - Battistini, et al., 1997; 38 – Oliveira et al., 1996.



Quadro 19. Estrutura de alguns constituintes químicos isolados de espécies da família Ochnaceae.



Quadro 20. Estrutura de alguns constituintes químicos isolados de espécies da família Ochnaceae.



Quadro 21. Estrutura de alguns constituintes químicos isolados de espécies da família Ochnaceae.

A família Ochnaceae é caracterizada principalmente por flavonóides, como pode ser observado na tabela 20. Levando-se em consideração estes fatos escolheu-se para estudo uma espécie de Ochnaceae, cujo gênero vem despertando interesse para estudo, a medida que vão sendo descobertas as atividades farmacológicas de extratos ou de substâncias. Como exemplos, podemos citar o estudo do extrato em etanol e aquoso de *Ouratea lucens*, que apresentou atividade antiviral (Roming et al., 1991). O extrato hidroalcolico de *Ouratea parviflora* que teve efeito antiinflamatório em edema de pata de rato, induzido pela carragenina, além de possuir efeitos como depressor do sistema nervoso central e antiespasmódico (Battistini et al., 1997). A substâncias hexaspermonas A, B e C (tabela 2) de *Ouratea hexasperma* que apresentou atividade anticancerígena, em testes de laboratório, contra carcinoma 60 (Moreira et al., 1994). As duas biflavonas (tabela 2) isoladas de *Ouratea spectabilis*, inibiram a enzima aldose redutase extraídas de olhos de bovinos (Felício et al., 1993 e Felício et al., 1994).

O isolamento de constituintes químicos com efeitos medicinais em espécies do gênero *Ouratea*, serviu de motivo para o presente trabalho. Da espécie estudada, *Ouratea floribunda*, foi isolado entre outros triterpenos comuns, uma mistura de acil oleanóis e um depsídeo (atranorina). Os extratos mais polares desta espécie apresentaram-se com aspecto resinosos e constituídos de outros polímeros não identificados. Provavelmente a época da coleta não foi propícia para o isolamento dos flavonóides.

OBJETIVOS

1 - Dar continuidade ao estudo químico de espécies de plantas da família Ochnaceae.

2 - Isolar e determinar as estruturas dos principais metabólitos especiais da espécie *Ouratea floribunda*.

3 – Contribuir para o conhecimento químico desta espécie.

2.1. DESCRIÇÃO DE *Ouratea floribunda* St. Hill

Ouratea floribunda é um arbusto de aproximadamente um metro de altura, com folhas de bordas serrilhadas e flores pequenas em abundância, com pétalas amarelas. Na figura 2.1 pode se observar uma fotografia de um exemplar desta espécie.



Quadro 22. Specimen de *Ouratea floribunda* St. Hill
Foto: Geizi J. A. de carvalho

2.2. CLASSIFICAÇÃO BOTÂNICA CRONQUIST, 1981:

Divisão: Magnoliophyta

Classe: Magnoliopsida

Subclasse: Dilleniidae Takhtajan, 1966

Superordem: Dillenidae

Ordem: Theales Lindley, 1833

Família: Ochnaceae De Candolle, 1811

Gênero: *Ouratea* Aubl.

Espécie: *Ouratea floribunda* St. Hill

Nome vulgar: não encontrado

A família Ochnaceae compreende aproximadamente 40 gêneros e 600 espécies. O Gênero Ouratea compreende aproximadamente 300 espécies.

2.3. DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA

Regiões tropicais, principalmente América do Sul.

2.4. IMPORTÂNCIA ECONÔMICA

A família Ochnaceae possui poucas espécies com valor econômico, algumas delas do gênero Lophira, fornecem madeira para construção e outras são usadas como plantas ornamentais em jardins.

2.5. COLEÇÃO BOTÂNICA DE REFERÊNCIA

Ouratea floribunda:

Coletores: Professora Alcení Augusta Werle – ICE – UFOP e Jorge Luís da Silva – IB – UFOP.

Data: setembro de 1996

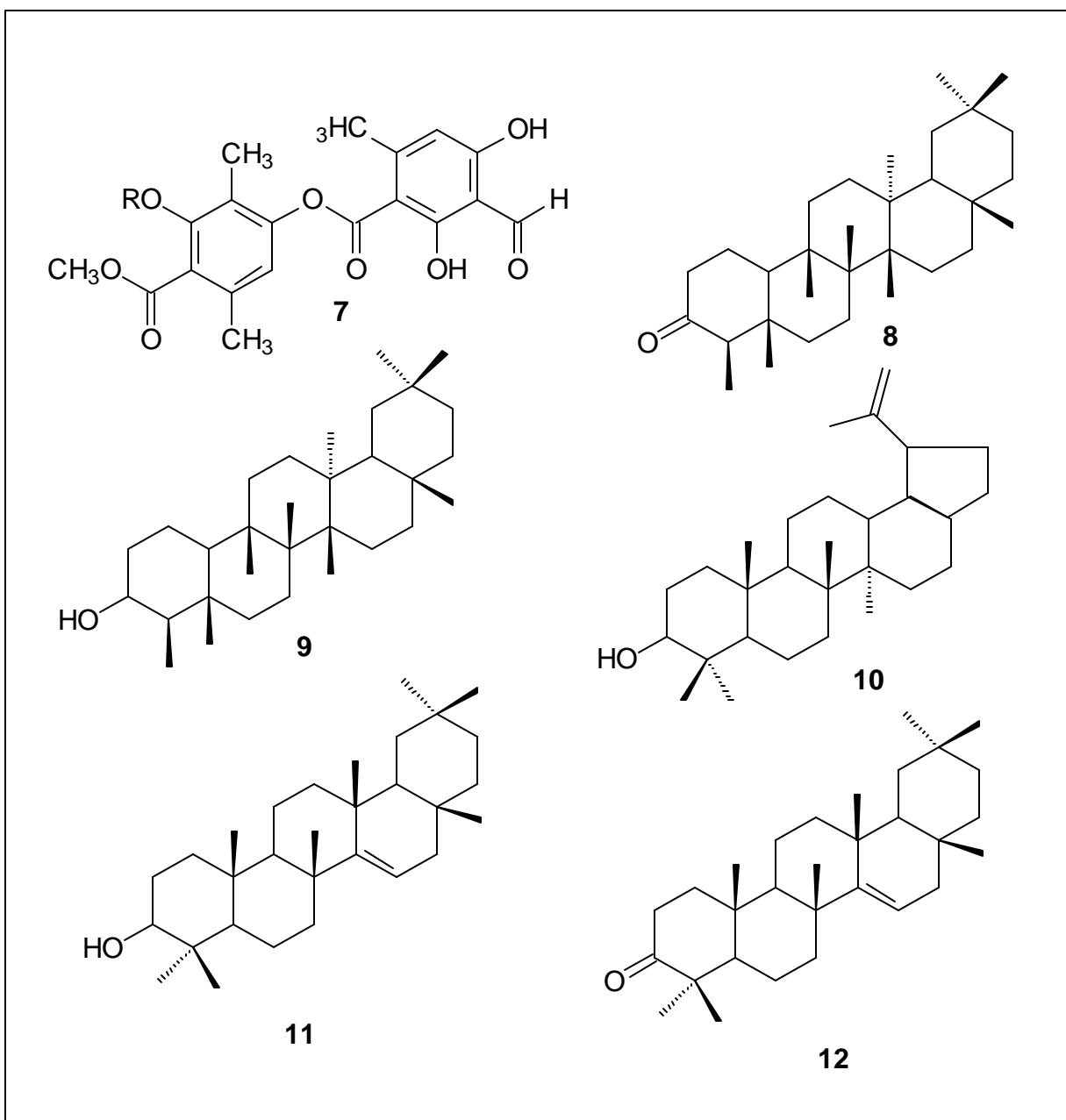
Local: Reserva da MBR (Minerações Brasileira Reunidas) próximo ao Centro de Pesquisas do Morro do Chapéu – Belo Horizonte – MG.

Identificador: Jorge Luís da Silva por comparação com excicata existente no Herbário José Baldini.

Herbário: Herbário José Baldini do Instituto de Ciências Exatas e Biológicas da Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto – MG, sob o número 6944.

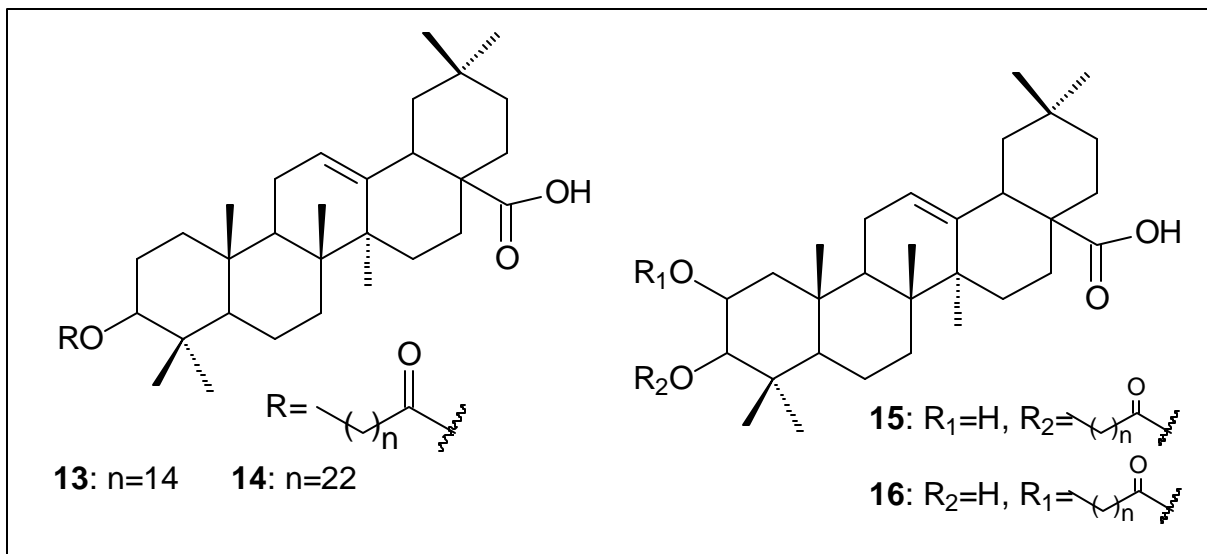
2.6. CONSTITUINTES QUÍMICOS ISOLADOS DE *Ouratea floribunda* ST. HILL

As substâncias **7**, **8**, **9**, **10**, **11** e **12** foram isoladas do extrato em hexano do caule de *Ouratea floribunda* St. Hill.



Quadro 23. Constituintes químicos isolados de *Ouratea floribunda* St. Hill.

As substâncias 13, 14, 15 e 16 foram isoladas do extrato em acetado de etila das flores de *Ouratea floribunda* St. Hill.



Quadro 24. Constituintes químicos isolados de *Ouratea floribunda* St. Hill.

2.7. PARTE EXPERIMENTAL

2.7.1. COLETA DA PLANTA

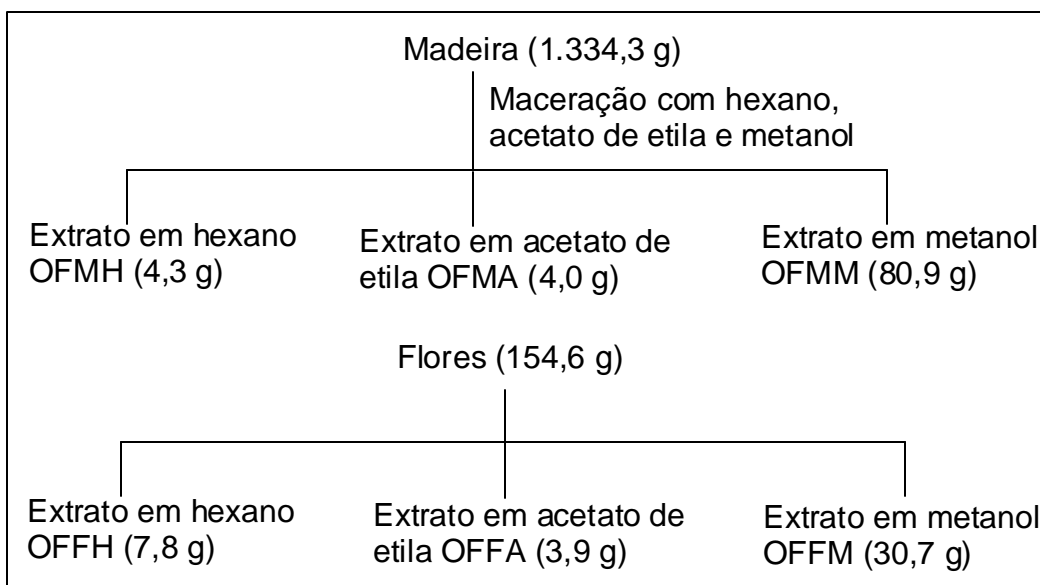
Ouratea floribunda St. Hill foi coletada na Reserva da MBR (Minerações Brasileira Reunidas) próximo ao Centro de Pesquisas do Morro do Chapéu – Belo Horizonte – MG, no mês de setembro de 1996. O espécime coletado foi classificado pelo técnico em botânica Jorge Luís da Silva IB- UFOP.

O material foi separado em flores, folhas e madeira, submetidos a secagem durante 4 semanas exposto ao ar sob folhas de jornal e convertido a pó em moinho de facas.

2.7.2. EXTRAÇÃO

O material moído obtido das flores (154,6 gr.) e da madeira (1.334,3 gr.) foram submetidos a extração por maceração com hexano, acetato de etila e metanol.

A destilação dos extratos foi feita à pressão reduzida. Estas operações encontram-se resumidas no esquema 11.

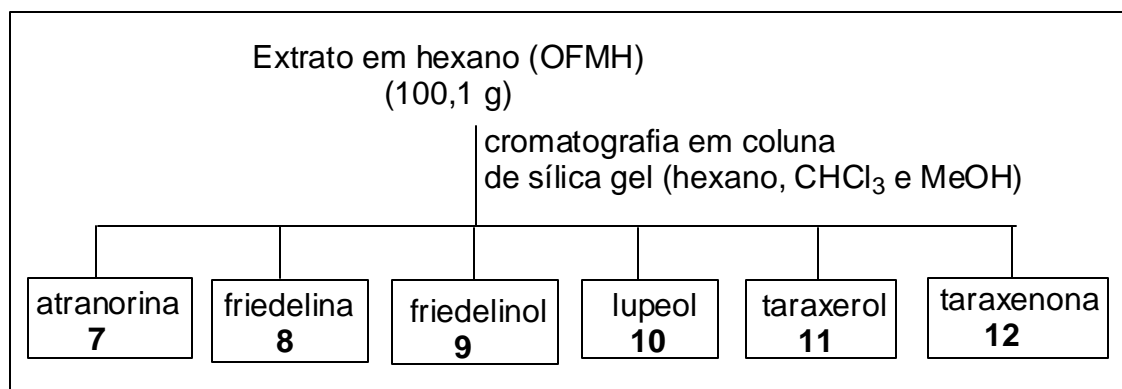


Esquema 11. Processamento para obtenção dos extrato de *Ouratea flobunda*.

2.7.3. ISOLAMENTO E PURIFICAÇÃO DOS CONSTITUINTES

2.8.3.1. EXTRATO EM HEXANO DA MADEIRA DE *Ouratea floribunda* (Esquema 12)

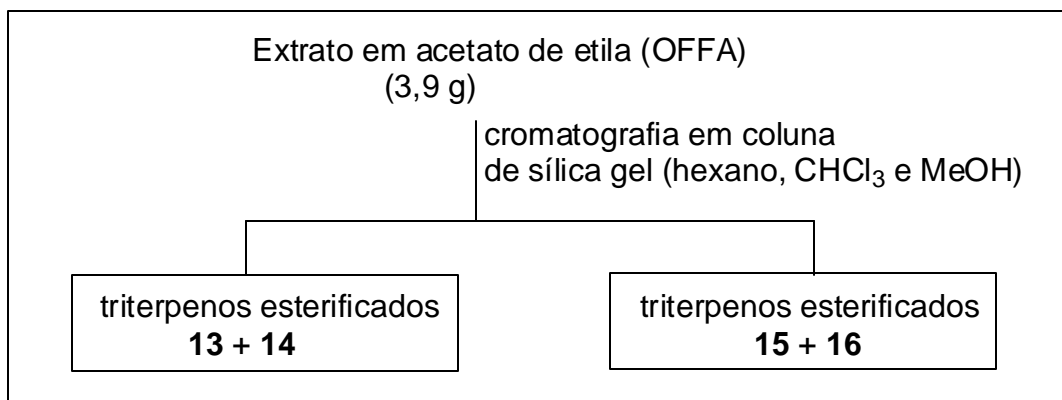
O extrato em hexano (4,3 g) foi submetido a cromatografia em coluna, usando-se como eluentes hexano, clorofórmio e metanol em gradiente de polaridade. Recolheram-se 33 frações de 125 mL cada. Deste extrato foram isoladas as substâncias **7, 8, 9, 10, 11 e 12**.



Esquema 12. Fracionamento do extrato em hexano do caule de *Ouratea floribunda* (OFMH).

2.7.3.2. EXTRATO EM ACETATO DE ETILA DAS FLORES DE *Ouratea floribunda* (Esquema 13)

O extrato em acetato de etila (3,9 g) foi submetido a cromatografia em coluna, usando-se como eluentes hexano, clorofórmio e metanol em gradiente de polaridade. Recolheram-se 795 frações de 10 mL cada. Deste extrato foram isoladas as substâncias **13 + 14 e 15 + 16**.



Esquema 13. Fracionamento do extrato em acetato de etila das flores de *Ouratea floribunda* (OFFA).

2.7.4. REAÇÕES DE DERIVATIZAÇÕES

A. Acetilação

Foi adicionado à amostra [(7), atranorina, 12 mg], piridina e anidrido acético na proporção de 1:1, a solução foi mantida em refluxo à 60 °C, com agitação por 24 horas. Adição de água destilada (0 a 5 °C) e extraiu-se com clorofórmio (3 x 30 mL) em funil de separação. A solução em clorofórmio foi lavada com solução aquosa de HCl (5%) (30 mL) e posteriormente lavada com água destilada (3 x 30, mL). À solução resultante foi adicionado sulfato de sódio anidro e o solvente foi destilado sob vácuo em rotavapor. A amostra acetilada foi pesada, 10 mg e submetida à análise por CCDA e análises espectrométricas e, então, identificado o novo derivado da atranorina (**7a**).

B. Hidrólise ácida

A amostra correspondente à mistura de ésteres **13** e **14** (70 mg), foi tratada com uma solução de MeOH e HCl (5%) e mantida em refluxo por duas horas. A mistura reacional foi extraída com CHCl₃. A solução clorofórmica foi concentrada e purificada por CC de sílicagel.

C. Metilação com diazometano

O diazometano foi preparado a partir de uma solução etérea de N-metil-N-nitroso-*p*-tolueno-sulfonamida (Diazald) tratada com uma solução de KOH e mantida em banho de gelo.

A amostra a ser metilada (**15** + **16**) foi dissolvida em acetona e tratada com excesso de diazometano recentemente preparado.

2.7.5. CONSIDERAÇÕES SOBRE O MATERIAL E MÉTODOS UTILIZADOS

Vide capítulo 1, material e métodos, pág. 21.

2.7.6. DADOS FÍSICOS E ESPECTRAIS DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS DE *Ouratea floribunda* ST. HILL.

- Atranorina (**7**)

P.F. 191-192 °C (CDCl₃) (12 mg)

RMN ¹H Tab. 7, pág. 154.

RMN ¹³C Tab. 7, pág. 154.

- Friedelina (**8**)

P.F. 230 °C (CDCl₃) (130 mg)

RMN ¹H Tab. 7, pág. 170.

RMN ¹³C Tab. 7, pág. 171.

- Friedelinol [mistura com friedelina (**8**)] (**9**)

P.F. 248-250 °C (CDCl₃) (150 mg)

RMN ¹H Tab. 9, pág. 182.

RMN ¹³C Tab. 9a, pág. 182.

- Lupeol (**10**)

P.F. 160-161°C (CDCl₃) (100 mg)

RMN ¹H Tab. 10, pág. 188.

RMN ¹³C Tab. 10, pág. 188.

- Taraxerol e taraxenona (**11 e 12**)

P.F. 245 °C (CDCl₃) (150 mg)

RMN ¹H Tab. 0,74 (s), 1,61 (s), 3,20 (dd), 5,52 (dd), 1,61 (m), 1,86 (sl), 1,57 (sl)

RMN ¹³C Tab. 11, pág. 194.

- Ésteres triterpênicos (**13 e 14**)

P.F. 90 °C (MeOH) (130 mg)

Óleo amarelo (CDCl₃)

RMN ¹H 0,72 (s), 1,59 (s), 2,26 (t), 4,47 (d), 5,25 (dd)

RMN ¹³C Tab. 11, pág. 205.

- Ésteres triterpênico (**15 e 16**)

Óleo amarelo (120 mg)

RMN ¹H 0,72 (s), 1,59 (s), 2,26 (d), 4,47 (d), 5,25 (dd)

RMN ¹³C Tab. 11, pág. 219.

2.8. DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DOS CONSTITUINTES

2.8.1. ATRANORINA (7).

A substância **7** (Quadro 26, pág. 156) foi identificada como um depsídeo (12 mg) e por isso fez-se abaixo algumas observações sobre esta classe de substâncias.

Os depsídeos são produtos aromáticos de origem policetídica e são especialmente bem representados em líquens, tendo como principal característica o fato de serem formados pela condensação de duas ou três unidades simples do orcinol ou β -orcinol através de ligações do tipo éster (Elix et al., 1993).

Os depsídeos são descritos na literatura como substâncias que possuem atividades farmacológicas. Como exemplo, podemos citar o ácido úsnico e difrático que possuem atividade antiinflamatória, analgésica, antipirética (Dobrescu, et al., 1993; Okuyama et al, 1995) e bactericida (Ghione et al., 1988); o ácido lecanórico, precursor da atranorina, e seus análogos contendo benzanilida que antagonizam diversos efeitos enzimáticos e celulares promotores de tumores (Dobrescu, et al., 1993; Okuyama et al, 1995).

Embora o composto atranorina já tenha sido isolado de um líquen (Nicollier et al., 1979; Elix & Jayanthi, 1987), não houve nenhum relato prévio de ter sido encontrada em espécies do gênero *Ouratea*.

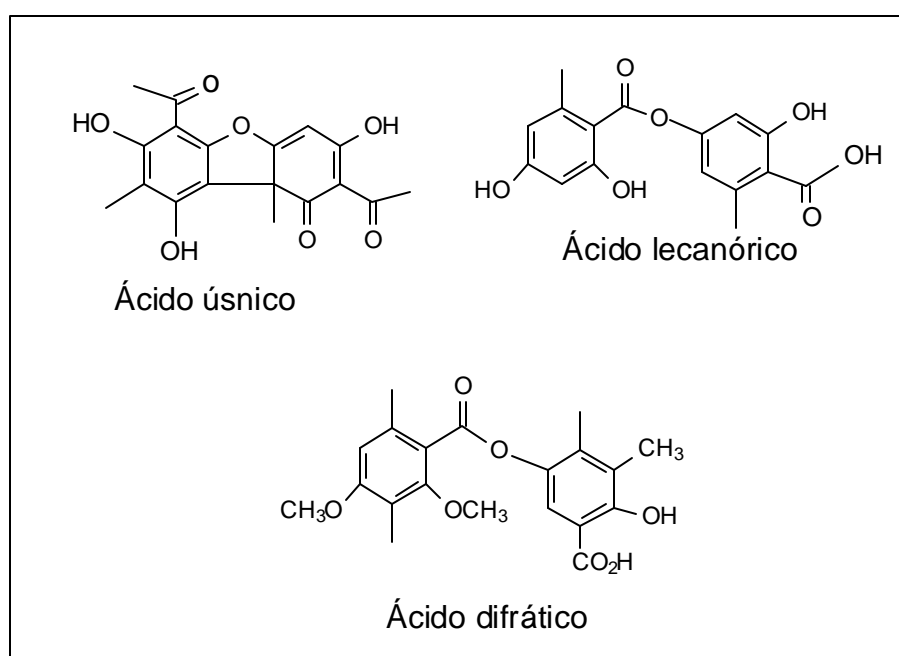
A literatura (Kim et al., 1996) relata um caso similar de um tridepsídeo (tenuiorin) isolado da planta *Frullanis nisqualensis*. Entretanto a atranorina isolada desta espécie pode ter sido elaborada por líquens, em simbiose, no material usado para estudo.

A literatura revela que a confirmação das estruturas dos primeiros depsídeos era feita por comparação do produto natural isolado com a síntese total do suposto produto. Devido ao isolamento em pequeníssimas quantidades de material e à falta de dados para a conclusão final.

O fato da substância **7** ser de líquen e ter sido isolada do extrato hexânico da madeira de uma planta, sugere que o líquen estava em tamanho imperceptível

aos olhos humanos. Os líquens são muito pequenos e muitos são crostosos. Além disso, substâncias lixiviadas dos talos poderiam estar impregnando o córtex dos ramos também. Por mais que se limpassem os ramos seria difícil retirá-los, uma vez que a coleta foi feita em mata, onde as espécies crescem naturalmente.

Algumas espécies de líquens que possuem atranorina como constituinte químico e que habitam a espécie *Ouratea floribunda* são: *Parmotrema* sp., *Rimelia* sp, *Heterodermia obscurata*, *Bulbothrix isidiza* e *Bulbothrix* sp. Identificadas pelo Professor Dr. Marcelo P. Marcelli, Jardim Botânico – USP – SP.



Quadro 25. Estruturas de alguns depsídeos.

Para determinar a estrutura de **7**, fez-se análise da dados espectrais de RMN de ^1H e de ^{13}C e massas e preparação do derivado acetilado.

O espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) (fig. 85, pág. 159), mostra a presença de sinais simples em δ_{H} 2,08, 2,53 e 2,68 e 3,98 (3H cada um) que correspondem a três grupos metilas ligados a carbonos do tipos sp^2 e uma metoxila, respectivamente. Este espectro possui seis singletos (1H cada um) e sinais correspondente a dois hidrogênios aromáticos (δ_{H} : 6,39 e 6,50), um hidrogênio de grupo formila (δ_{H} : 10,34) e três hidroxilas queladas (δ_{H} : 11,94, 12,44

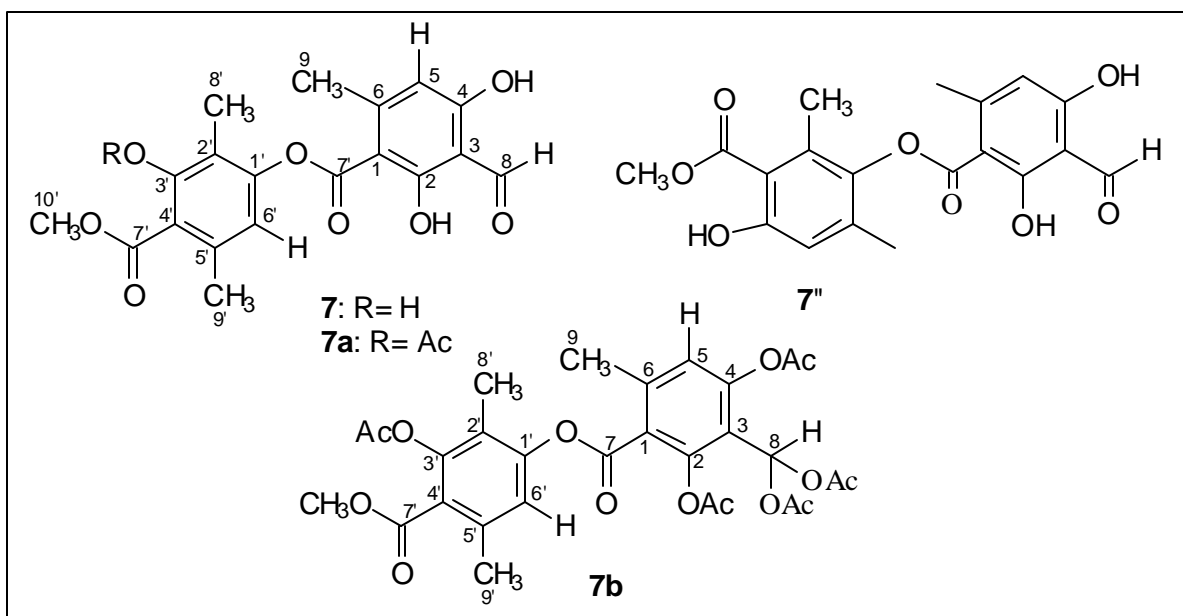
e 12,54). A análise comparativa dos espectros de RMN ^{13}C (fig. 86, pág. 159) e de HMQC- $^1\text{J}_{\text{CH}}$ (fig. 88, pág. 161) permitiu observar doze sinais de carbonos quaternário do tipo sp^2 (δ_{C} : 102,8; 108,8; 110,3; 116,7; 119,9; 152,0; 152,4; 162,8; 167,5; 169,1; 169,7 (C=O) e 172,2 (C=O), três CH [δ_{C} : 112,8; 115,9 e 183,5 (C=O)], e quatro CH_3 [δ_{C} : 9,40, 24,0, 25,6 e 52,3(OCH₃)], consistentes com os dados obtidos por análises de RMN de ^1H . Estes dados aliados às deduções anteriores obtidas com o espectro de RMN de ^1H permite deduzir a fórmula ampliada $[\text{C}_{10} (\text{C}=\text{O})_2 (\text{CH})_2 (\text{HCO}) (\text{CH}_3)_3 (\text{OCH}_3) (\text{OH})_3$ correspondendo a fórmula molecular $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_7$ ($m/z=348$ u), que para chegar à massa 374 revelado no espectro de massas (fig. 89, pág. 162) através do pico $\text{M}^{\cdot+} +1$ (375, 30%), basta acrescentar 16 u, correspondente a um oxigênio e, estão propor a F. M. como $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_8$ para esta substância.

A análise dos espectros de correlações a longa distância 2D [^1H , ^{13}C -HMBC- $^n\text{J}_{\text{CH}}$ ($n=2$ e 3)] (fig. 90, pág. 163) permitiu identificar sinais de acoplamento dos hidrogênios 3H-9' (δ_{H} 2,53) e carbonos C-5' (δ_{C} 139,8, $^2\text{J}_{\text{CH}}$), C-6' (δ_{C} 115,9, $^3\text{J}_{\text{CH}}$) e C-4' (δ_{C} 110,3, $^3\text{J}_{\text{CH}}$), entre 3H-8' (δ_{H} 2,08) e C-2' (δ_{C} 116,7, $^2\text{J}_{\text{CH}}$), C-3' (δ_{C} 162,8, $^2\text{J}_{\text{CH}}$) e C-1' (δ_{C} 151,9, $^3\text{J}_{\text{CH}}$) e entre C-4' (δ_{C} 110,3, $^3\text{J}_{\text{CH}}$), C-5' (δ_{C} 139,9, $^3\text{J}_{\text{CH}}$), (Tabela 7). Estas informações e os picos em m/z (int. rel.) 196 (100), 194 (90), 179 (95) e 137 (20) mostrado no espectro de massas estão de acordo com o 2-hidroxi-3,6-dimetil-4-carbometoxibenzeno. O esquema de fragmentação é mostrado na página 152. O NOE observado no espectro 2D NOESY (fig. 93, pág. 166) confirmou a localização do 3H-9 *orto* (δ_{H} 2,53) em relação a H-5 (δ_{H} 6,50). Esta proposta foi confirmada através da análise do produto **7a**, obtido pela acetilação de **7** usando piridina e anidrido acético (1:1) e refluxo à 60 °C com agitação. Os sinais observados no espectros de HMBC (fig. 90, 91 e 92, pág. 163, 164 e 165) foram usados para estabelecer a correlação entre dois sinais de hidrogênio HO-2 (δ_{H} : 12,49) e C-2 (δ_{C} : 169,0, $^2\text{J}_{\text{CH}}$) e C-3 (δ_{C} : 108,5, $^3\text{J}_{\text{CH}}$), HO-4 (δ_{H} : 12,54) e C-3 (δ_{C} : 108,5, $^3\text{J}_{\text{CH}}$), C-4 (δ_{C} : 167,5, $^2\text{J}_{\text{CH}}$) e C-5 (δ_{C} : 112,8, $^3\text{J}_{\text{CH}}$), 3H-9 (δ_{H} : 2,68) e C-1 (δ_{C} : 102,8, $^3\text{J}_{\text{CH}}$), C-5 (δ_{C} : 112,8, $^3\text{J}_{\text{CH}}$) e C-6 (δ_{C} : 152,4, $^2\text{J}_{\text{CH}}$), H-8 (δ_{H} : 10,30) e C-4 (δ_{C} : 167,4, $^3\text{J}_{\text{CH}}$), Ar-H (δ_{H} : 6,39) e C-4 (δ_{C} : 167,4, $^3\text{J}_{\text{CH}}$), C-3 (δ_{C} :

108,5, $^3J_{CH}$) e C-9 (δ_C : 25,5, $^3J_{CH}$). O NOE observado no experimento 2D NOESY entre H-5 (δ_H : 6,39) e H-9 (δ_H : 2,67) foi usado para confirmar a localização do 3H-9 *orto* ao H-14. Estes dados e os valores dos picos m/z (int. rel.) 196 (100), 195 (20), 179 (95) e 151 (40) estão de acordo com o 2,3-diidroxibenzal-6-metil-benzoato.

Estes dados permitiram concluir que este composto é o depsídeo (**7**), identificado como atranorina, isolado de líquens. Entretanto somente os dados de RMN¹H foram encontrados na literatura (Elix et al., 1993). Os dados espectrais de RMN¹³C estão sendo relatados pela primeira vez para este depsídeo.

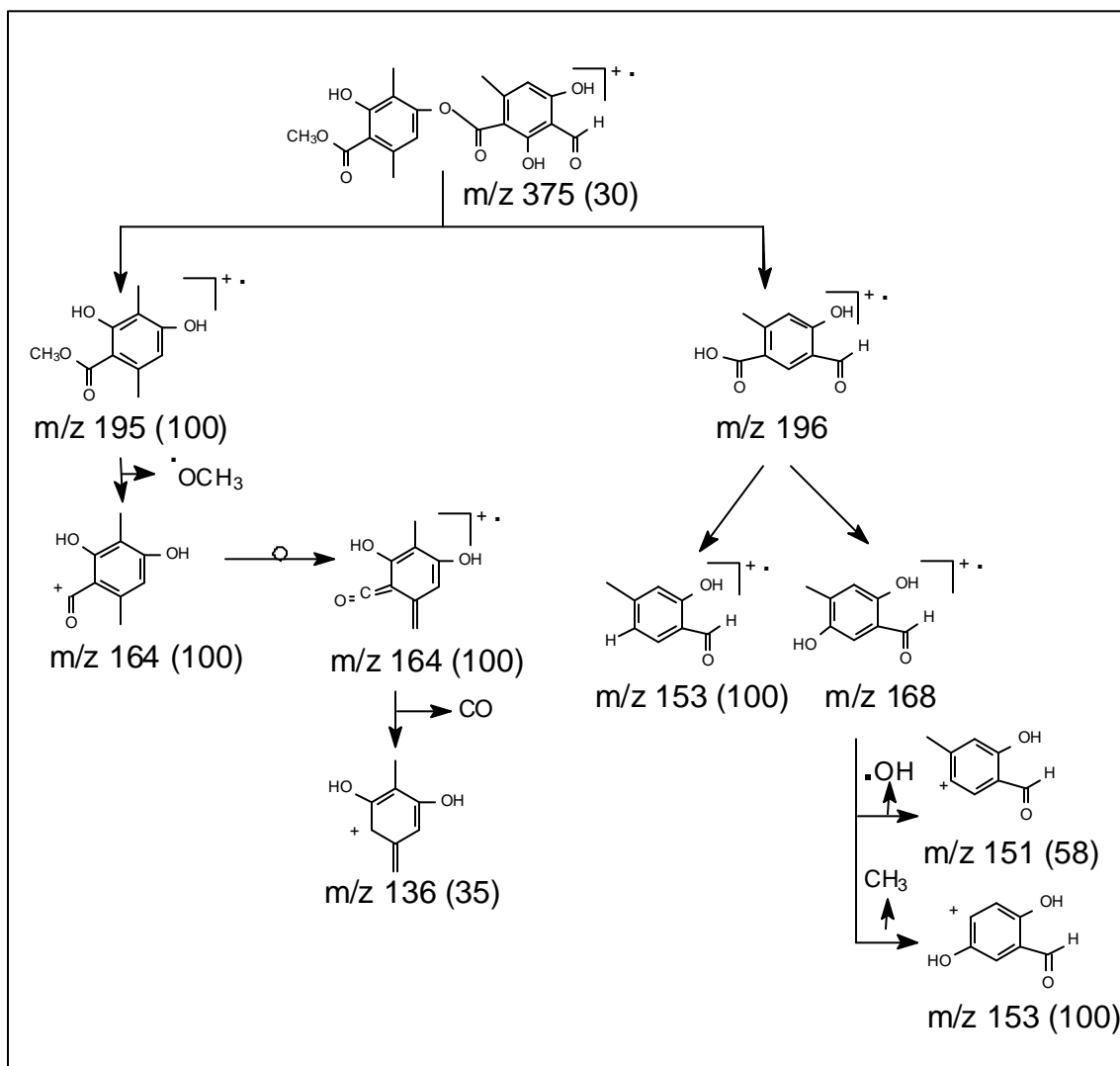
O tratamento de **7** com anidrido acético e piridina forneceu o monoacetato **7a** como produto principal, os dados de RMN (fig. 94, pág. 167) confirmaram a proposta do composto **7** (Tabela 20), o deslocamento paramagnético de H-6' foi deslocada de δ_H 6,50 no composto **7** (fig. 85, pág. 159) para δ_H 6,91 no composto **7a** (fig. 94, pág. 167), é consistente com sua localização em *para* ao o grupo hidroxila. Este derivado é novo e está sendo registrado no *Journal of the Brazilian Chemical Society* (in press). Os sinais adicionais observados nos espectros de RMN de ¹³C (δ_C : 83,5) e de ¹H (δ_H : 7,95) e os sinais adicionais de grupos metilas, figuras (2D), permitem propor a formação do produto pentaacetilado (**7b**), já registrado na literatura.



Quadro 26. Estruturas das substâncias **7** (atranorina) e os derivados acetilados **7a** e **7b**.

Tabela 21. Dados espectrais de RMN ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz), dados espectrais da atranorina (**7**) e de seu derivado acetilado (**7a**) em CDCl_3 e TMS como referência interna.

C	7			atranorina	7a		
	HMQC		HMBC	Lit.	HMQC		HMBC
	δ_{C}	δ_{H}	$^{2,3}J_{\text{CH}}$	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	$^nJ_{\text{CH}}$
1'	152,0	-	H-5, H-8	-	149,7	-	H-, 8
2'	116,7	-	HO-2, H-5,8	-	118,3	-	H-8
3'	162,8	-	HO-2, H-8	-	148,4	-	H-8
4'	110,3	-	HO-2, H-5,8	-	124,5	-	H-5
5'	139,9	-	H-9	-	136,6	-	H-9
6'	115,9	6,50 (s, 1H)	H-9	6,52	121,8	6,91 (s, 1H)	H-8, 9
7'	172,2	-	H-19	-	166,5	-	H-19
8'	9,4	2,07 (s, 3H)	-	2,08 (s)	10,3	2,01 (s, 3H)	-
9'	24,0	2,53 (s, 3H)	H-5	2,54 (s)	20,1	2,66 (s, 1H)	H-6
1	102,8	-	HO-11, H-18, 14	-	102,7	-	H-14
2	169,7	-	HO-11	-	169,1	-	-
3	198,5	-	H-14, H-11, 13	-	108,6	-	HO-2,4,H-5
4	167,5	-	H-14, 17, HO-13	-	167,6	-	HO-4, H-8
5	112,8	6,39 (s, 1H)	H-18, HO-13	6,40 (s)	112,9	6,39 (s, 1H)	H-9
6	152,4	-	H-11	-	152,4	-	H-9
7	169,7	-	-	-	168,4	-	-
8	193,8	10,3 (s, 1H)	-	10,38 (s)	193,8	10,4 (s, 1H)	-
9	25,6	2,67 (s, 3H)	H-14	2,69 (s)	25,6	2,66 (s, 3H)	H-5
10	52,3	3,97 (s, 3H)	-	-	52,3	3,89 (s, 3H)	-
HO-3'	-	11,94 (s, 1H)	-	-	-	Ausente	-
HO-2	-	12,49 (s, 1H)	-	-	-	12,44 (s, 1H)	-
HO-4	-	12,54 (s, 1H)	-	-	-	12,53 (s, 1H)	-
$\text{H}_3\text{C-CO}$	-	-	-	-	20,7	2,30	-
$\text{H}_3\text{C-CO}$	-	-	-	-	169,7	2,30	H_3C

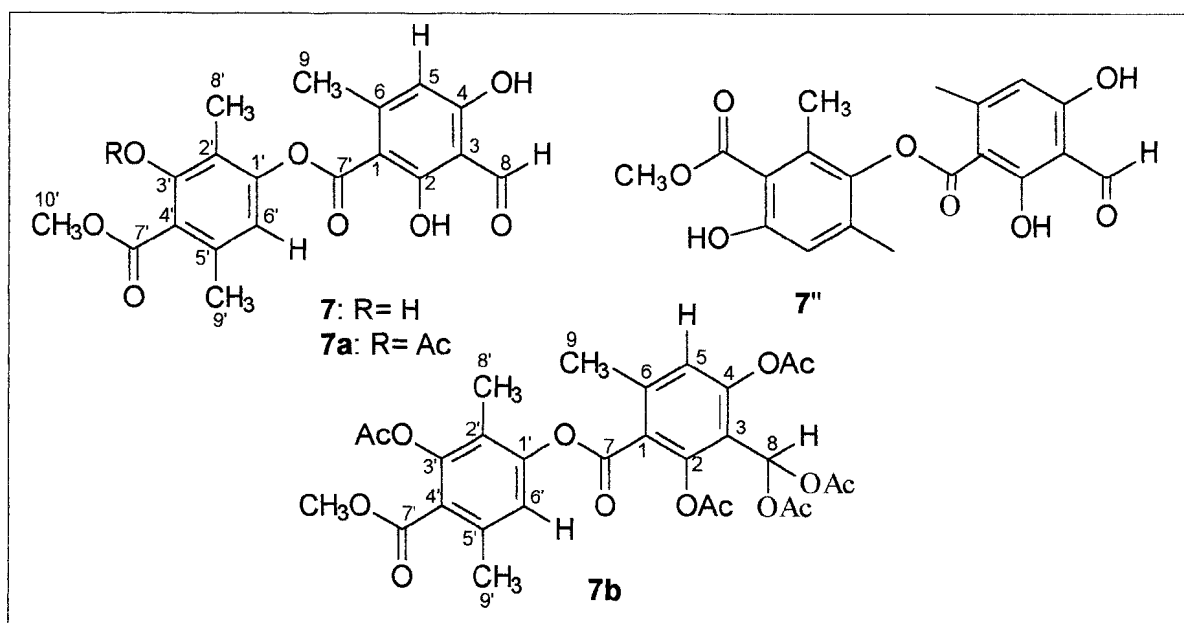


Esquema 14. Proposta de fragmentação para a substância 7.

108,5, $^3J_{CH}$) e C-9 (δ_c : 25,5, $^3J_{CH}$). O NOE observado no experimento 2D NOESY entre H-5 (δ_H : 6,39) e H-9 (δ_H : 2,67) foi usado para confirmar a localização do 3H-9 *orto* ao H-14. Estes dados e os valores dos picos m/z (int. rel.) 196 (100), 195 (20), 179 (95) e 151 (40) estão de acordo com o 2,3-diidroxibenzaldeído-6-metil-benzoato.

Estes dados permitiram concluir que este composto é o depsídeo (7), identificado como atranorina, isolado de líquens. Entretanto somente os dados de RMN¹H foram encontrados na literatura (Elix et al., 1993). Os dados espectrais de RMN¹³C estão sendo relatados pela primeira vez para este depsídeo.

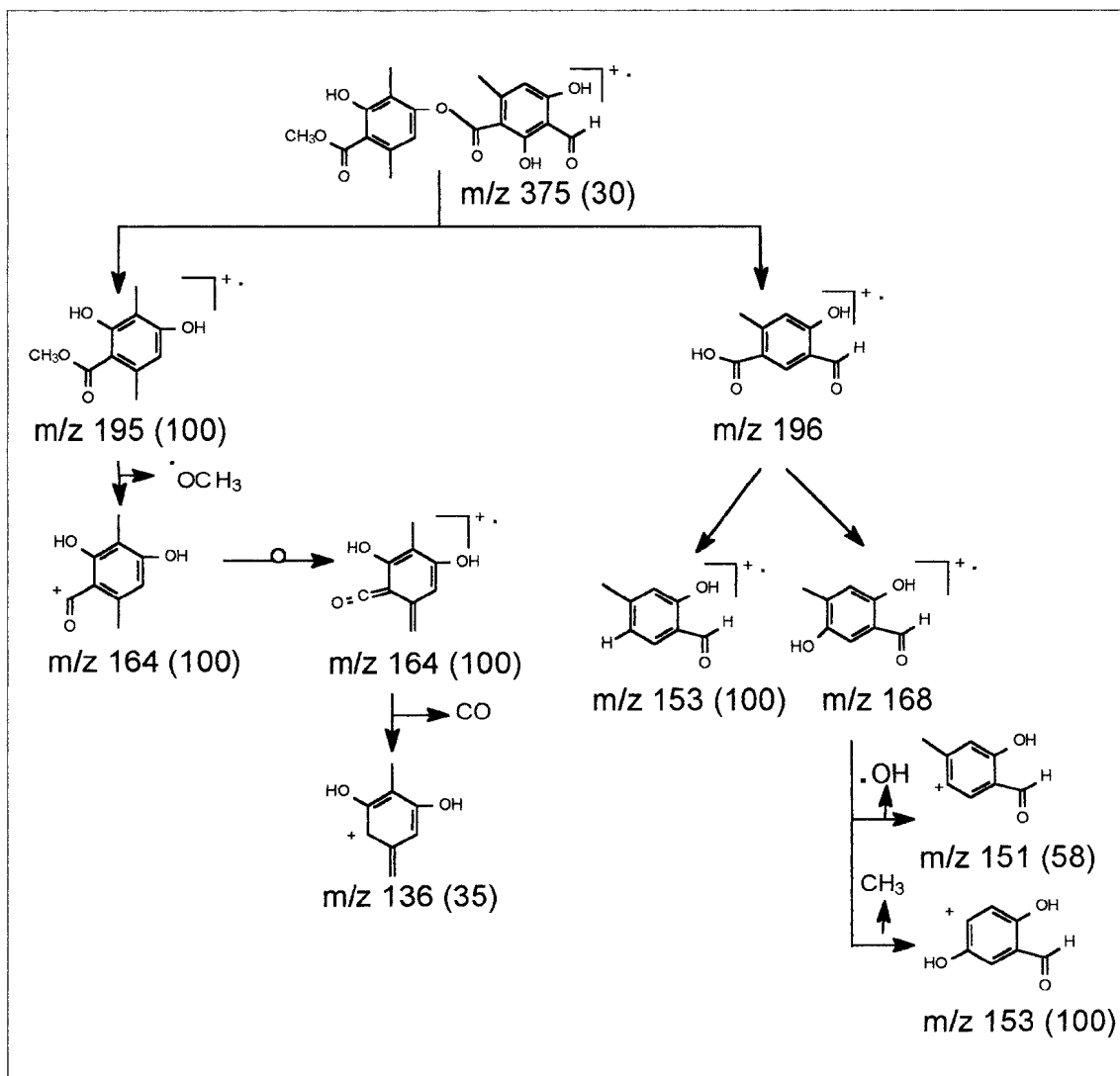
O tratamento de 7 com anidrido acético e piridina forneceu o monoacetato 7a como produto principal, os dados de RMN (fig. 94, pág. 167) confirmaram a proposta do composto 7 (Tabela 20), o deslocamento paramagnético de H-6' foi deslocada de δ_H -6,50 no composto 7 (fig. 85, pág. 159) para δ_H 6,91 no composto 7a (fig. 94, pág. 167), é consistente com sua localização em *para* ao o grupo hidroxila. Este derivado é novo e está sendo registrado no *Journal of the Brazilian Chemical Society* (in press). Os sinais adicionais observados nos espectros de RMN de ¹³C (δ_c : 83,5) e de ¹H (δ_H : 7,95) e os sinais adicionais de grupos metilas, figuras (2D), permitem propor a formação do produto pentaacetilado (7b), já registrado na literatura.



Quadro 26. Estruturas das substâncias 7 (atranorina) e os derivados acetilados 7a e 7b.

Tabela 21. Dados espectrais de RMN ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz), dados espectrais da atranorina (**7**) e de seu derivado acetilado (**7a**) em CDCl_3 e TMS como referência interna.

C	7			atranorina	7a		
	HMQC		HMBC	Lit.	HMQC		HMBC
	δ_{C}	δ_{H}	$^{2,3}\text{J}_{\text{CH}}$	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	$^n\text{J}_{\text{CH}}$
1'	152,0	-	H-5, H-8	-	149,7	-	H-, 8
2'	116,7	-	HO-2, H-5,8	-	118,3	-	H-8
3'	162,8	-	HO-2, H-8	-	148,4	-	H-8
4'	110,3	-	HO-2, H-5,8	-	124,5	-	H-5
5'	139,9	-	H-9	-	136,6	-	H-9
6'	115,9	6,50 (s, 1H)	H-9	6,52	121,8	6,91 (s, 1H)	H-8, 9
7'	172,2	-	H-19	-	166,5	-	H-19
8'	9,4	2,07 (s, 3H)	-	2,08 (s)	10,3	2,01 (s, 3H)	-
9'	24,0	2,53 (s, 3H)	H-5	2,54 (s)	20,1	2,66 (s, 1H)	H-6
1	102,8	-	HO-11, H-18, 14	-	102,7	-	H-14
2	169,7	-	HO-11	-	169,1	-	-
3	198,5	-	H-14, H-11, 13	-	108,6	-	HO-2,4,H-5
4	167,5	-	H-14, 17, HO-13	-	167,6	-	HO-4, H-8
5	112,8	6,39 (s, 1H)	H-18, HO-13	6,40 (s)	112,9	6,39 (s, 1H)	H-9
6	152,4	-	H-11	-	152,4	-	H-9
7	169,7	-	-	-	168,4	-	-
8	193,8	10,3 (s, 1H)	-	10,38 (s)	193,8	10,4 (s, 1H)	-
9	25,6	2,67 (s, 3H)	H-14	2,69 (s)	25,6	2,66 (s, 3H)	H-5
10	52,3	3,97 (s, 3H)	-	-	52,3	3,89 (s, 3H)	-
HO-3'	-	11,94 (s, 1H)	-	-	-	Ausente	-
HO-2	-	12,49 (s, 1H)	-	-	-	12,44 (s, 1H)	-
HO-4	-	12,54 (s, 1H)	-	-	-	12,53 (s, 1H)	-
$\text{H}_3\text{C-CO}$	-	-	-	-	20,7	2,30	-
$\text{H}_3\text{C-CO}$	-	-	-	-	169,7	2,30	H_3C



Esquema 14. Proposta de fragmentação para a substância 7.

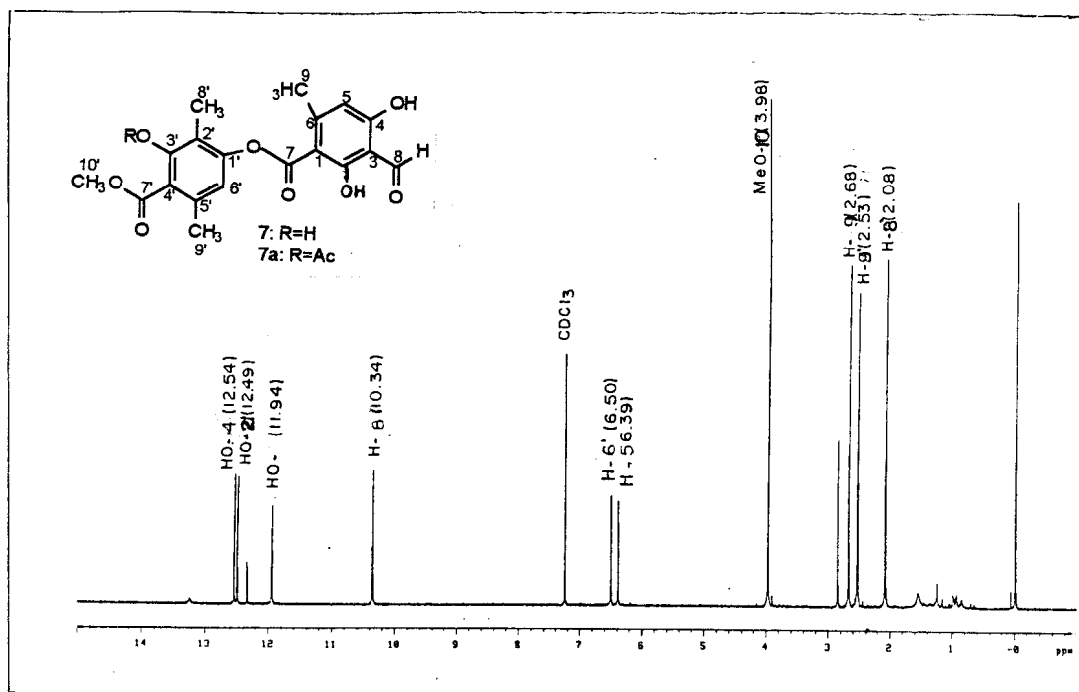


Figura 85. Espectro de RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) de 7

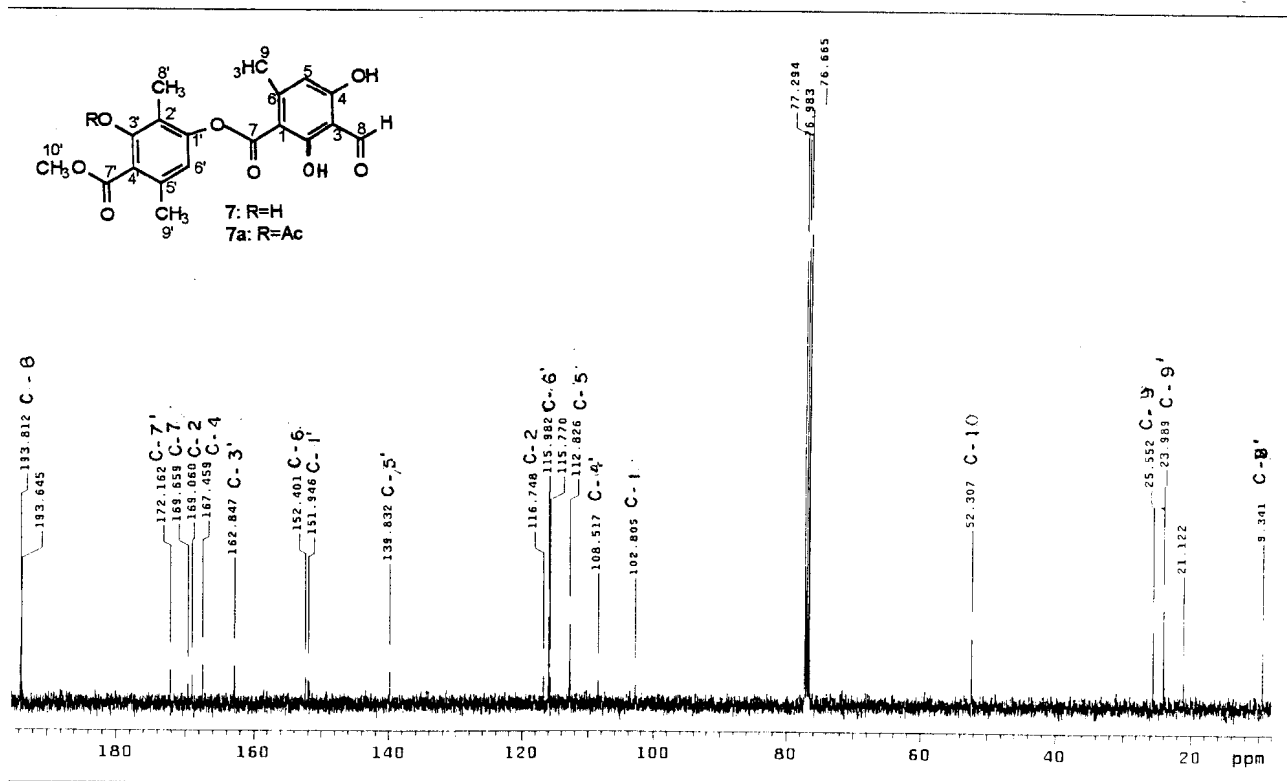
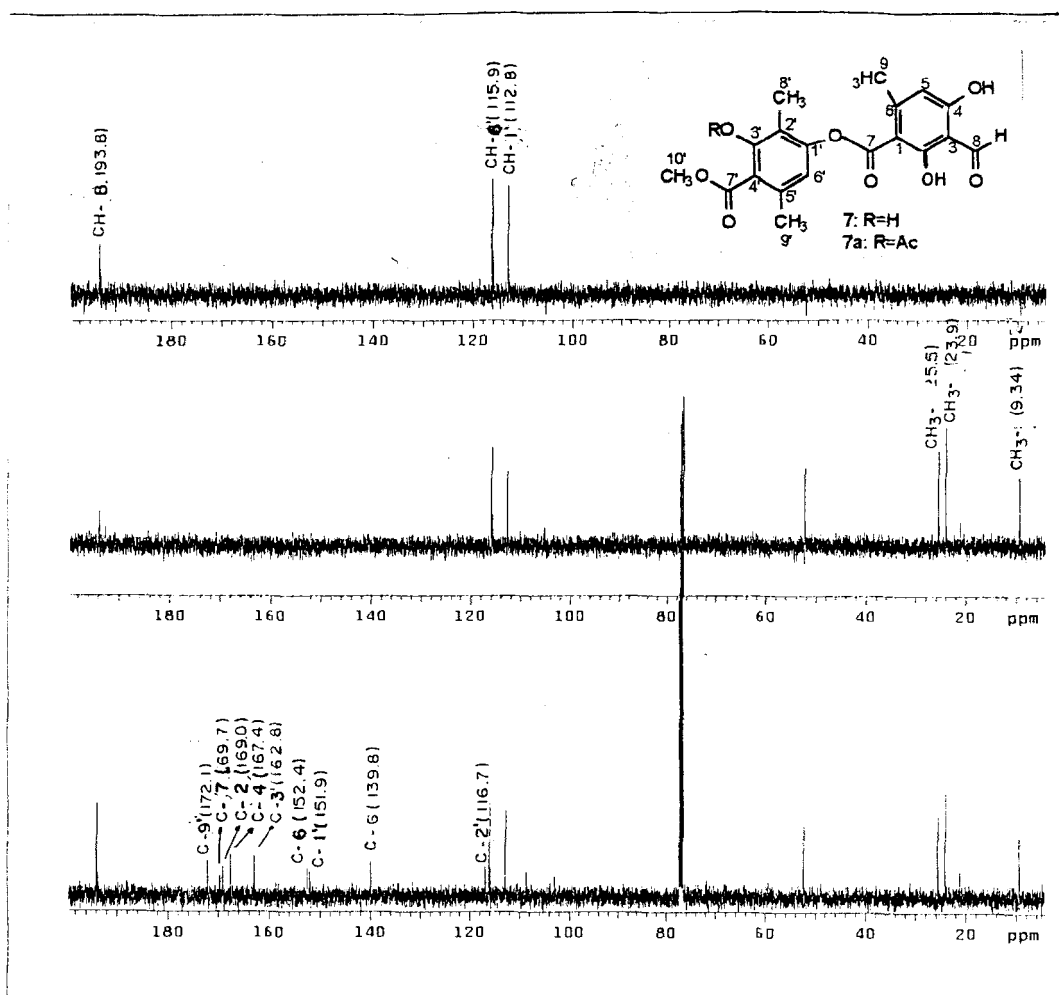


Figura 86. Espectro de RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) de 7



7. Espectro de RMN ¹³C-PND (a) e DEPT [θ=135° (b) e θ=90° (c)] (50 MHz, CDCl₃) de 7

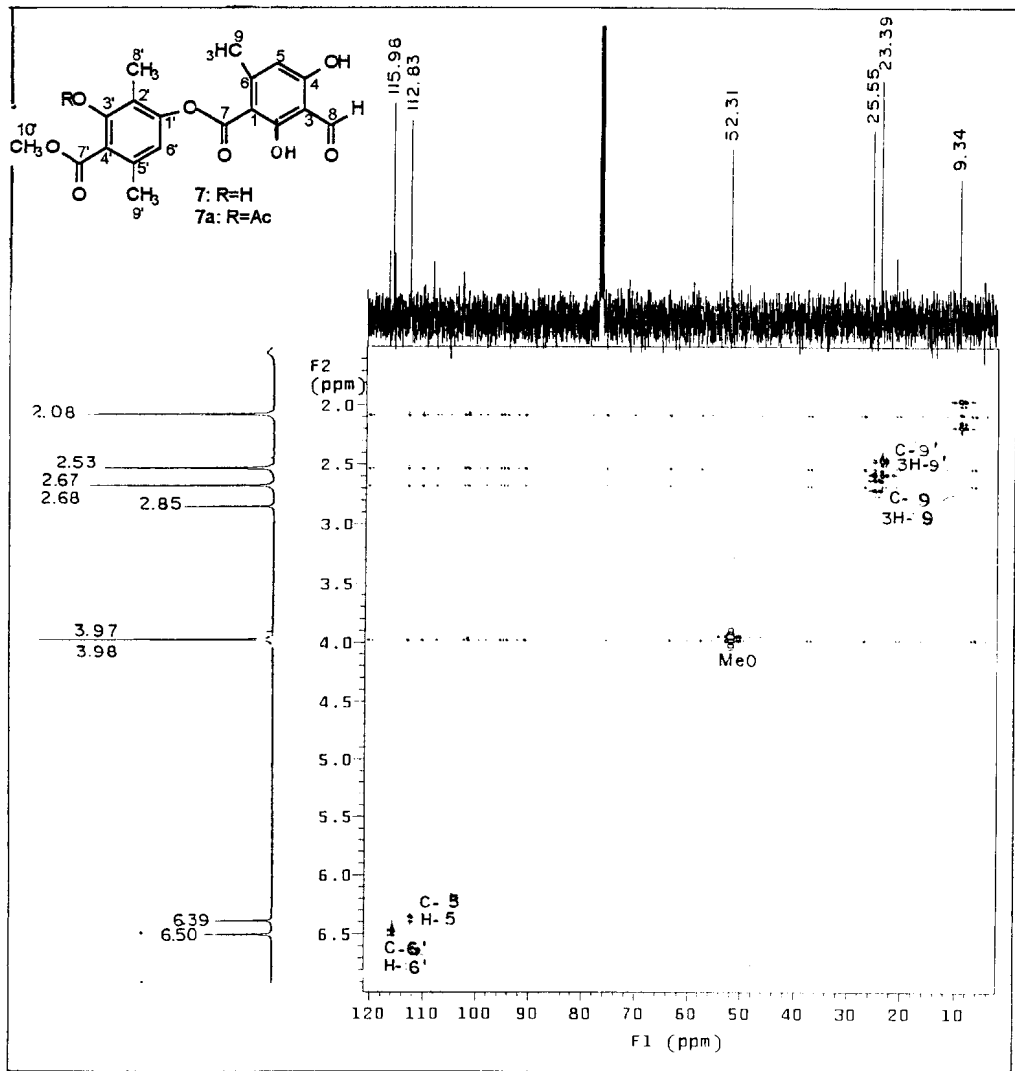


Figura 88. Espectro de RMN ^1H - ^{13}C - HMQC de 8 (expansão)

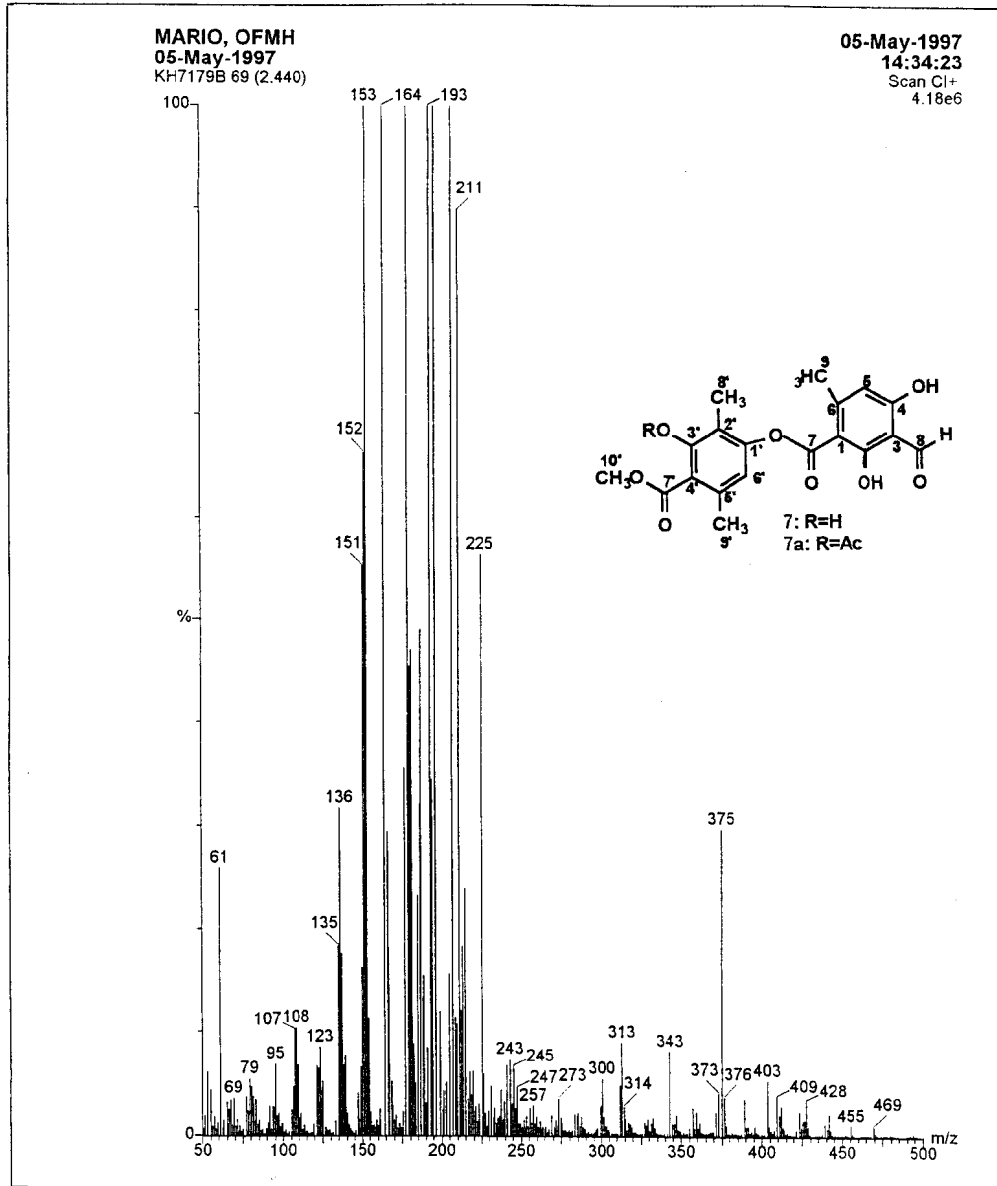


Figura 89., Espectro de massas de 7

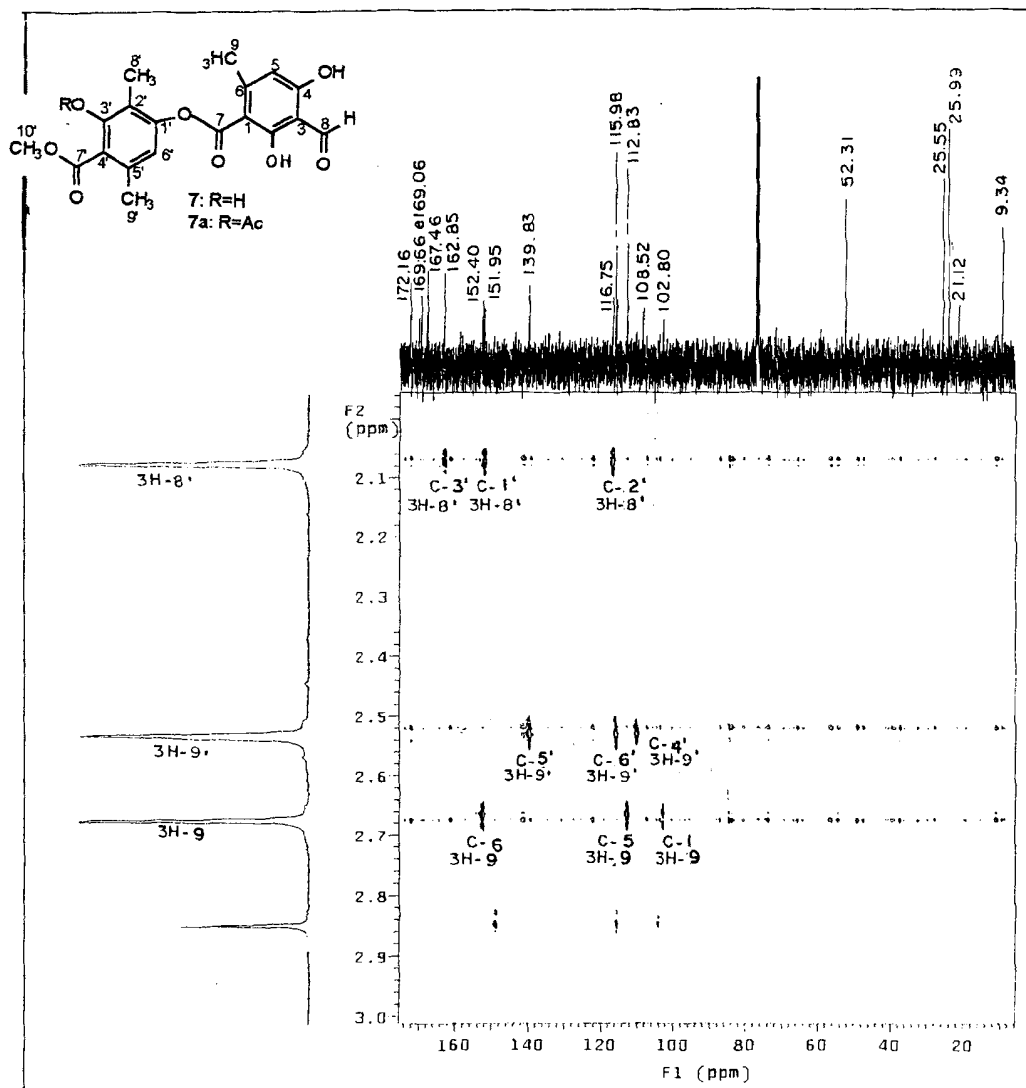


Figura 90. Espectro de RMN ^1H - ^{13}C $^n\text{J}_{\text{CH}}$ ($n=2,3$) HMBC 7 (expansão)

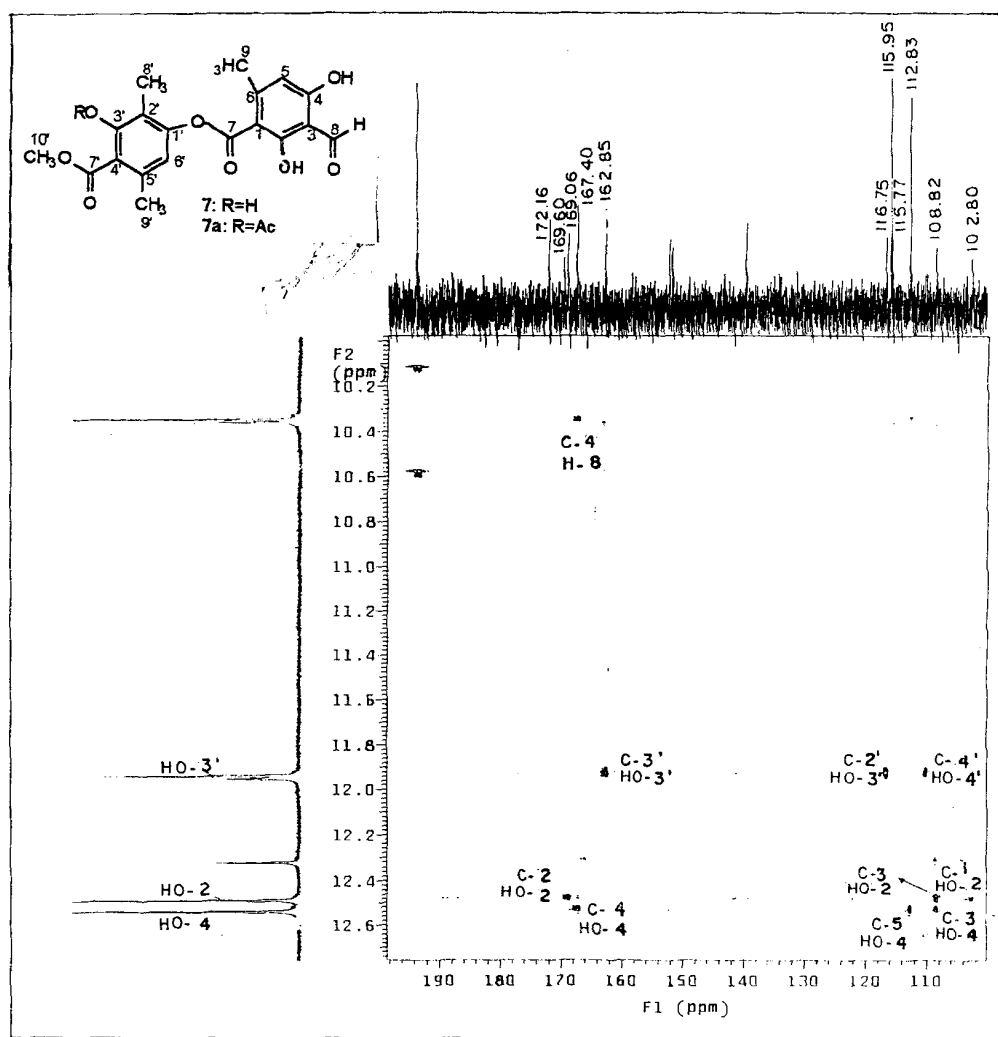


Figura 91. Espectro de RMN ^1H - ^{13}C $^n\text{J}_{\text{CH}}$ ($n=2,3$) HMBC 7 (expansão)

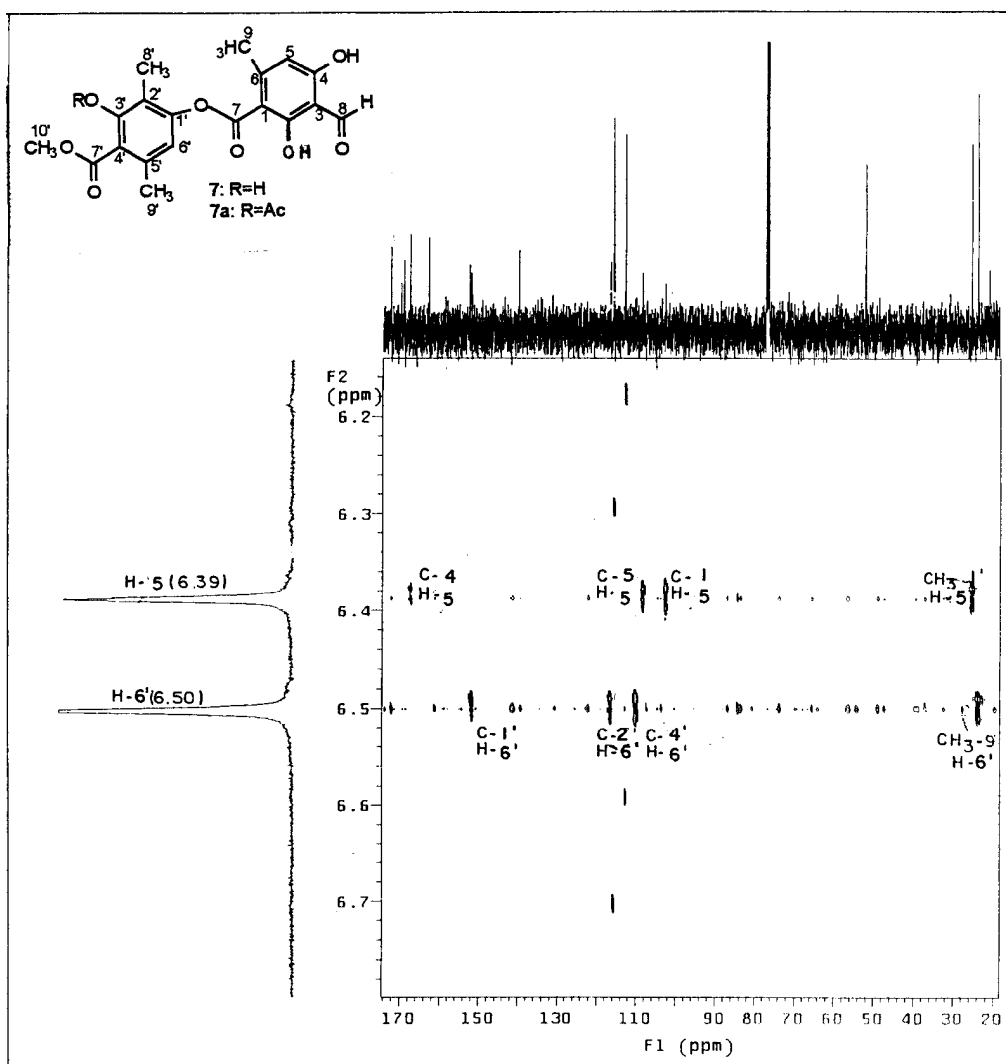


Figura 92. Espectro de RMN ^1H - ^{13}C $^n\text{J}_{\text{CH}}$ ($n=2,3$) HMBC 7 (expansão)

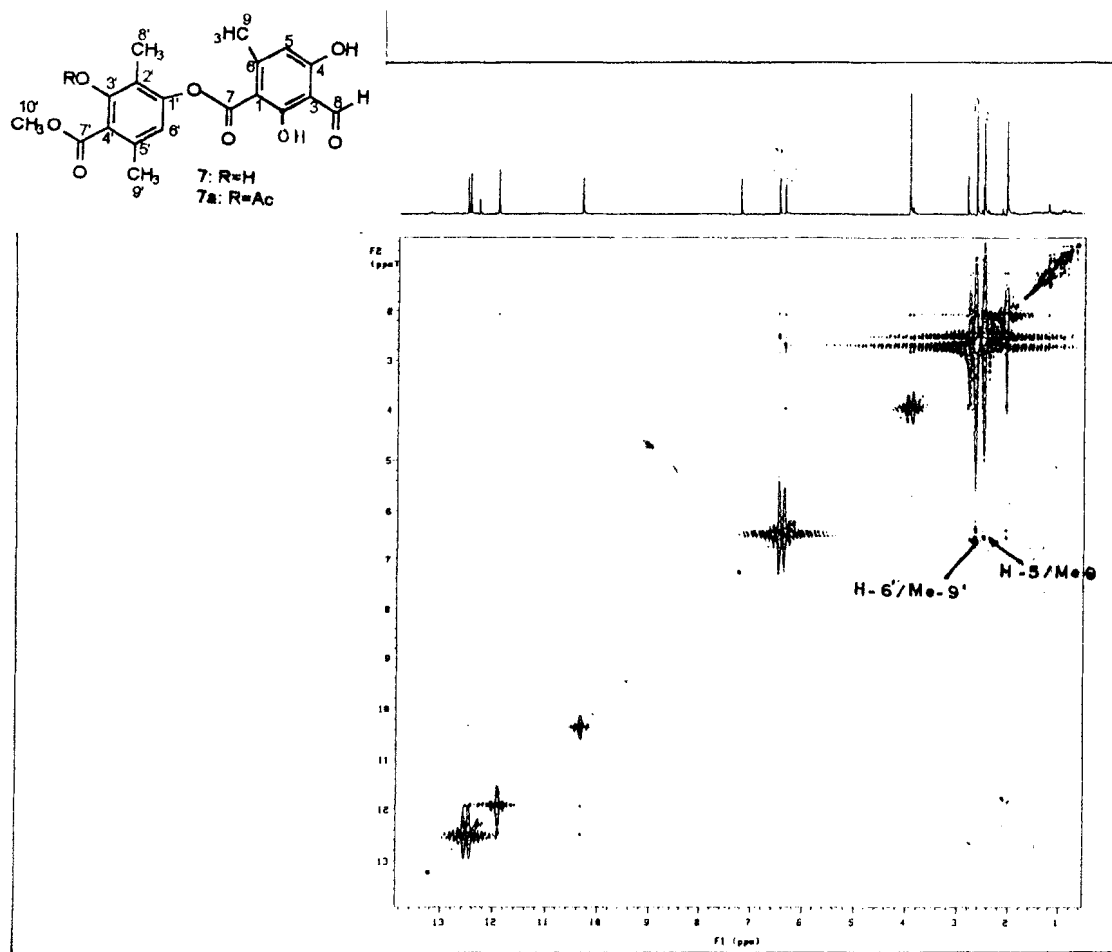


Figura 93. Espectro de RMN ¹H-¹H NOESY (100 MHz, CDCl₃) de 7

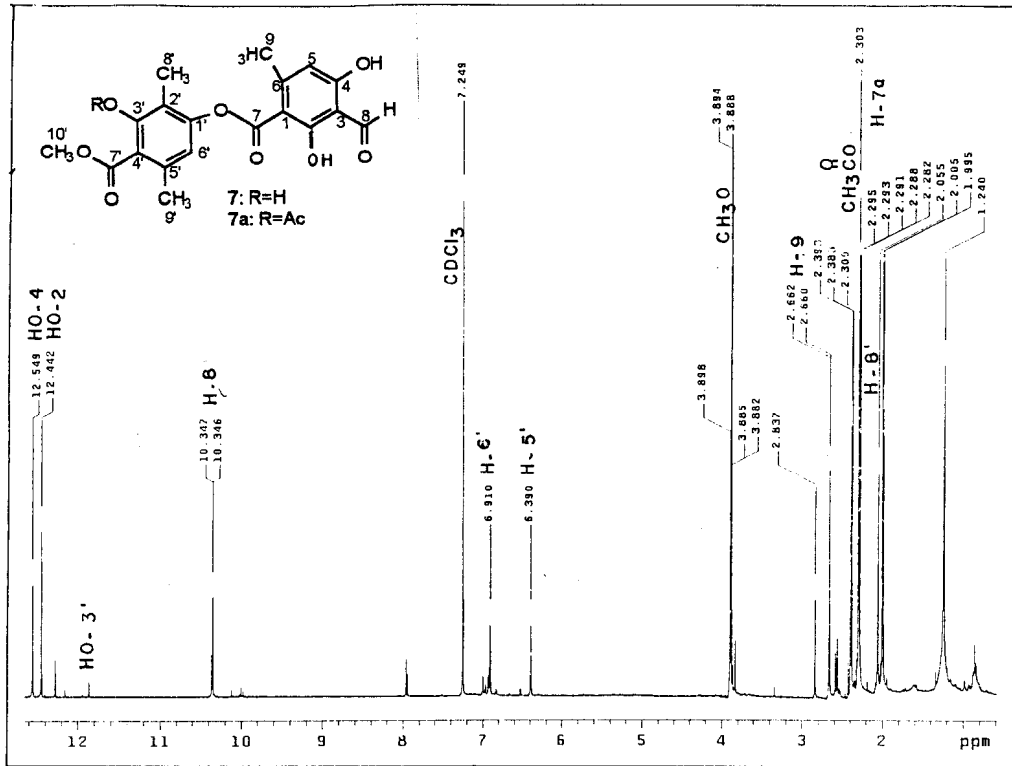


Figura 94. Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) de **7a**

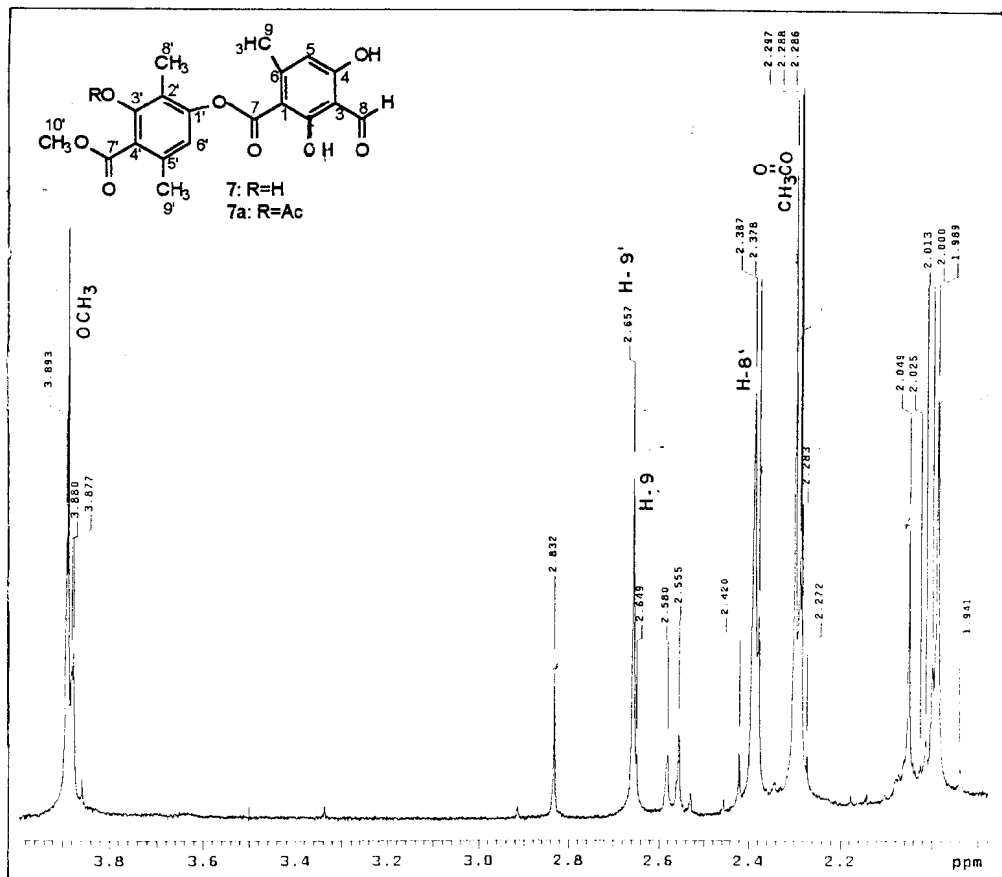


Figura 95. Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) de **7a** (expansão)

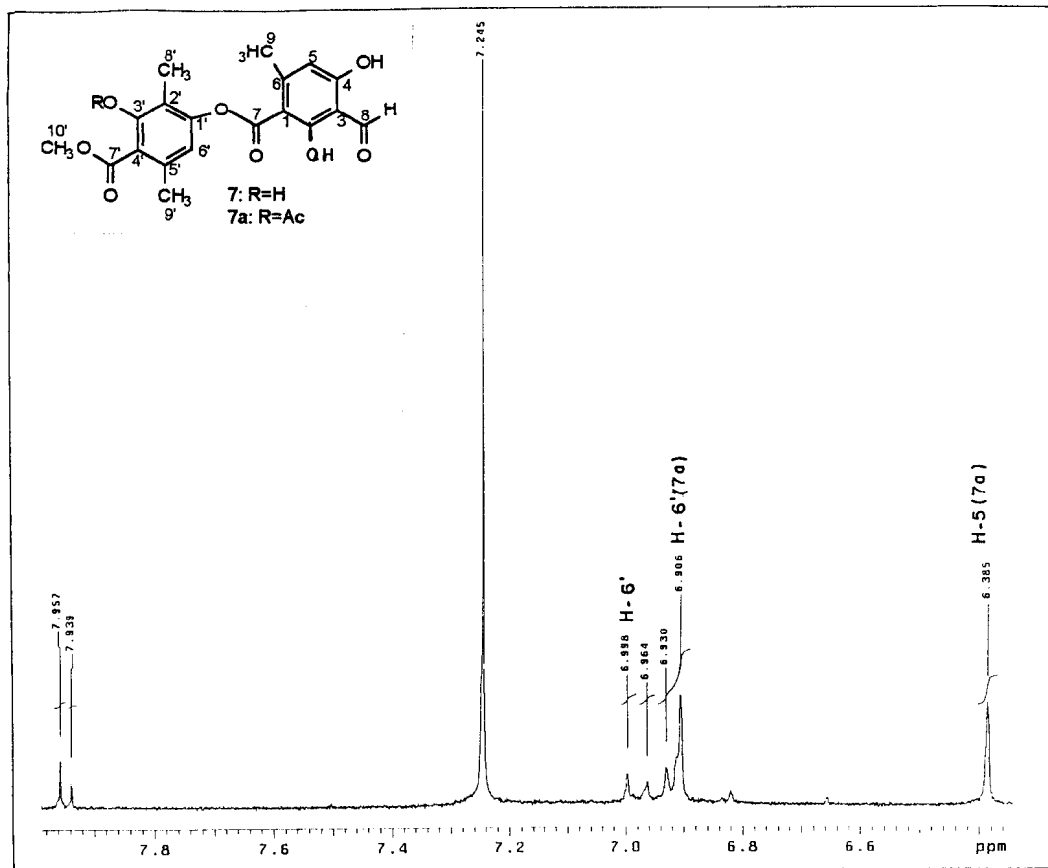


Figura 96. Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) de 7a (expansão)

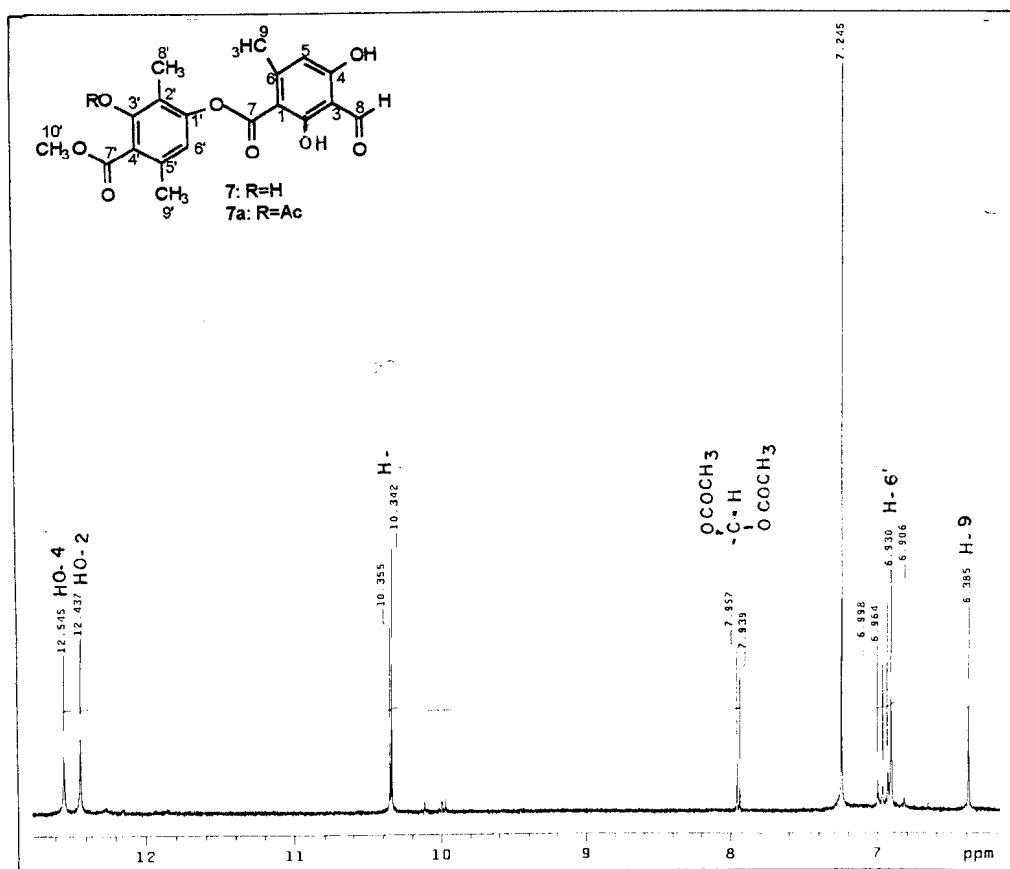


Figura 97. Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) de 7a (expansão)

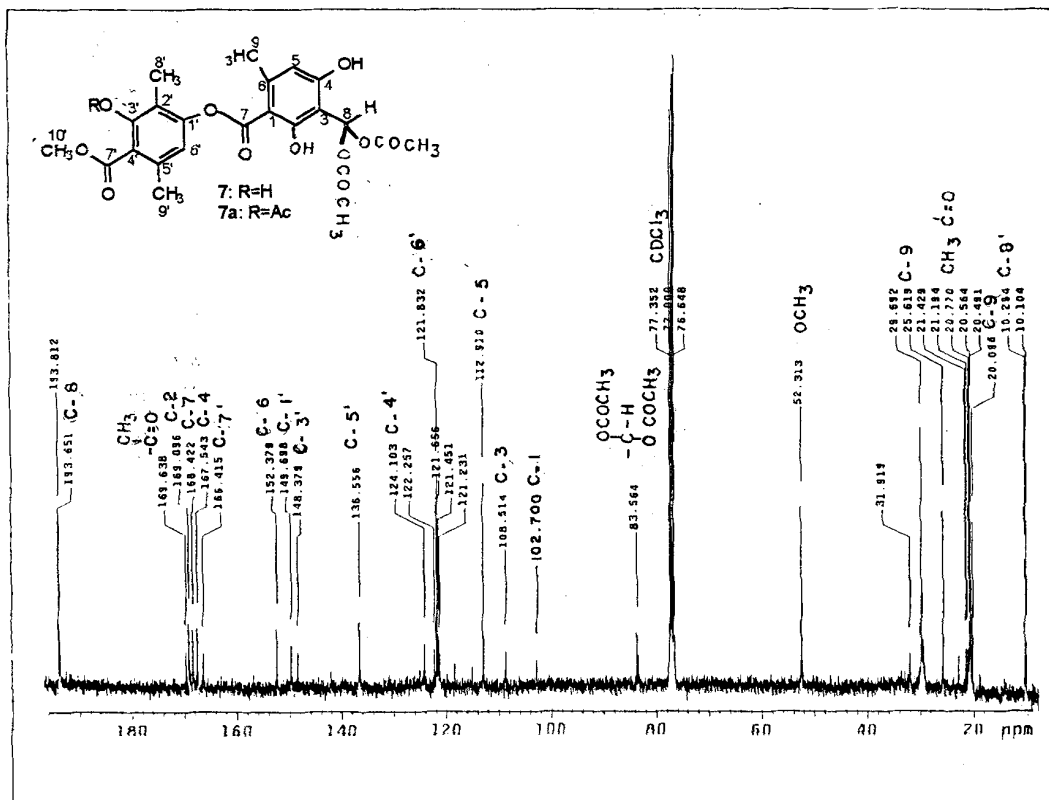


Figura 98. Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de 7a

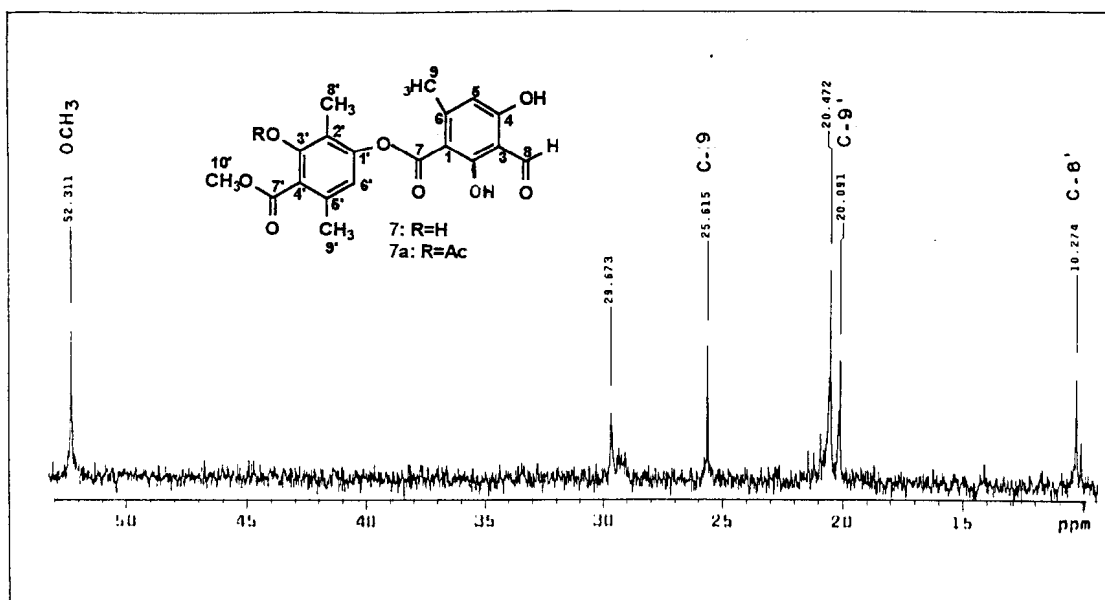


Figura 99. Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de **7a** (expansão)

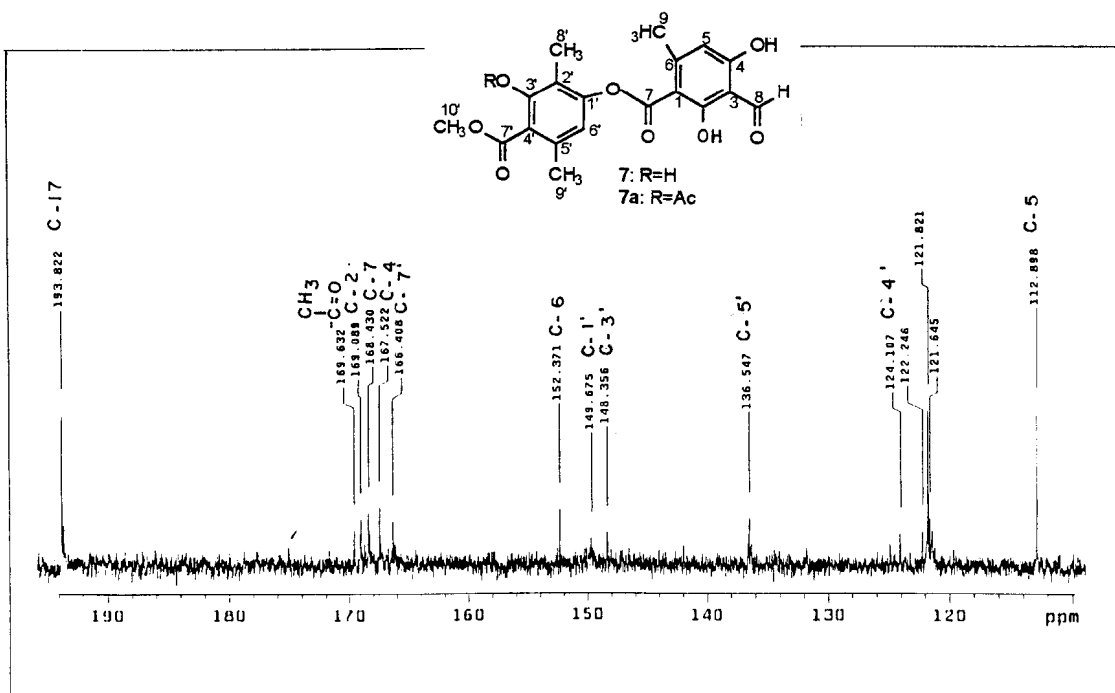


Figura 100. Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de **7a** (expansão)

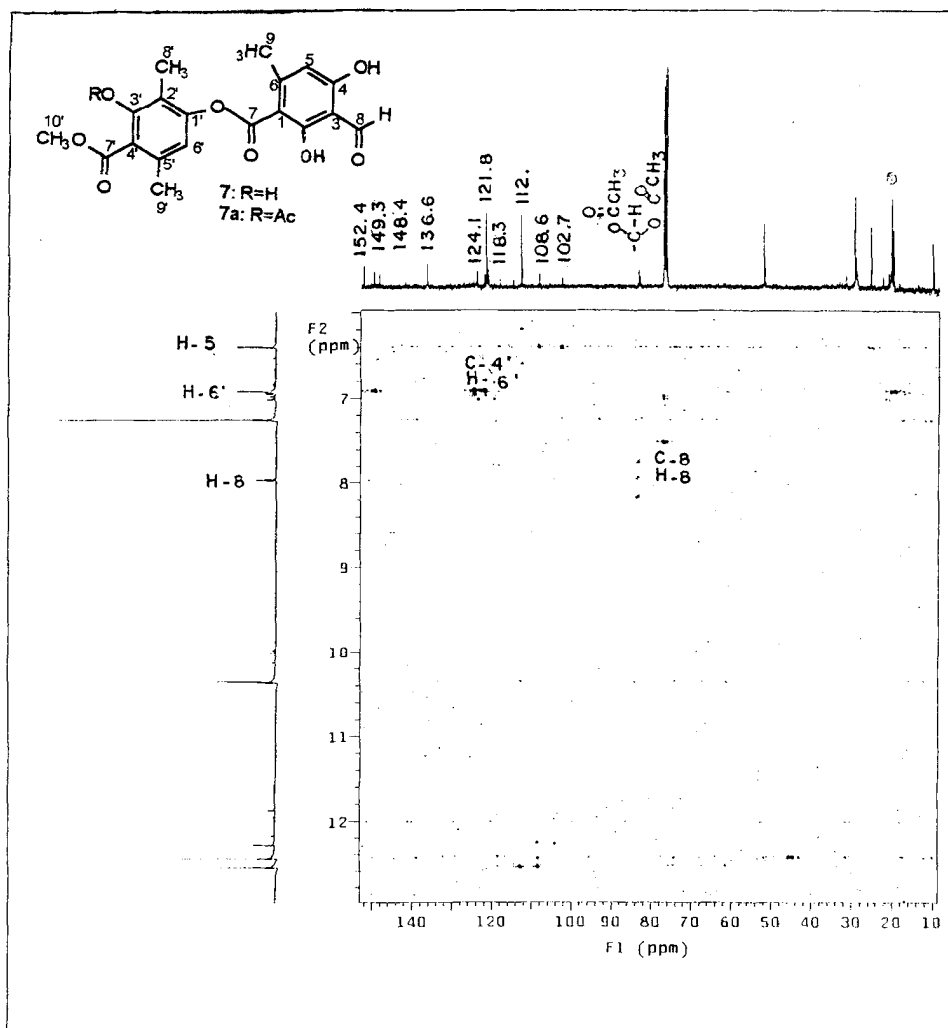


Figura 101. Espectro de RMN ^1H - ^{13}C $^n\text{J}_{\text{CH}}$ ($n=2,3$) HMBC 7a (expansão)

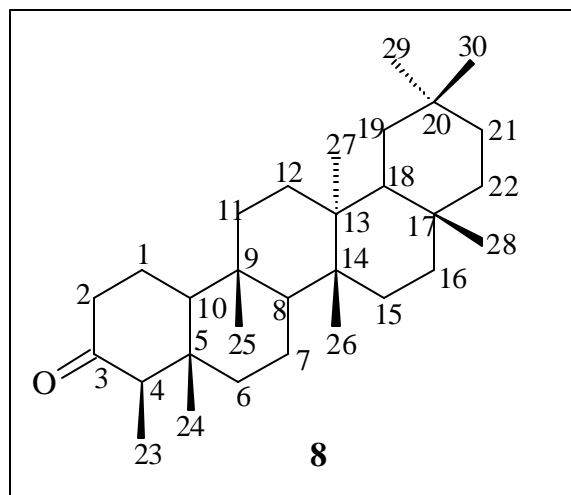
2.8.2. FRIEDELINA (**8**)

O espectro no IV de **8** (fig. 102, pág. 176) revela a presença de uma banda de absorção correspondente a estiramento de um grupo carbonílico cetônico em 1.720 cm^{-1} , deformação axial de CH, CH₂ e CH₃ em $2.800\text{-}3.000\text{ cm}^{-1}$ e deformação angular de CH₃ em 1.380 cm^{-1} , que são bandas características de uma molécula alifática.

O espectro de RMN de ¹H (fig. 103, pág. 177) mostra sinais referentes a oito metilas alifáticas entre δ_{H} 0,69 e 1,15, dando ao espectro uma feição característica de triterpenos.

O espectro de RMN bidimensional 2D (¹H - ¹H-COSY) (fig. 104, pág. 178), mostra sinais de interação entre H-2 (δ_{H} : 2,33) com H-1 (δ_{H} : 1,92) e H-4 (δ_{H} : 2,24), de H-4 com 3H-23 (δ_{H} : 0,84).

O espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear de carbono e hidrogênios ligados entre si (¹H - ¹³C-COSY) (fig. 105, pág. 179), mostra sinais de correlação entre C-1 (δ_{C} : 22,2) com o sinal do H-1a (δ_{H} : 1,60) e H-1b (1,94); C-2 (δ_{C} : 41,4); C-2 (δ_{C} : 41,4) e H-2 (δ_{H} : 2,33); C-4 (δ_{C} : 58,1) e H-4 (δ_{H} : 2,24); C-8 (δ_{C} : 53,0) com H-8 (δ_{H} : 1,35); C-10 (δ_{C} : 59,4) com H-10 (δ_{H} : 1,46); C-18 (δ_{C} : 42,7) com 3H-18 (δ_{H} : 1,56). A presença dos grupos metilas foi confirmada pelos espectros de RMN de ¹³C-PND - DEPT (fig. 106 e 107, pág. 180 e 181) (Tabela 22, pág.174) Observaram-se também, sinais adicionais para quatro carbonos metínicos, onze metilênicos e sete quaternários, sendo um destes quaternários correspondente a uma carbonila cetônica em δ_{C} 213,1, que são sinais compatíveis com uma unidade triterpênica, permitindo propor a estrutura do triterpeno abaixo para **8**.



Quadro 27. Estrutura da friedelina

O espectro de massas de alta resolução (fig. 108,pág. 182) mostra o pico correspondente ao íon molecular em m/z 426.1426 [calculado m/z 426.3849, $\Delta m/z=0.2423$ (25 %)] que corresponde a fórmula molecular $C_{30}H_{50}O$ e demais íons fragmentários que são compatíveis com a estrutura do triterpeno proposto, esquema 15.

Os dados discutidos e a comparação com dados descritos na literatura (Mahato & Kundu, 1994; Nozaki et al., 1986, Patra et al., 1990) possibilitaram a definição da substância **8** como friedelina.

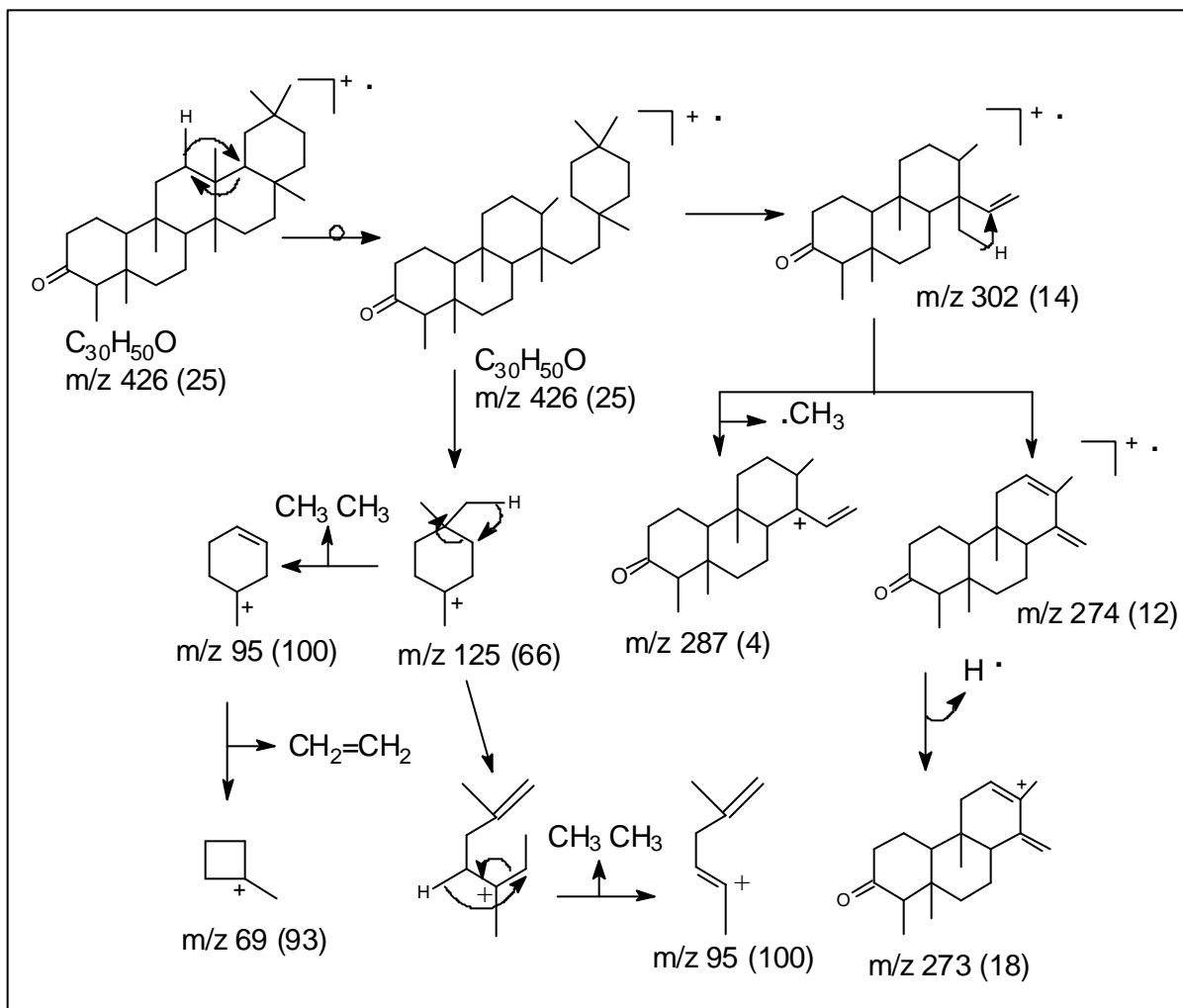
Tabela 22. Dados de RMN 1H (200 MHz, $CDCl_3$) do trieterpeno **8**, comparado com dados descritos na literatura (Patra et al., 1990).

H	8	Lit.	H	8	Lit.	H	8	Lit.
1	1,94-1,60	1,94-1,60	11		1,44-1,22	21	1,27	1,28
2	2,33	2,36	12	1,31	1,33	22	1,46	1,47-0,92
3	-	-	13	-	-	23	0,86	0,87
4	2,24	2,24	14	-	-	24	0,69	0,72
5	-	-	15	1,53	1,53-1,28	25	0,84	0,85
6	1,74	1,74-1,24	16	1,36	1,35	26	0,97	0,99
7	1,46	1,47	17	-	-	27	1,02	1,03
8	1,36	1,38	18	1,53	1,54	28	1,15	1,16
9	-	-	19	1,22	1,34-1,23	29	0,92	0,94
10	1,53	1,53	20	-	-	30	0,97	0,99

Tabela 23. Dados de RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) do triterpeno **8**, comparado com dados descritos na literatura (Patra et al., 1990).

C	8	Lit.	CH₂	8	Lit.	CH₃	8	Lit.
3	213,1	2130	1	22,2	22,1	23	6,8	6,7
5	42,1	42,1	2	41,4	41,5	24	14,6	14,5
9	37,3	37,4	6	41,2	41,1	25	17,9	17,8
13	39,7	39,5	7	18,2	18,0	26	20,2	20,1
14	38,2	38,1	11	35,5	35,6	27	18,6	18,5
17	29,9	29,8	12	30,4	30,3	28	32,0	32,0
20	28,1	28,0	15	32,3	32,4	29	35,0	34,9
CH			16	35,9	36,0	30	31,7	31,7
4	58,1	58,1	19	35,2	35,3			
8	53,0	52,9	21	32,7	32,6			
10	59,4	59,3	22	39,1	39,2			
18	42,7	42,6						

Foi divulgado por pesquisadores da UFMG, que frações hexânicas (brutas), das folhas da espinheira santas (*Maytemus ilicifolia*), na dose de 4 mg/kg, foi efetiva em prevenir úlcera induzida por indometacina. A friedelina e o friedelanol foram responsáveis por 50% da eficácia (Ferreira et al., 1996; Vasconcelos et al., 1996).



Esquema 15. Proposta de fragmentação do composto **8** (friedelina).

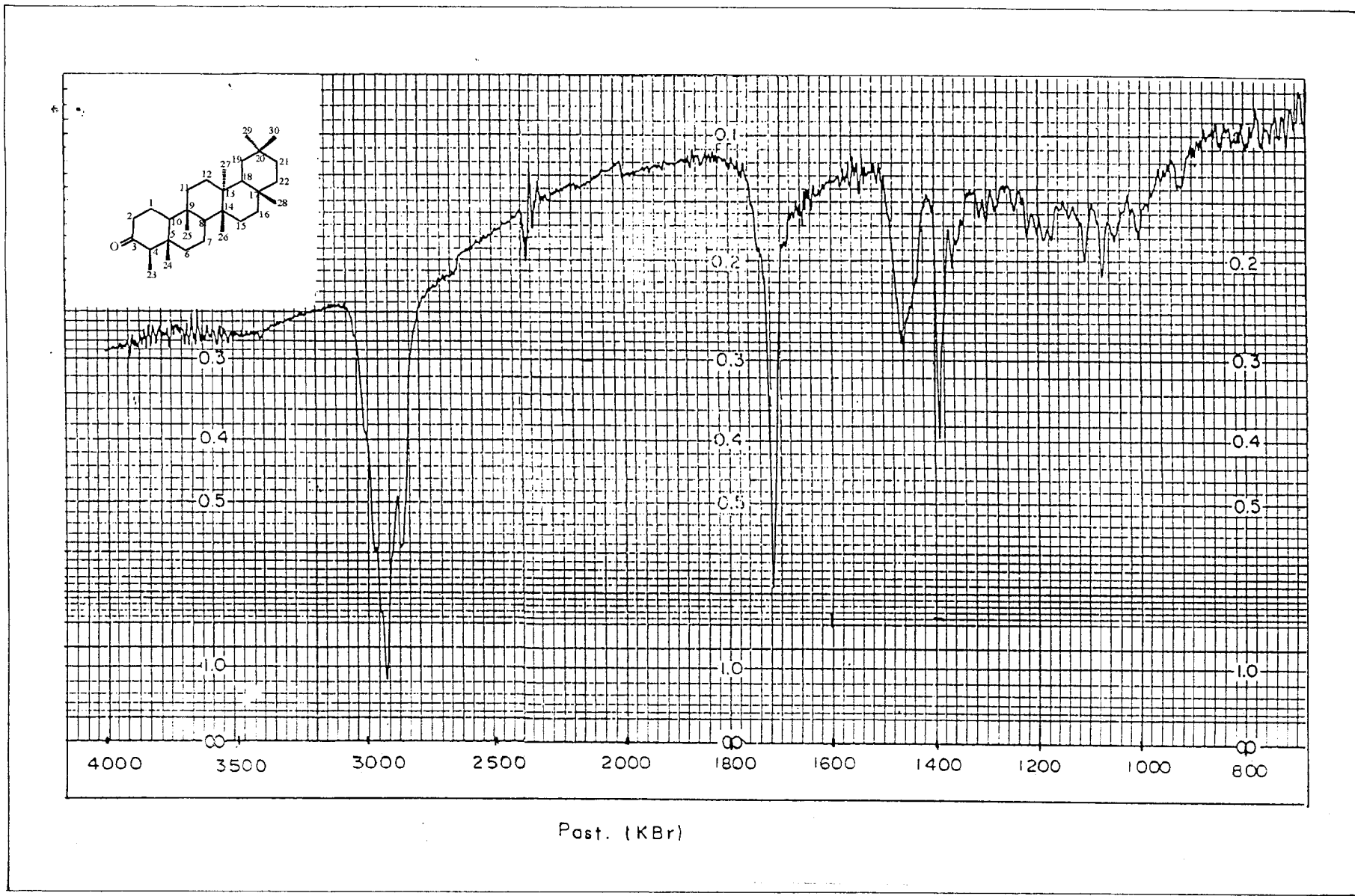


Figura 102. Espectro de IV de 8

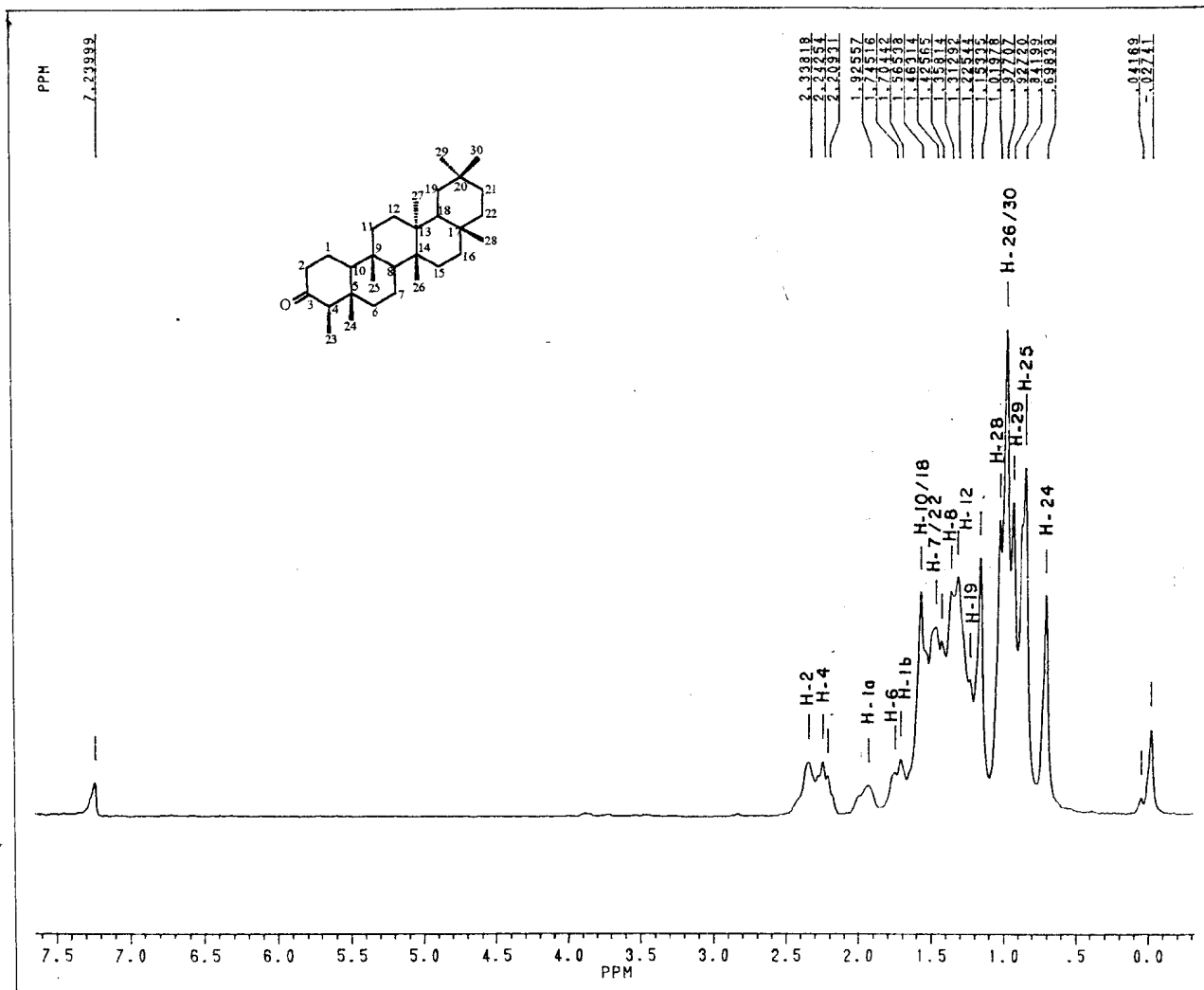


Figura 103. Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) de 8

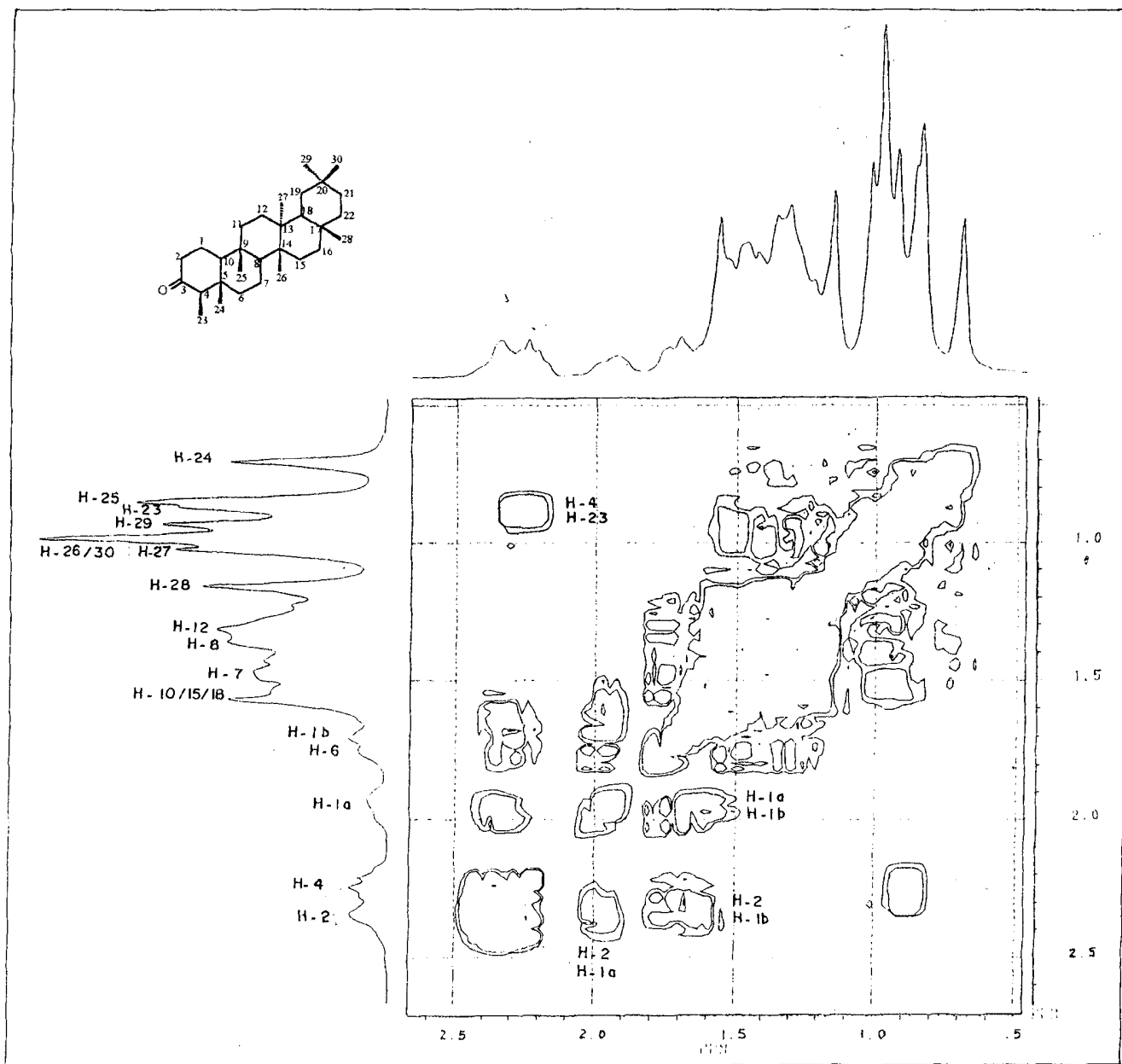


Figura 104. Espectro de RMN – 2D ^1H - ^1H – COSY (200 MHz, CDCl_3) de 8

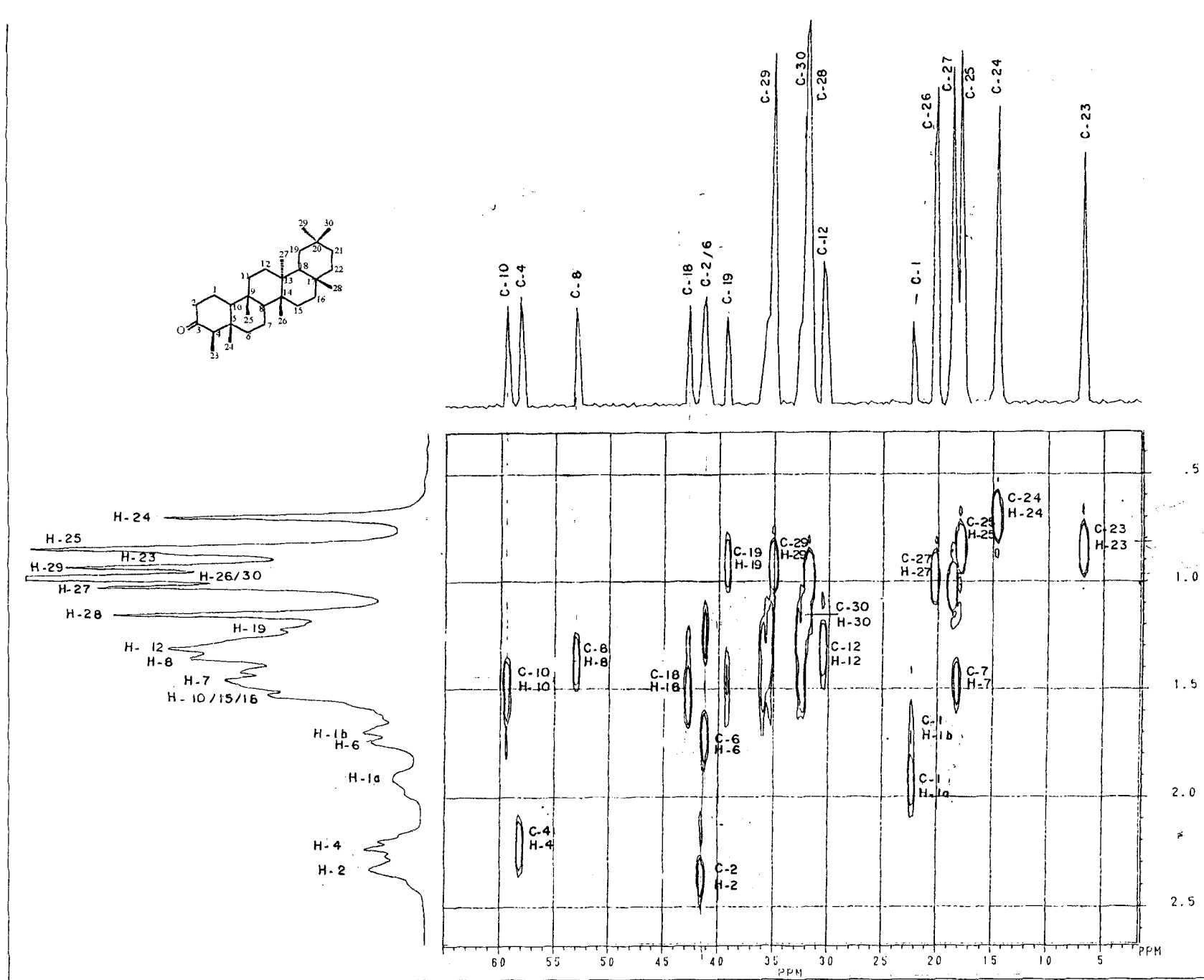


Figura 105. Espectro de RMN – 2D ^1H - ^{13}C – COSY (50, 200 MHz, CDCl_3) de 8

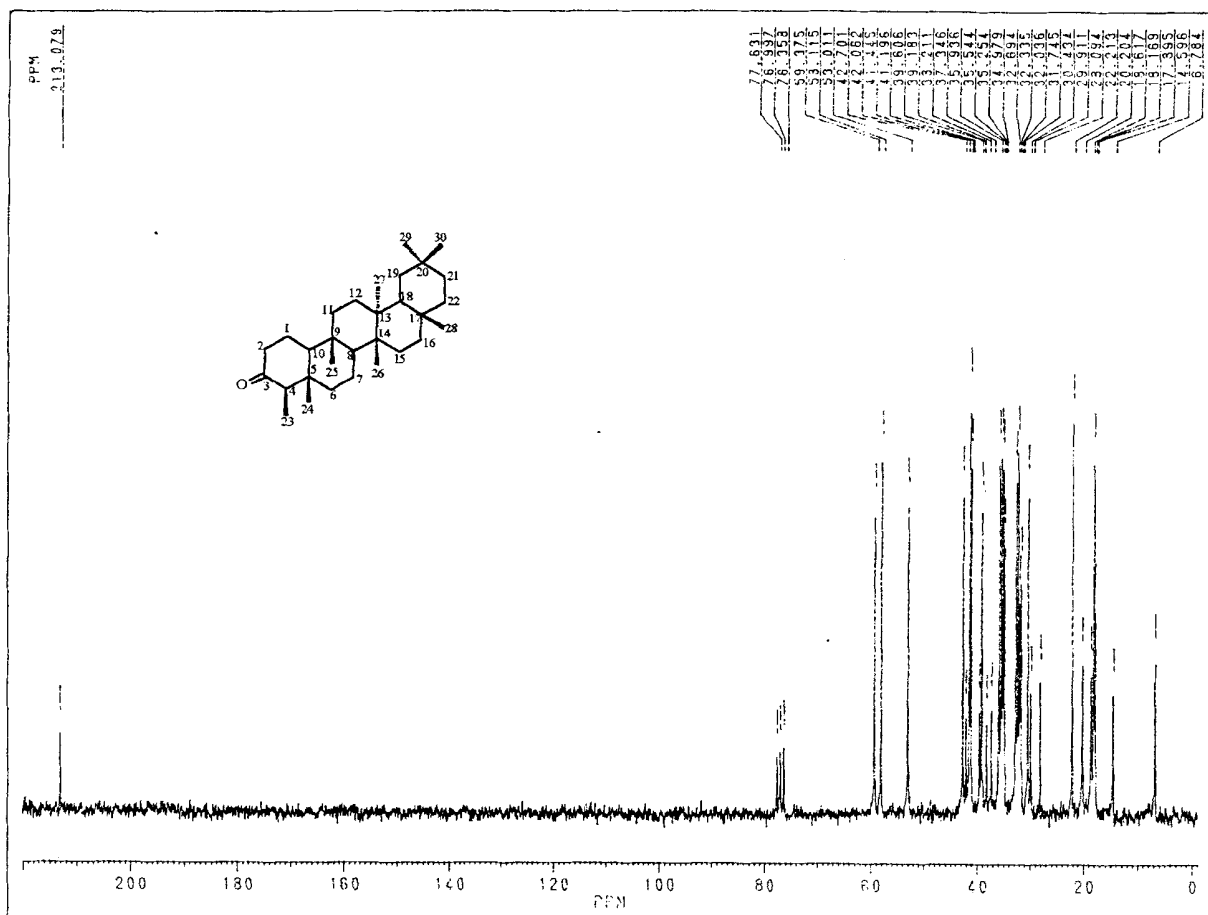


Figura 106. Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de 8

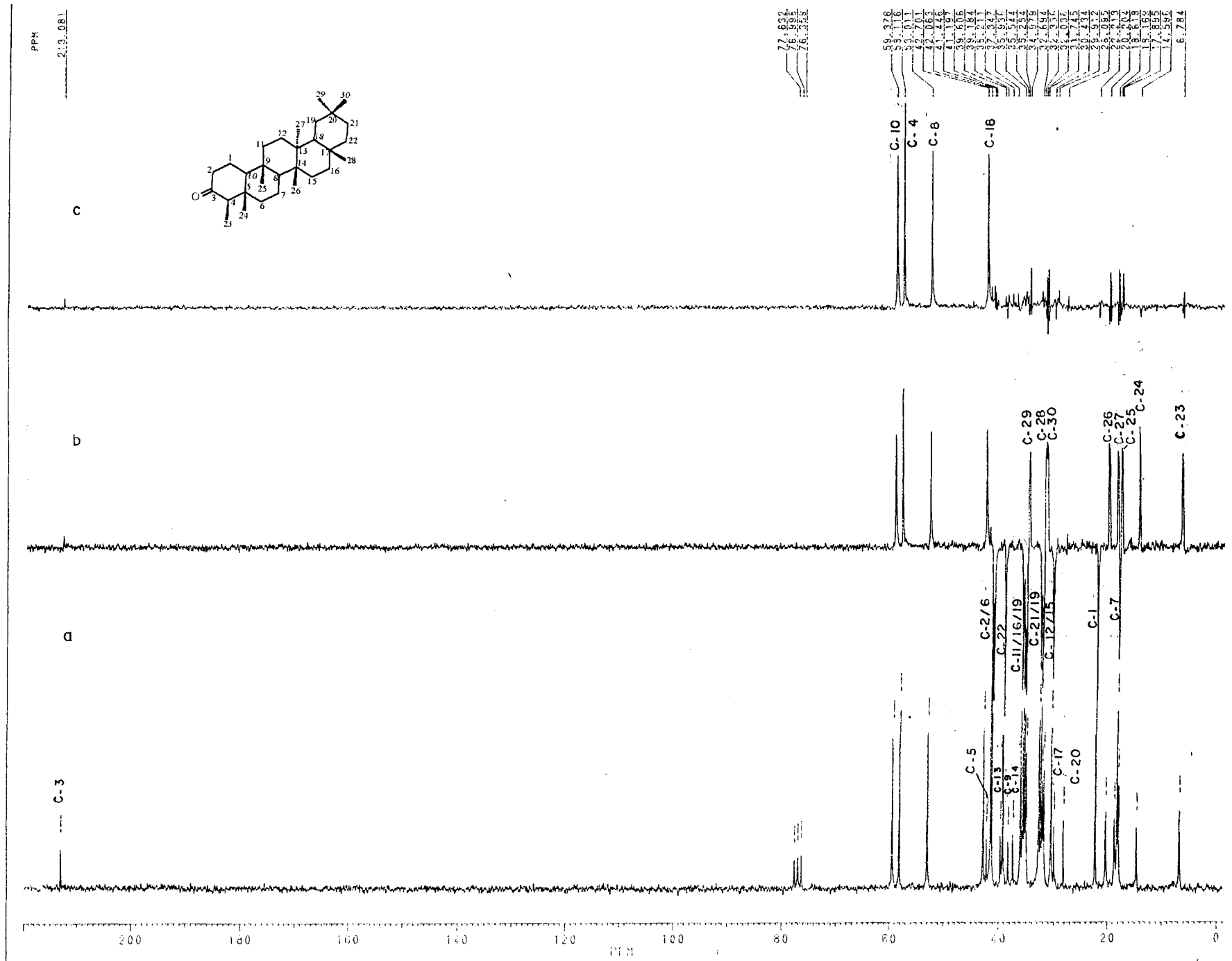


Figura 107. Espectro de RMN ^{13}C -PND (a) e DEPT [$\theta=135^\circ$ (b) e $\theta=90^\circ$ (c)] (50 MHz, CDCl_3) de 9

File: 1 Ident:66 Acq:24-OCT-1996 08:52:43 +8:06 Cal:PPK
AutoSpecB EI+ Magnet BpM:95 BpI:1605120 TIC:32632684 Flags:NORM
File Text solido A. Resolucao

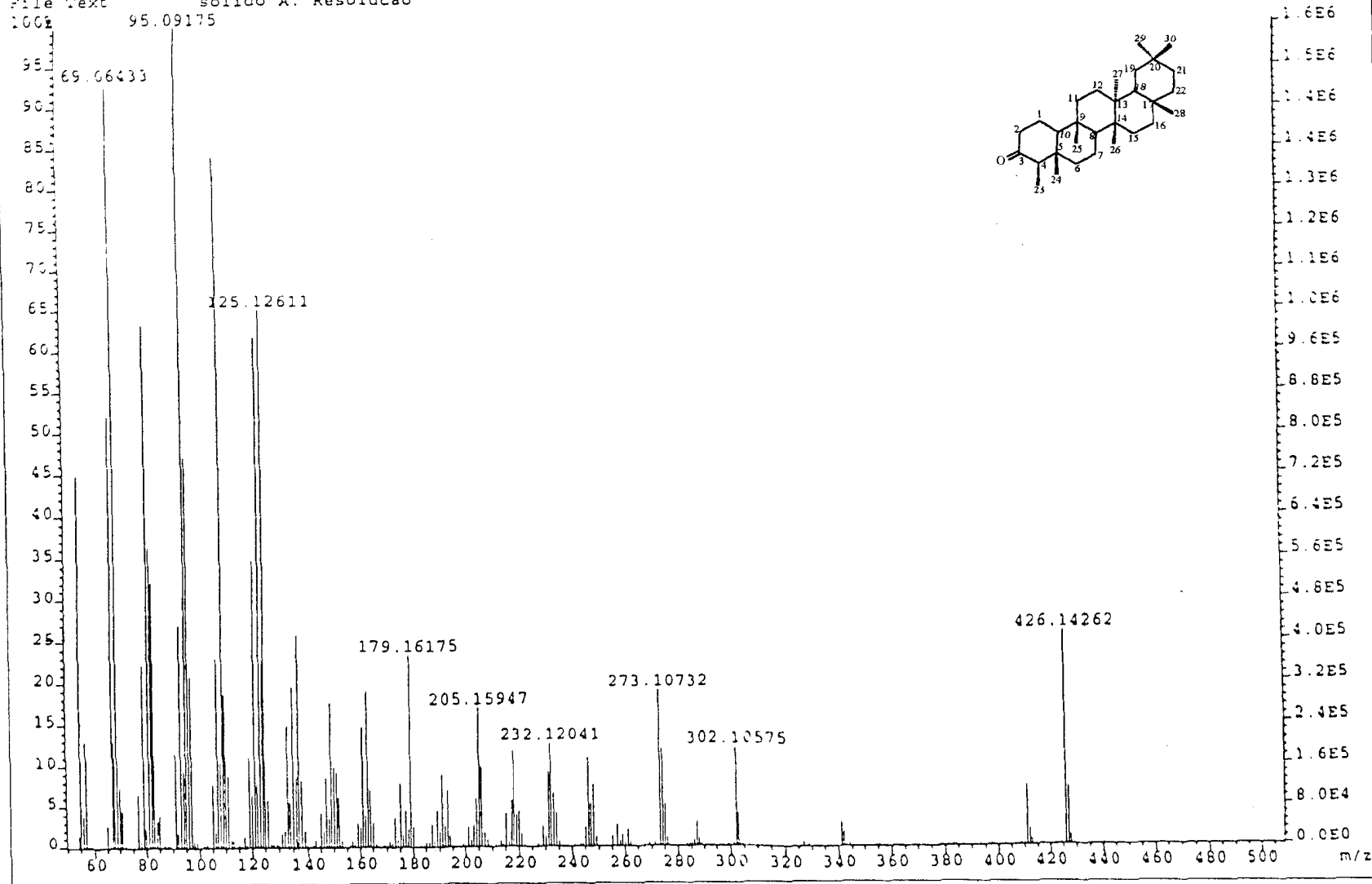


Figura 108. Espectro de massas de 8

2.8.3. FRIEDELANOL (9)

A substância **9** foi obtido em mistura com o triterpeno **8**, que pela análise por CCDA eluída em vários solventes revelou uma única mancha. A análise dos espectros de RMN de ^1H (fig. 109, pág. 186) e RMN de ^{13}C (fig. 110, pág. 187) permitiu reconhecer a presença de substâncias com as características semelhantes ao triterpeno **8**.

A principal diferença mostrada nos espectros dos dois triterpenos refere-se à presença de um duplete δ_{H} : 3,75 e 3,60 no espectro de RMN de ^1H (fig. 109, pág. 186) , referente ao H-3 e o aparecimento de um singlete largo em δ_{H} : 4,05 que foi atribuído à hidroxila ligada na posição do C-3.

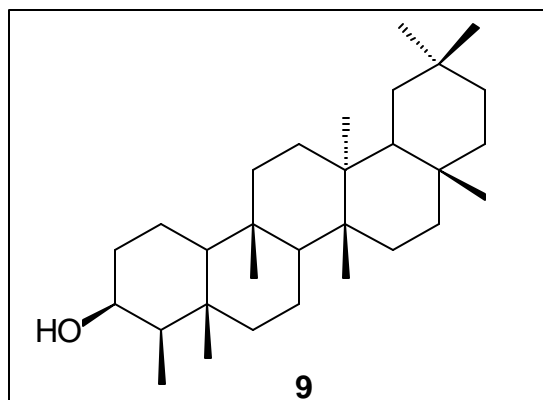
O deslocamento químico do C-3 foi confirmada pelo espectro de RMN ^{13}C e RMN ^{13}C -PND e DEPT (fig. 110 e 111, pág. 187 e 188) com o aparecimento de um carbono carbinólico (CH) em δ_{C} : 72,7.

O espectro obtido no IV (fig. 112, pág. 189), também confirma a presença da hidroxila o aparecimento de uma banda larga em $3,500\text{ cm}^{-1}$.

Os demais sinais do espectro mostram que este composto ocorre em mistura com a friedelina.

A comparação dos deslocamentos químicos de **9** com valores citados na literatura (Mahato & Kundu, 1994) (Tabelas 24 e 25), permitiram identificar a estrutura de **9** como friedelanol.

O efeito antiulcerogênico desta substância já foi mencionado no item de determinação estrutural do composto **8**.



Quadro 28. Estrutura do friedelanol.

Tabela 24. Dados de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) do trieterpeno **9**, comparado com dados descritos na literatura (Patra et al., 1990; Mahato & Kundu, 1994).

H	9	8	Lit.	H	9	8	Lit.
1	1,94-1,60	1,94-1,60	1,94-1,60	16	1,36	1,36	1,35
2	2,33	2,33	2,36	17	-	-	-
3	3,65-3,70	-	-	18	1,53	1,53	1,54
4	2,24	2,24	2,24	19	1,22	1,22	1,34-1,23
5	-	-	-	20	-	-	-
6	1,74	1,74	1,74-1,24	21	1,27	1,27	1,28
7	1,46	1,46	1,47	22	1,46	1,46	1,47-0,92
8	1,36	1,36	1,38	23	0,86	0,86	0,87
9	-	-	-	24	0,69	0,69	0,72
10	1,53	1,53	1,53	25	0,84	0,84	0,85
11			1,44-1,22	26	0,97	0,97	0,99
12	1,31	1,31	1,33	27	1,02	1,02	1,03
13	-	-	-	28	1,15	1,15	1,16
14	-	-	-	29	0,92	0,92	0,94
15	1,53	1,53	1,53-1,28	30	0,97	0,97	0,99

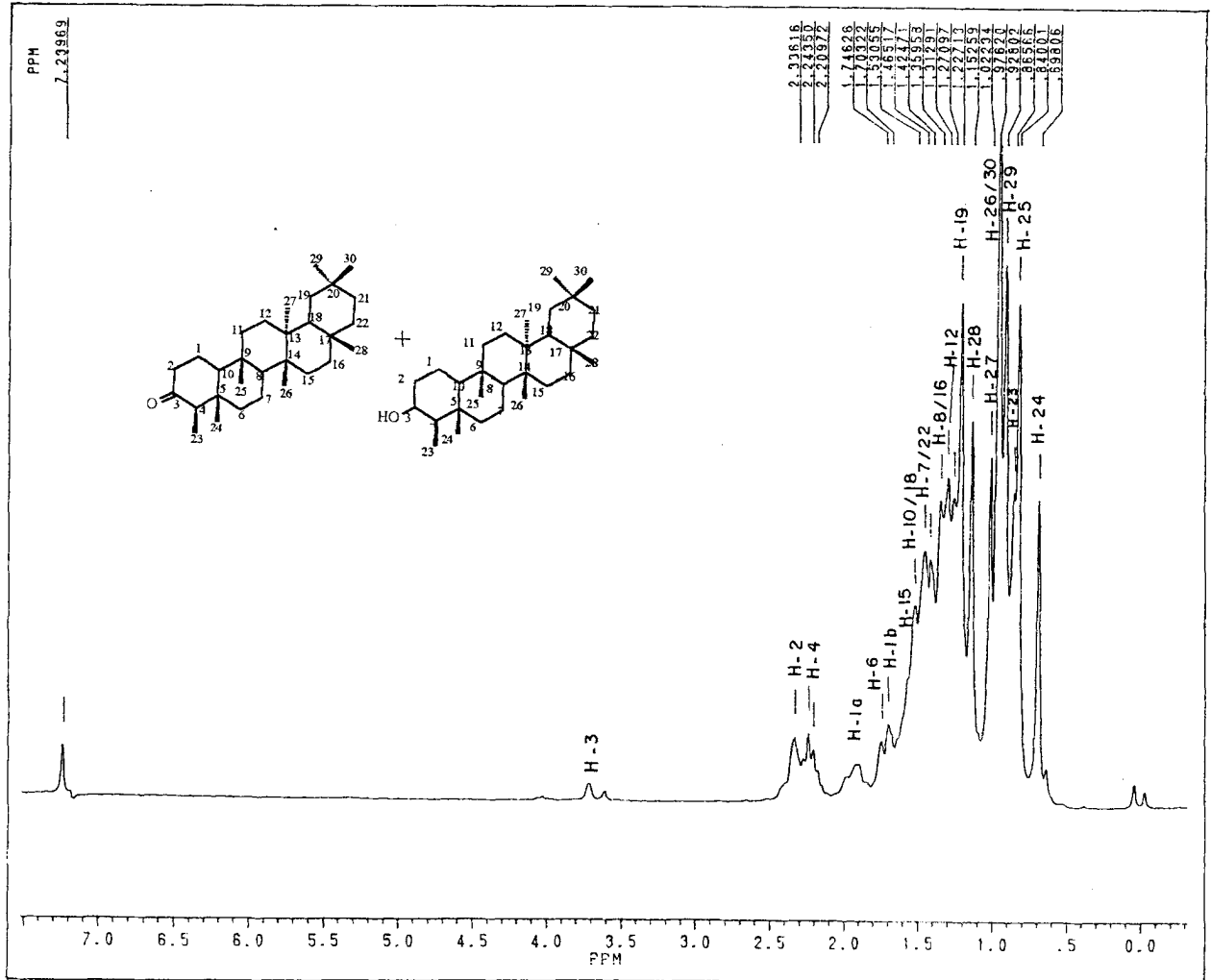


Figura 109. Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) de **8** e **9**

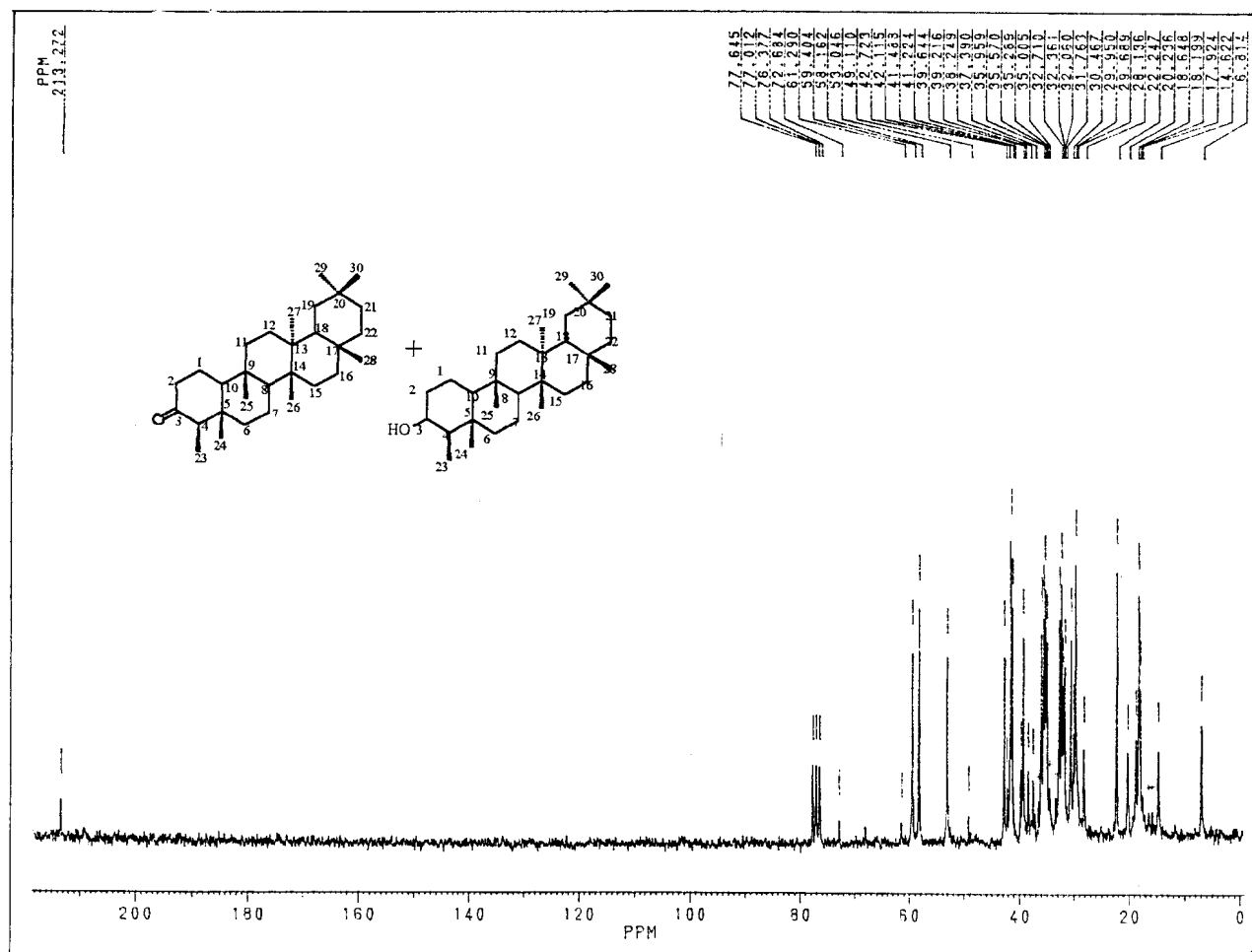


Figura 110. Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de 8 e 9

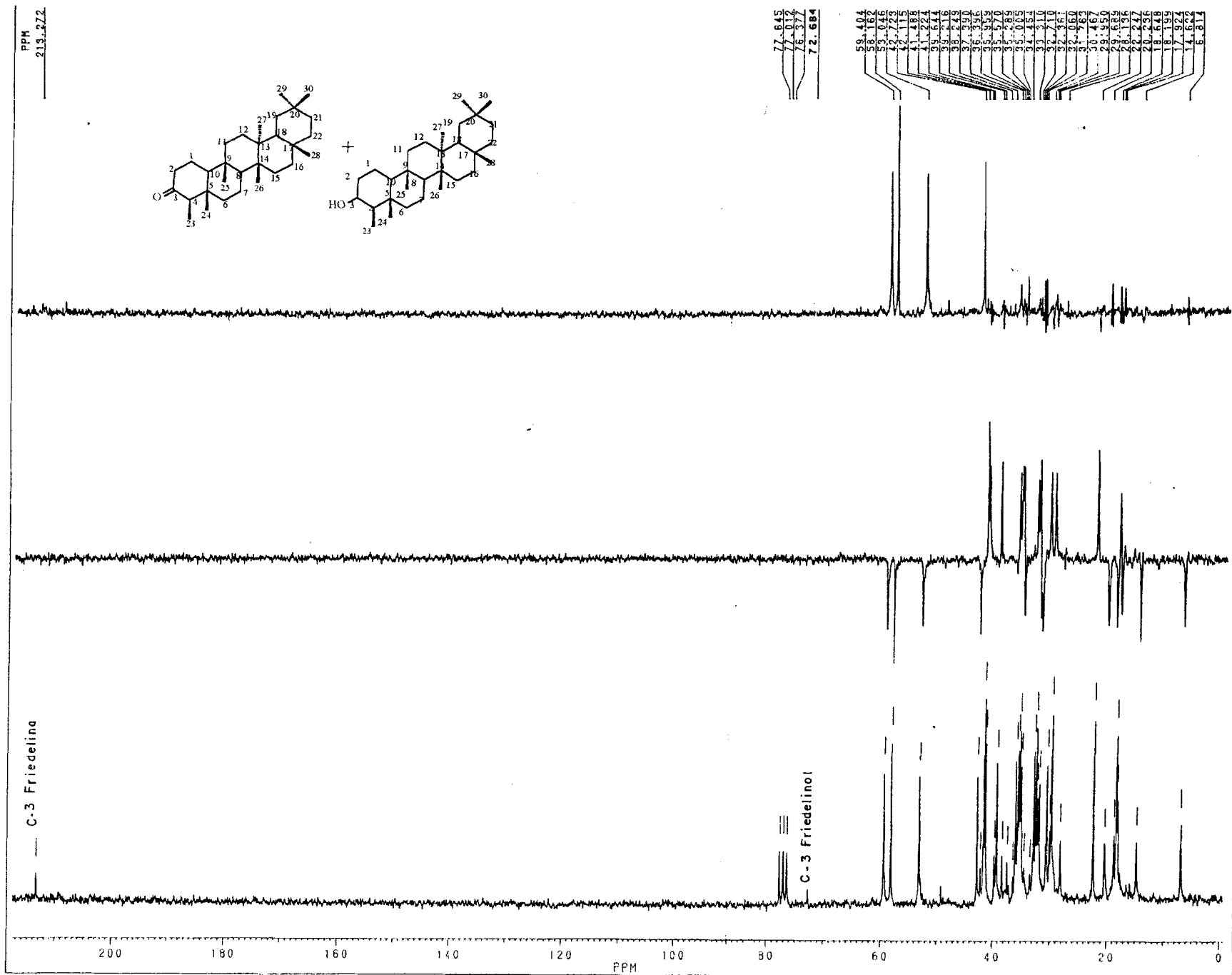


Figura 111. Espectro de RMN ¹³C-PND (a) e DEPT [θ=135° (b) e θ=90° (c)] (50 MHz, CDCl₃) de 8 e 9

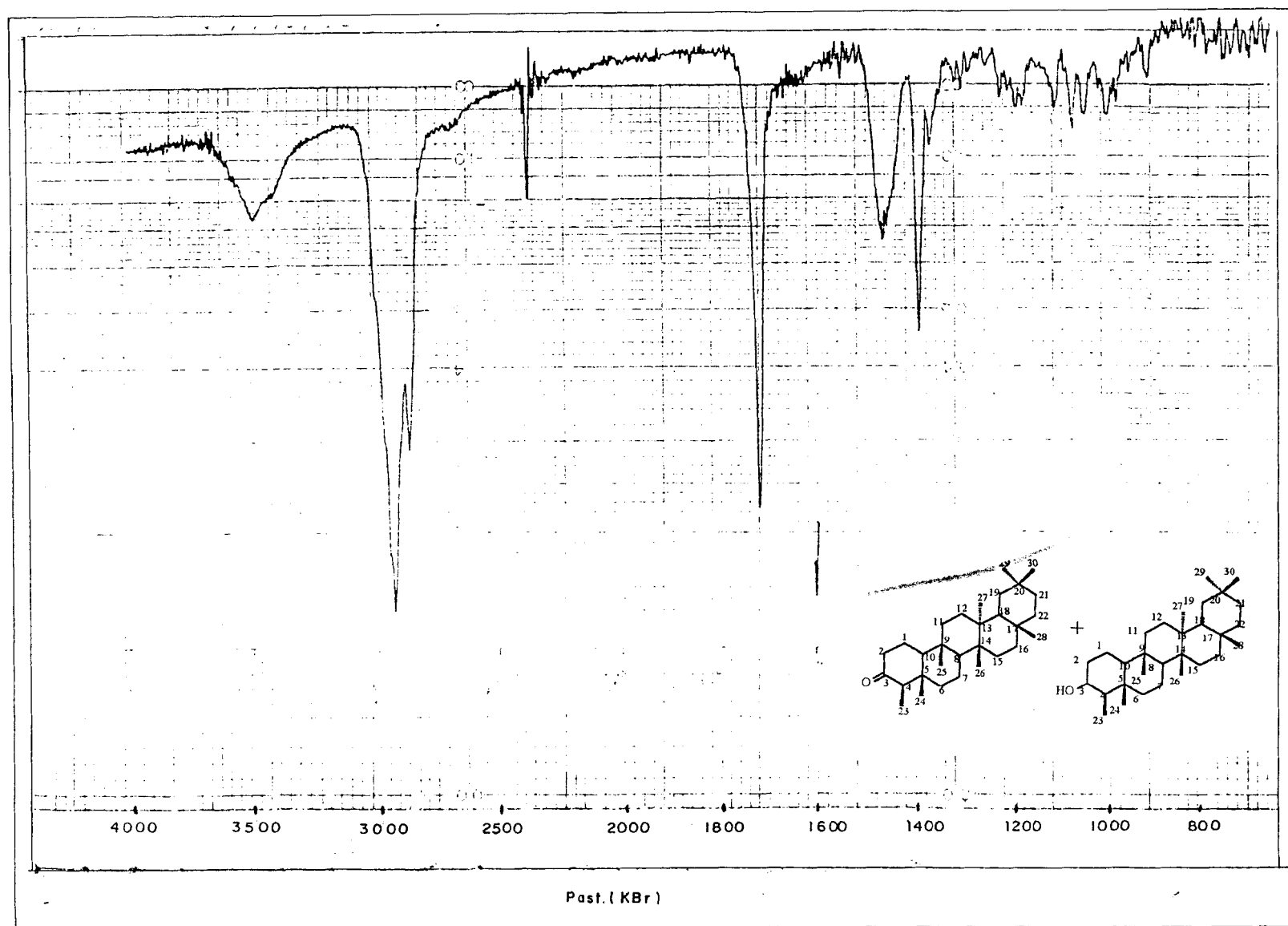


Figura 112. Espectro de IV de 8 e 9

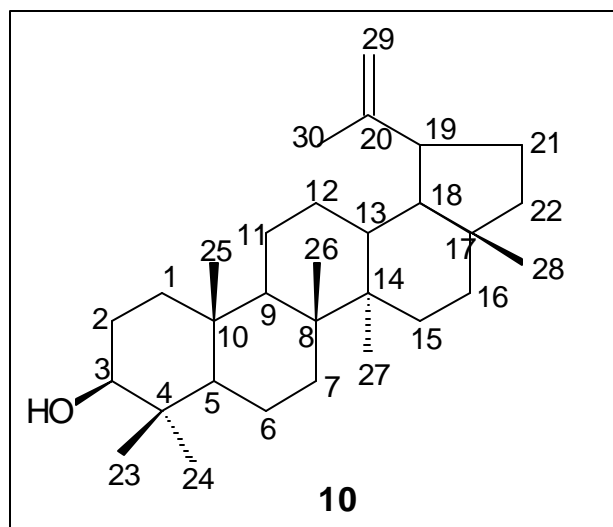
2.8.4. LUPEOL (10)

O espectro de IV (fig. 113, pág. 192) mostra a presença de bandas de absorção em 3.342 cm^{-1} atribuída a estiramento de grupo hidroxila, 1.640 cm^{-1} estiramento de ligação dupla (C=C), $2.945\text{-}2.869\text{ cm}^{-1}$ atribuída a estiramento de CH, 1.456 cm^{-1} deformação angular de CH, CH₂ e CH₃ e 1.106 referente a estiramento de C-O de álcool secundário.

O espectro de RMN de ¹H (fig. 114, pág. 192) revelou a presença de sinais simples correspondente a sete grupos metila, sendo que uma destas metilas apresentou deslocamento químico em δ_{H} : 1,65, sendo atribuído à metila ligada a carbono sp². Sinais de dois singletos largos na região de hidrogênios olefínicos δ_{H} : 4,66 (H-29a) e δ_{H} : 5,55 (H-29b) e um multipeto entre δ_{H} : 3,20-3,12, que pode ser atribuído ao hidrogênio carbinólico de um triterpeno.

O espectro de RMN ¹H - ¹H-COSY (fig. 115, pág. 193) mostra sinais de interação entre os hidrogênios olefínicos H-29a δ_{H} : 4,66 e H-29b δ_{H} : 4,55, do hidrogênio carbinólico H-3 (δ_{H} : 3,17) com H-2 (δ_{H} : 1,60) e do hidrogênio H-19 (δ_{H} : 2,34) com H-21 (δ_{H} : 1,38).

O espectro de RMN de ¹³C (fig. 116, pág. 194) mostra sinais de deslocamentos químicos de carbonos em δ_{C} : 109,3 e 150,9, que são atribuídos aos carbonos olefínicos 29 e 21. O sinal em δ_{C} : 78,9 foi atribuído ao carbono carbinólico C-3 de um triterpeno. A comparação destes dados com dados citados na literatura (Mahato & Kundu, 1994) (Tabela 26), permitiu identificar a estrutura de **10** como lupeol.



Quadro 29. Estrutura do lupeol

Tabela 26. Dados de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) e RMN ^{13}C do trieterpeno **10**, comparado com dados descritos na literatura (Mahato & Kundu, 1994).

C	δ_{C}	Lit.	δ_{H}	Lit.	C	δ_{C}	Lit.	δ_{H}	Lit.
1	38,7	38,7	-	-	16	35,5	35,5	-	-
2	27,4	27,4	1,60	-	17	42,8	43,0	-	-
3	78,9	78,9	3,17	3,18	18	48,2	48,2	-	-
4	38,8	38,8	-	-	19	47,7	47,9	2,34	-
5	55,3	55,3	-	-	20	150,9	150,9	-	-
6	18,3	18,3	-	-	21	29,7	29,8	-	-
7	34,2	34,2	-	-	22	39,9	40,0	-	-
8	39,9	40,8	-	-	23	27,9	28,0	-	-
9	50,4	50,4	-	-	24	15,4	15,4	-	-
10	37,1	37,1	-	-	25	16,1	16,1	-	-
11	20,9	20,9	-	-	26	16,1	15,9	-	-
12	25,1	25,1	-	-	27	14,6	14,5	-	-
13	38,0	38,0	-	-	28	18,3	18,0	-	-
14	42,8	42,8	-	-	29	109,3	109,3	4,55 e 4,66	4,56 e 4,66
15	27,4	27,4	-	-	30	19,3	19,3	1,65	1,69

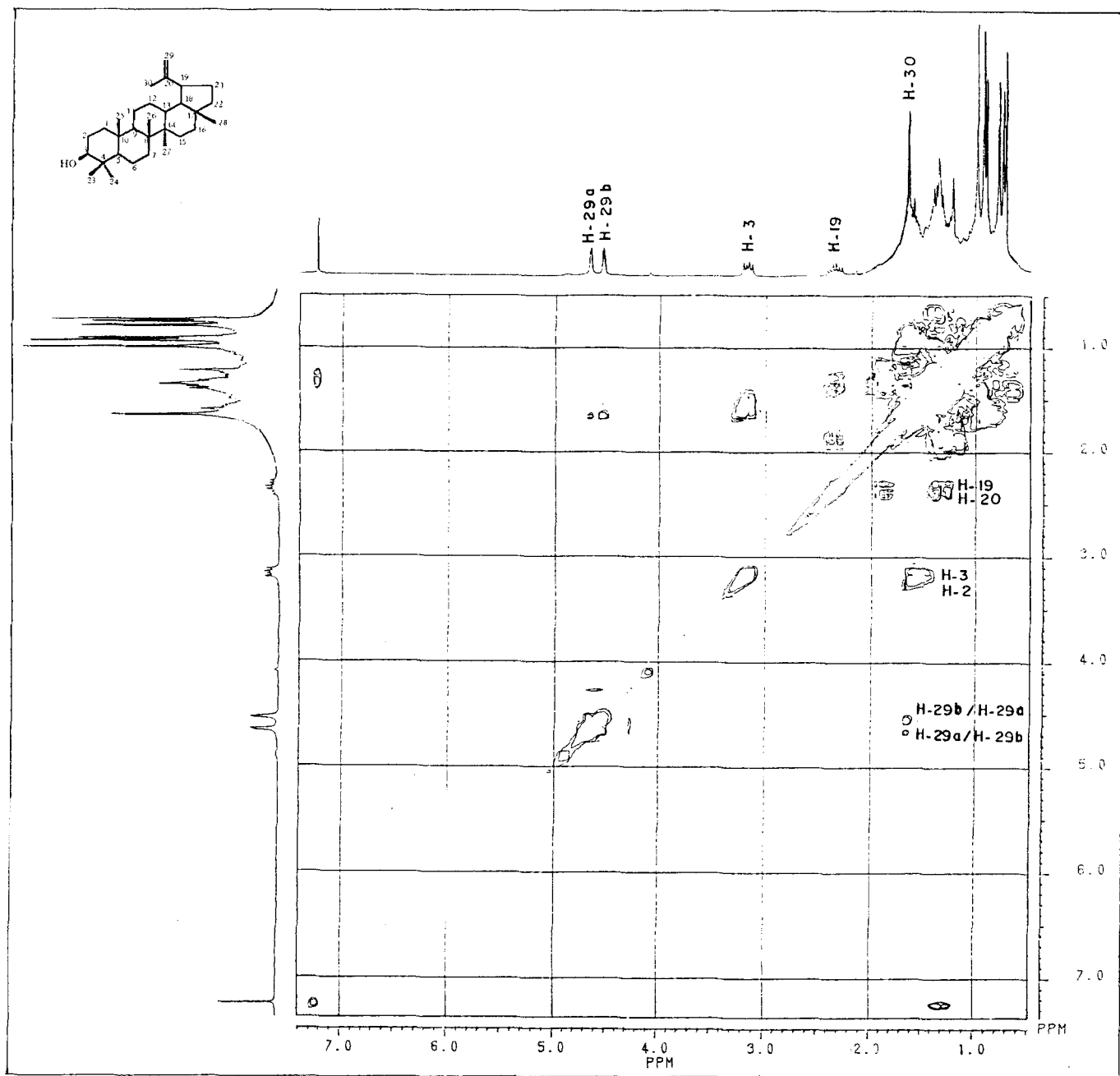


Figura 115. Espectro de RMN – 2D ^1H - ^1H – COSY (200 MHz, CDCl_3) de 10

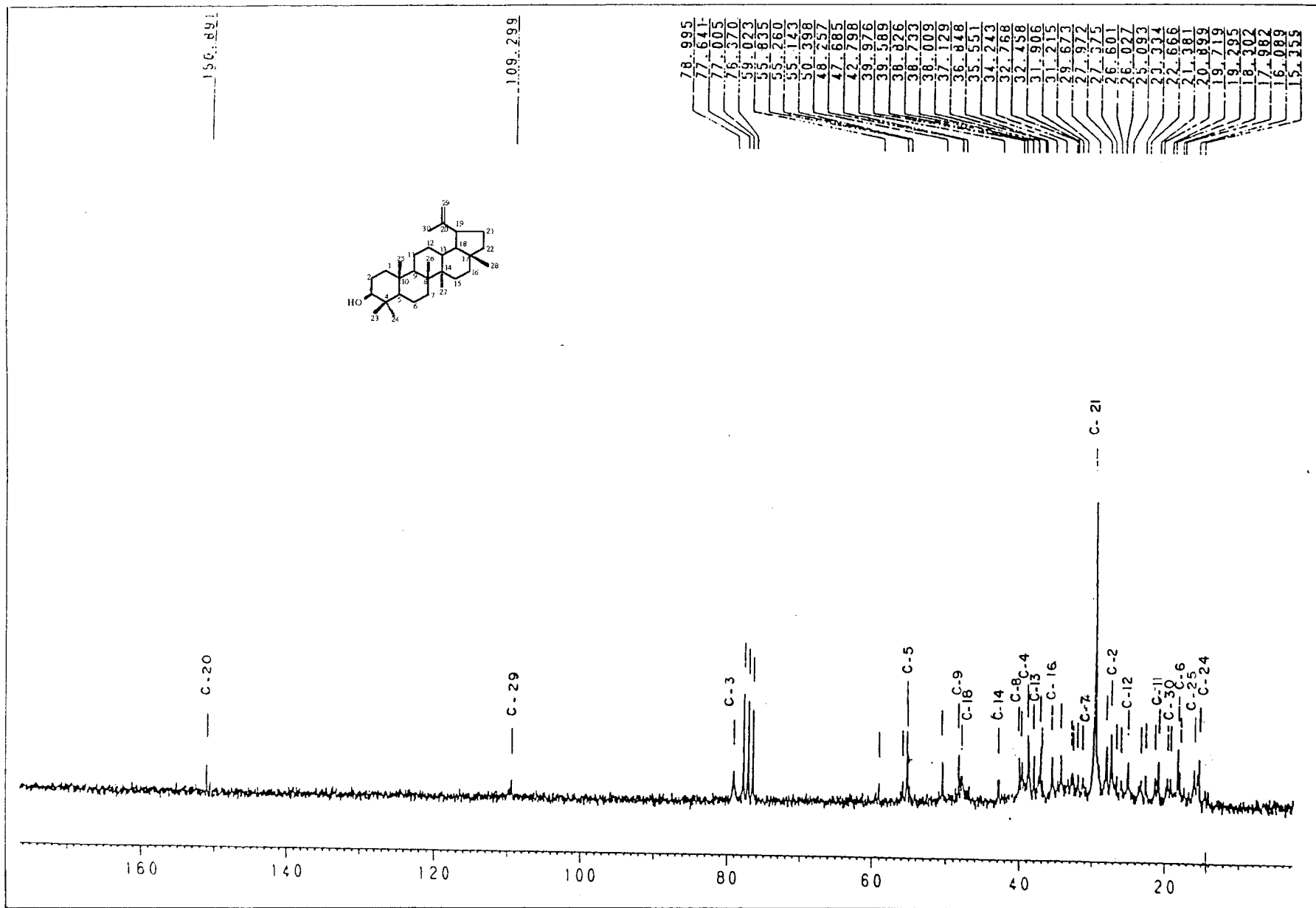


Figura 116. Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de 10

2.8.5. TARAXEROL (11) E TARAXENONA (12)

Os triterpenos **11** e **12** foram obtidos em mistura que pela análise por CCDA, eluída em vários solventes revelou uma única mancha.

O espectro de IV (fig. 117, pág. 199), mostrou banda de absorção em 3.466 cm^{-1} , atribuída a deformação axial de OH, $2,934\text{-}2,859\text{ cm}^{-1}$ deformação axial de CH, CH₂, CH₃, $1,467\text{ cm}^{-1}$ deformação angular de CH₂, $1,262$ e $1,132\text{ cm}^{-1}$ deformação axial de C-O que são bandas características de uma molécula alifática.

O espectro de RMN de ¹H (fig. 118, pág. 200) possui sinais simples entre δ_{H} : 0,74 e 1,61 características de metilas de estrutura triterpênica e sinais de hidrogênios carbinólicos (δ_{H} : 3,20, dd, J=10,0 Hz, H-3) e olefínicos (δ_{H} : 5,52, dd, J=8,0 Hz, H-15), que comparados com valores citados na literatura (Chakravarty, 1991), permitiram propor uma estrutura pentacíclica para **11** e **12**.

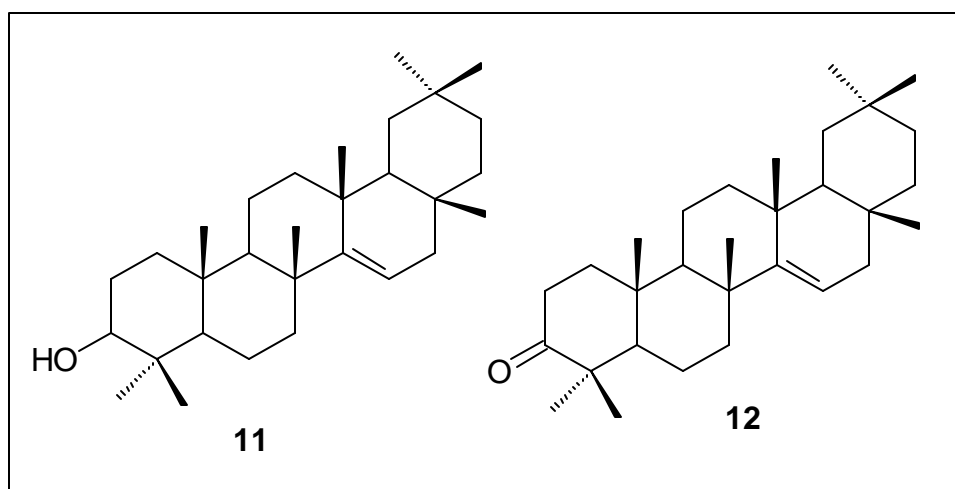
O espectro em 2D de RMN de ¹H (fig. 119, pág. 201), mostrou sinais de acoplamento entre os hidrogênios H-3 (δ_{H} : 3,20) e H-2 (δ_{H} : 1,61); H-15 (δ_{H} : 5,52) e H-16a (δ_{H} : 1,86) e H-16b (δ_{H} : 1,57).

A contagem do número de C, CH, CH₂ e CH₃ no espectro de RMN de ¹³C-PND e DEPT (fig. 120, pág. 202), permitiu identificar carbonos metínicos e grupos metilas pertencentes a uma mistura de triterpenos pentacíclicos.

Estes triterpenos se diferenciam na posição do C-3. O triterpeno **11** apresenta o C-3 como um carbono metínico (δ_{C} : 79,1), ligado a uma hidroxila (δ_{H} : 4,00) e o triterpeno **12** apresenta o C-3 como um carbono carbonílico (δ_{C} : 194,6). Isto fica evidenciado através dos sinais no espectro de RMN de ¹³C (fig. 121 e 122, pág. 203) que mostraram o C-3 de **12** (δ_{C} : 194,6) atribuído ao carbono carbonílico. Os sinais em δ_{C} : 158,0, carbono quaternário e δ_{C} : 117,2, carbono metínico (CH), foram atribuídos à carbonos olefínicos na posição dos carbonos C-14 e C-15 respectivamente. Estes dados comparados com valores citados na literatura (Mahato & Kundu, 1994) (Tabela 27), permitem propor as estruturas do taraxerol para **11** e da taraxenona para **12**.

O espectro de massas por impacto eletrônico (70 eV) (fig. 123, pág. 204) da mistura dos triterpenos **11** e **12**, não mostrou o íon molecular. Porém, mostra sinais de fragmentações características de triterpenos.

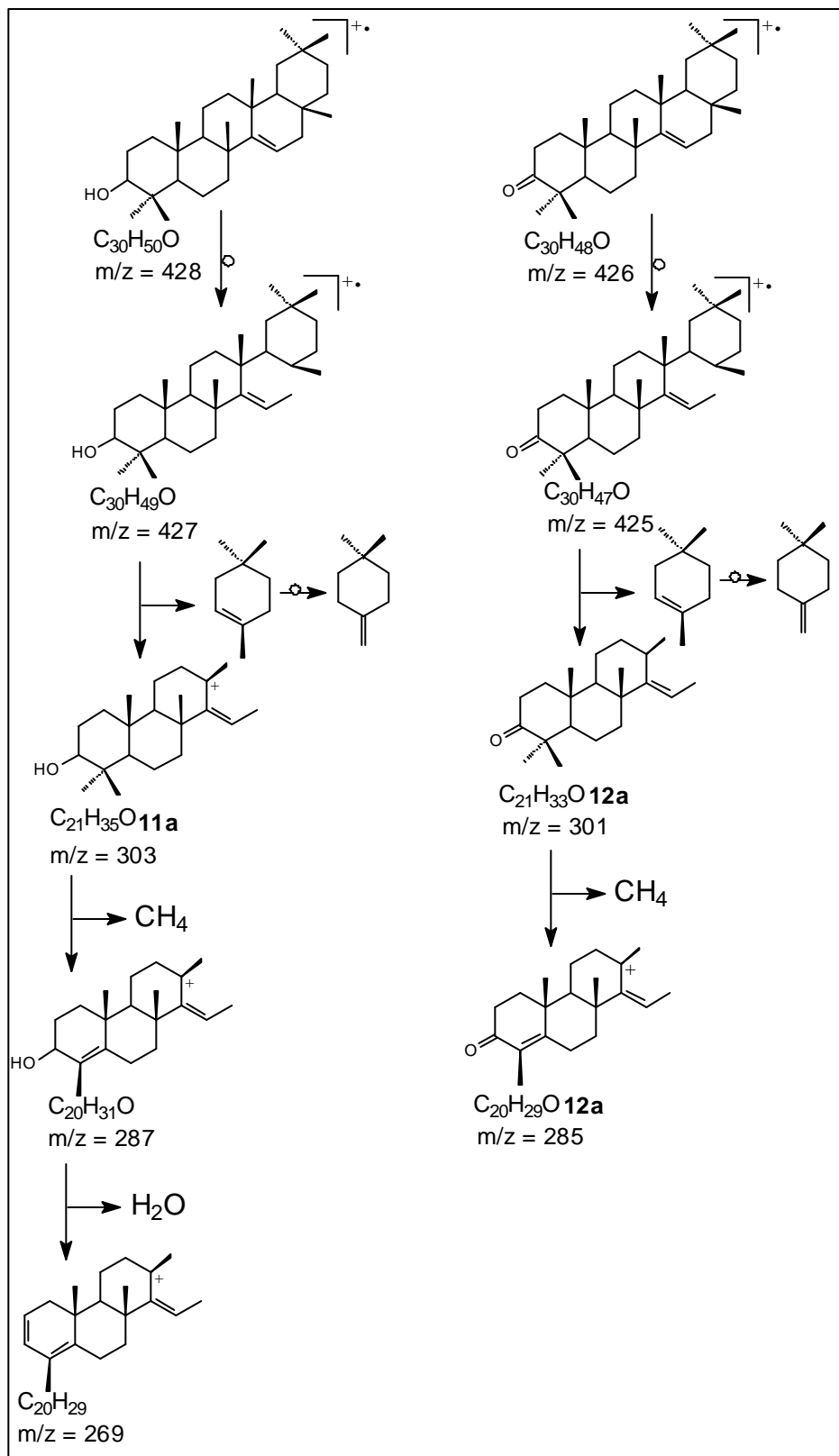
Os sinais em m/z 301 e 303 foram atribuídos aos fragmentos **11a** e **12a**, provenientes de um rearranjo Retro Diels Alder nas moléculas, que estão de acordo com a diferença de duas unidades de massa atômica (dois hidrogênios), entre os triterpenos propostos. As demais fragmentações estão de acordo com unidades triterpênicas (Esquema 16, pág. 198).



Quadro 30. Estrutura das substâncias **11** (taraxerol) e **12** (taraxerona)

Tabela 27. Dados de RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) do trieterpeno **11** e **12**, comparados com dados descritos na literatura (Mahato & Kundu, 1994).

C	11	Lit.	12	Lit.
1	38,3	38,1	38,3	38,3
2	27,1	27,3	34,1	34,0
3	79,1	79,2	194,6	217,2
4	40,6	39,1	48,7	47,5
5	55,7	55,7	55,7	55,7
6	18,8	19,0	19,9	19,9
7	35,1	35,3	35,1	35,8
8	38,3	38,9	40,6	39,0
9	48,7	48,9	48,7	48,6
10	37,7	37,9	37,7	37,5
11	17,5	17,7	17,5	17,3
12	35,1	35,9	29,9	30,7
13	37,7	37,9	37,7	37,7
14	158,0	158,1	158,0	158,5
15	117,2	117,0	116,8	116,0
16	36,6	36,9	33,4	32,6
17	38,3	38,1	40,6	40,3
18	49,2	49,4	48,7	44,9
19	41,3	41,4	40,6	40,6
20	29,7	29,0	28,7	28,5
21	33,6	33,9	33,3	33,3
22	33,1	33,2	27,9	27,9
23	27,9	28,1	26,0	26,1
24	15,4	15,6	21,5	21,6
25	15,4	15,6	15,4	14,8
26	29,9	30,1	29,8	29,8
27	26,0	26,0	25,8	25,7
28	30,0	30,1	30,0	65,4
29	33,5	33,5	33,5	33,5
30	21,5	21,5	21,3	21,4



Esquema 16. Proposta de fragmentação dos triterpenos **11** e **12**.

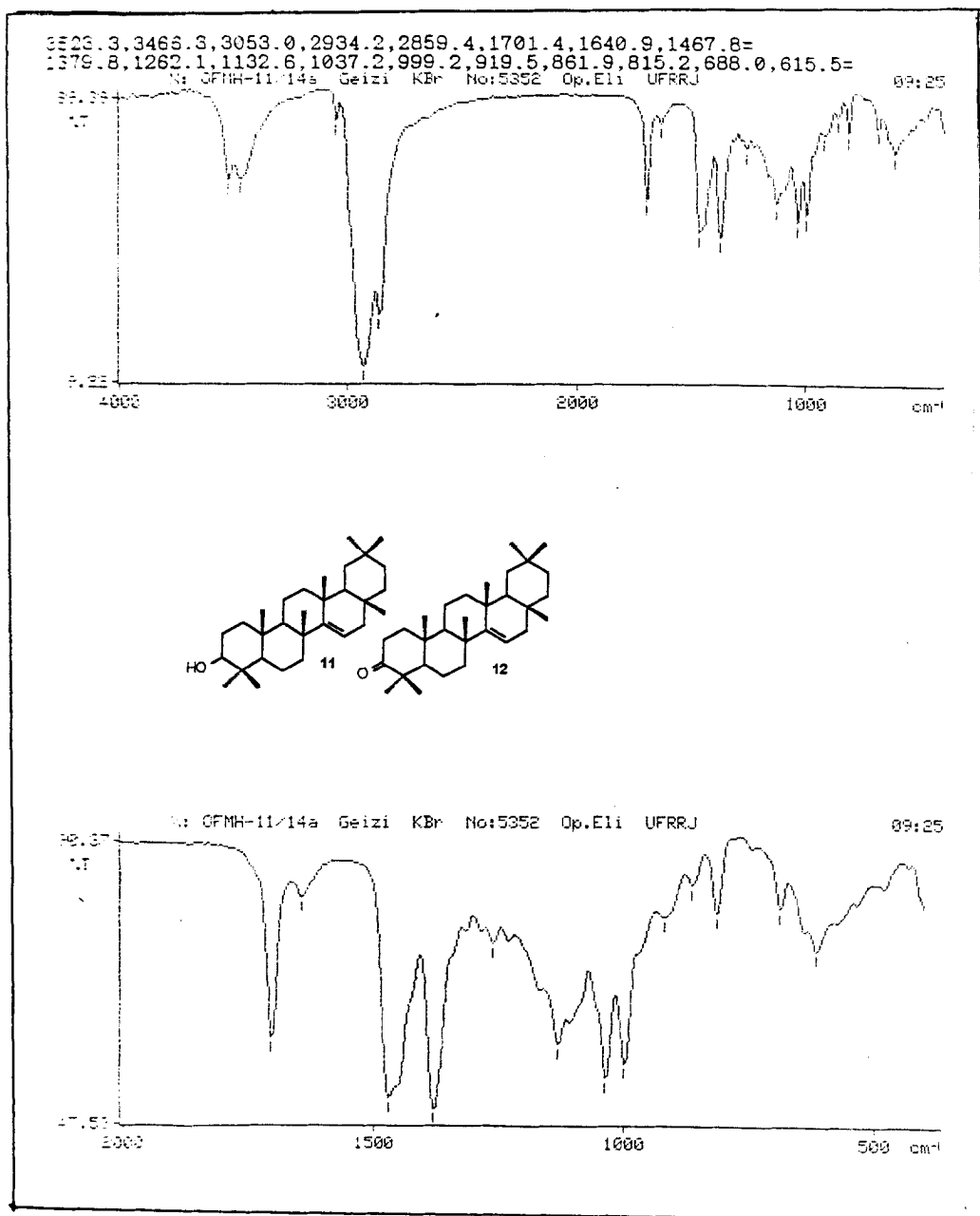


Figura 117. Espectro de IV de 11 e 12

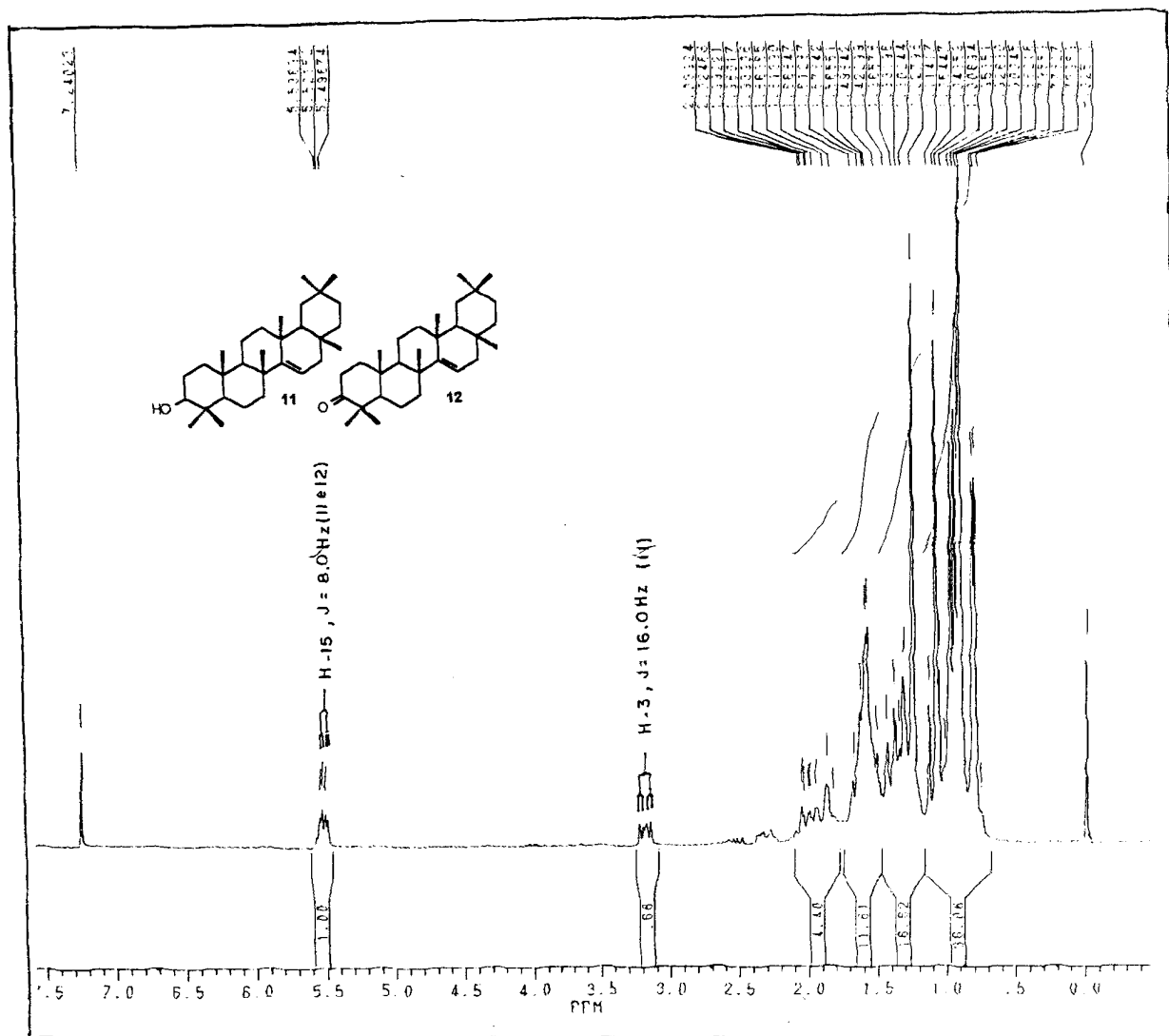


Figura 118. Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) de 11 e 12

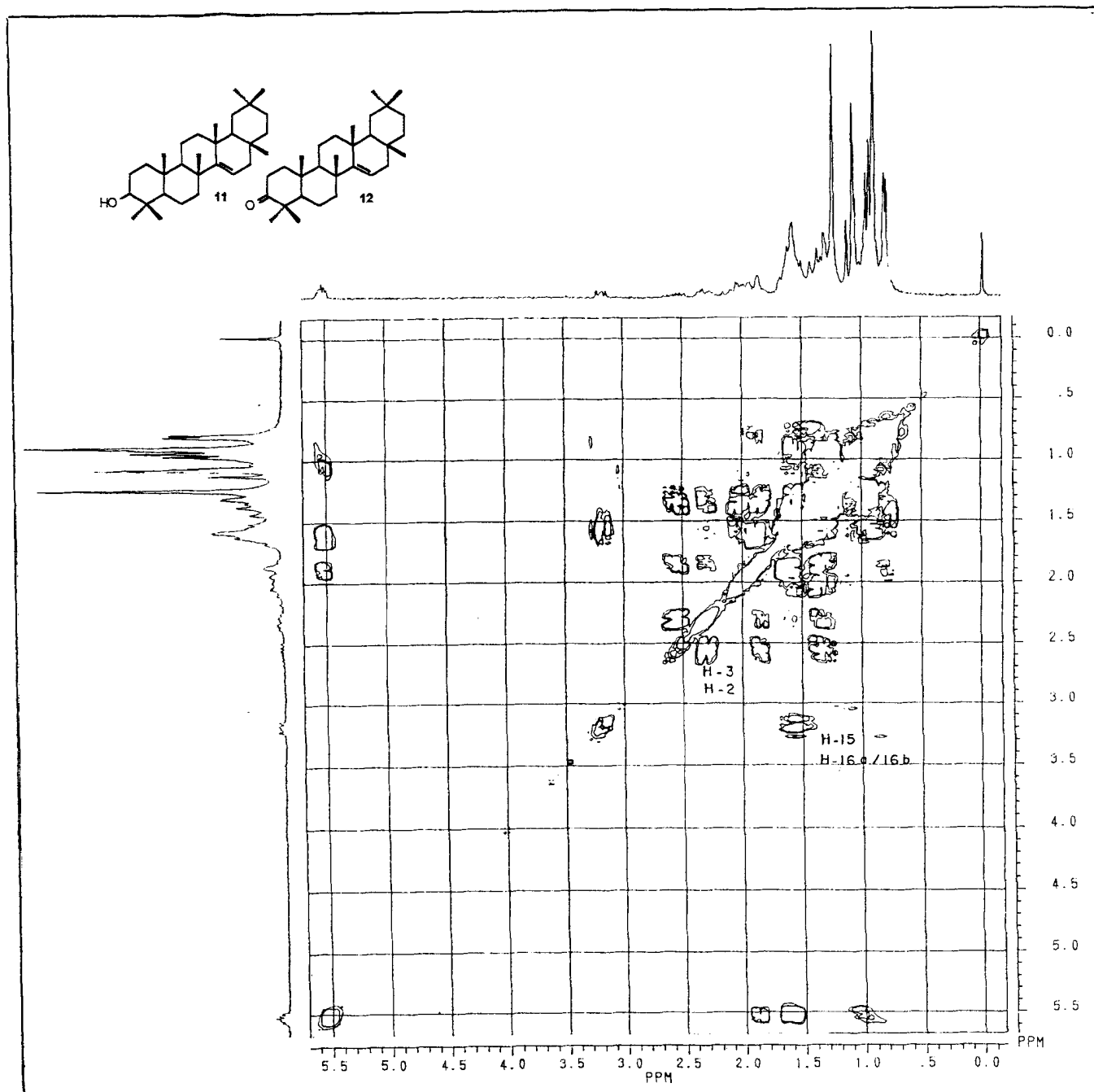


Figura 119. Espectro de RMN – 2D ¹H-¹H – COSY (200 MHz, CDCl₃) de 11 e 12

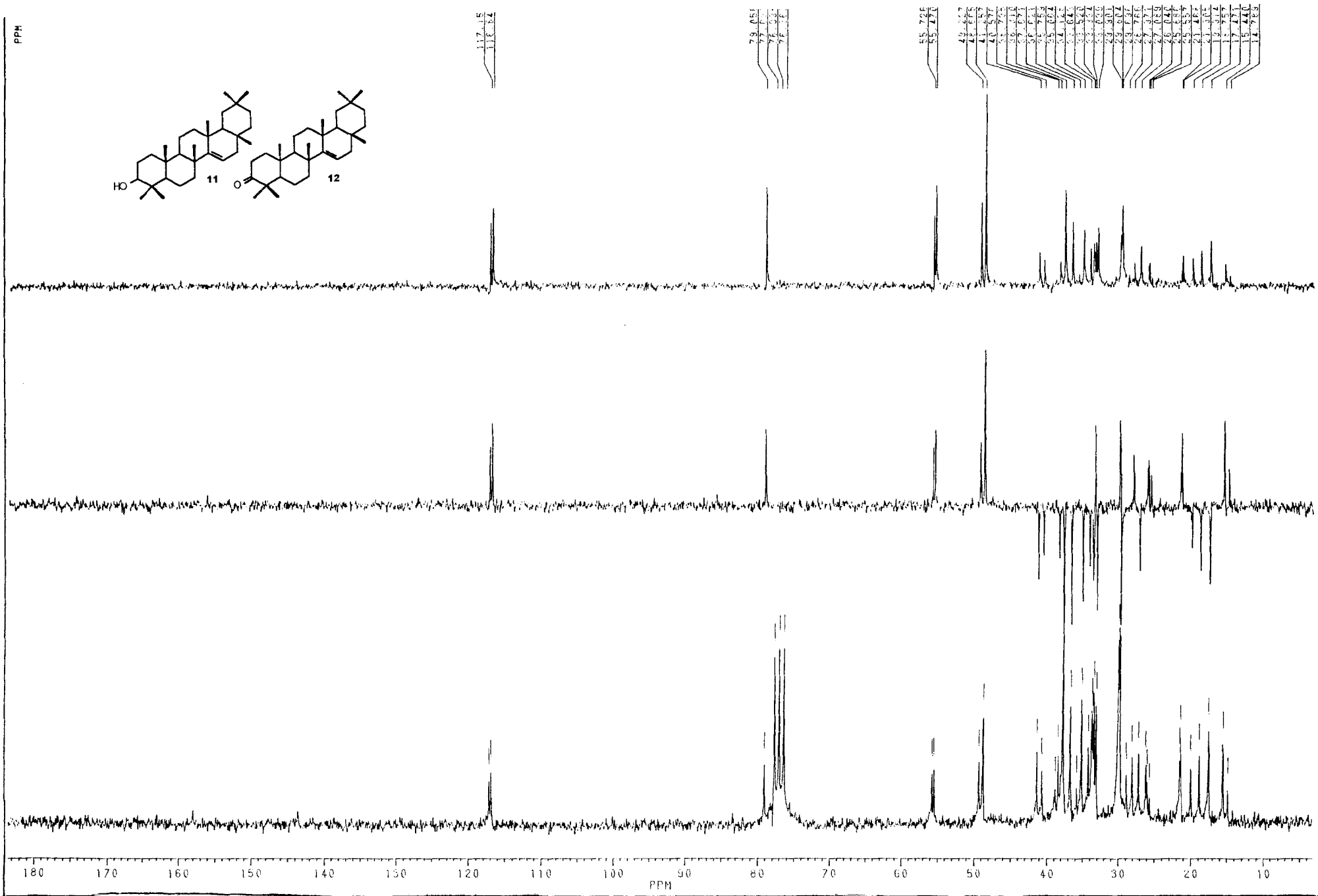


Figura 120. Espectro de RMN ¹³C-PND (a) e DEPT [$\theta=135^\circ$ (b) e $\theta=90^\circ$ (c)] (50 MHz, CDCl₃) de 11 e 12

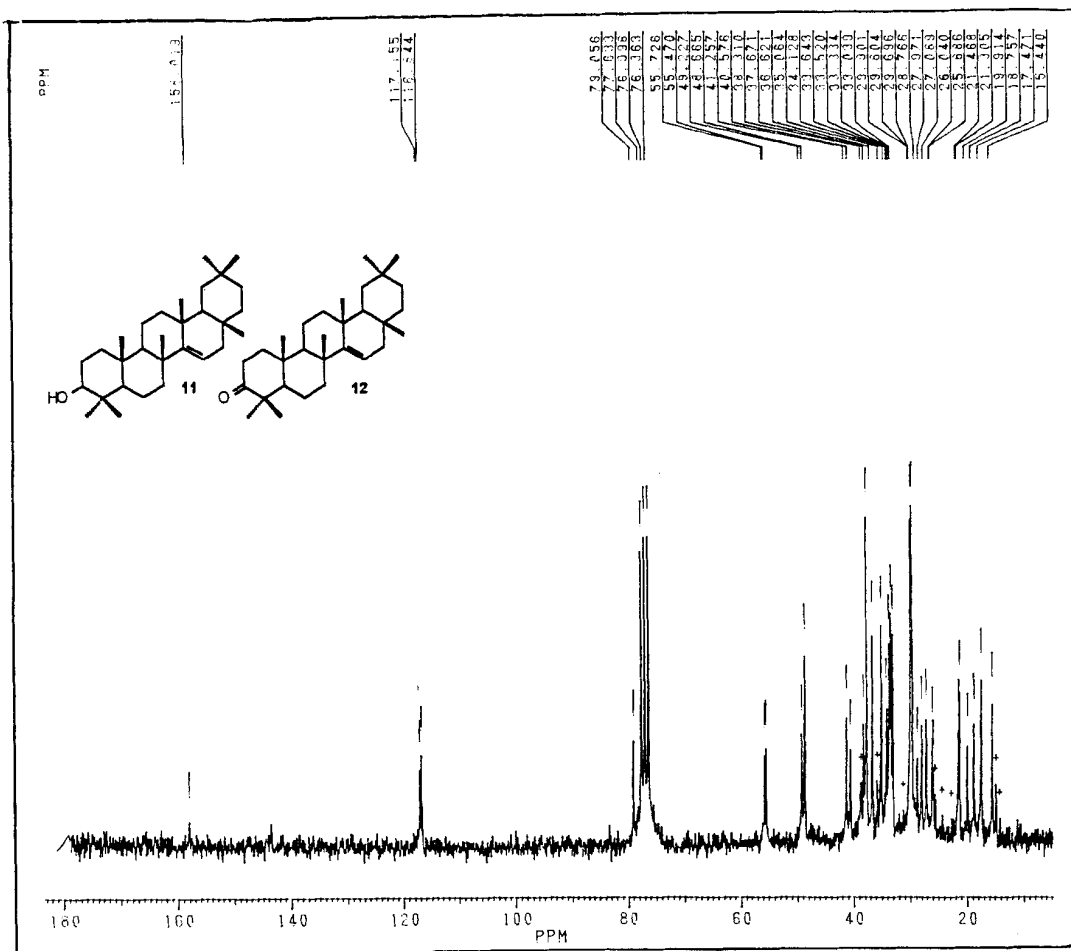


Figura 121. Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de 11 e 12

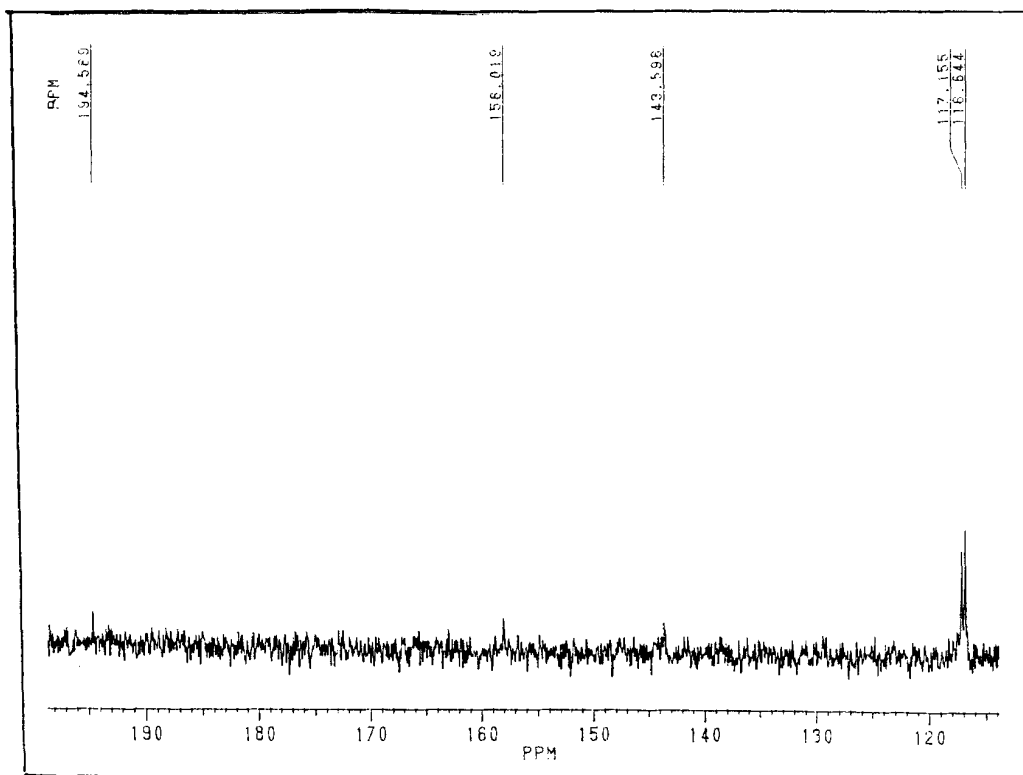


Figura 122. Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de 11 e 12 (expansão)

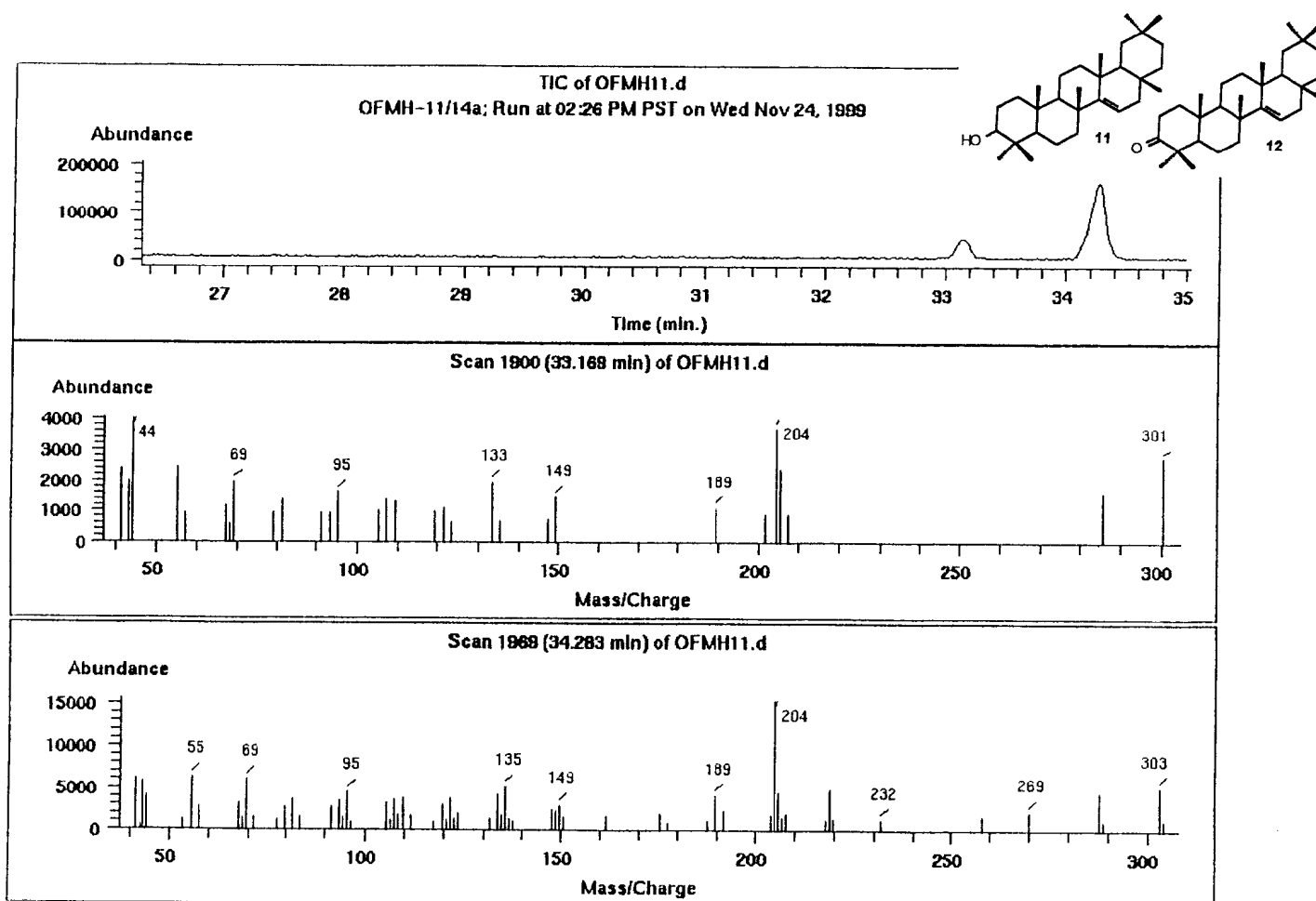


Figura 123. Espectro de massas de 11 e 12

2.8.6. ÉSTERES TRITERPÊNICOS (13, 14)

Os triterpenos **13** e **14** foram obtidos em mistura e pela análise por CCDA, usando vários solventes como eluente revelou única mancha.

O espectro obtido no IV (fig. 124, pág. 211) da mistura de **13** e **14**, mostra banda de absorção em $3,419\text{ cm}^{-1}$, atribuída a deformação axial de OH, $2,854\text{--}2,925\text{ cm}^{-1}$ deformação axial de CH, CH_2 e CH_3 , $1,463\text{ cm}^{-1}$ deformação angular de CH_2 , $1,370\text{ cm}^{-1}$ deformação angular de CH_3 , em $1,275$ e $1,185\text{ cm}^{-1}$ deformação axial de C-O que são bandas características de uma molécula alifática.

O espectro de RMN de ^1H (fig. 125, pág. 211) mostrou sinais simples entre 0,72 e 1,59 característicos de metilas de uma estrutura triterpênica com uma ligação dupla com hidrogênio olefínico (δ_{H} : 5,25, m, H-12) e sinais de hidrogênio carbinólico (δ_{H} : 4,47, m, H-3), e metilênico alfa a carbonila (δ_{H} : 2,26, t, $J=7\text{ Hz}$) que permitem propor uma cadeia normal saturada ligada no C-3.

O espectro de RMN $^1\text{H}\text{-}^1\text{H}$ – COSY (fig. 126, pág. 212) mostrou interações de H-12 (δ_{H} : 5,25) com H-11 (δ_{H} : 1,88), de H-3 (δ_{H} : 4,47) com H-2 (δ_{H} : 1,73), de H-2' (δ_{H} : 2,26) com H-3' (δ_{H} : 1,58) e de H-18 (δ_{H} : 2,81) com H-19 (δ_{H} : 1,73).

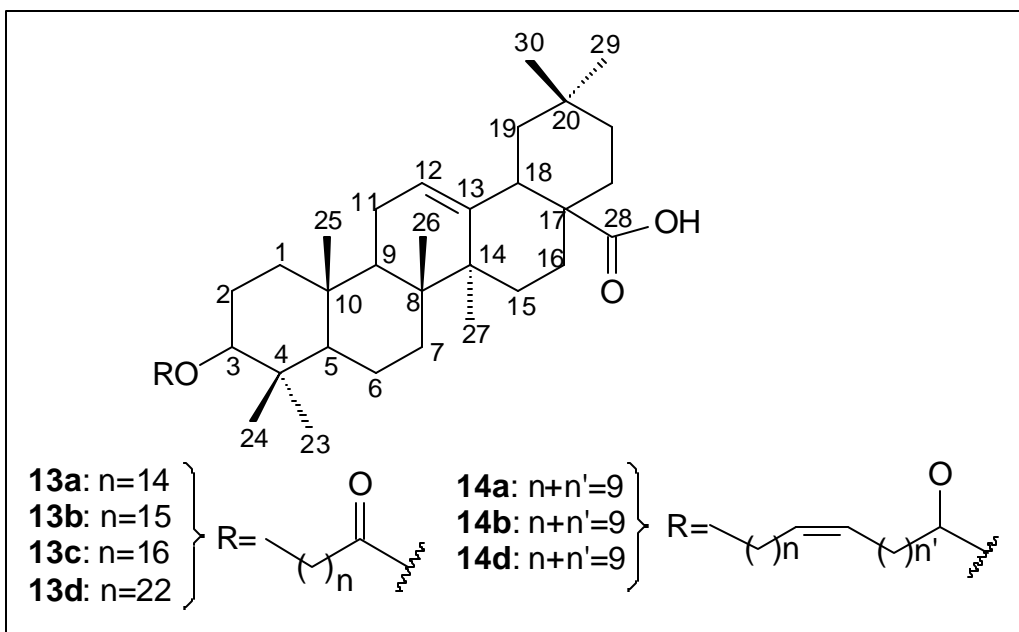
A contagem do número de C, CH, CH_2 e CH_3 no espectro de RMN ^{13}C -PND e DEPT (fig. 127 e 128, pág. 213 e 214), permitiu identificar cinco carbonos metínicos e sete grupos metilas que correspondem ao número de CH e CH_3 de um triterpeno pentacíclico. Considerando-se o deslocamento químico dos carbonos olefínicos em δ_{C} : 122,5 (C-12) e 143,5 (C-13), a feição do sinal em δ_{H} : 2,85 (dd) pode-se incluir este triterpeno na série dos oleananos. Esta proposta é confirmada pela presença do sinal em δ_{C} : 45,8 correspondente ao C-19 do oleanano. O sinal em δ_{C} : 184,1 corresponde a uma carbonila de ácido e o hidrogênio ligado a carbono metínico citado acima (2,81, dd, H-18) permite propor a estrutura do ácido oleanóico. Os sinais em δ_{C} : 173,7 (C=O, éster), δ_{C} : 29,6-29,1 (CH_2) e δ_{C} : 14,1 (CH_3) corresponde a uma cadeia alifática saturada. O deslocamento químico do H-3 (δ_{H} : 4,47) e do C-3 (δ_{C} : 80,5) e as observações citadas acima permitem propor a estrutura de uma mistura de ácidos 3β -O-acil-oleano-12-eno-28-óico.

A comparação dos dados de RMN de ^{13}C (fig. 129. Pág. 215) da mistura triterpênica **13** e **14** com valores citados na literatura (Mahato & Kundu1994) (Tabela 28) para o ácido oleanóico confirmam esta unidade constituinte de **13** e **14**. O valor de δ_{C} : do C-2 (δ_{C} : 25,1) e C-4 (δ_{C} : 37,7) revela o efeito de proteção do grupo carbonila da unidade éster ligada ao C-3. Os valores dos deslocamentos químicos do H-3 (δ_{H} : 4,47, t, 6,8 Hz) e C-3 (δ_{C} : 80,5) estão de acordo com a esterificação neste carbono.

Os sinais adicionais presentes no espectro de RMN ^{13}C (fig. 129, pág. 215) δ_{C} : 173,7 (C=O), δ_{C} : 34,8 (CH₂-C=O), δ_{C} : 29,1 e 14,1 (-CH₂-CH₃) e de RMN ^1H (fig. 125, pág. 208) δ_{H} : 2,30 (t, 6,0 Hz, H-2'), δ_{H} : 1,22 [m, (CH₂)_n] e δ_{H} : 1,02 (t, H₃C-CH₂) são compatíveis com a unidade dos ácidos alifáticos constituintes dos ésteres.

Além dos picos dos fragmentos da aglicona, o espectro de massas (fig. 130, pág. 216) revelou dois picos adicionais 694 (**13a**), 708 (**13b**), 722 (**13c**) e 792 (**13c**) que correspondem aos picos do íon molecular dos ésteres da mistura. A relação: $M^+ - 126 [15(\text{CH}_3) + 28 (\text{O}=\text{C}) + 455 (\mathbf{13})]$, permitiu deduzir o número de CH₂ de cada ácido precursor dos ésteres desta mistura: **13a** (n=14), **13b** (n=15), **13c** (n=16) e **13d** (n=22) e propor as estruturas dos 3 β -O-hexadecanoato-oleano-12-eno-28-oico, 3 β -O-heptadecanoato-oleano-12-eno-28-oico, 3 β -O-octadecanoato-oleano-12-eno-28-oico e 3 β -O-metacosanoato-oleano-12-eno-28-oico, respectivamente, para os ésteres **13** e **14** já registrados na (Herz & Kulanthaivel, 1984; Bohlmann et al., 1982).

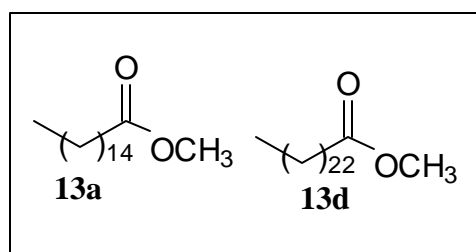
A presença dos sinais de δ_{CH} em 129,0 e 130,0 no espectro de RMN ^{13}C (fig. 129, pág. 215) permitiu propor a presença da unidade acila insaturada nos ésteres da fração que forneceu os espectros de RMN de ^{13}C e massas. Os sinais adicionais no espectro de massas (massas (fig. 130, pág. 216). Em m/z 650, 664 e 678, podem ser atribuídos aos ésteres dos ácidos undecanóico, dodecanóico e tridecanóico do ácido oleanóico (**14a**, **14b** e **14c**).



Quadro 31. Estruturas dos ésteres triterpênicos **13a-13d** e **14a-14d**.

A hidrólise ácida com metanol desta amostra forneceu um ácido e dois ésteres metínicos correspondentes à cadeia alifática do éster triterpeno original.

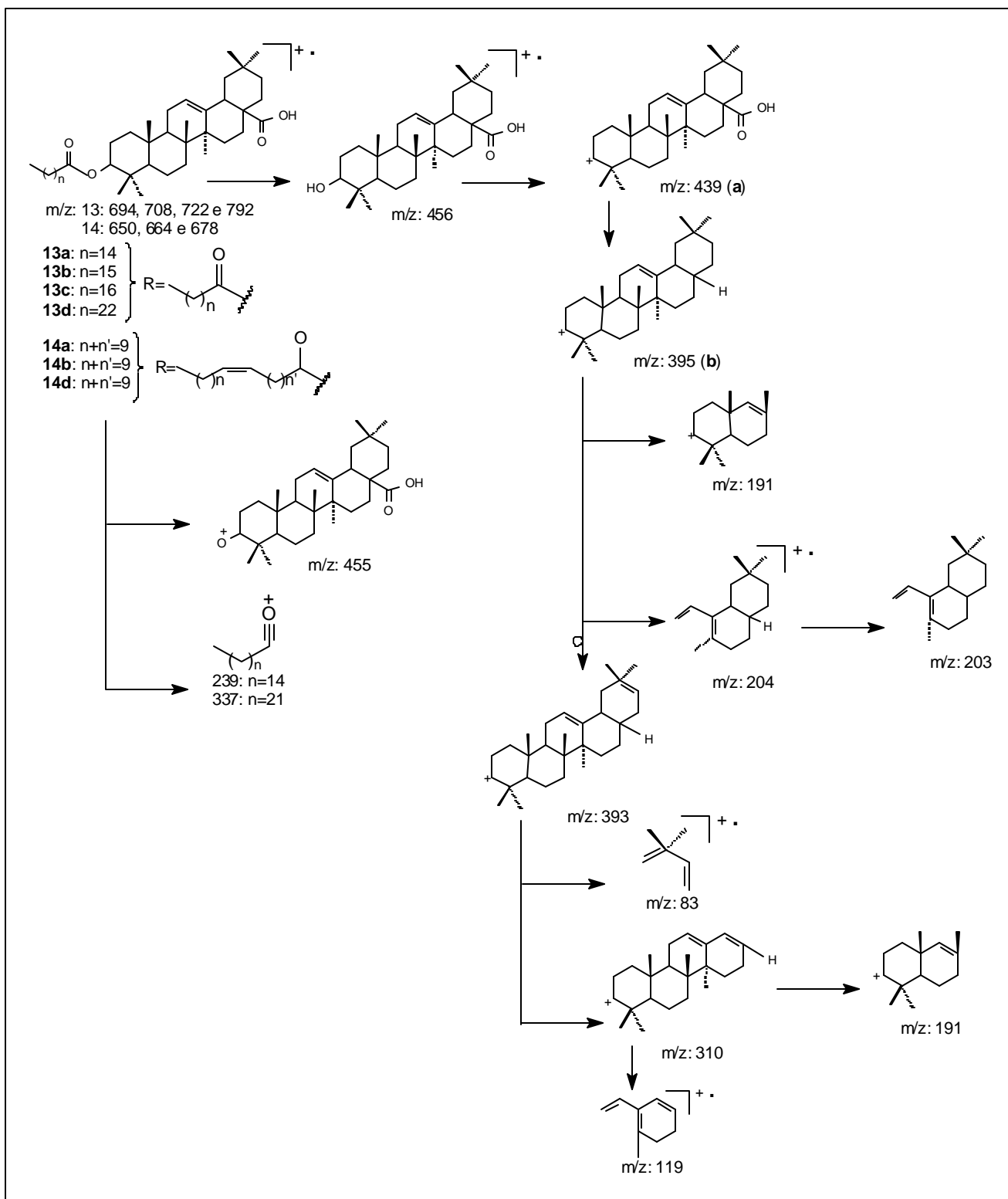
O espectro de massas (fig. 132, pág. 218) do éster metínico, proveniente da hidrólise, mostrou íon molecular em m/z 270 e 382 compatível com C_{14} e C_{22} na cadeia lateral alifática e demais picos provenientes de rearranjos característicos da molécula alifática normal. Estes dados permitem confirmar a proposta anterior para o éster triterpênico **13**..



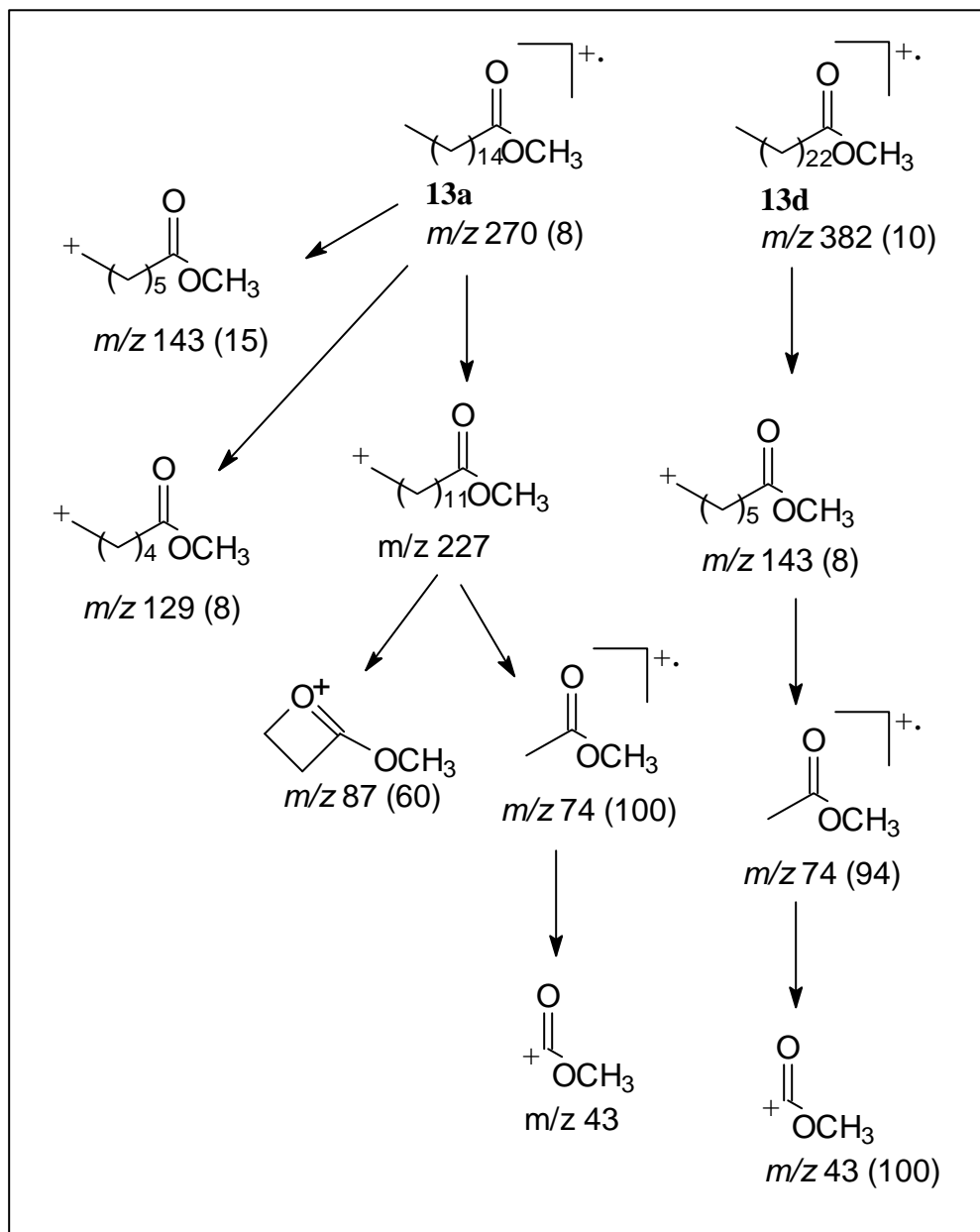
Quadro 32. Estruturas dos ésteres provenientes da hidrólise ácido **13a** e **13d**.

Tabela 28. Dados de RMN ^{13}C comparados com valores citados na literatura (Mahato & Kundu, 1994).

C	δ_{C} 13 e 14	Literatura	CH₂	δ_{C} 10	Literatura
4	37,7	38,7	1	38,0	38,5
8	39,2	39,3	2	25,1	27,4
10	36,9	37,0	6	18,1	18,3
13	143,5	143,4	7	33,0	32,6
14	40,8	41,6	11	22,8	23,1
17	46,5	46,6	15	17,6	27,7
20	30,6	30,6	16	23,3	23,4
28	184,0	181,0	19	45,8	45,8
1'	173,7	-	21	33,7	33,8
CH			22	33,0	32,3
3	80,5	78,7	2'	34,8	-
5	55,2	55,2	3'	25,1	-
9	47,5	47,6	[] _n	29,6-29,1	-
12	122,5	122,1	(n+1)'	31,9	-
18	41,5	41,3	(n+2)'	22,7	-
			CH₃		
			23	28,0	28,1
			24	16,7	15,6
			25	15,3	15,3
			26	17,1	16,8
			27	25,9	26,0
			29	33,0	33,1
			30	23,5	23,6
			(n+3)'	14,1	-



Esquema 17. Proposta de fragmentação dos compostos **13** e **14**.



Esquema 18. Propostas de fragmentações dos ésteres metílicos dos ácidos citados como produtos da hidrólise ácida para **13a** e **13d**.

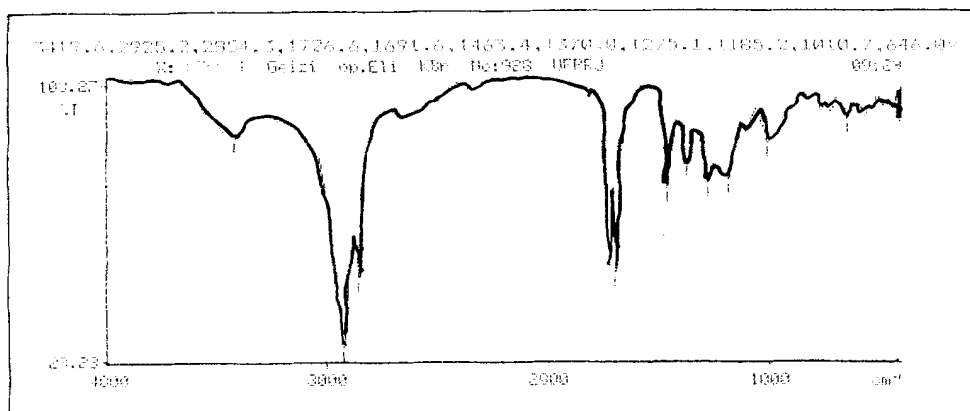


Figura 124. Espectro de IV de 13 e 14

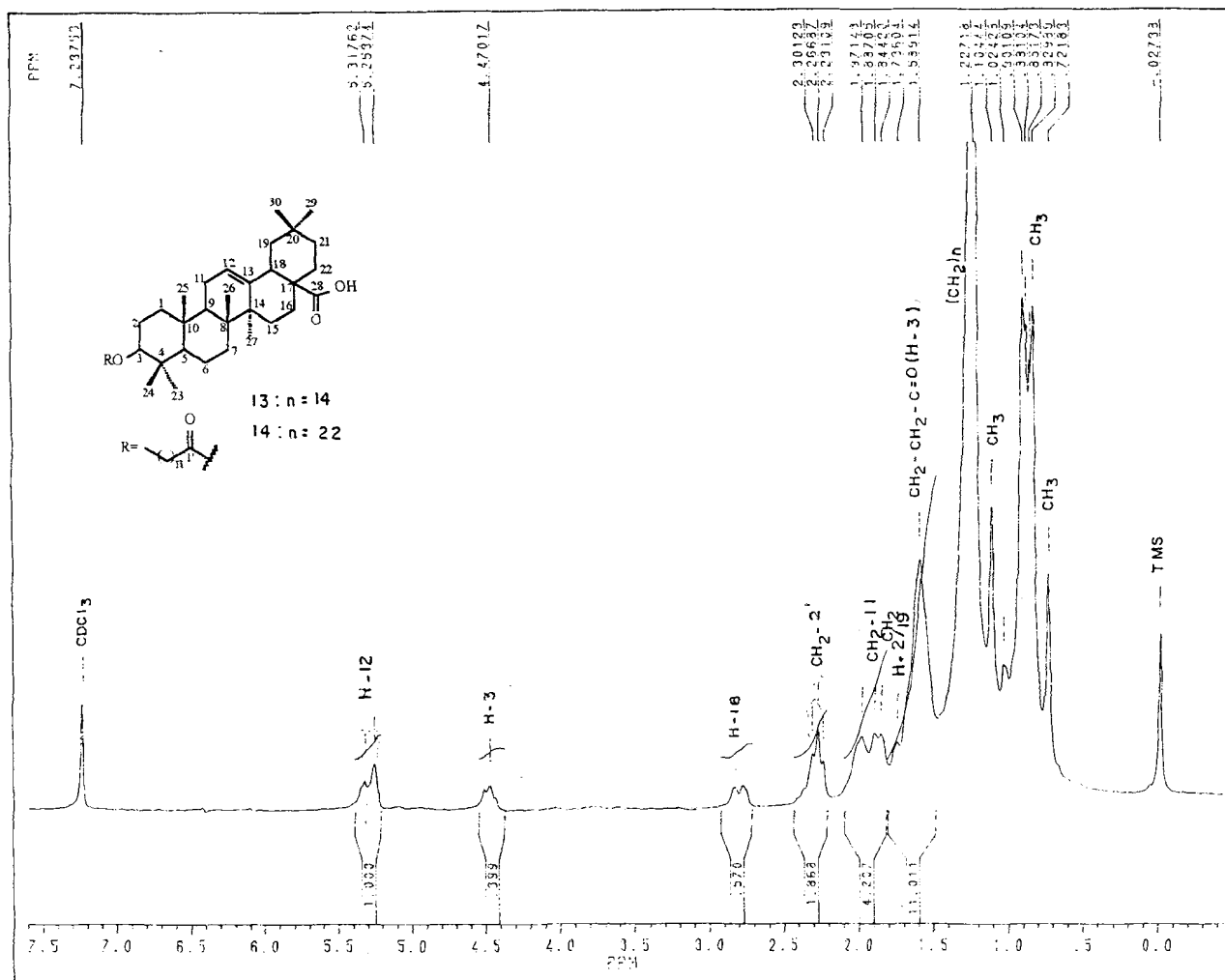


Figura 125. Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) de 13 e 14

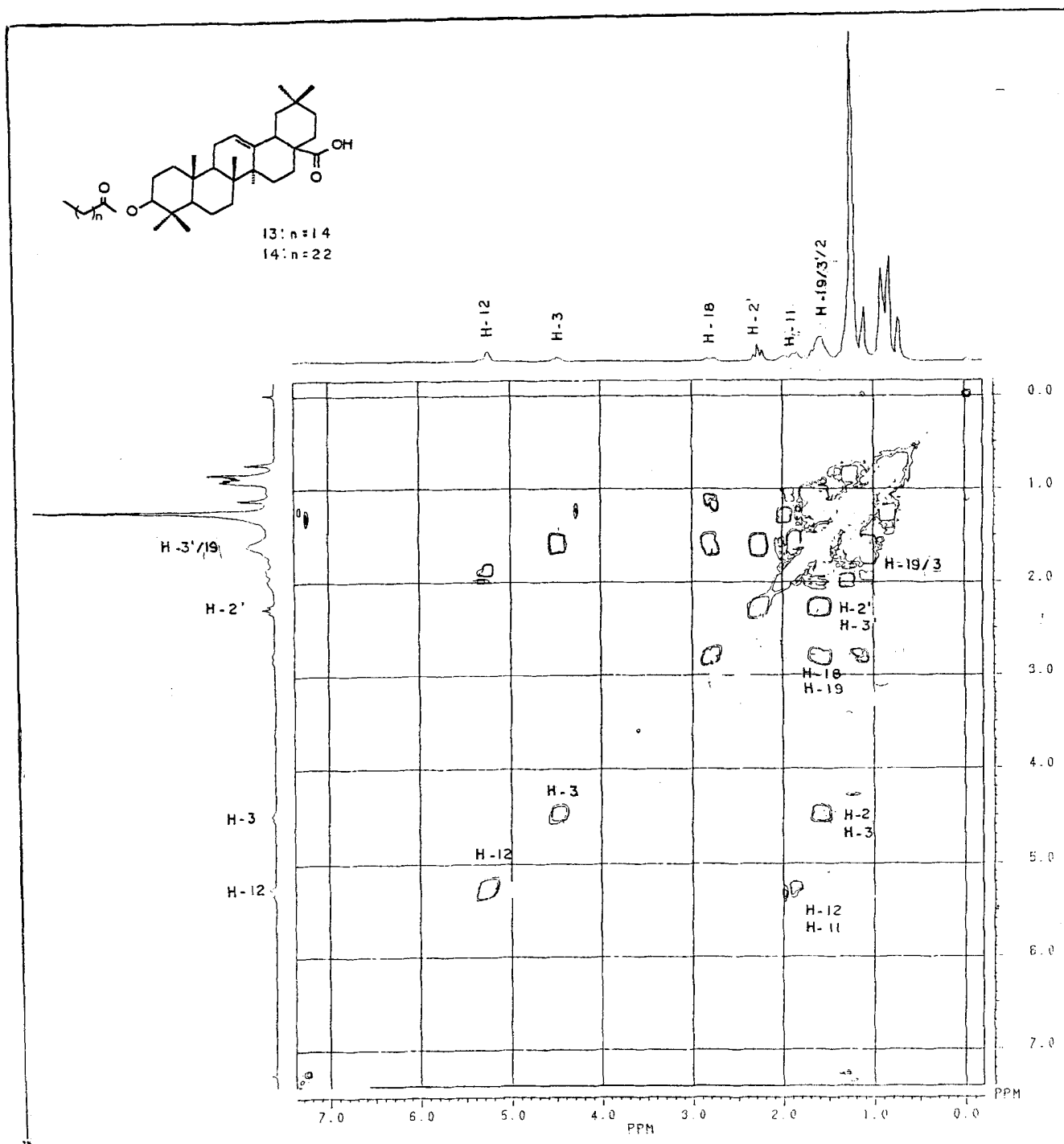


Figura 126. Espectro de RMN – 2D ^1H – COSY (200 MHz, CDCl_3) de 13 e 14

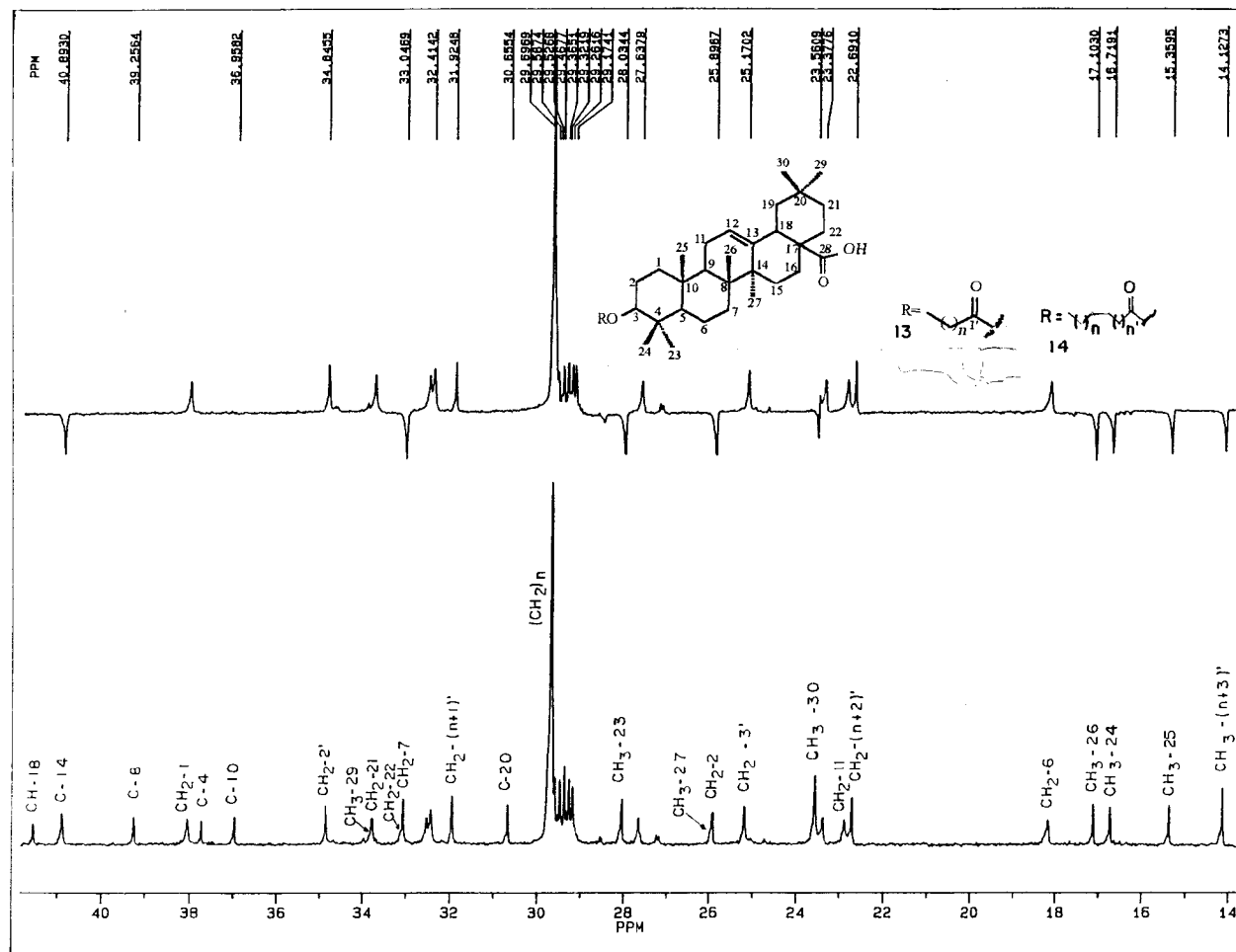


Figura 127. Espectro de RMN ^{13}C -PND (a) e DEPT [$\theta=135^\circ$ (b) e $\theta=90^\circ$ (c)] (50 MHz, CDCl_3) de **13** e **14**

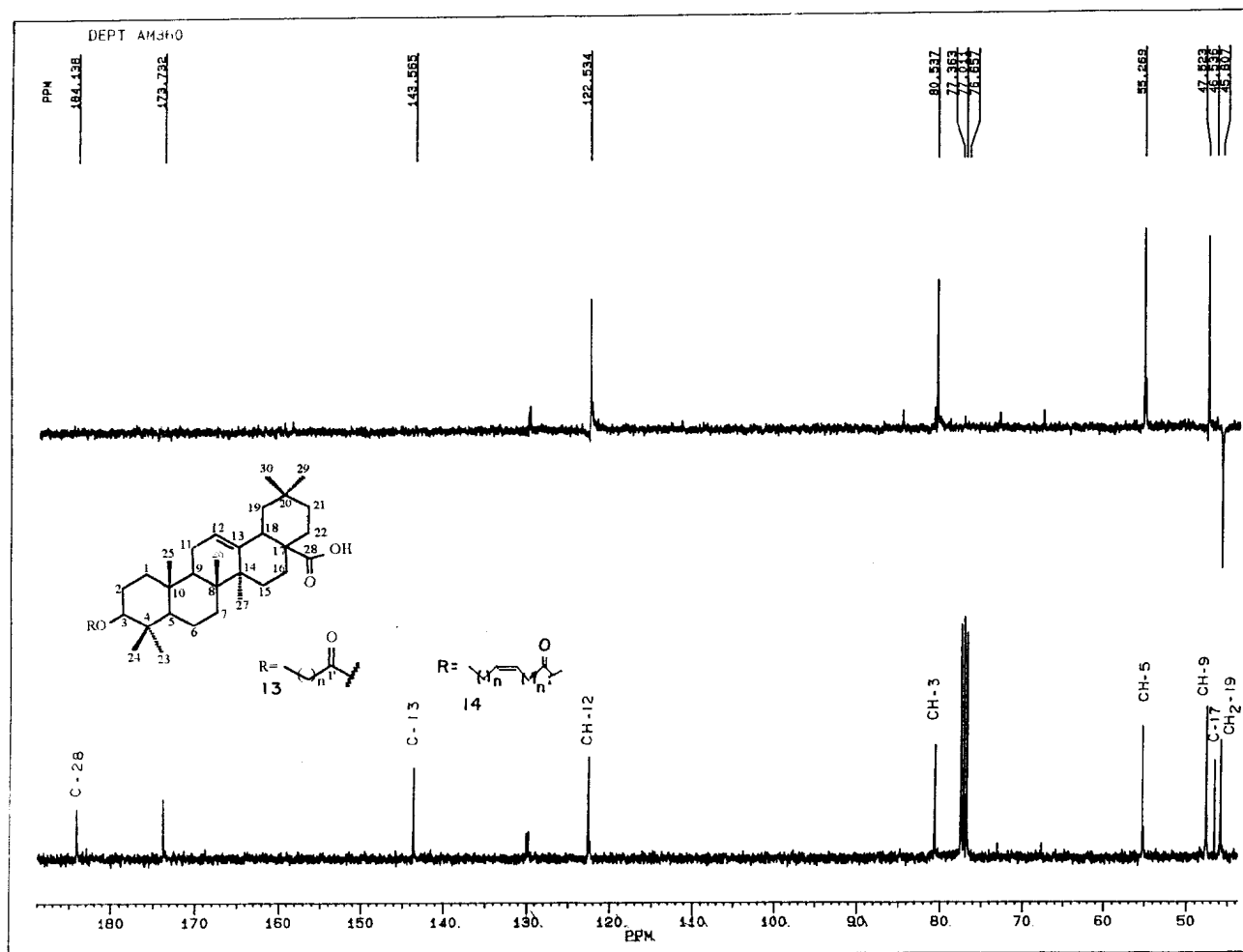


Figura 128. Espectro de RMN ^{13}C -PND (a) e DEPT [$\theta=135^\circ$ (b) e $\theta=90^\circ$ (c)] (50 MHz, CDCl_3) de 13 e 14

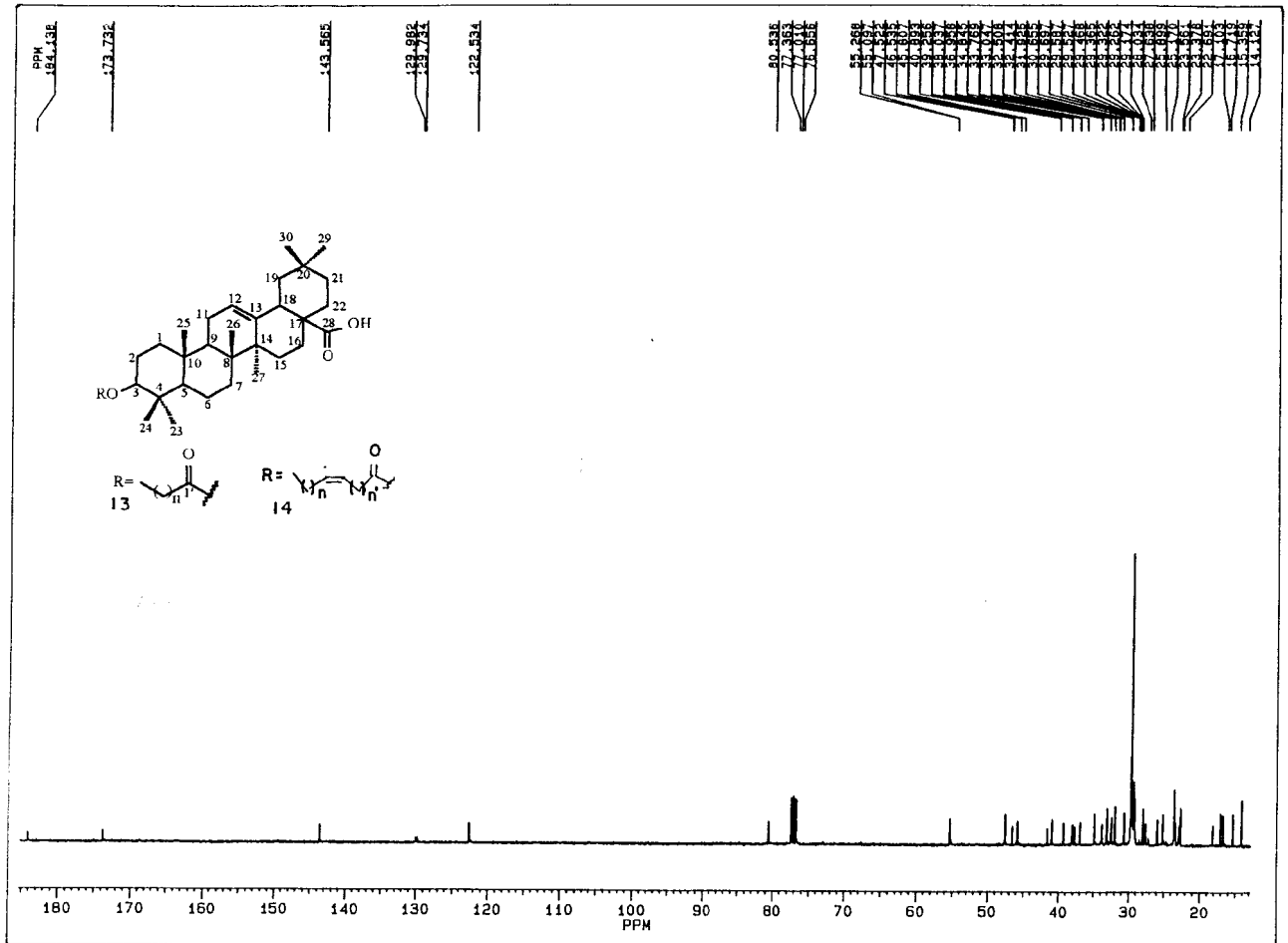


Figura 129. Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de 13 e 14

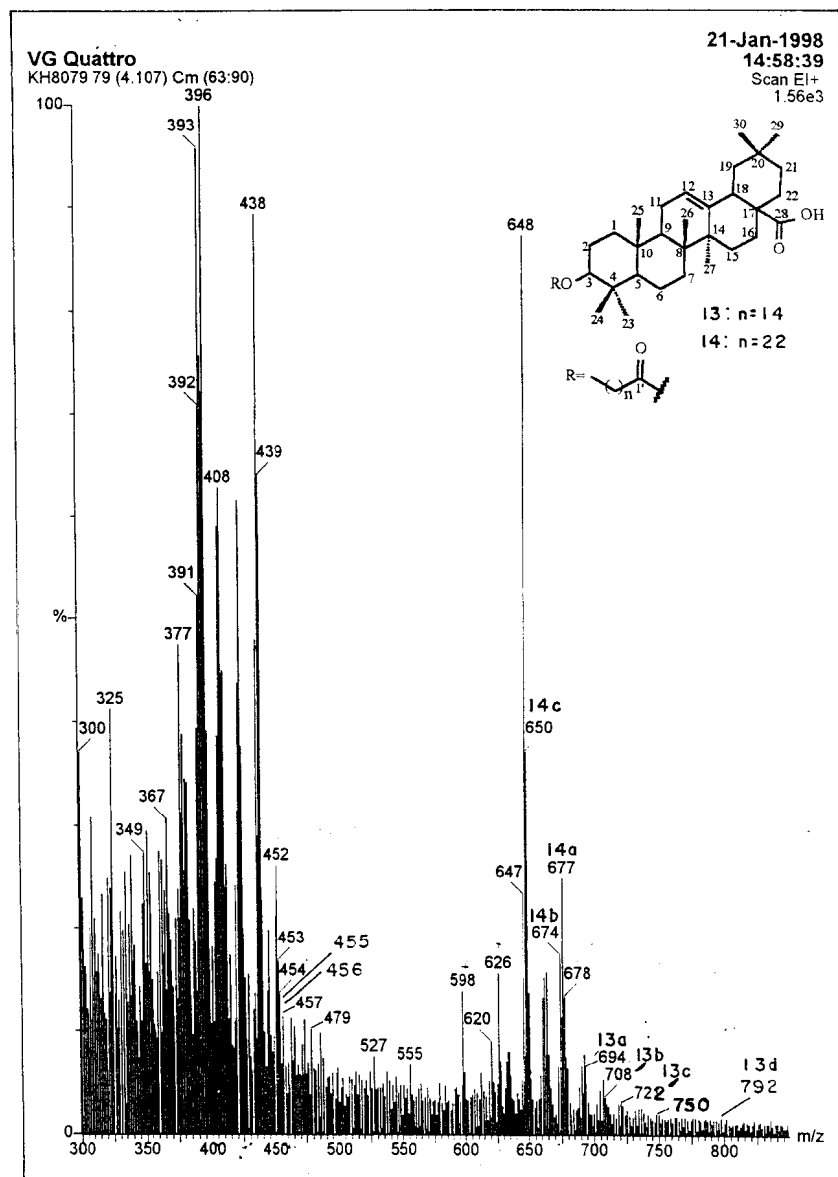


Figura 130. Espectro de massas de 13 e 14

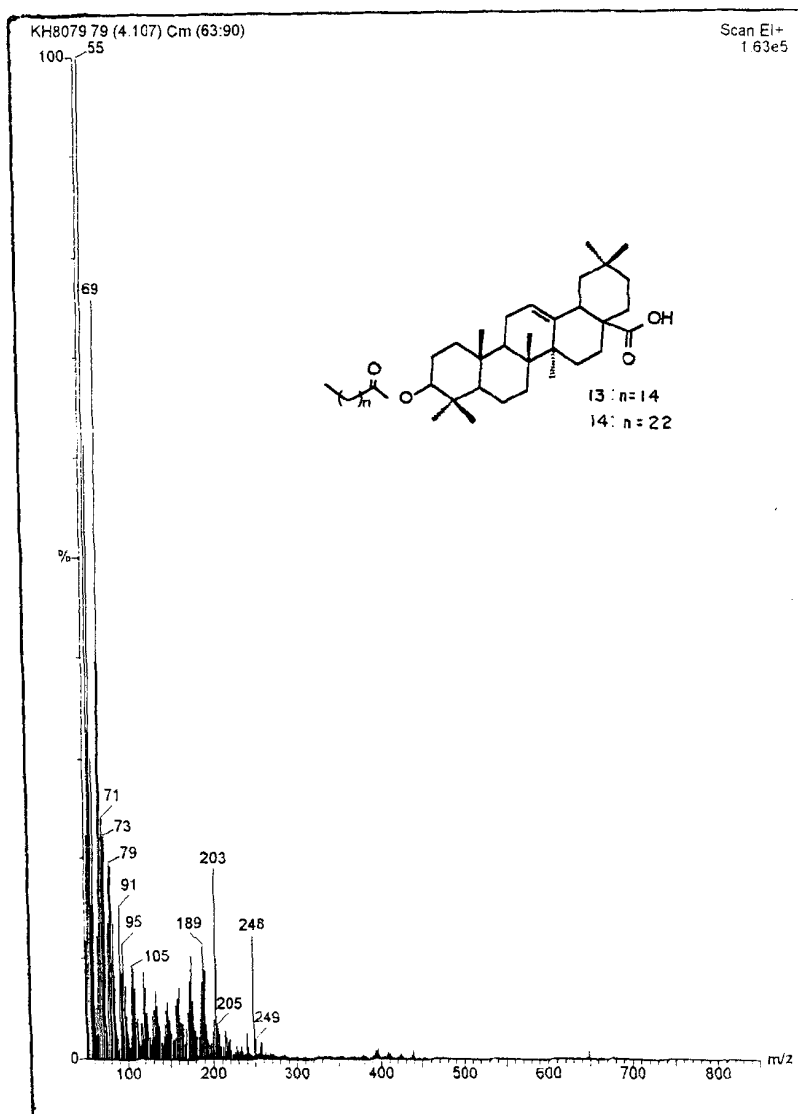


Figura 131. Espectro de massas de 13 e 14 (expansão)

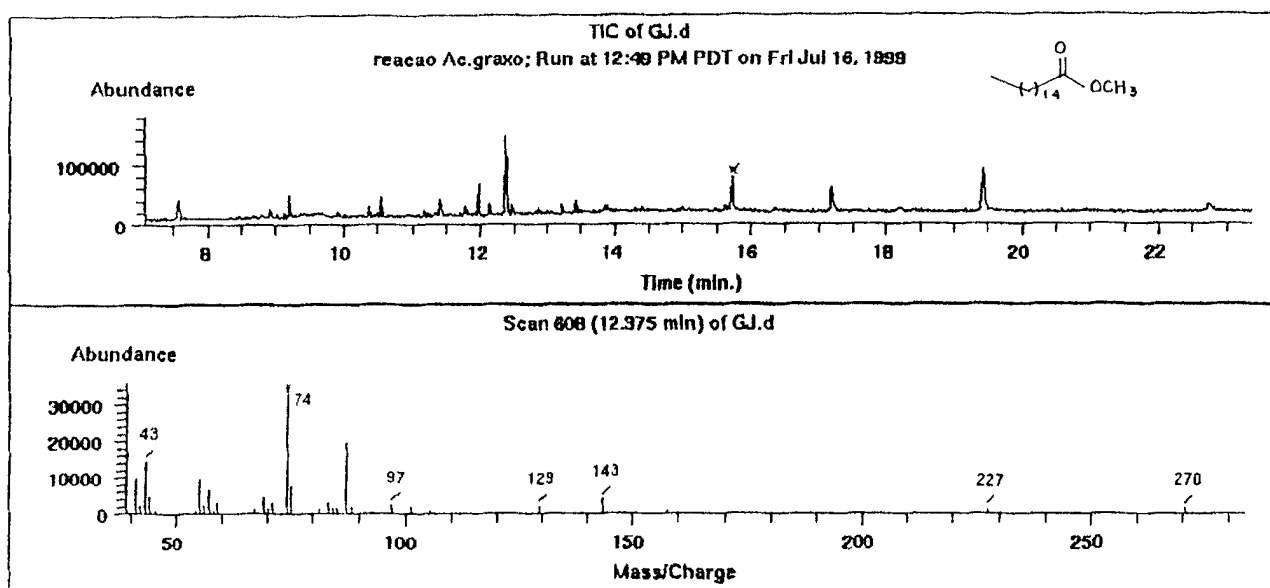


Figura 132. Espectro de massas de 13a

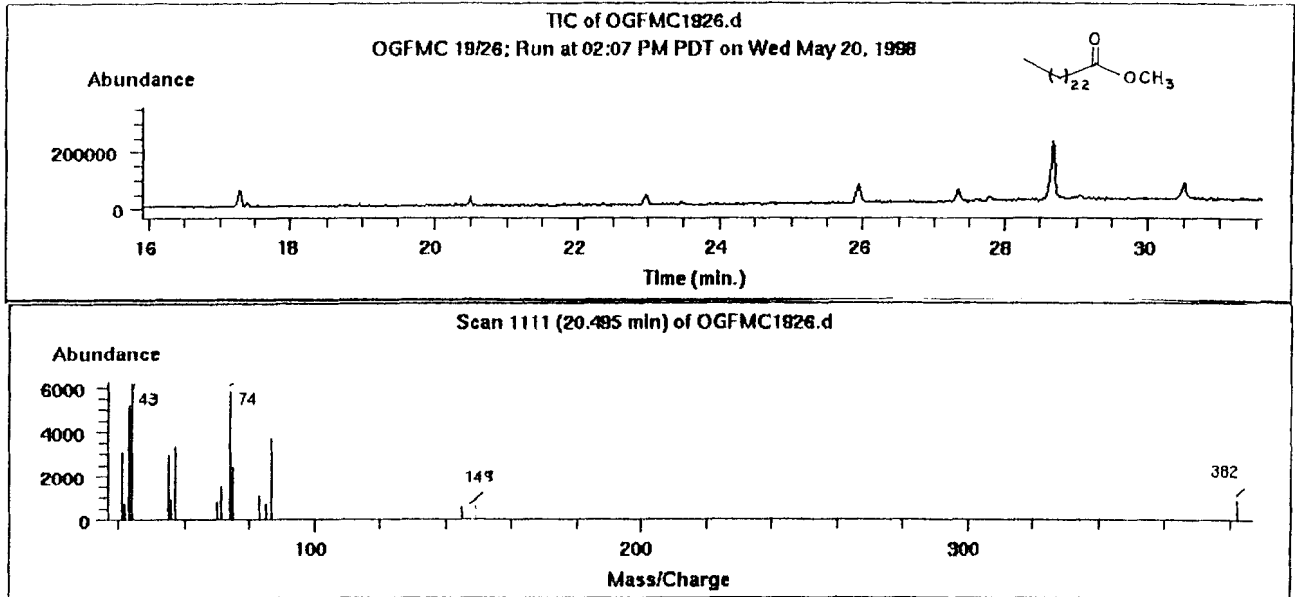


Figura 133. Espectro de massas de 13d

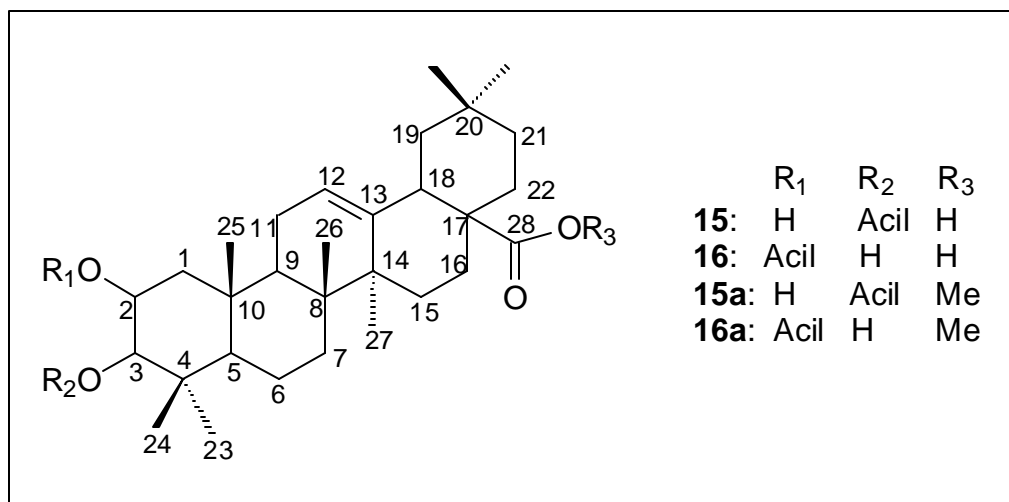
2.8.5. ÉSTERES TRITERPÊNICOS **15** e **16**.

Esta substância apresentou características espectrocópicas muito semelhantes às observadas para a mistura dos triterpeno **13**. A principal diferença observada entre as duas misturas de tritepenos, foi a mudança na feição do sinal em δ_{H} : 4,50 atribuída ao H-3 (**15**). No espectro de RMN¹H (fig. 134, pág. 223) da mistura **13** e **14**, H-3 aparece como um sinal triplo (δ_{H} : 4.47) e no espectro de RMN¹H da mistura **15** e **16** (fig. 134, pág. 223), H-3 aparece como um sinal duplo (δ_{H} : 4,50). Observou-se também um sinal duplo em δ_{H} : 3,20, no espectro de RMN¹H da mistura **15** e **16**, atribuído ao H-3 de **16** e sinais em δ_{H} : 3,70 e 5,00 que foram atribuídos ao H-2 de **15** e **16**, respectivamente. O sinal em δ_{H} : 5,31 foi atribuído ao H-12 e o sinal em δ_{H} : 2,81 foi atribuído ao H-18. Os demais sinais são compatíveis com uma cadeia lateral alifática normal.

O espectro de RMN ¹H-¹H – COSY (fig. 136, pág. 225) da mistura **15** e **16** mostrou sinais de interação entre os hidrogênios H-3 (δ_{H} : 3,50) e H-2 (δ_{H} : 3,70) de **15** e H-3 (δ_{H} : 3,20) e H-2 (δ_{H} : 5,00) de **16**. Estes dados e a avaliação do espectro de RMN¹³C-PND e DEPT (fig. 135, pág. 224), onde observaram-se os sinais em δ_{C} : 84,5 (C-3 de **15**), 80,7 (C-3 de **16**) e os sinais de carbono carbinólico (CH) em δ_{C} : 76,3 (C-2 de **16**) e 67,4 (C-2 de **15**), permitiram propor a estrutura de **15** e **16** como triterpenos pentacíclicos da série dos oleananos. A estrutura de **15** pode ser proposta o ácido oleanóico esterificado na posição do C-3 e hidroxilado na posição do C-2 e a estrutura de **16** com uma hidroxila na posição do C-3 e esterificada na posição do C-2. O demais sinais presentes no espectro foram comparados com modelos da literatura e verificou-se que são compatíveis com esta proposta. (Tabela 28).

O tratamento da amostra com diazometano previamente preparado, forneceu os derivados metilados **15a** e **16a**. A avaliação do espectro de RMN¹H (fig. 138, pág. 227) mostrou sinais em δ_{H} : 3,58 e 3,62, atribuídos às metoxilas dos grupos ácidos. Os sinais das metoxilas também foram observados no espectro de RMN¹³C (fig. 139, pág. 228) dos derivados em δ_{C} : 51,2 e 51,1 e a comparação dos

dados de deslocamentos químicos dos carbono com dados da literatura (Mahato & Kundu, 1994), permitem propor uma mistura de triterpenos para esta amostra, que ainda se encontra em estudos. Estão sendo concluídos os resultados de dados espectrométricos para maiores informações, como acetilação, para confirmar a proposta das estruturas e hidrólise para avaliação do tamanho da cadeia acílica de cada éster.



Quadro 33. Estruturas dos ésteres triterpênicos **15-16** e **15a-16a**.

Tabela 29. Dados de RMN ^{13}C (50 MHz) da mistura **15** e **16**, comparado com valores citados na literatura (Mahato & Kundu, 1994).

C	δ_{C}		Literatura		C	δ_{C}		Literatura	
	15	16	28	2		15	16	28	2
1	45,7	45,7	46,4	38,5	21	33,7	33,7	33,8	33,8
2	67,5	76,3	68,8	27,4	22	32,3	32,3	32,3	32,3
3	84,5	80,7	83,8	78,7	23	28,5	28,5	28,6	28,1
4	39,2	39,2	39,1	38,7	24	16,9	16,9	16,8	15,6
5	55,2	55,2	55,3	55,2	25	16,9	16,9	16,8	15,3
6	18,2	18,2	18,3	18,3	26	16,9	16,9	16,8	16,8
7	32,9	32,9	32,6	32,6	27	25,8	25,8	26,0	26,0
8	40,8	40,8	39,1	39,3	28	179,7	179,7	178,0	181,0
9	47,5	47,5	47,5	47,6	29	33,7	33,7	33,1	33,1
10	38,3	38,3	38,3	37,0	30	23,5	23,5	23,5	23,6
11	23,1	23,1	23,1	23,1	1'	175,2	175,2	-	-
12	122,3	122,3	122,0	122,1	2'	34,8	34,8	-	-
13	143,5	143,5	143,6	143,4	3'	25,1	25,1	-	-
14	41,7	41,7	41,7	41,6	(CH ₂) _n	29,6	29,6	-	-
15	27,5	27,5	27,6	27,7	(n+1)	31,9	31,9	-	-
16	23,5	23,5	23,5	23,4	(n+2)	22,8	22,8	-	-
17	46,4	46,4	46,6	46,4	(n+3)	14,1	14,1	-	-
18	41,5	41,5	41,3	41,3					
19	45,9	45,9	45,8	45,8					
20	30,6	30,6	30,7	30,6					

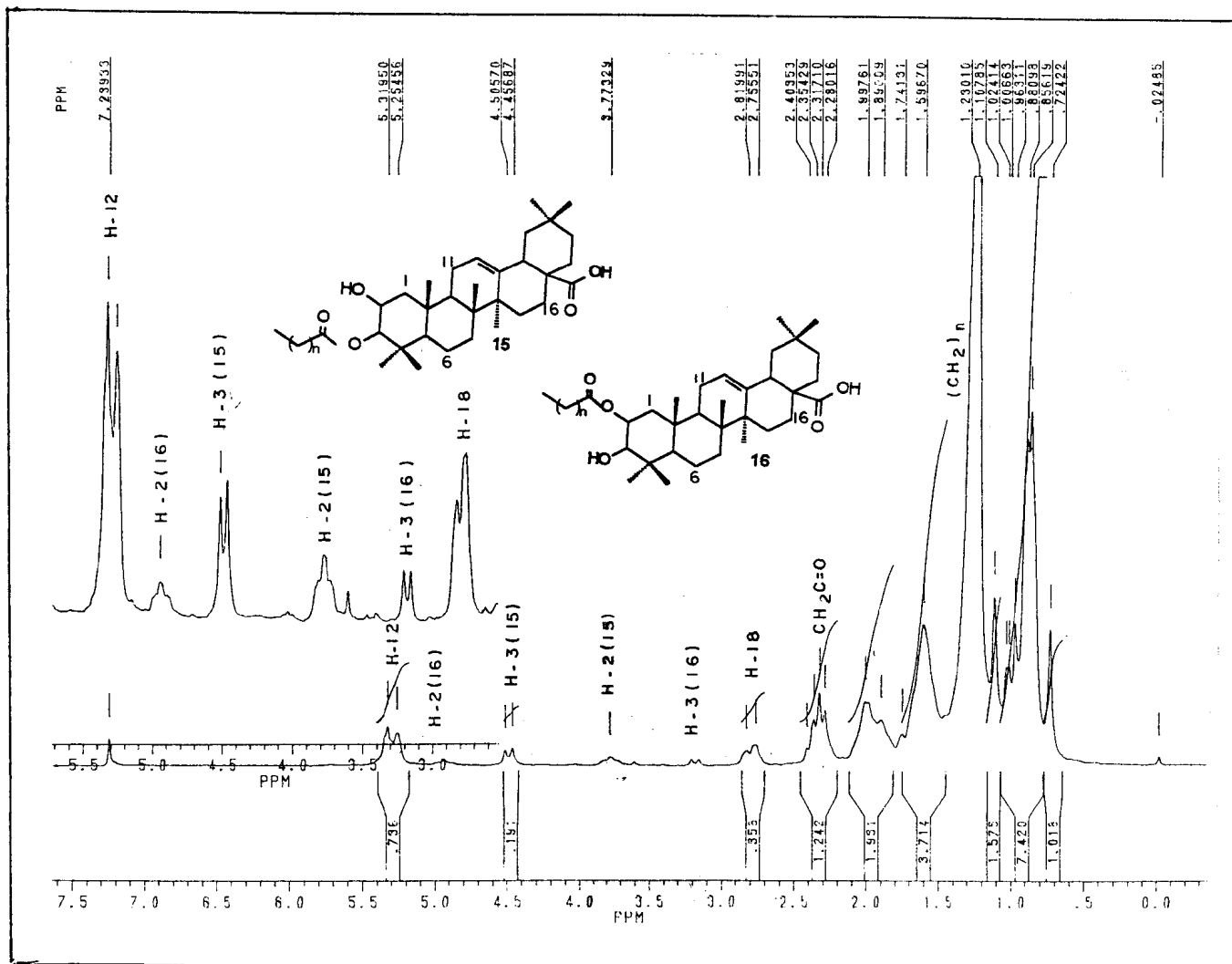


Figura 134. Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) de 15 e 16

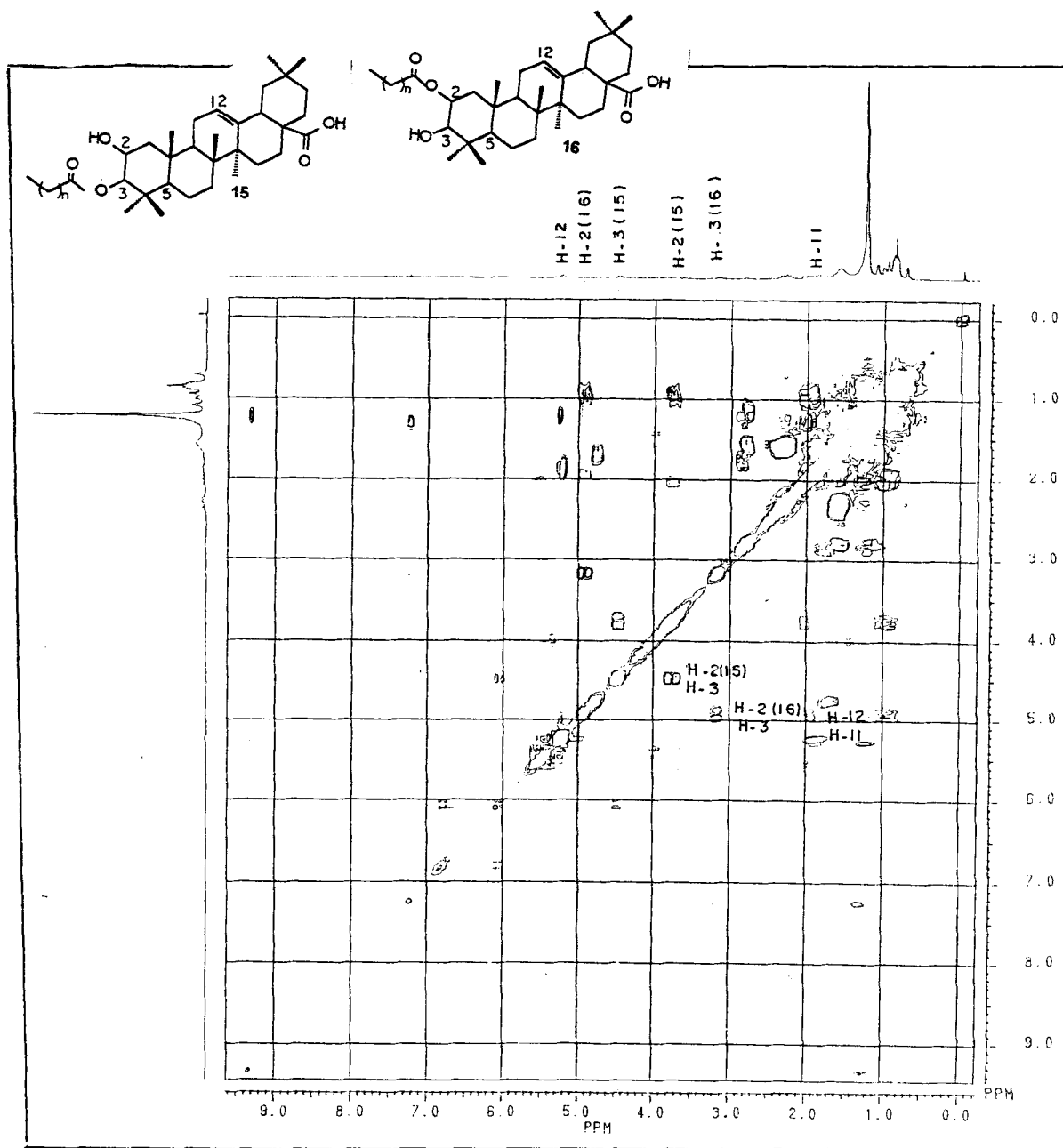


Figura 136. Espectro de RMN – 2D ^1H - ^1H – COSY (200 MHz, CDCl_3) de 15 e 16

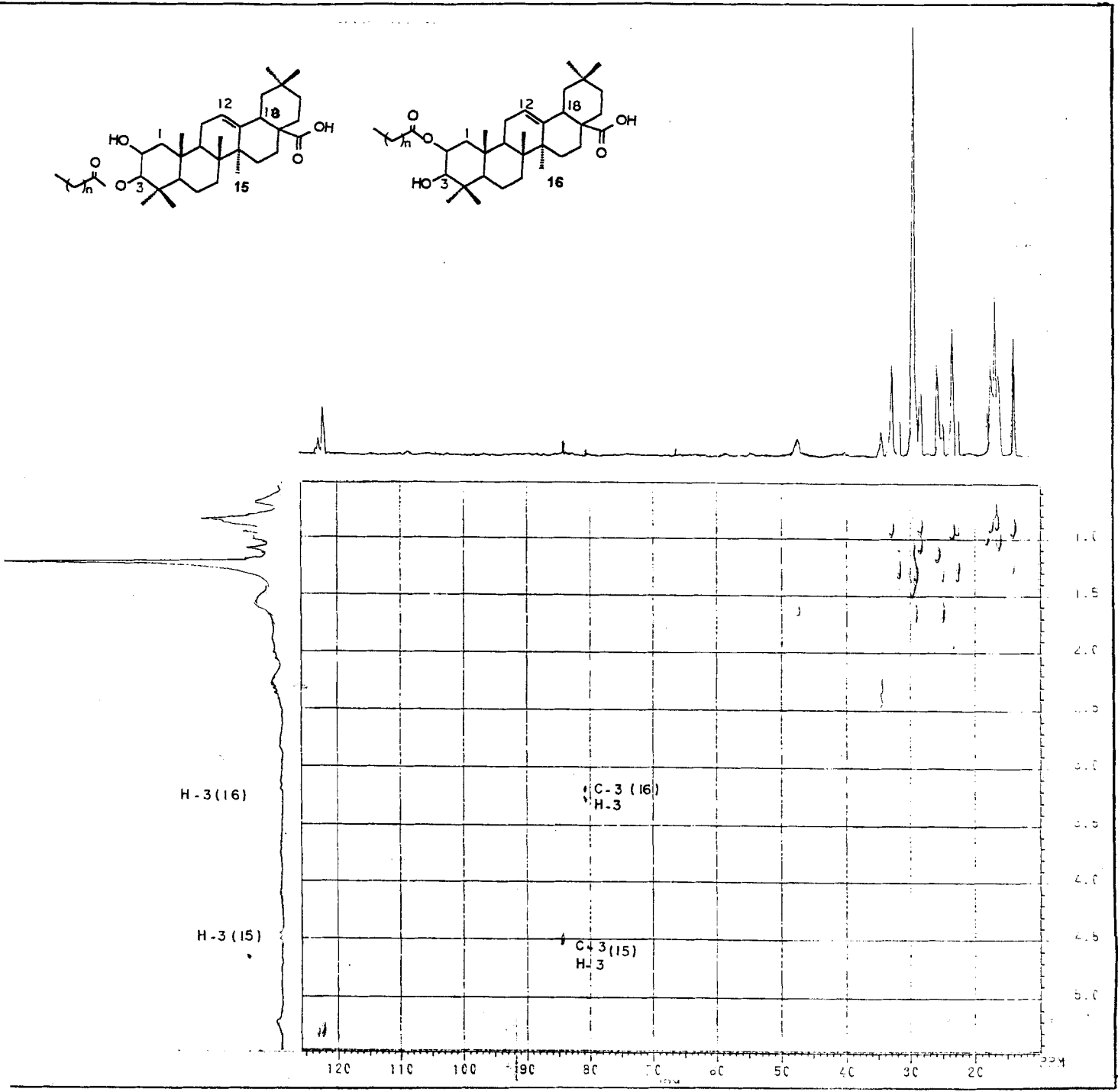


Figura 137. Espectro de RMN – 2D ^1H - ^{13}C – COSY (50, 200 MHz, CDCl_3) de 15 e 16

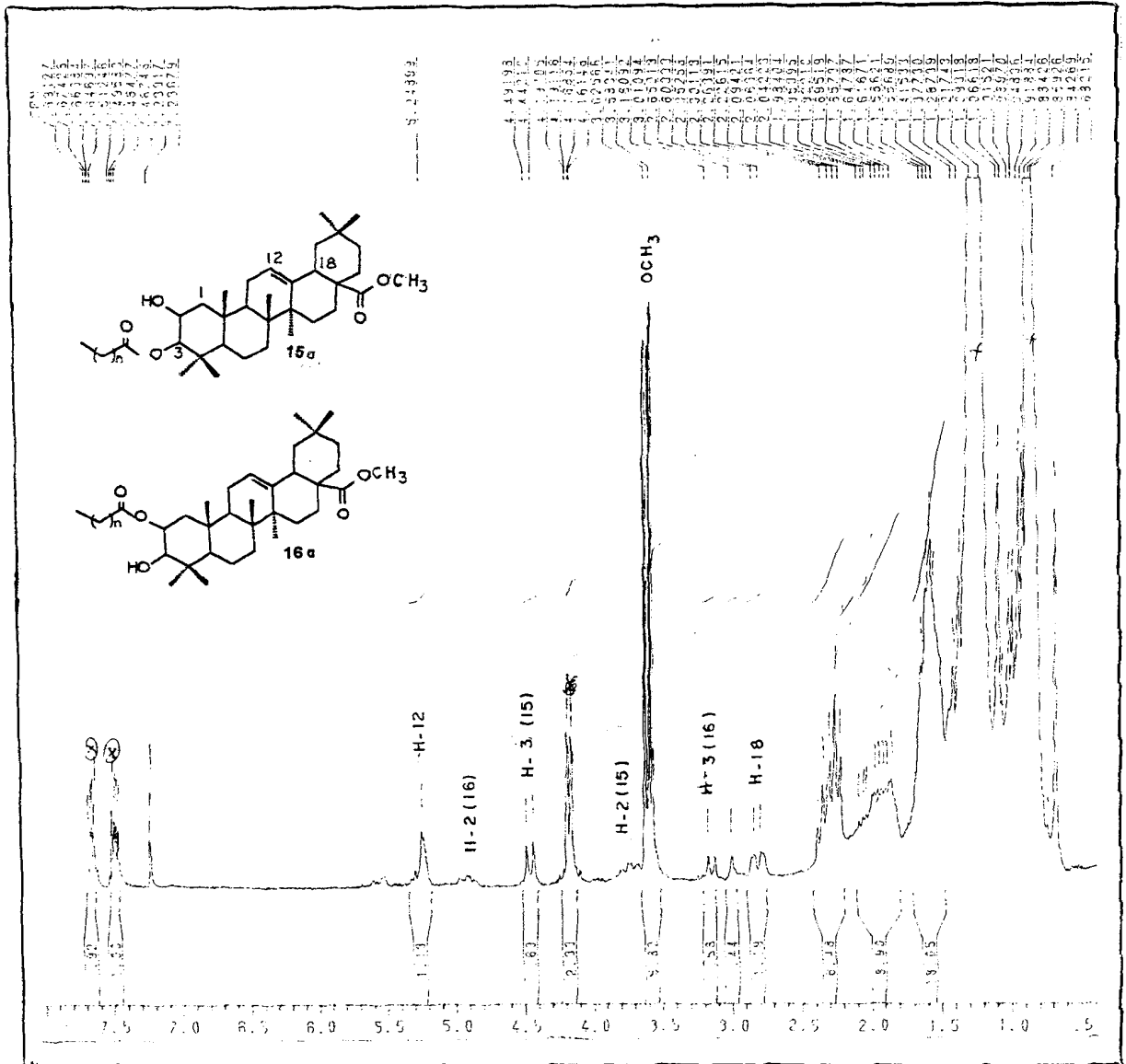


Figura 138. Espectro de RMN¹H (200 MHz, CDCl₃) de **15a** e **16a**

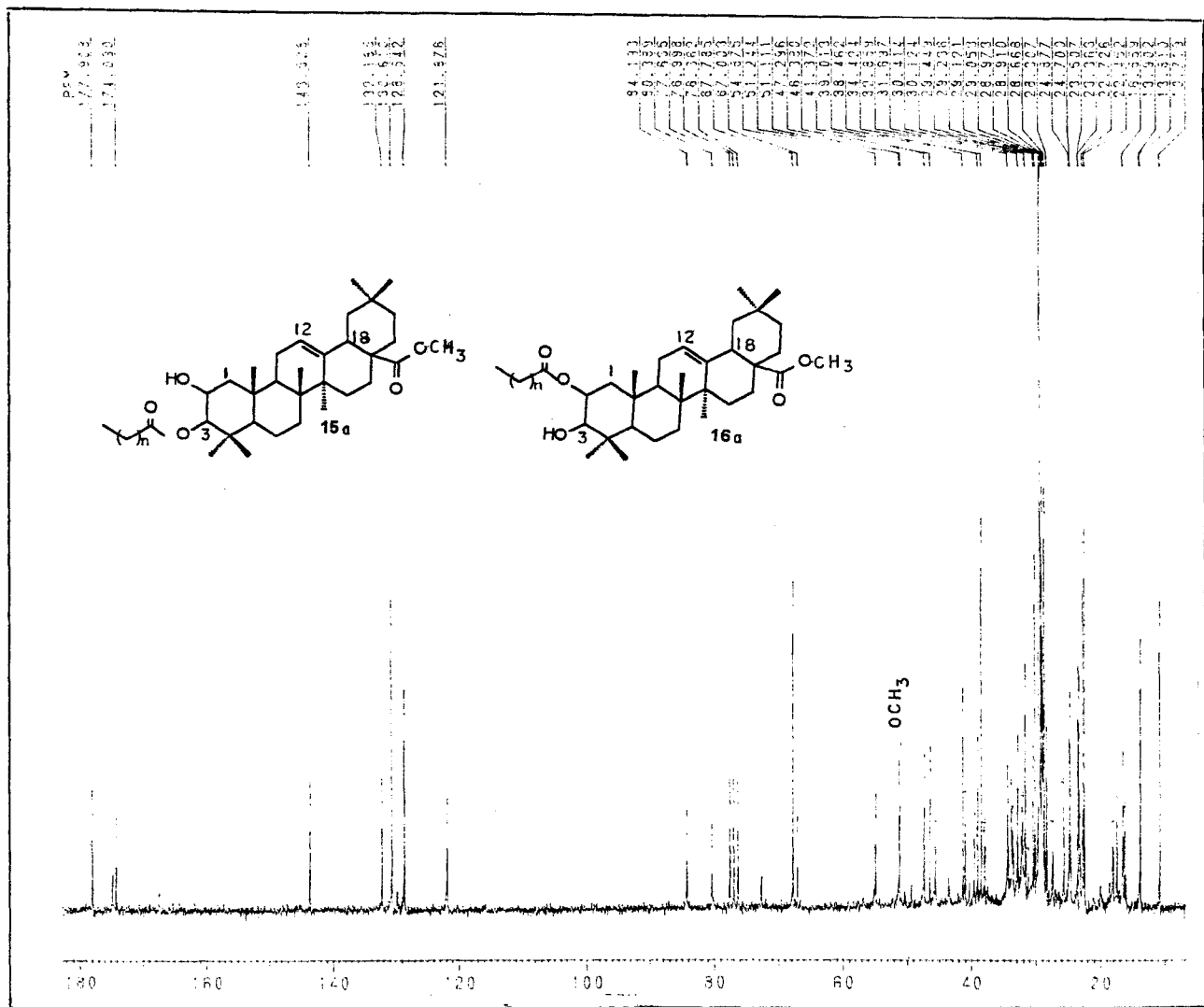


Figura 139. Espectro de RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de 15a e 16a

2.8.7. ENSAIO DE TOXICIDADE COM *Artemia salina* LEACH

A realização de ensaios de toxicidade para o crustáceo *Artemia salina* Leach., tem sido utilizado para detectar a presença de substâncias bioativas.

A busca de substâncias química com atividades biológicas faz parte da rotina dos químicos de produtos naturais e químicos sintéticos, que vêm lançando mão de vários testes para avaliar os resultados de seus trabalhos. Muitos destes testes, porém, utilizam-se de cobaias animais (camundongos, gatos, cães, etc.) ou tecidos de origem animal ou vegetal. Entretanto, são testes bastante complexos além de dispendiosos, deste modo inviabiliza-se sua execução em laboratórios não específicos.

Artemia salina Leach é um crustáceo, disponível comercialmente como larva de camarão, que vêm sendo utilizado por vários pesquisadores, para avaliação da toxicidade de extratos ou de substâncias isoladas, que é um indício de possível atividade biológica. O teste com *Artemia salina* Leach, descrito por Meyer et al. (1982), é simples, de baixo custo e não necessita de nenhum aparato especial para realização (

O fundamento do ensaio está somente na letalidade causada por uma substância ou extrato. O resultado funciona como uma avaliação preliminar de possível atividade biológica.

Para a realização do teste as ovas de *Artemia salina* são colocadas para aclodir em água do mar artificial, por um período de 48 horas. A medida que eclodem as larvas são atraídas pela luz artificial estrategicamente posicionada para este fim.

A substâncias para testes são utilizadas em várias concentrações (10,0; 5,0; 1,0 e 0,1 ppm e outras se houver necessidade), em quadruplicata em tubos de ensaio contendo água do mar artificial e 10 larvas.

Após 24 horas de contato à temperatura ambiente, o número de organismos sobreviventes é contado e os valores de DL₅₀ (Dose Letal para 50 % da população) é calculado utilizando-se métodos estatísticos.

São consideradas tóxicas as substâncias cujo DL_{50} seja inferior a 1000 $\mu\text{g/mL}$.

2.8.7.1. EXPERIMENTAL

O processo experimental aplicado neste trabalho, baseia-se no trabalho desenvolvido por Meyer et al., 1982.

2.8.7.2. PREPARAÇÃO DA AMOSTRA

10 mg da substância a ser testada foram dissolvidas em 5 mL de DMSO (dimetilsulfóxido) e mantidos em balão volumétrico.

2.8.7.3. INOCULAÇÃO PARA TESTE

Dada a eclosão dos ovos (48 horas após sua colocação em solução salina), foram transferidas para tubos de ensaio aproximadamente 10 larvas em solução, com auxílio de uma pipeta Pasteur. Adicionou-se solução salina até que se completasse 10 mL.

Tomou-se alíquotas de 200, 150, 100, 80 e 50 μL da solução da substância (em DMSO), inoculando-se nos tubos de ensaio contendo as larvas. O teste foi feito em quadruplicata para cada dose.

Passadas 24 horas de contato, foi feita a contagem de organismos vivos e mortos.

2.8.7.4. DETERMINAÇÃO DA DL_{50}

Através da determinação da equação da reta de melhor ajuste aos pontos experimentais no gráfico (% de vivos versus o log da dose usada), se obtém o valor da DL_{50} . É dado a seguir um exemplo:

Composto 1:

Log da dose	% de vivos
2,17	45
2	55
1,9	57,5
1,69	92,5

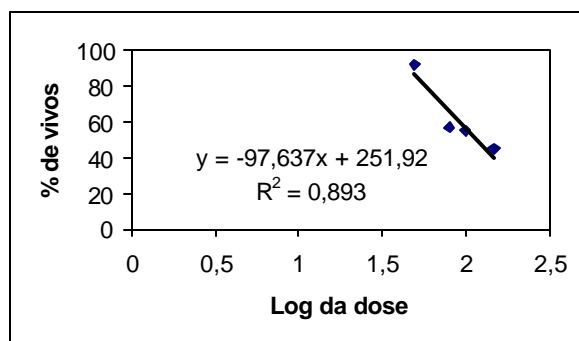


Gráfico 1. Cálculo da DL₅₀ para o composto 1.

DL₅₀ 116,97 ppm

Os resultados obtidos com substâncias isoladas das plantas estudadas são apresentados na tabela a seguir:

Tabela 30. Dose letal (DL₅₀) para as substâncias testadas.

Substância	DL ₅₀
1 (3O-β-D-glicopiranosil-sitosterol)	116,97
1a (3O-β-D-tetraacetil-glicopiranosil-sitosterol).	>1000
3^a (3β-O-L-arabinopiranosiloleano-12-eno--28-O-oato de β-D-glicopiranosila)	25,55
8 (Friedelina)	>1000
8 e 9 (Friedelina e Friedelinol)	>1000
13 + 14	26,34

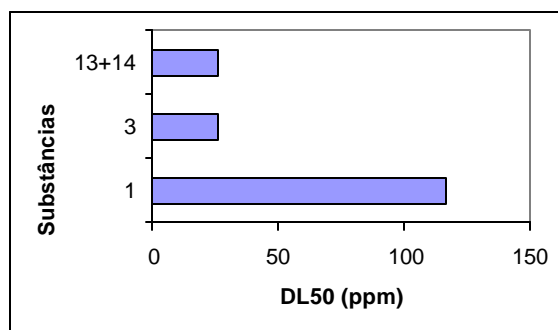


Gráfico 2. Comparação dos valores de DL₅₀ das substâncias tóxicas.

2.8.7.5. RESULTADOS

Como resultado do ensaio de letalidade de *Artemia salina*, foram observadas diferenças significativas entre as substâncias testadas (Tabela 30). As substâncias **1**, **3a**, e a mistura **13 + 14** foram bastante tóxicas com valores, em ppm, baixos. Isto é um indicativo de possível atividade biológica, despertando o interesse para outros testes nas referidas amostras.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

- Este trabalho contribuiu com novas informações químicas de duas espécies de plantas brasileiras.
- A continuidade do estudo químico de *Lafoensia glyptocarpa* Koehne forneceu uma saponina nova e seu derivado acetilado.
- A nova saponina exerce efeito inibitório sobre a germinação de sementes de alface e tomate.
- Não foram encontrados flavonóides nos exemplares de *Ouratea floribunda* estudados.
- Os dados de RMN¹³C da atranorina estão sendo registrados pela primeira vez na literatura.
- O derivado acetilado da atranorina é novo na literatura.
- Entre os ésteres avaliados revelaram-se mais ativos na inibição de germinação de sementes os (3,4-metilenodioxo)-fenil-propionato de hexadecila.
- Das substâncias naturais testadas com ensaio de *Artemia salina*, **1**, **3** e a mistura **13+14** apresentaram valores de DL₅₀ abaixo de 1000 ppm, sendo consideradas tóxicas, despertando interesse para outros testes.
- As substâncias **1** e **3** e a mistura **13+14** apresentaram DL₅₀ < 1000 ppm, despertando interesse para outros testes biológicos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Akisa, T.; Ghosh, P.; Thakur, S.; Oshikiri, S.; Tamura, T.; Matsumoto, T. 24 β -Methylcholesta-5,22*E*,25-trien-3 β -ol and 24 α -Ethyl-5 α -cholest-22*E*-en-3 β -ol from *Clerodendrum fragrans*, *Phytochemistry*, **1988**, **27** (1), 241-244.
- Barrow, M. J.; Cradwick, P. D.; Sim, G. A. Conformation of the Strained meta,meta'-Bridged Biphenyl System in the Lythraceae Alkaloids Lythrancine-II and Lythrancine-IV: X-Ray Analyses of Lythrancine-II O-*p*-Bromobenzenesulphonate and Lythrancine-IV, *J. C. S. Perkin II*, **1974**, **5**, 1812-1818.
- Battistini, S. L.; Bragio, M. M.; Felício, J. D. Atividades Farmacológicas da Fração Hidroalcoólica da *Ouratea parviflora*, *Arq. Inst. Biol.*, **1997**, **64** (supl.), 95.
- Bates, R. B.; Linz, G. S. Novel Dimeric Chalcone-based Pigments From *Brackenridgea zanguebarica*, *Tetrahedron Letters*, **1984**, **25**, 105-108.
- Barroso, G. M. Sistemática de Angiospermas do Brasil, vol.3, editora UFV-MG, **1986**.
- Berardi, F.; Santoro, S.; Perrone, R.; Tortorella, V.; Govoni, S.; Lucchi, L. N-[*w*-(Tetralin-1-yl)alkyl] Derivatives of 3,3-Dimethylpiperidine Are Highly Potent and Selective σ^1 or σ^2 Ligands, *J. Med. Chem.*, **1998**, **41**, 3940-3947.
- Bohlmann, F.; Zdero, C.; King, M. R.; Robinson, H. Neue Sandaracopimaridien-Derivate, Sesquiterpene und Sesquiterpenlactone aus *Zexmenia*-Arten, *Phytochemistry*, **1982**, **21** (9), 2329-2333.
- Braz-Filho, R. Contribuição das Substâncias Fito-orgânicas como Agentes Medicinais *Rev. Med. UFC.*, **1994**, **34** (1-2), 38-50.
- Breitmeier, E.; Voelter, W. Carbon 13 – NMR Spectroscopy: High-Resolution Methods and Applications in Organic Chemistry and Biochemistry (3 th Ed), VCH, Weinheim, **1987**, p.387.
- Carvalho, G. J. A. Estudo Químico de *Lafoensia glyptocarpa* Koehne (Lythraceae) e *Wedelia paludosa* D. C. (Asteraceae). Dissertação de Mestrado. Departamento de Química da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, **1994**.

- Carvalho, G. J. A.; Carvalho, M. G.; Braz-Filho, R. A Triterpenoid Saponin Isolated From *Lafoensia glyptocarpa*, *Phytochemistry*, **1999**, **52**, 1617-1619.
- Carvalho, G. J. A.; Carvalho, M. G.; Braz-Filho, R. Terpenóides Glicosídicos Isolados de *Lafoensia glyptocarpa*, Resumos SBQ, **1996**, PN-147.
- Carvalho, G. J. A.; Carvalho, M. G.; Braz-Filho, R. Novo Glicosídeo Triterpênico Isolado de *Lafoensia glyptocarpa* (Lythraceae), Resumos SBQ, **1998**, PN-076.
- Carvalho, G. J. A.; Oliveira, M. C. C.; Braz-Filho, R.; Carvalho, M. G. Estudo Químico de *Cestrum laevigatum* e *Lafoensia glyptocarpa*, Resumos SBQ, **1994**, PN-039.
- Carvalho, M. G.; Carvalho, G. J. A.; Braz-Filho, R. Chemical Constituents From *Ouratea floribunda*: Complete ^1H and ^{13}C NMR Assignments of Atranorin and its New Acetyl Derivated, *J. Braz. Chem. Soc.*, **2000**, **11** (2), 143-147.
- Chakravarty, A. J.; Mukhopadhyay, S.; Das, B. Swertane Triterpenoids From *Swertia chirata*, *Phytochemistry*, **1991**, **30** (12), 4087-4092.
- Comte, G; Chulia, A. J.; Vercauteren, J.; Allais Phenylpropane Glycosides From *Juniperus phoenicea*, *D Planta Med.*, **1996**, **62**, 88-89.
- Corrêa, M. P. Dicionário de Plantas Úteis do Brasil e Exóticas Cultivadas, Rio de Janeiro, Imprensa Nacional, Vol. V, Ed. Ministério da agricultura – Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal, 1984.
- Di Stasi, L. C. Plantas Mediciniais: Arte e Ciência, Editora UNESP, 1^o ed., **1996**.
- Dobrescu, D.; Tanasecu, M.; Mezdrea, A.; Ivan, C.; Ordosch, E.; Neagoe, F.; Rizeanu, A.; Trifu, L.; Enescu, V. *Rom. J. Physiol.*, **1993**, **30** (1-2), 101-107.
- Drewes, S.; Hudson, N. A. Brackenin, a Dimeric Dihydrochalcone From *Brackenridgea zanguebarica*, *Phytochemistry*, **1983**, **22** (12), 2823-2825.
- Elakovich, S. D.; Stevens, K. L. L. Phytotoxic Properties of Nordihydroguaiaretic Acid, a Lignan From *Larrea tridentata* (Creosote Bush), *Journal of Chemical Ecology*, **1985**, **11** (1), 27-33.
- Elix, J. A.; Barclay, C. E.; David, F.; Griffin, F. K.; Hill, A. M.; McConnell, D. B.; Wardlaw, J. H. Synthesis of Further Lichen Depsides, *Aust. J. Chem.*, **1993**, **46**, 301-313.

- Elix, J. A.; Jayanthi, V. K. Synthetic Confirmation of the Structure of the Lichen Benzyl Esters Alectorialic and Barbatolic Acid, *Aust. J. Chem.*, **1987**, **40**, 851-859.
- El-Olemy, M. M.; Stohs, S. J. Heimidine, a New Alkaloid From *Heimia salicifolia*, *Lloydia*, **1971**, **34** (4), 439-441.
- Fang, S.C.; Shieh, B.R.; Wu, R.R.; Lin, C. N. Isoprenylated Flavonols of Formosan *Broussonetia papyrifera*, *Phytochemistry*, **1995**, **38** (12), 535-537.
- Felício, J. D.; Gonçalves, E.; Braggio, M. M.; Constantino, L.; Albasini, A.; Lins, A. P. Inhibition of Lens Aldose Reductase by Biflavones From *Ouratea spectabilis*, *Planta Med.*, **1995**, **61**, 217-220.
- Felício, J. D.; Yung, M. C. M.; Lins, A. P. Bisflavonas de *Ouratea spectabilis*, *Resumos SBQ*, PN-51, **1993**.
- Ferreira, P. M.; Oliveira, C. N.; Zhao-Hua, W.; Oliveira, A. B.; Vieira, M. A. R.; Envolvimento da Histamina no Mecanismo de Ação do Extrato Bruto das Folhas de *Maytenus ilicifolia* (Espinheira Santa) sobre a Secreção Gástrica de Ácido, Resumos do XIV Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil, **1996**, F-094.
- Fitzgerald, L. B.; Udo, B.; Fiscus, E. L. *Journal of Experimental Botany*, **1992**, **43** (250), 649-655.
- Freitas, R. R.; Carvalho, D. A.; Alvarenga, A. A. Quebra de Dormência de Sementes de Capim-marmelada [*Brachiaria plantaginea* (Link) Hitch], *Rev. Bras. Fisiol. Vegetal*, **1990**, **2** (2), 31-35.
- Gaston, D.; Marlier, M.; Casimir, J. *Phytochemistry*, **1976**, **15**, 747-749.
- Garcez, N. S.; Garcez, F. R.; Rodrigues, E. D.; Almeida, S. M.; Sakamoto, H. T.; Felipe, D. C.; Shiota, F.; Resumos SBQ, **1998**, PN-028.
- Ghione, M.; Parrello, D.; Grasso, L. Usnic Acid Revisited, its Activity on Oral Flora, *Chemioterapia*, **1988**, **7** (5), 302-305.
- Gottsberger, G.; Schrauwen, J.; Linskens, H. F. Amino Acids and Sugars in Nectar, and Their Putative Evolutionary Significance, *Plant. Syst. Evol.*, **1984**, **145** (1-2), 55-77.

- Govindachari, T. R.; Parthasarathy, P. C.; Desai, H. K.; Mohaned, P. A. Cluytyl Ferulate, A New Long Chain Ester From *Gmelina arborea* Linn. & *Lannea grandis* (Dennst.), CIBA, Research Centre, Goregoaon, Bombay 63.
- Graham, S. A.; Timmermann, B. N.; Mabry, T. Flavonoid Glycosides in *Ammannia coccinea* (Lythraceae), *Journal Nat. Prod.*, **1980**, **43** (5), 644-645.
- Guevara, A. M.; Lim-Sylianco, C. Y.; Dayrit, F. M.; Finch, P. Acylglucosil Sterols From *Momordica charantia*, *Phytochemistry*, **1989**, **28** (6), 1721-1724.
- Gupta, S.; Ali, M.; Alam, M. S.; Niwa, M.; Sakai, T. 24 β -Ethylcholest-4-en-3 β -ol From the Roots of *Lawsonia inermis*, *Phytochemistry*, **1992**, **31** (7), 2558-2560.
- Hamed, A. P.; Springuel, I.; El-Emary, N. A.; Mitome, H.; Miyaoka, H.; Yamada, Y, *Phytochemistry*, **1996**, **43** (1), 183-187.
- Herz, W.; Kulanthaivel, P. Ent-kauranes 10 α -Methyl-eudesman-8 α H,12-olides From *Wedelia calycina* and *Wedelia hispida*, *Phytochemistry*, **1984**, **23** (10), 2271-2275.
- Hober, E.; Leath, K. T.; Berrang, B.; Macarian, V.; Hanson, C. H. Biological Activies of Saponin Components From Dupuits and Lahobtan alfalfa *Ent. Exp. & appl.*, **1974**, **17**, 410-424.
- Kamil, M.; Khan, N. A.; Alam, M. S.; Ilyas, M. A Biflavone From *Ochna pumila*, *Phytochemistry*, **1983**, **26** (4), 1171-1173.
- Kelsey, R. G.; Locken, L. J. Phytotoxic properties of Cnicin, a Sesquiterpene Lactone From *Centaurea maculosa* (Spotted knapweed) *Journal of Chemical Ecology*, **1987**, **13** (1), 19-33.
- Kim, Y. C.; Bolzani, V. S.; Baj, N.; Gunatilaka, A. A. L.; Kingston, D. G. I. A DNA_Damaging Sesquiterpene and Other Constituents From *Frullania nisquallensis*, *Planta Med.*, **1996**, **62**, 61-63.
- Kojima, H.; Sato, N.; Hatano, A.; Ogura, H. Sterol Glucosides From *Prunella vulgaris* *Phytochemistry*, **1990**, **29** (7), 2351-2355.
- Lehman, M. E.; Blum, U.; Gerig, T. M. *Journal of Chemical Ecology*, **1994**, **20** (7), 1773-1782.

- Mahato, S. B.; Kundu, A. P. *Phytochemistry*, **1994**, **37** (6), 1517-1575.
- Messanga, B. B.; Tih, R. G.; Kimbu, S. F.; Sondengam, B. L.; Martin, M. T.; Bodo, B. Calodenone, A New Isobiflavonoid From *Ochna calodendron*, *Journal of Natural Products*, **1992**, **55** (2), 245-248.
- Monache, F. D.; d'Albuquerque, I. L.; Ferrari, F.; Betòllo, B. M. A New Catequin and a Dimeric Proanthocyanidin From *Ouratea* sp., *Tetrahedron Letters*, **1967**, **43**, 4211-4214.
- Moreira, I. C. Estudo Químico de *Ouratea hexasperma* (St. Hill Ochnaceae). Dissertação de Mestrado. Departamento de Química da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, **1994**.
- Moreira, I. C.; Sobrino, D. C.; Carvalho, M. G.; Braz-Filho, R. Isoflavone Dimers Hexaspermone A, B and C From *Ouratea hexasperma*, *Phytochemistry*, **1994**, **35** (6), 1567-1572.
- Murakami, C.; Myoga, K.; Kasai, R.; Ohtani, K.; Kurokawa, T.; Ishibashi, S.; Dayrit, F.; Padolina, W. G.; Yamasaki, K. Screening of Plant Constituents for Effect on Glucose Transport Activity in Ehrlich Ascites Tumour Cells, *Chem. Pharm. Bull.*, **1993**, **41** (12), 2129-2131.
- Nair, M. G.; Epp, M. D.; Burke, B. A. Ferulate Esters of Higher Fatty Alcohols and Allelopathy in *Kalanchoe daigremontiana*, *Journal of Chemical Ecology*, **1988**, **14** (2), 589-603.
- Neto, M. R. F. Utilização do Safrol na Síntese de Derivados do Núcleo Pirroloquinolina, Potencialmente Úteis Como Antineoplásicos. Tese De Mestrado. Departamento de Química da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, **1997**.
- Nicollier, G.; Rebetez, M.; Tabacchi, R. Identification et Synthèse de Nouveaux Depsides Isolés de la Mousse de Chêne [*Evernia prunastri* (L.) Ach.] *Helvetica Chimica Acta*, **1979**, **62** (3), 75-83.
- Nozaki, H.; Suzuki, H.; Hirayama, T.; Kasai, R.; Wu, R-Y.; Kuo-Hsiung Antitumor triterpenes of *Maytenus diversifolia*, *Phytochemistry*, **1986**, **25** (2), 479-485.

- Okigawa, M.; Kawano, N. Ochnaflavone and its Derivatives: a New Series of Diflavonyl Ethers From *Ochna squarrosa* Linn, *J. of the Chem. Society Perkin I*, **1976**, 580-583.
- Okuyama, E.; Umeyama, K.; Yamazaki, M.; Kinoshita, Y.; Yamamoto, Y. Usnic Acid and Diffractaic Acid as Analgesic and Antipyretic Components of *Usnea diffracta*, *Planta Med.*, **1995**, **61** (2), 113-115.
- Oliveira. M. C. C.; Rincón, J R.; Carvalho, M. G.; Echevarria, A. Bioensaio com *Artemia salina* Leach em Extratos de *Ouratea cuspidata* (Ochnaceae), Resumos XIV Simpósio de Plantas Mediciniais, **1996**, F-231.
- Oliveira. M. C. C.; Carvalho, M. G.; Werli, A. A. Outros Constituintes Isolados de *Luxemburgia nobilis*, Resumos SBQ, **1999**, PN-098.
- Pak, A.; Felício, J. D.; Braggio, M. M.; Gonçalves, E.; Cordeiro, I. Composição Química da Fração Clorofórmica do Extrato Etanólico dos Galhos de *Ouratea parviflora* (Baill), Resumos SBQ, **1997**, PN-1052.
- Pak, A.; Felício, J. D.; Braggio, M. M.; Gonçalves, E.; Cordeiro, I. Biflavona do Extrato Etanólico da Casca de *Ouratea parviflora*, *Arq. nst. Biol.*, **1997**, **64** (supl.), 95.
- Patra, A.; Chaudhuri, S. K.; Rüegger, H. Complete ^{13}C and ^1H Spectral Assignments of Friedelin by INADEQUATE and Heteronuclear (^{13}C - ^1H) Correlation Experiments, *J. Indian Chem. Soc.*, **1990**, **67**, 394-397.
- Pelosi, L. A.; Rother, A. The Effect of Light on the Production of *Heimia* Alkaloids, *Phytochemistry*, **1985**, **24** (10), 2215-2218.
- Rao, C. V.; Gunasekar, D. Squarrosin, a New Isoflavone From *Ochna squarrosa* (Linn), *Indian Journal of Chemistry*, **1989**, **28** (B), 780-781.
- Rao, K. V.; Sreeramulu, K.; Rao, C. V.; Gunasekar, D.; Martin, M. T.; Bodo, B. Two New Biflavonoids From *Ochna obtusata*, *J. Nat. Prod.*, **1997**, **60**, 632-624.
- Reddy, K. C.; Kumar, K. A.; Srimannarayana, G. 5-Methoxyfurano(2",3":7,8)Flavone From the Stems of *Ochna squarrosa*, *Phytochemistry*, **1983**, **22** (3), 800-801.

- Reynolds, T. Comparative Effects of Heterocyclic Compounds on Inhibition of Lettuce Fruit Germination, *Journal of Experimental Botany*, **1989**, **40** (212),391-404.
- Roming, T. L.; Weber, N. D.; Murray, B. K.; North.; J. A.; Wood, S.G.; Hughes, B. G.; Cates, R. G. Antiviral Activity of Panamanian Plant Extrcts, *Phytother. Res.*, **1992**, **6**, 38-43.
- Rother, A. Alkaloids of *Heimia montana*, *Phytochemistry*, **1990**, **29** (5), 1683-1686.
- Rother, A.; Edwards, J. M. Biosynthesis of Phenylquinolizidine Alkaloids by *Heimia salicifolia*, *Phytochemistry*, **1994**, **36** (4), 911-916.
- Rother, A.; Schwarting, A. E. A New Phenylquinolizidol of *Heimia salicifolia*, *Experientia*, **1974**, **30** (3), 222.
- Schenkel, E. P.; Gosmann G.; Montanha, J. A.; Heizmann, B. M.; Athayde, M. L.; Taketa, A. T. C.; Pires, V. S.; Guillaume, D. Saponins From Maté (*Ilex paraguariensis*) and Other South American *Ilex* Species: Ten Years Research on *Ilex* Saponins, *Ciência e Cultura*, **1997**, **49** (5-6), 359-363.
- Sharnoff, M.; Shain, A. L. Structures of the Lythraceae Alkaloids Lythrumine and Acetyllythrumine, *J. A. C. S.*, **1973**, **95** (19), 746-648.
- Sobrinho, D. C.; Hauptli, M. B.; Appolinário, E. V.; Kollenz, C. L. M.; Carvalho, M. G.; Braz-Filho, R. Triterpenoid Isolated From Parahancornia amapa, *Journal Am. Chem. Soc.*; 1991,**2** (1),
- Sutherland, O. R. W.; Hutchins, R. F. N.; Greenfield, W. J. Triterpenoids Isolated From *Parahancornia amapa*, *New zealand Journal of Zoology*, **1982**, **9**, 511-514.
- Teresa, J. P.; Urones, J. G.; Basabe, B.; Cuadrado, M. J. S.; Moro, R. F. Triterpenes From *Euphorbia broteri*, *Phytochemistry*, **1987**, **26** (6), 1767-176.
- Tih, A. E.; Tih, R. G.; Sondengam, B. L.; Martin, M. T.; Bodo, B. Structures of Isombamichalcone and Lophirochalcone, Bi-and Tetra-flavonoids From *Lophira lanceolata*, *Tetrahedron Letters*, **1988**, **29**, 5797-5800.

- Tih, R. G.; Sondengam, B. L.; Martin, M. T.; Bodo, B. Structure of the CHALCONE Dimers Lophirone F, G and H *From Lophira lanceolata* Stem Bark, *Phytochemistry*, **1990**, **29** (7), 2289-2293.
- Tih, R. G.; Sondengam, B. L.; Martin, M. T.; Bodo, B. Structure of Lophirones B and C, Biflavonoids From the Bark of *Lophira lanceolata*, *Tetrahedron Letters*, **1989**, **30**, 1807-1810.
- Torsell, K. B. G. Natural Product Chemistry, Apotekarsocieteten, 2^a ed., 1997.
- Vaconcelos, E. C.; Cordeiro, P. J. M.; Vilegas, J. H. Y.; Lanças, F. M. Extração e Análise Cromatográfica Aplicados ao Controle de Qualidade de "Espinheira-santa" (*Maytenus aquifolium* M.) Resumos do XIV Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil, **1996**, C-004.
- Velandia, J. R. Constituintes Químicos de *Ouratea semisserrata* e Transformações Químicas da Neolignana Aureina. Dissertação de Doutorado. Departamento de Química da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, **1997**.
- Vogel, A. I. Química Orgânica (Análise Orgânica Qualitativa), Vol. 3, 3^a ed., Ao Livro Técnico S.A., **1984**.
- Xu, Y.; Sakai, T.; Tanaka, T.; Nonaka, G.; Nishioka, I. Tannins and Related Compounds. CVIL. Structure Elucidation of Three New Monomeric and Dimeric Ellagitannins, Flosin B and Reginins C and D, Isolated *From Lagerstroemia flos-reginae* Retz, *Chem. Pharm. Bull.*, **1991**, **39** (3), 639-646.
- Yamane, A.; Fujikura, J.; Ogawa, H.; Mizutani, J. Isothiocyanates as Alleopathic Compounds From *Rorippa indica* Hiern. (Cruciferae) Roots, *Journal of Chemical Ecology*, **1992**, **18** (11), 1941-1954.
- Yoshida, T.; Chou, T.; Matsua, M.; Yasuhara, T.; Yazaki, K.; Hatano, T.; Nitta, A.; Okuda, T. Woodfordin D and Oenothien A, Trimeric Hydrolyzable Tannins of Macro-Rings Structure With Antitumor Activity, *Chem. Pharm. Bull.*, **1991**, **39** (5), 1157-1162.
- Yoshida, T.; Chou, T.; Nitta, A.; Okuda, T. Tannins and Related Polyphenols of Lythraceous Plants. III. Hydrolyzable Tannin Oligomers With Macrocyclic

Structures, and Accompanying Tannin From *Woodfordia fruticosa* Kurz,
Chem. Pharm. Bull., **1992**, **40** (8), 2023-2030.